

<報文>

三波長紫外線吸光光度法による河川水中の硝酸性窒素及び亜硝酸性窒素の簡易定量*

小澤秀明**・川村 實**

キーワード ①硝酸性窒素 ②亜硝酸性窒素 ③紫外線吸光光度法 ④三波長 ⑤溶存有機物

要 旨

NO_3^- と NO_2^- の吸収が強い領域の2つの波長(波長1, 波長2)と, それらの吸収がほとんどなく溶存有機物の吸収がある, より長い波長領域の1つの波長(波長3)を用いて, 河川水中の $\text{NO}_3\text{-N} + \text{NO}_2\text{-N}$ を簡易に求める方法を検討した。

$[\text{NO}_3\text{-N} + \text{NO}_2\text{-N}] = a \cdot E_1 - b \cdot E_2 - c \cdot E_3$ の形で定量でき, 具体的には, 220 nm, 230 nm, および285 nmの三波長の吸光度を測定することにより $\text{NO}_3\text{-N} + \text{NO}_2\text{-N}$ (含量)は簡便に定量できると考えられた。また, $\text{NO}_3\text{-N}$ も同様の形式で簡便に求められることがわかった。実際の河川水の $\text{NO}_3\text{-N}$ および $\text{NO}_2\text{-N}$ の測定に適用したところ, 銅・カドミウムカラム還元-ナフチルエチレンジアミン吸光光度法による測定とよい相関がみられた。

ただし, 問題点としては溶存有機物の吸収に対する補正がある。溶存有機物によるUV吸収は対象とする環境水により地域特性を持つ可能性があり, その影響が懸念されるような場合には測定対象とする水域に即した補正項を求めるとよいと考えられる。

1. はじめに

天然水中の硝酸性窒素($\text{NO}_3\text{-N}$)および亜硝酸性窒素($\text{NO}_2\text{-N}$)は, 飲料水として利用した場合の健康影響(特に乳児のメトヘモグロビン血症)が懸念されること, あるいは水域の富栄養化の因子として植物による利用性の高い無機態窒素であることなど, 環境科学的に注目される項目である。我が国では環境分野において, 平成5(1993)年3月に公共用水域の水質に対して $\text{NO}_3\text{-N}$ および $\text{NO}_2\text{-N}$ が要監視項目に定められ, さらに平成11(1999)年2月には環境基準が設定されるに至った。

$\text{NO}_3\text{-N}$ および $\text{NO}_2\text{-N}$ の分析法を全般的にみると, 銅・カドミウムカラム還元-ナフチルエチレンジアミン吸光光度法($\text{Cu} \cdot \text{Cd} - \text{NEDA}$ 法)やあるいはイオンクロマトグラフ法などが用いられている。一方, 硝酸イオン(NO_3^-)あるいは亜硝酸イオン(NO_2^-)の強い紫外線吸収を利用して直接的に紫外線吸光光度法により測定する方法も古くから検討されてきた^{1~8)}。

筆者らは新たに三波長での紫外線吸光光度法により淡水中の $\text{NO}_3\text{-N}$ および $\text{NO}_2\text{-N}$ (含量および各態量)の簡易な測

定法を検討した。220 nmにおける吸光度(E_{220})は全窒素の定量における NO_3^- の測定波長として汎用的に用いられている^{9~10)}ため, そのまま測定波長の一つとして用いることとし, 他の測定波長と併せた吸光度測定を行うことにより簡易に定量する方法を開発し, その適用性を検討するとともに, 実際の河川水でのモニタリングに使用した。

2. 実験

2.1 装置

日立分光光度計U-3000, フローセル(光路長10 mm, 容量約50 μL), スリット 2.0 nm

2.2 試薬など

精製水は使用直前にイオン交換した蒸留水(DIW)を用いた。

各試薬類は特級以上のものを用いた。 KNO_3 , NaNO_2 は105℃でおよそ4時間乾燥した塩を用いて200 mg/L標準溶液を調製して冷蔵保存し, 適宜 DIWで希釈して使用した。

*Simple Determination of Nitrate- and Nitrite-nitrogen in River Water by Three-wavelength UV Spectrophotometry

**Hideaki OZAWA, Minoru KAWAMURA (長野県環境保全研究所) Nagano Environmental Conservation Research Institute

2.3 定量操作法

NO₃-NおよびNO₂-Nの標準溶液を調製し、蒸留イオン交換水(DIW)を対照として各波長での吸光度(小数点以下4桁まで)を3回測定し、その平均値を用いた。

河川水試料は、信濃川水系の千曲川の4地点、犀川の1地点で1995年4月～1996年9月に毎月1回採水し、よく洗浄したガラス瓶に採水し、ガラス繊維ろ紙GF/F(450°Cで2時間処理)でろ過したろ液を測定試料とした。一方、NO₃-NおよびNO₂-Nの定量はCu・Cd-NEDA法(JIS K 0102)に拠った。

さらに、上記の地点に加え、千曲川の上流域の河川水の調査を行った(1996年8月および1997年1月)。

3. 結果および考察

3.1 係数の算出

陸水の紫外外部吸収(200～350 nm)を主にNO₃⁻あるいはNO₂⁻、および溶存有機物(DOM)によると考え、NO₃-NおよびNO₂-N(含量および各態量)の定量法について検討した。

波長1および波長2における吸光度E₁およびE₂はLambert-Beerの法則が成立すると考えると、水中のNO₃⁻やNO₂⁻による吸収とDOMによる吸収の和で表されるとして

$$E_1 = E_1(\text{NO}_3^-) + E_1(\text{NO}_2^-) + E_1(\text{DOM}) \\ = a_1[\text{NO}_3\text{-N}] + b_1[\text{NO}_2\text{-N}] + E_1(\text{DOM}) \quad \cdots \text{①}$$

$$E_2 = E_2(\text{NO}_3^-) + E_2(\text{NO}_2^-) + E_2(\text{DOM}) \\ = a_2[\text{NO}_3\text{-N}] + b_2[\text{NO}_2\text{-N}] + E_2(\text{DOM}) \quad \cdots \text{②}$$

と表される。

ここで定数Aを用いて、①②式より

$$E_1 - A \cdot E_2 = (a_1 - A \cdot a_2)[\text{NO}_3\text{-N}] + (b_1 - A \cdot b_2)[\text{NO}_2\text{-N}] \\ + E_1(\text{DOM}) - A \cdot E_2(\text{DOM}) \quad \cdots \cdots \text{③}$$

となる。

ここで③式の[NO₃-N]と[NO₂-N]の2つの係数が等しいとき、即ちA = (a₁ - b₁) / (a₂ - b₂)の時、

$$E_1 - A \cdot E_2 = [(a_1 b_2 - a_2 b_1) / (b_2 - a_2)] \cdot [\text{NO}_3\text{-N} + \text{NO}_2\text{-N}] \\ + E_1(\text{DOM}) - A \cdot E_2(\text{DOM}) \quad \text{となる。}$$

即ち、

$$[\text{NO}_3\text{-N} + \text{NO}_2\text{-N}] = [(b_2 - a_2) / (a_1 b_2 - a_2 b_1)] \cdot \{E_1 - A \cdot E_2 - [E_1(\text{DOM}) - A \cdot E_2(\text{DOM})]\} \\ = [(b_2 - a_2) / (a_1 b_2 - a_2 b_1)] \cdot E_1 - [(b_1 - a_1) / (a_1 b_2 - a_2 b_1)] \cdot E_2 \\ - [(b_2 - a_2) / (a_1 b_2 - a_2 b_1)] \cdot [E_1(\text{DOM}) - A \cdot E_2(\text{DOM})] \quad \cdots \cdots \text{④}$$

NO₃⁻およびNO₂⁻のUV吸収スペクトルをみると、前者は約201 nm、後者は約210 nmに吸収極大¹¹⁾があり、これらを考慮しながら用いる波長を選択した。NO₃⁻の定量は従来の単波長による測定例やT-Nの定量などで220 nmを用いている。そこで、波長1を220 nm、また波長2を230 nmとして、NO₃-NおよびNO₂-Nの標準溶液(0.1～2.0 mgN/Lの5段階濃度列)

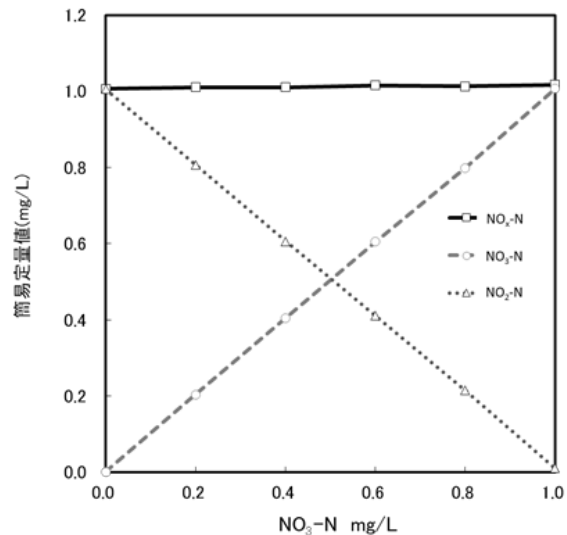


図1 NO_x-N混合試料の簡易定量
(NO₂-N + NO₃-N = 1.0 mg/L)

より検量線を作成し、最小二乗法により係数a₁、a₂、b₁、b₂を求めた。その5回の測定結果から、a₁=0.255 (RSD=1.0%)、a₂=0.056 (RSD=1.9%)、b₁=0.285 (RSD=0.5%)、およびb₂=0.117 (RSD=1.0%)となった。即ち、A = (a₁ - b₁) / (a₂ - b₂) = 0.492、(a₂b₁ - a₁b₂) / (a₂ - b₂) = 0.227となった。

ところで、標準溶液の場合、DOMによる吸収はないので、④式は次式のとおりとなる。

$$[\text{NO}_3\text{-N} + \text{NO}_2\text{-N}] = [(b_2 - a_2) / (a_1 b_2 - a_2 b_1)] \cdot (E_1 - A \cdot E_2) \quad \cdots \text{⑤}$$

ここで、NO₂⁻とNO₃⁻の混合溶液(NO₃-N + NO₂-N = 2.0 mg/L)でその混合比を変化させた場合の簡易定量値を図1に示す。混合比が異なってもE_{2,20} - A・E_{2,30}による定量値は一定の値を示すことがわかる。

3.2 溶存有機物による吸収の補正

3.1で検討した波長領域を含め、溶存有機物(DOM)の吸収は短波長ほど大きく、波長が長くなるにつれ単調に減少していく¹²⁾。DOMに由来するUV吸収は250 nmあるいはそれより長い波長(E_{2,50}～E_{3,00}くらい)でDOCと相関が強く、NO₃⁻やNO₂⁻の影響をほとんど受けずに指標化できるため¹³⁾、ここでは285 nmを波長3として用いた。E_{2,85}と他の吸光度の関係を一例として図2に示した。E_{2,85}は補正前、即ち直接の測定値のE_{2,20}とは相関があまりない。

これに対し、NO₃⁻やNO₂⁻をCu・Cd-NEDA法により定量して、その吸光度分を逆算し減じて補正したE_{2,20}あるいはE_{2,30}はE_{2,85}と相関が強く、E₁(DOM) = m・E₃(DOM)、E₂(DOM) = n・E₃(DOM)と表されると考えられる。

そこで、実河川水(長野県内の信濃川水系の千曲川、犀川)においてNO₃⁻およびNO₂⁻を定量して、E_{2,20}、E_{2,30}の測定値からNO₃⁻やNO₂⁻による吸光分を減じた。補正E_{2,20}お

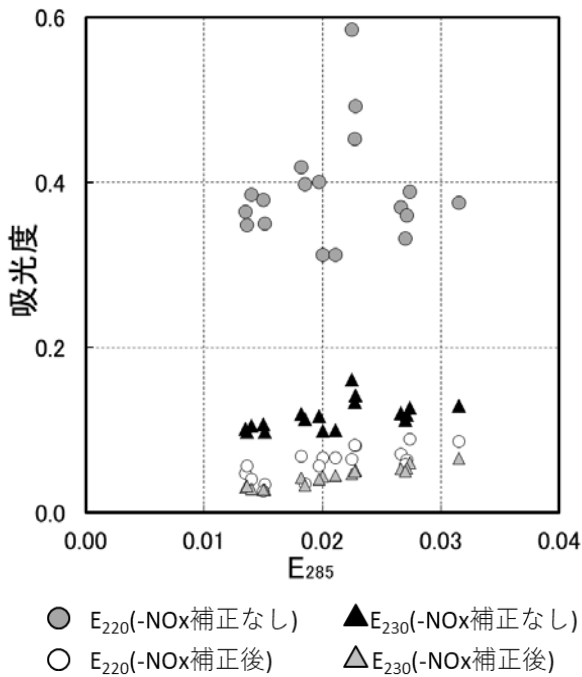


図2 補正前後の E₂₈₅ と他の紫外吸光度との関係

よび補正 E₂₃₀ と E₂₈₅ の比を比較検討した(表1)。調査時期は95年4月から96年9月の1.5年である。

表1 溶存有機物(DOM)によるUV吸収の補正

調査地点	m		n		データ数	m-n
	E ₂₂₀ (-NO _x)/E ₂₈₅		E ₂₃₀ (-NO _x)/E ₂₈₅			
	平均値	RSD (%)	平均値	RSD (%)		
St.A 生田(千曲川)	2.9	23	2.1	8.2	18	1.8
St.B 千曲橋(千曲川)	3.3	29	2.2	10	18	2.2
St.C 立ヶ花橋(千曲川)	3.0	36	2.2	11	18	1.9
St.D 飯山中央橋(千曲川)	3.0	20	2.2	6.7	18	2.0
St.E 小市橋(犀川)	3.1	23	2.1	8.2	18	2.1
平均	3.0		2.1			2.0

比m (=補正 E₂₂₀ / E₂₈₅) は2.9~3.3で、平均値が3.0であった。また、比n (=補正 E₂₃₀ / E₂₈₅) は2.1~2.2で、平均値は2.1であった。ばらつきはnに比べmの方が大きかった。これにより、m-n・Aは1.8~2.2となり、溶存有機物による吸収は E₁(DOM) - A・E₂(DOM) = (m-n・A) E₃(DOM) ≃ 2.0・E₃により補正し [NO₃-N + NO₂-N] を求めることとした。

$$\begin{aligned}
 & [NO_3-N + NO_2-N] \\
 &= [(b_2 - a_2) / (a_1 b_2 - a_2 b_1)] \cdot (E_1 - A \cdot E_2 - 2 \cdot E_3) \\
 &= [(b_2 - a_2) / (a_1 b_2 - a_2 b_1)] \cdot (E_{220} - A \cdot E_{230} - 2 \cdot E_{285}) \dots \textcircled{6}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 &= [(b_2 - a_2) / (a_1 b_2 - a_2 b_1)] \cdot E_{220} - [(b_1 - a_1) / (a_1 b_2 - a_2 b_1)] \cdot E_{230} - 2(b_2 - a_2) / (a_1 b_2 - a_2 b_1) \cdot E_{285} \\
 &= (E_{220} - 0.493 \cdot E_{230} - 2 \cdot E_{285}) / 0.227 \\
 &= 4.40 \cdot E_{220} - 2.17 \cdot E_{230} - 8.80 \cdot E_{285}
 \end{aligned}$$

3.3 硝酸性窒素の簡易定量

$$\begin{aligned}
 \textcircled{1}, \textcircled{2} \text{式より } [NO_3-N] &= [b_2 E_1 - b_1 E_2 + (b_1 \cdot n - b_2 \cdot m) \cdot E_3] / (a_1 b_2 - a_2 b_1) \\
 &= [b_2 / (a_1 b_2 - a_2 b_1)] \cdot \{E_1 - (b_1 / b_2) E_2 - [m - (b_1 / b_2) \cdot n] \cdot E_3\} \\
 &= [b_2 / (a_1 b_2 - a_2 b_1)] \cdot E_1 - [b_1 / (a_1 b_2 - a_2 b_1)] \cdot E_2 \\
 &+ [(n \cdot b_1 - m \cdot b_2) / (a_1 b_2 - a_2 b_1)] \cdot E_3 \dots \textcircled{7}
 \end{aligned}$$

となる。

a₁, a₂, b₁, b₂, m, nの各値により、⑦式は次のような式となった。

$$[NO_3-N] = 8.43 \cdot E_{220} - 20.5 \cdot E_{230} + 17.0 \cdot E_{285}$$

同様にして

$$\begin{aligned}
 [NO_2-N] &= [a_2 E_1 - a_1 E_2 + (a_1 \cdot n - a_2 \cdot m) \cdot E_3] / (a_2 b_1 - a_1 b_2) \\
 &= [a_1 / (a_1 b_2 - a_2 b_1)] \cdot \{E_2 - (a_2 / a_1) \cdot E_1 - [n - (a_2 / a_1) \cdot m] \cdot E_3\} \\
 &= [a_1 / (a_1 b_2 - a_2 b_1)] \cdot E_2 - [a_2 / (a_1 b_2 - a_2 b_1)] \cdot E_1 \\
 &- [(n \cdot a_1 - m \cdot a_2) / (a_1 b_2 - a_2 b_1)] \cdot E_3 \dots \textcircled{8}
 \end{aligned}$$

となり、同様にして⑧式は次のような式となった。

$$[NO_2-N] = -4.04 \cdot E_{220} + 18.4 \cdot E_{230} - 26.1 \cdot E_{285}$$

3.4 共存物質の影響

3.4.1 有機物質

陸水中に存在するとされるアミノ酸や糖類、尿素などを NO₃-N + NO₂-N の標準溶液に共存させて吸光度を測定し、式④により NO₃-N + NO₂-N の濃度を求めた。これと共存させない場合の定量値との差を偏差とした(表2)。

NO₃-N + NO₂-N = 1.0 mg/L とし、その内訳は (1.0 + 0) mg/L, (0.5 + 0.5) mg/L, (0 + 1.0) mg/L の三段階とした。表2から明らかなようにほとんど影響しなかった。

また、NO₃-N濃度を式⑦により求めて、同様に偏差を検討したところ、およそ1%以内であり、ほとんど影響しなかった。NO₂-N濃度もほぼ同様であった。

3.4.2 無機物質

無機化合物として4種のものの影響を上記と同様に検討した(表2)。この中で、3価のFeは0.5 mg/Lで12%の負の偏差を与えた。また、Brは20 mg/Lで15%の正の偏差を与えた。通常の河川水試料では両者とももっと低いレベルと考えられ、総じて共存物質の影響は比較的少ないと考えられる。

また、NO₃-N濃度を式⑦により求めて、同様に偏差を検

討したところ、Fe(3+)で-1.3%程度の負の偏差、Br⁻ 20 mg/Lで23%の正の偏差を与えた。通常の淡水ではほとんど影響が無いと考えられる。一方、NO₂-N濃度、はNO₃-Nよりも偏差が大きい傾向にあった。

表2 共存物質の影響

共存物質	NO _x -N 濃度 (mg/l)	共存 濃度 (mg/l)	相対 偏差* (%)
有機化合物			
Glycine	1.0	1.0	-0.1
Serine	1.0	1.0	0.0
Aspartic acid	1.0	1.0	-0.3
Glutamic acid	1.0	1.0	-0.3
Starch	1.0	5.0	-0.2
Alginate acid (Na salt)	1.0	5.0	0.7
Urea	1.0	1.0	-0.2
無機化合物			
Mn(+2)	1.0	1.0	-1.3
Fe(+2)	1.0	1.0	-1.1
Fe(+3)	1.0	0.5	-12
Br ⁻	1.0	1.0	0.9
	1.0	20	15
HCO ₃ ⁻ (pH 6.9)	1.0	10	0.4
	1.0	100	0.4

* NO₃-N + NO₂-N = 1.0 mg/L (1.0+0.0 mg/L, 0.5+0.5 mg/L, 0.0+1.0 mg/L)溶液に共存物質を添加しない場合の定量値に対する相対偏差(平均%)

3.5 定量性の確認と実際の環境試料(河川表流水)への適用

本法の定量性を標準溶液を用いて検討したところ、2 mg/L程度の濃度範囲までは各波長の吸光度が0.6以下で、定量の直線性がよかった。

さらに高濃度域での定量性を検討した。NO₃-NとNO₂-Nの混合標準溶液で含量N濃度>2.0 mg/Lの高濃度域の定量性を検討した。含量N濃度5 mg/LではE₂₂₀>1を超えるが、そのまま⑤式で含量N濃度を求めると相対偏差が-1%未満の低値となった。さらに含量N濃度8, 10 mg/Lで同様にみると相対偏差がそれぞれ、-2%程度、-4%程度の低値となった。一方、個別のNO₃-NあるいはNO₂-Nの定量ではより大きな相対偏差となり、前者では-30%を超える低値、後者で+15%を超える高値となる場合があった。

即ち、環境基準値10 mg/L付近まで直接吸光度で定量すると誤差を含む可能性があるが、スクリーニング法としては十分使用可能である。この過程で濃度が高い試料につい

ては、2 mg/L程度以下になるように希釈して再測定するとよい。

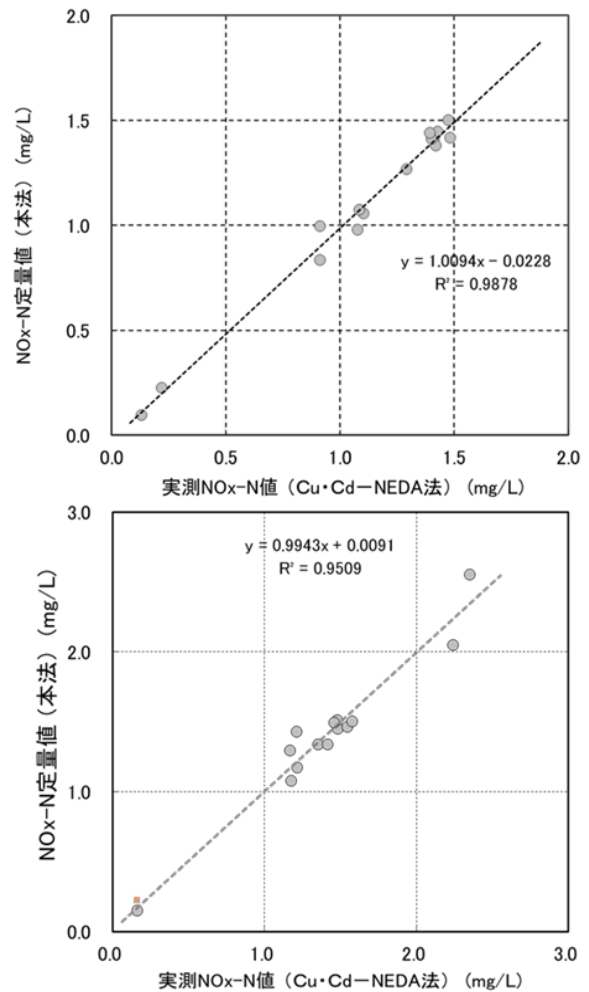


図3 Cu・Cd-NEDA法と簡易分析法(本法)の定量値の比較(上図:夏期, 下図:冬期)

一方、検出下限について検討した。NO_x-N=0.05 mg/Lで0.01以上の吸光度があり、この濃度で検出感度は十分にあるが、E₂₈₅による有機物補正の係数にある程度の幅があることを考慮すると、定量下限は0.1 mg/L程度となると考えられる。NO₂-Nについては通常の河川水の濃度レベルは測定限界以下と考えられる。例えば観測地点を固定してDOM等があまり変化しないような条件では定量下限はより低い濃度となると考えられる。

実際の環境試料として、信濃川水系の千曲川の河川水のNO₃-N + NO₂-Nの縦断流程変化を夏期と冬期に本法を用いて測定した結果、源流部では0.1~0.2 mg/L前後であったが、流下に伴い濃度は上昇し、県境付近では1.5 mg/L前後となった。これらの結果をCu・Cd-NEDA法の実測値と比較してみるとよい相関が得られた(図3)。

4. 引用文献

- 1) R. C. Hoather and R. F. Rackhan: Oxidised nitrogen in waters and sewage effluents observed by ultra-violet spectrophotometry. *Analyst*, **34**, 548-551, 1959
- 2) 日色和夫, 川原昭宣, 田中 孝: 紫外吸収法による水中の硝酸態窒素と亜硝酸態窒素の含量の簡易測定法. *分析化学*, **27**(5), 283-287, 1978
- 3) 安藤忠男, 尾形昭逸: 紫外吸光度法による水耕培養液硝酸イオン濃度の測定. *日本土壤肥料学雑誌*, **56**(1), 56-58, 1985
- 4) 恋田和憲, 三島香奈恵, 徳森裕子, 細末次郎, 関川恵子, 高野義夫, 上野博昭, 岡 新: 飲料水中の硝酸性窒素及び亜硝酸性窒素の紫外吸収法による定量法の検討. *広島市衛研年報*, 第6号, 36-39, 1987
- 5) 姫野恵子, 松浦洋文, 武田耕三, 山本圭吾, 市村國俊: 紫外吸光度法による水中の硝酸性窒素の定量. *奈良県衛生研究所年報*, 第23号, 82-85, 1988
- 6) 正藤英司, 森川 久, 伊藤一明, 益本正憲, 砂原広志: 紫外吸収法による亜硝酸態, 硝酸態窒素の簡易定量と共存物の影響除去 - 生活系廃水とその処理水への適用 -. *水処理技術*, **33**(8), 381-385, 1992
- 7) 日本下水道協会編: 下水試験方法 上巻 1997年版, pp. 178-181, 日本下水道協会, 東京
- 8) A. C. Edwards, P. S. Hooda and Y. Cook: Determination of Nitrate in Water Containing Dissolved Organic Carbon by Ultraviolet Spectroscopy. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, **80**(1), 548-551, 2001
- 9) 大槻 晃: アルカリ性ペルオキシ二硫酸カリウム分解を用いる環境水中の全窒素測定法における硝酸イオンの紫外吸光度定量法の応用. *分析化学*, **30**, 688-689, 1981
- 10) 日本規格協会編: 工場排水試験方法 JIS K 0102 (1985改正版以降) 全窒素, 日本規格協会, 東京
- 11) 日本化学会編: 化学便覧基礎編 改訂3版, pp. II-593-598, 丸善, 東京, 1984
- 12) 福島武彦, 今井章雄, 松重一夫, 井上隆信, 小澤秀明: 湖水溶存有機物の紫外部吸光度: DOC比の特性とそれの水質管理への利用. *水環境学会誌*, **20**(6), 397-403, 1997
- 13) J. Buffle, P. Deladoey, J. Zumstein and W. Haerdi: Analysis and characterization of natural organic matters in freshwaters I. Study of analytical techniques. *Schweiz. Z. Hydrol.*, **44**(2), 325-362, 1982