

インドフェノール青吸光光度法による アンモニア分析における比色操作に関する考察

Study of colorimetric operation in ammonia analysis by indophenol blue absorptiometry

小林 亨
山本 美穂
鈴木 万理子

Tooru KOBAYASHI
Miho YAMAMOTO
Mariko SUZUKI

要旨

川崎市では、工場・事業場の排水について JIS K 0102 2008 に従い、臭化物イオンが多い検体の全窒素は総和法、亜硝酸化合物及び硝酸化合物は還元蒸留-インドフェノール青吸光光度法、アンモニア及びアンモニア化合物はインドフェノール青吸光光度法により行っているが、分析ごとに検量線の直線性が異なるという事例が散見された。そこで、誤差の無い分析法について検証を行った結果、次亜塩素酸を加えてから混合するまでの時間が吸光度に大きな影響を与えていることが判明した。この点に留意して分析を行った結果、直線性の良い検量線が得られた。

キーワード：インドフェノール青吸光光度法

Key words: indophenol blue absorptiometry

1 はじめに

川崎市では、水質汚濁防止法等に基づき、工場・事業場に対する立入り検査を行い、排水の監視を実施している。分析方法は、JIS K 0102 に基づき、臭化物イオンが多い検体の全窒素は総和法、亜硝酸化合物及び硝酸化合物は還元蒸留-インドフェノール青吸光光度法、アンモニア及びアンモニア化合物はインドフェノール青吸光光度法により行っている。

現在、分析精度の確保と技術の継承を目的として分析法のマニュアル化を進めているが、インドフェノール青吸光光度法について JIS K 0102 に従い分析を行ったところ、分析ごとに検量線の直線性が異なるという事例が散見された。

そこで分析精度を確保するために、分析法について検証を行った。

2 調査方法

2.1 試薬及び装置

試薬については、下記のものを用いた。

(1) アンモニア性窒素標準液 (NH_4^+ 1 mg/mL) (和光純薬工業 (株) 製 水質試験用)

(2) ナトリウムフェノキシド溶液

水酸化ナトリウム (関東化学 (株) 製 特級)、フェノール (関東化学 (株) 製 特級) 及びアセトン (関東化学 (株) 製 特級) を使用、JIS K 0102 42.2 3) に従い調製。

(3) 次亜塩素酸ナトリウム溶液 (有効塩素 10g/L)

次亜塩素酸ナトリウム溶液 (関東化学 (株) 製 鹿 1 級) を有効塩素 10g/L に調製。

装置については、(株) 日立ハイテクノロジーズ社製

UV-2810 紫外可視吸光光度計を用いた。

2.2 分析条件の検討

2.2.1 試薬の混合方法等の検討

アンモニア性窒素標準液を濃度 $2 \mu\text{g/mL}$ に調製し、その 25mL を 50mL の全量フラスコにとり、ナトリウムフェノキシド溶液 10mL を加え混合し、次亜塩素酸ナトリウム溶液 5mL を加え混合、水を標線まで加えた後、液温を $20 \sim 25^\circ\text{C}$ に保って 30 分間放置し、波長 630nm で吸光度測定をした。

上記の操作中に (1) 試薬の混合方法、(2) 試薬を加えてから混合するまでの時間、(3) メスアップをしてから混合するまでの時間及び (4) ナトリウムフェノキシド溶液の温度について条件を変え、吸光度の変化について比較を行った。操作のフローと検討条件を図 1 に示す。

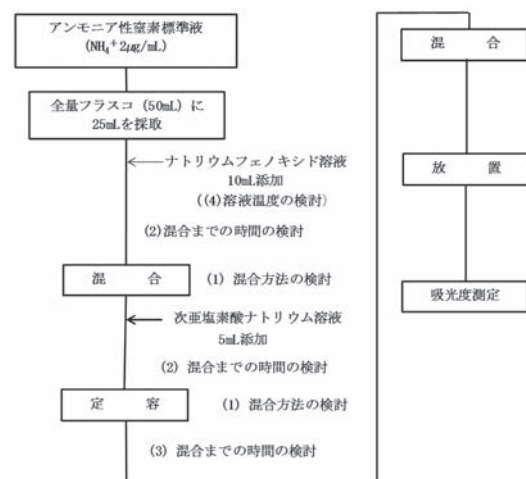


図1 操作のフローと検討条件

表1 検討(2)及び(3)の混合条件

	混合条件		
	ナトリウムフェノキシド溶液	次亜塩素酸ナトリウム溶液	メスアップ
検討(2)の1	直後、1、3、5、10、30分 放置後に混合	直後に混合	直後に混合
検討(2)の2	直後に混合	直後、1、3、5、10、30分 放置後に混合	直後に混合
検討(3)	直後に混合	直後に混合	直後、1、3、5、10、30分 放置後に混合

検討(1)の試薬の混合方法については、ナトリウムフェノキシド溶液及び次亜塩素酸ナトリウム溶液を静かに混合した場合と激しく混合した場合の吸光度を比較した。

検討(2)は、それぞれナトリウムフェノキシド溶液及び次亜塩素酸ナトリウム溶液を加えてから混合するまでとし、検討(3)は、ナトリウムフェノキシド溶液及び次亜塩素酸ナトリウム溶液を加えてから水でメスアップした後に混合するまでとした。それぞれについて混合するまでの経過時間を直後の場合と1分、3分、5分、10分及び30分とした場合における吸光度を比較した。表1に検討(2)及び(3)の混合条件を示す。

また、検討(4)はナトリウムフェノキシド溶液を冷蔵庫から取り出した直後の温度(4℃)の場合と室温の場合について吸光度の比較を行った。

なお、すべての実験について3回ずつ繰り返し実験を行った。

2.2.2 検量線の直線性の検討

アンモニア性窒素標準液を濃度10 μ g/mLに調製し、その1～10mLを段階的に50mLの全量フラスコにとり図1に従い操作した後に吸光度を測定し、0.4～4.0 μ g/mLの範囲の検量線を作成、その直線性を比較した。

試薬の添加方法等は2.2.1を行った結果、吸光度が高く安定している条件を用いた。

2.2.3 アンモニウムイオンの濃度と吸光度の関係について

アンモニア性窒素標準液(NH₄⁺100 μ g/mL)0.5～5.0mLを段階的に50mLの全量フラスコにとり図1に従い操作した後に吸光度を測定し、アンモニウムイオンが高濃度の場合に吸光度がどのような挙動を示すか検討した。

試薬の添加方法等は、2.2.2と同様に行った。

3 結果

3.1 試薬の混合方法等の結果

試薬の混合方法による吸光度の変化を表2に示す。試薬の混合方法による吸光度の変化は見られなかった。

表2 試薬の混合方法による吸光度

	吸光度(Abs)			
	混合方法			
ナトリウムフェノキシド溶液	静かに混合	激しく混合	静かに混合	激しく混合
次亜塩素酸ナトリウム溶液	静かに混合	静かに混合	激しく混合	激しく混合
吸光度(平均値)	0.429	0.431	0.433	0.437

次にそれぞれナトリウムフェノキシド溶液及び次亜塩素酸ナトリウム溶液を加えてから混合するまでの時間とナトリウムフェノキシド溶液及び次亜塩素酸ナトリウム溶液を加え水でメスアップしてから混合するまでの時間による吸光度の変化を図2に示す。

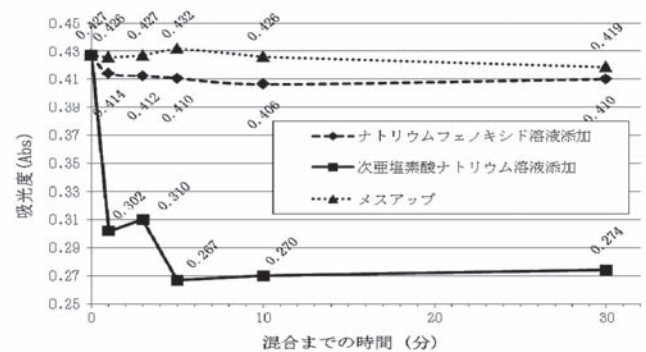


図2 混合までの時間と吸光度の変化

ナトリウムフェノキシド溶液を加えてから混合するまでの時間を変化させても吸光度に差は見られなかったが、次亜塩素酸ナトリウム溶液を加えてから混合までの時間を変化させると1分後から吸光度が顕著に低下することから、次亜塩素酸ナトリウム溶液を加え、直ちに混合しないと吸光度が低下することが確認された。

水でメスアップしてから混合までの時間を変化させても吸光度に差は見られなかった。

また、ナトリウムフェノキシド溶液に関しては、4℃及び室温での吸光度の平均値は、それぞれ0.426、0.427であり、吸光度に差は見られなかった。

以上の結果から、吸光度の安定を得るためには、次亜塩素酸ナトリウム溶液を加えて直ちに混合することが必要であることがわかった。

3.2 検量線の直線性の検討結果

次亜塩素酸ナトリウム溶液を添加後、直ちに混合する点に留意して、実験者を変え、アンモニア性窒素標準液(NH₄⁺10 μ g/mL)1～10mLを段階的に50mLの全量フラスコにとり、図1に従って操作した後に吸光度を測定した。作成した検量線を図3に示す。操作方法に留意した結果、直線性($r^2=0.998$ 、0.999、0.999)の良い検量線となった。

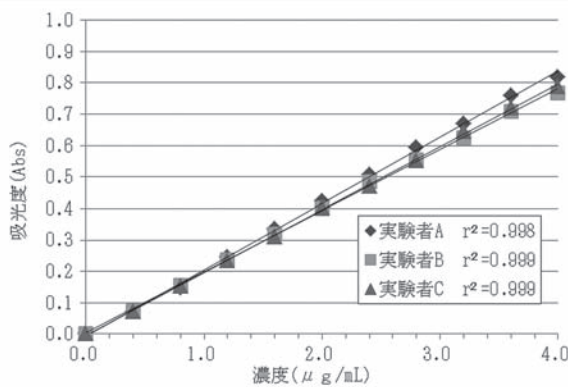


図3 操作方法に留意して作成した検量線

3.3 アンモニウムイオンの濃度と吸光度の関係の結果

アンモニウムイオンと吸光度の関係を図4に示す。図4に示すように吸光度はアンモニウムイオンが4 μg/mLまで直線性を示し、8 μg/mLまで濃度とともに吸光度が上昇した。

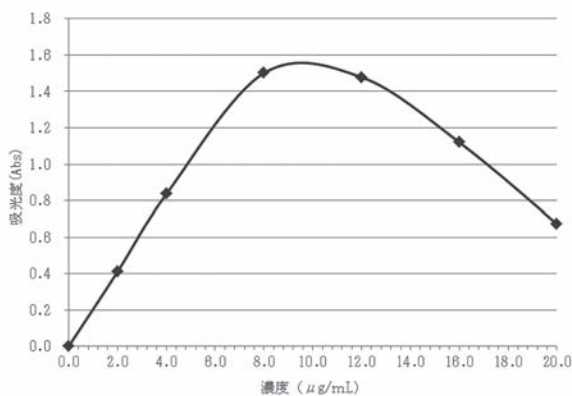


図4 アンモニウムイオンと吸光度の関係

8 μg/mL以上の濃度になると一度発色後、30分の放置時間中に退色がおこり吸光度の低下が見られ、濃度が20 μg/mLの場合は目視でも明らかに退色し4 μg/mLまでの検量線範囲内で吸光度が下がった。また、目視で退色現象が確認できない濃度の試料については、検量線範囲より高い吸光度を示した。以上のことから、JIS K 0102の検量線の範囲から外れた検体はもちろんのこと、退色現象が確認された検体については、予め検体を希釈後に発色をする必要があることがわかった。

4 まとめ

試薬の混合方法及び試薬を加えてから混合するまでの時間等種々の検討を行った結果、次亜塩素酸ナトリウム溶液を添加後、混合するまでの時間が吸光度に大きな影響を与えていることがわかった。

次亜塩素酸ナトリウム溶液を添加後、直ちに混合して分析を行った結果、直線性の良い検量線が得られた。

また、アンモニウムイオンの濃度が高くなると退色現

象がおこるので、退色現象がおきた検体については、予め希釈後に発色をする必要があることがわかった。

文献

- 1) JIS K 0102 工場排水試験方法、財団法人日本規格協会 148～149 (2008)