

## スペクトルの2次微分値による硝酸イオンの測定法

清水源治 長田照子\* 高橋照美 堤 充紀

Determination of Nitrate using  
2nd Derivative Scores of UV Spectra

Genji SHIMIZU, Teruko OSADA, Terumi TAKAHASHI  
and Mitsutoshi TSUTSUMI

現在、硝酸イオン（以下NO<sub>3</sub>）の測定にはイオンクロマト法（以下I C法）<sup>1)</sup>やCd-Cuカラム還元法（以下Cd-Cu法）<sup>2)</sup>が広く用いられている。また全窒素（以下TN）の測定には試料中の窒素成分を酸化してNO<sub>3</sub>の紫外外部吸収を測定する方法（以下UV法）<sup>3)</sup>がとられている。

しかしこれらの方法には、分析操作が繁雑であり廃液に有害物質を含む（Cd-Cu法）、試料中にMnを含む場合酸化処理後にMnO<sub>4</sub>の生成による呈色やMnO<sub>2</sub>の懸濁を生ずる（UV法）等の欠点がある。これらを補う方法として伊藤<sup>4)</sup>は紫外外部吸収の2次微分スペクトルの最高値、最小値の差からNO<sub>3</sub>濃度を測定する方法（2次微分法）を提案している。ところがこの方法は190~260nmの間を2nm毎に2次微分していくため測定時間が長く、全国に広く普及しているI C法に較べて有利な点を見出すのが困難である。そこでここでは、NO<sub>3</sub>の測定時間を短縮し短時間内に大量の試料を処理することを目的に、この2次微分法に若干の改良を加えた。またその実用性について検討した。

### 方 法

#### 1 測定の原理

目的成分の吸光度に妨害成分の吸光度が加わった場合後者をブランク値として差し引くことができなければ目的成分の吸光度測定は困難になる。一例として妨害成分の吸収が波長に対して一次式（ $Y=a+bX$ ：直線）で帰還できる場合の吸収スペクトルを示した（図1左）。ここで、このスペクトルを微分すれば妨害成分の一次微分スペクトルは $Y=b$ となり、このスペクトルのピークと

トラフ（山と谷）の距離は目的成分の濃度に比例することになって妨害成分の影響は一応除くことができる（図1中）。さらにこの一次微分スペクトルを微分すれば、妨害成分のスペクトルは $Y=0$ となる。よって妨害成分の影響は全くなり、目的成分の濃度は二次微分スペクトルの任意波長における値（二次微分値）に比例することになる（図1右）。これは、妨害成分を含まない場合に目的成分の濃度がその吸収スペクトルの任意波長における値（吸光度）に比例することと全く同じである。

#### 2 微分の方法

任意波長 $W$ における二次微分値 $S_w$ はその波長とこれに前後する2波長 $W-1$ 、 $W+1$ の吸光度 $A$ から次式によって得ることができる。また二次微分値を連続的にプロットすれば二次微分スペクトルが得られる。

$$S_w = (A_{w-1} - A_w) - (A_w - A_{w+1})$$

一般に山型の吸収スペクトルでは、二次微分値は山の頂上と両裾で極小値、極大値をとることが多く、その絶対値は極小値で大きい。NO<sub>3</sub>の場合190nmより長波長側では200~210nmで極小値、225nmで極大値をとるが、ここでは定量上限を広くとることを目的に225nmにおける極大値を2DS値（二次微分値）と定義した。ここで微分値はその微分の幅を小さくすれば有効数字の桁落ちが著しく、逆に大きくすれば微分の意味が失われる。そこで妥当な幅として5nmを選び、3つの波長220、225、230nmの吸光度から次式により2DS値を求めた。この値から検量線法によりNO<sub>3</sub>等の濃度を算出した。

$$2DS値 = (A_{220} - A_{225}) - (A_{225} - A_{230})$$

\*甲府保健所

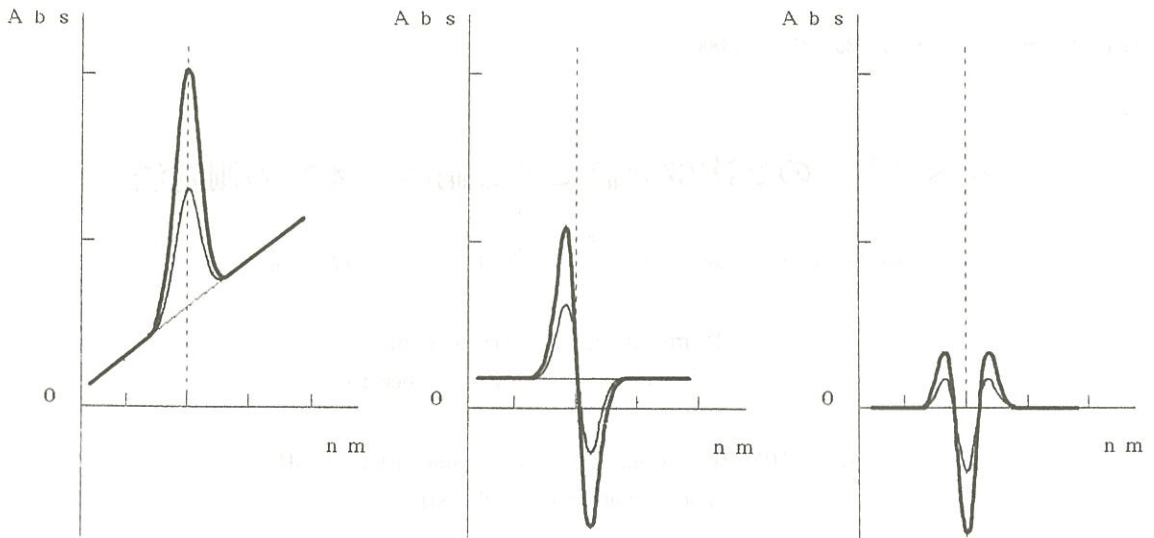


図1 妨害スペクトルが一次回帰している場合の吸収スペクトル(左) およびその一次微分スペクトル(中)と二次微分スペクトル(右)

### 3 他の定量法との比較

本法(2DS法)により雨水, 地下水, 河川水, 湖水のNO<sub>3</sub>等の濃度を測定した。測定値はIC法やCd-Cu法, UV法の値と比較し, 実用性の有無を検討した。また繰り返し測定精度から定量範囲を求めた。なお吸光度の測定には測定波長をパソコンで制御できる日立228A型分光光度計と測定波長を手動で選択する日立100-60型分光光度計を用いた。IC法には島津LC-6A型イオンクロマト計を用いた。

### 結果と考察

#### 1 標準液の繰り返し測定

市販のイオンクロマト用標準液1000mg-NO<sub>3</sub>/ℓ (NaNO<sub>3</sub> in water) を希釈してNO<sub>3</sub>の標準液0.1~40mg-NO<sub>3</sub>/ℓを調整した。本法による標準液の測定例を表1, 図2に示した。表1中, 2DS値の算出に必要な部分は太字で表した。パソコン制御の分光光度計による標準液の繰り返し測定の平均値と変動係数は表2に示した。ここで

表1 各波長におけるNO<sub>3</sub>の吸光度と2次微分値(測定例)

nm	NO <sub>3</sub> 5 mg/ℓ						NO <sub>3</sub> 10mg/ℓ					
	215	220	225	230	235	240	215	220	225	230	235	240
ABS	.458	.282	.145	.064	.022	.007	.913	.563	.288	.125	.043	.013
2DS	—	.039	.056	.039	.027	—	—	.077	.112	.081	.052	—

表2 標準液による繰り返し測定結果(2DS値の平均値と変動係数) n=4

NO <sub>3</sub> (mg/ℓ)	.2	.5	1	2	5	10	20	30
平均値	.002	.006	.012	.024	.056	.112	.224	.309
変動係数(%)	13	8	3	2	≤1	≤1	≤1	≤1

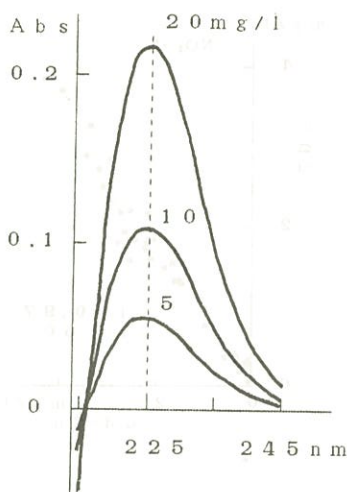


図2 NO<sub>3</sub>の二次微分スペクトル

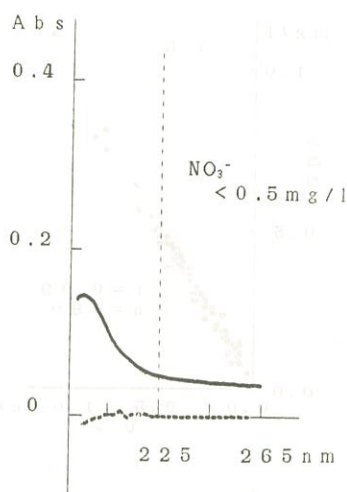


図3 NO<sub>3</sub>を含まない試料の吸収スペクトル(実線)と二次微分スペクトル(点線)

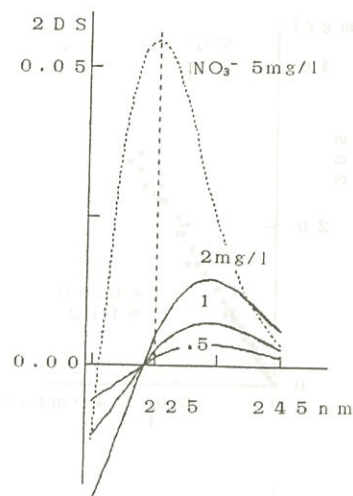


図4 NO<sub>3</sub>(5 mg/l,点線)とNO<sub>2</sub>(0.5~2 mg/l,実線)の二次微分スペクトル

定量範囲は一般に変動係数で10%以内とされていることから、本法による定量下限は0.5mg-NO<sub>3</sub>/ℓ (0.1mg-N/ℓ)と考えられた。また検量線は20mg-NO<sub>3</sub>/ℓ (5 mg-N/ℓ)までの範囲で直線になった。なお、実試料では妨害吸収のためこれより低い濃度で220nmの吸光度が2を超えることがあり、この場合負の誤差が大きくなるので希釈操作が必要となった。定量範囲はI C法と概ね同程度であり、UV法に比較して約10倍高い範囲、Cd-C法に比較して約100倍高い範囲にあった。

## 2 妨害成分

吸収スペクトルからNO<sub>3</sub>濃度を測定しようとする場合最も大きな障害になるのは有機物や懸濁物質の存在である。ここでこれらの妨害吸収を消去するためには有機物等による吸収スペクトルが波長に対し一次式(直線)で記述されることが必要である。I C法等でNO<sub>3</sub>が検出されなかった試料の吸収スペクトルを図3に例示した。吸収スペクトルは220nm~230nmを含む比較的狭い範囲では直線になる試料が多く、2 D S値は+0.002~-0.002 (NO<sub>3</sub>として±0.2mg/ℓ)に収まった。今回対象に選んだ雨水や湖水、河川、地下水については2 D S値の算出に必要な波長範囲ではその妨害スペクトルが消去できると考えられた。

イオン成分のうち亜硝酸イオン(NO<sub>2</sub>)の存在は正の誤差を与えた(図4)。NO<sub>3</sub>の測定値に与える影響は、NO<sub>2</sub>/NO<sub>3</sub>の重量濃度比が1の場合20%、1/10の場合2%になったが、通常の環境試料ではこのような濃度比になることは少なくNO<sub>2</sub>の影響は無視できると考えられた。なおTNを測定する際に問題となったMnO<sub>4</sub>による妨害吸収の影響は消去することができた。

## 3 実試料の測定

雨水等の実試料を用いて本法の測定値とI C法等の測定値を比較した。試料の種類や検体数、比較した測定方法や測定項目は次のとおりであった。

- 1) 雨水、地下水 (112検体) I C法 NO<sub>3</sub>
- 2) 湖水、河川水 (80検体) UV法 TN
- 3) 地下水\* (50検体) Cd-Cu法 NO<sub>3</sub>-N

ここでCd-Cu法についてはその測定値が二次微分法と一致する<sup>4)</sup>と考えられたので、ここでは特に手動で波長を選択する分光光度計を選び、地下水\*のNO<sub>3</sub>濃度を測定した。

図5~7に本法と他の測定法との比較結果を示した。I C法やUV法との比較では濃度の低い試料では2 D S法/I C法等の値はばらつきが大きかったが、濃度が高くなるにつれて1に収束する一般的な傾向がみられた。よって本法による測定結果は他の測定法に一致すると考えられた。他方、Cd-Cu法(地下水\*)との比較では相関係数は0.97と大きかったが、2 D S法/Cd-Cu法の値はNO<sub>3</sub>-Nの濃度が高くなっても1に収束する傾向がみられなかった。この原因は1検体毎に波長を変えて2 D S値を算出したためであり、測定波長のわずかなズレが2 D S値に大きな影響を及ぼしたと考えられた。よって、本法は測定波長の自動制御が可能な分光光度計であれば実用性が高いが、測定波長を手動で選択する分光光度計にあっては各波長毎に一連の試料の吸光度を測定した後2 D S値を算出する等の工夫が必要であると考えられた。

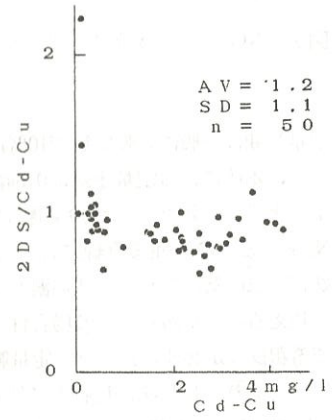
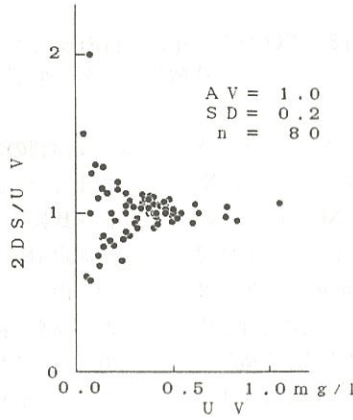
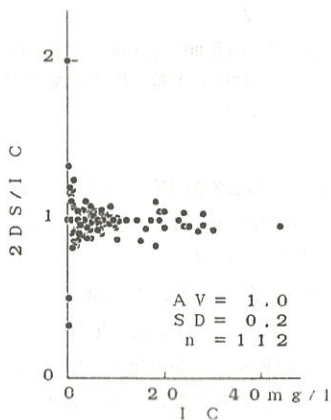
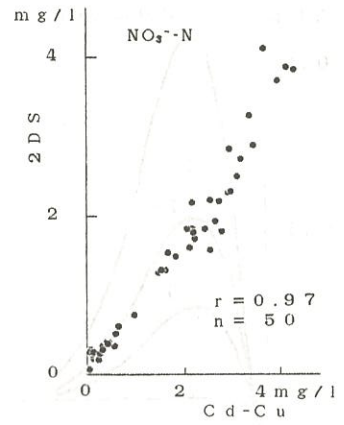
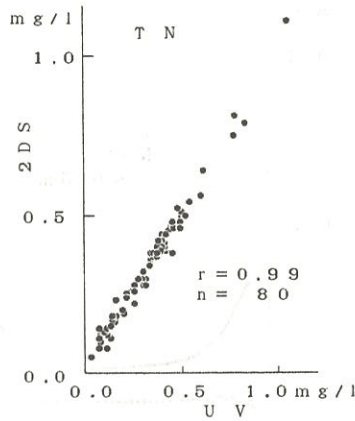
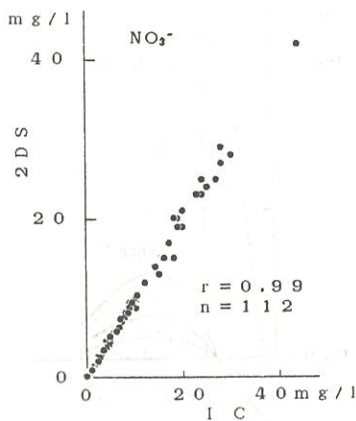


図5 2DS法とIC法によるNO<sub>3</sub><sup>-</sup>の測定値の分布

図6 2DS法とUV法によるTNの測定値の分布

図7 2DS法とCd-Cu法によるNO<sub>3</sub>-Nの測定値の分布

## まとめ

既に知られている紫外吸収の2次微分スペクトルからNO<sub>3</sub>濃度を測定する方法について、若干の改良点を加えてその実用性を検討した。

1) 225nmにおけるスペクトルの2次微分値を2DS値と定義し、220, 225, 230nmの吸光度Aから次式により2DS値を求めた。この値から検量線法によりNO<sub>3</sub>濃度を算出した。

$$2DS値 = (A_{220} - A_{225}) - (A_{225} - A_{230})$$

2) 本法による定量範囲は0.5~20mg-NO<sub>3</sub>/ℓ (0.1~5mg-N/ℓ)と考えられた。また亜硝酸イオンの存在は正の誤差を与えるが、通常環境試料では無視できると考えられた。

3) 実試料を用いてイオンクロマト法等と測定結果を比較した。その結果、本法は測定波長の自動制御が可能な分光光度計を用いれば他の測定法と一致し、実用性も高いと考えられた。

## 文 献

- 1) 環境庁大気保全局：酸性雨調査マニュアル (昭和62年)
- 2) 日本水道協会：上水試験方法 (1978)
- 3) 日本規格協会：JIS K0102 工場排水試験方法 (1986)
- 4) 伊藤和広：水道協会雑誌, 57(3), 20~25 (1988)
- 5) 環境庁企画調整局：環境測定分析参考資料 (1978)