

# 土壤中の硝酸及び亜硝酸態窒素の微量定量法

永井 恭三・藤田 一二三

On a Determination of Minute Amounts of Nitrogen  
Occurring as Nitrate or Nitrite in Soils  
KYOZO NAGAI and HIFUMI FUJITA

## I. 緒言

現在土壤中の硝酸定量の常法としては土壤浸出液中の硝酸をフェノールヂズルフォン酸と発煙硫酸の存在下に反応せしめて得られるニトロ化合物について、比色法によつて定量している。

亜硝酸については Peter Griess 氏の方法により浸出液中に生成する赤色のアゾ色素について同様に比色定量を行うものである。

この亜硝酸の比色定量法は極めて鋭敏なもので N として 1l 中 1 $\gamma$  の検出も可能とされているほどであるのに対し、硝酸のそれは、これに比し、遙かに感度のおちるものであること周知のとおりである。

筆者はこの感度のよい亜硝酸定量法を硝酸定量に応用する方法について研究を行つてきたが、一応目的を達成し、この方法を土壤中の硝酸定量法として利用することにも大體成功したと思われるので、こゝに発表する。

即ち硝酸を亜硝酸に還元して赤色アゾ色素を生成せしめて行う硝酸の検出及び比色法は鋭敏な方法として既に諸氏の発表するところ<sup>1)-3)</sup>であるが、これらの発表では何れも亜硝酸が不安定なため硝酸の穏和な還元が難かしく、亜硝酸の収量は硝酸の40%程度を示すにすぎない。

詳細な発表は別の機会に行う所存であるが、筆者はたまたま空気にさらした金属鉛の表面を摩擦して得られる亜酸化鉛の黒色微粉末懸濁液がこの硝酸還元剤として極めて優秀であることを発見し、種々苦心の結果、適量良質の Pb<sub>2</sub>O を用いるならば硝酸の亜硝酸への還元が硝酸の90%程度の収量を以て constant に行われ、亜硝酸より低級な窒素化合物の生成が極めて少く、定量法としても利用され得ることを見出したのである。

## II. 実験操作及び試薬

### A. 硝酸及び亜硝酸の浸出液調製

試薬：

- (1).  $\frac{N}{50}$  醋酸銅溶液  
一級 (CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>Cu · H<sub>2</sub>O 2g を水に溶解し、濾過してから 1,000cc. とする。  
常法では  $\frac{N}{50}$  硫酸銅溶液が用いられているが、こ

れを使用すると本法では Pb<sub>2</sub>O を用いるので、最後の比色操作に於て難溶性の PbSO<sub>4</sub> を生成してその妨害となるために、これをさけた。

- (2). 水酸化カルシウム 一級品
- (3). 炭酸マグネシウム 一級の 4MgCO<sub>3</sub> · Mg(OH)<sub>2</sub> · 4H<sub>2</sub>O

操作：

後述の条件を検討し、次の如く行うことにした。

土壤(風乾土 1gr 相当量)を醋酸銅溶液 25cc. 及び水にて 100cc. メスフラスコに洗いこみ約 5 分間振つてから、水酸化カルシウム 0.1g 及び炭酸マグネシウム 0.3g を加えて更に 10 分間振り、水を加えて 100cc. となしてよく振盪してから一夜放置して濾過、初めの濾液はすて、土壤浸出液とする。

### 1. 土壤の供試量

第 1 表に示す如く NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N の回収実験を次の数例にて行つたところ、風乾土 2g 以下に於て完全に回収されることをたしかめた。

其の 1. 本農学部附近の洪積層火山灰性畑地の表層土の風乾土壤 15g (開墾後数十年を経過した地方のよい暗褐色壤質土で風乾後 1mm の篩をとおしたものを以下道見木土壤と称する。)に醋酸銅溶液 50cc. NaNO<sub>2</sub> 溶液 10cc. (その 1cc. は正確に NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 1 $\gamma$  を含む。後述する)及び水 40cc. 又は NaNO<sub>2</sub> 溶液を加えないで水のみ 50cc. を加えて 200cc. 容 3 角フラスコにて振盪後水酸化石灰 0.1g 炭酸マグネシウム 0.3g を添加し更に振盪して濾過後、その 10cc. をとり後述の方法にて NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N の回収程度をしらべた。尚参考のため  $\frac{N}{50}$  CuSO<sub>4</sub> 溶液 50cc. を醋酸銅溶液の代りに用いてみたが、其の 2. の場合と同様両者の間に殆ど差異は認められなかつた。

其の 2. 道見木土壤と殆ど同様なその近くの地方の更に高いといわれている熟畑土壤の風乾土で  $\frac{1}{2}$  mm 篩通過のもの(之を以下西方土壤と称する) 10g について同様に行つた。

其の 3. 道見木土壤 2g について NaNO<sub>2</sub> 溶液(その 1cc. は正確に N 4 $\gamma$  を含む) 10cc. を加えた以

外は分析操作のとおりに処理したのも作り  
NO<sub>2</sub>-N をしらべた。

区は 其の3 と同じ。  
以上の成績を第1表に示す。

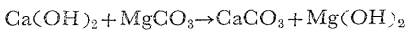
其の4. 道見木土壌について操作の如く行う。処理

第1表 土壌の供試量と NO<sub>2</sub>-N の回収成績

土壌の種類 及び供試量	供試銅溶液	処理の 有 無	透過率*	土壌の種類 及び供試量	供試銅溶液	処理の 有 無	透過率*
道見木土壌  15g	硫酸銅	処理区	その1 64.8 その2 64.9	道見木土壌  2g	醋酸銅	処理区	その1 62.5 その2 62.5
		対照区	その1 62.4 その2 62.4			対照区	その1 62.5 その2 62.6
	醋酸銅	処理区	その1 64.5 その2 64.9	道見木土壌  1g	醋酸銅	処理区	その1 62.5 その2 62.5
		対照区	その1 62.3 その2 62.3			対照区	62.3
西方土壌  10g	硫酸銅	処理区	65.5	* 1. 百分率で示す。以下も同様。 2. 小数点以下第1位は目測。以下も同様。 3. 以後Tにて表わすことにする。	醋酸銅	処理区	65.4
		対照区	61.3			対照区	61.75
	醋酸銅	処理区	65.4				
		対照区	61.75				

2. 水酸化カルシウム、炭酸マグネシウムの添加量

第1表に於て風乾土 10g 以上に対しては、両者の添加  
含量 0.4g では回収不完全であつたが、倍量の 0.8g 添  
加の場合、表には記載しなかつたが、道見木土壌 10g  
供試、醋酸銅 50cc. 使用の場合、その T は 63.0 を示し  
殆ど大部分が回収され得ることを示した。この結果より  
見れば添加量を多くすれば多量の土壌処理も可能となる  
筈であるが、後に述べるように、土壌浸出液に Pb<sub>2</sub>O を  
添加硝酸還元を行う際に溶存塩類がその妨害をするの  
で、なるべく多くの、液中にとけている Ca(OH)<sub>2</sub> を除  
去する必要がある、操作にのべた如くこのため一夜放置  
するのであるが、これらを多量に加えた場合は一夜のみ  
の放置では、



の反応が十分に進まず、気温 20°C 前後、含量 0.8g 添  
加の場合、数日間放置後漸くこの反応が完成されるよう  
で、極微量の定量の場合以外この方法はとらない。

B. 亜硝酸の比色定量

試薬：

(1). 呈色試薬 a), b), を混合したもの

a). α-ナフテルアミン溶液 一級 α-ナフテルア  
ミンの結晶を 0.6g HCl (1:25) 200cc. 程度に  
とかして濾過してから、水及び HCl を加えて  
 $\frac{N}{5}$  HCl 450 cc. 溶液とする。大体濃塩酸 8.3cc.

を 450 cc. に稀釈すれば約  $\frac{N}{5}$  HCl となる。

b). ズルファニル酸溶液 一級ズルファニル酸  
3.0g を a) と同様に溶解濾過して  $\frac{N}{5}$  HCl 450  
cc. としたもの。

(2). 標準亜硝酸ソーダ溶液 AgNO<sub>3</sub> 溶液を一級  
NaNO<sub>2</sub> 濃厚液の濾過したものに加え、生成した  
AgNO<sub>2</sub> をガラスフィルターで濾別し、数回冷水  
で洗い、CaCl<sub>2</sub> デシケーター中にいれ暗所で乾燥  
後直ちに正確にその 87.8mg を秤取りし、200cc. メ  
スフラスコにいれ水及び純 NaCl 90mg を加えて  
標線に達せしめる。AgCl の沈降透明となるを待  
つてその 5cc. を秤取りし 200cc. メスフラスコにて  
200cc. に稀釈する。この溶液 1cc. は 1γ の NO<sub>2</sub>-N  
を含むことになる。

装置： エルマⅡ型光電比色計を使用した。フィルタ  
ーは No. 53 を用い、吸収セルは常に 20mm のも  
のをを用いた。

操作： 適量の土壌浸出液を、100cc. メス、フラスコ  
に秤取りし呈色試薬 5cc. を添加し、水を加えて 100  
cc. として振盪してから 1 時間室温に静置後、生  
成した赤色溶液の T を求め、別に等量の浸出液  
を 100cc. メスフラスコにとり標準亜硝酸ソーダ  
溶液を夫々適当に例えば、夫々 0, 1, 3, 5, 10γ  
を添加同様に発色させてそれらの T より補正值

を求め検量直線を作成し、浸出液中の亜硝酸の量を定める。

### C. 硝酸の定量

#### 1. 硝酸の亜硝酸への還元

最も大切な操作で十分に注意して行わねばならぬ。

#### 試薬：

(1). **鉛製 50cc 容蒸発皿** メルクの特級金属鉛にて作られたもので普通の工業用品又は工業規格のもので作ったものを使用した場合は著しく成績が悪く、 $Pb_2O$  黒色微粉末は空気のため酸化され、すぐに黄変化してしまい、適量を得ることが難しい。前述したようにこの皿の内面をこすりつて  $Pb_2O$  懸濁液を生成するのであるが、使用しない間はソーダ石灰をいれたデシケーター内に置き外気と遮断しておくことが肝要である。(この理由については別に発表したい考えであるが、要するに大気中の酸化窒素類の鉛表面における吸収を防ぐためである) もつとも使用后内面に附着している粉末をタワシでこすりとり洗滌してから、ぬれたまゝで 1 時間位空気に触れさせて表面を酸化した後、デシケーターにいれないと、次回にこすりとりとるとき、 $Pb_2O$  が満足に生成しない。

(2).  $\frac{1}{6}$  規定醋酸鉛溶液 一級の  $(CH_3COO)_2Pb \cdot 3H_2O$  8g を水に溶解し濾過してから 250cc. に稀釈したもの

#### 操作：

##### (1). $Pb_2O$ 還元剤の生成及び添加

土壤浸出液 5cc. を底の平らな 50cc. 容ビーカーに秤取し、 $\frac{1}{6}$  規定醋酸鉛  $\frac{1}{2}$  cc. を添加してから鉛製蒸発皿に 2~3cc. の水を入れて左手にもち、右手にて小型の磁製力棒を以て皿の内部表面を一緒に僅かに力をいれてまわしながら、こすりとり  $Pb_2O$  の暗黒色微粉懸濁液を皿の中に生成する。30mg 程度の  $Pb_2O$  が得られたならば、之をビーカー内に注意してあげこみ皿天秤にビーカーをのせて、液量が 10cc. になるまで水を滴加する。注意して攪拌均一な懸濁液とする。

##### (2). 加熱

直ちに 40°C の定温器又は乾燥器にビーカー台(筆者は 5cm 平方位の厚紙を使用している)と共にいれ、そのまゝ一時間静置加熱する。

### 2. 生成した亜硝酸の比色

#### 試薬及び装置：

(1). 呈色試薬及び装置 B. に既述

(2) **標準硝酸カリ溶液** 一級品の  $KNO_3$  を水に溶解再結晶後 110°C に乾燥したものを 0.3607g を秤取し、正確に 500cc. 溶液とする。この 25cc. を 250cc. とし、更にその 25cc. を 250cc. に稀釈する。このもの 1cc. は 1γ の  $NO_3-N$  を含む。

**操作：** 40°C に 1 時間加熱したならば、底に沈澱している未反応の  $Pb_2O$  を動揺させないように静かにビーカーをとり出し暫く室温になるまで放置しておく。

室温になつたならば 100cc. メスフラスコに注意して静かに白色混濁液のみをあげこみ、底の  $Pb_2O$  には洗滌瓶より少量の水を注ぎ緩やかにビーカーを動かし液を攪拌してその大部分を空気酸化により消失せしめてからメスフラスコに移し、更に洗滌水をビーカーに吹きつけてよく洗滌あげこむ。

数回メスフラスコを振つて、 $Pb_2O$  の全く消失したのをたしかめてから呈色試薬 5cc. をビーカーに秤取し附着している不溶性の鉛塩をとかしメス

フラスコに注ぎ、静かに数回メスフラスコを振つて混濁液の完全に溶解透明になつてから標線まで水を加えよく振つて放置する。一時間後、生成赤色溶液を前述と同様に比色する。別に同一土壤浸出液 5cc. を 50cc. ビーカーにとり約 2~3cc. に加熱蒸発せしめて後、標準硝酸液を夫々 0, 1, 3, 5, 10cc. 添加し (10cc. 添加の場合は浸出液でなく標準液を約 1~2cc. 迄蒸発してから、浸出液 5cc. を加える)  $\frac{N}{6}(CH_3COO)_2Pb \cdot \frac{1}{2}cc.$  を添加以下上述のとおり操作し、T を補正して吸光度を算出し検量直線を作成して先に比色した数値より浸出液中の従つて土壤中の硝酸量を決定する。

なお、検量直線作成のための供試土壤は硝酸含量の少ないものを用いる方が都合のよいことはいふまでもない。

以上の操作を決定した諸条件については別な機会にのべることにするが、こゝでは特に重要な添加  $Pb_2O$  量の問題と処理されるべき土壤浸出液の量についてふれておく。

#### 1. 添加 $Pb_2O$ 量の影響

前述の西方土壤浸出液に標準硝酸液 5cc. を加えて、添加  $Pb_2O$  量の多少が T に及ぼす影響を上述の方法でしらべてみた。この結果を第 2 表に示す。

この表より 30 mg 前後の  $Pb_2O$  を適量と見なすことができる。摩擦してこの量を決定することは熟練を要すると考えられようが、最後の液量を約 10cc. として加熱反応せしめるのであるから、予めその黒色の懸濁程度を

第2表 添加 Pb<sub>2</sub>O 量と T との関係

Pb <sub>2</sub> O量(mg)	T(実測値)	備考:
22.9	78.0	比色定量後液中の Pb <sup>2+</sup> を PbSO <sub>4</sub> として定量し、この値に 1.4 をかけ Pb <sub>2</sub> O 量に還算したものから $\frac{N}{6}(\text{CH}_3\text{C}\text{OO})_2\text{Pb} \frac{1}{2}\text{cc.}$ 中の Pb <sub>2</sub> O として 9mg を差引き添加 Pb <sub>2</sub> O 量とした。
24	66.4	
34.4	60.3	
30.0	59.9	
29.4	60.0	
45.9	62.2	
42.2	63.0	

見てこの適量を定めることはそれほど難事ではない。多少多く目に生成し、注意してビーカー内の液を攪拌しつゝ、ビーカー台の白色の厚紙を底にあてゝ、上から見ながら過剰の Pb<sub>2</sub>O を空気にて酸化減少せしめ適量の Pb<sub>2</sub>O の示す混濁度が得られたならば直ちに加熱操作にうつす事にすれば、大抵一定した T が得られるようである。(液温 20°C 以下のこと) 併しこの Pb<sub>2</sub>O の適量を求めることが本定量法のヤマであることはいふ迄もない。

2. 浸出液の使用量

添加コロイド状 Pb<sub>2</sub>O が液中の塩類のために全く凝固してビーカーの底に沈澱しない限り、即ち液中に分散して還元能力を有する以上、その浸出液の使用量には制限はない筈である。この点に就いては未だ検討をしていない。唯土壤を除いた処理液について Beer の法則の適合性に重点をおき 5cc. と 10cc. の液量を用いて夫々 0, 1, 3, 5, 10γ の NO<sub>3</sub>'-N を添加約 3~4cc. に蒸発冷却後上記の如く操作してその T をしらべてみると、その成績は第3表のようになった。

第3表 浸出処理液量と添加硝酸の T との関係

液量 10cc. の場合			液量 5cc. の場合		
添加 NO <sub>3</sub> '-N (γ)	T (実測値)	T (補正值)	添加 NO <sub>3</sub> '-N (γ)	T (実測値)	T (補正值)
0	96.3 96.25	100	0	97.0 97.1	100
1	88.6 88.3	91.3	1	87.9 88.0	90.6
3	72.7 73.3	75.5	3	72.2 72.3	74.4
5	59.8 59.9	62.1	5	58.8 58.8	60.6
10	39.1 38.6	40.1	10	36.2 36.1	37.2

第3表の T より吸光度を算出して吸光度と硝酸濃度との関係を見ると、液量 5cc. の場合は原点をとる一直線が得られ (10γ で少しく外れる), Beer の法則の適合性を示すが 10cc. では 5γ 迄は原点をとる直線が得られ同法則の適合性を認めさせるが 10γ では相当外れている。従つて普通の場合は浸出液は 5cc. をとることにきめた。

扱第3表の実験成績は土壤を用いない処理液について行つたのであるが、実際の土壤浸出液に於ては盲験値と如何なる偏差を示すかについて前記2種の土壤と更に新潟県南蒲原郡信濃川分水路入口近くの分水流域の沖積層水田土壤で活性鉄の非常に多い表土(以後これを新潟土壤と称する。供試土壤は風乾後 2mm 篩通過のもの。)とについて何れもその浸出液 5cc. をとつて供試した。その成績を第4表に示す。

第4表 各種土壤浸出液に添加した硝酸の T

添加した NO <sub>3</sub> '-N(γ)	道見木土壤		西方土壤		新潟土壤	
	実測値	補正值	実測値	補正值	実測値	補正值
0	97.2 97.2	100	97.2 97.3	100	98.5 98.5	100
3	71.8 71.8	73.9	72.2 72.2	74.2	73.0 73.2	74.2
5	58.9 59.0	60.6	59.5 59.5	61.2	59.9 59.8	60.8

即ち普通の土壤に於ては検量直線作成のため、必ずしも同一土壤浸出液を用いなくても、処理液で差支えないと考えられる。

次に上述した操作による硝酸の回収試験を第5表に示す。これより先ず殆ど全部回収されるものと見なしてよい。

第5表 硝酸の回収成績 (T (実測値) で表わす)

NO <sub>3</sub> '-N 添加量 (γ)	道見木土壤		西方土壤		新潟土壤	
	土壤に予め添 加	浸出液に後か ら添加	土壤に予め添 加	浸出液に後か ら添加	土壤に予め添 加	浸出液に後か ら添加
100 (浸出液に5)	59.8 59.2	59.0 58.1	59.0 59.0	58.5 58.3	61.5 61.0	61.0 60.8
40 (浸出液に2)	79.8 79.8	79.8 78.9	79.9 79.8	79.3 78.9	79.8 80.4	80.2 80.5

扱最後に以上記述した方法では土壤中の硝酸を亜硝酸に還元して定量するのであるから、元々亜硝酸の存在している場合には如何にして、これら両者の量を決定するかということが問題となる。この両者共存の場合につい

ては臭素水で予め亜硝酸を酸化して全部を硝酸にしておくか<sup>2)</sup>、又は亜硝酸だけ分解しておいて<sup>3)</sup>、硝酸還元処理をする定量法が発表されている。

土壤中の亜硝酸は元来硝酸に比較すれば、非常に少ないもので一般に行われている常法でも、この点について、何等考慮が払われていない。

念のため、この両者の存在する場合に、還元を行えば如何なる数値が得られるかについて、実験を行った。この結果を第6表に示す。

第6表 硝酸亜硝酸共存の場合の還元後の総亜硝酸の T

添加 NO <sub>3</sub> '-N (γ)	添加 NO <sub>2</sub> '-N (γ)	T (実測値)
5	0	59.7
		59.3
4	1	58.8
		58.5
2	3	59.0
		58.8
1	4	58.8
		58.6
0	5	59.5
		59.7

備考： 土壌のない浸出処理液 5cc. に NO<sub>3</sub>' を添加し、蒸発して 3~4cc. にしてから、NO<sub>2</sub>' を添加した。以下は操作のとおり。

この値を見れば、亜硝酸が共存していても、硝酸同様にその90%が残留するようで、硝酸の検査直線より亜硝酸の量も同時に決定でき、最初の亜硝酸のみの数値を後の還元操作の結果得られた数値より差引けば、硝酸の値が得られることになる。

### III. 総 括

少量の土壌を  $\frac{N}{50} (\text{CH}_3\text{C00})_2\text{Cu}$  にて浸出、 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 、 $\text{MgCO}_3$  を添加し浸出液をつくり、この少量に、空気中にしばらく放置して表面を錆びさせた特級金属鉛製皿より磁製乳棒でこすりとつた極めて少量の適量  $\text{Pb}_2\text{O}$  微粉末懸濁液と、少量の  $(\text{CH}_3\text{C00})_2\text{Pb}$  とを添加、僅かに熱し浸出液中の硝酸を還元して大部分亜硝酸として Peter Griess 法により比色定量する方法をのべた。

最後にこの実験を行うに對し、種々御指導御援助いただいた室島教授に厚くお礼申上げる次第である。

### 文 献

- 1) Hahn, F. L, u. G. Jaeger, 1925. Ber. **58**: 2335
- 2) 松居, 1943. 日化. **64**: 809
- 3) 加藤, 沖中, 堺, 1954. 分析化学 **3**: 231

### Summary

When moderate amounts of fine  $\text{Pb}_2\text{O}$  powders and  $(\text{CH}_3\text{C00})_2\text{Pb}$  were added to soil extracts and the suspensions warmed at 40° C for one hour, about 90 per cent of nitrate in them could be reduced to nitrite by  $\text{Pb}_2\text{O}$  and determined colorimetrically by Peter Griess method.

Soil extracts and suspension of fine  $\text{Pb}_2\text{O}$  powders were obtained as follows;

a' soil extracts Small amounts of soils were extracted with  $\frac{N}{50} (\text{CH}_3\text{C00})_2\text{Cu}$  solution, then  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  and  $\text{MgCO}_3$  were added as usual, the suspensions were filtered over a night.

b.  $\text{Pb}_2\text{O}$  suspension It was obtained by rubbing with a porcelain pestle the oxidised inside of the water-containing dish made of Pb metal of specially good quality which was placed in a soda lime desiccator to be protected from atmosphere while unemployed, but necessary to be in air for a time to oxidise its polished surface after washed when used.