

**亜硝酸**  
**スルファニルアミド-ナフチルエチレンジアミン法**  
**の分析法と妥当性の確認試験の結果**  
<JFFIA 6-NO2>

**【分析法】****1. 概要**

この分析は亜硝酸 ( $\text{HNO}_2$ ) を定量下限～1.0% (質量分率) 程度含有する腐植酸苦土肥料および硝酸石灰に適用する。この分析法の識別記番号は JFFIA 6-NO2。

分析試料に水を加えて抽出し、その一定量に塩酸(1+1)およびスルファニルアミド液を加え、次いで1-ナフチルエチレンジアミン液を加えた後、発色させた紫色の吸光度を測定して分析試料中の亜硝酸の量を求める。

この分析法は、肥料分析法 (1992) に記載されているスルファニルアミド-ナフチルエチレンジアミン法と同法であるが、一部、試薬液ならびに試料液の調製方法を肥料等試験法に合わせるため変更している。

**2. 装置・器具**

- 1) マグネチックスターラー
- 2) 分光光度計： JIS K 0115 に規定する分光光度計。
- 3) pH 計： JIS Z 8802 に規定する形式Ⅱを用いる。

**3. 試薬等**

- 1) 水：水道水を水精製装置で精製した JIS K 0557 に規定する A3 の水を用いる。
- 2) 塩酸： JIS K 8180 に規定する特級又は同等の品質の試薬。
- 3) スルファニルアミド液： JIS K 9066 に規定する特級スルファニルアミド ( $\text{NH}_2 \cdot \text{SO}_2 \cdot \text{C}_6\text{H}_4 \cdot \text{NH}_2$ ) 0.2 g を温水に溶かして、冷却後 100 mL とする。
- 4) 1-ナフチルエチレンジアミン液： JIS K 8197 に規定する特級 N-(1-ナフチル)エチレンジアミン二塩酸塩 ( $\text{C}_{10}\text{H}_7 \cdot \text{NH} \cdot (\text{CH}_2)_2 \cdot \text{NH}_2 \cdot 2\text{HCl}$ ) 0.1 g を水に溶かして 100 mL とし、着色瓶に貯蔵する。
- 5) 亜硝酸標準液 (1000 mg/L)： JIS K 8019 に規定する特級亜硝酸ナトリウム 0.734 g を秤量し (0.1 mg) の桁まで測定、全量フラスコ 500 mL に入れて少量の水を加えて溶かし標線まで水を加える。
- 6) 亜硝酸標準液 (50 mg/L)： 亜硝酸標準液 (1000 mg/L) 5 mL を全量フラスコ 100 mL にとり、標線まで水を加える。
- 7) 亜硝酸標準液 (5 mg/L)： 亜硝酸標準液 (50 mg/L) 10 mL を全量フラスコ 100 mL にとり、標線まで水を加える。
- 8) 亜硝酸標準液 (0.5 mg/L)： 亜硝酸標準液 (5 mg/L) 10 mL を全量フラスコ 100 mL にとり、標線まで水を加える。
- 9) pH 調整溶液： JIS K 8576 に規定する特級水酸化ナトリウムを水に溶かし 5 g/L (0.125 mol/L) になるように調製する。

#### 4. 試料溶液の調製

- 1) 分析試料 1 g を 1 mg の桁まではかりとり、ビーカー 200 mL に入れる。
- 2) 水約 100 mL を加え、マグネチックスターラーで 10 分間かき混ぜる。
- 3) pH 計で測定し pH 5~7 となるように pH 調整溶液で調整する。
- 4) この液を全量フラスコ 250 mL に移し、標線まで水を加える。
- 5) ろ紙 3 種でろ過し、試料溶液とする（注 1）。

（注 1） 4. 5) のろ液が着色している場合は、活性炭を少量加え、ろ紙 3 種でろ過し試料溶液とする。

#### 5. 発色

##### (5.1) 試料の発色

- 1) 作成直後の 4. 5) のろ液の 5 mL ( $\text{HNO}_2$  として 2~50  $\mu\text{g}$ ) を全量フラスコ 50 mL に正確にとる。
- 2) 塩酸 (1+1) 1 mL およびスルファニルアミド液 5 mL を加え、約 5 分間放置する。
- 3) 1-ナフチルエチレンジアミン液 1 mL を加え、約 10 分間放置したのち標線まで水を加える。

（注 2） 試料溶液調製後、速やかに 5. (5.1) の操作を行う

##### (5.2) 検量線用標準液の発色

- 1) 亜硝酸標準液 (0.5 mg/L) または亜硝酸標準液 (5 mg/L) を 50 mL 全量フラスコに段階的にとり、(5.1) 2) ~3) と同様の操作を行って、検量線用標準液とする。
- 2) 亜硝酸標準液を入れずに (5.1) 2) ~3) と同様の操作を行って検量線用空試験液とする。

#### 6. 測定

測定は、JIS K 0115 および次のとおり行う。なお、具体的な測定操作は、測定に使用する分光光度計の操作方法による。

##### (6.1) 分光光度計の測定条件

分析波長： 530 nm

##### (6.2) 検量線の作成

- 1) (5.2) 2) で発色した検量線用空試験液を対照として、(5.2) 1) で発色した検量線用標準液の波長 530 nm の吸光度を測定する。
- 2) 検量線用標準液の亜硝酸濃度と吸光度との検量線を作成する。

(6.3) 試料の測定

- 1) (5.1) 3) で発色した溶液について、(6.2) 1) と同様の操作を行って吸光度を測定する。
- 2) 検量線から分析試料中の亜硝酸の量 (HNO<sub>2</sub>) を求める。

7. 参考文献

独立行政法人農林水産消費安全技術センター(2019) 肥料等試験法, p.477-482. 高速液体クロマトグラフ法

農林水産省農業環境技術研究所 1992. 肥料分析法 1992 年版, p.76-78. 日本肥糧検定協会

越野正義 1988. 第二改訂詳解肥料分析法, p.194-196. 養賢堂

伊藤浩平, 木村康晴, 長谷川正憲, 白井裕治(2016)日本土壤肥料学雑誌 87 巻 2 号 p.120-124. 高速液体クロマトグラフ法を用いた肥料中の亜硝酸およびチオシアン酸塩の同時定量

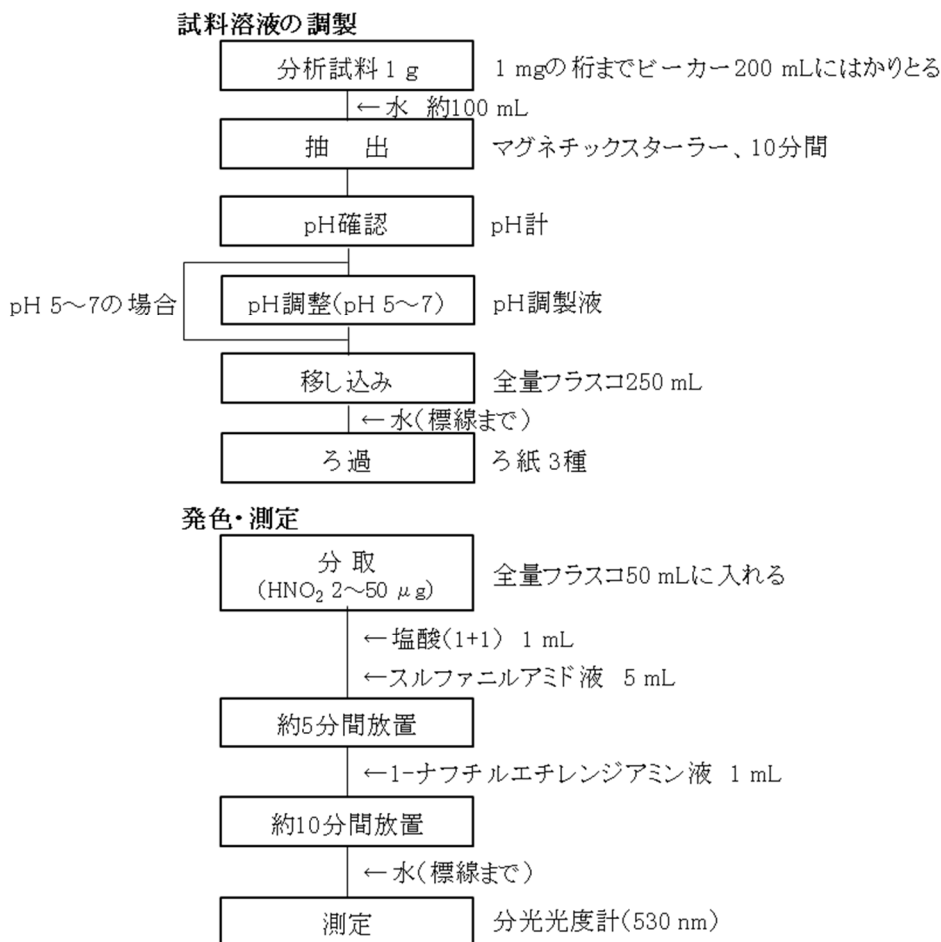


図1 分析法のフローシート

## 【妥当性の確認試験の結果】

### 1. 適用範囲

本分析法の適用範囲は表 1 のとおりである。妥当性の確認試験は、肥料等試験法 (2019) 別添 試験法の妥当性確認の手順によって行った。

表 1 適用範囲

成分名	適用試料	濃度範囲 (%) 1)	妥当性を確認した試験室	試験方法
亜硝酸	腐植酸苦土肥料 硝酸石灰	定量下限～1.0 程度	当協会 本部	スルファニルアミド- ナフチルエチレンジ アミン法

1) 質量分率

### 2. 選択性

試料溶液が着色していると吸光度に対して正の誤差要因となるため、試料溶液が着色している場合は活性炭を少量加えてろ紙 3 種でろ過してから発色操作を行う。

### 3. 検量線

検量線用標準液で調製した 5 点および検量線用空試験溶液から吸光度を求めて検量線を作成した。

その結果、亜硝酸は 0.05～1.00 mg/L の範囲で直線性が確認でき、高い決定係数 ( $r^2$ ) が得られた。

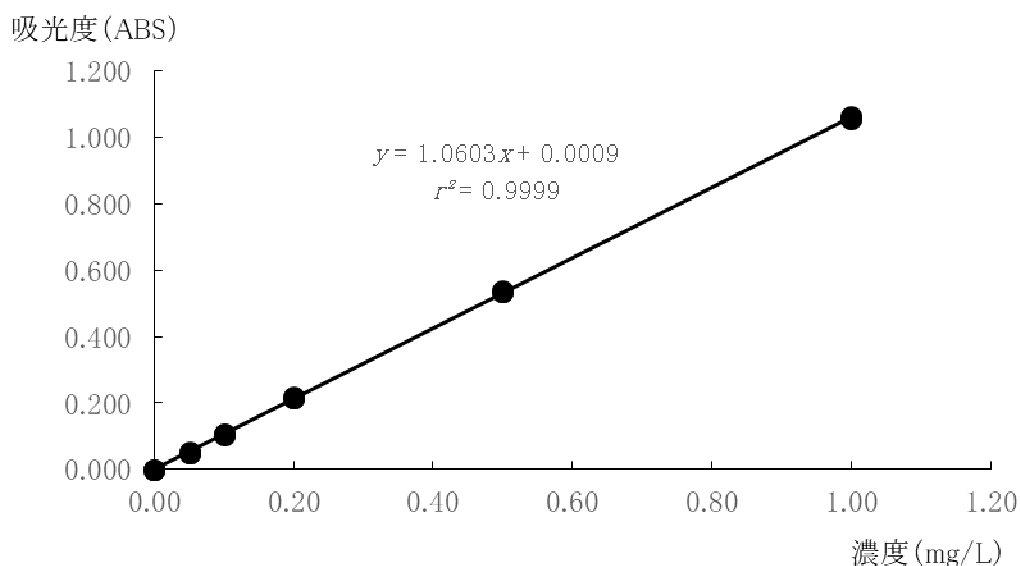


図 2 亜硝酸 (HNO<sub>2</sub>) の検量線の結果

#### 4. 真度

本分析法で対象とした腐植酸苦土肥料 6 点および硝酸石灰 6 点を用いて、亜硝酸を添加し本分析法とすでに妥当性の確認がなされているイオンクロマトグラフ法 (1) との間で測定結果の比較をし、95 % 予測区間による相関図 (図 3) に表した。

肥料等試験法 (2019) における妥当性確認方法の基準では、傾き (b) の 95% 信頼区間に 1 が含まれ、切片 (a) は同区間に原点 (0) が含まれ、かつ相関係数 (r) は 0.99 以上を推奨しているが、いずれもこれを満たすことが確認できた (表 2)。

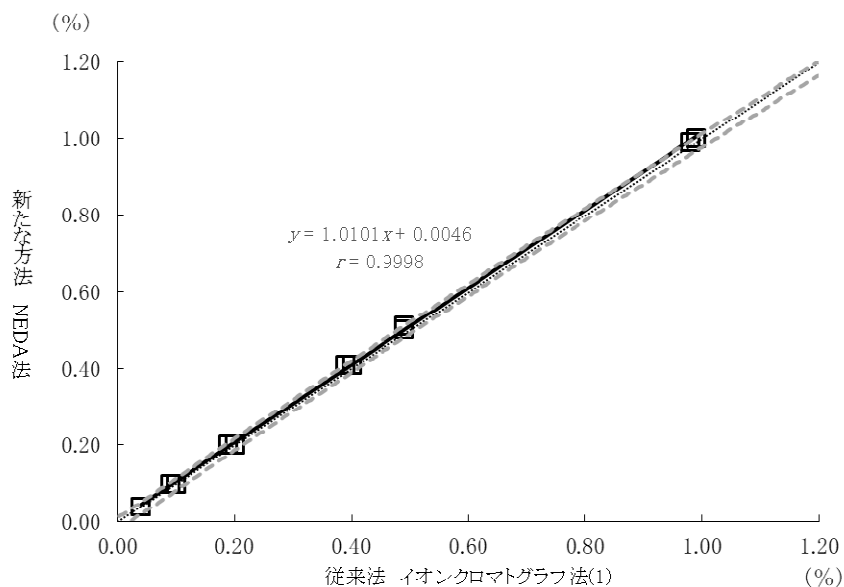


図 3 亜硝酸における新たな方法と従来法の比較

注) 太線：回帰直線 細線： $y = x$  破線：95 % 予測区間 %：質量分率  
 新たな方法：スルファニルアミドーナフチルエチレンジアミン法 (NEDA 法)  
 従来法：イオンクロマトグラフ法 (1)

表 2 方法間比較による回帰直線の傾き、切片及び相関係数

成分名	方法	95 % 信頼区間		回帰直線の相関係数 (r)
		傾き (b)	切片 (a)	
亜硝酸	スルファニルアミドーナフチルエチレンジアミン法	0.997 ~ 1.024	-0.002 ~ 0.011	0.9998

#### 5. 精度

併行精度および中間精度を確認するために、腐植酸苦土肥料 1 点および硝酸石灰 1 点を用いて、亜硝酸を添加し 2 点併行で日を変えて 5 回の分析を行った。

分析結果を基に一元配置分散分析を行って得られた併行精度 (併行相対標準偏差) および中間精度 (中間相対標準偏差) は、肥料等試験法 (2019) に示される目安以内であった。

表 3 日を変えての中間精度の評価の結果

成分名	試料	平均値 <sup>1)</sup> (%) <sup>8)</sup>	併行精度			中間精度		
			$S_r$ <sup>2)</sup> (%) <sup>8)</sup>	$RSD_r$ <sup>3)</sup> (%)	$CRSD_r$ <sup>4)</sup> (%)	$S_{I(T)}$ <sup>5)</sup> (%) <sup>8)</sup>	$RSD_{I(T)}$ <sup>6)</sup> (%)	$CRSD_{I(T)}$ <sup>7)</sup> (%)
亜硝酸	腐植酸苦土肥料	0.040	0.0006	1.5	4.0	0.0005	1.3	6.5
	硝酸石灰肥料	0.406	0.0015	0.4	3.0	0.0031	0.8	4.5

1) n=10(2点併行×試験5回)      5) 中間標準偏差  
 2) 併行標準偏差                      6) 中間相対標準偏差  
 3) 併行相対標準偏差                7) 中間相対標準偏差の目安  
 4) 併行相対標準偏差の目安        8) 質量分率

### 6. 定量下限・検出下限の推定

定量下限および検出下限を推定するために、硝酸石灰に亜硝酸を 0.0025% (質量分率) 相当量添加して、7 点併行で分析を行った。

なお、定量下限は(標準偏差)×10、検出下限は(標準偏差)×2× $t(n-1,0.05)$ を用いて算出した。

その結果、公定規格における規格適合性の評価をし得るのに十分な定量下限を有していることが確認できた。

表 4 定量下限ならびに検出下限の推定

成分名	試料	添加濃度 (%) <sup>6)</sup>	平均値 <sup>1)</sup> (%) <sup>6)</sup>	回収率 <sup>2)</sup> (%)	$S_r$ <sup>3)</sup> (%) <sup>6)</sup>	$LOQ$ <sup>4)</sup> (%) <sup>6)</sup>	$LOD$ <sup>5)</sup> (%) <sup>6)</sup>
亜硝酸	硝酸石灰肥料	0.0025	0.00249	99.4	0.00016	0.0016	0.0006

1) 7点併行                                      4) 定量下限( $LOQ=S_r \times 10$ )  
 2) (平均値/添加濃度)×100                5) 検出下限( $LOD=S_r \times 2 \times t(n-1,0.05)$ )  
 3) 標準偏差                                    6) 質量分率

### 7. 頑健性

- ・酸化による濃度低下を防ぐため、試料溶液は pH5~7 に調整することとした。
- ・発色の操作は塩酸添加後に速やかに行うこと。

### 8. 結果の公表

本分析法ならびに妥当性の確認試験の結果の一部は、下記に公表されている。

肥料中の硝酸性窒素、マンガン、亜硝酸、ビウレット性窒素の吸光光度法における分析の妥当性の確認について

篠村 善徳, 村手 祐子, 関根 健太郎, 澤 詩織, 引地 典雄, 今川 俊明

日本土壤肥料学会岡山大会講演要旨集 (2020)

以上