

<資料論文>

## インドフェノール法による溶存アンモニア測定の簡易化

西川洋史

(埼玉県立進修館高等学校)

Simplification of dissolved ammonia measurement by indophenol method

Hirofumi Nishikawa

Saitama Prefectural Shinsyukan High School

キーワード：アンモニア，インドフェノール，サリチル酸ナトリウム，ヘキサシアニド鉄(II)酸カリウム

KEYWORDS: ammonia, indophenol, sodium salicylate, potassium hexacyanoferrate(II).

### 抄録

アンモニアは理科の様々な学習場面で扱われる重要な物質であり，実験で検出や測定を行うことは意義がある。アンモニア濃度の測定方法はインドフェノール法が一般的であるが，フェノールやペンタシアノニトロシル鉄(III)酸ナトリウムなどの劇物又は毒物指定の薬品を使う。したがって，授業や探究活動でインドフェノール法を実施する場合は，より安全なサリチル酸ナトリウムや食品添加物として利用されるヘキサシアニド鉄(II)酸カリウムに置き換えた方法が教育的には適切である。しかし，この測定方法では，それぞれ異なる体積の数種類の溶液を混合するため，生徒にとっては極めて煩雑な実験である。そこで本研究では，より簡便に実験操作ができるよう，試験溶液をすべて同体積で混合する条件を検討した。具体的には，発色に大きな影響を及ぼす次亜塩素酸ナトリウム及び水酸化ナトリウムについて様々な濃度を組み合わせ，検出するための濃度範囲を求めた。

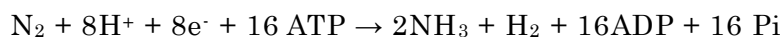
### Abstract

In science classes, ammonia is an important substance that is dealt with in various learning situations, so it is meaningful to detect and measure ammonia in student experiments. Concentration of ammonia is generally evaluated by the indophenol method. This method requires phenol and sodium pentacyanonitrosylferrate (III), both chemicals are designated by the Poisonous and Deleterious Substances Control Law.

Therefore, when implementing the indophenol method in classes and research activities, it is educationally appropriate to replace it with sodium salicylate, which is safer, or potassium hexacyanoferrate (II), which is used as a food additive. However, in this measurement method, several types of solutions with different volumes are mixed, so it is an extremely complicated experiment for students. In this study, I investigated the condition of mixing all the test solutions in the same volume so that the experimental procedure could be performed more easily. Specifically, I combined various concentrations of sodium hypochlorite and sodium hydroxide, which greatly affect color development, and determined the concentration range for detecting ammonia.

## 1. はじめに

アンモニアは常温では無色、刺激臭を有する気体である。アンモニアが溶けた水溶液はアンモニア水といい、初等教育では水溶液の性質を学習する際に用いられる。具体的には、アンモニア水を赤色リトマス試験紙に触れさせ、青く変色したことからアルカリ性であることを確認する。前期中等教育では、生徒はアンモニアの基本的な性質を学ぶ。例えば気体の性質を学習するために塩化アンモニウムと水酸化カルシウムを用いてアンモニアガスを発生させ、これを上方置換法で集める。アンモニアガスの水への溶解性を示す演示実験はアンモニア噴水が定番であるが、近年ではマイクロスケール化が検討されている(柴田・芝原, 2012)。このことは科学教育においてアンモニアが有用な物質であることを示している。そして後期中等教育では、アンモニアの電離平衡実験やハーバー・ボッシュ法による合成など化学的な視点からアプローチすることになる。アンモニアは、生物学において大きく二つの分野で鍵となる物質である。一つ目は窒素代謝である。アンモニアはタンパク質代謝における脱アミノ反応で生じる非常に毒性の高い副産物である。アンモニアの解毒処理はヒトでは肝臓のオルニチン回路で行われ、尿素に変換後に腎臓から排出される。これについては高等学校生物基礎でその詳細を学習する。また、生物ごとのアンモニア代謝の比較では、鳥類や爬虫類では水不溶性の尿酸に変換されるが、魚類をはじめ水生生物の多くでは代謝されないことを学ぶ。この理由は、アンモニアを排出するために利用可能な水の量から説明がなされ、資源量の観点から思考を深める内容となっている。二つ目は窒素循環である。窒素は極めて安定な分子のため、生徒が日常的に知りうる生物の多くは直接利用することができない。しかし、根粒菌やシアノバクテリア、アゾトバクターなどの窒素固定細菌は、ニトロゲナーゼという酵素を用いて窒素ガスに水素を付加し、アンモニアに変換することができる(Hoffman, *et al.*, 2014)。この反応は次の式で表され、高等学校の生物資料集などに記載がある。



(ATP : アデノシン三リン酸, ADP : アデノシン二リン酸, Pi : 無機リン酸)

生成されたアンモニアは、すぐにイオン化されてアンモニウムイオンになり、植物に吸収された後にアミノ酸に変換される。一方で、亜硝酸菌や硝酸菌による硝化作用で硝酸塩になり、これが植物に吸収される経路もある。硝酸塩は植物の主要な無機栄養素であり、根から吸収されると硝酸還元酵素及び亜硝酸還元酵素によってアンモニウムイオンに戻される。そして、グルタミン合成酵素の働きにより、グルタミン酸と結合してグルタミンに同化され、その後各種アミノ酸に変換される。このように窒素固定によって生じたアンモニアは、アンモニウムイオンとして直接植物に吸収される経路と、いったん硝酸塩に変換されてから植物に吸収されるという 2 通りの経路があることを生物で学ぶ。さらに合成されたアミノ酸がタンパク質に同化されるまでの過程を遺伝子発現、とくにセントラルドグマに紐づけて分子生物学の内容につなげることも可能である。

このようにアンモニアは、教科書で取り上げられることが多い物質である。したがって、授業でアンモニア測定を実施することは理科教育では意義のあることと言える。アンモニア測定方法にはアンモニアガスセンサーや HPLC、電極測定など様々な手法がある。とくにヨウ化水銀を用いたネスラー法の歴史は古く、高等学校で使用される化学資料集では発色の様子が紹介されている（浜島書店, 2019）。しかし、ネスラー試薬は水銀を含むため比色定量後の廃液処理が煩雑になり、その処理方法が検討されているほどである（濱田・富安, 2017）。そのため現在はインドフェノール法を採用することが推奨されている。インドフェノール法は 2 つの化学反応から成り立つ。まず水酸化ナトリウムによるアルカリ条件下で、触媒であるペンタシアノニトロシル鉄 (III) 酸ナトリウムによりアンモニアと塩素が反応し、モノクロラミンが生成される。次にモノクロラミンとフェノールが反応し、比較的安定した青色色素インドフェノールが生成される。この青色の吸光度を測定すれば水中の溶存アンモニア量を求めることが可能である。インドフェノール法による生物分野の教育実践としては、水生生物の窒素代謝の説明に関連付けてキンギョから排泄されたアンモニアを授業内に測定した例がある（西川, 2020）。しかし、一般的なインドフェノール法で用いられるフェノールは、毒物及び劇物取締法において劇物に指定されていることや水生生物に対する毒性が高いため、環境配慮の点からも使用を控えるべき物質である。シアン化合物の一種であるペンタシアノニトロシル鉄 (III) 酸ナトリウムは、同じく毒物に指定されているため、アセトンや塩化マンガンに置き換えることが推奨されているが、感度の低下という欠点がある（橘, 2008）。このように一般的なインドフェノール法は、中学校・高等学校の授業あるいは探究活動で実施するにはややハードルが高い。この代替法としてフェノールをサリチル酸ナトリウムに、ペンタシアノニトロシル鉄 (III) 酸ナトリウムをヘキサシアニド鉄(II)酸カリウムに置き換えた方法がある（Verdouw, *et al.*, 1978）。サリチル酸ナトリウムによるインドフェノール法では、測定対象となる試料と 3 種類の検出溶

液を混合するが、それぞれ異なる体積比で混合するプロトコールがほとんどである。つまり溶液を混合する際には 4 パターンの計量をすることになり、その作業に時間を要するため授業内で実験を終了させることが難しくなる。また、ピペット操作に不慣れな生徒は計量に集中してしまい、化学反応や実験の意味について深く考える時間を失いやすい。

そこで本研究では、試料及び検出溶液をすべて同体積で混合し、かつ十分な発色が得られる濃度条件を求めることにした。とくに発色に影響する有効塩素と水酸化ナトリウム濃度について理科室や準備室での作業性を想定した条件検討を行い、学校現場で調製しやすい量・濃度を求めた。アンモニア測定は高等学校の生物基礎の内容に導入可能な内容である。この科目の標準単位数は 2 単位であることから、授業の組み方によっては反応後 4 日目に測定するケースもあり得る（月曜日に反応をさせ、金曜日に測定するなど）。そこで本研究では、120 時間後（5 日目）の発色状況を確認した。

## 2. 材料と方法

### 2. 1 試薬及び実験器具・機器

試薬としてサリチル酸ナトリウム、水酸化ナトリウム、次亜塩素酸ナトリウム溶液、ヘキサシアニド鉄(II)酸カリウム三水和物（富士フィルム和光純薬株式会社、大阪府）、4%アンモニア水溶液（東京化成工業株式会社、東京都）、エチレンジアミン四酢酸二水素ナトリウム二水和物（関東化学株式会社、東京都）を準備した。溶液の反応容器としてマイクロチューブ及び 96 ウェルプレート（サーモフィッシュャーサイエンティフィック、アメリカ合衆国）を準備した。各種検出溶液の保管容器として 50 mL 遠心管（住友ベークライト株式会社、東京）を準備した。溶液の混合のためにマイクロピペット及びチップを準備した。蒸留水は蒸留水製造機「オートスチル WS201」（ヤマト科学株式会社、東京）で作製した。

### 2. 2 アンモニア標準液の調製

ホールピペット及びメスフラスコを用いて 4%アンモニア水溶液（40000 ppm）を蒸留水で段階希釈（公比 10）し、4000, 400, 40, 4, 0.4 ppm 溶液を調製した。調製後のアンモニア水溶液は 50 mL 遠心管に入れ、実験に用いるまで冷蔵庫で保管した。

### 2. 3 溶液 A の調製

次亜塩素酸ナトリウム溶液を蒸留水で段階希釈し（公比 2 倍）、有効塩素濃度が 2.5, 1.3, 0.63, 0.32, 0.16, 0.080, 0.040, 0.020, 0.010, 0.0050% の次亜塩素酸ナトリウム溶液の系列を調製した。次亜塩素酸ナトリウムは経時的に自己分解するだけでなく、光によって急速に分解することも知られている。そのため調製後の次亜塩素酸ナトリウム溶液は、アルミホイルで遮光した 50 mL 遠心管に入れ、冷蔵庫で保管した（図 1）。

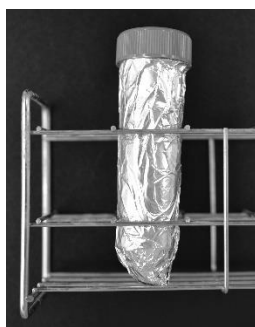


図 1 アルミホイルで遮光した遠心管

本実践では遠心管をアルミホイルで覆い，一般的な遮光型冷蔵庫で保管したが，確実な遮光をするためにはキャップも含め上側も覆う必要がある。

## 2. 4 溶液 B の調製

水酸化ナトリウム 16 g を約 30 mL の蒸留水に溶解し，メスフラスコで 50 mL にメスアップして 8.0 M 水酸化ナトリウム溶液を調製した。これを公比 2 で階段希釈し，4.0, 2.0, 1.0, 0.5, 0.25, 0.13, 0.063 M の水酸化ナトリウム溶液の系列を調製した。

## 2. 5 溶液 C の調製

サリチル酸ナトリウム 19.2 g 及びヘキサシアニド鉄(II)酸カリウム三水和物 1.1 g，エチレンジアミン四酢酸二水素ナトリウム二水和物 0.74 g を蒸留水 100 mL に溶解し，1.2 M サリチル酸ナトリウム・26 mM ヘキサシアニド鉄(II)酸カリウム・20 mM エチレンジアミン四酢酸二水素ナトリウム水溶液とした。

## 3. 実験手順

96 ウェルプレートに次亜塩素酸ナトリウムの階段希釈系である溶液 A と水酸化ナトリウムの階段希釈系である溶液 B を 50  $\mu$ L ずつマトリックス形式で混合した。これにアンモニア標準液を 50  $\mu$ L ずつ分注し，さらに溶液 C を 50  $\mu$ L ずつ入れた。各ウェルにおける反応時の有効塩素及び水酸化ナトリウムの濃度を表 1 に示す。このウェルプレートを静かに数分間の水平回転を行った後，溶液の蒸発を防ぐためにウェルプレート上面をビニルテープでシーリングした。隙間がないことを確認してから，室温（20℃前後）に静置し，24 時間後及び 120 時間後に，それぞれ撮影を行った。

表 1 各ウェルにおける有効塩素と水酸化ナトリウムの反応時最終濃度

Well No.	溶液BのNaOH濃度 (M)	反応時の濃度	溶液Aの有効塩素濃度 (%)										
			5	2.5	1.3	0.63	0.32	0.16	0.080	0.040	0.020	0.010	0.0050
A	8.0	有効塩素 (%)	1.3	0.62	0.32	0.16	0.080	0.040	0.020	0.010	0.005	0.0024	0.0012
		NaOH (M)	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
B	4.0	有効塩素 (%)	1.3	0.62	0.32	0.16	0.080	0.040	0.020	0.010	0.0050	0.0024	0.0012
		NaOH (M)	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
C	2.0	有効塩素 (%)	1.3	0.62	0.32	0.16	0.080	0.040	0.020	0.010	0.0050	0.0024	0.0012
		NaOH (M)	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
D	1.0	有効塩素 (%)	1.3	0.62	0.32	0.16	0.080	0.040	0.020	0.010	0.0050	0.0024	0.0012
		NaOH (M)	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
E	0.50	有効塩素 (%)	1.3	0.62	0.32	0.16	0.080	0.040	0.020	0.010	0.0050	0.0024	0.0012
		NaOH (M)	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13
F	0.25	有効塩素 (%)	1.3	0.62	0.32	0.16	0.080	0.040	0.020	0.010	0.0050	0.0024	0.0012
		NaOH (M)	0.063	0.063	0.063	0.063	0.063	0.063	0.063	0.063	0.063	0.063	0.063
G	0.13	有効塩素 (%)	1.3	0.62	0.32	0.16	0.080	0.040	0.020	0.010	0.0050	0.0024	0.0012
		NaOH (M)	0.031	0.031	0.031	0.031	0.031	0.031	0.031	0.031	0.031	0.031	0.031
H	0.063	有効塩素 (%)	1.3	0.62	0.32	0.16	0.080	0.040	0.020	0.010	0.0050	0.0024	0.0012
		NaOH (M)	0.016	0.016	0.016	0.016	0.016	0.016	0.016	0.016	0.016	0.016	0.016

有効塩素及び水酸化ナトリウム以外の各成分の反応時最終濃度は、300 mM サリチル酸ナトリウム、6.5 mM ヘキサシアニド鉄(II)酸カリウム、5 mM エチレンジアミン四酢酸二水素ナトリウムとなる。

## 4. 結果

### 4. 1 24 時間後の発色状況

アンモニア濃度が 4000 ppm では、反応時の有効塩素濃度が 0.62%及び 1.3%のとき水酸化ナトリウム濃度に関わらず、黄色の発色が見られた。有効塩素濃度が 0.32%では水酸化ナトリウム濃度 1.0 M 以下では薄い水色を発色した。しかし、有効塩素濃度が 0.01~0.16%の区間では、水酸化ナトリウム濃度 1.0 M 及び 2.0 M では発色せず、0.25~0.50 M では茶色を、それ以下の濃度ではオレンジまたは黄色を呈した。有効塩素濃度が 0.0012~0.0050%では水酸化ナトリウム 0.063~0.50 M の範囲において青色を呈した (図 2A 黒枠内)。なお、有効塩素が 0.16~1.3%の範囲では、ウェルプレートの底面に多数の気泡が見られた。アンモニア濃度が 400 ppm では、有効塩素濃度が 1.3%のとき水酸化ナトリウムの濃度に関わらず、反応溶液は黄色を呈した。有効塩素濃度が 0.16~0.62%では、水酸化ナトリウム濃度が 0.50 mM 以下において緑色から藍色の発色が見られた。有効塩素濃度が 0.01~0.08%では、水酸化ナトリウム濃度が 0.25 M~2.0 M と濃くなるにつれ茶色から朱色に変色した。また 0.25 M 未満では黄色に変色した。有効塩素濃度が 0.0012~0.0050%では、水酸化ナトリウム濃度が 0.05~0.063 M の範囲において青色を呈し、有効塩素濃度 0.0024%水酸化ナトリウム 0.25 M の組み合わせで最もインドフェノール青に近くなった (図 2B 黒枠内)。アンモニア濃度が 0.4~40 ppm では、黄色や茶色を呈することなく、発色した箇所はすべて青色となった。

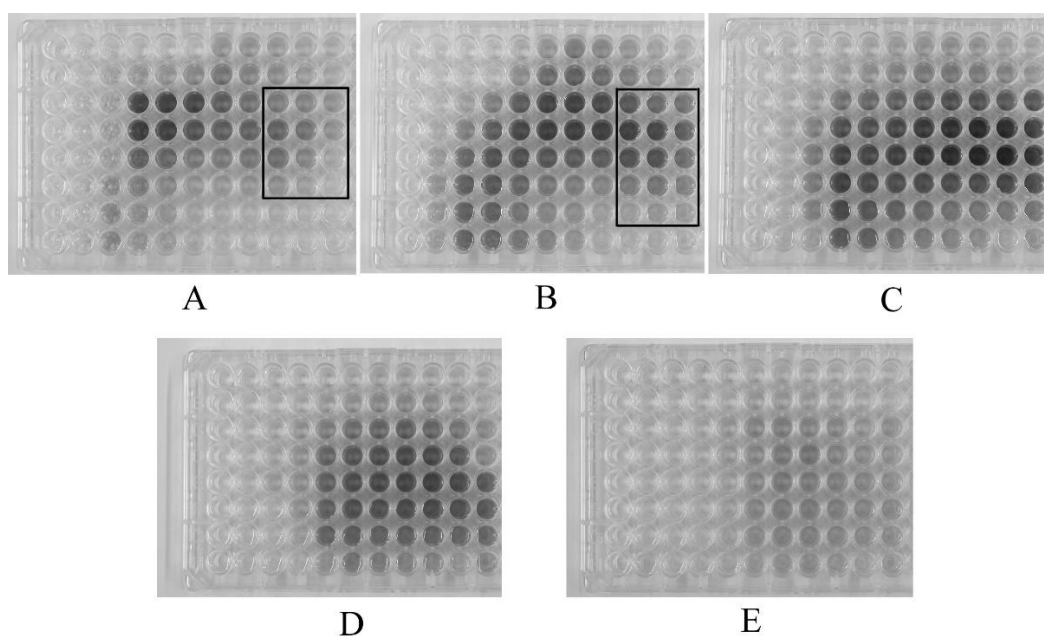


図 2 24 時間後の各アンモニア標準液における発色状況

アンモニア濃度は 4000 ppm (A), 400 ppm (B), 40 ppm (C), 4 ppm (D), 0.4 ppm (E) である。0.4～40 ppm ではすべて青く発色したが、400 ppm 以上では黒枠内以外の well で黄色～褐色を呈した。

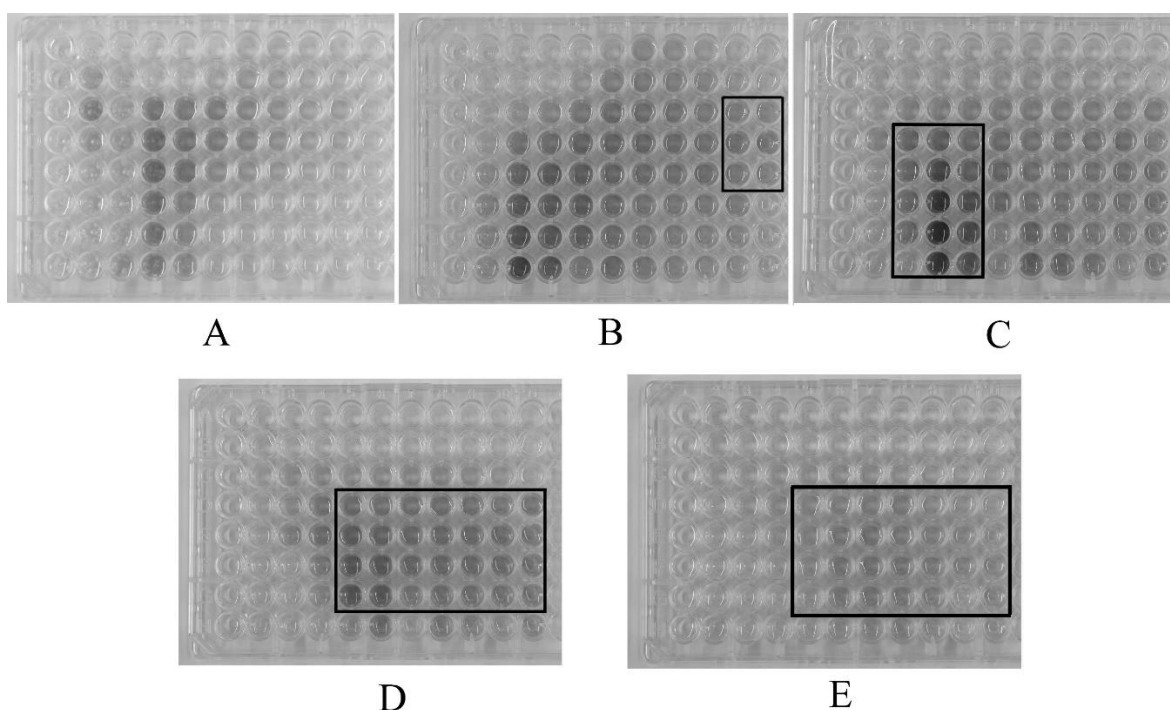


図 3 120 時間後の各アンモニア標準液における発色状況

アンモニア濃度は 4000 ppm (A), 400 ppm (B), 40 ppm (C), 4 ppm (D), 0.4 ppm (E) である。黒枠内が青色の発色が残っている箇所。

## 4. 2 120時間後の発色状況

120時間後の発色状況を図3に示す。アンモニア濃度が4000 ppmでは、溶液が退色し青い発色が見られなかった。アンモニア濃度が400 ppmでは、反応時の有効塩素が0.0012%および0.0024%では水酸化ナトリウム濃度が0.05~0.13 Mで青い発色を保った。アンモニア濃度が40 ppmでは、反応時の有効塩素0.080~0.32%、水酸化ナトリウム濃度が0.016~0.25 Mで青色のままだった。4 ppm及び0.4 ppmでは反応時の有効塩素濃度が0.012~0.080%、水酸化ナトリウム濃度が0.031~0.25 Mでインドフェノール青の色合いが保たれた。

## 5. 考察

アンモニアを検出あるいは定量する理科実験は、河川の水質汚染調査(橘ら, 2015)や魚類から排出されるアンモニアの測定(西川, 2019)が報告されている。アンモニア測定は、水質検査キットを活用すれば極めて簡単に実施することができ、近年では「パックテスト」(株式会社共立理化学研究所)を用いたオオカナダモ *Egeria densa* の水質浄化能の可視化が試みられている(石本ら, 2022)。オオカナダモは、中学校及び高等学校において光合成や葉緑体や原形質流動の観察、浸透圧実験に用いられるため、生徒らには実験観察の素材としてなじみ深い。オオカナダモによる水中の溶存アンモニア量の減少は、この植物を環境教育の視点から活用する事例として注目できるが、これもアンモニア測定が簡単に実施できたからである。ただし、パックテストは1回の測定で100円ほどかかり、大量のサンプルを測定するにはややコストがかかる。また、すべての組成や量が公開されていないわけではない。本研究で示した手法は、試薬及びその濃度がすべて明らかとなっているため、生徒が化学反応についても学習し、理解を深めていくことができる。また、比較的安全な試薬を用いることから生徒自身が溶液調製から始めることも可能であり、その過程で実験器具の使い方や濃度計算といった基本的な実験スキルを獲得することができるだろう。つまり化学反応や実験内容がブラックボックス化していないため、生徒は科学的に理解をしながら探究的に発展させていくことができる。現在、理科では生徒が自らテーマを設定して研究を進めることが推奨されているため、本手法は安全安心な実験方法として有効だろう。また、メスフラスコやマイクロピペットなどを用いて計量を正確に行えば、吸光度測定による厳密な定量も可能となり、数値データの扱いも可能になる。

本実験では、測定対象となる溶液に含まれるアンモニア濃度が比較的低濃度の場合は青色を示したが、400 ppm以上では黄色や褐色を呈し、濃度によって色合いが異なることが示された。インドフェノール青法に則った定量分析をする際は、青色を呈するように希釈する必要があるだろう。本実験の結果では0.4~40 ppmで青色の呈色を確認できたが、これはパックテストの範囲(0.2~10 mg/L)とほぼ同じであり、環境中のアンモニア濃度を測定するには十分な範囲である。また、アンモニア態窒素の水産用水基準は、淡水域では1.9 mg/L以下(pH=7.0, 水温20℃のとき)、海域では0.90 mg/L以下(pH=8.0, 水温20℃,



塩分 30 のとき) とされる (日本水産資源保護協会, 2018)。このことから, 本方法で検出可能な範囲は生態系におけるアンモニア濃度を十分網羅していると言えよう。

学校における実験は, 実施時間が限られているため数回に分けて行われることも多い。したがって, 反応後に呈色が保たれる時間を把握することは重要である。そこで本研究では, 120 時間後 (5 日目) の発色状況を確認した。アンモニア濃度が 400 ppm 以上では青色が確認できないあるいは, 他の濃度と対応する場所で発色しなかったことから, 400 ppm 以上では 120 時間後の測定に適用できないことが明らかとなった。アンモニア濃度が 40 ppm では, 反応時の有効塩素 0.080~0.32%, 水酸化ナトリウム濃度が 0.016~0.25 M で, 4 ppm 及び 0.4 ppm では反応時の有効塩素濃度が 0.012~0.080%, 水酸化ナトリウム濃度が 0.031~0.25 M でインドフェノール青の色合いが保たれた。なお, これらの条件で発色する領域は 24 時間後のものを含んでいる。このことから反応度 24 時間後から 120 時間後まで青色を肉眼で確認できるのは, アンモニア濃度 40 ppm 以下として, 反応時有効塩素が 0.080%, 水酸化ナトリウム濃度が 0.031~0.25 M が発色する範囲と言える。よって試験溶液は 4 倍濃度, すなわち有効塩素濃度が 0.32% (5%有効塩素の次亜塩素ナトリウム溶液であれば 15 倍希釈), 水酸化ナトリウム濃度は 1 M (4 g/100 mL) が学校では準備しやすい濃度と言えよう。この条件であれば, 理科の授業において検査溶液との混合と発色の確認は別日で実施しても, 週内であれば結果を得ることが可能となる。よって例えば, 最初の授業では試料の準備と検査溶液の混合や反応原理の説明を行い, 2 回目の授業でアンモニアの定量や実験のまとめを行うという日程を組むことができる。

水酸化ナトリウムは潮解性と二酸化炭素を吸収する性質があるため, 正確な濃度の溶液を調製することは困難である。そのため, 調製後の溶液は一般的にシュウ酸標準液を用いた評定を行う。本研究では通常のインドフェノール法に従って水酸化ナトリウム溶液を調製し, これを希釈して用いたため, 厳密な意味での化学的定量性は担保されていない。したがって本実験で示される濃度は, 通常の理科室環境で調製した際の濃度とみるべきであろう。しかし, 潮解性と二酸化炭素吸収によって総量が増えることで計量後の水酸化ナトリウムは実際よりも少なく見積もることができる。本研究では水酸化ナトリウム濃度が 0.031~0.25 M が発色する範囲となり, 約 10 倍の開きがある。このことから現場では十分に実施可能だろう。

## 謝辞

本研究は公益財団法人東レ科学振興会の令和 2 年度東レ理科教育賞・企画賞の助成を受けました。ご支援に感謝致します。

## 引用文献

濱田百合子・富安卓滋 (2017) 「水銀含有廃液減容化システムの基礎検討」, 環境と安全, 第 8 巻, 1 号, 15-21.

- 浜島書店 (2019) 『ニューステージ化学図表 化学基礎+化学 対応』 浜島書店, 130.
- Hoffman, B. M., Lukoyanov, D., Yang, Z. Y., Dean, D. R., & Seefeldt, L. C. (2014) Mechanism of nitrogen fixation by nitrogenase: the next stage. *Chemical reviews*, **114**(8), 4041-4062.
- 石本泰基・羽根聡一郎・平澤慶太・吉田 翼 (2022) 「分光光度計を用いたパックテストの定量化の検討と検証-富栄養化に着目して」, *STEM 教育研究*, 第4号, 31-35.
- 日本水産資源保護協会, 「水産用水基準 (第8版)」, アンモニア態窒素の基準値改訂版 2020年7月, Retrieved from [http://www.fish-jfrca.jp/pdf/53\\_NH4-N\\_202007.pdf](http://www.fish-jfrca.jp/pdf/53_NH4-N_202007.pdf)
- 西川洋史 (2019) 「魚類から排出されたアンモニアの観賞魚用アンモニア測定キットによる検出方法の確立と授業実践」, *生物教育*, 第60巻, 3号, 110-116.
- 西川洋史 (2020) 「インドフェノール法の作業効率化と授業における魚類から排出されたアンモニアの定量—マイクロプレートリーダーの教育実験機器としての可能性—」, *生物教育*, 第61巻, 2号, 89-95.
- 柴田友美・芝原寛泰 (2012) 「中学校理科における「気体の発生と性質」の教材開発: マイクロスケール実験によるアンモニアの噴水」, *フォーラム理科教育*, 第13巻, 5-10.
- 橘 淳治 (2008) 「小・中・高等学校の安全教育と教員研修」, *安全工学*, 第47巻, 6号, 347-354.
- 橘 淳治・中井一郎・木村 進・中野俊勝 (2005) 「簡易水質測定による大阪の河川調査と環境教育」, *大阪と科学教育*, 第19号, 17-18.
- Verdouw, H., Van Echteld, C. J. A. & Dekkers, E. M. J. (1978) Ammonia determination based on indophenol formation with sodium salicylate. *Water Research*, **12**(6), 399-402.