

膜濃縮技術を利用する簡易環境分析に関する研究

山梨大学大学院

医学工学総合教育部

博士課程学位論文

2018年9月

長谷川 裕弥

# 目次

## 第1章 序論

1.1	環境分析の背景	1
1.2	環境水の分析方法	4
1.3	環境水の現場分析	9
1.4	濃縮技術	10
1.5	膜フィルターを用いる濃縮技術	11
1.6	本研究の目的と概要	12
1.7	参考文献	13

## 第2章 モリブデン青の膜フィルター捕集を利用するヒ素の高感度現場定量法の開発

2.1	緒言	14
2.2	実験	15
2.2.1	試薬と試料	15
2.2.2	器具及び装置	16
2.2.3	分析操作	20
2.3	結果と考察	22
2.3.1	モリブデン青の膜フィルター捕集の検討	22
2.3.2	膜フィルターの材質の検討	24
2.3.3	膜フィルターの乾燥方法の検討	27
2.3.4	捕集されるモリブデン青の均一性の検討	29
2.3.5	ヒ素の現場分析法の定量性能	31
2.3.6	実際試料への応用	32
2.4	結論	33
2.5	参考文献	33

## 第3章 モリブデン青の膜捕集を利用するリンの高感度な現場 反射吸光光度定量

3.1	緒言	35
3.2	実験	36
3.2.1	試薬	36
3.2.2	器具及び装置	37
3.2.3	リンの現場分析法の定量操作	37
3.2.3.1	モリブデン青の生成	37
3.2.3.2	モリブデン青の濃縮と反射吸光度の測定	37
3.2.4	JIS法による低濃度リンの定量操作	39
3.3	結果と考察	40
3.3.1	モリブデン青の生成条件	40
3.3.2	モリブデン青の反射吸光度の測定	45
3.3.3	共存ヒ素の影響	47
3.3.4	リンの現場分析法の定量性能	47
3.3.5	実際試料への応用	49
3.4	結論	50
3.5	参考文献	50

## 第4章 河川水中のパッシブサンプラー捕集性鉄のキャラクタ リゼーション

4.1	緒言	51
4.2	実験	52
4.2.1	試薬	52
4.2.2	器具及び装置	53
4.2.3	状態分析操作	55
4.2.3.1	疑似試料の調製	55
4.2.3.2	鉄とフミン酸の状態分析操作	55
4.2.3.3	反応性鉄の定量操作	55

4.2.3.4	全鉄の定量操作	56
4.2.3.5	フミン酸の定量操作	56
4.2.3.6	捕集性鉄とフミン酸の溶出・定量操作	56
4.3	結果と考察	61
4.3.1	状態分析のための諸条件の検討	61
4.3.2	パッシブサンプラーからの鉄とフミン酸の溶出	63
4.3.3	疑似河川水中の捕集性鉄の存在状態	66
4.3.4	実際試料中の捕集性鉄の存在状態	69
4.4	結論	70
4.5	参考文献	70
第5章 結論		71

# 第1章 序論

## 1.1 環境分析の背景

日本は、多雨地帯であるモンスーンアジアの東端に位置し、年平均降水量は1690 mmで、世界の年平均降水量約810 mmの約2倍となっている<sup>1)</sup>。そのうち一部は地下水となったり、河川に流出したりしている。河川や湖沼の水源は、上水道水や農業用水、工業用水などに利用されており、人間活動に水は欠かせず、人類は環境水と密接に関わりながら発展してきた。

1950年～1960年代の高度経済成長期に、日本の各地で化学物質の排出による産業公害が発生した。水俣湾および阿賀野川で発生した水俣病は、食物連鎖過程を経たメチル水銀による慢性中毒が原因であった<sup>2)</sup>。富山県神通川流域で発生したイタイイタイ病は、鉱山の廃水に含まれたカドミウムが河川に流入し、これが水田の灌漑用水に使用されて引き起こされた慢性中毒であった<sup>2)</sup>。

これと同時期に、湖沼では生活排水の流入により、窒素やリンなどの栄養塩濃度が上昇して植物プランクトンが増殖し、悪臭などの水産業への被害を引き起こすようになった。当時、長野県の諏訪湖は富栄養湖として知られ、季節的に珪藻類が異常増殖して湖面全体を褐色にしたり、藍藻類が優占して湖面を緑色に染めることがあった<sup>3)</sup>。閉鎖的な海域でも同様の問題が起こっており、東京湾や瀬戸内海で赤潮が発生した<sup>3)</sup>。以上のように、人間活動による水質汚濁が農業や水産業への被害だけでなく、人の健康にも大きな影響を与えるようになった。

日本では、公害対策基本法が1967年に制定され、これに基づき1970年には水質汚濁に係る環境基準が設定された。さらに水質汚濁防止法が制定され、これまで指定水域に限られていた排水基準は公共用水域全てを対象にすることになった。公共用水域を対象とする環境基準は、排水基準よりさらに厳しい値が設定されている。「人の健康の保護に関する環境基準」は、設定当時は、シアンやアルキル水銀、有機リン、カドミウム、鉛、六価クロム、ヒ素、総水銀の8項目だった。その後、1975年にPCBが追加され、1993年にトリクロロエチレンなどの9項目（有機塩素系化合物）と農薬のシマジンなど4項目が追加された。

有機リンが環境基準項目から削除され、1999年にフッ素、ホウ素、硝酸性窒素および亜硝酸性窒素が追加、2009年に1,4-ジオキサンが追加され、現在の環境基準項目は27項目である<sup>4)</sup>。環境基準値<sup>5)</sup>は、一部の項目を除いておおむね水道法に基づく水道の水質基準<sup>6)</sup>と同じ値を採用しており (Table 1.1)  $\mu\text{g L}^{-1}$  (ppb) レベルの測定が必要となる。さらに、湖沼を対象にした「生活環境の保全に関する環境基準」では、pHや化学的酸素要求量、浮遊物質量、溶存酸素量、大腸菌群数、全窒素および全リンの7項目が設定された<sup>4)</sup>。その後、さらに亜鉛やノニルフィノール、直鎖アルキルベンゼンスルホン酸が追加された。これらの項目は、各水域の生活環境や利水目的毎に基準値が設定されている (Table 1.2)。国立公園等の自然探勝等が行える環境を保全する水域については、最も厳しい環境基準値が設定されており、全リンの場合 $\mu\text{g L}^{-1}$  (ppb) レベルの測定が必要となる。以上のように環境水を分析する場合、非常に高感度な分析法が求められる。

**Table 1.1 Concentrations ( $\text{mg L}^{-1}$ ) of toxic elements as their environmental water-quality standards.**

Analytes	Waste water (Ref. 4)	River water (Ref. 5)	Drinking water (Ref. 6)
Cd	0.03	0.003	0.003
CN <sup>-</sup>	1	n.d. <sup>a</sup>	0.01
Pb	0.1	0.01	0.01
Cr(VI)	0.5	0.05	0.05
As	0.1	0.01	0.01
Hg	0.005	0.0005	0.0005
Se	0.1	0.01	0.01

a. Not detected.

**Table 1.2 Concentration (mg L<sup>-1</sup>) of nitrogen and phosphorus as their environmental standards (Ref. 4).**

Type	Total Nitrogen	Total Phosphorus
I <sup>a</sup>	0.1	0.005
II <sup>b</sup>	0.2	0.01
III <sup>c</sup>	0.4	0.03
IV <sup>d</sup>	0.6	0.05
V <sup>e</sup>	1	0.1

- a. Quality level of environment water in natural scenic spots such as national parks. This level satisfies that in the type of II to V.
- b. Quality level of drinking water prepared by simple filtration or high-performance cleaning. Quality level of environmental water suitable for living the salmonidae families, smelts and carps. This level satisfies that in the type of III Ito V.
- c. Quality level of drinking water prepared by high-performance cleaning. This level satisfies that in the type of IV and V.
- d. Quality level of environmental water suitable for living the smelts. This level satisfies that in the type of V.
- e. Quality level of environmental water suitable for living the smelts, and industrial water and agricultural water.

## 1.2 環境水の分析方法

水質汚濁に係る環境基準では、規制項目に対して基準値と測定方法が定められている。分析機関で異なる分析法を用いることによる分析値の不一致やばらつきを抑えるために、標準的な分析方法が指定されている。我国では、測定方法は、主にJIS（日本工業規格）の工場排水試験方法K 0102<sup>7)</sup>（以下、JIS法）に定める方法で測定することになっている。JIS法では、分光分析法が多く採用されている。分光分析は、物質が吸収または放出する電磁波の波長や強度等を測定する化学分析を指し、代表的な分光分析法として、紫外可視吸光光度法、原子吸光分析法（AAS）や誘導結合プラズマ発光分光分析法（ICP-AES）などが挙げられる。排水基準レベルの重金属元素の濃度は、AASやICP-AESを用いることで感度良く定量することができる。環境基準レベルの重金属元素の濃度は、濃度が低いため、他の分析方法に比べて分析感度の優れるICP質量分析法（ICP-MS）が採用されおり、多元素を一斉分析できるメリットも有している。環境基準で規制されている元素のJIS法による分析方法をTable 1.3にまとめた。いずれの元素についても濃縮や分離が必要な場合があり、分析方法によっては有害な試薬を使ったり、有害な廃棄物が出ることなどを考慮しなければならない。



**Table 1.3 Typical analytical methods in JIS K 0102 (2016).**

Elements	Method	Analytical Range (mg L <sup>-1</sup> )
Cd	FAAS	
	Enrichment by solvent extraction	0.05 - 2
	ET-AAS	0.0005 - 0.01
	ICP-AES	
	Separation of Cd by solvent extraction	0.01 - 2
Pb	ICP-MS	0.0003 - 0.5
	FAAS	
	Enrichment by solvent extraction	1 - 20
	ET-AAS	0.005 - 0.1
	ICP-AES	0.1 - 2
As	ICP-MS	0.0003 - 0.5
	SP	
	Apparatus for generation of AsH <sub>3</sub>	0.1 - 0.5
	HG-AAS	
	Apparatus for generation of AsH <sub>3</sub>	0.005 - 0.05
	ICP-AES	
	Apparatus for generation of AsH <sub>3</sub>	0.001 - 0.05
	ICP-MS	
	Elimination of mass interferences	0.0005 - 0.5

FAAS : Flame atomic absorption spectrometry.

ET-AAS : Electrothermal atomic absorption spectrometry.

ICP-AES : Inductively coupled plasma atomic emission spectrometry.

ICP-MS : Inductively coupled plasma mass spectrometry.

SP : Spectrophotometry.

HG-AAS : Hydride generation atomic absorption spectrometry.

Table 1.3 (continued)

Elements	Method	Analytical Range (mg L <sup>-1</sup> )
Se	SP	
	Enrichment by solvent extraction	0.02 - 0.5
	HG-AAS	
	Apparatus for generation of SeH <sub>2</sub>	0.002 - 0.01
Cr	HG-ICP-AES	
	Apparatus for generation of SeH <sub>2</sub>	0.001 - 0.02
	ICP-MS	
	Elimination of mass interferences	0.0005 - 0.5
	SP	
	Elimination of iron by solvent extraction	0.04 - 1
	FAAS	
Enrichment of Cr by coprecipitation with Fe(OH) <sub>3</sub>	0.2 - 5	
	ET-AAS	0.005 - 0.1
	ICP-AES	0.02 - 4
	ICP-MS	0.0005 - 0.5

FAAS : Flame atomic absorption spectrometry.

ET-AAS : Electrothermal atomic absorption spectrometry.

ICP-AES : Inductively coupled plasma atomic emission spectrometry.

ICP-MS : Inductively coupled plasma mass spectrometry.

SP : Spectrophotometry.

CV-AAS : Cold vapor AAS.

HG-AAS : Hydride generation AAS.

Table 1.3 (continued)

Elements	Method	Analytical Range (mg L <sup>-1</sup> )
Mn	SP	
	Enrichment of Mn by coprecipitation with Fe(OH) <sub>3</sub>	0.8 - 10
	FAAS	
	Enrichment of Mn by coprecipitation with Fe(OH) <sub>3</sub>	0.1 - 4
	ET-AAS	0.001 - 0.03
	ICP-AES	0.01 - 5
Hg	ICP-MS	0.0005 - 0.5
	CV-AAS	
	Apparatus for CV Long Analytical time > 2 h	0.0005 - 0.01
	ET-AAS	
	Enrichment of Hg by solvent extraction	0.0005 - 0.01

FAAS : Flame atomic absorption spectrometry.

ET-AAS : Electrothermal atomic absorption spectrometry.

ICP-AES : Inductively coupled plasma atomic emission spectrometry.

ICP-MS : Inductively coupled plasma mass spectrometry.

SP : Spectrophotometry.

CV-AAS : Cold vapor AAS.

HG-AAS : Hydride generation AAS.

他方、溶液の吸光度を測定する吸光光度法は、AASやICP-MSと比べて安価で取り扱いが容易な分析装置が使える。特定の波長のみを利用する場合は、分光の必要がなく、一定の波長で発光する発光ダイオード等を光源とすればコンパクトで安価な装置とすることができる。しかし、吸光光度法は、AASやICP-MSと比べて分析感度が劣るため、環境基準濃度の測定は難しいことが多い。JIS法で採用されている吸光光度法をTable 1.4にまとめた。陰イオン界面活性剤は、陽イオン色素であるエチルバイオレットとイオン会合体を生成し、トルエン溶媒に抽出させて測定する。鉄イオンの定量では、2価イオンに還元してから1,10-フェナントロリンとキレートを生成させ測定する。リン酸イオンの定量は、ヘテロポリ酸の生成後、これをアスコルビン酸で還元してモリブデン青にして測定する。いずれの成分も濃縮しない限り、1 ppbレベルの分析は難しい。

**Table 1.4 Absorption photometry adopted in JIS method.**

Analytes	Reaction type	DL <sup>a</sup> ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )
Anionic surfactant	Ion association	0.25 <sup>b</sup>
Sb	Ion association	67
Cu	Chelate formation	0.32 <sup>b</sup>
Fe	Chelate formation	200
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Dye formation	200
S <sup>2-</sup>	Dye formation	100
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	Inorganic complex	20 <sup>b</sup>
Mo	Inorganic complex	13

a. Detection limit.

b. Enrichment by solvent extraction.

### 1.3 環境水の現場分析

日常的な水質管理のために、試料採取現場で行える簡易分析法によるスクリーニングの実施が有用である。例えば、インドとバングラデシュにまたがるベンガル地方は、深刻なヒ素の地下水汚染により人への健康被害が見られる<sup>8)</sup>。この地域の地層にはヒ素が多く含まれており、この地層から地下水に大量のヒ素が溶出していることが原因とされる。発展途上国のバングラデシュでは、経済的な理由から1970年代は衛生的な水が使われておらず、河川水や池水が飲用されていた。その後、国際的な援助によって、衛生的な地下水を供給できる井戸が多く設置された。この井戸から得る飲用水は多くのヒ素を含み、健康被害の原因となった。よって、このような地域のヒ素の汚染状況の把握や除去対策を策定するために、ヒ素のモニタリングは重要な役割を担っており、簡易で迅速な現場分析法が求められている。

吸光光度法は、操作が簡易な上に目視比色や可搬型小型比色計によって測定ができるため、これを利用した現場分析のための分析キットが市販されている。例えば、パックテスト<sup>®</sup>は、プラスチック製の容器の中に発色試薬や緩衝試薬、マスキング剤などを封入し、試料を吸い込むことで発色反応を進め、規定の反応時間後の溶液の色を色見本と比較することで定量する方法である<sup>9)</sup>。分析成分が排水基準レベルの濃度であれば十分に定量可能であるが、環境基準レベルの分析は難しい (Table 1.1とTable 1.5)。目視法と比べて小型比色計を用いる定量は分析精度が良い。しかし、従来の吸光光度法を基にしているため、分析感度が悪く、環境基準値を測定できない場合が多い。そのため、目的元素を濃縮するなどの前処理操作が必要となる (Table 1.3)。

Table 1.5 Detection limits (mg L<sup>-1</sup>) of pack test<sup>®</sup>.

Analytes	Visual method	Colorimetry
CN <sup>-</sup>	-	0.1 <sup>a</sup>
Pb	0.05	0.03
Cr(VI)	0.05	0.05
As	-	0.2
PO <sub>4</sub> -P	0.02	0.03

a. Use of a dedicated equipment.

#### 1.4 濃縮技術

吸光光度法の感度不足を補うために、固相抽出や溶媒抽出により目的成分を濃縮する前処理方法が使える。JIS法ではキレート樹脂による分離濃縮法（固相抽出）が採用されており、鉛やカドミウムなどの金属の定量で使用されている<sup>7)</sup>。キレート樹脂にはイミノ二酢酸型やポリアミノポリカルボン酸型、*N*-メチルグルカミン酸型などが用いられる。イミノ二酢酸型のキレート樹脂は、pHが4以下ではカルシウムやマグネシウムなどのアルカリ金属類を捕集できるが、pH4以上では遷移金属元素類しか捕集されない性質を有している。従って、pHを4以上に調節することでアルカリ金属類を分離できるため、高濃度マトリックスを含む海水の分析にキレート樹脂を使う固相抽出法が用いられている。例えば、試料100 mLを固相カラムに通液して目的成分を捕集し、硝酸5 mLで溶出した場合の濃縮率は20倍となる。

溶媒抽出も目的成分の濃縮に用いられる。例えば、JIS K0102(2016)では、銅の定量にジエチルジチオカルバミド酸吸光光度法を用いている。この方法は、試料中の銅イオンを*N,N*-ジエチルジチオカルバミド酸ナトリウムでキレート錯体とし、この錯体を酢酸ブチルで抽出する方法である。これにより、試料中の銅を5倍濃縮することができppbレベルの測定ができる。しかし、溶媒抽出法は、有害な有機溶媒を使うため、近年、その使用は限られるようになった。

## 1.5 膜フィルターを用いる濃縮技術

従来の固相抽出では、吸着剤粒子をカラムに充填し、試料水を流して目的成分を粒子表面に捕集する。捕集後、少量の溶離剤を流して目的成分を流し出し、定量する。吸着と溶離のために溶液を流すため操作が煩雑であった。さらに、イオン交換平衡を保つために溶液を流す速度が大きくできず、濃縮に時間がかかる場合があった。一方、目的成分を疎水性の化学種に変換し、疎水性の化学種に対して強い親和性を示す膜フィルターで過することで目的成分を捕集できる<sup>10)</sup>。この膜フィルターを用いる膜捕集法は、操作が簡易なため現場分析に応用し易い。有機溶媒可溶性の膜フィルターの場合、ジメチルスルホキシドで膜フィルターごと溶解することで、ppbレベルのリンを20～40倍濃縮できる<sup>11)</sup>。多孔性PTFE膜フィルターの場合、捕集物を少量の溶媒で洗い流すことで目的成分を濃縮できる<sup>12)</sup>。ヒ素やリン、鉄、アルミニウム等に応用されており、膜フィルターに色が付く場合は、目視法としても有用である。村居らは、過ヨウ素酸塩吸光光度法と膜捕集法を組み合わせ、溶存マンガンを現場で目視比色定量する方法を提案した<sup>13)</sup>。環境水中のマンガンを過マンガン酸イオンに酸化した後、疎水性イオン会合体として膜フィルターに捕集し、標準色見本との目視比色により数十ppbレベルのマンガンを定量した。

また、近年、キレート樹脂粒子とPTFEを膜フィルター状に成形したものが市販されている(3M®エムポア®ディスク)<sup>14)</sup>。このキレート樹脂を専用のサンプラーに装着し、パッシブサンプラーとして環境水中に浸漬させると有害金属や農薬等が捕集濃縮できる。分析は実験室で行う必要があるが、パッシブサンプラーは捕集期間を長くすることで捕集量を増やせるので、濃縮効率に優れており河川や湖沼のモニタリング調査に使われる。試料水を実験室に持ち帰る必要がないので、輸送中の化学的な性質の変化などの影響が少ない。

以上のように膜フィルターを用いた濃縮法は、微量有害成分の現場分析やサンプリングへの応用が期待できる。

## 1.6 本研究の目的と概要

環境水汚染の監視やモニタリングには現場分析法が有用である。一方、水質汚染を把握するには高感度であるとともに精度よく分析できる現場分析法が必要となる。本研究では、高感度分析の点から、環境基準項目に指定されているヒ素とリンを目的成分とした膜フィルター濃縮を用いる現場分析法を研究開発した。試料採取現場で操作できるろ過装置と反射吸光度を測定する小型分析装置を考案した。また、膜フィルターの捕集特性についても研究し、河川水中の鉄がどのような形態でパッシブサンプラー（キレート樹脂膜フィルター）に捕集されるかを明らかにした。

ヒ素の現場定量法の開発では、モリブデン青反応を利用してヒ素を発色させ、モリブデン青と陽イオン界面活性剤をイオン対凝集物とした。この凝集物を膜フィルターでろ過し、小型反射型比色計のR光（630 nm）で反射吸光度を測定しヒ素を定量した。リンによる妨害がある場合は、ヒ素( )をヒ素( )に還元しヒ素がモリブデン青を発色しないようにさせ、リンのみの反射吸光度を測定し、その反射吸光度を差し引くことで影響を取り除いた。本法を、河川水と温泉水・土壌抽出液に応用した。分析値はJIS法と一致し、信頼性の高い現場分析法であることが示せた。

リンの現場定量法の開発では、ヒ素と同様にモリブデン青反応を利用してリンを発色させ、陽イオン界面活性剤で凝集させて膜フィルターに濃縮し、反射吸光度を測定してリンを定量した。ヒ素による妨害がある場合は、ヒ素( )をヒ素( )に還元しヒ素がモリブデン青として発色しないようにした。本法を、河川水、湧水、水道水に応用し、本法により信頼性の高い現場分析ができることを示した。

パッシブサンプラーは、河川水や湖水などの環境水に置き、装着した膜フィルター表面におけるキレート生成を利用して金属イオンを捕集濃縮できるが、どのような状態の金属イオンを捕まえているのかは明らかになっていない。本研究では、所属研究室で開発された鉄の状態分析を用いてパッシブサンプラーに捕集される鉄の存在状態を調べた。実際の河川水とその疑似河川水中の鉄についてろ過・限外ろ過したフラクション中の反応性・非反応性の鉄を測定し、



パッシブサンプラーに捕集される鉄の存在状態を明らかにした。

## 1.7 参考文献

- 1) 平成26年版日本の水資源について, 第 編 日本の水資源と水循環の現況, 国土交通省 <http://www.mlit.go.jp/common/001049554.pdf> , (accessed 2017-11-22).
- 2) 公害-環境の科学, 毎日新聞社, pp.135-136 (1972)
- 3) 公害-環境の科学, 毎日新聞社, pp.133-134 (1972)
- 4) 総理府令第35号(1971年6月21日) ; 環境省令第14号(2007年6月1日)(最終改正).
- 5) 環境庁告示59号(1971年12月28日).
- 6) 厚生労働省令第101号(2003年5月30日).
- 7) JIS K 0102, 工場排水試験法(2016)
- 8) 山村尊房: 地下水学会誌, **44**, 315 (2000).
- 9) パックテスト, 共立理化学研究所 <<http://kyoritsu-lab.co.jp/seihin/list/packtest/index.html>>, (accessed 2017-12-1).
- 10) 田口茂, 笠原一世, 波多宣子: 分析化学(*Bunseki Kagaku*), **44**, 505 (1995).
- 11) 田口茂, 糸岡栄幸, 後藤克己: 分析化学(*Bunseki Kagaku*), **33**, 453 (1984).
- 12) S.Taguchi, K.Tomizawa, S.Hiyoshi, N.Hata, I.Kasahara, K.Goto: *Anal. Sci.* **91**(1991).
- 13) 村居景太, 本多宏子, 奥村浩, 岡内完治: 分析化学(*Bunseki Kagaku*), **60**, 507 (2011).
- 14) 3M エムポアディスク, 3M ジャパングループ <<http://www.mmm.co.jp/filter/empore/disk/index.html>>, (accessed 2017-12-1).

## 第2章 モリブデン青の膜フィルター捕集を利用するヒ素の高感度現場定量法の開発

### 2.1 緒言

近年、世界各地の発展途上国等においてヒ素に汚染された地下水による慢性的な健康障害が報告されている<sup>1)</sup>。WHOは飲料水中のヒ素の水質基準を $0.01 \mu\text{g mL}^{-1}$ としており<sup>2)</sup>、日本でも同じ値が水道水の水質基準になっている<sup>3)</sup>。一方、天然淡水中に含まれるヒ素濃度は極めて低く、世界の河川水中の平均濃度で $0.004 \mu\text{g mL}^{-1}$ との報告がある<sup>4)</sup>。従って、ヒ素の濃度を監視するためには、簡易で高感度な定量法が有用である。さらに、試料採取現場で測定できれば、試料を採取現場から分析室に移動したり、保存したりする際の影響を最小限にし、正確な定量結果を得ることができる<sup>5)</sup>。

ヒ素の高感度現場分析には、古くからGutzeit法を用いた検査キットが使われてきた。この方法は、試料中のヒ素を還元し、生じたヒ化水素を紙に浸み込ませた臭化水銀紙と反応させ、褐色の呈色を標準色と比較する目視定量法で、検出下限は $0.01 \mu\text{g mL}^{-1}$ である<sup>6,7)</sup>。しかし、毒性の高い水銀化合物を分析試薬に使うため好ましくない。エチルバイオレットが強酸性下でモリブドヒ酸イオンと安定な青色の微粒子を形成する反応は、ヒ素の目視法と吸光光度法に応用され、それぞれの検出下限は $0.01$ 、 $0.004 \mu\text{g mL}^{-1}$ である<sup>8)</sup>。モリブデン担持キレート樹脂表面でのヒ素( )の反応、発色に基づく目視法の検出下限は $0.0075 \mu\text{g mL}^{-1}$ である<sup>9)</sup>。しかし、目視法は分析精度が悪い。検出下限 $0.0004 \mu\text{g mL}^{-1}$ を有する可搬型のヒ素分析装置がある<sup>10)</sup>。この分析装置で、水素化ホウ素ナトリウムにより水素化ヒ素が生成され、オゾン分解により化学発光する水素化ヒ素を光電子増倍管で測定する。しかし、この分析装置はオゾン発生部が重く、化学発光セル部は小さくなく現場分析に適さない。

そこで、本章では、本研究室で開発したモリブデン青法を用いる土壌中の溶出性ヒ素の現場定量法<sup>12)</sup>を改良し、環境基準レベルのヒ素を簡便で迅速に現場定量できるようにした。従来の現場定量法は、所属研究室で開発した可搬型の小型比色計<sup>11)</sup>を使ってモリブデン青発色溶液の吸光度を測定する方法で、検出

限界は $0.012 \mu\text{g mL}^{-1}$ であった<sup>12)</sup>。この方法では、環境基準レベルのヒ素を定量する際は、モリブデン青を少量のMIBK（4-メチル-2-ペンタノン）に抽出して濃縮し、検出下限は $0.006 \mu\text{g mL}^{-1}$ であった。しかし、MIBKは毒物及び劇物取締法に該当しないが、急性毒性や発がん性が疑われている有機溶媒のため好ましくない。本研究では、還元剤で還元したヒ素(V)をモリブデン酸塩と反応させて得たモリブデン青を膜フィルター上に捕集し、所属研究室で開発した小型反射型比色計で反射吸光度を測定する分析法を開発した。モリブデン青を膜フィルターに捕集するための条件、フィルターの材質や膜フィルターの乾燥方法について検討した。最適化した条件で本現場定量法を河川水、温泉水、土壌抽出液の分析に応用し、本法の有用性を明らかにした。

## 2.2 実験

### 2.2.1 試薬と試料

試薬は特記しない限り市販特級品を用いた。水は、特記しない限り、水道水をイオン交換カラムで脱イオン化した後、アドバンテック東洋社製GSL-500型蒸留装置で蒸留し、日本ミリポア株式会社製Simpli UVで精製したものを使用した。ヒ素( )標準溶液は、関東化学株式会社製ヒ素標準溶液As1000(  $1011 \text{ mg As( )/l}$ 、塩化ナトリウム0.05%含む塩酸酸性溶液)を原液とし、適宜水で希釈して標準溶液として使用した。ヒ素( )標準溶液(  $100 \text{ mg L}^{-1}$  )は、関東化学株式会社製鹿特級五酸化ヒ素粉末、 $0.153 \text{ g}$ を3 M塩酸 $3.33 \text{ mL}$ で溶解し、水で $100 \text{ mL}$ とした。これを適宜水で希釈して使用した。モリブデン酸アンモニウム溶液(  $2.5\% \text{ w/v}$  )は、和光純薬工業製特級モリブデン酸アンモニウム $1.25 \text{ g}$ を水に溶解し、水で $50 \text{ mL}$ とした。尿素溶液(  $10 \text{ M}$  )は、和光純薬工業製特級尿素 $30.03 \text{ g}$ を水に溶解し、水で $50 \text{ mL}$ とした。亜硝酸ナトリウム溶液(  $1.0 \text{ M}$  )は、和光純薬工業製特級亜硝酸ナトリウム $3.45 \text{ g}$ を水に溶解し、水で $50 \text{ mL}$ とした。アスコルビン酸溶液(  $20\% \text{ w/v}$  )は、和光純薬工業製特級L(+)-アスコルビン酸 $10 \text{ g}$ を水に溶解し、水で $50 \text{ mL}$ とした。チオ硫酸ナトリウム溶液(  $0.1 \text{ M}$  )は、和光純薬工業製特級チオ硫酸ナトリウム $0.496 \text{ g}$ を水に溶解し、水で $20$

mLとした。これを適宜水で希釈して使用した。ゼフィラミン溶液(0.1 M)は、同仁化学研究所製試験研究用0.697 g水に溶解し、水で20 mLとした。これを適宜水で希釈して使用した。リン標準溶液(1000 mg L<sup>-1</sup>)は、和光純薬工業製特級リン酸水素アンモニウム0.426 gを水に溶解し、水で100 mLとした。これを適宜水で希釈して使用した。

土壌抽出試料は、土壌試料2.0 gをはかり採り、水20 mLを加え、30分間超音波照射(46 kHz)してヒ素を抽出した後、上澄み溶液をセルロース混合エステルメンブランフィルター(孔径0.45 μm)でろ過して得たる液を試料とした<sup>12)</sup>。

### 2.2.2 器具及び装置

現場分析における反射吸光度の測定は、自作の小型反射型比色計(10×7×5 cm, 280 g, Fig. 2.1とFig. 2.2)を用いた。小型反射型比色計は、赤(R)、緑(G)、青(B)のLED発光ダイオード(日亜化学工業製NSTM-515AS, それぞれ最大発光波長630, 530, 470 nm)を逐次点灯させ、光ファイバーでサンプルホルダーに導き、試料フィルターに照射した。反射光を光ファイバーでフォトダイオード(浜松フォトニクス製S2386-18K)まで導き、その光強度を測定した。なお、ファイバー先端とフィルター間の距離を短くすると感度が向上するが、ホルダーの傾きにも敏感になって測定精度が悪化するので、感度と精度を考慮して、この距離を1.5 mmとした。コントローラー内で、ブランクフィルターと試料フィルターの光強度から反射吸光度を計算した。反射吸光度の値を液晶ディスプレイに表示した。ヒ素の定量は赤色の光源(バンド幅25 nm)を用いて測定した。膜フィルター上にモリブデン青を濃縮するためにガラスろ過器と手動吸引ポンプ(ユーコーコーポレーション製)を組み合わせた簡易濃縮器を組み立て使用した(Fig. 2.3)。アドバンテック東洋製膜フィルターC045A025A(セルロース混合エステル, 直径25 mm, 孔径0.45 μm)を装着してろ過した。モリブデン青を捕集したフィルターは、市販の携帯用ヘアドライヤーを使用して乾燥させた。本法の性能を評価するために島津製作所UV-160AまたはUV-2550型紫外可視分光光度計を測定波長840 nmで使用した。セルは光路長10 mmガラスセルを使用した。この他、セイコー電子工業製ICP発光分析装置SPS1500Sまた

はSPS1700を使ってヒ素を定量した。この場合、試料溶液を0.1 M硝酸酸性にし、イットリウムを内標準溶液として添加したものを測定溶液とした。発光強度は、193.696 nm (ヒ素) と371.030 nm (イットリウム) で測定した。

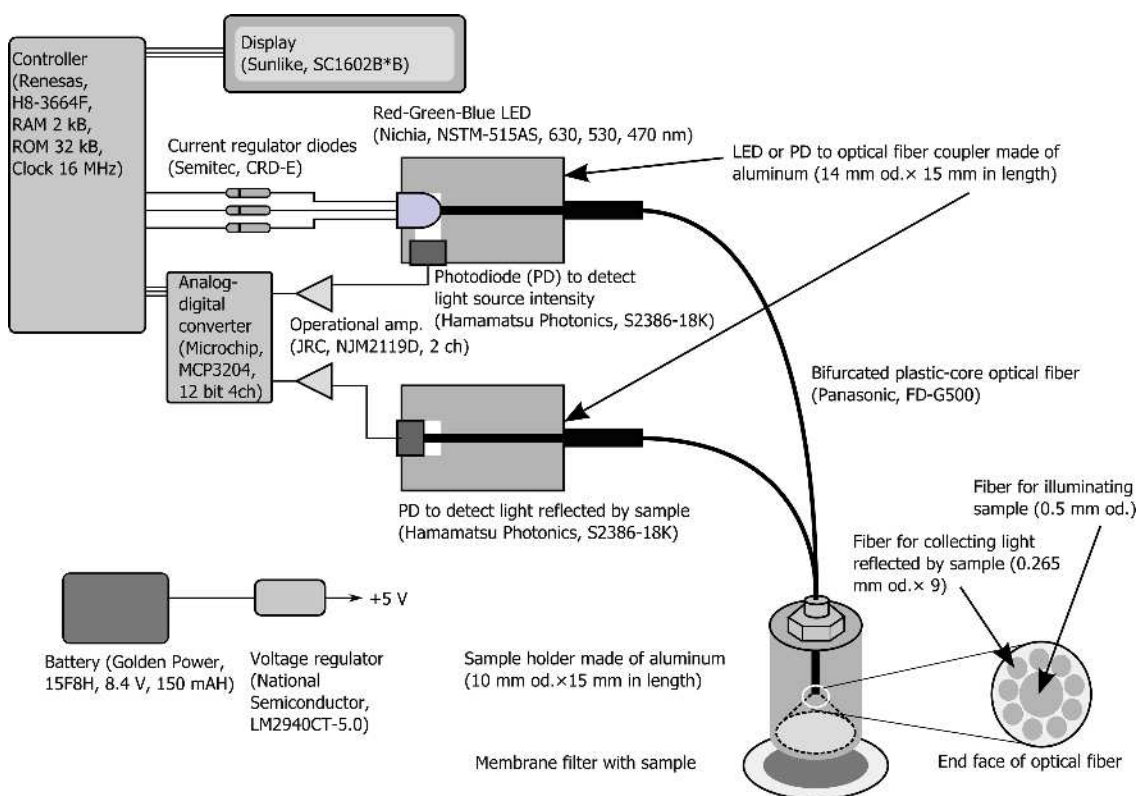


Fig. 2.1 Schematic diagram of reflective colorimeter.



Fig. 2.2 Measurement of reflection-absorption by portable colorimeter.

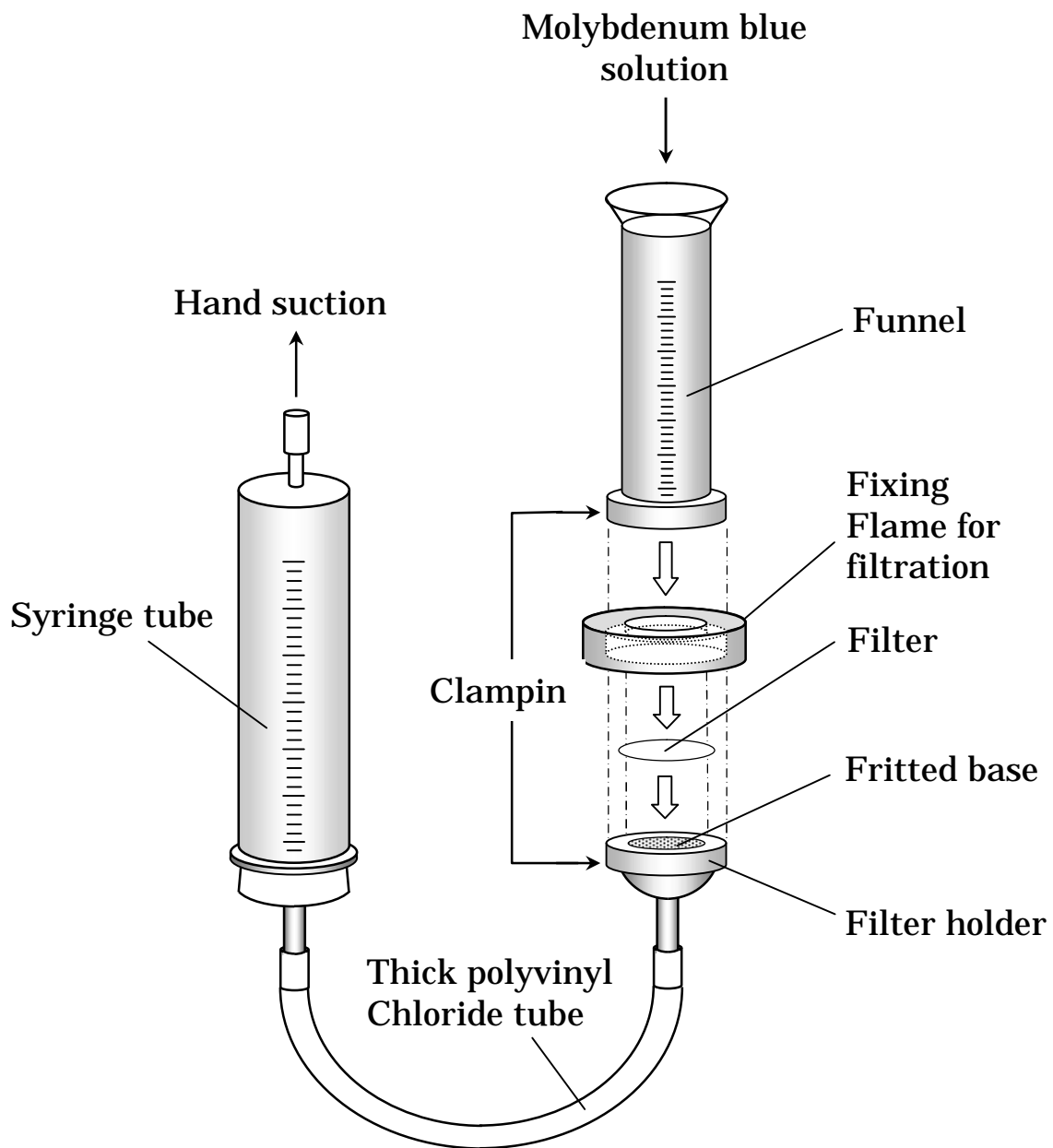


Fig. 2.3 Portable filtration system for collection of molybdenum blue on a membrane filter.

### 2.2.3 分析操作

モリブデン青の発色操作は、所属研究室で以前に開発された方法<sup>12)</sup>を参考にした。本法の分析操作をFig. 2.4に示す。試料の一部を市販のガラス製試料瓶(容積30 cm<sup>3</sup>)に分取し、水で3.8 mLにした後、5 M硫酸0.1 mL、0.05 M過マンガン酸カリウム溶液0.1 mLを加え約0.5分間攪拌してAs( )をAs( )に酸化した。次に10 M 尿素溶液0.05 mL、1 M亜硝酸ナトリウム溶液0.05 mLを加え、紫色が退色するまで手で振り混ぜ、湯浴中(約85 )で約0.5分間加熱し、過マンガン酸イオンを還元するとともに過剰の亜硝酸イオンを分解した。水中で30秒間冷却した後、5 M硫酸0.2 mL、2.5% (0.020 M) モリブデン酸アンモニウム溶液0.2 mL、20% (1.3 M) アスコルビン酸溶液0.5 mLを加え、水で液量を5 mLにした。この溶液を約85 の湯浴中で15分間加熱し、モリブデン青を生成させ、水中で1分間冷却した。その後、0.01 Mゼフィラミン溶液0.015 mLを加え生成したモリブデン青と凝集させ、簡易濃縮器(Fig. 2.3)でモリブデン青発色溶液をろ過し、モリブデン青をフィルター上に捕集濃縮した。フィルターを水2 mLで2回洗いドライヤーで2分間乾燥させ、フィルターの反射吸光度(A)を小型反射型比色計で測定した(Fig. 2.2)。検量線を作成する場合は、試料の代わりにヒ素(III)標準溶液を加え、同様の操作でモリブデン青を発色させフィルター上の反射吸光度を測定した。

リン酸イオンもヒ素( )と同様にモリブデン青を発色するため、リン酸イオンの影響が無視できない場合は、モリブデン酸アンモニウム溶液を加える前に、5 mMチオ硫酸ナトリウム溶液0.2 mLを加えてヒ素( )をヒ素( )に還元し、ヒ素が発色しないようにした。この反射吸光度(B)を測定し、両者の反射吸光度の差(A - B)を検量線の傾きで割りヒ素の濃度を求めた。



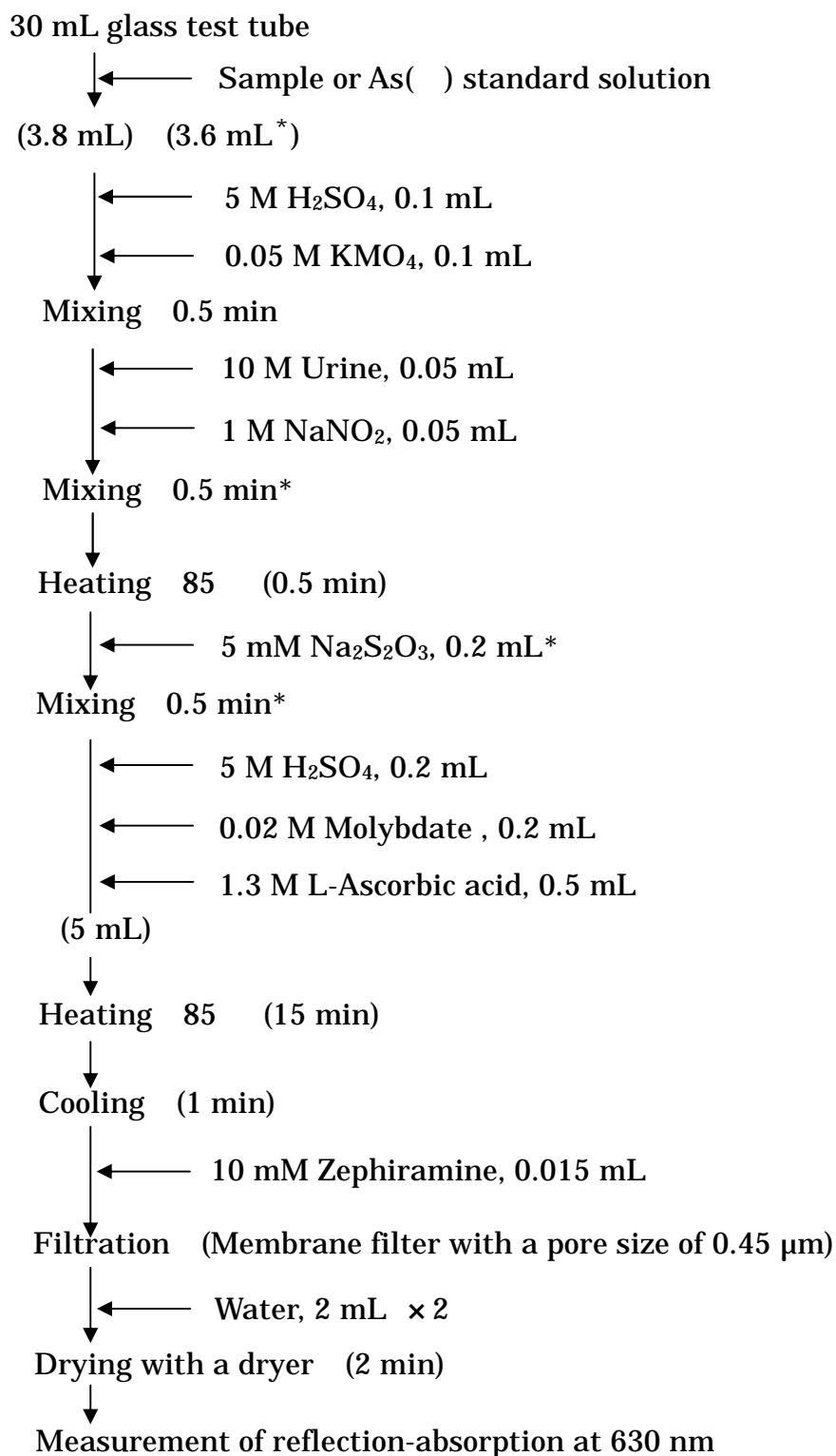


Fig. 2.4 On-site analytical procedure.

\*In absorbance measurement of phosphoric acid.

## 2.3 結果と考察

### 2.3.1 モリブデン青の膜フィルター捕集の検討

モリブデン青は陰イオンの性質があり、陽イオン物質とイオン対凝集物を生成するため、膜フィルター上にヒ素を捕集濃縮できる<sup>13)</sup>。この性質は、陰イオン交換体を用いた濃縮方法としても利用されている<sup>14)</sup>。本法は、膜フィルター上に捕集したモリブデン青の反射吸光度を測定することで簡易な現場定量法を開発することにした。

2種類の代表的な陽イオン界面活性剤（ゼフィラミン）と陰イオン界面活性剤（ドデシルベンゼンスルホン酸, DBS）を用いて、5 µgヒ素を含むモリブデン青をセルロース混合エステル製フィルターに捕集濃縮させた。モリブデン青の発色操作は2.2.3に従った。ろ過前と後の溶液の吸光度を分光光度計（840 nm）で測定し、その吸光度の比から捕集したモリブデン青の回収率を求めた。ろ液の吸光度がゼロの時、ヒ素の回収率を100%とした。陰イオン界面活性剤のDBSを用いた際のモリブデン青の回収率は、DBS濃度0.2 mMで9%であった（Table 2.1）。DBS濃度を濃くして0.3 mMにするとモリブデン青発色溶液が濁ってしまい回収率が測定できなくなった。一方、陽イオン界面活性剤のゼフィラミンは、0.03-0.2 mMの濃度範囲でモリブデン青の回収率が100%であった（Table 2.2）。しかし、0.03 mM以上のゼフィラミン濃度では、凝集物と思われる青色粒子が捕集させるようになり、反射吸光度の再現性が低下した。そのため、本法におけるゼフィラミンの最適濃度は0.03 mMとした。モリブデン青は、ケギン型構造をとる陰イオンのため、陽イオン界面活性剤のゼフィラミンと会合して膜フィルターに捕集されたものと考えられた。

**Table 2.1** The recovery of MB containing 5 µg of arsenic.

10 mM DBS <sup>a</sup> Addition amount (ml)	Absorbance <sup>b</sup> before filtration	Absorbance <sup>b</sup> after filtration	Recovery of MB (%)
0.1	0.171	0.133	22
0.2	0.171	0.155	9
0.3	0.171	0.205	117 <sup>c</sup>

a. Sodium dodecylbenzenesulfonate solution.

b. Measured by double-beam spectrophotometer (840 nm).

c. The solution became turbid.

**Table 2.2** The recovery of MB containing 5 µg of arsenic.

10 mM Zeph <sup>a</sup> (ml)	Absorbance <sup>b</sup> before filtration	Absorbance <sup>b</sup> after filtration	Recovery of MB (%)
0.025	0.171	0.002	99
0.03	0.171	0.000	100
0.05	0.171	0.000	100
0.1	0.171	0.000	100
0.2	0.171	0.000	100

a. Zephiramine solution.

b. Measured by double-beam spectrophotometer (840 nm).

### 2.3.2 膜フィルターの材質の検討

モリブデン青を捕集濃縮させた膜フィルターは、小型反射型比色計で反射吸光度を測定した。モリブデン青は840 nm付近に最大吸収波長をもつので、小型反射型比色計ではこの波長に最も近い630 nmの光源光で反射吸光度を測定した。

モリブデン青とゼフィラミンのイオン対凝集物が膜フィルターに捕集されるメカニズムは、単純に膜フィルターの目に凝集物が詰まり捕集されるだけでなく、疎水性相互作用や膜フィルターの素材とイオン対凝集物の官能基における極性の静電的な相互作用にも起因すると報告されている<sup>15)</sup>。そこで、親水性であるセルロース混合エステル膜フィルターと疎水性PTFE膜フィルターの2種類の膜フィルターを用いて、モリブデン青を捕集した際のフィルターの反射吸光度を測定した (Table 2.3)。セルロース混合エステル膜フィルターでは、乾燥した状態でも濡れた状態でも疎水性PTFE膜フィルターより、明瞭な青色が目視で確認できた。また、乾燥させたセルロース混合エステル膜フィルターの反射吸光度は、疎水性PTFE膜フィルターより2倍以上高い反射吸光度を示した。そのため、以後、反射吸光度の高いセルロース混合エステル膜フィルターを用いてモリブデン青を捕集することにした。

**Table 2.3** Effect of filter material on reflection-absorbance.

Filter type	Concentration of arsenic/mg L <sup>-1</sup>	Reflection-absorbance <sup>c</sup>
PTFE <sup>a</sup> membrane filter (air dried)	0.086	0.041±0.004
	0.172	0.092±0.006
MCE <sup>b</sup> membrane filter (air dried)	0.086	0.116±0.012
	0.172	0.196±0.012

a. Hydrophilic polytetrafluoroethylene (PTFE) membrane filter.

b. Mixed cellulose ester membrane filter.

c. Averages of the four concentric points.

現場分析する際は、モリブデン青を捕集後、そのまま膜フィルターの反射吸光度を測定できれば、定量法は迅速となる。しかし、濡れた試薬ブランクの膜フィルターの反射吸光度を測定した値(0.218)(Table 2.4)は、30分風乾させた際の反射吸光度の平均値(0.044)より5倍高かった。同時に、モリブデン青の均一性も評価した。乾燥した膜フィルターの4点の反射吸光度の標準偏差は0.002であり、濡れた膜フィルターの5倍低かった。そのため、セルロース混合エステル膜フィルターを乾燥させて反射吸光度を測定することにした。

**Table 2.4 Influence of filter condition on reflection-absorbance.**

Filter <sup>a</sup> condition	Concentration of arsenic/mg L <sup>-1</sup>	Reflection-Absorbance <sup>b</sup>
Wet	0	0.218±0.011
	0.043	0.228±0.007
	0.086	0.240±0.010
	0.172	0.278±0.009
Dried <sup>c</sup>	0	0.044±0.002
	0.043	0.053±0.002
	0.086	0.072±0.003
	0.172	0.092±0.003

a. Mixed cellulose ester membrane filter.

b. Averages of the four concentric points.

c. Air drying for 30 minute.

### 2.3.3 膜フィルターの乾燥方法の検討

膜フィルターを1時間風乾させると ( Fig. 2.5 ) 反射吸光度がほぼ一定値 (  $0.007\pm 0.002$  ) ( Table 2.5 ) になったが、時間がかかった。そこで膜フィルターを迅速に乾燥させる方法を検討することにした。濡れた膜フィルターをろ紙で挟み込み水分を取り除く方法では、乾燥に40分かかった。石油エーテルは水に不溶であるが、水で濡れた膜フィルターを石油エーテルで洗うと25分で乾燥できた。濡れた膜フィルターにヘアドライヤーで温風を吹き付ける方法では、乾燥に2分しかかからなかった。そのため、本法では短時間で膜フィルターを乾燥できるドライヤーを使用することにした。試薬ブランクをドライヤーで乾燥させた際の反射吸光度 (  $0.003\pm 0.001$  ) の再現性は良好であった。

Table 2.5 Effect of drying method on reflection-absorbance of reagent blank sample.

Drying method	Dry time (min)	Reflection-absorbance <sup>a</sup>
Air drying	60	$0.007\pm 0.002$
Sandwiching with filter-paper (Air drying)	40	0.004
Washing with petroleum ether(Air drying)	25	$-0.003\pm 0.002$
Blowing hot air(hair dryer)	2	$0.003\pm 0.001$

a. Averages of the four concentric points.

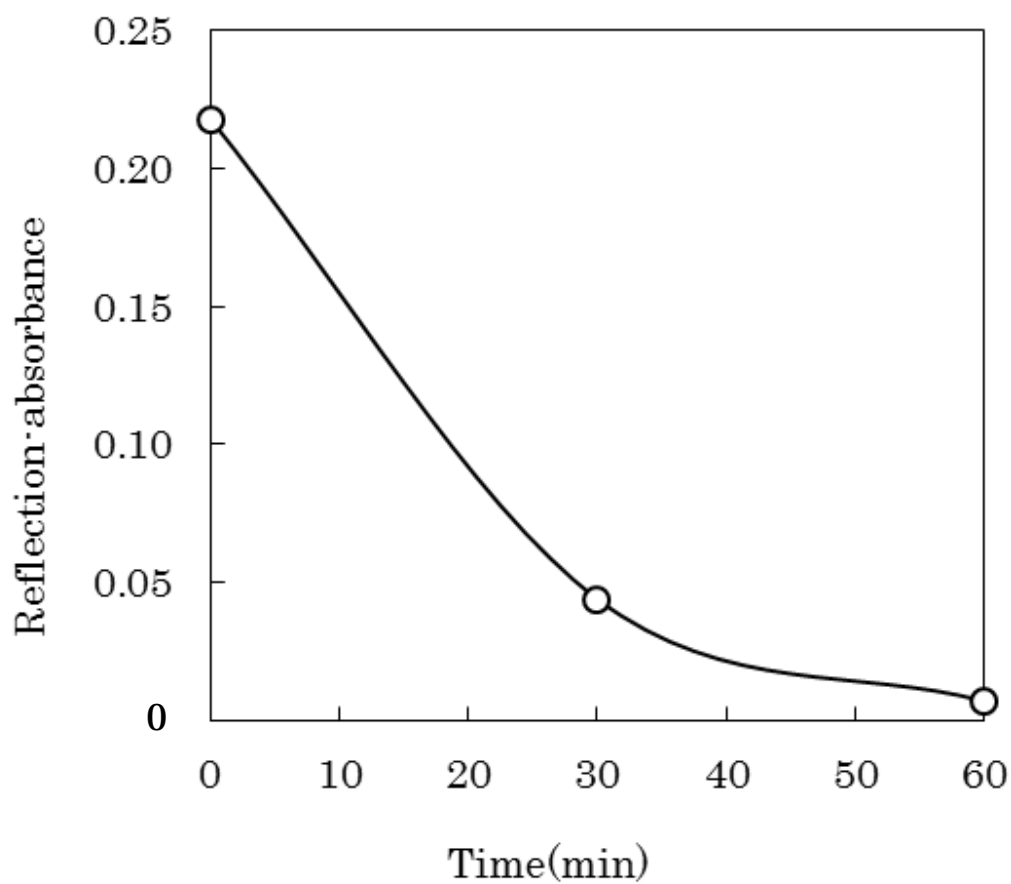


Fig. 2.5 Change with time of the reflection-absorbance of the reagent blank sample (Air drying).



### 2.3.4 捕集されるモリブデン青の均一性の検討

膜フィルター上のモリブデン青の均一性は、異なる濃度(0, 0.2, 0.4, 0.5, 0.8, 1 µg)のヒ素( )とヒ素( )を含むモリブデン青を膜フィルターに捕集して評価した。すべてのヒ素濃度で膜フィルター上の4ヶ所の反射吸光度の標準偏差は、0.002またはそれより低かった( Table 2.6とTable 2.7)。すべてのヒ素濃度で膜フィルター中央の反射吸光度は、ばらつき(標準偏差)の範囲で4ヶ所の平均値と一致した。そのため、試料採取現場で反射吸光度を測定する際は、膜フィルターの中央を測定することにした。

Table 2.6 Homogeneity test of Molybdenum Blue on filter.

Arsenic( ) amount/µg	Reflection- absorbance (4 point)	Average Reflection- absorbance <sup>a</sup>	Center Reflection- absorbance
0	0.006, 0.007, 0.007, 0.006	0.006±0.0004	0.006
0.2	0.058, 0.060, 0.061, 0.062	0.060±0.001	0.060
0.4	0.105, 0.103, 0.106, 0.107	0.105±0.001	0.105
0.5	0.119, 0.116, 0.119, 0.120	0.118±0.002	0.119
0.8	0.169, 0.169, 0.167, 0.163	0.168±0.002	0.168
1.0	0.176, 0.169, 0.171, 0.172	0.172±0.002	0.171

a. Averages of the four concentric points.

Table 2.7 Homogeneity test of Molybdenum Blue on filter.

Arsenic( ) amount/ $\mu\text{g}$	Reflection- absorbance (4 point)	Average Reflection- absorbance <sup>a</sup>	Center Reflection- absorbance
0	0.006, 0.007, 0.008, 0.007	0.007 $\pm$ 0.001	0.007
0.2	0.056, 0.057, 0.057, 0.055	0.056 $\pm$ 0.001	0.056
0.4	0.097, 0.098, 0.100, 0.099	0.099 $\pm$ 0.001	0.099
0.5	0.112, 0.109, 0.110, 0.112	0.111 $\pm$ 0.001	0.107
0.8	0.173, 0.173, 0.172, 0.171	0.172 $\pm$ 0.001	0.172
1.0	0.176, 0.175, 0.176, 0.173	0.175 $\pm$ 0.001	0.175

a. Averages of the four concentric points.

### 2.3.5 ヒ素の現場分析法の定量性能

2.2.3の分析操作に従ってヒ素の検量線を作成し、その直線範囲と検出限界を求めた。ヒ素( )とヒ素( )の検量線は、0.5  $\mu\text{g}$ まで相関係数0.995で直線性を示した (Fig. 2.6)。試薬ブランクの反射吸光度を5回繰り返して測定し、得られた反射吸光度の標準偏差 ( $\sigma$ ) の3倍 ( $3\sigma$ ) に相当するヒ素( )量を検出限界として求めた結果、その値は0.01  $\mu\text{g}$  ( $n=5$ )であった。3ml試料中のヒ素( )濃度に換算した検出限界は0.003  $\mu\text{g mL}^{-1}$ であった。

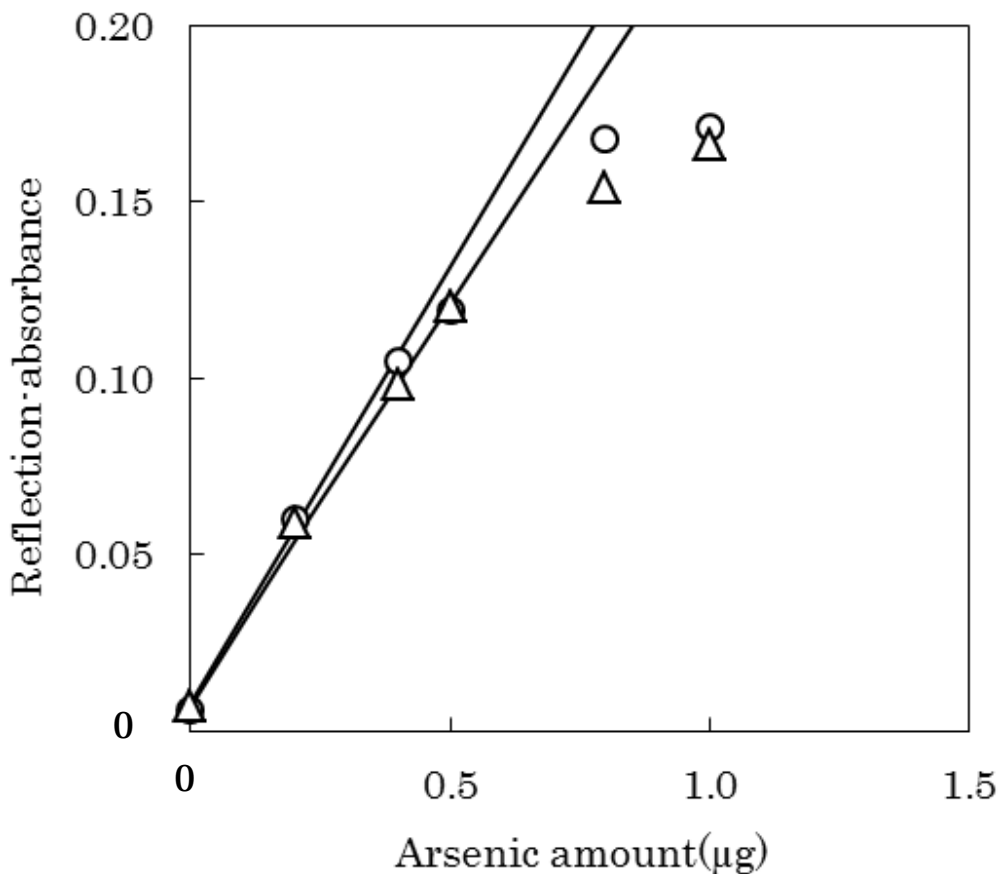


Fig. 2.6 Calibration curves for (  $\Delta$  ) As(III) and (  $\circ$  ) As(V).

### 2.3.6 実際試料への応用

2.2.3の分析操作に従い、河川水と温泉水、土壌抽出試料を分析した結果をTable 2.8に示す。本法の分析結果をICP発光分析法やモリブデン青溶液の吸光度を分光光度計で測定する従来法で結果を比較した。すべての試料でリン酸イオンに起因する反射吸光度が測定されたためその影響を補正した。土壌抽出試料と温泉水試料の分析値は、他の分析法の定量値と10%以内の誤差で一致した。河川水試料は、すべての分析法で検出限界以下であった。本法を用いることで環境基準 $0.01 \mu\text{g mL}^{-1}$ レベルの濃度が定量できることが確かめられた。

Table 2.8 Analytical results of arsenic in water samples.

No.	Sample	Sample taken <sup>b</sup> / mL	Concentration of arsenic <sup>a</sup> /mg L <sup>-1</sup>		
			Reflection-absorption colorimetry	Spectrophotometry	ICP-AES <sup>c</sup>
1	Arakawa river	3.5	<0.003 <sup>d</sup>	<0.01 <sup>d</sup>	<0.03 <sup>d</sup>
2	Masutomi hot spring <sup>e</sup>	0.05	4.5, 4.6	4.8, 4.9	4.9 ± 0.2
3	Masutomi hot spring <sup>e</sup>	0.02	1.8, 1.6	-	1.7 ± 0.2
4	Soil extract	0.025	8.1, 7.3	7.9, 8.0	7.8 ± 0.3

a. In ICP-AES, the analytical value is indicated by average±standard deviation in three determinations. Two analytical values are indicated for the other methods.

b. In the reflection-absorption colorimetry.

c. ICP-AES denotes inductively coupled plasma atomic emission spectrometry.

d. Values indicate detection limits for each analytical method. They are variable with the volume of sample taken.

e. Unfiltered hot spring water was analyzed as Sample No. 2. This sample was filtered after storage for 5 day, and then analyzed as Sample No. 3.

## 2.4 結論

環境試料水中の微量ヒ素を試料採取現場で迅速に定量できる現場定量法を開発した。モリブデン青法により生成したモリブデン青溶液に陽イオン界面活性剤のゼフィラミンを加えることで、膜フィルター上にモリブデン青を捕集濃縮することができた。フィルターの材質や乾燥状態などを検討し、孔径0.45  $\mu\text{m}$ のセルロース混合エステル膜フィルターでモリブデン青を捕集した後、膜フィルターを乾燥させて小型反射型比色計で反射吸光度(630 nm)を測定することによりヒ素が定量できるようになった。ヒ素の検量線は、0.5  $\mu\text{g}$ まで直線性を示し、検出限界は0.01  $\mu\text{g}$  (0.003  $\mu\text{g mL}^{-1}$ )であった。本法を河川水、温泉水、土壌抽出試料に応用することができ、環境基準レベルのヒ素を約25分で定量できた。

## 2.5 参考文献

- 1) Environmental Health Criteria 224, "Arsenic and Arsenic Compounds", 2nd ed., 2001, International Programme on Chemical Safety, World Health Organization, Geneva, <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc224.htm#1.0>.
- 2) WHO : "Guidelines for Drinking-Water Quality", 4th ed., 2011, WHO Press, Geneva, 315.
- 3) 厚生労働省令101号, 水質基準に関する省令 (2003).
- 4) C.Reimann and P.de Caritat, "*Chemical Elements in the Environment, Factsheets for the Geochemist and Environmental Scientist*", 1998, Springer, Berlin, 43.
- 5) A.R.Kumar and P.Riyazuddin, *Trends Anal.Chem.*, 2010, 29, 1212.
- 6) Arsenic Test Kit, Catalog No.28000-88, 2000, Hach Company, Loveland, CO, U.S.A.
- 7) D.G.Kinniburgh and W.Kosmus, *Talanta*, 2002, 58, 165.
- 8) K.Morita and E.Kaneko, *Anal.Sci.*, 2006, 22, 1085.
- 9) H.Matsunaga, C.Kanno, and M.Suzuki, *Talanta*, 2005, 66, 1287.

- 10) Md.A.Hashem, T.Jodai, S.Ohira, K.Wakuda, and K.Toda, *Anal. Sci.*, **2011**, *27*, 733.
- 11) Y.Suzuki, T.Aruga, H.Kuwahara, M.Kitamura, T.Kuwabara, S.Kawakubo, and M.Iwatsuki, *Anal.Sci.*, **2004**, *20*, 975.
- 12) 川久保進, 佐々木一憲, 丸田俊久, 鈴木保任, 小向雄人, *無機マテリアル学会誌*, **2007**, *14*, 166.
- 13) C.Matsubara, Y.Yamamoto, and K.Takamura, *Analyst* [London], **1987**, *112*, 1257.
- 14) V.P.Dedkova, O.P.Shvoeva, and S.B.Savvin, *J.Anal.Chem.*, **2002**, *57*, 298.
- 15) S.Taguchi, I.Kasahara, and N.Hata, *Bunseki Kagaku*, **1995**, *44*, 505.

## 第3章 モリブデン青の膜捕集を利用するリンの高感度な現場反射吸光光度定量

### 3.1 緒言

リンは、人や家畜などのし尿や化学肥料等に含まれるため、生活排水、農業排水、工業排水などから河川水や湖水などに混入し、流入水域を豊栄養化し、赤潮やアオコなどの環境問題を引き起こす原因となる。従って、これらの水域におけるリン濃度の監視は、自然環境の水質保全のために重要である。環境省の水質汚濁に係る環境基準では、自然環境の保全のために湖沼における全リンの濃度（年間平均値）を $0.005 \mu\text{g mL}^{-1}$ 以下に規制している<sup>1)</sup>。これより、水質の管理や汚染の監視のためには $0.001 \mu\text{g mL}^{-1}$ レベルの測定ができるリンの定量法が必要である。また、汚染経路の調査や急激な濃度変化を監視するためには、試料採取現場で迅速に分析できる簡易な現場分析法が望まれる。リンの代表的な定量法としてモリブデン青吸光光度法が用いられるが<sup>2)</sup>、分析操作は現場分析向きでなく、濃縮しても $0.001 \mu\text{g mL}^{-1}$ レベルの測定は難しい。

デジタルパックテスト<sup>®</sup>は市販の現場分析キットで<sup>3)</sup>、リン酸態のリンをモリブデン青として発色させた後、専用の小型比色計を使って $0.03 \sim 1 \mu\text{g mL}^{-1}$ の範囲を測定できるが、環境基準濃度を監視するためには感度が不足する。ポリウレタンフォームディスク上にモリブデン青を吸着濃縮し、拡散反射率を測定する方法で検出限界 $0.002 \mu\text{g mL}^{-1}$ が得られるが、ポリウレタンフォームディスクへの着色に30分かかるため迅速な分析はできない<sup>4)</sup>。モリブデン青を生成させた後、ドデシルトリメチルアンモニウムブロミドを加えモリブデン青をフィルター上に吸着濃縮させ、発色を色標準と目視で比較して測定する方法がある<sup>5)</sup>。この方法の検出限界は $0.0003 \mu\text{g mL}^{-1}$ と高感度であるが、モリブデン青の生成に50℃の加温が必要なため現場分析に向かない。本研究では、加温せず迅速にリンをモリブデン青として発色させ、テトラデシルジメチルベンジルアンモニウムクロリド二水和物（ゼフィラミン）を加えてモリブデン青を凝集させて膜フィルターに捕集し、フィルター上のモリブデン青の反射吸光度を小型反射型比色計で測定する方法を開発した。本法を河川水及び水道水に含まれる $0.001$

~ 0.1  $\mu\text{g mL}^{-1}$ レベルのリンの定量に応用した。

## 3.2 実験

### 3.2.1 試薬

試薬は特記しない限り市販特級品を用いた。水は、特記しない限り、水道水をイオン交換カラムで脱イオン化した後、アドバンテック東洋社製GSL-500型蒸留装置で蒸留し、日本ミリポア株式会社製Simpli UVで精製したものを使用した。リン標準溶液 ( $1.00 \text{ g P L}^{-1}$ ) は、和光純薬工業製特級リン酸水素アンモニウム0.426 gを水に溶解し、水で100 mLとした。これを適宜水で希釈して使用した。ヒ素溶液 ( $1.00 \text{ g As(V) L}^{-1}$ , 0.1 M塩酸) は五酸化二ヒ素0.153 gを3 M塩酸に溶かし適宜水で希釈して用いた。モリブデン酸アンモニウム溶液 (2.0 mM) は、和光純薬工業製特級モリブデン酸アンモニウム1.25 gを水に溶解し、水で50 mLとした。アスコルビン酸 (AA) 溶液 (1 M) は、和光純薬工業製特級L(+)-アスコルビン酸10 gを水に溶解し、水で50 mLとした。アミド硫酸アンモニウム溶液 (0.10 M) は、和光純薬工業製JIS特級アミド硫酸アンモニウム0.57 gを水に溶解し、水で50 mLとした。チオ硫酸ナトリウム溶液 (0.1 M) は、和光純薬工業製特級チオ硫酸ナトリウム0.496 gを水に溶解し、水で20 mLとした。これを適宜水で希釈して使用した。ビスマス溶液 ( $100 \mu\text{g Bi mL}^{-1}$ , 0.48 mM) は硝酸ビスマス五水和物0.2 gを6 M硝酸で溶解し、水で希釈して調製した (0.03 M硝酸溶液)。定量操作を簡単にするためにこれらの試薬溶液を混ぜて混合試薬溶液 (2.1 mMモリブデン酸アンモニウム - 0.30 mM ビスマス - 17 mMアミド硫酸アンモニウム - 0.54 M硫酸) として用いた。ゼフィラミン溶液 (0.1 M) は、同仁化学研究所製試験研究用0.697 g水に溶解し、水で20 mLとした。これを適宜水で希釈して使用した。2,6 ジメチル-4-ヘプタノン (DIBK) は、和光純薬工業製特級2,6 ジメチル-4-ヘプタノンを使用した。



### 3.2.2 器具及び装置

小型反射型比色計<sup>6)</sup> (10×7×5 cm, 280 g) は、第2章のヒ素の現場定量法と同じ装置を使用した (Fig. 2.1とFig. 2.2)。リンの定量でも赤色 (630 nm) の光源 (バンド幅25 nm) を使って測定した。膜フィルター上にモリブデン青を濃縮する際は、ヒ素の現場定量法と同じ簡易濃縮器<sup>6)</sup>を使用した。アドバンテック東洋製膜フィルターC04A025A (セルロース混合エステル、直径25 mm、孔径0.45 μm) を装着してろ過した。モリブデン青を捕集したフィルターは、市販の携帯用ヘアドライヤーを使用して乾燥させた。

溶液の吸光度を測定する場合は、特記しない限り、島津製作所製UV-160 A型紫外可視分光光度計を使い、光路長10 mmガラスセルに測定溶液を入れて波長720 nm (ビスマス溶液を加えない場合は880 nm<sup>2)</sup>) で吸光度を測定した。

### 3.2.3 リンの現場分析法の定量操作

#### 3.2.3.1 モリブデン青の生成

0.003 ~ 0.1 μgのリンを含む試料水をガラス製小型瓶に採り、水で3.3 mLにした。混合試薬溶液1.6 mL、0.28 M L-アスコルビン酸溶液0.1 mLを加えた後 (全量5 mL) 反応温度10 ~ 40 °Cで約10分間反応させモリブデン青を生成させた (Fig. 3.1)。共存するヒ素(V)がモリブデン青を生成して妨害する場合は、試料水に5 M硫酸0.173 mLを加え、水で3.0 mLにした後、5 mMチオ硫酸ナトリウム溶液0.3 mLを加えて5分間放置し、ヒ素(V)をヒ素(III)に還元してヒ素が発色しないようにした。この場合、硫酸を含まない混合試薬溶液でモリブデン青を生成させる。試料を増やす場合は、添加する試薬溶液量と発色溶液の全量を、上記と同じ体積比に保ち、試料量を増やした。

#### 3.2.3.2 モリブデン青の濃縮と反射吸光度の測定

前項に従って発色させたモリブデン青溶液5 mLに0.01 Mゼフィラミン溶液0.015 mLを加えてモリブデン青を凝集させた。膜フィルターを装着した簡易濃

縮器<sup>6)</sup> ( Fig. 2.3 ) でこの溶液をろ過し、モリブデン青をフィルター上に捕集した。フィルターを水2 mLで2回洗い、携帯用ヘアドライヤーで2分間乾燥させた。小型反射型比色計のサンプルホルダーをフィルター上の発色部に被せ、R光 ( 630 nm ) での反射吸光度を測定した ( Fig. 3.1 )。リンの検量線は、試料水の代わりにリン標準溶液を加えて発色させ、フィルター捕集したものを測定して作成した。未使用の膜フィルターの反射吸光度が零になるように小型反射型比色計を調整した。

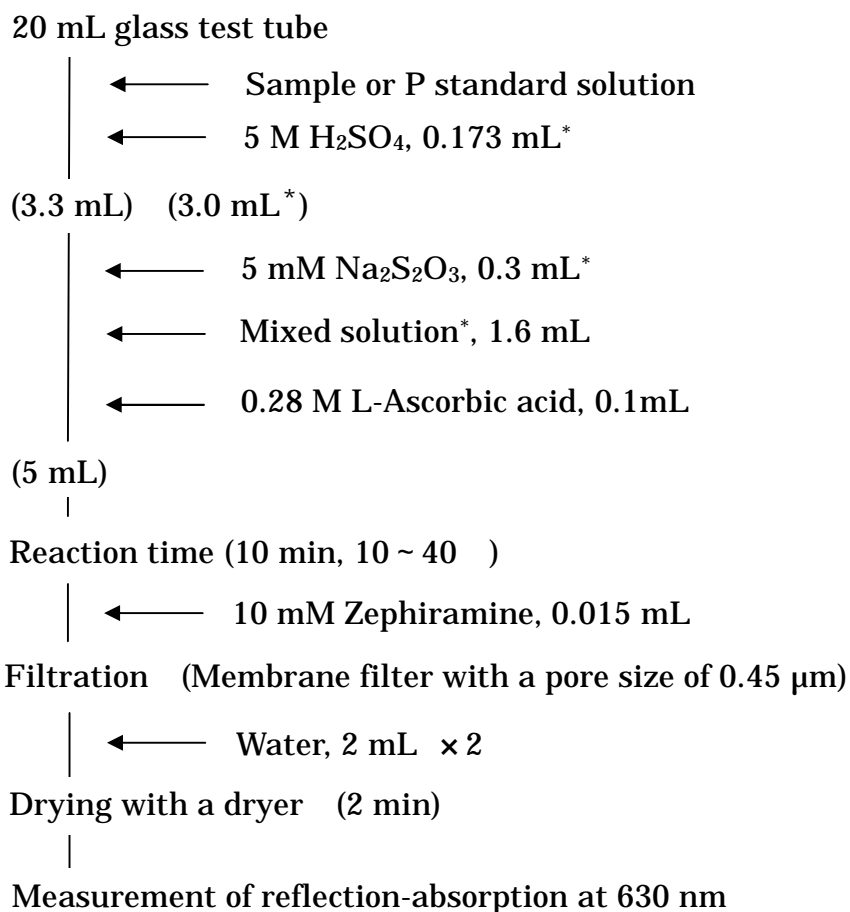


Fig. 3.1 On-site analytical procedure.

\*In the coexistence of arsenic, the mixed solution without sulfuric acid was used.

### 3.2.4 JIS法による低濃度リンの定量操作

JIS 0102(2016)で用いられているリンの定量法(モリブデン青吸光度法)に準拠した分析法 (Fig. 3.2) をJIS法と呼び、本法と比較するために用いた。使う溶液量はJIS法の3/5量にした。20 mLガラス製瓶に試料水を採り、水で13.35 mLにした。混合試薬溶液(4.8 M硫酸 - 0.0081 Mモリブデン酸アンモニウム - 0.00060 M酒石酸アンチモニルカリウム - 0.073 Mアミド硫酸アンモニウム - 0.068 Mアスコルビン酸) 1.65 mLを加え、20~40 の室温で約15分間反応させモリブデン青を生成させた。その後、発色溶液の吸光度を水を参照に880 nmで測定した。また、低濃度のリンを定量する際は、20 mL分液漏斗中で上記と同様の操作で発色させた溶液に2,6 ジメチル-4-ヘプタノン(DIBK)1.5 mLを加え約5分間振り混ぜた。静置後に水層を捨て、MIBK層の吸光度を水を参照に640 nmで測定した。リンの検量線は、試料の代わりに異なる濃度のリン標準溶液を加えて反応させて作成した。

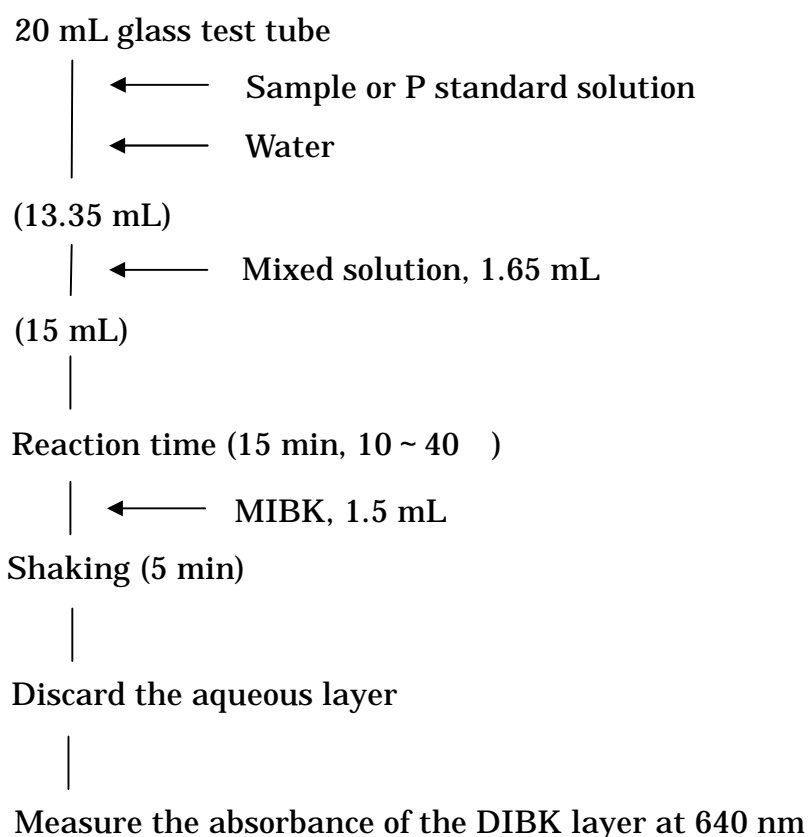


Fig. 3.2 Analytical procedure of JIS method.

### 3.3 結果と考察

#### 3.3.1 モリブデン青の生成条件

JIS法<sup>2)</sup>では、迅速にモリブデン青を生成させるために5 mM AAとともにアンチモン(III)を酒石酸アンチモニルカリウム{ビス[(+)-タルトラト]ニアンチモン( )酸カリウム三水和物}として加え20~40°Cで15分間反応させるが、この化合物は劇物である。一方、アンチモン(III)を加えなくてもAA濃度と反応温度を高くすると反応が進み、1 M AAの場合、反応温度40°C、反応15分間ではほぼ一定の吸光度(880 nm)に達した(Fig. 3.3とFig. 3.4)。しかし、この温度では反応温度を一定に制御する機器が必要になるため現場分析には向かない。

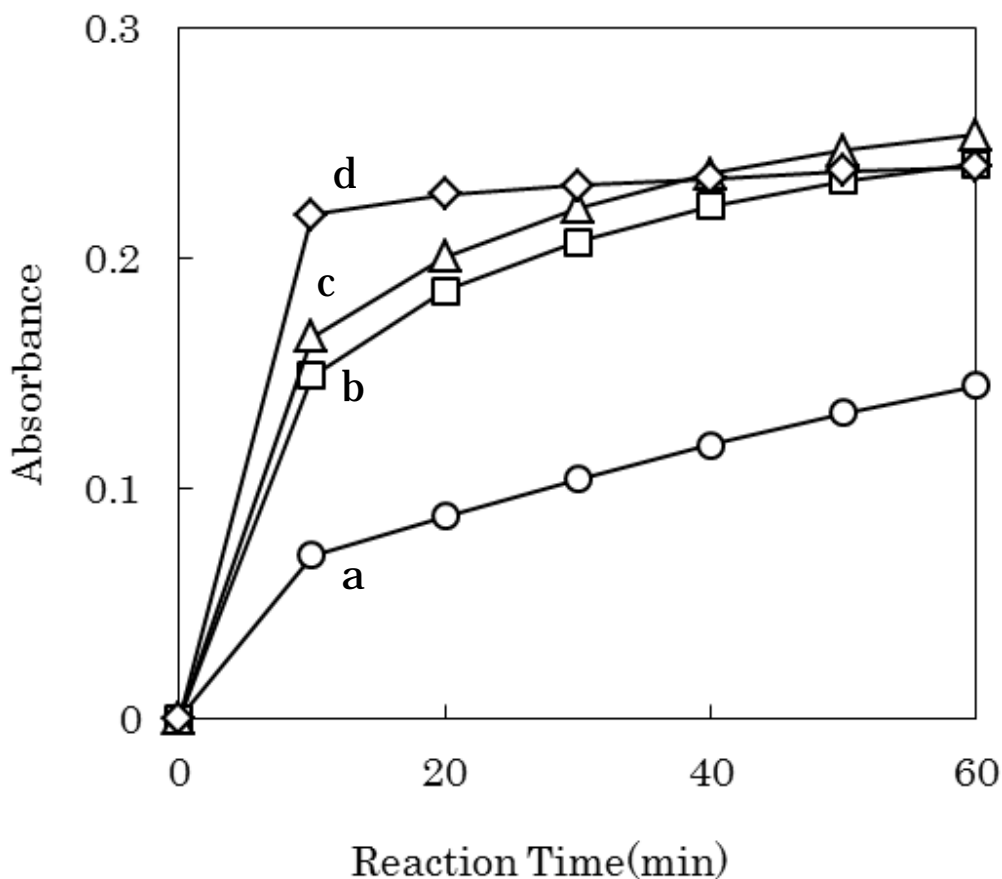


Fig. 3.3 Reaction curves for formation of Molybdenum Blue in the presence of 0.50  $\mu\text{g P/ml}$  under reaction conditions of 0.1 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 0.61 mM hexaammonium heptamolybdate, 5.4 mM ammonium amidosulfate, 0.0051(a), 0.11(b), 0.5(c), 1(d) M L-ascorbic acid at 30 .

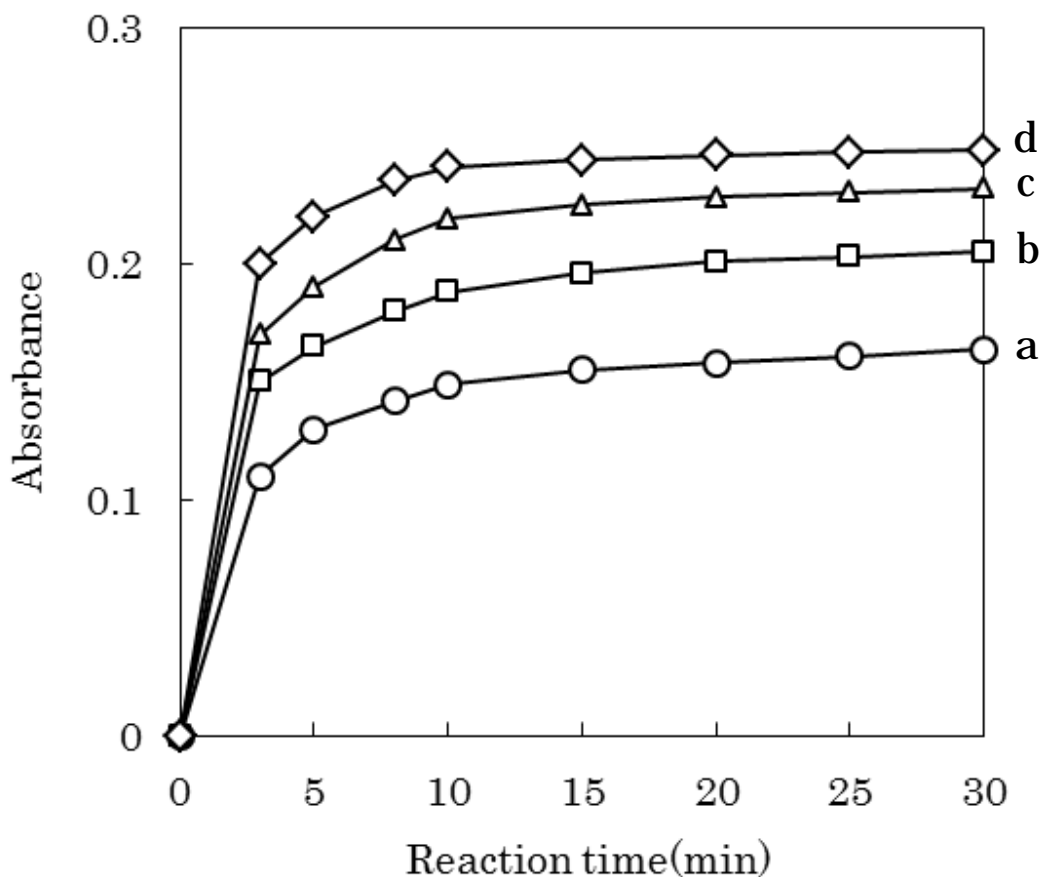


Fig. 3.4 Reaction curves for formation of Molybdenum Blue in the presence of 0.50  $\mu\text{g P/ml}$  under reaction conditions of 0.1 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 0.61 mM hexaammonium heptamolybdate, 5.4 mM ammonium amidosulfate, 1 M L-ascorbic acid at 10(a), 20(b), 30(c), 40(d) .

アンチモン(III)の代わりに毒性の低いビスマス(III)を使う方法<sup>7)8)</sup>もある。本研究では、ビスマス(III)を使うモリブデン青法の反応条件を基に、亜硝酸イオンの妨害の防ぐためにアミド硫酸アンモニウムを加え<sup>2)</sup>、モリブデン青の生成条件を検討した。特記しない限り、3.2.3の定量操作(反応温度25°C)に従ってモリブデン青を生成し、溶液の吸光度を測定した。また、試薬溶液は、混合試

薬溶液の代わりに、硫酸、モリブデン酸アンモニウム溶液、アミド硫酸アンモニウム溶液を順次加えた。

0.50  $\mu\text{g mL}^{-1}$  (2.5  $\mu\text{g}$ ) のリンを10、25、40°Cで発色させ、溶液の吸光度の経時変化を測定し、反応溶液の温度の吸光度への影響を調べた (Fig. 3.5)。反応温度が低い10 °Cでも5分で一定の吸光度に達した。その後、いずれの温度でも、30分までは吸光度は変化せず、その値は3%の誤差で一致した。ビスマス(III)の添加では反応温度を制御する必要がないので現場分析に好都合であった。以後、特記しない限り、ビスマス(III)を加え、約10分間反応させてモリブデン青を生成させることにした。

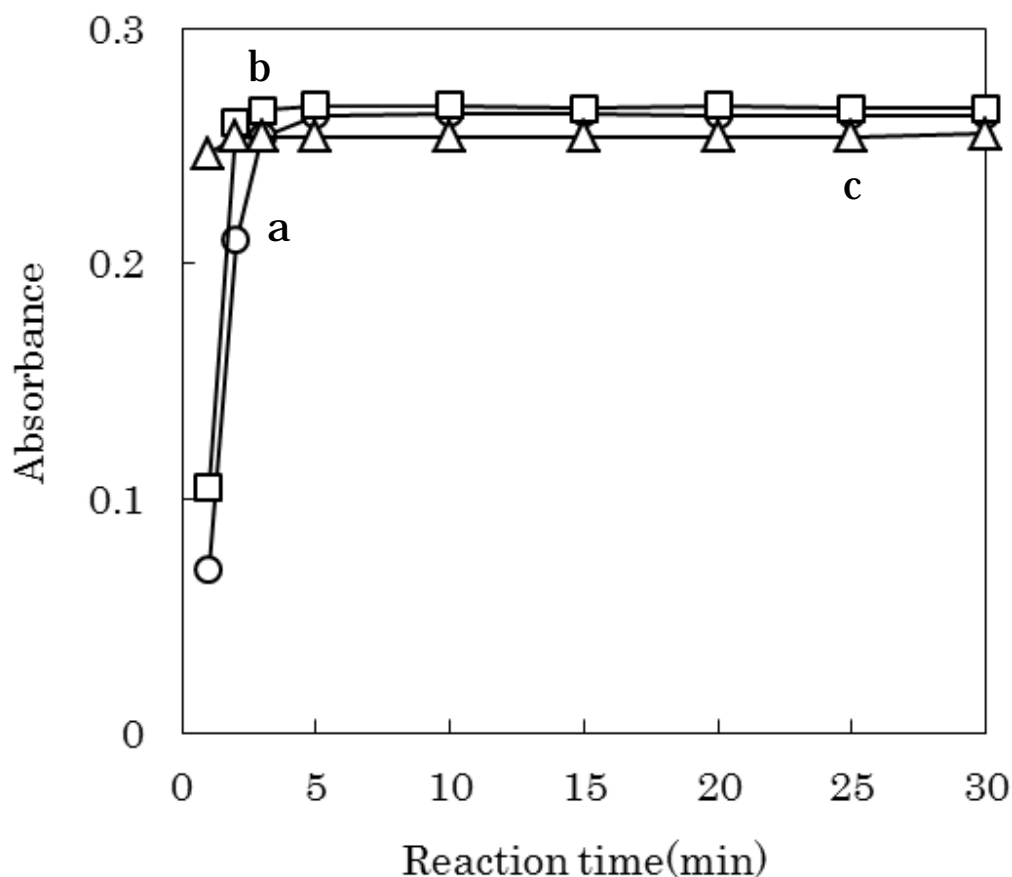


Fig. 3.5 Reaction curves for formation of Molybdenum Blue in the presence of 0.50  $\mu\text{g P/ml}$  under reaction conditions of 0.17 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 0.67 mM hexaammonium heptamolybdate, 0.096 mM  $\text{Bi}(\text{III})$ , 5.4 mM ammonium amidosulfate, 5.7 mM L-ascorbic acid at 10(a), 25(b), 40(c) .

AA濃度の発色への影響を調べるため、 $0.50 \mu\text{g mL}^{-1}$ のリンを $5.7 \text{ mM}^{(7)8)}$ と $114 \text{ mM}$ のAAで発色させたが吸光度は同じであった (Table 3.1)。これらのAA濃度で、 $0.02 \sim 0.10 \mu\text{g mL}^{-1}$  ( $0.10 \sim 0.50 \mu\text{g}$ ) のリンから生成したモリブデン青を陽イオン界面活性剤のゼフィラミンで凝集させ膜フィルターでろ過した。ろ過前と後の溶液の吸光度を測定し、その吸光度の比から捕集したモリブデン青の回収率を求めた。その結果、 $114 \text{ mM}$  AAではリン量が多くなると ( $0.5 \mu\text{g}$ ) ろ液の吸光度が上昇してモリブデン青の一部が損失した ( $0.50 \mu\text{g}$  リンで損失16%)。従って、本法では $5.7 \text{ mM}$ をAA濃度とした。

Table 3.1 Effect of L-ascorbic acid concentration.

L-ascorbic acid(mM)	Phosphorus amount( $\mu\text{g}$ )	Absorbance <sup>a</sup> before filtration	Absorbance <sup>a</sup> after filtration	Recovery of MB (%)
5.7	0.10	0.009	0	100
	0.25	0.026	0.001	96
	0.50	0.051	0.002	96
114	0.10	0.010	0	100
	0.25	0.026	0	100
	0.50	0.051	0.008	84

d. Measured by Double-beam spectrophotometer (720 nm).

モリブデン青法によるリンの定量では、ヒ素(V)もモリブデン青を形成して定量を妨害するため、亜硫酸水素ナトリウムやチオ硫酸ナトリウムでヒ素( )をヒ素( )に還元してその影響を除く<sup>2)9)</sup>。そこで、3.2.3に従ってチオ硫酸ナトリウム溶液を加え、異なるチオ硫酸ナトリウム濃度における $0.50 \mu\text{g mL}^{-1}$  ( $2.5 \mu\text{g}$ ) のリンの反応曲線を求めた結果 (Fig. 3.6)、チオ硫酸ナトリウム濃度の増加とともにモリブデン青の生成は遅くなり、平衡時の吸光度が低下することが分かった。これより、本法では、反応10分でモリブデン青の生成が平衡に達する $0.3$

mMをチオ硫酸ナトリウム濃度とした。0.20  $\mu\text{g mL}^{-1}$  (1.0  $\mu\text{g}$ ) のリンの発色溶液の吸光度は、チオ硫酸ナトリウムの有無にかかわらず1%以内の誤差で1時間変化がなかった (Fig. 3.7)。

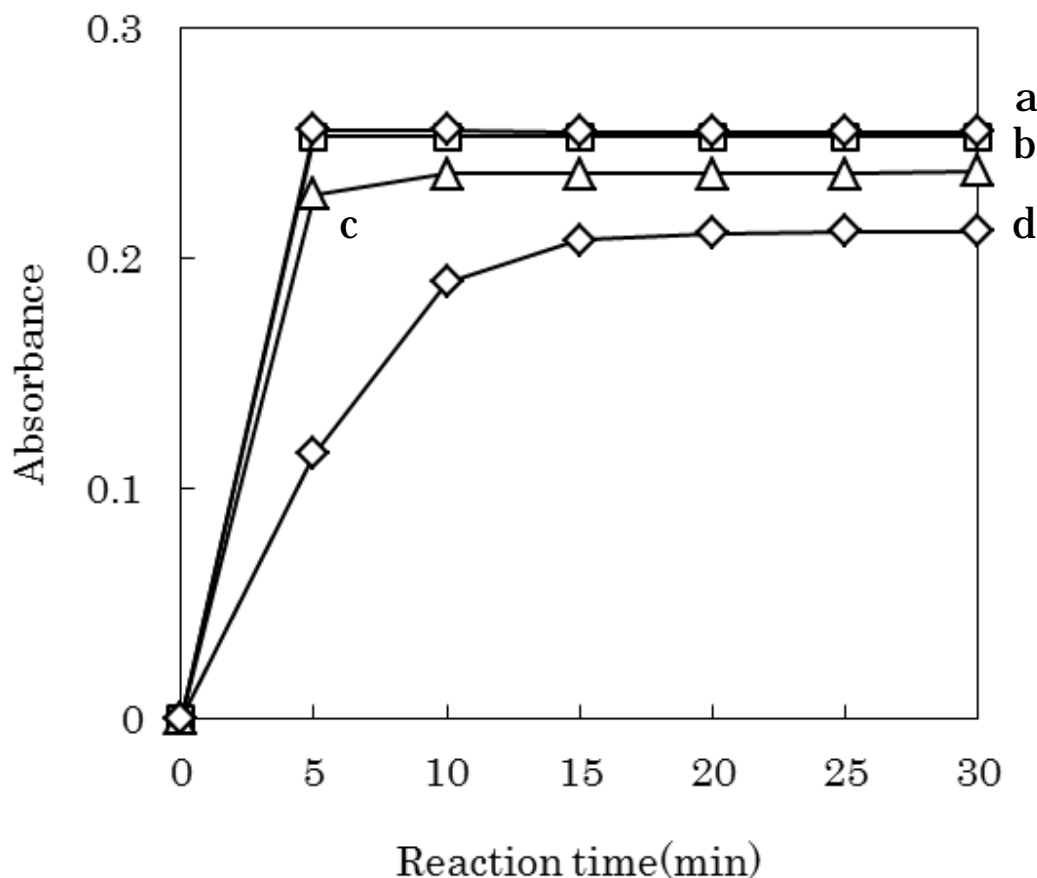


Fig. 3.6 Reaction curves for formation of Molybdenum Blue in the presence of 0.50  $\mu\text{g P/ml}$  at 0(a), 0.2(b), 0.3(c), 0.4(d) mM Sodium thiosulfate under reaction condition of 0.17 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 0.67 mM hexaammonium heptamolybdate, 0.096 mM  $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$ , 5.4 mM ammonium amidosulfate, 5.7 mM L-ascorbic acid at 21  $^\circ\text{C}$ .



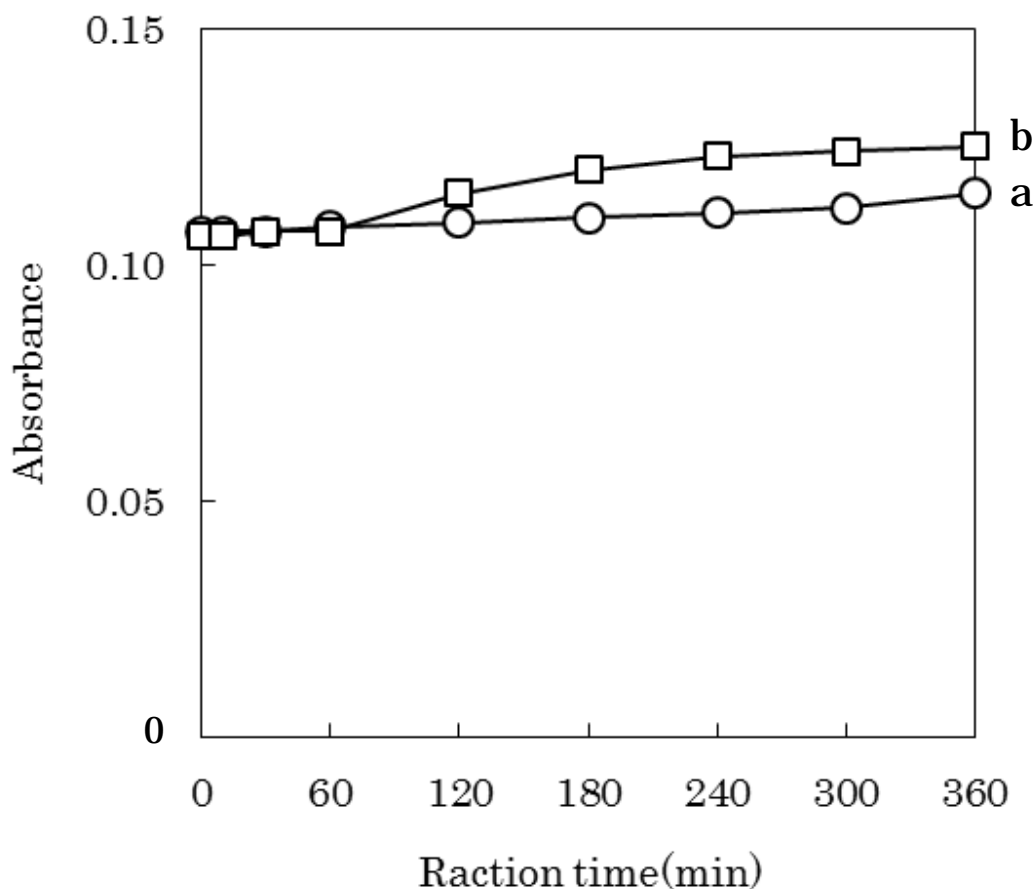


Fig. 3.7 Reaction curves for formation of Molybdenum Blue in the presence of 0.20  $\mu\text{g P/ml}$  at 0(a), 0.3(b) mM Sodium thiosulfate under reaction condition of 0.17 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 0.67 mM hexaammonium heptamolybdate, 0.096 mM  $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$ , 5.4 mM ammonium amidosulfate, 5.7 mM L-ascorbic acid at 24.5  $^\circ\text{C}$ .

### 3.3.2 モリブデン青の反射吸光度の測定

ヒ素のモリブデン青に対して良好な凝集作用を示したゼフィラミン<sup>6)</sup>をリンのモリブデン青の凝集剤として使った。モリブデン青は陽イオン界面活性剤のゼフィラミンとイオン対を形成し、疎水性相互作用によって凝集し(或いは静電的相互作用によってフィルターに吸着し)硝酸セルロースや酢酸セルロースに捕集されると考えられる<sup>10)</sup>。本研究では、これらの材質と同じ性質を持つ混合セルロースエステル製膜フィルターを用いた。フィルターの孔径は、小さ

いほど捕集効率が良いが、小さすぎるとろ過速度が低下するので、0.45  $\mu\text{m}$ とした。3.2.3に従って異なる量のゼフィラミン溶液を0.10  $\mu\text{g}$ のリンを含むモリブデン青溶液に添加し、膜フィルターでろ過した。流出した溶液のモリブデン青の吸光度を測定し、凝集前の吸光度と比較してモリブデン青のフィルターへの捕集率を求めた。この結果、0.02 ~ 0.1 mMのゼフィラミン濃度においてモリブデン青が100%捕集できることが分かった。しかし、反射吸光度はゼフィラミン濃度が0.06 mMを超えると、フィルター上に青色の粒子が見えるようになり、フィルター上の4ヶ所で測定した反射吸光度の標準偏差が大きくなった (Table 3.2)。本研究では、このような問題が起こらない0.03 mMをゼフィラミン濃度とした。

フィルター上に捕集したモリブデン青は乾燥の進み具合によって反射吸光度が変化したので、携帯用ヘアドライヤーで十分乾燥させた後、反射吸光度を測定した<sup>6)</sup>。2分間の乾燥によって、チオ硫酸ナトリウムの有無にかかわらず、反射吸光度は0.001の誤差で90分間変化しなかった。

**Table 3.2 Effect of concentration of Zephiramine on recovery of Molybdenum Blue on membrane filter and reproducibility of reflection absorbance.**

Zephiramine (mM)	Reflection absorbance	
	Average $\pm$ standard deviation for four points	At the center of filter
0.01	0.063 $\pm$ 0.0004	0.062
0.02	0.094 $\pm$ 0.001	0.093
0.03	0.092 $\pm$ 0.001	0.090
0.06	0.089 $\pm$ 0.004	0.089
0.10	0.086 $\pm$ 0.009	0.083

Formation condition of Molybdenum Blue : 0.10  $\mu\text{g}$  P – 0.173 mM  $\text{H}_2\text{SO}_4$  – 0.67 mM hexaammonium heptamolybdate – 5.7 mM L-ascorbic acid at 20 .

### 3.3.3 共存ヒ素の影響

モリブデン青によるリンの定量では、リン酸イオンと同様にモリブデン青を生成するものが妨害するがヒ素( )の影響が著しいため<sup>11)</sup>、環境水の分析ではヒ素( )をヒ素( )に還元してその影響を除いている<sup>2) 9)</sup>。0.05 µgリンの定量で定量誤差5%を与える共存成分量を許容量とすると、ヒ素の許容量は、チオ硫酸ナトリウムを添加しない場合0.05 µgであったが、添加すると0.4 µgに改善された(Table 3.3)。これより、試料水に含まれるヒ素の濃度が排水基準0.1 µg mL<sup>-1</sup> (試料量3 ml中で0.3 µg) 以下<sup>12)</sup>であれば、チオ硫酸ナトリウムの添加でリンが定量できることが分かった。

Table 3.3 Effect of arsenic on determination of 0.05-µg phosphorus.

Arsenic amount (µg)	Phosphorus determined (µg)	Determination error (%)
0.025	0.050	0
0.05	0.052	4
0.1	0.055	10
0.2	0.061	22
0.4 <sup>a</sup>	0.051	2
0.5 <sup>a</sup>	0.054	8

a. Addition of Sodium thiosulfate.

### 3.3.4 リンの現場分析法の定量性能

3.2.3の分析操作に従って検量線を作成し、その直線範囲や検出限界を求めた。反射吸光度を使う検量線は、0.1 µgのリンまで相関係数0.999で直線性を示した(Fig. 3.8)。反応溶液中のリン濃度に対する検量線の傾きを分析感度とすると、反射吸光度を測定する本法の感度は溶液の吸光度を測定する方法に比べて1桁大きかった。試薬ブランクの反射吸光度を繰り返して測定して得た標準偏差の

3倍に相当する検出限界は $0.003 \mu\text{g}$  ( $n=5$ ) で、 $0.05 \mu\text{g}$ リンを繰り返し定量したときの相対標準偏差は4% ( $n=5$ ) であった。これより、試料量3 mlで分析する場合、試料中濃度 $0.001 \mu\text{g mL}^{-1}$ が検出下限となり、環境基準 ( $0.005 \mu\text{g mL}^{-1}$ 以下<sup>1)</sup>) の監視に十分応用できる。

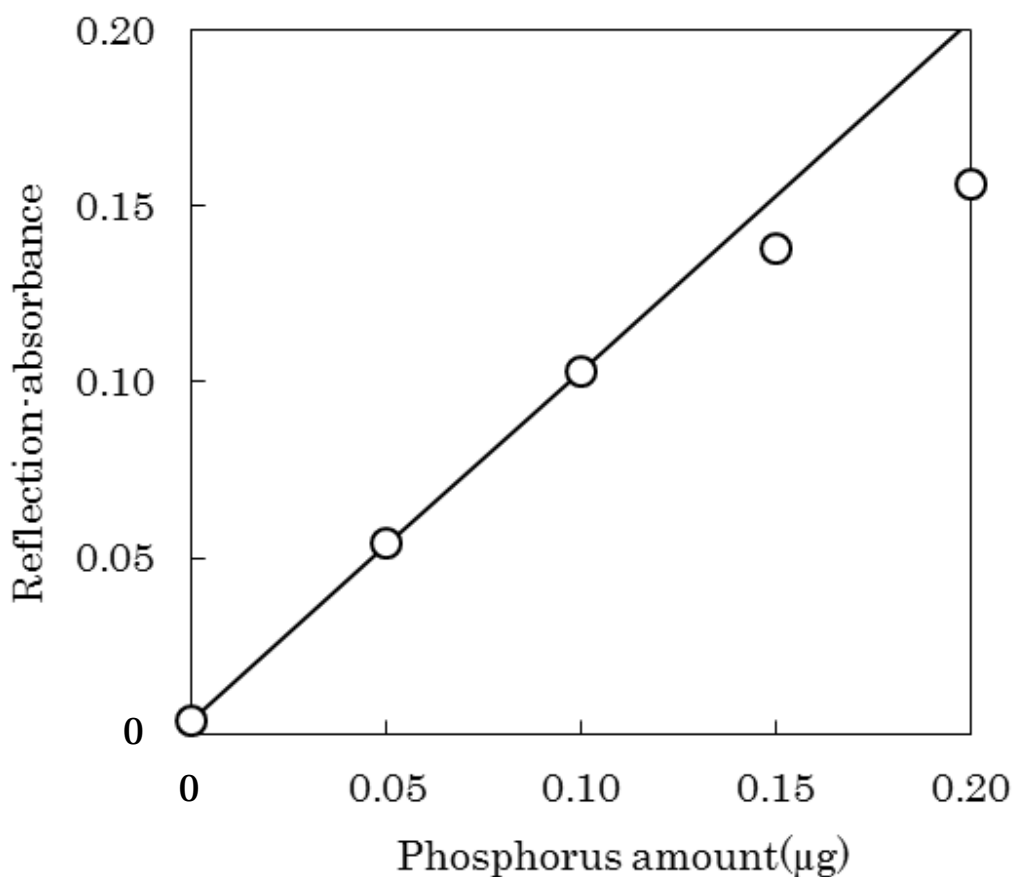


Fig. 3.8 Calibration curves for Phosphorus.

### 3.3.5 実際試料への応用

3.2.3の分析操作に従い、甲府市内を流れる濁川、荒川、相川、北杜市の溪谷を流れる尾白川で採取した河川水、尾白川近くの甲斐駒ヶ岳神社で採取した湧水、富士吉田市内と甲府市内で採取した水道水を分析した結果をTable 3.4に示す。また、この分析結果をJIS法（モリブデン青吸光光度法）で結果を比較した。すべての試料でヒ素の影響は無視できた。両法の定量値は、5%前後の誤差で一致した。甲府市内の水道水Bは、試料量5 ml（発色溶液量10 mL）で分析した。この試料に含まれるリン濃度は、最も厳しい全リンに対する環境基準である0.005  $\mu\text{g mL}^{-1}$ 以下であった。本法の分析所要時間は20分であった。

Table 3.4 Determination of phosphorus in flesh water samples.

No.	Sample	Sample Taken <sup>a</sup> / mL	Phosphorus determined (n=2) / $\mu\text{g mL}^{-1}$	
			Present method	JIS method <sup>b</sup>
1	Nigorigawa river	1.25(10)	0.068, 0.064	0.070, 0.069
2	Arakawa river	1.25(10)	0.068, 0.072	0.066, 0.066
3	Aikawa river	1.25(10)	0.060, 0.056	0.056, 0.056
4	Ojira river	1	0.015, 0.015	-
5	Spring <sup>c</sup> (Komagatake-jinja)	3	0.012, 0.012	-
6	Tap water A <sup>d</sup>	0.5(4)	0.17, 0.17	0.17, 0.17
7	Tap water B <sup>d</sup>	5 <sup>e</sup>	0.0038, 0.0038	-

a. Values in parentheses are those for JIS method and the others for present method.

b. K0102, without the enrichment by solvent extraction for the tap water A and with it for the other samples.

c. Unfiltered samples (the other samples were filtered through membrane filters with a pore size of 0.45  $\mu\text{m}$ ).

d. A and B were collected in Fujiyoshida and Kofu, Yamanashi, respectively.

e. The Volume of the final solution was 10 mL.

### 3.4 結論

モリブデン青として膜フィルター上に捕集したリンを小型反射型比色計で測定する高感度な現場定量法を開発した。ゼフィラミンを添加してモリブデン青を膜フィルターに濃縮した後、携帯用ドライヤーで乾燥させ、反射吸光度(630 nm)で測定してリンを定量した。リンの検量線は、0.1 µgまで直線性を示し、検出限界は0.003 µg (0.001 µg mL<sup>-1</sup>)であった。チオ硫酸ナトリウムを添加することによって0.4 µgまでヒ素( )が許容できた。本法を河川水、湧水及び水道水の分析に応用したところ、JIS法で得られた分析値とほぼ一致した。環境水の現場モニタリングへの応用が期待できる。

### 3.5 参考文献

- 1) 環境庁告示第59号 (1971年12月28日).
- 2) JIS K0102, 工業排水試験方法 (2016).
- 3) デジタルパックテストDPM-PO<sub>4</sub>-P, 共立理化学研究所 <<http://kyoritsu-lab.co.jp/seihin/list/instructions/dpm-po4.pdf>>, (accessed 2017-2-14).
- 4) M.N. Abbas: *Anal.Sci.*, **19**, 1303 (2003).
- 5) J. Shida, H. Takahashi, Y. Sakamoto: *Talanta*, **41**, 143 (1994).
- 6) Y. Hasegawa, Y. Suzuki, S. Kawakubo: *Anal.Sci.* **33**, 859 (2017).
- 7) R.P. Mihajlovic, N.R. Ignjatovic, M.R. Todorovic, I. Hoclajtner-Antunovic, V.M. Kaljevic, *J. Serb. Chem. Soc.*, **68**, 65 (2003).
- 8) 小林寛和, 中村栄子: 分析化学(*Bunseki Kagaku*), **56**, 561 (2007).
- 9) Method No.365.3: *U.S.Environmental Protection Agency.*, **1978**.
- 10) 田口茂, 笠原一世, 波多宣子: 分析化学(*Bunseki Kagaku*), **44**, 505 (1995).
- 11) J.Murphy, J.P.Riley: *Anal.Chim.Acta.*, **27**, 31-36 (1962).
- 12) 総理府令第35号 (1971年6月21日).

## 第4章 河川水中のパッシブサンプラー捕集性鉄のキャラクタリゼーション

### 4.1 緒言

パッシブサンプラーは、取り扱いが容易で、捕集期間を長くして捕集量を増やせるので低濃度成分の測定に適し、河川や湖沼中の有害金属や農薬、揮発性有機炭素等のモニタリング調査に使われる<sup>1)</sup>。環境水中の金属成分の捕集では、パッシブサンプラーに、キレート剤で修飾した膜フィルターを装着するケースが多い。一方、天然水中に存在する金属イオンは単純なイオンだけではない。例えば、河川水中の鉄は、コロイド状水酸化鉄、鉄フミン酸凝集体などの状態で存在する<sup>2)</sup>。従って、パッシブサンプラーに捕集される金属イオンの存在状態を把握する必要がある。パッシブサンプラーに捕集される物質の捕集効率は、採取点の水温や流速、サンプラーの形状や構造などに影響され、物質の状態や化学平衡によって異なり、フミン物質と金属イオンの結合を考慮した化学平衡モデルを使って推定しても、有機態の金属イオンが多いと実測値と一致しなくなった<sup>3)~5)</sup>。

本研究では、環境分析に有用な膜濃縮技術としてパッシブサンプラーによる捕集に注目し、実際の河川水試料と疑似河川水について状態別の鉄濃度を測定し、サンプラーに捕集される鉄（捕集性鉄）の量と比較して捕集性鉄の存在状態を調べた。鉄の状態分析には所属研究室で開発した方法を用いた<sup>6)</sup>。孔径0.45 μmのフィルターおよび分画分子量10000 Da（以後、10000を10Kと表す）の限外ろ過膜を使用し、試料中に存在する鉄を粒度や分子量別に分けた。各フラクション中の反応性鉄と非反応性鉄を求めた。反応性鉄は、過酸化水素による*o*-フェニレンジアミンの酸化反応における鉄の触媒作用を利用して定量した<sup>6)</sup>。この定量法により、 $FeL_i^{(3-i)+}$ （Lが単座配位子の場合*i* = 2）の鉄が選択的に感度良く定量できる。各フラクション中の全鉄濃度は黒鉛炉原子吸光法により測定し、この値から反応性鉄濃度を引いて非反応性鉄濃度を求めた。容量200 mLのポリスチレン製容器に試料水を取り、容器の蓋にパッシブサンプラーを装着した後、試料溶液を振り混ぜかくはんしてパッシブサンプラーに鉄を捕集

した。捕集性鉄濃度は、硝酸で捕集性鉄は溶出し、黒鉛炉原子吸光装置により鉄濃度を測定して求めた。

## 4.2 実験

### 4.2.1 試薬

試薬は特記しない限り市販特級品を用いた。水は、特記しない限り、水道水をイオン交換カラムで脱イオン化した後、アドバンテック東洋社製GSL-500型蒸留装置で蒸留し、日本ミリポア株式会社製Simpli UVで精製したものを使用した。塩酸は、関東化学株式会社製超高純度試薬ウルトラピュア<sup>®</sup> (10 M) を適宜水で希釈して使用した。酢酸は、和光純薬工業株式会社製酢酸 (17.5 M, JIS特級) を適宜希釈して使用した。水酸化ナトリウム水溶液 (10 M) は、和光純薬工業株式会社製水酸化ナトリウム (和光一級) 21.5 gを水50 mLに溶かして調製した。鉄( )標準溶液は、和光純薬工業株式会社製硫酸鉄( )アンモニウム12水和物 (和光試薬特級) 0.863 gを水に溶かし、和光純薬工業株式会社製塩酸 (JIS特級) 0.859 mLを加えて水で100 mLとした (1.00 mg Fe( ) mL<sup>-1</sup>、0.1 M HCl)。これを適宜水で希釈して使用した。*o*-フェニレンジアミン(OPDA) 溶液 (40 mM) は、和光純薬工業株式会社製OPDA (和光一級) 0.216 gに5 mLの水を加え、時折氷水に浸しながら超音波をかけて溶かし、5 mLの水で50 mLとした。5 mLの冷蔵庫で保存し、12時間以内に使用した。フミン酸溶液は、和光純薬工業製化学用フミン酸10.0 mgを0.2 M 水酸化ナトリウム4.59 mLに溶かし、それに0.2 M 塩酸溶液を5.06 mL加えて中和し、水で200 mLとしたものを0.45 μmフィルターでろ過したものを、既知濃度のフミン酸溶液によって標定し、フミン酸標準溶液として使用した。フミン酸試薬にはフルボ酸も含まれ、ろ過液で52%がフミン酸質で48%がフルボ酸質であった<sup>6)</sup>。過酸化水素水 (0.1 M) は、和光純薬工業株式会社製過酸化水素水 (和光特級) 0.495 mLに水を加えて50 mLとした。5 mLの冷蔵庫で保存し、5日以内に使用した。ケイ素標準溶液 (1000 μg mL<sup>-1</sup>) は、関東化学株式会社製原子吸光分析用 (0.5 M KOH溶液) を使用した。pH4.5緩衝溶液は、17.5 M 酢酸3.86 mLと2 M 酢酸ナトリウム



溶液25.0 mLに水を加え100 mLとした。硝酸は、関東化学株式会社製超高純度試薬ウルトラピュア<sup>®</sup> (13.1 M)を適宜希釈して使用した。pH10緩衝溶液は、和光純薬工業株式会社製四ホウ酸ナトリウム10水和物 (pH測定用) 4.768 gと和光純薬工業株式会社製酒石酸 (和光一級) 1.876 gと和光純薬工業株式会社製クエン酸一水和物 (和光特級) 2.627 gに3 M水酸化ナトリウム溶液を21.84 mLを加え、超音波をかけて溶かし水で100 mLとした (0.125 M Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub> - 0.125 M酒石酸 - 0.125 Mクエン酸 - 0.675 M水酸化ナトリウム)。この溶液を水で5倍希釈したものを希釈pH10緩衝溶液と呼んだ。

#### 4.2.2 器具及び装置

捕集性鉄の測定は、3M<sup>®</sup>社製Chemcatcherパッシブサンプラー (Fig. 4.1, 外径47 mm) に3M<sup>®</sup>社製エムポアキレートディスク (イミノ二酢酸キレート) を装着して用いた。キレートディスクは使用前にメタノール2 mL、2 M 硝酸20 mL、水100 mLを順次通液させた後に使用した。フミン物質を蛍光測定する場合、さらに水20 mLを10回ろ過して蛍光性不純物質を洗い流した。このパッシブサンプラーを試料の入った容器に装着し、アズワン株式会社製SHAKER SR-1振り混ぜ機で鉄を捕集した。鉄を分子量別に分離する際は、ポール株式会社製MacrosepまたはMicrosep (分画分子量10K Da) の限外ろ過フィルターを使用した。遠心分離器に入れて4500 rpmで45分間回転させて溶液を限外ろ過した。試料を限外ろ過する前に0.05 Mアンモニア水、水を順次ろ過してフィルターを洗浄した。遠心分離器は、株式会社コクサン製遠心器H-103nを使用した。試料をろ過する際は、アドバンテック東洋株式会社製メンブレンフィルター50CP045AN (混合セルロース、外径50 mm、孔径0.45 μm) を使用した。反応性鉄は、島津製作所製の紫外可視分光光度計UV-2550PCを使用して吸光度を測定した。アズワン株式会社製恒温器TR-2Aを使って恒温水層から、セルホルダーに水を循環させ、反応温度を制御した。吸光度は、水を対照として測定溶液を光路長10 mmのガラス製セルに入れて450 nmの波長で測定した。pHは、堀場製作所製コンパクトpHメータB-71X LAQUAtwinを用いて測定した。また、島津製作所製黒鉛炉原子吸光分光光度計AA-6800を使用して全鉄を定量した。

黒鉛炉原子吸光分析の測定条件をTable 4.1にまとめた。フミン酸は、測定溶液のpHを10に調節し、島津製作所製分光蛍光光度計を使用して励起波長270 nm、測定波長460 nmで定量した<sup>6)</sup>。

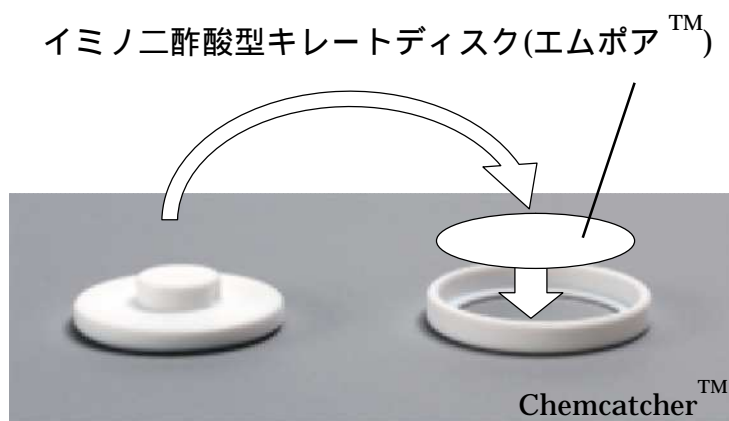


Fig. 4.1 Passive sampler.

Table 4.1 Analytical condition of determination of iron for GFAAS.

Wavelength (nm)	248.3
Sample taken (μL)	20
Dry temperature ( )	2600 for 2 sec
Ashing temperature ( )	2600 for 2 sec
Atomize temperature ( )	2600 for 2 sec
Slit width (nm)	0.2
Ramp current (mA)	12

### 4.2.3 状態分析操作

#### 4.2.3.1 疑似試料の調製

疑似河川水の場合、容量200 mLのポリスチレン製試料瓶に鉄標準溶液、フミン酸溶液、ケイ素標準溶液を加え、水で200 mLとした (Fig. 4.2)。疑似河川水の組成は本研究室において過去に検討されたものを参考にした<sup>1)</sup>。試料のpH値は1 M塩酸で7付近に調節し、25 ℃ に保った恒温水槽中に1日放置し平衡にした。

#### 4.2.3.2 鉄とフミン酸の状態分析操作

鉄とフミン酸の状態分析の手順をFig. 4.2に示す。実際試料を採取した後(疑似河川水試料は調製して1日放置した後)、試料60 mLを分析用に分取した。残りの試料140 mLを入れた試料瓶の蓋に、キレートディスクを装着したパッシブサンプラーを試料瓶に装着し (Fig. 4.6参照)、振り混ぜ機で150ストローク/分で1時間振るい混ぜて鉄を捕集した(捕集性鉄)。先に分取した試料をメンブレンフィルターでろ過した。このろ液を粒径0.45 μm以下のフラクションとした。このフラクションから30 mLを分取して限外ろ過フィルターを通し、そのろ液を分子量(MW) 10 K以下のフラクションとした。各フラクション中の反応性鉄を4.2.3.3の操作に従って定量し、全鉄を4.2.3.4の操作に従って定量した。全鉄と反応性鉄の濃度の差から非反応性鉄量を求めた。各フラクションのフミン酸は4.2.3.5の操作に従って定量した。

未ろ過試料中濃度からろ過試料中濃度を差し引いて粒径0.45 μm以上の領域(粒子域)の濃度を求めた。ろ過試料中濃度から限外ろ過試料中濃度を差し引いてMW10 K~粒径0.45 μmの領域(高分子・コロイド粒子域)の濃度を求めた。限外ろ過試料中濃度はMW10 K以下の領域(実質的にはMW1000以下のイオン性鉄域に相当する<sup>6)</sup>)になる。

#### 4.2.3.3 反応性鉄の定量操作

反応性鉄の定量操作をFig. 4.3に示す。試料、鉄( )標準溶液、OPDA溶液を除く試薬と水はあらかじめ恒温水槽で40 ℃ に保った。試料(または鉄( )標準溶液)を恒温水槽に浸けた20 mLガラス瓶にいれ、反応温度を一定にするため

に恒温水中に3分間放置した。これに水を加えて3 mLとし、pH4.5緩衝溶液及び40 mM OPDA溶液(5 )を加え、反応温度を一定に保つため再び3分間放置した。次に0.1 M 過酸化水素水1 mLを加え反応を開始させ、同時に吸光度の測定を開始した。測定開始後直ちに反応溶液をガラスセルに分取し、吸光度の経時変化を水を対照にして測定した。反応時間5分と10分の吸光度の差  $A$  から反応速度  $R = A/5$  を算出した。鉄( )標準溶液を用いて鉄濃度と反応速度の関係を求め、鉄の検量線を作成し、試料中の鉄濃度を定量した。鉄(III)イオンの場合、 $Fe^{3+}$  と  $FeL_i^{(3-i)+}$  (  $L$  が単座配位子のとき  $i=,1$  または  $2$ 、二座配位子のとき  $i=1$  ) が反応性鉄となる。

#### 4.2.3.4 全鉄の定量操作

試料を0.1 M 硝酸溶液とし、Table 4.1の測定条件で黒鉛炉原子吸光分析装置により吸光度を測定した。分取した鉄(III)標準溶液に2 M硝酸を加えて水で希釈して0、20、40 ng Fe mL<sup>-1</sup>の検量線用鉄標準溶液(0.1 M 硝酸溶液)を別途調製し、鉄濃度と吸光度の関係から検量線を作成し、試料中の鉄濃度を全鉄濃度として求めた。

#### 4.2.3.5 フミン酸の定量操作

ポリスチレン製試料瓶に試料1 mLを採りpH10緩衝溶液1 mLを加え、水で5 mLにして、分光蛍光光度計により蛍光強度を測定した。試料の代わりにフミン酸標準溶液を採り、同様の操作で溶液を調製し、フミン酸濃度と蛍光強度の関係から検量線を作成し、試料中のフミン酸濃度を求めた。

#### 4.2.3.6 捕集性鉄とフミン酸の溶出・定量操作

キレートディスクに捕集された鉄とフミン酸の溶出と定量の操作をFig. 4.4に示す。パッシブサプラーから外したキレートディスクをガラスろ過器に装着した後、希釈pH10緩衝溶液5 mLでろ過し、フミン酸を溶出させた。さらに、希釈pH10緩衝溶液3 mLでろ過した。同様の操作をさらに2回行い、フミン酸を完全に溶出させ、すべてのろ液を一つに集めた。このろ液から24 mLをメスフ

ラスコに分取し、測定溶液中の緩衝溶液成分を一定濃度に調節するために pH10緩衝溶液5.2 mLを加えて水で50 mLにした ( Fig. 4.4の溶液A )。この溶液 1 mLをメスフラスコに分取し、4.2.2に示したキレートディスクの最終洗浄液 2.4 mLをブランク試料の蛍光を補正するために加え、水で5 mLとした。フミン酸標準溶液を採り、pH10緩衝溶液と最終洗浄液を試料の場合と同じように加えた溶液でフミン物質の検量線を作製し蛍光定量した。

フミン酸を溶出させた後、キレートディスクを2 M硝酸5 mLと3 mLでろ過し洗った。溶出液をすべてのメスフラスコに集め、pH10緩衝溶液0.4 mLを加えて水で20 mLとした ( Fig. 4.4の溶液B )。溶液Aを2 mL分取してメスフラスコに採り、硝酸を加えて水で20 mLにした ( Fig. 4.4の溶液C, 0.1 M硝酸溶液 )。溶液Bと溶液Cに含まれる鉄を黒鉛炉原子吸光法で定量し、溶出した鉄量を求めた。

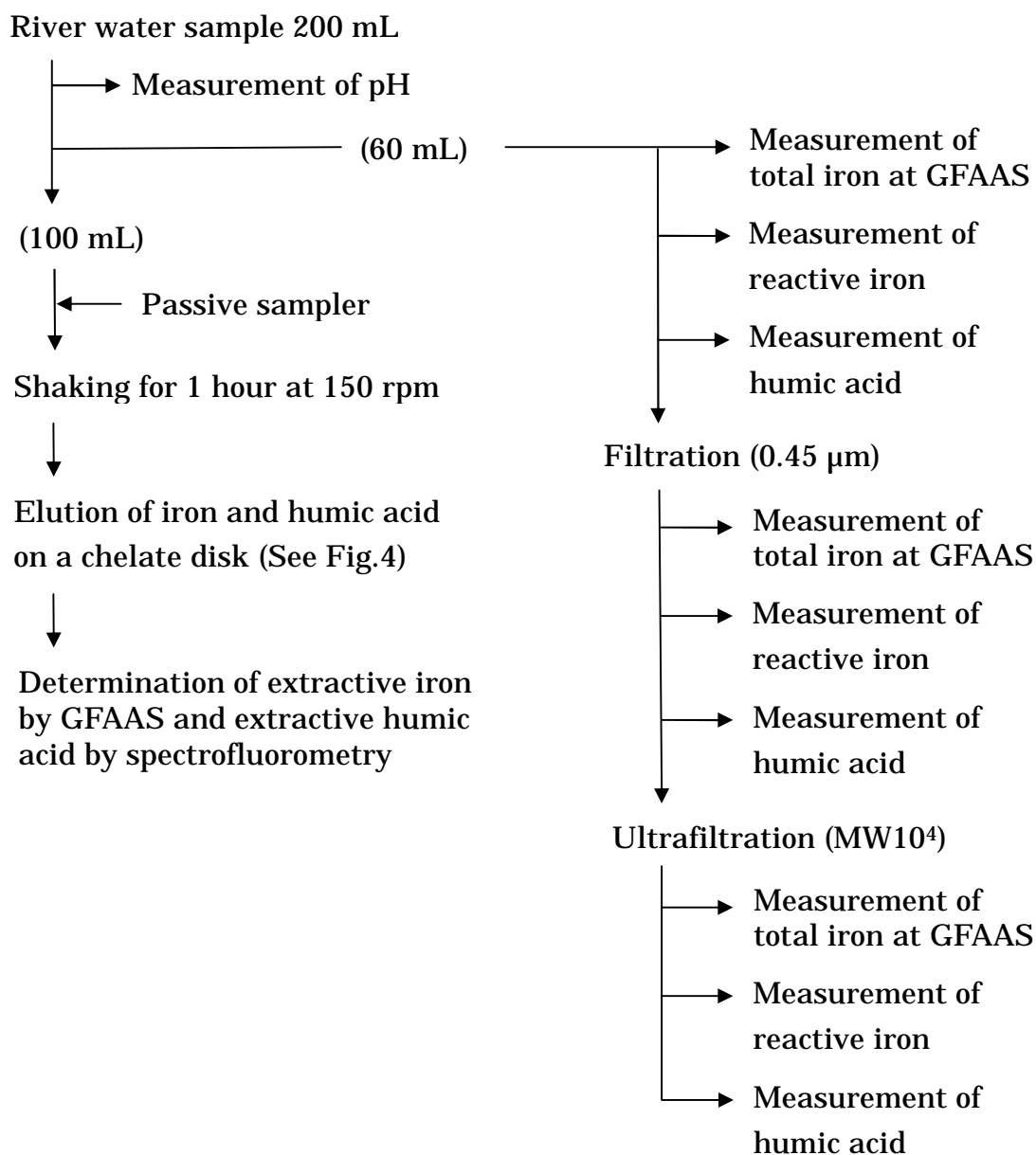


Fig. 4.2 Scheme of speciation procedure.

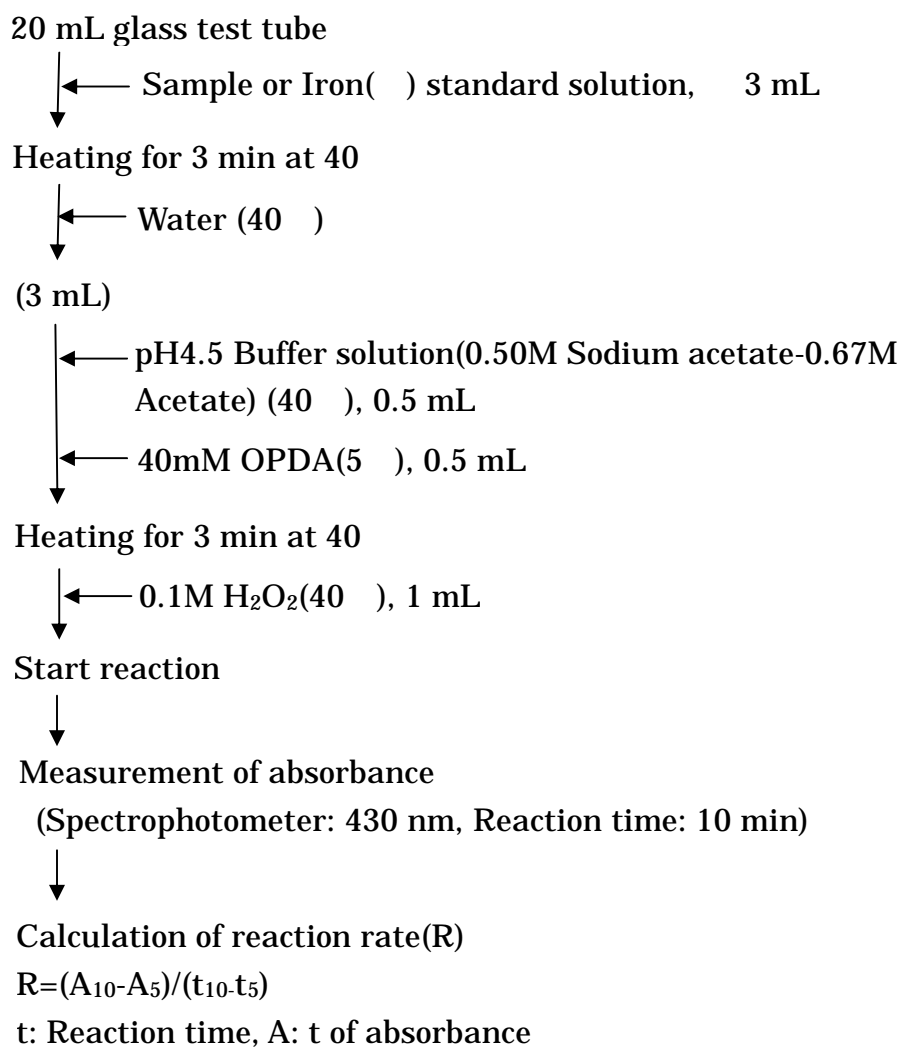


Fig. 4.3 Analytical procedure (Reactive iron).

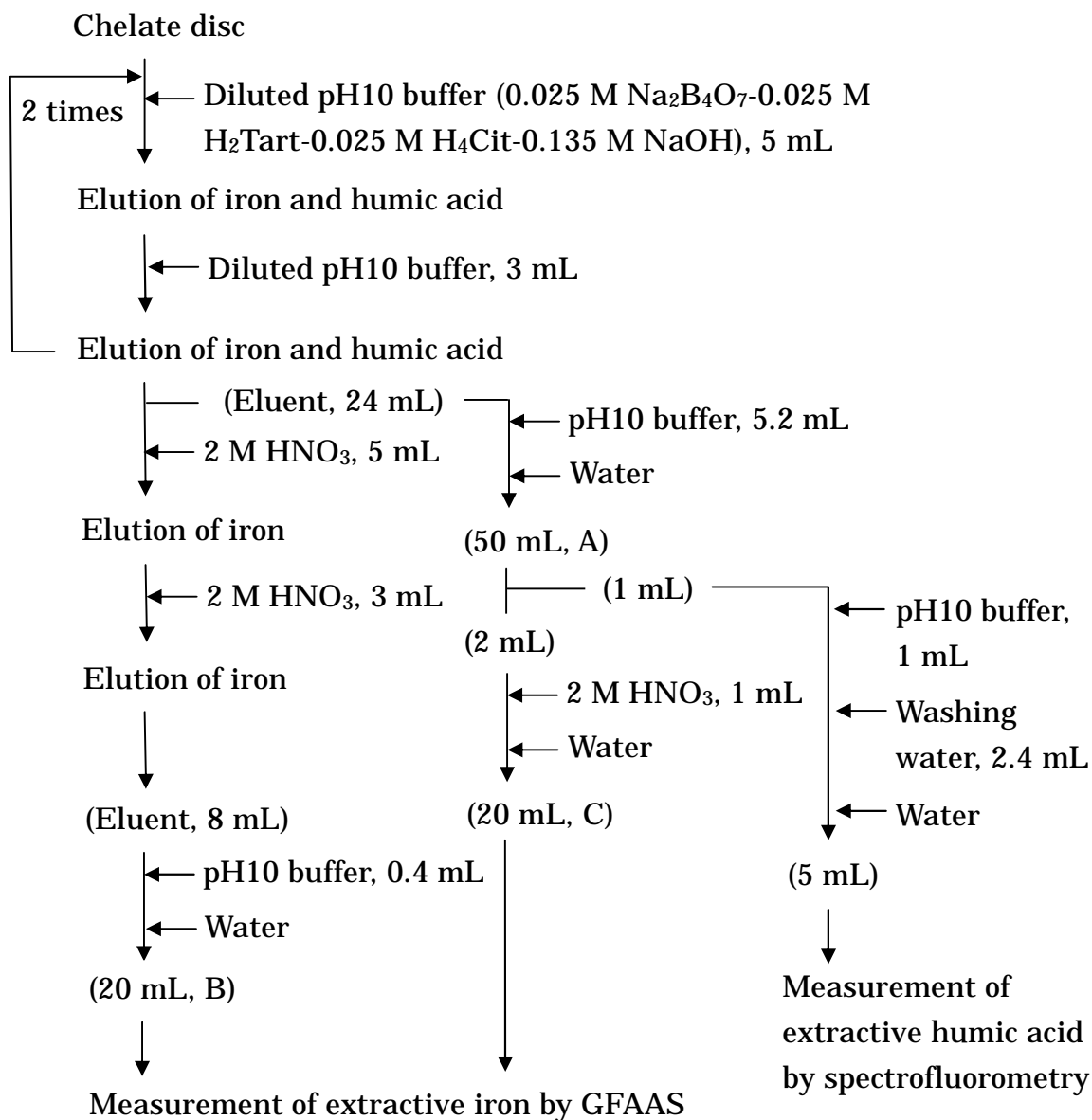


Fig. 4.4 Analytical procedure (Extractive iron and humic acid).



## 4.3 結果と考察

### 4.3.1 状態分析のための諸条件の検討

パッシブサンプラーで鉄を捕集するために、鉄のみを含む疑似試料溶液 {  $1 \mu\text{gFe}(\text{ ) mL}^{-1}$  溶液 ( pH3.6 ) } を調製し、その保存性を調べた。疑似試料1 Lをポリスチレン製水槽で調製し、攪拌しながら25 で保存した時の鉄濃度の経時変化を調べた。その結果、27時間放置すると添加した鉄の80%が損失した( Fig. 4.5 )。

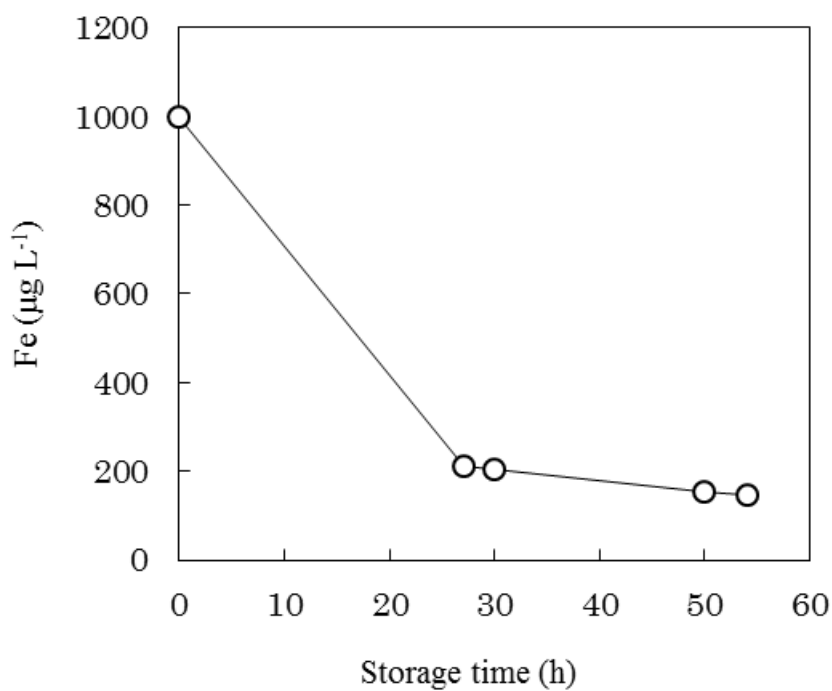


Fig. 4.5 Change of iron concentration in storage.

ポリスチレン製水槽に1日放置して調製した $1 \mu\text{g Fe}(\text{III}) \text{ mL}^{-1}$ 疑似溶液にパッシブサンプラーを投入し、さらに1日放置させて鉄を捕集させた。その結果、パッシブサンプラーに捕集された鉄量は2%で、溶液中の35%の鉄が損失した。テフロン製の攪拌棒とパッシブサンプラー表面が黄色く変色しており、水酸化鉄(III)が吸着したと考えられ、これが鉄の損失の原因と思われた。

1 Lのポリスチレン製水槽を用いた鉄の捕集では、鉄がほとんど捕集できなかったため、溶液と容器の接触面を減らして損失の低減を試みた。200 mLポリスチレン製瓶に試料100 mLとパッシブサンプラーを入れて振り混ぜ機で1時間振り混ぜて鉄を捕集した。その結果、パッシブサンプラーに捕集された鉄量は4%で、溶液中の38%の鉄が損失し、どちらの容器でも損失は大差なかった。

鉄を吸着したパッシブサンプラーを0.1 M硝酸溶液に浸け、超音波照射(160 W, 38 kHz, 40 min, 1 h)しながら鉄を溶かし、鉄の吸着量を調べた。その結果、添加した鉄の62%がパッシブサンプラー本体に吸着していた。そのため、パッシブサンプラーへの鉄の吸着を抑える方法を検討した。

市販の200 mLポリスチレン製瓶の蓋を加工し、パッシブサンプラーの捕集面だけが鉄溶液に接触するようにした(Fig. 4.6)。その結果、パッシブサンプラーに捕集された鉄量は5%で、溶液中の鉄は損失しなかった。これより、鉄の状態分析をする際はFig. 4.6の容器を使ってパッシブサンプラーの捕集面を溶液に接触させ、振り混ぜ機を用いて鉄を捕集した。

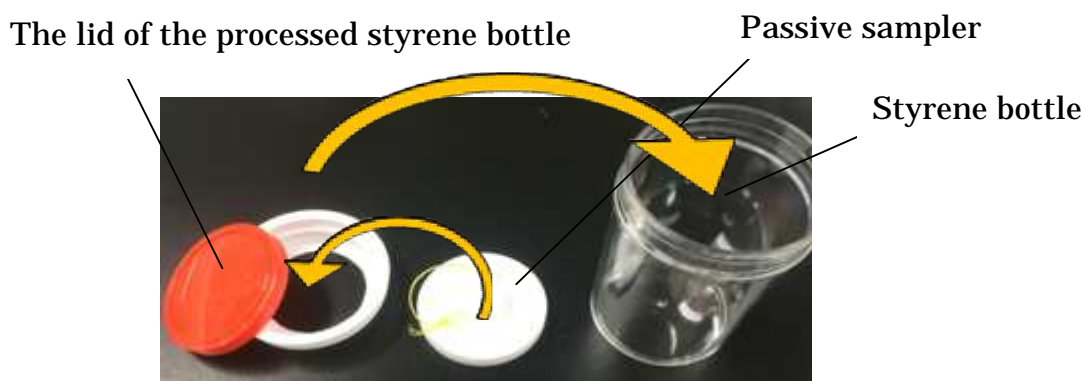


Fig. 4.6 Iron collector.

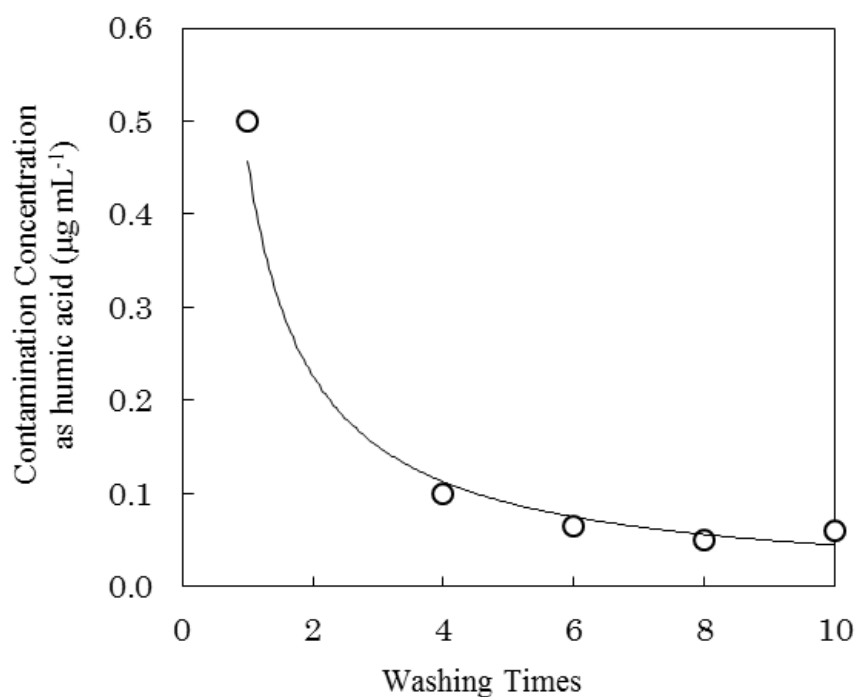
#### 4.3.2 パッシブサンプラーからの鉄とフミン酸の溶出

3M<sup>®</sup>社製エムポアキレートディスク(イミノ二酢酸キレート)は、1~3 M硝酸で2回以上に分けて金属イオンを溶出する(3M<sup>®</sup>社カタログ)。本研究では、硝酸濃度を2 Mとし、キレートディスクから鉄を溶出するのに必要な硝酸量を求めた。0.45 µmフィルターでろ過した0.1 µgFe( ) mL<sup>-1</sup>疑似試料50 mLをキレートディスクに10 mL/min以下の流速でろ過させ鉄を捕集した。キレートディスクを2 M硝酸2 mLで1回ろ過し、さらに2 M硝酸1 mLで1回ろ過し、鉄を溶出させた。合わせた溶出液を原子吸光光度計で全鉄濃度を測定した結果、回収率は96%であり、ほぼすべての鉄を溶出できた。本研究ではフミン酸も分析する都合により、キレートディスクを2 M硝酸5 mLで1回ろ過し、さらに2 M硝酸3 mLで1回ろ過して鉄を溶出させることにした。

未使用のキレートディスクを水でろ過すると、ろ液からフミン酸の測定波長(460 nm)近くで蛍光を発する物質(最大発光波長305 nm)が測定を妨害したため、キレートディスクに付着している蛍光物質の洗浄方法を検討した。フィルターを水で洗浄ろ過すると洗浄液から蛍光物質が検出されたが、洗浄回数を増やすと蛍光物質の溶出濃度が一定になった。本研究では、水20 mLで10回キレートディスクを洗浄して使用することにした(Table 4.2とFig. 4.7)。また、検量線作成用の標準溶液に10回目の洗浄液を加えることでblank値が無視できるようにした。

**Table 4.2** Cleaning the chelate disc.

Washing Times	Contamination concentration as humic acid ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )
1	0.5
4	0.1
6	0.07
8	0.05
10	0.06



**Fig. 4.7** Cleaning the chelate disc.

1  $\mu\text{g Fe(III) mL}^{-1}$ 、0.5  $\mu\text{g}$  フミン酸  $\text{mL}^{-1}$ 、10  $\mu\text{g Si mL}^{-1}$ を含む疑似試料を調製し、試料100 mLをパッシブサンプラーに浸け、4.2.3.2の操作に従ってキレートディスクに捕集した。フミン酸の溶解量はpHが高いほど大きいため<sup>8)</sup>、希釈pH10緩衝液を用いて溶出させた。希釈pH10緩衝液は5 mLと3 mLの2回に分けてろ過してキレートディスクを洗った。このろ過操作を繰り返し、フミン酸を溶出させるのに必要な洗浄回数を求めた。4回目のpH10緩衝液からフミン酸が検出されなかったため (Table 4.3とFig. 4.8)、ろ過操作を3回繰り返し、合わせたろ液を試料とした。希釈pH10緩衝液でろ過すると鉄の一部が溶出することがあったため、フミン酸の溶出液 (Fig. 4.4のA液) に含まれる鉄も定量し、Fig. 4.4のB液の分析結果と合わせて捕集性鉄濃度を求めた。

Table 4.3 Elution of HA from chelate disc.

Washing Times	Concentration ( $\mu\text{gHA mL}^{-1}$ )
1	76.1
2	22.0
3	9.12
4	0

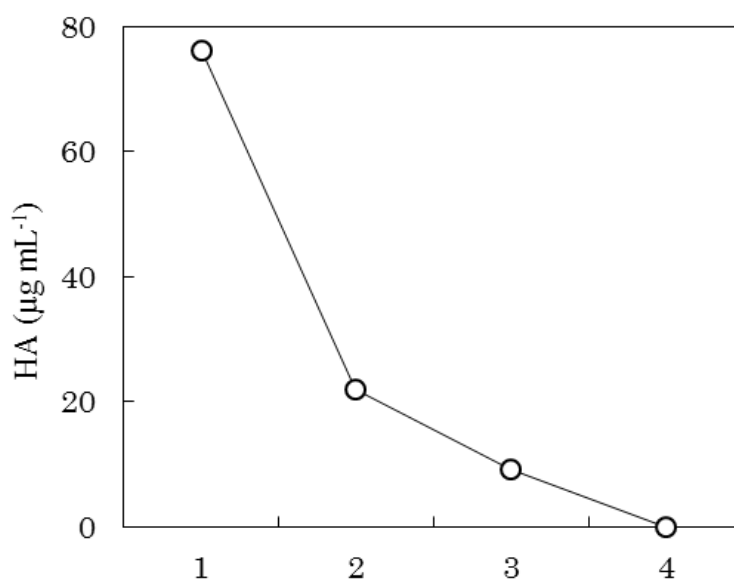
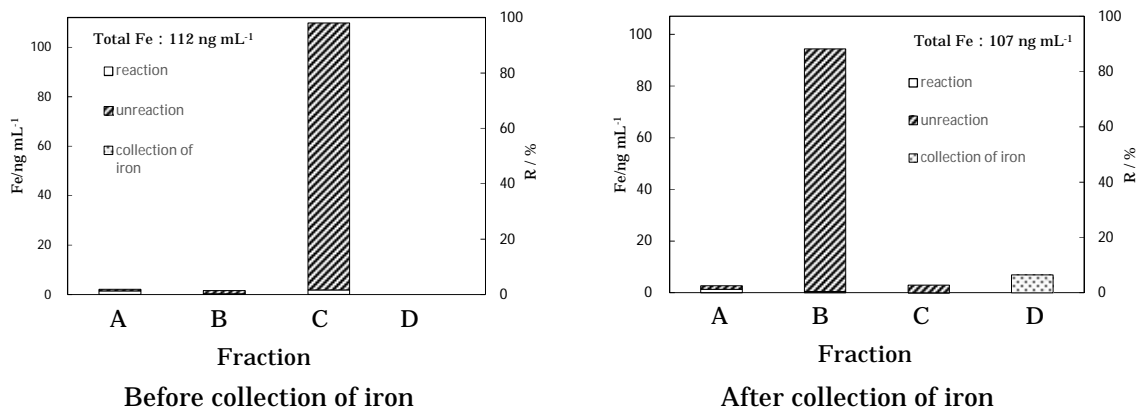


Fig. 4.8 Elution of HA from chelate disc.

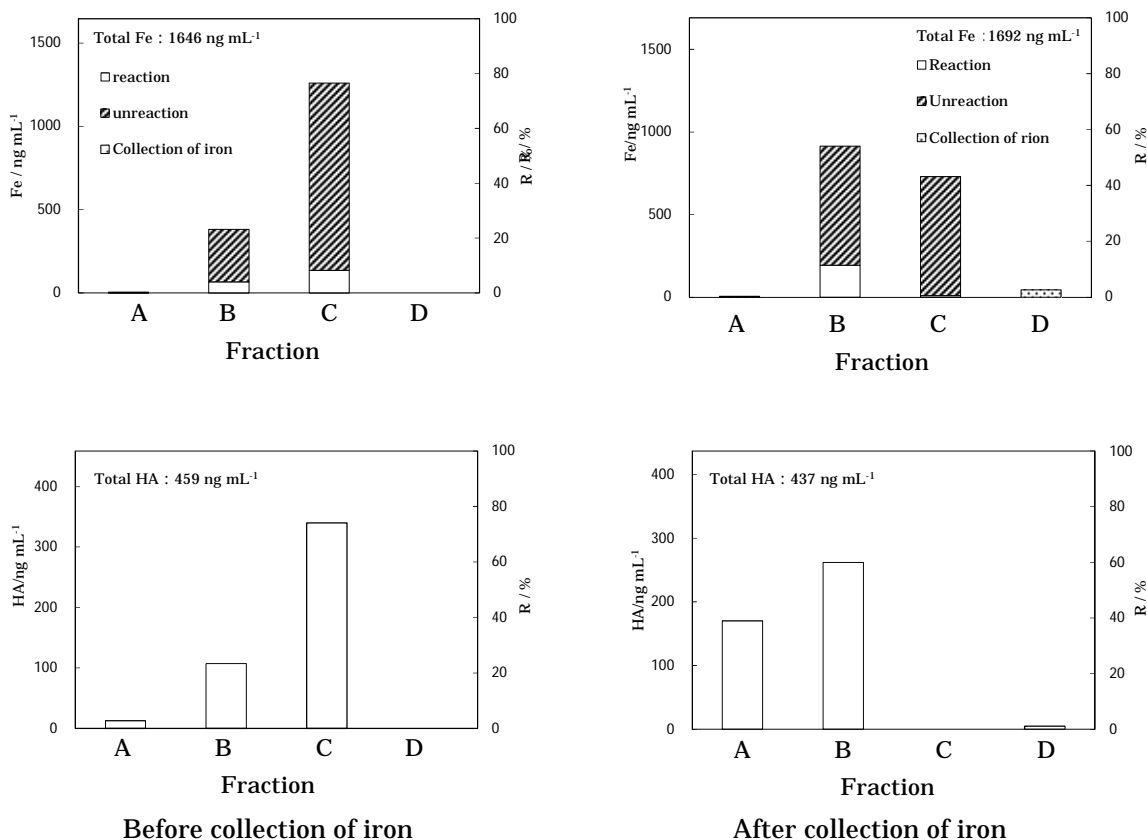
### 4.3.3 疑似河川水中の捕集性鉄の存在状態

0.1  $\mu\text{gFe}(\ ) \text{ mL}^{-1}$  疑似試料 (pH7.0) は、粒径0.45  $\mu\text{m}$ 以上のフラクション (粒子域) に鉄が非反応性鉄として存在し、ほとんどの鉄が水酸化鉄( )粒子として粒径0.45  $\mu\text{m}$ 以上に存在した (Fig. 4.9)。パッシブサンプラーで鉄を捕集すると、捕集性鉄の割合は6%であった。捕集前後の溶液中の鉄の存在状態を比較することにより、捕集によって鉄の存在状態は低分子量側に変化することを発見した。このような変化はパッシブサンプラーを入れることで起こった。

実際の河川水中の鉄に近い存在状態を示す疑似河川水<sup>6)</sup> (1  $\mu\text{g Fe}(\ ) \text{ mL}^{-1}$ -0.5  $\mu\text{g}$ フミン酸  $\text{ mL}^{-1}$ -10  $\mu\text{g Si mL}^{-1}$ ) では、粒子域と高分子・コロイド粒子域に水酸化鉄( )とともに鉄フミン酸凝集体が生成し、鉄の一部は粒子表面に吸着して反応性を示した (Fig. 4.10)。パッシブサンプラーで捕集すると、粒子域の鉄やフミン酸の割合が減り、高分子・コロイド粒子域の割合が増えた。粒子表面の鉄が、パッシブサンプラーのキレートディスクに結合し、粒子表面から鉄がなくなることによって、Fig. 4.10のような捕集による変化、すなわち粒子の細分化が起こると考えられる。また、捕集後のパッシブサンプラーからフミン酸の溶出が起こらないので (Fig. 4.10)、サンプラーに結合した鉄は水酸化鉄や鉄フミン酸錯体ではなく、単純な鉄イオン ( $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{FeOH}^{2+}$ 、 $\text{FeOH}_2^+$ ) と思われる。



**Fig. 4.9** Concentrations of reactive, unreactive and collection of iron, HA and their ratios to the total concentration for artificial river water samples ( $0.1 \mu\text{g Fe}(\text{---}) \text{mL}^{-1}$ , pH7.0) (n=2). Fraction : (A)  $\text{MW} < 10^4$ , (B)  $\text{MW} 10^4 - 0.45 \mu\text{m}$ , (C) particle size  $< 0.45 \mu\text{m}$  and (D) collection of iron.



**Fig. 4.10** Concentrations of reactive, unreactive and collection of iron, HA and their ratios to the total concentration for artificial river water samples ( $1 \mu\text{g Fe}(\text{II}) \text{ mL}^{-1}$  -  $0.5 \mu\text{g HA mL}^{-1}$  -  $10 \mu\text{g Si mL}^{-1}$ , pH7.5) ( $n=2$ ). Fraction : (A)  $\text{MW} < 10^4$ , (B)  $\text{MW} 10^4 - 0.45 \mu\text{m}$ , (C) particle size  $< 0.45 \mu\text{m}$  and (D) collection of iron.



#### 4.3.4 実際試料中の捕集性鉄の存在状態

山梨県甲府市内を流れる荒川河川水を新荒川橋（2017年9月20日）と飯田歩道橋下（2017年12月5日及び2018年1月22日）に採取し試料とした。pHはそれぞれ7.2、7.8、7.2であった。代表的な鉄の状態分析結果をFig. 4.11に示す。鉄が多く存在したのは高分子・コロイド域と粒子域であるが、パッシブサンプラー捕集後は、鉄の存在量が低分子量側で多くなった。フミン酸もパッシブサンプラー捕集後は、鉄の存在量が低分子量側で多くなった。このため、 $1 \mu\text{gFe}(\text{---}) \text{mL}^{-1}$ - $0.5 \mu\text{gフミン酸} \text{mL}^{-1}$ - $10 \mu\text{gSi} \text{mL}^{-1}$ 疑似河川水の状態分析結果と同様に、水酸化鉄(---)や鉄フミン酸凝集体の表面の鉄が捕集され、それによって粒子が小さくなっていくと考えられた。また、疑似河川水と同様に捕集後のパッシブサンプラーからフミン酸の溶出が起こらないので (Fig. 4.11) サンプラーに捕まる鉄は単純な鉄イオン ( $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{FeOH}^{2+}$ 、 $\text{FeOH}_2^+$ ) とと思われる。

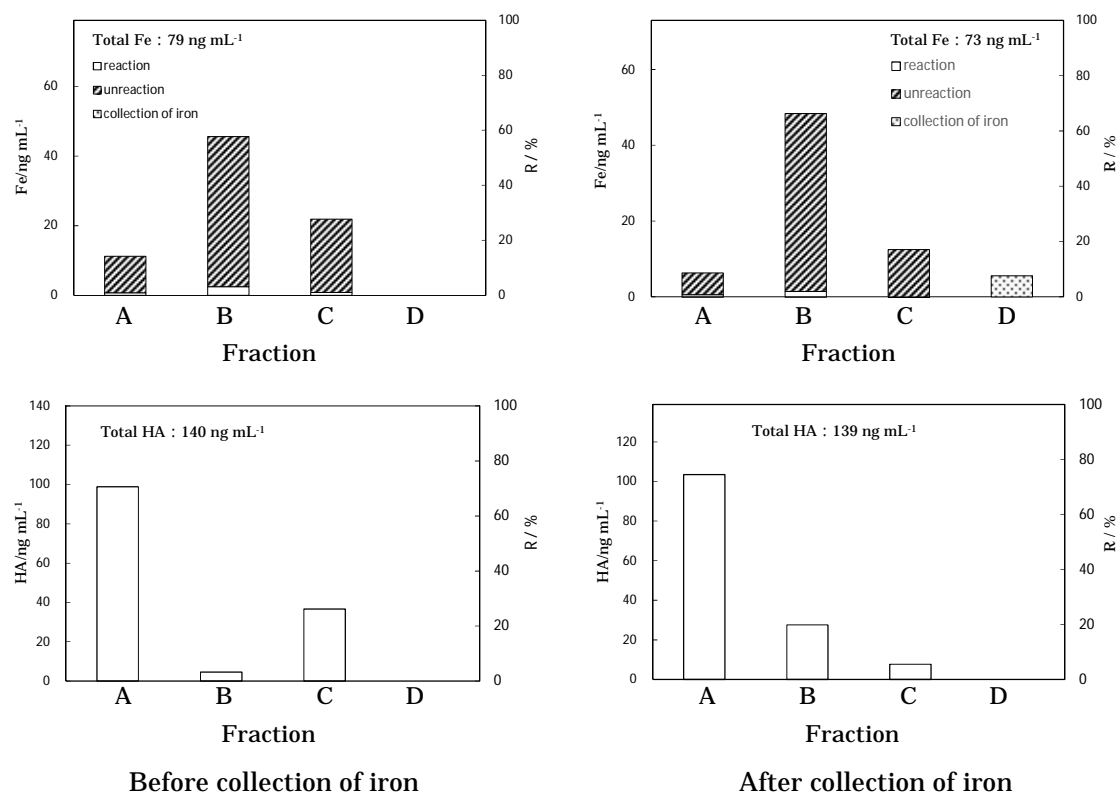


Fig. 4.11 Concentrations of reactive, unreactive and collection of iron, HA and their ratios to the total concentration for Arakawa river water sample (pH7.8) (n=1). Fraction : (A)  $\text{MW} < 10^4$ , (B)  $\text{MW} 10^4 - 0.45 \mu\text{m}$ , (C) particle size  $< 0.45 \mu\text{m}$  and (D) collection of iron.

#### 4.4 結論

環境試料の濃縮採取に有用なパッシブサンプラーに捕集される物質の存在状態を明らかにした。疑似河川水および実際河川水中でパッシブサンプラーに捕集される鉄の存在状態を粒径別（粒子域、高分子・コロイド粒子域、イオン性鉄域）に分け、各フラクション中の反応性鉄と非反応性鉄、金属イオンと錯体を形成するフミン酸濃度を測定した。その結果、水酸化鉄コロイド粒子および鉄フミン酸凝集体の粒子表面に存在する反応性鉄が、単純な鉄イオン（ $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{FeOH}^{2+}$ 、 $\text{FeOH}_2^+$ ）としてサンプラーの捕集剤に結合すること、これにともなう粒子と反応性鉄との結合が切れて鉄の存在状態が低分子領域側に変化することも明らかにした。

#### 4.5 参考文献

- 1) A. Charriau, S. Lissalde, G. Poulier, N. Mazzella, R. Buzier, G. Guibaud: *Talanta*, **148**, 556 (2016).
- 2) Y. Tanizaki, T. Maeno, M. Nakamura, M. Yamazaki, J. Favirou: *Sci. Health*, **A31**, 913 (1996).
- 3) B. Vrana, G.A. Mills, I.J. Allan, E. Dominik, K. Svensson, G. Morrison, R. Greenwood: *Trends Anal. Chem.*, **24**, 855 (2005).
- 4) S. Lissalde, A. Charriau, G. Poulier, N. Mazzella, R. Buzier, G. Guibaud: *Talanta*, **148**, 572 (2016).
- 5) 永井孝志, 恒見清孝, 川本朱美: *陸水学会誌*, **68**, 391 (2007).
- 6) S. Kawakubo, K. Tachikawa, M. Iwatsuki: *J. Environ. Monit.*, **4**, 263 (2002).
- 7) S. Kawakubo, Y. Hagihara, Y. Honda, M. Iwatsuki: *Analytica Chimica Acta*, **388**, 35 (1999).
- 8) 高坂英壱, 石塚眞治: *秋田工業高等専門学校研究紀要*, **43**, 76 (2008).

## 第5章 結論

本研究では、高感度で簡便な測定が望まれる環境水の分析のために、膜濃縮技術を利用する簡易分析法の開発を目指して研究した。試料採取現場で分析する現場分析法は、簡易な方法として設計されるが、従来の現場分析は、分析感度が悪くて環境基準値を測定できない場合が多かったため本研究では膜濃縮との組み合わせによる高感度化に着目した。目的成分を膜フィルターに濃縮し、その反射吸光度を自作の小型反射型比色計で測定することで高感度な現場分析を可能とした。環境基準値が定められているヒ素とリンを目的成分とし、モリブデン青発色反応を基に生成させたモリブデン青に陽イオン界面活性剤を加えてイオン対凝集物を生成させ、膜フィルター上にヒ素とリンを捕集濃縮する方法を考案した。また、環境水中の分析成分の濃縮に用いられている膜フィルターの捕集特性を明らかにするために、キレート修飾した膜フィルターを装着したパッシブサンプラーによる河川水中の鉄の捕集を例に、どのような存在状態で鉄が捕集されるのかを明らかにした。本論文は5つの章からなり、本章では研究の成果を総括する。

第1章の序論では、環境水汚染とそれを監視するための環境分析の歴史から高感度な環境分析の必要性を示した。汚染物質の排水基準値や環境基準値、水道基準値を測定できる公定法が現場分析に適さないことを指摘した。また、地下水等のヒ素の汚染を例に、現場分析では簡易で迅速な分析方法が求められていることを示した。従来の現場分析法を挙げ、分析精度や定量下限などを比較した。以上の研究背景を踏まえて、膜フィルターを用いる膜濃縮技術による分析の高感度化と現場分析への転換の可能性を論じた。また、この技術をパッシブサンプラーに応用して環境水のモニタリングを行う場合の問題点を指摘した。

第2章ではモリブデン青反応を利用したヒ素の高感度現場分析法を開発した。生成させたモリブデン青をイオン対凝集物として膜フィルターに濃縮して反射吸光度を測定する方法を考案した。本法は0.5  $\mu\text{g}$ までのヒ素を定量でき、検出限界は0.01  $\mu\text{g}$  (0.003  $\mu\text{g mL}^{-1}$ )であった。本法を河川水、温泉水、土壌抽出試料に応用することができ、本法の有用性が確かめられた。また、環境基準レベルのヒ素を約25分で定量できた。

第3章ではモリブデン青反応を利用したリンの高感度現場分析法を開発した。ヒ素と同様にモリブデン青を膜フィルターに濃縮して反射吸光度を測定する方法を考案した。ヒ素による妨害は、ヒ素を( )に還元しモリブデン青を発色させないようにして除いた。本法は0.1 µgまでのリンを定量でき、検出限界は0.003 µg (0.001 µg mL<sup>-1</sup>)であった。チオ硫酸ナトリウムを添加することによって0.4 µgまでヒ素( )が許容できた。本法を河川水、湧水及び水道水の分析に応用でき、環境水の現場モニタリングへの応用が期待できた。

第4章では、パッシブサンプラーに捕集される物質の存在状態を明らかにした。疑似河川水および実際河川水中でパッシブサンプラーに捕集される鉄の存在状態を粒径別・分子量別に分け、各フラクション中の反応性鉄と非反応性鉄、金属イオンと錯体を形成するフミン酸濃度を測定した。その結果、水酸化鉄( )コロイド粒子および鉄フミン酸凝集体の粒子表面に存在する反応性鉄が、単純な鉄イオンとしてサンプラーの捕集剤に結合すること、これにともなって粒子と反応性鉄との結合が切れて鉄の存在状態が低分子領域側に変化することが推定できた。

最後に、本研究により示した膜フィルター濃縮法を用いる現場分析が他の環境基準項目についても開発され、広く利用されることを願う。また、本研究で明らかにしたパッシブサンプラーの捕集特性を基に、精度のよいサンプリング方法が開発されることを望む。

## 本論文に関する研究報告

- 1) Y. Hasegawa, Y. Suzuki, S. Kawakubo : *Anal. Sci.*, 33, 859 (2017).
- 2) 長谷川裕弥, 鈴木保任, 川久保進 : 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), 66, 687 (2017).

## 本論文に関する学会発表

- 1) モリブデン青法を用いるヒ素の高感度現場定量法の開発, 川久保進, 長谷川裕弥, 鈴木保任, 山根兵, 第69回分析化学討論会 (名古屋), Y1315, p.254 (2008.5.15).
- 2) フィルター捕集 モリブデン青吸光光度法を用いるリンの高感度現場定量法の開発, 長谷川裕弥, 新藤純平, 鈴木保任, 川久保進, 日本分析化学会第58回年回 (札幌), A1003, p.1 (2009.9.24).
- 3) パッシブサンプラーによる環境水中の鉄の捕集とその特性の評価, 生松祐太, 長谷川裕弥, 川久保進, 日本分析化学会第65回年回 (札幌), H1009, p.127 (2016.9.14).

## 謝辞

本研究を行うにあたり、終始適切なご指導とご鞭撻をいただきました山梨大学大学院医学工学総合研究部 柴田正実 教授ならび川久保進 名誉教授に深く感謝いたします。また、有益なご教示とご高配を賜りました山梨大学大学院総合研究部 鈴木保任 准教授ならび植田郁生 助教に深く感謝いたします。研究実験にご助言いただいた山梨県立大学地域研究センター 輿水達司 特任教授、実験にご協力いただいた佐々木一憲氏、生松祐太氏ならび翠川将平氏をはじめとする多くの方に心から感謝いたします。

本研究は、これらの方々をはじめとする多くの方々に支えられ、達成できたものです。改めて、心からお礼を申し上げます。