

平成 21 年 4 月 21 日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19550084
 研究課題名（和文） 触媒反応を利用する有害金属元素の高感度オンサイト定量法の開発
 研究課題名（英文） Development of sensitive on-site catalytic determination method of toxic metal elements
 研究代表者
 川久保 進（KAWAKUBO SUSUMU）
 山梨大学・大学院医学工学総合研究部・教授
 研究者番号：90143958

研究成果の概要：有害金属元素の高感度オンサイト定量法の開発を目指し、分析成分の触媒作用を利用する分析法を研究した。クロムは *o*-フェニレンジアミン-過酸化水素発色反応を利用し、マンガンはマラカイトグリーン-過ヨウ素酸塩退色反応を利用して定量した。従来不可欠であった一定反応温度への制御や検量線の作成をなくして現場分析を容易にし、0.001 $\mu\text{g/ml}$ レベルの定量を可能とした。クロムについては目視法も考案し、マンガンについては河川水や湖水の分析に応用できた。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2008年度	700,000	210,000	910,000
総計	2,200,000	660,000	2,860,000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：複合化学・分析化学

キーワード：環境分析

1. 研究開始当初の背景

環境基本法では公共水域の水質汚濁について水質基準が定められており、水道水は水道法に基づく基準が決められている。例えば、人の健康の保護に関する環境基準の基準値は、六価クロムで 50 ng/ml 以下、ヒ素と鉛で 10 ng/ml 以下と低濃度であり、河川水、湖水、水道水、排水などに含まれる有害金属元素の測定には高感度な分析法が必要である。このような分析にはフレイムレス原子吸光分析法や誘導結合プラズマ質量分析法などの大型で高価な分析装置が使われている。一方、試料中の成分濃度は、試料の保存によって変化する場合が多く、採取後直ちに分析することが望ましい。また、水質の調査や管理では、連続的な監視が必要な場合もあり、現場で分析結果が得られれば迅速に汚染防

止などの対策を講ずることができる。これらのことから、試料採取現場で分析できる高感度なオンサイト定量法が有用になってきた。

試験紙やパックテストなどのテストキットが市販され、目視比色によるオンサイト分析ができる。また、携帯比色計などを使う機器計測法でさらに精密な分析できる。しかし、環境基準レベルの測定も難しい場合が多く、水質の管理はバックグラウンドレベルからの監視が重要であるにもかかわらず、従来の分析法では検出さえ困難であった。0.1～1 ng/ml レベル或いはそれ以下の成分の高感度なオンサイト分析は例が少なく、触媒反応を利用したオンサイト分析と言える方法は、研究代表者が開発したバナジウムとモリブデンの目視比色法以外に見出せなかった。近年、移動式の X 線分析装置や質量分析装置も研

究、開発されているが、分析コストや可搬性の点だけを見ても、目視比色法や携帯比色計の方が明らかに優れていた。

2. 研究の目的

本研究は、触媒反応に着目した新しい高感度オンサイト分析(現場分析)の開発を目的とし、これまでできなかった低濃度の有害元素のオンサイト分析を可能とする革新的な研究で、水質調査への利用を通して環境保全や汚染防止の進展に貢献する研究である。

本研究では、クロムとマンガンの高感度オンサイト分析のために、従来の触媒反応を利用する比色法の中から、迅速、高感度で、試薬濃度や反応温度などの影響が比較的小さく、試薬の安定性もよい方法を選び、必要に応じて新しい反応系を開発した。さらに、現場での機器計測のために小型比色計の作製し、分析性能の評価を行なった。また、目視法による分析も検討した。

3. 研究の方法

(1) クロムの定量操作

クロムを触媒とする新しい反応系として、過酸化水素による *o*-フェニレンジアミン(OPDA)の酸化反応を利用し、クロムを定量した。小型ガラス瓶に OPDA 溶液と酢酸塩緩衝溶液、試水を探り、水で一定液量に調節し、鉄のマスクングのためにリン酸を少量加えた。過酸化水素溶液を加えて反応を開始させた。一定時間反応(25°Cで 10 min)させた後、6M 塩酸 0.05 ml を添加して反応を止め、吸光度を測定した。吸光度とクロム濃度が比例することを利用してクロムを定量した。分析性能の最適化にあたって反応温度は恒温水槽を使って一定に保ち、分光光度計(430nm)で吸光度を測定した。オンサイト分析では、最大発光波長 470nm の発光ダイオードを装着した自作の小型比色計(10cm×7cm×5cm)(図1)を使った。

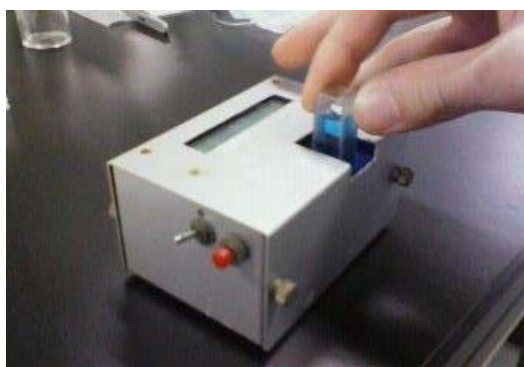


図1 小型比色計

(2) マンガンの定量操作

マンガンに触媒とする反応系として、研究代表者が以前開発した過ヨウ素酸塩によるマ

ラカイトグリーン(MG)の酸化退色反応を利用し、マンガンを定量した。小型ガラス瓶に酢酸塩緩衝溶液と試水を探り、水で一定液量に調節した後、MG 溶液を加え、過ヨウ素酸カリウム溶液を加えて反応を開始させ、一定の吸光度値(小型比色計では 0.785、分光光度計では 1.60 に相当)になったときの反応時間を求め、その逆数がマンガン濃度と比例することを利用してマンガンを定量した。分析性能の最適化にあたって反応温度は恒温水槽を使って一定に保ち、分光光度計(615nm)で吸光度を測定した。オンサイト分析では、最大発光波長 630nm の発光ダイオードを装着した自作の小型比色計(図1)を使った。

4. 研究成果

(1) 小型比色計を用いるクロムのオンサイト定量

試薬濃度、pH、反応温度などの反応条件を検討した結果、触媒作用が大きく、試薬ブランクの反応が遅い条件として反応温度 25°Cで 4mM OPDA、0.5M H₂O₂、pH 5.5 を最適条件とした。触媒反応を利用する分析法では、通常、反応温度を制御しなければ正確な分析は困難であった。しかし、試料採取現場での温度制御は煩雑で、そのための機器も必要となる。そこで、温度を制御せずに分析できる方法を検討した。その結果、25°Cのときの吸光度を与える反応時間と反応温度の間に一定の関係式(図2)が成り立った。反応温度 T (°C)の現場で得た反応時間 t (min)とし、検量線を作成した 25°Cの時の反応時間を t₂₅ とすると、この式から次式が得られ、

$$t_{25} = t \times \exp\{7.69 \times 10^3 (298^{-1} - (273+T)^{-1})\}$$

この式を使って測定値 t を 25°Cの値 t₂₅ に換算した。これより、25°Cで得た検量線を予め用意すれば、現場で検量線を作成する必要がなく、反応温度を一定値に制御する必要もな

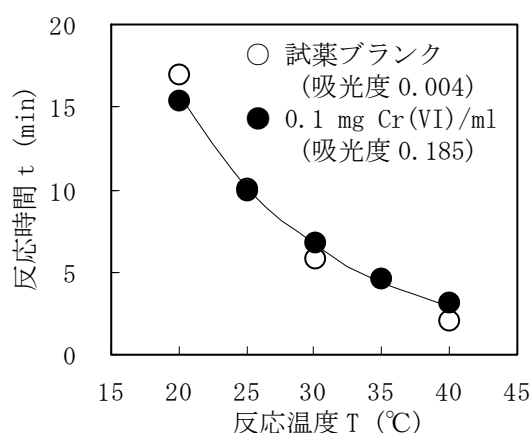


図2 一定吸光度を示すときの反応温度と反応時間の関係

曲線の式： $t = 6.28 \times 10^{-11} \exp\{7.69 \times 10^3 / (273+T)\}$

くなった。

本法は鉄の妨害が著しかったが、20mM リン酸イオンを共存させることにより、Fe(II)で0.05 $\mu\text{g/ml}$ 、Fe(III)で0.1 $\mu\text{g/ml}$ まで許容できるようになった。Cu(II)の許容量は0.02 $\mu\text{g/ml}$ であったが、天然水中の濃度は0.01 $\mu\text{g/ml}$ も満たない場合が多い。Cr(III)についてはCr(VI)の1/5の濃度で影響がなく、Cr(VI)に対して選択性があった。小型比色計を使って1 $\mu\text{g/ml}$ まで直線性のよい検量線が得られ、反応溶液中の濃度で0.003 $\mu\text{g/ml}$ の検出限界が得られた。

(2) 目視法によるクロムのオンサイト定量

本反応は反応試薬濃度に対して零次に近似できるので、試薬ブランクの反応が無視できるとき、反応生成物のOPDA酸化物の吸光度は[Cr] (触媒濃度)と反応時間 t に比例する。測定現場で既知濃度[Cr]= C_s を反応時間 t_s 反応させたものを色標準とすると、同じ発色を示す試料の反応時間が t であったとき、

$$C=C_s t_s / t$$

が成り立つ (C は試料の発色液中のCr濃度)。これより色標準と試料の発色の一致を目視により判断することによってクロムが定量できる。判定のしやすさから色標準には0.01 ng/mlのクロム(VI)を25°Cで10min反応させたものがよく、反応温度が異なるときは図2に示す式で反応時間を調節して同じ発色を得た。0.01 ng/mlのクロムが約30%の誤差で定量でき、本目視法は環境基準濃度に対する濃度の判定に適していた。

(3) 小型比色計を用いるマンガンのオンサイト定量

本法で利用したMG-過ヨウ素酸塩反応は、反応初期に退色しない期間(誘導期)がある(図3、反応温度30°C)。誘導期の長さの逆数はマンガン濃度に比例し、この関係を用いてマンガンの定量が可能であった[深沢力, 川久

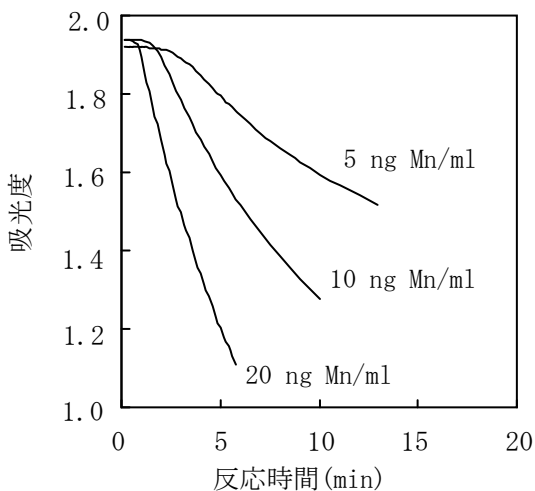


図3 異なるマンガン濃度における反応曲線

保進, 望月学, 分析化学, 32, 670 (1983)]。しかし、誘導期の長さを作図によって求めるためオンサイト定量に不向きであった。本研究では、一定吸光度に達するまでの反応時間の逆数がマンガン濃度に比例することを見出し、これをオンサイト定量に利用することにした。

迅速に感度よくマンガンが定量できる反応条件として反応温度30°Cで $2.2 \times 10^{-5} \text{M}$ MG、0.42mM KIO_4 、pH 3.8を選んだ。反応温度30°Cで分光光度計を使って求めたマンガンの検量線は2~60 $\mu\text{g/ml}$ の範囲で良好な直線性を示したが、2 $\mu\text{g/ml}$ 以下では感度が低下した。

クロムのオンサイト定量と同様に温度制御せずに分析する方法を検討した結果、一定の吸光度値(分光光度計で1.60)になったときの反応時間 t (min)の逆数 $1/t$ 、マンガン濃度[Mn]と反応温度 T (°C)の間には次の近似式が成り立つことを見出した。

$$1/t = (k_1 T - k_2) [\text{Mn}] - (k_3 T - k_4)$$

ここで $k_1 \sim k_4$ は定数である。この式から、検量線を作成した $T=30$ に対する $1/t$ は、

$$(1/t)_{30} = (30k_1 - k_2) [\text{Mn}] - (30k_3 - k_4)$$

これら二つの式から、[Mn]項を含まない $1/t$ 、 $1/t_{30}$ 、 T の関係式

$$(1/t)_{30} = (1/t + k_3 T - k_4) (30k_1 - k_2) / (k_1 T - k_2) - (30k_3 - k_4)$$

が得られた。この式に現場の反応温度 T と測定値 t を代入すれば30°Cの $1/t$ 値が換算できる。これより30°Cで得た検量線を予め用意すれば、現場で検量線を作成する必要がなく定量できるようになった。小型比色計 ($T=18^\circ\text{C}$) で0.003~0.02 $\mu\text{g/ml}$ のマンガンの t を測定し、30°Cの $1/t$ 値に換算して求めた定量値から0.0005 $\mu\text{g/ml}$ 程度の誤差で定量できることが分かった。

小型比色計による検量線は反応温度20°Cで少なくとも0.02 $\mu\text{g/ml}$ まで直線性があった。検出限界は反応溶液中の濃度で0.0006 $\mu\text{g/ml}$ であったが、温度補正の際、0.0005 $\mu\text{g/ml}$ 程度の誤差が見込まれた。

実際試料に応用した結果を表1に示す。小型比色計を使った本法の分析値は黒鉛炉原子吸光分析法(GFAAS)による値と約10%以内

表1 実際試料のマンガンの定量結果 (n=3)

	本法 ($\mu\text{g/ml}$)	GFAAS ($\mu\text{g/ml}$)
河川水 A	0.21 \pm 0.01	0.193 \pm 0.004
河川水 B	0.016 \pm 0.001	0.0152 \pm 0.0003
河川水 C	0.0045, 0.0044	0.0051 \pm 0.0002
湖水	0.045 \pm 0.002	0.044 \pm 0.002

河川水 C: 日本分析化学会河川水標準物質 (JSAC0302、認証値 0.0050 \pm 0.0001 $\mu\text{g/ml}$)

の誤差で一致した。水道水への応用ではマンガンは検出できず、GFAAS の結果と矛盾なかった。

5. 主な発表論文等

〔学会発表〕(計1件)

川久保進, 山野井崇, 小島惇二, 新藤純平, オフェニレンジアミン-過酸化水素反応を利用するクロムの接触定量, 日本分析化学会第57回年会(福岡), Y1023, p.342 (2008.9.10).

6. 研究組織

(1) 研究代表者

川久保 進 (KAWAKUBO SUSUMU)

山梨大学・大学院医学工学総合研究部・教授
研究者番号：90143958

(2) 研究分担者

鈴木 保任 (SUZIKI YASUTADA)

山梨大学・大学院医学工学総合研究部・助教
研究者番号：20262644