

機関番号：15201

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20550077

研究課題名(和文) カラム固相の捕集、濃縮、検出能を利用する環境水のオンサイト簡易分析法の開発

研究課題名(英文) Studies on simple on-site analysis for water quality of environmental water based on collection, concentration, and detection of solid-phase in column

研究代表者

奥村 稔 (OKUMURA MINORU)

島根大学・総合理工学部・教授

研究者番号：30032650

研究成果の概要(和文)：カラムを利用して、この中に形成される発色帯の長さから簡易に定量を行い、さらに固相抽出法でその発色帯を溶離してより精度の高い吸光度法により定量を行う、2段階の定量操作からなる環境水リン酸イオンのオンサイト簡易分析法を開発した。カラムは、疎水性捕集剤を充填して調製した。水中リン酸イオンをモリブデンブルー(青色)の変換し、これをカラムに通して、捕集した。溶離液として、アスコルビン酸溶液を用いた。確立した方法は環境水に適用し、リンの挙動を明らかにする等の良好な結果を得た。

研究成果の概要(英文)：A simple on-site analytical method for the determination of phosphate in environmental water has been developed based on the combination of the analysis using length of colored-band formed in a column and solid-phase extraction followed by precise spectrophotometric determination. The column was prepared by packing hydrophobic sorbent. Phosphate in water was collected as molybdenum blue by the column. The established method was successfully applied to various water samples to clarify the behavior of phosphate in environmental waters.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	800,000	240,000	1,040,000
2009年度	600,000	180,000	780,000
2010年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	2,100,000	630,000	2,730,000

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・オンサイト簡易分析

1. 研究開始当初の背景

研究代表者は、これまでに現場で実施できる現場簡易分析法と現場固相抽出法を開発し、汽水湖や河川水等の環境水水質の現況を現場で把握することに努めてきた。現場簡易分析法として水溶液発色に基づく肉眼の色判別を利用したリン酸イオン(Frezenius Z. Anal., 1987)、溶存酸素(分析化学, 1944)、アンモ

ニア(Frezenius Z. Anal., 1999)の目視比色定量法を開発してきた。また、細長い鉛担持キレート樹脂充填ガラス管カラムの呈色層(黒色)の長さから濃度を判定する溶存硫化物の検知管簡易定量法(分析化学, 1997)を開発した。これらの簡易分析法では、目視比色定量法はとびとびの濃度で作られた標準の色系列と色の濃さを比較して濃度決定をするた

めに、濃度判定において曖昧さが入りやすい。一方、検知管簡易定量法は呈色層の長さから濃度を判定するために、曖昧さが入りにくいことを確認した。しかし、いずれの方法も定量は特定の比較的高い濃度範囲に限定され、極低濃度の定量には適さない。申請者はまた、固相抽出法を環境水現場で利用できるようにアンモニア(Anal. Sci., 2005)、リン酸イオン(Frezenius Z. Anal., 2001)等の栄養塩類、溶存硫化物(Anal. Sci., 1999)、鉄(II)イオン(Anal. Sci., 1997)、マンガン(II)イオン(Anal. Sci., 2002)やヒ素(III, V)(分析化学, 2003)の現場固相抽出法を開発して、環境水に適用してきた。この現場固相抽出法は、現場での操作が簡便で、極低濃度の化学種に対して濃縮分離ができ、化学種の状態分析に適する方法である。

本研究では、曖昧さの少ない検知管簡易定量法とこの方法の欠点を克服すべく低濃度で正確に定量できるように濃縮機構を内包する現場固相抽出法を組み合わせ、発色層の長さから極低濃度の濃度判定ができる新規な現場簡易カラム定量法システムを構築する。

2. 研究の目的

本研究では、現場で目視定量できるオンサイト簡易分析法を開発する。簡易分析法は、従来簡易操作は簡易であるが誤差の大きい分析法と考えられてきた。しかし、本法は、低濃度でも正確に定量できる固相抽出法をシステムとしてこの方法に取り込むことにより、精度及び感度良く分析できるオンサイト分析法として完成させる。環境水水質汚濁の指標としてリンを取り上げ、無機態リンであるリン酸イオン、さらには無機態リンの起源物質である有機態リンのオンサイト簡易分析法の開発を目指す。

3. 研究の方法

試料水中で発色したリン酸イオンをカラムに捕集濃縮し、さらにこのリン酸イオンの発色層の展開による長さから、リン酸イオンが簡易定量できる本研究で根幹をなす基礎的な研究を進める。さらに、確立した簡易定量法を河川水や汽水湖に適用できるように検討し、現場簡易カラム定量法を完成する。

また、カラムで展開した発色層を溶離液で溶出し、吸光度法で精密に定量する方法(固相抽出定量法)についても検討、確立する。さらに、現場簡易カラム定量法を河川水や汽水湖に適用し、リン酸態リンの分布、挙動の実態を明らかにする。

このために、次の実験・研究を行った。

(1) リン酸イオンの発色と吸着捕集剤の検討

①発色： 本法では、現場で操作を行うために試料水をシリンジにとり、発色後シリンジを介してカラムに通す。この操作方法は既に現場固相抽出法で実施し、現場法として非常に有効であることが実証済みである。リン酸イオンの発色には、モリブデン酸アンモニウムとの反応によるモリブデン青の生成を利用する。発色条件と濃縮が可能ないようにシリンジを用いて試料液量の検討を行った。

②吸着捕集剤： 発色したモリブデン青を吸着捕集剤について検討した。モリブデン青はヘテロポリ酸であるため、イオン交換性あるいは疎水性の吸着剤への捕集吸着特性について調べた。

(2) カラムにおける発色層の展開液の検討
吸着捕集剤を充填したカラムを用いて、展開液として各種の水溶液、溶媒について吸着捕集したモリブデン青の展開を検討した。環境への影響を低く抑えるために、展開液として水、塩酸等の酸水溶液、水酸化ナトリウム等の塩基水溶液、エタノール等について比較検討した。展開液の濃度、pH等は発色層の展開に強く影響する因子と推察され、最適な展開液を見いだすことに努めた。

(3) カラムの調製と展開液の通水速度の検討

①カラムの大きさ： 溶存硫化物の検知管簡易定量法の研究の知見から、カラムの内径は試料水、展開水の操作のし易さ及び発色層の長さ著しく影響する。このため、内径5 mm以下のカラムについて、操作のし易さと発色層の長さの観点から比較検討してカラム内径を決定した。

②展開液の通水速度： 溶存硫化物の検知管簡易定量法の研究から、手動で操作する発色試料液のカラム通水速度はほぼ一定に保たれる。しかし、通水速度が著しく異なると発色層の長さに影響する(通水速度が大きいと発色層は長くなる傾向がある)。このため、発色試料水の通水速度と発色層の関係を明らかにした。

③捕集吸着剤の充填量： 捕集吸着剤の充填量は、手動で行う操作のし易さ及び通水速度に強く影響する。このため、充填量の違いによる操作のし易さと本法定量の上限における発色層の長さから求めた。

(4) 検量線の作成

上記の1～3の実験研究から最適条件を明らかにし、簡易分析方法を確立した。リン酸イオン濃度と発色層の長さとの関係を明らかにし、検量線を作成した。

(5) 発色層の溶離、精密定量の検討

現場での簡易定量のみでなく、持ち帰ったカラムを用いて研究室で精密に定量できるように、固相抽出法の手法を用いて発色層の溶離液について検討した。溶離液として、先の展開液と同様に酸や塩基の水溶液、エタノールを有害性の無い溶液を中心に適切なものを比較検討した。溶出液のモリブデン青の最大吸収波長を確認し、リン酸イオンの吸光光度法による正確な定量法を確立する。有機態リンについても有機物分解後のリンについて確立した方法を適用し、固相抽出に基づく有機態リンの簡易分析及びその溶離後の吸光光度測定による精密定量法を確立する。

(6) 確立した方法への他イオン及び塩分の影響（定量への妨害）の検討

本法を環境水に適用できるように検討した。通常環境水にみられるイオン類、海水に高濃度に含まれる化学種等を中心にその影響をみた。また、様々の塩分濃度をもつ汽水や海水に適用するために塩分濃度の影響についても検討した。これらの検討を通して、本法が、淡水から汽水、海水までの広範囲のフィールドに適用できる方法であるかどうか、検証した。

(7) 現場簡易カラム定量法の環境水への適用

松江市及びその周辺の河川及び汽水湖穴道湖・中海に現場簡易カラム分析法を適用した。リン酸イオンの分布、挙動を明らかにした。

4. 研究成果

(1) 現場簡易カラム定量法

①リン酸イオンの発色と吸着捕集剤

カラムに通す液量は少量の方が操作しやすいために、試料液量を 5ml と 10ml で発色について検討した。シリンジに試料水 5ml あるいは 10ml と発色試薬 (30g/l モリブデン酸アンモニウム溶液、2.5mol/l 硫酸溶液、1.4g/l 酒石酸溶液、0.3mol/l アスコルビン酸溶液を 2:5:1:2 の割合で混合した溶液) をそれぞれ 0.5ml あるいは 1.0ml を混合しメチレンブルーを形成させて、その吸光度測定から発色時間を検討した。発色には 3 分間で十分であった。試料液 50ml を用いる従来法では、発色時間が 15 分であり、この点で時間短縮の改善がみられた。また、シリンジを用いて、空気と触れなかったことにより、空気と接触する従来法と比較し、吸光度が上昇した。

カラム管に充填する充填剤については、ポリ塩化ビニル、シリカゲル、ODS (オクタデシル基結合型シリカゲル)、バイオビーズ等について、比較検討した。バイオビーズは、市販の状態とすり潰した状態を用いた。また、

オルトリン酸標準溶液は 100, 500 $\mu\text{gP/l}$ を使用し、展開剤には 0.01 mol/l のアスコルビン酸溶液を使用した。シリカゲルには発色したリン酸であるモリブデンブルーは吸着されなかった。これは、シリカゲルがイオン性のため、吸着されなかったと考えられる。また市販の状態のバイオビーズにもモリブデンブルーはほとんど吸着されなかった。しかし、すり潰したバイオビーズにはモリブドリン錯体が上部に吸着された。市販のバイオビーズでは粒径が大きいため試料水が流れやすく、モリブデンブルーが吸着される前にカラム管から流れてしまったと考えられる。また、すり潰したバイオビーズでは展開剤を通水すると発色帯は伸びたが、青色が薄く長さを測定することができなかった。これは、リン酸との吸着が強く、内部までしみ込んだためではないかと考えられる。また、このすり潰したバイオビーズは試料水や展開剤を通水するのに非常に時間がかかった。ポリ塩化ビニルではモリブドリン錯体は吸着した。しかし、上部に捕集されるのではなく全体的に発色帯が伸びたため、色が薄くなり長さを測定することはできなかった。また、展開剤を通したところ流出液が青色の溶液になった。このことから、ポリ塩化ビニルではリンとの吸着が弱いのではないかと考えられる。ODS では試料通水後に青色のモリブドリン錯体が上部に捕集された。また、展開剤で展開させたところ、100 $\mu\text{gP/l}$ と 500 $\mu\text{gP/l}$ では異なる長さの発色帯ができ、測定することもできた。以上のことから、本法ではカラムに充填する充填剤には程よく吸着される ODS を選定した。

カラムについては、ODS を内径 3, 4, 5 mm のカラムに充填し、発色帯の長さ、現場での使いやすさなどを比較した。ここで、カラムはガラス製カラム、展開剤はイオン交換水を使用し、発色時間は 15 分とした。内径 3 mm のカラム管が最も発色帯がのびた。しかし、内径 3 mm のカラム管では試料を通水する時、非常に力が必要であり、一般に使用するには使いにくい。そのため、程よく発色帯が伸びた内径 4 mm のカラム管が適当であった。また、ガラス製カラムは割れる恐れがあるので内径 4 mm のプラスチック製カラムについても同様の比較を行った。材質に関係なく発色帯の長さは同じになった。このことから、本法は適度な力で押せて、あまり時間がかからず、発色帯がのび、また安全に使用できる内径 4 mm のプラスチック製カラムを使用した。

②カラムの調製

ODS 約 0.42g をプラスチック製カラムに充填し、カラムを調製した。このときの充填剤の層高は 65mm であった。充填剤の層高が高くなると、人力によるシリンジを用いての試料水のカラムへの通水が困難になるが、65mm

程度の層高であれば、人力によるシリンジでの通水が十分に可能である。カラムのコンディショニングは、エタノール、空気、水を通して行った。

③カラムにおける発色層の展開液の選択と展開液の通水速度

モリブデンブルーの形成により発色させた試料溶液をカラムに通したとき、モリブデンブルーは、リン酸イオンの濃度に関係なく、全てカラムの上部に約3mmの青色発色帯として捕集された。このため、この発色帯を適当な長さに伸ばすための展開剤の検討を行った。

展開剤として、水、0.1 mol/l 塩酸溶液、0.1 mol/l アスコルビン酸溶液、0.1 mol/l アンモニア水、0.1 mol/l 水酸化ナトリウム溶液を比較検討した。水を使用するとき、発色帯は伸びたものの不安定で、1時間で青色が退色した。塩酸は発色帯がほとんど伸びなかった。一方、アスコルビン酸溶液では、薄かったが長くのびた。さらに、アスコルビン酸溶液を通水すると発色帯は長時間安定に保持された。これは、カラム管内が還元的に保たれたためだと考えられる。アンモニア水と水酸化ナトリウム溶液では、2mlで青色発色帯が流れてしまい、流出液が青くなった。このため、展開剤としてアスコルビン酸溶液を選定した。

次に、アスコルビン酸の濃度を变化させた時の発色帯の長さを調べた。アスコルビン酸の濃度が高くなると発色帯の長さも長くなることが分かった。また、アスコルビン酸濃度が0.01 mol/lより高いと発色帯の色は薄くなった。本法では、0.01 mol/lアスコルビン酸溶液を展開剤として使用した。また、展開剤の流速による発色帯の長さへの影響について検討した。流速が0.5から1.5ml/minの間は発色帯は流速とともに短くなるが、1.5から10ml/minでは一定の長さになった。また、流速1.5 ml/min以下で遅く展開剤を通水するとODSの上側が白くなり、発色帯が全体的に下側に移った。以上のことから、本法では、それほど時間がかからず、発色帯が全体的に下側に移らない流速5 ml/min(1分)で展開剤を通水することにした。

④検量線

試料液量5mlを用いたとき、リン酸イオンと発色帯の長さの間にはよい相関がみられた。このため、試料水の液量を5~50mlの間で变化させたとき、試料水中のリン酸態リンの絶対量と発色帯の長さの関係を見た。図1にみられるように、発色帯の長さは試料水の液量に関係せず、試料溶液中のリン酸態リンの絶対量だけに依存する。本法では検量線(試料水中のリン酸態リンの絶対量と発色帯の長さの関係)として、試料水の通水時間が短いことから、試料水量が5mlのものを使

用した。しかし、試料水量5~50mlを使用すると、定量範囲は、2.5~1000 μ gP/lの定量が可能である。

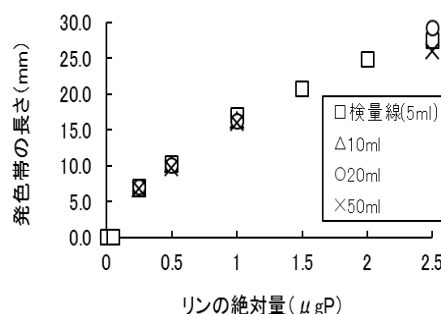


図1 検量線

(2) 固相抽出定量法

①発色層の溶離

固相抽出法の手法により、溶離液によりモリブデンブルーである青色発色帯の溶出を検討した。

比較検討した溶離液は、0.1 mol/l 塩酸溶液、0.1 mol/l アスコルビン酸溶液、0.1 mol/l アンモニア水、0.1 mol/l 水酸化ナトリウム溶液、有機溶媒のエタノール、ブタノールである。また、リン酸イオン濃度は100 μ gP/lを使用した。

塩酸は発色帯がほとんど伸びず、溶離はできなかった。また、エタノールやブタノールでは溶離はされなかった。アスコルビン酸溶液では、展開された発色帯からさらに長くのびたが、溶離はできなかった。アンモニア水と水酸化ナトリウム溶液では、2mlで青色発色帯が流れ、溶離ができた。しかし、溶離された溶液を885 nmで吸光度を測定したところ、30%の溶離率となった。これは、pHが高いためと思われる。オルトリン酸は酸性溶液で発色する。そのため、塩基性溶液で溶離すると青色のモリブドリン酸は変化し、青色が消えたのではないかと考えられる。このため、溶離液にはpHが低く、発色帯ののびたアスコルビン酸溶液は濃度が高ければ溶離されるのではないかと推察された。さらに、溶離された溶液は、発色が長く保持される可能性もある。

アスコルビン酸の濃度を变化させて溶離について検討した。リン酸イオン濃度には100, 500 μ gP/lを使用し、セルは1 cmセルを使用した。また、吸光度の波長は885 nm、流速5 ml/minとした。リン酸イオンの回収率は、0.75 mol/lまではアスコルビン酸濃度の増大とともに増加し、0.75 mol/l以上のアスコルビン酸溶液で定量的回収でき、発色帯がほぼ完全に溶離ができた。このことから、本法では溶離液として1 mol/lのアスコルビ

ン酸溶液を使用した。

溶離した流出液の吸収スペクトルを調べたところ、従来法であるモリブデンブルー吸光光度法による吸光スペクトルと同一であった。このため、従来法と同じ最大吸収波長である 885 nm の波長で溶離液を測定した。

また、溶離液の流速により溶離がどのように変化するか検討した。流速 0.5~6ml/min のあいだで、定量的に溶離ができた。本法では、流速 5 ml/min で通水することにした。

(3) 他イオン及び塩分の影響 (定量への妨害)

淡水である天然水や環境水にみられるイオン類、 K^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Al^{3+} 、 Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Cl^- 、 NO_3^- 、 SO_4^{2-} について、現場簡易カラム定量法と固相抽出定量法への影響について調べた。これらのイオン類の定量への妨害の限界濃度は、現場簡易カラム定量法と固相抽出定量法で同程度であった。陽イオンの Na^+ 、 K^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、及び陰イオンの Cl^- 、 NO_3^- 、 SO_4^{2-} は、g/l オーダーでも影響はみられなかった。また、 Al^{3+} と Cu^{2+} では 500mg/l まで、 Fe^{3+} では 100mg/l まで影響はなかった。また、本法の汽水や海水への適用の可能性をみるために、塩分の影響を検討した。人工海水で調製した塩分 5~35 psu の塩分溶液を用いて調べた。その結果、現場簡易カラム定量法と固相抽出定量法ともに、塩分 35 psu の塩分溶液でも影響を受けないことが分かった。このように、現場簡易カラム定量法と固相抽出定量法は、ともに淡水から海水までの広範囲の天然水、環境水に適用できる。

(4) 標準的分析法の操作

本研究により開発した標準的な分析法の操作は、次のようになる。

ODS を充填したプラスチックカラムに、エタノール 2 ml、空気 2 ml、イオン交換水 2 ml を順次通水してコンディショニングを行った。発色させた試料水 5.5 ml をカラムに通水した。試料水の通水開始から 3 分後に 0.01 mol/l アスコルビン酸溶液 5 ml を約 1 分 (流速 5 ml/min) で通水した。この操作により青色発色帯がカラム内で展開し、適当な長さに伸びた。カラム管の青色発色帯の長さを測定し、あらかじめ作成した検量線からオルトリン酸の濃度を求めた。[現場簡易カラム定量法]

さきに用いた発色帯のあるカラムに 1 mol/l アスコルビン酸溶液 5 ml を約 1 分 (流速 5 ml/min) で通水し、カラム内の発色帯を溶離した。波長 885 nm で溶離液の吸光度を測定し、従来法であるモリブデンブルー吸光光度法で作成した検量線からオルトリン酸の濃度を求めた。[固相抽出定量法]

(5) 環境水への適用

本研究で確立した現場簡易カラム定量法

及び固相抽出定量法を従来法であるモリブデンブルー吸光光度法と、環境水 (汽水) を用いて比較・検討した。結果を図 2 に示す。塩分は、リン酸態リン濃度 220 $\mu\text{gP/l}$ のとき約 30 psu で、ほぼ海水に近い塩分である。

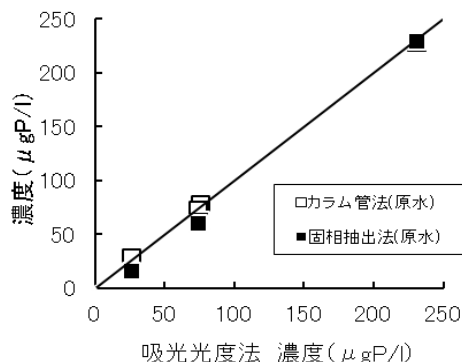


図 2 現場簡易カラム定量法及び固相抽出定量法とモリブデンブルー吸光光度法との比較

現場簡易カラム定量法及び固相抽出定量法によるリン濃度と従来法であるモリブデンブルー吸光光度法によるリン濃度はよく一致しており、本法は環境水に十分適用可能である。

この三つの分析法を汽水湖中海のリン酸態リンの鉛直分布 (夏季) に適用した例を図 3 に示す。

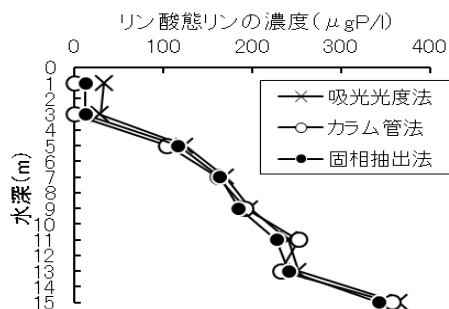


図 3 汽水湖中海におけるリン酸態リンの鉛直分布 (夏季)

リン酸イオン濃度が湖底で高く、リン酸イオンが夏季に湖底から溶出する様子が示された。

また、本法を島根県伯太川に適用し、河川水のリン酸イオンの濃度分布を調べた。山間部の上流では濃度が低い、安来市の町中を流れる下流部では濃度が上昇し、人為的な影響がみられた。

(6) 有機リンの分析

紫外線照射による有機物分解装置（共立理化学研究所 WA-UVR）を用いて有機リンを分解後、本法による分析を試みた。有機リンとしてリン酸ジメチル、リン酸ジブチル、 β -グリセロリン酸等を用いた。現場簡易カラム定量法及び固相抽出定量法ともに良好な結果を得た。しかし、塩分の高い試料水については、固相抽出定量法の回収率の低下がみられた。

このように、本法は、環境水のリン酸イオンの濃度分布の現況や挙動をみるオンサイト分析法として、有用である。

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計 9 件）

- ① 岡本圭司、清家泰、奥村稔、選択的硫酸バリウム共沈を利用する環境水中ヒ素(III)とヒ素(V)の色彩色差法による簡易分別定量法、分析化学、査読有、Vol. 59、2010、pp. 653-658
- ② 奥村稔、塩野貴志、安東国広、清家泰：環境水中溶存酸素の簡便な吸光光度定量法。分析化学、査読有、Vol. 58、2009、317-320
- ③ 井上明子、清家泰、奥村稔：ジルコニウム担持活性炭を用いる環境水中無機態及び有機態リン化合物の簡便な捕集分離と定量。分析化学、査読有、Vol. 57、2008、599-604

〔学会発表〕（計 12 件）

- ① 山本大介、清家泰、奥村稔、カラム固相捕集に基づく環境水中フッ化物イオンの現場簡易分析法、日本分析化学会第 59 年会、2010 年 9 月 17 日、東北大学
- ② 笈美紀、清家泰、奥村稔、環境水における溶存全リン測定法の比較、第 71 回分析化学討論会、2010 年 5 月 15 日、島根大学
- ③ 奥村稔、大石有希子、清家泰、カラムを利用した水中リン酸の簡易目視定量法・固相抽出定量法とその環境水現場分析法への適用、日本分析化学会第 58 年会、2009 年 9 月 24 日、北海道大学
- ④ 奥村稔、現場固相抽出法通して観た汽水環境の化学、第 70 回分析化学討論会、2009 年 5 月 16 日、和歌山大学

6. 研究組織

(1) 研究代表者

奥村 稔 (OKUMURA MINORU)

島根大学・総合理工学部・教授

研究者番号：30032650