

環境水中の微量イオン種定量のための分析法 (2)

—リン酸イオンの定量における吸光光度法とイオンクロマトグラフィー法の比較検討—

蒲生 啓司 ・ 澤本 博道

(教育学部 化学教室)

Analytical Methods for the Determination of Trace Ion Species in Environmental Water (Part 2); Instrumental Comparison for the Determination of Phosphate in Spectrophotometric and Ion Chromatographic Method

Keiji GAMOH and Hiromichi SAWAMOTO

Laboratory of Chemistry, Faculty of Education

Abstract : Instrumental comparison in spectrophotometric and ion chromatographic method was described for the determination of phosphate. In the spectrophotometric method, the phosphate was first transformed to phosphomolybdic acid with molybdic acid under strong acidic conditions, followed by reducing with hydrazine sulfate to produce molybdic blue. The molybdic blue was spectrophotometrically determined at 820 nm. Many kinds of conditional factors for the two serial reactions were investigated to obtain the optimum analytical conditions. The linear response range in the relatively low concentration of phosphate was 0.05 ~ 1.0 ppm. In the ion chromatographic method, which consisted of the non-suppressor single column type, the phosphate was separated by an anion exchange column and determined by direct conductive detection. The linear response range in the low concentration of phosphate was 0.05 ~ 1.0 ppm. A good correlation between the spectrophotometric and ion chromatographic determination of phosphate at the range of 0.5 ~ 1.0 ppm of phosphate was observed in the direct instrumental comparison. However, at the lowest range of phosphate, 0.05 ~ 0.4 ppm, the correlation was not always good. The present analytical methods were applied to the determination of phosphate in river water.

キーワード : 環境化学 水質評価 微量分析 リン酸イオン モリブデンブルー
イオンクロマトグラフィー

緒 言

いっこうに止まるところを知らない化石燃料の消費、各種産業廃棄物の排出等の中で、自然水域の汚染、あるいは水道水源の汚染は、着実にその進行の状況を呈している。こうした中で、WHO^{1, 2)}を始め、米国³⁾や我が国においても、水質基準の見直しが行われている最中であり、水質基準測定項目の公定法についても、現行法で対処するのは非常に困難な状況になっていることが指摘されている。水質基準と同時に、環境汚染物質の生成及び広域移動に関する研究や汚染

物質の除去法の評価、更に、適切な環境基準の設定のためには、環境試料中の微量成分を、精度よく及び高感度で定量する方法の開発、及び再検討が第一義的に重要である。

前報において、環境水中の微量イオン種定量のための分析法の研究の一環として、測定法(測定機器)による定量値の誤差、あるいは相関性を観察する目的から、亜硝酸イオンの定量における吸光光度法とイオンクロマトグラフィー法との比較検討を行った結果について報告した。⁴⁾ 即ち、亜硝酸イオンの定量においては、吸光光度法における誘導体化反応と検出の選択性、及びイオンクロマトグラフィー法における分離と検出の選択性が利用されたわけであり、いずれも再現性のよい結果を得ることができ、両者の相関も非常に高かった。

一方、環境中のリンの挙動に着目すると、例えば、排水の汚濁を受けた公共水域の水には、遊離リン酸イオンを始めとして、オルトリン酸塩、縮合リン酸塩、及び有機リン酸化合物等が含まれており、これらが原因となって藻類などの微生物の繁殖が促進されるため、河川及び湖沼等の富栄養化といった地域環境問題にまで発展してきている。

リン酸イオンは化学的、また生物学的に人類の活動と重要な関係にあり、リン酸イオンの分析法に関する研究も、今日に至るまで数多くの研究者によって各種の分析法が創案されていて、日常の分析においてその選択に困惑してしまうほどである。リン酸イオンの分析法には、主として重量法と比色法、及びイオンクロマトグラフィー法がある。イオンクロマトグラフィー法は、水質基準の公定法としては比較的新しく採用されている方法であるが、我が国では、抗水・廃水試験法⁵⁾や工業用水試験法⁶⁾等に採用されている。

比色法には、リンモリブデン酸による黄色、またはこれを還元してできる青色を吸光光度計で検出するもの、及びこれらを溶媒で抽出する方法等、基本的にはモリブデン酸塩との反応に基づくものが多い。その他の方法では、リンバナドモリブデン酸法、リンバナドタングステン酸法なども知られている。この他、ヘテロポリ酸-マラカイトグリーン会合体の濃縮を利用した、水中のリン酸イオンの高感度分析法も報告されている。⁷⁾

これらの比色法のうち、リンモリブデン酸を還元するモリブデンブルー法は比較的感受度が高いため、工場廃水試験法にも採用されているように、水質分析に広く利用されている。また、廃水では、紫外短波長部に吸収を示す夾雑物質が共存することが多いことから、この点からも、モリブデンとの錯形成に基づく長波長部での検出を行うこの方法が有利であると考えられる。しかし、この方法では、発色させる時に整えるべき種々の条件が存在し、いろいろな発色のための条件設定が提案されているが、いずれの方法でも発色条件が一様ではなく、測定結果に変動が大きいとされている。

本研究では、モリブデンブルー法において考え得る反応パラメータに着目し、発色の最適条件を見い出すと共に、モリブデンブルー法によるリン酸イオンの低濃度領域における定量性、及び検出下限と、イオンクロマトグラフィー法との定量性の直接比較について報告する。

実験方法

1. 測定原理及び方法

モリブデンブルーの生成を利用するモリブデンブルー法は、古くから用いられている比較的感受度の高いリン酸イオンの定量法である。酸性溶液中でリン酸(PO_4^{3-})とモリブデン酸(MoO_4^{2-})を反応させると、その縮合酸である黄色のモリブドリン酸(リンモリブデン酸; $[\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}]^{3-}$)を生ずる。これに種々の還元剤を作用させて還元すると青色の化合物、即ちモリブデンブルーを生成する。この発色は、モリブドリン酸中の12個のMo(VI)のうちの一部がMo(V)に還元さ

れ、混合原子価錯体になり、Mo(VI) - Mo(V)間の電荷移動に基づく強い吸収帯を、可視光線の赤色域にもつことに由来するものと言われているが、化学構造等の詳細は依然として不明である。更に、発色の強度や吸収極大の位置は、反応液の酸性度、試薬の種類や分量、反応時間などに左右されるばかりでなく、反応温度の影響も大きいとされている。モリブデンブルーの生成量は、モリブデン酸過剰条件下では、溶存するリン酸イオン濃度に比例するため、生成するモリブデンブルーの濃度を比色定量することによりリン酸濃度を定量することができる。

実験の手順として、リン酸イオン水溶液の標準溶液、または、リン酸イオンを含む分析試料にモリブデン酸溶液、硫酸ヒドラジン水溶液を加え、数分間加熱する。その後冷水で急冷し、分光光度計によって吸光度を測定し、検量線を作成する。その際、本法における最適化を図るために以下の諸条件を検討した。その項目としては、1) 硫酸ヒドラジン溶液濃度、2) モリブデン酸溶液濃度、3) 硫酸濃度、4) 反応時間、及び5) 反応温度である。

これらの検討結果から反応の最適化条件を求め、その条件下で種々の濃度に調製したリン酸イオンを用いて検量線を作成した。また実試料として河川の水、雨水等を用いてリン酸イオンの検出を試みた。ここで、条件検討に用いたリン酸水溶液の濃度は $5.47 \times 10^{-5} \text{ M}$ (10ppm)とした。またモリブデン酸溶液の濃度は0.1M (これは、モリブデン酸ナトリウムを5Mの硫酸に溶解して調製)、硫酸ヒドラジン水溶液の濃度は0.1Mにし、条件検討の段階で適宜希釈により必要な濃度に再調製した。また、その条件検討項目に応じて、リン酸水溶液の代わりに蒸留水を同量加えて反応させたものを分光光度計のブランクとした。

2. 測定機器及び測定条件

本研究で用いた測定機種は、紫外可視分光光度計(島津製作所製UV-160)及びイオンクロマトグラフ(東ソー製、送液ポンプCCPD、カラム恒温槽CO-8000、レオダイン社製7125型サンプルインジェクタ、電気伝導度検出器CM-8000、及び島津製作所製データ処理装置クロマトパックC-R6Aから成る)である。イオンクロマトグラフィーでは、分離カラムとして、東ソー製 TSK gel IC Anion SW (4.6mm i.d. × 5 cm)を、移動相として、2 mM酒石酸水溶液 (pH 3.0)を用い、流速1.2ml/min、カラム温度40°Cで分析を行った。

結果及び考察

1. 吸光光度法

(a) 硫酸ヒドラジン水溶液の濃度の検討

リン酸イオンの $5.74 \times 10^{-5} \text{ M}$ (10ppm)水溶液を用いて、モリブデン酸硫酸溶液0.1Mとした時の硫酸ヒドラジン水溶液の最適濃度を検討した。図1に示したように、硫酸ヒドラジン水溶液の濃度を $2.5 \times 10^{-3} \sim 5.0 \times 10^{-2} \text{ M}$ の範囲で変動させた時、吸光度が $5.0 \times 10^{-3} \text{ M}$ 付近で最大値が観測されたので、硫酸ヒドラジン水溶液の最適濃度は $5.0 \times 10^{-3} \text{ M}$ とした。

(b) モリブデン酸溶液濃度の検討

リン酸イオンの 5.74×10^{-5} M (10ppm) 水溶液、硫酸ヒドラジン 5.0×10^{-3} M水溶液を用いた時のモリブデン酸溶液の最適濃度を検討した。モリブデン酸溶液の濃度は 5.0×10^{-3} M ~ 0.3Mの範囲で変化させた。 5.0×10^{-2} Mの時点から徐々に吸光度の増加は見られたが、 1.2×10^{-1} M以上の濃度では吸光度が分光器上で確認できる許容範囲を越えてしまうため、リン酸イオン水溶液の濃度を 5.74×10^{-6} M (1.0ppm) にし、それに伴って硫酸ヒドラジンの濃度を 5.0×10^{-4} Mとし、また検討するモリブデン酸溶液の硫酸濃度も5.0Mから0.5Mとした。そうした後に再度モリブデン酸溶液の濃度を 2.0×10^{-2} M ~ 1.0×10^{-1} Mの範囲で変化させた。

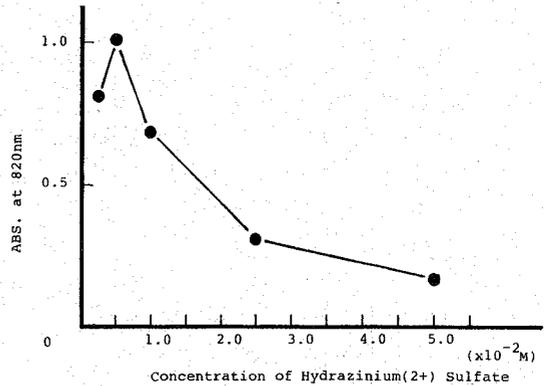


Fig. 1. Effect of hydrazine sulfate concentration on the molybdc blue formation.

図2に、モリブデン酸濃度の違いによるモリブデンブルーの吸収スペクトルを示した。図2 (A) は、モリブデン酸濃度 2.5×10^{-2} Mの時、図2 (B) は、 2.0×10^{-2} Mの時のデータである。このスペクトル比較から明らかなように、モリブデン酸濃度がリン酸の定量性に微妙な影響を与えるのではないかと考えられる。即ち、図2 (B) に示される様に、リンモリブデン酸の最終還元体に起因すると考えられる820nm前後の吸光度が、明確に判別できるのに対して、図2 (A) では、650nm付近での吸光度が依然として大きく観察され、これ以上のモリブデン酸濃度になると、もはや820nmの吸光度の判別が不可能になる。従って、モリブデン酸溶液 2.0×10^{-2} Mをここでの最適濃度とした。

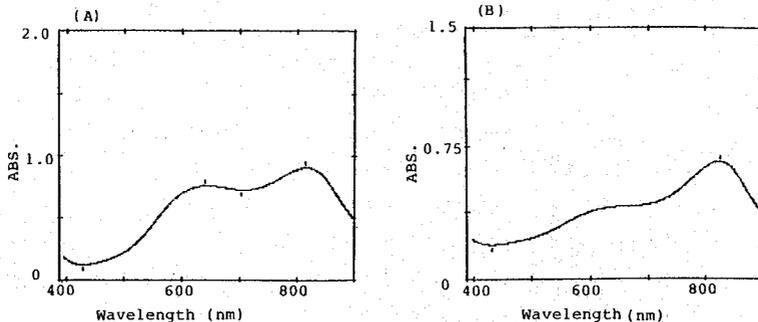


Fig. 2. Effect of molybdic acid concentration on the molybdc blue formation.

(c) 硫酸濃度の検討

リン酸イオン水溶液 5.74×10^{-6} M (1.0 ppm) を用いて、硫酸ヒドラジン 5.0×10^{-4} Mとした時の、モリブデン酸溶液における硫酸溶液の最適濃度を検討した。硫酸溶液の濃度を0.1~0.7Mの範囲で変動させた時、0.5 Mと0.6 Mに820 nm前後の吸収を示し、吸光度が0.5M付近で最大値を観察したので、硫酸溶液の最適濃度を0.5Mとした。

(d) 反応時間

リン酸イオン水溶液 5.74×10^{-6} M (1.0 ppm)、モリブデン酸溶液 (2.5×10^{-2} M)、及び硫酸ヒドラジン水溶液 (5.0×10^{-4} M) を加えた後に、90°C前後での反応時間を検討した。図3に示したように吸光度は経時的に増加する傾向にあったが、15分以降は増加の割合が小さくなったため、ここでの最適反応時間を15分とした。

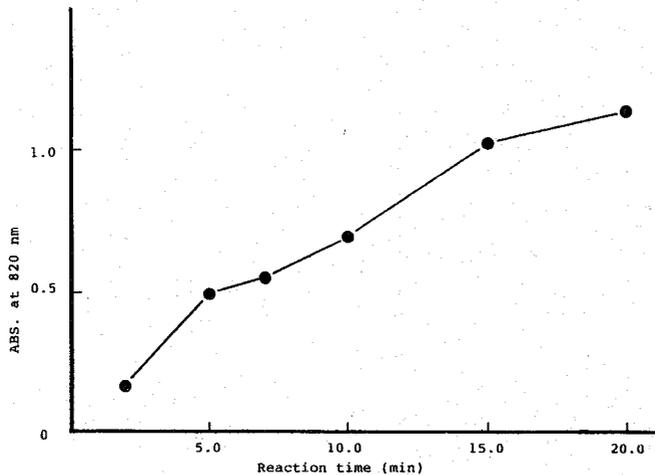


Fig. 3. Effect of reaction time on the molybdic blue formation.

(e) 反応温度

リン酸イオン水溶液 5.74×10^{-6} M (1.0 ppm)、モリブデン酸溶液 (2.5×10^{-2} M)、及び硫酸ヒドラジン水溶液 (5.0×10^{-4} M) を加えた後、15分間の反応時間での反応温度の検討をした。

図4に示したように、60°Cまでは820 nmにおける吸光度は非常に小さかった。60°C以上からは、吸光度は経時的に増加する傾向が見られたので、100°C (水の沸点時の温度) を最適とした。

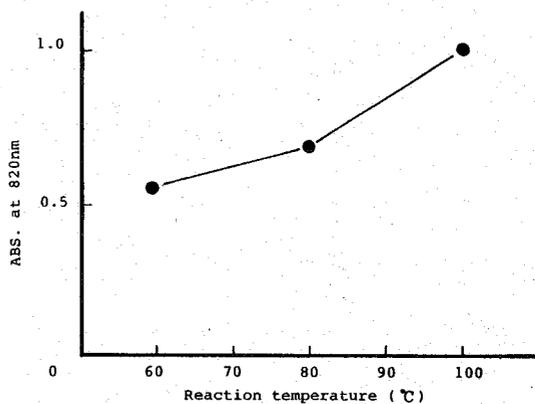


Fig. 4. Effect of reaction temperature on the molybdic blue formation.

(f) 吸光度法におけるリン酸イオンの定量性と検出下限

以上の検討結果により、反応に用いる各試薬の最適濃度、及び容量は、リン酸イオンを含む分析試料 5ml に対して、モリブデン酸の硫酸溶液 (2.0×10^{-2} M / 0.5M H_2SO_4) 5ml、硫酸ヒドラジン水溶液 (5.0×10^{-4} M) 5ml であり、反応時間 15分、反応温度 100°C であった。

この反応条件下で検量線を作成した。検量線は、リン酸イオンの濃度範囲を 0.05 ppm ~ 1.0 ppm として図5に示した。この濃度範囲ではほぼ回帰直線が得られた。0.05 ppm 以下では 820 nm における吸光度の測定が極めて困難であったので、本吸光度法におけるリン酸イオンの検出下限は

0.05ppmとした。

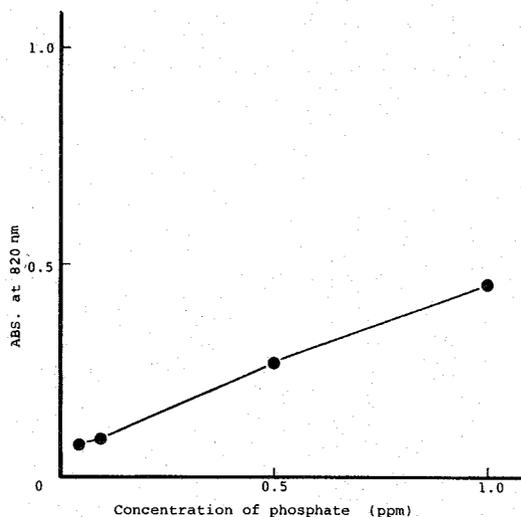


Fig. 5. Linearity of phosphate determined by spectrophotometric detection.

2. イオンクロマトグラフィー法

上記の吸光光度法に使用した同一のリン酸イオン試料を用いて、イオンクロマトグラフィー法によって得られるリン酸イオン濃度とピーク面積の結果から検量線を作成した。リン酸イオン1.0 ppmのイオンクロマトグラムを図6に示した。0.05 ppm~1.0ppmの範囲で検量線を作成したところ、良好な直線関係が得られた(相関係数=0.99)。検出下限は 0.01 ppm (S/N=4)であった。

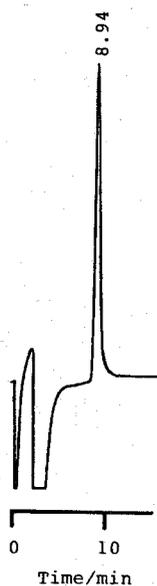


Fig. 6. Ion chromatogram of standard phosphate (1 ppm).

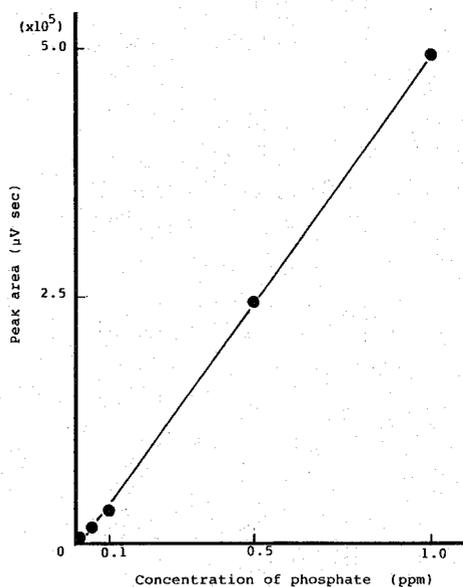


Fig. 7. Linearity of phosphate determined by ion chromatographic detection.

3. 実試料の分析

実試料として河川水を選び、上述の二つの方法に従って分析を試みた。試料は、高知市の河口に近い鏡川（潮江橋付近）から採取したものをを用いた。その結果、吸光光度法からは、約 1 ppm のリン酸イオンを検出した。一方、イオンクロマトグラフィー法では、0.1 ppm 以下の定量値を示した。測定法の違いによって、定量値の大幅な誤差が観察された。標準試料（遊離リン酸イオン）に基づく定量性が、実試料の測定段階でどのように崩されていくのか、あるいは試料中のリン酸の形態がどのようにになっているのか、という課題がクローズアップされた。どちらが正しい定量値を示しているのかの判断は難しいし、ここでは、試料の前処理等も含めて、今後の検討内容として残しておきたい。

結 語

本研究では、モリブデンブルー法における反応条件の最適化を中心に記述したが、条件設定の過程で、幾つかの問題点が指摘された。即ち、この基本的かつ汎用性の高い検出法であるにもかかわらず、反応にかかわる諸条件によって、吸光度変化が大きいことである。特に、リンモリブデン酸形成に用いるモリブデン酸の濃度は、被測定試料中のリン酸濃度に依存して、添加する濃度を変えなければならない、ということが明らかになった。このことは、定量しようとする試料中のリン酸濃度を、予め大まかに知っておく必要があるということであり、他の方法による事前測定や比較が必要であることを物語っている。

河川水の分析では、リン酸イオンの定量値に大きな誤差を生じたが、この要因として考えられることは、被測定試料中の不純物に係わることと、被測定試料中のリン酸の形態に係わるものがあげられる。即ち、吸光光度法では試料を直接反応に用いることから、試料中に含まれる還元性物質によって、大過剰含まれるモリブデン酸の一部が還元を受けて、820 nm 付近の吸光度を上昇させてしまったのではないかと、いう点である。一方、イオンクロマトグラフィーによる方法において低値を示したことは、被測定試料中のリン酸の形態に係わってくるものであり、遊離のリン酸イオンだけを計測するイオンクロマトグラフィー法では、溶解度の小さいリン酸塩や、その他吸着を起こしているリン酸種の計測はできないと考えられるので、強酸処理される吸光光度法で高値を示す結果との誤差を生じてしまう可能性を否定できない。更に、カラムに導入されたリン酸イオンの回収率が問題である。

橋谷らは、宍道湖・中海の陸水化学的研究を行う過程で、一連の“in situ”水質分析法を種々開発している。⁸⁾ いわば「現場簡易水質分析法」であるが、リン酸イオンの測定には、マラカイトグリーン・モリブドリン酸塩法⁹⁾を採用している。更に、リン酸塩を初めとする栄養塩の積算計測にあたって、ジルコニウム担持活性炭 (Zr-C) をカラムを開発し、一定時間水を通した後、吸着したリン酸を脱着して定量している。¹⁰⁾ これらの研究は、分析試料に応じた測定が必要であることを裏付けるものであり、現場の目的にあった分析法の開発が望まれていることを示している。

本研究で取り上げた二つの分析法は、いずれもその特徴を生かしながら分析の現場で使われ、対比されている。イオンクロマトグラフィー法は、常時、移動相という流れの中で分析が行われているため、分析に係わる作業は試料の注入のみである。これを無人化する試みは幾つかなされているが、オートインジェクタ等の使用により連続分析を可能にしている。¹¹⁾

また、吸光光度法においては、反応に用いる試薬を連続的に送液するシステムが構築できれば、測定の自動化が可能である。そうした目的に沿って、現在当研究室では、フローインジェクションー吸光光度法の分析システムを確立すべく、分析条件の検討を開始している。

同一の標準試料(遊離リン酸イオン)を用いて、いくら検量線に相関が得られても、そのまま試料中の定量操作には使えないのではないか、という疑問は、今回行ったような、異なる測定法で同一試料を直接比較したことによって生じたものと考えられる。「遊離リン酸イオン濃度」であるのか、「全リン酸濃度」であるのかを明確にしなければならないことは当然であるが、環境中のリン酸種に対する興味を引き出し、新たな実験計画を生み出す契機となった本研究は、教育的効果の大きい内容を含んでいるのではないかと考えられ、今後更なるデータの蓄積、あるいは別の手法に基づく測定法との比較が必要である。

謝 辞

本研究は、本学部化学教室所属の三回生の精力的な実験によって達成されたものである。ここに、氏名を記すことで感謝の意を表したい。岡村豊成君、草場 実君、浜 大吾郎君、山口郁代君。尚、本研究を推進するにあたり、研究費の一部は、平成4年度教育研究学内特別経費、及び平成5年度特定研究経費によった。ここに深謝の意を表する。

文 献

- 1) WHO: Guidelines for drinking-water quality (1984)
- 2) WHO: Revision of the WHO guidelines for drinking-water quality. *Report of a coordination group meeting in Geneva*, 13-14th, March (1990)
- 3) USEPA 40 CFR Part 141. Drinking water; Substitution of contaminants and priority list of additional substances which may require regulation under the safe drinking water act. 52, No. 130, 25720 (1987)
- 4) 蒲生啓司・澤本博道: 高知大学学術研究報告、第41巻、17 (1992)
- 5) JIS M 0202 抗水・廃水試験法 (1987)
- 6) JIS K 0101 工業用水試験法 (1991)
- 7) 松原チヨ・山本泰孝・小高 学・高村喜代子: 分析化学, 36, 189 (1987)
- 8) 橋谷 博: 環境技術, 19, 539 (1990)
- 9) H. Hashitani and M. Okumura: *Fresenius' Z. Anal. Chem.*, 328, 251 (1987)
- 10) H. Hashitani, M. Okumura and K. Fujinaga: *Fresenius' Z. Anal. Chem.*, 326, 540 (1987)
- 11) K. Gamoh and T. Yagi: *Anal. Sci.*, 4, 433 (1988)

平成5年(1993)9月29日受理

平成5年(1993)12月27日発行