

実験4 環境分析

近年、オゾン層破壊、地球温暖化、酸性雨、熱帯林の減少、砂漠化、海洋汚染などのいわゆる「地球環境」問題が注目され、世代間の公平をめざす地球環境保全や持続可能な開発という考え方が定着しつつある。

地球全体の環境問題として、最も早くから研究や対処が進んだものは主に大気圏に関連したものである。その一つの理由はまず大気圏の中に含まれる物質量が、全地球の物質量に比較して百万分の一以下という極微量であるにもかかわらず環境に大きな影響を与えるからでもある。例えば、全大気中のフロンの量はそれだけを濃縮して地球表面に一気圧、0 のフロン気体層を形成させたとしても、その厚さが μm の桁にしかならない微量のものであるのに、成層圏のオゾン層の破壊に関係してくる。図1に大気圏環境問題と原因物質をまとめた。

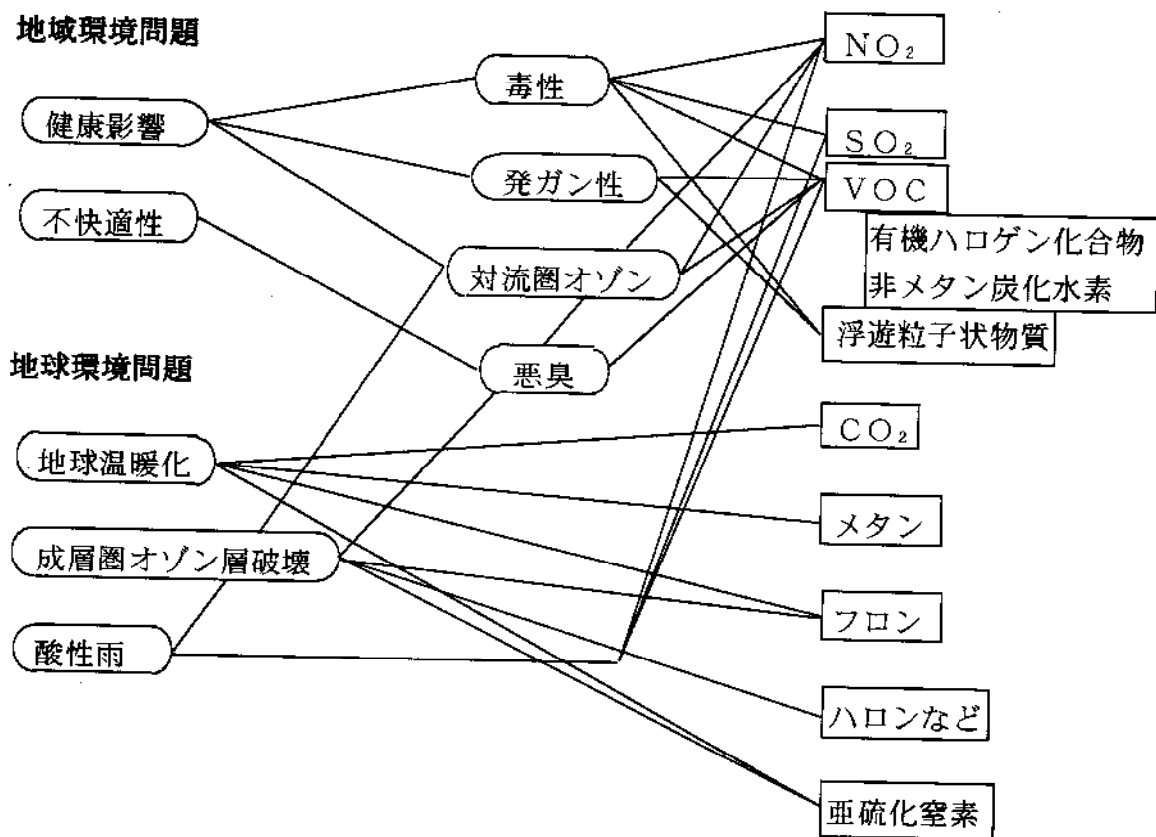


図1 大気圏環境問題とその原因物質

オゾン層破壊や温暖化のような地球規模の変化の原因は、人間活動によって大気中のフロンや二酸化炭素、メタンなどの超微量(あるいは微量)成分が急激に増加したためである。これら気体の濃度の増加が、地球環境の自然の営みを乱していることは、高感度な微量分析手法によって初めて見いだされた。

フロンによるオゾン破壊説(1974)の発端は、大西洋上で超微量の人工物質フロンが、新たに開発された電子捕獲型検出器をそなえたガスクロマトグラフ(ECD-GC)によって検出されたことである。それらの全地球的な分布・平均濃度や動態(経年変化など)を正確に測定することは、将来の予測や影響評価の基礎として現在も最重要課題の一つである。1979年以降の分析結果によれば、フロン11やフロン12の大気中平均濃度は、最近まで年々約4%ずつ増加してきたが、1990年以降北半球での増加傾向は穏やかとなり(図2)、1989年7月から実施された世界的なフロン規制(モントリオール議定書)によって大気中への放出量が削減された効果を反映している。全地球的な増加率から年間のフロン放出量を推定することも

可能であるが、このような目的には、極めて高い精度および確度の超微量分析が要求され、また分析値の相互検量や分析法の標準化が必要となる。

フロンばかりでなく、二酸化炭素やメタン、一酸化二窒素などの微量成分気体の大気中濃度も近年急速に増加しつつあり(図3)、これらの物質はいずれも地表からの赤外放射を吸収するため(温室効果)、地球の平均気温を高める原因となる。今後の温暖化の進行の予測には、これら温室効果ガスの大気中濃度の精密な測定や、発生源(人工および自然の)からの放出量、消滅機構(大気中寿命)などの正確な把握が不可欠である。

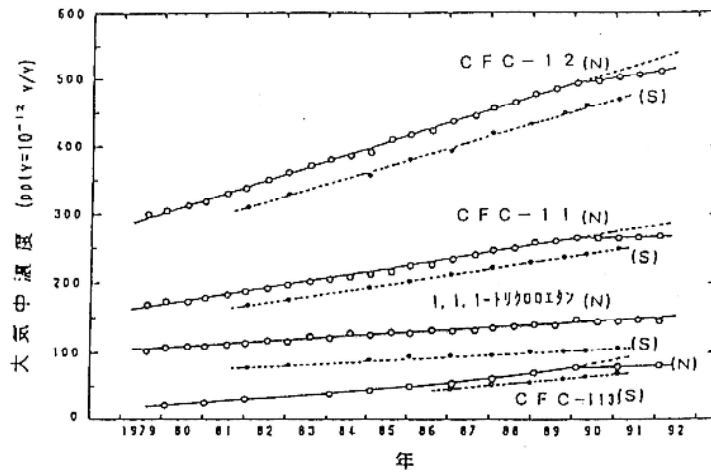


図2 北半球(北海道)と南半球(昭和基地)のハロカーボン大気中濃度の経時変化

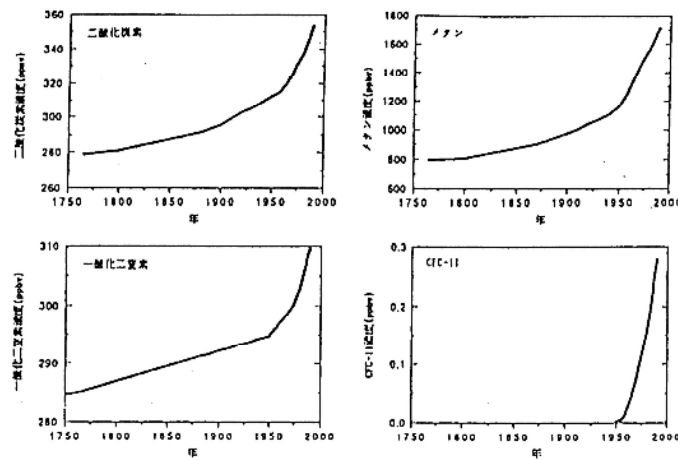


図3 18世紀以降の温室効果ガス大気中濃度の増加

水環境の汚染原因は、自然現象によるもの、生活によるもの、産業によるものに大別される。この中でもとによる水環境汚染が深刻であり、水生生物の生存や人の水利用に様々な支障をきたしている。この中には合成化学物質による汚染もあり、化学が環境汚染の原因といわれることも少なくない。しかし、水環境負荷の少ない高分解性、低蓄積性、低毒性の化学品を開発する真剣な努力が行われているほか、環境保全と水環境汚染防止に役立っている化学もあることを忘れてはならない。

水中の微量の汚染物質を分析して水環境の状態を評価するためには、汚染物質を濃縮する必要があることが多い。濃縮のための方法としては主に、(1)水を蒸発させる方法、(2)有機溶媒で抽出する方法、(3)吸着剤、イオン交換剤などで吸着後に脱離する方法が多く用いられている。これらのうちで(3)の方

法が最も簡便に濃縮率が高く、薬品使用量も少ない。使用される吸着剤としては表1に示したようなシリカ表面に炭化水素を結合させたオクタデシルシランおよびスチレンとビニルベンゼンを重合させた多孔質ポリスチレンが代表的である。これらはいずれも0.3から2 mL の小型カラムに充填されて市販されている。

この他に、汚染物質を含む液を分析する前に不必要なものを除去・精製するためのカラムとしてシリカ、フロリジン(ケイ酸マグネシウム)、アルミナなどの粒子を充填したカラムも市販されている。このように様々な化学材料が、水中の微量汚染物質の濃縮や精製に役立っている。

表1 汚染物質濃縮用吸着材の例

名称	成分	微細孔容積 (mL/g)	内部表面積(m ² /g)
C ₁₈	オクタデシルシラン	0.55	280
PS1	ポリスチレン	1.1	630
CSP800	ポリスチレン	1.1	710

水環境中の汚染物質の濃度を測定する方法としては、主に(a)高速液体クロマトグラフ法、(b)ガスクロマトグラフ法、(c)ガスクロマトグラフ - 質量分析法、(d)吸光光度(比色)法などが用いられている。(a)~(c)のクロマトグラフ法では、化学的な親和力の差を利用して分離した後、様々な方法で検出、定量する方法である。(d)の吸光光度法では、汚染物質と化学薬品とを反応させ(発色させ)て、その色の濃さで汚染物質を定量する方法である。これには、分光光度計によって特定波長の光の吸収率を測定して定量する方法のほかに、直接肉眼で色を定量化した標準色と比べたりして半定量する方法もある。また、プラスチックの容器に発色試薬をつけた粒を細いガラス管に詰めた検知管が市販されている。

表2 パックテストの例

測定物質	測定濃度範囲(mg/L)	測定物質	測定濃度範囲(mg/L)
残留塩素	0.1 ~ 5	ニッケル	0.5 ~ 10
アンモニア	0.5 ~ 10	亜鉛	0.5 ~ 10
亜硝酸性窒素	0.02 ~ 1	銅	0.5 ~ 10
硝酸性窒素	0.2 ~ 10	過酸化水素	0.02 ~ 5
リン酸	0.07 ~ 3.3	フェノール	0.2 ~ 10
シリカ	2 ~ 100	ホルムアルデヒド	0.1 ~ 2
アルミニウム	0.05 ~ 1	6価クロム	0.05 ~ 2
2価鉄	0.2 ~ 10	シアン	0.05 ~ 2
マンガン	0.5 ~ 20		

これは、試料を吸引し、発色部分の長さを測ることにより半定量することができる。パックテストの例を表2に示す。この他にも、水環境中の汚染物質を定量するための様々な化学薬品と化学反応が利用されている。

【実験4(A)】フローインジェクション分析法(FIA)による環境水中の銅の測定

4(A).1:フローインジェクション分析法(flow injection analysis, FIA)

FIAは煩雑な操作を必要とする化学分析を機械化し、極めて簡便な連続流れ分析法としたものである。ポンプにより発色試薬溶液および被検物質を含む試料溶液を流路内に導入し、反応管内にて反応させ、反応管を分光器の吸収セルに直結させて連続的に定量する。通常の化学分析の場合、発色試薬および被検物質の反応速度は遅い場合が多く、反応が完了するまで数10分放置などの操作を必要とする。一方、FIAは反応開始から検出までの測定時間が一定であるため、発色反応率がたとえ30%でも測定データの再現性が得られるので、短時間での定量が可能となる。このような利点からFIAは生産工場内の工程管理分析などの現場実験に導入されている。

4(A).2:実験

(1) 実験の目的

水中の銅を検出するためのFIAシステムを設計し測定することと、FIAにおける測定精度・感度の向上について考察する。本実験で用いる被検物質の銅イオンは環境水中には極微量存在する。銅イオンの検出には比色法を利用し、高感度発色試薬としてポルフィリン化合物を用いる。本実験で用いるメソ-テトラフェニルポルフィリントリスルホン酸(TPPS₃)は、大環状物質であり光吸収の有効断面積および遷移確率が大きく、錯体のモル吸光係数は約50万と非常に大きい。ポルフィリンの環内に他の元素の入り込む速度は遅いため発色試薬として不利な点もあったが、L-アスコルビン酸など数種の反応加速剤が確認され実用上問題はなくなった。TPPS₃は遊離状態と錯体形成の場合とでは最大吸収波長の変化は少ないが、遊離した場合強酸性においてプロトン付加により最大吸収波長が413 nm から434 nm に変化し、銅錯体は強酸性においても413 nm から変化しない。界面活性剤のドデシル硫酸ナトリウムはテーリング防止効果があることから使用している。

(2) 機器、器具

1) 分光光度計、流通セル、測定用コンピュータ

HPLC用ポンプ、ループインジェクタ(ループ容量 500 μL)、反応コイル

2) 100 mL メスフラスコ(5本)、10 mL メスフラスコ(2本)、マイクロピペッター

(3) 試薬

試薬溶液の調製(器具の洗浄はブラシと水洗いのみとする、洗浄液、クレンジャーは汚染のもとになるので使わない)

1) 0.3M酢酸アンモニウム - 5×10^{-3} M アスコルビン酸混合溶液を 500 mL 調製する。

2) 5×10^{-6} M メソ-テトラフェニルポルフィリントリスルホン酸(TPPS₃): TPPS₃ 1.5 mg を水 250 mL に溶解し、これにドデシル硫酸ナトリウム 1.25 g を加えて溶解する。(調製済み)

3) 0.75 M 塩酸

4) 銅標準原液(1000 μg/mL): 金属銅約 1.000 g を 300 mL ビーカーに正確に計りとり、水 10 mL、硝酸 15 mL、硫酸(1+1)15 mL を加え、加熱分解し、硫酸白煙が生じるまで加熱を続ける。冷却後 1000 mL (1.000 L)のメスフラスコに移し入れ、水を標線まで加え、よく振り混ぜて銅標準原液とする。この溶液は 1000 ppm である(調製済み)。

5) 銅標準溶液(10.0 μg/mL): 4)で調製した銅標準原液をマイクロピペッターで 100 μL 採取し、10.0 mL メスフラスコにとり水を標線まで加え、よく混合する。

(4) 実験操作

1) 検量線用溶液の調製：銅標準溶液(10.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$)を 100 μL から 1000 μL まで可変のマイクロピペッターを用いて、以下の表のように 100 mL メスフラスコに採取し水でメスアップする。これらの溶液は銅量が 10.0~40.0 ppb となる。

メスフラスコ	Blank	A	B	C	D
採取量(μL)	0	100	200	300	400

2) TPPS₃およびTPPS₃-Cu錯体の中性および酸性時での特性吸収波長の測定

4本の 100 mL 三角フラスコ(AからD)に、(A) 水 20 mL, (B) 水 20 mL, (C) 40ppb銅標準溶液 20 mL, (D) 40ppb銅標準溶液 20 mL をとり、これに 1 N 塩酸 0.1 mL を滴下びんによりそれぞれ混合する。

これらに、0.3 M 酢酸アンモニウム - アスコルビン酸混合溶液 20 mL、 5×10^{-6} M のTPPS₃ 溶液 20 mL を混合し、5分間放置する。

(B)と(D)に6 N塩酸を滴下びんにて加え、約 pH 1 にする(2~4 mL)。

以上の溶液を自記分光光度計にて波長 380~500 nm の吸収スペクトルを測定し、各々の特性吸収波長を測定する。(A)~(D)のスペクトルを重ね書きして出力する。

以上の手順および結果をもとに、テキストの流路(図4)を参考にして、流路を設計しFIAシステムを組み立て実験を行う。

3) 検量線の作成および未知試料の測定

検量線溶液および検水に、にごりが認められたらNo.1のろ紙でろ過すること。30 mL ビーカーに検量線溶液(または未知試料)を 10 mL 採取し、これに1M HCl溶液約 0.1 mL を加える。これを 5 mL 注射器で採取し、FIAシステムのループインジェクタに約 4 mL 注入したのちコックを切り換えてループ内の試料をシステムに注入する。得られた吸光度変化を読み取り、作成した検量線をもとにs銅の定量を行う。

注：機器の操作の詳しい説明は、装置付属の取扱説明書に従うこと。

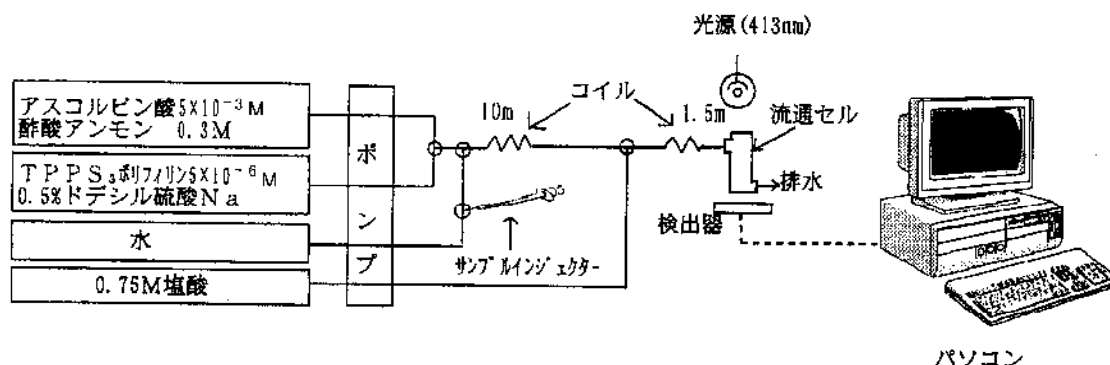


図4 FIA 構成図

4 (A).3:結果のまとめと設問

レポートには、各自の結果をまとめ、下記の設問を中心に考察せよ。

(設問)

- 1) 実験準備7の項を参考に、検量線を定量的に評価せよ。有効数字に注意すること。
- 2) 定量精度および感度向上にはどのような配慮が必要か。
- 3) 発色反応の遅い系の場合どのような対策が必要か。

(参考書)

フローインジェクション分析法 石橋信彦 化学同人

【実験4(B)] イオンクロマトグラフィーによる環境水中の陰イオンの分析

4(B).1:解説

イオンクロマトグラフィーはイオン交換法の一つである。充填剤の表面の電荷を帯びた官能基とそれとは逆符号のイオンが結合する。陰イオンを分離したい時には官能基として一般には四級アミノ基を用いる。分離したい陰イオンを効果的(分離及び適当な時間内に)にカラムから溶出させるために官能基サイトを競争的に交換する陰イオンを移動相に含ませておく。目的成分と競合する溶質を移動相に添加して目的成分の溶出をコントロールするのは他種の液体クロマトグラフィーでも同様である。なお、クロマトグラフィー一般については実験3 分離分析の3(B)1.1, 1.2を参照すること。

イオンクロマトグラフィーに用いるイオン交換樹脂は通常の交換樹脂より交換容量を小さくしたものをを用いる。イオン交換樹脂を適当なカラムに充填し、そこに各種イオンの混合液を注入し、特定の溶液を流すと各イオンは交換樹脂に対する親和力が異なるので、その差によりカラム内を通過する時間つまり保持比が異なってくる。したがってこの方法により各種イオンを分離定量することができる。イオンクロマトグラフィーは、大気汚染、水質汚染の監視、各種食品工業における品質管理、医療分野での応用などに大いに利用されている。

イオンクロマトグラフィーの検出器としては電気伝導度検出器が用いられることが多いが、ここでは紫外(UV)吸収分光法を用いる。塩化物イオンや硫酸イオンの吸光係数は小さいので直接検出はできない。移動相に紫外吸収物質を添加してバックグラウンド吸収を与えておき、目的アニオンが紫外吸収物質と置換した際の吸収量の変化を測定する。これは間接UV法とも呼ばれる。紫外吸収物質には 0.5mMフタル酸水素カリウムを用いる。移動相として水だけではアニオン類はカラムに保持されたままで溶出ししない。フタル酸イオンは官能基サイトを競合してアニオン類を溶出させる働きもしている。以下に検出器分光系の概念図を図5に示す。

光源(重水素ランプ)から放射された紫外光は、球面鏡、平面鏡(アルミ蒸着製)などで入射スリット上に結像される。入射スリットを通った光は、回折格子で分散されて分光され、球面鏡で流通セル(図6)の中心に結像される。ハーフミラーにより、一部の光は対照光検出器に導かれる。この検出器出力は、光源補償のために利用される。一方、流通セルを通った光は試料光検出器で検出される。対照光、試料透過光の差出力を増幅して記録計に出力する。

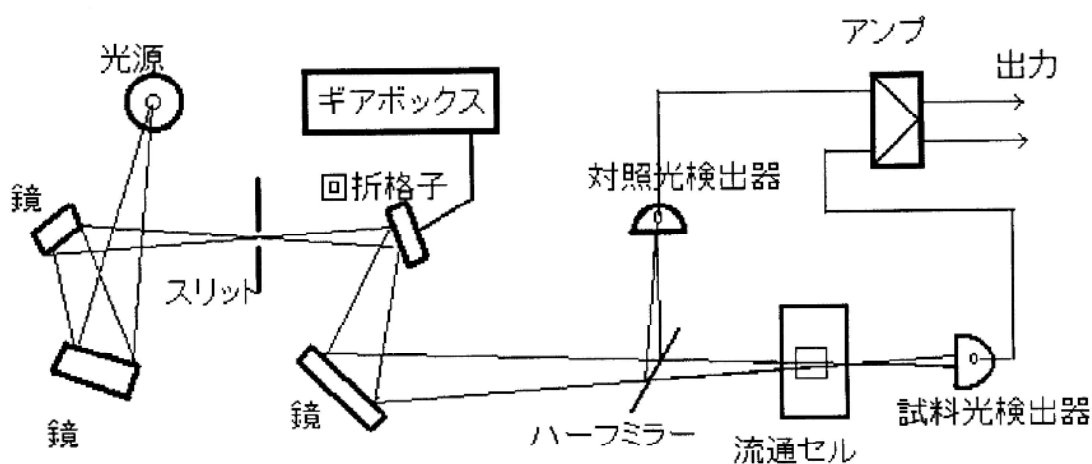


図5 紫外線吸収検出器概略図

4(B).2:実験

(1) 実験の目的

廃水中の陰イオンを陰イオンクロマトグラフ法により定量する。

(2) 機器, 器具

イオンクロマトグラフ、紫外線検出器、記録計
アニオン交換樹脂カラム (IC-Anion-PW)

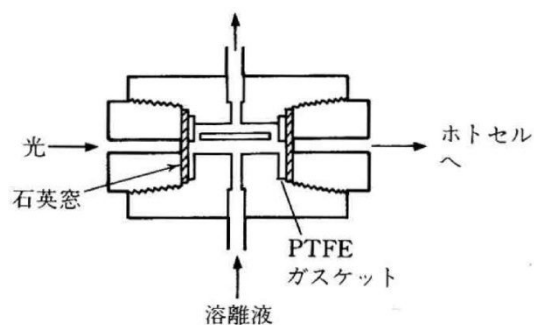


図6 流通セル(H型)

(3) 試薬

1) 溶離液: 0.7 mM フタル酸水素カリウム

0.1 mM ホウ砂

0.5 mM ホウ酸

0.1 mM HEPES (N-2-ヒドロキシエチルピペラジン-N'-3-プロパンスルホン酸)

0.05 mM 炭酸水素ナトリウム (NaHCO₃)

(上記の混合溶液は 0.5 M NaOH で pH 7.3 に調整済み)

2) 硝酸イオン標準原液: 硝酸カリウム (KNO₃) 0.495 g を水に溶解して 1000 mL のメスフラスコに移し、水を加えてメスアップする。この溶液の硝酸イオン濃度は 300 ppm である。

3) 塩化物イオン標準原液: 塩化ナトリウム (標準試薬) 0.330 g を水に溶解して 1000 mL のメスフラスコに移し、水を加えてメスアップする。この溶液の塩化物イオン濃度は 200 ppm である。

4) 硫酸イオン標準原液: 硫酸カリウム (K₂SO₄) 1.815 g を水に溶かして 1000 mL のメスフラスコに移し、水を加えてメスアップする。この溶液の硫酸イオン濃度は 1000 ppm である。

(4) 実験操作

1) 検量線の作成

マイクロピペット(1~5 mL 用)を用いて 100 mL メスフラスコに上記 2) 3) 4)で調製した各イオン標準原液を以下の表のように加え、標線まで水を加えてよくふりまぜる。これをイオンクロマト装置に注入し各イオンの定性及び検量線を作成する。

100 mL メスフラスコ	A	B	C	D
塩化物イオン標準原液	0.00 mL	1.00 mL	2.00 mL	3.00 mL
硝酸イオン標準原液	1.00 mL	2.00 mL	3.00 mL	0.00 mL
硫酸イオン標準原液	2.00 mL	3.00 mL	0.00 mL	1.00 mL

2) 環境水の測定

河川水や池の水のように濁りのある検水の場合は、はじめに 5 mL ディスポーザブルシリンジにとり Whatman 25 mm GD/X Disposable Syringe Filter でろ過し、目盛り付きの試験管にとる。一方、水道水など濁りのない検水は、5 mL ディスポーザブルシリンジにとり、TOSOHマイシヨリディスク(0.45 μm のメンブランフィルター)でろ過して目盛り付きの試験管にとる。これを5分の1に希釈してからイオンクロマト装置に注入し各イオン濃度を測定する。雨水は一般にイオン濃度が低いので希釈する必要はない。

注意: 検水にタンパク質等が含まれカラムが汚れる恐れがある場合、検水を限外ろ過膜に通し、上記のようにイオンクロマト装置に注入する。

4(B).3: 結果のまとめと設問

レポートには、各自の結果をまとめ、下記の設問を中心に考察せよ。

(設問)

- 1) 液体クロマトグラフィーとフローインジェクション分析の異なる点や長短について比較せよ。
- 2) 陰イオンの分離のメカニズムを考察せよ。
- 3) 本実験におけるフタル酸の役割を説明せよ。
- 4) 環境水の測定値に含まれる誤差について考察せよ。

(参考書)

フリッツ他 著、齊藤紘一 訳 イオンクロマトグラフィー 産業図書
武藤、及川編、イオンクロマトグラフィー 講談社サイエンティフィック
及川他著、イオンクロマトグラフィー(機器分析シリーズ) 共立出版