

ノ ー ト

超音波抽出-ジフェニルカルバジド吸光光度法による
土壌中の溶出性クロム(VI) の現場定量川久保 進^{®1}, 鈴木 保任¹, 山野井 崇¹, 丸田 俊久², 長瀬 孝宏²

1 緒 言

土壌汚染対策法の施行に伴って、特定有害物質を使用した土地の所有者には汚染調査が義務付けられるようになり、試料採取現場で迅速簡便に分析できる方法が望まれている。Cr(VI) は、その毒性から土壌の汚染に係る環境基準（環境庁告示 46 号）¹⁾ によって溶出濃度 0.05 mg/L 以下に規制されている。この場合、水と土壌試料の混合比を 10% (w/v) にし、6 時間振とうして Cr(VI) を溶出させる。環境省告示 19 号²⁾では、炭酸塩溶液と試料の混合比を 3% (w/v) にし、2 時間振とうして溶出させ、溶出した Cr(VI) 濃度を含有量として測定している。しかし、いずれの場合も溶出に時間がかかり現場分析には不向きであった。一方、抽出時間の短縮に超音波照射が効果的であることが知られており、比較的小型の照射装置が市販されている。しかし、超音波の周波数や出力強度の溶出への影響は同じ土壌試料でも元素によって異なり³⁾、振とう法と同じ溶出濃度が得られるとは限らない。Cr(VI) の定量については JIS K 0102 (1998) に基づく測定法 {ジフェニルカルバジド吸光光度法、原子吸光法、誘導結合プラズマ (ICP) 発光分析法や ICP 質量分析法} が指定されている¹⁾²⁾。これらの測定法のうち、測定装置が小型化しやすい吸光光度法が現場分析に適し、ジフェニルカルバジド吸光光度法（以下、DPC 法）は Cr(III) が共存しても分離せずに Cr(VI) が定量できる点で優れる。

本研究では、公定法の振とう抽出¹⁾²⁾と同等の溶出が迅速にできる方法として超音波照射の利用を検討した。溶出した Cr(VI) の簡易現場定量には小型比色計⁴⁾を用いる DPC 法を用い、実際の土壌試料や土壌標準物質の分析に応用した。

2 実 験

2・1 試薬及び試料

試薬は特記しない限り市販特級品を用い、水は蒸留水をミリポア製 Simpli Lab-UV で精製したものを用いた。Cr(VI) 標準溶液は二クロム酸カリウムを水に溶かしたものを適宜水で希釈して調製した。DPC 溶液は、水/アセトン (2:3, v/v) で 1,5-ジフェニルカルボノヒドラジド試薬を溶かしたもの (0.04 M) を原液とし、必要に応じて同じ溶媒で希釈して調製した。原液は調製後 1 週間以内に使用した。分析した土壌試料（試料 A～E, Table 2）は告示¹⁾²⁾に準拠して採取、調製した（粒径 2 mm 以下）。試料 A～D には砂状粒子が、粘土質の試料 E には粒径 2 μm 以下の微粒子が多かった。このほか、土壌標準物質として日本分析化学会頒布の褐色森林土 JSAC 0401⁵⁾ と火山灰土壌 JSAC 0411⁵⁾ を分析した。

2・2 装 置

超音波照射器は小型軽量の石崎電機製作所製超音波洗浄器 CS-20 (46 kHz, 15 W) を使った。現場分析のために、日亜化学工業製 RGB 発光ダイオード TSTM515M を光源とし、浜松フォトンクス製フォトダイオード S2386-18K を検出部とした小型比色計⁴⁾ (100 × 70 × 50 mm, 280 g) を自作して使用した。最大発光波長 525 nm (バンド幅 45 nm) の光を吸光度の測定に用いた。現場定量法の検討や性能評価のために島津 UV-160A 分光光度計も使用し、540 nm (バンド幅 3 nm) で吸光度を測定した。両測定装置とも通常の角型ガラスセル（光路長 1 cm）を使って測定した。このほか、セイコー電子工業製 ICP 発光分析装置 SPS1500S 又は SPS1700 を使ってクロムの全量 {Cr(III) + Cr(VI)} と鉄を測定した。この場合、試料溶液を 0.1 M 硝酸酸性にし、Y を内標準として添加したものを測定溶液とした。発光強度は 267.716 nm (Cr), 259.940 nm (Fe) 及び 371.030 nm (Y) で測定した。

2・3 分析操作

土壌試料 2.0 g をポリスチレン製試料容器（容積 120

¹⁾ 山梨大学大学院医学工学総合研究部：400-8511 山梨県甲府市武田 4-3-11

²⁾ 株式会社太平洋コンサルタント研究センター：285-8655 千葉県佐倉市大作 2-4-2

cm³) にはかり取り, 希塩酸で pH を 5.8~6.3 に調節した水 20 mL を加えた後, 容器を超音波洗浄器の水槽に置き, 超音波を 30 分間照射した. 水槽の水量は, 超音波照射によって容器内の溶液が十分かくはんするように調節した. 抽出後, 試料容器を水槽から取り出し, 約 10 分間静置して粒子状物質を沈降させ, 土壌堆積層の上の溶液を孔径 0.45 μm のメンブランフィルターで濾過し, 濾液を抽出試料とした.

抽出試料をガラス瓶 (容積 10 cm³) に分取し, 水を加えて 4.5 mL にした後, 1.8 M 硫酸 0.25 mL, 16 mM DPC 溶液 0.25 mL を加えて発色させ, 水を対照にして吸光度 A_s を測定し, Cr(VI) を定量した. 検量線は, 試料の代わりに Cr(VI) 標準溶液を加えて発色させた溶液を使って作成した. 抽出試料が着色している場合は, 抽出試料に水を加えて 4.75 mL にした後, 硫酸のみを加えて吸光度 A_b を測定し, 補正吸光度 ($A_s - A_b$) を検量線の傾きで割って Cr(VI) の濃度を求めた.

3 結果及び考察

3.1 超音波照射によるクロムの抽出

超音波照射によって抽出溶媒中に分散する土壌粒子は粒径 0.04 mm 程度以下の微粒子であった. 2・3 の抽出操作に従って抽出し, 試料 A から溶出したクロムを ICP 発光分析法で定量して照射時間 (抽出時間) と溶出濃度の関係を求めた結果を Fig. 1 (1) に示す. この結果より, 溶出濃度は照射 30 分以上で一定となったので, 本法では 30 分を照射時間とした. 繰り返し抽出したときの溶出濃度は 0.10 ± 0.01 mg/L ($n = 4$) となり, 相対標準偏差 10% で再現性のある抽出が可能であった. 試料 A を含めて 5 種類の実験試料と 2 種類の土壌標準物質について, 超音波照射抽出法と公定法 (告示 46 号に準拠した振とう抽出) に従って抽出した場合のクロム濃度を比較した結果を Table 1 に示す. いずれの試料も, 超音波照射抽出法と公定法の溶出濃度は誤差 0.01 mg/L 前後で一致した. この

結果から, 超音波照射により, 公定法の 1/12 の抽出時間で, 公定法と同じ溶出濃度が得られることが分かった.

3.2 クロムの溶出特性

固体の表面積と温度が一定で溶液が十分にかくはんされているとき, 抽出時間 t (h) のときの溶出成分の濃度を C , 飽和濃度を C_0 とすると, 固体からの成分の溶出速度は $dC/dt = k(C_0 - C)$ で表せる場合が多い⁶⁾. ここで, $k[h^{-1}]$ は, 溶出表面の面積や温度の項を含む見掛けの速度定数である. 溶出速度式から, 抽出時間と溶出濃度の関係は,

$$C = C_0(1 - e^{-kt}) \quad (1)$$

で表される. 一定濃度に達したときの溶出濃度を C_0 とし, $C < C_0$ のときのデータを式 (1) に当てはめて k を求め, 求めた k 値を式 (1) に代入して Fig. 1 (1) の曲線を得た.

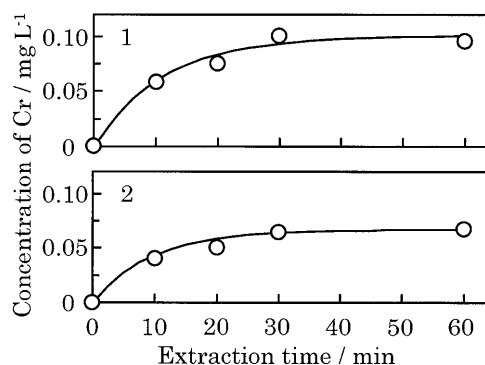


Fig. 1 Effect of ultrasonication on elution of chromium from soil

Soil sample A (2.0 g) was extracted with 20 mL of (1) water or (2) 67 mL of 5 mM Na₂CO₃ - 10 mM NaHCO₃. Concentrations of chromium in leachates were determined by ICP atomic emission spectrometry.

Table 1 Concentrations^{a)} (mg/L) of chromium in water leachates prepared by ultrasonication and mechanical shaking

Soil sample	Ultrasonication ^{b)}	Mechanical Shaking ^{c)}
A	0.10 ± 0.01 ($n = 4$)	0.13
B	0.03, 0.03	0.05
C	0.02	—
D	0.01	0.01
E	0.67	—
JSAC 0401	0.16 ± 0.01 ($n = 3$)	0.160 ± 0.042 ^{d)} ($n = 9$)
JSAC 0411	<0.01 ^{e)}	0.0142 ± 0.025 ^{d)} ($n = 5$)

a) Determined by ICP atomic emission spectrometry; b) Sonication time: 30 min; c) Test method, Notification 46 of Environmental Agency of Japan; d) Reference value for Cr(VI) (Ref. 5); e) No detection

超音波照射下では溶媒が温められるにもかかわらず, 実測値は曲線上の値とほぼ一致した。

水温 20℃ のとき, 水 (pH 5.8~6.3) を溶媒として超音波を 30 分間照射すると溶液の温度は 40℃ 程度まで上昇し, 試料 A の k 値は 5.3 であった。これに対して, 溶液の温度が 40℃ になるように超音波照射器の水槽に一定温度の水を循環させながら照射すると, 30 分間で温度は 50℃ 程度まで上昇し, $k = 6.1$ であった。溶液を温めたほうが速度定数が大きく迅速と言えるが, k 値を式(1)に代入して抽出率が 95% に達するまでに要する時間を求めると, それぞれ 34 分と 29 分で大差なかった。本法では, 現場分析の簡便性を考慮し, 加温せずに 30 分間照射することにした。水温が低くて一定の溶出濃度に達しない場合, 温水で超音波抽出するか, 加温できる水槽部を有する照射器を用意すれば十分な溶出速度を保つことができる。

式(1)から, C_0 が照射時間に依存しないことは, 溶出したクロムと溶出しなかったクロムの間に平衡が成り立つことを示唆するが, 温度が変わると平衡関係が変化して C_0 値も変わる可能性がある。しかし, 抽出後 40℃ になった抽出試料を 40℃ に保った水槽に 10 分間放置しても C_0 値に有意な違いは認められなかったので, 実用上, 温度の影響は無視できた。

抽出溶媒が異なるとき, 抽出速度式や C_0 値が変わる可能性がある³⁾。2・3 の操作に従い, 告示 19 号の炭酸塩溶液 (pH 9.7) 67 mL で抽出した結果を Fig. 1 (2) に示す。この場合も式(1)から求めた値 (曲線上の点) に実測値はほぼ一致し, $C_0 = 0.07$ mg/L であった。比較のため Fig. 1 (1) と同じ溶媒量 20 mL で 30 分間抽出した。この場合, クロムの抽出濃度は 0.09 mg/L で, 告示 46 号の値 (0.10 ± 0.01 mg/L, Table 1) と誤差内で一致することが分かった。森林土壌 JSAC 0401 については 0.15 mg/L で, この試料も告示 46 号の値 (0.16 ± 0.01 mg/L, Table 1) と誤差内で一致した。試料 A の抽出試料は, 水で抽出したときは無色透明であったが, 炭酸塩溶液で抽出したときは黄色であった。JSAC 0401 では, いずれの溶媒でも黄褐色であったが, 炭酸塩溶液のほうが濃かった。この着色はフミン物質 (フミン酸とフルボ酸) に代表される土壤中の有機物質の色と考えられ, フミン酸と鉄との凝集体は, 中性付近で凝集しやすく, 塩基性で溶解することが知られている⁷⁾。したがって, 抽出試料の色の違いは, 抽出溶媒の pH が異なることによるフミン酸凝集体の溶解の違いが原因と考えられる。しかし, その違いがクロムの溶出濃度に影響しないことは, 少なくとも試料 A と JSAC 0401 では, 溶出性クロムはフミン酸凝集体と結合していないことを示す。

3・3 DPC 法によるクロム(VI) の定量

DPC 法の試薬濃度は JIS K0102 (1998) に準拠したが, 現場分析を考慮して溶液量は JIS 法の 1/10 にした。JIS 法では, 溶出試料にエタノールを加え, 煮沸して Cr(VI) を還元したときの吸光度を測定し, Cr(VI) 以外の物質による吸収を補正する。しかし, この操作は煩雑で加熱が必要であり, 現場分析には不向きであった。そこで, 本法では, 2・3 のように, DPC を加えない溶液の吸光度を測定して補正することにした。また, JIS 法では, 発色の変化を避けるために溶液の温度を一定にしているが, 水や試薬溶液を同じ場所に置いている限り問題にならなかった。

本法で用いた小型比色計は, 光源光の吸収を分光せずに測定するため, 分光光度計に比べてバンド幅が広い。そこで, 小型比色計による Cr(VI) の定量性能を分光光度計と比較した。両測定装置とも, 検量線は少なくとも 2 mg/L まで直線性 (相関係数 0.999 以上) を示した。試薬空試験の吸光度を 5 回繰り返し測定して得た検出限界 (3 σ) は, 小型比色計では 0.003 mg/L (2 mL 抽出試料中 0.008 mg/L) で, 分光光度計の 0.002 mg/L (2 mL 抽出試料中 0.005 mg/L) とほぼ同程度であった。Fe(III) は DPC 法の代表的な妨害成分で正の誤差を与える。0.1 mg/L の Cr(VI) の定量における Fe(III) の影響を調べたところ, 鉄は徐々に発色するため手早く測定する必要があったが, どちらの測定装置でも 30 mg/L 以下であれば 5% 以内の誤差で許容できた。試料 A と JSAC 0411 の抽出試料に含まれる鉄の ICP 発光分析法による定量値は 0.1 mg/L 以下で十分許容できる濃度であった。JSAC 0401 では 150 mg/L で許容量を超え, 試料を希釈して分析する必要があった。2・3 の抽出操作では, 許容量を超える Fe(III) が溶出しても水酸化鉄(III) として沈殿し, 汜過によって除かれると考えられる。しかし, 森林土壌 (JSAC 0401) のようにフミン物質を多く含む試料では, 鉄はフミン酸と結合して孔径 0.45 μ m のメンブランフィルターを通過しやすいため⁸⁾, 鉄の影響に注意しなければならない。

3・4 実際試料への応用

2・3 の分析操作に従って土壌試料を分析した結果と告示 46 号に準拠して分析した結果を Table 2 に示す。試料 A, B, E 及び JSAC 0411 (火山灰土壌) の抽出試料は無色透明であったので吸光度の補正は省いた。試料 C, D 及び JSAC 0401 (褐色森林土壌) の抽出試料は, 黄色あるいは黄褐色に着色していたので, 補正吸光度を使って Cr(VI) を定量した。JSAC 0401 とクロムが検出できなかった試料を除き, 小型比色計で測定した分析値は, 分光光度計で測定した値や告示 46 号に準拠した公定法の値と誤差 0.02 mg/L 以内で一致した。JSAC 0401 の溶出試料は黄褐色に着色し, フミン物質を多量に含むと思われる。吸光度を補

Table 2 Concentrations (mg/L) of chromium(VI) in water leachates by the DPC method and the official method

Soil sample	DPC method ^{a)}		Official method ^{b)}
	Portable colorimeter	Spectrophotometer	
A	0.086	0.083	0.12
B	0.024	0.024	0.04
C	0.010 ^{c)} (0.027)	0.011 ^{c)} (0.027)	—
D	<0.01 ^{c)d)} (0.089)	<0.007 ^{c)d)} (0.11)	<0.02 ^{d)}
E	0.71	0.69	0.71
JSAC 0401	0.016 ^{c)} (0.75)	0.027 ^{c)} , 0.024 ^{c)} (0.76)	0.160 ± 0.046 ^{c)} (n = 9)
JSAC 0411	<0.008 ^{d)}	<0.005 ^{d)}	0.0142 ± 0.025 ^{c)} (n = 5)

a) Leachates taken were 0.5 mL for sample E, 1 mL for JSAC 0401 and 2 mL for the other samples; b) Test method, Notification 46 of Environmental Agency of Japan; c) With the correction of absorbance (values in parenthesis were those without the correction); d) No detection; e) Reference value (Ref. 5)

正した分析値は、試料の認証書に記された分析値(参考値)に比べてかなり低かった。DPC法は酸性溶液で発色させるが、酸性ではフミン酸によってCr(VI)がCr(III)に還元されるので⁹⁾¹⁰⁾、定量値が低くなったと思われる。フミン物質を多量に含む試料については、今後、現場分析でも使えるようなCr(VI)あるいはフミン物質の分離法を検討する必要がある。しかし、本法はTable 2に示すように、多くの実際試料に応用でき、現場分析として十分有用と思われる。

文 献

- 1) 環境庁告示 46 号 (1991 年 8 月 23 日).
- 2) 環境省告示 19 号 (2003 年 3 月 6 日).
- 3) F. A. Chmilenko, N. M. Smityuk, A. N. Baklanov: *J.*

Anal. Chem. U. S. S. R., **57**, 372 (2002).

- 4) Y. Suzuki, T. Aruga, H. Kuwahara, M. Kitamura, T. Kuwabara, S. Kawakubo, M. Iwatsuki: *Anal. Sci.*, **20**, 975 (2004).
- 5) 山崎慎一, 平井昭司, 西川雅高, 高田芳矩, 鶴田暁, 柿田和俊, 小野昭紘, 坂田 衛: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **51**, 269 (2002).
- 6) W. A. House, F. H. Denison, M. S. Warwick, B. V. Zhmud: *Appl. Geochem.*, **15**, 425 (2000).
- 7) 後藤克己, 四ツ柳隆夫, 永山政一: 工業化学雑誌, **72**, 1871 (1969).
- 8) S. Kawakubo, K. Tachikawa, M. Iwatsuki: *J. Environ. Monit.*, **4**, 263 (2002).
- 9) P. R. Wittbrodt, C. D. Palmer: *Eur. J. Soil Sci.*, **47**, 151 (1996).
- 10) D. M. Zhilin, P. Schmitt-Kopplin, I. V. Perminova: *Environ. Chem. Lett.*, **2**, 141 (2004).

Field Determination of Leachable Chromium(VI) in Soil by Ultrasonic Extraction - Diphenylcarbazide Colorimetry

Susumu KAWAKUBO¹, Yasutada SUZUKI¹, Takashi YAMANOI¹,
Toshihisa MARUTA² and Takahiro NAGASE²

¹ Department of Materials Design Chemistry, Interdisciplinary Graduate School of Medical and Engineering Science, University of Yamanashi, 4-3-11, Takeda, Kofu-shi, Yamanashi 400-8511

² Research and Development Center, Taiheiyo Consultant Co., Ltd., 2-4-2, Osaku, Sakura-shi, Chiba 285-8655

(Received 14 November 2006, Accepted 24 January 2007)

A simple and fast field method was developed for the determination of leachable Cr(VI) in soil by ultrasonic extraction and colorimetry with 1,5-diphenylcarbonohydrazide. Extraction from 2.0 g of a sample with 20 mL of water was accomplished with 30 min under ultrasonication (46 kHz, 15 W). The extraction was repeatable with a relative standard deviation of 10%. The extraction characteristics were discussed based on elution kinetics. The water-leachable concentrations of Cr(VI) or the total Cr were comparable to those obtained by the shaking extraction (6 h) used in Notification 46 of Environmental Agency of Japan. A detection limit of 0.003 mg/L was obtained by a laboratory-made colorimeter with a RGB light-emitting diode. The proposed method is applicable for soil samples containing no Cr(VI)-reducing matters, *e.g.*, humic substances.

Keywords : chromium(VI); soil; ultrasonication; diphenylcarbazide; colorimetry.