

「論 文」

錯形成反応の最適化による
非イオン界面活性剤検査法の測定精度の改善

岩 間 紀 知 中 村 弘 揮

岐阜大学大学院工学研究科 一般財団法人岐阜県公衆衛生検査センター

李 富 生

岐阜大学流域圏科学研究センター

要旨：水道水中の非イオン界面活性剤 (NIS) 検査法 (告示法) について、錯形成反応の最適化による測定精度の改善を試みた。NIS のコバルト錯体化については、0.1 mol/L チオシアン酸コバルト溶液 (pH 7.6) を用いることで、告示法と比べて錯生成量を 2 倍以上に高める効果が得られた。4-(2-ピリジルアゾ)-レゾルシノール (PAR) によるコバルトの逆抽出については、PAR 溶液 (PAR 濃度 100 mg/L、pH 6) を用い、200 rpm で 40 分間振とうすることで、告示法と比べて錯生成量を 2.5 倍以上に高める効果が得られた。錯形成反応の最適化により、必要な試料量を告示法と比べて半減 (500 mL から 250 mL に) することが可能になった。本法を用いて水道水添加回収試験を行った結果、検量線では真度と併行精度について、また、添加試料では真度、併行精度および室内精度について、厚生労働省の水道水質検査における妥当性評価ガイドラインの評価目標を満たした。

キーワード：非イオン界面活性剤、錯形成反応※、妥当性評価

分類項目：試験方法原理 (120202)、精度管理 (120204)

1. はじめに

非イオン界面活性剤 (nonionic surfactant、NIS) は水道法に基づく水質基準項目¹⁾であり、その検査法²⁾(告示法)として、固相抽出-吸光光度法および固相抽出-高速液体クロマトグラフ法が定められている。両方法とも、前処理部は同じ原理を用いているが、水質基準項目は原則として基準値 (0.02 mg/L) の 1/10 まで測定することが求められるため³⁾、これを満たすことのできる固相抽出-高速液体クロマトグラフ法が一般的に用いられる。

告示法 (以降、「固相抽出-高速液体クロマトグラフ法」のことを指す) は、試料水中の NIS を固相抽出し、トルエン溶液中で NIS とチオシアン酸コバルト (Co-NCS) の複合錯体 (Co-NIS) を形成させた後、この複合錯体中のコバルトを水溶液中に逆抽出してコバルトと 4-(2-ピリジルアゾ)-レゾルシノールの錯体 (Co-PAR) を形成させ、その発色を測定することで NIS 濃度を間接的に定量する方法である⁴⁾。この前処理操作は非

常に煩雑であり、これに起因する検量線の直線性や結果の再現性に関する問題が多く報告されている⁵⁾。

このうち固相抽出部については、三枝と橋渡⁶⁾が、固相抽出後の試料容器を 20~40% メタノール溶液を用いて洗い込むことで NIS の試料容器への吸着が低減され、検量線の直線性が高くなることを報告している。一方、発色操作部については、NIS の容器への吸着低減のためポリプロピレン (PP) 製容器を使用すること⁴⁾や、PAR 溶液の振とう速度の影響^{7,8)}について報告がある。特に、PAR 溶液の振とう速度の影響に関する報告では、告示法で定める振とう時間 (3 分) 内での検討ではあるが、得られる発色強度の差は数十%以上にもなることが示されている。これらの検討結果は、告示法の発色操作部における収率が低く、PAR 溶液の振とう条件が発色強度のパラッキの主要因であることを示唆している。

発色操作部を構成する 2 つの錯形成反応のうち Co-NCS 法は、Hoeve^{9,10)}によりポリオキシエチレ

ン (POE) 化合物の検出法として用いられるようになって以降、溶媒抽出-吸光度法による定量法の開発^{11,12)}もあり、告示法をはじめとした公定法^{13,14,15)}に採用されている。三浦ら¹⁶⁾は、Co-NCS 溶液のコバルト濃度を高めることで Co-NIS 錯体の生成量が高まることを報告しているが、告示法をはじめとする他の公定法^{13,14,15)}では、三浦らの報告よりコバルト濃度が低く、コバルト濃度が NIS の錯形成反応にどのような影響を与えるのか、詳細を再検討する必要がある。また、Crabb と Persinger¹⁷⁾は、Co-NCS 溶液の pH が Co-NIS 錯体を溶媒抽出する際に著しい影響を与えると述べているが、具体的にどのような影響が生じるのかを含め、これまで詳細な知見は得られていない。

発色操作部を構成するもうひとつの錯形成反応である PAR 法については、コバルトを含む金属イオンと PAR との錯形成について多くの報告¹⁷⁾が挙げられている。その応用法として告示法で示されている、トルエン中の Co-NIS 錯体を PAR 溶液に逆抽出して Co-PAR 錯体を生成させる手法については、Inaba による 1 条件¹⁸⁾が報告されているのみであり、錯形成条件に関する知見は限定的である。

そこで、本研究では発色操作部における錯体の収率に着目し、収率を高めた錯形成条件を確立することで、検量線の直線性や検査法の正確度が改善されると考え、発色操作部を構成する Co-NCS 法と PAR 法の両法について錯形成反応の諸条件を再検討することとした。そして、検討の結果得られた発色操作条件を用い、水道水添加回収試験の真度に影響を与える固相抽出部の諸因子についても併せて検討を行い、最適条件を確立した。

更に、本研究で確立した試験法 (本法) の妥当性を検証するため、水道水添加回収試験を行い、本法の測定精度について評価を行ったので、これを報告する。

2. 方法

2.1 試薬

コバルト標準液 (1,000 mg/L、JCSS 化学分析用)、PAR (鹿特級)、トルエン (ダイオキシン類分析用)、チオシアン酸アンモニウム (特級)、ク

エン酸一水和物 (特級) は、関東化学製を用いた。硝酸コバルト (II) 六水和物 (特級)、リン酸水素二ナトリウム (特級)、塩化カリウム (特級)、亜硫酸水素ナトリウム (特級)、メタノール (高速液体クロマトグラフ用)、0.1 mol/L 水酸化ナトリウム (容量分析用)、1 mol/L 水酸化ナトリウム (容量分析用)、5 mol/L 水酸化ナトリウム (容量分析用) は、富士フィルム和光純薬製を用いた。四ホウ酸ナトリウム十水和物 (特級)、チオシアン酸カリウム (特級) は、ナカライテスク製を用いた。ヘプタオキシエチレンドデシルエーテル (1,000 µg/mL、CRM) は、ジーエルサイエンス製を用いた。精製水は、Milli-Q Advantage (メルク) で製造したものをを用いた。

2.2 試液

PAR 原液は、PAR 100 mg をメタノール 100 mL に溶かして調製した。

PAR 溶液 (pH 4~8) は、目的の pH 値となるよう任意の量のクエン酸一水和物とリン酸水素二ナトリウムを添加し、精製水で溶かした溶液に PAR 原液を 10 mL 添加し、精製水で 100 mL とした。

Co-PAR 標準液は、コバルト標準液を PAR 溶液で段階的に適宜希釈し、目的の濃度に調製した。

Co-NCS 溶液は、チオシアン酸アンモニウム 22.8 g と塩化カリウム 10 g を添加して精製水で溶かした溶液に、目的の濃度となるよう硝酸コバルト溶液を添加した後、必要に応じて目的の pH 値となるよう水酸化ナトリウム溶液を添加し、精製水で 100 mL とした。

2.3 器具

発色操作部において、ガラス製器具を用いると回収率が著しく低下するため、試験管およびパイアルは PP 製を用い、試液の採取はポリエチレン製チップを用いた。ただし、発色操作時の溶液の分取には、ガラス製パストールピペットを用いた。

固相は、Inertsep mini RP-1 (ジーエルサイエンス) を用い、使用前にメタノール 5 mL および精製水 5 mL で洗浄した。

2.4 装置

HPLC は、1260 Infinity (アジレントテクノロジー) を用いた。カラムは、Asahipak ODP-40 4D

(昭和電工) を用い、HPLC 測定条件は、告示法に準じた。pH 計は、MM-60R (東亜 DKK) を用いた。

2.5 試験環境

試験は、室温20℃の環境にて、各試料5 併行で実施し、得られた値の平均値を用いた。検量線用標準試料を除き、操作ブランクが検出された試料は、これを差し引いた値を用いた。

2.6 錯形成条件の検討方法

2.6.1 検討に用いた試験方法

図-1に、本研究で検討に用いた告示法のフローを示す。この検討に用いた試液の調製は、告示法に従った。告示法では、PAR 溶液による振とうについて「おだやかに3分」と記載されているが、これについては上水試験方法¹⁹⁾の記載を準用し、120 rpm で水平振とうとした。

図-2に、本法のフローを示す。本法と告示法との主な相違点は、用いる試料量、固相抽出後の洗い込みの有無、Co-NCS 溶液の組成、PAR 溶液の組成と用いる溶液量、PAR 溶液を用いた振と

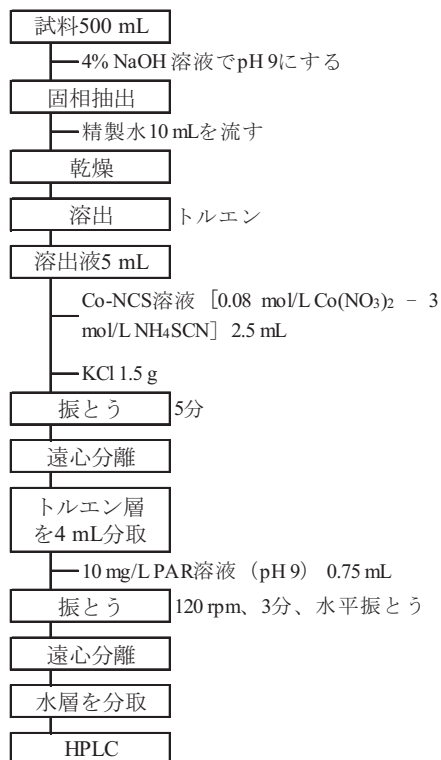


図-1 告示法の操作フロー

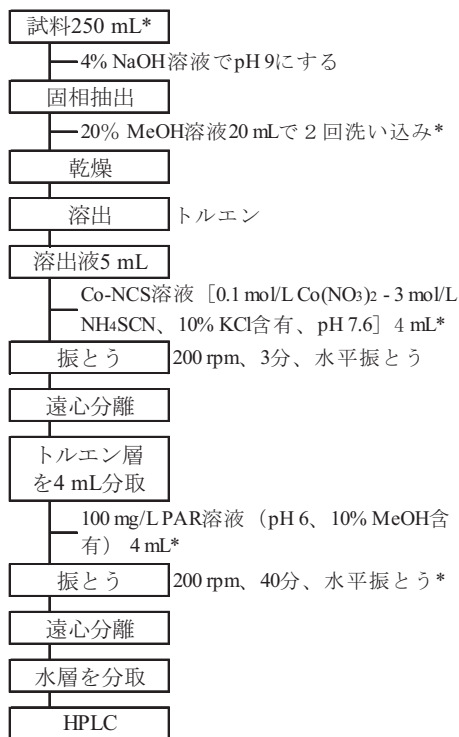


図-2 本法の操作フロー
(* 本研究で検討した項目)

う時の振とう速度と振とう時間である。これらのパラメータを決定するために、PAR 溶液量と PAR 溶液の振とう速度については告示法を用いて検討したが、その他のパラメータについては本法を用いて検討した。

また、告示法では検量線用標準列も試料と同様に固相抽出を行うが、本法では、他の公定法^{13,14,15)}に倣い、検量線用標準列は発色操作のみを行い調製した。

2.6.2 Co-PAR 検量線による定量

PAR 溶液量の異なる試料間で、生成した錯体量を比較するために、Co-PAR 標準液を用いて検量線を作成し、得られたコバルト定量値から Co-PAR に換算した値を用いた。

2.6.3 水道水添加試料の調製

水道水添加試料の調製には、岐阜市水道水を用い、テフロン製の試料容器に採取したのち、1% 亜硫酸水素ナトリウム溶液を用いて残留塩素を除去した。

2.6.4 Co-NCS 法の錯形成条件検討

本法の Co-NCS 溶液を基に、Co-NCS 溶液の組成が Co-NCS 法の錯形成反応に与える影響を検討するため、Co-NCS 溶液のコバルト濃度 (0.005~0.2 mg/L) と pH 値 (3.8~8) について、括弧内に記した範囲内で段階的に変化させた溶液を作成した。この溶液について、0.2 mg/L NIS_{ORG} (添え字 ORG は有機層を示す) 溶液を標準試料として用い、本法の発色操作のみを行った。

また、Co-NCS 溶液の組成が検量線に与える影響を検討するため、Co-NCS 溶液のコバルト濃度 (0.005~0.1 mg/L) と pH 値 (5~7.6) について、括弧内に記した範囲内で段階的に変化させた溶液を用い、0.1、0.2、0.5、1、2.5 mg/L の 5 段階に調製した NIS_{ORG} 溶液 (水道水中 0.002~0.05 mg/L に相当) を標準試料として、本法の発色操作のみを行い検量線を作成した。

2.6.5 PAR 法の錯形成条件検討

告示法における PAR 溶液の振とう条件について検証するため、PAR 溶液量 (0.75~4 mL)、PAR 溶液の振とう速度 (120~200 rpm) および振とう時間 (3~30分) について、括弧内に記した範囲内で段階的に変化させたものを検討した。この検討では、1 mg/L NIS_{ORG} 溶液を標準試料として用い、告示法の発色操作のみを行った。

次に、本法における PAR 法の錯形成条件を決定するため、PAR 溶液の pH 値 (4~8) と振とう時間 (3~60分) について、括弧内に記した範囲内で段階的に変化させたものを検討した。この検討では、本法の定量上限濃度に相当する、2.5 mg/L に調製した NIS_{ORG} 溶液 (水道水中 0.05 mg/L に相当) を標準試料として用い、本法の発色操作のみを行った。

2.6.6 固相抽出に用いる試料容器の材質と容器洗い込み方法の検討

固相抽出操作時の回収率に及ぼす影響として挙げられている、固相抽出時の試料容器洗い込みと、これに影響を与える因子として考えられる試料容器の材質について検討するため、4 種類 [ガラス、PP、フッ素ガスコーティングポリプロピレン (FCPP) およびテフロン] の試料容器材質を用い、固相抽出時における試料容器の洗い込み

方法を精製水 20 mL で 2 回、または 20% メタノール溶液 20 mL で 2 回としたときの、基準値濃度 (0.02 mg/L) における水道水添加回収試験を、本法を用いて行った。

2.6.7 水道水添加回収試験と妥当性評価

本法の測定精度と水道水質検査への適用について評価するため、検査員 1 名が、同一の添加試料を 1 日に 5 併行、5 日間の繰り返しによる水道水添加回収試験を行った。NIS の添加濃度は、基準値 (0.02 mg/L) および基準値の 1/10 (0.002 mg/L) とした。また、告示法と同じ濃度範囲となるよう 0.1、0.2、0.5、1、2.5 mg/L の 5 段階に調製した NIS_{ORG} 溶液 (水道水中 0.002~0.05 mg/L に相当) を標準試料として、本法の発色操作のみを行い検量線を作成し、添加試料の濃度を求めた。

検量線については、本法との比較のため、告示法に従い作成した検量線、告示法の発色操作部のみ行って作成した検量線、および Co-NCS 法を告示法通りに、PAR 法を本法として発色操作部のみを行った検量線の 3 本を併せて作成した。

3. 結果および考察

3.1 Co-NCS 法の錯形成条件

3.1.1 Co-NCS 溶液における緩衝能

図-3に示すとおり、Co-NCS 溶液の pH 調整を行うにあたり、あらかじめ滴定曲線を作成し、溶液の特性を調べた。3 mol/L チオシアン酸カリウムを用いて調製した Co-NCS 溶液との比較から、本法で用いた Co-NCS 溶液は、アンモニウム

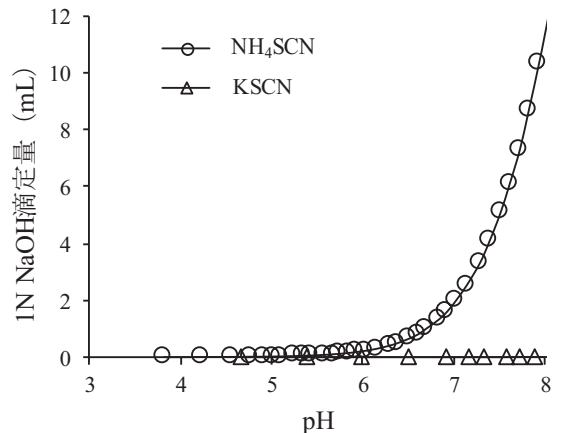


図-3 Co-NCS 溶液 (50 mL) の滴定曲線

イオン (pK_a 9.26) による緩衝能を有していると考えられたため、本法では新たに緩衝液を加えることなく、pH 調整することとした。

3.1.2 Co-NCS 溶液における pH 値の検討

本法の測定対象成分である POE 型の NIS は、エチレンオキサイド部が水溶液中でらせん構造をとっており、このらせん構造に金属イオンが取り込まれ、NIS の金属錯陽イオン ($NIS \cdot M^+$) を生成することが知られている。Co-NCS 法は、この $NIS \cdot M^+$ と Co-NCS 溶液中のテトライソチオシアナトコバルト(II)イオン $[Co(NCS)_4]^{2-}$ からなるイオン対をトルエン層に抽出するものであり、このとき抽出される化学種は、(1)である²⁰⁾と考えられているが、一方で、(2)であるとの記述²¹⁾もある。



0.2 mg/L NIS_{ORG} 溶液を用いて、Co-NCS 溶液の pH 値の影響について検討した結果を、図-4に示す。0.1 mol/L Co-NCS 溶液 (モル濃度はコバルトの濃度を表す) は、pH 無調整時において弱酸性 (本法の場合、pH 3.8) であり、水酸化ナトリウム溶液を加えて pH 値を高めることで Co-NIS 錯体の生成量が増加し、pH 7.6付近で極大値となった。中川ら²²⁾は、 Rb^+ を用いたクラウンエー

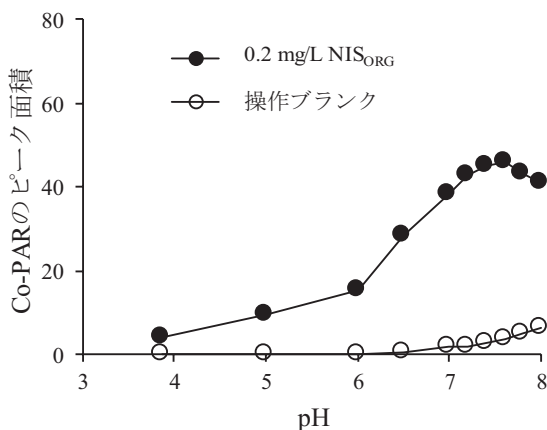


図-4 0.1 mol/L Co-NCS 溶液における pH 値の錯生成量への影響

テルのイオン対抽出時における対陰イオンの影響について検討を行い、 Rb^+ が10%抽出される pH 値は、対陰イオンの pK_a に依存し、これより pH 値を高めると錯体の抽出量が増加することを報告している。対陰イオンとして用いた $Co(NCS)_4^{2-}$ は、それ自体も錯体であり、生成定数²³⁾は、 $\log K_1=1.20$ 、 $\log K_2=1.69$ 、 $\log K_3=-0.10$ 、 $\log K_4=-2.02$ と、第3次以上は低値である。Co-NCS 溶液の pH 値を高めることで、チオシアン酸の解離が進み、逐次平衡が先に進むと考えられることから、Co-NCS 溶液の pH 値を高めることで Co-NIS 錯体の有機層への抽出定数が高くなったものと推測される。

Co-NCS 溶液の pH 値を7.6より更に高くすると、Co-NIS 錯体の生成量は低下していった。このとき、Co-NCS 溶液の色が青紫色から赤紫色へと徐々に変化していくことから、水酸化ナトリウムの添加により $Co(NCS)_4^{2-}$ の配位子置換が生じたため、Co-NIS 錯体の生成量が低下したものと推測される。

3.1.3 Co-NCS 溶液におけるコバルト濃度の検討

図-5に示すとおり、Co-NCS 溶液 (pH 7.6) におけるコバルト濃度の影響について検討した。コバルト濃度を高めると Co-NIS 錯体の生成量が増加し、0.1 mol/L 以上で概ね一定の値となった。

1. でも述べたように、三浦ら¹⁶⁾は Co-NCS 溶液のコバルト濃度を高めることによる錯生成量の増

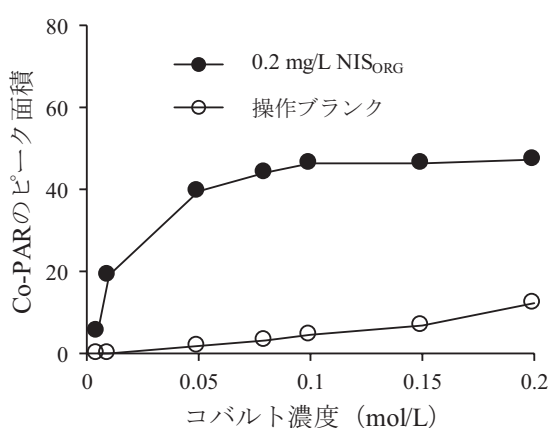


図-5 Co-NCS 溶液 (pH 7.6) におけるコバルト濃度の錯生成量への影響

加を報告しており、これは30~90 mg/L NIS_{ORG}の範囲における検討結果であった。本研究では0.2 mg/L NIS_{ORG}と、三浦らよりも2桁以上低い濃度での検討であったが、同様の効果を確認することができた。

3.1.4 Co-NCS 溶液の組成が検量線に与える影響の検討

Co-NCS 溶液の組成が検量線に与える影響について、pH 値を変化させた場合の検量線を図-6に、コバルト濃度を変化させた場合の検量線を図-7に示す。図-6では、直線回帰による一次式 $y = ax + b$ で検量線を作成した結果、いずれも決定係数 (R^2) は0.997以上であり、pH 値が高くなるほど、検量線の傾き (a)、切片 (b) および R^2 値

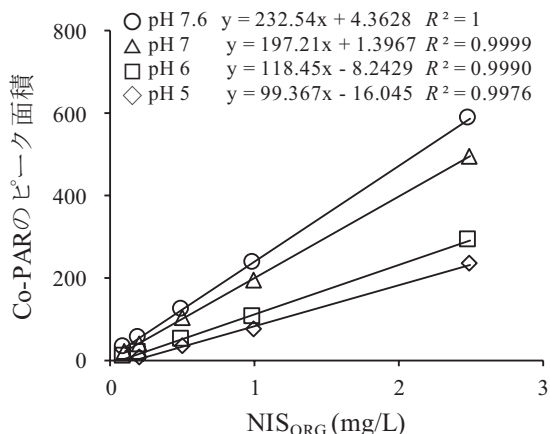


図-6 0.1 mol/L Co-NCS 溶液における pH 値の検量線への影響

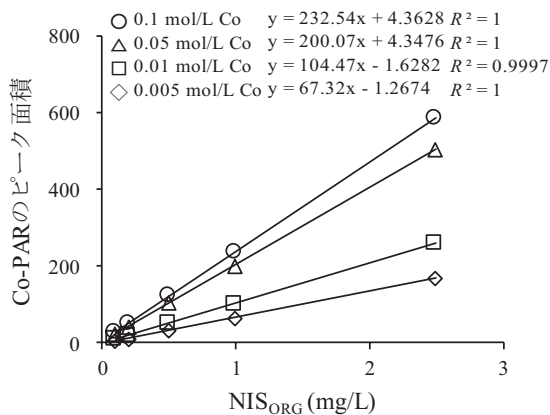


図-7 Co-NCS 溶液 (pH 7.6) におけるコバルト濃度の検量線への影響

も高くなった。図-7では、直線回帰による一次式 $y = ax + b$ で作成したすべての検量線で $R^2 = 0.999$ 以上となり、コバルト濃度が高くなるほど検量線の傾き (a) も高くなった。

得られた結果から本法では、0.1 mol/L Co-NCS 溶液 (pH 7.6) を用いることとしたが、今回検討したコバルト濃度および pH 値の範囲では、本法以外にも $R^2 = 0.997$ 以上となる直線性の高い検量線を複数作成することができたことから、本法と異なる Co-NCS 溶液の組成を用いた場合でも、定量法として使用できる可能性が示唆された。

3.2 PAR 法の錯形成条件

3.2.1 PAR 溶液における析出物の生成

PAR 溶液は、トルエンとの振とうによる析出物の生成が報告^{8,19)}されており、本研究でも同様の析出が確認できた。このうち赤色の析出物は、PAR 溶液 (pH 4~5) の PAR 濃度を100 mg/L 以上として1日以上静置した場合にも生じた。PAR の酸解離定数²⁴⁾は $pK_{a2} 5.6$ (p-OH) であり、PAR 濃度を高めると析出量も増加したことから、この析出物は PAR そのものであると考えられた。

また、PAR 溶液とトルエンを振とうし遠心分離した後も、二層間の水層側に白色の析出物が生じた。この析出物の化学種は不明であったが、PAR 溶液を10%メタノール溶液とすると析出を抑えることができたため、本法ではこれを用いることとした。

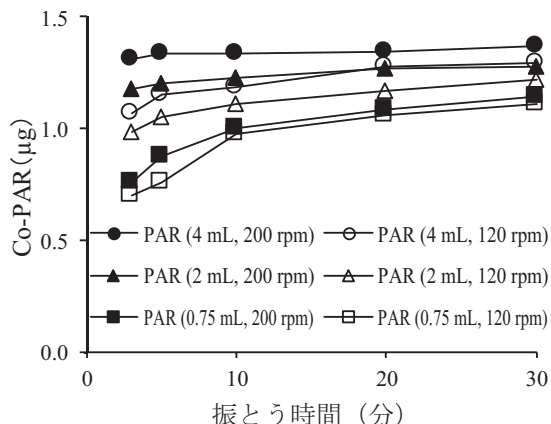


図-8 告示法における PAR 溶液の振とう条件の影響

3.2.2 告示法における PAR 溶液の振とう条件の検証

図-8に示すとおり、告示法における PAR 溶液の溶液量、振とう速度、振とう時間の影響について検討した。

検討条件の範囲では、PAR 溶液量は多いほど、振とう速度は高いほど、振とう時間は長いほど、Co-PAR 錯体の生成量が増加した。

PAR 溶液量0.75 mL および振とう時間3分とした告示法の振とう条件では、高⁷⁾および佐々木⁸⁾の結果と同様に、告示法で示す振とう速度120 rpm の場合と比べ、振とう速度を高めることによる Co-PAR 錯体の生成量の増加が確認できた。しかしながら、PAR 溶液量0.75 mL において得られる錯生成量は、振とう速度を200 rpm に高め、振とう時間を30分まで延ばした場合でも、PAR 溶液量 4 mL を用いた場合と比べて低値であった。このときの操作ブランクについて、振とう直後の状態を観察したところ、PAR 溶液量0.75 mL と比べて 4 mL の方が、二層の混合により生じた気泡の量が多かったことから、PAR 溶液量0.75 mL では、振とう時に二層の十分な混合が生じていない可能性が示唆された。

この検討で得られた結果から、本法の PAR 法における振とう条件として、振とう速度200 rpm および PAR 溶液量 4 mL を用いることとした。

3.2.3 PAR 溶液の pH 値と振とう時間の検討

図-9に示すとおり、本法を用いて、pH 値を 4、6 および 8 に調製した PAR 溶液について pH 条

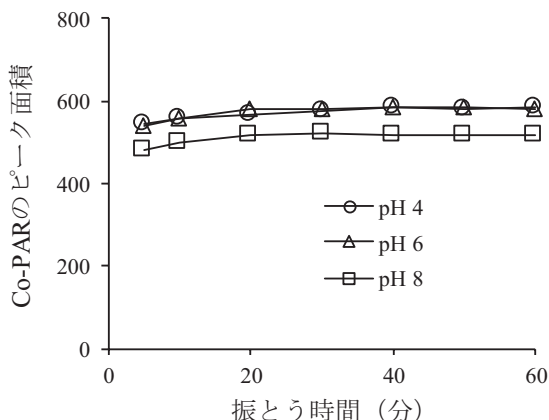


図-9 PAR 溶液における pH 値と振とう時間の影響

件と振とう時間の検討を行った。Co-PAR 錯体の生成量は、振とう時間30分以上において一定となったが、pH 8における生成量は他の条件より少なく、振とう時間を60分まで延ばした場合でも生成量は増加しなかった。コバルトを含む金属と PAR との錯形成は、pH 7以下で起きやすく安定な錯体を形成する²⁵⁾とされており、本研究でも同様に、pH 値による影響が生じたものと考えられる。

配位子置換による金属錯体の生成速度は、平衡定数や配位子の種類とは関係がなく、中心金属イオンの種類によって傾向が決まり、本研究で用いたコバルト(II)は反応速度の速い金属である²⁶⁾と考えられている。このため、本研究において、振とう時間の増加に伴い Co-PAR 錯体の生成量が増加した結果は、Co-PAR 錯体の水溶液中における生成速度ではなく、攪拌によりトルエン層中の Co-NIS 錯体が水層に移行し、解離するのに要する時間を示しているものと推測される。

この検討で得られた結果と、3.2.1で得られた結果から、本法の PAR 法における振とう条件として、PAR 溶液 (pH 6) を用いて40分間振とうすることとした。

3.3 固相抽出に用いる試料容器の材質と容器洗い込み方法の検討

図-10に示すとおり、4種類(ガラス、PP、FCPP およびテフロン)の試料容器材質を用い、固相抽出時における試料容器の洗い込み方法を検

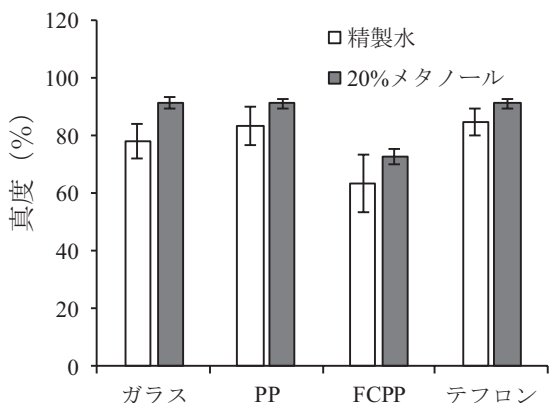


図-10 試料容器材質と容器洗い込み方法の検討結果 (平均値±標準偏差)

討するため、水道水添加回収試験を行った。添加試料の評価は、厚生労働省から発出されている「水道水質検査方法の妥当性評価ガイドライン」(以下、ガイドラインと略す)²⁷⁾に従い、添加試料の評価項目として設定されている真度と併行精度について評価を行った。

精製水による洗い込みでは、FCPP を除く 3 種類でガイドラインの真度の目標 (70~130%) を満たし、すべての結果で併行精度の目標 (RSD ≤30%) を満たした。20%メタノール溶液による洗い込みでは、精製水による洗い込みより真度が高くなり、すべての結果でガイドラインの真度の目標 (70~130%) と併行精度の目標 (≤30%) を満たした。

しかしながら、他の 3 種類と比べて FCPP のみ、両方の結果において真度が10%以上低い値であった。別途、この容器にトルエン150 mLを加えて閉栓し、48時間経過後に容器の外観を確認したが、容器の形状変化は無かったことから、この容器はフッ素ガスコーティングによる耐薬品性を有していると考えられた。回収できなかった NIS は、主に試料容器の器壁に吸着していると考えられることから、FCPP は、他の容器と比べて表面特性に何らかの特異性を有している可能性が推測される。

この検討で得られた結果から、本法では、テフロン製の試料容器を用い、固相抽出時に20%メタノール溶液で洗い込みを行うこととした。

3.4 水道水添加回収試験と妥当性評価

3.4.1 検量線の評価

図-11および表-1に示すとおり、本法の検量線の評価するため、告示法と同じ定量濃度範囲 (水道水中0.002~0.05 mg/L) にて、本法と告示法を用いて検量線を作成した。検量線の妥当性評価は、ガイドラインに従い、検量線の評価項目として設定されている真度と精度について評価を行った。

検量線の真度については、本法を用いて作成した検量線用標準試料の繰り返し測定 (5回) による定量値の平均値を、ガイドラインの目標 (調製濃度の80~120%) と比較した結果、すべての濃度点で目標を満たした。告示法に従い作成した検

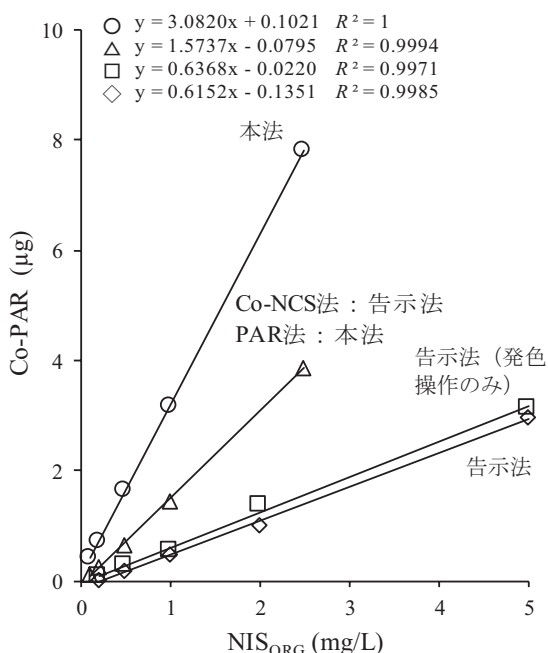


図-11 本法と告示法の検量線比較

表-1 本法と告示法の検量線結果

試料	本法			告示法		
	NIS _{ORG} 濃度 (mg/L)	真度 (%)	精度 (%)	NIS _{ORG} 濃度 (mg/L)	真度 (%)	精度 (%)
STD 1	0.1	102	1	0.2	125	2
STD 2	0.2	100	1	0.5	100	7
STD 3	0.5	101	1	1	104	5
STD 4	1	99	1	2	93	5
STD 5	2.5	100	1	5	101	3

量線では、検量線下限濃度における真度が125%となり、目標を満たさなかった。調製濃度が低くなるほど面積値の減少率も高くなったことから、NISの試料容器への吸着による影響が表れたものと考えられる。

検量線の精度については、本法を用いて作成した検量線用標準試料の繰り返し測定 (5回) による定量値の相対標準偏差 (RSD%) をガイドラインの目標 (≤20%) と比較した結果、すべての濃度点で目標を満たした。

3.4.2 本法と告示法間の錯生成量の比較

表-2に示すとおり、3.4.1で告示法の発色操作

表-2 本法と告示法間の錯生成量の比較

NIS _{ORG} (mg/L)	錯生成量比*		告示法の固相 抽出部回収率 (%)
	Co-NCS 法	PAR 法	
0.2	2.8	2.5	19
1	2.2	2.6	91

*告示法（発色操作のみ行ったもの）を1とした場合

部のみを行って作成した検量線の最下点と中央濃度点（水道水中 NIS 濃度として 0.002 mg/L および 0.01 mg/L）で得られた面積値を基準とし、Co-PAR 検量線を用いて Co-PAR 錯体の生成量（ μg ）とした値を用い、本法および告示法の各操作部における錯生成量を比較した。

本法では、Co-NCS 法の改良により錯生成量は 2 倍以上高くなり、検量線中央濃度点よりも検量線最下点の方がより高い結果であった。これは、3.1.2 で述べたように、Co-NCS 溶液の pH 値を高めたことによる効果が得られたものと考えられた。PAR 法の改良では、錯生成量が 2.5 倍以上高くなったが、NIS 濃度差による錯生成量の違いはみられなかった。

告示法に従い検量線を作成した場合、標準試料の固相抽出操作における回収率は、検量線最下点で 19% と、著しく低い値となった。これは、告示法の試料量（500 mL）では容器への試料接液面積が大きく、メタノール溶液による洗い込みも行っていないため、試料容器への吸着による NIS の損失が大きくなったためと考えられた。

これらの結果から、本法では発色操作部における錯体の生成量を告示法と比べて 5 倍以上に高めることができたため、固相抽出に用いる試料量を、告示法の半量（250 mL）に削減することができた。

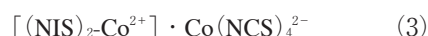
3.4.3 Co-PAR 錯体の収率の評価

表-3 に示すとおり、本法で作成した検量線の最高濃度点（2.5 mg/L NIS_{ORG}）の面積値から Co-PAR 検量線を用いて Co-PAR 錯体の量（ μg ）を求め、NIS 1 μg 当たりの Co-PAR 錯体の生成量（0.782 μg ）を、(1) および (2) で示す化学種の分子式を用いて計算により求めた値と比較した。また、Amirov ら²³⁾は、(2) における NIS を 2 モルと

表-3 Co-PAR 錯体の収率の評価

Co-NCS 法で抽出される錯体の化学種		Co-PAR 生成量 ($\mu\text{g}/\mu\text{g NIS}$)
(1)	$(\text{NIS-NH}_4^+)_2 \cdot \text{Co}(\text{NCS})_4^{2-}$	0.493
(2)	$(\text{NIS-Co}^{2+}) \cdot \text{Co}(\text{NCS})_4^{2-}$	1.970
(3)	$[(\text{NIS})_2\text{-Co}^{2+}] \cdot \text{Co}(\text{NCS})_4^{2-}$	0.985
本法		0.782

した化学種(3)を用いてソフトウェアによるシミュレーションを行った結果、(2)よりも錯生成定数が高くなるとともに、数理モデルの適切な説明もできると述べているため、本研究もこれに倣い、(3)についても Co-PAR 錯体の生成量を計算により求めた。



本法で得られた結果を、(2)を用いて求めた生成量と比べた場合、その収率は 40% と著しく低い値であったが、本法は検討により錯体の収率を十分に高めたものであることから、(2)が有機層に抽出されたとする可能性は低いと考えられた。また、本法で得られた結果は、(1)を用いて求めた生成量を上回る値であり、(3)を用いて求めた生成量に近い値であったことから、有機層に抽出された NIS 錯体の化学種は、(3)である可能性が示唆された。

クラウンエーテルを用いた有機層へのイオン対抽出定数に関する研究^{28,29,30)}によれば、用いる対陰イオンの構造については、過塩素酸、過マンガン酸などの球状構造物質よりも、平面状構造であるピクリン酸³¹⁾の方が抽出定数は高く、用いる抽出溶媒の溶解パラメーターが低くなるほど、ピクリン酸との抽出定数の差が大きくなるとされている。本法で用いた $\text{Co}(\text{NCS})_4^{2-}$ は球状構造であり、抽出溶媒の溶解パラメーターも低いため、ピクリン酸を用いた場合より抽出定数が低くなると考えられることから、本法で得られた結果も、(3)を用いて求めた生成量よりやや低い値になったものと推測された。

3.4.4 添加試料の評価

得られた結果から構築した本法を用い、検査員

表-4 添加回収試験の結果

試料	添加試料 のNIS濃度 (mg/L)	真度 (%)	併行精度 (%)	室内精度 (%)
基準値	0.02	89	2	4
基準値の 1/10	0.002	85	7	8

1名が、同一の添加試料を1日に5併行、5日間試験した結果を、表-4に示す。NISの添加濃度は、試料量250 mLに対して、基準値(0.02 mg/L)および基準値の1/10(0.002 mg/L)とした。添加試料の妥当性評価は、ガイドラインに従い、添加試料の評価項目として設定されている真度、併行精度および室内精度について評価を行った。

添加試料の真度については、添加試料(n = 25)の定量値の平均値を用いて添加濃度に対する比を求め、ガイドラインの目標(70~130%)と比較した結果、基準値および基準値の1/10のいずれにおいても目標を満たした。

添加試料の併行精度および室内精度については、各日の添加試料の定量値を用いて精度(RSD%)を求め、ガイドラインの目標(併行精度 \leq 20%、室内精度 \leq 25%)と比較した結果、基準値および基準値の1/10のいずれにおいても、それぞれの目標を満たした。

4. まとめ

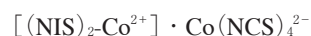
本研究では、非イオン界面活性剤検査法の錯形成反応の収率に着目し、その最適化を検討するとともに、得られた条件から確立した本法を用いて固相抽出条件の検討と水道水添加回収試験を行った結果、以下の知見を得た。

- 1) Co-NCS法の改良では、0.1 mol/L Co-NCS溶液(pH 7.6)を用いることにより、告示法と比べて錯生成量を2倍以上に高めることができた。
- 2) PAR法の改良では、10%メタノール含有100 mg/L PAR溶液(pH 6)を用いて、200 rpmで40分振とうすることにより、告示法と比べて錯生成量を2.5倍以上に高めることができた。

3) 得られた条件から確立した本法では、固相抽出に用いる試料量を、告示法の半量の250 mLとすることができた。

4) 本法の検量線は、真度および精度ともに、ガイドラインの目標を満たした。一方で、告示法に従い作成した検量線では、検量線下限濃度における真度について、ガイドラインの目標を満たさなかった。

5) 本法におけるCo-PAR錯体の収率を評価した結果、有機層に抽出された錯体は、下記の化学種である可能性が示唆された。



6) 本法を用いて、基準値および基準値の1/10濃度における水道水添加回収試験を行った結果、真度、併行精度および室内精度のすべてで、ガイドラインの目標を満たした。

基準値の1/10を正確に測定するための非イオン界面活性剤測定法としては、告示法より試料量を減らした報告はこれまで無く、告示法より試料量を半量に減らせる本法は、水道水質検査における採水作業や固相抽出時における省力化に貢献できると考えられる。また、本法は告示法より検量線の真度が優れており、水道水質検査にも適用可能と考えられることから、水道水中の非イオン界面活性剤検査法として有用であると考えられる。

参考文献

- 1) 厚生労働省、水質基準に関する省令、厚生労働省令第101号(2003)
- 2) 厚生労働省、水質基準に関する省令の規定に基づき厚生労働大臣が定める方法、厚生労働省告示第261号(2003)
- 3) 厚生労働省健康局水道課、水質基準に関する省令の制定及び水道法施行規則の一部改正等並びに水道水質管理における留意事項について、平成15年10月10日付健水発第1010001号(2003)
- 4) 猪飼誉友、中橋千春、本多幸康、川瀬まさ子、三上栄一：水道水中の非イオン界面活性剤測定法の改良、水道協会雑誌、79(5)、pp.15-21(2010)
- 5) 川口寿之、非イオン界面活性剤試験操作のポイント、平成21年度、全国飲料水検査研究発表会抄録集、pp.13-19(2009)
- 6) 三枝慎一郎、橋渡健児：非イオン界面活性剤の分析方法の

- 検討、工業用水、633、pp.63-67 (2015)
- 7) 高玲華、非イオン界面活性剤検査法における比色操作方法的検討、平成25年度全国会議 (水道研究発表会) 講演集、pp.612-613 (2013)
 - 8) 佐久間弘毅、非イオン界面活性剤振とう方法における発色強度についての検討、平成27年度全国飲料水検査研究発表会抄録集、pp.53-54 (2015)
 - 9) Hoeve, J. A. V. D. Analysis of textile auxiliary products. *Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas*, 67 (8), pp.649-664 (1948)
 - 10) Hoeve, J. A. V. D. Analysis of Textile Auxiliary Products*. *Journal of the Society of Dyers and Colourists*, 70 (4), pp.145-154 (1954)
 - 11) Crabb, N. T., Persinger, H. E. The determination of polyoxyethylene nonionic surfactants in water at the parts per million level. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 41 (11), pp.752-755 (1964)
 - 12) Greff, R. A., Setzkorn, E. A., Leslie, W. D. A colorimetric method for the determination of parts/million of nonionic surfactants. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 42 (3), pp.180-185 (1965)
 - 13) APHA. APHA Method 5540: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 18th ed. Washington, D. C., USA, American Public Health Association, pp.5-39-5-41 (1992)
 - 14) JIS K0102 : 2016、工場排水試験方法、pp.78-82 (2016)
 - 15) 厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課、「食品中の食品添加物分析法」の改正について 別添 1、平成20年 4月30日付食安基発第0430001号 (2008)
 - 16) 三浦恭之、鈴木裕子、長谷井真人、康智三：テトラチオシアンatokobalト (II) 酸アンモニウムを用いる微量非イオン界面活性剤の抽出 / 吸光光度定量、分析化学、38 (2)、T15-T20 (1989)
 - 17) 四ツ柳隆夫、星野仁：PAR の新しい利用法、ぶんせき、11、pp.33-41 (1976)
 - 18) Inaba, K. Determination of Trace Levels of Polyoxyethylene-Type Nonionic Surfactants in Environmental Waters. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 31, pp.63-73 (1987)
 - 19) 日本水道協会、上水試験方法 IV 有機物編、2011年版、日本水道協会、pp.141-143 (2011)
 - 20) 澤田清、菊地洋一：非環状ポリオキシエチレン化合物の錯生成反応と分析化学への応用、分析化学、53 (11)、pp.1239-1255 (2004)
 - 21) Waldhoff, H., Spilker, R. *Handbook Of Detergents, Part C: Analysis*. 1st ed. Boca Raton, USA, CRC Press, p.175 (2004)
 - 22) 中川晴淳、平山直紀、本浄高治：クラウンエーテルを用いるアルカリ金属イオンのイオン対抽出におけるカウンターイオンとしての置換フェノールの効果、分析化学、52 (9)、pp.839-842 (2003)
 - 23) Amirov, R. R., Skvortsova, E. A., Saprykova, Z. A. Complexation of Cobalt (II) with Thiocyanate Ions in Aqueous Solutions of Nonionogenic Surfactants. *Russian Journal of Coordination Chemistry*, 29 (8), pp.554-558 (2003)
 - 24) Cheng, K. L., Ueno, K., Imamura, T. *CRC Handbook of organic analytical reagents*. 2nd ed. Boca Raton, USA, CRC Press, pp.219-226 (1992)
 - 25) Fernando, Q. "Reactions of Chelated Organic Ligands". *Advances in Inorganic Chemistry and Radiochemistry*, Vol. 7. Emeléus, H. J., Sharpe, A. G., eds. Cambridge, USA, Academic Press, pp.248-249 (1965)
 - 26) 本浄高治、今泉洋、上田一正、澤田清、田口茂、永長幸雄、長谷川淳、山田明文：基礎分析化学 第1版、京都、化学同人、pp.112-113 (1998)
 - 27) 厚生労働省健康局水道課、水道水質検査方法の妥当性評価ガイドライン、平成24年 9月 6日付健水発0906第 1号 (2012)
 - 28) Yoshio, M., Noguchi, H. Crown Ethers for Chemical Analysis: A Review. *Analytical Letters*, 15 (15), pp.1197-1276 (1982)
 - 29) 野口英行、クラウンエーテルを用いるイオン対抽出とその分析化学的応用博士論文、九州大学、pp.1-89 (1991)
 - 30) 武田裕行、18-クラウン-6、ベンゾ-18-クラウン-6及びジベンゾ-18-クラウン-6のアルカリ金属ピクリン酸塩に対する抽出能及び抽出選択能の素平衡定数による原因解明、分析化学、51 (7)、pp.515-525 (2002)
 - 31) Kudo, Y., Katsuta, S., Takeda, Y. Evaluation of the Hydrophilic Properties of Crown Ether-ion-pair Complexes with Alkali Metal Picrates by Their Distribution into Less-polar Diluents. *Analytical Sciences*, 25, pp.563-566 (2009)

(令和元年 5月30日受付)