

＜報文＞

## ジフェニルカルバジド吸光光度法によるクロム（VI）分析における 試料中夾雑物質による妨害除去に着目した改良法の確立\*

金附 宏明\*\*・多田 哲子\*\*

キーワード ①六価クロム ②酸化還元電位 ③白色沈殿 ④添加回収試験 ⑤ろ過

### 要 旨

ジフェニルカルバジド吸光光度法によるクロム（VI）の分析において、夾雑物質による影響と妨害除去方法の検討を行った。カルシウムは2,000mg/L、バリウムは1mg/Lを超えると、操作工程で白色沈殿が生じた。そこで、生じた白色沈殿をろ過除去後、吸光度を測定したところ、97–110%の添加回収率が得られた。酸化性物質（次亜塩素酸ナトリウム）は、有効塩素濃度が1mg/Lを超えると吸光度に正の影響を与えたが、予め等量の亜硫酸ナトリウムを加えて試料中の残留塩素を還元すると、101–108%の添加回収率が得られた。試料に添加された還元性物質（亜硫酸ナトリウム及び亜硫酸水素ナトリウム）は、微量でも吸光度に負の影響を与えたが、還元性物質の濃度が60mg/L以下であれば、ジフェニルカルバジド溶液と硫酸の添加順序を入れ替えることで、負の影響は解消された。以上の結果を踏まえ、妨害物質に対応した改良法を確立し、排水、地下水等の水質試料58検体を用いて添加回収試験を行ったところ、81%（47検体）でクロム（VI）の良好な回収率を得られた。クロム（VI）の添加回収率が不良であった11検体については、試料が還元状態にあることが考えられた。

### 1. はじめに

クロム（VI）は発がん性や急性毒性を有し<sup>1)</sup>、水質汚濁に係る環境基準（昭和46年12月28日、環境庁告示第59号）が定められている。当研究所では、水質試料のクロム（VI）をJIS K 0102 65.2.1（以下、「JIS」という）ジフェニルカルバジド（DPC）吸光光度法により定量している。本法は、試料に発色試薬であるDPC溶液を加え、試料中のクロム（VI）と反応して生成する錯体の赤紫色の吸光度を測定して、クロム（VI）を定量する方法であり、試験操作が簡便であることから多くの検査機関で用いられている方法である<sup>2)</sup>。

しかし、DPC吸光光度法では、試料中の夾雑物質による影響により、正常な発色が得られにくいことが報告されている<sup>3-5)</sup>。そこで本研究では、DPC吸光光度法によるクロム（VI）分析において、測定を妨害する物質の影響を調べ、物質ごとに妨害の低減法を検討した。そして、それらを組み合わせて、主な妨害物質に対応できる測定法を確立し、実試料に適用した。

### 2. 方法

#### 2.1 試薬等

標準溶液はクロム（VI）標準液（富士フィルム和光純薬（株）、1,000mg/L）を使用した。妨害物質として、ストロンチウム標準液、鉛標準液、バリウム標準液（いずれも富士フィルム和光純薬（株）、1,000mg/L）、塩化カルシウム（無水）、次亜塩素酸ナトリウム溶液（関東化学（株）、鹿1級）、亜硫酸ナトリウム、亜硫酸水素ナトリウムを超純水に溶解又は希釈して調製した。ろ過には孔径0.45μmフィルター（アドバンテック東洋（株））を用いた。残留塩素の確認にはヨウ化でんぷんカリウム紙（アドバンテック東洋（株））を用いた。特に断りのない試薬については、富士フィルム和光純薬（株）製の特級試薬を使用してJISに従って調製した。

#### 2.2 測定装置及び機器

溶液の吸光度の測定には、紫外可視分光光度計（（株）島津製作所、UV-1900i）を用い、吸収セルは光路長10mmのものを用いた。

\*Study of Effects of Sample Matrix and Establishment of an Improved Method Focusing on Elimination of Interference Caused by Sample Matrix in the Diphenylcarbazide Absorptiometry for Hexavalent Chromium Analysis

\*\*Hiroaki KANATSUKI, Noriko TADA（京都府保健環境研究所）Kyoto Prefectural Institute of Public Health and Environment

### 2.3 各種妨害物質共存時のDPC吸光度法による クロム（VI）添加回収試験

クロム（VI）標準液を超純水で希釈し、クロム（VI）0.02mg/Lの溶液を調製した。次いで、妨害物質を添加し、それぞれの溶液についてJISに従ってDPC吸光度法でクロム（VI）濃度を測定し、添加回収率を求めた。添加回収率は70–120%を良好とした。

試料に添加する妨害物質には、原料由来の物質、または製造工程や排水処理工程で意図的に添加されることの多い物質として、①ストロンチウム、鉛、カルシウム、バリウムなど硫酸添加により、沈殿を生じる金属塩、②酸化性物質（次亜塩素酸ナトリウム）、③還元性物質（亜硫酸ナトリウム及び亜硫酸水素ナトリウム）を選び、後述する種々の濃度になるよう添加した。なお、次亜塩素酸ナトリウムを添加した際の有効塩素濃度はJIS K 0102 33.3に従って求めた。

### 2.4 各種妨害物質を含む溶液のクロム（VI）分析法 （改良法）の確立

#### 2.4.1 硫酸により沈殿を生じた試料におけるクロム（VI）分析法の改良

クロム（VI）0.02mg/L溶液に、ストロンチウムと鉛については、0.5、5、50mg/L、カルシウムについては、500、1,000、2,000、5,000、10,000mg/L、バリウムについては0.5、1、2、5、10mg/Lの濃度になるよう、試薬を添加した。その後、JISにしたがって操作を行い、白色沈殿が生じた場合は、孔径0.45 $\mu$ mフィルターで沈殿をろ過除去し、ろ液の吸光度を測定した。

#### 2.4.2 酸化性物質の存在する試料におけるクロム（VI）分析法の改良

クロム（VI）0.02mg/L溶液に、次亜塩素酸ナトリウム溶液を有効塩素濃度0.1、0.5、1、5、10mg/Lの濃度になるよう添加した。その後、JIS K 0102 21. c) 2) の操作により、試料中の残留塩素を等量の亜硫酸ナトリウムで還元した後、JISにしたがって操作を行い、吸光度を測定した。

#### 2.4.3 還元性物質の存在する試料におけるクロム（VI）分析法の改良

クロム（VI）0.02mg/L溶液に、亜硫酸ナトリウム及び亜硫酸水素ナトリウムを0.1、0.5、1、5、10mg/Lの濃度になるよう添加した。その後、既報<sup>3,4)</sup>を参考に、JISの試薬添加順序を逆にし、DPC溶液を加えてから硫酸を添加する方法（逆添加法）で検討を行った。

### 2.5 妨害物質に強い改良DPC吸光度法の確立

2.4.1～2.4.3による分析法の改良点を組み合わせ、改良DPC吸光度法を確立した。改良DPC吸光度法の操作

手順を以下に示す。

- (1) ヨウ化でんぷんカリウム紙で残留塩素の有無を確認し、検出された場合はJIS K 0102 21. c) 2) の前処理を行う。
- (2) 試料のpHが中性でない場合は中性に調整する。
- (3) 試料50mLにDPC溶液1mLを加え直ちに混和する。
- (4) その後、硫酸（1+9）2.5mLを加え混和する。この際、白色沈殿が生じた場合は、孔径0.45 $\mu$ mフィルターでろ過する。
- (5) 分光光度計で波長540nmにおける吸光度を測定する。

確立した改良DPC吸光度法により、2021年6月から10月までに当研究所に搬入された水質試料を用いて、クロム（VI）添加回収試験を行った。試料はポリプロピレン製容器又はガラス製容器に採水後、ただちに密栓したものを、搬入後4 $^{\circ}$ Cで数日から数週間保存したものを用いた。それぞれの試料にクロム（VI）濃度が0.02mg/Lとなるようクロム（VI）標準溶液を添加し、改良DPC吸光度法により、クロム（VI）濃度を定量し、添加回収率を求めた。添加回収試験に供した試料は、事業所排水（41検体）、地下水（12検体）、産業廃棄物最終処分場関連水（原水1検体、放流水1検体、浸出水1検体）、河川水（2検体）であった。

## 3. 結果

### 3.1 妨害元素共存時のクロム（VI）添加回収試験

妨害元素共存時のクロム（VI）添加回収率を図1に示す。ストロンチウム及び鉛については50mg/L共存していても、試験操作過程で沈殿は生じず、DPC吸光度法によるクロム（VI）分析には影響を与えなかった。

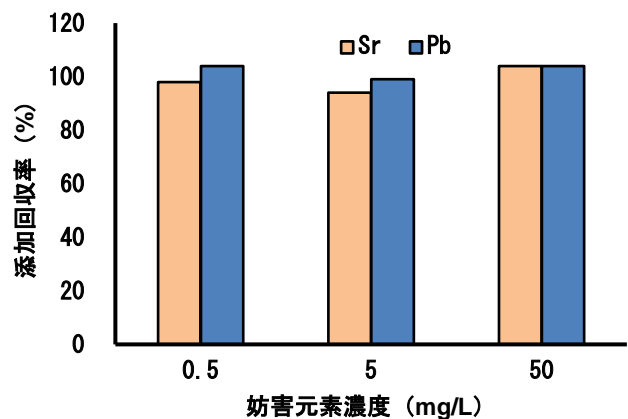


図1 ストロンチウム及び鉛共存時のジフェニルカルバジド（DPC）吸光度法におけるクロム（VI）添加回収率

一方、カルシウムについては2,000mg/L、バリウムについては1mg/Lを超えると、DPC吸光度法の試験操作過程で硫酸を添加すると白色沈殿が生じた（図2）。そこ

で、白色沈殿を孔径0.45 μmフィルターでろ過して除去したろ液について吸光度を測定したところ、クロム（VI）の添加回収率はカルシウムの共存では102–110%（2,000–10,000mg/L）、バリウムの共存では97–105%（1–10mg/L）であった。



図2 カルシウム共存時にDPC吸光度法の試験操作過程で生じた白色沈殿  
（左：カルシウム濃度5,000mg/L, 右：カルシウム濃度10,000mg/L）

### 3.2 次亜塩素酸ナトリウム共存時のクロム（VI）添加回収試験

次亜塩素酸ナトリウム共存時のクロム（VI）添加回収率を図3に示す。有効塩素濃度が1mg/Lを超えると添加回収率が大きくなり、正の誤差を与えることがわかった。そこで、次亜塩素酸ナトリウムを予め亜硫酸ナトリウムで還元処理し、添加回収試験を行ったところ回収率は良好であった（図3）。

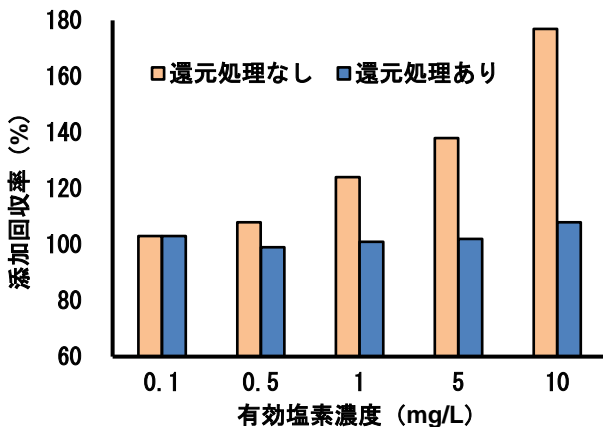


図3 DPC吸光度法における次亜塩素酸ナトリウム共存時のクロム（VI）添加回収率

### 3.3 還元性物質共存時のクロム（VI）添加回収試験

還元性物質共存時のクロム（VI）添加回収率を図4に示す。亜硫酸ナトリウムまたは亜硫酸水素ナトリウムの共存は、微量であってもクロム（VI）の添加回収率を低下させ、5mg/L以上の添加濃度では、クロム（VI）はほぼ回収されなかった。

そこで、既報<sup>3, 4)</sup>を参考に、DPC溶液と硫酸の添加順序を入れ替えて添加回収試験を行った。結果を図5に示す。逆添加法は、クロム（VI）の添加回収率を大幅に改善し、還元性物質の濃度が60mg/Lまでであれば、良好な回収率（亜硫酸ナトリウム；73–103%、亜硫酸水素ナトリウム；72–107%）を示した。

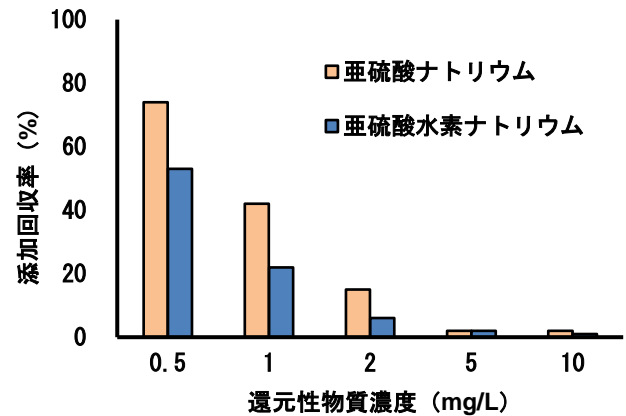


図4 DPC吸光度法における還元性物質共存時のクロム（VI）添加回収率

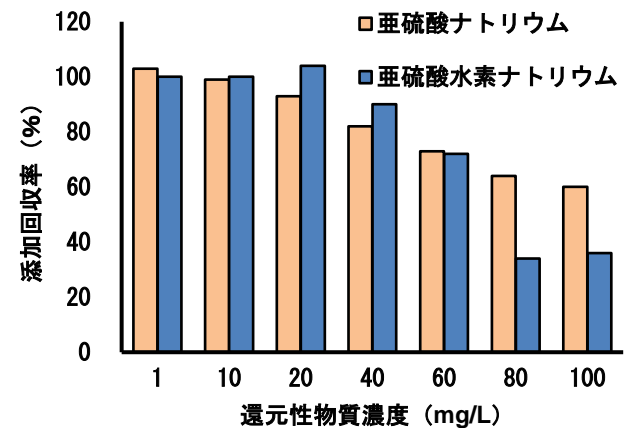


図5 逆添加法における還元性物質共存時のクロム（VI）添加回収率

### 3.4 実試料を用いた添加回収試験

改良DPC吸光度法により実試料を用いて添加回収試験を行ったところ、58検体中47検体（81.0%）において良好な回収率を示した。しかし、残りの11検体はいずれも添加回収率が70%未満であった。これら添加回収率が不良であった検体の内訳は、事業所排水が5検体、地下水が6検体であった。

## 4. 考察

### 4.1 妨害元素共存時のクロム（VI）添加回収試験

DPC吸光光度法によるクロム（VI）の測定は、簡便である一方、試料中の夾雑物質による妨害を受けやすい。JIS法は、試験操作過程で硫酸を添加するため、試料中に硫酸と反応して沈殿形成する元素が含まれている場合、沈殿形成して測定に妨害を与える。特に、カルシウムは焼成セメント原料の主成分であることから、セメント工場の排水には微量のクロム（VI）とともに大量に含まれる。各種事業場の排水処理工程においてもpH調整として水酸化カルシウムや炭酸カルシウムを添加されることがあり<sup>8)</sup>、これらの排水には高濃度のカルシウムが含まれる。また、廃棄物焼却時に発生する酸性ガスの中和処理剤として消石灰を用いられるため、ばいじんの溶出液中には、6,700mg/Lのカルシウムが含まれていたという報告もある<sup>4)</sup>。そこで、カルシウムとそれ以外にも、硫酸と反応して沈殿を形成する可能性のあるストロンチウム、鉛、バリウムを妨害物質として添加した溶液を用いて、クロム（VI）の添加回収試験を行った。

ストロンチウムと鉛については、今回検討した濃度の範囲内では沈殿は生じず、添加回収率も良好であった。一方、カルシウムとバリウムでは一定濃度以上の添加で沈殿が生じた。

カルシウムについて、工内<sup>9)</sup>は、カルシウム濃度1,000mg/Lでは沈殿は生じないが、2,000mg/Lでは沈殿が生じたとしており、今回、我々も同様の結果を得た。

柘植<sup>3)</sup>は、バリウムが試料中に微量でも存在するとDPC吸光光度法において白色沈殿を生じると報告している。今回の検討では、バリウム濃度0.5mg/Lでは沈殿は生じなかったが、1mg/Lを超えると沈殿が生じた。

柘植<sup>3)</sup>は試料をろ過することによるクロム（VI）測定結果への影響を検討しており、DPC吸光光度法によるクロム（VI）測定はろ過による影響を受けないとしている。そこで、カルシウムまたはバリウムを添加した試料において、硫酸添加により生じた沈殿をろ過し、ろ液の吸光度を測定したところ、良好な添加回収率が得られた。ろ過操作は、着色試料や濁りのある試料に対しても一定の効果がある簡便な方法であり、今回、硫酸と反応して沈殿を形成する金属塩共存試料に対しても有効性が認められた。ただし、門木<sup>4)</sup>は、高濃度のカルシウムを含むばいじん溶出液では、逆添加法によりDPC溶液を加えても発色しなかったと報告している。したがって、複雑なマトリックスをもつ試料において、ろ過操作はあくまでも硫酸添加により生じた沈殿の除去という、補助的な役割であると考えべきであろう。

### 4.2 次亜塩素酸ナトリウム共存時のクロム（VI）添加回収試験

本検討では排水の処理としてよく用いられる次亜塩素酸ナトリウムを酸化性物質として添加した。有効塩素濃度が1mg/L以上含まれるとクロム（VI）定量値に正の影響を与えた。DPC吸光光度法はクロム（VI）の酸化力を利用した分析法であり、次亜塩素酸ナトリウムは酸化力を有するため、DPCを酸化し、試験液の発色が増強したと考えられた。

DPC吸光光度法では試験液と対照液を調製し、対照液にはエタノールを添加し、加熱する。すなわち、試料中のクロム（VI）をクロム（III）に還元してからDPC溶液を添加するため、クロム（VI）による発色が起こらない。そこで試験液の吸光度から対照液の吸光度を差し引くことで、クロム（VI）による発色以外の影響を補正している。次亜塩素酸ナトリウムが共存している溶液において、試験液ではDPCの発色が増強するのに対し、対照液中ではクロム（VI）同様、次亜塩素酸ナトリウムも還元されて、試験液中の次亜塩素酸ナトリウムによる発色を補正できないために添加回収率が大きくなったと考えられた。

JIS備考9には、妨害物質を含む試料に対する前処理方法が記載されている。その中で、排水中に含まれること多い次亜塩素酸ナトリウム<sup>8)</sup>などの酸化性物質を除去する方法として、JIS K 0102 21. c) 2) に記載されている前処理方法を実施した後、DPC吸光光度法での添加回収試験を行った。その結果、良好な添加回収率が得られた。

残留塩素が含まれている可能性がある試料においてDPC吸光光度法を適用する場合は、残留塩素の酸化力に由来する正の誤差に留意が必要である。

### 4.3 還元性物質共存時のクロム（VI）添加回収試験

本検討では還元性物質として亜硫酸ナトリウムまたは亜硫酸水素ナトリウムを妨害物質として添加した。還元性物質が微量でも含まれると、既報<sup>3)</sup>と同様、クロム（VI）の添加回収率は著しく小さくなった。

酸性条件下ではクロム（VI）よりクロム（III）が安定となる<sup>9)</sup>。JISに記載のDPC吸光光度法では、試料に硫酸を添加し、溶液を酸性にしてからDPC溶液を添加している。そのため、試料中に還元性物質が共存すると、硫酸を添加した時点でクロム（VI）がクロム（III）に還元され、その後に添加したDPC溶液と反応せず、発色が減弱したと考えられた。

その対策として、柘植<sup>3)</sup>は、還元性物質共存時でも、試薬の添加順序を入れ替えることで発色妨害を低減できると報告している。そこで、還元性物質を添加した試料について、同様の方法（逆添加法）で検討を行った

ところ、還元性物質の濃度が60mg/Lまでであれば添加回収率は良好であった。しかし、高濃度の還元性物質が試料中に含まれると、逆添加法でも添加回収率が低下することがわかった。これは、還元性物質の濃度があまりにも高ければ、酸化還元電位が極端に小さくなり、試料のpHに関係なくクロム（VI）がクロム（III）に還元されたためと考えられた。

#### 4.4 実試料を用いた添加回収試験

妨害物質共存時の検討結果を踏まえ、改良法を考案した。改良法では、残留塩素の有無を確認し、検出された場合は、亜硫酸ナトリウムで予め試料を還元処理することとした。また、試薬の添加順序を入れ替え、先にDPC溶液を添加して、クロム（VI）と反応させてから硫酸酸性にすることとした。硫酸添加時に白色沈殿が生じた場合は、ろ過してから吸光度を測定することとした。

改良法で実試料の添加回収試験を実施したところ、事業所排水では41検体中5検体（12.2%）において添加回収率が70%未満となった。内訳は、ゴルフ場、金属加工工場、運動公園の排水が1検体ずつ、飲食店の排水が2検体であった。

ゴルフ場排水の添加回収率は4.5%と非常に小さかった。この試料のCOD値は73.6mg/Lと非常に高く、有機物が多く含まれるという特徴があった。試料搬入時は無臭であった試料が、試験操作時には硫化水素臭を有しており、試料中の溶存酸素濃度は1.20mg/Lであった。このことから、有機物を多く含む試料を密栓して数週間保存したために、試料中の有機物が溶存酸素を消費し、還元状態となっていたと推察された。還元状態ではクロム

（VI）よりクロム（III）が安定となることがわかっており<sup>9)</sup>、試料に添加したクロム（VI）の一部が速やかにクロム（III）に還元されたため、DPC吸光光度法の添加回収率が低下したと考えられた。古賀らは、有機物を多く含む試料のクロム（VI）添加回収試験では、添加回収率が小さかったと報告している<sup>10)</sup>。有機物を多く含む試料のクロム（VI）分析は、試料採取後速やかに行う必要があると言える。

金属加工工場排水の添加回収率は10.5%であった。クロム（VI）は水質汚濁防止法により排水基準が定められているため、金属加工工場等においてクロムを含む排水が放流される際は、排水を酸性にしてから還元性物質を加え、クロム（VI）をクロム（III）に還元処理してから放流することが一般的である<sup>11)</sup>。今回の排水においても、添加したクロム（VI）が高濃度の還元剤によってクロム（III）に還元されたため、添加回収率が低かったことが推察された。金属加工工場やコンクリート工場の排水等、クロム（VI）を含む可能性がある排水を分析す

る際は、還元剤の影響に留意する必要がある。

地下水では12検体中6検体（50.0%）において添加回収率が70%未満であった。地下水は表層水に比べ酸素供給がされにくいいため、溶存酸素が低い傾向にある。溶存酸素量と酸化還元電位は相関関係が高く、試料中の溶存酸素量が少なく酸化還元電位も低下するとの報告がある<sup>12)</sup>。酸化還元電位が低下するとクロム（III）がより安定となるため<sup>9)</sup>、地下水の添加回収試験においてクロム（VI）を添加した時点でその一部がクロム（III）に還元された可能性が示唆された。

共存物質の影響によりDPC吸光光度法でクロム（VI）の定量が困難である場合、代替の分析法として、JIS備考11の鉄共沈操作やJIS備考9のアルミニウム沈殿処理法が記載されており、これらの方法について検討がされている<sup>3, 4, 10, 13)</sup>。今回添加回収率が不良であった試料は、鉄共沈操作<sup>13)</sup>後、誘導結合プラズマ質量分析法で良好な添加回収率を得ている。しかし、鉄共沈操作は煩雑で一度に多数の検体を分析する場合、非常に時間がかかる。従って、できるだけ多くの検体をDPC吸光光度法で分析することが望ましい。今後、改良法を用いて様々な環境中水試料のクロム（VI）分析を実施し、改良法の妥当性についてさらに検討を重ねたい。

#### 5. まとめ

各種妨害物質を添加してDPC吸光光度法によるクロム（VI）添加回収試験を行ったところ、カルシウム及びバリウムが一定濃度以上共存すると、試験操作過程で白色沈殿が生じた。しかし、沈殿をろ過除去することで添加回収率は良好であった。次亜塩素酸ナトリウムを含む試料では予め還元性物質を添加することで妨害の影響を低減できた。還元性物質を含む試料では、先にDPC溶液を添加してから硫酸を添加することで、妨害の影響を低減できた。実検体（58検体）を用いて、改良法での添加回収試験を実施したところ、47検体（81.0%）で良好な回収率が得られた。DPC吸光光度法は酸化還元反応を利用した分析法であり、試料中の酸化還元状態に留意する必要がある。

#### 6. 引用文献

- 1) International Agency for Research on Cancer : IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans Chromium, Nickel and Welding VOLUME 49, pp. 49-256, IARC, Lyon, 1990
- 2) 環境省水・大気環境局総務課環境管理技術室：平成28年度環境測定分析統一精度管理調査結果（本編）。環境省，東京，2016

- 3) 柘植亮, 齋藤麻衣, 新家淳治: 工場排水等の六価クロム測定手法の確立に関する研究. 三重保環研年報, **17**, 74-80, 2015
- 4) 門木秀幸, 有田雅一: ジフェニルカルバジド吸光光度法によるばいじん溶出試験でのクロム（VI）分析における妨害除去法の検討. 分析化学, **66**, (9), 693-698, 2017
- 5) 田島誠, 松木葵, 刈谷玲菜, 大森真貴子, 山村貞雄: 事業場排水の六価クロム測定における硫酸カルシウムによる妨害について. 高知環研所報, **31**, 41-45, 2014
- 6) 工内輝実, 管生伸矢: カルシウムイオン存在下の六価クロム測定方法の検討. 徳島県立保健製薬環境センター年報, **7**, 741-43, 2017
- 7) 日本規格協会: 詳解 工場排水試験方法 [JIS K 0102: 2019] 改訂6版, pp. 555-576, 日本規格協会, 東京, 2019
- 8) 公害防止の技術と法規編集委員会: 新・公害防止の技術と法規2010 [水質編]. 産業環境管理協会, pp. II 35-41, 東京, 2010
- 9) Carl D. Palmer, Paul R. Wittbrodt: Processes Affecting the Remediation of Chromium-Contaminated Sites. *Environmental Health Perspectives*, **92**, 25-40, 1991
- 10) 古賀敬興, 平川周作, 石橋融子: 鉄共沈操作を用いた排水試料の六価クロム測定における添加回収率向上のための分析手法検討. 環境化学, **30**, 140-144, 2020
- 11) 三井由香里: 3価クロム系化成処理排水の処理に関する研究 (第2報). 山梨県工業技術センター研究報告, **23**, 76-78, 2009
- 12) 武藤暢夫, 金甲守: 酸化還元電位値に影響を及ぼす要因に関する実験的検討 一水温, 溶存酸素量, 硫化水素量, pH値一. 水質汚濁研究, **9**, (10), 661-667, 1986
- 13) 金附宏明, 多田哲子, 河嶋淳平, 坂雅宏: 夾雑物を含む事業所排水及び着色した産業廃棄物最終処分場浸出水のクロム（VI）測定事例. 京都府保健環境研究所年報, **66**, 25-29, 2021