

工場排水中のリン酸性リンおよび 全リンの自動分析法について*

石谷 寿¹⁾・加茂 智子²⁾・高見 勝重³⁾・服部 幸和⁴⁾
山崎 晶子⁵⁾・山本 宏司⁶⁾・久下 芳生⁷⁾・浅田 真吾⁸⁾

1. はじめに

近年、公共用水域における赤潮被害など富栄養化現象が大きな社会問題となっている。昭和53年6月に改正された瀬戸内海環境保全特別措置法においても、特に赤潮対策ということで、その要因物質の一つであるリンの負荷量削減について指導方針を定めることを指示することとなった。こうしたなかで、環境中、工場排水中のリンの実態把握およびその監視のため、迅速で正確なリンの分析法の確立が必要となってきた。手分析による方法は、多くの時間と煩雑な操作を要し、精度や正確さに問題がある。そこで主に海水や河川水などで応用され良い結果を収めている自動分析装置による方法¹⁾について、種々の業種の工場排水を用いて検討した。なお全リンについては、いまだに完全な自動分析装置が開発されていないのが現状であり、E. Canelli^ら²⁾にならい、手分析で前処理を行なう半自動分析法を目的に、種々の前処理操作を検討した。以上の結果一応の成果が得られたので報告する。

2. 実験方法

2.1 実験に用いた試薬および試料

○リン酸標準液：110°Cで乾燥したリン酸二水素一カリウム (KH₂PO₄) 0.2195g を蒸留水に溶かし 1 l とする。(50ppm PO₄-P)

○DNA 溶液：有機リン化合物を想定し、鯉精液製デオキシリボヌクレイン酸 (和光純薬) を用いたが、全リンとして DNA 100μg 中に 8.4μg 含有されていた。使用のつどリン酸性リンの含まれていないことを確認して使用した。

○その他の試薬はすべて試薬特級の規格に合致するものを用い、水は蒸留・イオン交換水を使用した。

○工場排水試料：環境庁より委託された“昭和52年度瀬戸内海栄養塩類削減検討調査”にさいし種々の工場排水

を分析する機会を得た。これらを工場排水試料として用いたが、業種としては食料品、金属、非鉄金属、機械、鉄鋼、繊維、化学、製造一般、出版、紙パルプ、クリーニング、下水処理場、し尿処理場、窯業、洗車、写真、皮革など18業種、152試料におよぶものであった。

リン酸性リンの分析には、ポアサイズ0.45μmのミリポアフィルターでろ過するか、あるいは3000rpm、10分間遠心分離したものを用いた。全リンの分析には、懸濁した試料をそのまま用いた。

2.2 自動分析装置の概要

自動分析装置としてテクニコン社のオートアナライザーⅡ型を使用した³⁾。そのフローは図1に示したように、サンプラー、ポンプ、反応部、比色計、記録計から成っており、ポンプチューブ(タイゴンチューブ製)以外は主としてガラスチューブを用いて接続した。サンプリング速度は1時間に30試料、試料と洗浄水の比は2:1で行なった。

分析の原理はアスコルビン酸還元によるモリブデン青法である。混合発色試薬として、硫酸(4.9N) 50ml, モリブデン酸アンモニウム溶液 [(NH₄)₆Mo₇O₂₄・4H₂O, 40g/l] 15ml, L-アスコルビン酸溶液(18g/l) 30ml, 酒石酸アンチモニルカリウム溶液 [K(SbO)C₄H₄O₆・½H₂O, 3g/l] 5ml を順次この割合で混合したものを用いた。アスコルビン酸溶液は冷暗所に保存すれば数週間程度有効であった。他の溶液は数か月間有効であった。混合試薬は使用の都度調整した。

* A Semiautomated Procedure for the Determination of Ortho Phosphate and Total Phosphate in Industrial Waste Waters

1) Hisashi ISHITANI, 2) Tomoko KAMO, 3) Katsushige TAKAMI, 4) Yukikazu HATTORI, 5) Akiko YAMAZAKI, 6) Koji YAMAMOTO, 7) Yoshio KUGE, 8) Shingo ASADA, (大阪府公害監視センター水質検査課) Environmental Pollution Control Center of Osaka Prefecture

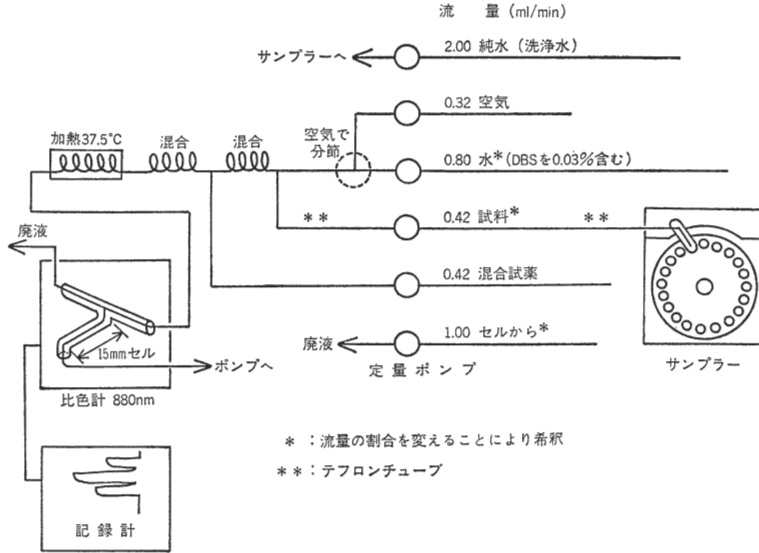


図1 リン酸自動分析装置の概要 (テクニコン・オートアナライザーII型)

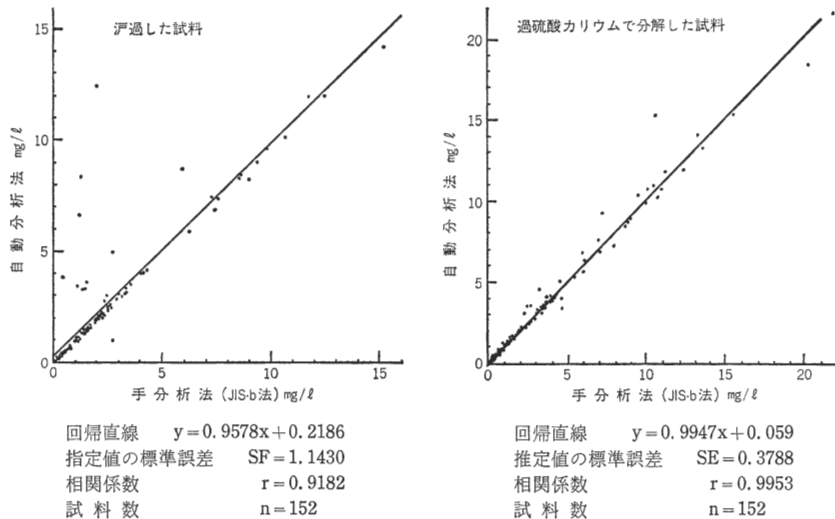


図2 工場排水中のリン酸分析における自動分析法と手分析法との比較

3. 結果と考察

3.1 工場排水中のリン酸分析における自動分析法と手分析法との比較

手分析法としては工場排水試験に最もよく用いられている JIS K 0102, 27.1 (b) 法⁴⁾ によった。ただし、この方法は反応温度と時間の影響を受けやすいので、25℃で15分間反応させ、以後30分以内に比色定量した。

図2は工場排水 152 試料について両分析法で測定した結果を回帰直線で示したものである。リン酸性リン分析

の場合 (過剰した試料での場合) と、全リン分析のためいったん過硫酸カリウムで分解した試料のリン酸分析の場合とを示したが、共に良い相関で一致していた。ただ、リン酸性リン分析の場合の方が相関係数など少し悪かった。これは図でも明らかなように過剰した試料では、手分析のさい、急速に退色が起こるなどの分析上の問題があり、異常に低値を示したものが少なからずあったためである。過硫酸カリウムで分解した試料ではそのようなトラブルが非常に少なかったため、良い相関を示したと考えられる。

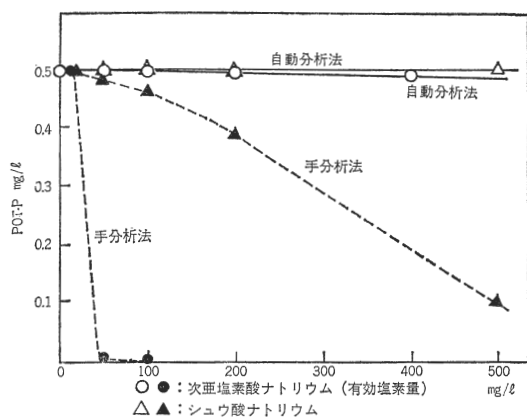


図3 リン酸分析に対する次亜塩素酸ナトリウム、シュウ酸ナトリウム添加の影響

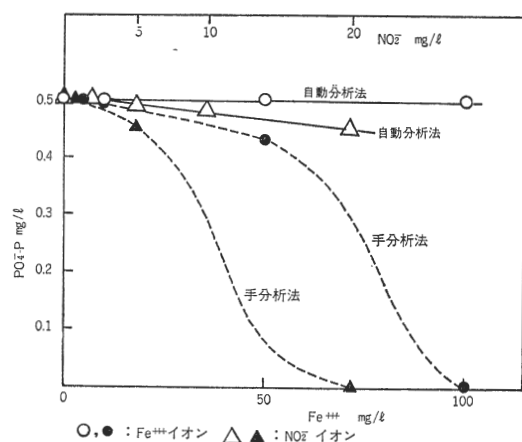


図4 リン酸分析に対する鉄、亜硝酸イオン添加の影響

3.2 両分析法に対する妨害物の影響

妨害物として、代表的な酸化剤である次亜塩素酸ナトリウム、還元剤のシュウ酸ナトリウム、そして工場排水中に多量に含まれていると思われる第二鉄イオン、亜硝酸イオンについて両分析法に対する影響を調べたが、その結果を図3、4に示した。これらはリン酸性リンを、0.5mg/lに含む試験液に妨害物を所定の濃度になるように添加し反応させ、リン酸性リンの回収をみたものである。共に手分析法に対して強い妨害が認められた。一方、自動分析法に対しては、顕著な妨害は認められなかった。ただ、亜硝酸イオンについては、20ppm共存すると約10%負の妨害を受けたので、高濃度に含まれる場合にはあらかじめ前処理で除外すべきであろう。

し尿処理場排水の手分析のさい、よく退色が起こったが、このことは亜硝酸イオンまたは殺菌に使用される次亜塩素酸ナトリウムの影響が考えられる。これらの妨害

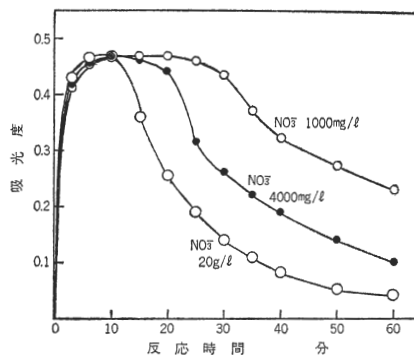


図5 手分析法(JIS-b法)における硝酸イオン添加の影響と経時変化 反応温度：25℃

も過硫酸カリウムで分解することにより除かれるようである。

安田らは、第二鉄イオンがアスコルビン酸還元法に強い妨害を与えると報告している⁵⁾が、自動分析法では200ppmまで検討したが、まったく妨害が認められなかった。そこで次に海洋観測指針⁶⁾に示されたアスコルビン酸還元法について、塩化第二鉄を用い安田らと同じ条件で追試したところ、予想されるごとく200ppm(10mg⁻Fe⁺⁺⁺/50ml)でもなら妨害を受けなかったし、退色も起こらず一日経過してもほぼ同じ吸光度を示した。

その他の妨害物として硝酸イオン、塩素イオン、ケイ酸イオンについても検討したが、前二者については自動分析法ではほとんど妨害がなく、ケイ酸イオンについては1000ppm(Si 1g/l)の共存で約3%の正の妨害を示したが、通常の分析では問題がないと考えられる。一方、手分析法のJIS(b)法では、硝酸イオンでは図5に示したように1000ppm(NO₃⁻1g/l)を越すと発色後急速な退色が生じた。全リン分析のさいの分解操作に硝酸を多く使用するが、十分に揮散除去しなければ大きなばらつきの原因になるものと考えられる。塩素イオンも、2000ppm(Cl⁻ 2g/l)を越すと大きな負の妨害があり、海水などの分析には補正が必要となる。ケイ酸イオンの場合500ppm(Si 0.5g/l)で約4%の正の妨害がみられた。これらの問題点についてはBurtonら⁷⁾も指摘している。以上の実験結果から自動分析法は工場排水中のリン酸性リンの分析に十分適用できるといえる。一方手分析法、特にJIS(b)法は妨害を受けやすいので十分注意して行なう必要があることがわかった。

3.3 全リンの半自動分析法について

全リン分析のための前処理分解操作は多くの方法が行なわれている⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾。また、それぞれの分解方法の比較検討もなされている¹¹⁾¹²⁾が、Harwoodらが指摘してい

<p>A. 過硫酸カリウム分解法 (海洋観測指針)</p> <ul style="list-style-type: none"> -試料 50ml -過硫酸カリウム溶液(4%) 10ml 添加 -ホットプレート上で 1時間 加熱分解 -冷却後 リン酸比色定量 	<p>B. 酸性過硫酸カリウム分解法 (Standard Methods 13th ed.) (に準拠)</p> <ul style="list-style-type: none"> -試料 50ml -過硫酸カリウム溶液(4%) 10ml 添加 -硫酸(1+1)2ml 添加 -ホットプレート上で 90~120分加熱分解 -冷却後20%水酸化ナトリウム溶液で pH 5~7に中和 -リン酸比色定量
<p>C. 酸性過硫酸カリウムオートクレーブ分解法 (Standard Methods 13th ed.) (に準拠)</p> <ul style="list-style-type: none"> -試料 10ml -酸性過硫酸カリウム溶液* 1.5ml 添加 -オートクレーブで120°C, 30分 加圧加熱分解 -冷却後 リン酸比色定量 <p>* 過硫酸カリウム 5g を温水 50ml に溶かし 10N 硫酸 4ml 加え水で 60ml にする</p>	<p>D. 硫酸・硝酸分解法 (Standard Methods 13th ed.) (に準拠)</p> <ul style="list-style-type: none"> -試料 50ml -硫酸 (1+1) 2 ml, 硝酸 5 ml を添加 -硫酸の白煙発生まで 加熱分解 -放冷後20%水酸化ナトリウム溶液で pH 5~7に中和 -リン酸比色定量

図6 全リン分解法フローシート

る¹¹⁾ように、ドラフトも必要とせず、過塩素酸のように爆発の危険性がなくかつ実験室で扱いやすく、分解能も優れている等を考慮して、過硫酸カリウムによる分解法を採用した。また、比較のために工場排水分析の前処理法として最もよく利用されている硫酸・硝酸分解法を採用した。図6にフローを示したように、これら4通りの方法について検討した。過硫酸カリウム分解法として、主に海水など環境試料の分析に用いられている海洋観測指針⁹⁾による方法(A法)、工場排水などの妨害物を含む試料に適用できるように硫酸酸性下で行なう Standard

Methods (13版)¹³⁾に準じた方法(B法)、一度に多試料をしかも短時間で分解でき、自動分析の前処理法として適当と考えられるオートクレーブ分解法¹³⁾(C法)、そして比較のための硫硝酸分解法¹³⁾(D法)である。なお、分解操作に入る前に自動分析法によりリン酸性リンを求め、その値を参考にできるだけ全リンが1mg/l以下になるように試料を希釈した。

3.3.1 工場排水中の全リン分析における前処理法の比較

18業種、152試料の工場排水についてA~Dの4分解法で処理し、自動分析法により得られた数値を回帰直線などで比較検討した。その結果、表1に示したように、相関係数は共に1に近く、回帰直線も予想以上に1:1の直線性を示し、それぞれの方法間に有意な差は認められなかった。回帰係数の値から強いて推察すれば、A法が他の方法より若干低値を示す傾向が見うけられた。このことは過硫酸カリウムだけで分解する方法では、有機物など妨害物の多い試料では、分解不足になることを示しているものと思われる。

次に、あるし尿処理場の排水を用いて、各方法の繰り返し精度を求めた結果を表2に示したが、A~C法は満足できる精度であった。それに対しD法は変動係数が少し大きく他法より若干精度に欠ける点が見うけられた。この傾向は表1でも認められ、硫硝酸分解法の操作の煩雑さに起因しているものと考えられた。

3.3.2 オートクレーブ分解法について

さきの実験結果から、オートクレーブ分解法が全リン自動分析法の前処理法として注目された。そこでオートクレーブ分解法に対する種々の妨害物の影響について検討した。妨害物としては、し尿処理場や下水処理場などの排水に多く含まれると考えられる有機物について試験した。有機リン化合物としてDNAを10ml中に100μg

表1 各種工場排水中の全リン分析における4分解法の比較

A: 過硫酸カリウム分解法 C: オートクレーブ分解法
B: 酸性過硫酸カリウム分解法 D: 硫酸・硝酸分解法

分解法		相関係数	回帰直線	推定値の標準誤差	回帰係数の95%信頼区間
x	y				
B	A	0.9969	$y = 0.9693x + 0.0043$	0.3078	0.9566 ~ 0.9820
A	B	0.9969	$y = 1.0252x + 0.0120$	0.3165	1.0118 ~ 1.0387
C	A	0.9953	$y = 0.9867x - 0.0142$	0.3764	0.9709 ~ 1.0026
A	C	0.9953	$y = 1.0040x + 0.0393$	0.3796	0.9879 ~ 1.0201
D	A	0.9925	$y = 0.9832x + 0.0149$	0.4756	0.9632 ~ 1.0031
A	D	0.9925	$y = 1.0020x + 0.0247$	0.4801	0.9816 ~ 1.0224

n=152

表2 各全リン分解法での繰り返し分析における分析精度

試料：し尿処理排水を希釈したもの
n=10 (n=5を日を交えて2回分析した)

分解法	平均値	標準偏差	変動係数
A. 過硫酸カリ分解法	0.277	0.0057	2.07%
B. 酸性過硫酸カリ分解法	0.287	0.0056	1.93
C. オートクレーブ分解法	0.270	0.0032	1.19
D. 硫・硝酸分解法	0.273	0.0200	7.35

(8.4 µg のリンを含有する) 含む試料について、所定の濃度となるように妨害物を添加し、分解処理を行なった後全リンの回収率を測定した。

表3に示したとおり、難分解性の有機物でも分解剤を増やすなどすれば、約1000 ppm (10 mg/10 ml) まで共存してもほぼ100%回収できることが判明した。また、この表から妨害有機物に対する分解可能な過硫酸カリウムのモル比を計算で求めると、5倍からピリジンのような難分解性のものでも20倍であった。これは Gouldenらの TOC を目的とした過硫酸カリウムでの酸化機構についての報告¹⁴⁾と一致している。また、リグニンやフミン酸は1000 mg/l までしか検討しなかったが、これらは分解剤を加え酸性にすると不溶性となり沈殿を生じた。そのためこのような高濃度でも妨害を与えなかったものと考えられる。これは安田らが報告しているセルロースで妨害が認められなかった点⁵⁾に似ていると思われる。

表4には分解時間の影響について示したが、妨害有機

表3 オートクレーブ分解法を用いた全リン分析に対する妨害有機物添加の影響

試料：DNA 100 µg/10 ml (P: 0.84 mg/l)
に所定濃度になるように妨害物を添加した。

妨害有機物	全リンの回収率 100% (0.84 mg/l) を示す添加量 mg/l	
	分解液 1.5 ml*	分解液 5 ml*
ブドウ糖	< 400	< 1000
フタル酸水素カリウム	< 400	< 1000
ピリジン	< 200	< 600
酢酸	< 1000	
乳酸	< 800	
グリシン	< 1000	
A B S	< 200	
リグニン**	< 1000	
フミン酸**	< 1000	

*：試料液 10 ml に対し酸性過硫酸カリウム溶液 1.5 ml または 5.0 ml 添加し分解した。

**：1000 mg/l までしか試験せず。

物を過硫酸カリウムで十分分解できる量に含有している場合は、ごく短時間 (5 分間) でも 100% 回収された。全リンを 10~20 mg/l もの高濃度に含有するし尿処理場、下水処理場の排水について、原液のまま分解した場合と希釈して分解した場合の両方について検討したが、妨害有機物をそれほど含んでいなかったためか両者に有意な差は認められなかった。

以上の結果から、有機物を 1000 mg/l 以下に含む通常の工場排水であれば、オートクレーブ分解法が適用できるものと考えられる。また、多量に有機物を含むおそれのある試料の場合は、あらかじめ十分に希釈をしたり、

表4 オートクレーブ分解法を用いた全リン分析における分解時間の影響

試料 (10 ml 中の添加量)	希釈* 倍率	分解時間			
		5分	15分	30分	60分
DNA (100 µg**) + ブドウ糖 (4 mg)		0.84***	0.84	0.84	0.84
DNA (100 µg) + ブドウ糖 (6 mg)		0.58	0.59	0.63	0.69
DNA (100 µg) + ブドウ糖 (8 mg)		0.21	0.25	0.34	0.45
し尿処理場排水	10		21.5		21.9
	1		21.7	21.0	21.0
下水処理場排水	5		9.26		9.38
	1		8.96	9.15	9.26

*：オートクレーブ分解時の希釈倍率。**：DNA 100 µg/10 ml は全リン 0.84 mg/l 含有。

***：数字は全リン濃度 mg/l。

念のため分解剤を増やすなどの繰り返し試験を行ない、ばらつきのないことを確かめれば、正確な分析値を得ることができる。繰り返し試験ではばらつきが大きい場合は他のより強力な分解法を採用すべきである。

4. ま と め

富栄養化対策のため、工場排水中のリンの大半を削減がなされようとしているが、それに比例して、ますますリンを分析する機会が多くなるものと考えられる。そこで著者らは工場排水中のリン酸性リンおよび全リンの自動分析法について検討を行なったが、その結果を要約すると以下のとおりである。

1) テクニコン社製オートアナライザーⅡ型により各種工場排水中のリン酸性リンについて測定し、手分析値と比較したところ、1対1の良い直線関係を示し、妨害物の影響については手分析法よりもむしろ優れていた。したがって日常の工場排水中リン酸性リンの分析に十分応用できることが明らかとなった。

2) 手分析法、特にJIS (b) 法については種々の妨害物の影響を受けるので、妨害物の除去など十分注意して行なう必要のあることが判明した。

3) 工場排水の全リンの分析にさいし、その前処理を過硫酸カリウムで分解する3方法と硫酸分解法について比較検討したが、有意な差は認められなかった。

4) 工場排水中の全リン分析の前処理をオートクレーブによる過硫酸カリウム分解法で行なえば、短時間に多くの試料を処理でき、分解率も申し分なく、分析精度も良好であったので、オートクレーブ分解法は自動分析法と併用すれば非常に有効な方法であることが判明した。

この論文の要旨は、日本化学会第38秋季年会(1978年10月・名古屋)において発表したものである。

おわりに、多大の協力をいただいた大阪府水質課および関係者に深謝いたします。

—参 考 文 献—

- 1) F. Ross Campbell and R. Leslie Thomas : Automated Method for determination of Soluble Phosphorus in Lake and Stream Waters, Environmental Science & Technology, Vol. 4, No. 7, pp. 602—604, 1970.
- 2) E. Canelli and D. G. Mitchell : A Semiautomated Procedure for the Determination of Phosphorus in Waste Waters and Particulates, Water Research, Vol. 9, pp. 1093—1098, 1975.
- 3) Technicon AutoAnalyzer II Industrial Method No. 155—71w.
- 4) 日本工業規格 : 工場排水試験方法 JIS K0102—1974. pp. 86—87.
- 5) 安田和彦, 武富真, 堀悌二 : 工場排水中の全リン定量法に対する鉄・有機物の妨害について, 全国公害研会誌, Vol. 2, No. 1, pp. 47—52, 1977.
- 6) 気象庁「海洋観測指針」pp. 191, 日本気象協会, 東京, 1970.
- 7) J. D. Burton : Problems in the Analysis of Phosphorus Compounds, Water Research, Vol. 7, pp. 291—307, 1973.
- 8) G. Wolfgang Fuhs : Determination of Particulate Phosphorus by Alkaline Persulfate Digestion, Intern. J. Environ. Anal. Chem., Vol. 1, pp. 123—129, 1971.
- 9) J. M. Andersen : An Ignition Method for Determination of Total Phosphorus in Lake Sediments, Water Research, Vol. 10, pp. 329—331, 1976.
- 10) J. T. H. Goossen and J. G. Kloosterboer : Determination of Phosphates in Natural and Waste Waters after Photochemical Decomposition and Acid Hydrolysis of Organic Phosphorus Compounds, Anal. Chem., Vol. 50, No. 6, pp. 707—711, 1978.
- 11) J. E. Harwood, R. A. Van Steenderen and A. L. Kühn : A Comparison of Some Methods for Total Phosphate Analyses, Water Research, Vol. 3, pp. 425—432, 1969.
- 12) 芦田賢一, 中野貴彦, 駒井幸雄 : 底質試料中の全リンの分析法について, 兵庫県公害研究所研究報告, No. 8, pp. 52—55, 1976.
- 13) American Public Health Association "Standard Methods for the Examination of Water and Waste-Water, 13th edition" American Public Health Association, New York, 1971.
- 14) P. D. Goulden and D. H. J. Anthony : Kinetics of Uncatalyzed Peroxydisulfate Oxidation of Organic Material in Fresh Water, Anal. Chem., Vol. 50, No. 7, pp. 953—958, 1978.