

飲料水中の三価ヒ素と五価ヒ素の 簡易分別定量フィールドキットの開発

廣中博見

福岡市保健環境研究所環境科学部門

Development of Arsenic Field Test Kits for Separate Quantitative Analysis of As³⁺ and As⁵⁺ in Drinking Water

Hiromi HIRONAKA

Environment Science Division, Fukuoka City Institute for Hygiene and the Environment

Summary

The field test kits developed to check for Arsenic pollution in the drinking water of developing countries were convenient carrying and inexpensive. By using the proper quantity of L-Ascorbic Acid and Sodium Borohydride, only trivalent Arsenic in drinking water is made to evaporate as Arsine (AsH₃). It is captured onto Mercury Bromide Paper, and the grade of coloring can perform a simple fixed quantity as compared with a color chart. By addition of Hydrochloric acid, the quantity of the Total Inorganic Arsenic can be analyzed with the same kits.

要約

発展途上国の飲料水のヒ素汚染チェック用の携帯に便利で安価なフィールドキットを開発した。L-アスコルビン酸と水素化硼素ナトリウムを適量用いることによって、水中の三価ヒ素のみをアルシンとして気化させ、臭化水銀紙に捕集し、着色の程度により、カラーチャートに比較して簡易定量を行える。塩酸を適量加えることにより、五価及び三価の総ヒ素を同じ試験紙で定量できる。

Key Words : フィールドキット Field test kits, 飲料水 Drinking water, 水素化硼素ナトリウム Sodium Borohydride, 三価ヒ素 trivalent Arsenic

I はじめに

筆者は1987年から1990年の3年間、タイ国の環境科学の化学分析室（現ERTC）にJICA専門家として分析化学等の指導に赴任した。タイ南部のナコンシタマラート西部のロンピブン村での錫鉱山跡地の大規模なヒ素汚染問題に遭遇し、現地政府から現場での簡易なヒ素分析キットの作成を依頼された。

最初は、USAのStandard MethodのMercury Bromide stain method (slip方式) を使用したが、感度が悪く0.1mg/L程度までしか測定できない上、液体の試薬で携帯に不便であった。

日本の旧薬局方に記載のヒ素分析法を改良し、試薬を亜鉛末、沃化カリ、塩化第二スズの粉末と6mol/l-塩酸に変え携帯性を高めたフィールドキットを開発した¹⁾。

この方式のヒ素分析キットは、バングラデシュ・ネパ

ールで筆者の指導で現地でキットを作成し安価に供給しており、すでに数万件の井戸水の検査に使用された。

化学者でない現地のボランティアが使用することで、生じた問題点を何度も改良を重ね使いやすくなっている。

ところが、2001年9月11日の航空機によるテロ以来、手荷物の検査が厳しくなり、重い元素である沃素、スズ、亜鉛がくつきりとX線に写るためキットの機内持ち込みが困難になった。

また、カンボジア・ラオス・ベトナム等のメコン下流域でも軽微なヒ素汚染が発見され、 $10\mu\text{g/L}$ 以下の低い濃度のヒ素を確実に検出できるキットが求められている。

そこで、 $5\mu\text{g/L}$ まで検出できる高感度で、重い元素を使用しないヒ素のフィールドキットを開発した。

II 実験方法

1. 試料

飲料水の一般依頼検査で持ち込まれた福岡市内の井戸水に、三価および五価のヒ素の標準液を加え、 $0.05\sim 1\text{mg/L}$ の濃度にした水試料を使用した。

2. 試薬等

標準品：

- ・三価ヒ素標準液 関東化学(株)製 As 1000mg/L ヒ素(三酸化二ヒ素)標準液原子吸光分析用、
 - ・五価ヒ素標準液 和光純薬化学用試薬 ヒ素溶液(H_3AsO_4 59~63%)をエビアンで 1000mg/L 程度に希釈しICP-MSと原子吸光で標定したもの。
 - ・ろ紙：アドバンテック東洋(株)製 ろ紙No. 51 A
 - ・水素化硼素ナトリウム 関東化学(株)製 有機合成用試薬(粉末)
 - ・L-アスコルビン酸 関東化学(株)製 食品添加物用
- その他の試薬：市販のビタミンCサプリメント、および試薬特級を使用した。

3. フィールドキットの部品

- ・試験管：日電理化硝子(株)製 N-目安入り20cc
- ・臭化水銀紙ホルダー：
Agilent Technologies製11mm PP vial P.N. 9301-0978
Agilent Technologies製Snap Caps P.N. 5181-1512
- ・シリコーンフッ素ゴム管 内径10mm外径14mm
タイガーホースポロマー(株)製SRチューブ
- ・ NaBH_4 用ミニ試験管(内径2.4mm長さ30mm)

4. ヒ素標準溶液の調製

1mg/L 以下の低濃度のヒ素標準液は容器の壁に吸着し、

内容液の濃度が変化するばかりでなく、三価ヒ素は溶存酸素と反応して五価のヒ素に変化する。内壁への吸着を防ぐため、硬度の高いエビアンを使用している。

2000年まではキットに付属する標準液は 5mg/L で調製していたが、三価ヒ素のみ分析するようになって、6ヶ月以上経過した 5mg/L 標準液で三価のヒ素の発色が減少するのが問題となった。総ヒ素の分析法を使用すればほぼ正常に発色する、五価となったヒ素はpHが中性では低濃度での容器内壁への吸着が著しい。

標準液のpHを強酸性にすると、五価ヒ素の吸着は防げるが、三価から五価への平衡速度が大きくなり三価ヒ素標準液として長期には使用できない。

三価ヒ素標準液は 20mg/L でpH5とし、五価ヒ素標準液は 5mg/L でpH3以下とすることで密閉すれば1年程度の保存に耐える事が経験上判明している。

5. 臭化水銀紙の調製方法の検討

1) 臭化水銀紙中の濃度の決定

臭化水銀の1%, 5%, 10%エタノール溶液 $5\mu\text{L}$ を薄層クロマト用のマイクロピペットを用いて直径10mmの打ち抜き濾紙中央に付加して臭化水銀紙を作成し、三価ヒ素標準液1, 5, $10\mu\text{g}$ を含む10mLの試料で、ヒ素分析キットを用いて総ヒ素を分析した結果をFig. 1に示す。

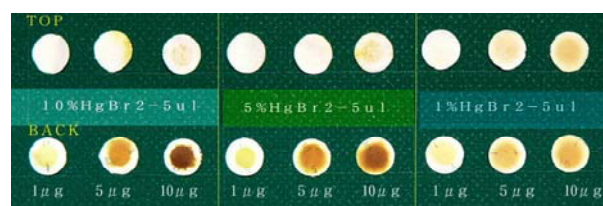


Fig. 1 The coloring situation of having changed the amount of Mercury Bromide and Arsenic concentration

臭化水銀の1%では明らかに発色が弱く、 $0.5\sim 1\text{mg/L}$ As相当の $5\sim 10\mu\text{g}$ では、臭化水銀紙の裏まで着色しており、アルシンの捕集力が十分でない。

5%では $10\mu\text{g}$ でわずかに裏にシミが見えるが、10%の $10\mu\text{g}$ と比較すると色合いが浅く広がりが大きい。 1mg/L までの十分な発色を得るために、直径10mmの打ち抜き濾紙100枚中の臭化水銀の必要量は10%エタノール溶液を0.5mL、または5%溶液1mLであると計算される。

2) 均一な臭化水銀紙の製作方法

大量の臭化水銀紙を作るに当たって最も注意すべき事は、ムラなく均一に作ることである。ヒ素キット開発以来18年間様々な方法を試み、改良を重ねた結果、現在の製法に至った。

(1) 東洋(株)製ろ紙No. 514Aを4枚重ねてプラスチック俎板上で、10mmの皮用パンチで打ち抜く。

(2) 500mLのナス型フラスコに1000~4000枚の10mm円形濾紙を入れ、臭化水銀5%のエタノール溶液を100枚あたり1mLの割合で10~40mL加え、さらにエタノール50~150mL程度を加え、まんべんなく浸し、一晩放置する。

(3) ロータリーエバポレーターにセットし、1時間かけてゆっくり溶媒を溜去し、かすかにエタノールの臭いが残る程度で止める。

(4) 栓をし、アルミ箔で遮光して冷暗所保管、1週間放置し熟成後、100枚ずつ小分け容器に入れて冷凍庫に保管する。

3) 臭化水銀紙の有効期限

常温では6ヶ月程度は、感度良好である。6ヶ月以上経過しアルコール臭が消え発色が悪くなったら、エタノール0.5mLを小分け容器に加え、全体を湿らせて、開栓して一晩放置すると回復する。

6. 臭化水銀紙ホルダーの作成

フィールドキットの最も重要なパーツである臭化水銀紙ホルダーは1987年の開発当初から次のような変遷を経て現在に至っている。各方式の概略と欠点を次に記した。

1) スリップ方式 (1987-1988)

内径3mm長さ10cmのガラス管に幅2.8mmx10cmの臭化水銀紙スリップを用いる方法。

試験紙作成には臭化水銀1%エタノール溶液を用いる。

利点：材料が安価。

分析途中で結果が見える。

欠点：感度、定量性が低い。

スリップの製作が困難。

直射日光下で退色が早い。

2) フランジ方式 (1988-2000)

日本薬局方ヒ素試験器A型の頭部を使用したもの²⁾。バングラデシュではフランジを射出成形のポリプロピレンで作成してNIP SOMキットとして普及している。発色領域は7mm直径である。

利点：感度が良い。

欠点：材料が高価。割れやすい

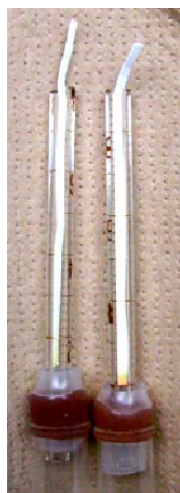


Fig. 2
Slip system



Fig. 3
Flange system

3) PP vial方式 (1999-)

キャピラリー電気泳動の使用済みサンプルバイアルを廃物利用した物で、10mmの円形濾紙をスナップキャップの底にセットする。バイアルの口径5mmが、発色領域となるため、前法より感度が2倍になった。通気抵抗が上がるため試験管との接続部分からの洩れに注意する必要がある。

利点：廃物利用なので安価

高感度、取扱いが楽

欠点：試薬の量の調整が厳格である。



Fig. 4
PP vial system

7. ヒ素分析手順の検討

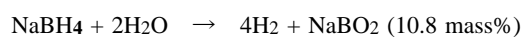
水中の五価と三価のヒ素からヒ素化水素AsH₃を発生させる時に使用する塩酸の量とNaBH₄の計算で求め、その前後の量で実験的に最適量を定めた。

フィールドキット分析で必要となる条件は、

- ・10分程度で分析が終了すること
- ・ガスの発生速度は0.5mL/secが最適 (経験値)

1) 試薬の量の検討

加水分解により計算上はNaBH₄の1モルから4モルの水素が発生するとされる。



$$\Delta G_0(298\text{K}) = -321[\text{kJ/mol-NaBH}_4]$$

必要な水素発生量は 600x0.5=300mLであり、

必要なNaBH₄の理論量は

$$0.15 / 22.4 \times 37.83 / 2 = 0.127(\text{g}) \text{であり、}$$

塩酸(6mol)の量は $\text{NaBH}_4 \rightarrow \text{Na}^+ + \text{BH}_4^-$ の反応で生じるNa⁺を中和する量

$$0.127 / (37.83) / 6 \times 1000 = 0.56\text{mL}$$

と計算される。NaBH₄(93mg)を内径2.4mmのガラス管に約2.5cmに詰め6mol-塩酸をそれぞれ0.15, 0.3, 0.6mLを10mLの蒸留水に加え、水素ガス発生量を水上置換法で測定し、初期のpHと反応途中の4段階のpHを測定した結果をTable 1, およびFig. 5に示した。

これらの結果から、NaBH₄を100mg、6mol-塩酸を0.4mL使用すれば水素ガスが総量で220mL発生し、毎秒0.5mLで反応させると、7分20秒で1分析が終了する

水素ガスの発生速度は、ガラス管の内径とNaBH₄の詰めの堅さに影響されるが、毎秒1mLを超えると着色円が滲んで大きくなり、濃度判定が難しくなる。

Table 1 pH change in reaction with amount of HCl

6mol-HCl->	0.15mL	0.3mL	0.6mL
NaBH ₄ -0/4	1.20	0.84	0.49
NaBH ₄ -1/4	7.53	1.32	0.82
NaBH ₄ -2/4	8.35	1.50	0.95
NaBH ₄ -3/4	8.70	7.90	6.00
NaBH ₄ -4/4	9.35	8.95	7.95
H ₂ gas	110mL	200mL	220mL

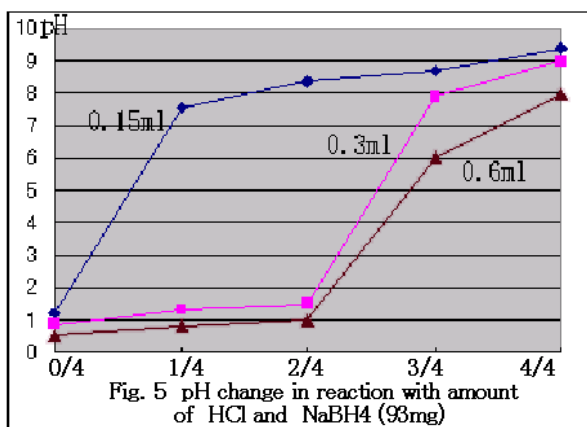


Fig. 5 pH change in reaction with amount of HCl and NaBH₄ (93mg)

2) 試薬添加順の検討

試料10mLを採取し、まず1:1の塩酸を0.4mL入れた後、NaBH₄を詰めた管を入れた場合と順序を逆にした場合とで同じ結果が得られた。温泉水などでpHが極端に低い場合は、NaBH₄を後に入れる必要がある。

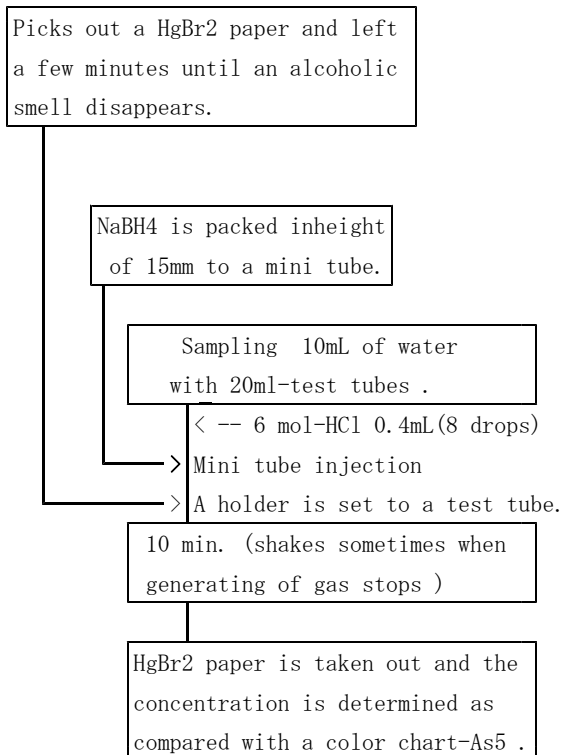


Fig. 6 Total arsenic analysis flow sheet

8. 三価ヒ素分析手順の検討

1) 試薬の量の検討

NaBH₄ (127mg)を三価ヒ素の分析に使用し錠剤 (1/4, 1/2, 1/1) 中のVitaminC-mgと水素発生量の関係を調べた結果をTable2に、Fig. 7に示した。

Table2 Amount of Hydrogen generating vs Vitamin-C

VitaminC-mg	50.4	105	210
Hydrogen mL	95	195	245

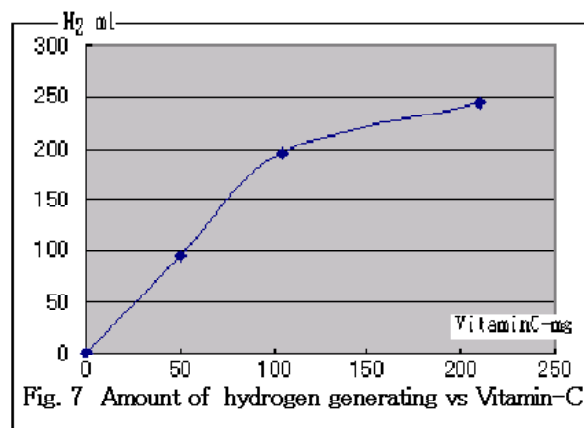


Fig. 7 Amount of hydrogen generating vs Vitamin-C

水素発生量は過剰のVitaminCでも理論値の80%程度であり、水素発生量200mLを確保するためには、NaBH₄を130mg、VitaminC錠剤 (1錠中210mg含有) の1/2を必要とする。

2) 試薬添加順の検討

VitaminC錠剤を最後に添加したときは、錠剤は発泡により浮き上がり、上層部にあるNaBH₄と急激に反応する事がある。また、VitaminC錠剤を入れて長時間 (数分) 経過すると錠剤が溶け最後にNaBH₄を添加したときに急激に反応することがある。

VitaminC錠剤を投入後、30秒以内にNaBH₄を添加し、直ちに臭化水銀紙ホルダーをセットする必要がある。

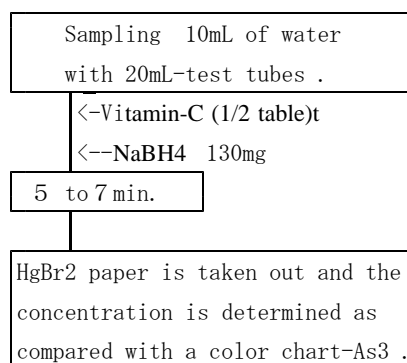


Fig. 8 As₃⁺ analysis flow sheet

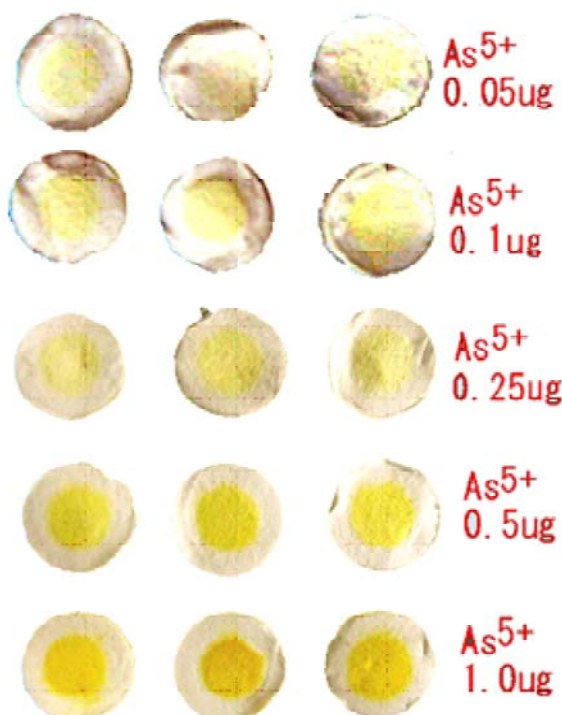


Fig.9 Reproducibility examination of Total Arsenic

9. 再現性試験

低濃度域で熟練者による再現性を見たのがFig.9である。発色が黄色でそのまま白黒モードに変換しても差が見えないので、青色フィルターをかけて撮影処理した。10ml水試料中の0.05 μg -Asまで検出できた。

高濃度域 0.1~0.8mg/L領域で初心者での再現性を見ると (Fig.10) , にじみが多いが、これは試薬の量が多く、水素発生量が2ml/秒を超えていたことを示す。丸くにじみのない発色域を作ることがコツである。

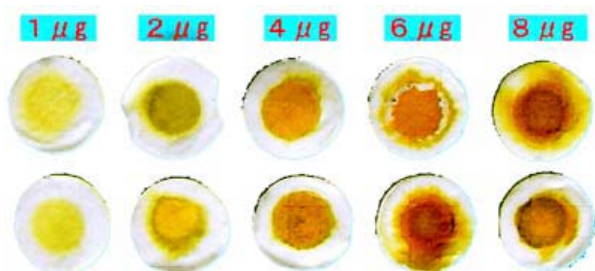


Fig. 10 The example of a high concentration Arsenic assay by the beginner

10. カラーチャートの作成

フィールドでの検査では、標準液による発色確認をすることが困難な場合が多く、カラーチャートとの比較のみで簡易定量する。前日もしくは出発前に0.3mg/L付近でカラーチャートとの整合性を確認すると良い。

カラーチャートの製作には、デジタルカメラを用いて自然光の日陰で近接モードで撮影した後、現物が退色しないうちに、印刷の色と比較してカラー調製を行う。

III 結果および考察

完成したヒ素専用の BVC-W100キットの構成をFig.11に示した。このキットは100検体分の試薬等を含み、同時に2件の分析が可能である。



Fig.11 BVC-W100 Field Test kit

現在このキットの臭化水銀紙ホルダーのPP vial方式の頭部を定期的にバングラデシュ、ネパールのヒ素フィールドキット制作者に無償で提供し、途上国でのヒ素汚染対策に役立っている。

このキットの使用上の問題点は、試薬の量により、ガス発生速度が変わるので、使用に当たって若干の訓練が必要なことである。初心者でもきれいな丸い発色円ができるように、VitaminC錠剤とNaBH₄錠剤を開発する必要がある。

検水が有機物や洗剤成分を含んでいると発泡のため検液が臭化水銀紙まで上がって分析ができない。また、硫化水素を含む温泉水では、酢酸鉛綿を使用してもプラス妨害が生ずるので注意する必要がある。

このフィールドキットでは5 $\mu\text{g/L}$ までの確認ができるが、WHOによる飲料水中のヒ素の基準が50 $\mu\text{g/L}$ から10 $\mu\text{g/L}$ に引き下げられ、さらに高感度の分析が求められている。濃縮操作をせずに現場で簡単に1 $\mu\text{g/L}$ までの検出が可能なヒ素用フィールドキットを製作を目指してさらに改良を続けていきたい。

文 献

- 1) 廣中博見:ヒ素分析用フィールドキットによるAs³⁺とAs⁵⁺の簡易分別定量法, 福岡市保健環境研究所報, 23, 120-122, 1997
- 2) 第十改正日本薬局方, 33, ヒ素試験法, 725-728, 1981