

ヒ素簡易分析装置のバリデーション

内野 正[#]・徳永裕司・安藤正典

Validation of Simple Analytical Equipment for Arsenic

Tadashi Uchino[#], Hiroshi Tokunaga and Masanori Ando

In order to improve the arsenic test method, we investigated the effect of temperature, solar light and masking ions on that test method. As the results, we found that the solar light gave the big damage to the colored reaction on the method. In addition, on comparing the improved method with the arsenic test method of Merckoquant^R kit by using the water containing 0.01 ppm arsenic as the Japanese guideline for the drinking water, the improved method gave the better analytical value than Merckoquant^R kit that was not sufficiently determined.

Keywords: arsenic, analysis, validation, Japanese guideline for drinking water

はじめに

近年、未開拓地域の地下水利用によるヒ素汚染が世界各国で問題となっており、特にインド国西ベンガル州では1996年の汚染状況調査でヒ素汚染地域の人口は約960万人で、日本およびWHOの飲料水中のヒ素(As)のガイドラインである0.01 ppm以上の水を飲用している人は150万人、インド国内の飲料水中のヒ素(As)のガイドラインである0.05 ppm以上の水を飲用している人は110万人、皮膚疾患患者数22万人と報告され、深刻な状況になっている¹⁾。1993年に日本およびWHOのヒ素(As)のガイドラインが上記のように設定されるに伴い、ヒ素の分析方法は定量下限として0.01 ppmが要求されることになった^{2, 3)}。現在この定量下限を満たすものとしてICP-MASS法⁴⁾などの機器分析法があるが、これら未開拓地域では上記の機器分析手段は生活社会へのインフラ整備や投資が行われてきていないためにほとんど不可能な状況である。そこで高度な機器を用いずに簡易に正確に測定できるヒ素簡易分析装置のバリデーションを行うための方法を確立することが急務となっている。分析方法としては、グッドツァイト法⁵⁾に基づく方法が妥当と考えられるが、日局に定められているヒ素試験法⁶⁾の検出限界は(三酸化ヒ素として)0.05 ppm程度である。そこでより高感度な試験法を作成するためにヒ素

試験法の改良(高感度ヒ素試験法)を行い、その検出限界や反応温度、日光、妨害イオンとして考えられる鉄などの影響を検討した。更に市販のヒ素簡易分析装置による方法(Merckoquant^R)との比較を行った。

実験方法

試薬：水は全てミリQ水とし、塩酸、硫酸は有害金属測定用を用いた。無ヒ素亜鉛(粒状、ヒ素含有量0.1ppb以下)は国産化学(株)製を用い、Merckoquant^Rキットはメルクジャパン(株)製を用いた。その他の試薬は全て和光製薬(株)製を用いた。

ヒ素標準原液：三酸化ヒ素を微細の粉末とし、その0.100gを性格に量り、水酸化ナトリウム1gを水5mlに溶かした)5mlに溶かした。この液に希硫酸を加えて中性とし、更に希硫酸10mlを追加し、水を加えて正確に1000mlとした。

ヒ素標準液：ヒ素標準原液1mlを正確に量り、希硫酸1mlを加え、水を加えて正確に100mlとし、これを更に希釈して0.002-0.1 mg/mlの溶液を調製した(用時調製)。

操作法

1. 高感度ヒ素試験法

装置は第13改正日本薬局方ヒ素試験法の装置Aを準用し、ガラス繊維の代わりに扱いやすい脱脂綿を用い、有害試薬である臭化第二水銀の使用量を減らすために臭化第二水銀紙のサイズを小さくし(10mm×10mm)、以下に示すように装置Aを用いる方法に準じて試験を行った。なお

[#] To whom correspondence should be addressed:

Tadashi Uchino; Kamiyoga 1-18-1, Setagaya, Tokyo 158-8501, Japan; Tel: 03-3700-1141; Fax: 03-3700-6950
E-mail: uchino@nihs.go.jp

装置Aを用いる方法は第13改正日本薬局方では採用する品目がなくなったが、装置Bを用いる方法に比べ、感度がやや高い、分光光度計を使用する必要がないなどの利点からこの方法を選択した。

発生瓶にヒ素標準液 20 ml を正確に加え、更に薄めた塩酸 5 ml およびヨウ化カリウム試液 5 ml を加えて 2-3 分間放置した後、更に酸性塩化第一スズ試液 5 ml を加え、室温で 10 分間放置した。次に水を加えて 40 ml とし、無ヒ素亜鉛 2g を加え、直ちに装置を連結したゴム栓を発生瓶に付け、25℃ の水中に瓶の肩まで浸し、1 時間室温放置後、直ちに臭化第二水銀紙の色を観察した。

2. Merckoquant[®]キットによる方法

発生瓶にヒ素標準液 20 ml を正確に加え、更に試薬（無ヒ素亜鉛）をキット付属の薬さじ 1 杯および試薬 2（32% 塩酸）10 滴を加えて試験紙を差し込んだふたをしめ、良く振り混ぜた。30 分間室温放置後、直ちに水につけ、適量の水をふきとった後、試験紙の色を観察した。

評価法：評価は目視で行い、-（白）、±（かすかな黄色）、+（うすい黄色）、++（黄色）、+++（黄褐色）の 5 段階で評価した。

結 果

1. 検出限界の測定

0-0.1 ppm のヒ素標準液を 20 ml 発生瓶に加え、検出限界を測定したところ、Table 1 に示すように検出限界は（三酸化ヒ素として）0.005 ppm と 2 ml 加えた時の十分の一と

Arsenite concentration (ppm)	Sample volume 2 ml (JP method)	Sample volume 20 ml (improved method)
0	-	-
0.001		-
0.002		-
0.005		±
0.01	-	+
0.05	±	++
0.1	+	+++
0.5	++	
1	+++	

Table 1. Effect of arsenite concentration on the color of HgBr₂ test strip

The color of HgBr₂ test strip: - white, ± slight yellow, + light yellow, ++ yellow, +++ yellow-blown. Standard sample of arsenite was measured at 25 °C.

った。測定は 3 回ないしそれ以上行ったが検出限界付近の濃度では多少バラツキが見られたものの、判定が変わるような顕著な変化は認められなかった。

2. 反応温度の影響

0.005 ppm のヒ素標準液を発生瓶に加え、反応温度を 20-45℃ に変化させ、色の変化を測定した。35℃ で若干色が濃くなる傾向が見られたものの、Table 2 に示すように顕著な影響は見られなかった。

Reaction temperature(°C)	Color
20	±
25	±
35	±
45	±

Table 2. Effect of arsenite reaction temperature on color of HgBr₂ test strip

Standard sample of arsenite (0.005 ppm) was measured at 25 °C. The color of HgBr₂ test strip: ± slight yellow.

3. 光の影響

0.005 ppm 又は 0.05 ppm のヒ素標準液を発生瓶に加え、

Irradiation time(min)	Arsenite 0.005 ppm			Arsenite 0.05 ppm		
	dark	room light (fluorescent light)	solar light (pm 1, 10/28, 1999)	dark	room light (fluorescent light)	solar light (pm 0, 10/29, 1999)
0	±	±	±	++	++	++
5	±	±	-	++	++	+
10	±	±	-	++	++	±
30	±	±		++	++	
60		-				

Table 3. Effect of light on color of HgBr₂ test strip

The color of HgBr₂ test strip: - white, ± slight yellow, + light yellow, ++ yellow. Standard sample of arsenite was measured at 25 °C.

反応温度 25℃で測定後、室内光（蛍光灯）又は太陽光（1999年10月28日午後1時前後又は同年同月29日午後0時前後、晴れ）に最大60分間暴露し、暴露前および暗所での場合と比較した。Table 3に示すように暗所では30分間放置後もほとんど退色が見られなかったのに対し、太陽光では経時的に退色が起こり、ヒ素 0.005 ppm 存在下では5分以内、0.05 ppm 存在下では10分程度でほとんど退色した。室内光では0.05 ppm 存在下では30分間放置後もほとんど退色が見られなかったが、0.005 ppm 存在下では30分間放置後に退色し始め、60分間放置後には完全に退色した。

4. 硝酸鉄および硫化鉄の影響

地下水中に比較的多く存在することが知られている鉄⁷⁾の影響を検討するため硝酸鉄又は硫化鉄を1-50 ppm 含む0.005 ppm のヒ素標準液を発生瓶に加え、反応温度 25℃で測定し、それらを含まない場合と比較した。Table 4に示すように硝酸鉄では顕著な変化はなかった。硫化鉄では50 ppm 存在下で完全に退色し、妨害が見られた。

Concentration (ppm)	Fe(NO ₃) ₃	FeS
0	±	±
1	±	
5	±	±
10	±	±
50	±	-

Table 4. Effect of Fe(NO₃)₃ and FeS concentration on the color of HgBr₂ test strip
The color of HgBr₂ test strip: - white, ± slight yellow.
Standard sample of arsenite (0.005 ppm) was measured at 25 °C.

5. Merckoquant^Rキットによる方法との比較

0-0.1 ppm のヒ素標準液を Merckoquant^Rキットで測定し、検出限界を測定したところ、Table 5に示すように検出限界は（三酸化ヒ素として）0.05 ppmであった。高感度ヒ素試験法による色の変化との相関を見たところ、Merckoquant^Rキットは高感度ヒ素試験法の三分の一程度の感度しかないことが明らかとなった。

Arsenite concentration (ppm)	Improved method	Merckoquant ^R kit
0	-	-
0.005	±	
0.01	+	-
0.05	++	±
0.1	+++	+

Table 5. Relationship between improved method and Merckoquant^R kit
The color of HgBr₂ test strip: - white, ± slight yellow, ++ yellow, +++ yellow-blown.
Standard sample of arsenite was measured at 25 °C.

まとめと考察

以上の結果から、日本およびWHOのガイドラインを満たす試験法を作成することができた。本試験法では、太陽光の影響が最も強く、数分で退色が始まることから、フィールド試験では反応終了後直ちに測定を行い、試験紙には日光を当てないことが必要であり、特にサンプル中のヒ素濃度（三酸化ヒ素として）が検出限界付近の場合には退色しやすいので注意が必要である。反応温度に関しては少なくとも20℃以上であれば呈色にはほとんど影響はなく、上記の未開拓地域ではフィールド試験でもほとんど問題はないと思われる。一方、硫化鉄は少量では影響はほとんど見られないものの、高濃度（50 ppm以上）では妨害が見られたので注意が必要である。

Merckoquant^Rキットによる方法との比較を行ったところ、このキットはサンプル量の違いを考慮しても本試験法の三分の一程度の感度しかなく、このままではガイドラインを満たさない。実際の試験に用いるにはサンプル量の増大又はサンプルの濃縮など改良が必要と思われる。

文 献

- 1) 安藤正典, 眞柄泰基: 資源環境対策, 33, 113-122 (1997)
- 2) 厚生省監修: 上水試験方法 1993年版, 日本水道協会, 東京, pp.2 (1993)
- 3) World Health Organization: "Guidelines for drinkingwater quality", 2nd ed. Vol.1. Recommendations, WHO, Geneva, pp.41-42 (1993)
- 4) 柴田康行: 衛生化学, 42, 385-401, (1996)
- 5) 化学大辞典編集委員会編: 化学大辞典 Vol.3, 共立出版, 東京, pp.41-42 (1978)
- 6) 第十三改正日本薬局方, 厚生省, 87-89, (1996)

-
- 7) 日本薬学会編：衛生試験法注解 1990年版，金原出版，
東京，pp.989-990 (1990)