

水中の微量クロム(VI)の分析法

ジフェニルカルバジド直接法と抽出法の検討

中西 成子* 日野 隆信* 海保新太郎*

I. 緒 言

クロムはクラーク数で21番目の元素であり、主にクロム鉄鉱 ($\text{FeO} \cdot \text{Cr}_2\text{O}_3$)として産出される。また、表1に示すように、人間、動物、植物、空気、土壌中にも微量ではあるが含まれていることが明らかになっている。

表1 各物質中クロム濃度²⁾

| 物 質 | クロム濃度 (ppm) | |
|-----------|----------------|---------|
| | 濃 度 範 囲 | 平 均 |
| 大 陸 地 殻 | 80~200 | 125 |
| 超苦鉄質火成岩 | 1,000~3,400 | 1,800 |
| 玄武岩性火成岩 | 40~600 | 220 |
| 花崗岩性火成岩 | 2~90 | 20 |
| 頁 岩 と 粘 土 | 30~590 | 120 |
| 石 灰 石 | — | 20 |
| 砂 岩 | — | 35 |
| 土 壤 | 10~150 | 40 |
| 燐 灰 岩 | 30~3,000 | 300 |
| 石 炭 | 10~1,000 | 20 |
| 石 油 | — | 0.3 |
| 海 水 | 0.00004~0.0005 | — |
| 海 中 植 物 | — | 1 |
| 海 中 動 物 | 0.2~1.0 | — |
| 陸 上 植 物 | — | 0.2 |
| 昆 虫 | 痕 跡 | — |
| 哺 乳 動 物 | — | 0.3 |
| 淡 水 | 0.0001~0.08 | 0.00018 |

(吉川博, クロム化合物, 日本公衆衛生協会版より引用)

これらの物質中に含まれているクロムの酸化数は不明のものが多いが、酸化状態の自由エネルギーから推定すると、天然ではクロム(III)で安定に存在していると考えられる。

別報¹⁾で報告したように、人為的汚染の可能性の考えられない天然水中からクロム(VI)が検出されるというようなことは、今まで例をみないことであった。そこで

我々としては、従来の分析方法の信頼性をもう一度問い直す必要があると考えた。

微量クロムの分析法としては、原子吸光法、発光分析法、蛍光X線法、ガスクロ法、放射能分析法などもあるが、簡単かつ迅速な吸光光度法が日常分析として使われている。主なクロムの吸光光度定量法を表2に示した。

表2 クロムの吸光光度定量法³⁾

| 試 薬 | 操 作 条 件 | 測定波長 (nm) | 定 量 範 囲 |
|--|---------------------------------------|-----------|--------------------------------|
| EDTA | pH 5~4 (HOAc) | 396.538 | 1~80 $\mu\text{g}/\text{ml}$ |
| Cr(III) \rightarrow CrO ₄ ²⁻ | pH > 9 | 375 | 5~100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ |
| ジフェニルカルバジド | 0.2M H ₂ SO ₄ | 543 | 0.01~1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ |
| アセチルアセトン | pH 3~4 CHCl ₃ 抽出 | 560 | |
| オキシシン | pH 6~8 CHCl ₃ 抽出 | 420 | 0.5~8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ |
| クロモトローブ酸 | 0.5~5N H ₂ SO ₄ | 400 | 1~15 $\mu\text{g}/\text{ml}$ |

この中で、ジフェニルカルバジド法は最も鋭敏で、共存イオンの妨害も少ないとされ、公定検査法としても多く採用されている。^{4) 5) 6)}我々も今回の調査を進める上で、ジフェニルカルバジド吸光光度法が最も適した分析方法と判断し、実験を行った。また、この方法で測定した値が正確にクロム(VI)の値であるか否かを、あらためて検討した。さらに抽出操作を加えることにより、濁った水や着色水中のクロム(VI)が測定可能となり、感度も1桁上げることができたので、ここに報告する。

II. 試薬及び装置

1. 試 薬

5%ピロリン酸ナトリウム溶液：特級ピロリン酸ナトリウム10水和物5gを水に溶かして100mlとする。

0.5%ジフェニルカルバジド溶液：特級ジフェニルカルバジド0.5gをアセトン50mlに溶かし、これに水50mlを加える。本溶液は用時調製とする。

クロム(VI)標準溶液：標準試薬重クロム酸カリウム2.828gを水に溶かして1000mlとし、この溶液を標準原液とする。使用時に原液を1000倍に希釈して、クロム(VI)1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 標準溶液を調製する。

*千葉県衛生研究所
(1978年5月25日受理)

2. 装置

吸光度の測定には、日立ダブルビーム分光光度計200-20形を用いた。

吸収セルは、1 cm及び3 cm石英セルを使用した。

III. 分析方法

1. 直接法

試料50ml及びクロム(VI) 0~20 μ gを含む標準溶液を容量50 mlの比色管に採り、4 N硫酸2.5mlと5%ピロリン酸ナトリウム溶液2 mlを加え、振り混ぜる。次に0.5%ジフェニルカルバジド溶液1 mlを加えて振り混ぜ、5分間放置後、波長540nmと700nmにおける吸光度を測定する。

2. 抽出法

試料100ml及びクロム(VI) 0~20 μ gを含む標準溶液100mlを、あらかじめ塩化ナトリウム15gを入れた容量200mlの分液ロートに採り、4 N硫酸5 mlと5%ピロリン酸ナトリウム溶液5 mlを加え軽く振り混ぜる。

次に0.5%ジフェニルカルバジド溶液1 mlを加え軽く振り混ぜた後、n-アミルアルコール20mlを正確に加え10分間振とう抽出する。静置後n-アミルアルコール層を綿栓濾過後分取し、波長540nmと700nmにおける吸光度を測定する。

IV. 結果及び考察

1. クロム(VI)とジフェニルカルバジドの反応

(1) 反応機構

ジフェニルカルバジドは酸性水溶液中でクロム(VI)と反応して紫紅色の化合物を生成する。この呈色物質の構造は明確に決定されていないが、Bose⁷⁾はジフェニルカルバジドはクロム(VI)をクロム(II)に還元して、ジフェニルカルバゾンとなり、このクロム(II)とジフェニルカルバゾンが1対1の錯体を作ると報告し、一方Pflaumら⁸⁾はクロム(VI)をクロム(III)に還元し、クロム(III)とジフェニルカルバゾンが3対2の陽イオンを作ると報告している。

この紫紅色の化合物は542nmに極大吸収を有し、700nm付近には吸収がない。試験溶液のけん濁や着色による誤差を除くため、540nmと700nmの二波長で測定することとした。

(2) 酸濃度の影響

クロム(VI) 20 μ gを含む水溶液50ml中の硫酸濃度を変化させ、吸光度の変化を検討した。その結果図1に示したように、(0.05~0.3) Nの間で安定した吸光度が得られたので発色時の硫酸濃度はIV. (5)で

述べるように共存物質の影響を除くことができ、かつ安定した吸光度が得られる0.2 Nとした。

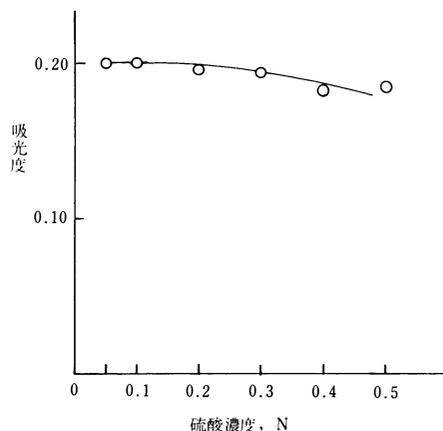


図1 硫酸濃度の影響
クロム(VI) 20 μ g

(3) 発色時の液温の影響

試料溶液を恒温水槽に30分間浸漬して温度調整を行った後ジフェニルカルバジド溶液を添加し、吸光度を測定した。結果を図2に示した。JISKO102⁻¹⁹⁷¹

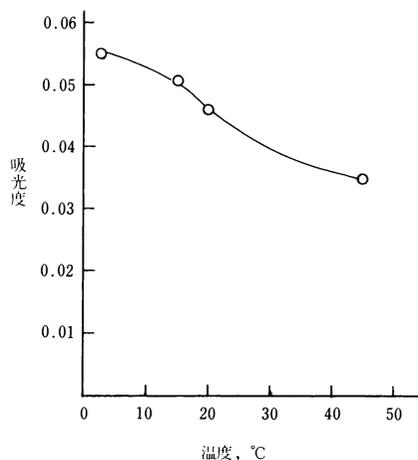


図2 発色時の液温の影響
クロム(VI) 5 μ g

工場排水試験法では15°Cが最適となっているが、この実験では温度が低いほど吸光度が高くなり、一定の値を示す温度範囲がないことがわかったので、測定ごとに標準をとることとした。

(4) 発色液の安定性

ジフェニルカルバジドとクロム(VI)の反応発色液の室温(26°C)放置における経時変化を、図3に

示した。1時間放置後で吸光度は約1%程度の減少であった。

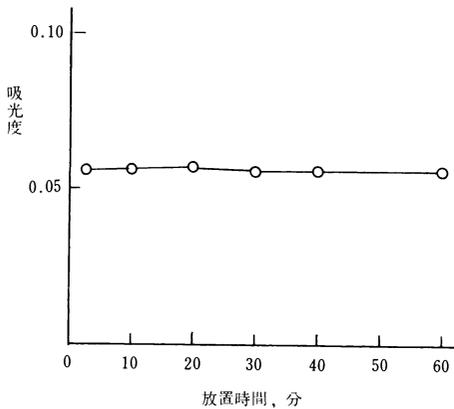


図3 発色液の安定性
クロム(VI) 5 μg

(5) 共存物質の影響

ジフェニルカルバジドはクロム(VI)以外の多くの金属イオンや有機物質と反応し呈色することが知られているが、^{9),10)} 水溶液中での反応条件は明らかではない。そこでクロム(VI)の定量分析をする際、これらの物質により類似の呈色物質が生成する可能性について検討した。

検討対象物質を添加した中性(pH6.5~7.5)の試験溶液に、3N硫酸酸性のジフェニルカルバジド溶液と中性のジフェニルカルバジド溶液の二種類の発色試薬をそれぞれ2.5ml添加して、発色の有無を調べた。

発色した溶液については極大吸収波長とその吸光度を測定し、併せて酸性側における発色限界のpHについて調べた。実験の結果、硫酸酸性のジフェニルカルバジド溶液を発色試薬とした時には、鉄(II)、鉄(III)が褐色に呈色した。バナジウムは褐色に呈色した後直ちに退色して微黄緑色を呈し、他の物質は呈色しなかった。中性のジフェニルカルバジド溶液を発色試薬とした時の試験結果を表3に示した。

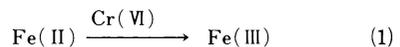
表3 ジフェニルカルバジドの反応

| 検討対象物質 | 濃度 (mg/50ml) | 5分後の呈色状態 | 極大吸収波長(nm) | 吸光度 (1cmセル) | 発色の限界PH |
|------------|--------------|-----------|------------|-------------|------------------|
| 水銀(II) | 0.2 | 紫色 | 540 | 0.130 | PH2で(+), 1.5で(-) |
| 銅(II) | 2.0 | 紫紅色後紫色の沈澱 | | | PH4で(+), 3で(-) |
| カドミウム(II) | " | 紅色 | 520 | 0.027 | PH6で(-) |
| バナジウム | " | 呈色しない※ | | | |
| 鉄(II) | " | " | | | |
| 鉄(III) | " | " | | | |
| ニッケル(II) | " | 紅色 | 520 | 0.083 | PH6で(+), 5で(-) |
| マグネシウム(II) | " | 褐色がかかった紅色 | 490 | 0.017 | PH6で(+), 5で(-) |
| モリブデン酸イオン | " | 呈色しない | | | |
| クロム(III) | " | " | | | |
| グルコース | " | " | | | |
| アセトアルデヒド | " | " | | | |

※ 一昼夜後紫紅色

以上のことから、0.2N硫酸酸性条件下では、ジフェニルカルバジドとクロム(VI)以外の物質が反応して紫紅色の物質を生成する可能性はないと考えられる。またバナジウムは通常天然水中に妨害を与えるほど存在することはなく(河川水中で0.001ppm程度¹¹⁾)、鉄(II)はクロム(VI)と中性付近の水中で、(1)式のような酸化還元反応を起すので、¹²⁾ 多

量の鉄(II)とクロム(VI)が共存することは考えられない。



クロム(VI)とジフェニルカルバジドが反応する際、鉄(III)が共存すると、図4に示すような負の妨害を与えるので鉄(III)の妨害を除く必要がある。

鉄のマスク剤としてピロリン酸ナトリウム、フッ化ナトリウム、EDTAを検討し、その結果を図5に示した。クロム(VI) 10 μ gに対し鉄(III) 150 μ g共存した場合、マスク剤を加えないと13%の吸光度の減少を示すが、ピロリン酸ナトリウムを添加すると2%の減少に抑えることができた。直接法分析操作では、検水50mlにつき5%ピロリン酸ナトリウム溶液2mlを加えることにした。

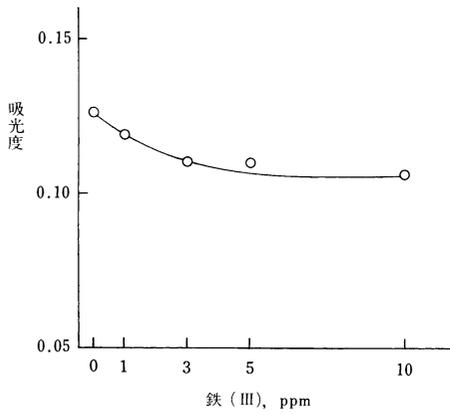


図4 鉄(III)の影響
クロム 10 μ g

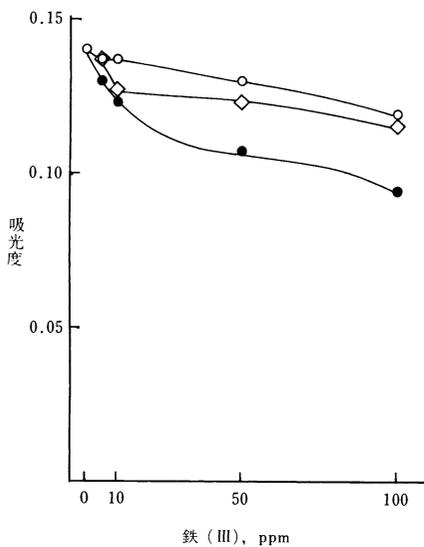


図5 鉄(III)に対するマスク剤の効果
○ 5% - Na₃P₂O₇ · 10H₂O 2ml 添加
◇ 4% - NaF 5ml "
● 0.1M - EDTA 2ml "
クロム(VI) 10 μ g

2. 溶媒抽出法の検討

(1) 抽出溶媒の選択

クロム(VI) 20 μ gを含有する水50mlを反応呈色させ、26種の溶媒各10mlで抽出し、その結果の一部を表4に示した。検討した溶媒の中でアルコール類が

表4 抽出溶媒の選択

| 溶 媒 | 抽出効果※ | 溶 媒 | 抽出効果 |
|---------|-------|-------------|------|
| クロロホルム | ± | n-ヘキシルアルコール | + |
| ジクロロメタン | ± | n-ブチルアルコール | +++ |
| 酢酸イソブチル | + | イソブチルアルコール | +++ |
| エチルエーテル | - | n-アミルアルコール | ++ |
| ルーヘキサン | - | イソアミルアルコール | ++ |
| ベンゼン | ± | シクロヘキサン | - |
| M I B K | - | 0-ジクロロベンゼン | - |

※肉眼的に最も抽出効果の高いものを+++とし、以下抽出効果の減少に伴い、++, +, ±, -の記号で表わした。

比較的抽出率が良かったので、クロム(VI) 5 μ gを含有する水100mlを反応呈色させ、塩析剤を加えてn-ブチルアルコール、イソブチルアルコール、n-アミルアルコール、イソアミルアルコールの4種の溶媒20mlで抽出した。その結果を表5に示し

表5 抽出溶媒の選択

| 溶 媒 | 吸光度 Cr(VI) 5 μ g | 溶解度※ Wt % | 抽出率 % |
|------------|-------------------------|--------------|----------|
| n-ブチルアルコール | 0.199 | 6.4(20°C) | 96 |
| イソブチルアルコール | 0.181 | 8.5(20°C) | 87 |
| n-アミルアルコール | 0.124 | 2.6(20°C) | 95 |
| イソアミルアルコール | 0.115 | 2.72(15°C) | 88 |

※化学便覧基礎編

た。n、イソブチルアルコールは吸光度は高かったが、水に対する溶解度が大きく水層と有機層の分離が悪かった。n-アミルアルコールとイソアミルアルコールを比較した場合、n-アミルアルコールの方が吸光度及び抽出率が高く臭いも穏やかなので、n-アミルアルコールを抽出溶媒とした。n-アミルアルコール抽出溶液の吸収スペクトルの形及び極大吸収波長は、水溶液のスペクトルと同じであった。

(2) 塩析剤の選択、酸濃度の影響

塩析剤として塩化ナトリウム、塩化アンモニウム、過塩素酸ナトリウム、硝酸カリウム、硫酸ナトリウムを試料100mlに対し10g添加した時の吸光度を検討した結果、過塩素酸ナトリウムが最も高い塩

析効果を示し、次が塩化ナトリウムであった。他の塩類の塩析効果は低く、硝酸カリウムは退色作用があった。そこで過塩素酸ナトリウム、塩化ナトリウムの添加量を変化させ、抽出効果を検討し、結果を図6に示した。過塩素酸ナトリウム、塩化ナトリウム共に15g以上で一定の値を示した。

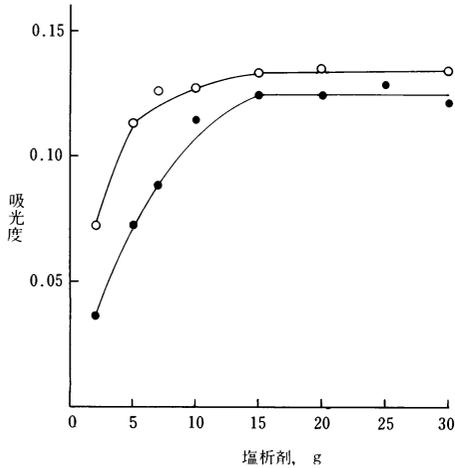


図6 塩析剤の効果
○ NaClO₄·H₂O
● NaCl
クロム(VI) 5μg

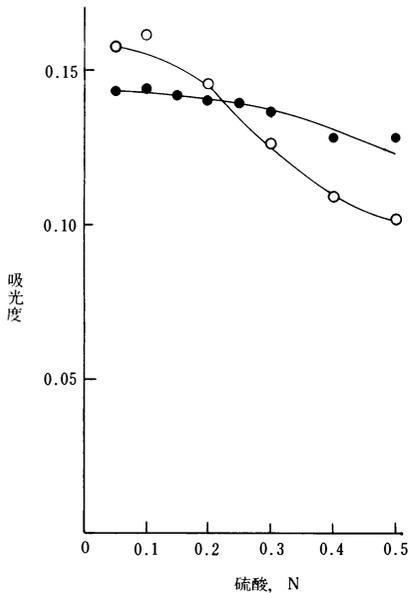


図7 塩析剤に対する硫酸濃度の影響
○ NaClO₄·H₂O
● NaCl
クロム(VI) 5μg

次に両塩析剤について硫酸濃度を変化させ、酸濃度に対する安定性を検討した。その結果を図7に示した。塩化ナトリウムは直接法と同様に(0.05~0.3)Nの間ではほぼ一定の吸光度が得られたが、過塩素酸ナトリウムは一定の値が得られなかった。

以上の結果から塩析剤としては塩化ナトリウム15gを用い、発色時の硫酸濃度は直接法と同じく0.2Nとした。

(3) 共存物質の影響

鉄(III)を除く共存物質の影響をまとめて表6に示した。

表6 共存物質の影響

| 共存物質 | 添加量 (mg) | クロム(VI) 検出量 (μg) | 誤差 (%) |
|----------|----------|------------------|--------|
| 硝酸イオン | 10 | 5.1 | +2 |
| 亜硝酸イオン | 0.02 | 5.0 | 0 |
| フッ素イオン | 1 | 5.0 | 0 |
| 臭素イオン | 1 | 5.0 | 0 |
| バナジウム | 0.01 | 5.2 | +4 |
| | 0.1 | 5.5 | +10 |
| クロム(III) | 10 | 5.0 | 0 |

クロム(VI) 5.0μg

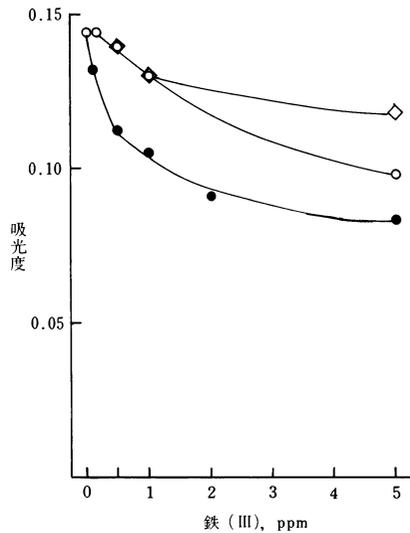


図8 鉄のマスク効果
◇ 5%-Na₄P₂O₇·10H₂O 10ml 添加
○ 5%-Na₄P₂O₇·10H₂O 2ml 添加
● マスク剤無添加
クロム(VI) 5μg

5%ピロリン酸ナトリウム溶液を添加した時としない時の鉄(III)の影響を図8に示した。5%ピロリン酸ナトリウム溶液を鉄(III)のマスキング剤として2~10ml添加した場合、共存鉄(III)1.0 ppm以下では効果に差がないので、添加量を5mlとした。

(4) 検量線及び再現性

分析操作に従って作成した検量線は、1cmセルを使用した場合は0~20µgの範囲で、3cmセルを使用した場合は0~2µgの範囲で直線となり、いづれも直線性に優れているが、ジフェニカルバジド試薬による発色程度が、液温や試薬調製後使用するまでの時間の経過により変わるので、測定ごとに標準をとることとした。0.2µg/100mlでの7回繰り返し実験による変動係数は、1cmセルを使用した場合は14.2%、3cmセルを使用した場合は5.6%であった。

本分析法の定量下限は3cmセルを使用した場合0.1µg/100ml(Abs. 約0.01)であった。

また、抽出液の安定性を調べるため室温放置で吸光度の経時変化を測定した結果、抽出後5時間以内における吸光度の変化はなかった。

3. 試料分析結果

本県蛇紋岩地帯の湧水11検体中のクロム(VI)を抽出法と直接法で測定した結果を表7に示した。直接法で不検出の1検体が抽出法で測定でき、また両分析法の値は良く一致していた。

表7 試料分析結果

| 試料 | 抽出法 (ppm) | 直接法 (ppm) |
|------|-----------|-----------|
| 湧水 1 | 0.002 | 0.00 |
| " 2 | 0.000 | 0.00 |
| " 3 | 0.060 | 0.06 |
| " 4 | 0.000 | 0.00 |
| " 5 | 0.019 | 0.02 |
| " 6 | 0.180 | 0.18 |
| " 7 | 0.043 | 0.04 |
| " 8 | 0.000 | 0.00 |
| " 9 | 0.047 | 0.05 |
| " 10 | 0.050 | 0.05 |
| " 11 | 0.019 | 0.02 |

V. 結 び

天然水中の微量クロム(VI)を0.2N硫酸濃度でジフェニカルバジドと反応させ、吸光度法で測定する方

法について検討した結果、クロム(VI)以外の物質により類似の呈色反応が起きる可能性がないことが明らかになった。また、共存物質として負の妨害を示す鉄(III)は、ピロリン酸ナトリウムを加えることによりマスキングできた。

クロム(VI)とジフェニカルバジド反応生成物をn-アミルアルコールで抽出することにより、けん濁水や着色水中のクロム(VI)を正確に定量することが可能となり、定量限界値も0.001 ppmまで下げることができた。ただ抽出法の場合、鉄(III)が1 ppm以上共存する場合は、何らかの前処理をすることが必要であろう。抽出法を用いて本県蛇紋岩地帯の湧水11検体を分析した結果、検体から0.01 ppm以下のクロム(VI)を定量することができ、超微量クロム(VI)分析法として確立することができた。

VI. 文 献

- 1) 海保新太郎, 日野隆信他: 嶺岡山系における地下水中の六価クロムに関する調査(第1報), 千葉県衛生研究所研究報告, 2号, 39~45, 1978
- 2) Committee on Biologic Effects of Atmospheric Pollutants, National Research Council: Chromium, 9, National Academy of Sciences, 1974
- 3) 日本分析化学会編: 分析化学便覧(改訂2版), 83 丸善, 1971
- 4) 伊藤鉦太郎: JISKO102⁻¹⁹⁷¹ 工場排水試験方法, 145~149, 日本規格協会, 1971
- 5) 小野寺昇: 上水試験方法1970年版, 267~270, 日本水道協会, 1971
- 6) 日本薬学会編: 衛生試験法注解1973年版, 732, 金原出版, 1973
- 7) Bose, M.: Anal. Chim. Acta 10, 201, 209, 1954
- 8) Pflaum, R. T., Howk, L. C.: J. Am. Chem. Soc. 78, 4862, 1956
- 9) 田原正邦: JISKO102⁻¹⁹⁷¹ 工場排水試験方法解説, 204, 日本規格協会, 1974
- 10) Paul G. Stecher: The Merck Index (Eight Edition), 388, Merck & Co., Inc. 1968,
- 11) 日本薬学会編: 衛生試験法注解1973年版, 270, 金原出版, 1973
- 12) 高木誠司: 新訂定性分析化学中巻・イオン反応編, 114, 南江堂, 1973

Determination of Trace Chromium(VI) in Water Comparison of a Direct Method with an Extraction Method by Using a Diphenylcarbazid Reagent

Shigeko NAKANISHI, Takanodu HINO and Shintaro KAIHO

Summary

In natural water of a serpentinite area, Cr(VI) was detected by a diphenylcarbazid method, of which reliability was studied.

In 0.2N sulfuric acid solution, diphenylcarbazid reacted with Cr(VI) and produced a sensitive coloration, but any colors were not developed by Cr(III), Mg(II), Ni(II), Cu(II), Mo(VI), Cd(II), Hg(II), NO_2^- , NO_3^- , F^- , Cl^- and Br^- , excepting V(IV) and Fe(III). The sensitivity of coloration of V(IV)-diphenylcarbazid complex was much weaker than that of Cr(VI)-diphenylcarbazid complex. The interference from Fe(III) was eliminated in the presence of sodium pyrophosphate. In conclusion, the photometric diphenylcarbazid method has been reliable in the determination for Cr(VI) in natural water.

As another superior analysis, the diphenylcarbazid-n-amylalcohol extraction method was confirmed as follows.

Take a sample solution containing 0~20 μg of Cr(VI) in a separatory funnel. Add 15 g of sodium chloride, 5 ml of 4N sulfuric acid and 1 ml of 0.5% diphenylcarbazid acetone solution. Then, add exactly 20 ml of n-amylalcohol and shake the mixture for 10 minutes.

Separate the organic phase, and measure the absorbance at 540 nm against 700 nm.

The sensitivity of this method was about ten times as much as that of the traditional method.