

土壤中の重金属等簡易・迅速分析法

標準作業手順書*

技術名：ジフェニルカルバジド比色法

使用可能な分析項目：六価クロム溶出量

実証試験者：株式会社太平洋コンサルタント

* 本手順書は実証試験者が作成したものである。

なお、使用可能な技術及び分析項目等の記載部分を抜粋して掲載した。

超音波迅速抽出 / ジフェニルカルバジド比色定量法

1. 準備

a) 試薬等

- 1) 蒸留水
- 2) 硫酸 (1.8M)
市販の特級硫酸 96.0%と蒸留水を 1:9 で調整したもの
- 3) ジフェニルカルバジド溶液 (0.04M)
市販の 1,5-ジフェニルカルボノヒドラジド 0.5g を市販の特級アセトン 30mL に溶かし、蒸留水を加えて 50mL としたもの
- 4) クロム () 標準液 (2.5 µg/mL, 25 µg/mL)
市販の 1000mg/L クロム標準液

b) 器具類

- 1) 塩ビ篩 (2mm)
- 2) バット
- 3) 薬さじ
- 4) ポリスチレン樹脂製サンプル瓶 (約 120cm³)
- 5) 電子天秤 (最小 0.01g, 最大 100g 程度)
- 6) 超音波洗浄器 (発振周波数 40kHz, 高周波出力 55W, AC100V 電源)
- 7) ディスポーザブルメンブレンフィルター (孔径 0.45 µm)
- 8) シリンジ (5mL ~ 10mL 程度)
- 9) ビーカー (10mL)
- 10) ホールピペット (20mL, 5mL)
- 11) マイクロピペット (20 µL ~ 200 µL, 500 µL)
- 12) マイクロピペットチップ (20 µL ~ 200 µL, 500 µL)
- 13) メスフラスコ (10mL)
- 14) ガラスセル (12.5mm × 12.5mm × 45mm)
- 15) 小型比色計 (別紙 小型比色計詳細を参照)
- 16) ノート型パソコン (表計算ソフトがインストールされているもの)

2. 操作

a) 試料の操作

- 1) 2mm 塩ビ篩を用いて採取した土壌をバット上に篩い分け、均一に混合したものを溶出試料とする。
- 2) 電子天秤を用いてポリスチレン樹脂製サンプル瓶に試料を 2g ± 0.01g 量りとり、ホールピペットで蒸留水 20mL を加える。
- 3) サンプル瓶の蓋をして、超音波洗浄器に入れる。超音波洗浄器に注水し (サンプル液上面よりも若干多め) 出力 High, 設定水温 25 でスタートさせ 30 分間迅速抽出を行う。(写真 1)
- 4) 30 分間の迅速抽出後、サンプルを常温 (水で冷却) になるまで冷却した後、シリンジおよびディスポーザブルメンブレンフィルターを用いてろ過する。ろ液は 10mL ビーカーで受ける。(写真 2)
- 5) ホールピペット又はマイクロピペットを用いて、ろ液の適量をメスフラスコにとり、マイクロピペットを用いて硫酸 (1.8M) を 0.5mL 加えた後、速やかにジフェニルカルバジド溶液を 0.2mL を加え (写真 3) メスフラスコを振り混ぜ、蒸留水を標線まで加え栓をしてさらに振り混ぜる^{注1)}。



写真1



写真2

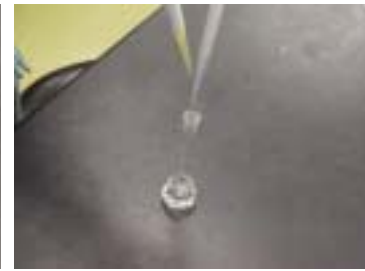


写真3

- 6) 小型比色計のゼロセット^{注2)}を検量線の濃度 $0.0 \mu\text{g}$ を用いて行う。
- 7) 全量メスフラスコの一部をガラスセルに移し小型比色計に装着し波長 530nm の吸光度を測定する。(写真4～6)

- 注1) ろ液が有機物等により透明でない場合は、硫酸 (1.8M) を 0.5mL 加え蒸留水を標線まで加え振り混ぜたものを波長 530nm の吸光度を測定し、対照液とする。
- 注2) 使用前に小型比色計の電源を入れておく。検量線測定時にゼロセットを行って いれば、ここでは実施しない。



写真4



写真5



写真6

b) 検量線の操作

- 1) 土壌試料を超音波洗浄器にて迅速抽出を実施している間に作業を行う。
- 2) 下表に示すクロム()標準液分取量を 10mL のメスフラスコにマイクロピペットを用いて分取する。

クロム()標準液分取量

標準液濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	分取量 (μL)	クロム量 (μg)
2.5	0	0.0
	80	0.2
	200	0.5
25	40	1.0
	80	2.0
	200	5.0

濃度 $0.0 \mu\text{g}$ は小型比色計ゼロセット用

- 3) マイクロピペットを用いて硫酸 (1.8M) を 0.5mL 加えた後、速やかにジフェニルカルバジド溶液を 0.2mL を加えメスフラスコを振り混ぜ、蒸留水を標線まで加え栓をしさらに振り混ぜる。
- 4) 全量メスフラスコの一部をガラスセルに移し小型比色計に装着し波長 530nm の吸光度を測定する^{注3)}。

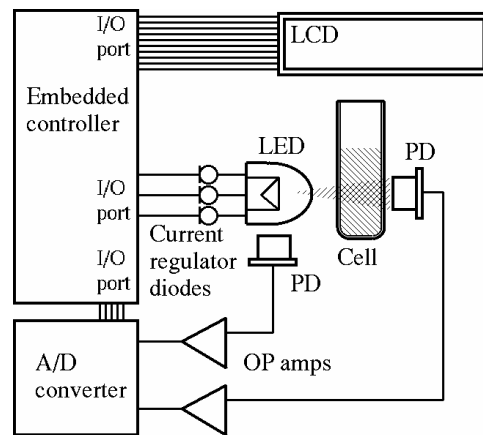
注3) ガラスセル中の溶液を入れ替える前に蒸留水でガラスセルを洗浄すること。
濃度 $0.0\mu\text{g}$ を移し入れたガラスセルを小型比色計に装着した後に黒いボタンを押して、ゼロセットを実行する。

c) 結果の算出

ノート型パソコン (表計算ソフト) に検量線および試料の吸光度、試料の分取量を入力し土壌試料の溶出量を算出する。

小型比色計の詳細

光源に赤、緑、青色の三色が一体となったフルカラー発光ダイオード (LED) を、検出器にはフォトダイオードを用いている。マイクロコンピュータを内蔵しており、LED を逐次点灯し、点灯に同期して透過光強度を取り込み、各波長 (630, 530, 470 nm) における吸光度を測定し、内蔵の液晶画面に表示する。ブロック図を以下に示す。吸光度として ± 0.001 程度の測定精度を有する。電源は 006P 積層電池で、3 時間以上の連続動作が可能である。大きさは $100 \times 70 \times 50$ mm、質量は 280 g である。



小型比色計のブロック図