

分散した微粒子による固相抽出を原理とする 新しい簡易比色分析法の開発と環境水への応用

小濱 望

学位授与：富山大学（2023年3月23日）

緒言 利便性と精度に優れた簡易分析法は、持続的な開発目標（SDGs）の達成に必要なツールのひとつである。近年、様々な分野の現場において、簡易分析法の重要性が増している反面、それら分析法の感度や精度、選択性の改善がしばしば課題となっている。これまでに分離科学の視点から固相抽出や溶媒抽出により測定物質を濃縮分離する前処理法を伴う簡易分析法が開発されてきた。しかしそれらは一様に、目的成分の呈色反応、分離・濃縮、測定各工程を細分化し、付加的な操作を要求することで“簡易分析”の意図を損なわせている。

そこで本研究では、水中の目的成分の呈色と分散した微粒子による分離・濃縮のプロセスを同一容器内で同時進行させる新しい簡易分析システムを開発した。本法の基盤となる新規分離・濃縮法を「分散微粒子抽出法」と名付けた。現場分析の視点から測定感度や選択性、分析の操作性などを考慮していくつかの簡易分析法を開発し、環境試料に応用することで本法の有用性を評価した。

本学位論文は10章から構成されている。第1章“緒言”では、これまでに報告されている目視や画像処理に基づく簡易分析法について解説し、本研究の目的と着想に至った経緯を論じた。

第2章“分散微粒子抽出/比色分析法における吸着捕集の仕組み—アンモニア、ニッケル、鉄(II)の分析法の開発—”では、静電吸着を原理とする三つのモデルで、本法の検出原理を議論した。(1)陰イオン成分の捕集：アンモニアの呈色反応で生じるフェノール性色素（青色または緑色）を、微細孔構造を持つスチレンジビニルベンゼン共重合体にアミノ基を修飾した陰イオン交換樹脂微粒子（DOWEX™ 1×8 (Cl⁻））に静電的に吸着・捕集することで0~2.0 mg/Lの低濃度での目視分析を可能にした。(2)陽イオン成分の捕集：Fe²⁺を α -フェナントロリンと反応させた[Fe(α -phen)₃]²⁺錯体をシリカゲル微粒子で捕集することで、呈色溶液の目視分析と比較して、10倍程度の高感度化を達成した。本法の測定は30秒以内に完了する。河川水の測定が可能であることを示した。(3)吸着条件(pH)によって電荷が変化する化学種の捕集：Ni(II)を4-(2-pyridylazo)resorcinol (PAR)と反応させて生成した[Ni(II)-PAR]錯体（赤色）は水相のpHによって負電荷あるいは無電荷で存在する。陽イオン界面活性剤を修飾したシリカゲル微粒子を吸着剤として用い、静電的な作用と疎水性相

互作用を利用することで、目的成分の選択的な捕集を可能とした。

第3章“亜硝酸の簡易分析法—微粒子が与える呈色反応速度への影響—”では、ナフチルエチレンジアミン法により生成させたアゾ色素をプロピルスルホン酸修飾シリカゲル微粒子で捕集した。アゾ色素による微粒子の着色速度は溶液中での呈色速度よりも約2倍高く、測定時間を短縮でき、検出限界は1.7 µg/Lと高感度であった。

第4章“ホルムアルデヒドの簡易比色分析法—微粒子の吸着力が測定へ与える影響—”では、ホルムアルデヒドをMBTH法で呈色し、いずれも陽イオンとして存在する目的成分（青色）と過剰の試薬（黄色）の陰イオン交換体微粒子への捕集を議論し、微粒子の素材によって大きく変化する色調の違いを両成分の吸着平衡の解析から明らかにした。結果、水道水基準値の0.08 mg/L以下を測定可能な高感度化が達成できた。

第5章“酵素法を用いたリン酸の高感度な簡易分析法の開発—微粒子の物理的な性状が測定へ与える影響—”では、酵素反応を用いてTOPS（トリンダー試薬）で呈色させた双性イオンを粒径0.36±0.10 µmのXAD-7HP（親水性の無電荷粒子）に吸着させることで、呈色溶液と比べて約10倍の高感度化を達成し、河川水に含まれる数十µg/Lレベルのリン酸が測定できた。ここでは、微粒子の粒径が吸着定数や粒子の沈降速度に、微粒子の添加量が感度に与える影響を議論し、微粒子の粒径や添加量を調整することで測定感度の調整が可能であることを示した。

第6章“6価クロム(Cr(VI))の簡易分析法の開発—微粒子への抽出種の推定—”では、分散微粒子を使用したイオン対固相抽出による比色分析を提案した。Cr(VI)の有色錯陽イオンの場合、対イオンとしてドデシル硫酸陰イオンを添加し、XAD-7HPによって捕集することで、5分以内に呈色と微粒子への吸着が完了し、環境基準値である0.02 mg/LのCr(VI)を目視で判定できる十分な感度を示す。さらに、比色画像解析によりµg/LレベルのCr(VI)の検出が可能であることを示した。

第7章“過マンガン酸イオンの吸着を利用した簡易分析法の開発—Mnと化学的酸素要求量(COD)の測定—”では、マンガンを過マンガン酸イオン(MnO₄⁻：赤紫色)として、陰イオン交換体であるジエチルアミノプロピル修飾シリカゲル微粒子による捕集法を開発した。溶液のみの色変化と比較して約10倍の高感度化が達成でき、マンガンの検出限界は0.05 mg/Lであった。さらに、この方法を応用して、CODの分散微粒子抽出/簡易画像測色法を開発した。アルカリ性常温法を利用した本法では、有機物を過マンガン酸イオン（あらかじめ

E-mail: sincerely_bee@icloud.com

現連絡先の機関 富山大学理学部:

930-8555 富山県富山市五福3190

学会受付 2024年11月7日

容器に添加)で3分間酸化し、溶液のpHを中性とし、水相に溶存する MnO_4^- を微粒子に吸着させることでCODを測定する。アルカリ試薬の濃度や微粒子の添加量を変えることで、淡水・汽水・海水と幅広い水試料の測定が可能であることを示した。

第8章 “遊離シアン化合物 (CN^-) の簡易分析法の開発 —分散微粒子抽出法に適した小型撮影ボックスの開発—では、容器内に沈降した呈色微粒子を下方から光を照射して画像を撮影することで、溶液の色による干渉を受け難い画像データが得られることを見だし、3Dプリンターで作製した携帯型撮影ボックスを使ったシアンの簡易分析法に応用した。本法は、従来法(吸光度法:30分)よりも短時間(10分以内)で、高感度(検出限界:0.005 mg/L)にシアンの測定が可能であることを示した。

第9章 “蛍光測定法への応用 —微粒子への蛍光体の吸着と蛍光画像測色法—では、蛍光色素であるレゾルフィン陽イオン界面活性剤のゼフィラミンでイオン対とし、シリカゲル微粒子に捕集する蛍光画像測色法を開発した。ゼフィラミン濃度に応じて静電的相互作用と疎水性相互作用が関与する捕集機構を議論した。本法は、カメラで撮影した蛍光画像を解析することで高感度な測定が可能である。可視光画像の場合、0.1~2.0 μM の範囲で直線性のある測定結果が得られ、検出限界は80 nMであった。蛍光画像の場合では、0.01~0.2 μM の範囲で直線性が得られ、検出限界は7 nMであった。したがって、画像撮影時に照射するライトを変えることで低濃度(紫外光照射)から高濃度(可視光照射)と、目的

成分濃度に応じた測定が可能である。さらに、本法をAmplex Red[®]とペルオキシダーゼを用いた過酸化水素の測定に応用したところ、0~1.0 μM の測定が可能であり、検出限界は0.28 μM であった。河川水と雨水に含まれるサブ μM レベルの過酸化水素の測定が可能であることを示した。

結論 第10章 “総括”では、本博士学位論文に記述した11の分散微粒子抽出/比色分析法の利点と展望を論じた。開発した方法はサンプル量が1 mLと少量で、目視による水相の比色分析よりも2~10倍高感度であり、画像処理によってさらに高感度で信頼性の高い結果を得ることができるため、実用的で汎用性に富む分析法である。また、微粒子の素材、粒径、添加量等によって測定範囲を幅広く調節可能で、試料水に含まれる着色成分の影響も低減できる。微粒子による呈色速度の促進効果は分析操作の短縮につながる発見であった。本研究では環境水への応用を示したが、本法は様々な分析分野への応用が期待できる。

公表論文

- 1) N. Kohama, K. Matsuhira, T. Okazaki, K. Sazawa, N. Hata, H. Kuramitz, S. Taguchi : *Anal. Bioanal. Chem.*, **414**, 8389 (2022).
- 2) N. Kohama, T. Okazaki, K. Sazawa, N. Hata, H. Kuramitz, S. Taguchi : *Anal. Sci.*, **39**, 857 (2023).
- 3) N. Kohama, T. Okazaki, K. Sazawa, N. Hata, H. Kuramitz, S. Taguchi : *Molecules*, **29**, 5371 (2024).



Digest of Doctoral Dissertation

A novel simple colorimetry based on solid-phase extraction with dispersed particulates and its applications to environmental water samples

KOHAMA Nozomi

E-mail : nkohama.sbh.2023@gmail.com

University of Toyama

Gofuku 3190, Toyama, 930-8555

(Awarded by University of Toyama dated March 23, 2023)

This doctoral thesis describes the development of novel and practical simple colorimetric analysis methods that can be used for a field survey. The principle of this method is that the coloring of the analyte, the adsorption of the colored analyte onto the dispersed fine particles, and the sedimentation of the fine particles are all carried out simultaneously in a single container. The analyte is determined from the color information obtained by visual inspection or image analysis of the sedimented fine particles. Eleven analytical methods have been developed to demonstrate the potential of this method in a systematic manner. By optimizing the material, size and quantity of the adsorbent fine particles, and making full use of electrostatic interactions, hydrophobic interactions and ion-pair extraction, the application to 11 different analytes have been achieved. All of the methods can be measured simply by injecting 1 mL of sample solution into a 1.5 mL microtube filled with coloring reagent, adsorbent particles and other chemicals. The entire analysis process is completed within 15 min. The sensitivities of these methods were 2 to 10 times higher than those of the conventional visual colorimetric analysis method in the aqueous phase. These methods were applied to environmental water. The analytical results were in good agreement with those of instrumental analysis. The major advantage of this method is that it not only has high selectivity, but also that the sensitivity can be easily controlled by changing the amount and size of the particles.

(Received November 7, 2024)

Keywords : colorimetric analysis; solid-phase extraction; sedimentable dispersed particulates; on-site analysis.