〈研究発表〉

トリフルオペラジンを用いた臭素酸イオンの蛍光測定法に関する基礎研究

喜多　菜摘[1]，長谷川　絵里[1]，田中　良春[1]，五十嵐　淑郎[2]

[1] メタウォーター株式会社（〒191-8502 日野市富士町1番地, E-mail: kita-natsumi@ metawater.co.jp, hasegawa-eri@ metawater.co.jp, tanaka-yoshiharu@metawater.co.jp）

[2] 茨城大学 工学部　（〒316-8511 日立市中成沢町 4-12-1，E-mail:igarashi@hcs.ibaraki.ac.jp）

概　要

臭素酸イオンは水道水質基準として、0.01 ㎎/L以下とすることが定められている。

臭素酸イオンの測定には、イオンクロマトグラフ・ポストカラム吸光光度法が用いられているが、測定操作が煩雑で、プロセス制御への適用は難しい。我々は、酸性条件下で臭素酸イオンの存在によりトリフルオペラジンの持つ蛍光が変化することを見出し、この現象を応用した臭素酸イオンの簡便・迅速な計測法の開発を進めている。本法の諸条件について検討の結果、水道水質基準レベルの濃度の臭素酸イオンを簡便に計測できることが解った。

キーワード: 臭素酸イオン，蛍光，オゾン処理，トリフルオペラジン

1. はじめに

河川等の水道原水中に臭化物イオンが含まれている場合、浄水処理においてオゾン処理を行う過程で消毒副生成物として臭素酸イオンが生成される。

臭素酸イオン（BrO_3^-）は発がん物質と考えられ、世界保健機関（WHO）では飲料水中の濃度のガイドライン値を 0.01 mg/L としており、わが国でも平成 15 年 5 月 30 日付けで水質基準に関する省令（厚生労働省）の改正が公布され、水道水質基準値として、0.01 mg/L 以下と定められている。

臭素酸イオンの分析法として、現在、我が国の上水の水質検査における臭素酸イオンの試験方法には、イオンクロマトグラフ・ポストカラム吸光光度法が採用されている[1]。

しかし、この方法は測定操作が煩雑であり、分析計のベースラインの安定性などに課題があることから、迅速で簡便性に優れた測定法が求められている。

我々は、これまでにトリフルオペラジン（以下、TFP と記載）が塩酸酸性条件下において励起波長（EX）300 nm、蛍光波長（EM）480 nm で測定することにより臭素酸イオンの濃度に応じて蛍光量が定量的に変化することを見出した[2]。その後、より高感度に臭素酸イオンを測定することを目的とし、**Table1** に示した目標仕様を満足するように上記の方法を用いた蛍光測定法の基礎検討をすすめている。

また、測定対象とする試料水にはその試料水特有の物質あるいはオゾン処理をすることで生成する物質など多くの物質が含まれている。

例えば、高度処理が必要な富栄養化した水には硝酸イオンが多く存在する。また、高度処理が必要となるような原水は、原水中の藻類や細菌の繁殖防止、アンモニア除去等を目的として予め塩素処理（前塩素処理）が必要となる場合がある。つまり、オゾン処理後も低濃度ではあるが遊離塩素として水中に存在し、さらに、塩素酸イオンが生成され、共存することがある。

海外ではオゾン単独処理のほか、ヒドロキシルラジカル（HO･）を積極的に生成させ、HO･の酸化能力を利用する為に促進酸化処理（AOP）法が利用されることがある。この AOP の方法の１つとして、過酸化水素を用いたオゾン/過酸化水素処理があり、この場合には過酸化水素が試料水中に共存する[3]。

本論では測定波長、塩酸濃度、反応時間等の臭素酸イオンの測定条件および試料水中に共存すると考えられる物質の影響について報告する。

Table 1: Required specifications of bromate ion sensor

	開発目標
測定試料	オゾン処理水
測定範囲	0~20μg/L
測定時間	30分以内
測定下限	0.5μg/L
測定精度	±0.5μg/L
繰返し再現性	±0.5μg/L

2. 方法

2.1 試薬

臭素酸イオン標準液（2000 ppm、和光純薬社製）を用いて任意の濃度に臭素酸イオン溶液を調製した。また、エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム二水和物溶液（和光純薬社製、以下、EDTA と記載）を 2.4 mM、

TFP（SIGMA ALDRICH 社製）は 294 µM に調製した。塩酸（6 mol/L、和光純薬社製）については実験内容に応じて希釈し、調製した。

共存物質の影響を評価する際は硝酸イオン（NO_3^-）（硝酸イオン標準液 1000 ppm、和光純薬社製）、過酸化水素（H_2O_2）（特級試薬（60 %）、和光純薬社製）、次亜塩素酸ナトリウム溶液（4 %、SIGMA ALDRICH 社製）、塩素酸イオン（ClO_3^-）（1000 ppm、和光純薬社製）を用い、**Table2** の濃度に希釈し、用いた。

なお、試薬調製にはすべて超純水製造装置（Milli-Q Synthesis 日本ミリポア株式会社製）で精製した水を使用した。

2.2 測定操作

測定操作は、従来の方法[2)]を基に **Fig. 1** のフローに従い、まず、臭素酸イオン溶液に鉄やマンガン等の金属イオンの影響をマスキングする為に 2.4 mM EDTA 溶液を添加し、撹拌した。次に 294 µM TFP 溶液を添加し攪拌した後、塩酸を加え、撹拌した。これを 10 分間、室温で放置し、反応させた後、蛍光強度（以下、F.I.と記載）を測定した。

蛍光スペクトルおよび F.I.の測定は分光蛍光光度計（島津製作所製 RF-5300PC および日立ハイテクノロジーズ株式会社製 F-2700）を用い、ブランクとサンプルの蛍光強度差の絶対値（以下、⊿F.I.と記載）を求めた。測定条件としては、4 面無蛍光石英セル（光路長 10 mm）を使用した。

Table 2: Concentrations of coexisting materials in samples

物質名	濃度
NO_3^-	0, 1, 4, 10 mg/L
遊離残留塩素	0, 0.08, 0.16, 0.32, 0.58 mg/L
ClO_3^-	0, 100, 200, 600 µg/L
H_2O_2	0, 39, 78 mg/L

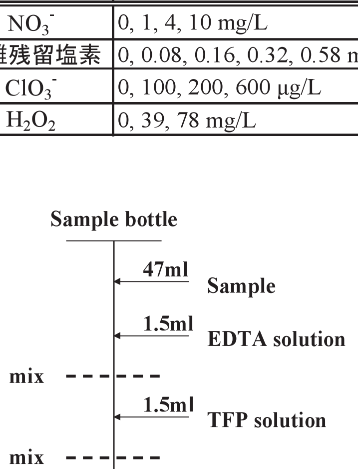


Fig.1: Flow diagram of bromate measurement operation

3. 結果および考察

3.1 測定条件の検討

(1) TFP の臭素酸イオンによる蛍光反応

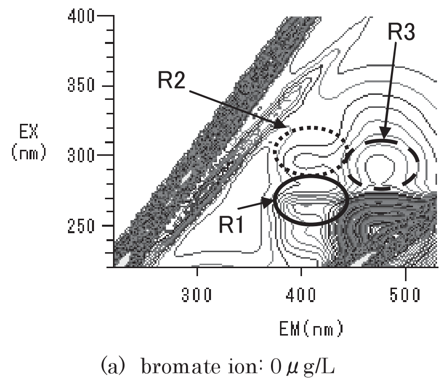
臭素酸イオン溶液に TFP を添加し、塩酸を加えた際の励起蛍光スペクトル（EEM）を **Fig. 2** に示す。

ピークは EX/EM: 264/400, 300/400, 300/480 [nm] で得られた。このように臭素酸イオンを添加することにより、その濃度に応じて F.I.が変化することが確認できた。

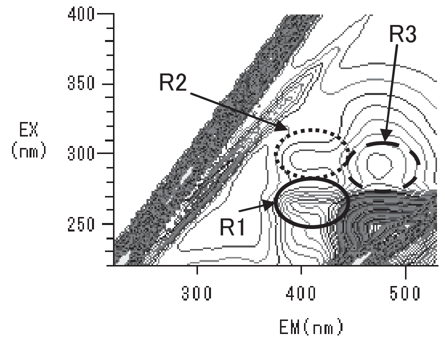
(2) 添加する塩酸濃度の検討

従来の測定条件では 6 mol/L の塩酸を注入するので、試料の塩酸の終濃度が 1 mol/L と高濃度である。塩酸は劇物に指定されているため、できるだけ低濃度での使用が望ましい。そこで、使用する塩酸の濃度をより低くすることが可能か検討するために(1)で見出した各波長にて、塩酸濃度を変えて検討を行った。

Fig. 3 に各測定波長について注入塩酸濃度に対する F.I.および⊿F.I.を示す。従来の測定波長である EX/EM: 300/480 [nm]の条件では塩酸濃度が 4.5 mol/L 付近で⊿F.I.が最大となった。しかし、4.5 mol/L では十分な再現性が得られず、再現性を確保する為には 6 mol/L を最適とした。



(a) bromate ion: 0 µg/L



(b) bromate ion: 20 µg/l

Fig.2: EEM between bromate ion conc. 0 µg/L and 20 µg/L. R1, R2 and R3 shows excitation wavelength 264 nm/Emission wavelength 400 nm, 300 nm/400 nm and 300 nm/480 nm

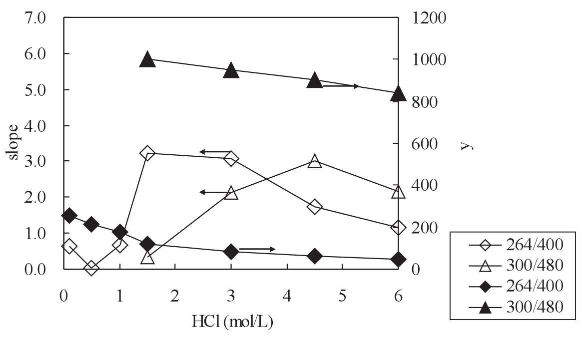


Fig.3: Effect of HCl concentration on calibration curve

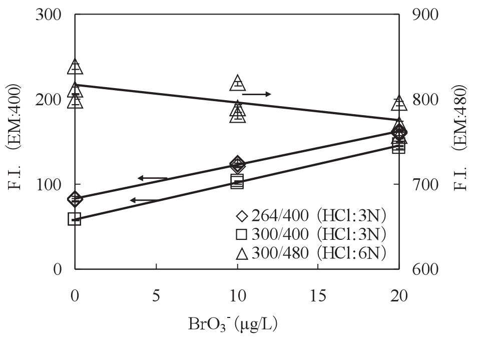


Fig.4: Calibration curve of bromate ion

一方、EX/EM: 264/400 [nm]の波長条件では、塩酸濃度が 1.5~3 mol/L で⊿F.I.が最大となったが、十分な再現性を得るためには 3 mol/L が最適と考えられた。同様に EX/EM: 300/400 [nm]でも測定したところ、1/2程度まで塩酸濃度を低めることが可能であった。この評価で塩酸濃度を従来の 1/2-1/4 程度に抑えることが可能と考えられた。

それぞれの波長について最適と考えられた塩酸濃度での測定の繰返し再現性を確認した結果を **Fig. 4** に示す。蛍光波長が 480 nm では、**table2** に示した繰返し再現性±0.5 μg/L を満足できなかったが、蛍光波長条件が 400 nm のとき、±0.5 μg/L 程度で再現性は良好と考えられた。

(3) 反応時間

添加する塩酸濃度が 3 mol/L のとき、⊿F.I.が安定する時間を確認するため、臭素酸イオン濃度が 0-20 μg/L の⊿F.I.の経時変化を測定した。結果を **Fig. 5** に示す。従来の条件と同様、⊿F.I.は 10 分以内に安定することが解った。

なお、反応温度は室温で評価を重ねた結果、測定のばらつきなどが見受けられなかった為、室温で測定するものとした。

3.2 共存物質の影響

本検討では硝酸イオン(NO_3^-)、過酸化水素(H_2O_2)、遊離残留塩素、塩素酸イオン（ClO_3^-）による影響について確認した。以下に結果および考察を記す。

(1) 硝酸イオンの影響

硝酸イオンによる臭素酸イオンの測定への影響について検討した結果を **Fig.6** に示す。

従来の波長条件では、硝酸イオンの存在により測定精度は±4 μg/L を超えることから、正確な臭素酸イオン濃度の算出が困難であると考えられた。一方、EX/EM: 264/400 [nm]の波長条件では、測定精度は±0.5 μg/L 以内であった。以上のことから、EX/EM: 300/480 [nm]条件よりも硝酸イオンの影響を受けにくいと考えられた。

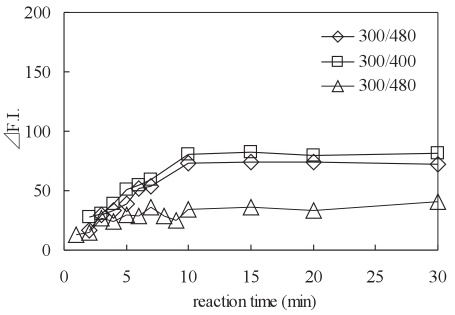


Fig.5: Change of fluorescence intensity difference between 0 μg/L and 20 μg/L with reaction time under room temperature

(2) 遊離残留塩素の影響

次亜塩素酸ナトリウムを用いた試料水中の遊離塩素による臭素酸イオンの測定への影響について検討した結果を **Fig. 7** に示す。

いずれの波長についても添加した次亜塩素酸ナトリウムの濃度に応じて EM:400 nm の時は F.I.が比例的に増加し、EM:480 nm の時は減少し、遊離残留塩素は測定を妨害するものとなった。

高度浄水処理プロセスでは、次亜塩素酸ナトリウムの注入を全く行わないということではなく、国内の A 浄水場ではオゾン接触時に遊離塩素として 0.1~0.2 mg/L 程度は存在することもある。

臭素酸イオン濃度 0.5 μg/L を正確に測定するためには遊離残留塩素の濃度 0.002 mg/L 以下ではならない。従って、遊離残留塩素が 0.1 mg/L では臭素酸イオン濃度を正確に測定することは困難である。遊離塩素が存在するような高度浄水処理プロセスの試料を測定する場合には、オゾン処理後に生物活性炭処理した試料水を測定に用いることとした。

(3) 塩素酸イオンの影響

塩素酸イオンによる臭素酸イオンの測定への影響を検討した結果を **Fig. 8** に示す。

塩素酸イオンの場合、遊離塩素と異なりいずれの波長条件においても測定にほとんど影響を与えることはなかった。

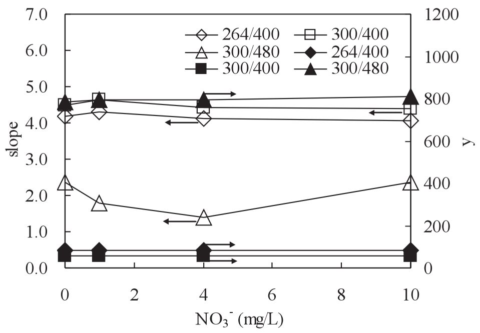


Fig.6: Effect of NO_3^- concentration on calibration curve

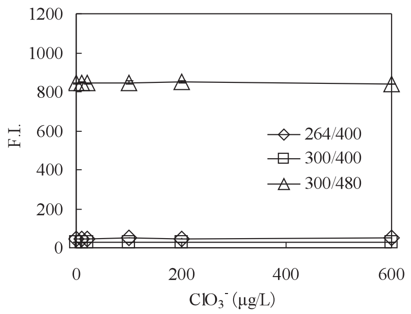


Fig.8: Effect of ClO_3^- on F.I.

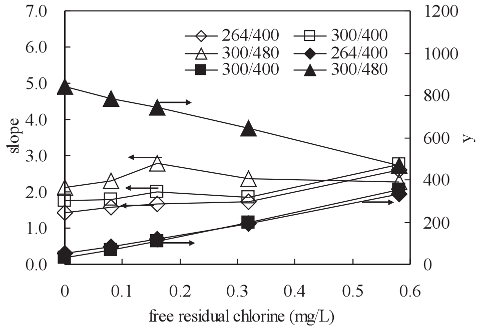


Fig.7: Effect of free residual chlorine concentration on calibration curve

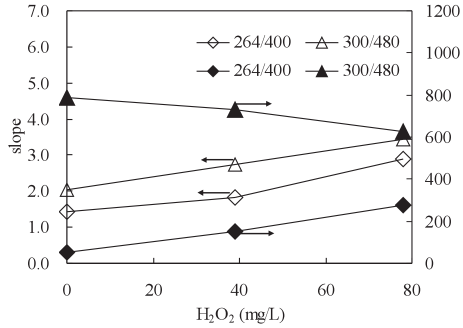


Fig.9: Effect of H_2O_2 concentration on calibration curve

(4) 過酸化水素の影響

過酸化水素による臭素酸イオンの測定への影響を検討した結果を **Fig. 9** に示す。

過酸化水素の濃度に応じて、EM:400 nm の時は F.I. が比例的に増加し、EM:480 nm の時には減少したので、測定を妨害すると考えられた。

実際のオゾン/過酸化水素処理では処理効率を最大にする為に過酸化水素の最適値が報告されている [4]。ただし、試料水ごとに最適な過酸化水素の添加量は異なるため正確な値はないが、数 10 mg/L オーダーで過酸化水素が注入される可能性がある。そこで、過酸化水素の影響を抑えるため、オゾン処理後に生物活性炭処理した試料水を測定に用いるのが良いと考えられた。

4. まとめと今後の展開

本検討についてまとめたものを **Table 3** に示す。

検討した測定波長条件で従来よりも添加する塩酸濃度を低減することができた。また、想定される共存物質の影響を把握できた。塩素酸イオンは測定に影響を与えず、硝酸イオンが共存しても、測定に影響を与えない測定条件が存在することが解った。

今後、溶存有機物の影響についても検討すると共に、測定の自動化について鋭意検討を進め、最終的には臭素酸イオン生成抑制オゾン注入率制御、浄水プロセス管理に適用すべく開発を進めたいと考えている。

Table 3: Estimation of wavelength condition

		EX: 264 nm EM: 400 nm	EX: 300 nm EM: 400 nm	EX: 300 nm EM: 480 nm
measurement range		○:0-20 μg/L	○:0-20 μg/L	○:0-20 μg/L
coexisting material (±2.4 %)	NO_3^-	○:10 mg/L	—	×:10 mg/L
	H_2O_2	×	×	×
	Cl_2	F.I increase	F.I. increase	F.I. decrease
	ClO_3^-	○:0.6 mg/L	○:0.6 mg/L	○:0.6 mg/L
F.I. (BrO_3^-:0 μg/L)		50(HCl:6 N) 80(HCl:3 N)	28(HCl:3 N) 60(HCl:3 N)	790(HCl:6 N)
slope		◎:4	◎:4	○:2
reproducibility		○:≦±2.7 % FS	○:≦±2.6 % FS	×:≧±10 % FS

参考文献

1) 日本水道協会: 上水試験方法, pp.274-276 (2001)

2) 加藤潤, 林晶, 田中良春, 五十嵐淑郎: 日本分析化学会, 第 57 年会講演要旨集, pp.331 (2008)

3) S. Nakayama, K. Esaki, K. Nambe, Y. Taniguchi, and N. Tabata : IMPROVEDOZONATION IN AQUEOUS SYSTEMS, OZONE SCIENCE & ENGINEERING, Vol. 1, pp. 3357-3375 (1940)

4) 越後信哉, 小坂浩司, 山田春美, 松井三郎, 穴田健一: オゾン/過酸化水素処理における水質の最適化酸化水素添加量への影響, 水環境学会誌, Vol.21, No.7, pp.444-449 (1998)