

Environment Research and Technology Development Fund

**環境研究総合推進費 終了研究成果報告書**

土壌からの六価クロム溶出速度に基づく自然由来・人為由来の判定法の開発  
(5RF-1602)

平成28年度～平成30年度

Development of the Differentiation Methods for Natural and Anthropogenic Source of Chromium (VI)  
Based on the Elution Rates

〈研究代表機関〉  
熊本大学

2019年5月

## 目次

I. 成果の概要	1
1. はじめに (研究背景等)	
2. 研究開発目的	
3. 研究開発の方法	
4. 結果及び考察	
5. 本研究により得られた主な成果	
6. 研究成果の主な発表状況	
7. 研究者略歴	
II. 成果の詳細	
II-(1) 土壌溶出液中「六価クロム」分析法と溶出速度による由来解明法の開発(熊本大学)	9
要旨	
1. はじめに	
2. 研究開発目的	
3. 研究開発方法	
4. 結果及び考察	
5. 本研究により得られた成果	
6. 国際共同研究等の状況	
7. 研究成果の発表状況	
8. 引用文献	
III. 英文Abstract	23

## I. 成果の概要

課題名 5RF-1602 土壌からの六価クロム溶出速度に基づく自然由来・人為由来の判定法の開発

課題代表者名 大平慎一（熊本大学大学院先端科学研究部基礎科学部門化学分野 准教授）

研究実施期間 平成28～30年度

累計予算額 17,125千円

（うち平成28年度：5,805千円、平成29年度：5,805千円、平成30年度：5,515千円）

累計予算額は、間接経費を含む。

本研究のキーワード 六価クロム、自然由来、人為由来、由来判定法、酸化数別分析

研究体制

(1)土壌溶出液中「六価クロム」分析法と溶出速度による由来解明法の開発(熊本大学)

### 1. はじめに(研究背景等)

原子番号24番のクロムは、酸化状態によって様々な色を呈することから、ギリシア語の色にちなんで命名された元素である。このクロムを人類は古くから有効に活用してきた。金属光沢があり、堅く、化学的に耐食性のあるクロムは、金属材料保護のためのメッキ材料としてもちいられてきた。また、水回りで広くもちいられるステンレスは、鉄、ニッケル、クロムの合金である。国内で産出せず、活用範囲の広いクロムは国家備蓄の対象にもなっている。人類の発展に貢献してきたクロムであるが、環境汚染物質としても広く知られている。環境におけるクロムは、三価クロム(Cr(III))、六価クロム(Cr(VI))として存在することが知られている。このうち、Cr(III)は人体においてインスリンの働きを推進する必須元素であり、サプリメントも市販されている。一方で、Cr(VI)は強い酸化剤であり、発がん性物質として知られている。この化学的性質の違いと古くからCr(VI)に選択的な比色分析法が確立していたことから、日本では「六価クロム」として酸化数を限定した環境基準が設定されている。このように特定の酸化数に限定した環境基準が設定されている元素は、他にはない。しかしながら、重金属イオンに汎用で高感度な元素分析装置で特定の酸化数のみを選択的に検出するには、クロム種を酸化数別に分離する必要があり、簡便で効率的な酸化数別分離手法の確立も強く望まれている。

一方、工業的に有用なクロムは、国内でも年間百万トンが消費されている。メッキをはじめとする化学プロセスでは、強い酸化剤としてCr(VI)が使用されている。また、鉄鋼業における副産物であるスラグには焼成処理過程でCr(VI)を生成するが、セメント材料などとして広く利用されている。このように利用されたCr(VI)が環境中へ放出されることで、人為起源のCr(VI)汚染が引き起こされる。また、地殻には、土壌汚染防止法で規制されている無機物の中で2番目に多い量のクロムが、蛇紋岩などにCr(III)として含まれている。Cr(III)は先述のように、人体に必須であるが、土壌から溶出したCr(III)が雰囲気条件によって酸化され、Cr(VI)として土壌に含まれ、さらには、地下水を汚染していることが報告されている。このような現象は、自然由来のCr(VI)によって引き起こされ、千葉県嶺岡山系の湧水や米国カリフォルニア州の地下水において報告されている。2002年に施行された土壌汚染対策法は、2010年に改正され、自然由来の汚染土壌も対策の対象とされた。しかし、自然由来の汚染については、自然由来特例区域として、区域外に持ち出さない場合には規制の対象とされていない。本研究では、Cr(VI)による土壌汚染が人為由来か自然由来かを判定する手法の開発を目指した研究を進めた。

## 2. 研究開発目的

本研究では、土壤汚染対策法において唯一、特定の化学形態で規制の対象とされる六価クロム(Cr(VI))について、自然由来か人為由来かを判定する手法の開発を目的とした。土壤汚染対策法では、汚染が専ら自然起源である場合に、自然由来特例区域とし、区域外への土壤の搬出についてのみ規制することとなっている。そこで、本研究では、自然起源のCr(VI)を生成しうる土壤かどうかを判定する手法を開発することで、土壤汚染対策におけるCr(VI)の自然由来特例区域かどうかの判断材料を提供すべく、以下のアプローチで取り組むことを目的とした。1つめのアプローチは、Cr(VI)とCr(III)の溶出速度の違いを溶出プロファイルとして取得し、そのプロファイルによって判断する手法である。これまでに、自然由来のCr(VI)の生成とその速度について、疑似土壤や実際の土壤で研究した例はあるが、実際には自然由来Cr(VI)の生成は、Cr(III)からの酸化反応とCr(VI)の消失の競合反応となっている。しかし、Cr(III)とCr(VI)についてそれぞれの推移をとらえて速度論的な議論をした報告はない。人為由来のCr(VI)は主にイオン交換によって土壤中に存在し容易に溶出する。一方、自然由来のCr(VI)は、Cr(III)として溶出し、酸化反応によってCr(VI)となっていると考えられる。そのため、Cr(VI)の溶出プロファイルは、人為由来によるCr(VI)に引き続いてCr(III)の減少、すなわち、酸化反応によるCr(VI)の増加を示すと想定される。このプロファイルを取得する手法の確立並びに由来の判定を目指した。2つめのアプローチとして、土壤そのもののCr(VI)生成能の評価を目指した。原料となるCr(III)を添加した検体土壤によってCr(VI)が生成しうるか、あるいは、その生成速度に差が見られるかで自然由来か人為起源かを判定する方法である。

いずれのアプローチにおいても、溶存クロム種の酸化数別分析法の確立は、由来判定法開発の鍵を握る。本研究では、由来判定法に先だって、土壤溶出液中クロム種をオリジナルな手法である電場と膜透過を利用した溶存イオンの抽出法によって酸化数別に分離して高精度、高感度かつ迅速に分析する手法を確立する。まず、コストパフォーマンスの高感度元素分析装置である電気加熱式原子吸光光度計により酸化数別分析を達成するための、分離法を完成する。次に、従来の高感度だが高価な分析装置によらない、高感度分析手法の開発を進める。さらに、様々な条件における土壤からのCr(VI)およびCr(III)溶出過程の時間プロファイルを取得していくためのインターフェースを確立する。この分析法の確立によって、自然由来のCr(VI)におけるCr(III)からの生成プロセスのモニタリングを実現する。さらに、土壤成分によって原料となるCr(III)が溶出するかどうか、溶出したCr(III)がCr(VI)に変換されるかを判別することによる自然由来の「六価クロム」が生成しうるか否かを識別する手法の確立を目指した。

## 3. 研究開発の方法

### (1) 土壤溶出液中「六価クロム」分析法と溶出速度による由来解明法の開発(熊本大学)

土壤から溶出する「六価クロム」の由来判定法を確立するためには、まず、溶存クロム種を酸化数別に、従来の分析法よりも高い時間・濃度分解能を得る必要がある。そのため、1) 電気透析デバイス(酸化数別分離システム)の特性の向上と試料導入インターフェースの確立、2) 溶出試験実施のための高精度、高感度かつ高時間分解能な分析法の確立を行った。さらに、3) 試験土壤によるクロム種溶出プロファイルの取得を進めた。その過程で、4) 新たな溶出特性の評価方法を検討し、5) 土壤によるCr(VI)生成能評価方法を検討した。

本研究の肝となる溶存クロム種の酸化数別分離は、電場と膜透過を利用した溶存イオン抽出デバイス(ITD)により行った(図1)。ITDは、研究代表者のオリジナルな手法であり、試料溶液中の溶存イオンを抽出溶液中にダイナミ

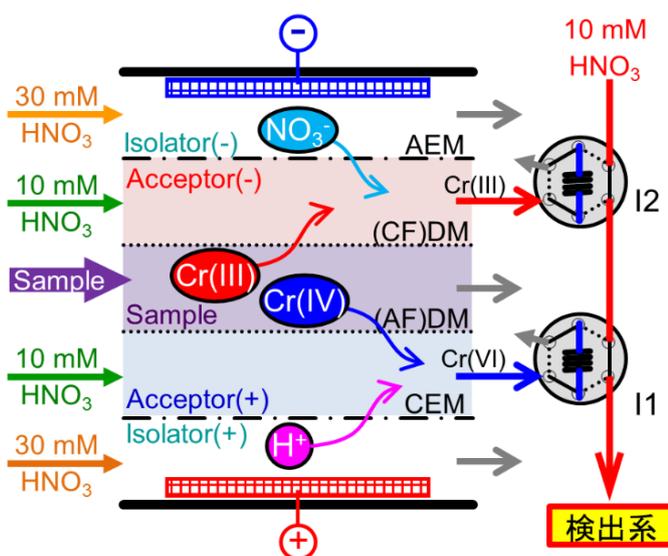


図1 溶存イオン抽出デバイスによる溶存クロム種の酸化数別分離

ックに取り出すことができる。溶存クロム種は、Cr(III)が陽イオン、Cr(VI)が陰イオンとして存在するため、電場による泳動の向きが異なり、試料に存在するCr(III)とCr(VI)を別々の抽出溶液中に取り出すことができる。得られた抽出溶液をそれぞれ分析計(元素分析装置)へと導入することで、溶存クロム種を酸化数別に定量できる。このITDによる分離で連続的に土壌抽出水中クロム種を分析するため、抽出溶液を連続的にフィルタリングして導入する機構を確立した。さらにITD内の定期的な洗浄機構を構築し、高感度化をはかった。

次に、溶出試験を高効率で進めるべく、高感度だが高価な分析装置ではなく、古くからもちいられているジフェニルカルバジドによるCr(VI)の発色反応を利用した高感度分析システムを構築した。鍵となる吸光度検出について、30-cmもの長さのフローセルをLEDやホトダイオードといった固体素子をもちいて構築し、さらに、ノイズの原因となる溶液混合部には、キャピラリー in チューブ方式を新たに開発することで、高感度化を図った(図2)。さらに、ITDによる定量的な抽出を利用したインライン分離同時濃縮と組み合わせることでサブ  $\mu\text{g/L}$ の高感度分析を目指した。

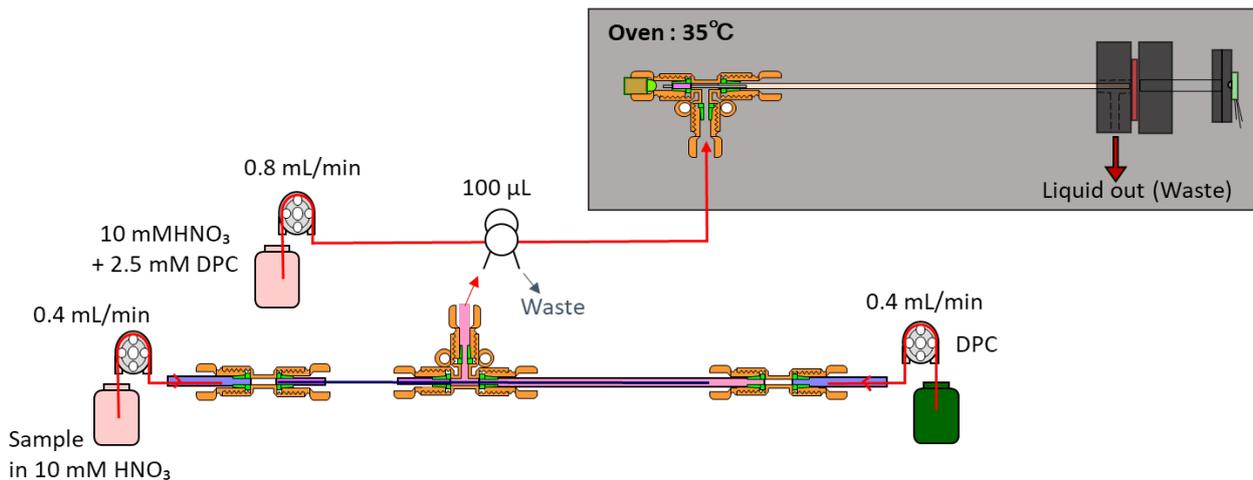


図2 長光路長セルとキャピラリーinチューブ混合器による高感度分析システム

試験土壌によるクロム種溶出試験は、ITDへの試験土壌インターフェースを種々の検討の結果、開発し、連続的な溶出液中溶存クロム種の酸化数別分析を行った(図3)。試験土壌には、熊本市内各地、インドネシアの人為汚染想定地域などから取得した土壌をもちいた。

図3に示した連続導入システムで得られた溶出プロファイルにおいて、急激な濃度上昇の後に、濃度が減少していく傾向が見られたため、新たにバッチ式ではあるものの、溶出の早いプロセスを定量的に評価するための溶出試験法を開発した。ロート内にろ紙をしき、その中に一定量の土壌を入れ、抽出液をろ過する方法である。得られたろ液をITDへと導入することで、酸化数別分析を行った(図4)。

土壌によるCr(VI)生成能の評価では、消失の影響を抑えた溶液条件で原料となるCr(III)を相対的に高い濃度で土壌に添加し、溶液内での反応より生成したCr(VI)をITDによる分離をへて測定した。

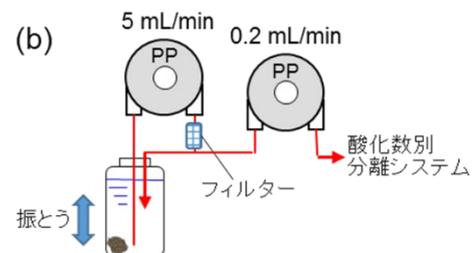


図3 二段階フローによる土壌抽出水の連続ITD導入システム

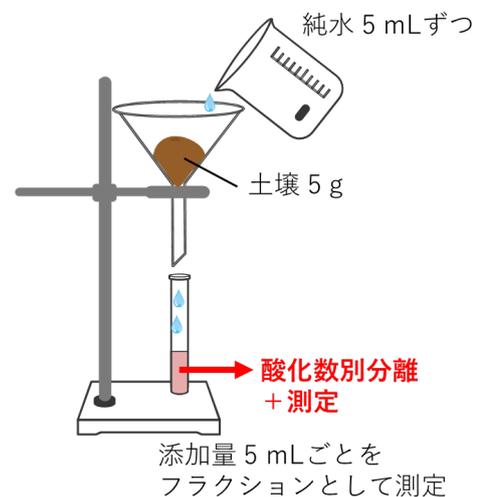


図4 フラクシオン法による土壌抽出水分析

#### 4. 結果及び考察

##### (1) 土壌溶出液中「六価クロム」分析法と溶出速度による由来説明法の開発(熊本大学)

本研究の要である、ITDによる溶存クロム種の酸化数別分離を電気加熱式原子吸光光度計による抽出液の検出で評価したところ、Cr(VI)、Cr(III)のいずれも0.020  $\mu\text{g/L}$ の検出限界が得られた。検出限界の改善(従来 0.3  $\mu\text{g/L}$ )は、ITDに導入する溶液をインラインで精製する手法、ITDにパルスで電場をかけることによる洗浄方法、膜材料の前処理法の確立によって、バックグラウンドの応答を1/10以下に低減することで達成された。また、土壌抽出水を連続してITDに導入するインターフェースの確立により、土壌からのクロム種の溶出過程を高い時間分解能で測定することが可能となった(図5)。公定法では、6時間の振とうにより抽出した溶液が測定されているが、本法による測定では、その6時間内における抽出

溶液中の濃度変化を追跡することが可能であった。特に、最初の5分で高濃度に溶出したクロム種が土壌への再吸着などによって減少していくプロファイルがみられた。公定法の6時間振とうによる測定値は、図5の土壌では、Cr(VI) 0.07  $\mu\text{g/L}$ であり、90分程度の抽出時間でも達成されていることが明らかとなった。ITDによる溶出プロファイルの測定値を、従来法である固相抽出法による酸化数別分離による測定値(図5中SPE-GFAASとしてプロット)とよい一致を示しており、ITDによる分離が短時間に全自動で行われるにもかかわらず、有効であることが示された。土壌抽出水については、さらにクロマトグラフィー(イオンクロマトグラフィー誘導結合プラズマ質量分析計)による酸化数別分離法と比較評価を行った。クロマトグラフィーによる評価において、土壌抽出水に含まれるCr(VI)は5分後には、Cr(III)へ還元される中間体となっていることがわかり、“なまもの”である土壌抽出水を

直接導入して酸化数別に分離可能なITD法の優位性が示された。土壌を採取した現場で抽出してITDにより分離後、ITDで得られた抽出液をラボに持ち帰って分析する手法により、土壌から溶出するクロム種の分析を行う必要性が示唆された。ITDはバッテリーによる駆動も可能であり、現場における酸化数別分離も可能である。

ITDと比色分析法であるジフェニルカルバジド法を組み合わせた高感度分析システムの構築では、図6に示すように長光路長吸光度セルとキャピラリーinチューブによる高効率ミキサーによって感度の大幅な向上が図られた。最も指摘化された条件では、0.6  $\mu\text{g/L}$ の検出限界が得られた。さらに、ITDの特徴であるインライン分離同時“濃縮”によって、20倍の濃縮率も達成され、検出限界は0.03  $\mu\text{g/L}$ と電気加熱式原子吸光光度計に迫る高い感度が得られた。また、土壌抽出水は程度の差はあれ、茶色に着色していることが多い。この色はジフェニルカルバジド法における検出に影響を与えるため、公定法ではエタノール/硫酸によってCr(VI)を還元除去した試料溶液で得られるブランクとの差を測定することとなっている。しかし、ITDでは、着色の原因である微粒子や非イオン性の有機化合物は抽出されないため、Cr(VI)を土壌抽出水の色に起因する妨害なく検出することが可能であった。以上の様に、電場と膜透過を利用した溶存イオン抽出による酸化数別分離と元素分析装置により高速な分離分析法を確立した。また、広くもちいられる比色法における欠点を明確に指摘するとともに、本法により妨害成分の影響、感度の課題を克服できた。

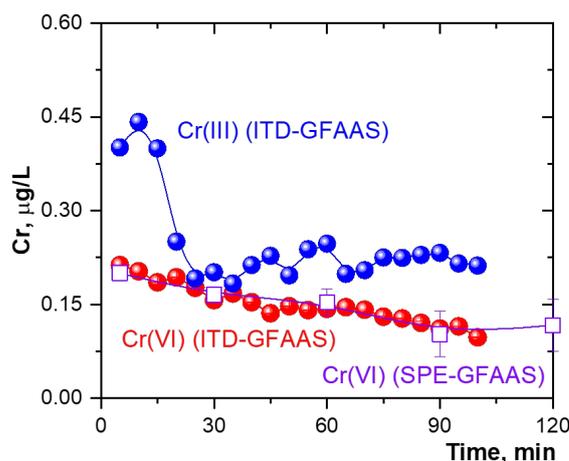


図5 ITD法による土壌溶出プロファイル

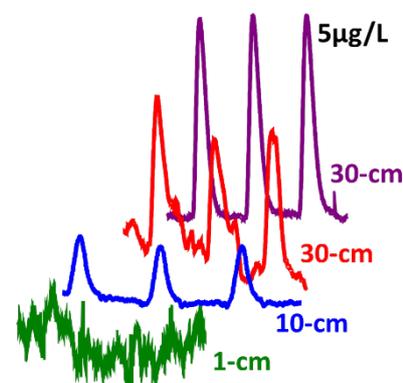


図6 長光路長吸光度セルと高効率ミキサーによる感度の向上(1, 10, 30 cmは光路長、紫のみ高効率ミキサーを併用)

先述の土壤抽出液をITDへ連続導入することで得られる溶出プロファイルを見ると、いくつかの人為起源近くの試料からは、ゆっくりとした溶出が確認された(図7中 RefineryおよびIND3, KU5は非汚染土壤)。非汚染土壤では、いずれもスタート時に溶出した溶存クロム種が再吸着などにより減少していくものであったが、人為的起源近くの土壤では、徐々にCr(VI)が上昇する傾向が見られた。そこで、初期の溶出プロセスを的確に捉えるためにフラクション法による溶出試験を行った(図8)。連続的に土壤抽出水をITDへと導入する方法と比べて、抽出開始時の溶出をより顕著にとらえることが

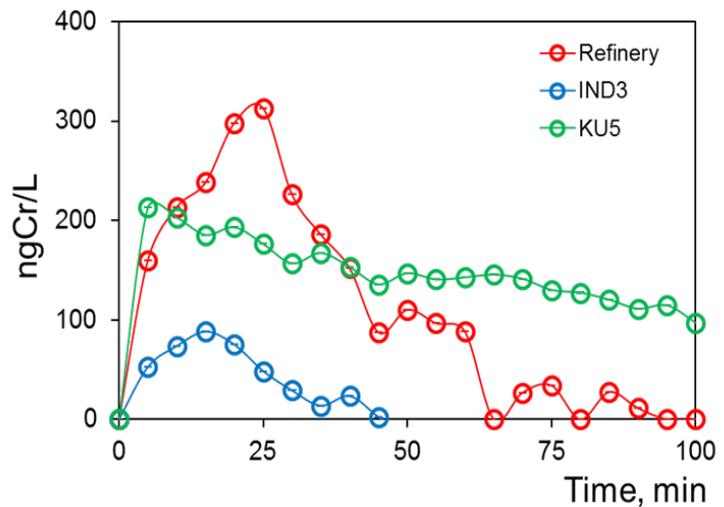


図7 人為由来汚染と非汚染土壤の溶出プロファイルの違い

できた。特に土壤における移動性の高いCr(VI)については、より再現性よく高濃度に検出された。一方で、フラクション法のメリットとして、抽出液の組成を容易に変えることができる点が上げられる。図8では、純水による抽出の後、塩を抽出液としてもちいることでCr(III)のさらなる溶出が確認できた。土壤の抽出は、バルク法、カラム法が広く行われているが、本法は双方の利点をとらえたハイブリッドな手法であり、新しい土壤抽出試験の方法といえる。本法で人為汚染の土壤を評価したところ、汚染のない土壤と比べより多くのフラクションが高い濃度を維持した。このように異なる濃度変化を示したことから人為起源の評価に利用できる可能性も示唆された。

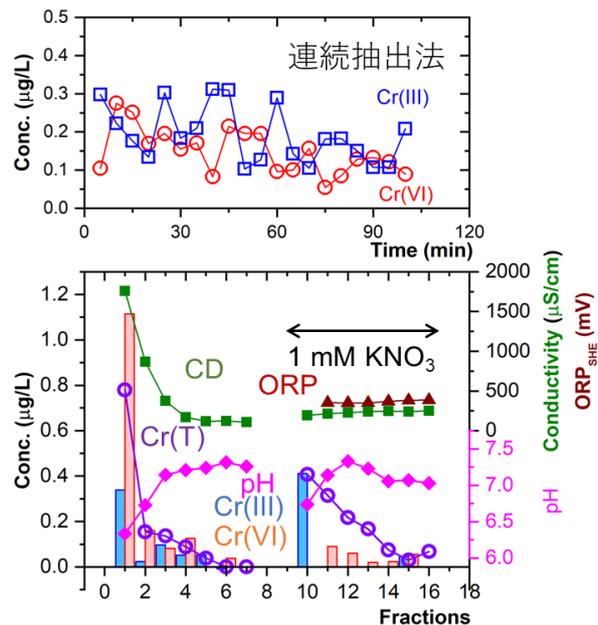


図8 フラクション法による土壤溶出試験

本研究課題の目的である自然由来Cr(VI)汚染を引き起こす土壤の判定法については、原料であるCr(III)を添加してCr(VI)が生成するかどうか、すなわち、自然由来特例区域に指定すべき土壤かどうか

の判定を行うこととした。添加する溶液のpH条件を検討した結果、中性付近のリン酸緩衝溶液が最適であった。また、Cr(III)を添加すると、すぐにCr(VI)が生成し、15分間インキュベーションした後のCr(VI)の濃度には、土壤試料の種類間で大きな違いが見られることがわかった。由来判定の基準を設定するには、試料数が不足しているが、図9に示すように顕著な違いが見られることから、由来判定法の確立に向けた足がかりを得ることができた。

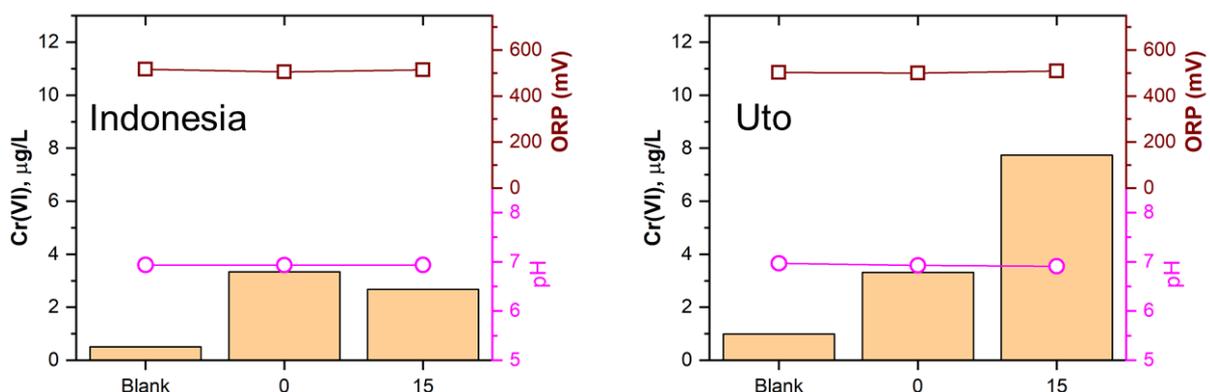


図9 原料として0.1 mg/L Cr(III)を添加した際に生成したCr(VI)の濃度推移

## 5. 本研究により得られた主な成果

### (1) 科学的意義

・**電場と膜透過による酸化数別分離システムの土壌抽出溶液への応用**: 従来, 元素分析装置による総クロム量とジフェニルカルバジド法によるCr(VI)濃度, これらの差によるCr(III)濃度の測定が広く行われているが, Cr(VI)とCr(III)に大きな濃度差がある場合の測定精度に課題があった。本研究により, 分離システムの感度特性を向上し, 2段階ポンピング試料導入による連続的試料導入とわずか5秒でリアルタイムかつインラインでの酸化数別分離による土壌抽出溶液の高精度な連続的モニタリングが達成された。

・**ジフェニルカルバジド法による妨害フリーな超高感度分析システム**: ジフェニルカルバジド法におけるCr(VI)測定の妨害となる共存重金属イオン, 土壌抽出水中色素, Cr(VI)の還元物質を本研究の酸化数分離システムで分離可能であることを明確にした。また, キャピラリーinチューブ高効率ミキサーとノイズを大きく低減できるフロー系の開発により, 長光路吸光度セルのメリットを最大限活かした超高感度分析を達成した。

・**土壌溶出プロファイル(溶出濃度の時間変化)**: 高い時間分解能での土壌抽出水分析法の確立により, 公定法として定められている6時間振とう抽出の間, 特に抽出の初期の段階でCr(VI)濃度が上昇し, その後, 60分程度で一定濃度に落ち着くような濃度変化を示すことを明らかにした。

・**フラクション法による土壌抽出**: 従来の土壌抽出では, バルク溶液内やカラムに充填した土壌から目的成分が抽出されている。本研究では, バルク溶液における組成の異なる抽出溶液への置換や測定溶液中目的成分濃度の減少, カラム抽出における再現性といった課題を克服したハイブリッドなフラクション法を新たに考案した急速な溶出プロセスをとらえることができ, 抽出溶液の組成変更による溶出プロセスの変化を捉えることができるようになった。人為起源による汚染土壌と非汚染土壌にはプロファイルに大きな違いが見られた。

・**土壌によるCr(VI)生成能の評価**: 土壌中に含まれる酸性物質によるCr(III)からCr(VI)が生成することが知られているが, 実際の土壌がCr(III)をCr(VI)へと変換する能力を評価するための最適条件を見いだした。この条件としては, 原料となるCr(III)の導入直後と15分の反応後におけるCr(VI)の生成量に土壌ごとの特徴が見られた。

### (2) 環境政策への貢献

#### <行政が既に活用した成果>

特に記載すべき事項はない。

#### <行政が活用することが見込まれる成果>

本研究課題では, 土壌から溶出する六価クロムが自然由来か人為由来かを判定する方法の開発を目指し, 1) 電場と膜透過を利用した分離に基づくCr(VI)の高感度分析法の開発, 2) 開発した分析法を利用したCr(VI)の抽出, 生成量による土壌評価方法を開発した。Cr(VI)は, 基準の設けられている重金属の中では, 唯一, 溶出したクロムの特定の酸化数にのみ基準が設けられており, 土壌, 水質分析における簡便かつ高感度な手法は1つの課題である。本研究で特性を大きく向上した分析法では, リアルタイムにCr(VI)を抽出して測定でき, 環境分析の現場への実装が期待される。一方, 由来判定法の開発を通じて, 土壌溶出試験におけるCr(VI)の時間プロファイルを明らかにできた。公定法である6時間振とう法により抽出している間の抽出液におけるCr(VI)とCr(III)の濃度変化を捉えることができ, 抽出開始時における迅速な溶出による濃度の急激な上昇とその後の濃度減少, 濃度の安定化といった変化を示すことができ, 迅速な土壌中Cr(VI)スクリーニング試験の可能性を示した。また, 新しい土壌抽出試験法を提案した。特に溶出の速い成分の抽出試験においては, 従来の6時間振とう法よりも高濃度の抽出溶液を迅速に得ることができる。また, 土壌への再吸着や抽出溶液における形態変化などの影響を受けにくい方法であり, Crをはじめとする土壌成分の分析において有効な方法であると期待される。さらに, 土壌汚染対策法における自然由来特例区域の対象かどうかの判断材料を提供するために, 自然由来のCr(VI)を生成しうる土壌かどうかを判断する手法を検討した。原料となるCr(III)を添加した直後と15分後における溶液中Cr(VI)の濃度には, 土壌ごとに顕著な違いが見られた。今後, 多くの検体による検証を必要とするが, 土壌のCr(VI)生成能評価による由来判定法の足がかりを示した。

## 6. 研究成果の主な発表状況

### (1) 主な誌上発表

#### <査読付き論文>

- 1) 大平慎一, 岡崎千夏, 戸田 敬, 分析化学, 67, 761-766 (2018).  
 土壌から溶出した重金属イオンを電気化学検出するための電界膜透過前処理
- 2) S. Ohira, T. Yamasaki, T. Koda, Y. Kodama, K. Toda, Talanta, 180, 176-181 (2018). ※ FIA論文賞2018 受賞  
 Electrodealytic in-line preconcentration for ionic solute analysis
- 3) S. Ohira, W.C. Nugraha, K. Toda, Journal of Flow Injection Analysis, 34, 5-10 (2017).  
 Speciation Analysis of Chromium Oxidation States by Flow Injection Analysis,
- 4) S. Ohira, K. Nakamura, M. Chiba, P.K. Dasgupta, K. Toda, Talanta, 164, 445-450 (2017).  
 Matrix Isolation with an Ion Transfer Device for Interference-free Simultaneous Spectrophotometric Determinations of Hexavalent and Trivalent Chromium in a Flow-based System
- 5) 大平慎一, 分析化学, 65, 563-573 (2016).  
 インライン電気透析法による溶存イオン分析のための精製・分離・濃縮

### (2) 主な口頭発表(学会等)

- 1) Shin-Ichi Ohira, 3rd International Symposium on Green Technology for Value Chains (GreenVC 2018), Indonesia convention exhibition BSD city, Nov. 2, 2018.  
 Keynote: Sample pretreatment and separation of ionic solutes by means of electro dialysis
- 2) 大平慎一, 堀内一希, 福田祥平, 戸田 敬, O-10, 広島ガーデンホテル, 2017年12月8日.  
 電場と膜透過による分離手法の展開, 第34回イオンクロマトグラフィー討論会
- 3) 大平慎一, 堀内一希, 千葉美月, Willy Cahya Nugraha, 戸田 敬, 第54回フローインジェクション分析講演会, O8, 岡山理科大学, 2017年12月2日.  
 溶存イオン抽出と超高感度吸光度検出によるCr(VI)の高感度検出
- 4) Willy Cahya Nugraha, Shin-ichi Ohira, Kei Toda, 第54回フローインジェクション分析講演会, P10, 岡山理科大学, 2017年12月2日.  
 Speciation analysis of Cr(III) and Cr(VI) with simultaneous matrices isolation, and separation by means of electrodealytic ion transfer for continuous soil extract analysis
- 5) 大平慎一, Willy Cahya Nugraha, 戸田 敬, 日本分析化学会第66年会, N2001, 東京理科大学葛飾キャンパス, 2017年9月10日.  
 電場による泳動と膜透過による分離手法の展開
- 6) Willy Cahya Nugraha, 大平慎一, 戸田 敬, 第54回化学関連支部合同大会, AC-5-007, 北九州市国際会議場, 2017年7月1日.  
 GFAASによる土壌中のCr(III)とCr(VI)の分離分析法

## 7. 研究者略歴

研究代表者

大平 慎一

熊本大学理学部卒業、博士(理学)、現在、熊本大学大学院先端科学研究部基礎科学部門化学分野  
准教授

## II. 成果の詳細

### II-1 土壌溶出液中「六価クロム」分析法と溶出速度による由来解明法の開発（熊本大学）

熊本大学

大学院先端科学研究部基礎科学部門化学分野

大平 慎一

累計予算額 17,125千円

累計予算額は、間接経費を含む。

（うち平成28年度：5,805千円、平成29年度：5,805千円、平成30年度：5,515千円）

#### 【要旨】

本研究では、土壌における六価クロム（Cr(VI)）が自然由来か人為由来かを判定する手法のために、土壌抽出水中溶存クロム種を酸化数別に迅速かつ高感度に測定する手法を開発し、その分析法により得られる溶出プロファイルに基づく由来判定法を検討した。電場と膜透過を利用した溶存イオン抽出デバイスによって、陽イオンであるCr(III)と陰イオンであるCr(VI)をわずか5秒で別の抽出溶液中に取り出して検出する手法をさらに改良することで、0.03 µg/Lの検出限界（電気加熱式原子吸光光度計による検出）が得られた。また、古くから知られるジフェニルカルバジド法に基づくフローインジェクション分析において、溶液の混合部、長光路吸光度セルによる検出器を開発し、試料導入—試薬と混合—検出の流れを試薬と混合—呈色物質導入—検出のように改良することで、従来にない高い感度を得た。低コストながら、市販の元素分析装置による検出限界にせまる0.06 µg/Lが達成された。さらに、電場と膜透過によるイオン抽出では、ジフェニルカルバジドによる発色反応や検出を妨害する物質と測定対象であるCr(VI)を分離できることを示し、高精度な分析法であることを実証した。土壌抽出水は、抽出後5分程度でも酸化状態が変化する“なまもの”であるが、抽出と同時にリアルタイムに分離可能な本法の有用性についても実証した。

溶出試験では、従来の振とう法では、6時間の抽出後の値のみを測定しているが、本研究では由来判定のために、その途中経過におけるCr(VI)とCr(III)の濃度変化を5分ごとに連続的にモニタリング可能であった。得られたプロファイルを見ると、抽出開始時に高い濃度を示した後徐々に減少、何らかの平衡状態に達している傾向が見られた。そこで、抽出開始時における溶出過程をとらえるために新しくフラクション法を考案した。この方法は従来のバルク法やカラム法の利点をとらえたハイブリッドな手法である。フラクション法でも、抽出溶液中Cr濃度の減少が見られたが、抽出溶液の組成を途中で変えてみると、Cr(III)は純水では十分に抽出されていないことがわかった。本法は、Crに限らず様々な物質を対象とした抽出試験に有効な方法である。これらの溶出プロファイルでは、土壌におけるCr(VI)の由来判定にはいたらなかったが、土壌のCr(VI)生成能の評価による判定法を試みた。最適化された条件では、原料であるCr(III)溶液を添加すると、Cr(VI)がすぐに生成したが、15分後におけるCr(VI)濃度には土壌ごとに大きな違いが見られた。由来のはっきりした土壌試料による評価の実施には至っていないが、土壌のCr(VI)生成能の評価は、土壌汚染対策法における自然由来特例区域の指定に対してリーズナブルな方法であり、今後の検討により、手法を確立できると期待される。

#### 【キーワード】

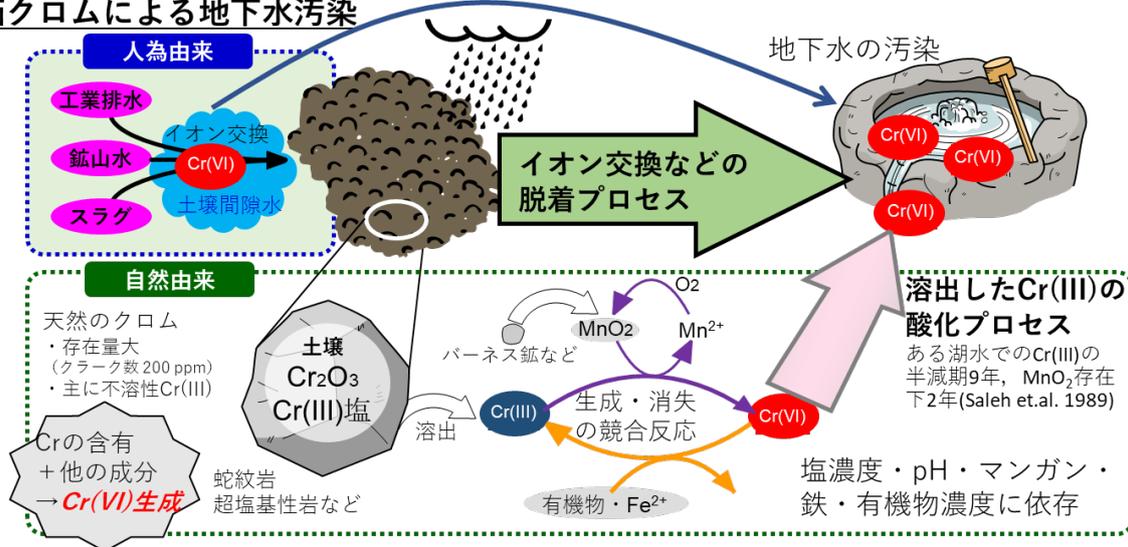
六価クロム、自然由来、人為由来、由来判定法、酸化数別分析

## 1. はじめに

環境におけるクロムは、三価クロム (Cr(III))、六価クロム (Cr(VI)) として存在することが知られている。このうち、Cr(III)は人体においてインスリンの働きを推進する必須元素であり、サプリメントも市販されている。一方で、Cr(VI)は強い酸化剤であり、発がん性物質として知られている。また、水性の高いCr(VI)は地下水において高い移動性を示す一方、酸性でも水酸化物との沈殿を生成するCr(III)については、溶解度が低く移動性も低い。この化学的性質の違いと古くからCr(VI)に選択的な比色分析法が確立していたことから、日本では「六価クロム」として酸化数を限定した環境基準が設定されている。このように特定の酸化数に限定した環境基準が設定されている元素は、他にはない。

工業的に有用なクロムは、国内でも年間百万トンが消費されている。メッキをはじめとする化学プロセスでは、強い酸化剤としてCr(VI)が使用されている。また、鉄鋼業における副産物であるスラグには焼成処理過程でCr(VI)を生成するが、セメント材料などとして広く利用されている。このように利用されたCr(VI)が環境中へ放出されることで、人為起源のCr(VI)汚染が引き起こされる。一方、地殻には、土壤汚染防止法で規制されている無機物の中で2番目に多い量のクロムが、蛇紋岩などにCr(III)として含まれている。Cr(III)は先述のように、人体に必須であるが、土壤から溶出したCr(III)が雰囲気条件によって酸化され、Cr(VI)として土壤に含まれ、さらには、地下水を汚染していることが報告されている(図(1)-1)。このような現象は、自然由来のCr(VI)によって引き起こされ、千葉県嶺岡山系の湧水や米国カリフォルニア州の地下水において報告されている。

### 六価クロムによる地下水汚染

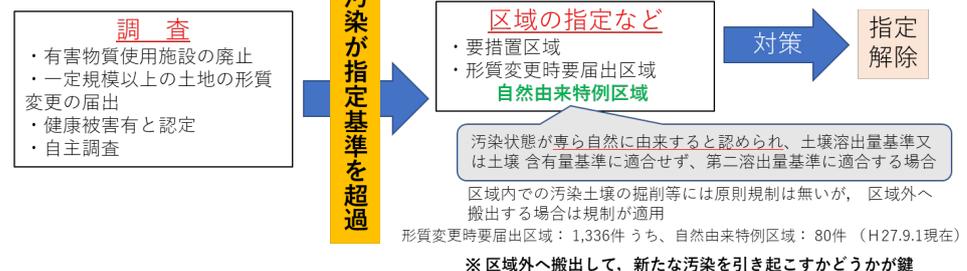


図(1)-1 自然由来、人為由来による六価クロム汚染経路

2002年に施行された土壤汚染対策法は、2010年に改正され、自然由来の汚染土壤も対策の対象とされた。土壤汚染対策法では、図(1)-2に示すように、汚染が指定基準を超えた場合に区域の指定などが行われる。しかし、自然由来の汚染については、自然由来特例区域として、区域外に持ち出さない場合には規制の対象とされていない。すなわち、由来を判定する手法は求められている。自然由来かどうかの判定は、表(1)-1に示す

方法がガイドラインとして定められているが、特定の化学形態であるCr(VI)については、これらを完全に適応することはできない。また、他の元素では、同位体比から由来を探る手法が報告

### 土壤汚染対策法の制度



図(1)-2 土壤汚染対策法における区域指定の概要

されているが、Cr(VI)については、同様の理由から適応できない。しかしながら、国内外で自然由来による汚染例もあることから、Cr(VI)に対応した由来判定法の開発が求められている。

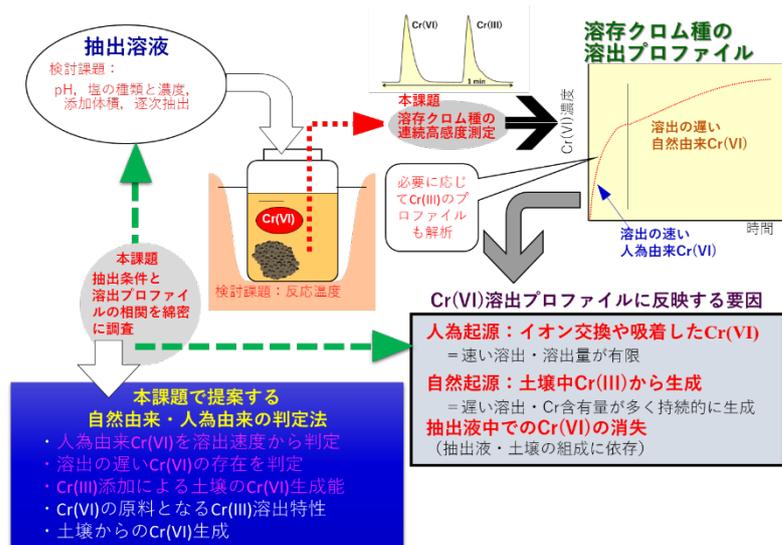
表 (1) -1 土壌対策汚染法に基づく調査および措置に関するガイドライン改訂版

項目	Cr(VI)への適応
溶出量 < 10 × 土壌溶出量基準	○
酸抽出法による含有量 << 全量分析含有量の上限値	×
全量分析による含有量 < 全国のバックグラウンド全量分析含有量	×
上記の上限値を超えた場合、バックグラウンド値との比較、化学形態などを確認	×
分布特性：使用履歴などのある場所との関連を示す局在性	○

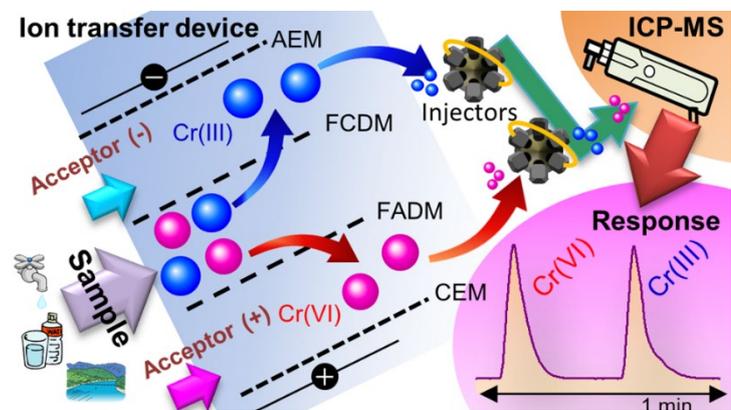
## 2. 研究開発目的

本研究では、土壌汚染対策法において唯一、特定の化学形態で規制の対象とされる六価クロム (Cr(VI)) について、自然由来か人為由来かを判定する手法の開発を目的とした。土壌汚染対策法では、汚染が専ら自然起源である場合に、自然由来特例区域とし、区域外への土壌の搬出についてのみ規制することとなっている。

そこで、本研究では、自然起源のCr(VI)を生成しうる土壌かどうかを判定する手法を開発することで、土壌汚染対策におけるCr(VI)の自然由来特例区域かどうかの判断材料を提供すべく、以下のアプローチで取り組むことを目的とした。1つめのアプローチは、Cr(VI)とCr(III)の溶出速度の違いを溶出プロファイルとして取得し、そのプロファイルによって判断する手法である (図(1)-3)。これまでに、自然由来のCr(VI)の生成とその速度について、疑似土壌や実際の土壌で研究した例はあるが、実際には自然由来Cr(VI)の生成は、Cr(III)からの酸化反応とCr(VI)の消失の競合反応となっている。しかし、Cr(III)とCr(VI)についてそれぞれの推移をとらえて速度論的な議論をした報告はない。人為由来のCr(VI)は主にイオン交換によって土壌中に存在し容易に溶出する。一方、自然由来のCr(VI)は、Cr(III)として溶出し、酸化反応によってCr(VI)となっていると考えられる。そのた



図(1)-3 溶出プロファイルによる由来判定法



図(1)-4 電場と膜透過を利用した酸化数別分離システム (Ohira et. al., *Analytical Chemistry*誌2015年)

め、Cr(VI)の溶出プロファイルは、人為由来によるCr(VI)に引き続いてCr(III)の減少、すなわち、酸化反応によるCr(VI)の増加を示すと想定される。このプロファイルを取得する手法の確立並びに由来の判定を目指した。2つめのアプローチとして、土壌そのもののCr(VI)生成能の評価を目指した。原料となるCr(III)を添加した検体土壌によってCr(VI)が生成しうるか、あるいは、その生成速度に差が見られるかで自然由来か人為起源かを判定する方法である。

いずれのアプローチにおいても、溶存クロム種の酸化数別分析は、由来判定法開発の鍵を握る。本研究では、由来判定法に先だって、土壌溶出液中クロム種をオリジナルな手法である電場と膜透過を利用した溶存イオンの抽出法(図(1)-4)によって酸化数別に分離して高精度、高感度かつ迅速に分析する手法を確立することとした。特に、従来の高感度だが高価な分析装置によらない、高感度分析手法の開発を進める。次に、様々な条件における土壌からのCr(VI)およびCr(III)溶出過程の時間プロファイルを取得していくためのインターフェースを確立する。この分析法の確立によって、自然由来のCr(VI)におけるCr(III)からの生成プロセスのモニタリングを実現する。さらに、土壌成分によって原料となるCr(III)が溶出するかどうか、溶出したCr(III)がCr(VI)に変換されるかを判別することによる自然由来の「六価クロム」が生成しうるか否かを識別する手法の確立を目指した。

### 3. 研究開発方法

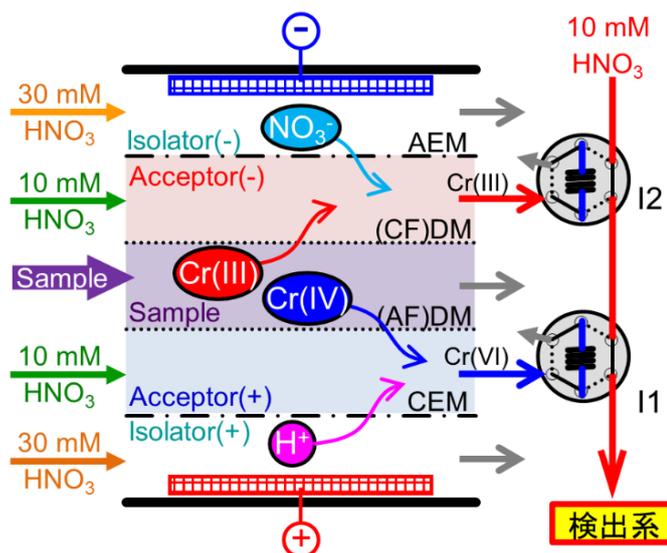
土壌から溶出する「六価クロム」の由来判定法を確立するためには、まず、溶存クロム種を酸化数別に、従来の分析法よりも高い時間・濃度分解能を得る必要がある。そのため、1) 電気透析デバイス(酸化数別分離システム)の特性の向上と試料導入インターフェースの確立、2) 溶出試験実施のための高精度、高感度かつ高時間分解能な分析法の確立を行った。さらに、3) 試験土壌によるクロム種溶出プロファイルの取得を進めた。その過程で、4) 新たな溶出特性の評価方法を検討し、5) 土壌によるCr(VI)生成能評価方法を検討した。

#### 1) 電気透析デバイス(酸化数別分離システム)の特性の向上と試料導入インターフェースの確立

溶存クロム種の酸化数別分離は、電場と膜透過を利用した溶存イオン抽出デバイス(ITD)により行った(図(1)-5)。

ITDは、研究代表者のオリジナルな手法であり、試料溶液中の溶存イオンを抽出溶液中にダイナミックに取り出すことができる。溶存クロム種は、Cr(III)が陽イオン、Cr(VI)が陰イオンとして存在するため、電場による泳動の向きが異なり、試料に存在するCr(III)とCr(VI)を別々の抽出溶液中に取り出すことができる。得られた抽出溶液をそれぞれ分析計(元素分析装置)へと導入することで、溶存クロム種を酸化数別に定量できる。

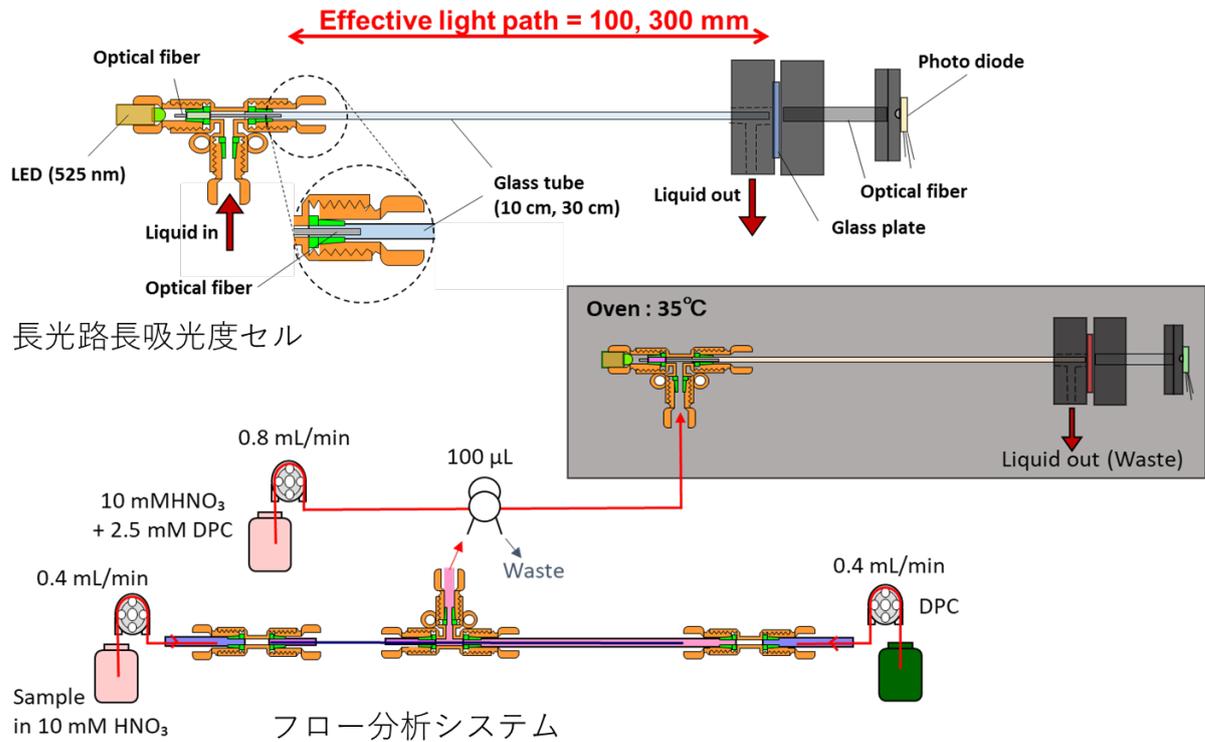
本研究では、分離特性、特に極低濃度における分離と検出の特性を向上すべく、以下の改良を行った。まず、低濃度の測定においては、バックグラウンドの低減が課題となる。溶液のインライン精製、デバイス内のパルス電解による洗浄、溶液流量の安定制御を実施した。また、インラインで分離同時濃縮するためのフロー系も高精度なシリンジポンプにより構築した。



図(1)-5 溶存イオン抽出デバイスによる溶存クロム種の酸化数別分離

## 2) 溶出試験実施のための高精度、高感度かつ高時間分解能な分析法の確立

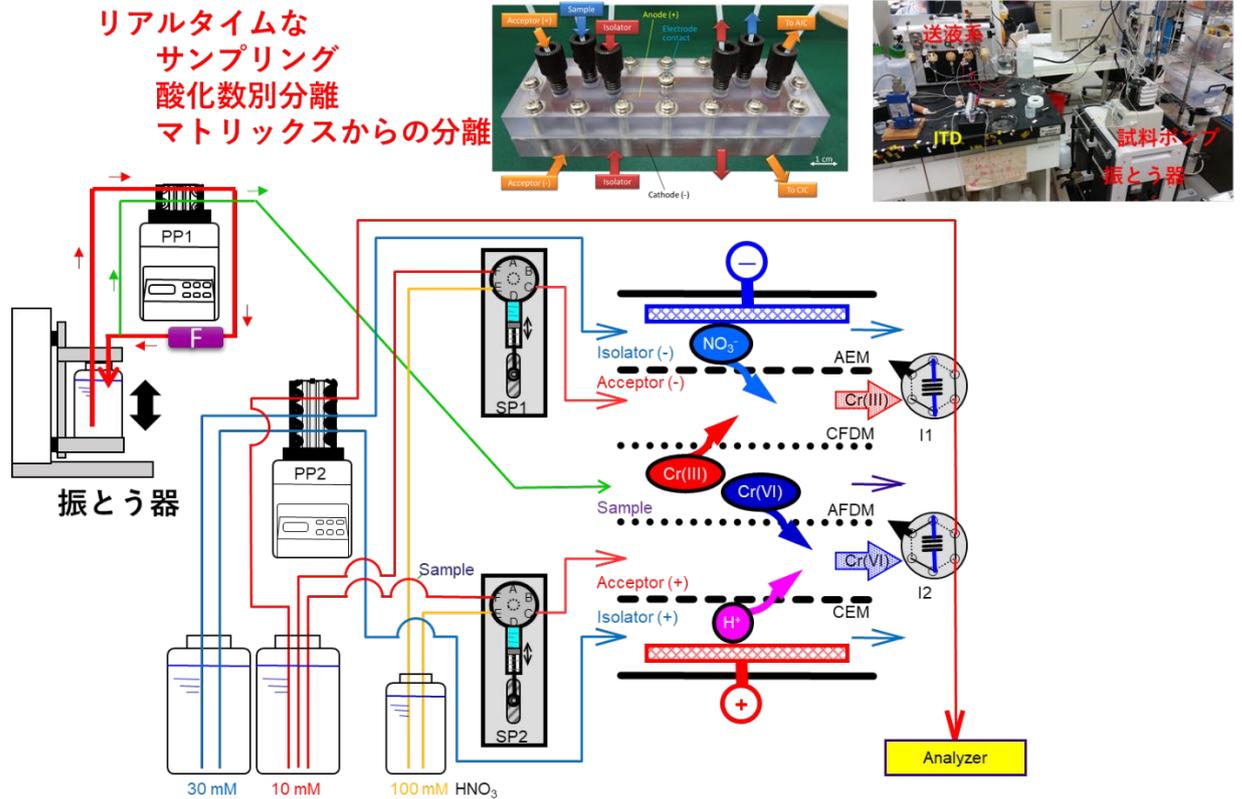
溶出試験を高効率で進めるべく、高感度だが高価な分析装置ではなく、古くからもちいられているジフェニルカルバジドによるCr(VI)の発色反応を利用した高感度分析システムを構築した。鍵となる吸光度検出について、30-cmもの長さのフローセルをLEDやホトダイオードといった固体素子をもちいて構築し、さらに、ノイズの原因となる溶液混合部には、キャピラリー in チューブ方式を新たに開発することで、高感度化を図った(図(1)-6)。さらに、ITDによる定量的な抽出を利用したインライン分離同時濃縮と組み合わせることでサブ  $\mu\text{g/L}$ の高感度分析を目指した。



図(1)-6 長光路長吸光度セルとフロー分析システム

## 3) 試験土壌によるクロム種溶出プロファイルの取得

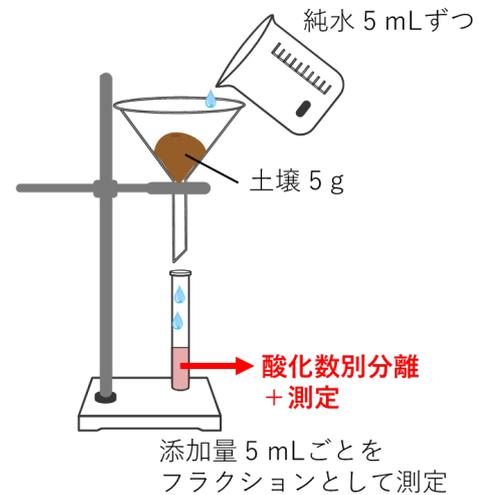
試験土壌によるクロム種溶出試験は、ITDへの試験土壌インターフェースを種々の検討の結果、開発し、連続的な溶出液中溶存クロム種の酸化数別分析を行った試験土壌をボトルに入れ、公定法に従って振とう器へセットした(図(1)-7)。そのボトルから自動で抽出溶液を採取できるようにチューブを挿入し、ポンプで吸引した。その際、大流量で吸引してフィルターを通し、フィルターの下流から分離システムへと直接導入できるフローを構築した。このフローにより、タイムラグを大幅に低減した。分離システムで、Cr(VI)とCr(III)が抽出された溶液はそれぞれ捕集され、電気加熱式原子吸光光度計により定量することとした。捕集時間を5分間とすることで、5分ごとの溶出データが取得できるようにした。



図(1)-7 抽出溶液の直接採取と分離システムへの直接導入フロー

#### 4) 新たな溶出特性の評価方法

連続導入システムで得られた溶出プロファイルにおいて、急激な濃度上昇の後に、濃度が減少していく傾向が見られたため、新たにバッチ式ではあるものの、溶出の早いプロセスを定量的に評価するための溶出試験法を開発した。ロート内にろ紙をしき、その中に一定量の土壌を入れ、抽出液をろ過する方法である。得られたろ液をITDへと導入することで、酸化数別分析を行った(図(1)-8)。この方法では、抽出液をフラクションごとに変えることができるメリットがあり、純水で抽出後、Cr濃度が低下した後で塩の溶液を導入することでCrのさらなる溶出挙動を追跡した。



図(1)-8 フラクション法による土壌抽出水分析

#### 5) 土壌によるCr(VI)生成能評価方法

土壌にCr(VI)の原料となるCr(III)を添加することでCr(VI)の生成能を評価した。Cr(VI)の生成を評価するには、Cr(VI)の消失を抑える必要があるため、最適なpH条件を検討した。一般に塩基性条件したでは、Cr(VI)の還元による消失を抑えることができる。一方、Cr(VI)への酸化反応は酸性条件のほうがすすみやすいと考えられる。そのため、pH条件を変えて最適化を行った。ボトル内に土壌と原料となるCr(III)を添加した直後から定期的にボトル内の水を1 mLずつ採取して、分離システムへ導入し、酸化数別に検出した。

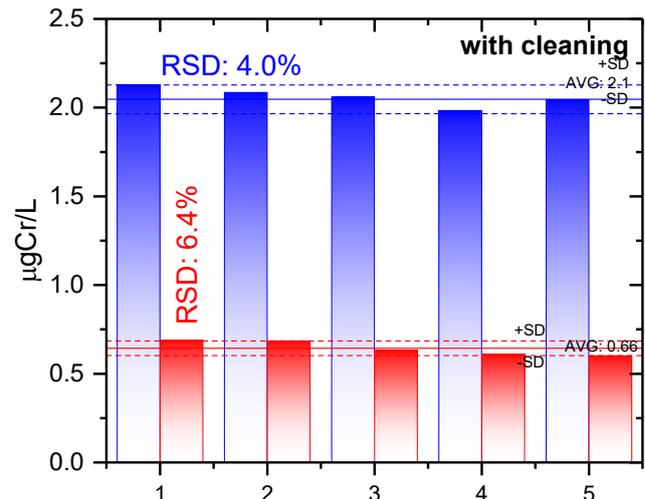
#### 4. 結果及び考察

##### 1) 電気透析デバイス（酸化数別分離システム）の特性の向上と試料導入インターフェースの確立

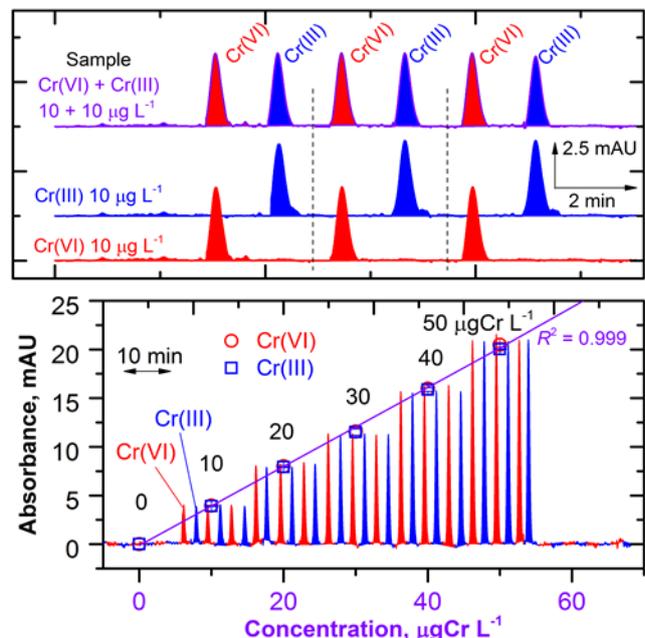
本研究の要である、ITDによる溶存クロム種の酸化数別分離を電気加熱式原子吸光光度計による抽出液の検出で評価したところ、Cr(VI)、Cr(III)のいずれも0.020  $\mu\text{g/L}$ の検出限界が得られた。当初は、システムや試薬の汚染による高いバックグラウンドのため、10倍の検出限界しか得られていなかった。試薬のインライン精製、全自動で電場の極性を反転して行うクリーニングによって大幅な改善を図ることができた。0.6、2.0

$\mu\text{gCr(VI)}/\text{L}$ の標準溶液をくり返し測定したところ、良好な再現性も得られるようになった（図(1)-9）。本システムにより、標準溶液を測定した結果を図(1)-10に示す。ジフェニルカルバジド法によるフローインジェクション分析システムで得た結果であるが、上図では、Cr(VI)のみ、Cr(III)のみ、混合溶液を試料として導入すると、それぞれ、定量的な抽出と分離が達成されていることを示している。また、検量線とそのチャートを下図に示しているが、良好な直線性が得られている。また、Cr(VI)とCr(III)に感度差が無いことからいずれも定量的に抽出できていると想定される。

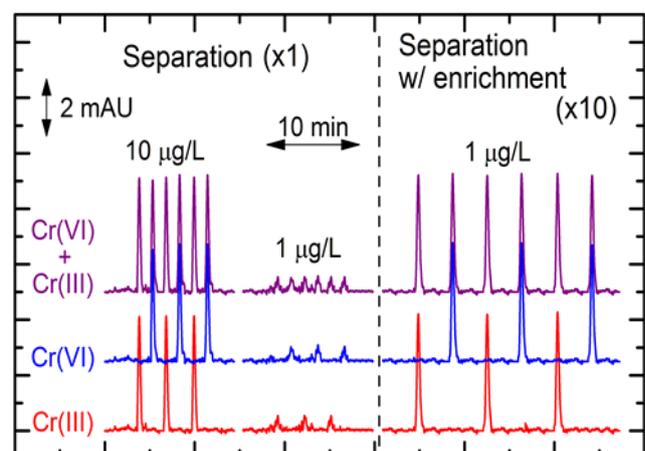
本研究で用いる電場と膜透過を利用した溶存イオンの抽出は、定量的なイオンの抽出が可能である。そのため、試料溶液を抽出溶液に対して大流量で導入すると、その流量比に応じた倍率で濃縮が達成される。図(1)-11は、10倍に濃縮した例を示している。左側は、試料：抽出溶液の流量比を1:1で測定した例である。右側は、試料：抽出溶液を流量10:1として測定している。濃縮無しの10  $\mu\text{gCr(VI)}/\text{L}$ の溶液と10倍に濃縮した1  $\mu\text{gCr(VI)}/\text{L}$ の溶液が同じピーク高さを示していることから、流量比通りの濃縮が達成されていることがわかる。本法では、インラインでリアルタイムの溶存クロム種を酸化数別に分離できるだけでなく、濃縮も可能である。さらに、後述するが、試料中の夾雑物との分離も達成されることから、インラインでわずか5秒程度の間、酸化数別分離、濃縮、夾雑物との分離という3つのプロセスを達成できる万能な手法である。



図(1)-9 低濃度Cr(VI)標準溶液における再現性



図(1)-10 分離システムによる連続測定チャート



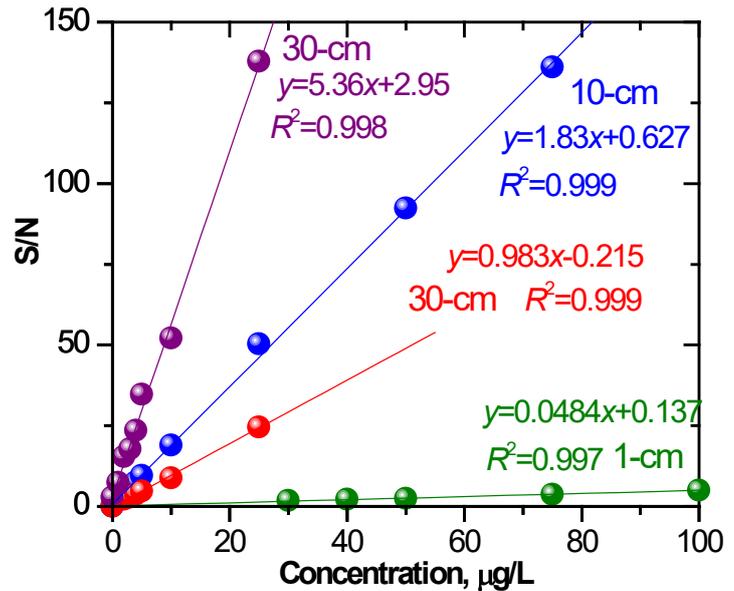
図(1)-11 分離同時濃縮システム

## 2) 溶出試験実施のための高精度、高感度かつ高時間分解能な分析法の確立

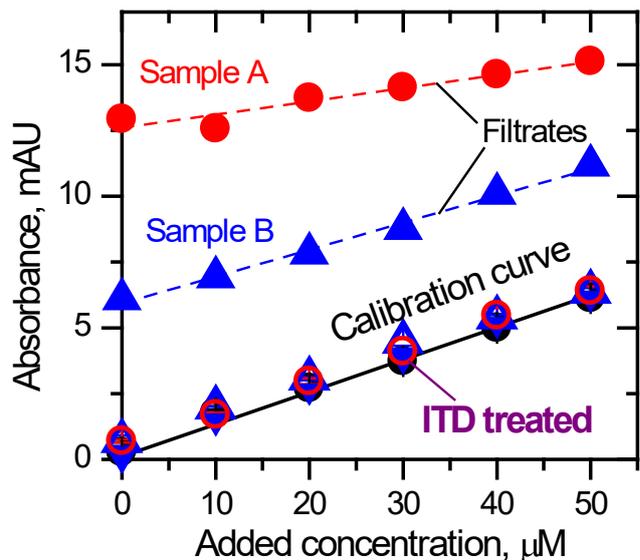
本研究では、さらに市販の高感度だが高コストな元素分析装置ではなく、溶液の流れの中で発色反応、検出を行うフローインジェクション分析による検出法を確立して、後述の溶出試験を加速する検討を行った。ジフェニルカルバジド法は、古くからCr(VI)の検出にもちいられている。このジフェニルカルバジド法で感度を稼ぐため、吸光度検出器を長光路長とすることをこころみた。たとえば、一般的な光路長1-cmのセルを30-cmにすると、30倍の感度向上が望まれる。しかし、実際にはベースラインのノイズも増幅されるため、感度（シグナルノイズ比S/N）を30倍にすることはできない。

（図(1)-12中緑と赤、感度はおよそ20倍）。そこで、ベースラインのノイズを抑えつつ、長光路長吸光度セルによる高感度検出を達成するため、キャピラリーinチューブ型の新しいインライン混合器を構築した。新しい混合器によってピークの分散を抑えつつ、ノイズも低減できたが、十分ではなく、図(1)-6に示した新しいフロー系を構築した。このフロー系では、インラインで混合した溶液が検出器へと導入されるのではなく、あらかじめ混合された溶液によるベースラインにインラインで発色させたCr(VI)を導入する。そのため、ベースラインを大幅に安定化でき、S/N比を大きく改善できた。その結果、S/Nを大きく改善でき、検出限界0.6  $\mu\text{gCr(VI)}/\text{L}$ が得られた。本法に先述の電場と膜透過を利用したインライン分離同時濃縮法を適応すると、さらに20倍の高感度化がはかられ、得られた検出限界は、0.03  $\mu\text{gCr(VI)}/\text{L}$ と市販の元素分析装置に迫る感度をえることに成功した。今後の土壌からの溶出プロファイル評価は、本法による高感度迅速分析あるいは、電気加熱式原子吸光光度計のいずれかで行うこととした。

一方、土壌抽出水の測定では、一般に土壌抽出水がもつ茶色がジフェニルカルバジドによる検出を阻害する。そのため、公定法では、酸性エタノール溶液を加えることで、Cr(VI)をCr(III)と還元した溶液によるブランク測定を実施し、Cr(VI)による発色溶液の測定値からブランク値を引いた値から濃度を算出している。しかし、本研究で開発したインライン分離同時濃縮で施される夾雑物の除去効果によって土壌抽出水中の褐色成分は取り除かれるため、先述の様なブランクの測定は不要であった。図(1)-13には、この効果について示している。Sample A, BはいずれもCr(VI)の濃度が0の時でも光吸収をしめしていた。しかし、電場と膜透過による抽出処理を行うこと（図中ITD treated）で、ブランクの吸収は抑えることができた。さらに、Sample A, Bでは検量線の傾きが異なっているが、これは、土壌抽出水中の有機化合物によるCr(VI)の還元の効果が異なっているためである。ITD treatedでは、標準溶液と同じ傾きが得られていることから、本法による夾雑物除去効果が有効に働いていることがわかる。



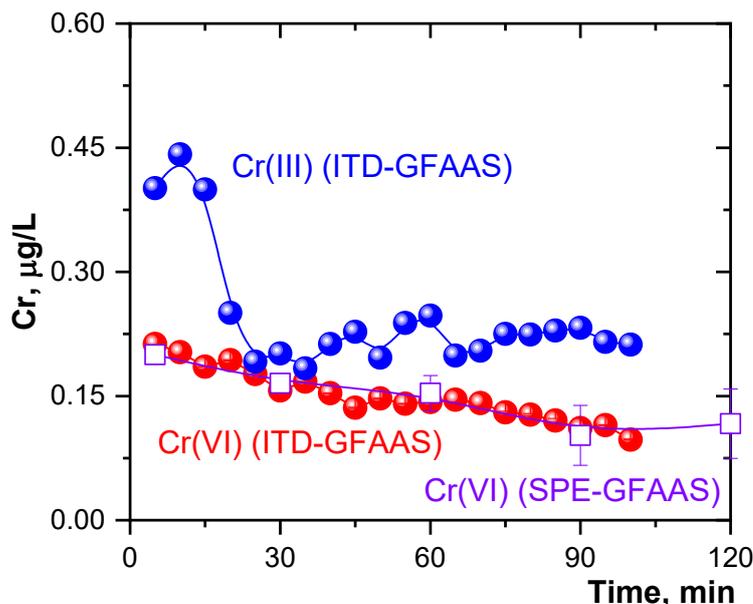
図(1)-12 光路長によるS/Nの改善



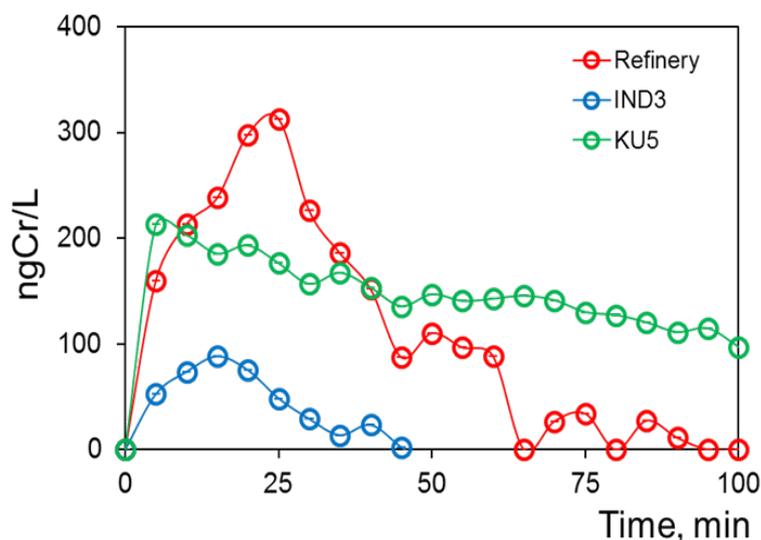
図(1)-13 土壌抽出水の着色の影響と夾雑物除去効果

### 3) 試験土壌によるクロム種溶出プロファイルの取得

振とうにより抽出している途中の土壌抽出液をポンプで吸引し、フィルタリングしてITDへ連続導入することで得られる溶出プロファイルの例を図(1)-14に示す。様々な土壌で評価したところ、いずれもスタート時に溶出した溶存クロム種が再吸着などにより減少していくものであった。この結果は、定期的に試料をボトルから採取して従来法である固相抽出法によって測定した結果(図中、SPE-GFAAS)の値とよい一致を示していた。一方で、公定法で6時間振とうを行って得られる値には90分程度で達していることがほとんどであった。本法により、人為的汚染源近くの土壌の溶出プロファイルを測定したところ、図(1)-15に示すRefineryやIND3のような結果となった。これは、人為的な汚染源のないKU5の土壌と比較して、溶出が15~30分間継続している。すなわち、人為起源の汚染土壌からはCr(VI)が一定時間継続して溶出されることから溶出プロファイルに差異が現れることを示している。この理由を探るためには、初期におけるプロファイルを的確に捉える必要があったため、次にしめす新たな溶出特性の評価方法を検討することとした。



図(1)-14 土壌抽出水の着色の影響と夾雑物除去効果

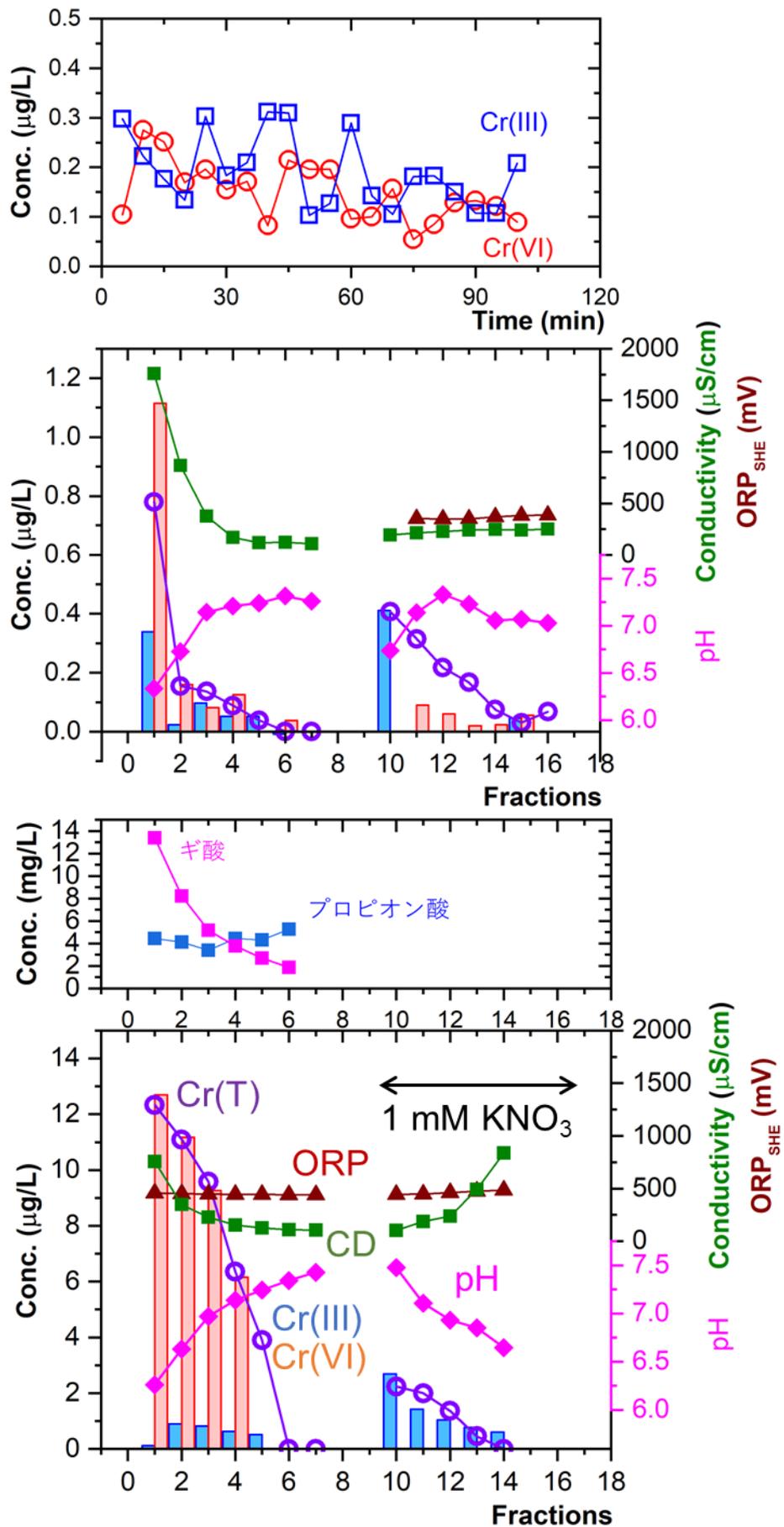


図(1)-15人為由来汚染と非汚染土壌の溶出プロファイルの違い

### 4) 新たな溶出特性の評価方法

溶出プロセスの初期段階をよりの確に捉えるためにフラクション法による溶出試験を行った(図(1)-7)。連続的に土壌抽出水をITDへと導入する方法と比べて、抽出開始時の溶出をより顕著にとらえることができた(図(1)-16)。この方法では、土壌に5 mLずつ抽出液を導入し、得られた溶液をフラクションとする。これを繰り返すことによって、抽出溶液の液性に応じた溶出特性を、特に初期段階についての確に評価できる。特に土壌における移動性の高いCr(VI)については、より再現性よく、また抽出水体積が少ないことからより高濃度に検出された。人為的な汚染源のない土壌については、1つめのフラクションでは高濃度に検出されたが、その後、急激に減少した。すなわち、非常に迅速な溶出がみられた。純水による溶出が見られなくなった、すなわち、土壌中に存在し、純水によって溶出する全てのCr(VI)が溶出した後、1 mM  $\text{KNO}_3$ による溶出を試みた。これは、塩溶液により、イオン交換によって吸着しているCr(VI)やCr(III)を溶出することとなる。このように、フラクション法のメリットとして、抽出液の組成を容易に変えることができる点が上げられる。塩の溶液によって、イオン交換体のCr(III)が1つめの塩溶液のフラクションで溶出してきた。このことは、イオン交換によって溶出するCr(III)の存在を示している。この溶解性Cr(III)が $\text{MnO}_2$ による酸化作用をうけることで自然由来のCr(VI)が生成する。すなわち、Cr(VI)の原料となりうる。人為起源のある土壌による測定結果を図(1)-16下に示す。溶出プロファイルと同様に、より持続的なCr(VI)の溶出が確認されている。このことは、人為起源によるCr(VI)がイオン

交換体で土壌に取り込まれており、土壌から溶出した他の塩によって徐々に溶出していることを示唆している。一方で、人為起源の汚染のない土壌からの溶出は、土壌表面にCr(VI)塩として存在していたため、溶出プロファイルにおいてすぐに濃度上昇し、その後減少していくプロファイルを示したと考えられる。この試験をCr(VI)塩物質やCr(VI)型としたイオン交換樹脂によっても試みたところ、この説を実証する結果となった。すなわち、Cr(VI)塩はすぐに溶解した一方、イオン交換体では塩溶液によって溶出が迅速化した。土壌の抽出は、バルク法、カラム法が広く行われているが、本法は双方の利点をとらえたハイブリッドな手法であり、新しい土壌抽出試験の方法といえる。本法で人為汚染の土壌を評価したところ、汚染のない土壌と比べるとフラクシオン間で異なる濃度変化を示したことから人為起源の評価に利用できる可能性も示唆された。評価件数が少ないため、確証は得られていないが、新しく見いだしたフラクシオン法は、Cr(VI)をはじめ、様々な対象物質の溶出評価のスクリーニングに適しているのではないかと考えている。

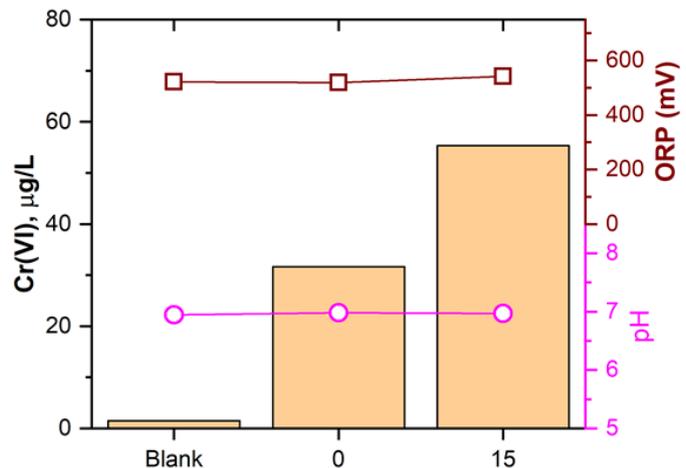


図(1)-16 汚染の有無による土壌抽出フラクシオンの違い

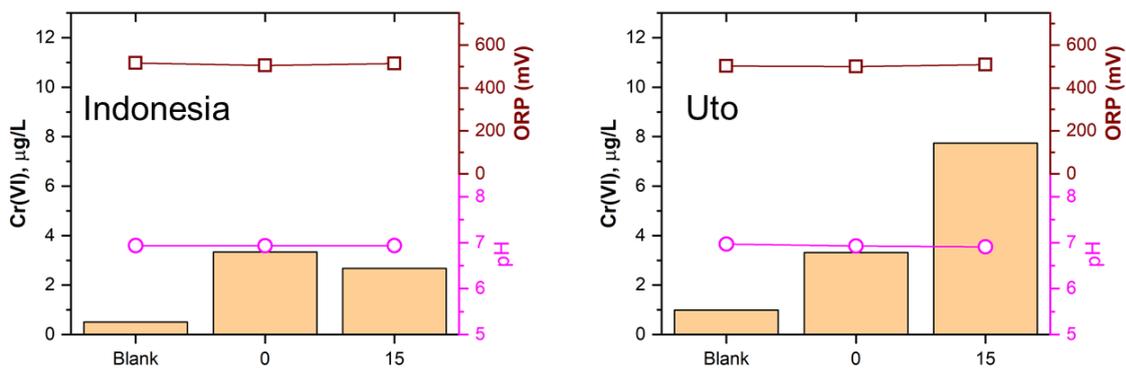
## 5) 土壌によるCr(VI)生成能評価方法

溶出プロファイルによる明確な差異を見いだせなかったため、土壌のCr(VI)生成能の評価方法を検討した。土壌汚染対策法における自然由来特例区域にかかる規制は、他の場所への移動の制限である。すなわち、土壌がCr(VI)を生成する能力を持っていないければ、移動しても新たな汚染を生むことがないため、この評価方法は、直接的な由来判定法ではないが、理にかなっている。

Cr(VI)の生成を評価するには、Cr(VI)の消失を抑える必要があるため、最適なpH条件をCr(III)の酸化剤として働くMnO<sub>2</sub>により検討した(図(1)-17)。その結果、pH 7において

図(1)-17 MnO<sub>2</sub>によるCr(VI)生成@pH 7

時間に比例してCr(VI)濃度が増加したことから、消失プロセスが進行していないと判断した。また、この条件下で実際の土壌によるCr(VI)生成能を評価したところ、原料であるCr(III)を投入直後を基準とし、15分間反応したときの濃度と比較すると土壌試料間において優位な差が見られた(図(1)-18)。被験土壌が限られているため、結論は出ていないが、この有意な差を持って土壌のCr(VI)生成能、引いては、自然由来のCr(III)を引き起こしうる土壌かの判断材料を提供できる可能性をしめている。



図(1)-18 土壌試料のCr(VI)生成能力の評価

## 5. 本研究により得られた成果

### (1) 科学的意義

- ・ **電場と膜透過による酸化数別分離システムの土壌抽出溶液への応用**：従来、元素分析装置による総クロム量とジフェニルカルバジド法によるCr(VI)濃度、これらの差によるCr(III)濃度の測定が広く行われているが、Cr(VI)とCr(III)に大きな濃度差がある場合の測定精度に課題があった。本研究により、分離システムの感度特性を向上し、2段階ポンピング試料導入による連続的試料導入とわずか5秒でリアルタイムかつインラインでの酸化数別分離による土壌抽出溶液の高精度な連続的モニタリングが達成された。
- ・ **ジフェニルカルバジド法による妨害フリーな超高感度分析システム**：ジフェニルカルバジド法におけるCr(VI)測定の妨害となる共存重金属イオン、土壌抽出水中色素、Cr(VI)の還元物質を本研究の酸化数分離システムで分離可能であることを明確にした。また、キャピラリーinチューブ高効率ミキサーとノイズを大きく低減できるフロー系の開発により、長光路吸光度セルのメリットを最大限活かした超高感度分析を達成した。
- ・ **土壌溶出プロファイル(溶出濃度の時間変化)**：高い時間分解能での土壌抽出水分析法の確立により、公定法として定められている6時間振とう抽出の間、特に抽出の初期の段階でCr(VI)濃度が上昇し、その後、60分程度で一定濃度に落ち着くような濃度変化を示すことを明らかにした。
- ・ **フラクション法による土壌抽出**：従来の土壌抽出では、バルク溶液内やカラムに充填した土壌から目的成分が抽出されている。本研究では、バルク溶液における組成の異なる抽出溶液への置換や測定溶液中目的成分濃度の減少、カラム抽出における再現性といった課題を克服したハイブリッドなフラクション法を新たに考案した急速な溶出プロセスをとらえることができ、抽出溶液の組成変更による溶出プロセスの変化を捉えることができるようになった。
- ・ **土壌によるCr(VI)生成能の評価**：土壌に含まれる酸化性物質によるCr(III)からCr(VI)が生成することが知られているが、実際の土壌がCr(III)をCr(VI)へと変換する能力を評価するための最適条件を見いだした。この条件したでは、原料となるCr(III)の導入直後と15分の反応後におけるCr(VI)の生成量に土壌ごとの特徴が見られた。

### (2) 環境政策への貢献

#### <行政が既に活用した成果>

特に記載すべき事項はない。

#### <行政が活用することが見込まれる成果>

本研究課題では、土壌から溶出する六価クロムが自然由来か人為由来かを判定する方法の開発を目指し、1) 電場と膜透過を利用した分離に基づくCr(VI)の高感度分析法の開発、2) 開発した分析法を利用したCr(VI)の抽出、生成量による土壌評価方法を開発した。Cr(VI)は、基準の設けられている重金属の中では、唯一、溶出したクロムの特定の酸化数にのみ基準が設けられており、土壌、水質分析における簡便かつ高感度な手法は1つの課題である。本研究で特性を大きく向上した分析法では、リアルタイムにCr(VI)を抽出して測定でき、環境分析の現場への実装が期待される。一方、由来判定法の開発を通じて、土壌溶出試験におけるCr(VI)の時間プロファイルを明らかにできた。公定法である6時間振とう法により抽出している間の抽出液におけるCr(VI)とCr(III)の濃度変化を捉えることができ、抽出開始時における迅速な溶出による濃度の急激な上昇とその後の濃度減少、濃度の安定化といった変化を示すことができ、迅速な土壌中Cr(VI)スクリーニング試験の可能性を示した。また、新しい土壌抽出試験法を提案した。特に溶出の速い成分の抽出試験においては、従来の6時間振とう法よりも高濃度の抽出溶液を迅速に得ることができる。また、土壌への再吸着や抽出溶液における形態変化などの影響を受けにくい方法であり、Crをはじめとする土壌成分の分析において有効な方法であると期待される。さらに、土壌汚染対策法における自然由来特例区域の対象かどうかの判断材料を提供するために、自然由来のCr(VI)を生成しうる土壌かどうかを判断する手法を検討した。原料となるCr(III)を添加した直後と15分後における溶液中Cr(VI)の濃度には、土壌ごとに顕著な違いが見られた。今後、多くの検体による検証を必要とするが、土壌のCr(VI)生成能評価による由来判定法の足がかりを示した。

## 6. 国際共同研究等の状況

Willy Cahya Nugraha氏（インドネシア科学院 研究員）は、土壌や生体試料中のヒ素や水銀の化学形態別分析チームに所属していたが、本研究課題推進のため、インドネシアの国費による留学生として受け入れた。本研究を中心として推進し、ポスター講演において九州分析化学ポスター賞を受賞するなど顕著な成果を上げた。現在、母国にもどり、こちらで開発したCr分析手法の展開をするべく共同研究をすすめている。

## 7. 研究成果の発表状況

### (1) 誌上発表

#### <論文（査読あり）>

- 1) 大平慎一, 岡崎千夏, 戸田 敬, 分析化学, 67, 761-766 (2018).  
土壌から溶出した重金属イオンを電気化学検出するための電界膜透過前処理
- 2) S. Ohira, T. Yamasaki, T. Koda, Y. Kodama, K. Toda, Talanta, 180, 176-181 (2018).  
Electrodialytic in-line preconcentration for ionic solute analysis
- 3) S. Ohira, W.C. Nugraha, K. Toda, Journal of Flow Injection Analysis, 34, 5-10 (2017).  
Speciation Analysis of Chromium Oxidation States by Flow Injection Analysis,
- 4) S. Ohira, K. Nakamura, M. Chiba, P.K. Dasgupta, K. Toda, Talanta, 164, 445-450 (2017).  
Matrix Isolation with an Ion Transfer Device for Interference-free Simultaneous Spectrophotometric Determinations of Hexavalent and Trivalent Chromium in a Flow-based System
- 5) 大平慎一, 分析化学, 65, 563-573 (2016).  
インライン電気透析法による溶存イオン分析のための精製・分離・濃縮

#### <その他誌上発表（査読なし）>

- 1) 大平慎一：化学と工業, 70(10), 894-895 (2017).  
「支部発 話題欄 六価クロムの由来を探る～自然由来か人為由来か～」

### (2) 口頭発表（学会等）

※発表済みのもの又は確実に発表する予定のものにとどめること。

- 1) Shin-Ichi Ohira, 3rd International Symposium on Green Technology for Value Chains (GreenVC 2018), Indonesia convention exhibition BSD city, Nov. 2, 2018.  
Keynote: Sample pretreatment and separation of ionic solutes by means of electrodialysis
- 2) 大平慎一, 堀内一希, 福田祥平, 戸田 敬, O-10, 広島ガーデンホテル, 2017年12月8日.  
電場と膜透過による分離手法の展開, 第34回イオンクロマトグラフィー討論会
- 3) 大平慎一, 堀内一希, 千葉美月, Willy Chaya Nugraha, 戸田 敬, 第54回フローインジェクション分析講演会, O8, 岡山理科大学, 2017年12月2日.  
溶存イオン抽出と超高感度吸光度検出によるCr(VI)の高感度検出
- 4) Willy Cahya Nugraha, Shin-ichi Ohira, Kei Toda, 第54回フローインジェクション分析講演会, P10, 岡山理科大学, 2017年12月2日.  
Speciation analysis of Cr(III) and Cr(VI) with simultaneous matrices isolation, and separation by means of electrodialytic ion transfer for continuous soil extract analysis
- 5) 大平慎一, Willy Cahya Nugraha, 戸田 敬, 日本分析化学会第66年会, N2001, 東京理科大学葛飾キャンパス, 2017年9月10日.  
電場による泳動と膜透過による分離手法の展開

6) Willy Cahya Nugraha, 大平慎一, 戸田 敬, 第54回化学関連支部合同大会, AC-5-007, 北九州市国際会議場, 2017年7月1日.

GFAASによる土壌中のCr(III)とCr(VI)の分離分析法

**(3) 知的財産権**

特に記載すべき事項はない。

**(4) 「国民との科学・技術対話」の実施**

特に記載すべき事項はない。

**(5) マスコミ等への公表・報道等**

特に記載すべき事項はない。

**(6) その他**

フローインジェクション分析論文賞2018, 日本分析化学会フローインジェクション分析研究懇談会  
受賞論文:

S. Ohira, T. Yamasaki, T. Koda, Y. Kodama, K. Toda, *Talanta*, 180, 176-181 (2018).

Electrodialytic in-line preconcentration for ionic solute analysis

九州分析化学ポスター賞

Willy Cahya Nugraha, 大平慎一, 戸田 敬, 第54回化学関連支部合同大会, AC-5-007, 北九州市国際  
会議場, 2017年7月1日.

GFAASによる土壌中のCr(III)とCr(VI)の分離分析法

**8. 引用文献**

特に記載すべき事項はない。

### III. 英文Abstract

#### **Development of the Differentiation Methods for Natural and Anthropogenic Source of Chromium (VI) Based on the Elution Rates**

Principal Investigator: Shin-Ichi OHIRA

Institution: Kumamoto University  
2-39-1 Kurokami, Chuo-ku, Kumamoto-City, Kumamoto  
860-8555, JAPAN  
Tel: +81-96-342-3384 / Fax: +81-96-342-3384  
E-mail: ohira@kumamoto-u.ac.jp

[Abstract]

Key Words: Chromium (VI), Natural source, Anthropogenic source, Source diagnosis, Speciation analysis

The differentiation of natural or anthropogenic sources of chromium (VI) (Cr(VI)) in soil was investigated in this study. To achieve this purpose, a rapid and highly sensitive speciation analysis method with commercial sensitive detector and cost effective conventional flow analysis methods were developed first. The electro-dialytic separation of cationic Cr(III) and anionic Cr(VI) was possible within 5 s. The system was further optimized for soil extract analysis, achieving a detection limit of 0.03  $\mu\text{g/L}$  using graphite furnace atomic absorbance spectroscopy. Furthermore, the gold standard approach for Cr(VI) analysis, the diphenylcarbazide (DPC) method, was utilized by combining flow injection analysis with a long-path absorbance detector. Although the long-path absorbance technique does not generally improve the detection limit due to amplified baseline noise, the use of a new type of mixer (a capillary-in-tube mixer) made it possible to improve the net sensitivity. Additional enrichment during the electro-dialytic separation of chromium species helped to achieve a detection limit of 0.06  $\mu\text{g/L}$ , corresponding to that achieved by expensive commercial elemental analyzers. It is also important to avoid interference from other compounds in soil extract analysis when using the DPC approach. The proposed electro-dialytic separation system was able to separate not only chromium species but also possible interfering analytes from the sample matrices. Highly accurate Cr(VI) detection in soil extracts was thus achieved using electro-dialytic separation and the proposed DPC analysis system.

The soil extracts were subject to 6 hr of shaking for analysis. The Cr(VI) concentration was periodically analyzed during this 6-hr extraction process to determine whether the source of Cr(VI) was natural or anthropogenic. With the proposed analysis system, the concentrations of Cr(III) and Cr(VI) were able to be obtained every 5 min, and the rapid elution of Cr species was observed. If the soil extract was not anthropogenically contaminated, the concentration of Cr(VI) gradually decreased during the shaking period until equilibrium had been achieved. For the rapid elution of Cr(VI), the fractional method was applied, which can provide additional information on the Cr(VI) elution profile by allowing the extractant to be easily changed. However, this elution profile was not able to provide enough information for the source of Cr(VI) to be differentiated. Thus, the Cr(VI) generation ability of the soil was evaluated. It was found that, under optimal conditions, soil can produce Cr(VI) from high concentrations of Cr(III), even though there were significant differences on the Cr(VI) concentration at 15

minutes after Cr(III) had been added. This difference of the Cr(VI) generation rate may be effective for identifying the source of Cr(VI). However, evidence for this is required with further research.