

水質基準に準拠したイオンクロマトグラフ— ポストカラム吸光光度法による シアン化物イオンおよび塩化シアン の分析(2)

アプリケーションニュース L563 では、水質基準に関する省令の規定に基づき厚生労働大臣が定める方法（平成 15 年厚生労働省告示第 261 号 [最終改正令和 2 年 3 月 25 日厚生労働省告示第 95 号]）の別表第 12 に規定されているイオンクロマトグラフ—ポストカラム吸光光度法に従って、従来の個別に標準液を調製する方法と、新たに認められた混合標準液を調製する方法で分析を行い、その結果について報告しました。

上記の分析でトラブルに陥りやすいポイントの 1 つに、標準液の調製が挙げられます。例えば、次亜塩素酸ナトリウム溶液など使用する溶液の濃度が異なるとシアン化物イオンと塩化シアンのピーク面積が変わります。その結果、正確な定量値が得られないおそれがあります。同様に、クロラミン T 溶液や亜硫酸水素ナトリウム溶液の濃度もピーク面積に影響します。これらが分析に与える影響を検証するため、意図的に調製に用いる溶液の濃度や反応時間などを変更して実験を行いました。

本稿では、塩化シアン標準液を調製する際に用いる塩素化剤の濃度や冷却時間の影響、亜硫酸水素ナトリウムの濃度の影響、標準液の 24 時間経時変化の検証結果についてご紹介します。

A. Morita

■ 標準液の調製方法

従来通りシアン化物イオンと塩化シアンを個別に調製する方法を図 1 に、2020 年 4 月より認められたシアン化物イオンと塩化シアンの混合標準液の調製方法の概要を図 2 に示します。分析条件を表 1 に示します。

告示法の塩化シアン標準液の調製方法は「あらかじめ冷却したリン酸緩衝液 (0.01 mol/L) 約 40 mL をメスフラスコに入れ、次いで次亜塩素酸ナトリウム溶液 (有効塩素 0.05%) 2 mL 又はクロラミン T 溶液 (1.25 w/v%) 0.5 mL を加え、

表 1 分析条件

<Separation>	
Column	: Shim-pack™ Amino-Na (100 mm×6.0 mm I.D., 5 μm)*1
Guard column	: Shim-pack CN(G) (10 mm×6.0 mm I.D., 5 μm)*2
Mobile Phase	: 10 mmol/L Sodium dihydrogen phosphate
Flow Rate	: 0.6 mL/min
Column Temp.	: 40 °C
Injection Vol.	: 100 μL
Vial	: Shimadzu Vials, LC, Polypropylene*3
<Post-column reaction>	
First reaction	
Reagent	: Phosphate buffer containing 1 g/L Chloramine T
Flow Rate	: 0.5 mL/min
Reaction Temp.	: 40 °C
Second reaction	
Reagent	: 28.7 mmol/L 1-Phenyl-3-Methyl-5-Pyrazolone +96.5 mmol/L 4-Pyridinecarboxylate (Na)
Flow Rate	: 0.5 mL/min
Reaction Temp.	: 100 °C
Detection	: UV-VIS detector at 638 nm (Lamp:W)

*1 : P/N 228-18837-91、*2 : P/N 228-18837-93、*3 : P/N 228-31537-91

更にシアン化物イオン標準液 (0.2 mg/L) 50 mL 加えた後、リン酸緩衝液 (0.01 mol/L) を加えて 100 mL とし、1 時間以上冷所で静置し、反応させたもの」と記されています。

一方で、シアン化物イオンと塩化シアンの混合標準液の調製方法は「あらかじめ冷却したリン酸緩衝液 (0.01 mol/L) 約 90 mL をメスフラスコに入れ、次いで次亜塩素酸ナトリウム溶液 (有効塩素 0.05%) 2 mL 又はクロラミン T 溶液 (1.25 w/v%) 0.5 mL を加えて混合し、更にシアン化物イオン標準液 (10 mg/L) 1 mL を加えて混合し、1 時間以上冷所で静置し、反応させた後、亜硫酸水素ナトリウム溶液 (1 w/v%) 0.5 mL を加えて十分に混合し、シアン化物イオン標準液 (10 mg/L) 1 mL を加え、更にリン酸緩衝液 (0.01 mol/L) を加えて 100 mL としたもの」と記されています。

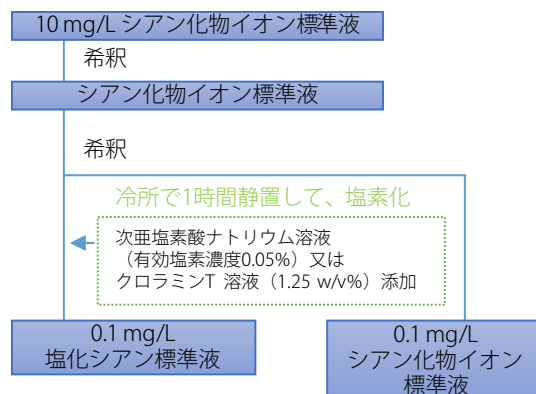


図 1 標準液調製の概要
(シアン化物イオン、塩化シアン標準液を個別調製)

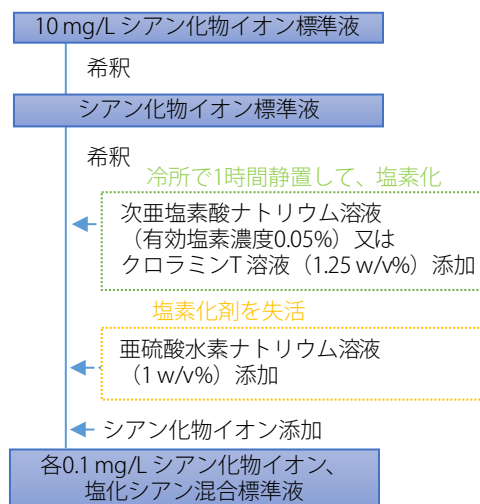


図 2 標準液調製の概要
(シアン化物イオン、塩化シアン混合標準液)

■ (1)次亜塩素酸ナトリウム溶液の有効塩素濃度の影響

塩化シアン標準液の場合

塩化シアン標準液を調製する際に用いる塩素化剤として、次亜塩素酸ナトリウム溶液を用い、その有効塩素濃度を0.01～0.20%に変えて、塩化シアン 0.001 mg/L のピーク面積を比較しました。結果を図3に示します。

次亜塩素酸ナトリウム溶液の有効塩素濃度が高くなるにつれて、塩化シアンのピーク面積がわずかに小さくなる傾向となりました。有効塩素濃度0.20%では、検査方法で規定された濃度である有効塩素濃度0.05%の塩化シアンのピーク面積より約10%ピークが小さくなりました。

図4に有効塩素濃度0.01%、0.05%、0.20%の次亜塩素酸ナトリウム溶液で塩素化した塩化シアン溶液のクロマトグラムを示します。

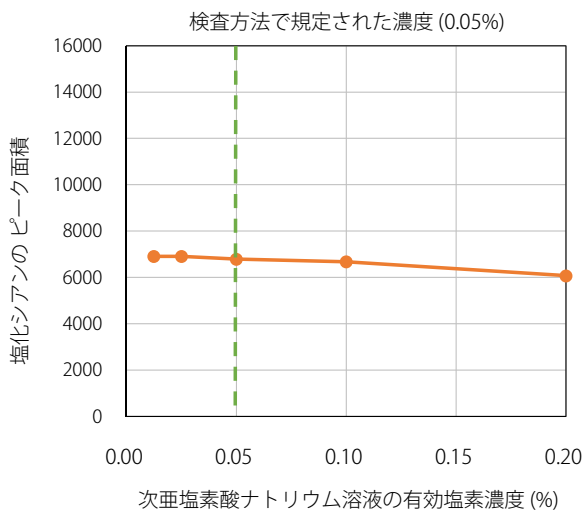


図3 次亜塩素酸ナトリウム溶液の有効塩素濃度と塩化シアン (0.001 mg/L) のピーク面積の変化

■ (2)次亜塩素酸ナトリウム溶液の有効塩素濃度の影響

シアン化物イオン、塩化シアン混合標準液の場合

次亜塩素酸ナトリウム溶液の有効塩素濃度を0.01～0.20%に変えて、シアン化物イオンと塩化シアン混合標準液各0.001 mg/Lのピーク面積を比較しました。結果を図5に、クロマトグラムを図6に示します。

次亜塩素酸ナトリウム溶液の有効塩素濃度が規定の4倍濃度の0.20%の場合、塩化シアンのピークが増加し、シアン化物イオンのピークがほとんど検出されませんでした。次亜塩素酸ナトリウムの有効塩素濃度が高く、亜硫酸水素ナトリウム溶液を加えても塩素化剤が失活せず、後から添加したシアン化物イオンも塩化シアンとして反応したためと考えられます。

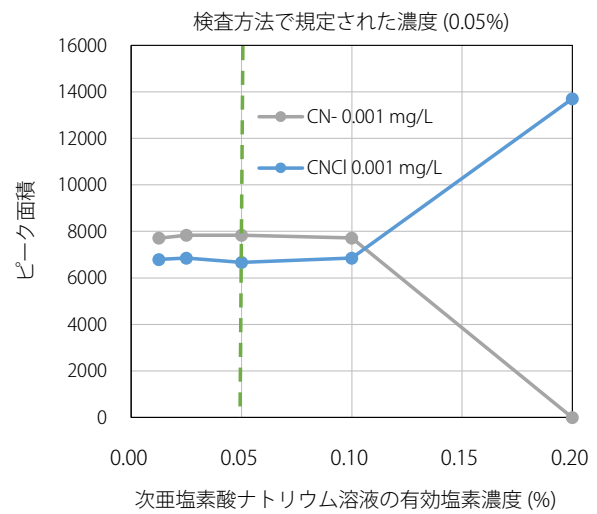


図5 次亜塩素酸ナトリウム溶液の有効塩素濃度とシアン化物イオン、塩化シアン (各0.001 mg/L) のピーク面積の変化

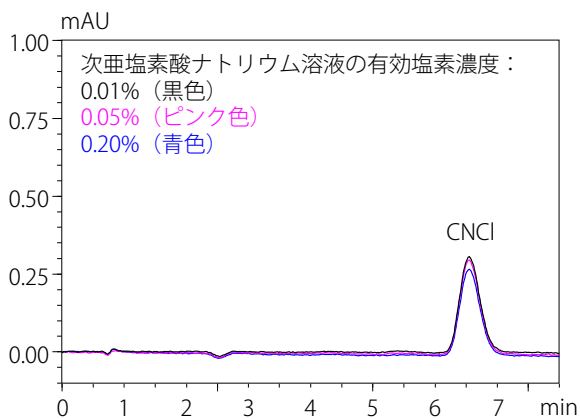


図4 塩化シアン標準液 (0.001 mg/L) のクロマトグラム (次亜塩素酸ナトリウム溶液の有効塩素濃度0.01%、0.05%、0.20%の比較)

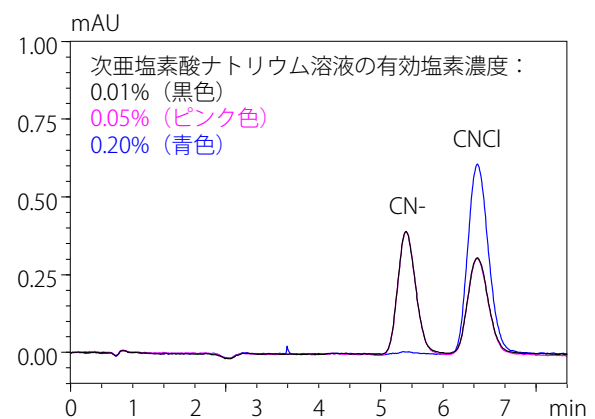


図6 シアン化物イオン、塩化シアン混合標準液 (各0.001 mg/L) のクロマトグラム (次亜塩素酸ナトリウム溶液の有効塩素濃度0.01%、0.05%、0.20%の比較)

■ (3) クロラミンT 溶液濃度の影響 塩化シアン標準液の場合

塩化シアン標準液を調製する際に用いる塩素化剤として、クロラミンT溶液を用い、その濃度を0.31~5.00 w/v%に変えて、塩化シアン0.001 mg/Lのピーク面積を比較しました。結果を図7に、クロラミンT溶液の濃度0.31、1.25、5.00 w/v%のクロマトグラムを図8に示します。

クロラミンT溶液の濃度が高くなるにつれて、わずかに塩化シアンのピークが小さくなる傾向にありました。クロラミンT溶液の濃度5.00 w/v%では、検査方法で規定された濃度である1.25 w/v%より約8%ピーク面積が減少しました。

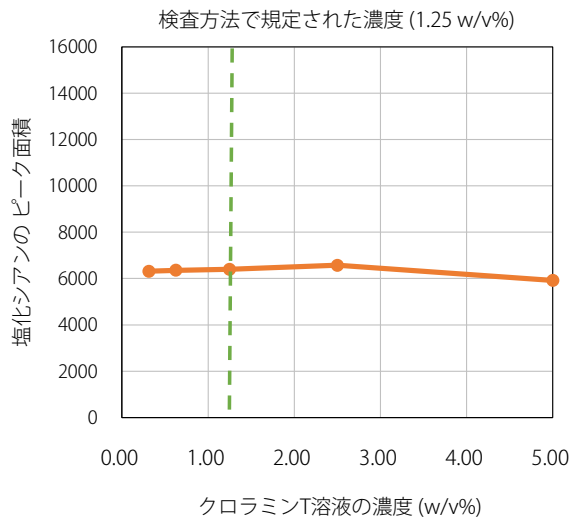


図7 クロラミンT溶液の濃度と塩化シアン (0.001 mg/L) のピーク面積の変化

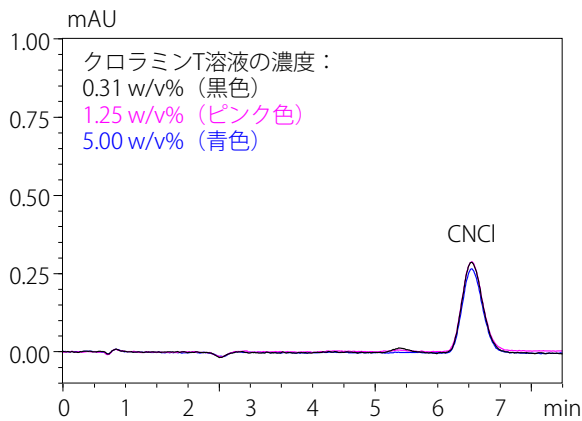


図8 塩化シアン標準液 (0.001 mg/L) のクロマトグラム (クロラミンT溶液の濃度0.31 w/v%、1.25 w/v%、5.00 w/v%の比較)

■ (4) クロラミンT 溶液濃度の影響 シアン化物イオン、塩化シアン混合標準液の場合

クロラミンT溶液の濃度を0.31~5.00 w/v%に変えて、シアン化物イオン、塩化シアン混合標準液各0.001 mg/Lのピーク面積を比較しました。結果を図9に、クロマトグラムを図10に示します。

クロラミンT溶液の濃度が規定の4倍濃度の5.00 w/v%の場合、塩化シアンのピーク面積が増加し、シアン化物イオンのピークが減少しました。この理由は、(2)で示した次亜塩素酸ナトリウム溶液の有効塩素濃度の影響と同様に、亜硫酸水素ナトリウム溶液を加えても完全に塩素化剤が失活せず、あとから添加したシアン化物イオンも塩化シアンとして反応したためと考えられます。

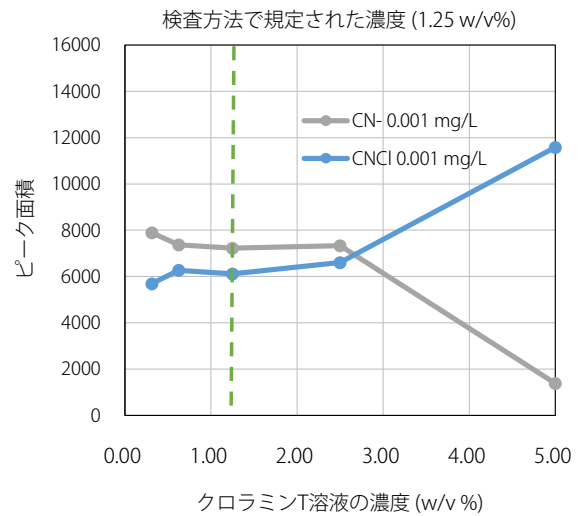


図9 クロラミンT溶液の濃度とシアン化物イオン、塩化シアン (各0.001 mg/L) のピーク面積の変化

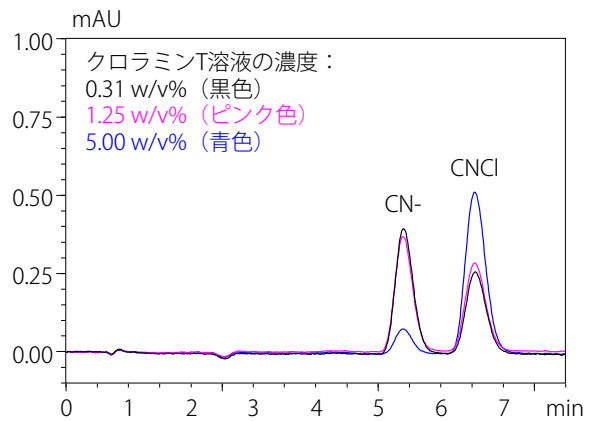


図10 シアン化物イオン、塩化シアン混合標準液 (各0.001 mg/L) のクロマトグラム (クロラミンT溶液の濃度0.31 w/v%、1.25 w/v%、5.00 w/v%の比較)

■ (5) 塩素化冷所静置時間の影響

塩化シアン標準液を調製する際、1時間以上冷所で静置し、塩素化させます。塩素化剤にクロラミンT溶液(1.25 w/v%)を用い、反応時間を60分、120分に変更して測定したクロマトグラムを図11に示します。塩化シアンの濃度は0.001 mg/Lです。冷所で静置するために、庫内の温度は9℃(実測値)の冷蔵庫を用いました。希釈用のりん酸緩衝液(0.01 mol/L)は、冷蔵庫内で半日以上冷却し、調製に用いました。

シアン化物イオン、塩化シアン混合標準液の場合も、塩化シアン標準液を調製する際と同様に、1時間以上冷所で静置し塩素化反応を行います。塩素化剤にクロラミンT溶液(1.25 w/v%)を用い、反応時間を60分、120分に変更して測定しました。クロマトグラムを図12に示します。

いずれの標準液も、60分、120分でシアン化物イオン、塩化シアンのピーク面積は同等でした。

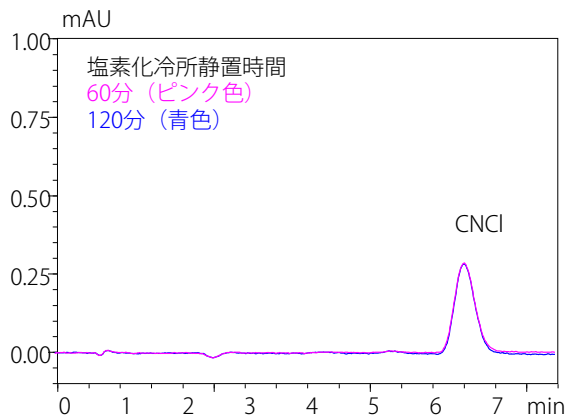


図11 塩化シアン標準液(0.001 mg/L)のクロマトグラム
(塩素化冷所静置時間: 60分、120分の比較
塩素化剤: クロラミンT溶液 1.25 w/v%)

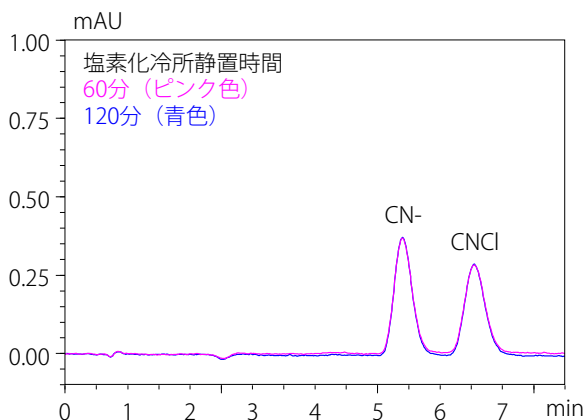


図12 シアン化物イオン、塩化シアン混合標準液(各0.001 mg/L)のクロマトグラム
(塩素化冷所静置時間: 60分、120分の比較
塩素化剤: クロラミンT溶液 1.25 w/v%)

■ (6) 亜硫酸水素ナトリウム溶液濃度の影響

シアン化物イオン、塩化シアン混合標準液を調製する際の亜硫酸水素ナトリウム溶液の濃度の影響について確認しました。検査方法での規定濃度は1 w/v%ですが、ここでは濃度0.25~4 w/v%に変えて、シアン化物イオン、塩化シアン混合標準液各0.001 mg/Lのピーク面積を比較しました。結果を図13、クロマトグラムを図14に示します。塩素化剤にはクロラミンT溶液(1.25 w/v%)、冷所での静置時間は1時間と検査方法通りに調製しました。亜硫酸水素ナトリウム溶液の濃度が規定の1/4濃度の0.25 w/v%の場合、塩化シアンのピークが増加し、シアン化物イオンのピークが減少しました。亜硫酸水素ナトリウム溶液の濃度が低いため、塩素化剤が失活せず、あとから添加したシアン化物イオンも塩化シアンとして反応してしまったためと考えられます。

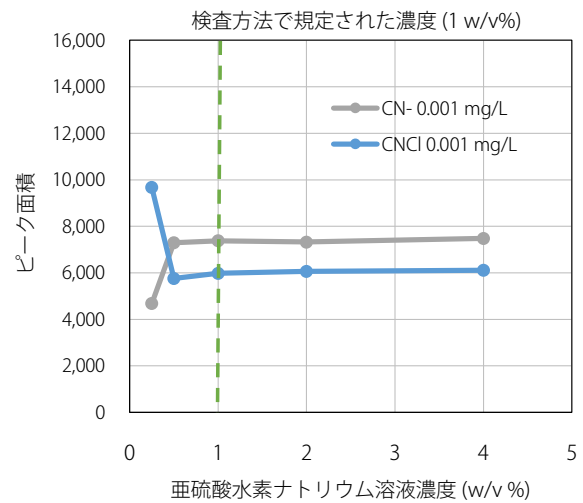


図13 亜硫酸水素ナトリウム溶液濃度とシアン化物イオン、塩化シアン(各0.001 mg/L)のピーク面積の変化

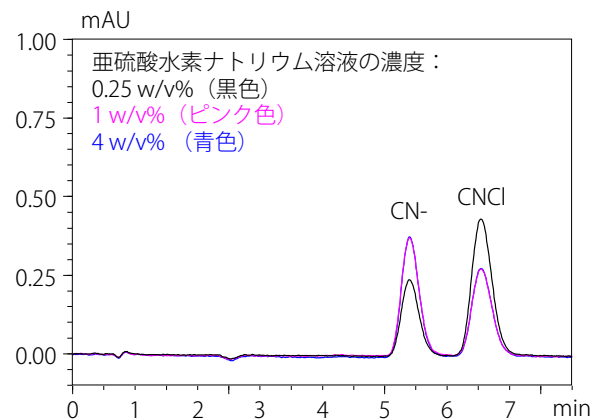


図14 シアン化物イオン、塩化シアン(各0.001 mg/L)ピーク面積のグラフのクロマトグラム
(亜硫酸水素ナトリウム溶液濃度0.25 w/v%、1 w/v%、4 w/v%の比較)

■ (7)標準液の 24 時間経時変化

ここでは、各標準液を調製後、24 時間の間にピーク面積がどのように変化するかを確認した結果を示します。なお、検査方法によると、試料を速やかに試験ができない場合は、冷蔵保存し 24 時間以内に試験を行う必要があります。

調製した標準液は、同じ溶液を 2 つのバイアルに分け、4℃ に保たれたオートサンプラーに設置しました。一方は連続して 1.5 時間ごとに注入し 24 時間の経時変化を確認しました。もう一方は、24 時間の連続分析が終わった後に、分析をしました。

ポリプロピレン製 4 mL 用のバイアル (P/N: 228-31537-91) を用い、各バイアルに溶液を 4 mL ずつ分注しました。

図 15 に試料希釈液として用いたりん酸緩衝液のクロマトグラムを示します。24 時間後にオートサンプラー庫内で別途密閉保管しておいたバイアルでの測定結果を青色で示しました。いずれの場合もシアン化物イオン及び塩化シアンとのピークは確認されませんでした。

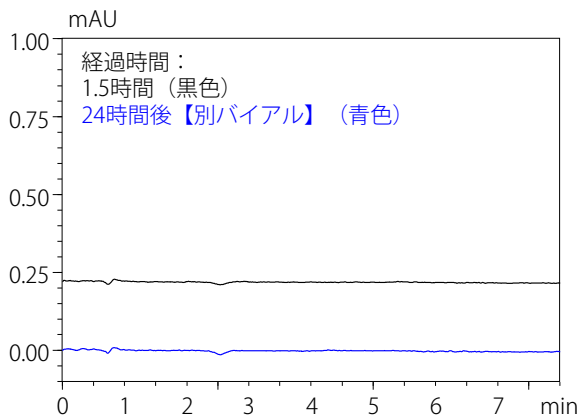


図 15 りん酸緩衝液 (試料希釈液) のクロマトグラム

図 16 に、シアン化物イオン標準液の結果を示します。同一バイアルを 4℃ に保たれたオートサンプラーから 1.5 時間ごとに測定した結果をオレンジ色、24 時間後にオートサンプラー庫内で別途密閉保管しておいたバイアルでの測定結果を青色で示しました。24 時間後のピーク面積は連続注入したバイアルでは 1% 増加、別途密閉保管したバイアルでは変化ありませんでした。

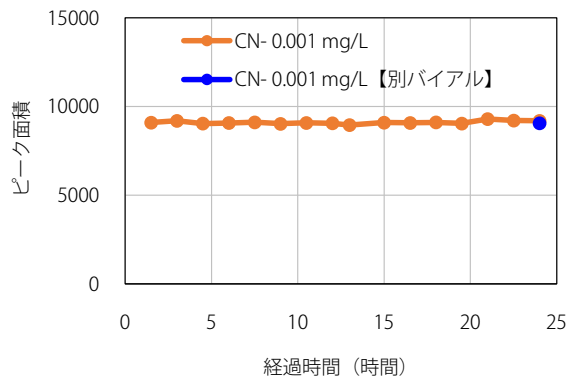


図 16 シアン化物イオン (0.001 mg/L) の 24 時間経時変化

図 17 に次亜塩素酸ナトリウム溶液 (有効塩素濃度 0.05%) で塩素化した塩化シアン標準液の結果、同一バイアルを 4℃ に保たれたオートサンプラーから 1.5 時間ごとに測定した結果をオレンジ色、24 時間後にオートサンプラー庫内で別途密閉保管しておいたバイアルでの測定結果を青色で示しました。24 時間後のピーク面積は連続注入したバイアルでは 7% 減少、別途密閉保管したバイアルでは変化ありませんでした。

図 18 にクロラミン T 溶液 (1.25 w/v%) で塩素化した塩化シアン標準液の結果を示します。24 時間後のピーク面積は連続注入したバイアルでは 5% 減少、別途密閉保管したバイアルでは 3% 増加しました。

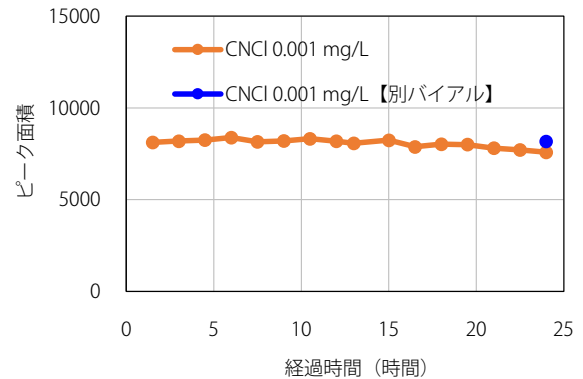


図 17 塩化シアン (0.001 mg/L) の 24 時間経時変化
【次亜塩素酸ナトリウム溶液で塩素化】

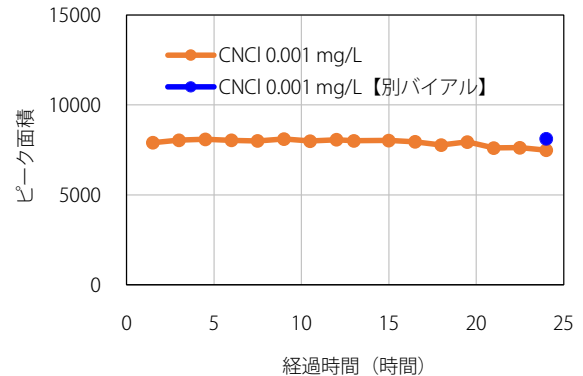


図 18 塩化シアン (0.001 mg/L) の 24 時間経時変化
【クロラミン T 溶液で塩素化】

図19に次亜塩素酸ナトリウム溶液(有効塩素濃度0.05%)で塩素化したシアン化物イオン、塩化シアン混合標準液の結果を示します。同一バイアルを4℃に保たれたオートサンプラから1.5時間ごとに測定した結果を灰色、24時間後にオートサンプラー庫内で別途密閉保管しておいたバイアルでの測定結果を青色で示しました。24時間後のピーク面積は連続注入したバイアルではシアン化物イオンが3%減少、塩化シアンが13%減少しました。別途密閉保存したバイアルではシアン化物イオンが1%減少、塩化シアンが1%増加しました。

図20にクロラミンT溶液(1.25 w/v%)で塩素化した混合標準液の結果を示します。24時間後のピーク面積は連続注入したバイアルではシアン化物イオンが2%減少、塩化シアンが4%減少しました。別途密閉保存したバイアルではシアン化物イオンが2%増加、塩化シアンが1%減少しました。

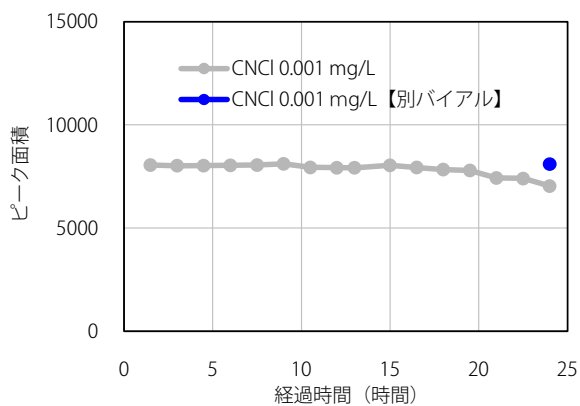
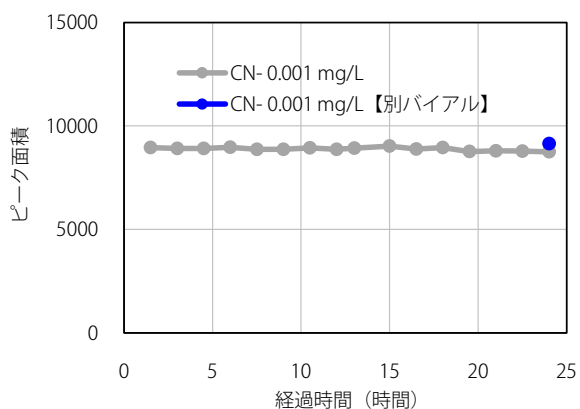


図19 シアン化物イオン、塩化シアン混合標準液(各0.001 mg/L)の24時間経時変化【次亜塩素酸ナトリウム溶液で塩素化】

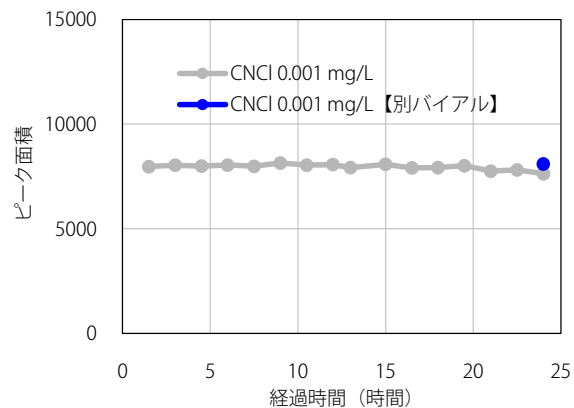
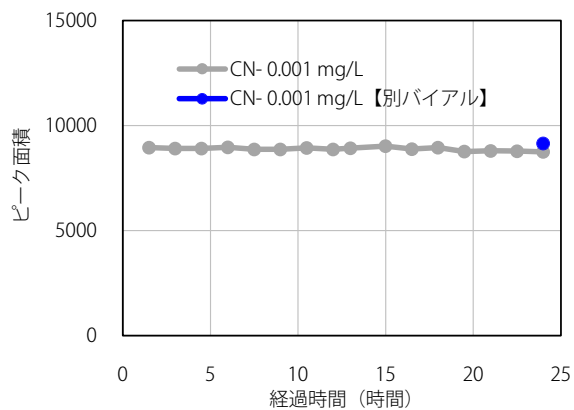


図20 シアン化物イオン、塩化シアン混合標準液(各0.001 mg/L)の24時間経時変化【クロラミンT溶液で塩素化】

表 2~5 に調製直後のピーク面積と、連続して 24 時間分析した後の各ピーク面積および 24 時間後に別バイアルに密閉保管していた標準液を分析したピーク面積の減少率をまとめた結果を示します。密閉保管したバイアルでは、24 時間後のピーク面積の増減はほとんどなかったことから、注入時にセブタムに開いたわずかな穴からシアン化物イオンや塩化シアンや揮発し、ピーク面積が減少することが推測されます。また、標準液の濃度が濃いほど、減少率は大きい傾向にあることが分かりました。

表 2 シアン化物イオン 0.001 mg/L のピーク面積の変化

標準液の種類	塩素化方法	24 時間経過後のピーク面積比率(%)*1	24 時間経過後のピーク面積比率(%)*1 【別バイアル】
個別調製	--	101	100
混合標準液	次亜塩素酸ナトリウム溶液	97	99
混合標準液	クロラミン T 溶液	98	102

表 3 塩化シアン 0.001 mg/L のピーク面積の変化

標準液の種類	塩素化方法	24 時間経過後のピーク面積比率(%)*1	24 時間経過後のピーク面積比率(%)*1 【別バイアル】
個別調製	次亜塩素酸ナトリウム溶液	93	100
個別調製	クロラミン T 溶液	95	103
混合標準液	次亜塩素酸ナトリウム溶液	87	101
混合標準液	クロラミン T 溶液	96	101

表 4 シアン化物イオン 0.01 mg/L のピーク面積の変化

標準液の種類	塩素化方法	24 時間経過後のピーク面積比率(%)*1	24 時間経過後のピーク面積比率(%)*1 【別バイアル】
個別調製	--	94	100
混合標準液	次亜塩素酸ナトリウム溶液	94	100
混合標準液	クロラミン T 溶液	94	99

表 5 塩化シアン 0.01 mg/L のピーク面積の変化

標準液の種類	塩素化方法	24 時間経過後のピーク面積比率(%)*1	24 時間経過後のピーク面積比率(%)*1 【別バイアル】
個別調製	次亜塩素酸ナトリウム溶液	94	98
個別調製	クロラミン T 溶液	81	100
混合標準液	次亜塩素酸ナトリウム溶液	84	97
混合標準液	クロラミン T 溶液	83	100

*1：調製直後のピーク面積を 100%とした場合の比率を示します。

■ まとめ

本稿では、水質基準に関する省令の規定に基づき厚生労働大臣が定める方法の別表第 12 に規定されているイオンクロマトグラフポストアラム吸光光度法を基に、意図的に調製に用いる溶液の濃度や反応時間を変更し、その影響を確認しました。塩化シアン標準液を調製する際に用いる塩素化剤の濃度や冷却時間の影響、亜硫酸水素ナトリウムの濃度の影響について報告しました。また、標準液の 24 時間経時変化の検証結果についても報告しました。

- ◆次亜塩素酸ナトリウム溶液の有効塩素濃度は、0.01～0.20%の範囲で、有効塩素濃度が高くなるにつれて塩化シアンのピークは小さくなりました。混合標準液では、規定の 4 倍濃度の 0.20%の場合、塩化シアンのピークが増加し、シアン化物イオンのピークがほとんど検出されませんでした。次亜塩素酸ナトリウムの有効塩素濃度が高く、亜硫酸水素ナトリウム溶液を加えても塩素化剤が失活せず、あとから添加したシアン化物イオンも塩化シアンとして反応したためと考えられます。
- ◆クロラミン T 溶液の濃度の影響についても、次亜塩素酸ナトリウムの有効塩素濃度の影響と同様の傾向を示しました。
- ◆塩素化冷却静置時間を 60 分、120 分間の 2 条件でピーク面積変化の比較を行いました。個別で調製した場合、混合標準液の場合いずれも塩化シアンのピーク面積はほとんど変化がなく、一定であることが分かりました。
- ◆亜硫酸水素ナトリウム溶液の濃度が規定の 1/4 濃度の 0.25 w/v%の場合、塩化シアンのピークが増加し、シアン化物イオンのピークが減少しました。亜硫酸水素ナトリウム溶液の濃度が低いと、塩素化剤が失活せず、あとから添加したシアン化物イオンも塩化シアンとして反応してしまうと考えられます。
- ◆オートサンプラーの庫内に冷却した状態で保管し標準液の 24 時間経時変化を確認しました。密閉されたバイアル内であれば、いずれの標準液の調製方法でもシアン化物イオンと塩化シアンのピーク面積はほとんど変化がないことが分かりました。

Shim-pack は、株式会社 島津製作所の日本およびその他の国における商標です。

株式会社 島津製作所

分析計測事業部
グローバルアプリケーション開発センター

初版発行：2020 年 7 月

島津コールセンター ☎ 0120-131691
(075) 813-1691

※本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。
改訂版は下記の会員制 Web Solutions Navigator で閲覧できます。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>

会員制情報サービス「Shim-Solutions Club」にご登録ください。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/>

会員制 Web の閲覧だけでなく、いろいろな情報サービスが受けられます。