報 文

溶媒可溶性メンブランフィルターを用いる水中の
微量チウラムの前濃縮/吸光光度定量田 口 茂[®]*, 柿沼 篤志*, 夏 敏*, 笠原 一世*Preconcentration with a solvent-soluble membrane filter and
a spectrophotometric determination of trace thiuram in water

Shigeru TAGUCHI, Atsushi KAKINUMA, Xia MIN and Issei KASAHARA*

*Faculty of Science, Toyama University, Gofuku 3190, Toyama-shi, Toyama 930

(Received 29 July 1996, Accepted 2 November 1996)

A simple and rapid preconcentration and spectrophotometric method was proposed for the determination of trace thiuram in water using a solvent-soluble membrane filter. Less than 80 μg of thiuram in 500 cm^3 of a sample solution acidified with sulfuric acid was converted into a light-yellow complex in the presence of a large excess of copper (II) and ascorbic acid at pH 6. The complex was retained rapidly and quantitatively on a cellulose nitrate membrane filter by filtration under suction. The filter was quickly dried with a hair dryer and dissolved in 3 cm^3 of 2-methoxyethanol which contained a small volume of concentrated sulfuric acid. The solution was heated with a hot-water bath for about 30 s. The color of the complex became deep-yellow showing an absorption maximum at 390 nm. The absorbance of the solution was measured at the absorption maximum against a reagent blank. Beer's relationship was obeyed over the concentration range from 50 to 160 $\mu\text{g dm}^{-3}$ of thiuram. The detection limit was 1 $\mu\text{g dm}^{-3}$ for three-times the standard deviation of the blank basis. High concentrations of Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ , K^+ , Al^{3+} , Cl^- , SO_4^{2-} and NO_3^- , and sub-mg dm^{-3} levels of Fe^{3+} did not interfere with the determination. The recoveries of thiuram added to river water and ground water were satisfactory.

Keywords : thiuram; spectrophotometry; solvent-soluble membrane filter; preconcentration; solid-phase extraction with membrane.

1 緒 言

チウラムは農場やゴルフ場などで広く用いられているチオカーバメイト系の殺菌剤であり、我が国の環境水や水道水の水質基準は 6 $\mu\text{g dm}^{-3}$ と定められている¹⁾²⁾。チウラムの定量は固相抽出による分離濃縮の後に HPLC で検出する方法が広く用いられている^{1)~3)}。しかし、HPLC による検出の前に 500 倍の濃縮が必要で

あり、このために長時間を費やすのが欠点である。この対策としてオンラインで固相抽出による濃縮と、HPLC による分離定量を連続で行う方法が提案されている⁴⁾⁵⁾。又、固相抽出/HPLC 法を環境水に応用したときに、ODS を固定相とする HPLC において、チウラムの保持時間の位置にはかのきょう雑物による不明のピークが多数現れることが報告されており⁶⁾⁷⁾、これに対しては捕集後の固相カラムの洗浄⁷⁾やホットダイオードアレイによる検出⁸⁾⁹⁾などの改良が報告されている。又、シアノブ

* 富山大学理学部: 930 富山県富山市五福 3190

ロピルシリカゲルを充てんしたカラムを用いる HPLC も提案されているが、実試料への応用はまだ少ない¹⁰⁾。一方、チウラムが分解して二硫化炭素を放出することを利用して、GC と組み合わせた定量法が提案されている¹¹⁾。吸光光度法では、チウラムをクロム錯体として 4-メチル-2-ペンタノン (MIBK) に抽出して波長 420 nm で測定する方法が提案されているが、感度が低い¹²⁾。又、ジチオカーバメイトの分解で生成する二硫化炭素を銅とジエタノールアミンの混合溶液に吸収させ、生成した黄色の錯体の紫外外部吸収を測定するカーバメイトの定量法が提案されている¹³⁾。著者らは溶媒可溶性のメンブランフィルター (MF) を用いる微量成分の濃縮/定量法の開発を行っているが¹⁴⁾¹⁵⁾、今回、チウラムの迅速で簡便な濃縮/吸光光度法の開発に応用した。予備実験において、チウラムにアスコルビン酸と大過剰の銅(II) を反応させると淡黄色の錯体を形成し、この溶液を硝酸セルロース製の MF に通すと、錯体が完全に捕集されることを見いだした。更に、このフィルターを 2-メトキシエタノールに溶解すると、錯体による発色が著しく強められ、数十 $\mu\text{g dm}^{-3}$ レベルのチウラムの定量に応用できることが分かった。詳細な定量条件を検討し、河川水への添加回収実験を行った結果を報告する。

2 実 験

2・1 試 薬

チウラム標準溶液 (0.1% w/v): 和光純薬製残留農薬用をアセトニトリルに溶解した。この溶液は調製後、直ちに冷凍庫中に保存する。保存期間を 90 日とする。使用に当たってはアセトニトリルで適宜希釈した。クエン酸二アンモニウム溶液 (25% w/v): 和光純薬製特級を水に溶解した。硫酸銅溶液 (0.04 mol dm^{-3}): 和光純薬製特級硫酸銅五水和物を水に溶解した。アスコルビン酸溶液 (10% w/v): 和光純薬製特級 L-アスコルビン酸を水に溶解した。使用時調製した。硫酸: 和光純薬製特級硫酸をそのまま用いた。2-メトキシエタノール: 和光純薬製特級品をそのまま用いた。

そのほか、金属イオンの水溶液は和光純薬特級の硫酸塩や硝酸塩をそのまま酸を含む水に溶解して調製した。水は再蒸留水を用いた。

2・2 装 置

吸引濾過装置: アドバンテック東洋製 KG-47 型, メンブランフィルター: アドバンテック東洋製硝酸セルロース製, 孔径 $0.45 \mu\text{m}$, 直径 47 mm, 分光光度計: 日

立製作所製 U-2000 型, 1 cm セルを使用, pH メーター: 堀場製作所製 D-12 型

2・3 確立した定量操作

80 μg 以下のチウラムを含む pH 2 の硫酸酸性の試料溶液 (濁った試料はあらかじめ孔径 $0.45 \mu\text{m}$ の MF で濾過する) 500 cm^3 にクエン酸二アンモニウム溶液 10 cm^3 , アスコルビン酸溶液 10 cm^3 , 硫酸銅溶液 5 cm^3 を順次加える。水酸化ナトリウム溶液で溶液の pH を約 6 に調節する。20 分以内に吸引濾過によって溶液をフィルターに通す。10 cm^3 の水で洗浄の後、ヘアドライヤーでフィルターを乾燥し、 18 mol dm^{-3} の硫酸 40 μl を含む 2-メトキシエタノール 3 cm^3 に溶解する。水浴で約 30 秒間軽く振り混ぜながら加熱後、5 分以上放冷し、波長 390 nm で試薬空試験液を対照として吸光度を測定する。

3 結果と考察

3・1 諸条件の検討結果

3・1・1 銅錯体の生成条件 アスコルビン酸の添加量: アスコルビン酸の添加なしではほとんど発色しなかった。100 $\mu\text{g dm}^{-3}$ のチウラムに対して、10% w/v のアスコルビン酸溶液、5~20 cm^3 の添加で一定の吸光度が得られたので 10 cm^3 加えた。20 cm^3 以上の添加では添加量の増加とともに徐々に吸光度は減少した。硫酸銅の添加量: 銅イオンの添加量が少ない場合、10 $\mu\text{g dm}^{-3}$ 以下でチウラムの回収率が 35~60% と低かった。0.04 mol dm^{-3} の硫酸銅を 5 cm^3 加えることによって、低濃度での回収率が向上した。pH の影響: pH の影響を Fig. 1 に示す。pH 2~5 にわたって緩やかな吸光度の増加が見られ pH 5.5~8 の範囲で一定の吸光度が得られた。pH 8 以上では、水酸化銅の沈殿が生成した。本法では約 pH 6 で錯体を形成させることにした。pH 調節には、鉄(III) のマスクング剤として加えたクエン酸二アンモニウムの緩衝作用を利用した。つまり、クエン酸二アンモニウムを含む硫酸酸性の試料水に、水酸化ナトリウム溶液を加えて pH を調節した。クエン酸二アンモニウムの影響: クエン酸二アンモニウムは鉄(III) のマスクングと pH 調節のほかに、大過剰にある銅イオンが水酸化物として沈殿することを防いでいる。クエン酸二アンモニウムを添加しない場合、pH 5 付近から水酸化銅が沈殿する。

3・1・2 濾過前の放置時間 pH 調節後、濾過による錯体捕集までの放置時間の影響を調べた。その結果を Fig. 2 に示す。明らかに 20 分間までは一定の吸光度を

Fig. 1 Effect of pH on the formation of complex
a: reagent blank vs solvent; b: thiuram $100 \mu\text{g dm}^{-3}$ vs. reagent blank

Fig. 2 Effect of the time before filtration
Thiuram $100 \mu\text{g dm}^{-3}$ vs. reagent blank

与えるが、それ以降は徐々に吸光度が減少する。この減少の理由は明らかでない。pH 調節後 20 分以内に汙過すると良い。汉過は 3 分以内に終了する。

3・1・3 溶解前のフィルターの乾燥及び濃縮液の加熱の影響 これまでの MF 法では、汉過後の湿った状

Fig. 3 Effect of drying of filter before dissolution and of heating the concentrate

a: with drying filter before dissolution, with heating the concentrate; b: with drying filter before dissolution, without heating the concentrate; c: without drying filter before dissolution, without heating the concentrate, thiuram $100 \mu\text{g dm}^{-3}$ vs. reagent blank

態でフィルターを 2-メトキシエタノールに溶解して、十分精度の良い結果が得られた¹⁵⁾。本法でも、湿った状態で溶解したところ、時間の経過とともに吸光度がわずかに減少する傾向が見られた。そこで、溶解前にヘアドライヤーで乾燥したところ、Fig. 3 に示すように乾燥しない場合と比べて吸光度が向上し、溶解後の安定性も優れていた。又、乾燥しておくとも直ちに溶解しなくても、例えば 3 日後に溶解しても同じ吸光度が得られた。ヘアドライヤーでなく遠心分離機で脱水しても同様の結果が得られたので、この場合、ヘアドライヤーによる加熱の効果はなく、単に脱水することが大切であると考えられる。又、溶解後の溶液を水浴で加熱すると、速やかに一定の吸光度に達し、放冷後も Fig. 3 に示すように長時間安定である。

3・1・4 溶媒の選択と吸光度の安定性 この方法ではフィルターを溶解する溶媒の選択が重要である。可溶性フィルター法でよく用いられているジメチルホルムアミド (DMF) やジメチルスルホキシド (DMSO)、2-メトキシエタノールについて調べた。まず、純溶媒にフィルターごと捕集物を溶解したとき、DMF と 2-メトキシエタノールでは安定した高い吸光度が得られた。しかし、捕集前の pH を変えて、これらの溶媒に溶解した

Fig. 4 Effect of solvent on the stability of absorbance

a: 2-methoxyethanol at 390 nm; b: DMF at 414 nm; c: DMSO at 395 nm, Each 3 cm³ of solvent contains 40 μ l of conc. sulfuric acid. Reference: reagent blank

とき、酸性側では pH が高くなるにつれて吸光度が増加し、中性付近から減少し、一定の吸光度を与える pH を見いだせなかった。2-メトキシエタノールに少量の濃硫酸を加えた溶液では、Fig. 1 で示したように pH 5.5 以上で一定の吸光度が得られる。おそらく pH によって捕集物の化学形が異なり、その影響が溶媒の性質によって現れたと推測されるが、詳細は不明である。Fig. 4 には上記 3 種類の溶媒 (3 cm³) に濃硫酸 (40 μ l) を加えた溶液に捕集物をフィルターごと溶解したときの吸光度の経時変化を示した。図中、b, c に示したように、DMF や DMSO 中では吸光度は徐々に減少する。2-メトキシエタノール中では、a に示したように吸光度は高く、又経時変化はほとんど見られない。この硫酸と 2-メトキシエタノールの混合溶液中における吸収スペクトルを Fig. 5 に示す。390 nm に吸収極大があるので、この波長で測定した。

3・2 精度と検出限界

検量線は 50~160 μ g dm⁻³ の範囲で良好な直線となった。水質基準である 6 μ g dm⁻³ の濃度では相対標準偏差 (RSD) は 9.6% であり、又 80 μ g dm⁻³ のときと比べて捕集率は 80% であった。20 μ g dm⁻³ では RSD は 4.1%, 同じく捕集率は 86% であった。50~160 μ g dm⁻³ の範囲では RSD は 3% 以下であり、捕集率は

Fig. 5 Absorption spectra

a: reagent blank vs. solvent; b: 100 μ g dm⁻³ thiuram vs. solvent; c: 100 μ g dm⁻³ thiuram vs. reagent blank

95% 以上であった。空試験の標準偏差の 3 倍の濃度を検出限界とすると、本法では 1 μ g dm⁻³ となった。

3・3 共存成分の影響

100 μ g dm⁻³ のチウラムの定量に及ぼす、河川水中の主要成分及び鉄、アルミニウムの影響を調べた。Ca²⁺ (15), Mg²⁺ (5), Na⁺ (18), K⁺ (5), Fe³⁺ (0.5), Al³⁺ (3.5), Cl⁻ (28), NO₃⁻ (7 mg dm⁻³) は著しい影響を与えない。又、試料の pH 調節や硫酸銅の添加によって、大過剰の硫酸イオンが共存しており、試料から入る硫酸イオンの影響は無視できる。

3・4 環境水への添加回収実験

富山県内の幾つかの環境水の分析に本法を応用したが、チウラムは検出されなかった。そこで、試料水 (2 種類の河川水, 地下水, 沿岸海水) にチウラムの標準溶液を添加し、孔径 0.45 μ m の MF で濾過の後、本法の定量操作を行い回収率を求めた。その結果、河川水については二つの試料とも、6 μ g dm⁻³ では検量線と比べて 68, 80% と低かったが、20 μ g dm⁻³ では 88, 90%, 又 100, 160 μ g dm⁻³ では 98~102% と良好であった。地下水についてもほぼ同様で、6 μ g dm⁻³ では 85% とやや低く、50 μ g dm⁻³ 以上では 94~97% の回収率であった。海水では 50 μ g dm⁻³ 以上でも 60~75% の回

収率しか得られなかった。そこで、 0.5 mol dm^{-3} の食塩水にチウラムを添加して回収率を求めたところ、ほぼ同様の低い回収率となった。このときの 2-メトキシエタノール中での吸収スペクトルを測定したところ、吸収極大波長は 420 nm であり、高濃度の食塩なしのときとは明らかに異なっていた。海水への適用については、今後、更に検討の必要がある。

3・5 捕集された化学種

本法では、まずチウラムが分解してジメチルジチオカルバミン酸イオンが生成し、次いでこれが銅イオンと反応し、最終的にはビス[ジメチルジチオカルバミン酸]銅 (I あるいは II) が生成することが予想される。そこで、このことを確かめるために、チウラムの代わりにジメチルジチオカルバミン酸ナトリウムを添加して、本法の操作を行ったところ、同じ吸収スペクトルが得られた。但し、この場合もアスコルビン酸の添加なしでは発色は見られなかった。銅が還元されて一価となっているとすれば錯体はマイナスの荷電を有していることが予想される。この場合、錯体はイオン対として MF に捕集されていることになる。銅の価数あるいは対イオンが何なのかは現在、検討中である。

この濃縮/吸光光度法は、 $\mu\text{g dm}^{-3}$ レベルのチウラムの定量にはやや感度不足であるが、操作が迅速、簡便なので、数十 $\mu\text{g dm}^{-3}$ レベルのチウラムのスクリーニン

グ法として有効であると考ええる。又、バックグラウンドレベルが高い状況で得られた HPLC の結果をチェックする方法としても期待できる。捕集物の化学形がまだ明らかでないので、今後の検討が必要である。

文 献

- 1) 厚生省令第 69 号, 1992 年 12 月 21 日.
- 2) 環境庁告示第 16 号, 1993 年 3 月 8 日.
- 3) 土屋悦輝: ふんせき (*Bunseki*), **1994**, 373.
- 4) 大戸幹也, 山本 敦, 松永明信, 水上英一: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **43**, 71 (1994).
- 5) 小玉修嗣, 松永明信, 大戸幹也, 山本 敦, 水上英一: 環境化学, **5** (1), 81 (1995).
- 6) 榎 泰博, 佐藤鋭一: 用水と廃水, **34** (12), 41 (1992).
- 7) 古谷 博, 下田秀美, 山口信夫: 水道協会雑誌, **60** (11), 21 (1991).
- 8) 伊藤伸一, 節田節子, 内藤昭治: 水道協会雑誌, **63** (5), 22 (1994).
- 9) 土屋悦輝: 工業用水, No. 433, 15 (1994).
- 10) 上森仁志, 吉田貴三子, 福本昌巳, 近藤孝一, 松浦脩治: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **44**, 44 (1995).
- 11) 桂 英二, 小川 広, 兼俊明夫, 金島弘恭: 北海道衛生研究所報告, 第 40 集, 83 (1990).
- 12) A. L. J. Rao, A. K. Malik: *J. Indian Chem. Soc.*, **67**, 615 (1990).
- 13) T. E. Cullen: *Anal. Chem.*, **36**, 221 (1964).
- 14) 田口 茂, 糸岡栄幸, 後藤克己: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **33**, 453 (1984).
- 15) 田口 茂, 笠原一世, 波多宣子: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **44**, 505 (1995).

要 旨

溶媒可溶性 MF を用いる、水中の微量チウラムの迅速で、簡便な濃縮/吸光光度定量法を開発した。チウラムを含む試料水 500 cm^3 にアスコルビン酸、銅イオンを加え、pH を 6 に調整すると、淡黄色の錯体が生成する。この錯体を含む溶液を硝酸セルロース製の MF を通すと、錯体が捕集される。フィルターを乾燥させて、捕集物をフィルターごと少量の濃硫酸を含む、 3 cm^3 の 2-メトキシエタノールに溶解させると強い黄色を示す。この溶液の吸光度を 390 nm で測定する。50~160 $\mu\text{g dm}^{-3}$ の範囲で検量線は良好な直線となる。試薬空試験の標準偏差の 3 倍を検出限界とした値は $1 \mu\text{g dm}^{-3}$ であった。河川中の主成分や鉄、アルミニウムは妨害しない。河川水、地下水へのチウラムの添加回収結果は良好であった。