技術論文

溶媒抽出/水素化物生成/原子吸光法による飲料水中の
セレン(IV)及びセレン(VI)の分別定量玉利 祐三^{®*}, 小椋 広道^{*}Determination of selenium(IV) and selenium(VI) in drinking water
by hydride generation-AAS with solvent extractionYuzo TAMARI and Hiromichi OGURA^{*}^{*}Konan University, 8-9-1, Okamoto, Higashinada-ku, Kobe-shi, Hyogo 658

(Received 5 February 1997, Accepted 10 April 1997)

Selenium(IV) was determined by hydride generation-AAS after extracting the complex (4,5-benzopiazselenol) of selenium(IV)-DAN (2,3-diaminonaphthalene) from 500 ml of water into 50 ml of cyclohexane, decomposing the organic phase by nitric-perchloric acids, and then reducing all of the selenium to selenium(IV) with hydrochloric acid. For the determination of both selenium(IV) and selenium(VI) the sample solution was treated by boiling for 90 min to reduce the selenium(VI) to selenium(IV) after 25 ml of hydrochloric acid and 8 g of potassium bromide were added to the water sample. The amounts of selenium(VI) could be calculated by subtracting the amounts of selenium(IV) from the total of selenium(IV) and selenium(VI). This method was applied to tap water and 28 brands of commercially available mineral water; the results included analytical data for 11 ppt and below for selenium(IV) and 12~96 ppt for selenium(VI), except for the highest selenium(VI) value of 494 ppt.

Keywords: selenium(IV) and selenium(VI); hydride generation-AAS; drinking water; potassium bromide reduction; extraction with 2,3-diaminonaphthalene.

1 緒 言

セレンがビタミン E 欠乏ラットの肝壊死の予防に有効であり、ほ乳動物に対して必須であることが Schwarz らによって 1957 年に初めて指摘¹⁾され、1973 年にはセレンが生体内の酵素グルタチオンペルオキシダーゼの構成成分であり、酵素活性発現にセレンが不可欠であることが Rotruck ら²⁾によって見いだされた。生体内でセレンが欠乏すれば、中国の克山病 (Keshan 病) に見られ

たように、小児のうっ血性心不全等の心筋症^{3)~5)}が主病変として現れ、逆にセレンを過剰摂取すれば脱毛と爪の脱落、運動失調、呼吸困難、その他神経症状⁵⁾⁶⁾が生じるとの報告がある。

飲料水、特に水道水は長年にわたり継続的に摂取するものであり、そのため水道水中のセレンについては、このように安全性を十分に考慮し、人の健康に影響が生じない水準を基にして決めなければならない。このような理由から、これまでの水質基準が見直され、水道法に基づく新たな水道水水質基準 (1992 年厚生省令 69 号) が 1993 年 12 月に施行された。この新省令では、セレンが

^{*} 甲南大学理学部: 658 兵庫県神戸市東灘区岡本 8-9-1

新たに規制項目に加えられ、セレンは 0.01 mg/l 以下、すなわち 10 ppb 以下の基準値⁷⁾⁸⁾が設定され、検査方法についても、セレンは水素化物生成/原子吸光法等によることとされている。

一般に数 ppb から ppt レベルのセレンを正確に直接定量することは困難であるため、鉄⁹⁾¹⁰⁾、ジルコニウム¹¹⁾¹²⁾、トリウム¹³⁾及びランタン¹⁴⁾¹⁵⁾の水酸化物によるセレンの共沈濃縮法が用いられてきた。又、地下水中のセレンが溶媒抽出/蛍光光度法¹⁶⁾により定量された。一般に共沈法は、溶媒抽出法に比べ分析処理に時間を要し、共沈担体中の不純物セレンが問題となることから、本研究では溶媒抽出法について検討した。生体に対するセレンの吸収・毒性は、セレン(IV)とセレン(VI)とは異なり³⁾¹⁷⁾、例えばラットに亜セレン酸ナトリウムを腹腔(腔)内注射により投与したときの最小致死量は 3.3~3.5 mgSe/kg 体重であるのに対し、セレン酸ナトリウムの場合には 5.5~5.8 mgSe/kg 体重と報告¹⁸⁾されている。又、動物体内に摂取されたセレン酸は亜セレン酸に還元され、亜セレン酸はグルタチオン・グルタチオンレダクターゼ系によりセレナイドとなり、メチル化されて排せつされるとの報告¹⁹⁾がある。従って本研究では、全無機セレンの定量法の確立とともに生体に対する毒性等を考慮してセレンの酸化状態別分析の検討を行った。本法では、水試料中のセレン(VI)を臭化カリウムによりセレン(IV)に還元する方法¹⁶⁾²⁰⁾を適用し、一般にセレン(IV)の定量に多用されている蛍光試薬 2,3-ジアミノナフタレン(DAN と略記)を分離・濃縮試薬として用い、セレン(IV)を溶媒抽出して定量した。

2 実 験

2・1 試 薬

水：原水をイオン交換樹脂次いで活性炭カラムで処理し、更に石英製蒸留器で 2 回蒸留したものを実験に用いた。

セレン(IV)標準溶液：金属セレン(和光純薬製、純度 99.999%) 0.1 g を硝酸(61%) 2 ml 及び過塩素酸(60%) 2 ml に溶解し、ホットプレート上で加熱溶解し、過塩素酸白煙が生じてから数分間、乾固しないように加熱濃縮した後、セレン(VI)をセレン(IV)に還元するために 11 mol/l 塩酸 5 ml を加えて 3 分間煮沸した。冷却後、水を加えて 100 ml とした(1000 ppm 保存溶液)。

セレン(VI)標準溶液：セレン酸ナトリウム(和光純薬製、純度 97%) 0.2393 g を水に溶解後、硝酸 0.5 ml を加え、水を加えて 100 ml とした(1000 ppm 保存溶

液)。

テトラヒドロホウ酸ナトリウム(0.75 w/v%)溶液：テトラヒドロホウ酸ナトリウム(和光純薬製) 3.75 g 及び水酸化ナトリウム 0.5 g を水に溶解し 500 ml とした。なお、この溶液は実験の直前に調製した。

EDTA-フッ化ナトリウム(0.2 mol/l)溶液：EDTA 二ナトリウム塩(同仁化学製) 74.5 g 及びフッ化ナトリウム(和光純薬製) 8.4 g を水に溶解し、1000 ml とした。

2,3-ジアミノナフタレン(DAN)(0.1 w/v%)溶液：DAN(Aldrich 製) 0.5 g 及び塩酸ヒドロキシルアミン 2.5 g を 0.1 mol/l 塩酸約 450 ml に加温溶解(ホットプレート上約 50°C で 20 分間)する。水冷後、塩析剤として無水酢酸ナトリウム 10 g を加え溶解し、6 mol/l 塩酸及び飽和酢酸ナトリウム溶液で溶液の pH を 1 とした後、水を加えて 500 ml とした。溶液全容を分液漏斗に移し、シクロヘキサン(和光純薬製)約 200 ml を加え 3 分間振り混ぜ不純物を有機相に抽出除去する。この抽出操作を更に 2 回繰り返して DAN 溶液の精製²³⁾²⁴⁾を行う。精製した DAN 溶液は冷凍庫内で保存し、実験直前に加温溶解(50°C 以内)し、室温まで冷却したものを実験に用いた。

塩酸、硝酸、過塩素酸は、すべて精密分析用試薬(和光純薬製)を、臭化カリウムは特級試薬(和光純薬製)を、その他の試薬に関してはすべて特級試薬を用いた。

2・2 装 置

原子吸光分光光度計(日立製作所製 Z-6100 型)及び加熱石英セル付属水素化物発生装置(日立製作所製 HFS-2 型)を用いた。両装置の流路図の概略は既報²¹⁾のとおりである。本実験での最適測定条件を Table 1 に示す。但し、測定溶液及びキャリアー塩酸溶液は共に 3.6 mol/l 塩酸溶液を用いた。この測定条件の下では試料溶液中のセレン(VI)は検出されず、セレン(IV)のみが定量^{20)~23)}できる。

2・3 臭化カリウムによるセレン(VI)のセレン(IV)への還元操作

試水 500 ml をビーカー(1000 ml)に採り、11 mol/l 塩酸 25 ml 及び臭化カリウム 8 g を加え溶解する。ビーカーに時計皿をかぶせ、200°C に調節したホットプレート上で 90 分間煮沸する。

2・4 DAN 試薬によるセレン(IV)の抽出操作

セレン(IV)を定量するには試水 500 ml に、セレン

Table 1 Instrumental conditions for selenium analysis

AAS (Hitachi, model Z6100)	
Wavelength of hollow cathode lamp (HCL)	196.0 nm
Electric current of HCL	12.5 mA
Acetylene pressure	0.2 kg/cm ²
Air pressure	1.6 kg/cm ²
Hydride generation apparatus (Hitachi, model HFS-2)	
Argon	100 ml/min
Sampling time	0.7 min
Reaction time	0.5 min
Acid carrier	3.6 mol/l HCl
Reducing reagent	0.75 w/v % NaBH ₄
Sample solution	3.6 mol/l HCl
Detection limit	0.2 ng Se/ml

ン(IV) 及びセレン(VI) の両者を定量するには 2・3 の還元処理を行った溶液に, それぞれ 0.2 mol/l EDTA-フッ化ナトリウム溶液 10 ml, 飽和酢酸ナトリウム 5 ml 及び 0.1% DAN 溶液 50 ml を加えた後, 少容の飽和酢酸ナトリウム溶液及び 6 mol/l 塩酸により, pH 1 となるように調整し, 50°C の水浴中で 30 分間加熱した。冷却後, 分液漏斗 (1000 ml) に移し, シクロヘキサン 50 ml を加えて振り混ぜ機で 15 分間振り混ぜ, セレン(IV)・DAN 錯体 (4,5-ベンゾピアセノール) を有機相に抽出する。有機相をピーカー (100 ml) に採り, 硝酸 2 ml 及び過塩素酸 2 ml を加えて, ホットプレート上で加熱し, 過塩素酸白煙が生じてなお加熱を続け, 溶液量が 1 ml 程度になるまで加熱濃縮した。この溶液に 11 mol/l 塩酸 3 ml を加え 3 分間煮沸してセレン(VI) をセレン(IV) に還元し, 水を加えて 10 ml としたものを測定溶液とした。

3 結果と考察

3・1 セレン(IV)・DAN 錯体の生成反応時間の検討

セレン(IV) 50 ppb 標準溶液 10 ml をピーカーに採り, 2・4 の抽出操作を行った。水浴中の加熱時間を 7.5, 15, 30, 45, 60 分と変化させ, 反応時間に対するセレン(IV) の回収率を検討した。この結果を Fig. 1 に示す。反応時間が 15 分以上でセレン(IV) の回収率は 90% 以上の一定値を得た。従って, 本研究では反応時間を 30 分とした。

3・2 DAN 試薬添加量の検討

セレン(IV) 50 ppb 標準溶液 10 ml をピーカーに採り, 2・4 の抽出操作を行った。0.1% DAN 試薬を 10,

Fig. 1 Effect of the reaction time for complexing 4,5-benzopiazselenol

Standard selenium(IV): 500 ng added; Reaction temperature: 50°C

Fig. 2 Effect of the addition of 0.1% DAN solution

Standard selenium(IV): 500 ng added; Reaction time: 30 min at 50°C

20, 40, 50, 60 ml と添加し, 試薬添加量の影響を検討した。この結果を Fig. 2 に示す。DAN 試薬の添加量が 20 ml 以上でセレン(IV) の回収率が 90% 以上の一定値が得られた。従って, 本研究では 0.1% DAN 試薬添加量を 50 ml とした。

Fig. 3 Effect of the addition of cyclohexane on the extraction of selenium

Standard selenium(IV): 500 ng added; Aqueous phase: 580 ml containing 50 ml of 0.1% DAN solution

Fig. 4 Effect of the reaction time on the reduction of selenium(VI) by potassium bromide

Standard selenium(VI): 500 ng added; Reaction: boiling the 500 ml solution containing 25 ml of HCl and 8 g of KBr

3.3 抽出時のシクロヘキサン容量の検討

セレン(IV) 50 ppb 標準溶液 10 ml をビーカーに採り、2.4 の抽出操作を行った。抽出時のシクロヘキサン量をそれぞれ 10, 20, 30, 40, 50, 60 ml と変化させ、セレン(IV) の回収率を検討した。この結果を Fig. 3 に示す。シクロヘキサン 10 及び 20 ml を用いた場合には、振り混ぜた後エマルションの生成のため有機相と水相が分離せずセレンを定量するには至らなかった。一方、シクロヘキサン 40 ml 以上ではセレン(IV) の回収率はほぼ 94% であり、定量的な結果が得られたので、本研究ではシクロヘキサン量を 50 ml とした。

3.4 臭化カリウム還元時間の検討

セレン(VI) 50 ppb 標準溶液 10 ml をビーカーに採り、2.3 の還元操作及び 2.4 の抽出操作を行いセレンを定量した。その際、煮沸処理時間をそれぞれ煮沸開始より 30, 60, 90, 120 分間と変化させ、セレン(VI) の回収率を検討した。その結果を Fig. 4 に示す。煮沸処理時間が 60 分以上ではほぼ定量的にセレン(VI) を回収できた。従って、本研究では臭化カリウム還元時の煮沸処理時間を煮沸開始後 90 分間とした。

3.5 セレン(IV) 及びセレン(VI) の回収率

精製水 500 ml をビーカーに採り、セレン(IV) 及びセレン(VI) 50 ppb 標準溶液 10 ml を加え 2.3 の還元操

作及び 2.4 の抽出操作を行い、セレンの回収率を求めた。この結果を Table 2 に示す。還元処理を行わず直接セレンを抽出したとき、セレン(IV) の回収率は 94.7% となったが、セレン(VI) は抽出されず回収率は 0% であった。従って本操作では、試料溶液中のセレン(IV) のみが定量されることが確認できた。一方、還元処理を行った場合には、セレン(VI) の回収率は 97.2% であった。又、セレン(IV) 及びセレン(VI) の両者を含む溶液での両セレンの回収率は 97.5% であり、本操作では全無機セレンの定量が可能であることが確認できた。

又、ミネラルウォーターを試料として同様の回収実験を行った結果を Table 2 に併せて示す。セレン(IV) 及びセレン(VI) 共にほぼ定量的 (95% 以上) に回収されたことから、共存成分を含む実試料に本法を適用できることが分かった。

なお本実験では、1 ppb のセレン標準溶液についての回収実験であり、蒸留水・実試料からの両セレンの回収率は共に 95% 以上であり、相対標準偏差は 0.3~1.9% であったことから、極微量分析を対象とした回収実験としては満足する結果が得られた。

3.6 市販ミネラルウォーター中のセレン(IV) 及びセレン(VI) の分別定量

本法を飲料水中のセレンの分別定量に応用した。市販

Table 2 Recoveries of selenium (IV) and selenium (VI) from distilled- and mineral waters

Se added/ng		Se found/ng	Recovery of selenium, % ^{a)}
Se(IV)	Se(IV)		
[DAN extraction]			
Distilled water			
500		465	93.0
500		483	96.6
500		473	94.6
			Av. 94.7 ± 1.8
	500	0	0
	500	0	0
	500	0	0
			Av. 0
Mineral water ^{b)}			
0	0	0	
0	0	0	
0	0	0	
		Av. 0	
500		477	95.4
500		473	94.6
500		480	96.0
			Av. 95.3 ± 0.7
[KBr reduction and DAN extraction]			
Distilled water			
250	250	492	98.5
250	250	480	95.9
250	250	490	98.0
			Av. 97.5 ± 1.4
	500	492	98.4
	500	480	96.0
	500	487	97.3
			Av. 97.2 ± 1.2
Mineral water ^{b)}			
0	0	65.6	
0	0	42.6	
0	0	58.8	
		Av. 55.7 ± 11.8	
500		538	96.4
500		541	97.0
500		540	96.8
			Av. 96.7 ± 0.3
	500	530	94.8
	500	531	95.0
	500	536	96.0
			Av. 95.3 ± 0.6

a) Average ± standard deviation. b) Mineral water: containing 16.7 ppm of Na, 0.3 ppm of K, 5.4 ppm of Mg, 27.2 ppm of Ca

ミネラルウォーター (日本製品 19 種類, 外国製品 9 種類) 及び水道水試料についてセレン(IV) 及びセレン(VI) を定量した。入手したミネラルウォーター試料中のセレンは, 外国製品 1 試料 {セレン(VI) 最大値 494 ppt} を除いて 12~96 ppt とセレン(VI) が支配的であり, セレン(IV) は国内のもの 1 試料 {セレン(IV) 11 ppt} を除いてほとんど検出されなかった (10 ppt 以

下)。すなわち, セレン(VI) は, 国内のもので平均 46 ± 28 ($n=18$) ppt, 外国のもので平均 72 ± 26 ($n=7$) ppt, そして水道水で 39 ppt であった。又, 両セレンと主要溶存成分間の濃度相関を検討したところ, 相関性を見いだすことはできなかった。

なお, 本法の測定時におけるセレンの検出限界は既報²¹⁾²²⁾のように 0.2 ppb であったが, 実試料 500 ml を本法により処理した場合の両セレンの検出限界は, 試薬空試験値 (測定時で約 0.5 ppb) を考慮すると約 10 ppt と算出された。

(1996 年 9 月, 日本分析化学会)
第 45 年会において一部発表)

文 献

- 1) J. Kumpulainen: *Acta Paediatr. Scand. Suppl.*, **351**, 114 (1989).
- 2) J. T. Rotruck, A. L. Pope, H. E. Ganther, A. B. Swanson, D. G. Hafeman, W. G. Hoekstra: *Science* (Washington, D. C.), **179**, 583 (1973).
- 3) 木村修一, 左右田健次: “微量元素と生体”, p. 43, p. 89 (1991), (秀潤社).
- 4) 東 明正: 雪印乳業健康生活研究所・Health Digest, **5**, 1 (1990).
- 5) 和田 攻, 北川泰久, 柳沢祐之: トキシコロジーフォーラム, **8**, 518 (1985).
- 6) 本好茂一: 予防医学ニュース, 1994 年 4 月 15 日 63 号.
- 7) 徳永則正: ぶんせき (*Bunseki*), **1994**, 853.
- 8) 安藤正典: ぶんせき (*Bunseki*), **1994**, 696.
- 9) 平木敬三, 由井 収, 平山 宏, 西川泰治, 重松恒信: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **22**, 712 (1973).
- 10) 由井 収, 平木敬三, 西川泰治, 重松恒信: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **26**, 91 (1977).
- 11) Y. Tamari, R. Hirai, H. Tsuji, Y. Kusaka: *Anal. Sci.*, **3**, 313 (1987).
- 12) Y. Tamari, H. Tsuji, Y. Kusaka: *Bull. Soc. Sea Water Sci. Jpn.*, **45**, 83 (1991).
- 13) Y. Tamari, M. Kitagawa, H. Tsuji, Y. Kusaka: *Bull. Soc. Sea Water Sci. Jpn.*, **42**, 242 (1989).
- 14) W. A. Maher: *Talanta*, **29**, 1117 (1982).
- 15) G. Tao, E. H. Hansen: *Analyst* (London), **119**, 333 (1994).
- 16) Y. Nakaguchi, Y. Hiraki, Y. Tamari, Y. Fukunaga, Y. Nishikawa, T. Shigematsu: *Anal. Sci.*, **1**, 247 (1985).
- 17) 姫野誠一郎, 鈴木継美, 和田 攻編: “ミネラル・微量元素の栄養学”, p. 426 (1994), (第一出版).
- 18) 益川 徹: トキシコロジーフォーラム, **8**, 509 (1985).
- 19) 江崎信芳, 田中英彦, 左右田健次: トキシコロジーフォーラム, **8**, 539 (1985).
- 20) 玉利祐三, 小椋広道: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **46**, 313 (1997).

- 21) Y. Tamari, H. Ogura, K. Fujimori, H. Tsuji: *Mem. Konan Univ., Sci. Ser.*, **43**, 37 (1996).
22) 玉利祐三, 吉田昌子, 高木 晋, 茶山健二, 辻 治雄, 日下 譲: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **41**, T77 (1992).
23) 玉利祐三, 茶山健二, 辻 治雄: *Biomed. Res. Trace Elements*, **4**, 263 (1993).
24) Y. Tamari: *Bunseki Kagaku*, **33**, E115 (1984).

要 旨

試水中のセレン(IV)は2,3-ジアミノナフタレン(DAN)を用いてシクロヘキサンに抽出し、有機相を酸分解した後塩酸処理してセレン(IV)とし、測定溶液とする。試水中の全無機セレン、すなわちセレン(IV)及びセレン(VI)は、臭化カリウムを加えて煮沸処理し、セレン(VI)をセレン(IV)に還元した後、セレン(IV)と同様の処理を行う。両測定溶液中のセレン(IV)を水素化物生成/原子吸光法(HG/AAS)により定量する。試水中のセレン(VI)は、全無機セレン量からセレン(IV)量を差し引くことにより定量できる。本法を市販のミネラルウォーター28試料及び水道水に適用した。