

課題名 B-1005 環境基準項目の無機物をターゲットとした現場判定用高感度ナノ薄膜試験紙の開発

課題代表者名 高橋 由紀子(長岡技術科学大学 環境建設系 環境材料科学研究室)

研究実施期間 平成22～24年度

累計予算額 14,025千円(うち24年度4,275千円)
予算額は、間接経費を含む。

本研究のキーワード(5～10個以下程度) 高感度ナノ薄膜試験紙、無機有害イオン、簡易分析、ppbレベル、環境基準、排水基準

研究体制

- (1) 膜の作製条件の最適化 (長岡技術科学大学)
- (2) ターゲットとの反応条件の最適化 (長岡技術科学大学)
- (3) 機器分析を用いた試験紙のクロスチェック1 ((独)産業技術総合研究所)
- (4) 妨害イオンの影響および実サンプルへの適用 (長岡技術科学大学)
- (5) 機器分析を用いた試験紙のクロスチェック2 ((独)産業技術総合研究所)

研究概要

1. はじめに(研究背景等)

環境規制は厳しくなる一方であり、我が国でも要監視項目が追加され、WHOのガイドラインに沿って、基準値の遵守のために排出基準が設けられる等、環境保護の体系化が世界共通で進んでいる。現在までの分析法の開発は、高感度化と高精度化を合言葉に機器分析のみに偏って進められ、各国の公定法も多くは機器分析である。しかしながら機器分析では、高額な導入コストはもちろん、複雑な実試料に対する高度な前処理技術と機器分析の技術をもつ専門のオペレーター、キャリアガスや建物等のインフラを必要とするため、発展途上国での水質調査や中小事業所での排水管理、分析数の多い汚染物質の動態調査や農産物の汚染実態の把握などは不可能であり、さらに一週間程度の時間も必要となるため、災害時の飲み水(井戸水)緊急調査、日常的な工場排水の管理、土壌洗浄後時の評価などにも不向きである。すなわち現状では基準値はあるものの、限られた範囲内での調査に留まり、真の環境管理は成されていない。このような実情の下、

「その場で迅速に規制値を超えているか否かを判定できる」簡易分析法が世界的に切望されている。公定法で正確な値を出すことは必要だが、現場では基準値を超えているか否か迅速に判定できることの方がより重要で、現場判定法として、本ナノ薄膜試験紙の開発が急務である。機器分析が一応の完成を見た今、真の意味での環境管理を日常化し、一般社会に浸透させるために、基準値レベルの低濃度を・誰でも・迅速に・現場で判定できる方法として本研究を提案する。表1に本研究のターゲットとする無機物を示す。いずれもppbレベルでの検出が必須であり、実サンプルに含まれる多種多様な妨害成分の影響を受けない選択性が必要である。これに対し、独自にナノテクノロジーを駆使することで、有機比色試薬のナノ粒子もしくはナノコンポジットからなる薄膜を作製

表1 環境基本法並びに水質汚濁防止法の定める基準のうち無機物(14項目)抜粋

項目□	環境基準□	排水基準□
カドミウム□	10ppb□	100ppb□
鉛□	10ppb□	100ppb□
六価クロム□	50ppb□	500ppb□
総水銀□	0.5ppb□	5ppb□
ニッケル□	—□	
モリブデン□	70ppb□	
全もしくは溶解性マンガン□	200ppb□	10ppm□
全亜鉛□	30ppb□	2ppm□
銅□		3ppm□
溶解性鉄□		10ppm□
セレン□	10ppb□	100ppb□
ほう素□	1ppm□	海域以外10ppm 海域230ppm□
ふっ素□	800ppb□	海域以外8ppm 海域15ppm□
砒素□	10ppb□	100ppb□

する技術を確立し、これを用いた高感度なナノ薄膜検出法を提案した。これは有害金属イオンをターゲットとした、世界初の規制値(ppb)レベルが測定可能な試験紙を用いた分析法であり、“誰でも・迅速に・その場でできる”現場分析法への適用を目指している。

2. 研究開発目的

本研究では、表1の14項目の無機物(カドミウム、鉛、六価クロム、水銀、ニッケル、モリブデン、マンガン、亜鉛、銅、鉄、フッ化物、ヒ素、セレン、ホウ素)のイオンに対する基準値レベルが現場で判定可能なナノ薄膜試験紙の創出を目標に、最終的には7割程度の試験紙の提供を目指している。カドミウム、鉛、六価クロム、水銀、ニッケル、モリブデン、マンガン、亜鉛、銅、鉄、セレン、ホウ素イオンに対しては、既存の有機比色試薬群からのスクリーニング試験となる。一方、フッ化物、ヒ素イオンについては、ナノ薄膜試験紙に適した比色試薬がないため、反応系自体を新たに創出する基礎研究がメインとなる。スクリーニング試験の際の評価基準は、図1にあるように、①ナノ薄膜作製の可能性、②ターゲットイオンとの反応性、③およその感度、④およその選択性、⑤感度、⑥選択性、⑦実試料への適用であり、ターゲットに対する、基準値レベルが現場で判定可能なナノ薄膜試験紙の創出を目的とする。特に④までクリアした試験紙に対し、⑤から⑦では選別はせず、個々の使用条件、性能等を試験紙の仕様としてまとめる。シリーズ化して成果を投稿することで、ナノ薄膜検出法という新しい分析の方法論を世界に認知させることを目的とする。

評価基準①～⑦は以下の通りである。

- ① **ナノ薄膜作製の可能性**: 膜にできるかできないかを試み、pH、試薬量、成長時間等の分散液の作製条件を最適化し、膜の評価を電子顕微鏡観察やJISの鉛筆法等で評価し、再度分散液の作製条件を最適化する。これにより定量的な製膜(捕集率97%以上)ができるか否かで判断する。
- ② **ターゲットイオンとの反応性**: 試験紙法(Immersion test: 1/6カットした試験紙を、ターゲットイオン1 ppmを含む、最適pHに合わせたサンプル量20 mLに浸漬)および通液濃縮法(Filtration enrichment: φ25 mmカットした試験紙に、ターゲットイオン100 ppbを含む、最適pHに合わせたサンプル量100 mLを通液する)で反応するか。
- ③ **およその感度**: ⑦に適したレベルにあるか、排水基準が測定可能かどうか。
- ④ **およその選択性**: ターゲット毎に特有な実サンプルに近い模擬サンプル溶液を作成し、妨害の有無を調査する。例えば、河川水ミックスや排水基準ミックス、メッキ廃液ミックス、米ミックスなど。
- ⑤ **感度**: ①～④を受けて製膜条件および反応条件を最適化し、検量線を作成する。
- ⑥ **選択性**: ④から予想される妨害イオンを調査し、妨害除去方法を考案する。
- ⑦ **実試料への適用**: ターゲット毎に最もニーズのありそうな実試料にて。

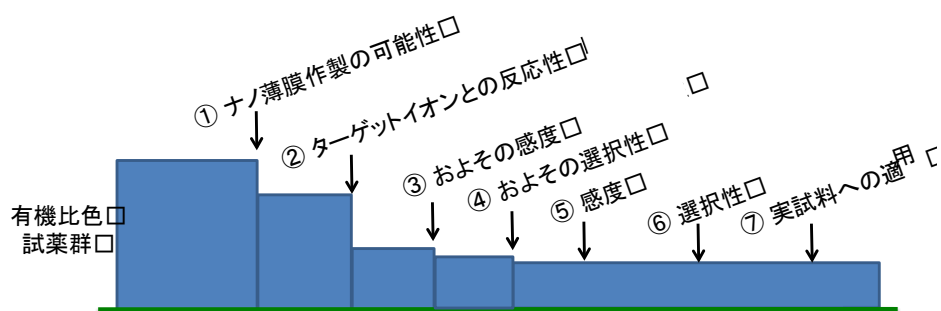


図1 ナノ薄膜試験紙のスクリーニングテストの評価基準

3. 研究開発の方法

本研究の研究体制を図2に示す。高橋は開発を、和久井は評価を専門に担当し、上記の評価基準に応じてターゲットとの反応特性の評価および選定を効率的に行える仕組みとした。サブテーマの最終段階で和久井の分析による評価を受け、そのフィードバックでもう一度最適化を行うという、分業体制をとっている。各サブテーマにおける開発方法を以下に示す。

(1) 膜の作製条件の最適化

有機比色試薬群について、製膜の有無を確認し、可能なものについては捕集率97%以上の定量的製膜が可能となるよう、成膜条件を最適化し、膜を試作した。ナノ粒子の評価に電界放出型走査電子顕微鏡(FE-SEM)、粒径及び

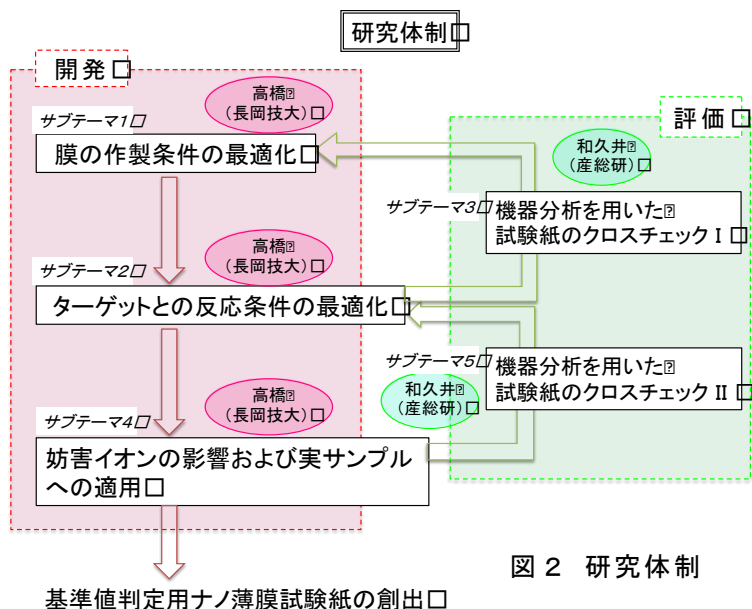


図2 研究体制

基準値判定用ナノ薄膜試験紙の創出

ゼータ電位測定装置を用い、分散液の作製条件を求めた。また膜の評価を化学的・機械的強度の測定や電子顕微鏡観察、薄層クロマトグラフィーデンストメーター(TLCスキャナ)による表面分析等で行った。サブテーマ(2)、(3)を受けて、感度を評価関数として作製条件を再度最適化した。サブテーマ(4)、(5)を受けて、試験紙の選択性改善およびマスキング剤を併用した実サンプルへの適用を目的として、膜の作製条件を再度最適化した。

(2) ターゲットとの反応条件の最適化

サブテーマ(1)で試作した試験紙を用い、Immersion testとFiltration enrichmentにて反応するか否かを検討した。同時におおよその感度を、排水基準が目視判定できるかどうかで判断し、スクリーニングした。さらに選出された試験紙に対して、ターゲット毎に最もニーズのありそうな実試料を想定した人工サンプルを作成し、ターゲットを添加しておおよその選択性を見積もり、妨害が著しい場合は選別した。詳細に使用条件を調べ、感度として検量線を作成した。

(3) 機器分析を用いた試験紙のクロスチェック1

サブテーマ(2)のサンプル溶液のpHや流速、量とターゲットの抽出率との関係を誘導結合プラズマ質量分析装置(ICP-MS)や誘導結合プラズマ発光分光分析装置(ICP-OES)にて評価し、定量的に膜にターゲットが捕捉されるように、(2)へ最適化を促した。同時に使用条件が決定された試験紙について、感度のクロスチェックを行った。

(4) 妨害イオンの影響および実サンプルへの適用

サブテーマ(2)および(3)にて、使用条件および感度が決定された試験紙について、ターゲット毎に最もニーズのありそうな実試料中に含まれるイオンを中心として妨害イオンの影響を詳細に調査し、選択性を求めた。個々の試験紙や分離条件に適したマスキング剤を選択し、適宜添加して、除去条件を見出した。必要であれば、反応条件や膜の作製条件の最適化を再度促した。人工もしくは実サンプルへの適用を行い、試験紙の仕様書を決定した。

(5) 機器分析を用いた試験紙のクロスチェック2

サブテーマ(4)の人工および実サンプルでのクロスチェックを行い、使用条件、感度が決定された試験紙について、妨害イオンの影響をICP-MSやICP-OESにて求めた。除去条件をクロスチェックし、最適化を促した。ターゲットとの反応条件、必要であれば膜の作製条件の最適化を再度促した。

サブテーマと評価基準①～⑦との関係は、サブテーマ(1)が全評価基準①～⑦、サブテーマ(2)は②～⑤、サブテーマ(3)が⑤、サブテーマ(4)が⑥、⑦、サブテーマ(5)が⑥、⑦となる。

4. 結果及び考察

実際に開発を遂行したものは表1に記載の14ターゲットのうち、時間と人員不足のため遂行できなかった4ターゲットを除く10ターゲットであり、これら10全てで規制値を測定可能な試験紙を完成した。内訳は、カドミウム、鉛、クロム、水銀、マンガン、亜鉛、鉄、ホウ素、フッ化物、砒素イオン用試験紙である。

(1) 膜の作製条件の最適化

本ナノ薄膜試験紙の作製方法は、有機比色試薬を、疎水性試薬では一旦ナノ粒子分散液に、水溶性試薬ではナノコンポジット分散溶液とし、これを目の細かなメンブレンフィルター上に表面ろ過することで作製する。これら2つの製膜法について、膜の作製条件を以下の3段階で最適化する。第1段階はナノ薄膜作製の可能性として定量的製膜(97%以上捕集)を目的として、第2段階ではターゲットイオンに対する感度および選択性の最適化を目指して、最後に第3段階で選択性改善および実試料への適用を目的として、それぞれナノ分散液作製条件や粒子成長条件および製膜条件を再検討し、向上させた。

カドミウム、鉛、クロム、マンガン、鉄、ホウ素イオン用試験紙については水溶液系で反応することが知られている有機比色試薬群から製膜の有無によるスクリーニングを行った。水銀イオンについては、感度および選択性が高いことで知られるDithizoneのみを試し、亜鉛イオンについても、高感度な試薬は多いがどれも選択性に欠けるため、選択性ももっとも優れたZinconに限定した。フッ化物イオンおよび砒素イオンについては新規反応系の開発の基礎研究を行った。カドミウム、鉛、クロム、マンガン、鉄、ホウ素イオン用の候補試薬群からの、定量的に製膜可能な試薬の割合は約67%にも及び、2つの製膜法の汎用性の高さを実証した。フッ化物イオン試験紙について、フラボノールと酸化ジルコニウムナノ粒子からなる新たな反応系を見出し、また砒素イオンについても、全pH領域で発色するモリブデンブルー法に基づく新規固相反応系を発見した。

同時にナノコンポジット膜の作製に適したナノ担体も調査し、本試験紙に適した新たなナノ担体として酸化ジルコニウム、酸化チタン、酸化セリウムが優れていることを見出した。

(2) ターゲットとの反応条件の最適化

本サブテーマでは、規定の反応条件下でImmersion testもしくはFiltration enrichmentの2つの検出方法で反応するか否か、色変わりの明瞭さ、試薬漏れの有無等により選別する。そして、おおよその感度にて排水基準が検

出できるかできないかで選別し、さらにおよその選択性にて、環境基準ミックス(環境基準値の各種イオンの混合液)、排水基準ミックス(排水基準値での各種イオンの混合液)、河川ミックス(河川標準試料)および各ターゲットに特有な実サンプル相当の混合液等にターゲットイオンを添加することで、妨害が著しいものは選別する。選出された試験紙については、この先は選別を行わず、Immersion testでは反応時間、pH等を、Filtration enrichmentでは流速、サンプル量、pH等を最適化して、感度として検量線を作成し、検出範囲および検出限界を求める。カドミウム、鉛、クロム、マンガン、鉄、ホウ素イオンについては、上述のようにターゲットとの反応性によりスクリーニングを行い、選出された試験紙について感度を求めた。水銀および亜鉛イオン試験紙についてはDithizoneもしくはZinconを用いた試験紙の検出方法および最適反応条件を求め、検量線を作成した。フッ化物イオン、砒素イオンについては新規反応系の開発を行った。カドミウムでは2試薬が、他鉛、クロム、水銀、マンガン、鉄、ホウ素ではそれぞれ1試薬が選出された。それぞれの感度は、カドミウム試験紙(5-Br-PADAPナノ粒子膜、Immersion test、検出限界7.14 ppb、検出レンジ~700 ppb)、カドミウムイオン試験紙(TMPyP/SAナノコンポジット膜、Filtration enrichment、検出限界0.102 ppb、検出レンジ~200 ppb)、鉛イオン試験紙(TMPyP/SAナノコンポジット膜、Filtration enrichment、検出限界0.99 ppb、検出レンジ~100 ppb)、クロムイオン試験紙(クロムアズロールS/Latex-NR₃⁺ナノコンポジット膜、Immersion test、検出レンジ~1000 ppb)、マンガンイオン試験紙(3,5-DiBr-PADAPナノ粒子膜、Immersion test、検出限界1.36 ppb、検出レンジ~700 ppb)、亜鉛イオン試験紙(Zincon/Latex-NR₃⁺ナノコンポジット膜、Immersion test、検出限界48.6 ppb、検出レンジ~1000 ppb)、鉄イオン試験紙(バソフェナントロリンスルホン酸/Latex-NR₃⁺ナノコンポジット膜、Immersion test、検出限界約10 ppb、検出レンジ~200 ppb)、ホウ素イオン試験紙(クロモトローブ酸/Latex-NR₃⁺ナノコンポジット膜、Immersion test)、フッ化物イオン試験紙(Flav-s/ZrO₂ナノコンポジット膜、Immersion test、検出限界約0.13 ppm、検出レンジ~5 ppm)、砒素イオン試験紙(Mo/Latex-NR₃⁺ナノコンポジット膜、Immersion test、検出限界2.35 ppb、検出レンジ目視では10-500 ppb)であった。反応時間の短縮を目指し、ナノ薄膜の改質を試み、いくつかの親水性物質にて反応時間の短縮に成功した。

(3) 機器分析を用いた試験紙のクロスチェック1

ナノ薄膜試験紙の反応性のクロスチェックとして、本サブテーマ(3)は(2)でのターゲットイオンの抽出率と流速、試薬量、ターゲットイオンの濃度、添加剤の種類等の関係を、ICP-OESおよびICP-MSで評価し、定量的にターゲットイオンが膜に捕捉されるように、サブテーマ(1)、(2)へ更なる最適化を促す。これに関して、5-Br-PADAPナノ粒子膜からなるカドミウムイオン試験紙の分析1回、TMPyP/SAナノコンポジット膜からなる鉛イオン試験紙の分析1回を行った。結果、またサブテーマ(2)のナノ薄膜の改質に関して、5-Br-PADAPナノ粒子膜によるカドミウムイオン試験紙にて、ドロップテストの分析1回、カチオン性ポリマーの添加実験の分析1回、ポリマー各種添加実験の分析1回の計3回の分析を行った。全てに於いて、ICP発光分析およびICP質量分析による分析の妥当性を確認した。

(4) 妨害イオンの影響および実サンプルへの適用

評価基準④までで既に選出された試験紙に対し、ターゲットイオンの選択性に関する評価、妨害除去方法、実試料への適用、実試料での問題点から膜の作製条件や反応条件を最適化し、さらに妨害除去条件や前処理法などを考案し、最終的にどのような実サンプルへ試験紙が適しているか、仕様書とする。結果、カドミウムイオン試験紙では、5-Br-PADAPナノ粒子膜では河川水や水道水レベルまで適用可能であったが、TMPyP/SAナノコンポジット膜では有効なマスクング条件が見つからず、適用可能な環境サンプルは皆無であった。鉛イオン試験紙では、TMPyP/SAナノコンポジット膜にて、pH 8で3種類のマスクング剤を添加することで妨害除去が可能となり、河川水に適用可能であった。水銀イオン試験紙では、ジチゾンナノ繊維膜にて、酸性およびEDTA存在下で、ほぼ妨害なしとなり、河川水、水道水はもちろん、工業排水、海水にまで応用可能で、非常に高選択性である。マンガンイオン試験紙では、3,5-DiBr-PADAPナノ粒子膜にて、マスクング剤2種混合にて妨害を除去することが可能で、河川水、水道水レベルまで適用可能である。亜鉛イオン試験紙では、Zincon/Latex-NR₃⁺ナノコンポジット膜にて、マスクング剤を3種類混合することで除去可能で有り、特にメッキ排水まで適用可能な優れた方法である。フッ化物イオン試験紙では、アルミニウム、鉄、銅などのカチオンはEDTAにて除去可能であるが、リン酸が多量に含まれると妨害となるため、河川水レベルに適用可能である。砒素イオン試験紙では、フッ化物、ホウ素、シリカ等のアニオンは妨害しないが、リン酸は妨害するため、リンの除去が必要で、河川水レベルに適用可能である。

(5) 機器分析を用いた試験紙のクロスチェック2

ナノ薄膜試験紙のサブテーマ(4)の人工および実サンプルでのクロスチェックを行い、使用条件、感度が決定された試験紙について、妨害イオンの影響をICP-MSやICP-OESにて求めた。除去条件をクロスチェックし、最適化を促した。ターゲットとの反応条件、必要であれば膜の作製条件の最適化を再度促した。1) カドミウムイオン試験紙の実サンプルとして米酸抽出液の成分分析、2) 亜鉛イオン試験紙の実サンプルとして鍍金廃液および処理水の成分分析、3) 鉛イオン試験紙の人工サンプルとして釣りおもりから溶出した鉛イオンの定量、4) 砒素

イオン試験紙の実サンプルとして瀬波温泉(新潟県村上市)中の砒素の定量、かのせ赤湯温泉(新潟県東蒲原郡阿賀町)中の砒素の定量、井戸水(新潟県)および40 ppbの砒素イオンをスパイクした井戸水について、砒素の定量分析を行った。1)では、カドミウムイオン試験紙をカドミウムの分析へ適用することを想定し、カドミウム標準物質中のカドミウムイオンおよび妨害となるマンガン、亜鉛イオン濃度を、酸抽出液として求めた。2)では、実際に鍍金業から頂いた排水の原液と処理水について成分分析を行い、亜鉛イオン試験紙で分析結果とクロスチェックを行った。メッキ排水は事業所によってメッキの種類が異なり、また受注によってその濃度が変化するため、事業所の方に話を伺いながら、含まれると予想される亜鉛、クロム、ニッケル、マンガン、銅、コバルト、鉛を分析した。この成分分析結果と比較することで、亜鉛イオン試験紙の妨害除去方法の見直しや前処理などを検討した。3)では、鉛イオン試験紙の人工サンプルとして、鉛製の釣りおもりからの超純水および水道水への鉛の溶出についてクロスチェックを行った。超純水では浸漬6時間以降200~300 ppbが検出され、これはICP-OESによる結果と一致した。水道水ではICP-MSと若干の差が認められたが、20 ppb前後を検出可能であった。4)砒素イオン試験紙の実サンプルとして、砒素を含むとされる瀬波温泉およびかのせ赤湯温泉についてはそのまま、井戸水については含まれている砒素が5 ppb以下であるため、40 ppbの砒素を添加してサンプルとし、水素化物発生ICP-OES法にて測定した。結果、瀬波温泉では試験紙で約15 ppb、水素化物発生ICP-OES法で10~12 ppbと良好に一致したが、かのせ赤湯温泉では59 ppb~2500 ppbと分析値が全く異なった。これはかのせ赤湯温泉は、温泉成分表によると高濃度のシリカを含んでいるためと予想した。

5. 本研究により得られた主な成果

(1) 科学的意義

1. ナノ薄膜試験紙とすることで、高感度化、選択性の向上を実証した。
ナノ薄膜試験紙は世界初のppbレベルのイオン試験紙であり、薄膜構造による高感度化のコンセプトにより、高感度試験紙のプラットフォームとして期待できる。
2. ナノ薄膜試験紙の汎用性を実証
製膜可能な、97%以上捕集可能な、有機比色試薬は試した物のうち約67%にも達する。疎水性試薬および水溶性試薬に対する2つの製膜法より、多くの低分子有機化合物が膜になる。製膜方法のプラットフォームとして期待できる。
3. ナノコンポジット用ナノイオン交換体(担体)の探索
ナノコンポジット膜タイプの試験紙の作製の新たなナノ担体として、酸化ジルコニウム、酸化チタン、酸化セリウムが優れていることを見出した。
4. フッ化物イオン試験紙および砒素イオン試験紙では新しい反応系を発見
フッ化物イオン試験紙では、フラボノールスルホン酸と酸化ジルコニウムナノ粒子との新規な蛍光性ナノコンポジット膜を見出し、フッ化物イオンとフラボノールスルホン酸との置換反応に基づき、蛍光が定量的に減衰するためフッ化物イオンの定量を可能とした。砒素イオン試験紙では、水溶液のモリブデンブルー法を固相の試験紙へと展開することに成功し、水溶液より100倍程度高感度化した。また、通常モリブデンブルー法は強酸性下にて行うが、本試験紙では全pH領域で青色発色することを見出し、新規なヘテロポリ酸が生成している可能性がある。
5. Immersion testにおける反応時間短縮への知見の獲得
Immersion testでは、分析操作は極めて簡単であるが、ppbレベルのターゲットを検出するため時間がかかる。あらかじめナノ薄膜に親水性物質等を添加し、改質することで、水の浸透性の大幅な改善につながり、dip & readの迅速分析となる可能性も示唆された。

(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>

サブテーマ(1)~(5)に共通する事項として、本試験紙を日常的な水管理に、規制値のモニタリングとして活用することを提案したい。法定の水質検査は年に1回程度であるが、これを補う日常的な方法として、その場で・迅速に・誰でも、環境基準値や排水基準値を超えているか否かの判定を可能とする本試験紙は日々変動する水の管理に大いに役立つと考える。現行では工業排水、河川水、海水、井戸水等の環境水サンプル中の無機物の測定は、サンプリングした試料を分析センターにてAASやICP、ICP-MSにて測定している。専門の分析者が試料を溶媒抽出等で分離し、濃縮してから専門のオペレーターが機器分析するため、1週間以上もの時間と、1サンプル数万円ものコストがかかる。本研究で開発されたナノ薄膜試験紙(現時点で、カドミウム、鉛、クロム、水銀、

マンガン、亜鉛、鉄、フッ化物、砒素、ホウ素の10ターゲット)は、ppbレベルの感度と主な実サンプル中での高い選択性のため、分析センターで行われていた煩雑な分析操作を簡略化して、年に一度の水質測定を機器分析で値として認知し、日常的には本ナノ試験紙で規制値を超えているか否かを判定する、それにより、真の意味で環境管理が日常化すると考える。事業所の日常的な排水管理の他にも、食品等の大量サンプルの機器分析前のスクリーニング、また発展途上国での水質管理、研究分野での地球化学的な微量イオンの動態分析や学校での教育教材として用いることが期待される。

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) Kyaing Kyaing Latt, Yukiko Takahashi: Anal. Chim. Acta, 689, 103-109 (2011)
“Fabrication and characterization of a TMPyP/silica nanocomposite thin-layer membrane for detection of ppb-level heavy metal ions”
- 2) 高橋由紀子: 分析化学, 61(2), 123-126 (2012).
「ジチゾンナノ薄膜試験紙を用いる通液濃縮法による水銀イオン検出における妨害除去法の検討」
- 3) 高橋由紀子、相馬聡、和久井喜人: 分析化学, 61(3), 229-234 (2012).
「2-(5-Bromo-2-pyridylazo)-5-diethylaminophenolナノ薄膜試験紙の評価と浸漬によるカドミウム(II)イオンの検出特性」

(2) 主な口頭発表(学会等)

- 1) 高橋由紀子: 日本分析化学会第59年会(2010)
「ジチゾンナノ薄膜試験紙を用いた特異的水銀イオン検出システムにおける選択性の考察」
- 2) Kyaing Kyaing Latt, 高橋由紀子、和久井喜人: 日本分析化学会第59年会(2010)
“Fabrication of TMPyP/silica nanocomposite thin layered membrane for ppb leveled heavy metal ions detection and its characterization”
- 3) Yukiko Takahashi: International Conference on Nanoscopic Colloid and Surface Science 2010 (2010)
“Anionic Dye/Cationic Latex Nanocomposite coated Test Strips for Ppb-level Detection of Metal Ions”
- 4) Takahashi Yukiko: Pacifichem 2010(2010)
“Dithizone nanofiber thin film for highly sensitive and selective detection of Hg(II)”
- 5) Yukiko Takahashi: IUPAC International Congress for Analytical Sciences (2011)
“Preparation and Characterization of Dye Nanoparticle coated Test Strips for ppb-level Metal Ion Detection”
- 6) 安藤渉、高橋由紀子: 日本分析化学会第60年会(2011)
「フラボノール類と酸化ジルコニウムから成る複合ナノ粒子膜でのフッ化物イオンの蛍光検出」
- 7) 高橋由紀子、相馬聡、和久井喜人: 日本化学会第92春季年会(2012)
「5-Br-PADAPナノ薄膜試験紙によるppbレベルのカドミウムイオンの検出特性」
- 8) 志田八州太郎、高橋由紀子: 日本分析化学会第61年会(2012)
「モリブデンブルー発色を利用した微量砒素(V)イオン検出用ナノ薄膜試験紙の開発」
- 9) 高橋由紀子、安藤渉: 日本分析化学会第61年会(2012)
「フラボノールスルホン酸と酸化ジルコニウムナノ粒子からなるナノコンポジット膜の蛍光特性とフッ化物イオン試験紙としての評価」
- 10) 高橋由紀子、安藤渉: 錯体化学会第62回討論会(2012)
「酸化ジルコニウムナノ粒子表面への吸着によって誘起されるフラボノイドの特異蛍光および吸着特性」
- 11) 志田八州太郎、高橋由紀子: 日本化学会第93春季年会(2013)
「モリブデンを担持した微量砒素イオン検出用ナノ薄膜試験紙の改良と評価」

7. 研究者略歴

課題代表者: 高橋 由紀子

東北大学大学院工学研究科修了、工学博士、現在長岡技術科学大学環境建設系 准教授

研究参画者

(1):高橋由紀子(同上)

(2):和久井喜人

東北大学大学院工学研究科修了、工学博士、現在産業技術総合研究所コンパクト化学システム研究センター先進機能材料チーム 主任研究員

B-1005 **環境基準項目の無機物をターゲットとした現場判定用**
高感度ナノ薄膜試験紙の開発

(1) 膜の作製条件の最適化

長岡技術科学大学 環境建設系

高橋 由紀子

平成22～24年度累計予算額：7,581千円（うち、平成24年度予算額：1,994千円）

予算額は、間接経費を含む。

[要旨]

本ナノ薄膜試験紙の作製方法は、有機比色試薬を、疎水性試薬では一旦ナノ粒子分散液に、水溶性試薬ではナノコンポジット分散溶液とし、これを目の細かなメンブレンフィルター上に表面ろ過することで膜として作製する。これら2つの製膜法について、膜の作製条件を以下の3段階で最適化する。第1段階はナノ薄膜作製の可能性として定量的製膜（97%以上捕集）を目的として、第2段階ではターゲットイオンに対する感度および選択性の最適化を目指して、最後に第3段階で選択性改善および実試料への適用を目的として、それぞれナノ分散液作製条件や粒子成長条件および製膜条件を再検討し、向上させた。

カドミウム、鉛、クロム、マンガン、鉄、ホウ素イオン用試験紙については水溶液系で反応することが知られている有機比色試薬群から製膜の有無によるスクリーニングを行った。亜鉛イオンについては、高感度な試薬は多いがいずれも選択性に欠けるため、選択性がもっとも優れたZinconに限定した。フッ化物イオンおよび砒素イオンについては新規反応系の開発の基礎研究を行った。カドミウム、鉛、クロム、マンガン、鉄、ホウ素イオン用の候補試薬群からの、定量的に製膜可能な試薬の割合は約67%にも及び、2つの製膜法の汎用性の高さを実証した。フッ化物イオン試験紙について、フラボノールと酸化ジルコニウムナノ粒子からなる新たな反応系を見出し、また砒素イオンについても、全pH領域で発色するモリブデンブルー法に基づく新規固相反応系を発見した。

同時にナノコンポジット膜の作製に適したナノ担体も調査し、本試験紙に適した新たなナノ担体として酸化ジルコニウム、酸化チタン、酸化セリウムが優れていることを見出した。

[キーワード]

試験紙、有害無機イオン、色素ナノ粒子、ナノコンポジット、薄膜

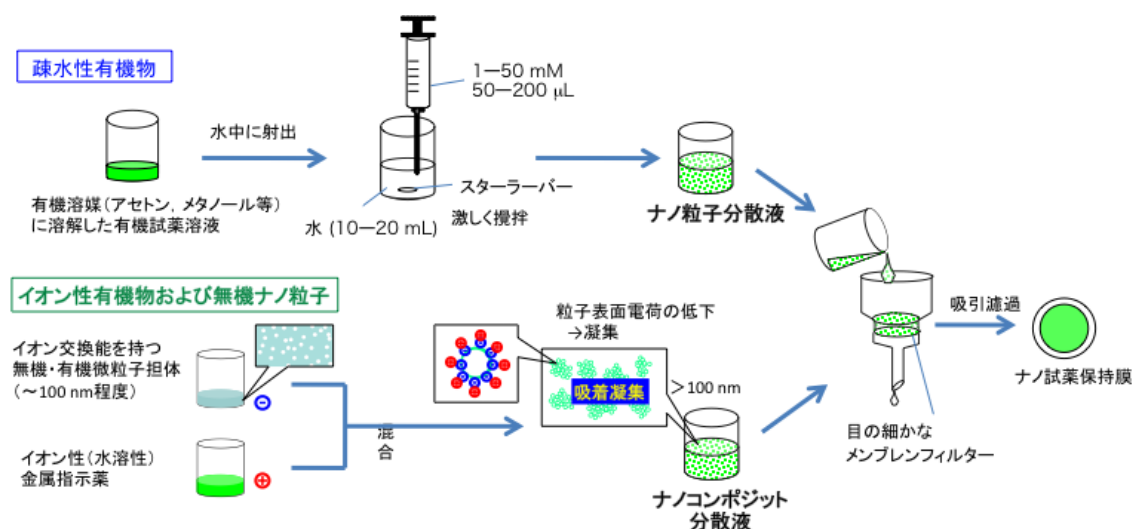
1. はじめに

表(1)-1に今回ターゲットとする無機物を示す。これらを測定する際の課題点は、いずれもppbレベルであり、加えて実サンプルが多種類かつ高濃度の妨害成分を含むことであり、現在はJIS K0102を基本としており、ほとんどが機器分析で、サンプルの前処理に高度なスキルと多大な労力、時間、費用を必要とする。現存する簡易分析法として、吸光分析法、イオン選択性電極、イオン試験紙等があるが、感度はppmレベルに止まり、水道水のように比較的妨害を含まないサンプルに対してのみ適用可能であり、またターゲットが限定されており、網羅的な分析手法は存在しない。

研究代表者は独自に、ナノテクノロジーを駆使し、有機比色試薬のナノ粒子もしくはナノコンポジットからなる薄膜を作製する技術を確認し、これを用いた高感度なナノ薄膜試験紙¹⁻⁴⁾を発案した。これは有害金属イオンをターゲットとした、世界初の規制値（ppb）レベルが測定可能な試験紙であり、“誰でも・迅速に・その場でできる”現場分析法への適用を目指している。本試験紙の作製法は非常に簡便であり、図(1)-1にあるように、疎水性有機比色薬については再沈法⁵⁾によりナノ粒子とし、またイオン性有機比色薬については反対の電荷をもつナノイオン交換体（シリカ、アルミナ、ラテックス等）にて凝集させてナノコンポジットとし、数十から300 nm程度のナノ分散液を作製する。これを孔径0.1 μm程度の目の細かなメンブレンフィルターで濾過するだけという、簡便で汎用性の高い方法である。

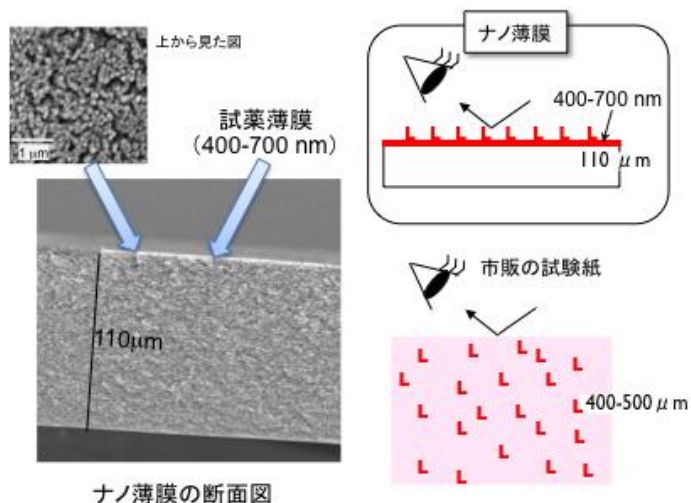
表(1)-1 環境基本法並びに水質汚濁防止法の定める基準のうち無機物（14項目）抜粋

項目	環境基準	排水基準
カドミウム	10ppb	100ppb
鉛	10ppb	100ppb
六価クロム	50ppb	500ppb
総水銀	0.5ppb	5ppb
ニッケル	—	
モリブデン	70ppb	
全もしくは溶解性マンガン	200ppb	10ppm
全垂鉛	30ppb	2ppm
銅		3ppm
溶解性鉄		10ppm
セレン	10ppb	100ppb
ほう素	1ppm	海域以外10ppm 海域230ppm
ふっ素	800ppb	海域以外8ppm 海域15ppm
砒素	10ppb	100ppb



図(1)-1 ナノ薄膜の作製法

本膜は、ナノ物質からなる厚さ数百ナノメートルの薄膜（ナノ薄膜）であり、試薬層が均一かつ指で擦っても剥がれないほど強固に着いている。市販の金属イオン試験紙は、その感度が数十ppm以上であるのに対し、本ナノ薄膜試験紙はppbレベルであり、同じ試薬を用いても3-4桁の高感度化を達成している。これは図(1)-2にあるように、市販の試験紙の場合、試薬はる紙の厚さ方向にほぼ均一に存在し、多くのシグナルは表面からは観測できないのに対し、本ナノ薄膜試験紙では試薬がフィルターの片面のみに

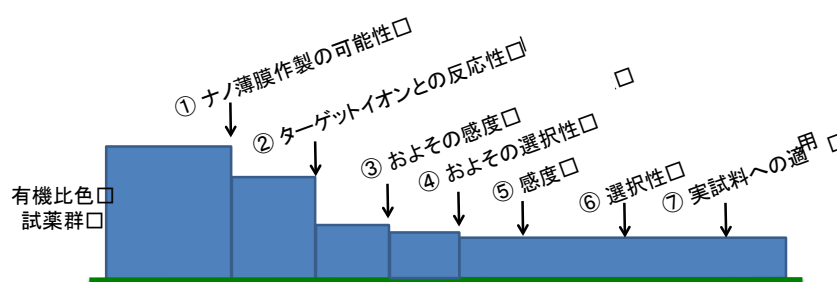


図(1)-2 ナノ粒子保持膜の断面とナノ薄膜検出

400-700 nmの薄膜として局在するため、全てのシグナルを検出できるという特長による。測定方法としては、試験紙法とFiltration enrichmentの2通りあり、Filtration enrichmentでは試薬が固体であり溶出がないかつ通液性があるという特性を利用し、ターゲットイオンを濃縮しさらに高感度となる。水溶性マスキング剤の併用で妨害イオンを水溶性錯体として流し去ってしまうことも可能で、高選択性で、妨害に強い分析法である。

2. 研究開発目的

表(1)-1にある、14項目の無機イオン（カドミウム、鉛、クロム、水銀、ニッケル、モリブデン、マンガン、亜鉛、銅、鉄、フッ化物、ヒ素、セレン、ホウ素イオン）に対する基準値レベルが現場で判



図(1)-3 スクリーニングテストの評価基準

定可能なナノ薄膜試験紙の創出を目標に、7割程度の試験紙の提供を目指す。既存の有機比色試薬^{6,7)}が存在するターゲットイオンについては、候補試薬からのスクリーニング試験を行った。スクリーニング試験の際の評価基準は図(1)-3にあるように、①ナノ薄膜作製の可能性、②ターゲットイオンとの反応性、③およその感度、④およその選択性、⑤感度、⑥選択性、⑦実試料への適用であり、本サブテーマ（1）「膜の作製条件の最適化」は全ての評価基準に関わる。サブテーマ（1）は、研究期間中継続して行われるが、年度によって内容が異なる。平成22年度は、ナノ分散液作製条件、製膜条件をおおよそ見積もり、膜を試作、製膜の有無を確認し、化学的および機械的強度を測定した（主に評価基準①）。平成23年度はサブテーマ（2）、（3）を受けて、試験紙の反応性および感度向上を目的として、ナノ分散液作製条件および製膜条件を再検討した（②～⑤のフィードバック）。平成24年度は、サブテーマ（4）、（5）を受けて、選択性の改善、マスキング剤を併用した実試料への適用を目的として、最終的なナノ分散液作製および製膜条件を決定した（⑥,⑦のフィードバック）。

一方、フッ化物および砒素イオンについては、適した有機比色試薬が存在しないため、試薬のスクリーニングではなく、ナノ薄膜試験紙に適した反応系自体を新たに創出する基礎研究である。フッ化物イオンについては、以前に研究代表者が開発した、ジルコニウムイオン-EDTA-フラボノールの水溶液での蛍光定量法⁸⁾を応用し、試験紙という固相での反応とするために酸化ジルコニウム(ZrO_2)ナノ粒子を用い、フラボノール類と ZrO_2 との蛍光性複合体がフッ化物イオンとの置換反応を起こすことに基づいて、フッ化物イオンの蛍光検出用試験紙を開発する。砒素イオンは、以前から溶液での砒素(V)の定量法として知られているモリブデンブルー法⁹⁾を、塩基性ナノ担体上でモリブデンと砒素とのヘテロポリ酸形成および還元を行わせることで試験紙とした。

特にナノコンポジット膜の作製において、以前まで用いてきた担体が、表面がトリメチルアミノ基修飾されたラテックスナノ粒子(Latex-NR₃⁺, 100 nm)、シリカ(5~10 nm)、アルミナ(~100 nm)のみであり、さらに試験紙の種類を増やすためにもナノ担体の選択の自由度を上げる必要があり、新たなナノ担体の候補を探索した。

3. 研究開発方法

評価基準①では、溶液でターゲットとの反応が報告されている有機比色試薬群について、図(1)-1の2つの膜化法で膜になるかどうかで選別し、膜になる試薬についてナノ粒子もしくはナノコンポジット分散液の作製条件(pH、試薬量、ナノ担体量および種類、液温等)および粒子成長条件(静置時間)を最適化し、定量的製膜(97%以上捕集可能)となるような条件を求める。加えて、疎水性試薬は試薬粒子が50-300 nmの粒子もしくは太さ10-200 nm長さ100~2000 nm程度の繊維となるよう、イオン性試薬はナノコンポジットの大きさが100 nmを超えるように電子顕微鏡観察および粒径測定によって確認しながら、粒子成長条件を定めた。できた膜は機械的強度測定や電子顕微鏡およびTLCスキャナにより表面分析を行い評価した。評価基準②~⑤のサブテーマ(2)、(3)にてターゲットとの反応性や妨害を調査した試験紙についても、反応性および感度向上との観点から、また評価基準⑥、⑦のサブテーマ(4)、(5)にて試験紙の選択性や実サンプルでの測定を行った試験紙についても、選択性の改善およびマスキング剤を併用した実試料への適用との観点から再度膜の作製条件の見直しを行った。

有機比色試薬は、試薬特級をそのまま用いた。ナノ担体として、表面がトリメチル化アミノ基修飾されたラテックス(Latex-NR₃⁺, 100 nm, Mircomod社製)およびシリカ粒子(SA, 10-14 nm、日揮触媒化成工業社製)、酸化ジルコニウム(ZrO_2 , 29 nm、ホソカワミクロン社製)、酸化チタン(TiO_2 , 19.7-101.0 nm、関東化学社製)、酸化セリウム(CeO_2 , 7.4-27.4 nm、関東化学社製)を主に用いた。メンブレンフィルターはアドバンテック社製のセルロース混合エステルタイプメンブレンフィルター(直径47mm、孔径0.1 μ m)を主に用いた。分散液量は10 mLで統一した。

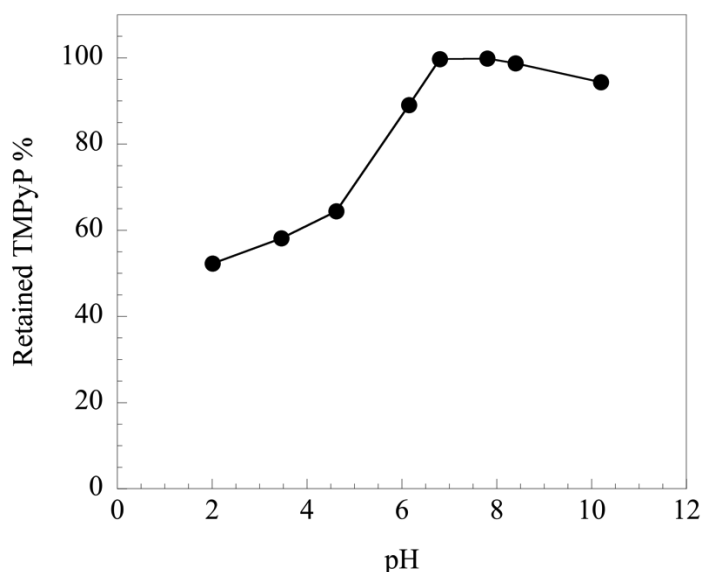
試薬担持率の算出に吸光光度測定(島津 uv-1800)、粒子成長時間の決定に電子顕微鏡による表面粒子および薄膜の断面観察(日立 S-800、産業技術総合研究所)およびゼータ電位・動的光散乱測定(大塚電子 ELSZ-2)、試験紙の表面分析に瞬間マルチ測光システム(大塚電子 MCPD-3700)およびTLCスキャナ(島津 CS-9300)、試薬薄膜層の機械的強度を鉛筆試験(JIS K5600塗料の一般試験法)、試薬薄膜層の経時安定性を色彩計(コニカミノルタ CM-2600d)にて評価した。フッ化物イオン試験紙については、蛍光分光光度計(Horiba FluoroMax-4)にて、固体サンプルホルダーに試験紙を取り付けて、励起光に対し30°、検出器に対し60°の角度にセットして測定した。

4. 結果及び考察

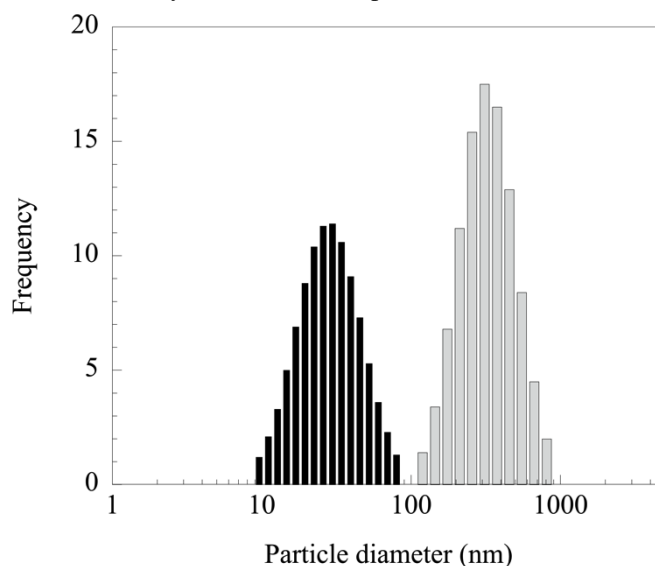
成果の概要で述べたように、実際に開発を達成したものは表(1)-1に記載の14ターゲットのうち、4ターゲットは時間と人員不足で遂行できなかったが、試した10ターゲットは全て規制値レベルが測定可能な試験紙として完成した。内訳は、カドミウム、鉛、クロム、水銀、マンガン、亜鉛、鉄、ホウ素、フッ化物、砒素イオン用試験紙である。水銀のみ作製条件は既存⁴⁾であり、それ以外の膜の作製条件の最適化について(1)～(9)に述べ、また併せて(10)ナノ担体の探索の結果も述べる。

(1) カドミウムイオン試験紙

表1-(2)に、評価基準①での候補の15試薬からのスクリーニング結果を示す。疎水性試薬および水溶性試薬は、それぞれ再沈法もしくはナノコンポジットにより製膜したが、溶液pHによりどちらの性質も取りうる試薬は両方法にて、pHをおおまかに変化させて製膜の有無を確認した。膜になりそうな試薬は、メンブレンフィルターへの比色試薬の担持率が100%近くになるような定量的製膜条件の確立を目指して、有機比色試薬やナノ担体の酸解離定数を見定めながらpH範囲を決め、有機比色試薬やナノ担体などの添加量を調整した。例えばTMPyP/シリカSA膜の場合、pH依存性を図(1)-4に示すが、これは広いpH範囲で正に帯電しているTMPyPの影響ではなく、ナノ担体であるシリカが弱アルカリ側で負に帯電していることと相関しており、ゼータ電位の測定結果からも裏付けられた。さらに粒子やナノコンポジットがメンブレンフィルターの孔径より大きくなるよう、個々の粒子の成長時間やナノコンポジットの凝集時間にあわせて静置時間や液温をおおよそ決めた。例えば、5-Br-PADAPおよび3,5-DiBrPADAPは電子顕微鏡観察より、成長時間が1分の場合100 nm以下の粒子が多く、また5分では大きな凝集体が生じており、最適な成長時間は3分であった。また、図(1)-5のようにTMPyP/シリカSAの



図(1)-4 TMPyP/SA製膜時におけるTMPyPの保持率へのpHの影響



図(1)-5 シリカSA (■)およびTMPyP/SAナノコンポジット (□)の粒径分布

表(1)-2 カドミウムイオン用試薬 評価基準①でのスクリーニング結果

試薬□	製膜の有無□	製膜条件□	備考□
8-Quinolinol□	×再沈法□		
Thioxine□	×再沈法□		
Zincon [®] □	○ナノコンポジット [®] (Latex-NR3+)□	0.04 [®] mM Zincon、 [®] 0.175mg/ml Latex-NR3+、0.01 [®] mM 酢酸緩衝液(pH [®] 4.7)の混合溶液10 [®] mlを45°Cで1分静置した後にろ過□	最適製膜条件 [®] 孔径0.45 [®] μm□
Dithizone [®]	○再沈法□	2 [®] mM ジチゾンアセトン溶液100 [®] μlを1,000 [®] rpmで攪拌した0.25 [®] mM アスコルビン酸水溶液10 [®] ml(pH [®] 4.43)に射出し、1分間静置した後にろ過 ^{a)} □	最適製膜条件□
1,5-Bis(4-nitrophenyl)carbonyldiimidazole□	△再沈法 [®] ×ナノコンポジット [®]		
1-Pyrrolidinedicarbonyldithioate□	×再沈法□		
EBT [®]	○ナノコンポジット [®] (Latex-NR3+)□	0.02 [®] mM EBT、 [®] 0.175mg/ml Latex-NR3+、0.01 [®] mM TAPS緩衝液(pH [®] 8.6)の混合溶液10 [®] mlを30秒以上静置した後にろ過 ^{a)} □	
5-Br-DMPAP□	○再沈法□	2 [®] mM 5-Br-DMPAPアセトン溶液をマイクロシリンジで100 [®] μl取り、1,000 [®] rpmで攪拌した水10 [®] ml中に射出し、ろ過 ^{a)} □	
5-Br-PADAP [®]	○再沈法□	2 [®] mM 5-Br-PADAPアセトン溶液100 [®] μlを1,000 [®] rpmで攪拌した25°C水10 [®] ml中に射出し、3分間静置した後にろ過□	最適製膜条件 [®] 孔径0.45 [®] μm□
3,5-DiBr-PADAP [®]	○再沈法□	2 [®] mM 3,5-DiBr-PADAPアセトン溶液をマイクロシリンジで100 [®] μl取り、1,000 [®] rpmで攪拌した水10 [®] ml中に射出し、3分間静置した後にろ過 ^{a)} □	
PAN [®]	○再沈法□	2 [®] mM PANアセトン溶液200 [®] μlを1,000 [®] rpmに攪拌した0.01 [®] mM APS緩衝液10 [®] ml(pH [®] 8.4)中に射出し、1分間静置した後にろ過 ^{a)} □	
TAN□	○再沈法□	2 [®] mM PANアセトン溶液100 [®] μlを1,000 [®] rpmに攪拌した0.01 [®] mM APS緩衝液10 [®] ml(pH [®] 8.4)中に射出し、1分間静置した後にろ過 ^{a)} □	
XO□	△ナノコンポジット [®]	0.02 [®] mM XO、 [®] 0.175mg/ml Latex-NR3+、0.01 [®] mM MES緩衝液(pH [®] 6.24)の混合溶液10 [®] mlを30秒以上静置した後にろ過 ^{a)} □	
MTB□	×ナノコンポジット [®]		
TMPyP□	○ナノコンポジット [®] (シリカSA)□	0.02 [®] mM TMPyP、 [®] 4×10 ⁻⁵ wt% シリカSA、0.01 [®] mM Tris緩衝液(pH [®] 7.8)の混合溶液10 [®] mlを30秒以上静置した後にろ過 ^{a)} □	最適製膜条件 [®]

a) アドバンテック社製セルロース混合エステルメンブレンフィルター(孔径 0.1 μm)

ナノコンポジットは動的光散乱測定の結果、表1-(2)の条件でナノコンポジットは100 nmを越えており、製膜の妥当性を示している。表1-(2)の「製膜の有無」の欄に○で示した10試薬が評価基準①をクリアした。

カドミウムイオン用試験紙の膜の評価として、鉛筆法での機械的強度の結果は、Dithizone膜で4H、TMPyP/SA膜で4Hであった。膜厚は、断面の電子顕微鏡観察より、Dithizone膜で440 nm、TMPyP/SA膜で2.60 μm、5-Br-PADAPおよび3,5-DiBrPADAP膜で1 μm以下、PAN膜でおよそ700 nmとなった。表面の平滑さを、TLCスキャナにて膜の中心から左右15 mmを1×1 mmのビームでスキャンしシグナル強度の標準偏差から見積もったが、TMPyP/SA膜で0.0039743と、本膜は極めて均一で平滑な膜であることが示された。光や空気にて酸化分解を受けやすいDithizoneおよび5-Br-PADAP膜について、膜色の経時安定性を色彩計にて評価したが、Dithizone膜では、アスコルビン酸という還元剤で成膜し減圧して除酸素材入りのアルミバックに入れることで3ヶ月以上安定であり、5-Br-PADAP膜でも減圧して除酸素材入りのアルミバックに保存して現在までのところ3ヶ月以上、L（明度）およびa*、b*（彩度）の値は変化しなかった。5-Br-PADAPナノ粒子膜の機械的強度および安定性の実験を行った。鉛筆法での機械的強度の結果、硬度3H以上でメンブランフィルター自体が破断し、そこまで剥離が見られなかったことから2H以上となった。TLCスキャナでの455 nmの反射吸光度の表面の平滑さは、標準偏差0.00571と十分に平滑であった。膜の保存安定性については、室内照明、大気条件下では $\Delta E^*(a^*, b^*) = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}}$ が1日後14、6日後に30と退色し白色となるのに対し、遮光・除酸素条件下では30日後に4、100日後に6と黄色いままであり、これよりガスバリア袋にて除酸素剤を同封し、保存することとした

サブテーマ（2）（3）の評価基準②～⑤で選出された2試薬、5-Br-PADAP、TMPyPについては、評価基準②～⑤だけでなく、続く⑥、⑦からのフィードバックも受けた、最終の最適製膜条件となっている。

（2）鉛イオン試験紙

鉛イオンについての候補試薬は表(1)-3に示すように11からスタートし、製膜の有無の欄に○で示した9試薬が評価基準①をクリアした。TMPyP/SA膜およびMTB/LatexNR₃⁺膜については、サブテーマ（2）で評価基準②で鉛イオンとの反応が確認されたため、感度の観点から膜の作成条件を再度最適化した。

（3）クロムイオン試験紙

表(1)-4にある10の候補試薬は、水溶液でクロム(III)もしくはクロム(VI)イオンの吸光検出が報告されているもので、製膜の有無の欄に○で示した4試薬、クロムアズロールS、5-Br-PADAP、5-Br-PAPS、ジチゾンが評価基準①をクリアした。

評価基準②で、クロム(III)とクロム(VI)の両方で反応を確認したが、唯一クロムアズロールSにてクロム(III)の検出に成功した。このため表(1)-4中のクロムアズロールSについては、評価基準⑤までのフィードバックを受けた最適な製膜条件となっている。

表(1)-3 鉛イオン用試薬 評価基準①でのスクリーニング結果

試薬□	製膜の有無□	製膜条件□	備考□
XO□	△ナノコンポジット ^㉔ (Latex-NR3+)□	0.02 ^㉔ mM ^㉔ XO、 ^㉔ 0.175mg/mlLatex-NR3+、0.01 ^㉔ M ^㉔ MES緩衝液(pH ^㉔ 6.24)の混合溶液10 ^㉔ mlを30 秒以上静置した後にろ過 ^{a)} □	
MTB□	○ナノコンポジット ^㉔ (Latex-NR3+)	0.03mMTB、0.375 ^㉔ ng/mlLatex-NR3+、 pH ^㉔ 6.15(捕集率99.06%)の混合溶液10 ^㉔ mlを1 分静置した後にろ過 ^{a)} □	
PR□	○ナノコンポジット ^㉔ (Latex-NR3+) □	0.02 ^㉔ mM ^㉔ PR、0.25mg/mlLatex-NR3+ ^㉔ pH11.0 混合溶液10 ^㉔ mlを1分静置した後にろ過 ^{a)} □	
PV□	△ナノコンポジット ^㉔ (Latex-NR3+)□		
EBT□	○ナノコンポジット ^㉔ (Latex-NR3+)□	0.02 ^㉔ mM ^㉔ EBT、 ^㉔ 0.175mg/mlLatex-NR3+、0.01 ^㉔ M ^㉔ APS緩衝液(pH ^㉔ 8.6)の混合溶液10 ^㉔ mlを30 秒以上静置した後にろ過 ^{a)} □	
Thioxine ^㉔	×再沈法□		
Dithizone ^㉔	○再沈法□ □	2 ^㉔ mM ^㉔ ジチゾンアセトン溶液100 ^㉔ μ lを1,000 ^㉔ rpmで攪拌した0.25 ^㉔ Mアスコルビン酸水溶液 10 ^㉔ ml(pH ^㉔ 2.43)に射出し、1分間静置した後に ろ過 ^{a)} □	最適製膜条 件 ^㉔
Zincon□	○ナノコンポジット ^㉔ (Latex-NR3+)□	0.04 ^㉔ mM ^㉔ Zincon、 ^㉔ 0.175mg/mlLatex-NR3+、 0.01 ^㉔ M ^㉔ 酢酸緩衝液(pH ^㉔ 4.7)の混合溶液10 ^㉔ ml を45°Cで1分静置した後にろ過 ^{a)} □	最適製膜条 件 ^㉔ 孔径0.45 ^㉔ μm□
Lumogallion ^㉔	○ナノコンポジット ^㉔ (Latex-NR3+)□	0.02 ^㉔ mM ^㉔ レモガリオン、 ^㉔ 0.175mg/mlLatex- NR3+、0.01 ^㉔ M ^㉔ 酢酸緩衝液(pH ^㉔ 4.7)の混合溶 液10 ^㉔ mlを1分静置した後にろ過 ^{a)} □	
TPPS ^㉔	○ナノコンポジット ^㉔ (Latex-NR3+)□	0.02 ^㉔ mM ^㉔ TPPS、 ^㉔ 0.25mg/mlLatex-NR3+、0.01 ^㉔ M ^㉔ 酢酸緩衝液(pH ^㉔ 4.7)の混合溶液10 ^㉔ mlを2 分静置した後にろ過 ^{a)} □	
TMPyP□	○ナノコンポジット ^㉔ (シリカ)□	0.02 ^㉔ mM ^㉔ TMPyP、 ^㉔ 2×10 ⁻⁵ wt%シリカSA、0.01 ^㉔ M ^㉔ Tris緩衝液(pH ^㉔ 7.8)の混合溶液10 ^㉔ mlを30秒 以上静置した後にろ過 ^{a)} □	最適製膜条 件 ^㉔

a)アドバンテック社製セルロース混合エステルメンブレンフィルター(孔径 0.1 μm)

表(1)-4 クロムイオン用試薬評価基準①でのスクリーニング結果

試薬□	製膜の有無□	製膜条件□	備考□
クロムアズ ロールS□	×再沈法☑	0.02mM☑クロムアズロールS、0.15mg/mlLatex☑ 0.01M☑MES緩衝液(pH☑.15)の混合溶液10mlを 1分静置した後にろ過 ^{a)} 捕集率99.93%☑	
TAR☑	×再沈法☑		
PAR☑	×再沈法☑		
5-Br-PADAP☑	○再沈法□	2mM☑5-Br-PADAPアセトン溶液100μ lを1,000☑ rpmで攪拌した25℃水10ml中に射出し、3分間 静置した後にろ過☑	最適製膜条 件☑ 孔径0.45μm□
5-Br-PAPS☑		0.02mM☑5-Br-PAPS、0.15mg/mlLatex☑ 0.01M☑ MES緩衝液(pH☑.15)の混合溶液10mlを1分静 置した後にろ過 ^{a)} 捕集率99.93%☑	
8-キノリノー ル☑	×再沈法☑		
チオオキシ ン□	×再沈法☑		
Dithizone☑	○再沈法□	2mM☑ジチゾンアセトン溶液100μ lを1,000☑rpm で攪拌した0.25M☑アスコルビン酸水溶液10☑ ml(pH☑2.43)に射出し、1分間静置した後にろ過 ^{a)} ☑	最適製膜条 件☑
ジフェニル カルバゾン□	×再沈法☑ □		
ジフェニル カルバジド□	×再沈法☑ □		

a)アドバンテック社製セルロース混合エステルメンブレンフィルター(孔径 0.1 μm)

(4) マンガンイオン試験紙

表(1)-5にある候補試薬のうち、評価基準①製膜の可能性をクリアしたものは、5-Br-PADAP、3,5-DiBr PADAP、PAN、TANの4試薬であった。

評価基準⑤をクリアした3,5-DiBr-PADAPについて、⑦選択性まで加味した最終的な最適製膜条件となっている。

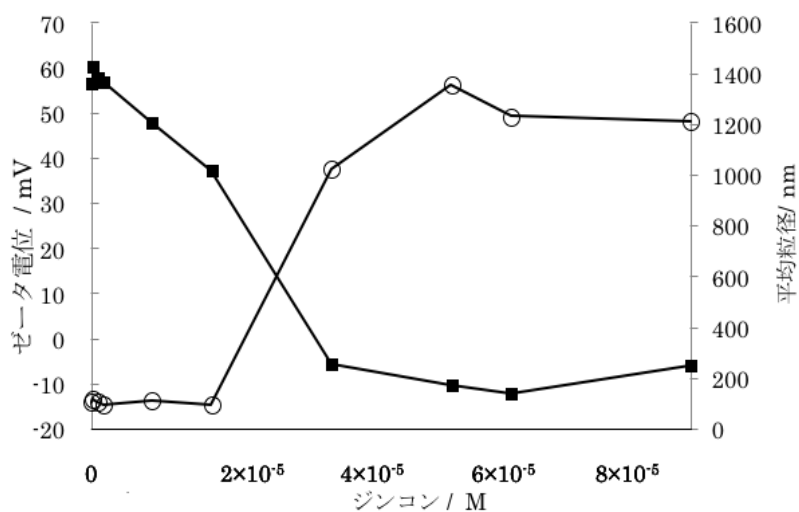
表(1)-5 マンガンイオン用試薬 評価基準①でのスクリーニング結果

試薬□	製膜の有無□	製膜条件□	備考□
カルセインブルー□	×再沈法□ ×ナノコンポジット□		
XO□	△ナノコンポジット ^② (Latex-NR3+)□	0.02 ^③ M ^④ EO、 ^⑤ 0.175mg/mlLatex-NR3+、0.01 ^⑥ M ^⑦ MES緩衝液(pH ^⑧ 2.4)の混合溶液10 ^⑨ mlを30秒以上静置した後にろ過 ^{a)} □	
8-キノリノール ^②	×再沈法 ^②		
ジフェニルカルバゾン□	×再沈法 ^②		
チオオキシソ ^②	×再沈法 ^②		
5-Br-PADAP ^②	○再沈法□	2 ^③ nM ^④ 5-Br-PADAPアセトン溶液100 ^⑤ μ lを1,000 ^⑥ rpmで攪拌した25°C水10 ^⑦ ml中に射出し、3分間静置した後にろ過□	最適製膜条件 ^② 孔径0.45 ^③ μm□
3,5-DiBr-PADAP ^②	○再沈法□	2 ^③ nM ^④ 3,5-DiBr-PADAPアセトン溶液をマイクロシリンジで100 ^⑤ μ l取り、1,000 ^⑥ rpmで攪拌した水10 ^⑦ ml中に射出し、3分間静置した後にろ過 ^{a)} □	
PAN ^②	○再沈法□	2 ^③ nM ^④ PANアセトン溶液200 ^⑤ μ lを1,000 ^⑥ rpmに攪拌した0.01 ^⑦ M ^⑧ APS緩衝液10ml(pH ^⑨ 8.4)中に射出し、1分間静置した後にろ過 ^{a)} □	
TAN□	○再沈法□	2 ^③ nM ^④ TANアセトン溶液100 ^⑤ μ lを1,000 ^⑥ rpmに攪拌した0.01 ^⑦ M ^⑧ APS緩衝液10ml(pH ^⑨ 8.4)中に射出し、1分間静置した後にろ過 ^{a)} □	
TAR ^②	×再沈法 ^②		
PAR ^②	×再沈法 ^②		

a)アドバンテック社製セルロース混合エステルメンブレンフィルター(孔径 0.1 μm)

(5) 亜鉛イオン試験紙

亜鉛イオンに関しては候補試薬が多数あり、かついずれも選択性が乏しいため一斉スクリーニングは行っておらず、水溶液中での主に選択性からZinconを選択した。アニオン性試薬Zinconに対し、強塩基性担体であるLatex-NR₃⁺とのナノコンポジット膜、Zincon/Latex-NR₃⁺膜について製膜条件を詳細に調べた。ゼータ電位および平均粒径との関係を図(1)-6に示すが、Latex-NR₃⁺を一定とし



図(1)-6 Zincon/Latex-NR₃⁺におけるZincon濃度とゼータ電位 (■) および平均粒径 (○) の関係

てZincon濃度を变化せたとこ、Zincon濃度が増加するにつれて急激にLatex-NR₃⁺の表面のゼータ電位が下がり、4x10⁻⁵ Mでゼロ近くなり、同時に平均粒径も4x10⁻⁵ MまではLatexナノ粒子単独の100 nmが主流であるが、それ以上ではより大きな凝集体へと変化していることがわかる。条件はこのナノコンポジットが形成する条件とした。またZincon/Latex-NR₃⁺のナノコンポジットは凝集が遅く、しばしば膜色の著しい低下が見られたため、凝集時間もしくは液温の詳細な検討として、濾液でのZincon濃度が薄く吸光光度計を用いた捕集率の算出が難しかったため、色彩計の色分析(L, a*, b*)を行った。凝集時間1分で固定した時、18℃では裏面への抜けが見られ、40℃~60℃で抜けがないが、53℃および60℃でa*値の低下が見られ、加熱によるZinconの分解が示唆された。また凝集温度を45℃として時間を1~10分と変化せたとこ、1~5分までは変化せず、10分でa*値の低下が見られた。加熱によるZinconの劣化と製膜の簡便さの観点から、ナノコンポジットの成長条件を45℃、1分とした。

Zincon/Latex-NR₃⁺層の膜厚は断面の電子顕微鏡観察より1.294 μmであり、機械的強度は鉛筆試験で3H、表面平滑さはTLCの反射吸収測定より、中心から左右15 mmずつデータから標準偏差を算出したところ0.008649であり、均一かつ平滑な膜であることが示された。

(6) 鉄イオン試験紙

水溶液中で鉄(II)もしくは鉄(III)と反応する13試薬を候補として、評価基準①による評価の結果、表(1)-6にあるように、バソフェナントロリン、バソフェナントロリンスルホン酸、クロムアズロールS、MTB、TPTZ、PDT、PDTS、5-Br-PADAP、ニトロソR塩、Nitro-PAPSの10試薬がクリアした。バソフェナントロリン、バソフェナントロリンスルホン酸、TPTZ、PDT、PDTSは鉄(II)イオンのみに呈色する試薬である。

(7) ホウ素イオン試験紙

ホウ素は上記までのイオンとは異なり、オキソアニオンで、有機試薬との反応は錯形成反応ではなく、脱水縮合となる。表(1)-7にある候補試薬は、上のモリンからナリゲニンまでがフラボノ

表(1)-6 鉄イオン用試薬 評価基準①でのスクリーニング結果

試薬□	製膜の有無□	製膜条件□	備考□
バソフェナントロリン□	○再沈法□	2mMバソフェナントロリンアセトン溶液100μ lを1,000rpmに攪拌した超純水中に射出し、1分間静置した後にろ過 ^{a)} □	
バソフェナントロリンスルホン酸□	○ナノコンポジット ^② (Latex-NR3+, ^② アルミナAS3) □	0.02mMバソフェナントロリンスルホン酸、0.175mg/mlLatex-NR3+の混合溶液10mlを3分以上静置した後にろ過 ^{a)} □	
Tiron□	×ナノコンポジット ^② (Latex-NR3+)□		
クロムアズロールS□	○ナノコンポジット ^② (Latex-NR3+) □	0.02mMクロムアズロールS、0.15mg/mlLatex ^② 0.01MMES緩衝液(pH6.15)の混合溶液10mlを1分静置した後にろ過 ^{a)} 捕集率99.93%□	
Ferron□	×ナノコンポジット ^② (Latex-NR3+)□		
MTB□	○ナノコンポジット ^② (Latex-NR3+)	0.03mMTB、0.375mg/mlLatex-NR3+、pH6.15(捕集率99.06%)の混合溶液10mlを1分静置した後にろ過 ^{a)} □	
TPTZ ^②	○再沈法□	2mMTPTZアセトン溶液100μ lを1,000rpmに攪拌した超純水中に射出し、1分間静置した後にろ過 ^{a)} □	
PDT ^②	○再沈法□	2mMPDTアセトン溶液100μ lを1,000rpmに攪拌した超純水中に射出し、1分間静置した後にろ過 ^{a)} □	
PDTS ^②	○再沈法□	0.02mMPDTS、0.175mg/mlLatex-NR3+の混合溶液10mlを3分以上静置した後にろ過 ^{a)} □	
5-Br-PADAP ^②	○再沈法□	2mM5-Br-PADAPアセトン溶液100μ lを1,000rpmで攪拌した25°C水10ml中に射出し、1分間静置した後にろ過□	
Nitroso-PSAP ^②	×ナノコンポジット ^② (Latex-NR3+)□		
ニトロソ-R塩 ^②	○ナノコンポジット ^② (Latex-NR3+) □	0.02mMPDTS、0.175mg/mlLatex-NR3+の混合溶液10mlを3分以上静置した後にろ過 ^{a)} □	
Nitro-PAPS ^②	○ナノコンポジット ^② (Latex-NR3+) □	0.02mMPDTS、0.175mg/mlLatex-NR3+の混合溶液10mlを3分以上静置した後にろ過 ^{a)} □	

a)アドバンテック社製セルロース混合エステルメンブレンフィルター(孔径 0.1 μm)

表(1)-7 ホウ素イオン用試薬 評価基準①でのスクリーニング結果

試薬□	製膜の有無□	製膜条件□	備考□
モリン□	×再沈法 ²⁾ ○ナノコンポジット ²⁾ (Latex-NR3+, ²⁾ rO2)□	1 ³⁾ nMモリン エタノール溶液200 ⁴⁾ μl、 ²⁾ 0.175mg/mlLatex-NR3+、 ²⁾ 0.01 ³⁾ MMES(pH ²⁾ 6.2)10 ³⁾ mlの混合溶液を室温で1分静置した後にろ過 ^{a)} □	
ルテオリン□	○ナノコンポジット ²⁾ (Latex-NR3+)□	1 ³⁾ nMルテオリン エタノール溶液200 ⁴⁾ μl、 ²⁾ 0.175mg/mlLatex-NR3+、 ²⁾ 0.01 ³⁾ MMES(pH ²⁾ 6.2)10 ³⁾ mlの混合溶液を室温で1分静置した後にろ過 ^{a)} □	
アピゲニン□	○ナノコンポジット ²⁾ (Latex-NR3+)□	1 ³⁾ nMアピゲニン エタノール溶液200 ⁴⁾ μl、 ²⁾ 0.175mg/mlLatex-NR3+、 ²⁾ 0.01 ³⁾ MMES(pH ²⁾ 6.2)10 ³⁾ mlの混合溶液を室温で1分静置した後にろ過 ^{a)} □	
フィセチン□	○ナノコンポジット ²⁾ (Latex-NR3+)□	1 ³⁾ nMフィセチン エタノール溶液200 ⁴⁾ μl、 ²⁾ 0.175mg/mlLatex-NR3+、 ²⁾ 0.01 ³⁾ MMES(pH ²⁾ 6.2)10 ³⁾ mlの混合溶液を室温で1分静置した後にろ過 ^{a)} □	
ケンフェロール□	○ナノコンポジット ²⁾ (Latex-NR3+)□	1 ³⁾ nMケンフェロール エタノール溶液200 ⁴⁾ μl、 ²⁾ 0.175mg/mlLatex-NR3+、 ²⁾ 0.01 ³⁾ MMES(pH ²⁾ 6.2)10 ³⁾ mlの混合溶液を室温で1分静置した後にろ過 ^{a)} □	
ケルセチン□	○ナノコンポジット ²⁾ (Latex-NR3+)□	1 ³⁾ nMケルセチン エタノール溶液200 ⁴⁾ μl、 ²⁾ 0.175mg/mlLatex-NR3+、 ²⁾ 0.01 ³⁾ MMES(pH ²⁾ 6.2)10 ³⁾ mlの混合溶液を室温で1分静置した後にろ過 ^{a)} □	
ミリセチン ²⁾	○ナノコンポジット ²⁾ (Latex-NR3+)□	1 ³⁾ nMミリセチン エタノール溶液200 ⁴⁾ μl、 ²⁾ 0.175mg/mlLatex-NR3+、 ²⁾ 0.01 ³⁾ MMES(pH ²⁾ 6.2)10 ³⁾ mlの混合溶液を室温で1分静置した後にろ過 ^{a)} □	
ナリンゲニン ²⁾	○ナノコンポジット ²⁾ (Latex-NR3+)□	1 ³⁾ nMナリンゲニン エタノール溶液200 ⁴⁾ μl、 ²⁾ 0.175mg/mlLatex-NR3+、 ²⁾ 0.01 ³⁾ MMES(pH ²⁾ 6.2)10 ³⁾ mlの混合溶液を室温で1分静置した後にろ過 ^{a)} □	
アゾメチンH ²⁾	○ナノコンポジット ²⁾ (Latex-NR3+、 ²⁾ AS3)□	0.02 ³⁾ nMアゾメチンH、 ²⁾ 0.175mg/mlLatex-NR3+の混合溶液10 ³⁾ mlを室温で1分静置した後にろ過 ^{a)} □	
クルクミン ²⁾	○再沈法□	1 ³⁾ nMクルクミン アセトン溶液100 ⁴⁾ μlを1,000 ³⁾ ppmに攪拌した超純水中に射出し、1分間静置した後にろ過 ^{a)} □	
クロモトロープ酸 ²⁾	○ナノコンポジット ²⁾ (Latex-NR3+、 ²⁾ AS3)□	0.02 ³⁾ nMクロモトロープ酸、 ²⁾ 0.175mg/mlLatex-NR3+の混合溶液10 ³⁾ mlを室温で1分静置した後にろ過 ^{a)} □	
アリザリンS ²⁾	○ナノコンポジット ²⁾ (Latex-NR3+)□	0.02 ³⁾ nMアリザリンS、 ²⁾ 0.175mg/mlLatex-NR3+の混合溶液10 ³⁾ mlを室温で1分静置した後にろ過 ^{a)} □	
スチルバゾ ²⁾	○ナノコンポジット ²⁾ (Latex-NR3+)□	0.02 ³⁾ nMスチルバゾ、 ²⁾ 0.25mg/mlLatex-NR3+の混合溶液10 ³⁾ mlを室温で1分静置した後にろ過 ^{a)} □	
H-レゾルシノール ²⁾	○ナノコンポジット ²⁾ (Latex-NR3+)□	0.02 ³⁾ nMH-レゾルシノール、 ²⁾ 0.175mg/mlLatex-NR3+の混合溶液10 ³⁾ mlを室温で1分静置した後にろ過 ^{a)} □	

a) アドバンテック社製セルロース混合エステルメンブレンフィルター(孔径 0.1 μm)

ールと呼ばれる化合物で、いずれも蒸発乾固した後、シュウ酸などの有機酸と塩酸を添加することでホウ素との蛍光性化合物を形成することが知られている。クルクミンも古くからホウ素の検出試薬として知られ、やはり蒸発乾固と酸が検出に必要な試薬である。それに比ベアゾメチンH、クロモトローブ酸、アリザリンS、スチルバゾ、H-レゾルシノールは弱酸性から中性の水溶液で反応し、色変化もしくは蛍光が変化する。表(1)-7の14試薬全てが定量的に製膜可能で、評価基準①をクリアしている。

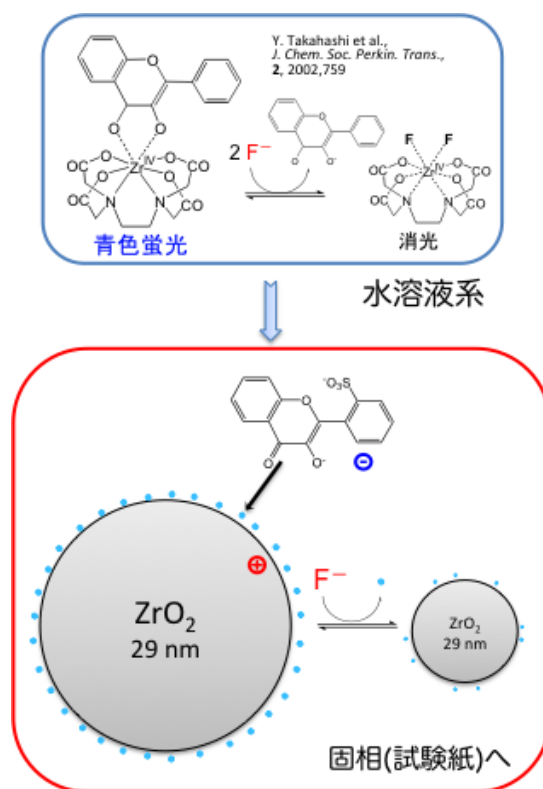
(8) フッ化物イオン試験紙

既報⁸⁾を参照し、水溶液系でのフッ化物イオンの蛍光検出系を試験紙へと展開することを検討した。既報では、ジルコニウム(IV)イオンのEDTAおよびフラボノール類の蛍光性3元錯体を用い、フッ化物イオンとのイオン交換により青色蛍光が減少することで検出するが、本研究では水溶性の3元錯体の代わりに酸化ジルコニウムナノ粒子(ZrO_2 , 約30 nm)とフラボノール類とのナノコンポジットからなる膜にて新規なフッ化物イオンの蛍光検出を試みた。概念図を図(1)-7に示す。酸化ジルコニウムナノ粒子は、図(1)-8に示すように、ゼータ電位の測定結果からpH 2-4で表面が+45 mV以上あり、このpH条件でアニオンのフラボノイド類は静電相互作用で酸化ジルコニウム粒子の表面に吸着し、ゼータ電位の低下により凝集が起きることでナノコンポジットを生じ、製膜が可能になると予想した。

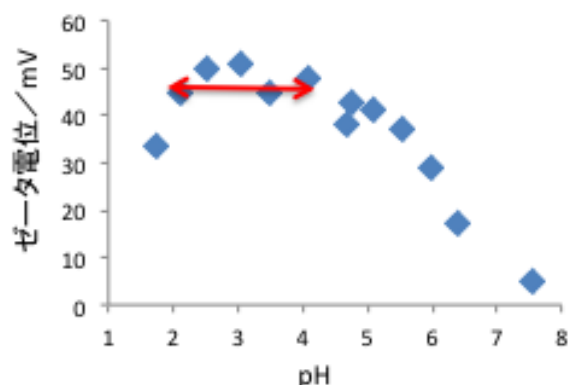
酸化ジルコニウムナノ粒子を蛍光性の複合体を形成し、また膜が作成可能かどうか、図(1)-9にあるようなフラボノイドを試みた。蛍光特性を表(1)-8に示すが、多くのフラボノイドで青から緑、赤色蛍光の特有な膜が作製可能であった。この蛍光は試薬自身の蛍光とは全く異なり、全く蛍光を示さない試薬が ZrO_2 表面に吸着することで発光する、もしくは励起・発光波長がシフトし、かつ蛍光強度が大きくなる傾向が観測された。表(1)-8中でも特に蛍光強度が強い

Flavonol-2'-sulfonate (Flav-s)を用い、蛍光性の試験紙を試作した。蛍光量子収率を、硫酸キニーネを標準蛍光物質として求めたところ、Flav-s

自身は水溶液では弱い緑蛍光(λ_{em} : 520 nm, Φ_f : 0.30) であるが、Flav-s/ ZrO_2 ナノコンポジットでは強い青色蛍光 (λ_{em} : 450 nm, Φ_f : 0.67)を示し、酸化ジルコニウムと結合することで、全く異なる共鳴

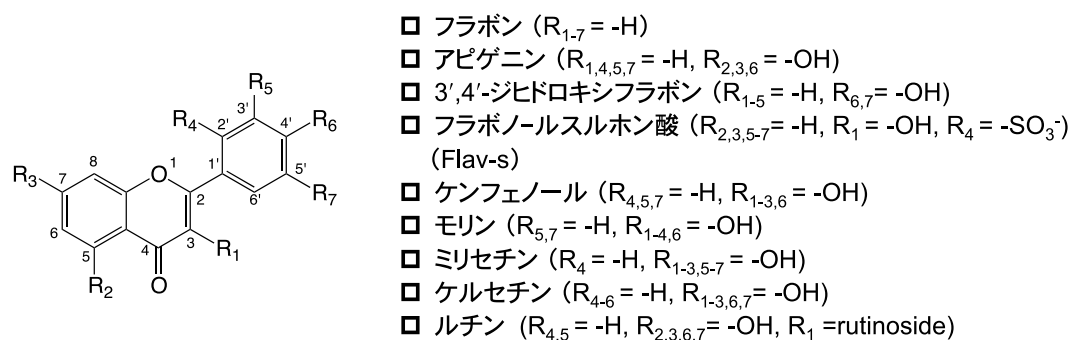


図(1)-7 フッ化物イオン用蛍光検出試験紙の概念図



図(1)-8 酸化ジルコニウムナノ粒子のゼータ電位とpHの関係

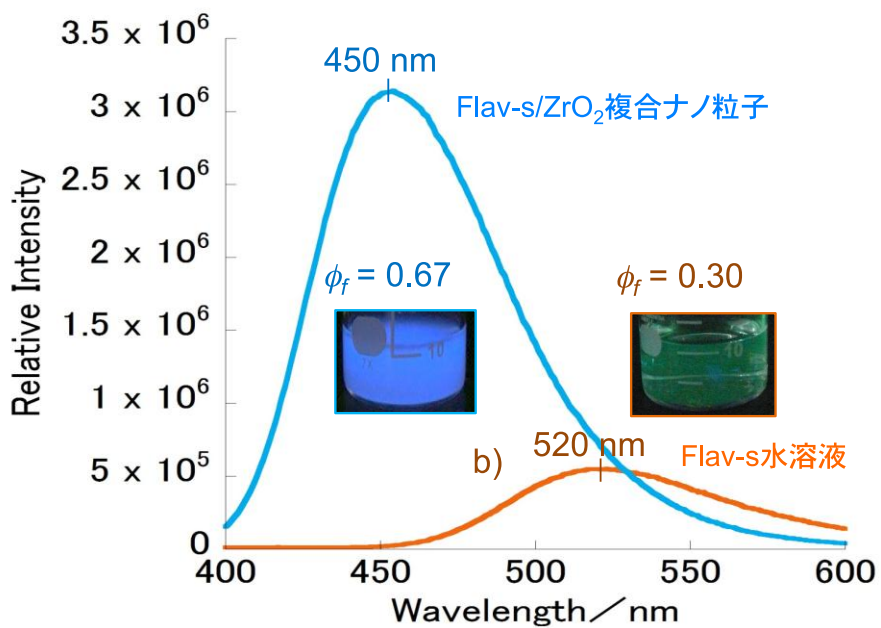
状態となることが示唆された。Flav-sおよびFlav-s/ ZrO_2 ナノコンポジットの蛍光スペクトルを図(1)-10に示す。また担体を酸化チタン、酸化セリウム酸化銅、酸化ビスマス等の他の金属酸化物に替えると蛍光を示さず、 ZrO_2 特異的であるため、 ZrO_2 がFlav-sの特異な蛍光を誘導していると言える。以上より、 ZrO_2 の結合によりFlav-s分子内のフェニル基が固定され、共鳴状態が大きく変化してこのような特異な蛍光を発すると予想した。



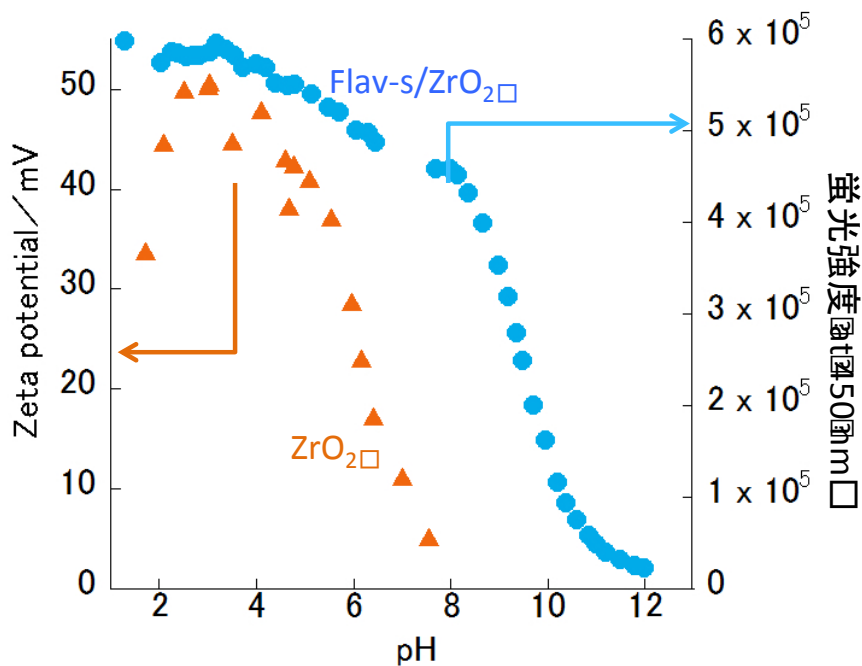
図(1)-9 フラボノイドの構造

表(1)-8 フラボノイドおよびフラボノイド/ ZrO_2 膜の蛍光特性

フラボノイド□	フラボノイド粉末□		フラボノイド/ ZrO_2 膜□	
	λ_{ex}/nm □	λ_{em}/nm □	λ_{ex}/nm □	λ_{em}/nm □
フラボン□	383□	540□	380□	450□
アピゲニン□	438□	530□	370□	505□
3',4'-ジヒドロキシフラボン□	485□	570□	370□	530□
Flav-s□	365□	535□	370□	450□
ケンフェノール□	—□	—□	435□	515□
モリン□	485□	560□	430□	520□
ミリセチン□	—□	—□	440□	545□
ケルセチン□	453□	615□	440□	520□
ルチン□	—□	—□	420□	555□



図(1)-10 Flav-s水溶液およびFlav-s/ZrO₂の蛍光強度



図(1)-11 Flav-s/ZrO₂の蛍光強度およびZrO₂のゼータ電位のpH依存性

図(1)-11のFlav-s/ZrO₂の蛍光強度およびZrO₂のゼータ電位のpH依存性より、ZrO₂のゼータ電位が低い場合アニオン性のFlav-sと静電吸着に基づくナノコンポジットを形成しにくいpH 8以上の弱アルカリ域においても蛍光性であるため、当初予想された静電吸着に基づく吸着ではなく、Flav-s/ZrO₂ナノコンポジットは表面のZrとFlav-sの錯形成に基づく結論した。またpH 1-10までの広い範囲では強い蛍光を放つことは、以前に報告されたZr (IV)イオン-Flav-s錯体およびZr(VI)-EDTA-Flav-s三元錯体の、pH 2-2.5もしくはpH 4-10と大きく異なり、ZrO₂に特異な蛍光特性である。

Flav-sとZrO₂(約3 nm)表面の安定度定数を、透析膜法を用いてLangmuir吸着等温式より求めた。



Zr_{surface}: ZrO₂ナノ粒子表面のジルコニウム原子□
Flav-s/Zr_{surface}: Zr_{surface}とFlav-sの錯体□

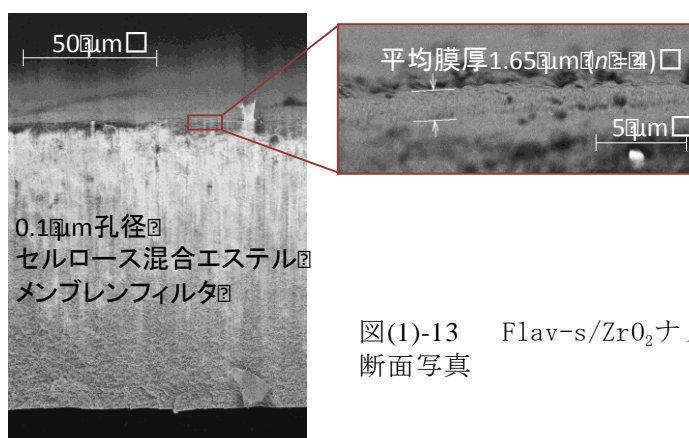
Langmirの吸着等温式より、 \blacklozenge

$$\frac{1}{A} = \frac{1}{KA_{\text{max}}} \frac{1}{[\text{Flav-s}]} + \frac{1}{A_{\text{max}}} \quad (2) \blacklozenge$$

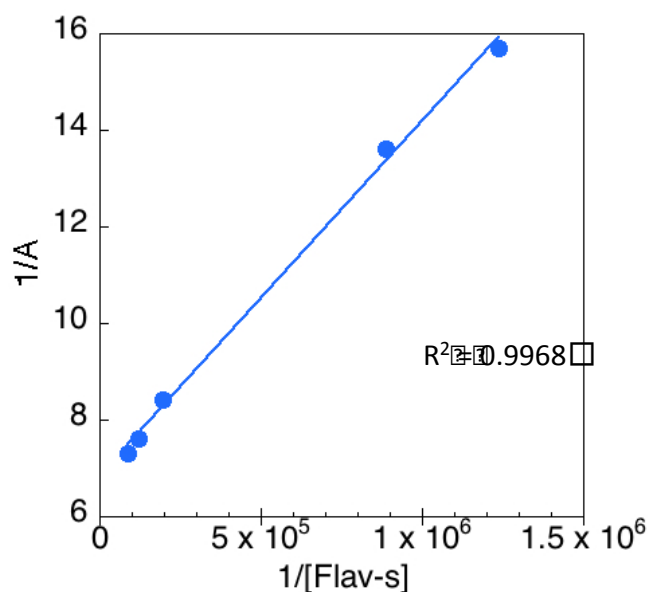
(2)式から、図(1)-12の1/[Flav-s]と1/Aのプロットより、 $A_{\text{max}} = 0.147$ 、 $K = 9.27 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ とドーパミンと酸化チタン¹⁰⁾の約100倍の値となり、安定な複合体を形成していることがわかった。

最適製膜条件は、pH 3.7、約30 nmのZrO₂ (0.05 wt%)、 $6 \times 10^{-6} \text{ M}$ Flav-sの混合溶液10 mLを、室温下で粒子成長時間(錯形成時間)として2分静置した後、孔径0.45 μmのセルロース混合エステルタイプメンブレンフィルターで濾過することに決定した。この時のFlav-sの捕集率は約98%であった。

図(1)-13にFlav-s/ZrO₂膜の電子顕微鏡観察にて断面観察を行ったところ、平均膜厚1.65 μm($n = 4$)であった。



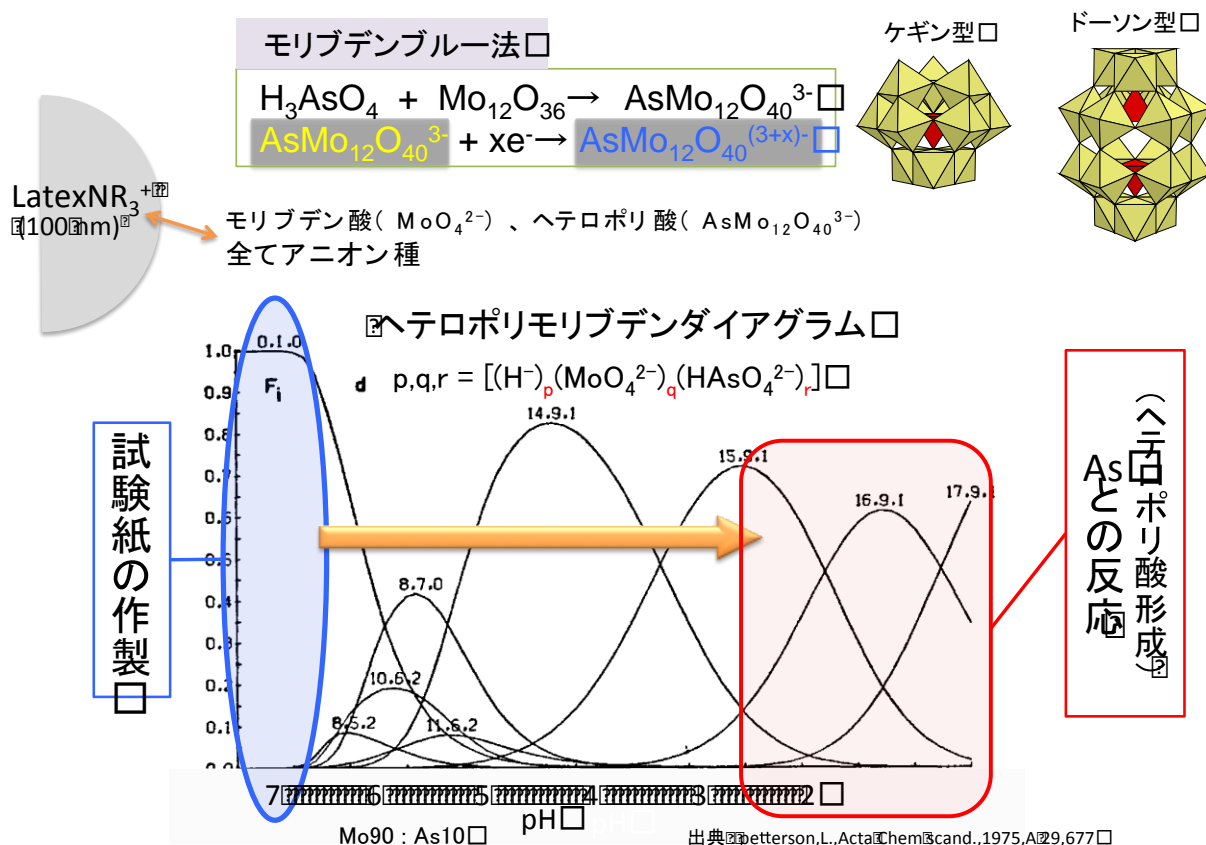
図(1)-13 Flav-s/ZrO₂ナノコンポジット膜の断面写真



図(1)-12 Flav-s/ZrO₂の蛍光強度およびZrO₂のゼータ電位のpH依存性

(9) 砒素イオン試験紙

砒素定量の現行法は、水素化物発生法とICPやAAS等の機器分析を組み合わせたものが主流で、感度も選択性も実サンプルの測定に十分であるが、水素化物（アルシン、AsH₃）は猛毒のガスであるため、現場分析への適用はできない。モリブデンとのヘテロポリ酸形成とその還元に基づく、モリブデンブルー法は安全ではあるが、感度が低く100 ppbの排水基準も満足に測定できない。そこで本ナノ薄膜試験紙のコンセプト、ナノ薄膜構造でモリブデンブルー法の高感度化を図り、環境基準10 ppbおよび排水基準100 ppbを判定可能な試験紙を作製することを目的とする。砒素の水溶液中の存在形態には3価（As^{III}O(OH)²⁻）と5価（As^VO₄³⁻）があり、モリブデンブルー発色は5価の砒素のみの反応であり、基本的に2つの反応からなる。はじめにAs^Vがモリブデン酸（MoO₄²⁻）と反応し、モリブドヒ酸（薄黄色）を生成する。これを還元して、モリブデンの混合原子価状態（AsMo(V)_nMo(VI)_{12-n}O₄₀H_m^(-n+m-3)）を作り出すことで、極大吸収波長840 nmの深青色の発色となる。本砒素イオン試験紙の基本的な作製および検出のコンセプトを図(1)-14に示す。強塩基性のLatex-NR₃⁺に、アニオン種であるモリブデン酸（MoO₄²⁻）を吸着させることで試験紙とし、ヘテロポリ酸を形成しない中性域で製膜し、これをAs(V)との反応時に酸性とすることでヘテロポリ酸を発現させることを目的として試験紙を最適化した。図(1)-15に青色試験紙の反射吸収スペ

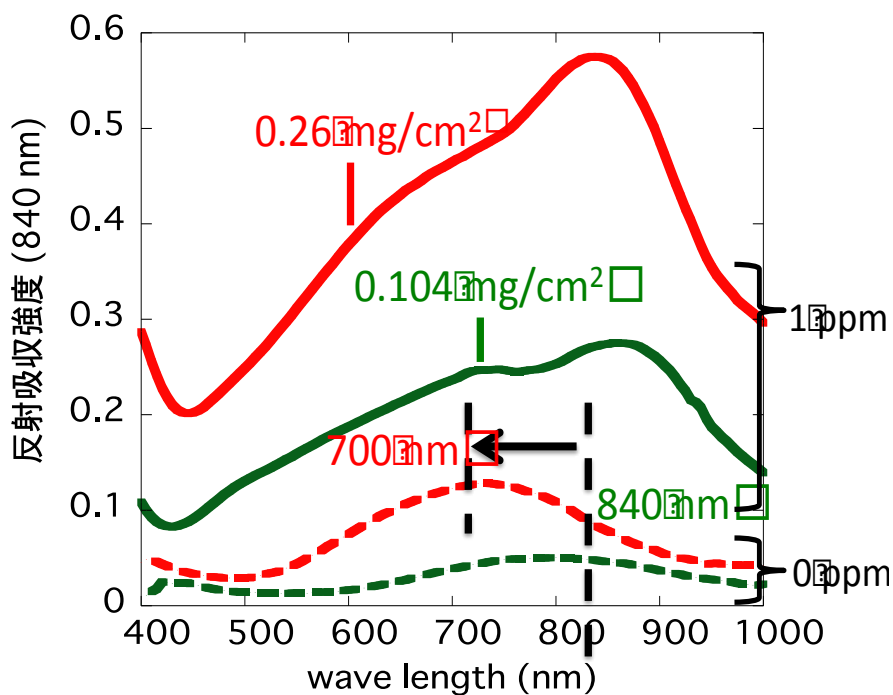


図(1)-14 砒素イオン試験紙のコンセプト

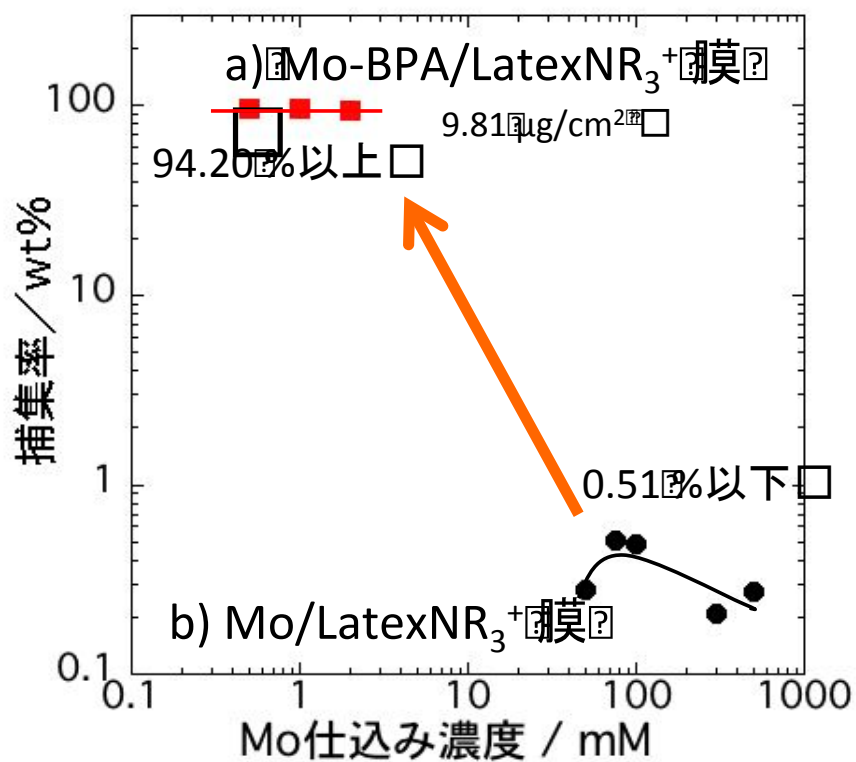
クトルを示すが、モリブデン量と青色発色（吸収極大840 nm）との関係で、モリブデン量が多ければ多いほど、砒素との青色発色の強度が大きくなるが、同時にAs(V)無しのバックグラウンドにも、700 nmの青色発色が観測されてしまう。これは砒素が内包されていないモリブデンのみのイソポリモリブデンの吸収であるため、840 nmの極大吸収が大きくなるよう、またバックグラウンド吸収の出ないように、モリブデン量を調整した。

モリブデンの捕集率から見ると、モリブデンの量を変化させても図(1)-16にあるように、0.5%以下であったため、製膜時の精度に問題があると判断し、捕集率改善のための補助膜化剤の検討を行った。補助膜化剤として、10のモリブデンと水溶液中で錯形成することが知られている有機試薬を試した。BPA (*N*-Benzoyl-*N*-phenylhydroxylamine)、Tiron、CPA、アセチルアセトン、クロムアズロールS、カルマガイト、クプフェロン、オキシシ、チオキシシである。そのうち、モリブデンの沈殿試薬として知られるBPA (*N*-Benzoyl-*N*-phenylhydroxylamine)と溶媒抽出試薬であるアセチルアセトンが良好な結果を与えた。図(1)-16にBPA添加および添加無し時の捕集率を示すが、BPAを添加することで、1/100量で十分なモリブデン量が得られ、かつ94%以上の捕集率で、定量的な製膜が達成された。モリブデン酸とBPAの組成比は、1:2の配位飽和となると、青色発色が現れず、1:1の配位不飽和の時に青色となった。

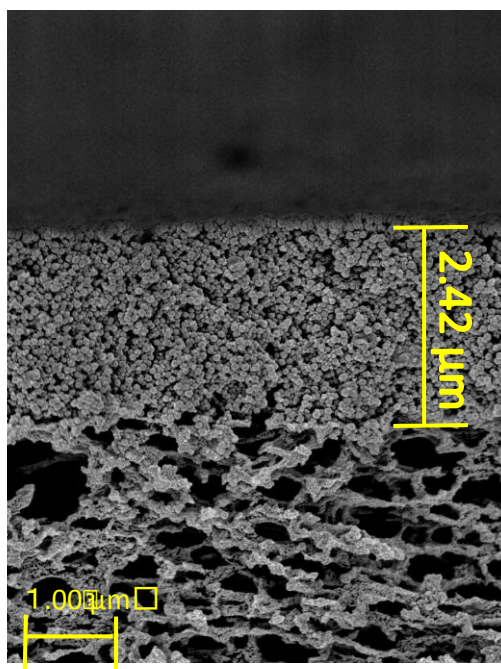
Mo/Latex-NR₃⁺膜の断面観察を行ったところ、図(1)-17にあるように、本膜は有機比色試薬のナノコンポジット膜とは異なり、同じ量のLatex-NR₃⁺でも空隙が多く、厚い膜となった。これは吸着種であるモリブデン酸 (MoO₄²⁻) が水を含みやすいため、膜も親水性であることが予想される。電子顕微鏡観察より、平均膜厚は2.54 μm(*n* = 3)であった。



図(1)-15 モリブデン量と反射吸収スペクトルの関係



図(1)-16 モリブデン量と反射吸収スペクトルの関係



図(1)-17 Mo/LatexNR₃⁺ 膜の断面構造

(10) ナノイオン交換体の探索

図(1)-1のイオン性有機物からなるナノコンポジット膜の作製法で、今まではコロイダルシリカ(数~20 nm)、 α -アルミナ繊維(10×100 nm)、トリメチル基修飾ラテックス(Latex-NR₃⁺, 100 nm)を用いてきたが、適用可能なpHに縛りがある、ラテックスが高価等の問題があったため、ナノコンポジット膜用のナノイオン交換体の種類を増やすことを目的として、表(1)-16にある金属酸化物ナノ粒子を試みた。探索用の試薬として、アニオン性試薬であるTPPS(4-)、Lumogallion(-)を、カチオン性試薬としてTMPyP(4+)を用い、これらの試薬が定量的に成膜されるか否かで評価した。特に酸化ジルコニウム(ZrO₂)、酸化チタン(TiO₂)、酸化セリウム(CeO₂)が、それぞれpH 2-4、pH 3以下、pH 6以下でアニオン担体として良好に働くことがわかった。

表(1)-16 ナノイオン交換体のスクリーニング結果

金属酸化物 ナノ粒子	等電点	粒径 (nm)	比表面積 (m ² /g)	
Bi ₂ O ₃	3.2	22.5-134.8	5-30	
ZrO ₂	4	29	34.2	pH2-4でアニオンの担持良好
TiO ₂ (ルチル)	4.8-6.7	19.7-101.0	15-77	pH3以下でアニオンを担持
CeO ₂	6.8	7.4-27.4	30-110	pH6以下でアニオンの担持良好
Y ₂ O ₃	9.3	20.6-88.5	14-60	
ZnO	9.3	20.8-107.0	10-45	
CuO	9.5	27.2-95.3	10-35	
MgO	12.4	27	61.5	

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

サブテーマ(1)では、ナノ薄膜試験紙の有機試薬製膜時における汎用性を実証した。2つの試薬のナノサイズ化を経る製膜法にて、定量的に製膜可能(97%以上捕集)な有機比色試薬は約67%にも及んだ。本法は機能性膜作製のプラットフォームとなり得る。

フッ素イオン試験紙では、フラボノール類と酸化ジルコニウムナノ粒子との新規蛍光性複合体の発見し、これを蛍光性試験紙とすることに成功した。

砒素イオン試験紙では、モリブデン酸をLatex-NR3+を用いて膜にすることができた。さらにはモリブデンと錯形成する試薬BPAを補助膜化剤とすると、モリブデンの捕集率が0.51%以下であったものが94%以上に飛躍的に改善した。

今後、試験紙の実用化を通じ、本研究成果の普及に努める。

(2) 環境政策への貢献

<行政が既に活用した成果>

特に特記すべき事項はない

<行政が活用することが見込まれる成果>

サブテーマ（１）～（５）に共通する事項として、本試験紙を日常的な水管理に、規制値のモニタリングとして活用することを提案したい。法定の水質検査は年に１回程度であるが、これを補う日常的な方法として、その場で・迅速に・誰でも、環境基準値や排水基準値を超えているか否かの判定を可能とする本試験紙は日々変動する水の管理に大いに役立つと考える。現行では工業排水、河川水、海水、井戸水等の環境水サンプル中の無機物の測定は、サンプリングした試料を分析センターにてAASやICP、ICP-MSにて測定している。専門の分析者が試料を溶媒抽出等で分離し、濃縮してから専門のオペレーターが機器分析するため、１週間以上もの時間と、１サンプル数万円ものコストがかかる。本研究で開発されたナノ薄膜試験紙（現時点で、カドミウム、鉛、クロム、水銀、マンガン、亜鉛、鉄、フッ化物、砒素、ホウ素の10ターゲット）は、ppbレベルの感度と主な実サンプル中での高い選択性のため、分析センターで行われていた煩雑な分析操作を簡略化して、年に一度の水質測定を機器分析で値として認知し、日常的には本ナノ試験紙で規制値を超えているか否かを判定する、それにより、真の意味で環境管理が日常化すると考える。事業所の日常的な排水管理の他にも、食品等の大量サンプルの機器分析前のスクリーニング、また発展途上国での水質管理、研究分野での地球化学的な微量イオンの動態分析や学校での教育教材として用いることが期待される。

本サブテーマからは、本ナノ薄膜作製法を機能性薄膜作製のプラットフォームとして提案したい。他の有機薄膜作製技術、例えばCVDやLB膜と比べて、汎用性が高く、非常に簡便、100%近く試薬を製膜可能でロスがない、試薬の分解が起らない、膜厚の調整が容易、大面積の薄膜を作製可能（10 cmまでは確認済み）と有利である。

6. 国際共同研究等の状況

特に記載すべき事項はない

7. 研究成果の発表状況

（１）誌上発表

<論文（査読あり）>

- 1) Kyaing Kyaing Latt, Yukiko Takahashi : Anal. Chim. Acta, 689, 103-109 (2011)

“Fabrication and characterization of a TMPyP/silica nanocomposite thin-layer membrane for detection of ppb-level heavy metal ions”

- 2) 高橋由紀子：分析化学、61(2), 123-126 (2012).

「ジチゾンナノ薄膜試験紙を用いるFiltration enrichmentによる水銀イオン検出における妨害除去法の検討」

- 3) 高橋由紀子、相馬聡、和久井喜人：分析化学、61(3), 229-234 (2012).

「2-(5-Bromo-2-pyridylazo)-5-diethylaminophenolナノ薄膜試験紙の評価と浸漬によるカドミウム(II)イオンの検出特性」

<その他誌上発表（査読なし）>

特に記載すべき事項はない

(2) 口頭発表 (学会等)

- 1) 高橋由紀子：日本分析化学会第59年会 (2010)
「ジチゾンナノ薄膜試験紙を用いた特異的水銀イオン検出システムにおける選択性の考察」
- 2) Kyaing Kyaing Latt、高橋由紀子、和久井喜人：日本分析化学会第59年会 (2010)
“Fabrication of TMPyP/silica nanocomposite thin layered membrane for ppb leveled heavy metal ions detection and its characterization”
- 3) Yukiko Takahashi : International Conference on Nanoscopic Colloid and Surface Science 2010 (2010)
“Anionic Dye/Cationic Latex Nanocomposite coated Test Strips for Ppb-level Detection of Metal Ions”
- 4) Takahashi Yukiko : Pacifichem 2010 (2010)
“Dithizone nanofiber thin film for highly sensitive and selective detection of Hg(II)”
- 5) Yukiko Takahashi : IUPAC International Congress for Analytical Sciences (2011)
“Preparation and Characterization of Dye Nanoparticle coated Test Strips for ppb-level Metal Ion Detection”
- 6) 安藤渉、高橋由紀子：日本分析化学会第60年会 (2011)
「フラボノール類と酸化ジルコニウムから成る複合ナノ粒子膜でのフッ化物イオンの蛍光検出」
- 7) 高橋由紀子、相馬聡、和久井喜人：日本化学会第92春季年会 (2012)
「5-Br-PADAPナノ薄膜試験紙によるppbレベルのカドミウムイオンの検出特性」
- 8) 志田八州太郎、高橋由紀子：日本分析化学会第61年会 (2012)
「モリブデンブルー発色を利用した微量砒素(V)イオン検出用ナノ薄膜試験紙の開発」
- 9) 高橋由紀子、安藤渉：日本分析化学会第61年会 (2012)
「フラボノールスルホン酸と酸化ジルコニウムナノ粒子からなるナノコンポジット膜の蛍光特性とフッ化物イオン試験紙としての評価」
- 10) 高橋由紀子、安藤渉：錯体化学会第62回討論会 (2012)
「酸化ジルコニウムナノ粒子表面への吸着によって誘起されるフラボノイドの特異蛍光および吸着特性」
- 11) 志田八州太郎、高橋由紀子：日本化学会第93春季年会 (2013)
「モリブデンを担持した微量砒素イオン検出用ナノ薄膜試験紙の改良と評価」

(3) 出願特許

特に記載すべき事項はない

(4) シンポジウム、セミナー等の開催 (主催のもの)

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

- 1) 長岡技術科学大学 定例記者会見 教職員の受賞「日本分析化学会関東支部 新世紀賞」

(平成25年1月13日、於長岡技術科学大学)

(6) その他

- 1) 高橋由紀子、日本分析化学会関東支部2012年新世紀賞（25年1月10日、於日立製作所ダイビル会議室）

8. 引用文献

- 1) Y. Takahashi, H. Kasai, H. Nakanishi, T. M. Suzuki: *Angew. Chem. Int. Ed.*, 45, 913 (2006).
- 2) Y. Takahashi, T. M. Suzuki: “Nanotechnology Applications for Clean Water”, p.417 (2009) (William Andrew, New York).
- 3) 産業技術総合研究所：日本特許公開公報 “金属イオンの検出フィルム、その製造方法、及びそれを用いた金属イオン定量方法”、特許第4185982号、鈴木敏重、高橋由紀子、笠井均、中西八郎、（2008. 9. 19）.
- 4) Y. Takahashi, S. Danwittayakul, T. M. Suzuki: *Analyst*, 134, 1380 (2009).
- 5) H. Kasai, H. S. Nalwa, H. Oikawa, S. Okada, H. Matsuda, N. Minami, A. Kakuta, K. Ono, A. Mukoh, H. Nakanishi: *Jpn. J. Appl. Phys.*, 31, L1132 (1992).
- 6) K. Ueno, T. Imamura, K. L. Cheng: “Handbook of organic analytical reagents”, 2nd edn., (1992), (CRC Press Inc., Boca Raton, FL).
- 7) 日本化学会編：化学便覧基礎編I、改訂5版、I-783、(2003)、(丸善).
- 8) Y. Takahashi, D. A. P. Tanaka, H. Matsunaga and T. M. Suzuki: *J. Chem. Soc. Perkin Trans.*, 2,759 (2002).
- 9) 鈴木信男他編：実験化学講座 15分析、第4版、(1991)、(丸善).
- 10) M. A. Blesa, A. D. Weisz, P. J. Morando, J. A. Salfity, G. E. Magaz and A. E. Regazzoni: *Coordination Chemistry Reviews.*, 196, 31 (2000).

(2) ターゲットとの反応条件の最適化

長岡技術科学大学 環境建設系

高橋 由紀子

平成22～24年度累計予算額：1,736千円（うち、平成24年度予算額：0千円）

予算額は、間接経費を含む。

【要旨】

有害無機イオンに対するppbレベルで検出可能なナノ薄膜試験紙の開発として、本サブテーマ(2)は、ターゲットとの反応条件の最適化として、規定の反応条件下で試験紙法(Immersion test)もしくは通液濃縮法(Filtration enrichment)の2つの測定モードで反応するか否か、色変わりの明瞭さ、試薬漏れの有無等により選別する。そして、およその感度、さらに環境基準ミックス(環境基準値の各種イオンの混合液)、排水基準ミックス、河川ミックス(河川標準試料)および各ターゲットに特有な実サンプルに近い混合液等にターゲットイオンを添加することでおよその選択性として妨害が著しい試験紙は、実サンプルに適したレベルにないのを除外する。ここからは選別は行わず、Immersion testでは反応時間、pH等を、Filtration enrichmentでは流速、サンプル量、pH等を最適化して、感度として検量線を作製し、検出範囲および検出限界を求める。カドミウム、鉛、亜鉛イオンについてターゲットとの反応性によりスクリーニングを行い、選出された試験紙について感度を求めた。フッ化物イオン、砒素イオンについては新規反応系の開発を行った。カドミウム2試薬が、他鉛、クロム、水銀、マンガン、亜鉛、鉄、ホウ素ではそれぞれ1試薬が選出された。それぞれの感度は、カドミウム試験紙(5-Br-PADAPナノ粒子膜、Immersion test、検出限界7.14 ppb、検出レンジ～700 ppb)、カドミウムイオン試験紙(TMPyP/SAナノコンポジット膜、Filtration enrichment、検出限界0.102 ppb、検出レンジ～200 ppb)、鉛イオン試験紙(TMPyP/SAナノコンポジット膜、Filtration enrichment、検出限界0.99 ppb、検出レンジ～100 ppb)、クロムイオン試験紙(クロムアズロールS/Latex-NR₃⁺ナノコンポジット膜、Immersion test、検出レンジ～1000 ppb)、マンガンイオン試験紙(3,5-DiBr-PADAPナノ粒子膜、Immersion test、検出限界1.36 ppb、検出レンジ～700 ppb)、亜鉛イオン試験紙(Zincon/Latex-NR₃⁺ナノコンポジット膜、Immersion test、検出限界48.6 ppb、検出レンジ～1000 ppb)、鉄イオン試験紙(バソフェナントロリンスルホン酸/Latex-NR₃⁺ナノコンポジット膜、Immersion test、検出限界約10 ppb、検出レンジ～200 ppb)、ホウ素イオン試験紙(クロモトロープ酸/Latex-NR₃⁺ナノコンポジット膜、Immersion test)、フッ化物イオン試験紙(Flav-s/ZrO₂ナノコンポジット膜、Immersion test、検出限界約0.13 ppm、検出レンジ～5 ppm)、砒素イオン試験紙(Mo/Latex-NR₃⁺ナノコンポジット膜、Immersion test、検出限界2.35 ppb、検出レンジ目視では10-500 ppb)であった。反応時間の短縮を目指し、ナノ薄膜の改質を試み、いくつかの親水性物質にて反応時間の短縮に成功した。

【キーワード】 試験紙、有害無機イオン、色素ナノ粒子、試験紙法、通液濃縮法

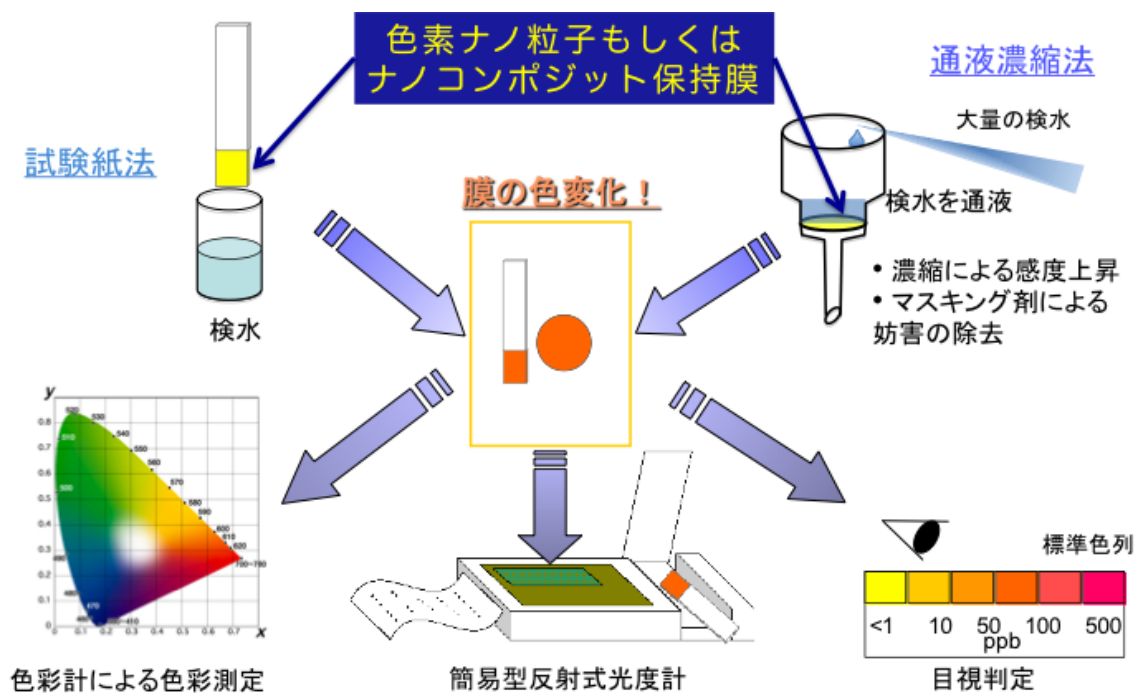
1. はじめに

研究背景はサブテーマ（1）と同様である。サブテーマ（2）は評価基準②ターゲットとの反応性、③およその感度、④およその選択性によりスクリーニングし、⑤感度にて検量線を作成する。また本試験紙は高感度ではあるが、従来の試験紙と比べて一般的に検出に時間がかかる。できる限り、これを'dip & read'に近づけるために、ナノ薄膜の改質を行ったので併せて報告する。

2. 研究開発目的

ナノ薄膜試験紙では、通常の試験紙同様、検液に試験紙を浸漬させる試験紙法（immersion test）と、本試験紙特有な通液濃縮法（filtration enrichment）という2つの測定モードを持ち、概略を図(2)-1に示す。試験紙法は最も手軽で誰でもできる簡単な方法であるが、dip & readを売りにしてきた既存の試験紙とは異なり、ppbレベルとなると検液中のターゲットの量が1/1,000~1/10,000と超微量であるため、従来の試験紙と比べて一般的に検出に時間がかかる。Filtration enrichmentは本試験紙に特有な検出方法であり、ある程度の量のサンプル溶液を試験紙に通液させることで、ターゲットを試験紙表面に濃縮し感度を上げることが可能で、かつ固—液分離が可能のため各種水溶性マスキング剤等で、妨害成分を流し去ることができ選択性も向上する。全ての試験紙をこの2つの測定モードで試し、スクリーニングを行う。

同時におおよその感度を、排水基準が目視判定できるかどうかで判断し、スクリーニングする。さらに選出された試験紙に対して、ターゲット毎に最もニーズのありそうな実試料を想定した人工サンプル（例えば、排水基準ミックスや河川水ミックス、水道水ミックス、めっき廃液ミックス等）を作成し、ターゲットを添加しておおよその選択性を見積もり、妨害が著しい場合は除外する。その後感度として検量線を作成する。



図(2)-1 ナノ薄膜試験紙での測定モード

3. 研究開発方法

評価基準②のターゲットイオンとの反応については、Immersion test では、サブテーマ（1）で作製した試験紙を1/6カットし、これをターゲットイオン1 ppmを含み、かつ水溶液でその試薬がターゲットイオンと反応するとされる至適pHに調整されたサンプル溶液20 mLに浸漬する。Filtration enrichmentでは、試験紙をφ25 mmの円形にカットし、セパラブルホルダーに挟み、かつ水溶液でその試薬がターゲットイオンと反応するとされる至適pHに調整したサンプル溶液100 mLを通液する。両方のモードで反応の有無、試薬漏れについて確認し、反応しない、もしくは試薬漏れが著しい場合には採用しない。評価基準③およその感度では、⑦実試料への適用に適したレベルにあるか排水基準値が測定可能かどうか判断し、あまりにも感度不足の場合は断念する。

④およその選択性では、表(2)-1にあるような、ターゲット毎に特有な実サンプルに近い模擬サンプル溶液を作成し、妨害の有無を調査する。例えば、カドミウムイオン試験紙では、河川水ミックスおよび米ミックスにて、亜鉛イオン試験紙ではメッキ廃液ミックス等である。あまりにも妨害が著しい場合には選別する。⑤感度では、②～④の結果から選出された試薬について、再度製膜条件を見直して最適化し、かつ反応条件も最適化して、その後検量線を作成する。

ナノ薄膜の改質は、5-Br-PADAPナノ粒子膜でのカドミウム試験紙をモデル系として、主に薄膜へ親水性ポリマーを微量添加してその効果を確認した。薄膜の疎水性および親水性の評価のために、薄膜の凹凸をできる限り軽減する必要がある、最も平滑な平面を持つ、ミリポア製0.05 μm孔径のセルロース混合エステルメンブレンフィルターを使用した。薄膜の透水性評価のための実験については、4. 結果及び考察に述べる。

有機比色試薬は、試薬特級をそのまま用いた。ナノ担体として、表面がトリメチル化アミノ基修飾されたラテックス (Latex-NR₃⁺、100 nm、Mircomod社製) およびシリカ粒子 (SA、10-14 nm、日揮触媒化成工業社製)、酸化ジルコニウム(ZrO₂、29 nm、ホソカワミクロン社製)を主に用いた。メンブレンフィルターはアドバンテック社製のセルロース混合エステルタイプメンブレンフィルター (直径47mm、孔径0.1 μm) を主に用いた。分散液量は10 mLで統一した。

試薬担持率の算出に吸光光度測定 (島津 uv-1800)、粒子成長時間の決定に電子顕微鏡による表面粒子および薄膜の断面観察 (日立 S-800、産業技術総合研究所) およびゼータ電位・動的光散乱測定 (大塚電子 ELSZ-2)、試験紙の表面分析に瞬間マルチ測光システム (大塚電子MCPD-3700) およびTLCスキャナ (島津CS-9300)、試薬薄膜層の機械的強度を鉛筆試験(JIS K5600塗料の一般試験法)、試薬薄膜層の経時安定性を色彩計 (コニカミノルタCM-2600d) にて評価した。フッ化物イオン試験紙については、蛍光分光光度計 (Horiba FluoroMax-4) にて、固体サンプルホルダーに試験紙を取り付けて、励起光に対し30°、検出器に対し60°の角度にセットして測定した。

表(2)-1 およその選択性 各種ミックス

環境基準ミックス	排水基準ミックス	水道水ミックス	河川水ミックス	海水ミックス
Pb 10 ppb	Pb 100ppb	Cd 10 ppb	Cr 0.16 ppb	Cl 19350 <u>ppm</u>
Cr ^{VI} 50 ppb	Cr ^{VI} 500 ppb	Pb 10 ppb	Cu 0.37 ppb	Na 10780 <u>ppm</u>
Hg 0.5 ppb	Hg 5 ppb	CrVI 50 ppb	Fe 6.4 ppb	Mg 1280 <u>ppm</u>
Zn 30 ppb	Cu 3 <u>ppm</u>	Hg 0.5 ppb	Mn 0.2 ppb	S 898 <u>ppm</u>
Mn 200 ppb	Zn 2 <u>ppm</u>	Zn 1 ppm	Zn 0.17 ppb	Ca 412 <u>ppm</u>
Mo 70 ppb	Fe 10 <u>ppm</u>	Al 200 ppb	B 8.2 ppb	K 399 <u>ppm</u>
Cd 10 ppb	Mn 10 <u>ppm</u>	Fe 300 ppb	Al 15 ppb	Br 67 <u>ppm</u>
	CrIII 2 ppm	Cu 1 ppm	K 0.47 <u>ppm</u>	Sr 7.8 <u>ppm</u>
	Cd 100ppb	Mn 50 ppb	Na 4.34 <u>ppm</u>	B 4.5 <u>ppm</u>
		Ca 300 ppm	Mg 3.34 <u>ppm</u>	Si 2.8 <u>ppm</u>
		Na 200 ppm	Ca 13 <u>ppm</u>	F 1.3 <u>ppm</u>
		Mg 300 ppm	Pb, Cdほとんどない	

日本分析化学会
無機成分分析用
河川水認証標準物
質 JSAC 0301-3

工業排水ミックス	セメント廃水ミックス	めっき廃水ミックス	米ミックス
Cr ^{VI} 500 ppb	Cd 500 ppb	Zn 1.3 <u>ppm</u>	Fe 21 ppb
Pb 5 <u>ppm</u>	Pb 500 ppb	Fe 0.16 <u>ppm</u>	Zn 18 ppb
Cd 5 <u>ppm</u>	Cu 6.4 <u>ppm</u>	CrIII 0.69 <u>ppm</u>	Cu 2.7 ppb
Cu 3 <u>ppm</u>	Fe 5.6 <u>ppm</u>	Ni 12 ppb	Mn 20.5 ppb
Fe 10 <u>ppm</u>	Zn 6.5 <u>ppm</u>	Cu 3 ppb	Na 10 ppb
Mn 10 <u>ppm</u>	K 1049 <u>ppm</u>	Ca 0.28 <u>ppm</u>	K 2.3 <u>ppm</u>
Zn 5 <u>ppm</u>	Na 787 <u>ppm</u>	Na 16.25 <u>ppm</u>	Ca 90 ppb
Ni 10 <u>ppm</u>	Ca 400 <u>ppm</u>	Mg 39 ppb	Mg 1.1 <u>ppm</u>
Al 10 <u>ppm</u>		K 50 ppb	
K 1000 <u>ppm</u>		Cd, Pb, Hg, Al, As,	
Na 780 <u>ppm</u>			
Mg 100 <u>ppm</u>			
Ca 400 <u>ppm</u>			

最悪な廃水を予想

めっき廃水論文から 産業技術総合研究所計量標準センター

各廃液の最高値の NMIJ CRM-7531
1/100液

4. 結果及び考察

成果の概要で述べたように、実際に開発を達成したものは表(1)-1に記載の14ターゲットのうち、4ターゲットは遂行できなかったが、試した10ターゲットは全て規制値レベルが測定可能な試験紙として完成した。内訳は、カドミウム、鉛、クロム、水銀、マンガン、亜鉛、鉄、ホウ素、フッ化物、砒素イオン用試験紙である。水銀のみ反応条件は既存¹⁾であり、それ以外の膜の作製条件の最適化について(1)～(9)に述べ、また併せて(10)ナノ薄膜の改質も述べる。

(1) カドミウムイオン試験紙

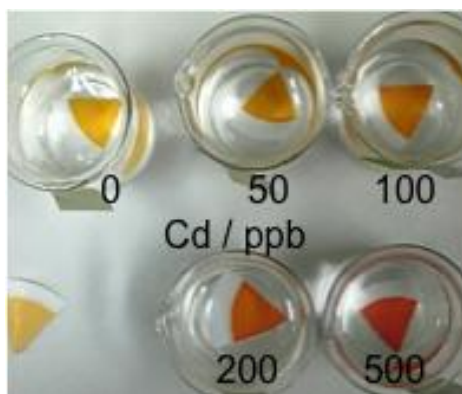
カドミウム試験紙について、表(2)-2に評価基準⑤までのスクリーニングの結果をまとめた。④およびその選択性は、河川水ミックスおよび米ミックスとした。10試薬から、評価基準②～④により選抜することで、5-Br-PADAPとTMPyPの2試薬になった。カドミウムイオンと反応する試薬でも、Filtration enrichmentで試薬が溶出してしまい適用できないものや、逆に反応が遅く試験紙法に適用できないものがあった。色変わりが不明瞭な試薬、感度や選択性の低いものは除外した。

感度の良かった5-Br-PADAPでは、Filtration enrichmentでは試薬漏れが観測され、Immersion testによって検出した。色変化は、図(2)-2にあるようにカドミウムイオン濃度が上がるにつれて黄色からオレンジ、赤色となった。反応最適pHは8.4、分析時間(浸漬時間)は60分であった。この色変化を反射吸収スペクトルの強度変化から数値化することは困難だったため、人間の目に近い三色刺激で分析可能な色彩計にて評価を行った。La*b*表色系での色の推移および $\Delta E(=(a^{*2}+b^{*2})^{1/2})$ による検量線を図(2)-3に示す。検量線の式は、 $I = 54.425(1 - e^{-0.00425C})$ ($r^2 = 0.99332$)で表され、 $3\sigma(n = 7)$ (Cd 0 ppbを7回測定し算出)から求めた検出限界は18.33 ppb、定量範囲は～約700 ppbであった。

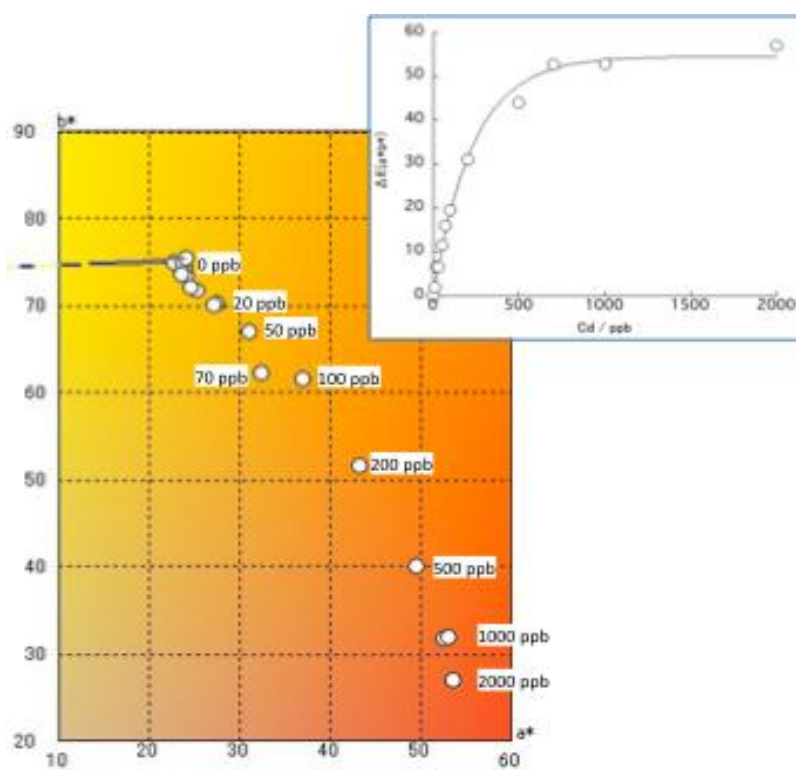
また、TMPyP/Saのナノコンポジット膜では、Immersion testでは反応が遅すぎ、Filtration enrichmentでのみ検出を行った。色変化は図(2)-4にあるように、茶色から緑色への明瞭な変化であった。反応最適pHは10、分析時間(吸引時間)は23分であった。TLCスキャナで485 nmの1×16 mmビームでの反射吸収強度の積算値から求めた検量線の式は、 $I = 16506.44(1 - e^{-0.05c})$ ($r^2 = 0.9929$)であり、 $3\sigma(n = 8)$ から求めた検出限界は0.102 ppb、定量範囲は1～200 ppbであった。

表(2)-2 カドミウムイオン用試薬 評価基準②～⑤でのスクリーニング結果

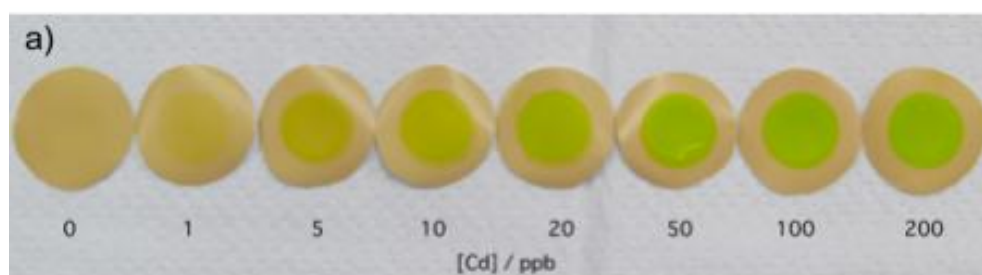
膜	②Cdとの反応、③およその感度 ^{a)}	④およその選択性	⑤感度
Zincon/Latex-NR3+	Immersion: 反応せず(pH 8.4) Filtration: 抜け		
Dithizone	Immersion: 反応するが、 <u>剥離</u> Filtration: 反応するが、 <u>抜け</u> (pH 5) 青灰色→赤茶色 10 ppb以下～	河川Mixと反応せず 米Mixと反応せず	
EBT/ Latex-NR3+	Immersion: <u>青→紫</u> (pH 8.4) 100 ppb くらい～ Filtration: 抜け	河川Mixと反応(<u>Zn</u> <u>の妨害大</u>) 米Mixと反応	
5-Br-DMPAP	Immersion: 黄→橙(pH 8.4) 200 ppb くらい～ Filtration: 抜け	河川Mixと反応せず 米Mixと反応	
5-Br-PADAP	Immersion: <u>黄→橙→赤橙</u> (pH 8.4) <u>100ppbくらい～</u> Filtration: 抜け	河川Mixと反応せず 米Mixと反応(<u>Zn</u> と予想)	Immersion 定量範囲: <u>～約700 ppb</u> 検出限界: <u>18.33 ppb</u>
3,5-DiBr-PADAP	Immersion: <u>黄→赤紫</u> (pH 8.4) 100 <u>ppbくらい～</u> Filtration: 抜け	河川Mixと反応 米Mixと反応(<u>Cu</u> と <u>Zn</u> に反応)	
PAN	Immersion: <u>黄→橙</u> (pH 8.4) 200 ppb くらい～	河川Mixと反応せず 米Mixと反応	
TAN	反応せず		
XO	Immersion: 1 ppm～		
TMPyP/SA	Immersion: 反応せず(pH 10) Filtration: <u>茶→緑</u>	—	Filtration 定量範囲: <u>1-200</u> <u>ppb</u> 検出限界: <u>0.102</u> <u>ppb</u>



図(2)-2 5-Br-PADAPナノ粒子膜によるカドミウムイオンの検出



図(2)-3 5-Br-PADAPナノ粒子膜によるカドミウムイオンの色彩計(La*b*表色系)による検出



図(2)-4 TMPYP/SAナノコンポジット膜によるカドミウムイオンの検出

(2) 鉛イオン試験紙

表(2)-3 に評価基準⑤までの結果を示す。XO、Lumogallion、EBT に関しては、反応するが、排水基準の 100 ppb が目視できないもしくは色変化が不明瞭のいずれかの理由のため断念した。

MTB/LatexNR₃⁺試験紙では、鉛イオン濃度に応じて、緑灰色～紫～青へと色相が変化する、目視に適した試験紙であったが、浸漬中に溶液中に MTB が漏れ出してしまい、開発を断念した。結果、TMPyP 試薬が選出された。

TMPyP/SA 試験紙は、鉛イオン濃度の上昇に伴い薄茶色から黄緑色へと変化する。最適反応条件は、最適 pH 8.0、検出方法は filtration enrichment であった。20℃、100 mL の検液での、TLC スキャナの条件を 480 nm、1 × 16 mm ビームとした時の反射吸収強度の積算値から、検量線の式は、 $I = 3066.4 + 15641(1 - e^{-0.0588c})$ ($r^2 = 0.97946$) となり、 $3\sigma(n = 7)$ から求めた検出限界は 0.99 ppb、定量範囲は～100 ppb であった。

表(2)-3 鉛イオン用試薬 評価基準②～⑤でのスクリーニング結果

試薬□	② Pbとの反応、③ およその感度 ^{a)} □	④ およその選択性□	⑤ 感度□
XO□	Immersion:薄茶→薄ピンク□ 200ppb～□		
MTB□	Immersion:薄緑→水色or紫色□ 100ppb～ <u>〔試薬漏れ〕</u> □ Filtration: <u>〔抜け〕</u> □	Cd,Co,Cu,Zn,Mnの妨害あり□	
PR□	Immersion:反応せず pH6.15□		
EBT□	Immersion:青色→濃い青色 (pH8)□ Filtration: <u>〔抜け〕</u> □		
Dithizone□	Immersion:剥離(pH3.0～ pH4.2)□ Filtration:反応せず(pH3.0～ pH4.2)□		
Zincon□	Immersion:反応せず(pH8)□ Filtration:□		
Lumogallion□	Immersion:オレンジ→黄色□ <500ppb～□		
TPPS□	Immersion: <u>〔茶色〕</u> →黄色、条件が不安定□		
TMPyP□	Filtration:薄茶色→黄(pH8.0)□	水道水Mixと反応□	Filtration□ 定量範囲: <u>～100ppb</u> □ 検出限界: <u>0.99ppb</u> □

(3) クロムイオン試験紙

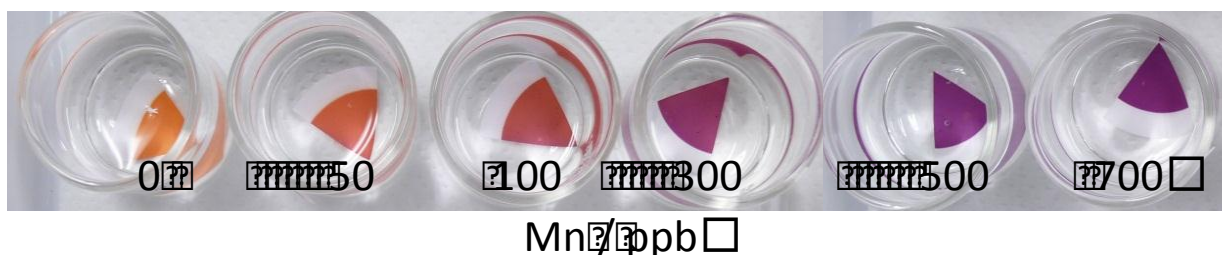
評価基準①を、クロムアズロールS、5-Br-PADAP、5-Br-PAPS、ジチゾンTMの4試薬がクリアしていた。評価基準②のターゲットとの反応性で、クロム(VI)とはいずれの試験紙も反応せず、クロム(III)ではクロムアズロールS/Latex-NR₃⁺膜のみが反応し、検出方法はimmersion testで、図(2)-5のように茶色から青色への変化をした。最適pHは5であった。暫定的な検量線から、



図(2)-5 クロムアズロールS/Latex-NR₃⁺膜によるクロム(III)の検出
定量範囲は約30~2,000 ppbである。

(4) マンガンイオン試験紙

候補試薬が11であったが、評価基準①をクリアした試薬は、5-Br-PADAP、3,5-DiBr PADAP、PAN、TANの4試薬で、このうち5-Br-PADAP、3,5-DiBr PADAP、PANがMn(II)と反応し、評価基準②をクリアした。最終的に、3,5-DiBr-PADAPナノ粒子膜が③のおおよその感度および④のおおよその選択性（井戸水での定量ニーズがあるため、水道水および河川水とした）をクリアした。最適pHは9.2で、検出方法はimmersion test、図(2)-6のようにオレンジから紫への変化をする。色彩計での ΔE ($= (L^*2 + a^*2 + b^*2)^{1/2}$) による検量線の式は、 $I = 15.991 + 35.368(1 - e^{-0.0035494c})$ ($r^2 = 0.99519$)、 3σ ($n = 5$) から求めた検出限界は1.36 ppb、定量範囲は約~700 ppbであった。

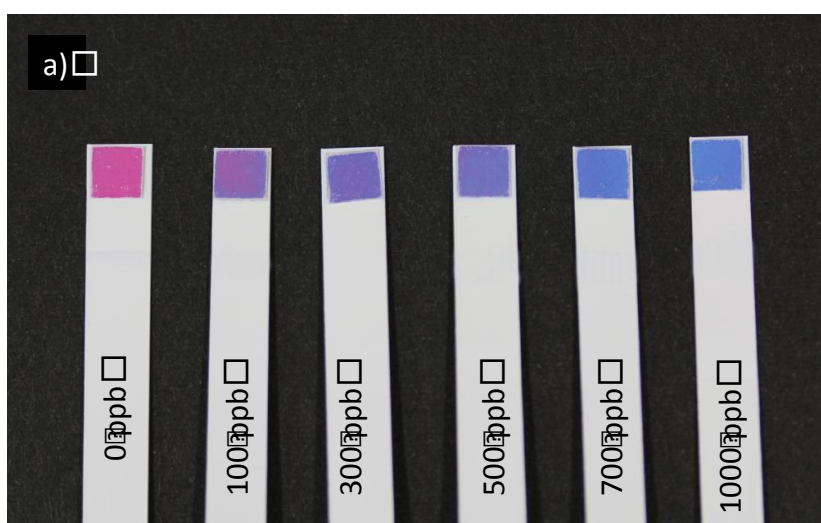


図(2)-6 3,5-DiBr-PADAPナノ粒子膜によるマンガン(II)の検出

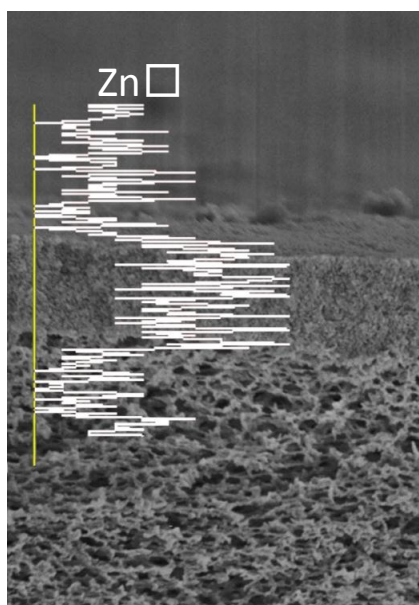
(5) 亜鉛イオン試験紙

Zincon/Latex-NR₃⁺膜は、Immersion test のみであるが、周期律表が上下で性質の似通ったカドミウムイオンと反応しないことがわかっており、有望である。図(2)-7 のように、亜鉛濃度の上昇に従って、リトマス紙のように赤から紫、青に変化する。TLC スキャナを用いて、検量線は $I = 972.63 + 1982.6 (1 - e^{-0.002747c})$ ($R^2 = 0.98599$) となり、検出限界は 48.6 ppb (3s, $n = 10$)、定量範囲は～約 1 ppm であった。

電子顕微鏡観察とエネルギー分散型 X 線分光法 (EDX) にて、亜鉛イオンを含む溶液に浸漬した後の Zincon/Latex-NR₃⁺膜の断面観察を行ったところ、図(2)-8 のように、Zincon/Latex-NR₃⁺膜のみ、亜鉛が観測され、メンブレンフィルターには観測されなかった。これはナノ薄膜試験紙の検出コンセプトの通り、Zincon/Latex-NR₃⁺膜のみが亜鉛を濃縮しているために、高感度検出となることを証明している。



図(2)-7 Zincon/Latex-NR₃⁺ナノコンポジット膜による亜鉛(II)の検出



図(2)-8 Zincon/Latex-NR₃⁺ナノコンポジット膜の断面図とEDX分析

(6) 鉄イオン試験紙

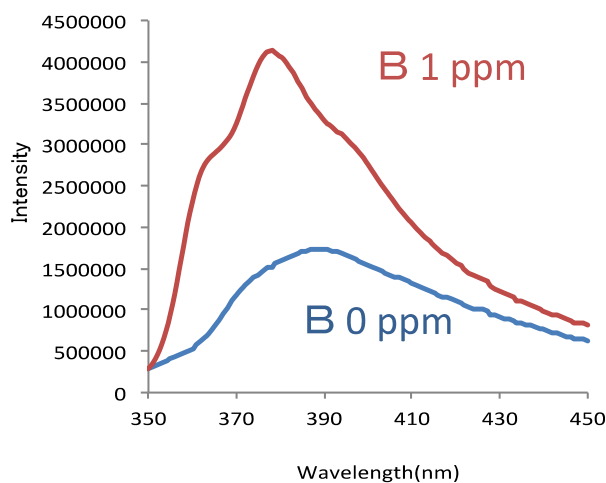
鉄は、排水基準が10 ppmと高感度が要求されず、ナノ薄膜試験紙では希釈して測定となる。選択性が重要であるため、試薬は鉄に特異性が高い、バソフェナントロリンスルホン酸を用いた。バソフェナントロリンスルホン酸/Latex-NR₃⁺膜での検出方法はimmersion testで、図(2)-9のように白色からピンクへの変化をし、最適pHは3-5、分析時間は30分であった。色彩計での暫定的な検量線より、検出限界約10 ppb、定量範囲～200 ppbとなった。排水基準の測定には、検液を100倍希釈して、Fe(II)に還元してから測定する。



図(2)-9 バソフェナントロリンスルホン酸/Latex-NR₃⁺膜による鉄(II)の検出

(7) ホウ素イオン試験紙

ホウ素イオン試験紙用候補試薬は、スチルバゾ、H-レゾルシノール、クロモトロープ酸、クルクミン、アゾメチンH、アリザリンS、モリン、ミリセチン、ケルセチン、ケンフェノール、ナリゲニン、アピゲニン、フィセチン、ルテオリンの14であり、全て製膜可能で評価基準①をクリアしたが、溶液でも強酸性で蒸発乾固が必要なクルクミン、モリン～ルテオリンまでのフラボノール類は試験紙の検出条件では反応せず、また中性水溶液中でホウ素との反応が確認されている、アゾメチンHやスチルバゾ、H-レゾルシノールでも試験紙とすると反応が確認できなかった。酸性条件および有機酸であるシュウ酸および

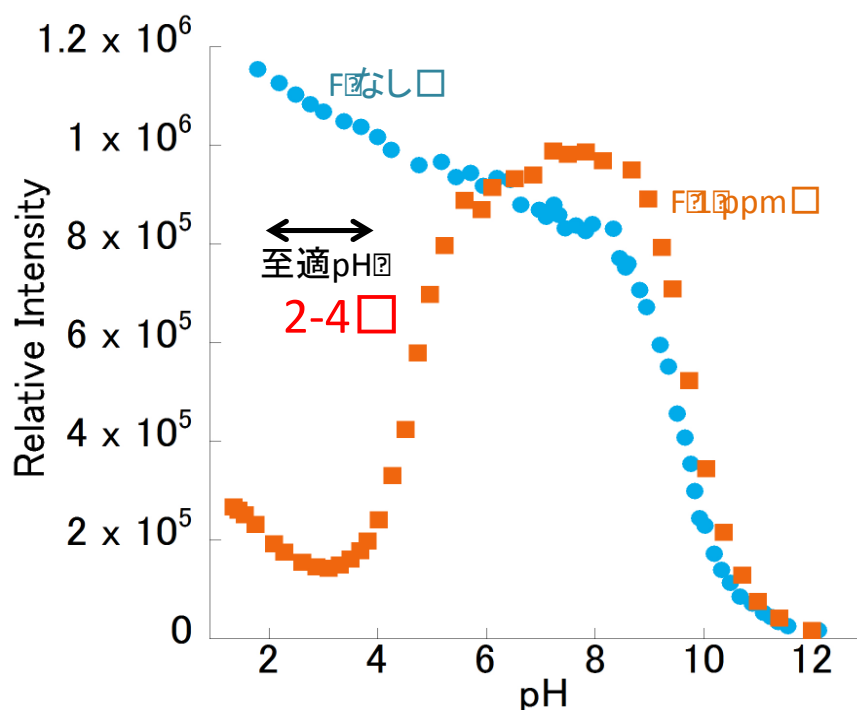


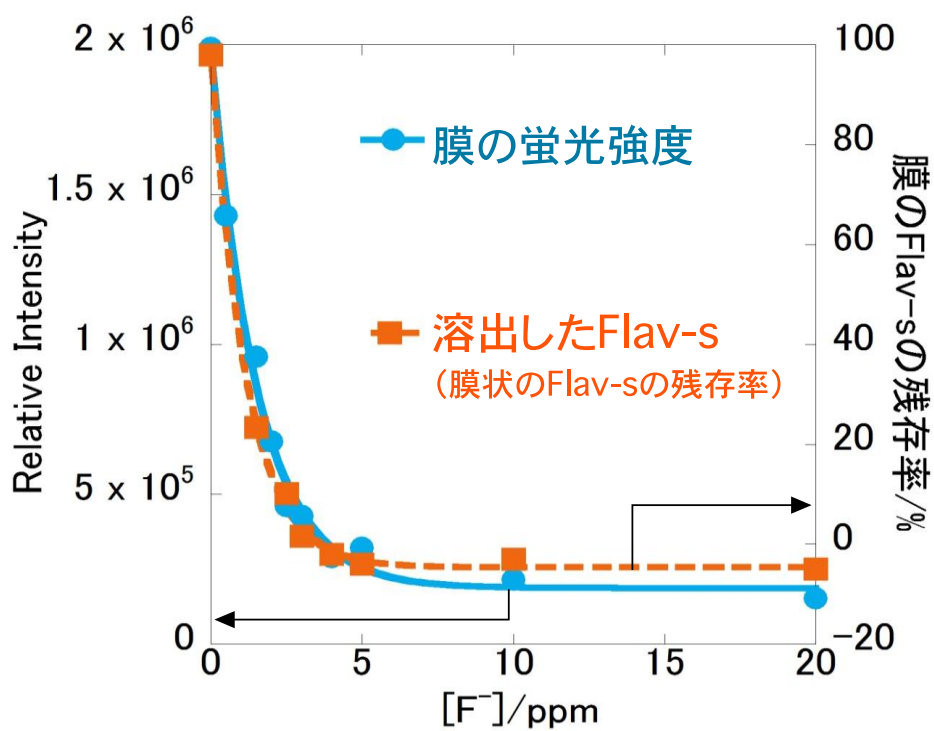
図(2)-10 クロモトロープ酸/Latex-NR₃⁺膜によるBの検出

EDTAの添加も試みたが、上記13試薬は全てホウ素との反応が確認できなかった。これはホウ素と有機試薬（特に酸素原子を有する有機比色試薬）との反応が脱水縮合反応で、他の錯形成反応とは異なるためと考えられる。結果、評価基準②のターゲットイオンとの反応性をクリアできたのは、クロモトロープ酸/Latex-NR₃⁺膜のみであり、これはImmersion testにて検出し、最適pHは図(2)-10に示すように、青色蛍光 (λ_{ex} : 313 nm, λ_{em} : 380 nm) がホウ素との反応により増大する。ホウ素の環境基準値1 ppmは、図(2)-10から問題なく測定できることがわかる。

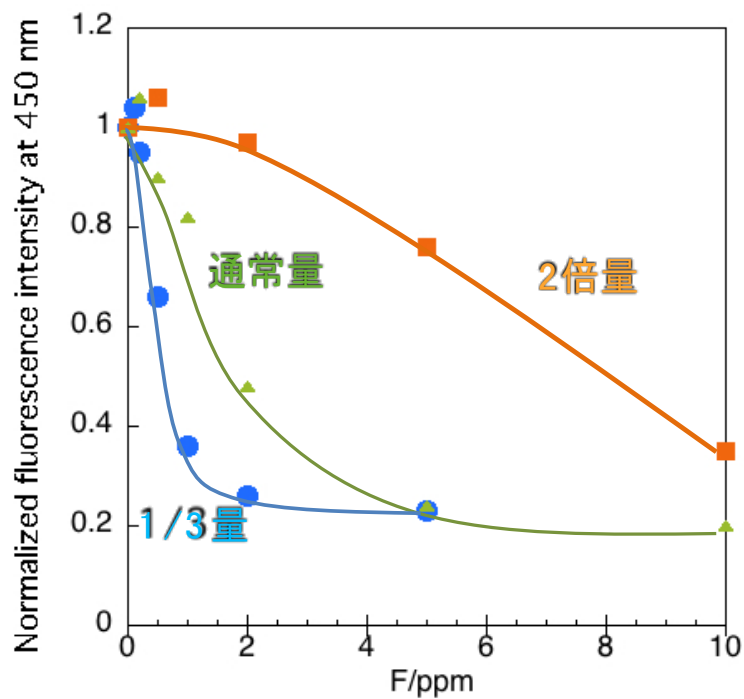
(8) フッ化物イオン試験紙

図(2)-11にF 1 ppm添加および無添加時における、Flav-s/ ZrO_2 ナノコンポジットの蛍光強度のpH依存性を示す。Flav-s/ ZrO_2 はpH 1-10の広いpH 範囲で強い蛍光を示すが、Fを添加することで、pH 1-5にてFとの置換反応が起こり、蛍光強度が著しく減少する。これより差が最大で、Fの定量に適した至適pHは2-4となった。F検量線およびUVランプでの検出の写真を図(2)-12に示す。pH 3.7、検液量20 mLのImmersion testにて反応させた後の、蛍光分光器での検量線は、蛍光測定条件 $\text{ex} = 370$ nm、 $\text{em} = 450$ nm、 $\text{slit} = 0.5$ mmにて、 $I = 1.89 \times 10^5 + 1.79 \times 10^6 e^{0.652c}$ ($r^2 = 0.972$)、 3σ 検出限界 ($n = 4$) は0.13ppb、定量範囲 ~ 10 ppmとなった。図(2)-13には同時に、Flav-sの膜への残存率も示されているが、検量線とほぼ完全に一致していることから、Flav-s とFの置換反応が定量的に進行し、蛍光強度の減少を追跡することでFの濃度を求めることができるということがわかる。

図(2)-11 Flav-s/ ZrO_2 ナノコンポジットの蛍光強度のpH依存性図(2)-12 Flav-s/ ZrO_2 ナノコンポジット膜によるフッ化物イオンの検出



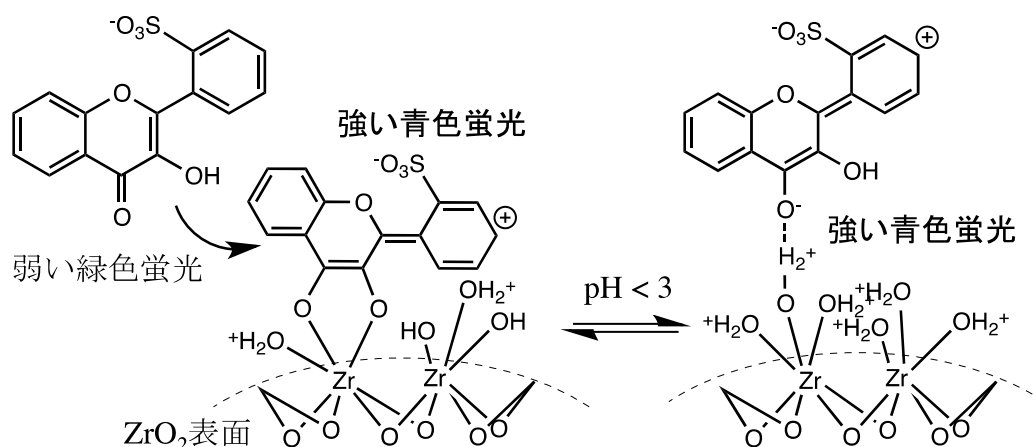
図(2)-13 フッ化物イオンの検量線



図(2)-14 試験紙上のFlav-s/ZrO₂ナノコンポジット量を変化させたときの検出感度

また本試験紙特有であるが、他の試験紙とは異なり、 ZrO_2 ナノ粒子がFのアクセプターでFlav-sはシグナル物質であるため、試験紙上のFlav-s/ ZrO_2 ナノコンポジット量を調整することで、Fに対する感度を変えることができる。実際に、上記検量線の時のFlav-s/ ZrO_2 量の1/3量および2倍量とした時の、F量と規格化した蛍光強度との関係を図(2)-14示すが、Flav-s/ ZrO_2 量を変化させることで感度を調整できることを実証し、1/3量では環境基準800 ppbが、2倍量では排水基準8 ppmが判別可能であることがわかった。

全体として、Flav-s/ ZrO_2 ナノコンポジットとフッ化物イオンとの置換反応は、図(2)-15のようになると予想している。



図(2)-15 Flav-s/ ZrO_2 ナノコンポジットとフッ化物イオンとの置換反応

(9) 砒素イオン試験紙

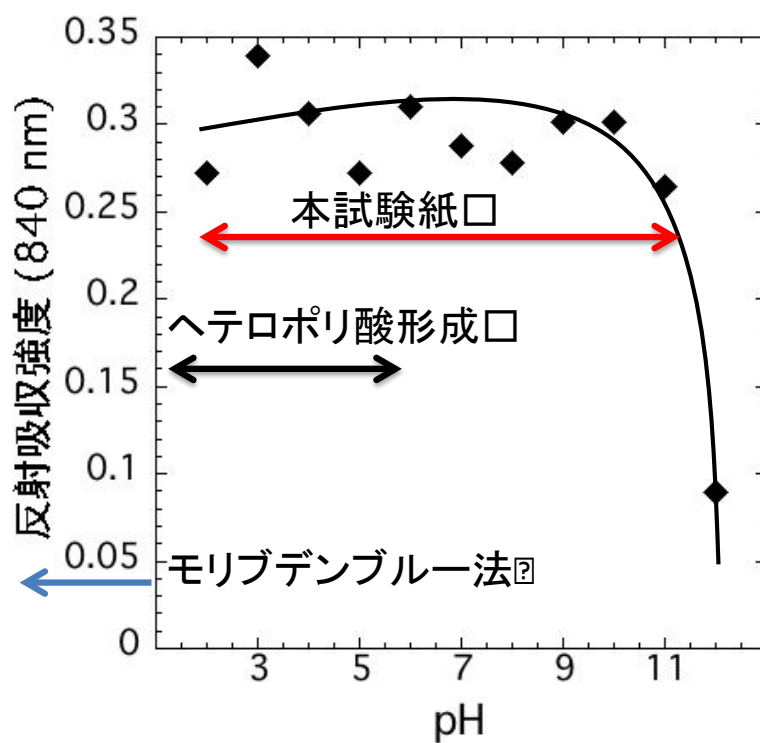
As(V)との反応条件として、還元剤の検討を行った。一般的にヒ素のモリブデンブルー法では硫酸ヒドラジンを還元剤として用いるが、本試験紙では、白色のまま青色発色が認められなかった。アスコルビン酸を20 mM程度用いることで良好な発色を得た。アスコルビン酸はヘテロポリ酸形成の後と思われるタイミングで加えると青色発色とAsの濃度が比例しないが、As(V)と同時に添加すると比例した。還元剤は、本試験紙では還元過程だけでなく、ヘテロポリ酸形成時にも何らかの役割を果たしていると考えられる。

反応pHの検討を行った結果、図(2)-16のように、当初のコンセプト(図(1)-13)に反して、pH 2-11の広い範囲で同じくらいの強度で青色発色が観測された。このように中性からアルカリ性での砒素とのヘテロポリ酸の形成に関しての報告は皆無であり、本試験紙のLatex-NR₃⁺担体上では、酸性溶液中で形成されるケギン型やドーソン型などのヘテロポリ酸とは異なる、新規のリブデン-As複合体が形成されている可能性が高い。

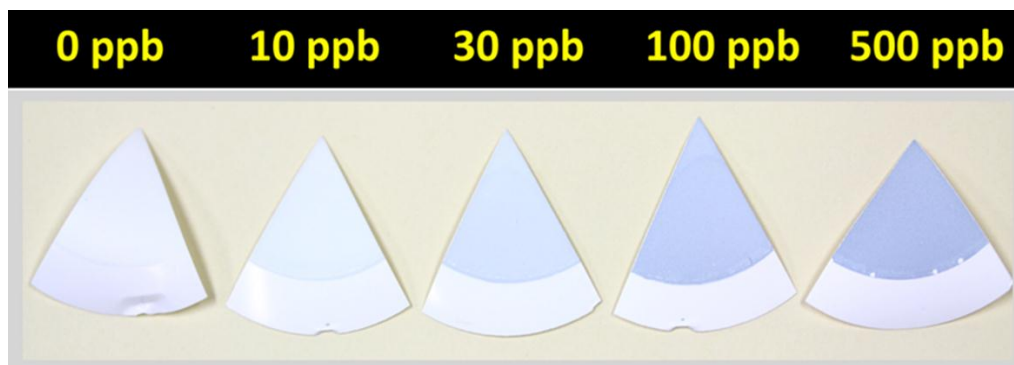
砒素イオン定量の写真を図(2)-17に示す。光源をMORITEX社MHAA-100、検出器を大塚電子MCPD-3700としたときの840 nmの反射吸収強度からの検量線は、 $I = -0.013951 + 0.09778 \log c$ ($r^2 = 0.97276$)であり、検出限界2.01 ppb、定量範囲2-1,000 ppbとなった。人間の目には図(1)-15のスペクトルの裾野にあたる600 nm以下の部分のみしか見えていないので、図(2)-17にあるように目視では

10-500 ppbの定量範囲となる。

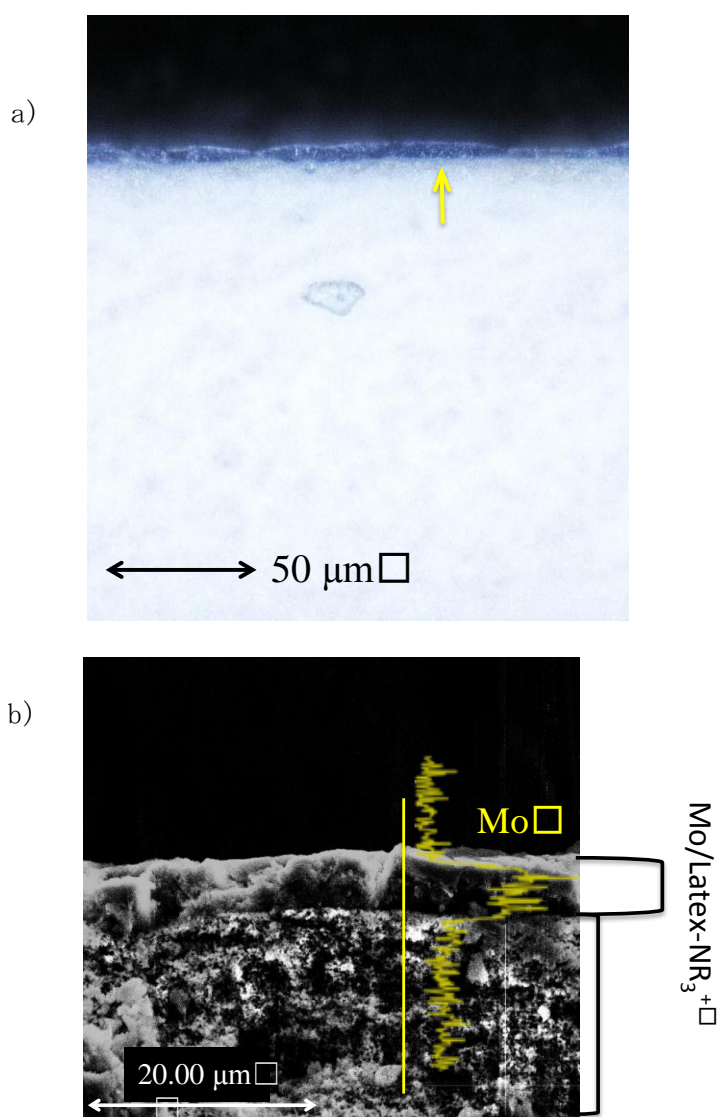
砒素イオン検出後のMo/Latex-NR₃⁺膜の断面観察を図(2)-18に示す。ナノ薄膜試験紙のコンセプト通り、メンブレンフィルター上のMo/Latex-NR₃⁺薄膜層のみに、青色のシグナルが濃縮され、溶液中でのモリブデンブルー法は100 ppbの砒素は検出できない程度の感度しかないが、薄膜構造によって図(2)-17にあるように10 ppbも目視可能となり、本試験紙の薄膜構造による高感度化を実証している。



図(2)-16 反応pHと青色発色との関係



図(2)-17 砒素イオンの目視定量



図(2)-18 Mo/Latex-NR₃⁺ナノコンポジット膜の断面図

a) デジタルマイクロスコープにて、b) 電子顕微鏡FE-SEMにて

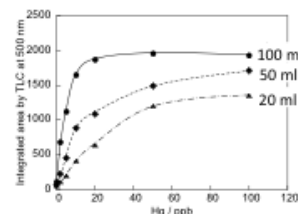
(10) ナノ薄膜の改質

本ナノ薄膜試験紙では、既存の試験紙とは異なり、Immersion testおよびFiltration enrichmentという2つの測定モードを持つ。表(2)-4にそれらの比較をまとめたものを示すが、既存の試験紙が”dip&read”と呼ばれる、測定時間が数秒から数分と短く、サンプル量に依存しない分析法であるのに対し、本ナノ薄膜試験紙は、感度は高いが、Immersion testが20分から数時間も分析時間を要し、Filtration enrichmentは10から20分で、濃縮により感度が上がりサンプル量に大きく依存する。Filtration enrichmentではこれを積極的に利用し、感度を自由に設定することが可能である。ナノ薄膜試験紙での膜へのターゲットイオンの抽出率は、例えば5-Br-PADAPナノ粒子膜（φ35 mm）1/6カットで試験紙法にて700 ppbのカドミウムイオンを含む20 mLのサンプル溶液を検出した場合0.77%であるのに対し、Dithizoneナノ繊維で10 ppbの水銀イオンを100 mL Filtration enrichmentした場合は、90%以上である。

実用化という面ではImmersion testでの反応時間がネックとなる。例えば水溶液中室温で、同じ濃度の試薬とターゲットイオンを反応させた場合に反応が一瞬のものでも、試験紙とすると平衡に至るまでに数時間かかる。

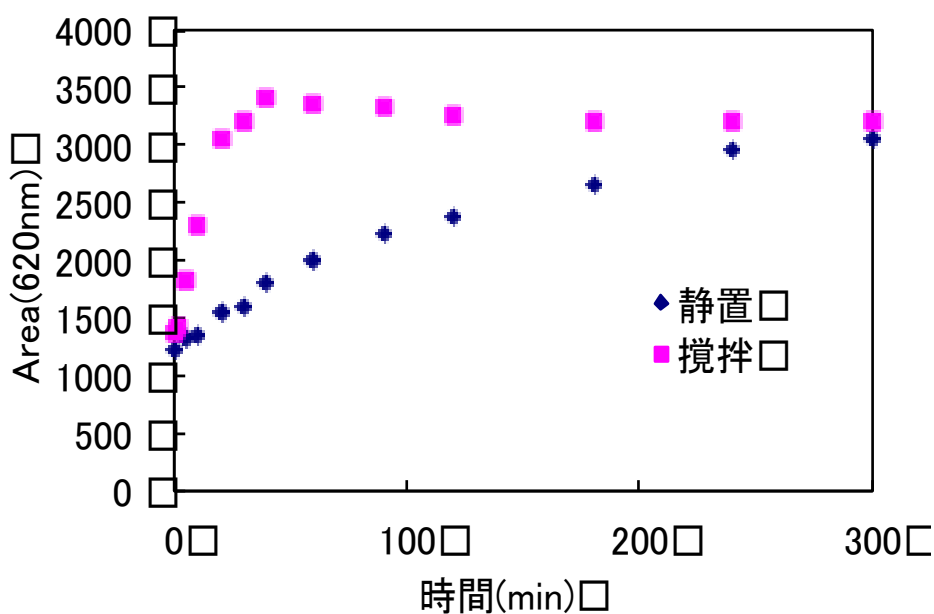
表(2)-4 ナノ薄膜試験紙と既存の試験紙の比較

	既存の試験紙	ナノ薄膜試験紙	
		試験紙法	通液濃縮法
検出名	Dip & read	Immersion test	Filtration enrichment
感度	数十ppm以上	数十ppb～数ppm	サブppb～数十ppb
時間	数秒から数分	<u>数十分から数時間</u>	10～20分
サンプル中の検出量	ごく一部	1%以下(20 ml中) ・5-Br-PADAPナノ粒子膜-Cd検出(700 ppb): 0.77%	80-90%(100 ml中) ・ジチゾンナノ繊維膜-Hg検出(10 ppb): 90%以上 ・TMPyP/シリカナノコンポジット膜-Cd検出(20 ppb): 約80%
サンプル量	依存しない	依存	大きく依存 (積極的に利用)

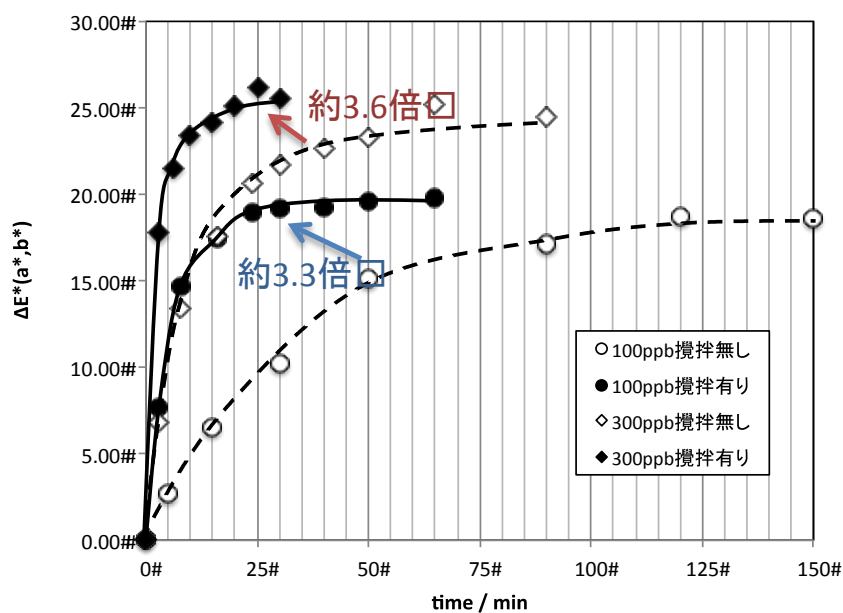


ナノ薄膜試験紙での要因は3つ考えられる。第1に衝突確率の問題で、ターゲットイオンがppbと超微量であり、試験上表面との衝突確率が格段に下がるため、第2はナノ薄膜へのイオンの浸透性の問題で、疎水性の有機比色試薬からなるナノ薄膜は疎水性であるためにイオンも水も薄膜中に浸透できないための2つの影響だと考える。

第1の衝突確率は、溶液の攪拌もしくは加熱によって上昇させることが可能である。実際に Zincon/Latex-NR₃⁺膜による亜鉛イオンの検出では、図(2)-19にあるように、溶液を攪拌するだけで反応速度は6.8 倍に上昇した。同様に、図(2)-20では5-Br-PADAPナノ粒子膜によるカドミウムイオンの検出でも、約3-4倍に速度が上昇した。

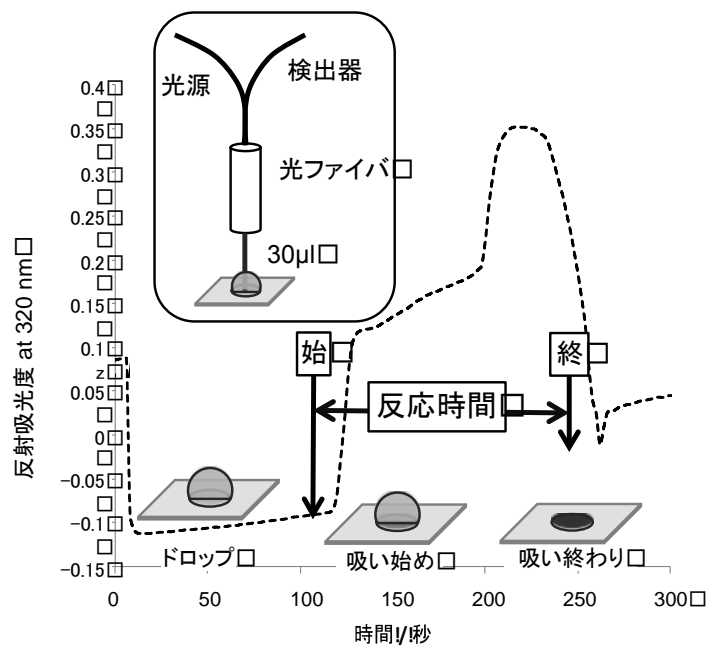


図(2)-19 Zincon/Latex-NR₃⁺膜と亜鉛イオンとの反応における攪拌の影響

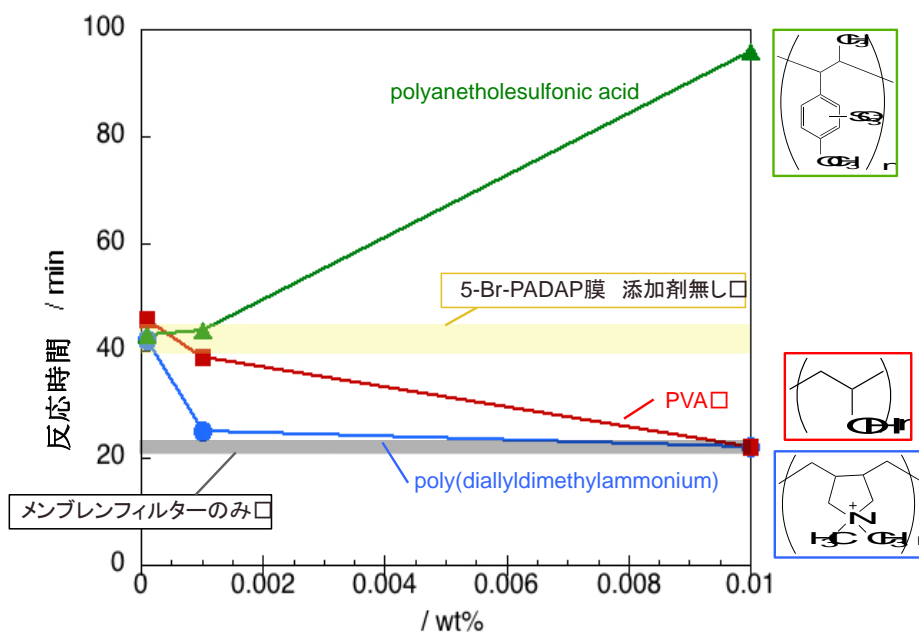


図(2)-20 5-Br-PADAPナノ粒子膜とカドミウムイオンとの反応における攪拌の影響

しかしながら、攪拌や加熱をして衝突確率を上げて、溶液中で一瞬で起こる5-Br-PADAPとカドミウムイオンとの反応もやはり時間がかかっている、最も影響がある要因は第2の問題、すなわちナノ薄膜へのイオンの浸透性であると考え、ナノ薄膜の疎水性を親水性ポリマー等で改質することを試みた。ナノ薄膜に対する添加剤の分析時間と抽出率に対する効果を評価するために、図(2)-21のような数十 μl のドロップテストを行い、光ファイバ付瞬間マルチ測光システムを用いて液滴の反射吸光度を経時測定し、反応時間を定量化する。実際にpoly(diallyldimethylammonium)やPVA等の添加で反応開始および反応時間が大幅に短縮された（図(2)-22）。



図(2)-21 ナノ薄膜での反応時間の定量化



図(2)-22 反応時間とポリマー添加の関係

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

評価基準②～④にてクリアした試薬の感度は以下のように、ppbレベルとなり、ナノ薄膜試験紙とすることで、高感度化することを実証した。感度は以下の通りである。カドミウム試験紙

(5-Br-PADAPナノ粒子膜、Immersion test、検出限界7.14 ppb、検出レンジ～700 ppb)、カドミウムイオン試験紙 (TMPyP/SAナノコンポジット膜、Filtration enrichment、検出限界0.102 ppb、検出レンジ～200 ppb)、鉛イオン試験紙 (TMPyP/SAナノコンポジット膜、Filtration enrichment、検出限界0.99 ppb、検出レンジ～100 ppb)、クロムイオン試験紙(クロムアズロールS/Latex-NR₃⁺ナノコンポジット膜、Immersion test、検出レンジ～1000 ppb)、マンガンイオン試験紙 (3,5-DiBr-PADAPナノ粒子膜、Immersion test、検出限界1.36 ppb、検出レンジ～700 ppb)、亜鉛イオン試験紙

(Zincon/Latex-NR₃⁺ナノコンポジット膜、Immersion test、検出限界48.6 ppb、検出レンジ～1000 ppb)、鉄イオン試験紙 (バソフェナントロリンスルホン酸/Latex-NR₃⁺ナノコンポジット膜、Immersion test、検出限界約10 ppb、検出レンジ～200 ppb)、ホウ素イオン試験紙 (クロモトローブ酸/Latex-NR₃⁺ナノコンポジット膜、Immersion test)、フッ化物イオン試験紙 (Flav-s/ZrO₂ナノコンポジット膜、Immersion test、検出限界約0.13 ppm、検出レンジ～5 ppm)、砒素イオン試験紙 (Mo/Latex-NR₃⁺ナノコンポジット膜、Immersion test、検出限界2.35 ppb、検出レンジ目視では10-500 ppb)。

新規に開発したFlav-s/ZrO₂ナノコンポジット膜の試験紙において、フッ化物イオンとpH 1-5にて置換反応が定量的に起こることを見出した。蛍光強度の減少を測定することでフッ化物イオンの定量が可能である。試験紙上のFlav-s/ZrO₂ナノコンポジット量を調整することで、感度レンジの異なる試験紙を作製可能であった。

砒素イオン試験紙では既知の溶液中でのヘテロポリ酸形成に基づく青色発色とは異なる、強塩基性Latex-NR₃⁺担体での、中性からアルカリ性でも青色発色となる、新たなモリブデンと砒素との複合体の形成に基づく青色を見出した。溶液で100 ppbも測定できないモリブデンブルー法を目視でも10 ppbが判別可能な程に高感度化することに成功した。ナノ薄膜試験紙の、まさにナノ薄膜構造によって高感度化するというコンセプトの実証となっている。

Immersion testにおける反応時間短縮への知見を得た。ナノ薄膜の添加剤による浸透性の改善がある種の微量な親水性物質添加で可能であり、dip & readでppb (規制値) が測定できる可能性が示唆された。

今後、試験紙の実用化を通じ、本研究成果の普及に努める。

(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>

サブテーマ (1) にすでに記載済みであるが、以下再録する。

サブテーマ (1) ～ (5) に共通する事項として、本試験紙を日常的な水管理に、規制値のモニタリングとして活用することを提案したい。法定の水質検査は年に1回程度であるが、これを補う日常的な方法として、その場で・迅速に・誰でも、環境基準値や排水基準値を超えているか

否かの判定を可能とする本試験紙は日々変動する水の管理に大いに役立つと考える。現行では工業排水、河川水、海水、井戸水等の環境水サンプル中の無機物の測定は、サンプリングした試料を分析センターにてAASやICP、ICP-MSにて測定している。専門の分析者が試料を溶媒抽出等で分離し、濃縮してから専門のオペレーターが機器分析するため、1週間以上もの時間と、1サンプル数万円ものコストがかかる。本研究で開発されたナノ薄膜試験紙（現時点で、カドミウム、鉛、クロム、水銀、マンガン、亜鉛、鉄、フッ化物、砒素、ホウ素の10ターゲット）は、ppbレベルの感度と主な実サンプル中での高い選択性のため、分析センターで行われていた煩雑な分析操作を簡略化して、年に一度の水質測定を機器分析で値として認知し、日常的には本ナノ試験紙で規制値を超えているか否かを判定する、それにより、真の意味で環境管理が日常化すると考える。事業所の日常的な排水管理の他にも、食品等の大量サンプルの機器分析前のスクリーニング、また発展途上国での水質管理、研究分野での地球化学的な微量イオンの動態分析や学校での教育教材として用いることが期待される。

本サブテーマからは、本ナノ薄膜作製法を機能性薄膜作製のプラットフォームとして提案したい。他の有機薄膜作製技術、例えばCVDやLB膜と比べて、汎用性が高く、非常に簡便、100%近く試薬を製膜可能でロスがない、試薬の分解が起こらない、膜厚の調整が容易、大面積の薄膜を作製可能（10 cmまでは確認済み）と有利である。

6. 国際共同研究等の状況

特に記載すべき事項はない

7. 研究成果の発表状況

(1) 誌上発表

<論文（査読あり）>

- 1) Kyaing Kyaing Latt, Yukiko Takahashi : Anal. Chim. Acta, 689, 103-109 (2011)
“Fabrication and characterization of a TMPyP/silica nanocomposite thin-layer membrane for detection of ppb-level heavy metal ions”
- 2) 高橋由紀子：分析化学、61(2), 123-126 (2012).
「ジチゾンナノ薄膜試験紙を用いる通液濃縮による水銀イオン検出における妨害除去法の検討」
- 3) 高橋由紀子、相馬聡、和久井喜人：分析化学、61(3), 229-234 (2012).
「2-(5-Bromo-2-pyridylazo)-5-diethylaminophenolナノ薄膜試験紙の評価と浸漬によるカドミウム(II)イオンの検出特性」

<その他誌上発表（査読なし）>

特に記載すべき事項はない

(2) 口頭発表（学会等）

- 1) 高橋由紀子：日本分析化学会第59年会（2010）
「ジチゾンナノ薄膜試験紙を用いた特異的水銀イオン検出システムにおける選択性の考察」

- 2) Kyaing Kyaing Latt、高橋由紀子、和久井喜人：日本分析化学会第59年会（2010）
“Fabrication of TMPyP/silica nanocomposite thin layered membrane for ppb leveled heavy metal ions detection and its characterization”
- 3) Yukiko Takahashi : International Conference on Nanoscopic Colloid and Surface Science 2010 (2010)
“Anionic Dye/Cationic Latex Nanocomposite coated Test Strips for Ppb-level Detection of Metal Ions”
- 4) Takahashi Yukiko : Pacifichem 2010（2010）
“Dithizone nanofiber thin film for highly sensitive and selective detection of Hg(II)”
- 5) Yukiko Takahashi : IUPAC International Congress for Analytical Sciences（2011）
“Preparation and Characterization of Dye Nanoparticle coated Test Strips for ppb-level Metal Ion Detection”
- 6) 安藤渉、高橋由紀子：日本分析化学会第60年会（2011）
「フラボノール類と酸化ジルコニウムから成る複合ナノ粒子膜でのフッ化物イオンの蛍光検出」
- 7) 高橋由紀子、相馬聡、和久井喜人：日本化学会第92春季年会（2012）
「5-Br-PADAPナノ薄膜試験紙によるppbレベルのカドミウムイオンの検出特性」
- 8) 志田八州太郎、高橋由紀子：日本分析化学会第61年会（2012）
「モリブデンブルー発色を利用した微量砒素(V)イオン検出用ナノ薄膜試験紙の開発」
- 9) 高橋由紀子、安藤渉：日本分析化学会第61年会（2012）
「フラボノールスルホン酸と酸化ジルコニウムナノ粒子からなるナノコンポジット膜の蛍光特性とフッ化物イオン試験紙としての評価」
- 10) 高橋由紀子、安藤渉：錯体化学会第62回討論会（2012）
「酸化ジルコニウムナノ粒子表面への吸着によって誘起されるフラボノイドの特異蛍光および吸着特性」
- 11) 志田八州太郎、高橋由紀子：日本化学会第93春季年会（2013）
「モリブデンを担持した微量砒素イオン検出用ナノ薄膜試験紙の改良と評価」

(3) 出願特許

特に記載すべき事項はない

(4) シンポジウム、セミナー等の開催（主催のもの）

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

- 1) 長岡技術科学大学 定例記者会見 教職員の受賞「日本分析化学会関東支部 新世紀賞」
(平成25年1月13日、於長岡技術科学大学)

(6) その他

- 1) 高橋由紀子、日本分析化学会関東支部2012年新世紀賞（25年1月10日、於日立製作所ダ

イビル会議室)

8. 引用文献

- 1) Yukiko Takahashi, Supamas Danwittayakul and Toshishige M. Suzuki: *Analyst*, 134, 1380 (2009)

(3) 機器分析を用いた試験紙のクロスチェック1

独立行政法人産業技術総合研究所

コンパクト化学システム研究センター先進機能材料チーム

和久井 喜人

平成22～24年度累計予算額：947千円（うち、平成24年度予算額：0千円）

予算額は、間接経費を含む。

[要旨]

ナノ薄膜試験紙の反応性のクロスチェックとして、本サブテーマ（3）は（2）でのサンプル溶液のターゲットイオンの抽出率との関係を（ICP-OES）およびICP-MSにて評価し、定量的に膜にターゲットが捕捉されるように、サブテーマ（1）、（2）へ更なる最適化を促す。これに関して5-Br-PADAPナノ粒子膜からなるカドミウムイオン試験紙の分析1回、TMPyP/SAナノコンポジット膜からなる鉛イオン試験紙の分析1回を行った。また、サブテーマ（2）のナノ薄膜の改質に関して、5-Br-PADAPナノ粒子膜によるカドミウムイオン試験紙にて、ドロップテストの分析1回、カチオン性ポリマーの添加実験の分析1回、ポリマー各種添加実験の分析1回の計3回の分析を行った。全てにおいて、ICP発光分析およびICP質量分析による分析の妥当性を確認した。

[キーワード] 試験紙、有害無機イオン、抽出率、機器分析、クロスチェック

1. はじめに

本サブテーマ（3）にて、サブテーマ（2）でのクロスチェックとして、ターゲットイオンの試験紙への抽出率をICP発光分析およびICP質量分析で評価し、定量的に膜にターゲットが捕捉されるように、サブテーマ（1）と（2）へ更なる最適化を促す。またナノ薄膜の改質に対する、分析手法や添加剤の効果を評価するためにターゲットイオンの抽出率の算出を行う。

2. 研究開発目的

ナノ薄膜試験紙の反応性のクロスチェックとして、本サブテーマ（3）はサブテーマ（2）でのサンプル溶液のターゲットの抽出率との関係をICP発光分析およびICP質量分析で評価し、定量的に膜にターゲットが捕捉されるように、サブテーマ（1）と（2）へ更なる最適化を促す。これに関して5-Br-PADAPナノ粒子膜からなるカドミウムイオン試験紙の分析1回、TMPyP/SAナノコンポジット膜からなる鉛イオン試験紙の分析1回を行う。

またサブテーマ（2）のナノ薄膜の改質に関して、5-Br-PADAPナノ粒子膜によるカドミウムイオン試験紙にて、ドロップテストの分析1回、カチオン性ポリマーの添加実験の分析1回、ポリマー各種添加実験の分析1回の計3回の分析を行った。全てに於いて、ICP発光分析およびICP質量分析による分析の妥当性の確認も併せて行う。

3. 研究開発方法

簡易定量及び高濃度域の分析にはICP発光分光分析装置（ICP-OES、SII、SPS3100）を使用した。低濃度域の定量には二重収束型ICP質量分析計（ICP-MS、日本電子、JMS-PLASMAX2）を使用した。定量方法としては、市販カドミウム標準溶液(100 mg / L、和光純薬)を目的の濃度に希釈して使用した。各溶液には有害金属測定用硝酸（和光純薬）を1 mmol / Lとなるよう添加しマトリックスとした。定量は多点検量線法で行なった。

試料の調整方法を以下に示す。

（1）5-Br-PADAPナノ粒子膜の1/6カットした試験紙によるカドミウムイオンの抽出率の算出
 <実験条件>

試験紙：5-Br-PADAPナノ粒子膜（φ47mm）の1/6カット

反応条件：700 ppbのカドミウムイオン、5 mMリン酸K/クエン酸Na/KOH緩衝液(pH 8)を含む20 mLのサンプル溶液を室温下で2時間、Immersion test

<サンプル作成条件>

機器分析用試料の調製方法として、‘サンプル溶液’は取り出し後の溶液に濃硝酸3 μLを加え、pH 3程度の試料溶液とした。‘試験紙からの抽出液’は、取り出し後の試験紙に濃硝酸500 μLを加え、一晩放置。再び同量を加え、試料を溶解し、さらに濃硝酸10 mLを加え、乾固寸前まで加熱した。放冷後再度濃硝酸10 mLを加え加熱。分解液が透明となるまで5～6回これを繰り返し、乾固寸前まで濃縮後、水で20 mLとし、濃硝酸5 μLを加えて試料溶液とした。

（2）5-Br-PADAPナノ粒子膜のドロップテストによるカドミウムイオンの抽出率の算出

検出方法を1滴試験紙に滴下するdrop testとしたときの効果を見るために、5-Br-PADAPのナノ繊維膜（0.45 μm）の1 cm x 1 cmカットを用い、1 ppmのカドミウムイオン、5 mM リン酸K/クエン酸Na/KOH（pH 8）を含む液量50 μLのドロップを、下に濾紙（アドバンテックNo.1）を1枚置いた試験紙の上から滴下し、室温下15分で反応させた。

検量線には市販金属標準溶液(100 mg / L、和光純薬)を目的の濃度に希釈して使用した。各溶液には有害金属測定用硝酸（和光純薬）を1 mMとなるよう添加しマトリックスとした。定量は多点検量線法で行なった。

<実験条件>

試験紙：5-Br-PADAPのナノ繊維膜（0.45 μm）の1 cm x 1 cm

反応条件：0.005 M リン酸K/クエン酸Na/KOH（pH 8）、Cd 1 ppm、液量50 μlドロップ、下に濾紙（No.1）を1枚置く、室温下15分（浸透時間）

<サンプル作成条件>

取り出した試験紙に 1 mL 濃硝酸（約13.4 M）を加えて1晩静置して分解し、分解液に約10 mLの濃硝酸を加えホットプレートで乾固する手前まで加熱する。放冷し、再度10 mL程度の濃硝酸を加え加熱を繰り返す。分解液が透明になるまで5～6回程度の繰り返し。

最終的に乾固手前まで硝酸を気化させた溶液を水で20 mLにメスアップし、数μlの濃硝酸を加えた酸性溶液を抽出液とした（pH試験紙で2～3程度を確認）

(3) TMPyP/SAナノコンポジット膜のFiltration enrichmentによる鉛抽出率の算出

<実験条件>

試験紙：TMPyP/SA膜 φ25 mmカット

反応条件：pH 8、Pb 100 ppb、100 mL、Filtration enrichment

<サンプル作成条件>

濾液をそのままICP-MSにて測定した。

(4) 5-Br-PADAPナノ粒子膜-カドミウムイオン検出におけるカチオン性ポリマーpDADMAの効果

<実験条件>

試験紙：以下の試験紙を1 cm x 1 cmにしたもの。

- 1) 5-Br-PADAPナノ繊維膜 (0.45 μm)
- 2) 0.1wt%のカチオン性ポリマーpDADMA (MW: very low)を分散液として製膜した5-Br-PADAPナノ繊維膜

反応条件：0.005 M リン酸K/クエン酸Na/KOH (pH 8.4)、Cd 1 ppm、液量30 μLドロップ、下に濾紙(アドバンテックNo.1)を1枚置く(下の写真参照)、室温下、経時変化を観察し、試験上面のdropを吸いきった時点を反応終了とした。

<サンプル作成条件>

試験紙に3 mL 濃硝酸(約13.4 M)を加えて1晩静置して分解した。その後、分解液に約10 mLの濃硝酸を加えホットプレートで乾固する手前まで加熱し、放冷、再度10 mL程度の濃硝酸を加え加熱を繰り返す。分解液が透明になるまで数回程度の繰り返しを行った。

最終的に乾固手前まで硝酸を気化させた溶液を水で20 mLにメスアップし、5 μlの濃硝酸を加えた酸性溶液を抽出液とした(pH試験紙で2~3程度を確認)

(5) 5-Br-PADAPナノ粒子膜-カドミウムイオン検出における各種添加剤の効果

<実験条件>

試験紙：5-Br-PADAPのナノ繊維膜(0.45 μm)の1 cm x 1 cm

- 1) 5-Br-PADAPナノ繊維膜 (0.45 μm)
- 2) 添加剤0.005wt% pASA
- 3) 添加剤0.005wt% デンドロン
- 4) 添加剤0.005wt% pDADMA
- 5) 添加剤0.005wt% PVA

反応条件：0.005 M リン酸K/クエン酸Na/KOH(pH 8)、Cd 700 ppb、液量50 μLドロップ、液量20 mL

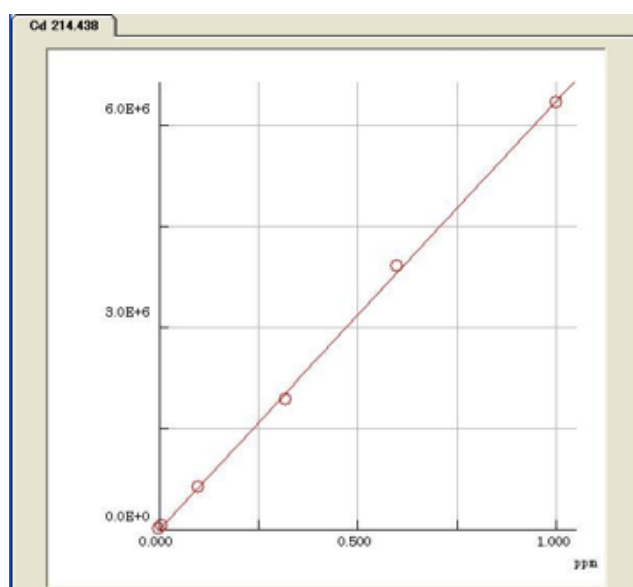
<サンプル作成条件>

取り出した試験紙に1 mL 濃硝酸(約13.4 M)を加えて1晩静置して分解し、分解液に約10 mLの濃硝酸を加えホットプレートで乾固する手前まで加熱する。放冷し、再度10 mL程度の濃硝酸を加え加熱を繰り返す。分解液が透明になるまで5~6回程度の繰り返し。

最終的に乾固手前まで硝酸を気化させた溶液を水で20 mLにメスアップし、数μlの濃硝酸を加えた酸性溶液を抽出液とした(pH試験紙で2~3程度を確認)

4. 結果及び考察

(1) 5-Br-PADAPナノ粒子膜の1/6カットした試験紙によるカドミウムイオンの抽出率の算出
各試料はICP-OESによる半定量によりおおまかな濃度を見積もり、続いてサンプル溶液はICP-OESで、抽出液はICP-MSでカドミウム濃度を求めた。ICP-OESによる検量線を図(3)-1に示す。0.1～1 mg/Lの領域で良好な直線性を示し、ICP-OESで十分に精度良く定量可能であることが示された。分析結果を表(3)-1に示す。いずれの試料濃度もその試験前初濃度と誤差範囲で一致した。

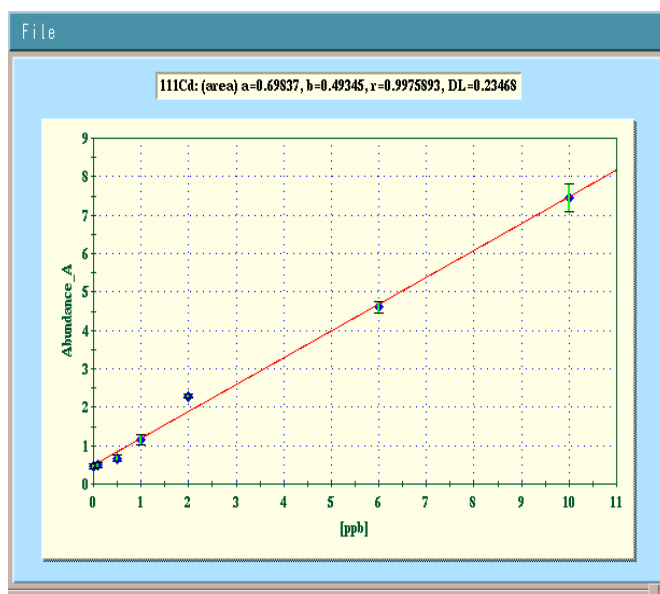


図(3)-1 ICP-OESによるCd 214.438 nmの検量線

表(3)-1 サンプル溶液中カドミウム濃度の測定結果 (単位: ppm)

試料	サンプル 1	サンプル 2	サンプル 3	サンプル 4	サンプル 5	サンプル 6
[Cd]	0.71	0.69	0.70	0.70	0.69	0.70

続いてICP-MSによる1～10 µg/L領域のカドミウムの検量線を図(3)-2に示す。ICP-OESに比してばらつきが大きいものの、十分に測定可能な感度を有することが確認された。分析結果を表(3)-2に示す。



図(3)-2 ICP-MSによる質量数111Cdの検量線

表(3)-2 試験紙からの抽出液中カドミウム濃度の測定結果 (単位: $\mu\text{g/L}$)

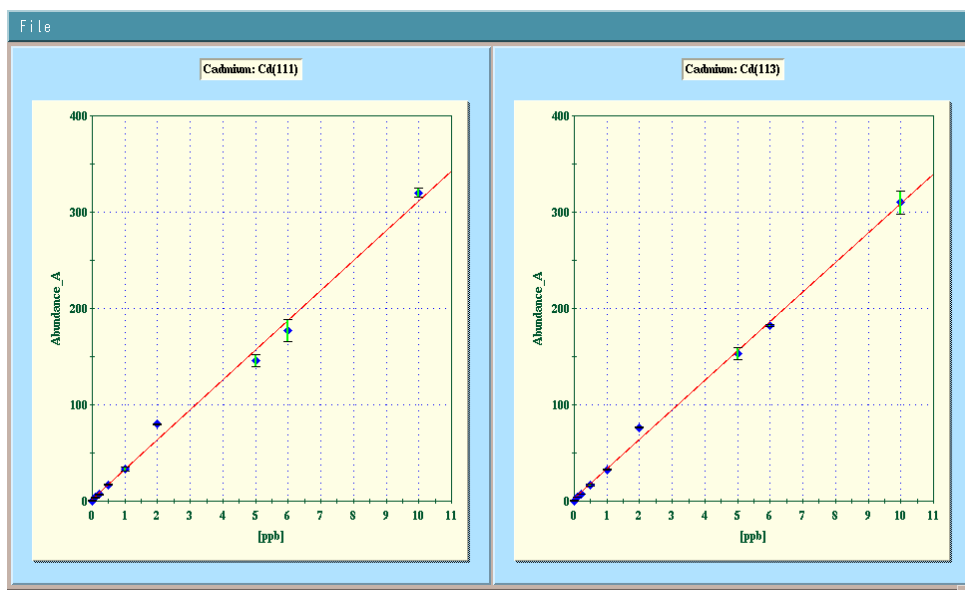
試料	抽出液 1	抽出液 2	抽出液 3	抽出液 4	抽出液 5	抽出液 6
[Cd]	3.4	5.7	6.8	2.6	5.2	8.6

以上の結果より、ICP-MS並びにICP-OESを対象とする濃度に合わせて適切に使い分けることにより、検出膜の性能評価を正確に実施可能であることが示された。即ち高濃度側ではICP-OESは精度が高く、また装置内にメモリー効果等を引き起こすことなくカドミウムの測定が可能であった。低濃度側では研究計画通りにICP-MSで分析が有効性であった。

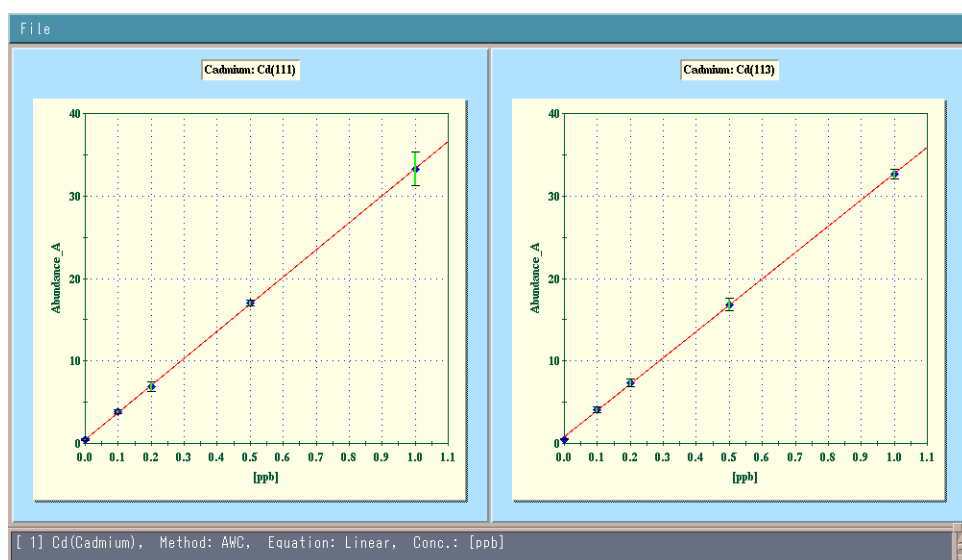
表(3)-1及び表(3)-2より、Immersion testでは、サンプル溶液の濃度に検出可能な程の変化を引き起こさないことが示された。捕捉率は金属初濃度にも依存すると考えられるが、両表より捕集されたCdは1%以下(平均0.77%)となった。発色を利用した検出膜ならば特に問題はなく、使用後の試料溶液を他の分析に利用可能と推定される。一方、定量的捕集膜として利用するには捕捉能力は不足していると結論される。

(2)5-Br-PADAPナノ粒子膜のドロップテストによるカドミウムイオンの抽出率の算出

試験紙の分解溶液中ではCd濃度が低いことが予測されたので、ICP-MSによる分析を実施した。事前に仮定量を試み、各試料とも装置の測定可能濃度に入っていることを確認し、標準液の作成を行った。1元素のみの測定なので、比較的存在度が高くかつバックグラウンドの低い質量、 ^{111}Cd 及び ^{113}Cd を測定に使用した。高濃度域(- 10 ppb)及び低濃度域(- 1 ppb)で作成した検量線を図(3)-3及び図(3)-4に示す。いずれも良好な直線性を示した。これらの検量線を用いて測定した結果を表(3)-3に示す。



図(3)-3 高濃度域Cd検量線



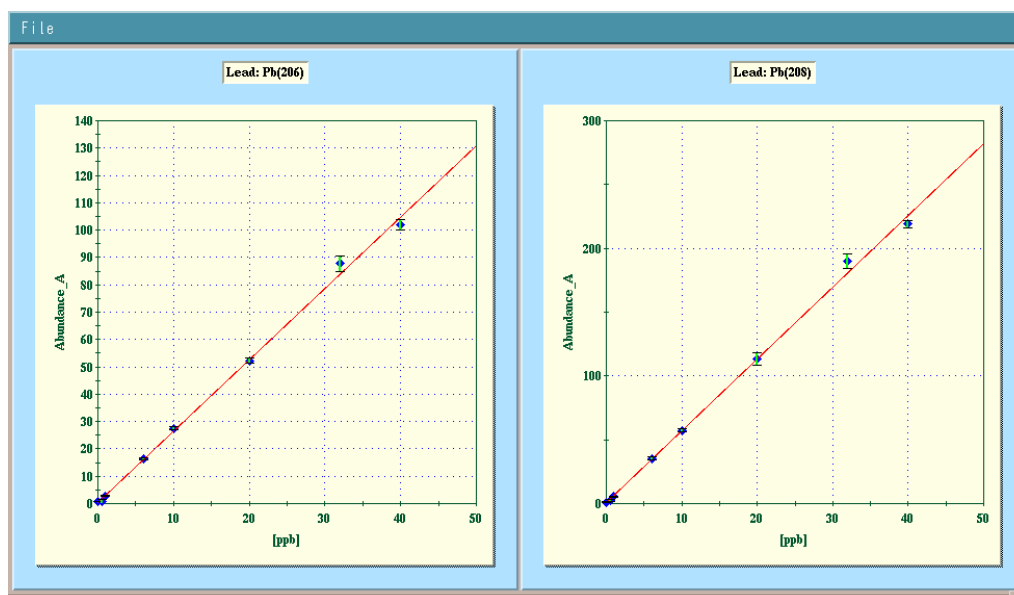
図(3)-4 低濃度域Cd検量線

表(3)-3 試料溶液中Cd測定結果 (単位 ppb)

	抽出液1	抽出液2	抽出液3
^{111}Cd	3.571 ± 0.133	0.7094 ± 0.01771	0.7992 ± 0.04657
^{113}Cd	3.577 ± 0.1312	0.7177 ± 0.05756	0.7701 ± 0.03529

(3) TMPyP/SAナノコンポジット膜のFiltration enrichmentによる鉛抽出率の算出

鉛検出膜のクロスチェックに於いては、filtration enrichmentの通液後の濾液での測定であったので、濃度が低いことが予測され、ICP-MSによる分析を実施した。事前に仮測定を試み、各試料とも定量可能範囲に入っていることを確認し、定量を行った。比較的存在度が高い質量を2つ選び、 ^{206}Pb 及び ^{208}Pb を測定に使用した。標準溶液を用いて検量線の直線性の検討を行った。図(3)-5に各質量数に於ける検量線を示す。数十ppbオーダーでは十分な感度を有し、検量線もほぼ直線性を示した。さらに検量線を用いて測定した結果を表(3)-4に示す。



図(3)-5 質量数206及び208に於けるPb検量線

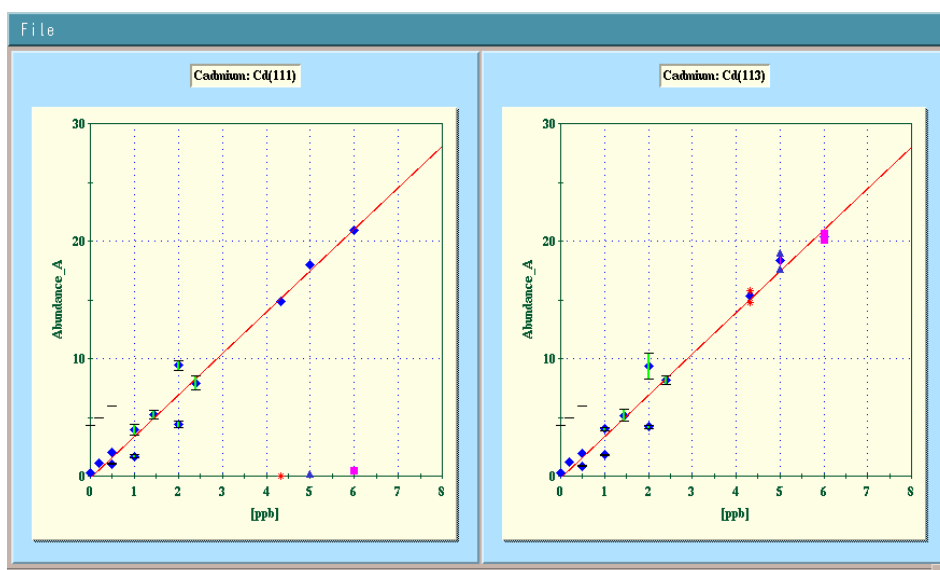
表(3)-4 ろ液中Pb測定結果 (単位 ppb)

	^{206}Pb	^{208}Pb
ろ液11	15.03 ± 0.485	15.67 ± 0.4674
ろ液12	21.74 ± 0.9153	21.69 ± 1.762
ろ液13	10.92 ± 0.5278	11.19 ± 1.072
ろ液14	7.472 ± 0.5586	7.898 ± 0.1995
ろ液15	7.606 ± 0.7772	7.345 ± 0.2975

^{206}Pb 及び ^{208}Pb の結果は、ICP-MSの精度を考慮すれば、適切な一致をしていると考えられた。

(4) 5-Br-PADAPナノ粒子膜-カドミウムイオン検出におけるカチオン性ポリマーpDADMAの効果

実験条件並びにサンプル作製条件は(1)とほぼ同様で、5-Br-PADAP膜に改質剤を適宜加えてあり、かつサンプル数が6であった。事前に仮測定を実施し、各試料とも1桁ppbレベルの測定可能濃度範囲に入っていることを確認し、標準液の作成を行った。 ^{111}Cd 及び ^{113}Cd を測定に使用した。作成した検量線(図(3)-6)を用いて測定した結果を表(3)-5に示す。



図(3)-6 ICP-MSによる ^{111}Cd 及び ^{113}Cd の検量線

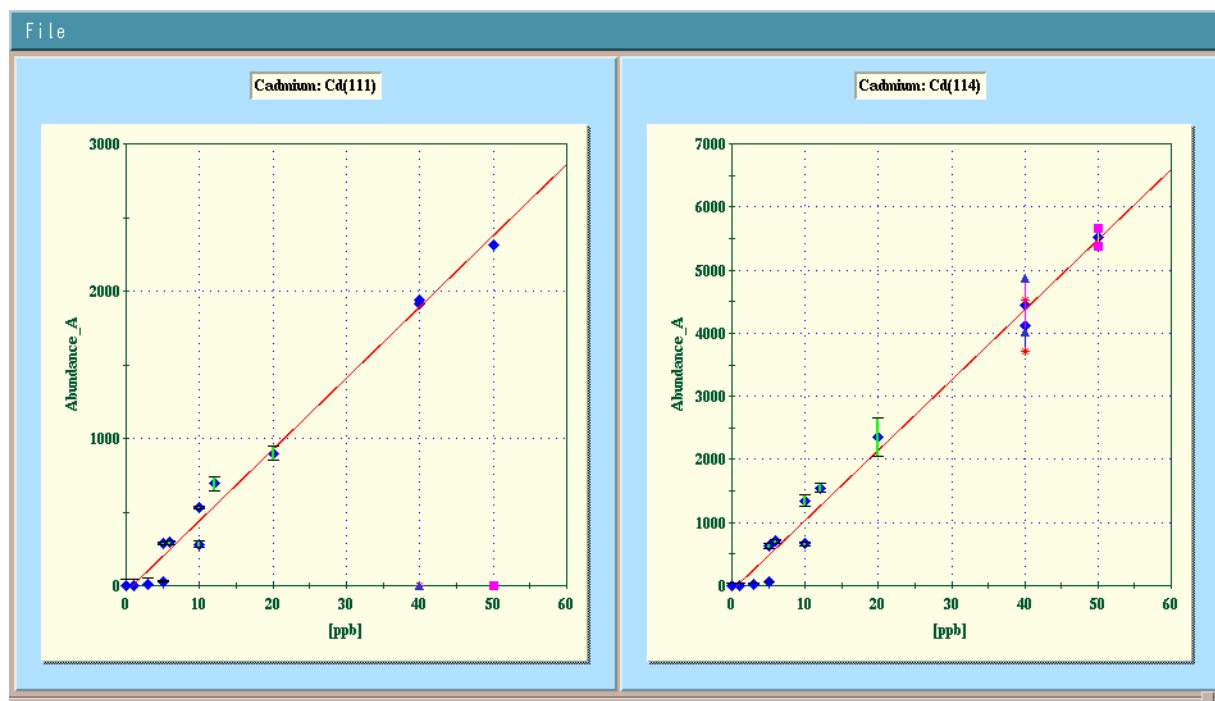
表(3)-5 抽出試料溶液中Cd測定結果 (単位 ppb)

	^{111}Cd	^{113}Cd
抽出液1	1.523 ± 0.1014	1.647 ± 0.1183
抽出液2	1.526 ± 0.0913	1.609 ± 0.0792
抽出液3	2.254 ± 0.1195	2.245 ± 0.07368
抽出液4	1.737 ± 0.2352	1.726 ± 0.01918
抽出液5	2.264 ± 0.07574	2.541 ± 0.2663
抽出液6	1.606 ± 0.05174	1.517 ± 0.03161

両質量数を用いた結果はほぼ一致した値が得られた。また今回は各抽出液間の濃度の差が小さく、一定の範囲内に収まる傾向が示された。

抽出液1～3は無添加、4～6はpDADMAを0.1wt%添加したもので、ここからは抽出率に関しては有意な差が見られなかった。すなわちカチオン性ポリマーpDADMAはナノ薄膜の浸透性を上げるが抽出率には影響がないことがわかる。

(5) 5-Br-PADAP ナノ粒子膜-カドミウムイオン検出における各種添加剤の効果



図(3)-7 ICP-MS による Cd 111 及び Cd 114 の検量線

共存する重金属元素のないクリーンなサンプルであると考えられたので、質量数としては比較的妨害の少ない 111（存在度 12.75%）の他に存在度が最大の 114（28.86%）を併せて分析にかけた。低濃度域でやや逸脱が見られたものの、全体には両方ともほぼ良好な直線性を示した。

表(3)-6 カドミウム700 ppb検出時の添加剤の効果

	添加剤	反応時間（平衡に至るまで） / min	検出濃度 in 20 mL / ppb (ICP-OES より)
①	無し	135	27.05
②	pASA	160	29.54
③	デンドロン	15	28.89
④	pDADMA	120	24.99
⑤	PVA	20	25.72

結果を表(3)-6 の一番右のカラムに示す。本試験紙は浸透性の比較のため、担体のメンブレンフィルターを通常用いているもの (0.45 μm) よりも孔径が小さく、かつ平坦なもの (0.05 μm)

を用いたため、メンブレンフィルター自体が水の浸透性が悪く、水の浸透に約 20 分程度かかる。そのため、表(3)-6 中の反応時間が 15 分の③および 20 分の⑤は、通常の試験紙であれば浸透に 1 分もかからない程の反応時間である。特に大きな浸透性を示した③と⑤は、無しの場合（135 分）と比べても抽出率（検出濃度）が減少することはなかったため、時間の短縮は試験紙の反応性に影響を与えない。すなわち、カドミウムイオンと 5-Br-PADAP ナノ粒子の反応自体は十分早く、やはり律速は疎水性のナノ薄膜へのイオンの浸透であることがわかる。

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

本サブテーマ（3）では、サブテーマ（1）と（2）で評価基準⑤まで到達した、選抜された試験紙について、機器分析により ppb レベルでのクロスチェックを行った。結果、ナノ薄膜試験紙での Immersion test では水溶液中のほとんどのターゲットイオンのうち、薄膜に抽出されるものはほんわずかであること、逆に Filtration enrichment ではほとんどが抽出されることがわかった。ドロップテストなどの分析方法の変更や親水性の添加剤の添加により、反応時間は短縮することが可能であるが、抽出率は変化しないことがわかった。すなわちナノ粒子とターゲットイオンの反応自体はとても早いことわかった。

今後、試験紙の実用化を通じ、本研究成果の普及に努める。

(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>

サブテーマ（1）、（2）にすでに記載済みであるが、以下再録する。

サブテーマ（1）～（5）に共通する事項として、本試験紙を日常的な水管理に、規制値のモニタリングとして活用することを提案したい。法定の水質検査は年に 1 回程度であるが、これを補う日常的な方法として、その場で・迅速に・誰でも、環境基準値や排水基準値を超えているか否かの判定を可能とする本試験紙は日々変動する水の管理に大いに役立つと考える。現行では工業排水、河川水、海水、井戸水等の環境水サンプル中の無機物の測定は、サンプリングした試料を分析センターにて AAS や ICP、ICP-MS にて測定している。専門の分析者が試料を溶媒抽出等で分離し、濃縮してから専門のオペレーターが機器分析するため、1 週間以上もの時間と、1 サンプル数万円ものコストがかかる。本研究で開発されたナノ薄膜試験紙（現時点で、カドミウム、鉛、クロム、水銀、マンガン、亜鉛、鉄、フッ化物、砒素、ホウ素の 10 ターゲット）は、ppb レベルの感度と主な実サンプル中での高い選択性のため、分析センターで行われていた煩雑な分析操作を簡略化して、年に一度の水質測定を機器分析で値として認知し、日常的には本ナノ試験紙で規制値を超えているか否かを判定する、それにより、真の意味で環境管理が日常化すると考える。事業所の日常的な排水管理の他にも、食品等の大量サンプルの機器分析前のスクリーニング、また発展途上国での水質管理、研究分野での地球化学的な微量イオンの動態分析や学校での教育教材として用いることが期待される。

本サブテーマからは、本ナノ薄膜作製法を機能性薄膜作製のプラットフォームとして提案したい。他の有機薄膜作製技術、例えばCVDやLB膜と比べて、汎用性が高く、非常に簡便、100%近く試薬を製膜可能でロスがない、試薬の分解が起こらない、膜厚の調整が容易、大面積の薄膜を作製可能（10 cmまでは確認済み）と有利である。

6. 国際共同研究等の状況

特に記載すべき事項はない

7. 研究成果の発表状況

(1) 誌上発表

<論文（査読あり）>

- 1) Kyaing Kyaing Latt, Yukiko Takahashi : Anal. Chim. Acta, 689, 103-109 (2011)
“Fabrication and characterization of a TMPyP/silica nanocomposite thin-layer membrane for detection of ppb-level heavy metal ions”
- 2) 高橋由紀子、相馬聡、和久井喜人：分析化学、**61(3)**, 229-234 (2012).
「2-(5-Bromo-2-pyridylazo)-5-diethylaminophenolナノ薄膜試験紙の評価と浸漬によるカドミウム(II)イオンの検出特性」

<その他誌上発表（査読なし）>

特に記載すべき事項はない

(2) 口頭発表（学会等）

- 1) 高橋由紀子：日本分析化学会第59年会（2010）
「ジチゾンナノ薄膜試験紙を用いた特異的水銀イオン検出システムにおける選択性の考察」
- 2) Kyaing Kyaing Latt、高橋由紀子、和久井喜人：日本分析化学会第59年会（2010）
“Fabrication of TMPyP/silica nanocomposite thin layered membrane for ppb leveled heavy metal ions detection and its characterization”
- 3) Takahashi Yukiko : Pacifichem 2010（2010）
“Dithizone nanofiber thin film for highly sensitive and selective detection of Hg(II)”
- 4) 高橋由紀子、相馬聡、和久井喜人：日本化学会第92春季年会（2012）
「5-Br-PADAPナノ薄膜試験紙によるppbレベルのカドミウムイオンの検出特性」
- 5) 志田八州太郎、高橋由紀子：日本化学会第93春季年会（2013）
「モリブデンを担持した微量砒素イオン検出用ナノ薄膜試験紙の改良と評価」

(3) 出願特許

特に記載すべき事項はない

(4) シンポジウム、セミナー等の開催（主催のもの）

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

特に記載すべき事項はない

8. 引用文献

なし

(4) 妨害イオンの影響および実サンプルへの適用

長岡技術科学大学 環境建設系

高橋 由紀子

平成22～24年度累計予算額：3,254千円（うち、平成24年度予算額：1,856千円）

予算額は、間接経費を含む。

[要旨]

評価基準④（図(1)-3参照）までで既に選抜済みの試験紙に対し、試験紙の選択性に関する評価、妨害除去方法、実試料への適用、実試料での問題点から膜の作製条件や反応条件、妨害除去条件や前処理法などを考案、決定し、最終的にどのような実サンプルに試験紙が適しているか、仕様書とする。結果、カドミウムイオン試験紙では、5-Br-PADAPナノ粒子膜では河川水や水道水レベルまで適用可能であったが、TMPyP/SAナノコンポジット膜では有効なマスクング条件が見つからず、適用可能な環境サンプルは無しであった。鉛イオン試験紙では、TMPyP/SAナノコンポジット膜にて、pH 8で3種類のマスクング剤を添加することで妨害除去が可能となり、河川水に適用可能であった。水銀イオン試験紙では、ジチゾンナノ繊維膜にて、酸性およびEDTA存在下で、ほぼ妨害なしとなり、河川水、水道水はもちろん、工業排水、海水にまで応用可能で、非常に高選択性である。マンガンイオン試験紙では、3,5-DiBr-PADAPナノ粒子膜にて、マスクング剤2種混合にて妨害を除去することが可能で、河川水、水道水レベルまで適用可能である。亜鉛イオン試験紙では、Zincon/Latex-NR₃⁺ナノコンポジット膜にて、マスクング剤を3種類混合することで除去可能であり、特に鍍金廃水まで適用可能な優れた方法である。フッ化物イオン試験紙では、アルミニウム、鉄、銅などのカチオンはEDTAにて除去可能であるが、リン酸が多量に含まれると妨害となるため、河川水レベルに適用可能である。砒素イオン試験紙では、フッ化物、ホウ素、シリカ等のアニオンは妨害しないが、リン酸は妨害するため、リンの除去が必要で、河川水レベルである。

[キーワード] 試験紙、有害無機イオン、選択性、マスクング、実サンプル

1. はじめに

研究背景はサブテーマ（1）と同様である。サブテーマ（4）は、すでに選抜された試験紙に対して、評価基準⑥選択性および⑦実試料への適用により、スクリーニングすることなく、どのような汚染レベルの実サンプルに適用可能か、妨害除去条件の検討および許容限界の調査に基づいて決定する。⑤の感度と共に試験紙の仕様書の内容となる。

2. 研究開発目的

ナノ薄膜試験紙は、有機比色試薬が固相でターゲットイオンが液相であるため、固液分離に基づく選択性や水溶性マスクング剤による妨害イオンの除去により、溶液中での反応より妨害に強い分析法である。本ナノ薄膜試験紙では、まずは何らかの実サンプル中で、表(1)-1にある環境基準値および排水基準値を測定できることを目標としているが、同時にターゲット毎に最もニーズが高そうな実試料に重きをおいて開発を進めている。試験紙は、やはり現場で使われてこそ、本

当に価値があると考えている。サブテーマ（４）にあたり、各ターゲットに想定される実サンプルを表(4)-1に挙げる。⑥選択性では、④およその選択性から予想される妨害イオンを詳細に調査し、また⑦実試料から予想されるものも同様に、妨害除去方法を考案する。⑦実試料への適用では、入手できればターゲット毎に最もニーズのありそうな実試料にて、また入手不可であれば人工サンプルにて測定を行い、前処理などの実使用での問題点を挙げる。選択性および実試料への適用からさらにサブテーマ（１）膜の作製条件およびサブテーマ（２）反応条件へ再度最適化を促す。

表(4)-1 想定される実サンプル

	実サンプル□		実サンプル□
Cd(II)□	米、河川□	Mn(II)□	水道水原水□
Pb(II)□	工場(メッキ、金属酸洗い、ガラス)排水、埋め立て処分場溶出水、土壌残留、水道水□	Cu(II)□	殺菌、銅メッキ□
Cr(VI)□	クロムメッキ、土壌残留、RoHS対策□	Fe(III)□	水道水、井戸水□
Zn(II)□	メッキ工場排水、水道水□	F□	工場(表面処理施設、メッキ)排水、井戸水□

3. 研究開発方法

有機比色試薬およびマスキング剤は、試薬特級をそのまま用いた。ナノ担体として、表面がトリメチル化アミノ基修飾されたラテックス（Latex-NR₃⁺、100 nm、Mircomod社製）およびシリカ粒子（SA、10-14 nm、日揮触媒化成工業社製）、酸化ジルコニウム（ZrO₂、29 nm、ホソカワミクロン社製）を主に用いた。メンブレンフィルターはアドバンテック社製のセルローズ混合エステルタイプメンブレンフィルター（直径47mm、孔径0.1 μm）を主に用いた。分散液量は10 mLで統一した。

試薬担持率の算出に吸光光度測定（島津 uv-1800）、粒子成長時間の決定に電子顕微鏡による表面粒子および薄膜の断面観察（日立 S-800、産業技術総合研究所）およびゼータ電位・動的光散乱測定（大塚電子 ELSZ-2）、試験紙の表面分析に瞬間マルチ測光システム（大塚電子MCPD-3700）およびTLCスキャナ（島津CS-9300）、試薬薄膜層の機械的強度を鉛筆試験（JIS K5600塗料の一般試験法）、試薬薄膜層の経時安定性を色彩計（コニカミノルタCM-2600d）にて評価した。フッ化物イオン試験紙については、蛍光分光光度計（Horiba FluoroMax-4）にて、固体サンプルホルダーに試験紙を取り付けて、励起光に対し30°、検出器に対し60°の角度にセットして測定した。

4. 結果及び考察

成果の概要で述べたように、実際に開発を達成した10ターゲットのうち、本サブテーマ（4）で扱うターゲットは、カドミウム、鉛、水銀、マンガン、亜鉛、フッ化物、砒素イオン用試験紙であり、以下の（1）～（7）に述べる。

（1）カドミウムイオン試験紙

TMPyP/SA および 5-Br-PADAP 膜が評価基準⑤までクリアしている。TMPyP/SA 膜については妨害イオンの影響を調査したが、反応条件が pH 10 であるため適切なマスキング剤が見つからなかった。

5-Br-PADAP 膜について、実サンプルとして米の酸抽出液を想定し、かつ 5-Br-PADAP との反応が報告されているイオンを抽出し、妨害およびマスキング剤の検討を行った。結果を表(4)-2 に示すが、特にマンガン、コバルト、ニッケル、銅、亜鉛イオンの影響が大きいことがわかる。一般的に、米に含まれる亜鉛はカドミウムの 400 倍程度であることが報告されており、カドミウム汚染米でも亜鉛の方がカドミウムよりも 50 倍程度多く含まれている。このため亜鉛を除くことが必須であり、様々なマスキング剤を試したが、亜鉛とカドミウムの性質が似ていること、カドミウムに対して 400 倍以上の選択性を持たなければならないことより、米中のカドミウム検出に適した除去条件が見つからなかった。実際に米の酸抽出液を測定したがやはり妨害が著しく、カドミウムのみ測定には至らなかった。現時点では、表(4)-2 に記載の 3-mercaptopropionic acid 以上にカドミウムの分離に優れたマスキング剤は存在せず、またカドミウムに高選択的な比色試薬もないため、比色試薬とマスキング剤のみでこれ以上選択性のある試験紙を開発することは不可能である。分離カラム等の前処理を行えば可能であるが、試験紙の簡便性を損なってしまうため、今後は試験紙を多層化し分離層を比色試薬層の上に設ける方向で再度検討する予定である。

表(4)-2 より、現時点で測定可能なサンプルを見積もると、水道水、河川水等であることがわかる。

表(4)-2 700 ppb のカドミウムイオン定量における許容限界

Cations	Concentration /ppb	Masking reagent ^a	Recovery% ^b
Cr ^{VI}	10,000	—	93.4%
Mn ^{II}	200	—	109.1%
//	300	3-mercaptopropionic acid	96.4%
Fe ^{II}	1,000	—	89.6%
Fe ^{III}	1,000	—	91.9%
Co ^{II}	20	—	117.9%
//	50	Zincon	97.2%
Ni ^{II}	20	—	110.0%
//	300	Zincon	107.8%
Cu ^{II}	20	—	114.3%
//	100	3-mercaptopropionic acid	100.0%
Zn ^{II}	20	—	80.5%
//	100	3-mercaptopropionic acid	108.2%
Hg ^{II}	200	—	109.3%
Pb ^{II}	800	—	102.9%

a) $5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$. b) The recovery% denotes the ratio of $\Delta E^*(a^*, b^*)$ with and without the addition of cation.

(2) 鉛イオン試験紙

実サンプルを水道水と想定し、評価基準⑤までクリアしたTMPyP/SA膜について、水道水基準にあるイオンについて、表(4)-3には70 ppbのPb(II)に対する、各種妨害イオンの許容限界を示す。TMPyP/SA膜はカドミウム試験紙として検討を進めていたが、pH 10 であるため妨害除去が出来なかった。鉛をターゲットとする場合、pH 8が反応条件であるため、マスク剤の効果期待できる。表(4)-3のように、マスク剤には効果があり、河川水程度のサンプルへの適用は可能である。特に妨害のあった、Al(III), Cr(VI), Mn(II), Fe(III), Cu(II), Cd(II), Zn(II)について、各種マスク剤の検討を行い、その中で最もマスクに優れたIDAをPb(II)の検出に妨害のない、 1×10^{-5} Mで用いた。この結果より、実サンプルとしては、河川水、水道水までの適用が可能であることがわかった。

表(4)-3 70 ppb の鉛イオン定量における許容限界

Ions	Concentration / ppb	Masking reagent	Recovery%
Na ⁺	5,000	-	93.6%
K ⁺	1,000	-	92.8%
Mg(II)	5,000	-	102.4%
Ca(II)	15,000	-	94.7%
Al(III)	10	-	125.2%
	100	1×10^{-5} M IDA	102.3%
Cr(VI)	10	-	125.0%
	30	1×10^{-5} M IDA	106.6%
Mn(II)	10	-	127.5%
	70	1×10^{-5} M IDA	101.3%
Fe(III)	10	-	118.6%
	10	1×10^{-5} M IDA	98.4%
Cu(II)	50	-	114.2%
	10	1×10^{-5} M IDA	99.8%
Cd(II)	10	-	123.3%
	10	1×10^{-5} M IDA	112.4%
Zn(II)	10	-	162.0%
	10	1×10^{-5} M IDA	92.4%
Sn(II)	100	-	95.7%

⑦の実試料として、釣りのおもりからのPbの溶出を行った。釣りおもり（5号）を超純水もしくは水道水100 mLに2, 6, 18 時間それぞれ浸漬し、2～5倍希釈してTMPyP/SA試験紙にて鉛の測定を行った。同時に機器分析にてクロスチェックを行った（サブテーマ（5）、表(5)-3に結果を示す）。表(5)-3より、同じ溶出時間では、超純水の方が水道水より鉛がより多く溶出し、かつ時間が増加すると鉛の溶出量が増加してゆることがわかった。本試験紙での鉛イオンの検出結果は、ICP-OESもしくはICP-MSの結果ともほぼ一致し、水道水程度までの実サンプルへ対応可能であることがわかった。

(3) 水銀イオン試験紙

Dithizone ナノ繊維膜について、評価基準①から⑦まで終了し、特に⑥については詳細に検討した。感度としては Filtration enrichment (100 mL) にて、TLC による検出限界は 0.057 ppb で、定量範囲はさらに EDTA をマスクング剤としてサンプル溶液に添加することで、海水中や模擬工業排水中の 10 ppb の水銀イオンを前処理無しに直接検出可能となった¹⁾。選択性を詳細に検討した結果、アニオンはどれも多量に存在しても妨害せず、カチオンの結果を表(4)-4 に示す。Dithizone 自体は多くの金属イオンと反応する試薬として知られている²⁾が、pH 2 の酸性条件下、EDTA をマスクング剤として用いることで、鉄(II)および銀イオン以外の妨害を除去し³⁻⁵⁾、1,000 から 10,000 倍妨害イオンが存在する中で 10 ppb の水銀のみを検出可能であった。鉄(II)に対しては、臭素酸カリウムを酸化剤として用いることで、酸性で Dithizone と反応しない鉄(III)とし、また銀イオンに対してはヨウ素イオンを添加することで、ヨウ化銀とヨウ化水銀との溶解度積の差を利用して分離することが可能であった。

表(4)-4 Dithizoneナノ繊維膜による10 ppbの水銀イオンの検出におけるカチオンの許容限界

Cations	Concentration (ppm)	Molar ratio to Hg(II)	Hg(II) found (ppb)	Recovery (%)		
Na ⁺	10000	1000000	9.85	98.50	ジチゾンと反応しない	
K ⁺	5000	500000	10.12	101.20		
Ca(II)	中性からアルカリ性で反応	5000	500000	9.90	99.00	pH 2 の酸性条件下で反応せず
Al(III)		500	50000	10.24	102.42	
Mn(II)		100	10000	9.91	99.08	
Fe(III)		100	10000	9.81	98.10	
Cr(III)		200	20000	9.54	95.37	
Ni(II)		100	10000	10.36	103.61	
Pb(II)		100	10000	10.02	100.20	
Cd(II)		10	1000	10.03	100.30	
Cu(II)	酸性で反応	6.4	640	10.23	102.30	マスクング剤EDTAにより除去
Zn(II)		100	10000	9.83	98.30	
Fe(II) ^b		70	7000	10.19	101.85	酸化剤KBrO ₃ 存在下でFe(III)とする
Ag ^{+c}		0.05	5	10.50	104.96	

結果として非常に選択性の高い検出系となり、加えてすでに感度の面からも製膜条件も最適化されており、これ以上の試薬はないと判断し試験紙の開発を完了した。

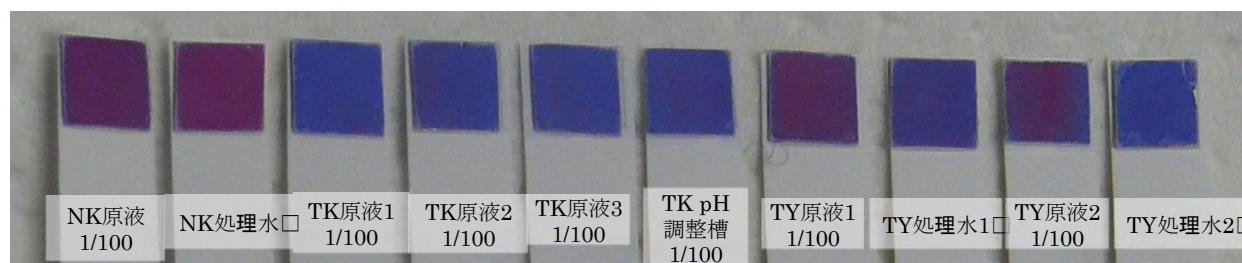
(4) マンガンイオン試験紙

④おおよその選択性の井戸水ミックスにて妨害が観測され、⑥の選択性にて、この中で $Zn(II)$ と $Cu(II)$ からの妨害であることが判明し、両イオンに対するマスキング剤を検討した。いくつかの試薬を試した結果、チオウレアが $Cu(II)$ の除去に、2-アミノエタンチオールが $Zn(II)$ の除去にそれぞれ効果的であることがわかった。それぞれ、0.5 M および 10 mM の添加でも $Mn(II)$ の定量および 3,5-DiBr-PADAP ナノ粒子膜に影響が出ないことがわかった。これにより、河川水、井戸水および水道水レベルでの $Mn(II)$ 検出用試験紙として使用可能であることを確かめた。

(5) 亜鉛イオン試験紙

評価基準⑤までクリアした Zincon/Latex-NR₃⁺膜について、実サンプルとしてメッキ業からの処理水を想定し、サブテーマ(5)の実サンプルでの成分分析結果から、含有されるイオンからの妨害および適したマスキング剤を調査した。結果を表(4)-5 に示すが、クロム(III)、マンガン、コバルト、ニッケル、銅イオンの影響を受けることがわかる。しかしながらマスキング剤を詳細に検討した結果、表にあるとおり、いずれも除去可能であることがわかり、本試験紙と適当なマスキング剤の組み合わせでメッキ処理廃水の亜鉛定量が可能となった。

表(4)-6 に実際のメッキ処理廃水での定量結果を示す。本試験紙で測定した結果とサブテーマ(5)で行った機器分析の結果と良い一致が見られ、実サンプルでの使用が実証された。特に A 社ではクロム、マンガン、ニッケル、鉛等の含有率が多く、B 社ではコバルトが高濃度、C 社は亜鉛メッキの会社であり、日々のメッキの受注変動を反映している。メッキ処理廃水は、このように組成が各社で全く異なり、かつ日々変動が大きいことが特徴であるが、それに対しても一致した結果を与えており、本試験紙を用いた検出系がタフであることを示している。実際の鍍金廃液を検出した際の試験紙の写真を図(4)-1 に示す。



図(4)-1 鍍金廃液および処理水中の亜鉛イオンの検出

表(4)-5 700 ppb の亜鉛イオン定量における妨害イオンの影響

Ions	Concentration / ppm	Masking reagent	Recovery%
Mg(II)	100	—	78.25%
Ca(II)	100	—	80.86%
Cr(III)	1	—	3.22%
	0.05	0.005 M Triethanolamine	90.10%
	> 0.3	H ₂ SO ₄ + 0.05 M KBrO ₃	100%
Cr(VI)	1	—	99.74%
Mn(II)	0.1	—	81.30%
	0.3	5 × 10 ⁻⁵ M AET	106.51%
Fe(III)	10	—	98.35%
Co(II)	0.05	—	80.08%
	0.3	5 × 10 ⁻⁵ M AET	92.52%
	0.1	1 × 10 ⁻⁵ M <i>o</i> -phen	103.34%
Ni(II)	0.5	—	74.47%
	0.7	5 × 10 ⁻⁵ M AET	95.80%
	0.5	1 × 10 ⁻⁵ M <i>o</i> -phen	93.30%
Cu(II)	0.05	—	105.96%
	5	0.2 M Thiourea	105.0%
Cd(II)	50	—	105.5%
Sn(II)	2	—	103.07%
Hg(II)	10	—	93.41%
Pb(II)	10	—	99.68%
Cl ⁻	3545	—	103.00%
Br ⁻	799	—	102.38%
SO ₄ ²⁻	960.7	—	100.78%
NO ₃ ⁻	620.1	—	97.88%
CO ₃ ²⁻	60.0	—	90.33%
HPO ₄ ²⁻	9.60	—	100.10%

表(4)-6 メッキ処理排水中での亜鉛の分析結果

Sample	Zn(II) found		
	Zincon/LatexNR ₃ ⁺ DNTS		ICP-OES in raw samples / ppm
	Actual values in diluted samples / ppb	Converted values in raw samples / ppm	
A 社原液	100.78	10.08	10.71
A 社処理水	1.828	0.004	0.018
B 社原液	183.7	91.85	96.4
C 社原液 1 日目	204.30	20.43	18.94
C 社原液 2 日目	142.6	28.52	27.55

平成 23 年度までに⑦まで終了したが、クロムの妨害に関して、Cr(III)の妨害が複雑でわかりにくく、見逃していたため平成 24 年度再度やり直した。鋭意検討を重ねた結果、Cr(III)の妨害はクロム酸のポリマーに Zn(II)が吸着されることで引き起こされるという結論に達した。妨害除去として、マスキング剤を 11 種類試したが、いずれも全く効果がなかった。Cr(VI)は妨害しないため、酸化剤の添加による除去を試みた。酸化剤として、KMnO₄、H₂O₂、KBrO₃、KIO₃、KNO₃ の 5 つを試したが、中でも酸化電位の高い KMnO₄、H₂O₂、KBrO₃ が効果的であった。Cr(III)のみだと中性からアルカリ性下では室温で容易に酸化されたが、Zn(II)の存在下（クロム酸のポリマーに Zn(II)が吸着されている状態）では、劇的に酸化されにくくなり、酸性下で煮沸が必要であった。Mn(II)も妨害の可能性があり、H₂O₂ も煮沸時に揮発してしまうため、KBrO₃ が最適な酸化剤となった。

以上の結果より、メッキ廃液および処理水中の亜鉛イオン試験紙として有用性が示された。

(6) フッ化物イオン試験紙

本試験紙 Flav-s/ZrO₂ 膜については、ニーズが多岐にわたるため、反応系に最も影響を与えると予想されるイオンについての妨害を調査した。アニオン類はフッ化物イオンと ZrO₂ 表面の配位サイトを奪い合うため、カチオン類はフッ化物イオンと錯形成もしくは Flav-s と錯形成するための妨害である。リン酸からの妨害が大きく、またアルミと鉄の妨害をさらに除くために、次年度に対策を施す予定である。

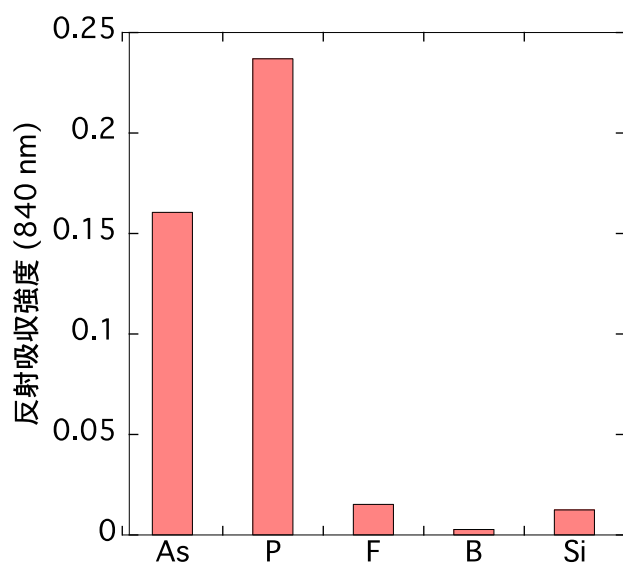
表(4)-7 2 ppm (1.1×10^{-4} M) のフッ化物イオン定量における妨害イオンの影響

	濃度 M	マスキング剤・濃度	蛍光回収率%
Cl ⁻	1×10^{-3}	-	101
NO ₃ ⁻	1×10^{-3}	-	106
SO ₄ ²⁻	1×10^{-4}	-	98.9
PO ₄ ³⁻	1×10^{-5}	-	102
Al(III)	1×10^{-4}	-	222
	〃	5 mM EDTA	111
Fe(III)	1×10^{-4}	-	16.4
	〃	5 mM EDTA	81.9
Cu(II)	1×10^{-4}	-	108
	〃	5 mM EDTA	99.9

(7) 砒素イオン試験紙

⑥選択性に関し、図(4)-2にAs(V) 100 ppbの時のアニオンによる妨害を示す。特にモリブデン酸とヘテロポリ酸を形成する同じオキソアニオン、リン酸、ホウ素、シリカおよび温泉や井戸水等で共存の可能性が高いフッ化物イオンについて、1 ppm 添加し検討を行った。リン酸は大きく妨害を与えたが、他はほとんど妨害しなかった。

⑦実試料への適用として、瀬波温泉水（新潟県村上市瀬波温泉足湯から採水）、かのせ赤湯（新潟県東蒲原郡阿賀町鹿瀬の赤湯の源泉より採水）、井戸水（新潟県加茂市）およびこれに40 ppbのAs(V)をスパイクしたものの4サンプルを測定し、サブテーマ（5）の機器分析でクロスチェックを行った。結果はサブテーマ（5）の表(5)-4に示す。



図(4)-2 As(V)定量におけるの妨害の検討

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

サブテーマ(1)、(2)、(4)あわせて、ナノ薄膜試験紙という構造とすることで高感度化および選択性の向上を実証した。それぞれのターゲットイオンにつき、世界初のppbレベルの試験紙であり、高感度試験紙のプラットフォームである。

今後、試験紙の実用化を通じ、本研究成果の普及に努める。

(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>

サブテーマ(1)、(2)、(3)にすでに記載済みであるが、以下再録する。

サブテーマ(1)～(5)に共通する事項として、本試験紙を日常的な水管理に、規制値のモニタリングとして活用することを提案したい。法定の水質検査は年に1回程度であるが、これを補う日常的な方法として、その場で・迅速に・誰でも、環境基準値や排水基準値を超えているか否かの判定を可能とする本試験紙は日々変動する水の管理に大いに役立つと考える。現行では工業排水、河川水、海水、井戸水等の環境水サンプル中の無機物の測定は、サンプリングした試料を分析センターにてAASやICP、ICP-MSにて測定している。専門の分析者が試料を溶媒抽出等で分離し、濃縮してから専門のオペレーターが機器分析するため、1週間以上もの時間と、1サンプル数万円ものコストがかかる。本研究で開発されたナノ薄膜試験紙(現時点で、カドミウム、鉛、クロム、水銀、マンガン、亜鉛、鉄、フッ化物、砒素、ホウ素の10ターゲット)は、ppbレベルの感度と主な実サンプル中での高い選択性のため、分析センターで行われていた煩雑な分析操作を簡略化して、年に一度の水質測定を機器分析で値として認知し、日常的には本ナノ試験紙で規制値を超えているか否かを判定する、それにより、真の意味で環境管理が日常化すると考える。事業所の日常的な排水管理の他にも、食品等の大量サンプルの機器分析前のスクリーニング、また発展途上国での水質管理、研究分野での地球化学的な微量イオンの動態分析や学校での教育教材として用いることが期待される。

本サブテーマからは、本ナノ薄膜作製法を機能性薄膜作製のプラットフォームとして提案したい。他の有機薄膜作製技術、例えばCVDやLB膜と比べて、汎用性が高く、非常に簡便、100%近く試薬を製膜可能でロスがない、試薬の分解が起こらない、膜厚の調整が容易、大面積の薄膜を作製可能(10 cmまでは確認済み)と有利である。

6. 国際共同研究等の状況

特に記載すべき事項はない

7. 研究成果の発表状況

(1) 誌上発表

<論文(査読あり)>

- 1) Kyaing Kyaing Latt, Yukiko Takahashi : Anal. Chim. Acta, 689, 103-109 (2011)
“Fabrication and characterization of a TMPyP/silica nanocomposite thin-layer membrane for detection of ppb-level heavy metal ions”
- 2) 高橋由紀子 : 分析化学、61(2), 123-126 (2012).
「ジチゾンナノ薄膜試験紙を用いる Filtration enrichmentによる水銀イオン検出における妨害除去法の検討」
- 3) 高橋由紀子、相馬聡、和久井喜人 : 分析化学、61(3), 229-234 (2012).
「2-(5-Bromo-2-pyridylazo)-5-diethylaminophenolナノ薄膜試験紙の評価と浸漬によるカドミウム(II)イオンの検出特性」

<その他誌上発表(査読なし)>

特に記載すべき事項はない

(2) 口頭発表(学会等)

- 1) 高橋由紀子 : 日本分析化学会第59年会 (2010)
「ジチゾンナノ薄膜試験紙を用いた特異的水銀イオン検出システムにおける選択性の考察」
- 2) Kyaing Kyaing Latt、高橋由紀子、和久井喜人 : 日本分析化学会第59年会 (2010)
“Fabrication of TMPyP/silica nanocomposite thin layered membrane for ppb leveled heavy metal ions detection and its characterization”
- 3) Yukiko Takahashi : International Conference on Nanoscopic Colloid and Surface Science 2010 (2010)
“Anionic Dye/Cationic Latex Nanocomposite coated Test Strips for Ppb-level Detection of Metal Ions”
- 4) Takahashi Yukiko : Pacificchem 2010 (2010)
“Dithizone nanofiber thin film for highly sensitive and selective detection of Hg(II)”
- 5) Yukiko Takahashi : IUPAC International Congress for Analytical Sciences (2011)
“Preparation and Characterization of Dye Nanoparticle coated Test Strips for ppb-level Metal Ion Detection”
- 6) 安藤渉、高橋由紀子 : 日本分析化学会第60年会 (2011)
「フラボノール類と酸化ジルコニウムから成る複合ナノ粒子膜でのフッ化物イオンの蛍光検出」
- 7) 高橋由紀子、相馬聡、和久井喜人 : 日本化学会第92春季年会 (2012)
「5-Br-PADAPナノ薄膜試験紙によるppbレベルのカドミウムイオンの検出特性」
- 8) 志田八州太郎、高橋由紀子 : 日本分析化学会第61年会 (2012)
「モリブデンブルー発色を利用した微量砒素(V)イオン検出用ナノ薄膜試験紙の開発」
- 9) 高橋由紀子、安藤渉 : 日本分析化学会第61年会 (2012)
「フラボノールスルホン酸と酸化ジルコニウムナノ粒子からなるナノコンポジット膜の蛍光

特性とフッ化物イオン試験紙としての評価」

- 10) 高橋由紀子、安藤渉：錯体化学会第62回討論会（2012）

「酸化ジルコニウムナノ粒子表面への吸着によって誘起されるフラボノイドの特異蛍光および吸着特性」

- 11) 志田八州太郎、高橋由紀子：日本化学会第93春季年会（2013）

「モリブデンを担持した微量砒素イオン検出用ナノ薄膜試験紙の改良と評価」

（3）出願特許

特に記載すべき事項はない

（4）シンポジウム、セミナー等の開催（主催のもの）

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

- 1) 長岡技術科学大学 定例記者会見 教職員の受賞「日本分析化学会関東支部 新世紀賞」
(平成25年1月13日、於長岡技術科学大学)

（6）その他

- 1) 高橋由紀子、日本分析化学会関東支部2012年新世紀賞（25年1月10日、於日立製作所ダイビル会議室）

8. 引用文献

- 1) Y. Takahashi, S. Danwittayakul, T. M. Suzuki: *Analyst*, 134, 1380 (2009).
- 2) K. Ueno, T. Imamura, K. L. Cheng: "Handbook of organic analytical reagents", 2nd edn., p. 432 (1992), (CRC Press Inc., Boca Raton, FL).
- 3) H. Fisher: *Chimist Analyst*, 1961, 50, 62.
- 4) N. Suzuki: *Bunseki Kagaku*, 1959, 8, 349-353.
- 5) L. Erdey, G. Rady and V. Fleps: *Acta Chim. Acad. Sci. Hung.*, 1954, 5, 133.

(5) 機器分析を用いた試験紙のクロスチェック 2

独立行政法人産業技術総合研究所

コンパクト化学システム研究センター先進機能材料チーム

和久井 喜人

平成22～24年度累計予算額：507千円（うち、平成24年度予算額：425千円）

予算額は、間接経費を含む。

[要旨]

ナノ薄膜試験紙のサブテーマ（4）の人工および実サンプルでのクロスチェックを行い、使用条件、感度が決定された試験紙について、妨害イオンの影響をICP-MSやICP-OESにて求めた。除去条件をクロスチェックし、最適化を促した。ターゲットとの反応条件、必要であれば膜の作製条件の最適化を再度促した。（1）カドミウムイオン試験紙の実サンプルとして米酸抽出液の成分分析、（2）亜鉛イオン試験紙の実サンプルとして鍍金廃液および処理水の成分分析、（3）鉛イオン試験紙の人工サンプルとして釣りおもりからの鉛の溶出、（4）砒素イオン試験紙の実サンプルとして瀬波温泉（新潟県村上市）中の砒素の定量、かのせ赤湯温泉（新潟県東蒲原郡阿賀町）中の砒素の定量、井戸水（新潟県）および40 ppb Asをスパイクの機器分析を行った。（1）では、カドミウムイオン試験紙をカドミウムの分析へ適用することを想定し、カドミウムイオンおよび妨害となるマンガン、亜鉛イオンの酸抽出液中の濃度をカドミウム標準物質を用いて求めた。

（2）では、実際に鍍金業からの廃液を亜鉛イオン試験紙で分析しており、そのクロスチェックとなる。成分分析を通して、妨害除去方法の見直しや前処理などを検討した。（3）では、鉛イオン試験紙の人工サンプルとして、鉛製の釣りおもりからの超純水および水道水への鉛の溶出についてクロスチェックを行った。（4）砒素イオン試験紙の実サンプルとして砒素を含むとされる瀬波温泉の砒素濃度についてクロスチェックを行った。かのせ赤湯および井戸水中の砒素濃度についてクロスチェックを行った。

[キーワード] 試験紙、有害無機イオン、機器分析、実サンプル、クロスチェック

1. はじめに

研究背景はサブテーマ（1）と同様である。サブテーマ（5）は、サブテーマ（4）で評価基準⑥選択性および⑦実試料への適用により、どのような汚染レベルの実サンプルへ適用可能かを妨害除去条件の検討と共に決定した試験紙に対する、クロスチェックとして実サンプルもしくは人工サンプルをICP-OESもしくはICP-MSにてターゲットイオンの測定および他成分の成分分析によって試験紙を評価する。

2. 研究開発目的

サブテーマ（4）にて、最もニーズのありそうな実サンプルを想定して妨害調査および除去方法の考案等を行ったが、実際にそれが有効かどうか、実試料にて試験する。妨害対策を再度見直すため、成分分析も併せて行う。

3. 研究開発方法

実施する分析項目は以下の4つであり、分析方法はサブテーマ（3）の研究開発方法に準じた。

- (1) カドミウムイオン試験紙の実サンプルとして米酸抽出液の成分分析
- (2) 亜鉛イオン試験紙の実サンプルとして鍍金廃液および処理水の成分分析
- (3) 鉛イオン試験紙の人工サンプルとして釣りおもりからの鉛の溶出
- (4) 砒素イオン試験紙の実サンプルとして瀬波温泉（新潟県村上市）中の砒素の定量、かのせ赤湯温泉（新潟県東蒲原郡阿賀町）中の砒素の定量、井戸水（新潟県）および40 ppb Asをスパイクの機器分析

4. 結果及び考察

- (1) カドミウムイオン試験紙の実サンプルとして米酸抽出液の成分分析

米のカドミウムの定量は米中のの定量をする際、妨害となる成分の分析と試料の分解方法の検討を行った。分析結果を表(5)-1に示す。

表(5)-1 米試料測定結果（単位 ppb）

分解方法	Mn	Zn	Cd
0.1 M硝酸抽出	309	853	15.1
	312	844	15.8
2 M硝酸抽出	284	899	12.5
	283	890	14.9
硝酸-過塩素酸分解	369	908	19.4
	364	897	18.4

同じサンプルから調製された各試料には若干の差は認められたものの、良好に対応した結果が得られた。

- (2) 亜鉛イオン試験紙の実サンプルとして鍍金廃液および処理水の成分分析

めっき廃液の簡易定量及び高濃度域の分析にはICP-OESを、低濃度域の定量にはICP-MSを使用した。定量方法としては市販金属標準溶液(100 mg / L、和光純薬)を目的の濃度に希釈して用いた。各溶液には有害金属測定用硝酸（和光純薬）を1 mmol / Lとなるよう添加しマトリックスとした。定量は多点検量線法で行なった。

ICP-OESによる多点検量線法による定量分析

Zn, Ni, Mn, Cu, Co, Crの測定波長は表(5)-2の通り。

ICP-MSによる多点検量線法による定量分析

Co, Pbの測定に使用した同位体は表(5)-3の通り。

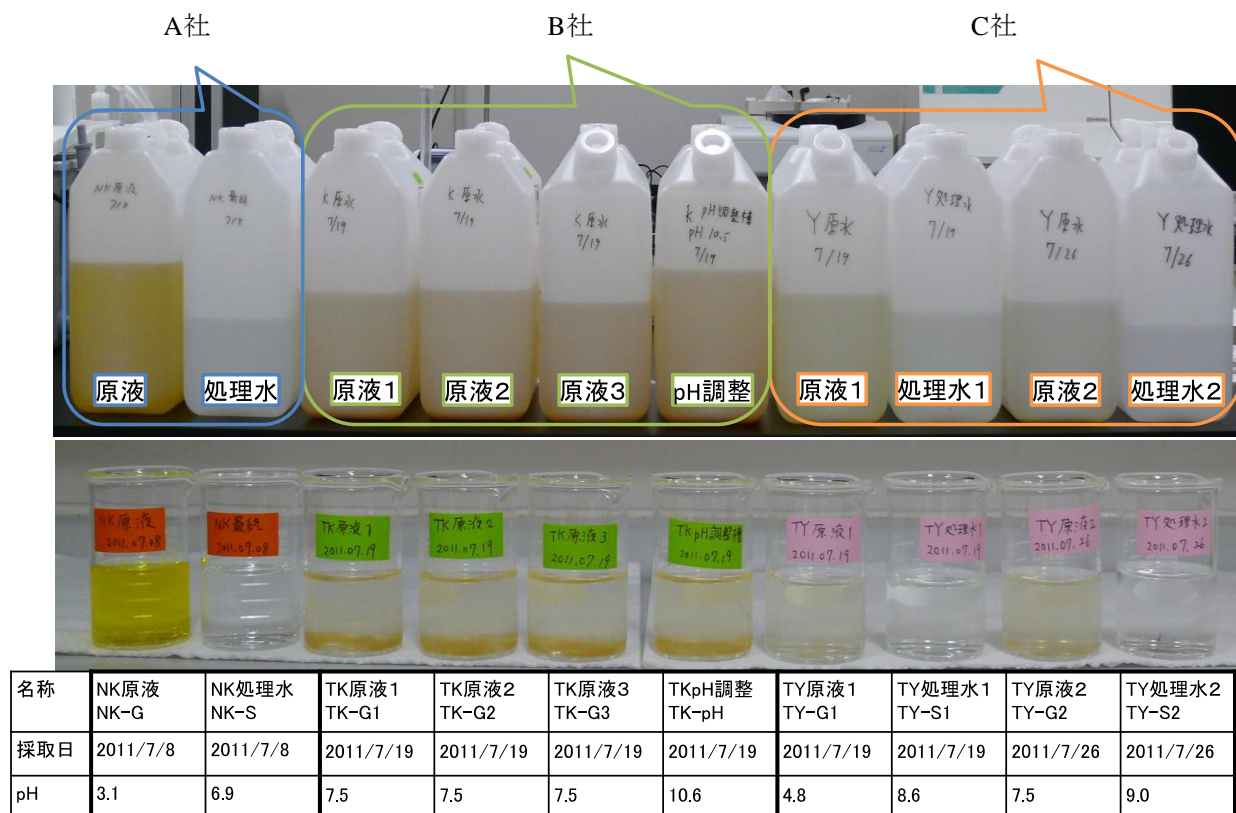
表(5)-2 ICP-OESにおける測定波長

元素	波長 / nm
Zn	213.856
Ni	231.604
Mn	257.610
Cu	324.754
Co	228.616
Cr	205.552

表(5)-3 ICP-MSで使用した同位体

同位体	質量数	存在度%
⁵⁹ Co	58.933198	100
²⁰⁸ Pb	207.976641	52.4

複数の金属元素が共存するめっき廃水に関わる試験紙のクロスチェックを実施した。実際に3社から頂いたサンプルを図(5)-1の写真に示す。原液は黄褐色の着色があるが、処理水はほぼ透明で、pHも酸性～弱アルカリまで幅広い。ICP-OESおよびICP-MSの結果をまとめて表(5)-4に示す。A社はクロム、ニッケル、銅、鉛などが多く含まれるが、処理は良好でほとんどのイオンが除かれている。B社はサンプリングポイントがいくつかあるがコバルトが多く含まれている。C社は亜鉛メッキの会社であるが日によって受注量や種類が異なり、亜鉛およびコバルト濃度が大きく変動していることがわかる。メッキ処理廃水は、組成が各社で全く異なり、かつ日々変動が大きいことが特徴である。



図(5)-1 鍍金廃液および処理水

表(5)-4 ICP発光分光分析による定量結果（単位 ppm）

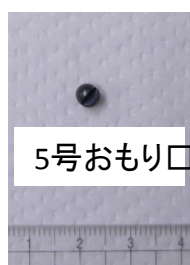
サンプル名	Zn / ppm	Cr / ppm	Ni / ppm	Mn / ppm	Cu / ppm	Co / ppb	Pb / ppb
A社原液	10.71	164.4	11.36	0.22	1.4	11.49	184.9
A社処理水	0.018	0.127	0.052	0.003	0.01	0.004	0.021
B社原液1	93.8	3.03	3.76	0.25	1.65	755.4	36.32
B社原液2	91.4	2.99	3.82	0.25	1.64	687	39.43
B社原液3	96.4	3.16	3.75	0.26	1.64	800.1	39.01
B社原液pH調整	86	3.88	3.92	0.22	1.71	643.2	33.48
C社原液1日目	18.94	2.81	3.93	0.44	0.67	156.5	64.2
C社処理水1日目	1.73	0.024	2.783	0.025	0.379	35.28	5.102
C社原液2日目	27.55	10.23	3.94	0.22	0.25	1118	105
C社処理水1日目	2.523	0.144	2.069	0.015	0.368	122	4.758

（3）鉛イオン試験紙の人工サンプルとして釣りおもりからの鉛の溶出

鉛イオン試験紙TMPyP/SA膜の評価基準⑦の実試料が入手できなかったため、代替として釣り用おもりからの酸溶出について、⑥の選択性を考慮して、超純水中および水道水中で一定時間行い、この溶出液を試験紙で測定し、クロスチェックとしてICP-MSもしくはICP-OESにて測定した。

<実験条件>

試料： 釣りおもり5号1個（図(5)-2）を100 mLの超純水および水道水に2, 6, 18時間浸漬し、それを試験紙とICP-MSもしくはICP-OESにて測定した。



図(5)-2 5号釣りおもり

結果を表(5)-5に示す。サンプルの傾向として、溶出時間の増加に従って鉛溶出量も増加していること、特に超純水は水道水よりも、鉛が溶出しやすいことがわかる。また試験紙とICP-OESもしくはICP-MSのデータおよびその傾向は近いことがわかり、水道水程度までは本試験紙にて鉛イオンの測定が可能である。

表(5)-5 釣りおもりサンプル溶出液でのクロスチェック

サンプル	浸漬時間 /時間	Pbの分析値	
		ICP-OESもしくは ICP-MS	本試験紙
超純水	2	52.3 ppb ^{a)}	99 ppb ^{c)}
	6	294-313 ppb ^{b)}	294 ppb ^{c)}
	18	249-265 ppb ^{b)}	306 ppb ^{c)}
水道水	2	3.0 ppb ^{a)}	32 ppb ^{d)}
	6	7.9 ppb ^{a)}	27 ppb ^{d)}
	18	17.5 ppb ^{a)}	37 ppb ^{d)}

a)ICP-MS, b)ICP-OES, c)サンプルを5倍希釈して測定。

d)サンプルを2倍希釈して測定。

(4) 砒素イオン試験紙の実サンプルとして瀬波温泉（新潟県村上市）中の砒素の定量、かのせ赤湯温泉（新潟県東蒲原郡阿賀町）中の砒素の定量、井戸水（新潟県）および40 ppb Asをスパイクの機器分析

<実験条件>

水素化物発生-ICP-OESにて測定した。水素化物発生法は、試料溶液40 mLに濃塩酸3 mLおよびマスキング剤として20w/v%ヨウ化カリウム溶液5 mLを加え、50℃の高温チャンバーで30分保った後、50 mLにメスアップした。検量線用標準液に関しても同様に調整を行った。

表(5)-6 ヒ素イオン試験紙用温泉および井戸水サンプル溶出液でのクロスチェック

	公称値 As / ppb	水素化物発生 -ICP-OES法 As / ppb	本試験紙 As / ppb	備考
瀬波温泉	11 ppb	11.15 ± 1.18 (n = 4)	約15	
かのせ赤湯温泉	48 ppb	59.3 ± 0.38 (n = 3)	～2500	
井戸水	-	0～4.7 (n = 12)	0～10 (n = 3)	測定毎に値が変動
井戸水+40 ppb	-	40～60 (n = 12)	35～60 (n = 3)	測定毎に値が変動

結果を表(5)-6に示す。温泉水2つは値が安定していたが、井戸水に関しては砒素値が毎回変動し、正確な値が得られなかった。これはおそらくサンプル内に含まれるシリカ等のコロイドに砒素が吸着して、サンプル内での濃度が不均一であったためと考えられる。試験紙の暫定値では瀬波温泉および井戸水では比較的近い値となっているが、かのせ赤湯では大きくエラーが出ていることがわかる。これはかのせ赤湯温泉が48 ppmもの高濃度の H_2SiO_3 を含有するためと考えられ、サブテーマ(4)の妨害の検討の際の1 ppm程度では影響がないが、大量にシリカが含まれるとシリカとモリブデンのヘテロポリ酸が形成されてしまうためであろう。まだ妨害の検討について、マスキング等の検討も途中で最適化されておらず、特に溶液のpHを、一般にヘテロポリ酸が生成しないアルカリ性とするすることで、シリカの影響を抑えることができ、かつ砒素に特異的となることが予想される。今後、再度反応pHを調整後実サンプルの測定を行う予定である。

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

ナノ薄膜試験紙の選択性および実試料への適用のクロスチェックとして、主にニーズが高いと予想される実サンプル中のターゲットおよび妨害成分の分析を行い、これにより、試験紙の妨害除去方法を再考し、サンプルの前処理を考案することができた。また、評価基準⑥のマスキング剤の有効性を確かめることができた。全体を通して、本ナノ薄膜試験紙は簡易法でありながら、ナノ薄膜の作製条件や検出条件、妨害除去条件を工夫することで、固液分離に基づいた高い選択性を発現することが実証された。妨害に弱い機器分析と比べて、ナノ薄膜試験紙は遙かにタフで、現場で使用可能な分析法であることがわかった。

今後、試験紙の実用化を通じ、本研究成果の普及に努める。

(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>

サブテーマ（１）、（２）、（３）、（４）にすでに記載済みであるが、以下再録する。

サブテーマ（１）～（５）に共通する事項として、本試験紙を日常的な水管理に、規制値のモニタリングとして活用することを提案したい。法定の水質検査は年に１回程度であるが、これを補う日常的な方法として、その場で・迅速に・誰でも、環境基準値や排水基準値を超えているか否かの判定を可能とする本試験紙は日々変動する水の管理に大いに役立つと考える。現行では工業排水、河川水、海水、井戸水等の環境水サンプル中の無機物の測定は、サンプリングした試料を分析センターにてAASやICP、ICP-MSにて測定している。専門の分析者が試料を溶媒抽出等で分離し、濃縮してから専門のオペレーターが機器分析するため、１週間以上もの時間と、１サンプル数万円ものコストがかかる。本研究で開発されたナノ薄膜試験紙（現時点で、カドミウム、鉛、クロム、水銀、マンガン、亜鉛、鉄、フッ化物、砒素、ホウ素の10ターゲット）は、ppbレベルの感度と主な実サンプル中での高い選択性のため、分析センターで行われていた煩雑な分析操作を簡略化して、年に一度の水質測定を機器分析で値として認知し、日常的には本ナノ試験紙で規制値を超えているか否かを判定する、それにより、真の意味で環境管理が日常化すると考える。事業所の日常的な排水管理の他にも、食品等の大量サンプルの機器分析前のスクリーニング、また発展途上国での水質管理、研究分野での地球化学的な微量イオンの動態分析や学校での教育教材として用いることが期待される。

本サブテーマからは、本ナノ薄膜作製法を機能性薄膜作製のプラットフォームとして提案したい。他の有機薄膜作製技術、例えばCVDやLB膜と比べて、汎用性が高く、非常に簡便、100%近く試薬を製膜可能でロスがない、試薬の分解が起こらない、膜厚の調整が容易、大面積の薄膜を作製可能（10 cmまでは確認済み）と有利である。

6. 国際共同研究等の状況

特に記載すべき事項はない

7. 研究成果の発表状況

（１）誌上発表

<論文（査読あり）>

- 1) Kyaing Kyaing Latt, Yukiko Takahashi : Anal. Chim. Acta, 689, 103-109 (2011)

“Fabrication and characterization of a TMPyP/silica nanocomposite thin-layer membrane for detection of ppb-level heavy metal ions”

- 2) 高橋由紀子：分析化学、61(2), 123-126 (2012).

「ジチゾンナノ薄膜試験紙を用いるFiltration enrichmentによる水銀イオン検出における妨害除去法の検討」

- 3) 高橋由紀子、相馬聡、和久井喜人：分析化学、61(3), 229-234 (2012).

「2-(5-Bromo-2-pyridylazo)-5-diethylaminophenolナノ薄膜試験紙の評価と浸漬によるカドミウム(II)イオンの検出特性」

<その他誌上発表（査読なし）>

特に記載すべき事項はない

(2) 口頭発表 (学会等)

- 1) 高橋由紀子：日本分析化学会第59年会 (2010)
「ジチゾンナノ薄膜試験紙を用いた特異的水銀イオン検出システムにおける選択性の考察」
- 2) Kyaing Kyaing Latt、高橋由紀子、和久井喜人：日本分析化学会第59年会 (2010)
“Fabrication of TMPyP/silica nanocomposite thin layered membrane for ppb leveled heavy metal ions detection and its characterization”
- 3) Takahashi Yukiko : Pacifichem 2010 (2010)
“Dithizone nanofiber thin film for highly sensitive and selective detection of Hg(II)”
- 4) 高橋由紀子、相馬聡、和久井喜人：日本化学会第92春季年会 (2012)
「5-Br-PADAPナノ薄膜試験紙によるppbレベルのカドミウムイオンの検出特性」
- 5) 志田八州太郎、高橋由紀子：日本化学会第93春季年会 (2013)
「モリブデンを担持した微量砒素イオン検出用ナノ薄膜試験紙の改良と評価」

(3) 出願特許

特に記載すべき事項はない

(4) シンポジウム、セミナーの開催 (主催のもの)

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

特に記載すべき事項はない

8. 引用文献

なし

Development of Highly Sensitive Dye Nanoparticle-Coated Test Strips (DNTS) for On-site Detection of Harmful Inorganic Contaminants

Principal Investigator: Yukiko TAKAHASHI

Institution: Nagaoka University of Technology,
1603-1 Kamitomioka, Nagaoka Niigata 940-2188, JAPAN
Tel: +81-258-47-9657 / Fax: +81-258-47-9610
E-mail: ytaka@vos.nagaokaut.ac.jp

Cooperated by: National Institute of Advanced Industrial Science and Technology

[Abstract]

Key Words: On-site analysis, Highly sensitive test strip, Inorganic pollutant, Dye nanoparticle, Thin layer

In this study, we have demonstrated fabrication and characterization of “dye nanoparticle-coated test strips (DNTSs)” using indicator dyes for rapid on-site analysis of inorganic harmful ions at ppb level. The thin dye nanoparticle layer provides a highly concentrated signaling surface and that allows ppb-level detection of inorganic ions. DNTSs are fabricated simply by filtration of a nano-dispersion of hydrophobic dye or nanocomposite of ionic dye with a fine-woven membrane filter, which is highly adaptable to a wide variety of colorimetric reagents. Here we have carried out a screening of colorimetric reagents for 14 target ions (Cd(II), Pb(II), Cr(VI), Hg(II), Ni(II), Mo(VI), Mn(II), Zn(II), Cu(II/I), Fe(III/II), F⁻, As(V/III), Se(IV), B(III)), which allows the highly sensitive detection using DNTS around environmental standard in real samples. The screen guidelines are 1) availability of DNTS fabrication, 2) reactivity with a target ion, 3) detection range, 4) interfering test, 5) sensitivity, 6) selectivity, and 7) application to real samples.

Five subthemes which were carried out during the three-year research period are as follows: (1) optimization of preparative conditions of DNTS, (2) optimization of reaction conditions of DNTS with individual target ion, (3) cross-check of the detection using DNTS by ICP or ICP-MS, (4) Influence studies of foreign ions and application to real samples, and (5) cross-check of the determination of real samples using DNTS by ICP or ICP-MS.

Consequently, we succeeded in developing high-performance and versatile DNTS for 10 target ions (Cd(II), Pb(II), Cr(VI), Hg(II), Ni(II), Mn(II), Zn(II), Fe(III/II), F⁻, As(V/III), B(III)). For example, dithizone nanofiber DNTS succeeded highly sensitive and selective detection of Hg(II) in the range of 0.1 ~ 20 ppb with the 3 σ detection limit of

0.057 ppb by filtration enrichment of 100 mL sample solution. The presence of Na^+ (10,000 ppm), K^+ (5,000 ppm), Ca(II) (5,000 ppm), Al(III) (500 ppm), Cr(III) (200 ppm), Cu(II) (6.4 ppm), Fe(III) (100ppm), Mn(II) (100ppm), Ni(II) (100ppm), Zn(II) (100 ppm), Pb(II) (100 ppm) and Cd(II) (10 ppm) by using EDTA as a masking reagent did not interfere with the detection of Hg(II) (10 ppb). Most of anions did not interfere with the determination of Hg(II) . Zincon/Latex- NR_3^+ nanocomposite DNTS achieved a highly selective Zn(II) detection among various metal ions in plating wastes. For fluoride ion, a new fluorometric detection system has been developed with flavonol/ ZrO_2 nanocomposite DNTS. As DNTS enables to the detection of 10 ppb by naked eyes, which enhances the blue color of molybdoarsenic acid by the thin layer structure of DNTS

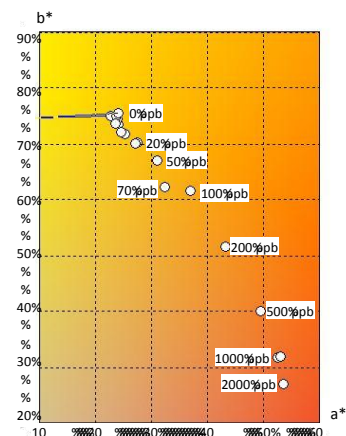
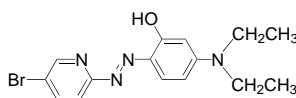
高感度ナノ薄膜試験紙の仕様書

最終的に得られた試験紙の仕様書を以下に示す。

カドミウムイオン試験紙

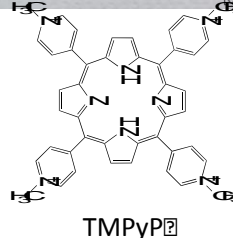
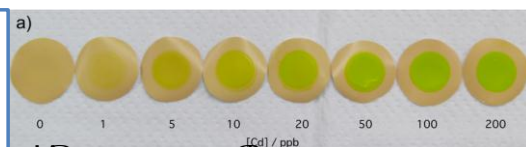
5-Br-PADAPナノ粒子からなるCd(II)試験紙

- 検出方法: Immersion Test
- 検量線: 色彩計
 $DE^*(a^*, b^*) = 73.677 (1 - e^{-0.0036283 C})$
 $(r^2 = 0.99494)$
- 検出レンジ: ~700ppb
- 検出限界(3 σ): 7.14ppb
- 分析時間: 60分
- 妨害: Mn(II), Co(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II)
- 適用可能なサンプル: 河川水、水道水



TMPyP/シリカナノコンポジットからなるCd(II)試験紙

- 検出方法: Filtration enrichment
- 検量線: TLCスキャナにて
 $DE^*(a^*, b^*) = 16506.44 (1 - e^{-0.05 C})$
 $(r^2 = 0.9929)$
- 検出レンジ: ~200ppb
- 検出限界(3 σ): 10.102ppb
- 分析時間: 23分(100ml)
- 妨害: Pb(II), Zn(II), Cu(II), Fe(III), Mn(II)
- 適用可能なサンプル: 現状では無し。
 (有効なマスクング条件が見つからず。)

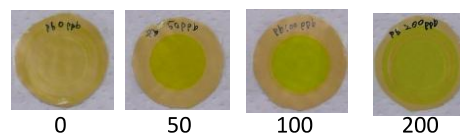


+ □ シリカSA
 (球状, 10-14nm)
 pH 10

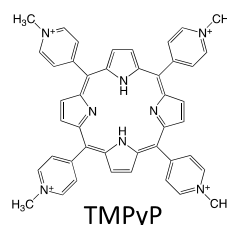
鉛イオン試験紙

TMPyP/シリカナノコンポジットからなるPb(II)試験紙

- 検出方法: Filtration enrichment
- 検量線: TLCスキャナにて
 $I = 3066.4 + 15641(1 - e^{-0.0588c})$ ($r = 0.9701$)
- 検出レンジ: ~100ppb
- 検出限界($3\sigma, n = 7$): 0.99 ppb
- 分析時間: 23分 (100 ml)
- 妨害: Al(III), Cr(VI), Mn(II), Fe(III), Cu(II), Cd(II), Zn(II)
マスキング剤3種混合液を添加することで除去可能。
- サンプル: 河川水



Pb(II) / ppb

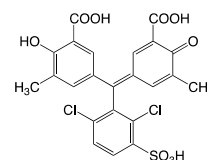
+ シリカSA
(球状, 10-14nm)

pH 8

クロムイオン試験紙

クロムアズロールS/LatexNR₃⁺ナノコンポジットからなるCr(III)試験紙

- 検出方法: immersion test
- 検量線: 色彩計 検討中
- 検出レンジ: ~1000ppb
- 分析時間: 検討中
- 妨害: 検討中
- サンプル: 河川水

+ LatexNR₃⁺
(100 nm)

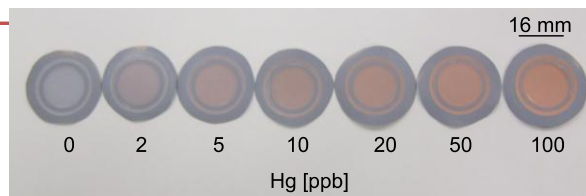
pH 5

クロムアズロールS

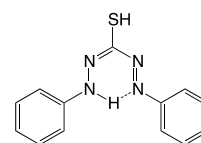
水銀イオン試験紙

ジチゾンナノ繊維からなるHg(II)試験紙

- 検出方法: Filtration enrichment
- 検量線: TLCスキャナにて
 $I = 1953.54 - 1799.44e^{-c/6.08}$ ($r > 0.9990$)
- 検出レンジ: ~100ppb
- 検出限界($3\sigma, n = 10$): 0.057 ppb
- 分析時間: 11分 (100 ml)
- 妨害: Cu(II), Zn(II), Fe(II), Ag⁺。EDTAおよび酸化剤KBrO₃等で除去可能。
- サンプル: 河川水、水道水、工業排水、海水



Hg [ppb]

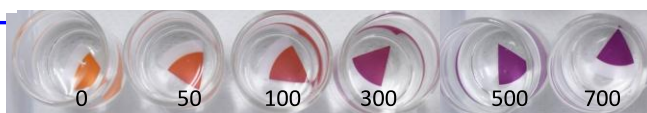


ジチゾン

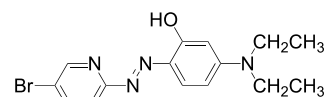
マンガンイオン試験紙

3,5-DiBr-PADAPナノ粒子からなるMn(II)試験紙

- 検出方法: Filtration enrichment
- 検量線: 色彩計
 $\Delta E^*(L^*, a^*, b^*) = 65.28(1 - e^{-0.00725C})$ ($r > 0.9954$)
- 検出レンジ: ~800ppb
- 検出限界($3\sigma, n = 5$): 8.2 ppb
- 分析時間: 60分
- 妨害: Cu(II), Zn(II), Fe(III)。マスキング剤2種混合液を添加することで除去可能。
- サンプル: 河川水、井戸および水道水



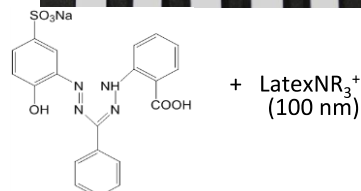
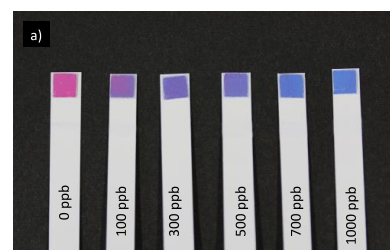
Mn / ppb

3,5-DiBr-PADAPナノ粒子
(非販売品)

亜鉛イオン試験紙

Zincon/LatexNR₃⁺ナノコンポジットからなるZn(II)試験紙

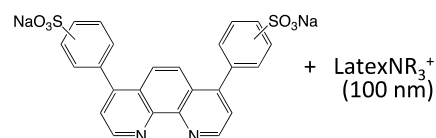
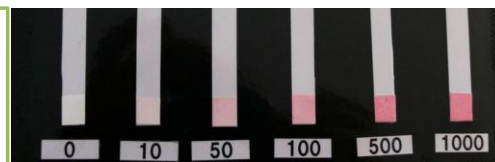
- 検出方法: Immersion test
- 検量線: TLCスキャナにて
 $I = 972.63 + 1982.6 (1 - e^{-0.002747c})$ ($r^2 = 0.98599$)
- 検出レンジ: ~1500 ppb
- 検出限界(3σ , $n = 10$): 48.6 ppb
- 分析時間: 60分
- 妨害: Ni(II), Mn(II), Co(II), Cu(II), Cr(III)。
 マスキング剤3種混合液を添加することで除去可能。
 Cr(III)については検液にKBrO₃を添加し数分加熱。
- サンプル: 河川水、水道水、メッキ廃水



鉄イオン試験紙

BathophenS/LatexNR₃⁺ナノコンポジットからなるFe(II)試験紙

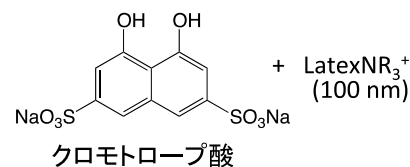
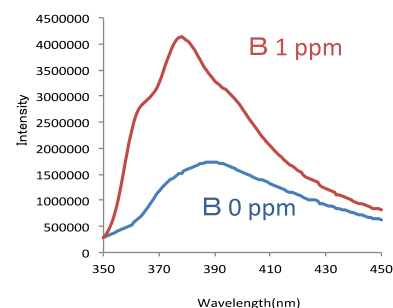
- 検出方法: Immersion test
- 検出レンジ: 色彩計、目視にて ~200 ppb
- 検出限界(3σ , $n = 10$): 約 10 ppb
- 分析時間: 30分
- 妨害: 水道水質基準の基準値の無機物質からは妨害無し。
- 検出方法: 検液は100倍希釈し、Fe(II)に還元してから測定。
- サンプル: 河川水、水道水...



ホウ素イオン試験紙

クロモトロープ酸/LatexNR₃⁺ナノコンポジットからなるB試験紙

- 検出方法: Immersion test
- 検出レンジ: 蛍光分光器
(青色蛍光、ex: 313 nm, em: 380 nm)
- 分析時間: 検討中
- 妨害: 検討中
- サンプル: 河川水

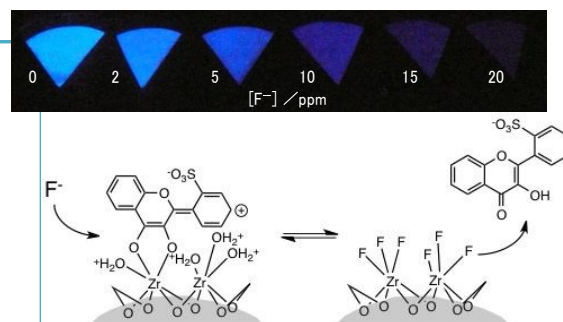


フッ化物イオン試験紙

Flav-s/ZrO₂ ナノコンポジットからなる F⁻ 試験紙

- 検出方法: Immersion Test
- 検量線: 蛍光分光器

$$I = 1.89 \times 10^6 + 1.79 \times 10^6 \log(0.632[F^-]) \quad (r^2 = 0.996)$$
- 検出レンジ: ~5 ppm
- 検出限界 (3 σ , $n=10$): 0.13 ppm
- 分析時間: 120分
- 妨害: Fe, Al, Cu, PO₄³⁻
- サンプル: 河川水

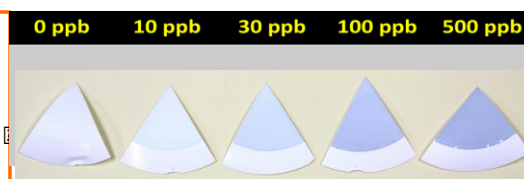


砒素イオン試験紙

Mo/LatexNR₃⁺ ナノコンポジットからなる As(V) 試験紙

- 検出方法: Immersion Test
- 検量線: MORITEX MHAA-100 および
 大塚電子 MCPD-3700 840nm の反射吸収強度測定

$$D = -0.013951 + 0.097784 \log(c) \quad (r^2 = 0.97276)$$
- 検出レンジ: 2~1000 ppb
- 検出限界 (3 σ , $n=8$): 0.35 ppb
- 目視: 10~500 ppb
- 分析時間: 40°C 6時間
- 妨害: P
- サンプル: 河川水、水道水

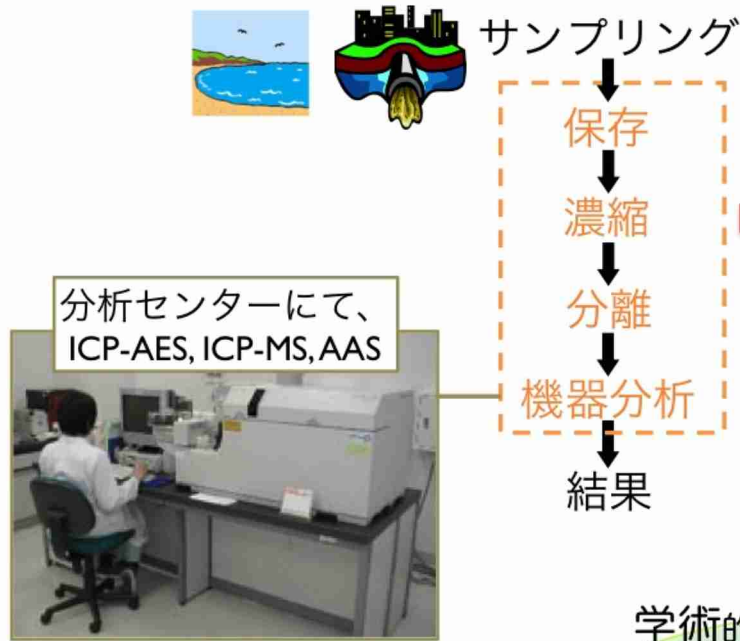


ヘテロポリ酸の還元
pH 11

環境基準項目の無機物をターゲットとした現場判定用 高感度ナノ薄膜試験紙の開発

長岡技術科学大学 高橋由紀子

環境水中の微量無機物質の検出

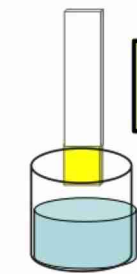


- ・一週間程度
 - ・コスト高
 - ・専門のオペレーター
- ↓
- 日常的水質管理には不向き

環境基準、排水基準で測定可能
Cd, Pb, Cr, Hg, Mn, Zn, Fe, F, As, B

簡略化

ナノ薄膜試験紙



- ・現場分析
- ・安価
- ・誰でも

製品として、

- 事業所にて、日常的な排水管理
- 土壌の汚染調査、浄化後の保証
- 大量サンプルのスクリーニング (食品分析、汚染の把握)

学術的意義

- 世界初のppbレベルの試験紙
- 地球化学との連携、
(地球規模での化学物質の動態解析)

社会への貢献

- 発展途上国などでの水質管理
- 環境教育教材として
- 環境管理が日常化

試験紙例)

