

技術論文

デジタルカメラを用いる河川水中の陰イオン界面活性剤の 簡易イオン対抽出比色分析

菊地 洋一^{®1}, 田沼雄太郎¹, 井上 祥史¹

デジタルカメラを検出器に用いる陰イオン界面活性剤の簡易比色分析法について検討した。本法は陰イオン界面活性剤をエチルバイオレットとイオン対として抽出した後、抽出相の写真を撮るだけの簡単な操作である。このような簡易な方法でも $\mu\text{g/L}$ レベルの微量分析を高精度にデジタル計測できた。また本法は安価で、有機溶媒の量が少なく済み、多検体の測定を迅速にできるなどの利点がある。本法を河川水中の陰イオン界面活性剤の分析に応用し、分光光度計の分析値とほぼ一致する良好な結果を得た。

1 緒 言

多様なニーズに応える高度な分析技術の開発とともに、高価な分析装置を用いない簡易分析法の開発も重要な研究課題といえる。最も簡便な分析法の一つは試験紙やパックテスト¹⁾などを用いた目視法であり、教育分野や予備的な分析などに多用されている。これらは誰でもがすぐに分析できる利点を有するが、測定値のばらつきが大きく、また感度不足により適応できる分析試料が限定される場合も多い。この問題の改善のために簡易比色分析の測定値をデジタル化する試みとして、自作の簡易型分光器を開発して用いる方法^{2)~5)}や色彩度計を用いる方法⁶⁾などが盛んに研究されている。

著者らは比色による簡易分析における感度および精度の改善のために、デジタルカメラ（以下デジカメと略記）を検出器に用いる方法を検討している。現在一般に市販されているデジカメは、数万円程度の普及品でも色識別の基本性能が高いため優れた分光検出器として使用できるが、水質分析に応用した例はほとんどない。数少ない研究例として、鈴木らは自作の測定箱と解析プログラムを開発し、検出器にデジカメを用いた方法で、水試料中の鉄と塩素の高感度分析を報告している⁷⁾。著者らは前報で、鉄-フェナントロリン系の比色分析法にデジカメ測定を適応し、河川水中の ppm レベルの鉄の分析について報告している⁸⁾。これらはいずれも均一相での測定である。

著者らのデジカメ測定は、着色した測定溶液をセル室などに収納しないで、できるだけ開放的な空間で写真を撮るだけである。この手法は実に単純な手法であるが、それゆえに測定の柔軟性が高く、種々の工夫や利点が期待でき

る。例えば、光路長を長くしての高感度化が容易であることや溶媒抽出-比色法の有機相をそのまま測定することなどである。溶媒抽出-比色法の有機相を吸収セルなどに移し替えることなく、抽出操作後の様態のまま測定することは、簡便であるだけでなく、有機相の少量化が可能となる。そこで本報では溶媒抽出-比色法にデジカメ測定を応用した例として、陰イオン界面活性剤の分析法を検討し、良好な結果を得たので報告する。

2 実 験

2.1 反応系・試薬

陰イオン界面活性剤 (AS) の比色分析法として、JIS 法にも採用されているエチルバイオレット (EV) イオン対抽出法を採用した⁹⁾。水溶液中の AS^- は EV^+ とイオン対 ($\text{EV}^+\cdot\text{AS}^-$) を生成して有機相に抽出される。抽出相であるトルエン中の $\text{EV}^+\cdot\text{AS}^-$ の吸収スペクトルは、540 nm 付近と 610 nm 付近に二つの吸収極大を持ち、610 nm 付近の吸収帯のほうが吸収が強い。分光光度計の測定では 611 nm での吸光度から AS^- の高感度測定が可能である。

このイオン対抽出-比色法では、高濃度の塩化物イオンが共存すると干渉を示すため、海水を対象とした場合には抽出相の洗浄操作が必要になる。また 1 mg/L 以上の硝酸イオンを含む試料水では正の誤差を示す¹⁰⁾¹¹⁾。例えば平均的組成の河川水中の硝酸イオン濃度は 1 mg/L 以下であるため誤差は小さいと考えられるが¹²⁾、硝酸イオン濃度の高い天然水を対象とする場合には注意が必要である。さらに陽イオン界面活性剤が共存すると負の誤差を示すが、通常の試料水ではその影響は小さい¹⁰⁾¹¹⁾。

実験に用いる溶液は JIS 法に従い以下のものを調製した¹⁰⁾。EV [東京化成, $\text{C}_{31}\text{H}_{42}\text{ClN}_5\cdot(1/2)\text{ZnCl}_2$] を水に溶かし、1 mmol/L 溶液を調製した。陰イオン界面活性剤の基

¹ 岩手大学教育学部: 020-8550 岩手県盛岡市上田 3-18-33

準物質にはドデシル硫酸ナトリウム (DS) を用いた。DS (和光純薬, 水質試験用ドデシル硫酸ナトリウム標準品) を水に溶かし 1000 mg/L の溶液を調製した。水相と有機相の分離をよくするために硫酸ナトリウムを用いるので, 硫酸ナトリウム (関東化学) の 1 mol/L 溶液を調製した。7.5 g のエチレンジアミン四酢酸二水素二ナトリウム二水和物と 12.5 mL の酢酸を水に溶かしたものに, 水酸化ナトリウム溶液を加えて pH 5.0 の緩衝液を 1 L 調整した。これらの溶液を適時希釈して実験に用いた。抽出溶媒にはトルエン (和光純薬) を水で洗浄したものを用いた。以上の試薬はすべて特級品以上のものを用いた。実試料以外の水はイオン交換樹脂を通した後, 蒸留したものを用いた。

2.2 抽出操作

抽出から測定までを行う容器には, スクリューキャップ付きガラス製試験管 (高さ 130 mm, 外径 15 mm, 全量 15 mL) を用いた。8 本の試験管に, 諸条件の検討や検量線用の溶液の場合には, それぞれ目的濃度の DS 溶液を 10 mL とり, さらに硫酸ナトリウム溶液を 0.5 mL, 酢酸-EDTA 緩衝液を 0.5 mL, EV 溶液を 0.2 mL 加え, 最後にトルエンを 1 mL 加えた。実試料の測定の際には, DS 溶液を 10 mL 入れる代わりに実試料を 10 mL 入れた。

これらの溶液をメカニカルシェーカーで振とうした後, 卓上型遠心分離器で 10 分間遠心分離した。この溶液の入った試験管を試験管立に立ててそのまま測定に供した。

2.3 デジカメ測定と解析

イオン対抽出後のトルエン相は青色を呈する。デジカメ測定では後述のようにして溶液毎の青色の違いをデジタル化し比色分析を行う。測定は, 抽出操作後の測定溶液をセル室などに収納しないで, 開放的な空間 (室内) で写真を撮るだけである。この場合, 複数枚の写真 (測定) ごとの撮影条件を厳密に一定にすることは難しい。そこで一連の検量線溶液と分析試料溶液などの溶液を一列に並べて 1 枚の写真に撮影し, 1 枚の画像中の比較で分析値を求めることとした。これにより溶液間の撮影 (測定) 条件の違いがなくなるとともに, 多数の測定溶液が瞬時に測定できることとなる。デジカメには数万円程度のコンパクト普及型である CANON IXY DIGITAL55 を用いた。詳細な測定条件について種々検討した。

撮影したデジタル画像はパソコンに取り込み, 画像処理ソフトで画像上のそれぞれの測定溶液の有機相の色情報を数値化した。本研究では画像処理ソフトに Paint Shop Pro PHOTO X2 (コーレル) を用い, 色情報として RGB の値 (赤, R 値; 緑, G 値; 青, B 値) を抽出した。

3 結果と考察

3.1 抽出時間と抽出率

DS 溶液濃度を 100 $\mu\text{g/L}$ とし, 2.2 の抽出操作に従って抽出時間の検討を行った。その結果, 抽出振とう時間は, 検討を行った 3 分から 20 分の間で最大一定の測定値が得られた。よって本研究では振とう時間を 5 分と定めた。

DS 溶液濃度を 50 $\mu\text{g/L}$ および 100 $\mu\text{g/L}$ とし 2.2 の抽出操作に従って抽出を行った測定値と, DS 濃度を 0.5 mg/L および 1.0 mg/L として水相体積 5 mL: 有機相体積 5 mL で抽出を行った測定値を比較した。前者は実質の濃縮倍率が 10 倍であり, 後者は 1 倍である。抽出後の測定値は濃縮倍率の違いにかかわらずほぼ完全に一致した。濃縮倍率の違いによる抽出率の違いがないことから抽出はほぼ完全に行われていると考えられる。

よって本研究の反応系は, 1 mL の有機相で 10 倍濃縮するスモールスケール実験でも, 迅速に完全な溶媒抽出を行えることが確認された。

3.2 測定条件の確立

2.3 で述べたように一連の測定溶液を 1 枚の画像として撮影し比較するためには, 一列に並べた試験管中の溶液の測定条件が一定であることが求められる。そこで同濃度の DS 溶液 (100 $\mu\text{g/L}$) から 1.00 μg の DS をトルエン相に抽出した測定溶液 (7 本) と DS を含まない試薬ブランク溶液 (1 本) を並べて設置し, それぞれの溶液の測定値のばらつきに留意しながら測定条件を検討した。

はじめは太陽光を光源に用いることを考えたが, 8 本の測定溶液に一樣に光を当てることが難しかった。そこで光源には長さ 120 cm の直管型インバーター式蛍光管 (37 W) を用い, 窓のカーテンを閉め, 部屋の明かりを消して測定を行うこととした。長い蛍光管の中央部分の前に測定試料を配置する。さらに蛍光管と測定溶液の間に乳白色のアクリル板 (厚さ 5 mm) を立てて拡散板の代わりに用いることによって, どの試験管にも均一な光が当たるようにした。実際には上記の配置が可能なようにアクリル板の覆いを作り, その中に測定溶液を置いた。本研究の測定方法の配置図を Fig. 1 に示す。

デジカメの設定については, ストロボをつける写真にストロボ光が写るため, ストロボをオフにすることが必須である。本研究ではデジカメをプログラムモードとして, 写真としての適正露出での撮影とやや露出不足 (EV-1) での撮影を試した。その結果, 測定値のばらつきについての違いはなかったが, やや露出不足の写真のほうがブランク溶液と着色溶液の測定値の差が相対的に大きくなり, 測定感度が増加した。そこで露出補正 (EV-1) の設定で撮影することとした。

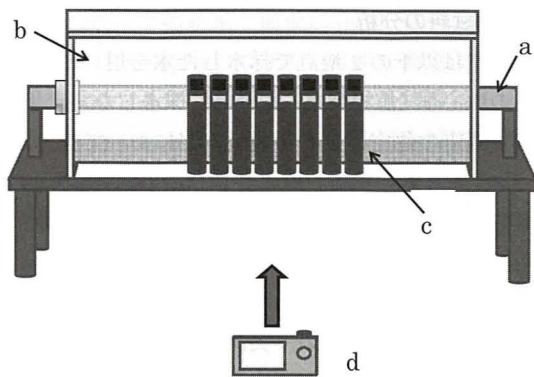


Fig. 1 Deployment diagram of each apparatus in the digital camera photography

a: fluorescent lamp (120 mm in length, 37 W); b: acrylic board (thickness 5 mm); c: sample solution; d: digital camera

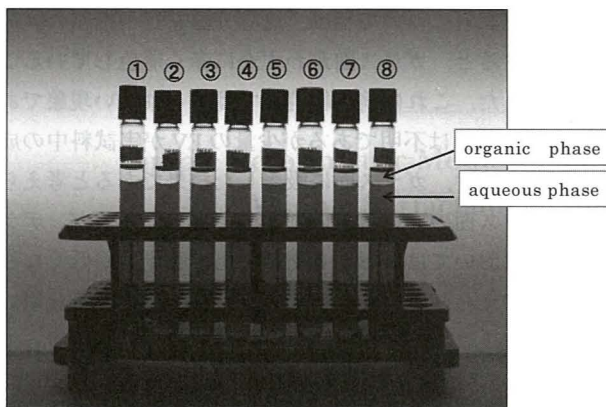


Fig. 2 Photograph of the solutions for the calibration curve

Solution volume of organic phase is 1 mL, and that of aqueous phase is 11.2 mL. The amount of DS contained in the solutions; 1 (blank), 0 µg; 2, 0.1 µg; 3, 0.2 µg; 4, 0.3 µg; 5, 0.4 µg; 6, 0.5 µg; 7, 0.6 µg; 8, 1.0 µg

以上の条件で測定溶液のデジタル画像を撮影し、パーソナルコンピュータへ取り込んだ。トルエン相は1 mLと少量であるが、本法ではトルエン相溶液をセルなどに移す必要がなくデジタル画像上でトルエン相の領域が明確に区別できればよいため、1 mLは十分な量である。画像処理ソフトで画像上のそれぞれのトルエン相の部分拡大し、トルエン相の界面付近を除く中央部分を範囲指定した。RGB値は選択範囲内の画素(50×20ピクセル程度)の平均値として得られる。

1.00 µgのDSを抽出した7本の測定溶液のトルエン相のRGB値(平均値±標準偏差)は、それぞれR=116±1, G=155±2, B=222±1であった。よって以上の測定条件により、一列に並べた試験管中の溶液の測定値をほぼ一

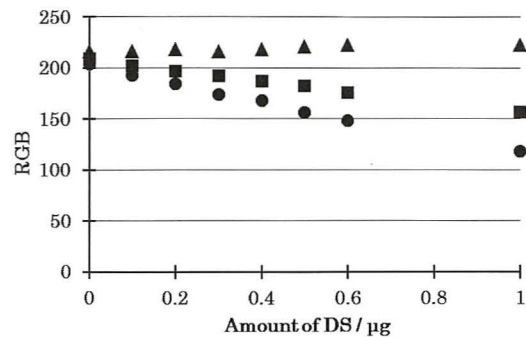


Fig. 3 RGB values of the organic phase on the photograph of Fig. 2 vs. the amount of DS

●: R; ■: G; ▲: B

定の値として測定できることが確認できた。以後の実験ではこの測定条件で測定を行うこととした。

3.3 検量線, 定量下限と精度

2.2の操作に従って試料中に0~1.00 µgのDSを含む検量線用溶液を調製し、溶媒抽出後、デジカメ測定を行った。デジタル画像をFig. 2に示す。この画像から解析したトルエン相のRGB値をDS量に対してプロットした図をFig. 3に示す。Fig. 3よりB値はDS量に依存せずほぼ一定値であり、G値とR値はDS量の増加に伴い単調に減少していることがわかる。分光光度計による測定からトルエン中のEV⁺・DS⁻の吸収スペクトルは、470 nm付近より短波長の光を吸収しない。よって短波長側のB値は、無色のブランク溶液とEV⁺・DS⁻溶液との差が小さいことが理解できる。またEV⁺・DS⁻の吸収スペクトルは540 nm付近と610 nm付近に二つの吸収極大をもち、長波長側の吸収のほうが強い。よってブランク溶液とEV⁺・DS⁻溶液との差は、G値よりもR値のほうが大きくなったと考えられる。

デジカメ測定のそれぞれのRGB値は、吸収スペクトルを反映すると考えられる。そこで、溶液濃度とランベルト・ベールの関係を想定し、デジカメ測定で得られたG値とR値から、それぞれの溶液濃度に対する $-\log(X_i/X_0)$ の値を見積もった。ここで X_0 はDSを含まないブランク溶液の場合のG値またはR値で、 X_i はDSを含む着色した溶液のG値またはR値である。Fig. 3の結果について縦軸を $-\log(X_i/X_0)$ の値でプロットした検量線をFig. 4に示す。Fig. 4よりG値およびR値の結果は、ともに原点を通る良好な直線関係を示した。直線の相関係数(R^2)はそれぞれ $R^2=0.999$ (G値)および $R^2=0.998$ (R値)であった。Fig. 4の検量線のDS量は、2.2の操作に示した水相を調製する際のDS溶液の濃度では0~100 µg/Lの範囲の検量線である。よって本測定法により低濃度領域における陰イオン界面活性剤の良好な検量線が得られた。さらに同様にDS溶液の濃度範囲を0~240 µg/L(DS量は0~2.40 µg)

に広げて実験を行い、 $-\log(X_t/X_0)$ の値で検量線を作成したところ、G値 ($R^2 = 0.991$) およびR値 ($R^2 = 0.995$) とともに良好な直線関係が得られた。よってDS溶液の濃度範囲が240 $\mu\text{g/L}$ までの検量線においても直線性が確認された。

次に8本のブランク溶液を測定した。その結果のR値とG値の平均値 \pm 標準偏差値は、それぞれ $R = 203 \pm 1$, $G = 208 \pm 1$ であった。ブランク値の標準偏差の10倍に相当するDS濃度を定量下限としてFig. 3の結果に当てはめると、定量下限は2.2の操作のDS溶液の濃度として12 $\mu\text{g/L}$ (R値), 18 $\mu\text{g/L}$ (G値) である。よって本法は20 $\mu\text{g/L}$ 程度以上の陰イオン界面活性剤の分析に応用することができる。

また3.2に示したように、DS溶液 (100 $\mu\text{g/L}$, 10 mL) からトルエン相 (1 mL) にDSを抽出した測定溶液 (7本) のR値とG値の平均値 \pm 標準偏差値は、それぞれ $R = 116 \pm 1$, $G = 155 \pm 2$ であった。これらの値を同じ画像のブランク値 ($R = 197$, $G = 203$) を用いて $-\log(X_t/X_0)$ の値に変換すると、それぞれの平均値 \pm 標準偏差値は、R値 = 0.230 ± 0.003 およびG値 = 0.118 ± 0.004 となる。相対標準偏差 (RSD) は、それぞれ1.3% (R値) および3.4% (G値) であり、簡易測定としては大変高精度な測定といえる。

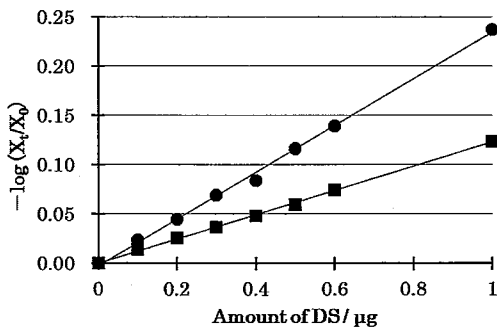


Fig. 4 Calibration curves of DS

$-\log(X_t/X_0)$ is compared with the absorbance. X_0 is either R value or G value for the blank solution without DS. X_t is that of DS solution to the same color. ●: R; ■: G

3.4 実試料の分析

実試料には以下の2地点で採水した水を用いた。岩手県盛岡市の中心部 (館坂橋下) において採水した北上川の水、および盛岡市の住宅地裏の小規模水路において採水した水である。どちらも早朝5:00と午前11:00に採水した。採水後直ちに実験室で0.45 μm のメンブランフィルターで濾過したものを実験に用いた。

それぞれの実試料を0~1.00 μg のDSを含む検量線用溶液とともに抽出操作を行い、実試料と検量線溶液が1枚の画像となるように配置して測定を行った。またデジカメ測定の妥当性を確かめるため、分光光度計による測定も行い分析値の比較を行った。得られた分析値をTable 1に示す。

Table 1 からわかるようにデジカメ測定のG値から得られた値は、分光光度計での測定値とほぼ一致した。測定値のばらつきも小さく、良好な値が得られた。一方、R値から得られた値は分光光度計の値よりもやや低めになる傾向がある。実試料について抽出、遠心分離を行った後の試験管を観察すると、ガラス面がわずかに赤く着色していることが分かった。これは検量線溶液では見られない現象である。よって詳細は不明であるが少量のEVが実試料中の成分の影響を受け、ガラス面に吸着した結果であると考えられる。ガラス面の赤い着色はごく薄いものであるが、デジカメ測定においてはR値を幾分高くし、吸光度が低くなったものと考えられる。よって実試料の分析にはG値を用いるほうが適している。以上より、本法ではG値を使って $\mu\text{g/L}$ レベルの陰イオン界面活性剤 (DS相当量) を測定できることがわかった。

なお、北上川の陰イオン界面活性剤 (DS相当量) の分析値は、5:00と11:00の時間変化はなく30 $\mu\text{g/L}$ 程度であった。一方、住宅地の水路の分析値は北上川の値より高い。5:00では80~90 $\mu\text{g/L}$ であり、さらに人間生活が活発となる11:00では110~120 $\mu\text{g/L}$ と高くなることがわかった。

4 結 語

本研究ではエチルバイオレット溶媒抽出法とデジカメ測定法を組み合わせた陰イオン界面活性剤の簡易分析法につ

Table 1 Determination results of the anionic surfactant in the water samples by this method and by a spectrophotometer

Sampling time	Kitakamigawa river				Waterway of the residential area			
	Spectrophotometer/ $\mu\text{g L}^{-1}$ ($n = 3$)	This method/ $\mu\text{g L}^{-1}$ ($n = 3$)		Spectrophotometer/ $\mu\text{g L}^{-1}$ ($n = 3$)	This method/ $\mu\text{g L}^{-1}$ ($n = 3$)			
		obtained by R value	obtained by G value		obtained by R value	obtained by G value		
5:00	32.0 ± 2.5	26 ± 1	32 ± 2	87.2 ± 2.6	79 ± 3	83 ± 1		
11:00	32.0 ± 0.6	23 ± 1	28 ± 1	115.9 ± 4.0	104 ± 3	116 ± 1		

Mean \pm standard deviation/ $\mu\text{g L}^{-1}$

いて検討した。その結果, 簡便に $\mu\text{g/L}$ レベルの陰イオン界面活性剤 (DS 相当量) の分析が可能な高感度測定法を開発することができた。本法は, 高価な分析機器を用いない安価な分析法であるにもかかわらず微量分析を高精度に行うことができる。また有機溶媒の量が少なくて済み, 多検体の測定を迅速にできるなどの利点がある。さらに反応系を選ぶことにより他の測定成分へも応用が可能である。

謝 辞

本研究の一部は, 日本学術振興会科学研究費補助金 (基盤研究(C), 課題番号: 19500714) の補助を受けて実施した。

文 献

- 1) 岡内完治: “だれでもできるバックテストで環境調べ”, (2000), (合同出版).
- 2) 氷川 元: 化学と教育, **41**, 762 (1993).
- 3) 長谷川 浩, 高橋 真, 牧 輝弥, 上田一正: 化学

- と教育, **53**, 458 (2005).
- 4) 田中孝志, 小池 守, 石川綾子, 高津戸秀: 理科の教育, **54**, 706 (2005).
- 5) 小池 守, 石川綾子, 鶴田孝一, 高津戸秀: 理科の教育, **56**, 132 (2007).
- 6) 遠藤昌敏, 横田文彦, 水口仁志: ぶんせき (*Bunseki*), **2002**, 9.
- 7) Y. Suzuki, M. Endo, J. Jin, K. Iwase, M. Iwatsuki: *Anal. Sci.*, **22**, 411 (2006).
- 8) 菊地洋一, 柿崎仁美, 井上祥史, 武井隆明, 村上祐: 化学と教育, **50**, 714 (2002).
- 9) S. Motomizu, S. Fujiwara, K. Toei: *Anal. Chem.*, **54**, 392 (1982).
- 10) 並木 博編集: “詳解工場排水試験方法”, 改訂2版, p. 129 (1995), (日本規格協会).
- 11) 建設省河川局監修, 建設省建設技術協議会水質連絡会・財団法人河川環境管理財団編: “河川水質試験方法 (案) 試験方法編”, 1997年度版, p. 605 (1997), (技報堂出版).
- 12) 日本化学会編: “季刊化学総説 陸水の化学”, No. 14, 1992, p. 90 (1992), (学会出版センター).

Simple Colorimetric Method Using Digital Camera for the Determination of Anionic Surfactants in River Water with Ion-Pair Extraction

Yoichi KIKUCHI¹, Yutaro TANUMA¹ and Shoshi INOUE¹

¹Laboratory of Chemistry, Faculty of Education, Iwate University, 3-18-33, Ueda, Morioka-shi, Iwate 020-8550

(Received 3 March 2011, Accepted 16 May 2011)

A colorimetric method for anionic surfactants by using a digital camera as the detector has been developed. This method is very simple: it involves taking digital photographs of sample solutions after ion-pair extraction of the anionic surfactant with ethyl violet into toluene. In spite of such a simple method, it can accomplish trace analysis, $\mu\text{g/L}$ level, of the anionic surfactant by digital measurements with high precision. Moreover, this method has the following advantages: low cost, experiments on a small amount of organic solvent, and rapid measurements of many samples. This method was applied to the determination of anionic surfactants in river water. The analysis showed good results that were almost in accord with the analytical result of the spectrophotometer.

Keywords : simple analysis method ; colorimetric method ; anionic surfactant ; digital camera ; river water.