

研究論文

土壤中の鉛を比色法によって簡易的に検出するデバイスの開発と RGB 値で色度を評価することによる検出限界の改善

庄司良*¹, 徳永晶子¹, 鈴木美華¹, 坂本達宣², 高木泰憲², 深浦仁美², 若杉玲子³

¹ 東京工業高等専門学校 物質工学科 (〒193-0997 八王子市櫛田町 1220-2)

² 有限会社 坂本石灰工業所 (〒865-0013 玉名市下 273-1)

³ 熊本高等専門学校 生物化学システム工学科 (〒866-8501 八代市平山新町 2627)

*shoji@tokyo-ct.ac.jp

Development of a device to easily detect lead pollution in the soil
by a colorimetric method and the improving the detection limitation
by using RGB(red-green-blue) values

Ryo SHOJI^{1*}, Akiko TOKUNAGA¹, Mika SUZUKI¹, Tatsunobu SAKAMOTO², Yasunori
TAKAKI², Hitomi FUKAURA² and Reiko WAKASUGI³

¹ National Institute of Technology, Tokyo College (1220-2 Kunugida, Hachioji, Tokyo 193-0997 Japan)

² Sakamoto Lime Industry Co., Ltd. (273-1 Shimo, Tamana, Kumamoto 865-0013 Japan)

³ National Institute of Technology, Kumamoto College (2627 Hirayamashinmachi, Yatsushiro,
Kumamoto 866-8501 Japan)

Received January 25, 2016; Accepted August 26, 2016)

Abstract

In Japan, soil pollution by heavy metals has been one of the most serious environmental problems. Some studies have shown that conventional methods of detecting metal pollution in soil show promising sensitivity. However, the methods are not easily employed for on-site evaluation, requiring much time and cost. In this study focusing on colorimetric method, we have successfully developed an easily used and handy device for the evaluation of lead pollution in soil. In addition, the detection limitations can be improved using RGB values as the quantitative evaluation for colorization induced by lead pollution. The device developed in this study was applied to four simulated soils contaminated by lead. Although the device can detect lead pollution in real contaminated soils, the color induced by lead-binding was dependent on the size of the soil particles.

Key words : Lead / soil / easy / RGB / size distribution

1. 緒言

近年、企業が工場を閉鎖することや、工場を海外移転することが増え、工場用地を住宅地などに再開発する事例が多くなった。しかし、こうした工場跡地などでは鉛やヒ素等の重金属やトリクロロエチレンなどの揮発性有機化合物による土壤汚染が顕在化している [1]。なかでも本論文で取り上げている鉛による土壤汚染は数多く報告されており、国内における環境基準超過事例は法に基いたもので 1318 件以上に達している [2]。

1980 年から 1990 年代に北米やヨーロッパでは、米国のスーパーファンドを皮切りに土壤環境保護のための法整備がなされた [3]。このような国際的な流れを受けてわが国でも平成 14 年 5 月 29 日に土壤汚染対策法(法律第 53 号)が公布され、平成 15 年 2 月 15 日から施行された。

土壤汚染対策法の施行とともに、その評価手段である土壤分析技術に問題点が浮上してきた。土壤汚染が発覚した場合、その土地の所有者は正確に汚染範囲を確認したうえで、適切な措置を実施する必要がある [4]。また、詳細な汚染調査には多大な時間、費用及び専門的な知識が必要となる。そのため、現場で使用可能な簡易分析法の開発が強く望まれており、近年東京都では土壤汚染の簡易分析技術を公募していた [5]。しかし、現存する土壤汚染の簡易分析法のほとんどが電気的手法に頼るものや、高価な装置が必要なものであり [6]、簡易・安価・専門知識不要の需要に答えきれていないのが現状である。

簡易・短時間・安価というすべての需要に応えるためには比色法を利用し目視で判断を行うのが最適である。しかし、その方法では検出感度が低下することが懸念される。ここで、比色法を利用し、目視で判断を行う手法を取っている簡易検出技術の中でも特に検出限界が低い 2 つの技術を以下に示す。1 つ目は Layered double hydroxides (LDHs) に

$\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ か S^{2-} の陰イオンを含ませ比色法によって重金属を迅速に簡易に定量する技術であり、検出限界は $1 \times 10^{-6} \text{mol/L}$ と低濃度域まで定量が可能、定量が行える重金属は Fe^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Cd^{2+} と豊富である [7]。2 つ目はヒ素をジベンジルジチオカルバミン酸(DBDTC)の錯体を生成させ、メンブランフィルターに固相抽出し目視判断する方法であり、目視での検出限界は 0.002mg/L と低濃度域まで定量が可能、実環境の河川水への応用も可能で実際に検出が可能であった [8]。これらの技術は非常に有用であるが、問題点が 1 つあり、河川水を対象として開発しているため土壤に適用している事例が存在しないことである。このような現状から本研究では比色法を用いて、土壤中鉛低濃度域の簡易定量が行えるデバイスの開発を目指した。

本研究では、簡易・安価・専門知識不要の需要に答えるために比色法に着目し、開発した検出材を鉛汚染土壤に適用した結果について報告する。比色法を導入することによって検出感度が低下するという問題点は、RGB 値を導入する方法によって解決を試みた。

2. 実験

2. 1 検出剤

本研究では鉛を簡易に検出するために 4-(2-ピリジルアゾ)-レゾルシン(以下 PAR と略記)による比色法を利用した。PAR は 1-(2-ピリジルアゾ)-2-ナフトール(以下 PAN と略記)と同様にキレート滴定の指示薬として有用であるが、水に溶けやすい点で PAN より便利という利点がある。PAR はドナー原子が同一平面上にある三座配位子として金属イオンに作用し、鉄(III)、コバルト(II)、ニッケル(II)とは金属と試薬のモル比が 1:2 の錯体を、銅(II)、亜鉛(II)、カドミウム(II)、水銀(II)、鉛(II)とは 1:1 の錯体を生成する [9]。

PAR (和光純薬製)0.3 g を pH9.8 のホウ酸緩衝溶液 100mL に溶解させた水溶液を 3mg/L 鉛検出用発色剤溶液とした。作製した発色剤溶液に基剤としてろ紙(ADVANTEC 90mm)を 24 時間浸漬し、24 時間常温で乾燥させたものを鉛検出剤とした。

模擬汚染土壌は 150, 100, 50, 10, 0mg/kg の鉛を含む水溶液 100mL を東京高専の敷地内で採取した一般的な褐色森林土 100g と混合、乾燥し調製した。土壌に対し体積比 1 : 1 で純水を加えて水分を多く含ませた模擬汚染土壌と検出材をろ紙を介して 45 分間接触させ、呈色反応を確認した。

また、土によって検出が依存されるか確認するために、黒ボク土、桐生土、真砂土の 3 つの土壌を用いて模擬汚染土壌を作製した。黒ボク土は(株)サンアンドホープ、桐生土は(有)剛健材・園芸部サンアンドホープ、真砂土は(株)松栄土肥産業のものを購入した。模擬汚染土壌は 150mg/kg の鉛を含む水溶液 100mL を 3 つの土の土壌 100g と混合、乾燥し調製した。土壌に対し体積比 1 : 1 で純水を加えて水分を多く含ませた模擬汚染土壌と検出剤をろ紙を介して 45 分間接触させ、呈色反応を確認した。

2. 2 測定方法

本研究では比色法による結果を目視での判断と RGB 値で判断した。目視での判断は個人の感性に頼るため、科学的な判断は難しい。そのため、人の感覚を使って物の性質を評価する官能試験を導入した。官能試験には、試料の差異を評価する分析型官能試験と人の好みを調査する嗜好型官能試験があるが、本論文では分析型官能試験を利用した。官能試験方法としては本校の学生 5 人をランダムで選出し、検出材の様子を撮影したものを目視で比較してもらい、◎(差がはっきりわかる), ○(差がわかる), △(差はあるがわかりにくい), ×(差がない)で評価した。

次に呈色を RGB 値で数値化するために検体の写真を撮影、パソコン上で正方形にトリミングした。

正方形にトリミングした検体の写真から 5 点の RED GREEN BLUE 値(以下、RGB 値と表記)を測定し、平均値を結果とした。RGB 値は白(255, 255, 255), 黒(0,0,0)を示すため、色が濃くなるほど RGB 値が低くなると考えた。その平均値から Δ RGB 値を以下の式(1)で算出した。

$$\Delta\text{RGB} = \Sigma\text{RGB}_0 - \Sigma\text{RGB}_{\text{sample}} \quad (1)$$

ただし、 RGB_0 は鉛汚染のないブランクの RGB 値、 $\text{RGB}_{\text{sample}}$ は汚染土壌の RGB 値を示す。また、測定した RGB 値の差を有意差検定によって 1% で検定した。有意水準 1% で有意差であると認められたデータに * をつけて表示した。RGB 値測定のフローチャートを Fig. 1 に示した。撮影は室内で行い、白色蛍光灯(照度約 500lx)を光源とした。その他の条件は統一していないため、比較して考察するのは同じ写真内に納まっている検体のみとした。

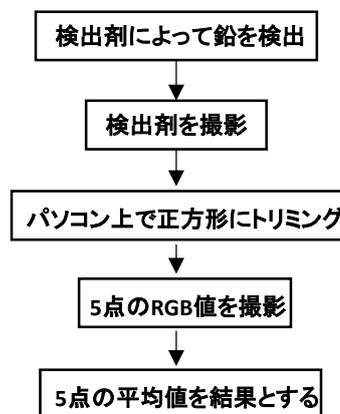


Fig. 1 RGB値撮影の方法
フローチャート

高周波誘導結合プラズマ発光分光分析法(以下 ICP-AES とする)の測定の前処理には環境省告示第 13 号の純水溶出試験を行った。純水溶出試験は土壌 4g に対して純水 40mL を加え、200rpm で 6 時間振とうした。その後、30 分間遠心分離にかけ、上澄み液を吸引ろ過し、試験溶液とした。続いて、試験溶液を ICP-AES によって定量を行った。定量方法は検量線法、積分回数は 3 回、キャリアガスはアルゴンガスを利用した。

3. 結果及び考察

3. 1 目視での判断結果

鉛検出材の性能評価結果を Table 1 に示した。この目視での判断は東京高専の学生 5 人による官能試験に従った。Table 1 より鉛含有量基準値 (150mg/kg) は容易に検出できることが確認できた。また、100mg/kg の検出も容易に可能、50mg/kg の検出は可能、10mg/kg の検出は可能であるが困難であるとの結果となった。この結果からより低濃度域の検出を行うためには、鉛を溶出するための簡易前処理としての加熱や振とうや、発色を明瞭化するための検出材の改良の必要性が示唆された。

Table 1 模擬鉛汚染土壌(0,10,50,100,150mg/kg)に45分間接触させた検出材の呈色と目視での判断

鉛汚染濃度 (mg/kg)	検出材の呈色	目視判断
0	黄橙色	—
10	橙色	△
50	赤橙色	○
100	赤色	◎
150	赤褐色	◎

△: 差があるがわかりにくい ○: 差がわかる
◎: 差がはっきりわかる

3. 2 RGB 値の測定結果

Fig. 2 に 150,100,50,10mg/kg 模擬鉛汚染土壌とブランク 0mg/kg の RGB の差である Δ RGB を, Fig. 3 に GREEN 値を示す。本研究で開発した検出材は鉛を接触させると黄色から濃い橙色に変化するものであり、黄色から橙色への変化は RGB 値の中でも GREEN 値に最も大きく依存するので Fig. 3 には GREEN 値を示した。Fig. 2 から、鉛の汚染濃度が高くなるにつれてブランクとの差が大きくなっていることから、開発した検出材の呈色変化を RGB 値によって評価することが可能であると考え

られた。また、Fig. 3 から GREEN 値は鉛の汚染濃度が高くなるにつれて値が低下する傾向にある。

RGB 値は白(255, 255, 255), 黒(0, 0, 0)を示すことから、色が濃くなるほど値が低くなると考えているため、Fig. 3 から開発した検出材の呈色変化を RGB 値によって評価することが可能であると確認された。検出材の評価に用いた鉛模擬汚染土壌(0,10,50,100,150mg/kg)によって純水抽出液を作製し、ICP-AES によって定量分析した結果、鉛は全く検出されなかった。この結果から開発した検出材は溶出量基準値である 0.01mg/L の検出をクリアしたと考えた。

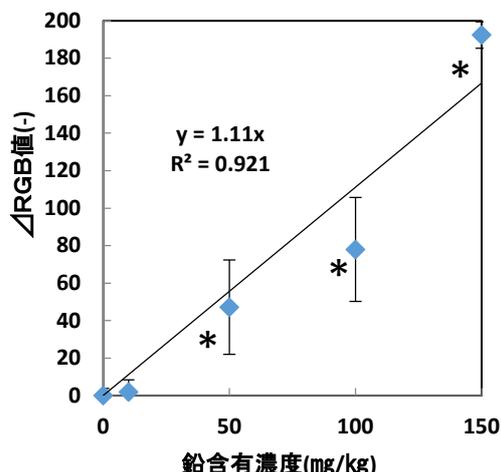


Fig. 2 鉛模擬汚染土壌の Δ RGB 値

Δ RGB = Σ RGB₀ - Σ RGB_{sample}
ただし、RGB₀: ブランク、RGB_{sample}: 汚染土壌
有意水準1%で有意差があると認められた
プロットに*を付けた。

Fig. 2, Fig. 3 より、グラフの相関係数が高いこと、有意差検定の結果からほとんどの値に有意な差が認められたことから、RGB 値を測定することで、作製した検出材発色の定量化が可能であるとの結論を得た。

また、RGB 値を比色法に導入する先行研究では、撮影条件を整えることで低濃度域の測定を可能とした [10]。この先行研究から、本研究でも撮影条件を整備すれば、目視では困難であった低濃度域の

検出も可能になることが示唆された。

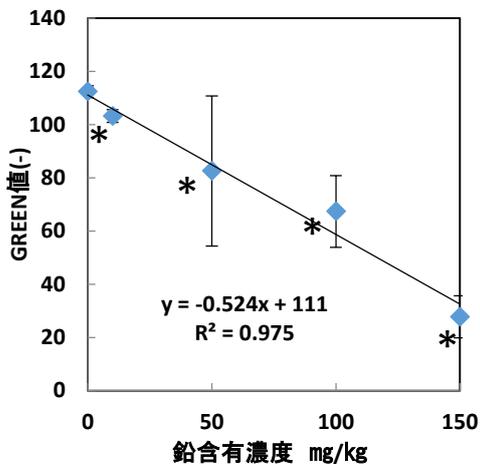


Fig. 3 各濃度模擬汚染土壤のGREEN値有意水準1%で有意差があると認められたプロットに*を付けた。

RGB 値を測定する手法でより低濃度域を検出する際には傾きが大きい Δ RGB 値を用いる方法が高感度で分解能は高くなるが、3つの値の合計を扱っている Δ RGB 値では誤差が大きくなり相関係数が低くなるため、色を明瞭化することで傾きを大きくする、または撮影条件を整えることで誤差を少なくし、鉛の濃度と RGB 値の直線関係の相関係数を改善することが必要である。今後、光源を限定するなどの撮影条件の統一や発色前の加熱などの鉛溶出のための簡易前処理を加えることで、目視では難しかった 10mg/kg 以下の鉛汚染の検出も可能になると考えられている。

3. 3 土の違いによる発色傾向の相異

様々な土に対するデバイスの応用結果を Fig. 4 に示す。Fig. 4 から、全ての土で Δ RGB 値が認められたため、土によらず検出が可能であると結論付けられた。しかし、土によって検出感度に相異がみられ、検出は Δ RGB 値の大きい順に褐色森林土>黒ボク土>真砂土>>桐生土となり、真砂土と桐生土の差は2倍近くある。本研究で開発した検出材は検出時の pH に発色が依存するのだが、使用した褐色森林土、黒ボク土、真砂土、桐生土の pH は全て弱酸

性～中性であったため pH が原因ではないと考えた。また、この順番は粒径の小さい順と一致するため、開発した鉛検出材による検出は土壤の粒径に依存する可能性が示唆された。褐色森林土、黒ボク土、真砂土、桐生土の粒径分布を Fig. 5 に示す。3.2 節に示した純水抽出の結果より純水では鉛がほぼ抽出できないことから、検出材は土壤に接触することで発色すると考えられ、土壤の粒径が小さいほど検出材に土壤が接触する比表面積が多くなるため発色が明瞭となると考察される。

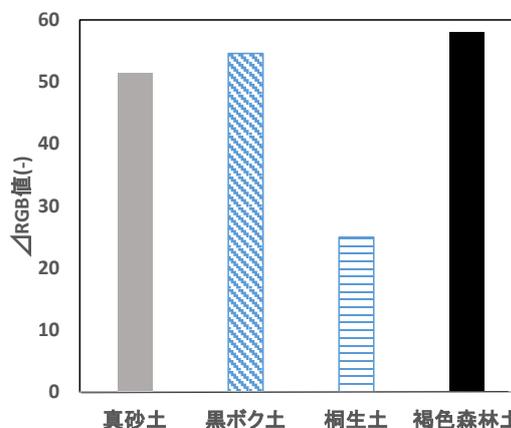


Fig. 4 桐生土、黒ボク土、真砂土を用いて150mg/kgの模擬鉛汚染土壤を作製し、応用した検出材の Δ RGB値

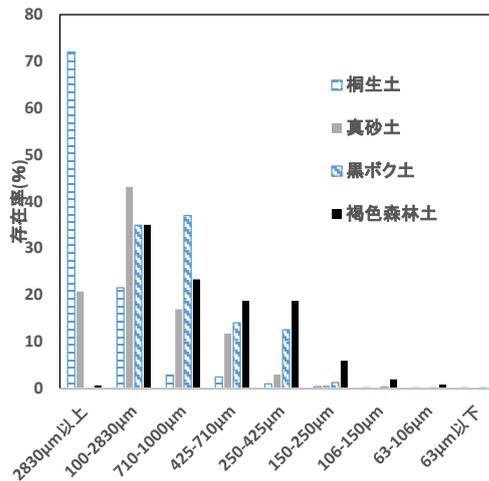


Fig. 5 桐生土、真砂土、黒ボク土、褐色森林土の粒径分布

4. まとめ

含有量基準値(150ppm)以下の鉛汚染土壤を短時間、低コストでオンサイトに評価することが可能と

なった。また、RGB値を導入することで、鉛検出材の発色を定量的に測定することが可能になり、より低濃度域の検出の可能性も示唆された。今後は加熱などの簡易前処理や検出条件の向上などを検討することで、より明瞭な色の変化を呈するデバイスの開発を行う予定である。

5. 参考文献

- [1]丸茂克美ら, 土壤汚染調査のための簡易分析技術-いかに迅速かつ正確に現場で特定有害重金属汚染を評価するか-, 地質ニュース, 587号, p. 4 (2003)
- [2]石山高ら, ストリッピングボルタンメトリーを適用した鉛汚染土壌のオンサイト評価手法の開発, 水環境学会誌, Vol. 29, No. 2, p. 115 (2006)
- [3]藤原靖, 土壤汚染対策法と重金属汚染土壌の浄化技術の現状と課題, 環境バイオテクノロジー学会誌, Vol. 2, No. 2, pp. 115-117 (2002)
- [4] 駒井武/土壤汚染対策法の課題と環境地質学の役割, 地学雑誌, Vol. 116, No. 6, p. 855 (2007)
- [5]吉岡秀俊ら, 土壌の簡易迅速分析法の技術評価について, 東京都環境科学研究所年報, p. 105 (2008)
- [6]石山高ら, 水銀膜微小電極を用いたストリッピングボルタンメトリーによる土壌中亜鉛,カドミウム, 銅及び鉛の簡易迅速定量, 水環境学会誌, Vol. 27, No. 11, pp. 715-724 (2004)
- [7] Nan Wang, Anion-intercalated layered double hydroxides modified test strips for detection of heavy metal ions, Talanta, 148, p. 301 (2016)
- [8]船山剛史, メンブレンフィルターへの固相抽出による As(III)及び As(V)の目視分別分析, BUNSEKI KAGAKU, Vol. 62, No. 8, pp. 685-691 (2013)
- [9]岩本振武, 4-(2-ピリジルアゾ)-レゾルシン(PAR)による銅の光度滴定, JAPAN ANALYST, Vol. 10, p. 189 (1961)
- [10]菊池洋一ら, 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イオン対抽出比色法, BUNSEKIKAGAKU, Vol. 60, No. 9, p. 743 (2011)