

11 染色工場排水に関する研究(第2報)

— 糊料の分析法の検討 —

宇都宮高栄 沢田稔之佑 山口 慎一
前川 勉 田川 専照 塩谷 勝夫

I 緒 言

九頭竜川水系の有機性汚濁の負荷源を考える時、用水型産業で工場あたりの汚濁負荷量の大きい染色整理業が、まず第一に検討の対象となる。排水の汚濁指標として、常時監視では、pH, BOD, COD, 懸濁物質を測定しているが、これらの指標について、成分を具体的に知る事は、排水処理法の検討と河川汚濁浄化機構の解明に役立つものと思われる。本報では、サイジングと染色の工程で用いられる糊料について、糖の分析法であるフェノール硫酸法、およびカルバゾール硫酸法による定量分析と、ガスクロマトグラフィーによる定性分析を検討したので、その結果を報告する。

II 実験方法

1. 試 薬

〔フェノール硫酸法〕 硫酸(和光特級), フェノール溶液(フェノール(和光特級)80gを純水に溶かし, 100mlにする)

〔カルバゾール硫酸法〕 89%硫酸(純水8mlに硫酸(和光特級)100mlを加える), 0.5%カルバゾール溶液(カルバゾール(和光一級)0.5gをエタノール(和光特級)100mlに溶かす), エタノール(和光特級)

〔ガスクロマトグラフィー〕 硫酸(和光特級), 水酸化バリウム(和光特級), 炭酸バリウム(和光特級), シリル化剤(N, Nジメチルホルムアミド(和光特級), ヘキサメチルジシラザン(半井ガスクロシリル化用), トリメチルクロロシラン(半井ガスクロシリル化用)をそれぞれ, 20:2:1の体積比で混合する)

〔糊料および糖の標準液〕 0.25gの糊料および糖を水に溶解(難溶の時は加熱)し, 防腐剤として, 塩化第二水銀溶液(0.74%)を1ml添加して水で精確に100mlとした。これを2500ppm原液として保存し, 適宜希釈して用いた。炭水化物を水に溶かして標準液とする場合に, 試薬の水分含有量を補正するが, 吸着水と結合水との区分が難しい。今回は, 105℃で2時間乾燥すれば表面吸着水がとれるものとして, 水分の測定を行い, 標準液の補正係数に算入した。¹⁾

2. 装置

分光光度計(日立124型, 日立556型), ガスクロマトグラフ(島津7A型, FID検出器付) 減圧濃縮器(柴田ロータリーエバポレーターSPC型), 試験管濃縮器(太洋科学TC-8)

3. 分析方法

〔フェノール硫酸法〕²⁾ 10~70 μ gの糊料または糖を含む検水2mlを30mlの共栓試験管に入れ, フェノール溶液0.05mlを加えて混和する。これに, 硫酸5mlを直接加え, 10分間放置後ふりまぜ, 20~30℃の湯浴中に10~20分間保存する。これを1cm吸光セルに入れて, スペクトルを測定する。

極大吸収波長は、480～490 nm。

〔カルバゾール硫酸法〕²⁾、30ml 共栓試験管に89%硫酸9mlをとり、10～100 μg の糊料を含む検水1mlを、水冷しながら加えてよく混和する。氷水中で数分間冷却した後、0.5%カルバゾール溶液0.5mlを加えて直ちに混合し、沸騰水中で10分間加熱する。ついで流水中で冷却し、これを1cm吸光セルに入れ、スペクトルを測定する。極大吸収波長は、535 nm。

〔ガスクロマトグラフィー〕³⁾ 糊料250～2500 μg を分取し、1N硫酸で2～24時間加熱還流により加水分解した後、水酸化バリウムと炭酸バリウムで硫酸を除去する。ろ過後、ろ液を試験管濃縮器で乾固する。これにシリル化剤5mlを添加し、よく振とう後、30分放置する。これから5 μl を分取し、ガスクロマトグラフに注入する。

■ 結果と考察

1. フェノール硫酸法

(1) 糊料の吸収スペクトルと吸光値

フェノール硫酸法では、糊料が硫酸の加水分解により、単糖を経て、フルフラール誘導体を形成し、これにフェノールが結合して発色する。

図-1に、糊料の典型的な吸収スペクトルを示す。でんぶん型(a)は486 nmで吸収極大となり、左右に小さなショルダーを持っている。これは図-2の破線と同一の型であり、でんぶんが加水分解し、グルコースを経て、ハイドロキシメチルフルフラールを形成したためと思われる。

アルギン酸型(b)は480 nmで吸収極大となり、ショルダーは認められない。これは図-2の実線と同一の型であり、アルギン酸が加水分解でウロン酸、脱炭酸反応でキシロース、最後にフルフラールを形成したためと思われる。

植物性ゴム型(c)も480 nmで吸収極大を持ち、ピークは、アルギン酸よりも鋭いが、これは、トラガンドゴムが、単糖成分としてアラビノースやキシロースを多く含んでいるためと思われる。以上の3種について光学的微分スペクトルをとると(図-1の②)、いずれも470 nmで極小ピークを示し、感度の差はあるが、植物系糊料の共通した特徴である。セルロース誘導体でも、メチルセルローズ(d)、カルボキシメチルセルローズ(e)ともに486 nmで吸収極大を示し、ハイドロキシメチルフルフラール型を示しており、植物系として扱える。

一方、合成糊料のポリビニルアルコール(f)

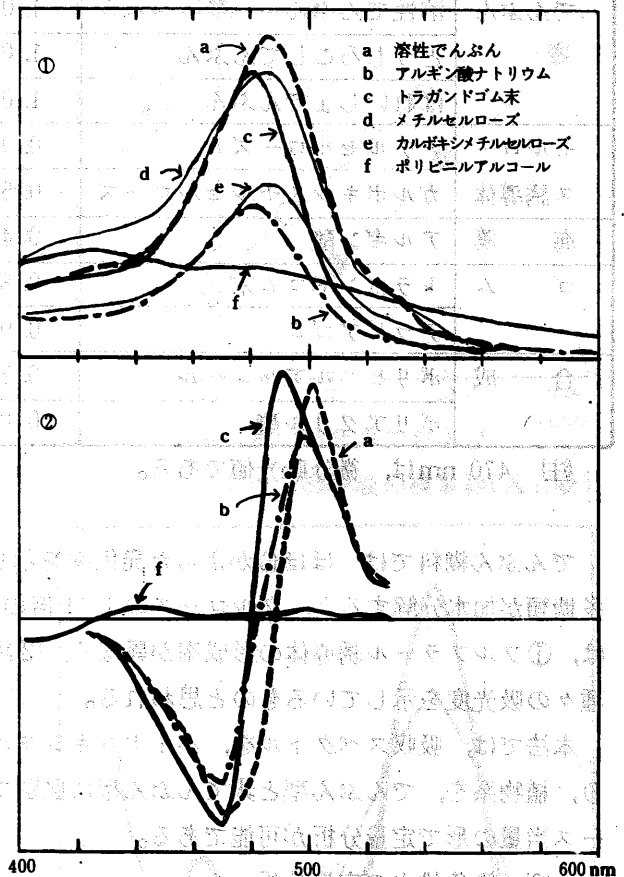


図-1 糊料の吸収スペクトル①と光学的微分スペクトル②(フェノール硫酸法)

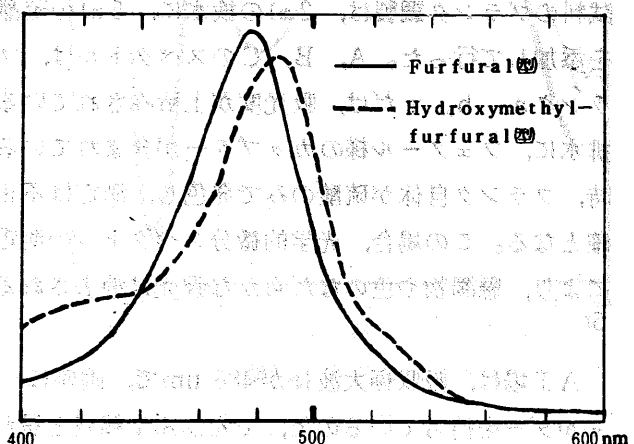


図-2 糖の吸収スペクトルの二つの典型(フェノール硫酸法)

は、480 nmと425 nmにかすかなピークを示し、ポリアクリル酸は、全く発色しなかった。ポリビニルアルコールは、微分することにより、感度が極めて低くなり、実際の事業所排水濃度では、検出されなくなる。

各糊料について、重量濃度あたりの吸光値を求め、グルコースと比較した値（発色率）を表-1に示す。

表-1 糊料の発色率の比較

分類	糊料名	486 nm	470 nm	備考
標準	D-グルコース（ブドウ糖）	1.00	1.00	和光特級
でんぷん	溶性でんぷん	1.06	1.03	和光生化学用
	とうもろこしでんぷん	1.01	1.13	和光
	ばれいしょでんぷん	1.04	1.02	和光化学用
セルロース誘導体	メチルセルロース	0.96	0.79	和光化学用 1500 cps
	カルボキシメチルセルロース	0.54	0.50	和光化学用、ナトリウム塩
海藻	アルギン酸	0.43	0.41	和光
ゴム	トラガンドゴム末	0.88	1.15	立石
	アラビアゴム	0.95	0.93	和光
合成	ポリビニルアルコール	0.20	0.02	和光 重合度 1500
	ポリアクリル酸	0.02	—	和光 食品添加用

（注）470 nmは、微分吸光値である。

でんぷん糊料では、ほぼ似たような発色率を示しているが、比率が1より高くなっている。これは、多糖類が加水分解すると、グルコースの1.11倍の重量増になるためと思われる。⁴⁾他の糊料においては、①フルフラール誘導体の形成率が異なる、②誘導体の形が異なり、吸収極大波長も異なるために、種々の吸光度を示しているものと思われる。

本法では、吸収スペクトルを、ハイドロキシフルフラール型と、フルフラール型に区別する事により、植物系を、でんぷん型と非でんぷん型に区別できる。また、グルコースを標準液に用いたグルコース当量の形で定量分析が可能である。

(2) 染色排水の定量分析

本法を、染色排水に適用した（図-3）。各々の試料のブランク調製は、2mlの検水に、5mlの硫酸を添加して行った。A、B、Cのスペクトルは、ブランクa、b、cだけ、吸光度が上積みされている。排水に、フェノール様のカップラーが含まれている時、ブランク自体が硫酸のみで発色し、測定は不正確となる。この場合、光学的微分スペクトルの測定により、懸濁物や色のなだらかな吸光は消去される。⁵⁾

A工場は、吸収極大波長が486 nmで、両側にシヨルダーを持っているので、でんぷん型糊料と思われる。図-4には、この排水を、486 nmと、470 nm（微分）で測定した結果を示す。検水は、糊料

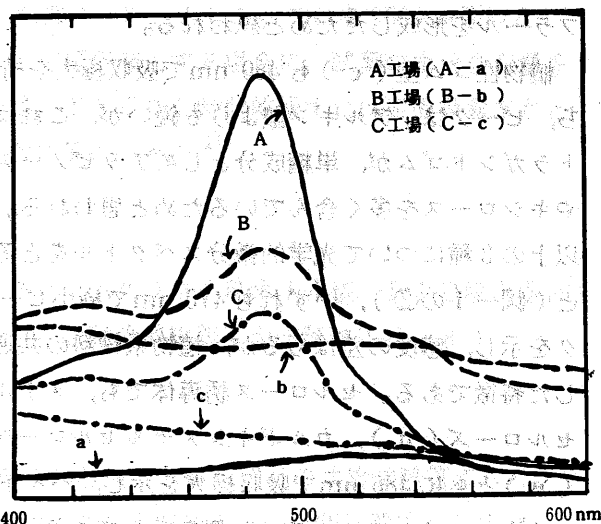


図-3 染色排水の吸収スペクトル

小文字は大文字のブランクスペクトルである

濃度が高いため、10倍に希釈し、検量線法と、標準添加法を用いて定量した。486 nmの吸光測定には、検水ブランクとして、上記の、フェノール無添加によるものを用いた(図-4の*プロット)が、検量線法、標準添加法共に、9.3 ppmであった。同様に、470 nmでは、それぞれ、9.7 ppm、10.0 ppmであった。486 nmと470 nmの値で若干の差が生じたが、測定スペクトルの読み取り誤差と考えられ、回収率も、486 nmで100%，470 nmで97%と、ほぼ満足のゆく結果であった。

A工場の場合、糊料が約100 ppmと高いが、一般には、10 ppm前後と考えられ、①スペクトル妨害成分の回避、②検水ブランクの不必要、③植物系糊料のみの測定の点から、470 nmでの光学的微分吸光光度法が、486 nm吸光光度法よりもすぐれているものと思われる。

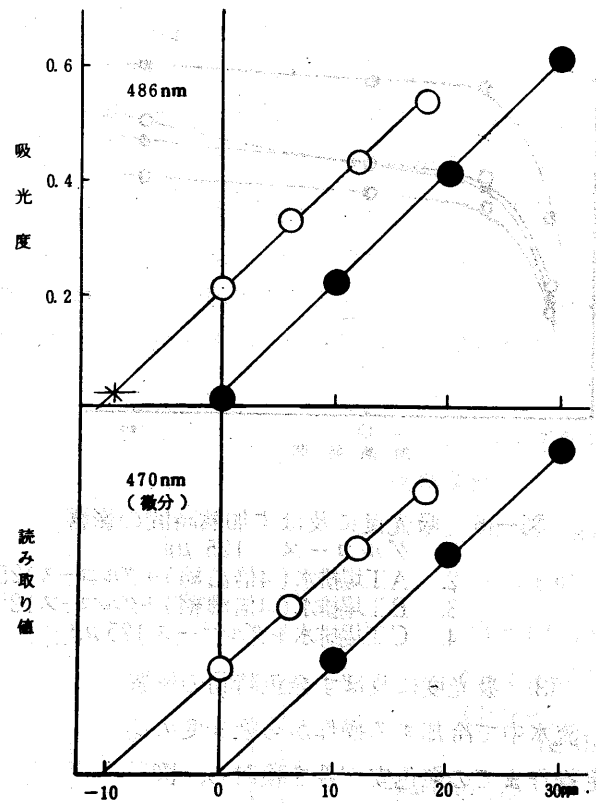


図-4 染色排水の標準添加および
グルコース標準液の検量線(A工場)

2. カルバゾール硫酸法

(1) 糊料の吸収スペクトル

グルコースとアルギン酸ナトリウムの吸収スペクトルを図-5に示した。共に535 nmに最大吸収を示し、グルコースに関しては、415 nmに小さな吸収が認められた。このため、グルコースやアルギン酸ナトリウムが共存した場合、吸収スペクトルから、その存在を確認する事は可能である。Dish^{6,7)}は、ウロン酸とヘキソース、ペントースを区別する方法として、濃硫酸を用いるカルバゾール硫酸法を報告している。カルボキシメチルセルロースの場合、グルコースと全く同じ位置に吸収を示すため、この方法では、区別することは不可能である。

(2) 吸光度に及ぼす加熱時間の影響

糖類の分析における加熱操作は、感度、再現性に影響する重要な因子である。カルバゾール硫酸法の加熱時間の影響を図-6に示した。試料としてグルコース(125 μg/ml)、染色工場排水1 mlに、グルコース125 μgを添加したものについて検討した。吸光度は5分まで急激な増加を示したが、5分以降、大きな変化は認められなかった。この結果から、加熱時間を10分間とした。

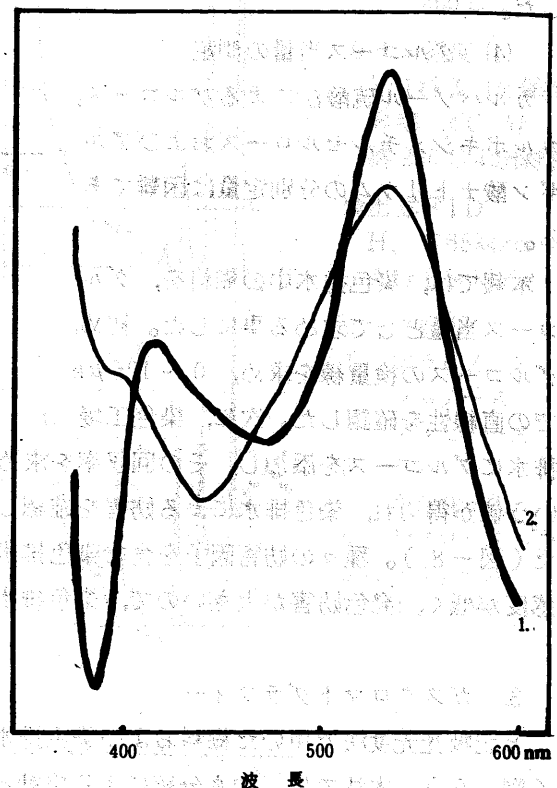


図-5 糊料の吸収スペクトル

1. グルコース
2. アルギン酸ナトリウム

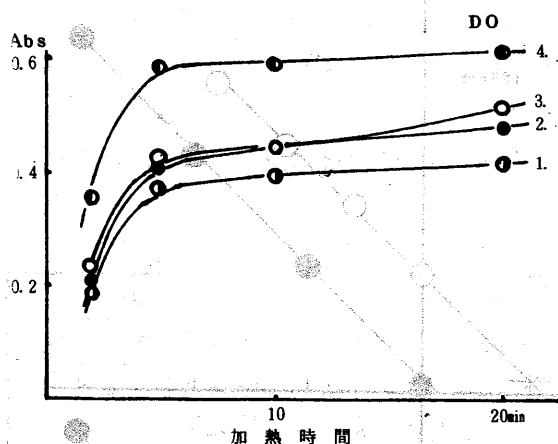


図-6 吸光度に及ぼす加熱時間の影響

1. グルコース 125 μg
2. A工場排水(4倍濃縮)+グルコース125 μg
3. B工場排水(4倍濃縮)+グルコース125 μg
4. C工場排水+グルコース125 μg

(3) 吸光度に及ぼす発色時間の影響

流水中で冷却する操作から吸光度の測定操作までの発色安定性を検討し、図-7に示した。吸光度は発色時間5~20分ではほぼ安定したので発色時間10分を採用した。

(4) グルコース当量の測定

カルバゾール硫酸法によるグルコース、カルボキシメチルセルローズおよびアルギン酸ナトリウムの分別定量は困難である。

本報では、染色排水中の糊料を、グルコース当量として求める事にした。初め、グルコースの検量線を求め、0~125 μg での直線性を確認した。次に、染色工場排水にグルコースを添加し、その回収率を求めた。結果は、A工場83%、B工場73%、C工場91%という値が得られ、染色排水による妨害を確認した。次に、標準添加法を試みたところ、直線性を示した(図-8)。種々の妨害因子を含む染色排水の分析には、標準添加法を用いる必要がある。本法は感度が低く、発色妨害が大きいので、染色排水の分析に対する優れた分析法とは言い難い。

3. ガスクロマトグラフィー

上記吸光光度法で用いた糊料および染色排水を加水分解し、シリル化して、定性分析を行った。(図-9) 本法では、加水分解により単糖として同定されるが、この標準物質として、7種の糖を用いた(a)。ピーク1~3までは、キシロースなどの五単糖類、4~7までは、グルコースなどの六単糖類となっている。

糊料の定性として、溶性でんぷん(b)は、レブローズとグルコースのピークのみ見られる。トラガンドゴム末(c)は、アラビノース、ラムノース、キシロース系のピークが特徴的で、グルコース

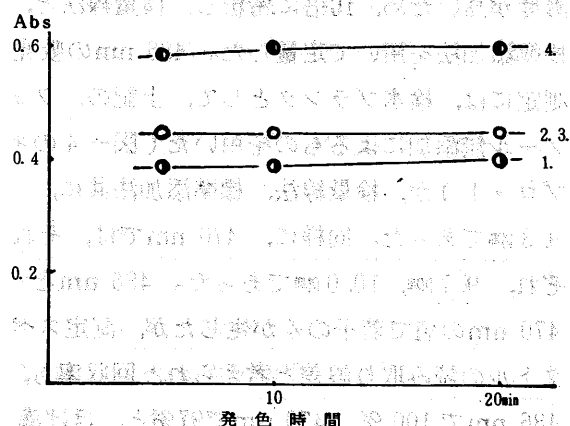


図-7 吸光度に及ぼす発色時間の影響

1. グルコース 125 μg
2. A工場排水(4倍濃縮)+グルコース125 μg
3. B工場排水(4倍濃縮)+グルコース125 μg
4. C工場排水+グルコース125 μg

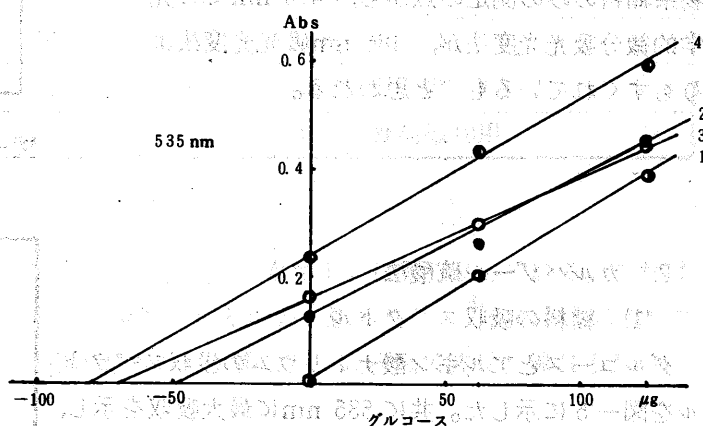


図-8 工場排水中のグルコース当量

1. グルコース
2. A工場排水(4倍濃縮)
3. B工場排水(4倍濃縮)
4. C工場排水

もわずか見られる。メチルセルローズ (d) は、アラビノースまたはラムノース、およびグルコースが見られ、カルボキシメチルセルローズ (e) は、グルコースのみが見られた。(f) と (g) は、1-(2) で用いた A 工場および C 工場の排水である。A 工場は、レブロースと、グルコースのピークが特徴的で、糊料はでんぷん系である事が明らかである。C 工場は、図-3 では 486 nm で、でんぷん系またはセルローズ誘導体と思われたが、クロマトグラムでは、グルコースのピークと同じぐらいのレブロースのピークがあり、でんぷん系というよりは、(d)、(e) のセルローズ誘導体も多く含まれているものと思われる。今後、ガスクロ妨害物の分離、加水分解操作での回収条件、カラム条件を検討する事により、フェノール硫酸法の結果を更に詳しく検討する事ができるものと思われる。

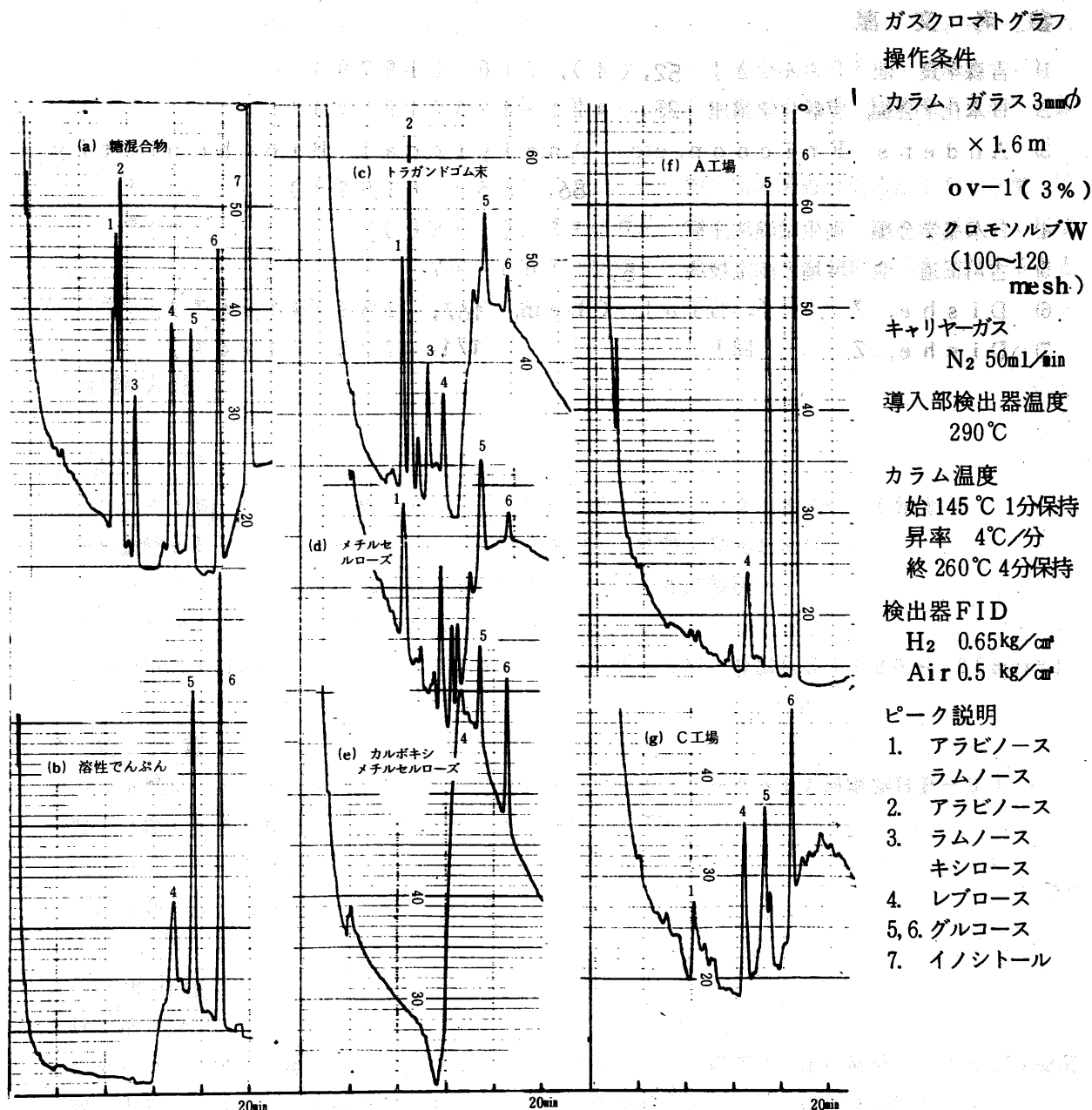


図-9 糊料のガスクロマトグラム

IV 結 語

フェノール硫酸法を用い、光学的微分吸光度法により、染色排水に含まれる植物性糊料を、グルコース当量という形で定量でき、糊料の定性は、吸収極大波長により、でんぶん型と、非でんぶん型にわけることができた。カルバソール硫酸法では、染色排水の測定には、標準添加法のみが有効で、検量線法では回収率が低下する。ガスクロマトグラフィでは、単糖のピークパターンにより、糊料の定性分析が可能となり、今後、加水分解条件、回収率等の検討により、定量分析が可能になるものと思われる。

参 考 文 献

- 1) 吉森孝良 他 「ぶんせき」 **52**, (4), 210 (1979)
- 2) 日本化学会編 実験化学講座 **23**, 421~423 (1957)
- 3) Anders Ericson, etc *Analytical Biochemistry* **86**, 552 (1978)
- 4) 日本薬学会編 衛生試験法注解 P173 (1980)
- 5) 古川正道 他 環境と測定技術 **5**, (10) 37
- 6) Dishe, Z, *J. Biol. Chem.* **167**, 189 (1947)
- 7) Dishe, Z 同上 **171**, 725 (1947)