

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6552403号
(P6552403)

(45) 発行日 令和1年7月31日(2019.7.31)

(24) 登録日 令和1年7月12日(2019.7.12)

(51) Int.Cl.

F I

GO 1 N 33/53 (2006.01)

GO 1 N 33/53 S

GO 1 N 33/543 (2006.01)

GO 1 N 33/543 5 O 1 A

GO 1 N 31/00 (2006.01)

GO 1 N 31/00 S

GO 1 N 1/10 (2006.01)

GO 1 N 1/10 F

GO 1 N 33/566 (2006.01)

GO 1 N 1/10 C

請求項の数 8 (全 22 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2015-245572 (P2015-245572)
 (22) 出願日 平成27年12月16日(2015.12.16)
 (65) 公開番号 特開2017-111010 (P2017-111010A)
 (43) 公開日 平成29年6月22日(2017.6.22)
 審査請求日 平成30年8月23日(2018.8.23)

特許法第30条第2項適用 平成27年6月17日、一般社団法人日本環境化学会、第24回環境化学討論会、討論会講演要旨集、第155頁

(73) 特許権者 000173809
 一般財団法人電力中央研究所
 東京都千代田区大手町1丁目6番1号
 (74) 代理人 100107515
 弁理士 廣田 浩一
 (74) 代理人 100107733
 弁理士 流 良広
 (74) 代理人 100115347
 弁理士 松田 奈緒子
 (72) 発明者 伊達 安基
 千葉県我孫子市我孫子1646 一般財団
 法人電力中央研究所 環境科学研究所内

審査官 磯田 真美

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 水銀の分析方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

水銀含有物と、過マンガン酸カリウムを溶解した酸溶液とを、超音波を作用させながら接触させ、水銀を酸抽出する酸抽出工程と、

前記酸抽出工程において得られた水銀抽出溶液に還元剤を加えて、前記過マンガン酸カリウムを還元する還元工程と、

陰イオン交換樹脂を用いて、前記還元工程において得られた水銀含有溶液中の前記水銀を精製する水銀精製工程と、

免疫学的検定により前記水銀精製工程において得られた水銀含有脱離溶液中の前記水銀を分析する水銀分析工程と、を含むことを特徴とする水銀の分析方法。

10

【請求項2】

前記還元剤が、塩化ヒドロキシアノンモニウムである請求項1に記載の水銀の分析方法。

【請求項3】

前記酸溶液が、硝酸を含む請求項1から2のいずれかに記載の水銀の分析方法。

【請求項4】

前記水銀精製工程が、前記還元工程において得られた前記水銀含有溶液を、陰イオン交換樹脂に通液し、前記水銀含有溶液中の少なくとも水銀を前記陰イオン交換樹脂に固定化する固定化处理と、

前記陰イオン交換樹脂に洗浄液を通液し、前記陰イオン交換樹脂を洗浄する洗浄処理と、

20

脱離溶液を前記陰イオン交換樹脂に通液し、前記水銀を前記陰イオン交換樹脂から脱離させる脱離処理と、を含む請求項 1 から 3 のいずれかに記載の水銀の分析方法。

【請求項 5】

前記洗浄液が、水、塩酸、並びに塩酸及び水から選択される少なくとも 1 種である請求項 4 に記載の水銀の分析方法。

【請求項 6】

前記脱離溶液が、緩衝液を含有する請求項 4 から 5 のいずれかに記載の水銀の分析方法。

【請求項 7】

前記免疫学的検定が、酵素免疫測定方法、及びフロー式蛍光イムノアッセイのいずれかである請求項 1 から 6 のいずれかに記載の水銀の分析方法。

10

【請求項 8】

前記水銀含有物が、石炭灰、及び汚泥の少なくともいずれかである請求項 1 から 7 のいずれかに記載の水銀の分析方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、水銀の分析方法に関する。

【背景技術】

【0002】

20

近年、水銀に関する水俣条約交渉の進展に伴い国内外で水銀汚染防止に対する関心が高まっており、石炭火力発電所にて生じた水銀を含む石炭灰や汚泥、廃棄物焼却施設にて生じた飛灰、下水処理場にて生じた水銀を含む汚泥等の水銀含有物の適切な処理、さらには有効利用が進められており、前記水銀含有物中の水銀を分析する機会が増加すると予測される。

【0003】

これまで、前記水銀含有物中の水銀含有量の分析には、水銀含有物から水銀を抽出して測定するまでに長時間かかるという問題がある。そこで、前記水銀含有物から迅速に水銀を抽出して、還元気化 - 冷原子吸光装置、又は誘導結合プラズマ (ICP) 発光分光分析装置を用いて、石炭灰等の試料中の水銀を定量する石炭灰中水銀の測定方法が提案されている (例えば、特許文献 1 参照)。また、抽出が不要な測定として、加熱気化 - 冷原子吸光装置を用いて、試料中の水銀を定量する測定法が提案されている。

30

【0004】

しかしながら、前記提案は、還元気化 - 冷原子吸光装置、誘導結合プラズマ (ICP) 発光分光分析装置、加熱気化 - 冷原子吸光装置等の装置を用いており、前記装置を有さない施設においては水銀の分析をすることができないという問題がある。また、還元気化 - 冷原子吸光装置、誘導結合プラズマ (ICP) 発光分析装置等の抽出工程を要する測定法では、石炭灰等の試料から水銀を抽出する工程が必須であり、煩雑な前処理を実施する実験設備が必要である。

そこで、前記装置を使用せず、簡便な免疫学的検定などの測定方法を利用するために、陰イオン交換樹脂を用いて分析前に水銀を前処理する水銀分析前処理方法が提案されている (例えば、特許文献 2 参照)。

40

【0005】

しかしながら、前記提案では、水銀を迅速、及び簡便に分析するために、前記石炭灰中水銀の分析方法における酸抽出方法、及び水銀分析前処理方法を組み合わせたところ、水銀の回収率が低くなってしまい、正確に水銀の分析をすることができないという問題がある。

【0006】

そこで、水銀の回収率が高く、水銀を迅速、及び簡便に分析することができる水銀の分析方法が望まれている。

50

【先行技術文献】

【特許文献】

【0007】

【特許文献1】特開2014-173878号公報

【特許文献2】特開2014-002131号公報

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

本発明は、従来における前記諸問題を解決し、以下の目的を達成することを課題とする。即ち、本発明は、水銀の回収率が高く、水銀を迅速、及び簡便に分析することができる水銀の分析方法を提供することを目的とする。

10

【課題を解決するための手段】

【0009】

前記課題を解決するための手段としては、以下のとおりである。即ち、本発明の水銀の分析方法は、水銀含有物と、過マンガン酸カリウムを溶解した酸溶液とを、超音波を作用させながら接触させ、水銀を酸抽出する酸抽出工程と、前記酸抽出工程において得られた水銀抽出溶液に還元剤を加えて、前記過マンガン酸カリウムを還元する還元工程と、陰イオン交換樹脂を用いて、前記還元工程において得られた水銀含有溶液中の前記水銀を精製する水銀精製工程と、免疫学的検定により前記水銀精製工程において得られた水銀含有脱離溶液中の前記水銀を分析する水銀分析工程と、を含む。

20

【発明の効果】

【0010】

本発明によると、従来における前記諸問題を解決し、前記目的を達成することができ、水銀の回収率が高く、水銀を迅速、及び簡便に分析することができる水銀の分析方法を提供することができる。

【図面の簡単な説明】

【0011】

【図1】図1は、実施例2、実施例4、実施例6、実施例8、比較例12、比較例14、比較例16、及び比較例18におけるフロー式蛍光イムノアッセイで測定された相対信号値(%)を示すグラフである。

30

【発明を実施するための形態】

【0012】

(水銀の分析方法)

本発明の水銀の分析方法は、酸抽出工程、還元工程、水銀精製工程、及び水銀分析工程を含み、さらに必要に応じて、その他の工程を含む。

【0013】

本発明者らは、酸抽出工程後に、前記酸抽出工程において得られた水銀を含有する溶液を水銀精製工程及び水銀分析工程に供すると、水銀の回収率が低くなることについて、以下のことを知見した。

前記酸抽出工程において得られた水銀を含有する溶液を、水銀精製工程に用いられる陰イオン交換樹脂が入った容器に通液すると、前記酸抽出工程において得られた水銀を含有する溶液に含まれる過マンガン酸カリウムにより、前記陰イオン交換樹脂の表面に結合している官能基の性質が変化し、前記陰イオン交換樹脂は水銀を吸着することはできるが、前記容器に脱離液を通液しても水銀が脱離されないため、水銀の回収率が低くなることを知見した。そこで、前記酸抽出工程後に、還元工程を行うことにより、前記酸抽出工程において得られた水銀を含有する溶液に含まれる過マンガン酸カリウムを、還元剤を用いて還元することで、その後、前記陰イオン交換樹脂が入った容器に通液しても陰イオン交換樹脂の表面に結合している官能基の性質が変化することなく、水銀を高い回収率で回収することができることを見出した。

40

【0014】

50

< 酸抽出工程 >

前記酸抽出工程は、水銀含有物と、過マンガン酸カリウムを溶解した酸溶液とを、超音波を作用させながら接触させ、水銀を酸抽出する工程である。前記酸抽出工程としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜公知の酸抽出方法を選択することができ、さらに必要に応じてその他の処理を含むことが好ましい。

【 0 0 1 5 】

< < 水銀含有物 > >

前記水銀含有物としては、水銀を含有していれば特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、石炭火力発電所における石炭灰、汚泥；下水処理場における汚泥；土壌；工業排水；焼却後の廃棄物；河川水；食品；生物；生物由来の試料などが挙げられる。

10

【 0 0 1 6 】

前記水銀含有物中の水銀の濃度としては、 0.005 mg/kg 以上 10 mg/kg 以下が好ましく、 0.01 mg/kg 以上 1 mg/kg 以下がより好ましい。前記水銀の濃度が、 0.005 mg/kg 以上であると、十分な分析精度を得ることができ、 10 mg/kg 以下であると、酸抽出工程において、水銀を十分に抽出することができる。なお、水銀の濃度が、 10 mg/kg を超える場合は、酸抽出に用いる水銀含有物の含有量を減らすことで、前記水銀の濃度を調節することができる。

【 0 0 1 7 】

< < 過マンガン酸カリウム > >

20

前記酸溶液中の過マンガン酸カリウムの含有量としては、酸溶液全量に対して、 0.1 g/L 以上 5 g/L 以下が好ましく、 0.5 g/L 以上 3 g/L 以下がより好ましく、 0.5 g/L 以上 2 g/L 以下がさらに好ましく、 1 g/L が特に好ましい。前記含有量が、 0.1 g/L 以上 5 g/L 以下であると、水銀含有物から水銀を効率よく抽出することができる。

【 0 0 1 8 】

< < 酸溶液 > >

前記酸溶液中の酸としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、塩酸、硝酸、硫酸などが挙げられる。これらの中でも、硝酸、硫酸が好ましく、硝酸がより好ましい。前記酸溶液は、酸抽出直前に調製することが好ましい。

30

【 0 0 1 9 】

前記酸の濃度としては、水銀含有物から水銀を酸溶液中に十分に抽出できれば特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、 0.1 M 以上が好ましく、 0.1 M 以上 3 M 以下がより好ましく、 0.1 M 以上 1 M 以下がさらに好ましく、 0.5 M が特に好ましい。前記酸の濃度が、 0.1 M 以上であれば、水銀含有物中の水銀を十分に酸溶液に抽出することができる。

【 0 0 2 0 】

< < 超音波 > >

前記超音波の処理条件としては、市販されている一般的な超音波洗浄装置で作用させることが可能な条件を適宜採用すれば特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができる。

40

前記超音波の出力としては、 50 W 以上 200 W 以下が好ましく、 100 W 以上 150 W 以下がより好ましく、 120 W が特に好ましい。

前記超音波の発振周波数としては、 20 kHz 以上 60 kHz 以下が好ましく、 30 kHz 以上 50 kHz 以下がより好ましく、 40 kHz が特に好ましい。

前記超音波の処理時間としては、 20 分間以上 2 時間以下が好ましく、 40 分間以上 1 時間 30 分間以下がより好ましく、 50 分間以上 1 時間 10 分間以下が特に好ましい。

【 0 0 2 1 】

前記超音波洗浄装置としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、装置名：A S 8 2 G T U（アズワン株式会社製）などが挙げられる。

50

【 0 0 2 2 】

前記酸抽出工程における水銀含有物と酸溶液との割合は、イムノアッセイで定量可能な量の水銀が酸溶液に抽出できれば特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができる。具体例を挙げると、例えば、石炭灰中の水銀濃度は、およそ $0.01 \text{ mg} - \text{Hg} \text{ kg}^{-1}$ (以下、「 $\text{mg} \text{ kg}^{-1}$ 」とも称することがある) 以上 $1 \text{ mg} - \text{Hg} \text{ kg}^{-1}$ 以下であることが報告されている (J. C. Hower, et al., Progr. Energ. Combust. Sci., 36, 510 - 529, (2010))。免疫学的検定においては、検出限界が $0.12 \mu\text{g} / \text{L}$ レベルの水銀の分析が可能である (Y. Date, et al., Anal. Chem., 85, 434 - 440, (2013))。これらの情報に基づいて、容器内に収容する酸溶液と石炭灰との割合を適宜設定すればよい。例えば、免疫学的検定で測定を行う場合には、石炭灰 0.5 g に対して酸溶液を 25 mL とすればよい。

10

【 0 0 2 3 】

前記酸抽出工程としては、試薬として、過マンガン酸カリウム、及び硝酸を使用する場合、ドラフトチャンバー等の排気設備内での操作を必要としない。したがって、前記酸抽出工程は、排気設備を有しない施設においても容易に導入することができる。

【 0 0 2 4 】

- 容器 -

前記酸抽出工程において用いられる容器としては、耐酸性を有し、水銀が吸着、揮散することのない材質のものであれば特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができる。例えば、ポリプロピレン (PP) 製、ガラス製、テフロン (登録商標) 製などが挙げられる。

20

前記ガラス製や前記テフロン (登録商標) 製の容器としては、超音波伝播性にも優れているため好適に使用できる。

前記酸抽出工程においては、試薬として、過マンガン酸カリウム、及び硝酸を使用する場合、加熱等の処理を必要としないことから、ねじ口瓶等の簡易な容器を使用することができる。

【 0 0 2 5 】

前記酸抽出工程における処理温度としては、 20 以上 50 以下が好ましく、 35 以上 45 以下がより好ましい。

30

前記酸抽出工程における処理時間としては、 30 分間以上 3 時間以下が好ましく、 40 分間以上 2 時間以下がより好ましい。

【 0 0 2 6 】

- その他の処理 -

前記その他の処理としては、例えば、前記酸抽出した後に、ろ過処理を含むことが好ましい。

前記ろ過処理としては、例えば、ろ過膜を用いることができる。

前記ろ過膜の平均孔径としては、 $0.2 \mu\text{m}$ 以上 $1.0 \mu\text{m}$ 以下が好ましく、 $0.45 \mu\text{m}$ がより好ましい。

前記ろ過膜の材質としては、例えば、ポリテトラフルオロエチレンなどが挙げられる。

40

【 0 0 2 7 】

前記ろ過膜としては、市販品を使用してもよく、前記市販品としては、例えば、商品名: Dismic (登録商標) - 25HP045AN (東洋濾紙株式会社製)、商品名: GD/X シリンジフィルター $0.45 \mu\text{m}$ PTFE (GEヘルスケア・ジャパン株式会社製) などが挙げられる。

【 0 0 2 8 】

< 還元工程 >

前記還元工程は、前記酸抽出工程において得られた水銀抽出溶液に還元剤を加えて、前記過マンガン酸カリウムを還元する工程である。前記還元工程としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜公知の還元方法を選択することができる。

50

水銀の分析装置として、従来から用いられている加熱気化 - 冷原子吸光装置、誘導結合プラズマ（ICP）発光分光分析装置等の装置を使用する場合は、酸抽出工程における過マンガン酸カリウムが含まれていても問題とならない場合が多いが、本発明のように免疫学的検定を使用する場合は、水銀以外の不純物の除去等の点から、陰イオン交換樹脂を用いた水銀精製工程を経る必要がある。そこで、水銀以外の不純物の除去のため、前記酸抽出工程において得られた水銀抽出溶液を、そのまま前記水銀精製工程に用いる陰イオン交換樹脂が入った容器（カラム）に通液すると、前記水銀抽出溶液に含まれる過マンガン酸カリウムによって陰イオン交換樹脂の表面に結合している官能基の性質が変化し、前記陰イオン交換樹脂に吸着した水銀の脱離ができず、水銀の回収率が低下してしまうという問題がある。そのため、前記還元工程において、前記過マンガン酸カリウムを還元することにより、上記問題を解決し、効率的に水銀を精製することができる。

10

【0029】

前記還元剤としては、過マンガン酸カリウムを還元でき、水銀を気化（ $\text{Hg}^{2+} \rightarrow \text{Hg}$ ）しなければ特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができる。例えば、化学分析において多用される還元剤として、塩化ヒドロキシルアンモニウム、水素化ホウ素ナトリウム、塩化スズ、シュウ酸ナトリウムなどが挙げられる。これらの中でも、水銀イオンを気化しない点から、シュウ酸ナトリウム、塩化ヒドロキシルアンモニウムが好ましい。また、シュウ酸ナトリウムは水への溶解度が低く、抽出液に加える還元剤溶液量が不必要に増えることから、水への溶解度が高い塩化ヒドロキシルアンモニウムがより好ましい。

【0030】

20

前記還元剤の濃度としては、 0.01 g/L 以上 10 g/L 以下が好ましく、 0.05 g/L 以上 5 g/L 以下がより好ましい。

前記酸抽出工程において得られた水銀抽出溶液と、前記還元剤との反応時間としては、前記水銀抽出溶液に含まれる過マンガン酸カリウムを還元できれば特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができる。なお、前記過マンガン酸カリウムの還元の判断としては、目視にて過マンガン酸カリウムの紫色の消失を指標とすることができる。

前記酸抽出工程において得られた水銀抽出溶液と、前記還元剤との反応温度としては、 20 以上 40 以下が好ましく、 25 以上 35 以下がより好ましい。

【0031】

< 水銀精製工程 >

30

前記水銀精製工程は、陰イオン交換樹脂を用いて、前記還元工程において得られた水銀含有溶液中の前記水銀を精製する工程である。前記水銀精製工程としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜公知の水銀精製方法を選択することができる。前記水銀精製工程は、免疫学的検定により水銀を分析する水銀分析工程に供するときに、他の金属を除去して水銀の分析の測定精度を上げるために必要である。

【0032】

前記水銀精製工程としては、固定化处理と、洗浄処理と、脱離処理と、を含むことが好ましい。

【0033】

< 固定化处理 >

40

前記固定化处理は、還元工程において得られた水銀含有溶液を、陰イオン交換樹脂に通液し、少なくとも水銀を前記陰イオン交換樹脂に固定化する処理である。前記固定化处理としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜公知の固定化方法を選択することができる。

【0034】

前記水銀含有溶液としては、還元工程において得られた水銀を含有する溶液であれば特に制限はなく、水銀以外の金属として、マンガン、マグネシウム、鉄、亜鉛、鉛、アルミニウム、カドミウム、銅、クロム、カルシウムなどが含有されていてもよい。

なお、本明細書において、前記水銀及び前記金属は、イオン状態ではない水銀及び水銀以外の金属であってもよいし、イオン状態の水銀及び水銀以外の金属、即ち、水銀イオン

50

及び水銀イオン以外の金属イオンであってもよい。

【0035】

前記陰イオン交換樹脂としては、その材質、形状、大きさ、構造など、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができる。

前記陰イオン交換樹脂の形状としては、例えば、ビーズ状、繊維状、膜状などが挙げられる。これらの中でも、充填性に優れる点から、ビーズ状が好ましい。

前記陰イオン交換樹脂の形状がビーズ状である場合、その大きさとしては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、充填性に優れる点から、粒径分布が $35\mu\text{m}$ 以上 $140\mu\text{m}$ 以下（ 100 メッシュ以上 400 メッシュ以下に相当）であることが好ましい。

10

前記陰イオン交換樹脂としては、4級アンモニウム塩基を有することが好ましい。

前記陰イオン交換樹脂としては、市販品を用いることができる。前記市販品としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、例えば、商品名：DowexTM 1×2 100-200、商品名：DowexTM 1×2 200-400（以上、ダウ・ケミカル社の製造で和光純薬工業株式会社から購入可能）などが挙げられる。

【0036】

前記陰イオン交換樹脂としては、容器に収容されていることが好ましい。前記容器に充填することにより、陰イオン交換樹脂が移動しないようにすることができ、前記陰イオン交換樹脂による層の厚みを均一にすることができる。

【0037】

20

以下、本明細書において記載する種々の好ましい数値範囲は、前記陰イオン交換樹脂を容器に詰めた際に容器内における前記陰イオン交換樹脂が占める容器底面に対する体積で、 $0.5\mu\text{L}/\text{mm}^2$ 以上 $20\mu\text{L}/\text{mm}^2$ 以下が好ましく、 $2.0\mu\text{L}/\text{mm}^2$ 以上 $10\mu\text{L}/\text{mm}^2$ 以下が好ましい。

【0038】

- 容器 -

前記容器としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、シリンジなどが挙げられる。前記シリンジの大きさとしては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができる。

【0039】

30

前記固定化处理において、前記陰イオン交換樹脂は、例えば、前記容器に充填する際に、前記容器の上端及び下端の両端において、ろ紙等の液透過材料により挟み込まれた状態で使用されることが好ましい。

【0040】

- 通液 -

前記通液の方法としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、所定量の前記還元工程において得られた水銀含有溶液を、所定量の前記陰イオン交換樹脂が詰まった容器内部を通過させる方法などが挙げられる。

【0041】

通液させる前記還元工程において得られた水銀含有溶液の量としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、 0.5mL 以上 100mL 以下が好ましく、 2mL 以上 100mL 以下がより好ましい。通液させる前記水銀含有溶液の量が、前記好ましい範囲内であると、少量の試料で高精度の水銀分析測定が可能な点で有利である。

40

前記通液は、1回で行ってもよく、複数回に分けて行ってもよい。例えば、 5mL の通液を10回行い合計 50mL の通液を行ってもよい。

前記水銀含有溶液の量が多い場合、例えば、 30mL 以上 100mL 以下の場合には、前記脱離工程における脱離溶液の量を前記水銀含有溶液の量（ mL ）に対して、好ましくは $1/20$ 以上 $1/2$ 以下、より好ましくは $1/15$ 以上 $1/7$ 以下にすることにより、前記水銀含有溶液中の水銀を濃縮して水銀分析工程に供することができ、水銀分析の感度が向上できる。

50

【 0 0 4 2 】

前記通液の速度としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、0.1 mL / 分間以上 5.0 mL / 分間以下が好ましく、0.2 mL / 分間以上 2.0 mL / 分間以下がより好ましく、0.3 mL / 分間以上 1.0 mL / 分間以下がさらに好ましく、2.0 mL / 分間以上 6.0 mL / 分間以下が特に好ましい。

前記通液は、試料溶液供給部材を用いて行うことができる。前記試料溶液供給部材としては、例えば、シリンジなどが挙げられる。

【 0 0 4 3 】

前記水銀含有溶液の前記通液は、吸引部材を用いて行うことが好ましい。前記吸引部材を用いることにより、前記吸引部材を用いずに通液させる場合（自然に通液させる場合）に比べて、通液速度を早くすることができる。また、前記吸引部材を用いることにより、前記通液速度を精度よく制御できる。

前記吸引部材としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、吸引ポンプなどが挙げられる。前記吸引ポンプとしては、例えば、ダイヤフラムポンプ、プランジャーポンプなどが挙げられる。

【 0 0 4 4 】

前記固定化処理においては、前記水銀以外の金属が前記陰イオン交換樹脂に固定化されてもよい。固定化された前記水銀以外の金属は、後述する洗浄処理により、前記陰イオン交換樹脂から除去することができる。

【 0 0 4 5 】

< < 洗浄処理 > >

前記洗浄処理は、陰イオン交換樹脂に洗浄液を通液し、前記陰イオン交換樹脂を洗浄する処理である。前記洗浄処理としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜公知の洗浄方法を選択することができる。

【 0 0 4 6 】

- 洗浄液 -

前記洗浄水としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、水、塩酸、塩酸及び水などが挙げられる。これらの中でも、前記陰イオン交換樹脂から前記水銀をほとんど脱離させることなく、前記水銀以外の金属を除去できる点から、塩酸及び水が好ましい。

前記塩酸の濃度としては、1.0 mM以上 1,000 mM以下が好ましく、5.0 mM以上 500 mM以下がより好ましい。

前記塩酸及び水とは、塩酸で洗浄後に水で洗浄すること、あるいは水で洗浄後に塩酸洗浄することを意味する。

前記塩酸及び水による洗浄条件としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、100 mM塩酸 5 mL以上で洗浄後、水 5 mL以上で洗浄することが好ましい。

【 0 0 4 7 】

前記洗浄の方法としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、所定量の前記洗浄液を、所定量の前記陰イオン交換樹脂を充填した容器内部を通過させる方法などが挙げられる。

前記洗浄の際の前記洗浄水の量としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、1回の洗浄において、1 mL以上 10 mL以下が好ましく、3 mL以上 7 mL以下がより好ましい。

前記洗浄の際の洗浄回数としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、1回以上 3回以下が好ましい。

前記洗浄の際の通液の速度としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、0.1 mL / 分間以上 5.0 mL / 分間以下が好ましく、0.2 mL / 分間以上 2.0 mL / 分間以下がより好ましく、0.3 mL / 分間以上 1.0 mL / 分間以下がさらに好ましく、2.0 mL / 分間以上 8.0 mL / 分間以下が特に好ましい。

10

20

30

40

50

前記洗浄は、洗浄液供給部材を用いて行うことができる。前記洗浄液供給部材としては、例えば、シリンジなどが挙げられる。

【0048】

前記洗浄液の通液としては、吸引部材を用いて行うことが好ましい。前記吸引部材を用いることにより、前記吸引部材を用いずに通液させる場合（自然に通液させる場合）に比べて、通液速度を早くすることができる。また、前記吸引部材を用いることにより、前記通液速度を精度よく制御できる。

前記吸引部材としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、吸引ポンプなどが挙げられる。前記吸引ポンプとしては、例えば、ダイヤフラムポンプ、プランジャーポンプなどが挙げられる。

10

【0049】

前記洗浄処理により、前記水銀以外の金属を前記陰イオン交換樹脂から除去することができる。

【0050】

< 脱離処理 >

前記脱離処理は、脱離溶液を前記陰イオン交換樹脂に通液し、前記水銀を前記陰イオン交換樹脂から脱離させる処理である。前記脱離処理としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜公知の脱離方法を選択することができる。

【0051】

前記脱離溶液としては、前記陰イオン交換樹脂から前記水銀を脱離させることができる溶液であれば特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、例えば、緩衝液を含有することが好ましく、前記水銀をキレートして水銀錯体を形成するキレート剤と前記緩衝液とを含有してもよい。前記脱離溶液が前記緩衝液を含有することにより、水銀分析に抗体を用いる場合、pH調整をすることなく、水銀分析が可能になる。前記水銀脱離溶液が前記キレート剤と前記緩衝液とを含有すること、即ち、キレート剤含有緩衝液であることにより、水銀分析に抗体を用いる場合、pH調整やキレート剤を新たに添加することなく、抗体と混合することで水銀分析が可能になる。

20

また、前記脱離溶液は、硝酸、硫酸及びリン酸の少なくとも1種を含有することが好ましく、硝酸及び硫酸の少なくともいずれかを含有することがより好ましい。前記水銀脱離溶液における前記硝酸、前記硫酸及び前記リン酸の濃度としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、脱離能力の点から、0.1mM以上1,000mM以下が好ましく、1mM以上500mM以下がより好ましく、10mM以上100mM以下が特に好ましい。

30

【0052】

- 緩衝液 -

前記緩衝液としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、グッドの緩衝液、リン酸緩衝液、トリス緩衝液（トリスヒドロキシメチルアミノメタン緩衝液）、リン酸緩衝生理食塩水などが挙げられる。

【0053】

前記脱離溶液中の前記緩衝液の濃度としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、水銀の脱離能力に優れる点から、50mM以上が好ましく、50mM以上1,000mM以下が好ましく、50mM以上500mM以下がより好ましい。

40

【0054】

- キレート剤 -

前記キレート剤としては、前記水銀をキレートして水銀錯体を形成するものであれば特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、ジエチレントリアミンペンタ酢酸（DTPA）、エチレンジアミンテトラ酢酸（EDTA）、テトラエチレントリアミン（TET）、エチレンジアミン（EDA）、ジエチレントリアミン（DETA）、クエン酸、シュウ酸、クラウンエーテル、ニトリロテトラ酢酸、エチレンジアミンテトラ酢酸二ナトリウム、エチレンジアミンテトラ酢酸ナトリウム、エチレンジアミンテトラ酢

50

酸三ナトリウム、ペニシラミン、ペンテテートカルシウム三ナトリウム、ペンテト酸、スクシメル、エチレンジアミンテトラ酢酸トリエンチンなどが挙げられる。これらは、1種単独で用いても、2種以上を併用してもよい。これらの中でも、エチレンジアミンテトラ酢酸(EDTA)がより好ましい。

【0055】

前記脱離溶液中の前記キレート剤の濃度としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、 $0.1\mu\text{M}$ 以上 10mM 以下が好ましく、 $0.5\mu\text{M}$ 以上 $500\mu\text{M}$ 以下がより好ましく、 $1\mu\text{M}$ 以上 $100\mu\text{M}$ 以下が特に好ましい。前記濃度が、前記特に好ましい範囲内であると、脱離後の水銀が安定して溶液中に存在できる点、及び高い感度でイムノアッセイができる点で有利である。

10

【0056】

前記脱離溶液が前記緩衝液を含有する場合の前記脱離溶液のpHとしては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、 1.0 以上 8.5 以下が好ましく、 5.0 以上 8.0 以下がより好ましく、 6.5 以上 7.5 以下が特に好ましい。前記pHが、前記好ましい範囲内であると、溶存水銀(Hg^{2+})が安定する点で有利であり、前記pHが、前記特に好ましい範囲内であると、さらに、pHの調整を行うことなく、抗体を用いたイムノアッセイに使用できる点で有利である。

前記pHを調整する方法としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、水銀の脱離能力に優れる点から、硝酸、硫酸、リン酸、塩酸、水酸化ナトリウム、及び水酸化カリウムの少なくとも1種を含む溶液で調整することが好ましく、硝酸、硫酸、リン酸の少なくとも1種で調整することがより好ましい。

20

【0057】

前記脱離溶液の使用量としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、1回の通液において、 0.5mL 以上 15mL 以下が好ましく、 2.0mL 以上 7.5mL 以下がより好ましい。

前記通液の回数としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、1回以上が好ましく、1回以上5回以下がより好ましく、2回が特に好ましい。

前記通液の速度としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、 $0.1\text{mL}/\text{分間}$ 以上 $50\text{mL}/\text{分間}$ 以下が好ましく、 $0.2\text{mL}/\text{分間}$ 以上 $20\text{mL}/\text{分間}$ 以下がより好ましく、 $0.3\text{mL}/\text{分間}$ 以上 $10\text{mL}/\text{分間}$ 以下がさらに好ましく、 $2.0\text{mL}/\text{分間}$ 以上 $8.0\text{mL}/\text{分間}$ 以下が特に好ましい。

30

【0058】

前記脱離溶液の前記通液としては、吸引部材を用いて行うことが好ましい。前記吸引部材を用いることにより、前記吸引部材を用いずに通液させる場合(自然に通液させる場合)に比べて、通液速度を早くすることができる。また、前記吸引部材を用いることにより、前記通液速度を精度よく制御できる。

前記吸引部材としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、吸引ポンプなどが挙げられる。前記吸引ポンプとしては、例えば、ダイヤフラムポンプ、プランジャーポンプなどが挙げられる。

【0059】

前記通液は、水銀脱離溶液供給部材を用いて行うことができる。前記水銀脱離溶液供給部材としては、例えば、シリンジなどが挙げられる。

40

【0060】

<水銀分析工程>

前記水銀分析工程は、免疫学的検定により水銀を定量する工程である。前記水銀分析工程としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜公知の水銀分析方法を選択することができる。

【0061】

前記免疫学的検定としては、水銀を定量できれば特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、酵素免疫測定方法(enzyme immunoassay)

50

：E I A）、フロー式蛍光イムノアッセイなどが挙げられる。

【0062】

前記免疫学的検定における水銀の回収率としては、脱離溶液中に含まれる水銀全量に対して、80%以上120%以下が好ましく、90%以上110%以下が好ましく、95%以上105%以下がより好ましい。

【0063】

前記免疫学的検定における変動係数(CV)としては、20%以下が好ましく、10%以下がより好ましく、5%以下が特に好ましい。

【0064】

- 酵素免疫測定方法(E I A) -

前記酵素免疫測定方法としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、例えば、enzyme-linked immunosorbent assay(以下、「ELISA」とも称することがある)などが好適に挙げられる。

【0065】

前記ELISAとしては、例えば、競合法、サンドイッチ法、直接吸着法、間接吸着法などが挙げられる。

【0066】

前記E I Aに用いる一次抗体としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、水銀-EDTA錯体に対して顕著な結合性を示す点から、受託番号：FERM P-19703として寄託されているハイブリドーマから産生されたモノクローナル抗体(以下、「NX2C3」とも称することがある)、前記抗体が有する結合部位のアミノ酸配列情報を利用した機能性タンパク質が好ましい。

【0067】

前記E I Aに用いる二次抗体としては、前記一次抗体に対して顕著な結合性を示せば特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、商品名：Peroxylase labeled antibody to mouse IgG(H+L)(KPL社製)が好ましい。

【0068】

前記E I Aにおける吸光度の測定としては、マイクロプレートリーダー(装置名：EL808、BIO-TEK INSTRUMENTS社製)などを用いることができる。

【0069】

- フロー式蛍光イムノアッセイ -

前記フロー式蛍光イムノアッセイに用いる一次抗体としては、前記E I Aで用いることができる一次抗体と同様のものを用いることができる。

【0070】

前記フロー式蛍光イムノアッセイに用いる二次抗体としては、前記一次抗体に対して顕著な結合性を示し、かつ蛍光標識されている抗体であれば特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、Alexa647 labeled anti-mouse IgG(H+L) goat monoclonal antibody(Jackson immunoresearch社製)が好ましい。

【0071】

前記フロー式蛍光イムノアッセイとしては、市販の装置を用いて測定することができ、前記市販の装置としては、例えば、フロー式蛍光イムノアッセイ装置(装置名：KinExA 3200、サピダイン社製)などが挙げられる。

【0072】

前記フロー式蛍光イムノアッセイ装置における流速としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、100μL/分間以上400μL/分間以下が好ましく、200μL/分間以上300μL/分間以下がより好ましい。

【実施例】

【0073】

10

20

30

40

50

以下、本発明の実施例を説明するが、本発明は、これらの実施例に何ら限定されるものではない。なお、単位の「M」は、mol/Lである。

【0074】

(実施例1)

<酸抽出工程>

抽出溶媒として1g/L過マンガン酸カリウム、及び0.5M硝酸からなる酸溶液を調製した。試料として石炭灰(石炭灰認証標準物質:JSAC0521、水銀濃度:0.140mg/kg)0.5gを50mLボトル(商品名:アイボーイ広口50mL、ポリプロピレン製、アズワン株式会社製)に採取し、続いて酸溶液25mLを添加した。酸抽出条件としては、特開2014-173878号公報の記載に従い、抽出時間は1時間とし、抽出時には超音波洗浄機(装置名:AS82GTU、アズワン株式会社製)を用いて超音波を照射した。酸抽出後の抽出溶液は、平均孔径が0.45μmのPTFEシリンジフィルター(Dismic(登録商標)-25HP045AN、東洋濾紙株式会社製)でろ過し、固形分を除去した。ろ過したろ過液は、室温まで放冷し、水銀を含有する酸抽出溶液25mLを得た。前記酸抽出溶液4mLに対して、純水90mL、硫酸(1+1)、10mL塩化スズ溶液(100g/L塩化スズ二水和物を含む2.83質量%硫酸水溶液)5mLを加え、還元酸化-冷原子吸光測定装置(装置名:Hg200、平沼産業株式会社製)を用いて水銀の含有量を測定した結果、水銀の含有量は、0.139mg/kg、変動係数(CV)は4%であり、回収率は約100%であった。

10

【0075】

<還元工程>

前記酸抽出溶液21mLに、還元剤である100g/L塩化ヒドロキシルアンモニウム0.15mL(終濃度として0.535g/L)、1M塩酸2.7mL(終濃度として0.1M)、純水4.05mLを添加し、過マンガン酸カリウムを還元し水銀含有溶液を得た。前記過マンガン酸カリウムの還元の判断としては、目視にて過マンガン酸カリウムの紫色の消失を指標とした。

20

【0076】

<水銀精製工程>

-陰イオン交換樹脂入り容器の作製-

容器として容量が5mLのプラスチックシリンジ(商品名:テルモシリンジSS-05SZ、テルモ株式会社製)を用い、プラスチックシリンジ底部に外径15mmに切断したセルロースフィルター(商品名:No.5B、アドバンテック株式会社製)を配した。続いて前記セルロースフィルター上部に、陰イオン交換樹脂(商品名:DowexTM1×2200-400、ダウ・ケミカル社製、メッシュサイズ:200以上400以下、体積350μL)の懸濁液(樹脂:純水=1:1(体積比))を展開した。約1分間、樹脂層が底面に沈降するのを待ち、上部から外径15mmに切断したセルロースフィルター(プラスチックシリンジ底部に用いたものと同形)を挿入することで樹脂を固定し、陰イオン交換樹脂入り容器(カラム)を作製した。作製した陰イオン交換樹脂入り容器は、吸引ポンプを接続したマニフォールドに設置し、5cmHgで吸引することで、平均流量が1.5mL/分間以上2mL/分間以下にて運転した。

30

40

【0077】

-陰イオン交換樹脂入り容器のコンディショニング-

作製した陰イオン交換樹脂入り容器に対して、0.1M塩酸5mLを添加した後、吸引により通液し、陰イオン交換樹脂入り容器内を平衡化させた。

【0078】

<<固定化処理、洗浄処理、及び脱離処理>>

前記還元工程において得られた水銀含有溶液を、陰イオン交換樹脂入り容器に通液することで、前記水銀含有溶液に含まれる水銀を陰イオン交換樹脂に吸着させた。次に、塩酸5mL(0.1M)、純水5mLを順次通液させて洗浄を行い、続いて、脱離溶液(100mMトリス硝酸緩衝液、pH7.5)5mLを通液し、陰イオン交換樹脂に吸着させた

50

水銀を脱離させ、水銀含有脱離溶液を得た。前記酸抽出工程と同様にして、前記水銀含有脱離溶液 4 mL を還元気化 - 冷原子吸光測定装置（装置名：Hg 200、平沼産業株式会社製）を用いて、水銀回収量を測定した。その結果、水銀の回収量は 0.097 mg/kg であり、水銀回収率は 70%（変動係数（CV）：5%、n = 4）であった。結果を表 3 に示す。また、脱離溶液に含まれる水銀以外の金属量を誘導結合プラズマ（ICP）発光分析装置を用いて測定した。結果を表 5 に示す（実施例 1）。

【0079】

<<水銀分析工程>>

- ELISA -

ELISA による測定に際し、疑似抗原タンパク質として、カドミウム（Cd）- エチレンジアミンテトラ酢酸（EDTA）- ウシ血清アルブミン（BSA）（以下、「Cd - EDTA - BSA」とも称することがある）を固定化した 96 穴マイクロプレート（商品名：ELISA & ASSAY PLATE、イワキ株式会社製）を作製した。具体的には、各ウェルに 2 µg/mL の Cd - EDTA - BSA を含む疑似抗原タンパク質溶液（50 mM 2 - モルホリノエタンスルホン酸緩衝液、pH 6.5、以下、「MES 緩衝液」とも称することがある）50 µL を添加し、4 で一晩（約 16 時間）インキュベートした。

【0080】

脱離処理で得た水銀含有脱離溶液に、終濃度が 10 µM となるように 20 mM エチレンジアミンテトラ酢酸四ナトリウム（株式会社同仁化学製）を添加して混合した。続いて、終濃度 1 nM となるように 100 nM NX2C3 抗体（特開 2014 - 2131 号公報参照）を添加し、混合した後に室温で 30 分間インキュベートして測定溶液とした。

【0081】

前記 Cd - EDTA - BSA を固定化した前記 96 穴マイクロプレートに対して、測定溶液 50 µL を添加し、37 で 15 分間反応させた。次に、測定溶液を除去して、0.02 体積% Tween 20 を含む PBS で各ウェルを 4 回洗浄した。続いて、各ウェルに対して、4 µg/mL 二次抗体（商品名：Peroxidase labeled antibody to mouse IgG（H+L）、KPL 社製）50 µL を添加し、37 で 30 分間反応させた後、測定溶液を除去し 0.02 体積% Tween 20 を含む PBS で各ウェルを 5 回洗浄した。次に、発色基質であり Peroxidase Substrate System（商品名：ABTS（登録商標）ELISA HRP Substrate、2 - component、KPL 社製）を添加し、10 分間かけて酵素反応による発色反応を行った後、停止液（商品名：Peroxidase stop solution（5×）、KPL 社製）により反応を停止した。各ウェルの吸光度は、マイクロプレートリーダー（装置名：EL808、BIO - TEK INSTRUMENTS 社製）を用いて測定した。標準曲線は、抗原なしの際の吸光度を 100% とした際のプロットについて、4 変数ロジスティック関数による回帰を行うことで作成した。その結果、水銀の回収量は 0.0980 mg/kg であり、水銀回収率は 71%（変動係数（CV）：5%、n = 4）であった。結果を表 3 に示す。

【0082】

（実施例 2）

実施例 1 において、水銀分析工程において用いた ELISA を、下記のフロー式蛍光イムノアッセイに変更した以外は、実施例 1 と同様にして、水銀の回収量、及び回収率を算出した。結果を表 3 に示す。また、水銀精製工程において得られた水銀含有脱離溶液について、誘導結合プラズマ（ICP）発光分析装置を用いて、共存金属の種類、及び含有量を測定した。結果を表 5 に示す。

【0083】

- フロー式蛍光イムノアッセイ -

抗体捕捉担体として、疑似抗原タンパク質（Cd - EDTA - BSA）を固定化したラテックス粒子（PMMA 粒子、商品名：ガンツパール GA - 100S、アイカ工業株式会

10

20

30

40

50

社製、平均粒径 $100\mu\text{m}$)を公知文献(伊達安基ら:電力中央研究所報告 V10030(2011))の「2.3 金コロイド標識抗体および担体粒子の調整」、及び佐々木和裕ら,分析化学,56,29-36(2007);佐々木和裕ら,電力中央研究所報告 V08007(2009);K.Sasakiら,Anal.Chem.,81,4005-4009(2009)、及びJ.M.Martinら、J.Immunoassay,11,31-47(1990))に従い調製した。脱離処理で得た水銀含有脱離溶液に対し、終濃度が $10\mu\text{M}$ となるように 20mM エチレンジアミンテトラ酢酸四ナトリウム(株式会社同仁化学製)を添加し混合した。続いて、終濃度が 200pM となるように 20nM NX2C3抗体(特開2014-2131号公報参照)を添加し、混合した後室温で30分間インキュベートして測定試料を得た。

10

測定操作は、フロー式蛍光イムノアッセイ装置(装置名:KinExA 3200、サピダイン社製)を用いて行った。前記測定は、各試料について以下の手順で行い、オートサンプラーによる自動測定を行った。

(1)装置内の測定用流路に抗体捕捉担体を導入

(2) $750\mu\text{L}$ 測定溶液を流速 $250\mu\text{L}/\text{分}$ 間で通液

(3) $500\mu\text{L}$ の 2nM 二次抗体(Alexa647 labeled anti-mouse IgG(H+L) goat monoclonal antibody, Jackson immunoresearch社製)を流速 $250\mu\text{L}/\text{min}$ で通液

(4)未反応抗体を1質量%ブロック試薬(N101、日油株式会社製)を含むPBS緩衝液で洗浄

20

(5)測定前後のセル内蛍光強度の差分 ΔV を相対信号値として出力

各測定では、標準曲線は、抗原なしの際の蛍光信号値を 100% とした際のプロットについて、4変数ロジスティック関数による回帰を行うことで作成した。その結果、水銀の回収量は $0.0959\text{mg}/\text{kg}$ であり、水銀回収率は 69% (変動係数(CV): 2% 、 $n=4$)であった。結果を表3に示す。

【0084】

(実施例3~22)

実施例1又は実施例2において、試料、還元工程における還元剤、洗浄工程における洗浄剤、及び水銀分析工程における免疫学的検定を、表1の還元剤、洗浄工程における洗浄剤、及び水銀分析工程における免疫学的検定に変更した以外は、実施例1又は実施例2と同様にして、水銀の回収量、及び回収率を算出した。結果を表3に示す。実施例3及び4、5及び6、並びに7及び8については、水銀精製工程後に、得られた水銀含有脱離溶液について、実施例1と同様にして、誘導結合プラズマ(ICP)発光分析装置を用いて、共存金属の種類、及び含有量を測定した。結果を表5に示す。なお、洗浄工程における洗浄液の「水」とは、水 5mL で洗浄したことを意味し、「塩酸」とは、 100mM 塩酸 5mL で洗浄したことを意味し、「塩酸及び水」とは、 100mM 塩酸 5mL で洗浄後、水 5mL で洗浄したことを意味する。また、試料のJSAC0522(石炭灰認証標準物質:JSAC0522)は、水銀を含まない(定量下限値以下 $<0.01\text{g}/\text{kg}$)。

30

【0085】

(比較例1~20)

40

実施例1又は実施例2において、試料、還元工程における還元剤、洗浄工程における洗浄剤、及び水銀分析工程における免疫学的検定を、表2の還元剤、洗浄工程における洗浄剤、及び水銀分析工程における免疫学的検定に変更した以外は、実施例1又は実施例2と同様にして、水銀の回収量、及び回収率を算出した。結果を表4に示す。また、比較例11及び12、13及び14、15及び16、並びに17及び18については、水銀精製工程後に、得られた水銀含有脱離溶液について、実施例1と同様にして、誘導結合プラズマ(ICP)発光分析装置を用いて、共存金属の種類、及び含有量を測定した。結果を表6に示す。なお、洗浄工程における洗浄液の「水」、「塩酸」、及び「塩酸及び水」の定義は、実施例1~22と同様である。また、試料のJSAC0522(石炭灰認証標準物質:JSAC0522)は、水銀を含まない($<0.01\text{mg}/\text{kg}$; 定量下限以下)。

50

【 0 0 8 6 】

また、実施例 2、実施例 4、実施例 6、実施例 8、比較例 1 2、比較例 1 4、比較例 1 6、及び比較例 1 8 について、フロー式蛍光イムノアッセイにおいて測定された相対信号値（％）を図 1 に示す。なお、標準試料 0、標準試料 0.5、及び標準試料 5 は、それぞれ $0 \mu\text{g} / \text{kg}$ 、 $0.5 \mu\text{g} / \text{kg}$ 、及び $5 \mu\text{g} / \text{kg}$ の水銀を含有する 100 mM トリス硝酸緩衝液（ $\text{pH} 7.5$ ）を用いた。

【 0 0 8 7 】

【表 1】

	試料	還元工程における還元剤		洗浄処理における洗浄液	水銀分析工程における免疫学的検定
		還元剤	終濃度 (g / L)		
実施例	1	JSAC0521	塩化ヒドロキシルアンモニウム	塩酸及び水	ELISA
	2				フロースルー式蛍光イムノアッセイ
	3			水	ELISA
	4				フロースルー式蛍光イムノアッセイ
	5			塩酸	ELISA
	6				フロースルー式蛍光イムノアッセイ
	7			なし	ELISA
	8				フロースルー式蛍光イムノアッセイ
	9	実石炭灰FA-1		塩酸及び水	ELISA
	10	実石炭灰FA-1			フロースルー式蛍光イムノアッセイ
	11	実石炭灰FA-2			ELISA
	12	実石炭灰FA-2			フロースルー式蛍光イムノアッセイ
	13	実石炭灰FA-3			ELISA
	14	実石炭灰FA-3			フロースルー式蛍光イムノアッセイ
	15	実石炭灰FA-4			ELISA
	16	実石炭灰FA-4			フロースルー式蛍光イムノアッセイ
	17	実石炭灰FA-5			ELISA
	18	実石炭灰FA-5			フロースルー式蛍光イムノアッセイ
	19	実石炭灰FA-6			ELISA
	20	実石炭灰FA-6			フロースルー式蛍光イムノアッセイ
	21	実石炭灰FA-7			ELISA
	22	実石炭灰FA-7			フロースルー式蛍光イムノアッセイ

【 0 0 8 8 】

【表 2】

		試料	還元工程における還元剤		洗浄処理における洗浄液	水銀分析工程における免疫学的検定
			還元剤	終濃度 (g/L)		
比較 例	1	JSAC0521	—	—	塩酸及び水	ELISA
	2					フロースルー式蛍光イムノアッセイ
	3				水	ELISA
	4					フロースルー式蛍光イムノアッセイ
	5				塩酸	ELISA
	6					フロースルー式蛍光イムノアッセイ
	7				なし	ELISA
	8					フロースルー式蛍光イムノアッセイ
	9	JSAC0522	—	—	塩酸及び水	ELISA
	10					フロースルー式蛍光イムノアッセイ
	11	JSAC0522	塩化ヒドロキシルアンモニウム	0.535	塩酸及び水	ELISA
	12					フロースルー式蛍光イムノアッセイ
	13				水	ELISA
	14					フロースルー式蛍光イムノアッセイ
	15				塩酸	ELISA
	16					フロースルー式蛍光イムノアッセイ
	17				なし	ELISA
	18					フロースルー式蛍光イムノアッセイ
	19	実石炭灰FA-6	—	—	塩酸及び水	ELISA
	20					フロースルー式蛍光イムノアッセイ

【 0 0 8 9 】

【表 3】

		試料		酸抽出工程			還元工程			水銀分析工程					
		種類	水銀含有量 (mg／k g)	回収量 (mg／k g)	回収率 (%)	CV n=4 (%)	回収量 (mg／k g)	回収率 (%)	CV n=4 (%)	回収量 (mg／k g)	回収率 (%)	CV n=4 (%)			
実施例	1	JSAC052 1	0.140	0.139	100	4	0.0973	70	5	0.0980	71	5			
	2									0.0959	69	2			
	3									0.0955	69	6	0.0966	69	3
	4												0.0965	69	2
	5									0.0981	71	4	0.0945	68	5
	6												0.0975	70	4
	7									0.0100	7	8	0.0126	9	7
	8												0.0110	8	10
	9	実石炭灰 FA-1	0.035	0.035	100	1	0.0280	80	10	0.0296	85	46			
	10								0.0288	82	7				
	11	実石炭灰 FA-2	0.144	0.144	100	2	0.1051	73	9	0.1007	70	9			
	12								0.1117	78	6				
	13	実石炭灰 FA-3	0.153	0.139	91	3	0.0876	63	2	0.0939	68	9			
	14								0.0926	67	4				
	15	実石炭灰 FA-4	0.181	0.177	98	4	0.1381	78	1	0.1396	79	10			
	16								0.1357	77	5				
	17	実石炭灰 FA-5	0.176	0.166	94	3	0.1145	69	2	0.1270	76	5			
	18								0.1283	77	3				
	19	実石炭灰 FA-6	0.232	0.220	95	1	0.1540	70	6	0.1687	77	11			
	20								0.1736	79	6				
	21	実石炭灰 FA-7	0.957	0.913	96	2	0.6208	68	1	0.7099	78	2			
	22									0.6977	76	8			

【 0 0 9 0 】

【表 4】

			試料	酸抽出工程			還元工程			水銀分析工程		
			水銀含有量 (mg／kg)	回収量 (mg／kg)	回収率 (%)	CV n=4 (%)	回収量 (mg／kg)	回収率 (%)	CV n=4 (%)	回収量 (mg／kg)	回収率 (%)	CV n=4 (%)
比較例	1	JSAC052 1	0.140	0.139	100	4	0.0464	33	6	0.0381	27	5
	2									0.0397	29	8
	3						0.0435	31	4	0.0312	22	5
	4									0.0329	24	3
	5						0.0424	31	3	0.0388	28	6
	6									0.0379	27	4
	7						0.0120	9	8	0.0061	4	9
	8									0.0022	2	11
	9	JSAC052 2	<0.01	<0.01	—	—	<0.01	—	—	0.0012	—	33
	10									0.0010	—	29
	11	JSAC052 2	<0.01	<0.01	—	—	<0.01	—	—	0.0041	—	28
	12									0.0033	—	6
	13						<0.01	—	—	0.0041	—	24
	14									0.0035	—	4
	15						<0.01	—	—	0.0045	—	23
	16									0.0023	—	5
	17						<0.01	—	—	0.0041	—	30
	18									0.0056	—	11
	19	実石炭灰 FA-6	0.232	0.220	95	1	0.0924	39	8	0.0488	22	7
	20									0.0046	21	9

【 0 0 9 1 】

なお、表 3 ～ 表 4 中の酸抽出工程における回収率、水銀精製工程における回収率、及び水銀分析工程における回収率は、試料に含まれる初期の水銀含有量を 1 0 0 % としたときの回収率を表す。また、水銀分析工程における水銀の回収率が、水銀精製工程における水銀の回収率を上回っている実施例及び比較例が存在するが、これは、水銀分析工程における分析操作のばらつきが原因である。

【 0 0 9 2 】

【表 5】

単位:mg/kg

	実施例			
	1及び2	3及び4	5及び6	7及び8
還元剤	塩化ヒドロキシルアンモニウム			
洗浄液	塩酸及び水	水	塩酸	なし
Mn	－	1	8	1,365
Mg	－	－	1	275
Fe	－	－	－	126
Zn	－	－	－	2.1
Pb	－	－	－	－
Al	3	4	6	591
Cd	－	－	－	－
Cu	－	－	－	2.8
Cr	－	－	－	－
Ca	1	1	7	132

【 0 0 9 3 】

【表 6】

単位:mg/kg

	比較例			
	11及び12	13及び14	15及び16	17及び18
還元剤	塩化ヒドロキシルアンモニウム			
洗浄液	塩酸及び水	水	塩酸	なし
Mn	－	2	11	1,452
Mg	－	3	2	152
Fe	－	－	－	130
Zn	－	－	－	3
Pb	－	－	－	－
Al	3	5	5	510
Cd	－	－	－	－
Cu	－	－	－	4
Cr	－	－	－	－
Ca	－	1	5	119

【 0 0 9 4 】

以上の結果から、本発明の水銀の分析方法では、従来の加熱気化 - 冷原子吸光装置、誘導結合プラズマ (ICP) 発光分光分析装置等の装置を用いて分析する場合は、約 8 時間 ~ 10 時間かかっていた測定が、水銀含有物からの酸抽出から水銀の分析まで 2 時間 ~ 3 時間という短時間で行うことができるとともに、分析には前記加熱気化 - 冷原子吸光装置

10

20

30

40

50

等の装置を使用することなく、免疫学的検定という簡便な方法により測定することができることが分かった。

【 0 0 9 5 】

低濃度 (0 . 0 3 5 m g / k g) の水銀を含む測定結果である実施例 9 及び 1 0 の結果から、免疫学的検定としては、E L I S A よりフロー式蛍光イムノアッセイの方が、変動係数の値が小さく、分析に適していることが分かった。

また、実施例 1 9 及び 2 0 の結果から、比較例 1 9 及び 2 0 の結果と比較して、還元工程で過マンガン酸カリウムを還元することにより、水銀精製工程での陰イオン交換樹脂の破損を防止できるとともに、不純物を除去することができ、これに伴い、水銀分析工程において、良好に水銀の測定ができることが分かった。

10

【 0 0 9 6 】

図 1 から、フロー式蛍光イムノアッセイに用いる測定溶液に水銀等が含まれると、相対信号値が減少することが分かり、本発明に用いるフロー式蛍光イムノアッセイにおいて、水銀の定量が可能であることが分かる。

【 0 0 9 7 】

本発明の態様としては、例えば、以下の通りである。

< 1 > 水銀含有物と、過マンガン酸カリウムを溶解した酸溶液とを、超音波を作用させながら接触させ、水銀を酸抽出する酸抽出工程と、

前記酸抽出工程において得られた水銀抽出溶液に還元剤を加えて、前記過マンガン酸カリウムを還元する還元工程と、

20

陰イオン交換樹脂を用いて、前記還元工程において得られた水銀含有溶液中の前記水銀を精製する水銀精製工程と、

免疫学的検定により前記水銀精製工程において得られた水銀含有脱離溶液中の前記水銀を分析する水銀分析工程と、を含むことを特徴とする水銀の分析方法である。

< 2 > 前記還元剤が、塩化ヒドロキシアニモニウムである前記< 1 >に記載の水銀の分析方法である。

< 3 > 前記酸溶液が、硝酸を含む前記< 1 >から< 2 >のいずれかに記載の水銀の分析方法である。

< 4 > 前記水銀精製工程が、前記還元工程において得られた前記水銀含有溶液を、陰イオン交換樹脂に通液し、前記水銀含有溶液中の少なくとも水銀を前記陰イオン交換樹脂に固定化する固定化处理と、

30

前記陰イオン交換樹脂に洗浄液を通液し、前記陰イオン交換樹脂を洗浄する洗浄処理と、

脱離溶液を前記陰イオン交換樹脂に通液し、前記水銀を前記陰イオン交換樹脂から脱離させる脱離処理と、を含む請求項< 1 >から< 3 >のいずれかに記載の水銀の分析方法である。

< 5 > 前記洗浄液が、水、塩酸、及び塩酸及び水から選択される少なくとも 1 種である前記< 4 >に記載の水銀の分析方法である。

< 6 > 前記脱離溶液が、緩衝液を含有する前記< 4 >から< 5 >のいずれかに記載の水銀の分析方法である。

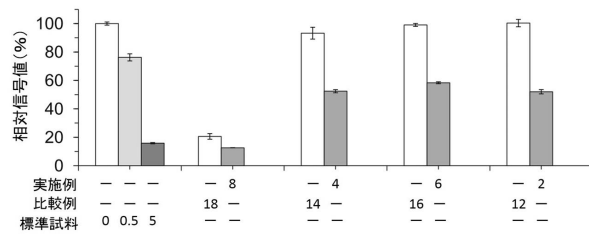
40

< 7 > 前記免疫学的検定が、酵素免疫測定方法、及びフロー式蛍光イムノアッセイのいずれかである前記< 1 >から< 6 >のいずれかに記載の水銀の分析方法である。

< 8 > 前記水銀含有物が、石炭灰、及び汚泥の少なくともいずれかである前記< 1 >から< 7 >のいずれかに記載の水銀の分析方法である。

< 9 > 前記免疫学的検定における変動係数が、1 0 % 以下である前記< 1 >から< 8 >のいずれかに記載の水銀の分析方法である。

【図 1】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.

F I

G 0 1 N 33/566

(56)参考文献 特開 2 0 1 4 - 1 7 3 8 7 8 (J P , A)

特開 2 0 1 4 - 0 0 2 1 3 1 (J P , A)

特開 2 0 0 3 - 0 6 3 8 2 6 (J P , A)

特開 2 0 0 4 - 3 2 3 5 0 8 (J P , A)

特開 2 0 0 5 - 2 0 1 8 3 1 (J P , A)

特開 2 0 0 4 - 2 7 1 2 0 2 (J P , A)

米国特許第 0 5 7 3 3 7 8 6 (U S , A)

DATE, Y. et al., Trace-Level Mercury Ion (Hg²⁺) Analysis in Aqueous Sample Based on Solid-Phase Extraction Followed by Microfluidic Immunoassay, Analytical Chemistry, 2013年, Vol. 85, No. 1, pp. 434-440

伊達安基ほか, ナノ・マイクロテクノロジーを利用した生物計測技術の開発(その3) - 水銀分析のための固相抽出法とマイクロイムノアッセイ -, 電力中央研究所報告, 2012年 6月, V11045, pp. 1-22

伊達安基ほか, ナノ・マイクロテクノロジーを利用した生物計測技術の開発(その4) - 固相抽出法の改良と標準環境試料の分析, 電力中央研究所報告, 2013年 5月, V12010, pp. 1-20

正木浩幸ほか, ICP発光分析法による石炭灰中水銀の測定法の開発, 電力中央研究所報告, 2013年 4月, V12002, pp. 1-26

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G 0 1 N 33/48 - 33/98

G 0 1 N 31/00

J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)

C A p l u s (S T N)

专利名称(译)	汞的分析方法		
公开(公告)号	JP6552403B2	公开(公告)日	2019-07-31
申请号	JP2015245572	申请日	2015-12-16
申请(专利权)人(译)	一般財団法人電力中央研究所		
当前申请(专利权)人(译)	一般財団法人電力中央研究所		
[标]发明人	伊達安基		
发明人	伊達 安基		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/543 G01N31/00 G01N1/10 G01N33/566		
FI分类号	G01N33/53.S G01N33/543.501.A G01N31/00.S G01N1/10.F G01N1/10.C G01N33/566		
F-TERM分类号	2G042/AA01 2G042/BC11 2G042/CB06 2G042/DA03 2G042/EA01 2G042/EA02 2G042/FA04 2G042/FA05 2G042/FB02 2G052/AA20 2G052/AB22 2G052/AC25 2G052/AD12 2G052/AD26 2G052/AD46 2G052/ED07 2G052/FC15 2G052/GA30		
代理人(译)	广田幸一		
其他公开文献	JP2017111010A		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

需要解决的问题：提供汞回收率高的汞分析方法，能够快速简单地分析汞。溶剂：汞的分析方法包括：通过将含汞材料加入汞中来提取汞的酸提取方法在其上操作超声波的同时接触溶解高锰酸钾的酸溶液;通过在酸提取过程中获得的汞提取溶液中加入还原剂来还原高锰酸钾的还原方法;用于净化还原过程中获得的含汞溶液中的汞的汞纯化方法;和汞分析过程，用于分析汞纯化过程中通过免疫分析方法获得的含汞解吸溶液中的汞。图纸：无

(19) 日本国特許庁 (JP)		(12) 特 許 公 報 (B2)		(11) 特許番号 特許第6552403号 (P6552403)	
(45) 発行日 令和1年7月31日 (2019. 7. 31)		(24) 登録日 令和1年7月12日 (2019. 7. 12)			
(51) Int. Cl.		F I			
G O 1 N 33/53 (2006. 01)		G O 1 N 33/53		S	
G O 1 N 33/543 (2006. 01)		G O 1 N 33/543		S O 1 A	
G O 1 N 31/00 (2006. 01)		G O 1 N 31/00		S	
G O 1 N 1/10 (2006. 01)		G O 1 N 1/10		F	
G O 1 N 33/566 (2006. 01)		G O 1 N 1/10		C	
請求項の数 8 (全 22 頁) 最終頁に続く					
(21) 出願番号 特願2015-245572 (P2015-245572)		(73) 特許権者 000173809 一般財団法人電力中央研究所			
(22) 出願日 平成27年12月16日 (2015. 12. 16)					
(65) 公開番号 特開2017-111010 (P2017-111010A)		東京都千代田区大手町 1 丁目 6 番 1 号			
(43) 公開日 平成29年6月22日 (2017. 6. 22)		(74) 代理人 100107515 弁理士 廣田 浩一			
審査請求日 平成30年8月23日 (2018. 8. 23)		(74) 代理人 100107733 弁理士 渡 良広			
特許法第30条第2項適用 平成27年6月17日、一般社団法人日本環境化学会、第24回環境化学討論会、討論会講演要旨集、第155頁		(74) 代理人 100115347 弁理士 松田 泰輔子			
		(72) 発明者 伊達 安基 千葉県我孫子市我孫子 1 G 4 G 一般財団法人電力中央研究所 環境科学研究所内			
		審査官 磯田 真美			
		最終頁に続く			
(54) 【発明の名称】 水銀の分析方法					