

環境水中微量無機化学種のための現場固相抽出法の開発 とその汽水環境への適用

奥村 稔

要旨 環境水中の微量化学種を現場で捕集・濃縮する方法として、小形カラム（カートリッジ）を利用した現場固相抽出法を開発した。この方法は、採水現場で試料水をシリンジに採取後、小形カラムに捕集濃縮するものであり、捕集操作は動力源を用いずに手動のみで迅速・簡便に行える。小形カラムに捕集された化学種は長期間安定であるため、遠隔地でのサンプリングも容易である。この捕集・溶離の操作システムは閉鎖系になっており外部の空気との接触や汚染の心配のないことから、還元性化学種（硫化水素、鉄（II）等）や重金属類、一般に水試料として長期間保存の難しい栄養塩類（リン酸、アンモニア等）について、それぞれ選択性のある現場固相抽出法を創意・開発した。これらの方法はいずれも淡水から汽水、海水までの広い環境水に適用可能である。汽水湖中海の酸化還元変動水域に適用し、夏季、湖底付近に生成する硫化水素の動きとともにその影響を強く受ける鉄（II）の挙動を明らかにした。

1. 緒言

近年、環境水（河川水、湖沼水、地下水等）の水質悪化が懸念されている。他の多くの地球環境問題と同じように、これは人間活動が水環境に影響を及ぼした結果であり、その保全や水質の改善が検討されている。特に、汽水湖沼のような閉鎖性水域では富栄養化を招きやすく、一度富栄養化になるとアオコや赤潮現象として視覚的にもとらえることができるように、植物プランクトンの急激な増殖が起こるとともに著しい水質の悪化を招く。このような富栄養化現象は、外部負荷や内部負荷による栄養塩類（リン酸態リンや硝酸態、亜硝酸態、アンモニア態窒素等）の濃度上昇に起因する。夏季、水温躍層や塩分躍層を形成して成層している水域では、水の停滞している湖底付近が汚濁有機物質の酸化分解に伴う

溶存酸素の減少により還元的な水環境となり、鉄（II）や硫化水素をはじめとする還元性化学物質が順次生成される [1]。従って、栄養塩類や還元性化学物質のスペシエーション、濃度変化や挙動を明かにすることによって、その水域の水質の汚濁状況、酸化還元環境を把握、評価することが可能である。しかし、このような天然水・環境水試料を分析する際には、試料の特性として次に示すような本質的な問題点がある。

- 1) 栄養塩類は、植物プランクトンへの取り込みや、その分解により濃度が変化しやすく、保存が難しい。
- 2) 還元性化学物質は空気に触れるとその酸化状態が変化しやすく、保存が難しい。
- 3) 濃度の低い化学種は、保存中に容器等

への吸着が起りやすく、また外部からの汚染を受けやすい。

4) 濃度の低い化学種の定量には、前濃縮を必要とする場合がある。

このために、採水後直ちに分析をするか、あるいは酸などの添加により濃度を変化させることなく試料水を運搬、保存する方法が推奨されている [2, 3]。

筆者らはこのような問題点を解決するために、採水後現場で直ちに簡便に定量できる方法として、水中の溶存酸素、リン酸イオン、アンモニア、硫化水素について現場目視定量法を開発し、環境水に適用してきた [4~7]。この方法は、特別の装置を用いない簡易現場分析法であり、瞬時に分析できることから、水質の現況を現場で知ることができる。

一方、濃度の低い化学種や化学形の変化しやすい化学種に対しては、現場で化学形を変えることなく捕集濃縮し長期間保存できる現場固相抽出法を開発してきた。この方法は、小形カラムを用いており、現場で迅速、簡便に操作できる捕集濃縮法である。試料水を採水器で採取後、直ちに現場で試料水を採水器からチューブを介してシリンジ（注射器）に移し、このシリンジを用いて小形カラムに通水、捕集する。この一連の操作のため、空気との接触や外部からの汚染の心配がない。この捕集濃縮操作は特別の動力を用いずに手動でできることから、不安定な小形ポート上でも容易に行える。また、目的化学種がカラムに化学形、酸化状態等を変えることなく捕集・濃縮され、さらに長期間安定であることから、通常の水試料を研究室に持ち帰って分析する場合と比べて運搬、保存が非常に容易であり、遠隔地でのサンプリングが可能となる等、大きなメリットとなっている。

近年、主に有機物質を対象に発展してきた固相抽出法は、溶媒抽出法と同様に、主

に機器分析に先立つ前処理の一環として特定の化学種や微量化学種を分離・濃縮する手段として用いられており、操作の簡便性と有害な有機溶媒を大量に用いない環境に適合した方法である。筆者らの提案する現場固相抽出法では、固相抽出法の持つ利点を生かし、さらに現場での迅速・簡便な捕集・濃縮操作性、試料サイズの小形化とともに化学種の化学形、酸化状態等を変えることなく長期間安定に保存・保管できる特長をもつ。

本論文では、湖沼等の富栄養化や水質悪化の際に観られる栄養塩類や鉄(II)、硫化水素のような還元性化学物質等に対する迅速、簡便な現場固相抽出法とその環境水、主に汽水湖中海・宍道湖湖水への適用について述べる。

2. 固相抽出法の原理

固相抽出法では固相と水相の2相間に溶質（目的物質）を分配させる。このとき、水より親和性の高い固相に目的物質を吸着捕集させ、次にその目的物質を親和性の高い溶媒で溶離する。固相抽出法は基本的にこの2段階の過程からなる。このため、抽出を効果的に行うためには、水と目的物質、水と固相との相互作用は弱くてもよいが、目的物質と固相との相互作用は強いことが必要である。また、試料水中に溶存する種々の化学物質は固相への吸着に影響する。

吸着には、基本的に次の相互作用が働くと考えられている [8]。

- 1) ファンデルワールス力に基づくもの（無極性相互作用）
- 2) 水素結合及び双極子に基づくもの（極性相互作用）
- 3) 陽-陰相互作用に基づくもの（イオン（交換）相互作用）

水中の目的物質が無極性成分の場合に

は、固相として疎水的性質を持つ活性炭、スチレン-ジビニル重合体、オクタデシル基やフェニル基を化学結合したシリカゲルを用いて疎水的相互作用によって目的成分を吸着捕集できる。また、水中の目的成分がイオン性を持つ場合には、イオン交換樹脂や陽イオン交換性あるいは陰イオン交換性官能基の化学結合型シリカゲルを用い、静電的相互作用によって目的物質を吸着捕集できる。

筆者らは固相として、活性炭やオクタデシル基やイオン交換性官能基を化学結合したシリカゲルを用いて研究を進めてきた。また、特に目的成分に親和性の高い化学物質を固相表面に担持して、目的物質に対する選択性を高める試みもしてきた。

抽出媒体となる固相の性質として必要なことは、次の点である。

1) 化学的に安定している。2) 目的物質の抽出が迅速にできる。3) 目的物質の溶離が迅速にできる。4) 吸着容量が大きい

固相抽出法では、目的物質の分離捕集と同時に簡単に濃縮ができる利点がある。大量の試料水から目的物質を吸着捕集し、少量の溶離液でそれを溶離する。試料水量と溶離液量の比が大きいほど濃縮倍率を上げることができる。このように濃縮倍率を上げるには、目的物質と溶離液との相互作用が強いことが必要であるが、それと同時に吸着容量の大きいことも条件になる。

また、固相抽出法に用いられる操作手法には、カラム法、膜法、バッチ法、濾過法が利用されている。狭義における固相抽出法はカートリッジやデスクを用いるカラム法である。膜法については、カラム長を極端に短くしたカラム法とみることができる。これらの方法は、使用目的に応じて使い分けられている。

3. 現場固相抽出法

筆者らはカラム法による固相抽出法の手法を利用して、サンプリング現場で簡便迅速に前濃縮できる現場固相抽出法を開発してきた。この方法では、どのような場所でも（例えば、動力電源の無いような狭い小形船上や研究室から遠く離れたフィールド等）、目的物質の吸着捕集操作が迅速、簡便にできるように、シリンジと小形カラム（カートリッジ）を用いて手動による操作を行っている。

現場固相抽出法の一般的な操作は次の通りである。1) 小形カラム固相のコンデショニング、2) シリンジによる試料水の分取、3) 液性の調整、4) 捕集、5) 洗浄、6) 溶離。

これらの操作のうち、2) ~ 4) 捕集はサンプリングの現場で行う。小形カラムとして Sep-Pak カートリッジを用いたときの一連の操作を図1に示す。

1) のコンデショニングでは、疎水性の固相を使用する場合、エタノールなどの親水性の溶媒を通して、固相を水になじませておく必要がある。このコンデショニングは非常に重要で、この処理をしないと疎水性効果による吸着が十分に起こらない。

2) において、試料水をシリンジに採る。筆者らは、試料水のサンプリングには北原式採水器を用いており、試料水をこの採水器からビニールチューブを介して直接にシリンジに分取する。この際、次にシリンジに添加する調整液と試料水との混合を容易にするために、あらかじめシリンジに攪拌用ガラスビーズを入れておく。

3) の液性調整では、適当な液性調整液を添加することにより試料水の液性調節 (pH 等) や目的物質を吸着しやすい化学形 (錯体、イオン対等) に変える。

4) の捕集において、目的物質と固相との強い親和性と吸着の速さは非常に重要である。この現場固相抽出法では、通常 10~25 ml/min の比較的大きな流量で試料水をシリ

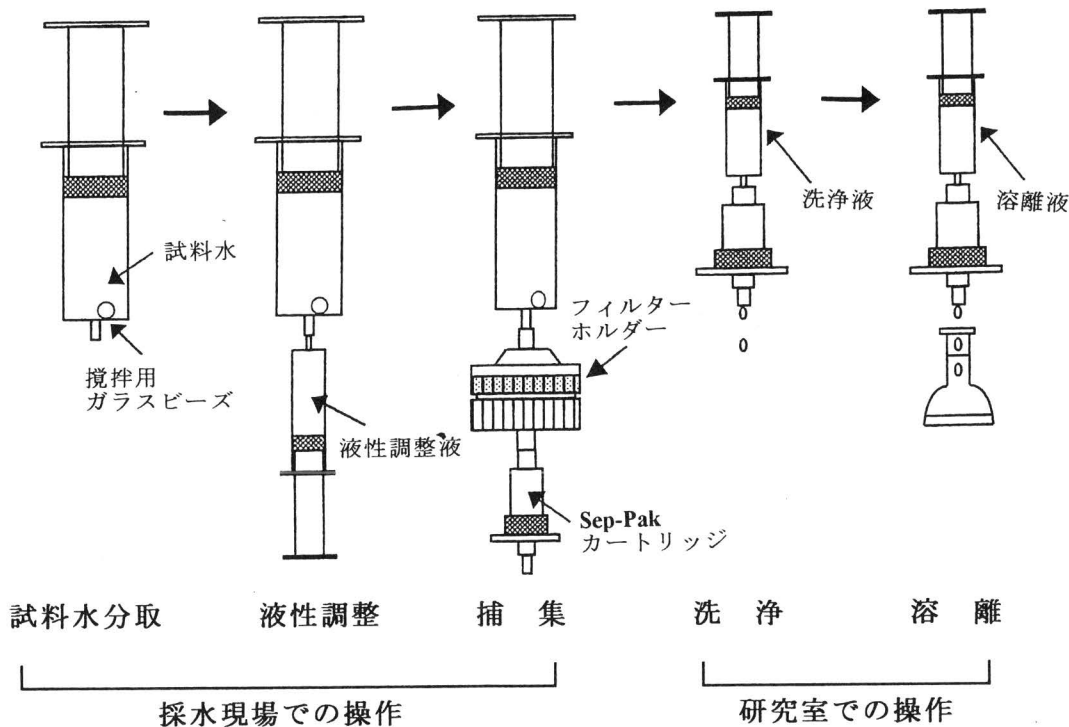


図1 現場固相抽出法の操作

ンジに通す。このため親和性の弱い物質や吸着の遅い物質は完全には保持されず、短い小形カラムから漏出する。5)の洗浄することによって、次に続く分析の際の妨害物質を排除して目的物質だけを固相中に残すことができる。この操作は、分析の際他の物質による妨害等がみられなければ、省くことができる。

6)の溶離では、濃縮効果を上げるために、できるだけ少ない液量で目的物質を溶離できることが必要である。また、溶離液としては、有害な溶媒を用いず、酸、塩基溶液、アルコール等を用いる。

現場固相抽出法では、捕集操作をサンプリングの現場で行うことに特長がある。これは、サンプリング後急速にその化学形や濃度の変わりやすい酸化還元物質、栄養塩類、重金属などをシリンジに分取後、直ちに化学形を変えることなく小形カラムに捕

集するためであり、このために捕集時の流量に工夫が必要となる。通水時に外部環境との接触を断つためにシリンジを用い、大きな流量(10~25 ml/min)で捕集を行う。この大きな流量は、過酷なフィールド条件下で短時間に捕集操作を完遂するためにも必要である。捕集操作はどのような現場にも対応できるように全て手動で行うが、このために特別の動力電源を必要としなく、また小形船上のような揺れる狭い場所でも操作が可能である。溶離操作は小形カラムを研究室に持ち帰り行う。このため、捕集された目的物質の安定性も非常に重要である。目的物質は長時間(通常は1ヶ月以上)小形カラム中で安定であるような化学形として捕集する必要がある。一般に、遠隔地でサンプリングを行った場合、多数の大量水試料を分析のできる研究室まで運搬する必要がある(水試料に特別の処理をしなけ

れば、目的物質の化学形や濃度が変化することが多々ある)。しかし、現場固相抽出法を用いれば、目的物質の化学形を変えずに、大量水試料を小形カラムへと試料サイズを小さくして、容易に研究室に持ち帰って溶離、定量をすることができる。

4. ジルコニウム担持活性炭を用いた固相抽出法

リン酸イオンはジルコニウムイオンとの間に難溶性の化合物を生成する。このように、ジルコニウムはリン酸イオンに対して化学的な親和性が強いことから、ジルコニウムを含む媒体はリン酸イオンに対して選択性のある吸着媒体として作用が期待できる。筆者らは、活性炭表面にジルコニウムを担持させてジルコニウム担持活性炭(Zr-C*)を創製した。

4. 1 ジルコニウム担持活性炭の調製

活性炭は一般に疎水性であり、その表面に広い細孔分布とカルボキシル基や水酸基等の多種の官能基を持つ吸着媒体である。そのため、疎水性を利用して非極性分子の吸着や、極性を持つ化学種の吸着が行われてきた。水中微量金属については、活性炭への直接吸着、金属キレートとして、あるいはキレート剤を活性炭に担持して捕集吸着する研究が濃縮・分離を目的としてされてきた [9]。しかし、高濃度金属イオンの吸着挙動については、不明の点が多く、ジルコニウム担持活性炭を調製する目的で、活性炭へのジルコニウムの吸着特性を調べた。

ジルコニウム(ジルコニウムイオンとして溶存)の吸着量はpHの増大と共に大きくなり、pH 1.6で最大になる。しかし、さらにpHが増大すると沈殿が生じる。pH 1.6で、吸着平衡には約80時間を要する。pH

1.6における各種活性炭(粉末活性炭、粒状活性炭)によるジルコニウムの吸着を調べた[10]。活性炭によるジルコニウム吸着量 Q {活性炭(C*) 1g当たりのジルコニウム吸着量mg}と水溶液中のジルコニウム濃度 $[Zr]$ (mgZr/l)との間には次のFreundlichの吸着等温式が成り立つ。ここで、 $n = 1.4$ である。

$$\log Q = \log K + (1/n)\log [Zr]$$

このように、活性炭へのジルコニウム吸着量がFreundlichの吸着等温式に従うことから、水溶液中のジルコニウム濃度を調節することにより、任意のジルコニウム担持量を持つZr-C*の調製が可能である[10]。

陽イオン交換樹脂へのジルコニウムの吸着は、ジルコニウムが陽イオンの ZrO_2^{2+} として溶存する水素イオン濃度0.5~3Mの範囲で起こり、pH 1.4以上では吸着はほとんど起こらない。陽イオン交換樹脂のイオン交換容量から、ジルコニウムは2価陽イオンとして樹脂に吸着されることが分かった。従って、pH 1.6付近における活性炭へのジルコニウムの担持は、疎水性の活性炭表面に無電荷あるいは無電荷に近いジルコニウムの重合化学種が吸着する結果と推察される [10]。

4. 2 ジルコニウム担持活性炭ベッドを用いたリン酸イオンの捕集濃縮

粉末活性炭製Zr-C* [11]によるリン酸イオンの吸脱着に及ぼすpHの影響を図2に示す。この図には後述するジルコニウム担持Sep-Pakによるリン酸イオンの吸脱着についても併せて示した。Zr-C*について、リン酸イオンはpH 8以下で定量的に吸着される。しかし、pHが8以上になると吸着は急激に減少する。活性炭自体へのリン酸イオンの吸着はpH 3~7の範囲で20%以下であった。このことから、Zr-C*への吸着

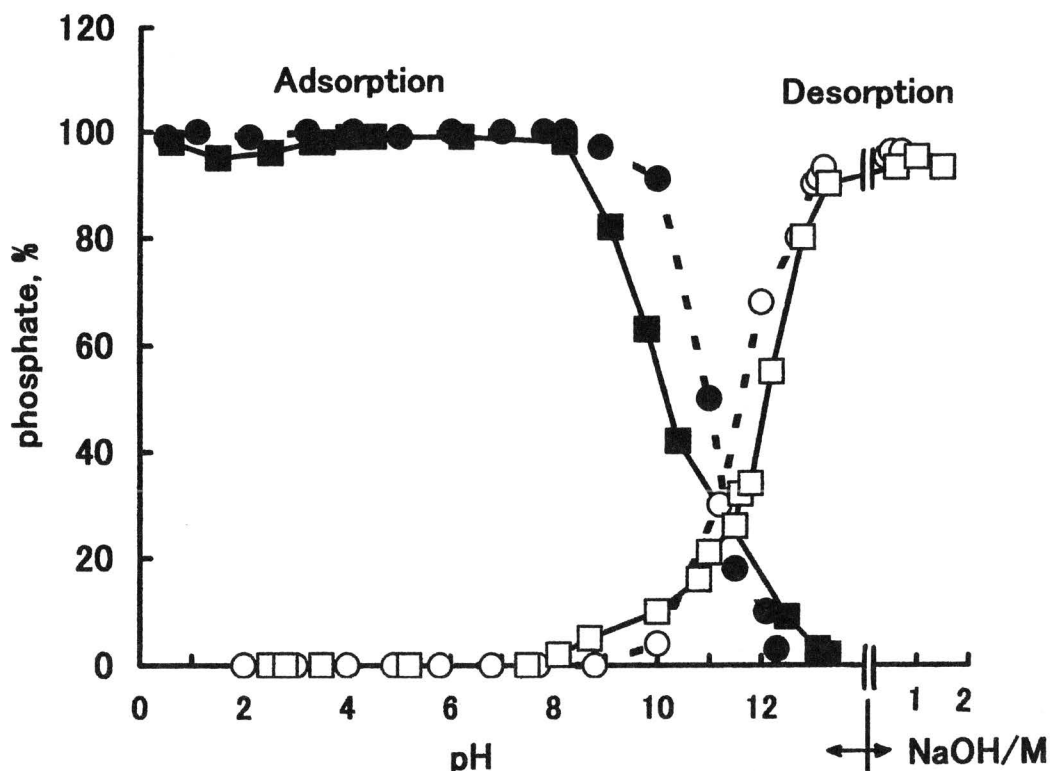


図2 リン酸イオンの吸着・脱着に及ぼす pH の影響
 ジルコニウム担持活性炭(Zr-C*): ■ 吸着、□ 脱着
 ジルコニウム担持 Sep-Pak(Zr-SP): ● 吸着、○ 脱着

はジルコニウムとリン酸イオンの反応に基づくものと考えられる。一方、脱着については pH の増加とともに大きくなり、pH 13.5 以上で定量的に脱着する。この結果は、酸性溶液中では Zr-C* 表面のジルコニウムはリン酸イオンの吸着サイトとして働き、一方塩基性が強くなるとジルコニウムに結合していたリン酸イオンは水酸化物イオンによってイオン交換的に脱着されるものと推察される。このようにリン酸イオンの吸着と脱着は溶液の pH を調節するだけで簡単に行うことができる。バッチ法実験による吸着飽和量は、pH 2.6 以下の酸性溶液で最大で一定の 3.8 mgP/0.5 gZr-C* であった。

現場固相抽出法を考えると、吸着速度

は非常に重要な因子となる。Zr-C* によるリン酸イオンの吸着では迅速な吸着も大きな特長である。吸引濾過フロー法（メンブレンフィルター（47 mm 径）上に Zr-C* ベッド（層高約 3 mm）を作り、そこに試料溶液を通す）で高速通水（流量 100 ml/min）したときでも吸着量は 3 mgP/0.5gZr-C* に達し、迅速な吸着捕集が可能であることを示している。メンブレンフィルター上の Zr-C* ベッドを用いる吸引濾過フロー法は短時間にリン酸イオンの高濃縮を実現できる。この方法は琵琶湖湖水（琵琶湖大橋付近の底層水）のリン酸態リンの分析に適用し、500 ml の試料水を前濃縮することにより通常のリブデン青吸光度法では定量不可能な 0.2~1.2 μg/l の低濃度リンの定量結

果を得ることができた [12]。しかし、この Zr-C* による捕集濃縮法を極めて低濃度のリン酸イオンに適用するときには、ブランク値を補正する必要がある。これは、活性炭に微量含まれるリンに由来する (活性炭をあらかじめ塩酸等で十分に洗浄しても完全には除去できない [12])。また、本法は吸引ポンプ等を利用するために電源のない場所や動力電源を持ち込めない狭小な現場ではその性能を十分に発揮できない。次節で述べるように、シリンジを用いて試料水を Zr-C* 充填の小形カラムに通水する現場固相抽出法は電源のない狭小な現場に適した方法である。

4. 3 小形カラム固相抽出法

ガラス製小形カラムは球状のジルコニウム担持活性炭 (石油ピッチ製球状活性炭 [0.2~0.4 mm 径]) を使用し 1.0 g を充填して調製した (カラム: 内径 4 mm、長さ 15 cm; 層高 10 cm)。充填する活性炭については粉

末活性炭及び粒状活性炭も検討したが、いずれもカラム法には適さなかった。粉末活性炭は、試料水の通水が不可能であった。また、粒状活性炭では高速で通水したときリン酸イオンが定量的に捕集されなかった。このように、カラムに充填する形状は流量や捕集に強く影響し、非常に重要である。

小形ジルコニウム担持活性炭カラムによるリン酸イオンの現場固相抽出法は次の通りである [13]。シリンジに分取した試料水 50 ml を塩酸で pH 2 に調節する。シリンジとカラムをビニールチューブで接続し、この溶液を流量約 20 ml/min でカラムに通してリン酸イオンを捕集する。カラムに試料溶液を流量 500 $\mu\text{gP/l}$ と 100 $\mu\text{gP/l}$ で通水し、その時の漏出を調べたところ、リン酸イオン濃度 500 $\mu\text{gP/l}$ の溶液では 150 ml 流出まで、100 $\mu\text{gP/l}$ の溶液では 600 ml まで完全に捕集された。この結果から、このカラムのリン酸イオン吸着飽和量は約 60 μgP であ

表 1 ジルコニウム担持活性炭カラムを用いる現場固相抽出法の環境水 (淡水、汽水) への適用 [13]

試料水	PO ₄ -P濃度($\mu\text{g/l}$)	
	本法 ^{a)}	従来法 ^{b)}
中海 (塩分25.8%)	28.1	30.2
新加茂川 (塩分4.7%)	34.9	34.9
旧加茂川 (塩分<0.5%)	36.8	38.6
山居川 (塩分<0.5%)	57.3	57.9

a) 試料水: 50 ml, b) 直接に吸光光度法 (モリブデン青法、50 mmセルを使用) で定量した。

り、通常環境水に十分適用できることを示している。捕集されたリン酸イオンは塩基性溶液で溶離される。しかし、溶離液として水酸化ナトリウム水溶液を用いたとき、その濃度が高いと活性炭表面が分解され、流出液が薄い黄褐色を帯びる。このため、水酸化ナトリウム濃度はできるだけ低い方がよく、1.0 mol/l が適当である。このときの溶離液量は 15 ml で十分である。

この現場固相抽出法を汽水湖中海や都市河川（鳥取県米子市新加茂川及び旧加茂川、島根県松江市山居川）に適用した例を表 1 に示す。捕集操作は試料採取後に現場で行い、カラムを研究室に持ち帰った後、溶離操作後定量したものである。また、比較のために同じ試料水を研究室に持ち帰り、4 時間以内にモリブデン青法（5 cm セル使用）で直接定量した結果も載せている。本法と直接定量法はよく一致している。

カラム中に捕集されたリン酸イオンは、カラム両端をゴムキャップ等で密栓すれば少なくとも 1 週間は安定である。遠隔地などで迅速にカラムを持ち帰ることができない場合、試料採取後分析までに長期間保管する必要のある場合に十分適応できる。

ジルコニウムはリン酸イオンと同様にフッ化物イオンに対しても親和性が高いため、この Zr-C* は水中フッ化物イオンの捕集・濃縮にも有効である [14, 15]。

5. Sep-Pak カートリッジを用いた現場固相抽出法

前節の小形ジルコニウム担持活性炭カラムは小形のカラムから充填剤まで全て自製した。しかし、市販の充填剤の充填されているカラムが利用できるとサンプリングの準備等で忙しいときには重宝である。著者らが現在サンプリングに多用しているのは、このような市販されている Sep-Pak

カートリッジ（Waters 社）である。一般に市販されているものには、液体クロマトグラフィーでみられるように順相用と逆相用のものが用意されている。順相用充填剤には活性シリカ、アルミナ、陽イオン交換基結合型シリカゲル、陰イオン交換基結合型シリカゲル、アミノプロピル基結合型シリカゲル等があり、逆相用充填剤にはオクタデシル基結合型シリカゲル、オクチル基結合型シリカゲル、エチル基結合型シリカゲル等がある [8]。

著者らは逆相用としてのオクタデシル基結合型シリカゲル充填 Sep-Pak カートリッジと順相用としての陽イオン交換基結合型シリカゲル充填 Sep-Pak カートリッジを用いて現場固相抽出法を開発してきた。ここではこれらの Sep-Pak カートリッジを用いた方法を中心に述べる。

5. 1 オクタデシル基結合型シリカゲル充填 Sep-Pak カートリッジ (Sep-Pak C18) による現場固相抽出法

充填剤のオクタデシル基結合型シリカゲルは基材のシリカゲル表面にオクタデシル基 (C18) を化学的に結合したものである ($-\text{Si}(\text{CH}_3)_2\text{C}_{18}\text{H}_{37}$)。炭素鎖が長いことから、C18 は入手可能な固相中では最も無極性のものであり、疎水性効果のメカニズムにより捕集される無極性の目的物質を最も吸着しやすい固相である。しかし、基材にシリカゲルを用いているために、表面の非結合シラノールによる二次的なイオン性相互作用も考えられる。

無機イオンの場合、無極性になるような化学種としては錯体形成あるいはイオン対（イオン会合）形成によるものである。ここでは硫化水素と鉄(II)イオンの現場固相抽出法について述べる。

5.1.1 水中硫化水素の捕集・濃縮

従来、水中硫化水素は空気との接触により容易に酸化されるために、試料水採取後直ちに分析できないときには試料水に酢酸亜鉛を加えて硫化亜鉛として固定・保存された[2]。しかし、このような処理をした場合、大量の硫化物固定試料水を分析する研究室に運搬する必要がある。この点、現場固相抽出法ではシリンジに試料水を採取し、直ちに Sep-Pak カートリッジに通水するために空気酸化を防ぐことができる。

水中硫化水素の現場固相抽出法は[16]、次の原理による。N,N'-ジメチル-p-フェニレンジアミンは鉄(III)の存在下で硫化物イオンと反応してプラスに荷電したメチレンブルーを生成する[17]。このメチレンブルーは高濃度に存在する塩化物イオンと無電価のイオン対を形成し、これが疎水性効果により固相 C18 に吸着捕集される。

[操作法] Sep-Pak C18 カートリッジをメタノールでコンデショニングする。試料水 50 ml をシリンジに分取し、混合ジアミン溶液 (6 M 塩酸に N,N'-ジメチル-p-フェニレンジアミン、塩化鉄(III)と塩化マグネシウムを溶解した溶液) を添加する。20 分間静置後発色した溶液を Sep-Pak C18 カートリッジに通し、メチレンブルーを捕集する。5 ml のメタノール-塩酸混合溶液 (メタノール : 0.01M 塩酸 = 3 : 2) で溶離する。流出液を波長 659 nm の吸光度測定し、定量する。

メチレンブルーの溶離はメタノール-塩酸混合溶液の使用が最適であった。アセトン及びクロロホルムによる溶離も試みたが、定量的に溶離・回収できなかった。メタノールのみ溶離液として用いると定量的に溶離できたが、溶出液中に沈殿が生じた。この沈殿物は、混合ジアミン溶液中に高濃度に溶存する鉄(III)イオンに因るものと考えられ、塩酸の添加により防ぐことが

できた。また、このまま海水や汽水試料に適用すると、メチレンブルーの発色は塩分の影響を強く受けてプラス誤差を与える。これはマグネシウムイオンに因ることが分かった。混合ジアミン溶液中に塩化マグネシウムを含まないと、試料水の塩分の増加と共に吸光度が大きくなる (海水試料では約 25 % の増加)。混合ジアミン溶液中に塩化マグネシウムを添加することにより増感効果がみられ、また淡水から海水までの様々の塩分をもつ試料水に適用できるようになった。この方法では、捕集時の流量及び溶離時の流量が共に 30 ml/min であっても定量的に捕集および溶離ができる。また、メチレンブルーを保持したカートリッジは少なくとも一ヶ月間安定に保存できるので、十分に現場法として用いることができる。

5.1.2 鉄(II)イオンの捕集・濃縮

水中の鉄(II)イオンは空気酸化を受けやすく、試料水を保存することが困難である。採水後直ちに現場で分析を行うか、あるいは 1,10-フェナントロリンと安定な錯体を形成させ、この試料溶液を持ち帰るのが一般的である[2]。このため、現場固相抽出法で簡便に捕集濃縮、長期間保管できれば非常に都合がよい。

鉄(II)イオンの現場固相抽出法[18]は次の原理による。鉄(II)イオンはフェロジン (3-(2-pyridyl)-5,6-di(p-sulfophenyl)-1,2,4-triazine disodium salt) と赤紫色の錯イオンを作る[19]。これと酢酸イオンとでイオン対を形成させた後、イオン対を固相 C18 に疎水性効果により捕集する。

[操作法] Sep-Pak C18 カートリッジを希塩酸で洗浄後メタノールでコンデショニングする。試料水 50 ml をシリンジに分取し、フェロジン溶液と酢酸-酢酸ナトリウム溶液を順次添加する。ここで酢酸-酢酸ナトリウム溶液は緩衝溶液 (pH 4.5) とし

て、また酢酸イオンは鉄フェロジン錯体の対イオンとしても働く。2分後、発色した溶液を Sep-Pak C18 カートリッジに通し、イオン対を捕集する。さらに、アセトン-塩酸混合溶液 (アセトン:0.1M 塩酸=7:3) 5 ml を通し、溶離する。波長 562 nm で流出液の吸光度を測定し、定量する。

鉄(II)イオンとフェロジンは pH 3~10 の範囲で 1:3 の安定な錯イオン ($\text{Fe}(\text{FZ})_3^{2+}$) を形成する。pH を塩酸や水酸化ナトリウムで pH 4.5 に調節した錯イオン溶液を固相 C18 に通しても、捕集はできなかった。しかし、この水溶液に過塩素酸イオンや酢酸イオンが溶存すると、錯イオンは C18 に定量的に捕集された。これは、プラスに荷電している錯イオンが陰イオンである過塩素酸イオンや酢酸イオンと無電荷のイオン対を形成し、C18 に疎水性効果の働きにより捕集されたものと考えられる。このように、本法では対イオンとして酢酸イオンを用いたが、この酢酸イオンはまた緩衝液としても作用している。

溶離液にはアセトン-0.1 M 塩酸混合溶液を用いた。アセトンのみでも溶離はできるが、塩酸が添加されると溶離効果は一層増大する。

本法は塩分の影響を全く受けず、またカートリッジに捕集された鉄(II)イオンは少なくとも 1 ヶ月は安定である。

5.1.2 亜硫酸イオンとチオ硫酸イオンの同時捕集・濃縮

前節では、還元性化学種である硫化水素及び鉄(II)イオンについてそれぞれ選択的に固相抽出する方法を述べた。固相抽出法ではその原理から特定の化学種についての濃縮は可能である。しかし複数の化学種を同時に分離し同定・定量することは困難である。これが通常の液体クロマトグラフィーとの大きな相違点である。筆者ら

は、2 個の Sep-Pak カートリッジを直列に連結し、2 個のカートリッジにそれぞれ亜硫酸イオンとチオ硫酸イオンを捕集することによりこれらの化学種を同時に分別捕集濃縮/定量することを可能にした。

チオ硫酸イオンと亜硫酸イオンの現場固相抽出法[20]は次の原理による。チオ硫酸イオンと亜硫酸イオンは 2,2'-ジチオビス(5-ニトロピリジン)(DTNP) と反応し、それぞれ波長 320 nm に最大吸収を持つ化合物をつくる[21]。チオ硫酸塩-DTNP 化合物(チオ硫酸塩化合物)は疎水性の C18 に捕集される。一方、亜硫酸塩-DTNP 化合物(亜硫酸塩化合物)はテトラブチルアンモニウム硫酸水素塩(TBAHS)で処理された C18 に捕集される。このような C18 に対するチオ硫酸塩化合物と亜硫酸塩化合物の捕集の違いを利用して、分別捕集するものである。

[操作法] メタノールを通すことによりコンデショニングした Sep-Pak C18 カートリッジ(SP-1)とメタノールでコンデショニング後 TBAHS 溶液を通して処理をした Sep-Pak C18 カートリッジ(SP-2)を直列に連結する(SP-1 が先頭)。試料水(pH 6~9) 50 ml をシリンジに分取し、DTNP アセトニトリル溶液と酢酸ナトリウム溶液を添加する。5分後、この水溶液をフィルターを介して連結 SP-1・SP-2 カートリッジに通した後、2 個のカートリッジを分離する。SP-1 からは、20% メタノール-水混合溶液(メタノール:水=2:8) 5 ml でチオ硫酸イオンを溶離し、波長 320 nm で吸光度を測定する。一方、SP-2 からは、20% メタノール-TBAHS 混合溶液(メタノール:7.5 mM TBAHS 溶液=2:8) 10 ml を通した後、40% メタノール-TBAHS 混合溶液(メタノール:7.5 mM TBAHS 溶液=4:6) 5 ml で亜硫酸イオンを溶離し、波長 320 nm での吸光度を測定する。

TBAHS 処理をした SP-2 にはチオ硫酸塩化合物、亜硫酸塩化合物が共に捕集されるが、メタノール処理のみの SP-1 にはチオ硫酸塩化合物のみが捕集される。このため、連結の際 SP-1 と SP-2 の順番を変えることはできない。DTNP (最大吸収波長 315 nm) を連結 SP-1・SP-2 カートリッジに通すと先頭の SP-1 に全て捕集される。また、DTNP はチオ硫酸イオン及び亜硫酸イオンと反応したときチオ硫酸塩化合物、亜硫酸塩化合物以外にそれぞれ DTNP 副生成物 (いずれも波長 380 nm に最大吸収波長を持つ) を生ずる。これらは、いずれも SP-2 のみに捕集される。

溶離に際し、SP-1 では 20% メタノール-水混合溶液 (メタノール : 水 = 1 : 4) によりチオ硫酸塩化合物が溶離され、40% メタノール-水混合溶液 (メタノール : 水 = 2 : 3) で DTNP が溶離される。また、SP-2 では 20% メタノール-TBAHS 混合溶液 (メタノール : 7.5mM TBAHS 溶液 = 1 : 4) により DTNP 副生成物が溶離され、40% メタノール-TBAHS 混合溶液 (メタノール : 7.5 mM TBAHS 溶液 = 2 : 3) により亜硫酸塩化合物が溶離される。

チオ硫酸イオン、亜硫酸イオンは共に環境水中では還元的な水域に存在する。このような水域では還元性の硫黄化合物として硫化水素も共存するため、硫化水素の影響についても検討した。その結果、硫化水素も DTNP と化合物を作っていると考えられ、この硫化物-DTNP 化合物 (硫化物化合物) は SP-2 のみに捕集されることが分かった。この硫化物化合物は 20% メタノール-TBAHS 混合溶液で容易に溶離できるので、特別に硫化水素についての影響を考慮する必要はない。

この現場固相抽出法は海水相当の塩分でも影響受けなため、淡水から汽水、海水まで適用できる。

一般に固相抽出法では、通常の液体クロマトグラフィーと異なり、複数の化学種を同時に捕集・分離することは困難である。しかし、ここに示した亜硫酸、チオ硫酸の同時捕集濃縮に見られるように、2 個のカートリッジを直列に連結することにより 2 つの化学種を同時捕集・分離することが可能である。今後、この連結方式による複数の化学種を同時捕集・分離する方法が様々な化学種に適用されて、さらに発展する可能性を秘めている。

ここで述べた Sep-Pak C18 カートリッジを利用した固相抽出法はいずれも空気酸化を受けやすい還元性化学物質であり、これらは大気と接触することなく迅速・簡便に捕集操作のできる現場固相抽出法の長所を十分に発揮できる対象化学種である。Sep-Pak C18 カートリッジによる現場固相抽出法として、この他にアンモニウムイオン [22]、溶存マンガン (Mn(II)) [23]、重金属類 [24] についても研究を進めてきた。

5. 2 陽イオン交換基結合型シリカゲル充填 Sep-Pak カートリッジ (Sep-Pak Accell CM) による現場固相抽出法

充填剤のイオン交換基結合型シリカゲルは基材のシリカゲル表面にイオン交換基を化学的に結合したものである。陽イオン交換基としてカルボキシル基 (-COONa : ジオールシリカ上にアクリルアミド/アクリル酸共重合体を化学結合したもの) を用い、一方、陰イオン交換基としては第四級アミンのトリメチルアミン基 (-CONH(CH₂)₃N(CH₃)₃Cl : ジオールシリカ上にアクリルアミド共重合体を化学結合したもの) を用いている。

5. 2. 1 水中無機リン酸イオンの捕集・濃縮

一般に、イオン交換相は無機イオンに対して捕集剤としての強い選択性がないので、ここでは陽イオン交換基にジルコニウムを化学反応的に結合・担持させ、選択性を持たせた。このジルコニウム担持 Sep-Pak Accell CM カートリッジ (Zr-SP) を用いて水中微量リン酸イオンの現場固相抽出法を開発した[25]。リン酸イオンの捕集機構はジルコニウム担持活性炭 (4.3 節参照) と同じと考えられる。しかし、微量リン酸イオンの分析においてブランク値が無視できないジルコニウム担持活性炭カラムと異なり、Zr-SP のブランク値は非常に小さく、また小形のため取り扱いがより簡単である。

[操作法] Zr-SP は、 ZrO^{2+} 溶液 (0.1 mol/l) 50 ml を Sep-Pak Accell CM に通すことにより調製する。試料水 50 ml をシリンジに分取し、pH 2 に調節後 Zr-SP に通す。捕集されたリン酸イオンを 0.5 mol/l 水酸化ナトリウム溶液で溶離する。中和後、モリブデン青法で比色定量する。

Zr-SP において、固相シリカゲル表面のカルボキシル基へのジルコニウム担持量は塩酸濃度の増加とともに増大し、1M 以上では最大一定になる。ジルコニウムは酸濃度が高いときは 2 価陽イオンのジルコニルイオン (ZrO^{2+}) として溶存するが、pH の上昇とともに重合化していく。ジルコニウムの Sep-Pak Accell CM カートリッジへの担持は陽イオン交換樹脂へのジルコニウムの吸着挙動と類似しており、ジルコニルイオンがイオン交換的にカルボキシル基に結合するものと推察される。この点で、ジルコニルイオンの重合化学種が担持したと考えられるジルコニウム担持活性炭の場合とは担持機構が異なると考えられる (4.1 節参照)。

図2に示すように、Zr-SP へのリン酸イオンの吸着は pH 9 以下で、またその脱着は pH

13 以上で定量的に起こる。このように吸着・脱着への pH の影響は Zr-C* の場合と類似しており、表面のジルコニウムを介して吸着・脱着機構が進むと考えられる。また、捕集及び溶離の際の流量は、25 ml/min の高速度でも定量的に行われる。ジルコニウム担持陽イオン交換樹脂では、1 ml/min 以下の流量が必要とされるが、これはジルコニウムが樹脂の内部にまで入り込んでいるためと推察される[10]。しかし、Zr-SP ではシリカゲル表面のイオン交換基先端にジルコニウムが担持され、固相表面のみでリン酸イオンの吸着・脱着が完結するために、捕集・溶離が迅速に行えるものと考えられる。この点は、迅速なリン酸イオンの捕集・溶離のできる活性炭表面にジルコニウムを担持した Zr-C* の場合と同じであろう。

この Zr-SP による吸着・脱着はフッ化物イオンでも同様にみられる。これを利用して河川水、降水等環境水中微量フッ化物イオンの現場固相抽出法についても研究開発した [26]。

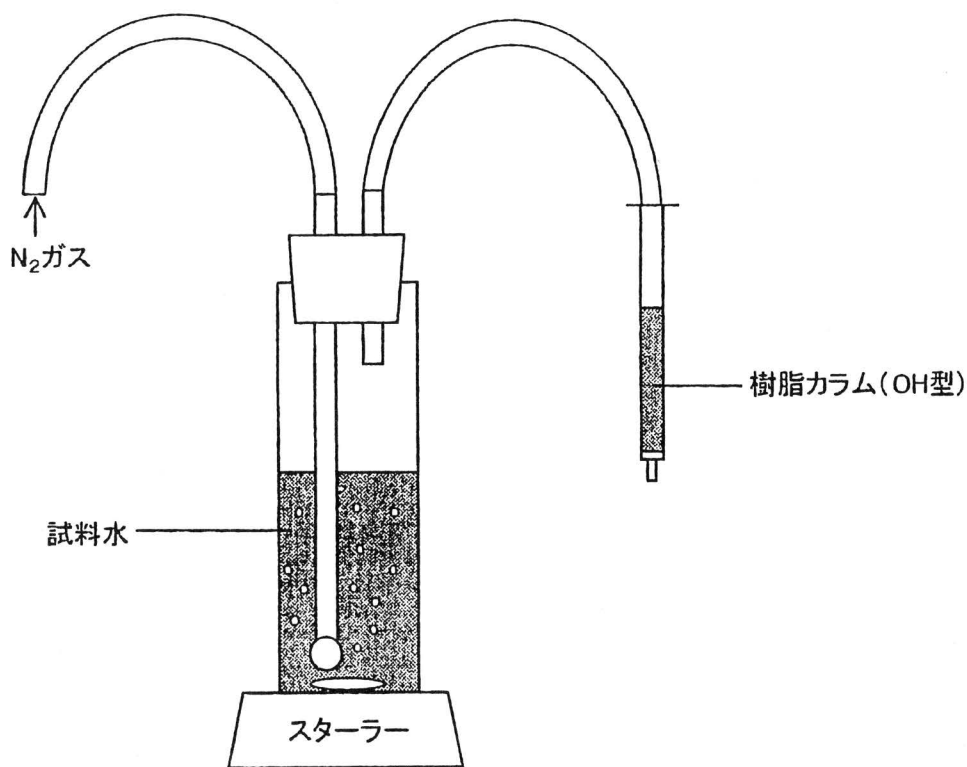
6. 気相を利用した固相抽出法

前節までの固相抽出法は全て移動相として液体 (試料水) を用い、その中に溶存する目的物質の固相への抽出を利用したものであった。しかし、目的物質が試料水から簡単に気体として取り出せのであれば、移動相を気相とすることも可能である。

6. 1 水中全炭酸の捕集・濃縮

水溶液中の溶存全炭酸の定量は、一般に非分散赤外分光光度法による場合が多い。しかし、装置が高価であると同時に、操作に熟練を要する。このため、著者らは次に示すように、小形カラムを利用した簡便な溶存全炭酸の捕集・濃縮定量法を開発した [27]。

水中に溶存する各種の炭酸化学種は酸性

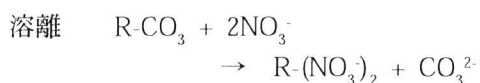


二酸化炭素ガスの発生

二酸化炭素ガスの捕集

図3 二酸化炭素発生・捕集装置

溶液下で二酸化炭素に変化する。このため、試料水に酸添加後、この水溶液に窒素ガスをバブリングすることにより、二酸化炭素を小形のOH型陰イオン交換樹脂カラムに通し、捕集した。樹脂カラムを分離後、このカラムに硝酸カリウム溶液を通して全炭酸を溶離した。このときの捕集及び溶離過程の反応は次の通りである。



溶離液中の全炭酸は二酸化炭素膜電極で測

定・定量した。

[操作法] 試料水からの二酸化炭素ガス発生及びそのガスの捕集には図3の装置を用いた。試料水は硫酸酸性(試料水50 mlに3 mol/l硫酸を2 ml添加)にしてある。また、カラムにはOH型陰イオン交換樹脂が充填してある。試料水に窒素ガスを流量30 ml/minで通し、発生する二酸化炭素ガスを樹脂カラム(内径0.6 cm、長さ10.6 cm、樹脂充填量1 g)で捕集する。硝酸カリウム溶液で溶離した後、溶出液をクエン酸緩衝液でpHを約4.8に調節し、二酸化炭素膜電極で測定する。硫化水素の溶存する試料水に対しては、まず試料水に硫酸銅水溶液を添加して硫化水素を硫化銅として沈殿させ、そ

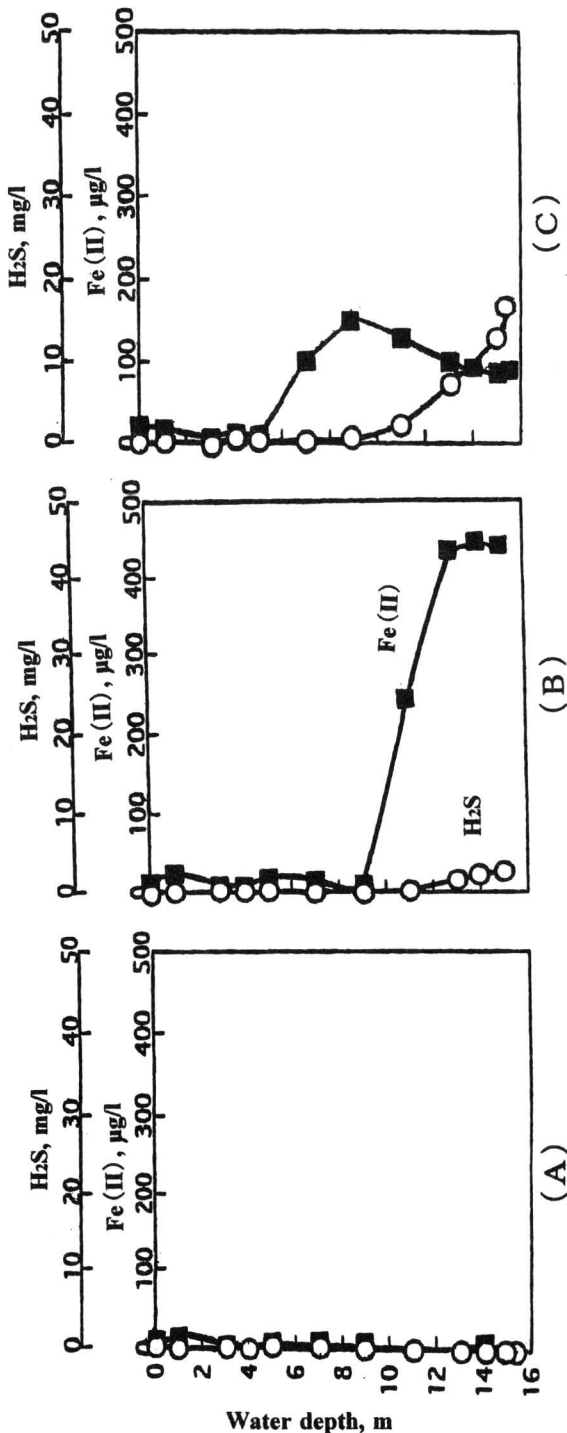


図 4 硫化水素と鉄(II)の鉛直分布
(中海浚渫跡窪地)
試料水採取:(A)1998年3月、
(B)1998年5月、(C)1998年7月

の後硫酸酸性として同様の操作をする。

この方法は、移動相として気相を利用するため現在のところ現場法としては用いることができない。将来移動相として気相が簡易に利用できれば、現場法として活用可能である。

7. 現場固相抽出法の汽水湖中海湖水への適用

この節では、開発した現場固相抽出法の適用例として、汽水湖中海における硫化水素と鉄(II)の挙動及び全炭酸濃度の変化が示唆する現象について述べる。

7. 1 汽水湖中海における硫化水素と鉄(II)の挙動

本研究で開発した現場固相抽出法 [16, 18] を汽水湖中海の鉄(II)イオンと硫化水素に適用し、それらの化学種の挙動をみた。島根県と鳥取県の県境にまたがる中海は水深約6 mの平坦な湖底が広がる汽水湖である。中海は東側の境水道を介して日本海から比重の大きい海水が湖底付近に侵入する。一方、中海の西側に隣接する宍道湖には淡水の斐伊川河水が流入し、この湖水が大橋川を介して中海の上層水となって日本海に注ぐ。このため、中海では表層水の塩分が約15%、低層水が約30%となり、年間を通して水深3~4 m付近に塩分躍層が存在する。この躍層は、夏季は一層明瞭になり、また安定化する。サンプリングを行った水域は、浚渫のために周囲の湖底平坦部より約10 m深く掘り下げられた水深約16 mの窪地 (Stn. 12) である。冬季には湖底部へ海水の流入で深水層にも溶存酸素があるが、夏季には成層するために塩分躍層以深の深水層は酸欠状態になる。

試料水の採取は小形船上から北原式採水器で行った。採水後直ちに空気に触れないようにビニールチューブを介して試料水50

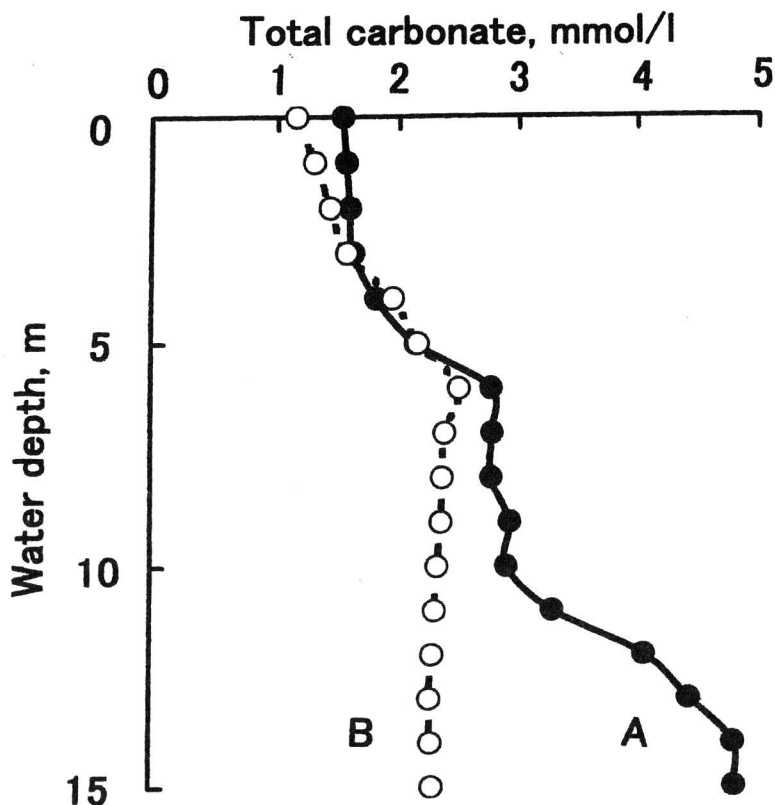


図5 全炭酸の鉛直分布（中海浚渫跡窪地）試料水採取：(A)1998年8月、(B)1999年2月

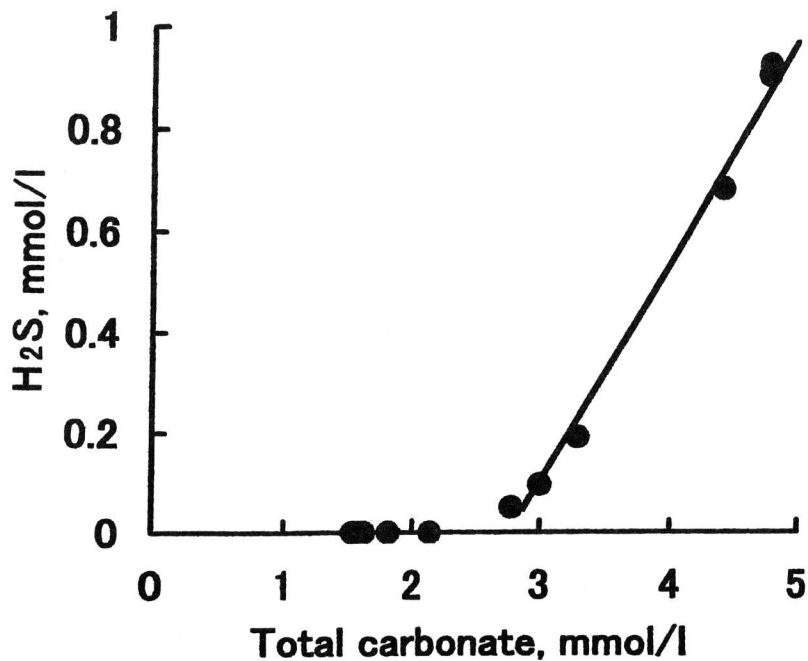


図6 全炭酸と硫化水素との相関（中海浚渫跡窪地、1998年8月）

mlずつを2本のシリンジに分取した。この後、現場固相抽出法により鉄(II)イオンと硫化水素をそれぞれSep-Pak C18 カートリッジに捕集した。これらのカートリッジを研究室に持ち帰った後、それぞれ溶離し、吸光光度定量を行った。一方、水温(W.T.)、溶存酸素(DO)、塩分(Sal)、酸化還元電位(ORP)は採水現場で投げ込み式測定器 (Water Quality Logger Model 3800, Yellow Spring Instrument) で直接測定した。

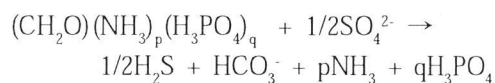
図4に1998年3月(A)、5月(B)、7月(C)における硫化水素と鉄(II)イオン濃度の鉛直分布を示す。冬季、窪地に溶存酸素があるときには鉄(II)イオン、硫化水素ともにその濃度は非常に低い(図4(A))。しかし、春季から初夏にかけて水温が上がると、塩分躍層以下で溶存酸素がほとんど無くなる。このように深水層が還元的水環境に変化すると湖底から鉄(II)イオンと硫化水素が溶出し始める。このため塩分躍層以深では、水深とともに鉄(II)イオン濃度と硫化水素濃度が増大し、湖底付近では鉄(II)イオンが数百 $\mu\text{g/l}$ に、また硫化水素が数十 mg/l に達する(図4(B))。しかし、夏季から初秋にかけて図4(C)に見られるように、湖底付近の鉄(II)イオン濃度は減少する。この間、湖底付近の硫化水素濃度は増加し続けている。このとき、湖底付近では、鉄(II)イオンと硫化物イオンのイオン活量積は硫化鉄(無定形)の溶解度積に達していることが確認された。このため、夏季湖底付近における鉄(II)イオン濃度の急激な減少は、湖底付近で増加する鉄(II)イオンと硫化水素が反応し、硫化鉄の沈殿が生じた結果と考えられる。

7. 2 汽水湖中海における全炭酸の変化

中海浚渫跡窪地 (Stn. 12) において前節と同様の方法で湖水を採取した。採水後、一部の試料水をガラス瓶に入れ密栓し、

クーラーボックスに保管して研究室に持ち帰った。夏季(1998年8月)及び冬季(1999年2月)採取の試料水につき、本法により水中全炭酸を分析した[26]。特に、夏季の試料水については、硫化水素除去のために硫酸銅水溶液の添加処理を行った。また、現場で同一試料水につき現場固相抽出法で硫化水素を捕集濃縮してその定量を行った[16]。

図5に夏季(A)と冬季(B)における全炭酸の鉛直分布を示す。塩分躍層は冬季、夏季共に水深3~5mにあった。冬季における全炭酸の鉛直分布は塩分の鉛直分布と一致している。これは、湖水の全炭酸濃度が海水に含まれる全炭酸濃度の影響を強く受けていることを示唆している。一方、夏季においては、塩分の鉛直分布は冬季と同様であった。しかし、全炭酸については、表層から塩分躍層までの濃度分布は冬季とほぼ同じであるが、塩分躍層以深では水深とともに増加し、特に11m以深では急増している。これと同様の濃度変化は硫化水素の鉛直分布にも見られた。図6に全炭酸濃度と硫化水素濃度との関係を示す。7m以深の深水層では全炭酸と硫化水素との間に良い相関が認められる。すなわち、深水層では水深とともに全炭酸と硫化水素がほぼ2:1の割合で増加する。海洋の還元的水環境にある黒海では、[全炭酸]:[硫化水素]=2:0.72の比で増加することが明らかにされている[1]。これは、有機物分解に起因すると考えられた。有機物の分解反応は次式で与えられる[28]。



つまり、有機物分解に際して炭酸2モルと硫化水素1が放出される。この有機物分解反応から推定される[全炭酸]:[硫化水素]の比は中海の還元的水環境における結果とよく一致する。従って、中海湖底付近の

還元的な水環境下における全炭酸と硫化水素の増加は、微生物(硫酸還元バクテリア)の働きによる汚染有機物質の分解を反映した結果と考えられる。

参考文献

- [1] W. Stumm, J. J. Morgan: "Aquatic Chemistry", 3rd ed., Wiley Interscience, New York, (1996).
- [2] JIS K 0102, 工業排水試験方法 (1993) .
- [3] APHA: "Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water", 19th ed. (1995), (American Public Health Association, Washington, D. C.).
- [4] H. Hashitani, M. Okumura: *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **328**, 251 (1987).
- [5] 奥村 稔, 橋谷 博: 分析化学, **43**, 1059 (1994).
- [6] 奥村 稔, 清家 泰, 藤永 薫, 矢野尚明: 分析化学, **46**, 329 (1997).
- [7] M. Okumura, K. Fujinaga, Y. Seike, S. Honda: *Fresenius J. Anal. chem.*, **365**, 469 (1999).
- [8] 中沢裕之: "最新の分離・精製・検出法—原理から応用まで", 梅澤善夫, 澤田嗣郎, 中村 洋 監修, p.94 (1997), (エヌ・ティー・エス).
- [9] 木村 優: ぶんせき, **1981**, 298.
- [10] 奥村 稔, 藤永 薫, 清家 泰: 分析化学, **48**, 215 (1999).
- [11] H. Hashitani, M. Okumura, K. Fujinaga: *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **326**, 540 (1987).
- [12] H. Hashitani, M. Okumura, Y. Seike: *Jpn. J. Limnol.*, **57**, 479 (1996).
- [13] M. Okumura, K. Fujinaga, Y. Seike, K. Hayashi: *Anal. Sci.*, **14**, 417 (1998).
- [14] H. Hashitani, M. Okumura, K. Fujinaga: *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **320**, 774 (1985).
- [15] 橋谷 博, 奥村 稔, 藤永 薫: 日本化学会誌, **1986**, 847.
- [16] M. Okumura, N. Yano, K. Fujinaga, Y. Seike, S. Matsuo: *Anal. Sci.*, **15**, 427 (1999).
- [17] J. D. Cline: *Limnol. Oceanogr.*, **14**, 454 (1969).
- [18] M. Okumura, Y. Seike, K. Fujinaga, K. Hirao: *Anal. Sci.*, **13**, 231 (1997).
- [19] L. L. Stookey: *Anal. Chem.*, **42**, 779 (1970).
- [20] 奥村 稔, 藤永 薫, 清家 泰, 永島明人: 分析化学, **47**, 985 (1998).
- [21] A. Valravamurthy, K. Mopper: *Environ. Sci. Technol.*, **24**, 333 (1990).
- [22] 奥村 稔, 本多佐知子, 藤永 薫, 清家 泰: 第60回分析化学討論 会講演要旨集, p.25 (1999).
- [23] M. Okumura, T. Anate, K. Fujinaga, Y. Seike, S. Matsuo: *Anal. Sci.* **18**, 1093 (2002).
- [24] M. Okumura, T. Anate, K. Fujinaga, Y. Seike: Proceedings of the International Workshop on Distribution and Speciation of Radionuclides in the Environment, p. 345 (2000).
- [25] M. Okumura, Lue Tong, K. Fujinaga, Y. Seike: *Fresenius J. Anal. Chem.*, **370**, 104 (2001).
- [26] 奥村 稔, 吉村友宏, 藤永 薫, 清家 泰: 日本分析化学会第50年 会講演要旨集, p.127 (2001).
- [27] 奥村 稔, 吉原三絵, 藤永 薫, 清家 泰: 分析化学, **49**, 997 (2000).
- [28] 増沢敏行: "海洋の動態", 梶浦欣二郎 編, p. 295 (1985), (恒星社 厚生閣).