

琵琶湖水中微量正リン酸の定量法の開発

大山 公子・丸尾 雅啓・中山 英一郎(滋賀県立大学・環境)

1. はじめに

植物プランクトンにとって重要な構成要素であるリンは、湖水中において植物プランクトンの増殖を支配する主要な制限因子であると考えられており、様々な形態のリンの現存量やその総量を知ることは生物地球化学的に重要である。夏期の琵琶湖表層では、正リン酸濃度は分光光度法による検出限界(10nM)以下になることがあり、その微少な濃度変化が生物活動に大きな影響を及ぼす可能性がある。

そこで、本研究では、オンライン分析への応用を前提とし、疎水性樹脂充填カラムを用い、リンモリブデンイエローを濃縮することにより、微量正リン酸を測定する方法を開発した。

2. 分析

試料に塩酸、モリブデン酸ナトリウム水溶液を添加し、リンモリブデンイエローを生成させた後、XAD-4(スチレンージビニルベンゼン共重合体)充填カラムに吸着させ濃縮した。その後、溶離液を流し、リンモリブデンイエローを溶出した。溶出液に通常のもリブデンブルー法と同様の試薬を添加し、一定時間放置後、吸光度を測定し、リンの定量を行った。

3. 結果と考察

3.1 最適条件の決定

次のことを考慮し、正リン酸の濃縮定量における最適条件を検討した。:(1)リンモリブデンイエローが定量的に生成し、濃縮される(2)定量的に溶離される(3)生成したリンモリブデンブルーの吸光度が高く、かつブランクが低い

その結果を表1に示した。以降の実験は、この最適条件に従って行った。

3.2 最適条件下における実試料の測定

実試料の測定を行ったところ、オートアナライザーで得られた値より高くなった。その主な原因として、試料中のリン化合物の加水分解が考えられ、以下の検討を行った。

3.3 オンライン濃縮の検討

リン化合物の加水分解を抑えるために、試料に試薬を添加すると同時に正リン酸を濃縮することができる、フロー系を用いた濃縮法を検討した。濃縮倍率 2.5 倍、正リン酸濃度 0~1000nMの場合、濃縮倍率 100 倍、正リン酸濃度 0~25nMの場合で行った結果、共に定量的に濃縮定量することができた。100 倍濃縮時の検出限界は 0.8nMであった。

3.4 妨害の検討

モリブデンとヘテロポリ酸を形成する酸素酸イオンの妨害について検討した。ケイ酸について検討した結果、妨害は認められなかった。ヒ酸について検討した結果、同濃度の正リン酸の場合と同程度の吸光度を与えることが分かった。その妨害の除去法として、ヒ酸を亜ヒ酸に還元処理する

る方法について検討した。溶出液に還元剤を添加し、一定時間放置後中和して測定した結果、妨害は全くなく、正リン酸の吸光度は変化しないことが分かった。次に、実試料中に含まれるリン化合物の加水分解による影響の除去について検討した。疎水性有機リン化合物は、試薬混合前に疎水性樹脂(XAD-4)充填カラムに試料を通液することによって除去できることがわかった。無機リン化合物の影響について、ピロリン酸を用いて検討したところ、加水分解が認められたが、低温で濃縮することで抑えることができることが分かった。

以上の検討を踏まえて、琵琶湖水中の正リン酸を定量し、オートアナライザーで得られた値と比較した。その結果、ほぼ等しい値が得られ、本法で湖水中の微量正リン酸を測定することが可能であることが明らかとなった。

4. まとめ

本法は、オンラインで、正リン酸を 100 倍まで濃縮することが可能であり、その場合の検出限界は 0.8nM である。無機リン化合物、疎水性有機リン化合物、ケイ酸、ヒ酸の妨害はほぼ除去できることが分かった。

本法は、高感度な自動分析法の開発の道を開く基礎となるものと考えられる。自動分析法を用いれば、従来、検出限界以下であった正リン酸の経月変化などが明らかになり、正リン酸と一次生産との関係が解明できることが期待される。

表 1 濃縮定量最適条件

リンモリブデンイエロー生成・濃縮最適条件

| | |
|-------------|---------|
| 塩酸 | 0.5M |
| モリブデン酸ナトリウム | 8.5mM |
| 濃縮時の流速* | 2mL/min |

リンモリブデンイエロー溶離最適条件

| | |
|---------|------------------|
| 溶離液 | 水・アセトニトリル(50:50) |
| 溶離液量 | 5mL |
| 溶離時の流速* | 1mL/min |

リンモリブデンブルー測定最適条件

| | |
|---------------|------------|
| 硫酸 | 0.2M |
| モリブデン酸ナトリウム | 4mM |
| 酒石酸アンチモニルカリウム | 75 μ M |
| アスコルビン酸 | 5mM |
| 反応時間 | 20 分 |
| 測定時間 | 820nm |

◎ 濃度は、反応時、もしくは測定時の最終濃度である。

* 流速は、カラム充填樹脂、XAD-4(48~100mesh)を用いた時の最適条件である。