

[原著論文]

フローインジェクション分析法による厚東川流域の全リンのモニタリング

浅野 比 白石幸英

山陽小野田市立山口東京理科大学

Monitoring of Total Phosphorus in Koto River by Flow Injection Analysis

ASANO Hitoshi, SHIRAIISHI Yukihide

Sanyo-Onoda City University

要 約

リンは工場や家庭で用いられている洗剤に由来した工業廃水や生活廃水、田畑で使用する肥料などに含まれている。これらが、河川や湖沼に流入し、最終的には海洋に流入し、水圏富栄養化の原因となる。即ち、河川、湖沼に流入したリンは、赤潮、アオコの発生源となり、漁業や上水に悪影響を及ぼす。したがって、リンによる赤潮・アオコ等への対策を講じるためには、河川水中のリン濃度をモニタリングすることが極めて重要である。本研究では、簡便・迅速、かつ高精度な分析が可能であるフローインジェクション分析法を用い、山口県宇部市の厚東川における全リンの分析を行った。

Abstract

Phosphorus is an essential nutrient for phytoplankton and hence plays an important role in the food chain as the primary production. However, when there is an excessive amount of phosphorus in natural water, it can promote eutrophication. Therefore, it is extremely important to monitor the amount of phosphorus in natural water. In present study, we determined total phosphorus in the Koto river using flow injection analysis (FIA). The proposed flow system can analyze phosphorus simply, rapidly, and sensitively. The limit of quantification calculated on 10σ was $3\ \mu\text{g L}^{-1}$. The analytical time and the amounts of waste were reduced to one-seventh and one-ninth, respectively, compared with the Japanese industrial Standard method (JIS K 0102). The concentration of total phosphorus at the down-stream river area was higher than that at the mid-stream river area.

KEY WORDS: Total phosphorus, Flow injection analysis, Koto river, Spectrophotometry, Molybdenum blue method

キーワード：全リン、フローインジェクション分析法、河川、分光光度法、モリブデン青法

1. 緒言

リンは窒素と並び水圏における植物プランクトンの生育に必須の元素であり、植物プランクトンにより固定された有機物は食物連鎖の基礎となっている。一方、リンが過剰にある場合、環境条件によっては、富栄養化を引き起こし、赤潮・アオコの発生原因ともなる¹⁾。

瀬戸内海では一般に、栄養塩であるリンの不足による漁獲量減少が続いている。山口県を例にとれば、エビ類、アサリの漁獲量減少や養殖ノリの色落ち等、漁業への影響が報告されている²⁾。一方、富栄養化による赤潮の発生件数は1976年には約30件であったが、近年では年に数件程度と減少傾向にあるものの、5~7月において赤潮の発生が確認されている³⁾。従って、漁業や富栄養化への影響評価のための水質管理を行う場合、水圏におけるリン濃度を把握することは極めて重要である。

リンの分析方法は一般的にはモリブデン青吸光度法⁴⁾が用いられている。従来のリンの分析法は、ビーカーにホールピペットで試薬及び試料溶液を採取後、攪拌して反応させ、生成した目的生成物をセルにとって吸光度計などの分析機器により測定する煩雑な作業を要した。一方、このような従来のバッチ法(回分法)に対し、1975年にRuzickaとHannsenにより、流れ分析法であるフローインジェクション分析法⁵⁾(Flow Injection Analysis, FIA)が開発された。FIAは、0.5~1 mm程度の細管内の試薬溶液の流れの中に試料溶液を注入し、流路内で反応した目的生成物を下流に設置した検出器で定量する、流れ分析法である。FIAの利点として、(1)迅速な測定、(2)簡便な測定操作、(3)試料及び試薬量の少量化、(4)高精度・高感度化、(5)汚染の軽減などがあげられ、従来のバッチ法に比べて有利な点が多い。したがって、継続的に多くの試料の分析が必要である環境水のモニタリングにおいて、FIAを用いることで、これまで行っていたバッチ法よりも、迅速・簡便で精度の良い分析が可能となる。

上述のようにFIAは多くの利点を有するが、大学近隣の地域では、FIAを環境分析に応用している報告はなされていない。そこで本研究ではFIAを用いたリンの分析システムを構築し、本学近郊の厚東川を対象とし、流域各所での全リンのモニタリングを行った。

2. 実験

2.1 試薬

リン酸イオン標準液 ($P-PO_4^{3-} = 1000 \text{ mg L}^{-1}$) は和光純薬工業製リン酸二水素カリウム 1.098 g に水を加え 250 mL に定容し、この溶液を適宜希釈したものを検量線溶液に用いた。発色試薬は以下の手順で調製した。和光純薬工業製七モリブデン酸六アンモニウム四水和物 1.37 g 及びビス [(+)-タルトラト] ニアンチモン (III) 酸二カリウム三水和物溶液 (8 mM) 25 mL、濃硫酸 17 mL を水 200 mL に溶解し、250 mL に定容した (溶液 A)。アスコルビン酸溶液 : L (+) -アスコルビン酸 0.75 g とドデシル硫酸ナトリウム 0.25 g を水 250 mL に溶解した (溶液 B)。溶液 A と溶液 B を等量混合したものを発色試薬溶液とした。試料溶液の分解を行うための試薬としてペルオキソ二硫酸カリウム約 1 g を水に溶かし、25 mL に定容したものをを用いた。

2.2 サンプリング

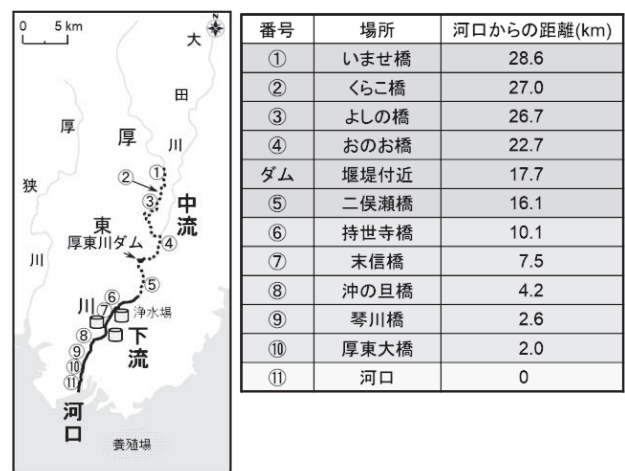


Fig. 1 Sampling site and distance from sea at each site.

試料水の採取は、山口県宇部市の厚東川で、主に橋のあるポイントで採取した。試料水は、ポリエチレンの容器に約 100 mL 採取し、No.2 のろ紙によりろ過したものをを用いた。試料 15 mL をテフロン試料分解容器に取り、ペルオキソ二硫酸カリウム溶液 3 mL を加え、密栓して混合した。容器を 120°C にした乾燥機に入れ、30 分間加熱分解を行った。分解容器を取り出し、放冷後、上澄み液 10 mL を取り、25 mL に定容したものを分析に供した。

2.3 フローインジェクションシステム

本研究で用いるリン定量のためのフローシステムを Fig.2 に示す。C からキャリア溶液として水、R から試薬溶液としてモリブデン酸アンモニウム溶液とアスコルビン酸溶液をポンプ P により流速 1.2 mL min^{-1} で送液し、S からこの流れの中に試料溶液を注入した。この 2 つの流れを合流させ、 $60 \text{ }^\circ\text{C}$ に保った反応恒温

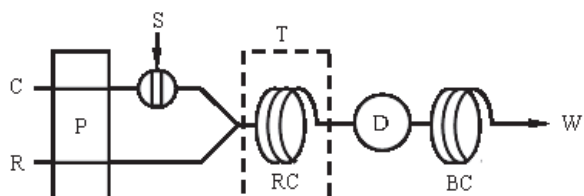


Fig. 2 Flow injection system for determination of phosphorus

C: carrier solution, R: reagent solution, P: pump, S: sample solution, T: thermostatic chamber, RC: reaction coil, D: detector, BC: back pressure coil, W: waste.

槽 T 中の反応コイル RC (内径 0.5 mm , 長さ 3 m) で反応を行った。最後に下流に設置した吸光度計 D により、 830 nm における青色錯体の吸光度を測定した。

3. 結果と考察

3.1 フローシステムの最適化

フローシステムの流速、注入試料体積及び恒温槽温度に関して最適化を行った。

3.1.1 流速の検討

Fig. 3 にフローシステムの流速について検討した結果を示す。流速は $0.4 \sim 2.0 \text{ mL min}^{-1}$ まで変化させ、リン濃度 0.1 mg L^{-1} 、恒温槽温度 $60 \text{ }^\circ\text{C}$ 、注入試料体積 $400 \text{ } \mu\text{L}$ の条件で検討を行った。その結果、流速が $0.4 \sim 1.2 \text{ mL min}^{-1}$ の低い流速領域では吸光度は 0.001 程度高いものの、検討した流速範囲では流速による吸光度の大きな違いは見られなかった。これより、高い吸光度が得られ、分析時間を考慮し、 1.2 mL min^{-1} を最適流速とした。

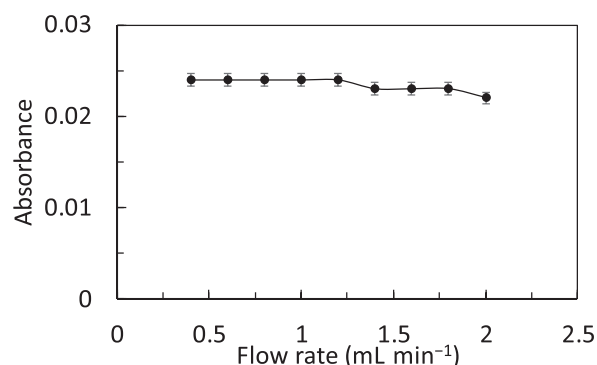


Fig. 3 Effect of flow rate
P- PO_4^{3-} : 0.1 mg L^{-1} , thermostatic chamber: $60 \text{ }^\circ\text{C}$, sample volume: $400 \text{ } \mu\text{L}$.

3.1.2 注入試料体積の検討

Fig. 4 にフローシステムの注入試料体積について検討した結果を示す。注入体積を $75 \sim 600 \text{ } \mu\text{L}$ まで変化させ、リン濃度 0.1 mg L^{-1} 、恒温槽温度 $60 \text{ }^\circ\text{C}$ 、流速 1.2 mL min^{-1} の条件で検討を行った。その結果、注入試料体積の増加に伴い吸光度も増加したが、 400 及

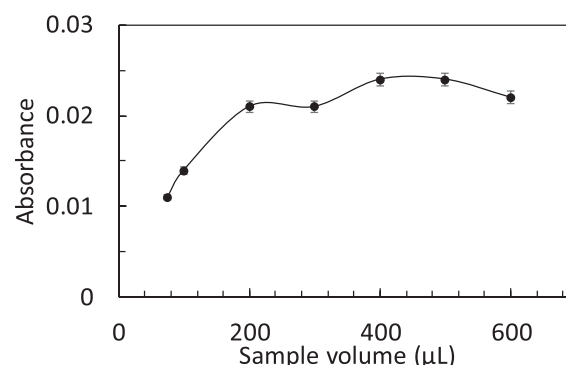


Fig. 4 Effect of sample volume
P- PO_4^{3-} : 0.1 mg L^{-1} , thermostatic chamber: $60 \text{ }^\circ\text{C}$, flow rate: 1.2 mL min^{-1} .

び $600 \text{ } \mu\text{L}$ をピークにその後は吸光度が減少する結果となった。試料体積が $75, 100 \text{ } \mu\text{L}$ と少ない領域では、キャリア溶液によって希釈される影響が大きいため低い吸光度を示し、試料体積の増加とともに希釈の影響が低減され、吸光度は上昇すると考えられる。一方、試料体積が $600 \text{ } \mu\text{L}$ 以上では体積の増加に伴う十分な反応時間が得られなくなるため、吸光度が減少したものと考えられる。したがって注入試料体積は最も高い吸光度が得られた $400 \text{ } \mu\text{L}$ を選択した。

3.1.3 反応恒温槽の検討

Fig. 5 にフローシステムの恒温槽温度について検討した結果を示す。恒温槽温度を $40 \sim 90 \text{ }^\circ\text{C}$ まで変化させ、リン濃度 0.1 mg L^{-1} 、流速 1.2 mL min^{-1} 、注入試料体積 $400 \text{ } \mu\text{L}$ の条件で検討を行った。その結果、

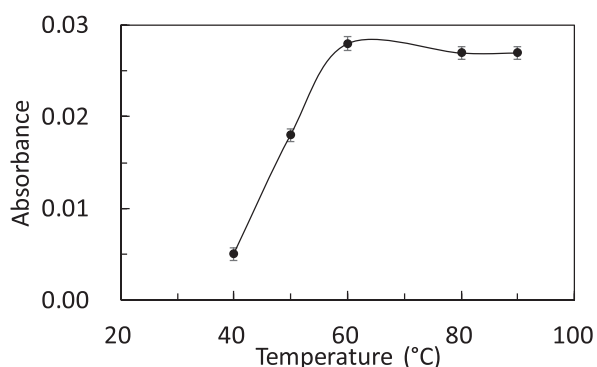


Fig. 5 Effect of temperature for the thermostatic chamber
 $P-PO_4^{3-}$: 0.1 mg L^{-1} , flow rate: 1.2 mL min^{-1} , sample volume: $400 \text{ }\mu\text{L}$.

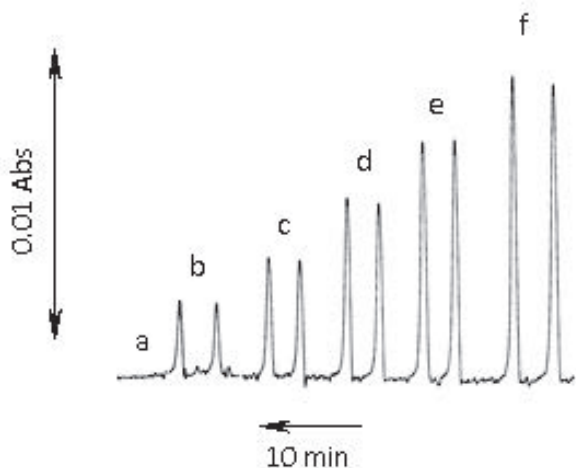


Fig. 6 Typical flow signals for determination of phosphorus
 $P-PO_4^{3-}$ (mg L^{-1}): a, 0; b, 0.02; c, 0.04; d, 0.06; e, 0.08; f, 0.1, sample volume: $75 \text{ }\mu\text{L}$.

恒温槽温度の増加に伴い吸光度も増加したが、 $60 \text{ }^\circ\text{C}$ 以上では吸光度がほぼ一定となった。この結果より、恒温槽温度は $60 \text{ }^\circ\text{C}$ を最適温度とした。

3.1.4 フローシグナル

Fig. 6 にリンを定量した際のフローシグナルの一例を示す。ベースラインは安定しており、ピークの立ち上がりも極めて鋭敏である。ピーク割れもなく、テーリングも見られない。本システムは試料を注入するだけで、1 試料数分程度で、迅速に再現性の良い分析が可能であることを示している。

3.1.5 FIA とバッチ法の比較

Table 1 に FIA による本法と従来法として JIS K 0102 の公定法との比較を示す。これより本法は、試料注入から分析まで 3 分ででき、1 時間に 20 試料の分析が可能である。

Table 1 Comparison of features for total phosphorus analysis with the proposed method (FIA) and the conventional method (batch)

Analytical method	Analytical time/min	Precision /%	Limit of quantification / $\mu\text{g L}^{-1}$	Waste volume /mL
Proposed method (FIA)	3	1.6	3	3
Conventional method ^{a)} (batch)	> 20	2 - 10	100	> 27

a) JIS K 0102.

また、繰り返し精度も 1.6 % と良好である。ブランク溶液を測定した際の標準偏差の 10 倍を与えるリン濃度から算出した定量下限は $3 \mu\text{g L}^{-1}$ と高感度分析が可能である。

3.2 厚東川の全リンの分析

本システムを用いて、厚東川の全リン濃度を分析した結果を Fig. 7 に示す。ここでは河口からの距離が 28.6 km ある「いませ橋」から 16.1 km である「二俣瀬橋」までを便宜的に中流域、10.1 km の「持世寺橋」から「河口」までを下流域に分け、河口からの距離別に、全リンの濃度を示す。これより概ね中流域の全リン濃度は全リンの I 類型環境基準値である $20 \mu\text{g L}^{-1}$ 程度であった。一方、河口から 4.2 km の「沖の旦橋」以降の下流域では全リン濃度は $40 \mu\text{g L}^{-1}$ 以上で河口に近づくにつれ、濃度は増加していた。これは中流域では民家が少なく、それに伴い人為由来のリンが少ないためであると推察される。一方、下流域では居住の増加に伴い全リン濃度が増加したものと考えられる。

3.3 結論

本研究では FIA を使い、厚東川の全リンの分析を行った。その結果、全リン濃度は、厚東川の中流域では $20 \mu\text{g L}^{-1}$ 程度であったが、下流域では $40 \sim 70 \mu\text{g L}^{-1}$ と高い値を示した。

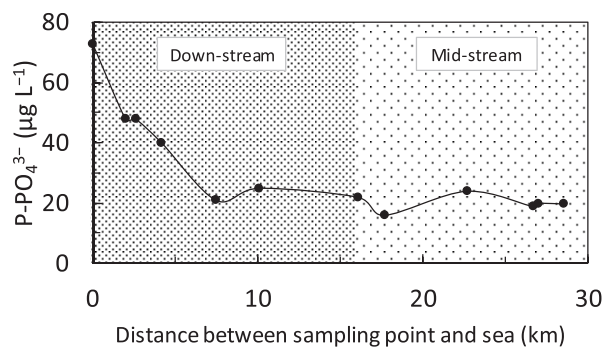


Fig. 7 Analytical results for total phosphorus in the Koto river by FIA

本法は、従来の公定分析法と比較して 33 倍も感度が良く、1 試料の分析時間も 3 分と迅速で、廃液量も 3 mL と従来法の約 10 分の 1 程度であった。Fig.7 に示すように、厚東川の調査範囲内では、リン濃度が 20~70 $\mu\text{g L}^{-1}$ であることを考慮すると、厚東川のリン濃度を分析する方法として、従来法よりも信頼できる分析値を与えると考えられる。

本システムによる今回の分析では、季節変動や干満の影響などについて検討をしていないため、リン濃度に及ぼすそれらの外的要因についても検討する必要がある。

謝辞

本研究は、株式会社小川商会樋口慶郎博士の協力によりなされたことを付記し、ここに謝意を表します。

4. 参考文献

- 1) T. Okamoto, K. Fukushi, K. Yokota, S. Takeda, S. Wakida: Determination of Phosphate in Seawater by Transient Isotachopheresis/Capillary Zone Electrophoresis with Suppressed Electroosmotic Flow, *Bunseki Kagaku*, 55, 627- 636, 2006.
- 2) K. Tada, M. Fujiwara, T. Honjo: Water Quality and Nori (Porphyra) Culture in the Seto Inland Sea, *Bunseki Kagaku*, 59, 945- 955, 2010.
- 3) 山口県：赤潮注意報・警報の発生状況，
<https://www.pref.yamaguchi.lg.jp/cms/a16500/suisan-s/akashio.html> (accessed 2019-11-4).
- 4) JIS K 0102, 工場排水試験方法, 2016.
- 5) J. Ruzicka, H. E. Hansen: Flow injection analyses: Part I. A new concept of fast continuous flow analysis, *Anal. Chim. Acta*, 78, 145 - 157, 1975.