

13.8 流域規模での水・物質循環管理支援モデルに関する研究（３）

研究予算：運営費交付金（一般勘定）

研究期間：平 18～平 22

担当チーム：材料地盤研究グループ（リサイクル）

研究担当者：岡本誠一郎、山下洋正

【要旨】

流域開発で必須元素の河川への供給が減少し水生生態系へ影響しているとの懸念があることから、都市雨水・排水由来の必須元素の負荷量の解明および河川への影響把握と対策の可能性の検討を目標として、溶解性の鉄およびケイ素の化学種分析法の検討を行った。溶解性鉄については、非イオン性樹脂およびメンブレンフィルターにより分画して誘導結合プラズマ質量分析を行う方法を検討し、溶解性鉄の存在形態を把握した。フミン標準試料を用いた検討では、溶解性鉄は主として疎水性酸および親水性物質に存在し、分子量 10 万以下の形態で存在していた。pH7 で吸着する疎水性酸では有機物あたりの鉄濃度が大であった。溶解性ケイ素については、イオン交換樹脂で分離濃縮し、さらに蒸発濃縮してから高速原子衝突質量分析を行う方法を採用し、シリカイオンの質量スペクトルを把握した。

キーワード：溶解性鉄、溶解性ケイ素、シリカ、河川、都市排水、都市雨水

1. はじめに

近年、流域での開発により溶解性の鉄（フミン鉄）やケイ素（シリカ）等の必須元素の河川への供給が減少して、河川や海の生態系に影響を及ぼしているとの報告^{1)～3)}が見られる。都市化した流域では、都市雨水・排水が必須元素の挙動に大きな影響を与えている可能性があるため、その影響を明らかにすることが求められている。

そこで、研究の達成目標を次の通り設定し、都市河川流域における溶解性の鉄およびケイ素の挙動を把握するため、溶解性の鉄およびケイ素の化学種分析法の開発を行うとともに、関東地方の都市影響河川の流域において都市雨水の水質を調査した。

- (1) 都市雨水・排水由来の必須元素の負荷量の解明
- (2) 河川への影響把握と対策の可能性の検討

2. 調査方法

2. 1 調査対象物質

調査対象物質は、前年度と同様に溶解性の鉄およびケイ素（イオン状シリカ）とした。

溶解性の鉄は、表流水中では主にフミン物質等の有機物と錯体を形成してコロイド状で存在する（フミン鉄）と考えられているが⁴⁾、フミン物質は不定形の高分子物質であり分子量も一定ではないため、溶解性鉄と結合している有機物の分子量その他の特性および生物利用性との関連性については知見が少ない。

また、溶解性のケイ素は、表流水中では主にイオン状シリカとして存在しており、 $\text{Si}(\text{OH})_4^-$ の多量体であると考えられているが、その組成および生物利用性との関連については知見が少ない。

そこで、これらの不明な点を明らかにし、水生生態系への影響を把握するために調査を行った。

2. 2 化学種分析法の開発

水試料中の溶解性鉄および溶解性ケイ素の化学種分析法を開発するため、次の通り検討を行った。

(1) 溶解性鉄

溶解性鉄について、前年度は、GPC（ゲル浸透クロマトグラフィー）による分画を用いた分析方法を開発した。

本方法の利点としては、前処理がろ過のみであり鉄の存在形態に及ぼす影響が少ないこと、連続的なクロマトデータが得られて詳細な分子量分布が把握できること等が挙げられた。

一方、課題としては、RI（示差屈折率）やUV（紫外線吸光度）のピークとDOC濃度（フミン物質等の有機物の指標）、Fe濃度が対応しないことが多く、ピーク位置の物質の性状が不明であったこと、また、GPC分画後にICP-MSによるFe測定（ICP-MS）を行うためには、10回程度分取を行う必要があり、時間・労力がかかったこと等が挙げられた。

これらの課題への対応方策として、今年度は、フミン

物質の化学的特性（疎水性酸）を利用したイオン交換樹脂による分画と、フミン物質の物理的特性（分子量サイズ）を利用したメンブレンフィルターによる分画について検討した。

具体的には、フミン標準物質（Aldrich 社製）について、非イオン性樹脂を用いた分画を行い、疎水性・親水性、酸性・塩基性の化学的特性に応じて分離した。また、メンブレンフィルターを用いた分画を行い、分子量に応じて分離した。

分画した試料は、紫外線吸光度（UV）および溶解性有機炭素濃度（DOC）を測定するとともに、鉄濃度を誘導結合プラズマ質量分析（ICP-MS）により測定した。

詳細な分析手順は次の通りである。

1) 非イオン性樹脂による分画

非イオン性樹脂（DAX-8, Supelco 社製）を用いて溶解性有機物の分画を行った。DAX-8 はアクリル系でマクロ構造を有する樹脂であり、予備洗浄を行って使用した。

(a) 洗浄

洗浄方法として、約 20mL の樹脂を 100mL の PP 製容器に移し、0.1M NaOH に一晩浸漬した。この操作を連続 5 日間行った。その後、さらに、超純水、0.1M HCl、超純水、メタノール、アセトニトリル、メタノール、超純水の順に各 50mL×2 回の浸漬洗浄を行った。

(b) 分画

このように洗浄した非イオン性樹脂を用いて図-1 に示す手順で分析を行った。

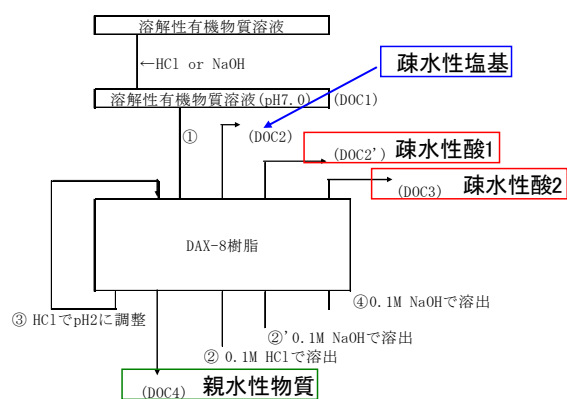


図-1 非イオン性樹脂による溶解性有機物の分画

①あらかじめ pH7 に調整した溶解性有機物溶液（DOC1）を通過した。通過後の樹脂に対し、②0.1M HCl で溶出して分取（DOC2：疎水性塩基）、②' 0.1M NaOH で溶出して分取した（DOC2'：疎水性酸1）。③樹脂通過液（①）を HCl で pH2 に調整してから、再び樹脂に通

液して通過液を分取した（DOC4：親水性物質）。④通過後の樹脂に対して、0.1M NaOH で溶出して溶出液を分取した（DOC3：疎水性酸2）。

本方法は、文献例を参考に一部改変したものである。使用する樹脂を XAD-7 から DAX-8 に変更し（製造中止のため）、操作手順に②' を追加している（疎水性酸を2種類に区別するため）。

2) メンブレンフィルターによる分画

分画分子量（MWCO）100,000 のメンブレンフィルター（Vivaspin 20, Sartorius 社製）を用いて、溶解性有機物の分画を行った。メンブレンフィルターは予備洗浄を行って使用した。

(a) 洗浄

メンブレンフィルターに希硝酸溶液 20mL を通水し、さらにミリ Q 水（超純水）20mL を通水して洗浄した。

(b) 分画

溶解性有機物溶液 20mL をメンブレンフィルターに通水し、通過液を分取した。

3) ICP-MS による測定

分取した試料について、高周波誘導結合プラズマ質量分析計（ICP/MS、X7CCCT サーモフィッシャーサイエンティフィック製）により鉄濃度を分析した。

(2) 溶解性ケイ素

溶解性ケイ素について、前年度は、非シリカベースのイオン交換樹脂カラムを用いた固相抽出によるシリカイオンの分離濃縮の前処理と FAB-MS（高速原子衝突質量分析）を組み合わせた、溶解性ケイ素分析方法を開発した。

本方法の利点としては、前処理でシリカイオン（溶解性無機ケイ素の主体）の濃度を高めるとともに、妨害イオン（他の陽イオン・陰イオン）を低減できることが挙げられた。

一方、課題としては、FAB-MS 測定において、イオン交換樹脂からの溶出に用いる NaOH 由来のピークが、シリカイオンのピーク出現位置にかぶるため妨害となることが挙げられた。また、イオン交換樹脂の交換容量の制約により、溶出液のシリカイオン濃度に上限があり、FAB-MS 測定に適したシリカイオン濃度まで濃縮できない場合があること、シリカイオン／NaOH 濃度比を高くできないこと等が挙げられた。

これらの課題への対応方策として、今年度は、イオン交換樹脂によるシリカイオンの分離濃縮後に、さらにエバポレーターで蒸発濃縮して、シリカイオン濃度を高める方法を検討することとした。しかしこの場合、蒸発濃

縮により NaOH 濃度も同様に高まってしまうことから、イオン交換樹脂からの溶出に用いる NaOH 溶液濃度を低くして、シリカイオン/NaOH 濃度比を高める方法についても検討した。

具体的には、溶解性ケイ素の標準試料（試薬）を用いて、高速原子衝突質量分析法（FAB-MS）により、 $\text{Si}(\text{OH})_4^-$ の多量体の質量スペクトルの分析を行った。

詳細な分析手順は次の通りである。

1) イオン交換樹脂による精製・濃縮

イオン交換樹脂（MC-1, MA-1, MA-2, GL サイエンス製）を用いて溶解性有機物の分画を行った。イオン交換樹脂は予備洗浄を行って使用した。

(a) 洗浄

イオン交換樹脂カラムは、メタノール 10mL×2 回、0.1molHCl（陽イオンカラムの場合）または 0.1molNaOH（陰イオンカラムの場合）10mL の順番で洗浄し、超純水で置換した。非シリカベースの樹脂であるため、樹脂由来の溶解性ケイ素の溶出は問題とならなかった。

(b) 精製・濃縮

イオン交換樹脂カラムを用いた固相抽出では、5 種 C ろ紙（孔径 $1\mu\text{m}$ 相当）でろ過した試料を次の通り 3 種類のカラムで処理して、溶解性ケイ素の精製・濃縮を行った。

実際の濃縮倍率は約 40 倍であったが、低濃度の試料の場合は通液量を増やすことで濃縮倍率を高くすることが原理的には可能であった。イオン交換樹脂の単位体積あたりで吸着可能な最大のイオン量（飽和量）は決まっており、保持されたイオンを効果的に溶出するためには樹脂体積の 2 倍程度の溶出液量が必要であることから、溶出液の溶解性ケイ素濃度には上限が存在した。

(i) 強陽イオン交換樹脂カラム（MC-1）に通過させ、陽イオンの除去を行い、通過液を得た。

(ii) 弱陰イオン交換樹脂カラム（MA-2）に通過させ、強陰イオン（Cl⁻ 等）の除去を行い、通過液を得た。

(iii) 強陰イオン交換樹脂カラム（MA-1）に通過させ、溶解性ケイ素をカラムに吸着させ、水酸化ナトリウム（NaOH）水溶液で溶出した。この溶出に用いる NaOH 溶液の濃度（通常は 1M）を変化させて最適な条件を検討した。

2) ロータリーエバポレーターによる蒸発濃縮

イオン交換樹脂からの溶出液約 4mL をロータリーエバポレーターにて蒸発濃縮させ、約 1mL の濃縮液を得た（濃縮倍率 4 倍程度）。濃縮しない試料も別途作成して、比較を行った。

3) FAB-MS による質量分析

精製・濃縮した溶解性ケイ素試料を、Tanaka ら⁶⁾の方法に準じて、FAB-MS により分析した。試料の導入は、直接導入ポートより行った。ステンレス製の測定ターゲットに試料及びマトリクス（グリセリン）をよく混合して塗布し、Xe の中性原子を高速で衝突させることにより、試料中の $\text{Si}(\text{OH})_4^-$ の多量体イオンを放出させた。これを逆配置二重収束型の質量分析部へ導入し、質量スペクトルを得た。

4) 検討条件

精製・濃縮に影響を及ぼす制御因子について検討するために、表-1 に示した通り、精製・濃縮方法については 2 水準（イオン交換樹脂による分離濃縮、同左+エバポレーター蒸発濃縮）、イオン交換樹脂に保持した溶解性ケイ素の溶出に用いる NaOH 溶液濃度については 3 水準（低濃度：0.1M、中濃度：0.25M、高濃度：1M）を設定し、操作ブランク（バックグラウンド）との比較のために Si 濃度も 2 水準（0mg/L：超純水、15mg/L：標準試料）を設定して、合計 3 因子について実験を行った。

表-1 溶解性ケイ素の精製・濃縮の制御因子

No.	因子	A	B	C
1	精製・濃縮方法	イオン交換樹脂のみ	イオン交換樹脂→ロータリーエバポレーター濃縮	
2	イオン交換溶出の NaOH 濃度	0.1M	0.25M	1M
3	Si 濃度	0 mg/L	15 mg/L	

これらの条件を、表-2 に示す通り実験に割り付けて検討を行った。

表-2 溶解性ケイ素の精製・濃縮の制御因子

		因子		
		濃縮精製方法	NaOH 濃度	Si 濃度
Run No.		1	2	3
1		A	A	A
2		A	A	B
3		A	B	A
4		A	B	B
5		A	C	A
6		A	C	B
7		B	A	A
8		B	A	B
9		B	B	A
10		B	B	B
11		B	C	A
12		B	C	B
13	G + 0.1M NaOH blank			
14	G + 0.25M NaOH blank			
15	G + 1M NaOH blank			
16	G blank			

G: グリセリン, blank: ブランク試料, 測定溶液/グリセリン体積比=1/5

(3) 元素分析その他

化学種分析の他に、ICP-MS により試料全体の溶解性鉄（D-Fe）および全鉄（T-Fe）を測定し、ICP-AES（誘導結合ブ

ラズマ発光分光分析) により溶解性ケイ素(D-Si)を測定した。溶解性の定義は、5種Cろ紙(孔径1 μ m相当)を通過するものとした。

3. 結果および考察

結果および考察は調査対象物質ごとに記述した。

3. 1 溶解性鉄について

(1) 化学種の分析

溶解性鉄の分画方法の検討のため、フミン標準物質を用いて、非イオン性樹脂を用いた2通りの分画を行い、疎水性・親水性、酸性・塩基性の化学的特性に応じて分離した。

各分画の溶解性鉄濃度を図-2に示し、DOC濃度を図-3に示した。

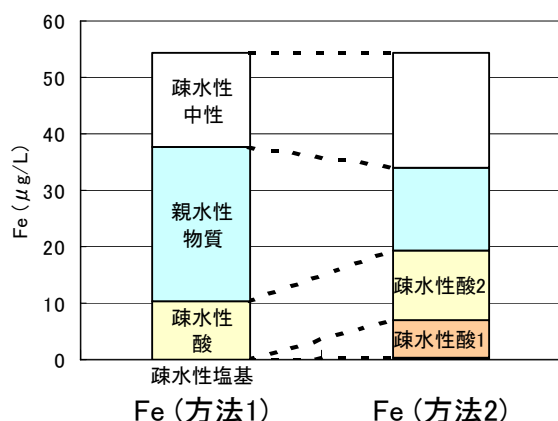


図-2 溶解性鉄の非イオン性樹脂による分画
(試料はフミン標準物質、)

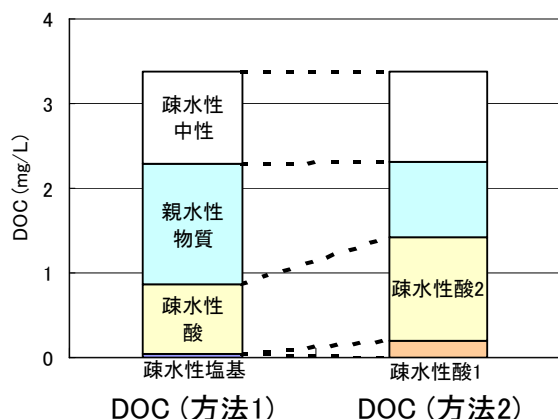


図-3 溶解性有機炭素の非イオン性樹脂による分画
(試料はフミン標準物質)

結果、溶解性の鉄・有機炭素の存在割合が、方法1(pH2で通液・NaOH溶出)と方法2(pH7で通液・NaOH溶出+方法1)とは異なっていた。鉄・有機炭素ともに、方法1では疎水性塩基<疎水性酸<親水性物質であったが、方法2では疎水性塩基<親水性物質<疎水性酸1+2であり、方法2では親水性物質がより少なく、疎水性酸が多くなっていた。疎水性塩基がきわめて少ないことは共通した傾向であった。

方法2では疎水性酸を2通りに区別している点が、方法1と異なる。pH7で通液後にNaOHで溶出した疎水性酸1と、その後にpH2で再度通液してからNaOHで溶出した疎水性酸2をあわせると、方法1で得られた疎水性酸と一致すると想定したが、溶解性の鉄および有機炭素のどちらの場合も一致せず、疎水性酸(方法1)<疎水性酸(1+2)であった。方法2では疎水性酸の割合が増えた分、親水性物質の割合が減っている傾向が見られた。

その理由としては、pH7で通液して吸着された物質がNaOHで一度溶出されることで、樹脂の吸着能力が回復し、pH2で通液した際に、より多くの物質を吸着することが可能となったためと考えられた。その結果、最後まで樹脂に吸着されずに親水性物質とみなされる成分が減少したものと推測された。

各分画の溶解性の鉄と有機炭素の濃度比(Fe/DOC)の比較を図-4に示した。ここで、疎水性塩基については存在量がきわめて小さいため誤差の影響が大きいため計算対象としなかった。

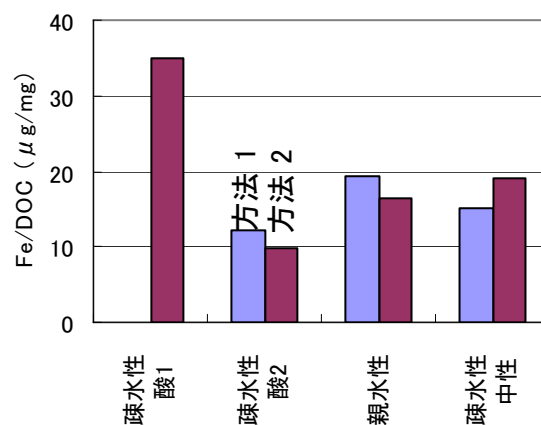


図-4 溶解性鉄／有機炭素比の分画による違い
(方法1の疎水性酸2は疎水性酸全体を指す)

同図より、疎水性酸2、親水性物質および疎水性中性物質の分画では、Fe/DOCはほぼ同等であり、方法1と方法2では類似の物質が分画されているものと考えられた。

疎水性酸1は疎水性酸2よりもFe/DOCが約3倍高くなっており、pH7で吸着してNaOHで溶出する疎水性酸1は、有機物あたりの鉄の存在量が大であった。

pH7で吸着する物質は、pH2でも吸着するはずであり、方法1の疎水性酸(図では疎水性酸2の位置)にも疎水性酸1に相当する物質が含まれているはずであるが、疎水性酸1の存在量が疎水性酸2よりかなり小さいため、全体としては疎水性酸2に近い特性が見られていた。

以上より、溶解性鉄が溶解性有機物質と結合した複合体について、主として次の3種類に分類することができた。

(i) 疎水性酸1—pH7でDAX-8に吸着し、NaOHで溶出(弱酸性物質か)

(ii) 疎水性酸2—pH7では吸着しないがpH2でDAX-8に吸着し、NaOHで溶出(強酸性物質か)

(iii) 親水性物質—pH条件によらずDAX-8に吸着しない

溶解性鉄の存在比率では(ii) > (iii) > (i)であったが、溶解性鉄/DOC比では(i)が最大であったことから、有機物あたりの鉄含有量は疎水性酸1が最大ということになる。

またメンブレンフィルターによる分子量分画では、分画分子量(MWCO)100,000を用いた場合、溶解性の鉄および有機炭素のほとんどが通過液中に存在していた。従って、分子量で分画するためには、より分画分子量が小さいフィルターを使用する必要があると考えられた。

今後は、河川水試料等の環境試料について、同様の分画を行ってその特性を把握するとともに、生物利用可能性についても検討を行う必要がある。

3.2 溶解性ケイ素について

(1) 化学種の分析について

溶解性ケイ素のFAB-MS分析における前処理方法の改良のため、溶解性ケイ素の標準試料(試薬)を用いて、濃縮・精製方法(イオン交換樹脂による分離濃縮、同左+エバポレーター蒸発濃縮、の2水準)およびイオン交換樹脂に保持した溶解性ケイ素の溶出に用いるNaOH溶液濃度(低濃度:0.1M、中濃度:0.25M、高濃度:1M、の3水準)の2種類の制御因子について最適化検討を行った。

それぞれの条件で前処理した試料のFAB-MSによる測定結果の例として、 $m/z=299$ ($\text{Si}_3(\text{OH})_2\text{O}_7\text{Na}_3^-$) 付近を図-5に、 $m/z=321$ ($\text{Si}_3(\text{OH})\text{O}_8\text{Na}_4^-$) 付近を図-6にそれぞれ示した。

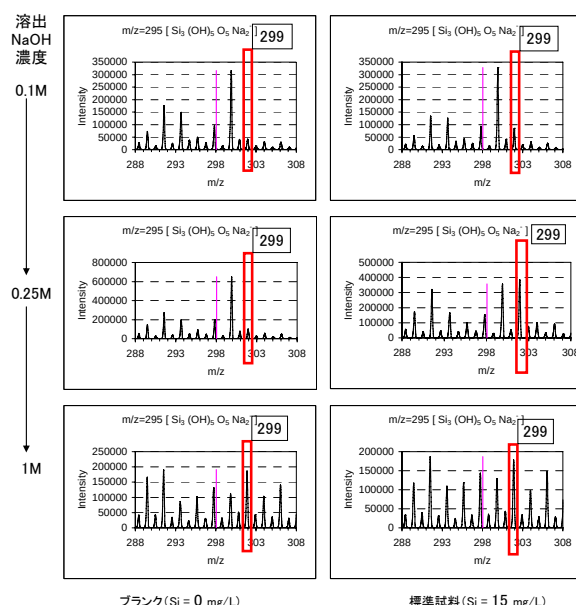


図-5 溶解性ケイ素のFAB-MS測定の前処理方法検討結果 ($m/z=299$ 付近、試料はシリカ標準試料)

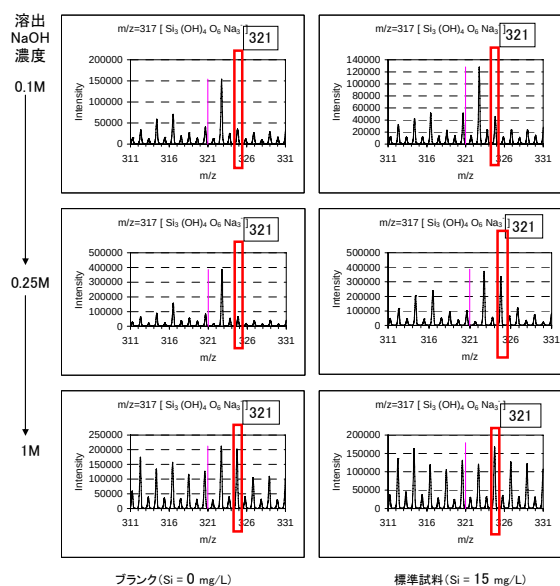


図-6 溶解性ケイ素のFAB-MS測定の前処理方法検討結果 ($m/z=321$ 付近、試料はシリカ標準試料)

濃縮・精製方法については、イオン交換樹脂のみによる場合よりも、エバポレーター蒸発濃縮を組み合わせた方が、強度が大で明瞭なピークが得られる傾向であった。これは、蒸発濃縮の追加により、試料中の溶解性ケイ素が十分に濃縮されて、FAB-MS測定に適した濃度(ターゲット上のグリセリンとの混合溶液状態で0.4g/L程度)になっているためと考えられた。

イオン交換樹脂に保持した溶解性ケイ素の溶出に用いるNaOH溶液濃度については、低濃度(0.1M)ではピーク

強度が低すぎる場合が多く、溶解性ケイ素の溶出が不十分と考えられた。高濃度（1M）では、溶解性ケイ素のピーク強度は十分大であったが、超純水のブランク試料（Si 濃度 0mg/L）の場合でも NaOH 由来のピークが強く、試料由来の溶解性ケイ素のピークとの分別が困難な場合があった。特に蒸発濃縮との組み合わせでは、NaOH が高濃度となりすぎて、試料由来のピークが見いだせなかった。

中濃度（0.25M）では、溶解性ケイ素のピーク強度が十分に大であり、蒸発濃縮と組み合わせた場合でも、NaOH が高濃度となり過ぎず、試料由来の溶解性ケイ素のピークをとらえることができた。

以上より、溶解性ケイ素の FAB-MS 測定の前処理方法としては、濃縮・精製方法として、イオン交換樹脂による分離濃縮＋エバポレーター蒸発濃縮を用い、イオン交換樹脂に保持した溶解性ケイ素の溶出に用いる NaOH 溶液濃度は 0.25M 程度が適切であると考えられた。

今後は、河川試料等の実試料の分析を行い、生物利用性の把握、水生生態系への影響および対策可能性の検討を進めていく必要がある。

参考文献

- 1) Humborg et al. : Effect of Danube River dam on Black Sea biogeochemistry and ecosystem structure, *Nature*, Vol.386, No. 27, pp. 385-388, 1997.
- 2) 原島省、陸水域のシリカ欠損と海域生態系の変質、*水環境学会誌*、26、pp. 621-625、2003
- 3) Matsunaga et al. : Riverine input of bioavailable iron supporting phytoplankton growth in Kesennuma Bay (Japan), *Water Research*, Vol.32, 1998, pp. 3436-3442.
- 4) Hutchins et al. : Competition among marine phytoplankton for different chelated iron species, *Nature*, 400, pp. 858-861, 1999
- 5) 今井他、琵琶湖湖水および流入河川水中の溶存有機物の分画、*陸水学雑誌*、59(1)、pp. 53-68、1998
- 6) Tanaka and Takahashi: The Identification of Chemical Species of Silica in Sodium Hydroxide, Potassium Hydroxide and Sodium Chloride Solutions by FAB-MS, *Analytical Sciences*, 1999, 15(12), pp. 1241-1250.

STUDY ON WATER AND NUTRIENT TRANSPORT MODEL ON BASIN SCALE (3)

Budged:

Research Period: FY2006-2010

Research Team: Material and Geotechnical

Engineering Research Group

(Recycling Research)

Author: OKAMOTO Seiichiro

YAMASHITA Hiromasa

Abstract: This research examined the impacts of wastewater treatment plants (WTPs) and storm-water discharge on the fate of essential elements in an urbanized watershed. Mass spectra of silica were obtained by fast atom bombardment mass spectrometry.

Key words: dissolved iron, dissolved silicon, silica, urban river, wastewater, storm-water