

# 海洋中の微量元素の動態を担う微小懸濁粒子のクリーン分解・乾固系開発と粒子態 Al, Mn, Fe, Cu, Zn, Cd, Pb の定量法確立

則末 和宏

新潟大学理学部

**概要** 海水中に存在する生物活性微量元素は、植物プランクトンの生理活性や群集構造に多様な形で作用することで海洋の基礎生産に影響を及ぼし、さらには地球表層の炭素サイクルや気候変動を解明する上で極めて重要な研究対象である。また、多くの微量元素は、海洋で起こる様々な過程や海洋の状態のトレーサーとして有用であることも明らかになってきている。一方で、海洋の重金属汚染など人為起源の化学物質による影響も重要テーマの一つであり、海洋環境における微量元素の研究が社会的にも益々重要なものになってきていると考えられる。海洋中の微量元素は、海水の物理的な運動のみならず、微小な懸濁粒子への吸着・取り込みやそこからの脱着・放出といった生物地球化学的過程にも支配されている。海洋環境における微量元素の動態に関する理解を深化させるには、従来成されてきた溶存態の分布に関する研究のみならず、溶存態と粒子態の双方の存在形態を視野に入れて研究を行うことが非常に重要である。しかし、粒子の酸による分解と試料溶液の蒸発乾固をクリーンに行うことが難しいため、粒子態の微量元素の研究は、溶存態のそれと比べて遙かに進展が遅い。

本研究では、海洋環境を理解する上で特に重要な Al, Ti, Mn, Fe, Cu, Zn, Cd, Pb, Bi を対象とし、それら粒子態微量元素群の分析法を確立することを目的として、閉鎖型のクリーン湿式分解・蒸発乾固システムを新規に開発し、これを用いた蒸発乾固過程での回収率、海底堆積物標準試料 MESS-4 を用いた酸濃度の検討、ブランク値の低減化と変動要因の検討を、クリーン技術を最大限に駆使して進めた。ブランク実験では、一連の分析操作を、フィルターを用いずに行った実験と用いた場合の操作ブランク実験の両方を行った。

まず、微量元素の標準溶液をバイヤルに既知量とり、これに分解・蒸発乾固の操作を適用したところ、回収率はほぼ定量的な値となり、本操作におけるロスはないことが分かった。また、堆積物試料 MESS-4 を用いて粒子の分解に用いる HNO<sub>3</sub> および HF の濃度を Al, Mn, Fe について調べた結果、HF 濃度 4.0 M, HNO<sub>3</sub> 濃度 8.0 M がそれぞれ至適濃度であることが分かった。我々のブランク値は、既報告値の 1/2~1/10 と低い値となった。このことから、閉鎖型乾固システムが有効であること、さらにはテフロン製液体輸送ポートを導入することで、汚染しやすい微量元素 Al や Fe の分析もより容易になることが示唆された。

今後、フィルターありブランク実験およびろ過操作も含めた全ブランク実験をさらに回数を重ねて行うことで、汚染源の明確化とブランク値の変動などを明らかにし、外洋海水の分析法として確立する予定である。本研究で用いるスーポアフィルターには大量海水をろ過できるという特長がある。この点を活用すれば、本研究で開発した分析法は、大量海水のろ過を必要とするパラメータ（例えば、懸濁粒子態 Pb 同位体比）の分析にも適用できる。既に我々のグループでは、懸濁粒子態 Pb 同位体比の分析法の開発にも着手している。

## 1. 研究目的

近年の海洋化学の研究成果から、海水中に存在する

生物活性微量元素は、海洋の植物プランクトンの生理活性や群集構造に多様な形で作用することで海洋の基礎生

産に多大な影響を及ぼしていること、さらには地球表層の炭素サイクルや気候変動を解明する上で極めて重要な研究対象であることが分かってきた。また多くの微量元素は高い地球化学的反応性を有しており、海洋で起こる様々な過程を鋭敏に反映したユニークな時空間変動を示すことから、そのような過程や海洋の状態のトレーサーとして有用な研究ツールであることも明らかになってきている<sup>(1)</sup>。一方で、海洋の重金属汚染など人為起源の化学物質による影響は、Gサイエンス学術会議の共同声明「海洋の未来：人間活動が海洋システムに及ぼす影響」における重要テーマの一つとして提起され<sup>(2)</sup>、海洋環境における微量元素の研究が社会的にも益々重要なものになってきていると考えられる。

海洋中の微量元素は、海水の移流や渦拡散等の物理的過程のみならず、微小な懸濁粒子への吸着・取り込みやそこからの脱着・放出といった生物地球化学的過程にも支配されている<sup>(3,4)</sup>。特に沿岸域や我が国周辺の縁辺海域は、基礎生産力が高く、懸濁粒子量が多く、粒子による吸着・除去やそこからの供給・放出が活発である。このような陸と海の境界域で起こる元素と粒子物質との相互作用の過程（'boundary process'）は、外洋における物質循環にも多大な影響を及ぼしていることが海洋化学の国際共同研究「国際 GEOTRACES 計画<sup>(5,6)</sup>」において指摘されており<sup>(7)</sup>、3 次元的なグローバル炭素・物質循環の鍵を握っていると考えられる。

海洋環境における微量元素の動態に関する理解を深化させるには、従来成されてきた溶存態の分布に関する研究のみならず、溶存態と粒子態の双方の存在形態を視野に入れて研究を行うことが非常に重要である。しかし、粒子の酸による分解と試料溶液の蒸発乾固をクリーンに行うことが難しいため、粒子態の微量元素の研究は、溶存態のそれと比べて遙かに進展が遅い。例えば、簡易な閉鎖型の蒸発乾固システムを開発できれば、その有用性は高いが、非常に汚染しやすい Al や Fe を対象に含めた開発研究は成功例がなく、チャレンジングな課題であると言える。

本研究の目的は、閉鎖型のクリーン湿式分解・蒸発乾固システムを新規に開発し、粒子態微量元素群の分析法を確立することである。閉鎖型システムの開発において想定される問題点として、系の接続部分からの微量元素の

溶出汚染が危惧されること及び蒸発が遅いことがあげられる。そこで、市販の一体成形型送気捻蓋を新規に導入し、これにより、系の気密性を高めると共に溶出汚染を最小限に抑えるよう検討した。またテフロン真空ポンプを用いてクリーンな清浄空気を供給し続けることで、酸の蒸気を速やかに排出できるように設計した。本研究では、海洋環境を理解する上で鍵となる Al（地殻物質の指標）、Mn（酸化還元環境の指標）、Fe、Cu、Zn（微量必須栄養素）、Cd、Pb（人為起源重金属）を主な研究対象とした。これらの微量元素は国際 GEOTRACES 計画において 'key parameter' に指定されており、先進諸国の研究機関において観測・研究することが強く推奨されており、国際連携を推進する上でも重要な研究対象である。本研究において、上記の粒子態 key parameter 微量元素群の一括定量法を開発することは、学術的に新しい取り組みであるだけでなく、国際貢献を果たす意義も有している。

## 2. 研究方法

### 2.1 クリーン分析技術

海洋の微量元素・同位体に関しては、観測および分析を通しての汚染の影響が深刻である。観測や分析現場における雰囲気、用いる器具・試薬からの分析対象物が混入しないよう、細心の注意と技術を駆使する必要がある。

本研究では、器具の洗浄、溶液調製など実験全般にわたって、超純水製造装置 (Milli-Q Reference, Millipore 社) で精製した超純水を用いた。懸濁粒子の分解に用いたテフロンバイヤル (平底 15 mL, Savillex 社)、テフロン一体成形型送気捻蓋 (Savillex 社)、クリーン湿式分解・蒸発乾固システムの各部品は、5% Extran 洗剤溶液および 4 M HCl に完浸させて洗浄後、超純水でゆすいだ後 (ここまでを通常洗浄と呼ぶ)、適宜超高純度 HNO<sub>3</sub> あるいは HCl (いずれも Ultrapur-100, 関東化学社) を用いて加熱洗浄した。未ろ過海水を入れるポリエチレンバッグ、ろ過システム (PES 製, ザルトリウス社) の各部およびシリコンチューブは、通常洗浄後、超純水中に完浸させた。直径 47 mm, 孔径 0.2 μm フィルター (スーポア膜ブレン, Pall 社) は、0.5 M HNO<sub>3</sub>, 1.2 M HCl 中で、それぞれ 60°C で一晩加熱した後、超純水中で一晩静置させて洗浄した。低密度ポリエチレン瓶、マイクロピペッター用のチップは、通常洗浄後、0.5 M HNO<sub>3</sub> および超純水でそれぞれ加熱洗浄した。

溶液やフィルター試料は、全てHEPA ファンユニットによって清浄な空気が送気される自家製のクリーンブース内で扱った。

## 2.2 海水試料のろ過システムとろ過操作

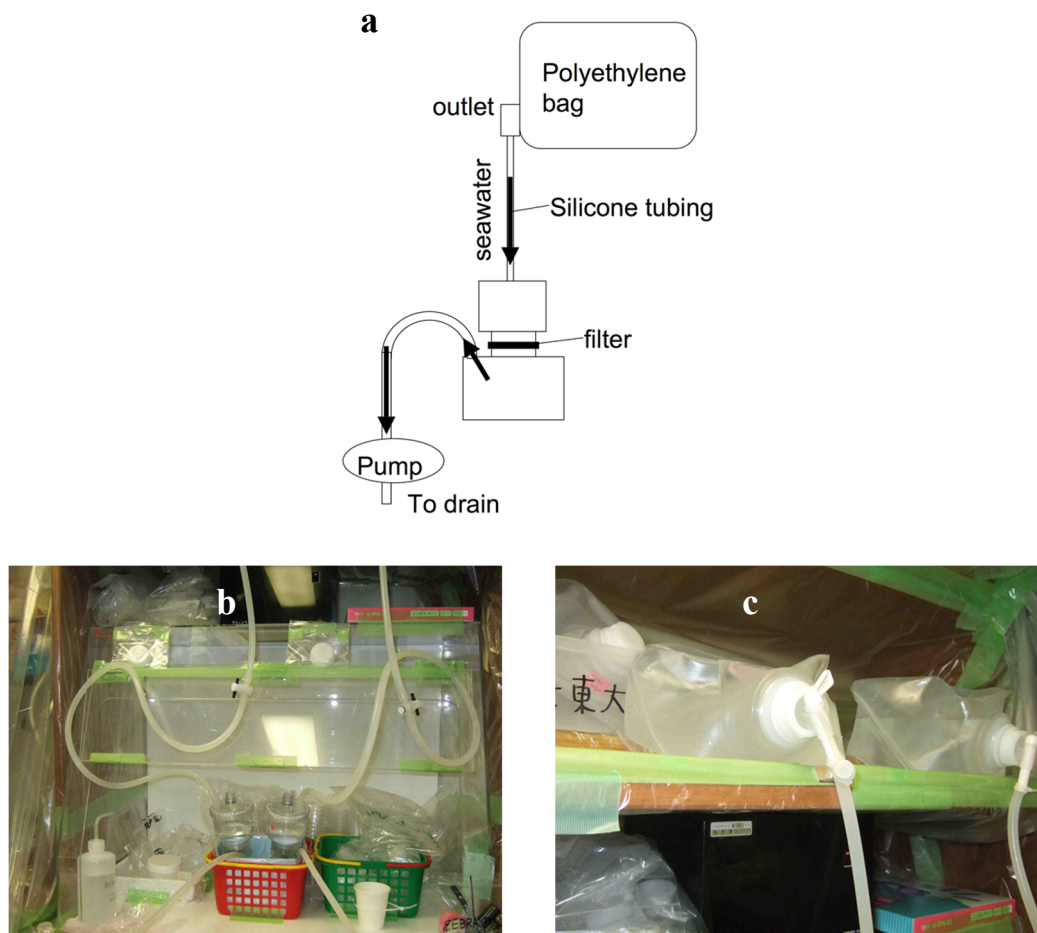
ろ過システムの概略図を Fig. 1 に示す。PES 製ろ過器は、海水試料を入れるポリエチレンバッグおよび吸引ポンプとシリコンチューブを用いて接続した。5 L 未ろ過海水を入れたポリエチレンバッグを上方に設置し、スーポアメンブレンフィルターをセットしたろ過器へ流した。その際、下流の吸引ポンプにより、 $-80$  kPa で減圧することでろ過を行った。ろ過終了後、フィルターを通常洗浄済みのペトリディッシュに納め、マイナス  $20$  °C で保存した。

## 2.3 閉鎖型のクリーン湿式分解・蒸発乾固システム

クリーン湿式分解・蒸発乾固システムの概略図を Fig. 2 に示す。システムは、清浄な空気を送り出すフルテフロン真空ポンプ、分解系(テフロンバイヤル)あるいは乾固系

(テフロン一体成型型送気捻蓋)、アルカリトラップをテフロンチューブ等から構成されており、テフロンバイヤルはホットプレート上に設置した。本システムは、上方に HEPA ファンユニットを搭載した専用のクリーン排気ブースに格納されており、生じる酸蒸気はアルカリトラップにて吸収されるよう設計した。

粒子状物質は陸源の粘土鉱物であるアルミノケイ酸塩、生物起源の有機物、オパールや方解石等の生鉱物などから構成されている。これらの粒子状物質を分解する上で、HF が有用である。分解完了後には HF を試料から除去する必要があるが、通常の開放系で蒸発乾固を行うと微量元素が雰囲気から混入してしまう(コンタミネーション)。そこで、乾固時には、一体成型型送気捻蓋へつなぎ、加熱すると共に系内に清浄な空気をポンプで送気し続けることで、HF を測定試料からクリーンに除いた。



**Fig. 1.** Filtration system (a) Outline of the system. (b) Picture of the system. (c) Polyethylene bags containing samples that locate above the filtration system

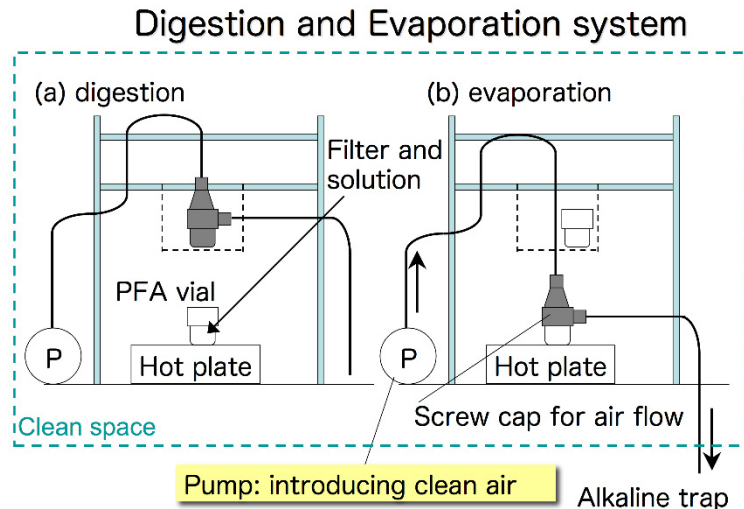


Fig. 2. Outline of the closed digestion and evaporation system<sup>13</sup>

この分解・乾固系における分析手順の概略は以下のとおりである:

- (1) フィルター試料を適当なサイズに分割し、フィルター片をバイアル底部に設置した。
- (2) 8.0 M HNO<sub>3</sub> – 4.0 M HF 2 mL をバイアルに加え、フタをきつく閉めて、110°C で 4 時間加熱した。
- (3) フィルター片を取り出した後、バイアルを一体成型型送気捻蓋に接続、蒸発操作を開始した。
- (4) バイアル内の残渣が少量となった時点で、一体成型型送気捻蓋からバイアルを取り外しそこに濃硝酸を 100 μL 加えた。再度、バイアルを一体成型型送気捻蓋に接続し、蒸発乾固させた。
- (5) 残渣を 0.5 M HNO<sub>3</sub> 5 mL に再溶解させた。

## 2. 4 微量元素の定量

測定対象とした微量元素は、GEOTRACES key parameter に加えた Al, Ti, Mn, Fe, Cu, Zn, Cd, Pb, Bi である。Bi は人為起源の指標として、また、海洋上層部で季節的に消長するモード水塊の極めて有効な化学指標として期待できるユニークな元素であり<sup>(8,9)</sup>、粒子反応性が高い元素であるため、本研究でも対象としている。

以上の元素群の測定には、極めて高感度な分析装置である誘導結合プラズマ質量分析装置 ICPSFMS (ELEMENT XR, ThermoFisher Scientific 社)を用いた。ICPMS では質量と電荷の比( $m/z$ )別に定量されるが、分子イオンによる干渉が問題となる軽元素 Al, Ti, Mn, Fe, Cu,

Zn に対しては、中分解能の条件で測定した。一方、分解能は問題ではなく、装置の感度を最大限高めることが重要な Cd, Pb, Bi に対しては、低分解能の条件で測定した。溶液導入には、PFA マイクロフローネブライザーを使用した。

## 3. 研究結果と考察

海洋における懸濁態微量元素を精確に定量するには、一連の操作におけるブランク値や検出限界が十分低く、目的元素が定量的に回収されると共に、測定における干渉も少ないことが重要である。これらの難しい要件を克服するために、本研究では、分解・乾固システムの動作性能を確認しながら、添加回収実験、海底堆積物標準試料 MESS-4 を用いた酸濃度の検討、ブランク値の低減化と変動要因の基礎検討を行った。ブランク実験では、汚染源を特定するために、フィルターを用いずに行った実験と用いた場合の操作ブランク実験の両方を行った。

### 3. 1 回収率の評価

一連の分析操作で研究対象の微量元素が定量的に回収されることが求められる。揮発性のある元素の場合、蒸発乾固過程で失われる可能性がある。そこで、微量元素 (Al, Mn, Fe, Pb, Bi) の標準溶液をバイアルに既知量とり、実際の試料と同様に操作を行った。その結果、これらの微量元素の回収率は 101-109% ( $n = 4$ ) とほぼ定量的な値となった。これらの元素については本研究で行う蒸発乾固操作におけるロスはないことが分かった。上記以外の元素

については、同様の実験を行っておらず、今後検討する予定である。

### 3.2 堆積物標準試料を用いた酸濃度の検討

海底堆積物は、陸源の難分解性のアルミノケイ酸塩などが含まれている。そこで、湿式分解の条件を決定するために、堆積物試料 MESS-4 を用いて分解操作で用いる HNO<sub>3</sub> および HF の濃度依存性を調べた。ここでは顕著な濃度依存性を示した Al, Mn, Fe について述べる。これらは陸源物質に比較的多く含まれる元素である。

HF 濃度 4.0 M の一定条件下、HNO<sub>3</sub> 濃度を 3.0–8.0 M の範囲で変化させて分解実験を行ったところ、HNO<sub>3</sub> 濃度の上昇に伴って Al, Mn, Fe の堆積物分析値は増加し、HNO<sub>3</sub> 濃度 8.0 M において標準試料の分析値と近い値となった(3 元素の分析値の認証値に対する一致度は 5% 以内であった)。このことから、HNO<sub>3</sub> 濃度 8.0 M が最適であることが分かった。

次に HNO<sub>3</sub> 濃度を一定条件下、HF 濃度を 2.0–5.5 M の範囲で変化させて同様の実験を行った。各元素の回収率は、HF 濃度 2.0 M において最も低いものの、3.0 M より高い濃度でさらなる増加傾向を示さなかった。このことから、本研究では、4.0 M を至適 HF 濃度とした。

### 3.3 ブランク実験

ブランク実験では、フィルターなしブランク実験とフィルターありブランク実験を行った。フィルターなしの操作は、8.0 M HNO<sub>3</sub>–4.0 M HF を洗浄済みのテフロンバイヤルに加え 110°C で 4 時間加熱、および蒸発乾固・再溶解に対応する。フィルターありの操作は、洗浄済みスーポアフィルター片をバイヤルにセットし、同等の処理に対応する。各ブランク実験で得られた最終溶液(0.5 M HNO<sub>3</sub> 5mL) を ELEMENT XR ICPSFMS に導入して微量元素を定量した。

本研究で得られたフィルターなし実験でのブランク値を報告データと比較した。先行研究の結果と、本研究のフィルターなしブランク値を比較するために、バイヤル当たりのブランク値 (ng/バイヤル) を求めた。比較の結果を簡単に述べる。これまでに本研究と同様の閉鎖型乾固システムを用いた研究例があるが、極めて汚染しやすい Al や Fe を含めた検討結果は報告されていなかった<sup>(10)</sup>。また、Cu を除く全ての元素に関して、我々のブランク値は、既報の報告データ<sup>(10-12)</sup>の 1/2~1/10 と最も低い値となった。このこ

とから、閉鎖型乾固システムが有効であること、さらにはテフロン製液体輸送ポートを導入することで、汚染しやすい微量元素 Al や Fe の分析もより容易になることが示唆された。Cu のブランク値は報告データよりも数倍高い結果となり今後検討が必要である。

フィルターありブランク実験については、現在検討を進めている。最近の結果では、元素によっては、フィルター由来の汚染よりもろ過操作過程における汚染の影響が重要であることが明らかになりつつある。今後、フィルターありブランク実験およびろ過操作も含めた全ブランク実験をさらに回数を重ねて行うことで、汚染源の明確化とブランク値の変動などを明らかにし、外洋海水の分析法として確立する予定である。

## 4. 今後の課題

本研究では市販の一体成型型送気捻蓋を新規に導入し、閉鎖型蒸発乾固システムを構築し、海洋中の懸濁粒子態微量元素分析法の確立に向けて諸検討を行った<sup>(13)</sup>。蒸発乾固過程で研究対象とした元素は定量的に回収された。また、堆積物標準物質を用いて分解溶液の酸濃度の最適条件を見出した。さらに堆積物試料の分析結果は認証値とよく一致した。微量元素分析における最重要課題は、ブランク値の低減化と汚染源の特定である。そのために、フィルターなしの操作ブランク実験を行ったところ、既報の分析値よりも Cu 以外の元素については低い値を得ることができた。このことは本研究で導入した閉鎖型乾固システムが懸濁粒子態微量元素の分析に有用であることを示している。

今後は、フィルターに由来する汚染とろ過操作における汚染を定量的に評価する。Al, Fe などの元素については、フィルターのブランク値が全操作ブランク値の主要起源になる。まず、スーポアフィルターの洗浄法を検討し、フィルターのブランク値を十分低く保つ条件を見出す。また、手法を確立し、GEOTRACES 航海で採取したフィルター試料の分析を進める。

本研究で用いるスーポアフィルターには大量海水をろ過できるという特長がある。この点を活用すれば、本研究で開発した分析法は、大量海水のろ過を必要とするパラメーター(例えば、懸濁粒子態 Pb 同位体比)の分析にも適用できる。既に我々のグループでは、懸濁粒子態 Pb のその

同位体存在比を決める手法の開発にも着手している。

## 5. 文献

- 1 **則末和宏**. 微量元素と同位体を用いる世界海洋の断面観測 *化学と工業* **61-3** (2008) 232-233.
- 2 G7 Science Academies' Statement 2015: [www.scj.go.jp/ja/info/kohyo/pdf/kohyo-23-gs2015-3.pdf](http://www.scj.go.jp/ja/info/kohyo/pdf/kohyo-23-gs2015-3.pdf)
- 3 西村雅吉 編, 角皆静男, 乗木新一郎 著. 海洋化学化学で海を解く, 産業図書.
- 4 Chester, R. *Marine Geochemistry*, 2nd ed., Blackwell, Malden, 2000, pp. 52-87.
- 5 国際 GEOTRACES 計画は, 海洋における微量元素と同位体に関する国際共同研究プログラム (An International Study of the Marine Biogeochemical Cycles of Trace Elements and Their Isotopes) である。海洋研究科学委員会 SCOR の大型海洋研究として 2005 年に発足した (<http://www.geotraces.org/>)。
- 6 **則末和宏**. GEOTRACES 大西洋航海 *財団法人海洋化学研究所 海洋化学研究* **20** (2009) 13-18.
- 7 国際 GEOTRACES 計画の詳細を記載した Science Plan のサイト: <http://www.geotraces.org/science/science-plan>
- 8 **Norisuye, K.**, Sohrin, Y. Determination of bismuth in open ocean waters by inductively coupled plasma sector-field mass spectrometry after chelating resin column preconcentration. *Analytica Chimica Acta* **727** (2012) 71-77.
- 9 **則末和宏**. 海洋における微量元素ビスマス分布. *財団法人海洋化学研究所 海洋化学研究総合論文* **25** (2012) 68-77.
- 10 Nakatsuka, S., *et al.* Simultaneous determination of suspended particulate trace metals (Co, Ni, Cu, Zn, Cd and Pb) in seawater with small volume filtration assisted by microwave digestion and flow injection inductively coupled plasma mass spectrometer. *Analytica Chimica Acta* **594** (2007) 52-60.
- 11 Ohnemus *et al.* Laboratory intercomparison of marine particulate digestions 487 including Piranha: a novel chemical method for dissolution of polyethersulfone filters. *Limnol. Oceanogr.: Meth.* **12** (2014) 530-547.
- 12 Twining, B.S. *et al.* Comparison of particulate trace element concentrations in the North Atlantic Ocean as determined with discrete bottle sampling and in situ pumping *Deep-Sea Res. II* **116** (2015) 273-282.
- 13 Maruyama, K. *et al.* Clean digestion/evaporation system for the determination of suspended particulate trace metals in the ocean (*in prep*).

Development of a Clean Evaporation and Digestion System for Analyzing Fine Suspended Particles Regulating the Dynamics of Trace Elements in the Ocean and the Determination of Particulate Al, Mn, Fe, Cu, Zn, Cd and Pb

Kazuhiro Norisuye

Faculty of Science, Niigata University

Summary

Suspended marine particles play a central role on the marine biogeochemical cycles of trace elements and their isotopes in the ocean that are paid attention by recent international program 'GEOTRACES'. Despite their great importance, suspended particulate trace elements are challenging objectives because they exist at low concentrations and some of them are contamination prone elements. Especially, removal of HF used as digestion solution requires evaporation procedure that has a high risk of contamination. This study has designed a new digestion and evaporation system that is capable of analyzing marine particles for the GEOTRACES key trace elements. Experimental results proved low system blanks for many trace elements.