

長光路吸光光度分析法を用いたヒ酸塩、リン酸塩 および粒状ヒ素、粒状リンの高感度計測

○橋濱史典・諏訪修平・神田穰太

(海洋大院)

キーワード：ヒ酸塩・リン酸塩・粒状ヒ素・粒状リン・LWCC

【はじめに】

ヒ酸塩は海洋に存在する溶存ヒ素化合物の主要形態であり、微生物の代謝においてリン酸塩と区別されずに取り込まれる (Neff 1997)。取り込まれたヒ酸塩は、微生物中に蓄積して毒性を示すか、あるいは解毒されて排出される。このプロセスにはヒ素の溶存-粒状間における形態変化が存在する。

貧栄養かつ広大な亜熱帯海域には、リン酸塩が極度に枯渇した海域が存在する (Hashihama et al. 2009)。リン酸塩枯渇域のヒ素およびリン動態の把握は、亜熱帯海域の生物生産のメカニズムを理解する上で重要であるが、研究例は著しく少ない (e.g. Wurl et al. 2013)。リン酸塩枯渇域のヒ素およびリン動態を明らかにするためには、低濃度のヒ素およびリンを形態別に簡便に高感度計測する分析法の確立が必須である。本研究では、リン酸塩および粒状リンの長光路吸光光度分析法をヒ酸塩および粒状ヒ素の計測に応用することで、ヒ酸塩とリン酸塩および粒状ヒ素と粒状リンの高感度計測法を確立した。

【ヒ酸塩およびリン酸塩分析】

長光路吸光光度分析にはオートアナライザー (AA II, テクニコン) と 1 m の長光路キャピラリーセル (LWCC, WPI) を組み合わせたシステムを用いた。本システムはリン酸塩の長光路吸光光度分析 (Hashihama et al. 2009) に準じているが、ヒ酸塩の発色時間がリン酸塩の発色時間よりも長い (Johnson, 1971)、マニホールド部に発色用テフロンチューブと恒温槽を追加で組み込んだ。ヒ酸塩の最適発色条件は、温度 37°C、反応時間 90 分であった。

リン酸塩濃度は還元試薬 (二亜硫酸ナトリウム-チオ硫酸ナトリウム混液; Johnson, 1971) を添加した試料を分析することで求めた。ヒ酸塩濃度は還元試薬無添加の試料を分析し、ヒ酸塩+リン酸塩濃度を求め、そこからリン酸塩濃度を差し引くことで求めた。還元試薬によるヒ酸塩の発色阻害はほぼ 100%であったが、還元試薬自体にわずかに吸光度上昇がみら

れたため、吸光度の補正が必要であることがわかった。本システムのヒ酸塩およびリン酸塩の検出限界はそれぞれ 6 nM および 3 nM であった。

試料凍結によるヒ酸塩およびリン酸塩濃度への影響を調べたところ、凍結および未凍結試料の濃度に有意差はなかった (t -test, $p>0.05$)。亜熱帯海域で採取した試料について繰り返し測定 ($n=5$) したところ、ヒ酸塩平均濃度 19 nM および 16 nM の試料について、変動係数 (CV) はそれぞれ 11% および 13% であった。一方、同試料のリン酸塩平均濃度は 42 nM および 151 nM であり、CV はそれぞれ 2% および 1% であった。

【粒状ヒ素および粒状リン分析】

粒状ヒ素および粒状リンは、湿式酸化分解処理と長光路吸光光度分析を組み合わせた方法により分析した。湿式酸化分解処理は、GF/F フィルター上に集めた粒状物を 3% ペルオキシ二硫酸カリウムで分解処理する Suzumura (2008) の方法に従った。処理後の試料はヒ酸塩およびリン酸塩の長光路吸光光度分析で計測し、粒状ヒ素および粒状リン濃度を求めた。

粒状リンの湿式酸化分解については Suzumura (2008) により、外洋試料の場合十分に分解されることが示されている。一方、粒状ヒ素については報告がないため、有機ヒ素化合物を用いて酸化分解効率を調べた。メチルアルソン酸およびジメチルアルシン酸の酸化分解効率 ($n=3$) はそれぞれ 93±5% および 99±6% であり、ほぼ完全に分解されることがわかった。

GF/F フィルターからのヒ素およびリンのコンタミを調べたところ、フィルター無しのブランクと比較して吸光度に有意差はみられず (t -test, $p>0.05$)、コンタミは無視できることがわかった。

亜熱帯海域で採取した試料について繰り返し測定 ($n=3$) したところ、粒状ヒ素平均濃度 2 nM の試料の CV が 15% であり、粒状リン平均濃度 10 nM の試料の CV は 0% であった。