

超音波抽出法を用いた生物利用可能態リンの測定手法

豊橋技術科学大学 学生会員

○村田 恵

豊橋技術科学大学 正会員

井上隆信 横田久里子

豊橋技術科学大学

Mbabazi James

1. 背景・目的

近年、人口および産業の集中等により、湖沼や内湾などの閉鎖性水域において富栄養化が問題になっている。富栄養化の原因のひとつとして、河川から閉鎖性水域への栄養塩流入が挙げられる。過去の研究で、藻類増殖には溶存態リン(DP)と懸濁態リン(PP)中の一部が利用されていることが明らかになっている。富栄養化には藻類増殖が大きな影響を与えており、生物利用可能態リン(BAP)を把握することはきわめて重要である。本研究では懸濁物の捕集方法を3種類の方法で行い、超音波抽出法を用いた効率的なBAPの測定方法について検討し、提案することを目的とした。さらに、全リン(TP)、PP中でのBAPの割合の算出をし、BAPの存在割合について検討を行った。

2. 実験方法

本研究で使用したサンプルは、愛知県豊橋市の南西部を流れる西ノ川で、2015年9月1日の降雨時に地点1、2の2か所、10月30日の平水時に地点1の1か所で採水した。図1に採水地点を示す。

超音波抽出を行う懸濁物の捕集を、地点1の降雨時のサンプルでは、連続遠心分離による捕集(sediment)、ろ過による捕集(filtration)、捕集なし(direct)の3種類すべての捕集方法を行い、平水時のサンプルでは、sediment, filtration, 地点2の降雨時のサンプルでは、filtration, directで行った。

sedimentはサンプルを15000rpm, 150mL/minで連続遠心分離し、懸濁物質を取り出した。取り出した懸濁物質は40℃、3~4日炉乾燥させ、乳鉢ですりつぶした。得た懸濁物質50mgをバイアルに入れた。

filtrationはSS濃度より50mg捕集できるサンプルの量を算出し、ろ紙(GF/F)を使用して、サンプルのろ過を行った。ろ紙ごとバイアルに入れ、バイアル中でろ紙を細かく切った。

directはSS濃度より懸濁物質の総量が50mgになる

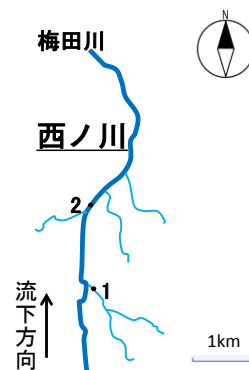


図1 採水地点

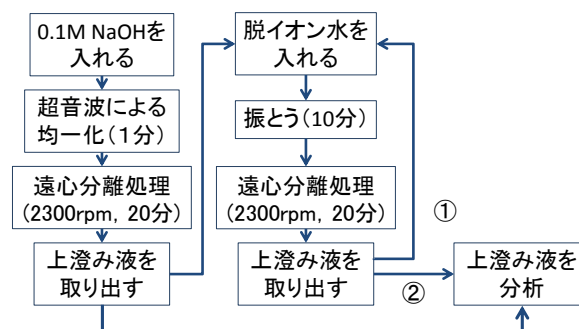


図2 超音波抽出法の概要

サンプルが0.1M水酸化ナトリウム水溶液と同じ濃度になるように、水酸化ナトリウム水溶液をサンプルに加えた。

超音波抽出法の概要を図2に示す。50mLバイアルに懸濁物質を入れ、0.1M水酸化ナトリウム水溶液を溶媒として、1分間超音波抽出を行った。抽出した後は、2300rpm、20分で遠心分離処理を行い、抽出溶媒の上澄み液を取り出した。その後、脱イオン水を注入し、10分間、振とうさせた後、遠心分離処理を行い、上澄み液を取り出した。その後、もう一度、同様の操作を行った。上澄み液の分析はオートアナライザーを使用した。過硫酸カリウム分解をさせずに定量を行った反応性リン(SRP)と、過硫酸カリウム分解をさせ、定量を行ったものとの差を非反応性リン(NRP)とに分けた。BAP濃度の算出は、SRP, NRP, DPの濃度の和で求めた。TP, DPはオートアナライザーで測定を行った。PPはTPとDPとの差から算出した。

3. 結果・考察

本研究では連続遠心分離法で sediment から抽出したものを適切な値として考察を行った。採水したサンプルを sediment, filtration, direct で抽出した BAP 濃度を図 3 に示す。地点 1 で採水した降雨時、平水時サンプルを sediment, filtration で抽出した SS あたりの BAP 濃度を図 4 に示す。降雨時の地点 1 では sediment, filtration, direct で抽出を行った。BAP 濃度は sediment と比較して、filtration は 111%, Direct は 63%を示した。また、SS あたりの BAP 濃度は sediment と比較して、filtration は P-BAP(124%), NRP(172%), SRP(104%)を示した。BAP, P-BAP の測定には、ろ過で懸濁物質を捕集する方法は有効な方法であると考えられる。降雨時の地点 2 では filtration, direct で抽出を行った。BAP 濃度は filtration と比較して、direct は 70%を示し、地点 1, 2 とともに小さな値となった。現段階での超音波抽出法の最適条件が SS 濃度 1mg/mL であるのに対し、direct では溶液中の SS 濃度が低く、抽出効率が低かったためにほかの捕集方法との差が生じたと考えられる。平水時の地点 1 では sediment, filtration で抽出を行った。BAP 濃度は sediment と比較して、113%を示したが、SS あたりの BAP 濃度は sediment と比較して、P-BAP(175%), NRP(690%), SRP(34%)を示し、大きな差が生じた。平水時には DP の割合が大きく、BAP は P-BAP と DP の和であるため、BAP 濃度は近い値となった。平水時サンプルは SS 濃度が低く、50mg 捕集するにはろ過にかなりの時間を要してしまい、正確に捕集ができなかったこと、時間変化が生じてしまった可能性が考えられる。DP の割合が大きいため、ろ過で懸濁物質を捕集する方法でも BAP 濃度は近い値を示すが、SS 濃度の低いサンプルでは時間と精度の面から連続遠心分離法で懸濁物を捕集する方法が効率的であると考えられる。

TP 中の BAP 比率を図 5 に示す。BAP は降雨時で TP の約 50~70%, 平水時で約 50%となった。TP のうち P-BAP の割合は、降雨時では TP の約 20~30%, 平水時では約 10%となった。BAP に対し、降雨時には P-BAP の影響が大きく、平水時には P-BAP の影響が小さいことがいえる。降雨時の BAP 中での P-BAP の割合は 47%と大きく、BAP 濃度に対して重要であるといえるが、平水時には BAP のうち DP の占める割合が大きく、P-BAP は 18%となった。

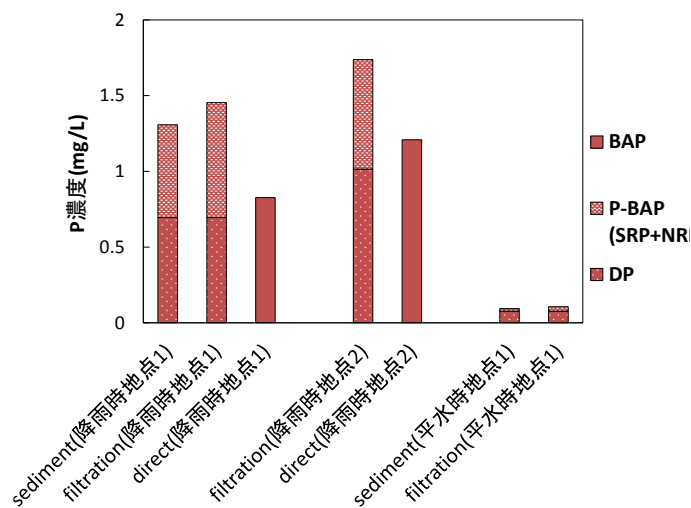


図 3 BAP 濃度

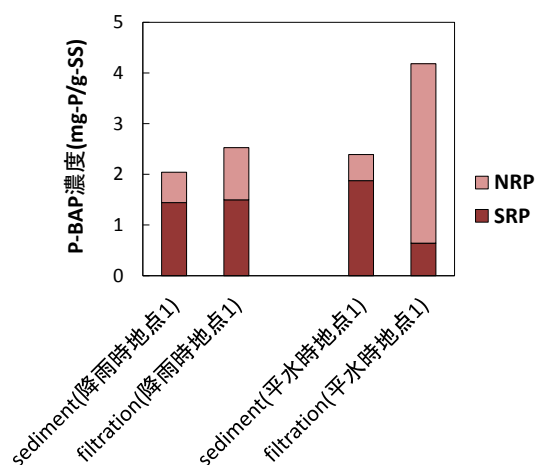


図 4 SS あたりの BAP 濃度

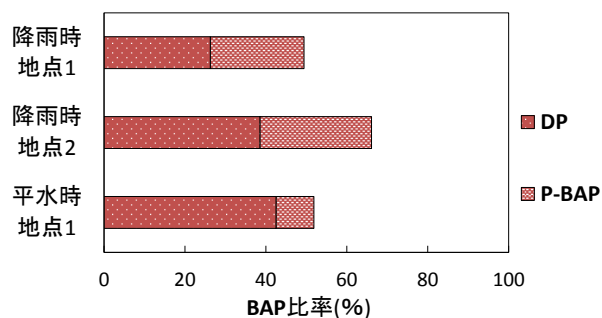


図 5 TP 中の BAP 比率

4. 結論

SS 濃度の高いサンプルでは、ろ過で懸濁物質を捕集する方法は BAP, P-BAP を測定するには有効であると考えられる。SS 濃度の低いサンプルでは、時間と精度の面から連続遠心分離法で懸濁物を捕集する方法が効率的である。現段階での捕集なしでサンプルから直接抽出する方法での測定は困難であった。

SS 濃度が高いサンプルでは P-BAP の影響が大きく、低いサンプルでは P-BAP の影響が小さくなった。