

(65) 河川における溶存二価鉄の定量法の検討と測定

尾崎 則篤^{1*}・山本 薫²・佐藤 太一¹・金田一 智規¹・大橋 晶良¹

¹広島大学大学院工学研究科 (〒739-8527 広島県東広島市鏡山1-4-1)

²広島大学工学部 (〒739-8527 広島県東広島市鏡山1-4-1)

* E-mail: ojaki@hiroshima-u.ac.jp

河川において溶存している鉄の濃度をその形態ごとに定量することは、その生態学的役割を議論する際に重要である。本研究では様々な形態の鉄が混合する河川水域において Fe^{2+} の濃度を正確に測定する方法を開発し、その方法を用いて実河川において継続的な測定を実施した。 Fe^{2+} に対して選択的にキレートを形成し発色するferrozine(FZ)を用い、その測定法を検討した。 Fe^{2+} はFZときわめて短時間(5秒以内)に結合することを示し、経時変化の切片値を採用した。更にその測定値も実環境ではFZの濃度に依存して変化することを明らかにし、それはFZの投入による酸化/還元のパランスの変化による反応であるという考えに基づいて補正する方法を提案した。

開発した方法を用い広島大学内にある小河川で2008年9月から2009年6月に継続的に測定を実施した。総溶存鉄濃度は1.2~15.8 μM 、総溶存 Fe^{2+} 濃度は0.00~5.6 μM であり、総濃度にしめる Fe^{2+} の割合は0.01~1.2であり河川のORPに影響を受けていることがわかった。

Key Words : Fe^{2+} concentration, iron speciation, river water, ferrozine, oxidation reduction potential (ORP)

1. はじめに

現在水域の鉄の役割が注目されている。鉄は生物の必須元素のひとつであるがそれが沿岸域の環境改善の鍵になる物質であると考えられている¹⁻³⁾。また外洋域では鉄散布法が地球温暖化の対策のための技術として注目されている⁴⁾。鉄の生態系での役割を考える際にはその形態(酸化還元状態や有機物への結合状態)が重要である。

外洋では鉄はごく低濃度でありその精確な定量を目指した検討がなされてきた。それと比較すると河川や沿岸域の鉄濃度は必ずしも低濃度ではなく、その定量は、全鉄量に限れば困難ではない。しかしその形態はさまざまであり²³⁾、水系生態系中での鉄の役割を議論するには全量のみならず形態別の把握が欠かせないが、それら河川や沿岸生態系で信頼できる水準で形態別の測定をおこなうことは難しい。本研究対象とする Fe^{2+} に関していうと、水生微生物などにとっては生物利用性が高い形態であると考えられる一方、好気的な条件では容易に酸化されるため濃度は低いと考えられる。しかしながら河川等で実際に測定されている事例は限られておりその測定法自体

にも問題があると考えられる。たとえば標準的な方法であるJIS法やHACH法は特定の発色リガンドを投入後一定時間経過後比色するが、河川水などを試水とした場合、測定中の変化が大きく(図-1; 筆者らによる測定例)実際になにが測定されているのか曖昧である。すなわち河川や沿岸域のようなさまざまな形態が比較的高濃度に混合している系においてはその形態別の実態は明らかでなく、また必ずしも Fe^{2+} が低濃度とはいえない可能性もある。

以上の背景を踏まえ本研究では河川水域での溶存 Fe^{2+}

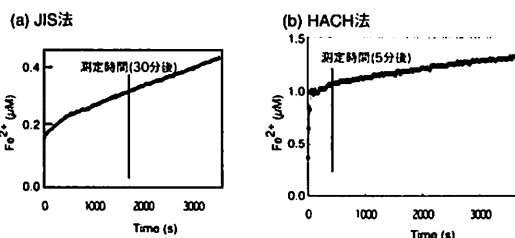


図-1 JIS法およびHACH法による Fe^{2+} の測定中の経時変化の例(本研究フィールドである角筋川でのろ過サンプルに対する測定)

の定量法を検討した。 Fe^{2+} の検出と定量には、 Fe^{2+} に対して選択的にキレートを形成し発色する3-(2-Pyridyl)-5,6-bis(4-sulphonyl)-1,2,4-triazine (ferrozine; 本論文ではFZと略称する)を用いた⁹⁾。 Fe^{2+} の測定には検液にFZを投入し結合させその発色を測定することになる。本研究ではFZを投入し Fe^{2+} と結合させること自体が系に影響を及ぼし測定値に影響を与えることを示し、その影響を踏まえた補正法を検討した。そのため対象となる系を各形態の鉄と、(水中の溶存有機物などによって構成される)リガンドが動的平衡状態にある系ととらえ、測定によってその影響を受ける動力学を解明していくことを通して Fe^{2+} の濃度をより適切に定量化することを試みた。既往の Fe^{2+} の定量法について述べると、FZ等のキレート形成による発色試薬を用いる方法や^{7,14)}ルミノール試薬^{15,16)}を用いる方法などがある。発色試薬による方法ではカラムによる分離を行う方法や、また Fe(II) および Fe(III) にそれぞれ結合しやすいリガンドを同時に投入し片側は無色のキレートであることによってマスクする方法、pH制御によって Fe(III) を水酸化鉄として沈殿除去する方法などといったやり方で共存状態に配慮している。しかしそれらの方法は本研究のようにFZ自体の投入による平衡の移動に十分に配慮しているとはいえない。FZを用いた測定によるとFZ自体が Fe(III) を還元し、徐々に吸光を増加させることが指摘されており、その影響を少なくするために吸光の測定は比較的短時間(1分以内程度)に行うことが望ましいとされている^{8,14)}。本研究でキレート形成反応初期の値を採用することでそれらの影響も取り除いていくことになるが、さらにそのやり方でも取り除けない酸化還元の影響がありうることを指摘し、その影響を定量化し補正する方法を提案した。

さらに、提案した方法に基づき実河川で継続的な測定を実施した。

2. 実験方法

(1) 試薬およびストック溶液の作成

1.0 g $\text{Fe} \cdot \text{L}^{-1}$ Fe(III) 標準液(硝酸鉄(III)、硝酸0.1M)溶液、Aldrich社製)および Fe(II) ($\text{Fe(NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, HACH社製)をMilli-Q水で希釈し、測定の必要に応じた濃度(最大1000 μM)の Fe(III) および Fe(II) 溶液を作成した(基本的には用時調製)。作成時には適宜酢酸アンモニウム溶液(無鉄、Aldrich社製)でpHを調整した。無鉄FZ粉末(Acros organics社製)5.14 gを塩酸(36%; 無鉄、関東化学製)500 mLに溶かし更にMilli-Q水で1000 mLにメスアップし、10 mMのFZ発色試薬を作成した。塩化ヒドロキシルアンモニウム(無鉄、関東化学社製)100gをMilli-Q水1000mLにメスアップし、塩化ヒドロキシルアンモニウム溶液を作成した。

イオン交換樹脂(AER, アンバーライトIRA400J CL, オルガノ社製)は使用前に1 M塩酸(塩酸(36%) (無鉄)、関東化学社製)をMilli-Q水で希釈(速度20 mL min^{-1} で300 mL通液させ、そののちMilli-Q水で500 mL通液させ、樹脂中の鉄を除去した。以上の試薬、ストック溶液は使用時以外は4°Cの暗室で保存した。本実験に使用した容器、また後述するフィルターは使用前に0.1 M 塩酸により洗浄した。実験は実験室(20-28°C)で行った。Milli-Q水については測定時にはMilli-Q水の Fe^{2+} 濃度を測定し吸光がほとんどない(濃度換算で7 nM以下)であることを確認した。

(2) Fe^{2+} 濃度, pH, ORPの測定

Fe^{2+} の濃度の測定はサンプル(30 mL)に0.03-3.0 mLのFZ溶液($\text{FZ}=323\sim909\mu\text{M}$)を投入し、直後から紫外分光吸光度計(UV-2400, 島津科学社製)によって連続測定(300秒)することによりおこなった。10 cm石英セルを用い(濃度によって1 cmセルを使用)、562 nmで測定した。 Fe(II) FZ錯体が吸光を示さない750 nm吸光度を用いてベースライン補正を行った。 Fe(II) 標準溶液に対して十分反応したと見られる状態でのモル吸光係数は $3.2 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ であり、これは既往の文献値($3 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)⁹⁾と同程度であった。また定量下限は検出器の検出感度を考慮して20 nM ($\text{pFe}^{2+}=7.7$)とした。FZ溶液の投入量を変えることによって異なるFZ濃度による測定を行った。吸光度の測定後にpH、ORPを測定した(FZ投入時の値とした; なおサンプル自体の値は2(4)節で後述するようにろ過直後に測定した)。pHはpH計(ISFET pH Meter KS723, 新電元社製)、ORPはORP計(ORP Tester 10, Thermo Fisher Scientific Inc.製)を用いた。

(3) 全鉄、キレート鉄の測定

全鉄はサンプル10 mLに0.5 mL硝酸(80%; 有害金属測定用, Aldrich社製)を加え10分間煮沸し(酸分解)、塩化ヒドロキシルアンモニウム1 mLを加え密閉性のある容器でオートクレーブにより110 °C、40分かけ全鉄を還元した。そののちFZ溶液1 mL、酢酸アンモニウム溶液3 mLを加え562 nmで測定した。

キレート鉄はサンプルをAER(イオン交換樹脂)によって分画し測定した。サンプルは通液前に塩酸を用い $\text{pH}=2$ に調整しAER 5 gに対して10 mL min^{-1} で通液した。そののちAERに1 M塩酸を10 mL min^{-1} で20 mL通液させトラップされた鉄を溶離した。AERを通過した液とトラップした液の全鉄濃度を測定した。溶存態の鉄はキレート鉄、コロイド態、イオン態鉄に分類される。キレート鉄およびイオン態鉄はAERを通過する(キレート鉄はpHを低下させることにより容易にキレートと分離する)。またコロイド態鉄はAERにトラップされる¹⁷⁾。すなわち:

AERトラップ鉄=コロイド態鉄

AERスルー鉄 =キレート+イオン態鉄

と分画されると考えられる。なお測定精度の確認のために全溶存鉄の測定とAERトラップ+スルー鉄との比較をしたところ(トラップ+スルー鉄/全溶存鉄の比率は 1.1 ± 0.3 (平均値 $\pm$ 標準偏差, $n=16$)であった。

(4) 河川調査

河川調査は広島大学キャンパス内を流れる小河川である角脇川で実施した。採水直後にPTFE製メンブレンフィルター(孔径 $0.5 \mu\text{m}$, Advantec社製)でろ過したものをサンプルとした。ろ過後にpHとORPを測定した(原液の値とした)。ここまでの作業は迅速に実施し、採水からすべての作業を10分以内に行った。引き続き Fe^{2+} の濃度測定を実施した。濃度測定にはのべ1時間程度かかった。

また、鉄の濃度測定としては Fe^{2+} の他に総溶存鉄濃度(Fe_{td})、AER(陰イオン交換樹脂)トラップFe濃度(Fe_{AER})、AERスルー鉄濃度($\text{Fe}_{\text{AER-slu}}$)の測定を実施した。

一般水質の測定項目は水温、DO、DOC、E260とした。

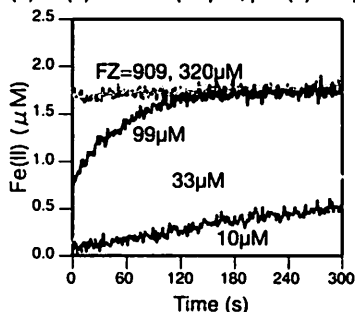
測定は2008年の9月から2009年の2月まで、週1回を原則として実施した。

3. 結果と考察

(1) Fe(II) および Fe(III) 溶液に対するFZの発色の経時変化

図2に Fe(II) および Fe(III) 溶液に異なる濃度のFZを投入し、562 nmにおける発色の経時変化を鉄濃度に換算したものを示す。測定方法としてはFZを溶液に投入し迅速にピペティング、その直後(投入後およそ3秒以内)から測定した。 Fe^{2+} との反応(図-2(a))を見るとFZ濃度 $320 \mu\text{M}$ 以上であれば迅速にFeとFZが結合し発色するが $99 \mu\text{M}$ 以下のFZ濃度では結合に時間がかかることが分かる。一方 Fe(III) 溶液はFe全体に対する反応の割合は低い(図-2(b))。しかし少ないながらも反応は進行しており、 Fe(II) と Fe(III) が両方存在する実環境水では反応に時間をかけると Fe(III) との反応が誤差として無視し得ないことがわかる。 Fe^{2+} との反応はFZの濃度が十分(本実験からは $320 \mu\text{M}$ 以上)であれば迅速に反応が進行した。pHの影響であるが、本実験ではFZ投入濃度の増加とともにpHは低下しFZ=909 μM では $\text{pH}=4.0$ であった。その状態であっても反応は迅速かつ十分に生じたため、本研究では実験の有効な範囲を、FZ>300 μM かつ $\text{pH}>4$ とした。また Fe^{2+} がFZに対して過剰に存在すると Fe^{2+} に対して十分に反応しない可能性があるが、 Fe^{2+} 溶液を用いた同様の検討によって Fe^{2+} が18 μM でも同様に十分反応することを確認している。なお Fe(III) 溶液での反応は、調製時にわずかに含まれている Fe^{2+} と、 Fe(III) から徐々に還元される Fe^{2+} がFZとの反応していることによると考えている。

(a) Fe(II) solution ($1.8 \mu\text{M}$; $\text{pFe(II)}=5.7$)



(b) Fe(III) solution ($1.8 \mu\text{M}$; $\text{pFe(III)}=5.7$)

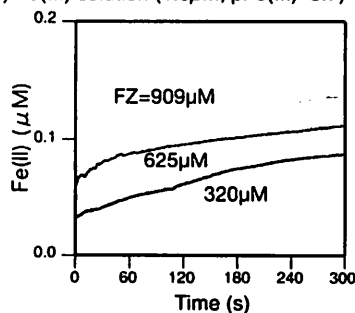


図2 異なる濃度のFZを投入した際の Fe(II) および Fe(III) 標準液中の Fe^{2+} 濃度の経時変化

(2) 実河川水における異なるFZ濃度に対する発色

実河川水に対するFZによる Fe^{2+} 濃度の測定において異なるFZ濃度を投入した際の影響について検討した。投入するFZ濃度はFZ=320, 625, 909 μM とした。なお緩衝溶液によるpHの補正は行っていない。測定結果の一例を図-3に示す。測定時間に応じて吸光度が上昇していること、またFZの投入量によって値が倍程度異なっていることが分かる。時間に応じた吸光度の上昇はリガンド競合による平衡の移動と考えられる。なお、JIS法とHACH法で示される経時変化(図-1)も、同様にこれらキレート

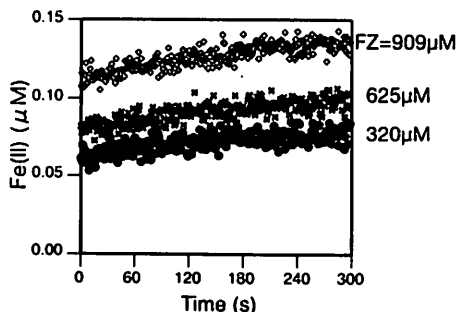


図3 角脇川における溶存 Fe^{2+} のFZを用いた測定結果の例 (2008年11月7日測定)

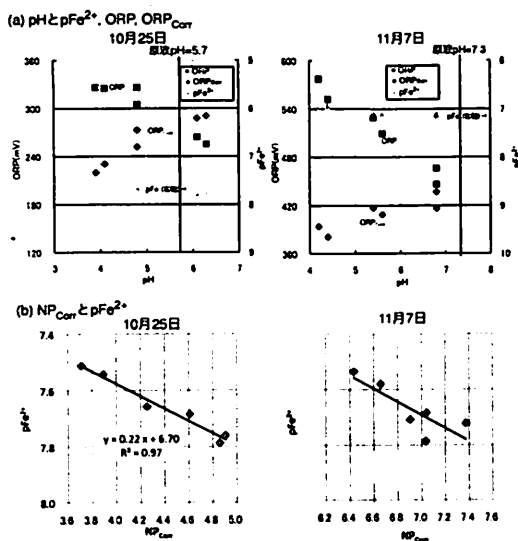


図4 各測定におけるFe²⁺, ORPとpHとの関係の例
(2008年10月25日および11月7日測定)

を含んでいると考えられる。そこで時間0の濃度がFe²⁺濃度と直接関係していると考えFZ濃度との関係を検討した。時間0の濃度は吸光が直線的に上昇している時間の直線回帰の切片とした。図4(a)に測定における切片値および測定水のORP値の例を、pHを指標として示した(ほとんどの測定においてFZの投入とともにpHは低下しておりグラフの右から左への移行がFZ投入量の増加と対応している)。測定ごとに傾向は異なり、pHの低下(すなわちFZ投入量の増加)に応じたpFe²⁺の変化は一様ではなかった。すなわちFZが増加することによって必ずしもFe²⁺の測定値が上昇しているわけではなく、逆に低下するような測定事例もあった。またpHの変動範囲についても、大きな影響を与えることはないような範囲であると考えられた。

そこで水中の酸化還元状態が何らかの影響を与える可能性を考えた。FZの変化がORPに影響を及ぼし、それがFeの酸化還元に影響を及ぼすことで測定に影響を及ぼす可能性があると考えたためである。そのためORPとFe²⁺濃度の切片値との関係をそれぞれの測定値について検討した。ORPと酸化物/還元物との間には以下に示す関係がある(Nernst式; 25°C, 1atm, 一価の場合):

$$E = E^0 - 59.2 \log \frac{a_{ox}}{a_{red}} \quad (1)$$

ただしE, E⁰: 電極電位および標準電極電位(mV), a_{ox}, a_{red}: 酸化物質および還元物質の活量である。そこで、ORP(=E-E⁰)を以下のように基準化し(以下NPとする)、pFe²⁺との関係を調べた。

$$NP = \frac{ORP}{59.2} \quad (2)$$

計算した結果、しかしながらNPとpFe²⁺とのあいだに一定の関係は見られなかった(測定ごとのΔpFe²⁺/ΔNPの値は-0.17±0.27(平均値±標準偏差, n=18)であり、0を帰無仮説として検定をおこなったところP=0.018であった。酸化還元状態がFe²⁺の測定値に影響を与えるとすれば値は正になるはずである)。

ORPへの影響を与える物質の一つとして、pHの影響は大きいと考えられる。水中でほかの影響がなければpHが1低下するごとにORPは59.2 mV上昇する。これは上記のNernst式で表されるH⁺とH₂との酸化還元の影響である。ORPの変化はさまざまな酸化還元剤の相加的な影響であると考えられ、H⁺もそのひとつとして影響を与えていると考えられる。実際図4(a)を見ると本研究の測定においてもpHとORPの関係はpHが1低下するとORPが59.2 mVに近く上昇しており、H⁺濃度がORPに強い影響を与えていると考えられる。ところで、一般の水質環境でH⁺の酸化力がFeの酸化に影響を与える可能性は少ないと考えられる。上記のΔpFe²⁺/ΔNPが一定の傾向を得られなかったのは実際にはFe²⁺の酸化還元に影響を与えなかったH⁺/H₂によるORP値の変化を含んでいるためと考えられる。そこで、以下の補正によってpHの影響を除外したORPの変化とpFe²⁺との関係を見ることにした:

$$ORP_{Corr} = ORP - 59.2 \Delta pH \quad (3)$$

$$NP_{Corr} = \frac{ORP_{Corr}}{59.2} \quad (3')$$

ΔpHはFZの投入に伴うpHの変化量である。図4(b)にNP_{Corr}とpFe²⁺との関係の例を示す。傾き自体は測定によって異なるものの、ほとんどの測定においてNP_{Corr}が上昇するに従ってpFe²⁺が上昇する、すなわちFe²⁺濃度が低下するという傾向が得られた(ΔpFe²⁺/ΔNP_{Corr}は0.20±0.17であり0を帰無仮説とした検定ではP=0.0002)。すなわち(補正された)酸化還元電位の上昇がFe²⁺の濃度の低下を引き起こしていると考えられた。そこで、水中にわずかに存在するFe²⁺はFZの投入に伴いORPの変化を引き起こし、それによる(H⁺以外の)変化がFe²⁺濃度の変化を引き起こす、という現象がきわめて短時間に生じていると考えた。

以上の考察を踏まえて、Fe²⁺測定を以下のように行うこととした:

- ①原液のpH, ORPを測定
- ②異なるFZ濃度で発色の経時変化をそれぞれ測定
 - ・本研究ではFZ=323-909 μMの範囲で3-5段階に変化させ、また各段階について2回測定を実施
 - ・測定時間は5分間
 - ・測定終了後にただちにpHとORPを測定
- ③以上より各測定におけるpFe²⁺, NP_{Corr}を求める
- ④NP_{Corr}とpFe²⁺との回帰直線を引き、その回帰直線の原因のORP値におけるpFe²⁺の値を真のFe²⁺濃度とする

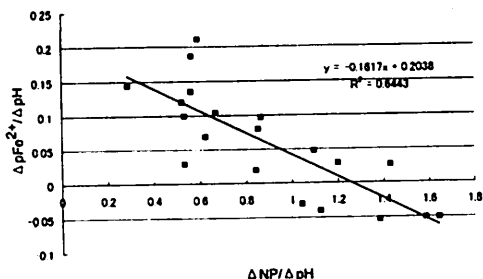


図-5 $\Delta NP/\Delta pH$ と $\Delta pFe^{2+}/\Delta pH$

以上の方法によって河川における Fe^{2+} の濃度を測定することにした。本実験条件における Fe^{2+} の有効な測定範囲は $20nM \sim 18\mu M$ とした(FZによる実測値から方法④によって外挿した結果としてこれらの範囲を超える場合があるが、本測定ではこれらは有効な値とした)。鉄濃度の測定の際、pHの安定化を目的にして緩衝液(酢酸アンモニウム溶液など)を投入することが多い。本研究で導入しなかった理由は計算によってその影響を取り除けると考えたことと、また実験上の制御因子を多くしないことを考慮した(ORPへの影響をさけることを特に考えた)ためである。結果としてFZがキレートとして機能しないような範囲まで値が変動することはなかったが、そのような状況が発生する可能性がある場合は、緩衝液の導入も検討するべきであろう。なおFZによる測定中の、 Fe^{2+} の濃度増加の速度は、 $4.5 \pm 3.1 \times 10^{-11} M s^{-1}$ ($n=18$)であり、 Fe^{2+} の濃度によらず一定であった。濃度の増加は過剰なFZの投入によってほかの形態の鉄($Fe(III)$)やキレート鉄などが Fe^{2+} に移行し、FZと結合しているためである。リガンド競合による平衡の移動の反応経路に関してはadjunctive, disjunctiveな経路が考えられるが⁹⁾、disjunctiveな経路がFZに関して主たる経路であるとする、測定中の移行は、試水の動的平衡状態を反映した量である可能性がある。この値が濃度によらず一定であることは Fe^{2+} の濃度が低い場合であっても、 Fe^{2+} の供給ポテンシャルが必ずしも小さくないことを示唆している。

(3) ORP補正による影響および異なる形態の化学種が鉄の酸化還元に及ぼす影響

本研究における Fe^{2+} の測定ではキレート平衡の移動を考慮し測定の瞬時値を採用し、さらにORPを用いた補正を行った。そこで本法による補正がどの程度測定値に影響を及ぼしているのかを見た。そのためFZによる読みをそのまま採用した場合と、補正した場合でどの程度値が異なっているかを比較した。採用する際の投入FZ量は十分量としてもっとも量の多いFZ=909 μM のケースを採用した。補正あり/なしの比をそれぞれの測定で比較すると0.06~2.6倍異なった。このことからORPの補正の



図-6 河川水質測定におけるNPと Fe^{2+}/Fe_{tot}

影響は小さくないことが分かる。なお、一般的なキレートを用いた測定方法では緩衝液を投入することが多く、緩衝液を投入していない本法では「補正なし」の方法であったとしても、それを一般的な方法と同様であるとは必ずしも言えない。 Fe^{2+} の測定でpHを安定化させることによってキレートを有効に機能させることが出来るが、本法での測定では結果的にFZが有効に働かないpH(<4)に至った測定は少なく、その点で「補正なし」を従来法と比定することには大きな問題はないと考えている。

本研究では H^+ の酸化還元への影響を取り除く形で補正しているが、 H^+ が酸化還元に関わる程度について検討した。そのためすべての測定における $\Delta pFe^{2+}/\Delta pH$ と $\Delta NP/\Delta pH$ との関係を調べた(図-6)。 $\Delta pFe^{2+}/\Delta pH$ は、たとえばこの数字が1の場合は、 H^+ 濃度が高くなるのに比例して Fe^{2+} の濃度が濃度が高くなることを意味している。 $\Delta NP/\Delta pH$ は、この値が1の場合はpHが1低下するとORPは59.2 mV上昇する。水のORPがpHだけで決まっているとするとこの値は1に近づく。

図-5を見ると $\Delta pFe^{2+}/\Delta pH$ は $\Delta NP/\Delta pH$ が0付近では0.2程度と正の値であり、 $\Delta NP/\Delta pH$ が1に近づく、すなわち水のORPが H^+ のみに依存しているような水質では $\Delta pFe^{2+}/\Delta pH$ が0に近づき、つまり Fe^{2+} の濃度変化は少なくなる。以上のことから H^+ は少なくともFZ発色の切片値に相当する迅速な酸化還元には影響を及ぼしておらず、ORP補正の際に H^+ の濃度変化による変化分を差し引く形で補正することは適当であると考えられる。

(4) 実河川におけるFe濃度の測定結果

角脇川を対象とした実河川の測定結果を表-1に示す。一般水質項目から見ると、測定期間を通してDOはやや低めでほぼ常時5 $mg L^{-1}$ を切っている。またORPは200~462 mVであり、夏から冬にかけて低下する傾向であった。E260は20~79 cm^{-1} であった。

各態Fe濃度についてみると、全体に9~10月、5~6月にはかなり低く、11月~2月はやや高い。全溶存Feは1.2~15.8 μM 、また Fe^{2+} は0.00~5.6 μM であった。全溶存鉄

表-1 河川における基本水質項目および溶存態各態Feの測定結果

測定日	ORP mV	pH	水温 °C	DO mg L ⁻¹	DOC mg L ⁻¹	E260 mABS cm ⁻¹	Fe _{T-d}	Fe ²⁺	Fe _{chelate+non}	Fe _{AFO}
								μM		
2008/09/30	332	7.2	23.4	2.6	-	-	-	0.03	-	-
2008/10/06	327	7.1	20.0	2.0	15.6	30	-	0.04	-	-
2008/10/10	417	6.6	19.0	2.2	16.8	33	-	0.00	-	-
2008/10/19	446	6.8	18.6	2.4	21.3	40	1.3	0.01	0.6	1.3
2008/10/25	300	5.7	18.0	3.9	18.9	33	1.2	0.02	0.3	0.7
2008/11/07	289	7.3	15.5	2.2	1.5	24	1.3	0.25	0.2	0.3
2008/11/16	200	7.1	15.0	1.4	1.1	21	2.1	2.63	1.1	2.1
2008/12/06	254	7.1	9.0	1.2	1.3	79	11.0	5.62	4.4	5.6
2008/12/11	223	7.3	8.5	2.4	4.1	21	15.8	4.37	7.6	8.5
2008/12/19	256	7.1	8.0	3.4	4.9	37	9.8	0.51	3.9	4.9
2009/01/20	242	7.0	5.0	4.0	6.8	41	15.8	4.37	7.4	8.9
2009/02/06	249	6.7	7.0	4.0	4.4	68	11.5	1.82	5.4	7.1
2009/02/10	217	6.8	8.0	4.3	5.3	40	16.2	3.47	7.2	9.1
2009/05/13	462	7.0	25.2	-	1.1	20	1.5	0.01	0.6	0.6
2009/05/20	341	6.7	24.2	3.4	1.7	29	1.6	0.03	0.8	0.9
2009/06/04	341	6.4	23.2	3.3	1.2	37	1.2	0.02	0.7	0.6
2009/06/11	326	6.5	25.0	3.5	1.4	41	1.5	0.01	0.7	1.3
2009/06/17	285	7.0	27.0	5.4	1.6	44	1.5	0.02	0.7	0.5
2009/06/24	297	7.0	27.8	3.5	1.9	52	1.2	0.00	0.8	1.5
平均値	305	6.9	17.2	3.1	6.1	38	5.9	1.2	2.7	3.4
標準偏差	74	0.4	7.6	1.1	6.9	16	6.2	1.9	2.8	3.4

Fe_{T-d}: 全溶存鉄, Fe²⁺: 溶存態2価鉄, Fe_{chelate+non}: キレート鉄+イオン態鉄

に占めるFe²⁺の割合は0.01~1.2でその比率はORPによって変わる傾向が得られた(図-6)。AERトラップ/スルーFeの割合は一定しており、AERトラップ鉄のほうがやや高い傾向があった(AERトラップ/スルーの比は1.4±0.4)。キレートFe/全溶存鉄は0.26±0.32、AFO/全溶存鉄は0.62±0.26であった。

4. まとめ

本研究では様々な形態の鉄が混合する河川水域においてFe²⁺の濃度を正確に測定する方法を開発し、その方法を用いて実河川において継続的な測定を実施した。Fe²⁺に対して選択的にキレートを形成し発色するFZを用い、その測定法を検討した。その結果としてFe(II)標準溶液に対してはFe²⁺はFZときわめて短時間(5秒以内)に結合することを示し、またFe(III)標準溶液に対しては徐々に発色の増加を見いだし、それはFe²⁺のキレート結合による平衡の移動によるものと考えた。その結果から実環境での測定値としては経時変化の切片値を採用した。実河川水での測定では、得られる切片値自体もFZの濃度に依

存して変化することを明らかにし、それはFZの投入による酸化還元バランスの変化による反応であるという考えにも基づいて補正する方法を提案した。提案した方法ではORPの補正もH⁺濃度の変化とそれ以外の変化とを分け、H⁺濃度変化に起因するORPの変化は差し引く方法により補正した。

本研究は発色キレート等の試薬投入によるFe²⁺の酸化還元の影響を補正する考え方と方法を提案したという点がポイントであり、またそれによってオーダーレベルの違いが出る場合があることを示したことが意義であると考えている。一方、一般的に用いられる方法である緩衝液の影響は検討していない。しかし緩衝液の投入によってpHは安定化されたとしてもFe²⁺の酸化還元に影響を与えうるORPの変化を引き起こす可能性はまた別であり、今後そういった観点からも緩衝液投入の影響は検討されるべきであるとも考えている。

形態ごとの鉄の定量は、測定を迅速に実施することも重要であり、本法はその点で改善余地が多い。本法の原理に沿った形で大幅な迅速化をはかるとすると、測定時のpHとORP変化の安定かつ迅速な把握や、またそもそ

も試薬投入時にORPの安定化させる方策の検討が重要であろう。この点も今後の課題としたい。

開発した方法を用い広島大学内にある小河川で2008年9月から2009年6月に継続的に測定を実施した。総溶存鉄濃度は1.2 ~ 15.8 μM 、総溶存 Fe^{2+} 濃度は0.00 ~ 5.6 μM であり、総濃度にしめる Fe^{2+} の割合は0.01~1.2であり河川のORPに影響を受けていることがわかった。

参考文献

- 1) 松永勝彦：陸海域相互作用，水環境学会誌，Vol. 26, No. 10, pp. 614-620, 2003.
- 2) Sunda, W. G., Huntsman, S.A.: Iron uptake and growth limitation in oceanic and coastal phytoplankton, *Marine Chemistry*, Vol. 50, pp.189-206, 1995.
- 3) Nagai, T., Imai, A., Matsuchige, K. and Fukushima T.: Effect of iron complexation with dissolved organic matter on the growth of cyanobacteria in a eutrophic lake, *Aquatic Microbial Ecology*, Vol. 44, pp.231-239, 2006.
- 4) Martin, J.H. and Fitzwater, S.E.: Iron deficiency limits phytoplankton growth in the northeast Pacific subarctic, *Nature*, Vol. 331, pp. 341-343, 1998.
- 5) 伊藤紘晃，藤井学，佐々木史織，T. David Waite，大村達夫：二価金属存在下におけるクエン酸第二鉄錯体とDesferrioxamine B のリガンド交換動力学，環境工学研究論文集，Vol. 44, pp. 115-125, 2007.
- 6) Stookey L. L.: Ferrozine - A new spectrophotometric reagent for iron, *Analytical Chemistry*, Vol. 42, No. 7, pp.779-781, 1970.
- 7) Fadus H. and Mary J.: Suppression of iron (III) interference in the determination of iron (II) in water by the 1,10-phenanthroline method, *Analyst*, Vol. 100, pp. 549-554, 1975.
- 8) Viollier E., Inglett P. W., Hunter K., Roychoudhury A. N. and Van Cappellen, P.: The ferrozine method revisited: Fe(II)/Fe(III) determination in natural waters, *Applied Geochemistry*, Vol. 15, pp. 785-790, 2000.
- 9) Gendel, Y. and Lahav O.: Accurate determination of Fe(II) concentrations in the presence of a very high soluble Fe(III) background, *Applied Geochemistry*, Vol. 23, pp.2123-2129, 2008.
- 10) Fadus H. and Mary J.: Suppression of iron (III) interference in the determination of iron (II) in water by the 1,10-phenanthroline method, *Analyst*, Vol. 100, pp. 549-554, 1975.
- 11) Galcerzak M., Tyburska A. and Sviocicka-Füchsel, E.: Selective determination of Fe(III) in Fe(II) samples by UV-spectrophotometry with the aid of quercetin and morin, *Acta Pharm*, Vol. 58, pp. 327-334, 2008.
- 12) Ivkova T. I.: The indicator system based on bathophenanthroline for rapid determination of Fe(II, III) in water, *Journal of Water Chemistry and Technology*, Vol. 30, No. 6, pp. 368-374, 2008.
- 13) Oktavia B., Lee W. L. and Takeuchi T.: Simultaneous determination of Fe(III) and Fe(II) ions via complexation with salicylic acid and 1,10-phenanthroline in microcolumn ion chromatography, *Analytical Sciences*, Vol. 24, pp. 1487-1492, 2008.
- 14) Murray, J. W. and Gill, G.: The geochemistry of iron in Puget Sound, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, Vol. 42, pp. 9-19, 1978.
- 15) O'Sullivan, D.W., Hanson, A.K. and Kester, D.R.: Stopped flow luminol chemiluminescence determination of Fe(II) and reducible iron in seawater at subnanomolar levels, *Marine Chemistry*, Vol. 49, pp. 65-77, 1995.
- 16) Rose, A.W. and Waite, D.: Kinetic model for Fe(II) oxidation in seawater in the absence and presence of natural organic matter, *Environ. Sci. Technol.*, Vol. 36, 433-444, 2002.
- 17) Fujii, M., Ito, H., Rose, A.L., Waite, T.D. and Omura, T.: Transformation dynamics and reactivity of dissolved and colloidal iron in coastal waters, *Marine Chemistry*, Vol. 110, 165-175, 2008.

(2009.5.22受付)

Development of measurement method of dissolved Fe^{2+} using ferrozine in river water

Noriatsu OZAKI¹, Kaoru YAMAMOTO², Taichi SATO¹, Tomonori KINDAICHI¹ and Akiyoshi OHASHI¹

¹ Graduate School of Engineering, Hiroshima University

² Faculty of Engineering, Hiroshima University

The iron plays an important role in river and estuary ecosystems and it is important to differentiate the iron species and determine their concentrations. In this study, the method of determine the Fe^{2+} in river environment is developed and the consecutive measurements are conducted in a river. Ferrozine (FZ), which can form chelate to Fe^{2+} and color in high selectivity, is applied. FZ is clarified to form chelate with Fe^{2+} rapidly, and form chelate with other iron species gradually due to the transferring of equilibrium states. Rapid chelation is affected with FZ concentration, supposedly due to the rapid redox changes of other iron species. The method of correction with this rapid concentration change was developed.

Using this method developed, the dissolved concentrations of total iron and Fe^{2+} were measured in a river in Hiroshima University campus from September 2008 to June 2009. Measured total dissolved iron concentration was 1.2 ~ 15.8 μM , and Fe^{2+} concentration was 0.00 ~ 5.6 μM . The ratio of Fe^{2+} /Total Fe was 0.01 ~ 1.2 and influenced with ORP in the river.