報 文

クロモトロープ酸を担持した陰イオン交換カラムを用いる 超微量ホウ酸のオンライン濃縮/HPLC 定量法の改良と 沖縄県西表島の天然水分析への応用

姚 俊 学¹, 吉村 和久^{®2}, 栗崎 弘輔², 井倉 洋二³, 高相徳志郎⁴

クロモトロープ酸を担持した長さ 1 cm の陰イオン交換カラムを用いて、既に報告した微量ホウ素のオンライン吸光度定量法の改良を行った。pH を 3 にした試料を流すだけでカラム内での錯生成を促進することができ、その後 pH を 8 に変えて段階溶離を行うことで、ホウ素を安定な錯体として未反応の呈色試薬などから分離できた。その吸光定量を 350 nm で行った。試料 3.2 cm³ を用いたときの分析時間は約 12 分、検出限界は 0.06 µg dm⁻³ であった。既報に比べて、分析時間および感度を大幅に改善できた。本法を琉球列島西表島の天然水中のホウ酸の分析に応用した。降雨および二つの河川水中のホウ素濃度は、それぞれ 3.1～40.8, 20.3～28.5, 14.7～20.9 µg dm⁻³ であった。いずれの場合も、非海塩性由来のホウ素の分率は高く、アジア大陸からの長距離移流によるものであることが示唆された。

1 緒 言

ホウ素は海水中に約 4.5 mg dm⁻³ 含まれているが天然水中に溶存するホウ素の濃度は µg dm⁻³ レベルである。ホウ素は植物および動物の生育に必須の元素であるとともに、過剰に摂取すると有毒であるため、環境中のホウ素の動態について理解する必要がある。さらに、化石燃料の中で特に石炭燃焼に伴って生成する石炭灰には高濃度のホウ素が含まれるため、酸性降下物の起源を明らかにする上でホウ素は有効な指標となり得る。

ホウ素の化学分析にはアゾメチン H を用いた吸光度法¹⁾が簡便であるが、環境試料分析では感度が足りない場合が多い。誘導結合プラズマ原子発光分析法 (ICP-AES) や誘導結合プラズマ質量分析法 (ICP-MS) を用いての微量ホウ素定量は可能であるが、装置が高価であるなど対費用効果の面で問題を有する。

クロモトロープ酸は pH 3 付近でホウ酸と瞬時に結合比 1 : 2 (ホウ酸 : 配位子) の錯体を生成し、中性からアルカリ性では一旦生成した錯体は分解しない (水素イオンが反応の触媒となる)²⁾。ただし、1 : 2 高次錯体生成のためには呈色試薬が高濃度であることが必要であり、長さ 5 cm の

イオンクロマトグラフィー用の陰イオン交換樹脂カラムに呈色試薬を担持させることでそれが可能となることを既に見いだした³⁾⁴⁾。しかし、提案した方法では未反応の呈色試薬と目的錯体をあらかじめ分離する必要がある。吸着濃縮、分離定量の操作に 30 分を要した。そこで、カラム長 1 cm の陰イオン交換カラムを用いて分離定量条件の最適化を行い、分析の迅速化を試みた。また、本法を用いて、沖縄県西表島の雨水、陸水中のホウ素濃度の季節変化の追跡を行い、長距離移流物質の指標としての可能性について検討を行った。

2 実 験

2.1 試 薬

ホウ素に関して 1000 mg dm⁻³ のホウ酸水溶液は原子吸光分析用標準溶液 (キシダ製) を用いた。クロモトロープ酸 (同仁製) をそのまま水に溶解して 0.002 mol dm⁻³ 呈色試薬溶液 (ギ酸-ギ酸アンモニウム緩衝溶液を加えて pH 3.0 に調整) を調製した。段階溶離のための溶離液は 0.025, 0.1 および 0.2 mol dm⁻³ NaClO₄ [2-[4-(2-ヒドロキシエチル)-1-ピペラジル]エタンスルホン酸 (HEPES) 緩衝溶液を用いて pH 8 に調整] を用いた。実験には Milli-Q SP システム (Millipore 製) で製造した高純度水を用いた。

反応濃縮・分離カラムとしてはイオンクロマトグラフィー用陰イオン交換ガードカラム TSKguardcolumn Super IC-AZ (内径 4.6 mm, 長さ 1 cm) を用いた。

¹ 内蒙古大学化学化工学院: 010021 中国内蒙古自治区呼和浩特市大学路 2355

² 九州大学大学院理学研究院化学部門: 812-8581 福岡県福岡市東区箱崎 6-10-1

³ 鹿児島大学農学部高隈演習林: 891-2101 鹿児島県垂水市海潟 3237

⁴ 琉球大学熱帯生物圏研究センターマングローブ生物学分野: 903-0213 沖縄県中頭郡西原町千原 1

Fig. 1 Schematic flow diagram for boron determination
A, B: pumps (A: 0.01 mol dm^{-3} formate buffer (pH 3.0), $0.63 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$; B: $0.025 \text{ mol dm}^{-3}$ NaClO_4 (pH 8.0), $1.2 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$); C – G: six-way rotary valves (C: pump switching; D: sample, 3.2 cm^3 ; E: chromatotropic acid, 0.14 cm^3 ; F: 0.1 mol dm^{-3} NaClO_4 (pH 8.0), 2.4 cm^3 ; G: 0.2 mol dm^{-3} NaClO_4 (pH 8.0), 2.4 cm^3 ; H: column (TSKguardcolumn Super IC-AZ); I: detector; J: waste

2.2 装置

送液には高速液体クロマトグラフィー用ポンプ (SNK DMX-2000), 試料や溶離剤の導入には六方バルブを用いた。吸光検出には島津 SPD-10AV-vp を用い, 吸光度 0.02 をフルスケール (チャート上では 18 cm) として, 島津クロマトパック C-R6A でクロマトグラムを記録した。測定波長は 350 nm である。

カラム温度は恒温水槽 (日伸理化製, NT-2020) を用いて 35°C に保った。

2.3 測定

反応濃縮および分離定量のための流れ系を Fig. 1 に示した。最初にポンプ A を用いて 0.01 mol dm^{-3} 酢酸緩衝溶液 (pH 3) を流量 $0.63 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$ でカラムに流す。 $1.1 \mu\text{mol}$ のクロモトロップ酸を六方バルブ E から導入しカラムに吸着濃縮させた後, pH 3 の試料溶液 (3.2 cm^3) を D から導入しカラムに流す。次に, 六方バルブ C を切り替えて, ポンプ B (流量: $1.2 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$) を用いて pH 8 の $0.025 \text{ mol dm}^{-3}$ NaClO_4 溶液を 3 cm^3 流す。引き続き 0.1 mol dm^{-3} NaClO_4 溶液 (pH 8) 2.4 cm^3 , 0.2 mol dm^{-3} NaClO_4 溶液 (pH 8) 2.4 cm^3 を六方バルブ F および G から順次導入して段階溶離を行い, ホウ酸-クロモトロップ酸 1:2 錯体のピーク高さを定量に用いる。

2.4 天然水採取地点

西表島は, 八重山諸島の一島で沖縄本島について県下第 2 位の面積 (約 289 km^2) を有する島である。年間平均降水量は $2000 \sim 3000 \text{ mm}$, 年平均気温は 23.3°C であり, 亜熱帯海洋性気候に属する。島の約 9 割が亜熱帯性の密林に覆われている。西表島の地層の大部分は, 砂岩, シルト岩

Fig. 2 Map of Iriomote Is., showing the localities of the sites surveyed

1. Sonai; 2. Urauchi River; 3. Aira River

中心の八重山層群西表層からなる⁵⁾。

降水については, 西表島北部の祖内にある総合地球環境学研究所西表分室屋上に採水装置を設置し, 2006 年 3 月から 2008 年 9 月までの期間に, 一雨ごとにポリエチレンタンクに雨水を回収した。河川水については, 西表島を代表する河川のうち最大の流域面積を持つ浦内川と, 流域が海岸線に近い相良川を調査対象とした (Fig. 2)。河川水は, 2007 年 1 月から 2008 年 12 月までの期間に, 計 12 回ほぼ一月ごとに採水を行った。河川水, 雨水はどちらも $0.45 \mu\text{m}$ メンブレンフィルターで汙過した後, 30 cm^3 ポリエチレン製容器に保存し, 溶存成分濃度の定量を行った⁶⁾。

3 結果と考察

3.1 水試料中の微量ホウ酸濃度定量の最適化

既報では, 内径 4.6 mm, 長さ 5 cm の TSKgel IC-Anion-PW カラムを用いたが, 未反応のクロモトロップ酸および 1:2 錯体が大きな負電荷を持つため, その溶出に長時間を要した³⁾。そこで, 陰イオン交換樹脂が充填されたカラム長 1 cm の市販のガードカラムを用いて新たに検討を行った。クロモトロップ酸をあらかじめ吸着濃縮して試薬高濃度の反応場をつくると, pH 3 では試料溶液がカラムを通過するだけで 1:2 錯体が生成してカラムにホウ酸が濃縮される。ついで, 錯体の解離が遅くなる pH 8 の溶離条件で, 3 価のフリーのクロモトロップ酸陰イオンおよび 5 価の 1:2 錯体陰イオンおよびその間の電荷をもつ未知成分 (おそらくクロモトロップ酸が酸化されて生成したもの) の三つの成分の相互分離が必要となる (Fig. 3)。それぞれの成分を段階溶離によって分離を行った。それには 0.025 , 0.1 および 0.2 mol dm^{-3} NaClO_4 水溶液を用いた。 $0.025 \text{ mol dm}^{-3}$ NaClO_4 水溶液を用いてフリーのクロモトロップ酸を脱着した後, 未知成分と 1:2 錯体の分離について検

Fig. 3 Stepwise elution profile of the 1 : 2 complex for the determination of boric acid in water

E : chromotropic acid ; D : sample ($5.0 \mu\text{g dm}^{-3}$, 3.2 cm^3); B : $0.025 \text{ mol dm}^{-3} \text{ NaClO}_4$; F : $0.1 \text{ mol dm}^{-3} \text{ NaClO}_4$; G : $0.2 \text{ mol dm}^{-3} \text{ NaClO}_4$. a : free chromotropic acid ; b : unknown ; c : 1 : 2 complex of boric acid

討を行った結果を Table 1 に示す. 二つの成分の相互分離および 1 : 2 錯体の保持時間をできるだけ短くするためには, $0.1 \text{ mol dm}^{-3} \text{ NaClO}_4$ 水溶液だけでは十分でなく, 六方バルブ F と G からそれぞれ 0.1 および $0.2 \text{ mol dm}^{-3} \text{ NaClO}_4$ 水溶液を順次導入する条件 4 がもっとも良い結果を与えることが分かった. この条件では, ホウ素錯体のピーク幅は小さくなり, 分析に要する時間が既報の 18 分から 12 分に短縮できた³⁾. $0 \sim 9 \mu\text{g dm}^{-3}$ の範囲において, 次式で示す検量線 ($r^2 = 0.9991$) が得られた.

$$\text{ピーク高さ (cm)} = 0.601 (\text{ホウ素濃度} / \mu\text{g dm}^{-3}) + 0.322 \quad (1)$$

試薬ブランクシグナルの標準偏差から求めた検出限界 (3σ , $n = 5$) は $0.06 \mu\text{g dm}^{-3}$ となり, 試料 5 cm^3 を用いた既報の $0.16 \mu\text{g dm}^{-3}$ よりも改善した³⁾.

西表島雨水, 河川水についての標準添加法による回収実験では, 添加回収率が雨水で 100.3 % [相対標準偏差 (RSD) = 1.5 %, $n = 5$], 河川水で 99.98 % (RSD = 2.2 %, $n = 5$) となり, 定量的にホウ素を回収できた. また, 定量

Table 1 Effect of NaClO_4 concentration on the separation of the boric acid-chromotropic acid complex from other solutes

Condition	NaClO_4 concentration/ mol dm^{-3}		Retention time/min	
	Valve F ^{a)}	Valve G	Unknown peak	Complex peak
1	—	0.10	10.69	13.53
2	—	0.15	9.51	11.46
3	—	0.20	8.05	8.55
4	0.10	0.20	8.40	10.27

a) Volume of the eluent : 2.4 cm^3

Table 2 Recovery test using standard addition method

Sample	Boron added/ $\mu\text{g dm}^{-3}$	Boron found/ $\mu\text{g dm}^{-3}$	Recovery, %
Aira River water	0	3.88 ± 0.06 ($n = 3$)	—
	2.00	5.88 ± 0.06 ($n = 5$)	100
	4.00	7.84 ± 0.06 ($n = 5$)	99.0
Rain water	0	1.13 ± 0.04 ($n = 4$)	—
	1.50	2.64 ± 0.03 ($n = 5$)	101

の再現性も RSD が数 % 以内と良好な結果が得られた (Table 2).

3・2 西表島の天然水中のホウ酸濃度の季節変化

西表島の属する八重山地方は南西諸島の西南端に位置している. この地方は, 夏季には湿潤な太平洋気団 (小笠原気団) の, そして冬季には乾燥した大陸性気団 (シベリア気団) の影響を受ける. 西表島では台湾やユーラシア大陸に近いこともあり, その影響が雨水の水質に表れることが予測される. 西表島では実際に 2005 年 1 月から 12 月に pH $3.8 \sim 7.7$ の雨が降っており, 台風期以外はほとんど酸性雨が降っていることが分かった. わが国の降水の 2003 年度平均 pH は約 4.77 であり, 西表島においても, 9 月の台風の時期を除いた pH の平均値 (4.7) は全国平均値とほぼ同じであった. この酸性物質を多く含む降雨の影響が, 河川にもみられた. 全化学風化量の 10 ~ 20 % は, 主に酸性雨由来の硫酸による化学風化が関与していることを既に報告した⁶⁾. 西表島に近接する石垣島においても, 同様に酸性雨の影響が観測されている⁷⁾.

本法を用いて, 西表島雨水, 陸水中に存在するホウ素濃度を検量線法で直接定量した. 2006 年 3 月から 2008 年 9 月までに採取した 29 試料で pH は $3.87 \sim 7.99$ であり, ホウ素の分析を行わなかったものも含めて, 降水量も加味したすべての雨の加重平均値は 4.96 であった. また, ホウ素濃度は $3.09 \sim 40.8 \mu\text{g dm}^{-3}$ であった. ただし, 西表島は周

Fig. 4 Seasonal concentration variation of soluble B and nss-B in rain water collected at Sonai on Iriomote Is., the Ryukyus

● : soluble B ; ○ : nss-B

囲を海で囲まれているため海塩の影響を受けていることから、海塩の影響を除いた値を Na^+ 濃度を用いて見積った。非海塩性ホウ素 (nss-B) 濃度は式(2) で与えられる。

$$[\text{nss-B}] = [\text{B}]_{\text{sample}} - ([\text{Na}^+]_{\text{sample}} \times ([\text{B}]_{\text{sea}}/[\text{Na}^+]_{\text{sea}})) \quad (2)$$

その結果、 $1.61 \sim 16.7 \mu\text{g dm}^{-3}$ となった。溶存総濃度および nss-B 濃度の季節変化を Fig. 4 に示した。降水中のホウ酸は非海塩性由来が優勢であった。その季節とのかかわりを示す特徴的な変化は見いだせなかった。

流域が海岸線に近い相良川におけるホウ素総濃度および nss-B 濃度の 2007 年 1 月～2008 年 12 月の間の季節変化を Fig. 5 に示した。河川水の場合、長石類などの化学風化の寄与のために Na^+ 濃度を用いることができないが、島内における人間活動の影響の小さな河川であるため、 Cl^- はすべて海塩由来と仮定して式(2)と同様にして nss-B 濃度を見積った。ホウ素総濃度は $20.3 \sim 28.5 \mu\text{g dm}^{-3}$ 、nss-B 濃度は $12.9 \sim 21.7 \mu\text{g dm}^{-3}$ であった。降水と同様に nss-B の寄与は大きく、夏に高く冬に低くなる傾向が見られた。定常状態の森林においては、ホウ素の負荷は降下物と化学風化によるものであり、これと同じ量がおもに河川水を通じて流出する。降水の 50 % 以上が蒸発散により大気に戻るため、溶存成分は濃縮されることになる⁸⁾。ホウ素濃度の変動はこの蒸発散の季節変化を反映しているものと推定される。

島中央部のもっとも大きな流域面積を持つ浦内川についての結果も Fig. 5 に示した。総濃度は $14.7 \sim 20.9 \mu\text{g dm}^{-3}$ 、nss-B 濃度は $10.0 \sim 15.6 \mu\text{g dm}^{-3}$ であり、相良川と同様の季節変動が見られたが、相良川よりも低濃度であった。島中央部で海岸線からもっとも遠く山で囲まれた流域であるため、ホウ素の総濃度が相良川に比べて低く、酸性沈着の降下量も相対的に小さくなっているものと考えられる。

Fig. 5 Seasonal concentration variation of soluble B and nss-B in river waters on Iriomote Is., the Ryukyus

▲ : soluble B, △ : nss-B (Aira River); ● : soluble B ; ○ : nss-B (Urauchi River)

Anderson らは、大気中に粒子状およびおもにホウ酸としての気体状でのホウ素が存在し、多くは海塩由来であるが、8～20 % は石炭や木材の燃焼、農業活動に伴って排出されていると推定した⁹⁾。また、火力発電所からのフライアッシュの分析では、大気中に放出しやすい微粒子のホウ素濃度が高く、これが天然水を汚染する可能性が指摘されている¹⁰⁾。西表島で観測された nss-B は季節風によって中国からの長距離移流によりもたらされた可能性は高いが、今後さらに検討を加える必要がある。

4 結 言

本研究では、長さ 1 cm の市販のイオン交換カラム (HPLC 用ガードカラム) を反応・濃縮・分離媒体とする微量ホウ素定量法の開発を行った。1 試料の分析に要する時間は 12 分となり、既報より時間を短縮することができた。その実用性を、西表島天然水中に含まれるホウ酸の分析に応用し、非海塩由来のホウ酸の存在を明らかにした。検出感度も十分に高く、自動化も容易であるので、ICP-AES や ICP-MS よりも安価な流れ分析法として今後の発展が期待される。

謝 辞

本研究を行うにあたり、平成 18 年度(財)ソルト・サイエンス研究財団研究助成 (No. 0621) および平成 17～20 年度総合地球環境学研究所「亜熱帯島嶼における自然環境と人間社会システムの相互作用」プロジェクト (E-03) の支援を受けた。また、西表島での採水、現地測定では、九州大学大学院理学府 高嶋温子、畑江久美、川上純子、江里口和隆、総合地球環境学研究所西表島分室の小椋朝代、上林大介、崎枝裕次、平良薫、平良裕代、安田恵子の方々に協力頂いた。また、nss-B の見積りのために用いた Na^+ および Cl^- の化学分析値は川上、江里口両氏の未公表データを使用させていただいた。厚く感謝申し上げる。

文 献

- 1) M. K. John, H. H. Chuah, J. H. Neufeld : *Anal. Lett.*, **8**, 559 (1975).
- 2) C. Shao, S. Matsuoka, Y. Miyazaki, K. Yoshimura, T. M. Suzuki, D. A. P. Tanaka : *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, **2000**, 3136.
- 3) C. Shao, S. Matsuoka, Y. Miyazaki, K. Yoshimura : *Analyst*, **127**, 1614 (2002).
- 4) C. Shao, K. Yoshimura : *Anal. Sci.*, **27**, 329 (2011).
- 5) 神谷厚昭 : 西表島の地形と地質, 沖縄県立博物館編「西表島総合調査報告書」, p. 3 (2001).
- 6) 高嶋温子, 吉村和久, 栗崎弘輔, 井倉洋二, 高相徳志郎 : 水環境学会誌, **30**, 325 (2007).
- 7) 東田盛善, 隅田昌良, 佐竹 洋 : 地球化学, **40**, 111 (2006).
- 8) J. M. Bosch, J. D. Hewlett : *J. Hydrol.*, **55**, 3 (1982).
- 9) D. L. Anderson, M. E. Kitto, L. McCarthy, W. H. Zoller : *Atmospheric Environ.*, **28**, 1401 (1994).
- 10) T. Narukawa, K. W. Riley, D. H. French, A. Takatsu, K. Chiba : *J. Environ. Monit.*, **5**, 831 (2003).

Improvement of On-Line Concentration/HPLC Analysis Method of Boric Acid Using an Anion-Exchange Column Loaded with Chromotropic Acid and Its Application to Trace Determination of Boric Acid in Natural Waters from Iriomote Island, the Ryukyus

Junxue YAO¹, Kazuhisa YOSHIMURA², Kousuke KURISAKI², Yoji INOKURA³ and Tokushiro TAKASO⁴

¹ College of Chemistry and Chemical Engineering, Inner Mongolia University, 2355 University Street, Huhhot, Inner Mongolia Autonomous Region, 010021 China

² Department of Chemistry, Faculty of Sciences, Kyushu University, 6-10-1, Hakozaki, Higashi-ku, Fukuoka-shi, Fukuoka 812-8581

³ Institute of Takakuma Experimental Forests, Faculty of Agriculture, Kagoshima University, 3237 Kaigata, Tarumizu-shi, Kagoshima 891-2101

⁴ Department of Mangrove Biology, Tropical Biosphere Research Center, University of the Ryukyus, Senbaru 1, Nishihara, Nakagami-gun, Okinawa 903-0213

(Received 17 May 2011, Accepted 14 June 2011)

A method for the on-line absorptiometric determination of trace amounts of boron in natural water samples was improved using a commercially available 1-cm anion-exchange column presorbed with chromotropic acid. On-line reaction and separation were achieved by controlling the pH in order to accelerate complex formation in the column by 3, and to stabilize the complex at pH 8 for selective elution of the 1 : 2 complex and its detection at 350 nm. The analytical time for a 3.2 cm³ water sample was 12 min, and the detection limit was 0.06 µg dm⁻³. The method was applied to the boron analysis of natural water samples on Iriomote Is., the Ryukyus. The boric acid concentrations of rain and two river water samples were ranged from 3.1 to 40.8, 20.3 to 28.5 and 14.7 to 20.9 µg dm⁻³, respectively. In each case, the fraction of non-sea salt origin was estimated to be high, probably suggesting that the nss-B had been transported a long distance from the Asian Continent.

Keywords : boric acid ; chromotropic acid ; on-line preconcentration/separation ; Iriomote Island ; long-distance transportation.