

東京大学大学院新領域創成科学研究科
環境学専攻人間人工環境コース

修士論文

NICA-Donnan model を用いた腐植酸に対する
Eu(III)の結合挙動に関する研究

2005 年 1 月 28 日提出

指導教員 長崎 晋也 教授



学生証番号 36705

水島 康博

第1章 緒言

1.1 はじめに.....	2
1.1.1 土壌・地下水汚染.....	2
1.1.2 土壌中に存在する有害物質.....	4
1.1.3 土壌環境における環境リスクアセスメント.....	7
1.2 土壌に存在する様々なコロイドとその移動現象.....	9
1.3 土壌中に存在する有機物質とその機能.....	12
1.3.1 腐植物質.....	12
1.3.2 腐植物質の分類.....	13
1.3.3 腐植化過程.....	14
1.3.4 腐植物質の構造モデル.....	15
1.3.5 腐植酸の特性.....	18
1.4 腐植酸と金属イオンとの結合に関する従来の研究.....	20
1.4.1 土壌環境中における腐植酸の重要性.....	20
1.4.2 金属イオンと腐植酸に関する研究.....	20
1.4.3 3価の金属イオン-腐植酸に関する研究.....	21
1.4.4 腐植酸と金属イオンの結合モデル.....	22
1.5 研究の目的.....	27
第1章の参考文献.....	28

第2章 腐植酸の精製とキャラクタリゼーション

2.1 はじめに.....	33
2.2 腐植酸の精製.....	33
2.2.1 Aldrich HA (PAHA).....	33
2.2.2 精製方法.....	34
2.3 PAHA のキャラクタリゼーション.....	35
2.3.1 UV-Vis 吸収スペクトル.....	35
2.3.2 赤外分光 (IR) スペクトル測定.....	38
2.3.3 3次元蛍光スペクトル測定.....	40
2.4 第2章のまとめ.....	42
2章の参考文献.....	43

第3章 腐植酸に対する Eu(III)の結合等温線の測定

3.1 はじめに.....	45
3.2 実験方法：結合等温線の測定.....	45
3.2.1 試料の調整.....	45
3.2.2 遠心限外ろ過.....	46
3.2.3 ICP-AES を用いた Eu(III)濃度測定法.....	47
3.2.4 トレーサー法を用いた Eu(III)濃度測定法.....	48
3.2.4.1 液体シンチレーションによる放射線測定の特徴.....	49
3.2.4.2 ^{152}Eu の放射線.....	53
3.3 結合等温線の比較.....	
3.3.1 従来測定された Eu(III)の結合等温線との比較.....	54
3.3.2 結合等温線の塩濃度依存性・pH 依存性についての考察.....	56
3.3.2.1 塩濃度, pH の変化が結合等温線に与える影響.....	56
3.3.2.2 結合等温線の塩濃度依存性の比較.....	58
3.3.2.3 プロトン/金属イオン交換比.....	60
3.3.2.4 結合等温線の pH 依存性の比較.....	62
3.4 Eu(III)に関する HSAB 則の分類.....	65
3.5 第3章のまとめ.....	67
第3章の参考文献.....	68

第4章 NICA-Donnan モデルの適用

4.1 はじめに.....	71
4.2 NICA-Donnan モデルの導出.....	71
4.3 実験方法：腐植酸の滴定.....	75
4.4 腐植酸の滴定曲線の作成.....	76
4.5 NICA-Donnan モデルによるフィッティング.....	78
4.6 実験結果への NICA-Donnan モデルの適応.....	78
4.6.1 PAHA へのプロトンの結合.....	78
4.6.2 PAHA への Eu(III)の結合.....	80
4.7 第4章のまとめ.....	84
第4章の参考文献.....	85

第5章 Donnan モデルの検証	
5.1 はじめに.....	87
5.2 ラジカルを用いた腐植酸の表面電位測定.....	87
5.3 実験方法：腐植酸の表面電位測定.....	89
5.3.1 試料の調整.....	89
5.3.2 クエンチング実験.....	90
5.4 測定結果の解析.....	91
5.4.1 蛍光測定.....	91
5.4.2 表面電位の算出と比較.....	94
5.5 第5章のまとめ.....	97
第5章の参考文献.....	98
第6章 結言.....	99
謝辞.....	102

第 1 章 緒言

1.1 はじめに

本研究では有害金属による土壌・地下水環境中の汚染を背景として研究を行った。そこで本章ではまずはじめに、わが国での土壌・地下水汚染に関しての経過や、土壌に存在する環境汚染物質について述べた後に、土壌・地下水環境に対する有害金属のリスクアセスメントの重要性とリスクアセスメントを行うために考慮する必要のある諸要因について述べる。

1.1.1 土壌・地下水汚染^{(1),(2)}

わが国の土壌・地下水汚染は明治時代から足尾銅山鉍毒事例、イタイイタイ病などの土壌汚染事例が発生しており、人体への影響や農作物への被害が大きな社会問題となったにもかかわらず、その解決には非常に長い期間が費やされている。わが国は戦後、工業化に基づく高度経済成長路線を続け、景気の循環的な変動や二度にわたる石油ショックを経験しながらも、産業は急速な発展を遂げた。しかし、高度経済成長に伴い環境汚染が進行し、深刻な健康被害が発生した。それに伴って公害反対運動が大きく広がり4大公害訴訟（4日市ぜんそく、水俣病、新潟水俣病、イタイイタイ病）をはじめとした論争が法廷に持ち込まれた。その結果、大気や表層水など我々が日常接することの多い分野ではかなりの改善が見られた。これに対して関心が向けられることが少なかったのが土壌や地下水の汚染問題である。土壌汚染は直接・間接的に図1.1のモデルのように広がっていき、農作物や樹木の生育の阻害、食物連鎖による動物体内への汚染物質の蓄積、地下水・表層水の汚染、汚染土壌の飛散による人体への健康被害への影響を引き起こす。土壌は多くの生物の生長を育む重要な環境を提供している。私たち人間の生活もまた、土壌に依存している。それにもかかわらず、日常生活において土壌に接する機会が少ないことや、土壌の汚染が目に見えないこともあり、土壌汚染の問題、地下水汚染は軽視される傾向にあった。

飲料水源などの多くを地下水に依存してきた戦前とは異なり、戦後は地下水の役割が低下してきた。地下水が問題となってきたのは、大都市での地盤沈下が深刻となり、地下水のくみ上げ規制が強化された時が始まりである。しかし、この時も地下水汚染自体に対しては関心が向けられていなかった。一方この頃海外では、アメリカのラブカナル事例、オランダのレッカーケルク事例、シリコンバレーの地下水汚染などをきっかけに土壌や地下水の汚染は非常に大きな社会問題となっていた。このような海外の動きをきっかけとしてわが国でも土壌・地下水汚染に対し関心が払われることとなった。従来、わが国において土壌汚染が問題化されているのは主として農用地であった。農用地の汚染は農作物の収穫を低下させるばかりでなく、食物連鎖を通して人の健康被害を及ぼす。これに対しては、1970年に制定された農用地の土壌汚染防止などに関する法律をはじめ、多くの対策が講じられてきた。しかし、近年問題化されているのはむしろ市街地における土壌汚染である。

従来，わが国の市街地土壤汚染は，汚染地の多くが事業所などの私用地であり，局所的な汚染が多いことから顕在化することが少なかったといわれている．生産工程で私用される原材料や，化学物質の有害性に対する認識が低かったことも原因の一つであると考えられる．しかし，近年ではダイオキシン，環境ホルモンなどの化学物質による土壤汚染，廃棄物の処理に関連する，市街地の土壤汚染に対して関心が高まってきている．土壤汚染は，工場跡地の再開発や土地の取引に関連して，また地下水の常時監査により顕在化しており，その実態が徐々に明らかにされつつある．近年でも，東京八王子の農薬工場跡地で発見された無機水銀による土壤汚染など多くの事例が存在する．当初このような問題に積極的に取り組んだのは一部の地方自治体のみであったが，現在土壤・地下水汚染は国・企業などが適正に管理すべき重要なリスクの一つであるという認識が深まってきている．また，環境マネジメント・監査に対する関心の高まりとともに，土壤・地下水汚染に対する企業の取り組みは今後さらに進んでいくものと考えられる．化学物質の環境中への排出・移動量のデータの管理・報告を義務付ける PRTR の法制化が進められているが，このような動きも企業の土壤・地下水汚染対策の取り組みを促進する可能性がある．

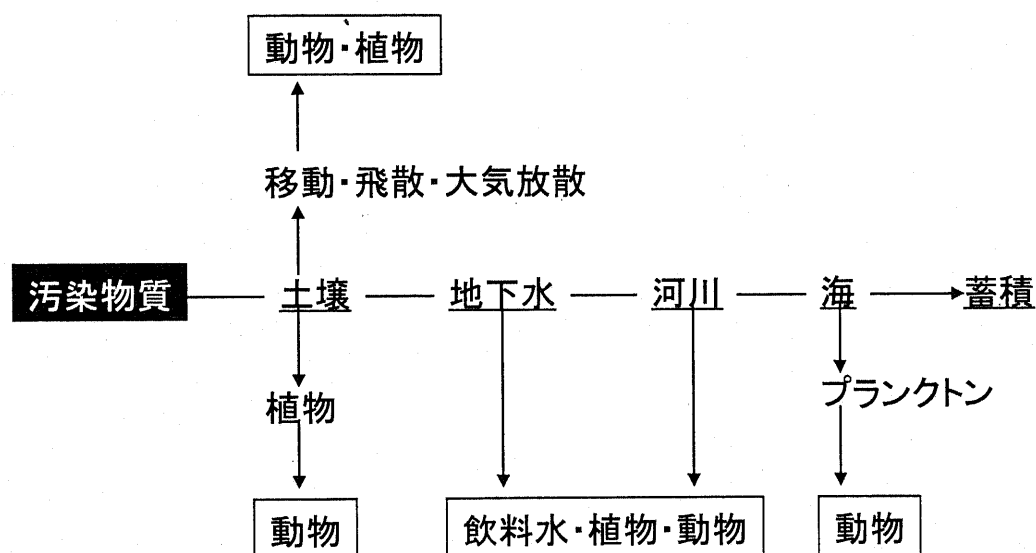


図 1.1 土壤汚染の環境中への広がり

1.1.2 土壤中に存在する有害物質⁽³⁾

市街地の土壤汚染に関しては 6 価クロム、鉛の問題が最初にとりあげられ、最近ではトリクロロエチレンなどの揮発性有機化合物による汚染が問題となってきた。表 1.1 に主な土壤・地下水汚染物質を挙げた⁽⁵⁾。放射性廃棄物でウランウムなどの放射性核種はその最終処分の方法としては図 1.2 に示すように、ガラス固化体とした後に鋼鉄製の容器であるオーバーパックに入れられ、周囲と岩盤の間を緩衝材と呼ばれる陽イオン交換能を有する粘土鉱物などで囲んだ後、地下数百メートルの地層中に埋設される。その結果、長期間にわたり地下に埋設された場合、オーバーパックの腐食などが原因で放射性廃棄物が漏れ出す可能性が存在する。また水銀、カドミニウム、鉛、クロム、スズ、砒素、セレン、などの金属は工場の跡地などでよく検出される有害金属であり、環境・生体に対して非常に大きな影響を与える。また、これら有害金属は環境中に放出された場合に有機化合物などとはことなり、一度土壤・地下水中に取り込まれるといつまでも環境中に存在する。さらに、生体内に侵入した場合にも、体内で分解などの変化を受けることが無いことから、長期にわたり土壤・水質・人体に被害を及ぼす可能性が考えられる。そこで放射性核種や重金属などの有害金属に関しては現在までに、金属それぞれについて測定方法、厳しい環境基準値が定められており、また表 1.2 に示すような多くの汚染修復技術⁽⁶⁾が開発されている。しかし、産業構造の変化とともに工場などで使用・製造される物質も大きく変化して来ているため、現段階では環境中の存在が認められない物質や、金属の生体に対する影響が未解明である物質などに関しても将来有害性が認められる可能性がある。そのような物質にはタリウム、ビスマス等の重金属や、近年アルツハイマーの原因でもあるということが発表され土壤中に豊富に存在するアルミニウムなどが挙げられる。このような理由から土壤環境中に存在する有害金属に関しての環境基準は今以上に厳しいものとなると考えられる。

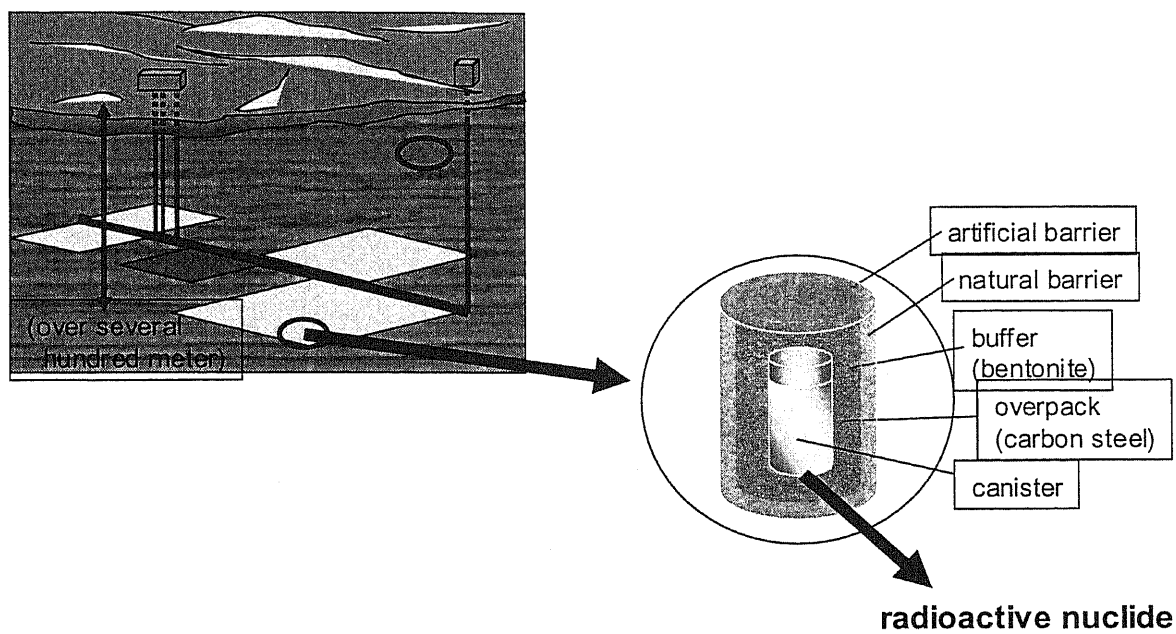


図 1.2 HLW 地層処分の概念図

表 1.1 土壌・地下水汚染物質の分類

	小区分	項目
1. 有機化合物	a. 脂肪族, 芳香族, 炭化水素	ガソリン, 灯油, 重油など, ベンゼン, トルエン, キシレン 等
	b. 有機ハロゲン化合物	TCE, PCE, MC 等, PCB, ダイオキシン, クロルデン 等
	c. その他	フェノール, 界面活性剤, アクリルアミド 等
2. 無機化合物	a. 重金属類	水銀, 鉛, クロム, 砒素, 銅, 亜鉛, カドミウム, マンガン 等
	b. 酸類	シアン, 硝酸性窒素, フッ素, 硫酸 等
	c. アルカリ類	珪酸ソーダ 等
	d. その他	土粒子
3. 微生物		大腸菌類, 赤痢菌, A型肝炎菌, コレラ菌 等
4. 放射性物質		ラジウム, ウラニウム, トリチウム, ストロンチウム 等
5. 水温		温水, 冷水
6. その他		異臭, 色, 濁り, 異物, 等

表 1.2 土壌汚染対策，処理技術の概要⁽⁶⁾

対策・技術	概要	適用対象	特徴
地下水揚水法 (現位置抽出・処理)	汚染地下水を揚水し，対象物を除去，回収する。酸化，還元，中和，凝集沈殿濾過，および吸着処理などを用いる。	地下水(土壌) クロム，シアン	水処理技術として確立。処理後の現地回復が容易，汚染の拡散を防止
化学的分解 (処理・分解)	堀削除去土・地下水に薬剤を添加し，触媒，酸化，還元などの化学的分解を行う。	土壌，地下水 シアン，PCB	対象物質の濃度や土質の影響は小，処理時間が短い。
熱分解 (処理・分解)	堀削除去した土壌・地下水を加熱し，対象物質を分解する。通常800～1000℃で行われる。排ガス処理施設が必要不可欠である。	土壌，地下水 シアン，農薬	ほとんどの化合物に対応。対象物質の濃度や土質の影響は小，処理時間が短い。施設の規模は比較的大
熱脱着・揮発 (処理・分離)	汚染土壌を加熱することにより比較的低沸点の物質を土壌から脱着，揮発させて分離する。水蒸気を用いる水蒸気注入法，低沸点化合物に変換する塩化揮発法などがある。	土壌 重金属，油分	土壌中の重金属の濃度を低下複合汚染の場合に多く適用，短時間で処理可
土壌洗浄 (処理・分離)	堀削除去した土壌を機械的に洗浄して対象物を除去する。土壌を粒度で分類し，対象物質が吸着濃縮している区画を分離し，対象物を洗浄液中に溶解させる。	土壌 重金属，油分	大量の処理が可能，溶媒の種類，条件の選択で複合汚染にも有効
封じ込め対策	汚染土壌を一般環境から隔離する方法として封じ込めがある。対象物質溶出量により遮断型，遮水型がある。	土壌 重金属等対象物質	重金属などの対象物に多く適用可
固形化 封じ込め前処理・固形	汚染土壌にセメントなどの固形剤を混合して固形化し，物理化学的に対象物質を安定化	土壌 重金属等対象物質	操作が容易。
化学的不溶化	不溶化処理は，主に汚染土壌に各種薬剤を添加・混合し，対象物質を難要請の物質に変化させて安定化する。重金属に熱処理を加えた場合も同様の効果が得られる。	土壌 カドミウム，シアン，鉛，クロム，水銀化合物	操作が容易，薬剤の選択が重要
堀削除法	堀削除法は，汚染土壌を堀削するものであり処理や封じ込め対策と併用できる。	土壌，地下水 重金属等対象物質	汚染された土壌を確実に除去し効果を確認できる。場合により複合汚染にも適応

1.1.3 土壤環境における環境リスクアセスメント^{(1), (7)}

上述したように、現在様々な土壤・地下水に適応した効果的な調査技術、浄化技術が開発されるようになってきている。しかしながら、土壤汚染は表層土だけでなく地下の状態も問題になり、また、蓄積性、残留性の汚染であるためにいったん土壤・地下水汚染が生じた場合には、これを排除したり無害化するための膨大な労力、経費、資源が必要となる。そこで我が国でも早期に汚染を発見し、対策を立てる必要性から平成5年に環境基本法が制定され、同法において初めて国全体の施策として環境影響評価を行うことを法律上位置づけた。環境影響評価は土地の形状の変更、工作物の新設その他これらに類する事業を行う事業者が、その事業の実施にあたり、あらかじめその事業にかかわる環境への影響について自ら適正に調査、予測または評価を行い、その結果に基づき、その事業に係わる環境の保全について適正に配慮しようとするものである。環境影響評価法の対象となる事業は原子力発電所などの各発電所の他、道路、河川など多岐に渡っており、基本的な事業内容の標準項目を指針に示しつつ、個別の事業特性、地域特性などに関する情報を追加して環境影響の調査、予測、評価を行うことを定めている。

土壤・地下水汚染に関しても図1.3の例のように地下水、降水、地形、地質、土壤の化学性、浸透性などの自然条件を調査し、現状調査により地下水の汚染が認められた場合には汚染源の把握とともに各種手法（シュミレーションなど）により現状の汚染のリスク評価を行う。また、新たな開発事業を行う場合には、事業により地下水、土壤を汚染する可能性があるかどうか、万が一事故が生じた場合には地下での汚染拡大を未然に防ぐことができるかなどを目的に、必要に応じて汚染機構・経路・拡散状態などについてのリスク評価を行う。しかしながら、土壤、地下水の汚染機構は次に示すように様々な要因により規制されていることから、リスク評価に際してこれらの総合的な解析が要求される。

- ・ 汚染物質の種類・量
- ・ 汚染物質の所在位置・形態
- ・ 汚染物質の所在位置周辺の地形や地盤の状態（透水性・亀裂の有無）
- ・ 汚染物質の所在位置周辺の帯水層分布形態

この時、汚染された土壤・地下水は、地下水の流動により拡散する。したがって、リスク評価の実施は周辺の地下水の流動解明が主なものになる。しかしながら、後に述べるように土壤環境中には、汚染物質の吸着媒と成りうる様々な天然有機コロイドが存在することが知られている。そして過去の研究より⁽⁹⁾ 汚染物質が重金属などの有害金属である場合には、地下水の流動を決定する重要な要因として、天然有機コロイドと有害金属イオンとの結合が考えられている。そこで、適切な輸送モデルを用いて土壤地下水の汚染機構を予測・リスク評価するためには土壤の成分である天然有機コロイドと、金属イオンとの相互作用機構を明らかにする必要がある。

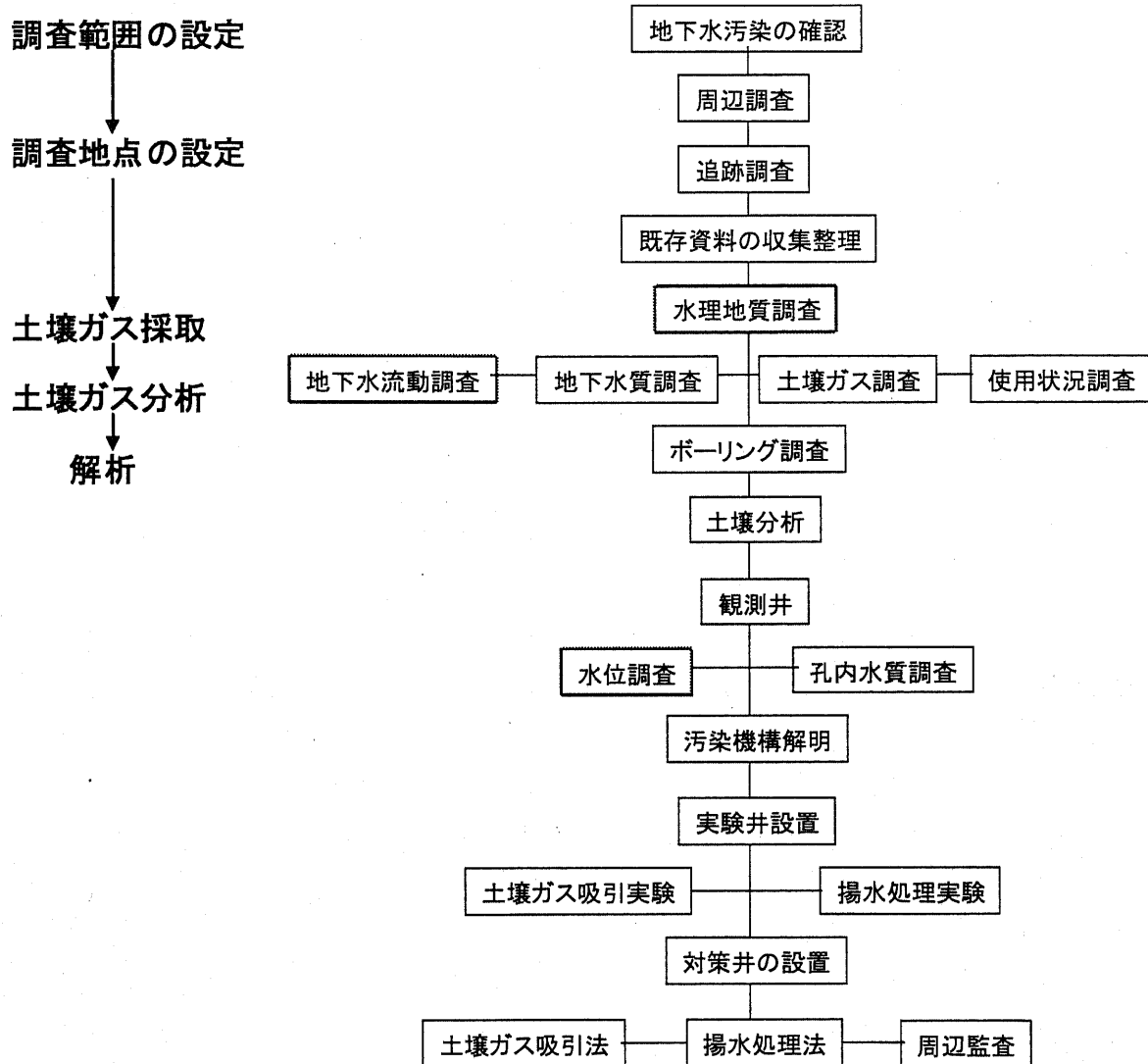


図 1.3 地下水・土壌汚染のリスク評価・修復の流れ⁽⁷⁾

1.2 土壤に存在する様々なコロイドとその移動現象

一般的にコロイド粒子とは 1nm から $1\mu\text{m}$ の大きさの粒子であり、水環境中で分散あるいは他の粒子・相に吸着して存在する。土壤に存在するコロイド粒子は比表面積が大きく、その表面には活性な官能基が存在するためにコロイド表面に対して金属イオンは表面錯形成反応やイオン交換反応により吸着・結合する。地下水中の金属イオンがコロイド粒子と結合する場合には、金属イオンはコロイド粒子の移動に伴い地下水中を移動するために金属イオンの移動特性は著しく変化する。このように土壤中における金属イオンの移動特性はコロイド粒子の移動特性に大きくかかわっているために⁽⁹⁾土壤中に存在する様々なコロイド粒子の存在が重要になる。ここでは土壤に存在するコロイドの種類と、その移動特性について説明する。

①コロイド粒子の種類⁽⁹⁾

土壤を形成するコロイド粒子には、無機化合物の(i)珪酸アルミニウム鉱物と(ii)酸化物、そして(iii)腐植物質などの有機物質が存在する。珪酸アルミニウム鉱物は結晶性の層状ケイ酸塩と、非結晶性のアロフェン、イモゴライトに細分される。コロイド粒子の機能は粒子の大きさと形態に加えて表面電荷などが金属イオンとの結合に重要な役割を果たす。

(i)層状ケイ酸塩は板状の形状を示す化合物である。層状ケイ酸塩は何層もの単位層が積み重なることで形成されており、単位層の構造の違いと表面電荷密度の違いにより分類されている。単位層が雲母やバーミキュライト、スクメタイトを形成する2:1型層状ケイ酸塩と、単位層がカオリン鉱物を構成する1:1型層状ケイ酸塩に分類される。2:1型層状ケイ酸塩は相間に負電荷が散在した状態となり1:1型層状ケイ酸塩では面内に電荷は存在せず、エッジの部分にのみ正電荷や負電荷が溶液のpH等の条件により変化する。

(ii)酸化物は Al(III) や Fe(III) 等の金属イオンと酸素イオンの化合物であり、主要なものに Al 水酸化物のギブサイトや、 Fe 水酸化物のゲータイト・ヘマタイト等が存在する。酸化物の表面には反応性の高い表面水酸基が配列しているために土壤のpH範囲4.5~7ではプロトンが付加して正の電荷を生じる。また、pHが上昇するに伴いプロトンが放出されることで負の電荷を生じることもある。酸化物を分散させた溶液のイオン強度によって滴定曲線が異なることも特徴の一つであり酸化物の表面電荷がゼロになる(PZC)が存在しこの点では異なる塩濃度の滴定曲線が交差する⁽¹⁰⁾。

(iii)腐植物質は天然に存在する天然有機コロイドである。その形態は不定であり、形態や大きさは荷電状態によって変化する。後で述べるように腐食物質は多数の活性官能基を有しており、またそれらの官能基からのpHの解離によって負に帯電しているために、金属イオンと強く結合する事が知られている⁽¹⁰⁾。

②コロイド粒子の移動特性⁽⁹⁾

(i)コロイド粒子の移動現象・拡散方程式

地層中における物質の移動は、地下水に溶存するイオンや分子と固相（粘土や土壌）との2相系で取り扱われることが多い。しかし近年地下水中に分散し、地下水とともに移動するコロイド相の重要性が認識されるようになってきた。すなわち金属イオンなどがコロイドと結合することで移動が促進される一方、コロイドの付着、沈降に伴い地層の透水性が低下して移動が抑制されるなど複雑な挙動を示すことが知られてきた。そこで地下水中における物質移動を考える場合には、イオン、分子、コロイド、およびコロイドに結合したイオン・分子それぞれについて地下水中での様々な相互作用を考える必要がある。

地下水中におけるコロイドの移動現象についての定式化はいまだ十分ではない。最も簡単な亀裂媒体系で、イオン・分子-コロイド固相間の相互作用を瞬時可逆反応として考えた場合、イオンや分子に対する移流拡散方程式は以下のように表される⁽²⁰⁾。

$$\begin{aligned} \varepsilon \frac{\partial C_2(x,t)}{\partial t} + \varepsilon v_2 \frac{\partial C_2(x,t)}{\partial x} - \varepsilon S_2(x,t) + \varepsilon S_3(x,t) - \varepsilon D_2 \frac{\partial^2 C_2(x,t)}{\partial x^2} \\ + \varepsilon a C_2(x,t) + \frac{q(x,t)}{b} = 0 \end{aligned} \quad (1.1)$$

$$q(x,t) = \varepsilon_p D_p \left. \frac{\partial N(x,y,t)}{\partial y} \right|_{y=b}, \quad x > 0, \quad t > 0 \quad (1.2)$$

ここで C_2 はイオンの濃度、 ε は亀裂の空間率、 v は亀裂中の地下水流速、 D_2 は分散係数、 D_p は母岩中でのイオンの分散係数、 b は亀裂幅の半値、 a は崩壊定数、 q は周辺母岩中へのイオンのフラックス、 S は吸着項(添字2はイオン・分子のコロイドからの脱離、添字3はイオンの岩盤への吸着)を示している。この式は亀裂内における濃度変化を考慮した物質収支より導出される。この時、拡散に関するフィックの第一法則、移流による物質輸送、亀裂周辺のマトリックス媒体への拡散と吸着を考慮した。

この系にコロイドが含まれると、コロイドの分散係数や流速 v 、吸着項 S 、その他のフィルトレーション・沈降・付着などの項 λ を入れた式の導入が行われる。この場合のイオンの移動の支配方程式は式(1.3)のようになる⁽²⁰⁾。

$$\begin{aligned} \varepsilon \frac{\partial C_1(x,t)}{\partial t} + \varepsilon v_1 \frac{\partial C_1(x,t)}{\partial x} + \varepsilon S_1(x,t) + \varepsilon S_2(x,t) - \varepsilon D_1 \frac{\partial^2 C_1(x,t)}{\partial x^2} \\ + \varepsilon a C_1(x,t) + \varepsilon \lambda v C_1(x,t) = 0 \end{aligned} \quad (1.3)$$

ここでは C_1 はコロイドに吸着しているイオンの濃度, D_1 コロイドの分散係数, 吸着項 S の添字 1 は擬似コロイドの岩盤への吸着, 添字 2 はイオン・分子からの脱離をしめす。字この式は吸着が瞬時可逆平衡でフィルトレーションなどのプロセスが 1 次反応であるという最も単純な場合のものである。実際の地層中での移動現象では不可逆性や鉱物化, 反応速度, 固層やコロイド粒子表面の不均質性, 流れ場の不均質性などの効果を考慮する必要性があり, その定式化はさらに複雑なものとなる。

また, 有機コロイド自体の移動を支配するプロセスは, 無機コロイドの移動プロセスとはメカニズム的に異なる可能性があるばかりでなく, 有機コロイドが無機コロイドと結合し無機コロイドを安定化させたり, 金属イオンなどとの結合を変化させることから, 単純に無機コロイド, 有機コロイドという議論のみで理解する事ができないと考えられる。

(ii) 土壌中でのコロイド粒子の移動・安定化に影響する因子

従来, 土壌中における物質の移動に関する測定や予測では, コロイドとの結合による移動の促進が考慮されなかった。しかし, これまでの多くの研究結果からコロイドを無視した物質移動のモデルでは不十分であることが実証され, コロイドの影響をモデル化に取り入れることが不可欠であると考えられるようになった⁽⁹⁾。金属イオンなどが地下水コロイドと結合する場合, その移動は金属イオンの移動特性ではなく, コロイドの移動特性に従って土壌中を移動するためにコロイドの安定性, 移動の促進, フィルトレーション, 電荷の影響などの要素が重要になってくる。

コロイドの安定性はコロイドの移行を決定するために重要となる。土壌・地下水中で安定に存在し, フィルトレーションなどの相互作用を受けなければコロイドは長距離の移動が可能となる。コロイドが土壌中で安定に存在するかどうかはコロイド粒子間, コロイドと土壌との相互作用に依存する。また, 土壌中での移行の促進は腐植物質と結合した金属イオンの観測でも見られており, この理由はコロイドのサイズ排斥, アニオン排斥として説明されている。コロイドの電荷の影響は同符号のコロイドでは斥力, 異符号では引力が働くために拡散係数の変化を引き起こす⁽⁹⁾。またコロイドの電荷は塩濃度などの環境中の条件に強く依存するために詳細な調査が必要となってくる。さらに電荷の効果は腐植酸の表面電位と関係し, 金属イオンとの静電相互作用や, 金属イオンと結合することにより生じる腐植物質の凝集を引き起こす。DLVO 理論によると, 溶液中に存在する金属イオンの価数 z と凝集を生じる臨界塩濃度 v_c には次の関係が考えられている⁽⁹⁾。

$$v_c = 2.13 \times 10^5 \varepsilon^3 (k_B T)^5 \gamma^4 / A^2 e^6 z^6 \quad (1.4)$$

ここで k_B はボルツマン定数、 T は絶対温度、 e は電気素量、 ε は誘電率、 A はハマカー定数である。1.4 式より同一塩濃度では、結合する金属の価数が大きい場合には凝集が生じやすいことが分かる。これより腐植物質は多価の金属イオンと結合することで凝集を生じやすくなり、土壌中での移行が変化する効果についても考慮する必要がある。

1.3 土壌中に存在する有機物質とその機能

ここまでで土壌中に存在する金属イオンは土壌中に存在するコロイド粒子と吸着、結合すること、また金属イオンはコロイド粒子と結合した場合コロイド粒子の移動特性によって決定することを述べた。そして金属イオンの土壌中での移行挙動を決定するコロイド粒子として代表的なものとして腐植物質と呼ばれる有機物質が存在することを述べた。ここでは腐植物質の生成について述べた後に、腐植物質についての構造の研究例そして、腐植物質の生物的、物理的および化学的性質について述べる。

1.3.1 腐植物質⁽⁸⁾

土壌環境において、土壌の母材である岩石の風化物のみで長い陸上生物圏の進化の歴史で作られてきた高等植物と土壌動物および土壌微生物の生態系を支えることはできない。無機質の風化物に有機物が加わることににより初めて複雑な生物群で構成される生態系の環境としての土壌が形成される。窒素その他の養分の供給、水分の保持または多孔質で膨軟な構造など、作物の根の生育に良好な土壌の理化学特性に有機物が寄与していることが古くから知られている。またこの有機物は土壌に黒い色や暗い色をつけるために黒土、肥沃土の代名詞のように用いられてきた。

土壌中には、動植物および微生物の遺体として絶えず新鮮な有機物が供給されている。これらの有機物の構成成分である炭水化物、たんぱく質、リグニン、脂質などは土壌生物群により分解を受けて各種の中間代謝生成物を経てかなりの部分は二酸化炭素と水とアンモニアなどの無機物に転化する。残りの部分は一部の間代謝生成物とこの際に合成される微生物体、およびその代謝性生物であるが、これは後で述べる過程で土壌固有の有機物である暗色無定形の高分子化合物に変化する。天然有機物質は以下の図に示されるように分類され、生物を除いた前記の暗色物質と分解過程にある生物遺体成分の全体を腐植と呼び、またこの前者を腐植物質、後者を非腐植物質とよんでいる。しかし、現在では狭義の腐植としてもちい、腐植を土壌有機物として扱っているのが一般的な傾向である。

1.3.2 腐植物質の分類^{(10)~(13)}

腐植物質の分類は、酸・アルカリでの分散挙動に基づく。図 1.6 に示したように腐植物質から酸・アルカリ溶液への溶解度を利用することで腐植酸、フルボ酸を抽出することが出来る。腐植物質は通常溶解度の異なる 3 つのフラクションに分類する事ができ、塩基溶液には完全に溶解し、酸性溶液 (pH<2) で凝集・沈殿するフラクションを腐植酸、酸・塩基溶液両方に溶解する物質をフルボ酸とよぶ。そして酸・塩基溶液でともに溶解しない物質をヒューミンと呼ぶ。これらの有機化合物、腐植酸、フルボ酸、ヒューミンには分子量や化学組成の明確な境界は無いが、大まかにヒューミン、腐植酸、フルボ酸の順に分子量が低下し、溶解性が増加する。

腐植物質を土壌・海水・淡水中から抽出・分類する多くの方法が数多くの研究者により提案され、検討されてきた。代表的な方法としては、酸・塩基による処理、樹脂による処理、有機溶媒による段階的抽出、ゲル濾過法などが挙げられる。しかし、抽出分類方法が異なると、得られる腐植物質の性質に差が生じ、それらの異なる腐植物質を用いて得られた実験結果を相互に比較することが困難になるために、現在では国際腐植物質学会 (International humic substance society, IHSS)⁽¹²⁾によって国際的標準抽出方法が提案されており、また、この方法によって調整された標準試料が広く使われている。

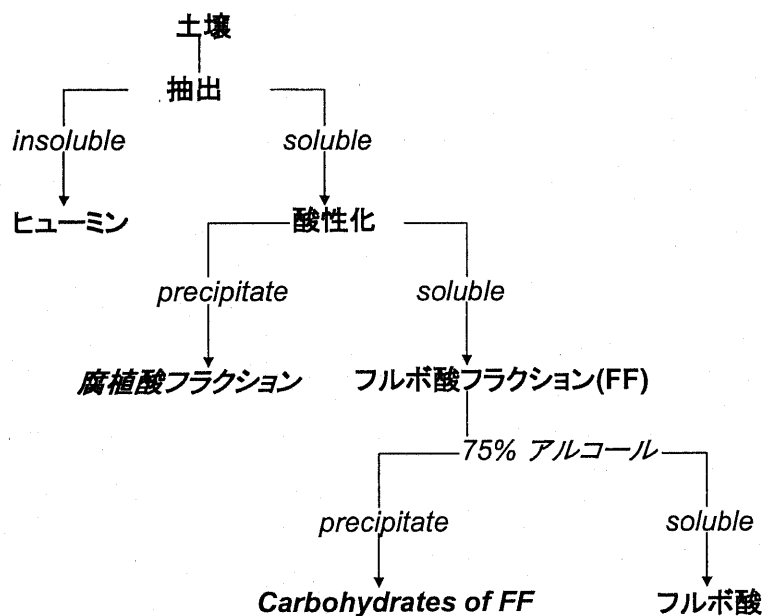


図 1.6 腐植酸の抽出方法⁽¹⁰⁾

1.3.3 腐植化過程^{(10),(11)}

腐植物質は、従来から動植物の遺骸が分解される過程で生じる分解途中の有機化合物が、土壌の微生物の代謝や無機成分の触媒作用を受けて合成されると考えられている。しかしながら腐植物質がどのように生成するかを断定することはできず、一般的に次のような機構により生成していると仮定されている⁽¹⁰⁾。

- 〔1〕動植物の組織がゆっくりと微生物により分解され、分子量の小さな物質に変化していく。この場合動植物の遺骸は酸化されながら腐植酸、フルボ酸を経て分解されと考えられている。

動植物の組織 → 腐植酸化合物 → フルボ酸化合物 → 二酸化炭素

- 〔2〕動植物の遺骸は一度糖、アミノ酸、フェノールなどの分子量の小さな物質に分解される。そしてそれらの内のいくらかは低分子有機物がされるが、一方で低分子量の物質が縮合されることでフルボ酸や、腐植酸が生成される。

上記に述べた 2 種類の過程が同時に生じ、双方の作用により腐植物質が生成されているという見解が強いが、どちらの過程で生成されるかを見極めることは困難であるために現在のところ詳細な腐植物質の生成機構は判明していない⁽¹⁰⁾。図 1.4 に提案された一つの腐植化モデルを示す。

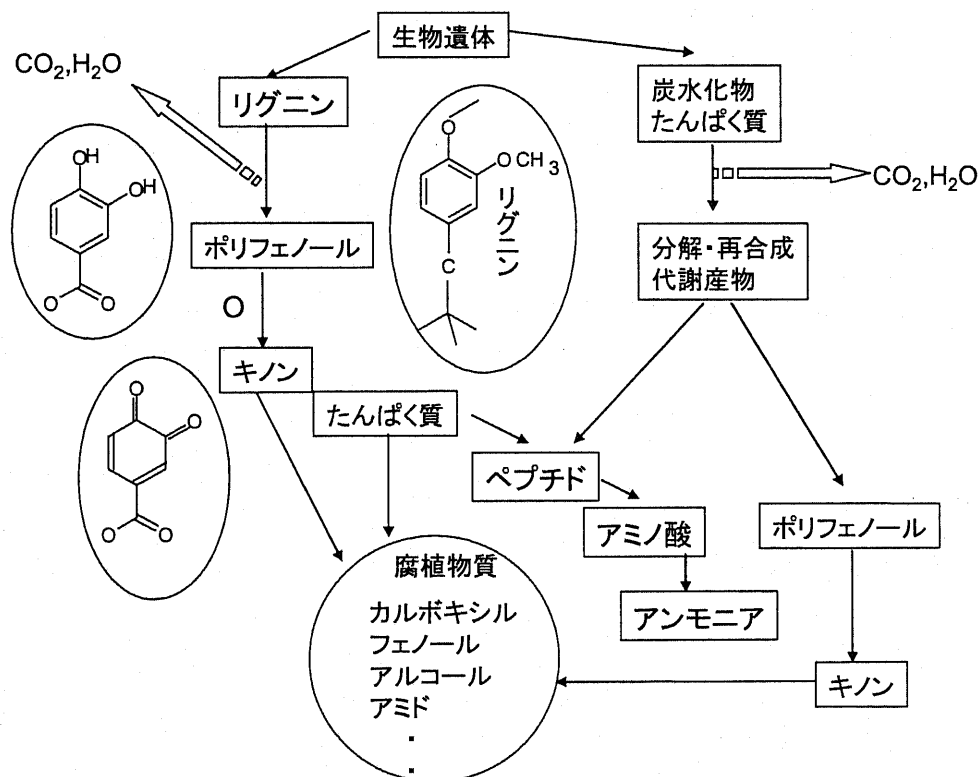


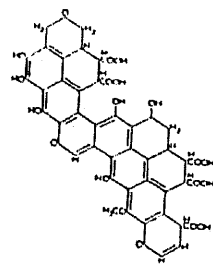
図 1.4 腐植物質の生成モデル⁽¹⁰⁾

1.3.4 腐植物質の構造モデル^{(10),(14)~(17)}

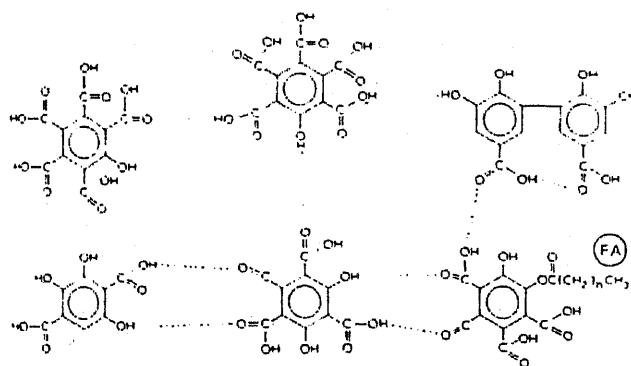
腐植物質の構造に関しては、これまで多くの研究がなされてきた。しかし、腐植物質は、その形成過程から推測されるように、不均質な重合化合物であり、その骨格構造及び、官能基の部分構造の決定は可能であるが、全体構造を決定することは本質的に不可能であるということが言える。そのために、得られた部分構造を組み合わせ、その他の元素分析に基づく平均分子量、滴定や種々の分光手法から推測される含有官能基の種類と量などを照合させながら仮想的な構造を推定するということが行われている。熱分解ガスクロマトグラフィー/質量分析⁽¹³⁾、TOF 質量分析法⁽¹⁴⁾、赤外分光 (FTIR) ⁽¹⁵⁾や C-NMR⁽¹⁶⁾などから得た情報を基にいくつかの腐植物質（腐植酸、フルボ酸）の構造モデルが提案された。初期には Fushs により腐植物質は多環構造をしていることが提案された⁽¹⁰⁾(図 1.5)。しかしこの構造は粘度、水和特性を考えると矛盾していることが示された。そして、より自由度の高い構造であり、またベンゼン環、カルボキシル化合物の含有量が多く、フェノール基(-OH)、カルボキシル基 (-COOH) がベンゼン環に固定された構造、水素結合により結合しているフルボ酸の構造モデルが Schnitzer により提案された。しかし、この構造モデルでは酸素を含まないアミノ基などの官能基を無視して考えている。

多くの構造モデルが提案されたが、Fushs の提案したモデルを除くとその特徴はほとんど共通していると考えられる。フルボ酸に関しては比較的分子量 (1000~2000) の構造モデルが一般的に提案された。そしてここで考えられた構造は柔軟性、凝集、錯体形成能、キノン、脂肪鎖、ニトロ基の存在などの特性と一致することから、大まかな構造は妥当であるということが考えられている。

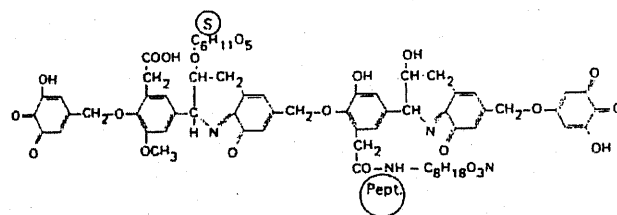
その後、Kleinhemple はこれまでいわれている腐植物質の特徴を発展させて、より現実的な腐植酸の構造モデルを提案した(図 1.6)。このモデルは脂肪鎖、芳香環、ニトロ基の存在、多数の錯形成サイト、分子内凝集、高分子電解質を考慮した 3 次元の構造モデルで、分子量は $\sim 1.3 \times 10^4$ と高い分子量を示している。そしてこのモデルを lignin の構造モデルと比較した結果、腐植酸は直接的に lignin に由来するものと考えられた。



a
Fuchs's
model



b
Schnitzer's
model



c
Dragunov's
model

図 1.5 フルボ酸の構造モデル (10)

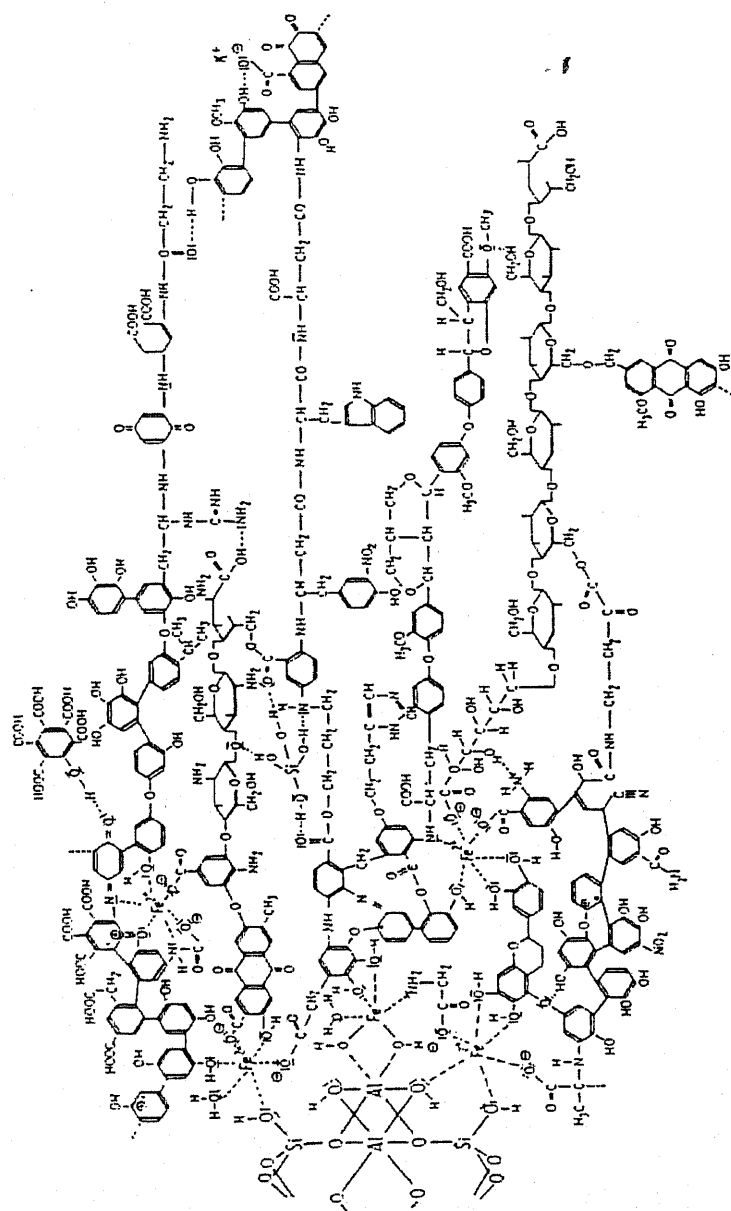


図 1.6 腐植酸の構造モデル(10)

1.3.5 腐植酸の特性^{(18),(19)(21),(22)}

前述したように動植物の遺骸が分解・縮合する過程で各種の腐植酸が生成される。これらの腐植酸は土壌環境の生物的特性、物理的特性、化学的特性の各側面に対して重要な影響を及ぼすことが知られている。そして腐植酸はコロイドとしての特性を持っておりその結果、土壌中に存在する有害金属や有害化合物の移動・安定性に大きくかかわっている。

1) 生物的特性⁽¹⁸⁾

土壌中には新鮮な動植物・微生物の遺体、それらの分解中間生産物および腐植酸など多様な形態の有機物が存在し、多くの土壌動物や微生物にエネルギー源と栄養源を与えて、それらの生活を維持している。腐植酸含有量が土壌生物に及ぼす影響は単に基質となるというだけではなく、各種の有用生物の活性を増大する面にも着目する必要性がある。その一例として、独立窒素固定菌は、有機物を施用して腐植酸量の多い土壌で活性が高く、また共生窒素固定菌の根粒菌の宿主植物への根粒の着生率もそのような土壌では増加するということが示されている。

2) 物理的特性⁽¹⁸⁾

腐植は団粒形成に不可欠な成分である。微細団粒は腐植化の進んだ腐植酸、粘度鉱物および Fe_2O_3 、 AlO_3 、 Ca^{2+} などが結合した複合体と考えられ、これが微生物の分泌した粘質な多糖類、糸状菌の菌糸、未熟な腐植によって接着され、大型の団粒が形成されると推定されている。団粒構造は透水性、通気性を良好にし根の伸長を助ける。また、腐植の比表面積は大きいので、保水性の向上にも寄与する。

3) 化学的特性

(i) 陽イオン交換能⁽¹⁸⁾

土壌中に存在するコロイドの中で腐植酸は表 1.3 に示すように陽イオン交換量が粘土鉱物の数倍～数 10 倍も大きく、表土においては全交換量の 3 分の 1～2 分の 1 が腐植酸に由来している。これは、腐植酸の粒子が微細であり、比表面積が非常に大きいために交換基が多くなるからである。その結果腐植酸はもともと有しているプロトンと環境中に存在する金属イオンをイオン交換する。

また、土壌中に存在する主要な交換性陽イオンは Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 K^+ 、 Na^+ 、 H^+ などであって表 1.4 に示すように Ca^{2+} が最も陽イオン交換能に優れるイオンである。これらに比べて通常量は少ないが、重要な交換性陽イオンとして NH_4^+ 、 Fe^{2+} 、 Mn^{2+} などがある。交換性陽イオ

ンの中で H^+ , $Al(OH_2)^+$ を除く塩基, Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , Na^+ などの交換性塩基の総量の陽イオン交換量に対する 100 分率は塩基飽和度とよばれ, 塩基飽和度と pH は直接的な関係を有しており, これらは土壌酸性化や植物養分の溶脱を示す重要な指針となっている。

表 1.3 粘土鉱物と腐植酸の陽イオン交換量⁽¹⁸⁾

種類	CEC (me/100g)
カオリナイト	3~15
ハロイサイト	10~40
モンロリロナイト	80~150
イライト	10~40
パーミキュライト	100~150
クロライト	10~40
アロフェン	30~200
腐植酸	30~280

表 1.4 各種土壌の陽イオン交換量と塩基飽和度⁽¹⁸⁾

土壌	pH	粘度	腐植	CEC/ meq/100g	交換性陽イオン				塩基飽和度 %
					Ca	Mg	K	Na	
泥炭土	5.2		58.0	71.5	10.3	7.6	1.0	2.3	30
ポトソル	4.2	6	2.9	7.1	0.3	0.1	0.1		7
火山灰度	5.2	40.6	22.6	36.1	1.3	0.7	0.6	0.2	8
黄褐色森林度	5.6	30.1	7.1	22.2	7.2	4.9	0.1	0.5	57
グライド	5.9	38.4	3.0	28.8	17.6	6.6	0.6	0.4	58

(ii) 高分子電解質効果⁽²¹⁾

腐植酸が有する重要な化学的特性として高分子電解質効果がある。高分子電解質とは多数の電離基を有する高分子物質である。水溶液中では腐植酸が有するカルボキシル基やフェノール基がプロトンを放出して解離する。その結果腐植酸は負の電荷を有する。一方、解離により腐植酸から放出されたプロトンは腐植酸により形成された負の電荷により形成された電場の作用で高分子に周りに束縛される。このように高分子電解質溶液では通常の高分子溶液の特性に加えてイオン間の静電相互作用や、イオンと溶媒間の静電相互作用が現れる。また、支持塩を添加すると腐植酸と同符号のイオンは遠ざけられ、異符号の対イオンは腐植酸に引き寄せられ、結果腐植酸が形成する電場の効果を減少させる効果を持つ。

1.4 腐植酸と金属イオンとの結合に関する従来の研究

1.4.1 土壌環境中における腐植酸の重要性

ここまでで土壌環境中には天然の有機コロイドである腐植酸が存在し、金属イオンと強い交換能や結合能を有することを述べた。また、1.1.2 では土壌環境中には様々な有害金属が存在することを述べた。腐植酸は生物由来の物質であるために土壌の表面付近にその多くが存在する。腐植酸は土壌の表面付近では数十～百 ppm 存在することが報告されているため、1.1.2 で挙げたような工場などから排出される重金属などと容易に結合することが考えられる。また一方で地下数百メートルにおいても腐植酸は地下水中の溶存物質として数 ppm 以上存在することが知られている⁽²²⁾。その結果アクチノイド金属などの放射性核種と強く相互作用するということが言われている。このような理由から数 ppm 程度の腐植酸に対する金属の結合に関する研究が従来から行われてきた。また、腐植酸は金属イオンと結合する場合、金属イオンと結合することで腐植酸の電荷が中和され凝集体を生じることも知られ、土壌中での移行挙動が変化することが知られている。そこで土壌中での有害金属の移行挙動を知るために、腐植酸との結合状態を調査する必要がある。ここでは金属イオンと腐植酸についての全般的な研究の経緯を述べる。そして先に述べたように 3 価の金属イオンは電荷が大きいため腐植酸と結合することで腐植酸の凝集体を形成し、土壌中での安定性、移行挙動を知ることがより困難であると推測される。そこでこのような理由で重要であると考えられる 3 価の金属イオンと腐植酸との結合挙動に関しての研究について述べる。

1.4.2 金属イオンと腐植酸に関する研究

腐植酸は多数の官能基を有しており、特にカルボキシル基とフェノール基が金属イオンとの結合体形成に関与している。環境中に放出された金属イオンはこれらの官能基との間で安定な結合体を形成するためこのような金属イオンの環境中での挙動を把握し、安全評価を行うためには腐植酸と金属イオンの結合挙動の解明を行う必要がある。腐植酸と金属イオンの結合体の形成に関する研究は、金属イオンに着目するか腐植酸に着目するかで 2 種類に分けられる。金属イオンに着目する方法としては、腐植酸に対して金属イオンを平衡に達するまで結合させ、腐植酸結合体と分離した後溶液中の金属イオン濃度を測定し、初期添加量との差から錯体を形成した金属イオンの濃度を測定する方法である。この実験では分離法として遠心限外ろ過法^{(23),(24)}、陽イオン交換法⁽²⁵⁾、陰イオン交換⁽²⁶⁾、透析⁽²⁷⁾を用いる方法や、電位差滴定^{(28),(29)}、時間分解レーザー誘起蛍光法 (TRLIF)^{(30)~(33)}などの方法が挙げられ、腐植酸と金属イオンとの親和定数の決定などが行われている。また、近年結合体を形成した金属イオンの分光学的性質あるいは核的性質の変化から配位数や配位構

造を同定しようとする試みが行われており、電子スピン共鳴 (ESR) ⁽³⁴⁾、広域 X 線吸収微細構造 (EXAFS) ⁽³⁵⁾ 蛍光寿命⁽³³⁾の測定がなどこの目的に用いられている。

ここで述べたように腐植酸と金属イオンとの結合挙動を検討するためには数多くの実験手法が考案されており、これらの実験手法を用いることで金属イオンと腐植酸との結合についての研究が行われている。特に腐植酸と金属イオンとの結合に関する研究は2価の金属イオンに関して多くの研究結果が報告されている。Cu(II), Ca(II), Pb(II), Cd(II)を用いた研究では多くの条件 (pH, 塩濃度) での結合の親和定数が求められており⁽⁵⁹⁾、現在2価の金属イオンと腐植酸の結合挙動について多くの知見が得られている。また、2価の金属イオンだけでなく3価の金属イオンと腐植酸に対しての研究も行われている。しかし3価のカチオンと腐植酸との実験に関しては、3価の金属イオンが2価の金属イオンと比較して電荷が大きいため、腐植酸の凝集を効率的に引き起こすこと等の理由で精度の良い実験を行う事が困難である。そのため3価のカチオンに関しては幅広い条件で実験が行われている研究例は少ない。

1.4.3 3価の金属イオン—腐植酸に関する研究

本研究では腐植酸として従来から多くの研究で用いられている Aldrich 社製の腐植酸を用いた。Aldrich 腐植酸の組成については第2章で述べる。Aldrich 社製の腐植酸と3価の金属イオンとの結合挙動に関する研究は表1.5の例のように主に Am(III) ^{(36)~(40)}, Eu(III) ^{(40)~(43)}, Cm(III) ⁽⁴⁴⁾, Al(III) ^{(45)~(49)} に関して現在行われている。これらの金属イオンのほかに Tb(III), Pu(III), Fe(III) に関する研究も行われているが、その研究例は非常に少なく本研究で用いた Aldrich 社製の腐植酸との結合挙動に関する研究は現在見当たらない。表1.5よりも分かるように現在3価の金属と Aldrich 腐植酸の研究は一部の条件下でのみ行われており、2価の金属イオンと腐植酸との研究で行われているような幅広い条件下での研究はまだなされていない。しかしながら、これらの3価金属は環境中への影響を考える上で非常に重要な役割を果たすことが知られている。最も研究例の多い Am(III) は、高レベル放射性廃棄物であるのアクチノイド金属であり、Eu(III) は3価のアクチノイド金属の模擬物質としてよく用いられるランタノイド金属である。一方で、Cr(III) は通常の水環境中では3価、4価の形態として安定しているが、クロムの化合物には環境中や、生体環境中へ悪影響を及ぼす毒性の強い6価の化学種が存在し、人為的起源により環境中に放出されている可能性がある。よって Cr(III) の環境中での形態を知ることが重要であると考えられることから研究が行われている⁽⁴⁴⁾。そして、Al(III), Fe(III) は環境中に豊富に存在する金属であり、また有機コロイドに対して反応性が高いことが言われている。このうち Al(III) は生体に対しての毒性を有しており、コロイドと結合することによる環境中での移行を知るために研究がされている。

このように3価の金属には環境、生体に対して大きな影響を与える。しかし表1.5に示し

たように、その研究の実験条件は限られており、また実験手法についても限外ろ過、透析 TRLIS など様々である。腐植酸はその精製方法、抽出する場所により性質が異なってくるといわれており、また実験手法が異なると大きくその実験結果も異なってくる。したがって、特定の腐植酸を用いて、実験手法を統一して pH、塩濃度、金属イオン濃度など幅広い実験条件で研究を行うことが腐植酸と金属イオンとの結合挙動を解明するためには重要であると考えられる。そこで本研究では金属イオンとの結合挙動に関する研究で多数の結果が報告⁽⁶¹⁾されている Aldrich 社製の腐植酸を用いた。Aldrich 社製の腐植酸は決して代表的な腐植酸であると言い切ることは出来ないが、現在報告されている結果として粘度などの物理化学的な性質⁽⁶²⁾や金属イオンとの結合に関して他の土壌由来の腐植酸と同様の挙動をしめす⁽⁶¹⁾ことから本研究では Aldrich 社製の腐植酸を用いて研究を行った。また実験手法としては比較的実験誤差が少ない結果が報告されている⁽⁴¹⁾過遠心限外ろ過を用いて行った。

表 1.5 Aldrich 社製腐植酸と 3 価金属との親和定数⁽⁴³⁾

Ligand	Tech.	pH	I	log β	unit
Eu(III)	SCE	5	0.02	4.3	l/g
	UF	5	0.1	4.5	l/g
	D	4.5	0.05	6.2	l/mol
	IE	6	0.01	7.5	l/mol
Am(III)	SP	4.65	0.1	0.96	l/mol
	SP	6	0.1	1.5	l/mol
	LPAS	6	0.1	1.2	l/mol
Cm(III)	TRLIS	4	0.1	0.1	l/mol
		5	0.1	1.2	l/mol
		5	0.001	1.6	l/mol
Al(III)	IE	3-5	—	6.8 (2.8-3.4)	l/mol

SEC: size exclusion chromatography, UF: ultrafiltration
D: dialysis, TRLIS: time resolved laser-induced spectroscopy
IE: ion-exchange, SP: spectrophotometry
LPAS: laser photoacoustic spectroscopy

1.4.4 腐植酸と金属イオンの結合モデル

腐植酸と金属イオンとの結合を理解し、土壌環境中で生じる腐植酸と金属イオンの結合挙動を予測するために現在まで多くの腐植酸-金属イオンの結合モデルが提案されてきた。

そのうち代表的ないくつかのモデルとその特徴を表 1.6 に示す。これまでモデルを構築するために、様々な仮定が用いられてきた。モデルの妥当性を評価するためには、実験で得られたデータに対してモデルを適応し、その結果用いたモデルが実験データをフィッティングすることができるかどうか調べられてきた。初期に提案されたモデルは使用しているパラメータが pH、塩濃度、金属イオンなどに依存するために、限られた条件下でしか適応することが出来ないものであった。そこで、実験条件に依らない 1 組のパラメーターを用いることで、幅広い条件下で実験結果に対して適応することのできるモデルの提案がその後 50 年以上にわたり行われてきた。しかし、これらの結合モデルは半経験的に提案されたモデルがほとんどであるために、たとえ実際の状態と相反する仮定を用いた結合モデルや異なる数式のモデルを用いた場合でも実験データに対して双方の結合モデルが適応できる場合がある。このような理由があるために、実験結果への適応性のみでどのモデルが最も良いモデルであるのかを判断することは難しい。よって環境中で生じている腐植酸と金属イオンとの結合に関する物理的な意味を考えることで、最も腐植酸と金属イオンの結合を最も良く記述することのできるモデルを検討する必要性がある。現在考えられている結合モデルでは腐植酸と金属イオンとの結合に関しては実際に生じていると考えられる次のような効果が重要となる⁽⁵⁹⁾。

- ①腐植酸が有する多数の官能基が不均質に存在することによる親和定数分布
- ②腐植酸と金属イオンの結合に対しての化学量論性
- ③対象とする金属イオンの他に溶液中に存在する対イオン、他の金属イオンによる腐植酸のサイトに対する競合的結合
- ④腐植酸の高分子骨格に固定されているフェノール基や、カルボキシル基が存在するために生じる高分子電解質効果

特に、①の親和力の違いを考慮することで 2 種類の結合モデルに大別され、それぞれのモデルでそのモデル固有の考え方で②～④の効果を取り込んでいる。親和力の違いによるモデルの分類では、一つは discrete site モデルと呼ばれるもので、腐植酸の結合サイトを有限個のサイトとして考えてそれぞれのサイトに対して金属との親和定数を考えるモデルである⁽⁴⁹⁾。一方で腐植酸表面の官能基の不均質性などを親和定数に分布を取り込むことによって、腐植酸の表面の効果をとり込んだ continuous distribution モデルが存在する⁽⁵³⁾。discrete site モデル、continuous distribution モデルともに多くの結合モデルが提案されているが、腐植酸の滴定曲線に反映されるように、腐植酸に存在する結合サイトは連続的ななだらかな親和定数分布を示すことから⁽⁵³⁾、continuous distribution モデルの方がより実際の腐植酸表面の官能基の分布を描写したモデルであると考えられる。近年では腐植酸と金属イオンとの結合を記述するために discrete site モデルである Model VI と、continuous distribution モデルである NICA-Donnan モデルが多く用いられている。ここ

で簡単に Model VI と NICA-Donnan モデルについての説明を行った。

・ Model VI^{(49),(52)}

Model VI は Edward Tippingn らにより提案されたモデルであり，腐植酸がイオンに対して複数の離散的な親和定数を持つという仮定をした discrete site モデルである。

Model VI では，プロトンの解離に対して 8 個の酸解離定数が異なるサイトが仮定される。これらのサイトは，type A のサイト（主にカルボキシル基）と type B のサイト（主にフェノール基）に分けられる。このモデルでは，type A のサイトの量は type B のサイトの量の 2 倍であり，それぞれ 4 つの等しいサイト密度を有すると仮定されている。そして金属イオンの腐植物質への結合を次式のようにプロトンとの交換反応として記述される。この時に Model VI では金属イオンの結合に関して単座配位のみでなく，多座配位の結合も考慮されている。



このプロトン交換反応に関して酸塩基平衡を持って各サイトでの金属イオンに対する親和定数が記述される。この場合に用いられる親和定数はすべて実験条件に依存しない酸塩基平衡定数である。そして，腐植酸と金属イオンとの結合にはこのほかに，腐植酸表面の官能基の解離により生じる負のポテンシャルに起因する静電相互作用が生じ，その効果を取り込むことにより腐植酸と金属イオンとの結合に対して腐植酸高分子電解質の効果による静電相互作用の寄与を親和定数に対して補正することが出来る。Model VI では腐植物質が均一なサイズと平均的な電荷を有する球体と考えて，静電モデルとしては Donnan モデルを用いて親和定数の補正を行っている。

・ NICA-Donnan モデル^{(53) ~ (60)}

Model VI とは異なり，NICA-Donnan モデルは腐植酸表面の官能基の分布を考慮した continuous distribution モデルである。NICA-Donnan モデルは化学反応による金属イオンと腐植酸の特異結合のモデルである NICA モデルと，腐植酸の有する負の電位による金属イオンとの静電相互作用のモデルである Donnan モデルに分けられており，金属イオンに対して結合する腐植酸の表面官能基の分布は，NICA モデルに含まれる実験条件によらない親和定数に対して分布を取り込むことで考慮している。また，NICA モデルでは Model VI 同様に腐植酸のサイトに対して溶液中に存在するプロトン

が競合して結合することを考慮している。さらに腐植酸に対しての金属イオンの化学量論比を ModelVI では多座配位を明示的に取り込んでいるのに対して、NICA モデルでは平均的に取り込んだモデルである。

一方、静電相互作用の効果を考慮する Donnan モデルでは腐植酸を負の電荷を持ったゲル状の物質として扱い、ここで腐植酸の体積を腐植酸内部の電気 2 重層のポテンシャルプロファイルの代表値を計算するための仮想的な体積である Donnan 体積として考える。このモデルの式の導出は第 4 章で詳しく述べる。

NICA-Donnan モデルは現在 Ca(II) 、 Mg(II) 、 Cd(II) 、 Cu(II) 、 Pb(II) などの 2 価の金属と腐植酸との結合実験に対して用いられており、従来提案された金属イオンと腐植酸との結合モデルと比較して、幅広い領域（金属濃度、pH、塩濃度）に対して適応するという報告がされている。また腐植酸の官能基の微視的な構造に着目する ModelVI 等の discrete モデルに対して、結合の親和力に対して分布を持たせることで腐植酸表面の不均質性を記述しており、腐植酸の持つ官能基分布を正確に表現していると考えられることから、金属イオンと腐植酸の結合モデルとして現在最も用いられているモデルである。しかしながら、3 価の金属イオンと腐植酸との結合挙動に関する研究では、現在 NICA-Donnan モデルの適応があまり行われていない。その結果、3 価の金属イオンと腐植酸との結合において NICA-Donnan モデルを用いることで結合挙動を記述することが出来ることが確認されていない。 Eu(III) は 3 価の金属であり、高レベル放射性廃棄物である 3 価のアクチノイド金属の模擬物質である。そこで本研究では Eu(III) と腐植酸の結合挙動を記述するモデルとして NICA-Donnan を用いて研究を行うことにした。

表 1.6 結合モデルの種類とその特徴⁽⁶³⁾

	NICA-Donnan	Model VI	Fully coupled electrostatic
Proposer	Kinniburgh et al.	Tipping et al.	Milne et al.
Type of binding	Monodentate Multidentate	Monodentate Multidentate	monodentate
Local isotherm	Henderson- Hasselbalch	Langmuir	Langmuir
Affinity distribution	Sips	descrete 8 sites	Sips
Particle shape , size	Gel	Gel	Cylindrical; single equivalent radius
Electrostatic model	Donnan	Donnan	Poison- Boltzmann for cylinder
	oligoelectrolyte	Polyelectrolyte	Polyelectrolyte
Proposer	Bartschat et al.	Brark and Chen	Ephraim et al.
Type of binding	Monodentate	Monodentate	Monodentate Bidenttate
Local isotherm	Langmuir	Langmuir	Langmuir
Affinity distribution	descrete		discreate
Particle shape , size	2 types of spheres	Cylinders; radius varies with charge	Not considerd
Electrostatic model	Poison-Boltzmann for spheres	Poison- Boltzmann for cylinder	Donnan

1.5 研究の目的

有害金属や放射性核種が土壤環境中へ与える影響のリスクアセスメントを行うためにはそれらの金属の土壤中での移行挙動を理解する必要がある。有害金属の土壤中での移行挙動を決定する要因として第一に、腐植酸が有害金属イオンと相互作用を生じ結合を形成するという事が挙げられる。そこで本研究では土壤環境中に豊富に存在し、金属イオンに対して強い親和力を持つ腐植酸に対して Am(III), Cm(III)等の3価の放射性核種の模擬物質として Eu(III)の結合に関する研究を行った。また、3価の金属イオンと腐植酸に関する研究例はその電荷の大きさに起因する実験の困難さなどにより非常に少なく、広い実験条件で行われた結果が報告されていないことから、3価の金属イオンと腐植酸との結合挙動を調べるために、本研究では Eu(III)と腐植酸との結合挙動を検討した。

本研究では腐植酸に対する Eu(III)の結合挙動を理解するために次のような研究を行った。第2章ではまず、本研究で使用する Aldrich 社製腐植酸の精製を行った。その後精製した腐植酸の UV-vis スペクトルや、赤外吸収スペクトル、3次元蛍光スペクトルを測定して過去の研究と比較することで腐植酸の持つ基本的な官能基特性の評価を行った。次に第3章では精製した Aldrich 腐植酸と Eu(III)の結合等温線の測定を行った。特に本研究では測定方法として ICP-AES やトレーサー法を用いることで幅広い濃度範囲で、さらに pH と塩濃度を変化させて結合等温線の測定を行った。そして測定した腐植酸と Eu(III)の結合等温線の pH や塩濃度による変化を従来測定された2価金属に関しての測定結果と比較することで、腐植酸に対する Eu(III)の結合量の pH 依存性や、塩濃度依存性を評価し、腐植酸に対する Eu(III)の特異結合と静電相互作用について検討した。第4章では第3章で測定した結合等温線に対して腐植酸と金属イオンの結合モデルである NICA-Donnan モデルを適応した。NICA-Donnan モデルを実験結果に適応することで、第3章で結合等温線を比較することで得られた特異結合と静電相互作用に関しての定性的な評価を NICA-Donnan モデルに含まれる様々なパラメータに反映させることで腐植酸と Eu(III)の結合についての定量的な評価を行い、さらに腐植酸とユーロピウムの結合挙動の描像について検討を行った。Eu(III)のような多価の金属イオンに対して腐植酸の静電的な効果が重要となる。そこで第5章でラジカルによる腐植酸の蛍光の消光作用を利用することにより、腐植酸の表面電位を実験により測定した。腐植酸に対する金属イオンの結合に関しては特異結合と静電相互作用による結合を考慮する必要がある。特に Eu(III)などの電荷の高い金属に関しては静電相互作用の寄与が大きい事が予想される。そして第4章で用いた NICA-Donnan モデルには静電相互作用の大きさを示すパラメータが含まれており、そのパラメータは Donnan 電位と呼ばれる腐植酸の電位に強く依存する。そこで第5章では2種類の方法で求めた腐植酸の電位を比較することで、NICA-Donnan モデルに含まれる静電相互作用に関してのパラメータの検証を行った。このような方法で第2章から第5章までの研究を通して腐植酸に対する Eu(III)の結合挙動を検討した。

第1章の参考文献

- (1) 土壌・地下水汚染の実態と対策, 日本地盤環境浄化推進議会, 2002
- (2) 公害防止の技術と法規, 公害防止の技術と法規委員会, 1995
- (3) 島崎英彦, 新藤静雄, 放射性廃棄物処分と地質科学, 東京大学出版, 1995
- (4) 地下水汚染論—その基礎と応用, 地下水問題研究会, 1991
- (5) 地下水汚染物質の特性と地中での挙動, 田瀬則雄, 社団法人宣告地質調査業協会連合, 1998
- (6) 土壌・地下水汚染に係わる調査・対策指針および同運用基準, 環境庁水質保全局
- (7) 環境アセスメントの技術, 社団法人環境情報科学センター, 2001
- (8) 高井康雄, 土壌通論, 朝倉書店 (1980)
- (9) 土のコロイド現象, 学会出版センター (2003)
- (10) J. Buffle, Complexation reactions in aquatic systems: An Analytical Approach, Matire d'Enseignement et de Recherche.
- (11) M. Schnitzer., and Khan. S. U, Humic substances in environment, Maercel Dekker, Inc., New York (1972).
- (12) J. W. Parsons: Isolation of Humic Substances from soil and Sediment. In Humic Substances and their role in the environment. John Wiley & Sons, New York.
- (13) B. Allard, H. Borcn. and A. Grimvall, Humic substances in the Aquatic and terrestrial Environment, Springer-Verlag, Berlin (1989).
- (14) G. Planqu., B. Amekraz, Moilin, V, et al., Molecular structure of fulvic acids by electrospray with quadrupole time-of-flight mass spectrometry. Rapid Commun. Mass Spectrom, 15, 827 (2001)
- (15) G. Haberhauer, W. Bedner, M. H. Gerzabek and Rosenberg, Maldi-TOF-MS analysis of humic substances: A New Approach to obtain additional structural information? : Understanding Humic substances. Advanced methods, properties and applications, Royal Society of Chemistry, Cambridge (1999)
- (16) N. A. Marley, J. S. Gaffney. and K. A. Orlandini, Characterization of Aquatic Humic and Fulvic materials by Cylindrical internal Reflectance Infrared spectroscopy, American Chemical Society, Washington (1996)
- (17) R. L. Cook. and C. H. Langford, : Biopolymeric View of humic substances with Application to paramagnetic metal effects on C NMR : Understanding Humic substances. Advanced methods, properties and applications, Royal Society of Chemistry, Cambridge (1999)
- (18) 熊田恭一, 土壌有機物の化学, 学会出版センター (1981)
- (19) M. N. Jones., N. D. Bryyan, Colloidal properties of humic substances. Advances in

Colloidal and Interface Science, 78 (1998)

- (20) S. Nagasaki, T. Nakatsuka, S. Tanaka, and A. Suzuki, J. Nucl. Sci. Technol., 31, 623 (1994)
- (21) 神原周, 高分子電解質, 共立出版, 1978.
- (22) フミン酸とアクチノイドの相互作用における競争イオンの影響, 核種移行調査専門委員会, 2002.
- (23) K.R. Czerwinski, G. Buckau, F. Scherbaum, J. I. Kim., Complexation of Uranyl Ion with Aquatic Humic Acid, Radiochim. Acta, 65, 35, 111, (1995)
- (24) J. I. Kim, D. S. Rhee, H. Wimme., G. Buckau., and R. Klenze.: Complexation of trivalent Actinide ion (Am(III), Cm(III)) with humic acid: A comparison of different experimental methods. Radiochim Acta 62, 35 (1993)
- (24) J. J. Lenhart., S. E. Cabaniss., Mac. Carthy. P, Honeyman. B. D, Uranium(IV) complexation with citric, humic and fulvic acid. Radiochim Acta, 88, 345 (2000).
- (26) K. R. Czerwinski., G. Bukou. et al., Complexation of the uranyl ion with aquatic humic acid, Radiochimica acta, 111, 65(1994).
- (27) A. Dietricx, A. Maes., and J. Vancluyssen, Mixed complex formation of Eu^{3+} with humic acid competing ligand. Radiochim. Acta, 66/67, 149, (1985).
- (28) P. Lubal, D. Fetsch, D. Sirosky et al., Potentiometric and spectroscopic study of uranyl complexation with humic acids. Talanta, 997, 51(2000).
- (29) I. Christl, L. M. Chris, D. G. Kinniburgh and Kretzschmar. R, Relatong ion binding by fulvic and humic acids to chemical composition and molecular size, Environmental science technology, 2512, 35(2001).
- (30) M. Christophe, J W. Pierre V. I, Ivan. L, Gabriel. P, Valerie. M, Europium complexes investigations in natural waters by time resolved laser induced fluorescence, Analytica chimica acta, 253 396(1999).
- (31) T. Yoshio., Takaumi. K, and Yoshitaka M, Direct observation of Cu(III) fulvate species on fulvic acid montmorillonite hybrid by laser induced fluorescence spectroscopy, Geochimica et Cosmochimica acta, 1, 66(2002)
- (32) Pompe. S, Schmeide. K, Bubner. M, Geipel. G, Heise. K. H, Investigation of humic acid complexation behavior with uranyl ions using modified synthetic and natural humic acid, Radiochimica acta, 553, 88(2000)
- (33) Pompe. S, Schmeide. K, Bubner. M, Geipel. G, Heise. K. H, Determination and comparison of uranyl complexation constant with natural and modelhumic acid, Radiochimica acta, 89, 82(1998)
- (34) Senesi. N, Bocian. D. F, and Sposito. G, Electron Spin Resonance investigation of copper complexation by soil Fulvic acid, Soil sciences, 114, 49(1985).

- (35) Deneche. M. A et al., Determination of structural parameters of uranyl ions complexed with organic acids using EXAFS, *Journal of alloys and compound*, 271, (1998))
- (36) J. I. Kim, Complexation of Americium(III) with humic acid, *Radiochimica Acta*, (1989)
- (37) J. I. Kim and K. R. Czerwinski, Complexation of metal ion with humic acid : Metal Ion Charge Neutralization Model, *Radiochimica Acta* (1996)
- (38) K. R. Czerwinski, J. I. Kim, D. S. Rhee and G. Buckau, Complexation of trivalent Actinide ions (Am, Cm) with humic acid. The effect of ionic strength, *Radiochimica acta*, (1996)
- (39) W. Hummel, M. A. Glaus, L. R. Loon, trace metal interaction, II. The conservative roof model and its application, *applied chemistry*, (2000)
- (40) Adam. J. Peters, Jhon. Hamilton-Taylor, and Edward Tipping, Americium binding to humic acid, *Environmental science technology* (2001)
- (41) S. Caceci, Institut Curie, section de Physique et Chimie, Physicochimie des Elements Trans uranins, The interaction of humic acid with Europium(III). Complexation strength as a function of Load and pH, *Radiochimica Acta*, 51, 39(1985)
- (42) Complexation of soil humic acid with trivalent curium and europium ions: A comparative study, *Radiochimica Acta*, 185, 69(1995)
- (43) Valerie Moulin, Jan. Tits and Gerald Ouzounian, Actinide speciation in the presence of humic substance in natural water conditions, 179, 58(1992)
- (44) Fukushima. M, et al., Chromium binding abilities of humic acid, *Analytica Acta*, 195, 317(1995) .
- (45) J. Lambert, J. Buddrus, and P. Burda, Evaluation of conditional stability constants of dissolved aluminium/humic substance complexes by means of ^{27}Al nuclear magnetic resonance, *Journal of analytical chemistry*, 83, 351 (1995)
- (46) E. Tipping, C. A. Backes and M. A. Hurley, The complexation of protons, aluminium and calcium by aquatic humic substances: A model incorporating binding site heterogeneity and macroionic effects, *Water Research*, 597, 22(No.5) (1998)
- (47) Liping. Weng, Erwin. J. M. Temminghoff, Willem H. Van Riemsdijk, Aluminium speciation in natural waters: measurement using Donnan membrane technique and modeling using NICA-Donnan, *Water Research*, 4215, 36 (2002)
- (48) E. Tipping, Carlos. Rey-Castro, Stephen E. Bryan and John. Hamilton-taylor, Al(III) and Fe(III) binding by humic substances in freshwaters, and implications for trace metal speciation, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 3211, 66(No.18) (2002)

- (49) E. J. Smith, C. Rey-Castro, H. Longworth, S. Lofts, A. J. Lawlor, and E. Tipping, Cation binding by acid washed peat, interpreted with humic ion-binding Model VI-FD, *European Journal of Soil Science*, September, 433, 55 (2004)
- (50) M. N. Jones, N. D. Bryan, *Colloid Interface Sci*, 78 (1998)
- (51) C. J. Milne, D. J. Kinniburgh, J. C. M. Wit, W. H. van Riemsdijk, W. H. Koopal, *J colloid interface Sci*, 175, 448 (1995).
- (52) E. Tipping, D. Humic ion-binding model VI; An improved description of the interactions of protons and metal ions with humic substances, *Aquant Geochem.* 4, 3, 1998
- (53) C. J. Milne, D. J. Kinniburgh, J. C. M. Wit, W. H. van Riemsdijk, W. H. Koopal, Analysis of metal ion binding by a peat humic acid using a simple electrostatic model, *Gheochim. Acta*, 1101, 59 (1995).
- (54) J. C. M. Wit, W. H. van Riemsdijk, M. M. Nederlof, et. al., Analysis of ion binding on humic substances and the determination of intrinsic affinity distributions, *Anal. Chim. Acta*, 232(1), 189 (1990).
- (55) M. J. Avena, L. K. Koopal, W. H. van Riemsdijk, Proton binding to humic acid: Electrostatic and intrinsic interaction, *J. Colloid Interface Sci.*, 217(1), 37 (1999).
- (56) A. Katchalski, P. Spitnik, Potentiometric titrations of poly methacrylic acid, *J. Polym. Sci.*, 2, 432 (1947)
- (57) R. Sips, On the structure of a catalyst surface, *J. Chem. Phys.*, 16, 490.
- (58) R. Sips, On the structure of a catalyst surface II, *J. Chem. Phys.*, 18, 1024.
- (59) D. G. Kinniburgh, W. H. van Riemsdijk, L. K. Koopal, et al., Ion binding to natural organic matter :competition, heterogeneity, stoichiometry and thermodynamic consistency, *colloid surf. A*, 151, 147 (1999).
- (60) M. F. Benedetti, W. H. van Riemsdijk, L. K. Koopal, Humic substances considered as a heterogeneous donnan gel phase, *Environ Sci. Technol.*, 30, 1805 (1995)
- (61) C. J. Milne, D. G. Kinniburgh, and Tipping. E, Generic NICA-Donnan parameters for proton binding by humic substances, *Environmental science technology*, 2049, 35 (2001)
- (62) M. J. Avena, A. W. P. Vermeer, L. K. Koopal, Volume and structure of humic acid studied by viscometry pH and electlyte concentration effect, *Collidos and surface*, 213, 151 (1999).
- (63) D. G. Kinniburgh, C. J. Milne, M. F. Benedetti, et al., Metal ion binding by humic acid, *Environmental science technology*, 1687, 30 (199).

第2章

腐植酸の精製とキャラクターゼーション

2.1 はじめに

本研究では実験に Aldrich 社製の腐植酸 (Aldrich HA) を用いた。購入した Aldrich HA は Na 塩であり、鉄、カルシウム、マグネシウムなどの不純物を多く含んでいる。そこで本研究ではまず、Aldrich HA のプロトン化と、精製を行った。そして精製した Aldrich HA (PAHA) の基本的な性質を理解するためのキャラクタリゼーションを行った。腐植酸のキャラクタリゼーションとしては分子量測定、分光スペクトル測定などを行うことで腐植酸の基本的性質の検討を行っている。従来用いられている測定方法としては次のようなものが挙げられる。

- ①分子量の測定：ゲルクロマトグラフィー、静的・動的散乱測定、粘性測定。(1),(2)
- ②官能基濃度の定性・定量測定法：酸塩基滴定、紫外・可視吸収スペクトルの測定。(1),(3),(4)
- ③腐植酸の構造の推定、同定：X 線回折、 ^1H 、 ^{13}C -NMR の測定。(4)~(6)

本研究では上述した実験方法の中で腐植酸の精製の影響を見るために紫外・可視吸収スペクトル、赤外分光スペクトルの測定を行った。また、高感度で物質の分子構造、環境に敏感であり、物質固有の指標ともいえる 3 次元蛍光スペクトルの測定を行い、過去の測定結果と比較することで本研究で行った腐植酸の精製の影響を調査した。

2.2 腐植酸の精製

2.2.1 Aldrich HA (PAHA)

Aldrich HA は土壌由来の腐植化が進行した腐植酸であり、また、採取されたロットにより細かい特性が異なっていることが報告されている⁽⁷⁾。Aldrich 社製の腐植酸は、市販の状態では Na 型で灰分や様々な無機不純物を含んでいることが知られている。Kim らによって得られた Aldrich HA の組成および含まれる無機不純物⁽⁸⁾を表 2.1, 2.2 にそれぞれ示す。Aldrich HA は腐植酸の主要な構成要素である炭素、水素、窒素、酸素、硫黄が定量されている。特に炭素量が約 55%、酸素量は 37%、水素量は 4.5%、窒素量は 0.3%という値は一般的に報告されている腐植酸中のこれらの元素の含有量（炭素量 50~60%、酸素量 30~35%、水素量 4~6%、窒素量 0~4%）と近い値を示している。また、無機不純物としてはナトリウムが最も多く次いで鉄、アルミニウム、カルシウムなどが挙げられる。また鉄、アルミニウムなどが、ナトリウムと交換していないことから、これらの金属は腐植酸中のマトリックス中で強固に結合しているものと考えられる。また、シリカの不純物はこの腐植酸中に含まれている灰分に含まれると考えられる。

表 2.1 Aldrich HA の元素組成⁽³⁾

成分	組成 (%)
C	55.23±0.28
O	37.46±0.19
H	4.48±0.02
N	0.32±0.01
S	2.23±0.01

表 2.2 腐植酸中の無機不純物⁽³⁾

element	μ g/g HA
Al	2950
Ca	9931
Fe	12207
Mg	698
Na	75116
Si	3333

2.2.2 精製方法

Aldrich HA の精製は IHSS 法⁽⁸⁾, Vermeer⁽⁹⁾ の方法を参考に, 以下の手順で行った. なお, 精製には全て和光純薬の特急試薬を用い, 純水は Milli-Q water(日本ミリポア社)を使用した.

腐植酸 Na 塩 10 g を 0.1M NaOH 1L 溶液に加えて溶解させ, pH を約 10 にして 1 日攪拌しながら静置した. 1 日後, 遠心分離 (14000 g, 0.5 h) を行い沈殿を取り除くことで, アルカリに不溶な不純物 (フューミン) の除去を行った. その後, 採取した上澄み溶液に 48%HF 原液を 1 ml 加え, さらに 1M HCl を用いることで pH を約 1 に下げて, 攪拌しながら 8 時間静置した. 8 時間後, 遠心分離 (14000 g, 1.5 h) を行い上澄みを取り除いた. これにより酸およびアルカリに可溶性物質であるフルボ酸の除去を行った. 遠心分離後の沈殿を 0.01M HCl で洗浄, その後純水で洗浄するという作業を 3 回繰り返した. ここで最後に水で洗浄した沈殿を Spectrum Laboratories 社製の Spectra / Por 透析膜 (分画

分子量 1000) に入れ、純水に対して透析を行った。透析は2週間行い、最終的に透析液に硝酸銀溶液を加えた後に、白い沈殿物(AgCl)が生成しないことを確認して終了した。腐植酸と強く結合している金属イオンを取り除くために、脱塩した腐植酸溶液に対して、過去の研究で測定されている PAHA のおよそその陽イオン交換量の3倍の量⁽¹³⁾の陽イオン交換樹脂(DOWEX 50WX8-200)を入れ、3日間振とうした。3日後、ガラスフィルターを用いて陽イオン交換樹脂と腐植酸溶液を分離した後、EYELA 社の凍結乾燥機(FD-1000)を用いて凍結乾燥を行い、粉末状の精製済みプロトン型腐植酸(PAHA)を得た。PAHA 粉末は湿気を防ぐためにデシケータ内で保存した。

2.3 PAHA のキャラクターゼーション

2.3.1 UV-Vis 吸収スペクトル⁽¹⁶⁾ :

電磁波は波長 λ もしくは振動数 ν , 光速 c により次の関係で特徴付けられる。

$$\nu \lambda = c \quad (2.1)$$

ここで振動数 ν の光子は $h\nu$ のエネルギーを持つ。 h はプランク定数で $6.33 \times 10^{-34} \text{J} \cdot \text{s}$ である。紫外(UV)および可視(Vis)吸収では電磁波と分子の相互作用により原子価電子の励起が生じる。

強度 I_0 の光が厚さ d の均一物質を通過すると、反射や回折による損失とは別に吸収により強度は弱まる。希薄溶液中における光の吸収による光強度の減少は、Lanbert-Beer の法則として次のように知られている。

$$A = \ln \frac{I_0}{I} = \epsilon cd \quad (2.2)$$

すべての波長で吸光度が決定され、それから物質固有のモル吸光係数が決定すると吸収プロット($\epsilon(\lambda)$)が得られる。その結果波長に対する吸光度のプロットである UV-Vis スペクトルが得られる。物質の UV-Vis スペクトルは電子状態に幅があるためにバンドスペクトルとなる。このバンドはその位置、強度、形状そして微細構造により特徴付けられる。各吸収帯は電子遷移の性質に影響され、吸収の位置は立体、誘起、および共鳴効果により強く影響されることや、ケトン基など発色団によっては溶媒からも固有の影響を受けることが知られている(溶媒極性の変化による深色、浅色シフト)。吸収帯の位置は観測される電子遷移の性質により大きく依存しており、表 2.3 に示されるように、各々の発色団は σ , π , n 電子の励起エネルギーの違いにより固有のエネルギーを吸収することがわかる。

表 2.3 孤立発色団の吸収⁽¹⁶⁾

発色団	遷移	λ MAX /nm	ϵ MAX /mol ⁻¹ cm ⁻¹
C-H	$\sigma \rightarrow \sigma^*$	122	強い
C-C	$\sigma \rightarrow \sigma^*$	135	強い
-O-	$n \rightarrow \sigma^*$	167	1500
	$n \rightarrow \sigma^*$	183	200
	$n \rightarrow \sigma^*$	189	2000
-S-	$n \rightarrow \sigma^*$	235	180
	$n \rightarrow \sigma^*$	228	620
	$n \rightarrow \sigma^*$	250	380
-N-	$n \rightarrow \sigma^*$	194	5700
	$n \rightarrow \sigma^*$	210	800
	$n \rightarrow \sigma^*$	193	3000
	$n \rightarrow \sigma^*$	213	6000
-Hal	$n \rightarrow \sigma^*$	173	200
	$n \rightarrow \sigma^*$	204	260
	$n \rightarrow \sigma^*$	258	380
	$n \rightarrow \sigma^*$	349	2170
-C=C-	$\pi \rightarrow \pi^*$	165	16000
	$\pi \rightarrow \pi^*$	185	7940
-C \equiv C-	$\pi \rightarrow \pi^*$	173	6000
	$\pi \rightarrow \pi^*$	172	2500
-C=O	$n \rightarrow \pi^*$	293	12
	$\pi \rightarrow \pi^*$	187	950
	$n \rightarrow \pi^*$	273	14
-C=S	$n \rightarrow \pi^*$	460	弱い
-C=N-	$\pi \rightarrow \pi^*$	190	8000
	$n \rightarrow \pi^*$	279	15
-N=N-	$n \rightarrow \pi^*$	353	240
		343	25
-N=O	$n \rightarrow \pi^*$	300	100
		665	20
-NO ₂	$\pi \rightarrow \pi^*$	210	10000
	$n \rightarrow \pi^*$	278	10

腐植酸は暗褐色、黒色の有機化合物であるために、その構造内に多くの発色団を含んでいることが知られている。その結果腐植酸溶液の吸光スペクトル測定が、腐植酸の形成、腐植化などに関する研究として古くから行われている。特に腐植酸は腐植化が進行することで、色の濃さ（特有な光吸収性）が増すといわれており、その吸光特性と分子量の大き

さについての関係など、さまざまな腐植酸に関する研究が Kononova, Kumada^{(5),(6)}らにより行われた。一般的に腐植酸の UV-vis スペクトルは吸光度が長波長領域から短波長領域に向かい単調に増加する傾向がある。そこで、腐植酸の吸収スペクトルにおいて 400nm と 600nm の波長波長の比をとり吸収パラメータ (E_4/E_6) と定義して、起源の異なる様々な腐植酸間で比較することが行われている。吸光パラメータと腐植酸の性質との関係についての研究結果としては次のようなものが挙げられる⁽⁹⁾⁻⁽¹²⁾。

- ① 腐植酸の腐植化の進行度が高いほど吸光パラメータは増加する。
- ② 低分子量の腐植酸ほど吸光パラメータの値は大きい。
- ③ 吸光パラメータが大きいほど腐植酸の構造内では芳香環が疎な構造となっており、吸光パラメータが小さいほど芳香環が集まった構造になっている。

本研究ではこのような結果を踏まえて、以前測定された Aldrich 腐植酸との吸光パラメータを比較した。また、280nm での吸光度は腐植酸の芳香族によるものであることから、280nm での吸光度の比較も行った^{(10),(15)}。図 2.1 に本実験で精製した PAHA の pH 4、塩濃度 0.1M(NaClO_4)で測定した PAHA の吸収スペクトルを示す。

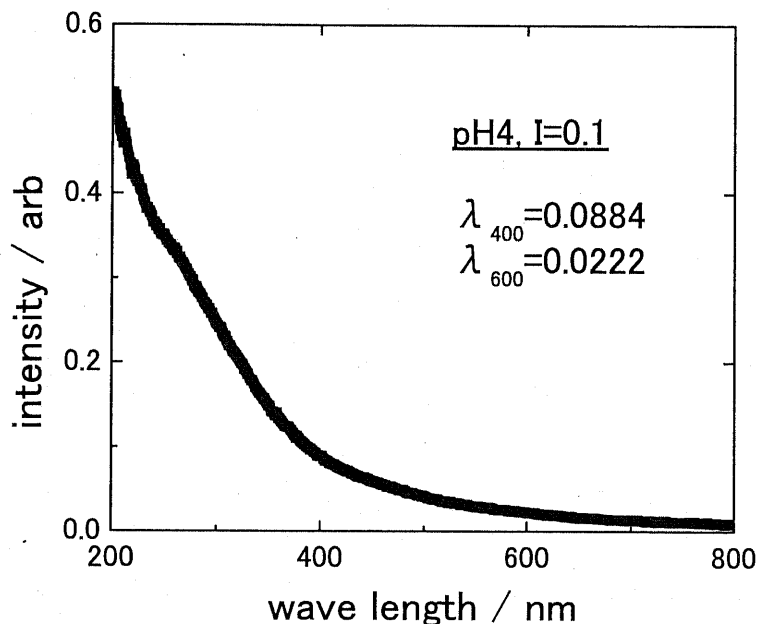


図 2.1 腐植酸の UV-vis スペクトル

今回測定された吸収スペクトルも従来の研究で得られたものと同様に 270nm に小さい肩を持つだけの単調な形状を示した。そして Aldrich 腐植酸を本研究と異なる精製方法を用いた場合の吸収パラメータは約 4～5 であり⁽¹⁴⁾、本研究では約 4 となった。このことから吸収スペクトルに反映される特性は精製方法が異なっても変わらないと考えられた。一方

280nm の吸光度を比較した場合にも同様の結果が得られた。

2.3.2 赤外分光 (IR) スペクトル測定

分子の振動および回転状態は、赤外領域の電磁波を吸収することで励起される。このような振動や回転に関する情報は赤外分光 (IR) スペクトルや、ラマンスペクトルにより得ることができる。IR スペクトルによる吸収の位置は赤外線波長の波長 (λ) で示すことができる。有機化合物の特性吸収帯は $\lambda = 2.5 \sim 15 \mu\text{m}$ にある。最近では波長の代わりに波数 (ν) が用いられ、波数領域は $\nu = 400 \sim 4000 \text{cm}^{-1}$ となる。有機化合物分子中の多くの官能基が特徴的な振動を示し、これが IR スペクトルのある一定の領域の吸収帯に対応する。分子振動は官能機内で局所的に生じるために分子内の他の官能基に及ぶことはない。したがって特定の官能基の存在をその吸収帯によって同定することができる。フーリエ変換赤外分光計 (FTIR) では吸収された赤外線を干渉計を用いて波数ではなく時間の関数であるインターフェログラムに変換し、フーリエ変換によりスペクトルへと変換されることにより行われる。FTIR は極めて感度がよく微弱な吸収光でも S/N 比のよいスペクトルを得ることができる。

IR スペクトルは、試料が気相、液相、あるいは固相のいずれでも測定することができる。融点や溶解度など、試料の性質や物理的特性に応じて適当な方法を選択しなくてはならない。本実験では KBr 錠剤を用いた測定を行った。この方法では、メノウ乳鉢で固相試料を 10~100 倍量の臭化カリウムとともに混ぜ、減圧下、油圧プレスで圧縮することで透明な錠剤を得る。臭化カリウムは赤外線に透明であり良好なスペクトルを得ることができる。しかし臭化カリウムには吸水性があるために粉碎し圧縮する過程で微量の水の混入を完全に防ぐことは困難である。このために 3450cm^{-1} に OH 吸収帯が見られることがある。

IR では大きな双極子モーメント持つ分子に対して有効な手法であり、観察される振動には様々なものがあり次のような振動モードに分類される。

- ・ 伸縮振動 : 結合の長さが変化する
- ・ 変角振動 : 結合の長さは変化せず、結合角が変化する

また、対象性に基づきさらに分類される。

- ・ 対称振動 : 分子の対称性は全て保たれる。
- ・ 逆対称振動 : 1 つまたは 2 つの対称要素が崩れる。
- ・ 縮退振動 : まったく別の振動であるが、同じエネルギーを持つために同じ振動数で吸収し、1 つの吸収帯のみを与える。

このような官能基の IR スペクトルは 2 つの領域に分けられ、 1500cm^{-1} 以上の領域では

個々の官能基に帰属する吸収帯が観測される．一方 1500cm^{-1} 以下の領域では分子の骨格振動により多くの吸収帯が生じ，この吸収位置は分子全体の特徴を反映し，指紋領域と呼ばれる．しかし，指紋領域での吸収帯は重なるためにその帰属の同定は困難である．図 2-2 に本研究で測定した Aldrich 社製腐植酸の IR スペクトルを，表 2.4 に PHAH のスペクトルで観察された様々な振動吸収の位置を示した．図 2.2 に示した 1~8 のピークは従来の研究より腐植酸に見られる特徴的なものである．異なる方法で精製された Aldrich 腐植酸の IR スペクトル⁽¹³⁾と比較すると，スペクトルの形状，ピークの位置はほぼ同様であり 3, 4, 6, 7 のピークが多いことからカルボキシル基が多数存在することが分かる．しかし今回精製した腐植酸の IR スペクトルでは 2 のピークである脂肪族由来の炭化水素のピークが大きくなった．このことから本研究で用いる腐植酸は脂肪鎖に富んでいることが考えられた．この違いは腐植酸の精製方法の違いによると考えられる．

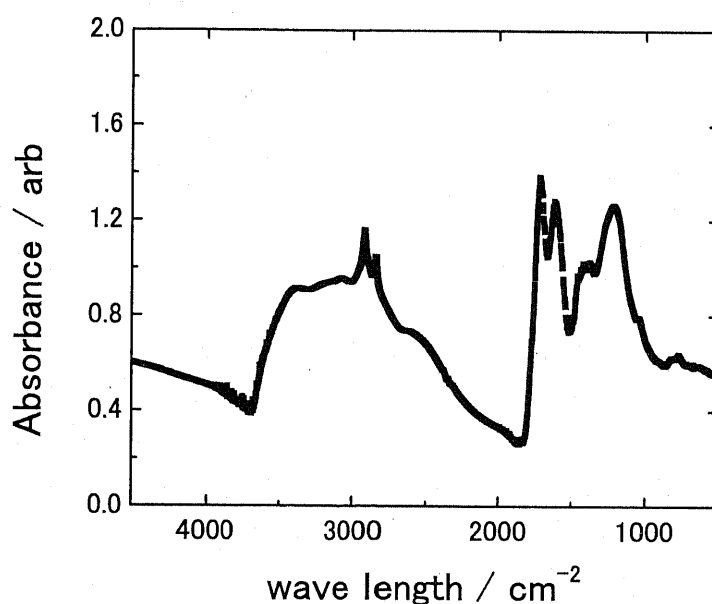


図 2.2 腐植酸の IR スペクトル

	wavenumber	assignment
1	3420~3380	OH,NH stretching
2	3000~2920	CH,CH ₂ ,CH ₃ aliphatic
3	1730~1720	C=O streching of COOH
4	1650~1630	COO-asymmetric streching,
5	1560~1540	C=C aromatic streching
6	1420~1320	Aromatic ring strechinbg
7	1225~1175	CO stretching of alcohol
8	1050~1020	C-OH

2.4 様々な官能基の吸収位置⁽¹⁵⁾

2.3.3 3次元蛍光スペクトル測定

図 2.3 には光吸収から、失活までの過程を示した Jablonski ダイアグラムを示した。光を原子が吸収してから蛍光放出に至るためには次のような過程を通り、蛍光放出と同時に様々な光化学・物理過程を伴う。

- ①まず、光を吸収することで基底状態から最低励起一重項状態(S_1)や上位の励起状態の高振動レベルに励起される。(光吸収)
- ②電子励起状態の高振動状態は分子内の他の振動モードに余剰のエネルギーを分配したり溶媒分子に余剰振動エネルギーを奪われて励起状態のゼロ点振動レベルに落ちる。(振動緩和)
- ③上位の励起状態のゼロ点振動レベルからは最低励起状態の高振動レベルに等エネルギー的に脱励起し(無輻射遷移 $S_2 \rightarrow S_1$)、さらに最低励起状態のゼロ点振動レベルまで緩和する。(振動緩和)
- ④最低励起一重項状態からは、同様に基底状態の高振動レベルへの等エネルギー的な無輻射遷移($S_1 \rightarrow S_0$)とそれに続く振動緩和により基底状態ゼロ点振動レベルまで振動緩和する。(無輻射失活)
- ⑤ S_1 状態からは無輻射失活と競争して光を放出して直接基底状態に失活する。(蛍光)
- ⑥ S_1 状態からは励起 3 重項の高振動レベルに等エネルギー的に遷移し(交換項差)、さらに最低励起三重項状態(T_1)のゼロ点振動状態まで緩和する。
- ⑦ T_1 状態からは無輻射遷移とそれに続く振動緩和で基底状態に失活する光を放出する過程も存在し、励起 3 重項から放出される光を燐光と呼ぶ。

⑧励起 1 重項状態および 3 重項状態からは 1 分子的过程あるいは相手分子との 2 分子过程で反応する。(光化学反応)

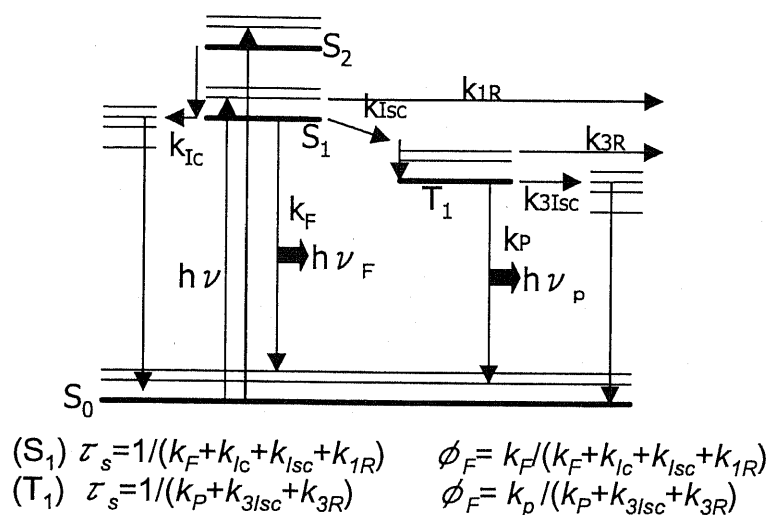


図 2.3 Jablonskii ダイアグラム⁽¹⁴⁾

図 2.4 に pH 4, 塩濃度 0.01M(NaClO₄)で測定した 3 次元蛍光スペクトルを示した。3 次元蛍光測定では励起波長を 200nm から 600nm までスキャンしそれぞれの励起波長で発光する蛍光スペクトルを測定することができる。蛍光はその物質特有なスペクトルを示し、感度の良く蛍光物質の定性・半定量測定を行うことができる。図では縦軸に励起波長、横軸に蛍光波長としてスペクトルを示した。腐植酸の 3 次元蛍光スペクトルには励起波長/蛍光波長=450/520nm, 250/475nm の 2 つのピークが観察され、これは従来の研究で測定された Aldrich 腐植酸の蛍光ピークに一致した⁽¹⁴⁾。過去の研究から 450/520nm のピークは腐植酸に含まれるカルボキシル基に起因するものであること、250/475nm のピークはフェノール基に起因するものと考えられている⁽¹⁴⁾。腐植酸の 3 次元蛍光スペクトルの形状は、腐植酸が多数の芳香環および官能基を含んでいることによって、複数のピークが重なり合ったブロードな形状をしていると考えられている。

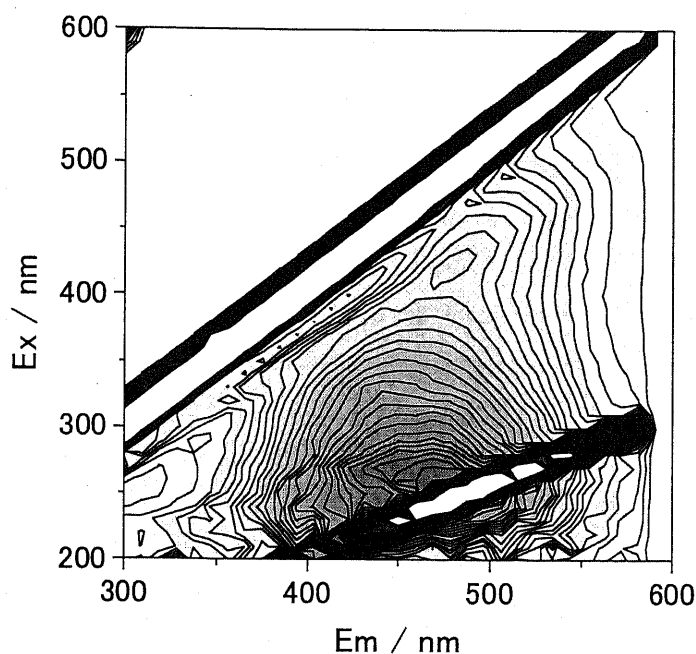


図2.4 腐植酸の3次元蛍光スペクトル

2.4 第2章のまとめ

第2章では本研究で用いる Aldrich 社製腐植酸の精製を行い, 精製された腐植酸を用いて UV-vis スペクトルと赤外吸収スペクトルそして3次元蛍光スペクトルの測定を行った。

UV-vis スペクトルの測定では本研究で精製した腐植酸の波長 600nm と 300nm の比である吸光パラメータを, 過去の研究で測定された腐植酸の吸光パラメーターと比較した。その結果, 腐植酸の精製方法により UV-vis スペクトルの測定から得られる結果には大きな違いは生じなかった。赤外吸収スペクトルの測定を行うことで精製後の Aldrich 腐植酸に含まれる官能基の同定を行うことができた。その結果従来から報告されているように, 本研究で用いた腐植酸はカルボキシル基, フェノール基を多数有している構造をしているものであると推定する事ができた。また異なる精製法を用いた腐植酸に対し脂肪鎖が多いことも推定できた。3次元蛍光スペクトルの測定では腐植酸の励起スペクトルと蛍光スペクトルのピークの位置に関して, 本研究で用いた精製後の Aldrich と過去の研究で測定された3次元蛍光スペクトルを比較した。その結果励起, 蛍光ピークは過去のものと一致した。

本章では上述したように分光測定を行った結果, 従来測定された腐植酸の測定結果と近い結果を得る事ができた。よって以降の章では本章で精製した腐植酸を用いることで実験を行った。

2 章の参考文献

- (1) M. Shunizer and S. U. Khan: humic substances in the environment, Marcel Dekker, Inc., New York (1972)
- (2) W. Ziehmman: Evolution of Structural models from consideration of Physical and Chemical Properties. In Humic Substances and their role in the environment. John Wiley & Sons, New York.
- (3) J. I. Kim, G. Buckau, H. Duschner, N. Pasros: Characterization of humic and fulvic acids from Gorleben groundwater, Fresenius J, Anal. Chem. 338.245(1990)
- (4) J. M. Bortiatynsk, P. G. Hatcher, and H. Knicher: NMR techniques in Studies of humic substances In: Humic and Fulvic acids, American Chemical Society, Washington, DC (1996)
- (5) 熊田恭一, 土壤有機物の化学, 学会出版センター(1981)
- (6) 高井康雄, 土壤通論, 朝倉書店 (1980)
- (7) R. L. Malcom, et al., Limitations in the use of commercial humic acid in water and soil, Environmental science technology, 904,20 (1986).
- (8) J. W. Parsons: Isolation of Humic Substances from soil and Sediment. In Humic Substances and their role in the environment. John Wiley & Sons, New York.
- (9) A. W. P. Vermeer, doctoral thesis, Wageningen, 1999
- (10) M. M. Kononova, Soil organic matter Pergamon Press, Oxford, 400, 1966.
- (11) P. F. Joan and L. H. Cooper, Optical Absorbance of Dissolved Organic Matter in Natural Water Studies Using the Thermal Lens Effect, American Chemical Society, 842, 60 (1988)
- (12) Y. Chen, N. Senesi, and M. Schnizer, Information Provided on Humic Substances by E4/E6 ratio, Soil Science Society of America journal, 352, 41 (1977).
- (13) R. M. Patrick, W. E. Alan, Edward. Tipping, and Malcolm. N. Jones, Determination of molecular weights of humic substances by analytical (UV scanning) ultracentrifugation.
- (14) Saito. T, Satoru. T, master thesis, 2002.
- (15) 北森武彦, 分析化学Ⅱ, 丸善, 2002
- (16) 野村正勝, 有機化学者のためのスペクトル解析法, 化学同人, 2000

第3章

腐植酸に対する Eu(III)の結合等温線の測定

3.1 はじめに

従来より，腐植酸に対する金属イオンの結合挙動を評価するために，腐植酸への金属イオンの結合量を測定するという方法が多く行われている⁽⁵⁾⁻⁽¹⁵⁾．この方法で得られる，結合量と溶液中の金属イオンの平衡濃度の関係は結合等温線と呼ばれ，結合のメカニズムを反映した示すことが知られている．また多くの結合等温線は，反応の定常状態で近似することにより求められる結合等温式により記述することができるため，結合等温線を測定することで反応に関しての多くの知見を得ることができる⁽¹⁶⁾．

また，腐植酸と金属イオンとの結合に関しては過去の研究から塩濃度や，pH が大きく影響することが知られており，その影響の度合いは腐植酸に結合する金属イオンの種類によってかなりの違いが見られる．さらに，溶液中の金属イオンの濃度の違いによって金属イオンへの結合サイトとして働く腐植酸中の官能基が変化し，金属イオンが低濃度であればあるほど親和力の強い官能基が結合することも知られている⁽¹⁵⁾．

本章異なる pH, 塩濃度における精製済み Aldrich 腐植酸への Eu(III) の結合等温線を幅広い Eu(III) 濃度で測定することで，腐植酸に対する Eu(III) の結合挙動の考察を行った．そして，従来の研究で測定された腐植酸に対する Cu(II), Cd(II) などの結合等温線と本研究で測定した Eu(III) の結合等温線の比較を行うことで特異結合や静電相互作用の検討を行った．

3.2 実験方法：結合等温線の測定

3.2.1 試料の調整

実験は全てバッチ式で行った．また，純水は Milli-Q water (日本ミリポア社) を，試薬は特に断らない限り全て和光純薬の特級試薬のものを使用した．

PAHA20mg を 0.1M NaOH に完全に溶解させ，メスフラスコを用いて全量を 50ml として腐植酸溶液の pH が 10 以上であることを確認した後 1 日間攪拌した．この溶液 10ml を分取し，200ml のメスフラスコを用いて濃度を 20mg/l になるように希釈した．塩濃度を調整するために 1M NaClO_4 の溶液を作成し，また，濃度 $10^{-2} \sim 10^{-6} \text{ M}$ の Eu(III) 溶液をストックとして作成した．

20mg/l の腐植酸溶液に 1M NaClO_4 , $10^{-2} \sim 10^{-6} \text{ M}$ Eu(III) 溶液，純水を加えることで最終的に腐植酸濃度 10mg/l, 塩濃度 0.1M, 0.01M, Eu(III) 濃度 $10^{-3} \sim 1.5 \times 10^{-7} \text{ M}$ の溶液を各条件で 3 本ずつ作成した．この際 HClO_4 , NaOH を添加して，溶液の pH を 4.00 ± 0.05 , 6.00 ± 0.05 , 7.00 ± 0.05 に調整し，その後恒温振とう機で 25°C に保ちながら 24 時間振とうした．

3.2.2 遠心限外ろ過

腐植酸と Eu(III)の結合体と溶液中にフリーに存在する Eu(III)を分離する方法として、本研究では遠心限外ろ過を行った。限外ろ過フィルターユニットは、分画分子量 3000 のセントリプラス YM3(日本ミリポア社)あるいは、セントリコン YM3 (日本ミリポア社)を使用し、それぞれのフィルターユニットに対して遠心機は SAKUMA201-IVb (SAKUMA) に 6B-N6 のローターを装着したものと、ALLEGRA21R (ベックマン・コールター株式会社) に C1015 のローターを装着したものを使用した。限外ろ過メンブレンには乾燥を防止するためにグリセリンなどが塗布されており、ろ過中にそれらの不純物が溶出することが知られている⁽¹⁹⁾。この寄与を最小限に抑えるためにあらかじめ各溶液の塩濃度と同等の NaClO₄ 溶液をフィルターにいれ、セントリプラス YM3 を用いる場合には 3000g の加速度で 30 分間遠心機にかけ、セントリコン YM3 を用いる場合には 5000g の加速度で 10 分間遠心機にかけることによってフィルターの洗浄を行った⁽²⁰⁾。

また、従来の研究⁽¹⁹⁾より Eu(III)などのイオンがメンブレンに保持されるという報告がされていることから Eu(III)の透過率を評価するための予備実験を行った。濃度 $10^{-4} \sim 10^{-6}$ M の Eu(III)溶液を調整し、フィルターの洗浄を行った後、Eu(III)溶液 1 ml をセントリプラス YM3 のフィルターユニットに加え、3000g の加速度で 30 分間遠心分離を行った。その後、測定する試料として濃度 $10^{-4} \sim 10^{-6}$ M の Eu(III)溶液を 6 ml フィルターユニットに加え、3000g の加速度で 2 h 遠心分離を行った。そして $10^{-4} \sim 10^{-6}$ M の Eu(III)溶液と、遠心分離を行った後得られたろ液の Eu 濃度を測定しその比較を行った。また Eu(III)濃度 $10^{-6} \sim 10^{-8}$ M の範囲ではセントリコン YM3 のフィルターユニットを用いて同様に行った。その結果ほぼ 100%の割合で濃度範囲 $10^{-4} \sim 6 \times 10^{-8}$ M の Eu(III)はメンブレンを透過することが分かった。微量の Eu(III)がメンブレン吸着されたが、測定器による測定誤差程度であったために実験ではその補正は行わなかった。これらの点から本実験で試料を遠心分離する際にはセントリプラス YM3 を用いる場合には試料溶液を 1 ml ユニットに入れ、10 分間遠心機にかけて共洗いを行ってから、実際測定する試料を 6 ml フィルターユニット入れて 3000 g で遠心分離を行った。またセントリコン YM3 を用いる場合には試料溶液を 500 μ l ユニットに入れ、10 分間遠心機にかけて共洗いを行ってから、実際測定する試料を 2.5 ml フィルターユニット入れて 5000 g で遠心分離を行うこととした。

3.2.3 ICP-AES を用いた Eu(III)濃度測定法⁽²²⁾

図 3.1 に ICP-AES のプラズマトーチの概要を示す。ICP-AES とは、高周波電流で不活性な Ar ガスを解離し、それを磁場で保持したイオンと電子からなる誘導結合プラズマ (inductively coupled plasma: ICP) をエネルギー源として原子を励起させ、その原子発光を検出することで物質を定量あるいは同定する分析方法である。基底状態と励起状態の原子数を N , N^* とし、励起状態と基底状態のエネルギー差を ΔE , g を統計的重み, k をボルツマン因子, T を絶対温度とした場合マックスウェル=ボルツマン分布から次式のように書くことができる⁽²²⁾。

$$\frac{N^*}{N} = \left(\frac{g^*}{g} \right) e^{-(\Delta E/kT)} \quad (3.1)$$

一般的に ICP で用いられるプラズマの温度は電子温度で数万度になるために励起状態の原子数が増加し、励起状態にある原子の数は基底状態にある原子の数の 1 割ほどに達することから、励起状態から基底状態へ緩和する際に発せられる原子発光は強くなり分析するのに十分となる。

ICP-AES は次に挙げるような特徴を持ち汎用されている測定方法である。

- ・ 溶液試料を導入するために、固体試料に比べて標準試料の作成が容易であり、分析精度も向上される。
- ・ 相当数の原子がプラズマにより励起状態に励起されることから非常に高感度である。
- ・ 原子からの発光を検出するため、原子吸光法のように分析対象に応じたランプを用意する必要性が無く数種類の元素が混在していても多種類同時分析が可能である。
- ・ 分光干渉、物理干渉、化学干渉、自己吸収などの妨害要因が発生するために測定する溶液の濃度、環境に注意する必要がある。

本研究では結合等温線を測定するために簡単に Eu(III)濃度を測定することが可能であると考え、遠心限外ろ過後ろ液中に存在する Eu(III)の濃度を測定する方法として ICP-AES (ICPS-1000IV, SHIMADZU 社製) を用いた。特に Eu(III)濃度 $\sim 10^{-6} \text{M}$ の範囲での測定を ICP-AES を用いて行った。

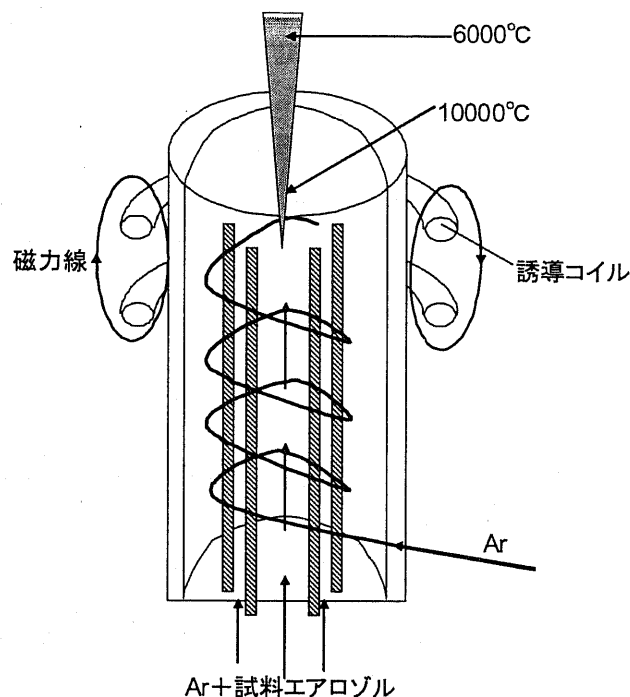


図 3.1 ICP-AES のプラズマトーチ⁽²²⁾

3.2.4 トレーサー法を用いた Eu(III)濃度測定法

結合等温線の作成を行うために、 $10^{-6} \sim 6 \times 10^{-8} \text{M}$ の範囲で Eu(III) の測定を行う方法として、本研究では ^{151}Eu 、 ^{153}Eu の放射性同位体である ^{152}Eu を用いたトレーサー法を用いて実験を行った。

放射性同位元素から放出される放射線は、簡単な条件さへ整えれば、感度良く、また精度良く測定することができる。放射性同位元素を含むサンプルがほかにどんなものを含んでいようとも、また、気体、液体、固体であろうと簡単な試料の前処理を行うだけで目的の成分を非常に感度良く検出、測定できることがアイソトープトレーサー法の最大の特徴である。

アイソトープトレーサー法を用いる場合に良く利用される放射能測定器には放射線による気体の電離を利用する「ガスカウンタ」、分子の励起（蛍光体の励起）を利用する「液体シンチレーションカウンタ」、NaI (TI) 結晶を励起することを利用する「ガンマカウンタ」などが存在する。以下では本研究で用いた液体シンチレーションを用いたトレーサー法について述べる。

3.2.4.1 液体シンチレーションによる放射線測定の特徴

液体シンチレーションカウンタの模式的な構成図を図 3.2 に示した。試料バイアルは向かい合った 2 本の光電子増倍管の中央に位置しており、バイアル内で発生した蛍光はそれぞれの光電子増倍管に入り、同時に発生したパルスのみが高速同時回路を経てパルス加算回路に導かれる。このパルスは増幅後波高分析器を通して任意の波高幅内に入るパルスを各スケーラーで計数する。放射線測定のために多種多様の検出器が使用されているが、いずれ

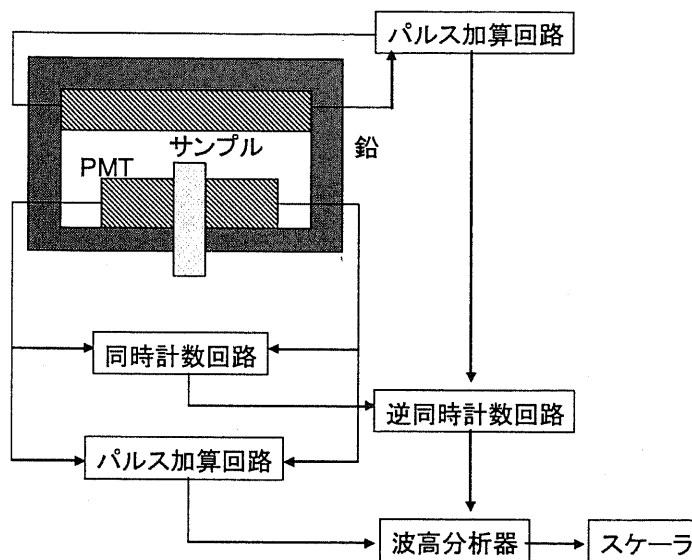


図 3.2 液体シンチレーションカウンタの構成図(24)

の検出器においても放射線と物質との相互作用が放射線の検出原理をなしている。

相互作用のうち物質の蛍光作用を利用した種類のシンチレータが検出器として用いられており、液体シンチレータもその 1 つである。通常の液体シンチレーション測定では、放射性試料をシンチレーター溶液中に混和させて内部試料係数 internal-sample counting を行うために、他の測定法と比較すると次のような長所・短所がある(24)。

[長所]

- ・ 測定試料を直接液体シンチレーターに溶解した場合には放射線エネルギーの蛍光体への伝達効率が非常に高く、しかも試料はシンチレーター溶液で完全に包囲されているので測定は 4π 計測となる。
- ・ 他の測定方法では困難な低エネルギー β 線の測定に特に優れている。
(^3H は 60%, ^{14}C , ^{35}S , ^{45}Ca は 90% 以上, ^{32}P は 95% 以上の計数効率)
- ・ 発生する蛍光強度の強さ、すなわち計数回路から得られる電流パルスの強さは入射した放射線のエネルギーに依存するために、電流パルスを波高分析器と電子回路を組み合わせ合わせて解析することで、場合によっては試料溶液中に共存する複数のアイソトープを区別して測定することが可能

[短所]

- ・ 放射性試料自体、添加物、不純物などによりクエンチングが生じることで計数効率が低下する。

- ・ 放射性試料が溶媒に難溶な場合には試料調整に関して対策が必要になる。

本研究ではアイソトープトレーサー法のうち、特に液体シンチレーションカウンタを用いることによって放射性同位体である ^{152}Eu から発せられる β 線を測定した。放射線励起による液体シンチレーションの発光現象は図 3.3 に示すような過程で生じる。それぞれの過程は次の通りである。

- ① 放射線エネルギーの吸収による溶媒分子の励起，溶媒分子間のエネルギー移動
(本研究で用いた液体シンチレータではトルエンを溶媒として使用している)
- ② 励起溶媒分子から溶質分子へのエネルギー移行，溶質分子（蛍光体）の励起
(蛍光体は一般的に溶質と呼ばれ，溶質はその作用から第一溶質と，第二溶質に分けられる。第一溶質は主成分としての蛍光体を意味し，第二溶質は波長変換体として使用されている。本研究で用いた液体シンチレータでは，第一溶質に PPO，第二溶質に bis-MSB を使用している。)
- ③ 溶質分子からの発光

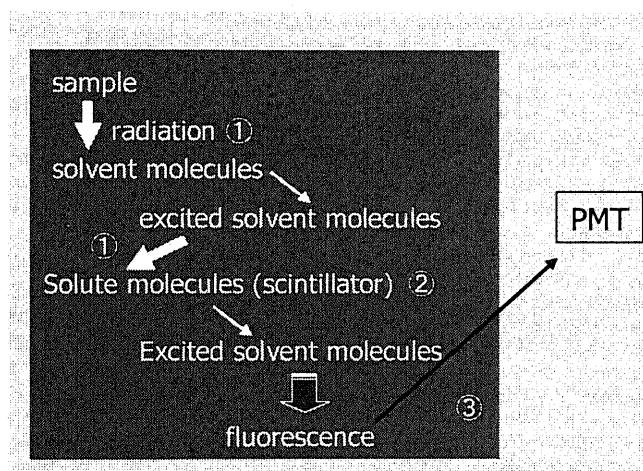


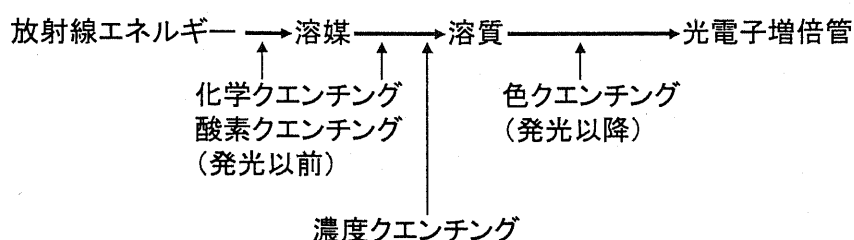
図 3.3 液体シンチレーション発光過程⁽²⁴⁾

これらの過程のうち，①で溶媒分子が励起される過程は放射線物理過程あるいは初期過程と呼ばれ，その後の過程は光物理過程，または二次過程と呼ばれている。また別の観点から見ると，①の放射線による溶媒分子の励起，④の溶質からの発光は分子内過程 (intramolecular process) でそのほかの過程は分子間過程 (intermolecular process) である。分子間過程は分子を取り巻く他の分子により強い影響を受ける。

シンチレーション測定の際に最も考慮を要するのはクエンチングの現象である。クエンチングが生じると発光，あるいは光の移動の際に支障をきたし，結果的に計数効率が減少する。通常クエンチングを次のように分類することができる。

- 1) 化学クエンチング (chemical quenching)
- 2) 色クエンチング (color quenching)
- 3) 酸素クエンチング (oxygen quenching)
- 4) 濃度クエンチング (concentration quenching)

この中で、化学クエンチングと色クエンチングが特に重要で測定の際に考慮すべきである。エネルギー移行過程において各種のクエンチングが生じる状態を次に示した。



化学クエンチングは放射線によって溶媒が励起し、さらに溶媒の励起エネルギーが溶質に移行するまでの過程において生じるクエンチングである。化学クエンチングは主に物質間の親和力などの化学性質によって決定する。溶液中の蛍光発生の過程は非常に複雑なので、発光現象と相関性のある化学クエンチングについてもまだ完全には説明することはできないが、エキサイプレックス及びスピン軌道相互作用によるクエンチングが代表的なものとされている。色クエンチングは、溶質の発光スペクトルに重複するような吸収スペクトルを持つ物質が試料中に存在すると生じた蛍光の一部が吸収されるクエンチングのことをいう。酸素クエンチングに関しては大気圧下では空気中の酸素がシンチレータ溶液中に溶存しているために常に酸素クエンチングの影響を受けている。酸素クエンチングは液体の種類、温度、圧力などに左右される。濃度クエンチングについては、シンチレータ溶液の発光は溶質濃度が高いほど溶媒-溶質間のエネルギー移動の確率が増加するために発光量が増加する。しかし、さらに溶質濃度が上昇すると発光量は最大値に達してその後減少する。濃度消光の原因としては自己吸収と自己消光の現象が挙げられる。

ここで述べたクエンチングは本研究で行った実験に対しても大きく影響するためにクエンチングの補正を考える必要がある。本研究ではまず酸素クエンチングに対する対策は装置上の問題で行うことができなかった。濃度クエンチングに対してはシンチレータによる自己吸収と、フミン酸による吸収が懸念された。しかし、シンチレータによる自己吸収は、特に本研究で行った実験条件では生じないことが確認された。また腐植酸による発光の吸収は従来より議論されているが、腐植酸濃度 200mg/l 未満では特に生じないといわれていることから⁽²⁶⁾本研究ではこれは影響しないことが考えた。そして、色クエンチング、

化学クエンチングに関しては液体シンチレーション測定では現在最も良く用いられている外部標準法を用いることで補正を行うことにした。

図 3.4 に外部標準法の概略を示した。外部標準法とは、試料の外部から γ 線を照射することによりクエンチングを補正する方法である。バイアル壁を透過して入射した γ 線は、試料溶液と相互作用してコンプトン電子を生成する。その結果、シンチレータはコンプトン電子により発光するが、この発光スペクトルも試料のクエンチングにより低波長側にシフトする。このコンプトンスペクトルのシフトは、2つのチャンネルで測定した際に得られる計数の比あるいは、コンピュータでスペクトル解析することで得られる適当な指標（スペクトルの重心の移動など）としてあらわされる。あらかじめクエンチング補正曲線を作成することにより、試料測定時の外部照射により得られる係数から各試料の計数効率を得ることができる。この方法ではクエンチングの強い試料に対しては補正精度は低いとされているが、多数の試料を自動的に処理することができるうえ、2重標識試料にも適応することができることから最も一般的な補正法となっている。

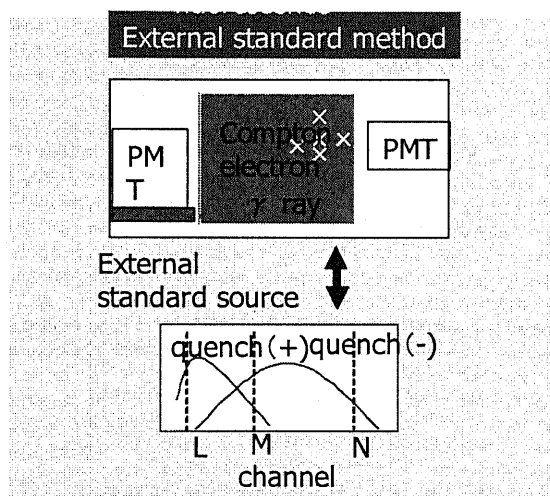
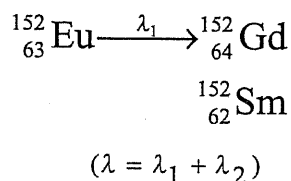


図 3.4 外部標準法の概略⁽²³⁾

3.2.4.2 ^{152}Eu の放射線

本研究では液体シンチレーションカウンタで測定するための放射線源として ^{152}Eu を用いた。 Eu(III) は安定同位体として ^{153}Eu と ^{151}Eu 、放射性同位体として ^{152}Eu などが存在する。 ^{152}Eu は質量数 151.96 g, 半減期 13.3 y の物質であり以下のように放射線を放出して安定な原子核であるガドリウム, サマリウムへ変化する⁽²⁵⁾。



この壊変の際に ^{152}Eu からは β 線が放出される。 β 線とは原子核から放出される電子の流れであり、そのエネルギーは 0 から一定最大値に至るまでの連続なスペクトルを示す。陰電子、陽電子が放出される β 崩壊をそれぞれ β^- 崩壊、 β^+ 崩壊といい、軌道電子を捕獲して崩壊する様式をエレクトロンキャプチャー(EC)という。以下に β 崩壊の各方式と ^{152}Eu における放出率を示した⁽²⁵⁾。

崩壊方式		放出率
β^- decay: ($Z \leq N$)	$(Z, N) \rightarrow (Z+1, N-1) + e^- + \nu$	27.9%
β^+ decay: ($Z \geq N$)	$(Z, N) \rightarrow (Z-1, N+1) + e^+ + \nu$	0.019%
EC :	$(Z, N) + e^- \rightarrow (Z-1, N+1) + \nu$	72.8%

(electron capture: nucleus capture inner core-K) N: number of neutron, Z: proton number

β 崩壊などの壊変において放射線が放出されるが、通常放射性の純粋な物質を扱う場合比放射能を用いて放射能の濃度を表し、MBq/mol や MBq/g などの単位を用いる。先に示した ^{152}Eu の壊変に関して比放射能は以下のように算出することができる。

放射性の原子核が N 個存在するとき、 dt の間に壊変する原子核の個数： dN は壊変定数 λ を用いて次式のように表せる^{(23),(24)}。

$$-\frac{dN}{dt} = \lambda N \quad (N: \text{原子核数}, \lambda: \text{崩壊定数}) \quad (3.2)$$

原子核の数が半分に減少するときの時間を半減期を T で表すと、上式を積分することで以下の関係式が得られる。

$$\lambda = \frac{0.693}{T} \quad (T: \text{半減期}) \quad (3.3)$$

一方原子核の個数は、質量数と質量、アボガドロ数を用いて次のように書ける。

$$N = \frac{m}{M} \times 6.02 \times 10^{23} \quad (m: \text{質量}, M: \text{質量数}) \quad (3.4)$$

これらの関係式と、 ^{152}Eu の半減期 $13.3 \times 12 \times 24 \times 360 \text{ s}$ ，原子量 151.96 g を代入することで壊変速度は Bq/g という単位で次のように算出される。

$$-\frac{dN}{dt} = \frac{4.17 \times 10^{23}}{T_{1/2} \cdot M_{1/g}} = 6.43 \times 10^{12} / \text{Bq} \cdot \text{g}^{-1} \quad (3.5)$$

これより ^{152}Eu は 1 g 当たり $6.43 \times 10^{12} \text{ Bq}$ の放射能を持つということが分かり、この関係を用いて実験に必要となる Eu(III) の安定同位体に対して添加する ^{152}Eu の重量を計算した。

3.3 結合等温線の比較

3.3.1 従来測定された Eu(III) の結合等温線との比較

図 3.5 に本研究で測定した結合等温線を示した。結合等温線は縦軸に腐植酸に対して結合した Eu(III) の量 (mol/kg)，横軸に腐植酸と Eu(III) が結合平衡に達した場合の溶液中に存在する Eu(III) 濃度の関係を示したものである。図中のプロット \blacksquare ， \blacklozenge ， \blacktriangle はそれぞれ溶液中の塩濃度が 0.1M ， $\text{pH} 4, 6, 7$ の測定結果であり， \square ， \diamond ， \triangle はそれぞれ塩濃度 0.01M ， $\text{pH} 4, 6, 7$ の測定結果である。図 3.5 より， pH が大きいほど，塩濃度が低いほど腐植酸に対する Eu(III) の結合量は大きいという結果が得られた。この傾向は従来測定された腐植酸に対する金属イオンの結合等温線の結果と一致した⁽¹⁾⁻⁽¹⁵⁾。第 2 章でも述べたように，腐植酸の高分子骨格にはカルボキシル基などの様々な官能基が固定されており，特にカルボキシル基やフェノール基が最も多く存在している。 pH が増加するにつれて腐植酸のカルボキシル基，フェノール基からプロトンが解離する。解離したカルボキシル基，フェノール基は金属イオンに対する特異結合イオンのサイトとして作用するという理由から， pH が増加するにつれて腐植酸に対する Eu(III) の結合量が増加したと考えられた。また腐植酸と金属イオンの結合としては特異結合のほかに，負の電荷を有する腐植酸に対して正の電荷を持つ金

属イオンがひきつけられて結合するという静電相互作用による結合が存在する。溶液中の塩濃度が増加すると腐植酸周辺の電荷が遮蔽される。その結果塩濃度が高くなると金属イオンと腐植酸間の静電相互作用が弱められるために、腐植酸に対する Eu(III) の結合量が減少したと考えられた。

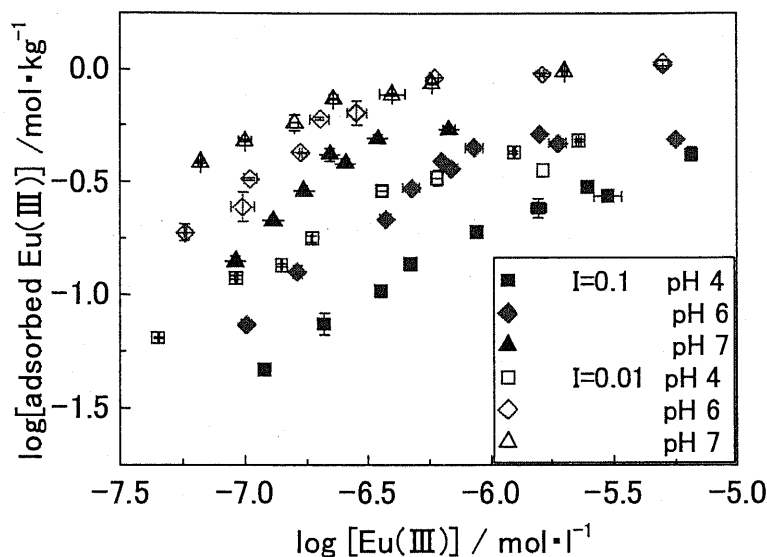


図 3.5 腐植酸と Eu(III) の結合等温線

次に今回測定した腐植酸と Eu(III) の結合等温線を従来測定された Eu(III) の結合等温線と比較した。図 3.6 にその結果を示した。図中のプロットで ■, ◆, ▲, ▼ は Glaus らにより測定された結果⁽⁴⁾であり, □, ○ は Caceci⁽⁶⁾らにより測定された結果である。比較として本研究で測定した pH6, 塩濃度 0.01M の結果をプロットで示した。図 3.6 より Glaus や Caceci 等が測定した結合等温線と比較すると結合等温線の勾配に関しては同じような結果が得られた。しかし, Eu(III) の結合量が飽和に達する時の溶液中の金属イオンの濃度は結合等温線によって Eu(III) の濃度に 10 倍以上の違いが見られた。この理由としては次のようなことが考えられる。まず第一に, 腐植酸は複製することが出来ない物質であるといわれその起源, 抽出法, 生成方法が異なると主要な特性は同じであるが, 官能基密度や金属イオンに対する親和定数などが異なるといわれている。今回図 3.6 に示した結果に関しては, 腐植酸としては Glaus や Caceci も本研究と同じ Aldrich 社製の腐植酸を用いているが, その精製法は異なった方法を用いている。よって異なった精製方法を用いたことで腐植酸に結合する Eu(III) の量にばらつきが見られたという可能性が考えられた。次に考えられる可能性としては, 測定方法の違いが考えられる。本研究では分離方法として遠心限外ろ過を用いて分離を行い ICP-AES, 液体シンチレーションカウンタを用いて測定を行った。一

方で Glaus は透析で分離後トレーサー法を用いており, Caceci は本研究とは異なった分画分子量の遠心限外ろ過(AmiconYm-2,分画分子量 1000)を用いて測定を行っている. 各測定方法にはそれぞれ特有の測定誤差, 測定限界などを有しているために, 測定方法の違いにより Eu(III)の結合等温線に違いが生じたことが考えられた.

過去の研究で Glaus や Caceci により測定された結合等温線と比較すると測定結果は異なった. しかし, 上述したように腐植酸の精製方法の違いや用いた実験方法に違いがあることによりこのような結果が得られたことが考えられた. また図 3.5 に示したように本研究で測定した結合等温線は pH が上昇すると結合量が増加し, 塩濃度が減少すると結合量は増加するという腐植酸と金属イオンの結合に関する一般的な結果を示している. そこで本研究で測定した結合等温線を用いて pH 依存性や塩濃度依存性の評価を行うことが出来ると判断した. 3.3.2 以降でこれら本研究で測定された腐植酸に対する Eu(III)の結合等温線を用いて, 過去に測定された他の金属イオンの結合等温線と比較することで pH 依存性, 塩濃度依存性の考察を行う.

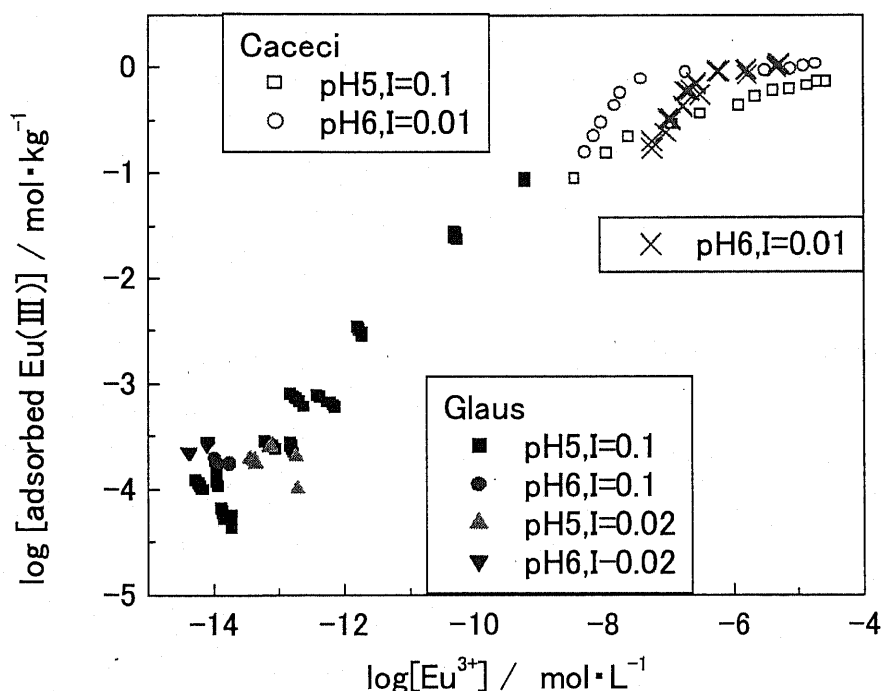


図 3.6 Eu(III)と腐植酸の様々な結合等温線

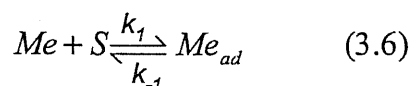
3.3.2 結合等温線の塩濃度依存性・pH 依存性についての考察

3.3.2.1 塩濃度, pH の変化が結合等温線に与える影響

腐植酸に対する金属イオンの結合量には環境中に存在する支持塩の存在や, pH の変化が

大きく影響することが知られており従来より腐植酸に対する金属イオンの結合量の塩濃度、pH 依存性が調べられてきた(1)~(3),(5)~(11)。そこでまず本研究で腐植酸に対する Eu(III)の結合量の塩濃度、pH 依存性を評価するにあたり、結合量に対してどのように影響を与えるかを述べる。

例としてもっとも簡単な反応を考える。



ここで Me は金属イオン、 S を腐植酸の結合サイト、 Me_{ad} は腐植酸と金属イオンの結合体とする。この反応に関しての結合等温式は次式のようになる(16)。

$$\Gamma = \Gamma_0 \frac{KC}{1+KC} \quad (3.7)$$

この式で Γ は腐植酸に対しての金属イオンの結合量、 C は溶液中における金属イオンの平衡濃度、 K は腐植酸と金属イオンの親和定数を示しており、Langmuir 型の結合等温式となる。そして金属イオンの濃度に関しては、溶液中に金属イオンのみが存在すると仮定すると任意のイオンについて化学ポテンシャルは次のように書ける(26)。

$$\mu = \mu_0 + ze\psi + kT \log C \quad (3.8)$$

イオンは帯電しており、溶液中のあらゆる点で電位 (ψ) が考えられるために化学ポテンシャルに電気化学ポテンシャルが導入される。化学ポテンシャルはいたるところで一様であり、中心で $\psi = 0$ を考えると任意の点における金属イオンの分布は次式のような Boltzmann 分布を示すことが知られている。ここで F はファラデー定数、 R は気体定数、 Z は金属イオンの価数を示している。

$$C = C_0 \exp\left(\frac{-ZF\psi}{RT}\right) \quad (3.9)$$

そこでまず結合量に対する支持塩の影響を考える。溶液中に存在する塩はコロイドが有する電荷を遮蔽する効果があることが知られている。特にコロイド粒子が腐植酸の場合を考えると、通常腐植酸は溶液中では負の電荷を帯びて存在しており、腐植酸分子周辺で金属イオン濃度はバルク溶液中と比較して大きくなる。しかし、溶液中に支持塩が導入されると腐植酸の負電荷が遮蔽され、その結果腐植酸の電位は負で減少し、(3.9)式より腐植酸の官能基近傍の金属イオン濃度が減少する。金属イオン濃度の変化は(3.7)式に影響し、金

属イオン濃度が減少することで結合量が減少することがわかる。つまり、溶液中に存在する支持塩の濃度が増加すると腐植酸に対する金属イオンの静電相互作用による結合量が減少するという関係があることが示された。

次に結合量に対する pH の影響について考える。pH の影響は主に腐植酸に対して働く。腐植酸は前述したようにカルボキシル基、フェノール基などを多数有する高分子電解質であり溶液中ではそれら官能基が解離し金属イオンとの化学反応である特異結合により結合する。そのために腐植酸が有する官能基は水溶液中で解離平衡が成立し、その平衡は pH により支配される。腐植酸は一般的に pH が高くなるにつれカルボキシル基、フェノール基からプロトンが解離することが知られている⁽¹⁷⁾。ここで先ほどの反応式に関しての親和定数は(3.10)式のように書き表せる⁽²⁶⁾。

$$K = \frac{[Me_{ad}]}{[Me][S]} \quad (3.10)$$

(3.10)式からわかるように、腐植酸中の金属イオンとの結合に関与することができるサイトの濃度 ($[S]$) が変化すると親和定数へ影響することがわかる。親和定数の変化は(3.7)式に影響し、結合量を変化させる効果があると考えられる。つまり、溶液中の pH が変化すると腐植酸に結合する金属イオンの特異結合による結合量が変化することが分かる。

以上のことから、塩濃度、pH などの環境中の条件が変化すると、腐植酸に対しての金属イオンの結合量に対して大きな影響を与えられ、以降、本研究で得られた Eu(III) の結合量に関する実験結果である結合等温線の塩濃度、pH 依存性の評価を行う。

3.3.2.2 結合等温線の塩濃度依存性の比較

図 3.7 に本研究で測定した結合等温線の一例として、溶液中の条件が pH 6、塩濃度 0.1M の結果 (●) と、pH 6、塩濃度 0.01M の結果 (○) を示した。本研究では塩濃度の違いによる結合等温線の変化を評価するために図 3.7 に示した X を結合等温線の塩濃度依存性として評価した。本研究では塩濃度依存性(X)は、pH が同一の条件で塩濃度 0.1M と 0.01M の結合等温線を用い、溶液中の Eu(III) の平衡濃度 (図 3.7 の横軸) が一定の場合の結合量の差と定義した (図中の記号 X)。図に示した pH 6 の条件のほかに pH 4、pH 7 の条件で塩濃度 0.1M と 0.01M の結合等温線を比較することにより同様に塩濃度依存性 (X) の算出を行った。ここで、X を算出する際に 2 本の結合等温線が平行でない場合には、Eu(III) 濃度範囲が変化すると算出される 2 本の結合等温線の差 X が異なることが考えられる。そこで本研究では 2 本の結合等温線が平行であると考えられる領域である、Eu(III) の平行濃度 $2 \times 10^{-7} \text{M}$ 程度の領域で X の算出を行った。しかし、pH 7 の場合には 2 本の結合等温線が平行

とならないことからやむなく Eu(III)の平行濃度 $2 \times 10^{-7}M$ 程度の領域での X の算出を行った。

表 3.1 に本研究で測定した腐植酸と Eu(III)の結合等温線より求めた結合等温線の塩濃度 0.1M, 0.01M による差 (X) と、従来の研究^{(1)-(3),(17)}により測定された銅 (Cu(II)), カドミウム (Cd(II)), カルシウム (Ca(II)), キュリウム (Cm(III)), アメリシウム (Am(III)) の結合等温線より求めた X の値を示した。X の値の大きさは $Eu(III) > Ca(II) > Cd(II) > Am(III) > Cm(III) > Cu(II)$ の順となった。前述したように溶液中の塩濃度が増加すると、腐植酸の電荷が遮蔽され、その結果金属イオンとの静電相互作用による結合量が減少するという関係がある。つまり結合量の塩濃度依存性を評価することで腐植酸と金属との静電相互作用について評価する事ができる。そして、腐植酸に対して様々な金属イオンと結合等温線を作成し、塩濃度 0.1M と 0.01M での結合量の差を塩濃度依存性 (X) として、それらを比較することで腐植酸に対しての静電相互作用によって生じた結合量の差が各金属イオンについてどのように異なるのかを検討することができる。表 3.1 の結果から Aldrich 社製腐植酸に対しては本研究で用いた Eu(III)で最も大きな塩濃度依存性が得られ、Cu(II)では最も塩濃度依存性が小さいという結果が得られた。このことから腐植酸との結合に関して Eu(III)は最も静電相互作用の寄与が大きな金属であり、Cu(II)は静電相互作用の寄与が小さな金属であると考えられた。また腐植酸と金属イオン間に静電相互作用において、同じ大きさの電荷を持った金属イオンで結合量の大きさに大きく違いが生じた (Eu(III)と Cm(III), Ca(II)と Cu(II)など)。ここで表 3.1 に示した金属うちいくつかのイオン半径の大きさを並べると次のようになる⁽²⁷⁾。

$$\begin{array}{ccccccc} Ca(II) & > & Eu(III) & = & Cd(II) & > & Cu(II) \\ 0.1172nm & & 0.109nm & & 0.109nm & & 0.074nm \end{array}$$

これから価数が同じ金属であるならばイオン半径が大きいほど静電相互作用が大きいという結果が得られた。イオン半径が大きいことから静電相互作用により結合することが出来る比表面積が増加する。その結果イオン半径が大きな金属ほど静電相互作用による結合の寄与が大きくなったと考えられた。

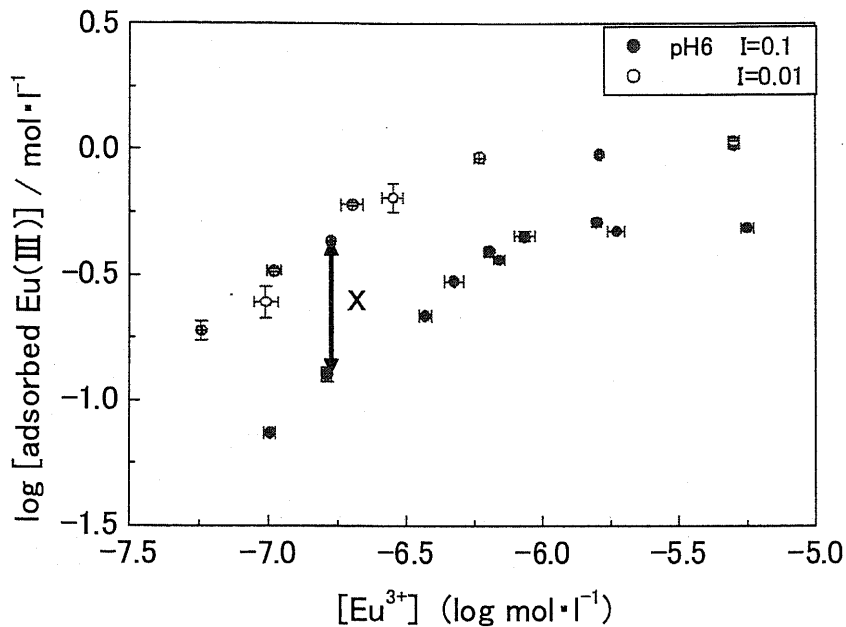


図 3.7 塩濃度の変化による結合等温線のシフト

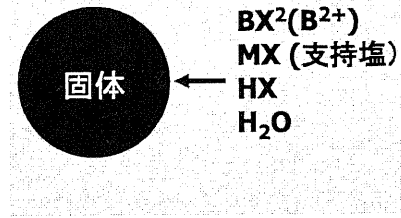
表 3.1 塩濃度依存性の比較

金属	x (mol·kg ⁻¹)		
pH	4	6	7
Eu	0.53	0.62	0.69
Cu (17)	0.19	0.009	0.003
Cd (17)	0.4	0.52	0.28
Ca (17)	0.43	0.58	
Cm (3)		0.19	
Am (2)(11)		0.26	

3.3.2.3 プロトン/金属イオン交換比⁽¹⁵⁾

本研究で測定した腐植酸に対する Eu(III)の結合等温線を，腐植酸に対する 2 価の金属イオンの結合等温線を比較することで Eu(III)の結合等温線の pH 依存性の評価を行った．特に本研究では pH 依存性の評価を行うためにプロトン/金属イオン交換比というパラメータを用いた．プロトン/金属イオン交換比はギブスの吸着式より導出され，金属イオンが腐植酸や酸化物表面に結合する際に放出されるプロトンの量が結合等温線の pH 依存性に関係付けられるというものである．

環境中に金属イオン: B^{2+} , 支持塩: MX , 強酸: HX ,
そして水が存在する場合を考える. このとき全成分に
対してのギブスの吸着式は次のように書き表せる. こ
こで Γ^i は相対吸着量, μ は化学ポテンシャル, γ は
表面張力を示す⁽¹⁵⁾.



$$-d\gamma = \Gamma_{BX_2}^1 d\mu_{BX_2} + \Gamma_{MX}^1 d\mu_{MX} + \Gamma_{HX}^1 d\mu_{HX} \quad (3.11)$$

一方金属イオン, 支持塩, 強酸についてのそれぞれの化学ポテンシャルは次式のように
なる. ここで μ^0 は標準状態における化学ポテンシャルであり, 固体の化学ポテンシャルは
ゼロであること, 支持塩が環境中に多量に含まれることを考慮した.

$$\mu_{BX_2} = \mu_{BX_2}^0 + RT \ln a_B + 2RT \ln a_X \quad \Rightarrow d\mu_{BX_2} = RT \ln a_B \quad (3.12)$$

$$\mu_{MX} = \mu_{MX}^0 + RT \ln a_M + RT \ln a_X \quad \Rightarrow d\mu_{MX} = 0 \quad (3.13)$$

$$\mu_{HX} = \mu_{HX}^0 + RT \ln a_H + RT \ln a_X \quad \Rightarrow d\mu_{HX} = RT \ln a_H \quad (3.14)$$

と, 結合量が状態関数であることを考えると(3.15)式が得られる.

$$-d\gamma = RT(\Gamma_B^1 d \ln a_B + \Gamma_H^1 d \ln a_H) \quad (3.15)$$

$$\Gamma_B^1 = \frac{1}{RT} \left(\frac{\partial \gamma}{\partial \ln a_B} \right)_{a_H} \quad \Gamma_H^1 = \frac{1}{RT} \left(\frac{\partial \gamma}{\partial \ln a_H} \right)_{a_B} \quad (3.16)$$

一方, 結合量を a_B, a_H で全微分すると, (3.17)式が得られ(3.16)式を用いると, (3.18)式とな
る.

$$d\Gamma_B^1 = \left(\frac{\partial \Gamma_B^1}{\partial \ln a_B} \right)_{a_H} d \ln a_B + \left(\frac{\partial \Gamma_B^1}{\partial \ln a_H} \right)_{a_B} d \ln a_H \quad (3.17)$$

$$\left(\frac{\partial \ln a_B}{\partial \ln a_H} \right)_{\Gamma_B^1} = - \frac{(\partial \Gamma_B^1 / \partial \ln a_H)_{a_B}}{(\partial \Gamma_B^1 / \partial \ln a_B)_{a_H}} = - \left(\frac{\partial \Gamma_H^1}{\partial \Gamma_B^1} \right)_{a_H} \quad (3.18)$$

ここで $\text{pH} = -\log a_{\text{H}}$, $a_{\text{B}} = r [\text{B}]$ の関係を用い, 又イオン強度一定条件を考える.

$$\left(\frac{\partial \Gamma_{\text{H}}^1}{\partial \Gamma_{\text{B}}^1} \right)_{a_{\text{H}}} = \left(\frac{\partial \log [\text{B}]}{\partial (\text{pH})} \right)_{\Gamma_{\text{B}}^1} + \left(\frac{\partial \log r}{\partial (\text{pH})} \right)_{\Gamma_{\text{B}}^1} \approx \left(\frac{\partial \log [\text{B}]}{\partial (\text{pH})} \right)_{\Gamma_{\text{B}}^1} \quad (3.19)$$

ここで得られた関係式は最右辺が結合量を一定とした場合の金属イオン濃度の変化と pH 変化との比であり, 左辺はプロトンと金属イオンの相対結合量の比である. 希薄溶液中では相対吸着量は実質の吸着量である表面過剰量の絶対値に等しい. よって(3.19)式を変形すると次の関係式が得られる.

$$r = \left(\frac{\partial \log [\text{Eu(III)}]}{\partial (\text{pH})} \right)_{\Gamma_{\text{Eu(III)}}} = \left(\frac{\partial \Gamma_{\text{H}}}{\partial \Gamma_{\text{Eu(III)}}} \right)_{a_{\text{H}}} \quad (3.20)$$

ここで r をプロトン/金属イオン交換比と定義し, 右辺は結合等温線の結合量を一定とした場合の Eu(III) の溶液中における平行濃度の pH 依存性, つまり pH 変化による結合等温線のシフトの大きさとなり実験より求められる量である. 最右辺は Eu(III) が腐植酸官能基に結合する際に放出されるプロトンと, 結合する金属イオンの比である. Perona らは酸化鉄へのカドミウム, 銅, 鉛, 亜鉛の結合等温線を測定し, 結合等温線から求められたプロトン/金属イオン交換比と計算により算出されたプロトン/金属イオン交換比を比較することで 10^{-5}M 以下の比較的低濃度領域でこの関係性が正しいことを示した. よって本研究においてこの関係性を用いることで結合等温線の pH 依存性の評価を行った.

3.3.2.4 結合等温線の pH 依存性の比較

図 3.8 に本研究で測定した結合等温線の一例として, 溶液中の条件が塩濃度 0.1M , $\text{pH}4$ の結果 (▲) と塩濃度 0.1M , $\text{pH}6$ の結果 (●) と塩濃度 0.1M , $\text{pH}7$ の結果 (■) を示す. 結合等温線の pH 依存性を評価するために前述したプロトン/金属イオン交換比 (r) を用いて評価を行った. 図 3.8 に示すように pH の異なる 2 本の結合等温線を溶液中の Eu(III) の平衡濃度が一定の条件で結合量の差を算出し, その量を pH 変化量で割った値をプロトン/金属イオン交換比として求めた. ここで塩濃度依存性の評価を行なった場合同様, プロトン/金属イオン交換比を算出する際に 2 本の結合等温線が平行でない場合には, Eu(III) 濃度範囲が変化すると算出されるプロトン/金属イオン交換比の値が異なることが考えられる. そこで本研究では 2 本の結合等温線が平行であると考えられる領域である, Eu(III) の平行濃度 $2 \times 10^{-7}\text{M}$ 程度の領域でプロトン/金属イオン交換比の算出を行った.

表 3.2 に本研究で測定した腐植酸と Eu(III) の結合等温線と pH4, pH6 の結合等温線から算出したプロトン/金属イオン交換比の値と、従来の研究により測定された銅 (Cu(II)), カドミウム (Cd(II)), カルシウム (Ca(II)), アルミニウム (Al(III)), アメリシウム (Am(III)) の結合等温線より求めたプロトン/金属イオン交換比の値を示した⁽⁶⁾⁽¹⁵⁾⁽²⁰⁾。プロトン/金属イオン交換比の値の大きさは $\text{Cu(II)} > \text{Al(III)} > \text{Am(III)} > \text{Cd(II)} > \text{Ca(II)} > \text{Eu(III)}$ の順となった。前述したようにプロトン/金属イオン交換比の値は腐植酸に対して結合した金属イオンの量と腐植酸から放出されるプロトン量の比を示す。ここで放出されるプロトンは金属イオンが腐植酸官能基と特異結合を形成することで、腐植酸官能基にもともと結合していたプロトンが放出したものである。つまり、プロトン/金属イオン交換比の値が大きいほど腐植酸に対しての金属イオンの特異結合が形成されることを意味している。表 3.2 の結果を用いてプロトン/金属交換比の比較を行った結果、Cu(II) で最も大きく Eu(III) で最も小さくなった。これより Aldrich 社製腐植酸に対しては Cu(II) が最も特異結合を形成しやすく、本研究で用いた Eu(III) が最も特異結合を形成しにくいことが考えられた。腐植酸に対する金属イオンの特異結合の形成は同じ価数の金属でも大きく異なることがわかり、3 価の金属イオンでは Eu(III) のプロトン/金属イオン交換比に対して Am(III), Al(III) ではそれぞれ 6 倍、10 倍ほどの大きさの違いが生じた。また 3.3.2.2 で考察した結果、腐植酸との結合において静電相互作用の寄与が大きいと考えられる金属は、結合等温線の pH 依存性の評価から考えて特異結合の寄与が小さくなる。反対に本研究で用いた Eu(III) 等の腐植酸との結合において静電相互作用の大きな金属は、特異結合の寄与が大きくなるという事が示された。このことから Eu(III), Ca(II) などは静電相互作用による結合形成の寄与が他の金属イオンに対して大きく、特異結合形成の寄与が他の金属イオンに対して小さい金属イオンであり、逆に Cu(II), Am(III) などは静電相互作用による結合の寄与が小さく特異結合の形成の寄与が大きな金属イオンであることがわかった。この理由については 3.3.2.2 で述べたように金属イオンによってのイオン半径の違いに起因するものと考えられた。

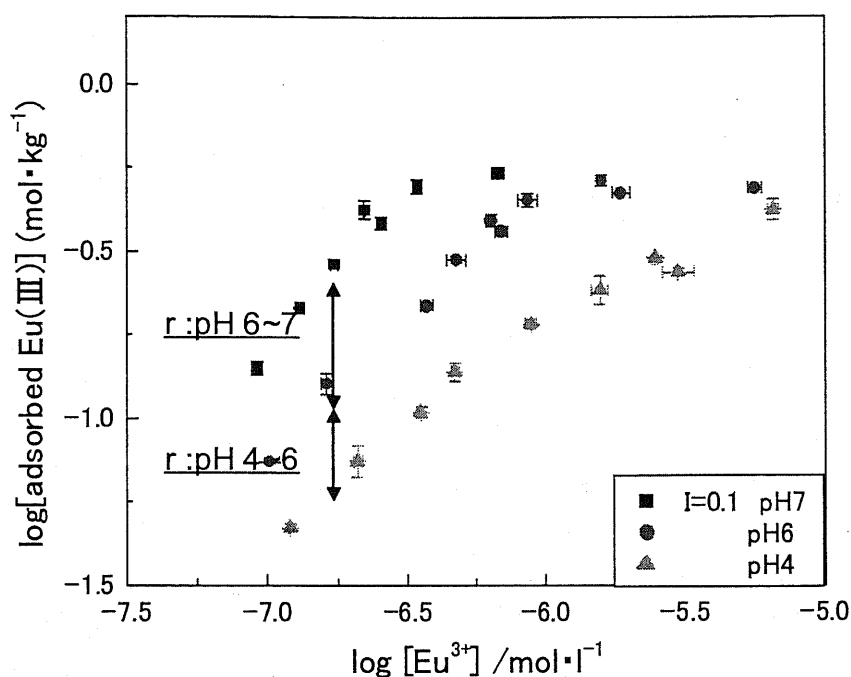


図 3.8 pH の変化による結合等温線のシフト

表 3.2 pH4, pH6 で算出したプロトン/金属交換比

金属	r (Δ pH: 4~6)	
塩濃度	0.1mol/l	0.01mol/l
Eu	0.23	0.31
Cu ⁽¹⁷⁾	2.32	2.14
Cd ⁽¹⁷⁾	0.86	0.93
Ca ⁽¹⁷⁾	0.32	0.47(0.02M)
Al ⁽¹¹⁾	2.08	
Am ⁽³⁾	1.32	

表 3.3 に pH6 と pH7 の結合等温線より算出したプロトン/金属イオン交換比の値を示した。表 3.2 に示した Eu(III) のプロトン/金属イオン交換比と比較した結果、pH6 と pH7 の結合等温線から算出したプロトン/金属イオン交換比の値に比べて pH4 と pH6 の結合等温線から算出した値は増加した。pH の増加に伴いプロトン/金属イオン交換比が増加したことは、pH が増加することで腐植酸に対する金属イオンの特異結合の形成が増加したことをことが示される。腐植酸は主要な官能基としてカルボキシル基、フェノール基、ア

ミノ基, スルホン基などを有しているが, 金属イオンに対してはカルボキシル基, フェノール基が結合サイトとして強く作用することが知られている. そのうちカルボキシル基は pH が低い条件で解離はじめ, pH が高くなるとフェノール基が解離し始めることが知られている. そこで pH 4~pH6 と, pH 6~pH7 の条件では Eu(III)に対する腐植酸の特異結合形成サイトが異なることが考えられ, pH 4~pH6 ではカルボキシル基の解離は生じているがフェノール基の解離は少なく, pH 6以上になるとフェノール基の解離が進むことが考えられる. そして腐植酸の有するフェノール基が Eu(III)と特異結合を形成することでプロトン/金属イオン交換比が増加したと考える事ができる. また, 従来の研究から腐植酸の有するカルボキシル基は Eu(III)に対して強い特異結合を形成しにくいという報告もされている⁽⁸⁾. これから, pH が低い条件では主に Eu(III)と特異結合を形成することができる官能基はカルボキシル基であり, カルボキシル基は Eu(III)に対しては特異結合を形成しにくいためにプロトン/金属イオン交換比の値は他の金属イオンと比較して小さいが, pH が上昇してフェノール基が Eu(III)の結合サイトとして働くようになると特異結合の寄与が増加しプロトン/金属イオン交換比が増加したということが考えられた. また, 塩濃度 0.1M の場合 pH6 と pH7 の結合等温線より算出したプロトン/金属イオン交換比の値は pH4 と pH6 の結合等温線より算出した値の約 2 倍ほどであったのに対して塩濃度 0.01M の場合には 1.4 倍ほどであった. これは塩濃度 0.01M, pH7 の結合等温線が pH6, pH4 の結合等温線に対して今回測定することのできた Eu(III)の濃度範囲では平行な曲線とならなかったため理想的な評価ができなかったことが考えられる. 本研究で測定した結果と比較してさらに低濃度の結合等温線の測定を行うことで, 塩濃度 0.01M の条件に関しても正確なプロトン/金属イオン交換比の測定を行う事が必要であると考えられる.

表 3.3 pH6,pH7 で測定したプロトン/金属交換比

金属	r (Δ pH: 6~7)	
塩濃度	0.1mol/l	0.01mol/l
Eu	0.48	0.46

3.4 Eu(III)に関する HSAB 則の分類

本章で述べたように Eu(III)の結合等温線の評価を行うことで得られた結論としては腐植酸への Eu(III)の結合は静電相互作用による寄与が大きことや腐植酸が有するフェノール基と特異結合を形成することがわかった. この実験結果にたいして, 単純な配位子と金属イオンの結合の安定性を示す HSAB 則を用いて考察した.

配位子の安定性を理解するために, R.G.Pearson らはルイス酸・塩基をソフト(やわらかい酸・塩基)と, ハード(硬い酸・塩基)に分類した. これは HSAB(hard and soft acids and

bases principle)と呼ばれるもので硬い酸は硬い塩基と、やわらかい酸はやわらかい塩基と安定に結合するという経験則である。硬い酸とは分極を受けにくいルイス酸を、やわらかい酸とは分極を受けやすいルイス酸を言い、塩基についても同様である。表 3.4 に主な HSAB による分類を示す。硬い酸と塩基は電荷密度が高いために結合することから電荷支配であるといわれる。本研究で用いた Eu(III)は硬い酸にあたり、表 3.4 から OH⁻などの硬い塩基と結合することが分かる。これは本実験の結果と一致しており、硬い酸である Eu(III)は腐植酸の官能基に対して電荷支配である静電相互作用によって結合する。そして Eu(III)は腐植酸が有する官能基の中で硬い塩基であるフェノール基の水酸基と安定に結合するということに対応する。

このことから腐植酸への金属イオンの結合を検討する際に、本研究で用いた Eu(III)のような硬い酸に関しては腐植酸の有する官能基に対して HSAB 則を適用することが出来ると考えられた。

表 3.4 酸・塩基の HSAB 分類

硬い	やわらかい
酸: H, Li, Na, Mg, Fe RCO, BF ₃ , AlH ₃ Eu 塩基: OH, RO, F, Cl, RCO ₂ H ₂ O, ROH, NH ₃ , RNH ₂	Ag, Hg, Cu, M, RO CH ₃ , Br, I RS, I, CN, R, R ₃ P CO

3.5 第3章のまとめ

第3章では精製した Aldrich 社製の腐植酸と Eu(III)の結合等温線の測定を行った。まずはじめに本研究で測定した Eu(III)の結合等温線を過去の研究で測定された結合等温線と比較した結果、結合等温線の勾配は類似していたが、結合が飽和に達する濃度に関しては大きな違いが生じており、これは腐植酸の精製方法や実験方法による違いであると考えた。このように、本研究で得られた Eu(III)の結合等温線は従来測定された Eu(III)の結合等温線と比較して異なる結果が得られた。しかし、pH や塩濃度を変化させた場合の腐植酸に対する Eu(III)の結合量の変化が従来より考えられているように pH が上昇すると結合量は増加し、塩濃度が増加すると結合量は減少するという結果が得られたことから本研究で測定した結合等温線は正確に測定する事ができたと考えて次に pH や、塩濃度の依存性の検討を行った。

塩濃度依存性の評価に関しては塩濃度 0.1M と 0.01M の結合等温線の結合量の差を塩濃度依存性と考えて、2 価の金属である Cu(II)や Cd(II), Ca(II), 3 価の金属である Cm(III)や Am(III)の結合等温線と本研究で測定した Eu(III)の比較を行った。その結果結合等温線の塩濃度依存性は Eu(III)が最も大きく、Cu(II)が最も小さくなった。塩濃度依存性を評価することで腐植酸と金属に生じる静電相互作用の寄与を検討する事ができる。本研究では塩濃度依存性の評価から腐植酸との結合において Eu(III)では静電相互作用の寄与が大きく、Cu(II)では静電相互作用の寄与が小さいと考える事ができた。次に pH4 と pH6 の結合等温線から算出されるプロトン/金属イオン交換比を用いて pH 依存性の評価を行った。本研究で算出したプロトン/金属イオン交換比を、従来測定された Cu(II), Ca(II), Cd(II), Al(III), Am(III)の結合等温線から算出した値と比較した結果 Ca や Eu(III)では小さな値を示し、Cu(II)では値は大きくなった。結合等温線の pH 依存性を評価することで腐植酸と金属イオンとの特異結合の寄与を検討する事ができる。そしてプロトン/金属イオン交換比が大きいほど特異結合の寄与が大きくなることから Cu(II)では腐植酸との結合において特異結合の寄与が大きく、本研究で用いた Eu(III)は特異結合の寄与が小さな金属であると考えられた。また pH4 と pH6 の結合等温線から算出したプロトン/金属イオン交換比を pH6 と pH7 で算出した値と比較した。その結果 pH6 と pH7 で算出した値は pH4 と pH6 で算出した値と比較して増加した。腐植酸はその骨格内にカルボキシル基やフェノール基などを有しており、前者は pH が低い条件で、後者は pH が高くなると解離する事が知られている。また Eu(III)に対して腐植酸のカルボキシル基は有効な特異結合のサイトとして働かない事が報告されている。そこで pH6 と pH7 で算出したプロトン/金属イオン交換比が pH4 と pH6 で算出した値に対して大きくなった原因は pH が上昇することで腐植酸のフェノール基が解離して Eu(III)と特異結合を形成したためであると考えられた。また、これらの実験結果は Eu(III)が“硬い酸”としての性質を示しており、腐植酸と金属イオンとの結合に関しても HSAB 則を応用することが出来ると考えられた。

第3章の参考文献

- (1) J. I. Kim, Complexation of Americium(III) with humic acid, *Radiochimica Acta*, (1989)
- (2) J. I. Kim and K. R. Czerwinski, Complexation of metal ion with humic acid : Metal Ion Charge Neutralization Model, *Radiochimica Acta* (1996)
- (3) K. R. Czerwinski, J. I. Kim, D. S. Rhee and G. Buckau, Complexation of trivalent Actinide ions (Am, Cm) with humic acid. The effect of ionic strength, *Radiochimica acta*. (1996)
- (4) M. A. Glaus, L. R. Loon, trace metal interaction, II. The conservative roof model and its application, *applied chemistry*. (2000)
- (5) P. J. Adam, Jhon. Hamilton-Taylor, and Edward Tipping, Americium binding to humic acid, *Environmental science technology* (2001)
- (6) S. Caceci, Institut Curie, section de Physique et Chimie, Physicochimie des Elements Trans uranins, The interaction of humic acid with Europium(III). Complexation strength as a function of Load and pH, *Radiochimica Acta*, 51, 39 (1985)
- (7) Complexation of soil humic acid with trivalent curium and europium ions: A comparative study, *Radiochimica Acta*, 185, 69 (1995)
- (8) Valerie Moulin, Jan. Tits and Gerald Ouzounian, Actinide speciation in the presence of humic substance in natural water conditions, 179, 58 (1992)
- (9) Fukushima. M, Chromium binding abilities of humic acid, *Analytica Acta*, 195, 317 (1995).
- (10) J. Lambert, J. Buddrus, and P. Burda, Evaluation of conditional stability constants of dissolved aluminium/humic substance complexes by means of ^{27}Al nuclear magnetic resonance, *Journal of analytical chemistry*, 83, 351 (1995)
- (11) E. Tipping, C. A. Backes and M. A. Hurley, The complexation of protons, aluminium and calcium by aquatic humic substances: A model incorporating binding site heterogeneity and macroionic effects, *Water Research*, 597, 22 (No.5) (1998)
- (12) Liping. Weng, Erwin. J. M. Temminghoff, Willem H. Van Riemsdijk, Aluminium speciation in natural waters: measurement using Donnan membrane technique and modeling using NICA-Donnan, *Water Research*, 4215, 36 (2002)
- (13) E. Tipping, C. Rey-Castro, Stephen E. Bryan and John. Hamilton-taylor, Al(III) and Fe(III) binding by humic substances in freshwaters, and implications for trace metal speciation, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 3211, 66 (No.18) (2002)
- (14) E. J. Smith, C. Rey-Castro, H. Longworth, S. Lofts, A. J. Lawlor, and E. Tipping, Cation binding by acid washed peat, interpreted with humic ion-binding Model VI

- FD, European Journal of Soil Science, September, 433, 55 (2004)
- (15) M. J. Perona and J. O. Leckie, proton stoichiometry for the adsorption of cation on oxide surface, Journal of colloid and interface science, 64, 106 (1985).
- (16) アトキンス物理化学, 東京化学同人, 1993.
- (17) G. Kinniburgh, W. H. van Riemsdijk, L. K. Koopal, et al., Ion binding to natural organic matter : competition, heterogeneity, stoichiometry and thermodynamic consistency, colloid surf. A, 151, 147 (1999).
- (19) Saito. T, master thesis, 2002.
- (20) Fujita. T, Fujiwara. K, Yamana. H, and Moriyama, H: Raman spectroscopic determination of formation constant of uranyl hydrolysis species, Journal Alloys and Compounds, 323, 859 (2001)
- (21) K. R. Czerwinski, Buckau. G, Scherbaum. F, Kim. J. I, Complexation of the Uranyl Ion with Aquatic humic acid. Radiochimica Acta, 65. 111 (1994)
- (22) 北森武彦, 宮村一夫, 分析化学II, 丸善株式会社, (2002)
- (23) 斉藤和実, アイソトープトレーサー法, 学会出版センター (1993)
- (24) 石川宏昭, 液体シンチレーション測定法, 南山堂, 1977.
- (25) JIS ハンドブック 放射線, 日本規格協会, 1985.
- (26) 神原周, 高分子電解質, 共立出版, 1978.
- (26) フミン酸とアクチノイドの相互作用における競争イオンの影響, 核種移行調査専門委員会, 2002.
- (27) 井上晴夫, 北森武彦, 小宮山真, 平野眞一, 物理有機化学, 丸善, 1999.
- (28) 電気化学便覧, 丸善出版, 1985.

第4章

NICA-Donnan モデルの適用

4.1 はじめに

第3章では腐植酸への Eu(III) の結合等温線の測定を行い Eu(III) の結合における静電相互作用、特異結合の寄与に関する定性的な評価を行った。第4章では NICA-Donnan モデルを用いて測定した Eu(III) の結合等温線に対してフィッティングを行うことで Eu(III) の腐植酸の結合に対するモデルの妥当性の検証を行った。NICA-Donnan モデルは腐植酸官能基と金属イオンの特異結合を表した NICA モデルと、静電相互作用による結合を表す Donnan モデルからなる。そしてこのモデルでは、モデルに含まれるパラメータが腐植酸表面に固有なものと、金属イオンに固有なものに分けられている。そこで結合等温線に対して精度よく NICA-Donnan モデルを適応するために、まず腐植酸表面に固有なパラメータを腐植酸の滴定曲線より決定し、その後測定した結合等温線に NICA-Donnan モデルを適応して金属イオンに固有なパラメータを決定した。

4.2 NICA-Donnan モデルの導出⁽¹⁾⁻⁽⁸⁾

腐植酸やフルボ酸等の腐植物質は金属イオンが結合することができるサイトが多数存在する。その主なサイトはカルボキシル基とフェノール基であり、少数ではあるが窒素や硫黄を含む官能基（アミノ基、スルホン基等）も存在する。これら腐植酸が有する官能基と、溶液中に存在する電位決定イオンのであるプロトンの結合、脱離反応によって腐植酸上には負の電荷が生じ、その結果周囲に pH や塩濃度に応じたポテンシャルが形成される。したがって腐植酸近傍のイオンの活量はバルクの値と異なるため、静電相互作用を考慮することが必要となる。一方でこれらの官能基は金属イオンに対して特異結合のサイトとして働く。実験的に求められる腐植酸の親和定数は分布を持ち、主に $\log K=3\sim 5$ のカルボキシル基由来のピークと $\log K=8\sim 10$ のフェノール基由来のピークが重なった連続的な分布を示すことが知られている⁽¹⁾。このために腐植酸が持つ官能基の不均質性から生じる親和定数の分布を考慮する必要がある⁽²⁾⁻⁽⁴⁾。また、溶液中に存在するプロトンなどのカチオンとの競合や、化学量論性を考慮することで腐植酸と金属イオンとの複雑な結合挙動を取り込んでいる。

NICA-Donnan モデルはこのように腐植酸と金属イオンの結合挙動を静電相互作用による結合のモデルである Donnan モデルと、腐植酸に対する金属イオンの化学反応である特異結合のモデルである NICA (non-ideal competitive adsorption) の2種類のモデルより成る。

(NICA モデル) ^{(5),(6)}

腐植酸上に存在する1つのサイトに対する化学種 i の結合は局所結合等温式として(4.1)式のように表される。

$$\theta_{i,L} = \frac{(K_i C_i)^{n_i}}{1 + (K_i C_i)^{n_i}} \quad (4.1)$$

この局所等温式は Henderson-Hasselbalch 方程式である。ここで $\theta_{i,L}$ は化学種 i によって占められているサイトの割合であり、 C_i はサイト近傍での化学種 i の濃度 K_i は化学種 i に対するサイトの固有親和定数、 n_i は結合の化学量論比の逆数を示すパラメータである。

又、異なる化学種 i ($i=1,2,\dots,j$) が存在する場合を考え、その化学種がサイトに対して競合結合することを考えると(4.2)式のようにかける。

$$\begin{aligned} \theta_{i,L} &= \frac{(K_i C_i)^{n_i}}{1 + \sum (K_i C_i)^{n_i}} \\ &= \frac{(K_i C_i)^{n_i}}{\sum (K_i C_i)^{n_i}} \frac{\sum (K_i C_i)^{n_i}}{1 + \sum (K_i C_i)^{n_i}} \end{aligned} \quad (4.2)$$

ここで化学種 i の結合量 Q_i はサイトに対して最大結合することのできるサイト密度 Q_{MAX} を用いて(4.3)式のように表される。

$$Q_i = n_i \theta_{i,L} Q_{max,i} \quad (4.3)$$

腐植酸はその炭素骨格に不均質に分布したカルボキシル基、フェノール基など異なる多数の官能基を有するため、金属イオンに対しての結合の親和力に分布が生じる。そこでイオンへの親和定数に分布を持つサイトへの化学種 i の結合を考える場合、サイトに対する親和定数の分布関数に(4.2)式の局所等温式を掛け、それを積分することで腐植酸上の全サイトに対する結合等温式((4.4)式)が得られる。

$$\theta_i = \sum \theta_{i,L} f = \int_0^{\infty} \theta_{i,L}(K, C) f(\log K)_{ships} d \log K \quad (4.4)$$

NICA モデルは(4.4)式の積分を解析的に行うために分布関数として Ships 分布⁽⁴⁾を用いる。その結果結合等温式は(4.5)式のようになる。

$$\theta_i = \theta_{i,L} \times \frac{(\tilde{K}_i C_i)^{n_{i,i}}}{\Sigma(\tilde{K}_i C_i)^{n_{i,i}}} \times \frac{\{\Sigma(\tilde{K}_i C_i)^{n_{i,i}}\}^{p_i}}{1 + \{\Sigma(\tilde{K}_i C_i)^{n_{i,i}}\}^{p_i}} \quad (4.5)$$

ここ \tilde{K} は化学種 i に対する親和定数の中央値, p_i は親和定数の分布の幅, つまり腐植酸表面の官能基の不均質性, n_i は化学種 i とサイトの平均的な化学量論比の逆数を表すパラメータである。

ここで腐植酸に対して結合することのできる最大のサイト密度として酸塩基滴定で決定される $Q_{\max,H}$ を用いて結合量は(4.6)式のように表される。

$$Q_{i,t} = Q_{\max,H} \frac{n_i}{n_{H,i}} \theta_{i,t} \quad (4.6)$$

このように結合量を表すことで熱力学的な一貫性が得られることが報告されている(4)。そして、酸塩基滴定の結果から腐植酸に対するプロトンの親和定数は大きい 2 つの分布の重ね合わせであることが実験的に求められている。この 2 つの分布はカルボキシル基, フェノール基に起因するものであると考えられている。このことを考えると、腐植酸への金属イオンの結合等温式は 2 つの NICA 方程式の線形和で表され、(4.7)式が得られる。

$$Q_{i,t} = Q_{\max,1,H} \times \frac{n_{i1}}{n_{H1}} \times \frac{(\tilde{K}_{i1} C_i)^{n_{i1}}}{\Sigma(\tilde{K}_{i1} C_i)^{n_{i1}}} \times \frac{\{\Sigma(\tilde{K}_{i1} C_i)^{n_{i1}}\}^{p_1}}{1 + \{\Sigma(\tilde{K}_{i1} C_i)^{n_{i1}}\}^{p_1}} \\ + Q_{\max,2,H} \times \frac{n_{i2}}{n_{H2}} \times \frac{(\tilde{K}_{i2} C_i)^{n_{i2}}}{\Sigma(\tilde{K}_{i2} C_i)^{n_{i2}}} \times \frac{\{\Sigma(\tilde{K}_{i2} C_i)^{n_{i2}}\}^{p_2}}{1 + \{\Sigma(\tilde{K}_{i2} C_i)^{n_{i2}}\}^{p_2}} \quad (4.7)$$

(Donnan モデル). (7)

静電相互作用は、化学種の腐植物質に対する結合において次のような側面に関係している。

- (i) 特異結合後の残余電荷によりサイト周辺に形成される、負の電位によるイオンの濃縮あるいは排除による結合のイオン強度依存性
- (ii) 長距離相互作用

このような静電相互作用は金属イオンの化学ポテンシャルに対する、腐植酸の負の電位に

由来するボルツマン因子を取り込むことによってモデル化することが可能である。

Donnan モデルでは腐植酸の官能基近傍の電位を計算するために、腐植酸の有する負の電荷が対イオンによって、仮想的な Donnan 体積 V_D 内で完全に中和されると考える（電荷中性則(4.8)式）。そして腐植酸内部に形成されるポテンシャルを一定値の Donnan 電位 ψ_D とし、電位の計算を行う。

$$\frac{Q}{V_D} + \sum Z_i (C_{iD} - C_i) = 0 \quad (4.8)$$

$$C_{iD} = C_i \exp\left(\frac{-Z_i F \psi_D}{RT}\right) \quad (4.9)$$

Benedetti らは 10mM 以上のイオン強度での流体力学的体積がイオン強度によって決まり、pH 依存性が小さいという粘性測定の結果から Donnan 体積とイオン強度が(4.10)式の関係にあるという経験式を提案した。一般に腐植酸の場合、Donnan 体積は腐植酸の流体力学的体積よりも大きくなる。これは腐植酸の半径がデバイ長と同程度か、それ以下であるために厳密な Donnan 近似が成立しないためである。従って Donnan 体積は腐植酸内部の電気 2 重層のポテンシャルプロファイルの代表値を計算するための仮想的な体積であるといえる。

$$\log V_D = b(1 - \log I) - 1 \quad (a, b: \text{const}, b > 0) \quad (4.10)$$

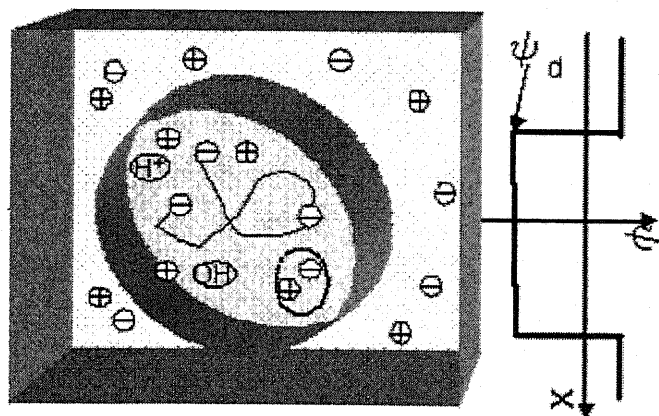


図 4.1 Donnan 平衡と膜電位

4.3 実験方法：腐植酸の滴定

腐植酸の滴定を本実験ではコロイド粒子を含んだ系での滴定および pH スタット実験のために設計された Wargeninge 自動滴定装置を用いて行った。本実験で用いた Wargeningen 滴定装置は恒温ジャケットつき滴定セル，3つのビュレットからなり，滴定は全て PC 制御下で行われた。実験中，滴定セル内の試料溶液に含まれている二酸化炭素は窒素ガスを通気することで除去した。図 4.2 に滴定システム，滴定セルの概要を示した。試料の pH は銀/塩化銀電極を基準電極として，ガラス電極で測定した。滴定は酸として 0.1M 過塩素酸，塩基として 0.1M 水酸化ナトリウム，塩として 1M 過塩素酸ナトリウムを用いて行った。

実験は塩濃度をほぼ一定にして酸塩基滴定を行う実験と，pH スタットの実験の 2 種類を行った。まず一つ目の実験方法について述べる。腐植酸の滴定を行う前に塩濃度 0.1M, 0.01M, 0.001M でブランクの滴定を行うことで各塩濃度での電極パラメータの決定を行い，そこで得られた pH と起電力の関係をj用いることで腐植酸の滴定時の pH の決定を行った。PAHA を用いて 30ml の容器内で 1g/l の溶液を調整し，水酸化ナトリウムを加えて pH を約 10 にした後に 24 時間窒素ガスを流した容器内で攪拌を行い腐植酸を分散させた。腐植酸を分散させた後，試料溶液の pH を約 3.5 に下げてから溶液内の塩濃度が約 0.001M となるように 1M 過塩素酸ナトリウムを加え，pH を約 10 まで塩基で滴定した後に再び pH を約 3.5 に戻した。このサイクルを塩濃度 0.01M, 0.1M の場合にも行った。この時 pH 電極の読みを電極のドリフトが 0.1mV/min を超えない場合に平衡であるとして採用した。

pH スタットの実験は塩濃度を変化させることで得られた 3 本の滴定曲線の相対的な位置関係を決定するために行った。この実験では先の実験同様に，1g/l の腐植酸溶液を調整して窒素ガスを流した容器内で 24 時間腐植酸を分散させた。その後 pH を約 4 に上げた後 pH を約 7 に戻し，塩濃度を約 0.001M となるように過塩素酸ナトリウムを加え，塩を加えることで変化した pH が再び 7 に戻るまでの酸・塩基の滴下量を測定した。同様の実験を塩濃度 0.05M, 0.01M, 0.05M, 0.1M で各塩濃度で酸・塩基の必要量を測定した。

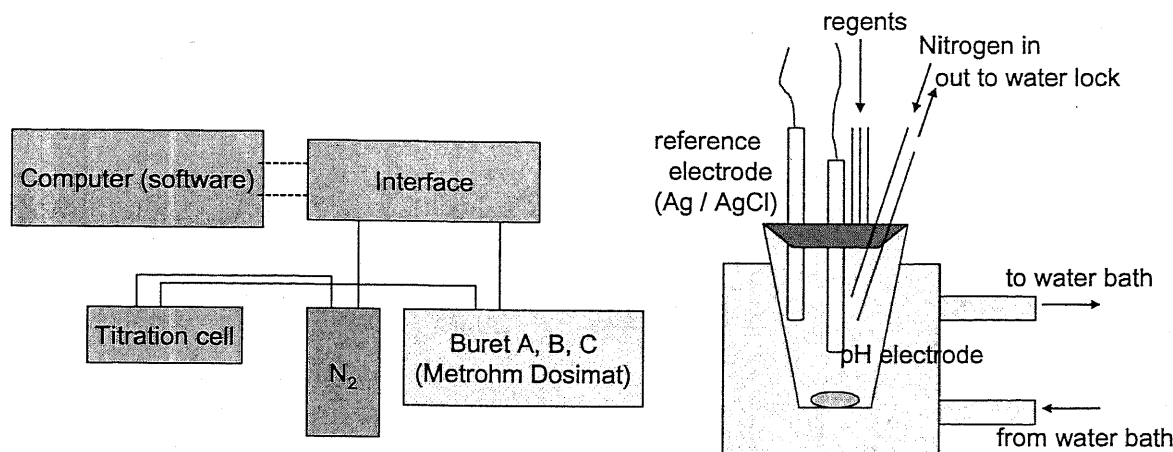


図 4.2 滴定セル, 滴定システム

4.4 腐植酸の滴定曲線の作成⁽¹⁾

図 4.3 に塩濃度 0.0026M, 0.018M, 0.16M で塩基の滴定を行った場合に得られた滴定曲線を示した. この滴定曲線は腐植酸溶液の滴定およびブランクの滴定を行い, 次のようにして腐植酸の相対表面電荷を求めた.

$$\text{mmol}_{ad(ii)} = V C_{ii} - \text{mmol}_{blank} \quad (4.11)$$

左辺は腐植酸の滴定に必要とされる酸・塩基の必要量であり, これは右辺に示されるように腐植酸溶液の滴定に使用された酸・塩基のモル量から, ブランクの滴定に必要とされた酸・塩基の必要量を差し引いて得られる. こうして得られた腐植酸の滴定に必要な酸・塩基のモル量を(4.12)式を用いることによって腐植酸の表面電荷を算出した. ここで得られる表面電荷量は滴定時に誘起された電荷量であり, 腐植酸の絶対的な電荷量では無いので相対表面電荷とする.

$$\Delta Q = F \frac{\text{mmol}_{ad(ii)}}{m s} \quad (4.12)$$

図 4.3 のように塩基の滴定を行うと各塩濃度における滴定曲線が得られる. それぞれの滴定曲線で pH4 未満, pH 9 以上ではそれぞれ大きな誤差が生じるためにこれからの解析では pH4~pH 9 の範囲の滴定曲線を用いた. ここで得られた滴定曲線の位置関係は決定していないので pH スタットの実験を行うことでそれぞれの滴定曲線の相対的な位置を決定した.

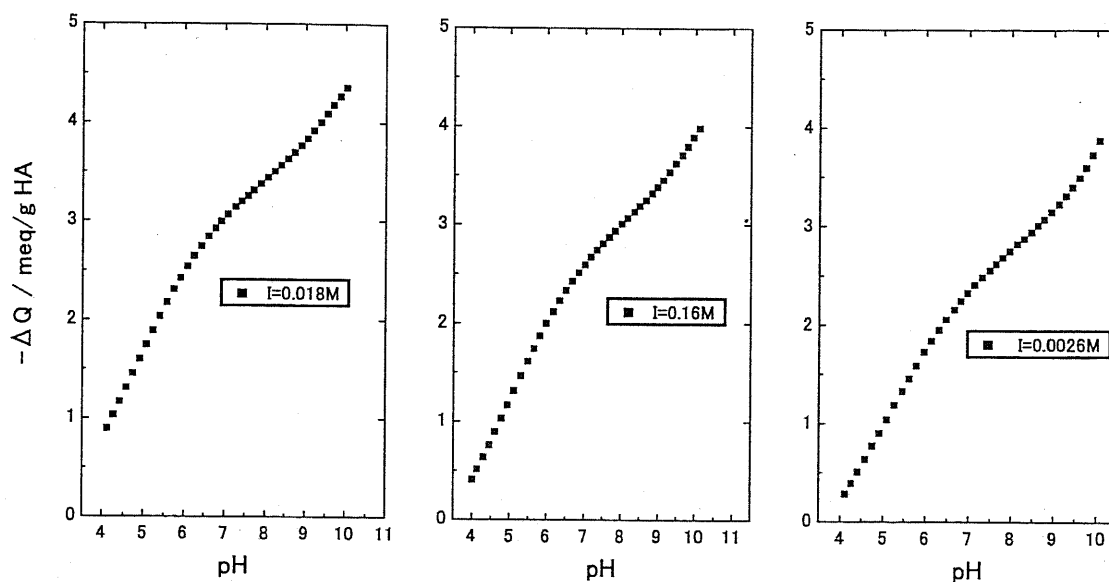


図 4.3 各塩濃度での滴定曲線

図 4.4 に pH スタットの実験で得られた腐植酸の相対表面電荷量と塩濃度の関係を示した。図 4.4 の曲線は 0.00777M, 0.00464M, 0.0123M, 0.0486M, 0.114M の条件で pH 7 に固定して実験を行い、実測した塩濃度以外の表面電荷量を外挿するために適当な曲線でフィッティングをかけた。この曲線を用いることで塩基の滴定を行った塩濃度 0.0026M と 0.16M, 0.018M と 0.16M の相対表面電荷の差（シフトファクター）を求めた。その結果 0.018M と 0.16M のシフトファクター： $\Delta Q_{1-2}=0.0703$ meq/g, 0.0026M と 0.016M のシフトファクター： $\Delta Q_{1-3}=0.1539$ meq/g という値が得られた。塩濃度 0.0026M の塩基の滴定曲線を基準にシフトファクターを用いて滴定曲線を描きなおしたものを図 4.5 に示した。

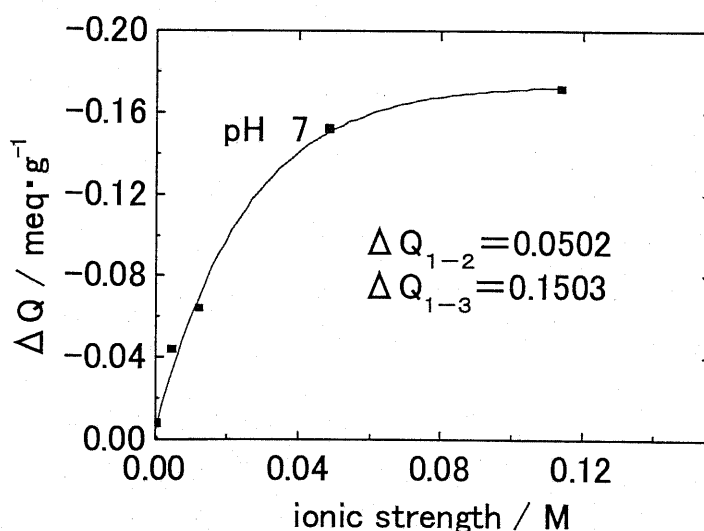


図 4.4 pH スタットでの塩滴定曲線

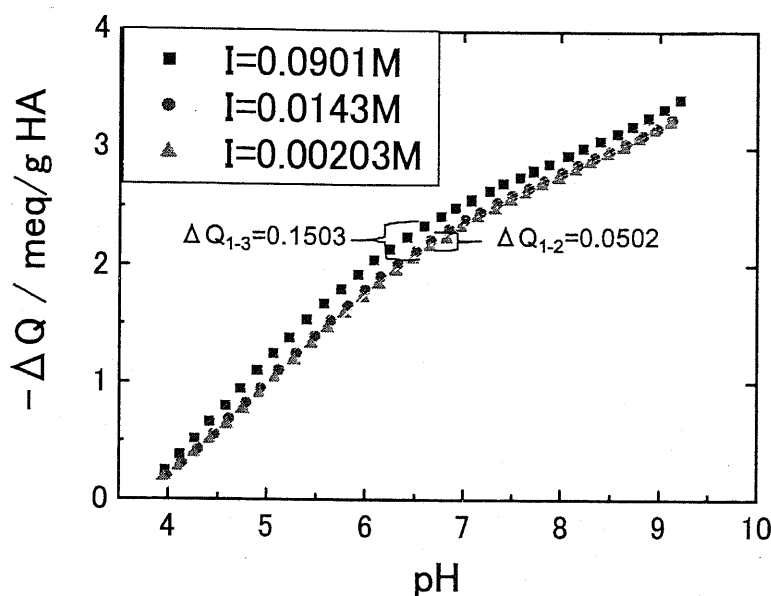


図 4.5 腐植酸の滴定曲線 (相対表面電荷 vs pH)

4.5 NICA-Donnan モデルによるフィッティング

NICA-Donnan の実験結果へのフィッティングは複数のパラメータを最適化する必要性があり、フィッティングの順序や初期値などいくつかの点で主観的になることが避けられない。そこで本研究で実験結果に対して NICA-Donnan モデルを適応する方法として、多くの実験結果が得られている Milne 等が用いた方法と同じ手法でフィッティングを行った。手法としてはまず、腐植酸の酸塩基滴定は金属イオンの結合量測定の実験に対し精度良く行うことができることから、プロトンに関するパラメータ(b , $Q_{max1,H}$, $Q_{max2,H}$, K_{H1} , K_{H2} , m_1 , m_2)の最適化を行った後、 $m=p \times n_H$ の関係のもとで(K_{a1} , K_{a2} , nM_1 , mM_2)の最適化を行った。フィッティングには Kinniburgh によって開発をされた FIT プログラムを用い、非線形最小二乗法最適化コードにより絶対誤差を一定にして行った^{(8),(9)}。

4.6 実験結果への NICA-Donnan モデルの適応

4.6.1 PAHA へのプロトンの結合

図 4.5 に示した滴定曲線は塩濃度 0.091M の滴定曲線を基準として描かれた相対的な曲線のために、ここで示した相対的な滴定曲線を電荷量の絶対値に換算する必要がある。滴定の任意の点での腐植酸の電荷の絶対値や初期のプロトンの結合量(Q_{H0})を用いることで、図 4.5 の滴定曲線を、pH に対する絶対的な電荷量を表す滴定曲線に換算することができる。

本研究では NICA-Donnan モデルを用いることにより Q_{H0} の最適化を行い滴定曲線の換算を行った。図 4.6 に Q_{H0} を用いて換算を行った後の滴定曲線を、pH に対する腐植酸単位質量あたりの電荷量として示す。図 4.6 で■, ◆, ▲はそれぞれ本研究で測定された滴定曲線であり、塩濃度 0.0901M, 0.0143M, 0.00203M の結果であり、曲線は各塩濃度の滴定曲線に対して NICA-Donnan モデルを適応した結果である。NICA-Donnan モデルは本研究で測定した滴定曲線に対してよく一致したと考えられた。腐植酸の滴定曲線は pH が上昇するほど、また塩濃度が増加するほど腐植酸の電荷量が増加しており、これは pH の上昇に伴い腐植酸の骨格に固定されているカルボキシル基、フェノール基が解離するために負の電荷が大きくなることや、塩濃度の増加に伴い腐植酸の電荷が遮蔽されるために腐植酸の官能基からプロトンが解離しやすくなり、負の電荷が大きくなるということで説明できる。本研究で測定した図 4.6 の滴定曲線を従来測定された Aldrich 腐植酸の滴定曲線⁽¹⁰⁾と比較した。その結果、本研究で測定した滴定曲線は従来測定されたものと比較して異なる点が見られた。まず第一に、本研究で測定した滴定曲線は従来測定されたものに対して電荷量が少ないという結果が得られた。本研究で測定した滴定曲線では pH 4, 塩濃度 0.0901M の条件での電荷量が -0.76 meq/g に対して従来測定されたものでは pH4, 塩濃度 0.095M で -1.15 meq/g という値となった。次に、従来測定された腐植酸の滴定曲線の形状は pH6 付近に変極点をもつなだらかな形状をしている。一方本研究で得られた滴定曲線は pH8.5 付近から緩やかに上昇する傾向にあり、pH8.5 付近に小さな変極点が見られた。

表 4.1 に本研究で測定した滴定曲線に NICA-Donnan モデル用い最適化を行った時に得られた腐植酸のプロトンの結合に関する NICA-Donnan パラメーターと従来測定された Aldrich 腐植酸に対して得られている NICA-Donnan パラメーターの値^{(10),(11)}を示した。ここで腐植酸のプロトンの親和定数($\log K_H$)の小さな成分 1 はカルボキシル基、親和定数の大きな成分 2 はフェノール基に対応している⁽⁴⁾。本研究で得られたパラメータと従来測定されたパラメータでは大きな違いが生じた。初期のプロトンの結合量であるパラメータ Q_0 は表 4.1 に示した結果に対して大きな値を示したが、この値は精製方法によって異なる事が考えらる。腐植酸官能基の不均質性を平均的に取り込んだパラメータ m は Milne 等の値に近い値を示しており、カルボキシル基に対応する m_1 に対してフェノール基に対応する m_2 の値が小さいことも過去の報告と一致している⁽¹¹⁾。Donnan モデルに含まれ、塩濃度と Donnan 体積を関係付けるパラメータ b は本研究では 0.78 であるのに対し、従来の研究から腐植酸に対しては約 0.3~0.6 程度であるといわれており、 b が 0.8 程度の腐植酸も報告されているがその例は少ない⁽¹¹⁾。また、腐植酸のプロトンとの親和定数である $\log K$ はカルボキシル基に対応する値としては約 3~4、フェノール基に対応する値として約 8~9 であると考えられている⁽¹¹⁾。これらを考慮すると、本研究で測定した滴定曲線に対して NICA-Donnan モデルを適応することで得られたパラメータは、従来測定された腐植酸の結果に対して特異な結果を示した。特に親和定数の値が過去の研究と著しく異なることから、本研究で行った実験が正確に行われて無い事が考えられた。特に本研究で得られたプロトンの親和定数

は pH が高 pH 側にシフトしていることから pH メータの校正が正確に行われていなかったことが考えられた。今後本研究で測定した滴定曲線と過去に測定された滴定曲線を用いることで本実験が正確に行われたのかを検討した。

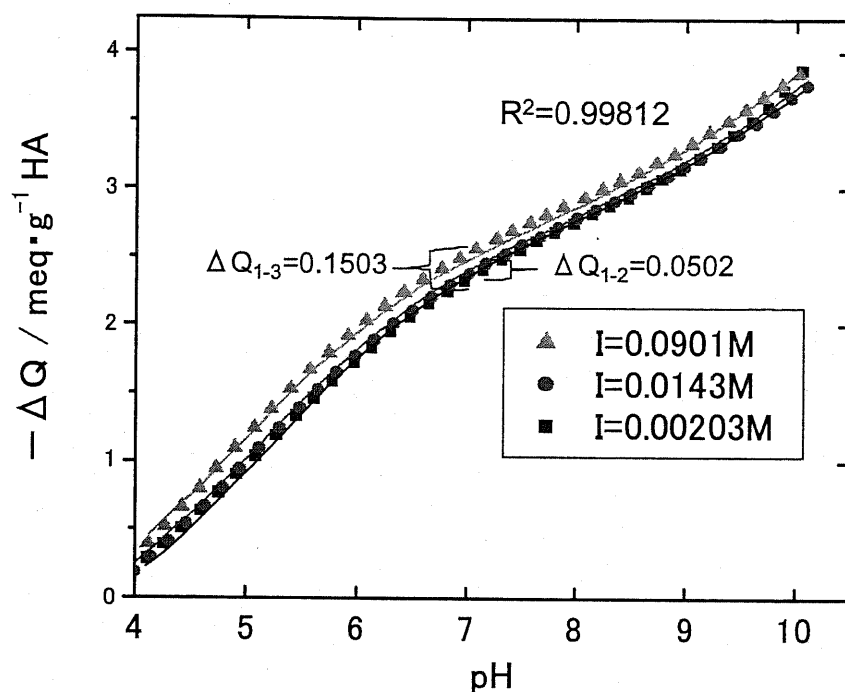


図 4.6 腐植酸の滴定曲線 (絶対電荷 vs pH)

表 4.1 Aldrich 腐植酸のプロトンの結合に関する NICA-Donnan パラメータ

	b	Q_{H0}	$\log \tilde{K}_{H1}$	$Q_{max,1}$	m_1	$\log \tilde{K}_{H2}$	$Q_{max,2}$	m_2
This work	0.78	7.72	5.52	3.36	0.56	12.9	3.31	0.26
Milne et al ⁽¹¹⁾	0.63	5.15	3.53	2.99	0.59	7.95	2.66	0.26
Kinniburgh et al ⁽¹¹⁾	0.69	—	3.76	2.94	0.55	8.07	2.40	0.24
Saito et al ⁽¹⁰⁾	0.33	6.12	2.89	2.30	0.55	8.83	4.32	0.25

4.6.2 PAHA への Eu(III) の結合

まずはじめに第 3 章で示した結合等温線に対して、表 4.1 に示した本研究で測定した滴定曲線から求めたプロトンに関する NICA-Donnan パラメータを用いてフィッティングを行った。その結果、本実験で測定した滴定曲線から求めたパラメータを用いてフィッティングを行う事が出来なかった。このことに関しては、Eu(III) の結合等温線の測定結果が誤っていた可能性あるいは、本章で測定した滴定曲線の測定結果が誤っていた可能性が考えられ

た。Eu(III)の結合等温線に関しては研究例も少なく^{(12),(13)}検証することが難しい。しかしながら第3章で述べたように、本研究で測定した腐植酸へのEu(III)の結合等温線に関してはpH依存性や、塩濃度依存性が腐植酸への金属イオンの結合等温線の傾向と等しいことから、Eu(III)の結合等温線は正確に測定することが出来ていると考えた。一方本実験で得られた滴定曲線に関しては4.6.1章で述べたように従来測定された結果と比較してかなり特異な結果が得られた^{(11),(14)}。また滴定曲線の形状に関しても過去の研究と比較して異なることから、本研究で測定した滴定曲線に問題があると判断した。そこで本研究では、表4.1に示した斉藤により決定されたプロトンに関するNICA-Donnanパラメータを用いてEu(III)の結合等温線のフィッティングを行った。この値を用いた理由は、Aldrich腐植酸を用いていることや、3次元蛍光スペクトル、IRスペクトル、UVスペクトルのピークや形状が本研究で用いた腐植酸の結果と類似していたからである。

図4.7に本研究で測定したEu(III)の結合等温線に対して、斉藤の滴定曲線から算出したプロトンのNICA-Donnanパラメータを用いてフィッティングを行った結果を示した。図中にEu(III)の結合等温線に対してNICA-Donnanモデルをフィッティングした結果を実線、破線で示した。その結果本研究で測定結果に対してNICA-Donnanモデルは $R^2=0.90$ でフィッティングすることが出来た。しかし、本研究で測定したEu(III)の結合等温線に対して2価の金属イオンへの結合のように⁽⁶⁾全条件でフィッティングすることが出来なかった。また、Eu(III)濃度が高濃度側でのフィッティング結果に対してEu(III)濃度が低濃度側で大きく結合等温線から外れる結果となった。表4.2には本研究で測定した結合等温線に対してNICA-Donnanモデルを適用した場合に得られたEu(III)に関するNICA-Donnanパラメータと、過去の研究で算出された金属イオンに関するNICA-Donnanパラメータの値^{(6),(10),(11)}を示した。まずKinniburghにより測定されたpeat腐植酸へのCa(II)やCu(II)などの金属の結合に対して得られた親和定数($\log \tilde{K}$)の値を本実験で最適化されたEu(III)の親和定数と比較した。その結果Ca(II)などの金属に関しての親和定数は小さく、Cu(II)などの金属の親和定数は大きいことが分かる。第3章で述べたようにCa(II)などの金属イオンは特異結合による結合の寄与が小さく、またCu(II)などの金属イオンは特異結合による結合の寄与が大きい。このことから2価の金属イオンに関しては結合等温線から考えられる結果に対してNICA-Donnanパラメータは整合性がとれているといえる。

一方で本研究でのEu(III)と過去に測定されたCu(II)の結果を用いて、結合等温線から得られた結果とNICA-Donnanモデルのパラメータの比較を行った。その結果カルボキシル基に対する親和力はEu(III)とCu(II)で同等の大きさとなり、フェノール基に対する親和力はEu(III)ではCu(II)に対して小さくなるという結果を得た。しかし、第3章での結論から腐植酸のカルボキシル基に対してのEu(III)の結合は特異結合の寄与が小さい事が示されており、Eu(III)に関して得られたNICA-Donnanパラメータの結果と矛盾した。この結果からNICA-Donnanモデルは腐植酸に対するEu(III)の結合に対して何らかの問題点があることが考えられた。

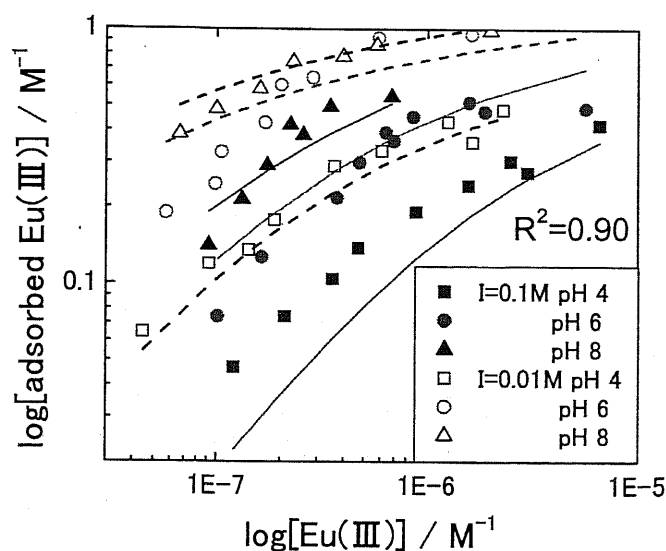


図 4.7 結合等温線に対する NICA-Donnan モデルの適応

表 4.2 金属イオンの NICA-Donnan パラメータの比較^{(10),(11)}

Ion specific parameters (Kinniburgh)				
	log	n_1	log	n_2
H	2.89	0.87	8.83	0.59
Cu	0.69	0.54	7.41	0.34
Cd	0.00	0.80	2.3	0.50
Ca	-2.18	0.54	-2.11	0.27
Ion specific parameters				
	$\log \tilde{K}_1$	n_1	$\log \tilde{K}_2$	n_2
H	3.53	0.66	7.95	0.66
Cu	2.26	0.42	6.96	0.47
Eu(this work)	2.45	1.00	4.18	0.43

そこで次に塩濃度 0.01M, 0.1M の条件で測定した結合等温線それぞれに対して独立に NICA-Donnan モデルを適用した結果を図 4.8 に示した。図中の実線は各実験条件の結合等温線に対して NICA-Donnan モデルをフィッティングした結果である。その結果塩濃度 0.1M で Eu(III)濃度が低濃度領域では結合等温線に対して NICA-Donnan モデルをフィッティングすることが出来た。一方で塩濃度 0.01M の場合には, Eu(III)濃度が低濃度領域で結合等温線と NICA-Donnan モデルのフィッティング結果に大きな違いが生じた。塩濃度

0.01M では塩濃度 0.1M の場合に対して腐植酸に対する Eu(III)の静電相互作用が大きい。そこで塩濃度 0.01M で測定された結合等温線に対して NICA-Donnan モデルが低濃度側での腐植酸への Eu(III)の結合を表すことが出来なかったことから、NICA-Donnan モデルでは静電相互作用を正確に取り込むことが出来ていないことが考えられた。これから静電モデルである Donnan モデルに何らかの問題点があることが推測された。

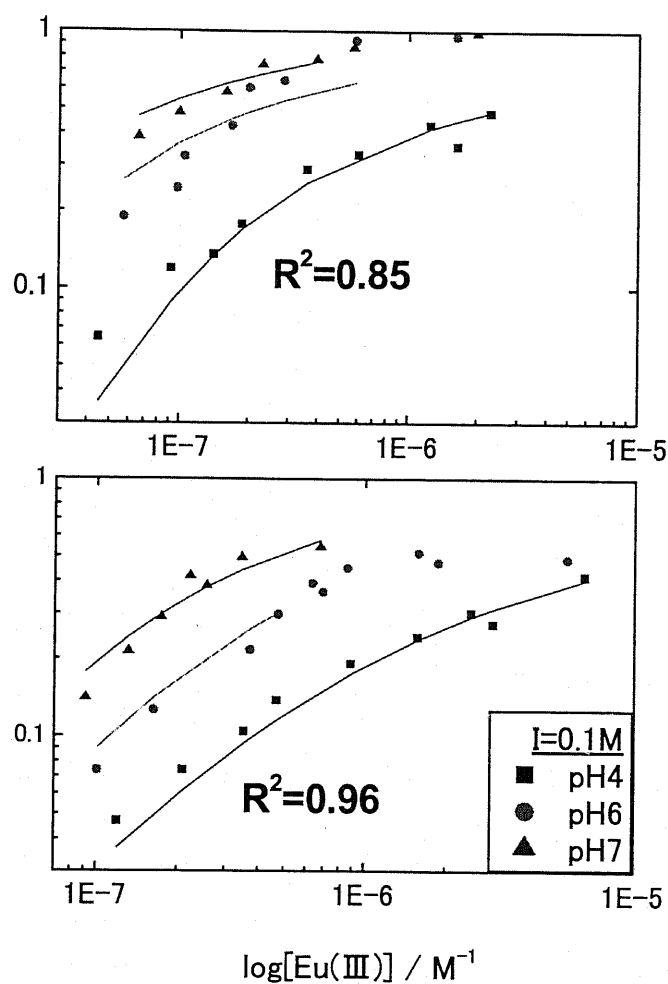


図 4.8 異なる塩濃度における NICA-Donnan モデルによるフィッティング

4.7 第4章のまとめ

第4章では、第3章で測定した腐植酸に対するEu(III)の結合等温線に対して NICA-Donnan モデルを適応した。本研究ではプロトンの NICA-Donnan として、本研究で結合等温線の測定を行った際に用いた腐植酸と、分光スペクトルが類似した腐植酸について得られている結果を用いることで結合等温線に NICA-Donnan モデルを適応した。その結果、全実験条件に対して NICA-Donnan モデルを適応することは出来なかった。この時に得た NICA-Donnan パラメータをCu(II)に対して得られた結果との比較を行った。その結果カルボキシル基に対する親和定数の値はEu(III)とCu(II)について同等の結果が得られており、このことからEu(III)は腐植酸のカルボキシル基に対してCu(II)に近い親和力を有するということが考えられる。しかし、この結果は第3章で得られた結論と反しておりこのような結果が得られた理由としては本研究で用いた NICA-Donnan モデルに問題点があることが考えられた。そこで塩濃度 0.01M と 0.1M の結合等温線それぞれに対して独立に NICA-Donnan モデルを適応した。その結果塩濃度 0.01M では、Eu(III)濃度が低濃度側でフィッティングすることが出来なかった。これは塩濃度が 0.01M の場合では腐植酸とEu(III)の静電相互作用が大きいために Donnan モデルによる正確な評価が出来なかったことが理由の一つであると考えられた。また、NICA-Donnan モデルを適応することが出来なかった理由としては、結合等温線を測定した際に用いた腐植酸と NICA-Donnan モデルを適応した時に用いた腐植酸が異なることも考えられた。

第4章の参考文献

- (1) C. J. Milne, D. J. Kinniburgh, J. C. M. Wit, W. H. van Riemsdijk, W. H. Koopal, Analysis of metal ion binding by a peat humic acid using a simple electrostatic model, *Gheochim. Acta*, 1101, 59 (1995).
- (2) R. Sips, On the structure of a catalyst surface, *J. Chem. Phys.*, 16, 490.
- (3) R. Sips, On the structure of a catalyst surface II, *J. Chem. Phys.*, 18, 1024.
- (4) J. C. M. Wit, W. H. van Riemsdijk, M. M. Nederlof, et. al., Analysis of ion binding on humic substances and the determination of intrinsic affinity distributions, *Anal. Chim. Acta*, 232(1), 189 (1990).
- (5) M. J. Avena, L. K. Koopal, W. H. van Riemsdijk, Proton binding to humic acid: Electrostatic and intrinsic interaction, *J. Colloid Interface Sci.*, 217(1), 37 (1999).
- (6) D. G. Kinniburgh, W. H. van Riemsdijk, L. K. Koopal, et al., Ion binding to natural organic matter :competition, heterogeneity, stoichiometry and thermodynamic consistency, *colloid surf.A*, 151,147 (1999).
- (7) M. F. Benedetti, W. H. van Riemsdijk, L. K. Koopal, Humic substances considered as a heterogeneous donnan gel phase, *Environ Sci. Technol.*, 30, 1805 (1995).
- (8) A. W. P. Vermeer, A. Giatti, L. K. Koopal, Potentiometric suspension titrations experimental set-up and data treatment, Wageningen Agricultural University ,department of Physical and colloid chemistry (1992-A).
- (9) D. G. Kinniburgh, and C. J. Milne, technical report WD/92/14 Hydrogeology Series, British geological survey, natural environmental research council (1992).
- (10) L. K. Koopal., Saito. T, Pinheiro. J. P and van Riemsdijk, Ion binding to natural organic matter . General consideration and the NICA-Donnan model, submitted to *Colloid and surface. A*.
- (11) C. J. Milne, D. G. Kinniburgh, and E. Tipping, Generic NICA-Donnan model parameters for proton binding by humic substances, *Environmental science technology*, 2049, 35 (2001).
- (12) M. A. Glaus, L. R. Loon, trace metal interaction, II. The conservative roof model and it's application, *applied chemistry*.(2000)
- (13) S. Caceci, Insistute Curie, section de Physiqye et Chimie, Physicochimie des Elementats Trans uranins, The interaction of humic acid withh Europium(III). Complexation strength as a function of Load and pH, *Radiochimica Acta*, 51, 39(1985)
- (14) 斉藤拓己, 長崎晋也, 田中知, 腐植物質への金属イオン結合挙動のモデル化: 離散的および連続的親和定数分布モデルの比較, *日本原子力学会和文論文誌*, 215, 3 (2004).

第5章

Donnan モデルの検証

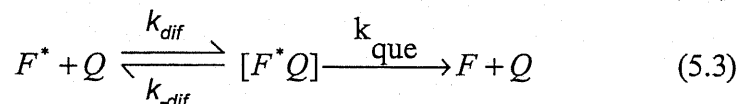
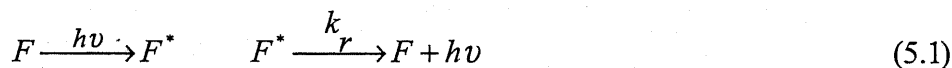
5.1 はじめに

本章では腐植酸と金属イオンの結合モデルとして NICA-Donnan モデルを用いた。しかし本研究で用いた NICA-Donnan モデルには多数のパラメータが含まれているために実験結果をフィッティングした結果得られたパラメータの不確実性が高くなる。そこで求められたパラメータの物理的意味を分光手法などの他の手法を用いて考察する必要性が考えられる。第 3 章において結合等温線を測定した結果、Aldrich 社製腐植酸への Eu(III) の結合は静電相互作用の寄与が大きいことが示された。第 4 章では腐植酸への Eu(III) の結合等温線に対して NICA-Donnan モデルを全実験条件下でフィッティングすることが出来なかった。この原因として、腐植酸への Eu(III) の結合に関しては静電相互作用による結合の寄与が大きいために静電モデルである Donnan モデルを精度良く適用することが出来なかったことが理由の一つとして考えられた。そこで本章では既往の研究で提案されている中性およびカチオン型のラジカルを用いたクエンチング実験から腐植酸の電位を直接測定した。その後 NICA-Donnan モデルから計算される Donnan 電位（腐植酸内部の電位および外部に形成される電気 2 重層中の平均電位）と測定値を比較することで静電モデルである Donnan モデルの妥当性の評価を行った。

5.2 ラジカルを用いた腐植酸の表面電位測定

本実験は Green 等の手法を用いて腐植酸の電位の測定を行った⁽¹⁾。従来からラジカルが蛍光体の消光剤として働くことが知られており、本方法では両者の構造由来の消光能の寄与が同程度と考えられる構造の類似した中性ラジカルおよびカチオンラジカルを用いて、腐植酸が発する蛍光のクエンチング実験を行い、消光能の違いから腐植酸の電位の評価を行った。

ラジカルは蛍光消光過程は従来より研究されており^{(2), (3) (4)}、詳細な過程についてはいまだ未解明な部分が多いが主な蛍光消光の過程は次のように表される。



ここで F は腐植酸、 F^* は励起状態、 Q を消光剤とする。そして k_r , k_{nr} , k_{dif} , k_{que} はそれぞれ蛍光放出、無輻射失活、衝突による失活、消光剤による失活の速度定数である。エネルギーを吸収して励起状態にある腐植酸は蛍光を発する過程((5.1)式)、無輻射遷移により

基底状態に戻る過程((5.2)式)が存在する。

そして消光剤が存在する場合には励起された腐植酸は基底状態にある消光剤と相互作用をすることにより、腐植酸がエネルギーを失う過程((5.3)式)が生じる。この過程では溶媒中で腐植酸、消光剤が拡散し、それらの分子が有効衝突半径内に近づき、失活し生成系にいたる。この2つの過程の速度定数をそれぞれ k_{dif} , k_{que} とする。衝突後の失活の過程については次に挙げるように様々な反応が考えられているがどの反応が生じているかを判断するかは困難であり現在も研究が行われている⁽⁴⁾。

- (a) $M_1 * M_2 \leftrightarrow M_1 M_2 *$: 共鳴吸収
- (b) Dexter機構(交換機構)
- (c) $^1A * + D \rightarrow [A^{\cdot-}, D^{+\cdot}]$: 電荷移動
- (d) $^1A * + {}^2Q \rightarrow {}^3A * + {}^2Q$: 1重項から3重項への分子内電荷移動
- (e) 振動緩和

Green 等は様々な粘度の溶媒を用いて消光剤として用いたラジカル拡散係数測定し、ラジカルに関して速度定数(k_{que})は拡散の速度定数(k_{dif})と比較した⁽³⁾。その結果 $k_{que} \gg k_{dif}$ の関係が得られたこと、見かけの速度定数が拡散律速の速度定数に非常に近かったことから従来よりラジカルを蛍光消光剤として用いる場合にはその消光は拡散による衝突消光によるものと考えられている。

蛍光が衝突消光であることを考え、腐植酸を蛍光体、中性ラジカルを消光剤とすると Stern-Volmer の関係式は(5.4)式のように書き表される。

$$I_0 / I = 1 + k_q \tau [Q] = 1 + K_N [Q] \quad (5.4)$$

$$\therefore K_N = k_q \tau, \quad k_q \approx k_{dif} \quad \tau = \frac{1}{k_r + k_{nr}}$$

ここで I_0 , I は消光剤の無い場合、ある場合の蛍光体の蛍光強度であり、 $[Q]$ は消光剤(ラジカル)濃度、 τ = 蛍光体の蛍光寿命、 K_N は中性ラジカル Stern-Volmer 定数を示している。同様に腐植酸を蛍光体、カチオンラジカルを消光剤とすると Stern-Volmer は(5.5)式のように表される。

$$I_0 / I = 1 + k_q \lambda \tau [Q] = 1 + K_c [Q] \quad (5.5)$$

$$\therefore K_c = k_q \lambda \tau, \quad k_q \approx k_{dif}$$

ここで K_c はカチオンラジカルの Stern-Volmer 定数である。Green 等によると腐植酸に対して中性ラジカル、カチオンラジカルを用いた場合その消光能は異なりカチオンラジカルの方が強い消光能を持っていることが報告した。そして、その消光能の違いは負の電荷を有する腐植酸との静電相互作用によるものであり、正の電荷を有するカチオンラジカルが腐植酸分子の近傍で濃縮されるためであると考え、カチオンラジカルの Stern-Volmer 定数に次のようなボルツマン因子 λ を加えることで補正を行うことができることを示した。

$$\therefore K_c = K_N \exp(-\phi/k_B T) \quad (5.6)$$

$$\lambda = \exp(-\phi/k_B T)$$

上式で ϕ は腐植酸の電位、 k_B はボルツマン定数、 T は絶対温度である。これらのことから中性ラジカルとカチオンラジカルを消光剤として用いて、腐植酸の蛍光を測定し Stern-Volmer プロット (I_0/I vs $[Q]$) を行い、それぞれの Stern-Volmer 定数を求めボルツマン因子を算出し、式から腐植酸の表面電位を算出することができる。

本章では中性ラジカルとして 4-hydroxy-tempo(tempol)、カチオンラジカルとして 4-amino-tempo(tempamine)を用いて、ここで述べた方法により腐植酸の表面電位を算出した。本実験で消光剤として用いたラジカルは図 5.1 に示したような類似した構造をしており、先ほども述べたようにカチオンラジカルでは電荷を有するという以外因子が非常に類似していることが考えられる。よって(5.6)式に挙げたように静電相互作用の効果を直接的に評価することが出来る

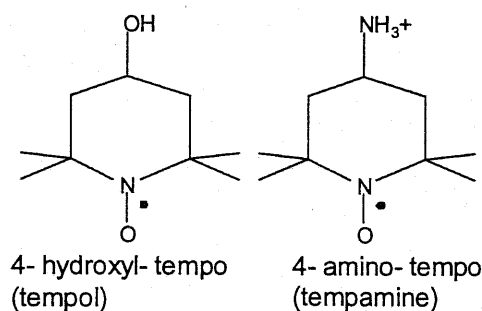


図 5.1 2 種類のラジカルの構造式

5.3 実験方法：腐植酸の表面電位測定

5.3.1 試料の調整

PAHA20mg を 0.1M NaOH に完全に溶解させ、メスフラスコを用いて全量を 50ml とし

て腐植酸溶液の pH が 10 以上であることを確認した後 1 日間攪拌した. この溶液 5ml を分取し, 200ml のメスフラスコを用いて濃度を 10mg/l になるように希釈し, pH を 4.00 ± 0.05 , 6.00 ± 0.05 , 8.00 ± 0.05 . 塩濃度は 1M NaClO_4 の溶液を用いて 0.1M, 0.01M に調整した. 本研究ではラジカルの試料として tempol, tempamine を用い, ラジカル濃度はともに 0.05M, pH を 4.00 ± 0.05 , 6.00 ± 0.05 , 8.00 ± 0.05 の溶液を調整して実験に用いた. ここで調整した腐植酸溶液, ラジカル溶液は遮光し冷蔵庫で保存した.

5.3.2 クエンチング実験

実験では図 5.2 に示したようなパルス幅 100fs, レーザーパワー約 0.12mJ のフェムト秒レーザーを用いて腐植酸の蛍光測定を行った. 実験には容量 30ml の石英セルを用い, 実験中溶液は常にスターラーで攪拌した.

調整した腐植酸溶液 15ml をセルに入れて pH を HClO_4 , NaOH を用いて 4.00 ± 0.05 , 6.00 ± 0.05 , 8.00 ± 0.05 に調整した. その後フェムト秒レーザーを用いて腐植酸の蛍光強度, 蛍光寿命の測定を行った. 蛍光測定は励起波長 394nm, 積算回数 1000 回で行った. その後 tempol 溶液を $5 \mu\text{mol}$ となるように加えて, pH を再び 4.00 ± 0.05 , 6.00 ± 0.05 , 8.00 ± 0.05 に調整した後蛍光強度, 蛍光寿命の測定を行った. この操作をラジカル濃度約 $43 \mu\text{mol}$ になるまで行った. tempol 溶液を加えた場合についても pH 4.00 ± 0.05 , 6.00 ± 0.05 , 8.00 ± 0.05 , 塩濃度 0.1M, 0.01M の条件で同様の操作を行った.

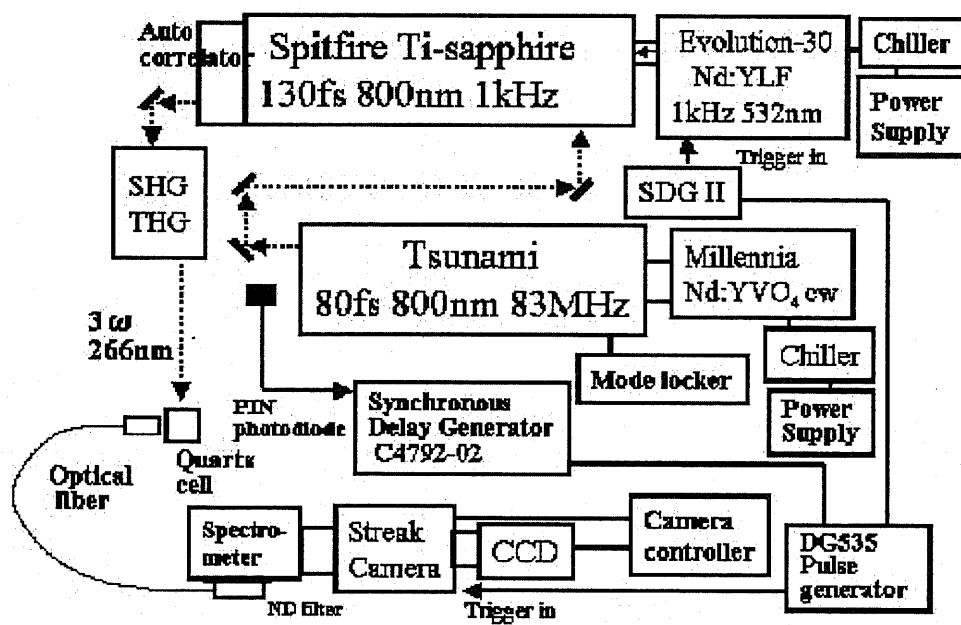


図 5.2 フェムト秒レーザーの装置概要

5.4 測定結果の解析

5.4.1 蛍光測定

図 5.3, 図 5.4 に本実験で測定した pH4, 塩濃度 0.01M の条件での蛍光スペクトルと蛍光減衰曲線を示した。腐植酸の蛍光スペクトルは第 2 章で示したように励起波長/蛍光波長 = 450/520nm, 250/475nm に 2 つのピークを持つなだらかな曲線を示す。本実験では蛍光波長 450nm~650nm の蛍光強度を積分することで励起波長 394nm の蛍光強度とした。また, 腐植酸の蛍光寿命の減衰もブロードな曲線を示した。これは腐植酸が複数の発色団を含みそれらの寿命が重なっているからである。従来の研究から腐植酸の蛍光減衰曲線は 2 成分あるいは 3 成分の蛍光寿命を用いて記述され, 蛍光寿命 1ns 未満の成分と 1ns より大きな蛍光寿命を持つ成分の存在が報告されている⁽⁵⁾。本研究では測定された減衰曲線に対して 2 成分の蛍光寿命を用いた指数関数の和を仮定し、最小二乗法でフィッティングを行った。

$$I = A_1 e^{-\frac{t}{\tau_1}} + A_2 e^{-\frac{t}{\tau_2}} \quad (5.7)$$

本実験で測定した pH4, 塩濃度 0.01M の条件での腐植酸の蛍光寿命は 0.62ns、3.27ns という結果が得られた。

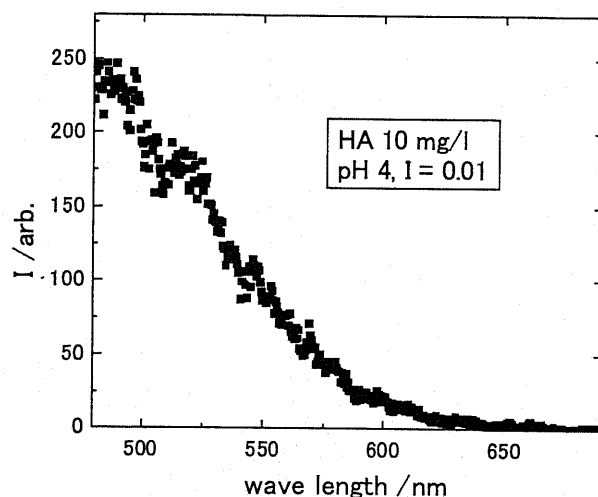


図 5.3 腐植酸の蛍光スペクトル

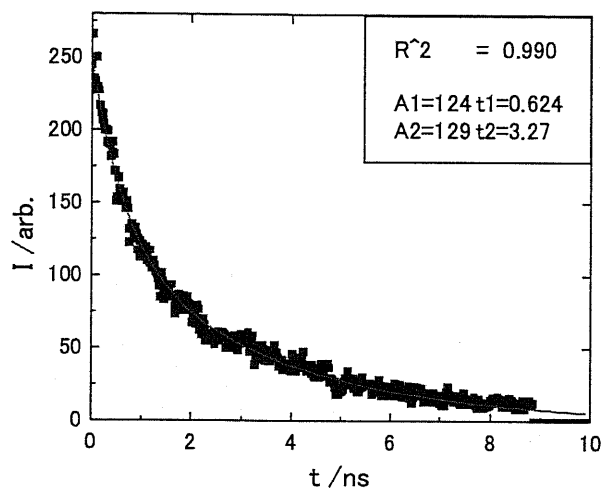


図 5.4 腐植酸の蛍光寿命の減衰曲線

図 5.5 に本実験で測定した蛍光寿命と傾向強度の関係を示した。実験一例として pH4、塩濃度 0.01M、ラジカルは tempol を用いた場合の結果である。縦軸は消光剤の無い場合に測定された蛍光強度に対する消光剤を加えた場合に測定された蛍光強度の比を示し(I_0/I)、横軸には消光剤の無い場合に算出された蛍光寿命に対する消光剤を加えた場合に算出された蛍光寿命の比を示している(τ_0/τ)。ここで蛍光寿命は 2 成分存在する蛍光寿命のうちで長寿命の成分を用いてプロットを行った。その結果 I_0/I の値は τ_0/τ とほぼ等しいという結果が得られた。

蛍光の消光は大きく分けて静的消光、動的消光に分けられる。静的消光は蛍光体が消光剤と化学反応を生じることで蛍光を発することが無い生成物を生じ、その結果蛍光体の絶対量が減少することで測定される発光量が減少する現象である。一方で動的消光は蛍光体と消光剤の反応が生じる前に拡散により生じる蛍光体と消光剤の衝突を考える。励起状態にある蛍光体は消光剤との衝突によりエネルギーが放出され、その結果発光量が減少する現象である。蛍光寿命は簡単のために蛍光放出の速度定数 k_r と無輻射遷移の速度定数 k_{nr} を用いて(5.2)式のように表せる⁽¹⁾。

$$\tau = \frac{1}{k_r + k_{nr}} \quad (5.7)$$

図 5.6 に示されるように静的消光の場合には蛍光体の絶対量が減少するだけであるので

速度定数の変化は無い。よって消光剤が加えられた場合にもその蛍光寿命は変化しない ($\tau_0/\tau=1$)。一方動的消光の場合には蛍光を放出して失活する過程の速度定数の他に衝突によりエネルギーが減少する過程の速度定数が存在するために、消光剤が加えられた場合にはその蛍光寿命は変化し蛍光強度と蛍光寿命の間には次のような関係がある⁽⁶⁾。

$$\frac{I_0}{I} = \frac{\tau_0}{\tau} \quad (5.8)$$

図 5.5 より腐植酸の蛍光を tempol を用いた場合には(5.3)式に近い関係が得られたと考えられた。その結果従来の研究で考えられているようにラジカルの消光では拡散律速の衝突による動的消光が生じていると考えられた。この結果から腐植酸の蛍光消光には化学反応による過程を無視することができ、(5.4)式、(5.5)式を用いることができると考えた。

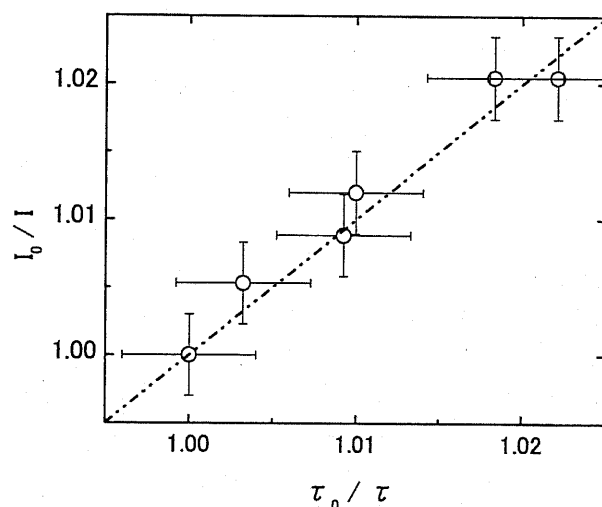


図 5.5 蛍光強度と寿命の関係

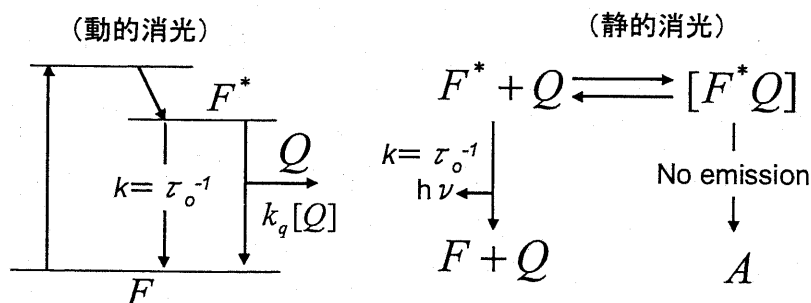


図 5.6 動的消光と静的消光の比較⁽⁶⁾

5.4.2 表面電位の算出と比較

図 5.6 一例としてに pH4, 塩濃度 0.01M の条件で測定した結果に対しての Stern-Volmer プロットを示した。●のプロットは中性ラジカルである tempol, ▲のプロットはカチオンラジカルである tempamine を用いた場合の結果である。図 5.6 から腐植酸の蛍光は中性ラジカルを用いた場合に対してカチオンラジカルを用いた場合の消光能が非常に高く, 腐植酸とカチオンラジカルが相互作用する効果が大いことがわかる。また, 両方のラジカルを用いた場合でも Stern-Volmer プロットは直線を示し, これより消光過程がただ一つの励起状態から生じていることが推測される。

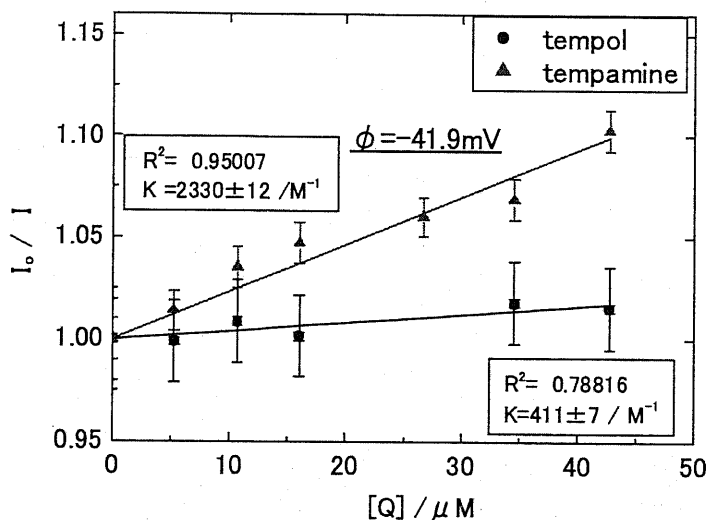


図 5.7 Stern-Volmer プロット

Stern-Volmer プロットを用いて先に述べた方法により腐植酸の表面を求めた。図よりカチオンラジカルを用いた場合, 中性ラジカルを用いた場合の Stern-Volmer 定数はそれぞれの直線の勾配より 2.33 mM^{-1} , 0.411 mM^{-1} という値が得られた。この 2 つの Stern-Volmer 定数の違いが腐植酸の電荷による静電相互作用によるものであると考えて, 次式により表面電位を算出した⁽¹⁾。

$$\phi = -k_B T \ln \frac{K_c}{K_N} = -4.11 \times 10^{-21} \times \ln \lambda \quad (5.9)$$

上式より pH4, 塩濃度 0.01M の条件での腐植酸の表面電位は -41.9 mV と算出された。pH6, pH8, 塩濃度 0.1M の場合で同様に表面電位を算出し表 5.1 に結果を示した。本研究で算出

した腐植酸の表面電位は pH が高い程、塩濃度が低いほど電位は負で大きいという結果が得られた。腐植酸は pH が高くなるにつれて官能基が解離するために電位は負で大きくなること、塩濃度が高くなるにつれて腐植酸の電荷が遮蔽されるために官能基が解離しやすくなり電位が負で大きくなるという現象を説明することができるために妥当な結果が得られたと考えられる。

表5.1 本実験から求めた腐植酸の表面電位

	pH4	pH6	pH8
塩濃度0.1M	-41.9mV	-54.3mV	-69mV
塩濃度0.01M	-59mV	-70.3mV	-84mV

図 5.8 に本章で測定した腐植酸の電位と、第 3 章で本研究で測定した結合等温線に対して NICA-Donnan モデルのフィッティングを行うために用いた斉藤により測定された滴定曲線より求められた Donnan 電位の値を示した。Donnan 電位は滴定曲線に対して NICA-Donnan モデルを適応し、第 4 章で示したように次式において b の値を決定することで Donnan 体積 V_D を決定し、滴定曲線より求められる電荷量から粒子内の電荷密度(ρ)を決定することで(5.10)から求める事が出来る⁽⁷⁾。

$$\log V_D = b(1 - \log I) - 1 \quad (a, b: \text{const}, b > 0) \quad (5.10)$$

$$\rho = -2Fc_{\text{salt}} z_{\text{salt}} \exp\left(\frac{-Z_{\text{salt}} e \psi_D}{kT}\right) \quad (5.11)$$

図 5.8 に本章で行ったように腐植酸の蛍光測定を行うことで腐植酸電位の評価を行った場合と、滴定と NICA-Donnan モデルを組み合わせることにより算出した Donnan 電位の値を示した。○は塩濃度 0.1M の、●は塩濃度 0.01M の条件で本研究で測定した結果であり、—は塩濃度 0.1M の、---は塩濃度 0.01M の条件での Donnan 電位の結果である。図 5.8 より本実験によって求めた腐植酸電位と、NICA-Donnan モデルにより算出された腐植酸の電位の値は異なる値を示した。電位の絶対値は全実験条件において Donnan 電位が高い値となった。また、pH が異なると、2 種類の方法のより求めた腐植酸の電位の差が変化するという結果が得られた。特に pH6 の場合に電位の違いが大きくなり塩濃度 0.1M の条件では約 16mV の差が生じ、塩濃度 0.01M の場合では約 14mV の差が生じた。本実験では腐植酸の蛍光を中性ラジカルで消光する際に、中性ラジカルの消光能は非常に小さいためにレーザー強度の変化による実験誤差が大きくなる。その結果算出される電位も大きな実験誤差が生じ、測定した電位に対して約 15mV の誤差が生じた。しかしながら pH4 をのぞく全ての条件で平均的に電位の絶対値は Donnan 電位が大きいという結果が得られた。このこと

からクエンチング法から評価される電位の絶対値は誤差を考慮しても Donnan 電位に対してより小さくなることがわかる。

Donnan モデルでは Donnan 体積を腐植酸の仮想的な体積であると考えて Donnan 体積が電気的中性が成立するという考えを用いている。そして、Donnan 体積は(5.10)式に示されるように溶液中の塩濃度により決定するという経験式が提案されている。これは粘度測定を行い、pH による体積変化が塩濃度による体積変化が大きいために pH による変化を無視して考えている⁽⁷⁾。しかしながら実際には溶液中の塩濃度が変化すると pH が若干変化すると考えられる。その結果 pH が高くなる場合には腐植酸が有する官能基解離することで、それぞれの官能基は負の電荷を有することになる。そして腐植酸の官能基は負の電荷同士が反発することで、腐植酸の体積が変化する。Donnan モデルではこのような塩濃度の変化により生じる pH の変化と、その結果生じる体積変化が考慮されていない。クエンチング実験の結果から Donnan 電位は腐植酸分子周辺の電位を過大評価している可能性が示唆されており、これは Donnan 体積が過小評価されている可能性を示していると考えられた。

本実験で測定した腐植酸の電位と Donnan 電位が異った上記以外の理由として Donnan モデルで考えている腐植酸の形状について考察した。NICA-Donnan モデルでは腐植酸を球状のゲル状物質として扱っている。そして腐植酸は柔らかな粒子であり、その表面上に多数の官能基を有しており、それらの官能基からプロトンが放出されることで電気二重層が形成されている。そこで腐植酸の中心から電気二重層までに存在する対イオンが中和されるという考えを用いている。しかし、腐植酸は溶液中の条件が異なるとその形状が変化することが知られている⁽⁹⁾。低 pH、高塩濃度では球状に近い形態を保っているが、高 pH、低塩濃度になると腐植酸は内部の静電相互作用により膨潤した形態となり、低 pH、高塩濃度の場合と比較して平らな形となる。本実験の結果では、pH が低い場合には実験で得た電位の値と Donnan 電位の値が近い値を示し、pH が高くなるにつれて両者の差が大きくなったが、塩濃度の違いによる両者の差が小さくなった。Donnan モデルの形状に問題があるならば、実験で得た腐植酸の電位と Donnan 電位は pH、塩濃度それぞれに対して大きく違いが見られることが予想される。よって本実験の実験条件下においては Donnan モデルで想定する腐植酸の形状の効果は大きく影響しないと考えた。よって上述したように腐植酸の体積の塩濃度依存性を評価する際に pH の影響を考慮することが最も重要であると考えられた。

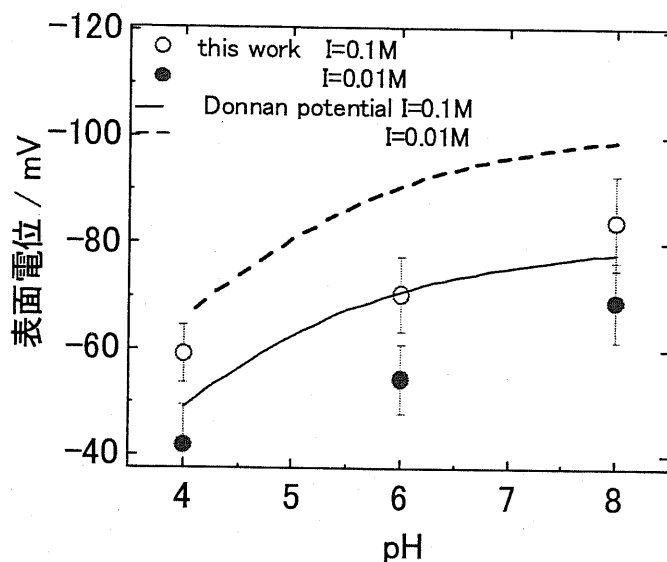


図 5.8 測定方法による電位の違い

5.5 第5章のまとめ

本章ではまず中性ラジカルと、カチオンラジカルを用いることで腐植酸の表面電位の測定を行った。本章で測定した方法で測定した結果、腐植酸の電位は pH が上昇すると負で増加し、塩濃度が増加すると減少するという結果が得られた。これは pH が増加すると腐植酸が解離して腐植酸の電位が増加することや、塩濃度が増加すると腐植酸の電位が遮蔽され、官能基が解離しやすくなることから腐植酸の電位が負で増加するという現象を説明する事が出来た。そこで本研究で測定した腐植酸の表面電位の測定結果は妥当であると考えられた。

また次に本研究で腐植酸と金属イオンの結合モデルである NICA-Donnan モデルを腐植酸の滴定曲線に対して適応した結果得られる Donnan 電位との比較を行った。その結果本章で測定した腐植酸の電位は Donnan 電位に対して高い値が得られた。第4章では測定した結合等温線に対して NICA-Donnan モデルを正確に適応する事が出来なかった。この理由として本研究で用いた静電モデルである Donnan モデルが正確に腐植酸の電位を決定する事が出来なかったことが原因の一つという事が確かめられた。

第5章の参考文献

- (1) S. A. Green, Investigation of the electrostatic properties of humic substances by fluorescence quenching, American chemical society, 294,26(1992)
- (2) J. A. Green, and S. A. Lawrence, Fluorescence quenching by the stable free radical di-t-butyl nitroxide, the journal of chemical physics, 2690, 58(1973).
- (3) S. A. Green, D. J. Shimpson, G. Zhou, P. S. Ho, and N. V. Bloogh, Intramolecular quenching of excited singlet by stable nitroxyl radicals, journal of American chemical society, 7337, 112(1990).
- (4) N. V. Bloogh, Electron paramagnetic resonance measurements of photochemical radical production in humic substances. 1. Effects of O₂ and charge on radical scavenging by nitroxides, Environmental science technology, 77, 22(1988).
- (5) S. Chen, W. P. Inskeep, S. A. Williams and P. R. Callis, Fluorescence lifetime measurements of fluoranthene, 1-Naphthol, and Napropamide in the presence of dissolved humic acid, Environmental science technology, 1582, 28 (1994).
- (6) J. Lakowicz, Principles of fluorescence spectroscopy; Plenum Press: New York, 1983.
- (7) 斉藤拓己, 長崎晋也, 田中知, 腐植物質への金属イオン結合挙動のモデル化: 離散的および連続的親和定数分布モデルの比較, 日本原子力学会和文論文誌, 215, 3 (2004).
- (8) Saito. T, et al., Electrostatic interaction models for ion binding to humic acid, Colloid and surface A, 2004.
- (9) M. J. Avena and L. K. Koopal, Environmental Science Technology, 2739, 33 (1999).

第 6 章 結言

本研究では腐植酸への3価の金属イオンであるEu(III)の結合挙動を解明することを目的として研究を行った。特に本研究では腐植酸に対するEu(III)の結合挙動をNICA-Donnanモデルを用いて記述することでEu(III)の結合挙動を検討することを目的とした。

第2章ではAldrich社製の腐植酸の精製を行い、その後精製済み腐植酸を用いてUV-visスペクトル、赤外吸収(IR)スペクトル、3次元蛍光スペクトルの測定を行った。その結果本研究で精製した腐植酸は過去の研究で用いられたAldrich腐植酸のスペクトルと比較してピークの位置などが類似の結果を示した。そこで本研究で用いる精製済み腐植酸は従来報告されている腐植酸と同様にカルボキシル基、フェノール基を多く有し、芳香環に富むような構造をしていることが推測された。しかし他の精製方法を用いた場合と比較して脂肪鎖が多いということも推測された。

第3章では腐植酸へのEu(III)の結合等温線の測定を行った。結合等温線の形状は従来の研究で報告されているようにpHが上昇するにつれて結合量が増加し、また塩濃度が増加するにつれて結合量が減少するという結果が得られた。本研究では3価の金属イオンであるEu(III)の結合等温線を幅広い条件(金属濃度、塩濃度、pH)で測定することが出来た。結合等温線のpH依存性をCu(II)などの金属の結合等温線と比較した。その結果腐植酸とEu(III)の結合等温線のpH依存性はCu(II)等の金属と比較して小さいことが分かった。このことから腐植酸へのEu(III)の結合においては特異結合の寄与が少ないことが示された。また、腐植酸とEu(III)の結合等温線の塩濃度依存性についても同様にCu(II)などの金属と比較した。その結果腐植酸へのEu(III)の結合等温線の塩濃度依存性はCu(II)などの金属と比較して大きな値を示した。この結果から腐植酸へのEu(III)の結合は静電相互作用による結合の寄与が大きいということが示唆された。つぎにpH4とpH6, pH6とpH8でEu(III)の結合等温線のpH依存性を調べた。その結果pHが上昇するするとpH依存性が増加し、このことからpHが上昇することにより腐植酸のフェノール基が解離し、フェノール基と特異結合を形成することでpH依存性が増加するという結論が得られた。また、このようなEu(III)の腐植酸に対する結合挙動はEu(III)の“硬い酸”としての性質と一致しており、腐植酸の官能基と金属イオンとの結合に関してもHSAB則を適用することが出来る可能性が考えられた。

第4章では腐植酸とEu(III)の結合等温線に対してNICA-Donnanモデルの適応を試みた。しかし、本研究で測定された結合等温線に対してNICA-Donnanモデルを全実験条件でフィッティングすることが出来なかった。特に塩濃度が低い条件下でフィッティングすることが出来なかった。第3章で腐植酸へのEu(III)の結合には静電相互作用の寄与が大きいということが示されている。そこで静電相互作用の効果が大きな低塩濃度の条件では、静電モデルであるDonnanモデルが正確に結合等温線を記述することが出来なかったという可能性が挙げられた。また、NICA-Donnanモデルを適応する際に用いた腐植酸と結合等温線を作成する際に用いた腐植酸が異なったことが原因である可能性も考えられた。

第5章では中性ラジカルと、カチオンラジカルを用いることで腐植酸の表面電位の測定

を行い、腐植酸と金属イオンの結合モデルである NICA-Donnan モデルを腐植酸の滴定曲線に対して適応した結果得られる Donnan 電位との比較を行った。その結果実験により求められた腐植酸の電位は Donnan 電位に対して高い値が得られた。この結果を考慮すると第 4 章で NICA-Donnan モデルが幅広い条件下で適応する事が出来なかった原因の一つとして静電モデルの再考する必要性がある事が示唆された。

上記で述べたように、本研究では NICA-Donnan モデルを用いて 3 価の硬い酸に対して正確に記述する事が出来ないという結論を得たが NICA-Donnan モデルは現在提案されているモデルの中で、最も広い条件下で成立することが出来るモデルである。そして硬い酸に関しても Ca(II) のような 2 価の金属に対しては適応する事が出来る。このことから、静電モデルの検討など再考する必要性があることが考えられた。そこで、本研究では NICA-Donnan モデルを適応するためのプロトン NICA-Donnan パラメータとして過去の研究で測定されたものを用いたが、本研究で結合等温線を測定した時に用いた腐植酸の滴定を行うことで腐植酸の静電モデルの検討を再び考察する。

- ・本研究の総括をまとめる。本研究では目的として土壌環境中における有害金属の移行挙動を知るための知見を得るために、腐植酸への Eu(III) の研究を行った。その結果 3 価の金属イオンと腐植酸の結合に関しても 2 価の金属イオンと同様に HSAB 則を適応することができる可能性を示し、これは腐植酸の凝集などが生じやすく実験が困難である多価の金属イオンと腐植酸のリスクアセスメントを行う上で重要な知見を得ることが出来た。

謝辞

本研究を進めるにあたり、多くの方々にお世話になりました。改めて御礼申し上げたいと思います。

長崎晋也助教授には研究の指導や、論文、要旨の手直し、そして発表練習など様々な面でサポートしていただきました。特に発表練習・論文の手直しでは私の言葉や説明が不十分な部分を補っていただき感謝の念でいっぱいです。

田中知教授には、修士1年生の時に休日であるにもかかわらず私の研究に対して長時間の議論を行っていただき、また私の研究に対して多くの提案・改善点を親身になって考えていただいたことに対して大変感謝しております。

門信一郎助教授、常田貴夫助教授には研究室会などで、本質的なコメントいただき研究を行う上で非常に参考になりました。

虎石貴助手には研究室会、勉強会での貴重なコメント以外にも実験室などでも随所に渡りアドバイスを頂きありがとうございました。また、研究以外にもお酒を飲んだ場合の正しい暴れ方など多くのことを学ばせていただきました。

技官の林恵理子氏には、セメントの実験を行う上で分析など多くの作業を任せてしまい本当にご迷惑をおかけしました。しかし、林さんに分析を行っていただいたおかげで本研究に専念出来ました。

D3の斉藤さんには初めから最後まで常に迷惑をかけっぱなしで感謝の言葉もありません。実験計画から、実験方法やその解析、解釈などお世話になったことを挙げるときがありません。特に、研究に行き詰まりそうになった時にはいつも核心を突いたアドバイスをいただけたことを非常に感謝しています。

D2の青柳さんにはM1当初からいろいろお世話になり、今年度では実験装置の使い方やそのフォローなど本当にありがとうございました。

また、研究室の先輩梶田さん、大石さん、小田さん、四竈さんには研究室会での議論だけでなく私生活において様々な面倒を見ていただき非常に感謝しております。

同期の平兼君、須藤さんや、後輩の飯田君、服部君、氷見君、山崎君等他の院生、卒業生の方々に対しても日ごろ楽しい研究の環境を作っていただいたことを感謝します。

2005年2月 水島康博