海水中Arsenobetaineの光反応

隅田　　隆

1．はじめに

ヒ素は、様々な無機・有機ヒ素化合物の存在が知られている。Fig.1にいくつかのヒ素化合物の構造式を示す。海水中でのヒ素の溶存濃度は約2ng／mlで、主にヒ酸（As^{V}）、亜ヒ酸（As^{III}）、として存在するが、その他低濃度ではあるがメチルアルソン酸（MMAs）、ジメチルアルシン酸（DMAs）の形態がある。また、生物生体内ではアルセノベタイン（AsB）、トリメチルアルシノオキサイド（TMAsO）、アルセノコリン（AsC）、アスセノシュガーなどの形態が比較的高濃度で確認されている。濃度の鉛直分布では、As^{III}、MMAs、DMAsはスキャベンジング型と言われる分布を示し海表層で高く深くなるにつれ減少していく。As^{V}は栄養塩類型を言われる分布を示し深くなるにつれ増加していく。これらは、表層付近でのAs^{V}の生物（主に植物プランクトンなどの一次生産者）による取り込み、代謝（還元・メチル化によるAs^{III}、MMAs、DMAsの形成）、海水中への放出、酸化・分解によるAs^{V}の再生の過程を表すものと考えられている[1][2]。このことは、同時にAsB、TMAsO、AsCなどのヒ素化合物も海水中で溶存している可能性があり、海洋生物体の分解に伴う海水への溶存過程は海洋学的に考察することで興味深い。

また一方、元素の毒性は化学形態に依存しており、ヒ素の場合形態として、As^{III}＞As^{V}＞DMA＞MMAs＞AsB、AsC、TMAOの順で毒性が増加し、一般的にヒ素の有機メチル化が解毒性をもつことになる[1][3]。そういった環境汚染評価のためにも個々の化学形態の濃度定量が重要となっている。

ICP-AES、ICP-MS、GF-AASなどAs^{III}、As^{V}、DMA、MMA、TMAsOのスペシエーションが研究されているが[4]~[11]、AsBの直接定量までには応用されていない。それは、AsBが$(CH_3)_3-As^+-CH_2COO^-$の4級アルキル構造を持ち周囲の酸化状態に対し水溶液中で非常に安定な構造であるためである。それゆえ、還元気化法でも水素化及び気化が難しく確実な定量までには至っていない[1]。

この問題を解決するためには、AsBを水素化物発生可能な化合物に変換する必要がある。そこで、本研究では光化学反応を利用したAsBの分解を検討した。光化学反応を利用する分析方法は、高温・高圧を必要とせず、有害な試薬の消費を大幅に削減できる可能性がある。このため、安全で環境への負荷が小さく、装置のダウンサイズ化やメンテナンスフリー化にも貢献するものと考えられてい

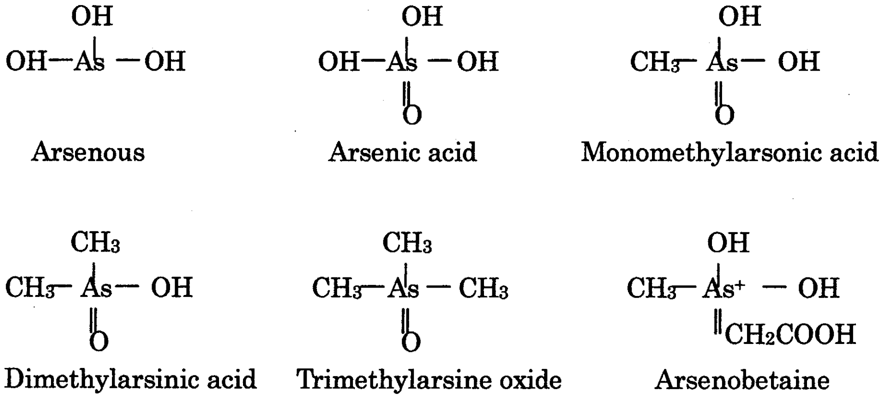

Fig.1 Structural formula of several Arsenic species.

る。水中での紫外線（UV）による酸化分解における反応活性種としては、主として水酸基ラジカル（OH・）、過硫酸ラジカル(SO_4^{-}・）などがある。OH・は通常はH_2O_2に254nmのUVを照射して生成されるが、H_2Oに185nmの光を照射しても生成し（1式）、H_2O_2の添加は必要がない。強力な酸化剤として知られるペルオキソ二硫酸塩はUVにより$S_2O_8^{2-}$からSO_4^{-}・が生成（2式）され有機物と反応する。また、SO_4^{-}・は水と反応（3式）し、OH・が酸化反応に関与する[12][13]。

$$H_2O + h\nu \rightarrow H^{+} + H\cdot \quad (1)$$

$$S_2O_8^{2-} \rightarrow 2\,SO_4^{2-} + h\nu \rightarrow 2SO_4^{-} \quad (2)$$

$$SO_4^{-}\cdot + H_2O \rightarrow HSO_4^{-} + OH\cdot \quad (3)$$

AsBはこのような生成したラジカルによって酸化分解されると期待される。本稿では低圧水銀ランプを有する光分解装置を試作し、その酸化分解挙動やペルオキソ二硫酸カリウム添加による効果を調べた。また、分解条件を最適化し海水適用について報告する。

2．実験方法

実験は、以下の試薬と装置を用い光分解及びその分析を行った。

2－1．試薬

実験に用いた標準溶液は、As^{V}は高純度試薬$Na_2HasO_4 \cdot 7H_2O$（和光）、As^{III}は1000μg／ml原子吸光用標準液（和光）、MMA、DMA、TMAsO、AsBは各高純度試薬$CH_3AsO(OH)_2$、$(CH_3)_2AsO(OH)$、$(CH_3)_3AsO$、$(CH_3)_3AsCH_2COOH$（TRI Chemical Laboratory）を用いた。それぞれは、1μg／ml（AsBは100μg／mlと1μg／ml）に調整し用いた。0.35mM硫酸ナトリウムLC用溶離液は、分析用試薬Na_2SO_4（無水、和光）を溶解し1M硫酸にてpH＝3.8に使用時調整して用いた。硫酸は分析用超高純度試薬H_2SO_4（関東化学、）を用いた。酸化剤ペルオキソ二硫酸カリウムは、高純度分析用試薬$K_2S_2O_8$（Merck）を用いた。塩化ナトリウムは標準試薬NaCl（松永化学）を用いた。すべての溶液調整は超純水（Milli-Qlow TOC systemミリポア、USA）を使用した。

2－2．装置

2－2－1．光反応装置

Fig.2、Fig.3に光反応装置の略図を示す。UVランプは、6Wの低圧水銀灯で、発光線は254nmと185nm、総長150㎜外径15㎜のガラス製ランプを使用した。ランプ管の中を内径2㎜長さ190㎜の石英ガラス管を通しており、試料はこのガラス管を流れながらUVの照射を受け分解分解がおこる。試料は移動相として用いた超純水と共に、島津LC-10ATポンプと100μlの注入量のサンプルインジェクションバルブ（9725i、Rheodzu LC-6A USA）より流入させ、酸化剤ペルオキソ二硫酸カリはサヌキ工業SNK-SR3000ポンプで流し、混合後にUV管を通した。

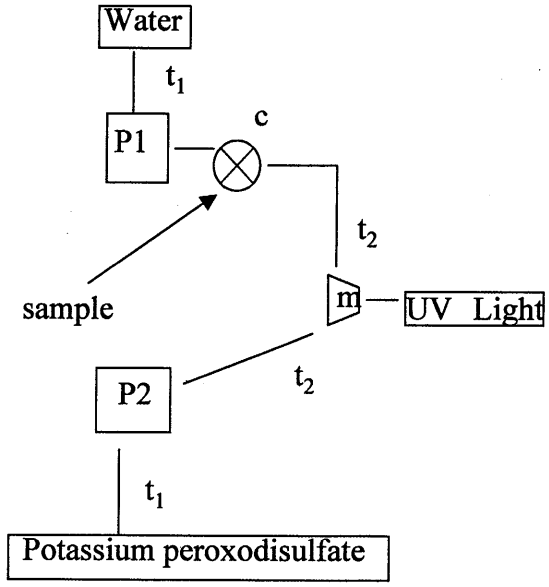

Fig.2 Schematic manifold of Photo reaction system ; t1 : Poly(tetrafuluoroethylene)tube(1.5mm id), t2:Poly(tetrafuluoroethylene)tube(0.5mm id), P1: Plunger pump.SHIMADZU LC-10AT pump,c:Sample injection valve RHEODYNE 9725i with 100μl peek sample loop, P2:Plunger pump.SANUKI-KOUGYO SNK SR-3000,m: Peek mixingtee.

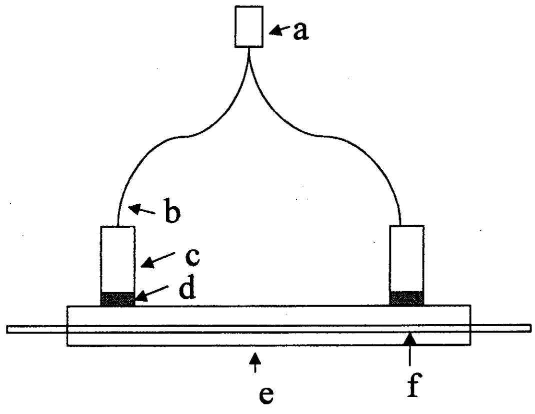

Fig.3 Design of the UV light(low-pressure mercury lamp) for photo reaction
a:Connector(6.6-Nylon);b:Lamp-lead(Teflon)、c:Lamp-base(Aluminum) 、d:Electrode、e:Lamp of luminescet tube(synthesis quart,15mm id,150mm length)、f: Sample tube (Synthesis quart,2.0mm i.d.,4.0mm o.d,190mm length)

2－2－2．LC-ICP-MS装置

分解した試料の形態別ヒ素の測定は、LC-ICP-MSにて行った。液体クロマトグラフィはYOKOGAWA IC7000液体クロマトグラフィを使用した。カラムはカルボキシル基を持つ親水性のメタクリレートを基材とするイオン排除カラムでTSKgel OApak-A（30㎝　東ソー）、溶離液はpH3.8に調整した0.35 mMの硫酸ナトリウム溶液を流速1.0ml／minで用いた。ICP-MSはICPM-8500（島津）を使用した。Table1に測定条件を表す。

3．結果及び考察

3－1．ペルオキソ二硫酸カリウムによるAsBの酸化分解効果

光分解を行う前に、有機体窒素やリンを分解するのによく利用されている酸化剤ペルオキソ二硫酸カリウムを用いて、AsBの分解を試みた。10 μg／ml AsB溶液に酸化剤ペルオキソ二硫酸カリウムを1％濃度、室温で放置し経時変化を調べた。Fig.4に反応前のAsBと47時間放置後のAs分解生成物のクロマトグラムを示した。Fig.4からペルオキソ二硫酸カリウムによるAsBの分解効果がわかる。また、Fig.5にAsBの時間あたりの分解変化を示した。AsBはAsB→TMAsO→DMAs→MMAsの分解過程を経ることが判った。次に、Fig.6に、反応時間に対するAsB濃度変化率の対数値（ln

Table 1 Instrumental operating conditions for LC and ICP-MS.

ICP-MS parameters	
Forward power／kw	1.2
Ar plasma gas／lmin-1	7.0
Ar auxiliary gas／lmin-1	1.5
Ar carrier gas／lmin-1	0.6
Sampling depth ／mm	5.0
Measured／ m z-1	75
Nebulizer	Concentric Type
Dwell time／ms	500
LC parameters	
Column	TOSOH TSKgelOApak-A
Mobile phase	Sodium sulfate (pH3.8)
Flow rate of mobile phase／ml min-1	1.0
Sample injection volume ／μl	20
Detection limits of Arsecic chemical species	
As^{V} ／ ng ml-1	0.01
MMAs ／ ng ml-1	0.01
DMAs ／ ng ml-1	0.01
As^{III} ／ ng ml-1	0.02
AsB ／ ng ml-1	0.01
TMAsO ／ngml-1	0.02

[C_0／C_t]）をプロットした。良好な直線が得られることからAsB濃度の１次反応式で表すことができる。ここで、Fig.5は（４）式で表され、AsB濃度の半減期は（４）式で$C_t=C_0/2$を代入して（５）式により求めることができる。求めた半減期は12.6時間であった。

$$\ln [C_0/C_t] = k_1 t \qquad (4)$$

$$t_{half.life} = \ln_2 \;/\; k_1 \qquad (5)$$

（k_1：AsBの速度定数）

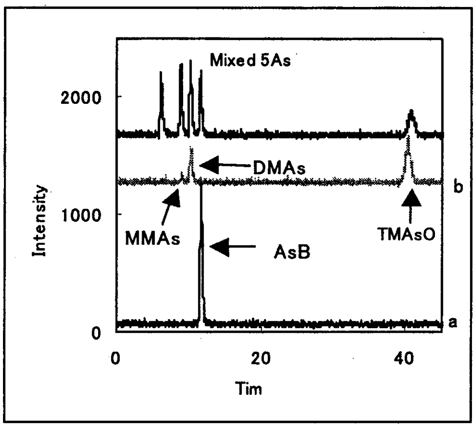

Fig.4 Chromatograms for MMAs,DMAs,AsB and TMAsO.a:before reaction,b:reaction after 47h.Top Was Chromatograms of reference mixed As STD (As^V,MMAs,DMAs,AsBand TMAsO in order.)

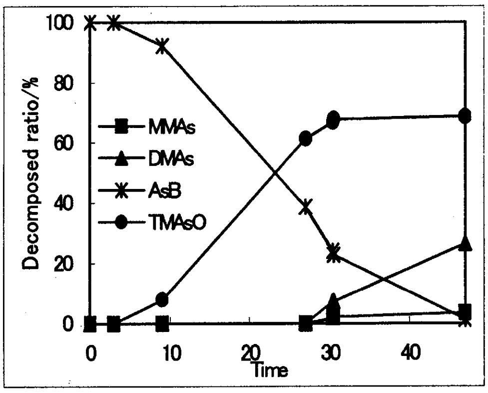

Fig.5.Time-dependent variation of MMAs,DMAs, TMAsO,AsB by the oxidation reaction;Added 1% $K_2S_2O_8$ to AsB solution.

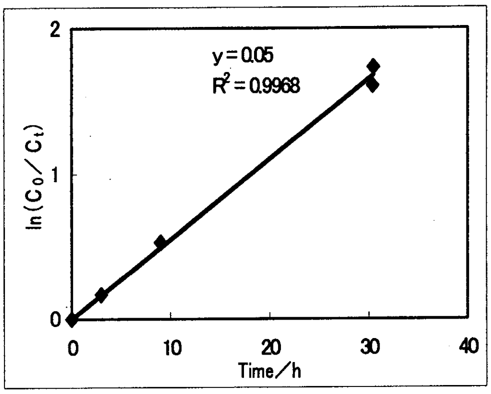

Fig.6 Decomposition of AsB by the oxidation reaction; Added $K_2S_2O_8$ to AsB;C_0 was the initial concentration of AsB,Ct was the concentration of AsB after t hours.

３－２．UVによるAsBの酸化分解効果

最初にUV照射時間の影響を調べた。試料は10 μg／ml AsB溶液を用いた。照射時間は移動相ポンプの流速を変化させることで制御した。その結果をFig.7に示す。照射時間は反応管内における試料の拡散も考慮し実測した。AsBは可視紫外吸収が小さいので、紫外吸収が大きいモリブデン酸水溶液を用いて分光光度計を使って注入開始からピーク強度最大までの時間を測定した。これを照射時間とした。これは、使用したUV185、254nm付近では塩化物イオンは極めて強い吸収を示すため[14]、AsBの分解反応を妨げていると考えられる。Fig.7よりAsBはAsB→TMAsO→DMAs→MMAs→As^Vの分解過程を経て最終的に42秒（流速1.0ml／min）ですべてAs^Vとなった。また、Fig.8は、AsB濃度変化率の対数値（ln［C_0／C_t］）vs吸収時間をプロットした。Fig.8より１次の反応速度式による濃度減少が見られた。（５）式により求めた半減期は7.5秒であり、ペルオキソ二硫酸カリウムと比較して6000倍以上速い分解効率となった。

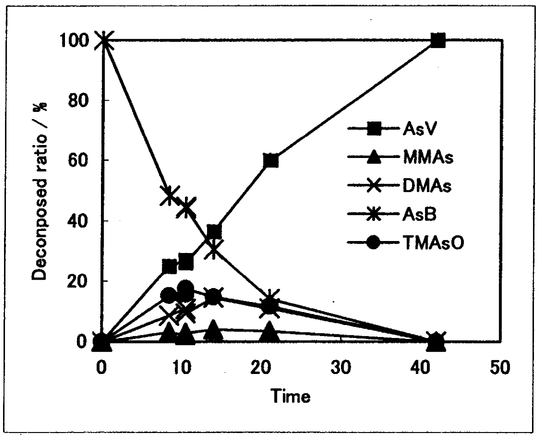

Fig.7.Time-dependent variation of As^{V}, MMAs,DMAs,TMAsO,AsB by the UV photo reaction.

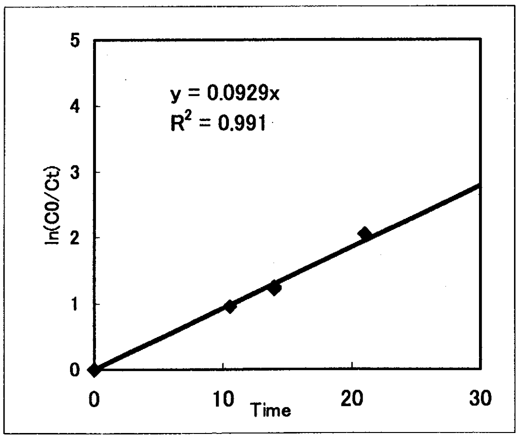

Fig.8 Time-dependent variation of AsB by the UV photo reaction ;C_0 was the initial concentration of AsB,C_t was the concentration of AsB after t sec.

3－3．塩化物イオンのUV光分解への影響

海水中には２％前後の塩化物イオンを含んでおり、海水中のAsBを定量する場合、UVの塩による影響が考えられる。そこで、塩化物イオンを加えてのUVによる分解効果を調べた。Fig.9にAsB溶液に塩化物イオン0、0.01、0.1、1.0％加えた時のAsBのUV分解率を示した。UV照射時間は、42秒（流速1.0ml／min）で行った。塩化物イオンが含まれていない時は、すべてAs^{V}まで分解が進行しているが、塩化物イオン濃度が増加すると分解率が低下した。１％塩化物イオンの場合は、６割ほどAsBが未反応で残ったままだった。塩化物イオンがUV180～260nm波長での吸収を持つため、AsB光分解の抑制となることがわかった[14]。

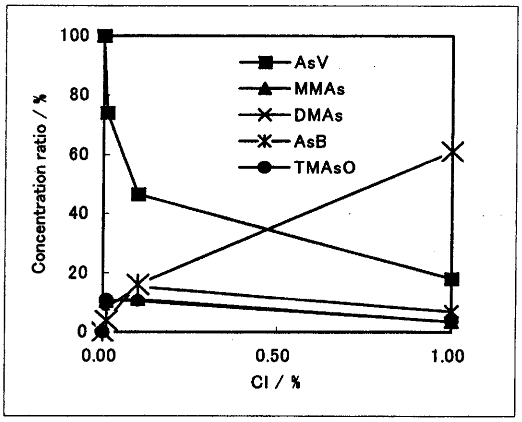

Fig.9 Effect of Cl^-concentration by the photo reaction;The flow rate of AsB solutions was 1.0ml/min.

3－4．ペルオキソ二硫酸カリウム及びUVの組み合わせによる光分解

塩化物イオンを含んだAsB溶液の分解効率を上げるためペルオキソ二硫酸カリウムとUVの組み合わせによるAsBの分解変動を調べた。ペルオキソ二硫酸カリウムの濃度は１％、総流量を1.0ml／min（照射時間42秒）に固定し、移動相と酸化剤の流速比を変化させAsBの分解率のペルオキソ二硫酸カリウム濃度依存性について調べた（Fig. 10)。Fig.10より、塩化物イオン0.1％の時は、ペルオキソ二硫酸カリウム濃度増加に従いAsBの分解は進行し、As^{V}の生成も進行した。塩化物イオン0.1％を含む試料では、ペルオキソ二硫酸カリウムの濃度の増加よりTMAsOへの分解は進行したが、TMAsOからDMAs、MMAs、As^{V}への分解はほとんど進行しなかった。

さらに、ペルオキソ二硫酸カリウムの添加量を1.8％と多くし、また照射時間を長くした。その結果をFig.11に示した。Fig.11でAsBはほとんど100％分解し、TMAsO濃度は減少し、As^{V}の増加が見られたが、すべてがAs^{V}までには至らなかった。さらに、ペルオキソ二硫酸カリウム2.7％添加しての630秒までのUV照射を行ったが顕著な分解率向上が得られなかった。今回の装置条件において、ペルオキソ二硫酸カリウム溶液を導入することで気泡が見られ、（６）式のようにUV反応管

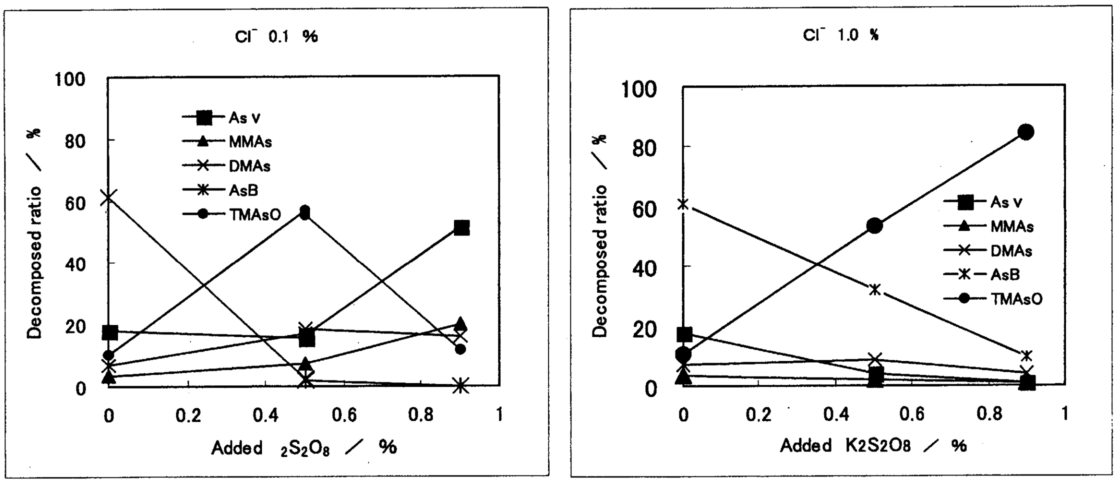

Fig.10 Addition $K_2S_2O_8$-dependent variation of As compounds in AsB solution added Cl^- 0.1and 1.0% on The UV lump ON, The flow rate of AsB solutions were 1.0ml/min.

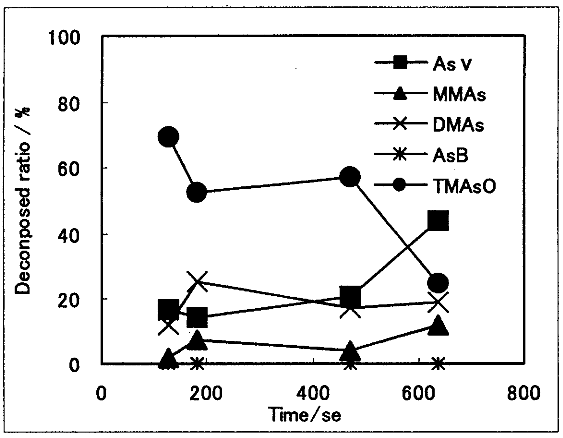

Fig.11 Irradiated time-dependent variation of As compounds by the UV photo reaction;Added 1.8%$K_2S_2O_8$ to AsB solution.

内で酸素ガスが発生し、UVのAsBに対する分解効率を阻害したものと考えられる。

$$2S_2O_8^{2-}+2H_2O+h\nu \rightarrow 4SO_4^{2-}+O_2\uparrow \qquad (6)$$

3－5．UV長時間照射によるAsBの光分解

UVとペルオキソ二硫酸カリウムの組み合わせによるAsB溶液の分解率では、酸素ガスの発生により分解率が向上しなかったため、UV照射のみのAsBの分解を行った。Table2にUVを420秒、840秒照射した（それぞれ試料の流速は0.1、0.05ml／min）時の塩化物イオン１％及び２％を含むAsBの光分解結果を示した。Table2より420秒の照射ではわずかの未反応AsBとDMAs・MMAsが認められた。840秒の照射では、ほぼ100％As^Vまで分

Table 2　Decomposition of AsB by the UV photo reaction;Irradiated times were 420 and 840 seconds.

	Decomposed ratio				
Irradiated time(sec.)	As^V	MMAs	DMAs	AsB	TMAsO
			Cl^-1%		
420	95.6%	1.5%	1.3%	1.6%	～0%
840	～100%	～0%	～0%	～0%	～0%
			Cl^-2%		
420	97.1%	1.2%	0.7%	0.9%	～0%
840	～100%	～0%	～0%	～0%	～0%

解された。また、実際の海水に合わせた２％塩化物イオンの場合でも、同様にUV照射840秒で100％As^Vまでの分解ができた。これらの結果より、酸化剤を加えずに紫外線のみでの分解がもっとも有効と考えられた。

３－６．海水試料での分解効率

海水試料中でのAsBのUV分析を調べた。海水試料に10μg／ml濃度になるようにAsBを添加してのUV分解を行った。海水試料は、室戸海洋深層水とその表層水を用いた。分解条件は、照射時間840秒（流速0.05ml／min）でAsB10μg／mlを海水に添加して行った。Fig.12に分解後のクロマトグラムを、また分解率をTable3に示す。塩化物イオン２％中のAsB溶液は、840秒間のUV照射ですべて分解As^Vが生成されたが、海水試料中ではAs^Vへの100％の分解にはならなかった。Fig.12に示すようにAs^{III}がわずかに生成されていることがわかった。また、定量はできなかったがMMAsのピーク痕跡が見られた。ここで、海水試料にAs^{III}溶液を添加してのUV分解を同じ条件で行った結果すべてAsVに分解した。詳細は現在検討中であるが、有機ヒ素の無機化の過程でUVによる還元反応が海水成分によりおこったものと思われる。

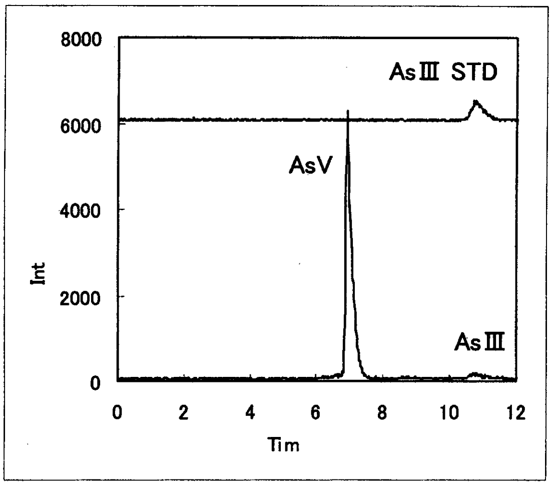

Fig.12 Chromatograms of seawater added AsB solution after the UV photo reaction. Top was a chromatogram of reference As^{III} STD.

Table3より、わずかながらのAs^{III}を含んでいるものの、AsBはその97～98％をAs^Vへ分解された。

４．まとめ

海水中のAsBの定量を目的とする光反応の前処理についての検討を行った。室温におけるペルオキソ二硫酸カリウムとUVの酸化分解の比較では、AsBの半減期がそれぞれ12.6時間、7.5秒とUV分解が相当速い結果となった。純水中のAsBは、42秒（流速1.0ml／min）でAs^Vまで分解した。塩化物イオン存在下では、UVを吸収し、UV分解の妨げとなった。UVと酸化剤ペルオキソ二硫酸カリウムの組み合わせでは、UVとペルオキソ二硫酸カリウムの反応により酸素が発生し分解の妨げとなった。UVの分解では、２％塩化物イオンを含むAsBで照射時間840秒（流速0.05ml／min）でAs^Vまで分解した。実際の海水中では、UV照射時間840秒（流速0.05ml／min）で海水中AsBを100％分解し、97～98％のAs^Vと２～３％のAs^{III}とが生成された。これは、As^Vに分解後ではなく分解の過

Table 3 Decomposition of seawater added AsB solution by the UV photo reaction;Irradiated times were 840 seconds.

	Decomposed ratio					
Sample.	As^V	MMAs	DMAs	As^{III}	AsB	TMAsO
DSW (1)						
AddedAsB(10μgml^{-1})	98.4%	～0%	～0%	1.6%	～0%	～0%
SSW (2)						
AddedAsB(10μgml^{-1})	97.0%	～0%	～0%	3.0%	～0%	～0%

(1)DSW: MUROTO deep seawater

(2)SSW: MUROTO surface seawater

程で海水成分により一部還元しているものと考えられる。

ヒ素スペシエーションにおいては、As^{V}、As^{III}、MMAs、DMAsの定量例が報告されている[4]。液体クロマトなどによりヒ素形態中AsBを分離し、カラム等により濃縮すれば、光分解によりAsBを無機ヒ素に酸化分解して、その後還元気化法により水素化物としての定量ができる。さらに今回のフロー式の光分解装置を用いることによりオンラインでの定量システムの構築も可能と考えられる。また、AsBを含む海水中ヒ素の全量分析においては、100%のAs^{V}化はできなかったものの、水素化が可能な形態への分解ができた。また分析機器の測定誤差を考えると2～3%の他形態の存在は誤差の許容範囲となる。これらのことにより全量分析も可能と考えられる。

5．謝　辞

本研究では、産業技術総合研究所の中里哲也氏、田尾博明氏にそれぞれ多大なご指導をいただきました。この場をお借りして厚くお礼申し上げます。

6．参考文献

(1) 柴田康行、森田昌敏、*Biomed. Res. Trace* Elements, 2000, 11, 1

(2) 野崎義行、海水学会誌、1997, 51, 302

(3) 黒田孝一、吉田香、圓藤吟史、環境技術, 1999, 28, 343

(4) T. Taniguchi, H. Tao, M. Tominaga and A. Miyazaki, *J. Anal. At. Spectrom.* 1999, 14, 651

(5) M. Morita and J. S. Edmonds, Pure *Appl. Chem.* 1992, 64, 575

(6) T. Guerin, A. Astruc, M. Astruc, *Talanta,* 1999, 50, 1

(7) 柴田康行、水環境学会誌、1997, 20, 11

(8) 田尾博明、Bunseki Kagaku、1997, 46, 239

(9) M. J. Tomlinson, L. Lin and J. A. Caruso, *Analyst*, 1995, 120, 583

(10) 柴田康行、衛生化学、1996, 42, 385

(11) C. Sarzanini, *J. Chromatogr. A,* 1999, 850, 213

(12) 田尾博明、資源と環境、2000, 9, 203

(13) J. Golimowski, K. Golimowska, *Anal. chem.. Acta,* 1996, 325, 111

(14) 日本化学会編、化学便覧基礎編、1993, II - 606p