

フミン酸, リグニンスルホン酸ナトリウムの けい光法による同時定量

——たい積物中のフミン酸, フルボ酸の定量——

松田 庄蔵, 平木 敬三, 西川 泰治^{®*}

(1978 年 11 月 24 日受理)

たい積物中の腐植物質を水酸化ナトリウム溶液で抽出しけい光法的にフミン酸及びフルボ酸を同時定量する方法を検討した。励起波長 320nm の光によりフミン酸は (430~500)nm にけい光波長帯を, 又リグニンスルホン酸ナトリウムは 400nm 付近に極大波長を有するけい光を示す。いずれも塩基性溶液 pH 9 で一定のけい光強度を示す。腐植物質中のフルボ酸はリグニンスルホン酸ナトリウムと類似のけい光スペクトルを示すことより, フルボ酸をリグニンスルホン酸ナトリウムに換算して定量した。400nm, 500nm の 2 波長を用いてけい光強度を測定すると試料中の 10 ppm 以内の両成分が同時定量できた。本法により河川及び海底たい積物中のフミン酸, フルボ酸を高感度で, 精度よく定量できた。

1 緒 言

天然水中の腐植物質は有機物の輪廻並びに無機物との相互作用などに関係して地球化学的に重要であり, 興味ある問題である。一般にフミン酸, リグニンスルホン酸ナトリウムなど腐植物質の定量には吸光光度法が適用されている¹⁾²⁾。すなわち, フミン酸の水酸化ナトリウム水溶液 (pH 9) の吸収スペクトルは (200~700)nm に, リグニンスルホン酸ナトリウムのそれは (200~460)nm にあり, いずれも紫外部で吸光度の急増する吸収スペクトルを示す。この場合, リグニンスルホン酸ナトリウムは 500 nm ではほとんど吸収を示さないことから 275 nm, 500 nm の 2 波長の吸光度を測定して両者を同時定量できる。しかし, この方法はリグニンスルホン酸ナトリウムの定量値が著しく低値を示す難点がある。

Almgren らはリグニンスルホン酸ナトリウム及びフミン酸の塩基性溶液が 310 nm 励起により, それぞれ 390 nm, 490 nm に極大波長を有するけい光を発することを利用し, 海水中の亜硫酸パルプ廃液及び腐植物質のけい光定量を行った³⁾⁴⁾。

本研究ではリグニンスルホン酸ナトリウム, リグニン及び B 型フミン酸⁵⁾ のけい光定量条件を詳細に検討し, たい積物中の腐植物質の分析に適用した。その結果,

320 nm の光によりフミン酸 (B 型) は (430~500)nm にブロードなけい光極大波長を, 又リグニンスルホン酸ナトリウムは 400 nm にけい光極大波長を示すこと, 及びたい積物中のフルボ酸がリグニンスルホン酸ナトリウムと類似のけい光スペクトルを示すことを知った。そこで 400 nm, 500 nm の 2 波長を用いて河川, 海底たい積物より抽出したフミン酸, フルボ酸の精度よい同時定量法を確立した。

2 試薬, 装置及び試料

フミン酸: 和光純薬 K. K. より入手したフミン酸 (フミン酸 No. 1, C: 25.32%, H: 3.41%, N: 0.51%) 及び石炭より分離したフミン酸 (大阪府立放射線中央研究所提供) を水酸化ナトリウムに溶解し, 希硫酸を用いて析出, 精製したフミン酸 (フミン酸 No. 2, C: 23.35%, H: 3.15%, N: 0.91%) をシリカゲルデシケーター中に保存したものを使用した。いずれも熊田の方法⁶⁾により形態分析した結果は B 型であった。又, 淀川底土及び駿河湾海底土より抽出, 精製したフミン酸 (P 型) も適宜使用した。

リグニンスルホン酸ナトリウム, リグニン: 東京化成 K. K. 製リグニンスルホン酸ナトリウム (C: 23.01%, H: 4.60%, N: 0.11%) 及びリグニンをいずれも精製することなく, シリカゲルデシケーター中に保存し使用した。

フミン酸, リグニンスルホン酸ナトリウム及びリグニンはいずれも 12.5mg を精ひょうし, 0.1 M 水酸化ナトリウム 2.5 ml に溶かし, 水で全容 50 ml に希釈,

* 近畿大学理工学部化学教室: 大阪府東大阪市小若江 3-4-1

250 ppm 溶液を調製した。

硫酸キニーネ溶液：0.25 μg 硫酸キニーネ/ml 1 N 硫酸溶液を調製し、けい光光度計のセッティングのための標準溶液とした。

けい光強度の測定には日立分光けい光光度計 204 型 (150 W キセノンランプ) を使用した。pH の調節は日立堀場製作所製ガラス電極 pH メーター M-5 型によった。

試料：水生腐植物質を抽出する試料として次の 3 種の河川底土、海底土を 110°C、5 時間乾燥したものを用いた。

淀川底土：大阪府枚方大橋下流右岸で採取したでい質土を四分法により 10 回混合した 100 メッシュ以上の細でい。

駿河湾海底土：38°38'N, 138°37'E, 水深 1500 m より採取した試料を四分法で 8 回混合した 100 メッシュ以上の細でい。

日本海コア試料：42°35'N, 135°29'E, 水深 3620 m で採取したコア 61 cm 長さの (27~29) cm の部分をメノウ乳ばちで十分混合後、四分法で 4 回混合した細でい。

3 実験及び結果

3.1 一般定量操作

フミン酸、リグニンスルホン酸ナトリウムあるいはリグニンの 25 ppm 以下を含む試料溶液を採り、0.1 M EDTA 溶液 4 ml, 1 M 酢酸ナトリウム水溶液 2 ml を加え、0.1 M 水酸化ナトリウム水溶液で pH を 9 に調節、全容を 25 ml とする。この溶液について溶液調製 1 時間後に、320 nm 励起により 0.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 硫酸キニーネ標準溶液を対照に、フミン酸：500 nm, リグニンスルホン酸ナトリウム：400 nm, リグニン：420 nm におけるけい光強度を測定する。

3.2 けい光定量条件の検討

3.2.1 励起・けい光スペクトル 上記一般定量操作によりリグニンスルホン酸ナトリウム 30 ppm, フミン酸 8 ppm 及び 2 ppm につき励起、けい光スペクトル (未補正) を測定した結果を Fig. 1, 2 に示す。

フミン酸 (B 型, P 型) は (300~410) nm の波長帯にブロードな励起スペクトルを、又 (430~510) nm に至るブロードなけい光スペクトルを示す {Fig. 1, (1), (1')}。B 型及び P 型フミン酸はいずれも励起、けい光スペクトルには著しい相違は認められない*。これらのスペクトルを更に詳細に検討するため、低フミン酸濃度 (2 ppm, B 型及び P 型) の溶液について励起、けい光スペクトルを測定した結果を Fig. 2 に示した。Fig. 2 より分かるように、フミン酸は 370 nm 励起により 430 nm に、更

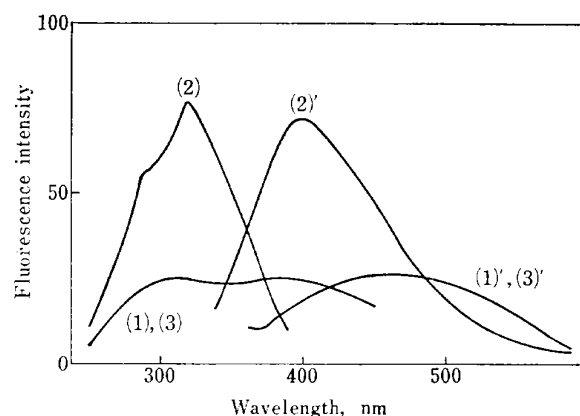


Fig. 1 Excitation and emission spectra of humic acid and lignine sulfonate (uncorrected)

Excitation—(1) Humic acid 8 ppm, emission 500 nm, (2) Lignine sulfonate 30 ppm, emission 400 nm, (3) Humic acid (Yodo River), emission 500 nm; Emission—(1)' Humic acid 8 ppm, excitation 320 nm, (2)' Lignine sulfonate 30 ppm, excitation 320 nm, (3)' Humic acid (Yodo river), excitation 320 nm; Fluorescence intensity was set at 90 div. vs. 0.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ quinine sulfate standard solution.

に 410 nm の波長で励起すると 480 nm に明りょうな極大波長を有するけい光を放射する。

Fig. 1 曲線 (1), (1)' のスペクトルはフミン酸の濃度が 8 ppm と大きいため、これらすべてのスペクトルを包含するブロードなスペクトルとして観察されたものと解釈される。リグニンスルホン酸ナトリウムは Fig. 1 曲線 (2), (2)' に示したように励起、けい光スペクトルの極大波長はそれぞれ 320 nm, (400~405) nm にある。

3.2.2 pH の影響、経時変化 フミン酸 (No. 2) 及びリグニンスルホン酸ナトリウム溶液について pH のけい光強度に及ぼす影響を調べた結果を Fig. 3 に示す。両成分ともに pH 8.5~9.5 付近で一定かつ最高のけい光強度が得られた。フミン酸及びリグニンスルホン酸溶液 (pH 9) について経時変化を調べたところ、Fig. 4 に示すように固体試料溶解後 (1~24) 時間はけい光強度の変化は認められなかった。しかし、(2~3) 日間放置するとけい光強度の減少を示した。

3.2.3 フミン酸、リグニンスルホン酸ナトリウムの

* フミン酸 No. 1, No. 2 及び淀川たい積物、駿河湾たい積物より抽出したフミン酸のけい光強度はそれぞれ異なる。フミン酸 No. 1 のけい光強度を 1 としたとき、そのけい光強度比はそれぞれ次のとおりであった。フミン酸 No. 2 (0.13), 淀川たい積物 (FHA 0.23, CHA 0.23), 駿河湾たい積物 (FHA 0.17, CHA 0.10)。このようにフミン酸はその履歴によりけい光スペクトルには大差はないが、けい光強度が著しく異なるので、以後各フミン酸濃度はフミン酸 No. 1 のけい光強度を基準に求めた。

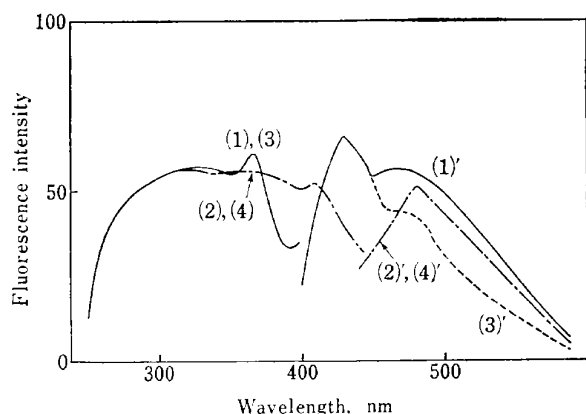


Fig. 2 Excitation and emission spectra of humic acid solution (concentration: <2 ppm uncorrected)

Excitation—(1) Humic acid (No. 1, B form) 2 ppm, emission 430 nm, (2) Humic acid (No. 1, B form) 2 ppm, emission 480 nm, (3) Humic acid (P form), emission 430 nm, (4) Humic acid (P form), emission 480 nm; Emission—(1)' Humic acid (No. 1, B form) 2 ppm, excitation 370 nm, (2)' Humic acid (No. 1, B form) 2 ppm, excitation 410 nm, (3)' Humic acid (P form), excitation 370 nm, (4)' Humic acid (P form), excitation 410 nm

同時定量 フミン酸 (No. 1: B型) 及びリグニンスルホン酸ナトリウムを一般定量操作に従って検量線を求めた。フミン酸は 8 ppm まで, 又リグニンスルホン酸ナトリウムは 25 ppm までの濃度とけい光強度との間には比

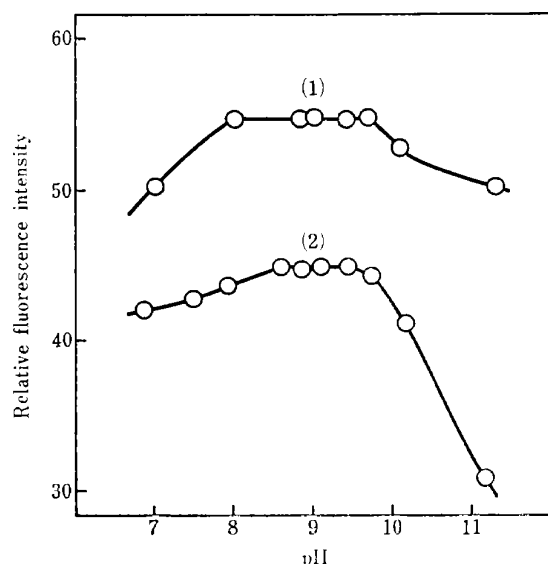


Fig. 3 Effect of pH of humic substance on fluorescence intensity

(1) Lignine sulfonate 20 ppm, 320 nm/410 nm, 70 div. vs. 0.25 µg/ml quinine (1N H₂SO₄) standard solution; (2) Humic acid 8 ppm, 410 nm/480 nm, 55 div. vs. 0.25 µg/ml quinine (1N H₂SO₄) standard solution

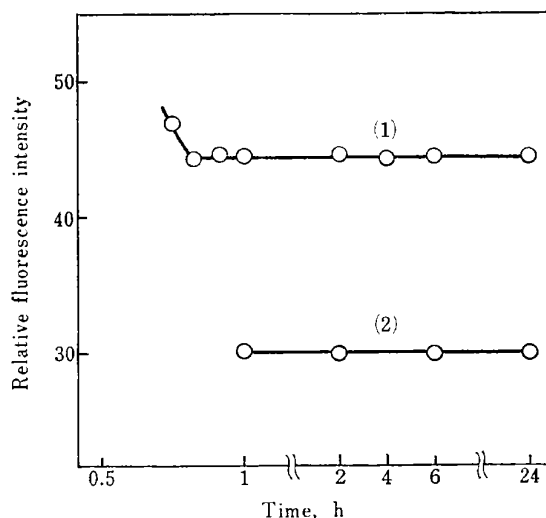


Fig. 4 Relationship between elapsed time and fluorescence intensity lignine sulfonate and/or humic acid

(1) Lignine sulfonate 20 ppm, 320 nm/400 nm, 70 div. vs. 0.25 µg/ml quinine (1N H₂SO₄) standard solution; (2) Humic acid 6 ppm, 410 nm/480 nm, 55 div. vs. 0.25 µg/ml quinine (1N H₂SO₄) standard solution

例性があり, 各単独成分は誤差 ±2% 以内で精度よく定量できる。この場合 Fig. 1 より分かるように両成分のけい光スペクトル並びに 500 nm におけるけい光強度に大きい差がある。そこで 320 nm の光で 2 成分共存溶液を励起し, 400 nm 及び 500 nm の 2 波長のけい光強度を測定し, 次のようにして 2 成分を同時定量することができる。

同一励起波長 320 nm の光照射による 400 nm 及び 500 nm におけるけい光強度はそれぞれ式 (1) で示される。

$$I_{F(400)} = k_1 C_{NaLS} + k_2 C_{HA},$$

$$I_{F(500)} = k_1' C_{NaLS} + k_2' C_{HA} \quad \dots \dots \dots (1)$$

ここで, I_F はけい光強度, C_{NaLS} 及び C_{HA} はそれぞれリグニンスルホン酸ナトリウム, フミン酸の濃度を, 又 k_1 , k_1' 及び k_2 , k_2' はそれぞれリグニンスルホン酸ナトリウム, フミン酸の各波長における 1 ppm が示すけい光強度である。検量線より $k_1=2.8_3$, $k_2=2.3_8$, $k_1'=0.6_5$, $k_2'=3.3_4$ という値を得た。式 (1) より式 (2) を得, リグニンスルホン酸ナトリウム及びフミン酸 No. 1 を同時定量することができる。

$$C_{NaLS} = \frac{I_{F(400)} k_2' - I_{F(500)} k_2}{k_1 k_2' - k_2 k_1'},$$

$$C_{HA} = \frac{I_{F(500)} k_1 - I_{F(400)} k_1'}{k_1 k_2' - k_2 k_1'} \quad \dots \dots \dots (2)$$

リグニンスルホン酸ナトリウムとフミン酸を含む各種濃度の合成試料溶液を調製し、上記の方法で両成分を定量した結果を Table 1-1 に示した。フミン酸量が 5 ppm までで 2 成分総量が 10 ppm を越えない試料 (Table 1-1, No. 1~6) については本法によりほぼ満足すべき定量値を示す。フミン酸及びリグニンスルホン酸ナトリウム各単独成分は検量線よりそれぞれ 8 ppm, 25 ppm まで正確に測定できるが、両成分の濃度が 10 ppm を越えると内部汚光効果あるいは濃度消光のため {光学密度 $OD=0.1$ 誤差: 10.6%, $OD=0.02$: 2.2%……というけい光法の誤差を示す⁶⁾。ゆえに 320 nm の両成分混合溶液の吸光度が 0.1 以下、すなわち全腐植物質 10 ppm ($HA+NaLS=10$ ppm) の試料ではこれらの影響を受けない、けい光強度が低下し分析値は低値を示す (Table 1-1, No. 7~10)。すなわち、本法はリグニンスルホン酸ナトリウムとフミン酸の含量が 10 ppm 以下の十分希釈した試料 (フミン酸 >0.5 ppm, リグニンスルホン酸ナトリウム >1 ppm) に適用して効果がある。

Table 1-1 Simultaneous fluorometric determination of humic acid and lignine sulfonic acid sodium salt in synthetic sample

No.	Sample taken (ppm)		Found (ppm) [†]		Optical density D: 320 nm
	NaLS	HA	NaLS	HA	
1	5.0	0.5	$4.9_8 \pm 0.0_2$	$0.4_4 \pm 0.0_3$	0.027
2	5.0	1.0	$4.9_2 \pm 0.0_3$	$0.9_7 \pm 0.0_2$	0.038
3	5.0	2.0	$4.6_8 \pm 0.2_1$	$2.0_3 \pm 0.1_0$	0.065
4	5.0	3.0	$4.6_4 \pm 0.0_5$	$2.8_0 \pm 0.0_1$	0.080
5	5.0	4.0	$4.4_8 \pm 0.0_5$	$3.7_3 \pm 0.1_2$	0.102
6	5.0	5.0	$4.0_4 \pm 0.2_3$	$4.7_3 \pm 0.1_7$	0.127
7	5.0	6.0	$4.1_3 \pm 0.1_6$	$5.3_4 \pm 0.1_1$	0.146
8	5.0	8.0	$3.7_1 \pm 0.0_4$	$6.9_1 \pm 0.0_9$	0.187
9	15.0	8.0	$10.2_8 \pm 0.4_4$	$6.6_0 \pm 0.1_3$	0.226
10	20.0	8.0	$13.9_5 \pm 0.1_3$	$6.3_3 \pm 0.1_1$	0.246

NaLS: Lignine sulfonic acid sodium salt; HA: Humic acid;

[†] $n=3\sim5$

比較のために Roffael らの吸光光度法²⁾ によりフミン酸、リグニンスルホン酸ナトリウムを同時定量 (フミン酸: 500 nm, リグニンスルホン酸ナトリウム: 275 nm の二波長の吸光度測定) した結果を Table 1-2 に示す。Table 1-2 より分かるように、吸光光度法では一般にリグニンスルホン酸ナトリウム、フミン酸の定量値が低値を示し、分析値の再現性にも欠けるきらいがある。本けい光法は低濃度のリグニンスルホン酸ナトリウム及びフミン酸を正確、かつ精度よく定量できる点で優れている。

3.2.4 たい積物中のフミン酸、フルボ酸の同時定量

たい積物中の腐植物質は水酸化ナトリウム及びピロリン酸ナトリウム溶液を用いて効率よく遊離型及び結合型のフミン酸とフルボ酸に分離抽出できる。これらのフミン酸、フルボ酸を 3.2.3 のけい光法を適用して定量した。

Table 1-2 Simultaneous spectrophotometric determination of humic acid and lignine sulfonic acid sodium salt in synthetic sample

No.	Sample taken (ppm)		Found (ppm) [†]	
	NaLS	HA	NaLS	HA
1	10.0	10.0	$9.2_6 \pm 1.7_1$	$10.3_9 \pm 4.2_4$
2	10.0	30.0	$9.5_8 \pm 1.0_2$	$28.9_8 \pm 2.8_8$
3	20.0	10.0	$18.6_2 \pm 1.5_9$	$10.3_8 \pm 3.7_9$
4	20.0	20.0	$18.7_3 \pm 1.4_5$	$19.7_6 \pm 2.0_2$
5	30.0	10.0	$27.0_9 \pm 2.8_6$	$13.3_1 \pm 6.5_6$
6	30.0	30.0	$27.4_1 \pm 1.7_5$	$31.2_3 \pm 3.0_4$

[†] $n=3$

i) たい積物抽出フミン酸、フルボ酸の励起、けい光スペクトル

熊田の方法⁵⁾ により抽出分離した遊離型 (水酸化ナトリウム溶液に可溶の腐植物質) 及び結合型 (ピロリン酸ナトリウム溶液に可溶の腐植物質) のフミン酸 (淀川底土より抽出, 形態: P 型), フルボ酸 (淀川底土より抽出) の励起、けい光スペクトルを Fig. 1, 2, 5 に示す。

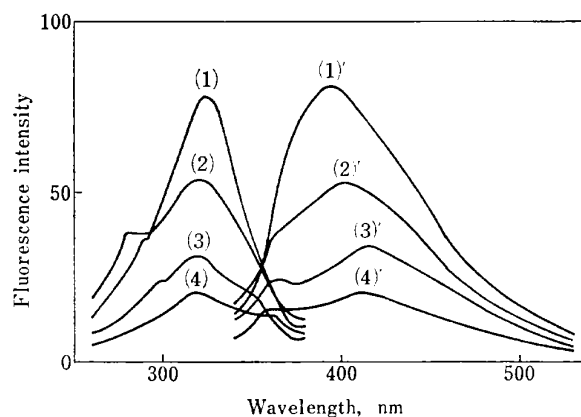


Fig. 5 Fluorescence spectra of humic substance (uncorrected)

Excitation—(1) Free fulvic acid from Yodo river sediment, emission 395 nm, (2) Lignine sulfonate 20 ppm, emission 400 nm, (3) Lignine 10 ppm, emission 410 nm, (4) Combined fulvic acid from Yodo river sediment, emission 410 nm; Emission—(1)' Free fulvic acid from Yodo river sediment, excitation 320 nm, (2)' Lignine sulfonate 20 ppm, excitation 320 nm, (3)' Lignine 10 ppm, excitation 320 nm, (4)' Combined fulvic acid from Yodo river sediment, excitation 320 nm; Fluorescence intensity was set at 90 div. vs. 0.25 μ g/ml quinine sulfate standard solution.

Fig. 1 及び Fig. 2 より分かるように水生の P 型フミン酸は B 型フミン酸 (No. 1, No. 2) と類似の励起, けい光スペクトルを示す. 遊離型フルボ酸の 320 nm 励起によるけい光スペクトル {極大波長: (395~400) nm} はリグニンスルホン酸ナトリウムのけい光スペクトルに, 又結合型フルボ酸のけい光スペクトル (極大波長: 415 nm) はリグニンのそれに一致し, Fig. 5 曲線 (1)', (2)', (4)' はけい光極大波長がそれぞれ 395 nm, 400 nm, 410 nm と接近している. 従って遊離型並びに結合型フルボ酸はリグニンスルホン酸ナトリウム (けい光極大波長: 400 nm) に換算して 3.2.3 の方法により定量することができる.

ii) たい積物中のフミン酸, フルボ酸の抽出並びに定量

たい積物試料の抽出操作の系統図を Fig. 6 に示す. すなわち, (0.1~0.5) g の粉末試料を 50 ml 容量のビーカーに採り, 0.1 M 水酸化ナトリウム溶液 10 ml を加え, ポリ塩化ビニリデンシートでカバーした後水浴上で 30 分間加熱する. 冷却後 2000 rpm で 20 分間遠心分離する. 溶液を分離し遊離型のフミン酸とフルボ酸含有溶液を得, これを 25 ml に希釈する. 残さに 0.1 M ピロリン酸ナトリウム 10 ml を加えポリ塩化ビニリデンシートでカバーした後, 再び水浴上で 30 分間加熱, 冷却後遠心分離し, 結合型のフミン酸とフルボ酸含有溶液を得, 水で全容 25 ml とする. 抽出分離した遊離型溶液並びに結合型溶液一定量 {(1~5) ml} を採取し, 0.1 M EDTA 溶液 4 ml を加え pH を 9 に調節, 3.2.3 の方法によりフミン酸, フルボ酸を同時定量する.

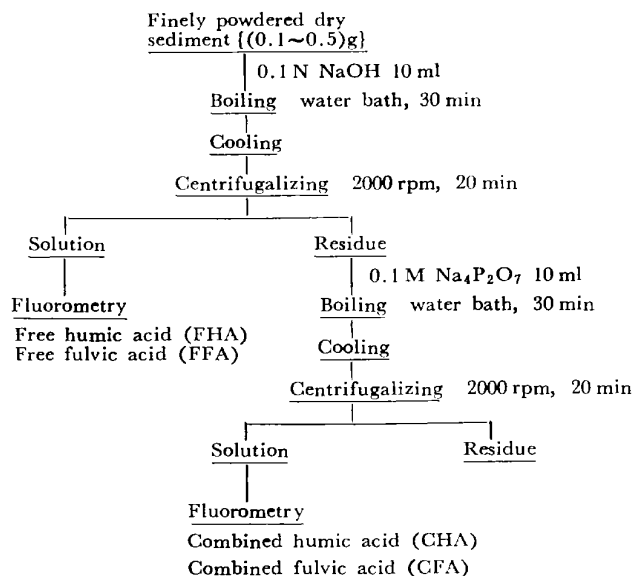


Fig. 6 Flow diagram for humic substances in sediment

4 たい積物中のフミン酸, フルボ酸の分析

淀川底土, 日本海海底コアサンプル及び駿河湾海底土について, 本法により遊離型フミン酸, フルボ酸及び結合型フミン酸, フルボ酸を定量した結果を Table 2 に示す.

Table 2 より分かるように, 3 種の底質土中の水生腐植物質 (フェューミンを除く) 中のフミン酸全量は (8.3₈~21.8) % と少なく, いずれの試料についても遊離型フルボ酸の占める割合が大きい. 3.2.3 及び 3.2.4 に示したように, 本法は腐植物質の含有比がフミン酸:フルボ酸=1:1~10 と多量のリグニンスルホン酸ナトリウムあるいはフルボ酸と共存するフミン酸の希薄溶液について

Table 2 Humic substance contents in sediments dried at 110°C

Sampling location	Sample taken (g)	Humic substance found (ppm)						Total HS	HA/HS (%)
		FHA†	CHA††	FFA†	CFA††	FHA+CHA	FFA+CFA		
Yodo River (near the Hirakata-Ohashi, Osaka)	0.10	5.1	3.5	84.6	4.4	8.6	89.0	97.6	8.8
	0.10	5.1	3.8	105.3	7.0	8.9	112.3	121.2	7.3
	0.25	6.7	4.9	89.7	4.9	11.6	94.6	106.2	10.9
	0.25	5.0	3.8	100.0	4.6	8.8	104.6	113.4	7.8
	0.50	2.5	3.2	105.6	5.9	5.7	111.5	117.2	4.9
	1.00	6.2	4.3	82.5	5.7	10.5	88.2	98.7	10.6
Average±Std. dev. : 9.0 ₂ ±1.8 ₃ 100.0 ₃ ±9.9 ₅ 109.0 ₅ ±8.9 ₄ 8.3 ₈									
The Japan Sea (42°35' N, 135°29' E, water-depth 3620 m)	0.10	0.8	2.0	7.8	2.1	2.8	9.9	12.7	22.0
	0.20	0.6	1.8	7.3	1.6	2.4	8.9	11.3	21.3
	0.25	0.8	2.1	7.8	1.7	2.9	9.5	12.4	23.4
	0.50	0.6	1.7	7.6	1.3	2.3	8.9	11.2	20.5
						2.6 ₀ ±0.0 ₇	9.3 ₀ ±0.4 ₂	11.9 ₀ ±0.6 ₆	21.8
Suruga Bay {38°38' N, 138°37' E, water-depth (1450~ 1550)m}	0.10	5.0	3.3	43.5	2.9	8.3	46.4	54.7	15.2
	0.20	4.3	2.6	42.8	2.3	6.9	45.1	52.0	13.3
	0.20	5.6	3.3	42.6	1.9	8.9	44.5	53.4	16.7
	0.20	5.1	3.5	46.3	1.9	8.6	48.2	56.8	15.1
	0.20	5.5	3.0	44.1	2.3	8.5	46.4	54.9	15.5
						8.2 ₄ ±0.7 ₈	46.1 ₂ ±1.4 ₃	54.3 ₆ ±1.7 ₉	15.2

† FHA and FFA were determined by the extraction method with 10 ml of 0.1 N NaOH solution. †† CHA and CFA were determined by the extraction method with 10 ml of 0.1 M Na₄P₂O₇ solution. Total HS: Total humic substance

有効に両成分を精度よく同時定量でき、水生腐植物質の分析に適している。試料中の腐植物質の偏在が大きい淀川たい積物では標準偏差は $FHA + CHA = 9.0_2 \pm 1.8_3$, $FFA + CFA = 100.0_3 \pm 9.9_5$, 全 $HS = 109.0_5 \pm 8.9_4$ と大きい。しかし、日本海コア試料のように微細粒子の均一試料については腐植物質の偏在が少なく標準偏差は $FHA + CHA = 2.6_0 \pm 0.0_7$, $FFA + CFA = 9.3_0 \pm 0.4_2$, 全 $HS = 11.9_0 \pm 0.6_6$ で精度よくフミン酸、フルボ酸を同時定量できた。

5 結 語

河川、海洋たい積物中の腐植物質を水酸化ナトリウム、ピロリン酸ナトリウム溶液で抽出し、遊離型並びに結合型のフミン酸、フルボ酸の pH 9 の溶液を 320 nm で励起し、400 nm 及び 500 nm のけい光強度測定してフミン酸、フルボ酸を同時定量する方法を確立した。

本法は (100~500) mg の試料を用いて ppm オーダーのフミン酸、フルボ酸を迅速精度よく定量できるため、遠洋たい積物試料など極低濃度の腐植物質の定量が可能である。

文 献

- 1) 永山政一, 後藤克己, 四ッ柳隆夫: 工業用水, **61**, 24 (1963).
- 2) E. Roffael, K. Schaller: *Wbl. Paper Fabr.*, **100**, 417 (1972).
- 3) T. Almgren, B. Josefsson: *Svensk Papp Tidn*, **76**, 19 (1973).
- 4) T. Almgren, B. Josefsson, G. Nyquist: *Anal. Chim. Acta*, **78**, 411 (1975).
- 5) 熊田恭一: “土壌有機物の化学”, p. 44 (1977), (学会出版センター).
- 6) C. A. Parker: “*Photoluminescence of Solutions*”, p. 20 (1968), (Elsevier Pub. Co., New York).

☆

Simultaneous fluorometric determination of humic acid and lignine sulfonate; Determination of humic acid and fulvic acid in sediment. Shozo MATSUDA, Keizo HIRAKI and Yasuharu NISHIKAWA (Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Kinki University, 3-4-1, Kowakae,

Higashi-Osaka-shi, Osaka)

A fluorometric method was described for the simultaneous determination of lignine sulfonate and humic acid. The fluorescence peaks of lignine sulfonate and humic acid due to excitation at 320 nm have intensity maxima at different wavelengths (near 400 nm, 500 nm, respectively). The concentration of lignine sulfonate and humic acid were determined by a dual wavelength procedure from the emission at 400 nm and 500 nm. Fulvic acid in the extracted solution from sediments was also determined by the dual wavelength procedure, using as the reference a standard solution of lignine sulfonate which gave the similar emission peak as fulvic acid. A typical procedure was as follows. Free humic acid and free fulvic acid in sediment {(0.1~0.5) g} were extracted with 10 ml of a 0.1 N sodium hydroxide solution, and the combined humic acid and combined fulvic acid in the residual material were also extracted with 10 ml of a 0.1 M sodium pyrophosphate solution. Four milliliters of a 0.1 M EDTA solution and 2 ml of 1 M sodium acetate buffer solution were added to the extracted solution, and pH of the solution was adjusted to 9.0 with sodium hydroxide solution. The fluorescence intensity of the solution was measured at 400 nm and 500 nm depending on excitation 320 nm, and calculated by following equation.

$$C_{NaLS} = \frac{I_{F400}k_2' - I_{F500}k_2}{k_1k_2' - k_2k_1'}, \quad C_{HA} = \frac{I_{F500}k_1 - I_{F400}k_1'}{k_1k_2' - k_2k_1'}$$

where I_{F400} and I_{F500} are the relative fluorescence intensities at the two wavelengths; C_{NaLS} and C_{HA} are concentrations of lignine sulfonate and humic acid; k_1 and k_1' are the lignine sulfonate constants at 400 nm and 500 nm, and k_2 and k_2' are the constants for the humic acid at the two wavelengths. This method was applied to sediment samples containing less than 10 ppm of two humic components. Precision of the method was studied using a mixed standard solution of lignine sulfonate (5.0 ppm) and humic acid (1.0 ppm), and the recovery was 98% (c.v. 0.6%) and 97% (c.v. 2%), respectively.

(Received Nov. 24, 1978)

Keywords

Fulvic acid

Humic acid

Lignine sulfonate sodium salt

Sediment

Simultaneous fluorometric determination