

## 金属イオンと錯形成する腐植物質官能基のATR-FTIR法による*in situ*分析

田中忠夫<sup>\*</sup> 坂本義昭<sup>\*</sup> 小川弘道<sup>\*</sup>

金属イオンとの錯形成に関わる腐植物質官能基についての情報を赤外吸収スペクトルから得るために、赤外光の全反射を利用してATR(Attenuated Total Reflection)法を用いることにより、水溶液に溶存させた状態での赤外吸収スペクトル測定について検討した。

ATR法により、金属イオンとの錯形成によって腐植物質の赤外吸収スペクトルに生じる変化を確認できた。また、粉体試料を用いる従来の赤外吸収スペクトル測定では困難であった錯形成速度についての情報、pHや元素濃度など液性の変化に呼応した官能基の情報が取得できた。これらの結果から、錯形成に伴う腐植物質官能基の状態変化に関する赤外吸収スペクトル情報を*in situ*で得るために、ATR法が適用できる可能性が見出された。

**Keywords:** 赤外吸収スペクトル, ATR法, 官能基, フミン酸, 腐植物質, 錯形成

To obtain structural information on functional groups of humic substances complexing with metal ions, infrared (IR) spectral analysis of the humic substances dissolving in aqueous solutions has been studied by ATR (Attenuated Total Reflection) method.

By using the ATR method, IR spectral shifts of humic substance due to a complexation with metal ions were observed. The observation provided with information on complexation kinetics, and on characteristics of functional groups depending on solvent properties, such as pH and solute concentrations. These information was difficult to be obtained by conventional FTIR spectroscopy using powdered humic substances. The obtained results show that IR spectral shifts on the functional groups of the humic substances complexed with metal ions could be possibly characterized *in situ* by using the ATR-FTIR spectroscopy.

**Keywords:** Infrared spectroscopy, ATR method, Functional group, Humic acid, Humic substance, Complexation

### 1. 緒言

土壤や地下水中に存在するフミン酸などの腐植物質は、多くの陽イオン性金属元素と錯体を形成することから、産業廃棄物や放射性廃棄物の処分によって環境中へもたらされる有害金属元素に対しても、環境中における移行現象に影響を及ぼす可能性が指摘されている[1-3]。腐植物質の錯形成挙動にはそれが有する官能基の特性と密度が直接的に関係するので、官能基に関する知見を得るために、赤外吸収、可視紫外吸収、NMR、ESR等スペクトル分析、元素分析、酸塩基滴定分析などが相互補完的に行われている[4-6]。

赤外吸収スペクトル(IRスペクトル)測定は、このような腐植物質の構造や官能基を定性的に解明するために広く用いられてきた手法の一つである。一般的な、腐植物質のIRスペクトルは、粉体試料を対象として、KBr分散ディスクを用いる透過法(KBr法)[6,7]、KBrで希釈した粉体試料を用いる拡散反射法(DR法)[8,9]によって測定されている。しかし、環境水中に存在する腐植物質の構造および金属イオンとの錯形成に関する官能基についての情報を取得するためには、水溶液中における腐植物質のIRスペクトルを直接測定することが本来有効である。水溶液試料の測定としては、薄相セルを用いる水溶液透過法[4]による腐植物質の分析が試みられているが、セルの構造と操作性、水による大きな吸収、感度、再現性などに問題があり、一般的に用いられない[10]。他の方法として、水溶液とプリズムの固液界面で生じる赤外光の全反射を

利用するATR法があるが[11-13]、腐植物質の分析にはこれまで適用されていなかった。ATR法の水溶液透過法に対する利点としては、測定の簡便性、水の影響の低減があげられる[12]。その一方、液性の影響を受けやすいこと、KBr透過法との比較で吸収波数のシフトが起こることなどの留意点がある[12,14]。なお、ATRは、Attenuated Total Reflectionの略であり、わが国では全反射[15]、全反射減衰[12]あるいは全反射吸収[16]などが用語として使われている。

筆者等は、ATR法に着目し、腐植物質のIRスペクトル測定への適用性ならびにATR法で測定された赤外吸収スペクトルの妥当性、信頼性を確認するため、水溶液に溶存させた状態でフミン酸のATRスペクトルを測定し、KBr法およびDR法で測定したスペクトルと比較した[11]。その結果、フミン酸に特徴的な脂肪族C-H、芳香族C=C、COOH基およびOH基に帰属される吸収がATRスペクトルに観察されたこと、これら主要な官能基に起因する吸収波数はKBr法およびDR法で測定したスペクトルとお互いにおおむね一致したことなどから、ATR法を用いることにより、腐植物質のIRスペクトルを水溶液に溶存させた状態で簡便に測定可能であることを確認している[11]。

本研究では、水溶液中で生じる腐植物質と金属イオンの錯形成に伴い、腐植物質の官能基に生じる変化をIRスペクトルから観察するため、ATR法を用いることにより、水溶液に溶存させた状態での腐植物質・金属イオン錯体の赤外吸収スペクトル測定の可能性について検討した。

### 2. 実験方法

#### 2.1 錯形成実験

Aldrich社製のフミン酸を実験対象の腐植物質とした。

In *situ* ATR-FTIR Spectroscopy for Functional Groups of Humic Substances Complexing with Metal Ions, by Tadao Tanaka (tanaka@sparcl.tokai.jaeri.go.jp), Yoshiaki Sakamoto, Hiromichi Ogawa.

\*日本原子力研究所 東海研究所 燃料サイクル安全工学部 Department of Fuel Cycle Safety Research, Tokai Establishment, Japan Atomic Energy Research Institute

〒319-1195 茨城県那珂郡東海村白方 2-4

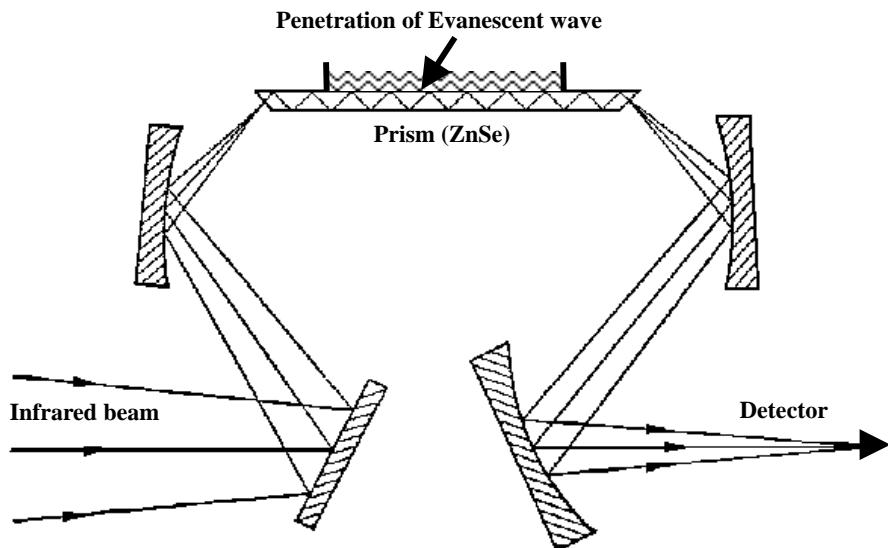


Fig. 1 Optical system in ATR spectroscopy.

フミン酸水溶液は、購入したフミン酸 2 g をそのまま脱イオン水  $100 \text{ cm}^3$  に溶解し、2 % の濃度に調整した。フミン酸と錯形成反応させた金属イオンは  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Sr}^{2+}$  および  $\text{Cs}^+$  であり、実験に供した金属イオン水溶液は、これらの塩化物塩を脱イオン水に溶解、希釈してそれぞれ  $0.2 \text{ mol}/\text{dm}^3$  に調整した。

錯形成反応は、フミン酸水溶液  $0.5 \text{ cm}^3$  と所定量の金属イオン水溶液を混合した後、脱イオン水を添加し、全量を  $1 \text{ cm}^3$  とした。pH の調整が必要な場合は、脱イオン水を添加する前に  $1 \text{ mol}/\text{dm}^3$  の HCl および NaOH を添加した。

ATR スペクトル測定においては、この錯形成反応溶液の数  $100 \mu\text{m}^3$  を ATR 測定用プリズム上に注入した。

## 2.2 ATR スペクトル測定

ATR 法による IR スペクトルの測定原理を Fig.1 に示す。プリズムと水などのように屈折率が異なる界面では、ある入射角で浸入する光は界面で全反射するが、この反射は、光の一部が接触媒体に滲み込んでから反射する性質を持つ。この滲み込む光をエバネッセント波と呼び、滲み込んだ媒体に吸収があれば反射光に減衰が生じるため、反射光においては透過スペクトルと同様なスペクトルが得られることになる[17]。実際の IR スペクトル測定においては、Fig. 1 に示すように、試料液をホルダー内のプリズム上に直接注入し、光源からの赤外光は光学系を経てプリズムに入り、試料液との界面において全反射を繰り返した後集光し検出器へと導かれる仕組みである。IR スペクトルは、日本分光(株)製フーリエ変換赤外分光光度計 VALOR- I に、同社製全反射測定装置 ATR-500/M および非水溶性の ZnSe プリズムを取り付けて測定した。

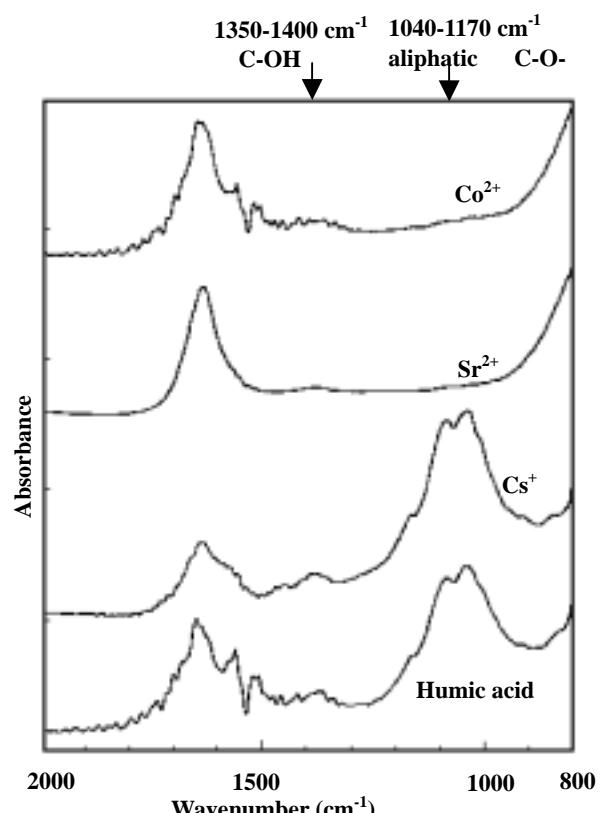
なお、本実験におけるスペクトル測定に当たっては、大気をバックグラウンドとして、純水と腐植物質水溶液の ATR スペクトルを測定し、それらの差スペクトルから腐植物質の ATR スペクトルを得た[11]。スペクトル測定条件は、

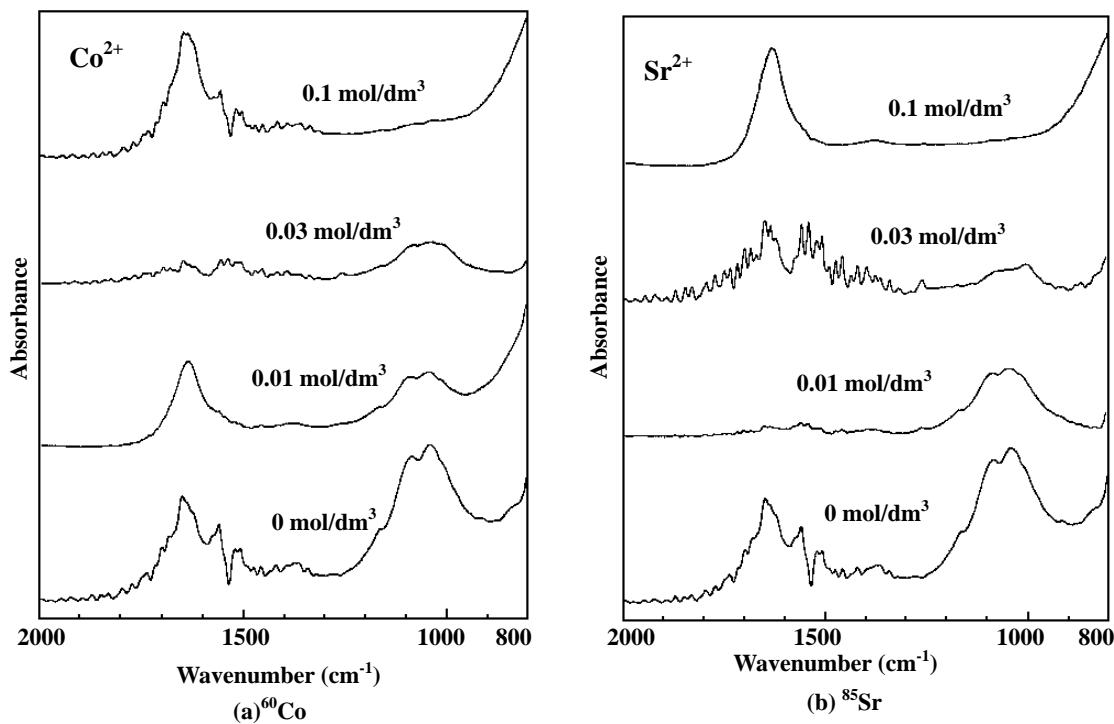
アパチャー径  $5 \text{ cm}$ 、分解能  $4 \text{ cm}^{-1}$ 、積算回数は 200 回を基本とした。

## 3. 結果および考察

### 3.1 金属イオンとの錯形成の確認

水溶液中でのフミン酸と陽イオン性金属元素が反応することにより、フミン酸の官能基と金属元素との相互作用に基づく IR スペクトルにみられる変化を ATR 法で確認した。Fig.2 は、1% フミン酸水溶液に  $\text{Cs}^+$ ,  $\text{Sr}^{2+}$  または  $\text{Co}^{2+}$

Fig.2 ATR spectra of humic acid solutions loading  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Sr}^{2+}$ ,  $\text{Cs}^+$ .

Fig.3 ATR spectra of humic acid solutions containing different concentrations of  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Sr}^{2+}$ .

を  $0.1 \text{ mol}/\text{dm}^3$  となるよう添加した場合のフミン酸水溶液の赤外吸収スペクトルを ATR 法で測定し、金属元素を添加しない場合のフミン酸のスペクトルとともに示したものである。金属元素を添加しないフミン酸水溶液のスペクトルでは、 $1,040\text{-}1,170 \text{ cm}^{-1}$  付近におけるイソサッカロイドやアルコール類に起因する C-O 基の変角振動、並びに  $1,350\text{-}1,400 \text{ cm}^{-1}$  付近におけるイソサッカロイド、アルコール、フェノール類に起因する C-OH 基の伸縮振動に帰属する吸収が確認できる[4,8,18,19]。

フミン酸との錯形成が期待されない  $\text{Cs}^+$  を添加した場合のスペクトルは、金属元素を添加しない場合のスペクトルと有意な変化はみられなかった。一方、フミン酸と錯体を形成することが期待される  $\text{Sr}^{2+}$  および  $\text{Co}^{2+}$  を添加した場合、これら元素とフミン酸の錯形成に関与すると考えられるフミン酸官能基に基づく吸収、すなわち  $1,040\text{-}1,170 \text{ cm}^{-1}$  付近および  $1,350\text{-}1,400 \text{ cm}^{-1}$  付近の吸収が消滅した。

錯形成反応前後におけるフミン酸水溶液の pH の変化を添加した元素ごとに比較した。金属元素水溶液を添加する前のフミン酸水溶液の pH は 8.6 であった。金属元素水溶液を添加した後の pH を測定した結果、フミン酸と錯体を形成していない  $\text{Cs}^+$  では 8.6 のままであったが、フミン酸と錯体を形成したと考えられる  $\text{Sr}^{2+}$  を添加した場合の pH は 7.8 へ、また  $\text{Co}^{2+}$  を添加した場合は 6.7 へと低下した。これらの結果は、 $\text{Sr}^{2+}$  および  $\text{Co}^{2+}$  の添加によって、フミン酸官能基に存在する O-H 結合がこれらイオンと交換結合することによって、官能基からプロトンが水溶液中へ放出される反応が起こったことを示唆するものであり、ATR スペクトルで確認されたフミン酸の吸収ピークの消滅は官

能基からのプロトンの解離に起因するものであると推察される。

以上の結果、ATR スペクトルを測定することによって、水溶液に溶存した状態で腐植物質と金属イオンとの錯体の形成、反応に関わる官能基などに関する情報を取得できる可能性があることを示すことができた。

### 3.2 錯形成の定量的検討への応用

IR スペクトルにみられるフミン酸官能基の吸収の消滅が錯形成に伴うプロトンの放出に起因するものであれば、OH 基に基づく赤外吸収強度は錯形成の割合に相関することが期待できる。そこで、1% フミン酸水溶液に添加する金属元素濃度を  $0.01\text{-}0.1 \text{ mol}/\text{dm}^3$  で変化させた条件で ATR スペクトルを測定し、スペクトルに現れる変化を確認した。Fig. 3 は、Fig. 2 のスペクトルにおいてフミン酸との錯形成が示唆された  $\text{Co}^{2+}$  と  $\text{Sr}^{2+}$  について、異なる濃度の  $\text{Co}^{2+}$ 、 $\text{Sr}^{2+}$  を含むフミン酸水溶液の ATR スペクトルを測定した結果である。

$\text{Co}^{2+}$  および  $\text{Sr}^{2+}$  のいずれの場合でも、共存するイオン濃度が高くなるにしたがって、錯形成に関与しているものと考えられる  $1,040\text{-}1,170 \text{ cm}^{-1}$  付近および  $1,350\text{-}1,400 \text{ cm}^{-1}$  付近の吸収が減少する傾向が観察された。これらのイオンを添加した後、フミン酸水溶液の pH を測定した結果を Table 1 に示す。金属イオンの添加によってフミン酸水溶液の pH は低下する傾向を示し、pH 低下の程度は添加した金属イオンの濃度が高くなるにしたがって大きくなった。

これらの結果は、フミン酸官能基の錯形成に伴うプロトンの放出を示すものであり、ATR スペクトルと pH の変動

Table 1 pH of humic acid solutions after loading  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Sr}^{2+}$ .

Element concentration (mol/dm <sup>3</sup> )	pH	
	$\text{Co}^{2+}$	$\text{Sr}^{2+}$
0.00	8.6	8.6
0.01	8.4	8.3
0.03	7.9	8.0
0.06	7.2	7.9
0.10	6.7	7.2

から、錯形成に関する定量的な情報を取得できる可能性があることを示すものである。

### 3.3 錯形成速度の検討への応用

ATR スペクトル測定法は、錯形成反応が起きている水溶液状態のままで測定可能なため、フミン酸水溶液に金属イオンを添加してからの IR スペクトルの経時変化を容易に測定することが可能である。

Fig. 4 は、1% フミン酸水溶液への金属イオン投入前、0.1 mol/dm<sup>3</sup>相当を投入後 1~3 min、および投入後 10~12 min にそれぞれ 50 回積算（積算時間：約 2 分）した ATR スペクトルを示したものである。フミン酸水溶液の ATR スペクトルは、 $\text{Co}^{2+}$  および  $\text{Sr}^{2+}$  のいずれの場合も、フミン酸水溶液への金属イオン投入後 1~3 min の積算でピークは消滅しており、主要な錯形成反応は瞬時に進行することを示す結果が得られた。

従来、錯形成反応によって腐植物質の IR スペクトルに起こる変化を確認するため、反応溶液を凍結乾燥した粉体試料を用いて KBr 法や DR 法で IR スペクトルが測定されてきたが[6,20]、これらの手法では数分単位での反応速度

を観測することは不可能である。したがって、ATR 法は錯形成速度に関する情報を取得するために有効であると考えられる。

### 3.4 錯形成の pH 依存性確認への適用性

水溶液中で錯形成反応させた腐植物質の IR スペクトルを KBr 法あるいは DR 法で測定する場合、水溶液から粉体試料を調製する過程で濃縮や乾燥に伴い液性が大きく変化することは避けられず、測定したスペクトルが水溶液中で起きている腐植物質の錯形成状態を捉えているとは必ずしもいえない。ATR スペクトル測定法は、錯形成反応が起きている水溶液状態のままで測定可能なため、錯形成が起きている溶媒場で腐植物質の IR スペクトルを測定することが可能である。

0.1 mol/dm<sup>3</sup> の  $\text{Sr}^{2+}$  と反応させた 1% フミン酸水溶液の pH を 2~10 の範囲で調節し、水溶液の ATR スペクトルを測定した。Fig. 5 は、pH 2, 4, 7.8 および 10 で測定したフミン酸水溶液の ATR スペクトルを示したものである。pH 4 以下の条件下では pH が低下するとフミン酸の吸収ピークが増大し、官能基のプロトン化、すなわちフミン酸錯体の解離が進行したことを示す結果が得られた。このように、pH の変化に呼応した官能基の変動が観察可能であることがわかる。

以上の結果は、ATR 法によって得られる腐植物質官能基のプロトン化、脱プロトン化の知見から、腐植物質の官能基の酸解離や錯体の安定性に関する情報を洞察できる可能性を示すものである。また、温度、イオン強度、共存イオン、酸化還元雰囲気など種々の溶媒場における腐植物質の官能基情報を *in situ* で取得するなどへの応用が期待できる。

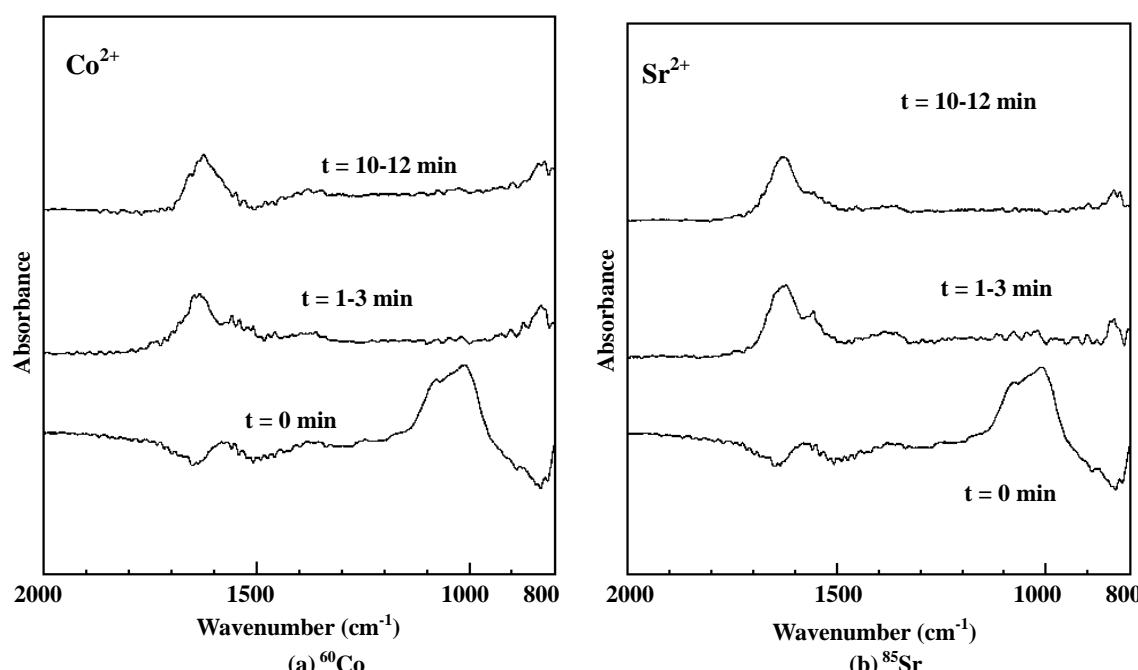


Fig.4 Periodical change of ATR spectra of humic acid solutions reacted with  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Sr}^{2+}$ .

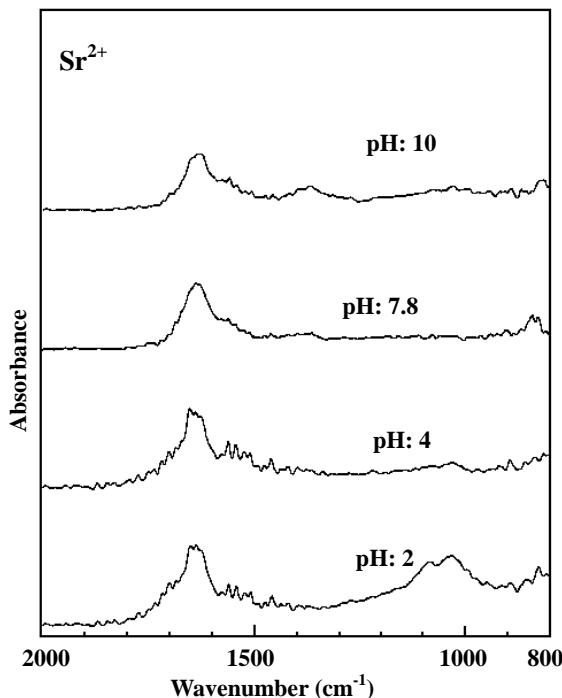


Fig.5 ATR spectra of humic acid solutions reacted with  $\text{Sr}^{2+}$  at different pH.

#### 4. 結言

腐植物質と金属イオンとの錯形成に関する官能基についての情報を赤外吸収スペクトルから得るため、腐植物質を水溶液に溶存させた状態で赤外吸収スペクトルを簡便に測定できる ATR 法の適用性について検討した。その結果、以下の有効性が認められた。

- ・金属イオンとの錯形成により、腐植物質の赤外吸収スペクトルに生じる変化を確認できることを示した。
- ・金属イオン濃度と錯形成に伴う赤外吸収ピークの変化量との間に相関性があることを確認し、錯形成能の定量的検討へ応用できる可能性を示した。
- ・数分間隔で赤外吸収スペクトルが測定可能であることを確認し、錯形成速度の検討へ応用できる可能性を示した。
- ・pH の変化によって生じる官能基の状態変化が赤外吸収スペクトルに出現することを確認し、液性の変化に呼応した官能基の状態が観察可能であることを示した。

これらの結果から、ATR 法は錯形成に伴う腐植物質官能基の状態変化に関する赤外吸収スペクトル情報の収集ならびに赤外吸収スペクトルの in situ 分析へ応用できる可能性を示すことができた。

なお、環境中に存在する数十 ppm 程度の腐植物質の分析へ ATR 法を直接適用するためには、プリズム形状の改良や液性の最適化による測定感度の向上、水による吸収の低減化を図ることが必要である。また、温度、イオン強度、

濃度、粘性、pH、密度など、赤外光の屈折率変動要因について検討し、それらの影響を把握することも必要である。

#### 謝辞

本研究を取りまとめるに当たり、貴重なご助言を頂きました日本原子力研究所燃料サイクル安全工学部処分安全研究室の中山真一室長に感謝の意を表します。

#### 参考文献

- [1] McCarthy, J.F., Zachara, J.M.: Subsurface Transport of Contaminants. *Environ.Sci.Technol.*, **23**, 496-502 (1989).
- [2] Choppin,G.R.: Humics and Radionuclide Migration. *Radiochim.Acta*, **44/45**, 23-28 (1988).
- [3] Tanaka,T., Senoo,M.: Sorption of  $^{60}\text{Co}$ ,  $^{85}\text{Sr}$ ,  $^{137}\text{Cs}$ ,  $^{237}\text{Np}$  and  $^{241}\text{Am}$  on Soil under Coexistence of Humic Acid. *Scientific Basis for Nuclear Waste Management XVIII* (Murakami,T. and Ewing,R.C., ed.). Materials Research Society, 1013-1020 (1995).
- [4] Aiken,G.R., McKnight,D.M., Wershaw,B.L., MacCarthy,P.: *Humic Substances in Soil, Sediment, and Water*, John Wiley & Sons, New York, (1985).
- [5] Lobartini,J.C., Tan,K.H.: Differences in Humic Acid Characteristics as Determined by Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance, Scanning Microscopy, and Infrared Analysis. *Soil Sci.Soc.Am.J.*, **52**, 125-130 (1988).
- [6] Rao,L.: Thermodynamic Study of the Complexation of Neptunium(V) with Humic Acids. *Radiochim.Acta*, **69**, 87-95 (1995).
- [7] Kawahigashi,M., Fujitake,N., Takahashi,T.: Structural Information Obtained from Spectral Analysis (UV-VIS, IR,  $^1\text{H}$  NMR) of Particle Size Fractions in Two Humic Acids. *Soil Sci. Plant Nutr.*, **42**, 355-360 (1996).
- [8] Niemeyer,J., Chen,Y., Bollag,J.M.: Characterization of Humic Acids, Composts, and Peat by Diffuse Reflectance Fourier-Transform Infrared Spectroscopy. *Soil Sci.Soc.Am.J.*, **56**, 135-140 (1992).
- [9] Griffiths,P.R.: Fourier Transform Infrared Spectroscopy. *Science*, **222**, 297-302 (1983).
- [10] Baes,A.U., Bloom,P.R.: Diffuse Reflectance and Transmission Fourier Transform Infrared (DRIFT) Spectroscopy of Humic and Fulvic Acids. *Soil Sci.Soc.Am.J.*, **53**, 695-700 (1989).
- [11] Tanaka,T., Nagao,S., Ogawa,H.: Attenuated Total Reflection Fourier Transform Infrared (ATR-FTIR) Spectroscopy of Functional Groups of Humic Acid Dissolving in Aqueous Solution. *Anal.Sci.*, **17**, i1081-i1084 (2001).
- [12] 吉川直人, 佐藤寿邦, 大矢晴彦: 赤外全反射減衰法による製塩工程溶液の硫酸イオン濃度の測定法. *分析化学*, **47**, 571-575 (1998).

- [13] Urban,M.W., Koenig,J.L., Shih,L.B., Allaway,J.R.: Structure of Styrene/Acrylic Acid Copolymer in Aqueous Solution Determined by Fourier Transform Infrared Spectroscopy. *Appl.Spectrosc.*, **41**, 590-596 (1987).
- [14] Max, J-J., Chapados,C.: Interpolation and Extrapolation of Infrared Spectra of Binary Ionic Aqueous Solutions. *Appl.Spectrosc.*, **53**, 1601-1609 (1999).
- [15] 増井暁夫, 山本清, 太田浩二: 全反射赤外吸収法における侵入深さの波数依存性. 分析化学, **41**, T49-T54 (1992).
- [16] 江崎泰雄, 中井恭子, 荒賀年美: 顕微赤外用全反射吸収プリズムの開発と局所分析への応用. 分析化学, **42**, 127-131 (1993).
- [17] 錦田晃一, 岩本令吉: 赤外法による材料分析, 講談社サイエンティフィク, 東京, (1986).
- [18] Stevenson,F.J.: *Humus Chemistry*, John Wiley & Sons, New York, (1982).
- [19] Barbot,C., et al.: Characterization of a Humic Gel Synthesized from an Activated Epoxy Silica Gel. *Radiochim.Acta*, **90**, 211-218 (2002).
- [20] 福嶋正巳, 田中俊逸, 多賀光彦: 酸性溶液中の銅 - フミン酸錯体の安定性. 日化誌, 556-558 (1991).