

# X線吸収分光法による新しい環境プローブの開発

## — 底質中の硫黄の in situ 化学種分析 —

関西医科大学 楠本（竹本）邦子

### 1. はじめに

湖水中の溶存酸素量は、流入河川、大気、藻類の光合成活動などによる酸素供給と、湖内での呼吸、分解などの酸素消費の収支バランスで決定される。水中や湖底中の有機物が増加すると、分解時に酸素が大量に消費され、酸素濃度が低下し、底質は貧酸素化し易くなる。

湖沼の嫌気化が進むと、硫酸還元菌が底泥間隙水中の硫酸イオン ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) を還元する。これによって、硫化物イオンが ( $\text{S}^{2-}$ ) 生成し、例えば、チオプロカ（微好気の場合も必）やベギアトア等の硫黄細菌が、硫化水素をエネルギー源として利用し、硫黄 (S) を生成することが知られている。このことは、泥質環境中の S の存在状態を知ることで、底質の酸化還元状態を理解できる可能性があることを示している。

従来の環境分析では、底質中での S の存在状態を知るために、吸光光度法、中和滴定法、イオンクロマトグラフ法で得られた結果を組み合わせ、解析を行っている。これらの分析は操作が多く、また採取後の時間経過や遠心分離操作により値が動き易いという難点があった。

本研究では、元素の化学状態を、特別な前処理することなく知ることが出来る X 線吸収端近傍構造 (XANES) 分析を用い、環境条件を保持した少量の底質に含まれる S の化学種を XANES スペクトルから特定し、底質の酸化還元状態の測定を目指す。最も重要な開発ポイントは、底質を、採取した時の状態を保持したまま測定を行うことができる試料セルおよび手法の開発である。特に嫌気状態をモニターできる硫化鉄中の -2 価の硫黄が検出できる試料セルおよび手法の開発を目指した。

### 2. X線吸収端近傍構造 (XANES) 法

X 線吸収分光法 (X-ray Absorption Spectroscopy : XAS) は、試料に X 線を照射した際に、試料を構成する各元素の内殻電子が励起することに伴い X 線が吸収され、その吸収強度が元素の価数や結合状態等に依存することを利用して、元素の存在状態を知る分析方法である。特に、吸収端近傍の数 10eV 程度に現れる微細構造を X 線吸収端近傍構造 (XANES: X-ray absorption near edge structure) と呼び、このエネルギー範囲を解析することで、電子状態 (価数)、対称性などを知ることができる。

XANES 分析は、

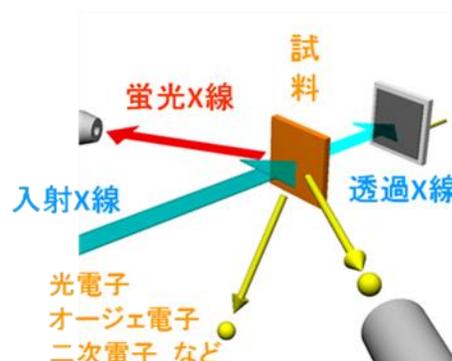


図 1 X 線と物質の相互作用

- (1) 測定する試料の相を選ばない（固相，液相，気相でも測定可）
- (2) 混合物の測定が可能
- (3) 感度が高い

という特徴があり環境条件を保存したまま底質中の物質の化学状態分析が可能となっている。

### 3. 底質用 XANES セルの開発

#### 3.1 含水底質専用セルの仕様

XANES 測定は立命館大学 SR センターBL-10 軟 X 線 XAFS ビームラインを用いて行った。BL-10 では，高真空測定用の試料測定室の他に，大気圧測定室（He ガス雰囲気）が配置されており，乾燥試料以外にも含水試料の測定が可能となっている<sup>1)</sup>。また，近年開発されたトランスファーベッセルを使用することで，試料を試料調整室から大気非暴露で輸送・測定することも可能となっている。

含水試料の測定は，BL-10 に専用の測定用試料セルがなかったため，厚さ 9~10  $\mu\text{m}$  のポリエチレン(PE)フィルムを加熱接着（ヒートシール）で作製した袋に試料を密封し行っていた（図 3）。しかし，この操作は煩雑で時間が掛り，底質の大気曝露を避けるため窒素雰囲気ブース内で行う作業としては不向きであった。また，今回の測定は反射条件で行うため，試料表面の状態や凹凸状況により XANES スペクトルが影響を受けて，正しい測定が出来なくなる恐れがあった。この問題を解決するため，含水底質専用セルの開発を行った。

セルの仕様としては，①操作が簡単，②水蒸気および酸素のバリア性が高い，③測定面の平滑性が高い，④化学的に安定，を満たすこととした。

表 1 に，加工が比較的容易で，X 線分析でも良く利用されるポリマー材料の酸素透過度と水蒸気透過度を示す。これまで用いられてきた PE の値と比較し，酸素透過度と水蒸気透過度が良い値を示すポリエチレンテレフタレート (PET) の薄膜を X 線照射面用材料とすることにした。PET 薄膜は，薄膜による X 線吸収を最小限にしながら適度な引っ張り強さと扱い易さ維持するため，4  $\mu\text{m}$  の厚さの薄膜を用いることとした。試料セルは化学的に安定なポリテトラフルオロエチレン (PTFE) を用いることとした。

セルは，ビームサイズ（約 5 mm×2 mm）を考慮し，直径 18mm，高さ 10 mm の PTFE の円柱を基本とし，

- ①直径 12 mm の貫通穴を開けたもの（貫通穴型，図 4a）
- ②直径 12 mm，深さ 1 mm のくぼみを掘ったもの（深凹型，図 4b）
- ③直径 12 mm，深さ 0.5 mm のくぼみを掘ったもの（浅凹型）

を作製した。セルの側面には O リング用の溝があり，O リングを用い PET 薄膜による試料の密閉（図 4c）とラックへのセルの固定（図 4d）ができるようにした。

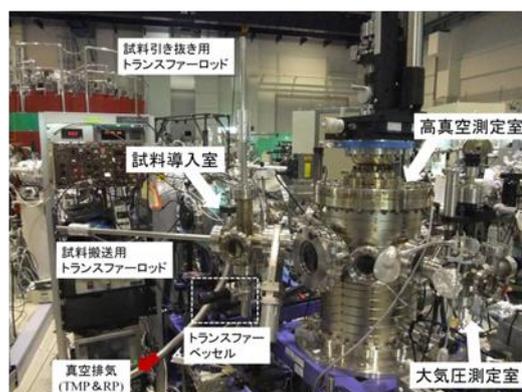


図 2 立命館大学 SR センターBL-10 軟 X 線 XAFS ビームライン<sup>1)</sup>



図 3 PE ヒートシール型含水試料

貫通穴型セルは、貫通穴に底質を充填し、穴の上下をそれぞれ PET 薄膜と O リングで密閉する方式を取る。必要試料量は約 1 ml となる。

凹型セルは、凹部に底質を充填し、PET 薄膜と O リングで密閉する方式を取る。深凹型セルの必要試料量は約 0.1 ml、浅凹型セルの必要試料量は約 0.6 ml となる。

表 1 各種ポリマーの酸素透過度と水蒸気透過度<sup>3)</sup>

種類	酸素透過度 <sup>1</sup> cc/m <sup>2</sup> ·24h·atm	水蒸気透過度 <sup>2</sup> g /m <sup>2</sup> ·24h
ポリイミド (PI)	390	84
ポリエチレンテレフタレート (PET)	43	8
ポリエチレン(密度 0.955g/cc) (PE)	2,900	0.5
ポリプロピレン (PP)	9,100	1.6
ポリテトラフロロエチレン (PTFE)	17,600	1.2

1 測定条件 厚さ 25 $\mu$ m, 25 $^{\circ}$ C, ドライ

2 測定条件 厚さ 25 $\mu$ m, 25 $^{\circ}$ C, 90%RH

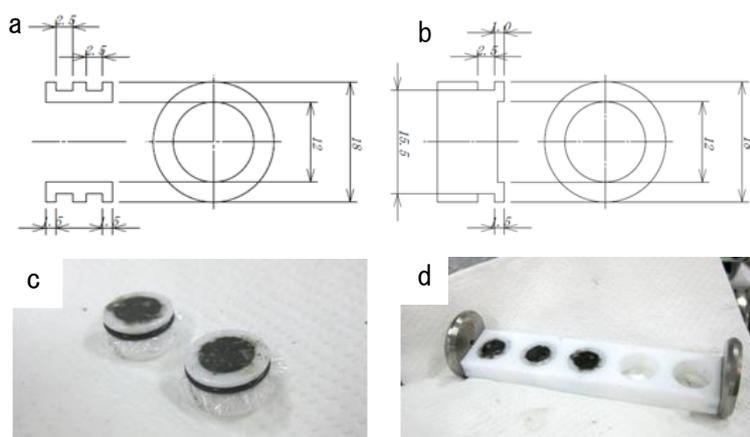


図 4 PTFE 製試料セルの図面と写真

貫通穴型セル(a), 深凹型セル(b)

試料を詰めた深凹型セル(c)とセルラックに装着したセル(d)

### 3.2 底質専用セルの評価

測定は全て He ガス置換の大気圧条件下で行い、検出モードはシリコンドリフト検出器を用いた蛍光 X 線収量法にて行った。標準試料は高真空中で測定を行い、検出モードは試料電流測定による全電子収量にて行った。分光結晶には Ge(111)を用いた。S K 吸収端のエネルギーは K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> のホワイトラインを 2481.7 eV として校正した<sup>2)</sup>。

図 5 に従来型のヒートシール型 PE 袋に密封した含水状態の底質から得られる状態の良い S K 吸収端 XANES スペクトルを示す。試料は、採取後、好気条件で冷蔵保存したものである。底泥中の硫黄は含有量が少なく、また、主成分である SiO<sub>2</sub> に由来する Si が大きなバックグラウンドとなり、低 S/B 比、低 S/N 比であったが、S の化学状態分析が十分に可能なスペクトルが得られている。SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> を示すエネルギー位置(約 2481 eV)に鋭いピーク構造と、単体硫黄(環状 S<sub>8</sub>)を示すエネルギー位置付近(2472 eV)にピーク構造を持つことが分かる。

新たに作製した含水底質専用セルを用い XANES 測定実験を行った。貫通穴型セルを

用いた測定では XANES スペクトルを得ることができなかった。測定は試料が並んだラック面が床面に垂直な状態で行われる。貫通穴型セルの場合、試料量が多く、試料中の水分が自重で下に溜まり、試料と PET 薄膜の間に隙間が生じ、PET 膜の平滑性が失われたことが原因と考えられる。

次に、深凹型セルを用いた XANES 測定実験を行った。深凹型セルでは、ヒートシール型 PE 袋と同様の良好な S K 吸収端 XANES スペクトルを安定的に得ることができた (図 6)。試料も凹部に均一に詰めることができた。また、試料の含水状態は、測定後も保持されていた。浅凹型セルでは、粒の粗い底質の場合状態を凹部が浅すぎて均一に詰めることができなかった。以上の結果より、含水底質試料は深凹型のセルを用いることとした。

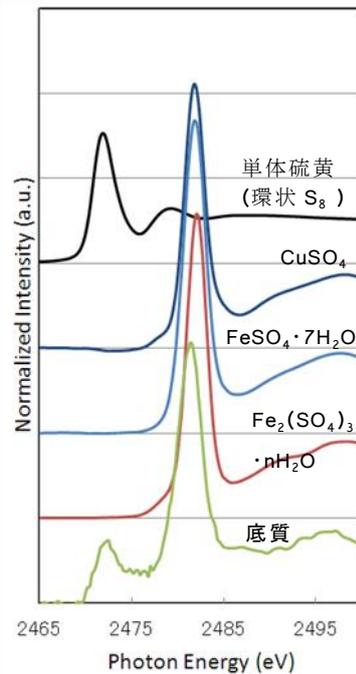


図 5 ヒートシール型 PE 袋を用いた S K 吸収端 XANES スペクトル<sup>4)</sup>

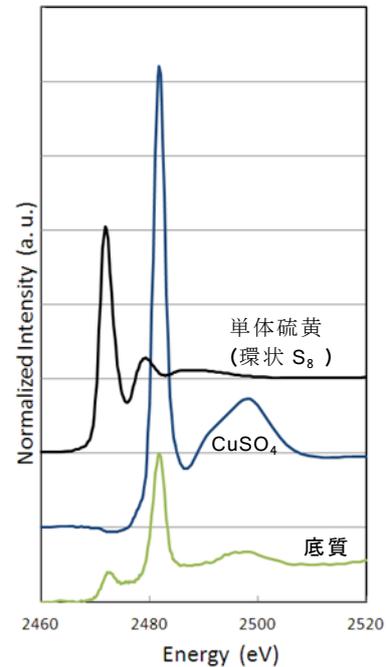


図 6 深凹型セルを用いた S K 吸収端 XANES スペクトル

#### 4. 底質の XANES 分析

新たに開発した深凹型セルを用いて、底質の還元状態が進んでいることが他の環境指標で予測されている琵琶湖の底質について、S K 吸収端 XANES 測定を行い、還元状態を捉えることを試みた。

##### 4.1 試料採取

人工的湖岸で泥質化が進んでいることが知られている琵琶湖長浜沖を採取場所とした。この底質の前年の酸化還元電位 (ORP) は、 $-50 \sim -120\text{mV}$  であった。

2013 年 7 月 4 日、琵琶湖長浜沖 170m 地点 (北緯 35 度 22 分 26.10 秒 東経 136 度 15 分 30.45 秒) で底質を採取した (図 7)。エクマンバージで底泥表面約 10 cm を採取し、湖水を入れたバケツの中でバージを開け、水中作業にて水封したビニール袋に採取した (図 8)。底質は、浮泥とシルト質からなっていた。

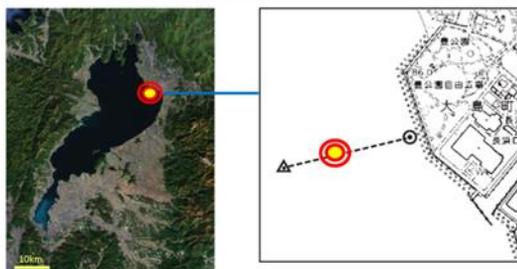


図 7 採取地点



図 8 底泥採取状況

## 4.2 の XANES 測定試料の処理と保管

採取した底質は採取日に XANES 測定した。残りの底質は、経時変化を調べるため以下の条件で保管した。

保管期間 採取 1 週間（7 日）後，2 ヶ月後，7 ヶ月後

保管条件

好気－室温	嫌気－室温
好気－冷蔵	嫌気－冷蔵

採取した底質は窒素ブースの中で開封し，大小 2 種類のポリプロピレン製の容器（以下「タッパー」とする）に移し入れ，さらに気密性の高いポリカーボネイト製の容器（以下「培養ジャー」とする）に入れた（図 9）。

嫌気処理を行うものは，脱酸素剤と酸素モニターを入れ，室温 20 °C の部屋および冷蔵庫（10 °C 以下）に静置した。

好気条件を保つものは，室温 20 °C の部屋および冷蔵庫（10 °C 以下）に静置し，試験開始から 3 ヶ月後までは 1 週間に 1 回，3 ヶ月後以降は 2 週間に 1 回の頻度で撹拌を行った。撹拌を行う際は，試料を培養ジャーごと，クリーンブースに持ち込み，雰囲気からの新たな菌の侵入を防ぐ環境下で蓋を開け，ポリプロピレン製のスプーンで撹拌した。撹拌は，タッパー内の底質の色が均一になるまで行った。

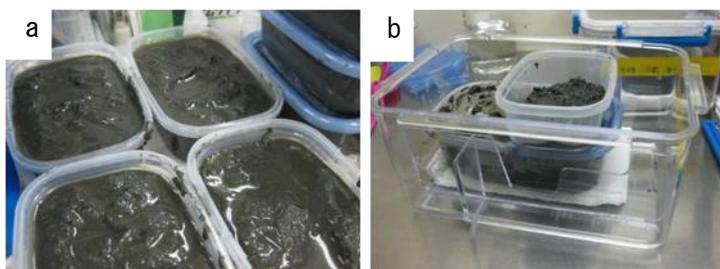


図 9 保管状況

タッパーに入れた状態 (a)  
タッパーを培養ジャーに入れた状態 (b)

## 4.3 XANES 測定試料の調整

全ての測定は，今回開発した深凹型セルを用いて行った。

操作は全て，窒素を充填し内部の酸素濃度を 1 % 以下にしたブース（以下「窒素ブース」とする）の中で行った。

以下に，手順を示す。

- ① 窒素ブースの設営（試料と機材を投入）
- ② ブース内部の空気を窒素に置換
- ③ 窒素ブース内で培養ジャーの蓋を開け，スプーンで撹拌して均一化
- ④ ピンセットで試料の一部を取りセルにセットし，PET フィルムと O リングで固定
- ⑤ セルをセルラックに取り付ける
- ⑥ ラックをトランスファーベッセル（図 8）に挿入し，ブース内でバルブを閉める



図 8 セルを取り付けたセルラックとトランスファーベッセル

#### 4.4 S K XANES 分析

底質の測定は全て He ガス置換の大気圧条件下で行い、検出モードはシリコンドリフト検出器を用いた蛍光 X 線収量法にて行った。分光結晶には Si(111)を用いた。S K 吸収端のエネルギーは  $K_2SO_4$  のホワイトラインを 2481.7 eV として校正した<sup>2)</sup>。

### 5. 結果と考察

#### 5.1 採取直後の XANES 測定

図 9 に採取当日に測定した XANES 測定の結果を示す。

底質は、採取直後から大気に触れないように操作した底質（大気非曝露）と、採取直後に大気に触れさせた底質（大気曝露）の 2 種類について測定した。

大気曝露と非曝露の両方のスペクトルは、 $SO_4^{2-}$  を示すエネルギー位置（約 2481 eV）にピーク構造を持つ。粒の粗い底質を洗浄乾燥後に全電子収量で測定した XANES スペクトルには  $SO_4^{2-}$  のピークが検出されなかったことから、 $SO_4^{2-}$  は岩石由来ではなく、湖水中の  $SO_4^{2-}$  イオンであると推定される。さらに、2472 eV のエネルギー位置にも共通のピーク構造が確認できる。これは、RSR' のピーク（約 2473 eV）と一致している（図 10）。

大気非曝露は、 $S^{2-}$  を示すエネルギー位置（約 2470 eV）にピーク構造を持っている。このピークは S の還元状態を示すものである。一方、このピーク構造は大気曝露された底質に存在していなかったことから、底質は大気に曝されると急速に酸化が進むと考えられる。大気曝露の底質と同様に 2473eV 付近に RSR' のピークを持つがブロードである。近くには、 $S^{-1}$  および  $S_8$ （約 2471eV）のピークも存在していることから  $S^{-1}$  および  $S_8$  の存在が示唆される。

#### 5.2 底質の経時変化

底質の経時変化を調べるため、嫌気・常温条件で保管した XANES スペクトルを図 11 に、好気・常温条件で保管した XANES スペクトルを図 12 に示す。

嫌気・常温条件では、7 ヶ月の間に大きなピーク構造の変化は見られず、 $SO_4^{2-}$ 、RSR'、S、 $S^{-1}$  の存在が確認できた。嫌気・低温条件で保管した底質でも同様の傾向を示した。この結果は、保管用タッパーの中で底質中と同じ S サイクルが実現していることを示す。すなわち、嫌気的な環境で、

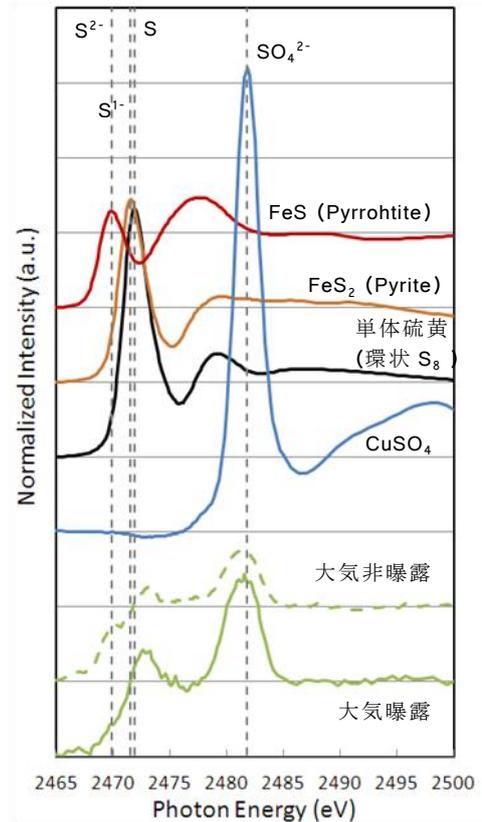


図 9 採取当日の底質の S K 吸収端 XANES スペクトル

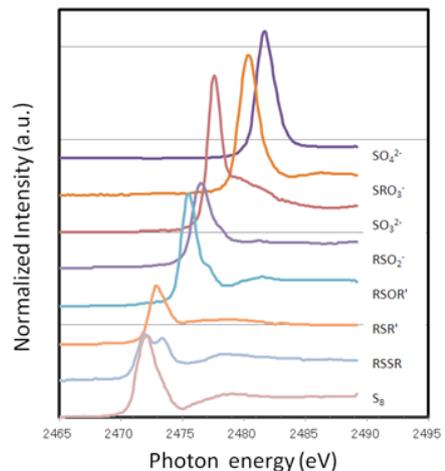
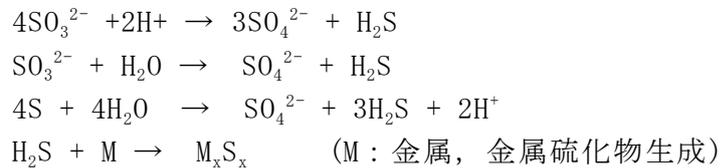


図 10 S 化合物の XANES スペクトル

硫酸還元菌が有機物を分解し、生じた電子を用い硫酸塩を硫化物イオンにまで還元し、硫化水素(H<sub>2</sub>S)を発生させる。発生したH<sub>2</sub>Sは、金属塩と接することで、金属硫化物の沈殿が生じる。底質の中には、鉄やマンガンなどの金属が多く含まれていることから、FeSやMnSなどの金属硫化物が沈殿して存在していると考えられる。



硫酸塩還元細菌の存在を確かめるため、底泥の培養を行った。泥底1gを、硫化ナトリウムを含む培地溶液で培養後、析出物を改良ISA液体培地で培養したところ黒いコロニーが確認されたことから、硫酸塩還元細菌の存在が確認された。

一方好気・常温条件では、採取時に確認できたS<sup>2-</sup>のピークが1週間後にはほとんど消滅し、その代わりにSO<sub>4</sub><sup>2-</sup>(約2470 eV)が明確になり、7ヶ月後にはSO<sub>4</sub><sup>2-</sup>(約2470 eV)と2473 eV付近のピークのみとなった。これは、好気的な環境により、硫酸還元菌によって生成されたH<sub>2</sub>Sが、硫黄細菌によりS、H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>の順に酸化される。その結果、相対的にSO<sub>4</sub><sup>2-</sup>が多くなり、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>の鋭いピークの出現に繋がったと考えられる。

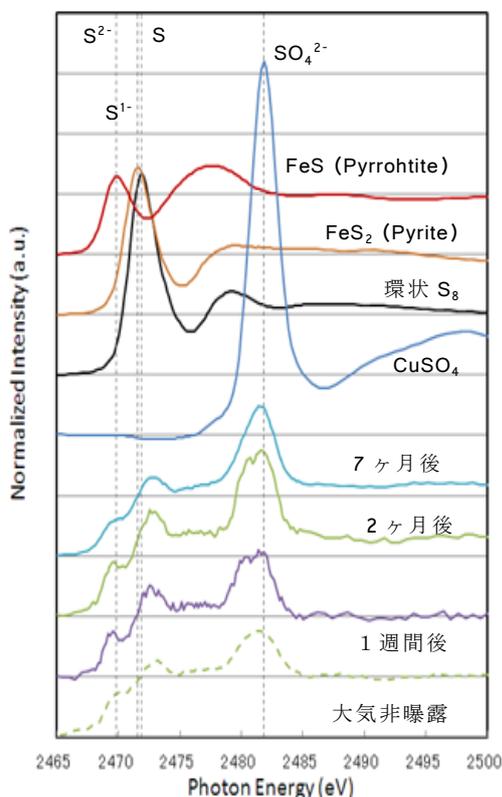
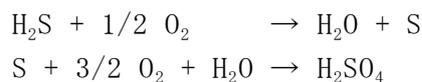


図11 嫌気常温で保管した底質の経時変化

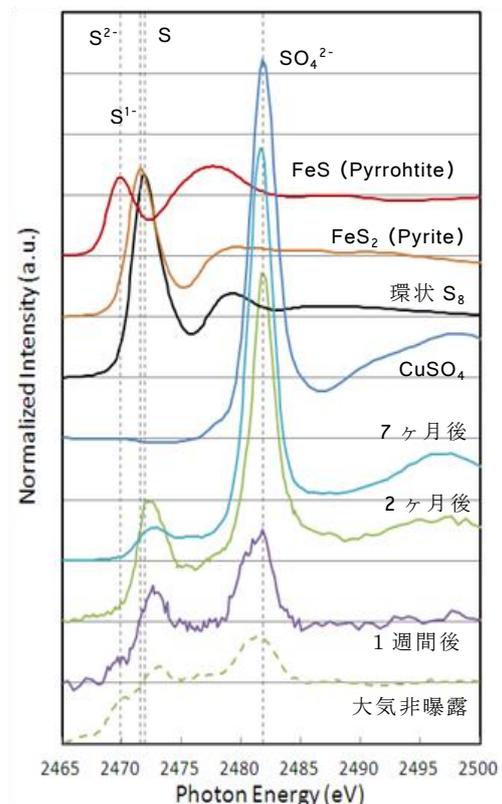


図12 好気常温で保管した底質の経時変化

### 5.3 XANES 分析と従来法

今回底質を採取した琵琶湖長浜沖は、人工的湖岸で、泥質化が進んでいる地点である。採取地点の底質の前年の ORP は、年間通して嫌気状態 (-50~-120mV) を示していた。今回の底質も嫌気状態にあることが予測されていた。この底質において、新型セル用い、最も還元状態の進んだ  $S^{2-}$  を検出できたということは、XANES 分析が底質の酸化還元状態を把握できる手法であることを示している。

XANES 分析は、従来法では一度に検出することができない、硫化物、硫黄、硫酸イオンや亜硫酸イオンなどの硫黄が郷物を、短時間に一度に検出することができる(表 2)。また、作業量も少なく、5 検の場合、試料のセット、調整、測定、解析までを 1 名の作業者が約 4 時間程度で行うことができる。XANES 分析で底質の酸化還元状態を把握するためには、今後、底質の XANES スペクトルデータの積み上げと定量的な測定への展開を進めていく必要がある。

表 2 底質のよる形態別硫黄分析<sup>3</sup>

#### 従来法

	手順	作業量	難点
硫化物	固定液に採取/蒸留/滴定法	0.5 日/day × 2 日間 = 約 1 人日	手順が多い
全硫黄	底質(または間隙水)をアルカリ融解(るつぼで強熱)後、ICP で定量	分解 (0.2 人日) + 測定 (0.2 人日) = 約 0.4 人日	形態別の測定が不可
$SO_4^{2-}$ , $SO_3^{2-}$ (間隙水, 溶出水のみ分析可)	酸素に触れないように、遠心分離で間隙水を採取し、イソクロム法で定量	間隙水採取 (0.5 人日) + 測定 (0.2 人日) = 0.7 人日	採取後の時間経過や遠心分離操作によって値が動き易い 例) 還元的底泥を密閉後放置: $SO_4^{2-} \rightarrow SO_3^{2-} \rightarrow$ 硫化物 還元的底泥を空気に接触: 硫化物 $\rightarrow SO_3^{2-} \rightarrow SO_4^{2-}$

#### XANES 法

	手順	作業量	難点
全て	試料セット後、XANES 測定	試料セット (0.5h) + 調整 (1h) + 測定 (2h) + 解析 (0.5h) = 4h	装置が必要 定量には追加作業が必要

### 3 5 検体を並行処理したときの目安

## 6. まとめ

元素の化学状態を、特別な前処理することなく知ることが出来る X 線吸収端近傍構造分析を用い、環境条件を保持した少量の底質に含まれる S の化学種を XANES スペクトルから特定し、底質の酸化還元状態の測定を目指し実験を行い、以下の結果を得ることができた。

(1) PET の薄膜をと PTFE 製のセルとラックから成る含水底質専用セルを開発することができた。新型セルは、約 0.1 ml の含水状態の試料を簡単に素早く取り付けることができるだけでなく、試料の乾燥や大気曝露も避けることができ、良好な XANES スペクトルを得ることができる。

(2) 新型セルを用いた底質の XANES 測定で、還元 S( $S^{2-}$ ) の存在を明確に捉えることができた。

(3) 還元状態が確認された底質を好気状態で保管することで、還元 S( $S^{2-}$ ) の減少と酸化 S( $SO_4^{2-}$ ) の増加を明確に捉えることができた。

以上より、S の化学種を XANES スペクトルから特定することで、底質の酸化還元状態の把握が、従来法よりも簡便に行える可能性があることを示すことができた。

## 謝辞

この研究は、文部科学省先端研究施設共用促進事業による研究支援(立命館大学 SR センター)を利用して行われました。

本研究を進めるにあたり滋賀県琵琶湖環境科学研究センターの一瀬諭博士、古田世子氏に多大なるご協力をいただきました。深く感謝の意を表します。

XANES の測定において、立命館大学 SR センターの太田俊明センター長をはじめ小川雅裕氏 与儀千尋博士、中西康次博士(現京都大学)に多大なるご協力をいただきました。深く感謝の意を表します。

## 参考文献

1. BL-10 軟 X 線 XAFS ビームライン [http://www.ritsumei.ac.jp/acd/re/src/beamline/BL10\\_201401.pdf](http://www.ritsumei.ac.jp/acd/re/src/beamline/BL10_201401.pdf)
2. Nakanishi K., Ohta T., Verification of the FEFF simulations to K-edge XANES spectra of the third row elements, J. Phys.: Condens. Matter 21 (2009) 104214.
3. 安田武夫, プラスチック材料の各動特性の試験法と評価結果<5>, プラスチックス, Vol. 51, No. 6 (2000) 119-127.
4. 竹本 邦子, 馬場大哉, 中西康次, XANES 測定による琵琶湖底質土の分析, 先端研究基盤共用・プラットフォーム形成事業, 利用成果報告書 R112 (<http://www.ritsumei.ac.jp/acd/re/src/kyoyo/seikahoukokuindex.html>)