

ボトルおよびそれらの洗浄方法の違いによる 鉄コンタミネーションの検討

大澤京子*, 山本民次*, 平田静子**

* 広島大学大学院生物圏科学研究科, 広島県東広島市 739-8528

** 産業技術総合研究所中国センター, 広島県呉市 737-0197

要 旨 ナルゲン社製ポリ瓶（以下ナルゲン瓶）とサンブラテック社製クリーンパックポリ瓶（以下サンブラテック・クリーン瓶）を使用し、これらのポリ瓶およびそれらの洗浄方法（Milli-Q水、10%硝酸+Milli-Q水）の違いによる鉄のコンタミネーションレベルを調べた。これらのボトルにMilli-Q水を入れ、 -20°C で13日間保存した。これらについて、化学発光法でFe (II) を測定した結果、ナルゲン瓶で硝酸洗浄後Milli-Q水洗浄したものが、最も鉄のコンタミネーションが低かった ($0.001 \pm 0.001 \mu\text{M}$, $n = 3$)。一方、サンブラテック・クリーン瓶は洗浄後パックされて出荷されており、これらはそのまま使用した方が汚染レベルは低かった。

キーワード：鉄、ポリエチレン瓶、コンタミネーション（汚染）

はじめに

1980年代後半に、Martinらのグループが、北太平洋で一年を通して栄養塩が豊富に存在するにもかかわらずクロロフィル現存量が少ない、いわゆるHNLC (High Nutrient Low Chlorophyll) 海域において、鉄が植物プランクトンの増殖制限要因になっていると報告した (Martin and Fitzwater, 1988; Matin *et al.*, 1989)。これらの海域に鉄を散布することで、植物プランクトンの増殖が実証されており (Martin *et al.*, 1994; Coale *et al.*, 1996; Boyd *et al.*, 2000)、鉄に関する研究がいくつかなされてきた。

海水中の鉄は、二価、三価、さらにはさまざまな物質にキレートされて、これらの形態同士間で常にやりとりがなされているため (Baar and de Jong, 2001)、それらの動態を正確に把握することは難しい。また、鉄の海水中的での存在量は微量であるため、分析操作中に実験器具や試薬、空気中の塵などから汚染を受け易い。そこで、本研究ではサンプルを保存する容器について、その洗浄方法とポリ瓶の素材による鉄のコンタミネーション（汚染）の違いを調べた。

方 法

ポリ瓶は、ナルゲン社製の125 ml細口試薬瓶（本体：低密度ポリエチレン、キャップ：ポリプロピレン、カタログNo. 2003 - 0004；以下、ナルゲン瓶）と、サンブラテック社製の100 mlクリーンパックポリエチレンボトル（本体・キャップ：ポリエチレン、コードNo. 6677E；以下、サンブラテック・クリーン瓶）を使用した。後者は、入荷→受入検査→超音波洗浄→純水リンス→乾燥→出荷検査→包装（2重パック）→梱包・出荷という過程を経たもので、付着パーティクル数（液中）と残留イオン量を評価項目としている。とくに純水洗浄は洗浄度クラス1000で行われ、包装はクラス100以下の環境で行われている。

これら二種類のポリ瓶を表に示す方法で洗浄し (Table 1), ドライニングシェルフDS-L (アズワン) で自然乾燥させた。測定用サンプルとしてMilli-Q水を100 mlずつ入れ、酸の添加などは行わずに-20℃で13日間保存した。本研究で用いたMilli-Q水とは、水道水をカートリッジフィルターTC-1-SICN (Advantec) と活性炭フィルターType 2 (アズワン) を通した後、オルガノカートリッジ純水器 (G-10) に通し、ミリポア社製Simpli Lab超純水装置を通したものである。実験は3本立て (triplicate) で行った。

これらのポリ瓶に保存されたMilli-Q水中の全溶解鉄をフレイム原子吸光法により定量測定した (平田, 1979; Hirata *et al.*, 1989)。鉄の分析線波長は248.3 nm (10 mA) を使用した。原子吸光法による溶存鉄の定量限界は0.055 mg l⁻¹ (1 μM) であり、分析値はすべて定量限界以下であったので、データは省略する。次に溶液中の二価鉄を鉄の触媒作用を利用したブリリアント・スルホフラビン (Brilliant Sulfofravin; sodium 4-amino-N-(p-tolyl)-naphthalimide-3-sulfonate) を用いる化学発光法 (Yamada *et al.*, 1985; Elrod *et al.*, 1991; Hirata *et al.*, 1999) で測定した。化学発光法による水溶液中の二価鉄の定量限界は0.01 μg l⁻¹ (0.2 nM) である。なお、これらの分析は通常の化学実験室で行った。

結果と考察

今回の実験による鉄汚染濃度は0~13 nMであった (Table 2)。これらの結果の比較において、ナルゲン瓶の方がサンプルテック・クリーン瓶より鉄のコンタミネーションが少なかった。とくに硝酸洗浄することにより、その濃度は低下した。ナルゲン瓶では、硝酸洗浄を行うことでコンタミネーションのレベルを下げる事ができた (0.001±0.001 μM)。一方、サンプルテック・クリーン瓶は出荷時のままで使用の方がコンタミネーションのレベルが低く、洗浄作業をすることで余計に汚染してしまうおそれがあることが分かった。

ナルゲン瓶の特徴として、キャップ部分にシールリングやねじ山が作られており、内蓋を使用しなくても密閉性を保つことができるようになっている。さらに、ネック部分には一体成型シュリンクシールリングがついており、内側表面には成型によるつなぎ目がなく、隙間に内容物が入り込んでコンタミネーションを起こすおそれがないような作りになっている。内側底部も平らで均一に成型されており、洗浄しやすいように丸くなっている。その上、コンタミネーションの原因となるフタレートのような可塑剤や充填剤は使用されていない。

一方、サンプルテック・クリーン瓶には内蓋が使用されており、底部は平らではなく、成型による凹凸があり、汚れが残ってしまう可能性が示唆された。少なくとも可塑剤については使用されていないが、充填剤使用の有無についての詳細は不明である。これらのことから、ナルゲン瓶の方が、コンタミネーションの心配が少ないことが伺える。ただし、サンプルテック社は希望に応じた洗浄方法や評価試験も行っていることから、注文に応じて今回以上にコンタミネーションを低くできる可能性がある。

今回の簡単な実験による鉄汚染濃度は0~13 nMであったが、HNLC海域での海水中の溶存鉄濃度は1 nM以下 (Jounson *et al.*, 1997) であるので、それらに対しては、分析時もクリーンルームで行う必要があり、今回の分析方法をそのまま適用するわけには行かない。しかし、例えば日本沿岸海域における鉄濃度は0.02~0.1 μM前後であり (門谷・岡市, 1997)、それらの測定や比較的高い濃度領域で行う培養実験などにおいては、十分に対応できる汚染レベルであると考えられる。

謝 辞

本報告に当たり、分析にご協力頂いた独立行政法人産業技術総合研究所中国センター循環バイオマス研究ラボの方々に感謝申し上げます。

引用文献

- Baar, H. J. W. and de Jong, J. T. M. (2001): Distribution, sources and sinks of iron in sea water, the biogeochemistry of iron in seawater. Edited by Turner, D. R. and Hunter, K. A., John Wiley & Sons, Ltd., England, Vol. 7: 125-140.
- Boyd, P. W., Watson, A. J., Law, C. S., Abraham, E. R., Trull, T., Murdoch, R., Bakker, D. C. E.,

- Bowie, A. R., Buesseler, K. O., Chang, H., Charette, M., Croot, P., Dawning, K., Frew, R., Gall, M., Hadfield, M., Hall, J., Harvey, M., Jameson, G., LaRoche, J., Liddicoat M., Ling, R., Maldonado, M. T., McKay, R. M., Nodder, S., Pickmere, S., Pridmore, R., Rintoul, S., Safi, K., Sutton, P., Strzepek, R., Tanneberger, K., Turner, S., Waite, A., and Zeldis, J. (2000): A mesoscale phytoplankton bloom in the polar Southern Ocean stimulated by iron fertilization. *Nature*, **407**: 695-702.
- Coale, K. H., Johnson, K. S., Fitzwater, S. E., Gordon, R. M., Tanner, S., Chavez, F. P., Ferioli, L., Sakamoto, C., Rogers, P., Millero, F., Steinberg, P., Nightingale, P., Cooper, D., Cochlan, W. P., Landry, M. R., Constantinou, J., Rollwagen, G., Trasvina, A. and Kudela, R. (1996): A massive phytoplankton bloom induced by an ecosystem-scale iron fertilization experiment in the equatorial Pacific Ocean. *Nature*, **383**: 495-501.
- Elrod, V. A., Johnson, K. S. and Coale, K. H. (1991): Determination of subnanomolar levels of iron(II) and total dissolved iron in seawater by flow injection analysis with chemiluminescence detection. *Anal. Chem.*, **63**: 893-898.
- 平田静子 (1979) : 広島県広湾堆積物中の重金属と有機物. 日本化学会誌, **1979**: 1316-1321.
- Hirata, S., Honda, K. and Kumamaru, T. (1989): Trace metals enhancement by automated on-line column preconcentration for flow-injection atomic absorption spectrometry. *Anal. Chem. Acta*, **221**: 65-76.
- Hirata, S., Yoshihara, H. and Aihara, M. (1999): Determination of iron (II) and total iron in environmental water samples by flow injection analysis with column preconcentration of chelating resin functionalized with N-hydroxyethylethylenediamine ligands and chemiluminescence detection. *Talanta*, **49**: 1059-1067.
- Johnson, K. S., Gordon, R. M. and Coale, K. H. (1997): What controls dissolved iron concentrations in the world ocean? *Mar. Chem.*, **57**: 137-161.
- Martin, J. H. and Fitzwater, S. E. (1988): Iron deficiency limits phytoplankton growth in the north-east Pacific subarctic. *Nature*, **331**: 341-343.
- Martin, J. H., Coale, K. H., Johnson, K. S., Fitzwater, S. E., Gordon, R. M., Tanner, S. J., Hunter, C. N., Elrod, V. A., Nowicki, J. L., Coley, T. L., Barber, R. T., Lindley, S., Watson, A. J., Van Scoy, K., Law, C. S., Liddicoat, M. I., Ling, R., Stanton, T., Stockel, J., Collins, C., Anderson, A., Bidigare, R., Ondrusek, M., Latasa, M., Millero, F. J., Lee, K., Yao, W., Zhang, J. Z., Friederich, G., Sakamoto, C., Chavez, F., Buck, K., Kolber, Z., Greene, R., Falkowski, P., Chisholm, S. W., Hoge, F., Swift, R., Yungel, J., Turner, S., Nightingale, P., Hatton, A., Liss, P. and Tindale, N. W. (1994): Testing the iron hypothesis in ecosystems of the equatorial Pacific Ocean. *Nature*, **371**: 123-129.
- Martin, J. H., Gordon, R. M., Fitzwater, S. and Broenkow, W. W. (1989): Phytoplankton/iron studies in the Gulf of Alaska. *Deep-Sea Res.*, **36**: 649-680.
- 門谷 茂, 岡市友利 (1997) : 鉄およびその吸収機構. 赤潮の科学 第二版, 岡市友利 (編), 厚生社厚生閣, 東京: pp. 227 - 245.
- Yamada, M., Sudo, A. and Suzuki, S. (1985): Chemiluminescence method for selective determination of iron (II) and chromium (III) with single reaction system. *Chem. Lett.*, **1985**: 801-804.

Table 1. Washing treatments applied for polyethylene bottles.

1. Nalgen bottle-Milli-Q: Washing with Milli-Q water¹⁾
2. Nalgen bottle-Nit+Milli-Q: Washing with 10% nitric acid²⁾, followed by washing with Milli-Q water¹⁾
3. Sanplatec Clean bottle: No washing
4. Sanplatec Clean bottle-Nit+Milli-Q: Washing with 10% nitric acid²⁾, followed by washing with Milli-Q water¹⁾

¹⁾: A polyethylene bottle was nearly filled (ca. 97%) with Milli-Q water and sealed with a cap. The bottle was placed for 2-3 hours in a temperature-controlled bath (80°C), in which pure water³⁾ poured to the 80 percent height of the bottle.

²⁾: A polyethylene bottle was nearly filled (ca. 97%) with 10% nitric acid (analytical grade for heavy metals, Wako Pure Chemical Industries, Ltd) and sealed with a cap. The bottle was placed for 2-3 hours in a temperature-controlled bath (80°C), in which pure water³⁾ poured to the 80 percent height of the bottle.

³⁾: Water passed through a paper cartridge filter (TC - 1 - SICN, Advantec) and an activated-carbon filter (Type 2, As-One Corporation.), and a ion-exchange cartridge filter (Cartridge pure water machine G-10, Organo Corporation)

Table 2. Comparison of contamination levels of Fe (II) with different bottles and their washing treatments.

Washing Treatments (See Table 1)	Nalgene bottle		Samplatec Clean bottle	
	1	2	3	4
Fe(II) concentration (μ M)	0.008 0.002 0.000	0.002 0.000 0.002	0.004 0.008 0.009	0.011 0.013 0.009
Avg \pm SD ^{a)}	0.003 \pm 0.004	0.001 \pm 0.001	0.005 \pm 0.003	0.011 \pm 0.002

^{a)}Standard deviation

Comparison of bottles and their washing treatments for iron contamination

Kyoko Osawa*, Tamiji Yamamoto* and Sizuko Hirata**

** Graduate School of Biosphere Sciences, Hiroshima University,
Higashi-Hiroshima, Hiroshima, 739-8528, Japan*

*** National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, Chugoku center,
Kure, Hiroshima, 737-0197, Japan*

Summary

Contamination of iron was examined for different types of polyethylene bottles (Nalgene bottles and Sanplatec Clean bottles) and their washing treatments (Milli-Q and 10% nitric acid). Milli-Q water which was contained in these bottles and frozen at -20°C for 13 days was analyzed by chemiluminescence method. The contamination level of Fe (II) was the most lowest in Nalgene bottles washed with 10% nitric acid and Milli-Q water. On the other hand, for Sanplatec Clean bottles, the contamination level of Fe (II) was lower in no treatments (just unpacked for use) than those washed with nitric acid.

Key words: contamination, iron, polyethylene bottle