

化学系 研修資料

－ 化学分析解説編 －

テーマ 6-1：海水中のリン酸を測ろう！

関連研修課題

6. 海水中に溶けている栄養物質を調べる「溶けたり粒になったり」
7. 海の植物プランクトン量を調べる「小さいけれど力持ち、海の植物プランクトン」
8. 海水中の酸素を調べる「魚は酸素で呼吸する！深海にも酸素はあるの？」
9. 海の二酸化炭素を調べる「プランクトンは二酸化炭素を深海に運ぶ？」
10. 海の pH を調べる「海水は酸性それともアルカリ性？」
11. 海底の堆積物を調べる「沿岸と深海の海底堆積物が見せる色は何のしるし？」

<目的>

リンは、すべての生命に含まれる重要な元素であり、光合成や呼吸、生物の代謝など生命活動に深く関与している。海洋中の植物プランクトンが光合成を行うために必要な栄養塩の1つである。ケイ酸とは対照的に、岩石圏におけるリン酸の存在量は低く、鉱物から水系への溶脱は少ない。むしろ、リン酸は土壌や鉱物への吸着能が大きく、陸上植物の主要な栄養素でもあり、天然水に含まれるリン酸濃度は、極めて低いのが一般的である。

海洋の植物プランクトンにとっても、リン酸は主要な栄養素となっている。また、たくさんの有機物が含まれている内湾の貧酸素状態の堆積物からは高濃度のリン酸が直上の堆積物に放出されることが知られている。

ここでは、海水中のリン酸濃度を鉛直的または水平的に測定し、濃度分布の特徴、植物プランクトン量の指標となるクロロフィル a、海水中に溶けている酸素量との関係を調べてみよう。また、巴川が流入する清水港の表層水や清水港の海底付近の海水、三保の水道水のリン酸濃度も測ってみよう。

<使用する器具>

- ・ ガラスメスフラスコ (100, 200, 500 ml)
- ・ ホールピペット (5, 10, 15, 20, 30 ml)
- ・ 25 ml メスピペット
- ・ 安全ピペッター
- ・ オートピペット (1.0~5.0 ml の可変式)
- ・ 50 ml 共栓付きガラス比色管
- ・ 100 ml, 200 ml ポリビーカー
- ・ 100 ml, 500 ml ポリ瓶

<使う試薬>

- ・ リン酸標準溶液 (11 mmol/l)

リン酸二水素カリウム(KH_2PO_4) 2 g を洗浄したガラスビーカーに量りとり、110 °C で2~4 時間乾燥させる。この乾燥試薬 1.496 g を小さなポリビーカーに量りとり、このビーカーに少量の精製水を洗瓶で静かに入れ試薬を溶解させ、1 L のガラスメスフラスコに移す。この操作は、3~5 回以上繰り返し、ビーカー中の溶液及び洗液を完全にガラスメスフラスコに流し入れる。このとき、いかなる微細な量であっても溶液または洗液をこぼしてはならない。精製水を標線まで満たし、栓をして倒立攪拌する。標準溶液は、洗浄したポリ瓶に入れて密栓保存する。

- ・ 飽和塩化ナトリウム溶液

標準溶液作成時に試料の海水と塩濃度をほぼ同じにするために用いる。NaCl 190 g に精製水約 500 ml を加え攪拌後 1 日以上放置し、この上澄み溶液を用いる。

- ・ 7.2 NH_4SO_4 溶液

100 ml のポリ瓶にポリメスシリンダーで量り取った精製水 80 ml を入れる。これに、あらかじめ洗浄し乾燥させた*メスピペットで濃硫酸 (36N) 20 ml を量りとり (安全ピペッターを使用)、先の 100 ml のポリ瓶にかき混ぜながら注ぐ。かなり発熱するので、水で冷却しながら行うと良い。

*：濡れているメスピペットで硫酸を吸引すると、発熱して破損する可能性もあり危険である。

・ 3 % モリブデン酸アンモニウム溶液

モリブデン酸アンモニウム 1.5 g を 100 ml のポリビーカーに量りとり、精製水 50 ml を加える。精製水を加えたら直ちにポリの攪拌棒で結晶を溶解させ、100 ml のポリ瓶に保存する。この溶液は、長期の保存ができない。白色沈殿が認められた場合は、新たに調整する

・ 0.046 % 酒石酸アンチモニルカリウム溶液

酒石酸アンチモニルカリウム 0.235 g を 500 ml の精製水に溶かし、100 ml のポリ瓶に保存する。この溶液は、数ヶ月は安定である。

・ 混合試薬

上で調整した 7.2 N H_2SO_4 溶液 50 ml に対して、3 % モリブデン酸アンモニウム溶液 20 ml、0.046 % 酒石酸アンチモニルカリウム溶液 30 ml をこの順に混合しながら加える。最後に、アスコルビン酸 0.55 g を加え攪拌棒でかき混ぜ完全に溶解させる。この溶液は、数時間しかもたないので使用直前に調整する。

<検量線>

1. 11 mmol/l の標準溶液を洗浄した 10 ml ガラスホールピペットを用い 100 ml ガラスメスフラスコに量りとり。精製水を用いて標線をあわせる。これをさらに 5 ml ガラスホールピペットを用い 200 ml ガラスメスフラスコに量りとり。精製水を用いて標線をあわせる。3 次標準溶液 (27.5 $\mu\text{mol/l}$) とする。
2. この 2 次標準溶液から、0, 0.55, 1.1, 2.2, 3.3 $\mu\text{mol/l}$ の 4 次標準溶液を作成する。
3. 3 次標準溶液作成に際しては、洗浄したガラスホールピペットと 250 ml ガラスメスフラスコの組み合わせを用いる。
4. 3 次標準溶液 25 ml をガラスホールピペットを用い比色管に量りとり。
5. 各々の標準溶液は、2 本ずつポリ比色管に量りとり。
6. 海水試料の発色に際して、同様の方法で発色させる。
7. 測定するときには、標準列の測定で始まり、標準列の測定で終了するようにする。最終的には、各々の標準溶液の吸光度の平均値より、検量線を作成する。以下に、標準溶液の作成方法を示す。

4 次標準溶液濃度 ($\mu\text{mol/l}$)	0	0.55	1.1	2.2	3.3
3 次標準溶液添加量 (ml)	0	5	10	20	30
NaCl 溶液添加量 (ml)	25	25	25	25	25

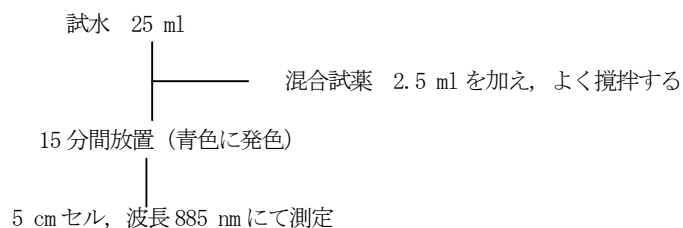
<実験方法>

1. 海水 25 ml をガラスホールピペットを用い比色管に量りとり。
2. 混合溶液 2.5 ml をオートピペットで加え、激しく混合させる。
3. 15 分放置後、水を対照として 5 cm のガラスセルを用い、波長 885 nm における吸光度を測定する。この発色は安定であるが、発色後 30~45 分ごとに測定を完了させる。試料数が多い場合は、一度に発色させる試料の数を制限する。
4. 検量線を用いて海水中のリン酸濃度を算出する。

<全般的な注意事項>

試薬調整や分析操作には、洗浄したガラス容器や器具を用いる。一般に、リン酸は、分析する周囲の環境からの汚染は少ない。日本の水道水や飲料用地下水のリン酸濃度は、通常 0.X $\mu\text{mol/l}$ 程度であるのが一般的である。ただし、リン酸や乾燥剤として五酸化二リンを用いている実験室の環境では、注意を要する。また、器具の洗浄に用いる洗剤は、無リン洗剤を用いるようにする。

<実験操作の流れ図>



テーマ 6-2 : 海水中のケイ酸を測ろう !

関連研修課題

6. 海水に溶けている栄養物質を調べる「溶けたり粒になったり」
7. 海の植物プランクトン量を調べる「小さいけれど力持ち、海の植物プランクトン」
8. 海水中の酸素を調べる「魚は酸素で呼吸する! 深海にも酸素はあるの?」
9. 海の pH と二酸化炭素を調べる「プランクトンは二酸化炭素を深海に運ぶ?」
10. 海底の堆積物を調べる「沿岸と深海の海底堆積物が見せる色は何のしるし?」

<目的>

ケイ素は、岩石の主要構成成分の一つであり、岩石圏の至るところに分布している。天然水に含まれるケイ酸は、岩石中のアルミノケイ酸塩が、雨水、河川水、地下水で洗われて溶け出したものであり、溶脱したケイ酸は、最終的には海洋に運ばれる。

海洋の植物プランクトンの肥料となる 3 要素の一つにケイ酸も含まれている。ケイ酸は、様々な生物に利用されているが、これを利用する生物の代表は、植物プランクトンのケイ藻類である。ケイ藻類は、世界の海洋に分布し、存在量も多い。ケイ藻は、細胞の周りにケイ酸の殻をまとっている藻類であり、ケイ藻にとってケイ酸は生きていくために必須成分となっている。

ここでは、海水中のケイ酸濃度を鉛直的または水平的に測定し、濃度分布の特徴、植物プランクトン量の指標となるクロロフィル a、海水中に溶けている酸素量との関係を調べてみよう。また、巴川が流入する清水港の表層水や清水港の海底付近の海水、三保の水道水のケイ酸濃度も測ってみよう。

<使用する器具>

- ・ポリメスフラスコ (100, 200 ml)
- ・ホールピペット (5, 10, 15, 20, 30, 40 ml)
- ・25 ml メスピペット
- ・安全ピペッター
- ・オートピペット (0.2~1.0 ml の可変式, 10 ml)
- ・20 ml 共栓付ポリ発色管
- ・100 ml, 200 ml ポリビーカー
- ・100 ml, 500 ml ポリ瓶

<使う試薬>

- ・ケイフッ化ナトリウム標準溶液 10 mmol/l

ケイフッ化ナトリウム (Na_2SiF_6) 2 g を洗淨したテフロンビーカーにとり、110 °C で 24 時間乾燥させる。放冷の後この乾燥試薬 1.8806 g を小さなポリビーカーに量り取る。このビーカーに精製水を洗瓶で静かに入れ試薬を懸濁させ、風袋重量を測定した乾いた 1 L のポリメスフラスコに移す。この操作は、5 回以上繰り返し、ビーカー中の粉末試薬を完全にポリメスフラスコに流し入れる。このとき、いかなる微細な量であっても溶液または粉末試薬をこぼしてはならない。標線近くまで精製水を加え、緩やかに振って溶解を促す。室温で 1~2 日放置し、ケイフッ化ナトリウムを完全に溶解させた後、精製水を標線まで満たし、メスフラスコを転倒させ良くかき混ぜた後、重量を測定する。標準溶液は、洗淨したポリ瓶に入れて蜜栓保存する。

- ・飽和塩化ナトリウム溶液

標準溶液作成時に試料の海水と塩濃度をほぼ同じにするために用いる。NaCl 190 g に精製水約 500 ml を加え攪拌後 1 日以上放置し、この上澄み溶液を用いる。

- ・3.6 N H_2SO_4 溶液

250 ml のポリ瓶にポリメスシリンダーで量り取った精製水 180 ml を入れる。これに、あらかじめ洗淨し乾燥した*濃硫酸 (36 N) 20 ml をメスピペットで量りとり (安全ピペッターを使用) , 先の 250 ml のポリ瓶にかき混ぜながら注ぐ。かなり発熱するので、水で冷却しながら行うと良い。

* : 濡れているメスピペットで硫酸を吸引すると、発熱して破損する可能性もあり危険である。

- ・10 % モリブデン酸アンモニウム溶液

モリブデン酸アンモニウム 10.0 g を 200 ml のポリビーカーに量りとり、精製水 100ml を加える。精製水を加えたら直ち

にボリの攪拌棒で結晶を溶解させ、100 ml のポリ瓶に保存する。この溶液は、長期の保存できない。白色沈殿が認められた場合は、新たに調整する。

<検量線>

1. 10 mmol/l の標準溶液を洗浄した 10 ml ガラスホールピペットを用い 250 ml ポリメスフラスコに量りとり。精製水を用いて検量を合わせる。これを 2 次標準溶液とする。
2. この 2 次標準溶液から、0, 25, 50, 100, 150, 200 $\mu\text{mol/l}$ の 3 次標準溶液を作成する。
3. 3 次標準溶液作成に際しては、洗浄したガラスホールピペットと 100 ml ポリメスフラスコの組み合わせを用いる。
4. 3 次標準溶液 10 ml をオートピペットを用い、ポリ発色管に量りとり。
5. 各々の標準溶液は、4 本ずつポリ発色管に量りとり。
6. 海水試料の発色に際して、同様の方法で発色させる。

測定するときには、標準列の測定で始まり、標準列の測定で終了するよう心がける。また、多数の試料を測定する場合は、一連の試料の測定間でも標準列の測定を行う。最終的には、各々の標準溶液の吸光度の平均値より、検量線を作成する。

以下に、標準溶液の作成方法を示す。

3 次標準溶液濃度 ($\mu\text{mol/l}$)	0	20	40	80	120	160
2 次標準溶液添加量 (ml)	0	5	10	20	30	40
NaCl 溶液添加量 (ml)	10	10	10	10	10	10

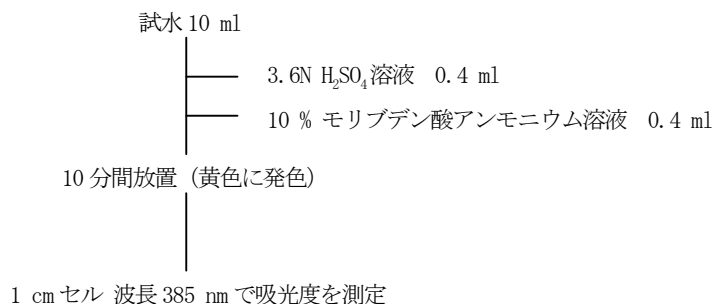
<実験方法>

1. 海水 10 ml をオートピペットを用い発色管に量りとり。
2. 3.6 N H_2SO_4 溶液 0.4 ml をオートピペットで加え、十分混合させる。ただし、発色管を転倒させはならない。
3. 10 % モリブデン酸アンモニウム溶液 0.4 ml をオートピペットで加え、栓をして激しく混和する。
4. 10 分放置後、水を対照として 1 cm のガラスセルを用い、波長 385 nm における吸光度を測定する。この発色は不安定（特に海水試料で著しい）なので、発色後 30 分以内に測定を完了させる。試料数が多い場合は、一度に発色させる試料の数を制限する。
5. 検量線を用いて海水中のケイ酸濃度を算出する。

<全般的な注意事項>

1. ケイ酸はどこにでも存在する化学成分であるため、分析する周囲の環境からの汚染が容易に起こりうる。たとえば、日本の水道水や飲料用地下水には通常 200 ~ 400 $\mu\text{mol/l}$ 程度のケイ酸が含まれているのが一般的である。従って、水道水や地下水の試料への混入は、分析結果に重大な誤差を引き起こす可能性がある。つまり、低濃度のケイ酸の測定時に、容器器具を水道水で洗浄することは、それらをケイ酸で汚していることを意味する。また、分析中に水道水で手を洗った後は、決して濡れ手で器具や試料に触れてはならない。
2. ケイ酸は、ガラス器具から相当量溶け出す。従って、ケイ酸の分析を行う際には、極力ガラス製品の使用を避けることが望ましい。やむを得ず、ガラス器具を用いる場合は、できるだけ迅速に操作を行い、ガラスと接触している時間を短くすることが必要である。特に、海水はガラスを侵すので、海水をガラス容器で取り扱う際には注意を要する。標準溶液作成時には、ガラスのホールピペットを使うこととなるが、特に希薄な溶液を扱う場合は、ピペットが乾いていたとしても“共洗い”を十分行い、迅速にピペット操作を行う必要がある。

<実験操作の流れ図>



テーマ7： クロロフィル a を測ろう！

関連研修課題

6. 海水に溶けている栄養物質を調べる「溶けたり粒になったり」
8. 海水中の酸素を調べる「魚は酸素で呼吸する！深海にも酸素はあるの？」
9. 海の pH と二酸化炭素を調べる「プランクトンは二酸化炭素を深海に運ぶ？」

<目的>

植物プランクトンは、光合成を行っている。光合成とは、太陽から地球に到達する光エネルギーを化学エネルギーに変換するシステムである。具体的には、二酸化炭素と水からエネルギーの高い炭水化物（有機物）を合成するプロセスであり、この植物プランクトンの行う光合成は、海にすむすべての生物のエネルギーの源になっている。

クロロフィル a は、すべての植物プランクトンが保有しており、クロロフィル a 濃度は、植物プランクトンの現存量にほぼ比例するため、植物プランクトンの光合成による炭素の固定量、つまり海洋の基礎生産量の指標となりうる。

ここでは、海水中のクロロフィル a 濃度を鉛直的または水平的に測定し、濃度分布の特徴、海水中の栄養塩濃度や溶けている酸素量との関係を調べてみよう。また、巴川から多量の栄養塩が流入する清水港の表層水のクロロフィル a 濃度も測ってみよう。

<使用する器具>

- ・ガラスメスフラスコ (10 または 25 ml, 250 ml)
- ・ホールピペット (1~5 ml)
- ・安全ピペッター
- ・5 ml ガラス試験管

<使用する試薬>

- ・クロロフィル a 標準溶液 (0.5 mg/l)

市販のクロロフィル a 試薬約 0.5 mg を遮光したビーカー内で DMF に溶かし、遮光した 100 ml ガラスメスフラスコに移した後定容する。この溶液を 1 cm のガラスセルを用い、吸光度計で 663.8 nm と 750 nm の吸光度を測定する。両波長での吸光度の差をクロロフィル a の分子吸光係数 $88.74 \text{ lg}^{-1}\text{cm}^{-1}$ で除して濃度を算出する。およそ 2000 $\mu\text{g/l}$ の溶液となる。作成した標準溶液は、遮光したガラス瓶或はかつ色瓶に移し、冷凍保管する。

- ・1 N 塩酸溶液

塩酸 (12 N) を安全ピペッターを用いメスピペットで 8.6 ml を量りとり、全量を 100 ml に調整する。

- ・DMF(ジメチルホルムアミド)溶液

<標準溶液の作成>

1 次標準溶液を 2 ml ホールピペットで量りとり、100 ml のガラスメスフラスコで希釈する。この際、重量法で希釈し、この溶液を 2 次標準溶液とする。さらに、この 2 次標準溶液を希釈して、0.4~28 mg/l の標準列を作成する。希釈方法は、以下に示す。この際、10 ml のガラスのメスフラスコを用いる。

3 次標準溶液濃度 (mg/l)	0	0.4	0.8	1.2	2	4	8	12	20	28
2 次標準溶液添加量 (ml)	0	0.1	0.2	0.3	0.5	1	2	3	5	7

以上の操作は、可能な限り手早く行うことが望ましい。

<実験操作>

船上でのろ過作業

1. 試水は、採取後の変化をさけるため、かつ色のポリ瓶に共洗いの後、採取する。
2. 試水（外洋水では 100~200 ml、沿岸水では 50~100 ml）をメスシリンダーで量りとり、GF/F フィルターでろ過をする。ろ過は、吸引ポンプを作動させ行うが、プランクトンの細胞の破壊を防ぐため、ろ過圧は、100 mmH₂O 以下で行った。また、動

物ブランクトンによる補食をさけるため、採取後直ちに行う。

- ろ過後のフィルターは直ちにかっ色のスクリー管に入れ、7 ml の DMF を加え、-20 °C で行い、凍結したまま、実験室を持ち帰る。

<測定原理>

クロロフィル a は、660 nm と 430 nm 付近に吸収がある。この波長の光吸収もクロロフィル a の測定に用いることができるが、感度の高い蛍光光度法が広く用いられている。青色 (436 nm) の光をクロロフィル a にあて、クロロフィル a が発する赤色 (665 nm) の光 (蛍光) の強さを測定する。実際には、この波長では、フェオ色素の蛍光強度も測定している。フェオ色素は、クロロフィル a の分解生成物であるとされ、クロロフィル a からマグネシウムが外れた構造をもち、実験的にはクロロフィル a 溶液を酸性にすることで生ずる。つまり、酸添加前後の蛍光の強さの差が、クロロフィル a の量を示すこととなる。

<測定方法>

- クロロフィル a を抽出した溶液を共洗いの後、ガラス試験管に移す。
- 蛍光強度が安定したら、その数値を記録する。この際、測定レンジも記録しておく。
- 1 N HCl 溶液を 1~2 滴を直接ガラス試験管に滴下し、強度が安定するまで数分間放置する。
- 蛍光強度が安定したら、その数値を記録する。この際、測定レンジも記録しておく。
- 次の抽出溶液を同じガラス試験管で測定する場合は、酸が残らないよう精製水で十分な洗浄を行う必要がある。多数の試料を分析する場合は、多数の試験管を準備すると良い。

<計算方法>

海水中のクロロフィル a の濃度は、以下の式に基づいて計算する。

$$\text{Chla } (\mu\text{g/l}) = \frac{F_0 - F_a}{f_{ph}(R-1)} \cdot \frac{v}{V}$$

F_0 : 酸添加前の溶液の蛍光強度

F_a : 酸添加後の溶液の蛍光強度

$f_{Ch}f_{ph}$: クロロフィル a、フェオ色素濃度に固有の蛍光強度

R : 酸性化係数で、クロロフィル a 濃度に固有の蛍光強度をフェオ色素濃度に固有の蛍光強度で除した値

$$R = \frac{f_{Ch}}{f_{ph}}$$

$v(l)$: 抽出に用いた DMF の体積

$V(l)$: 試水をろ過した体積

上式で、右辺第一項分母の $f_{ph}(R-1) = f_{Ch}f_{ph}$ は、検量線の傾きを示すことになる。

テーマ8：海水中に含まれる酸素を測ろう！

関連研修課題

6. 海水中に溶けている栄養物質を調べる「溶けたり粒になったり」
7. 海の植物プランクトンを調べる「小さいけれど力持ち、植物プランクトン！」
8. 海水中の酸素を調べる「魚は酸素で呼吸する！深海にも酸素はあるの？」
9. 海水中の pH と二酸化炭素を調べる「プランクトンは二酸化炭素を深海に運ぶ？」
10. 海底の堆積物を調べる「沿岸と深海の海底堆積物が見せる色は何のしるし？」

<目的>

海水中の生物は、呼吸を行うので、生きていくためには酸素はなくてはならないものである。また、海の表面近くにすんでいる植物プランクトンは、光合成を行うので、海の表面付近中の酸素を増加させている。一方、海の生物もやがては死んで、海底へ向かい沈降していく。つまり、海水中の酸素は、生物の呼吸や死後の分解過程で減少するのである。光の届かない深海にはいったいどのくらいの酸素があるのだろうか？

ここでは、海水中に溶けている酸素濃度（溶存酸素といいます）を鉛直的に測定して、濃度分布の特徴、植物プランクトン量との関係、海水中の栄養塩濃度との関係を調べてみよう。また、清水港の海底付近の海水の酸素濃度も測ってみよう。

<使用する器具>

洋上で試料採取時に使用する器具類

- ・ 100 ml 酸素瓶

乾燥した酸素瓶の重さを測定し、次いで 20℃ の精製水を満たし重さを測定する。両者の差し引きにより酸素瓶に満たされた精製水の重さを正確に求め、20℃ の水の密度で除し、酸素瓶の容量をあらかじめ決定しておく。

- ・ 固定液用分注器

実験室で酸素測定時に使用する器具類

- ・ ピストンビュレット
- ・ スターラー及び攪拌子
- ・ ポールピペットあるいはピストンビュレット：ヨウ素酸カリウム標準溶液を正確に量り取る時に用いる。

<使う薬品>

洋上で試料採取時に使用する試薬

- ・ 固定液 I

300 g の塩化マンガン を 400 ml の精製水に溶かし、6 M HCl 4 ml を加え、全体量を 500 ml とする。

- ・ 固定液 II

160 g の水酸化ナトリウム を 400 ml の精製水に溶かし、さらに 300 g のヨウ化カリウムを加え溶解させ、全体量を 500 ml とする。水酸化ナトリウムを溶解させるとき、発熱をとまなうので、水で冷却しながら行うと良い。

実験室で酸素測定時に使用する試薬

- ・ 0.01 N ヨウ素酸カリウム標準溶液

110℃で2時間程度乾燥したヨウ素酸カリウムの 0.3567 g を 1000 ml のガラスメスフラスコを用いて調整する。

- ・ 0.03 N チオ硫酸ナトリウム溶液

22.5 g のチオ硫酸ナトリウムを 3000 ml の精製水に溶かす。この溶液は、特に調整直後は濃度変化を起こす可能性があるため、24 時間以上放置してから使用する。また、炭酸ナトリウムを 1000 ml あたり 0.1 g 添加すると、比較的安定に保存できる。ただし、使用時には、ヨウ素酸カリウム標準溶液で濃度を正確に決める必要がある。

- ・ 10 N 硫酸

精製水 600 ml に硫酸 280 ml を攪拌しながらゆっくりと加え希釈する。最終的に全量を 1000 ml にする。調整時には、発熱をとまなうので、水で冷却しながら行うと良い。

- ・ 1% デンプン溶液

1 gの可溶性デンプンを沸騰させた80 mlの精製水に溶かし完全に透明になるまで煮沸する。冷やした後、最終的に全量を100mlにする。古くなった溶液は、ヨウ素でんぷん反応の青紫色の発色が弱くなるので、使用時に調整する。

溶存酸素測定の流れ

<採水>

1. 試水は、試料が海中から上がった外気に触れたり、水温が変わらないうちに、なるべく速く採水する。
2. 採水の際は、泡立っていないよう、チューブを用い先端を瓶の底に入れ、静かに水面を押し上げながら採取する。チューブの先端は、常に瓶の底付近に位置させ、満水になった後も、しばらくあふれさせる。あふれさせる容量は、瓶容量の3倍程度が目安となる。
3. 採水後、直ちに固定液Ⅰを0.5 ml、次いで固定液Ⅱを0.5 ml 静かに加える。Ⅱ液を加えるときは、分注器ノズルの先端がⅠ液を加えたときより上に位置する。
4. 栓をして、気泡がないことを確認した上で、栓をしっかり押さえ、30回程度上下に転倒させ（瓶内で沈殿を移動させる）攪拌する。瓶を清水で洗った後、カップに精製水を満たした、室温暗所で静置する。
5. 沈殿が瓶の半分くらいまで沈降したら、再度20回程度上下に転倒攪拌させ、カップに精製水を満たし、再び室温暗所で静置する。

<チオ硫酸ナトリウムの標定>

あらかじめ乾燥恒量させた調整したヨウ素酸カリウム溶液10 mlを、あらかじめ精製水を70 ml 満たした酸素瓶に正確に測り採る。これに、10 N 硫酸1 mlを加え、さらに、Ⅱ液0.5 mlを加えヨウ素を遊離させる（このときの反応式は以下に示す）。その後、Ⅰ液0.5 mlを加え滴定する。これにより、チオ硫酸ナトリウムの正確な濃度を決定する（この操作を標定という）。標定は数回行い、正確に濃度を決定する。標定は、分析の前後に必ず行う。

<海水試料の分析>

1. 酸素瓶のカップの精製水を完全に除き、カップに残った精製水をティッシュペーパーで完全に拭き取る。
2. 静かに栓を抜き取り、精製水で周囲を洗い流す。
3. 静かに回転子を入れ、10 N 硫酸を1 ml 加え、スターラー上で回転攪拌し、沈殿を完全に溶解する。この時、酸素瓶内の溶液は黄色となる。
4. 攪拌しながら、チオ硫酸ナトリウムをピストンビュレットから滴下し滴定を開始する。
5. ヨウ素の色がごく淡い黄色になったとき、デンプン溶液を1 ml 加えると、溶液が青紫色に変化する。
6. ややスターラーの回転速度を速め、さらに滴定を続け、ピストンビュレットの最小目盛りの半分を吐出したとき、青紫色が消える点を終点とする。
終点付近での操作は、迅速に行う必要がある。一旦、青紫色が消え終点に到達しても、空気から再び酸素が溶液中に溶け込み、再び青紫色になっていくからである。

<溶存酸素量の計算方法>

溶存酸素量は以下の式によって計算する。

$$O_2 = \frac{V_x \cdot V_{I03} \cdot N_{I03} \cdot 5598}{V_{std} \cdot (V_{bot} - V_{reg})}$$

O_2 (ml/l) ; 試水中の酸素濃度

V_x (ml) ; 試水に対するチオ硫酸ナトリウム溶液の滴定量

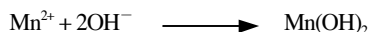
V_{std} (ml) ; 標準溶液に対するチオ硫酸ナトリウム溶液の滴定量

V_{bot} (ml) ; 酸素瓶の容量

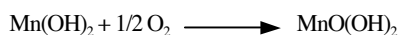
- V_{reg} (ml) ; 固定液 I と II で置き換わった試水の容量 (固定液の添加容量)
 V_{IO_3} (ml) ; 標定時に量りとしたヨウ素酸カリウム標準溶液の容量
 N_{IO_3} (cg/l) ; ヨウ素酸カリウム標準溶液の濃度で、6x モル濃度 (mol/l).
 5598 (ml) ; 標準状態(0°C, 1 atm)における酸素 1 当量の容量. 標準状態における酸素 1 l の重量は、1.42895g であるので、1 当量の酸素の容積は $1000 \times (32/1.42895 \times 4) \approx 5597$ ml.

<反応式>

- ① I 液と II 液を海水へ入れると白色沈殿

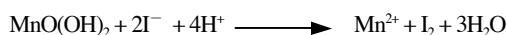


- ② 酸素により水酸化マンガンの一部が酸化され褐色沈殿

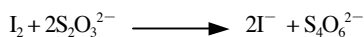


- ③ KI と HCl を加えると、酸化されていたマンガンイオンは酸性において

KI によって還元され、ヨウ素を遊離する。



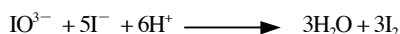
- ④ このヨウ素をチオ硫酸ナトリウム溶液で滴定することにより、間接的に酸素量を求めることができる。



- ⑤ 結局、0.01N チオ硫酸ナトリウム溶液は、酸素の 1/4 分子すなわち酸素の 1/2 原子に相当する。従って、0.01N チオ硫酸ナトリウム溶液 1ml は、

$$(32/4) \times 0.01\text{N} = 0.08\text{mg/ml}$$

- ⑥ ヨウ素酸カリウム標準溶液の標定



<酸素の飽和量>

海水に溶解する酸素の飽和量は、圧力、水温および塩分によって決まる。

$$\ln \text{O}_2^* (\text{ml/l}) = \text{A}1 + \text{A}2 (100/\text{T}) + \text{A}3 \ln (\text{T}/100) + \text{A}4 (\text{T}/100) + \text{S} \cdot [\text{B}1 + \text{B}2(\text{T}/100) + \text{B}3(\text{T}/100)^2]$$

$$\text{T} = \text{絶対温度} (273.15 + t (^{\circ}\text{C}))$$

$$\text{S} = \text{塩分}$$

係数 A, B は下記の表を参照

表 1. 酸素の飽和量を計算する式の係数

係数	ml/l	係数	ml/l
A 1	-173.4292	B 1	-0.033096
A 2	249.6339	B 2	0.014259
A 3	143.3483	B 3	-0.0017000
A 4	- 21.8492		

<酸素飽和度およびみかけの酸素消費量>

$$\text{酸素飽和度} = (\text{O}_2/\text{O}_2^*) \times 100$$

$$\text{みかけの酸素消費量(AOU)} = \text{O}_2^* - \text{O}_2$$

O_2 : 観測した濃度

O_2^* : 酸素飽和量

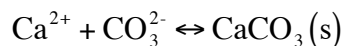
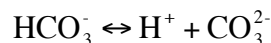
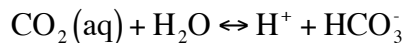
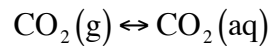
テーマ 9-1：海の二酸化炭素を測ろう！（アルカリ度の測定）

関連研修課題

6. 海水に溶けている栄養物質を調べる「溶けたり粒になったり」
7. 海の植物プランクトン量を調べる「小さいけれど力持ち、海の植物プランクトン」
8. 海水中の酸素を調べる「魚は酸素で呼吸する！深海にも酸素はあるの？」
10. 海の pH を調べる「海水は酸性それともアルカリ性？」

<目的>

海水の主要陽イオン (Na^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , K^+) の総電価数と陰イオン (Cl^- , SO_4^{2-}) の総電価数を比べた場合、陽イオンの総電価数の方が多く、この差は全アルカリ度と呼ばれている。通常、海水ではこの差は炭酸水素イオン [HCO_3^-]、炭酸イオン [CO_3^{2-}] とホウ酸イオン [$\text{B}(\text{OH})_4^-$] が分け合っている。このうち炭酸水素イオン [HCO_3^-] と炭酸イオン [CO_3^{2-}] は、長い地球の歴史の中でもともとは空気中の CO_2 が溶け込んだものであり、以下に示す化学式は、過去においても、そして現在も海水の pH や海と大気の間、あるいは海水中での炭素の循環に大きく寄与している。



今日大気中の二酸化炭素濃度の増加が起こっているが、人類の放出した二酸化炭素の半分は海に吸収されていると言われている。大気二酸化炭素の増加によって海水に溶けている二酸化炭素の量はどのように変化するのだろうか？一方、海の表面近くにすんでいる植物プランクトンの光合成や植物プランクトンの中でも炭酸カルシウムの殻をつくる生物は、海と大気の間での二酸化炭素の動きに大きく寄与している。また、これら生物の呼吸や死後の生物体の分解や溶解は、海水中の二酸化炭素を増やす働きもある。

ここでは、海水のアルカリ度を鉛直的に測定して、海の中のアルカリ度の変化の特徴を調べてみよう。いったい何がこの変化を引き起こしているのか？また、pH の測定結果を用いて、炭酸水素イオン [HCO_3^-] や炭酸イオン [CO_3^{2-}] の濃度を計算して見ましょう。そして、栄養塩や溶存酸素量とどんな関係があるのかも比べて見ましょう？

<使用する器具>

- ・ pH メーター：0.001 の桁まで pH の測定が可能なもの
- ・ 海水ピペット
- ・ 自動ビュレット
- ・ 恒温水槽

<使用する薬品>

- ・ pH 標準溶液
フタル酸塩標準溶液：四シユウ酸カリウム (JIS K 8474 規格) 12.71 g を精製水に溶解して 1 l とする。
中性リン酸塩標準溶液：リン酸一カリウム (JIS K 9007 規格) 3.40 g とリン酸二ナトリウム (JIS K 9020 規格) 3.55 g とを精製水に溶解して 1 l とする。
- ・ 0.01 N 塩酸：海水と同じ塩分になるように NaCl を 1 l あたり 35 g 加えておく。

海水中のアルカリ度の測定の流れ

<採水>

1. 採取方法は、溶存酸素の採取法にほぼ準じて行う。試水は、試料が海中から上がった外気に触れたり、水温が変わらないうちに、なるべく速く採水する。
2. 採水の際は、泡立てないよう、チューブを用い先端を瓶の底に入れ、静かに水面を押し上げながら採取する。チューブの先端は、常に瓶の底付近に位置させ、満水になった後も、しばらくあふれさせる。あふれさせる容量は、瓶容量の2倍程度が目安とする。蓋を閉める際、わずかに気泡が入ってもかまわない。
3. 採水後、分析までの間は冷蔵に保管する。

<海水試料の分析>

アルカリ度測定操作

上で示したように、アルカリ度は海水に溶けている弱酸の陰イオンの電価総量を表している。実際にアルカリ度を測定するには、一定量の海水に塩酸を加えながら pH を測定し、添加した塩酸に対して pH の変化がもっとも大きくなることを終点（当量点）とする、中和滴定を行えばよい。しかし、このような滴定法は高精度であるが、測定に時間がかかる。一方、一定量の海水に一定量の塩酸を加えて pH を測定し、この pH 値より計算によってアルカリ度を求めることも原理的に可能である。この一点法は、測定に要する時間が少なく、また操作も勘弁で、精度も滴定法に劣らない。そこで、ここでは pH 一点法によるアルカリ度測定法を説明する。

1. あらかじめ一定温度にした海水 50 ml を海水ピペットでふた付きのガラス容器にとる。
2. 0.01 N 塩酸を自動ビュレットを用い 13.5 ml 加える。
3. ふたをして激しく揺とうしたのち、恒温槽に入れ 10 分以上放置する。
4. 以下に示す手順に従い pH を測定する。
5. アルカリ度は次式によって算出する。

$$TA = \frac{1000V_H}{V_S} N_{HCl} - \frac{1000}{V_S} (V_S + V_H) \frac{[H^+]}{0.738}$$

TA: アルカリ度 (meq/l)

V_H : 塩酸の体積 (ml)

V_S : 海水試料の体積 (ml)

N_{HCl} : 塩酸溶液の濃度 (mol/l)

$[H^+]$: 水素イオン濃度、測定した pH より 10^{pH} で求める

0.738: 海水が塩溶液であることに関する水素イオン濃度補正係数

pH メーターの調整および pH 測定

1. pH の測定は、試料および標準溶液は水槽に入れ、温度変化を小さい条件で測定する。
2. pH メーターの電源を ON にし、30 分程度待つ。このとき、電極表面をかわかさないよう、精製水をいれたビーカーに浸しておく。
3. 待機の状態電極を精製水入れたビーカーから引き上げ、電極表面の水滴をティッシュペーパーでぬぐう（水滴を吸い取る程度にして、決してこすようにしない）。電極を中性リン酸標準溶液に浸し、静かに容器を揺り動かしながら 5 分間待つ（スターラーを用い攪拌子で攪拌しても良い）。この際、電極の先端が容器の底に当たらないように注意する。温度計で液温を測定し、所定の pH 値となるように pH メーターを更正する。
4. 待機の状態電極を中性リン酸標準溶液から引き上げ、電極表面を精製水で洗浄した後、水滴をティッシュペーパーでぬぐう。次に、フタル酸塩標準溶液に浸し、静かに容器を揺り動かしながら 5 分間待つ。この際、電極の先端が容器の底に当たらないように注意する。温度計で液温を測定し、pH メーターを更正する。
5. 更正終了後は、フタル酸塩標準溶液から引き上げ、電極表面を精製水で洗浄した後、水滴をティッシュペーパーでぬぐう。
6. 測定を始めるまで、あるいは測定の間は、酸性(pH 3.5 前後)にした表面海水を入れたビーカーに電極を浸しなじませる。
7. 待機の状態電極をビーカーから引き上げ、電極表面の水滴をティッシュペーパーでぬぐう。少量の試水で電極表面

を洗った後、試水の入ったポリ瓶に電極を浸す。この際、電極の先端が容器の底に当たらないように注意する。静かに容器を揺り動かしながら測定を行う。表示が安定したら、pH 値を記録する。

<海水中の炭酸関連化学種濃度の計算>

アルカリ度を測定することによって、pH と塩分から海水中の炭酸関連化学種濃度が計算できる。

炭酸アルカリ度 (CA) : アルカリ度からホウ酸イオンの寄与分を差し引いた値

$$CA = TA - [B(OH)_4^-] = [HCO_3^-] + 2[CO_3^{2-}] \quad [B(OH)_4^-] = \frac{K_B \cdot 11.88 \cdot \text{Salinity}}{[H^+] + K_B}$$

重炭酸イオン

$$[HCO_3^-] = [CA] \frac{[H^+]}{[H^+] + K_2}$$

炭酸イオン

$$[CO_3^{2-}] = [CA] \frac{K_2}{[H^+] + 2K_2}$$

二酸化炭素量

$$[CO_2(aq)] = [CA] \frac{[H^+]}{K_1} \frac{[H^+]}{[H^+] + 2K_2}$$

全炭酸 (TA) : 海水に溶けている炭酸関連化学種の総モル濃度

$$[TCO_2] = [CA] \frac{[H^+]^2 + [H^+]K_1 + K_1K_2}{K_1([H^+] + 2K_2)}$$

二酸化炭素分圧

$$pCO_2 = [CA] \frac{[H^+]^2}{H_{CO_2} \cdot K_1([H^+] + 2K_2)}$$

ここで、 K_B はホウ酸の解離定数、 K_1 , K_2 は炭酸の第一解離定数と第二解離定数、 H_{CO_2} は二酸化炭素のヘンリー一定数である。

テーマ9-2：海水中のpHを測ろう！

関連研修課題

6. 海水に溶けている栄養物質を調べる「溶けたり粒になったり」
7. 海の植物プランクトン量を調べる「小さいけれど力持ち、海の植物プランクトン」
8. 海水中の酸素を調べる「魚は酸素で呼吸する！深海にも酸素はあるの？」
10. 海底の堆積物を調べる「沿岸と深海の海底堆積物が見せる色は何のしるし？」

<目的>

海水は、酸性なのだろうか？ それもとアルカリ性？

今日化石燃料の消費による大気中の二酸化炭素濃度の増加が起こっている。人類の放出した二酸化炭素の半分は海に吸収されていると言われている。このような人類の活動、二酸化炭素の放出によって海水のpHはどのように変化するのだろうか？ 一方、海の表面近くにすんでいる植物プランクトンは、光合成を行っている。光合成は、太陽の光エネルギーで、二酸化炭素と水から有機物を作り出す化学変化である。光合成により表層の二酸化炭素が減少すると、海水のpHはどのように変化するのだろうか。また、生物の呼吸や死後の生物体の分解は、海水中の二酸化炭素増やす働きがある。この過程では、海のpHはどう変化するのだろうか？

ここでは、海水のpHを鉛直的に精密に測定して、海の中のpHの変化の特徴を調べてみよう。いったい何がこの変化を引き起こしているのか？ 栄養塩や溶存酸素量、溶存している二酸化炭素とどんな関係があるのだろうか？

<使用する器具>

- ・ pHメーター：0.001の桁までpHの測定が可能なもの
- ・ 恒温水槽

<使用する薬品>

- ・ pH標準溶液
フタル酸塩標準溶液：四シュウ酸カリウム (JIS K 8474 規格) 12.71 g を精製水に溶解して1 lとする。
中性リン酸塩標準溶液：リン酸一カリウム (JIS K 9007 規格) 3.40 g とリン酸二ナトリウム (JIS K 9020 規格) 3.55 g とを精製水に溶解して1 lとする。

海水中のpHの測定の流れ

<採水>

1. 採取方法は、溶存酸素の採取法にほぼ準じて行う。試水は、試料が海中から上がった外気に触れたり、水温が変わらないうちに、なるべく速く採水する。
2. 採水の際は、泡立てないよう、チューブを用い先端を瓶の底に入れ、静かに水面を押し上げながら採取する。チューブの先端は、常に瓶の底付近に位置させ、満水になった後も、しばらくあふれさせる。あふれさせる容量は、瓶容量の2倍程度が目安とする。
3. 採水後、分析までの間は冷蔵に保管する。

<海水試料の分析>

1. pHの測定は、試料および標準溶液は水槽に入れ、温度変化を小さくして行う。
2. pHメーターの電源をONにし、30分程度待つ。このとき、電極表面をかわかさないう、精製水を入れたビーカーに浸しておく。
3. pHメーターを待機の状態にして、電極を精製水に入れたビーカーから引き上げ、電極表面の水滴をティッシュペーパーでぬぐう（水滴を吸い取る程度にして、決してこすらない）。電極を中性リン酸標準溶液に浸し、pHメーターを測定の状態にして、静かに容器を揺り動かしながら5分間待つ（スターラーを用い攪拌子で攪拌しても良い）。この際、電極の先端が容器の底に当たらないように注意する。温度計で液温を測定し、所定のpH値となるようにpHメーターを更正する。
4. pHメーターを待機の状態にして、電極を中性リン酸標準溶液から引き上げ、電極表面を精製水で洗浄した後、水滴をティ

ッシュペーパーでぬぐう。次に、フタル酸塩標準溶液に浸し、pH メーターを測定の状態にして、静かに容器を揺り動かしながら5分間待つ。この際、電極の先端が容器の底に当たらないように注意する。温度計で液温を測定し、pH メーターを更正する。

5. 更正終了後は、フタル酸塩標準溶液から引き上げ、電極表面を精製水で洗浄した後、水滴をティッシュペーパーでぬぐう。
6. 次に、あらかじめ汲んでおいた表面水（塩酸を加えない）を入れたビーカーに電極を浸し、15~30分程度電極を海水になじませる。この間、5~10分おきに海水を交換する。
7. 測定は、表層の試料から開始する。待機状態で電極をビーカーから引き上げ、電極表面の水滴をティッシュペーパーでぬぐう。少量の試水で電極表面を洗った後、試水の入ったポリ瓶に電極を浸す。この際、電極の先端が容器の底に当たらないように注意する。静かに容器を揺り動かしながら10~15分間測定を行う。この間、1分毎のpHを記録し、変化がなくなったところを最終結果とする。温度計で液温を測定し記録する。海水試料は、表層から深層に順番に測定するようにすると、pHが安定するまでの時間が短くなる。
8. すべての試料の測定が終了したら、最後に2つの標準溶液の水温とpHを測定し、測定を始める前に更正したpH値とずれていないかを確認する。もしずれていたら、試料の測定値を補正する。

テーマ10：海底の堆積物を調べよう！

プランクトン骨格の検鏡と化学成分の分析

関連研修課題

6. 海水に溶けている栄養物質を調べる「溶けたり粒になったり」
7. 海の植物プランクトン量を調べる「小さいけれど力持ち、海の植物プランクトン」
8. 海水中の酸素を調べる「魚は酸素で呼吸する！深海にも酸素はあるの？」
9. 海のpH 二酸化炭素を調べる「プランクトンは二酸化炭素を深海に運ぶ？」

<はじめに>

地球表面の71%は海洋が占めている。海洋の平均水深は3800mであるが、沿岸から外洋に至る海底地形は様々に変化する。一般的に言えば、大陸沿岸に広がる比較的浅い「大陸棚」、大陸棚を越えると急激に深くなる斜面構造を持つ「大陸斜面」、プレートの沈み込み帯である「海溝」、そしてその外側には水深5000-6000mの比較的平坦な「深海平原」が広がっている。一方、海洋の表層には様々な生物群が存在しているが、とりわけ動植物プランクトンの遺骸（有機物と無機物）はマリンスノーとなって海水中を沈降し、有機物や骨格成分である炭酸カルシウムや二酸化ケイ素が海底に堆積する。本研修課題の目標は、堆積物中にはどんな粒子が含まれているのか実際に観察する、陸域の岩石から溶け出して海洋に加わった鉄およびマンガンの挙動を考える、の2つである。

1. 走査電子顕微鏡による堆積物粒子の観察>

堆積物粒子を拡大して観察すると、プランクトンの骨格などが見つかる。それらの種類と個数を沿岸の堆積物と外洋のそれとで比較する。

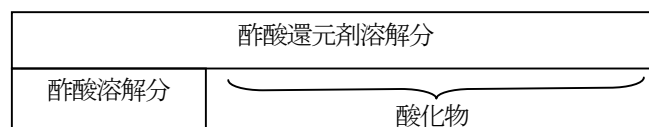
- ・採取した堆積物コアの表層試料からごく少量（耳かき1杯分程度）をとり、100mlのビーカーに蒸留水50mlを満たしものに加えて十分懸濁させる。
- ・懸濁液を0.45μmのメンブランフィルターにてろ過し、そのろ紙を乾燥させて顕鏡試料とする。

2. 選択溶解法による堆積物中の鉄およびマンガンの測定

遠洋の深海底の堆積物中には、鉄やマンガンが濃縮している。特にマンガンは沿岸堆積物と比べると深海堆積物中には著しく濃縮している。そのことを実際に堆積物の化学組成を調べて確かめる。有機物の微生物分解による酸化還元電位の変化によって、堆積後も鉄やマンガンは姿を変えて移動しやすくなる。すなわち酸化物という固相を形成しやすいか還元されてイオン状態になりやすいか否かは、堆積物の酸化還元電位に依存する。このように、堆積物中で物質が分解、溶解、再沈積し、あるいは粒子間を満たす間隙水中を移動したりする過程を「初期続成過程」と言う。

<測定の手続き>

弱酸である酢酸は堆積物粒子に吸着した成分や炭酸塩などを溶解する。これを酢酸溶解分とする。一方、強い還元剤である塩酸ヒドロキシルアミン溶液は、堆積物に含まれる鉄やマンガンの酸化物を溶解する。これを還元剤溶解分とする。実際の測定では、同一の堆積物を2つ用意し、一つの試料には酢酸を加えて、酢酸溶解分の元素の濃度を測定する。もう一つには酢酸と還元剤の混合溶液を加えて反応させる。これを酢酸還元剤溶解分とし、同様に元素の濃度を測定する。このようにして、酢酸還元剤溶解分の元素濃度から酢酸溶解分の元素濃度を差し引けば、還元剤のみで溶解する酸化物としての元素の濃度がわかる。それを概念図で示せば以下のようである。



<堆積物コアの処理>

海底から採取した堆積物コアを1cm毎に分取し、ビニール袋に保存する。これらの試料を凍結冷凍乾燥し、メノウ乳鉢にて粉末状にし、プラスチック容器に保存する。

<使用する試薬>

・6%酢酸

酢酸 (CH_3COOH : MW = 60.05) を蒸留水で希釈して6%溶液とする。試料数に対する必要量の1.5~2倍の量を調製すること。

・酢酸還元剤混合溶液

塩酸ヒドロキシルアミン ($\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$: MW = 69.49) の69.49 g を蒸留水に溶かし、1 mol/l 溶液を調製する。なお、この溶液には酢酸が6%含まれるように加えて混合溶液とする。試料数に対する必要量の1.5~2倍の量を調製すること。

・鉄標準溶液(Fe = 1000 mg/l)

金属鉄の0.5000 g を20 mlの6 M 塩酸に溶かし、その後メスフラスコを使って蒸留水で500 ml に定容する。

・マンガン標準溶液(Mn = 1000 mg/l)

金属マンガンの0.5000 g を20 ml の6 M 塩酸に溶かし、その後メスフラスコを使って蒸留水で500mlに定容する。

・鉄マンガン標準溶液(Fe, Mn = 100 mg/l)

上で調製した鉄およびマンガンの標準溶液をそれぞれ10mlのホールピペットにとり、100mlのメスフラスコに移し、蒸留水で定容する。

<鉄およびマンガンの検量線の作成>

鉄マンガン標準溶液をホールピペットとメスフラスコを用いて希釈し、次の濃度の標準列を作成する。0, 2, 4, 6, 8, 10 mg/l

<選択溶解操作と元素の測定>

1. 酸可溶部分

6 % 酢酸によって抽出される鉄およびマンガンの濃度をそれぞれ酸可溶部分として表す。

- ・堆積物粉末試料の100 mg を秤量し、ガラス容器に移す。
- ・25 ml の6 % 酢酸を加え、十分混合させ、80°Cの恒温水槽中に浸す。この間に時々混合させ、5時間後に反応を終了させ、ただちに水道水で冷却する。（*研修では1日静置とする）
- ・上澄み液をグラスファイバー濾紙（東洋GC/50）を用いて濾過する。
- ・濾液をメスフラスコを使って蒸留水で50mlに定容する。
- ・原子吸光光度計を用いて鉄およびマンガンの吸光度を測定し、標準列を測定して求めた検量線を用いてそれぞれの濃度を求める。

2. 酸化物部分

還元剤によって抽出される鉄およびマンガンの濃度をそれぞれ酸化物部分として表す。

- ・堆積物粉末試料の100 mg を秤量し、ガラス容器に移す。
- ・25 ml の還元剤を加え、十分混合させ、80°Cの恒温水槽中に浸す。この間に時々混合させ、5時間後に反応を終了させ、ただちに水道水で冷却する。（*研修では1日静置とする）
- ・グラスファイバー濾紙（東洋GC/50）を用いて濾過する。
- ・上澄み液をメスフラスコを使って蒸留水で100mlに定容する。
- ・原子吸光光度計を用いて鉄およびマンガンの吸光度を測定し、標準列を測定して求めた検量線を用いてそれぞれの濃度を求める。