

研究論文

005 海水中における放射性コバルトの動態に  
及ぼす溶存有機物質の影響

木村 雄一郎, 木 田 嘉 秀

*Effect of Dissolved Organic Matter on the Behavior  
of Radiocobalt in Seawater.*

Yuichiro KIMURA and Yoshihide HONDA

(Received Sept. 21, 1976)

As a series of studies on the behavior of radionuclides in seawater, the interaction of radiocobalt with some amino acids such as glycine, alanine and aspartic acid was investigated by means of adsorption on Chelex-100 as a chelating resin, solvent extraction with dithizone and Sephadex gel filtration chromatography. The results were compared with those of the experiments which radiocobalt in  $\text{CoCl}_2$  was spiked into fresh or old chlorella culture filtrates, fishpond seawater and offshore seawater.

The distribution coefficient ( $K_d$ ) values for  $^{60}\text{Co}$  in the Chelex-100 resin in the seawater containing dissolved organic matter decreased with ageing time and reached an equilibrium state in about 20 days.

The  $K_d$  value at equilibrium in old chlorella culture filtrate was much smaller than that in the presence of the amino acids. On the other hand, the change of  $K_d$  values for  $^{60}\text{Co}$  in fresh chlorella culture filtrate, fishpond seawater and offshore seawater was similar to that in the control seawater which was free from organic matter.

The percentage of the extraction of cobalt with dithizone in carbon tetrachloride in the presence of the amino acids decreased with ageing time and gradually trended toward equilibrium. Although alanine and aspartic acid showed a similar interfering tendency in both adsorption on Chelex-100 resin and dithizone extraction, glycine inhibited dithizone extraction more than adsorption on Chelex-100 resin.

Cobalt in the control seawater was extracted more than 97% in 36 days ageing time, and the percentages of extraction of cobalt in fresh chlorella culture filtrate, fishpond seawater and offshore seawater were also similar to that in the control seawater.

From the fractionation of cobalt by Sephadex G-10 gel filtration chromatography, the higher molecular fractions of  $^{60}\text{Co}$  in the presence of dissolved organic matter were detected after several days ageing and then increased together with decreasing in the lower molecular species.

1. 結 言

放射性コバルト ( $^{58}\text{Co}$  および  $^{60}\text{Co}$ ) は原子力発電所における冷却廃液中に含まれる誘導放射性物質の一

つとして、環境水圏中とくに海洋の放射能汚染の原因とされている。最近の調査研究によると溶存有機物質の豊富な沿岸海中ではかなりの部分が有機錯化合物として存在すること、また有機コバルトは無機イオン

\* 理工学部原子炉工学科 (Department of Nuclear Reactor Engineering, Faculty of Science and Technology.

形のコバルトと生物学的挙動が異なることが報告<sup>1)</sup>されているが、海水中の有機コバルト化合物としてはビタミン B<sub>12</sub> あるいはその類似形が同定されているにすぎない。そこで沿岸海水中の溶存有機物質がコバルトとどのような錯化合物を形成するかは海水における放射性コバルトの動態を明らかにするうえにおいて重要であると思われる。

コバルトは水棲生物によく濃縮され、その濃縮係数は大体 10<sup>2</sup>~10<sup>3</sup>、生物によっては 10<sup>5</sup> に達する例も報告<sup>2,3)</sup>されている。

海産生物への放射性物質の蓄積はいろいろな生物学的要因により変化することはもちろんであるが、放射性物質の海水における物理的、化学的性状が生物への摂取、蓄積を含めて、広く海洋環境における移行循環に影響することが近年注目されている<sup>4)</sup>。

水圏中で、主としてイオンの形で存在する放射性物質はほとんど水の移動や拡散に伴って行動するが、また一方、海水中に導入された鉄、アルミニウム、マンガなどコロイドなどの状態を経て凝集沈降するため、その際に海水中に溶存する微量金属のあるものを吸着するといわれており<sup>5)</sup>、海底堆積物中にコバルトがよく濃縮されていることも認められている。<sup>1),5,6)</sup>

そして海水におけるコバルトの移行には生物作用を含めて有機物がまた関係するものと考えられる。

生物移行に関しては Lowman ら<sup>1)</sup>の実験からイオン形と V. B<sub>12</sub> 型の有機コバルトでは、それらの取り込みパターンが異なることがしめされているので、他

の形の有機コバルトも同様な傾向が推察される。

コバルトを含めて海水中の微量金属元素が溶存有機物質と反応して有機金属錯体として存在するものがあることは既に多くの報告<sup>1),7-11)</sup>があるが、それらの生成機構ならびに物理化学的特性については必ずしも十分な知見が得られていない。筆者らは水圏中における放射性物質の挙動に関する研究の一環として海水における溶存有機物質と放射性コバルトとの相互作用を明らかにするため、海水中溶存有機物質として、海水中に通常存在するグリシン、アラニンおよびアスパラギン酸などのアミノ酸に着目し、人工海水における放射性コバルトの挙動に及ぼすこれらのアミノ酸の影響をキレート生成樹脂への吸着、ジチゾン・四塩化炭素系による溶媒抽出およびゲルろ過クロマトグラフィによって経時的に調べるとともに、プランクトン培養液、養魚場海水あるいは沖合海水中にスパイクした放射性コバルトの挙動についても上記の三方法によって検討した。

## 2. 実験材料および方法

### (1) 海 水

人工海水; Lyman and Fleming<sup>10)</sup> の処方 (Table 1) に従って調製した。塩素量は 19.00% である。

自然海水; 和歌山県田辺湾内の養魚場およびその沖合の表層海水を採取した。塩素量はそれぞれ 18.27% および 18.44% であった。いずれの海水も使用前にミリ

**Table 1** Chemical composition of the artificial seawater according to Lyman and Fleming.<sup>10)</sup>

Composition	Concentration (g/l)
NaCl	23.5
MgCl <sub>2</sub> · 6 H <sub>2</sub> O	10.6
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> · 10H <sub>2</sub> O*	8.9
CaCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	2.18
KCl	0.66
NaHCO <sub>3</sub> *	0.19
KBr	0.10
H <sub>3</sub> BO <sub>4</sub>	0.026
NaF	0.003
SrCl	0.024

\* Separately dissolved and then added to the remaining solution.

ポアフィルター HA (0.45 $\mu$ m) でろ過して不溶物を除去した。

クロレラ培養ろ液；人工海水に栄養素として，硫酸アンモニウムを 0.01%，過リン酸石灰を 0.0015%，尿素を 0.0005% の濃度に加え，和歌山県田辺湾で採取されたクロレラを接種して約 3 週間通気培養の後，ミリポアフィルター HA でろ過して調製した（新鮮培養ろ液）。

さらに培養後約 3 カ月冷暗所に保存の後，ろ過調整したものを使用した（保存培養ろ液）。

(2) 放射性物質

放射性コバルト ( $^{60}\text{Co}$ ) :  $\text{CoCl}_2$  塩酸溶液，比放射能 128 mCi/mg, 1N 塩酸溶液を 0.1N となるように希釈して人工海水，自然海水およびクロレラ培養ろ液に添加した。

(3) 試薬類

L-アスパラギン酸，L- $\alpha$ -アラニン，塩酸グリシン，ジチゾン，四塩化炭素はいずれも和光純薬(株)の試薬特級を使用した。

(4) 試験水の調製および保存

試験水として，

- (a) 人工海水 +  $^{60}\text{Co}$  (対照)
- (b) 人工海水 + 塩酸グリシン  
(50 mg/l,  $4.5 \times 10^{-4}\text{M}$ ) +  $^{60}\text{Co}$
- (c) 人工海水 + L- $\alpha$ -アラニン  
(50 mg/l,  $5.6 \times 10^{-4}\text{M}$ ) +  $^{60}\text{Co}$
- (d) 人工海水 + L-アスパラギン酸  
(50 mg/l,  $3.8 \times 10^{-4}\text{M}$ ) +  $^{60}\text{Co}$
- (e) ブラントクン培養ろ液（新鮮培養ろ液および保存培養ろ液） +  $^{60}\text{Co}$
- (f) 養魚場海水 +  $^{60}\text{Co}$
- (g) 沖合海水 +  $^{60}\text{Co}$

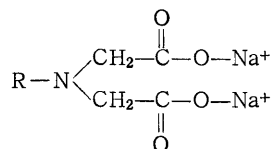
をそれぞれ調製し，0.1N 水酸化ナトリウムあるいは 0.1N 塩酸で pH を  $8.0 \pm 0.2$  に調整した。各試験水は容量 300 ml の三角フラスコに入れ，空気流量率約 100 ml/min で連続通気を行ないながら， $15 \pm 2^\circ\text{C}$  の恒温器内で保存し，経時的に試験水（以下試水と略す）を採取して分析した。

(5) キレート生成樹脂への吸着

キレート生成イオン交換樹脂は Table 2 に示すような諸性質を持ったキレックス-100 Na型，100~200 mesh で，樹脂はあらかじめ蒸留水で洗浄後，人工海水で平衡にしたものを使用した。 $\text{Co}^{2+}$  に対する交換容量は  $3.0 \pm 0.1$  meq/g 乾燥樹脂であった。

**Table 2** Chelex-100 resin  
(Bio-Rad Laboratories)

Sodium form



R : Copolymer matrix  
(Styrene-divinylbenzene lattice)

Actual wet mesh range : 100~200 (U. S. std.)

Total capacity (nominal) :

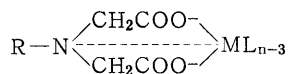
0.6 mM ( $\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{+2}$ /ml resin bed in sodium form)

Determined exchange capacity :

$3.0 \pm 0.1$  meq  $\text{Co}^{2+}$ /g resin in sodium form

Probable metal-resin structure :

(H. Loewenschuss et al. (1964))



M : metal ion

L : additional ligand to which the metal is bound in the resin phase

n : coordination number of the metal

既知量の  $^{60}\text{Co}$  を含む試水 5 ml にキレート生成樹脂 1 ml (乾燥量で 0.32 g) を加え，樹脂への吸着をバッチ法で検討した。なお攪拌時間は 1 時間とし，樹脂は遠心分離した後，その上澄液の一定量の放射能を測定した。なおその結果は次式に示す吸着率および分配係数で表わした。

吸着率 (%)

$$= \frac{(\text{原試水の放射能}) - (\text{上澄の放射能})}{(\text{原試水の放射能})} \times 100$$

分配係数 (Kd)

$$= \frac{(\text{原試水の放射能}) - (\text{上澄の放射能})}{(\text{上澄の放射能})}$$

$$\times \frac{\text{試水の液量 (ml)}}{\text{樹脂の重量 (g)}}$$

(6) 溶媒抽出法<sup>11)</sup>

ジチゾン・四塩化炭素法

試水 5 ml に 5.88% クエン酸ソーダ水溶液 1 ml を加え，さらに蒸留水で 15 ml に希釈した。これにジチゾン溶液 (0.05 g のジチゾンを 100 ml の四塩化炭素に溶解) 10 ml を加え，分液ロート中で 30 分間振盪後，有機相および水相を分離し，3 回抽出後の水相お

よび原試水の放射能を測定した (Fig. 1)。

その結果は次式に示す分離率で表わした。

分離率 (%)

$$= \frac{(\text{原試水の放射能}) - (\text{水相の放射能})}{(\text{原試水の放射能})} \times 100$$

Sample (seawater 5ml)

add 1ml of 5.88% (w/v) sodium citrate solution,  
dilute to 15ml with distilled water,  
transfer the solution to a separatory funnel after short interval,  
add 10ml of reagent solution\*,  
shake for 30 minutes,

Organic phase	Aqueous phase (Repeat 3 times extraction)
[Co(HDz) <sub>2</sub> ] in CCl <sub>4</sub>	Measurement of <sup>60</sup> Co in 1ml of aqueous phase

\* Reagent solution :

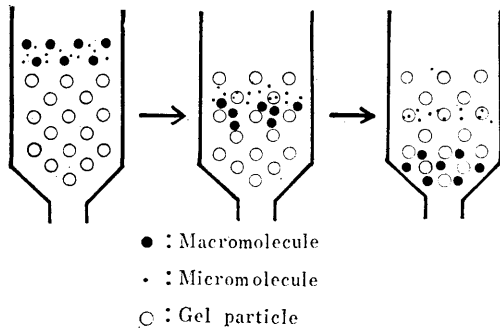
Dissolve 0.05g of dithizone in 100ml of carbon tetrachloride

**Fig. 1** Extraction of <sup>60</sup>Co in seawater with dithizone into carbon tetrachloride

(7) ゲルろ過クロマトグラフィ

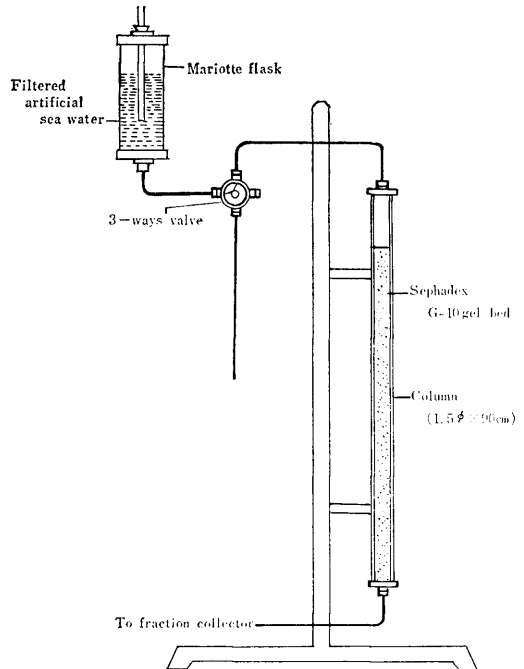
Dextran gel は、粒度 40~120 μm で、分画可能範囲が分子量 700 以下の Sephadex G-10 を使用した。

Fig. 2 はゲルろ過の原理を模式的に示したものである。この基本原理は分子ふるい効果によって膨潤させた Sephadex のもつ網目よりも大きい分子はゲル粒子内に入ることができず、ゲル粒子の外側の液層を通過して溶出する。大きな分子は最初に溶出され、小さい分子はゲル粒子内に入るが、その程度は分子の大きさと形によって異なる。その結果、分子量の大ききの順に溶出される速度が異なり、放射性コバルトと海水



**Fig. 2** Schematic representation of gel filtration by Sephadex

中溶存有機物質とが結合した高分子の有機態コバルトは早く、低分子の単一イオン形あるいは無機態のコバルトは遅く分離溶出される。



**Fig. 3** Arrangement of gel-filtration column

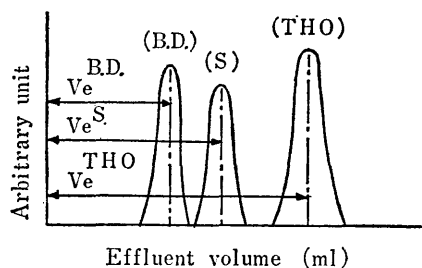
カラム操作は Fig. 3 に示すような下降法によっておこなった。

すなわち、カラム (1.5φ×90 cm) の上から一定量の試水を添加した後、マリオットビンから溶離液としてミリポアフィルター HA (0.45μm) でろ過した人

工海水を流速 20 ml/hr で流し溶出液をフラクションコレクターで1分画 5 ml づつ分取し、各分画の放射能測定を行ない、回収率 (%) を算出するとともに Table 3 (3) に示す式を用いて溶出コバルト種の分配係数 (K<sub>d</sub><sup>s</sup>) を算出した。

**Table 3** Fundamental consideration on gel filtration chromatography

(1)	$K_d = \frac{V_{iP}}{V_i}$	K <sub>d</sub> : Distribution coefficient V <sub>i</sub> : Total internal volume of gel phase V <sub>iP</sub> : Partial internal volume of gel phase
(2)	$V_e = V_o \cdot K_d V_i$	V <sub>e</sub> : Effluent volume of a solute V <sub>o</sub> : Total volume of interphase among gel particles
(3)	$K_d^s = \frac{V_e^S - V_o}{V_i} = \frac{V_e^S - V_e^{B.D.}}{V_e^{THO} - V_e^{B.D.}}$	K <sub>d</sub> <sup>s</sup> : Distribution coefficient of a solute V <sub>e</sub> <sup>S</sup> : Effluent volume of a solute V <sub>e</sub> <sup>B.D.</sup> : Effluent volume of Blue Dextran V <sub>e</sub> <sup>THO</sup> : Effluent volume of tritiated water



K<sub>d</sub> = 0 : not penetrable into gel particle  
 0 < K<sub>d</sub> < 1 : partially penetrable into gel particle  
 K<sub>d</sub> = 1 : completely penetrable into gel particle  
 K<sub>d</sub> > 1 : adsorption effect occurred

### 3. 実験結果

#### 3.1 Chelex-100 樹脂による検討

海水中における放射性コバルトのキレックス 100 樹脂への吸着に及ぼす溶存アミノ酸の影響について調べた結果は Fig. 4 に示すとおりである。

溶存有機物質を含まない対照においては <sup>60</sup>Co は 36 日間の経過を通じて、ほぼ定量的に吸着したのに対して、グリシン (50 mg/l, 4.5×10<sup>-4</sup> M)、アスパラギン酸 (50 mg/l, 3.8×10<sup>-4</sup> M) およびアラニン (50 mg/l, 5.6×10<sup>-4</sup> M) をそれぞれ含む試水においては ageing に伴って <sup>60</sup>Co の吸着率は低下した。そしてグリシンおよびアスパラギン酸の存在では約 20 日目以後は <sup>60</sup>Co の吸着率はほぼ平衡に達し、それぞれ対照の約 89% および 77% であったがアラニンの存在では

36 日目まで減少し、36 日目で対照の約 55% であった。

培養後約 3 ケ月間保存した後の古いクロレラ培養ろ液中では <sup>60</sup>Co の吸着率の減少は著しかった。

新鮮なプランクトン培養ろ液、養魚場海水、沖合海水に <sup>60</sup>Co をスパイクした場合の <sup>60</sup>Co の吸着率の変化を Fig. 5 に示した。これらの試水では溶存有機物質が少ないため、対照とほとんど差がみられなかった。

このことはこれらの試水の COD 値が低く (約 5 ppm) 被酸化性の溶存有機物質量が少なかったことと関係があるものと思われる。

Fig. 6 は <sup>60</sup>Co の Chelex-100 に対する分配係数 (K<sub>d</sub> 値) の変化を示したもので、有機物の存在しない対照においても K<sub>d</sub> 値の減少がみられたが、アラニンおよびアスパラギン酸の存在では K<sub>d</sub> 値は対照よりも 1 桁以上減少がみられ、古いクロレラ培養ろ液中で

はその減少はさらに大きかった。これに対してグリシンの存在ではアラニンおよびアスパラギン酸に比べて $^{60}\text{Co}$ の分配係数は1桁以上大きかった。

Fig. 7 は沖合海水、養魚場海水およびプランクトンの新鮮培養ろ液における分配係数の変化である。これら試水では対照よりもむしろ大きな値を示した。

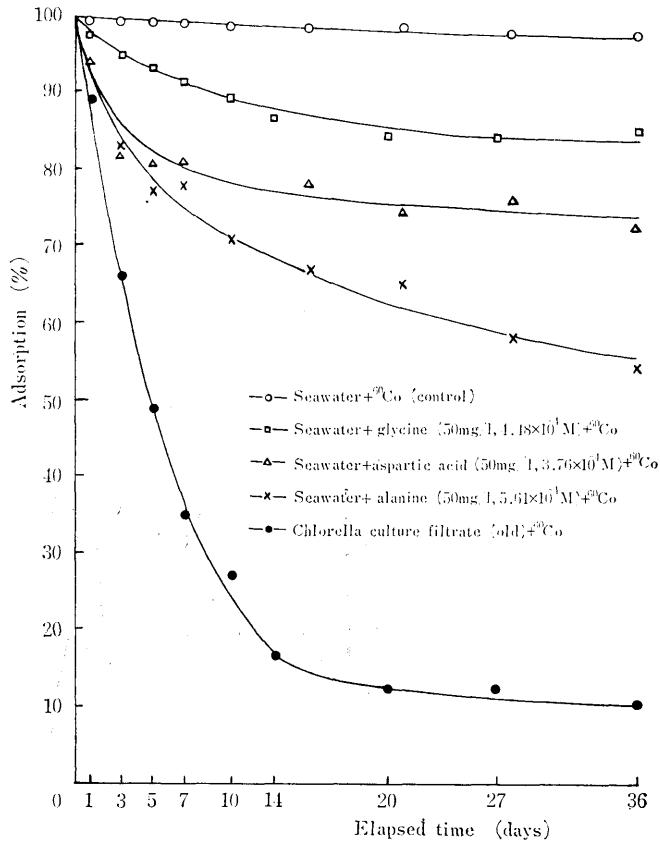


Fig. 4 Adsorption of  $^{60}\text{Co}$  on Chelex-100 resin

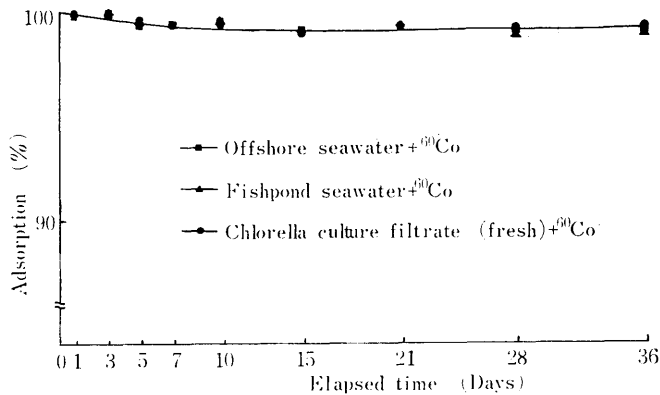


Fig. 5 Adsorption of  $^{60}\text{Co}$  on Chelex-100 resin

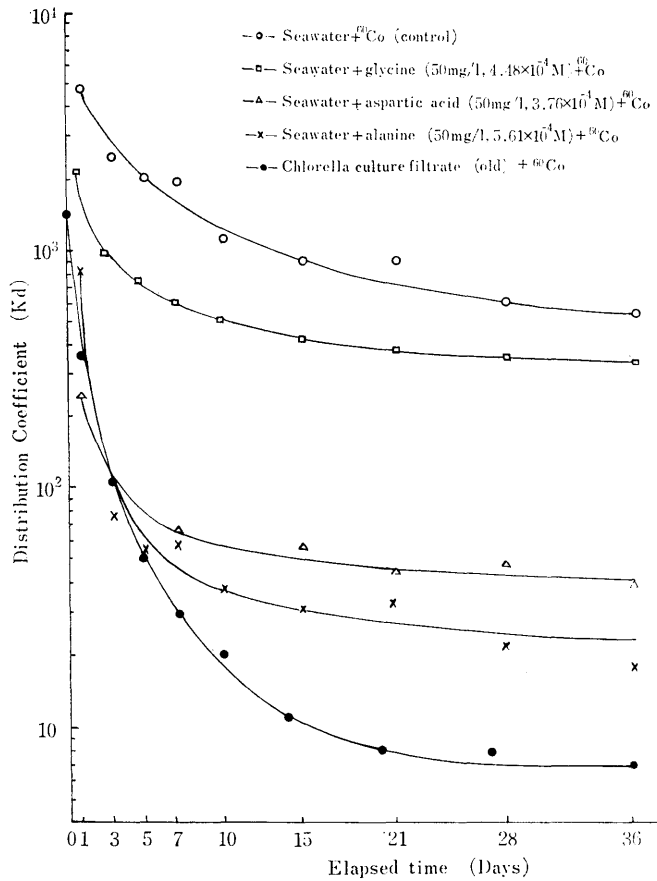


Fig. 6 Change of Kd value of <sup>60</sup>Co on Chelex-100 resin as a function of time

### 3.2 溶媒抽出法による検討

海水中における放射性コバルトの溶媒抽出に及ぼす溶存アミノ酸の影響について調べた結果は Fig. 8 に示すとおりである。

ジチゾン・四塩化炭素抽出において溶存有機物質を含まない対照では、36日間の経過を通じてほぼ定量的に抽出されたのに対して、各アミノ酸を含む試水においては時間とともに抽出率は減少し、15日目以後では徐々に平衡に達する傾向がみられた。36日目で、グリシンの存在では対照の約40%、アラニンの存在では約60%、アスパラギン酸の存在では約75%であった。

Fig. 9 は新鮮プランクトン培養ろ液、養魚場海水および沖合海水中にスパイクした <sup>60</sup>Co の溶媒抽出の結果である。これらの試水においては前記の Chelex-100 への吸着の場合と同様に、抽出率は対照とほとんど差を認めることができなかった。

以上の結果はいずれも上記アミノ酸の存在下で、海水中のコバルトが有機コバルト錯体を形成していることを示唆しているものと思われる。また海水中においてコバルトとアミノ酸の錯体生成反応はこれらの濃度が低い場合には比較的遅く、温度が 15°C、連続通気の場合で平衡状態となるのに約 20 日、あるいはそれ以上の時間を要した。

Table 4 は海水中のコバルトの Chelex-100 への吸着およびジチゾン・四塩化炭素による抽出に及ぼす各アミノ酸の影響をまとめたもので、対照においては、いずれも 97% 以上のコバルトが吸着あるいは抽出されたが、グリシン、アラニンおよびアスパラギン酸の存在ではそれぞれ影響を及ぼした。しかしアラニンおよびアスパラギン酸の存在ではキレックスへの吸着ならびにジチゾン・四塩化炭素抽出で同様な阻害を示したのに対して、グリシンの存在ではジチゾン・四塩化炭素抽出の阻害に比べて Chelex-100 樹脂への吸

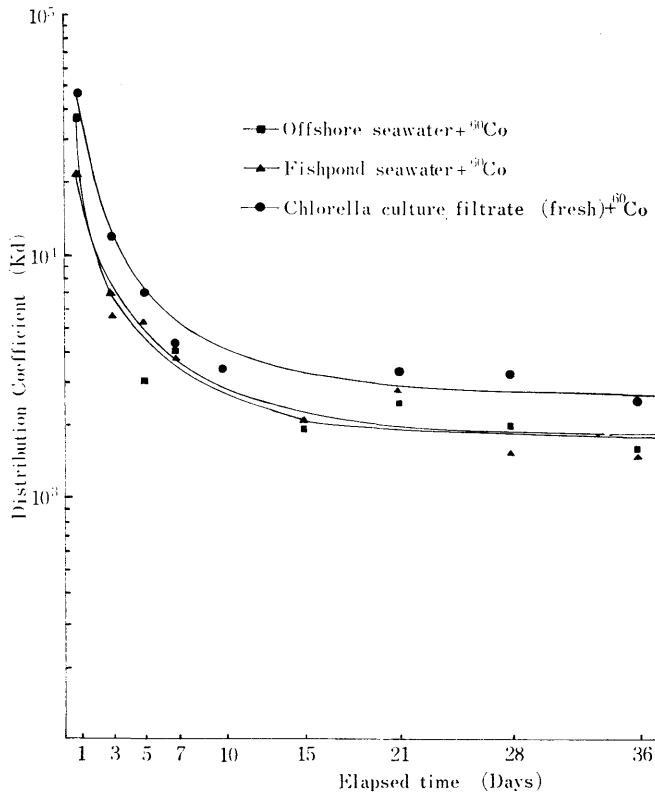


Fig. 7 Change of Kd value of <sup>60</sup>Co on Chelex-100 resin as a function of time

Table 4 Interfering effect of amino acids on the adsorption and extraction of radiocobalt in seawater (After 36 days ageing)

Amino acid	Adsorption on Chelex-100 (%)		Extraction with dithizone (%)	
	Retained	Not retained	Extracted	Not extracted
O (control)	97.2	2.8	97.5	2.5
Glycine 4.48 × 10 <sup>-4</sup> M	85.5	14.5	51.4	48.6
Alanine 5.61 × 10 <sup>-4</sup> M	54.1	45.9	55.7	44.3
Aspartic acid 3.76 × 10 <sup>-4</sup> M	72.0	28.0	74.9	25.1

着阻害が少なかった。

3.3 Sephadex G-10 ゲルろ過クロマトグラフィによる検討

分子ふるい効果, すなわち分子の大きさの順に溶出

される性質を利用して放射性コバルトと海水中溶存有機物質が結合した有機態コバルトの分離についてゲルろ過クロマトグラフィによって検討した結果は Fig. 10 に示すとおりである。

図中〔A〕は指標物質(基準物質)としてそれぞれ



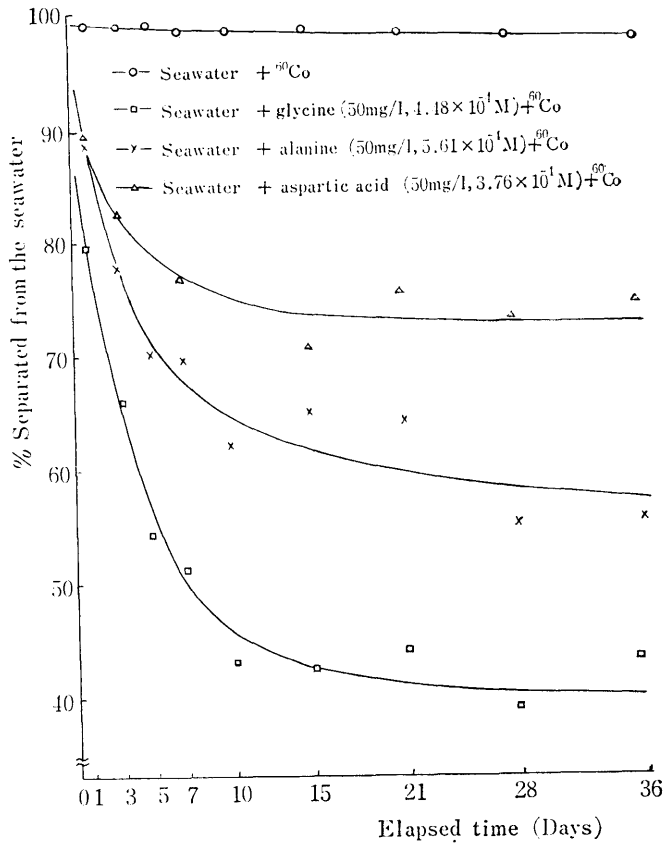


Fig. 8 Extraction of  $^{60}\text{Co}$  with dithizone in carbon tetrachloride

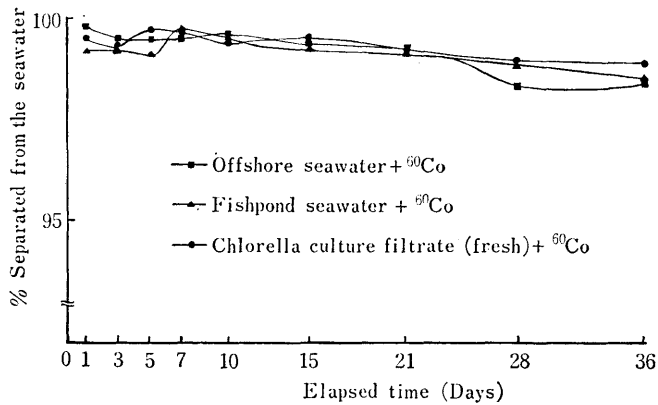


Fig. 9 Extraction of  $^{60}\text{Co}$  with dithizone in carbon tetrachloride

**Table 5** Fractionation of radiocobalt in seawater by Sephadex G-10 gel chromatography  
 Column size : 15φ × 900 mm  
 Flow rate : 20 ml/hr

Control			Glycine 4.48 × 10 <sup>-4</sup> M			Alanine 5.61 × 10 <sup>-4</sup> M			Aspartic acid 3.76 × 10 <sup>-4</sup> M		
Ageing time (days)	Kd	Recovery (%)	Ageing time (days)	Kd	Recovery (%)	Ageing time (days)	Kd	Recovery (%)	Ageing time (days)	Kd	Recovery (%)
2	1.0	93.8	1	0.3 1.1	0.9 84.5	1	1.0	86.9	2	0.4 1.0	1.6 88.6
4	1.0	98.0	3	0.3 1.0	4.2 84.2	3	1.0	89.6	4	0.3 1.0	5.2 86.2
8	1.0	96.7	7	0.2 1.0	8.9 73.7	7	0.3 1.0	10.5 72.8	8	0.3 1.0	6.8 78.3
11	1.1	99.3	10	0.2 1.0	15.3 55.7	10	0.3 1.0	14.0 63.0	11	0.3 1.1	8.6 60.0
18	1.1	93.2	17	0.3 1.2	19.9 50.5	17	0.3 1.0	13.1 75.5	18	0.3 1.2	10.4 65.9
25	1.0	96.5	24	0.2 1.2	23.6 42.2	24	0.3 1.0	22.1 58.8	25	0.3 1.2	11.0 61.8
32	1.0	94.7	31	0.2 1.2	27.4 40.9	38	0.3 1.0	29.0 48.0	32	0.3 1.1	12.6 62.9
39	1.2	92.1	38	0.2 1.2	29.2 50.6	43	0.3 1.0	24.2 60.4	39	0.3 1.2	15.1 57.3

Standard deviation of Kd value : ±0.1

Standard deviation of Recovery : <10%

単独に人工海水に添加した Blue dextran (以下 B.D. と略す), トリチウム水 (以下 THO と略す) および各アミノ酸 (アスパラギン酸, グリシン, アラニン) の溶離位置を示したものである。

B. D. および THO の溶離位置の確認はそれぞれ分光光度計 (波長 620 nm) による吸光度の測定, および液体シンチレーションカウンターによる測定により行なった。またアミノ酸の確認はニンヒドリン法により行なった。

Table 5 はそれぞれの試水の <sup>60</sup>Co の分画変化を経時的に調べ, 各分画の Kd 値とともにその回収率を示したものである。

人工海水に <sup>60</sup>Co のみを含んでいる対照では ageing にともなう変化はほとんど認められなかったが, それにくらべアミノ酸を添加した試水においては, 経過日数にともなう対照の <sup>60</sup>Co よりも小さい Kd 値の <sup>60</sup>Co の溶出が認められ, その量的割合は徐々に増加していることがわかる。

なお回収率はゲルカラムに加えた <sup>60</sup>Co の総放射能値に対する各溶出フラクションの <sup>60</sup>Co の放射能値の

割合で表わした。

また Fig. 10 (B) に 39 日後の各試水の <sup>60</sup>Co の溶離位置を示した。

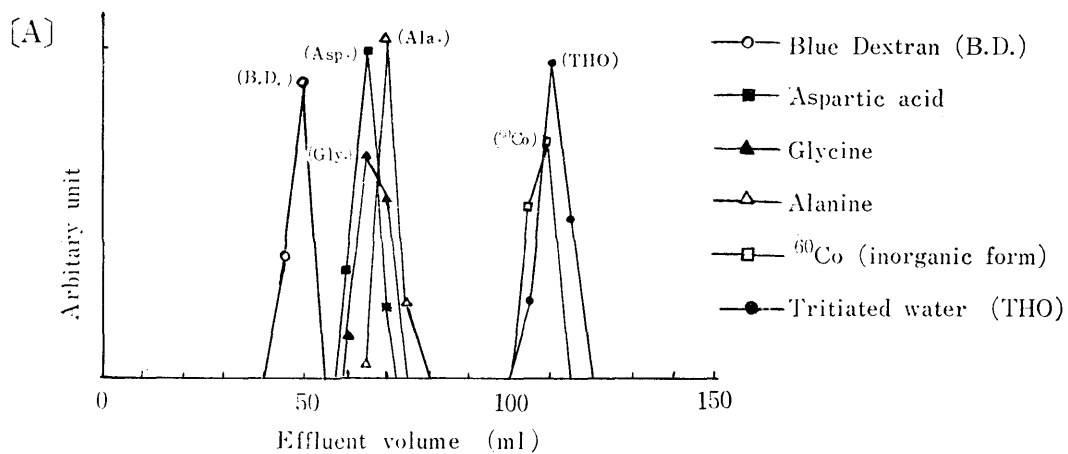
この図からもわかるように対照においては <sup>60</sup>Co の溶出ピークは単一であったが, 一方アミノ酸の存在する試水ではそれぞれのアミノ酸とほぼ同じ溶離位置に溶出される <sup>60</sup>Co のピークの存在が認められた。

これらの結果から各々の溶存有機物質すなわちグリシン, アラニンおよびアスパラギン酸と結合した有機態コバルトがそれらの生成条件と同様な条件下で無機態コバルトと分子サイズの相違によって分離されることが確認された。

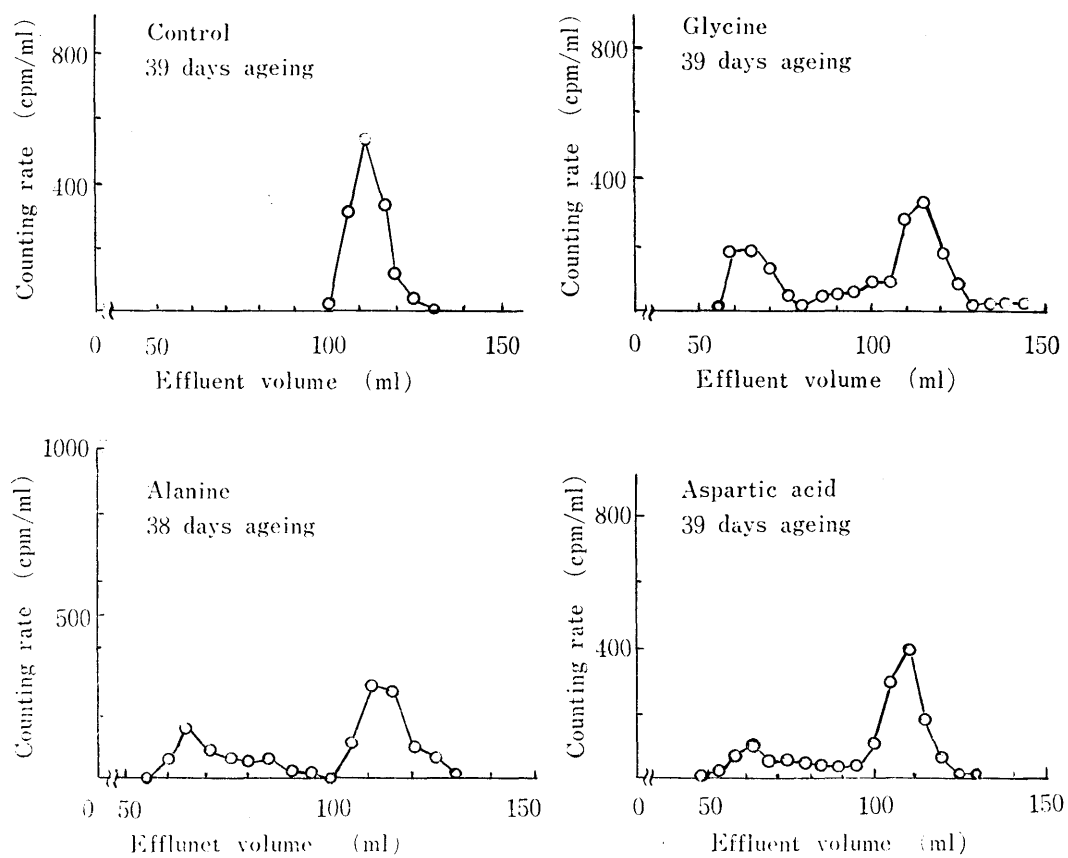
Table 6 は沖合海水, 養魚場海水および新鮮クロレラ培養ろ液中にスパイクした <sup>60</sup>Co の溶離状態を調べた結果である。

これら試水においては対照とほぼ同じパターンを示し, ageing にともなう変化はほとんど認められなかった (Fig. 11)。

このことはこれら試水中の溶存有機物質量が少なく有意な有機態コバルトが生成されなかったものと思わ



[B]



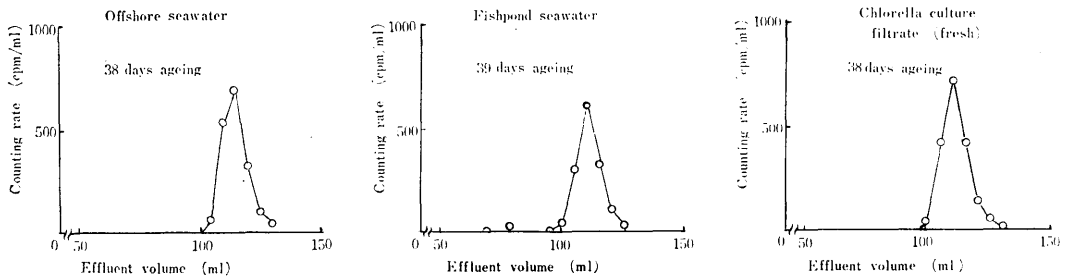
**Fig. 10** Fractionation of <sup>60</sup>Co by gel filtration chromatography

**Table 6** Fractaionation of radiocobalt in seawater by Sephadex G-10gel chromatography  
 Column size : 15φ × 900 mm  
 Flow rate : 20 ml/hr

Offshore seawater			Fishpond seawater			Chlorella culture filtrate (fresh)		
Ageing time (days)	Kd	Recovery (%)	Ageing time (days)	Kd	Recovery (%)	Ageing time (days)	Kd	Recovery (%)
2	1.0	96.5	1	1.0	81.1	1	1.0	93.1
4	1.0	107.6	3	1.0	93.1	3	1.0	99.5
7	1.0	97.6	8	1.0	99.7	7	1.0	99.2
10	1.0	96.0	11	1.1	93.6	10	1.1	90.7
17	1.1	94.0	18	1.1	93.6	17	1.2	94.2
25	1.1	94.2	29	1.1	92.9	24	1.2	90.5
31	1.0	94.8	31	1.0	83.8	31	1.2	93.3
38	1.1	84.4	39	1.0	89.5	38	1.2	93.3

Standard deviation of Kd value : ± 0.1

Standard deviation of Recovery : <10%



**Fig. 11** Fractionation of <sup>60</sup>Co by gel filtration chromatography

れる。

#### 4. 考 察

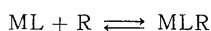
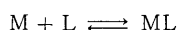
海水中のコバルト (II) がキレート生成イオン交換樹脂 (Chelex-100) に定量的に吸着することは, Callahan, C. M. ら<sup>12)</sup>, Lai, M. G. ら<sup>13)</sup>, Goya, H. A. ら<sup>14)</sup> および Riley, J. P.<sup>15)</sup> により報告されているが, Callahan ら<sup>12)</sup> は海水中に添加した放射性コバルトがその ageing とともに Chelex-100 への吸着率が低下することを見出し, それは多分 Co(III) の錯化合物によるものであり, その配位子としてはアミノ酸のような海産生物に由来する有機分解産物であろうと推論している。また Lowman ら<sup>1)</sup> は海水中に導入した CoCl<sub>2</sub> 形のイオン型放射性コバルトは 91% が

Chelex-100 に吸着されるのに対して V. B<sub>12</sub> 型有機放射性コバルトは 0.6% が吸着されるだけであると報告している。

今回の実験においても有機物質の存在しない対照においては, 36 日間の期間を通じて, 海水中の <sup>60</sup>Co はほぼ定量的に吸着した。しかしアミノ酸の存在する試水および保存プランクトン培養ろ液においては <sup>60</sup>Co の Chelex-100 への吸着率は ageing 時間とともに減少し, やがて平衡に達する傾向がみられた (Fig. 4, Fig. 6)。

Table 2 に Loewenschuss ら<sup>16)</sup> により提案されている Chelex-100 と金属イオンとのキレート錯体の構造を示した。Chelex-100 は海水中の主要な陽イオンである Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup> よりも Cu, Co などの重金属に対して選択性があり, また単一水合イオン

のみならずある種の配位錯体も吸着する可能性が示されている。すなわち次式で示すような反応機構が示唆されている。



ここで、Mは溶液中の金属イオン、Lは溶液中の配位子、MLは金属配位錯体、Rはキレート生成樹脂、MLRはキレート樹脂を含んだ金属配位錯体である。

しかしながら、金属イオンがEDTAあるいはその類似物のような多価配位子と錯体を形成している場合にはその分子の大きさと錯体の立体特異性のためにキレート生成樹脂に結合しにくいことが報告されている<sup>16)</sup>。

今回の実験においてもアラニン、アスパラギン酸および保存プランクトン培養ろ液に含まれる溶存有機物質と結合したコバルト錯体はCo-glycinateのような錯体よりもChelex-100に保持されにくいことが認められた。一方溶存有機物質を含まない対照試水中のコバルトにおいてもChelex-100への分配係数の低下がみられたが、これは電気的中性あるいは陰荷電の加水分解生成物によるためであろうと思われる<sup>19)</sup> (Fig. 6)。

また自然海水媒質において<sup>60</sup>CoのChelex-100への分配係数が対照より大きな値を示した点については使用した自然海水中の溶存有機成分の分別定量を行っていないので、その原因は明らかではないが、リジンのような塩基性アミノ酸の存在では他のアミノ酸と異なり陽イオン交換樹脂へのコバルトの分配係数が対照より大きな値を示したという鈴木ら<sup>5)</sup>の報告もあるので、このような物質の存在が関与したのかも知れない (Fig. 6, Fig. 7)。

海水中<sup>60</sup>Coのageingに伴うジチゾン・四塩化炭素抽出法による分離率においては、有機物質を含まない対照の場合、<sup>60</sup>Coはほぼ定量的に抽出されたのに対して、グリシン、アラニンおよびアスパラギン酸をそれぞれ含む試水においては抽出分離率は時間とともに低下した (Fig. 8)。

Lowmanら<sup>1)</sup>もまた海水中のV. B<sub>12</sub>型有機コバルトはジチゾン・溶媒抽出で1.3%が抽出されるにすぎなかったのに対してイオン型のコバルトは97%が抽出されたことを報告している。

海水中のコバルトの溶媒抽出に及ぼすアミノ酸の影響はコバルトイオンとアミノ酸あるいは抽出に使用する錯化剤とのキレート生成定数の大小により左右されるものと思われる。

海水中のコバルトのChelex-100への吸着およびジチゾンによる抽出に及ぼす各アミノ酸の影響を比較してみると、アラニンおよびアスパラギン酸の存在ではChelex-100への吸着ならびにジチゾン抽出で同様な阻害を示したのに対して、グリシンの存在ではジチゾン抽出の阻害に比べて、Chelex-100への吸着阻害が少なかった。これらの結果はコバルト(II)とアミノ酸およびジチゾンとの錯体安定度定数(log K<sub>1</sub>K<sub>2</sub>: アスパラギン酸 > グリシン ≧ アラニン > ジチゾン)<sup>9),18)</sup>からコバルト・アミノ酸錯体の方がコバルト・ジチゾン錯体よりも安定であることによるとともに、既に記述したようにコバルト-グリシン-Chelex-100 (MLRで示される) 錯体の生成の可能性によるものと思われる。

以上Chelex-100への吸着実験およびジチゾンによる溶媒抽出実験の結果は、いずれもアミノ酸およびその他の溶存有機物質の存在(保存プランクトン培養ろ液)下で生成された有機態コバルトが単一水和イオン形あるいは無機態コバルトとその物理化学的挙動が異なることを示している。そしてこれらの有機態コバルトの生成反応は比較的遅く、温度が約15°C、連続通気条件で平衡状態となるのに約20日あるいはそれ以上の時間を要した。

Fukaiら<sup>17)</sup>はコバルトのEDTAによるキレート生成反応の速度は海水のような強電解質溶液中においては、コバルトおよびEDTAの濃度に大きく依存すること、そして自然海水中において濃度の非常に低いコバルトのキレート生成反応は反応成分の濃度上昇の起こり得る不均一界面、例えば無機粒子成分あるいは岩屑などが存在しなければ非常に遅いことを結論しているが、筆者らの実験結果もこのことを支持している。

ゲルろ過法に使用したセファデックスは著しい親水性を有するため、これを水につけると一定限度の水を保有して膨潤し、一定程度の網目構造を持つゲルができ、いわゆる分子ふるい効果(molecular sieving effect)による物質のろ過分画が可能となる。

分子ふるい効果そのものによる特性は、カラム内の溶質を溶出するのに必要な溶媒の量がカラム内のゲル内容積より少なくすむということである。

カラム中の水は2つの部分すなわち internal water (固定相) と external water (移動相) とから成る。そしてカラム内の物質の溶出は、これら固定相と移動相との間の分配係数(K<sub>d</sub>)に関係する。

本実験における分配係数(K<sub>d</sub>)について考えてみると、溶質は全くゲル粒子内に拡散できない標準物質として Blue Dekstran (分子量: 2,000,000) を、溶

質は完全にゲル粒子内に拡散しているものとしてトリチウム水（分子量：20）を用いることによって溶離位置をそれぞれ  $K_d=0$  および  $K_d=1$  とした。

そこで溶存有機物質として使用した各アミノ酸（グリシン、アラニンならびにアスパラギン酸）の  $K_d$  値が  $0 < K_d < 1$  であったことからこれらのアミノ酸はある程度ゲル粒子中に拡散して溶出されたものと思われる（Fig. 10）。

海水中における  $^{60}\text{Co}$  と溶存有機物質とが結合した有機態コバルトをより低分子の無機態コバルトあるいは単一水和イオン形のコバルトと分離するため Sephadex G-10 カラムによるゲルろ過クロマトグラフィによって  $^{60}\text{Co}$  の溶離位置の変化を経時的に検討した結果、対照においては経時変化はほとんど認められなかったが、それに比して溶存有機物質としてアミノ酸を含んでいる試水においては約2—3日間程度で無機態あるいは単一水和イオン形の  $^{60}\text{Co}$  よりも高分子の  $^{60}\text{Co}$  の存在が認められ、日数の経過に伴ってその量的割合が徐々に増加した。これらの結果は  $^{60}\text{Co}$  が溶存アミノ酸と結合した有機態として存在することを示すものであるとともにゲルろ過クロマトグラフィによってこれらを低分子無機態コバルトから分離することができた（Fig. 10）。

しかし、またカラム中での吸着現象により溶出のおくれる分画の存在することも認められた（Table 5）。

沖合海水、養魚場海水および新鮮クロレラ培養ろ液中にスパイクした  $^{60}\text{Co}$  の溶離状態を調べた結果では、これら試水においては対照とほぼ同じパターンを示し、ageing に伴う変化はほとんど認められなかった。このことはこれら試水中の溶存有機物質量が少なく有意な有機態コバルトが生成されなかったものと思われる。

## 5. 要 旨

海水中における溶存有機物質と  $^{60}\text{Co}$  との相互作用を明らかにするため、溶存有機物質として海水中に通常見出されるグリシン、アラニンおよびアスパラギン酸などのアミノ酸と  $^{60}\text{Co}$  との相互作用についてキレート生成樹脂である Chelex-100 への吸着、ジチゾン・四塩化炭素による溶媒抽出法ならびにゲルろ過クロマトグラフィによって検討するとともに、自然海水中にスパイクした  $^{60}\text{Co}$  の挙動と比較検討した。

(1) Chelex-100 樹脂への吸着に及ぼす溶存アミノ酸の影響について調べた結果、溶存有機物質を含まない

対照においては  $^{60}\text{Co}$  は36日間の経過を通じて、ほぼ定量的に吸着されたのに対して、グリシン ( $4.5 \times 10^{-4} \text{ M}$ )、アスパラギン酸 ( $3.8 \times 10^{-4} \text{ M}$ ) およびアラニン ( $5.6 \times 10^{-4} \text{ M}$ ) をそれぞれ含む試水においては ageing に伴って  $^{60}\text{Co}$  の吸着率は低下した。そしてグリシンおよびアスパラギン酸の存在では約20日目以後は  $^{60}\text{Co}$  の吸着率はほぼ平衡に達し、それぞれ対照の約89%および77%であったがアラニンの存在では36日目まで減少し、36日目で対照の約55%であった。

培養後約3ヶ月間保存した後の古いクロレラ培養ろ液中では  $^{60}\text{Co}$  の吸着率の減少は著しかった。

新鮮なプランクトン培養ろ液、養魚場海水、沖合海水に  $^{60}\text{Co}$  をスパイクした試水では溶存有機物質が少ないため、対照と差がみられなかった。

(2) ジチゾン・四塩化炭素系溶媒抽出法においては、溶存有機物質を含まない対照では36日間の経過を通じてほぼ定量的に抽出されたのに対して、各アミノ酸を含む試水においては時間とともに抽出率は減少し、15日目以後では徐々に平衡に達する傾向がみられた。36日目でグリシンの存在では対照の約40%、アラニンの存在では約60%、アスパラギン酸の存在では約75%であった。

新鮮プランクトン培養ろ液、養魚場海水および沖合海水中にスパイクした  $^{60}\text{Co}$  の溶媒抽出の結果では、前記の Chelex-100 への吸着の場合と同様に、抽出率は対照とほとんど差を認めることができなかった。

(3) Sephadex G-10 column によるゲルろ過クロマトグラフィによって  $^{60}\text{Co}$  の溶離位置の変化を経時的に検討した結果、対照においては経時変化はほとんど認められなかったが、それに比して溶存アミノ酸を含んでいる試水においては約2—3日間程度で無機態あるいは単一水和イオン形の  $^{60}\text{Co}$  よりも高分子の  $^{60}\text{Co}$  の存在が認められ、日数の経過に伴って、その量的割合が徐々に増した。

しかし、沖合海水、養魚場海水および新鮮クロレラ培養ろ液中にスパイクした  $^{60}\text{Co}$  の溶離状態を調べた結果では、これら試水においては対照とほぼ同じパターンを示し、ageing に伴う変化はほとんど認められなかった。

後記：本研究の一部は近畿大学昭和49年度、50年度学内研究助成金および昭和50年度文部省科学研究費、総合研究(A)「環境中における微量放射性物質の動態に関する研究」(研究代表者、京都大学桂山幸典教授)の補助を得たことを記し、謝意を表します。

参 考 文 献

- 1) Lowman, F. G. and Ting, R. Y. : The state of cobalt in sea water and its uptake by marine organisms and sediments, in "Radioactive Contamination of the Marine Environment", 369, IAEA, Vienna (1973)
- 2) Polikarpov, G. G. : Radioecology of Aquatic Organisms, North-Holland Publishing Co. (1966)
- 3) Lowman, F. G., Rice, T. R. and Richard, F. A. : Radioactivity in the Marine Environment, NAS (1971)
- 4) Robertson, D. E. : "Marine Radioecology", Proc. 2nd ENEA Seminar, Hamburg (OECD/ENEA), 21 (1971)
- 5) 鈴木顕介, 池田長生 : 海水中における放射性コバルトの吸着挙動, *Radioisotopes*, **23**, 373(1974)
- 6) 中村清, 長屋裕 : 浦底湾堆積物中の放射性核種, 第17回日本放射線影響学会講演要旨集, 2C7 (1974)
- 7) Siegel, A. : Metal-organic interaction in the marine environment, in "Organic compounds in aquatic environments" (Ed. Faust, S. D. and Hunter, J. V.), 265. Dekker Inc., New York (1971)
- 8) Desai, M. V. M. and Ganguly, A. K. : Interaction of trace elements with the organic constituents in the marine environment, B. A. R. C-448 (India) (1970)
- 9) Kimura, Y. and Honda, Y. : Interaction of radionuclides with organic matter dissolved in seawater, — Interaction of radiocobalt with some amino acids—, *Radioisotopes*, **25**, (1976)
- 10) Lyman, J. and Fleming, R. H. : *J. Mar. Res.*, **3**, 134 (1940)
- 11) Sandell, E. B. : Colorimetric determination of trace metals, 410, Interscience Publishers Inc., New York (1959)
- 12) Callahan, C. M., J. M. Pascual, and M. G. Lai. : The concentration of trace elements from seawater by ion exchange, USNRDL-TR-67-10 (1966)
- 13) Lai, M. G., and H. A. Goya. : A rapid ion exchange method for the concentration of cobalt from seawater, USNRDL-TR-67-11 (1966)
- 14) Goya, H. A., and M. G. Lai. : Adsorption of trace elements from seawater by Chelex 100, USNRDL-TR-67-129 (1967)
- 15) Riley, J. P., and D. Taylor. : Chelating resins for the concentration of trace elements from sea water and their analytical use in conjunction with atomic absorption spectrophotometry, *Anal. Chim. Acta*, **40**, 479 (1968)
- 16) Loewenschuss, H. and Schmuckler, G. : Chelating properties of the chelating ion exchanger Dowex A-I, *Talanta*, **11**, 1399 (1964)
- 17) Fukai, R. and C. N. Murray. : Environmental behavior of radiocobalt and radio-silver released from nuclear power stations into aquatic systems, *Environmental Behavior of Radionuclides Released in the Nuclear Industry* (Proc. of IAEA-WHO Symposium. Aix-En-Provence, 1973), 217, IAEA-SM-172/42, IAEA, Vienna (1973)
- 18) Martell, A. E. : Stability Constants of Metal-Ion Complexes, Section II, The Chemical Society, Burlington House (1964)
- 19) Honda, Y., Kimura, Y. and Tsurii, N. : Electrodialysis of  $^{60}\text{Co}$ ,  $^{106}\text{Ru}$  and  $^{144}\text{Ce}$  in sea water through ion-exchange membranes, *Radioisotopes*, **21**, 269 (1972)