Filter sampleにおけるPP・PIP分析マニュアル

2014年7月8日

作成者：山口

**～Particulate Phosphorus (PP) の測定～**

**Suzumura (2008) Limnol. Oceanogr.を参考に作成**

0. GF/Fフィルターは、サンプル濾過前にマッフル炉において焼成（450℃, 90 min）を行い、続いて1N-HCl洗浄（1日）を行う。この操作によりフィルターのコンタミを減らすことができる。

1. フィルターサンプルを凍結乾燥させる。

2. 1N-HCl洗浄した10 mlガラスバイヤルにフィルターサンプルを入れる。

3. フィルターに0.17 MのMg(NO3)2・6H2Oを0.2 ml染み込ませる。硝酸マグネシウムを添加することで燃焼時、ポリリン酸など難分解性の物質も分解できる。

4. 100℃で約2時間、ホットプレートで乾燥させる。温度が高いとフィルターが焦げるので注意が必要。

5. 乾燥後、マッフル炉において、470℃で90分間燃焼させる。

6. 1N-HClを10 mlバイヤルに添加後、フィルターをきっちりと浸し、抽出を14時間室温で行う。（Suzumura 2008では震盪抽出を行っている）

ちなみに1N-HClは次に中和作業で使うので、まだ破棄してはいけない。

7. 12時間後くらいに、一度軽く上下反転させることで攪拌を行ったほうがよい。激しくすると、GF/Fフィルターの破壊に繋がるので気をつける。

14時間後、塩酸サンプル3 mlを取り出し、塩酸洗浄済みの20 mlガラス管に移す。この時、1N-NaOHも約3 ml（1N-HClと中和する量）添加し、さらにMQを約1.5 ml（全体で7.5 mlになるように）添加する。

8. 最後に発色試薬（下記に記載）を0.5 ml添加する。

9. 発色試薬を入れたら10分間放置し、波長885 nmで吸光度を測定する。発色時間は温度に左右され、特に温度が低いと発色時間は長くなるので注意が必要。測定は発色試薬添加後30分以内に行う。

**試薬について**

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((NH4)6Mo7O24・4H2O) 0.6 gを20 mlのMQに溶かす

4.9N硫酸

50mlのMQにH2SO4を6.8 mlゆっくり混ぜる

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0.0136 gを10 mlのMQに溶かす

アスコルビン酸溶液（当日作成）

アスコルビン酸1.08 gを20 mlのMQに溶かす

**発色試薬の作成**

モリブデン酸アンモニウム溶液・アスコルビン酸・4.9N硫酸・酒石酸アンチモニルカリウム溶液を2：2：5：1で添加する（アスコルビン酸は最後に添加する）

＊スタンダードはMQで作成してかまわない

梅澤研では下記の要領で検量線を作成している

High 30 μM

Middle 20 μM

Low 10 μM

（濃度が高い場合は40 μMでも測定可、しかしながら、50 μMでは発色が頭打ちになることが報告されている）

＊未濾過のフィルターを用いてブランク濃度の測定もおこなう

＊分光高度計は、第4実験室にあるものを使うが、分析の30分～60分前には電源を入れ（左横）、光源を安定させる。ソフトウェアを立ち上げた後に、分析設定を変更できないなどのトラブルが発生しているが、その場合は慌てず再起動を行う。

**～Particulate Inorganic Phosphorus (PIP) の測定～**

1. 凍結乾燥させたフィルターを、燃焼および硝酸マグネシウム処理を行わないで10 mlの1N-HClに浸し、室温で14時間抽出を行う。

2. その後の手順については、PP分析の手順7番と同様である。

＊Particulate Organic Phosphorusは、PPとPIPの濃度差から算出される

POP = PP － PIP