沿岸域でのスーパーオキシドによるフミン鉄の還元速度

	東北大学	学生会員	藤井	⊧ 学
New South	Wales 大学		T. D.	Waite
	東北大学	正会員	大村	達夫

1. はじめに

河川から供給されるフミン物質(HS)と錯体を形成し た鉄(フミン鉄)は、河口・沿岸域植物の生長に必須で ある。従って、豊かで健全な河口・沿岸域生態系の保 全のためには、従来の環境保全に関わる水質基準であ る窒素やリン、有機物質のみならず鉄の挙動に着目し た上で、流域管理を行っていく必要がある。

沿岸域において, 藍藻類(例えば Lyngbya majuscla)は スーパーオキシド(SO)によりフミン第二鉄(HS-Fe(III)) を比較的結合力の弱いフミン第一鉄(HS-Fe(II))に還元 し,独自のタンパク質に結合させることで鉄を摂取し ていると考えられている¹⁾。本研究ではその一連の過 程を,室内実験により再現し,様々なフミン第二鉄に ついて SO による還元速度の測定を行った。

2.実験方法

土壌及び水サンプルはオーストラリア Deception 湾 集水域から採取した(表 1)。IHSS 法に従い,土壌フル ボ酸(SFA)及び水生フミン物質(AHS)の抽出を行った。 1g/L のフミン物質溶液を用意し,0.5mM 硝酸第二鉄溶 液と混合することでフミン鉄溶液(HS 濃度:200mg/L, 鉄濃度:250μM)を作成した。

鉄濃度は、Ferrozine (FZ)及び 1m length flow path cell (Ocean Optics)を用いて測定し、SO の発生には Xanthine / Xanthine oxidase (XO) system を用いた。 $0.22\mu m$ メン ブレンフィルターで濾過を行った海水 (pH8.1, Salinity 36‰) 25mL に 1 unit/mL キサンチン酸化酵素 25 μ L,上 記したフミン鉄溶液 20 μ L, 0.1M FZ 250 μ L を加えた(最 終 HS 濃度及び鉄濃度は、それぞれ 0.16mg/L、200nM である)。蠕動ポンプによりこの溶液を 1m length flow path cell に流入させ、波長 562nm において FZ による Fe(II)生成速度を測定した。その後、キサンチンを 50 μ M になるよう適量サンプルに加え、SO による Fe(II)生成 速度を測定した。鉄濃度の検量線は Fe (nM)=361xABS (m⁻¹) - 79.127 を使用した(R²=0.999, ε_{562} = 27700 M⁻¹ cm⁻¹)。 ベースライン補正には Fe(II)FZ₃ 錯体が吸光を示さない 波長 700 nm を用いた。光源はハロゲンタングステン ランプ(LS-1),分光器は可視近赤外分光光度計(USB 2000 VIS-NIR (Usable range: 350nm-1000nm)]を用いた。 モニタリングプログラムは OOIBase 32 を使用した。 また,上記のフミン物質以外に,参照として合成有機 物質である EDTA,クエン酸,DesferroxamineB(DFB), 段戸土壤由来フルボ酸(DFA,日本腐植学会)を用いて同 様の実験を行った。有機物質が存在しない系について も行った。実験は 25℃(±1 ℃)の恒温室で行った。

表1 Deception 湾集水域から採取した土壌及び水サンプルの性質

Site	Site description		OM c	ontent (%)					
SFA1 Cleared pine plantation				4.2					
SFA2 Pine plantation		11.4							
SFA3 Native Bribie Pine		6.5							
SFA4	Coastal heathland	12.0							
SFA5	Casuarina glauca	93.0							
SFA6	Young pine plantation	26.9							
SFA7	Canal development	6.4							
SFA8	3 Melaleuca 45.1								
Site	Site description	Salinity	DOC	pН	DO	Temp			
		(‰)	(mg/L)		(mg/L)	(°C)			
AHS1	Shirley Creek	20	5.93	7.99	2.72	26.1			
AHS2	Pumicestone Passage	30	3.24	7.64	6.22	28.9			
AHS3	Deception Bay	36	0.84	8.37	6.79	29.8			
AHS4	Mellum Creek	0	11.79	5.00	4.48	28.2			

3.結果と考察

3.1 SO の生成速度

フミン鉄の還元過程における SO の影響を評価する には,まず SO の平衡濃度を把握する必要がある。 Xanthine/XO system において, SO 濃度はキサンチンの 酸化(反応式(1))と SO の自己不均一化反応 (disproportionation,反応式(2))により支配される。

Xanthine + $O_2 \xrightarrow{Xanthine \text{ oxidase}}$ uric acid + O_2^{\bullet} (1)

$$O_{2}^{\bullet} + O_{2}^{\bullet} + 2H^{+} \rightarrow O_{2} + H_{2}O_{2}$$
 (2)

反応式(1), (2)より, SO の総生産速度は(3)式で表される。

$$\frac{\mathrm{d}}{\mathrm{dt}}\left[O_{2}^{\star}\right] = k_{1}\left[\mathrm{Xanthine}\left[O_{2}\right] - k_{\mathrm{disp}}\left[O_{2}^{\star}\right]\right]$$
(3)

ここで、 k_1 及び k_{disp} はそれぞれ反応式(1)、(2)での反応 速度定数である。平衡状態に達すると、SOの総生産 速度はゼロとなるので、以下の式が成り立つ。

キーワード 沿岸域,スーパーオキシド,フミン鉄,還元速度

連絡先 〒980-8579 仙台市青葉区荒巻字青葉 6-6-06 東北大学工学部土木工学科環境水質工学研究室 TEL 022-795-7483

$$k_{1} = \frac{k_{disp} \left[O_{2}^{-}\right]}{\left[Xanthine \left[O_{2}\right]\right]}$$
(4)

本実験におけるキサンチン濃度と 25°C and 1atm におけ る溶存酸素濃度はそれぞれ 50 μ M, 0.24 mM である。Rose and Waite (2005)²⁾は,本実験と同様の条件下における SO の平衡濃度と k_{disp} をそれぞれ 48 nM 及び 2.7 x 10⁴ M⁻¹s⁻¹ in と報告している。従って, k_1 は 5.1 x 10⁻³ M⁻¹s⁻¹ となり,キサンチンによる SO の生成速度は 61pMs⁻¹ と算出された。

3.2 SOによるフミン鉄の還元速度

フミン第二鉄が還元され, FZ との錯体(Fe(II)FZ₃)を 形成する過程では,フミン第一鉄が生成される反応(5) と,フミン第一鉄が解離する反応(6),解離した第一鉄 が FZ との錯体を形成する反応(7)により生じると考え られる。

> $HS-Fe(III) + O_{2}^{\bullet} \rightarrow HS-Fe(II) + O_{2}$ (5) $HS-Fe(II) \rightarrow HS+Fe(II)$ (6)

$$HS-Fe(II) \rightarrow HS+Fe(II) \tag{0}$$

 $Fe(II) + 3FZ \rightarrow Fe(II)FZ_3$ (7)

反応(7)によって Fe(II)が生成された場合, すぐさま FZと反応し $Fe(II)FZ_3$ を生成する。従って, $Fe(II)FZ_3$ の生 成速度はほぼ Fe(II)の生成速度と等しい。また反応(5) において, 生成された SO はほぼ全て第二鉄の還元に 使用されると考えられる。すなわち,反応(6)が律速反 応となり,有機リガンドの性質の違いにより $Fe(II)FZ_3$ の生成速度が異なってくると考えられる。

合成有機物質について SO による Fe(II)FZ₃ 生成速度 を見てみると,鉄との親和性が最も小さいクエン酸塩 で最も高い生成速度(63.3pM/s)が見られた。この値は, キサンチンによる SO の生成速度とほぼ同様の値を示 し,SO により還元されたクエン酸第一鉄のほぼ全て

が Fe(II)FZ₃を生成していたことが分かる。一方で、バ クテリア由来シデロフォアである DFB では非常に低く (1.2pM/s), Fe(II)FZ₃ 生成速度は鉄とキレーター間の結 合の強さにより異なることが示された。土壌由来フル ボ酸について見てみると、SFA2(松植林由来)が最も高 い値(31.1pM/s)を示し, SFA6(若年松植林由来)が低い値 (10.6pM/s)を示した。一方,水生由来フミン物質では, AHS3(Deception Bay) が最も高く(19.4pM/s), AHS1 (Shirley 川)が最も低かった(4.2pM/s)。以上のことは, 同じ土壌由来,水生由来フミン物質でも,鉄との親和 性の違いにより、Fe(II)FZ,の生成速度が異なってくる ことを示している。フミン物質と金属の結合はカルボ キシル基などの酸性官能基を介して行われるため、本 研究結果に加え, さらに, フミン物質の官能基分析を 行うことで、SO によるフミン鉄の還元メカニズムを より詳細に解明することができると考えられる。

4 結論

本研究では、SO によりフミン第二鉄の還元し藍藻 類独自のタンパク質により鉄を摂取する過程を、 Xanthine/XO system 及び Ferrozine をもちいて再現した。 様々なフミン鉄及び合成有機物質について還元速度を 測定した結果、還元速度はフミン物質の起源により異 なることが明らかとなった。

参考文献

 Rose, A. L., Salmon, T. P., Lukondeh, T., Neilan, B. A. and Waite, T. D. (2005) Use of superoxide as an electron shuttle for iron acquisition by the marine cyanobacterium Lyngbya majuscula. Environ. Sci. and Technol., (In press).

2) Rose, A. L. & Waite, T. D. (2005) Reduction of organically complexed ferric iron by superoxide in natural waters. Environ. Sci. and Technol. (In press).



7-111