

フミン酸と鉄の化学的相互関係に関する研究

東北大学 学生員○村谷 優

東北大学 正会員 福士謙介

東北大学 正会員 大村達夫

1. はじめに

近年、水圏における金属化学種の動態が注目されている。特に河口域は、河川水と海水が混ざり合うために、塩濃度と pH の変化に富んだ水域であり、金属が特異的な挙動を示す水域であると考えられる。また、河口域は、我々にとって身近な環境としての位置付けだけでなく、河川上流から運ばれてくる栄養塩や海洋から運ばれてくるプランクトンのために生産性の高い水域であり、様々な学問あるいは産業の観点から重要視されている水域でもある。

金属の中でも鉄は、生体にとってはミネラルとして不可欠なものである一方で、磯焼けの原因物質でもあると考えられており、水産資源に与える影響の大きい物質の一つであると考えられている。従って、鉄がどのように移動して、どのようにして蓄積されていくのか研究することは非常に重要なことである。

一方、水域における微量金属の移送過程に腐植物質が深く関与していることは古くから知られていた。特にフミン酸やフルボ酸と呼ばれる水溶性物質については、その挙動が未知である部分が多く、金属イオンの構造性質を理解する上でその相互作用の研究が必要となっている。

この論文では、フミン酸と鉄の相互作用をキレート結合であると想定し、フミン酸のイオン結合度を調べる目的で陰イオン交換カラムを用いた、クロマトグラフィーによる実験を行った。また、その結果を元に、河口域における鉄と結合すると考えられるフミン酸の量を考察した。

2. 実験方法

塩濃度が鉄とフミン酸に与える影響を調べるために、陰イオン交換カラムを用いたイオン交換クロマトグラフィーの手法を用いて実験を行った。

本来、陰イオン交換カラムは、タンパク質の精製に用いられることが多い。本研究では、負の電荷を持つフミン酸が陰イオン交換カラム内でイオン交換され、塩の濃度によって徐々に溶出していくという実験手法は、金属とフミン酸との相互関係を表している方法であると判断し、イオン交換クロマトグラフィーを用いた。

実験は、ファルマシアバイオテクの ACTA FCLP システムに、陰イオン交換カラム (HiTrap Q 5ml) を用いて行った。また、実験で使用するリン酸緩衝液、溶出時に使用する 1.0N 塩化ナトリウムを含むリン酸緩衝液、サンプルの 0.5g/l フミン酸は全て pH7 に統一した。

まず、5 カラム体積分のリン酸緩衝液でカラムを平衡化する。その後、サンプルを添加する。添加するサンプルの量は、目的物質がリン酸緩衝液の条件下で強く結合するものである時は、分離に大きな影響は与えないが、結合の弱い物質の時は、非吸着物

質と共に溶出してしまうことを避けるために少量（カラム体積分の 5 % 程度）に抑える必要がある。そして、カラムを 5 ~ 10 カラム体積分のリン酸緩衝液で洗浄し、非結合物質を取り除く。その後、結合物質の溶出操作を行う。今回の溶出には 1.0N 塩化ナトリウムによるグラジエント溶出を用い、塩濃度が鉄とフミン酸の相互作用に与える影響を、波長が 254nm での紫外線吸光度による値をもとに調べた。

なお、今回のサンプルであるフミン酸について、以下に示す。

市販のフミン酸 5g を 0.1N 水酸化ナトリウム溶液 1l に添加し、マグネチックスターラーで 1 時間攪拌し、一晩暗所に放置する。その後、1.0 μ m のメンブレンフィルターでろ過し、塩酸で pH の値を 6 に調整し、1.0 μ m のフィルターでろ過する。さらに pH の値を 1 に調整し、遠心分離により得られる沈殿物を回収し、50 ~ 60℃ で乾燥したものをフミン酸とする。フミン酸 1g を再び 0.1N 水酸化ナトリウムに溶解し、pH の値を 6 に調整し 1l としたものを、1.0 g/l のフミン酸標準溶液とし、実験では、0.5g/l に希釈したものをサンプルとして使用した。

3. 結果および考察

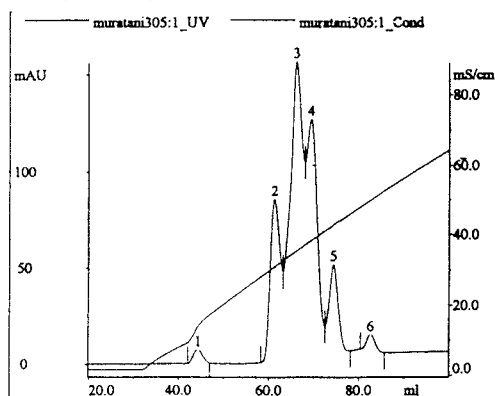


図 1. クロマトグラフィーによる結果

図 1 に今回得られた、フミン酸の溶出の図を表す。

図 1 を見ると、塩濃度の上昇に伴い、フミン酸の溶出の状況が、紫外線吸光度の値による、いくつかのピークで表されていることがわかる。フミン酸という物質は、水酸基やカルボキシル基等の官能基が存在し、分子量が数万であるということはわかっているが、分子式に至っては、はっきりしておらず、様々な分子形態をしていると考えられている。図 1

のいくつかのピークは、そのことを反映したものであると考えられる。

表 1. フミン酸溶出時の塩濃度と溶出フミン酸

ピーク位置	溶出時の 塩濃度 (g/l)	ピーク エリア (%)	フミン酸溶出 量 (μg/l)
Hu01	11.1	1.32	0.66
Hu02	20.67	17.2	8.6
Hu03	23.7	40.71	20.355
Hu04	26.23	28.59	14.295
Hu05	28.75	9.65	4.825
Hu06	33.79	2.53	1.265

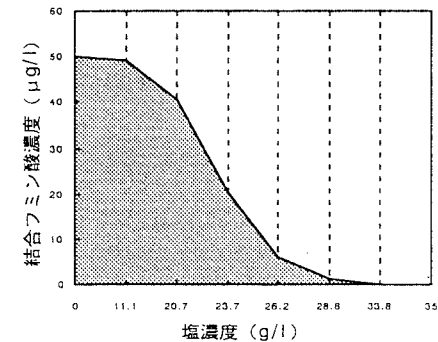


図 2. 結合しているフミン酸の塩濃度による変化

図 1 のピークの位置における塩濃度と、ピーク全体の面積におけるそれぞれのピーク面積の割合、さらに、その割合から得られるフミン酸の量を表 1、図 2 に示す。

この図によると、塩濃度が 20g/l から 30g/l にかけて、フミン酸の結合量が著しく減少しているのがわかる。河川水中の塩濃度が 0.02g/l であり、海水中では 28g/l であり¹⁾、河口域において、著しく鉄とフミン酸の結合物質が減少すると考えられる。

	河川水中	海水中
実際の鉄濃度 (μg/l)	6700	2
フミン酸鉄濃度 (μg/l)	27.9	0.318
フミン酸鉄濃度の割合 (%)	0.416	15.9

表 2. 実際の溶存鉄濃度におけるフミン酸に結合している鉄濃度の割合

Shphadex25 カラムによるクロマトグラフィーによって今回使用したフミン酸の分子量を簡易に調べたところ、約 10000 ダルトンであった。また、1 分子に鉄が結合する部分を 100 箇所とした場合、実際の溶存鉄濃度におけるフミン酸鉄の割合を表 2 に示す。このように、河川水中では、実際の溶存鉄濃度が大きいという要因があるものの、フミン酸と結合している鉄の濃度の割合は低いが、海水中では、

その割合は比較的大きいといえる。よって、特に海水域において鉄の濃度は、pH や塩濃度による化学平衡で算出される濃度に加えて、フミン酸による鉄濃度の上昇が存在し、その割合が比較的大きいということがわかった。

これらの結果をもとに、名取川の河口域における塩濃度の変化(表 3)から、名取川河口域での結合フミン酸濃度を求めると図 3 のようになった。表 3 は、98 年 11 月 11 日に名取川河口からの 5.5km 上流の地点から、6 地点でサンプリングを行った際のデータである。名取川河口域では、河口の直前で結合フミン酸が減少しているが、河口周辺は海水中でのフミン酸と結合している鉄の濃度より大きいということになる。つまり、名取川河口でのフミン酸による溶存鉄濃度が大きいということである。

表 3. 名取川河口からの距離と塩濃度

距離 (km)	塩濃度 (g/l)	フミン酸鉄濃度 (μg/l)
0	0.46	49.97
0.75	1.24	49.92
2.5	2.14	49.87
4.25	4.88	49.71
4.65	5.95	49.64
5.5	21.9	28.65

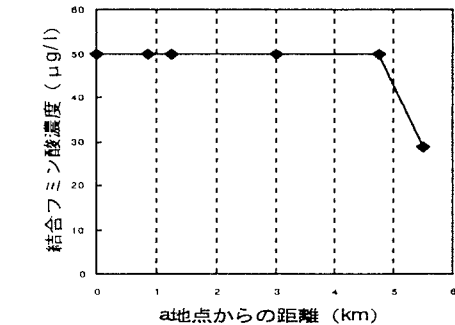


図 3. 名取川河口域での結合しているフミン酸の変化

4. おわりに

本研究の結果から、塩濃度の増加によって鉄と結合するであろうフミン酸の濃度は、大きく減少することがわかった。また、河口から海洋にかけての塩濃度では、溶存している鉄濃度のうち、フミン酸と結合している鉄の割合が、河川水中の場合とくらべて大きいということがわかった。本研究では、イオン交換クロマトグラフィーを用いて、フミン酸の結合量の割合を調べたが、今後は、実際の鉄とフミン酸の結合特性を、pH と塩濃度の二つの変量で調べていくことが課題である。

<参考図書>

- 1) 西村雅吉 編, 角皆静男 乗木新一郎著: 海洋化学—化学で海を解く, 産業図書, 1983