

競合リガンド法を用いた沿岸域における有機鉄錯体の解離速度の測定

東北大学 学生会員 ○伊藤 紘晃
東北大学大学院 学生会員 藤井 学
東北大学大学院 正 会 員 大村 達夫

1. はじめに

鉄は植物プランクトン等海洋性植物の光合成や窒素固定等の為に必要とされる微量必須栄養素である。河口・沿岸域においては、陸域を起源とする自然由来有機物質(Natural Organic Matter: NOM)が比較的高濃度で供給され、鉄と錯体(Fe(III)-NOM)を形成する。Fe(III)-NOM 錯体は、化学反応性が高く、生物利用性が高い。しかしながら、NOM の構造は不均一であり、海洋性植物プランクトンは、Fe(III)-NOM 錯体から解離した鉄を摂取している¹⁾。このため、鉄錯体の形成及び解離速度を明らかにすることは重要な課題である。

海水中での鉄錯体の形成及び解離反応では、 Ca^{2+} と Mg^{2+} が無機態鉄イオンと競合していると考えられる。これら 2 価の金属イオンは、リガンドとの親和性は鉄よりも弱い、一般の海水中にて比較的多量に存在するため、鉄と競合していると考えられる²⁾。

本研究では、競合リガンド法を用いて、フルボ酸鉄錯体及びクエン酸鉄錯体の解離速度定数を算出した。実験条件は 2 価金属イオンの有無を変化させ、これらの錯体形成・解離機構への影響を定量した。

2. 方法

2.1 実験方法

測定対象リガンド(Citrate, DFA)と鉄の錯体の存在する溶液に DFB を添加し、形成された Fe(III)-DFB 錯体の濃度を測定した。比色分析法と 10 cm セル分光器システムを組み合わせ、Fe(III)-DFB 錯体の最大吸光波長(429 nm)の吸光度を観察することで濃度を測定した。

溶液は、NaCl 0.5 M, NaHCO_3 0.2 mM からなる溶液(NaCl 溶液)、NaCl 溶液に CaCl_2 10 mM を加えた溶液(NaCl/ CaCl_2 溶液)、海水の 3 通りで測定を行った。Citrate の測定では、Fe(III)濃度を 1 μM , DFB 濃度を 1 μM とし、Citrate 濃度を 0.5 mM から 5 mM で変化させた。DFA の測定では、Fe(III)濃度を 250 nM, DFB 濃度を 250 nM とし、DFA 濃度を 2 mg/L から 8 mg/L で変化させた。DFA 濃度は既知の分子量 2400 を用いて換算した(0.8 μM から 3.3 μM)。実験は 25°C の恒温室で行った。

2.2 解析方法

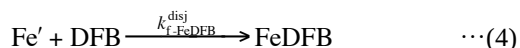
測定対象リガンドと錯形成した鉄(FeL)が存在する溶液に DFB を加え、FeDFB が生成される全体の反応の化学反応式と反応速度式は、速度定数 $k_{\text{overall}}(\text{M}^{-1}\text{s}^{-1})$ を用いて以下のように表される。



$$\frac{d[\text{FeDFB}]}{dt} = k_{\text{overall}}[\text{FeL}][\text{DFB}] \quad \cdots(2)$$

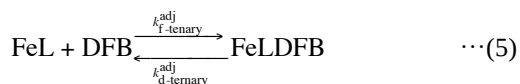
FeL から FeDFB が形成される反応経路は、(i)鉄が初期の錯体から解離し、競合リガンドと結合する経路(disjunctive 経路)、(ii)初期の錯体と競合リガンドが直接反応し、3 重複合体が形成され、続いて測定対象リガンドが解離する経路(adjunctive 経路)の 2 つの経路からなるものと考えられる。

disjunctive 経路は次の反応式で表される。



ここで Fe' は溶存態無機鉄、 $k_{d-\text{FeL}}^{\text{disj}}$ は FeL の錯解離速度定数(s^{-1})、 $k_{f-\text{FeL}}^{\text{disj}}$ は FeL の錯形成速度定数($\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$)、 $k_{f-\text{FeDFB}}^{\text{disj}}$ は Fe' と DFB の反応により FeDFB が生成される反応の速度定数($\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$)を表す。

adjunctive 経路は次の反応式で表される。



ここで、 $k_{f-\text{ternary}}^{\text{adj}}$ は FeL と DFB の反応による 3 重複合体の形成速度定数($\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$)、 $k_{d-\text{ternary}}^{\text{adj}}$ は 3 重複合体から FeL が形成される速度定数(s^{-1})、 $k_{f-\text{FeDFB}}^{\text{adj}}$ は 3 重複合体から FeDFB が形成される速度定数(s^{-1})である。これら 2 つの反応経路より、 k_{overall} は次のように表される³⁾。

$$k_{\text{overall}} = \frac{k_{d-\text{FeL}}^{\text{disj}} k_{f-\text{FeDFB}}^{\text{disj}}}{k_{f-\text{FeL}}^{\text{disj}} [\text{L}] + k_{f-\text{FeDFB}}^{\text{disj}} [\text{DFB}]} + \frac{k_{f-\text{ternary}}^{\text{adj}} k_{f-\text{FeDFB}}^{\text{adj}}}{k_{d-\text{ternary}}^{\text{adj}} + k_{f-\text{FeDFB}}^{\text{adj}}} \quad \cdots(7)$$

本実験条件では $k_{f-FeL}^{disj}[L] \gg k_{f-FeDFB}^{disj}[DFB]$ が成り立っていると考えられるので、分母の $k_{f-FeDFB}^{disj}[DFB]$ を消去し、

$$k_{overall} = \frac{k_{d-FeL}^{disj} k_{f-FeDFB}^{disj}}{k_{f-FeL}^{disj}} \frac{1}{[L]} + \frac{k_{f-ternary}^{adj} k_{f-FeDFB}^{adj}}{k_{d-ternary}^{adj} + k_{f-FeDFB}^{adj}} \dots (8)$$

となり、 $k_{overall}$ は $1/[L]$ の線形一次方程式で表される。式 8 の第 1 項は、 $k_{overall}$ のうち disjunctive 経路による速度定数、第 2 項は adjunctive 経路による速度定数に対応し、各項を $k_{disj}(M^{-1}s^{-1})$ 、 $k_{adj}(M^{-1}s^{-1})$ とおく。

3. 結果及び考察

図 1 は、リガンドに Citrate と DFA を用いた場合の各溶液中での $1/[L]$ と $k_{overall}$ の関係を示している。全ての場合に、正の傾き及び正の切片を持つ有意な線形回帰式が得られた ($p < 0.5$, $R^2 > 0.85$)。回帰直線(式 8)から得られた傾きと切片は表 1, 2 に示す通りであった。

Citrate について、NaCl 溶液と比較して考える。NaCl/CaCl₂ 溶液では、 k_{disj} はほぼ変化せず、 k_{adj} がおよそ 9 倍に上昇した。海水では、 k_{disj} は NaCl 溶液のおよそ 5 倍に上昇した。これより、Ca²⁺ は k_{adj} の上昇に関わるが、 k_{disj} には影響を及ぼさないことが分かる。一方で、Ca²⁺ 以外の海水金属イオン(すなわち Mg²⁺)は、 k_{disj} の上昇に関与するといえる。

DFA について、NaCl 溶液と比較し、NaCl/CaCl₂ 溶液中では k_{disj} 、 k_{adj} 共に 2 から 3 割の増加が見られ、海水中では、 k_{disj} にて約 7 割の上昇と k_{adj} にて約 3 割の減少が見られた。Ca²⁺ は k_{disj} 、 k_{adj} 双方の上昇に関わることが分かる。Mg²⁺ は、 k_{disj} を上昇させる一方、 k_{adj} を減少させるといえる。

NaCl 溶液中の FeCit 及び FeDFB の生成速度定数については、先行研究より $k_{f-FeDFB}^{disj} = 1.6 \times 10^6 M^{-1}s^{-1}$ 、 $k_{f-FeCit}^{disj} = 4.4 \times 10^5 M^{-1}s^{-1}$ と報告されている^{1),4)}。これらの値を用いることで、式 8 より海水中における FeCit の解離速度定数 $k_{d-FeCit}^{disj}$ は、以下のように算出された。

$$k_{d-FeCit}^{disj} = \frac{4.4 \times 10^5}{1.6 \times 10^6} \times 0.10 = 2.7 \times 10^{-2} s^{-1}$$

また、海水中の生成速度定数については、 $k_{f-FeDFB}^{disj} = 2.0 \times 10^6 M^{-1}s^{-1}$ 、 $k_{f-FeCit}^{disj} = 1.1 \times 10^5 M^{-1}s^{-1}$ を用いて^{2),5)}、

$$k_{d-FeCit}^{disj} = \frac{1.1 \times 10^5}{2.0 \times 10^6} \times 0.51 = 2.8 \times 10^{-2} s^{-1}$$

と算出された。NaCl 溶液中と海水中で、 k_{disj} について 5 倍程度の変化が見られたのに対し、 $k_{d-FeCit}^{disj}$ はほとんど変化しなかった。したがって、FeCit の解離は Ca の影響をほとんど受けないことが分かった。

表 1. Citrate における切片と傾き

溶液	傾き(s ⁻¹)		切片(M ⁻¹ s ⁻¹)		R ²
	推定値	SD	推定値	SD	
NaCl	0.10	0.007	16	8	0.92
NaCl/CaCl	0.11	0.009	149	11	0.89
海水	0.51	0.023	57	29	0.98

表 2. DFA における切片と傾き

溶液	傾き(s ⁻¹)		切片(M ⁻¹ s ⁻¹)		R ²
	推定値	SD	推定値	SD	
NaCl	1.4	0.18	820	140	0.85
NaCl/CaCl	1.9	0.22	1090	180	0.90
海水	2.5	0.16	610	130	0.97

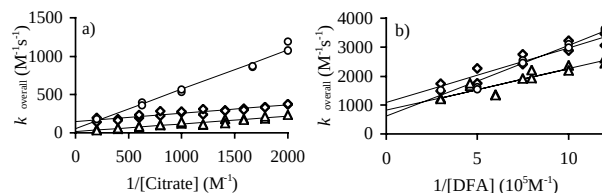


図 1. $k_{overall}$ と $1/[L]$ の関係: a は Citrate における結果を、b は DFA における結果を表す。それぞれ△は NaCl 溶液、◇は NaCl/CaCl₂ 溶液、○は海水における結果を示す。直線は式 8 により表される回帰直線である。

4. まとめ

本研究では、2 価金属イオンの有機鉄錯体の解離・生成機構への影響に関する知見が得られた。今後、競合金属イオン存在下において、本質的解離速度定数を算出するためには、競合金属イオンが FeDFB 生成反応に与える影響を加味したモデルの構築が望まれる。

謝辞

本研究の一部は、日本学術振興会科学研究費補助金基盤研究(A) 豪州 Moreton 湾における毒素生産シアノバクテリアの増殖メカニズムの解明」(研究代表者：大村達夫)によって行われたことを報告する

参考文献

- 1) Garg S., Rose A. L., Waite T. D. (2007), *Environ. Sci. Technol.*, (Submitted)
- 2) Hudson R. J. M., Covault D. T., Morel F. M. M. (1992), *Mar. Chem.* **38**, 209-235
- 3) Celso V., Murimboh J., Salam M. S. A., Chakrabarti C. L. (2001), *Environ. Sci. Technol.* **35**, 1084-1089
- 4) Pham A. N., Rose A. L., Feitz A. J., Waite T. D. (2006), *Geochim. Cosmochim. Acta* **70**, 640-650
- 5) 藤井学, Rose A. L., Waite T. D., 大村達夫 (2007), 水環境学会誌 (投稿中)