

沿岸域における生物利用可能な鉄の生成機構解明 ～有機リガンド濃度による影響～

東北大学 学生員 淵上洋輔 藤井学
東北大学 正会員 ○熊谷幸博 大村達夫

1. はじめに

沿岸域は栄養塩や微量金属、有機物質が陸域から高濃度で流入し、海洋に生息する植物プランクトンや海藻群落の成長に適した水域である¹⁾。そのため、他の水域に比べて生物生産性が高く、豊かな生態系が形成されている。微量金属の中でも鉄は、一次生産者の光合成や窒素固定に必要な不可欠な金属であることが認識されている。鉄の形態の中で還元態である第二鉄イオン (Fe(II)) が生物に利用されやすい形態であることが知られている。沿岸域では有機第二鉄(Fe(III)L)が安定して存在するが、生物は自らスーパーオキシドを生成し、Fe(III)L を還元して Fe(II)を生成していると考えられている。

沿岸域における Fe(II)の生成速度は、リガンドと鉄の錯形成や解離速度により大きく影響を受ける。従って、水中の有機リガンド濃度や有機鉄錯体の存在時間が、Fe(II)の生成量を決定する重要な因子となる。以上から、本研究では、有機リガンドに Citrate と DFA (段戸土壌由来フルボ酸) を用いて、有機リガンド濃度及び有機鉄錯体の存在時間が Fe(II)の生成に与える影響を調べた。さらに、これらを考慮した上で、沿岸域における Fe(II)生成モデルの構築を行った。

2. 実験方法

2.1 鉄濃度の測定

フェロジン (FZ) による比色分析法と 1m セル分光器システム(Ocean Optics)を組み合わせることで、nM オーダーでの Fe(II) 濃度の測定を行った。形成された Fe(II)FZ₃ 錯体は 562nm 吸光度において測定した。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: 350 nm–1000 nm))を用いた。モニタリングプログラムは OOIBase 32 を使用した。

2.2 スーパーオキシドによる Fe(II)生成実験

有機リガンドの濃度が、スーパーオキシドによる Fe(II)の生成速度に与える影響を調べた。Fe(III)200nM と有機リガンドを、リガンド濃度を変えてポリプロピレンチューブ内で混合し、NaHCO₃ バッファー溶液と混合させ 24 時間静置させた後、海水に添加した。5 分後、FZ と XO (Xanthine Oxidase) 溶液を、それぞれ濃度が 1mM、1.0 unit・L⁻¹ になるように海水に添加し、キサントシン溶液を 50μM となるように添加してスーパーオキシドを生成さ

せ、スーパーオキシドによる Fe(II)FZ₃ 生成速度を測定した。有機リガンドには Citrate と DFA (段戸土壌由来フルボ酸) を用いて、それぞれ濃度条件を変えて実験を行った。

2.3 有機鉄錯体の存在時間を変化させた Fe(II)生成実験

有機鉄錯体の海水中における存在時間が、スーパーオキシドによる Fe(II)の生成速度に与える影響を調べた。有機鉄錯体を海水に添加し、25°Cの暗室において攪拌する時間は、5 分から 1 週間とした。それぞれの存在時間において、スーパーオキシドによる Fe(II)FZ₃ 生成速度を測定した。

3. 結果及び考察

3.1 Fe(II)生成速度モデルの構築

Fe(III)L から第二鉄イオン(Fe(III)²⁺)が解離し、スーパーオキシドによって Fe(II)に還元される。その複合反応における Fe(II)生成速度は、以下の式(A)で表すことができる。²⁾

$$\frac{d[Fe(II)]}{dt} = k_{red} \times [O_2^{\cdot-}]_{ss} \times \frac{-(k_f[L] + k_{red}[O_2^{\cdot-}]_{ss}) + \sqrt{(k_f[L] + k_{red}[O_2^{\cdot-}]_{ss})^2 + 4k_{AFO}k_d[Fe(III)L]}}{2 \times k_{AFO}} \quad (A)$$

ここで、 k_d は有機鉄錯体の解離反応、 k_{red} は Fe(III)の O₂^{·-} (スーパーオキシド) による Fe(II)への還元反応、 k_f は錯体の形成反応、 k_{AFO} は水酸化鉄の形成反応の反応速度定数を表す。しかしながら海水中では、Fe(III)L は金属イオン (Ca や Mg) と競合して解離を起こすため、海水中での存在時間により Fe(III)L の濃度は減少する。さらに NOM や多核錯体を形成する有機リガンドは、その濃度により解離速度が依存する。よって、Fe(III)L の解離反応及び AFO の形成反応をモデルに加味することで、海水中での存在時間とリガンド濃度を考慮した Fe(II)生成モデルを構築した。

3.2 リガンド濃度が Fe(II)生成速度に与える影響

図 1 に示すように、Citrate 濃度の上昇に伴い Fe(II)生成速度が減少した。これは、リガンド濃度が増加すると、Fe(III)²⁺とリガンドの錯形成速度が大きくなるためと考えられる。図 1 は海水中での存在時間が 5 分の場合のデータであるが、この時間スケールでの錯体解離が無視できると仮定した(すなわち[Fe(III)L]=200nM)。さらに、 k_d は全ての濃度において一定であると仮定した。既往の研究で得られた反応速度定数を用いて、モデル式(A)を実験値にフィッティングさせることで、 k_d は 2.86 x 10⁻³ s⁻¹ と算出

された(表1, Case 1). しかし, モデルではリガンドが高濃度の場合, Fe(II)生成速度データを過大評価してしまった. 各リガンド濃度について Fe(II)生成速度データをモデル式(A)に代入することにより k_d を算出した結果, リガンド濃度の増加により k_d が減少することが示された(表2). これはリガンド濃度の増加により, より安定した Fe(III)L が形成されたためと考えられる. 従って, 以降のモデル計算においては各リガンド濃度で異なる k_d 値を使用した. 同様の傾向が DFA についても確認された(表2).

3.3 海水中での存在時間が Fe(II)生成速度に与える影響

Citrate についてリガンド濃度が $25\mu\text{M}$ の場合における, Fe(II)生成速度の変化を図2に示した. 既往の研究で得られた反応速度定数と3.2で算出した k_d を用いて (Case2), Fe(II)生成速度のシミュレーションを行った. その結果, 図2の点線で示したように, 存在時間が短い場合, モデル計算からの Fe(II)生成速度の減少傾向は, 実験値と比較して緩やかであった. この違いは, 短いスパンでのみかけの解離速度がモデル値よりも大きかったためと予想される. そこで, Case 3 として, 水酸化鉄形成反応の速度定数 (k_{AFO}) を, 10^7 から 10^8 オーダーへ増加させて, 再度フィッティングを行った. 筆者らは, 10^8 オーダーで k_{AFO} を算出しており(未発表データ), また, k_{AFO} が 10^8 オーダーの場合も図1に示した全てのリガンド濃度における Fe(II)生成速度データと一致しており, k_{AFO} を 10^8 オーダーへ増加させることは妥当であると考えている. 図2に示すように, k_{AFO} を $1.06 \times 10^8 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ (Case3)とした場合, モデルは短いスパンにおいて実験値の傾向を非常に的確に表している. 上記と同様の方法により, Citrate の他の濃度及び DFA の各濃度における実験結果についても, Fe(II)生成モデルによる説明することができた. 従って, 本研究において, 有機リガンド濃度と存在時間を考慮した Fe(II)生成速度モデルを構築できた.

4.まとめ

本研究で構築した Fe(II)生成速度モデル式により, リガンド濃度が異なる有機鉄錯体からの Fe(II)生成実験の実験結果, 及び海水中における存在時間が異なる有機鉄錯体からの Fe(II)生成実験の結果について説明することが出来た.

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.

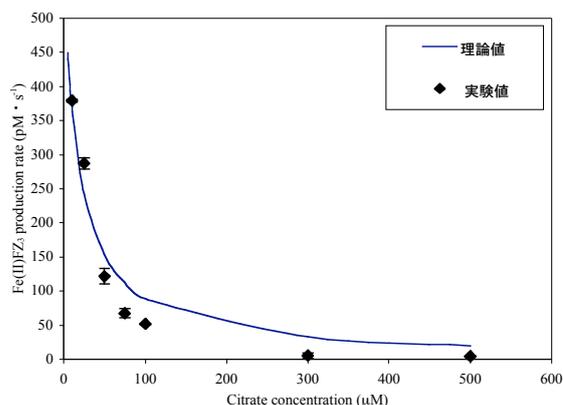


図1 Fe(II)生成速度の Citrate 濃度依存性

表1 反応速度定数を変化させた検証 (Citrate = $25\mu\text{M}$)

Citrate = $25\mu\text{M}$			
rate constant	Case1	Case2	Case3
k_d (s^{-1})	2.86×10^{-3}	3.4×10^{-3}	3.4×10^{-3}
k_{red1} ($\text{M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)	1.5×10^8	1.5×10^8	1.5×10^8
k_{r} ($\text{M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)	2.0×10^5	2.0×10^5	2.0×10^5
k_{AFO} ($\text{M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)	4.1×10^7	4.1×10^7	1.06×10^8

表2 各 Citrate 及び DFA 濃度における k_d

Citrate concentration (μM)	k_d ($\times 10^{-3}$)	DFA concentration ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	k_d ($\times 10^{-3}$)
10	3.5	0.5	1.32
25	3.4	1.0	1.10
50	2.3	2.0	1.03
100	1.6	5.0	0.58
500	0.54	10	0.33

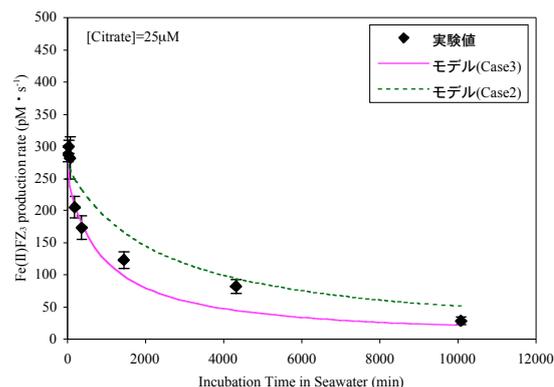


図2 Citrate = $25\mu\text{M}$ での Fe(II)生成速度モデルの検証

参考文献

- Turner, R. K. and Adger, W. N. (1996) Coastal Zone Resource Assessment Guidelines. LOICZ Reports and Studies No. 4, LOICZ-IGBP, Texel, The Netherlands, 101
- Garg S., Rose A. L., Waite T. D. (2007), *Environmental Science and Technology*, (Submitted)