

太陽存在下における腐植物質の構造及び鉄錯体形成速度定数の経時変化

山形大学農学部 学生会員 ○櫻庭敬之
山形大学農学部 正会員 伊藤紘晃, 渡部徹
東京工業大学大学院理工学研究科 正会員 藤井学
山形大学農学部 非会員 梶原晶彦

1. はじめに

沿岸域は、河川から栄養塩や有機物、微量必須金属が供給されるため、豊かな生態系を形成しており、古来より漁業、水産業のための生物生産の場として利用されてきた。微量必須金属の中でも鉄は、植物の光合成、呼吸、窒素固定等に関与しているため、一次生産者の生命活動に不可欠な金属である。しかしながら、近年、河川流域の環境変化によって沿岸域に供給される生物利用可能な鉄が減少し、生物生産性が低下することが懸念されている¹⁾。

一般に環境水中の一次生産者が直接摂取可能な鉄は、溶解性の無機鉄であるとされるが、河川や沿岸域における鉄の溶解度は低い。そのような中、フミン物質は鉄と錯体を形成することによって、水中の鉄を一次生産者に比較的に利用されやすい溶存態の形態として維持する働きを有する。それゆえ、フミン物質と鉄の錯形成能は、生物の鉄利用性を決定づける重要な要因であると考えられる。将来的な生物鉄利用性の変化を予測していくためには、供給源のフミン物質の特徴を把握することが有効と考えられるが、フミン物質は短期的な光反応によってその組成が変化することがこれまでに示されている。しかしながら、組成の変化が鉄との反応性にどのように影響を及ぼすかは明らかにされていない。

以上の背景より本研究では、沿岸域でのフミン鉄の挙動を予測するために、フミン物質に光を照射し、照射後のフミン物質の組成の変化と鉄との反応性の変化を調べることを目的とした。

2. 方法

2.1 試薬の調整

実験で使用する容器はすべて硝酸に3日以上浸漬した後、超純水により洗浄を行った。スワニー川由来フルボ酸 (Suwannee River Fulvic Acid; SRFA) を超純水中に溶解させ 2 mg/L のフルボ酸ストック溶液を作成した。1,000 mg/L Fe(III)標準液を超純水で希釈し、

0.5mM の Fe(III)ストック溶液を作成した。5-スルホサリチル酸二水和物 (SSA) を超純水中に溶解させ、0.1M の SSA ストックを作成した。緩衝液として炭酸水素ナトリウム及び塩化ナトリウムを超純水中に溶解させ、炭酸水素ナトリウムを 1 mM, 塩化ナトリウムを 0.5 M 含む溶液 (NaCl/NaHCO₃ 溶液) を作成した。Fe(III)ストック溶液以外のストック溶液は、水酸化ナトリウムを用いて pH を 8 に調整した。

2.2 疑似太陽光照射実験

1cm 石英キュベットに、NaCl/NaHCO₃ 溶液 3 mL, フルボ酸ストック溶液 15 µL を入れて、SRFA 濃度を 10 mg/L とした溶液を用意し、疑似太陽光照射装置 (MS-35AAA, USHIO) を用いて光を照射した。キュベットの上部は、サンプルの蒸発を防ぐためパラフィルムで密閉した。照射時間は 5 分, 30 分, 1 時間, 3 時間, 5 時間, 12 時間とした。

2.3 光学的特性観察による組成変化の観察

三次元励起-蛍光スペクトル (Excitation-Emission Matrix; EEM) を用いて、照射によるフミン物質の組成の変化を観察した。フミン物質中には蛍光を示す構造部位が含まれる。そのような構造部位は、それぞれ特定の励起波長と蛍光波長を有するため、EEM にはフミン物質が持つ構造の特徴が反映される²⁾。特に錯形成に大きく関与しているとされる芳香族は蛍光特性とも大きく関わっていることが知られている。

これまでに、照射を終えた後のサンプルには、比較的半減期の短い活性酸素であるスーパーオキシドが 30 程度残存することが示されている³⁾。このことを考慮し、照射後にサンプルを 30 分静置し、EEM を測定した。測定には、分光蛍光光度計 (RF-5300PC, SHIMADZU) を用い、励起波長 240~450 nm, 蛍光波長 250~600 nm の蛍光強度を測定した。

キーワード：腐植物質, 鉄, 三次元励起-蛍光スペクトル, 光反応

住所：山形県鶴岡市若葉町 1-23, Tel: 0235-28-2907, Email: to-ru@tds1.tr.yamagata-u.ac.jp

2. 4 錯形成速度定数の測定

競合リガンド法⁴⁾により、光照射による SRFA の錯形成速度定数の変化を観察した。疑似太陽光照射実験で光を照射したフルボ酸溶液を NaCl/NaHCO₃ 溶液と SSA ストック溶液と混合した。この溶液に Fe(III) ストックを添加し、吸光度の変化から SRFA の錯形成速度定数を Rose and Waite (2003)⁴⁾の手法に従って算出した (投稿時には実験が終了していない)。

3. 結果及び考察

光照射前の SRFA の EEM を図 1 に、光照射時間の変化に伴う SRFA 溶液の EEM のピーク位置の変化を図 2 にそれぞれ示す。本研究においては、光照射時間を変化させて EEM の観察、錯形成速度定数の測定を行った。EEM に現れるピークの位置は、光照射を続けるほど、励起波長、蛍光波長共に短波長側へ移動した。12 時間照射したフルボ酸の蛍光強度の減少量は最初のピーク位置があったところが特に大きかった。対照的に、蛍光強度の減少率は、励起波長の長い芳香族様の構造を示す範囲 (380 - 430 nm/410 - 500 nm) において 5 割程減少しており、励起・蛍光波長共に短いタンパク質様の範囲 (250 - 290 nm/300 - 360 nm) において 2 割程増加していた (図 3)。以上のことから、SRFA は、太陽光の照射を受けることによって、励起波長の長い芳香族様の構造部位が光によって速く分解速度されること、及び、カルボキシル基を含むタンパク質様の蛍光特性を有する構造部位が生成されることが示された。減少した芳香族化合物に含まれるフェノール基は鉄との錯形成に関与すると考えられるため、鉄との反応性は減少すると予想される。同時に、タンパク質様のピーク範囲では、光照射後に蛍光強度が増加しており、タンパク質様の部位が生じることが示唆された。タンパク質に含まれるカルボキシル基は鉄との錯形成に関与すると考えられるため鉄との反応性は増加されると予想される。

4. まとめ

本研究ではフミン物質に光を照射し、光照射後のフミン物質の組成の変化を調べた。EEM の観察結果から、フミン物質は、太陽光照射を受けることによって、芳香族様の構造部位が分解され、一方で、タンパク質様の構造部位が生成されることが示された。鉄との反応性については、鉄との錯形成に関わるとされている官能基の増加と減少が同時に起きていると予想されるため、今後、実際の錯形成速度定数の変化

を調べる予定である。

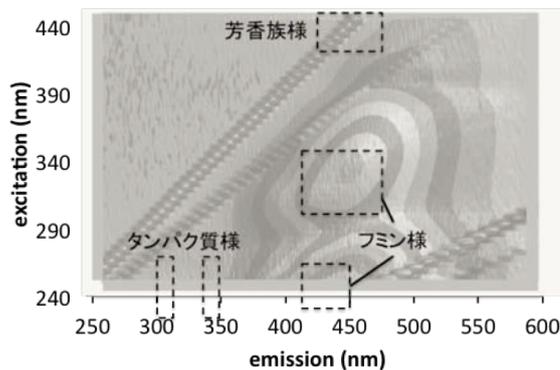


図 1. 光照射前の SRFA の EEM

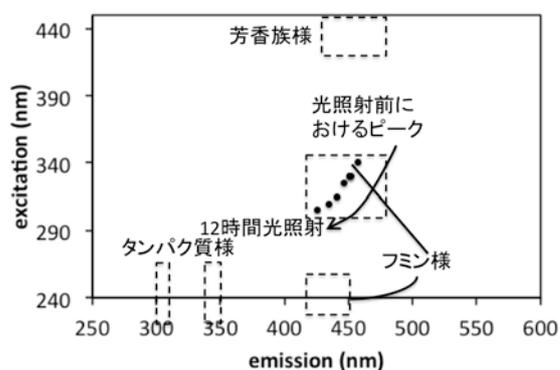


図 2. 光照射による EEM のピーク位置の変化

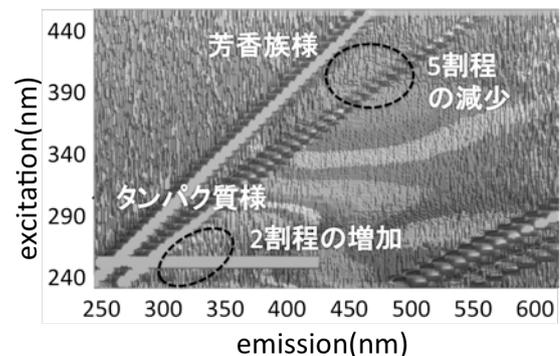


図 3. 10 時間の光照射による蛍光強度の減少率

謝辞

本研究は日本学術振興会研究活動スタート支援「有機鉄錯体の光化学的反應メカニズムの解明」(研究代表者: 伊藤紘晃) の援助を受けて行われた。

参考文献

- 1) Matsunaga et al. (1998) *Water Research*, **32**, 3436-3442.
- 2) Winter et al. (2007) *Aquatic Toxicology*, **84**, 215-222.
- 3) Rose and Waite (2006) *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **70**, 3869-3882.
- 4) Rose and Waite (2003) *Marine Chemistry*, **84**, 85-103.