

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 28 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2009～2011

課題番号：21310007

研究課題名（和文）

現場型分析計を用いた観測が解く海洋における鉄還元化学種の動態

研究課題名（英文）

Study of biogeochemical cycles of Fe(II) in the ocean by using an in-situ analyzer.

研究代表者

小畑 元 (OBATA HAJIME)

東京大学・大気海洋研究所・准教授

研究者番号：90334309

研究成果の概要（和文）：海洋植物プランクトンにとっての微量必須元素である鉄の重要な溶存種である鉄(II)の動態を解明するため、現場型自動分析計を開発した。まず、ルミノール系化学発光を用いて、妨害物質の影響なく高感度に海水中の鉄(II)を分析する方法を確立した。この方法を自動分析装置に適用し、海水中の 10pM 程度の鉄(II)を定量することに成功した。この現場型分析計を用いて太平洋表層水中の鉄(II)の分布を明らかにした。

研究成果の概要（英文）：For understanding of the biogeochemical cycles of iron in the ocean, a new in-situ analytical system was developed to determine picomolar of Fe(II) in seawater by using luminol chemiluminescence detection. The detection limit was about 10 pM. We successfully revealed the Fe(II) distributions in the surface waters of the Pacific Ocean with this system.

交付決定額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|---------|------------|-----------|------------|
| 2009 年度 | 5,300,000 | 1,590,000 | 6,890,000 |
| 2010 年度 | 5,400,000 | 1,620,000 | 7,020,000 |
| 2011 年度 | 2,700,000 | 810,000 | 3,510,000 |
| 総計 | 13,400,000 | 4,020,000 | 17,420,000 |

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：環境学・環境動態解析

キーワード：化学海洋学・現場分析

1. 研究開始当初の背景

(1) 微量金属元素と海洋生物活動の関係が徐々に解明されている中、研究の関心は海水中の微量金属元素の存在状態に移りつつある。中でも最も生物生産に対して大きな影響を与える鉄については、その存在量よりも生物が利用可能な量を明らかにすることが課題となっている。

(2) 競合配位子平衡-吸着ボルタンメトリー法(CLE-CSV)によって鉄が海水中有機錯体を形成していることが明らかにされ(Gredhill and van den Berg, 1994; Rue and

Bruland, 1996)、その後有機錯体を中心とした鉄の存在状態に関する研究が進んだ。現在は、世界の様々な海域で、CLE-CSV法を用いて、海水中有機錯体鉄が測定されつつある。一方、海水中の鉄の中では、コロイド粒子状の鉄も大きな割合を占めていることが明らかになった(Nishioka et al., 2001; Wu et al., 2001; Nishioka et al., 2003; Bergquist and Boyle, 2007)。コロイド状鉄の植物プランクトンによる利用性は、溶存態鉄とは異なることから(Nishioka and Takeda, 2000)、海水中的コロイド状鉄についても分離して測定する必要がある。これらの

研究は主に鉄(III)の錯生成、コロイド粒子を前提としていた。

(3) これに対して、以前からその存在が報告されながら、動態が十分に分かっていないのが鉄の還元化学種、鉄(II)であった。鉄は、酸化還元環境に鋭敏に反応する微量金属元素であり、無酸素層では鉄(II)が多量に存在する一方、酸化的な雰囲気においても微量ながら鉄(II)が存在することが知られている(Elrod et al., 1991)。また、植物プランクトンの鉄取り込みプロセスにおいて、鉄(II)が関与することは実験室レベルでは既に研究されている(Shaked et al., 2005)。海水中に実際に存在する鉄(II)については、海洋表層水中の光還元(Johnson et al., 1994)や、酸化時間(King et al., 1995)、酸化に対する有機物の影響(Roy et al., 2008)などが研究されているが、様々な分析法が採用されており、未だ系統的な研究が十分に行われているとはいいがたかった。

(4) 鉄(II)の研究が十分に進展していない背景としては、分析法が確立されていないという点が挙げられる。海水中の鉄(II)の研究の初期には、フェロジンという比色試薬を用いた分光分析法がよく用いられたが、海水への比色試薬の添加が鉄(III)から鉄(II)への還元を促進しているという問題が指摘されており(Viollier et al., 2000)、確たる結果は得られていなかった。これに対して、化学発光法は鉄(II)を迅速に直接的に高感度測定できるという利点があり、鉄(II)研究の主流となった。しかし、各研究者によって用いられる方法は様々であり、統一された分析法は確立していなかった。

2. 研究の目的

海洋の生物生産の制限因子となりうる海水中の鉄は、その存在量よりも生物が利用可能な量を明らかにすることが重要である。中でも、動態が十分に分かっていないのが鉄の還元化学種、鉄(II)である。鉄(II)は鉄(III)よりも生物が利用しやすい形態であるとの報告もあり、海洋における生物地球化学的挙動を把握しておく必要がある。しかし、海水中の鉄(II)は酸化的な雰囲気においては不安定であり、極微量にしか存在しないため、分析するのが非常に困難であった。そこで本研究では、海水中の鉄(II)を測定するため現場型自動分析法を確立するとともに、この現場型自動分析装置を用いて海洋における鉄(II)の循環過程と生物生産への影響を解明することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 海水中の極微量鉄(II)の船上分析法

海水中の鉄(II)は、アルカリ性の条件下でルミノールと反応して化学発光を生じる。この化学発光を光電子増倍管によって検出することにより、海水中のピコモルレベル(10^{-11} ~ 10^{-12} M)の鉄(II)を測定することができる。本研究では、ペリスタリテリックポンプによって、海水とルミノール溶液を混合し、化学発光検出器で発光強度を測定するフロー分析法を開発した。ルミノール水溶液を80度で48時間以上、加熱することにより、バックグラウンドを大幅に低減することができた。この時の、海水中の鉄(II)の検出限界は10pM程度となった。

(2) 海水試料はCTD-マルチ採水システムに取り付けたX型ニスキン採水器により採取した。X型ニスキン採水器の内部はテフロンコートをし、界面活性剤・塩酸・超純水により洗浄した。採取した海水は、孔径0.2 μ mのポリサルフォン製カートリッジにより濾過した。濾過した海水はすべて5分以内に分析を行った。

(3) 現場型自動分析法

現場型自動分析装置(紀本電子製)に、鉄(II)測定のためのルミノール化学発光系を適用した。送液用ペリスタリテリックポンプ、テフロン製電磁バルブは油漬けの被圧容器に収納した。光電子増倍管、CPUはアルミ製耐圧容器内に収容した(Fig. 1)。

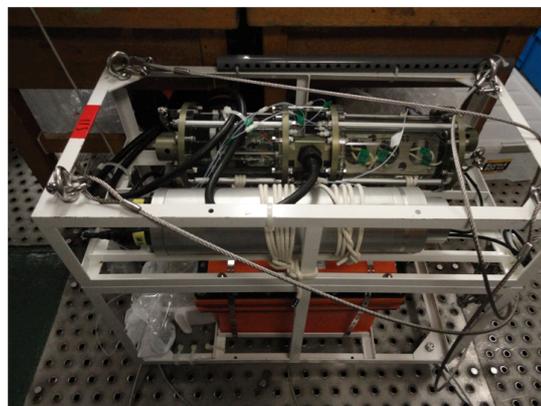


Fig. 1. 現場型自動分析装置

流路は全て内径1mmのテフロン製チューブでつなぎ、ペリスタリテリックポンプによって海水・試薬を流すフローシステムを作製した。流路の切り替えはテフロン製電磁バルブによって行った。耐圧容器にアクリル製の窓を取り付けることにより、化学発光の強度は耐圧容器内の光電子増倍管により測定した。アクリル製窓にはテフロンチューブを螺旋状に巻いたフローセルを取り付けた。

4. 研究成果

(1) ルミノール系化学発光を用いた海水中

の鉄(II)の高感度分析法の確立

ルミノール系化学発光によるフロー分析法は、外洋域の鉄(II)のレベルの濃度(pmol/L)まで測定することが可能であり、広く使われている。しかし、溶存の全鉄濃度を越える鉄(II)が測定されることがあり、未同定の妨害物質が存在する可能性が指摘されてきた。そこで、キレート樹脂により鉄を除去した海水に紫外線照射実験を行い、海水中に生じる光反応生成物がルミノール化学発光に与える影響について検討した。この結果、光反応生成物中にルミノール化学発光を妨害するものがあり、鉄(II)濃度を過剰に見積もる原因になっていることが明らかになった。この光生成反応物の影響を除き、鉄(II)のみを測定可能な分析法を検討した。鉄(II)をキレート剤によりマスクすることにより、鉄(II)以外の光反応生成物により生じる発光を測定することが可能となった。この方法を用いることにより、妨害物質の影響なく、海水中の鉄(II)の定量が可能となった。このフロー分析系を用いた場合の海水中の鉄(II)の検出限界は8 pmol/L程度となった。

(2) ルミノール系化学発光法とフェロジン比色法による天然水中の鉄(II)分析の比較

琵琶湖、琵琶湖流入河川、長崎県橘湾において水試料を採取し、ルミノール系化学発光を用いた分析法とこれまで鉄(II)分析に使われてきたフェロジン比色法を用いて、鉄(II)の測定を同時に行った。河川水については、フェロジン法では26nmol/Lの鉄(II)が検出されたが、ルミノール系化学発光を用いた場合、鉄(II)濃度は0.8nmol/L程度であった。琵琶湖や橘湾でも両法による結果は異なり、フェロジン法の方が10倍以上高い濃度を示すという点で共通していた。これらの結果から、両分析法のとらえている鉄(II)の形態が異なる可能性が示唆された。これまでに報告されている湖水中の鉄(II)濃度は化学発光法によって測定されており、今回の化学発光法による琵琶湖水中の鉄(II)濃度と同レベルであった。これらのことから、フェロジン法による定量値の方が、化学発光法よりも高い値を示すというのは一般的な傾向と考えられる。配位子交換速度が遅い、あるいは安定度の高い配位子と結合している鉄(II)が存在した場合、化学発光では検出されない成分となり、実際の濃度を過小評価する可能性がある。EDTAと鉄(II)が安定な錯体を形成している場合、フェロジンとの反応においても長時間を要することが知られている(大路 and 楊, 2005)。また、沖縄沿岸海水における鉄(II)の測定結果からは、鉄(II)が何らかの抗酸化性の形態で存在する可能性が指摘されている(岡田 et al., 2005)。両法の比較から明らかになった鉄(II)の形態

の違いは生物利用性の違いにも反映される可能性があり、更に検討が必要である。

(3) 橘湾における鉄(II)の分布と挙動

本研究で開発したルミノール系化学発光による船上分析法を用いて、長崎県橘湾において海水中の鉄(II)の分析を行った。橘湾の小浜温泉沖では、海底から気泡が生じる現象が報告されており、沿岸熱水活動が存在している可能性がある。そこで、2010年10月および2011年5月に長崎大学水産学部所属鶴洋丸に乗船し、橘湾の海水中の鉄(II)濃度を測定した。10月、5月ともに小浜沖の沿岸海域の底層において、鉄(II)の顕著な濃度上昇が見られた。沿岸熱水活動により底層水中に鉄(II)が供給されていると考えられる。また、10月と5月の底層水中の鉄(II)濃度を比較した場合、10月の方が明らかに高い濃度を示した(Fig. 2)。

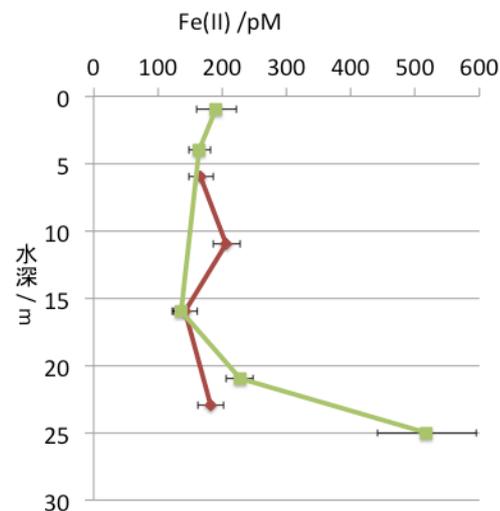


Fig. 2. 橘湾における鉄(II)の鉛直分布. 2010年10月(緑)と2011年5月(赤)の同一測点での結果.

10月の方が温度躍層が発達していたことから、鉛直混合による表面水を経由した溶存酸素の供給が抑えられ、底層水中で高濃度の鉄(II)が維持されたと考えられる。

(4) 海水中の鉄(II)分析のための現場型自動分析装置の製作

本研究で基礎検討を行ったルミノール系化学発光法を現場型自動分析装置に組み込んだ。船上分析法と同等の感度を得るため、系内を洗浄すると共に、ペリスタルティックポンプの回転数を上げることによって脈流の影響を低減した。これらの基礎検討によって、海水中の鉄(II)の検出限界は13pM程度となった。また、現場計では、測定時の水温・圧力によって分析感度が変化する可能性がある。このため、現場でキャリブレーション

行うことが望ましい。そこで、現場で検量線を描くシステムを開発した。検量線はバックグラウンド海水に鉄の標準溶液を混合し、この海水の発光強度を測定することにより作製した。このシステムにより、観測中に50-100pM レベルの鉄(II)について検量線を作成することに成功した。また、現場で検量線を作製した場合と船上で検量線を作製した場合は、検出感度にほとんど差が見られなかった。この方法による検出限界は13pM程度であり、外洋表層海水中の鉄(II)を十分に測定することが可能になった。

(5) 現場型自動分析装置を用いた太平洋表層水中の鉄(II)濃度の観測

本研究で開発した現場型自動分析計は、白鳳丸KH-11-7次研究航海(2011年7月16日 - 8月4日)において使用した(Fig. 3)。

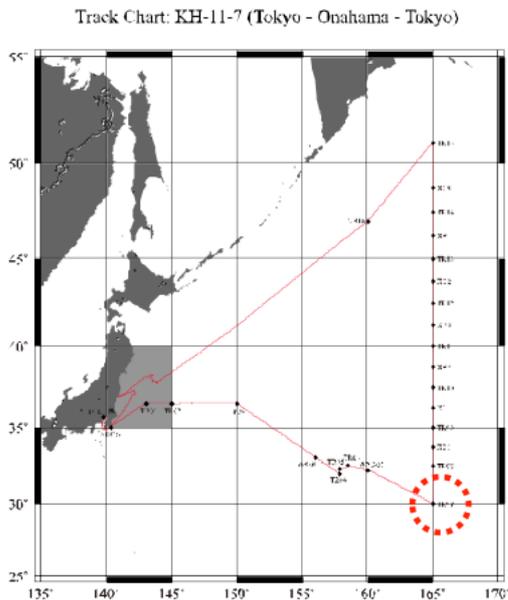


Fig. 3. 白鳳丸KH-11-7次研究航海の観測点. 赤丸がTR-7.

この観測点TR-7における鉄(II)の鉛直分布を示す(Fig. 4)。表層では鉄(II)は200-300pM程度であるが、100m以浅で急速に濃度が下がっていることが分かる。この濃度レベルは、これまでに報告されていた北太平洋表層水中の鉄(II)濃度(12 - 76 pM; Hansard et al., 2009)よりも高い傾向にある。本研究では現場分析を行ったため、海水中の鉄(II)が酸化される前に測定できた可能性が考えられる。

さらに、白鳳丸KH-11-10次研究航海(2011年12月24日 - 2012年1月25日)の南太平洋における観測でも本現場分析計を使用した。その結果、東部南太平洋における表層海水中の鉄(II)の分布(80 - 100pM程度)が明らか

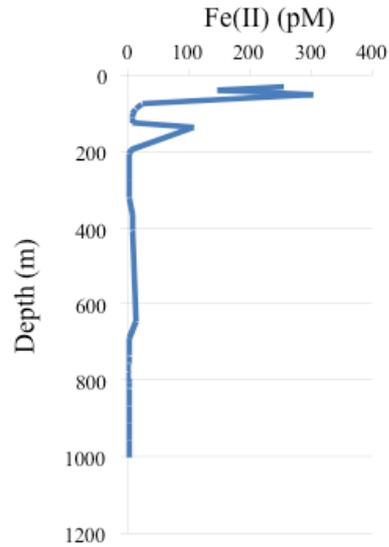


Fig. 4. 西部北太平洋(TR-7)における鉄(II)の鉛直分布

かとなった。さらに、同じ観測点で日射の異なる時間帯に観測を行ったところ、夜間の鉄(II)濃度は検出限界以下であったが、太陽光の下では表層で80pMレベルの鉄(II)が検出された。現場分析計を用いることにより、光還元による鉄(II)の生成過程を明らかにすることが可能となった。

(6) まとめ

従来の方法では試料採取から分析までの間に海水中の鉄(II)が酸化されてしまう可能性があったため、海水中の鉄(II)を正確に定量するのは困難であった。このため、海洋における鉄のサイクルは十分に解き明かされていなかった。しかし、本研究で開発した方法を用いれば、現場で正確な鉄(II)の定量が可能となる。本研究で開発した装置による検出限界は10pM程度であり様々な外洋域における観測に適用できる。本装置を用いることによって、外洋域表層においても鉄(II)の挙動を明らかにできる。また、連続観測が可能なることから、鉄(II)の循環と生物活動との関係についても研究が進むと期待できる。さらに沿岸熱水活動の調査にも有効であったことから、現場分析計を外洋域の海底熱水活動にも適用可能である。本装置を活用することによって、海洋における鉄の生物地球化学的循環解明が飛躍的に進展すると考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計4件)

① Tazoe, H., H. Obata, and T. Gamo, 2011. Coupled isotopic systematics of surface cerium and neodymium in the Pacific Ocean.

Geochemistry, Geophysics, Geosystems, 12, doi:10.1029/2010GC003342 (査読有).

② Maruo, M. and H. Obata, 2011. Unique elution behavior of bromide and nitrate in anion-exchange chromatography using aqueous potassium chloride eluent containing cadmium or zinc ion. *Analytical Sciences*, 27, 949-951 (査読有).

③ 野口拓郎, 岡村慶, 八田万有美, 紀本英志, 鈴江崇彦, 石橋純一郎, 山中寿朗, 藤井輝夫, 2011. 現場型マンガン分析装置の小型軽量化と設置連続観測の実例. *物理探査*, 64, 291-297 (査読有).

④ 丸尾雅啓, 永岡一樹, 小林一星, 小沢佳那子, 小畑 元, 2010. 水圏試料中微量溶存鉄(II)の比色定量における至適 pH 条件に関する再検討. *分析化学*, 59, 1143-1147 (査読有).

[学会発表] (計 6 件)

① H. Obata, A. Mase, S. Wakiyama, T. Gamo, M. Maruo, K. Okamura. Automated in-situ flow analytical method of Fe(II) in seawater using luminol chemiluminescence detection. IUPAC International Congress on Analytical Sciences 2011. 2011年5月26日. 京都国際会館(京都府).

② Maruo, M., K. Nagaoka, Y. Yaginuma, S. Wakiyama, A. Mase, H. Obata. Comparative Study of the Determinations of Iron(II) in Freshwater by Luminol Chemiluminescence and Spectrophotometry Using PPTS. IUPAC International Congress on Analytical Sciences 2011. 2011年5月26日. 京都国際会館(京都府).

③ 小畑元、馬瀬輝、脇山真、蒲生俊敬、丸尾雅啓、岡村慶、紀本英志. 現場型自動分析計による海水中の鉄(II)の測定. 2011年度日本地球化学会年会. 2011年9月15日. 北海道大学学術交流会館(北海道).

④ 丸尾雅啓、小畑元. Pseudopolarographyによる湖水中金属配位子の評価. 日本陸水学会第76回大会. 2011年9月25日. 島根大学(島根県).

⑤ 丸尾雅啓、永岡一樹、小林一星、小沢佳那子、小畑 元. 湖水中溶存鉄(II)の存在状態および定量値に与える溶存有機物の影響. 日本陸水学会第75回大会. 2010年9月18日. 弘前大学(青森県).

⑥ 永岡一樹、丸尾 雅啓、大田 啓一、小畑 元. 琵琶湖水中の腐植物質が Fe(II)の挙動に与える影響について. 日本陸水学会第74回大会. 2009年9月17日. 大分大学(大分県).

[その他]

ホームページ等

<http://co.aori.u-tokyo.ac.jp/micg/Obata.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小畑 元 (OBATA HAJIME)

東京大学・大気海洋研究所・准教授

研究者番号：90334309

(2) 研究分担者

岡村 慶 (OKAMURA KEI)

高知大学・自然科学系・准教授

研究者番号：70324697

丸尾 雅啓 (MARUO MASAHIRO)

滋賀県立大学・環境科学部・准教授

研究者番号：80275156