

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 4 日現在

機関番号：24201

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23510010

研究課題名(和文)琵琶湖水圏生態系に影響を与える金属配位子の特定と生産者の解明

研究課題名(英文) Identification of metal ligands and their producers affecting ecosystem in Lake Biwa

研究代表者

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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円、(間接経費) 1,020,000円

研究成果の概要(和文)：Pseudopolarographyにより、淡水中の“強い”配位子検出を試みた。琵琶湖北湖と手賀沼で採取した湖水を分析した結果、琵琶湖表面水ではEDTAと同程度の安定度を持つ配位子の存在が示唆された。1m、15mの試料については、さらに条件安定度定数の対数値が30を超える非常に高い安定度を持つ配位子の存在が示された。手賀沼採取試料では、採水直後に銅を添加した試料で、方法の限界値でも反応しない配位子の存在(硫化物の可能性)が示された。24時間経過後に銅を添加した試料は琵琶湖と同程度の安定度をもつ“強い”配位子の存在を示した。淡水において普遍的に“強い”配位子が存在している可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：Detection of "strong" ligand for copper in freshwater was investigated by pseudopolarography. This method was applied to freshwaters sampled in north basin of Lake Biwa and Lake Teganuma. In surface water of Lake Biwa, strong ligand like EDTA was detected, while highly strong ligand that was estimated to have $\log K$ around 30 was detected in waters sampled at 1m and 15m. By analyzing water of Lake Teganuma, copper was added immediately after sampling and filtration. In this case, existence of very strong ligand that was not detected within the range of reduction potential applicable in pseudopolarography was suggested. This phenomenon was not clearly observed by analysis of the same water in which copper was added 24hrs later. This fact suggests the existence of labile and very strong ligand like sulfide.

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：環境質定量化 微量元素 有機配位子 琵琶湖 化学スペシエーション

1. 研究開始当初の背景

これまでの研究により、琵琶湖水から精製した腐植様物質が確実に高い銅錯生成能を持つことが明らかになり、湖水そのものに含まれる全配位子の濃度、錯化容量と比較しても、ほぼ同様の安定度定数、そして同等の銅錯化容量を持つことが明らかになった。

琵琶湖と河川水の比較からも、腐植物質が河川から鉄や銅を運ぶ役割を果たしていると考えられ、集水域からの腐植物質の流入が琵琶湖水中金属の挙動に大きく影響していると考えられる。

腐植物質が強い錯生成能を持っている一方で、生物自らも強力な有機配位子を合成し、必要な微量金属を水中から得ていることが海洋の研究において報告されている。

鉄については、河川において腐植物質との関係が強いと見られる結果が得られており、湖水中でも鉄の存在形態と腐植物質との関連が推察されるが、これを利用するために、生物が配位子を生産している可能性が高い。実際に初夏の琵琶湖北湖の観測においても、水温躍層の直上の水から非常に高い銅錯化容量が検出される。また、このピークは季節の推移と共に消失することも明らかになった。時期によるものの、有光層での一次生産あるいは微生物活動に伴って、大量の配位子が生産されている可能性がある。

なお、これらの結果は主として、電気化学的手法のうち、競争配位子を用いる吸着濃縮ボルタンメトリー (CL-AdCSV) により得られた結果である。しかし同手法は測定に用いる競争配位子の濃度とその配位能により、測定から検出される配位子の安定度定数の範囲 (detection window と呼ばれる) が、2-3桁程度に制限される。実際の配位子の持つ安定度定数は 20-40 桁の幅を持つため、この手法だけでは限定的な性質を持つ配位子しか検出できない。カナダ、プリティッシュコロンビア大学の A. Ross, K. J. Orians らは銅アフィニティークロマトグラフィーを用い、海水中から配位子を分離し、ESI-MS (大気圧イオン化質量分析) による分子量決定を行っている。しかし銅アフィニティークロマトグラフィーを用いて捕集された配位子の錯生成能は低いといわれている。実際に報告者が淡水湖試料について同手法により抽出した配位子を分析したところ、CL-AdCSV 法では配位子を検出できなかった。

以上の手法から得られる情報は重要である一方で、それぞれ検出できる配位子の強さが限定されるという弱点を持っていた。このため、配位子の由来を探り、全体像を把握するために、広範囲の安定度を示す複数の配位子を検出する手法として有効と見られる Pseudovoltammetry を用い、琵琶湖水中配位子のうち実際に銅の錯生成に大きく関与する超高安定度配位子の有無について検討することにした。

2. 研究の目的

琵琶湖水中(淡水中)に存在している溶存有機物のうち、配位子として働き、必須微量元素 (鉄・銅) の動態に影響するものの性状を明らかにすることを主目的とした。これまでの研究から、電気化学的手法により特定の安定度を示す配位子を湖水から検出し、湖水中の銅がほとんど有機錯体であることは明らかである。本研究では生物が金属摂取あるいは摂取の回避を目的として生産する化合物、あるいは陸起源の腐植様物質に存在する特定の官能基など、より強い結合を示す配位子の検出に焦点を絞った。湖内生物が生産する有機物 (あるいは硫化物など) について、水深、季節と位置を変えて採水を行い、淡水環境下の金属動態の支配因子について言及できる結果を得るため、以下の二点について説明することを目的とした。

金属に対し有効に機能する有機配位子が、確かに生物によって湖内で生産されている自生性有機化合物なのか。
他生性で、圧倒的に濃度の高い腐植様物質に勝る配位力を持っているのかどうか。

3. 研究の方法

琵琶湖と集水域 (一部他の湖沼) にて採水を行い、各試料について pseudopolarography 測定 (比較として必要に応じて CL-AdCSV も行う) を行う。測定から得られる安定度定数を比較する。定数は一つの試料について複数得られる場合がある。集水域試料から得られた安定度定数は他生性、湖水のみから得られた定数が存在した場合は自生性と見なし、これが得られた季節、観測地点、深度から生産者、起源推定をおこなうこととした。

生産者としては植物プランクトンとバクテリアを想定する。また、配位する金属として、まず情報の多く得られている銅について研究を進めた。比較対象とする他の富栄養化湖沼として手賀沼を選定した。

4. 研究成果

本研究では、3年間を通して琵琶湖における調査を継続し、琵琶湖水中において生体必須元素である銅の配位子として作用し、金属の動態に影響する溶存有機物群の性状について考察した。

Pseudopolarography の測定結果に基づいて、琵琶湖水等の天然湖沼水に含まれる高安定度の銅錯体の存在について検討した。また琵琶湖における定期的採水を継続し、研究協力者 (博士後期学生 Ahmed T.) とともに、琵琶湖と集水域の水に含まれる DOM 間の相互作用について研究を行い、起源の違いによる化

学組成、錯生成に関わる構造の違いについて研究を行った。さらに衣類の染色に広く使用されている染料 (Congo Red) と琵琶湖と集水域の DOM との間の相互作用 (会合体生成) についても研究を行い、ナフトール系化合物と同様に、特に下水処理水との相互作用が琵琶湖水と異なることが明らかになった。

また、琵琶湖水における Fe(II) の安定化に寄与する配位子の存在が、分光光度法と化学発光法の測定値が大きく異なることから予想された。また研究協力者 (博士前期課程 小山和香) とともに琵琶湖水における鉄(II) の安定化に寄与する有機配位子の存在について分光光度法と競争配位子 (Competitive Ligand) 法を用いて研究を行い、鉄(II) の溶解態のほとんどが、錯体として琵琶湖水中に溶損している可能性を示した。

本研究の中心的な分析法である pseudopolarography について琵琶湖水中における、いわゆる“強い”配位子の検出を試みた。すでに CL-AdCSV による測定結果が得られている試料について分析を行い、両者の結果を比較した。また国内の湖沼でも水質悪化の著しい手賀沼 (千葉県我孫子市) の試料を比較対象とし、両方の湖水で検出される配位子の違いについて測定結果から推察した。

また、近年の研究から金属配位子の一部をチオール類または硫化物が占めている可能性が指摘されていることから、手賀沼試料においては採取後直ちに銅の添加 (これにより硫化物は安定化されると推測される) を行った試料と、24 時間後に銅の添加を行った試料について応答の比較を行った。

琵琶湖試料については、表面採取試料では EDTA と同様の強さを持つ配位子の存在が示唆されたのに対し、1m、15m (水温躍層付近) の試料については、pseudopolarography の半波電位が -1V 以下となり、条件安定度定数の対数値が 30 を超える非常に高い安定度を持つ配位子の存在が示された。40m の試料ではやや正方向に電位が移行し、配位子の分解が起こっている可能性を示した (図 1)。

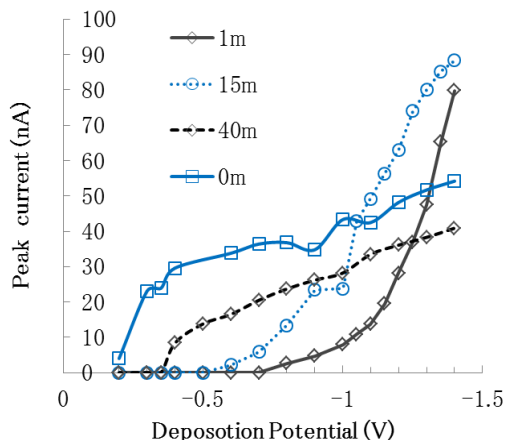


図 1 琵琶湖水における pseudopolarography の結果

手賀沼採取試料については、採水直後に銅添加した試料では、方法の限界値である -1.4V でも銅の応答に対して未飽和となり、活性の高い (硫化物の可能性) 配位子の存在が示された。一方 24 時間経過試料は琵琶湖と同程度の安定度をもつ“強い”配位子の存在を示し、普遍的に安定度の高い錯体を形成する配位

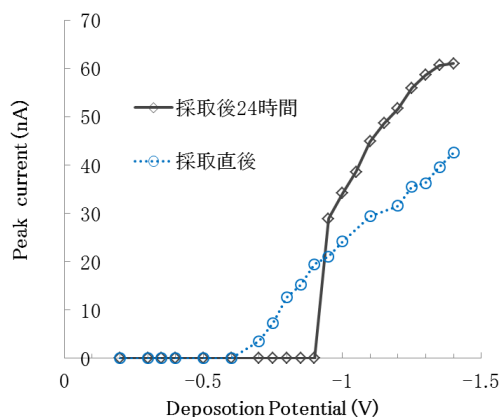


図 2 手賀沼採取試料の pseudopolarography 測定結果

子が存在している可能性が示された (図 2)。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 5 件)

丸尾雅啓、天然水中の金属配位子の分析、*ぶんせき*、査読有、470、2014、71-76

Tareq S. M., M. Maruo, K. Ohta, Characteristics and role of groundwater dissolved organic matter on arsenic mobilization and poisoning in Bangladesh. *Physics and Chemistry of the Earth Part A/B/C*, 査読有、58-60、2013、77-84

Ahmed T., K. Ohta, O. Nagafuchi, M. Maruo, Binding interaction of 1-naphthol with the dissolved organic matter of Lake Biwa and treated sewage wastewater: role of microbial fulvic acid molecules. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 査読有、31(10)、2012、2201-2209

Tareq S. M., M. Maruo, K. Ohta, H. M. Anawar, Fluorescence humic substances in arsenic contaminated groundwater of Bangladesh. *International Journal of Economic and Environment Geology*, 査読有、3(1)、2012、1-5

Maruo M, H. Obata, Unique elution behavior of bromide and nitrate in anion-exchange chromatography using potassium chloride eluent containing cadmium or zinc ion. *Analytical Sciences*, 査読有、27(9)、2011、949-951.

〔学会発表〕(計 12件)

丸尾雅啓、小畑元、Pseudopolarography による琵琶湖水中銅配位子の評価、JpGU Meeting 2014、2014年4月28日、横浜パシフィコ(横浜市西区)

丸尾雅啓、淡水における金属の化学スペシエーション、第34回石橋雅義先生記念講演会(主催:一般財団法人海洋化学研究所、共催:日本分析化学会近畿支部)2014年4月26日、京都大学百周年時計台記念館(京都市左京区):招待講演

小山和香、小畑元、丸尾雅啓、琵琶湖水中に溶存するFe()配位子のキャラクタリゼーション、日本陸水学会第78回大会、2013年9月11日、龍谷大学瀬田キャンパス(滋賀県大津市)

Maruo M., W. Oyama, H. Obata, et al., Speciation of Iron(II) in oxic freshwater Lake Biwa, Japan, SIL 2013(23rd Congress of Theoretical and Applied Limnology), 2013年8月6日、Novotel Congress Hotel Budapest (Budapest, Hungary)

丸尾雅啓、小山和香、小畑元、好氣的陸水中に溶存するFe(II)の化学形態、JpGU Meeting 2013、2013年5月24日、幕張メッセ(千葉市美浜区)

小山和香、丸尾雅啓、琵琶湖水中におけるFe()と有機錯体を形成する配位子の安定度定数決定法の検討、第24回日本陸水学会近畿支部会研究発表会、2013年3月3日、滋賀大学大津キャンパス(滋賀県大津市)

Maruo M., H. Obata, Investigation of highly strong copper complexing ligands in lake water by pseudopolarography, The 15th International Symposium on River and Lake Environments, 2012年10月16日、Zhanjiajie Wanhua International Hotel(張家界、湖南省、中国)

Ahmed T., M. Maruo, Optical Characteristics and Molecular Weight Distributions of Whole Natural Organic Matter in Lake BIWA and Other Freshwater Systems in Japan - An Indication of NOM Sources and Speciation, ASLO Aquatic Science Meeting, 2012年7月11日、琵琶湖ホール(滋賀県大津市)

Maruo M., H. Obata et al., Comparison of Determination Methods of Iron(II) in Freshwater of Lake Biwa, Japan, in Consideration of Organic Complexation. ASLO Aquatic Science Meeting, 2012年7月

10日、琵琶湖ホール(滋賀県大津市)

Ahmed T., K. Ohta, M. Maruo, Azo Dye Binding Interactions with Freshwater and Treated Wastewater Dissolved Organic Matter. 6th International Conference on Environmental Science and Technology, 2012年6月28日, Hilton Hotel Houston, (Houston, Texas, USA)

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(島根県松江市)

Ahmed T., M. Maruo, K. Ohta, O. Nagafuchi, Binding Interaction of 1-Naphthol with the Dissolved Organic Matter of Lake Biwa and Treated Sewage Wastewater: A Comparative Analysis based on UV-Visible and Fluorescence Characteristics. International Conference on Environmental Pollution and Remediation, 2011年8月18日, The University of Ottawa, (Ottawa, Ontario, Canada)

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

取得状況(計 0件)

〔その他〕

ホームページ等 なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

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

(2) 研究分担者 なし

(3) 連携研究者 なし

(4) 研究協力者

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

Tanveer Ahmed

滋賀県立大学・大学院環境科学研究科・
博士後期課程(2013年3月修了)

小山 和香(OYAMA, Waka)

滋賀県立大学・大学院環境科学研究科・
博士前期課程(2年次在学中)