

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 13 日現在

機関番号：11501

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2012～2013

課題番号：24860013

研究課題名(和文)有機鉄錯体の光化学的反応メカニズムの解明

研究課題名(英文) Mechanism for photochemical reaction of organically complexed iron

研究代表者

伊藤 紘晃 (ITO, Hiroaki)

山形大学・農学部・助教

研究者番号：80637182

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円、(間接経費) 690,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、太陽光存在下において、自然水中の有機鉄錯体の化学反応モデルを構築することを目的とした。まず、モデル有機物とFe(II)による錯体の反応を観察し、錯形成速度定数と解離速度定数が推定された。続いて、光照射による有機物の変化について調べた。特に光分解の速かった部位は高励起波長側の芳香族様の構造部位で、12時間で5割の減少が観察された。また、タンパク様の構造部位は、12時間で2割程度の増加が観察された。一方、錯形成速度定数には大きな変化は見られなかった。芳香族やフミン様の構造部位は鉄との結合に関与するとされているが、部分的な光分解を受けた後も鉄との結合能がほとんど変化しないと考えられる。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to develop chemical reaction model of organically complexed iron in natural water under solar radiation. At first, the reaction of complex composed of model organic matter and Fe(II) was observed, and rate constants of complexation and dissociation were estimated. Then, the changes of organic matter by radiation were examined. Photolysis of aromatic-like moiety with the higher excitation wavelength was especially high; i.e., it decreased by 50% in 12 hours radiation. On the other hand, protein-like moiety increased by 20%. However, the rate constant of complexation did not show significant change. Although aromatic and humic-like moieties are considered to be related to the complexation with iron, it was indicated that their ability for iron complexation would not change significantly even after partial photolysis.

研究分野：工学

科研費の分科・細目：土木環境システム

キーワード：鉄 腐植物質 酸化還元 錯形成・解離 反応速度論 光化学反応 競合リガンド法 励起蛍光マトリクス

1. 研究開始当初の背景

鉄はほぼすべての生物に必須な栄養素であり、藻類の成長を決定づける最も重要な要因の一つである。沿岸域において鉄は生物生産と深い関わりを持っており、近年世界各国において、鉄に起因する環境問題が報告されるようになった。従って、今後我々が健全な生態系を創出・維持していくためには、環境水中での藻類の鉄利用性を評価する必要がある。

藻類による鉄摂取は沈殿や酸化還元、錯平衡といった鉄の化学的特性に大きく影響される。一般的に藻類が細胞内に取り込める鉄の形態は溶解性の無機鉄のみとされているが、表層水中において安定な鉄の形態は有機態の鉄と不溶性の酸化水酸化鉄である。特に腐植物質等の自然由来有機物 (NOM) 等と錯形成した FeNOM 錯体は酸化水酸化鉄と比較して化学反応性が高く、有機物と鉄との錯形成特性は藻類の成長性を把握するための重要な項目である。

藻類が鉄摂取効率を高める方法として、光化学的または生物化学的還元や、Fe(III)と特異的に親和性のある有機リガンドを利用した方法が確認されている。中でも光化学的還元は不明な点が多く、さらなる研究を必要としている。Fe(III)NOM 錯体の光反応では、励起された Fe(III)NOM 錯体内の電荷移動によって鉄が還元されるメカニズム (LMCT) と、励起された NOM が酸素と反応することによりスーパーオキシドが生成され、スーパーオキシドによって鉄が還元されるメカニズム (SMIR)、および励起された NOM による直接的な還元の3つのメカニズムが存在することが、これまでの研究で予想されている。これまでの研究では、SMIRによる還元の寄与を推定することが可能となった。一方、Fe(II)NOM 錯体の解離反応速度定数については、未だに正確な値が得られていない。Fe(III)NOM 錯体の光化学的還元メカニズムを解析するためには、予め Fe(II)NOM 錯体の解離反応速度定数を正確に測定する必要がある。

2. 研究の目的

本申請課題においては、光存在下において、自然水中の有機鉄錯体から生じる溶解性無機鉄の濃度を算出するための化学反応モデルを構築することを最終目的とした。目的達成のために、光照射条件下における鉄の動態変化に関わる種々の化学反応の速度定数を調べて行くことを目的とした。

3. 研究の方法

(1) NOM からの Fe(II) の解離速度定数

本研究では、NOM の代表試料として、腐植物質標準試料の1つである Suwannee River Fulvic Acid (SRFA) を用いた。

まず、自然由来有機物をリガンドとした有機第一鉄錯体 (Fe(II)NOM 錯体) の解離速度

定数を得ることを目的とした。pH 8.0 の、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) に SRFA を用意した。そこに Fe(II) 標準液を添加し、15-120 s 後に、Fe(II) 検出試薬であるフェロジン (FZ) と Fe(III) 検出試薬である 5-スルホサリチル酸二水和物 (SSA) の混合液を添加し、溶解性の Fe(II) (i.e., Fe(II)') の濃度の経時変化を観察した。SRFA と Fe(II)/Fe(III) の酸化還元に関する既知の反応速度定数を考慮し、観察された Fe(II)' の濃度変化から、Fe(II)SRFA の錯平衡定数及び解離速度定数を推定した。

(2) 光反応が腐植物質の構造と錯形成特性に及ぼす影響

続いて、光照射によってもたらされる NOM の変化について調べた。具体的には、疑似太陽光照射装置を用いて、腐植物質に疑似太陽光を照射し、その組成の変化を励起蛍光マトリクス (Excitation-Emission Matrix; EEM) により観察すると共に、鉄との錯形成速度定数の変化を競合リガンド法により観察した。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。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。

疑似太陽光照射実験

NaCl/NaHCO₃ 溶液に SRFA を加えた溶液を 1cm 石英キュベットに用意し、疑似太陽光を照射した。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。

光学的特性観察による組成変化の観察

光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。このことを考慮し、光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。

錯形成速度定数の測定

競合リガンド法により、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 SSRA を NaCl/NaHCO₃ 溶液と SSA と混合した。この溶液に Fe(III) 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, *Marine Chemistry*) の手法に従って算出した。

4. 研究成果

(1) 腐植物質からの Fe(II) の解離速度定数

初めに、Fe(II)SRFA 錯体に Fe(II)キレータである FZ を添加することによって

Fe(II)SRFA 錯体の解離速度定数のみを未知パラメータとした測定ができるかどうか、検証を行った。しかしながら、Fe(II)を全て錯形成できるような比較的高い濃度のSRFAが存在すると、SRFAによってFe(II)がすぐさま酸化されてしまうために、Fe(II)SRFA 錯体の解離のみを観察することは困難であることが示された。

そこで、比較的低いSRFA濃度を採用し、Fe(II)SRFAの解離に加え、Fe(II)SRFAの錯形成が動的に生じている条件の下で、フェロジンを添加するタイミングを変化させることで、溶解性Fe(II)濃度の変化を観察した(図1)。得られた反応曲線より、Fe(II)SRFAの錯形成速度定数と解離速度定数の比(i.e., 条件付き安定度定数)が140,000 L/molと推定された。また、反応曲線に対するモデルフィッティングの結果から、Fe(II)SRFAの錯形成速度定数と解離速度定数に関して、それぞれ8,500 L/mol/sと0.06/sと推定された。これらの値は、それぞれ1オーダー程度誤差を含む可能性がある。

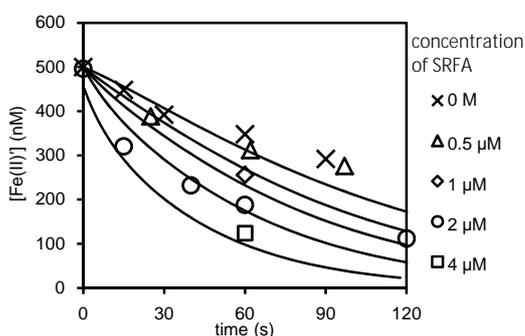


図1. 腐植物質によるFe(II)の解離と酸化

(2)光反応が腐植物質の構造と錯形成特性に及ぼす影響

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割程度減少しており、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割程度増加していた(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。

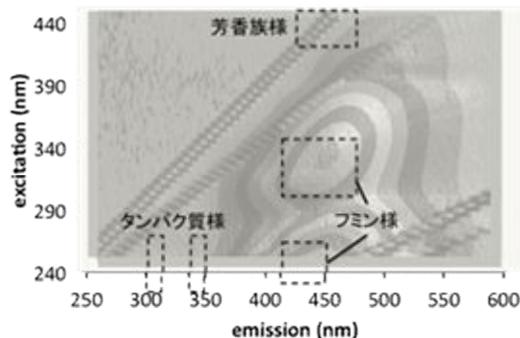


図2. 光照射前のSRFAのEEM

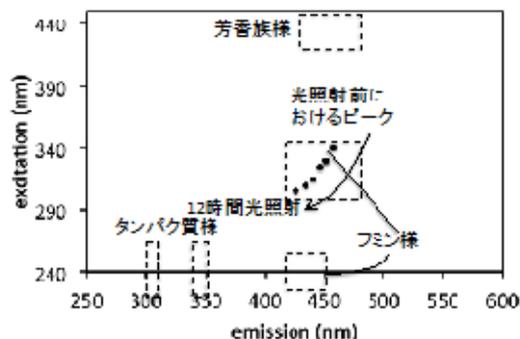


図3. 光照射後のEEMのピーク位置の変化

組成観察の結果、高励起波長側の芳香族様の構造部位やフミン様の構造部位が光分解された、一方でタンパク質様の構造部位が生じることが示された。特に光分解の速かった部位は高励起波長側の芳香族様の構造部位で、12時間で5割の減少が観察された(図4)。また、タンパク質様の構造部位の存在を示す蛍光は、12時間で2割程度の増加が観察された。

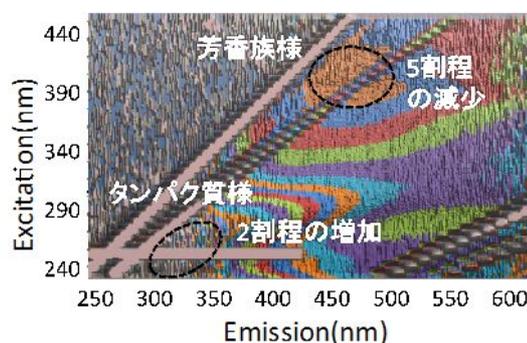


図4. 10時間の光照射による蛍光強度減少率

その様に構造が変化中、錯形成速度定数には少なくともオーダー単位での変化は観察されなかった(図5)。芳香族やフミン様の構造部位は鉄との結合に関与すると考えられているが、錯形成に関しては、光によって部分的な分解を受けた後も鉄との結合能がほとんど変化しないものと考えられる。

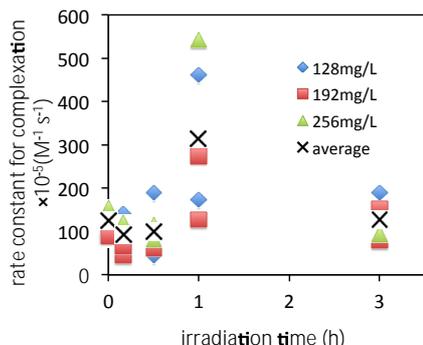


図5. 光照射による錯形成速度定数の変化

以上に示した通り、本研究では、まず、Fe(II)NOMの錯形成速度定数と解離速度定数を算出した。算出されたFe(II)NOMの錯形成速度定数と解離速度定数については、パラメータのエラーが比較的大きく、同時にFe(III)や不溶性の鉄の生成を観察する等、実験手法のさらなる改良が必要と考えられる。

続いて、光照射によるNOMの組成の変化と、それによる錯形成速度定数の変化を観察した。光照射により構造が変化するにも関わらず、錯形成速度定数が変化しなかった。このことから、光により蛍光特性が多少変化しても、鉄結合サイトとしての官能基の役割が無くならず、錯形成速度定数はほとんど変わらないと予測することができる。これらの結果は、光存在下における、自然水中の有機鉄錯体の反応を予測するための知見として有用と考えられる。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 2件)

Shikha Garg, Hiroaki Ito, Andrew L. Rose and T. David Waite, Mechanism and kinetics of dark iron redox transformations in previously photolyzed acidic natural organic matter solutions, *Environmental Science & Technology*, 査読あり, Vol. 47, 2013, pp. 1861-1869

DOI: 10.1021/es3035889

伊藤紘晃, 藤井学, 真砂佳史, 渡部徹, 大村達夫, フルボ酸第二鉄錯体とシデロフォア desferrioxamine B のリガンド交換反応に及ぼす pH とイオン強度の影響, 土木学会論文集 G(環境), 査読あり, 68巻, 7号, 2012, pp. III_535-III_543

DOI: 10.2208/jiscej.68.III_535

[学会発表](計 3件)

櫻庭敬之, 伊藤紘晃, 渡部徹, 藤井学, 梶原晶彦, 太陽光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, 平成 24 年度土木学会東北支部技術研究発表会, 2014 年 3 月 8 日, 八戸工業大学

櫻庭敬之, 伊藤紘晃, 梶原晶彦, 渡部徹, 藤井学, 鉄との結合性を考慮した腐植物質の光分解反応の評価, 第 19 回庄内・社会基盤技術フォーラム, 2014 年 1 月 28 日, 酒田市公益研修センター
伊藤紘晃, 藤井学, 真砂佳史, 渡部徹, 大村達夫, フルボ酸第二鉄錯体とシデロフォア desferrioxamine B のリガンド交換反応に及ぼす pH とイオン強度の影響, 第 49 回環境工学研究フォーラム, 2012 年 11 月 28 日 ~ 2012 年 11 月 30 日, 京都大学百周年時計台記念館

[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]

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

伊藤 紘晃 (ITO, Hiroaki)
山形大学・農学部・助教
研究者番号: 80637182

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

渡部 徹 (WATANABE, Toru)
山形大学・農学部・准教授
研究者番号: 10302192

藤井 学 (FUJII, Manabu)

東京工業大学・大学院理工学研究科・助教
研究者番号: 30598503