

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 7 月 31 日現在

機関番号：24201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26340008

研究課題名(和文) 硫黄は淡水域金属動態の支配因子となるか - 化学形態分析の接点からの取組

研究課題名(英文) Role of Sulfur as Dominant Element to Regulate Behavior of Metals in Freshwater Environment

研究代表者

丸尾 雅啓 (MARUO, MASAHIRO)

滋賀県立大学・環境科学部・教授

研究者番号：80275156

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：湖水中の必須微量元素(鉄・銅)と結合する配位子のうち含硫有機化合物に着目した。Pseudopolarography法により琵琶湖等の淡水湖、宍道湖等の汽水湖の試水すべてについて硫黄由来配位子を含む可能性がある高安定度錯体の存在を確認した。水圏の懸濁態中含硫化合物濃度を測定すると、琵琶湖(北湖表層)でグルタチオン：数マイクromol/L、システイン：数百ナノmol/Lが検出された。宍道湖の場合システインは琵琶湖より低濃度、グルタチオンは琵琶湖より高濃度であった。溶存態にも比較的高濃度でこれらの化合物が存在する可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：Existence of sulfur containing compounds as ligands for essential trace metals (Fe, Cu) was investigated. Existence of ligands which form highly stable complexes with copper was assured by pseudopolarography for all sampled waters including Lake Biwa (freshwater lake) and Lake Shinji (brackish lake). Determination of sulfur containing compounds in suspended fraction of the samples of Lake Biwa showed the concentration of cysteine in the order of some micromole per liter and that of glutathione in the order of some hundreds nanomole per liter. In the concentration of these two compounds in the samples of Lake Shinji, the order was reversed. From this result, detection of these compounds in dissolved fraction of lake water was expected.

研究分野：水圏化学

キーワード：淡水域 硫黄 錯生成 スペシエーション 配位子

1. 研究開始当初の背景

環境水中の溶存有機物あるいは硫化物は鉄・銅の配位子として作用し、これらの動態を実質的に支配している。琵琶湖においてもほぼ全ての溶存態銅が水中の配位子と結合し、有機態として存在していることが明らかになりつつある。代表者は競争配位子添加-カソードックストリッピングボルタンメトリー (CLE-AdCSV) による銅配位子の検出を行い、溶存態銅の濃度が概ね 2-20 nmol/L に対し、配位子の錯化容量が 20-100nmol/L であり、十分な量の配位子が存在することを明らかにした。

また、溶存鉄のうち+II の酸化状態のものが、銅と同程度の濃度で存在していることを明らかにした。異なる分析手法より得られた定量結果を比較した結果、溶存鉄(II)の大部分は錯体を形成している可能性が高いことが示唆された。また、pseudopolarography による琵琶湖水中銅配位子検出においても、EDTA あるいは DTPA 様の高い安定度を持つ錯体を形成する配位子の存在が示唆されている。その一方で、これらの配位子の組成はほとんど明らかにされておらず、腐植物質の官能基や、チオール化合物が寄与しているとされているのみである。鉄・銅の挙動に関わる配位子群のうちで硫黄を含む化合物の効果は、琵琶湖のように酸素が十分に供給されている酸化的な水環境下においても無視できない可能性がある。淡水域であるドナウ川などでも、硫黄原子を含む配位子の研究が電気化学分析との比較に基づいて徐々に進められつつあるなかで、これまで考えていたよりも化学的に活性の高い配位子が鉄(特に鉄(II))や銅の動態を担っている可能性がある。国内の河川、湖水においても、硫黄を含む配位子と金属の相互作用に関する研究例はなかった。配位子のキャラクタリゼーションと実際の化合物検出の両面からのアプローチ例は海外にも例が少ない状態であった。

2. 研究の目的

必須微量元素である鉄・銅の物質循環に寄与する水中の溶存配位子の同定は現在でもほとんど達成されていない。本研究では、配位子のうち硫化物、含硫有機化合物に着目し、実際に溶存している濃度について、琵琶湖をはじめとする湖沼での実態を把握することを目的とした。

3. 研究の方法

湖水中の銅に対する高安定度錯体を検出する方法として、pseudopolarography を適用し、琵琶湖 (中栄養淡水湖)、手賀沼 (富栄養淡水湖)、宍道湖と韓国江原道・永郎湖 (富栄養汽水湖) にて採取した試料について錯体の検出を試みた。

また琵琶湖と宍道湖では、懸濁態 (主として植物プランクトン) に含まれ、配位子とな

りうるチオール類の HPLC による検出も試みた。懸濁粒子に含まれるチオール類を抽出するため、試水を 0.4 μ m 孔径の Nuclepore フィルターでろ過したのち、フィルターに超音波照射を行って懸濁物を破碎し、誘導体化試薬 SBD-F を添加、加熱後に生じたチオール化合物を HPLC-蛍光検出法を用いて分析した。

4. 研究成果

2014 年度に pseudopolarography を用いて銅の高安定度錯体を形成する配位子の検出を試みたところ、琵琶湖北湖表層試料については、人工配位子として最も高い安定度を示す Cyclam (半波電位: -0.65V) とほぼ同じ位置に半波電位が検出された。

手賀沼 (沿岸)、永郎湖 (中央付近、塩分 28‰) 採取試料についても、同様の電位に半波電位が検出された。なお、手賀沼、永郎湖試料については配位子となる化合物の安定性を考慮し、試料採取後ただちに銅を添加した試料と、1 日以上経過後に銅を添加した試料について pseudopolarography を行い、半波電位の比較を行ったところ、直後に銅を添加した試料では、-1.1V 付近にも半波電位が見られ、きわめて高い安定度を示す錯体の存在が示唆された。活性の高い硫化物のような配位子の存在が示唆された。なお手賀沼については、2015 年 12 月中旬に採取した試料について再度測定を行った。試料は手賀沼中央部の橋梁上から柄付きピーカーにて採取した。上述のように、2014 年度は岸近くで採取した試料について測定を行ったところ、銅を添加するタイミングにより、得られるポーラログラムに違いが見られた。2015 年度は試料採取濾過直後に銅を添加した場合と、24 時間後に添加した場合に違いが見られなかった。採水を行ったのが生物活性の低い 12 月であり、活性が高い (易分解性) の配位子が少なかった可能性が考えられる。あるいは沿岸の堆積物から、活性が高い配位子が水中へ拡散している可能性もある。しかし 2014 年度と同様に十分な安定度を持つと考えられる低い電位において半波電位が存在した。手賀沼では年間を通じて銅など錯形成能が高い金属はほぼすべて高安定度錯体を形成している可能性が高いことが示唆された。

2016 年度は宍道湖 (塩分 2~8‰) において中央部底付近の深度 4.5m (最大深度約 5m) で採取した試料について pseudopolarography を行ったところ、-0.57V (DTPA 相当)、-0.67V 付近 (Cyclam 相当) さらに低電位にも半波電位が存在し、非常に強い配位子の存在を確認できた。

HPLC-蛍光検出による含硫化合物の測定は、2016 年度に琵琶湖北湖表層、宍道湖中央付近の試料を用いて行った。溶存態中のチオール検出法については観測時点で未完成であったため、懸濁態試料のみについて分析を行った。宍道湖については深度 2m、4.5m で採取した試料双方から、比較的高濃度のグルタ

チオン (2m: 0.5 $\mu\text{mol/L}$, 4.5m: 1.7 $\mu\text{mol/L}$) とシスティン (2m: 0.8 $\mu\text{mol/L}$, 4.5m: 1.0 $\mu\text{mol/L}$) が検出された (N-アセチルシスティン、メルカプト酢酸は不検出)。深度 4.5m は塩分躍層にあたり、このことが植物プランクトンやバクテリアのストレス因子となっておりグルタチオン生成を促した可能性がある。

琵琶湖については北湖表水層試料(0~10m)を対象に、2016年10月~12月に宍道湖と同様の測定を行った。その結果、グルタチオンについて、0.3~3.6 $\mu\text{mol/L}$ 、システィンについて、0.05~0.29 $\mu\text{mol/L}$ の範囲で検出することができた。システィンについては琵琶湖の方がかなり低濃度であった一方で、グルタチオンについては逆に琵琶湖の方が高い値を示すことが多かった。これらの大半は生体内に含まれていたものと考えられ、琵琶湖水中の微小生物は汽水湖と比べても非常に低濃度で存在している溶存態硫黄(大半は硫酸イオン)を極めて効率的に利用していることが明らかになった。

また、これら含硫化合物が溶存態として湖水中に存在している濃度は未測定であるが、銅や親硫黄性の高い鉛、銀などとの結合の強さを考慮すると、含硫化合物はやはりこれら金属の存在形態を大きく支配する可能性がある。なお、溶存態システィン、グルタチオンについては海洋における誘導體化、濃縮法を利用して HPLC-蛍光検出が可能であることを確認し、現在研究を継続中である。

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7件)

Md. Mostafizur Rahman, Rebeka Sultana, Mashura Shammi, Joti Bikash, Tanveer Ahmed, Masahiro Maruo, Masaaki Kurasaki, M. Khabir Uddin, Assessment of the Status of Groundwater Arsenic at Singair Upazila, Manikganj Bangladesh; Exploring the Correlation with Other Metals and Ions, Exposure and Health, 査読有, 8 巻 2 号, 2016, 217-225
DOI: 10.1007/s12403-016-0196-8

Yoshiki Sohrin, Yusuke Nakashima, Masahiro Maruo, Trace elements influenced by environmental changes in Lake Biwa: (II) Regime shifts in the hypolimnion over the last half-century, Limnology, 査読有, 17 巻 2 号, 2016, 163-173
DOI 10.1007/s10201-015-0477-0

Yusuke Nakashima, Akiyoshi Shimizu, Masahiro Maruo, Yoshiki Sohrin, Trace elements influenced by environmental changes in Lake Biwa: (I) Seasonal

variations under suboxic hypolimnion conditions during 2007 and 2009, Limnology, 査読有, 17 巻 2 号, 2016, 151-162
DOI 10.1007/s10201-015-0474-3

Masahiro Maruo, Mana Ishimaru, Yuma Azumi, Yuki Kawasumi, Osamu Nagafuchi, Hajime Obata, Comparison of soluble reactive phosphorous and orthophosphate concentrations in river waters, Limnology, 査読有, 17 巻 1 号, 2016, 7-12
DOI 10.1007/s10201-015-0463-6

Kumiko Tsuda, Morimaru Kida, Suzuka Aso, Taku Kato, Nobuhide Fujitake, Masahiro Maruo, Kazuhide Hayakawa, Mitsuru Hirota, Determination of aquatic humic substances in Japanese lakes and wetlands by the carbon concentration-based resin isolation technique, Limnology, 査読有, 17 巻 1 号, 2016, 1-6
DOI 10.1007/s10201-015-0455-6

丸尾雅啓、淡水における金属の化学スペンション:総合論文、海洋化学研究、査読有、2015、28 巻 1 号、2-9

三田村緒佐武、石川聡子、石田典子、後藤直成、橘淳治、丸尾雅啓、びわ湖内湖・西の湖における水環境教育、陸水研究、査読有、1 巻 1 号、2014、5-15

[学会発表](計5件)

丸尾雅啓、宮下治希、石丸真菜、山本麻由佳、小畑元、琵琶湖における正リン酸と SRP 定量値の乖離、日本陸水学会第 81 回大会、2016 年 11 月 4 日、琉球大学農学部 (沖縄県西原町)

Masahiro Maruo, Haruki Miyashita, Mana Ishimaru, Hajime, Determination of nanomolar levels of phosphate in water of P-limited Lake in Japan (Lake Biwa) by ion chromatography, SIL2016, 2016 年 8 月 1 日, Lingotto, Torino, Italy

丸尾雅啓、大田啓一、早川和秀、琵琶湖における溶存態鉄(II)・有機物の動態と光反応、2015 年度日本地球化学会第 62 年会、2015 年 9 月 18 日、横浜国立大学(横浜市保土ヶ谷区)

小山和香、小畑元、丸尾雅啓、好氣的水中における溶存 Fe(□)の安定化に寄与する配位子の定量、日本分析化学会第 63 年会、2014 年 9 月 17 日、広島大学東広島キャンパス (広島県東広島市)

Masahiro Maruo, Hajime Obata, Osamu Mitamura, Tetsuji Akatsuka, Nozomi Amahashi, Hisayuki Azumi, Hyun-Seon

Shin, Yasushi Seike, Shogo Sugahara, Akihiko Yagi, Maki Oyagi, Noriko Ishida, Rei Somiya, Jun Kil Choi, Characterization of highly strong metal binding ligands in waters of natural lakes in Japan and Korea by electroanalysis, The 16th International Symposium on River and Lake Environments (ISRLE2014), 2014年8月25日, LADENA Resort, 春川, 江原道, 大韓民国

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

なし

〔その他〕

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・教授

研究者番号：80275156

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

三田村緒佐武 (MITAMURA, Osamu)

滋賀大学・教育学部・特任教授

(2014~2015年度)

研究者番号：50030458

(4)研究協力者

清家 泰 (SEIKE, Yasushi)

島根大学大学院・総合理工学研究科・教授

管原庄吾 (SUGAHARA, Shogo)

島根大学大学院・総合理工学研究科・助教

Md. Rasheduzzaman

滋賀県立大学大学院・環境科学研究科

小山 和香 (OYAMA, Waka)

滋賀県立大学大学院・環境科学研究科

川口 舞 (KAWAGUCHI, Mai)

滋賀県立大学・環境科学部