

酸素安定同位体トレーサを指標に 用いた河川水中リン酸の動態解明

三歩一 孝
Sambuichi Takashi

角皆 潤
Tsunogai Urumu

中川 書子
Nakagawa Fumiko

1. はじめに

リン (P) は、地球表層環境下では4つの酸素原子が配位したオルトリン酸 (PO_4 ; 以下リン酸と呼ぶ) の化学形態で存在することが多く、その化合物は遺伝情報の保存を担うデオキシリボ核酸 (DNA) やエネルギーの貯蔵を行うアデノシン三リン酸 (ATP)、細胞膜の主成分であるリン脂質、更に脊椎動物の歯や骨を構成するヒドロキシアパタイト ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$; 一般にバイオアパタイトと呼ばれる) 等生命に不可欠な物質となっている。その結果、海洋・湖沼・河川のような水環境において、リン酸は窒素 (N) 化合物等と同様に一次生産 (光合成) を律速する栄養塩として振る舞うことが知られている。ただし、その存在量は N 化合物と比較して1桁ほど低いことが多く (10^{-6}mol/L 程度)、特に人間活動の影響を受けやすい。例えば、水環境にリン酸が人為的に過剰供給されると富栄養化や栄養塩バランス (N/P 比) の崩壊等を通して深刻な環境問題を引き起こすことが知られている。

我々人間は、大きなリン酸リザーバーであると同時に大きなリン酸負荷源でもある。人間が生命活動を営む上でリン酸の放出を完全に止めることはできないので、せめてその放出量を制御し、水環境が健全な状態を維持し続けられるように整備することが責務である。そのためには、水環境中でリン酸が「どこから」「どこへ」移動するのか (=リン酸動態) を定量的に理解することが重要である (図1)。リン酸動態の理解は、炭素循環の制御や二酸化炭素放出量の抑制にも貢献する。

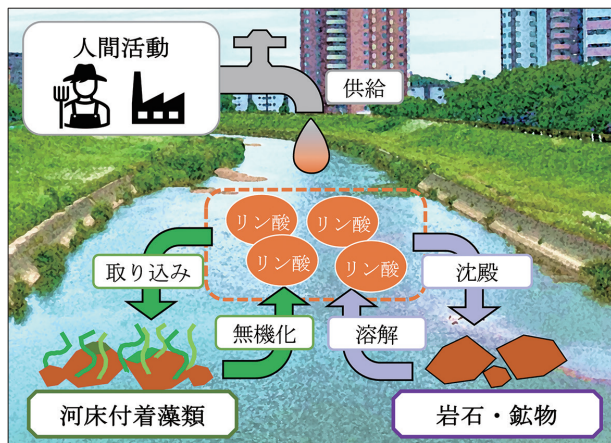


図1 水環境におけるリン酸循環の模式図

本稿では、リン酸の自然酸素安定同位体比を指標に用いて河川水中のリン酸動態を調査した研究の成果¹⁾を紹介する。リン酸の自然酸素安定同位体比を指標に用いた研究はアメリカや中国を中心に発展しており、今日では珍しくないが、国内の研究者による報告は極めて少ない。本稿では、まず初めにリン酸の自然酸素安定同位体指標の基本原則を述べ、次に筆者らのグループが世界で初めて報告した水環境中のリン酸の三酸素同位体組成の基本原則と分析結果を紹介する。本稿で示すデータは、筆者らのグループで行われた研究結果¹⁾に基づくが、その後の研究の進展によって同位体比の絶対値スケールを修正したため、その補正を行ったデータを示す。なお、各データ間の相対値には変化がないため議論に大きな影響はない。

2. リン酸の酸素同位体比指標の基本 原理と問題点

同位体とは、原子核に含まれる陽子数が同じで中性子数が異なる原子のことを指し、その中でも放射壊変しないものを安定同位体と言う。安定同位体比は、多くの元素において、マイナーな安定同位体の存在量に対するメジャーなものとの相対比で表すが、その変動幅は極めて小さいため、絶対量ではなく標準物質に対する相対差である δ 値で表される。例えば質量数 18 の酸素 (O) の場合は、

$$\delta^{18}\text{O} = \frac{(^{18}\text{O}/^{16}\text{O})_{\text{Sample}} - (^{18}\text{O}/^{16}\text{O})_{\text{VSMOW}}}{(^{18}\text{O}/^{16}\text{O})_{\text{VSMOW}}}$$

で表される。VSMOW (Vienna Standard Mean Ocean Water) は、酸素及び水素同位体の国際標準物質である。 δ 値はそのままでは極めて小さな数値であるため、1000 を乗じて千分率で表し、‰ (パーミル; $= 10^{-3}$) を併記して表示することが多いが、後述する $\Delta^{17}\text{O}$ のように例外もある。

リン (P) には安定同位体 (^{31}P) は 1 つしか存在しないが、酸素 (O) には 3 つの安定同位体 (^{16}O , ^{17}O , ^{18}O) が存在するため、リン酸 (PO_4) の酸素同位体比 ($\delta^{17}\text{O}$ や $\delta^{18}\text{O}$) を分析し、これを指標に用いることができる。リン酸の P-O 結合の結合力は強く、地球表層環境で進行する無機化学反応過程では、リン (P) から酸素原子 (O) を切り離すことは困難である。つまり、無機化学反応過程ではリン酸の酸素同位体比は変化せず負荷源の値を保持する。一方、生体内のリン酸は、有機化される過程でその一部がピロリン酸 (例えば $\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7^{2-}$) となる。ピロリン酸は、細胞内酵素であるピロホスファターゼ (PPase) の触媒作用によって直ちに加水分解され、2 分子のリン酸が生成する。この時、リン酸に含まれる 4 つの酸素原子のうち 1 つが体液中の H_2O と酸素原子を交換する。この一連の生化学反応が速や

かに繰り返されることで、生体内のリン酸に含まれるすべての酸素原子は体液 H_2O 由来の酸素原子に置き換わり、両者の間に酸素同位体交換平衡が成立することが知られている (図 2)²⁾。したがって、リン酸の酸素同位体比は、生物に取り込まれたときに限って変化し、魚類や河床付着藻類、プランクトンのような水中に生息する生物の場合は、その値は周辺環境水の酸素同位体比とその体温の情報を反映したものとなる。

平衡状態のリン酸の $\delta^{18}\text{O}$ は、平衡反応の同位体分別係数²⁾と環境水の $\delta^{18}\text{O}$ と水温から見積もることができる。例えば、中緯度地域の河川水 ($\delta^{18}\text{O} \approx -8\text{‰}$) と平衡化した場合は約 $+15\text{‰}$ である。一方、地球表層環境における初生的なリン酸は、火成岩と同様な $+5 \sim +10\text{‰}$ 程度の $\delta^{18}\text{O}$ を示すと予測される。この 2 つのリン酸負荷源のみが水環境中のリン酸の端成分であると仮定すると、水環境中のリン酸の $\delta^{18}\text{O}$ は両端成分の $\delta^{18}\text{O}$ の加重平均で表すことができる。そのため、水環境中のリン酸と各端成分の $\delta^{18}\text{O}$ から、各端成分に由来するリン酸の混合割合を推定することができる。これがリン酸の $\delta^{18}\text{O}$ を指標に用いた負荷源推定の基本的な原理である。

しかし、実際の水環境中では前述の負荷源以外にも様々な負荷源が存在し (例えば下水処理場の処理水や化学肥料、堆積岩等)、その $\delta^{18}\text{O}$ は概ね $+15 \sim +25\text{‰}$ の範囲に集中している³⁾。また、生物がリン酸を体内に取り込む際に軽い同位体に富むリン酸 (P^{16}O_4) を優先的に生体内に取り込むことが明らかになり⁴⁾、水環境中に残存するリン酸の $\delta^{18}\text{O}$ は取込み前と比べて相対的に高い値に変化する可能性がある。したがって、 $\delta^{18}\text{O}$ のみを指標に用いて各負荷源の混合割合を見積もることは困難であった。

3. リン酸の三酸素同位体組成の基本原則

そこで筆者らのグループは、リン酸の三酸素同位

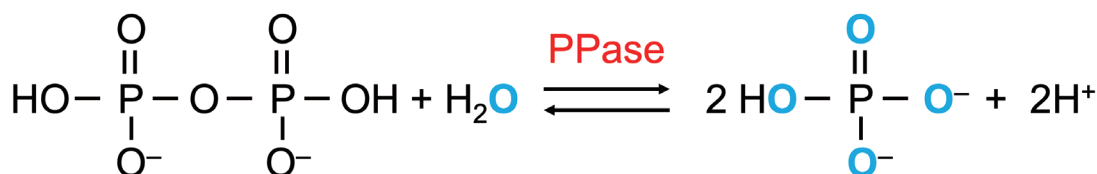


図 2 ピロリン酸 ($\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7^{2-}$) とリン酸 (HPO_4^{2-}) の化学平衡

体組成を追加の指標として用いることで前述の問題を解決できる可能性があると考えた。 $\delta^{17}\text{O}$ と $\delta^{18}\text{O}$ の間には、 $\delta^{17}\text{O} \approx 0.5 \delta^{18}\text{O}$ の関係がある。これが意味するところは、化学反応によって同位体分別が進行した場合でも、 $\delta^{17}\text{O}$ の変化は $\delta^{18}\text{O}$ の変化の約半分を保ち続けるということである。この同位体分別過程を「質量依存同位体分別 (mass-dependent fractionation)」と呼び、この関係は1960年代には既に知られていた。しかし2000年以降、分析技術の確度・精度の飛躍的な進歩によって僅かではあるが、有意にこの関係から逸脱する化学種が多く存在することが明らかになった。この「逸脱」の程度を数値化したものが三酸素同位体組成— $\Delta^{17}\text{O}$ であり、リン酸の場合は以下の式で表される¹⁾。

$$\Delta^{17}\text{O} = \ln(\delta^{17}\text{O} + 1) - 0.528 \cdot \ln(\delta^{18}\text{O} + 1)$$

$\Delta^{17}\text{O}$ は、 $\ln(\delta^{17}\text{O}+1)$ vs. $\ln(\delta^{18}\text{O}+1)$ プロット上で傾き0.528の直線に対する縦軸方向の偏差を意味しており、その程度は‰ (10^{-3}) の1000分の1のオーダー (10^{-6}) である (図3)。 $\ln(\delta^{17}\text{O}+1)$ ($\approx \delta^{17}\text{O}$) と $\ln(\delta^{18}\text{O}+1)$ ($\approx \delta^{18}\text{O}$) の変化の相対比はおよそ0.528であるため、 $\delta^{18}\text{O}$ の変化が小さい同位体分別過程では $\Delta^{17}\text{O}$ の変化は無視できる程小さい。したがって、水環境中のリン酸の $\Delta^{17}\text{O}$ は、河床付着藻類やプランクトンによるリン酸取り込み過程等では変化せず、主に負荷源間の混合割合を反映して変化すると考えられる。したがって、リン酸の $\Delta^{17}\text{O}$

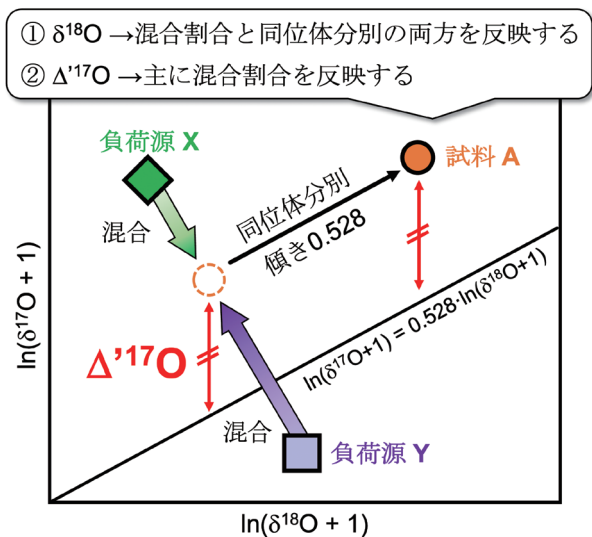


図3 $\Delta^{17}\text{O}$ 指標の基本原則

が各負荷源間で有意に異なる場合、 $\Delta^{17}\text{O}$ を指標に用いることでその混合割合を直接推定できる。

4. 河川水中リン酸の三酸素同位体組成

これを検証するため愛知県名古屋市の都市河川 (天白川) にて、2018年2月~2022年5月の期間で河川水を採取し、リン酸の $\Delta^{17}\text{O}$ を測定した。また、流域内にある下水処理場の処理水とホームセンターで購入した化学肥料に含まれるリン酸の $\Delta^{17}\text{O}$ も測定し、河川水中のリン酸と比較した。その結果、河川水中のリン酸の $\Delta^{17}\text{O}$ は、 $-90 \times 10^{-6} \sim +28 \times 10^{-6}$ の範囲で変動しているものの (図4a)、その大部分は $-50 \pm 30 \times 10^{-6}$ に分布していることが分かった (図4b)。これは、主要なリン酸負荷源の $\Delta^{17}\text{O}$ が $-50 \pm 30 \times 10^{-6}$ である一方、その他のリン酸負荷源との間の混合割合が観測期間中に変動していることを反映している。

一方、下水処理場の処理水や化学肥料に含まれるリン酸における $\Delta^{17}\text{O}$ 変化は小さく、それぞれ -40×10^{-6} と -70×10^{-6} であった (図4a, b)。下水処理場の処理水中のリン酸の多くは人間の排泄物に由来するため、この $\Delta^{17}\text{O}$ は人間の体液 H_2O と平衡化したリン酸の $\Delta^{17}\text{O}$ である可能性が高い。哺乳類の体液 H_2O は、環境水 (飲料水) に加えて代謝過程で生成する代謝 H_2O (metabolic water) が混合したものである。代謝 H_2O の酸素原子は、非常に低い $\Delta^{17}\text{O}$ (約 -400×10^{-6}) を示す大気 O_2 に由来するため、人間の体液 H_2O は低い $\Delta^{17}\text{O}$ を持ち、それと平衡化したリン酸もまた低い $\Delta^{17}\text{O}$ を示したものと考えられる。一方、化学肥料に含まれるリン酸は、火成岩や堆積岩に由来するため、それらと同等な -70×10^{-6} 程度の値を示していると推察できる。以上より、本研究で分析したこれらのリン酸の $\Delta^{17}\text{O}$ は、それぞれ人間活動由来のリン酸の代表的な値を示しており、その値は河川水中のリン酸の主要負荷源の $\Delta^{17}\text{O}$ と整合的である。したがって、今回調査した河川の主要なリン酸負荷源は、人間活動由来のリン酸であると結論した。

しかし、一部の試料では有意に高い $\Delta^{17}\text{O}$ を示しており、他の負荷源の存在を示唆している。河川水は $+20 \times 10^{-6} \sim +40 \times 10^{-6}$ の高い $\Delta^{17}\text{O}$ を示すが、河川水中のリン酸で最も高い $\Delta^{17}\text{O}$ を示した試料

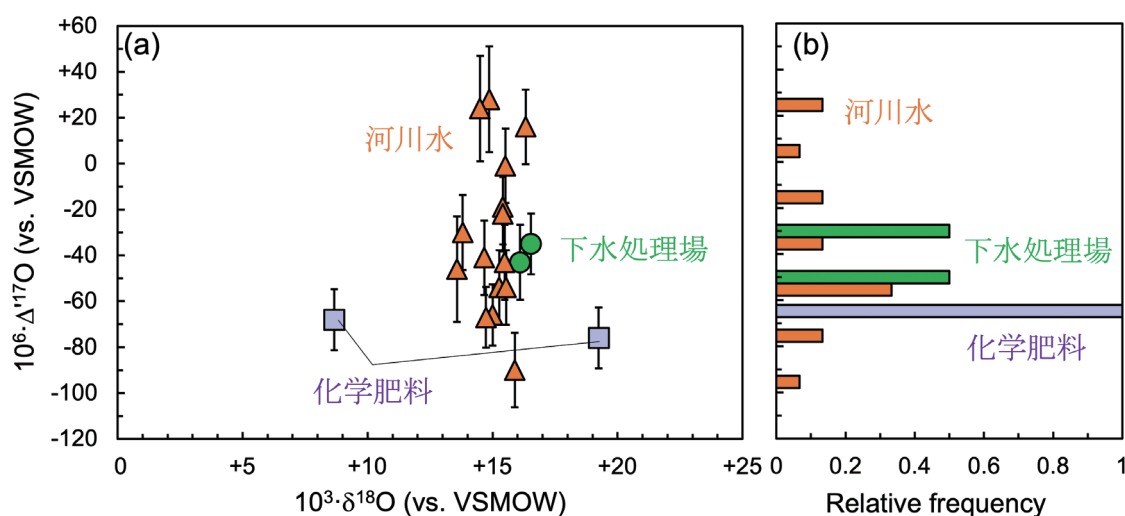


図4 各種リン酸の(a) $\delta^{18}\text{O}-\delta^{17}\text{O}$ プロットと(b) $\delta^{17}\text{O}$ 頻度分布

($+28 \times 10^{-6}$)はこの範囲内の値を示す。哺乳類とは異なり、河床付着藻類の「体液 H_2O 」は、河川水そのものとなっている可能性が高い。そのため、このような河床付着藻類に取り込まれた上で河川水中に放出されるリン酸は、河川水の $\delta^{17}\text{O}$ に近い高い値を示す可能性がある。したがって、高い $\delta^{17}\text{O}$ を示す河川水中のリン酸は、河床付着藻類に由来する可能性が高い。しかし、この推察は、リン酸と H_2O の酸素同位体交換における $\delta^{17}\text{O}$ 変化が無視できることが前提となっている。現時点ではその変化の有無は検証されていない。

5. まとめと今後の展望

筆者らのグループは、世界で初めて水環境中のリン酸の $\delta^{17}\text{O}$ を報告した。調査を行った都市河川では、下水処理場の処理水や化学肥料が主なリン酸負荷源であることが明らかになった。また、高い $\delta^{17}\text{O}$ を示す未知のリン酸負荷源が都市河川に存在することが示唆された。これは、河床の付着藻類がその起源である可能性が高いが、今後の研究で検証する必要がある。

本稿を執筆している2023年12月現在、リン酸の $\delta^{17}\text{O}$ 研究は、筆者らのグループが報告した研究¹⁾以外に4報だけであり、そのすべてがバイオアパタ

イト中のリン酸を分析対象としている。その測定データの少なさから、他の含酸素物質（例えば H_2O や硫酸塩、硝酸塩）と比較して、リン酸の $\delta^{17}\text{O}$ 変動に関する定性的・定量的な理解は遅れている。理解を深めるためには、まず第一に酵素が引き起こす酸素同位体交換過程におけるリン酸の $\delta^{17}\text{O}$ 変化を定量化することが求められる。リン酸は生物との親和性が高い物質であるため、酵素反応における $\delta^{17}\text{O}$ 変化を把握することで、 $\delta^{17}\text{O}$ を古環境復元や生化学反応経路の特定等のトレーサとして活用できる。将来的には、環境科学だけではなく古環境学や生物学、医学、薬学分野への応用が期待できる。

参考文献

- 1) Sambuichi, T., *et al.*, *Environmental Science & Technology*, **57** (8), 3415-3424 (2023)
- 2) Chang, S.J. & Blake, R.E., *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **150**, 314-329 (2015)
- 3) Davies, C., *et al.*, *Science of The Total Environment*, **496**, 563-575 (2014)
- 4) Blake, R.E., *et al.*, *American Journal of Science*, **305**, 596-620 (2005)

(名古屋大学大学院 環境学研究科 地球環境科学専攻 大気水圏科学系 物質循環科学講座)