



---

豪州 Moreton 湾における毒素生産シアノバクテリア  
の増殖メカニズムの解明

---

(課題番号：16254001)

平成16年度～平成18年度科学研究費補助金  
(基盤研究 (A)) 研究成果報告書

平成19年3月

研究代表者： 大村 達夫

東北大学大学院工学研究科教授

## はしがき

本研究課題では、沿岸域での鉄の動態及び毒性シアノバクテリア(*L. majuscula*)による鉄摂取経路を解明し、沿岸域における生物利用可能な鉄の生成を予測する数値モデルを確立することを目的とした。以下に、その研究成果を示す。

- 1) 沿岸域での鉄の形態及びフミン鉄の錯平衡・凝集の実態を把握するための現地調査及び室内実験を行った。その結果、河川水中においてフミン第二鉄が存在することが示され、また、フミン鉄のうち 90%程度は、沿岸域でカチオンの競合により解離することが分かった。クロマトグラフィー分析を併用することで、分子量及び疎水性物質含有量が低いフミン物質ほど凝集特性は低く、沿岸域への溶存鉄輸送に大きく貢献することが明らかとなった。
- 2) フミン鉄の錯平衡や凝集といった物理化学的挙動に加え、潮流拡散現象を考慮した上で数値モデルを構築した。沿岸域におけるフミン鉄の錯平衡モデルは、分子量やイオン強度、pH等の物理化学的要因を考慮することが可能なデバイーヒュッケル理論に基づき構築された。凝集モデルは、従来の DLVO 理論に新たに疎水性相互作用を組み込むことで構築された。上述の錯平衡及び凝集モデルと潮流拡散モデルを融合させることで、沿岸域におけるフミン鉄濃度の空間的及び時間的分布を評価することが可能となった。
- 3) スーパーオキシドを介して *L. majuscula* が鉄を摂取する経路を解明し、鉄摂取機構のモデル化を行った。スーパーオキシドによるフミン鉄の生物利用性(Fe(II)の生成速度)はその起源により異なるが、酸性官能基を多く含むフミン物質に結合した鉄ほど生物利用性が低いことが明らかとなった。また、Fe(II)生成に関わる各種反応速度を測定し、*L. majuscula* の鉄摂取に関する新たな反応スキーム(鉄摂取モデル)が構築された。モデル計算の結果、フミン鉄の中でも特に強く結合している錯体は、錯体が還元された後解離し、摂取される経路が優位であった。以上の結果は、フミン物質の起源、すなわち土地利用や植生等の流域環境の違いが、沿岸域での鉄の生物利用性に大きな影響を与えることを示している。

以上の研究成果より、沿岸域でのフミン鉄の錯平衡モデルや凝集モデル、潮流拡散モデル、生物利用可能な鉄の生成モデルが構築された。各モデルを融合させることにより、鉄の供給形態から沿岸域での生物摂取までの一連の過程を総合的に予測・評価することが可能となった。

## 研究組織

研究代表者 : 大村 達夫 (東北大学・大学院工学研究科・教授)  
研究分担者 : 渡部 徹 (東北大学・大学院工学研究科・助手)

## 交付決定額 (配分額)

(金額単位: 千円)

	直接経費	間接経費	合計
平成16年度	11,700	3,510	15,210
平成17年度	12,000	3,600	15,600
平成18年度	7,800	2,340	10,140
総計	31,500	9,450	40,950

# 目次

1. 研究の背景及び目的	1
2. 研究成果の概略	2
研究成果(1)-沿岸域でのフミン鉄の挙動解明	2
研究成果(2)-沿岸域でのフミン鉄の挙動に関する物理化学モデルの構築	3
研究成果(3)-藻類による鉄利用機構の解明とモデルの構築	3
研究成果(4)-河口・沿岸域における水理学モデルの構築	5
3. 本研究成果に関する発表論文	6

## 1. 研究の背景及び目的

沿岸域は、海洋生物が河川から供給される栄養塩や有機物、微量必須金属と出会うことで、豊かな生態系を形成しており、世界各国においても海洋有用生物の生産場として利用されてきた。微量金属の中でも鉄は、食物連鎖の根底を担う一次生産者が窒素固定や光合成を行う際に不可欠な金属として認識されている。しかしながら、熱力学的に安定な第二鉄イオン(Fe(III))の溶解度は非常に低く、鉄は地殻中に4番目に多く含まれる元素でありながら、陸域からの鉄の供給が少ない海洋や沿岸域では溶存鉄は低濃度(pM から nM)で存在する。このような水域において、鉄は海洋性藻類の生長制限栄養素となっている。近年では、流域開発による森林伐採等に伴い沿岸域への鉄の供給量が低下した事例も報告されるようになり、それに伴う生物生産性の低下、沿岸域生態系の崩壊が危惧されている。

陸域から供給される鉄の中で、生物に利用されやすい形態種は、化学反応性に富むフミン鉄(森林土壌由来のフミン物質と錯体を形成して存在する溶存鉄)であると考えられてきた。そのため、従来から海洋性植物を対象にフミン鉄の生物利用性に関する研究が数多く行われ、現在ではフミン鉄の生物必須性は確実なものとなった。しかし、河川から沿岸域へかけての塩濃度増加に伴い、フミン鉄は錯平衡変化や凝集などの形態変化を生じ、それにより鉄の生物利用性も大きく変化してくると考えられる。従って、陸域環境改変等の人為的インパクトが沿岸域生態系へ与える影響を的確に評価していくためには、流域での鉄の挙動やそれに伴う生物利用性の変化を正確に理解する必要がある。さらに、それらを予見的に評価するモデルを構築することで、沿岸域生態系の保全を目的とした持続可能な流域開発を行っていくことが望まれる。

藍藻類(シアノバクテリア)の鉄摂取戦略の一つに、自らスーパーオキシドを生成し、第二鉄(Fe(III))を第一鉄(Fe(II))に還元することで鉄を摂取する方法がある(図1の青矢印)。Fe(III)は熱力学的に安定な種であるが溶解度が非常に低いため、より溶解度の高い Fe(II)に還元することで鉄を獲得していると考えられている。しかし、この鉄摂取戦略を議論する上で必要不可欠である、沿岸域で優位な鉄の形態(フミン鉄と水酸化鉄)やそれらとスーパーオキシドの反応性は未だ把握されていない。また、フミン鉄の錯平衡変化や凝集も鉄の反応性を変化させる。従って、上記の課題を解決し、鉄の供給形態から生物摂取までの一連の過程を総合的に捉えた上で、鉄の生物利用性を評価していく必要がある。

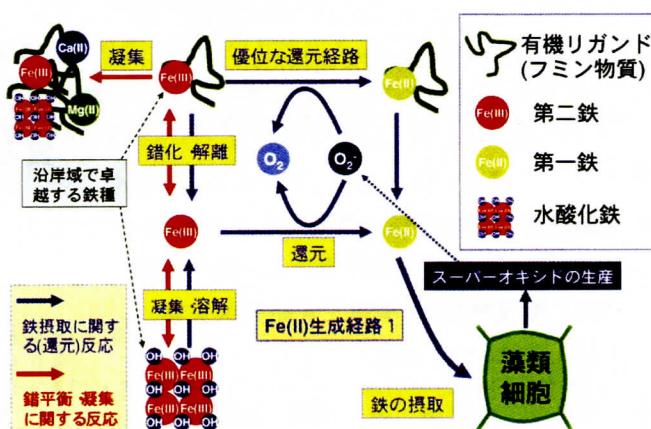


図1. 沿岸域での鉄の形態と藍藻類による利用

以上のような背景から、本研究課題では、現地観測と室内実験を通して沿岸域でのフミン鉄の挙動及び鉄摂取過程を解明し、その数理モデルを構築することを目的とした。

## 2. 研究成果の概略

以下に、研究の成果の概略を示す。

### 研究成果(1)-沿岸域でのフミン鉄の挙動解明

年間調査結果から、沿岸域で存在する鉄は、主にフミン第二鉄及びそれから解離し生成された水酸化鉄の二つの形態で存在することが示唆された。また、沿岸域では、塩濃度増加に伴うフミン鉄の解離が観測され、河川から沿岸域にかけてフミン鉄濃度は急激に減少することが示された。標準フミン物質と鉄の錯平衡実験(pH=8,塩濃度=0 から30g/L)から、河川から沿岸域へ流入することでFe(III)の90%程度はフミン物質から解離し、それは  $Mg^{2+}$  と  $Ca^{2+}$  との競合によるものであることが明らかとなった(図 2(a))。解離による影響は大きいものの、沿岸域ではフミン物質が比較的高濃度で存在するため、溶存鉄濃度(0.1 から 1.0 $\mu$ M)が外洋(数 nM)よりも数オーダー高いことが示された。一方で、フミン酸とフルボ酸では程度が異なるが、塩濃度の増加に伴い、フミン物質は凝集することが明らかとなった(図 2(b))。ゲルクロマトグラフィー分析結果から、分子量及び疎水性物質含有量が低いフミン物質ほど凝集特性は低く、沿岸域への溶存鉄輸送に大きく貢献するものと考えられた(図 3)。以上、室内実験、現地調査ともに一致する結果を得た。

以下に、本研究成果に関する発表論文を示した。

- 藤井学, 佐々木陽, 渡部徹, 大村達夫, 「河口・沿岸域におけるフミン鉄の錯平衡と凝集特性」, 環境工学研究論文集, 41, pp.389-400, 2004.
- 藤井学, 大友俊, 佐々木陽, 渡部徹, 大村達夫, 「松島湾における溶存態有機物質(DOM)と鉄濃度の空間的分布と季節変化」, 水環境学会誌, 29(3), pp.169-176, 2006.

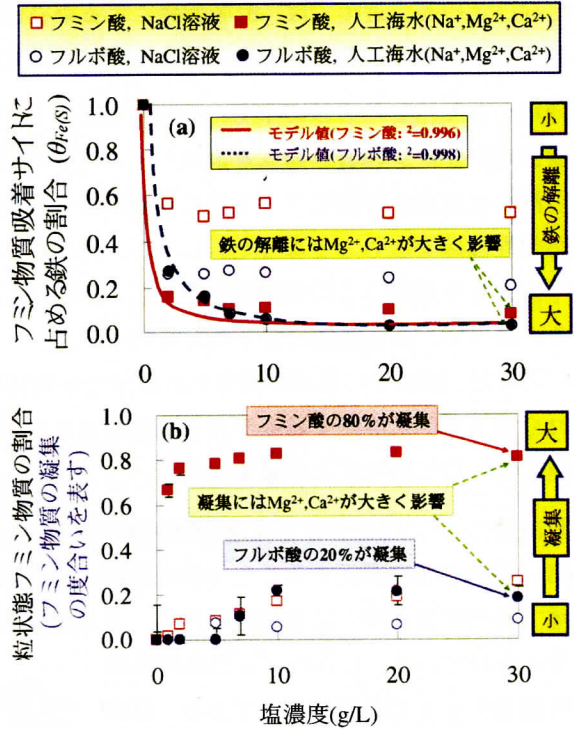


図2. 河口域条件下で行った標準フミン物質と鉄の平衡及び凝集実験の結果.

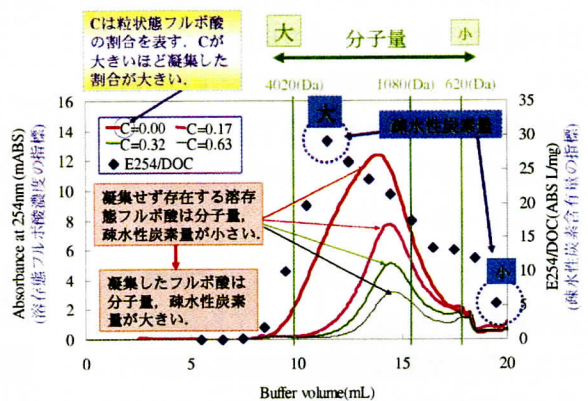


図3. フルボ酸の分子量及び疎水性炭素含有量と凝集の関係

## 研究成果(2)-沿岸域でのフミン鉄の挙動に関する物理化学モデルの構築

フミン鉄の錯平衡変化を正確に表現するためには、フミン物質官能基量と種類、分子量、溶液のイオン強度、pH等の物理化学的なパラメータを考慮したモデルの構築が必要である。従って、以上の諸条件を考慮できる *Debye-Huckel* 理論に基づき、電気化学的視点から河口・沿岸域におけるフミン鉄の錯平衡モデル式を新たに提案した(図4)。一般に *Debye-Huckel* 理論は河口域のような高塩濃度域に適用できないが、このモデル式では、*Davies* 近似を導入することで、イオン強度と自由エネルギーの関係について補正を行い、高塩濃度においても適用可能にした。さらに、鉄との親和性に従いフミン物質官能基を Site1 から Site3 に分類することで、不均一なフミン物質官能基と鉄の平衡定数を算出することが可能となった。フミン物質と結合していないフリーな鉄については、酸化還元反応、加水分解反応、炭酸との反応に関する熱力学的な平衡をモデルに組み込んだ。ここで構築したモデル式は、フルボ酸及びフミン酸と鉄の錯平衡実験結果と非常によく適合した。

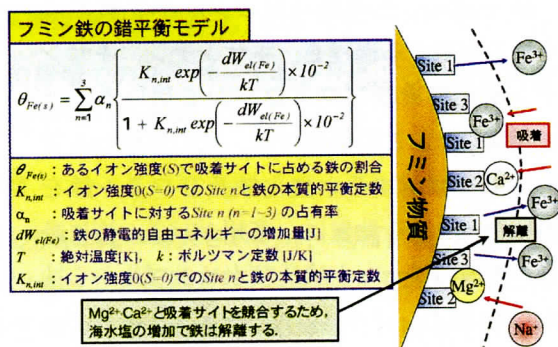


図4. 沿岸域におけるフミン鉄の錯平衡モデル

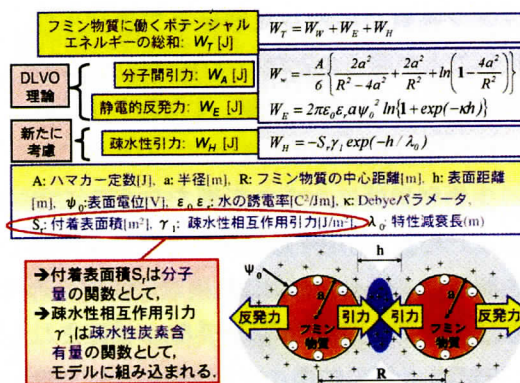


図5. 沿岸域におけるフミン物質の凝集モデル

凝集に関して、分子間力と電気的斥力の総和により粒子間の相互作用を表した DLVO 理論は、粒子の凝集モデル式として一般的に用いられている。しかし、フミン物質のような疎水性分子については、疎水性相互作用が凝集に影響を与える最も重要な因子である。この研究では、疎水性相互作用をフミン物質の分子量及び疎水性炭素含有量と関連付けて定量化することで、従来の DLVO 理論のみでは表現できなかったフミン物質間の疎水性相互作用を組み込んだ、新たな凝集モデルを構築した(図5)。

以下に、本研究成果に関する主な発表論文を示した。

- 佐々木陽, 藤井学, 渡部徹, 大村達夫, 「河口・沿岸域条件下におけるフミン物質の凝集モデルの構築」, 環境工学研究論文集, 41, pp.377-387, 2004.
- 藤井学, 大村達夫, 「河口・沿岸域におけるフミン鉄の錯平衡モデル」, 環境工学研究論文集, 42, pp.145-155, 2005.

## 研究成果(3)-藻類による鉄利用機構の解明とモデルの構築

毒素生産シアノバクテリアである *L. majuscula* は、自らスーパーオキシドを生成し、熱力学的に安定な第二鉄(Fe(III))をより溶解度の高い第一鉄(Fe(II))に還元することで鉄を摂取すると考えられている(図1)。しかし、この鉄摂取戦略を議論する上で必要不可欠である、沿岸域で優位なフミン鉄や水酸化鉄とのスーパーオキシドの反応性は把握されていなかった。そこで、スーパーオキシドにより第

二鉄を還元し藍藻類独自のタンパク質により鉄を摂取する過程を、キサンチン、キサンチン酸化酵素及びフェロジンをを用いることで再現した。この研究では、鉄の形態として沿岸域で卓越する水酸化鉄及びフミン鉄を用いた。フミン物質は、豪州 Moteton 湾に赴き、流域の様々な土壌及び水サンプルから抽出した(表 1)。

スーパーオキシドによるフミン鉄の生物利用性(還元速度または Fe(II)生成速度)はその起源により異なるが、酸性官能基を多く含むフミン物質に結合した鉄ほど生物利用性が低いことが明らかとなった(図 6(a))。この結果は、フミン物質の起源、すなわち土地利用や植生等の流域環境の違いが、沿岸域での鉄の生物利用性に大きな影響を与えることを示す。また、Fe(II)生成に関わる各種反応速度を測定し、*L. majuscula* の鉄摂取に関する新たな反応スキーム(鉄摂取モデル)が構築された。モデル計算の結果、フミン鉄の中でも特に強く結合している錯体は、錯体が還元された後解離し、摂取される経路が優位であることが分かった。

一方、水酸化鉄はフミン鉄とは異なり化学的反応性が低く、藻類には使用されない形態と認識されてきた。しかし、本研究結果から、形成時間(酸化程度)が比較的短い場合(6 時間以内)には、フミン鉄と同程度の還元速度を示すことが明らかとなった(図 6(b))。沿岸域のように、フミン物質から鉄が解離し、形成時間の短い水酸化鉄が豊富に存在する水域では、生物利用において水酸化鉄は無視できないと考えられる。

以下に、本研究成果に関する発表論文を示した。

- Fujii M., Rose A. L., Waite T. D. and Omura T., Superoxide-mediated dissolution of amorphous ferric oxyhydroxide in seawater, *Environmental Science and Technology*, 40(3), pp.880-887, 2006.
- 淵上洋輔, 藤井学, 熊谷幸博, 大村達夫, 沿岸域における生物利用可能な鉄の生成機構解明—有

表1. Moreton湾流域で採取した土壌及び水サンプルの性質

Site	Site description	Organic matter content (%)				
SFA1	Cleared pine plantation	4.2				
SFA2	Pine plantation	11.4				
SFA3	Native Bribe Pine	6.5				
SFA4	Coastal heathland	12.0				
SFA5	Casuarina glauca	93.0				
SFA6	Young pine plantation	26.9				
SFA7	Canal development	6.4				
SFA8	Melaleuca	45.1				

Site	Site description	Salinity (‰)	DOC (mg L <sup>-1</sup> )	pH	Latitude (South)	Longitude (East)
AHS1	Shirley Creek	20	5.93	7.99	27.0795	153.1583
AHS2	Pumicestone Passage	30	3.24	7.64	26.9240	153.0707
AHS3	Mellum Creek	0	11.8	5.00	27.0858	153.1601

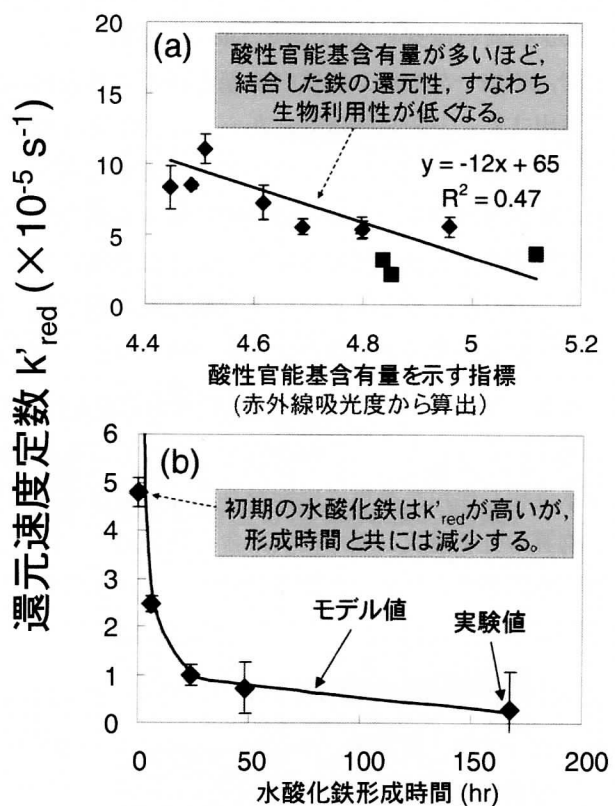


図6. (a)有機鉄の還元速度定数と酸性官能基含有量, (b)水酸化鉄の還元速度定数と形成時間

機リガンド濃度による影響一，平成 18 年度東北支部技術研究発表会，山形大学，2007 年 3 月。

- 藤井学， Rose A. L., Waite T. D., 大村達夫，「沿岸域でのスーパーオキシドによる有機鉄の還元メカニズム」，第 40 回水環境学会年会，東北学院大学（仙台市），2006 年 3 月。

#### 研究成果(4)-河口・沿岸域における水理学モデルの構築

河口・沿岸域では，水平方向の空間スケールが水深方向に比べて大きいいため，物質拡散の現象は，水深方向に積分を行った平面 2 次元の連続式，Navier-Stokes 式，拡散方程式を用いて表現した。このモデルと先述のフミン鉄の錯平衡モデルと凝集モデルを融合させることで，沿岸域におけるフミン鉄濃度の空間的及び時間的分布を評価することが可能となった。拡散シミュレーションは，水深及び流量データ等が十分に揃っている宮城県松島湾を対象に行われた。

以下に，本研究成果に関する発表論文を示した。

- 大友俊，藤井学，大村達夫，「数値解析による河口・沿岸域におけるフミン鉄の供給範囲の把握」，平成 16 年度土木学会東北支部技術研究発表会，東北工業大学(仙台市)，2005 年 3 月。

以上の研究成果(1)から(4)により，河口・沿岸域へ供給されるフミン鉄及び錯体の解離で生成される水酸化鉄が，スーパーオキシドを介して毒素生産シアノバクテリア *L. majuscula* に摂取される過程について，その数理モデルが構築された。これより，鉄の供給形態から沿岸域での生物摂取までの一連の過程を総合的に予測・評価することが可能となった。今後，本研究課題で構築されたモデルに，さらに水文データ，気候変動などを考慮する項を加えることで，流域での環境変動に対する *L. majuscula* の応答が評価可能になることが期待される。



### 3. 研究発表

本研究の成果に関して、研究期間中に発表された論文を以下に列挙し、次のページ以降に各論文を添付した。

#### (1) 学術雑誌等

- 1) 藤井学, 佐々木陽, 渡部徹, 大村達夫, 「河口・沿岸域におけるフミン鉄の錯平衡と凝集特性」, 環境工学研究論文集, 41, pp.389-400, 2004.
- 2) 佐々木陽, 藤井学, 渡部徹, 大村達夫, 「河口・沿岸域条件下におけるフミン物質の凝集モデルの構築」, 環境工学研究論文集, 41, pp.377-387, 2004.
- 3) 藤井学, 大村達夫, 「河口・沿岸域におけるフミン鉄の錯平衡モデル」, 環境工学研究論文集, 42, pp.145-155, 2005.
- 4) Fujii M., Rose A. L., Waite T. D. and Omura T., Superoxide-mediated dissolution of amorphous ferric oxyhydroxide in seawater, *Environmental Science and Technology*, 40(3), pp.880-887, 2006.
- 5) 藤井学, 大友俊, 佐々木陽, 渡部徹, 大村達夫, 「松島湾における溶存態有機物質(DOM)と鉄濃度の空間的分布と季節変化」, 水環境学会誌, 29(3), pp.169-176, 2006.

#### (2) 国際会議学会・シンポジウム等における発表

- 1) 藤井学, 佐々木陽, 渡部徹, 大村達夫, 「河口域におけるフミン物質と鉄の錯平衡モデルの構築」, 第59回土木学会年次学術講演会, 名古屋大学, 2004年9月.
- 2) 佐々木陽, 藤井学, 渡部徹, 大村達夫, 「DLVO理論に基づく河口域でのフミン物質凝集モデル」, 第59回土木学会年次学術講演会, 名古屋大学, 2004年9月.
- 3) Fujii M., Omura T., Characterization of humic substances in coastal area originated from catchment, Lyngbya Workshop, Brisbane (Australia), Feb. 2005.
- 4) 大友俊, 藤井学, 大村達夫, 「数値解析による河口・沿岸域におけるフミン鉄の供給範囲の把握」, 平成16年度土木学会東北支部技術研究発表会, 東北工業大学(仙台市), 2005年3月.
- 5) 淵上洋輔, 藤井学, 大村達夫, 「河口・沿岸域に流入するフミン物質の起源及び鉄吸着特性」, 平成16年度土木学会東北支部技術研究発表会, 東北工業大学(仙台市), 2005年3月.
- 6) 淵上洋輔, 藤井学, 大村達夫, 「安定同位体比を用いた沿岸域におけるフミン物質の起源推定」, 第60回土木学会年次学術講演会, 早稲田大学, 2005年9月.
- 7) 藤井学, Rose A. L., Waite T. D., 大村達夫, 「沿岸域でのスーパーオキシドによる有機鉄の還元速度」, 第60回土木学会年次学術講演会, 早稲田大学, 2005年9月.
- 8) 藤井学, Rose A. L., Waite T. D., 大村達夫, 「沿岸域でのスーパーオキシドによる有機鉄の還元メカニズム」, 第40回水環境学会年会, 東北学院大学(仙台市), 2006年3月.
- 9) 佐々木陽, 淵上洋輔, 藤井学, 大村達夫, 「沿岸域における鉄の挙動解明を目的とした溶存有

機鉄と水酸化鉄の分離手法の確立」, 第 40 回水環境学会年会, 東北学院大学 (仙台市), 2006 年 3 月.

- 10) 淵上洋輔, 藤井学, 熊谷幸博, 大村達夫, 「沿岸域における生物利用可能な鉄の生成機構解明 - 有機リガンド濃度による影響 - 」, 平成 18 年度東北支部技術研究発表会, 山形大学, 2007 年 3 月.
- 11) 伊藤紘晃, 藤井学, 大村達夫, 「競合リガンド法を用いた沿岸域における有機鉄錯体の解離速度の測定」, 平成 18 年度東北支部技術研究発表会, 山形大学, 2007 年 3 月.
- 12) 藤井学, Waite T. D., 大村達夫, 「有機鉄の錯形成速度に及ぼすカルシウムイオンの影響」, 第 41 回水環境学会年会, 大阪産業大学, 2007 年 3 月.

本報告書収録の学術雑誌等発表論文は本ファイルに登録していません。なお、このうち東北大学在籍の研究者の論文で、かつ、出版社等から著作権の許諾が得られた論文は、個別に **TOUR** に登録しております。