



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Studies on speciation of iron and its bioavailability for the recovery of seaweed-bed of barren coast using a steel slag-compost fertilizer [an abstract of entire text]
Author(s)	岩井, 久典
Description	この博士論文全文の閲覧方法については、以下のサイトをご参照ください。 https://www.lib.hokudai.ac.jp/dissertations/copy-guides/
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(工学)
Dissertation Number	甲第11464号
Issue Date	2014-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/55689
Type	doctoral thesis
File Information	Hisanori_Iwai_summary.pdf



博士論文要約

Studies on speciation of iron and its bioavailability for the recovery of seaweed-bed od barren coast using a steel slag-compost fertilizer

製鋼スラグ-堆肥施肥材による磯焼け海域の藻場再生技術における鉄のスペ
シエーションと生物利用性に関する研究

Division of Sustainable Resource Engineering,

Graduate School of Engineering,

Hokkaido University

Hisanori IWAI

Chapter 1: General introduction

藻場は、沿岸生態系の保全において重要な役割を果たすとともに、大きな CO_2 の吸収源になりうる。ゆえに、藻場の消滅は、水産業などへ大きな損害を与えるだけでなく、地球温暖化にも大きな影響を及ぼす。近年では、世界的に沿岸開発や環境の変化による海藻群の減少が問題視されており、2003 年にはオーストラリア南東部における海藻種の絶滅が報告されている。日本では、沿岸環境の変化による藻場の消滅現象は“磯焼け”と呼ばれ、深刻な環境問題の一つとして認知されている。この問題について、様々な原因及び対策が考えられており、その一因として、溶存鉄の欠乏があげられる。例えば、磯焼け海域の鉄濃度は 2 nM 未満と低いのに対して、藻場が回復した海域では十 nM 程度であることが報告されている。コンブは、その生活史において微視的な配偶体と巨視的な孢子体の生長段階を有する。この中で、鉄はコンブの孢子体形成時に必要不可欠な微量元素として知られている。磯焼けは、巨視的な孢子大群の消滅として考えることができるため、鉄欠乏説には蓋然性が有るといえる。

沿岸海水の pH は 8 程度で酸化的環境に置かれているため、 Fe^{2+} または Fe^{3+} として溶存することは極めて難しく、溶存有機物 (DOM) と錯形成して溶存すると言われている。DOM の中でフミン酸 (HA) 及びフルボ酸 (FA) 等の腐植物質は、金属に対する錯形成能を有しており、水圏環境における金属の溶存性及び生物利用性に深く関わっている。これに基づき、製鋼スラグと腐植物質を多量に含む堆肥から成る施肥材を用いた溶存鉄の供給による藻場再生が試みられている。しかし、この技術において鉄がどのような DOM と錯形成しているのか、その錯体が海藻の生育に有用なのかは明らかにされていない。HA や FA は海水のような高塩濃度で凝集沈殿してしまうため、鉄の溶存に対して重要な役割を果たすと考えられる堆肥から海水へ溶出する成分は HA や FA とは異なる DOM 分画と考えられた。そこで本研究では、新規の DOM として堆肥の海水溶

出成分 (SWEOM) に着目し、その構造的特色、鉄との錯形成能及び生物利用可能な鉄の供給能について検討を行った。

Chapter 2: Characterization of seawater extractable organic matter from bark compost by TMAH-py-GC/MS

海水中での鉄の溶存には、DOM の寄与が大きいと考えられる。第 2 章では、海水では凝集沈殿してしまう HA 及び FA に替わって重要な分画と思われる SWEOM の抽出・精製方法を確立とその構造的特色に関する検討を行った。SWEOM は、HA や FA と比較して、H/C、N/C 原子数比及びアミノ酸含有量が高く、不飽和炭化水素及びタンパク成分の含有率が高いことが分かった。また、O/C 比の値は FA 同様に高い値を示したが、SWEOM の酸性官能基量は HA や FA に比べ少なかった。この結果は、アルコール性 OH 又はエーテルとして存在することを示している。さらに、TMAH-py-GC/MS の結果から、SWEOM は HA や FA と比較して脂肪酸やステロールを多く含んでいることが分かった。これらの結果は、SWEOM が微生物由来の脂質及びタンパク質で構成されていることを示し、HA 及び FA とは異なる分画であることを明らかにした。

Chapter 3: Binding characteristics and dissociation kinetics for iron (II) complexes with seawater extractable organic matter and humic substances in a compost

第 3 章では、SWEOM の Fe(II)との錯形成能と Fe(II)-SWEOM 錯体の解離反応に対する速度論的検討を、*o*-フェナントロリン (OP) を用いた Fe(II)の比色定量法により、Fe(II)が水酸化物にならず OP が発色する酢酸緩衝液中 (pH 3.6) で行った。この方法では、OP が Fe(II)に対して非常に強い親和性があるので、SWEOM を配位子交換し、その結果精製した赤橙色の Fe(II)-OP 錯体の吸光度の時間変化をモニタリングすることにより、Fe(II)-SWEOM 錯体の解離速度を評価した。解離速度定数の温度依存性について検討を

行い、活性錯合体理論から演繹されるアイリングの式にのっとり、活性化エンタルピー ($\Delta H^\ddagger$)、エントロピー ($\Delta S^\ddagger$) 及び自由エネルギー ($\Delta G^\ddagger$) を評価し、HA 及び FA 錯体との比較を行った。SWEOM は HA 及び FA に比べ錯化容量が小さいことが分かった。しかし Fe(II)-SWEOM の解離反応における $\Delta H^\ddagger$ は、HA 及び FA 錯体に比べ、低い値を示した。溶存している錯体鉄は、コンブに摂取される際に解離すると考えられる。従って、HA 及び FA 錯体よりも解離しやすい Fe(II)-SWEOM 錯体は、より生物利用性が高い傾向にあることが示唆された。

Chapter 4: Determination of labile Fe(II) complexes with seawater extractable organic matter under seawater condition based on the kinetics of ligand-exchange reactions with ferrozine

海水条件下での SWEOM の鉄との錯形成能は、海水中への溶存鉄供給の効果を検討する上で重要である。第 4 章では、海水条件 (pH 8、 $I = 0.7$) における Fe(II) に対する SWEOM の錯形成能の評価法について検討を行った。フェロジン (FZ) は Fe(II) に対して強い親和性を有し、Fe(II) と錯体形成し紫色を示す。Fe(II)-SWEOM 錯体は、FZ との配位子交換反応により Fe(II)-FZ を形成し紫色を示す。この反応による発色は、遊離の Fe(II) と FZ との反応に比べて遅延することが確認された。この特性を利用し、交換可能な錯体化学種の定量法を考案した。しかし、溶存酸素共存下で pH 8 の条件では、Fe(II) は容易に酸化され水酸化物を生成するため、正確な評価は困難であった。そこで、Fe(II) と錯形成しない還元剤の添加を試みた結果、アスコルビン酸が有効であることを見出した。この方法を用いて、交換可能な Fe(II)-SWEOM 錯体の条件安定度定数 ($\log K_b = 5.8 \sim 6.3$) と錯形成容量 ($900 \sim 1500 \mu\text{mol g}^{-1} \text{C}$) を評価し、海水条件においても SWEOM が鉄のキャリアーとして重要な役割を果たしていることを示すことが出来た。

Chapter 5: Bioavailability of iron complexed with seawater extractable organic matter: Effect on the gametogenesis for brown macro algae (*Laminaria japonica*)

第5章では、Fe-SWEOM 錯体の生物利用性を、北方生物圏フィールド科学センター 室蘭臨海実験所にて ASP₁₂ (Fe-free) 培地を用いて無菌培養されたマコンブ (*Laminaria Japonica*) の雌配偶体の成熟度により評価した。この実験では、比較のため Fe-エチレンジアミン錯体 (Fe-EDTA) 及び Fe-ヒドロキシベンジルエチレンジアミン錯体 (Fe-HBED) のような合成鉄キレートについても検討を行った。キレート剤を加えず鉄を添加した培地では成熟は見られなかった。これに対し、EDTA と鉄添加した培地では、80%前後の成熟度が得られた。しかし、鉄に対して EDTA 濃度を過剰に加えると、EDTA 濃度の増加に伴い成熟度は減少した。これらの結果は、EDTA 濃度の増加にともない、鉄が配偶体に摂取されにくくなることを示している。この結果から、配偶体への鉄摂取は、細胞膜上の鉄結合サイトと鉄-EDTA 錯体との配位子交換反応によるものと考えた。Fe-EDTA ($\log K = 25$) より安定な錯体である Fe-HBED ($\log K = 39$) を用いると、全く成熟が見られなくなった。これは、Fe-HBED の安定度が高すぎるため、配位子交換反応が起こらず、配偶体が溶存鉄を摂取出来なかったことに起因する。一方、SWEOM と鉄を添加した培地では、分子量 500Da 以上の NMW で 50 %程度、分子量 500Da 未満の LMW を用いた場合で 30~70%程度の成熟度が得られた。錯体鉄濃度と各キレート剤添加時における成熟度の関係から、特に Fe-LMW は Fe-EDTA よりも、より低い濃度で高い成熟度が得られることが分かった。この結果より、Fe-SWEOM 錯体が生物利用可能な化学種であり、他のキレート剤と比較して高い生物利用性を有することを示した。

Chapter 6: Summary

第6章は結論として、SWEOM の構造的特色、鉄との錯形成能及びその生物利用背について総括し、藻場再生技術にて重要な役割を担っていることを示した。