

平成 22 年 6 月 10 日現在

研究種目：基盤研究(A)
 研究期間：2006～2009
 課題番号：18201005
 研究課題名(和文) 硝酸態窒素を蓄積するイオウ酸化細菌による堆積物からの硫化物の溶出抑制機構
 研究課題名(英文) Preventing mechanism of hydrogen sulphide emission from sediment to water by nitrate-accumulating sulphur oxidizing bacteria
 研究代表者
 左山 幹雄 (SAYAMA MIKIO)
 独立行政法人産業技術総合研究所・環境管理技術研究部門・主任研究員
 研究者番号：20344145

研究成果の概要(和文)：青潮の原因である堆積物からの溶存硫化物(H_2S)溶出抑制機構について研究を行い、既知の過程(酸化鉄による化学的酸化とイオウ酸化細菌による生物学的酸化)以外に、これまで全く未知の生物電気化学的過程が存在していること、そしてそのような過程が東京湾湾中央部において量的に重要な役割を果たしている時季のあることを明らかにした。自然環境下において空間的に隔たっている酸化還元反応が電流により共役していることを解明した研究成果は、生物地球化学及び微生物生態学のパラダイムに対して革新的変更を迫るものである。

研究成果の概要(英文)：Preventing mechanism of hydrogen sulphide (H_2S) emission from sediment to water by nitrate-accumulating sulphur oxidizing bacteria (*Beggiatoa*) was investigated in Tokyo Bay, and it was discovered that bioelectrochemical reactions with oxygen (O_2) are playing important role in addition to chemical reactions with iron oxides ($FeOOH$) and biological reactions with nitrate (NO_3^-) by *Beggiatoa*. Electric communication between distant chemical and biological processes in nature adds an entirely new dimension to our understanding of biogeochemistry and microbial ecology.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	12,400,000	3,720,000	16,120,000
2007年度	13,000,000	3,900,000	16,900,000
2008年度	7,900,000	2,370,000	10,270,000
2009年度	6,400,000	1,920,000	8,320,000
年度			
総計	39,700,000	11,910,000	51,610,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：環境学・環境動態解析

キーワード：青潮・堆積物・硫化物・イオウ酸化細菌・硝酸態窒素・物質循環

1. 研究開始当初の背景

(1) 富栄養化が進行している東京湾等の半閉鎖性内湾では、底層水の貧酸素化は広範囲にわたり慢性化しており、青潮の頻繁な発生が

依然として続いている。青潮の原因は堆積物からの溶存硫化物 ($H_2S = H_2S + HS^- + S^{2-}$) の溶出であり、 H_2S の溶出抑制機構としてこれまで最も重要であると考えられてきたの

は酸化鉄(Fe(III))によるH₂Sの化学的酸化であった(図1)。イオウ酸化細菌による

H₂Sの生物学的酸化も知られていたが、H₂S溶出抑制機構としては重要ではないと考えられてきた。これは、通常のイオウ酸化細菌は酸素(O₂)を用いてH₂Sを酸化しているため、O₂とH₂Sが共存している界面にしか生息することができず、またH₂Sの溶出が問題となる貧酸素環境下ではO₂によるH₂Sの直接酸化は量的には重要でないと考えられたからである。

(2)しかし底層水の貧酸素化が進行している東京湾の堆積物表層には、細胞内に硝酸態窒素(NO₃⁻)を高濃度(~2,000 mM)に蓄積するイオウ酸化細菌(Nitrate Accumulating Sulfur Oxidizing Bacteria, NA-SOB)が、広範囲にわたり高密度に生息していることが明らかとなった(Sayama, 2001)。NA-SOBは、細胞内に蓄積したNO₃⁻を用いてH₂Sを効率良く酸化し、H₂Sが存在しない層を堆積物表層に形成することができる(Sayama et al., 2005)。この知見により、NA-SOBが堆積物からのH₂Sの溶出抑制に量的にも大きく寄与している可能性が示唆された(図1)。

(3)またFe(III)によるH₂Sの溶出抑制が継続して機能するためには、Fe(III)が還元層に継続的に供給される必要がある。しかしFe(III)及び硫化鉄(FeS、FeS₂)は不溶性なので、Fe(III)が還元層に供給されるためには、堆積物粒子の上下混合が必要である。沿岸域におけるそのような上下混合過程として考えられるのは、大型底生動物による生物攪拌及び波浪等による物理的攪乱である。しかし底層水が貧~無酸素化しH₂Sの溶出が問題となるような環境では、堆積物粒子の上下混合が可能な大型底生動物の活発な活動や物理的攪乱が起きる可能性は低い。したがって、堆積物からH₂Sが溶出するような環境が一度形成されてしまうと、Fe(III)によるH₂Sの溶出抑制機構は台風等の大きな環境攪乱が起きるまでは機能することができない。一方NA-SOBによるH₂Sの溶出抑制は、堆積物粒子の上下混合を必要とせず、底層水中にNO₃⁻が少しでも供給されれば機能することができる。そしてNA-SOBによるH₂S酸化により、H₂Sが存在しない底生動物の生息に好適な環境が堆積物表層に形成され、大型底生動物による活発な生物攪拌が回復し、Fe(III)によるH₂Sの溶出抑制機構が再度機能し始めることが可能となる。すなわちNA-SOBによるH₂Sの酸化は、Fe(III)によるH₂Sの溶出抑制機構が機能するためにも重要な役割を果たしていると考えられた。

(4)したがって、NA-SOBによるH₂Sの堆積物からの溶出抑制機構の解明は、これまで直接的な対策が不可能であると考えられてきた底層水貧酸素化及び青潮を防止するため

の基盤となる情報であると考えられた。

2. 研究の目的

本研究では、NA-SOBによる堆積物からのH₂Sの溶出抑制機構を定量的に解明することを目的とした。

3. 研究の方法

青潮が頻発している東京湾を対象海域として、現場調査及び培養実験系により以下の研究を行った。

(1)現場調査

NA-SOBの動態と堆積物からのH₂Sの溶出との関係

堆積物表層におけるNA-SOBの生息状況と、H₂Sの濃度プロファイル及び堆積物からのH₂Sの溶出との関係を現場調査により明らかにした。

NA-SOBとFe循環との関係

H₂Sの動態の支配要因であると考えられている鉄(Fe)循環についての情報を得るために、堆積物中のFeの形態別(FeOOH、Fe²⁺、FeS、FeS₂)の濃度プロファイルを測定し、NA-SOB及びH₂Sの動態との関係を明らかにした。

(2)培養実験系

H₂Sの溶出に対するNA-SOBの影響の解析

NA-SOBがH₂Sの濃度プロファイル及びH₂Sの溶出に与える影響を、堆積物直上水の酸素(O₂)及びNO₃⁻濃度の影響とともに実験的に解析し、調節要因を明らかにした。

NA-SOBによるH₂Sの酸化過程の解析

H₂S、NO₃⁻、及びO₂の動態に係る水-堆積物間のフラックス、濃度プロファイル及び代謝速度等を測定し、mass balance等からNA-SOBによるH₂Sの酸化過程を解析した。

NA-SOBがFe循環に与える影響の解析

NA-SOBがFe循環に影響を与えることにより間接的にH₂Sの酸化を促進している可能性について、堆積物中のFeの形態別の濃度プロファイルを測定することにより解析を行った。

4. 研究成果

富栄養化が進行している内湾堆積物表層におけるH₂S酸化過程としてこれまで重要であると考えられてきたのは、化学的酸化と生物学的酸化であった(図1)。しかし本研究により、H₂S酸化過程として、これまで全く未知の生物電気化学的過程(図2)が存在していること、そしてそのような生物電気化学的H₂S酸化過程が東京湾湾央部において量的に重要な役割を果たしている時季のあることが明らかとなった。本研究により解明された東京湾湾央部におけるH₂S溶出抑制機構をまとめると、以下ようになる。

1. 化学的過程
 - 酸化鉄 (Fe()) による H₂S の化学的酸化 (固定)
2. 生物学的過程
 - イオウ酸化細菌による H₂S の生物学的酸化
 - 2.1 酸素(O₂)を用いた H₂S の生物学的酸化
 - 2.2 硝酸態窒素(NO₃⁻)を用いた H₂S の生物学的酸化 (Beggiatoa)
3. 生物電気化学的過程
 - 微生物が関与する生物電気化学的過程による H₂S の酸化

東京湾湾中央部では、これら3つの過程は相互に影響しあっており、季節による環境条件の変化に対応してその重要性を動的に変化させながら、堆積物からの H₂S 溶出抑制機構として機能していると考えられる。しかしこれら3つの過程の相互関係、及びその季節変動を調節している環境要因や調節機構については今後の研究課題である。

ここでは、本研究において新しく発見した、微生物が関与する生物電気化学的過程による H₂S 酸化について説明する。

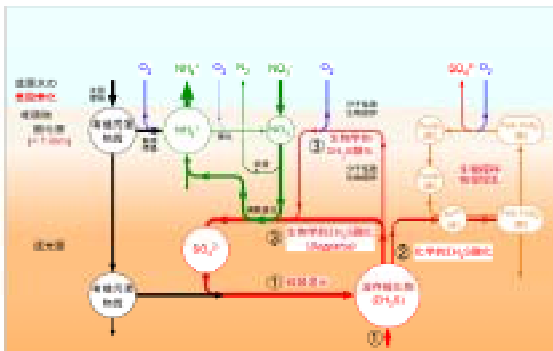


図1 堆積物中での H₂S と O₂ の酸化還元過程

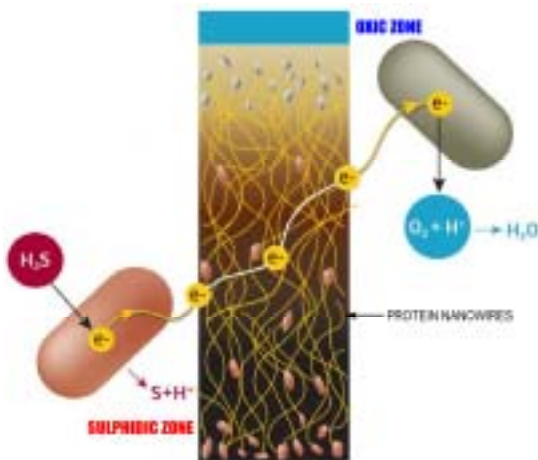


図2 微生物が関与する生物電気化学的過程による H₂S の酸化(空間的に隔たっている酸化還元反応の電流による共役)

(1)堆積物中での H₂S と O₂ の酸化還元過程の実験的解析結果

富栄養化海域より採取した堆積物を用いて実験堆積物コアを作製し、嫌気条件下で前培養を行うことにより既知の H₂S 酸化過程(図1参照)が機能するための要因(酸化マンガン(Mn())・酸化鉄(Fe())・細胞内に NO₃⁻ を蓄積するイオウ酸化細菌(*Beggiatoa*)・大型底生動物による生物攪拌・物理的攪乱)を実験堆積物コアから完全に除去した。

このように調整した実験堆積物コアについて、好気条件下(空気で曝気)または嫌気条件下(Ar-CO₂ガスで曝気)でさらに1ヶ月間本培養を行い、培養後それぞれの実験堆積物コアについて O₂・H₂S・pH・形態別の鉄・間隙水中の NO₃⁻・*Beggiatoa* の細胞内に蓄積されている NO₃⁻ の各鉛直濃度プロファイルを測定した。

実験堆積物コアを好気条件下で培養すると、厚さ 15-20 mm の suboxic zone (O₂ と H₂S がともに存在しない層)が堆積物中に形成された(図3a 及び e)。そしてその場合には、酸化層の下端に、顕著な pH のピークが形成された(図3b, f 及び i)。酸化層の下端での pH のピークは、この部位で O₂ と反応して H⁺ が消費される反応が活発に進行していることを示している。しかし、沿岸域の堆積物表面の酸化層と suboxic zone との界面において進行していると考えられる生物地球化学反応で、O₂ と反応して H⁺ が消費される反応はこれまで知られていない。ただひとつの可能性として考えられるのは、電気化学的過程による O₂ の還元 (O₂ + 4e⁻ + 4H⁺ → 2H₂O) である。

さらに好気条件下で培養している実験堆積物コアの直上水中の O₂ 濃度を変動させると、厚さ 15-20 mm の suboxic zone を隔てて、その下層の H₂S 濃度が1時間以内に変動するという結果が得られた(図4)。この結果は、H₂S に対する O₂ の影響が、堆積物中の溶存物質の分子拡散により媒介されている可能性を否定している。そして図4に示した結果は、電子(e⁻)が移動できる導電性の構造が堆積物中に存在しており、そのネットワークを通じた e⁻ の移動により H₂S 酸化反応と O₂ 還元反応が共役している(空間的に隔たっている H₂S 酸化反応と O₂ 還元反応が電流により共役している)ことを仮定することにより説明することができる(図5)。

(2)微生物が関与する生物電気化学的過程による H₂S の酸化機構の発見の重要性

堆積物における物質循環過程は段階的に進行する酸化還元反応で構成されており、電子供与体と電子受容体間の電子の授受(酸化還元反応の共役)は、両者の直接的接触による化学反応として、あるいは細胞内(細胞膜)

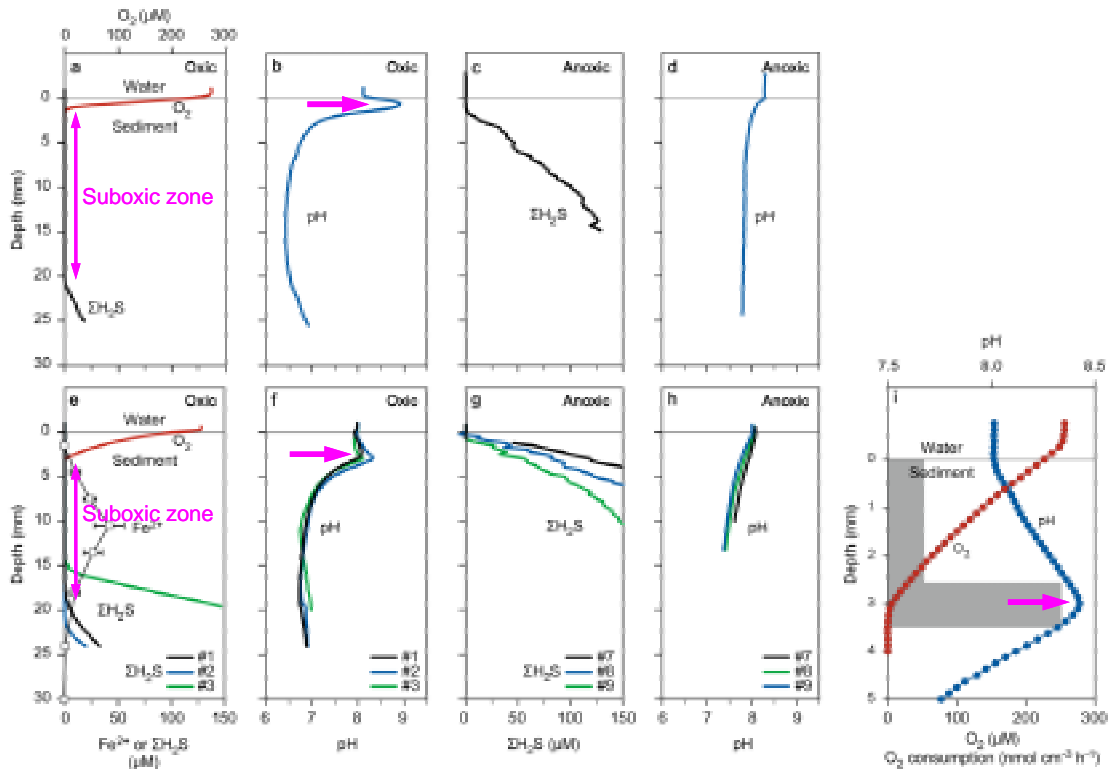


図3 好気条件下 (a, b, e, f, i) 及び嫌気条件下 (c, d, g, h) で培養した実験堆積物コアについて測定した $O_2 \cdot H_2S \cdot pH$ の鉛直濃度プロファイル。a-d、富栄養化の進行が著しく堆積物の有機物含量が高い海域から採取した堆積物を用いて構築した実験堆積物コアについての測定結果。e-i、富栄養化が進行しておらず堆積物の有機物含量があまり高くない海域から採取した堆積物を用いて構築した実験堆積物コアについての測定結果。i、堆積物表層 5 mm における pH (青) O_2 (赤) 及び酸素消費速度 (灰色) の鉛直プロファイル

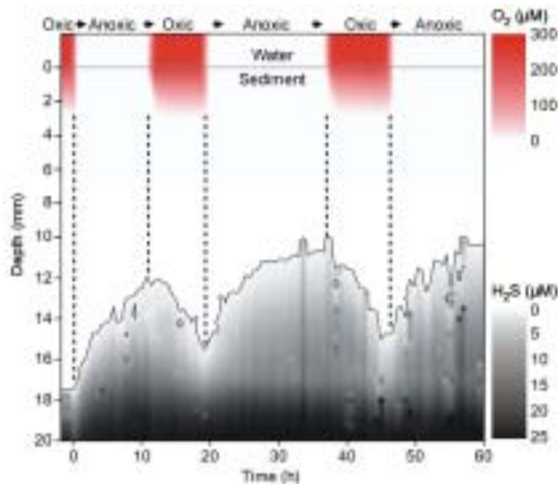


図4 O_2 以外の H_2S 酸化過程が機能するための既知の要因 (図1参照) を除去した堆積物を用いて構築した実験堆積物コアについて、堆積物直上水の O_2 濃度を変動させた場合の H_2S 濃度の鉛直プロファイルの時間変動

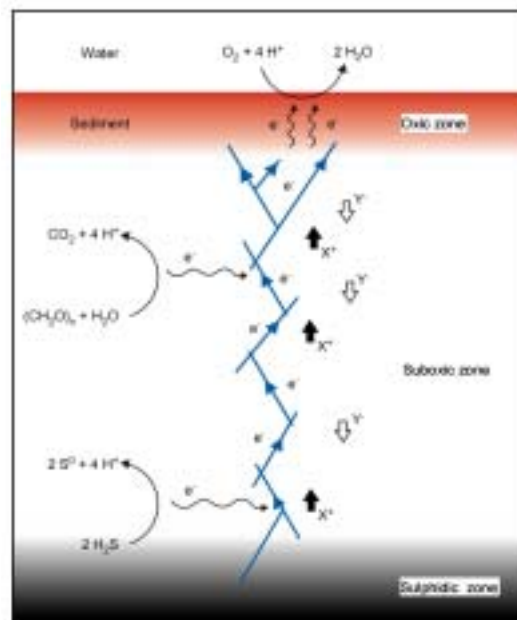


図5 堆積物における生物電気化学的過程による H_2S の酸化

子供与体及び電子受容体と直接接触する必
の電子伝達系を通じた生物反応として行わ
れていると考えられてきた。そして微生物に
よる酸化還元反応では、微生物は細胞外の電
要があると考えられてきた。しかし堆積物中
での H_2S と O_2 の酸化還元過程(図1)を実
験的に解析した結果、空間的に隔たっている
 H_2S 酸化反応と O_2 還元反応が電流により共役
していることが示された(図2)。自然環境
下において空間的に隔たっている酸化還元
反応が電流により共役していることを解明
した研究成果は、生物地球化学及び微生物生
態学のパラダイムに対して革新的変更を迫
るものである。

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1件)

Nielsen, L. P., N. Risgaard-Petersen,
H. Fossing, P.B. Christensen, M.
Sayama, Electric currents couple
spatially separated biogeochemical
processes in marine sediment, *Nature*,
査読有, 463, 2010, pp. 1071-1074

[学会発表](計13件)

Risgaard-Petersen, N., H. Fossing,
P.B. Christensen, M. Sayama, L. P.
Nielsen, Extracellular Electron
Transport Coupling Biogeochemical
Processes Centimeters Apart,
*Goldschmidt 2010, Earth, Energy and
the Environment*, June 2010, USA.

Risgaard-Petersen, N., L. P. Nielsen,
H. Fossing, P.B. Christensen, M.
Sayama, Instant coupling of sulfide
oxidation and oxygen reduction over
centimeter distance indicates
electric currents in marine sediments,
*American Society of Limnology and
Oceanography 2010 Summer meeting*,
June 2010, USA.

Nielsen, L. P., N. Risgaard-Petersen,
H. Fossing, P.B. Christensen, 左山
幹雄, 堆積物における生物電気化学的過
程による溶存硫化物の酸化、*日本地球惑
星科学連合 2010 年大会*, 2010 年 5 月、
千葉。

Nielsen, L. P., N. Risgaard-Petersen,
H. Fossing, P.B. Christensen, M.
Sayama, Electric shortcuts of
biogeochemical processes, *European
Geosciences Union, General Assembly
2010*, May 2010, Austria.

Nielsen, L. P., N. Risgaard-Petersen,

H. Fossing, P.B. Christensen, 左山
幹雄, 堆積物における生物電気化学的過
程による溶存硫化物の酸化、*2010 年度日
本海洋学会春季大会*, 2010 年 3 月、東京。
左山 幹雄, 富栄養化内湾堆積物からの
硫化物の溶出抑制機構、*第 7 回環境研究
機関連絡会成果発表会*, 2009 年 11 月、
東京。

左山 幹雄, 東京湾湾央部堆積物表層に
おける溶存硫化物の酸化過程、*2009 年度
日本海洋学会秋季大会*, 2009 年 9 月、京
都。

左山 幹雄, 富栄養化内湾堆積物からの
硫化物の溶出抑制機構、*2008 年度日本海
洋学会秋季大会*, 2008 年 9 月、広島。

Nielsen, L. P., N. Risgaard-Petersen,
H. Fossing, P.B. Christensen, M.
Sayama, Electric currents in marine
sediment, 12th International
symposium on microbial ecology,
August 2008, Australia.

左山 幹雄, 富栄養化内湾堆積物からの
硫化物の溶出抑制機構、*2008 年度産業技
術総合研究所 環境・エネルギーシンポ
ジウム*, 2008 年 6 月、東京。

左山 幹雄, 微生物機能を活用した硝酸
性窒素による硫化物のオンサイト浄化
による青潮対策技術、*産業技術総合研
究所環境管理研究部門シンポジウム*, 2007
年 5 月、東京。

Sayama, M., Interactions between
Beggiatoa and Environments; Results
from field investigation and
experiments, *Invitational Seminar
Series at the Max Planck Institute for
Marine Microbiology*, November 2006,
Germany.

Sayama, M., Importance of nitrate
accumulating Beggiatoa as biological
barrier against sulfide emission from
sediment to water in eutrophicated
coastal marine environments,
*International Symposium on Research
and Management of Eutrophication in
Coastal Ecosystems*, June 2006,
Denmark.

[その他]

読売新聞、「海洋堆積物中で空間的に隔
たっている生物地球科学的過程の電流
による共役」の研究論文に関する取材、
左山 幹雄, 2010/02/23

日本経済新聞社、「海洋堆積物中で空間
的に隔たっている生物地球科学的過程
の電流による共役」の研究論文に関する
取材、左山 幹雄, 2010/02/24

6 . 研究組織

(1)研究代表者

左山 幹雄 (SAYAMA MIKIO)

独立行政法人産業技術総合研究所・環境管
理技術研究部門・主任研究員

研究者番号：20344145