

II-240 クロレラによる塩化オニ水銀と メチル水銀の濃縮

茨城県鹿島臨海工業地帯建設事務所 正員 ph.D. 松井 三郎

1 まえがき 水銀の食物連鎖過程における濃縮は、水質汚染を検討する場合、きわめて重要な問題を提起している。陸上、水中の諸生物中における水銀濃度はすでに、各国で測定、検討されてきているが、水銀の食物連鎖過程における移行現象を今後さらに突進して研究されねばならないであろう。筆者は、淡水環境に普遍的に分布する植物性プランクトン的一种 *Chlorella pyrenoidosa* を利用して無機水銀 ($HgCl_2$) と有機水銀 (CH_3HgCl) の濃縮を研究した。植物性プランクトンは primary producer として、食物連鎖の第一段階に位置すること、また無機環境から有機物を光合成する生物として環境条件の変化が大きく濃縮に影響を与えるものと考えられる。本研究では、水環境因子を変化させることによって濃縮に与える影響を実験的にたしかめるとともに、従来一般に使われてきている“濃縮係数”の概念についてクロレラの水銀濃縮を例として検討し若干の結論を得たので発表する。¹⁾

2 実験方法。クロレラは回分式に純粋培養し、実験中に細菌による汚染は厳密に注意して防いだ。使用した放射能性トレーサーは、塩化オニ水銀 ($^{203}HgCl_2$) (Specific activity 2.24 mc/mg) とメチル水銀 ($^{203}CH_3HgCl$) (Specific activity 18 mc/g) で半減期は 46.9 日、崩壊は γ 線 (0.279 Mev) β 線 (0.208 Mev) による。クロレラ培養に使用した水質は、

表 1 人工培養水の内容

均時淡水水質に似してつ く。表 1 参照) この合成水は Hutner の 藻類培養水をさなう、 microelements の要求を	$NaHCO_3$	280.0 mg/l	microelements	
	Na_2SiO_3	74.6 "	$Co(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$	49.50 mg/l
	NH_4NO_3	60.0 "	$MnCl_2$	9.15 "
	KNO_3	25.8 "	$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	8.05 "
	$CaCl_2$	12.3 "	MoO_3	7.16 "
	H_3BO_3	11.4 "	$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	1.70 "
	$MgCl_2$	9.4 "		
	$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	5.3 "		

みたしたが、EDTA を使用しないため十分な容積が必要となつた。pH の調節は空気を定期的に注入することで行ない、通常は平均して 8.2 付近になるようにした。実験は 1 l の滅菌フラスコを使い 500 ml の滅菌安定化した合成水に種のクロレラを注入して開始した。光量は 400 ft-candle を通常与えた。温度は、 25 ± 1 に調節され、magnetic stirrer で実験期間中完全混合を行なった。クロレラの増殖は、Baush & Lomb の Spectronic 20 で吸光分析法 (波長 480 millimicron) により測定した。クロレラの乾燥重量と吸光度の間に相関係数 $r = 0.993$ のような結果を得た。クロレラと培養液の分離は、遠心分離器 (Universal UV) (1790 XG) で 5 分間行ない上澄液とクロレラをアルミナのプランチエットに移した。放射能の測定は低バックグラウンド β 線測定装置 (Sharp Laboratories, Inc. LB100 Lowbeta) で行なった。塩化オニ水銀、メチル水銀とも蒸発性を持っているので、サレアルの準備に注意が必要である。プランチエットに移されたサンプルを NaOH で pH を上昇させ、 Na_2S 溶液を加えて未分線と熱処理すると、塩化オニ水銀、メチル水銀とも硫化水銀の安定した形に導くことができ蒸発を防ぐことを行なう。3 塩化オニ水銀の濃縮 無機水銀 ($HgCl_2$) のクロレラによる濃縮実験結果は、表 2、図 1 に示す。実験開始後 15 分で相当量の吸着があり、その後 10 時間かけて吸収を含めた濃

縮を完了していると思われる。(以後の実験では濃縮完了の時間を10時間とした) フロレラ比放射エネルギーが最大値に達したのち、フロレラの増殖とともに、フロレラ比放射エネルギーが減少しはじめ48時間つ

表2 無機水銀($HgCl_2$)のフロレラによる濃縮

項 目	時 間							
	15 min	40 min	1 hr	4 hr	10 hr	24 hr	34 hr	48 hr
総放射能量 (dpm/ml)	781±31	779±31	780±29	747±29	670±29	615±27	602±27	578±25
(%)	100	99.5	96.0	95.7	85.8	78.3	77.0	74.0
溶液相中 (dpm/ml)	680±29	630±29	600±27	567±27	445±24	380±22	380±22	330±20
の放射能量 (%)	87.2	80.6	76.8	72.3	57.0	48.6	48.6	47.3
フロレラ中 (dpm/ml)	100±7	130±8	157±8	186±9	225±10	225±10	226±10	242±11
の放射能量 (%)	13.0	16.5	20.4	23.9	28.8	28.8	28.9	31.0
フロレラ濃度 (mg/l)	25.5	25.5	28.0	28.5	30.0	34.5	50.5	93.0
フロレラ比放射 (dpm/mg)	3.92	5.10	5.60	6.55	7.50	6.51	4.48	2.61
濃縮係数 $\times 10^3$	6.03	8.10	9.35	11.6	16.9	17.1	11.8	7.90

には、投入した水銀のうち約31%が全フロレラ比濃縮され、約47%が溶液相中に残留し、約26%が蒸気吸着により系外に出ていた。また濃縮係数に着目しても10時間から24時間で最高値に達しその後増殖とともに減少することが示されている。このことは、フロレラが増殖にともなって、より水銀を濃縮していくなんらかの細胞メカニズムを働かせているのかどうかを含めた今後の検討が必要である。別の実験で光量を200ft-Candleにした場合と400ft-Candleにした場合の濃縮を調べたところ、フロレラ比放射エネルギーが最大値にいたるまでに両者の間に差異はなく、そのうち増殖量の差異から、フロレラ比放射エネルギー濃縮係数において、光量の多いほどそれらの値が減少が速かった。また担体水銀濃度を0.10ppm、0.05ppmの条件下で濃縮させた場合、担体水銀濃度が高いほど、フロレラ比放射エネルギー濃縮係数ともに高くなる結果を得た。またフロレラ濃度も濃縮係数に影響を与えていることが確認された(図-2参照)。 pHの変化が、濃縮に与える影響と

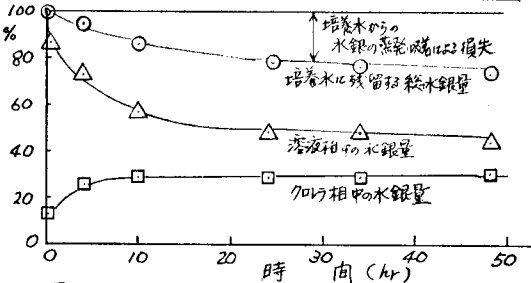


図1 無機水銀($HgCl_2$)の濃縮経過

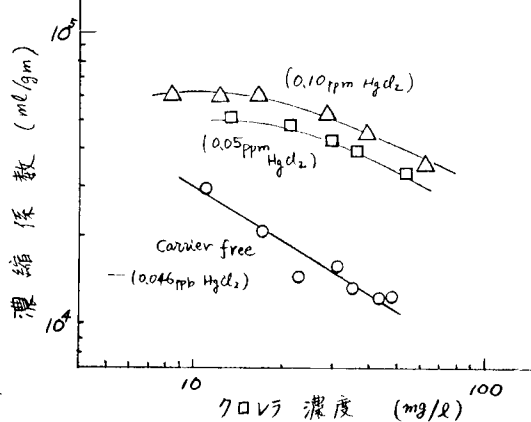


図2 担体水銀濃度の濃縮係数に与える影響

表3 pHの無機水銀濃縮に与える影響

項 目	培 養 標 本 号			
	1	2	3	4
実験開始 pH	4.8	6.0	7.0	8.0
実験最終 pH	5.6	6.7	7.6	8.2
溶液相中の放射エネルギー (dpm/ml)	97±11	122±14	186±15	218±17
フロレラ相中の放射エネルギー (dpm/ml)	217±17	152±14	128±13	96±11
最初のフロレラ濃度 (mg/l)	7.0	7.0	7.0	7.0
最終のフロレラ濃度 (mg/l)	10.5	10.0	9.5	10.0
フロレラ比放射エネルギー (dpm/mg) $\times 10^3$	20.6	15.2	13.5	9.6
濃縮係数 (ml/gm) $\times 10^3$	211.0	94.0	72.6	49.1

量、濃縮係数が高くなる(表-3参照)。次に共存陽イオン(2価)の影響について、 Ca^{++} と Mg^{++} を使って調

直した。この場合 Mg^{++} 濃度を

表4 Ca^{++} と Mg^{++} イオンの無機水銀濃縮に与える影響

2.47ppmから100ppmに変化させても濃縮に影響は認められないが、 Ca^{++} 濃度を450ppmから450ppmに変化させた場合あきらかに濃縮が高まることを示した。(表4参照)

4 メチル水銀の濃縮

メチル水銀のクロレラによる濃縮実験結果は、表5、図3に示す。塩化オニ水銀の実験結果と比較して、蒸発量が大きいこと、クロレラによる濃縮割合が大きく溶液相中に残留している水銀が非常に少なくなるこ

表5 メチル水銀のクロレラによる濃縮

項目	濃度	時 間									
		15min	40min	1hr	3hrs	5hrs	10hrs	24hrs	34hrs	48hrs	72hrs
最終 pH		8.50	8.52	8.50	8.50	8.50	8.50	8.50	8.50	8.50	8.50
溶液相中の放射能 (dpm/ml)		184±15	174±15	145±14	130±13	167±15	178±15				
クロレラ相中の放射能 (dpm/ml)		42±8	60±9	89±10	104±11	59±8	48±8				
クロレラ濃度 (mg/l)		19.4	18.5	18.5	18.5	20.0	19.0				
クロレラ放射能 (dpm/mg) ×10 ³		2.16	3.24	4.81	5.62	2.95	2.53				
濃縮係数 (ml/gm) ×10 ³		11.8	18.6	33.1	43.1	17.7	14.2				

が違いとしてあげられる。濃縮係数は塩化水銀の場合より約50倍高くなるが蒸発量が多いことから濃縮係数を利用することに問題がある。クロレラ相中の水銀量が実験開始後10時間して最大値に達した後減少している英は、注目に値する。クロレラがメチル水銀を分解するかどうか検討できなかったが、今後追求されるべきであろう。クロレラ比放射能が実験開始後10時間で最大値に達する英は、塩化オニ水銀の場合と一致する英である。クロレラが増殖し始めると、クロレラ比放射

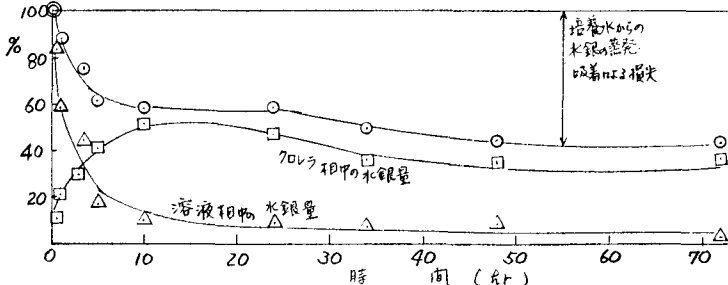


図3 メチル水銀の濃縮経過

表6 pHのメチル水銀濃縮に与える影響

項目	培 養 槽 番 号			
	1	2	3	4
pH	4.9	7.0	8.25	9.0
総放射能 (dpm/ml)	305±21	308±21	300±21	287±21
溶液相中の放射能 (dpm/ml)	98±13	81±12	70±12	48±11
クロレラ相中の放射能 (dpm/ml)	173±16	193±17	206±18	231±19
クロレラ濃度 (mg/l)	15.0	15.0	15.0	15.0
クロレラ放射能 (dpm/mg) ×10 ³	11.5	12.8	13.75	15.4

能量やはり減少し始める。別の実験で、メチル水銀濃度が濃縮に影響を与えるかどうか実験を行なったが、メチル水銀濃度を上げると毒性効果によりクロレラの成長を阻害し始めること、メチル水銀の蒸発量が大きいこと等により、厳密な解析ができなかった。pHの濃縮に与える影響は、表6に示す。塩化オニ水銀の場合とは違、pHが上るとともに若干濃縮が高まる結果を示した。共存陽イオン(1価)の影響と Na^{+} と K^{+} を使って調べたが、淡水河川の Na^{+} 、 K^{+} 濃度範囲では、影響がみられなかった。5. 濃縮曲線と濃縮係数の関係 以上の結果から言えることは、濃縮係数、クロレ

ラ比放射能量が、生物存在量、水銀濃度、pH、共存陽イオン等さまざまな環境因子によって変化することが推定される。一方、放射性物質の水中植物による濃縮を Freundlich の等温吸着式を使って近似表現する試みが行なわれている⁵⁾。Freundlich の吸着式は、比較的狭い平衡濃度範囲で直線による近似

$$\frac{x}{m} = kC^n \quad (1)$$

x : 濃縮された物質質量, m : 濃縮した生物量
 C : 濃縮平衡時の水中物質濃度
 k, n : 係数

を行なうものである。放射性物質の濃縮実験例から n 値が 1.0 にならない場合があることを報告されている。⁶⁾ 濃縮係数は、Polikarpov⁷⁾ の定義に従うと、

$$K = \frac{x/m}{C} \quad (2)$$

となり、(1) と (2) 式を関連させると $K = \frac{x/m}{C} = kC^{n-1}$ となる。 n の値が 1.0 でない場合濃縮係数は、平衡時水質濃度の函数になることがわかる。そこで水銀の実験例から検討して図 4 に示

するような濃縮曲線を描くことができる。この時対数目盛で平衡濃度の範囲を広くとてある。従って Freundlich の吸着式は、濃縮曲線の狭い範囲を直線近似することになる。そこで、曲線の勾配が大きく Freundlich の近似式で $n < 1$ になる範囲をオ一段階、さらに勾配が小さくなり $n = 1$ の範囲をオ二段階、そして $n > 1$ の範囲をオ三段階に分類することができる。濃縮係数が平衡濃度、生物存在量等の因子に無関係に一定の値

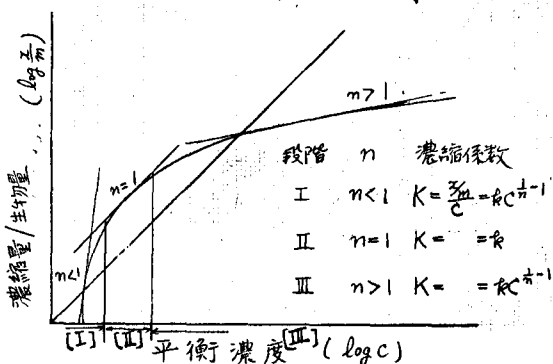


図 4 濃縮曲線の三段階

をとけるのは、オ二段階の範囲内であることがわかる。この場合濃縮係数 K と Freundlich 吸着式の係数 k が一致する。濃縮される物質、濃縮する生物の種類等によって、図 4 の濃縮曲線の型は変化すると考えられる。無機水銀とメチル水銀のクロレラによる濃縮について図 4 の表現をとった場合（詳述は講演時行なう）オ一段階に入ることが判断された。従って濃縮係数は一定でなく、さまざまな環境因子によって変化することがわかった。従来の「濃縮係数」の概念を利用する場合、ここに示したように濃縮曲線を描きどの段階に分類されるか確認しなければ、その取扱いにおいて混乱を導くものと考えられる。なをこの研究は、U.S. Atomic Energy Commission Contract AT(11-1)-490 の支持でなされた。

参考文献

- 1) Saburo Matsui and E.F. Glynn, "Radioactivity Transport in Water ... Biological Accumulation of Mercuric and Methyl mercury by *Chlorella pyrenoidosa*," Technical Report 22 to U.S. Atomic Energy Commission AT(11-1)-490, The Univ. of Texas (1972)
- 2) Stumm, W., and Morgan, J.J., Aquatic Chemistry, Wiley-Interscience, New York, N.Y. (1970)
- 3) Morgan, L.O., and Myers, J., "Biological Accumulation of Inorganic Materials by Algae," Technical Report to the Office of Naval Research, Contract N80nr7800, The Univ. of Texas (1960)
- 4) Whittemore, F.C., Organic Compounds of Mercury, The Chemical Catalog Company, Inc., New York, N.Y. (1966)
- 5) 6) Armstrong, N.E., and Glynn, E.F., "Radioactivity Transport in Water ... Numerical Solutions of Radionuclide Transport Equation and Role of Plants in Strontium-85 Transport," Technical Report 14 to U.S. Atomic Energy Commission, Contract AT(11-1)-490, The University of Texas (1967)
- 7) Polikarpov, Radioecology of Aquatic Organisms, Reinhold Book Division, New York, N.Y. (1966)