

ノニルフェノールの藻類への吸着と増殖に及ぼす影響

明星大学理工学研究科 学生会員 柳瀬敏晴
同 上 正会員 田中修三

1. 研究目的

工業用洗剤として使用される非イオン界面活性剤ノニルフェノールポリエトキシレート(NPnEO)が生分解を受けると、ノニルフェノール(NP)が生成されるが、近年、その NP が環境ホルモン作用を持つことがわかってきた。そこで、本研究では、都市河川中に微量濃度で存在している NP が、魚の餌となる可能性がある藻類にどの程度吸着・濃縮され、どのような影響を与えるのか調べた。具体的には、まず室内で NP の藻類への吸着実験を行い、つぎに NP の一般的毒性として、NP が藻類の増殖に及ぼす影響を調べる培養実験を行った。

2. 研究・分析方法

NP の藻類への吸着実験では、三角フラスコに藻類植種試料 (100mg SS/L) を 200ml 入れ、NP 標準液を 10 μ g/L になるように添加し、pH を 4、7、9 に調節した。NP を添加してから 0～30 分の間で段階的に採取し、GF ろ紙を用いて試料を吸引ろ過した後、ろ過残渣をソックスレー抽出し、ろ液は固相抽出を行い、窒素吹き付けで濃縮した。

NP の定量はガスクロマトグラフ - 質量分析計(GC/MS)を用いた内部標準法で行い、検量線は NP 標準液を 0.01～5.00mg/L の濃度で準備し、内標準物質としてナフタレン(濃度 0.25mg/L)を添加して作成した。各試料に対して、2～6 検体の分析を行い、結果はそれぞれ平均値で表した。

NP が藻類の増殖に及ぼす影響を調べる実験では、藻類培養用の培地として M11 培地 (M 培地) と Chu-10 改変培地 (C 培地) の 2 種類を準備し、三角フラスコに藻類植種試料を 500ml 入れ、NP 標準液を 0～100 μ g/L の間で 4 段階の濃度になるように添加し、それぞれ 3 週間の培養を行った。M 培地と C 培地は、両者ともほぼ同量の無機塩類とクエン酸を含み、さらに C 培地には微量元素とビタミンを加えてある。培養開始時に、培地に緩衝剤として *Bicine* を 500mg/L の濃度で添加した。分析項目としては pH、浮遊物質 (SS)、クロロフィル a を測定し、同時に経過日数ごとに顕微鏡観察も行った。クロロフィル a は、藻類中のマグネシウムを含んだ緑色色素をアセトンで抽出し、そのアセトン溶液の吸光度を測定して定量する方法である。

3. 結果と考察

3.1 NP の藻類への吸着

図 1 には、NP を 10 μ g/L になるように添加した系において、NP が藻類に吸着する状況を示した。培地の pH が 4 と 7 では概ね 10 分で吸着飽和に達し、pH9 では 30 分で同レベルに達した。pH によってわずかながら吸着量に差が見られ、最大吸着時に pH7 では 14.1 μ g/g D.S.、pH4 で 11.8 μ g/g D.S.、pH9 で 11.5 μ g/g D.S.であった。これは、多摩川で調査した河床付着物の NP 吸着量 2.7～20.7 (平均 9.8) μ g/g D.S.と比較すると、ほぼ同程度の吸着量であった。また、pH7 において、経過時間 360 分での吸着量を調べたところ、30 分での吸着量とあまり変わらず、経過時間が長くても NP の吸着量に大きな変化は見られなかった。

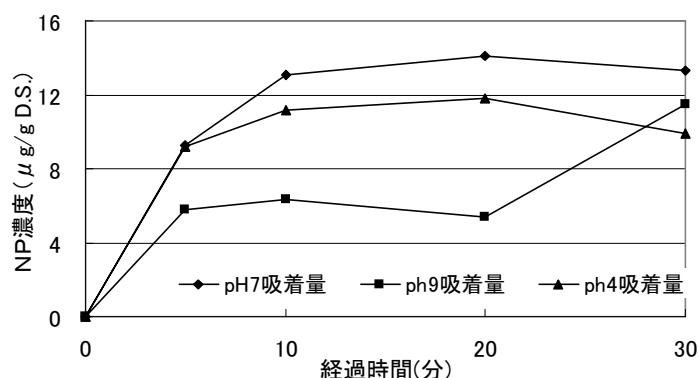


図 1.NP の藻類への吸着

3.2 NP が藻類増殖に及ぼす影響

図 2 には、NP が藻類増殖に及ぼす影響を調べる培養実験において、培地別の経過日数に対するクロロフィル a (Chl-a) の変化と SS の変化を示した。M 培地では、NP 濃度 100 μ g/L の系で、クロロフィル a が 8 日目以降になると減少傾向を示し、NP が藻類増殖に阻害を及ぼしていることがわかる。しかし、50 μ g/L 以下の系では対照系とあ

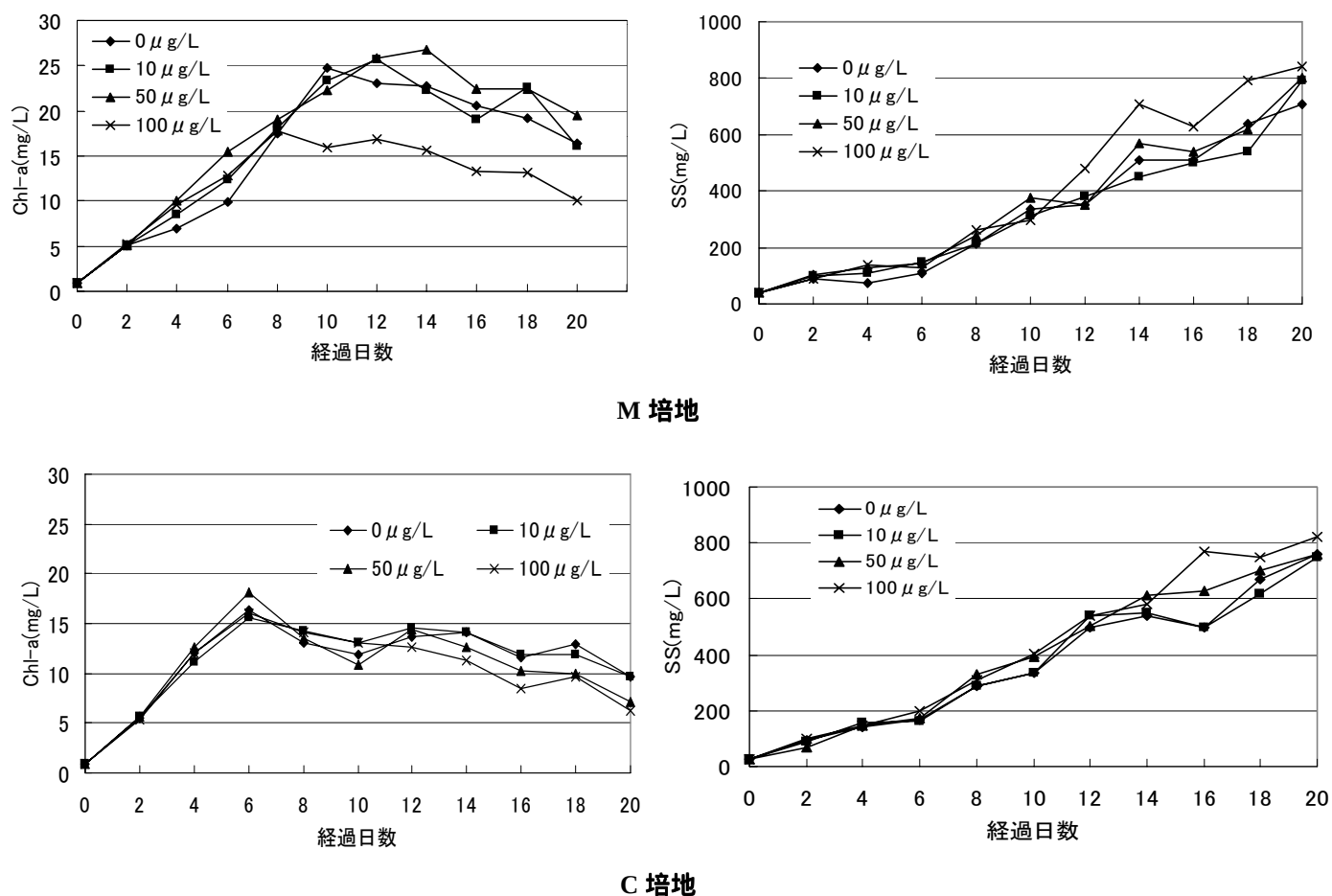


図 2. NP が藻類増殖に与える影響

まり変わりなく、NP による阻害作用は見られなかった。一方、SS は全体的に 10 日目まで対照系との相違はみられなかったが、NP 濃度 100µg/L の系において、10 日目以降 SS の増加が他の系より大きかった。すなわち、クロロフィル a が 8 日目以降減少傾向を示しているのに対して、SS は増加を続け、その増加量は他の系より多かった。これらの結果から、NP は藻類の増殖に阻害を及ぼすが、その他の微生物（細菌や原生動物）に対してはむしろ増殖を促す作用があることも考えられる。顕微鏡観察より、培養開始時では、藻類は個々に独立して存在し、細菌や原生動物もほとんど見られなかったが、培養開始 6 日目から糸状性の藻類が多く見られるようになり、8 日目にはそれを骨格とする生物フロック（細菌や原生動物によるフロック）が形成され始めた。さらに、10 日目以降には原生動物がより多く見られるようになった。

C 培地では、クロロフィル a・SS 共に何れの系においても対照系との大差はみられず、培地の種類によって NP の影響が異なることがわかった。M 培地では、NP 濃度 50µg/L 以下の系でクロロフィル a が 12 日目前後まで増加しているのに対し、C 培地では全ての系において 6 日目で増加が止まり、その後減少傾向を示した。

NP 濃度 50µg/L 以下の系では、クロロフィル a の最大値が M 培地の方が C 培地より約 1.5 倍多かったが、SS で比較をすると M 培地・C 培地共に増殖期間や増加量に大きな変化はみられなかった。

4. まとめ

NP の藻類への吸着は、pH4 と 7 で概ね 10 分で吸着飽和に達し、pH9 では 30 分で同レベルに達した。最大吸着時の NP 吸着量は、11.5 ~ 14.1µg/g D.S.であり、多摩川の河床付着物の平均吸着量 9.8µg/g D.S.とほぼ同程度だった。

NP が藻類増殖に及ぼす影響として、M 培地では NP 濃度 100µg/L の系において藻類の増殖に阻害が見られた。しかし、その間も SS は増加し、NP は藻類に阻害を及ぼすが、SS 中の細菌や原生動物にはむしろ増殖を促している可能性が示唆された。また、培地の違いによって NP の影響が異なり、C 培地では NP が藻類増殖に及ぼす阻害はとくに見られなかった。