

岩手大学工学部 学生会員 館紀昭 岩渕信毅 ○佐々木貴史  
岩手大学工学部 正会員 伊藤歩 相澤治郎 海田輝之

### 1. はじめに

近年、日本においても水生生物保全の重要性が認知され、各種金属及び有機化合物等が水生生物に及ぼす影響について数多く報告されている。AIは水質環境基準の項目ではないが、植物に対して成長阻害作用を有することが報告されている<sup>1)</sup>ことから、鉱山廃水処理水や酸性雨の土壤浸出水に含まれるAIイオンの河川生態系に及ぼす影響が懸念される。現在までに著者は、pH4.5程度の水質環境下に存在する重合核AIが藻類の増殖に悪影響を及ぼす可能性があることを報告している<sup>2)</sup>。

以上の背景から、本研究では中性域の水環境中で各種形態のAIが付着藻類の増殖にどのような影響を及ぼすのかを明らかにするために、pH6程度の弱酸性でAIの重合イオンと水酸化物の存在する環境下において藻類の培養を行い、Chlorophyll aの減少速度を基にAIの重合イオンの生態影響について検討した。

### 2. 試験材料及び試験方法

#### 2.1 試験材料

水溶液におけるAIの存在形態は、 $\text{Al}^{3+}$ や $\text{AlOH}^{2+}$ 等の単核AI画分(AI-a)、重合核AI画分(AI-b)及び $\text{Al(OH)}_n$ や他の不溶性AI塩等の非反応性AI画分(AI-c)の3つに分類される。AI-aとAI-bは各画分とFerron試薬との反応速度差を利用したFerron法によって定量することが可能であり、この方法により定量されたAI-b画分は<sup>27</sup>Al-NMR分光法によって同定された $\text{Al}_{13}$ ポリマーと等しいことが報告されている<sup>3)</sup>。AI-bはAI-a画分を含む酸性溶液をアルカリによってpH4.5程度までゆっくり中和することによって生成される。また、AI-bの生成量はAIイオンの加水分解反応時のAI-a濃度が高い場合に増大することが明らかとなっている。これに基づき、高濃度のAI-aを含む酸性溶液を加水分解してAI-b画分を多量に含む溶液を希釈して作成した溶液(Solution I)と、低濃度のAI-aを加水分解してAI-b画分の生成を抑えた溶液(Solution II)の2種類を全AI濃度が同じになるように作成した。試験中におけるpHの変化を防ぐために、緩衝剤として2-Morpholinoethanesulfonic acid(MES)を1.68mMとなるように添加した。なお、すべての試験液のpHは6とし、AIを添加しない試験液(Blank)も作成した。試験前に、ICP-MSとFerron法によって試験液の全AI濃度と各画分のAI濃度をそれぞれ分析した。

本試験で使用した供試藻類は、国立環境研究所微生物系統保存施設から入手した珪藻の*Nitzschia* sp.(NIES-487)とした。

#### 2.2 試験方法

上述の試験液に*Nitzschia* sp.の培養液を同量ずつ添加し、それらを培養することによってAI-b画分濃度の違いが藻類に与える影響について検討した。全AI濃度( $\text{Al}_T$ )を0、0.5、1、5、10、20mg/lの場合の6条件とし、同様の試験を3回行った。なお、AIイオンとリン酸イオン等との錯体形成を防ぐために栄養塩類は添加せず、試験期間は72時間とした。培養条件は、室温25°C、照度4000lxの連続照射及び一日数回の搅拌とした。サンプリングは0、6、12、24、48、72時間に、スターラーで搅拌しながら行い、Chlorophyll a濃度を測定した。なお、試験期間中においてpHの変化はほとんどなかったが、数回NaOH溶液またはHClを用いて調整した。

### 3. 試験結果及び考察

Fig.1に藻類の植種前における $\text{Al}_T$ が異なる試験液の各AI画分濃度の例を示す。それぞれの棒グラフは全体で $\text{Al}_T$ の実測値を示している。Solution IのAI-b画分の濃度は $\text{Al}_T$ の低い順にそれぞれ0.28、0.62、3.38、6.46、13.8mg/lであり、Solution IIでは0.0086、0.029、0.14、0.41、0.74mg/lであった。全3回の試験を通じてAI-b画分は全AI濃度の5.3%以下だった。3回の試験を通じてのSolution Iにおける全AIに対するAI-b画分の割合は57.6%から81.2%であり、Solution IIでは21.4%以下であった。また、AI-c画分が全AI濃度に対しSolution Iでは39.0%以下、Solution IIで73.7%以上存在していた。このことから二つの溶液間においてAI-b画分とAI-c画分の濃度に明らかな差が生じていることが確認された。また、AI-bは

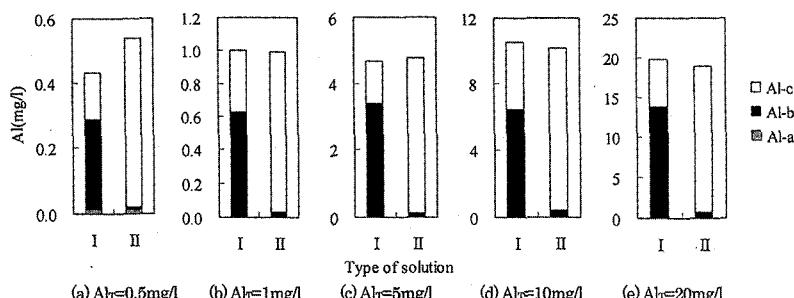


Fig.1 藻類植種前のAI加水分解溶液の各AI画分濃度

主にpH4.5前後で生成されることが報告されているがpH6前後でも生成されることが判明した。

Fig.2に、試験期間中におけるChlorophyll *a*濃度の経時変化についてBlank及び $Al_t=0.5\text{mg/l}$ および $Al_t=1\text{mg/l}$ の場合を例にとって示す。すべての条件においてChlorophyll *a*濃度は減少しているが、 $Al_t$ が $0.5\text{mg/l}$ の場合は、BlankよりもSolution IIの減少速度が遅くなっている。他の試験においても同様の結果が得られた。 $Al_t$ が $1\text{mg/l}$ のときは、Solution IのChlorophyll *a*濃度はSolution IIに比べ急激に減少しており、二つの溶液間のChlorophyll *a*濃度の減少速度に明らかな差が認められた。そこで、Chlorophyll *a*濃度の減少速度がその濃度に比例すると仮定し、Chlorophyll *a*濃度の自然対数値と経過時間との関係を一次の回帰式で近似して( $dC/dt=kC$ 、 $C$ :Chlorophyll *a*濃度、 $t$ :経過時間、 $k$ :減少速度定数)、Chlorophyll *a*濃度の減少速度定数( $k$ )を算出し、各画分のAl濃度とChlorophyll *a*濃度の減少速度定数について検討を行った。なお、条件によっては試験期間全体(72時間)で一次式に従わないものもあり、その場合は24時間もしくは48時間までのデータを使用し、減少速度定数を求めた。

Fig.3に3回の試験における初期のAl-b及びAl-c濃度に対する減少速度定数を示す。 $Al_t=5\text{mg/l}$ 以上の条件に関しては、実験間での定数のばらつきが非常に大きかったため、ここでは $Al_t=1\text{mg/l}$ 以下の条件についてのみ検討を行った。Chlorophyll *a*濃度の減少速度定数は、溶液の種類にかかわらずAl-bの濃度の上昇に伴い増大する傾向を示した。しかしながらAl-cの影響を見ると、溶液によって傾向が異なりSolution IIではAl-c濃度が増加しても減少速度はほとんど増加しなかった。これらの結果より、本試験の条件では $Al_t=1\text{mg/l}$ 以下においてAl-bの濃度が*Nitzschia* sp.の死滅を助長する主要な要因であり、Al-cはほとんど影響を及ぼさないことがわかった。

陸生植物に対するAlの毒性の機構は、細根の細胞壁及び原形質膜へAlの吸着によって生じる代謝阻害であり、Al-bが最も高い毒性を示すことが報告されている<sup>4)</sup>。本試験の結果では、Al-b濃度が $0.16\text{mg/l} \sim 0.82\text{mg/l}$ の範囲でのChlorophyll *a*量の減少速度定数はBlankに比べ約1.6~4倍となつており、Al-b濃度が $0.16\text{mg/l}$ 以上の場合にAl-bの影響が認められた。

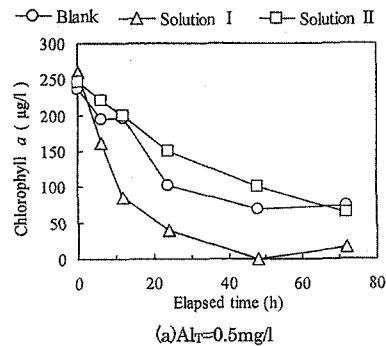
以上より、水環境中の鉱山廃水や酸性雨による土壤浸出水に含まれるAlの流入によって $0.16\text{mg/l}$ 以上のAl-bが形成された場合、水生生物に対し悪影響を及ぼす可能性が示唆される。

#### 4. まとめ

本実験の結果では、 $Al_t=1\text{mg/l}$ 以下の弱酸性条件下においてAl-bの濃度の上昇に伴って*Nitzschia* sp.の増殖が阻害されることが明らかになった。Al-bはpH6前後の環境においても生成され、*Nitzschia* sp.の増殖阻害に及ぼす影響においてAl-bは主要な要因となっており、Al-cは増殖の阻害にほとんど影響を及ぼさないと思われる。

#### <参考文献>

- 1) J.J Comin, J. Barloy, G. Bourre, F. Trolard , Differential effects of monomeric and polymeric aluminium on the root growth and on the biomass production of root and shoot of corn in Solution culture. European Journal of Agronomy 11: 115-122, 1999.
- 2) 佐々木貴史、伊藤歩、高橋真司、相澤治郎、海田輝之、金属加水分解生成物が付着藻類の増殖に及ぼす影響、環境工学研究論文集、Vol.41, 367-376, 2004.
- 3) David R.Parker and Paul M. Bertsch , Identification and quantification of the "Al13" Tridecameric polycation using Ferron. Environ. Sci. Technol. , Vol.26, No.5, 908-914, 1992.
- 4) 日本国土壤肥料学会編、低pH土壤と植物、博友社, 1995.



(a)  $Al_t=0.5\text{mg/l}$

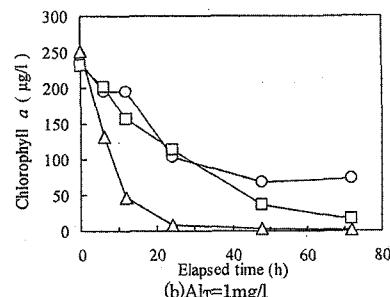
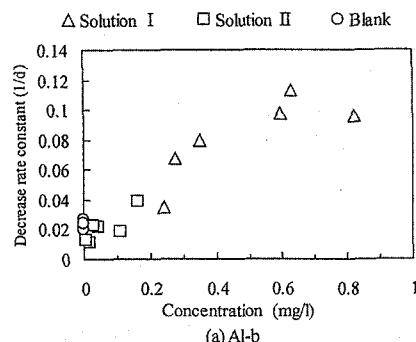


Fig.2 Chlorophyll *a*濃度の経時変化 (*Nitzschia* sp.)



(a) Al-b

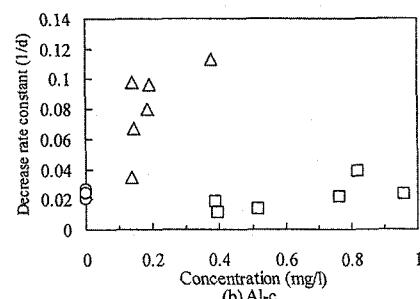


Fig.3 Al-b 及び Al-c 濃度に対する減少速度定数