

(41) 河口・沿岸域条件下におけるフミン物質の凝集モデルの構築

**Development of the Coagulation Model for Humic Substances
in Estuarine Condition**

佐々木陽*, 藤井学*, 渡部徹*, 大村達夫*

Akira SASAKI*, Manabu FUJII*, Toru WATANABE*, Tatsuo OMURA*

ABSTRACT; Humic substances (HS) derived from terrestrial area play important roles to supply essential minerals for the growth of aquatic organisms in estuaries. Therefore, the watershed management focusing on the transportation of essential minerals from terrestrial area to estuaries is needed for the conservation of estuarine ecosystem. Although it is said that a part of HS coagulates in estuaries with the increase of salinity, its mechanism has not been well-known. In this study, the coagulation model for humic substances in estuaries was developed on the basis of DLVO theory and hydrophobic interaction which caused a strong attractive force between HS. This attractive force was estimated with hydrophobic index (E254/TOC) of HS and its molecular weight detected by gel chromatography analysis with 254nm spectrophotometer. The developed model could explain the coagulation mechanism of humic acid according to the decrease of surface potential in estuarine condition. The result of simulation using this model showed that humic acid with intermediate molecular weight around 20kDa easily coagulated at the high salt concentration in estuaries.

KEY WORDS; Humic Substance, Coagulation, Estuary, DLVO Theory, Hydrophobic Attraction Force.

1. はじめに

河口・沿岸域では海洋生物が河川から供給される栄養塩や有機物、微量元素と出会うことで、豊かな生態系を形成しており¹⁾, 世界各国において海洋有用生物の生産場として利用されてきた。微量元素の中でも、フミン鉄(森林土壌由来のフミン物質と錯体を形成して存在する溶存鉄)は、食物連鎖の根底を担う一次生産者が葉素固定や光合成を行う際に不可欠な必須金属として認識されている²⁾。ここで、フミン物質とは、動植物の遺骸が分解されていく過程で最終的に生成される化学的に安定な物質であり、その表面には多数の官能基が存在するため、水中で鉄を溶解することができる³⁾。近年、流域開発による森林伐採等に伴って、河口・沿岸域での生物生産性が低下した事例が各地で報告されるようになり、それに伴う河口・沿岸域生態系の崩壊が危惧されている。その主要な原因として陸域からのフミン鉄の供給量減少が挙げられる^{4),5)}。現在、河口・沿岸域環境の保全のための水質環境基準(栄養塩や有機物等)が定められているが、生態系維持の観点からは十分な基準とはなっていない。河口・沿岸域での水質環境基準の遵守による管理以外に、新たに流域でのフミン鉄の発生や挙動に着目した水環境管理を行っていくことが望まれる。

河口・沿岸域に存在するフミン鉄は主に、陸域の森林土壌を由来とし、河川を経て海域に供給される^{6),7)}。流域でのフミン物質の発生や流出過程には、流域環境の植生や土地利用状況が大きく影響していると考えられる。流下過程において、フミン鉄は水中の塩濃度やpHの変化によって複雑な形態変化を起こすと考えられる。河口・沿岸域では、イオン強度ならびに塩濃度は $10^{-4} \sim 10^{-1}$ [M]の4オーダー範囲で変化し、pHの変化(7~8の1オーダー範囲で変化)に比べて非常に大きいため、塩濃度変化

* 東北大学大学院工学研究科土木工学専攻 (Department of Civil Engineering, Graduate School of Engineering, Tohoku University)

はフミン物質の凝集に最も影響を与える重要な因子である^{7,8)}。熱力学的視点からフミン鉄の挙動を考えると⁹⁾、 Na^+ や Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 等の金属イオンの増加に伴いフミン物質から鉄は解離し、多くのフミン物質は凝集することが予想され、結果的に河口・沿岸域に存在するフミン鉄の濃度は河川水中と比べ劇的に減少すると考えられる¹⁰⁾。しかしながら、以上のような河口・沿岸域でのフミン鉄の形成メカニズムや流域環境がフミン鉄の発生や河川への流出に与える影響等、流域におけるフミン鉄の動態はこれまでほとんど明らかにされていない。今後、河口・沿岸域生態系の保全を視野に入れた持続可能な流域開発を行っていくためには、流域レベルでのフミン鉄の挙動を解明し、その挙動に基づいて流域環境の変化が河口・沿岸域生態系へ与える影響を予見的に評価していく必要がある。

以上のような背景から、本研究は、流域でのフミン鉄の挙動に基づき河口・沿岸域生態系の健全性を評価するための普遍的なモデルを構築することである。本研究では、そのうち河口・沿岸域でのフミン物質の凝集現象を表現するモデル式を開発することを最終的な目的とする。粒子の凝集に関するモデル式として一般的に用いられている理論は、分子間力と電気的斥力の総和により粒子間の相互作用を表したDLVO理論である¹¹⁾。しかし、フミン物質のような疎水性分子については、疎水性相互作用もまた凝集に影響を与える最も重要な因子である¹²⁾。この疎水性相互作用を疎水性の強さの指標であるE254/TOCをもとに推定することで、DLVO理論のみでは表現することのできないフミン物質間の疎水性相互引力を組み込んだ新たな凝集モデル式を構築した。

2. 実験方法

2.1 フミン物質試料

フミン物質は、酸性溶液中での溶解性の違いにより、フミン酸とフルボ酸に分類される³⁾。本研究では、日本腐植学会が提供している愛知県段戸森林土壌(Dystic Cambisol, Dando, Aichi)由来フミン酸及びフルボ酸を使用した。Watanabeら(1994)は、これらのフミン物質について、元素分析、官能基分析、¹³CNMRスペクトル分析を行っている¹³⁾。

2.2 人工海水とNaCl溶液中における標準フミン酸・フルボ酸の凝集実験

河口・沿岸域条件下でフミン酸及びフルボ酸の凝集の程度を定量化するため、以下の実験を行った。 Na^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} のモル濃度比が45.6:5.4:1になるよう、MilliQILにNaCl 24.3g、 $\text{MgCl}_2(6\text{H}_2\text{O})$ 10.0g、 $\text{CaCl}_2(\text{H}_2\text{O})$ 1.34g 入れ塩濃度30g/Lの人工海水を用意した。海水中に存在する主な陽イオンとして Na^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} が重量比で96.7%を占める。残りの3.1%を占める K^+ は一価の陽イオンであるため、フミン物質の凝集へ与える影響は Na^+ と同様に弱い。一方、 Sr^{2+} は二価の陽イオンで一価の陽イオンよりも強い電気的引力を持っているが、その重量比は0.06%と非常に小さいため、その影響も無視できる。従って、人工海水に含まれる陽イオンがフミン物質の凝集に与える影響は実際の海水とほぼ同等と考えられる。この人工海水とMilliQを混合し、体積が98.0mlで塩濃度が0, 5, 10, 30g/Lの溶液を作成した。この溶液に100mg/Lフミン酸溶液、またはフルボ酸溶液を2ml加え、サンプルの全体積を100mlとした。ここでフミン酸またはフルボ酸濃度はそれぞれ2mg/Lである。それぞれの溶液のpHをNaOH溶液で8に調節した後、100rpmで攪拌を行い、24時間後(凝集が平衡に達した時間)に0.45 μm メンブレンフィルターでろ過し、分光光度計(Shimadzu UV-1600)により波長254nmで濾液の吸光度を測定した。フミン物質は炭素の二重結合や芳香族を多く含む疎水性有機物質であるため、254nm吸光度によりフミン物質炭素濃度を定量することが可能である。しかし、鉄も254nmで吸光を示すことが知られている。そこで、藤井ら(2004)は、フミン物質と鉄が混在した実験系において、鉄のみが示す254nm吸光度をあらかじめ測定し、この鉄に起因する吸光度を溶液全体の吸光度から差し引くことで、フミン物質のみが示す吸光度を正確に算出する方法を提案した¹⁰⁾。本研究においても、この方法を用いて

254nm 吸光度からフミン物質炭素濃度を算出した。河口・沿岸域において植物プランクトンに利用可能な鉄の形態は、溶存態($0.45\mu\text{m}$ 以下)のフミン鉄であることから⁹⁾、本研究では、粒径が $0.45\mu\text{m}$ 以下のものを溶存態、 $0.45\mu\text{m}$ 以上のものを粒子状態と定義し、凝集したフミン物質はすべて粒子状態へ変化するものと仮定した。実験は 20°C の恒温室で行い、同条件で3回繰り返した。また、一価の金属イオンのみが存在する場合におけるフミン物質の凝集量を測定するため、NaCl 溶液における標準フミン酸及びフルボ酸の凝集実験を行った。MilliQ1L にNaCl を30g 加え、塩濃度が 30g/L のNaCl 溶液を用意した。その後は、人工海水の場合と同様の手順で実験を行った。

3. 河口・沿岸域条件下におけるフミン物質の凝集モデル式の開発

3.1 フミン物質とイオンに関する仮定

図1に示すように、フミン物質と水中を自由に動くことのできる金属イオンが水(誘電率 $\epsilon_0\epsilon_r=6.9\times 10^{-10}[\text{C}^2\text{N m}^{-2}]$)に浸されていると仮定した。フミン物質は不浸透性で半径 $R_{\text{HS}}[\text{m}]$ の球体とした¹⁴⁾。金属イオンの半径は $10^{-10}[\text{m}]$ のオーダーであるため、金属イオンの半径は $R_{\text{ION}}(=10^{-10})[\text{m}]$ の球体と仮定した¹²⁾。すべてのイオンを点電荷とみなし、その大きさは中心イオンに接近したときのみ考慮する。フミン物質の官能基は表面に均一に分布しているものとした。河口・沿岸域には金属イオンが高濃度で存在するため、二価の金属イオンである Mg^{2+} や Ca^{2+} はフミン物質官能基と1:1の結合を行うものとした。一方、一価の金属イオンである Na^+ によるフミン物質官能基への結合は考えない。官能基のイオン化は静電効果の相互作用によってのみ、他の官能基のイオン化に影響を与えるものとした。金属イオンはフミン物質の半径と金属イオンの半径の和である $H_{\text{ION}}(=R_{\text{HS}}+R_{\text{ION}})[\text{m}]$ より近づくことはできないので、 H_{ION} 以内にはイオンは存在しないと考えることができる。後述する表面電位の計算では、フミン物質内の領域Iと誘電率 $\epsilon_0\epsilon_r$ の水のみで構成される領域IIには、電荷分布が存在しないためLaplace式を適用する。また、領域IIIには金属イオンが存在するため、Poisson式が適用できる。

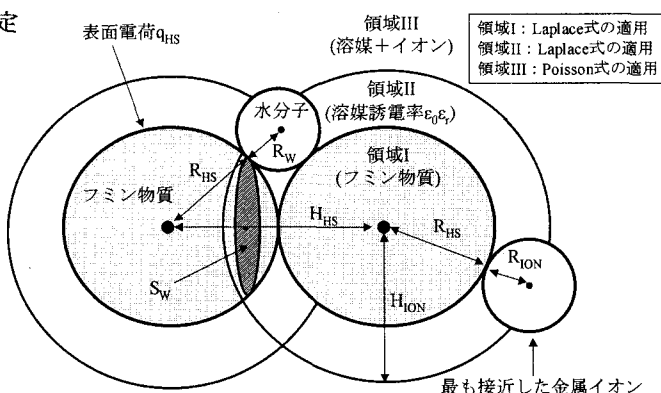


図1 フミン物質、金属イオン、水分子の関係。

3.2 フミン物質の性質

(1) フミン物質の分子量と疎水性の強さ

フミン物質間の相互作用力を計算するには、フミン物質の分子量(半径)と疎水性の強さを把握しておく必要がある。藤井(2004)は、ゲルクロマトグラフィーと分光光度計、TOC計を用いた分析により段戸土壌由来フミン物質の分子量分布と疎水性の強さ(E254/TOC)を明らかにした¹⁰⁾。本研究では、計算の際にフミン酸に関するこれらの値を用いた。図2に実験から得られた各分子量におけるフミン酸の炭素濃度とE254/TOCの分

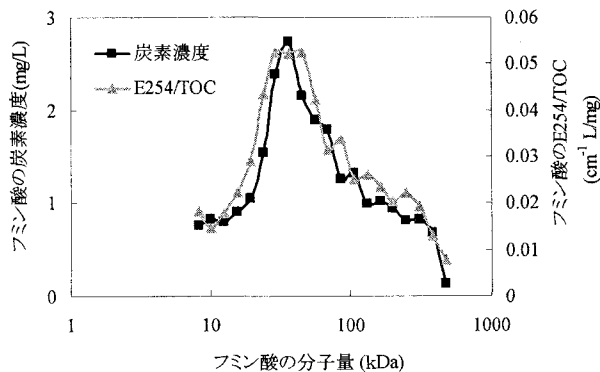


図2 実験から得られた各分子量におけるフミン酸の炭素濃度とE254/TOCの分布¹⁰⁾。

布を示した。また、フルボ酸とフミン酸の平均分子量はそれぞれ2.4 kDaと84kDaとした¹⁰⁾。フミン物質を球体と仮定した場合における、フミン物質の半径 R_{HS} と分子量 M (Da)には以下の関係がある。

$$R_{HS} = \sqrt[3]{\frac{3M}{4\pi N_0 \rho_{HS}}} \quad (1)$$

ここで、 N_0 はアボガドロ数(6.02×10^{23} 個/mol)、 ρ_{HS} はフミン物質の密度(1.5×10^3 g/m³)である。

(2) フミン物質の表面電荷

金属イオンの吸着にはpH=8の条件で、プロトンが解離しているフミン物質官能基のみが影響を及ぼす。そのため、単位質量当たりのフミン物質表面電荷数 A_T (meq/g)は、フルボ酸及びフミン酸の酸性度により決定した(図6)。本研究で用いた標準フミン酸とフルボ酸の酸性度はそれぞれ5.88, 9.08 (meq/g)である¹³⁾。フミン物質の表面電荷密度を N_c [個/nm²]とおくと、フミン物質の表面積は $S_{HS} = 4\pi R_{HS}^2$ で表されるので、フミン物質1分子当たりの表面電荷数は $Z_{HS} = N_c S_{HS}$ [個]となる。このとき、 Z_{HS} と A_T は(2)式で関係付けられる。

$$A_T = 1000 Z_{HS} / M = 1000 N_c S_{HS} / M \quad (2)$$

N_c はフミン物質の分子量に依らず一定とし、フルボ酸の平均分子量を2.4kDa、単位質量当たりの表面電荷数を9.08meq/g、フミン酸の平均分子量を84kDa、単位質量当たりの表面電荷数を5.88meq/gと仮定した場合、分子量 $M=2.4, 84$ kDaの2点における A_T の文献値と計算値との差の平方和が最小となるようにパラメータ N_c を決定した。このとき、 $N_c = 2.40$ [個/nm²]と推定された。

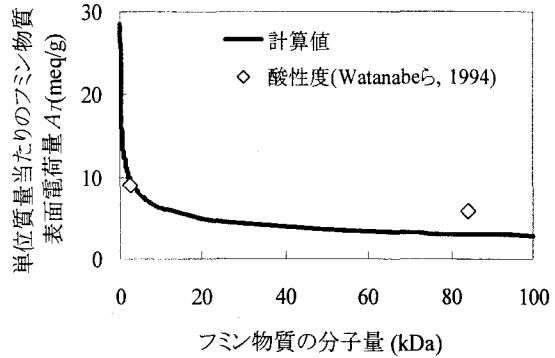


図3 フミン物質分子量と単位質量当たりのフミン物質表面電荷数の関係。実線は計算値、プロットはWatanabeら(1994)が求めた文献の酸性度¹³⁾を表す。

3.3 DLVO 理論

粒子相互間には、双極子モーメントに起因するロンドン-ファンデルワールス引力が常に働く。2つの球状フミン物質間の分子間引力ポテンシャルエネルギー W_M [J]は(3)式で表される。

$$W_M = -\frac{A}{6} \left[\frac{2R_{HS}^2}{H_{HS}^2 - 4R_{HS}^2} + \frac{2R_{HS}^2}{H_{HS}} + \ln \left(1 - \frac{4R_{HS}^2}{H_{HS}^2} \right) \right] \quad (3)$$

ここで、 A はハマカー一定数($=1.0 \times 10^{-20}$ [J]), H_{HS} はフミン物質の中心間距離[m], R_{HS} はフミン物質の半径[m]を表す。また、水中に存在するフミン物質の表面は酸性官能基を多数有しているため、水中では負の電荷を帯びており、互いに反発しあっている。2つの球状フミン物質間の電氣的反発ポテンシャルエネルギー W_E [J]は(4)式で表される。

$$W_E = 2\pi\epsilon_0\epsilon_r R_{HS} \psi_0^2 \ln \{ 1 + \exp(-\kappa h_{HS}) \} \quad (4)$$

ここで、 ϵ_0 は真空の誘電率 (8.85×10^{-12} [C² N m⁻²]), ϵ_r は水の比誘電率 (78 at 25 [°C]), κ はDebyeパラメータ、 h_{HS} はフミン物質間表面距離[m], ψ_0 はフミン物質の表面電位[V]である。以上よりDLVO理論によるフミン物質粒子間に働くエネルギーの総和 W_D [J]は(5)式で表される¹⁰⁾。

$$W_D = W_E + W_M \quad (5)$$

DLVO理論によれば、水中での粒子の凝集は、電氣的反発力と分子間力の相互作用(ポテンシャルエ

エネルギー)で決定される。河口・沿岸域のように陽イオンが高濃度で存在する条件下では、フミン物質の表面電荷が中和され電氣的反発力は小さくなり、分子間に働く引力が電氣的反発力を上まわること、粒子同士は結合し凝集すると考えられる。

3.4 Debye-Huckel 近似によるフミン物質表面電位の算出

(3)式で用いられているフミン物質の表面電位を *Debye-Huckel* 近似により算出した。極座標系で *Poisson-Boltzman* 方程式は (6) 式で表される。

$$\frac{1}{r} \left\{ \frac{d^2(r\psi)}{dr^2} \right\} = - \frac{eN_0}{\epsilon_0 \epsilon_r} \left\{ C_+^0 Z_+ \exp\left(\frac{-eZ_+ \psi}{kT}\right) + C_-^0 Z_- \exp\left(\frac{-eZ_- \psi}{kT}\right) \right\} \quad (6)$$

ここで、 r はフミン物質の中心からの距離 [m]、 ψ は電位 [V]、 e はイオンの電荷 (1.60×10^{-19} [C])、 N_0 はアボガドロ数、 C_+^0 と C_-^0 はそれぞれフミン物質表面から十分に離れた地点での陽イオンと陰イオンのモル濃度 [mol/m³] (陽イオンとして Na^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , 陰イオンとして Cl^- を考える)、 Z_+ と Z_- はそれぞれ陽イオンと陰イオンの原子価、 k はボルツマン定数 (1.38×10^{-23} [J/K])、 T は絶対温度 [K] を表す。(6) 式において右辺が 0 のとき、すなわち溶液中に電位が生じないとき *Laplace* 式を得る。溶液内の電位が非常に小さく、 $eZ_{\pm}\psi/kT \ll 1$ と仮定すると、*Poisson-Boltzman* 方程式の一般解は (7) 式により表される。

$$\psi = \frac{A_1 \exp(-\kappa r)}{r} \quad (7)$$

球座標系での *Laplace* 式の一般解は (8) 式で表される。

$$\psi = A_2 + \frac{A_3}{r} \quad (8)$$

ここで、 A_1 , A_2 , A_3 , はそれぞれ積分定数を表す。一方、 κ は (9) 式で表される。

$$\kappa = \left(\frac{2N_0 e^2}{kT \epsilon_0 \epsilon_r} \right)^{\frac{1}{2}} I^{\frac{1}{2}} \quad (9)$$

κ は *Debye* パラメータであり、 $1/\kappa$ (*Debye* の半径) はイオンの雰囲気を表す。 κ の値はイオン強度に比例するので、イオン強度が高い場合、*Debye* の半径は小さくなり、イオン雰囲気は中心に接近する。河口・沿岸域のようにイオン強度が高い場合には (9) 式を以下に示す *Davies* の式 (10) により補正する必要がある⁹⁾。

$$\kappa = \left(\frac{2N_0 e^2}{kT \epsilon_0 \epsilon_r} \right)^{\frac{1}{2}} \left(\frac{\sqrt{I}}{1 + \sqrt{I}} - 0.2I \right) \quad (10)$$

図 1 において、領域 I と II, II と III の境界では電位が等しく、かつ領域 II と III の境界では電位の勾配が等しい。さらに、領域 I と II の境界において、電位 ψ の勾配と表面電荷密度 σ_s [C/m²] には $d\psi/dr = -\sigma_s/\epsilon_0 \epsilon_r$ の関係がある。以上の境界条件により、領域 I, II では *Laplace* 式、領域 III では *Poisson* 式を適用すると、最終的にフミン物質の表面電位 ψ_0 は (11) 式で表される。

$$\psi_0 = \frac{q_{HS}}{4\pi\epsilon_0\epsilon_r R_{HS}} \left(1 - \frac{\kappa R_{HS}}{1 + \kappa H_{ION}} \right) \quad (11)$$

ここで、 q_{HS} [C] はフミン物質の表面電荷を表す。 q_{HS} とフミン物質の表面電荷の数である Z_{HS} には $q_{HS} = eZ_{HS}$ の関係がある。人工海中では、 Mg^{2+} や Ca^{2+} がフミン物質表面に吸着するため、みかけの表面電荷が減少する。フミン物質の酸性官能基の多くを占めるカルボキシル基とこれらの二価の金属イオンとの吸着平衡定数 (Mg^{2+} の場合: $K_{Mg} = 0.28^{15}$), Ca^{2+} の場合: $K_{Ca} = 0.30^{16}$) から、pH=8 における両金属イオンの

フミン物質への吸着量を計算し、その吸着量だけ酸性度を減ずることで、みかけの表面電荷を算出した。また、NaCl溶液中においては、金属イオンはNa⁺しか存在しないため、フミン物質表面への金属の吸着がなく、みかけの表面電荷の変化は考えない。

3.5 疎水性相互作用のモデル化

フミン物質が疎水性有機物質であることから、フミン物質の凝集には疎水性相互作用による粒子間の引力を考慮する必要がある。本研究では、フミン物質間に働く疎水性相互作用をエネルギー変化の観点から導出した。水溶液中において、疎水性分子と接触した水分子は非常に不安定な状態にある。そのため、疎水性分子が接近すると、水分子が容易にバルクに放出され、その結果自由エネルギーが低下し、疎水性分子同士が結合することになる。この結合には、1) 水分子と疎水性分子の接触面積（疎水性分子の分子量）、2) 疎水性分子と水分子の結合の不安定さ、すなわち疎水性分子の疎水性の強さが関与すると考えた。

一方、水中において、二粒子の単位表面間に働く相互作用による引力ポテンシャルエネルギー W_A [J/nm²] は、(12) 式で表すことができる¹²⁾。

$$W_A = -\gamma_i \exp\left(-\frac{h}{\lambda_0}\right) \quad (12)$$

ここで、 γ_i は界面エネルギー [J/nm²]、 λ_0 は特性減水長 [=1.5nm] である。粒子間の相互作用が引力の場合、このエネルギー W_A は負の値をとる。(12) 式中で界面エネルギー γ_i は吸着した粒子表面が離れる際の自由エネルギーの変化量であるため、疎水性相互作用の概念と関連づけることが可能であると考え、(12) 式における界面エネルギーを(13) 式で表した。

$$\gamma_i = uH_b \quad (13)$$

ここで、 u は定数 [J cm mg/L] とする。また H_b はフミン物質の疎水性の強さを表す指標であり、フミン物質に含まれる炭素二重結合や芳香族炭素の割合で決定される。そこで、フミン物質の疎水性の強さを表す指標 H_b として、E254/TOC (TOC はフミン物質の有機炭素濃度) [cm⁻¹ L/mg] の値を用いた。フミン物質に含まれる炭素二重結合や芳香族炭素は紫外線波長 254 ~ 280nm において吸光を示す。さらに、紫外線吸光度を有機炭素濃度で除した値は、その測定が容易であることから、有機物質の疎水性の強さや芳香族性を表す指標として多くの NOM (Natural Organic Matter) に関する研究で採用されている^{8), 17), 18)}。また、¹³CNMR から得られた芳香族の含有量と E280/TOC には線形関係がみられ、E280/TOC は定量的な指標であることが確かめられている⁸⁾。本研究で採用した E254/TOC は、本質的に E280/TOC と変わらず、芳香族性や疎水性の強さを表している。また、フミン物質同士が吸着する際に、フミン物質表面から解離した水分子の占める面積 S_w を考慮すると、(12) 式と (13) 式からフミン物質に働く疎水性相互作用による引力ポテンシャルエネルギー W_H [J] は (14) 式で表すことができる。

$$W_H = -S_w u H_b \exp\left(-\frac{h}{\lambda_0}\right) \quad (14)$$

ここで、水分子の半径を R_w (=0.14[nm]) とすると吸着面積 S_w [nm²] は (15) 式で表される (図 1)。

$$S_w = \pi R_w (2R_{HS} - R_w) \quad (15)$$

以上より、DLVO 理論と疎水性相互作用を考慮したフミン物質の粒子間に働くポテンシャルエネルギーの総和 W_T [J] は (16) 式で表される。

$$W_T = W_D + W_H \quad (16)$$

3.6 河口・沿岸域条件下におけるフミン物質の凝集シミュレーションの方法

以下に示すようなフローチャートに従いフミン物質の凝集シミュレーションを行った。図 4 におい

て、 $kT (=4.1 \times 10^{-21} \text{[J] at } 20^\circ\text{C})$ は水中におけるフミン物質のブラウン運動による運動エネルギーである。u 以外のパラメータは、実験結果と本研究における仮定から求めることが可能である。しかし、u はフミン物質の凝集量から推定する必要がある。

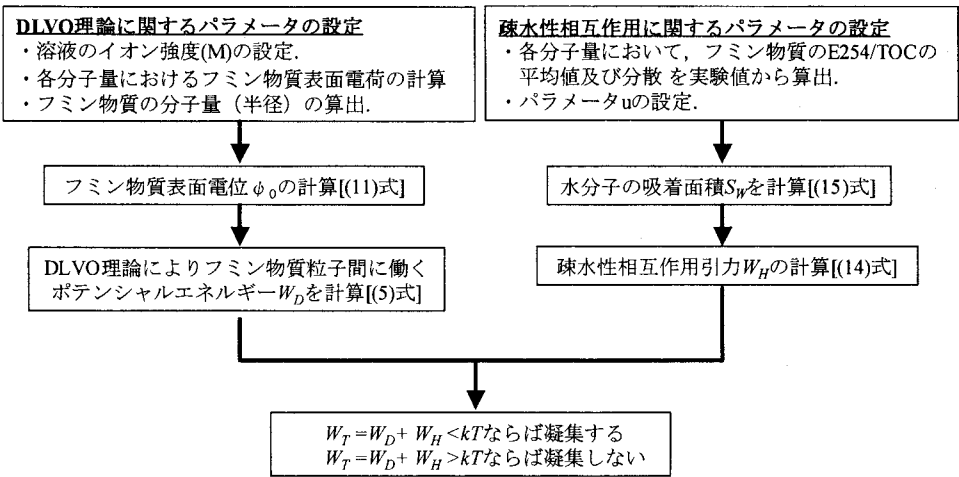


図4 河口・沿岸域条件下におけるフミン物質の凝集シミュレーションのフローチャート。

4. 結果と考察

4.1 河口・沿岸域条件下におけるフミン物質の凝集実験結果

河口・沿岸域条件下におけるフミン物質の凝集量を把握するためフミン物質の凝集実験を行った。表1に塩濃度の異なるNaCl溶液および人工海水中における粒子状態フミン酸及びフルボ酸の割合を示した。ここで、粒子状態フミン物質の割合は、溶液中に存在する全フミン物質炭素濃度に対する、 $0.45\mu\text{m}$ 以上の粒子状態フミン物質炭素濃度の割合と定義した。粒子状態フミン物質の割合が高いほどフミン物質の凝集量が大きいことを示す。塩濃度0, 5, 10, 30g/LのNaCl溶液中では、粒子状態フルボ酸の割合はそれぞれ0.00, 0.71, 0.71, 2.16%であり、粒子状態フミン酸の割合はそれぞれ0.11, 0.00, 1.30, 3.30%であった。一方で塩濃度0, 5, 10, 30g/Lの人工海水の場合は、粒子状態フルボ酸の割合はそれぞれ0.00, 2.27, 2.27, 2.27%であり、粒子状態フミン酸の割合はそれぞれ0.11, 8.86, 10.14, 14.48%であった。このことからフルボ酸よりフミン酸の方が凝集しやすく、また人工海水の方が凝集量が大きいといえる。

表1 塩濃度の異なる(a)NaCl溶液および(b)人工海水中における粒子状態フミン酸及びフルボ酸の割合。Ave.は平均値、SDは標準誤差を表す。

NaCl溶液中における粒子状態フミン物質の割合(%)					人工海水中における粒子状態フミン物質の割合(%)					
(a)	フミン酸		フルボ酸		(b)	フミン酸		フルボ酸		
	塩濃度(g/L)	Ave.	SD			塩濃度(g/L)	Ave.	SD		
	0	0.11	0.15	0.00	0.06	0	0.11	0.15	0.00	0.06
	5	0.00	0.06	0.71	0.06	5	8.86	0.06	2.27	0.00
	10	1.30	0.06	0.71	0.06	10	10.14	0.06	2.27	0.00
	30	3.30	0.06	2.16	0.06	30	14.48	0.06	2.27	0.00

4.2 DLVO理論に基づくNaCl溶液中でのフミン物質間の相互作用

図5に、塩濃度0, 30g/LのNaCl溶液におけるフミン物質の分子量とDLVO理論((4)式)により算出したフミン物質間相互ポテンシャルエネルギー W_D の最大値の関係を示した。この W_D の最大値はエネ

ルギー障壁と呼ばれ、フミン物質が凝集するためには、フミン物質の持つ運動エネルギーがこのエネルギー障壁を越えなければならない。この図より、フルボ酸の平均分子量 (2.4kDa) またはフミン酸の平均分子量 (8.4kDa) に対応するエネルギー障壁は、塩濃度 0g/L でそれぞれ $10^{-18.9}$ (J), $10^{-17.3}$ (J), 塩濃度 30g/L でそれぞれ $10^{-19.3}$ (J), $10^{-18.4}$ (J) である。一方、水中においてフミン物質はブラウン運動しており、その運動エネルギーは kT ($=4.1 \times 10^{-21}$ [J] at 20°C) となる。

塩濃度 0g/L と 30g/L において算出したエネルギー障壁を比較してみると、塩濃度が 0 から 30g/L に変化するに従いエネルギー障壁は減少した。このエネルギー障壁の低下は塩濃度の増加によりフミン物質の表面電位が低下したことを示しており、粒子間の反発力の減少を表現できた。ブラウン運動によるフミン物質粒子の運動エネルギーとエネルギー障壁を比較すると、どの分子量においてもブラウン運動による運動エネルギーはエネルギー障壁を越えなかった。従って、DLVO 理論では NaCl 溶液中で、フミン物質は全く凝集しないという結果が得られた。また、分子量の小さいフルボ酸の方がフミン酸よりもエネルギー障壁が小さくなり、フルボ酸の方が凝集しやすい状態にあるという結果が得られた。これに対して実験値 (表 1) では、塩濃度 30g/L の NaCl 溶液において、粒子状態フルボ酸の割合が 2.16%, 粒子状態フミン酸の割合は 3.30% であり、フルボ酸よりフミン酸の凝集量の方が高かった。以上のことから、DLVO 理論のみではフミン酸とフルボ酸の凝集現象を説明することができないといえる。

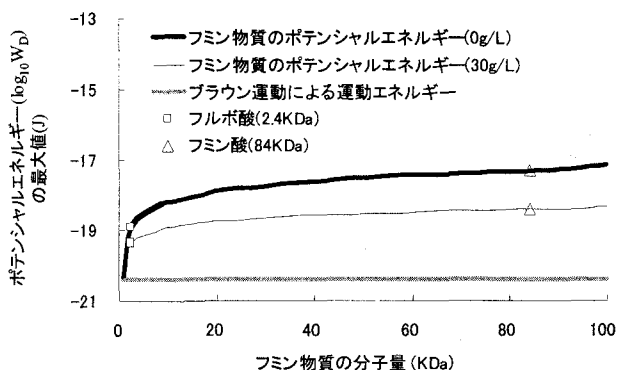


図5 塩濃度 0, 30g/L の NaCl 溶液におけるフミン物質の分子量と DLVO 理論に ((4) 式) により算出したフミン物質間相互ポテンシャルエネルギー W_D の最大値の関係。

4.3 疎水性相互作用を考慮したフミン酸の凝集モデルによるシミュレーション

次に、DLVO 理論に加え疎水性相互作用を考慮したフミン物質の凝集モデルを用いて、河口・沿岸域条件下におけるフミン物質の凝集量と凝集に関わる因子 (塩濃度, 分子量, パラメータ u) の関係を明らかにした。このシミュレーションでは、フミン物質の中でも凝集量が多いフミン酸を対象に行った。

(1) 凝集したフミン酸の割合とパラメータ u の関係

図6に、NaCl 溶液と人工海水中において凝集したフミン酸の割合とパラメータ u の関係を示した。本研究で用いた段戸土壌由来のフミン酸は、ゲルクロマトグラフィーにより、分子量ごとに 19 個のフラクションに分画された¹⁰⁾。全てのフラクションで TOC を測定し、フミン酸の全体に対して各フラクションが占める割合を、TOC を基準として算出した。各フラクションに含まれるフミン酸が凝集する際、すなわち $W_T < kT$ のときにおいて、 u が取りうる最小値を $u_{\min,i}$ とする。ここで、 i はフラクション No. ($i=1, 2, \dots, 19$) であり、 $u=u_{\min,i}$ のとき $W_T=kT$ となる。 $u_{\min,i}$ は (16) 式から求めた。 $u > u_{\min,i}$ のとき、 $W_T < kT$ を満たすので、フラクション i に含まれるフミン酸は凝集することになる。図6は、ある u の値に対して $u > u_{\min,i}$ となるすべてのフラクションについて、そこに含まれるフミン酸の割合を算出 (合計) した結果である。NaCl 溶液と人工海水の両ケースにおける全体的な傾向として、パラメータ u の増加に伴いフミン酸の凝集量は指数的な増加を示した。これは、(14) 式で表されるように、 u の増加に伴いフミン酸分子間に働く疎水性引力が大きくなったためである。また、NaCl 溶液と人工海水の両ケースともに、ある一定の u において塩濃度が 5 から 30g/L へ増加するに従い、凝集したフミン酸の割合も増加した。すなわち、

溶液中の塩濃度の増加に伴いフミン酸の表面電位が低下し、フミン酸の凝集が促進されたことがわかる。さらに、NaCl 溶液と人工海水のケースで、凝集したフミン酸の割合を比較すると、人工海水の方が凝集した割合が高い。これは、 Mg^{2+} や Ca^{2+} がフミン酸の表面に吸着し、表面電位が著しく低下したことを示している。

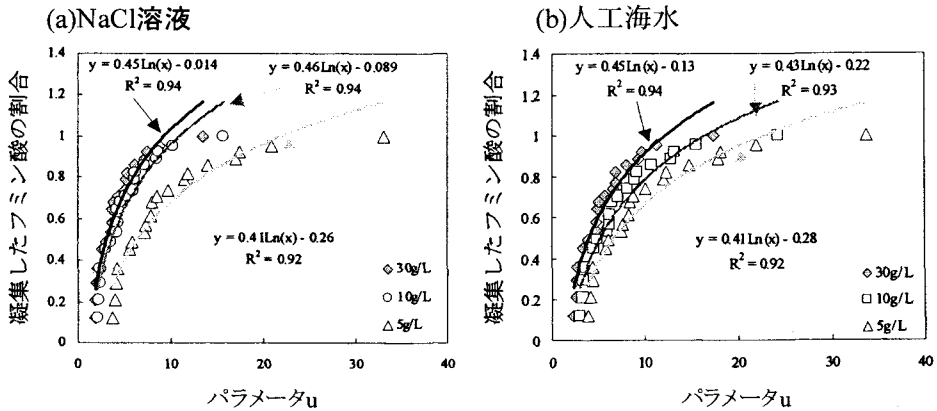


図6 (a)NaCl 溶液と (b) 人工海水中において、凝集したフミン酸の割合とパラメータ u の関係。

(2) 塩濃度と凝集するフミン酸の分子量の関係

図6において、パラメータ u と塩濃度の変化に伴いフミン酸の凝集量は大きく変化した。ここではパラメータ u を固定して、塩濃度と凝集するフミン酸の分子量の関係を明らかにした(図7)。ただし、 u の値は図6より塩濃度によるフミン酸の凝集への影響が最も顕著と判断される $u=6.0$ を採用した。図7において、点線で囲まれた部分はフミン酸のポテンシャルエネルギーが $W_T < kT$ となり、凝集が起こる領域を表している。また色の濃淡によって、凝集が起こる際の W_T (引力の強さ) を表現した。

図7では、NaCl 溶液と人工海水の両ケースでフミン酸の分子量に関わらず、塩濃度が高くなるにつれて、 W_T が高くなる(色が濃くなる)傾向がみられた。これは、塩濃度の増加によりフミン酸の電気

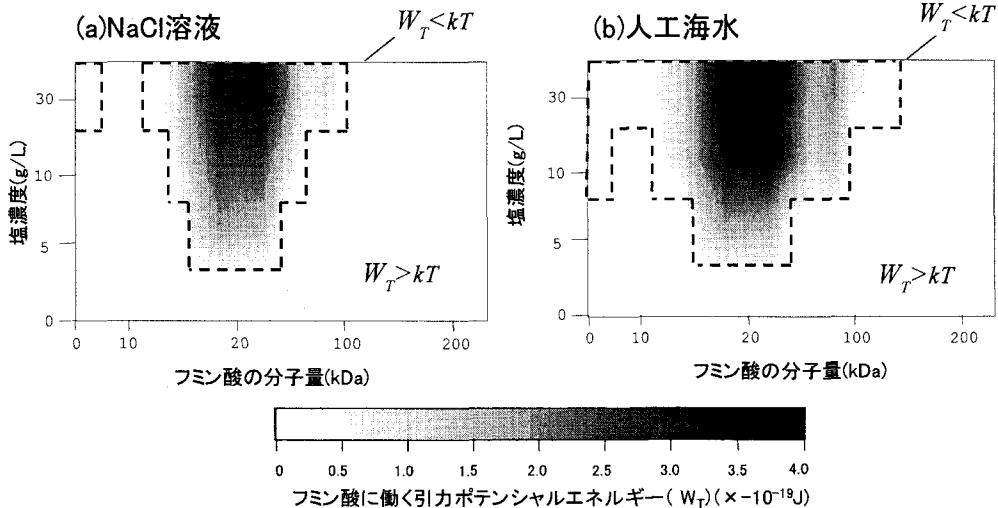


図7 a)NaCl 溶液と b) 人工海水中における塩濃度と凝集する分子量の関係($u=6.0$)。 W_T はフミン酸に働く引力ポテンシャルエネルギーを示す。図中で点線で囲まれた塩濃度と分子量の条件では、 $W_T < kT$ となりフミン酸の凝集が起こる。一方、 $W_T > kT$ ではフミン酸は凝集しない。

的反発力が低下したためであると考えられる。また、NaCl 溶液と人工海水のケースを比較した場合、人工海水のケースの方が NaCl 溶液よりも広い分子量範囲でフミン酸の凝集が起こっていることから、フミン酸は人工海水中の方が多く凝集することがわかる。この傾向は、表 1 における実験結果と一致していた。次に、分子量に着目すると、分子量 20kDa 付近のフミン酸に最も強い引力が働き、分子量が 20kDa から離れるほど引力は減少した。図 2 より 20kDa 程度の分子量をもつフミン酸は E254/TOC が最大であり、最も高い疎水性を示した。すなわち、フミン酸の凝集には、疎水性の強さが大きく影響していると考えられる。

(3) パラメータ u の推定

疎水性相互作用による引力の発生メカニズムは未だ不明な点が多い¹²⁾。そのため、パラメータ u の値を理論的に決定することは困難である。そこで、本研究で開発した凝集モデルを実験結果にフィッティングさせることでパラメータ u の推定を試みた。

図 6 において、凝集したフミン酸の割合とパラメータ u の関係を近似線により表現した。この近似線を用いて表 1 に示したフミン酸の凝集量から、種々の塩濃度におけるパラメータ u を推定した(表 2)。この u はフミン物質の疎水性の強さをポテンシャルエネルギーに変換するためのパラメータであるが、その u の値は NaCl 溶液と人工海水において同様のオーダーで推定され、1.11 から 2.44 の範囲に分布していた。また、 u の値は、NaCl 溶液と人工海水の双方で塩濃度が高くなるにつれて減少した。さらに NaCl 溶液と人工海水における u の値を比較すると、人工海水の方が高い値を示した。これらのことから、 u の値は塩濃度とイオンの種類による影響を受けることが分かる。

表 2 NaCl 溶液と人工海水のケースにおいて、実験により得られたフミン酸の凝集量から算出したパラメータ u 。

塩濃度(g/L)	NaCl 溶液 パラメータ u	人工海水 パラメータ u
5	1.89	2.44
10	1.25	2.11
30	1.11	1.84
平均	1.41	2.13
標準偏差	0.41	0.30

5. 結論

本研究では、DLVO 理論を基礎として、フミン物質の分子量及び疎水性の強さを表す指標である E254/TOC の二つの性質に基づいて疎水性引力を考慮することにより、河口・沿岸域におけるフミン物質の凝集モデル式を構築した。以下に本研究の結論を示す。

1. 塩濃度 30g/L の NaCl 溶液中における段戸土壌由来フルボ酸とフミン酸の凝集実験では、フルボ酸の場合 2.16%、フミン酸の場合 3.30% が粒子状態へ変化し、フミン酸の方が凝集した割合が高かった。一方で、DLVO 理論では、分子量の小さいフルボ酸の方がフミン酸よりもエネルギー障壁が小さく、フルボ酸の方が凝集しやすいという結果になった。すなわち、粒子の凝集モデル式として一般的に用いられている DLVO 理論のみでは河口・沿岸域条件下におけるフミン酸とフルボ酸の凝集現象を説明することができないといえる。
2. 本研究で開発した凝集モデルは、溶液中の塩濃度の増加やフミン酸表面への Mg^{2+} や Ca^{2+} の吸着に伴う表面電位の低下を表現することができ、河口・沿岸域条件下でフミン酸が凝集するメカニズムを説明できた。
3. 最も高い引力ポテンシャルエネルギーが働くフミン酸の分子量は、疎水性の強さを表す指標である E254/TOC が最大となる 20kDa 程度であった。すなわち、フミン酸の凝集には分子量や疎水性の強さが関与するが、凝集に最も影響を与える因子は疎水性の強さであると考えられる。
4. 疎水性引力を表すモデル式に含まれるパラメータ u の増加は、フミン酸分子間に働く疎水性引力を増加させ、結果的に NaCl 溶液と人工海水の両ケースにおけるフミン酸の凝集量を増加させた。凝集モデルを実験結果にフィッティングさせることで推定したパラメータ u は、NaCl 溶液と人工

海水において同様のオーダーを示しており、1.11 から 2.44 の範囲に分布していた。また、 u は塩濃度とイオンの種類による影響を受けることが明かとなった。

謝 辞

本研究の一部は、日本学術振興会科学研究費補助金基盤研究(A)「豪州 Moreton 湾における毒素生産シアノバクテリアの増殖メカニズムの解明」(研究代表者：大村達夫)および日本学術振興会オーストラリアとの共同研究「フミン鉄の挙動に着目した河口・沿岸域における生態系評価モデルの構築」(研究代表者：大村達夫)によって行われたことを報告する。

参 考 文 献

- 1)Turner, R. K. and Adger, W. N. (1996) Coastal Zone Resource Assessment Guidelines. LOICZ Reports and Studies No. 4, LOICZ-IGBP, Texel, The Netherlands, 101.
- 2)Turner, D. R. and Hunter, K. A. (2001) The Biogeochemistry of Iron in Seawater. IUPAC Series on Analytical and Physical Chemistry of the Environmental Systems. Vol. 7. John Wiley and Sons Ltd. England.
- 3)Steinberg, E. W. (2003) Ecology of Humic Substances in Freshwaters. Springer.
- 4)Matsunaga, K., Nishioka, J., Kuma, K., Toya, K. and Suzuki, Y. (1998) Riverine Input of Bioavailable Iron Supporting Phytoplankton Growth in Kesennuma Bay. Water Research 32, 3436-3442.
- 5)Lewitus, A. J., Kawaguchi, T., DiTullio, G. R. and Keese, J. D. N. (2004) Iron limitation of phytoplankton in an urbanized vs. forested southeastern U.S. salt marsh estuary. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 298, 233-254.
- 6)Otero, E., Culp, R., Noakes, J. E., Hodson, R. E. (2002) The distribution and $\delta^{13}\text{C}$ of dissolved organic carbon and its humic fraction in estuaries of southeastern USA. Estuarine, Coastal and Shelf Science 56, 1187-1194.
- 7)Thurman, E. M. (1985) Organic Geochemistry of Natural Waters. Dordrecht, Martinus Nijhoff/Dr W. Junk Publishers.
- 8)Chin, Y.-P., Aiken, G. and O'Loughlin, E. (1994) Molecular weight, polydispersity, and spectroscopic properties of aquatic humic substances. Environ. Sci. Technol. 28, 1853-1858.
- 9)Stumm, W. and Morgan, J. J. (1996) Aquatic Chemistry, 3rd Edition. John Wiley & Sons, Inc.
- 10)藤井学, 佐々木陽, 渡部徹, 大村達夫, (2004), 河口・沿岸域におけるフミン鉄の錯平衡と凝集特性, 環境工学研究論文集(印刷中).
- 11)Ohshima, H., Furusawa, K. (1998) Electrical phenomena at interfaces: fundamentals, measurements, and applications, 2nd ed., New York: M. Dekker.
- 12)Israelachvili, J. N. (1992) Intermolecular and surface forces second ed. Academic Press Ltd. London.
- 13)Watanabe, A., Itoh, K., Arai, S. and Kuwatsuka, S. (1994) Comparison of the composition of humic acid and fulvic acids prepared by IHSS method and NAGOA method. Soil Sci. Plant Nutri. 40, 601-608.
- 14)Tanford, C. (1961) Physical Chemistry of Macromolecules. Wiley.
- 15)Van Dijk, H. (1971) Cation binding of humic acids. Geoderma, 5, 53-67.
- 16)Tipping, E., Backes, C. A. and Hurley M. A. (1988) The complexation of protons, aluminium and calcium by aquatic humic substances: A model incorporating binding-site heterogeneity and macroionic effects. Water Research 22, 597-611.
- 17)Korshin, G. V., Li, C. W. and Benjamin, M. M. (1997) Monitoring the properties of natural organic matter through UV spectroscopy: a consistent theory. Water Research 31, 1787-1795.
- 18)Chen, J., Gu, B., LeBoeuf, E. J., Pan, H. and Dai, S. (2002) Spectroscopic characterization of the structural and functional properties of natural organic matter fractions. Chemosphere 48, 59-68.