

D-1 渤海・東シナ海における河川経由の環境負荷が海洋生態系に与える影響評価手法に関する研究

(2) 汚濁物質が海洋生態系・物質循環に与える潜在的影響の評価手法に関する研究

③微生物活動が沿岸域における陸起源有害金属元素の循環に与える影響に関する研究

研究代表者 養殖研究所飼育環境技術部環境制御研究室 高柳和史

養殖研究所

飼育環境技術部 環境制御研究室
(委託先) 滋賀県立大学

高柳和史・黒川知子
中山英一郎

平成8-10年度合計予算額 19,988千円

(平成10年度予算額 6,299千円)

[要旨] 1998年5月に東シナ海長江沖に隔離生態系(メゾコズム)を設置しメゾコズム内でのCd, コバルト(Co), 銅(Cu), 鉄(Fe), マンガン(Mn), モリブデン(Mo), ニッケル(Ni), 鉛(Pb), バナジウム(V), 亜鉛(Zn), ヒ素(As), アンチモン(Sb)の濃度を測定した。リン酸塩を添加し生物活動を助長したメゾコズム中ではCu, Ni, Asの濃度が時間とともに減少する傾向がみられたが, Mn, Pb, Zn, Sbの濃度は反対に増加する傾向がみられた。形態別のAsの分析においては, 海水中のAs(V)濃度が急激に減少し, As(III)濃度が徐々に増加する傾向が明らかとなった。その他, Mo, Cd, V, Coの濃度はメゾコズム中ではほとんど変化がなかった。植物プランクトンの組成, 昨年度行った微生物活動の結果から考察するとリン酸塩を添加したメゾコズム内での一部の有害金属の濃度変動は生物活動が関与していることが示唆された。特に, 植物プランクトンが増殖を始める時期には, 微生物よりも植物プランクトンが微量金属濃度に大きな影響を及ぼしているようであり, またプランクトン種の相違によりその影響の度合いが異なっているようであった。さらに, メゾコズムの北に長江からの影響を調査するために定点を設け, 海水を採取し上記有害金属の濃度を測定した。カドミウム濃度範囲はCdが0.1から0.4 nMの範囲, Coが1から13 nMの範囲, Cuが9.1から17.3 nMの範囲, Feが21から2631 nMの範囲, Mnが18から93 nMの範囲, Moが3から8 nMの範囲, Niが1.5から11.8 nMの範囲, Pbが0.0から1.4 nMの範囲, Vが11から19 nMの範囲, Znが38から90 nMの範囲, Asが22.0から25.9 nMの範囲, Sbが1.19から2.07 nMの範囲であった。これら観測点での金属の濃度はPb, Zn以外は他の沿岸域と比較してほぼ同程度であり, この時期, 陸からの強い影響を受けているようには思われなかった。

[キーワード] 有害金属, 物質循環, 生物活動, 沿岸海洋生態系

1. 序

人間活動により排出される有害金属は、そのほとんどが河川、地下水を通して海に運ばれ海洋生態系に悪影響を及ぼす。海洋での生物生産を支え、またレクリエーションの場として重要な沿岸海域、沿岸海洋生態系は陸と海との接点であり特にその影響を強く受けている¹⁾。有害金属による影響は閉鎖性海域で養魚を営む漁民のような小さな地域単位にとどまらず、大河の流れ込む東シナ海のような大きな海域、さらにはそこで引き起こされる種々の生物地球化学的な反応は、地球全体の環境へも及ぶ。特に発展途上国では、人口の増大、工業化の推進、土地利用形態の変化等により有害金属の海洋生態系への負荷が増加しており、有害金属の沿岸海域での動態および生態系への影響評価については早急に解明する必要がある。金属は淡水中と海水中では異なった化学形態で存在し、その形態変化には海水中に溶存する無機物質だけではなく、低次生産をつかさどる生物（植物プランクトンおよび微生物）も深く関与している可能性が高い。金属は形態の変化にともない海水中での反応性に違いが生じ滞留時間が変化し、物質循環に影響を与えるばかりでなく、生態系への影響も異なると考えらる²⁾。以上の理由から、有害金属の生態系への影響評価を適切に行うためには、生物活動と有害金属の濃度変動、物質循環との関係についての研究を進めていく必要がある。

2. 研究目的

アジア最大の河川である長江の沖合沿岸域、東シナ海をモデル海域として陸起源有害金属の濃度変動と微生物活動を中心とした生物活動との関係を解明することを目的とする。有害金属の中でも、カドミウム (Cd)、コバルト (Co)、銅 (Cu)、鉄 (Fe)、マンガン (Mn)、モリブデン (Mo)、ニッケル (Ni)、鉛 (Pb)、バナジウム (V)、亜鉛 (Zn)、そして最近ハイテク産業等での需要が急増しているアンチモン (Sb) とヒ素 (As) に焦点を当てる。これらの金属の東シナ海長江沖海域での濃度分布を把握する。さらに隔離実験生態系（メゾコズム）を構築し、より自然に近い形で、なおかつ栄養塩濃度を上昇させ、生物活動を活発にした環境下での金属濃度の変動と低次生産生物活動との関係を明らかにする。

3. 研究方法

1998年5月に東シナ海長江沖にメゾコズムを2基8日間設置した（図1）。この海域はリン酸塩枯渇の栄養塩状況であったので、その内1基にリン酸塩を添加し、生物活動を助長した。メゾコズムでの海水試料は1日1度表層水を採取した。また、長江影響域の代表的な観測点として、メゾコズムの北に2定点（St. A1とSt. C1）を設け、各定点では3層（表層、中層、底層）からニスキン採水器により採水を行った（図1）。採水に関しては試料汚染を防ぐため細心の注意を払った。

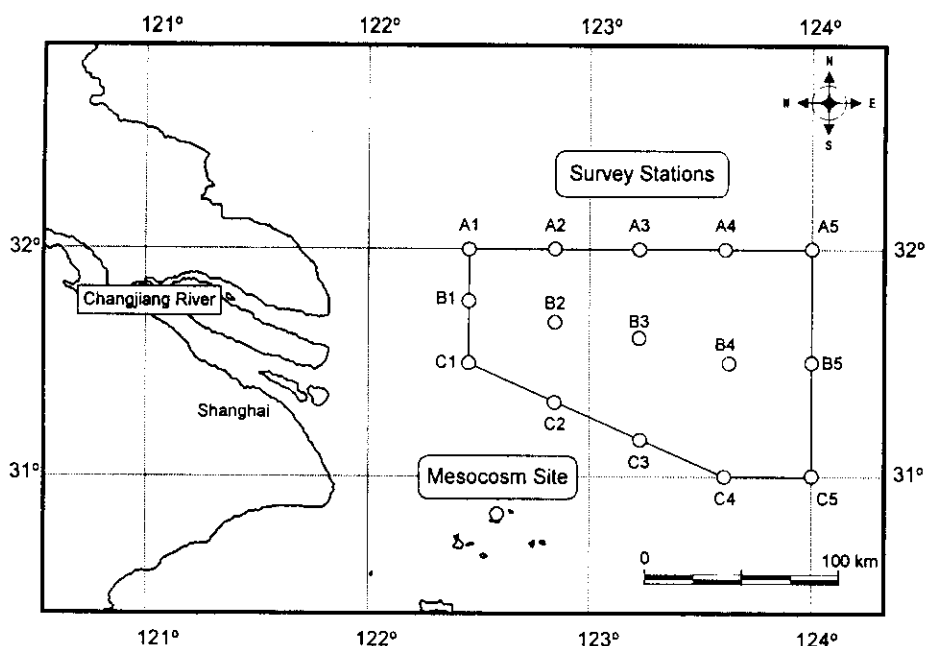


図1 長江沖の観測点およびメゾコズム設置場所

溶存金属分析のため、海水試料は採水後直ちに酸で洗浄したメンブランフィルター (0.4 μ m) により濾過を行った。濾過試料は塩酸酸性にし室温で保管し、実験室に持ち帰った。Sbの分析は、初年度に確立した半自動化水素化物発生原子吸光法³⁾により行い、Asの分析はAndreae (1977)⁴⁾の方法に従って行った。その他の金属はIsshiki et al. (1987)⁵⁾の方法に改良を加えて測定を行った。簡単に述べると、約 200 ml の試料に塩化アンモニウム-アンモニア緩衝溶液を 0.05 M となるように加え、約 pH8 とする。昨年度試作した、トレースエレメントコンセントレーター (3連ペリスタポンプ2機と9個の電磁バルブおよびプログラマブルコントローラーからなり、3個の試料を同時に任意の量だけ濃縮することが出来る。試料と濃縮液のボトルはクリーンボックス中に置かれている。)を用いて試料を流速 5 ml/min でKelex-100 (7-dodeceny1-8-quinolinol)・XAD-4カラムに通じる。1 N硝酸約10 ml を流速2 ml/minで通じて金属イオンを溶離する。この手法で定量的に回収可能な金属元素はV, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Mo, Cd, Pbなどである。Ni, Cu, CdについてはGFAAS (ジャーレルアッシュ製AA-890) と ICP-AES (Thermo Jarrel Ash 製IRIS AP) の両方で定量し、Co, PbについてはGFAASのみによって、V, Mn, Fe, Zn, Moについては ICP-AESのみによって定量した。

4. 結果と考察

4. 1 メゾコズム実験

12の微量金属を分析したなかでFe, Znに関しては非常に濃度のばらつきが大きく (濃度範囲はFeが20から130nM, Znが82から312nMであった), 恐らく採水中あるいは前処理, 分析中に試料汚染を起こしたものと考えられ, その他10の微量金属についてのみ考察を加える。

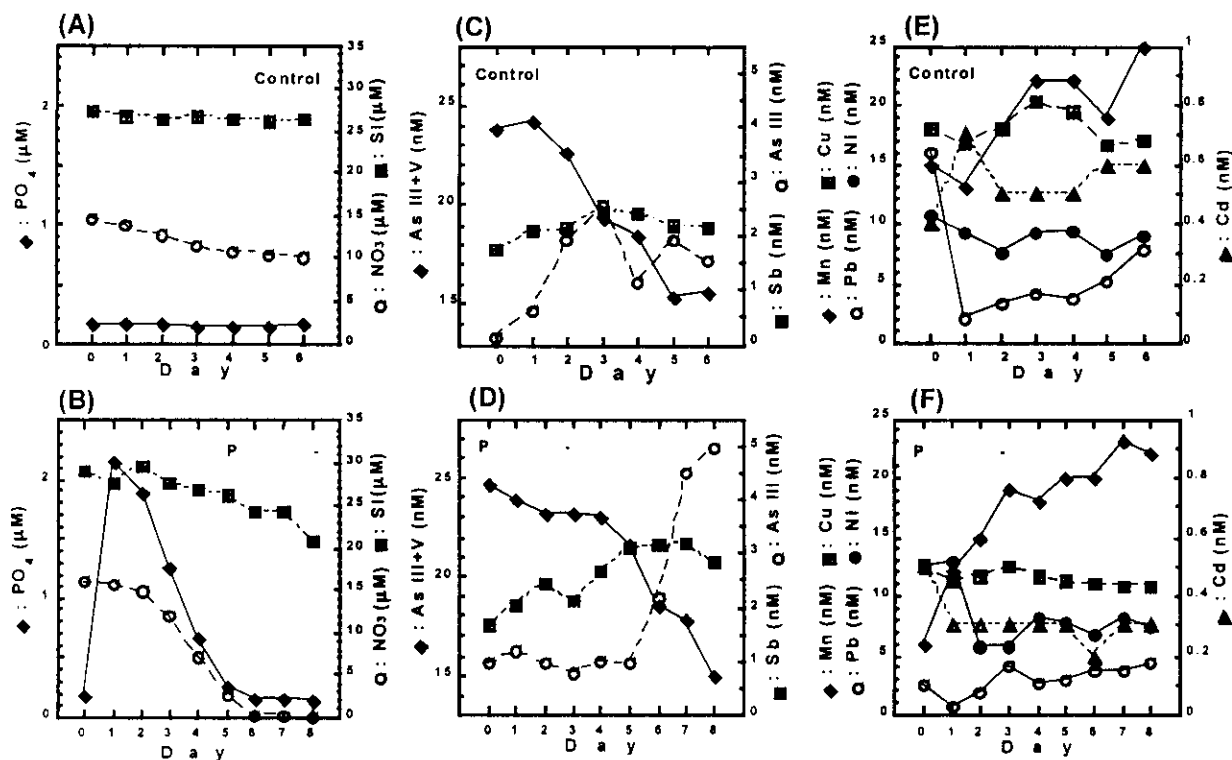


図2 メゾコズム中での栄養塩、As, Sb, Cd, Cu, Pb, Mn, Niの濃度変化：A, C, E はコントロール、B, D, F はリン酸塩添加。栄養塩濃度は越川氏(国立環境研)提供による。

リン酸塩添加とリン酸塩無添加（コントロール）したメゾコズム中のAs, Sb, Cd, Cu, Ni, Mn, Pbおよび栄養塩の経時変化を図2に示す。コントロールではリン酸塩が枯渇しており、リン酸塩欠乏状態となっていた。ケイ酸塩の濃度は約26nMでほぼ一定であった。硝酸塩は14.5から9.9nMと減少していた。これはほとんどケイ藻が増殖していない状況と考えられる。一方、リン酸塩添加のメゾコズムでは添加によりリン酸塩濃度は2.2nMまで上昇したが6日目には枯渇した状態になっていた。リン酸塩添加は硝酸塩の濃度減少を助長し、硝酸塩もまたリン酸塩と同様に6日目には枯渇した状態になっていた。ケイ酸塩の濃度も減少しているが、僅かであった。これはケイ藻ではなく、べん毛藻類の増殖を示唆しており、事実、*Prorocentrum cordatum*の増殖が見られた（越川、私信）。

Asの濃度変化を図2C, Dに示す。Asトータル（As III+V）の濃度はリン酸塩添加、コントロールともに時間とともに減少し、同時にAs (III) の濃度が上昇する傾向が見られた。しかし減少の度合いが異なっていた。リン酸塩が常時欠乏した状態である、コントロールではAs (III+V) は5日間で徐々に24から15.4nMまで減少した。一方、リン酸塩添加では、リン酸塩が豊富にあった最初の4日間はAs (III+V) 濃度の減少は僅かであったが、5日目にリン酸塩が枯渇すると濃度は急激に14.9 nMまで減少した。リン酸塩と同様に濃度減少が生じるのは植物プランクトンが積極的にAsを細胞内に取り込んでいるためと考えられる。そしてこの取り込みは、リン酸塩が豊富であると僅かであるが、リン酸塩が欠乏すると増大することを図2は示している。植物プランクトンがAsを取り込むのはPとAsの原子

構造が似ているため（両方とも周期表の15族に属する元素である），細胞内に取り込みPと同様に何らかの生化学反応に関与しているものと考えられる。しかしながら，この取り込みはリン酸塩豊富な状態では阻害されているようである。As（III）は酸素が豊富な一般の海水中では，ほとんど検出されないのであるが，ここでは最大で5 nM まで増加するのが観察された。特に，リン酸塩添加で，急激にAs（III+V）濃度が減少した時に，それに呼応するようにAs（III）もまた急激に濃度が上昇していた。このAs（III+V）とAs（III）の相呼応する濃度変化は，植物プランクトンがAsを積極的に取り込みAs（III）として排出しているように考えられる。

リン酸塩とAsの取り込みについては Apte et al. (1986)⁶⁾ によれば（1）式の様に表される。

$$\Delta[P] / [P] = D \cdot \Delta[As] / [As] \quad (1)$$

（1）式の中で，D は識別係数， $\Delta[As]$ は予想されるAs濃度の変化， $\Delta[P]$ は観察されたリン酸塩濃度の変化， $[As]$ は観察されたAs濃度， $[P]$ は観察されたリン酸塩濃度である。識別係数Dは植物では2から10の間であると Benson et al. (1981)⁷⁾ が報告している。我々の今回の結果を（1）式に当てはめるとほぼ文献値と同様な結果が得られた。リン酸塩が豊富な4日目までDは10であり，リン酸塩の枯渇した5日目以降は3であった（図3）。つまり，リン酸塩が豊富な間は植物プランクトンはリン酸塩とAsを簡単に識別することが出来るが，リン酸塩枯渇下では識別能力が低下するようである。比較として1997年10月に行った同様なメゾコズム実験の結果を図3に示す。この時はケイ藻プランクトンである，*Skeletonema costatum* が卓越した植物プランクトン種であり，ケイ酸塩もまた，リン酸塩と同様に枯渇した状態になっている所が特徴である。この状況下では常時Dは10であり，*S. costatum* は十分に識別能力があったと考えられる。これらAsの濃度減衰結果はプランクトン種の相違により微量金属の濃度変動の様式が異なるという良い例であろう。

SbはAs（III+V）とは反対に濃度が時間とともに増加する傾向であった。コントロールでは濃度増加は僅かであり，1.67から2.40 nM であったが，リン酸塩添加では1.62から3.20nM と濃度は約2倍に増加していた。同様なメゾコズム実験でApte et al. (1986)⁶⁾ はケイ藻プランクトンのブルーム前後数日間はSb，Asの濃度は変化しなかったと報告しており，今回の我々の実験結果とは全く異なっている。今回は鞭毛藻類である*P. cordatum* のブルームが起こっており，またケイ藻の増殖が少なかったことを考え合わせると，*P. cordatum* が特異的にSb，Asの濃度変動に影響している可能性もある。これらは今後室内実験等で検証していく必要がある。

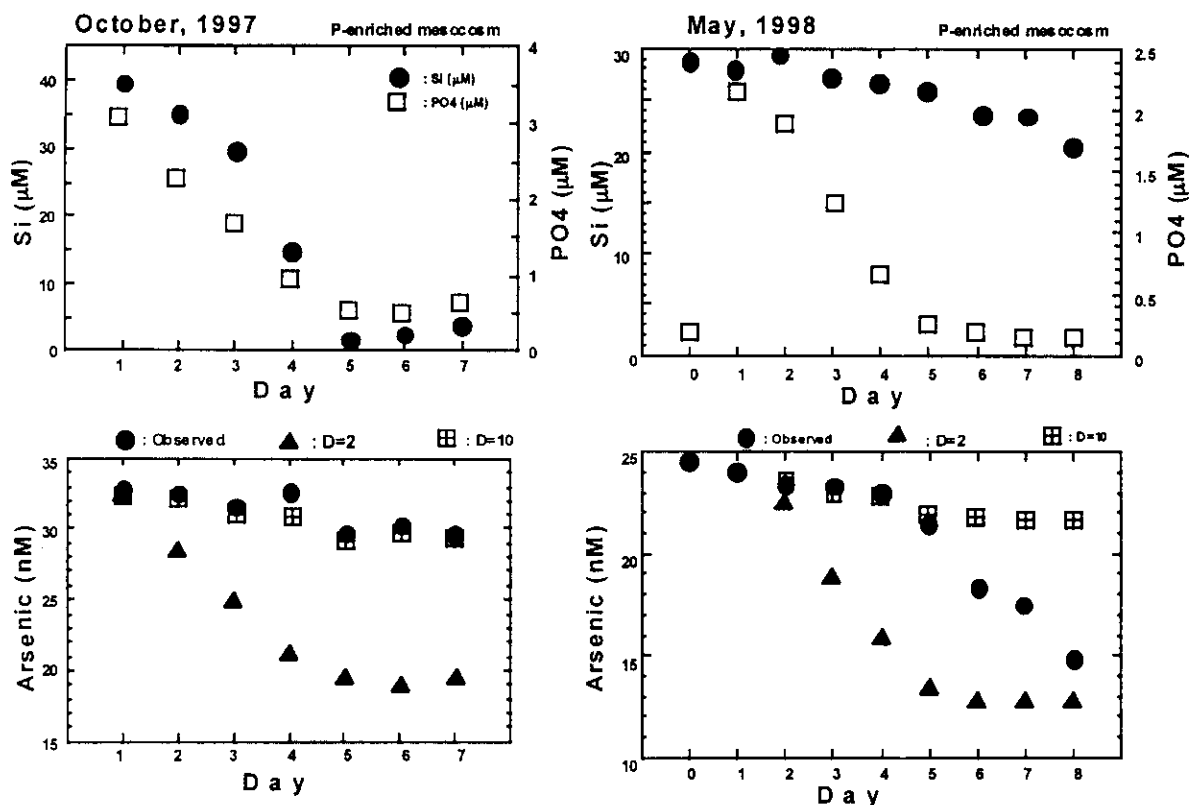


図3 リン酸塩濃度の減少から予想されるAs濃度の減衰

その他の金属：Cd, Cu, Ni, Mn, Pbの濃度のメゾコズム中の経時変化は図2EとFに示してある。コントロールにおいて、顕著な濃度変動を示したのはMnとPbであり、その他はほぼ濃度が一定で、濃度はCdで約0.5 nM, Cuで約14 nM, Niで約9.5 nMであった。Mnは時間とともに濃度が増加する傾向がみられた（15から25 nM）が、Pbは反対に減少する傾向がみられた（16から7.8 nM）。リン酸塩添加では、Mnはコントロールと同様に濃度は6から23 nMと時間とともに増加したが、Pbはコントロールとは逆に2.4から4.3 nMと時間とともに増加した。その他の3元素（Cd, Cu, Ni）もコントロールと濃度変動の様子は異なり、濃度は時間とともに減少した。Cdは0.5から0.3 nMに、Cuは12.7から10.9 nMに、Niは12.5から7.4 nMに減少した。Cd, Cu, Niは海洋では窒素、リン等の栄養塩と似た挙動をすることが知られており（Bruland, 1983）⁸⁾、生物活動（植物プランクトンの増殖等）がリン酸塩添加により活発になり、硝酸塩、リン酸塩の濃度減少と同時にこれらの金属も濃度が減少したものと考えられる。

1997年10月に行った微生物群集の総量、微生物活性の結果と合わせて考えると、メゾコズム実験の初期、つまり植物プランクトンが増殖を始める時期には、植物プランクトンが微量金属濃度に大きな影響を及ぼしているようであり、またプランクトン種の相違により影響の度合いが異なっているようである。

4. 2 長江沖海域調査

沿岸域の代表的な観測点、St. A1とSt. C1（図1）における微量金属の濃度範囲はCdが

0.1から0.4 nM, Coが1から13 nM, Cuが9.1から17.3 nM, Feが21から2631 nM, Mnが18から93 nM, Moが3から8 nM, Niが1.5から11.8 nM, Pbが0から1.4 nM, Vが11から19 nM, Znが38から90nMであった(表1)。水深25から30m前後と浅く, また表層, 中層, 底層と3点しか採水していない為かもしれないが, 鉛直的には顕著な傾向は見られなかった。これらの濃度範囲は他の沿岸域と比較してPbとZnを除きほぼ同じレベルである^{9), 10), 11)}。しかし, これら2観測点は距離的に近いにもかかわらず, 濃度差が大きく, 特にCo, Fe, Mnでは顕著であり10倍以上の差も観察された。これらの原因としては長江河口域では非常にダイナミックな海水の動きがあるのではないかと考えられるが, 詳細については本研究では明らかにすることが出来なかった。しかし, これらは試料汚染の結果とも考えられるので(特にPbとZnに関して), 河口域における有害金属の挙動に関しては今後更なる研究が必要である。

表1 沿岸域の観測点(St. A1とSt. C1)に於けるCd, Co, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Pb, V, Znの濃度

Station	Depth (m)	Cd (nM)	Co (nM)	Cu (nM)	Fe (nM)	Mn (nM)	Mo (nM)	Ni (nM)	Pb (nM)	V (nM)	Zn (nM)
A1-S	0	0.3	13	16.9	2617	86	8	11.8	1.4	18	77
A1-M	12	0.3	12	15.5	2329	80	8	9.1	0.0	19	69
A1-B	24	0.2	14	15.6	2631	93	8	3.3	0.0	19	90
C1-S	0	0.4	1	17.3	163	18	3	7.6	0.0	11	54
C1-M	13	0.2	2	9.4	358	22	3	1.5	0.5	12	54
C1-B	25	0.1	2	9.1	353	21	3	8.2	0.2	13	38

SbとAsのSt. A1とSt. C1における鉛直分布を図4に示す。Sbは顕著な傾向のある分布を示しておりSt. A1では表層で濃度は1.70 nMと低く水深とともに増加し底層で2.07 nMとなった。しかし, St. C1では反対に表層で1.99 nMと一番高濃度で, 底層では1.50 nMであった。AsはSt. C1ではSbと同様に濃度は表層で25.7 nMと一番高く水深とともに濃度が減少し底層で22.0 nMと最低値となっていた。これらの濃度分布の変動に関しても残念ながら本研究では明らかにすることが出来なかった。周年を通したきめ細かな調査も必要であろう。

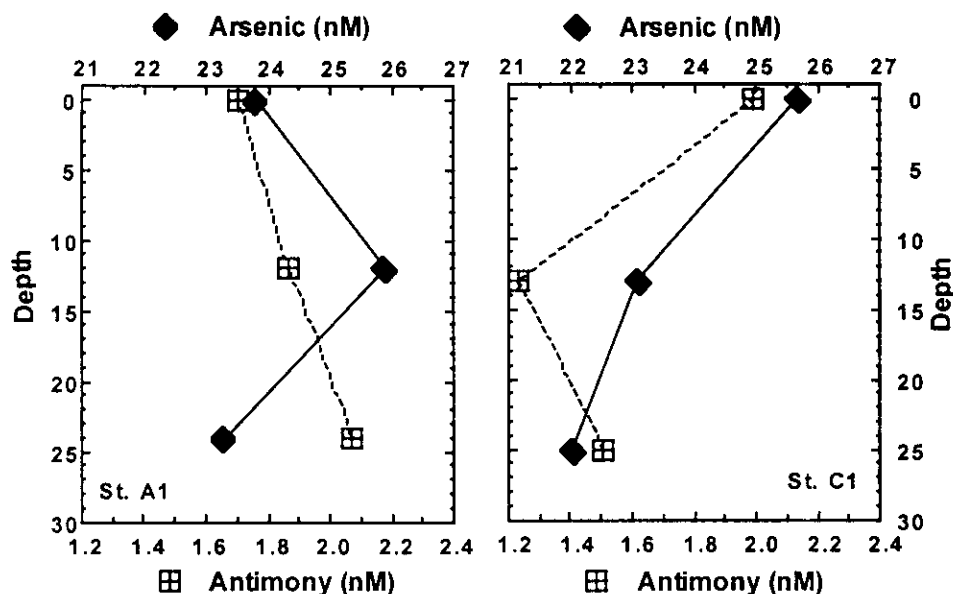


図4 沿岸域の観測点 (St. A1とSt. C1) に於けるSbとAsの鉛直分布

5. 本研究により得られた成果

リン酸塩を添加したメゾコズム内での有害金属の濃度変動は生物活動が関与していることが示唆された。特に、植物プランクトンが増殖を始める時期には、微生物よりも植物プランクトンが微量金属濃度に大きな影響を及ぼしているようであり、またプランクトン種の相違によりその影響の度合いが異なっていることが明らかとなった。また、沿岸域の観測点での結果からZnとPb以外の金属は陸からの強い影響を受けているようではなかった。しかし、近接した観測点においても濃度変動が非常に激しく、その原因についての解明が今後必要である。

6. 参考文献

- 1) GESAMP-IMO/FAO/UNESCO/WMO/WHO/IAEA/UN/UNEP Joint Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Pollution, 1987. Land/Sea Boundary Flux of Contaminants: Contributions from Rivers. Rep. Stud. GESAMP, 32. 172pp.
- 2) Mackenzie, F.T., Bowers, J.M., Charlson, R.J., Hofmann, E.E., Knauer, G.A., Kraft, J.C., Nothig, E.-M., Quack, B., Walsh, J.J., Whitfield, M. and Wollast, R., 1991. What is the importance of ocean margin processes in global change? In: Ocean Margin Processes in Global Change (Mantoura, R.F.C., Martin, J.-M. and Wollast eds.), pp.433-454.
- 3) 高柳和史, P. Michel, 1996. 海水中及びたい積物間けき水中の溶存アンチモンの半自動定量, 分析化学, 45: 1115-1120.
- 4) Andreae, M. O., 1977. Determination of arsenic species in natural waters. Anal. Chem., 49: 820-823.
- 5) Isshiki, K., F. Tsuji and E. Nakayama, 1987. Preconcentration of trace metals

- from seawater with 7-dodecenyl-8-quinolinol impregnated macroporous resin. Anal. Chem., 59: 2491-2495.
- 6) Apte, S. C. and A. G. Howard, R. J. Morris and M. J. McCartney, 1986. Arsenic, antimony and selenium speciation during a spring phytoplankton bloom in a closed experimental ecosystem. Mar. Chem., 20: 118-130.
- 7) Benson, A.A., Cooney, R.V. and Herrera-Lasso, J.M., 1981. Arsenic metabolism in algae and higher plants. J. Plant Nut., 3: 285-292.
- 8) Bruland, K. W., 1983. Trace elements in sea-water. In: Chemical Oceanography, vol. 8 (Riley, J. P. and R. Chester eds.). Academic Press, London. pp. 157-220.
- 9) Kremling, K., 1985. The distribution of cadmium, copper, nickel, manganese, and aluminum in surface waters of the open Atlantic and European shelf area. Deep-Sea Res., 32: 531-555.
- 10) Mart, L. and Nurnberg, H.W., 1986. Cd, Pb, Cu, Ni, and Co distribution in the German Bight. Mar. Chem., 18: 197-213.
- 11) 野崎義行, 1992. 海水中の微量元素: 平均濃度と北太平洋における鉛直分布, 地球化学, 26: 25-39.

[国際共同研究等の状況]

環境庁と中華人民共和国海洋局との間で「東海特定海区河川經由環境負荷物質及びその海洋生態系に及ぼす影響にプロジェクトに関する共同調査研究実施取り決め」が締結され、これに基づき、共同調査船を用いて研究推進を行った。

[研究成果の発表状況]

(1) 口頭発表

- ①高柳和史, 1997. 海洋における重金属の収支, 日本海洋学会春季大会
- ②坂見知子, 阿保勝之, 高柳和史, 杜多哲, 1998. 五ヶ所湾で夏季に発生する湾内海水交換時における細菌活性と細菌総数の変化, 日本水産学会春季大会

(2) 論文発表

- ①Takayanagi, K., D. Cossa and J.-M. Martin, 1996. Antimony cycling in the western Mediterranean. Mar. Chem., 54: 303-312.
- ②高柳和史, P. Michel, 1996. 海水中及びたい積物間げき水中の溶存アンチモンの半自動定量, 分析化学, 45: 1115-1120.
- ③Takayanagi, K. and D. Cossa, 1997. Vertical distributions of Sb (III) and Sb (V) in Pavin Lake, France. Wat. Res., 31: 671-674.
- ④Obata, H., Karatani, H., Matsui, M. and Nakayama, E., 1977. Fundamental studies for chemical speciation of iron in seawater with an improved analytical method. Mar. Chem., 56, 97-106.
- ⑤高柳和史, 1998. 陸起源物質の沿岸域での循環, 森林・河川・農地および沿岸域の統合生態系制御モデルの策定に関する基礎調査報告書, pp. 304-308.
- ⑥Sohrin, Y., Iwamoto, S., Akiyama, S., Fujita, T., Kugii, T., Obata, H., Nakayama,

E., Goda, S., Fujishima, Y., Hasegawa, H., Ueda, K., and Matui M., 1998. Determination of trace elements in seawater by fluorinated metal alkoxide glass-immobilized 8-hydroxyquinoline concentration and high-resolution inductively coupled plasma mass spectrometry detection. *Anal. Chim. Acta*, 363, 11-19.

- ⑦Okamura, K., Gamo, T., Obata, H., Nakayama, E., Karatani, H. and Nozaki, Y., 1998. Selective and sensitive determination of trace manganese in sea water by flow through technique using luminol-hydrogen peroxide chemiluminescence detection. *Anal. Chim. Acta*, 377, 125-131.