

機関番号: 11201

研究種目: 基盤研究(B)

研究期間: 2008~2010

課題番号: 20360236

研究課題名(和文) 付着藻類と水生昆虫を考慮した河川生態系に及ぼす複合重金属の影響とその評価

研究課題名(英文) Evaluation and effect of coexisting heavy metals on river ecosystem considering attached algae and water insects

研究代表者

海田 輝之(UMITA TERUYUKI)

岩手大学・工学部・教授

研究者番号: 30117072

研究成果の概要(和文): 河川生態系の主要な構成要素である水生昆虫と付着藻類について、重金属が単独及び複合して存在する場合での両者の生存に及ぼす影響を室内実験により検討した。水生昆虫としてはヒラタカゲローを対象生物とし、アルミニウム、銅、カドミウムの LC₅₀ を求め、銅とカドミウムが共存する場合、毒性当量が低い場合では拮抗的、高い場合は相乗の影響があることが分かった。さらに、珪藻と緑藻について、アルミニウムの存在形態を考慮し、重合核成分の含有量が多いと毒性が高いこと、アルミニウム、亜鉛、銅、カドミウムのうち 2 つが共存する場合での毒性を明らかにした。

研究成果の概要(英文): The effects of coexisting heavy metals on the survival of water insect and attached algae were investigated in the laboratory experiments. The LC₅₀ values of Al, Cu and Cd for *Epeorus* were obtained. Coexisting Cu and Cd showed an antagonistic effect in low toxicity equivalence quantity and synergistic effect in high quantity. Polynuclear hydroxyl-Al accelerated the decay of *Nitzschia palea* (diatom) and *Chlorella vulgaris* (green algae). The toxicity of coexisting two metals (Al, Zn, Cu or Cd) to algae was demonstrated.

交付決定額

(金額単位: 円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	5,900,000	1,770,000	7,670,000
2009年度	3,100,000	930,000	4,030,000
2010年度	2,100,000	630,000	2,730,000
総計	11,100,000	3,330,000	14,430,000

研究分野: 工学

科研費の分科・細目: 土木工学・土木環境システム

キーワード: 複合重金属、付着藻類、付着藻類、河川生態系

1. 研究開始当初の背景

近年、河川環境の重要性が認識され、健全な生態系の保全や創造の観点から、ハード面では河川改修工事には多自然(型)工法が採用され、また、化学物質の水生生物の保全に係わる水質環境基準として我が国では水

生昆虫の一種であるヒラタカゲローのデータを元に亜鉛が採用された。重金属による水環境の汚染としては、重金属に汚染された土壌や自然土壌からの酸性雨による重金属の溶出、廃棄物不法投棄現場からの侵出、旧廃止鉱山やその処理施設からの重金属含有廃

水の流出等、多くのリスクが考えられる。しかしながら、重金属の付着藻類や水生昆虫を含めた河川生態系への影響についての調査例は非常に少なく、また、通常、これらの汚染源からは重金属は単独ではなく、種々の重金属が河川に排出されているにもかかわらず、それらが複合して存在する場での影響は全く分かっていないのが現状である。

2. 研究の目的

(1) 河川生態系での代表的な藻類について、アルミニウムの存在形態（ポリマー及び単核）を考慮し、これらと種々の重金属（Cu、Zn、Cd）が共存する場での藻類の死滅特性を室内実験で検討する。

(2) 河川において現存量が多く、様々な環境で生息しているヒラタカゲローを対象にして、重金属（Cu、Al、Cd）の半数致死濃度をもとめ、CuとZnが共存する場合での影響を室内実験により明らかにする。

(3) 以上の結果を踏まえて、重金属による河川生態系への影響を評価する。

3. 研究の方法

(1) 重金属の水生昆虫に対する毒性評価

岩手県内の中津川にてサーバーネットを川底にあてがい、上流側の礫を攪拌し、その隙間や礫表面に生息している水生昆虫を流れに沿ってネットの中に導入した。ネット内の水生昆虫をバットに移し、ヒラタカゲロー属のみをポリ瓶に入れ、河川水と一緒に持ち帰り、一日保存して死んだものを除外した。ガラス製の1Lビーカーに試験液900ml（河川水に種々の濃度の原子吸光分析重金属を添加したもの）と5cm程度の小石1個及び採集したヒラタカゲローを15匹ずつ投入し、エアポンプで曝気しながらインキュベーター（15℃設定）内で試験を行った。一日一回死亡数と死亡個体の体長を測定した。なお、河川水のCa及びMg濃度は各々6.81~11.7、1.37~2.52mg/Lであり、pHは7.0とし、実験中に羽化したものはデータには含めなかった。

(2) 重金属の藻類に対する毒性評価

本研究で使用した藻類は、国立環境研究所微生物系統保存施設から入手した *Chlorella vulgaris*（緑藻）と *Nitzschia palea*（珪藻）であり、試験前に継代培養して使用した。重金属は原子吸光分析用の金属標準溶液を用い、Alについては単核画分（Al-aとする）あるいは重合核画分（Al-b）が主となる溶液を作成した。

3Lの三角フラスコにイオン交換水で3回洗浄し、遠心分離により濃縮した藻類の植

種液と重金属溶液を添加し、室温25℃、照度4000lxの12h/12hの明暗条件で一日数回攪拌した。経時的に攪拌しながらサンプリングし、Chlorophyll a濃度を測定した。

全試験液のpHは6とし、試験中におけるpHの変化を防ぐため緩衝剤として2-Morpholinoethanesulfonic acidを1.68mM添加した。

なお、本研究ではAlを添加した実験も行っているため、試験液中のAlイオンとリン酸イオンの錯体や沈殿物の形成を防ぐため、全実験で栄養塩類は添加せずに培養を行い、対照系のChlorophyll a濃度の経時変化を基準とし、異なる条件でそれより低下が速い場合は金属イオンによる急性毒性的な影響があると判断した。

4. 研究成果

(1) 重金属の水生昆虫に対する毒性評価

図1, 2に種々の濃度のCuとCdを単独で添加した場合でのヒラタカゲローの死亡率の経時変化を例として示す。いずれの金属でも概ね添加濃度が高いほど短い時間で死亡率が高くなっているのが分かる。

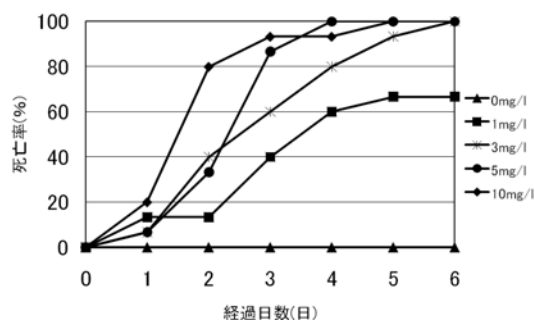


図-1 死亡率の経日変化 (Cu 試験液)

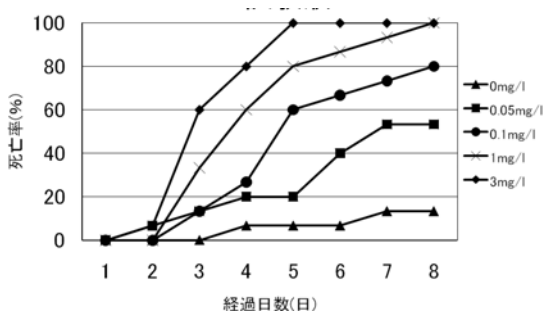


図-2 死亡率の経日変化 (Cd 試験液)

図-3は各金属の初期濃度に対するヒラタカゲローの死亡率を対数正規確率図にプロットしたものである。Al-aは10日目、CuとCdは4日目の死亡率を採用した。この図から、Al-aの毒性はCu、Cdに比べて低いことが分かる。この図より半数致死濃度LC₅₀を求め、それらをまとめたものを表-1に示す。3種の金属で毒性が最も高いのはCdで

あり、Cu と Al-a の順となった。

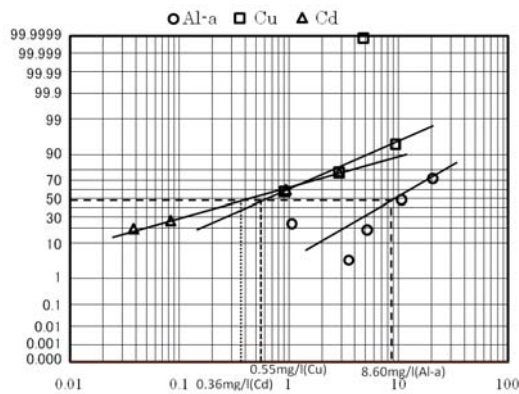


図-3 金属濃度と死亡率

表-1 各金属の半数致死濃度

	LC ₅₀
Al-a	8.60mg/l (10 日目)
Cu	0.55mg/l (4 日目)
Cd	0.36mg/l (4 日目)

次に、Cd と Cu の双方を添加した場合について毒性当量を以下のように定義した。即ち、金属を単独で添加して得られた LC₅₀ 値を各金属の毒性当量 1 とし、例えば Cd と Cu の各 LC₅₀ 値の 1/2 の濃度の混合液の毒性当量を 1 とした。図-4 に Cd と Cu 混合液の毒性当量を 0.5 とし、各金属単独の毒性当量を 0.25 とした場合の死亡率の経日変化を示す。なお、図中の Cd(0.25)+Cu(0.25) は単独の毒性当量 0.25 での死亡率を足し合わせたものである。これより、混合液で毒性当量を 0.5 とした場合より単独で 0.25 としたものを足した方が死亡率は明らかに大きくなっており、拮抗的な影響があることが分かる。図-5 には混合液で毒性当量を 2 とし、各金属単独の毒性当量を 1 及び 2 とした場合の死亡率の経日変化を示す。なお、Cd(1)+Cu(1) は単独の毒性当量 1 での死亡率を足し合わせたものである。これより、各金属での毒性当量 1 では死亡率は 10% 以下であったが、混合液での毒性当量 2 の場合での死亡率は 90% を超えており、相乗的な影響があることが分かる。一方、各金属単独で毒性当量 2 の場合での死亡率は、Cd で約 60%、Cu で約 90% であり、毒性当量に見合った死亡率になっている。

以上より、本研究では Cu と Cd の混合液と各々が単独の場合での死亡率より、毒性当量が低い場合は拮抗的影響が、高い場合には相乗的な影響があることが分かった。しかしながら、実際の河川では、Cu と Cd のみが存在

するような状況はあり得ず、多種の金属が共存しているのが一般的であり、更なる研究が必要である。また、我が国ではヒタカゲロウに対する慢性毒性のデータを基に、河川では対象金属として Zn が選定され、0.03 mg/L が環境基準値に設定されている。しかし、これは金属単独でのデータから得られており、本研究結果から環境基準の設定の見直しも必要であることを示唆している。

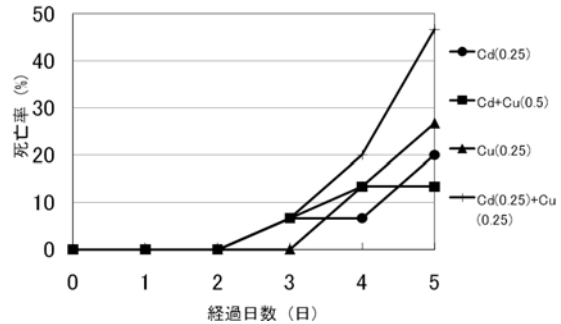


図-4 毒性当量 0.5(混合液)及び 0.25(単独)での死亡率の経日変化

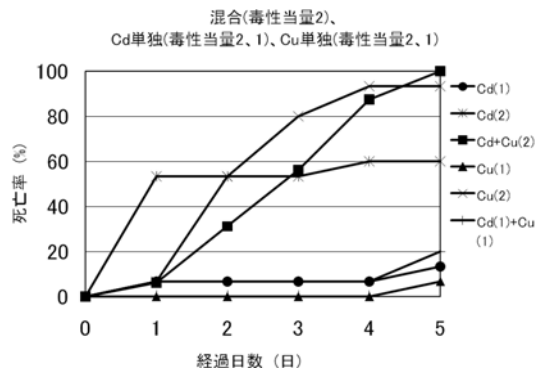


図-5 毒性当量 2(混合液)、1(単独)、2(単独)での死亡率の経日変化

(2) 重金属の藻類に対する毒性評価

① *Chlorella vulgaris* (緑藻) を用いた場合

図-6 に例として Cu 単独の場合での Chlorophyll a 濃度の経時変化を初期濃度を 100% として示す。なお、凡例の数値は Cu 濃度の設定値である。また、図-7 に Zn、Cu、Cd の各設定濃度での実験開始時の Chlorophyll a 濃度 (C₀) と 72h 後の濃度 (C₇₂) の濃度比 (C₇₂/C₀) を対照系(0mg/L) の同様の濃度比で除した値 (比率) を示す。これより、Zn、Cu、Cd 単独の全ての場合で、設定濃度が大きい程 Chlorophyll a 濃度の減少割合の比率も大きくなり、0.03mg/L でもわずかであるが毒性影響が生じていることが分かる。また、Cu と Cd では概ね同様の減少割合であり、同程度の毒性を有するが、Zn では 1.0mg/L で減少割合の比率がおおきくなりこれ以上の濃度では毒性が強くなることを示している。

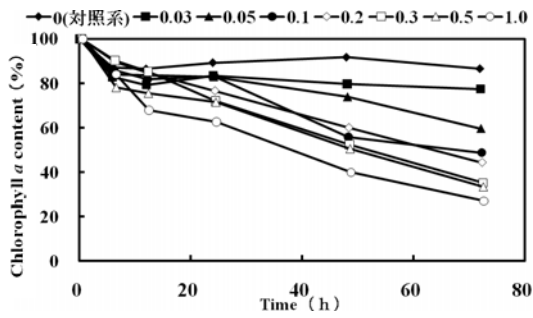


図-6 Cu 単独の場合での Chlorophyll a の経時変化

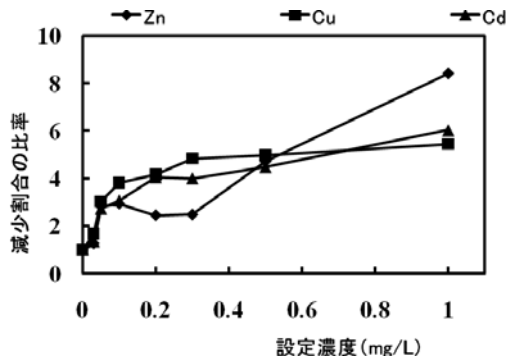


図-7 対照系と比較した 72 時間後の Chlorophyll a の減少比率

図-8、9に各々CuとCd、CuとZnを同時に添加した場合の Chlorophyll a 濃度の経時変化を示す。凡例の数値は添加した Cd の濃度 (図-8) 及び Zn の濃度 (図-9) であり、添加した Cu の濃度は 0.05mg/L である。これらから、図-7 に示したように Cu を 0.05mg/L 単独で添加した場合はさほど毒性を示さないが、Cd あるいは Zn と共存することによって Cd あるいは Zn 単独の場合より明らかに Chlorophyll a 濃度の低下が大きくなっており、毒性が強くなっていることが分かる。

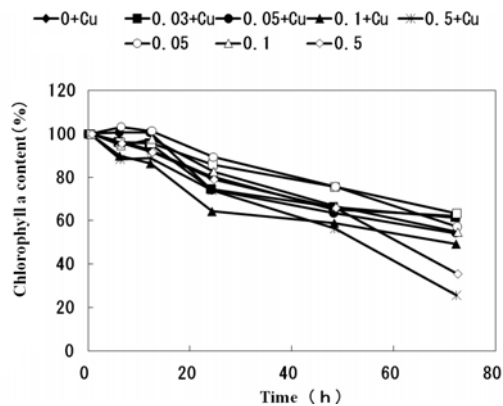


図-8 Cu と Cd が共存する場合での Chlorophyll a 濃度の経時変化

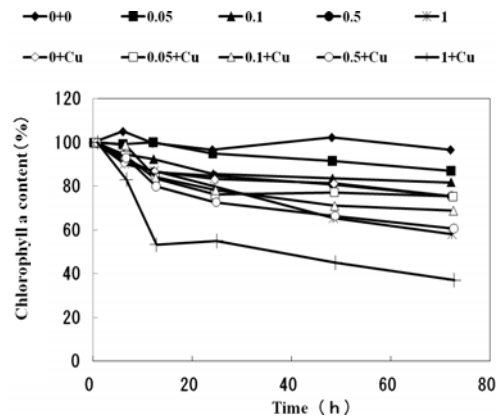


図-9 Cu と Zn が共存する場合での Chlorophyll a 濃度の経時変化

② *Nizschia palea* (珪藻) を用いた場合

図-10 に例として全 Al (Al_T) 濃度を 0.5 及び 5mg/L とした場合の Chlorophyll a 濃度の経時変化を示す。凡例の Solution I は単核 Al 画分、Solution II は重合核 Al 画分が主成分である溶液を示している。これより全 Al 濃度が低い場合には、重合核 Al 画分が多い方が Chlorophyll a 濃度の低下が大きく、重合核 Al の毒性が単核 Al より強いことが分かる。このことは、Al 濃度が低濃度でも Al の存在形態を考慮したリスク評価が必要であることを示している。一方、全 Al 濃度が高い場合には、核種の影響が認められず、Al 自体の影響があることを示している。

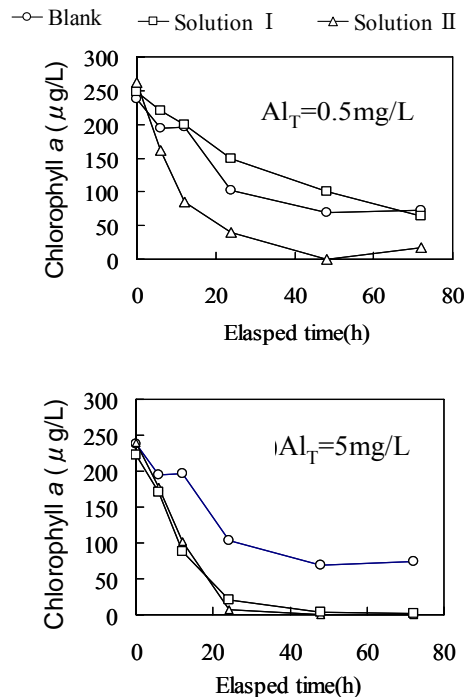


図-10 Al の形態による毒性の変化

図-11 に Zn 濃度を 0 から 1mg/L まで数段階に変化させた場合の Chlorophyll a 濃度の経時変化を初期濃度を 1 として示す。これより、Zn 濃度が 0.2mg/L より高くなると毒性が顕著になり、それ以上の Zn 濃度では濃度が高くなるに従って毒性が大きくなることが分かる。

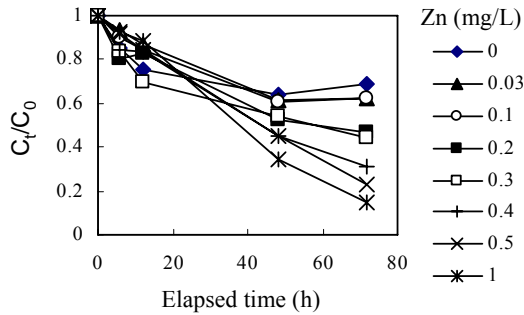


図-11 Zn 濃度の影響

図-12 に Al-t 濃度を 1mg/L (重合核分 Al は約 0.8mg/L) として、種々の濃度の Ca を添加した場合の Chlorophyll a 濃度の経時変化を示す。Ca の添加量が多くなるほど Chlorophyll a 濃度の低下が少なくなっており、Al の毒性が緩和されることが分かる。

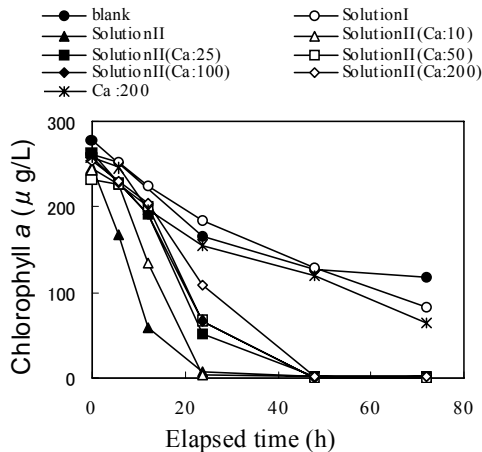


図-12 Al と Ca が共存する場合

図-13 に重合核 Al が主成分の溶液に Zn を 0.03mg/L になるように添加した場合の Chlorophyll a 濃度の経時変化を示す。Zn を添加した場合としない場合を比較すると、明らかに添加した方が Chlorophyll a 濃度の低下が顕著であり、Ca を添加した場合は異なり、両者の毒性が相加的あるいは相乗的であることを示している。この複合的な影響を明確にするために、重合核 Al 濃度 (Al-b) と初期 Chlorophyll a 濃度に対する 48 時間後の濃度との比 (C_{48}/C_0) との関係について、Al に Zn を添加した場合としない場合について図-14 に示す。これより同一の Al-b 濃度

でも Zn を添加した場合の方が C_{48}/C_0 の値が小さくなっており、Zn の複合影響が明確に見て取れる。特に、その差は Al-b が 0.1mg/L の時が最大であり、低濃度でも金属の水環境中での形態や複合影響を考慮する必要があることを示している。

我が国では、水環境中での水生生物の保全を考慮して、水環境基準の生活項目に全 Zn が加えられ、基準値は河川と湖沼では 0.03mg/L である。この値は、本研究で用いたヒラタカゲローの慢性毒性値から決められたが、Zn 単独の条件での実験から決められている。金属汚染が問題となるような水域では、金属が単独で存在する場合はほとんど無く、種々の金属が共存しているのが普通である。従って、本研究で示されたように、今後は金属の複合影響や金属の存在形態を考慮した研究がさらに必要であり、環境基準の項目や基準値自体も検討する必要があると考えられる。

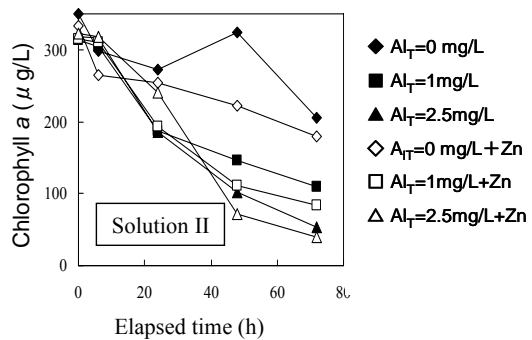
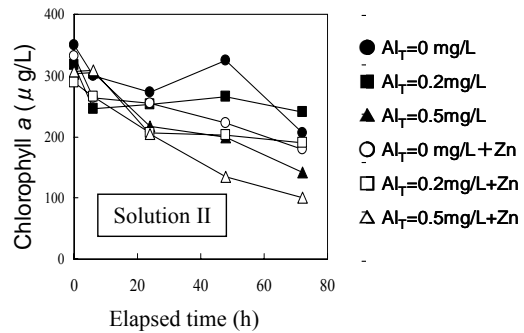


図-13 Al-b と Zn が共存する場合

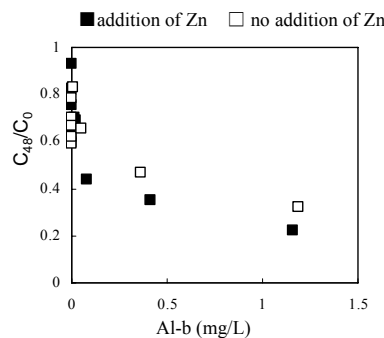


図-14 Al-b と Zn の複合影響

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計2件)

- ① T. Umita, A. Ito, A. Sasaki, Y. Satoh and J. Aizawa, Synergetic Effect of Polynuclear Hydroxyl-aluminium and Coexisting Zinc on the Survival of Aquatic Diatom, *Water Practice & Technology*, 5(3), 2010 査読有
- ② 佐藤洋平、伊藤歩、館紀昭、佐々木貴史、相澤治郎、海田輝之、重合核アルミニウムイオン存在下における付着珪藻の生息に及ぼす共存金属イオンの影響、*環境工学研究論文集*、45、2008、139-144、査読有

〔学会発表〕(計7件)

- ① 牛嶋亮、熊倉尚樹、石川奈緒、笹本 誠、伊藤 歩、海田輝之、水生昆虫を指標とした重金属汚染の評価、土木学会東北支部技術研究発表会、2011.3.5、東北工業大学(仙台市)
- ② 千葉遼太郎、齊藤星河、平澤大輔、石川奈緒、伊藤 歩、海田輝之、藻類を用いた金属汚染の生態影響評価、土木学会東北支部技術研究発表会、2011.3.5、東北工業大学(仙台市)
- ③ Teruyuki Umita, Ayumi Ito, Atsushi Sasaki, Nao Ishikawa, Toxicity Effect of Coexisting Polynuclear Hydroxyl-aluminium and Zinc on Aquatic Diatom *Nitzschia palea*, IWA World Water Congress & Exhibition, 2010.9.19, パレ会議場(モントリオール、カナダ)
- ④ 帷子穰、千葉遼太郎、伊藤歩、相澤治郎、海田輝之、緑藻の生息に及ぼす重金属の影響、土木学会東北支部技術研究発表会、2010.3.6、日本大学(郡山市)
- ⑤ T. Umita, A. Ito, A. Sasaki, Y. Satoh, and J. Aizawa, Synergetic Effect of Polynuclear Hydroxyl-aluminium and Coexisting Zinc on the Survival of Aquatic Diatom, IWA-ASPIRE, 2009.10.20、台北(台湾)
- ⑥ 佐藤洋平・中居良太・壽松木慧・伊藤歩・相澤治郎・海田輝之、複合金属汚染が藻類の生息に与える影響、土木学会東北支部技術研究発表会、2009.3.7、東北学院大学(多賀城市)
- ⑦ 大内尊文・五十嵐夏奈・伊藤 歩・相澤治郎・海田輝之、水生昆虫の生息に及ぼす重金属の影響、土木学会東北支部技術研究発表会、2009.3.7、東北学院大学(多賀城市)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

海田 輝之 (UMITA TERUYUKI)
岩手大学・工学部・教授
研究者番号：30117072

(2) 研究分担者

伊藤 歩 (ITO AYUMI)
岩手大学・大学院工学研究科・准教授
研究者番号：90312511

石川 奈緒 (ISHIKAWA NAO)
岩手大学・工学部・助教
研究者番号：10572141
H22 より研究分担者として参加