

令和元年度伊藤光昌氏記念学術助成金(研究助成)成果報告書

研究課題番号	H31-R3
研究課題名	温泉水と土壌有機物を利用した大阪湾を豊かな海に復元する研究
研究代表者	西川 遼
所属・職 (または学年)	近畿大学大学院総合理工学研究科理学専攻・2年生

〈研究目的〉

大阪湾を含む瀬戸内海は1960年代の高度経済成長期に水質汚染が顕著化し、1970年代になると赤潮が大量に発生し社会問題となった。その対策として瀬戸内海環境保全臨時措置法が施行され、多くの都府県で、公害防止条例等で排水負荷規制を実施した結果、瀬戸内海や大阪湾に流入する工場排水は少なくなったものの、大阪湾奥部では現在でも水質汚濁が慢性化し、夏季には貧酸素状態もみられている。一方、湾口部から湾央部は、全窒素・全リンが減少し、漁業者等より、栄養塩不足の声が聞かれるようになった。大阪湾は古くから水産資源に恵まれており、古くは「茅渚(ちぬ)の海」とも呼ばれており、様々な漁業が営まれていたが、漁獲量は年々減少する傾向にある。

この大阪湾を豊かな海に変えるには、植物プランクトンの栄養素である窒素、リンなどを再供給するとともに、良質な栄養素を増やす必要がある。植物プランクトンの増殖には窒素、リン、ケイ酸などの栄養塩は必須であるが、その他に生物活性微量元素が必要と言われている。生物活性微量元素にはAl, Mn, Co, Fe, Zn, Ni, Cu, Pbなどがあげられる。この中でもFeはマーチンの鉄仮説(植物プランクトンの成長に必要な栄養塩が多いにも関わらずその発生数が少ない海域では、鉄濃度が低いこと植物プランクトンの成長を制限しているのではないかと)でも取り上げられたが、植物プランクトンを増やすにはFeなどの生物活性微量元素が必要である。大阪湾へは淀川、大和川を含め大小様々な河川が流入しているが、淀川水系にお

けるFe濃度は数 $\mu\text{g/L}$ ～数百 $\mu\text{g/L}$ と低い。また、天然水中において取りうるFeの存在形態は、無機イオンでは Fe^{2+} 、 Fe^{3+} として存在するが、これらの分子種は、天然のほぼ中性のpH領域においては、 $\text{Fe}(\text{OH})_2$ 、 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ などを形成し速やかに水中から除掃されてしまう。Feを比較的多く、大阪湾に供給し、植物プランクトンを増殖させるためには多量のFeを供給することが可能な水源と、そのFeを安定な化合物に変える必要がある。

そこで、本研究ではFeなど生物活性微量元素を豊富に含む天然水を探し出し、次にFeを安定な可溶性物質に変えることを目的に、構成成分としてカルボシル基、カルボニル基、フェノール性およびアルコール性水酸基などを有することが知られている腐植物質に着目し、天然土壌からこの腐植物質を抽出し、抽出した腐植物質とFeなど微量元素を錯生成させることを目的に研究を行った。

〈実験および結果〉

1) 大阪府周辺河川水中の生物活性微量元素の分析
試料採取点をFig. 1に示したが、大阪府には大和川水系および淀川・神崎川水系の河川水が流れている。大和川水系(No. 1-23 石川, 石見川, 天見川含む)の河川水試料は2019年7月13日(土)、8月3日(土)、9月7日(土)に採取した。淀川水系(No. Y1~Y11 瀬田川, 宇治川, 桂川, 木津川含む)の河川水試料は2019年11月9日(土)に採取した。河川水試料は原則的に河川に架かる

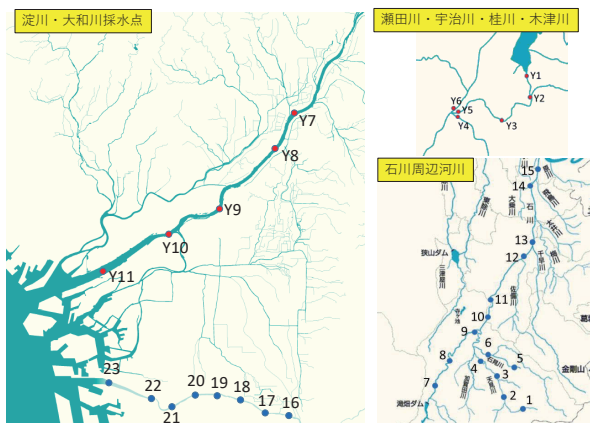


Fig. 1 試料採取点

橋上で流心においてバケツで採水した。なお、温泉水は湧出口から直接採取した。

溶存態金属，全可溶態金属の分析：溶存態金属（Dissolved metal: D）分析用試料は採取した河川水を現場にて孔径0.45 μmのPTFE製フィルターを用いてろ過を行い，そのろ液100 mlをLDPEボトルに移し，そこに高濃度塩酸1.0 mlを入れて研究室に持ち帰り，常温で保存した。また全可溶態金属（Total Dissolved metal: TD）分析用試料は，ろ過は行わず，試料水100 mlをLDPEボトルにとり，高純度塩酸を1.0 ml添加し，1ヶ月間室温保存した。微量金属（Al, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Cd, Pb）の分析には誘導結合プラズマ（ICP）発光分析装置（Thermo Scientific社製iCAP7600Duo）を用いた。なお置換活性粒子態（Labile particulate: LP）金属濃度は全可溶態

（TD）金属濃度から溶存態（D）金属濃度を差し引くことにより求めた。

2) 河川水中のFe濃度

生物活性微量元素分析結果の一例として，大和川水系のFe濃度をFig. 2に示したが，採水点3, 5, 10ではFeは高濃度を示し，採水点3および10でFeは，ほとんど溶存態（D-Fe）で存在しており，それぞれ24.3, 14.9 mg/Lであった。これらは全て温泉水の湧出してきている地点である。採水点5ではTD-Feが44.8 mg/L, D-Feが28.4 mg/Lであった。採水点15でFeが比較的高濃度を示した原因は採水点付近で河川の浚渫工事の影響と考えられた。温泉水が湧出してきている採水点3, 5ではFe以外にPb, Crが比較的高濃度を示した。淀川水系のFe濃度をFig. 3に示したが，溶存態よりも置換活性粒子態濃度の方が濃度は高く，淀川水系では瀬田川が最も高い濃度を示した。以上の結果より，大和川水系の石川の温泉水がFeの供給源として適していることが分かった。また状態別（価数）分析の結果，ほとんどがFe²⁺で存在することが分かった。

3) 河川水中のFeと腐植物質の関係

河川水中の腐植物質は蛍光を発するため，蛍光測定により腐植物質の定量が可能である。そこで

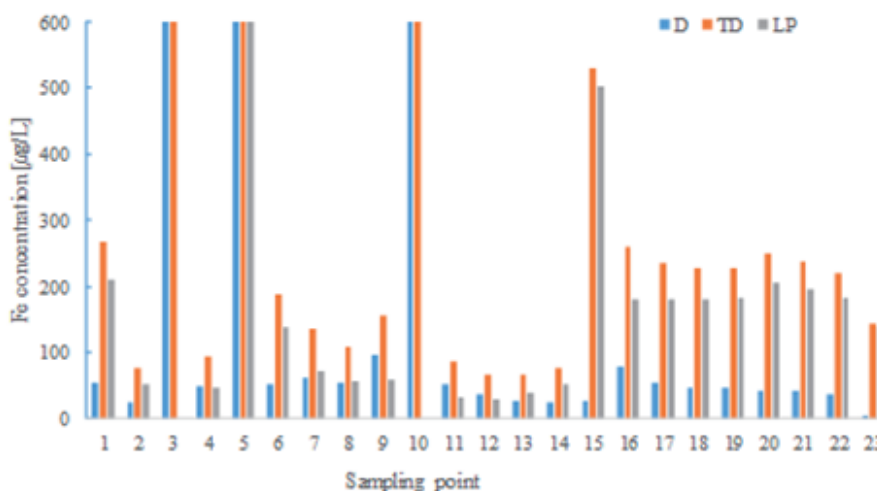


Fig. 2 大和川水系における溶存鉄（D-Fe），全可溶態（TDFe），置換活性粒子態鉄（LP-Fe）濃度

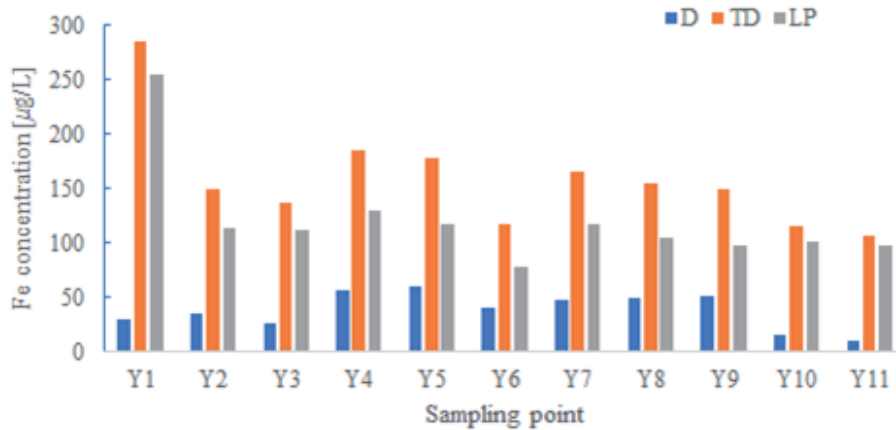


Fig.3 淀川水系における溶存鉄 (D-Fe), 全可溶態 (TDFe), 置換活性粒子態鉄 (LP-Fe) 濃度

河川水中の蛍光性溶存有機物質を分光蛍光光度計 (日立ハイテクサイエンス製 F-7100 型) で測定した. Fig. 4 に琵琶湖フルボ酸および大和川河川水の 3 次元励起蛍光スペクトルを示した. 日本腐植物質学会より頒布されている琵琶湖フルボ酸には励起波長 250 nm, 蛍光波長 430 nm 付近に蛍光極大ピークが認められた. 大和川河川水にも同様な励起・蛍光波長にピークが認められたことから,

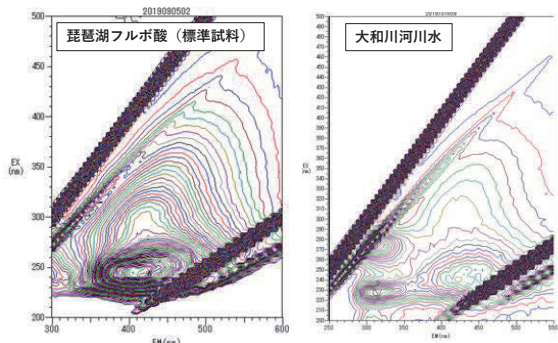


Fig. 4 琵琶湖フルボ酸, 大和川河川水の 3 次元励起蛍光スペクトル

河川水中にもフルボ酸が存在することが確認された. それぞれの河川水中の溶存 Fe 濃度とフルボ酸 (蛍光性有機化合物: FDOM) の蛍光強度の関係を Fig. 5 に示した. その結果, 石川周辺河川水においては有意な相関関係は認められなかったが, 大和川水系においては有意な正の相関関係 ($r^2 = 0.82$, $p < 0.05$) 認められた. また, 淀川水系においては Y7 から Y11 にかけて有意な正の相関関係 ($r^2 = 0.85$, $p < 0.05$) が認められ, 大和川および淀川において Fe はフルボ酸鉄として存在している可能性が示唆された.

4) 天然土壌からのフルボ酸, フミン酸の抽出

試料の採取: 森林地帯土壌試料は 2019 年 6 月 8 日に奈良県吉野郡川上村山岳地帯天然林および植林の 2 か所にて採取を行った (Fig. 6). また, 比較対象として, 都市部緑地土壌試料 (大阪府八

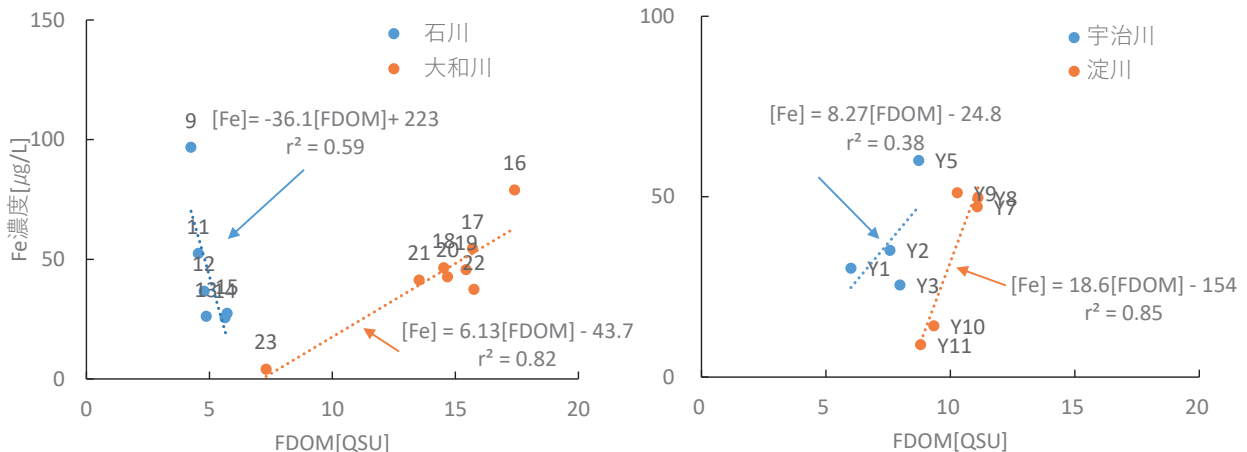


Fig. 5 大和川水系および淀川水系における Fe 濃度とフルボ酸 (蛍光性有機物) の関係



Fig. 6 原生林土壌試料の採取の様子
(奈良県吉野郡川上村)

尾市久宝寺緑地公園にて2019年11月19日に採取, 市販腐葉土(グリーンプラン株式会社製, 兵庫県産)を使用した。なお, それぞれの土壌試料は孔径4.00 mmの篩を通過した土壌を実験に用いた。

土壌から腐植物質の抽出は弘法・大羽法, Kumada法をまとめたNAGOUYA法を用いて行った。操作の概略は以下に示す。土壌試料は風乾し1.18 mmの篩に通過させ, 植物根は可能な限り取り除いた。この土壌試料(3 g)を秤量し, 900 mLの0.1 M NaOHを加え, 窒素ガスを10分間通気した後, 室温で48時間ときどき振とうしながら静置した。凝集剤としてNaClを27 mg加え, 1500 × gで15分遠心分離した。土壌残さは

1回目の抽出時と同量のNaClを含有する0.1 M NaOHを加え, 土壌を分散させた後, 直ちに1500 × gで15分間遠心分離した。抽出液に3 M HClを攪拌しつつ加えてpHを1.0~1.5にし, 10~16時間静置し1500 × gで10分遠心分離して, 上澄み液と沈殿に分けた。沈殿したフミン酸画分は少量の0.5 M NaOHに溶解させ30 mg L⁻¹のNaClを含む0.1 M NaOHで希釈した後, 6000 × gで20分遠心分離して不純物を沈殿させた。次いで, フミン酸溶液は3 M HClでpHを1.0~1.5にフミン酸を再沈澱させ1500 × gで10分遠心分離して, 上澄み液がほぼ無色となるまでこの操作を繰り返した。その後, 乾燥させた。フルボ酸画分をろ過した後, 定容し, DAX-8樹脂を充填したカラムに通して着色物質を吸着させた。2カラム体積(100 mL)の0.1 M HClとイオン交換樹脂を通して過剰なNaClを除去した。次に, 2カラム体積(100 mL)の0.1 M NaOHを逆方向から樹脂に流し, フルボ酸を脱着させた。

フミン酸, フルボ酸の確認は3次元励起蛍光スペクトル測定により行った。フルボ酸は琵琶湖フルボ酸(日本腐植物質学会頒布)と, フミン酸はフルボ酸(Aldrich社製)との比較により確認した。フルボ酸の結果をFig. 7に示したが, 吉野天然林, 吉野植林, 久宝寺緑地, 市販腐葉土にはいずれも

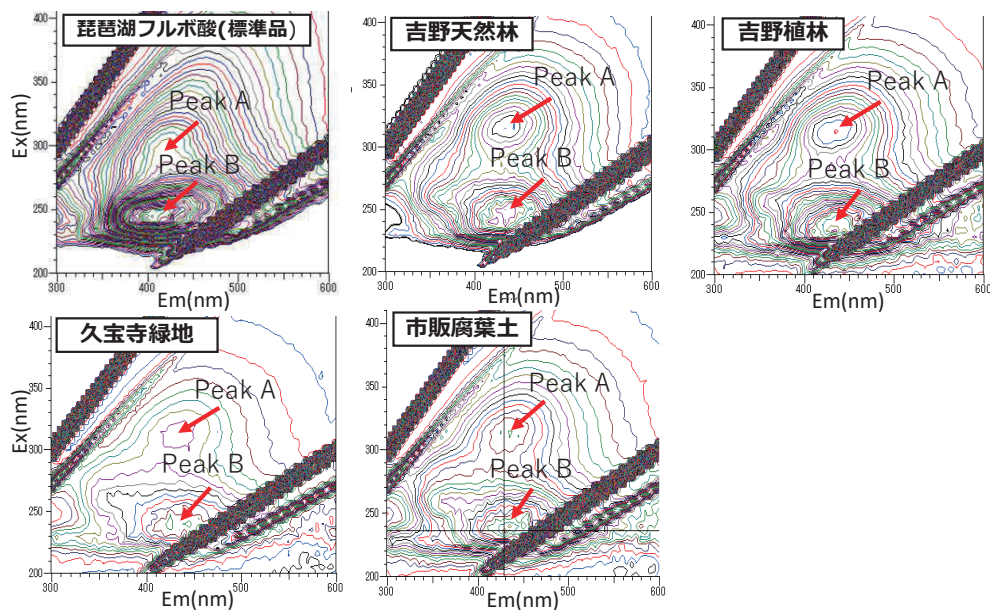


Fig. 7 フルボ酸の3次元励起蛍光スペクトル

PeakA（励起波長 300~320 nm, 蛍光波長 400~440 nm), PeakB（励起波長 240~250 nm, 蛍光波長 420~440 nm) が認められ, フルボ酸が抽出できていることが確認された. 同様にフミン酸についてはフミン酸標準 (Aldrich 社製) と比較した結果, いずれの試料にも PeakC（励起波長 270 nm, 蛍光波長 470 nm) が認められ, フミン酸が抽出できていることが確認された.

5) 天然林土壌, 都市緑地, 市販腐葉土中の腐植物質の含有量

それぞれの土壌試料に含まれるフルボ酸およびフミン酸の含有量を表 1 に示したが, 吉野天然林, 吉野人工林のフルボ酸含有量はそれぞれ, 2.35, 2.28% 含まれており, 都市緑地 (0.5%) に比べ約 5 倍, 市販腐葉土 (1.2%) に比べ約 2 倍多く含まれていることが分かった. またフミン酸については吉野天然林, 吉野植林には約 17% 含まれており, 都市緑地に比べ約 8 倍, 市販腐葉土に比べ 2.6 倍多く含まれていることが分かった.

〈研究のまとめ〉

近年, 赤潮発生を抑制する目的で制定された「水質総量規制」により大阪湾の栄養塩濃度は減少し, それに伴い大阪湾は貧栄養となり, 漁獲量は減少傾向にある, この大阪湾を再び豊かな海にするには窒素, リンなどの栄養塩に加え, 生物活性微量元素の供給量増加を考え, 特に鉄を安定供給することを目的に研究を行った. まず, 鉄については大阪府下の河川水を分析した結果, 大和川に流れ込む石川周辺河川に点在する温泉水に多量の鉄が溶存することを見出した. しかし, 温泉水

表 1 土壌試料中のフルボ酸, フミン酸の含有量

試料	含有量 (%)	
	フルボ酸	フミン酸
吉野原生林	2.35	17.4
吉野植林	2.28	16.7
久宝寺緑地	0.50	2.08
市販腐葉土	1.20	6.46

から湧出した鉄は比較的短時間のうちに酸化鉄や水酸化物沈殿となり固相を形成するため, 安定に供給する方法を見出さねばならなかった. 鉄を水中で安定化させる方法として, 土壌で形成される腐植物質に着目した. 腐植物質は奈良県吉野郡川上村で天然林土壌, 植林土壌を採取した. これら天然土壌には都市緑地や市販腐葉土に比べ多くのフルボ酸, フミン酸が含まれていることが分かった. 今後, 天然土壌から抽出したフルボ酸, フミン酸と温泉水中の鉄を錯形成させ, これを大阪湾で採取した植物プランクトンに与え, プランクトンの個体数が増加するかを確認する.

なお本研究の成果の一部は 2019 年度日本地球化学会第 66 回年会にて発表した. 野崎 晃, 清水大河, 高橋悠太, 堀内克己, 西川 遼, 中口讓, 大阪湾を豊かにする研究, 講演要旨集 3P40

謝辞

本研究を実施するに当たり, 研究費を支出していただいた伊藤光昌氏並びに公益財団法人海洋化学研究所に謝意を表します. また, 奈良県吉野山にて山岳土壌試料採取するにあたり, ご指導いただいた, 公益財団法人「吉野川紀の川源流物語森と水の源流館」の木村全邦様にお礼申し上げます.