



植物プランクトンの必須栄養元素供給源としての製鋼スラグの有効性

有田 康一*・海口 靖幸*・谷口 旭*2

Availability of Steelmaking Slag as a Source of Essential Elements for Phytoplankton

Koichi ARITA, Yasuyuki UMIGUCHI and Akira TANIGUCHI

Synopsis : Steelmaking slag contains essential elements for growth of marine phytoplankton, such as iron, phosphorus and silicon. If these elements can be available for phytoplankton in seawater, the slag can be used as a fertilizer in marine environment. In this study, growth rates of the marine planktonic diatom *Thalassiosira guillardii* were determined under enrichment with the slag to confirm the availability of these elements in seawater. The medium used in the growth experiments was a modified ESAW medium, in which a powdered decarburization steelmaking slag was added. The growth response of the diatom was determined by changed *in vivo* chlorophyll *a* fluorescence. The results suggest that the decarburization steelmaking slag can be an effective source of nutrients for marine phytoplankters.

Key words: iron; phosphorus; silicon; marine planktonic diatom; decarburization steelmaking slag.

1. 緒言

鉄は光合成や呼吸における電子伝達、硝酸還元、クロロフィルの合成などに必要なため、植物プランクトンにとって必須の元素である¹⁾。しかし、海洋表層のような酸化的で弱アルカリ性の環境においては、鉄は直ちに水酸化鉄などの難溶性の沈殿を生じてしまうため、その生物学的有用性は著しく低下する。そのため全鉄濃度が高い沿岸域においてさえも植物プランクトンは潜在的に鉄制限を受けている²⁾といわれており、陸圏からの供給がおよびにくい外洋域では、マクロ栄養塩が豊富であるにもかかわらず鉄制限が特に強いために植物プランクトン量が少ない海域が存在する^{3,4)}。一方、製鉄過程で大量に副生される製鋼スラグはあまり活用されていない⁵⁾が、その成分組成からは鉄をはじめりんや珪素といった植物プランクトンの必須栄養元素を供給できる可能性があると考えられる。

そこで本研究では、製鋼スラグを植物プランクトンというバイオマス資源として再生利用し、さらに生態学的に応用するための基礎的な知見を得ることを目的として、植物プランクトンが製鋼スラグに由来する鉄、りんおよび珪素を実際に利用して増殖できるか否かを調べた。

2. 実験方法

2.1 供試材, 実験方法

供試製鋼スラグには鉄成分を多く含有する脱炭スラグを

選び、粒径 5–20 μm の粉碎粒子を実験に用いた（以下スラグとする）。その成分組成は、Total Fe・17.9%、 P_2O_5 ・2.1%、 SiO_2 ・14.1%、CaO・43.4%、MnO・3.4%、MgO・8.6%、S・0.07%、 Al_2O_3 ・2.8%、 TiO_2 ・0.91% および others・6.9%であった（東北大学工学部日野研究室調べ）。

実験器具類はすべて精密測定器具洗浄用の中性無りん洗剤（Wako, コンタミノン N）の 1% 溶液、次いで 1N 塩酸（試薬特級）にそれぞれ 24 h 以上浸漬して洗浄した。その後、素材に応じて 121°C、20 min のオートクレーブ滅菌もしくは 160°C、100 min の乾熱滅菌を施した。また、培養実験のセットアップはクリーンベンチ内で無菌的に行った。

供試培地には海洋植物プランクトン用の人工海水培地のひとつである ESAW 培地⁶⁾を適宜改変して用いた。その調製には、まずオートクレーブ滅菌を施した蒸留水に Table 1 に示した Solution I および Solution II をそれぞれ 1/10 容量ずつ添加した塩分ベースを調製する。次いで、この塩分ベースに Table 2 に示した 8 種類の Nutrient Enrichment Stock のうち Stock Si は 1/500 容量添加し、その他の 7 種類はそれぞれ 1/1000 容量ずつ添加すると ESAW 培地となる。なお、Solution I, II は調製後、オートクレーブ滅菌を施し、遮光して植物インキュベータ（TOMY, CF-305）内で 48 h ガス交換を行う。また、Nutrient Enrichment Stock のうち 7 種類は調製後、オートクレーブ滅菌を施すが、Vitamin Stock は孔径 0.2 μm のセルロースアセテートシリンジフィルター（ADVANTEC, DISMIC-25）および 50 ml シリンジ（TERUMO, SS-50ESZ）を用いて濾過滅菌を施した。

平成 14 年 8 月 7 日受付 平成 14 年 12 月 5 日受理 (Received on Aug. 7, 2002; Accepted on Dec. 5, 2002)

* 東北大学大学院生 (Graduate Student, Tohoku University, 1-1 Tsutsumidori-Amamiyamachi Aoba-ku Sendai 981-8555)

* 2 東北大学大学院農学研究科 (Graduate School of Agricultural Science, Tohoku University)

Table 1. Basal solutions (×10 conc.) of artificial seawater to be used for ESAW medium.

Solution I:	Amount to Weight (g/L)
Anhydrous salts	
NaCl	207.6
Na ₂ SO ₄	34.8
KCl	5.9
NaHCO ₃	1.7
KBr	0.85
H ₃ BO ₃	0.23
NaF	0.027
Solution II:	
Hydrated salts	
MgCl ₂ ·6H ₂ O	94.0
CaCl ₂ ·2H ₂ O	13.2
SrCl ₂ ·6H ₂ O	0.21

Table 2. Nutrient Enrichment Stocks (×1000 conc.) for ESAW medium.

Enrichment Stocks	Stock Conc. (g/L)	Final Conc. (μM)
Stock N	NaNO ₃ 46.7	549.1
Stock P	NaHPO ₄ ·2H ₂ O 3.1	20
Stock Si *	Na ₂ SiO ₃ ·9H ₂ O 15	105.6
Stock Fe	FeCl ₃ ·6H ₂ O 1.8	6.6
	Na ₂ EDTA·2H ₂ O ** 3.6	9.8
Stock Metal ***	MnSO ₄ ·5H ₂ O 0.58	2.4
	ZnSO ₄ ·7H ₂ O 0.073	0.25
	CoSO ₄ ·7H ₂ O 0.016	0.057
	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O 0.13	0.52
	Na ₂ EDTA·2H ₂ O ** 1.9	5.1
Stock B	H ₃ BO ₃ 3.8	61.5
Stock Se	Na ₂ SeO ₃ 0.0017	0.001
Vitamin Stock	Thiamine HCl 0.1	2.97 × 10 ⁻¹
	Vitamin B ₁₂ 0.002	1.47 × 10 ⁻³
	Biotin 0.001	4.09 × 10 ⁻³

* Stock Si should exceptionally be prepared as ×500 concentration.
 ** Add before the trace metals.
 *** Adjust to pH 6 using solid NaCO₃ (about 2 g).

供試植物プランクトンは、仙台新港水から単離された浮遊性珪藻 *Thalassiosira guillardii* である⁷⁾。まず、ESAW 培地で継代培養してある株から対数増殖期後期の細胞群を分取し、鉄無添加の ESAW 培地に接種して鉄飢餓培養を行った。この鉄飢餓培養からさらに対数増殖期後期の細胞群を分取し、実験培地 30 ml に対して *in vivo* chlorophyll *a* 蛍光値 (以下蛍光値とする) が 1 前後となるように接種して本実験を行った。

培養容器には、25 mm×150 mm の蛍光光度計用ガラス製キュベット (PYREX USA, Borosilicate Test Tube) を用いた。このキュベットを用いて培養した *T. guillardii* の chlorophyll *a* 蛍光値は、蛍光光度計 (TURNER DESIGNS, MODEL 10-AU-005-CE) にキュベットごと差し込むことで測定することができる。ただし、培地を分注したキュベットごとにあらかじめ蛍光値 (ブランク値) を測定しておく必要がある。前述の鉄飢餓細胞群を接種した後、孔径 0.45 μm のテフロン製ミリラップ (MILLIPORE) で封をしてから再度蛍光値を測定し、ブランク値を差し引いた値を培養実験の初期値とした。培養は、光量 100 μmol/m²/s、光周期 14h 明期 10h 暗期、温度 15°C に設定した植物インキュベータ内で行った。培養期間中は細胞の沈降を防ぐために原則として

Table 3. Twelve treatments in Experiment 1 with final concentrations of iron or decarburization steelmaking slag and EDTA enriched.

Treatment	Enrichment (Final Conc.)		Remarks
	Fe (μM) or Slag (mg/L)	EDTA (μM)	
FeEDTA	6.6	14.9	Reference
Slag 2	2	5.1	Slag treatment
Slag 10	10	5.1	
Slag 20	20	5.1	
Slag 30	30	5.1	
Slag 50	50	5.1	
FeCl ₃ 1	6.6	5.1	FeCl ₃ treatment
FeCl ₃ 5	33	5.1	
FeCl ₃ 10	66	5.1	
FeCl ₃ 15	99	5.1	
FeCl ₃ 25	165	5.1	
Non Fe	0	5.1	Blank treatment

1日3回、明期の定刻にミキサー (IKA, MS 1) で攪拌し (9000 rpm, touch, 10–20 s), 24 h ごと (3回目の攪拌時) に蛍光値を測定、記録した。

2.2 実験1：スラグおよび FeCl₃ 添加実験

実験1では、鉄源としてスラグを添加した培地を用いて *T. guillardii* がスラグ由来の鉄を利用して増殖できるか否かを確認した。その実験条件を Table 3 に示す。

スラグにはりんや珪素も含まれているため、これら元素の律速を回避して鉄だけの影響を調べるために、ESAW 培地のりんおよび珪素の濃度を規定最終濃度 (20 μM P, 105.6 μM Si) の 1.5 倍とした鉄無添加の培地 (PSi 1.5 培地) を調製した。この培地に ESAW 培地の規定最終濃度となるように FeEDTA 溶液 (Stock Fe) を添加した実験区を FeEDTA 区 (6.6 μM Fe, 9.8 μM EDTA) とした。この実験区は最も良好な条件を備えているものと考えられるので、これを以下の各実験区における *T. guillardii* の増殖程度の判定基準とした。

スラグに含まれている鉄 (17.9%) がすべて溶出するならば、約 2 mg/l のスラグ添加により ESAW 培地の規定最終鉄濃度 (6.6 μM) とほぼ等しい鉄が得られることになる。しかし、スラグからの鉄の溶出特性は明らかではないので、十分な鉄を供給できない可能性がある。そこで、さらにその5倍、10倍、15倍および25倍量のスラグ添加区も設定し、*T. guillardii* が FeEDTA 区と同等の増殖を示すことができるスラグ添加量を調べた。これらのスラグ添加区を順に Slag 2 区、Slag 10 区、Slag 20 区、Slag 30 区および Slag 50 区とした。

ところで、酸化的な培養系内に鉄を添加する際には、鉄をいかに生物学的に有効な溶存状態に保つかが課題となる。そのため、ESAW 培地をはじめとする多くの培地にはキレート剤である EDTA が添加されている⁸⁾。しかし、EDTA は3価の鉄を溶存状態に保つことができる反面、鉄に対する相対濃度が高すぎると *T. guillardii* による鉄の取り込みを阻害する恐れがある。そのため、過剰に EDTA を添加することを避けなければならない。ところが、スラ

グからの鉄の溶出濃度が明確ではない本実験においては、EDTA 添加の適切な濃度をあらかじめ決定することができないので、スラグ添加区には EDTA を追加添加しなかった。したがって、これら5種のスラグ添加区における *T. guillardii* の増殖程度と比較するべき3種の鉄濃度シリーズにも EDTA を追加添加しないようにする必要がある。そこで、 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ の添加量を規定最終鉄濃度の等倍、5倍、10倍、15倍および25倍に変化させて5種の FeCl_3 添加区を設定した。これらを順に FeCl_3 1区、 FeCl_3 5区、 FeCl_3 10区、 FeCl_3 15区 および FeCl_3 25区とした。以上の処置により、スラグ添加区および FeCl_3 添加区には、ESAW 培地の調製時に Stock Metal として他の金属とともに添加した EDTA が $5.1 \mu\text{M}$ だけ入っていることになる。

以上の実験区他に、コンタミした鉄による影響を確認するために鉄源無添加の Non Fe 区を設けた。これにより、実験1には総計12区の実験区が設定された。これらの実験区はすべて3本立てとし、その平均値を結果とする。

なお、今回試験したスラグ添加量の上限 (50 mg/l) は「水質汚濁防止法にかかわる排水基準・生活環境項目」にある「溶解性鉄 10 mg/l 」⁹⁾ を考慮して設定した。これにより、スラグに含有されている鉄がすべて溶出したとしてもこの基準値を上回ることはない。また、スラグの主要成分のひとつであるカルシウムの溶出による pH の上昇も懸念される。そこで、植物プランクトン非接種区を設けてその増殖に伴う pH の変動と区別して、スラグ添加による培地の pH 変動についても確認した。測定には pH 試験紙 (ADVANTEC, TB pH 1.4-3.0, 8.0-9.6) を用いた。

2.3 実験2：FeEDTA 添加実験

実験1においてスラグから培地中へ溶出する鉄は極めて低濃度であると考えられるため、その濃度を測定することは非常に困難である。しかし、*T. guillardii* が増殖に要する鉄の量が明らかとなれば、その増殖モードからスラグからの鉄溶出量を推定することができる。そこで実験2では、Table 4 に示した実験条件下で培養実験を行い、*T. guillardii* の鉄要求量を調べた。

原理的には、生物学的に有用な鉄である FeEDTA を段階的な濃度で添加して律速鉄濃度 (閾値) を把握するものである。実験1と同じ P Si 1.5 培地を基礎培地として、これに FeEDTA 溶液 (Stock Fe) を ESAW 培地の規定最終濃度に対して等倍、1/10倍、1/100倍および1/1000倍に希釈添加した。これらを順に FeEDTA 区、1/10 FeEDTA 区、1/100 FeEDTA 区および1/1000 FeEDTA 区とし、対照区として鉄無添加の Non Fe 区を設けた。以上計5区の実験区はそれぞれ2本立てとし、その平均値を結果とする。

2.4 実験3：培地中のりんおよび珪素濃度を変化させた実験

実験1においては、りんおよび珪素の律速を回避してスラグ由来鉄だけの有用性を確認した。しかし実際には、鉄

Table 4. Five treatments in Experiment 2 with final concentrations of iron and EDTA enriched.

Treatment	Enrichment (Final Conc.)	
	Fe (μM)	EDTA (μM)
FeEDTA	6.6	14.9
1/10 FeEDTA	0.66	6.1 *
1/100 FeEDTA	6.6×10^{-2}	5.2 **
1/1000 FeEDTA	6.6×10^{-3}	5.1 ***
Non Fe	0	5.1

* $5.1+0.98$

** $5.1+9.8 \times 10^{-2}$

*** $5.1+9.8 \times 10^{-3}$

Table 5. Twenty-four treatments in Experiment 3 to test availability of phosphorus and silicon originated from decarburization steelmaking slag.

Medium	Treatment	Preadded Concentration (μM)				Slag enriched (mg/L)
		P	Si	Fe	EDTA	
P 1	FeEDTA	20	158.4	6.6	14.9	0
	Slag 20	20	158.4	0	5.1	20
	Slag 50	20	158.4	0	5.1	50
	Non Fe	20	158.4	0	5.1	0
P 0.5	FeEDTA	10	158.4	6.6	14.9	0
	Slag 20	10	158.4	0	5.1	20
	Slag 50	10	158.4	0	5.1	50
	Non Fe	10	158.4	0	5.1	0
P 0	FeEDTA	0	158.4	6.6	14.9	0
	Slag 20	0	158.4	0	5.1	20
	Slag 50	0	158.4	0	5.1	50
	Non Fe	0	158.4	0	5.1	0
Si 1	FeEDTA	30	105.6	6.6	14.9	0
	Slag 20	30	105.6	0	5.1	20
	Slag 50	30	105.6	0	5.1	50
	Non Fe	30	105.6	0	5.1	0
Si 0.5	FeEDTA	30	52.8	6.6	14.9	0
	Slag 20	30	52.8	0	5.1	20
	Slag 50	30	52.8	0	5.1	50
	Non Fe	30	52.8	0	5.1	0
Si 0	FeEDTA	30	0	6.6	14.9	0
	Slag 20	30	0	0	5.1	20
	Slag 50	30	0	0	5.1	50
	Non Fe	30	0	0	5.1	0

と同時にりんおよび珪素もスラグから溶出して植物プランクトンの増殖に寄与するものと考えられる。そこで実験3では、鉄源として添加したスラグに由来するりんおよび珪素の有用性を確認した。その実験条件を Table 5 に示したが、りん、珪素および鉄の3元素が対象となる上に、それらのスラグからの溶出量はスラグ添加量によって変化するものと考えられるため、実験区の設定が複雑になった。

スラグ由来のりんの影響を調べるために、珪素濃度を ESAW 培地の規定最終濃度 ($105.6 \mu\text{M}$) の1.5倍として珪素の律速を回避した上で、りん濃度を等倍 (P 1培地, $20 \mu\text{M}$)、0.5倍 (P 0.5培地) および0倍 (P 0培地) とした鉄無添加の培地を調製した。一方、スラグ由来珪素の影響を調べるためには、りん濃度を ESAW 培地の規定濃度 ($20 \mu\text{M}$) の1.5倍としてりんの律速を回避し、珪素濃度を等倍 (Si 1培地, $105.6 \mu\text{M}$)、0.5倍 (Si 0.5培地) および0倍 (Si 0培地) とした鉄無添加の培地を調製した。これらの計6種類の培地に、鉄源としてスラグを添加した Slag 20区および Slag 50区を設け、それらスラグ添加区と比較

するために FeEDTA 区および Non Fe 区を設けた。なお、実験1と同様、FeEDTA 区以外には EDTA を追加添加していない。以上の計 24 区はそれぞれ 3 本立てとし、その平均値を結果とする。

3. 結果と考察

以下の実験結果については、*Thalassiosira guillardii* の培養開始から定常期に至るまでの増殖曲線に基づいて考察し、定常期における変動は考慮にいれなかった。

3.1 鉄源としてのスラグの有効性

実験 1 においてスラグおよび FeCl₃ の添加量を変化させてスラグ由来鉄の有用性を確認した結果を Fig. 1 に示す。chlorophyll *a* の蛍光値は Non Fe 区では一貫して減少し、Slag 2 区では 3 日目にかけて減少した後ほぼ一定であっ

た。これに対して、Slag 10 区では 2 日目から増加し始めて 12 日目に 350 に達した。さらにスラグ添加量の多い Slag 20 区、Slag 30 区および Slag 50 区における蛍光値は、FeEDTA 区と同様に増加してそれぞれ 680 (12 日目)、610 (9 日目) および 680 (12 日目) に達し、FeEDTA 区の最大蛍光値 (730, 12 日目) に近い値となった。したがって、*T. guillardii* は 20 mg/l 以上のスラグ添加区において、最終鉄濃度 6.6 μM の FeEDTA 区と同等の増殖を示したことになる。一方、FeCl₃ 添加区の FeCl₃ 1 区、FeCl₃ 5 区、FeCl₃ 10 区、FeCl₃ 15 区 および FeCl₃ 25 区では、蛍光値がそれぞれ 12 日目に 730, 770, 820, 840 および 780 に達し、FeEDTA 区と同等、もしくはそれ以上となった。しかし、FeEDTA 区と同鉄濃度の FeCl₃ 1 区において若干の誘導期が生じ、対数増殖期の蛍光値にバラつきがみられたのは、相対的な EDTA の不足により鉄の有用性が低下したためと考えられ

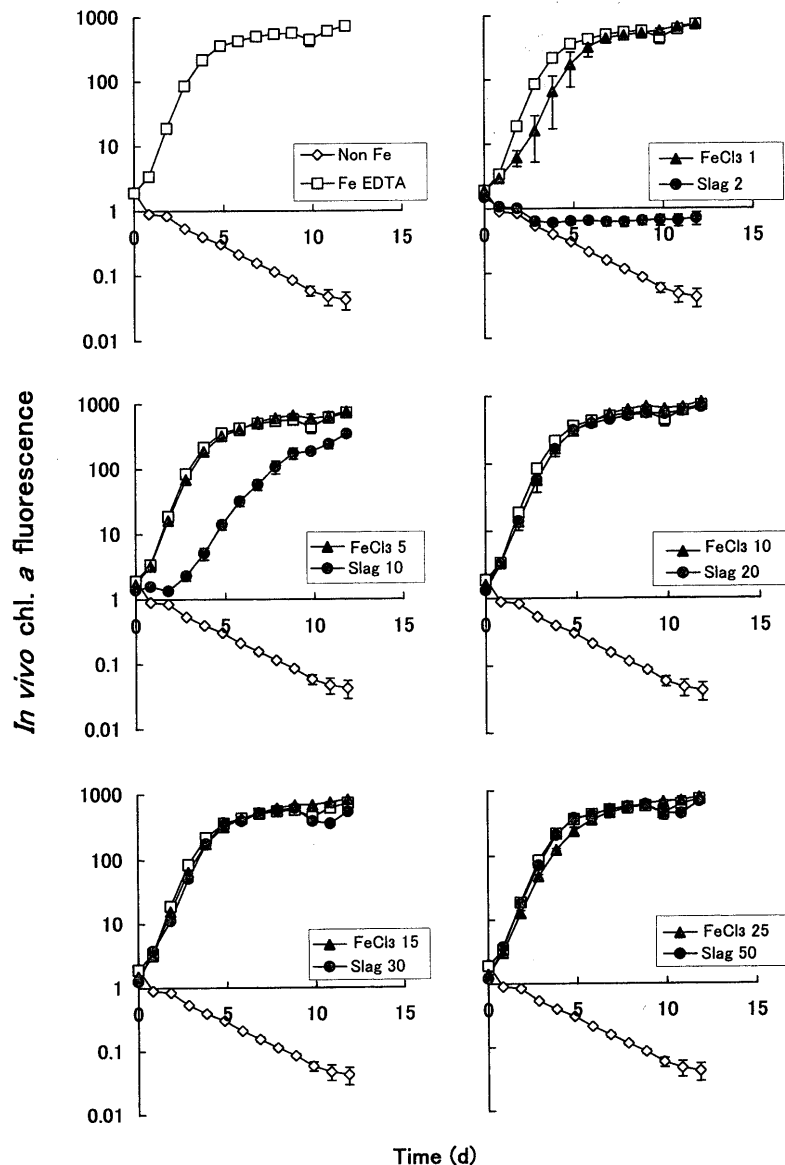


Fig. 1. Expt. 1: Variations of *in vivo* chlorophyll *a* fluorescence of *Thalassiosira guillardii* under different amounts of decarburization steelmaking slag or FeCl₃ in PSi 1.5 medium (a modified ESAW medium with 30 μM of phosphorus and 158.4 μM of silicon).

た。

以上より、スラグ添加区および FeCl_3 添加区において *T. guillardii* が FeEDTA 区と同等に増殖するためには、その最終鉄濃度 ($6.6 \mu\text{M}$) の 10 倍量のスラグ鉄および 5 倍量の 3 価鉄 ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) を添加する必要があるといえる。また、pH 測定の結果、スラグ粒子が試験紙に付着してしまう培養初期の pH は 8.2–8.8 であったが、5 日目以降は 8.0 に安定することを確認した。このことから、 50 mg/l 以下のスラグ添加による pH の変動は、植物プランクトンの増殖には影響しないと判断した。

次に、実験 2 において FeEDTA の添加量を変化させて *T. guillardii* の鉄要求量を調べた結果を Fig. 2 に示す。1/10 FeEDTA 区で 11 日目にみられた最大蛍光値は、 FeEDTA 区の最大蛍光値 (700, 17 日目) の約 0.8 倍であったが、両区における増殖曲線には明瞭な差はなかった。これに対して、1/100 FeEDTA 区では対数増殖期の延長がみられ、段階的に増加した蛍光値の最大値は FeEDTA 区の約 0.6 倍にとどまった。さらに、1/1000 FeEDTA 区では 3 日目以降に蛍光値の減少が始まり、Non Fe 区における結果と類似した。以上より、規定最終鉄濃度の 1/1000 から 1/100 にあたる 6.6 nM から 66 nM の範囲に *T. guillardii* が本培養系で増殖するのに必要な鉄濃度の閾値が存在すると判断できる。また、規定最終鉄濃度の 1/10 にあたる $0.66 \mu\text{M}$ 以上の有用な鉄が存在すれば、*T. guillardii* は規定最終濃度 ($6.6 \mu\text{M}$) の鉄が存在する場合と同様に増殖できると理解された。

以上、実験 1, 2 の結果より、スラグ由来の鉄は *T. guillardii* の増殖に有効であり、 20 mg/l 以上のスラグ添加区においては、少なくともその鉄含有量の約 1% に相当する $0.66 \mu\text{M}$ の鉄が供給されていたということが明らかとなった。

3.2 リン源としてのスラグの有効性

実験 3 において、培地中の珪素濃度を一定とし、りん濃度を変化させてスラグ由来りんの有用性を確認した結果を Fig. 3 に示す。

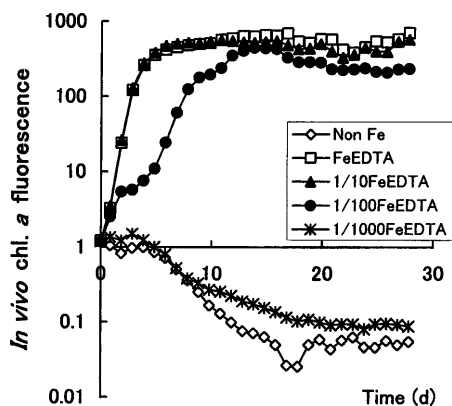


Fig. 2. Expt. 2: Variations of *in vivo* chlorophyll *a* fluorescence of *Thalassiosira guillardii* in P Si 1.5 media added with different amounts of FeEDTA .

P 1 培地 (Fig. 3(a)) における Non Fe 区の蛍光値は一貫してゆるやかに減少したのに対して、 FeEDTA 区、Slag 20 区および Slag 50 区の蛍光値はそれぞれ 690 (18 日目)、700 (18 日目) および 810 (17 日目) に達し、いずれも良好な増殖がみられた。すなわち、りんが $20 \mu\text{M}$ 存在するときにはスラグ由来のりんの効果は少なく、スラグは主に鉄源として機能していたといえる。P 0.5 培地 (Fig. 3(b)) では、 FeEDTA 区、Slag 20 区および Slag 50 区での最大蛍光値はそれぞれ 590 (11 日目)、560 (14 日目) および 720 (15 日目) となり、スラグ添加量に伴う効果が認められた。このときには順に定常期の延長もみられたので、スラグ添加によるりんの供給が有効であることが示唆された。P 0 培地

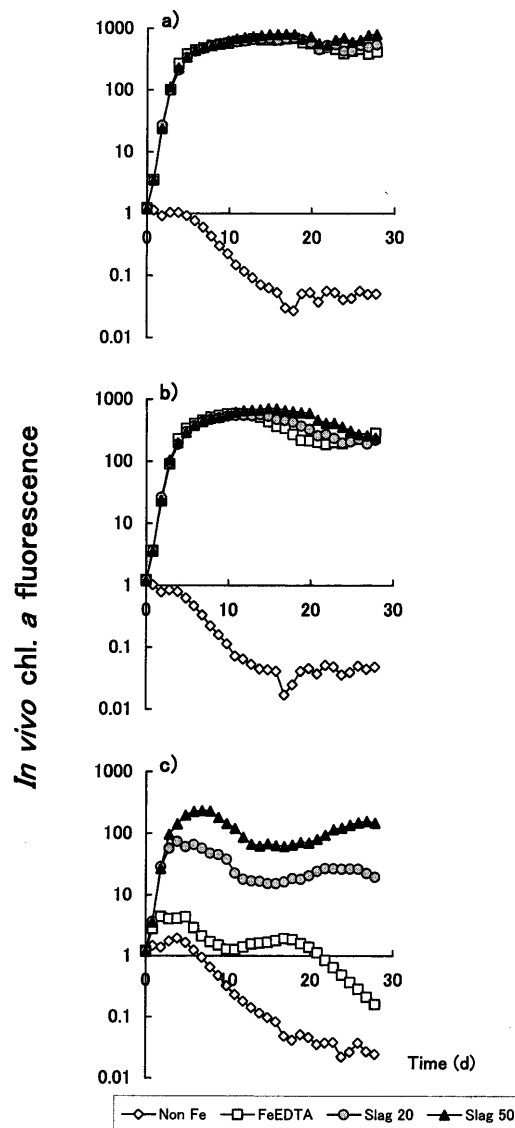


Fig. 3. Expt. 3: Variations of *in vivo* chlorophyll *a* fluorescence of *Thalassiosira guillardii* in modified ESAW media containing excess silicon and three different concentrations of phosphorus with addition of two different amounts of decarburization steelmaking slag or FeEDTA . (a) P 1 medium with $20 \mu\text{M}$ of phosphorus and $158.4 \mu\text{M}$ of silicon; (b) P 0.5 medium with $10 \mu\text{M}$ of phosphorus and $158.4 \mu\text{M}$ of silicon; (c) P 0 medium with no phosphorus and $158.4 \mu\text{M}$ of silicon.

(Fig. 3(c))における FeEDTA 区の蛍光値は初期値の 4 倍程度まで増加したが、これは前培養時に細胞内に蓄積されていたりんによるものと考えられ、この程度の増殖は培地中にりんが存在しなくても可能であることを示していた。これに対して、Non Fe 区では4日目にかけてゆるやかに増加したものの初期値の 2 倍にもいたらず減少したので、鉄制限を受けていたことがわかる。一方、Slag 20区および Slag 50区では、蛍光値はそれぞれ 74 (4日目) および 230 (7日目) まで増加した。これはスラグ添加により鉄制限が解消され、さらにその添加量に伴いりんが供給されたためと考えられた。

また、P 0.5 培地 (10 μM P) における Slag 50 区の結果は P 1 培地 (20 μM P) における FeEDTA 区の結果とはほとんど差がない。しかし、P 0 培地における Slag 50 区の結果は P 0.5 培地における FeEDTA 区の結果にはおよばなかったことから、スラグを 50 mg/l 添加したときには、その組成と添加量から期待される濃度 (14.8 μM) よりも低い 10 μM 未満 (りん含有量の 68% 未満) のりんが供給されたと判断できた。以上のことから、りんが不足する培地に鉄源としてスラグを添加すれば、鉄と同時にりんもまた供給できることが明らかとなった。

3.3 珪素源としてのスラグの有効性

実験 3 において、培地中のりん濃度を一定とし、珪素濃度を変化させてスラグ由来珪素の有効性を確認した結果を Fig. 4 に示す。

T. guillardii などの珪藻にとって細胞壁を合成するために必要な珪素は、新しい殻を合成する時期に集中して取り込まれるものであり、細胞内に貯蔵されることはない¹⁰⁾。そのため、Si 0 培地 (Fig. 4(c)) の FeEDTA 区において 4 日目にかけてみられた良好な増殖は、ガラス製の実験器具からの溶出等によってコンタミした珪素によるものと考えられた。その最大蛍光値は 210 であり、Si 0.5 培地 (Fig. 4(b)) における FeEDTA 区の最大蛍光値 (270, 5日目) に近い値ではあったが、増殖曲線には差がみられた。また、Si 1 培地 (Fig. 4(a)) における FeEDTA 区の最大蛍光値 (720, 18日目) に比べて低い値であった。すなわち、Si 0.5 培地の珪素濃度 (52.8 μM) を上回るコンタミではなかったことになる。

一方、Si 0 培地における Slag 20 区および Slag 50 区の蛍光値は、それぞれ 230 (6日目) および 300 (7日目) に達した。これは Si 0.5 培地における FeEDTA 区の最大蛍光値に近い値であると同時に、増殖曲線にもほとんど差がなかったことから、スラグから珪素が供給されたことを示している。ただし、スラグを 50 mg/l 添加したときに、その組成と添加量から期待される珪素の濃度は 116.2 μM であるにもかかわらず、Si 0.5 培地の Slag 50 区と Si 1 培地 (105.6 μM Si) の FeEDTA 区における増殖曲線の間には大きな差があった。以上のことから、本実験に用いた脱炭スラ

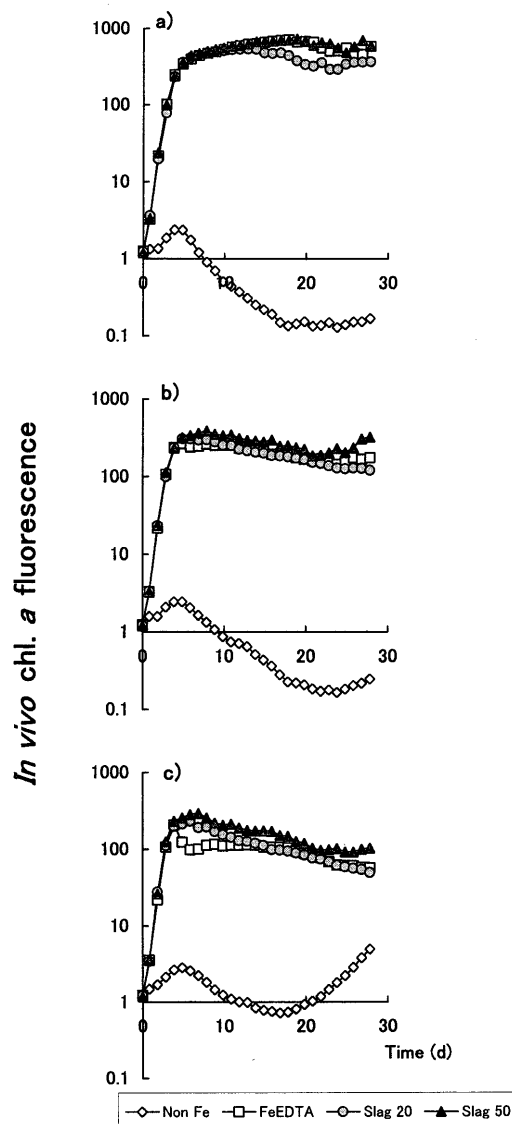


Fig. 4. Expt. 3: Variations of *in vivo* chlorophyll *a* fluorescence of *Thalassiosira guillardii* in modified ESAW media containing excess phosphorus and three different concentrations of silicon with addition of two different amounts of decarburization steelmaking slag or FeEDTA. (a) Si 1 medium with 105.6 μM of silicon and 30 μM of phosphorus; (b) Si 0.5 medium with 52.8 μM of silicon and 30 μM of phosphorus; (c) Si 0 medium with no silicon and 30 μM of phosphorus.

グの場合、りんよりも珪素の溶出効率低いと考えられた。

4. 結言

海洋浮遊性珪藻 *Thalassiosira guillardii* を用いて脱炭スラグに由来する鉄、りんおよび珪素がその増殖に有効であるか否かを調べた。本研究で得られた主な結果を以下に示す。

(1) 鉄だけが不足する培地に鉄源としてスラグを添加すると、*T. guillardii* の増殖に有効な鉄が供給された。その

増殖モードから推定される鉄の溶出・利用効率は、スラグ中の鉄含量の1%程度であった。

(2) 鉄とりんが不足する培地に鉄源としてスラグを添加すると、*T. guillardii* の増殖に有効な鉄と同時にりんも供給された。その増殖モードから推定されるりんの溶出・利用効率は、スラグ中のりん含量の68%未満であった。

(3) 鉄と珪素が不足する培地に鉄源としてスラグを添加すると、*T. guillardii* の増殖に有効な鉄と同時に珪素も供給されることが示唆された。しかし、ガラス器具から培地への珪素のコンタミの影響が大きく、定量的に評価することはできなかった。

(4) スラグ添加量が50 mg/l以下であれば、植物プランクトンの増殖に影響するようなpHの変動はないことが確認された。

以上のことから、植物プランクトンの生長に必須な鉄、りんおよび珪素といった栄養塩を製鋼スラグから供給することが可能であり、スラグを安全にバイオマス資源へと再生利用できる可能性が示唆される。また、これらの成分が潤渇または相対的に不足する海域においては、製鋼スラグを適宜使用することで環境を改善することもできるであろう。ただしその際には、対象海域における栄養塩環境特性

を明らかにして、それを改善するのにふさわしい種類の製鋼スラグを選定し、必要最小限度の量で利用することが重要である。もし、これらの技術が確立されれば、現在、重大な環境問題のひとつとなっている地球温暖化ガスである二酸化炭素を、広大な海域に分布する植物プランクトンによって固定することも可能となるであろう。本研究の実験方法とその結果は、将来、そのような方策が講じられるときの基礎的知見として極めて貴重であると考えられる。

文 献

- 1) R.J.Geider and J.L.Roche: *Photosynthesis Res.*, **39** (1994), 275.
- 2) M.L.Wells, N.M.Price and K.W.Bruland: *Mar. Chem.*, **48** (1995), 157.
- 3) J.H.Martin and S.E.Fitzwater: *Nature*, **331** (1988), 341.
- 4) P.J.Harrison, P.W.Boyd, D.E.Varela, S.Takeda, A.Shiomoto and T.Odate: *Prog. Oceanogr.*, **43** (1999), 205.
- 5) T.Nozaki: *Bull. Iron Steel Inst. Jpn.*, **2** (1997), 889.
- 6) P.J.Harrison, R.E.Waters and F.J.R.Taylor: *J. Phycol.*, **16** (1980), 28.
- 7) K.Haraguchi and A.Taniguchi: *Tetsu-to-Hagané*, **89** (2003), 430.
- 8) 藻類研究法, 西澤一俊, 千原光雄編, 共立出版, 東京, (1979), 19.
- 9) 二訂・水質汚濁対策の基礎知識, 環境保全対策研究会編, 産業環境管理協会, 東京, (1998), 36.
- 10) C.W.Sullivan: *J. Phycol.*, **13** (1977), 86.