

脱りんスラグおよび都市廃水同時添加が植物プランクトン群集の増殖と種組成に及ぼす効果

原口 浩一*・谷口 旭*

Effect of Simultaneous Enrichment of Dephosphorization Steelmaking Slag and Treated Municipal Sewage on Growth of Coastal Phytoplankton Assemblage

Koichi HARAGUCHI and Akira TANIGUCHI

Synopsis : Human activities have increased an input of nitrogen to coastal waters. Hyper nitrogenous and phosphorous limiting condition induces red tides of harmful algae which can vitally grown on a wide variety of phosphorous compounds. Environmental quality there is then reduced by altered phytoplankton composition. We hypothesize that such hyper nitrogenous condition can be turned into healthy eutrophic condition, where desirable phytoplankton assemblage can grow, by use of a steelmaking slag as a source of phosphate and silicate. We examined the effect of enrichment of the dephosphorization slag on a natural phytoplankton assemblage in the hyper nitrogenous water with treated municipal sewage. The enrichment enhanced phytoplankton growth particularly of diatoms, such as *Skeletonema costatum*, while excess enrichment (200 mg/l) suppressed phytoplankton growth probably due to pH increase and/or ammonia toxicity (un-ionized NH_3 form) appeared under increasing pH. These results indicate that slag enrichment would be effective at lower dose to avoid pH increase. Although 20 mg/l slag and 20% sewage was confirmed to be the best dose at 10°C, the dose should be reduced during summer since the percent NH_3 increases with temperature.

Key words: environmental remediation; steelmaking slag; phytoplankton; municipal sewage; resource recycle.

1. 序論

日本の人口は沿岸域に集中し、そこでの生産および消費活動は、沿岸海洋への窒素フラックスを増大させている。窒素の主な起原は、沿岸域の人々によって消費される輸入食品をはじめ、上流域で利用される窒素肥料や輸入畜産飼料である。それらの分解物や残渣物は都市廃水あるいは農業廃水として、最終的には沿岸海水に排出されている。また、石油の燃焼や羊毛皮革等々の工業原材料から発生する窒素酸化物も、間接的あるいは直接的な負荷となる。このような窒素フラックスの増大は日本だけでなく世界的な問題でもある^{1,2)}。

我が国では1960–1980年代の高度成長期に、窒素をはじめとしてりんや有機物を大量に含む廃水が海洋へ放出されていた。大量の有機物を含んだ廃水は水域の無酸素化や悪臭をもたらし、窒素やりんの負荷は半閉鎖性海域における赤潮の原因となった³⁾。その結果、瀬戸内海環境保全特別措置法のような、有機物やりんの削減を目的とした法律が制定されるようになった。さらに、無りん洗剤の利用を促す市民運動によって水質が改善され、無酸素化や赤潮の発生件数は減少した。しかし、窒素の削減に関する対策は行われなかったため、水域は窒素過剰な環境となり、様々な起原のりんを栄養塩として利用できる渦鞭毛藻等の有害赤潮がしばしば起こるようになった⁴⁾。

有害有毒鞭毛藻の赤潮は競争者が存在しているときには発生しにくい。多くの鞭毛藻は1日1回以下の二分分裂で増殖するのに対し、珪藻の増殖速度は1日1回を越える。つまり、珪藻は渦鞭毛藻の増殖を抑制する競争者になりうる。事実、窒素、りん、珪素といった栄養塩の組成のバランスが良いときには珪藻が最も卓越することが知られている⁵⁻⁷⁾。したがって、窒素過剰な沿岸水域における栄養塩組成の調整ができれば、沿岸海洋環境を改善することが可能になると予測される。さらに珪藻が卓越するプランクトン生態系では食物連鎖の転送効率が高く、漁業生産につながりやすいので^{8,9)}、そのような栄養塩組成調整は排出された窒素の再資源化にも貢献できる。

窒素過剰を調整するにはりんや珪素を補給しなければならない。広い水域で長年にわたってそれを実現するためには莫大な量のりんと珪素が必要となるので、それを新たな原材料からエネルギーを消費して工業的に生産することは資源節約循環の思想と矛盾する。そこで、製鋼スラグを利用することが考えられる¹⁰⁻¹³⁾。スラグは製鋼過程で排出される副産物であり、りん酸や珪酸を含んでいる。それが実際に植物プランクトンの増殖を促進することはすでに明らかになっている¹³⁻¹⁵⁾。しかし、それらの研究では、製鋼スラグ添加が植物プランクトン群集の種組成に及ぼす影響の評価が行われていない。本実験では、自然の植物プランクトン群集を含む海水に都市廃水を混合して窒素過剰な栄養

塩環境にした上で、そこに製鋼スラグを添加して植物プランクトン群集の生物量と種組成がどのように変化するかを調べた。このとき、スラグの添加量とその効果発現との関係についても調査した。

2. 材料と方法

2.1 供試スラグ

実験に供した製鋼スラグは脱りんスラグであり、ICP法による分析結果、りん(P)含有量は重量比で3.4%であった。その他の成分としてはFe: 7.3%, Si: 12.7%, Ca: 59.1%, Mn: 1.4%, Mg: 6.8%, S: 0.6%, Al: 4.5%, Ti: 1.4%, その他2.8%を含有していた(Hino, private communication)。このスラグを粉碎して、粒径5–20 μm 画分を篩別し、実験に用いた。

2.2 供試海水および都市廃水

自然植物プランクトン群集に対する添加効果を試験するため、プランクトン群集を含む海水を宮城県の仙台新港から採水した。試水は表層水で、1999年3月24日に採水し、そのときの水温は9.0 $^{\circ}\text{C}$ 、塩分は31‰であった。採水後直ちに330 μm メッシュのプランクトンネット地で濾過して、大型の捕食者を取り除いた。窒素過剰な環境を作るために海水に加えた都市廃水は、仙台新港の南3kmに位置する仙台市南蒲生処理センターにおいて活性汚泥法で処理後に塩素消毒を施された処理済廃水であり、海洋へ放流する直前のものである。この処理済都市廃水は海水採水と同日に入手した。実験に供する際には、生物および非生物粒子を除去するために孔径0.2 μm のアイソポアフィルター(Millipore: Type GTTP)で濾過した。

2.3 実験区の設定

培養実験区の設定は、大型捕食者を除去した自然海水に対して都市廃水を混合率0%, 20%, 30% および40%に加えた系のそれぞれにスラグ粉体0mg/l, 20mg/l および200mg/lを添加して調整した。これらの混合添加区のすべてにわたって用いた自然海水の量(20ml)、総容積(40ml)および塩分(31‰)を一定にするため、人工海水ESAW培地の5倍濃度の塩分ベース(Solution I および II)¹⁶⁾ および蒸留水を用いた。このうち、都市廃水0%かつスラグ0mg/lの無添加区をコントロールと標記する。このようにして調整した実験区はすべて3本立てとし、酸洗浄後に滅菌した60ml容蛍光光度計用ガラスセル(Pyrex: 25 \times 150mm)に收容した。培養は恒温室内で行ない、光量100 $\mu\text{mol s}^{-1}\text{m}^{-2}$ 、14L:10Dの光条件とし、温度は10 $^{\circ}\text{C}$ に保った。18日間にわたるバッチ培養期間中、プランクトンの沈降や分布の偏りを防ぐために、1日4回サンプルを軽く振って攪拌した。

以上の培養実験と平行して、スラグから海水へのマクロ栄養塩の溶出量を調べるために、濾過除菌(アイソポアフィルター: 孔径0.2 μm)した自然海水を用いて培養実験区と同種の混合添加区を2本立てに設けた。溶出実験区の総容積は200mlになるように調整して、酸洗浄後に滅菌した250ml容ポリカーボネート製容器に收容し、培養実験と同一の温度、光、攪拌条件を経て溶出量を測定し

た。

2.4 クロロフィル量およびpHのモニターならびにサブサンプリング

毎日一定時刻(14:00)に培養容器中の*in vivo*クロロフィル a 量をフィルタ式蛍光光度計(Turner designs社, Model 10-AU)を用いて測定した。この測定は培養容器(蛍光光度計用セル)のまま行ったので、培養実験は攪乱なく継続することが可能であった。容器および添加スラグ粒子懸濁による誤差は、濾過滅菌海水によるプランク値と、濾過滅菌海水に既知濃度のスラグを懸濁させたときの読み取り値によって補正した。こうして求めたクロロフィル a 量の値は1実験区ごとに3ヶ(3本立て)づつあるが、以下の記述ではすべて平均値を用いた。

pH測定は、培養実験区では10日目および18日目に、溶出実験区では1, 3, 5および10日目にそれぞれ3あるいは2本立ての実験区のうち1本ずつについてそれぞれ行なった。培養開始時にpHを測定せず、また3本中1本についてだけ測定したのは培養系の攪乱をさけるためである。

2.5 現存量および生物量の推定

培養10日目にはすべての実験区の、また18日目には200mg/lスラグ添加区の3本ずつの各1本のみから検鏡用試水(10–20ml)を分取し、フォルマリン(フォルムアルデヒドの最終濃度1.5%)で固定した。この検鏡用試水はUtermöhl法¹⁷⁾による落射蛍光検鏡(Olympus IMT-2)に供した。

マイクロ植物プランクトン群集の現存量と種組成を細胞数と有機炭素量の双方で表すために、種の同定を行って各種別に細胞数を計数し、種ごとに10ないし50細胞についてサイズを計測した。サイズ測定部位は、珪藻の場合には頂軸(apical axis)および切頂軸(transapical axis)もしくは貫殻軸(perivalvar axis)の長さ、珪藻以外の種の場合は、長径および短径を、それぞれ接眼マイクロメーターで計測した。これらの資料から細胞形態に応じて体積を計算した¹⁸⁾。求めた細胞容積(V , μm^3)から有機炭素量(pg C/cell)への換算は、珪藻には下記の(1)式、珪藻以外の植物プランクトンには(2)式を用いた¹⁹⁾。

$$\text{Log } C = -0.422 + 0.758 \text{ Log } V \dots\dots\dots (1)$$

$$\text{Log } C = -0.460 + 0.866 \text{ Log } V \dots\dots\dots (2)$$

2.6 栄養塩測定

実験開始から10日目にすべての培養区および溶出実験区から、また18日目には培養区の200mg/lスラグ添加区から、それぞれ10mlの試水を分取してWhatman GF/Fグラスファイバーフィルターで濾過し、濾水をマクロ栄養塩分析に供した。濾過時の吸引圧は常に100mm Hg以下に保って、細胞の破壊を防いだ。濾水は10ml容スピッツ管に移して、栄養塩分析までの間-20 $^{\circ}\text{C}$ で凍結保存した。定量したマクロ栄養塩の種類はアンモニア態窒素、亜硝酸態窒素、硝酸態窒素、りん酸態りんおよび溶存珪素であり、すべて栄養塩自動分析装置(The Flow Solution, ALPKEM, model 3590)を用いて測定した²⁰⁾。こうして得られたデー

タは1実験区ごとに培養区には3ヶづつ、溶出実験区には2ヶづつ、それぞれあるが、以下の記述ではその平均値を用いてある。

2.7 統計分析

各実験区間の比較は、2実験区るときにはt検定、3実験区以上のときには分散分析およびFisherのPLSD法によるポストホックテストで行なった。

3. 結果

3.1 溶出実験

植物プランクトンが存在しない溶出実験区では、脱りんスラグ添加量によるアンモニウム塩、亜硝酸塩および硝酸塩に対する影響は認められなかった (Fig. 1)。10日間の溶出期間中にスラグから溶出したりん酸塩の量は、スラグ添加区における濃度と無添加区における濃度の差として求められる。一方、無添加区においても10日間の間にりん酸塩濃度は低下していた。その理由は明らかではないが、そのような変化はスラグ添加区でも同様に起こっていたと仮定して溶出量の計算を行なった。その結果、スラグからのりん酸溶出量は非常に少なく、最大の値は都市廃水無添加で20mg/lスラグ添加区で観察されたが、このとき1mg/lのスラグから0.01 μmolのりん酸塩が溶出したという計算

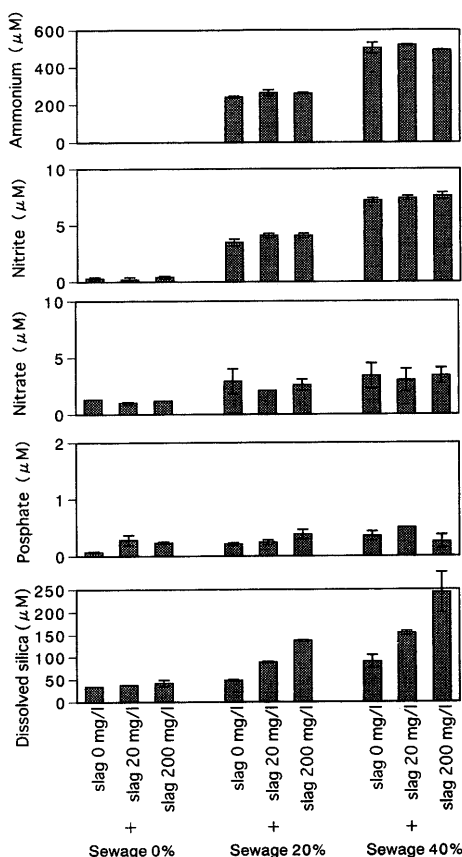


Fig. 1. Nutrient concentrations in filtered seawater added with dephosphorization steelmaking slag (de-P slag) at different concentrations with sewage. The leaching time was 10 days for all samples. Error bars show the range ($n=2$).

になる。また、スラグ添加増に応じて溶出量は増加することではなく、都市廃水40%を同時に添加した実験区ではスラグ無添加区に比べむしろ減少した。一方、溶存珪素濃度はスラグ添加増にともなって増加したものの、その増加率は添加量に比例しているわけではなく、20mg/lに比べて200mg/lで約2倍になったにすぎなかった (Fig. 1)。以上の溶出率を求めると、0.04–3.2 μmol/slag 1 mgの範囲で大きく変動していた。

3.2 植物プランクトン群集生物量の経時変化および最大収量

培養実験区におけるクロロフィル蛍光の初期値は0.49であった。培養開始後1日目には、スラグ200mg/l添加区を除くすべての実験区ではすでに蛍光値が増加しており、その増加は4–10日目のピークまで継続した (Fig. 2)。しかし、200mg/lスラグ添加区では、培養開始直後に蛍光値が低下し、その後暫くしてから増加が始まった。その遅延時間は、都市廃水無添加区では2日間、20%区では8日間、40%区では9日間であった (Fig. 2)。つまり、スラグと同時に添加した都市廃水の増加に応じて遅延時間が長くなった。ただし、後述するように、200mg/l添加区における最大収量は20mg/l添加区での最大収量よりも高くなった。

コントロール区における蛍光値が最大値5.7に達したのは4日目であった。これに対する他実験区での結果は以下のようなであった。

都市廃水のみ添加：スラグを添加せずに都市廃水だけを混合した場合、混合率が20%、30%および40%区の最大蛍光値はそれぞれ8日目、8日目および9日目に表れ (Fig. 2)、その値はコントロール区での値に比べて1.5、1.4および1.7倍になった (Fig. 3)。つまり、都市廃水添加による植物プランクトンの増殖促進効果は明らかではあるが、添加量と促進効果の程度との関係は不明瞭であった。

スラグのみ添加：脱りんスラグだけを添加した場合の植物プランクトンの増加はコントロール区における増加と等しかった (ANOVA; $F(2, 6)=0.56, p=0.05$) (Fig. 3)。すなわち、仙台新港の自然海水にスラグだけを添加しても植物プ

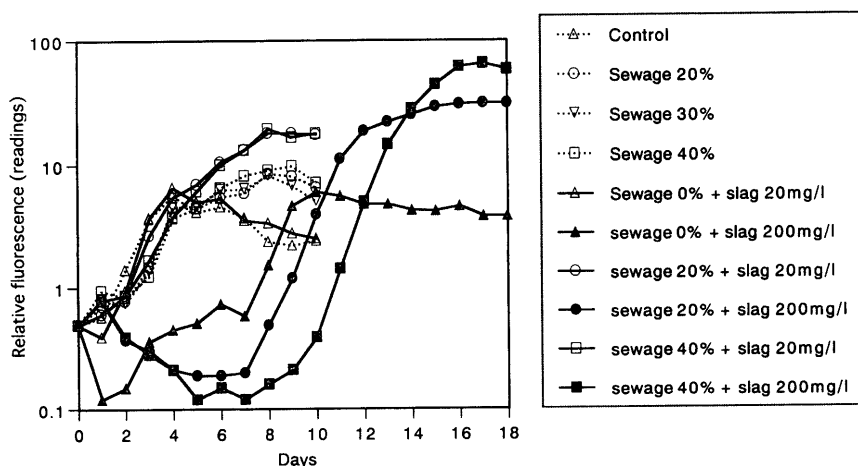


Fig. 2. Variations of relative fluorescence indicating amount of chlorophyll a in cultures of natural phytoplankton assemblage with sewage and de-P slag at different concentrations. Error bars are not shown to avoid over-complexity ($n=3$).

ランクトン増殖促進効果は発現しなかったといえる。

都市廃水とスラグの同時添加：都市廃水 20% とスラグを同時に添加した場合には、植物プランクトンはコントロール区におけるよりも 20 mg/l および 200 mg/l のときにそれぞれ、3.1 倍および 5.5 倍になった。この値を都市廃水のみ 20% 添加したときの値と比べるとそれぞれ 2.1 倍および 3.7 倍であった (Fig. 3)。つまり、スラグを添加した場合には都市廃水だけの添加よりも増殖促進効果が高く、かつスラグ 20 mg/l 添加区よりも 200 mg/l 添加区でより大きな促進効果があった ($p < 0.05$)。都市廃水 40% とスラグを同時に添加した場合には、コントロール区に比べて 20 mg/l および 200 mg/l のときにそれぞれ、3.4 倍および 11.4 倍になった (Fig. 3)。この最大収量を都市廃水 40% だけを添加した場合と比べるとそれぞれ 2.0 倍および 6.7 倍であった。

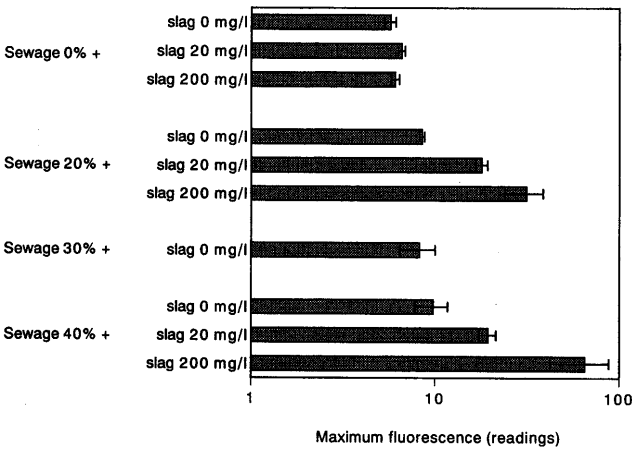


Fig. 3. Effect of enrichments of sewage and de-P slag at different concentrations on the maximum fluorescence of the natural phytoplankton assemblage. Error bars show standard deviations ($n=3$).

つまり、都市廃水の添加率が同じであれば、スラグの添加量を増加することによって植物プランクトンの収量がより増大することがわかった ($p < 0.05$)、しかしながら、スラグの添加量が同じであれば、都市廃水の添加率が高くなって有意に増加することはなかった (スラグ 20 mg/l: $p=0.37$; スラグ 200 mg/l: $p=0.07$)。

以上の結果から、スラグ添加の効果は同時に都市廃水を加えたときに表れるといえる。ただし、スラグ添加量が多いと遅延時間が発現し、かつ長くなるが、最大収量はより大きくなった。

3.3 マイクロ植物プランクトン群集の種組成

多くの実験区では 10 日目までに蛍光値が最大値に達したので、植物プランクトン群集の解析は 10 日目に行なった。ただし、都市廃水と同時にスラグ 200 mg/l を添加した実験区では増加が 16 日目まで継続したため (Fig. 2)、同様の解析を 18 日目にも行なった。

培養開始時の、自然植物プランクトン群集に占める珪藻類の割合は、細胞数では 95% であり、その種組成は *Thalassiosira* spp. が 29%、*Navicula* spp. が 19%、*Chaetoceros* spp. が 14%、*Skeletonema costatum* が 8%、*Cylindrotheca closterium* が 6% というものであった (Fig. 4)。珪藻種以外の主要出現種群は、渦鞭毛藻類の *Prorocentrum* spp. および *Heterocapsa* spp. であり、優占率はそれぞれ 3.2% および 1.4% であった。本培養実験では、いずれの実験区においても珪藻群集の優占率がさらに高くなった (Fig. 4)。

10 日目には、コントロール区では *S. costatum* の優占率が 54% に上昇して第 1 優占種になったが、スラグだけの添加区および都市廃水だけの添加区では、さらに *S. costatum* の優占率が上昇し、その値は添加量の増加に応じて大きくなった (62–81%)。スラグと都市廃水を同時に添加した場合、スラグ添加量 20 mg/l のときには *S. costatum* が第

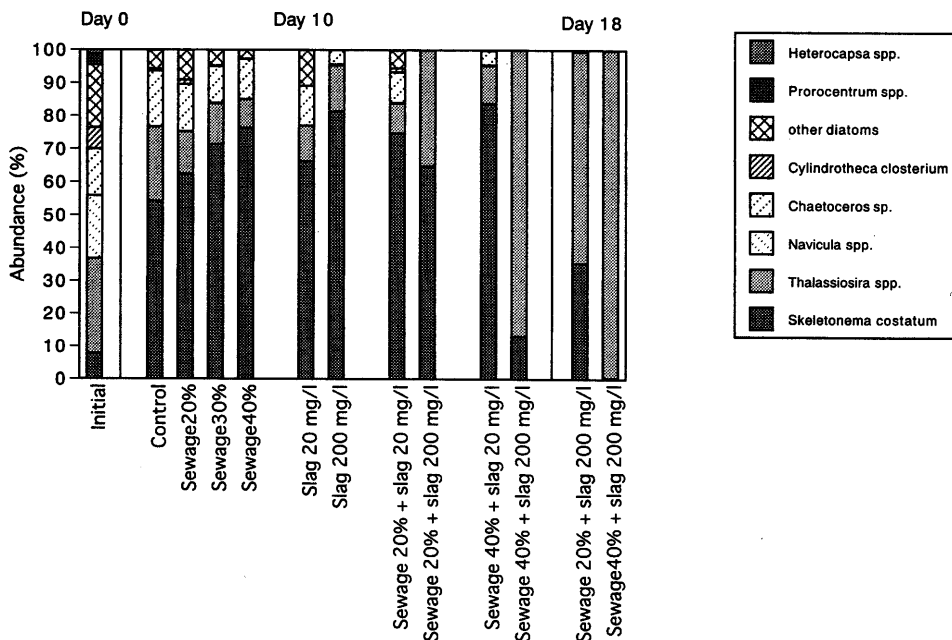


Fig. 4. Taxonomic group composition in abundance of the phytoplankton assemblage cultured with sewage and de-P slag at different concentrations at days 0, 10 and 18.

1 優占種となったが、200 mg/l のときには増加の程度は小さかった。これはそれ以前に生じた遅延時間によるものである。それでもなお *S. costatum* の優占度は大きく、都市廃水 20% のときには *S. costatum* が第 1 優占種となっていた。しかし、40% のときには *Thalassiosira* spp. が最優占していた。200 mg/l スラッグを添加した実験区では、10 日目以降にも増殖期が継続していた結果、18 日目までに *S. costatum* はさらに約 10 倍に増加したが、*Thalassiosira* spp. は 40 倍 (20% 都市廃水添加区) および 400 倍 (40% 都市廃水添加区) に増加して第 1 優占群となった。その結果、200 mg/l スラッグ添加で、かつ、都市廃水 40% 添加区においては *Thalassiosira* spp. は 99.6% を占めるに至った (Fig. 4)。このときに増加したのは主に *Thalassiosira guillardii* であった。また、この実験区では遅延時間以降に *S. costatum* は増加したもののコントロール区の現存量の 1/10 でしかなかった。さらに、多くの実験区では *Chaetoceros* spp. が第 3 優占群となったが、この実験区には出現しなかった。

3.4 マイクロ植物プランクトン群集の生物量

培養開始時、自然植物プランクトン群集の生物量は細胞数密度では 4.4×10^4 cells/l、有機炭素量では $2.6 \mu\text{g C/l}$ であった。それが 10 日目には、コントロール区では 4.8×10^6 cells/l および 0.24 mg C/l に増加した。これと他実験区とを比較すると以下のものであった。

都市廃水添加：20%、30% および 40% 都市廃水添加区ではコントロール区での値に比べて、細胞数密度ではそれぞれ 2.6、2.4、2.5 倍、有機炭素量ではすべての添加区で 2.6 倍に増加した (Fig. 5)。つまり、都市廃水だけを添加した場合にはマイクロサイズの植物プランクトンの増殖促進効果は明らかではあるが、添加量と促進効果との関係はなく、添加量に関係なくほぼ一定であった。

スラッグ添加：20 mg/l および 200 mg/l スラッグ添加区ではコントロール区と比較して細胞数密度では 1.8 および 1.2 倍、有機炭素量では 1.7 および 1.5 倍にそれぞれ増加した。つまり、スラッグ添加によるマイクロ植物プランクトンの増殖促進効果はあったものの、添加量が多くなるとその効果はむしろ低下した (Fig. 5)。

スラッグおよび都市廃水同時添加：都市廃水と 20 mg/l スラッグ同時添加区での 10 日目の細胞数密度はコントロール区と比べて明らかに増加していた。このときの都市廃水濃度が 20% および 40% の区では、コントロール区の 7.9 倍および 8.2 倍の増加量であった。同様に有機炭素量で比較した場合には、それぞれ 9.0 倍 および 7.8 倍であった (Fig. 5)。一方、都市廃水と 200 mg/l スラッグ同時添加区では、遅延時間が長くなったために 10 日目の細胞数密度はまだ低く、遅延時間が最も長かった 40% 都市廃水同時添加では初期細胞数の 6 倍にしか増加していなかったことになる。このときの細胞数密度をコントロール区と比べると、20% および 40% の都市廃水同時添加区では、それぞれ 0.8 倍および 0.1 倍であった。しかし、その後の増殖は顕著であり、18 日目には、同時に添加した都市廃水の濃度が 20% および 40% のそれぞれの区で細胞数密度では 17.9 倍および 18.4 倍、有機炭素量で 7.8 倍および 14.0 倍に増加した (Fig.

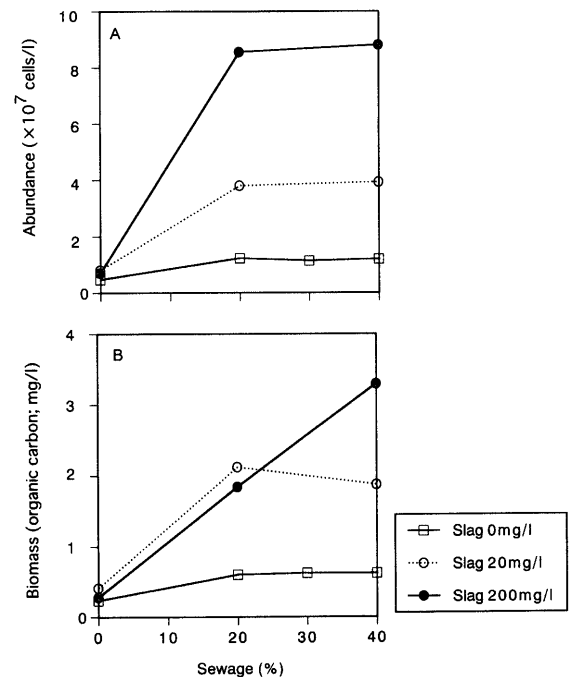


Fig. 5. Effect of sewage and de-P slag concentrations in abundance (A) and in biomass (B) of the phytoplankton assemblage in cultures.

5)。このとき、20% 都市廃水同時添加区では、細胞数密度に比べて有機炭素量が相対的に低かったが、これは卓越していた *Talassiosira* spp. の多くが小型 (頂軸: 5–7.5 μm) であったことに起因する。

以上、これらの実験区での最大の増殖促進が観察されたのは、都市廃水 40% と脱りんスラッグ 200 mg/l を同時に添加した実験区であった。このときの最終細胞収量は 8.8×10^7 cells/l、有機炭素収量は 3.3 mg C/l であった。

3.5 マクロ栄養塩

自然海水ベースで行なった本実験の培養系にははじめから、総窒素 (アンモニア + 亜硝酸 + 硝酸態窒素の合計) が $4.3 \mu\text{M}$ 、りん酸塩が $0.3 \mu\text{M}$ および溶存珪素が $28 \mu\text{M}$ 含まれていた。このときの N:P:Si 比は 13:1:87 であり、植物プランクトンの体元素組成比であるレッドフィールド比 (16:1:15)²¹⁾ と比較すると窒素の比率が低く、このままでは窒素制限が起こると考えられた (Table 1)。事実コントロール区では、培養 10 日目には総窒素濃度 $0.3 \mu\text{M}$ 、N:P:Si 比は 5:1:720 となり、予想通り窒素制限が起こった (Table 1)。

スラッグだけを添加した場合には、スラッグからりんと珪素が溶出していたが、窒素の不足は改善されることなく (Fig. 1)、培養最終日には総窒素濃度は $<0.3\text{--}1.2 \mu\text{M}$ となり、予想通り窒素制限が起こっていた (Table 1)。

都市廃水を添加した実験区および都市廃水とスラッグを同時に添加した実験区では、都市廃水に高濃度に含まれる窒素のために、相対的にりん制限の可能性が高いと予測された。これらの実験区では、培養最終日の総窒素濃度は $155 \mu\text{M}$ 以上、珪素は $65 \mu\text{M}$ 以上残っていたが、りん酸塩濃度は $0.7\text{--}0.29 \mu\text{M}$ に減少し、相対的にりんが不足していた (Table 1)。

Table 1. Nutrient concentrations, and N:P and Si:P ratios in natural seawater at Sendai port, sewage sampled at Minamigamo Sewage Treatment Plant, and in culture media where the natural phytoplankton assemblage was cultured with de-P slag and sewage at different concentrations

Treatment	T-N (μM)	NH_4^+ (μM)	NO_2^- (μM)	NO_3^- (μM)	PO_4^{3-} (μM)	Si (μM)	N:P	Si:P
Natural seawater	8.5	4.3	0.3	3.9	0.65	57	13	87
Sewage	1399	1375	18.7	5.3	0.85	218	1640	260
Day 10								
Control	0.3	0.1	0.1	0.1	0.06	41	5	720
Sewage 20%	270	262	4.1	3.5	0.10	54	2700	540
Sewage 30%	412	402	6.1	3.7	0.11	94	3700	850
Sewage 40%	549	537	8.1	4.0	0.09	128	5800	1360
Slag 20 mg/l	< 0.3	< 0.1	< 0.1	< 0.1	0.08	41	< 4	520
Slag 200 mg/l	1.2	0.3	0.3	0.6	0.34	39	4	110
Sewage 20% + slag 20 mg/l	216	209	4.2	2.8	0.08	71	2840	930
Sewage 20% + slag 200 mg/l	283	277	4.2	2.6	0.29	102	990	360
Sewage 40% + slag 20 mg/l	512	500	7.7	4.1	0.11	110	4740	1020
Sewage 40% + slag 200 mg/l	545	534	8.4	3.0	0.52	191	1050	370
Day 18								
Sewage 20% + slag 200 mg/l	155	148	4.3	2.3	0.13	65	1150	480
Sewage 40% + slag 200 mg/l	446	435	8.4	2.8	0.07	126	5980	1690

3.6 pH

実験に供した濾過海水および都市廃水の pH は、それぞれ 7.7 および 7.4 であった。濾過海水に都市廃水を混合した培地の pH は 7.8-8.2 となり、実験期間中 pH の変化は認められなかった (Fig. 6)。脱りんスラグ 20 mg/l 添加区では 1 日目には 8.5-8.6 に上昇していたが、その後 10 日目にわたって pH の変化は認められなかった。200 mg/l 添加区では、1 日目には pH 9.4-9.7 であったが、徐々に低下して 10 日目には、8.9-9.0 になった (Fig. 6)。

培養実験区の pH 測定は、植物プランクトン群集の観察と同様に、10 日目と 18 日目に行なった。培養開始直後の pH は実測していないが、溶出実験区 (非生物区) の 1 日目と同じであると仮定することができる。スラグ無添加および 20 mg/l 添加区では、10 日目の pH は 1 日目とほぼ同じ値であった (Fig. 6)。200 mg/l スラグ添加区では、10 日目の pH は 8.4-8.6 となり、初期値からの低下程度が顕著であった。しかし、これらの実験区のうち都市廃水を 20% 以上同時に添加した区では 18 日目の pH はわずかに上昇して 8.7-8.8 となった。

4. 考察

4.1 スラグからのりん酸塩の溶出

本実験に用いた脱りんスラグからの海水へのりん酸塩の溶出量は最大でも 0.2 μM であった。脱りんスラグは脱炭スラグに比べてりんを多く含有するが、脱炭スラグからの溶出量が 330 mg/l の添加時には 17 μM であったことと比較すると¹⁴⁾、その期待に反して溶出量は非常に少なかったことになる。つまり、りんの溶出量はスラグに含まれている全りん量ではなく、りんを含む結晶構造に依存することから²²⁾、りんを多く含有するスラグがりん源として必ずしも最適ではないといえる。しかし、培養実験区では窒素源として都市廃水が同時に添加されているときにはスラグ添加量の増加に応じて植物プランクトンの増殖量は顕著に高くなった (Fig. 3, 5)。また培養期間中に植物プランクトン

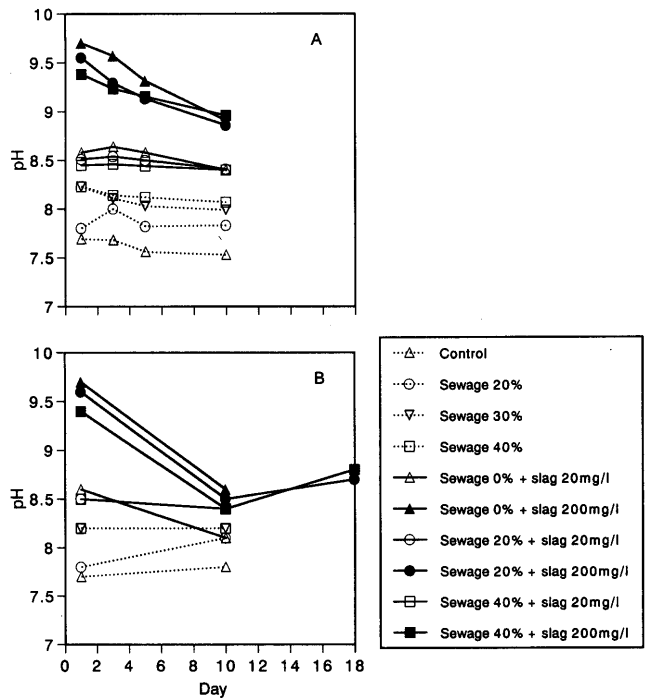


Fig. 6. Variations of pH of the filtered seawater (A) and the natural seawater with a phytoplankton assemblage (B) after enrichment with sewage and de-P slag at different concentrations.

によって消費された窒素量から消費されたりん量をレッドフィールド比 (N:P=16:1)²¹⁾ から見積もると、スラグ 200 mg/l と同時に都市廃水 40% を添加した実験区では、400 μM の窒素 (主にアンモニア) が消費されていたのでりん消費量は 25 μM になる。このことから培養実験区では生物を除去して行なった溶出実験区以上のりん酸塩がスラグから溶出していたと予想される。スラグ添加後の海水中のりん酸塩濃度増加は海水の pH に依存し、アルカリ性ではより低下する^{23,24)}。本実験において 200 mg/l スラグを添加した場合には、溶出実験と比べて培養実験区では 10 日目の pH は顕著に低下していた (Fig. 6)。これは、大気か

らの二酸化炭素による中和作用に加えて呼吸活動がさらなる pH 低下の要因であったと考えられるが、この生物活動による海水 pH の低下がスラグからのりん溶出を促進していた可能性がある。

4.2 高濃度に添加したスラグと都市廃水の影響

仙台新港内の自然海水にスラグだけを添加してもクロロフィル *a* 蛍光値の増加には効果がなかった (Fig. 3)。これは本実験に供した自然海水の N:P 比が 13:1 であり、やや窒素律速であったこと、および栄養塩類の絶対的な濃度も低かったことが原因であると考えられる。これにりんおよび珪素源としてのスラグを添加しても、窒素律速は改善されなかったはずである。しかし、植物プランクトン群集中でも珪藻類はコントロール区の 1.5–1.7 倍に増加していたことから (Fig. 5)、珪藻類はスラグ添加によって増殖が促進されると推測できる。一方、都市廃水には総窒素が 1400 μM 含まれているために、それだけの添加でも、実験に供した自然海水の窒素律速を改善できた。しかしながら、都市廃水にはりん酸塩は 0.9 μM しか含まれておらず、この濃度は自然海水 0.7 μM に比べてもわずかに高い程度である (Table 1)。したがって都市廃水だけの添加ではりん律速が強まり、コントロール区に比べて最大でもクロロフィル蛍光値で 1.7 倍にしか増殖しなかった (Fig. 3)。都市廃水の N:P 比は 1640 と圧倒的なりん律速であり、都市廃水だけ 40% 添加した場合には窒素が 550 μM 使用されずに残った。

植物プランクトンの増殖曲線に遅延時間が表れることは珍しいことではないが、スラグを 200 mg/l を添加した実験区では、遅延時間が極めて長く、かつその間に植物プランクトン量は減少していたので (Fig. 2)、これは何らかの原因によって植物プランクトンの生長ないし生存が阻害されたものと判断される。直ちに推察される阻害要因は、スラグ主成分の酸化カルシウムによる pH 上昇である^{22,23)}。海水中では溶存無機炭素の大部分は解離イオンとなり、約 1% が二酸化炭素として存在するのみであるが、pH 9 では 0.1 にまで低下し植物プランクトンの光合成を制限することになる。その結果、pH 9 以上ではほとんどの種の増殖速度が低下する²⁵⁾。つまり、スラグ 200 mg/l の添加では pH の上昇はわずかであったが (pH 8.3–8.6)、200 mg/l の添加ではさらに上昇し pH 9.2–9.7 になった (Fig. 6)。これらの培地で植物プランクトン群集の培養を行なった結果、200 mg/l 添加区の pH は 10 日目には低下していた。この pH 低下は、先述したように大気中二酸化炭素の容入による中和作用、バクテリアをはじめとした従属生物による呼吸および一時的な光合成低下によるものと推測される。つまり、培養開始後に蛍光値が低下した遅延時間を経て植物プランクトンが初めて増加を開始したときには、pH が低下し、植物プランクトンは増加可能であったと考えられる。

興味深いことは、阻害程度は同時に添加した都市廃水の量が多くなるに応じて顕著になったという事実である (Fig. 2)。すなわち、スラグ添加による pH の上昇のみならず、都市廃水成分の中にも、単独では阻害要因にならないが、スラグと共存することによって阻害を引き起こすよう

になる成分があることを示唆している。それがアンモニアである可能性は極めて高い。イオン化していないアンモニアはアンモニウムイオンに比べてより細胞内に入りやすいので毒性を発揮しやすいこと、およびイオン化していないアンモニアの存在率は pH の上昇により増加することが知られている^{26–28)}。高濃度に都市廃水を添加した実験区 (40% 添加区) では、アンモニウム塩濃度は 550 μM であったのでアンモニア濃度は 12 μM (pH 8.2, 存在率 2.2%) であったと算出される²⁹⁾。この濃度は EPA の淡水性生物への基準値 16 μM 以下である。遅延時間が最も長かった都市廃水 40% にスラグ 200 mg/l を同時に添加した場合には、アンモニア濃度は培養開始時には 140 μM (pH 9.4, 存在率 25%) と非常に高濃度に存在していたことになり、増殖を開始した 10 日目には pH の低下により 19 μM (pH 8.4, 存在率 3.5%) に減少していたことになる。つまり、高濃度 (40%) の都市廃水添加区にスラグを添加したことによって pH 上昇からアンモニア濃度の上昇が起り、その結果、植物プランクトンの増殖阻害が発現したと判断すべきであろう。都市廃水 20% にスラグ 20 mg/l を同時に添加した実験区でのアンモニア濃度は 12 μM (pH 8.5, 存在率 4.3%) と低く、事実、増殖開始までの遅延時間は観察されなかった (Fig. 2)。しかし、培養温度が 10°C ではなく 20°C であったならば、イオン化していないアンモニアの存在比は水温とともに上昇するため²⁸⁾、20°C の条件下ではアンモニア濃度は 24 μM (存在率 8.6%) に上昇し阻害が発現していた可能性がある。このことは夏期高温時には都市廃水の混合率を約 10% に低下させる必要があることを示唆している。

植物プランクトンへのアンモニア毒性の研究は少なくその存在比を考慮した研究はないが、珪藻種 *S. costatum* に阻害を与えるアンモニウム塩の濃度は 400 μM 以上との報告例がある³⁰⁾。あるいは、*S. costatum* はアンモニウム塩濃度 880 μM でも増殖速度がわずかに低下するだけであるが、*Nitzschia pungens* は全く増殖できなくなるとの報告がある³¹⁾。このように種間で異なる耐性の違いが、他の実験区で *S. costatum* が卓越したことは異なり、都市廃水と同時にスラグ 200 mg/l を添加した実験区では、*Thalassiosira* spp. が卓越した原因であると考えられる (Fig. 4)。さらに、都市廃水添加率 40% で、かつスラグを 200 mg/l 同時に添加した場合には、最も遅延時間が長くなり、10 日目以降にようやく植物プランクトンが増加し始めたことから、一時的な増殖阻害は *Thalassiosira* spp.、その中でも *Thalassiosira guillardii* 以外の種では不可逆的なほど強かったことを示していると考えられる。この事実は、今後本研究のスキームに沿って環境修復を計るときには忘れてはならない事実である。

4.3 植物プランクトンの増殖促進

窒素過剰の都市廃水と同時にスラグを添加した場合には、期待通りに植物プランクトン増殖の促進は顕著であった (Fig. 3, 5)。少なくとも添加量 200 mg/l まではスラグ増加量に応じて植物プランクトンの増加程度は大きくなるが、200 mg/l のスラグ添加による pH の上昇は多くの種の

生長を阻害する可能性が高いこともわかった (Fig. 2)。本実験では 20 mg/l と 200 mg/l の間の添加量が及ぼす影響を調べていないので、どの程度の添加量がクリティカルであるか正確には判定できない。しかし、20 mg/l の添加であっても、同時に都市廃水を 20% 添加した場合には、クロロフィル蛍光値でコントロール区の 3 倍、都市廃水だけを添加した場合に比べて 2 倍の増殖促進効果が得られた (Fig. 3)。珪藻を主としたマイクロサイズ植物プランクトン群集の生体量でみると、コントロール区の 9 倍、都市廃水だけを添加した場合の 5 倍であった (Fig. 5)。つまり、スラグ添加が植物プランクトンの増殖にとって明らかに効果があると判断できる。また、スラグ添加はマイクロ植物プランクトン群集の中でもとくに珪藻群の増殖を促進させ、種組成の変化をもたらすことが明らかになった。このことは食物連鎖構造を変化させることを意味しているが、珪藻類は食物連鎖の上位へ連結しやすいといわれているので^{8,9)}、その変化はむしろ望ましいものであると期待できる。

湧昇域や沿岸域は生産性の高い海域であるが、そこでの漁獲量は植物プランクトンによる基礎生産の 24–35% に相当し、漁業資源の採取は限界に達しつつある^{32,33)}。一方、陸上では人口増加にともなう食糧供給のために窒素肥料の使用量が増加しつつあり、その量は陸上のバクテリアによる全固定量に匹敵すると推定されているが³⁴⁾、そのうち作物として収穫されるのは 45–75% で、残りは脱窒されるか、あるいは河川を経て沿岸海洋へ流失していると考えられる²⁾。我々が提案する沿岸海洋のスラグエンリッチメントは、海洋生物の生産を加速することで、窒素のリサイクルを速め、合わせて食糧の供給を増大する可能性を有している。海洋における食糧生産の増加は結果的に陸上での窒素肥料の過度の使用に歯止めをかけ、窒素過多な海洋環境の改善に貢献できよう。

4.4 結論

以上のことから、スラグ起源のりん酸塩により、少なくとも添加量 200 mg/l まではスラグ増加量に応じて植物プランクトンは増加するが、200 mg/l のスラグ添加による pH の上昇はとくに都市廃水中のアンモニウム塩と共存する場合には、多くの種の生長を阻害することがわかった。とくに夏期高温時にはイオン化していないアンモニアの存在率が高まるので留意すべきである。効率的なりん酸塩の溶出という観点からも、その添加量は過度な pH 上昇が起きない範囲が適切だといえる。さらに、りん含量の高い脱りんスラグからのりん溶出量が低かったように、スラグをりん源として用いる際にはその成分比だけの調査では不十分である。本実験で行なったように、カルシウムによる海水の pH 上昇を考慮に入れた、スラグの種類に応じた最適添加率を事前に明らかにすることが必要である。興味深いことは、非生物で行なう溶出実験とは異なりプランクトン群集が共存することで、その生物活動による pH 低下がスラグからのりん溶出を促進させていた可能性が高いことである。このようなスラグからのりん溶出と生物活動の正の循環は将来的なスラグを用いた環境修復にプラスとして働く

であろう。また、都市廃水、スラグおよび両者の混合添加は、マイクロ植物プランクトン群集の中でもとくに珪藻類の増殖を促進させることが判明した。このことは食物連鎖構造を変化させることを意味しているが、珪藻類は食物連鎖の上位へ連結しやすいといわれているので、その変化はむしろ漁業生産につながる望ましいものであると期待できる。

文 献

- 1) P.M.Vitousek, H.A.Mooney, J.Lubchenco and J.M.Melillo: *Science*, **277** (1997), 494.
- 2) National Research Council: *Clean Coastal Waters: Understanding and Reducing the Effects of Nutrient Pollution*, National Academy Press, Washington, (2000), 405.
- 3) T.Okaichi: *Red tides: Biology, Environmental Science, and Toxicology*, ed. by T.Okaichi *et al.*, Elsevier, New York, (1989), 137.
- 4) M.Yamaguchi, S.Itakura and T.Uchida: *Phycologia*, **40** (2001), 313.
- 5) C.B.Officer and J.H.Ryther: *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **3** (1980), 83.
- 6) T.J.Smayda: *Red Tides: Biology, Environmental Science, and Toxicology*, ed. by T.Okaichi *et al.*, Elsevier, New York, (1989), 23.
- 7) J.K.Egge and D.L.Aksnes: *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **83** (1992), 281.
- 8) F.Azam, T.Fenchel, J.G.Field, J.S.Gray, L.A.Meyer-Reil and T.F.Thingstad: *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **10** (1983), 257.
- 9) C.M.Lalli and T.R.Parsons: *Biological Oceanography—an introduction*, Butterworth-Heinemann Ltd., Oxford, (1993), 301.
- 10) A.Taniguchi: *Proc. of Oceanology International 99, Spearhead Exhibitions Ltd.*, Surrey, (1999), 151.
- 11) 廃棄物の高度再資源化処理技術等の調査・研究事業報告書、クリーン・ジャパン・センター、東京、(1999), 107.
- 12) 谷口 旭, 原口浩一: 月刊海洋—海洋生物生産の加速と海洋大気, 海洋出版, 東京, (2002), 172.
- 13) Y.Nakamura, A.Taniguchi, S.Okada and M.Tokuda: *ISIJ Int.*, **38** (1998), 390.
- 14) K.Haraguchi, K.Suzuki and A.Taniguchi: *ISIJ Int.*, submitted.
- 15) K.Arita, Y.Umiguchi and A.Taniguchi: *Tetsu-to-Hagané*, **89** (2003), 415.
- 16) P.J.Harrison, R.E.Waters and F.J.R.Taylor: *J. Phycol.*, **16** (1980), 28.
- 17) G.R.Hasle: *Phytoplankton manual*, ed. by A.Sournia, UNESCO, Paris, (1978), 88.
- 18) H.Miyai, K.Matsuzaki, K.Ogawa and T.Sugihira: *Bull. Plankton Soc. Jpn.*, **35** (1988), 121.
- 19) R.R.Strathmann: *Limnol. Oceanogr.*, **12** (1967), 414.
- 20) J.D.H.Strick and T.R.Parsons: *A Practical Handbook of Seawater Analysis*, Fisheries Research Board of Canada, Ottawa, (1972), 310.
- 21) A.C.Redfield, B.H.Ketchum and F.A.Richards: *The Sea: Ideas and Observations on Progress in the Study of the Seas*, Chap. 2, ed. by M.N.Hill, John Wiley, New York, (1963), 26.
- 22) T.Futatsuka, T.Nagasaka and M.Hino: *Proc. of Int. Conf. on Steel and Society (ICSS2000)*, ISIJ, Tokyo, (2000), 115.
- 23) K.Ito, W.Nishijima, E.Shoto and M.Okada: *J. Jpn. Soc. Water Environ.*, **19** (1996), 501.
- 24) H.Yamada, M.Kayama, K.Saito and M.Masakazu: *Wat. Res.*, **20** (1986), 547.
- 25) P.J.Hansen: *Aquat. Microb. Ecol.*, **28** (2002), 279.
- 26) K.S.Warren: *Nature (London)*, **195** (1962), 47.
- 27) D.A.Matthews, S.W.Effler and C.M.Matthews: *Water Environ. Res.*, **72** (2000), 731.
- 28) K.Emerson, R.C.Russo, R.E.Lund and R.V.Thurston: *J. Fish. Res. Board Can.*, **32** (1975), 2379.
- 29) J.J.Messer, J.Ho and W.J.Grenney: *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **41** (1984), 811.
- 30) 松江吉行: 水産学集成, 末広恭雄編, 東京大学出版会, 東京, (1984), 249.
- 31) S.S.Bates, J.Worms and J.C.Smith: *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **50** (1993), 1248.
- 32) D.Pauly and V.Christensen: *Nature (London)*, **374** (1995), 255.
- 33) L.W.Bostford, J.C.Castilla and C.H.Peterson: *Science*, **277** (1997), 509.
- 34) J.N.Galloway, W.H.Schlesinger, H.Levy II, A.Michaels and J.L.Schnoo: *Global Biogeochem. Cycles*, **9** (1995), 235.