

原 著

# 製鋼スラグを活用した海域底質からの微細藻類の増殖抑制

小杉 知佳<sup>\*1</sup> 加藤 敏朗<sup>\*1</sup> 三木 理<sup>\*2</sup>

<sup>\*1</sup> 新日鐵住金株式会社技術開発本部先端技術研究所, 〒293-8511 千葉県富津市新富 20-1

<sup>\*2</sup> 金沢大学理工研究域サステナブルエネルギー研究センター, 〒920-1192 石川県金沢市角間町

2013 年 11 月 25 日 受付, 2014 年 4 月 8 日 採録

## Abstract

The use of steelmaking slag as a material is being advanced as a means of improving the marine environment in coastal waters. Recently, mixing steelmaking slag with dredged material has been developed for restoring tidal flat estuaries. In this study, the control of microalgae outgrowth from dredged material by steelmaking slag was examined in a batch experiment and mesocosm experiment. The dredged material in artificial seawater showed both the release of nutrients ( $\text{PO}_4\text{-P}$ , D-Inorganic N, D-Si) and the outgrowth of planktonic microalgae. Also, it was found that the predominant species of planktonic microalgae in the artificial seawater was Haptophyta, Coccolithophorids. On the other hand, when steelmaking slag was added to the dredged material, the hardness of the resulting mixture increased, and the outgrowth of microalgae from the dredged material was inhibited. The mechanism for this is follows. The application of steelmaking slag to the dredged material improved the hardness of the dredged material by forming calcium-silicate-hydroxide (CSH), which strongly affected the microalgae outgrowth from the dredged material.

**Keywords:** steelmaking slag, coastal sediment, microalgae, Haptophyta, Coccolithophorids, hardness

## 1. はじめに

閉鎖性の高い海域では、下水や排水から栄養塩が長年にわたり供給されることで、赤潮（微細藻類の異常増殖）が常態化している（岡市，1997）。赤潮によって、多量の有機物が底質へ供給され、それらが海底において分解されることで海水中の溶存酸素が消費され、貧酸素水塊が発生する。また、底泥中には、窒素、リンなどの栄養塩が蓄積し、特に水温が上昇する夏季には、嫌気化した底質から溶出することで、底質が藻類に対する栄養塩の供給源となる。これに対し、日本では 1980 年代頃から都市下水や産業排水からの窒素、リンに関わる水質規制が逐次強化され、閉鎖性海域への窒素、リンの流入負荷量は確実に減少してきている（山田ら，2011）。しかし、排水規制による沿岸域の栄養塩濃度のコントロールは、必ずしも完全ではなく、珪藻赤潮や渦鞭毛藻による貝毒などを引き起こす有害赤潮が頻発している海域は数多く報告されている（石井ら，2008；山田ら，2011）。さらには、排水規制によって栄養塩バランスが変化したこと、赤潮を構成する藻類に変化、すなわち主な構成種が珪藻から渦鞭毛藻に変遷した報告もある（山口・松山，1994；山田ら，2011）。以上のように、赤潮の常態化に対して、海域への流入負荷だけで対策を講じることは極めて困難であることは明らかである。

これに対し、注視すべき要因の一つとして、海底の堆積物中に存在する珪藻や渦鞭毛藻の休眠期細胞、シストの発芽が挙げられる。浮遊性珪藻の中には、光条件や栄養塩の枯渇など生育環境が悪化した場合、厚い珪酸質の殻を形成し、休眠期細胞（resting cell）となり、海底に沈降して、増殖に不適な期間を底泥中で過ごすものが報

告されている。渦鞭毛藻に関しても、珪藻と同様に一時的な環境悪化を耐え忍ぶために無性的にテンプラリーシスト（temporary cyst）を形成するほかに、越冬などのために休眠シスト（resting cyst）を形成する種が知られている（谷口，2008）。これらの発芽が、赤潮のソースになっていることが示唆されており（Anderson・Morel，1979）、日本各地でシストの分布と栄養塩濃度について調査されている（小林ら，1986；金・松岡，1998；Matsuoka，1999，2001）。さらに、底泥中の渦鞭毛藻のシストの細胞密度と海域の COD（化学的酸素要求量）との間に正の相関性があることから、渦鞭毛藻シストが富栄養化のバイオマーカーとして注目されている（Dale et al., 1999；Matsuoka，1999；松岡，2011）。

著者らは、閉鎖性の強い沿岸海域において赤潮の常態化を食い止める直接的な方策として、汚濁の進んだ海域の底質を改質し、底質中の栄養塩の過剰な溶出やシスト・休眠期細胞の発芽を極力抑制することが重要と考え、安価な製鋼スラグ、特に、鉄を転炉で精錬する際に発生する転炉系製鋼スラグ（以下、製鋼スラグ）を用いた底質改善策に取り組んできた。製鋼スラグは、カルシウムシリケート化合物を主体とした無機物で、主成分は  $\text{CaO}$ 、 $\text{T-Fe}$ 、 $\text{SiO}_2$  である。これまで、安定した生産量と品質を保持できるという特長を有することから、陸上用途として道路用路盤材などに広く用いられてきた。さらに、近年、良質な山砂等の不足もあり、製鋼スラグなどの海洋への適用が広く検討されている（藤本ら，2011；堀井ら，2012）。一例として、港湾から定期的に発生する浚渫土砂に製鋼スラグを一定量混合することにより浚渫土砂の強度改善（固化促進）をはかり、浅場造成材や

浚渫地の埋め戻し材として海域底質に用いる検討が進められている。浚渫土砂に製鋼スラグを混合すると、製鋼スラグからはカルシウムイオンが溶出し、底質土中のシリカと水和反応が進行して、 $\text{CaO-SiO}_2\text{-H}_2\text{O}$ の水和化合物が形成されることによって、固化が進行すると考えられている。本法によれば、底質の強度改善ばかりでなく、細土分の巻き上がり防止や硫化物・リンの溶出抑制効果も期待できる（三木ら, 2011; Miki et al., 2013）。また、製鋼スラグの海産生物に対する安全性についても検討が進められており、溶出水によるバイオアッセイ試験ではpH上昇が抑制されている条件下では影響は見られないなどの報告事例がある（三木ら, 2010）。

しかし、海域底質に用いる浚渫土砂の固化の程度と微細藻類の発生の関係について検討された事例はほとんど見られない。そこで、本研究では、浚渫土砂に製鋼スラグを添加して底質改善や浅場造成材として用いる場合を想定し、固化の進行の程度と微細藻類の発生の関係を検討した。具体的には、まず実験室内での小規模なビーカー試験によって固化の程度と微細藻類の増殖抑制効果について基礎的に確認した。次に、大型のメソコスム水槽において浚渫土砂を海域底質（製鋼スラグ添加系および無添加系の2系列）として敷設し、人工海水を一定期間連続通水することで、発生した微細藻類の増殖量や種類、製鋼スラグ適用による増殖抑制効果について検証した。これらの結果について、以下に報告する。

## 2. 実験方法

### 2.1 室内実験

Table 1 に性状を示す東京湾浚渫土砂 15 g（湿重）および製鋼スラグを一定量混合し、製鋼スラグ含有率が 0, 10, 25, 50, 75 質量%の5種類の混合土（以下、スラグ混合土）を作製した。各スラグ混合土を海産性藻類の人工合成培地（ASP<sub>12</sub>-NTA, Provasoli, 1963）200 ml を入れたポリスチレン製の 250 mL 容器に移し、20°C に設定した人工気象器内（16 時間明期-8 時間暗期、光量

16  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ）にて 17 日間静置培養した。初期の人工合成培地中の  $\text{NO}_3\text{-N}$  は 73 mg/L,  $\text{PO}_4\text{-P}$  は 7.9 mg/L, pH は約 8 であった。人工合成培地には、微細藻類のシストは含まれていないため、本実験により増殖した微細藻類は、東京湾浚渫土砂起因と考えることができる。

実験開始から 10 日間は容器をふたで密栓していたが、後半は大気からの  $\text{CO}_2$  の供給促進を考慮し、容器の開口部にナイロンメッシュを被せて外部からの混入物を防いだ開放系として培養した。微細藻類の発生状況を目視で確認し、17 日目に容器内に発生した以下の4種類の微細藻類別のクロロフィル *a* 量を多波長励起蛍光光度計（bbe 社製、Algae Online Analyser (AOA)）によって測定した。本実験に使用した多波長励起蛍光光度計は、4 種の励起波長（470 nm, 525 nm, 570 nm, 610 nm）を試料に照射し、各微細藻類が共通して有するクロロフィル *a* と固有に有するアンテナ色素によって生じる蛍光スペクトルの特徴によって以下のように藻類を識別する。さらに、それぞれの蛍光強度によってクロロフィル *a* 量として測定することができる（Beutler et al., 2002）。

①緑色植物門（緑藻綱、プラシノ藻綱など）+ユーグレナ植物門：Green と表示

②藍色植物門（シアノバクテリア）、灰色植物門：Blue と表示

③不等毛植物門（珪藻綱など）、ハプト植物門、渦鞭毛植物門：Brown と表示

④クリプト植物門（クリプト藻綱）：Mixed と表示

なお、紅色植物門（RED と表示）に分類される微細藻類の種類はごく稀であるため本機での分類では除外されている。

また、上記のサンプルとは別に製鋼スラグ含有率が 0, 25, 50, 75 質量%の5種類のスラグ混合土を作製し、山中式土壌硬度計により、コンクリート強度の指針で用いられる 28 日後のスラグ混合土の硬度を測定した。

### 2.2 メソコスム水槽実験

本実験は、東京湾浚渫土砂またはスラグ混合土を浅場

Table 1 Chemical composition of the dredged material from Tokyo Bay and the steelmaking slag in the laboscale test and the mesocosm test.

	Dredged material		Steelmaking slag	
	Laboscale test	Mesocosm test	Laboscale test	Mesocosm test
Density [kg/L]	1.3	1.3	3.1	3.2
Water content [%]	57.6	59.3	9.5	5.9
COD [mg/g dry]	12.0	27.0	2.4	0.4
Phosphorus [mg/g dry]	0.5	1.3	6.2	11.1
Nitrogen [mg/g dry]	3.5	1.5	No data	No data
Silicate [mg/g dry]	236.0	221.0	71.0	68.3
Iron [mg/g dry]	37.0	48.5	284.0	151.5
Calcium [				

造成材として、海域底質に用いることを想定して、2011年7月12日から8月29日の48日間実施した。Fig. 1に示すメソコスム実験水槽（300 mm × 5,000 mm × 500 mm：容水量 650 L（うち 125 Lは循環槽））2系列に、Table 1に性状を示す東京湾浚渫土砂および製鋼スラグを上記浚渫土砂に 50 質量%混合した浚渫土砂（以下、スラグ混合土）をそれぞれ 10 L コンテナ（336 mm × 194 mm × 156 mm）3 箱、計 30 L を充填し、浅場水槽 2 系列の底部に水面から 150 mm のところに敷設した。Table 2 に性状を示す人工海水（Lyman-Fleming）を上記の水槽の滞留時間が 3 日となるよう流速 150 ml/min で連続給水し、水面と同じ高さに排水口を設置することで、供給された分と同量が排水されるようにした。なお、実験水槽は、外壁および屋根が総ガラス製の建屋内に設置されており、光条件はほぼ天然光に近似している。

水槽に敷設した浚渫土砂およびスラグ混合土の硬度については、1 回 / 週の頻度で前述した山中式硬度計によって 3 点ずつ測定し、平均値を求めた。

また、実験期間中の水質の変化を把握するために、2 回 / 週、各系列（浚渫土砂系、スラグ混合土系）の海水を採取し、平均目合 1  $\mu\text{m}$  のメンブランろ紙（アドバンテック社製）で吸引ろ過を行った後に分析に供した（pH、窒素、リン、シリカ、カルシウム）。溶存態無機窒素（以下、D-IN）は、オートアナライザー（ブランベール社製、オートアナライザー TRAACS2000）で  $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$  を測定し、その和から求めた。溶存態リン酸態リン（以下、 $\text{PO}_4\text{-P}$ ）は、JISK0102 に準拠しモリブデン酸アンモニウム吸光光度法で測定した。溶存態シリカ（以下、D-Si）は、ICP 発光分析装置（島津製作所社製、ICPE-9000）を用い測定した。

水槽内に発生した浮遊性微細藻類については、2～3 回 / 週の頻度でクロロフィル *a* 量として前述した多波長励起蛍光光度計によって 4 種類別に測定した。また、実験開始から 16 日目には、各水槽（浚渫土砂系、スラグ混合土系）から海水 1 L、また、底質表面を 100 ml（約 100  $\text{cm}^2$ ）採取し、5%ホルマリンで固定した後、それぞれについて浮遊性藻類、付着性藻類として水槽内に出現した藻類の同定を行った。

### 3. 結果と考察

#### 3.1 室内実験

Fig. 2 に実験開始より 17 日目の培養容器上面から見た微細藻類の底質からの発生状況を示す。スラグ無添加（0 質量%）の浚渫土砂の場合、人工海水が褐色に着色したことから、藻類が浚渫土砂から発生、増殖していることが強く推察された。一方、スラグ混合土の浚渫土砂への製鋼スラグの混合率を増大させるにつれ、人工海水の着色の程度が弱まり、浚渫土砂からの藻類の発生が抑制されていることが予想された。特に、製鋼スラグの混合率が 50 質量%以上では、人工海水はほぼ無色のままであり藻類の発生はほぼ完全に抑制されたと考えられた。

Fig. 3 に 17 日後の各スラグ混合土における藻類別のクロロフィル *a* 量を示す。浚渫土砂から発生した微細藻類は、0、10、25 質量%において Brown（不等毛植物門）やハプト植物門）が最も多く、次に Mixed（クリプト植物門）であることがわかった。一方で、Green（緑色植物門）、Blue（ラン藻）はほとんど検出されなかった。実海域において底泥中の渦鞭毛藻類のシストや珪藻類の休眠期細胞による赤潮の寄与が懸念されており、東京湾においてもシストの存在が確認されていることから

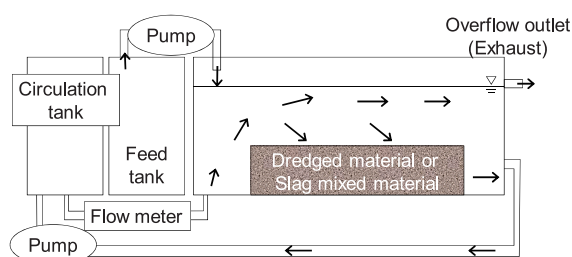


Fig. 1 Diagram of mesocosm for microalgae outgrowth control experiment.

Table 2 Composition of the artificial seawater by Lyman & Fleming.

	Concentration
pH [-]	8.0–8.1
NaCl [mg/L]	23477
Mg Cl <sub>2</sub> [mg/L]	4891
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> [mg/L]	3912
CaCl <sub>2</sub> [mg/L]	1120
KCl [mg/L]	660
NaHCO <sub>3</sub> [mg/L]	192

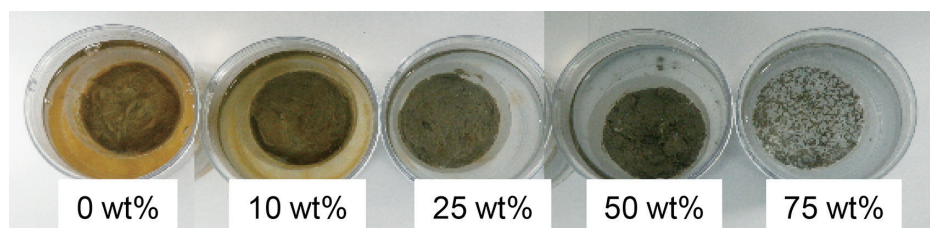


Fig. 2 Effect of the outgrowth control from the dredged material by the slag mixed materials.

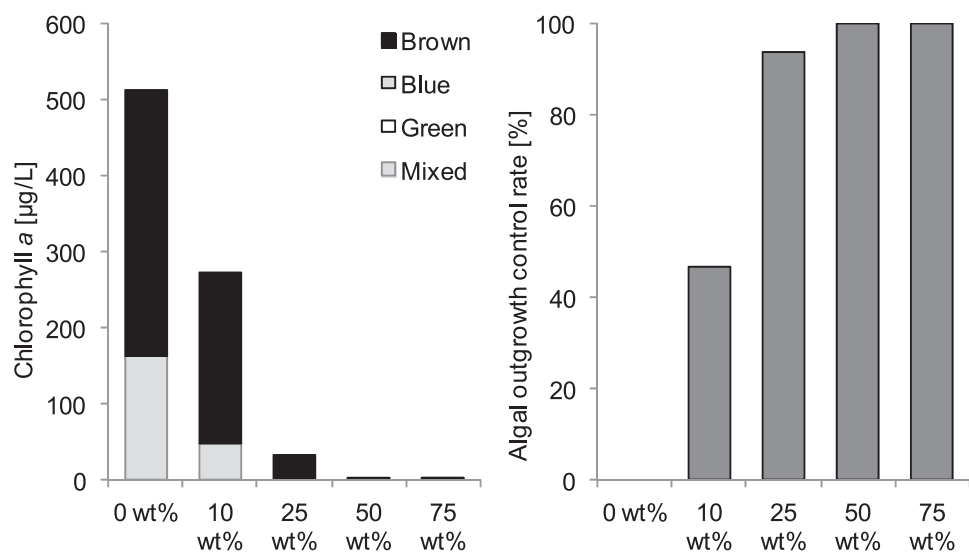


Fig. 3 Chlorophyll *a* concentrations (left) and the algal outgrowth control rate (right) by the slag mixed materials.

Table 3 Hardness and the properties of the slag mixed materials after 28 days.

	0 wt%	10 wt%	25 wt%	50 wt%	75 wt%
Hardness [kPa]	0	0	50	3000<	3000<
Properties of the slag mixed materials	Muddy	Hard muddy	Clayey	Sufficiently solidified	Sufficiently solidified

(Anderson, 1979 ; Matsuoka, 1999, 2001), 本研究において使用した東京湾産浚渫土砂中にもシスト・休眠期細胞が多分に含まれていたことが推察される。また、海域の浮遊性藻類では光合成色素としてクロロフィル *a*, *c* 色素を有する黄色の葉緑体を持つ不等毛植物門が優占することが多いことから (井上, 2006), 本実験において Brown が優占したのと考えられる。

浚渫土砂への製鋼スラグの混合による底質からの藻類発生抑制率を比較すると (Fig. 3), 0 質量%と比較して、スラグ混合率が 10 質量%で約 47%, 25 質量%で 94%, 50, 75 質量%で 99%以上であった。

また、この時の各スラグ混合土の固化の程度を比較すると (Table 3), 0 質量%では、28 日後も泥状で固化は全く認められなかった。一方、スラグ混合土の硬度は、10 質量%添加では、0 質量%と大きな違いは見られなかったものの、粘性の増加が確認された。25 質量%添加では、粘土状となったが、指先は入る程度の硬度であった。混合率が 50 質量%以上では、指先が入らない程度に完全に固化していた。

17 日後の培養液の pH は、無添加の 0 質量%で 8.1, 10 および 25 質量%で 8.6, 50 ~ 75 質量%で 9.0 ~ 9.1 であった。10 質量%において微細藻類が発生したことから、天然海水よりも若干高めである pH 8.6 は、藻類の増殖に影響を及ぼしていないことが推察される。

本研究で使用した人工海水 ASP<sub>12</sub>-NTA には、PO<sub>4</sub>-P が約 3.6 mg/L と高濃度に含有していることから、17 日間でリン律速となる可能性が極めて低いこと、また、別

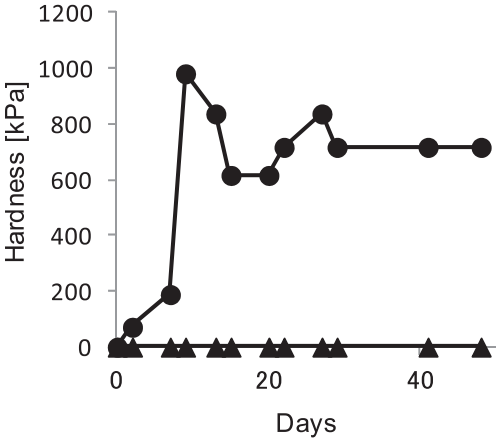


Fig. 4 The time course changes of hardness of the dredged material (▲) and the slag mixed material (●).

の採取地の浚渫土において固化が進行せず、pH 9.5 に上昇した場合においても、藻類の発生時期が遅れたものの、増殖が確認されたことから、藻類発生抑制の要因が固化の促進にあると示唆される。

3.2 メソコスム水槽実験

3.2.1 スラグ混合土の固化

製鋼スラグを浚渫土砂に混合することにより、固化が経時的にどのように進行していくかをメソコスム実験水槽の浚渫土砂系とスラグ混合土系を用いて確認した (Fig. 4)。浚渫土砂系では、室内実験と同様に、実験期間を通して、硬度に変化は見られず、実験終了時 (48



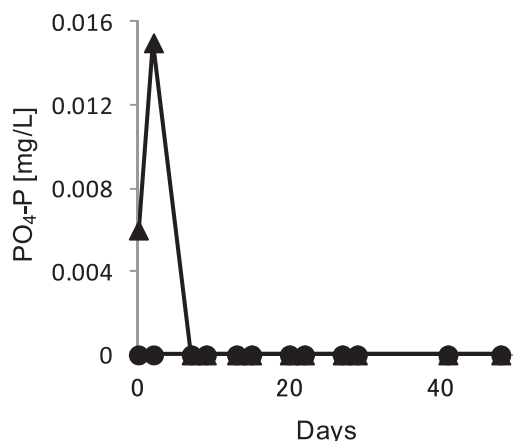


Fig. 5 The time course changes of  $\text{PO}_4\text{-P}$  concentration in the experimental tank (▲: dredged material, ●: slag mixed material).

日目)も泥状のままであった。一方、スラグ混合土系では、7日目から急速に固化し、最大で 981 kPa に達した。その後は、約 700 kPa で推移した。室内実験と比較して、硬度の発現はやや小さかったが、指先が入らない程度には固化した。これらの結果から、海水を連続通水するような条件下においても製鋼スラグの添加によって固化は容易に進行することが明らかとなった。

### 3.2.2 水質の変化

三木ら (2011) によって実施されたスラグ混合土のラボスケールでの溶出実験の結果から、メソコスム水槽実験においても固化だけでなく、浚渫土砂からのリンなどの栄養塩の溶出も抑制されることが予想された。本研究では、特に、微細藻類の増殖に影響を及ぼすリン、窒素、シリカについて、浚渫土砂系とスラグ混合土系の水質を比較した。

Fig. 5 にメソコスム水槽における  $\text{PO}_4\text{-P}$  濃度の経日変化を示す。浚渫土砂系では、 $\text{PO}_4\text{-P}$  濃度は一時的に上昇し、その後、急激に低下した。これは、浚渫土砂から  $\text{PO}_4\text{-P}$  が溶出したため一時的に上昇したものの、微細藻類の増殖によって消費され、その結果、減少したものと考えられる。一方、スラグ混合土系では、 $\text{PO}_4\text{-P}$  濃度は当初から検出限界 (0.005 mg/L) 以下で推移し、浚渫土砂からの溶出は認められなかった。浚渫土砂に製鋼スラグを混合するとスラグ表面付近にて、(1) 式のようにカルシウムヒドロキシアパタイトが生成し、 $\text{PO}_4\text{-P}$  が固定化され、溶出が長期にわたって防止されることが報告されており (三木ら, 2011)、今回も同様の現象が生じたものと考えられる。

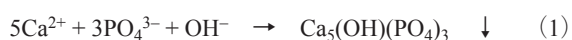


Fig. 6 にメソコスム水槽における D-IN 濃度の経日変化を示す。浚渫土砂系の D-IN は、 $\text{PO}_4\text{-P}$  と同様に一時的に上昇し、その後、急激に低下した。D-IN は  $\text{PO}_4\text{-P}$  と同様に、浚渫土砂から溶出したが、微細藻類の増殖に

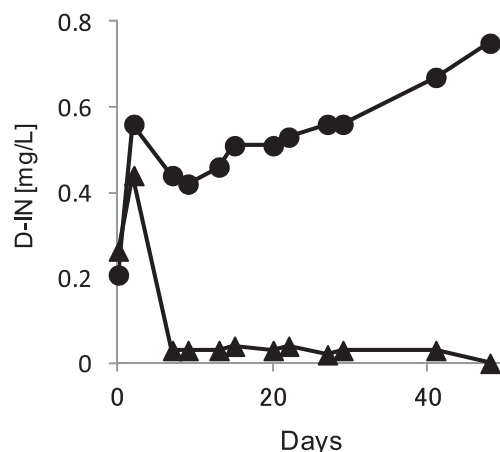


Fig. 6 The time course changes of D-IN concentration in the experimental tank (▲: dredged material, ●: slag mixed material).

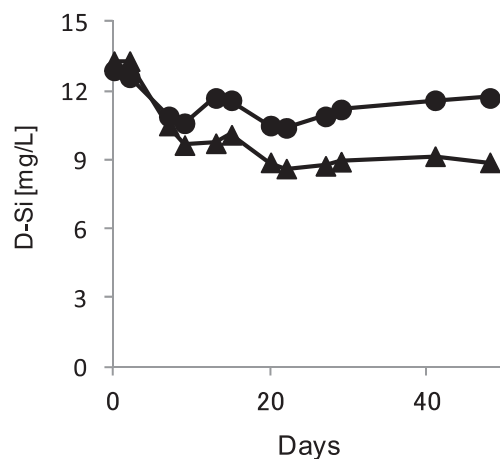


Fig. 7 The time course changes of D-Si concentration in the experimental tank (▲: dredged material, ●: slag mixed material).

よって消費され減少したと考えられる。一方、スラグ混合土系においても D-IN の増加は確認され、その後、2 ~ 9 日目までは減少傾向であった。しかし、スラグ混合土系における藻類の増殖量は浚渫土砂系と比較して、極めて少なかったため、D-IN の溶出が藻類による消費よりも上回り、9 日目以降は増加傾向となった。浚渫土砂に製鋼スラグを混合しても窒素に関しては溶出抑制効果が小さいことは三木ら (2011) によって報告されており、今回も類似の結果が得られた。

Fig. 7 にメソコスム水槽における D-Si 濃度の経日変化を示す。浚渫土砂系の D-Si についても、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 、D-IN と同様に一時的に濃度が上昇し、その後、低下した。D-Si は、浚渫土砂からの溶出によって上昇したものの、微細藻類の増殖によって消費され、減少したものと考えられる。以上のように、浚渫土砂系では、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 、D-IN、D-Si のいずれも溶出し、微細藻類の増殖に寄与していることが推察された。一方、スラグ混合土系においても、実験初期に D-Si の増加は確認されたが、その後、漸減

した。この理由として、後述するようにスラグ混合土系においては藻類の増殖量が少なかったことから、生物学的要因（藻類による消費）ではなく、化学的反応による要因が強いことが予想される。例えば、スラグ混合土系においては製鋼スラグからはカルシウムイオンが溶出するため、D-Si との反応が進行し、不溶化することなどが推測される。

Fig. 8 にメソコスム水槽における pH の経時変化を示す。浚渫土砂系、スラグ混合土系ともに、実験期間を通して、8.1～8.3 の間で推移した。製鋼スラグを用いることによって海水中の pH が過大に上昇するような傾向は認められなかった。これは、浚渫土砂の間隙水が酸性（pH 8 未満）であることによって、製鋼スラグのアルカリ成分（例えば、CaO）が中和されたことが影響していると考えられる。ただし、昼夜の pH 変動を比較すると、

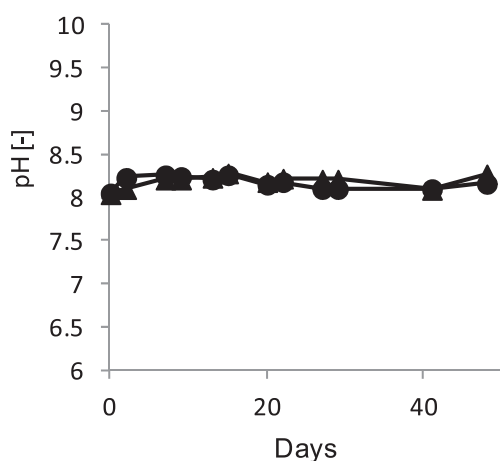


Fig. 8 The time course changes of pH in the experimental tank (▲: dredged material, ●: slag mixed material).

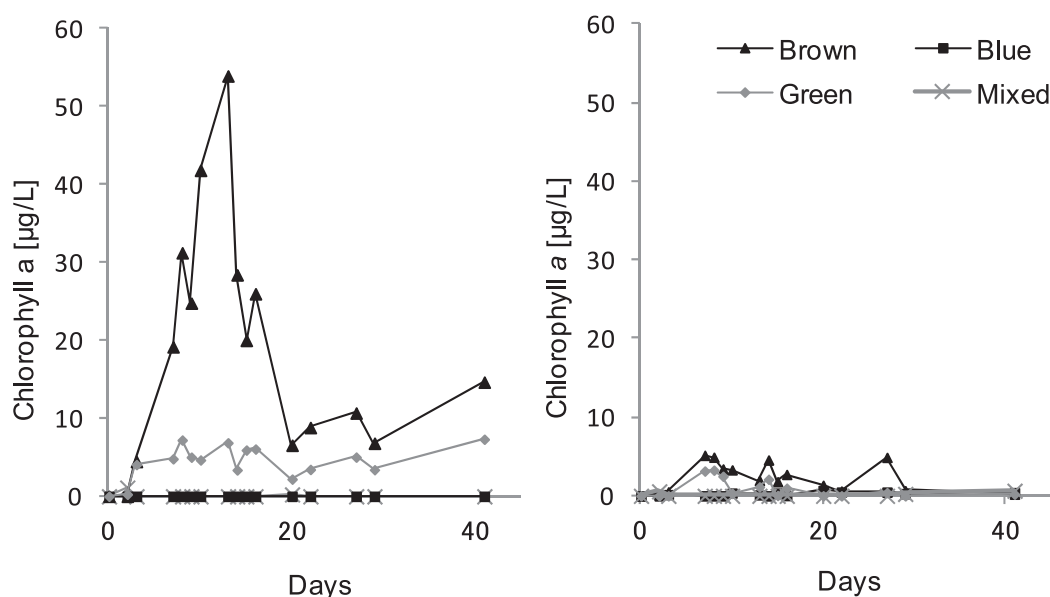


Fig. 9 The time course changes of Chlorophyll a concentration as the amount of planktonic microalgae in the experimental tank (left; dredged material, right; slag mixed material).

浚渫土砂系では、微細藻類の増殖に伴う炭酸同化作用の影響で、昼夜間で大きく変動しながら推移した。スラグ混合土系では、微細藻類の増殖量が影響し、浚渫土砂系よりも pH の変動は小さかった。

### 3.2.3 微細藻類の変化

#### 3.2.3.1 浮遊性藻類

Fig. 9 に浮遊性藻類の藻類別クロロフィル a 濃度の経日変化を示す。浚渫土砂系では、実験開始 3 日目から増加傾向となり、13 日目に最大 60.8  $\mu\text{g/L}$  となった後は、減少傾向に転じた。検出された藻類は、実験期間を通して Brown が優占し、最大で 89%（13 日目）を占めた。次いで、Green が優占したが、Brown のように顕著な増加は見られなかった。Blue、Mixed は実験期間を通して全く出現しなかった。一方、スラグ混合土系では、浚渫土砂系と同様に 3 日目から増殖傾向となり、7 日目に最大 8.3  $\mu\text{g/L}$ （浚渫土砂系の約 1/7）となった以降は、顕著な増加は見られなかった。検出された藻類は、浚渫土砂系と同様に、Brown が優占し、最大で 85%（27 日目）を占めた。次いで、Green が優占し、Blue、Mixed はほとんど出現せず、0.5  $\mu\text{g/L}$  未満にとどまった。浮遊性藻類の増殖ピークは、メソコスム水槽中の  $\text{PO}_4\text{-P}$ 、D-IN の濃度ピークから 10 日ほど遅れていた。この傾向は、他の浚渫土砂を用いた同様の実験においても再現性が認められた。実験初期以降、 $\text{PO}_4\text{-P}$  が検出限界濃度を下回っていた（Fig. 5）にも関わらず、終始微細藻類が出現し続けたことに関しては、実験初期に発生した分が死滅、沈降し、水槽底で分解され、再度無機態の栄養塩として溶出し、溶出したところから即時に微細藻類に摂取されたため、水質の分析上はその変化を捉えられなかったものとする。

メソコスム実験水槽内に出現した藻類の組成は、浚渫土砂系とスラグ混合土系とで類似していた。しかし、室

内実験での結果を比較すると、Brown が最も優占した以外は、異なっていた。これは、両実験に使用した浚渫土砂が同じ東京湾産ではあるものの、採取場所や時期、そして、浚渫土砂が置かれた環境（光条件、水温、栄養塩など）が影響したと考えられる。また、両実験において Brown が優占したことに関しては、浚渫土砂中のシストおよび休眠期細胞の種組成やそれぞれの発芽に適した環境について精査する必要がある。

多波長励起蛍光光度計で測定した結果から、優占した浮遊性藻類は、不等毛植物門（珪藻綱など）、ハプト植物門、渦鞭毛植物門のいずれかであることが明らかになった。これを踏まえて、顕微鏡観察によって同定した結果、浚渫土砂系およびスラグ混合土系において最も優占した種は、個体数に差はあったものの（浚渫土砂系はスラグ混合土系の約 40 倍）、珪藻や渦鞭毛植物ではなく、ハプト植物門に属する円石藻（Coccolithophorids）であった（Table 4, Fig. 10）。今回のメソコスム実験では、実海水ではなく、人工海水を用いているため、円石藻は浚渫土砂由来であると考えられる。東京湾の底泥中に円石藻のシストが確認された報告はないものの、1995 年 5 月に *Gephyrocapsa oceanica* による赤潮が東京湾全域で発生した（小倉・佐藤, 2001）。また、*G. oceanica* は、円石藻の中でも高水温で富栄養環境において増殖しやすく、本メソコスム水槽実験が類似した環境であったことから（Hagino・Okada, 2004）、本実験において優占した円石藻が *G. oceanica* である可能性が考えられる。日本沿岸の底質中にシストとして円石藻類が存在するという報告は少なく、本実験で得られた結果は、底泥中のシストによる赤潮発生予測の観点からも非常に興味深い。今後、さらに詳細な検討が必要と思われる。

### 3.2.3.2 付着性藻類

実験開始から 16 日目にメソコスム水槽に敷設した底質の表面に付着している付着性藻類の同定を行った（Table 5）。その結果、浮遊性藻類とは異なり、不等毛植物門に属する珪藻、特に *Amphora* sp., 次いで *Amphiprora*

sp. が優占していた（Fig. 11）。底質表面では、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 、D-IN、D-Si などの栄養塩濃度が高いことが影響し、珪藻類の繁茂が卓越したものと考えられる。一方、スラグ混合土系では、珪藻類が優占していたものの、浚渫土砂系と比較して約 1/9 の細胞密度であった。これは、スラグ混合土の場合、 $\text{PO}_4\text{-P}$  や D-Si の溶出が抑制されたことが影響したと考えられる。

以上の藻類の同定によって、少量ではあるが、繊毛虫などの動物プランクトンが確認された。底泥中には、微細藻類のシストや休眠胞子のほかに動物プランクトンの休眠卵が含まれ、それらについても外部環境が至適に変化することで孵化する。繊毛虫の休眠卵を実験室内で孵化させた際には、3 日（23°C, 14L:10D）を要したことが報告されており、本実験でも同様の現象が生じたものと推察される（Moscatello・Belmonte, 2004）。

富栄養化が進行した海域で発生する赤潮ほど、構成種が少なくなることが知られている（山田・梶原, 2004）。メソコスム実験水槽の浚渫土砂系においても浮遊性藻類、付着性藻類のいずれも優占した種は、限定的（浮遊

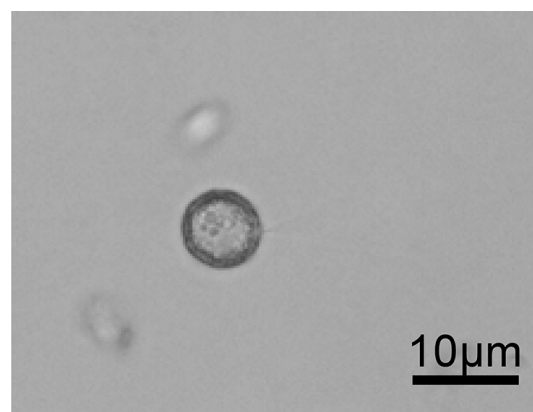


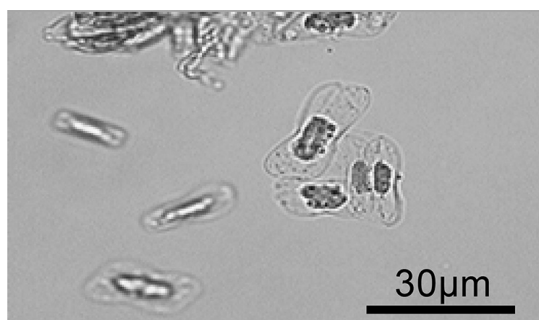
Fig. 10 Light microscopic image of planktonic microalgae, Coccolithophorids in the experimental tank laid on the dredged material.

Table 4 List of planktonic microalgae in the experimental tank (dredged material and slag mixed material).

Division	Class	Order/Species	Dredged material [cell/ml]	Slag mixed material [cell/ml]
Haptophyta	Haptophyceae	Coccolithophorids	15720	396
Heterokontophyta	Bacillariophyceae	<i>Skeletonema costatum</i>	4	
		Thalassiosiraceae	1	
		<i>Amphiprora</i> sp.	6	
		<i>Amphora</i> sp.	16	20
		Pennales	2	
Dinophyta	Dinophyceae	<i>Heterocapsa</i> sp.		1
Cryptophyta	Cryptophyceae	Cryptomonadales		1
Unknown		Micro-flagellates	2	6
Total			15751	424

Table 5 List of attached microalgae in the experimental tank (dredged material and slag mixed material).

Division	Class	Order/Species	Dredged material [cell/ml]	Slag mixed material [cell/ml]
Heterokontophyta	Bacillariophyceae	<i>Amphora</i> sp.	41800	2480
		<i>Amphiprora</i> sp.	6200	24
		<i>Navicula</i> sp.	224	
		<i>Nitzschia</i> sp.	28	140
		Pennales	8	32
		<i>Cocconeis</i> sp.	4	
Total			48264	5676

Fig. 11 Light microscopic image of attached microalgae, *Amphora* sp. on the dredged material.

性藻類では1種、付着性藻類では2種が優占)であった。本研究で使用した海水が人工海水であり、水槽内で増殖した藻類は全て浚渫土砂由来であるものの、浚渫土砂から溶出した多分な  $\text{PO}_4\text{-P}$ 、 $\text{D-IN}$ 、 $\text{D-Si}$  によって富栄養した結果、浮遊性藻類では円石藻類が、付着性藻類では珪藻類が卓越したものと考えられる。ただし、円石藻類については、 $\text{D-IN}$ 、 $\text{PO}_4\text{-P}$  のバランスが崩れた海域等でブルームを起こすことが報告されていることから (Lessard et al., 2005), 浚渫土砂由来の栄養塩類の溶出の影響を受けて変化する微細藻類の構成種については、引き続き検討が必要である。

本実験において使用した浚渫土砂からは、有害赤潮の一種である渦鞭毛藻類の *Heterocapsa* が極少数確認されたが、この他、*Gymnodinium* や *Alexandrium*、ラフィド藻の *Chattonella* についても、シストを形成し、底質に堆積したものが、赤潮の一因となることが各地で報告されている (Anderson・Morel, 1979; Gracia et al., 2013; 山本ら, 2009)。そのような海域の底質に製鋼スラグを混合することで、本研究で得られた結果と同様に底質からのシストの発芽を抑制できれば、赤潮の常態化を食い止める具体的な方策になりうると考える。今後は、生態系モデルを活用したシミュレーションによって、スラグ混合土を (例えば、深ぼれ部の埋め戻し材として) 実海域に広範囲に適用した場合の赤潮発生の抑制効果について明らかにしていきたい。

#### 4. まとめ

東京湾から採取した浚渫土砂に製鋼スラグを混合して浚渫土砂からの微細藻類の増殖を抑制する効果とその機構について、人工海水を用いた室内実験とメソコスム水槽実験によって検討し、以下の知見を得た。

1) 浚渫土砂を底質に用いた場合、土砂から海水へ栄養塩 (リン、窒素、シリカ) の溶出が生ずるとともに、微細藻類が土砂から発生、増殖することが確認された。また、浚渫土砂から発生した藻類は、海水中の浮遊性藻類では、ハプト植物門に属する円石藻が優占して増殖した。底質表面の付着性藻類では、不等毛植物門に属する珪藻類が優占した。

2) 製鋼スラグを浚渫土砂に混合したスラグ混合土を底質に用いた場合、土砂から海水へリンの溶出が抑制されるとともに、微細藻類の浚渫土砂からの発生も抑制された。発生した微細藻類の中では、珪藻類が優占し、浚渫土砂で卓越した円石藻はほとんど確認されなかった。

3) 製鋼スラグが浚渫土砂からの微細藻類の発生を抑制する要因の一つとして、製鋼スラグを混合することによって生じる土砂の固化促進が推定され、浚渫土砂の固化の程度と微細藻類の発生には強い相関があることを確認した。

#### 参考文献

- Anderson, D.M. and M.M. Morel, 1979. The seeding of two red tide blooms by the germination of benthic *Gonyaulax tamarens* Hypnocyts, Estu. Coast. Mar. Sci., 8, 279-293.
- Beutler, M., Wiltshire, K.H., Meyer, B., Moldaenke, C., Luring, C., Meyerhofer, M., Hansen, U.P. and H. Dau, 2002. A fluorometric method for the differentiation of algal populations *in vivo* and *in situ*, Photosynthesis Res., 72, 39-53.
- Dale, B., Throsen, T.A. and A. Fjellsa, 1999. Dinoflagellate cysts as indicators of cultural eutrophication in the oslofjord, Norway. Estuarine, Coastal and Shelf Science, 48, 371-382.
- 藤本健一郎, 加藤敏朗, 植木知佳, 堤直人, 2011. 製鉄副生スラグによる海の森づくり (藻場造成技術開発). 新日鉄技報, 391, 206-209.
- Gracia, S., Roy, S. and M. Starr, 2013. Spatial distribution and viability of *Alexandrium tamarens* resting cysts in surface sediments from the St. Lawrence estuary, eastern Canada, Estu. Coast. Shelf Sci., 121-122, 20-32.



- 小林聡, 松岡數充, 飯塚昭二, 1986. 日本沿岸表層堆積物中の渦鞭毛藻シストの分布 I. 大村湾. 日本プランクトン学会報, 33, 81-93.
- Hagino, K. and H. Okada, 2004. Floral response of coccolithophores to progressive oligotrophication in the south equatorial current, Pacific Ocean, In: Shiyomi, M. et al., (Eds.), Global Environmental Change in the Ocean and on Land. TERRAPUB, Tokyo, pp.121-132.
- 堀井和弘, 堤直人, 北野吉幸, 加藤敏朗, 2012. 製鋼スラグ処理と資源化技術. 新日鉄技報, 394, 125-131.
- 井上勲, 2006. 藻類 30 億年の自然史 (第 2 版). 東海大学出版会, 神奈川, pp. 88-89.
- 石井光廣, 長谷川健一, 松山幸彦, 2008. 東京湾のノリ生産に影響を及ぼす環境要因: 栄養塩の長期変動及び細菌の珪藻赤潮発生. 水産海洋研究, 72, 22-29.
- 金亨信, 松岡數充, 1998. 渦鞭毛藻シスト群集組成から見た大村湾における富栄養化の過程. 日本プランクトン学会報, 45, 133-147.
- Lessard, E.J., Merico, A. and T. Tyrrell, 2005. Nitrate: phosphate ratios and *Emiliania huxleyi* blooms, Limnol. Oceanogr., 50, 1020-1024.
- Matsuoka, K., 1999. Eutrophication process recorded in dinoflagellate cyst assemblages—a case of Yokohama Port, Tokyo Bay, Japan. The Science of the Total Environment, 231, 17-35.
- Matsuoka, K., 2001. Further evidence for a marine dinoflagellate cyst as an indicator of eutrophication in Yokohama Port, Tokyo Bay, Japan. Comments on a discussion by B. Dale, The Science of the Total Environment, 264, 221-233.
- 松岡數充, 2011. 渦鞭毛藻類シスト群集は富栄養化指標として有効か?. 日本プランクトン学会報, 58, 55-59.
- 三木理, 加藤敏朗, 楠井隆史, 2010. 海洋性発光細菌および動物プランクトンを用いた製鋼スラグ溶出水のバイオアッセイ. 水環境学会誌, 33, 141-146.
- 三木理, 植木知佳, 赤司有三, 中川雅夫, 畑恭子, 永尾謙太郎, 笠原勉, 鈴木輝明, 2011. 転炉系製鋼スラグを用いた浚渫窪地埋め戻し時の海域環境改善予測. 海洋理工学会誌, 17, 37-48.
- Miki, O., Ueki, C. and T. Kato, 2013. Control of sulfide release from bottom sediments at borrow pits using steelmaking slag, Journal of water and environment technology, 11, 101-110.
- Moscattello, S. and G. Belmonte, 2004. Active and resting stages of zooplankton and its seasonal evolution in a hypersaline temporary pond of the Mediterranean coast (the “Vecchia Salina”, SE Italy). Scientia Marina, 68, 491-500.
- 小倉久子, 佐藤正春, 2001. 1995 年 5 月の東京湾に発生した *Gephyrocapsa oceanica* Kamptner 赤潮について. 水環境学会誌, 24, 115-119.
- 岡市友利, 1997. 赤潮の科学 (第二版). 恒社厚生閣, 東京, 337 pp.
- Provasoli, L., 1963. Growing marine seaweeds. In: DeVerville A.D. and J. Feldmann, (Eds.), “Proc. IVth Internat. Symp. 1961”. Oxford: Pergamon Press, pp. 9-17.
- 谷口旭, 2008. 海洋プランクトン生物学. 成山堂書店, 東京, pp. 16-44.
- 山田真知子, 梶原葉子, 2004. 著しく富栄養化の進行した洞海湾の植物プランクトン出現特性. 海の研究, 13, 281-293.
- 山田真知子, 上田直子, 濱田健一郎, 2011. 過栄養海域である洞海湾における栄養度の低下とそれに伴う赤潮発生状況の変化. 日本水産学会誌, 77, 647-655.
- 山口峰生, 松山幸彦, 1994. 珪藻類における栄養塩の利用特性および *Chattonella* との栄養塩競合. 有害赤潮の生態学的制御による被害防除技術の開発に関する研究・5 カ年の研究報告書. 南西海区水産研究所, 広島, pp. 77-91.
- 山本圭吾, 鍋島靖信, 山口峰生, 板倉茂, 2009. 2006 年および 2007 年の大阪湾における有毒渦鞭毛藻 *Alexandrium tamarense* と *A. catenella* シストの分布と現存量. 水産海洋研究, 73, 57-66.

\* \* \* \* \*

## Microalgae outgrowth control from coastal sediment using steelmaking slag

Chika Kosugi\*<sup>1</sup>, Toshiaki Kato\*<sup>1</sup>, Osamu Miki\*<sup>2</sup>

\*<sup>1</sup> Advanced Technology Reserch Laboratories, Technical Research & Development Bureau, Nippon Steel & Sumitomo Metal Corporation, 20-1, Shintomi, Futtsu, Chiba, 293-8511, Japan

\*<sup>2</sup> Research Center for Sustainable Energy and Technology, Institute of Science & Engineering, Kanazawa University, Kakuma-machi, Kanazawa, Ishikawa, 920-1192, Japan

Received: November, 25. 2013, Accepted: April, 8. 2014