原著 [Original article]

河川水中における重金属のスペシエーション：Diffusive Gradients in Thin-films 法による分析と化学平衡モデルによる推定

永井孝志¹⁾・恒見清孝²⁾・川本朱美²⁾

Metal speciation in natural river waters: measurement by diffusive gradients in thin-films and estimation by chemical equilibrium model

Takashi NAGAI¹⁾, Kiyotaka TSUNEMI²⁾ and Akemi KAWAMOTO²⁾

Abstract

Metal bioavailability of and toxicity to aquatic organisms depend on their speciation. The chemical speciation of Ni, Cu, and Zn in two Japanese rivers was measured by diffusive gradients in thin-films (DGT) and estimated by a chemical equilibrium model. Using a standard DGT device, we obtained labile metal concentrations. Visual MINTEQ and its default thermodynamic database were used to obtain the fractions of inorganic metal species. The fractions of labile Ni concentration measured by DGT at one site were very low and not well predicted by MINTEQ. The fractions of labile Cu concentration at all sampling sites were low and were consistent with the model estimation. Both DGT measurements and the model estimation resulted that most Zn was present as free ion. Measured and estimated metal speciations near the wastewater treatment plant were in agreement once EDTA was incorporated into the model estimation. Our results suggest that we should take into account the existence of non-humic chelators at the model estimation of water samples containing wastewater organic matter.

Key words: Metals, Speciation, DGT, Chemical equilibrium model

摘 要

重金属の水生生物に対する生物利用性と毒性は水中での金属の存在形態に依存する。そこで、薄膜拡散勾配 (DGT) 法と化学平衡モデルを用いて国内の河川水中におけるニッケル、銅、亜鉛の化学種の分別 (スペシエーション) を行った。具体的な方法として、市販されている標準の DGT サンプラーを河川水中に約 24 時間沈めて、速度論的に labile な (生物利用可能な) 金属を捕集し濃度を分析した。また、フミン物質と金属の結合モデルを組み込んだ化学平衡計算ソフトである Visual MINTEQ を用いて、pH、硬度、溶存有機物濃度などの水質パラメータから生物利用可能な無機態の金属濃度を推定した。結果として、実測した labile なニッケル濃度の存在割合は高い地点と低い地点があり、これは全地点でほとんどが無機態として存在するという MINTEQ による推定結果との違いがみられた。実測した labile な銅濃度の存在割合は全地点で低く、MINTEQ による推定結果と一致した。実測と推定の両方で亜鉛はほとんどが生物利用可能態として存在するという結果となった。実測値と推定値の違いが大きい地点では下水

¹⁾ (独) 農業環境技術研究所 〒305-8604 茨城県つくば市観音台 3-1-3

National Institute for Agro-Environmental Sciences, 3-1-3 Kannondai, Tsukuba, 305-8604, Japan

²⁾ (独) 産業技術総合研究所 化学物質リスク管理研究センター 〒305-8569 茨城県つくば市小野川 16-1 Research Center for Chemical Risk Management, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, Onogawa16-1, Tsukuba 305-8569, Japan
(連絡先 永井孝志 E-mail: nagait@affrc.go.jp)

処理水中に含まれる EDTA などの合成キレート物質の影響が示唆された。

キーワード：重金属，スペシエーション，DGT，化学平衡モデル

(2007 年 7 月 4 日受付；2007 年 9 月 14 日受理)

はじめに

天然水中で金属イオンはアクア錯体のみでなく、ハロゲン化物イオンなどの無機錯体、有機配位子との錯体、有機金属態、コロイド状態など多種多様な形態として存在し、その存在形態（スペシエーション）は金属の生物利用性と毒性に大きく影響することが広く知られている。例えば、無機態の金属は直接利用可能だが、重金属が溶存有機物と錯形成し有機態となると利用できなくなり、トータル濃度が変化しなくても毒性が低下する。これはフリーイオンアクティビティーモデルと呼ばれ、例外もあるが金属の生物利用性の基本的な考え方として重要である（Campbell, 1995）。よって金属の生態リスクの評価と管理は、トータルの濃度のみではなくスペシエーションを考慮して行われる必要がある（Allen and Hansen, 1996）。これはリスクの大きさとリスク削減対策の効果を適切に評価し、適切な管理、規制を行うことにつながる。

重金属のスペシエーション分析の方法として、ストリップングボルタンメトリーを応用する方法が発展してきた（横井, 1996）。また近年発展してきた薄膜拡散勾配（Diffusive Gradients in Thin-films; 以下 DGT）法は、ゲル層を用いることで金属成分の拡散を制御することを狙った固層抽出法の一つである（Davison and Zhang, 1994）。DGT 法はキット化されたサンプラーを水に沈め、その中の Chelex-100 樹脂に反応速度論的に labile な金属（生物利用可能と考えられる）を吸着させる方法で、拡散を制御することによってフラックスを求めることができる。これまでにミジンコを用いた金属の急性毒性試験において、DGT-labile なフラクションと毒性との関係が調べられている。エチレンジアミン四酢酸（EDTA）や天然の溶存有機物を含んだ水では重金属がそれらの有機物と錯形成し、生物利用性が減少するため毒性が低下し、トータル濃度ベースで評価した LC_{50} 値（半数致死濃度）は有機物を含まない水で試験した時と比べて大きく上昇する。これに対して DGT によって測定された labile な金属濃度ベースで評価した LC_{50} 値は、有機物を含む水と含まない水とでは変化せず、毒性を適切に評価できることが確認されている（INAP, 2002）。DGT 法は簡便で

ある（採水、試料の前処理が必要ない）、多元素同時分析が可能である、ポーログラフイーなどの特殊な装置が必要ないなどの特徴を持ち、ルーチンワーク的なモニタリングに適していると考えられる。

DGT を用いた陸水中金属スペシエーション分析例を示すと、溶存金属濃度に対する labile な金属濃度の割合は、オランダの河川水において Cu は 10～20%、Ni は 15～45%、Pb は <5%（Claven et al., 2005）、イギリスの湖水中において Mn はほぼすべて、Fe はほぼゼロ、Cu、Zn は約 50%（Gimpel et al., 2003）、スイスの湖水において Cu は 20%、Cd は 7%、Mn は 50%、Pb は 15%、Zn は 35%、Ni は 25%（Odzak et al., 2002）、オーストラリアの河川水において Cu は 30～50%、Cd は約 50%（Denney et al., 1999）であった。また、Unsworth ら（2006）は複数の陸水サンプル、複数の研究機関で Cd、Cu、Ni、Pb について DGT 法によるスペシエーション分析を行い、化学平衡モデル（visual MINTEQ, WHAM）によって推定された無機態の金属濃度と良好な一致を示すことを報告している。

日本においては自然水中の金属スペシエーションの測定例はきわめて少なく、そのリスク評価のためには測定例の積み重ねが急務であると言える。またリスク評価の実務的なことを考慮すると、モニタリングには幅広い地点と高頻度が要求されるため、精度と労力のバランスをとって行う必要がある。

近年スペシエーションを考慮した金属の水質基準値の策定と生態リスク評価のために、水生生物の毒性を予測する Biotic Ligand Model (BLM) が開発され（Di Toro et al., 2001; Slaveykova and Wilkinson, 2005）、米国環境保護庁で水質管理の枠組みに取り入れられている（U.S. EPA, 2007）。この BLM では、金属の生物利用性に影響を与えるのは pH、硬度（Ca、Mg）、溶存有機物であるとし、これらのパラメータから水中の金属の存在形態を化学平衡モデルによって推定している。このようなモデルによる推定を行うことにより、これまで蓄積されてきたトータル金属濃度のモニタリングデータをリスク評価に活用することもできる。よって化学平衡モデルによる推定値と国内の実測データを比較し、金属スペシエーション推定手法の検証を行うことが重要な課題となる。

Fig. 1 Sampling sites in Daini-Neya River (N-1 ~ N-3) and Oyabe River (O-1 ~ O-3). WTP denotes wastewater treatment plant.

図 1. 第二寝屋川 (N-1 ~ N-3) と小矢部川 (O-1 ~ O-3) のサンプル採取地点。WTP は下水処理場を示す。

本研究では金属の存在形態を考慮したリスク評価を行うための上記のような基礎的知見を得ることを目的として、国内の都市河川と郊外河川を対象として DGT 法による金属類のスペシエーション分析を行い、さらに化学平衡モデルによる推定を行って相互比較を行った。

方 法

調査地点とサンプリング

大阪府第二寝屋川と富山県小矢部川を調査対象とした。第二寝屋川は大阪の都市部を流れる河川で下水処理水が多く流入する。まためっき工場が多く立地し金属の排出量が多い。小矢部川は郊外を流れる河川で、主に天然水を起源とする。また、周辺にはアルミサッシの工場が多く立地し金属の排出が多くなっている。

第二寝屋川については 2006 年の 10 月 2 日, 3 日に一地点 (N-1, Fig. 1A), 11 月 6 日, 7 日に二地点 (N-2, N-3, Fig. 1A) でサンプリングを行った。小矢部川については 2006 年の 10 月 16 日, 17 日に三地点 (O-1 ~

Fig. 2 Diagram of DGT sampler.

図 2. DGT の図。

O-3, Fig. 1B) でサンプリングを行った。サンプリングでは表層水を採取し、その場で直ちにろ過を行った。金属分析用のサンプルは孔径 $0.4 \mu\text{m}$ の Nuclepore ポリカーボネート製フィルター (Whatman) でろ過を行い、ろ紙は懸濁態金属分析用、ろ液は硝酸を添加し溶存態金属分析用サンプルとした。また、ガラス繊維ろ紙 (GF/F, Whatman; 事前に 450°C で加熱処理) でろ過したろ液 (加熱洗浄したフラスコで密閉保存) を溶存有機炭素濃度測定用のサンプルとした。金属用サンプルの容器は事前に酸洗浄を行った。

Diffusive Gradients in Thin-films

本研究では DGT Research 社による標準的なピストンタイプの水用 DGT サンプラーを使用した (DGT research)。この DGT サンプラーは孔径 $0.22 \mu\text{m}$ のニトロセルロースメンブレンフィルター、15 % アクリルアミドと 0.3% クロスリンカーで構成される拡散ゲル層、Chelex-100 樹脂の金属結合ゲル層の三層構造になっている (Fig. 2)。河川水中の溶存金属はフリーイオンを含む無機態 (Me^{2+} , MeOH^+ , MeCO_3 など), 解離の速度が速い (labile) 有機錯体, 解離の速度が遅くほとんど反応しない (inert) 有機錯体などの形態で存在している。Chelex 層にはフリーの金属イオンが吸着するが、水中に沈めている間に無機錯体と labile な有機錯体から解離したフリーイオンも吸着する。このため DGT によって測定された金属濃度は、この二種類の形態の金属濃度を合わせた濃度 (これを DGT-labile と定義する) とみなされる (Zhang and Davison, 1995)。これが、実際に河川水中で水生生物が曝露を受ける濃度、すなわち生物利用可

能な金属濃度を示していると考えられる。

DGT サンプラーは使用時まで 4 °C にて密閉して保存した。各サンプリング地点において、DGT サンプラーを川の水面から約 20 cm の深さに維持されるようセットし、約 24 時間河川水に漬けておいた後に回収した。回収した DGT サンプラーは超純水で洗浄し密閉して持ち帰った。セットした際と回収した際に上記の採水を行った。

Chelex 層に吸着した金属の総量から、河川水中の金属の DGT-labile 濃度 (C , $\mu\text{g L}^{-1}$) はフィックの拡散の第一法則に従って次の式で計算した：

$$C = \frac{M \Delta g}{DA t} \quad (1)$$

ここで、 M は Chelex 層に吸着した金属の総量 (μg)、 Δg は拡散ゲル層とメンブレンフィルター層の厚さ (0.093 cm)、 D は拡散ゲル層の中での金属イオンの拡散係数 ($\text{cm}^2 \text{sec}^{-1}$)、 A は河川水と接する面積 (3.14 cm^2)、 t は水中に沈めた時間 (秒) である。拡散係数はセットした際と回収した際に測定した水温の平均値に基づいて、DGT Research 社が提供する値を使用した (DGT Research)。Chelex 層に吸着した金属の総量 M は以下の式で計算した：

$$M = Ce(V_{\text{HNO}_3} + V_{\text{gel}})fe \quad (2)$$

ここで、 Ce は 1 M HNO_3 で Chelex 層から溶出した液体中の金属濃度 ($\mu\text{g L}^{-1}$)、 V_{HNO_3} は溶出に使用した 1 M HNO_3 の体積 (1 ml)、 V_{gel} は Chelex ゲル層の体積 (0.16 ml)、 fe は溶出係数であり、すべての計算で 0.8 とした (Zhang and Davison, 1995)。

なお、式 (1) が成り立つためにはゲルと水との境界にできる濃度勾配層の影響を抑えるため、水流がある場所に DGT をセットしなければならない。また浸漬時間に関しては、1-2 時間以上から吸着飽和が起こるまで浸漬時間と M との間に直線関係が成立し、通常のフィールド調査では 1-3 日間浸漬されることが多い。細かな使用条件に関しては Zhang and Davison (1995) を参照されたい。

本研究では Cr と Fe については DGT 溶出液中の濃度のほとんどが検出限界以下であったため、Ni, Cu, Zn を DGT 測定の対象とした。DGT サンプラーのブランク測定を行ったところ、溶出液中の Ni について $0.08 \mu\text{g L}^{-1}$ 、Cu について $0.39 \mu\text{g L}^{-1}$ 、Zn について $5.62 \mu\text{g L}^{-1}$ であった ($n = 2$)。

化学分析

懸濁態金属分析用のろ紙は硝酸 3 ml と過塩素酸 0.5 ml を加えて加熱分解し、ろ過して 20 ml に定容したものを用いた。DGT サンプラーについてはマニュアル (DGT Research) に従い、Chelex 層から 1 M 硝酸で金属を溶出させ、10 倍希釈したものを測定溶液とした。測定は Ca, Mg, Fe については ICP 発光分光分析装置 (ICPS-8100, 島津製作所) にて、Cr, Ni, Cu, Zn については ICP 質量分析装置 (ICPM-8500, 島津製作所) を用いて行った。金属類の検出限界は Cr $1 \mu\text{g L}^{-1}$ 、Fe $5 \mu\text{g L}^{-1}$ 、Ni $0.1 \mu\text{g L}^{-1}$ 、Cu $0.1 \mu\text{g L}^{-1}$ 、Zn $0.1 \mu\text{g L}^{-1}$ であった。

水温、溶存酸素濃度 (DO)、pH、電気伝導度 (EC) については現場で測定した。全炭素濃度 (TC) と無機炭素濃度 (IC) は有機態炭素自動計測器 (TOC-5000A, 島津製作所) で測定し、TC から IC を引いたものを溶存有機炭素 (DOC) 濃度とした。なお TC と IC は $n=2$ で測定し、そのばらつきはそれぞれ 0.6 ~ 2.3%, 0.0 ~ 2.3% であった。

化学平衡モデルによる存在形態の推定

河川水中の溶存有機物と金属イオンの錯形成を考慮して Ni, Cu, Zn の存在形態を化学平衡計算プログラムである Visual MINTEQ ver. 2.31 (MINTEQ) を用いて推定した。

河川水中で重金属と結合する有機物として溶存フミン物質が重要な役割を果たす。しかし、溶存フミン物質は生物起源で疎水性、酸性、難分解性の性質を持つ有機物の総称であり単一の物質ではない。従って単一のフミン物質—金属錯体の安定度定数を元に存在形態を推定することは難しい。このため経験則によって安定度定数がある分布にのると考えて、フミン物質—金属イオンの結合をモデル化したものが NICA-Donnan モデル (Benedetti et al., 1995; Kinniburgh et al., 1999) と Humic ion binding モデル VI (Tipping, 1998) である。このうち NICA-Donnan モデルは水素イオンと各金属イオンの安定度定数が二つの連続的な分布 (それぞれカルボキシル基とフェノール基を表す) を取ると考えたものである。また、このモデルはフミン物質—金属イオン結合の実験データを元に補正されている (Milne et al., 2001; Milne et al., 2003)。MINTEQ にはこの NICA-Donnan モデルがデフォルトで組み込まれており利用可能である。

MINTEQ の計算ではデフォルトで組み込まれている熱力学平衡データ、フミン—金属イオン結合パラメータを使用した。フミン物質は河川水中の溶存有機物の約

Table 1 Physicochemical property in each sampling site. ND denotes not detected ($<1 \mu\text{g L}^{-1}$).表 1. 各採水地点の物理化学的特性. ND は検出限界以下を表す ($<1 \mu\text{g L}^{-1}$).

		N-1	N-2	N-3	O-1	O-2	O-3
Water Temp.	°C	25.0	21.5	22.4	17.5	16.9	17.2
DO	mg L^{-1}	7.3	5.7	7.1	9.3	8.3	10.1
pH		6.9	7.1	7.3	7.1	7.2	7.2
EC	mS cm^{-1}	0.5	0.6	0.6	5.0	0.6	0.3
DOC	mg C L^{-1}	6.8	4.9	4.9	2.9	2.6	3.4
IC (as CO_3)	mg L^{-1}	88.6	91.8	102.0	58.6	53.3	57.4
Ca	mg L^{-1}	27.6	32.6	47.7	38.7	19.8	26.4
Mg	mg L^{-1}	5.1	7.5	5.4	76.3	12.0	8.2
Cr-Total	$\mu\text{g L}^{-1}$	3	8	6	1	ND	4
Cr-Dissolved	$\mu\text{g L}^{-1}$	2	4	5	ND	ND	4
Fe-Total	$\mu\text{g L}^{-1}$	178	398	164	135	147	140
Fe-Dissolved	$\mu\text{g L}^{-1}$	122	217	60	103	88	103
Ni-Total	$\mu\text{g L}^{-1}$	58.0	133.2	20.3	6.7	5.4	21.9
Ni-Dissolved	$\mu\text{g L}^{-1}$	58.0	130.0	19.4	6.7	5.4	21.9
Ni-DGT	$\mu\text{g L}^{-1}$	43.9	10.6	17.2	9.2	7.2	12.4
Cu-Total	$\mu\text{g L}^{-1}$	4.3	14.9	4.3	1.6	1.7	52.5
Cu-Dissolved	$\mu\text{g L}^{-1}$	3.6	10.8	2.8	1.5	1.6	52.2
Cu-DGT	$\mu\text{g L}^{-1}$	1.4	0.6	0.6	1.6	0.9	1.6
Zn-Total	$\mu\text{g L}^{-1}$	69.7	110.4	45.1	5.1	10.6	10.7
Zn-Dissolved	$\mu\text{g L}^{-1}$	65.1	90.5	39.6	3.8	9.6	10.0
Zn-DGT	$\mu\text{g L}^{-1}$	38.3	51.6	37.3	3.7	5.0	15.8

50 % を占め (Martin-Mousset et al., 1997; 今井 2004), フミン物質のほとんどはフルボ酸であり (今井 2004), フルボ酸の炭素含有量は約 50 % (Imai et al., 1999) であると報告されている。これより計算に必要なフミン物質の濃度として, フミン酸濃度 = 0 とし, フルボ酸濃度は DOC の半分の二倍, すなわちフルボ酸濃度 = DOC 濃度になるよう設定した。モデルに入力したパラメータは以下の通りで, すべて実測値 (金属は溶存態濃度) を入力した: 水温, pH, DOC, IC (CO_3 濃度に換算), Ca, Mg, Cr, Fe, Ni, Cu, Zn。

結果と考察

DGT と金属分析結果

各地点における分析結果を Table 1 に示す。DGT サンプラーをセットしたときと回収したときと 2 度採水を行っているため, それぞれの分析値の平均値をとった。全地点で pH はほぼ中性 (6.9-7.3) であり, 嫌氣的になっている地点は無かった。小矢部川の O-1 地点は EC が高

く, 海水が入り込んでいると考えられた。第二寝屋川では DOC 濃度が高く (4.9-6.8), 有機汚濁が進んでいる地点であった。第二寝屋川では N-2 の地点で, 小矢部川では O-3 の地点で高い金属濃度が見られた。特に N-2 地点は目の前に下水処理場があり, 処理水が流入する平野川分水路 (流量は非常に少ない) の第二寝屋川に合流する直前の水を取っているため, 下水処理水の影響が大きいと考えられる。懸濁態を含むトータル濃度と溶存態濃度の違いは低く, 金属の大部分が溶存態として存在していた。DGT-labile な金属濃度について, Ni の場合は N-2 地点では溶存態濃度に比べて非常に低かったがそれ以外の地点ではほぼ溶存態濃度に近い値となった。Cu の場合は, O-1 地点を除いて全体的に溶存態濃度よりも低く, 特に N-2, O-3 地点では非常に低くなっていた。Zn の場合は N-1, N-2 地点で溶存態濃度より若干低いが, それ以外の地点ではほぼ近い値となっていた。N-2 地点においては各金属のトータルもしくは溶存態の各金属濃度が高くなっているが, DGT-labile 濃度はそれよりも低いため生物利用性が低く, 実際の生物への影響はトータル濃

度で考えるよりも低いと解釈できる。

DGT 分析値の不確実性について以下に述べる。河川水における DGT 測定の際における繰り返し測定の際のばらつきは 10-20% 程度と報告されているが (Zhang and Davison, 1995; Denney et al., 1999; Cleven et al., 2005), これは分析誤差によるもののほかに水流の状態, 式 (1) と (2) における拡散係数 D や溶出係数 f_e などが関わると考えられている。また拡散係数は水温によって変動するが, 現場における水温の日変動が測定値の不確実性の要因となる (Cleven et al., 2005)。20℃から ± 2℃の変動では拡散係数の変動は ± 6% 程度であり, 変動がこの範囲内であれば結果に対する影響は少ないとされている (DGT Research)。本研究では拡散係数の導出に DGT のセット時と回収時の二回の水溫測定値の平均値を採用する内挿法をとったが, この妥当性を検証するために, 国土交通省の水文水質データベースから連続的に測定された当日の水溫の 1 時間ごとの変動を調べた。小矢部川では O-3 地点のやや上流の地点で水溫が連続的に測定されており, サンプル当日の内挿法による水溫が 17.0℃, その間の水溫の連続測定値が $17.1 \pm 1.2^\circ\text{C}$ (平均値 ± 標準偏差) とほぼ同じであった。第二寝屋川では水溫連続測定データが得られなかったが, 10 月 2 ~ 3 日の近隣の大和川では内挿法では 22.3℃であり, その間の水溫の連続測定値が $22.1 \pm 0.7^\circ\text{C}$ であった。同時に近隣の淀川では内挿法では 22.8℃であり, その間の水溫の連続測定値の平均値が $22.2 \pm 0.4^\circ\text{C}$ であった。また, 11 月 6 ~ 7 日の大和川では内挿法では 18.0℃であり, その間の水溫の連続測定値が $18.7 \pm 0.8^\circ\text{C}$ であった。同時に淀川では内挿法では 18.8℃で, その間の水溫の連続測定値が $19.1 \pm 0.9^\circ\text{C}$ であった。実際に水溫の大きな日変動はなく, いずれも内挿法の結果と実際の水溫の連続測定値の平均値の差は 1℃以内に収まっていた。このことから水溫変動による不確実性は最小限に抑えられていると判断できる。

MINTEQ による推定

各地点における MINTEQ による存在形態の推定結果を Fig. 3 に示す。Ni, Cu, Zn の存在形態はフリーイオン (Me^{2+}), MeOH^+ , $\text{Me}(\text{OH})_2$ などの加水分解種, MeCO_3 , MeHCO_3^+ などの炭酸種, フミン物質との有機錯体の大きく 4 種類に分かれた。Ni と Zn ではすべての地点で大部分がフリーイオンとして存在すると推定されたが, Cu の場合は有機錯体がもっとも大きな割合を示した。

Fig. 3 Fractions of each metal species estimated by MINTEQ.

図 3. MINTEQ によって推定した各金属種の存在割合。

推定結果の信頼性を検討するために, N-1 地点における推定結果を基準として, モデルに入力したパラメータを変化させて推定結果の変化を調べる感度分析をおこなった。N-1 地点における実測値を基準として入力パラメータを以下のように 1 つずつ変化させた: pH6, pH7, pH8, pH9, 20℃, 30℃, 主要イオンの入力 (図中では ion と表現), $\text{DOC} \times 2$, $\text{DOC}/2$, $\text{CO}_3 \times 2$, $\text{CO}_3/2$, $\text{Ca} \times 2$, $\text{Ca}/2$, $\text{Mg} \times 2$, $\text{Mg}/2$, 対象となる溶存態金属濃

Fig. 4 Sensitivity analysis of estimations of metal speciation by MINTEQ.

図 4. MINTEQ による金属スペシエーション推定の感度分析。

度×2, 対象となる溶存態金属濃度/2。主要イオンの入力とは, 標準の推定で入力していない Na, K, Cl, SO₄ の濃度を入力した場合である。大阪府 (2007) による公共用水域等水質調査結果から Cl の濃度を N-1 地点 (下城見橋) の 2006 年の年間平均値である 69 mg L⁻¹ と設定し, 電荷のバランスをとるためにモル濃度ベースで [K⁺

= [Cl⁻], [Na⁺] = [CO₃²⁻]/2, [SO₄²⁻] = [Ca²⁺] + [Mg²⁺] と仮定して各イオン濃度を設定した。パラメータを変化させて存在形態を推定した結果, Ni と Zn はほとんどが無機態として存在し, Cu はほとんどが有機体として存在するという傾向はパラメータの変化に大きな影響を受けなかった (Fig. 4)。pH の変化に対しては無機態の中での

加水分解種や炭酸種の存在割合に大きな影響を与え、主要イオンを入力すると硫酸種として存在するものが多少出現した。無機態、有機態の割合にもっとも大きな影響を与えるのは DOC 濃度であったが、概して無機態、有機態の割合の推定に関しては、各水質パラメータの変動に対してモデルが非常に頑健であることが示された。この結果を踏まえ他地点は実測値を基にした推定のみを行い、主要イオンに関しては有機態と無機態の存在割合に影響を与えない、モデル推定における仮定をさらに増やす、という理由からモデルに入力しなかった。

実測値と推測値の比較

金属スペシエーションと生物利用性の解析では、DGT 測定においては DGT-labile 濃度が生物利用可能な金属濃度を示し、化学平衡モデルによる推定ではフリーイオンアクティビティーモデルに従って無機態金属濃度が生物利用可能な金属濃度を示す。トータルの溶存態金属濃度と、実測した DGT-labile 濃度と推定無機態濃度の比較を Fig. 5 に示す。Ni の場合は N-2 地点で溶存態濃度に対する DGT-labile の割合が低く、生物利用性が低いという分析結果が得られたのに対し、モデル推定ではほとんどが無機態で生物利用性が高いと過大評価された。他の地点では分析結果とモデルによる推定結果はおおむね一致していた。Cu については N-2 と O-3 地点で DGT-labile 濃度が推定無機態濃度よりも低く、その他の地点では逆に推定無機態濃度が DGT-labile 濃度よりも低く、生物利用性が過小評価された。Zn については他の地点では分析結果とモデルによる推定結果が一致してほとんどが利用可能という結果となった。全体的な傾向としては、DGT によって評価された生物利用性とモデルによって推定された無機態金属の割合はおおむね一致し、Ni と Zn の場合は多くが無機態で存在し、Cu の場合は多くが有機態で存在すると示唆された。

DGT による実測値 (DGT-labile) とモデルによる推定値を比較すると、N-2 地点における Ni と Cu、O-3 地点の Cu の DGT-labile 濃度が推定された無機態濃度に比べて非常に低くなっている。その他の地点においては Ni と Zn についておおむね一致するが、Cu の場合は推定無機態濃度が DGT-labile 濃度よりも低い値となっている。これらの違いが現れる原因として二つの数字の意味の違いとモデル推定の仮定の問題の二つが考えられる。

DGT-labile は無機態と labile な有機態を合わせたものを意味するため、labile な有機態のものが多く場合、推定無機態濃度よりも高い値になることが予想される。

Fig. 5 Concentrations of dissolved, DGT-labile, and estimated inorganic metals.

図 5. 溶存態, DGT-labile, 推定した無機態の金属濃度。

Ni, Zn は元々ほとんどが無機態なのでこの影響を受けにくい、Cu は有機態の割合が多いため影響を受けやすい。N-1, N-3, O-1, O-2 地点の Cu について分析値と推定値の違いはこの影響によるものと考えられ、この場合モデルによる推定は金属の生物利用性を過小評価することにつながる。

DGT 測定は浸漬時間の平均的な値が得られるのに対し、モデルの推定は DGT のセッティングの初めと終わりの二回のサンプリングの結果から行っている。時間単位の変動が大きい場合にはこれらの比較の際に差が出る原因となる。O-3 地点の溶存態 Cu 濃度について、DGT 測定開始時の濃度が $100 \mu\text{g L}^{-1}$ で終了時の濃度が $4.2 \mu\text{g}$

L^1 と異常に差が大きく、二つの平均値では実態を捉えていないと考えられる。

またモデルの仮定として、金属と結合する有機物としてフミン物質のみを考慮している。しかし下水処理水が流入する地点では、天然由来の物質であるフミン物質よりも人間活動由来の様々な有機物が含まれているはずである。よって下水処理水の影響が大きいと考えられる N-2 地点において、モデルによる生物利用性の推定が大きく過大評価されるという結果は、フミン物質以外のキレート物質を考慮する必要があるという可能性を示している。磯崎ら (2006) は下水処理放流水中の Ni, Cu, Zn について、labile な形態の濃度の割合が上流河川水よりも低いことを報告しており、さらに Sarathy and Allen (2005) は下水処理水由来の有機物と銅の錯化について、化学平衡モデルである Humic ion binding モデル IV でうまく推定できないことを報告している。また、国内の下水処理水の溶存有機物中のフミン物質が占める割合は 3-28 % であるという報告があり (Imai et al., 2002), 河川水と比べてその割合は低い。よって N-2 地点などでフミン物質が溶存有機物の 50 % 以上になるという可能性は考えにくく、50 % よりも下がった場合は推定無機態濃度は増加することになるため、EDTA などの人工キレート物質の存在を考慮する必要があると考えられる。

この仮説の妥当性を検証するために、EDTA が入っていた場合の金属の存在形態について MINTEQ を用いてシミュレーションを行った。シミュレーションでは EDTA の濃度を 0 ~ 1.0 mg L^{-1} の間で段階的に変化させ、それ以外の計算条件は同様とした。N-2 地点における溶存態濃度に対する DGT-labile 濃度の割合は Ni で 8 %,

Fig. 6 Fractions of inorganic species of metals at N-2 site, when EDTA concentration varied from 0 to 1 mg L^{-1} .

図 6. N-2 地点における、EDTA 濃度を 0 から 1 mg L^{-1} に変動させた場合の無機態金属の存在割合。

Cu で 5 %, Zn で 57 % である。これに対して、EDTA 濃度の変化に対する各金属の推定無機態濃度の変化を Fig. 6 に示す。EDTA が無い場合 (0 mg L^{-1} のとき) DGT-labile 濃度の割合と推定無機態濃度の割合は 3 つの元素共に大きく異なるが、EDTA 濃度が 0.9 mg L^{-1} 付近の時に両者の割合は大きく近づくことがわかる。本研究では EDTA 濃度を測定していないが、寝屋川の EDTA 濃度が 0.068-0.073 mg L^{-1} と報告されている (環境庁, 2001)。また下水処理過程では EDTA はほとんど分解を受けず、処理水中の EDTA 濃度は最大 5.4 mg L^{-1} になるとの報告がある (Kari and Giger, 1996)。よって、今回の推定で仮定している下水処理水が流入した河川水中における EDTA 濃度はこの範囲内にあり、十分起こりうるシナリオであることが分かる。また、下水処理水中の Ni の 8 割が EDTA などの合成キレート剤と結合していると示唆する報告もあり (Sedlak et al., 1997), 我々の仮説と矛盾しない。この推定結果は下水処理水に含まれるフミン物質以外のキレート物質が金属のスペシエーションに影響を与えていることを示唆している。

金属スペシエーションとリスク評価

DGT 法による金属スペシエーションの分析は簡便、安価であり、特にストリッピングボルタンメトリー法のように熟練した技術を必要としないため、今後の広い範囲での活用が期待される。さらには水に沈めておいた期間の平均的な金属濃度 (フラックス), 総曝露量などを知ることができるため、降雨時流出におけるパルス的な負荷量や曝露量を評価する際にも威力を発揮する。ただし、DGT によるスペシエーション手法は labile な金属濃度だけがわかり、ストリッピングボルタンメトリー法のように錯体を形成するリガンドの錯化容量や安定度定数などがわかるわけではないため、その分析結果の意味しているものがわかりにくい。本研究では DGT 分析に化学平衡モデルによる推定を組み合わせることによって、分析結果の解釈が容易となることが示された。この組み合わせにより相互の弱点を補完し、簡便に多くの存在形態に関する情報を得ることができるようになるため、今後行われるべき金属スペシエーションのモニタリングに、この二つの手法を導入することが有用であると考えられる。

欧米では BLM による金属の存在形態と生物利用性を考慮した生態リスク評価が進んでいる。この BLM では水中の金属の存在形態を MINTEQ と同様の化学平衡モデルである Humic ion binding モデルにて推定している。

また、BLMは溶存有機物のうち天然有機物が多くを占める水サンプルでは検証されている(De Schampelaere et al., 2004)が、排水を多く含む水では十分に検証されていない。N-2地点など下水由来の有機物を含むと考えられる地点では、モデルによる推定のみで生物利用性を評価することはリスクを過大評価することにつながるものが本研究で示された。このような地点は金属濃度が高く、リスクの懸念が想定されるため、実際の分析を平行して行いモデルの結果を十分に検証する必要がある。そのため様々な地域における金属スペシエーションの実測の積み重ねが、スペシエーションを考慮したリスク評価のために必須となるだろう。

まとめ

- (1) 日本国内の河川水を対象とした金属スペシエーションのDGTによる分析と化学平衡モデルによる推定は初の事例となる。
- (2) 今回調査した河川水中では、Niは地点によって生物利用可能な濃度の割合の変化が大きく、Cuはほとんどが有機態として存在するがその中でも生物利用可能と考えられるものがある程度存在し、Znはほとんどが無機態として存在しその割合は地点による変化は少ないと示唆された。
- (3) 下水由来の有機物を含む水では化学平衡モデルによる生物利用性は過大評価される傾向があると示唆されたため、金属スペシエーションのモデル推定においてはフミン物質以外のキレート物質を考慮するべきであると考えられる。
- (4) 精度と労力のバランスを考慮すると、水中の重金属の存在形態についてのモニタリング手法として、DGTによる実測とモデルによる推定の組み合わせは非常に有用である。

謝 辞

本研究はNEDOプロジェクト「化学物質総合評価管理プログラム」の一環として実施された。また、化学分析は島津テクノリサーチ株式会社に委託した。関係各位に謝意を表します。

文 献

Allen, H. E. and D. J. Hansen (1996): The importance of

trace metal speciation to water quality criteria. *Water Environment Research*, 68: 42-54.

Benedetti, M. F., C. J. Milne, D. G. Kinniburgh, W. H. van Riemsdijk and L. K. Koopal (1995): Metal ion binding to humic substances: Application of the non-ideal competitive adsorption model. *Environmental Science and Technology*, 29: 446-457.

Campbell, P. G. C. (1995): Interactions between trace metals and organisms: critique of the free-ion activity model. In *Metal Speciation and Bioavailability in Aquatic Systems*, A. Tessier and D. Turner (eds.): 45-102. Wiley.

Cleven, R., Nur, Y., Krystek, P. and van Den Berg, G. (2005) Monitoring metal speciation in the rivers Meuse and Rhine using DGT. *Water, Air & Soil Pollution*, 165: 249-263.

Davison, W. and H. Zhang (1994): In situ speciation measurements of trace components in natural waters using thin-film gels. *Nature*, 367: 546-548.

De Schampelaere, K. A. C., F. M. Vasconcelos, F. M. G. Tack, H. E. Allen and C. R. Janssen (2004): Effect of dissolved organic matter source on acute copper toxicity to *Daphnia magna*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 23: 1248-1255.

Denney, S., J. Sherwood and J. Leyden (1999): In situ measurements of labile Cu, Cd and Mn in river waters using DGT. *Science of the Total Environment*, 239: 71-80.

DGT Research Ltd., Practical guide for using DGT for metals in waters. <http://www.dgtresearch.com>.

Di Toro, D. M., H. E. Allen, H. L. Bergman, J. S. Meyer, P. R. Paquin and R. C. Santore (2001): Biotic ligand model of the acute toxicity of metals. 1. Technical basis. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20: 2383-2396.

Gimpel, J., H. Zhang, W. Davison and A. C. Edwards (2003): In-situ trace metal speciation in lake surface waters using DGT, dialysis and filtration. *Environmental Science and Technology*, 37: 138-146.

Imai, A., T. Fukushima and K. Matsushige (1999): Effect of iron limitation and aquatic humic substances on the growth of *Microcystis aeruginosa*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 56: 1929-1937.

Imai, A., T. Fukushima, K. Matsushige, Y. H. Kim and K. Choi (2002): Characterization of dissolved organic matter in effluents from wastewater treatment plants. *Water Research*, 36: 859-870.

今井章雄 (2004): 水環境におけるフミン物質の特徴と役

- 割. 水環境学会誌, 27: 76-81.
- International Network for Acid Prevention (2002): Diffusive gradients in Thin-films (DGT) A technique for determining bioavailable metal concentration. http://www.inap.com.au/public_downloads/Research_Projects/Diffusive_Gradients_in_Thin-films.pdf
- 磯崎雄一・中島典之・古米弘明 (2006): 下水処理工程水及び放流先河川水における亜鉛・銅・ニッケルの形態分析. 環境科学会誌, 19: 445-452.
- 環境庁 (2001): 要調査項目調査結果. <http://www.env.go.jp/water/chosa/h12.pdf>
- Kari, F. G. and W. Giger (1996): Speciation and fate of ethylenediaminetetraacetate (EDTA) in municipal wastewater treatment. Water Research, 30: 122-134.
- Kinniburgh, D. G., W. H. van Riemsdijk, L. K. Koopal, M. Borkevec and M. F. Benedetti (1999): Ion binding to natural organic matter: competition, heterogeneity, stoichiometry and thermodynamic consistency. Colloids and Surfaces A, 151: 147-166.
- 国土交通省 水文水質データベース. <http://www1.river.go.jp/>
- Milne, C. J., D. G. Kinniburgh and E. Tipping (2001): Generic NICA-Donnan parameters for proton binding by humic substances. Environmental Science and Technology, 35: 2049-2059.
- Milne, C. J., D. G. Kinniburgh, W. H. van Riemsdijk and E. Tipping (2003): Generic NICA-Donnan parameters for metal-ion binding by humic substances. Environmental Science and Technology, 37: 958-971.
- Martin-Mousset, B., J. P. Croue, E. Lefebvre and B. Legube (1997): Distribution and characterization of dissolved organic carbon of surface waters. Water Research, 31: 541-553.
- Nowack, B., H. Xue and L. Sigg (1997): Influence of natural and anthropogenic ligands on metal transport during infiltration of river water to groundwater. Environmental Science and Technology, 31: 866-872.
- Odzak, N., D. Kistler, H. Xue and L. Sigg (2002): In situ trace metal speciation in a eutrophic lake using the technique of diffusion gradients in thin films (DGT). Aquatic Sciences, 64: 292-299.
- 大阪府 (2007): 平成 17 年度大阪府公共用水域等水質調査結果. http://www.epcc.pref.osaka.jp/center_etc/water/kekka/index.html
- Sarathy, V. and H. E. Allen (2005): Copper complexation by dissolved organic matter from surface water and wastewater effluent. Ecotoxicology and Environmental Safety, 61: 337-344.
- Sedlak, D. L., J. T. Phinney and W. W. Bedsworth (1997): Strongly complexed Cu and Ni in wastewater effluents and surface runoff. Environmental Science and Technology, 31: 3010-3016.
- Slaveykova, V. I. and K. J. Wilkinson (2005): Predicting the bioavailability of metals and metal complexes: critical review of the biotic ligand model. Environmental Chemistry, 2: 9-24.
- Tipping, E. (1998): Humic Ion Binding Model VI: An improved description of the interactions of protons and metal ions with humic substances. Aquatic Geochemistry, 4: 3-48.
- Unsworth, E. R., K. W. Warnken, H. Zhang, W. Davison, F. Black, J. Buffle, J. Cao, R. Cleven, J. Galceran, P. Gunkel, E. Kalis, D. Kistler, H. P. van Leeuwen, M. Martin, S. Noel, Y. Nur, N. Odzak, J. Puy, W. van Riemsdijk, L. Sigg, E. Temminghoff, M. L. Tercier-Waeber, S. Toepferwien, R. M. Town, L. P. Weng and H. B. Xue (2006): Model prediction of metal speciation in freshwaters compared to measurements by in situ techniques. Environmental Science and Technology, 40: 1942-1949.
- U.S.EPA (2007): Aquatic Life Ambient Freshwater Quality Criteria-Copper 2007 Revision, <http://www.epa.gov/waterscience/criteria/copper/2007/index.htm>.
- Visual MINTEQ, <http://www.lwr.kth.se/English/OurSoftware/vminteq/index.htm>.
- 横井邦彦 (1996): 天然水中微量金属イオンのスペシエーション. ぶんせき, 1996: 108-113.
- Zhang, H. and W. Davison (1995): Performance characteristics of diffusion gradients in thin films for the in situ measurement of trace metals in aqueous solution. Analytical Chemistry, 67: 3391-3400.