

0 価鉄等の鉄材投入時におけるシノブハネエラスピオ およびアサリへの影響に関する室内実験

井上 徹教*

要 旨

本稿は“Marine Pollution Bulletin”で出版された論文“Experimental study on harmful effects of zero-valent Iron on *Paraprionospio patiens*”にアサリの実験結果を追記し、再構成したものを日本語訳したものである。

鉄は必須微量元素として生物にとって重要な要素であるとともに、水域においては酸化還元反応において重要な役割を果たす物質としても知られている。この性質を利用して水域環境改善のために鉄材を使用する検討が多く行われているが、その沿岸域での利用における影響については十分な検討がされていない。そこで本研究では、鉄材の底生生物への影響に関する実験的考察として、沿岸域を代表する底生生物であるシノブハネエラスピオ (*Paraprionospio patiens*) およびアサリ (*Ruditapes philippinarum*) について、3 種の鉄材 (0 価鉄, 酸化鉄, 酸化水酸化鉄) の存在下での暴露実験を行い、それらの影響の有無について検討した。

一般に、鉄は鰓や気孔、腸内に蓄積することによる物理的な悪影響があること、および生体内での活性酸素の生成による酸化ストレス等の慢性的な影響があることが指摘されている。しかし本実験においては、0 価鉄の添加直後からシノブハネエラスピオが異常行動を示すことが認められ、14 日間の平均生存率も 0 価鉄の添加で有意に低下する結果となった。以上から、0 価鉄はシノブハネエラスピオに対して、悪影響を及ぼす可能性が指摘された。堆積物表面に 0 価鉄が存在する場合に、堆積物中のシノブハネエラスピオの生存率が低下するとの知見については、著者が知る限りでは初の報告である。一方で、酸化鉄、酸化水酸化鉄への暴露では、対照実験区と比較して有意差は認められなかった。以上から、水域環境改善が期待される鉄材の利用においては、使用する鉄材の形態について適切に選定する重要性が示された。

他方、アサリの生存率については、Scheffe's F test による結果からは、無添加の対照区と比較して、3 種の鉄材を添加した系において統計的な有意差は認められなかった。

キーワード: 鉄材, シノブハネエラスピオ, アサリ, 暴露実験

* 海洋環境制御システム研究領域長

〒239-0826 横須賀市長瀬3-1-1 国立研究開発法人海上・港湾・航空技術研究所 港湾空港技術研究所
電話: 046-844-5064 Fax: 046-844-0575 e-mail: inoue-t@p.mpat.go.jp

Laboratory Experiment on the Effects of Zero-Valent Iron on *Paraprionospio patiens* and *Ruditapes philippinarum*

Tetsunori INOUE*

Synopsis

This paper is based on the article "Experimental study on harmful effects of zero-valent iron on *Paraprionospio patiens*", which was published in "Marine Pollution Bulletin", with the addition of experimental results on clams.

Iron is an important element for living organisms as an essential trace element and known as a substance that plays an important role in oxidation-redox reactions in aquatic environments. Many studies have been conducted on the application of iron materials for improvement of the aquatic environment. However, the adverse effects of its use in coastal areas have not been adequately studied. Therefore, in this study, as a laboratory experimental study of the effects of iron materials on benthic organisms, exposure experiments with two common benthic species in coastal areas, *Paraprionospio patiens* and *Ruditapes philippinarum*, were conducted to investigate the effects of three kinds of iron materials: zero-valent iron, iron oxide, and iron oxi-hydroxide.

Generally, iron is considered to have physical negative effects such as the accumulation on gills, pores, and intestines and chronic effects such as oxidative stress with active oxygen generated in bodies. In this study, *P. patiens*, a marine polychaeta, exhibited an abnormal behavior immediately after the addition of zero-valent iron, and the averaged survival rate over 14 days decreased significantly. Therefore, it was suggested that zero-valent iron have negative effects on *P. patiens*. To the best of the author's knowledge, this is the first report which indicates that zero-valent iron on the sediment surface affect the survival rate of *P. patiens* in the sediment. On the other hand, exposure to iron oxide and iron oxi-hydroxide showed no significant difference compared to the control experiment. These results indicate the importance of appropriate selection of the form of iron materials to be used in the utilization of iron materials that are expected to improve the aquatic environment.

As for *R. philippinarum*, on the other hand, the Scheffe's F test results showed no statistically significant difference between the three iron additives and the control without iron additives.

Key Words: Iron materials, *Paraprionospio patiens*, *Ruditapes philippinarum*, Exposure experiment

*Director of Department, Marine Environment Control System Department

3-1-1 Nagase, Yokosuka, 239-0826 Japan

Phone : +81-46-844-5064 Fax : +81-46-844-0575 e-mail: inoue-t@p.mpat.go.jp

目 次

要 旨	57
1. はじめに	60
2. 方法	60
2.1 試料採取	60
2.2 室内実験	60
2.2.1 シノブハネエラスピオの暴露実験	60
2.2.2 アサリの暴露実験	63
2.3 分析	63
3. 結果	64
3.1 シノブハネエラスピオの鉄材影響	64
3.1.1 水底質の分析結果	64
3.1.2 シノブハネエラスピオの生存率	65
3.2 アサリの鉄材影響	68
4. 考察	73
4.1 選定生物種の妥当性	73
4.2 既存の鉄材利用に関する知見	73
4.3 シノブハネエラスピオ	73
4.4 アサリ	74
4.5 懸濁粒子の物理的な影響	74
5. おわりに	74
謝辞	75
参考文献	75
付録 A シノブハネエラスピオの鉄材影響実験における水質監視結果	77
付録 B アサリの鉄材影響実験における水質監視結果	80
付録 C シノブハネエラスピオの鉄材影響実験における底質分析結果	83

1. はじめに

本稿は“Marine Pollution Bulletin”で出版された論文“Experimental study on harmful effects of zero-valent Iron on *Paraprionospio patiens*”を再構成し日本語訳したものである。

鉄は必須微量元素として生物にとって重要な元素であるとともに (Bury and Grosell, 2003), 水域においては酸化還元反応において重要な役割を果たす物質としても知られている (Mortimer, 1942; Froelich et al., 1979). このため, 水中での鉄の循環や有効利用については, 多くの研究成果が蓄積されている (Sharma et al., 1997; Firer et al., 2008). 例えば, Kleeberg et al. (2013)は湖沼に鉄を散布し, 20年後にも堆積物からのリン溶出抑制効果がみられたことを報告している. Poulton et al. (2002)は室内実験により, 酸化水酸化鉄による海水からの溶存硫化水素の除去について検討している.

このように, 鉄は一般的には有益, 有用な物質として認められているが (Bakker et al., 2016), 一方で比較的多量に存在する場合には弊害や毒性を指摘する報告もある. まず植物について, Saaltink et al. (2017)は湿地性の植物において, 種特異的に, 根の表面に鉄のプラークが沈積して表皮を損傷することがあることを報告している. 動物プランクトンについては, Keller et al. (2012)が*Daphnia magna*を, Randall et al. (1999)が*Daphnia longispina*を用いた室内実験を行い, 溶存態の鉄では影響は見られなかったものの, 粒子態の鉄は死亡を引き起こし, 雌の産卵数および孵化する幼生の数を減少させることを確認した. 同様の結果は, Biesinger and Christensen (1972)からも得られている. 水生昆虫では, Gerhardt (1992, 1995)がカゲロウ (*Leptophlebia marginata*) 幼虫の胸部および鰓に鉄が沈積し, また腸の閉塞を引き起こすことを示した. 魚類については, Gemaque et al. (2019)は, 熱帯魚 (*Leporinus friderici*) に対して, Fe^{3+} が 7.5 mg L^{-1} より高い濃度で死亡を引き起こすことを示した. Peuranen et al. (1994)は, 鉄への暴露により, ブラウントラウト (*Salmo trutta*) の鰓に損傷が生じることを示した. これらの事例は, 鉄の存在による物理的な悪影響を指摘したものである.

生化学的な悪影響としては, 鉄が介在する細胞内でのフェントン反応が酸化ストレスを引き起こし, 細胞膜やDNA損傷の原因となることが挙げられ (Mello-Filho and Meneghini, 1991; Stohs and Bagchi, 1995), 結果として発がんリスクが上昇するとの報告がある (Li et al., 2009). この悪影響は, 特に鉄ナノ粒子の存在によって顕著に表れ

る (Auffan et al., 2008; Keller et al., 2012). このように, 鉄材への暴露によって, 慢性的な悪影響を引き起こす可能性は, 既に多くの文献で指摘されている.

著者らは, 堆積物からのリン, 硫化水素, ヒ素などの溶出を防ぐ底質改善の目的での鉄材の利用について検討しているが (Inoue and Hagino, 2022), 底質改善を目的とする場合には, 他の環境改善施策に使用するよりも多量の鉄材の投入が要求される. このような検討を進めるうえでは, 想定される鉄材の使用量について, 対象となる水域の生物への影響の有無を把握しておく必要がある.

そこで本研究では, 室内実験系による検討として, 沿岸域を代表する底生生物であるシノブハネエラスピオ (*Paraprionospio patiens*), アサリ (*Ruditapes philippinarum*) について, 3種の鉄材 (0価鉄, 酸化鉄, 酸化水酸化鉄) の存在下での暴露実験を行い, それらの影響の有無について検討した.

2. 方法

2.1 試料採取

実験に使用する試料は, 三河湾奥部に位置する三河港において採取した ($\text{N}34^{\circ}43'35''$; $\text{E}137^{\circ}20'00''$; 図-2.1). 実験に使用するシノブハネエラスピオは, 軽量簡易グラブ採泥器 (株式会社東京久栄製, 採泥面積 0.05 m^2) を使用して堆積物を採取し, その中からふるい分けしたものを選別した. これらとは別に, コア実験のための堆積物として, 不攪乱柱状採泥器 (離合社製, HR型アクリルコア: 内径 11 cm , 長さ 50 cm) を用いて, 高さ 20 cm 程度の未攪乱堆積物コアを採取した. これらは, 採取後速やかに実験室に持ち帰った. 軽量簡易グラブ採泥器で採取した堆積物を目視で確認したところ, シノブハネエラスピオ以外の 1 mm 目合のふるいで分取されるマクロベントス・それ以下の大きさのメイオベントスは確認されなかった.

アサリは静岡県産及び熊本県産の市販のアサリを用い, 馴致後, 目視により水管が確認できたものを健全な個体と判断し, 実験用アサリとして供試した.

2.2 室内実験

2.2.1 シノブハネエラスピオの暴露実験

採取した堆積物コアを用いて, シノブハネエラスピオの暴露実験を行った. 採取した堆積物コアは, 海水を抜き, 堆積物中に混在しているメイオベントス・マクロベントスを死滅させるために -30°C で 24 時間冷凍した. 解凍後,

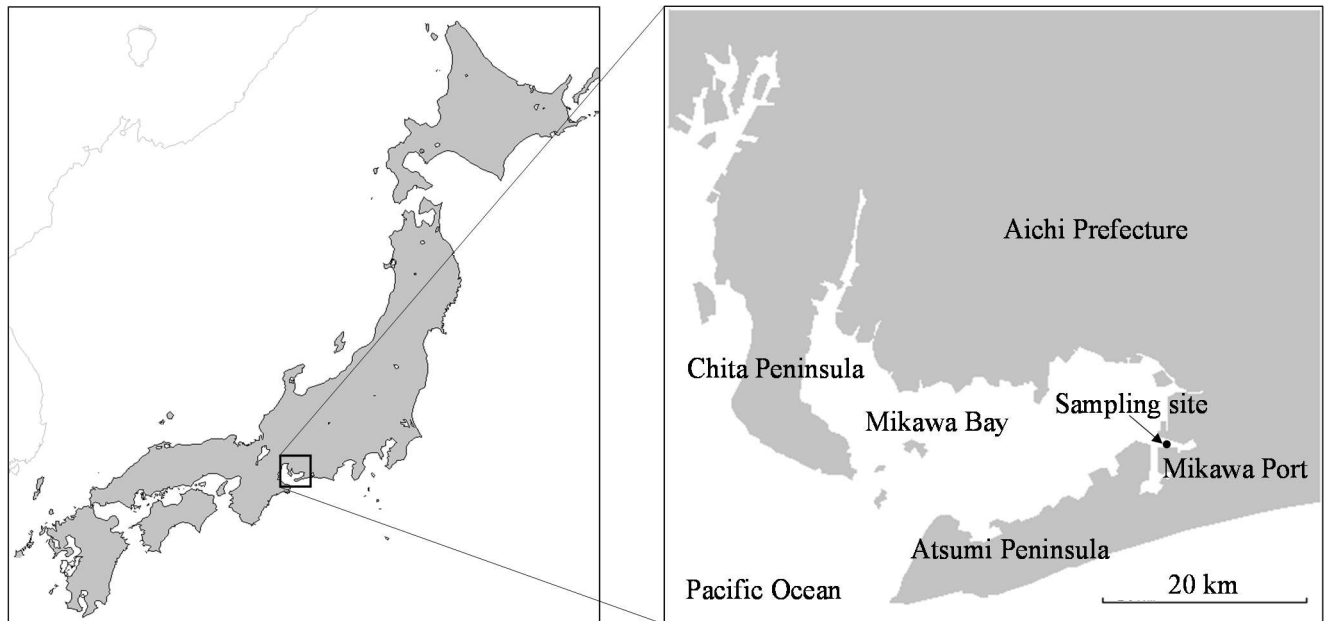


図-2.1 シノブハネエラスピオの試料採取位置

堆積物上に人工海水（富田製薬(株)製，マリンアートSF-1，濃度3%）を高さ25 cm程度になるように注水した．また，その一部を採水して，実験開始時の水質分析用試料とした．また，別の堆積物コア1本について同様の冷凍，解凍の処理を実施した後，実験開始前の底質試料として採取し，分析を行った．

本研究では，0価鉄（Fe，zero valent iron），酸化鉄（ Fe_2O_3 ，iron oxide），酸化水酸化鉄（ FeOOH ，iron oxi-hydroxide）の3種の鉄材を使用した．実験で使用した12本のコアのうち，3本は0価鉄を（A-1，A-2，A-3），3本は酸化鉄を（B-1，B-2，B-3），3本は酸化水酸化鉄を（C-1，C-2，C-3）それぞれ添加した．鉄材添加量は，面積当たりの添加量をFe換算で約 44.5 mg cm^{-2} となるようにした．これは，堆積物からの硫化水素の溶出抑制実験において，溶出を抑制す

るために十分な量と考えられた添加量を参照して設定した（Inoue and Hagino, 2022）．実際の添加量については，実験開始時のコアの状況とともに，表-2.1に示す．また，3個は参照用として無処理で使用した（D-1，D-2，D-3）．その後，それら12本の堆積物コアに，シノブハネエラスピオをそれぞれ10個体入れ，14日間の静置培養を行った（図-2.2，図-2.3）．

実験期間中は， 20°C に調整した実験室内に堆積物コアを設置し，直上水は継続的に空気曝気を行った．また，水温，溶存酸素濃度については実験期間中1時間毎に，pH，溶解性鉄，遊離硫化物については実験開始時，7日間経過後，実験終了時の3回測定した．

表-2.1 シノブハネエラスピオの暴露実験開始時のコアの状況及び鉄材添加量

Core	Iron material	Treatment amount (g)	Sediment height (cm)	Water height (cm)
A-1	Fe	4.23	24.0	22.0
A-2	Fe	4.20	21.3	21.0
A-3	Fe	4.22	24.0	20.0
B-1	Fe_2O_3	6.16	21.0	20.0
B-2	Fe_2O_3	6.09	21.5	20.0
B-3	Fe_2O_3	6.13	20.3	23.0
C-1	FeOOH	6.72	23.5	22.0
C-2	FeOOH	6.75	21.5	21.0
C-3	FeOOH	6.75	20.3	23.0
D-1	-	0	24.0	23.0
D-2	-	0	23.0	22.0
D-3	-	0	22.0	20.0

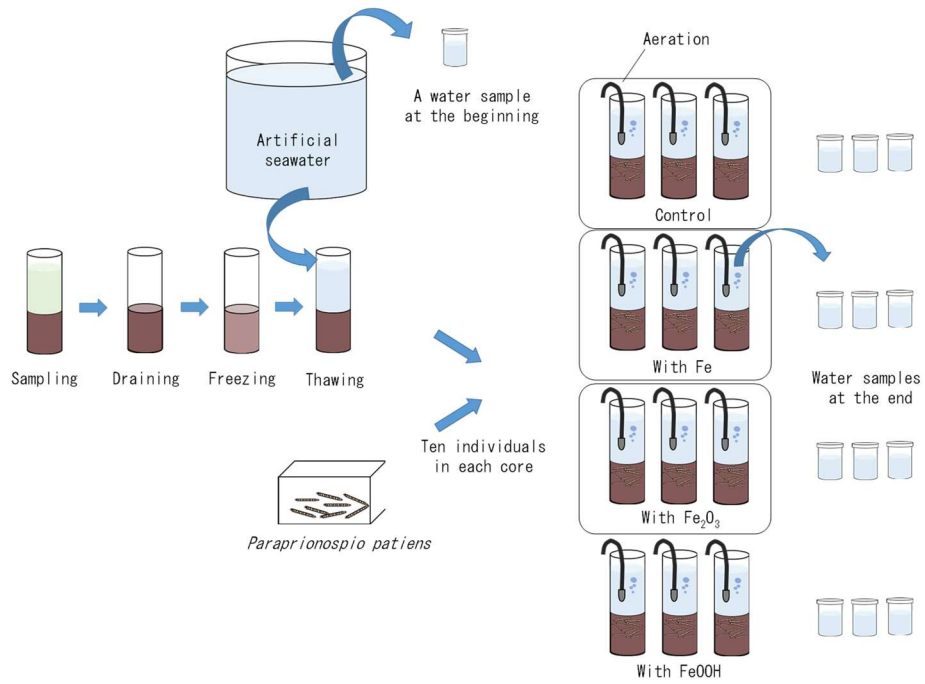


図-2.2 シノブハネエラスピオの暴露実験の概要

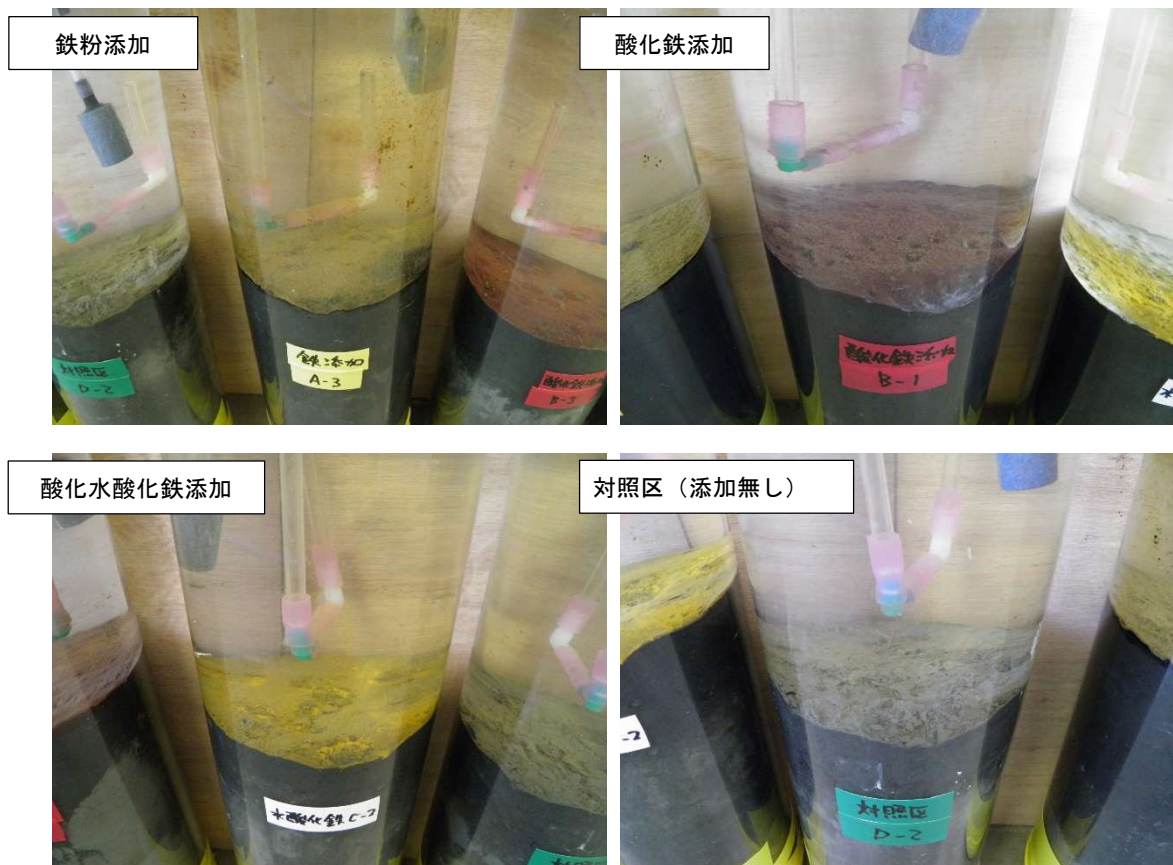


図-2.3 シノブハネエラスピオの実験状況

2.2.2 アサリの暴露実験

アサリの暴露実験においては、人工海水（富田製薬(株)製、マリンアートSF-1、濃度3%）を12個の水槽（40.0 cm×25.6 cm×28.0 cm）に入れ、これを実験用水槽とした。実験用水槽は20℃程度に設定した室内に設置し、それぞれの水槽にアサリ10個体を入れた（図-2.4、図-2.5）。シノブハネエラスピオの実験と同様、0価鉄添加（E-1、E-2、E-3）、酸化鉄添加（F-1、F-2、F-3）、酸化水酸化鉄添加（G-1、G-2、G-3）、対照区（H-1、H-2、H-3）の4種の実験区を設置した。鉄材添加量は、面積当たりの添加量をFeとして44.5 mg cm²を基本とした。ただし、酸化鉄については、実験開始時に材料の入手量が不十分であったため、約1/6程度の量の添加を3つ（F-1、F-2、F-3）で実施した（表-2.2）。実験開始後、追加の酸化鉄が入手できたため、8日目から酸化鉄添加（F-4）の実験を開始した。実験期間は21日間とし（F-4のみ13日間）、実験期間中は継続的に空気曝気を行い、1時間毎に水温、溶存酸素濃度を測定した。また、実験開始時、7日後、14日後、実験終了時にpHを、実験開始時、14日後、実験終了時に溶解性鉄、遊離硫化物の測定を行った。また、実験期間中、給餌として二枚貝用微粒子配合飼料（日本農産工業(株)社製、M-1）を1日1回、1個体あたり0.05 gを添加した。培養期間中に水槽内の全個体の斃死が確認された場合は、その水槽の実験は終了とした。21日間の培養終了後、全てのアサリを取り出して、生存個体数を計数した。併せて、それぞれの水槽から実験終了時の水質分析用試料を採取した。また、斃死個体、生存個体の全個体について鰓詰まりの確認を行った。

表-2.2 鉄材添加量（アサリ）

Core	Iron material	Treatment amount (g)
E-1	Fe	46.06
E-2	Fe	46.04
E-3	Fe	46.07
F-1	Fe ₂ O ₃	9.62
F-2	Fe ₂ O ₃	9.79
F-3	Fe ₂ O ₃	9.76
F-4	Fe ₂ O ₃	65.06
G-1	FeOOH	73.11
G-2	FeOOH	73.04
G-3	FeOOH	73.04
H-1	-	0
H-2	-	0
H-3	-	0

2.3 分析

シノブハネエラスピオ、アサリの暴露実験共に、採取した水質試料について、表-2.3に示す分析を行った。また、シノブハネエラスピオの暴露実験については、底質試料

表-2.3 水質分析方法

分析項目	分析方法
化学的酸素要求量（COD）	JIS K0102 17
アンモニア性窒素（NH ₄ -N）	JIS K0102 42.6
全窒素（T-N）	JIS K0102 45.6
全リン（T-P）	JIS K0102 46.3.4
溶解性鉄（dissolved iron）	JIS K0102 57.1
二価鉄（divalent iron）	JIS K0102 57.1 備考 3
遊離硫化物（free sulfide）	JIS K0102 39.1

表-2.4 底質分析方法

分析項目	分析方法
水素イオン濃度（pH）	底質調査方法 II 4.4
酸化還元電位（ORP）	底質調査方法 II 4.5
含水率	底質調査方法 II 4.1
粒度組成	レーザー回析法
強熱減量（ignition loss）	底質調査方法 II 4.2
全有機態炭素（TOC）	底質調査方法 II 4.10
化学的酸素要求量（COD）	底質調査方法 II 4.7
全硫化物（total sulfide）	底質調査方法 II 4.6
全窒素（T-N）	底質調査方法 II 4.8.1.2
全リン（T-P）	底質調査方法 II 4.9.1
全鉄（T-Fe）	底質調査方法 II 5.5.4
全マンガン（T-Mn）	底質調査方法 II 5.6.4
二価鉄（divalent iron）	土壤養分分析法 16.2.3

※ 底質調査方法については環境省(2012)、レーザー回析法については伊串(2013)、土壤養分分析法については土壤養分測定法委員会編（1970）参照

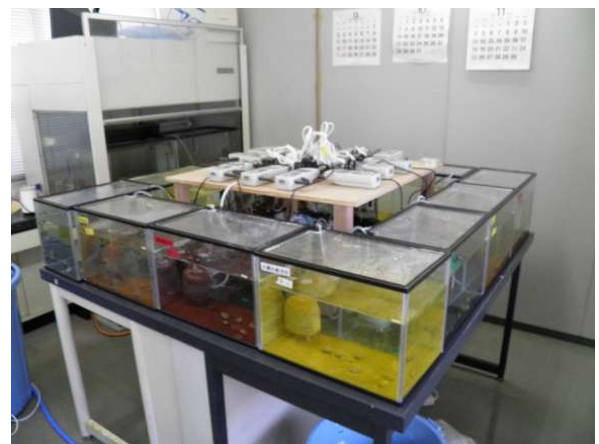


図-2.4 アサリの暴露実験の概要

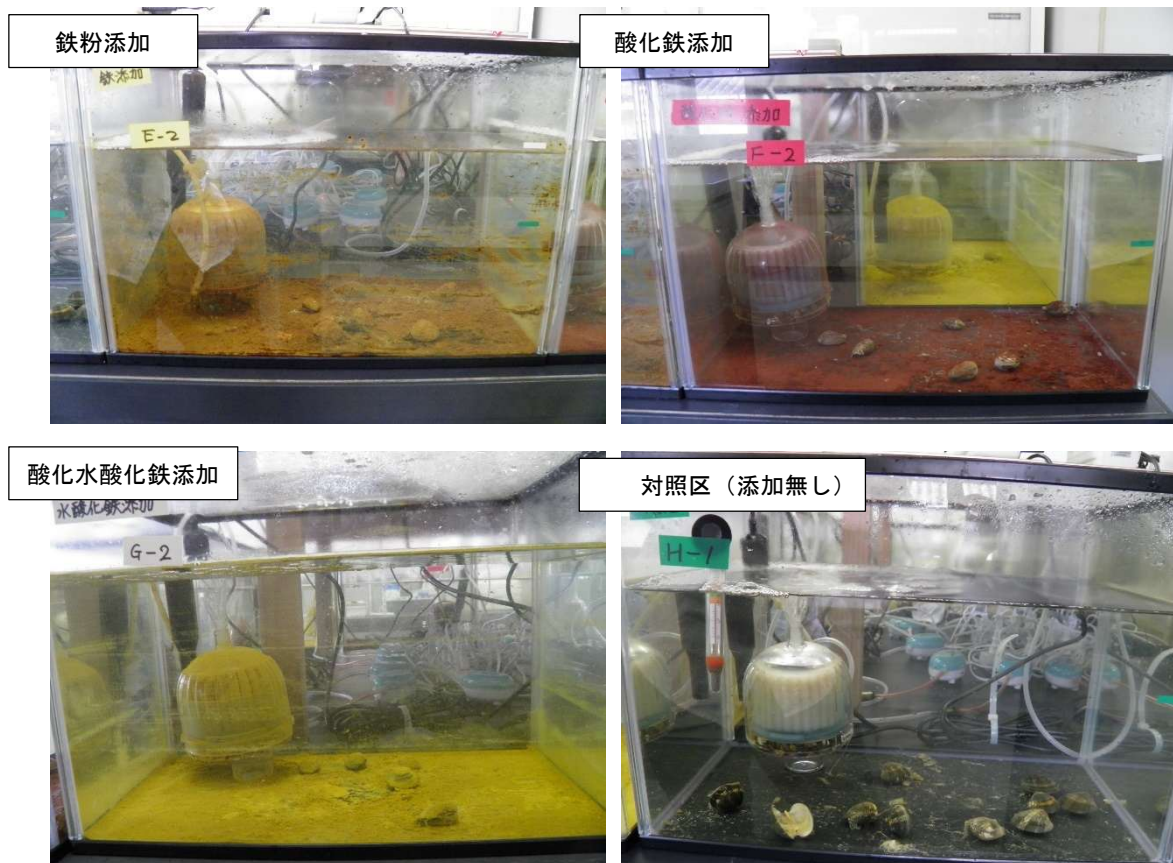


図-2.5 アサリの実験状況

13 検体 (実験前: 1 検体, 実験終了後 12 検体) について、表-2.4 に示す分析を行った。

3. 結果

3.1 シノブハネエラスピオの鉄材影響

3.1.1 水底質の分析結果

シノブハネエラスピオの実験における水質分析の結果を表-3.1 に示した。実験時のその他の水質測定結果は資料編 (付録A) に示した。

COD について、実験前は 4.5 mg L^{-1} 、実験後は $8.4 \sim 11 \text{ mg L}^{-1}$ であった。実験後の試験区間での差はほとんどなかった。T-N について、実験前は 2.70 mg L^{-1} 、実験後は $2.02 \sim 9.36 \text{ mg L}^{-1}$ であった。実験後の中では B-3, C-2, C-3, D-2, D-3 で低かった。T-P 実験前は 0.016 mg L^{-1} 、実験後は $0.072 \sim 1.61 \text{ mg L}^{-1}$ であった。実験後の中では B-1, B-2, C-1, D-1 で高かった。NH₄-N については、実験前は 0.011 mg L^{-1} 、実験後は $0.454 \sim 7.88 \text{ mg L}^{-1}$ であった。実験後の中では B-3, C-2, C-3, D-2, D-3 で低かった。溶解性鉄および二価鉄については、実験前及び実験後の全ての試験区で定量下限

値 (0.1 mg L^{-1}) 未満であった。

シノブハネエラスピオの実験に用いた底質の分析結果を表-3.2 に示す。

全鉄については鉄材を添加した試験区は対照区と比べて有意に高かった。これは添加した鉄材によるものである。

全マンガンについては 0 価鉄添加区、酸化鉄添加区で他の試験区に比べて有意に高かった。これについては試験情報には鉄の純度のみでマンガンの含有量は示されていないが、添加した鉄材に不純物として含まれていた可能性がある。

0 価鉄添加区では二価鉄、全硫化物が有意に高く、相関関係も認められた。0 価鉄添加ではほかの試験区とは異なり底質中に二価鉄が生じ、それが底質中の遊離硫化物と結合し、硫化鉄が生じた可能性がある。

0 価鉄添加区では添加時灰色であった鉄粉が翌日には黒い、硫化鉄と考えられる状態に変化した。また、実験の進捗に伴い、表面が黄土色に変化した。これは酸化して酸化水酸化鉄等に変化したものと推察される (図-3.1)。

また、各項目間のピアソンの相関係数を求め、多重比較検定 (Scheffe's F test) をかけた。その結果、pH, ORP,

表-3.1 シノブハネエラスピオ実験時の水質分析結果

sampling time	iron material	CORE	COD (mg L ⁻¹)	T-N (mg L ⁻¹)	T-P (mg L ⁻¹)	NH4-N (mg L ⁻¹)	dissolved iron (mg L ⁻¹)	divalent iron (mg L ⁻¹)
at the start	—		4.5	2.7	0.016	0.011	<0.1	<0.1
after 14 days	zero valent iron	A-1	8.7	7.47	0.152	6.2	<0.1	<0.1
		A-2	11	8.36	0.2	7.08	<0.1	<0.1
		A-3	9.5	8.43	0.239	6.77	<0.1	<0.1
	Iron oxide	B-1	11	8.29	0.748	6.17	<0.1	<0.1
		B-2	10	6.93	0.467	4.5	<0.1	<0.1
		B-3	8.8	3.24	0.242	1.44	<0.1	<0.1
	Iron oxi-hydroxide	C-1	10	8.66	0.557	6.8	<0.1	<0.1
		C-2	9.8	3.78	0.116	1.85	<0.1	<0.1
		C-3	8.4	2.02	0.072	0.673	<0.1	<0.1
	reference	D-1	11	9.36	1.61	7.88	<0.1	<0.1
		D-2	11	2.22	0.212	0.919	<0.1	<0.1
		D-3	8.5	2.09	0.159	0.454	<0.1	<0.1

表-3.2 底質分析結果

sampling time	iron material	CORE	pH (-)	ORP (mV)	Water content (%)	Ignition loss (%)	TOC (mg g ⁻¹ dry weight)	COD (mg g ⁻¹ dry weight)
at the start	—		7.4	-84	75.4	11.6	20.3	28.1
after 14 days	zero valent iron	A-1	7.8	-87	75.7	11	23.1	29.5
		A-2	7.8	-461	74.8	11	23.9	28.7
		A-3	7.8	-43	73.9	10.2	24	26.1
	Iron oxide	B-1	8	-185	76.4	11.3	20	30.4
		B-2	7.2	-59	73.5	10.9	21.7	27.3
		B-3	7.5	-43	69.6	11.6	20.7	31.5
	Iron oxi-hydroxide	C-1	7.7	-155	75.5	12.7	22.6	31
		C-2	7.1	+13	72.3	11.9	19.7	27.3
		C-3	7.2	-15	61.9	9.5	15.2	16.4
	reference	D-1	7.4	-168	76.2	12.9	25.2	35.7
		D-2	7.4	+72	70.7	12.6	23.7	24.5
		D-3	7.2	+5	58.9	8.3	12.9	13.6

sampling time	iron material	CORE	Total sulfide (mg g ⁻¹ dry weight)	T-N (mg g ⁻¹ dry weight)	T-P (mg g ⁻¹ dry weight)	T-Fe (mg g ⁻¹ dry weight)	T-Mn (mg g ⁻¹ dry weight)	Divalent iron (mg g ⁻¹ dry weight)
at the start	—		0.60	2.13	0.58	43	0.75	1.2
after 14 days	zero valent iron	A-1	1.64	2.66	0.90	130	1.2	16
		A-2	1.74	2.81	0.86	110	1.2	17
		A-3	1.78	2.68	0.98	140	1.4	20
	Iron oxide	B-1	0.99	2.72	0.69	160	1.6	1.8
		B-2	0.57	2.49	0.64	140	1.5	1.9
		B-3	0.76	2.49	0.71	140	1.4	2.2
	Iron oxi-hydroxide	C-1	0.96	2.98	0.74	100	0.81	2.6
		C-2	0.63	2.49	0.65	130	0.85	1.5
		C-3	0.25	1.52	0.48	96	0.8	0.8
	reference	D-1	1.07	3.09	0.76	46	0.75	1.9
		D-2	0.60	2.71	0.75	47	0.7	2.0
		D-3	0.15	1.06	0.42	45	0.66	0.5

含水率, 強熱減量, TOC, COD, 全窒素, 全リン, 粒度 (50% 粒径) については各試験区間で有意差が無く, 底質の違いにより各試験区の結果に差が出るとことはないと判断された。

以上から, 特段シノブハネエラスピオの生存に影響を及ぼすような項目は認められなかった (Beutel et al., 2008; 日本水産資源保護協会, 2020)。よって, 本実験に使用された水または堆積物がシノブハネエラスピオの斃死要因とはならないと判断した。

3.1.2 シノブハネエラスピオの生存率

まず, 目視観察の結果として, 0 価鉄を添加した直後および数日後にシノブハネエラスピオが海水中を激しく動く様子が観察された (図-3.2)。このことから, 0 価鉄が何らかの急性影響を及ぼしている可能性が示唆された。

次に, シノブハネエラスピオの実験終了時における深さ別の出現数を表-3.3 に示す。全体の生存率としては, 鉄粉添加は A-1 と A-2 で 10%, A-3 で 50%とばらつきがみられたが, 総じて生存率は 50%以下であった。酸化鉄添加は B-1 と B-3 で 80%, B-2 で 60%といずれも生存率は 50%以上であった。酸化水酸化鉄添加は C-1 で 50%,

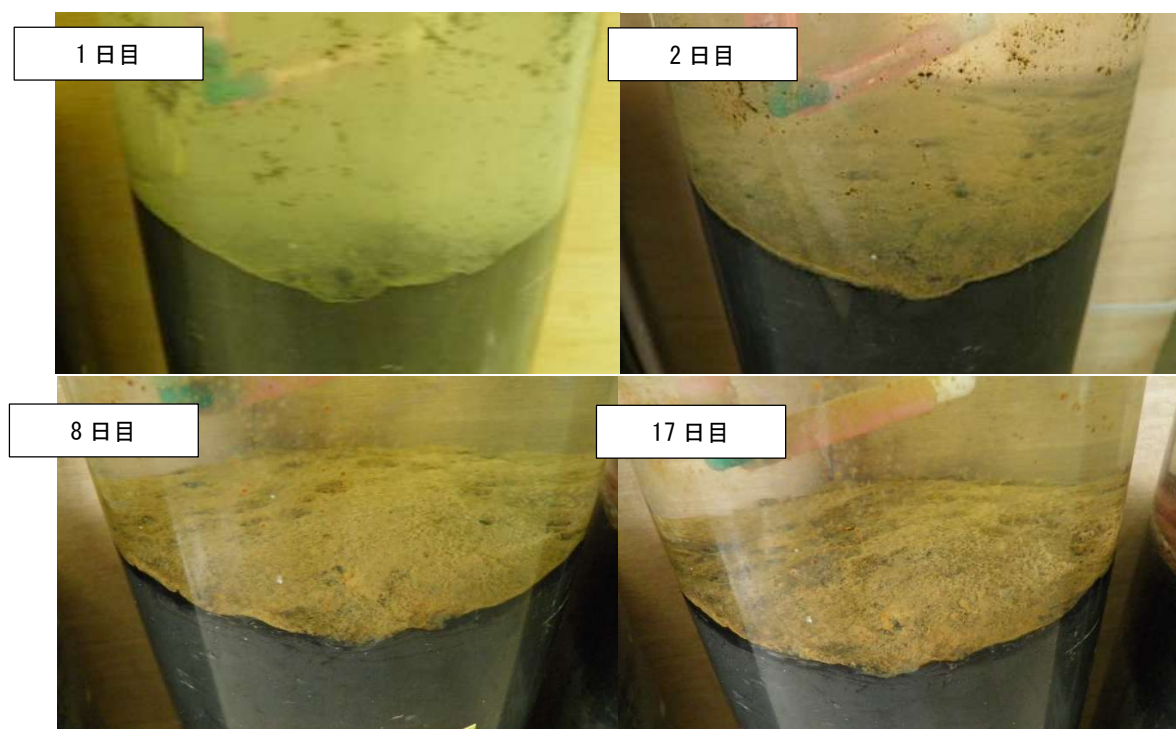


図-3.1 底質表面の色の变化 (0 価鉄添加区 A-3)



図-3.2 シノブハネエラスピオの激しい遊泳行動

C-2で90%, C-3で70%とばらつきがみられたが、いずれも生存率は50%以上であった。対照区(添加無し)はD-1で50%, D-2とD-3で80%といずれも生存率は50%以上であった。この結果、シノブハネエラスピオの平均生存率は、0価鉄添加では23.3%, 酸化鉄添加では73.3%, 酸化水酸化鉄添加では70.0%, 対照区(添加無し)では70.0%であり、0価鉄の添加で有意に低く(Scheffe's F test : $p<0.05$)なることがわかった。以上のことから、0価鉄添加によって、シノブハネエラスピオの生存率が低下すると判断した。一方、酸化鉄添加、酸化水酸化鉄添加では、対照区(添加無し)と比較して有意差は認められなかったため、生存率は低下しないと考えられた(図-3.3)。

次に、シノブハネエラスピオが実験終了時に出現した層を0～2 cm, 2～4 cm及び4～30 cmの3層に区分すると、0価鉄添加ではA-1とA-2は0～2 cm層で各1個体、A-3は0～2 cm層で4個体、4～30 cm層で1個体がみられた。酸化鉄添加ではB-1は0～2 cm層で8個体、B-2は0～2 cm層で5個体、2～4 cm層で1個体、B-3は0～2 cm層で5個体、2～4 cm層で2個体、4～30 cm層で1個体がみられた。酸化水酸化鉄添加ではC-1は0～2 cm層で4個体、4～30 cm層で1個体、C-2は0～2 cm層で9個体、C-3は0～2 cm層で7個体がみられた。対照区(添加無し)ではD-1は0～2 cm層で4個体、2～4 cm層で1個体、D-2は0～2 cm層で6個体、2～4 cm層で1個体、4～30 cm層で1個体、D-3は0～2 cm層で6個体、2～4 cm層で1個体、4～30 cm層で1個体がみられた。

シノブハネエラスピオの層別の平均出現率は、2～4 cm層及び4～30 cm層より表層の0～2 cm層で有意に高く(Scheffe's F test : $p<0.01$)、0～2 cm層は50.0%, 2～4 cm層は5.0%, 4～30 cm層は4.2%であった。この結果、実験期間中はほとんどの個体が0～2 cm層に出現することがわかった。一方、4～30 cm層でもわずかながら出現することがわかった(図-3.4)。

また、シノブハネエラスピオに対して、鉄材と層の両方の要因が関連して、シノブハネエラスピオの生存に影響を及ぼしていることが示唆された(two-way repeated measures ANOVA (Potvin and Schutz, 2000) : $p<0.05$)。しかし、生存個体の多くは表層部分に生息しており、0価鉄や

表-3.3 実験終了時のシノブハネエラスピオの出現状況

Iron material	CORE	Number of survivor individuals				Survival rate (%)		
		0-2 cm	4-4 cm	4-30 cm	Total	Each	Averaged	S.D.
Zero valent iron	A-1	1	0	0	1	10		
	A-2	1	0	0	1	10	23	19
	A-3	4	0	1	5	50		
Iron oxide	B-1	8	0	0	8	80		
	B-2	5	1	0	6	60	73	9
	B-3	5	2	1	8	80		
Iron oxi-hydroxide	C-1	4	0	1	5	50		
	C-2	9	0	0	9	90	70	16
	C-3	7	0	0	7	70		
Reference	D-1	4	1	0	5	50		
	D-2	6	1	1	8	80	70	14
	D-3	6	1	1	8	80		

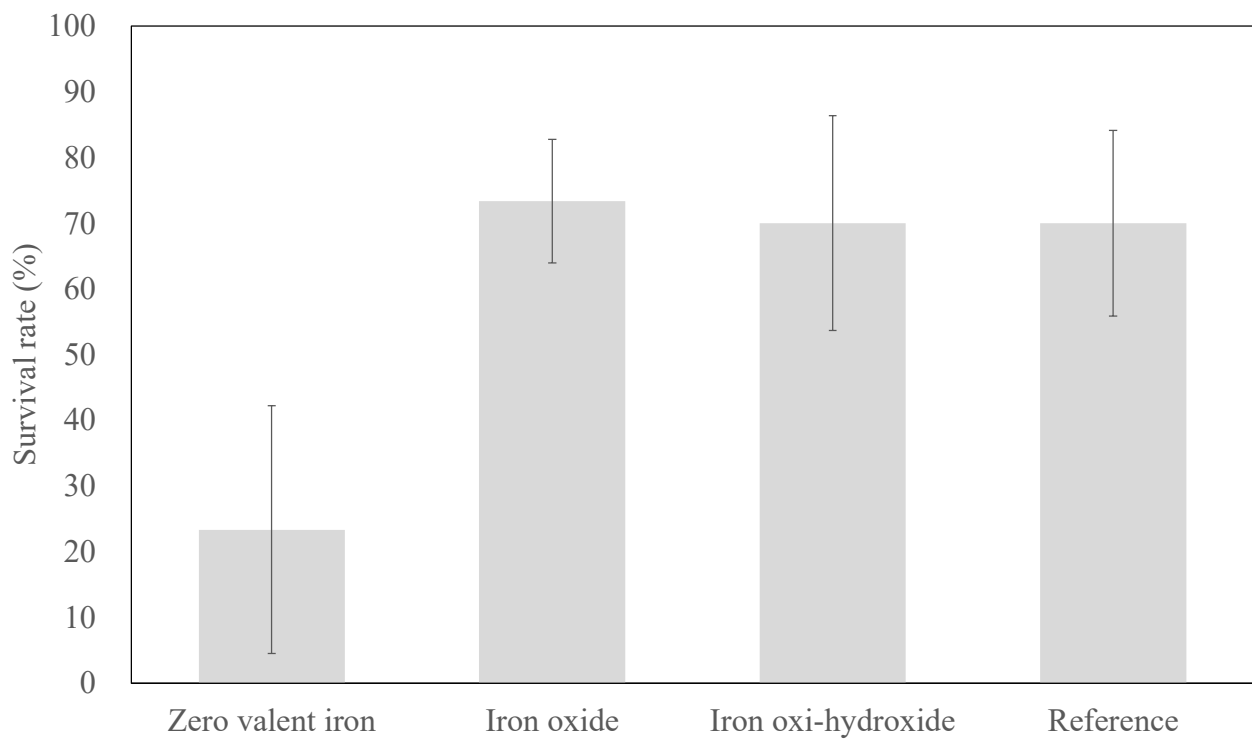


図-3.3 シノブハネエラスピオへの鉄材の影響

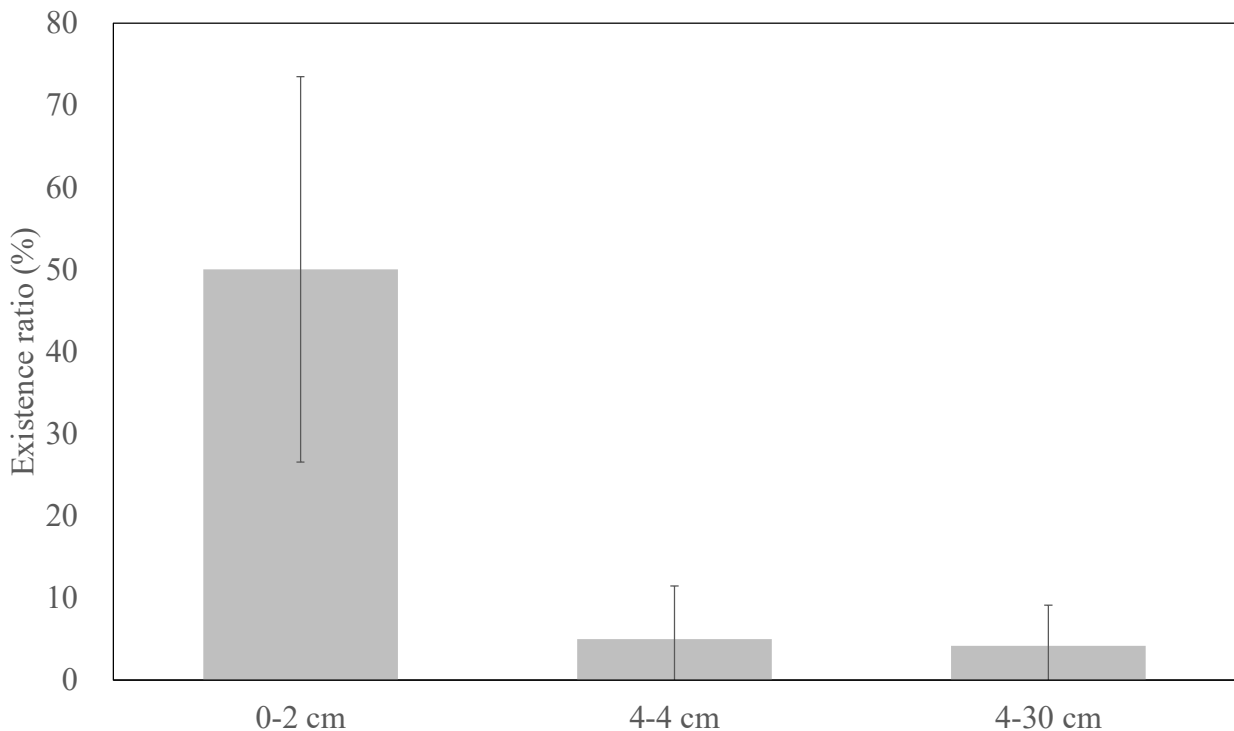


図-3.4 シノブハネエラスピオの層別の平均出現率
(注：各コア出現率を平均しているため、合計は100%とらない。)

表-3.4 シノブハネエラスピオへの鉄材と層の影響

Variable factor	Sum of squared deviations	Degrees of freedom	Mean sum of squares	F value	F value (0.95)	P value
Iron material	1719.4	3	573.1	4.3	3.0	<0.05
Layer	16505.6	2	8252.8	61.9	3.4	<0.01
Iron material×layer (Effects of both factors)	2472.2	6	412.0	3.1	2.5	<0.05
Error variation	3200.0	24	133.3	-	-	-

その他の鉄材に反応して、忌避的に深く潜行するといった行動はみられないことが明らかとなった（表-3.4）。

3.2 アサリの鉄材影響

実験後のアサリ様子を図-3.5に、室内実験の結果を表-3.5、図-3.6、図-3.7に示した。実験時の水温・DOの連続観測結果は資料編（付録B）に示した。アサリの生存率の推移をみると、0価鉄添加ではE-1は6日目以降、E-2は3日目以降、E-3は4日目以降、生存状況が安定した。酸化鉄添加では、F-1は6日目以降、E-2は3日目以降、生存状況が安定し、F-3は7日目に全ての個体が斃死した。実験8日目から開始したF-4では、11日目と19日目（F-4開始後4日目と

12日目）に1個体ずつの斃死が確認された。酸化水酸化鉄添加ではG-1は19日目まで、G-2は17日目まで緩やかに生存率が低下し、G-3は2日目以降、生存状況が安定した。対照区（添加無し）ではH-1は20日目に、H-3は12日目に斃死がみられ、H-2は8日目以降、生存状況が安定した。

実験終了時の生存率は、0価鉄添加はE-1とE-2で70%、E-3で40%とばらつきがみられた。酸化鉄添加はF-1で80%、F-2で60%であったが、F-3で0%であった。一方、遅れて実験を開始したF-4では、21日目（F-4開始後13日目）までの生存率は80%であった。酸化水酸化鉄添加はG-1とG-2で50%、G-3で90%であった。対照区（鉄材の添加無し）はH-1とH-3で90%、H-2で80%といずれも生存率は80%以上で

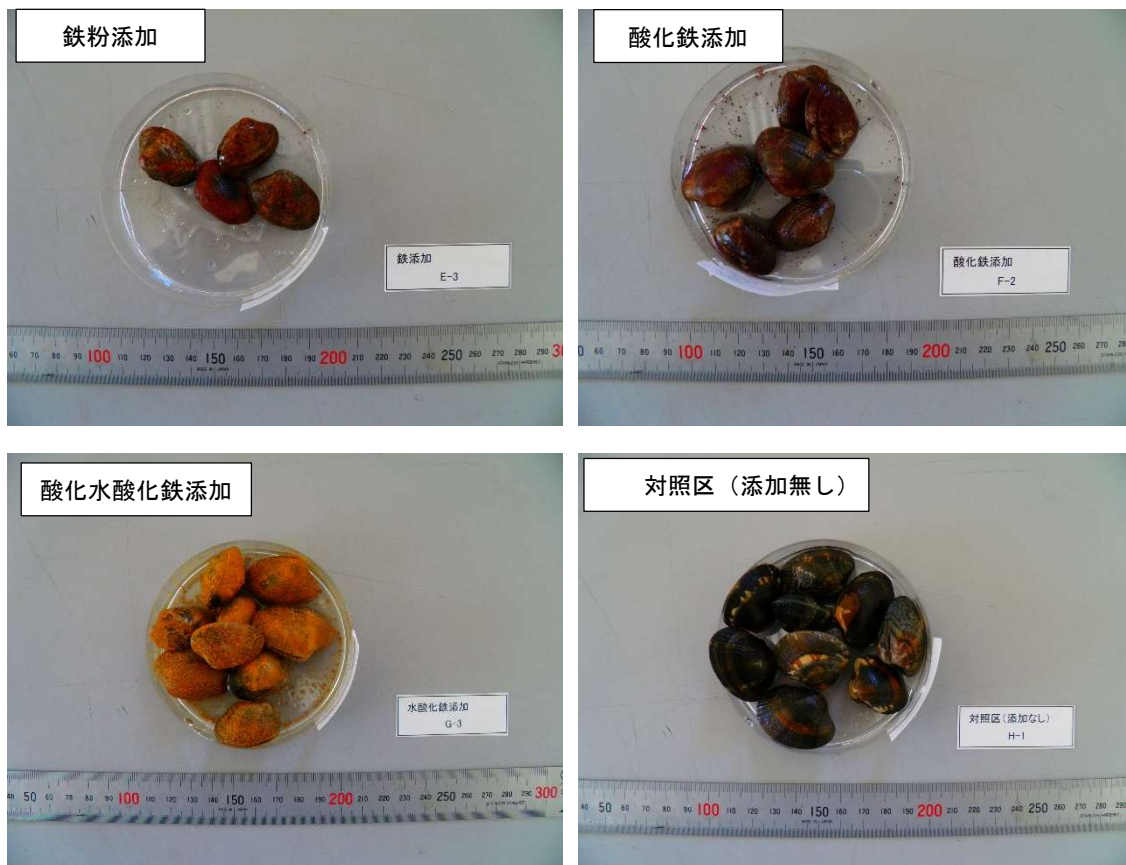
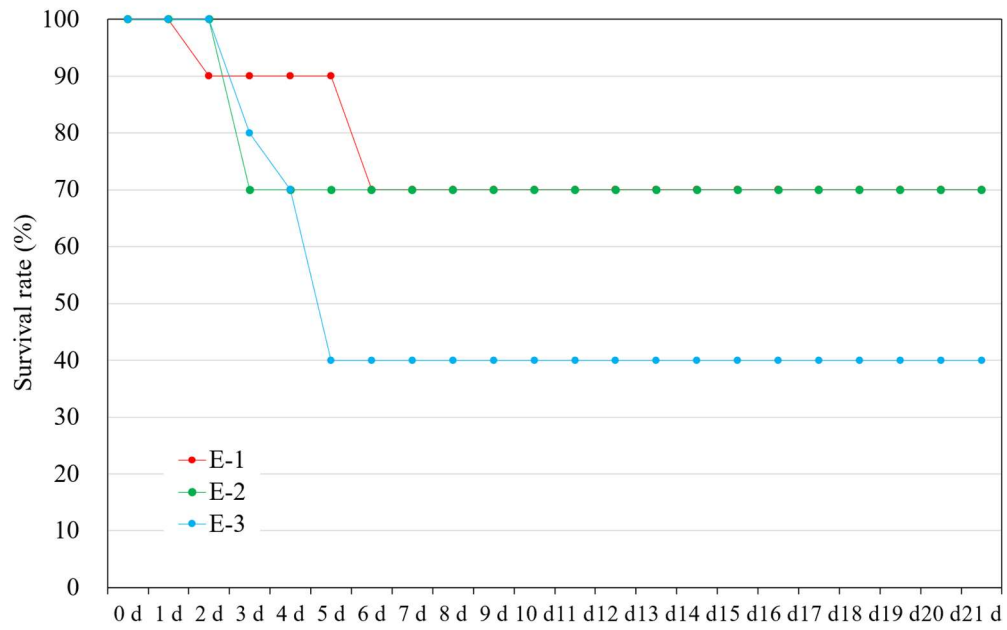


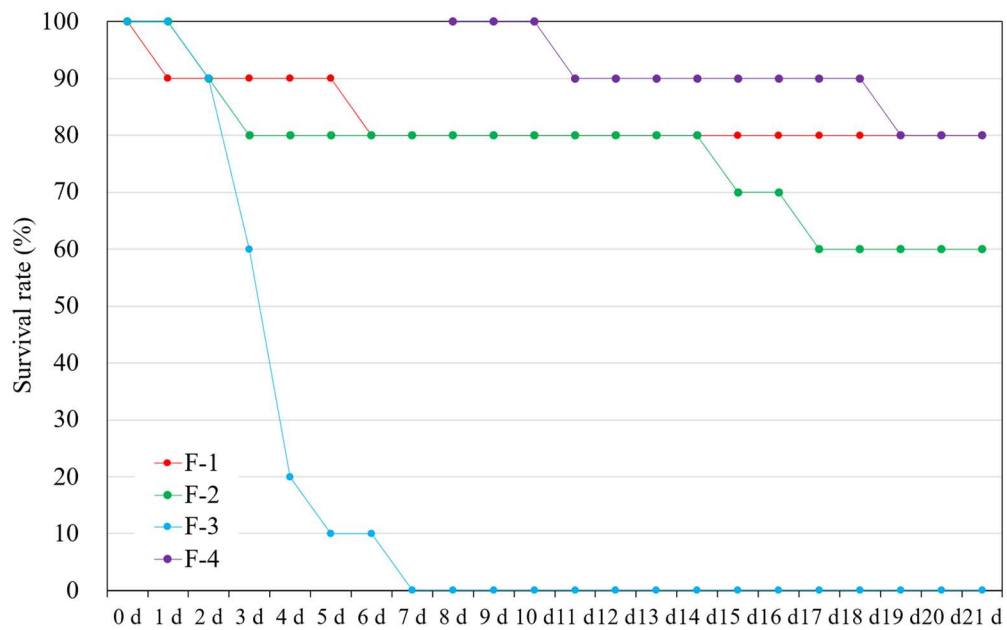
図-3.5 実験終了時の生存個体の外観

表-3.5 アサリの生存状況

Iron material	Fish tank	Number of survivor individuals			Survival rate (%)	
		Alive	Dead	Each	Averaged	S.D.
Zero valent iron	E-1	7	3	70	60	14
	E-2	7	3	70		
	E-3	4	6	40		
Iron oxide	F-1	8	2	80	47	34
	F-2	6	4	60		
	F-3	0	10	0		
	F-4	8	2	80		
Iron oxy-hydroxide	G-1	5	5	50	63	19
	G-2	5	5	50		
	G-3	9	1	90		
Reference	H-1	9	1	90	87	5
	H-2	8	2	80		
	H-3	9	1	90		

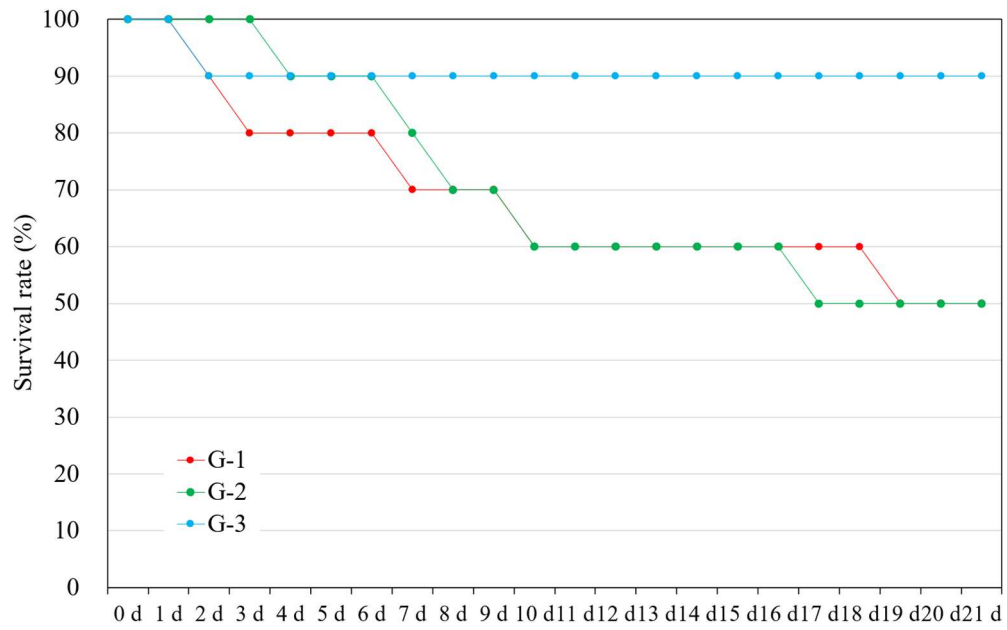


(a) Zero valent iron

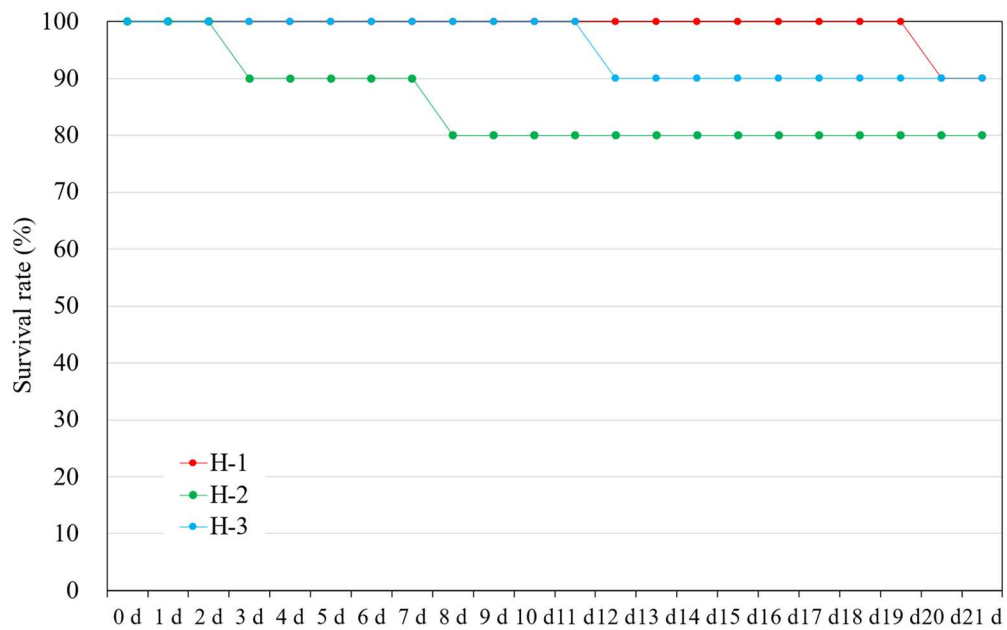


(b) Iron oxide

図-3.6 アサリの生存率の推移



(c) Iron oxi-hydroxide



(d) Reference

図-3.6 アサリの生存率の推移 (続き)

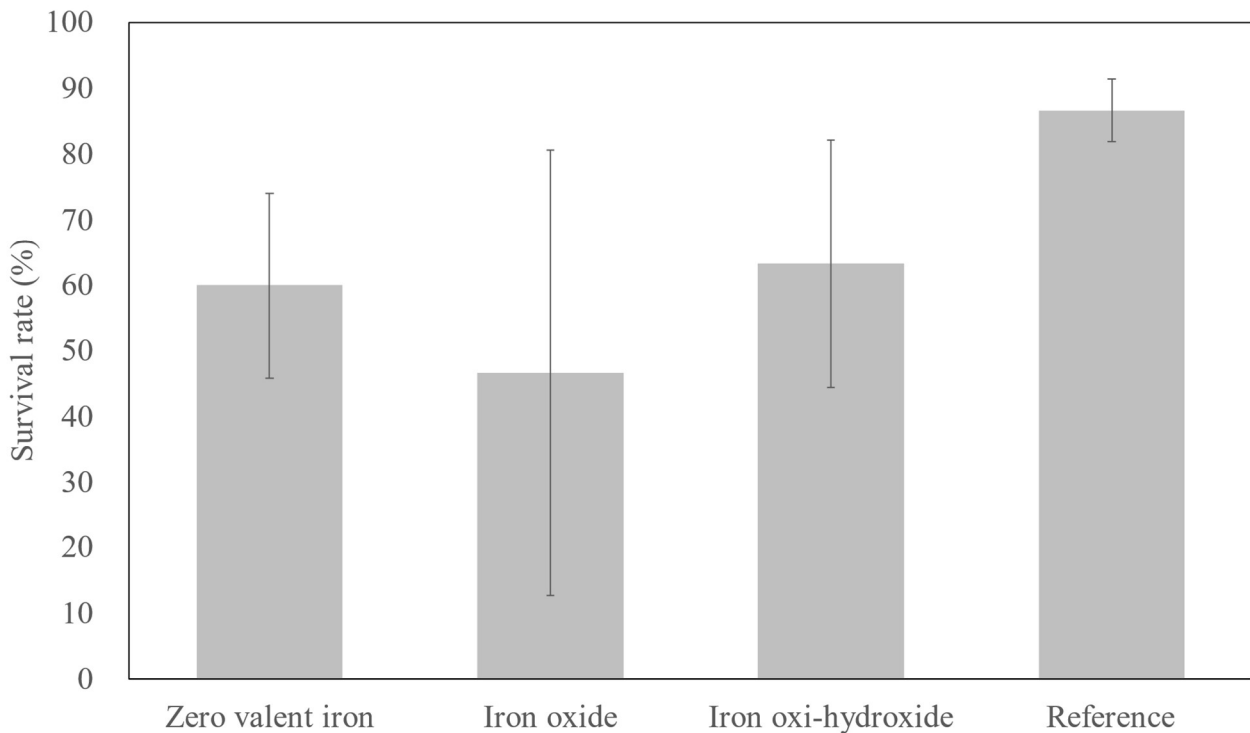


図-3.7 アサリへの鉄材の影響

表-3.6 アサリへの鉄材と経過日数の影響

Variable factor	Sum of squared deviations	Degrees of freedom	Mean sum of squares	F value	P value
Iron material	42164.8	3	14054.9	26.2	<0.01
Elapsed days	31291.3	21	1490.1	2.8	<0.01
Iron material×elapsed days (Effects of both factors)	7543.6	63	119.7	0.2	N.S.
Error variation	19706.1	168	117.3	-	-

あった。

アサリの平均生存率についてScheffe's F testを行ったところ、鉄材による有意な差はみられなかった ($p>0.05$)。ただし、0価鉄添加の平均生存率は60.0%、酸化鉄添加は46.7%、酸化水酸化鉄添加は63.3%となり、対照区(添加無し)の86.7%と比較して低かった。また、生存個体と斃死個体との間で、アサリの殻長に有意な差はなかった (Scheffe's F test : $p>0.05$)。

次に、アサリの平均生存率の経時変化をみると、開始7日目までは、0価鉄添加及び酸化鉄添加では急激に、酸化水酸化鉄添加で緩やかに低下し、時間の経過によって有意に生存率が低下した (Repeated measures ANOVA (Park et al., 2009) : $p<0.01$)。

また、アサリに対して、鉄材と経過日数の両方の要因が

関連して、アサリの生存に影響しているか確認した結果、鉄材と経過日数の関連性はみられなかった (two-way repeated measures ANOVA : $p>0.05$, 表-3.6)。

以上のことから、アサリへの鉄材の影響はみられず、鰓詰まりのような生存率を低下させる直接的な影響もみられなかった。一方で、有意な差はないものの、対照区と比較して鉄材を添加した水槽で生存率が低かったことや酸化鉄添加の水槽のひとつで全ての個体が斃死したことは、今後精査する余地がある。分散分析においては、採用する検定手法によってサンプル間の差の検出力に差異が生じることが知られている。すなわち、同一のデータに対しても、使用する検定法の特性によって有意差の検出可否が変わる可能性がある。本稿ではrepeated measures ANOVAを採用したが、他の多重比較法を採用して検出力につい

での検討を行うことは今後の課題と考える。

4. 考察

4.1 選定生物種の妥当性

シノブハネエラスピオなどの多毛類やアサリなどの斧足類は、毒性試験において最も広く供される海生無脊椎動物である (Reish & Gerlinger 1997)。本研究においては、検討対象としてシノブハネエラスピオ (*Paraprionospio*) とアサリ (*Ruditapes philippinarum*) を選定した。

シノブハネエラスピオは後述のように耐汚濁種として理解されている。特に貧酸素耐性の強さが顕著であり、国内における内湾の大きな水質問題である夏季の貧酸素水塊の発生において、貧酸素化が進行する際においても最後まで生存する種である。また、貧酸素化が解消する場合には、最も早くに移入する生物であることから、貧酸素水塊が発生する海域では特に重要視すべき生物であると考えられる。

一方、アサリは国内の沿岸漁業において非常に重要な位置を占めており、沿岸底生生物の象徴種としての役割を持つ。また、底生生物のなかでも水質の影響を強く受ける懸濁物食者である。このため、底質改善を目的とした改良剤の添加において、その影響の有無を検討するための指標種として重要である。このようにアサリは沿岸環境において、象徴種であると同時に水堆積物界面近傍の環境状態を把握するための指標種でもある。

以上の観点から、本研究でシノブハネエラスピオとアサリを実験対象種として選んだことは妥当であったと考える。

4.2 既存の鉄材利用に関する知見

鉄材を沿岸域に散布し、水底質の改善につなげようとする試みは数多くなされている。沼田ら (1999) は、カルシウム、鉄、マグネシウム、ケイ素および酸素を主成分とした複合酸化物である製鋼スラグについて、沿岸海域における水質・底質の改善、および魚礁材等への有効利用の可能性を検討するため、製鋼スラグを海底に設置して基礎的研究を行っている。その結果、粒径の小さいスラグ (30 mm以下) については、スラグ設置直後に近傍海水およびスラグ間隙水中でのpH上昇が認められたが、近傍海水のpHは数時間で周辺海水と同程度まで低下し、数百時間後には影響が全く認められなくなることを指摘している。さらに、製鋼スラグ近傍海水および間隙水中でアンモニウム塩とリン酸塩の低下が認められ、製鋼スラグの表面には、付着珪藻類、ゴカイ類、フジツボ類、ホヤ類、緑

藻類などの繁殖が観察されたこと、粒径の大きな製鋼スラグ (70 mm-150 mm) の間隙にハゼ、アナゴ、カニなどの生息も観察されたことから、製鋼スラグが水質・底質改善材、魚礁材として利用可能であることを示した。

宮田ら (2011) は、藻場・魚礁造成に対する製鋼スラグの適用性を検討するため、製鋼スラグ製品を組み合わせた人工マウンドを造成し、生物相の経過調査を行った。その結果、設置後15カ月までの製鋼スラグ製品を組み合わせたマウンドの藻場・魚礁としての有用性を示した。

山本ら (2011) は、製鋼スラグと腐植物質を用いた藻場再生技術における鉄溶出特性について、腐植物質が鉄溶出促進に果たす役割を評価している。その結果、製鋼スラグに人工腐植物質を混合することによって鉄錯体が形成されて鉄溶出量が増加し、また製鋼スラグ中に含まれる鉄量が多いために人工腐植物質だけの場合より溶出の寿命が増加することを示した。

以上のように、沿岸域での鉄材の利用はスラグの再利用の観点から調査されたものが多く、周辺生物への悪影響を指摘した事例はほとんどない。

4.3 シノブハネエラスピオ

シノブハネエラスピオ *Paraprionospio patiens* は、以前はヨツバネスピオA型と称されていた内湾環境では広く存在する種であり、体長は成体で5~6 mmから40 mm程度となる多毛類である。本種は、内湾湾奥部の砂質から泥質の底質の場合に優占することが多く、強内湾性の汚濁指標に分類されている (細川&堀江 1989)。

大阪湾では、分布は水深15 mよりも浅い沿岸域にほぼ限られているが、10 mより浅い海域で特に高密度 (6,000 個体 m⁻²) に生息する。6月中旬から8月中旬が産卵期、幼生の浮遊期間は約1カ月で幼若個体の加入着底期は7月下旬から9月上旬である。その後、10月頃まで成長し、冬季の休止期を経て、春以降再び成長を続け、夏季の放卵、放精後に死亡する。寿命は一年である (玉井 1982)。また、夏季に1 mg L⁻¹以下の低酸素濃度条件下でも即死せず、1日から数日程度は生き延びることができる (細川&堀江 1989)。

三河湾においては、シノブハネエラスピオが多く出現しており (橋口ら, 2017)、本調査地点と同様の大規模泊地・航路における調査でも、イトゴカイ類は出現しておらず、シノブハネエラスピオなどが数種出現したのみであった (和久ら2013)。

以上のように、富栄養化海域において重要な役割を果たしていると考えられるシノブハネエラスピオであるが、鉄暴露条件下での影響については、調査されていない。多

毛類は繁殖率が非常に高いため、汚染物質や有機物負荷などの環境の変化に対して、迅速に個体群を反応させることが可能である (Dean, 2008)。したがって、多毛類の多くは環境指標生物として古くから注目されてきており、生物検定の標準対象生物として、二枚貝とともにいくつかの種が指定されるようになった (林, 2001)。例えば、Reish (1980)やReish and Gerlinger (1997)などでは、重金属の多毛類に対する毒性に関する知見を取りまとめており、カドミウム、クロム、銅、鉛、水銀、亜鉛などが多毛類に対して影響があることを示している。また、Oshida et al. (1981)は、六価クロムを用いた暴露実験を行い、 $100 \mu\text{g L}^{-1}$ で多毛類の繁殖が停止し、 $12.5 \sim 50 \mu\text{g L}^{-1}$ レベル以上では産卵数が減少することを示している。しかし、シノブハネエラスピオや鉄についての知見は取りまとめられた事例が無く (Reish and Gerlinger, 1997; Clesceri et al., 1998)、シノブハネエラスピオに対する鉄の毒性については、一般的には認識されていないものと解される。一方、Reish and Gerlinger (1997)は多毛類に関して、カドミウム、クロム、銅、鉛、水銀、亜鉛に耐性のある種と脆弱な種をまとめており、多毛類の重金属に対する反応は種特異的であることが示唆されている。

今回の実験では、シノブハネエラスピオに対して0価鉄を添加した場合に、異常行動が観察されるとともに、生存率が低下するといった直接的な影響がみられた。このため、シノブハネエラスピオについては、0価鉄の急性、慢性毒性試験を実施し、斃死や異常行動を改めて確認する必要がある、また、その反応が種特異的かどうかを確認する必要がある。

4.4 アサリ

今回の実験結果からは、アサリについては、統計的に有意な鉄材の影響はみられなかった。しかし、鉄材散布の物理的な刺激を受けてか、粘液の放出や放卵・放精による水質悪化が確認された。このため、鉄材の生化学的な影響だけではなく、懸濁物粒子としての物理的な影響についても検討する必要がある。一般に、水生生物の鰓には微細な粒子が蓄積することが知られており、今回使用した鉄材についても微細な粒子を形成する可能性が高いため、このような鉄材による物理的な影響については、今後の検討課題と認識している。

また、夜間に斃死した個体を直に取り除けなかったり、海水交換ができなかったりしたことにより、他の生存個体に衰弱や斃死がみられたケースもあった。高橋 (1976)は、斃死した個体をそのまま放置すると、粘液や肉片によって水質を悪化させ正常な試験が続けられないことを指

摘している。なお、このような現象は、現地でもみられている。柿野 (1986)は、小潮と重なり海水交換が弱く、風による攪乱がない条件が重なった場合、アサリの斃死区域が広まり、死殻から肉片が外れて舞い上がる状況を確認している。本研究におけるF-3の系については、このような原因で全個体の斃死が起こったものと考えられる。このため、アサリについては、斃死個体が他の生存個体に及ぼす影響に着目し、再検討を行う必要がある。

4.5 懸濁粒子の物理的な影響

今回の実験結果からは、シノブハネエラスピオに対する0価鉄の悪影響が示された。実験後の目視観察によると、シノブハネエラスピオに鰓つまり等の影響は認められなかった。また、今回使用した3種の鉄材の中では、0価鉄の粉末が最も粒径が粗かった。以上から、本検討では、0価鉄の粒径等の物理的な性質によって悪影響が呈されたものではないと判断した。

5. おわりに

本研究では、沿岸域の環境改善や底質改善を目的とした多量の鉄材の散布について、底生生物への影響についての実験的な考察を行う目的で、シノブハネエラスピオとアサリに鉄材を添加した暴露実験を行った。

その結果、シノブハネエラスピオについては、0価鉄を添加した直後や数日後に、海水中を激しく動く (遊泳) 個体が観察され、暴露後の生存率も0価鉄の添加系のみが低くなるという知見が得られた。これまで魚の鰓や植物の根等への蓄積による物理的な悪影響や、体内での活性酸素の生成による慢性的な酸化ストレスに関する知見は多くあるが、それらの影響とは別に、何らかの急性の影響があり、回避行動に出た可能性がある。よって、今後は0価鉄のシノブハネエラスピオに対する生化学的な影響を検討する必要がある。

一方、酸化鉄および酸化水酸化鉄については、シノブハネエラスピオに対する有意な影響は認められなかった。

Inoue and Hagino (2022)では、3種の鉄材 (0価鉄、酸化鉄、酸化水酸化鉄) を用いた堆積物からの硫化水素溶出抑制実験を行っており、酸化水酸化鉄が最も高い硫化水素溶出抑制効果を持つことが示されている。このように、効果やリスクは鉄材の形態によって大きく異なるため、鉄材を用いた環境改善等の施策においては、使用する材料 (形態) の選定についても十分に検討する必要がある。

また、アサリについては、本研究の範囲内では、リファレンスに対して有意な悪影響は認められなかった。しか

し、平均的には、リファレンスに対して低い生存率が示されたため、懸濁粒子等の物理的な影響も踏まえた検討を行う必要がある。さらに、1つの水槽では、1個体の死亡により全個体の斃死が誘発されたとみられる現象が認められた。このような連鎖的な斃死の現象は経験的には知られていたが、その原因について科学的に明らかにした報告は、著者の知る限りではない。したがって、このような現象を解明するための検討も求められる。

本稿は、底質改善剤として常用される酸化水酸化鉄等の場合には、多量に使用する場合でも、シノブハネエラスピオやアサリに対する影響は認められないことを示したものである。一方、0価鉄を環境改善目的で使用する可能性は低いと思われるが、多量に海域へ投入する場合には汎存種に影響を与える可能性を指摘するものである。したがって、現場沿岸域において鉄材を使用する際の注意点として、使用する鉄材の量のみならず、形態についても留意する必要があることを強調したい。そのうえで、環境改善施策などにおいては、未知の影響の可能性を踏まえ、注意深く事前・事後調査を行うことを推奨したい。

(2025年4月17日受付)

謝辞

本研究の遂行にあたり、高伏剛氏(株式会社東京久栄)には多大なる技術的支援を受けた。本研究の一部は、鉄鋼環境基金から助成を受けた。ここに記して謝意を記す。

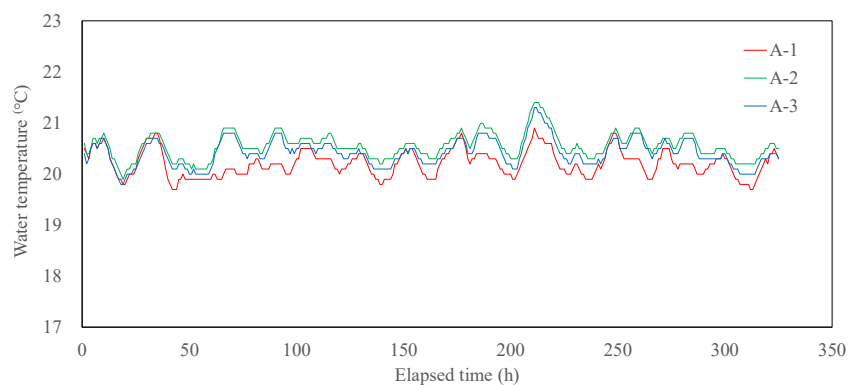
参考文献

- 伊串達夫(2013): レーザ回折/散乱法による粒子径計測の演算精度向上に関する研究. Horiba Technical Reports, 40, 69-73.
- 柿野純(1986): 東京湾奥部における貝類への死事例 特に貧酸素水の影響について. 水産土木, 23(1), 41-47.
- 環境省(2012): 底質調査方法
- 玉井恭一(1982): 大阪湾におけるスピオ科の多毛類 *Paraprinospio* sp. (A型) 個体群の季節変動と成長. 日本水産学会誌, 48(3), 401-408.
- 高橋哲夫(1976): 都市下水処理水のアサリにおよぼす影響について. 千葉県水産試験場研究報告, 35, 1-3.
- 土壤養分測定法委員会編(1970): 土壤養分分析法(第1版). 日本水産資源保護協会. (2020). アンモニア態窒素. 水産用水基準. 11p.
- 沼田哲始・宮田康人・豊田恵聖・佐藤義夫・小田静(1999): 製鋼スラグの底質改善への適用性. 日本海水学会誌, 53(4), 283-294.
- 橋口晴穂・市川哲也・田口浩一・今尾和正・曾根亮太・和

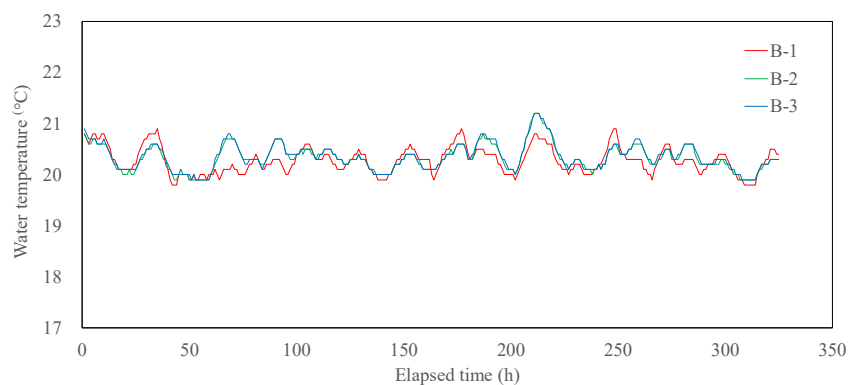
- 久光靖・鈴木輝明・中田喜三郎・高倍昭洋(2017): 貧酸素水塊の動態に応じたマクロベントスの斃死と回復を表現した底生生態系モデルの開発—三河湾を例として—. 海洋理工学会誌, 23(1), 21-35.
- 林勇夫(2001): 多毛類生態学の最近の進歩 (32) 多毛類と人間の関わり (2). 海洋と生物, 23(6), 617-621.
- 細川恭史・堀江毅(1989): ヨツバネスピオの貧酸素耐性と内湾海底における夏期無生物域の発生条件. 港湾技研資料, 643, 1-39.
- 宮田康人・本田秀樹・藪田和哉・林明夫・山本民次(2011): 製鋼スラグ製品を用いた藻場・魚礁マウンドへの生物着生. 土木学会論文集 B3 (海洋開発), 67(2), I_394-I_399.
- 山本光夫・福嶋正巳・劉丹(2011): 製鋼スラグを利用した藻場再生技術における腐植物質の鉄溶出への影響. 鉄と鋼, 97(3), 159-164.
- 和久光靖・向井良吉・蒲原聡・本田是人・高倍昭洋(2013): 三河湾のデッドゾーンにおける環境悪化機構. 愛知県水産試験場研究報告, 18, 1-11.
- Auffan, M., Achouak, W., Rose, J., Roncato, M.-A., Chaneac, C., Waite, D. T., Masion, A., Woicik, J. C., Wiesner, M. R., and Bottero, J.-Y. (2008): Relation between the redox state of iron-based nanoparticles and their cytotoxicity toward *Escherichia coli*. Environmental Science & Technology, 42(17), 6730-6735.
- Bakker, E. S., Van Donk, E., and Immers, A. K. (2016): Lake restoration by in-lake iron addition: a synopsis of iron impact on aquatic organisms and shallow lake ecosystems. Aquatic Ecology, 50(1), 121-135.
- Beutel, M. W., Leonard, T. M., Dent, S. R., and Moore, B. C. (2008): Effects of aerobic and anaerobic conditions on P, N, Fe, Mn, and Hg accumulation in waters overlaying profundal sediments of an oligo-mesotrophic lake. Water Research, 42(8-9), 1953-1962.
- Biesinger, K. E., and Christensen, G. M. (1972): Effects of various metals on survival, growth, reproduction, and metabolism of *Daphnia magna*. Journal of the Fisheries Research Board of Canada, 29(12), 1691-1700.
- Bury, N., and Grosell, M. (2003): Iron acquisition by teleost fish. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 135(2), 97-105.
- Clesceri, L. S., Greenberg, A. E., and Eaton, A. D. (1998): Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. APHA, AWWA, and WEF.
- Dean, H. K. (2008): The use of polychaetes (Annelida) as

- indicator species of marine pollution: a review. *Revista de Biologia Tropical*, 56(4), 11–38.
- Firer, D., Friedler, E., and Lahav, O. (2008): Control of sulfide in sewer systems by dosage of iron salts: comparison between theoretical and experimental results, and practical implications. *Science of the Total Environment*, 392(1), 145–156.
- Froelich, P. N., Klinkhammer, G. P., Bender, M. L., Luedtke, N. A., Heath, G. R., Cullen, D., Dauphin, P., Hammond, D., Hartman, B. and Maynard, V. (1979): Early oxidation of organic matter in pelagic sediments of the eastern equatorial Atlantic: suboxic diagenesis. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 43(7): 1075-1090.
- Gemaque, T. C., D. P. da Costa, L. V. Pereira, and K. C. Miranda Filho (2019): Evaluation of iron toxicity in the tropical fish *Leporinus friderici*. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*, 18(2), 13436–13441.
- Gerhardt, A. (1992): Effects of subacute doses of iron (Fe) on *Leptophlebia marginata* (Insecta: Ephemeroptera). *Freshwater Biology*, 27(1), 79–84.
- Gerhardt, A. (1995): Joint and single toxicity of Cd and Fe related to metal uptake in the mayfly *Leptophlebia marginata* (L.)(Insecta). *Hydrobiologia*, 306(3), 229–240.
- Inoue, T., and Hagino, Y. (2022): Effects of three iron material treatments on hydrogen sulfide release from anoxic sediments. *Water Science and Technology*, 85(1), 305–318.
- Keller, A. A., Garner, K., Miller, R. J., and Lenihan, H. S. (2012): Toxicity of nano-zero valent iron to freshwater and marine organisms. *PLoS ONE*, 7(8), e43983.
- Kleeberg, A., Herzog, C., and Hupfer, M. (2013): Redox sensitivity of iron in phosphorus binding does not impede lake restoration. *Water Research*, 47(3), 1491–1502.
- Li, H., Zhou, Q., Wu, Y., Fu, J., Wang, T., and Jiang, G. (2009): Effects of waterborne nano-iron on medaka (*Oryzias latipes*): antioxidant enzymatic activity, lipid peroxidation and histopathology. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72(3), 684–692.
- Mello-Filho, A. C., and Meneghini, R. (1991): Iron is the intracellular metal involved in the production of DNA damage by oxygen radicals. *Mutation Research/ Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 251(1), 109–113.
- Mortimer, C. H. (1942): The exchange of dissolved substances between mud and water in lakes. *Journal of Ecology* 30(1): 147-201.
- Oshida, P. S., Word, L. S., and Mearns, A. J. (1981). Effects of hexavalent and trivalent chromium on the reproduction of *Neanthes arenaceodentata* (Polychaeta). *Marine Environmental Research*, 5(1), 41–49.
- Park, E., Cho, M., Ki, C.-S. (2009): Correct use of repeated measures analysis of variance. *The Korean Journal of Laboratory Medicine*, 29(1), 1–9.
- Peuranen, S., Vuorinen, P. J., Vuorinen, M., and Hollender, A. (1994): The effects of iron, humic acids and low pH on the gills and physiology of brown trout (*Salmo trutta*). *Annales Zoologici Fennici*, 31, 389–396.
- Poulton, S. W., Krom, M. D., Van Rijn, J., and Raiswell, R. (2002): The use of hydrous iron (III) oxides for the removal of hydrogen sulphide in aqueous systems. *Water Research*, 36(4), 825–834.
- Potvin, P. J., and Schutz, R. W. (2000): Statistical power for the two-factor repeated measures ANOVA. *Behavior Research Methods, Instruments, & Computers*, 32(2), 347–356.
- Randall, S., Harper, D., and Brierley, B. (1999): Ecological and ecophysiological impacts of ferric dosing in reservoirs. *Hydrobiologia*, 395–396, 355–364.
- Reish, D. J., and Gerlinger, T. V. (1997): A review of the toxicological studies with polychaetous annelids. *Bulletin of Marine Science*, 60(2), 584–607.
- Reish, D. J. (1980). The effect of different pollutants on ecologically important polychaete worms. *Environmental Research Laboratory, Office of Research and Development, US Environmental Protection Agency*.
- Saaltink, R. M., Dekker, S. C., Eppinga, M. B., Griffioen, J., and Wassen, M. J. (2017): Plant-specific effects of iron-toxicity in wetlands. *Plant and Soil*, 416(1), 83–96.
- Sharma, V. K., Smith, J. O., and Millero, F. J. (1997): Ferrate (VI) oxidation of hydrogen sulfide. *Environmental Science & Technology*, 31(9), 2486–2491.
- Stohs, S. J., and Bagchi, D. (1995): Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. *Free Radical Biology and Medicine*, 18(2), 321–336.

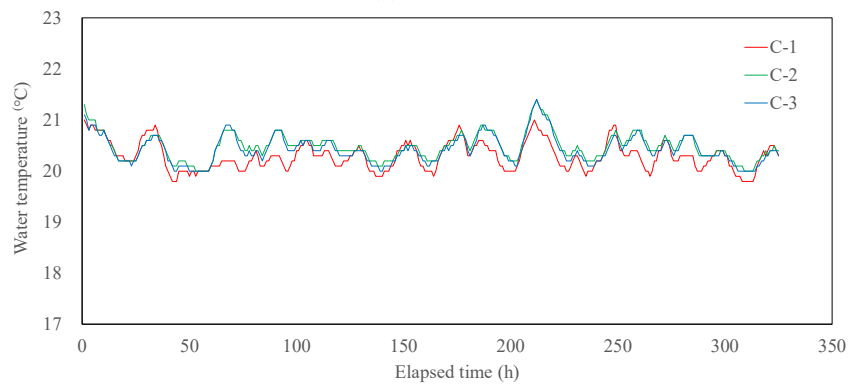
付録A シノブハネエラスピオの鉄材影響実験における水質監視結果



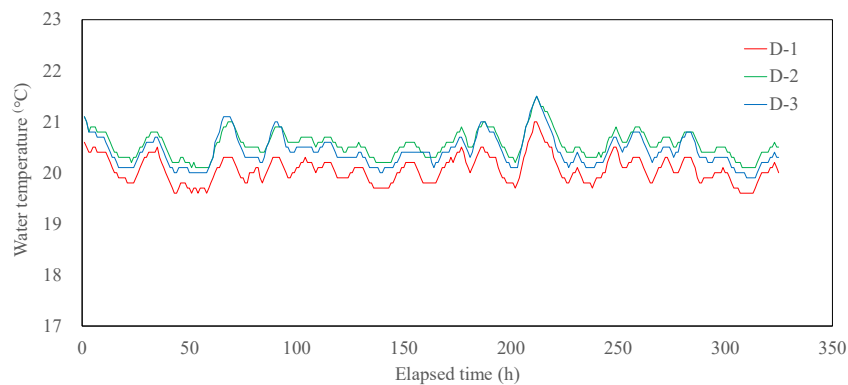
(a) 0 価鉄



(b) 酸化鉄

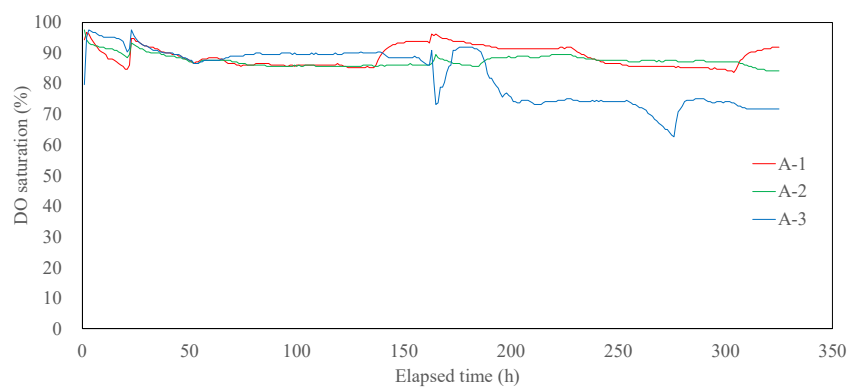


(c) 酸化水酸化鉄

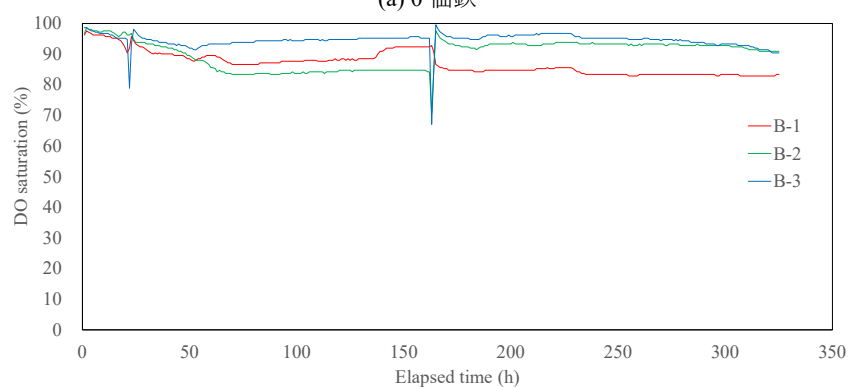


(d) 添加無し

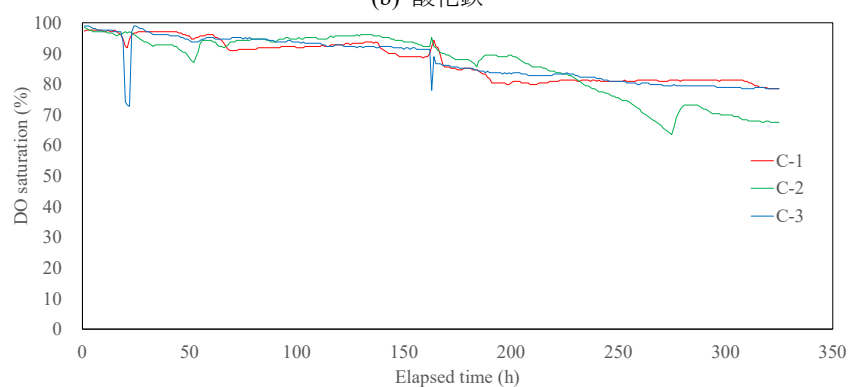
図-A.1 水温



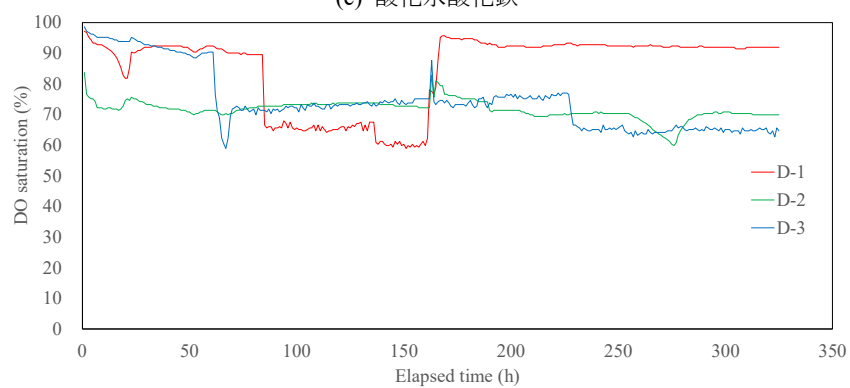
(a) 0 価鉄



(b) 酸化鉄



(c) 酸化水酸化鉄



(d) 添加無し

図-A.2 DO

表-A.1 pH, 溶解性鉄, 遊離硫化物

(a) pH

Elapsed time (d)	Zero valent iron			Iron oxide			Iron hydroxide			Control		
	A-1	A-2	A-3	B-1	B-2	B-3	C-1	C-2	C-3	D-1	D-2	D-3
0	8.26	8.23	8.20	8.13	8.19	8.22	8.05	8.19	8.12	7.90	8.09	8.15
7	8.42	8.40	8.40	8.28	8.17	8.23	8.18	8.17	8.16	8.21	8.15	8.15
14	8.38	8.38	8.41	8.24	8.31	8.44	8.11	8.31	8.25	8.25	8.22	8.21

(b) 溶解性鉄

Elapsed time (d)	Zero valent iron			Iron oxide			Iron hydroxide			Control		
	A-1	A-2	A-3	B-1	B-2	B-3	C-1	C-2	C-3	D-1	D-2	D-3
0	0.28	0.27	0.23	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2
7	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2
14	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2

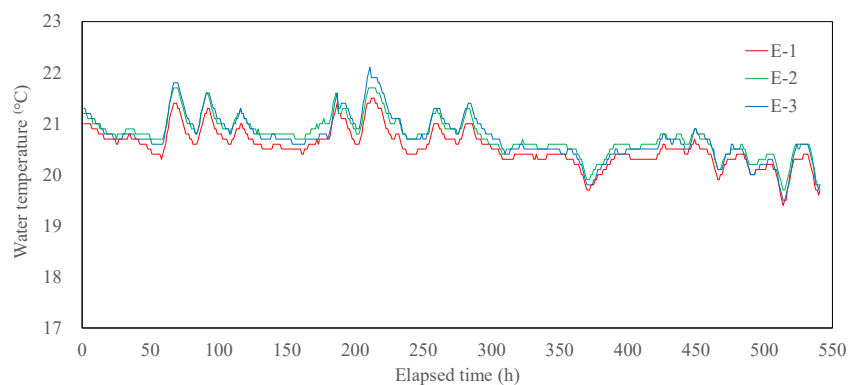
※ <0.2 は検出限界以下を表す.

(c) 遊離硫化物

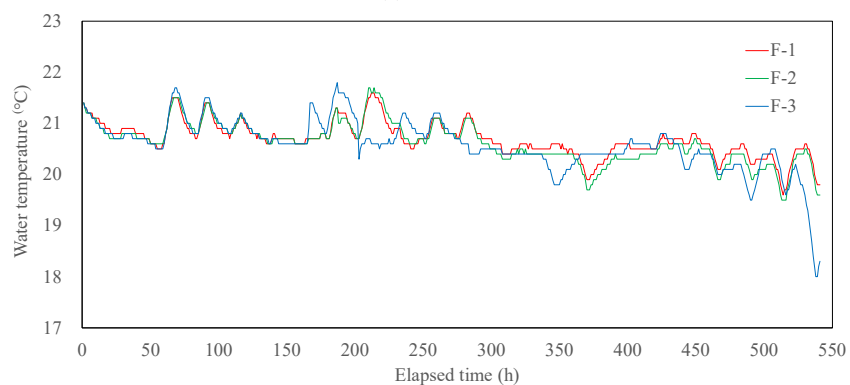
Elapsed time (d)	Zero valent iron			Iron oxide			Iron hydroxide			Control		
	A-1	A-2	A-3	B-1	B-2	B-3	C-1	C-2	C-3	D-1	D-2	D-3
0	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
7	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
14	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1

※ <0.1 は検出限界以下を表す.

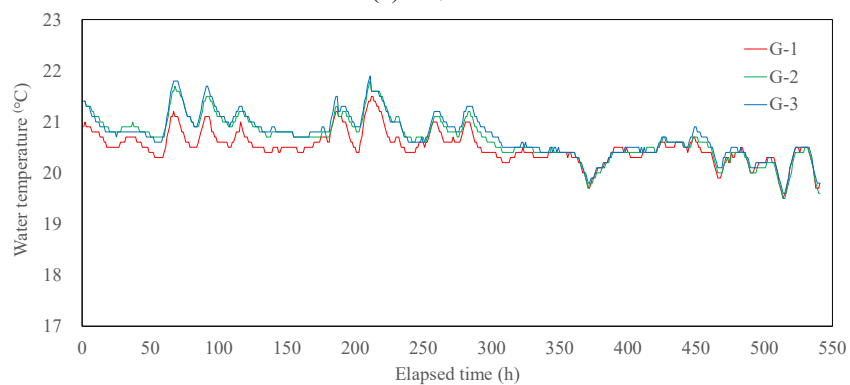
付録B アサリの鉄材影響実験における水質監視結果



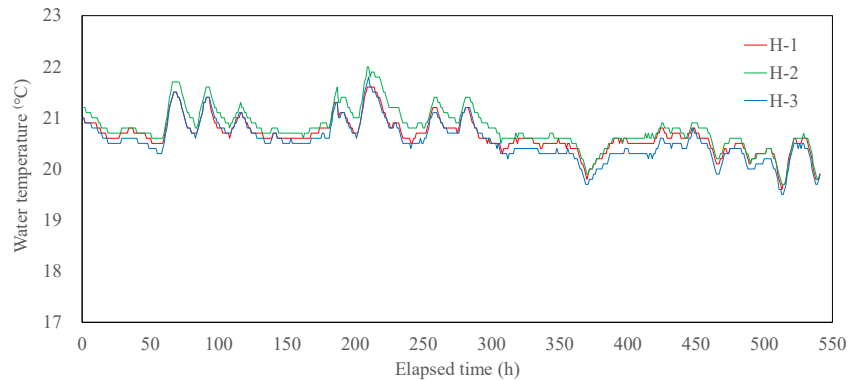
(a) 0 価鉄



(b) 酸化鉄

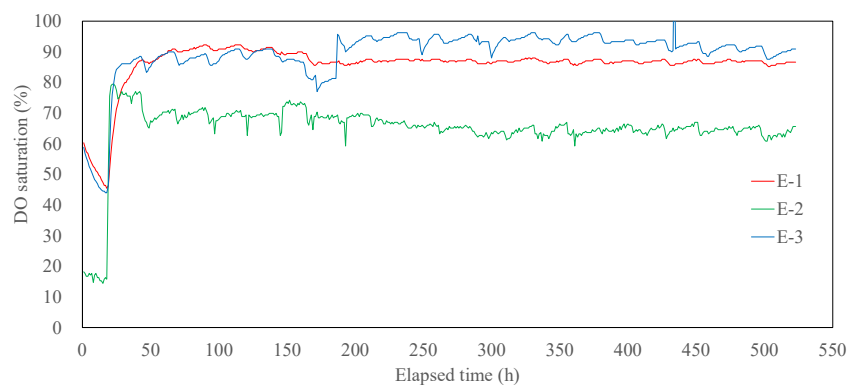


(c) 酸化水酸化鉄

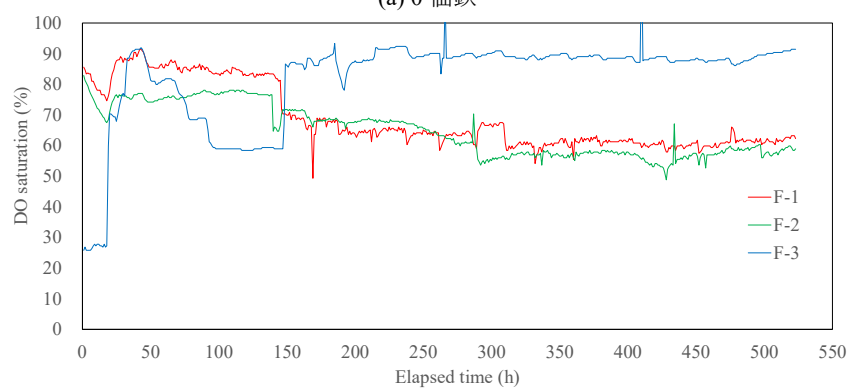


(d) 添加無し

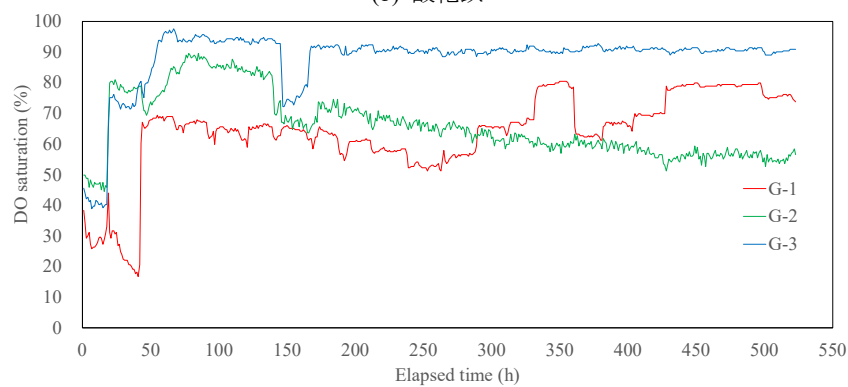
図-B.1 水温



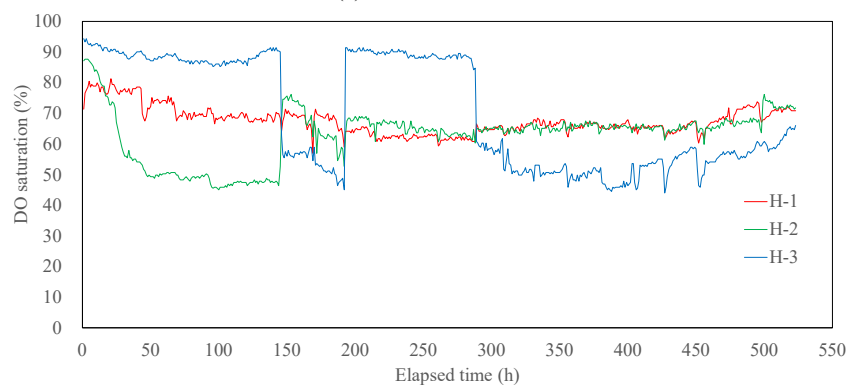
(a) 0 価鉄



(b) 酸化鉄



(c) 酸化水酸化鉄



(d) 添加無し

図-B.2 DO

表-B.1 pH, 溶解性鉄, 遊離硫化物

(a) pH

Elapsed time (d)	Zero valent iron			Iron oxide			Iron hydroxide			Control		
	E-1	E-2	E-3	F-1	F-2	F-3	G-1	G-2	G-3	H-1	H-2	H-3
0	8.07	8.11	8.12	8.15	8.15	8.15	7.95	8.00	8.00	8.15	8.13	8.12
7	8.14	8.14	8.14	8.14	8.16	8.15	8.13	8.13	8.11	8.17	8.13	8.13
14	8.09	8.10	8.08	8.11	8.14	8.10	8.09	8.09	8.08	8.13	8.13	8.10
21	8.08	8.07	8.09	8.09	8.08	8.10	8.09	8.08	8.07	8.08	8.08	8.08

(b) 溶解性鉄

Elapsed time (d)	Zero valent iron			Iron oxide			Iron hydroxide			Control		
	E-1	E-2	E-3	F-1	F-2	F-3	G-1	G-2	G-3	H-1	H-2	H-3
0	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2
14	0.54	0.42	0.31	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2
21	0.26	0.21	0.25	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2

※ <0.2 は検出限界以下を表す.

(c) 遊離硫化物

Elapsed time (d)	Zero valent iron			Iron oxide			Iron hydroxide			Control		
	E-1	E-2	E-3	F-1	F-2	F-3	G-1	G-2	G-3	H-1	H-2	H-3
0	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
14	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
21	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1

※ <0.1 は検出限界以下を表す.

付録C シノブハネエラスピオの鉄材影響実験における底質分析結果

(1) pH

多重比較検定 (Scheffe's F test) の結果, pH について, 実験区間の有意差は無かった.

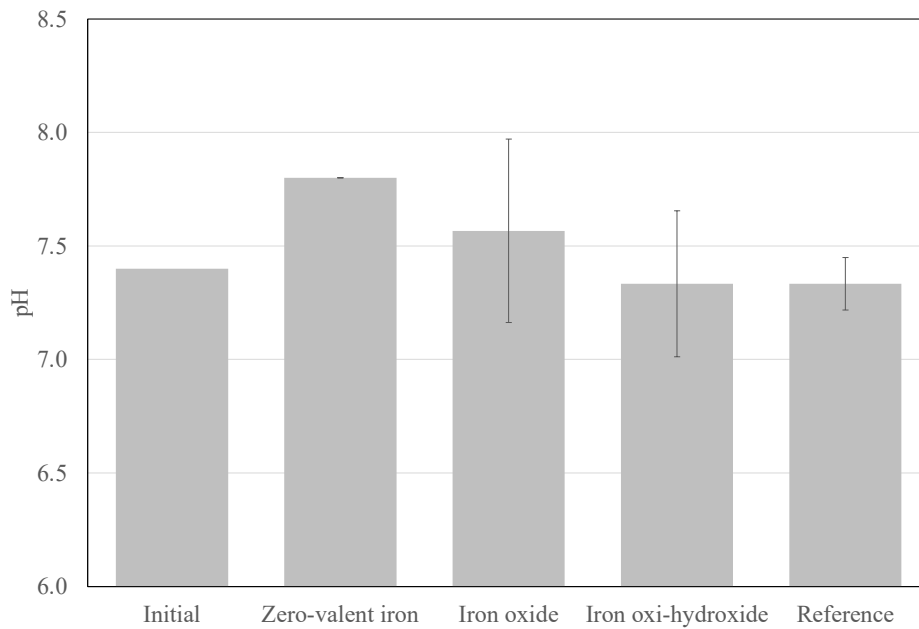


図-C.1 底質分析結果 (pH)

(2) ORP

ORP について, 実験区間の有意差は無かった.

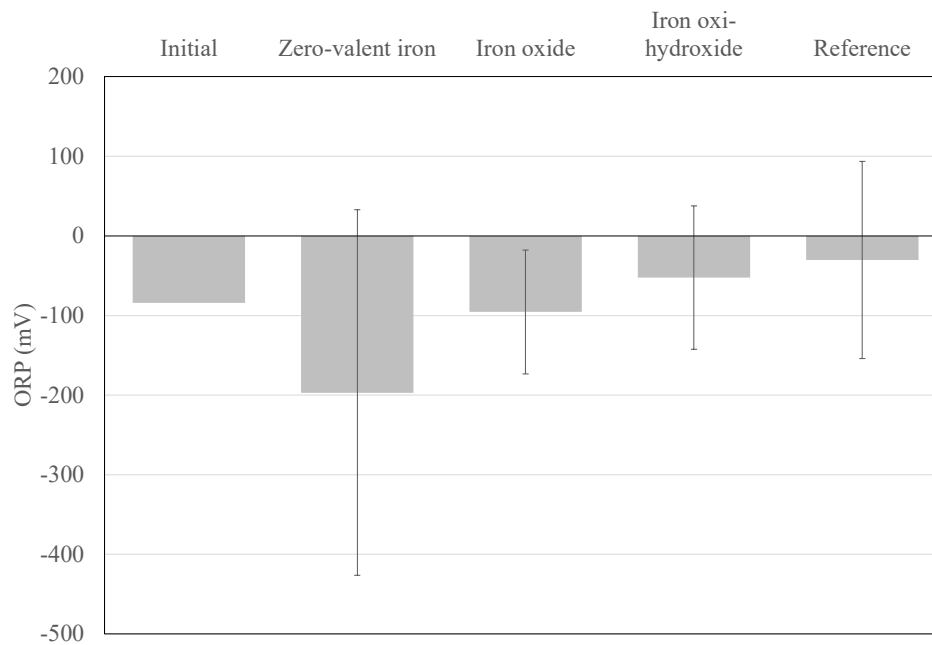


図-C.2 底質分析結果 (ORP)

(3) 含水率

含水率について、実験区間の有意差は無かった。

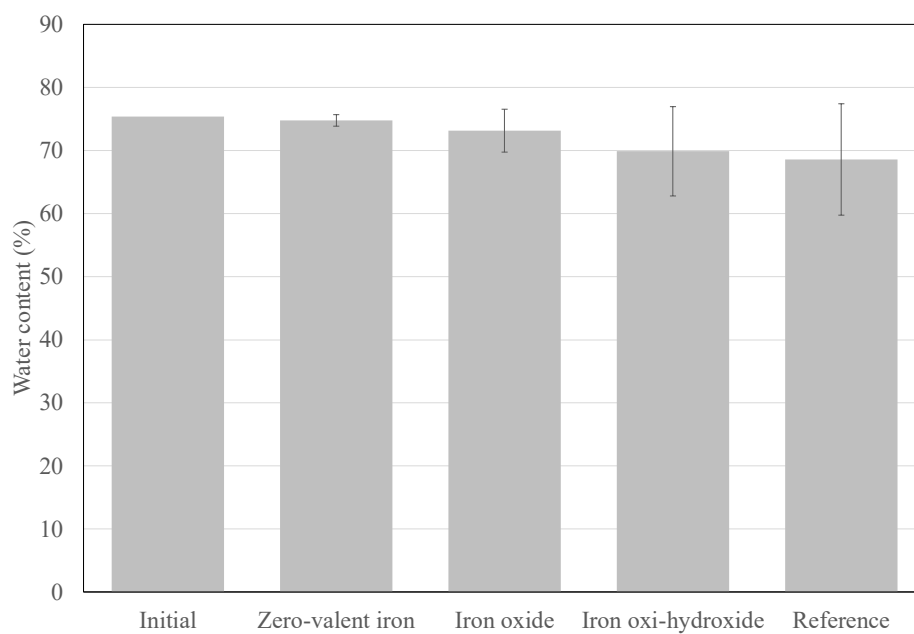


図-C.3 底質分析結果（含水率）

(4) 強熱減量

強熱減量について、実験区間の有意差は無かった。

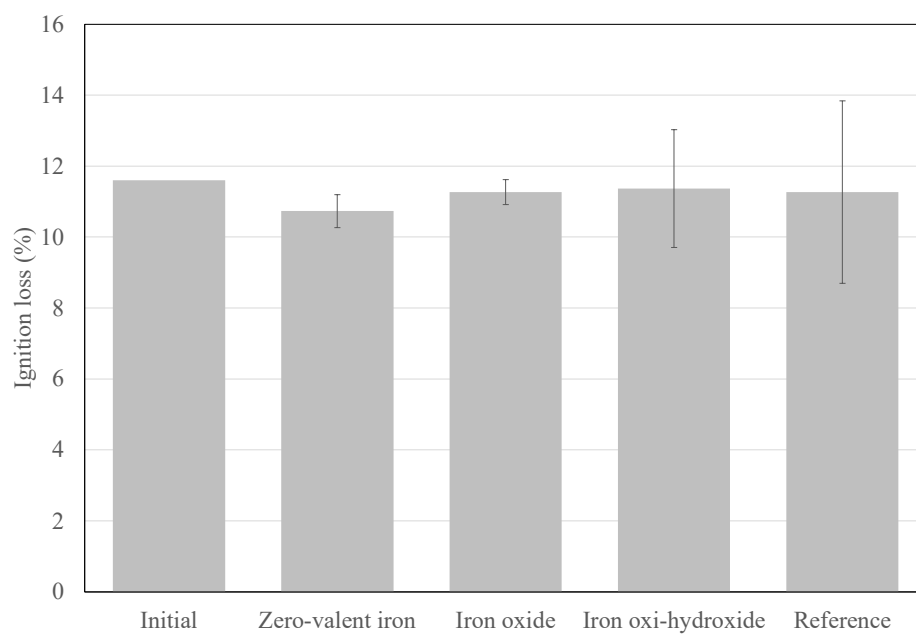


図-C.4 底質分析結果（強熱減量）

(5) TOC

TOC について，実験区間の有意差は無かった．

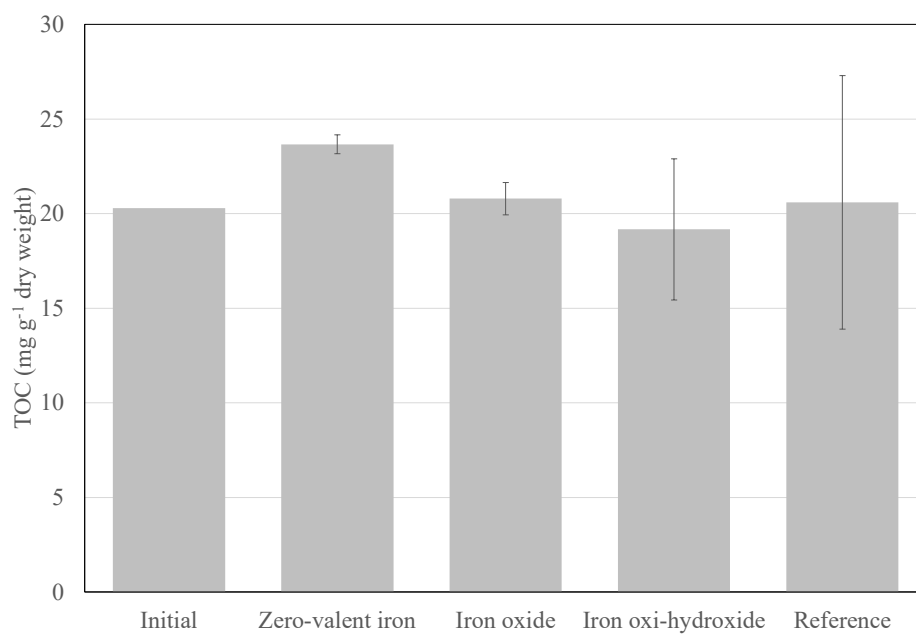


図-C.5 底質分析結果 (TOC)

(6) COD

COD について，実験区間の有意差は無かった．

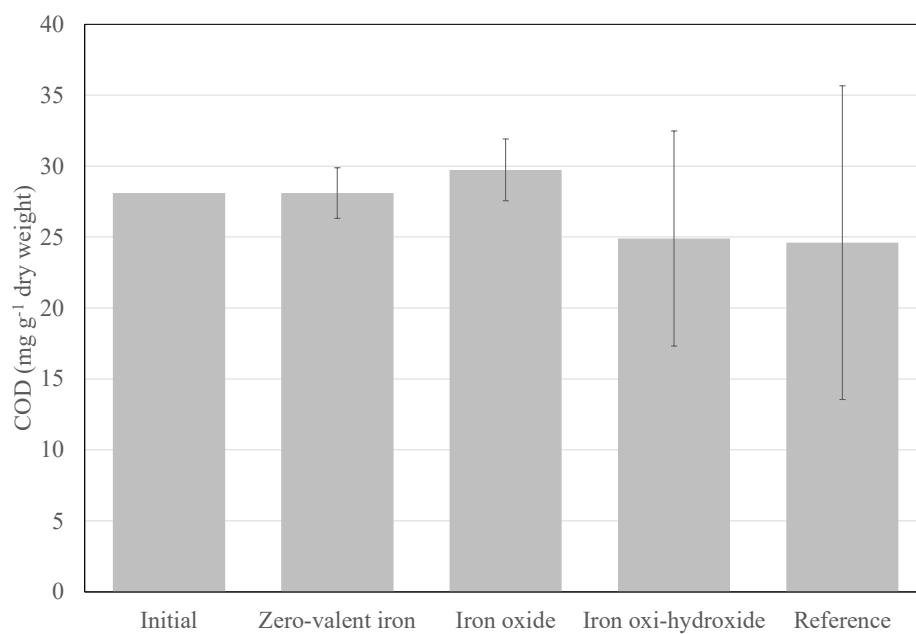


図-C.6 底質分析結果 (COD)

(7) 全硫化物

全硫化物について、鉄粉添加区は他の試験区に比べて有意に高かった ($p<0.05$) .
鉄が底質中の硫化水素と結合し、硫化鉄を生成した可能性がある.

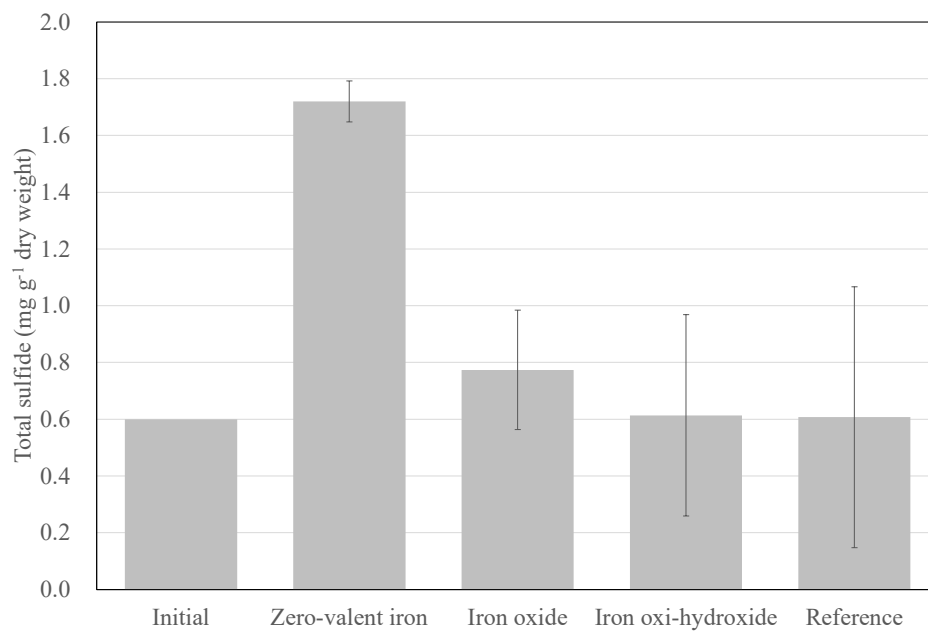


図-C.7 底質分析結果 (全硫化物)

(8) 全窒素

全窒素について、実験区間の有意差は無かった.

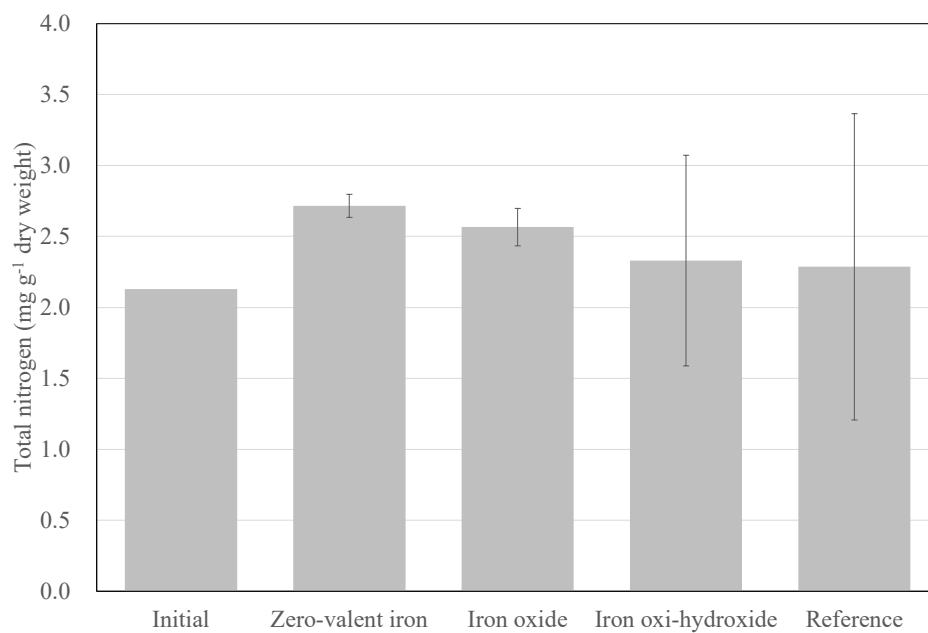


図-C.8 底質分析結果 (全窒素)

(9) 全リン

全リンについて、実験区間の有意差は無かった。鉄粉添加区でやや高く、鉄が試料中のリンを吸着した可能性がある。

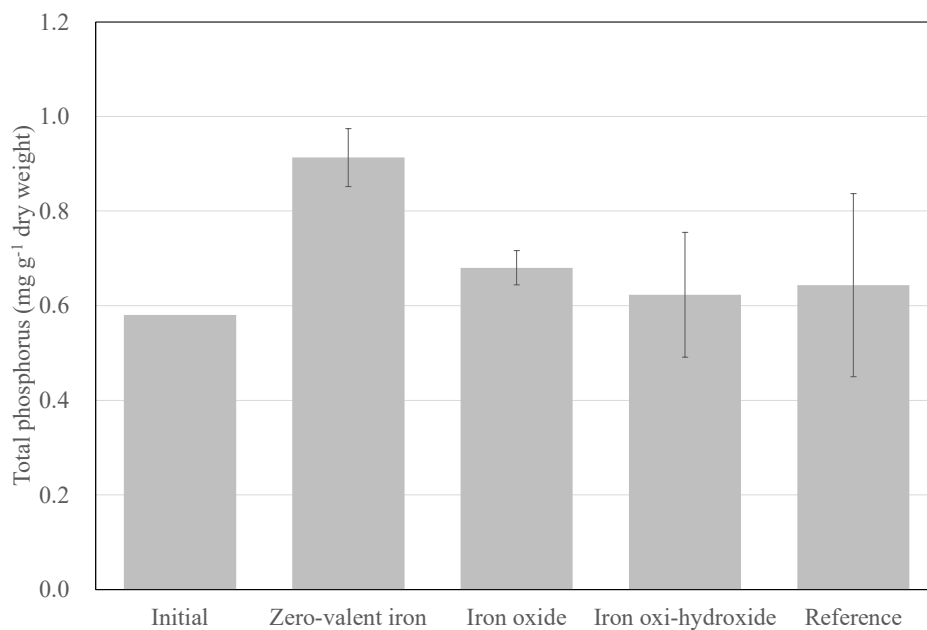


図-C.9 底質分析結果（全リン）

(10) 全鉄

全鉄について、鉄粉添加区、酸化鉄添加区、酸化水酸化鉄添加区は対照区（添加無し）に比べて有意に高かった（ $p<0.01$ ）。鉄材添加により、添加区の鉄含有量が高くなったと考えられる。

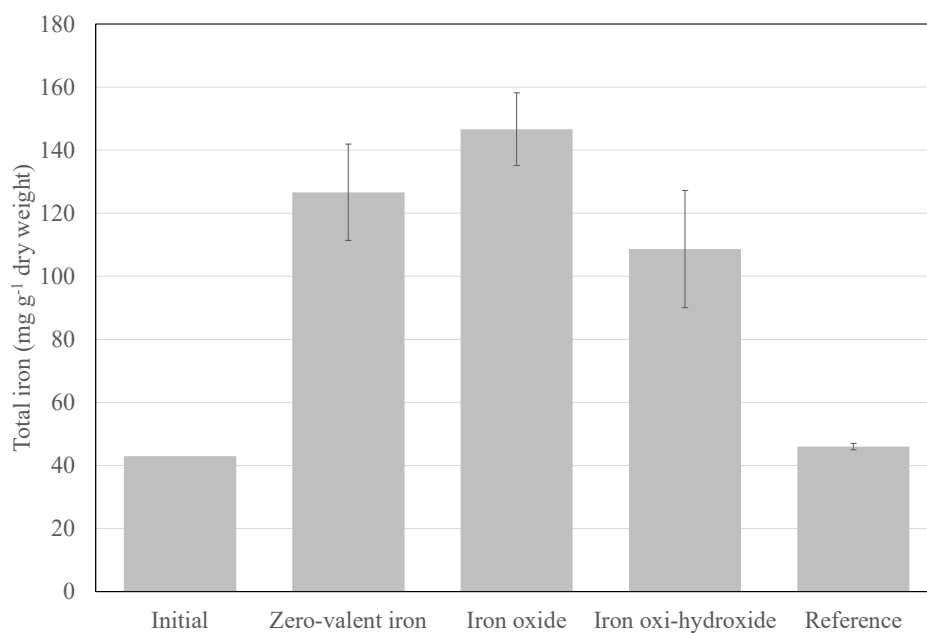


図-C.10 底質分析結果（全鉄）

(11) 全マンガン

全マンガンについて、鉄粉添加区及び酸化鉄添加区は酸化水酸化鉄添加区及び対照区（添加無し）に比べて有意に高かった（ $p<0.01$ ）。また、酸化鉄添加区は鉄粉添加区に比べて有意に高かった（ $p<0.05$ ）

由来は各鉄剤の含有成分の可能性がある。鉄は和光純薬工業の試薬、「鉄粉」を使用しており、純度は 89%である。酸化水酸化鉄は関東化学の試薬「酸化水酸化鉄」を使用しており純度は 98.4%である。酸化鉄は製鉄の酸洗工程で出た「酸洗くず」を使用しており純度は不明である。なお、試薬情報にはマンガンの含有量は記載されていなかった。

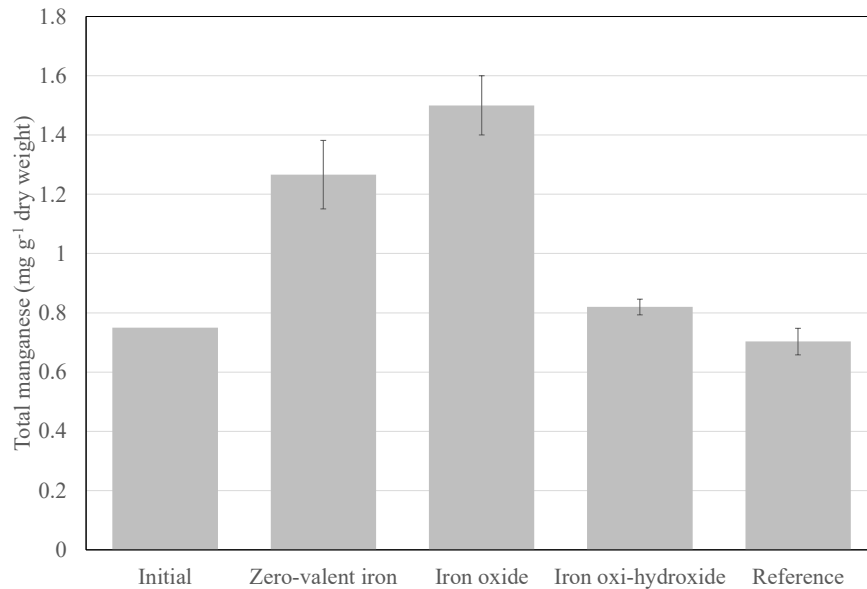


図-C.11 底質分析結果（全マンガン）

(12) 二価鉄

二価鉄について、鉄粉添加区は他の試験区に比べて有意に高かった（ $p<0.01$ ）。このことから鉄粉添加により、底質中に二価鉄が生じており、他の酸化鉄、酸化水酸化鉄では同様の現象が起こっていなかったことが分かる。鉄粉添加区は他の試験区に比べてやや還元的だったが、A-2 以外の ORP は他の試験区と同等であり、鉄粉の性質として二価鉄を生じやすい可能性がある。

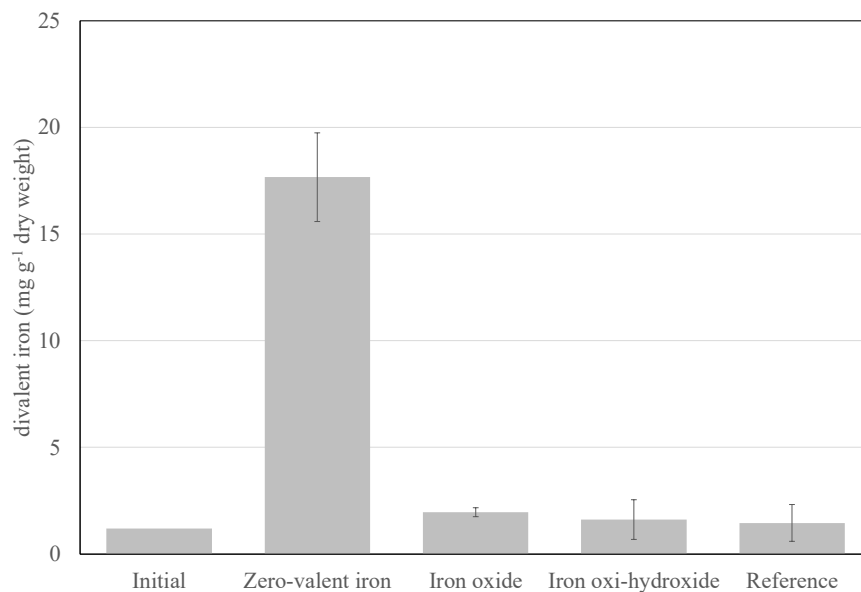


図-C.12 底質分析結果（二価鉄）

(13) 粒度組成

50%粒径について、実験区間の有意差は無かった。

粒径加積曲線についても、いずれの結果もほぼ同等であった。

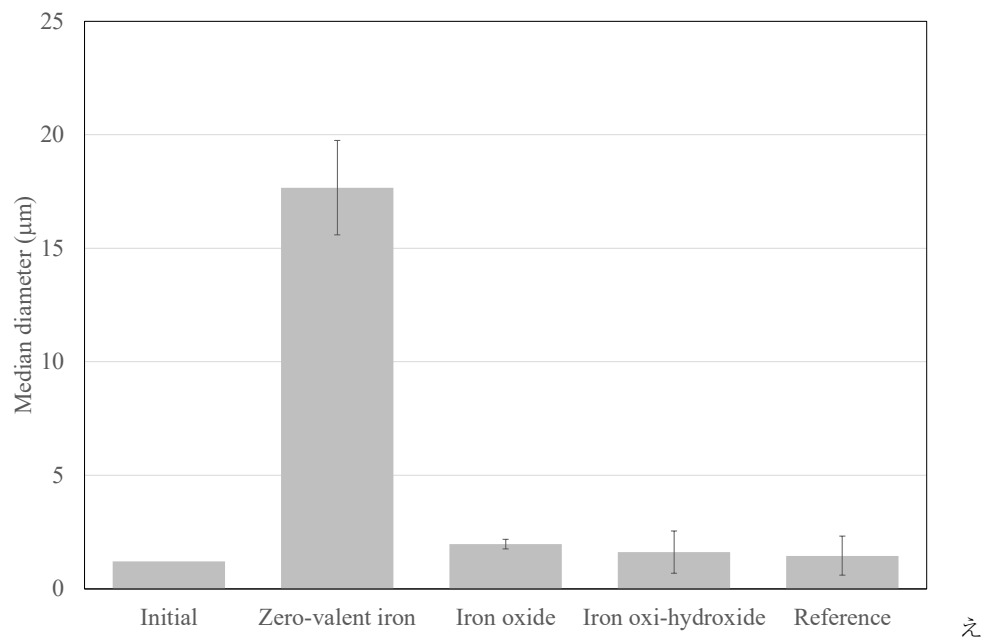


図-C.13 底質分析結果 (50%粒径)

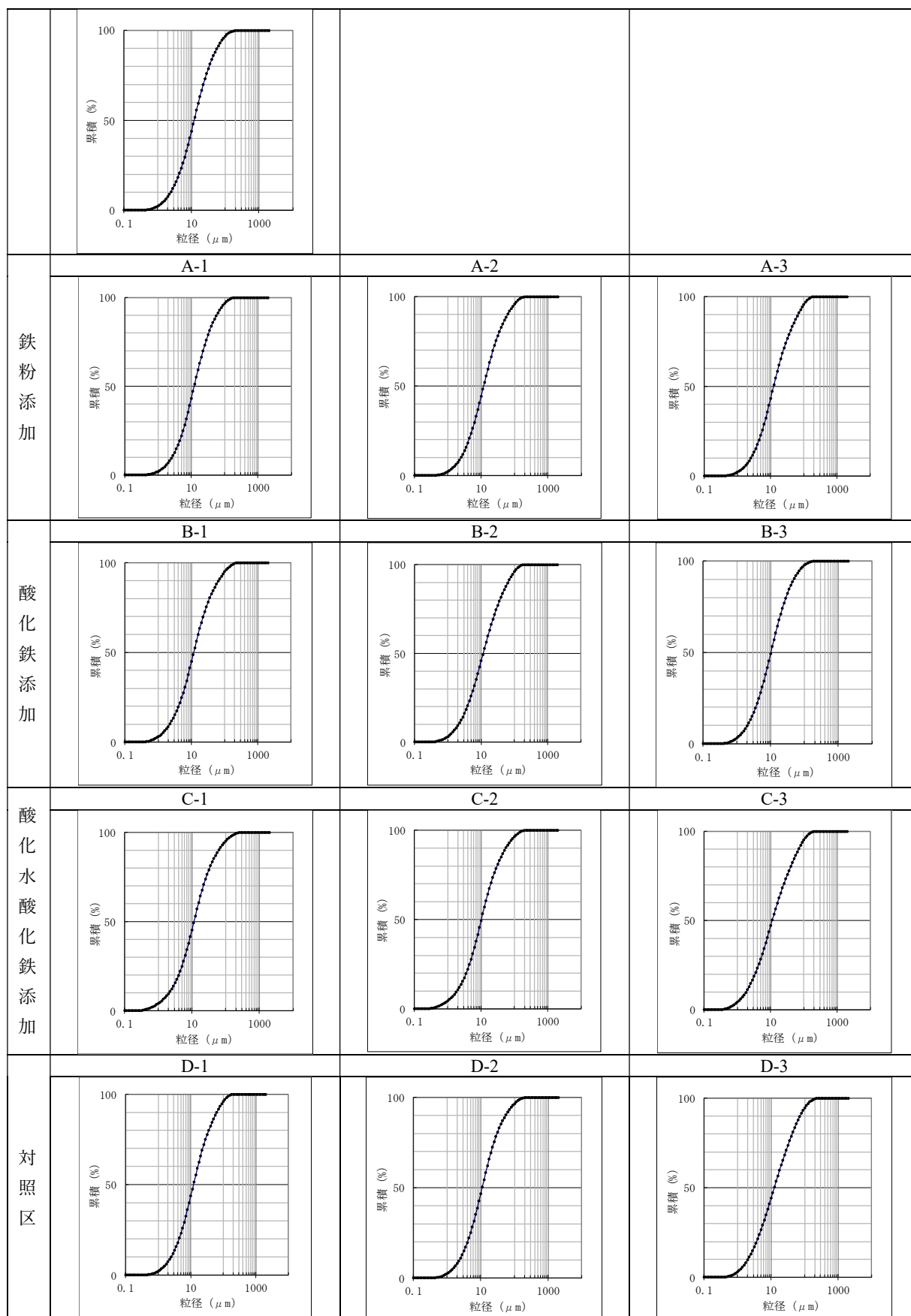


図-C.14 底質分析結果 (粒度組成)

(14) 底質分析結果の項目間の相関

表-C.1 底質分析結果の項目間の相関係数

	pH	ORP	含水率	強熱減量	TOC	CODsed	全硫化物	全窒素	全リン	全鉄	全マンガ	二価鉄
pH	1											
ORP	-0.55 *	1										
含水率	0.58 *	-0.32	1									
強熱減量	0.17	-0.13	0.73 **	1								
TOC	0.49 *	-0.36	0.85 **	0.74 **	1							
CODsed	0.46	-0.26	0.89 **	0.82 **	0.81 **	1						
全硫化物	0.78 **	-0.51 *	0.66 **	0.21	0.73 **	0.55 *	1					
全窒素	0.54 *	-0.35	0.89 **	0.83 **	0.94 **	0.90 **	0.67 **	1				
全リン	0.70 **	-0.33	0.70 **	0.41	0.86 **	0.62 *	0.93 **	0.79 **	1			
全鉄	0.43	0.11	0.30	-0.06	0.15	0.27	0.40	0.30	0.39	1		
全マンガ	0.55 *	-0.10	0.39	-0.08	0.27	0.35	0.47	0.34	0.44	0.87 **	1	
二価鉄	0.61 *	-0.39	0.34	-0.15	0.49 *	0.16	0.90 **	0.33	0.81 **	0.36	0.40	1

*:p<0.05, **:p<0.01