

牡蠣を用いた有明海沿岸の化学汚染浄化技術の開発

Bioremediation Potentials of Oysters in Aquatic Environment Contaminated by Persistent Toxic Compounds

中田晴彦¹・豊崎康暢²・涌田智美²・滝川清³

Haruhiko NAKATA, Yasuaki TOYOSAKI, Tomomi WAKUDA and Kiyoshi TAKIKAWA

Uptake and depuration of polychlorinated biphenyls (PCBs) and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) were examined in oysters to evaluate their bioremediation potential of water and sediment contaminated by persistent organic pollutants. The concentrations of PCBs and PAHs in oysters increased during a six-week field exposure, and the levels declined significantly during a six-week cultivation in the unpolluted seawater. Based on the difference of the concentrations, it is estimated that oysters have the ability to remove contaminants in water and sediment at a rate of 1.4-1.5 mg for PCBs, 22 mg for PAHs. These results imply that oysters may be suitable bioremediators of persistent pollutants in the aquatic environment.

1. はじめに

近年、有明海では漁獲量の減少や赤潮発生など様々な環境異変が顕在化しており、その要因として海岸線の人工化、海底の泥化や干潟の面積縮小に伴う栄養塩浄化機能の低下などの物理的变化に加え、農業や有害化学物質による海洋汚染の影響が指摘されている。著者らは有明海沿岸の22地点で汚染調査を行ったところ、大牟田川河口の貝類から高濃度のポリ塩化ビフェニル (PCB) と多環芳香族炭化水素 (PAH) が検出され、重度の化学汚染の存在を確認した (中田ら, 2004)。現在も本河川を経由して相当量の化学物質が有明海に流入していると考えられ、大牟田川の水質および底質の汚染浄化は早急に取り組むべき課題といえる。

水環境中の汚染浄化・修復には、物理化学的手法と生物学的手法の二種類がある。前者は大型の重機で浚渫した汚染底質をプラントへ搬送し、熱化学的に分解する方法で、有害物質はほぼ100%分解・除去される。ところが、処理費用が莫大でエネルギー消費が大きいこと、さらに生態系を破壊するなど多くの問題が発生する。一方、後者は動物や植物を利用するため、処理時間が長くその能力に一定の限界があるものの、安価で環境負荷の少ない汚染浄化技術として、実用化に向けた調査研究が世界中で行われている。とくに、微生物による汚染土壌中のダイオキシンやPAHの好氣的分解や脱塩素化に関する研究が進行している。ところが、脂溶性が高く四塩素化

以上のダイオキシン類の場合、微生物による分解例はほとんどなく、PAHについても四以上の芳香環を有する物質を除去可能な動植物の報告は少ないのが現状で、従来とは異なる視点での調査研究が求められている。

貝類は、汚染水域において有害な化学物質を蓄積・濃縮する一方、非汚染域ではそれを体外に排出することが知られている。貝類を用いた水環境中の汚染浄化の例は、これまでに栄養塩や重金属を対象にしたものが報告されている。オーストラリア東岸の真珠貝の場合、真珠を採集することで結果的に重金属と窒素態をそれぞれ703g, 7,425g (真珠貝一トンあたり) 除去している (Gifford ら, 2006)。ところが、環境中で分解され難く、生物に対し強い毒性を示す有機化学物質を対象にこの種の研究が行われた例はなく、貝類の汚染浄化力とその可能性はよく分かっていない。

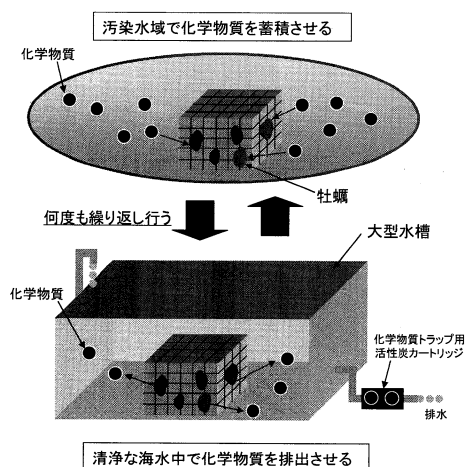


図-3 牡蠣による化学物質浄化メカニズム

- | | |
|------------|------------------------|
| 1 非会員 博(農) | 熊本大学准教授 大学院自然科学研究科 |
| 2 非会員 | 熊本大学大学院自然科学研究科 |
| 3 フェロー 工博 | 熊本大学教授 沿岸域環境科学教育研究センター |

そこで本研究は、貝類（牡蠣）の特異な化学物質の蓄積・排出機構を利用して、水環境中の難分解性化学物質を回収、除去する技術の開発を目的とした（図-1）。調査対象の化学物質には、難分解で生物蓄積性および毒性の高い有機塩素化合物のポリ塩化ビフェニル（PCB）と、発ガン性が指摘される多環芳香族炭化水素（PAH）を選択し、有明海沿岸の大牟田川を中心に実証試験を行った。

2. 試料と方法

実験のスキーム：2006年10月～12月（冬季）にかけて、熊本県内の非汚染水域（天草下島）より採集した牡蠣をプラスチック製のカゴに入れ、実験区（福岡県大牟田川河口）と対照区（熊本県唐人川河口）でそれぞれ4週間飼育した（図-2, 3）。その後、大牟田川の飼育カキを2グループに分け、清浄な天然海水または人工海水を満たした水槽で4週間飼養して体内の化学物質を排出させた。実験期間中、1週間毎に数個の牡蠣を採集して PCB と PAH の分析を行い、これらの蓄積と排出パターンを経時的・定量的に把握した。得られた結果から、牡蠣の汚染物質除去能力を推定し、水環境浄化の指標種としての適性を検討した。また、2007年5月～8月（夏季）に、牡蠣の飼育期間を蓄積・排出ともに6週間に延長して冬季と同様の実験を行い、濃度値の季節変動を解析した。

物質の定性・定量を行った。分析精度を確認するため、試料抽出液に PCB、PAH の安定同位体をそれぞれ加えて実験を行い回収率を調べたところ、いずれの物質も80%以上の値を示し、本分析法の測定値の信頼性が確認された。

牡蠣試料の採取（熊本県天草市）



牡蠣籠の設置（大牟田川）



天然海水で飼育中（熊本大学マリンステーション）

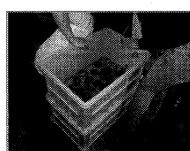


図-3 実験の様子

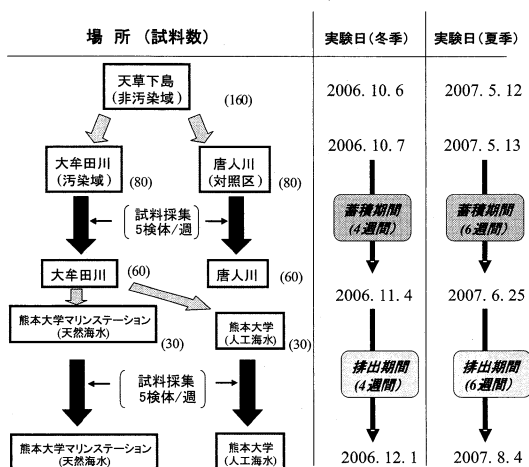


図-2 実験の概要

化学分析：PCB と PAH の分析は既法に従って行った（Nakata ら, 2003）。牡蠣の柔組織を採集し、約5グラムを無水硫酸ナトリウムで脱水後、有機溶媒（ジクロロメタン：ヘキサン混合溶液）でソックスレーまたは高速溶媒抽出を行った。抽出液を濃縮後、夾雑物を除去するためゲル濾過（Biobeads SX-3；バイオラット社製）とシリカゲルカラムの順でクリーンアップして、ガスクロマトグラフ質量分析装置（GC-MS；Agilent 社製）で目的

3. 結果と考察

(1) PCB

濃度変化：分析の結果、全ての牡蠣試料から PCB が検出された。冬季に行った実験では、実験開始時に4.3 ng/g（湿重あたり）であった牡蠣の PCB 濃度は、大牟田川で4週間飼育後に16 ng/g まで上昇した（図-4）。一方、対照区の唐人川で飼育したカキの PCB 濃度は2.0 ng/g と低値を示し、大牟田川での顕著な PCB 汚染源の存在が示唆された。また、大牟田川の飼育牡蠣を天然海水および人工海水で4週間飼育したところ、PCB 濃度はそれぞれ1.1 ng/g、3.2 ng/g に低下した。以上の結果は、牡蠣が大牟田川の水環境中の PCB を吸収・排出するポンプの役割を果たしたことを示している。また、牡蠣は人工海水で1ヶ月程度飼育可能であること、化学物質の排出量に海水間の違いは少ないことが確認された。実験期間中の牡蠣の生存率は90%以上であり、本種が大牟田川における水環境浄化の指標生物になり得る可能性が窺えた。

大牟田川で4週間飼育した牡蠣の PCB 濃度は、実験期間中で最高値を示したが、飼育期間の延長に伴いさらに濃度が上昇する可能性がある。また、貝類は産卵により PCB を体外に排出することが知られているが、産卵期

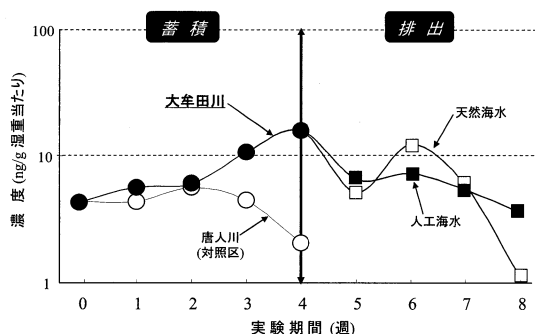


図-4 牡蠣における PCB の蓄積・排出特性 (冬季)

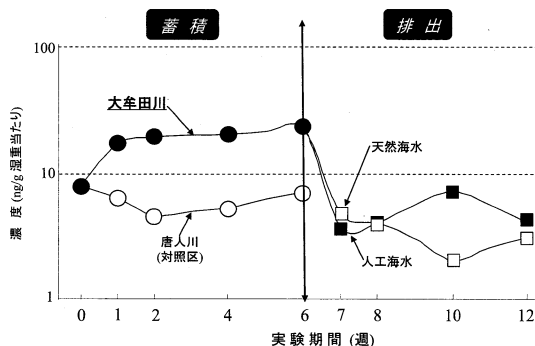


図-5 牡蠣における PCB の蓄積・排出特性 (夏季)

の5月～8月(夏季)に同様の実験を行うと、汚染物質の蓄積・排出量が冬季のそれと異なることが考えられる。牡蠣を用いた環境浄化技術は通年で実施することを考えており、それには化学物質濃度の季節的な変動を把握することが重要である。このため、2007年5月～8月に化学物質の蓄積および排出期間をそれぞれ6週間に延長して同様の実験を行った(図-5)。

実験開始時の PCB 濃度は 7.5 ng/g で、大牟田川に飼育1週間後には 16 ng/g まで上昇した。その後、6週目まで緩やかな濃度上昇 (21 ng/g) が見られたが、概ね4週間の飼育期間で牡蠣の PCB 濃度はほぼ平衡に達することがわかった。一方、大牟田川の飼育牡蠣を天然海水および人工海水に移植したところ、1週間後に PCB 濃度はそれぞれ 3.5 ng/g、4.5 ng/g に減少した。さらに6週間飼育後の PCB 濃度は 3.0、3.9 ng/g であり、排出1週間後とほぼ同じ水準を示した。冬季の実験においても、汚染物質の排出は移植後1週目に大幅な濃度減少が観察され、その後の下げ幅は小規模になっている。以上の結果から、牡蠣の PCB 蓄積は冬季が夏季に比べやや遅いものの、4週間の飼育期間を確保すれば同様の効率が得られることがわかった。PCB の排出については、季節に関係なく移植後1週間でほぼ低い濃度水準で推移することが明らかになった。すなわち、本技術は大牟田川で4週間飼育

後、清浄海水で1週間飼育することを通年行うことで効率の良い汚染除去が行えることがわかった。

組成変化: PCB はビフェニル骨格に塩素の置換する数と位置の違いにより、209種類の異性体・同族体が存在する。夏季の実験における牡蠣の飼育期間と PCB 異性体・同族体組成の変化を図-6に示す。

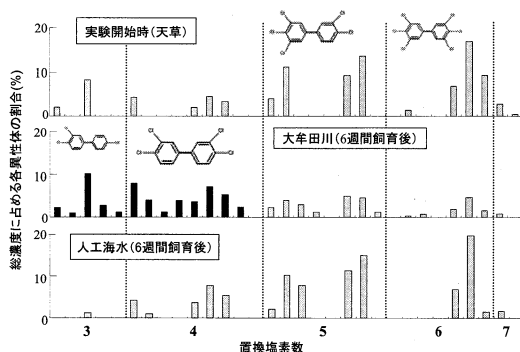


図-6 牡蠣における PCB 異性体・同族体の組成変化

大牟田川移植前の牡蠣の PCB 組成は、五・六塩素素体であり、同様の傾向は有明海の他地点から採集された牡蠣(中田ら2004)でも観察されている。ところが、大牟田川で6週間飼育後の牡蠣は三・四塩素異性体が卓越しており、その割合は全体の半分以上を占めた。このことは、大牟田川において低塩素異性体による特異的な汚染源が存在することを示している。過去の調査で、大牟田川の底質とかつて日本で製造された PCB 製剤(Kanechlor-400)の異性体組成は極めて類似していたが、本研究から大牟田川には依然として KC-400 による汚染の存在が窺えた。

人工海水で6週間飼育した牡蠣の PCB 組成は、実験前と同じ五・六塩素成分の割合が高かった。このことは、大牟田川における牡蠣の PCB 汚染浄化は、主に四塩素異性体が対象であることを示している。従来の微生物等によるダイオキシンや PCB の汚染浄化技術は、三～四塩素以上の高分子で脂溶性の高いものへの適用が困難である場合が多いが、牡蠣はこの種の難分解性物質を水環境中から取り出すことが可能であり、この点は本技術の利点として理解されよう。

(2) PAH

濃度変化: 実験に供した全ての試料から PAH が検出された。冬季の実験結果を図-7に示した。実験開始時に 19 ng/g であった牡蠣の PAH 濃度は、大牟田川で1週間飼育後に 310 ng/g に上昇し、その後4週目まではほぼ一定の値を示した。一方、唐人川で飼育した牡蠣に PAH 濃度の変動は見られず、大牟田川における顕著な PAH 汚染の存在が確認された。また、大牟田川の飼育牡蠣を天然

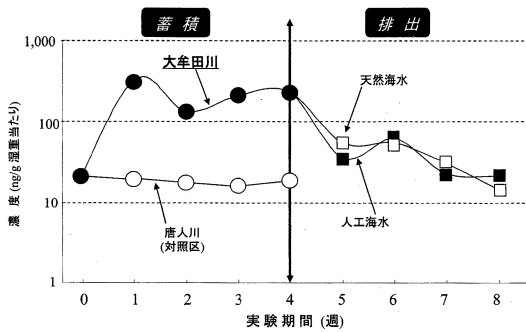


図-7 牡蠣における PAH の蓄積・排出傾向（冬季）

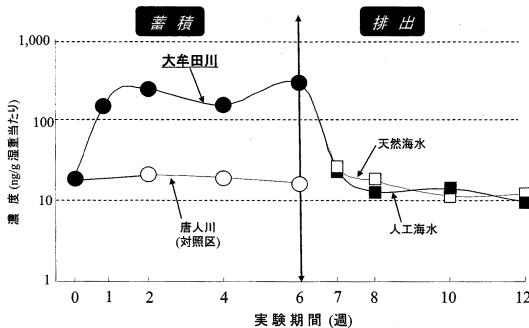


図-8 牡蠣における PAH の蓄積・排出傾向（夏季）

または人工海水で飼養したところ、1週間後にそれぞれ 36 ng/g, 56 ng/g まで濃度が減少し、その後も小規模の低下が続いた。

次に、夏季に行った PAH の濃度変化を図-8 に示した。牡蠣の PAH 濃度は大牟田川で1~2週間飼育後に高値を示し、その後6週目まではほぼ同レベルで推移した。排出時は、天然・人工海水ともに飼育後1~2週間で急激な濃度低下が観察され、冬季の結果と同じ傾向を示した。このことから、牡蠣における PAH の蓄積と排出は各1週間程度であり、PCB に比べて短時間で効率的な除去が可能であることがわかった。また、牡蠣の PAH 蓄積と排出パターンに季節変動は少なく、本技術は通年で利用できることが示された。

組成変化：牡蠣における各 PAH 成分の除去能力を調べるため、大牟田川で6週間飼育後の PAH 濃度と、その後天然海水で6週間飼育した後の PAH 濃度の比を示した(図-9)。この値が小さい物質ほど、牡蠣による分解・除去を受けやすいことが予想される。

解析の結果、全ての物質の濃度比は0.5以下であり、牡蠣に蓄積する半分以上のPAH成分は体外へ排出されることがわかった。物質間で比較すると、フェナントレン・アントラセン・フルオランセン・ピレンの低分子成分の濃度比が低く、ベンゼン環が5つ以上結合した高分子

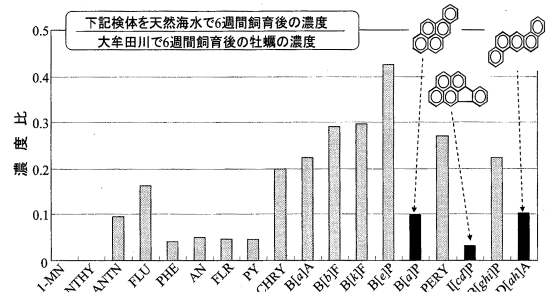


図-9 牡蠣における PAH の排出傾向

1-MN: 1-メチルナフタレン, ANTHY: アセナフチレン, ANTn: アセナフテン, FLU: フルオレン, PHE: フェナントレン, AN: アントラセン, FLR: フルオランセン, PY: ビレン, CHRY: クリセン, B[a]A: ベンゾ[a]アントラセン, B[b]F: ベンゾ[b]フルオランセン, B[k]F: ベンゾ[k]フルオランセン, B[e]P: ベンゾ[e]ビレン, B[a]P: ベンゾ[a]ビレン, PERY: ペリレン, I[c]dP: インデノ[123cd]ピレン, B[ghi]P: ベンゾ[ghi]ペリレン, D[ah]A: ジベンゾ[ah]アントラセン

のベンゾ[e]ピレン、インデノ[cd]ピレン、ジベンゾ[ah]アントラセンも一様に低値を示した。一方、同じ高分子成分のベリレンとベンゾ[ghi]ベリレンの濃度比は0.2以上と高いことから、ベンゾ[e]ピレン、インデノ[cd]ピレン、ジベンゾ[ah]アントラセンは牡蠣の体内で代謝されている可能性が窺えた。この種の高分子 PAH 成分は植物や微生物では分解が難しく、例えばポプラを用いた実験ではナフタレンやアセナフテンなど、ベンゼン環が二つ結合した低分子成分の除去できる程度の効果しかない。牡蠣における高分子 PAH 成分の排出は、他の研究でも指摘されており、こうした特異的な分解能力は本技術を実用化する際の利点になりえよう。

浄化対象の環境媒体：牡蠣は水中に浮遊する懸濁物質を体内で濾過して食物を摂取している。このため、牡蠣に蓄積する PAH は、主に底質から巻き上がった微細な有機物に由来すると考えられ、牡蠣が浄化する環境媒体は水質よりも底質である可能性が高い。この点を調べるため、大牟田川の底質中 PAH を分析し、総濃度に占める各物質の存在割合（異性体組成；％）と牡蠣のそれを解析したところ、両者の間に高い相関が観察された。今後水質を分析して比較検討する必要があるが、本結果は牡蠣が底質から相当量の PAH を摂取することを示している。また、大牟田川の底質中 PAH 濃度は 9,800 ng/g (n=3；乾重量当たり) で、他の河口域の底質の値に比べ 1 桁以上高いことが分かった。

(3) 牡蠣の汚染除去能力の推定

これまでの研究結果から、牡蠣は難分解性化学物質に汚染された水環境を浄化する生物指標として有用である可能性が示された。そこで、実験規模を拡大して大牟田

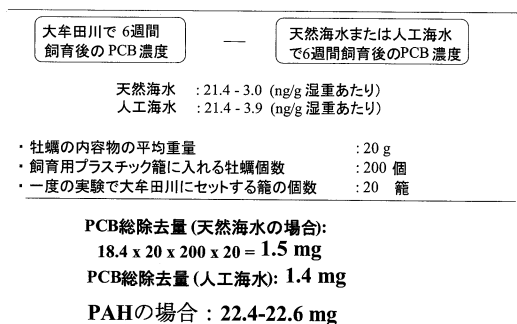


図-10 大牟田川水環境から牡蠣が回収・除去可能な PCB 量

川で実証試験を行った場合の牡蠣の化学物質除去能力と、底質の浄化作用について定量的な試算を試みた。ここでは、牡蠣の殻内湿重量を20 g、大牟田川に設置する牡蠣飼育用プラスチック籠の数を20個、各籠に入れる検体数を200個と仮定して計算した。その結果、牡蠣の蓄積・排出期間が各4週間のときの PCB の除去量は1.4~1.5 mg と見積もられた(図-10)。PAH についても同様の試算を行ったところ、22.4~22.6 mg の値が得られた。

生物利用型の汚染浄化技術は、物理化学的手法と異なり、環境媒体から化学物質を完全に取り除くことは不可能である。このため、本技術の適用目標をあらかじめ設定することが重要である。本研究では、大牟田川の底質中 PCB 濃度 (27 ng/g ; 湿重量あたり、底質水分含量を70%) が、有明海の他河川、具体的には唐人川の値 (5.4 ng/g) にまで低下することを目標として計算を行った (図-11)。

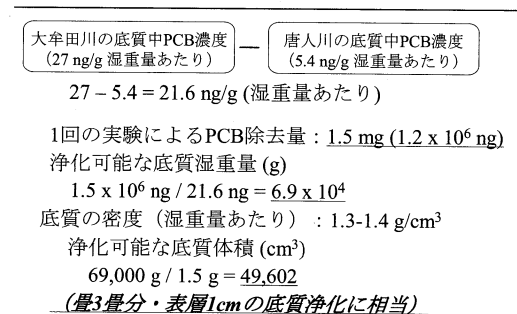


図-11 牡蠣利用型汚染浄化技術により修復可能な底質量の推定

解析の結果、4,000個の牡蠣を用いて実験を行った場合、約70 kg の大牟田川底質が唐人川の PCB 濃度にまで減少すると試算された。牡蠣の場合、浄化対象はほぼ表層底質 (表層から約1 cm 以内) であるため、有明海底質の密度 (1.3-1.4 g/cm³) を基に浄化可能な底質面積を計算したところ、およそ畳3畳分の範囲であることが示された。

生物を利用した汚染浄化技術の開発は、微生物や植物を対象に調査研究が行なわれている。これまでに、PCB やダイオキシン、PAH など難分解で強い毒性を示す物質の分解例が報告されているが、それらの大部分は塩素や芳香環の数が少なく、生物への影響が小規模な低分子成分であり、環境負荷を軽減する技術として実用化にまで発展したものは極めて少ない。本研究は、牡蠣という大型生物を利用することで微生物や植物には困難である高分子の汚染物質を水環境中から回収し、除去することに成功した初めての例といえよう。牡蠣における汚染排出の時間短縮や、除去量の増加など、効率化のための検討課題が残されているものの、本技術は有明海の化学汚染低減に寄与する新規かつ斬新なものに発展する可能性が高い。

4. 結 論

- (1) 牡蠣を指標生物として、難分解性化学物質 (PCB, PAH) で汚染された水環境を浄化する技術を開発した。
- (2) 牡蠣の PCB および PAH の蓄積・排出期間を検討したところ、それぞれ4週間、1週間であった。
- (3) 4,000個の牡蠣を用いて浄化実験を行った場合、大牟田川の底質から PCB を1.4~1.5 mg、PAH を22.4~22.6 mg 除去可能であると推定された。これは、約70 kg の底質 (畳3畳分の表層底質) に含まれる PCB の浄化量に相当すると試算された。

謝辞: 本研究にご協力いただいた熊本大学沿岸域環境科学教育研究センターのスタッフ・学生の方々に深く感謝申し上げます。本研究は、文部科学省科学技術振興調整費重要課題解決型研究「有明海生物生息環境の俯瞰型再生と実証試験 (平成17~21年度)」の成果の一部であり、記して謝意を表する。

参 考 文 献

- 中田晴彦・小林悟・平山結加里・境泰史(2004): 有明海沿岸の貝類を用いた有機塩素化合物、多環芳香族炭化水素および有機スズ化合物の汚染モニタリングとトリブチルスズによる巻貝生殖器官への影響 日本水産学会誌, 70, pp. 555-566.
- Gifford, S., Dunstan, R.D., O' Connor, W., Koller, C.E., MacFarlane, G.R. (2006): Aquatic zooremediation: developing animals to remediate contaminated aquatic environments Trends in Biotechnology, 25, pp. 60-65.
- Nakata, H., Sakai, Y., Miyawaki, T., Takemura, A. (2003): Bioaccumulation and toxic potencies of polychlorinated biphenyls and polycyclic aromatic hydrocarbons in tidal flat and coastal ecosystems of the Ariake Sea, Japan. Environ. Sci. Technol., 37, pp. 3517-3521.