

牡蠣を利用した水環境中の難分解性 有害物質除去技術の開発

BIOREMEDIATION POTENTIALS OF OYSTERS IN THE AQUATIC
ENVIRONMENT CONTAMINATED BY PERSISTENT ORGANIC POLLUTANTS

中田晴彦¹・豊崎康暢²・涌田智美²・守田裕美³・滝川清⁴
Haruhiko NAKATA, Yasuaki TOYOSAKI, Tomomi WAKUDA,
Hiromi MORITA and Kiyoshi TAKIKAWA

¹博 (農) 熊本大学准教授 大学院自然科学研究科 (〒860-8555 熊本市黒髪2-39-1)

²熊本大学 大学院自然科学研究科 (〒860-8555 熊本市黒髪2-39-1)

³熊本大学 理学部 (〒860-8555 熊本市黒髪2-39-1)

⁴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 (〒860-8555 熊本市黒髪2-39-1)

The aquatic filter-feeders, such as mussels and oyster, have specific bioaccumulation potentials of persistent organic pollutants (POPs), which is uptake and depuration of POPs in contaminated and uncontaminated waters, respectively. This study evaluated the bioaccumulation and elimination potentials of POPs, polychlorinated biphenyls (PCB) and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH), in oysters under both field and laboratory experimental conditions. As the results, it is estimated that oysters have the ability to remove PCBs and PAHs in sediment at a rate of 6.2-6.4 mg and 0.53-0.56 mg per five weeks, respectively. While the concept of using animals for bioremediation is not widely recognized, the results obtained in this study imply that oysters may be suitable bioremediator of persistent organic pollutants in the aquatic environment.

Key Words : Oyster, Bioremediation, Persistent organic pollutants (POPs), Polychlorinated biphenyls (PCBs), Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), Ariake Sea

1. はじめに

近年、有明海は漁獲量の減少や赤潮発生など様々な環境異変が報告されるようになった。この要因として、海岸線の人工化、海底の泥化や干潟面積の縮小に伴う栄養塩浄化機能の低下等が指摘される一方、化学物質による海洋汚染の影響を疑う声も根強い。過去の調査研究より、有明海沿岸の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) が検出された¹⁾。また、有明海北東部の底質柱状試料を調べたところ、表層部のPCB濃度が高く²⁾、本海域への新たな汚染流入の可能性が示されている。

汚染された環境の浄化・修復は、一般に土壌や底質を回収後、加熱処理する物理化学的手法が用いられる。ところがこの場合、処理費用が莫大でエネルギー消費が大きく、生態系を破壊するなど、多くの問題が生じる。一方、生物を用いた汚染浄化法 (バイオレメディエーション) は、処理能力に一定の限界があるものの、安価で環境に優しい浄化技術として、その開発に注目が集まっている。

貝類は、汚染水域において有害物質を蓄積・濃縮する一方、非汚染域ではそれを体外に排出する特異な生物濃縮機構を有している。これまで貝類による水環境浄化の試みは、栄養塩や重金属を対象にしたものが報告されている。ところが、環境中で分解さ

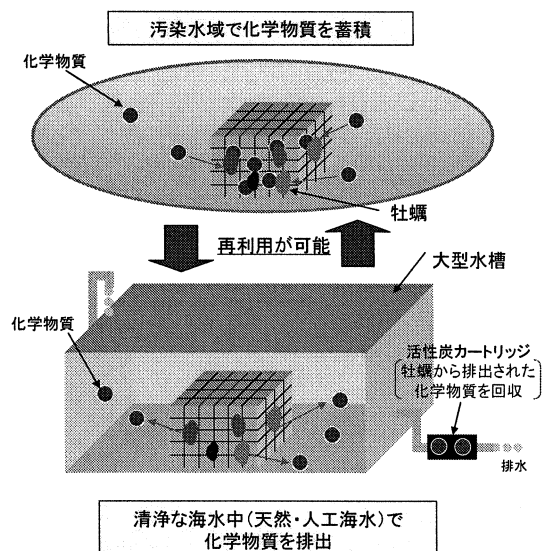


図-1 牡蠣による水環境浄化メカニズム

れ難く、生物に対し強い毒性を示す有機化学物質を浄化対象にした研究例はなく、貝類が有する環境浄化能力とその実用性には不明な点が多い。

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、図-1に示すような水環境中の難分解性化学物質を回収、除去する新たな技術開発を目的とした。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PCBと、化石燃料の燃焼等で発生し、発ガン性を示す成分が含まれるPAHを選択し、現地と室内での実証実験を行った。

2. 調査概要

(1) 牡蠣のPCB、PAHの蓄積・排出および底質浄化能力の推定

2006年10～12月（冬季）にかけて、熊本県内の非汚染水域より採集した殻長が3～10 cmの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、図-2に示すようにそれぞれ4週間飼育した。その後、大牟田川の飼育牡蠣を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3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（分析した試料数：85）。得られた結果から、牡蠣の汚染物質除去能力を推定し、環境浄化指標種としての適性を調べた。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調査した。また、底質試料の分析も行い、PCB、PAHの異性体・同族対組成について試料間で比較検討した。

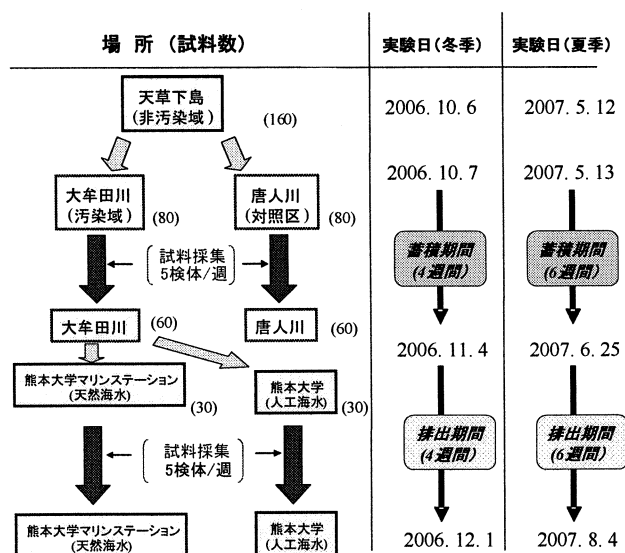


図-2 牡蠣の汚染物質蓄積・排出実験の概要

(2) 現地実験による牡蠣の底質浄化機能の評価

2008年10～11月にかけて、実験区の干潟底質上に170 cm四方の塩ビ製架台を設置し、非汚染域より採集した約1,500個の牡蠣を架台上で1ヶ月間飼育した。実験実施の前後で、牡蠣架台直下の5地点から表層約1cm以内の底質を採集してPAHの分析を行い、その濃度変動から牡蠣の底質浄化機能の定量的評価を試みた。実験の概要を図-3に示した。

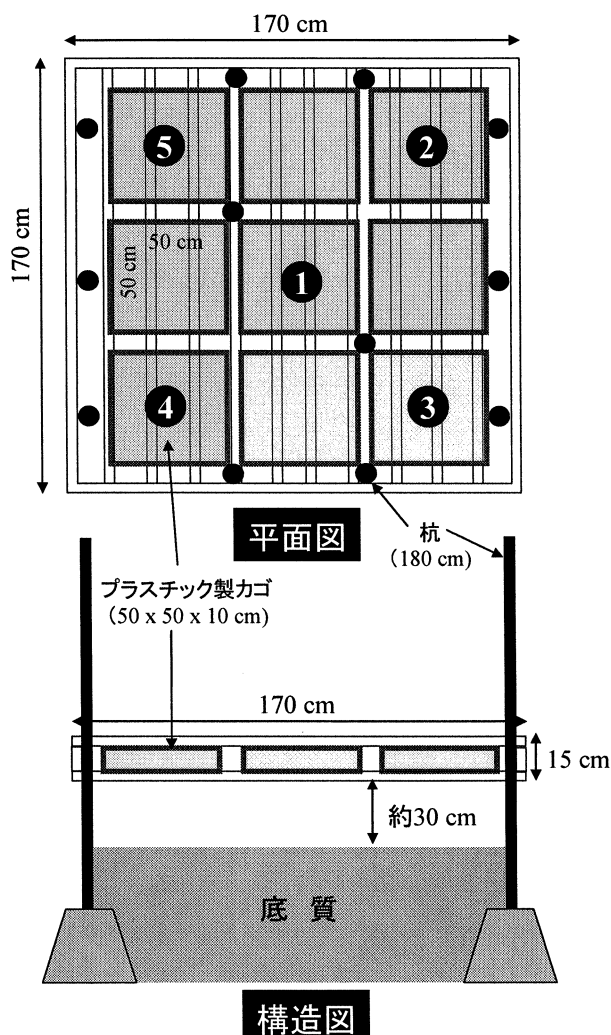


図-3 牡蠣による底質浄化機能の評価実験

(3) 化学分析

牡蠣および底質中のPCBとPAHの分析は、既法に従って行った³⁾。約5グラムの試料を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カラム（Biobeads SX-3；バイオラット社製）およびシリカゲルカラム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）のSIM（Selected Ion Monitoring）モードで目的物質の定性・定量を行った。

分析精度確認のため、試料抽出液にPCBと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。その結果、いずれの物質も80%以上の値を示し、本分析法の正確性と測定値の信頼性が確認された。

3. 結果と考察

(1) PCB 濃度および組成変化

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)。

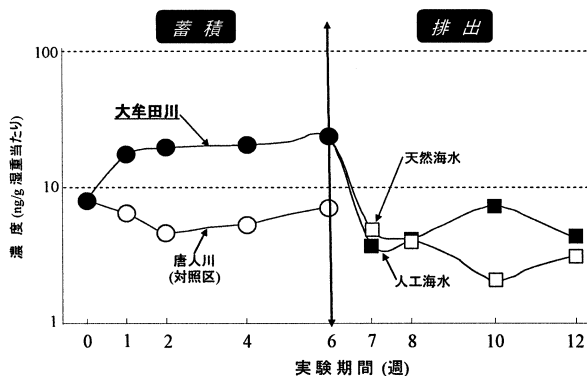


図-4 牡蠣におけるPCBの蓄積・排出傾向 (冬季)

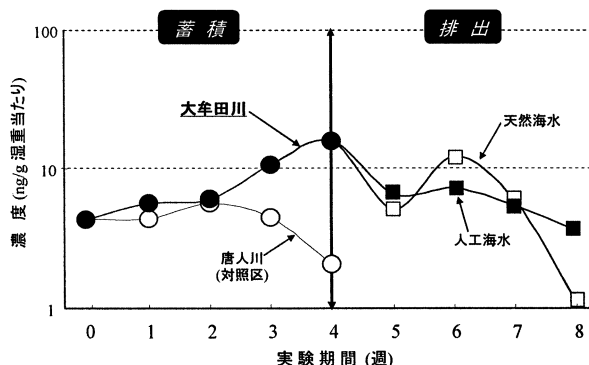


図-5 牡蠣における PCB の蓄積・排出傾向 (夏季)

一方、対照区の唐人川で飼育した牡蠣の PCB 濃度は 2.0 ng/g と低値を示し、大牟田川における顕著な PCB 汚染源の存在が示された。また、大牟田川で 4 週間飼育した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 まで低下した。このことは、牡蠣が汚染された水環境中の PCB を吸収-排出するポンプの役割を果たすことを示している。また、牡蠣は人工海水で飼育可能であること、海水の種類によって化学物質の排出速度に差は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、本種が水環境浄化の指標生物になり得る可能性が窺えた。

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。その結果、実験開始時のPCB濃度は7.5 ng/gで、大牟

田川に飼育後1週間で16 ng/gまで上昇した(図-5)。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週間飼育後の濃度値は3.0、3.9 ng/gであり、移植1週間後の濃度とほぼ同じ水準を示した。

以上の結果から、牡蠣のPCB蓄積・排出傾向は冬季と夏季ではほぼ類似しており、大牟田川において4週間の飼育期間を確保すれば本技術は通年で適用できると考えられた。一方、PCBの排出については、季節に関係なく移植後1週間で、ほぼ実験当初の濃度水準にまで低下することが明らかになった。

次に、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。大牟田川へ移植前の牡蠣のPCB組成は、五・六塩素主体であり、同様の傾向は有明海その他地点から採集された牡蠣¹⁾からも観察されている。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PCB成分による特異的な汚染源が存在することを示している。大牟田川の底質のPCB組成は、かつて日本で製造されていたPCB製剤のKanechlor-400 (KC-400)のそれに極めて類似しており⁴⁾、本河川ではKC-400が汚染源であると推測された。

一方、清浄な海水で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(図-6)。このことから、大牟田川における牡蠣のPCB浄化は、主に四塩素異性体が対象であることがわかった。従来の微生物等によるダイオキシンやPCBの浄化技術は、三～四塩素以上の高分子で脂溶性の高い成分の処理が困難であった。本研究では、牡蠣が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ることを示している。

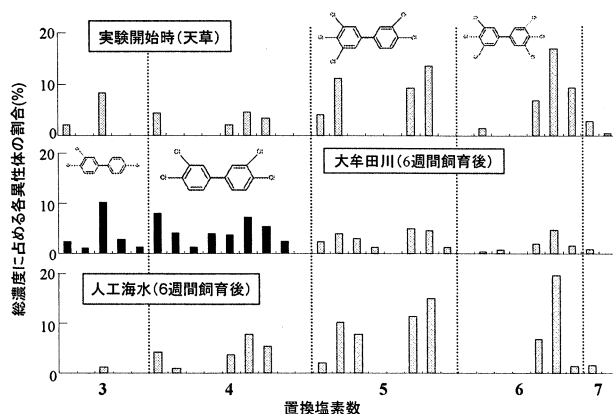


図-6 牡蠣におけるPCB異性体・同族体の組成変化

(2) PAH濃度および組成変化

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、PCBと同様に大牟田川における顕著なPAH汚染が確認された。また、大牟田川で4週間飼育した牡蠣を天然海水または人工海水で飼養したところ、その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。

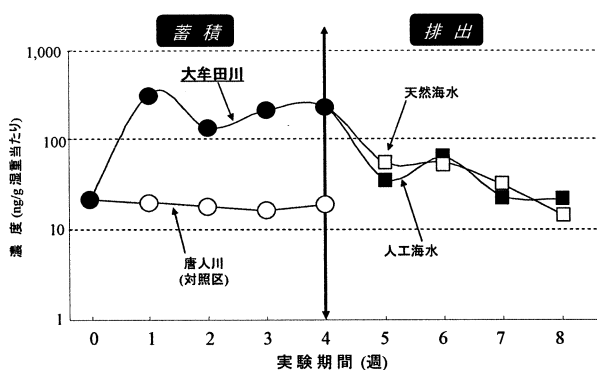


図-7 牡蠣におけるPAHの蓄積・排出傾向 (冬季)

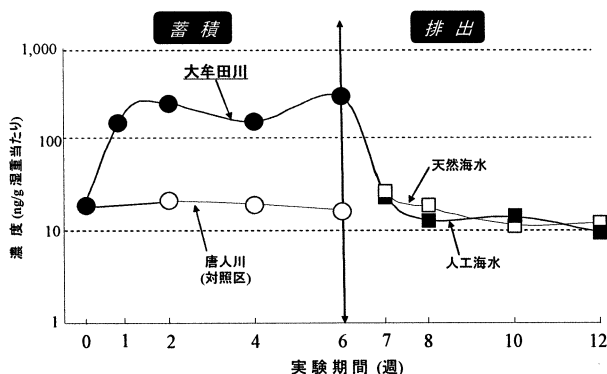


図-8 牡蠣におけるPAHの蓄積・排出傾向 (夏季)

次に、夏季に行った実験のPAH濃度の変化を図-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。以上の結果から、牡蠣におけるPAHの蓄積と排出期間はそれぞれ1週間程度であり、PCBに比べて効率的な汚染除去が可能である様子が窺えた。また、PCBと同様に牡蠣の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。

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週間飼育した直後と、その後天然海水で6週間飼育後の濃度変化を図-9に示した。その結果、全ての物質において濃度減少が確認され、そ

の傾向はフェナントレン・アントラセン・フルオランセン・ピレンの低分子成分で顕著に見られた。また、ベンゼン環を5つ以上有する高分子のベンゾ[e]ピレン、インデノ[cd]ピレン、ジベンゾ[ah]アントラセン、ペリレン、ベンゾ[ghi]ペリレンについても、明瞭な濃度減少が確認された。この種のPAH成分は、高分子で脂溶性が高いため、植物や微生物による処理は難しく、例えばポプラの場合、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を分解する程度の効果しかない⁵⁾。生物を利用した高分子PAH成分の回収・除去の例は少なく、こうした特異的な汚染浄化能力は本技術を実用化する際の利点になりえよう。

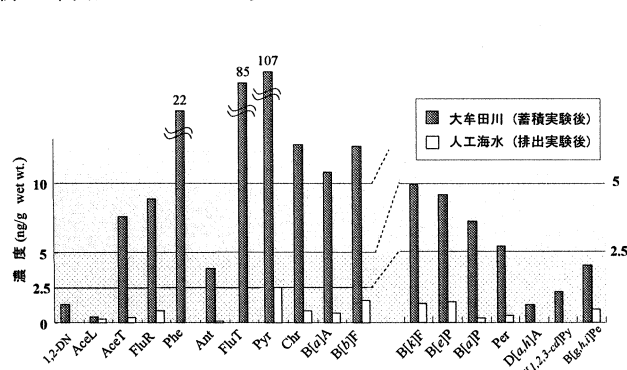


図-9 牡蠣におけるPAH成分の排出傾向

(3) 牡蠣と底質における化学物質の成分比較

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、主に潮流で巻き上がった微細な底質粒子に吸着していたと考えられるが、その点を詳細に調べた例は少ない。

そこで、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(%)と牡蠣のそれの比較したところ、両者の間に高い相関が観察された(図-10)。類似の傾向はPCBでも観察され、牡蠣は水環境中の底質の汚染浄化に重要な役割を果たしている様子が窺えた。

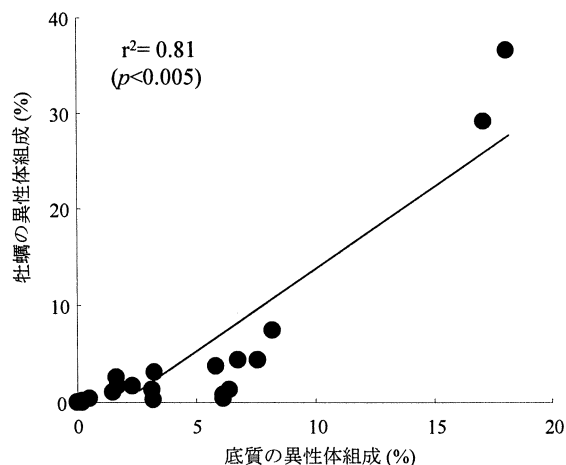


図-10 底質と牡蠣のPAH組成割合の関係

(4) 牡蠣の汚染除去能力の推定

これまでの研究から、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比較を試みた。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15個、各籠に入れる検体数を100個（牡蠣の総数：1,500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PAHの除去量は6.2～6.4 mgと見積もられた（図-11）。PCBについても同様の試算を行ったところ、0.53～0.56 mgの値が得られた。

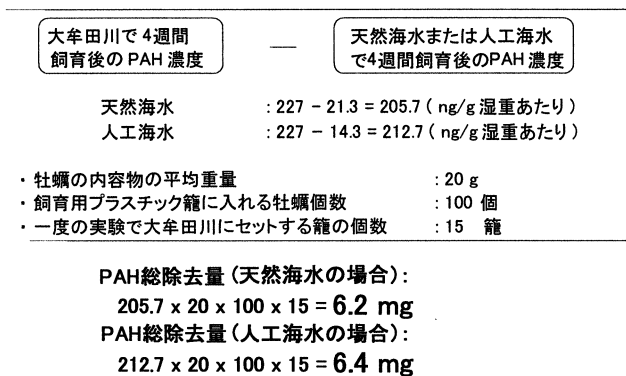


図-11 底質と牡蠣のPAH組成割合の関係

(5) 現地実証試験による底質浄化の定量評価

大牟田川の底質表層から約30cm上方に1,500個の牡蠣を1ヶ月間飼育し、実験前後の表層底質(n=5)を採集してPAHの分析を行った。その結果、濃度値は飼育前に比べて6～44%（平均：27%）減少したことが明らかになった（図-12）。このことは、牡蠣が底質由来のPAHを体内に吸収・蓄積した可能性を示している。

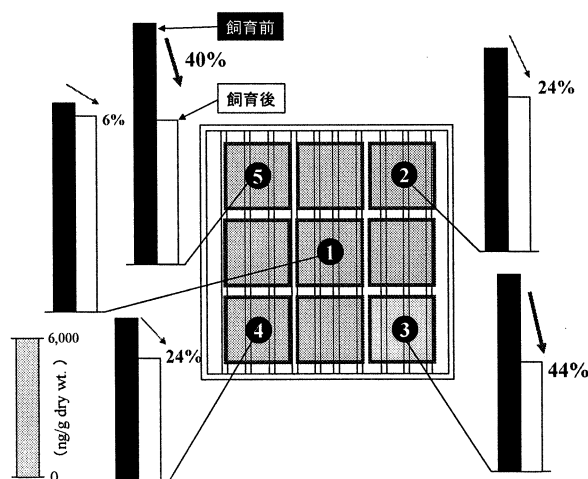


図-12 牡蠣飼育前後における表層底質中のPAH濃度変化

次に、大牟田川で牡蠣が実際に浄化したPAH量を、実験前後の底質中PAHの濃度差と、牡蠣架台直下の表層底質重量の積から算出した（図-13）。実験前後のPAH濃度（湿重あたり）の差は、980 ng/gであった。架台直下の表層底質の体積（22,500 cm³）と底質の比重（1.4 g/cm³）から底質重量を計算し、牡蠣が蓄積・回収したPAH量を算出したところ、30.8 mgの値が得られた。

実験前の底質中PAH濃度 (3,490 ng/g 湿重あたり) — 実験後の底質中PAH濃度 (2,510 ng/g 湿重あたり)

$$3,490 - 2,510 = 980 \text{ ng/g (湿重あたり)}$$

牡蠣カゴ直下の表層底質（深さ：1 cm）の体積

$$150 \times 150 \times 1 = 22,500 \text{ cm}^3$$

底質の密度(湿重あたり): 1.4 g/cm³

牡蠣カゴ直下の底質重量: $22,500 \times 1.4 = 31,500 \text{ g}$

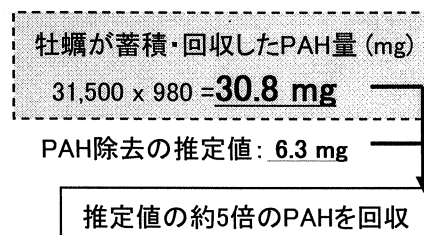


図-13 牡蠣が浄化した底質中PAH量

前述のとおり、1,500個の牡蠣を用いて飼育実験を行ったと仮定した場合のPAHの回収量は、6.2～6.4 mgと試算された。一方、現地実験を行い、実際の底質のPAH濃度の変化を基に計算された牡蠣のPAH処理量は、その約5倍も高値を示すことがわかった。このことは、本実験で牡蠣が底質から予想以上のPAH回収能力を有する可能性を示している。

4. 結 論

- (1) 牡蠣が有する化学物質の特異な蓄積・排出機構を利用して、水環境中の難分解性化学物質（PCB、PAH）を回収・浄化する新たな技術を開発した。
- (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週間であることが分かった。また、実験時の牡蠣の死亡率は10%程度であり、この種の物質による検体への生態影響は小規模である可能性が窺えた。
- (3) 牡蠣は、水環境中の底質粒子に吸着した化学物質をその体内に吸収・蓄積する様子が窺えた。
- (4) 1,500個の牡蠣を用いて実証実験を行うと仮定した場合、底質から6.2～6.4 mgのPAHと0.53～0.56 mgのPCBを除去可能であると推定された。

- (5) 約 1,500 個の牡蠣を 1 カ月飼育する現地実験を行い、牡蠣の持つ汚染浄化能力を調べたところ、表層底質中の PAH 濃度が実験前後で約 30% も低下したことがわかった。本技術は重度汚染域から難分解性化学物質の流出を防ぐための新たなバイオレメディエーション法として、実用化へ向けたさらなる発展が期待できよう。

謝辞：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等の推進「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）」の補助によるものであり、記して謝意を表します。

参考文献

- 1) 中田晴彦，小林悟，平山結加里，境泰史：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，Vol. 70，pp. 555-566，2004.
- 2) Kim Y-S., Eun H., Katase T. : Historical distribution of PCDDs, PCDFs, and coplanar PCBs in sediment core of Ariake Bay, Japan. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, Vol. 54, pp. 395-405, 2008.
- 3) Nakata, H., Sakai, Y., Miyawaki, T., Takemura, A. : 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.*, Vol. 37, pp. 3517-3521, 2003.
- 4) 中田晴彦，宮脇崇，境泰史：有明海の干潟底質における PCB 濃度および異性体組成とその発生源ならびに分布挙動の推定，環境化学，No.12，pp.127-133，2002.
- 5) Widdowson M. A., Sheare S., Andersen R. G., Novak J. T. : Remediation of polycyclic aromatic hydrocarbon compounds in groundwater using poplar trees. *Environ. Sci. Technol.* Vol. 39, 1598-1605, 2005.