

## 同一河川の異なる地点における難分解性化学物質の分解特性把握

名古屋大学 正会員 ○栗田 貴宣  
 名古屋大学 非会員 内田 海  
 名古屋大学 正会員 片山 新太

## 1. はじめに

殺菌剤として利用されたペンタクロロフェノール(PCP)や難燃剤として利用されたテトラブロモビスフェノール A(TBBPA)をはじめとする便利な化学物質は難分解性であることが多く、人体に対する健康被害も懸念されており、実環境汚染への対応が急務である。実環境汚染に対する物理的な手法での汚染除去は可能であるが、低濃度汚染の場合にコストに対して効果が低く、土地の価値を上回ることも少なくないことから、より安価で確実に汚染除去可能である技術が求められている。この問題を解決し得る技術として微生物による汚染除去技術(バイオレメディエーション)が注目され、多くの研究例が報告されている。

実環境汚染への対策が進んでいる一方で、汚染物質がどのように自然環境中で分解されるかは海洋環境において主に原油の分解が研究されている<sup>1)</sup>が、未解明な点が多く、特に同一河川の上流から河口までの異なる地点で検討した例は少ない。事故などによる汚染物質の漏洩が起こった場合、その物質の環境中での動態を把握しておくことは、早期対応策の提案につながることも非常に重要である。そこで本研究では、実環境中で難分解性化学物質が分解されるかどうか、どの程度分解するかなどを把握するとともに、分解に大きく寄与する環境パラメータを明らかにすることを目的とし、河口、汽水域、淡水域の底質サンプルおよび水サンプルを用いて分解試験を行った。

## 2. 実験方法

### (1) サンプルング

対象とした河川は愛知県内一級河川である矢作川とした。サンプルングポイントは河口、河口から 2 km 地点、15 km 地点の 3 点であり、それぞれ海水域、汽水域、淡水域を選定した。サンプルングを行った

時期を表 1 に示す。底質サンプルングは 0-25 cm 部分を採用した。底質はサンプルング後に 4 mm の篩いにかけて後に、2 L のポリ軟こう瓶に空気が入らないように入れた。水サンプルも同様に空気が入らないようポリ軟こう瓶に採取した。それぞれのサンプルは 4 °C で暗所に保存した。

### (2) 水質測定

サンプルング地点の水質を把握するために、マルチ水質チェッカーU51 型(堀場社製、京都)を用いて温度、pH、溶存酸素濃度、酸化還元電位、電気伝導率、塩分濃度の測定を現地にて行った。また、TOC-VCPH(島津社製、京都)により溶存有機炭素、溶存無機炭素濃度を測定した。イオンクロマトグラフィ761 Compac IC (メトローム社製、スイス)を用いて陰イオンおよび陽イオンの分析を行った。本研究では、Cl<sup>-</sup>、Br<sup>-</sup>、NO<sub>2</sub><sup>-</sup>、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>、PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>、Na<sup>+</sup>、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>、K<sup>+</sup>、Ca<sup>+</sup>、Mg<sup>2+</sup>を測定した。

### (3) 分解試験方法

本研究で対象とした物質は、油のモデルとしてアントラセン、農薬のモデルとしてフェニトロチオン、難燃剤のモデルとして TBBPA、殺菌剤のモデルとして PCP とし、好気および嫌気条件で試験を行った。好気分解試験では腰高シャーレ(90×60 mm)に 30 g の前培養した底質と水を 30 mL 添加し、アントラセン、フェニトロチオン、TBBPA、PCP を添加した。

表 1 サンプルング時期

日時	河口	2 km 地点	15 km 地点
2015/10/07	○	○	○
2017/01/12	○	○	○
2017/04/22	○	○	-
2017/06/16	-	-	○
2017/07/27	○	○	○
2017/10/19	○	○	-
2017/11/08	-	-	○

各物質の添加は、滅菌風乾土 1g にアセトンに溶解した各物質を添加し、アセトンが揮発するまでよく混合したものをを用いた。各物質の最終濃度は 0.01 mg/g-soil となるようにした。嫌気分解試験では 100 mL のバイアル瓶に上記と同様に添加した後、ブチルゴム栓、アルミキャップで密栓した。密栓後に気相を窒素ガスで 15 分間置換した。腰高シャーレ又はバイアル瓶を暗所で 4 週間、静置培養した。培養温度はサンプリング時の水温と同じに設定した。同条件でオートクレーブ滅菌したものをを用いた試験をコントロールとした。全ての試験は 3 反復で行った。

#### (4)化学物質の抽出および分析方法

培養後に腰高シャーレ又はバイアル瓶の中身を 250 mL の PTFE 製ボトルに移し、50 mL のアセトン、よく混合した。4000 rpm で 10 分間、遠心分離し、上澄みをろ過した。ろ液は 300 mL ナスフラスコに移した。ここに 5 mL の 0.11M 塩酸を添加した。これらの操作を 2 回繰り返した。回収した液をロータリーエバポレーターで 60 mL に濃縮し、300 mL の分液漏斗へ移し、ヘキサン/アセトン(4:1)溶液を 50 mL、塩化ナトリウムと硫酸ナトリウムの飽和溶液を 30 mL 添加し、10 分間振とうした。振とう後約 15 分間静置し、水と油の層を分離させ、油層を回収し、水の層に対して再びヘキサン/アセトンを添加し、同様の作業を行った。回収した油層をロータリーエバポレーターで 3 mL まで濃縮し、10 mL にメスアップした。得られた抽出液を GC-MS QP2010 SE (島津社製、京都)で分析を行った。カラムは DB-5MS (長さ 30 m、内径 0.25 mm、J&W Scientific、Folsom、CA) を用い、He をキャリアガスとして用いた。

### 3. 結果と考察

図 1A にフェニトロチオンの好気分解試験における分解率を示す。培養温度は 6、13、20°C で行った。フェニトロチオンは河川の河口から上流に行くほど分解率が高くなる傾向が確認でき、この傾向は異なる時期でも同様の傾向を示した。このことから、それぞれの地点で大きく異なる塩分濃度が分解率に影響していることを示唆している。

アントラセンおよび PCP の好気分解は河口域ではほとんど確認が出来なかった。また、TBBPA は場所および時期によって分解率に大きな変化はなく、

90%以上の分解率であった。

図 1B にフェニトロチオンの嫌気分解試験における分解率を示す。嫌気条件下においても好気条件と同様に河川の河口から上流に行くほど分解率が高くなる傾向が確認できた。さらに温度が 6°C であった 1 月のサンプルの分解率が一番低く、続いて 13°C の 4 月、20°C の 10 月と高くなり、温度との相関もあった。アントラセンおよび PCP の分解率は嫌気条件下においてもほとんど分解は確認されず、好気条件で分解率が 90%以上であった TBBPA も河口および汽水域でのサンプルの分解率は 30%以下であった。

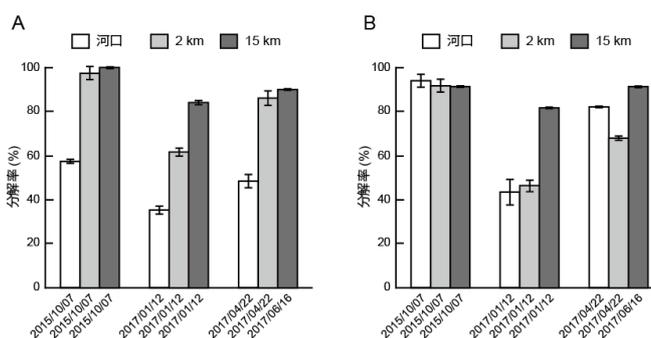


図 1 フェニトロチオンの好気条件(A)および嫌気条件(B)での分解率

### 4. 今後の課題

本研究では、対象とした物質の分解率について試験を行ったが、代謝産物の測定は行っておらず、分解経路の特定までには至っていない。温度や塩分によって分解率が変化することは示唆されたが、溶存有機物質や pH などの他のパラメータの検討をし、分解率に寄与する他の環境因子の特定は必須であり、数値解析が必要である。さらに、微生物群集構造と分解率の関係を明らかにするために、16S rRNA 遺伝子に基づく系統解析を行うことが必要である。

### 参考文献

- 1) Al-Mailem *et al.* (2010) *Extremophiles*, 14 (3), 321-328.

### 謝辞

本研究の一部は、文部科学省科学研究費補助金「若手研究 B」の支援を受けて実施されました。ここに記して感謝の意を表します。