

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月31日現在

機関番号：32661

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2009～2011

課題番号：21710015

研究課題名（和文） 環形動物を介した多環芳香族炭化水素の高濃度集積及び高速分解機構の解明

研究課題名（英文） A study of the phenomenon of high concentration and high speed degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons mediated through annelids.

研究代表者

齋藤 敦子 (SAITO ATSUKO)

東邦大学・理学部・講師

研究者番号：50424718

研究成果の概要（和文）：干潟に棲息する環形動物イワムシ(*Marphysa sanguinea*)の糞塊中における、多環芳香族炭化水素 (PAHs) の高濃度濃縮及び高速分解機構について解明することを目的とし、条件を変化させて放置した糞塊中の PAHs 濃度の経時変化を調べた。その結果、高速分解については、イワムシ由来の酵素の働きによって起こることが示唆された。また、高濃度濃縮については、イワムシの摂食対象物に起因することが分かった。

研究成果の概要（英文）：Time dependency of the concentration of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the excrement of *Marphysa sanguinea* was measured under different standing conditions in order to clarify the mechanism of high concentration and high speed degradation of PAHs in the excrement. As a result, following two mechanisms were suggested: 1. the high speed degradation of PAHs is occurred by the enzyme from *Marphysa sanguinea*; 2. the high PAHs concentration is caused by the feeds of *Marphysa sanguinea*.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	600,000	180,000	780,000
2010年度	500,000	150,000	650,000
2011年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	1,700,000	510,000	2,210,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：環境学・環境動態解析

キーワード：多環芳香族炭化水素、分解、干潟、環形動物、イワムシ、糞塊

## 1. 研究開始当初の背景

多環芳香族炭化水素(PAHs)は、自動車の排気ガス、家庭用暖房機器やタンカー事故による海洋への重油の流出などにより環境中に排出・拡散される。PAHsには、ベンゾ[a]ピレンの様に、強い発癌性を持つものや内分泌攪乱作用を示すものがあり、環境中のPAHsの濃度と挙動を明らかにすることは、人体への影響や環境保全を考える上で重要である。これまで申請者らは、千葉県市原市の養老川河

口干潟において底質、環形動物（タマシキゴカイ、イワムシ）及びそれらの糞塊を採取し、PAHsの定量を行ってきた。その過程で、イワムシの糞中PAHs濃度が、底質中と比べて約90倍高濃度であること、更にこの糞を2時間放置することで、濃度が半減することを見出した。このような生物糞中におけるPHAsの高濃度集積と高速分解の現象はこれまでに報告例が無く、環境浄化の観点からも、そのメカニズムの解明は重要であると考えら

れた。

## 2. 研究の目的

環形動物イワムシによる環境中の PAHs の高濃度集積と、高速分解のメカニズムの解明を目的とした。

## 3. 研究の方法

### (1) 試料の採取

イワムシの糞及びその他の試料（底質、タマシキゴカイ (*Arenicola brasiliensis*) の糞、海水懸濁物、シオフキ (*Mactra veneriformis*) 擬糞）は、千葉県市原市養老川河口干潟において、干潮時に採取した。糞は排泄直後のものを採取し、直ぐにドライアイスで凍結して実験室に持ち帰った。糞中 PAHs の経時変化の測定には、排泄された直後の糞をタッパー上に採取し、干潟にて一定時間放置した後、ドライアイスで凍結し実験室に持ち帰った。

### (2) 前処理及び分析

糞試料の前処理は、環境省の定める要調査項目等調査マニュアルに従い行った。PAHs の分析は、ガスクロマトグラフ質量分析計にて行った。分析対象とした PAHs は、フェナントレン (Phe)、アントラセン (Anth)、フルオランテン (Flu)、ピレン (Pyr)、クリセン (Chry)、ベンゾ [b]フルオランテン ([b]flu)、ベンゾ [a]ピレン ([a]pyr)、ペリレン (Pery) の 8 種とした。

### (3) イワムシ糞中 PAHs の高濃度濃縮機構の解明

①底質、イワムシ糞、タマシキゴカイ糞について、粒度分析、全炭素分析、界面活性剤分析、重金属分析を行い、それぞれ比較を行った。

②底質極表層の粒子、海水懸濁物、シオフキ擬糞中中の PAHs の定量を行い、イワムシ糞との比較を行った。

### (4) イワムシ糞中 PAHs の高速分解機構の解明

①明条件及び暗条件下で 2 時間放置したイワムシ糞について、PAHs 濃度の定量を行い、排泄直後の糞中濃度との比較を行った。

②排泄直後のイワムシ糞を凍結・解凍後 2 時間放置し、PAHs 濃度の定量を行い、排泄直後の糞中濃度との比較を行った。

③嫌気及び好気条件下で 2 時間放置したイワムシ糞について、PAHs 濃度の定量を行い、排泄直後の糞中濃度との比較を行った。

④排泄直後のイワムシ糞を、30 分、1 時間、2 時間と時間を変えて放置し、放置時間と

PAHs 濃度の関係をプロットすることで、糞中における各 PAHs の半減期を求めた。

## 4. 研究成果

### (1) イワムシ糞中 PAHs の高濃度濃縮機構

①イワムシ糞の組成の特徴について調べるために、底質、イワムシ糞及び、同じ環形動物で PAHs の濃縮が見られないタマシキゴカイ (*Arenicola brasiliensis*) の糞について、粒度分析、全炭素分析、界面活性剤分析、重金属分析を行った。各試料における粒度分析の結果、タマシキゴカイ糞と底質では、含まれる粒子系が、非常に良く似ていたが、イワムシ糞ではこれらに比べて、粒子径の小さな成分を多く有することが分かった。各試料に含まれる全炭素量は、イワムシ糞 > タマシキゴカイ糞 > 底質となり、PAHs と同様の濃度傾向を示すことが分かった (図 1, 2)。また、PAHs と同様の環境汚染有機物である界面活性剤についても、イワムシ糞中において底質の 30 倍程度高濃度に濃縮されていることが分かった。一方、重金属類については、底質、イワムシ糞、タマシキゴカイの糞で、濃度の違いは見られなかった (図 3)。これらの結果



図 1 各試料中の PAHs 濃度



図 2 各試料中の全炭素量

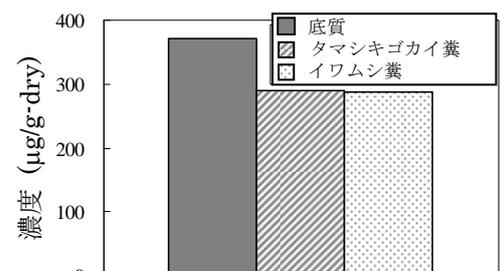


図 3 各試料中の重金属濃度

より、イワムシは高濃度の有機炭素を含む小さな粒子を選択的に摂食しており、そこに PAHs などの有機環境汚染物質が多く含まれていることが示唆された。

②イワムシが摂食していると考えられる底質の極表層に、高濃度の PAHs を含む粒子の存在を確かめるために、底質の極表層部を採取し PAHs の分析を行ったが、PAHs を高濃度に含む画分を見出すことは出来なかった。また、海水懸濁物を採取し、孔径の異なる数種のろ紙でろ過し、粒子サイズ別に懸濁物中の PAHs の分析を行ったところ、底質表層に堆積しイワムシの摂食対象となりうる比較的径の大きな画分からは、高濃度の PAHs は検出されなかった。そこで、粒子径の小さい海水懸濁物をまず懸濁物食者が集め、その後それをイワムシが取り込む可能性について考察するために、同じ干潟に数多く棲息し懸濁物食者であるシオフキ擬糞中の PAHs 濃度の定量を行った。その結果、シオフキ擬糞中の PAHs 濃度は、底質の 6-15 倍であり、同時に採取したイワムシ糞 (30-100 倍) の 1/6 と低く、分布も異なることが分かった。また、シオフキ擬糞を 24 時間放置した場合、イワムシ糞中で見られるような PAHs の濃度低下は全く起こらなかった。これらの結果から、PAHs など高濃度有機汚染物質を含むと考えられるイワムシの摂食対象物を特定することは出来なかったが、イワムシは底質表層堆積物から選択的に摂食対象を取り込む機構を持ち、それが PAHs の高濃度集積に関与している可能性が推測された。

## (2) イワムシ糞中 PAHs の高速分解機構

①イワムシ糞中での PAHs の分解が、太陽光により起こっている可能性を確認するために、明条件及び暗条件下で 2 時間放置したイワムシ糞中 PAHs 濃度の定量を行った。その結果、どちらの条件下で放置した場合も糞中 PAHs 濃度は同様に低下し、この現象が太陽光による光分解ではないことが示された。

②排泄直後のイワムシの糞を一旦凍結し、その後解凍した試料を用いて、糞中 PAHs 濃度の経時変化を測定した。その結果、凍結・解凍操作をした糞試料では、2 時間放置による PAHs の濃度低下は見られず、糞中 PAHs の濃度低下には、微生物や酵素等、凍結・解凍操作により失活する因子が関与することが示唆された。

③イワムシ糞中での PAHs の分解が、糞中に存在する好気又は嫌気性微生物によって起こる可能性を確認するために、嫌気及び好気条件下で 2 時間放置したイワムシ糞中の PAHs 濃度の定量を行った。その結果、糞中 PAHs

濃度は、これらの条件に関わらず、時間経過により一様に減少することが分かった。これより、イワムシ糞中 PAHs の濃度低下における、嫌気又は好気性微生物の関与は小さいと考えられた。

④排泄直後のイワムシ糞を、30 分、1 時間、2 時間と時間を変えて放置し、放置時間と PAHs 濃度の関係をプロットすることで、糞中における各 PAHs の半減期を求めた。その結果、糞中の各 PAH 濃度は、排泄直後から 2 時間までは指数関数的に減少し、一次反応として近似出来ることが分かった (図 4)。

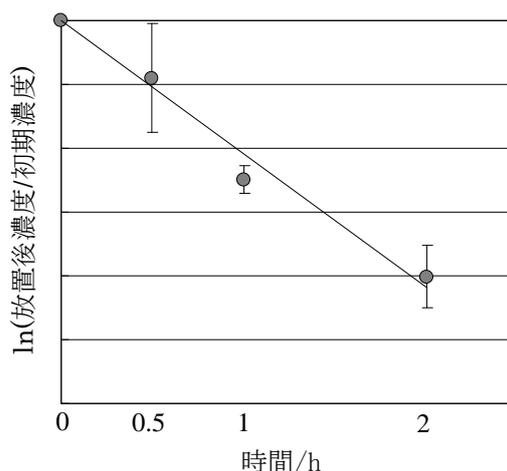


図 4 イワムシ糞中 Flu 濃度の経時変化

近似式から求めた半減期は PAH の種類により異なったが、大部分は約 2 時間と見積もられた (表 1)。Anth については、エラーバーが大きく、半減期を求めることが出来なかった。また、2 時間以上の放置において、糞中の PAHs 濃度はほとんど変化しなかったことから、イワムシ糞塊中の PAHs の高速な濃度低下を引き起こす因子は、排泄後 2 時間ではほぼ失われるか、この因子と反応可能な状態にある PAHs が、全糞中 PAHs の約半分である可能性が示唆された。

表 1 イワムシ糞中における各 PAH 濃度の半減期

PAHs	半減期/h
Phe	1.7
Flu	1.7
Pyr	1.8
Chry	2.0
[b]flu	2.0
[a]pyr	1.9
Pery	2.2

また、上記 (1)-(2) のシオフキ擬糞における実験結果から、このような PAHs の高速分解は、

イワムシ糞中で特異的に起こることが確かめられた。

### (3) 研究成果の国内外におけるインパクトと今後の展望

環形動物のイワムシが、干潟環境中の PAHs を含めた有機汚染物質を高濃度に集積し、糞中で高速に濃度低下させる現象は、これまで類似の報告例が無い。本研究で、これまで不明であったそれらの原因について、その一部を明らかにしたことは、底棲生物を介した干潟環境における物質循環と環境浄化作用の新たな側面を提示した点において、国内外での大きなインパクトを持つと考えられる。同時に、本研究成果は「底棲生物による環境浄化の場」としての干潟の存在の重要性を示す、具体的な一例となると考えられる。

これまで報告されている環形動物糞中の微生物による PAHs 分解の半減期は、約 60 日であるのに対し、イワムシ糞中における PAHs の半減期は、約 2 時間と高速であった。また、PAHs 以外の有機汚染物質として、界面活性剤も、糞中で同様の濃度低下を示すことが確認された。この様な、性質の異なる数種の有機分子を同時に高速分解可能な因子がイワムシ糞に含まれているという知見は、新規環境浄化システム開発への応用という観点からも、重要度が高いと考えられる。今後は、この因子の抽出と同定、反応機構の解明が重要な課題となる。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

- ① Mayu Onozato, Atsuko Nishigaki and Shigeru Ohshima, Study on the degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the excrement of annelids, *Polycyclic Aromatic Compounds*, 査読有, 32 (2012) 1-10.
- ② Mayu Onozato, Atsuko Nishigaki and Shigeru Ohshima, The fate and behavior of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) through feeding and excretion of annelids, *Polycyclic Aromatic Compounds*, 査読有, 30 (2010) 334-345. DOI: 10.1080/10406638.2010.525167

[学会発表] (計 8 件)

- ① 小野里磨優、環形動物の糞塊中における多環芳香族炭化水素 (PAHs) の分解挙動に関する研究、日本分析化学会 第 60 年会、2011 年 9 月 16 日、名古屋大学 (愛知)
- ② Mayu Onozato, Study on the degradation

of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the excrement of annelids, 23rd International Symposium on Polycyclic Aromatic Compounds, 7<sup>th</sup> September 2011, Muenster, Germany

- ③ Atsuko Nishigaki, Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in the pseudofeces of *Mactra veneriformis*, 23rd International Symposium on Polycyclic Aromatic Compounds, 5<sup>th</sup> September 2011, Muenster, Germany
- ④ Atsuko Nishigaki, Study of the accumulation and degradation of organic pollutants in the excrements of the annelids, 2010 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies, 18<sup>th</sup> December (2010), Honolulu Hawaii (USA)
- ⑤ 西垣敦子、干潟環形動物を介した有機汚染物質の濃縮と分解挙動の研究、平成 22 年度日本分析化学会関東支部若手交流会、2010 年 7 月 2 日、国民宿舎サンレイク草木 (群馬)
- ⑥ 菅原俊行、環形動物糞塊中での有機汚染物質の濃縮及び分解挙動の研究、日本化学会第 90 回春季年会、2010 年 3 月 29 日、近畿大学 (大阪)
- ⑦ Mayu Onozato, The fate and behavior of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) through feeding and excretion of annelids, 22nd International Symposium on Polycyclic Aromatic Compounds, 22<sup>nd</sup> September (2009), Charleston (USA)
- ⑧ 菅原俊行、環形動物糞塊中での多環芳香族炭化水素及び界面活性剤の濃縮及び分解挙動の研究、日本化学会第 3 回関東支部大会、2009 年 9 月 4 日、早稲田大学 (東京)

### 6. 研究組織

#### (1) 研究代表者

齋藤 敦子 (SAITO ATSUKO)  
東邦大学・理学部・講師  
研究者番号：50424718