

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28日現在

機関番号：32661

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2011～2011

課題番号：23850014

研究課題名（和文） 火災発生後の干潟環境中での多環芳香族炭化水素（PAHs）の動態研究

研究課題名（英文） Study on the behavior of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the sediment of a tidal flat after a fire breaking out nearby

研究代表者

小野里 磨優 (ONOZATO MAYU)

東邦大学・理学部・博士研究員

研究者番号：50610094

研究成果の概要（和文）：

本研究では、2011年3月11日に発生した製油所の火災に伴う近隣の干潟底質へ影響を調べることを目的として、干潟底質に含まれる8種の多環芳香族炭化水素（PAHs）濃度の経時変化を調べた。

火災1か月後の底質を採取し、含まれるPAHs濃度を調べたところ、1.7～28.4 ug/kg-dryであり、災発生前と比較すると約3倍高濃度になったことが明らかになった。しかし、1年後に再び底質を採取し、同様に底質中PAHs濃度を確認すると1.0～5.1 ug/kg-dryになっていた。

これらのことから、火災により一時的に底質中PAHs濃度は上昇したものの、徐々に低下し、1年後には火災発生前と同程度まで低下したことを確認した。

研究成果の概要（英文）：

To research the environmental contamination of a tidal flat, caused by a fire in a neighboring refinery on March 11, 2011, we measured the concentration of eight polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) including benzo[*a*]pyrene in the sediment of the tidal flat and investigated the change in the PAH concentrations with the lapse of time. After a month from the fire, we collected for the sediment and measured the PAH concentrations, which ranged from 1.7 to 28.4 ug/kg-dry. The concentrations were about 3 times as high as those before the outbreak of the fire. After one year from the accident, we repeated the sampling and measurement: the concentrations ranged from 1.0 to 5.1 ug/kg-dry.

Therefore it was confirmed that the PAH concentrations in the tidal flat increased once, but then gradually decreased down to a level similar to that before the fire over about a year.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
総計	900,000	270,000	1,170,000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：環境関連化学

キーワード：環境分析、多環芳香族炭化水素、干潟、環形動物、底質

1. 研究開始当初の背景

多環芳香族炭化水素 (polycyclic aromatic hydrocarbons; PAHs) は、自動車の排気ガス中に含まれているほか、燃焼などによって生じる物質である。中にはベンゾ[a]ピレンのように発がん性を示すもの、変異原性を示すもの、内分泌かく乱作用が疑われているものもある。また、PAHsの性質として、疎水性が高いため、大気中や水中よりも河川や海域の底質中に分布し、蓄積しやすいという傾向がある。

報告者らは底質中に蓄積した PAHs の動態を明らかにするため、様々な種類の底生生物が生息する養老川河口干潟 (千葉県市原市) にて底生生物による PAHs 濃縮について過去数年に渡って調査してきた。その結果、環形動物であるイワムシ (*Marphysa sanguinea*) の糞中に含まれている PAHs 濃度は、底質中 PAHs 濃度のおよそ 100 倍高濃度であり、イワムシの糞中に PAHs が集積しているという大変興味深い現象があることを発見した。これは、イワムシが主に食餌としている生物の破片や死骸を含むデトリタスに PAHs のような有機環境汚染物質が高濃度に含まれており、イワムシの摂食および排泄行動を介して、さらに糞中に濃縮されるためだと推測している。また、イワムシが底質上に排泄し、そのまま放置された糞中では、3-5 環からなる 8 種の PAHs 濃度がいずれも 2 時間でほぼ半減した。すなわち、イワムシの糞が排泄された後に短時間で急激に進む PAHs 減少プロセスがあることを明らかにしてきた。

2011 年 3 月 11 日 14 時 46 分に、日本の三陸沖の深さ約 24 km でマグニチュード 9.0 の海溝型地震が発生した。報告者らの大学がある千葉県では、震災発生後 1 時間ほどしてから市原市にある製油所で高压タンクが落下し、下にあったガス管が破裂して爆発炎上するという火災が起きた。当該製油所の発表によると、約 11 日間に渡って高压ガスタンク・アルコールケトン製造装置においてプロパン・ブタン・プロピレン・ブチルアルコール・ジソブチレンが燃焼した。そのため、環境中には燃焼によって発生した PAHs が放出されたと予想され、製油所の近隣に存在する養老川河口干潟の底質上には降雨などにより大気中の PAHs が堆積したと推測された。

2. 研究の目的

以上の背景を踏まえ、本研究では大きく分けて以下の 2 つの項目について明らかにすることを目的とした。

(1) 火災後の干潟環境のモニタリング

製油所の近隣にあるために、火災の発生に伴って急激に堆積したと思われる“干潟底質中の PAHs 濃度及び分布の経時変化”を 1 年

間に渡って調査する。

(2) イワムシによる PAHs 濃縮・分解及び浄化能力の評価

今まで報告者らは、火災が発生する以前の通常の干潟環境で、イワムシ糞 (図 1) 中への PAHs 濃縮及び糞中での PAHs 濃度の経時変化を調査してきた。そこで、今回の火災発生後の干潟においても同様な実験をおこない、火災による急激な底質環境の変化があった後、イワムシによる PAHs 濃縮・分解プロセスがどのような影響を受けたかを把握する。



図 1. イワムシ (左図)、イワムシの糞 (右図)
(出典: http://marine1.bio.sci.toho-u.ac.jp/tokyobay/ikimono/bio_images/marphysa.jpg)

3. 研究の方法

(1) 火災後の干潟環境のモニタリング

月に 1 度、養老川河口干潟にて底質試料採取をおこなった。具体的には底質表層から 5 mm 程度までの表層部と、火災による PAHs の堆積が起こっていないと思われる深層部 (底質表層から 10 cm-15 cm ほどの部分) との 2 種類を採取した。

加えて、千葉県千葉市美浜区の幕張の海でも同様に底質試料を採取した。幕張の海岸を比較対象地として選択した理由は、養老川河口干潟にはイワムシの他、様々な底生生物が生息しているが、幕張の海岸は人工的に作られた砂浜であり、干潟と比べて底生生物の種類や数が少ないからである。また、養老川及び幕張の浜での底質採取は安全の確保のため、干潮が夜中の時間帯になる期間 (10~2 月) は休止し、3 月に試料採取を再開した。

いずれの底質試料も前処理をおこない、ガスクロマトグラフィー質量分析計 (GC/MS) を用いて分析し、含まれる PAHs 濃度を定量した。分析対象としたのは、底質からの検出頻度の高い 3-5 環からなる 8 種の PAHs (フェナントレン、アントラセン、フルオランテン、ピレン、クリセン、ベンゾ[b]フルオランテン、ベンゾ[a]ピレン、ペリレン) である。得られた定量結果から、干潟と人工の砂浜の底質に含まれる PAHs 濃度の比較及び経時変化に伴う両地点での PAHs 濃度変化の違いなど PAHs の分布を明らかにすることを試みた。

(2) イワムシによる PAHs 濃縮・分解及び浄化能力の評価

① イワムシ糞中への PAHs 濃縮

養老川河口干潟での底質採取の際にイワ

ムシの糞も採取し、底質同様に前処理・GC/MS分析をおこなって、糞中に含まれる7種のPAHs濃度を調べた。

その“糞試料に含まれるPAHs濃度”を報告者らが2009年までに調査してきた火災が発生する前の時点における定量結果を基準として比較し、イワムシ糞中でのPAHs分布の差異を調べた。

②イワムシの糞中PAHs分解及び浄化能力の評価

これまでの研究で報告者らは、排泄したてのイワムシの糞をそのまま浜上で2時間放置しておく、放置後の糞に含まれるPAHs濃度は排泄したての糞中PAHs濃度に比べて、約半分になるという興味深い現象を突き止めている。この2時間という極めて短時間でのイワムシ糞中でのPAHs分解はイワムシ由来の酵素によるものではないかと推測しているが、原因の究明はまだ出来ていなかった。

そこで、排泄後2時間以内のイワムシ糞中PAHs濃度変化を調べることを目的として、1及び0.5時間放置したイワムシ糞中PAHs濃度を調べた。

4. 研究成果

(1) 火災後の干潟環境のモニタリング

火災発生前の2009年の養老川河口干潟底質中の各PAHs濃度に対して、2011年4月及び2012年3月に採取した養老川河口干潟底質（表層部）中に含まれるPAHs濃度がどれだけ増加したのかを図2に示した。2009年の定量結果に比べて、火災発生直後の2011年4月はFlu(4.5倍)を始めとして、Chry(3.8倍)やPyr(3.5倍)が特に高濃度になっており、他のPAHsでも0.7~3倍程度（平均2.8倍）高濃度になっていた。燃焼によって生じたPAHsは風などによって飛散してゆくことも容易に予想されるなかで、近隣の干潟底質中PAHs濃度が約3倍も高くなったということは、河川水や降雨など自然な状態で干潟へのPAHs流入に加えて他の付加的なPAHs流入があったことを示していると考えられる。深層部についてもtotal PAHs濃度を調査してみると、2011年4月には2009年に比べて3.6倍高濃度になっていた。おそらく、15cm程度までの深さでは貝類などの底生生物が生息しており、生物攪拌によってPAHsが深層部にも攪拌し、表層部よりも深層部へ蓄積してしまったと推測される。

1年間に渡って養老川河口干潟の底質中PAHs濃度を調査し、total PAHs濃度の変化を図3に示した。表層部と深層部に分けて調査をおこなったが、比較的PAHsが蓄積しやすい深層部の方が表層部よりも高濃度になっていたが、1年間を通して表層部・深層部ともにtotal PAHs濃度は徐々に低下してい

ったことが本研究によって明らかになった。

一方で、火災発生から1年が経過した2012年3月に採取した底質についても分析し、同様に2009年の定量結果と比較すると、いずれのPAHsについても表層部では0.4~1.6倍（平均1倍）、深層部では0.5~2.2倍（平均1.4倍）となっていた（図2）。2011年4月の時点で濃度増加が認められなかったPeryについては1年が経過したのちもさほど濃度変化はなかったことが分かった。

これらの結果から、干潟底質には火災によってPAHsが流入し、一時的に高濃度にはなったものの、1年間という時間をかけて徐々にPAHs濃度は低下し、おおよそ火災発生以前の状態まで回復したことを確認できた。

一方で、底生生物があまり生息していない幕張の人口の浜の底質中PAHs濃度の経時変化（図4）は、干潟の場合とは異なっていることが明らかになった。底生生物による底質攪拌が少ないため、1年間を通してほとんどPAHs濃度は変化しなかった。

以上の結果から、火災による干潟底質への影響は全くなかったとは言いきれないが、1年間をかけて底生生物による生物攪拌などの効果によって底質中PAHsは徐々に低濃度へと推移した。このことから、貝類や環形動物などの底生生物は干潟底質浄化にとって大変重要な存在であることが示唆された。

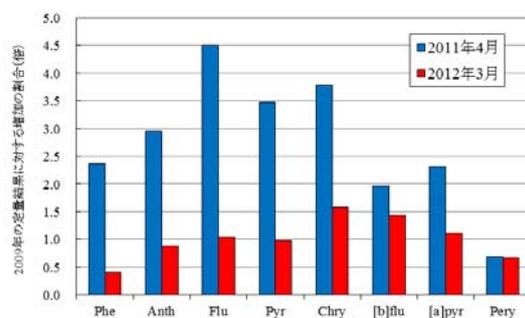


図2. 火災発生以前(2009年)の底質中PAHs濃度に対する火災発生後のPAHs濃度増加の割合

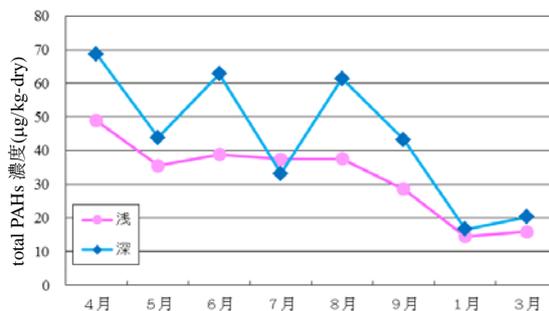


図3. 養老川河口干潟底質中total PAHs濃度の経時変化（表層部、深層部）

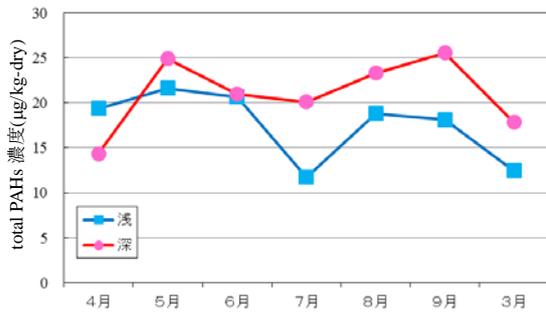


図4. 幕張の人工浜における底質中 total PAHs 濃度の経時変化 (表層部、深層部)

(2) イワムシによる PAHs 濃縮・分解及び浄化能力の評価

①イワムシ糞中への PAHs 濃縮

イワムシ糞中への PAHs の濃縮の割合についての考察は②でおこなうことにし、ここでは PAHs 分布について考察する。火災発生以前の 2009 年及び火災発生後の 2011 年に採取したイワムシ糞中 PAHs 分布を図 5 に示した。イワムシ糞中から検出された total PAHs 濃度に対して各 PAHs 濃度の割合を棒グラフで示したものであるが、これを見ると比較的高分子量 PAHs の割合は変動していないが、低分子量 PAHs である Flu の割合が火災発生後に顕著に増加していることが分かる。Phe, Flu, Pyr のような低分子量 PAHs は燃焼によって生じやすいと言われている PAHs であるが、Phe, Pyr はさほど増加しておらず、一概に火災の影響によってイワムシ糞中 PAHs 分布に変化が生じたとは言いがたいが、多少の変化はあったのではないかと推測される。

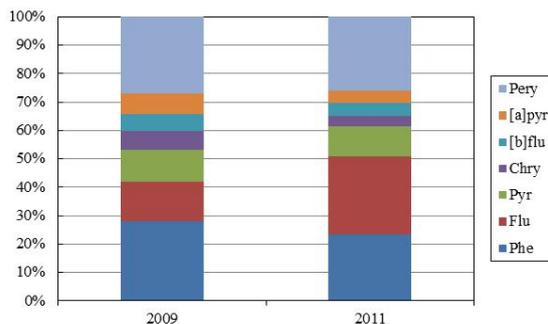


図5. 火災発生前後のイワムシ糞中 PAHs 分布の変化

②イワムシの糞中 PAHs 分解及び浄化能力の評価

「排泄したての糞に含まれる PAHs 濃度 $[C_0]$ 」を表 1 に示した。排泄したての糞に含まれる 7 種の PAHs total 濃度範囲は、300–1,700 $\mu\text{g}/\text{kg-dry}$ であり、大きな差が生じるということが明らかになった (2 時間放置の

結果は 2009 年の測定結果、0.5 及び 1 時間放置の結果は 2011 年の測定結果)。2009 年の定量結果と 2011 年の定量結果とを比較すると、 $[C_0]$ は 300–1700 $\mu\text{g}/\text{kg-dry}$ を推移し、火災発生後に高濃度になったような傾向はあったが、日によっては低濃度のこともあり、必ずしも火災発生後にイワムシ糞中 PAHs 濃度が高濃度になっていたというわけではなかった。そのため、イワムシの糞中への PAHs 濃縮に対してはほとんど火災の影響はなかったのではないかと考えられる。また、このイワムシ糞中 PAHs 濃度 $[C_0]$ の差異は、サンプリング日や個体差に起因するもので、環境試料の分析においては避けることができないものである。そのため、報告者は PAHs 濃度 $[C]$ を PAHs 濃度 $[C_0]$ で割ることによって規格化し、相対濃度 R を算出することにした。放置しない場合すなわち $t=0$ の時は $R=1$ となる。

一方で、一般的には、微生物が関与する反応は二次反応であるとされており、式 1 で表される。

$$\frac{d[P]}{dt} = -k_2[M][P] \quad (\text{式 1})$$

$[P]$: PAHs 濃度、 $[M]$: 微生物濃度、 k_2 : 反応速度定数

もし、微生物濃度が PAHs 濃度よりも極めて大きい場合には擬一次反応で近似することができる。この微分方程式の解は式 2 で表され、濃度 P は時間経過に伴って指数関数的に減少する。この濃度 P の対数を時間に対してプロットすると直線関係が得られることが知られており、直線の傾きから速度定数 k が与えられ、この関係式から半減期を算出することが出来る。

$$\frac{d[P]}{dt} = -k[P] \quad (\text{式 2})$$

k : 擬一次反応速度定数

この法則に基づいて、本実験のデータを解析してみた。すなわち、8 種の PAHs 濃度を合計した total PAHs 濃度に対して、各実験の R ($[C]/[C_0]$) を算出したところ、0.5 時間放置では 0.81 ± 0.13 、1 時間放置では 0.75 ± 0.06 、2 時間放置では 0.49 ± 0.02 となった。 R の推移を時間に対してプロットすると、指数関数的な減少を示した (図 6)。各 PAH について解析した場合にも同様なプロットが得られた。各 PAH について R 値の対数を取り、時間に対してプロットすると直線関係が得られた。このことは、この反応が擬一次反応で示されることを示している。さらに、得られた直線の式から各 PAHs の半減期を算出したところ、表 2 に示すように 1.7~2.2 時間であることが分かった。

表 1. イワムシ糞中 PAHs 濃度 (µg/kg-dry)

	0.5 h		1.0 h		2.0 h		
	C ₀	C	C ₀	C	C ₀	C	
1st	Phe	387	287	480	480	242	95.9
	Flu	431	319	291	171	118	56.5
	Pyr	191	149	116	96.2	97.8	52.0
	Chry	108	77.6	64.9	48.3	57.2	27.6
	[b]flu	123	56.0	31.5	25.1	51.0	25.4
	[a]pyr	133	72.7	64.3	35.1	62.3	33.3
	Pery	339	268	142	90.8	232	119
	total	1712	1229	1190	946	860	409
2nd	Phe	107	91.6	327	266	227	81.8
	Flu	112	105	383	240	146	61.3
	Pyr	37.2	29.4	150	92.5	132	51.8
	Chry	13.0	16.8	50.8	36.4	77.3	38.3
	[b]flu	5.50	5.05	65.9	46.2	71.5	40.2
	[a]pyr	15.8	14.1	59.8	37.2	98.4	57.5
	Pery	4.96	3.93	364	278	341	213
	total	295	266	1400	996	1093	544

C₀: 排泄直後のイワムシ糞中PAHs濃度
C: 放置後のイワムシ糞中 PAHs 濃度

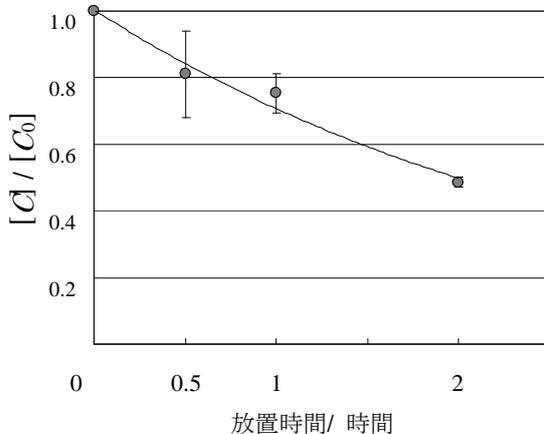


図 6. 時間経過に伴う相対濃度 R ($[C]/[C_0]$) の変化

表 2. イワムシ糞中 PAHs の半減期 (hour)

	Phe	Flu	Pyr	Chry	[b]flu	[a]pyr	Pery
$t_{1/2}$	1.7	1.7	1.8	2.0	2.0	1.9	2.2

イワムシ糞中 PAHs 濃度低下が擬一次反応で近似されたことにより、イワムシ糞中 PAHs 分解には微生物が関与している可能性が高まったので、考えうる微生物分解について考察をおこなった。

《可能性 1》微生物内での分解

微生物は化合物を取り込み、分解し、栄養源として利用していると言われ、様々な実験がなされているが、実験条件などによって半減期は異なり、日～週、年単位での報告がなされている。しかし、これらの報告と比較すると、私たちのイワムシ糞中における PAHs 分解の半減期は極めて短く、糞中ではこのタイプの分解反応はあまり起こっていないのではないかと考えている。

《可能性 2》微生物が産生する細胞外酵素による分解

ある種の微生物は細胞外酵素を放出し、高分子を分解してから小さなフラグメントを取り込み、使用しているとの報告がある。例えば、リグニン分解酵素はベンゾ[a]ピレンを酸化、代謝しているとの報告もあり、この酵素は非特異的で、様々な有機物を酸化、分解することが可能であると言われている。

これらの報告から、イワムシ糞中 PAHs もこのように細胞外酵素が関与する分解機構によって分解されているのではないかと推測され、今後は、糞中に存在する微生物の同定が急務であると考えている。

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 1 件)

- Mayu Onozato, Toshiyuki Sugawara, Atsuko Nishigaki, Shigeru Ohshima. "Study on the degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the excrement of annelids". *Polycyclic Aromatic Compounds*, 査読有, 32 巻, 2012, p. p. 1-10.
<http://www.tandfonline.com/loi/gpol20>

[学会発表] (計 2 件)

- 小野里 磨優、西垣 敦子、大島 茂. 「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 (愛知県)
- Mayu Onozato, Toshiyuki Sugawara, Atsuko Nishigaki, Shigeru Ohshima. "Study on the degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the excrement of annelids". The 23rd International Symposium on Polycyclic Aromatic Compounds. 2011 年 9 月 7 日, ミュンスター大学 (ドイツ)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小野里 磨優 (ONOZATO MAYU)

東邦大学・理学部・博士研究員

研究者番号：50610094

(2) 研究分担者

該当なし

(3) 連携研究者

該当なし