

## 第 4 調 査 研 究 業 績 (講演発表・論文・報告書)

### 1. 講 演 発 表

# 北九州市における揮発性有機化合物濃度

後藤 亜希子, 徳原 賢, 崎野 始, 西 保信

村上 能崇 (北九州市環境局環境管理課)

第 4 4 回大気環境学会 (京都市)

平成 1 5 年 9 月

## 1 はじめに

北九州市では有害大気汚染物質のモニタリングを市内 4 カ所で行っており, TO-14 成分を容器採取法(キャニスター法)で測定している。これらの物質の中からPRTR法で対象になっている 26 種の VOCs について, 平成 12 年度から 14 年度までの過去 3 年間のデータを用いてその挙動を解析するとともに, PRTR法による届出情報を用いて考察したので報告する。

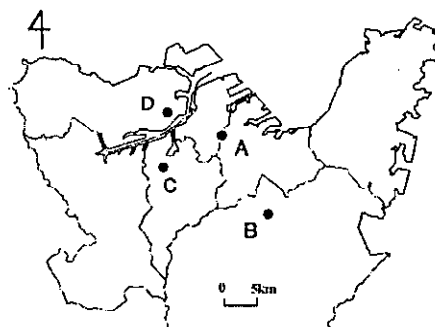


図1 調査地点

## 2 調査方法

(1) 調査期間: 平成 12 年 5 月から 15 年 2 月まで 3 カ月ごとに 12 回

(2) 調査地点: A 北九州観測局(一般環境), B 企救丘観測局(郊外), C 西本町測定所(沿道), D 若松観測局(工業地域近傍)

(3) 試料採取,分析: 有害大気汚染物質測定方法マニュアルに従い, 3ml/min の流量でキャニスターに 24 時間減圧採取を行った。採取した試料は, 試料導入装置(Entech 7000)を用い, GC/MS(HP 5973)に導入後, SCAN 法で測定した。

## 3 結果および考察

### (1) 検出結果

最も高く検出されたのは, 地点 C のトルエン  $24 \mu\text{g}/\text{m}^3$  であった。ベンゼンについては地点 C を除き, 年間平均値が環境基準値 ( $3 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ) 以下であった。変動が最も小さかったのはフロン 11 で変動係数 5.5%, 最も変動が大きかったのは 1,1,2,2-テトラクロロエタンで変動係数 260%であった。

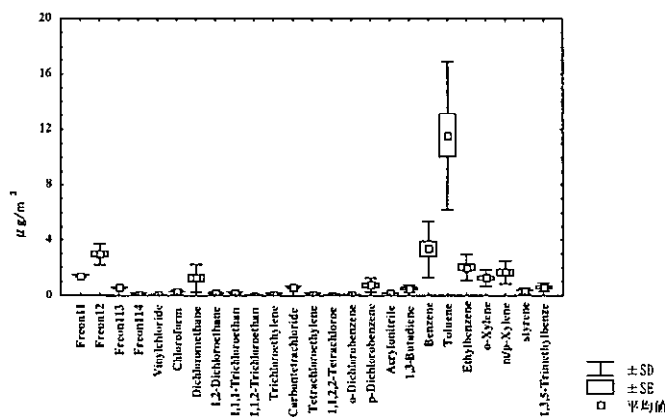


図 2 地点 C 西本町測定局における VOC 濃度

### (2) 発生源の推定

フロン 11, フロン 12, フロン 113, フロン 114 とクロロホルム, 1,1,1-トリクロロエタン, トリクロロエチレン, 四塩化炭素, テトラクロロエチレンについては, 各地点とも比較的変動が小さく, 地点ごとの差や経年変化も見られなかった。これは, これらの物質が「オゾン層保護法」などで規制され経年したことにより, 主要な発生源が少なくなっているためと考えられる。1,3-ブタジエン, ベンゼン, トルエン, エチルベンゼン, o-キシレン, m/p-キシレン, 1,3,5-トリメチルベンゼンは各地点とも比較的変動が大きく, 物質間に有意な関係が見られた。これらの物質は主に自動車排ガスに由来していると考えられる。また, p-ジクロロベンゼンは一般環境の地点 A と郊外の地点 B で高く検出されている。p-ジクロロベンゼンは家庭で使用される防虫剤や殺虫剤に含まれており, 住宅が主要な発生源となっているものと思われる。

## 粉じん中の金属類分析における捕集ろ紙(石英 繊維ろ紙およびニトロセルロースろ紙)の比較

末富良次、谷崎定二、崎野 始、津村周作、西 保信  
沖縄県那覇市(九州衛生環境協議会)

平成15年10月

### 【はじめに】

当所では環境大気中の有害大気汚染物質である粉じん中の金属類を、石英繊維ろ紙+ハイボリウムエアサンプラで捕集後、マイクロウェーブ分解装置+圧力容器を用いて分解したのち、誘導結合プラズマ質量分析計(ICP-MS)で分析を行っている。

しかしながら測定する金属類によっては、石英繊維ろ紙の操作ブランク値が高いため、目標定量下限値を達成できず定量できないこともある。さらに、今後測定対象物質に挙げられている元素には、この方法での操作ブランク値が高いもの(バリウム等)もある。また石英繊維ろ紙を分解するため、有害で腐食性が高いふっ化水素酸を用いなければならないため、薬品の管理や作業環境に十分な配慮が必要であり、さらに定量する分析機器に影響しないようにするため、ふっ化水素酸を完全に気散させる必要があるなど、操作が煩雑なものとなっている。

有害大気汚染物質測定方法マニュアルには、石英繊維ろ紙のほかに「ふっ素樹脂ろ紙」「ニトロセルロースろ紙」等が指定されているが、石英繊維ろ紙以外を用いた報告例はほとんどない。

ここでは当所で以前より使用している石英繊維ろ紙とニトロセルロースろ紙との操作ブランク値の比較と、実際の環境大気の捕集への適用の可能性を検討したので報告する。

### 【操作ブランクの測定方法】

石英繊維ろ紙とニトロセルロースろ紙との操作ブランク値の違いを比較するため、以下の方法を用いて操作ブランクを測定した。

#### (1) 試薬

水：ミリQ水、フッ化水素酸(48%)・硝酸(60%)・過酸化水素水(30%)：関東化学製ウルトラ超高純度試薬、標準液：SPEX社製ICP汎用混合液XSTC-22、XSTC-331等

#### (2) ろ紙

石英繊維ろ紙：Whatman社製QUARTZ MICROFIBRE FILTERS QM-A

ニトロセルロースろ紙：アドバンテック東洋MIXED CELLULOSE ESTER(孔径0.3μm)

#### (3) 装置

マイクロウェーブ分解装置：CEM社製MDS-2000、ICP-MS：Agilent社製HP-4500

#### (4) 操作

有害大気汚染物質測定方法マニュアルの大気中のベリリウム、マンガン、及びクロムの測定方法第2節 前処理方法(2) 圧力容器法 および 測定方法：誘導結合プラズマ質量分析法に沿って測定を行った。

### 【結果】

#### 1 石英繊維ろ紙とニトロセルロースとの操作ブランク値の結果

表1 操作ブランク測定結果（石英繊維ろ紙）

石英繊維ろ紙	Be	Cr	Mn	Ni	As
試料1	0.124	9.58	5.36	3.26	0.292
試料2	0.075	9.68	5.35	3.22	0.183
試料3	0.06	10	5.78	3.21	0.167
試料4	0.05	12.92	5.5	3.96	0.109
試料5	0.052	10.76	5.67	3.51	0.129
平均値	0.072	10.59	5.53	3.43	0.176
検出下限値	0.092	4.14	0.57	0.96	0.213
定量下限値	0.305	13.81	1.89	3.19	0.711
目標定量下限値	0.4	0.08	100	4	0.2

(大気捕集量 1440m<sup>3</sup>)(単位:ng/m<sup>3</sup>)

表2 操作ブランク測定結果（ニトロセルロースろ紙）

ニトロセルロース	Be	Cr	Mn	Ni	As
試料1	0.005	4.14	0.51	1.58	0.014
試料2	0.003	3.93	0.27	1.14	0.012
試料3	0.005	4.1	0.29	1.29	0.012
試料4	0.003	3.5	0.27	1.37	0.008
試料5	0.003	3.61	0.28	1.53	0.009
平均値	0.004	3.86	0.32	1.38	0.011
検出下限値	0.004	0.86	0.31	0.53	0.008
定量下限値	0.013	2.87	1.05	1.78	0.026
目標定量下限値	0.4	0.08	100	4	0.2

(大気捕集量 1440m<sup>3</sup>)(単位:ng/m<sup>3</sup>)

## 【考察】

石英繊維ろ紙を用いた場合、ベリリウム、マンガン、ニッケルについては、目標定量下限値を達成することができるが、ひ素、クロムについては達成することができなかった。このことについては、当所だけでなく環境計量士の掲示板においてもクロムについて同様の事例が報告されていた。

ニトロセルロースろ紙を用いた場合は、クロムについては達成できなかったが、ひ素については目標定量下限値を達成することができた。このため、ニトロセルロースろ紙を用いて環境大気中の砒素等を低い定量基準で測定することの可能性がある。その他の金属元素についてもブランク値をかなり低減することが可能であり、従来は定量困難であった金属類（バリウム等）も可能となる。

## 【実際の捕集への適用可能性】

このニトロセルロースろ紙を以前より用いていたハイボリウムエアサンプラに設置して捕集しようとしたところ、空気の吸入抵抗が大きすぎ、ほとんど吸入しないようであった。石英繊維ろ紙とニトロセルロースろ紙とを電子顕微鏡で観察したところ、石英繊維ろ紙は比較的目の粗い繊維が積み重なっている多層構造となっているのに対し、ニトロセルロースろ紙は表層に細孔の開いている単層構造となっていた。このことが空気の吸入抵抗が大きい理由であると考えられる。

作業環境雰囲気中の元素分析マニュアルには同様なニトロセルロースろ紙を用いる方法が提示されているが、ハイボリウムエアサンプラではなくローボリウムエアサンプラを使用する方法である。

そこでローボリウムエアサンプラを用いて捕集したところ、吸入が可能であった。ローボリウムエアサンプラはハイボリウムエアサンプラにくらべて通過空気量が少ないため、長期間（1週間～10日程度）のサンプリング期間が必要となってくる。さらに吸入抵抗の少ない素材やサンプリングホルダの開発が必要と思われる。

北九州市における食品中の残留農薬実態調査

北九州市環境科学研究所

苗床江理 樋口雅之 小嶋 勉

山口理香 石川精一 高橋正規

第29回九州衛生環境技術協議会（那覇市）

平成15年10月

概要

世界で使用許可されている農薬は既に600種を越えている。現在、厚生労働省は、約400種の農薬の規制対象化を目指し、多成分同時分析法を主とした公定法の開発作業を行っているが、当研究所では、平成9年頃から、山口らが開発した残留農薬スクリーニング法<sup>1)</sup>を年々改良し、多成分農薬の実態調査を実施してきた。そこで今回、最近6年間の実態調査結果を報告すると共に、分析等において若干の知見を得たので述べる。

実験方法

- 1 試料 平成9年度から14年度までの6年間に行政依頼検査として搬入及び調査研究用に購入した、北九州市内流通の食品117種類722検体。(国産品370検体：生鮮342、冷凍2、加工26、輸入品352検体：生鮮210、冷凍127、加工15)
- 2 分析法 山口ら開発の残留農薬スクリーニング法<sup>1)</sup>の改良法(図1、表1参照)及び告示試験法等で行った。対象農薬は163種類であった。

結果

食品56種類206検体から0.002~22ppmの濃度範囲で64種類の農薬が検出された。残留基準値を超えたもの又は表示違反は、7食品5農薬であった。残留基準値未設定の農薬は国産品30.7%、輸入品34.6%で検出された。検出率の高い農薬は表2に示すとおり。

表1 スクリーニング法のGC/MS条件

カラム	HP-5 φ0.25mm×長さ25m×膜厚0.5μm
カラム温度	60℃(1min)→30℃/min→130℃→5℃/min→240℃→30℃/min→300℃(8min)
キャリアガス	He 1.50ml/min(定流量モード)
注入口温度	280℃
注入	スプリットレス 1μl
MS温度	イオンソース250℃ イオン源210℃
イオン化法	EI 電圧70eV 電流300μA
検出器電圧	-500~-750V
MSモード	スキャンモード m/z50~500 速度400msec

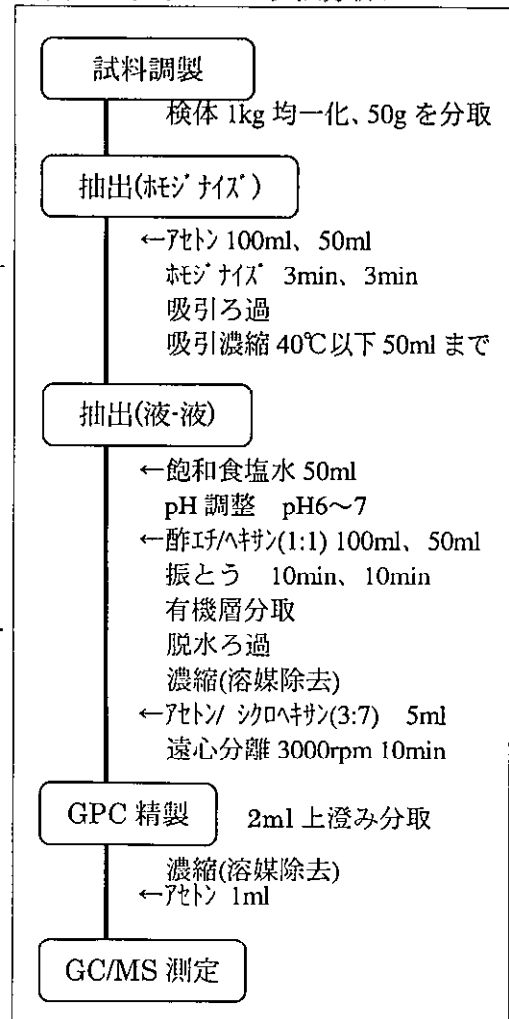
表2 検出農薬(検出率順)

国産品		輸入品	
1	イプロジオン (4.2%)	1	総臭素 <sup>※1</sup> (43.5%)
2	ジコホル (3.5%)	2	ベニミル <sup>※2</sup> (36.4%)
3	ジエトフェンカルブ (3.2%)	3	クロルピリホス (10.2%)
4	クロルメチピリン (2.7%)	4	ジコホル (6.5%)
5	クロルフェナピル (2.6%)	5	フェンバレート (4.5%)
6	フルトリアネート (2.5%)	6	シペルメトリン (4.0%)

※1 試料は輸入品のみ ※2 試料はバナナのみ

1)山口新一他,分析化学 Vol.46,No.11,905-914(1997)

図1 スクリーニング法分析フロー



# パッシブサンプラーを用いた室内空気中の揮発性有機化合物の調査

梨田 実、徳崎 里美、大和 康博、高橋 正規（北九州市環境科学研究所）  
 龍 有二（北九州市立大学）

平成15年度室内環境学会（東京）

平成15年12月

## 1 はじめに

近年、ホルムアルデヒドをはじめとする揮発性有機化合物が、建材、施工材料等から室内中に放散され、シックハウスやアレルギー等の原因となる可能性が指摘されている。

厚生労働省では、「居住環境内における揮発性有機化合物の全国実態調査」などにより実態調査も行っている。通常、これらの調査には、ポンプを用いたアクティブ法による採取が標準とされるが、設置場所、採取数、騒音等で調査の制約を受けることも多い。

そこで、小型軽量であるパッシブサンプラーを用いて室内のほか家具内についても調査を行ったので、その結果について報告する。

## 2 調査概要

### (1) 試料採取方法

平成14年11月～12月に、北九州市内の戸建住宅（6戸）及び集合住宅（1戸）の7住宅を対象として、パッシブサンプラー（DSD-DNPH及びVOC-SD：スペルコ製）を居間、寝室、台所、家具（食器棚、タンス、クローゼットなど）に24時間設置し、アルデヒド類（ホルムアルデヒド、アセトアルデヒド）及び揮発性有機化合物（トルエン、エチルベンゼン、キシレン、 $\alpha$ -ピネン、カレン、リモネン、ノナン、パラジクロロベンゼン、カンフル）について調査を行った。

### (2) 測定方法

サンプラーで捕集後、サンプラーから吸着剤を取り出し、アルデヒド類は、溶媒抽出-HPLC法、揮発性有機化合物は、溶媒抽出-GC/MS法で分析を行った。

## 3 調査結果及び考察

### (1) アルデヒド類

ホルムアルデヒドについてみると、対象住宅7戸すべてで家具が最も高い値を示し、居間や寝室等の部屋よりも高い傾向であった（図1）。このことは、室内中のホルムアルデヒド低減対策は、今後、建材のほかに家具についても注目する必要性が考えられた。

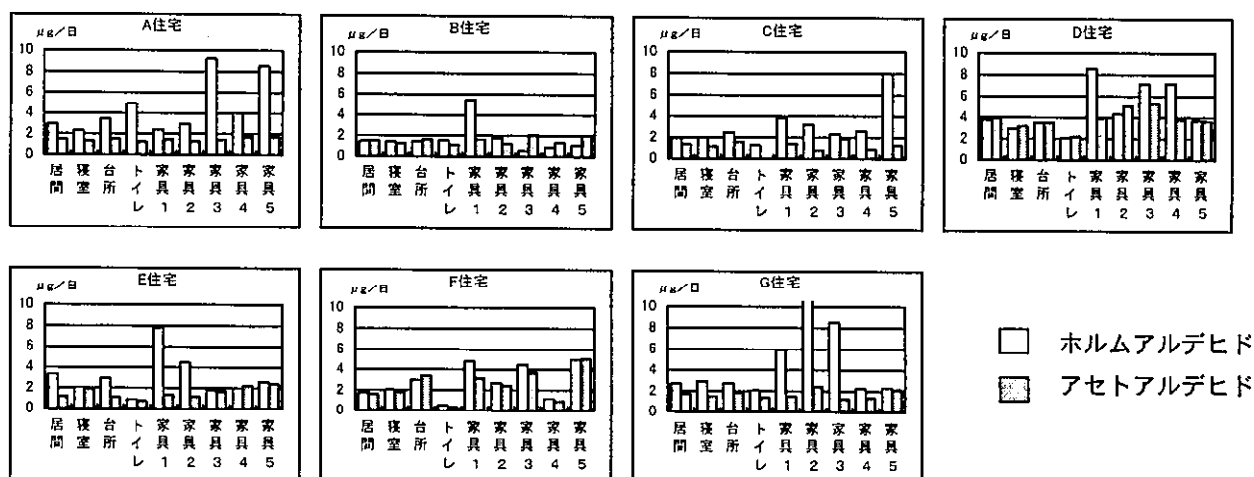


図1 室内空気中のアルデヒド類の量

アセトアルデヒドは、D、F住宅で相対的に高い値を示し、ホルムアルデヒド量とほぼ同じかやや低い値であった（図1）。A、C住宅などの家具でみられるようにホルムアルデヒド値が高くてもアセトアルデヒド値は低いこともあり、ホルムアルデヒドとは別の発生源が考えられた。

## （2）揮発性有機化合物

トルエン、エチルベンゼン、キシレンについてみると、D住宅の家具2で3物質とも最も高い値（9.4、2.1、9.2 $\mu\text{g}/\text{日}$ ）を示したほかは低い値であった。E住宅ではトイレを除きトルエン、キシレンが相対的に高い値（平均2.0、2.3 $\mu\text{g}/\text{日}$ ）を示したものの、他の住宅ではほぼ同じ低レベルであり、建材からの放散量は少ないと考えられた。

$\alpha$ -ピネン、カレン、リモネンについてみると、2ヶ月以内の木造住宅B、Eでは、測定場所すべてで $\alpha$ -ピネンが高い値（9.1~20.4 $\mu\text{g}/\text{日}$ ）を示した。カレンも他の住宅に比べると高い値（平均2.0、1.4 $\mu\text{g}/\text{日}$ ）を示し、これらは無垢材からの放散の影響と考えられた。

石油ストーブを使用したE住宅では、ノナンが、相対的に高い値を示した（図2）。また、E住宅の家具でもほぼ同じ値を示したのは、扉がない書棚等で採取したためと考えられた。

パラジクロロベンゼンについては、B、C住宅ではすべての採取箇所、F住宅ではトイレを除く採取箇所、G住宅では家具2で高い値を示した（図2）。各住宅の家具で高く出たのは、防虫剤の使用による影響と考えられた。また、家具だけでなく居間、寝室なども高い値を示したことから、防虫剤の使用による影響が住居内全体に及んでいたことがわかった。

カンフルについてみると、C住宅の家具内で高い値を示したが、部屋への影響は少なく、パラジクロロベンゼンでみられるような住居内での広がりはみられなかった（図2）。

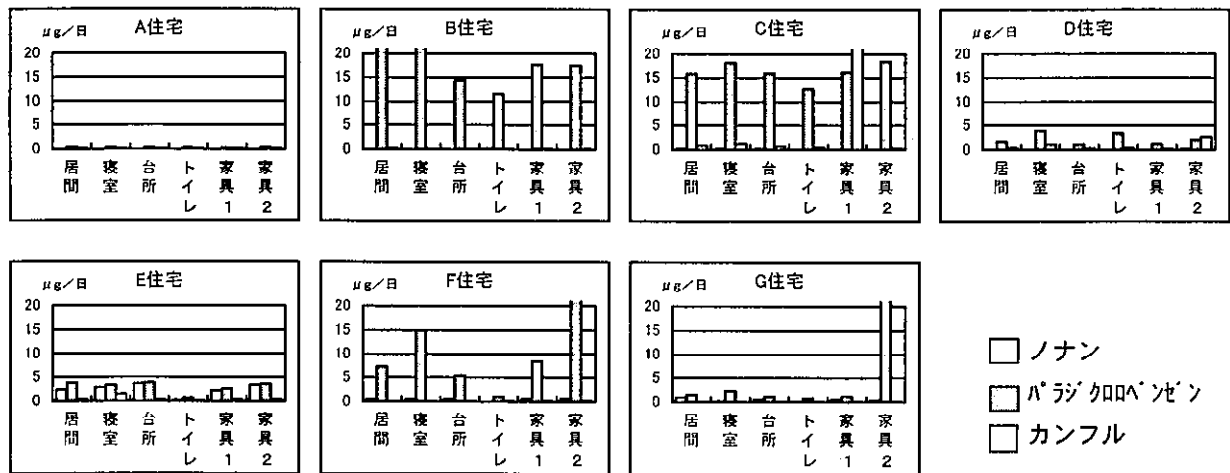


図2 室内空气中の揮発性有機化合物の量

## 4 まとめ

北九州市での室内中及び家具内の化学物質の実態調査を行い、以下のことがわかった。

- (1) ホルムアルデヒドはどの家庭でも家具で最高値を示した。このことは、ホルムアルデヒド削減対策は建材だけでなく、家具についても注目する必要性が考えられた。
- (2) トルエン、キシレン、エチルベンゼンは一部の家具で高い住宅があったが、他は低い値であり、削減対策が進んでいることが推察された。木造新築の住居内では、 $\alpha$ -ピネン、カレンが高く、室内中の総化学物質量のかなり部分を占めると考えられた。
- (3) パラジクロロベンゼンは、防虫剤の使用により家具内だけでなく住居内全体に高い濃度で拡散していた。また、石油ストーブなどの使用によっても化学物質量は増加する。このように、住む人の住まい方により、室内中の化学物質量は大きく左右され、化学物質量を減らすには、発生源となる家庭用品を極力持ち込まないことや窓の開放などにより換気回数増やすことなどが大切であると考えられた。

# 北九州市域に流通する食品中の残留農薬調査

北九州市環境科学研究所

樋口雅之 小嶋勉 苗床江里 山口理香 石川精一 高橋正規

第86回食品衛生学会（盛岡市）

平成15年10月

## 目的

現代の農業において農薬は必要不可欠であり、様々な農薬が国内外で使用されている。現在、世界で流通する農薬は600種類以上と言われており、その多くがポジティブリスト制の導入に伴い規制の対象となることから、今後、残留農薬分析業務の増加が予想されている。そこで、今後の効率的な分析業務に資する目的で、本市が平成9年度から14年度までに行った食品中の残留農薬調査の結果についてまとめ、検討を行ったので報告する。

## 方法

北九州市域で流通し、平成9年4月から平成15年3月までの6年間に、行政依頼検査として持ち込まれた食品及び調査研究用に購入した食品計722検体を用いた。その内訳は、国産品370検体（生鮮食品342検体、冷凍食品2検体、加工食品26検体）、輸入品352検体（生鮮食品210検体、冷凍食品127検体、加工食品15検体）である。分析は、当所が開発した残留農薬一斉分析法及び告示試験法等を用いて行い、164種類の農薬について調査を行った。

## 結果及び考察

国産品では、370検体中65検体（検出率：17.6%；以下同様）から49種類の農薬が検出された。検出頻度の高い農薬は、イプロジオン（4.2%）、ジコホール（3.5%）、ジエトフェンカルブ（3.2%）であった。イプロジオンは、キャベツ、はくさい等の葉菜、ジコホールは、茶類、ジエトフェンカルブは、トマトからの検出事例が多かった。また、農薬の検出頻度の高い食品は、極端に検体数の少ない食品を除くと、トマト（68.8%）、茶類（58.3%）、はくさい（42.1%）等であった。

輸入品では、352検体中141検体（40.1%）

から38種類の農薬が検出された。検出頻度の高い農薬は、臭素（43.5%）、ベノミル（36.4%）、クロルピリホス（10.2%）であった。臭素及びベノミルは、ポストハーベスト処理に由来するものと推察された。臭素は、柑橘類を中心に、様々な食品で検出された。クロルピリホスは、柑橘類からの検出事例が多かった。農薬の検出頻度の高い食品は、冷凍枝豆（80.0%）、ピーマン（75.0%）、オレンジ（70.4%）等であった。国産品及び輸入品全体で、残留基準値以上の農薬の残留が認められたものは、722検体中5検体（0.7%）であった。今回検出された農薬のうち、33.1%は食品衛生法の基準の設定がない農薬であった。今後は、本調査の結果を踏まえ、実態に即した調査を行っていく必要があると思われる。昨年中国産冷凍野菜の問題やダイホルタン等の無登録農薬の使用等の問題など、国産および輸入食品全体で、残留基準値以上の農薬の残留が認められたものは、722検体中5検体（0.7%）であった。

現在、食品中の残留農薬に関しては、食品衛生法に基づく「食品・添加物の規格基準」によって、229種類の農薬について、その基準値が定められている。更に、ポジティブリスト制の導入に伴い、約200種類の農薬が、新たに基準値を設定される予定であることから、今後の、業務量の増加が予想されている。そこで、今後、効率的な残留農薬分析業務を行なうため、本市が行なった行政検査の結果を中心に、食品中農薬の残留実態について検討を行なったので報告する。



## GC/MS 一斉分析用データベースの開発

門上希和夫, 棚田京子

種田克行, 向紀雄, 中川勝博 (島津製作所)

第12回環境化学討論会 (新潟市)

平成15年6月

### 《はじめに》

環境基準, 要調査項目, PRTR 対象物質など, 現在多数の化学物質のモニタリングが実施されており, その数は年々増加している。また, 地震などの緊急時や環境汚染事故・事件では, 予想もしない物質による環境汚染が生じている。その為, 現在多数の化学物質を短時間に効率的にモニタリングする手法が求められている。迅速かつ効率的な化学物質の分析には, ロボットなどを用いた自動前処理と多数の物質を一度に測定する一斉分析法が有効な手法である。我々は, 1995年にGC/MSによる300種の化学物質の一斉分析法を開発<sup>1)</sup>し, 環境調査や環境汚染事故での原因究明などで多くの成果<sup>2,3)</sup>をあげてきた。本報告では, この手法を発展させたGC/MSを用いた一斉分析用データベースについて報告する。

### 《データベースの構造》

データベースには, 対象物質の同定・定量に必要な全ての情報が登録されている。即ち, 物質名, 保持時間, マススペクトル, 定量イオン, 対応内標準, 検量線, 保持時間補正用 n-アルカン保持時間データなどである。

### 《同定の方法》

GC/MSにおける化学物質の同定は, 保持時間とマススペクトル (またはピーク強度比) が標準と一致するかどうかを判定して行う。マススペクトルは, 測定日によって異なることはないが, 保持時間はカラムや昇温条件が同一でも測定日によって異なることがある。その為, 確実な同定のために, 試料の測定と同時に標準を測定して対象物質の保持時間を測定する。このような操作は, 数十物質を対象とした場合は可能であるが, 数百, 数千物質を測定する場合には, 不可能である。そこで, 本データベースでは, n-アルカンを保持指標として測定毎に変化する保持時間を補正する。具体的には, 試料の測定に先立ち n-アルカンを測定し, その保持時間を用いて対象物質の予想保持時間を求める。また, マススペクトルの比較は, リバースサーチにより行う。これにより, 対象物質が他の物質の妨害を受けても, その影響を排除することができ, 同定の信頼性を向上することが可能となる。

### 《一斉分析の手順》

データベースを用いた化学物質の同定・定量手順を図1に示す。試料の測定時に併せて保持時間補正用の n-アルカン標準液を測定するだけで, 他は従来の分析と同様に実施するだけで分析が可能である。なお, 従来行っていた対象物質の標準の測定は不要である。当然のことながら, 本データベースでは, 注入試料液中に存在する物質しか測定はできない。即ち, 測定可能な物質は, 試料の前処理後に最終試料液に残る物質の内, データベースに登録されている物質である。その為, 測定可能な物質数を増やすには, カラムや昇温条件を変えた複数のデータベースを作成することが必要となる。

### 《装置による測定値の差》

GC/MSの機種による測定値の差を調べるために, 279種の化学物質 (注入量各0.2ng) を3種のGC/MSで測定した。その結果を表1に示す。表1の結果は, 同一の検量線を用いて各装置で測定したピーク面積から濃度を計算し, 相互に比較したものである。装置A及びCは四重極型MS, Bはイオントラップ型MSであり, C/Cは装置Cでの連続測定の比較である。表から同一装置による連続測定での測定値が最も一致していた。また,

装置が異なる場合でも、ある程度一致した測定値が得られた。注入量が 0.2ng と少量であること、使用カラムが全て異なることを考慮すると、測定値の差は GC 特にカラムやインサートによる影響の方が、MS による影響より大きいと推定された。今後、カラムやインサートの性能を一定範囲に保つ手法及び MS のキャリブレーションを同一にすれば、機種による測定値の差を小さくできる可能性があることが確認された。

### 《特徴及び適用用途》

本データベースを用いることにより、次のような効果が期待できる。1) 標準物質が無くても、対象物質の測定が可能（安価）、2) 測定物質数は、数千物質（理論的には無限）、3) マスペクトルと保持時間情報を用いるため、同定精度が高い。これらの特徴を利用することにより、次の用途に適用が可能である。1) 環境や食品などの安全性評価、2) 緊急時や地震等の災害時での環境安全性評価、3) 種々の事件・事故での原因究明、4) 未知汚染物質の検出、5) その他、多数の化学物質の迅速分析など。

### 《まとめ》

GC/MS を用いた化学物質の一斉分析用データベースを開発した。本データベースを用いることにより、短時間に数千物質のスクリーニング分析が可能であり、環境汚染事故、事件など短時間に安全性や原因究明が必要な場合、また未知物質の同定などが可能である。今後は、データベース登録化学物質数の拡大を行うと共に、同一機種だけでなく異なる機種間でも同一の測定値が得られるような手法を検討する予定である。

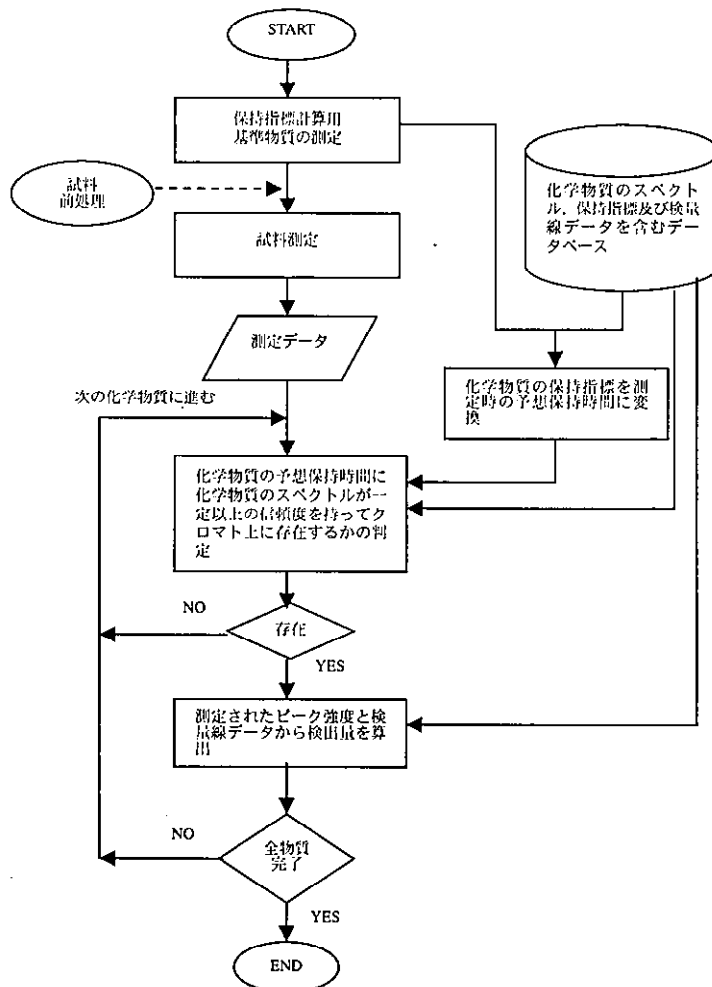


図1 データベースを用いた化学物質の同定・定量手順

表1 異なる機種による測定値の差

Item	A/B	C/B	A/C	C/C
Max	7.20	7.78	4.01	1.48
Min	0.22	0.13	0.23	0.50
Mean	0.85	0.94	1.02	0.99
RSD,%	77.0	76.8	48.8	11.2

測定化学物質：279種、注入量：各0.2ng

### [参考文献]

1. Simultaneous Determination of 266 Chemicals in Water at ppt Levels by GC-Ion Trap MS, Kiwao Kadokami, et al., Anal. Sci., 11, 375-384, 1995.
2. 北九州市沿岸海域の化学物質汚染とその由来, 門上 希和夫他, 環境化学, 8, 435-453, 1998.
3. 緊急時における化学物質調査マニュアル, 日本食品分析センター, 1998.

## バイオアッセイと化学分析による底質の雌性ホルモン様活性評価

上田泰寛, 渡辺絵美, 栗原龍 (静岡県立大学大学院)

白石不二雄 (国立環境研究所)

藤井一則 (瀬戸内海区水産研究所)

門上希和夫

橋本伸哉 (静岡県立大学大学院)

環境ホルモン学会第6回研究発表会 (仙台市)

平成15年12月

【はじめに】環境試料の雌性ホルモン様活性について、 $17\beta$ -エストラジオール(E2)やエチニルエストラジオールなど一部の既知化合物でその活性のほとんどが説明可能という報告 (Snyder, 2001, Körner, 2001) がある一方、既知の物質だけでは環境試料中の活性を説明することができないという報告 (Murk, 2002) もある。化学物質による活性への寄与に関する知見は、不足しているのが現状である。本研究では、日本沿岸域の底質試料中の雌性ホルモン様活性が、既知の化合物によってどの程度説明できるかを調べた。これまでに環境試料中で雌性ホルモン様活性に貢献が大きいとされる、エストロン(E1)、E2 及びノニルフェノール(NP)、オクチルフェノール、ビスフェノール A(BPA)を対象化合物として選び、はじめにこれらの化合物を異なる画分に溶出させるための HPLC による分画方法を検討した。次に、本法により底質試料の抽出液を異なる画分に分取した。各画分の化学分析及びバイオアッセイを行い、底質試料の雌性ホルモン様活性が選択した既知の化合物によってどの程度説明できるかの検討を行った。

【方法】採泥は東京湾沿岸域3地点で行った。試料を凍結乾燥後、ジクロロメタンを加えて超音波抽出し、HPLC (順相カラム) を用いて10個の画分に分け、各画分を GC-MS 分析、酵母 Two-Hybrid System を用いた *in vitro* バイオアッセイ及びマミチヨグ(*Fundulus heteroclitus*)を用いた *in vivo* バイオアッセイに供した。*In vitro* バイオアッセイはアゴニスト試験及びアンタゴニスト試験を行った。それぞれの試験において、通常の試験に加えラット肝 S9 で処理を行い、代謝生成物の活性の検討も行った。*In vivo* バイオアッセイは、各画分を雄のマミチヨグに腹腔内投与し、2週間後の血中ビテロジェニン (Vg) 濃度を測定した。

【結果・考察】3地点の中で最も雌性ホルモン様活性の高かった下水処理場付近の底泥からは、GC-MS 分析の結果 NP、BPA、E1、E2 が検出された。*In vitro* バイオアッセイ (アゴニスト試験) の結果から、画分 F1、F2、F5、F6 及び F7 に活性が認められ、活性に対する化合物の寄与は F1 では NP が約 70%、F5 では E1 が約 65%、F7 では E2 が約 55% であった。画分 F2 及び F6 には本研究で対象とした既知の雌性ホルモン様物質は含まれず、これらの画分の活性を説明することはできなかった。また、アンタゴニスト試験において画分 F3 に活性が認められた。S9 処理を行うと、アゴニスト、アンタゴニスト両試験において活性は認められなくなった。*In vivo* バイオアッセイの結果、画分 F2、F5、F7、F9 及び F10 において一部の検体から高濃度の Vg の誘導が認められた。マン・ホイットニーの U 検定の結果、画分 F2 及び F7 で blank に対して有意差が認められ、画分 F7 は E2 が Vg 誘導に寄与することが示唆された。試料を分画しないでマミチヨグに投与した群では、blank に対して有意差がなかったにも関わらず、試料を分画して投与した検体から高濃度の Vg の誘導がみられたことから、環境試料の潜在的な雌性ホルモン様活性を評価する上で、試料の分画は重要な意味を持つ可能性が示された。

## シュードモナス属細菌 TM15 株によるトリニトロトルエンの無機化

前田憲成, 梁 明, 大住幸秀, 草野好司 (九州工大・院・生命体)

門上希和夫

尾川博昭 (九州工大・院・生命体)

第12回環境化学討論会 (新潟市)

平成15年6月

### [はじめに]

北九州市の山田緑地では、前肢過剰ヤマアカガエルが1995年から現在まで、毎年出現している。この過剰肢は、交配実験から子孫に遺伝することが明らかとなっている。すなわち、前肢となる遺伝子に誘発した突然変異が固定された結果、子孫に過剰肢の形態が遺伝していることが想定される。一方で、山田緑地の環境調査を行ったところ、2,4,6-トリニトロトルエン (TNT) が比較的に高濃度で検出された。当研究室では、山田緑地が1934年から約20年間 TNT 火薬の弾薬庫として利用されていたという特殊な歴史を持つことから、TNT が過剰肢の原因となる遺伝子に影響を与えた可能性があると考えて TNT に注目した。TNT とその変換産物は、肝臓障害やメトヘモグロビン血症、他にも強い遺伝毒性や染色体異常能などを引き起こす環境汚染物質であると報告されている。つまり、TNT とその還元産物が持つ毒性は、人間、魚、藻類や微生物などの生態系に影響を及ぼしたと考えられる。従って、TNT を無機化することは、環境浄化において非常に重要である。

本研究では、高濃度の TNT を高効率に生分解するシュードモナス属細菌 TM15 株を用いて、TNT の変換産物及び無機化について検討したので報告する。

### [実験方法]

TNT の分解能：シュードモナス属細菌 TM15 株を、炭素源及び窒素源として 100mg/l TNT と 10mM 酢酸を含んだ最少培地に添加し、30℃で 0、1、2、5、6、7 日間培養した。その後、TNT の分解を調べるため、1.5ml のサンプルに 1 M の水酸化ナトリウム水溶液 240  $\mu$ l を添加し、最大吸収波長 447nm の吸光度を測定した。

TNT 変換産物の同定：本培養したシュードモナス属細菌 TM15 株を遠心分離 (5000  $\times$  g · 10 分間) し、採集した菌を M8 緩衝液で 2 回洗浄した後、100mg/l TNT 反応溶液 (600ml) に添加し、15℃で振とう培養した。一定時間毎に 100ml ずつサンプリングを行い、遠心分離して菌体を除去した。上清液に塩化ナトリウム (5%) を添加した後、ジエチルエーテルで 3 回抽出した (pH7.0)。抽出液を無水硫酸ナトリウムで脱水し、その後ロータリーエバポレーターで 1ml 程度に濃縮した。濃縮液に 0.5ml の BSA (TMS 化剤) を加えて 60℃で 30 分間反応させた後、GC-MS 分析を行った。一方、水相は 6 M の塩酸で pH2.0 になるように調整し、pH7.0 と同様に抽出・濃縮し、誘導體化を行い、その溶液を GC-MS 分析の試料とした。

全有機炭素量 (TOC) 測定：シュードモナス属細菌 TM15 株を TNT 添加 LB 培地に 18 時間培養した後、遠心分離によって集菌し、M8 緩衝液で 2 回洗浄した。菌体を 100mg/l TNT と 1 mM 酢酸を含んだ M8 最少培地に加えて 30℃で振とう培養した。一定時間毎に 10ml ずつサンプリングを行い、遠心分離を行った後、さらに除菌のため上清液を 0.45  $\mu$  m のメンブランフィルターでろ過処理した。そのろ過液を用いて TOC 測定を行った。

### [結果と考察]

山田緑地の土壌からシュードモナス属や未同定細菌などいくつかの細菌を分離し、それらの菌株を用いて TNT の分解能を検討した (図 1)。未同定細菌と比較して、シュードモナス属細菌 TM15

株は、高効率に TNT を生分解することがわかる。また、この菌株を用いて TNT 変換産物の同定を行ったところ、図 2 に示すように TNT は 2ADNT (2-アミノ-4,6-ジニトロトルエン)、4ADNT (4-アミノ-2,6-ジニトロトルエン)、安息香酸、カテコールへと変換されることが判明した。一般的な芳香族化合物の生分解の知見をもとに考えると、本菌株によってカテコールは、さらに環開裂していることが予想される。他方、TNT 変換において、芳香環由来の 230nm-280nm の波長での吸光度を測定したところ、反応開始 7 日目ではほぼ完全に消失した (データ不記載)。この結果は、芳香環が開裂する可能性を示唆している。さらに、TNT の無機化を明らかにするため、シュードモナス属細菌 TM15 株を用いた TNT 反応溶液で全有機炭素量 (TOC) を測定した。図 3 に示しているように、TNT はほぼ完全に無機化されることが分かった。

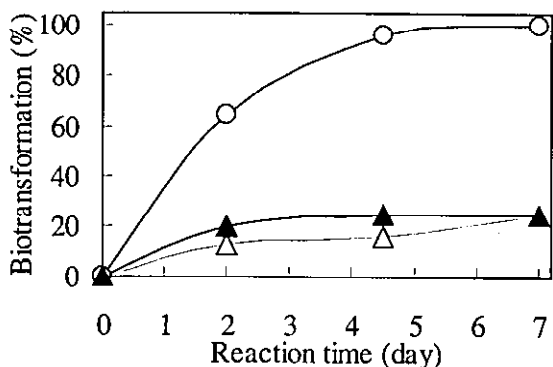


図 1. *Pseudomonas* sp. TM15 株 (○) と未同定細菌 (▲、△) の TNT 分解能

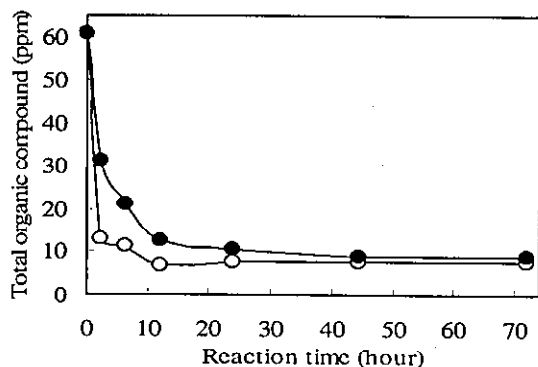


図 3. *Pseudomonas* sp. TM15 株を用いた全有機炭素量 (TOC)

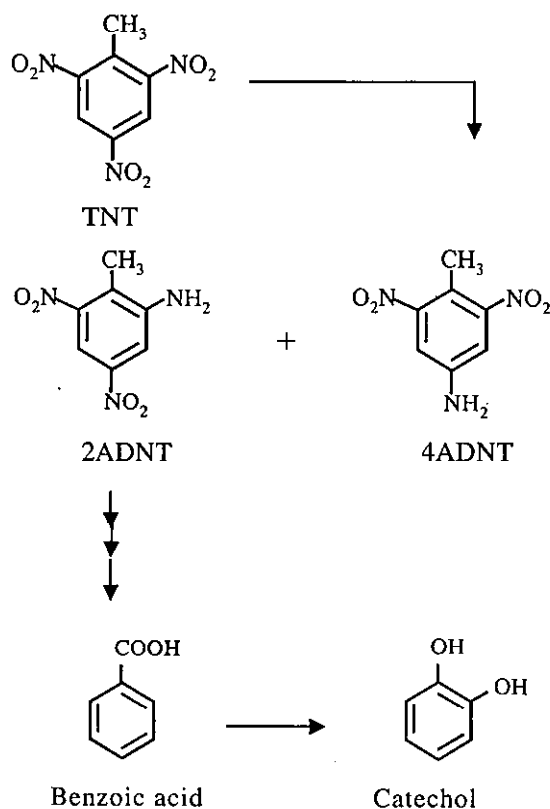


図 2. *Pseudomonas* sp. TM15 株による TNT 変換産物

しかし、これらの結果は細胞を除去した溶液を対象とした実験である。従って、細胞内に TNT もしくは TNT の変換産物を取り込んでいることを考慮しなければならない。今後、細胞中の取り込みを排除するために、HPLC を用いて現在まで同定したいくつかの TNT 変換産物の収支率を明らかにする予定である。

## Human Exposure to PCDDs, PCDFs and Co-PCBs in Japan, 2000

N. Suzuki (National Institute for Environmental Studies)

N. Ishikawa, T. Takei (Ministry of the Environment)

Y. Mato, S. Nakayama (Japan Environmental Sanitation Center)

I. Uchiyama (Kyoto University)

N. Katakani (University of Yamanashi)

Kiwao Kadokami,

T. Nakano (Hyogo Prefectural Institute of Public Health and Environmental Sciences)

H. Miyata (Setsunan University),

M. Morita (National Institute for Environmental Studies)

Dioxin 2003 (Boston, USA), 2003, Sep.

2000年度に全国で実施されたダイオキシン類の調査（大気、土壌、食品など）結果を収集し、日本人のダイオキシン類曝露量の点推定及びモンテカルロシミュレーションによる曝露量分布を求めた。その結果、点推定値は1.50 pg-TEQ/kg-bw/dayであった。また、モンテカルロシミュレーションから得られた分布は、平均値、中央値、5%値、95%値が、それぞれ1.43, 1.42, 0.95, 1.93 pg-TEQ/kg-bw/dayであり、95%値でも4 pg-TEQ/kg-bw/dayのTDIを超えることはなかった。

## TNTにより誘起された、体外培養の染色体異常は抗酸化酵素で抑えられる

花田秀樹, 柏木昭彦, 柏木啓子, 吉里勝利 (広島大)

武石全慈 (北九州市自然史博物館)

倉本満, 小野勇一 (北九州環境ホルモン委員会)

門上希和夫

日本動物学会第74回大会 (金沢市)

平成15年9月

2,4,6-トリニトロトルエン(TNT)は広く使用されているが、重大な環境汚染物質であり、突然変異性を有する。0.001から0.1ppmの濃度のTNTをカエル白血球細胞の培養液に添加したのち24時間放置すると、全濃度で染色体異常が起こった。しかし、抗酸化酵素や抗酸化物質を加えると、染色体異常が著しく減少した。TNTによるカエル白血球の染色体異常の誘起に活性酸素種が関係していると思われる。

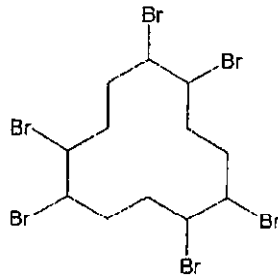
# 1, 2, 5, 6, 9, 10-ヘキサブロモシクロドデカンの分析

棚田 京子, 門上希和夫

第20回環境科学セミナー(東京都)

平成16年3月

構造式



分子式	分子量	融点 ℃	Log Pow	水溶解度 mg/l	備考
C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> Br <sub>6</sub>	641.70	185~195*	5.8	8.6×10 <sup>-3</sup> *	難燃剤

\* chem. bank

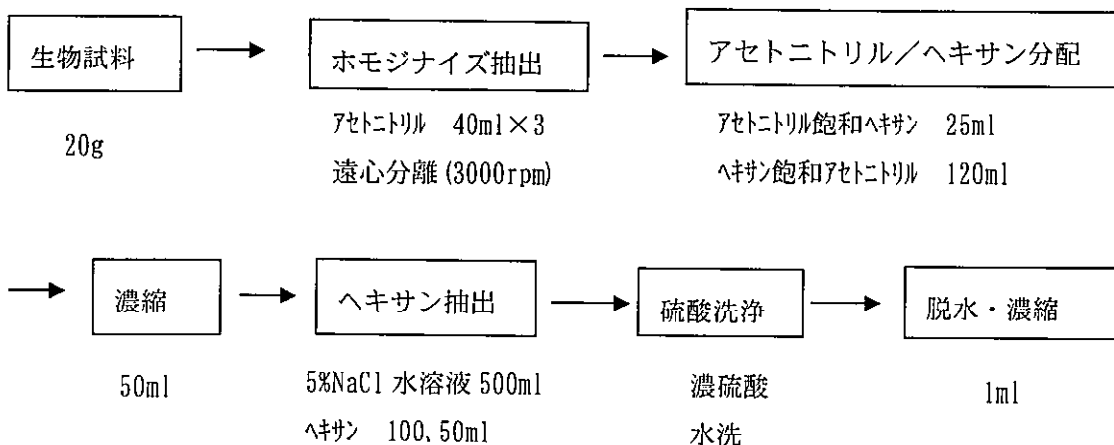
## 1 既存分析法の概略(昭和61年度化学物質分析法開発調査報告書)

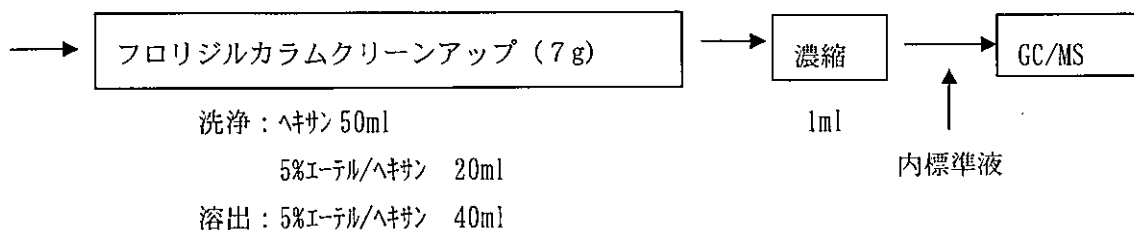
ホモジナイズした生物試料に、アセトン・ベンゼン(1:2)を加えて抽出・濃縮後、アセトニトリル・ヘキサン分配、フロリジルカラムクロマトグラフィー、硫酸洗浄を行いGC-ECD測定を行う。

## 2 分析法要旨

生物試料は、アセトニトリルでホモジナイズ抽出後、アセトニトリル/ヘキサン分配する。硫酸処理後、フロリジルカートリッジカラムでクリーンアップを行い、GC/MS-SIMで定量する。

【分析法フローチャート】





試料 20g を正確に遠沈管に取り、アセトニトリル 40ml を加えてホモジナイズ抽出する。3000rpm で 10 分間遠心分離を行い、アセトニトリル層を採取する。残渣にアセトニトリル 40ml を加えて同様の抽出操作をさらに 2 回行う。

得られたアセトニトリル層にアセトニトリル飽和ヘキサン 25ml を加えて 10 分間振とう抽出する。アセトニトリル層を分取した後、ヘキサン層にヘキサン飽和アセトニトリル 120ml を加えて再度 10 分間振とう抽出し、アセトニトリル層を分取する。アセトニトリル層をあわせて 50ml 以下まで濃縮後、5%塩化ナトリウム溶液 500ml に加え、ヘキサン 100ml で 10 分間振とう抽出する。再度ヘキサン 50ml を加えて同様の操作を行う。得られたヘキサン層を合わせて精製水 50ml で洗浄する。

ヘキサン層に濃硫酸 10ml を加え振とうする。硫酸層を除去した後、さらに濃硫酸 10ml を加え振とうする。この操作を硫酸層が着色しなくなるまで繰り返す。硫酸処理後、ヘキサン層に精製水 30ml を加えて振とう洗浄する。再度精製水 30ml を加えて同様の操作を行う。得られたヘキサン試料液は無水硫酸ナトリウムで脱水後、エバポレーターで約 1ml まで濃縮する。

このヘキサン溶液をあらかじめ用意したクロマト管（内径 1 cm、長さ 30cm のクロマト管にフロリジル 7g を湿式充填し、無水硫酸ナトリウムを約 2cm 層積したもの）に負荷し、ヘキサン 50ml、5%エーテル/ヘキサン 20ml で洗浄後、5%エーテル/ヘキサン 40ml で溶出させ、1ml まで濃縮し、所定量の内標準を加えて測定用試料液とする。

### 3 解説

#### (1) GC/MS 測定

装置（例）： HP GCMS-5973

[GC/MS の測定条件]

カラム（例）： J&W 社製 DB-5ms 長さ 30m、内径 0.25mm、膜厚 0.1 $\mu$ m

カラム温度： 50 $^{\circ}$ C (1.5min) -20 $^{\circ}$ C/min. -250 $^{\circ}$ C-10 $^{\circ}$ C/min. -300 $^{\circ}$ C (3min)

注入口温度： 250 $^{\circ}$ C

キャリアガス： 1.5ml/min (定流量モード)

注入法： スプリットレス (1分後パージ、1 $\mu$ l 注入)

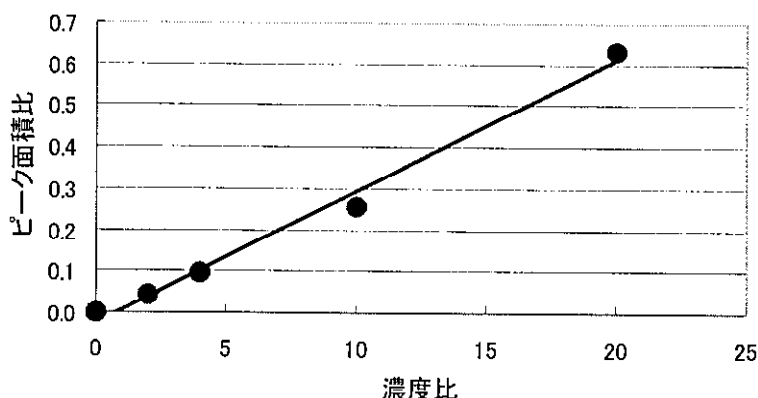
インターフェース温度： 280 $^{\circ}$ C

モニターイオン： 159 (定量)、239 (確認)、319 (確認)

内標準物質 264 (ペリレン d12)



(2) 検量線 (例)



(3) 装置検出限界 (IDL)

測定値 (ng)							平均	Sd	IDL	換算値
1	2	3	4	5	6	7	(ng)		(ng)	( $\mu\text{g/l}$ )
0.088	0.084	0.081	0.092	0.080	0.085	0.082	0.084	0.0042	0.0081	0.008

本分析に用いたGC/MSの装置検出限界を以下に示す。<sup>2)</sup>

(4) 検出限界及び定量限界

本分析に用いた検出限界及び定量限界を以下に示す。<sup>2)</sup>

水質 ( $\mu\text{g/l}$ )		底質 ( $\mu\text{g/kg-wet}$ )	生物 ( $\mu\text{g/kg}$ )
検出限界	定量限界	検出限界	検出限界
0.087	0.29	23	検討中

4 分析操作上の検討点

(1) 抽出溶媒の検討

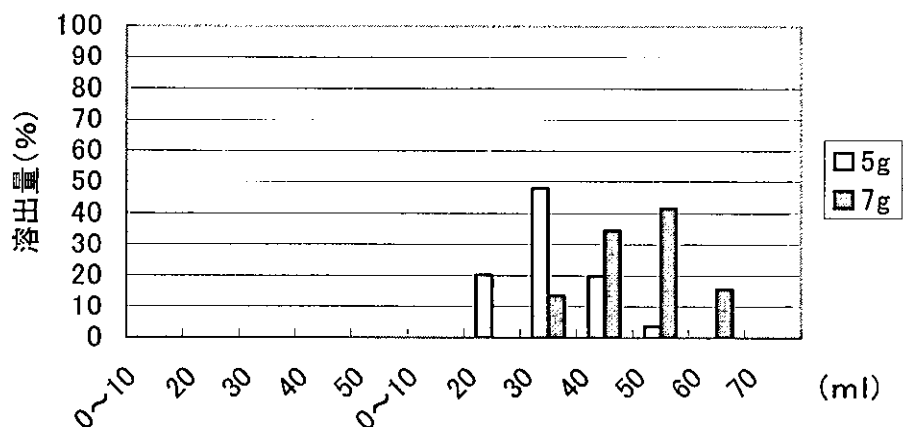
ホモジナイズした試料 20g に対象物質を添加し、アセトニトリル、メタノール、ヘキサン（無水硫酸ナトリウムを同時に添加）、ジクロロメタンの各溶媒で検討を行った。結果を下表に示す。ヘキサンを用いた場合に若干回収率が低い、概ね同様の結果が得られた。ホモジナイズしやすいこと、抽出後にアセトニトリル分配すること等の操作性を考慮してアセトニトリルでホモジナイズ抽出することとした。

溶媒	アセトニトリル	メタノール	ヘキサン	ジクロロメタン
回収率 (%)	65~89	69~81	59	68

(2) カラムクリーンアップの検討

フロリジルを用いて、クリーンアップの検討を行った。内径 1 cm、長さ 30cm のクロマト管にフロリジル

5g 及び 7g を湿式充填し、無水硫酸ナトリウムを約 2cm 層積した後、標準液 1.0ml (10 $\mu$ g/ml ヘキサン溶液) を負荷し、ヘキサン 50ml を流した後、5%エチルエーテル-ヘキサンで溶出した。結果を下図に示す。対象物質は、フロリジル 5g では 10~50ml、7g では 20~60ml で溶出された。生物試料の添加回収試験において、5%エチルエーテル-ヘキサンの 10~20ml に妨害物質の溶出が認められたため、7g のフロリジルを用

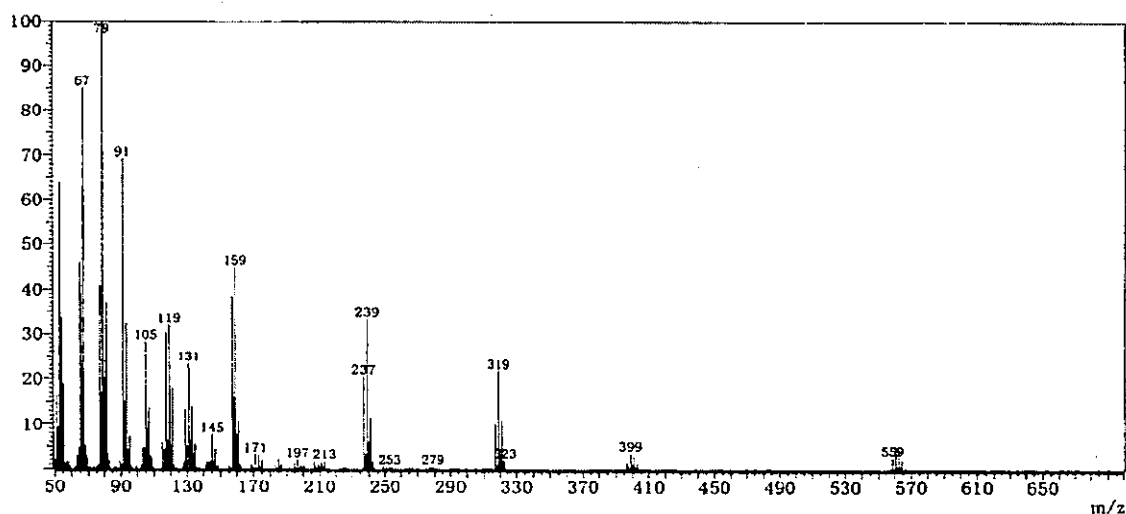


いてクリーンアップを行い妨害物質を分離することにした。

## 5 分解性スクリーニング結果 <sup>2)</sup>

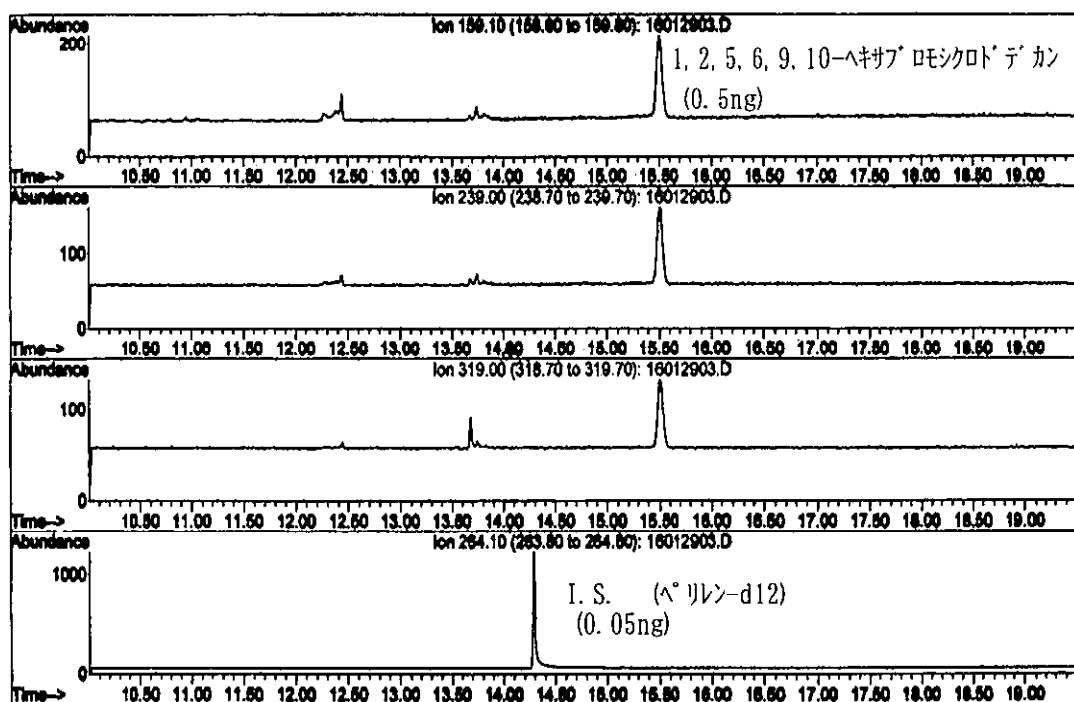
pH	初期濃度 ( $\mu$ g/ml)	1時間放置後の 残存率 (%)	5日間放置後の残存率 (%)	
			暗所	光照射
5	0.008	76	64	
7	0.008	75	59	57
9	0.008	77	44	

## 6 マスペクトル



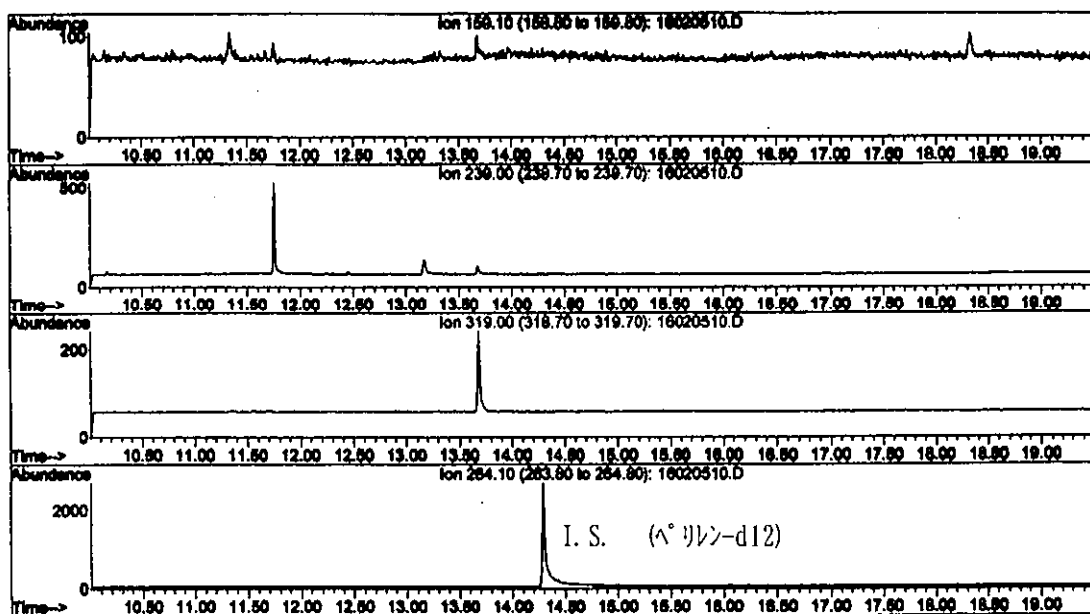
1, 2, 5, 6, 9, 10-ヘキサブロモシクロドデカンのマスペクトル

7 SIMクロマトグラム

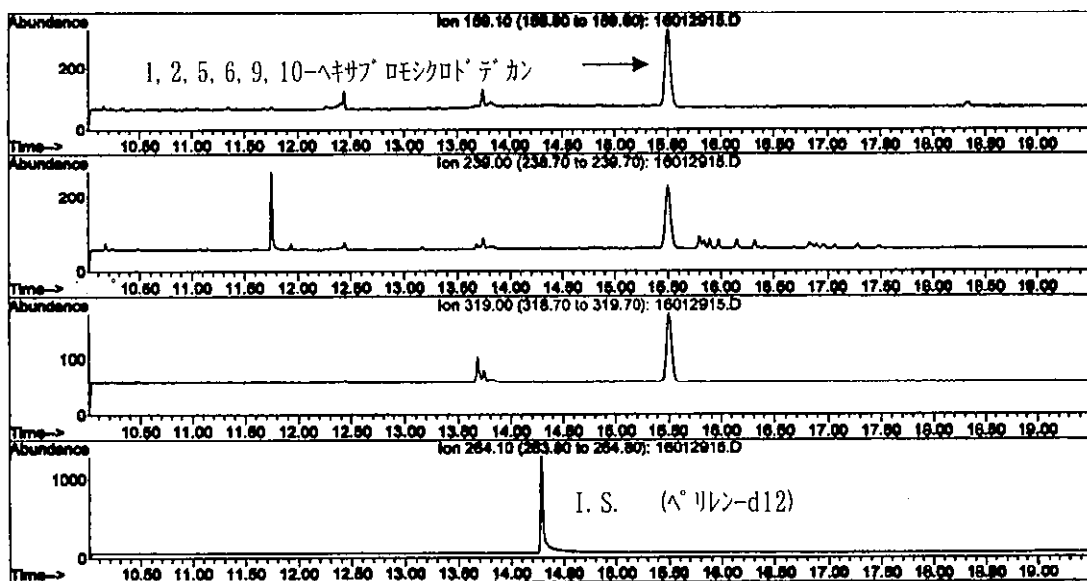


1, 2, 5, 6, 9, 10-ヘキサブ'ロシクロドデカンのSIMクロマトグラム

8 試料分析例



生物試料（無添加）の分析例



生物試料（添加量 1.0  $\mu\text{g}$ ）の分析例

9 参考文献

- 1) 環境庁 環境保健部 保健調査室：昭和 61 年度化学物質分析法開発調査報告書
- 2) 環境省 環境保健部 環境安全課：化学物質と環境 平成 14 年度化学物質分析法開発調査報告書、  
p. 225

# 北九州市洞海湾における生態学的環境修復の試み

山田眞知子, 田中和彦, 吉川ひろみ, 鈴木學  
第27回瀬戸内海水質汚濁研究会議 (和歌山市)  
平成16年1月

## 1 はじめに

洞海湾は、かつて、遠浅でアマモ場も点在し、「クルマエビの宝庫」と呼ばれるほど豊かな内湾であった。しかし、1901年に官営八幡製鉄所が設立され、北九州重化学工業地帯が発展していく間、産業港として機能を果たすべく浚渫と埋め立てが繰返され、湾の形状は図1に示すように一変した。また洞海湾は、湾岸に林立する工場からの未処理の排水の流入により水質汚濁が著しく進行し、魚影がほとんど認められない「死の海」と化した。しかし、1970年から工場排水が規制されるようになるなど、数年のうちにすべての水質環境基準を達成した。また1974年から1976年にわたって実施された汚染底質の浚渫も功を奏し、1983年にはクルマエビが復活し、さらに1993年に海洋生態系の再生も確認された。湾のこのような劇的な水質・底質改善は、「洞海湾サクセスストーリー」と称され、高く評価されている。

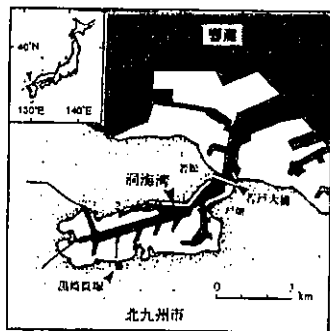


図1 洞海湾の形状の変化  
黒色域, 1990年代の海域;  
点描域, 18世紀の海岸線;  
空白域, 干拓および埋立て域。

しかし、これで洞海湾の水環境問題がすべて解決されたわけではなく、以下に述べるような課題が残されており、現在試みている環境修復法と経過について報告する。

## 2 産業公害脱却後の洞海湾の水環境

1989年から実施した洞海湾生態系調査から、夏季には、湾奥部の表層で濃厚赤潮が形成され、一方下層では貧酸素水塊(図2)が発生し、底生動物の壊滅現象も認められることがわかった。これらの現象の原因と考えられる窒素およびリンの濃度も著しく高かったことから、洞海湾では「富栄養化」という新たな水質問題が生じていることが確認された。

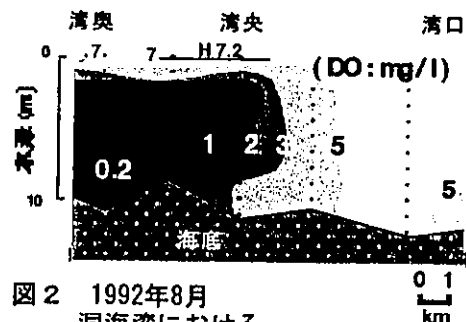


図2 1992年8月  
洞海湾における  
溶存酸素濃度(DO)の鉛直断面図

また、前記のように、豊かな自然・生態系に恵まれていた洞海湾は、現在、生物の生息場所(ハビタット)が著しく改変され、消失している。このことから、湾の2つめの水環境の課題は、海洋生物の居住環境がきわめて貧弱化していることといえる。

さらに洞海湾では、環境ホルモンに代表される化学物質の水質汚染も危惧されており、これも加えると、洞海湾では現在3つの課題を抱えていることになる。しかし、これらの課題は洞海湾に特有のものではなく、後背に大都市を擁する東京湾やチェサピーク湾等、我が国、世界の内湾が悩む共通の水環境問題である。そして、これらの課題に対して汎用される対策がまだ提案されていないというのも、現状である。

### 3 水域の生態的環境修復技術の開発

北九州市では、洞海湾が再び健全で豊かな水環境となることをめざし、「富栄養化」を解消し、「ハビタット」を改善・創出する、新しい環境修復技術の開発研究に取り組むこととした。それは、湾に生息する生物の中で優占的に出現する生物の機能を活用する（生物学的環境修復：バイオレメディエーション）技術、水中のみでなく陸上の物質循環も促進する技術、さらにある程度の環境管理を行うという手法を組み合わせたもので、この新しい技術を「生態的環境修復法」と命名した。現在、大学そして行政が共同で技術を開発中である。

#### 3.1 底生動物を用いた底質のバイオレメディエーション

洞海湾の底質は、前述のように、海水の富栄養化の影響で有機汚濁が著しく進行し、とくに湾奥部では夏季に底生動物が死滅するほどに汚濁が著しい。そこで、洞海湾の湾奥部の底生動物優占種イトゴカイ *Capitella* sp. 1 (図3) を冬季に湾から採取し、陸上で培養後、秋季にそれらを湾奥部に大量散布して、底質改善を試みるというバイオレメディエーションを試みた。陸上生態系で、ミミズが畑の土を優良にするというのと同様の効果をイトゴカイに期待した手法である。



図3 イトゴカイ ×10

1996年度から1999年度の4年間にわたり、毎年イトゴカイを湾奥部に散布した結果、底質の汚濁度を示す硫化物濃度が減少し、春にはヨツバナスピオ *Paraprionospio* sp. (A type)等の大型底生動物が多量に出現するようになった。

しかし、2000年度からイトゴカイ散布を停止する実験を行った結果、底質は再び悪化し、春季の底生動物の出現量も減少した。

以上の研究結果から、イトゴカイの散布は、

悪化した海底環境を修復し、海底の生態系を再生させることを示した。

#### 3.2 窒素環境基準達成のための数値生態系モデルの構築

洞海湾では、東京湾や大阪湾に引き続き、1997年に、窒素・リンに係わる環境基準（第IV類型、窒素1mg/l、リン0.09mg/l）が設定された。しかし前記のように、洞海湾では、窒素濃度が著しく高く基準を達成できなかったため、北九州市は工場等の排水口から湾に流入する窒素量を削減するという発生源対策をとることとした。

そこで当センターでは、1994年から洞海湾で実施してきた詳細な物理、化学および生物調査結果を踏まえ、湾内の窒素の挙動をシミュレーションする数値生態系モデルを構築し、環境基準達成のための窒素負荷削減量を算出した。その結果、工場の協力も得て、2001年度に窒素の環境基準を達成した（図4）。

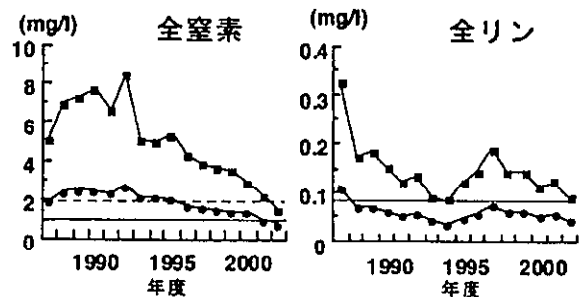


図4 洞海湾水域における全窒素、全リンの経年変化

--- D6洞海湾環境基準点；

● 洞海湾水域の4つの環境基準点の平均値

全窒素、全リンの環境基準への適合状況は、洞海湾内の環境基準点D6とD2、および湾口と隣接する2つの泊地の環境基準点K7、K8の計4点の表層から得た値の年間平均値で判定する。全窒素の環境基準（該当海域IV）は1mg/lであるが、2001年度までの基準値は暫定基準が設定され2mg/lであった。全リンの環境基準値は0.09mg/lである。

### 3.3 濾過食性二枚貝を用いた水環境のバイオレメディエーション

現在洞海湾水域では、上記のように、窒素・リンに係る環境基準を達成できたものの、数値生態系モデルの計算結果を参照すれば、依然として湾では赤潮と貧酸素水塊が発生することが予測される。そこで、赤潮防除法として、湾に最も優占的に出現する濾過食性二枚貝ムラサキイガイ *Mytilus galloprovincialis* (ムールガイ) に赤潮生物を摂食させることにより海水を浄化するシステムを考案し、1999年に「海水又は淡水の浄化方法」として特許3013314号を取得した。

2002年にその実証実験を行うため、洞海湾に環境修復実証実験施設(図5、以後施設と記述)を設置した。



図5 洞海湾に設置した環境修復実証実験施設

なお我が国では、現在、水域の水質浄化(環境修復)法として藻場や干潟の造成、ヨシ原の造成等が推奨されている。しかし、港湾区域のように水域内や水際線の利用目的が限定され、そのような修復方法を適用できない場合、北九州が試みているこの修復法は、広大な面積を必要とせず、短期間で建設できる等、簡便な手法といえる。

この修復施設について、その機能を多面的に、以下のように研究を行っている。

#### 3.3.1 水質浄化研究

2002年7月12日、洞海湾では植物プランクトンの量を示すクロロフィルa濃度が、表1の施設外海水でみられるように極めて高く、濃厚赤潮が発生していた。一方、水質浄化生物としてムラサキイガイを繁殖させていた施設内では、施設外と比較し、クロロフィルa濃度が約60%、水の汚れを示す化学的酸素要求量(COD)が約40%減少し、施設では水質を浄化していたことが示された。

表1 赤潮発生時の環境修復実証実験施設内と施設外の水質 2002年7月12日

測定項目	単位	施設内	施設外
水温	℃	26.9	26.9
塩分	psu	29.2	29.3
クロロフィルa	mg/m <sup>3</sup>	46	119
化学的酸素要求量	mg/l	5.0	8.2

施設内と施設外の水質測定値は、それぞれ2地点ずつ調査した結果の平均値

なお、上記の予備調査を踏まえ、本年度は修復施設の水質浄化能を定量的に調査している。

#### 3.3.2 ムラサキイガイの堆肥化研究

海水中で繁殖した浄化生物を斃死前に回収し、陸上生態系の物質循環に組み込む手法として、浄化生物を堆肥として活用する実験を開始した。2002年8月に施設から約650kgのムラサキイガイを回収し、北九州市総合農事センターで樹木の剪定チップと混合し、堆肥化を試みた。

その結果、短期間(図6)で、肥効の高い堆肥が得られることがわかった。また、肥料取締法に掲げられる水銀、ヒ素およびカドミウム等の有害成分も、この堆肥では全く問題のないことも確認された。しかし、同時に堆肥に海水から持ち込まれる塩分対策も必要であることが確認された。

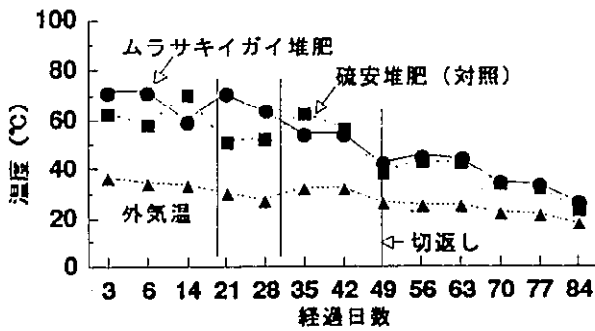


図6 剪定チップにムラサキイガイを混合した堆肥、剪定チップに硫安を混合した堆肥、および外気温の堆肥化期間中の温度変化

### 3.3.3 海中ピオトープ研究

施設直下に出現する魚類について、2002年10月に24時間にわたって1時間毎に水中ビデオカメラで調査した結果、メバルやウミタナゴ等の小型の魚類が日の出から日没まで集てくることが確認された。また、施設直下と施設から約17m離れた地点について、魚類の出現状況を比較検討したところ、施設の方に多くの魚種が多量に蟄集していること、施設には小型の魚類を追ってスズキ等の大型魚類が出現することも確認された。

また、施設に蟄集した魚類の胃内容物を調査した結果、ムラサキイガイ育成ロープや施設壁面に多量生息しているワレカラやヨコエビなどの小型甲殻類を魚類が捕食していることがわかった。なお、これらの小型甲殻類は、ロープに付着している珪藻類や浮泥を摂食している様子も観察された(図7)。

以上のことから、魚類はこの施設を生育場所、摂餌場所、避難場所、さらに就寝場所等に利用していることが確認された。洞海湾のように垂直コンクリート護岸に囲まれた港湾域において、本施設のような構造物は新たなピオトープを創出し、生態系を豊かにしていく可能性をもっていると考えられる。

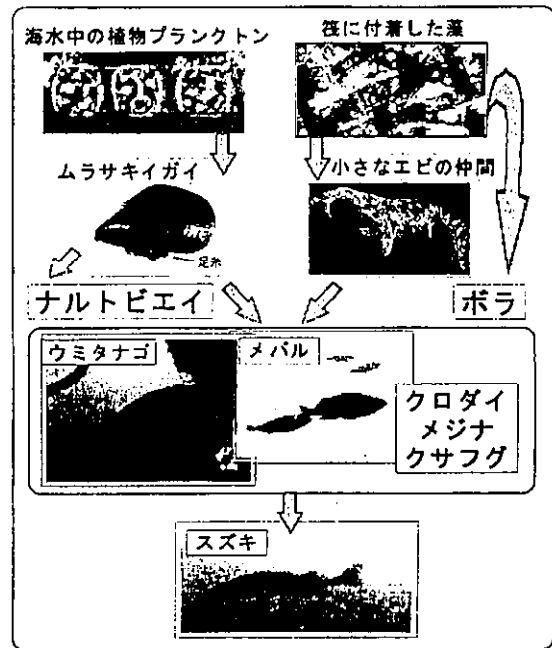


図7 洞海湾環境修復施設の食物連鎖

## 4 まとめ

水域への物理的構造の改変と人為的富栄養化が強まると、生態系の疲弊、多様性の低下、物質循環の阻害等が連鎖的に進行し、水質浄化能や豊かな生物生産機能が損なわれる。そのような水域の一つ、洞海湾への生態的な環境修復法研究を、既に成果の得られたもの、現在研究中的のものも含め報告した。今後も、緩傾斜護岸など、生態系を活用しながら生態系を豊かにしていく修復法を研究していきたい。

## 5 参考文献

- 1 特集 富栄養化した水域の生態学的環境修復—北九州市洞海湾を例として— 環境科学会誌, 第11巻, 381-429 (1998).
- ・山田真知子他: 生態学的環境修復法を用いた富栄養化海域の環境改善と環境管理
- ・柳 哲夫: 沿岸海域環境管理と数値生態系モデル
- ・上 真一・多田邦尚: 夏季洞海湾のプランクトン生態系における物質の流れ
- ・門谷 茂他: 濾過食性二枚貝の生態特性を利用した海洋環境修復技術の開発
- ・堤 裕昭他: *Capitella* sp. 1 (イトゴカイ, 多毛類) を用いた洞海湾湾奥部の底質環境の修復



# 産業公害脱却後の北九州市洞海湾における生態学的環境修復の試み

山田真知子, 田中和彦, 吉川ひろみ, 鈴木學  
海の自然再生に向けての技術講習会 (福岡市)

平成15年11月

## 1 はじめに

洞海湾は、かつて、遠浅でアマモ場も点在し、「クルマエビの宝庫」と呼ばれるほど豊かな内湾であった。しかし、1901年に官営八幡製鉄所が設立され、北九州重化学工業地帯が発展していく間、その産業港として機能を果たすため、湾一円に埋め立てとが繰返され、湾の形状は図1に示すように一変した。また洞海湾は、湾岸に林立する工場からの未処理の排水の流入により水質汚濁が著しく進行し、魚影がほとんど認められない「死の海」と化した。しかし、1970年から工場排水が規制されるようになると、数年のうちにすべての水質環境基準を達成した。また1974年から1976年にわたって実施された汚染底質の浚渫も功を奏し、1983年にはクルマエビが復活し、さらに1993年に海洋生態系の再生も確認された。湾のこのような劇的な水質・底質改善は、「洞海湾サクセスストーリー」と称され、高く評価されている。

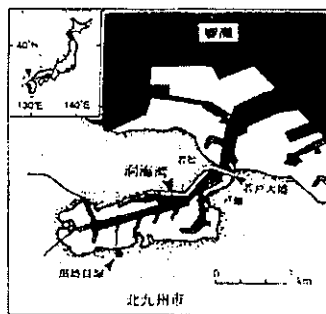


図1 洞海湾の形状の変化  
黒色域, 1990年代の海域;  
点描域, 18世紀の海岸線;  
空白域, 干拓および埋立て域。

しかし、これで洞海湾の水環境問題がすべて解決されたわけではなく、以下に述べるような課題が残されており、現在試みている環境修復法と経過について報告する。

## 2 産業公害脱却後の洞海湾の水環境

1989年から実施した洞海湾生態系調査から、夏季には、湾奥部の表層で濃厚赤潮が形成され、一方下層では貧酸素水塊(図2)が発生し、底生動物の壊滅現象も認められることがわかった。これらの現象の原因と考えられる窒素およびリンの濃度も著しく高かったことから、洞海湾では「富栄養化」という新たな水質問題が生じていることが確認された。

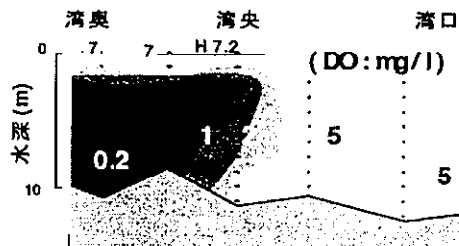


図2 1992年8月  
洞海湾における  
溶存酸素濃度(DO)の鉛直断面図

また、前記のように、豊かな自然・生態系に恵まれていた洞海湾は、現在、生物の生息場所(ハビタット)が著しく改変され、消失している。このことから、湾の2つめの水環境の課題は、海洋生物の住居構造環境がきわめて貧弱化していることといえる。

さらに洞海湾では、環境ホルモンに代表される化学物質の水質汚染も危惧されており、これも加えると、洞海湾では現在3つの課題を抱えていることになる。しかし、これらの課題は洞海湾に特有のものではなく、後背に大都市を擁する東京湾やチェサピーク湾等、我が国、世界の内湾が悩む共通の水環境問題である。そして、これらの課題に対して汎用される対策がまだ提案されていないというのも、現状である。

### 3 水域の生態的環境修復技術の開発

・北九州市では、洞海湾が再び健全で豊かな水環境となることをめざし、「富栄養化」を解消し、「ハビタット」を改善・創出する、新しい環境修復技術の開発研究に取り組むこととした。それは、湾に生息する生物の中で優占的に出現する生物の機能を活用する（生物学的環境修復：バイオレメディエーション）技術、水中のみでなく陸上の物質循環も促進する技術、さらにある程度の環境管理を行うという手法を組み合わせたもので、この新しい技術を「生態的環境修復法」と命名した。現在、大学そして行政が共同で技術を開発中である。

#### 3.1 底生動物を用いた底質のバイオレメディエーション

洞海湾の底質は、前述のように、海水の富栄養化の影響で有機汚濁が著しく進行し、とくに湾奥部では夏季に底生動物が死滅するほどに汚濁が著しい。そこで、洞海湾の湾奥部の底生動物優占種イトゴカイ *Capitella* sp. 1

(図3)を冬季に湾から分離し、陸上で培養後、秋季にそれらを湾奥部に大量散布して、底質



図3 イトゴカイ ×10

改善を試みるというバイオレメディエーションを試みた。陸上生態系で、ミミズが畑の土を優良にするというのと同様の効果をイトゴカイに期待した手法である。

1996年度から1999年度の4年間にわたり、毎年イトゴカイを湾奥部に散布した結果、底質の汚濁度を示す硫化物濃度が減少し、春にはヨツバナスピオ *Paraprionospio* sp. (A type)等の大型底生動物が多量に出現するようになった。

しかし、2000年度からイトゴカイ散布を停止する実験を行った結果、底質は再び悪化し、春季の底生動物の出現量も減少した。

以上の研究結果から、イトゴカイの散布は、悪化した海底環境を修復し、海底の生態系を再生させることを示した。

#### 3.2 窒素環境基準達成のための数値生態系モデルの構築

洞海湾では、東京湾や大阪湾に引き続き、1997年に、窒素・リンに係わる環境基準（第IV類型、窒素1mg/l、リン0.9mg/l）が設定された。しかし前記のように、洞海湾では、窒素濃度が著しく高く基準を達成できなかったため、北九州市は工場等の排水口から湾に流入する窒素量を削減するという発生源対策をとることとした。

そこで当センターでは、1994年から洞海湾で実施してきた詳細な物理、化学および生物調査結果を踏まえ、湾内の窒素の挙動をシミュレーションする数値生態系モデルを構築し、環境基準達成のための窒素負荷削減量を算出した。その結果、工場の協力も得て、2001年度に窒素の環境基準を達成した（図4）

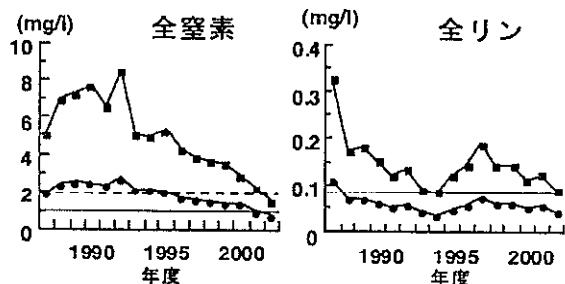


図4 洞海湾水域における全窒素、全リンの経年変化

■, D6洞海湾環境基準点；

●, 洞海湾水域の4つの環境基準点の平均値

全窒素、全リンの環境基準への適合状況は、洞海湾内の環境基準点D6とD2、および湾口と隣接する2つの泊地の環境基準点K7、K8の計4点の表層から得た値の年間平均値で判定する。全窒素の環境基準（該当海域IV）は1mg/lであるが、2001年度までの基準値は暫定基準が設定され2mg/lであった。全リンの環境基準値は0.09mg/lである。

### 3.3 濾過食性二枚貝を用いた水環境のバイオレメディエーション

現在洞海湾水域では、上記のように、窒素・リンに係わる環境基準を達成できたものの、数値生態系モデルの計算結果を参照すれば、依然として湾では赤潮と貧酸素水塊が発生することが予測される。そこで、赤潮防除法として、湾に最も優占的に出現する濾過食性二枚貝ムラサキガイ *Mytilus galloprovincialis* (ムールガイ) に赤潮生物を摂食させることにより海水を浄化するシステムを考案し、1999年に「海水又は淡水の浄化法」として特許 3013314号を取得した。

2002年にその実証実験を行うため、洞海湾に環境修復実証実験施設(図5、以後施設と記述)を設置した。



図5 洞海湾に設置した環境修復実証実験施設

なお我が国では、現在、水域の水質浄化(環境修復)法として藻場や干潟の造成、ヨシ原の造成等が推奨されている。しかし、港湾区域のように水域内や水際線の利用目的が限定され、そのような修復方法を適用できない場合、北九州が試みているこの修復法は、広大な面積を必要とせず、短期間で建設できる等、簡便な手法といえる。

この修復施設について、その機能を多面的に、以下のように研究を行っている。

#### 3.3.1 水質浄化研究

2002年7月12日、洞海湾では植物プランクトンの量を示すクロロフィル a 濃度が、表1の施設外海水でみられるように極めて高く、濃厚赤潮が発生していた。一方、水質浄化生物としてムラサキガイを繁殖させていた施設内では、施設外と比較し、クロロフィル a 濃度が約 60%、水の汚れを示す化学的酸素要求量(COD)が約 40%減少し、施設では水質を浄化していたことが示された。

表1 赤潮発生時の環境修復実証実験施設内と施設外の水質 2002年7月12日

測定項目	単位	施設内	施設外
水温	℃	26.9	26.9
塩分	psu	29.2	29.3
クロロフィル a	mg/m <sup>3</sup>	46	119
化学的酸素要求量	mg/l	5.0	8.2

施設内と施設外の水質測定値は、それぞれ 2 地点ずつ調査した結果の平均値

なお、上記の予備調査を踏まえ、本年度は修復施設の水質浄化能を定量的に調査している。

#### 3.3.2 ムラサキガイの堆肥化研究

海水中で繁殖した浄化生物を斃死前に回収し、陸上生態系の物質循環にのせる手法として、浄化生物を堆肥として活用する実験を開始した。2002年8月に施設から約 650kg のムラサキガイを回収し、北九州市総合農事センターで樹木の剪定チップと混合し、堆肥化を試みた。

その結果、短期間で、肥効の高い堆肥が得られることがわかった。また、肥料取り締めりに掲げられる水銀、ヒ素およびカドミウム等の有害成分も、この堆肥では全く問題のないことも確認された。しかし、同時に堆肥に海水から持ちまれる塩分対策も必要であることが確認された。



図6 ムラサキイガイと樹木剪定  
チップから作成した堆肥の  
コマツナ栽培試験 (49日目)

### 3.3.2 海中ビオトープ研究

施設直下に出現する魚類について、2002年10月に24時間にわたって1時間毎に水中カメラで調査した結果、図7に示すように、メバルやウミタナゴ等の小型の魚類が日の出から日没まで集ってることが確認された。また、施設直下と施設から約17m離れた地点について、魚類の出現状況を比較検討したところ、施設の方に多くの魚種が多量に蟻集していること、施設には小型の魚類を追ってスズキ等の大型魚類も出現することが確認された。

また、施設に蟻集した魚類の胃内容を調査した結果、ムラサキイガイ育成ロープや施設壁面に多量生息しているワレカラやヨコエビなどの小型甲殻類を魚類が捕食していることがわかった。なお、これらの小型甲殻類は、ロープに付着している珪藻類や浮泥を摂食している様も観察された。

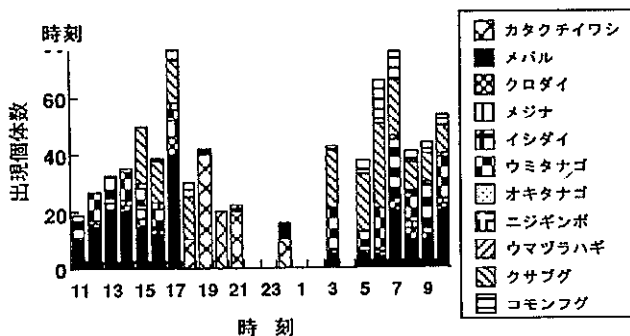


図7 洞海湾環境修復実証施設における魚類の  
出現状況 2002年10月24日~25日

以上のことから、魚類はこの施設を生育場所、摂餌場所、避難場所、さらに寝床等に利用していることが確認された。洞海湾のように垂直コンクリート護岸に囲まれた港湾域において、本施設のような構造物はビオトープ（生物の生息空間と生態系）を創出し、生態系を豊かにしていく可能性をもっていると考えられる。

## 4 まとめ

水域への物理的構造の改変と人為的富栄養化が強まると、生態系の疲弊、多様性の低下、物質循環の阻害等が連鎖的、有機的に進行し、水質浄化能や豊かな生物生産機能が損なわれる。そのような水域の一つ、洞海湾への生態的な環境修復法研究を、既に成果の得られたもの、現在研究中のものも含め報告した。今後も、緩傾斜護岸など、生態系を活用しながら生態系を豊かにしていく修復法を研究していきたい。

## 5 参考文献

- 1 特集 富栄養化した水域の生態学的環境修復—北九州市洞海湾を例として— 環境科学会誌, 第11巻, 381-429 (1998).
- ・山田真知子他: 生態学的環境修復法を用いた富栄養化海域の環境改善と環境管理
- ・柳 哲夫: 沿岸海域環境管理と数値生態系モデル
- ・上 真一・多田邦尚: 夏季洞海湾のプランクトン生態系における物質の流れ
- ・門谷 茂他: 濾過食性二枚貝の生態特性を利用した海洋環境修復技術の開発
- ・堤 裕昭他: *Capitella* sp. 1 (イトゴカイ, 多毛類) を用いた洞海湾湾奥部の底質環境の修復
- 2 須藤隆一 (1996) 瀬戸内海の生物資源と環境: 第11章今後の課題, 須藤隆一・環境庁水質保全局水質規制課監修, ぎょうせい, 313-320.
- 3 運輸省港湾局 (1994) 環境と共生する港湾 (エコポート), 大蔵省印刷局,
- 4 栗原 康 (1988) 河口・沿岸域の生態とエコテクノロジー: 第三部生態学の論理と生態系の保全と活用, 栗原 康編, 289-305.