報 文

広島湾北部沿岸域における微量有機成分の
変動に関する基礎的検討Basic Study on the Fluctuation of the Microorganic Fraction
in the Northern Area of Hiroshima Bay滝本和人*・向井徹雄*
岡野朝則*・山本隆幸*

A microorganic substance was detected by the gaschromatographic analysis in the sea water of Hiroshima Bay. The molecular structure of the substance was not identified, however, the vertical and seasonal fluctuations were investigated. The results showed that the substance was mainly detected in the particulate form and related with the concentration of chlorophyll-a, and was massproduced by phytoplankton, *Chaetoceros* and dinoflagellate. These are also supported by the experimental results obtained from the culture of surface sea water in the northern part of Hiroshima Bay.

摘 要

広島湾において特異的に変動を示す未同定の微量有機汚濁物質が、ガスクロマトグラムの解析から見い出された。その未知物質の層別および季節的変動が調べられた。その結果、この物質は主に懸濁態として存在し、クロロフィルa濃度と関係することがわかった。さらに、その未知物質は植物プランクトン、*Chaetoceros*とdinoflagellateによって多く生産されることが示唆された。この知見は、広島湾北部沿岸域における表層海水の培養によって得られた結果とよく一致している。

1. 緒 言

沿岸海域に存在する微量有機汚濁物質は、陸起源有機物質および生物起源有機物質の二つに大別できる。陸起源有機物質は、主として陸から河川を經由して海域に流入する。その過程においてそれらの有機汚濁物質は、通常微生物等の作用によって変質すると考えられる。また、生物起源有機物質は生物活動に伴って生産された後、同様に変質するものと推測される。

これらの微量有機物質の生態的な役割は複雑であると考えられるが、藻類の増殖に対しては、促進効果をもつ場合もあれば、逆に阻害効果をもつ場合もあろう。したがって、これらの物質によって、沿岸海域におけ

る藻類の動態は大きく影響される^{1,2)}と同時に、藻類の遷移現象についても、大きな差異がもたらされることが考えられる。したがって、微量有機汚濁物質の解明は、海域生態環境を把握する上で重要であると思われる。しかしながら、このような観点からの研究は難しく、系統的な研究は十分に行われていないように見受けられる。

著者らも上述のような観点からの研究^{3,4)}を始めており、その過程で季節的にも変動の著しい成分が見い出されたので、その成分の海域における挙動、とくに生物過程との関連性について基礎的な検討を行った。

2. 実 験

*広島大学工学部環境基礎化学講座

Kazuto TAKIMOTO, Tetsuo MUKAI, Asanori OKANO, Takayuki YAMAMOTO

Institute of Environmental chemistry, Faculty of Engineering, Hiroshima University

2.1 採 水

図-1は広島湾における採水地点を示す。広島湾全域については、1977年6～10月にかけて4回、表層水(0.5 m)のみを採取した。採水はハイロート型採水器を用いて行った。北部沿岸域に位置するSta.5においては、1979年5～12月まで計8回、Sta.38においては、1979年5～7月まで計6回、層別(5～6層)に採水した。

2.2 分 析 法

2.2.1 試 薬

n-ヘキサンおよびエーテルは残留農薬分析用試薬を、その他の試薬はいずれも試薬特級を使用した。

2.2.2 試料の前処理

海水試料1ℓに(1+4)硫酸2mℓを添加してpH2に調整した後、5.0 20 mℓのn-ヘキサンを添加、10分間振とう、静置後n-ヘキサン層を分取した。この操作を2回繰り返した。測定妨害となる有機物を除去する目的で、この抽出液をフロリジルカラム(片山化学, 60-100 mesh, 130℃で5時間活性化)に通した^{7,8,9}展開溶媒として、30%エーテル含有のn-ヘキサン50 mℓを用いて溶離し、さらにロータリーエバポレーターおよび窒素ガスパージによって蒸発乾固させて分析用試料を得た。

2.2.3 分析操作

試料を10μℓのn-ヘキサンに溶解し、2μℓをガスクロマトグラフに注入した。ガスクロマトグラフィーの

条件は次の通りである。

Gaschromatograph : 柳本 G 80

Column : I. D. - 3.5 mm × 2 m glass column packed with 2 % OV-1 on 80-100 mesh Chromosorb W AW DMCS

: Temperature programmed from 200~280℃ at 4℃/min

Detector temp. : 300℃

Injection temp. : 300℃

Carrier gas : Nitrogen at a flow-rate of 20 ml/min

Detector : FID

Hydrogen pressure : 0.45 kg/cm²

Air flow rate : 1.0 ℓ/min

微量有機物質の同定には島津 GC-MS 6020 を使用した。

Column : I. D. - 3 mm × 2 m glass column packed with 5 % OV-1 on 80-100 mesh Gas-Chrom Q ; Temperature programmed from 150~320℃ at 4℃/min

Detector temp : 300℃

Injection temp : 350℃

Separator temp: 300℃

Carrier gas : Helium at a flow-rate of 30 ml/min

Detector : TIC

Ion source : EI

Ionization energy : 20 eV

図-1 広島湾における採水地点

図-2 海水試料のガスクロマトグラム
(1979年7月, Sta. 5)

表1 同定された微量有機物質

PEAK No.	M.W.	COMPOUNDS	PEAK No.	M.W.	COMPOUNDS
1	170	n-C ₁₂ H ₂₆ n-dodecane	11	362	DH _p P(diheptyl phthalate)
3	184	n-C ₁₃ H ₂₈ n-tridecane	13	390	DOP(dioctyl phthalate)
4	198	n-C ₁₄ H ₃₀ n-tetradecane	14	366	n-C ₂₆ H ₅₄ n-hexacosane
5	212	n-C ₁₅ H ₃₂ n-pentadecane	16	380	n-C ₂₇ H ₅₆ n-heptacosane
6	240	n-C ₁₇ H ₃₆ n-heptadecane	17	394	n-C ₂₈ H ₅₈ n-octacosane
7	270	C ₁₅ H ₃₁ COOCH ₃ methyl palmitate	20	422	n-C ₃₀ H ₆₂ n-triacontane
	278	DBP(dibutyl phthalate)	21	386	C ₂₇ H ₄₆ O cholesterol
8	282	n-C ₂₀ H ₄₂ n-eicosane	22	398	C ₂₈ H ₄₆ O sterol
9*	?		23	400	C ₂₈ H ₄₈ O campesterol
10	298	C ₁₇ H ₃₅ COOCH ₃ methyl stearate	24	414	C ₂₉ H ₅₀ O β-sitosterol

* unknown compound

図-3 Peak 9 のマススペクトル

Acceleration voltage : 3.5 kV

2.2.4 対象物質

広島湾における海水試料(1979年7月, Sta.5)を分析して得られたガスクロマトグラムおよび同定された物質名を, それぞれ図-2および表1に示す. 図-3は

図-4 広島湾における未知成分の濃度分布
(左欄; 1977年8月, 右欄; 1977年10月)

図-2に示した第9番目のピークのマススペクトルを示す. 既知のマススペクトル¹⁰⁾と比較することによりこの物質の解析を試みたが, このスペクトルには特徴的なピーク(m/e)が見られず, 同定することはできなかった. したがって, 他の方法による解析を検討中である. しかしながら, この物質(以下, 未知成分と表現する)は広島湾沿岸海域において, 季節のおよび層別に興味ある特異な挙動を示したので, 本研究ではこの点に着目して検討を行った.

3. 結果と考察

3.1 広島湾における未知成分の分布および変動

図-4は広島湾における上述の未知成分の濃度(ガスクロマトグラム上のピーク高さで示した相対濃度)の分布を示す. 1977年8月には, 広島湾北部沿岸域のみではあるが, その濃度は全体的に大きかった. しかも,

図-5 Sta. 5における未知成分濃度の変動(1979年)

その濃度は沿岸部になるにしたがって増大する傾向を示した。赤潮の発生が認められた Sta. 29 ではその濃度はとくに著しく大きかった。1977 年 10 月末には、その濃度は 8 月の場合に比較して全般的に小さくなった。しかしながら、それらの内でも Sta. 38 および Sta. 5 では若干大きかった。

このように、未知成分濃度はごく沿岸部で顕著な変動を示したので、Sta. 38 および Sta. 5 を中心として以後調査を行った。図-5 は 1979 年、Sta. 5 の表層 (0.5 m)、中層 (6 m) および底層 (12 m) における未知成分濃度と、表層におけるクロロフィル a 濃度の変動を示す。表層における未知成分濃度は春先から夏季にかけて増加し、秋口から冬季にかけて減少する傾向を示した。この変動パターンは表層におけるクロロフィル a 濃度

図-6 Sta. 5 における未知成分およびクロロフィル a 濃度の鉛直分布 (1979 年 5 月, 7 月)

図-7 未知成分濃度とクロロフィル a 濃度との関係

図-8 懸濁態および溶存態の未知成分およびクロロフィル a 濃度の鉛直分布 (1979 年 12 月, Sta. 5)

のそれと類似している。なお、5 月 27 日および 8 月 30 日には赤潮状態が観測された。中層および底層ではそれらの濃度はあまり変動しなかった。

図-6 は Sta. 5 における 1979 年 5 月および 7 月における未知成分濃度とクロロフィル a 濃度の鉛直分布を示す。下層になるにしたがって、未知成分濃度およびクロロフィル a 濃度はいずれも減少し、それらの変動パターンはよく類似している。

図-7 は 1979 年 5 月から 12 月までに測定したすべての採水地点における未知成分濃度とクロロフィル a 濃度との関係を示す。これらの間にはかなりよい相関関係が得られた ($r = 0.76$)。これらのことは、未知成分が植物プランクトンに起因する生物起源の微量有機物質であることを示唆している。

上述の実験では生海水をそのまま n-ヘキサンにより抽出したので、この未知成分が藻類の生体内、すなわち懸濁態で存在するのか、藻類からの排泄あるいは死滅、溶出に伴って溶存態で存在するのかについては明らかでない。そこでこれらの点について検討を行った。図-8 は 1979 年 12 月、Sta. 5 における海水試料を $0.8\mu\text{m}$ ガラスファイバーフィルター (東洋ろ紙 GA 200) でろ過した場合と、ろ過しない場合における未知成分濃度の変動を示す。クロロフィル a 濃度の比較的高い上層 ($\sim 5\text{ m}$) では、海水試料のろ過により未知成分濃度はほぼ 62% 減少したが、下層においてはその濃度は若干減少する程度であった。これらのことは、未知成分は下層では藻類の死滅に伴って生ずるデトリクスから溶出したために溶存態として存在し、また上層では懸濁

図-9 Sta. 5における未知成分およびプランクトン種別のバイオマスの鉛直分布(上段; 1979年5月, 下段; 1979年8月)

態として存在し、その大部分は藻類中に含まれていることを示唆しているものと考えられる。

3.2 広島湾における植物プランクトン種と未知成分との関係

藻類中の未知成分含量は、植物プランクトン種によって相異することが考えられるので、この点についての検討を試みた。図-9は1979年5月および8月(Sta.5)における未知成分濃度と植物プランクトン種別のバイオマスの鉛直分布を示す。ここで、植物プランクトン種別のバイオマスとしては、便宜上クロロフィルa濃度に各植物プランクトン種の組成(%)を乗じたものを用いた。未知成分濃度の鉛直変動は、5月においては渦ベン毛藻類(dinoflagellate)のバイオマスの変動と類似し、8月においては珪藻類の一種である*Chaetoceros*の変動と類似していた。全体的に、1979年5月から8月までの計4回の観測を通じて、未知成分濃度の変動は、渦ベン毛藻類(dinoflagellate)あるいは*Chaetoceros*のバイオマスの変動とよく対応していた。これらのことは、未知成分の生産量が植物プランクトン種によってかなり相異することを示唆しているように思われる。

図-10 培養実験における未知成分濃度およびプランクトン種別のセル数の変動

3.3 培養実験における未知成分濃度の変動

藻類の増殖過程と未知成分濃度との関係を明らかにするため、培養実験を行って検討を行った。

1980年5月、Sta. 5において表層(0.5 m)海水を採取し、その海水50ℓを用いて、25°C、8000 luxの断続光照射(12時間明、12時間暗)下で培養を行った。図-10はその培養における植物プランクトン種別のセル数および未知成分濃度の変動を示す。培養開始後、約32時間で生体量は最大に達した。この培養において優占種となった渦ベン毛藻類(dinoflagellate)および*Chaetoceros*のセル数が最大になる時期に、未知成分濃度もほぼ最大に達した。したがって、未知成分濃度の増加にはこれらの植物プランクトン種が大きく寄与していると推測される。これらの結果は、上述した海域における結果(図-9)とよく対応している。

なお、珪藻類のうち、沿岸海域において代表的な*Skeletonema costatum*についても同様の培養実験を行ったが、未知成分濃度の顕著な変動は認められなかった。

4. 結 語

上述の未知成分の濃度変動を、海域におけるクロロフィルa濃度の変動と対応させ、さらに培養実験によってその挙動と生物活動との関連性について検討を行っ

た、この未知成分の同定にはなお時間を要するが、現在のところマススペクトルだけからみると、分子量 280～290 の不飽和脂肪酸エステル類 テルペン類誘導体およびフェニルアルキル類などの可能性が大きいと考えられる。今後、この成分を多量に分取して、NMR および IR 等の他の方法による同定を試みるとともに、さらに、この未知成分が、沿岸海域における藻類のバイオマスの変動および藻類の変遷にどのような寄与をもつのかについてのより詳細な検討を進めていく必要がある。

参 考 文 献

- 1) 向井徹雄, 滝本和人, 市川康雄, 今本幸弘, 古室雅義: 多変量解析法による広島湾の水質評価, 水処理技術, **21**, 25-31 (1980)
- 2) 向井徹雄, 滝本和人, 市川康雄, 古室雅義: 多変量解析法による広島湾の水質評価 — 藻類動態の評価への適用 —, 水処理技術, **22**, 311-318 (1981)
- 3) 蔵谷寛明, 市川康雄, 滝本和人, 向井徹雄: 藻類増殖過程における有機物の分子量分布のゲルパーメーションクロマトグラフィー, 日本化学会中・四国大会講演要旨集, pp. 25 (1979)
- 4) 滝本和人, 山本隆幸, 向井徹雄: 広島湾におけるフタル酸エステルの挙動, 日本化学会第37春季年会要旨集(1978)
- 5) 片瀬隆雄, 工業用水, **169**, 19-23 (1972)
- 6) 片瀬隆雄, 半谷高久, 工業用水, **173**, 23-29 (1973)
- 7) F. L. Mayer, D. L. Stalling and J. L. Johnson, Nature, **238**, 411 (1972)
- 8) 児玉剛則, 高井義治, 公害と対策, **10** (5), 76-80 (1974)
- 9) 赤路哲也, 山本正視, 水処理技術, **15** (10), 25-34 (1974)
- 10) E. Stenhagen, S. Abrahamsson and F. W. McLafferty (Editors), "Atlas of Mass Spectral Data" (1969), "Registry of Mass Spectral Data" (1974), John Wiley & Sons, Inc.

(受付 S. 55. 12. 17)

主 な 既 刊 書

下水・廃水・汚泥処理ガイドブック

〈著者〉松本順一郎 外32名
A 5判1250頁, 定価13,000円

都市ごみ処理ガイドブック

〈著者〉平岡正勝 外34名
A 5判1350頁, 定価15,000円

し尿処理ガイドブック

〈著者〉岩井重久 外50名
A 5判 760頁, 定価 9,000円

生活系排水処理ガイドブック

〈著者〉洞沢 勇 外22名
A 5判 480頁, 定価 8,500円

下 水 道 必 携

〈著者〉野中徹一 外24名
B 5判 650頁, 定価 7,500円

悪 臭 防 止 技 術 要 覧

〈編著者〉西田耕之助
石黒 辰吉
B 5判 330頁, 定価 3,300円

汚 泥 研 究 年 報 '81

〈著者〉川島 普 外25名
B 5判 500頁, 定価 6,000円

公害防止のための計測機器概説

〈編著者〉柳沢三郎 外8名
B 5判 240頁, 定価 2,800円

わかり易い公害分析計測基礎講座

〈著者〉日色和夫 外5名
B 5判 113頁, 定価 1,800円

◆申込み・問合わせ先

環境技術研究会 図書係宛

〒550 大阪市西区京町堀1-14-25(京二ビル)

☎ (06) 443-6445・9027