

## 報告

### 藻類の有機塩素系農薬に対する蓄積性、分解性等について

浜村哲夫  
(水質環境部)

#### Note

#### Accumulative and Resolvent Action to Chlorinated Organic Pesticides by Algae

Tetsuo HAMAMURA  
(Water Quality Division)

キーワード：ペンタクロロニトロベンゼン (PCNB)、藻類、生分解

#### 1. はじめに

近年、化学物質による環境汚染が広まり大きな問題となっている。CASに登録された化学物質は1000万種を越え、商業的利用をされているものだけでも10万種類以上といわれている<sup>1)</sup>。これらの化学物質はやがて何らかの形で環境中に放出されることになる。しかし、化学物質の環境中での挙動や生態に与える影響についてはいまだ未解明な部分が多い。

我が国の過去における水俣病、イタイイタイ病の事例やDDT等の環境汚染において、食物連鎖を通じた生物濃縮の重要性が明らかになっている。ほとんど無害ともいえる濃度の排出であっても生物濃縮を通じて有害なレベルまで到達することがあり、その影響は思いもかけぬ生物に影響する<sup>2)</sup>。その中で藻類は水生昆虫や魚の餌として水環境中での食物連鎖の入口に位置していることから、化学物質の生態系への影響を見る上で藻類の環境中での役割を検討することは重要だと考えられる。しかしながら、藻類は通常においては底質等と一体で扱われることが多く単独ではほとんど調査されていないため、環境中での化学物質の挙動にどのように関与しているのか明らかではない。

そこで今回、環境中での藻類の役割の一端を解明するため、培養した藻類を用い土壌殺菌剤として比較的広く使用されている有機塩素系農薬であるペンタクロロニトロベンゼン (PCNB) の挙動を検討したので報告する。

#### 2. 実験方法

##### 2.1 藻類の培養

培養した藻類はクロレラ (*Chlorella vulgaris*) で、300mlの三角フラスコ中にC培地<sup>3)</sup> 100mlを入れ、25℃のインキュベータ内で、3000luxで24時間照射し培養を行った。

##### 2.2 PCNBの添加

実験はPCNBを添加した培地で9日間クロレラを培養し、3・6日目を除く7回について経日的にPCNBの変化を調査した。PCNBはジメチルスルフォキシドを用いて濃度調整を行い、事前に行った予備実験からクロレラの増殖に影響を与えない濃度として、0.20  $\mu\text{g/ml}$  (添加量として20  $\mu\text{g}$ ) を添加した。

##### 2.3 PCNBの分析

培養したクロレラは懸濁物質測定用のガラス繊維濾紙で捕集後、アセトン抽出・ヘキサン転溶を行い、フロリジルの固相カラムでクリーンアップを行った。培地はヘキサンで抽出し、それぞれECD-GCで分析を行った。PCNBの分解生成物であるペンタクロロチオアニソール (PCTA)、ペンタクロロアニリン (PCA) については、標準物質とGC-MSを用い確認を行った。<sup>4) - 8)</sup>

##### 2.4 EOXの測定

実験対象物質が有機塩素系農薬であることから、有機塩素化合物のトータル量について検討するため、各試料について抽出性有機塩素化合物量 (EOX) の測定を行った。TOXの測定は三菱化学(株)製全有機ハロゲン分析装置 TOX10-Σ、EOX試料導入装置は三菱化学(株)製 CRI-02を用いて行った。

#### 3. 結果及び考察

##### 3.1 培地中のPCNB量

培地中でのPCNB量を図1に示す。培地中のPCNB量は徐々に減少し9日目で最初の添加量の約2/3まで減少した。一方クロレラを培養しなかった培地中 (以下ブランクとする) のPCNB量は、ほとんど変化が見られなかった。このことからクロレラがPCNBの減少に何らかの関与をしていることが考えられる。

##### 3.2 クロレラの分析結果

培養したクロレラの分析結果を図2に示す。1日目のPCNB量は0.006 $\mu$ gであったが、培養開始2日目

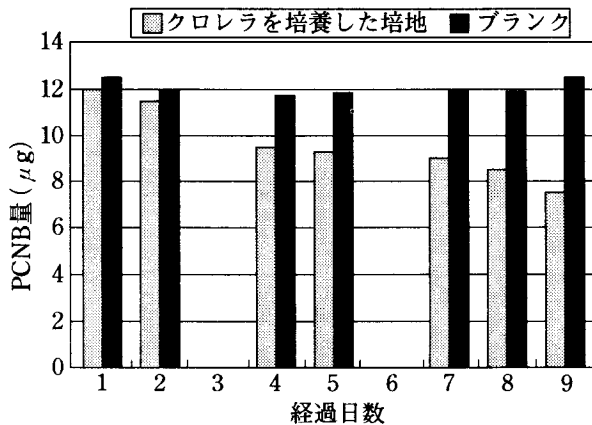


図1 培地中のPCNB量

PCNB量が0.16 $\mu$ gと最大値を示した、その後日数の経過とともに減少傾向を示した。また、培養2日目からPCTA、PCAが検出され、徐々に増加していく結果が得られた。PCTA、PCAは、PCNBが生分解されて生成するといわれている<sup>4) - 8)</sup>。

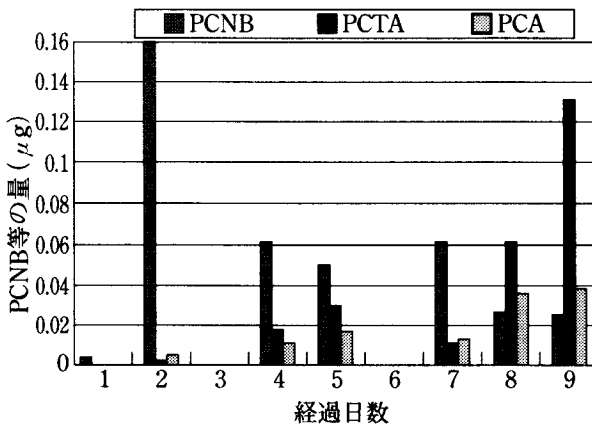


図2 クロレラ中のPCNB等の量

### 3.3 PCTAの分析結果

PCTAの量的変化を図3に示す。クロレラ中のPCTAは、日数の経過とともに増加している。環境中では生分解には、バクテリアが大きな役割を果たしているといわれているが、今回、無菌的に純粋培養したクロレラ中で生分解生成物のPCTAが生成したことから、クロレラそのものがPCNBをクロレラ中に取り込み、その後の生分解に大きく関与しているものと考えられる。また培地中のPCTAは、培養開始直後は検出されなかったが、5日目から検出され、日数の経過とともに検出量が多くなる傾向を示した。この時、同時に行ったブランクの培地からはPCTAは検出されなかった。このことからクロレラによるPCNBの分解生成物として生

成したPCTAが培地中に溶け出していくものと考えられる。

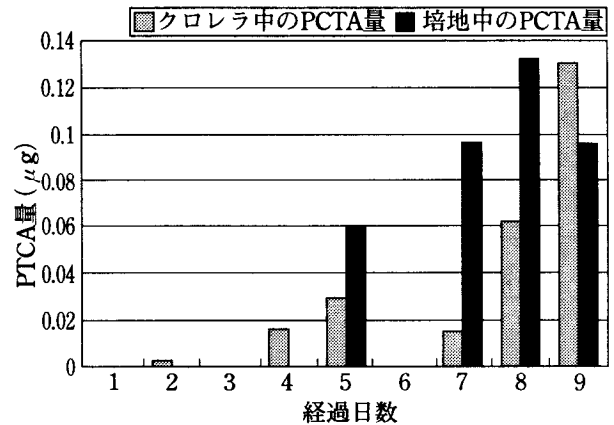


図3 PCTA量

### 3.4 PCAの分析結果

PCAの量的変化を図4に示す。PCAは伏脇等の調査では、実際の環境中において同じ分解生成物のPCTAよりもより多く検出されている<sup>9)</sup>。今回の調査では、

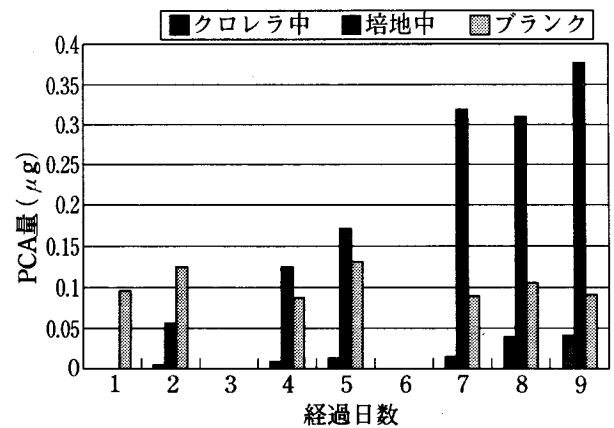


図4 PCA量

PCTAと同様にクロレラの培養2日目からクロレラ中及びクロレラ濾過後の培地中からも検出されており、日数の経過とともに検出量も多くなってきた。培地中のPCAの量がクロレラ中の量に比べかなり多いことから、分解により生成したPCAはクロレラ中に蓄積せず速やかに培地中に溶けだしていくものと考えられる。

この時、ブランク中でもPCAが検出された。量的には多少の増減はあるが、日数の経過に係わらず濃度変化はあまりなかった。両者を比較してクロレラを培養した方がPCAの生成量ははるかに多いことから、PCAの生成にクロレラが関与していることは明らかであると考えられる。なお、PCAが培養開始1日目からブランク中で検出されたことについては、光分解などの原因が考えられるが今のところ不明である。

### 3.5 EOXの分析結果

EOXの測定結果を図5に示す。クロレラ培養試料(培地とクロレラの合計)とブランクの分析値を比べると、ブランクの分析値が若干高めの傾向を示すが両者の測定値に大きな差は見られなかった。両者とも培養の初期にはPCNB(C<sub>6</sub>Cl<sub>5</sub>NO<sub>2</sub>)の添加量12 $\mu$ g(添加したPCNB中の塩素量)より高い値を示し徐々に減少傾向を示している。EOXは抽出した有機ハロゲン化合物をTOX計で測定するものであるが、TOXの測定では硫黄、リン酸、鉄等が妨害を示す<sup>10)</sup>。これらの物質は培地の成分として含まれており、これがEOXの測定値を高くしている原因の一つではないかと推測される。一方、PCNB、PCTA、PCAの測定値の合計量(化合物中の塩素量に換算)を図6に示す。ブランクの分析値はほとんど変化しなかったのに対しクロレラ培養サンプルの方は培養9日目まで約2/3に減少した。EOXの測定値では両者の間にほとんど差が見られなかったことから、クロレラ培養サンプル中のPCNBはPCTA、PCAからさらに別の有機塩素系の化合物に分解が進行していることを示すと考えられる。

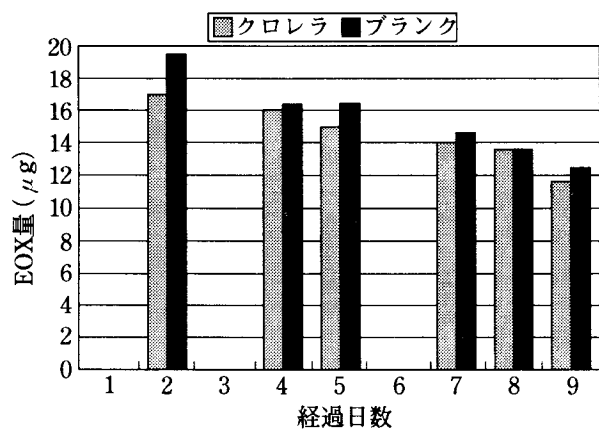


図5 クロレラ及びブランク中のEOX量

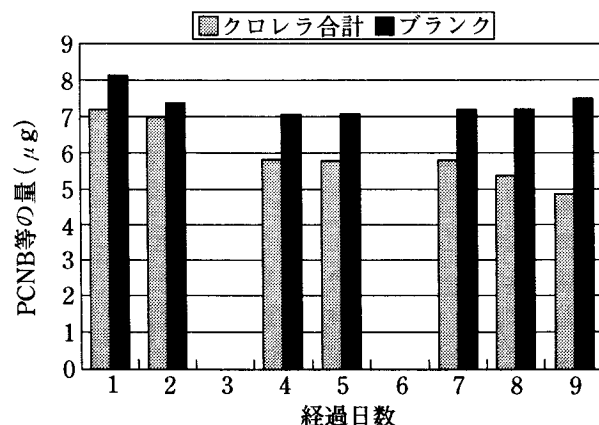


図6 クロレラ、ブランク中のPCNB等の量

### 4. 結論

使用したクロレラは無菌的に純粋培養したものであることから、今回の実験でのPCNBの分解はクロレラそのものがPCNBを体内に取込んだ後、生分解に関与していると考えられる。さらに、分解によって生成した分解生成物の一部は、クロレラ中から培地中に排出される事が明らかになった。このことから、クロレラは化学物質の蓄積、分解に大きく関与しているものと考えられる。

#### 参考文献

- 1) 森田晶敏：有害化学物質に関する研究の現状と将来動向,生活と環境, **36**,51-53 (1991).
- 2) 吉岡義正：化学物質の生体影響評価について,水, **35** (12),16-26 (1993).
- 3) LIST OF STRAIN (Fourth Edition), NATIONAL INSTITUTE FOR ENVIRONMENTAL STUDIES, ENVIRONMENT AGENCY JAPAN (1994).
- 4) W.H.Ko, J.D.Farley：Conversion of Pentachloronitrobenzene in Soil and the Effect of These Compounds on Soil Microorganisms, *Phytopathology*, **59**,64-67 (1968).
- 5) 中西逸朗,奥八郎：殺菌剤の選択毒性機構に関する研究,日植病報, **35**,339-346 (1969).
- 6) G.Renner, and P.T.Nguyen.: Sulphur-containing Metabolites of Fungicides Pentachloronitrobenzene (PCNB) and Hexachloronitrobenzene (HCB) I, *Chemosphere*, **10**,1215-1222 (1981).
- 7) M.E.Bahig, A.Kraus, W.Klein, F. Korte: Metabolism of Pentachloronitrobenzene <sup>14</sup>C (Quintozene) in Fish, *Chemosphere*, **10**,319 (1981).
- 8) 伏脇裕一他：殺菌剤ペンタクロロニトロベンゼンの水系中での生分解性,衛生化学, **37**,529-536 (1991).
- 9) 伏脇裕一他：野菜栽培における殺菌剤ペンタクロロニトロベンゼン及び分解代謝物質の動態,衛生化学, **40**,39-48 (1994).
- 10) A.D.Levine, L.R.Kroemer：TOC AND TOX INDICATOR PARAMETERS FOR ORGANIC CONTAMINANTS IN LANDFILL LEACHATE, *Waste Management & Research*, **7**,327-349 (1989).