

多摩川底泥構成物質の 環境的評価に関する研究

—— 汚染指標としての活動力の測定 ——

1979年

半谷高久

東京都立大学理学部教授

目 次

まえがき

第1章	底泥試料の採取および保存	小 椋 和 子
第2章	底泥試料中の微生物学的性状	手 塚 泰 彦
第3章	底泥中の炭素・窒素・リン	小 椋 和 子・落 合 正 宏
第4章	底泥中のクロロホルム抽出物の 分子量分布とピグメント	柴 田 彰 久・小 椋 和 子
第5章	底泥中のコプロスタノール	小 椋 和 子
第6章	底泥中の腐植物の化学的特徴の解析	石 渡 良 志・山 本 修 一・福 島 和 夫
第7章	底泥より分離した腐植物質への ABS (アルキルベンゼンスルホン酸) の移行過程	石 渡 良 志・山 本 修 一
第8章	堆積物(底泥)の河川自浄作用に果たす役割	小 椋 和 子
	河川水中、河川底泥中の有機物の分離 および生物試験	宮内慎太郎・遠藤立一・佐々木裕子 長尾孝一・松崎 理・半谷高久

× 東京都立大学理学部

×× 東京都公害研究所

×× 千葉大学医学部

ま え が き

天然水域の泥には多くの有害または無害の物質が蓄積されていることが知られている。しかしながら河川の底泥、特に我国のように急峻で全長の短い河川の底泥は、一瞬の洪水で洗い流されてしまうためにそれらの環境に対する寄与—良くも悪くも—についてほとんど研究されていない。今回このような海湾へと移行される河川の泥の持つ性質について都市汚染の代表ともいえる多摩川で上流部からかなり系統的に検討を行えたことは重要な意味をもつ。この研究によって河川泥は深い湖の底泥や海洋の底泥と異なり、容易に移動すること・また再溶出の可能性が高いことなどで水と同じ意味を持つのではないかと考えられるに至った。

また多くの汚染物質を濃縮している底泥について行った生物試験の結果から流域の生物への有害性の状況を知ることができた。

今後はこれらの基礎的なデータを基礎とし、汚染物質の移行機構を明らかにすることおよび生物試験の充実をはかることを目的として研究をすすめたい。

第1章 底泥試料の採集および保存

小 椋 和 子

藻泥は、青梅の調布橋および、丸子橋上流の谷沢川河口上流部の二地点において採取された。これらの試料は、冷蔵して持ち帰り、たゞちに遠心分離（3000rpm'・15分）して、採取の際に使用した水（蒸留水）と固形物を分離し、固形物（これを藻泥とする）を凍結保存し、分析に供した。

ガス橋ならびに丸子のせき上で採取した底泥はポリエチレンの袋に入れたまま凍結し、使用前に解凍し、遠心分離して、分析に供した。但し、ガス橋の試料は、半年ほど、低温室に保存された後、この操作をおこなった。

大師橋の柱状試料は塩ビパイプでつきさすことによって採取し、パイプから抜き出して凍結保存し、分析の際に解凍された。

サンプルの採集日・地点・採集量等は表Iにまとめてある。

表1 多摩川流域採泥試料

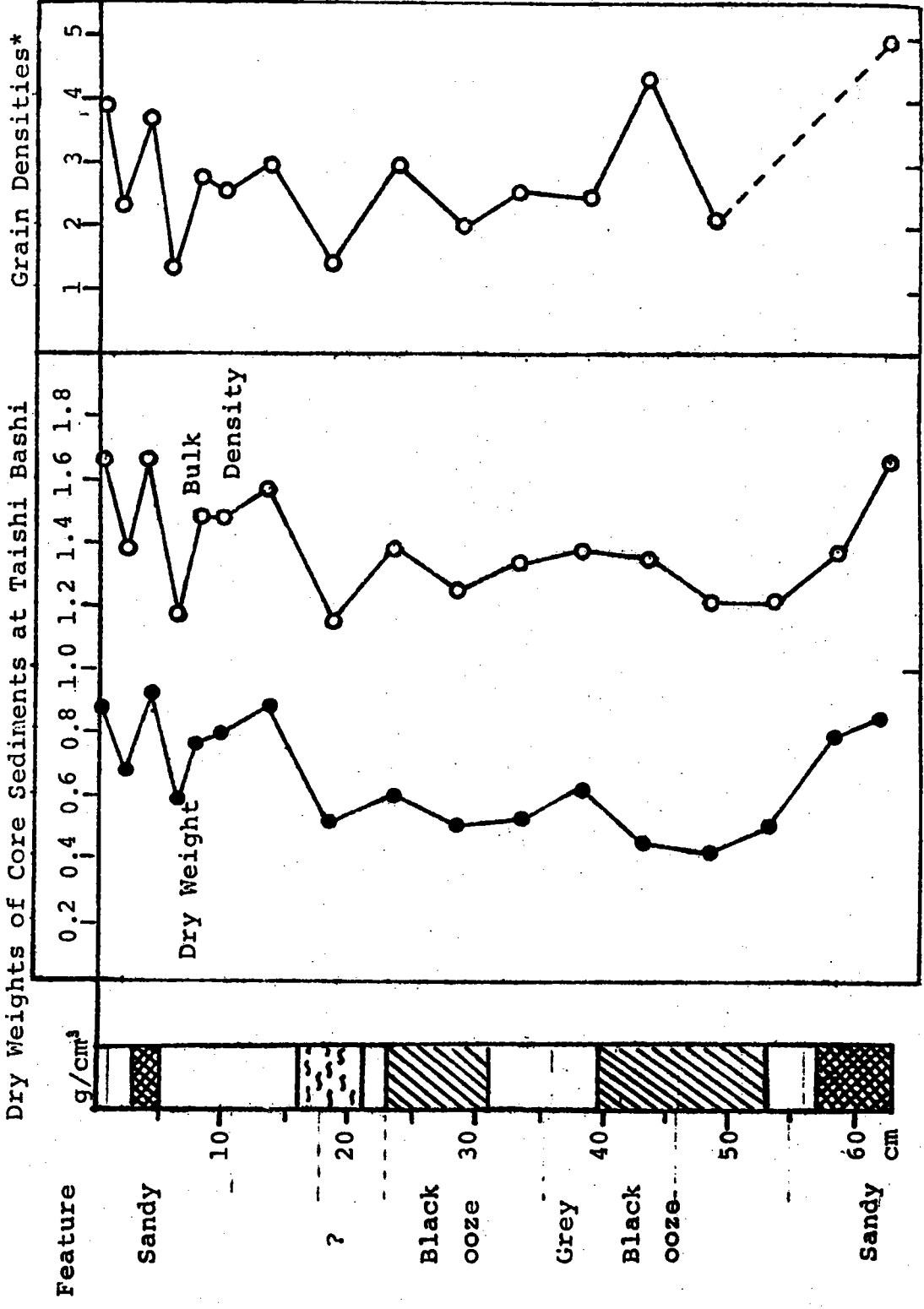
試 験 名	採 集 地 点	採 集 日	試 料 量(湿)	g/m ² (乾量)
藻 泥 青 梅	調 布 橋 上 流 西	'77, 11月 4日	約 250g	34.4g/m ²
藻 泥 丸 子	谷 沢 川 河 口 上	'77, 12月 2日	約 460g	97.6
浮 泥	丸 子 せ き 上	'77, 7月21日	少 量	360
底 泥 羽 村	羽 村 取 水 所	'77, 7月 6日	少 量	
底 泥 丸 子 せ き 上	調 布 取 水 所	'77, 7月21日	約 10kg	
底 泥 ガ ス 橋	ガ ス 橋 付 近 川 崎 側	'76, 12月 9日	約 50kg	
底 泥 六 郷	六 郷 橋	'77, 8月 3日	約 10kg	
柱 状 試 料	大 師 橋	'77, 12月 2日	6.3cm×5.8mm(φ) 7本	

なお、採集量が少ないために多くの分析ができなかったが、浮泥を丸子橋せき上で採取したので、それについてのべる。浮泥の起源は明らかでないが、考えられるのは、第1に、排水が流入する場所で、水の流量が少い時には河床に付着していたものが、流量が多くなったために浮かんで流れたもの、第2には、通常どこにでもある河床付着物で、光合成がさかんになったために浮力を生じて流れたものなどである。

これらの浮泥群がどの地点で沈降するかは明らかでないが、河床の汚染の原因の一つともなるであろうし、河川の底泥の汚染の解明を困難とする一つの要因ともみられる。

採取した柱状試料の性状、bulk densityおよびdry weight densityを図1に示す。

なお、本報告のうち、生物分類（手塚担当）は独自に採取した試料で分析を行った。



* Calculated with assumption as water density contained in the samples as unity.

第2章 底泥試料中の微生物学的性状

手塚 泰彦

多摩川中流域のうち拝島橋～丸子橋にかけては河川水の汚濁の影響を受けて、河床に堆積している石礫の表面には細菌、原生動物、藻類等が付着して多量に発生しており、これらの微生物は河川水の浄化や有機物生産に大きく貢献しているものと考えられる。そこでその実態を明らかにする目的で、1977年11月4日に水の比較的清潔な調布橋付近と汚濁の著しい丸子橋付近の2地点で、石礫面に付着する微生物の調査を行なった。

一方、多摩川下流域（丸子橋～河口）は感潮域で、水深も大きく、流速が小さいために砂泥が堆積し、これに有機物も加わって夏季には硫化物が形成されるものと考えられる。そこでその状況を明らかにする目的で、1977年8月9日に、ガス橋、六郷橋、大師橋、河口の4地点で底泥を採取し、その性状を調査した。

調査結果

I 中流域における河床付着物の性状

調布橋、丸子橋（取水堰上流）の河床に50cm×50cmの方形区を設置し、そのなかの石礫をできるだけ全部採取し、蒸留水をかけながら付着物をブラシで剝離し、蒸留水で定容にしたのち、各種の分析を行なった。比較のために同時に採取した河川水の水質をも分析した。その結果を表1にあげる。

河川水の水質の多くは1ℓあたり、付着物の分析値は河床1cm²あたりで示してある。水のBODは青梅では1.7 ppmであったのに対し、丸子橋では12.8 ppm、無機態窒素も丸子橋で著しく高かった。水の従属栄養細菌数も丸子橋の方が約10倍多かった。このような水質を反映して、付着物の量、質ともに両地点で大きな差がみられた。すなわち、有機物量を示すPOC、PONは調布橋にくらべ丸子橋は約2倍多く、付着性藻類の量を指標するクロロフィルa量は丸子橋で約3倍多かった。また、従属栄養細菌数と脱窒細菌数は調布橋にくらべ丸子橋が10倍も多い。

以上のデータから多摩川中流域の汚濁の著しい地点では、細菌による有機物の分解と藻類による有機物の分解が活発に行なわれていることが推定される。

II 下流域の河床堆積物の性状

下流域の4地点で、エクマンバーズ採泥器により採泥し、底泥の有機炭素、有機窒素、硫化物（酸可溶硫化物）および硫酸還元菌数を測定した。その結果を表2に示す。なお、この表には参考のために、同じ日に調査した東京湾の1地点（多摩川河口沖）のデータも載せてある。

表から明らかなように、ガス橋より下流の下流域では、六郷橋付近に有機物をもっとも多量に蓄積しており、ついで大師橋が多い。これと平行して、底泥中の硫化物量も六郷橋、大師橋の順に高かった。底泥中の硫酸還元菌についてみると、海産のものはどの地点でも 1×10^5 / m² 湿泥以上であったが、淡

表1 多摩川中流域の水質および河床付着物の性状(1977年11月4日)

地点		調 査 時 刻		調 査 時 刻		調 査 時 刻	
		11:30~		16:30~			
地 点		調 査 時 刻		調 査 時 刻		調 査 時 刻	
		11:30~		16:30~			
対 象	河 川 水	付 着 物	河 川 水	付 着 物	河 川 水	付 着 物	河 川 水
水 温 (°C)	14.0		15.2				
pH	8.0		7.2				
溶 存 酸 素 (mg / l)	—		5.3				
BOD	1.7		12.8				
アノモニア態窒素 (mg / l)	0.446		5.45				
亜硝酸態窒素 (mg / l)	0.005		0.240				
硝酸態窒素 (mg / l)	0.504		1.34				
PON	0.043 (mg / l)	0.045 (mg / cm ²)	0.27 (mg / l)	0.098 (mg / cm ²)			
POC	0.52 (")	0.29 (")	2.4 (")	0.58 (")			
クロロフィル a	4.54 (μg / l)	6.18 (μg / cm ²)	19.44 (μg / l)	18.70 (μg / cm ²)			
従属栄養細菌 {	4.5 × 10 ⁴ / ml	7.0 × 10 ⁵ ~ 2.0 × 10 ⁶ / cm ²	5.5 × 10 ⁵ / ml	1.0 × 10 ⁷ / cm ²			
平板法							
MPN法	1.3 × 10 ⁵ / ml	2.4 × 10 ⁶ / cm ²	2.4 × 10 ⁶ / ml	7.9 × 10 ⁷ / cm ²			
脱窒細菌数	4.0 × 10 ³ / ml	7.9 × 10 ⁵ / cm ²	7.9 × 10 ⁵ / ml	4.6 × 10 ⁶ / cm ²			
総細菌数	2.5 × 10 ⁶ / ml	4.2 × 10 ⁸ / cm ²	4.8 × 10 ⁶ / ml	8.7 × 10 ⁸ / cm ²			
原生動物		根足虫類 (少量)		有柄纖毛虫類 (多量)			

水性のものは上流から下流にかけて激減している。

なお、参考にあげた多摩川沖の東京湾では有機物量は六郷橋と大師橋の間であったが、硫化物、硫酸還元菌数とも上記二地点にくらべて低い値を示した。

以上述べたように多摩川下流域の底泥は部分的には東京湾と同程度ないしはそれ以上に汚染の影響を受けていることがわかる。

表2 多摩川下流域の堆積物の性状(1977年8月9日)

採取地点	底泥の概観	有機炭素 (乾重%)	有機窒素 (乾重%)	硫化物 (mg S/Kg湿泥)	硫酸還元菌数(N/ml)	
					海産性	淡水性
ガス橋	黒色砂	0.363	0.052	330	$>1 \times 10^5$	$>1 \times 10^5$
六郷橋	黒色腐泥	3.786	0.387	2,040	2.4×10^5	2.1×10^4
大師橋	黒色腐泥	1.337	0.211	630	$>1 \times 10^5$	2.4×10^2
河口	黒色砂	0.400	0.037	320	$>1 \times 10^5$	2.3×10^1
多摩川沖 (東京湾)	黒色腐泥	2.665	0.332	540	2.4×10^4	—

第3章 底泥中の炭素、窒素およびリン

小 椋 和 子 落 合 正 宏

Iで述べたように採集し、水と分離された藻泥ならびに堆積物について以下の方法で炭素、窒素ならびにリンの測定を行った。

炭素・窒素の測定方法

試料を110°Cで2昼夜乾燥し、恒量とした後、全炭素、全窒素を柳本製CHNコーダー(TYPE MT-2型)で測定した。有機炭素、有機窒素は、IN-HC1を滴下し、炭酸塩の分解による泡の発生が終了してから一昼夜、放置し、後、中和し乾燥する。重量を補正して、同様にCHNコーダーにて測定する。(今回の報告は全炭素、全窒素のみ測定し、有機炭素、有機窒素については試料調整を終了したが測定は完了していない。)

リンの測定法

保存してある湿試料をそのまま使用する。分析方法は『「海水・湖水の分析」小山、半田、杉村著・講談社』P130の酸可溶性リンの分析法に従って行なわれた。

概略をのべる。

堆積物中のリン酸はリン酸第二鉄またはリン酸第一鉄の型で存在しており、強酸により容易に溶出される。湿試料に純水を加えた後、その $\frac{1}{2}$ 量の 6 N 塩酸を加えて水浴上で加熱する。これを東洋沱紙 No 5A でろ過し、温水で洗浄する。ろ液を 5 ml 以下に蒸発濃縮してから、塩酸 (6 N-) を加えておく。試料中の鉄分を鉄クロロ錯イオンとして強塩基性陰イオン交換樹脂に吸着させとり除く。イオン交換樹脂を通過した試料を蒸発乾固し、残留物に 1 N 硫酸を加えて溶かす。これをモリブデン酸アンモニウムと反応させ、塩とした後、還元剤を作用させて青色のモリブデンブルーを生成させ、比色定量する。

結 果

全炭素、全窒素、リンの測定結果を表 I に示す。又同時に面積に換算した値を藻泥、浮泥、柱状試料について記した。柱状試料については、記述した長さの中の全量を示す。

表に示されるように、今回測定した試料の中では、丸子の藻泥が炭素、窒素およびリン共に最大である。この地点に最も近い、丸子の底泥には、炭素では $\frac{1}{2}$ 、窒素では $\frac{1}{3}$ 、リンでは $\frac{1}{5}$ と、藻泥に比較してこれらの量が少なく存在している。又、藻泥を水と共存させて放置しておき、後に固形物を分離し、分析する場合には、やはり、同じように有機炭素等が急速に減少することがみられた。このことは、光合成された藻類は急速に分解して、次の光合成の源となることが考えられる。特に、リンをみると、青梅の藻泥における含有量と丸子の藻泥における含有量が等しく、他の泥にくらべると量的に高い値を示す。このことから、リンがすでに青梅において、光合成に充分な量が存在しているともいえるのではないかと考えられる。また光合成が面積あたりにして青梅の 3~6 倍あると思われる丸子の藻泥にくらべて、底泥には約 $\frac{1}{5}$ のリンが存在するが、これは炭素にくらべると非常に低く、リンの再利用の効率が高いことが示唆された。

柱状試料についてみると、上層の 0~1.4 cm では、比重の重い堆積物が存在していたが、中層の 1.4~3.0 cm は、有機物に富んだ ooze であった。河川の堆積物は、洪水や雨量の多い時に上流からはこぼれたものであること、また浚渫等で、堆積物の上下が入り乱れている可能性があり、柱状試料の層順が必ずしも年代をあらわしているとは限らないが、C/N 比をみると、明らかに、下部へ行く程増加しており、このように三つにわけられた試料間では、堆積の順序を示していると考えられた。柱状試料を厚さ 1 cm あたりでみると (表 I のカッコ内)、炭素は中層部でやゝ高い値があるが、窒素、リン共に下部になるに従い、減少していることがわかる。圧密による差および堆積速度の差を考慮しても、試料の逆転はなかったと推察された。わずかではあるが中層の炭素含有量が高いことは、この間の有機物の供給が高かったのではないかと推察される。今回は年代を測定していないので、何年に相当するかは不明である。この試料が採取された場所は感潮領域なので、上流の泥がこの地域にかなり早い速度で堆積していることが予測され、おそらく丸子のせきの開門と同時に、上流の泥がこの付近まで流され堆積したと考えられる。柱状試料のリンの濃度が下部では上部にくらべて約 $\frac{1}{4}$ であること (面積あたりで) は供給が少なかったのか、または

還元的環境のために、溶出しつつあるのか真相は不明である。もし後者であるとする、すでに堆積した汚染物質からもリンの供給があり、河川水のリンの除去が行われても、東京湾の富栄養化に十分な量となるであろう。このことは、藻泥の面積あたりのリンの量が $0.003 \sim 0.01 \text{ mg/cm}^2$ であるのに対して、柱状試料では、 1 cm の厚さで 0.19 mg/cm^2 もあることをみても充分理解できる。

相崎ら(1974)は多摩川の中流域の光合成を詳細に検討し、礫上の藻類はクロロフィル量にして約 500 mg/m^2 に達するとはく離をはじめ、およそ $100 \sim 200 \text{ mg/m}^2$ になると再び増加しはじめることを観察している。更に大雨のあと、礫上の礫類は泥と共に流出し去ることも観察した。これらの結果と我々の得た結果から、多摩川の河口域の泥の有機物は、下水流入物から直接沈降した有機物と藻類によって生産された有機物の混合物であることがわかる。この比率について以上のデータから大胆に求めてみよう。まず青梅の藻泥には汚染の影響がないとする。このことは汚染の指標であるコプロスタノールが検出されなかったことからいえることである。この藻泥は純粋に藻類による有機物であるとする、この泥に存在するリンと炭素の比率を丸子藻泥にあてはめることができる。藻泥の回転率が早いので藻類以外のリンの吸着がないと仮定し、丸子藻泥の藻類のみによる炭素が計算できる。計算の結果、約 48 mg/cm^2 であった。残りの 38 mg/cm^2 が下水記源の有機物である。百分率にすると藻類起源が62%、下水起源が38%である。一方、丸子の底泥は、ほぼ藻泥から来たものと仮定すると、堆積物の比重も藻泥とかわらないので、グラムあたりの炭素量で藻泥と底泥を比較できる。丸子藻泥の炭素量 79 mg のうち 49 mg は藻類起源とすると残りの 30 mg が下水起源である。下水起源の有機物は処理を経たものかまたは藻類にくらべて長い時間水中にあったもので分解速度は前者にくらべて遅いと仮定すると、丸子底泥の炭素 35 mg のうち 30 mg は下水起源であると考えてもよい。残りの 5 mg が藻類の残存物であるので、丸子底泥では14%の炭素は藻類起源となる。一方藻泥 79 mg のうちの 49 mg は藻類起源であったので、藻類からみると、藻類は90%は分解してしまうと考えられる。この計算では、下水起源の有機物は全く分解しないと仮定しているから、この分解率は最大値である。一方、リンの丸子底泥の濃度は藻泥の $\frac{1}{5}$ であることからみると、藻類は20%底泥に寄与しているとみられる。両方から推定してみると藻類は80%~90%分解するか又は流出してしまい、20%~10%が底泥に移行する。丸子底泥では、14~20%が藻類による再汚染の有機物であると計算された。

なお、柱状試料では、塩分増加のために泥への吸着率に若干差があるとみられること、および事実リンの濃度が炭素にくらべて高いことからこのような計算を適用することはできない。このことはガス橋の試料にもいえる。以上の計算からみると、藻類による有機物の汚染は、下水起源にくらべて底泥だけをみると大して大きくないようにみえる。しかし、これは河川の場合であって、系外に出た潜在的な光合成の源はいつでも再生産できる用意があることを示すのではない。

ここで述べたのは全炭素であるが、有機溶媒で抽出される成分をみると、(例えば生体色素など)、藻類起源のものが柱状試料にも相当量存在しているらしいことが現在行いつゝある実験から予測された。但し溶媒抽出される炭素は全体の10%前後である。

本報告ではリン酸態リンをリンと省略して記した。

表1 堆積物中の炭素，窒素ならびにリン

Location	C mg in dry weight g	N weight g	C/N	P	C/crit (mg)	N/crit (mg)	P/crit (mg)
青梅薬泥	47.2	6.80	6.94	0.986	0.162	0.023	0.0034
丸子薬泥	78.8	13.2	5.97	1.12	0.769	0.129	0.0109
丸子底泥	35.4	4.53	7.80	0.216	—	—	—
ガス橋底泥	20.1	2.44	8.23	0.123	—	—	—
浮泥	33.1	4.26	7.77	—	1.18	0.152	—
大師橋コ70～14cm	18.6	2.45	7.57	0.242	208 (14.9)	27.4 (1.96)	2.71 (0.19)
大師橋コ714～30cm	27.0	3.25	8.31	—	246 (15.4)	29.6 (1.85)	—
大師橋コ730～43cm	25.2	2.80	9.00	0.095	187 (14.0)	20.7 (1.59)	0.70 (0.05)

第4章 底泥中のクロロホルム抽出物の分子量分布とピグメント

柴田 彰久 小椋 和子

I はじめに

河川有機物の研究において、河川水については数多くの研究がなされてきているが、河川の堆積物を研究対象とした例は非常に少ない。これは、一定の堆積速度で継続的に堆積する海や湖沼のものと異なり、非常に流速のおそい、限られた場所に堆積物が存在し、水量の増加にともない移動を繰り返すものであり、起源や堆積時間の推定などが難しいなどの性格をもつためである。しかし、河川有機物を解明していく上で重要な研究対象であるため、本研究では多摩川河川泥を対象に数種の試料を採取し、その有機溶媒抽出物の分子量分布を測定し、抽出有機物の性格を巨視的に観察することを1つの目的とした。

また、多摩川河川水中の有機物の研究過程において着色物質の存在が報告されており、その起源が付着性藻類中の生体色素であると推定されている。多摩川では、上流の羽村付近から下流の丸子橋付近までの長い区間においてハリケイソウが季節に無関係に付着性藻類の優占種として生息していることが知られているが、その藻類が含む生体色素、クロロフィルとカロチノイドに特に注目して分析を行なった。クロロフィルは光合成能を有する植物中に広く分布する色素で、堆積物中にも存在し、その誘導体は原油や石炭中をはじめ10億年前の堆積物においても確認されており、有機地球化学のトレーサーとして非常に多くの情報を与える物質であるため、さまざまな研究がなされてきている。カロチノイドも動植物界を通じて広範に分布し、古くから研究者の注目を集め、現在、これに属するものとして150種以上の化合物が確認されているが構造未定のものもある。本研究では、この両色素量を定量し、抽出有機物中に占める割合を明らかにするとともに、これら色素は非常に不安定な物質であるため、分子量分布中での位置を調べることも試みた。

II 試料

前記の目的を解明するため、堆積時間や生体色素が生産されてからの時間の差による変化を検討するように、次のような各種河川泥を採取し、分析を行なった。

- ① 丸子藻泥 (Maruko Periphyton) —— 丸子橋のやや上流の川原の礫に付着していた河川泥で、生存中の付着性藻類を含む試料。
- ② 丸子浮遊泥 (Maruko Floating Mud) —— 丸子橋上の調布取水所内で、水面を浮遊していた河川泥を採取し、これを1つの試料とした。付着力を失った、死滅直後の藻類を含むものと思われる。
- ③ 丸子底泥 (Maruko Mud) —— 調布取水所内の川底から採泥器により採取した河川泥。
- ④ 大師橋柱状試料 (Daishi - Bashi Core Sample) —— 下流の大師橋下東京側で直径4cmの塩ビ製の筒を用いて採取した長さ43cmの柱状試料で、表面から14cm, 30cmの2カ所で軟弱であったため、この位置で切断して上層(0~14cm)中間層(14~30cm), 下層(30~43cm)の3試料を得た。

採取場所は図1に、採取月日とこれらの試料の有機物に関するデータを表1に示した。

III 分析操作

生体色素、特にカロチノイドは分解しやすく、温度、酸素、光、酸によって分解が促進される。よって、試料は採取後、直ちに凍結保存し、解凍後はなるべく分析時間を短くするよう努めた。抽出溶液を保存する場合は、容器中の空気を窒素ガスで置換し、冷暗所に保存し、分析中は、可能なかぎり光を避けた。

操作手順を図2に示す。

試料は、遠心分離により大部分の水を除き、約5～20gを秤量して抽出に用いた。別に秤量した試料泥を100°Cで乾燥させ、乾燥重量を測定するとともに、CHN分析器により全炭素量(TC)、全窒素量(TN)を測定した。

抽出溶媒は、MeOH/CHCl₃ (1:1) 20mlを用い、Homogenizerで10000rpm, 5分間攪拌抽出し、遠心分離3000rpm, 15分間行なった溶媒相を抽出液とし、5回抽出を行なって100mlにとした。この溶液について、抽出有機炭素量(EOC)とクロロフィル、カロチノイド量の測定を行なった。

抽出液50mlを水洗してMeOHを除いた後、減圧下で5mlに濃縮し、0.45mlを取り高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を用いて溶出させた。溶出条件は下記のとおりである。

溶 媒 : CHCl₃

充 填 剤 : Merckogel - Typ - OR - 20000

圧 力 : 5～10 Kg/cm²

流 速 : 6ml/h

カ ラ ム : 直径8mm×30cmガラスカラム

この溶出溶液の有機物量をChromacord UVmonitor (波長254nm)で検出するとともに溶出溶液をFraction Collectorで分取し、Menzel法により有機炭素量を測定し、この2つの方法で分子量分布を測定した。

また、溶出溶液を分子量約2000以上、2000-600、600以下のフラクションに分画し、それぞれのクロロフィル、カロチノイド量を測定した。

[クロロフィルの定量法]

クロロフィルについては、Laurenzenの方法により、すべての緑葉が含むクロロフィルとその分解物フェオフィチンaを同時定量し、クロロフィル類の代表値とした。本法は、希塩酸添加によりクロロフィルのをフェオフィチンaとし、その前後の665nmにおける吸光度の減少量を測定し、溶液に含まれていた両物質を算出するもので、図3の計算式により1cmキューベットを用いたときの溶液1mlに含まれる色素量が算出される。

抽出液またはHPLCによる溶出溶液を減圧下で溶媒を除き、90%アセトン溶液とした後、本法で比色定量した。

〔カロチノイドの定量〕

カロチノイドは、これに属する化合物はおびただしい数にのぼり、個々の化合物として定量するには多くの操作と時間を必要とする。そのため本研究においては、カロチノイド全体量を簡便に求める方法として、カロチノイドの可視吸収における吸光特性の類似性を利用し、最も代表的な β -カロチンを標準に用い、そのBenzene溶液の吸収極大である465nmにおける吸光度を試料溶液について求め、 β -カロチン換算量としてカロチノイド量を表わした。

測定は、溶液を減圧下で乾固寸前まで濃縮し、Benzene溶液とした後にEtOHと50%KOHを加え、一夜放置して妨害となるクロロフィルを加水分解し、水洗して除いた後、Benzene溶液として比色定量した。

なお、比色定量には日立124型分光光度計を、可視吸収スペクトルの測定には、日立ESP3T型自記分光光度計を用いた。

IV 結果及び考察

1 抽出溶媒について

クロロフィル、カロチノイドの抽出溶媒として一般的な90%アセトンと、本研究で用いたMeOH/CHCl₃(1:1)の抽出能力について比較実験を行った結果、90%アセトンよりもMeOH/CHCl₃の方が、抽出が早く、5回抽出で得られる色素量も多く、抽出溶媒として適当であることを確認した。

2 各試料の有機物量について

表1において、TC, TN, EOCは丸子藻泥が最も高く、下流の試料となるにつれて小さくなっている。全炭素量中でのEOCの割合も、丸子藻泥が12.5%、丸子底泥で8.5%、柱状試料下層で4.8%と抽出可能な有機炭素の割合も減少している。C/N比は逆に堆積時間が長くなるにつれて大きな値となっている。

3 抽出有機物の分子量分布

HPLCによる溶出のスタンダードは、4種のポリスチレン(MW17500, 4000, 2200, 600)とナフタレンを使用した(図4)

各試料のUV吸収とmenzel法による溶出パターンを図5~9に示す。どの試料でもUV吸収によるものとmenzel法とではパターンが一致しない。大師橋柱状試料の3層間ではパターンに大きな差がなかった。

丸子藻泥、丸子底泥、柱状試料上層の3試料のUV吸収パターンの比較を図10に、menzel法による比較を図11に示す。UV吸収では、MW150付近に丸子底泥では肩として、柱状試料では主要なピークとして吸収が表われているが、menzel法の対応位置にはピークは存在せず、254nm付近に強い吸収をもつ物質の存在のためと考えられる。溶出容量15ml以下でも吸収が見られ、ゲルの分子ふるい効果のみでなく、極性による吸着などの二次的効果のための溶出異常が起っている。丸子藻泥のmenzel

法による溶出パターンでは、この現象がさらに顕著で、15 ml付近に非常に高いピークが見られ、丸子底泥にも小さなピークが存在するが、柱状試料には見られないことから、生体中に含まれている極性物質が移動または堆積中に河川水へ放出され、減少していくものと推察される。河川水との相互関係に関連する現象として興味深いのが、詳しい検討は行っていない。図11において、藻泥では分子量600付近にピークが存在しているが、底泥ではやや低分子量側にずれ、柱状試料では200-150付近にピークが現われている。よって堆積時間が長くなるにつれて低分子量側にピークが移動する傾向にあると言える。

抽出物が極性物質を含む混合物であり、上記のように溶出異常が起こるため、正確な分子量分布を測定できたとは言い難いが、これらの結果から、ほとんどの試料において分子量2000以上が5%程度、2000-600が20%、600以下が75%という有機炭素量の分布となっていて、河川泥抽出物の場合、見かけ上、低分子量成分が非常に高い割合であることが明らかとなった。

4 生体色素について

図13はクロロフィル測定時の90%アセトン溶液の可視吸収スペクトル例である。図14はクロロフィルを分離した後のカロチノイドのBenzene溶液の可視吸収スペクトルである。図13の410-415 nmと665 nm付近のピークはクロロフィル類の吸光特性を示し、カロチノイドの吸収は400-500 nmにおいて肩として現われており、他の色素は見うけられない。

抽出液中のクロロフィルa、フェオフィチンa、カロチノイド量を測定の結果(図15)、下流の試料になるにつれて色素量が急激に減少していることがわかった。

クロロフィルaとフェオフィチンaの相対量を比較すると、丸子藻泥では75%以上がMgを有するクロロフィルaとして存在するが、柱状試料では逆に77%以上が脱金属化されたフェオフィチンaとなっており、急速な脱金属化の過程が観察される。

カロチノイドは、クロロフィル以上に不安定であるにもかかわらず、その減少の割合はクロロフィルよりも小さく、河川中でのこれらの色素の減少を支配する要因として、化学的变化よりも、水中への移行、他の生体中での保存など、それぞれ異なった因子が大きく作用しているものと思われる。

大師橋柱状試料中間層の色素量は、他の層に比べてやや大きな値となっている。また、クロロフィルa量が非常に少ない点でも他の2層と異なっている。表1のC/N比は上層から順に増加しているので、移動中の堆積物の上下の逆転のためでなく、表層で生産と脱金属化が繰り返された堆積物と、上流で生産されたクロロフィルaが急速な堆積によってMgが保護された堆積物の2種が存在するのではないかと推察される。

5 分子量分布中での色素位置について

丸子藻泥のHPLCによる溶出溶液を分子量約2000以上、2000-600、600-300、300以下の各フラクションに分画し、それぞれの色素量を定量した結果を表2に示す。ただし、分画後に比色定量される色素量は、抽出液中に含まれていたものに比べ、操作中の変化のためにクロロフィルは43%、カロチノイドは23%に減少したので、表2中の割合(%)は、分画後に確認されたものを100%とし

て算出した。クロロフィル a (MW 892) とフェオフィチン a (MW 869) は 2000-600 のフラクションにそれぞれ 74%, 71% が溶出し、カロチノイド (MW 537 以上) は 600-300 に 75% が確認された。残りの色素は、分離上の問題で隣接するフラクションに大部分が溶出し、確認される色素は、ほぼ分子量どおりの溶出をすることがわかった。

他の試料についても同様の操作を行なったが、操作中に定量不可能なものへ変化してしまうため、色素の溶出位置を明確にすることはできなかったが、図 6~9 の溶出溶液の着色物質の位置からは丸子藻泥と同様、分子量に従った位置に大部分が溶出されていると推測される。重合や分解による色素の分子量的変化については、比色定量法を用いたために変化後の物質をとらえられず、検討を加えるに至らなかった。また、溶媒抽出法では高分子有機物の抽出能力が劣るため、この問題を究明するためには、分析手段が不十分であった。

丸子藻泥、底泥の溶出容量の大きな位置にわずかに色素の存在が見られるが、他の試料には見られず、極性の強い色素が河川水中へ移行することも考えられる。

これらの色素が分子量に従った位置に溶出するものとして、抽出液に確認された色素の炭素量が対応するフラクションの有機炭素量に対し、どのような割合であるかを算出したのが表 3 である。丸子藻泥では確認された色素が大部分を占めているが、他の試料では色素以外の物質の割合が高い。しかし、色素が変化して比色されなくなった物質の存在も十分に考えられ、必ずしも色素の割合が低いとは言えない。

図 11 の溶出パターンでの低分子側へのピークの移動と図 15 での色素の減少という 2 つの現象が同時に観察されることから、生体色素が分子量分布に大きな影響を与えていることが考えられる。

定量した 3 色素の炭素量が EOC 中で占める割合 (表 3) は、丸子底泥、大師橋柱状試料で 2~7% であったが、丸子藻泥では 19% と、水圏有機物の研究中で確認された単独の物質種の割合としては他にあまり例をみない非常に高い値を示し、藻類を含む特種性はあるが、河川有機物の起源として大きく寄与するものと思われる。

V ま と め

以上のように、分子量分布測定により、河川泥の場合、見かけ上、MW 600 以下の低分子量成分が抽出有機物中で非常に高い割合を示し、堆積時間の長い試料ほど低分子量側にピークをもつこと、また、生体色素の定量により藻類を含む試料には多量に存在する色素が、移動、堆積中に急激な減少をすることが明らかとなった。さらに分子量分布測定と色素定量を同時に行なうことにより、抽出有機物に対する色素の寄与が大きいことが解明された。これは、河川泥有機物の起源として、付着性藻類が重要な役割を果たすことを示唆するものと言える。

しかし、本実験において定量を行なわなかったクロロフィル類や、比色定量されない色素分解物を含めた生体色素関連物質全体をとらえるならば、さらに明確な知見が得られるものと思う。

また、分子量分布中に、いくつか特徴ある物質の存在がうかがわれるため、河川泥有機物のより詳細な分析が待たれる。

Fig 2

ANALYTICAL PROCEDURE

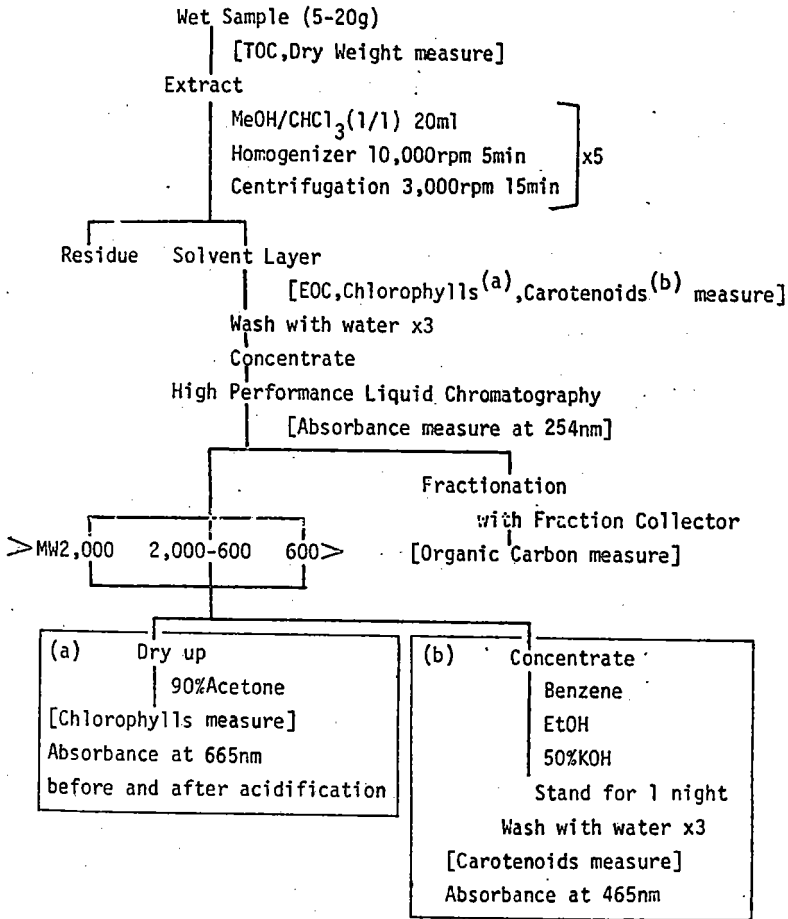


Fig 3

DETERMINATION OF CHLOROPHYLLS

$$\text{Chl. a } (\mu\text{g/ml}) = A \cdot K \cdot (665_0 - 665_a)$$

$$\text{Pheo. a } (\mu\text{g/ml}) = A \cdot K \cdot (R \times 665_a - 665_0)$$

A: Absorption Coefficient of Chlorophyll a

K: Factor to equate the reduction in absorbancy to initial Chlorophyll concentration

665₀ : Absorbance before acidification

665_a : Absorbance after acidification

R: Maximam ratio of 665₀:665_a in the absence of Pheophytin a

Fig 4

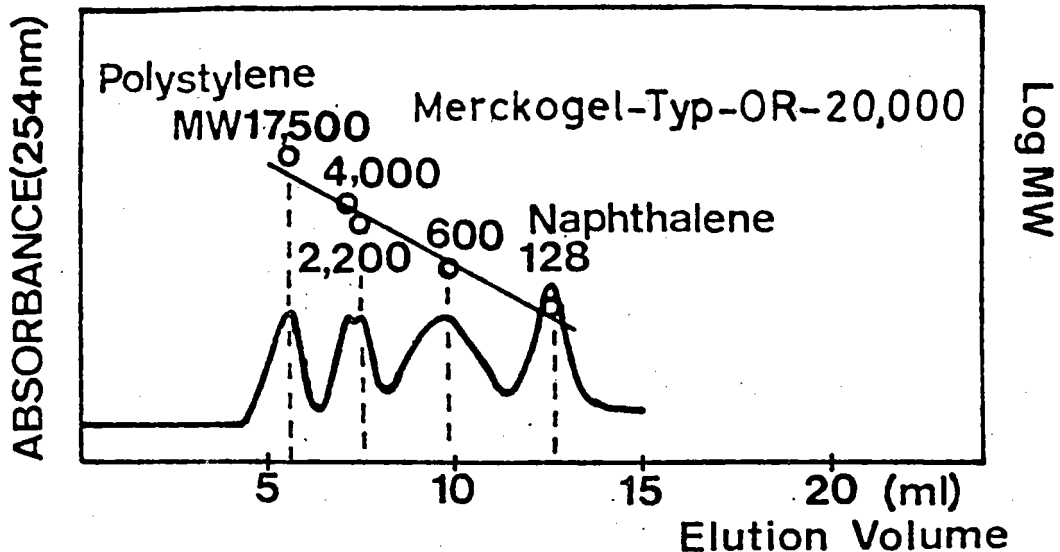
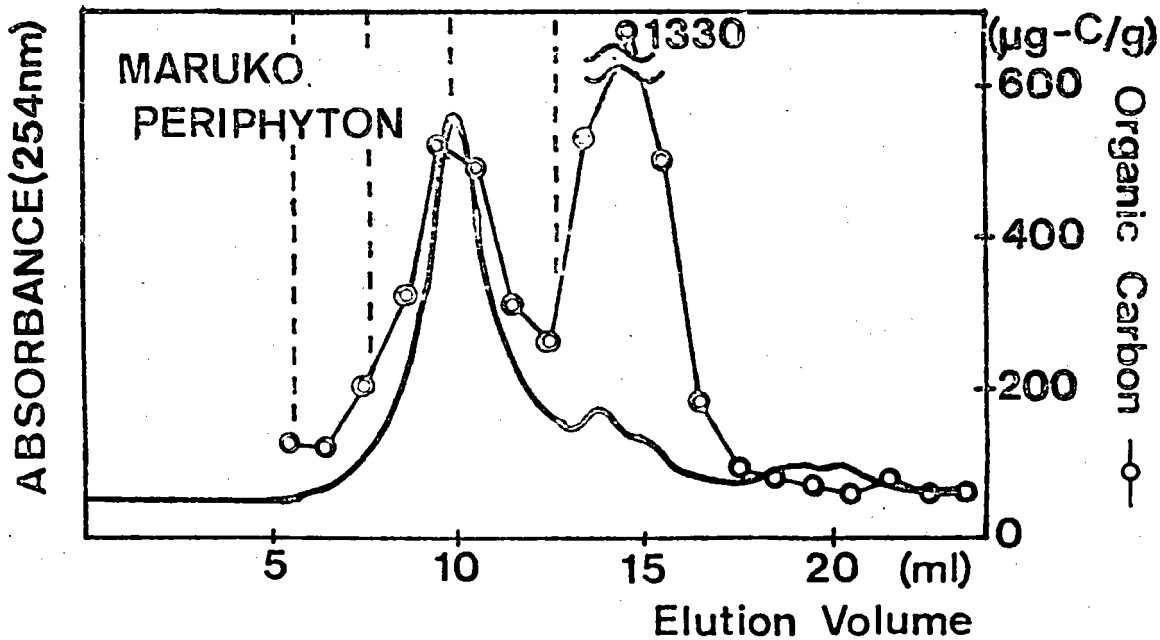


Fig 5



Color	G.	Y.	G.	L.G.	L.G.
-------	----	----	----	------	------

G.=Green Y.=Yellow Br.=Brown

L.G.=Light Green L.Y.=Light Yellow

Fig 6

ELUTION PATTERN OF EXTRACT

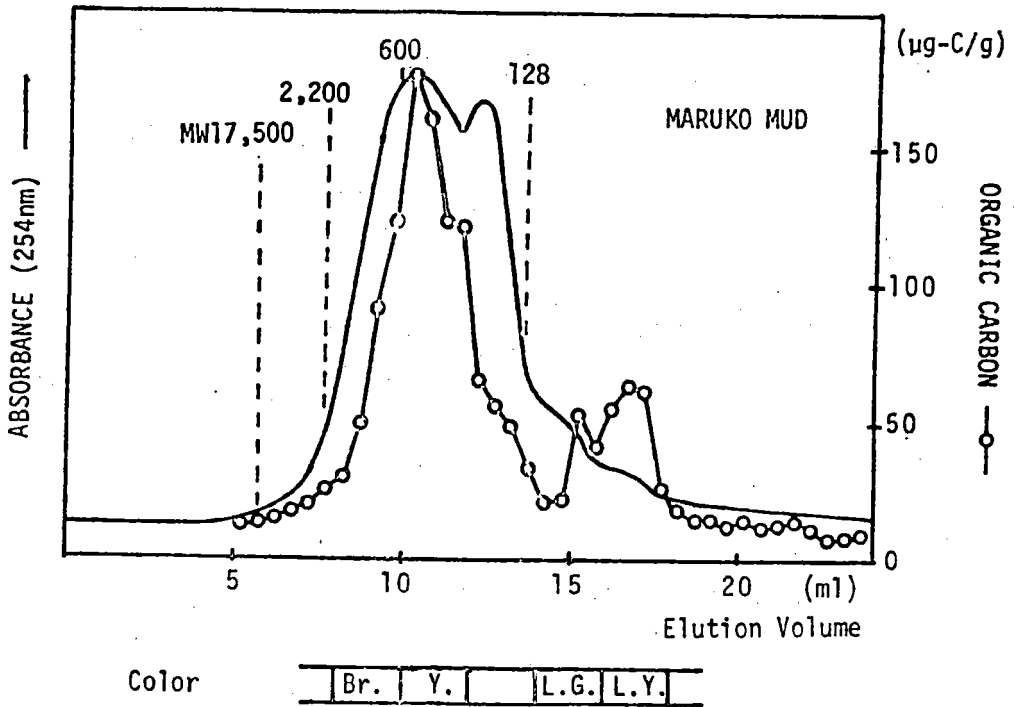


Fig 7

ELUTION PATTERN OF EXTRACT

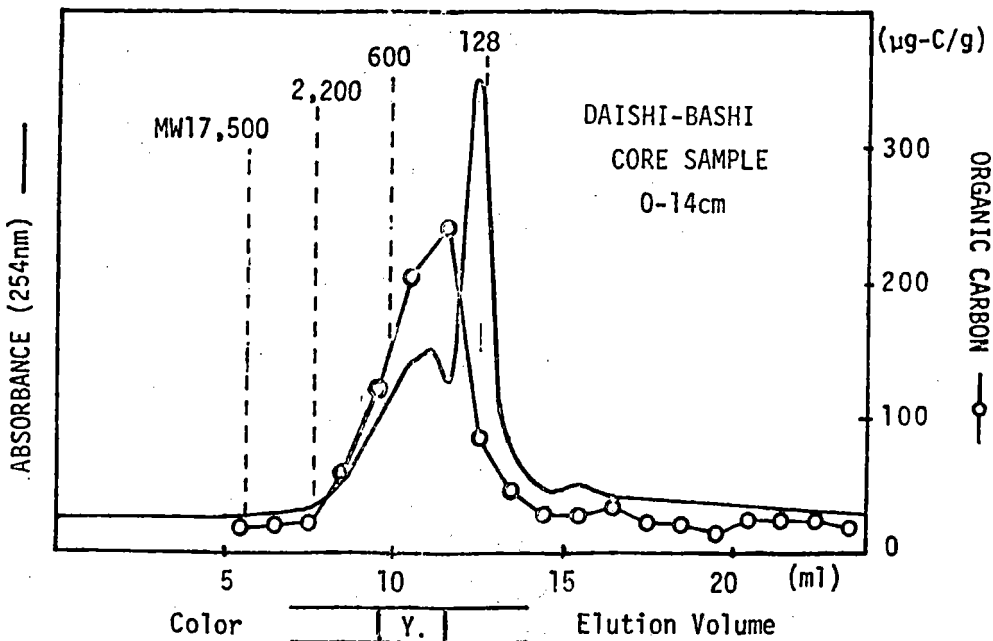


Fig 8

ELUTION PATTERN OF EXTRACT

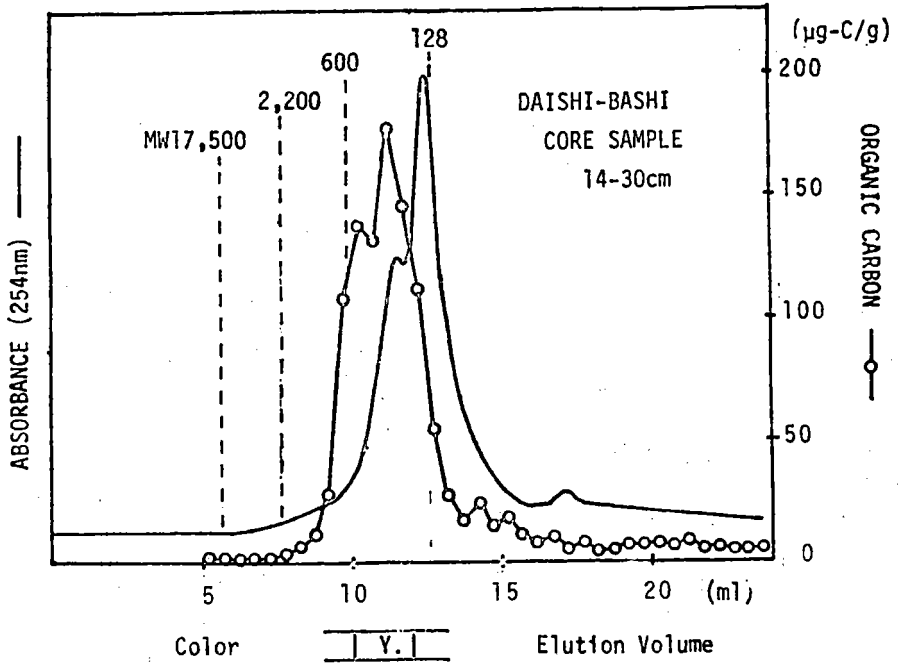


Fig 9

ELUTION PATTERN OF EXTRACT

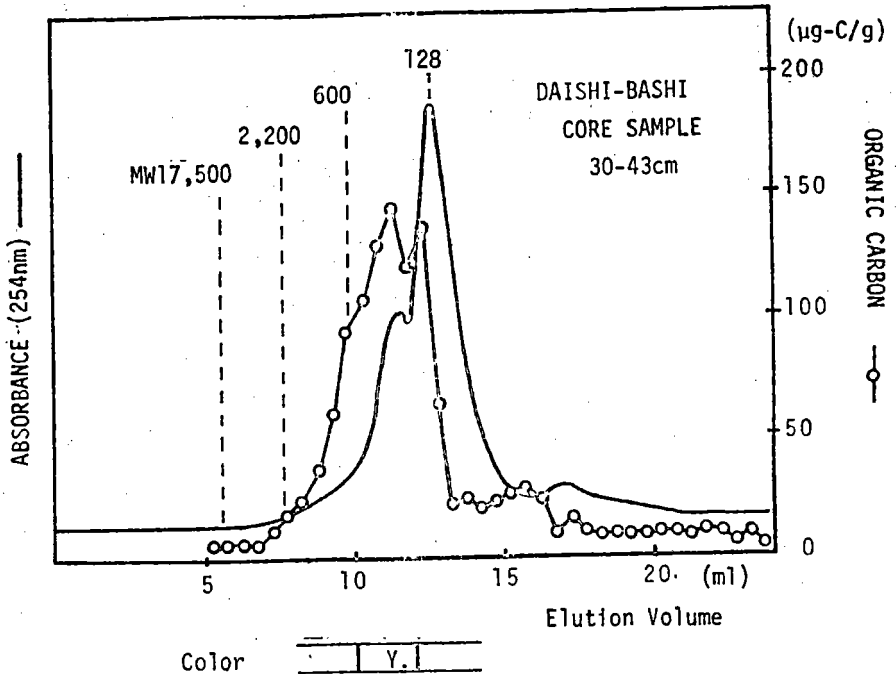


Fig 10

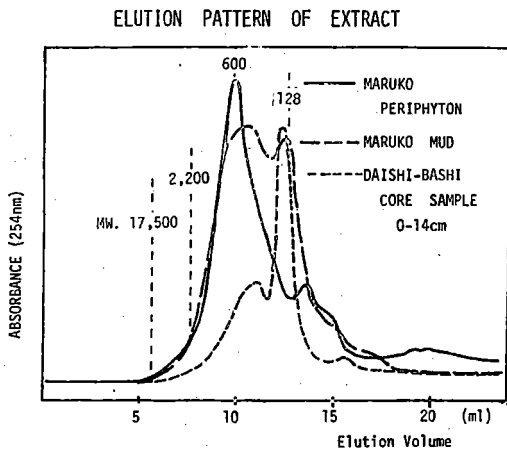


Fig 11

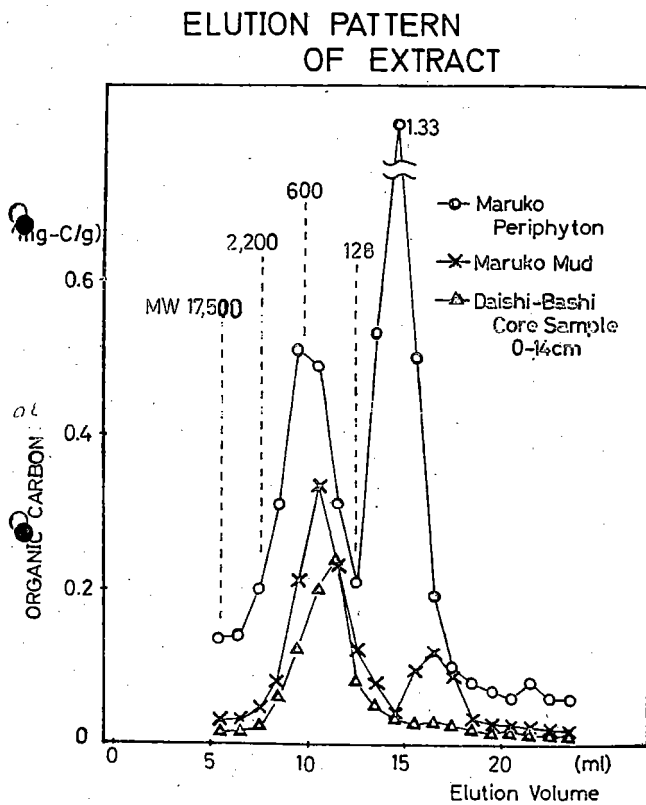


Fig 12

MOLECULAR WEIGHT DISTRIBUTION
(Organic Carbon)

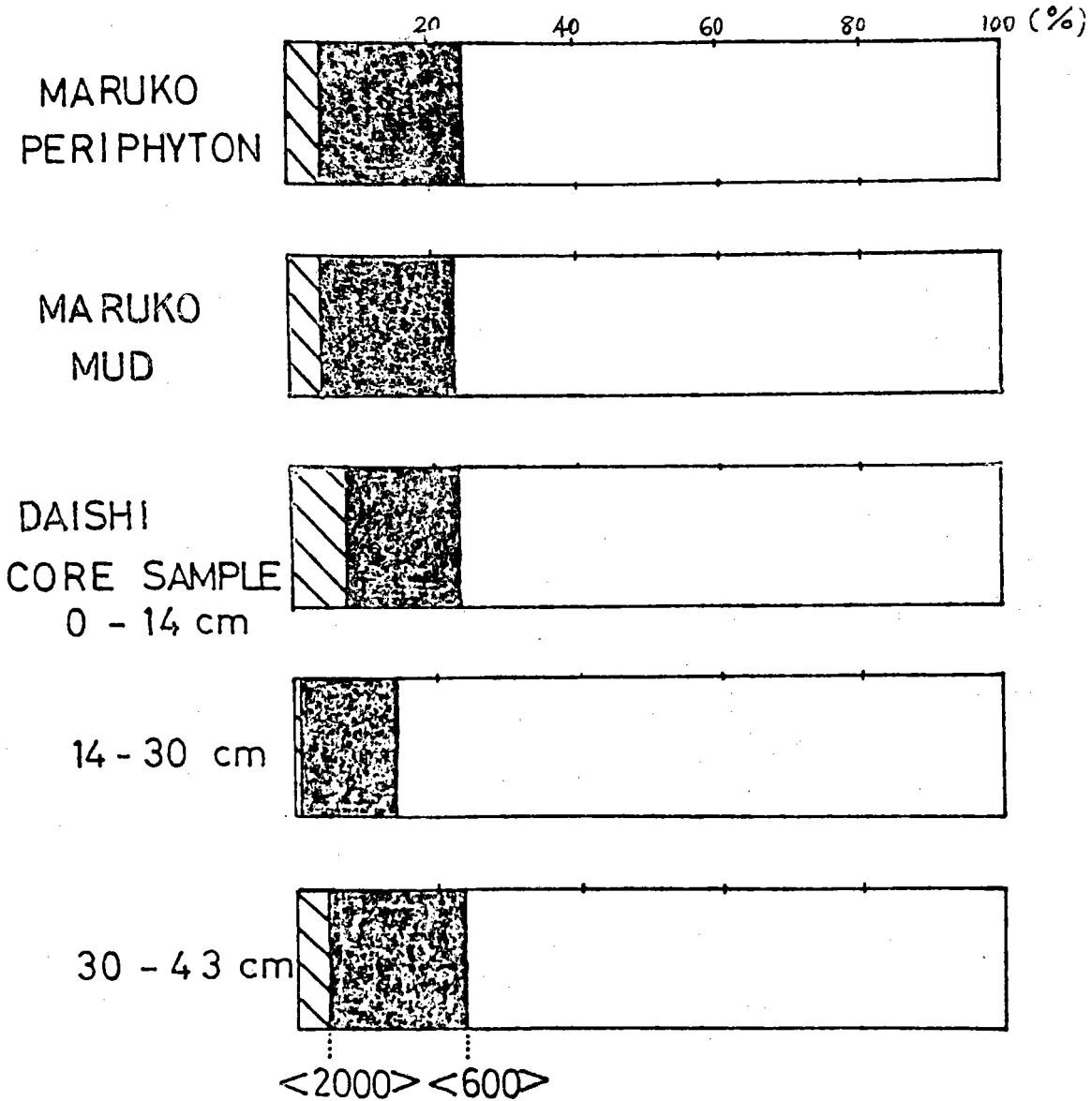


Fig 13

Visible Absorbance of Extracts (90% Aceton)

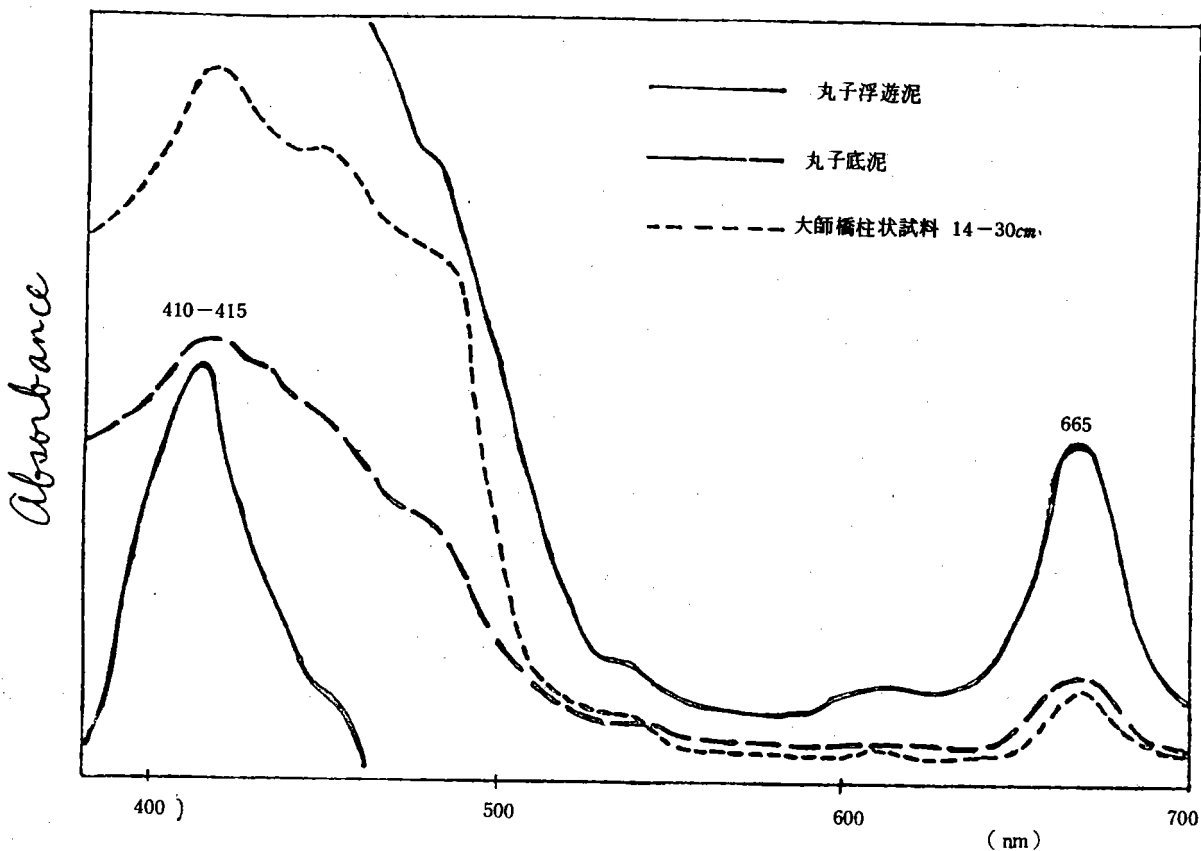


Fig 14

Visible Absorbance of Carotenoid (Benzene)

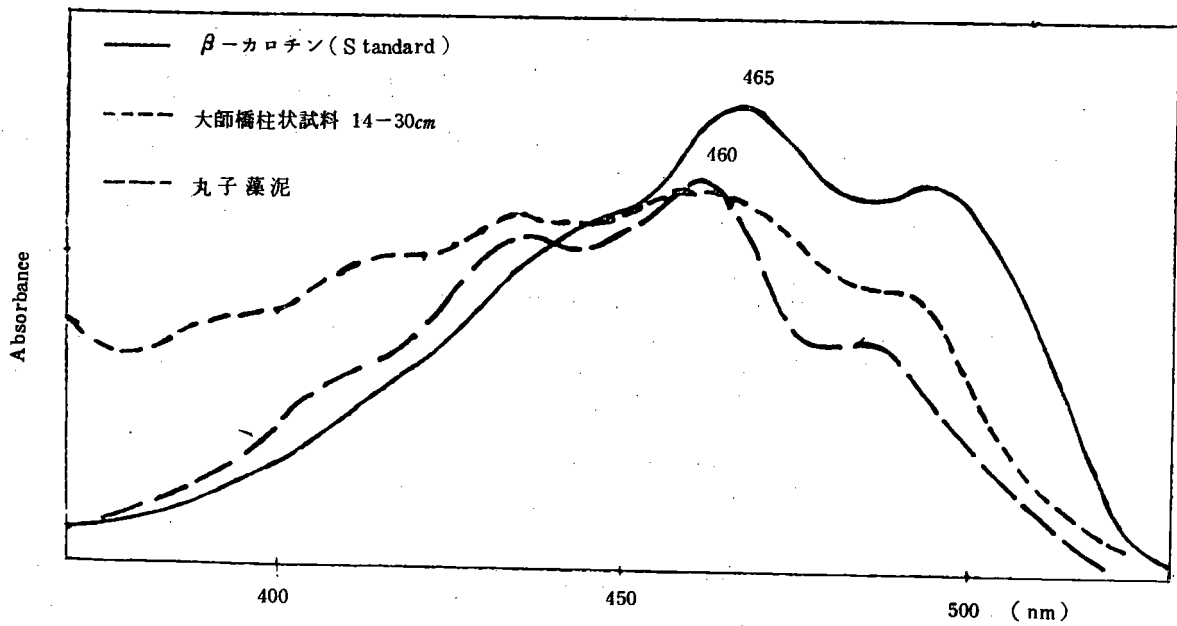


Fig 15

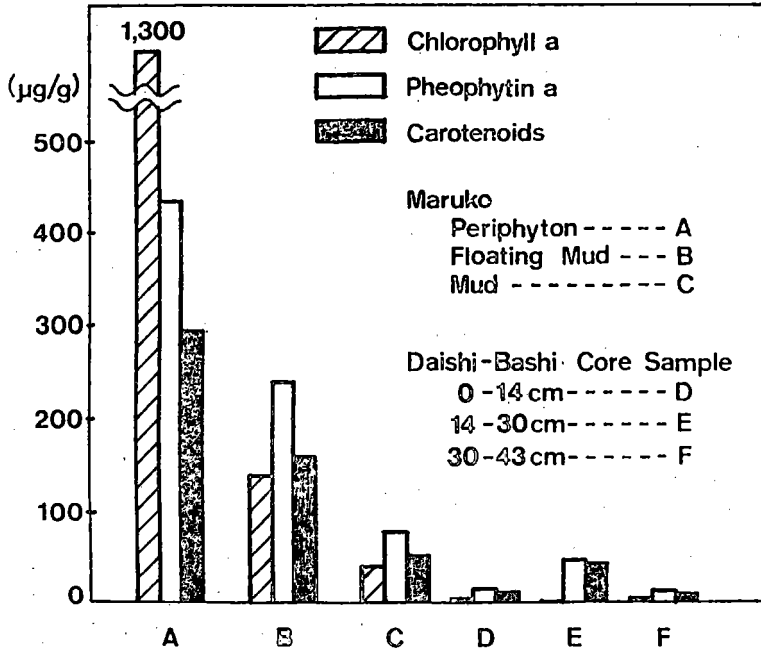


Table 1 底泥試料中の炭素、窒素およびクロロホルム可溶物炭素(%, 乾燥重量あたり)

SAMPLE	MARUKO PERIPHYTON	MARUKO FLOATING MUD	MARUKO MUD	DAISHI-BASHI CORE SAMPLE		
				0-14cm	14-30cm	30-43cm
DATE	'77, 7, 21	'77, 7, 21	'77, 12, 2	'77, 12, 2	'77, 12, 2	'77, 12, 2
T C(%)	6.41	3.31	3.54	1.86	2.70	2.52
T N(%)	1.02	0.43	0.45	0.25	0.33	0.28
C/N	6.0	7.8	7.8	7.6	8.3	9.0
EOC(mg-C/g)	8.0		3.0	1.2	1.1	1.2

Fig 1 底泥採集地点

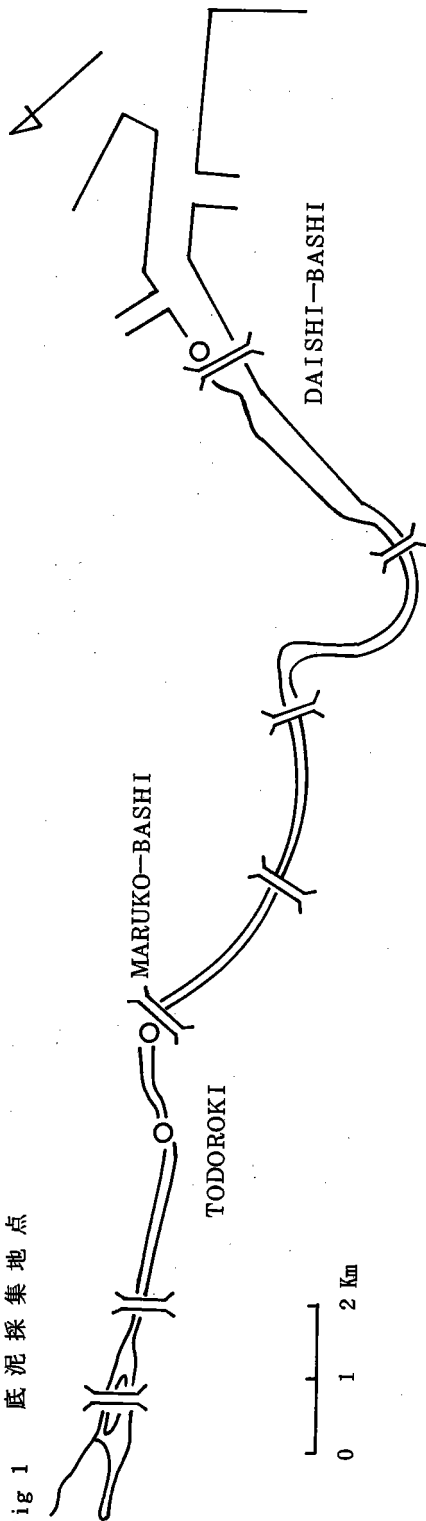


Table 2

Fraction (MW)	>2,000	2,000-600	600-300	300<
Chlorophyll a ($\mu\text{g-C/g}$) (%)	n. d.	206 74	66 24	6.7 2
Pheophytin a ($\mu\text{g-C/g}$) (%)	n. d.	194 71	67 24	13 5
Carotenoids ($\mu\text{g-C/g}$) (%)	2.8 5	10 17	45 75	1.8 3

Table 3 クロロホルム可溶物質中の色素含有量(炭素量に換算)

SAMPLE	MARUKO PERIPHYTON	MARUKO MUD	DAISHI-BASHI CORE SAMPLE		
			0-14cm	14-30cm	30-43cm
<u>Chlo. +Pheo. +Caro. C</u> EOC	19%	46%	2.4%	7.1%	1.7%
<u>Carotenoid</u> C, MW.600 - 150	262/800 33%	50/574 8.7%	13/446 2.9%	40/599 6.7%	10/502 2.0%
<u>Chlorophyll a</u> C, MW.2000 - 600	959/840 114%	30/293 10%	33/180 18%	7/158 4%	25/211 12%
<u>Pheophytin a</u> C, MW.2000 - 600	330/840 39%	57/293 19%	12/180 7%	37/158 23%	9/211 4%

第5章 底泥中のコプロスタノール

小 椋 和 子

コプロスタノールは、哺乳動物の糞中にのみ存在するステロールの1成分である。都市汚染や家畜の汚染の指標として多くの天然水域について検討されてきた。〔小椋(1970)(1973)その他多数〕現在米国では公定の汚染指標の分析項目として制定されようとしている。

コプロスタノールは人間1人につき1日約1g排泄されるが、ほとんどは(90%以上)下水処理場、し尿処理場で除去され、河川に放出されるのはわずかであるが、ガスクロマトグラフィーの発達によってその存在は現世の堆積物および水中で特に人間の影響がある所では検出することができる。

従ってコプロスタノールの存在から底泥の下水起源の有機物の寄与と水中の生物による有機物の寄与の割合を明らかにすることができる。

※ 小椋(1970)：し尿による都市河川の汚染—多摩川、鶴見川上流部について—、用水と廃水、

12 1132~1136

小椋(1973)：Isolation and identification of sterols from an urban

river. 陸水学雑誌 34 129-135

分析方法の概略

湿泥(約10g)を25mlクロロホルム：メタノール(1/1)で3回ないし5回抽出した。溶媒を減圧下で蒸発させ、残留分を同じ容器のまま7.5%水酸化カリウム—エチルアルコール(80%)中で加水分解を65°C、5時間おこなった。冷却後、純水を20ml加え、20ml、ヘキサンで3回抽出して不ケン化物をとり出し、濃縮する。この試料中には、他の中性脂質成分、とくにカロチノイドを多く含むために、更に薄層クロマトグラフィーによるステロール部分の分離をおこなった。その詳細は、前記の論文(小椋, 1973)に記してある。

分離したステロールをGC-MSのフラグメントグラフィーにより定量分析した。GC-MSは、島津-LKB900によっておこなった。

GC-MSの条件等は省略する。

結果および考察

分析結果を表1に示す。参考として多摩川本流に排水が流入している下水処理場およびし尿処理場の活性汚泥中の分析値を併記した。表1のn.d.とあるのは、他のステロールの濃度との関係上、検出限界以下のもので、今回の場合は0.5 μg/g以下である。表1でわかるように、し尿汚染の指標であるコプロスタノールは青梅藻泥では検出限界以下であった。このことは青梅にはコプロスタノールが全く存在しないということだけでなく、その時生成していた藻泥には吸着量が低かったと考えた方がよい。このことは、丸子藻泥とすぐ下流の丸子底泥中のコプロスタノールの量を比較してみると明らかであるが、藻泥には底泥の

$\frac{1}{3}$ 以下しか存在していない。ステロールのように吸着し易い物質が少いことの意味は不明である。

柱状試料では、上層が最も低い値を示し、ついで下層、中層の順に増加している。このことは、単位面積あたりに換算しても同じである。すなわち、平均1cmの厚さで1cm²あたり上層1.84μg、中層2.79μg、下層1.88μgである。中層で最も高い値は全炭素でも得られており、現在より高濃度の汚染があったことを示す。

全ステロールでのコプロスタノールの割合をみると(表2)、最も高い値を示すのが、丸子底泥である。この値は下水処理場の活性汚泥の相対比に匹敵する。

全ステロールのうち、コレステロールは、人間の排泄物からも供給されるが、家庭の雑糞水および河床の付着動物相、まわりの土壌からも若干供給される。ブラカステロールは、主として藻類の起源によるものである。但し、簡単にひとまとめとしてブラシカステロールにしているが、藻類を除いた試料はブラシカステロールと異なる下水起源物質を含み、ガスクロマトグラム上でも若干保持時間が異なる。

カンベステロール、βシトステロールは植物ステロールで、陸上及び水中の植物から寄与される。

一方これらステロールによる炭素の全炭素に対する比率は非常に小さい。コプロスタノールを例にとると、丸子藻泥では 0.14×10^{-3} 、丸子底泥では 1.09×10^{-3} 、ガス橋底泥では 1.01×10^{-3} 、柱状試料の上層部では 0.10×10^{-3} 、中層部では 0.15×10^{-3} 、下層部では 0.11×10^{-3} である。一方、活性汚泥では、下水処理場では 2.86×10^{-3} 、し尿処理場で 2.60×10^{-3} であった。このことからみると、柱状試料中及び藻泥では、他の有機物の寄与が高く、相対的にし尿汚染が小さかったと考えられる。特に柱状試料にはβシトステロールが相対的に高いことから、木材による寄与があるのではないかと考えられる。

全炭素に対するコプロスタノールの割合を河川水の場合と比較してみると、今回の場合には水の分析を行っていないので、過去のデータで比較してみると次のようになった。1973年5月の採取した調布取水所の河川水では 1.2×10^{-3} 、1973年11月に同地点で採取した河川水では 0.67×10^{-3} である。これらはケンダク態と溶存態の合計であるので、これを溶存態だけでみるとそれぞれ 0.65×10^{-3} および 0.3×10^{-3} である。またケンダク態でみるとそれぞれ 2.1×10^{-3} および 1.4×10^{-3} である。同一地点の底泥での比は 1.01×10^{-3} であるので、水中における全体での割合にほぼ匹敵するが、全有機物に対するコプロスタノールの分解率がやゝ早いことから注目すると、底泥へ移行したコプロスタノールは水中のケンダク態の部分ではないかと推察される。

ケンダク物の一種である粘土鉱物と水中に溶解させたコレステロールとを混合させ、粘土鉱物によりとりこまれた量を室内実験でこゝろみたところ、河川水に存在する濃度10μg/l付近では、約40%のとりこみが観察された。塩分濃度の増加はとりこみを急激に促進させることが一連の実験で明らかにされているので、今後は、感潮領域、特に塩分濃度が数プロミル付近での現場での観察を重視して行くことが、他の汚染物質についても必要ではないかと考えられる。

今回の感潮領域での調査は、系統的に行われていないので、柱状試料を採取できた大師橋のみであるが、より上流では高濃度の有機物質の濃縮があるのではないかと考えられる。

但し、今回の柱状試料中の濃度も面積に換算すると非常に高いことがわかる。しかしながら、先にのべ

たように、コプロスタノールのみについていえば、他の有機物汚染が大きいため（これは下流で投棄された石炭等が混入していた）相対的にし尿汚染が低くなったにすぎない。

以上の結果から、今回の試料で最もし尿汚染が高く検出されたのは丸子の底泥であることがわかった。

表1 堆積物ならびに活性汚泥中のステロールの濃度

Location	A	B	C	D	E	F	Total
	μg in dry weight sediment g						
青 梅 藻 泥	n. d.	35.1	77.8	47.0	n. d.	23.2	183.1
丸 子 藻 泥	13.5	121.3	38.5	47.8	n. d.	29.7	250.8
丸 子 底 泥	46.0	45.6	16.1	15.5	7.6	28.4	159.2
ガ ス 橋 底 泥	24.2	49.5	8.4	10.8	6.3	28.4	127.6
大師橋コア0～14cm	2.3	4.9	1.9	18	2.2	3.7	16.8
大師橋コア14～30cm	4.9	8.1	3.6	4.4	2.2	11.0	34.2
大師橋コア30～43cm	3.3	5.7	2.7	3.0	3.3	11.2	29.2
参 考	mg in dry weight sludge g						
S下水処理場活性汚泥	0.88	1.24	0.29	0.20	0.11	0.50	3.22
Fし尿処理場活性汚泥	1.22	0.53	0.44	0.13	0.07	0.43	2.82

A: Coprostanol, B: Cholesterol, C: Brassicasterol, D: Campesterol,
E: Stigmasterol, F: β-sitosterol

表2 全ステロールに対する各ステロールの割合

Location	A	B	C	D	E	F	Total
青梅薬泥	0	19.2	42.5	25.7	0	12.7	100
丸子薬泥	5.4	48.4	15.4	19.1	0	11.8	100
丸子底泥	28.9	28.6	10.1	9.7	4.8	17.8	100
ガス橋底泥	19.0	38.8	6.6	8.5	4.9	22.3	100
大師橋コ70~14cm	13.7	29.2	11.3	10.7	13.1	22.0	100
大師橋コ714~30cm	14.3	23.7	10.5	12.9	6.4	32.2	100
大師橋コ730~43cm	11.3	19.5	9.2	10.3	11.3	38.4	100
参考							
S下水処理場活性汚泥	27.3	38.5	9.2	6.2	3.4	15.5	100
F尿処理場活性汚泥	43.3	18.8	15.6	4.6	2.5	15.2	100

A : Coprostanol, B : Cholesterol, C : Brassicasterol, D : Campesterol, E : Stigmasterol, F : β - sitosterol

第6章 底泥中の腐植物質の化学的特徴の解析

石 渡 良 志 山 本 修 一 福 島 和 夫

多摩川底泥中の有機物質は、上流より運ばれた粘土物質や土壌に含まれる有機物質に加えて河川周辺、支流および各種排水により供給された有機物質およびそれらの変化生成物質を含んでいるものと考えられる。また水中の有機物質は質、量ともに刻々変化するのに比較して、底泥中の有機物質の質および量はある程度長い期間の水中の有機物質の質、量を反映しているものと考えられるので、多摩川流域のある地点の底泥中の有機物質の化学組成を調べればその地点における平均的な有機汚染の状態を把握することが可能であろう。

このような考え方から、われわれは多摩川底泥中の有機物、その中でも特に不溶性（有機溶媒不溶性）有機物質——フミン酸およびケロゲン——の化学的特徴を解析した。

試料、測定方法および解析結果

試料として丸子橋上流の玉川浄水場取水口および六郷橋付近において表面泥を Ekman-Berge 採泥器にて採取した泥をもちいた。試料泥を凍結乾燥後、脂質成分をメタノール・ベンゼン混液にてソックスレー抽出して除去し風乾した。風乾後の泥を HCl/HF 溶液をもちいて処理し泥中の無機成分をできるだけ溶解除去し、水洗後、水酸化ナトリウム（0.5～1N）溶液をもちいてフミン酸（およびフルボ酸）を抽出した。抽出後の残査はかなりの量（54～61%）の無機物を含んでいたが、この有機物をケロゲンAと名づける。ケロゲンAをさらに6N HClで処理すると大部分の無機物を除去することができ（3～4%）このようにして得られたケロゲンをケロゲンBと呼ぶ。一方水酸化ナトリウム抽出後にHCl溶液を加えpH1付近にしてフミン酸を沈殿させた。このようにして得られた各成分の含有量を表1に示す。

2つの試料ともケロゲンA量は高い値を示し、このことは底泥への有機物の供給が多いことを意味する。ケロゲンA量がT-2の方がT-1より高いのは下流の方が汚染が高いと考えられるので予想通りである。一方ケロゲンBについてみると、T-1、T-2とも大差ない。ケロゲンA→ケロゲンBの処理においては加水分解が起っているものと考えられるので、上記の事実は、T-2の試料の方がT-1に比べて加水分解される有機物質が多いことを示している。

フミン酸含有量は2つの試料とも非常に小さかった。同じ処理法で得られた湖底泥（群馬県榛名湖）のケロゲンA/フミン酸の量比は約7であったのに対し、多摩川試料の場合は400～600である。この違いの理由は今のところ不明である。

ケロゲンの特徴： 分離されたケロゲン（ケロゲンB）を特徴づけるために、元素分析および熱分解ガスクロマトグラフィーを行なった。熱分解装置は島津製作所PYR-2A型（加熱分解法）をもちい、600°Cで熱分解した。元素組成の結果を表2に、熱分解の結果を図1に示す。

ケロゲンBの炭素含有量は湖（榛名湖）のそれ（約60%）に比べて若干低く、特に試料T-1では小さい。このことはケロゲンの原料物質が炭水化物のような炭素含有量の小さな有機物質であることを示唆している。多摩川泥のケロゲンの特徴は図1に示すパイログラムからも明らかである。湖底泥からのケロ

ゲンでは一連の炭化水素が比較的多量発生するのに対し、多摩川からのケロゲンではいずれも相対的に少ない。これは、湖底泥ケロゲン中には植物プランクトン起源の脂質が何らかの形で結合しているのに対し、多摩川のケロゲンではそのような脂質の関与がほとんどないか少ないことを示唆している。

多摩川からのケロゲンの窒素含有量は1.2~2.7%で湖底泥ケロゲンのそれと大差ない。特にT-2の窒素含有量はT-1の2倍高いのは興味深い。窒素を含む有機物としてアミノ酸あるいは類似の化合物が考えられる。事実湖底アミノ酸の加水分解産物中には多量のアミノ酸が検出されている(Ishiwatari, 1970)。

以上の元素組成およびパイログラムの特徴から、多摩川底泥中のケロゲンは、炭水化物とアミノ結合を含む有機物との重合生成物、いわゆるメラノイジーンタイプの有機物質である可能性が非常に高いと推定される。ケロゲンの原料物質が汚染起源であるか否かについての確証は今のところないが、多摩川底泥中のケロゲン含有量が榛名湖底泥のそれに匹敵することから判断して、汚染起源である可能性が十分ある。

今後さらに、熱分解生成物のガスクロマトグラフ・質量分析計による解析を通じて、ケロゲン部分の起源の解析をする予定である。

Ishiwatari, R (1970): Structural characteristics of recent lake sediments. "Advances in Organic Geochemistry 1966". (G.D.Hobson and G.C.Speers, Eds.), 285~311

表1 多摩川底泥中のケロゲンおよびフミン酸含有量

試料番号	採取地点	風乾泥100g中の含有量(%)		
		ケロゲンA	ケロゲンB	フミン酸
T-1	丸子橋	6.39	2.72	0.01
T-2	六郷橋	7.96	2.62	0.02

表2 多摩川底泥中のケロゲンBおよびフミン酸の元素組成

試料番号	灰分%	元素組成, %			O※※	H/C	N/C
		C	H	N			
T-1	3.12	52.01	4.35	1.24	42.40	1.00	0.02
T-2	4.37	56.78	5.21	2.73	35.28	1.10	0.04

※ 灰分をのぞいた割合 ※※ 差より求めた

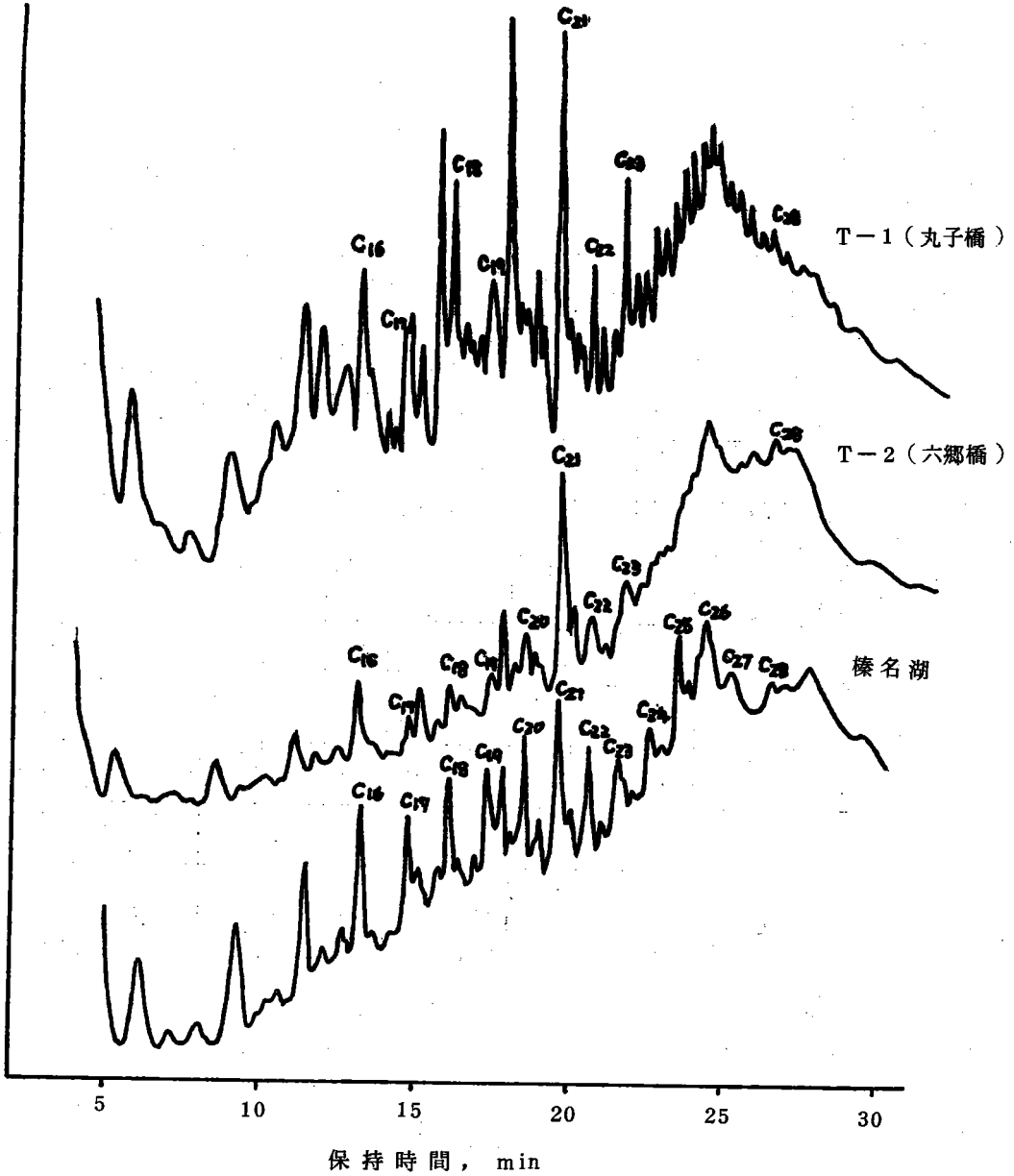


図1. 多摩川底泥および榛名湖底泥より分離したケロゲンのパイログラム
 条件: 熱分解温度: 600℃ ; GCカラム: OV-17 1%
 2m×3mmφ ; カラム温度: 100℃ にて5分間定温後280℃
 まで10℃/min昇温。

第7章 底泥より分離した腐植物質へのABC (アルキルベンゼンスルホン酸)の移行過程

石 渡 良 志 山 本 修 一

昨年における研究から多摩川底泥に存在する有機物の主成分はいわゆる腐植物質であって、風乾泥100グラム当り6~8gの不溶性物質として分離されることがわかった。さらに筆者らはこれら腐植物質の元素分析と熱分解ガスクロマトグラフィーを行なって、これらが炭水化物とアミノ結合を含む有機物との重合生物、いわゆるメラノイジンタイプの有機物を主体とするものであろうと推定した。しかし昨年からはこれら腐植物質の性格が多摩川における人間活動による汚染をどのように反映しているかは明らかにされなかった。

これらの腐植物質が河川水中の有機物質の質および量を反映するためには、水中有機物質の腐植物質への移行のメカニズムが働いていなければならない。筆者らは本年度の研究において、このようなメカニズムが存在するかどうか、またこのようなメカニズムはどのような因子の支配を受けるかを明らかにするための実験を行なった。

試料および実験方法

試料としては多摩川における丸子橋および六郷橋の地点において底泥より分離したケロゲンBをもちいた。ケロゲンの分離方法は昨年報告に示した。表1にもちいたケロゲンBの元素分析の結果を示す。

表1 実験にもちいたケロゲンBの元素組成

試料番号	採取地点	灰 分 %	元 素 組 成 (灰分をのぞく) %			
			C	H	N	O (差)
T-1	丸 子 橋	3.12	52.01	4.35	1.24	42.40
T-2	六 郷 橋	4.37	56.78	5.21	2.73	35.28

ケロゲンと反応させる水中有機物としては多摩川汚染有機物として代表的なABSを選んだ。ABSとして本実験ではドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム(DBS)およびn-ドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム(n-DBS)(いずれも和光純薬製99%以上)をもちいた。

実験方法を以下に記す。ケロゲン粉末を20mgをはかり取り、これを10mlのガラスアンプルに入れ、さらに一定濃度のABS水溶液5mlを加えアンプルの口を閉じた。これを一定温度(20°Cと60°C)で時間を変えて振とうした後10~20分間静置し whatman GF/Fで濾別した。その後液中に残存するABS量はメチレンブルーによる比色分析法によって定量した。上記ABS水溶液の濾別のさいのABSの損出は本実験の濃度では無視しうることを確認した。

実験の大部分は水溶液のpHを調整せずに行なったが、pHの影響をみる実験ではpH 8.1 ($\frac{1}{30}$ M

$\text{KH}_2\text{PO}_4 : \frac{1}{30} \text{MNa}_2\text{HPO}_4 = 1 : 16$), pH 10.0 (0.2 M ほう酸 : 0.1 N NaOH = 6 : 4) 緩衝液を使用した。

結果および考察

(1) ABSのケロゲンへの移行量の時間変化とその解析

ABSのケロゲンへの移行の様式を知るために、ケロゲン 20 mg ABSとしてDBS〔総量 1.0 mg/5 mg〕とを温度 60 °Cにて反応させDBS移行量の時間変化を測定した。このさい溶液のpHは特に調整しなかった。結果の一部を表2に示す。表2からわかるように、DBSのケロゲンへの移行は非常に速く、

表2 DBSのケロゲンへの移行量(μg/mg)の時間変化

試料	反応時間 (day)			溶液中のDBSがすべてケロゲンに移行した時の量
	1	5	7	
T-1 (MARUKO)	22	28	25	52
T-2 (ROKUGO)	27	36	34	52

また5日目と7日目の測定値に大きな開きがなくこの間に平衡値に達していると考えられる。同様の傾向はケロゲン 20 mgに対しDBS量 0.1 mgおよび 5.0 mgを加え反応させ場合にも認められた。

以上の実験結果は下記に示すLangmuirの吸着式によく一致することが明らかになった。

Langmuirの吸着式

$$\frac{1}{v} = k \frac{1}{c} + \frac{1}{b}$$

ここで v : 吸着量 (μg/mg)

c : 平衡濃度 (mg/ml)

k : 定数

b : 飽和吸着量 (μg/mg)

この式よりDBSのケロゲンへの飽和吸着量を計算するとT-1 (MARUKO)では 140 μg/mg (20 °C), 170 (60 °C); T-2 (ROKUGO)では 160 (20 °C), 210 (60 °C)となり、ケロゲンの14~20%の重量のDBSが移行しうる計算になる。

20 °Cと60 °CでのABS移行量の違いはあまりないことも考え合せ、ABSのケロゲンへの移行は物理吸着によるものと考えられる。

(2) 溶液のpHによるABS移行量の変動溶液のpHがABSのケロゲンへの移行にどのような影響を与えるかを調べるために、DBS量 1.0 mg/5 ml、ケロゲン量 20 mg、60 °C 7日間の移行実験を行なった。結果を図1に示す。図示したpHは実験終了時における溶液のpHである。pH緩衝液を使用しない場合は最終的に溶液のpHは3.4~3.5を示す。図1から明らかなようにアルカリ性~中性におけるDBSの移行量は酸性の場合のそれよりも1.5~2倍多い。

(3) DBSとn-DBSのケロゲンへの移行量の比較

DBSとn-DBSの移行量に違いがあるかどうかを調べるために、ケロゲン量20mg、DBS(またはn-DBS)量1.0mg、20°Cおよび60°Cにて移行実験を行なった。その結果T-1(MARUKO)およびT-2(ROKUGO)の試料とも同じ実験条件ではn-DBSの方がDBSよりも移行量が大き

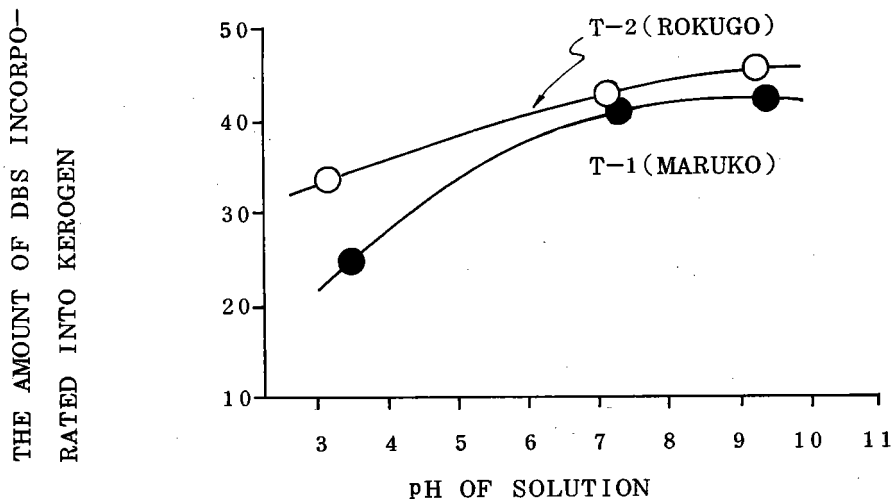


図1 ケロゲンへのDBS移行量のpH依存性
(ケロゲン20mg、DBS1.0mg、液量5ml、60°C7日間)

いことがわかった。例としてT-2(ROKUGO)の結果を示すと：20°C、7日間ではDBS 37μg/mgに対しn-DBS 46μg/mg、60°C7日間ではDBS 34μg/mgに対しn-DBS 44μg/mgであった。

結 論

本研究では水中有機物の底泥腐植物質への移行過程を明らかにするためにABSの例について実験を行なった結果つぎの諸点が明らかとなった。

- (1) ABSのケロゲンへの移行はすみやかに起り平衡値に達する、また、その移行様式は物理吸着と考えられる。ABSのケロゲンの移行はLangmuirの吸着式にしたがう。このことは溶液中のABS濃度が増してもケロゲンへの移行量はある限界値に近づくことを意味する。
- (2) Langmuir式から求めたABSの飽和吸着量はケロゲンの14~20%に相当し、このことはケロゲンがABSのとりこみに対し非常に大きなCapacityを持つことを意味している。
- (3) ABSのケロゲンへの移行にさいして水中のABS濃度とケロゲンへの移行量との間には平衡が存在し、平衡値は中性~アルカリ性にくらべて酸性においては小さい。
- (4) 同じ実験条件下ではn-DBSのケロゲンへの移行量はDBSより大きい。このことは、移行には異性体の効果が現われることを意味する。

以上の事実から、底泥腐植物質が水中の有機物質の質および量を十分反映しうることが示されたが、

なおつぎの諸点を明らかにする必要がある。

- (1) ABS以外の種々の有機物のケロゲンに対する挙動、
- (2) 水中有機物質が混在する場合のケロゲンに対する挙動、
- (3) ある有機物質をいったんとりこんだケロゲンは他の水中有機物質に対してどのように挙動するか、
- (4) In situ ケロゲンの水中有機物に対する挙動、
- (5) ケロゲンに移行した有機物質は水のPH、塩分濃度等環境の変化にさいしてどのように挙動するか(脱離条件)

第8章 堆積物(底泥)の河川自浄作用に果たす役割

小 椋 和 子

従来いわれているような自浄作用としての沈降(堆積)が日本の急峻な地形を通過する河川でどの程度評価されるであろうか。都市廃棄物が多く流入する多摩川を例にとって考えると、栄養塩も多く流入する為に、水圏での一次生産があり、有機物の収支を直接観測することは困難である。河川内の有機物のうごきを時間的、場所的に平均化すると図1に示すような経路が考えられる。

水中において活発に行なわれている分解は主として水中の一次生産物に向けられていると考えられる。それは、処理された排水中に存在する有機物は難分解性のものであると推定されるからである。(小椋他1976)

一方、流入した汚染性の有機物のうち、河川へ沈降する部分はステロールから換算すると、60%にも

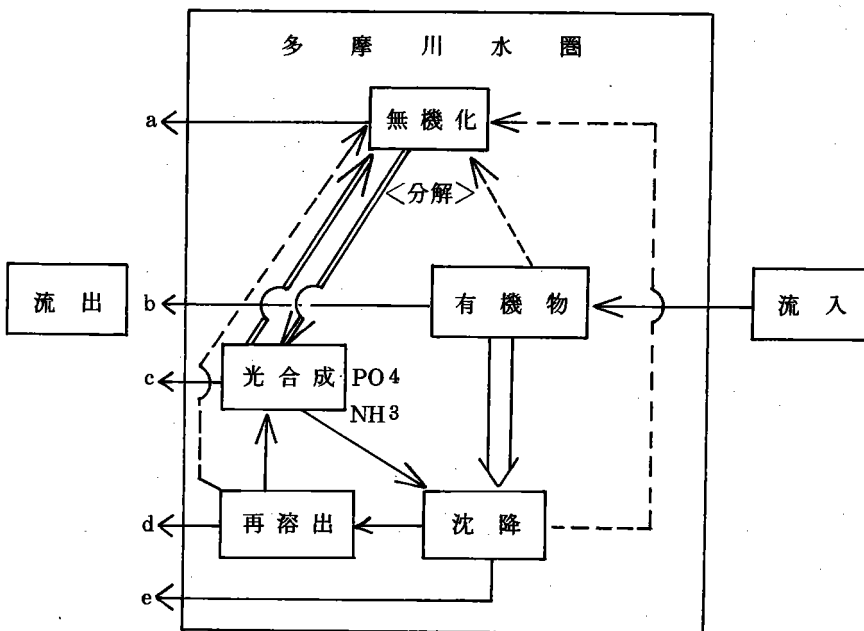


図1 多摩川に流入した有機物および光合成生産物の動向

- a : 主として光合成生産物の分解によって出来たもの。(P・Nを含む)
- b : 分解、沈降を免がれた排水起源の有機物
- c : 光合成生産物および、無機化していない分解物
- d : 底泥より再溶出した一部分解した有機物
- e : 雨により流出する沈降物質

達すると推定された(未発表)。又堆積した有機炭素のうち、一次生産に起因する物質が占める割合は丸子底泥で約20%である(前出、3章)。この値は、ステロールについて検討した結果からも得られた(未発表)。即ち、一次生産力を推定すると、水中に存在する有機炭素の34%(最低値)を占めることが溶存酸素の変化から推定されるので(小椋 1976)、おそらく、はるかに高い生産力を持つと推定される。河床ならびに水中で生成した一次生産物は急速に分解し、その結果放出されたリンおよび窒素は次の生産にすみやかに利用されることは明らかである。即ち、多摩川においては流入した有機物というよりもむしろ栄養塩である窒素、リンの早い回転によって富栄養化を促進していると考えてよい。これは多摩川にとどまらず流入する東京湾の富栄養化現象に大きな寄与をしているのである。

一方、堆積物から水への回帰(溶出)はどの程度であろうか。

本研究ではクロロホルムによって溶出されるいわゆる脂質成分についてとくに検討を行ったのであるが(前出、4章)、河床付着藻類の脂質成分は急速に分解して小さい分子量の有機物に変化することが認められた。即ち、実際に生成された藻類の脂質成分(一般には炭化水素やプロテインにくらべて分解が遅いとされている)はすみやかに分解し、分子量分画後に定量された炭素量は元の量の $\frac{1}{2}$ に減少していた。これは分子量が低く、容易に揮発しやすい低級脂肪酸で構成されていたと推定される。この現象は丸子の底泥においても認められた。一方古い堆積物である大師の柱状堆積物では、同じ操作をしてもこのような現象がみられなかったことから、柱状堆積物では、分解溶出し易い物質は、すでに存在していないと考えられた。

更に分子量分画して溶出した有機物の中にはみかけ上異常に小さい分子量の有機物が存在した。とくに多摩川の藻泥では全溶出物の60%をしめており、これらが次に分解し、堆積物から消失して行く部分である。以上のように堆積物の脂質の部分を光合成起源に求めて検討した結果、藻泥から約 $\frac{1}{2}$ の脂質成分が容易に溶出し、更に残りの60%も溶出予備軍として存在することがわかった。3章で述べたように、炭素量とリンから推定した一次生産物の分解量が最大で90%であったことと、今回の脂質成分の分解、溶出が80%である可能性と成分が異なりながらもよく一致していることが注目される。(但し一次生産物の脂質の主要成分はクロロフィルとカロチノイドであり、全生産物の有機物は炭水化物とプロテインが主な成分である)。以上のべたように丸子の底泥のように一度堆積してもかなりすみやかに水中に溶出する有機物があり、それらは主として一次生産に起因する物質と考えられる。

多摩川に流入する廃棄物起源の有機物のすべてが処理されているとは限らず、未処理の有機物は、分解速度は異なるが、藻類起源の有機物と同じプロセスで支川または本川で分解を受けるであろう。

一方、河川に堆積した有機物は雨量が増加した時に沈降部分から舞い上り、東京湾へ流入し去ることが明白である。このことは、通常、人間の手で削り落すのがかなり困難である際上の藻類が大雨の後では消失し去るという事実(相崎1974)からも容易に推定できる。今年度、丸子せきより下流で採取した柱状堆積物は、そのほとんどが砂質であり、細粒は上層1cm以内にとどまった。このことは大雨で流出した細粒部分の有機物は、大師橋よりさらに海側へ一度にはこぼれてしまったと推定される。

多摩川においては、手塚(1975)が指摘しているように、排水起源の難分解性の有機物は分解が遅く、微生物の自浄作用は自生性の藻類にのみはたらいっているとみなされる。他方、難分解性の有機物のうち60%程は、沈降し、水中から除去されたと考えられた。沈降も自浄作用の一種であるとする、少く

多摩川においては、排水起源の有機物に対する自浄作用は微生物によるよりも、沈降作用によるものが多いと考えられる。これらの沈降量に関する測定は、雨量のない夏期に行った。従って年間を通じては、沈降と沈殿物の流出が数回のサイクルで行われ、最終的にはせきの上に沈殿したり、雨量がとくに多い時には東京湾まで到達したりしているのであろう。

以上に述べたように河川における有機物の除去機構として「沈降」がかなり大きな役割を果たしていることをごく総花的に述べてきた。次にこれらの有機物が沈降する機構について若干ふれたい。

水圏での有機物の沈降をうながす作用を分類してみると次の4点が挙げられる。第1に有機物同志の凝集によってみかけ上高分子化し沈降する。第2に粘土鉱物、その他の固型物にとりこまれて沈降する。第3に水中に存在する高分子有機物にとりこまれて堆積物に付着する。第4に堆積物中の高分子有機物や鉱物が水中の有機物をとりにこむ。

実際の現場ではこれらの作用が別々にはたらくとは考えにくい、これらの作用を実験的に確かめる為には分類しておく必要がある。当研究室では、これらの機構について、多摩川の河川水を用い、種々の検討を行ってきた。それぞれ別の種類の有機物を使って実験してきたが、それぞれの水への溶解度、高分子化の難易度、分解の難易度などによっても堆積物へのとりこみ方は異なってくる。

本年度の報告の中には堆積物中の有機物(ケロゲン)へのABSのとりこみが報告されているが、ABSのように水溶性の物質も堆積物へ容易にとりこまれることが実験的に確かめられた。

粘土鉱物によるステロールのとりこみを、多摩川水と海水との混合で行った実験では、感潮領域でのとりこみおよび沈降速度が大きいことが認められた。今年度採取した柱状試料(感潮域)についてはほとんどが砂質であったため、現場試料での実証はまだ行われていない。

二年にわたる多摩川底泥についての研究はまだ完成したとはいえない。今後、丸子せきでの取水が開始され、多摩川がどのように変化して行くか今後も検討をつづける必要がある。

文 献

相崎守弘(1978):多摩川における付着性微生物群集の現存量と生産量の季節変化
日生態会誌 28 123-134

手塚泰彦(1975):水界の有機汚染と微生物—河川における自浄作用を中心に—
文部省科学研究費による特定研究
人間の生存にかかわる自然環境に関する基礎的研究 昭和49年度 150~157

小椋和子他(1976):夏期多摩川における水質の時間変動ならびにそれによって推定された
光合成量ならびに分解量について 用水と廃水 18 445~454

第9章 河川水中・河川底泥中の有機物の抽出、 分離および生物試験

宮内 慎太郎・遠藤 立一

佐々木 裕子・長尾 孝一

松崎 理・半谷 高久

<1> はじめに

昭和49年度・50年度に行なってきた文部省特定研究1) 2)において、多摩川河川水を抽出・分離し、ラットを用いた生物試験を試みた。今回の報告書はこれまでの研究の経過を始めに紹介し、研究の内容については前報と一部重複しながらそれ以降のものに重点をおいた。

本研究にあたっては、次のような実験の分担をおこなった。

河川・底泥中の有機物の抽出・分離、および生物試験試料の調製を都立大理学部で、微生物を用いた環境変異原性検出を都公害研究所保健部で、ラットを用いた生物試験を千葉大学医学部で行なった。

<2> 現在までの研究の経過について

カシンベック病に関する研究を長年続けてきた滝沢延次郎はその著書「日本におけるカシンベック病の研究」(1970 緒方書店)の中で、その原因物質が多摩川河川水中に存在すると報告している。しかし、その後の研究により、なお不明点、疑問的が多く残されていることが解り、昭和49年度より、今回の研究班で研究を開始した。

一方、都市型の汚染の一例として、多摩川を考えると、カシンベック病との関連としてでなく、新たな関心もたれる。ここでは、河川に流入し、堆積し、いずれは、再び河川中に溶出していく種々の物質群、および、下水処理、尿尿処理の段階で、処理汚泥中に蓄積される物質群に注目し、これらの有機溶媒あるいは水による抽出物等を用いて生物試験を行ってきた。

<第一章> ラットを用いた生物試験

1 水中からの有機溶媒抽出物について、

第一段階として、抽出溶媒の選定を行なった。試料として、多摩川河川水(調布取水場付近・丸子)を採取し、ガラス製試薬ビンに入れ、運搬・保管し、塩酸酸性で抽出した。n-ヘキサン・ジエチルエーテル、酢酸エチルの3種の溶媒を比較検討し、表1の1群のような結果となり、ラットの耳下腺・脛

骨に変化のあらわれる割合の一番大きな酢酸エチルを抽出溶媒として選定した。また、抽出する水の量の多少による比較を第二段階として行ない、表1の2群の結果を得、量が多い方が変化の割合の大きい事が判った。以上の実験法の詳細は文部省特定研究「人間生存」の報告書¹⁾に記した。

多摩川の調布取水場付近の水中に、ラットの耳下腺・脛骨に変化を起こす物質群が存在することが判ったので、これより上流で、多摩川に流入する水の内、これらの物質群の起源になり得るものを推定し、その中から、2種を選んだ。一方は家庭雑排水と考え、野川(多摩川に流入する前の地点・二子)を選定し、もう一方を尿尿起源のものと考え、F尿尿処理場排水(排水口付近)を選定した。両者の水中に存在する物質群の質を比較するため、抽出物中の有機炭素量を同一にして生物試験試料とする方法をとった。結果は表1の3群のようになり、F尿尿処理場排水の方が野川に比べ、変化をおこすラットの割合が大きかった。

次に、F尿尿処理場排水の抽出物について更に知見を得るため、2種の分画方法を試みた。一方は分子量による分画法で、ダイアフロー膜を用い、もう一方は性状による分画法で、シリカゲルカラムを用いた。この2種の方法はいずれも、抽出物をまず二等分し、その一方は分画しないまま生物試験に供し、もう一方を分画し、それぞれの分画物を別々に生物試験に供した。また、ブランク試験には排水試料と同量の蒸留水から同様の方法で抽出し、分画の全操作過程をほどこし、それを混合したものを用いた。

分子量により分画する方法は、ダイアフロー膜により分子量500を境とした。結果は表1の4群に記されているように、分子量が500以下の分画物でラットの変化の割合が大きかったが、ブランク試験の結果を含め、全ての分画物でラットに何らかの変化があらわれており、その判定は困難であった。以上の実験法の詳細は文部省特定研究「人間生存」の報告書²⁾および「多摩川水域における有機物の存在形態とその起源に関する研究」³⁾(1977年)の報告書に記した。また、この実験のブランク試験の部分を追試した結果表1の6群のように、生物試験の結果は全てマイナスであった。⁴⁾

分画法のもう一方の性状による方法はシリカゲルカラムを用いた方法で、現在まで未報告であるので、その方法等を次に詳しく記す。

シリカゲルを用いた分画法

1 シリカゲルカラムによる分離状態の検討

6種の標準試薬を表2のように選び、その混合物をそのまま、あるいは底泥抽出物に添加し、それをシリカゲルカラムにより分離した。同一のカラムを2本ずつ、合計4本用いた。表2の結果にはこの4種の平均値を記入した。

- o カラム：内径1cmのガラスカラム
- o 充填剤：シリカゲル(100メッシュ)を450°Cで2時間加熱し、不純物を除去の後135°Cで2時間加熱し、デシケーター中で放冷の後、重量で5%の水を添加し、充分振とうした後、n-ヘキサン中に懸濁させたもの。約20cmまでカラム中に充填し、加圧の際、2~3cm圧縮される。
- o 検出法：ガスクロマトグラフィーを用いた。機種は島津4BM-PPFで、FID使用。カラムはOVI。

2 F 尿尿処理場排水の抽出物の分離

試水 10ℓ に対し、塩酸 15ml を加え酸性にした後、酢酸エチル 2ℓ で抽出した。これを 10 回くり返し、100ℓ 分の抽出物を減圧濃縮し、一定量とした後、2 等分した。一方は濃縮し、「2」で検討した条件のカラムへ添加し、3 種の溶媒を用いて分離した。

3 ブランク試験

蒸留水 50ℓ を上と同様に抽出し、同一の方法で分離過程を経たものを全て混合し、操作過程に混入する物質を最大限にみた。

4 結果および考察

結果の数値は表 1 にまとめた。未分離の試料より、第 1 フラクション、第 2 フラクションでラット臓器の変化の割合が高い。また、第 3 フラクションでは変化の割合が低い。表 2 のカラムの条件の検討結果から、第 1 フラクションに炭化水素のほとんどが、また第 2 フラクションに脂肪酸・アルコールが、また第 3 フラクションに、芳香族の酸が、それぞれ分離されていると考えられる。したがってこの結果から、ラットの耳下腺・脛骨に変化を与える物質群は物質の分子構造から考えても、広範囲にわたって存在していることが判明した。また、未分離のままよりも、カラムで分離したそれぞれのフラクションの方が、ラットの耳下腺・脛骨に変化を与える割合が大きい。また、有機物の量としては最小である第 2 フラクションにおいて、耳下腺・脛骨の変化の割合が最大であったことは興味深い。一方、ブランク試験でもラット 6 匹中 1 匹に耳下腺の変化があらわれているが、この原因については不明である。

2 底泥および処理汚泥の酢酸エチル抽出物および熱水抽出物について

多摩川の底泥中、あるいは処理汚泥中に、ラットの臓器の変化を起こす物質が存在するかどうかを検討することは興味深い。底泥は河川水から、諸物質をとり込み堆積し、様々な変化を与える。一方、河川水に種々の物質を溶出している。

試料として、ガス橋付近で採取した多摩川底泥、S 下水処理場に使用した後の活性汚泥（黒色ゼリー状）および、F 尿尿処理場で尿尿処理に使用した後の活性汚泥をその施設内で泥塊状にまで処理したもの（黄土色泥塊状）の、合計 3 種を選定した。これらの酢酸エチル抽出物についての生物試験については前報⁴⁾の通りであるが、熱水抽出物については未報告であるので、詳しく記す。また、比較のため、両実験の結果をあわせて、表 3 に記す。

— 底泥中、処理汚泥中の有機物を熱水により抽出し、生物試験試料を調製する方法 —

抽出前に、多摩川底泥、および、S 下水処理場の汚泥は、遠心分離を行ない、F 尿尿処理場の汚泥は泥塊状のものをそのまま、抽出用試料とした。ガラス製広口試薬ビン中にそれぞれの試料をウェット状態で 200g ずつとり、これに熱水 1ℓ を加え、ステンレス製の電動攪拌棒で、それぞれ 1 時間抽出した。また、広口試薬ビンをウォーターバスに入れ温度を 90～95℃ に保った。

抽出後、ガラス製スピッツ管に混合物をとり、毎分 3,000 回転で 15 分、遠心分離を行ない、水層を集め、50℃ 以下で減圧濃縮した。次にこれをグラスフィルター-G/F で沓過し、沓液をさらにミリポアフィルター-HA045 で沓過した。この一部を再蒸留水に希釈し、メンツェル法で有機炭素量を測定した。

この実験群では濃度調整は行わず、また電気伝導度の値をもとにして、食塩を添加することで塩分濃度を調整した。また、F 尿管処理場の汚泥からの抽出物ではPHが高いため、塩酸でPH調整を行なった。実験結果は表3に記した。

考 察

熱水抽出物、酢酸エチル抽出物のいずれでも多摩川底泥（ガス橋付近）が、他の2つの汚泥試料に比べラットの臓器に変化を与える率が高い。また表1でみてきた水中からの抽出物と今回の底泥からの抽出物と比較すると、ともに酢酸エチル抽出であり、EOC〔酢酸エチル〕も同一であるが、ラットの変化の割合は、今回の方が高い。次章でのべる微生物を用いる環境変異原性の試験の結果を含め、考察事項は最後に記す。

— ラットを用いた生物試験の方法と内容 —

8週令のウィスター系ラット（約80g）を使用し、検体を毎日0.5mlずつ、週6回の割合で4～5週間連続皮下注射した。飼料は基礎飼料にMF（オリエンタル）を用い、飼料水は通常の水道水を用いた。

上記注射終了後、エーテル麻酔下で屠殺し、剖検し、耳下腺・脛骨・心・肺・肝・脾・腎については組織切片を作製し、鏡検した。これらの臓器の内、耳下腺、脛骨の病変は発現率が高く、比較が可能であるため、今回の報告では、この2臓器の病変に中心をおいた。

耳下腺では腺細胞の変化は少なく、その主たる病変は腺条部上皮細胞に認められた。すなわち、それらの上皮細胞の配列、原形質の空胞変性および核濃縮らの変性変化の有無を判定の根拠とした。また、脛骨骨端軟骨では、軟骨層に接した骨梁の規則性および骨吸収像を判定の根拠とした。

<第二章> 微生物を用いた突然変異原物質の検出

— 概 要 —

環境中の発ガン物質を微生物を使ってスクリーニングする実験法については、成書、論文⁵⁾等で多くの報告がなされている。この方法によると、ラットを用いた試験に比べ、はるかに簡便で短期間の内に生物試験が可能である。しかし、この両者の試験の結果は後述のように一致していないことが多い。

微生物試験試料調製のための抽出溶媒とし、酢酸エチル・熱水・エタノールの3種を検討したが、酢酸エチル抽出物・熱水抽出物では結果は全てマイナスであったがエタノール抽出物を用いるとプラスの変化をもつものもあらわれた。したがって、それ以降の実験では、エタノール抽出物を用いて、種々の試料の比較を行なった。それぞれの試料では可能な限り、実験群を2つにわけ、その一方はエタノールによって抽出される全有機炭素量（以下EOC〔エタノール〕と略記）を同一にし、もう一方の群は、抽出用のウエット試料の重量を一定にした。

以上の試験の結果の一部は、地球化学会^{6) 7)} および学術月報⁸⁾ において報告しているが、今回、それらも含め、現在まで行なった全ての試験結果をまとめて報告する。

1 試料について

採取した試料は次の通りで、保存には、ガラス製広口試薬ビンを用いた。

- a : ガス橋付近の多摩川底泥
- b : S下水処理場で下水処理に使用した後の活性汚泥（黒色ゼリー状）
- c : F尿尿処理場で尿尿処理に使用した後の活性汚泥を施設内で泥塊状にまで処理したもの。
- d : F尿尿処理場で尿尿処理に使用した後の活性汚泥（黒色ゼリー状）
- e : 藻泥（青梅にて採取）
- f : 藻泥（丸子にて採取）
- g : 大師橋付近の多摩川底泥の柱状試料で深さにより10部分に切断したもの。
g-1、g-2……g-10 番号は浅い順。底泥表面より50cmの深さで採取しそれぞれ、5cm
ずつに切断。
- h : 丸子橋付近の多摩川底泥
- i : ガス橋付近の多摩川底泥（表層）
- j : ガス橋付近の多摩川底泥（深層）
- k : ガス橋から第二京浜国道の間の送電線下の多摩川底泥（表層）
- l : ガス橋から第二京浜国道の間の送電線下の多摩川底泥（深層）
- m : 第二京浜国道より下流の多摩川底泥
- n : 六郷橋の上流の多摩川底泥
- o : 六郷橋と大師橋の間の多摩川底泥
- p : 大師橋下流の多摩川底泥

以上の25検体を用いた。以下の文中、試料の種類はこの記号で表示する。

2 微生物試験試料の調製法

(1) 遠心分離

採取した試料の水分の一部をとり除き、水分含量による抽出条件の影響を少なくするため、cおよびgを除き、全て抽出前に遠心分離を行なった。3,000rpm×15分

(2) 調製法の種類

I : 酢酸エチル抽出物

第一章の「ラットを用いた生物試験」の[2]で作ったラット用注射液をそのまま用いた。
使用試料はa、b、c。

II : 熱水抽出物

第一章の「ラットを用いた生物試験」の[2]で作ったラット用注射液をそのまま用いた。
使用試料a、b、c。

III : 重力水

(1)で行なった遠心分離で得られた重力水をそのまま用いた。
使用試料はa、b、d

N：エタノール抽出物

各試料とも(1)の遠心分離の操作を経た後、ウェット状態エタノール抽出を行なった。ウェット試料 100 g に対し、エタノール 100 ml を加え、ステンレス製ホモジェナイザーにて抽出した。抽出後、全内容をガラス製スピッツ管にとり、遠心分離を行ない、エタノール層をとり出し、沈殿した固型物層は再びホモジェナイザーに入れ、新たにエタノール 100 ml を加え、抽出を行なった。この操作を合計 5 回行ない、計 500 ml のエタノールを用いて抽出した。この抽出物を一定量に濃縮した後、一部を用いて EOC [エタノール] を測定した。

結果の比較検討が可能のように、次のような群を作った。

- EOC [エタノール] 100 mg の群

使用試料は a、b、c、e

- EOC [エタノール] 20 mg の群

使用試料は f、g-1 ~ g-10

- EOC [エタノール] 8 mg の群

使用試料は a、b、c、e、h、i、j、k、l、m、n、o、p

- 抽出用試料のウェット重量が 10 g の群

使用試料は a、b、c、e

- 抽出用試料のウェット重量が 20 g の群

使用試料は h、i、j、k、l、m、n、o、p

(3) 微生物試験の試料

調製法の種類でのべた I、II、III の酢酸エチル抽出物、熱水抽出物、および重力水は、ミリポアフィルターにてろ過滅菌し、ろ液を微生物試験の原液とした。また VI のエタノール抽出物は、全量を減圧下で蒸発乾固させ、これを 1 ml あるいは 2 ml のジメチルスルフォキッドに溶解し、ろ過滅菌し、ろ液を微生物試験の原液とした。この原液をそのままあるいは希釈して使用した。

3 微生物試験の内容および方法

I DNA 致死感受性試験 (Rec assay)

この方法は、マイトマイシン C、MNNG、4NQO のような変異原によって起こる、DNA の傷に対する修復力の違う枯草菌、*B. subtilis marbary* 168 の 2 つの菌株を用いる。

組み換え修復能欠損株である 45 T 株 (Rec⁻) は組み換え修復能保持株である 17 A 株に比べ変異原による致死感受性が高い。

これらの菌株を培養液 (0.8% Difco. nutrient broth) に接種し、1晩 37°C で培養する。17 A 株の菌液 0.5 ml、45 T 株の菌液 1 ml にそれぞれ上記培養液を 10 ml 加え、37°C で 4 時間振盪培養する。この菌液に、溶解し、45°C に保っておいたソフトアガー 2 ml (0.6% 寒天) を加え、寒天培地上 (0.8% Difco nutrient broth, 0.3% Yeast extract, 2% 寒天) に重層し、検体 0.05 ml を含む disk を中央におく。37°C 24 時間培養後、おのおのの菌株の阻止帯の長さ

を測定する。

17 A株に比し、45 T株の阻止帯が2mm以上長い時、検体がDNAに傷害を与えていると判定した。

II サルモネラを用いる突然変異性試験

突然変異性試験には *Salmonella typhimurium* TA100 (DNA塩基交換型変異原株出株)、TA98 (DNAフレームシフト型変異原検出株) の2つのヒスチジンマーカーの菌株を用いた。これらの菌株は、各々10mlの培養液 (0.8% Difco nutrient broth, 0.4% Nace. 0.01% アンピシリン) に接種し、37°Cで1晩培養する。

0.1mlの菌液と0.5%のリン酸Buffer又はS-9 mix[※]、および0.1mlの検体を小試験管に入れ、37°C 15分間前培養を行う。これに、溶解し45°Cにしておいたソフトアガー2mlを混釈し、寒天培地 (Vogel Bonnerの最小培地E中に、1.5%寒天、0.5% NaCl 2%ブドウ糖) 上に重層する。

プレートを37°C 48時間培養し、生じたコロニー (ヒスチジン非要求性に復帰変異した菌) を数える。突然変異性の判定は、各々の菌株の自然変異数 (TA100:約160 TA98:約40) の倍以上のコロニーの発現をみた場合、陽性とする。

※ S-9 Mix 1mlあたりの成分

S-9 (PCB inductionのラットの肝ホモジネート上清)	0.3ml
MgCl ₂	8 μモル
KCl	33 μモル
グルコース・6・リン酸	5 μモル
NADPH	4 μモル
NADH	3 μモル
ATP	20 μモル
リン酸・Buffer 0.4ml	(0.2モルPH7.4)

4 微生物試験の結果

表4-1および表4-2にまとめた。

<第三章> 実験結果からの考察、および今後の研究にむけて

第一章のラットを用いた生物試験の諸結果に関して

- ① 多摩川 (丸子) の河川水中にはラットの耳下腺、脛骨に変化を与える物質群が存在しそれらは、酢酸エチルによって抽出される。
- ② 野川およびF尿処理場排水中にも、ラットの耳下腺、脛骨に変化を与える物質群が存在すること

がわかる。そして、有機炭素量を同一にそろえると、F 尿処理場排水中にそれらの物質が多く存在することがわかる。

- ③ 酢酸エチル抽出物中には、水に不溶性成分も多く、これらをカルボキシメチルセルロースを用いて水に懸濁し注射液としているので、この懸濁状態によっても結果に違いのあらわれる可能性がある。
- ④ 1つの検体に対して使用したラットの数は4～10匹であり、細かい比較をするには十分な数とはいえない。また、実験群Iの結果からわかるように、注射をしないラットの中に一例だけ、変化をおこしたものもあり、また、いくつかのブランク試験でも、ラットに変化をおこした例もある。しかし、変化の割合が大きいものでは、その傾向から、検体による作用をよみとれる。
- ⑤ 分画された試料を検体として用いると、その全ての分画物で、ラットに変化を与えている。その割合の大小は、その中に存在する、有機炭素の量と無関係である。
- ⑥ 底泥からの抽出物では、3種の試料を用いた。2種の処理汚泥に比較し、多摩川底泥（ガス橋付近）で、ラットの変化の割合が大きい。また熱水抽出物と酢酸エチル抽出物を比較すると、後者の方が変化の割合が大きい。ここで用いた注射液の一部を微生物試験にも用いたが、この結果は全て陰性であった。しかし、これは水に一度懸濁したものを汙過滅菌して使用したので、比較は困難である。またエタノール抽出物を用いたサルモネラの突然変異原性試験では、陽性を示す検体もあったが、その割合の順位とは異なった。

第二章の微生物を用いた突然変異原性の試験の諸結果に関して

- ① DNA致死感受性試験（Rec assay）の結果は全て陰性のため、比較検討は不可能であるので、以下は全て、サルモネラを用いた突然変異原性試験について記す。
- ② ここでは、TA100およびTA98の2種の菌株を用い、それぞれにS-9 mixを加えた場合（+S9）と加えない場合（-S9）の2通りで実験している。この結果、全ての検体で-S9の場合は結果が陰性となる。
- ③ EOC〔エタノール〕を1プレートあたり同一にしたa～cを比較すると、cが最も変異率が高く、aがそれについている。この内、0.8 mg/プレートの群ではa・bが陰性である。しかし、aは10 mg/プレート群では（土）となり、変異率が濃度に関係していると推定される。また、藻泥はe、fとも陰性である。次に、丸子より下流の底泥を比較すると、1.0 mg/プレートのg、0.4 mg/プレートのh～pの中には陰性となるものが一例もない。
- ④ 抽出用試料のウェット重量を同一にした群で比較すると、陰性となるものが多く、a・b・e・i・k・l・nは陰性である。これも濃度の違いによるものと推定される。
- ⑤ 底泥に突然変異原性の物質群が存在するか否かを検討するためにはいくつかの方法が考えられる。その一つは、可能な限り検体の濃度を高める方法であるが、実験の方法上の制約から、DMSOへの溶解度が問題となる。試料からの抽出物を細かく分画していく方法もある。しかし、膨大な試料群を全てそのような方法で検査することは不可能である。そのため、ある基準を設定する事も研究の方法としては必要となる。今回報告の中では、その基準をEOC〔エタノール〕におくものと試料のウェ

ット重量におく2群で検査した。それぞれの数値についての検討は不十分である。

- ⑥ 検体は原液のままのもの、それを希釈したものを用いて、それぞれで表われる突然変異によるコロニー数を、検体を加えないブランクの時の数と比較して判定している。h～pの試料では、原液・2倍希釈・10倍希釈の3種の濃度で試験している。横軸に濃度、たて軸にコロニー数をとり、グラフをかくといくつかのパターンができる。原液で0.4 mg/プレートとなる実験群では横軸は1プレートあたり、それぞれ、0 mg、0.04 mg、0.2 mg、0.4 mgのEOCとなる。この内、濃度が高くなるにしたがい、コロニー数が増えるものはTA100ではh・i・j・k・l・n・o・p、一部減少するものにmがある。TA98では、h・i・l・n・pがあり、一部減少するものにj・k・m・oがある。EOCや試料のウェット重量による基準を定めるには、このように、濃度とコロニー数の相関のグラフから、プレート一部分の濃度範囲を知ることが必要であると考えられる。

1) 多摩川水中の有機物の生物試験

文部省特定研究「人間生存」昭和49年度中間報告「都市水域における有機物の存在形態とその起源に関する研究」p59～p65

(半谷・長尾・松崎・宮内・萱嶋)

2) 水中および底泥中有機物の分離および生物試験

上記特定研究・昭和50年度中間報告

p89～p97

(半谷・長尾・松崎・宮内)

3) 水中および底泥中有機物の分離および生物試験

「多摩川水域における有機物の存在形態とその起源に関する研究」1977年

p38～p49

(半谷・長尾・松崎・宮内・片瀬・小倉)

4) 底泥中の有機物の生物試験中間報告

上記報告書・付録資料3 p116～p122

5) 環境中の発ガン物質を微生物を使ってスクリーニングする実験法について(矢作)

蛋白質・酵素・核酸 1178(1975)

6) 都市域堆積物の環境的意義の評価 第二報 日本地球化学年会講演要旨集p113(1977)

(半谷・宮内・朴・長尾・松崎・遠藤・佐々木)

7) 都市域堆積物の有機物組成の特徴と生物試験

日本地球化学年会講演要旨集p123(1978)

(半谷・石渡 小椋・松本・信楽・宮内・朴・遠藤・佐々木・長尾・松崎)

8) 都市活動に由来する堆積物の生物試験と化学分析

学術月報262(1978)

(半谷)

表1 水中からの有機溶媒抽出物によるラットを用いた生物試験結果

群	試料内容		試料採取日	試水中の全有機炭素濃度 (mg/l)	注射液中の有機炭素濃度 mg/ml	ラットに注射される全有機炭素 (mg)	生物試験結果							
							耳下腺の変化		脛骨の変化					
							+	+	+	+				
1	1	多摩川	ヘキサン抽出物	1974年6月7日	7	—	—	0/4	1/4	0/4	0/4			
	4	丸子	酢酸エチル抽出物					2/4	2/4	0/4	2/4			
	7	河川水	エーテル抽出物					0/4	0/4	0/4	1/4			
	5	溶媒の蒸発残渣		/	/	/	/	0/4	0/4	0/4	0/4			
	6							0/4	1/4	0/4	0/4			
	3							0/4	1/4	0/4	0/4			
	2	CMC+NaClのみ		/	/	/	/	0/4	2/4	0/4	1/4			
	8	注射をしない生物群		/	/	/	/	0/4	1/4	0/4	0/4			
2	1	多摩川丸子	原水	300倍	1974年11月21~22日	5	—	—	0/8	5/8	0/8	0/8		
	2	河川水	注射液	67倍					0/7	2/7	0/7	0/7		
	3	水道水	300倍	1974年11月17日					—	—	—	0/8	2/8	0/8
	4	注射をしない生物群		/	/	/	/	0/8	0/8	0/8	0/8			
3	1	蒸留水 (48.9ℓ)		1975年4月5日	0.7	0	0	0/8	0/8	0/8	0/8			
	2	野川 (25.3ℓ)		" 3月19日・4月2日	19.8	1.0	29.5	0/7	2/7	0/7	2/7			
	3	F尿管処理場排水 (48.9ℓ)		" 3月19日・3月24日	22.3 24.1	1.0	29.5	1/8	3/8	1/8	4/8			
	4	注射をしない生物群		/	/	/	/	0/8	0/8	0/8	0/8			
4	1	蒸留水(47.6ℓ)分画の全操作		1975年9月28日	/	0.14	1.82	1/7	2/7	0/7	1/7			
	2	F尿管処理場排水	47.6ℓ	未分離	1975年9月4日・18日	19.3 (4日)	1.2	15.3	0/7	3/7	1/7	1/7		
	3		47.6ℓ	分子量500以下					0.80	10.4	1/7	4/7	0/7	6/7
	4			分子量500以上					0.46	5.98	0/8	3/8	0/8	3/8
	5			アルカリ不溶物					0.10	1.35	1/8	3/8	0/8	4/8
	6		注射をしない生物群						/	/	/	/	0/8	0/8
6	1	蒸留水	4-1と同じ		1976年3月~4月	0.2	—	—	0/9	0/9	0/9	0/9		
	2	4-5の分画の途中段階まで		0.041					0.45	0/10	0/10	0/10	0/10	
	3	追試 4-5と同じ		0.078					0.86	0/10	0/10	0/10	0/10	
	4	注射をしない生物群		/	/	/	/	0/10	0/10	0/10	0/10			
12	1	蒸留水(50ℓ)分画の全操作		1978年8月24~26日	/	0.016	0.22	0/6	1/6	0/6	0/6			
	2	F尿管処理場排水	50ℓ	未分離	1978年8月22日	18.3	—	—	0.77	10.8	0/8	2/8	0/8	1/8
	3		50ℓ	第1フラクション					0.15	2.1	0/8	5/8	0/8	3/8
	4			第2フラクション					0.11	1.5	0/8	6/8	0/8	4/8
	5			第3フラクション					0.36	5.0	0/8	2/8	0/8	2/8
	6	注射をしない生物群		/	/	/	/	0/8	0/8	0/8	0/8			

分数の分母は試験をしたラットの匹数
 分数の分子は変化をおこしたラットの匹数

表3 底泥および処理汚泥からの抽出物によるラットを用いた生物試験の結果

群	試料内容	性状	試料採取日	抽出に要した試料		注射液中の有機炭素濃度 mg/ml	ラットに注射される全有機炭素量 mg	生物試験結果				
				含水率 (%)	乾燥重量 (g)			耳下腺の変化		脛骨の変化		
								+	+	+	+	
9	酢酸エチル抽出物	ガス橋付近多摩川底泥	黒色どぶ臭	1976年12月9日	76.3	6.77	1	11	0/10	5/10	0/10	6/10
		S下水処理場使用済み汚泥	黒色ゼリー状どぶ臭	1976年11月6日	91.2	6.75	1	11	0/10	4/10	0/10	3/10
		F尿尿処理場使用済み汚泥	黄色泥塊状特異臭	1976年11月9日	85.5	22.5	1	11	0/10	1/10	0/10	0/10
	4	注射をしない生物群							0/10	0/10	0/10	0/10
11	熱水抽出物	ガス橋付近多摩川底泥	黒色どぶ臭	1976年12月9日	76.3	47.4	0.7	9.1	0/9	6/9	1/8	3/8
		S下水処理場使用済み汚泥	黒色ゼリー状どぶ臭	1976年11月6日	91.2	17.6	0.9	11.7	0/10	4/10	0/10	3/10
		F尿尿処理場使用済み汚泥	黄色泥塊状特異臭	1976年11月9日	85.5	29.0	8	104	0/10	5/10	0/10	3/10
	4	注射をしない生物群							0/10	0/10	0/10	0/10

表 4 - 1 微生物試験の結果

試料記号	試料	調製法	原液中の 有機炭素 mg/ml	1プレート※1 あたりの有 機炭素量mg	Rec assay	サルモネラによる突然変異原性試験			
						T A 1 0 0		T A 9 8	
						+S9	-S9	+S9	-S9
a	ガス橋付近 多摩川底泥 ※2	重 力 水	0.23	0.023	-	-	-	-	-
		酢酸エチル抽出物	1	0.1	-	-	-	-	-
		熱水抽出物	0.7	0.07	-	-	-	-	-
		エタノール抽出物Ⅰ	100	10	-	-	-	+	-
		エタノール抽出物Ⅱ	8	0.8	-	-	-	-	-
		エタノール抽出物Ⅲ	18	1.8	-	-	-	-	-
b	S下水処理場 使用済み汚泥 黒色ゼリー状 ※2	重 力 水	0.42	0.042	-	-	-	-	-
		酢酸エチル抽出物	1	0.1	-	-	-	-	-
		熱水抽出物	0.9	0.09	-	-	-	-	-
		エタノール抽出物Ⅰ	100	10	-	-	-	-	-
		エタノール抽出物Ⅱ	8	0.8	-	-	-	-	-
		エタノール抽出物Ⅲ	32	0.32	-	-	-	-	-
c	F尿尿処理場 使用済み汚泥 黄色泥塊状 ※2	重 力 水	/	/	/	/	/	/	/
		酢酸エチル抽出物	1	0.1	-	-	-	-	-
		熱水抽出物	8	0.8	-	-	-	-	-
		エタノール抽出物Ⅰ	100	10	-	-	-	+	-
		エタノール抽出物Ⅱ	8	0.8	-	-	-	+	-
		エタノール抽出物Ⅲ	23	0.23	-	-	-	+	-
d	F尿尿処理場 使用済み汚泥 黒色ゼリー状	重 力 水	0.052	0.0052	-	-	-	-	-

※1 原液を0.1ml使用した場合。これを希釈し、2~4種の濃度で検査

※2 試料重量をウェット重量で10g使用した群

表4-2 エタノール抽出物による突然変異原性試験の結果

群	試料記号	試料	試料の含水率 (%)	サルモネラによる突然変異原性試験の結果				
				1プレートあたりの有機炭素量をそろえた群	抽出用試料のウェット重量を1プレートあたり、1gでそろえた群	※1	※1	
				TA100 + S9	TA98 + S9	TA100 + S9	TA98 + S9	1プレートあたりの有機炭素量 mg
I	a	ガス橋付近の多摩川底泥	75.7	-	+	-	-	1.8
	b	S下水処理場使用済み汚泥	87.7	-	-	-	-	3.2
	c	F尿処理場使用済み汚泥	82.8	-	+	-	+	2.3
	e	青梅にて採取した藻泥	77.3	-	-	-	-	2.9
	f	丸子にて採取した藻泥	61.4	-	-	-	-	
II	g-1	大師橋付近の多摩川底泥の柱状試料 浅い順に番号	47.8	+	+			
	g-2		45.2	+	+			
	g-3		53.4	+	+			
	g-4		52.2	+	+			
	g-5		53.8	+	+			
	g-6		54.9	+	+			
	g-7		56.0	+	+			
	g-8		62.1	+	+			
	g-9		53.6	+	+			
	g-10		49.3	+	+			
III	h	丸子橋付近の多摩川底泥	35.3	-	+	+	+	0.5
	i	ガス橋付近の多摩川底泥	28.1	-	+	-	-	0.4
	j			深層	+	+	+	+
	k	ガス橋～第二京浜国道間の送電線下の多摩川底泥	27.1	+	+	-	-	0.2
	l			深層	-	+	-	-
	m	第二京浜国道下流の多摩川底泥	23.2	+	+	+	+	0.2
	n	六郷橋上流の多摩川底泥	30.1	+	+	-	-	0.2
	o	六郷橋～大師橋間の多摩川底泥	36.4	+	+	+	-	0.2
	p	大師橋下流の多摩川底泥	34.9	+	+	+	+	0.2

※1 原液を0.1ml使用した場合。これを希釈し3～4種の濃度で検査