

多摩川河川水に含まれる内分泌攪乱物質の水生
植物による吸収・分解機構に関する研究

2007年

池田 駿介
東京工業大学大学院 理工学研究科 教授

研究組織

研究代表者：

池田 駿介・東京工業大学 大学院理工学研究科 教授

共同研究者：

浦瀬 太郎・東京工業大学 大学院理工学研究科 准教授

赤松 良久・琉球大学 工学部 准教授

大澤 和敏・東京工業大学 大学院理工学研究科 助教

目次

第1章 序論

1.1 研究の背景	・ ・ ・ ・ 1
1.2 既往の研究	・ ・ ・ ・ 4
1.2.1 水環境における内分泌攪乱化学物質の調査	・ ・ ・ ・ 4
1.2.2 ファイトレメディエーションの原理	・ ・ ・ ・ 4
1.2.3 ファイトレメディエーションに関する研究	・ ・ ・ ・ 5
1.2.4 内分泌攪乱化学物質を対象とした ファイトレメディエーションに関する研究	・ ・ ・ ・ 5
1.3 本研究の目的	・ ・ ・ ・ 12

第2章 水生植物による内分泌攪乱化学物質の吸収実験

2.1 実験の目的	・ ・ ・ ・ 13
2.2 実験方法	・ ・ ・ ・ 15
2.2.1 対象とした内分泌攪乱化学物質(EDCs)	・ ・ ・ ・ 15
2.2.2 EDCs の分析方法	・ ・ ・ ・ 15
2.2.3 実験方法	・ ・ ・ ・ 17
2.3 実験結果及び考察	・ ・ ・ ・ 24
2.3.1 沈水植物による EDCs 吸収・分解の経時変化	・ ・ ・ ・ 24
2.3.2 付着藻類による EDCs 吸収・分解の経時変化	・ ・ ・ ・ 28
2.3.3 EDCs の浄化能力へ水温変化が及ぼす影響	・ ・ ・ ・ 33
2.3.4 EDCs の浄化能力へ植物表面の微生物が及ぼす影響	・ ・ ・ ・ 38
2.4 沈水植物における EDCs 吸収・分解速度の算定	・ ・ ・ ・ 41
2.4.1 EDCs 吸収・分解モデルの構築	・ ・ ・ ・ 41
2.4.2 モデルパラメータの推定方法	・ ・ ・ ・ 42
2.4.3 結果及び考察	・ ・ ・ ・ 42
2.5 本章のまとめ	・ ・ ・ ・ 49

第3章 流水中における沈水植物の環境ホルモン吸収実験

3.1 実験の目的	・ ・ ・ ・ 50
3.2 実験概要	・ ・ ・ ・ 50

第1章 序論

1.1 研究背景

わが国の水環境問題の歴史は産業の近代化以前からあったと考えられているが、多数の住民に被害をもたらした最初の事件としては、明治の始め、足尾銅山の坑内排水が渡良瀬川に流れ、水稻に被害を与えた足尾鉍山鉍毒事件に始まる。その後、産業の近代化に伴う汚水の増大と多様化により、各地で汚濁問題が生じた。

第二次大戦後の復興期には、東京都江戸川下流で製紙工場の汚水による漁業被害の問題をめぐって紛争が発生するなど、水質汚濁が大都市などを中心に次第に拡大し、1950年頃から、水俣病などの事件も顕在化した。

このような背景から、地方自治体では条例の制定をはじめとする対策がとられ、国においても、1958年に、水質保全法と工場排水規制法が制定され、水質汚濁に対する法的規制が始められた。しかし、この水質2法は、対象地域を限られ、規制内容に徹底を欠いていたので、実際の要請に対しては不十分であった。

1960年代には、高度経済成長に伴って、公害問題はいつそう広域化、深刻化し阿賀野川水銀汚染、イタイイタイ病などがあいついで発生した。このため、1967年には、公害対策基本法が制定されて公害対策を総合的に推進する方向がうち出され、1970年には、いわゆる「公害国会」において、公害対策に関する法制度の抜本的な整備強化が行われた。水質関係では、水質2法に代わって、新たに水質汚濁防止法が制定されたほか、海洋汚染防止法なども制定された。翌1971年には、環境庁が設置され、水質保全行政を環境保全の視点から一元的に担当することになった。

しかし、近年は多種多様な化学物質の開発及び使用により、それらが環境中に排出され、新たな環境問題が生み出されている。その中の一つとして内分泌攪乱化学物質いわゆる環境ホルモン(Endocrine Disrupting Chemicals 以下 EDCs)による水域生態系の攪乱が問題として挙げられている。

EDCsは生体のホルモン受容体、特に女性ホルモン受容体に結合することにより、あたか

も女性ホルモンと同じような働きをする化学物質、男性ホルモンや甲状腺ホルモンの受容体に結合してホルモン作用を阻止する物質などがある。このような EDCs による野生動物への影響についての報告は多数あり、ひいてはヒトの健康に対する影響も懸念されている。EDCs が関係していると考えられる野生生物への影響を表-1.1 に示す¹⁾。

これらの EDCs は Colborn らが 1996 年に発表した「Our Stolen Future」²⁾により、EDCs の問題が地球規模の環境問題としてひろく社会的に知れ渡るようになった。EDCs に関する日本の取り組みとしては 1998 年に環境庁がその対策基本方針として「環境ホルモン戦略計画 SPEED'98」³⁾を公表した。これには内分泌攪乱作用を有するとして疑われている化学物質として 67 の化学物質がリストアップされており、これまでに、有害性評価結果からノニルフェノール、4 オクチルフェノール及びビスフェノール A の 3 物質に関して魚類への内分泌攪乱作用を有することが推察された。また、2005 年には SPEED'98 の改定に伴い、環境省により新たな対応方針である「化学物質の内分泌かく乱作用に関する環境省の今後の対応方針について-ExTEND2005-」⁴⁾⁵⁾が取りまとめられた。

そのような水域に排出された極微量の EDCs を除去する方法として、植物が有する吸収・蓄積・分解等の多様な機能を利用する浄化法(通称ファイトレメディエーション)が注目されている。ファイトレメディエーションは従来の物理的・化学的な手法と比べると、環境に対する負荷が小さく、コスト面に優れ、長期広範囲にわたって環境修復機能があることが特徴である。

本研究では、都市河川のような汚染の比較的進んでいる水域でも生育できるような水生植物及び付着藻類を利用して、水中の EDCs を対象とするファイトレメディエーションの適用性を検討する。

表-1.1 野生生物への影響に関する報告¹⁾

事例	個体への影響	個体群への影響	個体から群への関連性	メカニズムの妥当性	原因物質の確認	曝露の妥当性	回復経過
巻貝のインボセックス	+++ +	++++	++++	++ アロマトーゼの阻害	++++ TBT	+++	+++
英国での魚のビテロゲニン生成	+++ +	+	+	++++ 女性ホルモン作用	+++ 女性ホルモン, ノニルフェノール	+++	+
五大湖のマス	+++ +	++++	+++	++++	++++ ダイオキシン類	+++	+++
パルプ工場排水の魚類への影響	+++ +	++	++	++	++ 植物エストロゲン	+++	+
北米でのカエルの奇形	+++ +	++++	++	++	+ レチノイン酸様物質	+	+
アボプカ湖のワニ	+++ +	++++	++	++	++ DDTなど 有塩素系農薬	++	+
五大湖周辺の鳥類	+++ +	+++	++	++++	+++ ダイオキシン類, 有機塩素化合物	+++	+++
五大湖周辺のミンク	+++ +	+++	++	++	+++ ダイオキシン類, PCB	+++	++

＋の多いほど確実さが高いことを示す。

1.2 既往の研究

1.2.1 水環境における内分泌攪乱化学物質の調査

水環境中の EDCs の調査については国土交通省が平成 10 年度から日本の一級河川を対象として調査を行っている。平成 17 年度における EDCs の調査結果を表-1.2 に示す⁶⁾。水中のビスフェノール A(以下 BPA)とエストロン(以下 E1)については水質中の 3 割を越える地点で検出されていることがわかる。

宮島らは多摩川においてエストロゲン、ノニルフェノール類の河川水中の濃度及び付着藻類の体内における蓄積含量について調査を行っている。その調査結果を図-1.1 に示す⁷⁾。河川水中では E1, 17 β -エストラジオール(以下 E2)及びノニルフェノール類が検出され, E1, E2 の由来に関しては主に下水処理水によるものであると指摘している。さらに, E1 は藻類中においても検出され, その濃度は水試料の 10 倍程度であり, 水質の濃度に応じて増大する傾向があることが報告されている。

1.2.2 ファイトレメディエーションの原理

ファイトレメディエーションとはギリシャ語で「植物」という意味の”phyton”とラテン語で「修復・治療」を意味する”remediation”が合成された言葉であり, 植物を有する環境中に排出された汚染物質の吸収・蓄積・分解等の機能を利用して, 汚染された土壌, 底質及び水等環境媒体の修復・浄化を行う技術である。この場合の植物とは, 陸生・水生を問わずすべての維管束をもつ独立栄養型生物を指しているが, 汚染土壌を浄化する場合には樹, 草, 作物のような陸生植物が利用され, 汚染水域では主に水生植物が利用されている。

図-1.2 に土壌におけるファイトレメディエーションのイメージ図を示す⁸⁾。ファイトレメディエーションにより環境中の汚染物質を除去する方法は大きく分けて 2 つある。1 つ目は植物が根や葉から水分や養分を吸収するのと同様に, 汚染物質を吸収, 除去する能力を利用する方法であり, 2 つ目は, 根圏を形成する微生物との共同作業を利用して, 汚染物質を吸収, 分解する能力を利用する方法である。植物と微生物が共存している自然界では, 後者による除去が一般的であると考えてよい。

次に植物が吸収した汚染物質の経路について説明する。植物体内に吸収された汚染物質

は植物の体内に蓄積，濃縮される場合，植物や微生物の働きによって分解される場合及び葉の気孔等を介し大気中へ蒸散する場合がある．植物体内に蓄積，濃縮される場合は後処理が必要となり，ファイトレメディエーションを適用した範囲内の植物を刈り取るなどして取り除かなければならない．そのまま放置しておくとも再び植物外へ溶出や食物連鎖による生物濃縮等の可能性があり，環境汚染を促進してしまうためである．特に重金属の場合は，汚染物質を取り除くだけでなく，刈り取った後に濃縮した重金属を抽出・回収することができ，再生利用が可能である．ファイトレメディエーションでは，汚染物質の除去方法によりいくつかの種類に分けられ，それらの分類を表-1.3に示す⁸⁾．

1.2.3 ファイトレメディエーションに関する研究

ファイトレメディエーションの概念の形成・発展，新しい植物テクノロジーの確立，多様な汚染環境修復への系統的な研究，開発及び応用は70年代から発達してきたものである．ファイトレメディエーションの対象とする環境浄化の場は水域・土壌・大気に及ぶが，研究が進んでいるのは水域と土壌である．植物による環境浄化の論文は7000件近く報告されており，そのなかでも特に窒素化合物，リン化合物を対象とした研究が9割以上を占めており，アメリカやヨーロッパではwetland systemの実用化に関する研究が進んでいる⁹⁾．また，湾岸戦争以降，このときに大量に流出した原油中の重金属のファイトレメディエーションによる浄化から重金属に対するファイトレメディエーションの研究がさかんに行われるようになった．Keskinanらによりマツモ(*Ceratophyllum demersum*)を利用したZn, Pb, Cuの吸収について報告されている¹⁰⁾．

近年は表-1.4に示した有機汚染土壌修復の研究事例のように，有機化合物におけるファイトレメディエーションに対する研究が進められている¹¹⁾．水生植物を利用した事例ではTrontらによりコウキクサ(*Lemna minor*)を利用した2,4,5-trichlorophenolの除去や除草剤，殺虫剤に対するファイトレメディエーションの研究が報告されている^{12) 13)}．さらに藻類についても植物と比べ研究例は少ないが栄養塩，重金属，有機化合物の除去に関して，それぞれについて研究が進められている¹⁴⁾⁻¹⁶⁾．

1.2.4 内分泌攪乱化学物質を対象としたファイトレメディエーションに関する研究

EDCs に対するファイトレメディエーションの研究については、BPA の除去を対象にしたものが比較的多く報告されている。

Imadedin らはイネ苗を利用し、5.5mg/L の BPA 溶液での吸収について実験を行っている(図-1.3)¹⁷⁾。イネ苗により BPA は5日後にほぼ全量が吸収されることが報告されている。

斎藤は数種類の水生植物を利用し、4.6mg/L の BPA 溶液での吸収について実験を行っている(図-1.4)¹⁸⁾。どの水生植物においても BPA の経時的な吸収が見られ、特にマツモに関しては24時間後に水溶液中から90%以上の BPA を吸収するという結果が報告されている。

廣岡らは、緑藻 *Chlorella fusca* と藍藻 *Anabaena variabilis* を利用し、40 μ M の BPA 溶液での吸収について実験を行っている(図-1.5)¹⁹⁾。*Anabaena variabilis* では増殖が抑制され、BPA はほとんど除去することができなかったが、*Chlorella fusca* では BPA を良好に除去できたことが報告されている。

古賀は沈水植物アナカリス(*Egeria densa*)を利用し、100 μ g/L の BPA および E2 溶液での吸収について実験を行っている²⁰⁾。BPA、E2 ともにアナカリスにより吸収され、植物体内での減少について報告されている。さらに、神奈川県川崎市を流れる二ヶ領用水において観測を行い、アナカリスの群生による河川水中の BPA、E2 の濃度減少を報告し、この BPA、E2 の減少速度と水温との関係性について指摘している。

ファイトレメディエーションの水温の影響に関しては、年間を通しての汚染物質の除去量の試算を行う上でも重要なファクターであると考えられる。Fritioff らにより、カナダモ(*Elodea Canadensis*)の重金属の吸収は水温が高いほど大きいと報告されている²¹⁾。しかし、EDCs を対象としたファイトレメディエーションへの水温の及ぼす影響に関する報告はされていない。

表-1.2 平成 17 年度の河川水における EDCs の調査結果⁶⁾

調査対象物質名	重点調査濃度 ($\mu\text{g/L}$)	調査 地点数	今回、重点調査濃度を 超えた地点数 (括弧内はH16調査)	検出 地点数	最大値
4-t-オクチルフェノール	0.496	44	0 (0)	5	0.496
ノニルフェノール	0.304	64	4 (1)	9	2.1
ビスフェノールA	0.4	47	2 (0)	16	1.09
17 β -エストラジオール	0.0005	50	0 (1)	0	0
エストロン	0.0005	62	23 (11)	24	0.014
フタル酸ジ-n-ブチル	未設定	26	-	4	0.54
フタル酸ジ-2-エチルヘキシル	未設定	26	-	2	0.41
アジピン酸ジ-2-エチルヘキシル	未設定	26	-	4	0.017

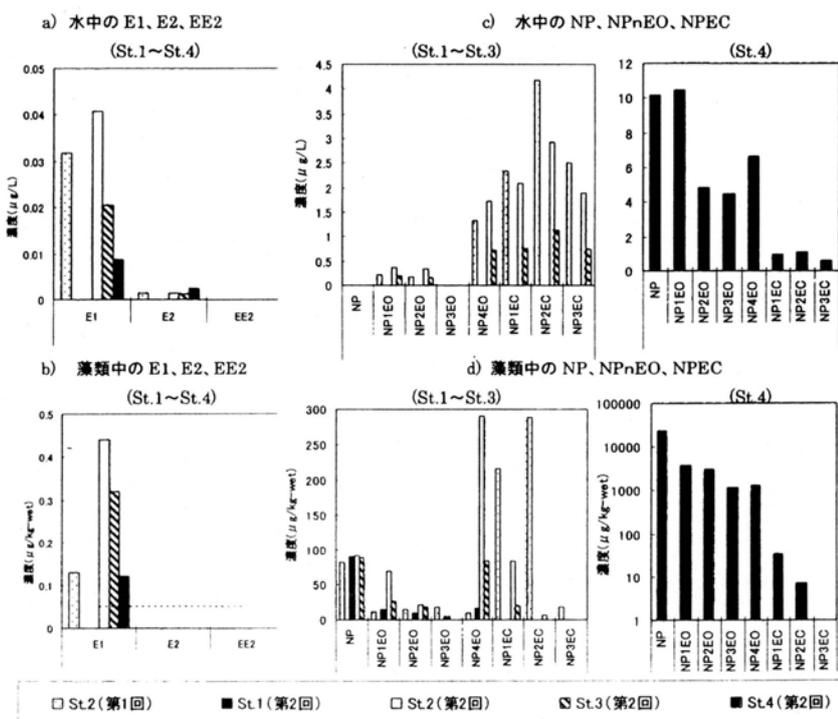
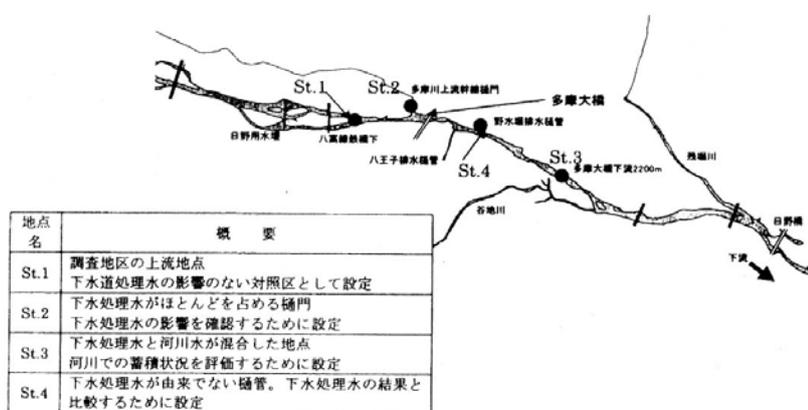


図-1.1 多摩川における水中及び藻類内の EDCs 量調査結果⁷⁾

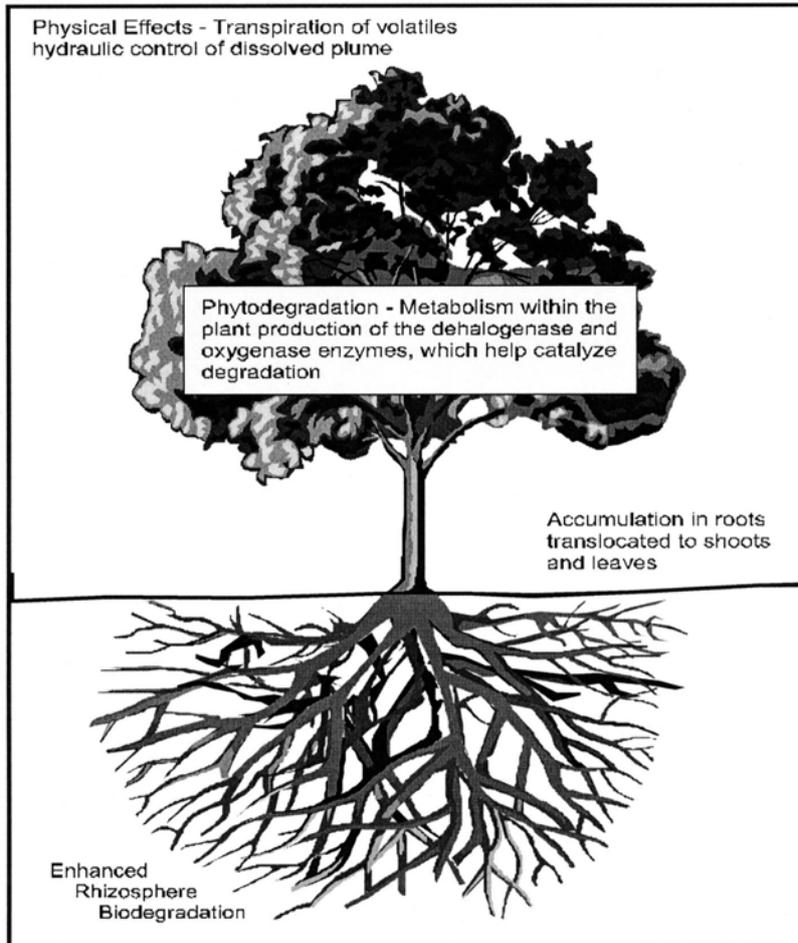


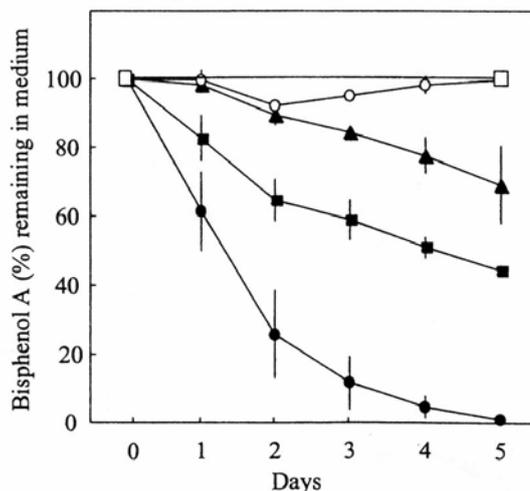
図-1.2 ファイトレメディエーションメカニズム⁸⁾

表-1.3 ファイトレメディエーションの種類⁸⁾

Mechanism	Process Goal	Media	Contaminants	Plants	Status
Phytoextraction	Contaminant extraction and capture	Soil, sediment, sludges	Metals: Ag, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Mn, Mo, Ni, Pb, Zn; Radionuclides: ⁹⁰ Sr, ¹³⁷ Cs, ²³⁹ Pu, ^{238,234} U	Indian mustard, pennycress, alyssum sunflowers, hybrid poplars	Laboratory, pilot and field applications
Rhizofiltration	Contaminant extraction and capture	Groundwater, surface water	Metals, radionuclides	Sunflowers, Indian mustard, water hyacinth	Laboratory and pilot scale
Phytostabilization	Contaminant containment	Soil, sediment, sludges	As, Cd, Cr, Cu, Hs, Pb, Zn	Indian mustard, hybrid poplars, grasses	Field application
Rhizodegradation	Contaminant destruction	Soil, sediment, sludges, groundwater	Organic compounds (TPH, PAHs, pesticides, chlorinated solvents, PCBs)	Red mulberry, grasses, hybrid poplar, cattail, rice	Field application
Phytodegradation	Contaminant destruction	Soil, sediment, sludges, groundwater, surface water	Organic compounds, chlorinated solvents, phenols, herbicides, munitions	Algae, stonewort, hybrid poplar, black willow, bald cypress	Field demonstration
Phytovolatilization	Contaminant extraction from media and release to air	Groundwater, soil, sediment, sludges	Chlorinated solvents, some inorganics(Se, Hg and As)	Poplars, alfalfa, black locust, Indian mustard	Laboratory and field application
Hydraulic control (plume control)	Contaminant destruction or containment	Groundwater, surface water	Water-soluble organics and inorganics	Hybrid poplar, cottonwood, willow	Field demonstration
Vegetative cover (evapotranspiration cover)	Contaminant containment, erosion control	Soil, sludges, sediments	Organic and inorganic compounds	Poplars, grasses	Field application
Riparian corridors (non-point source control)	Contaminant destruction	Surface water, groundwater	Water-soluble organics and inorganics	Poplars	Field application

表-1.4 ファイトレメディエーションによる有機汚染土壌修復の適用・研究事例¹¹⁾

対象物質	植物	試験規模(地点)	結果概要
石油(PAH)	クロバー	野外修復(米国)	明らかに分解効果があった。
ディーゼル油, 原油	イタリアンライグラス, フェスキュ	ポット試験(米国)	ディーゼル油及び原油土壌の修復率は対象基準のそれぞれ207及び209%を示した。
木材防腐剤(PCP, PAH)	ペレニアルライグラス	温室試験(米国)	栽培区は64日間でPCPが57%, PAHが90%減少し, 対照区より顕著に高かったが, 258日後栽培区と対照区は有意差がなかった。
石油(PAH)	トウモロコシ, 白色クローバ	野外修復(イタリア)	汚染サイト内の作物の中にトウモロコシと白色クローバの浄化能力は最高となった。
PCB, TNT, ビレン	イネ科, マメ科植物(リード, カナリーグラス, スイッチグラス, トールフェスク, メドハギ等)	温室試験(米国)	6ヶ月後PCBの減少率は, リードカナリーグラス, スイッチグラスとレンリソウ属による49%, トールフェスク, キビ属とメドハギによる36%であって, TNT, ビレンは植栽無しを含め, 97%以上になった。
TNT	メドープロムグラス, ハルガヤ, ペレニアルライグラス	実験室(米国)	白色腐朽菌を接種したメドープロムグラスはTNTレベルを対照地の30%まで低下させた。
PAH	ライグラス	ポット試験(フランス)	根圏での生物分解による36~66%のPAHが消失した。VA菌接種の接種によって分解の促進が可能である。
石油系化合物	バミューダグラス, トールフェスク, ホワイトクローバ	フィールド実験(米国)	植生区は24ヶ月でTPHが40%以上, フルオレンが58-100%減少し, 対照区より顕著に高かった。
石油系化合物	バミューダグラス, トールフェスク	温室試験(米国)	無機施肥による浄化効果の促進効果を示した。
ディーゼル油	ペレニアルライグラス	実験室(ニュージーランド)	102日間でのTPH減少率は, グラス栽培処理は約60%で対照より著しく高かった。



Change in the amount of bisphenol A in medium after the culture of rice seedlings (●, $n=5$), of the roots/stem base with the top cut off (■, $n=3$), of the dried roots (▲, $n=3$) and without plants (○, $n=2$) in medium (180 ml) supplemented with 1 mg of bisphenol A. Autoclaved medium covered with double aluminum foil (□, $n=1$). The values represent the means \pm SD.

図-1.3 イネ苗によるBPAの吸収¹⁷⁾

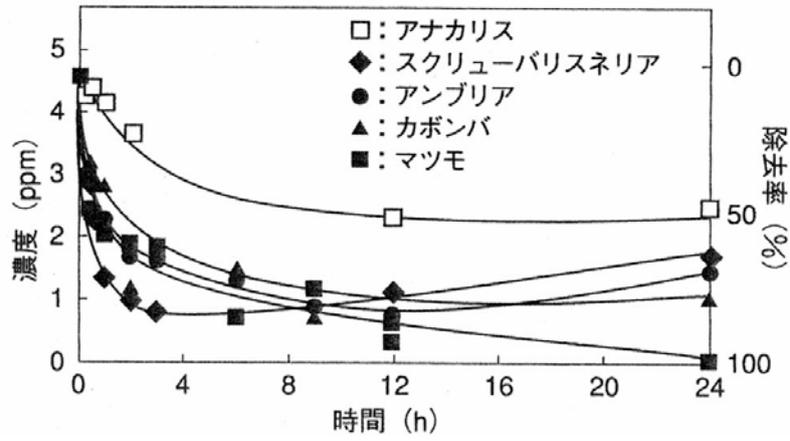


図-1.4 水生植物による BPA の吸収¹⁸⁾

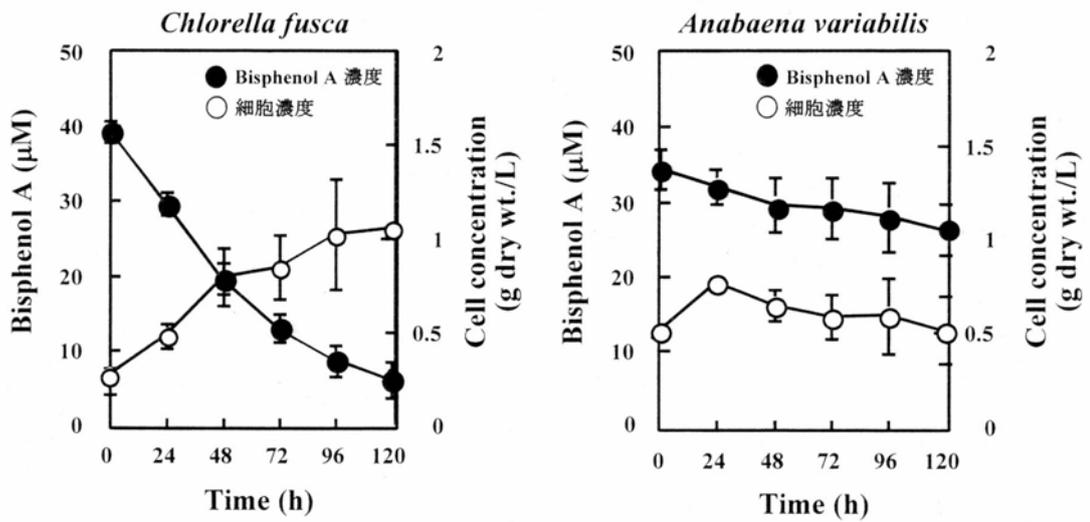


図-1.5 緑藻 *Chlorella fusca* と藍藻 *Anabaena variabilis* による BPA の除去¹⁹⁾

1.3 本研究の目的

これまでの既往の研究では、EDCs が吸収・分解されているという報告はあるが、植物自身が EDCs の分解を行っているかについては言及されていない。さらに、水温のような実際に季節変動のある環境条件について考慮している研究は報告されていない。以上のことから、本研究における目的を都市用水路のような比較的汚染の進んでいる水域においても生息可能である水生植物および付着藻類を利用し、EDCs の環境条件の変化における吸収・分解能力に及ぼす影響の評価を行い、実際の現場における、長期間に渡るファイトレメディエーションの適用性についての検討することを目的とする。さらに、EDCs の分解者、すなわち植物自身あるいは植物表面の微生物のどちらが EDCs の分解を行っているのかについての検討を行う。

本研究では、まず沈水植物及び付着藻類を利用した水中の EDCs の吸収実験を行い、吸収・分解量を定量的に評価する。沈水植物については、EDCs の吸収・分解能力に対して水温及び植物表面に存在する微生物が与える影響について検討をする。そして、これらの実験結果から、沈水植物による EDCs の吸収・分解モデル式の提案を行う(第2章)。さらに、流水中において同様の吸収実験を実施し、静水中における吸収実験の結果と比較を行い、流速といった水理条件が沈水植物による内分泌攪乱物質の付着・吸収・除去に対して与える影響を考察する(第3章)。そして、沈水植物の群生の生息する都市用水路で現地調査を行い、実際の現場でのファイトレメディエーションの適用性について検討する(第4章)。

第2章 静水中における水生植物による内分泌攪乱化学物質の吸収実験

2.1 実験の目的

本章では、室内実験を行うことにより静水中における沈水植物および付着藻類による EDCs の吸収・除去能力を定量的な評価及びそのファイトレメディエーション効果に関するメカニズムの解明を行い、EDCs のファイトレメディエーションにおけるモデルの提案を行うことを目的とした。

まず始めに、沈水植物及び付着藻類を用いた EDCs 溶液の吸収実験を行うことにより、溶液内及び植物体内での経時的な EDCs の挙動の把握を試みた。

次に、異なる水温で吸収実験を行うことにより、沈水植物の EDCs 除去に及ぼす水温の影響についての検討を行った。これは実際に長期間に渡ったファイトレメディエーションを考えるうえでは、環境条件を考慮する必要があるためである。環境条件として重要なファクターとしては水温の他にも光量等があげられる。しかし、光量に関しては我々のこれまでの研究により、光の当たってない条件ではほとんど沈水植物アナカリスは EDCs を吸収しないことが分かっている(図-2.1)²⁰⁾。また、コカナダモの例であるが、光量およそ 2klux で光飽和に達するので(図-2.2)²²⁾、日中であれば光の強さは EDCs の除去量にあまり影響を及ぼさないと考えられる。そのため、本研究では水温に注目し実験を行った。

さらに、沈水植物を滅菌処理し吸収実験を行うことにより、EDCs の分解は、植物の表面に存在する微生物によるものであるか、もしくは植物自身によるものであるかについて調べ、分解メカニズムの検討を行った。

最終的に、以上の実験で得られた実験値を用い、本研究で提案する沈水植物による EDCs の吸収・分解モデルとのカーブフィッティングを行うことにより、モデル式の適用性について評価を行った。

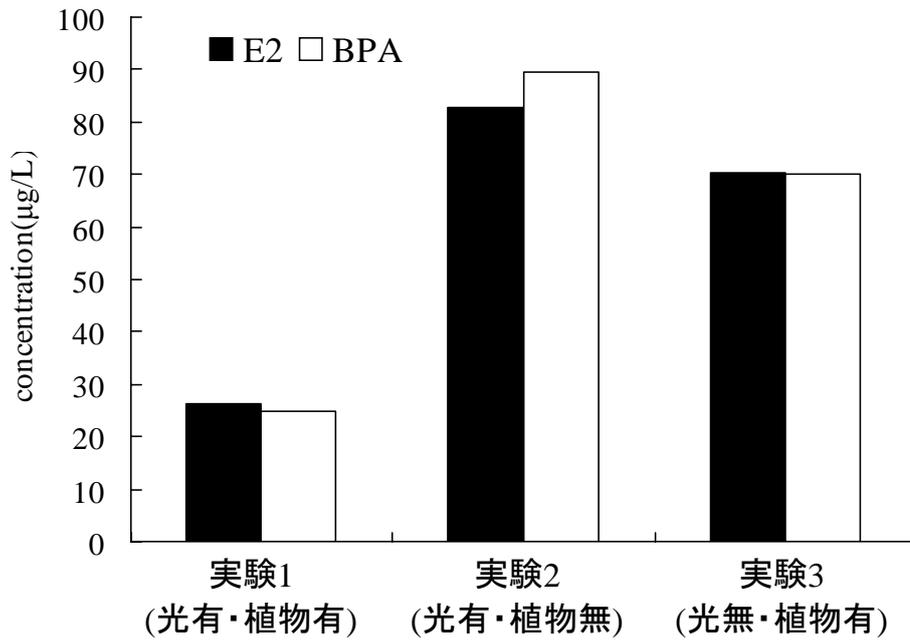


図-2.1 光の有無による 24 時間後の溶液中の E2, BPA 濃度²⁰⁾

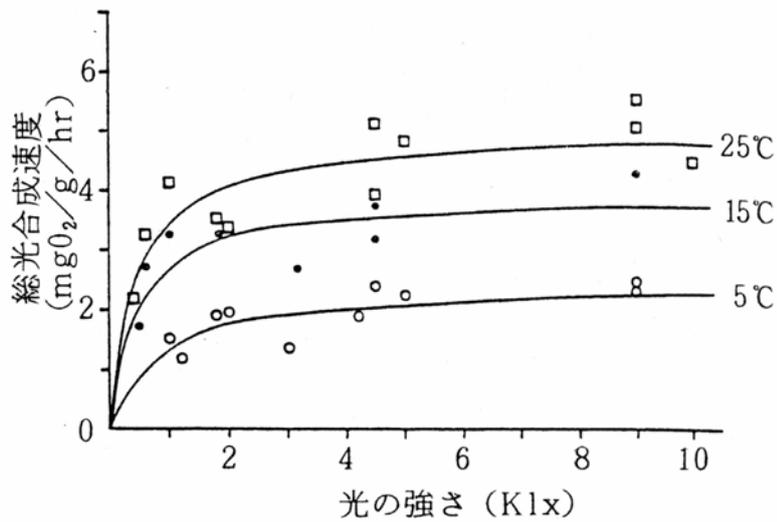


図-2.2 コカナダモの光合成-光曲線²²⁾

2.2 実験方法

2.2.1 対象とした内分泌攪乱化学物質

対象とした内分泌攪乱化学物質の物性値を表-2.1, 分子構造を図-2.3 に示す²³⁾.

a) Bisphenol A (BPA)

内分泌攪乱化学物質として SPEED'98 のリストに挙げられている. ポリカーボネート樹脂やエポキシ樹脂などの原料として利用されており, 我々の生活環境に広く存在している. 近年, BPA の極めて低用量における作用についても報告されており, その有害影響が指摘されている^{24) 25)}.

b) 17 β -estradiol (E2)

天然エストロゲンの一種であり, 人や家畜により主にグルクロン酸等の抱合体として排泄され, 環境中で分解され遊離体となる. 環境中では比較的低濃度であるが, 代表的な卵包ホルモンで最も活性が強く, 水性生物のメス化や繁殖への影響に関する主因物質と考えられている²⁶⁾⁻²⁸⁾.

c) Estrone (E1)

天然エストロゲンの一種であり, E2 の酸化により変換される物質である. エストロゲン活性は E2 の 0.3 倍程度である²⁹⁾.

2.2.2 内分泌攪乱化学物質の分析方法

分析方法はメチル誘導体化・GC/MS-SIM 法を用い, 環境庁水質保全局水質管理課の要調査項目等調査マニュアル及び, 菊田らにより検討された E2, E1, BPA の同時分析法をもとに分析を行った³⁰⁾⁻³³⁾. 抽出フローを図-2.4 へ, 誘導体化フローを図-2.5 に示す.

a) 抽出法

・水試料

200mL の水試料を測り取り, サロゲート 4 μ g(17 β -estradiol-2,4,16,16-d₄), 1M-HCl 0.2mL を加え十分に混合した. 吸引ろ過器に C18 エムポアディスクをセットし, メタノール 10mL, 純水 10mL でコンディショニングしたのち, 試料を 20mL/min の流速で通水した. 通水後, 酢酸エチル/メタノール(5:1)5mL で溶出した.

・植物試料

植物試料は純水を用い、表面を洗浄したのち細かく裁断し、すり鉢に入れメタノール 30mL を加えながらすりつぶした。サロゲート 4 μ g を添加し十分混合したのち、超音波洗浄器を用いて 10 分間抽出を行った。3000rpm で 20 分間遠心分離を行い、上澄み液を回収した。残渣にはさらにメタノール 30mL を加え、同様の抽出操作を行い、上澄み液をあわせなす型フラスコにいった。40 $^{\circ}$ C のロータリーエバポレーターで 10mL まで減圧濃縮し、超純水を 100mL 加えよく混合させ、水試料と同様の操作で固相抽出を行った。

・付着藻類試料

アクリル板に付着した藻類を剥がし取り、3000rpm で 20 分間遠心分離を行い、上澄みを捨てて藻類試料とした。この藻類試料は植物試料と同様の操作で前処理、抽出を行った。

b) 誘導体化法

抽出液を 40 $^{\circ}$ C の吹き付け試験管濃縮装置にセットし、窒素ガスを吹き付けて 1mL まで濃縮した。これにヘキサン溶液 5ml を入れ、栓をして激しく振り混ぜ、静置後パスツールピペットでヘキサン層を採取した。このヘキサン溶液を 40 $^{\circ}$ C の吹き付け試験管濃縮装置にセットし、窒素ガスを吹き付けて乾固した。乾固した試料に 1M-NaOH/メタノール溶液 0.5mL を加え、50 $^{\circ}$ C の吹き付け試験管濃縮装置にセットし、窒素ガスを吹き付けて充分乾固・乾燥した(溶液乾固後、15 分以上窒素ガスを吹き付けた)。これにジメチル硫酸 0.5mL を加え、析出している固体部分にジメチル硫酸を接触させ、直ちにスパーテルを用いて試験管内の内面に付着している固形物をすりつぶした。スパーテルを入れたままで、約 30 分間室温で放置した。1M-KOH/エタノール溶液 4.5mL を加え、次いで超純水 3mL を加えてスパーテルで内容物をかき混ぜ、スパーテルを取り出し、栓をして激しく振り混ぜ内容物を溶解させた。その後、70 $^{\circ}$ C の湯欲に 1 時間浸してアルカリ分解を行った。室温にて放冷後、ヘキサン 2mL を加え、激しく振り混ぜて静置した。パスツールピペットでヘキサン層を採取した後、40 $^{\circ}$ C の吹き付け試験管濃縮装置にセットし、窒素ガスを吹き付けて乾固した。これにヘキサン 400 μ L を加え、試験管内の内面からヘキサンに溶かし込んだものを試料液とした。

c) GC/MS 条件

- ・カラム : DB-5MB
- ・カラム温度 : 60 $^{\circ}$ C(1 分) \rightarrow 20 $^{\circ}$ C/分 \rightarrow 280 $^{\circ}$ C(10 分)

- ・注入口温度 : 290°C
- ・インターフェース温度 : 280°C
- ・検出モード : SIM
- ・注入量 : 2μL

2.2.3 実験方法

a) 沈水植物による水溶液中、植物中の EDCs 濃度、含量に関する経時変化

図-2.6 に示すように、純水に濃度を調整した BPA 及び E2 溶液に沈水植物を投入した Test sample と植物を入れず、溶液のみの Control sample を用意した。これらのサンプルを図-2.7 に示すような実験装置で水温、照度一定のもと EDCs の吸収実験を行った。光の照射には自然光に近い光を再現できるよう、セラミックメタルハライドランプを用いた。本実験での実験条件を表-2.2 に示す。各実験において一定時間 EDCs 溶液に浸した後、水試料、植物試料に分けて BPA、E2 及び E1 の濃度を測定した。本実験では、実験開始 4, 12, 24, 36, 48, 72, 120 時間経過後に EDCs 濃度の測定を行った。

本実験では沈水植物として図-2.8 に示すアナカリス(学名 : *Egeria Densa*)を使用した。アナカリスは湖沼や川にはえる沈水性の多年草であり、雌雄異株であるが日本には雄株だけが帰化し栄養繁殖で増えている。アルゼンチン原産で、日本には大正時代に帰化し現在では本州～九州で広く繁殖している。また他の沈水植物と比較し、低温や水質汚濁に比較的強く栽培が容易であるということからも、都市の用水路等でもみかけられ、既往の研究でもよく利用されている植物である。

b) 付着藻類による水溶液中、植物中の EDCs 濃度、含量に関する経時変化

付着藻類は神奈川県川崎市を流れる二ヶ領用水において、図-2.9 に示すように、紙やすりで表面を粗くしたアクリル板を設置し、培養を行った。2ヶ月後に回収し、実験試料とした。実験はアナカリスによる吸収実験と同一の実験条件のもとで、EDCs 溶液に付着藻類を投入し行った。なお、水溶液量については藻類の量がアナカリスに比べて少ないことから 500mL とし、実験開始 24, 72 時間経過後の時間の水溶液及び付着藻類体内の EDCs 濃度を測定した。

c) EDCs の吸収、分解における水温の変化の及ぼす影響

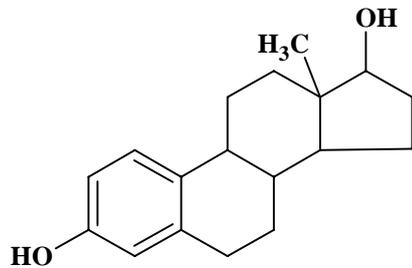
水温を 25°C, 17°C, 10°Cの三通りの条件のもとで、それぞれアナカリスによる EDCs の吸収実験を行い、実験開始 12, 24, 72 時間経過後の水溶液及びアナカリス体内の EDCs 濃度を測定した。

d) Ampicillin の添加による EDCs の浄化実験

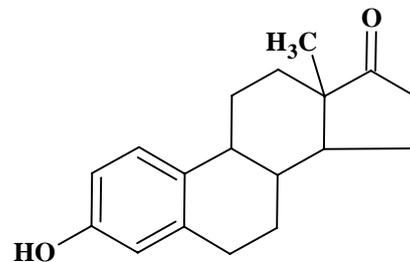
Xia らによるエチオンの吸収実験を参考にし、アナカリスを浸漬した、EDCs 溶液に Ampicillin を濃度が 10mg/L になるように添加することにより、水溶液及び植物表面の微生物を静菌し、EDCs の吸収実験を行い、実験開始 12, 24, 72 時間経過後の水溶液の EDCs 濃度を測定した³⁴⁾。

表-2.1 分析対象物質の物性値²³⁾

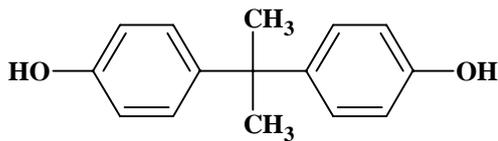
化合物名	組成式	分子量	融点 [°C]	水溶解度(25°C) [mg/L]	Log K _{ow}
17β-Estradiol (E2)	C ₁₈ H ₂₄ O ₂	272.39	178.5	3.6	4.01
Estron (E1)	C ₁₈ H ₂₂ O ₂	270.37	260.2	30	3.13
Bisphenol A (BPA)	C ₁₅ H ₁₆ O ₂	228.29	153	120	3.32



17β-estradiol (E2)



Estrone (E1)



Bisphenol A (BPA)

図-2.3 分析対象物質の構造式

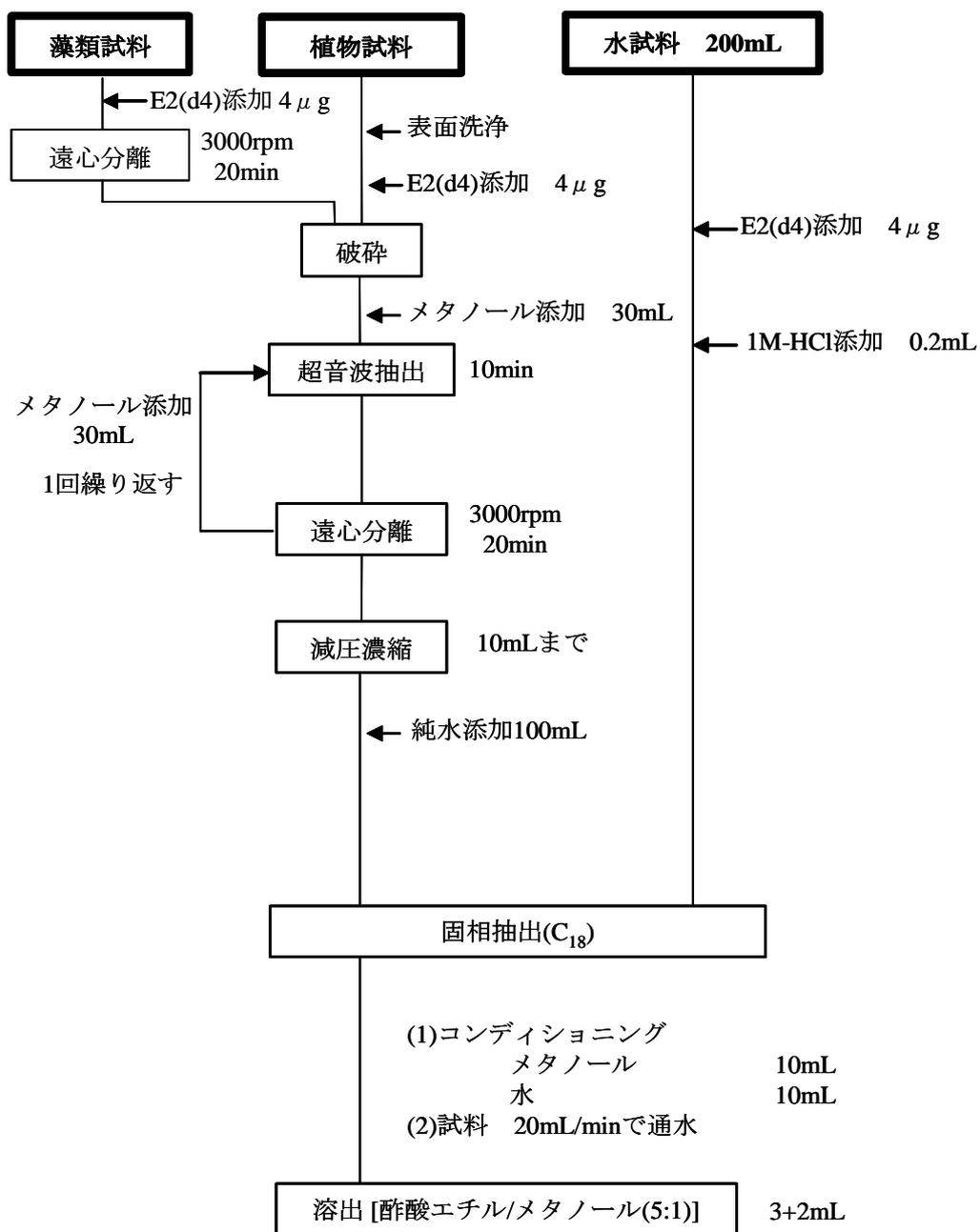


図-2.4 内分泌攪乱化学物質の抽出法

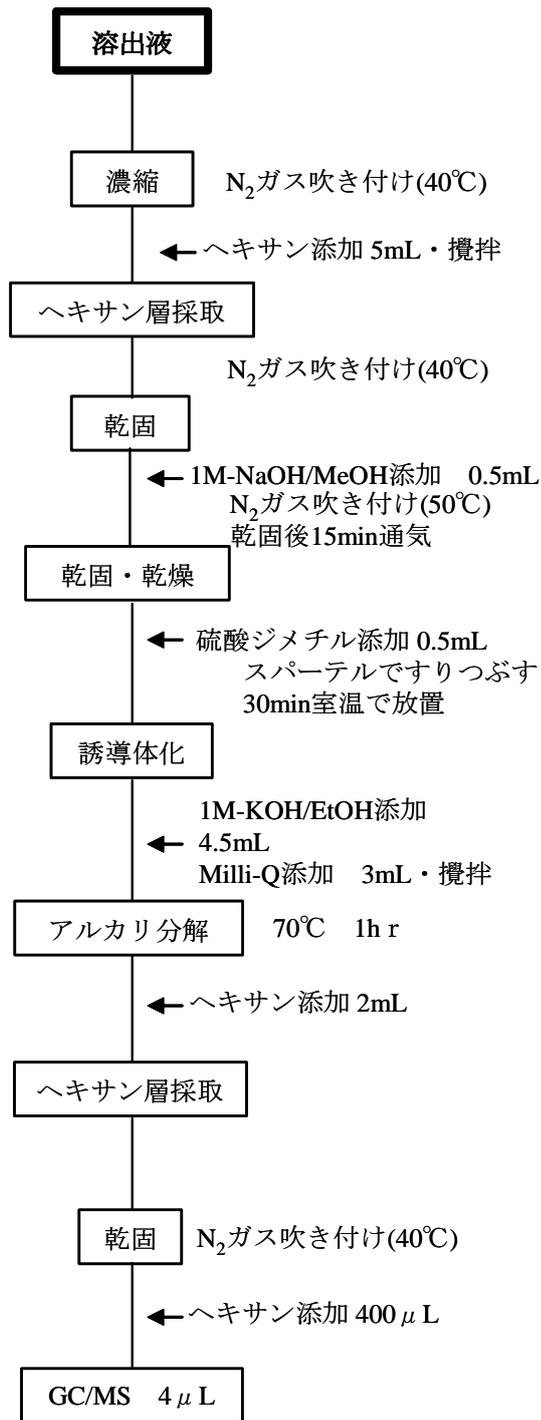


図-2.5 内分泌攪乱化学物質の誘導体化法



Control sample

Test sample

図-2.6 実験サンプル図



図-2.7 実験装置

表-2.2 実験条件

水溶液量	1L
EDCs初期濃度	100 μ g/L
投入植物量(湿潤重量)	約5g
水温	25°C
照度	約10klux



図-2.8 アナカリス



図-2.9 藻類の培養

2.3 実験結果及び考察

2.3.1 沈水植物による EDCs 吸収・分解の経時変化

図-2.10～図-2.12 に BPA, E2 及び E1 の水溶液内の濃度の経時変化を示す。BPA は実験開始後 24 時間までは大幅な減少が見られたが、その後は非常に緩やかに減少した。E2 については実験開始 48 時間後までは大幅な減少が見られたが、BPA と同様の傾向でその後は大きく減少しなかった。本実験では初期には投入しなかった E1 が、時間が経過していくごとに増加していった。これは植物により、E2 が E1 へと酸化反応を起こしているからではないかと考えられる。また、120 時間経過後には E1 は減少していることから、E2 から E1 に変換し、またその E1 も分解されていると予測される。

図-2.13～図-2.15 に BPA, E2 及び E1 の植物体内の含量の経時変化を示す。BPA, E2 共に実験開始 12 時間後までは植物体内中の含量が増加して、その後は含量が減少傾向にあった。これは、アナカリスが BPA, E2 をアナカリスが水溶液中から吸収し、体内中で分解しているからだと考えられる。しかし、120 時間後には植物体内中の含量が増加した。これは、本実験では EDCs 溶液の溶媒に純水を使ったことから、栄養分が不足し、植物の活性が低下し、分解能も低下したためだと考える。そのため、栄養塩を添加しながら吸収実験を行うことが今後の課題としてあげられる。また E1 に関しては水溶液中での濃度の経時変化と同様、E2 の酸化による増加が観察された。

以上の実験結果を用いて、式(2-1)で定める EDCs 除去率を求めた。

$$\text{除去率(\%)} = 100 - \left(a_w + a_v + \frac{C_0 - C_{control}}{C_0} \times 100 \right) \quad (2-1)$$

ここで $a_w(\%)$: Test sample における水溶液内の BPA, E2 残存率, $a_v(\%)$: Test sample における植物体内の BPA, E2 残存率, $C_0(\mu\text{g/L})$: 実験開始時の水溶液内の BPA, E2 濃度, $C_{control}(\mu\text{g/L})$: Control sample における水溶液内の BPA, E2 濃度である。

実験開始 120 時間経過時における BPA 除去率は 34%, E2 除去率は 51% となった。

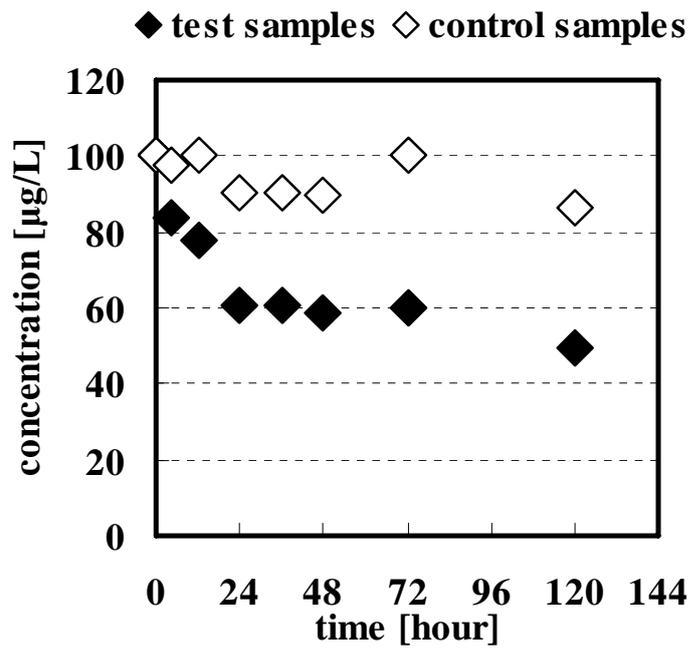


図-2.10 水溶液中の BPA 濃度の経時変化

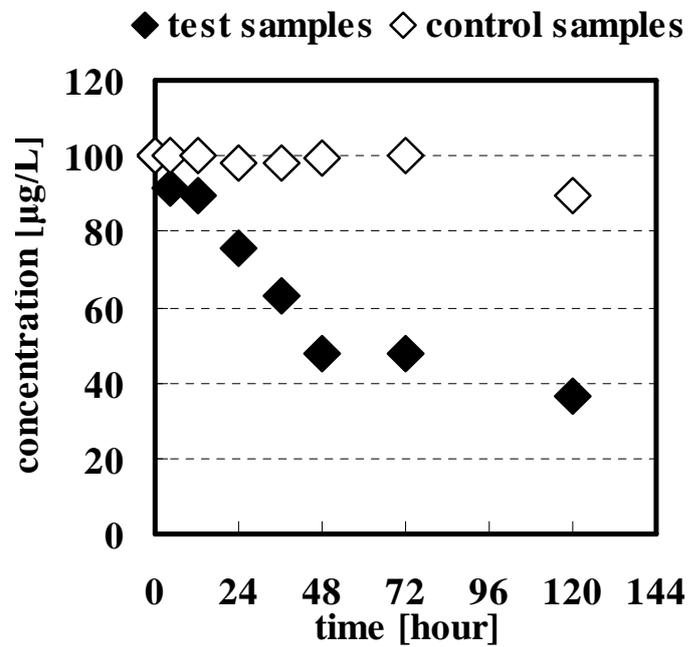


図-2.11 水溶液中の E2 濃度の経時変化

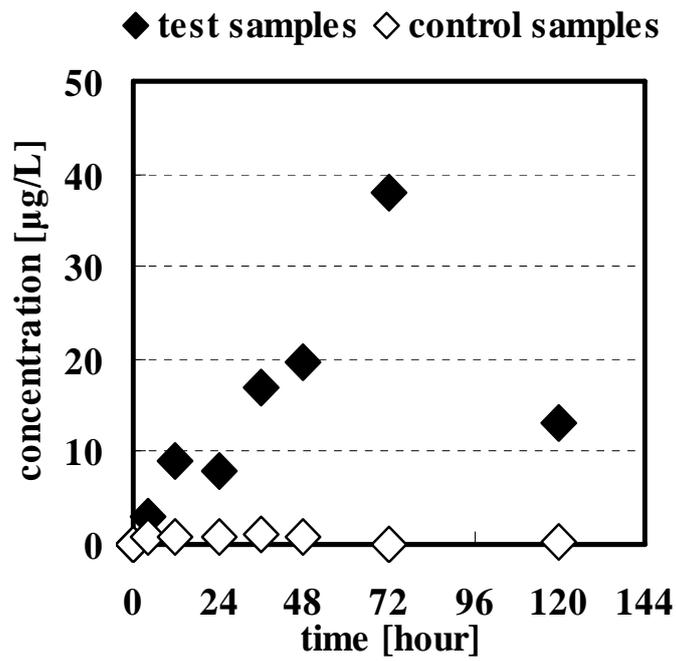


図-2.12 水溶液中の E1 濃度の経時変化

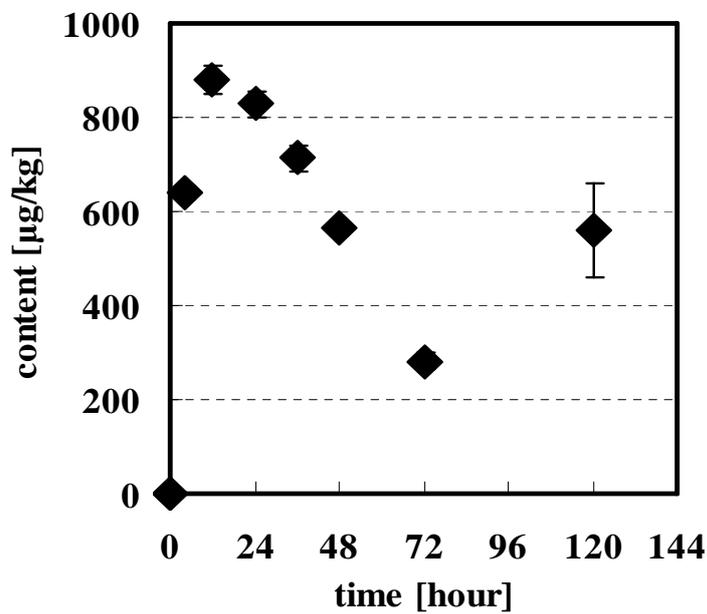


図-2.13 植物試料中の BPA 含量の経時変化

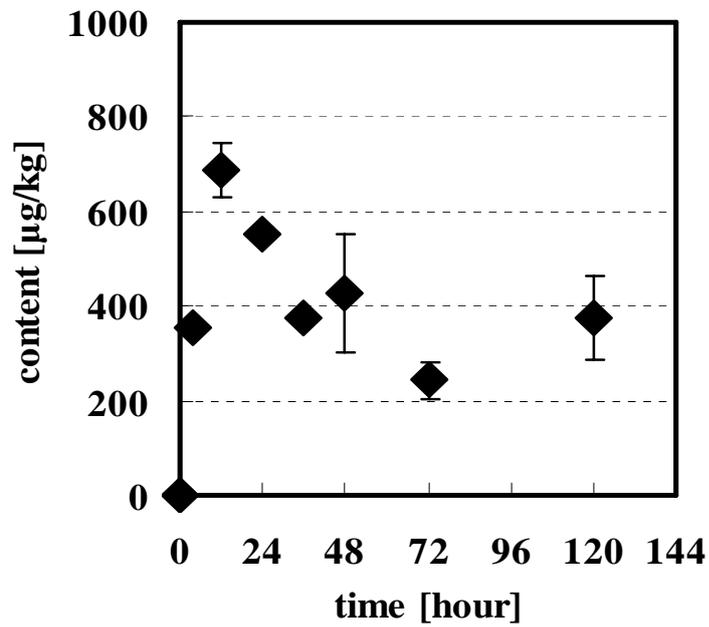


図-2.14 植物試料中の E2 含量の経時変化

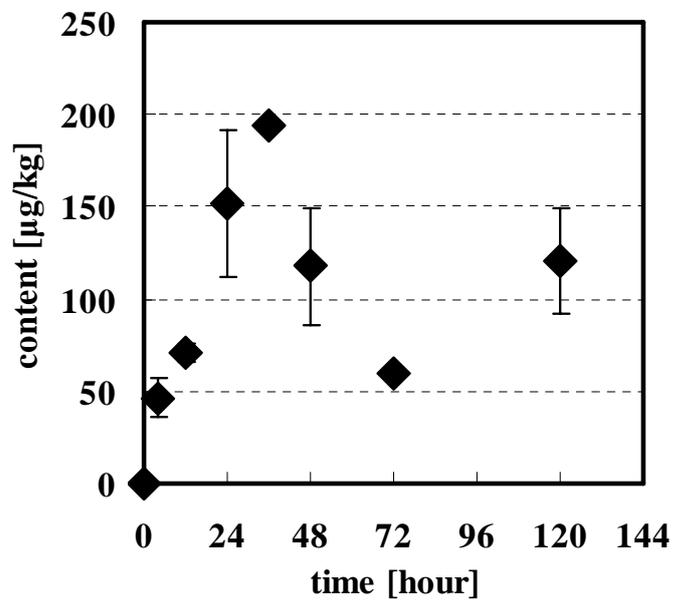


図-2.15 植物試料中の E1 含量の経時変化

2.3.2 付着藻類による EDCs 吸収・分解の経時変化

図-2.16～図-2.18 に BPA, E2 及び E1 の水溶液内の濃度の経時変化を示す。水中の BPA はアナカリスによる実験と同程度の減少が見られた。E2 およびその派生体である E1 については、ほぼ完全に水溶液中から無くなった。

図-2.19～図-2.21 に BPA, E2 及び E1 の植物体内の含量の経時変化を示す。どの物質に関してもアナカリスよりも含有量は小さく、極めて低い量しか含有していなかった。そのため、付着藻類により BPA, E2 及び E1 は分解され、E2, E1 についてはほぼ完全に除去されたと考えられる。

図-2.22 に実験開始前と実験開始 72 時間後の付着藻類の様子を示す。実験開始 72 時間後ではバイオフィルムの発達が観察された。バイオフィルムとは微生物が排泄するスライムで囲まれた微生物の集合体であり、自動力のない表面または生きた表面に付着している透明でゲル上の膜である。これは、培養は実際の河川で行なったため、流水の効果によりバイオフィルムが厚くならなかったが、実験は静水中で行なったため、バイオフィルムが厚く発達してしまったためであると考えられる。このバイオフィルム中には、さまざまな種の藻類や微生物が多数生息している。そのため、特に E2, E1 の大きな分解能を有する種が生息していたため、大きな E2, E1 の減少が見られたと予測される。また、BPA は人工物質であるのに対して、E2, E1 は天然のエストロゲンであるため、分解能力を有する種も豊富に存在し、このような吸収・分解のしやすさの差がでたのではないかと考えられる。

実験開始 120 時間経過時における BPA 除去率は 43%、E2 除去率は 98% となった。

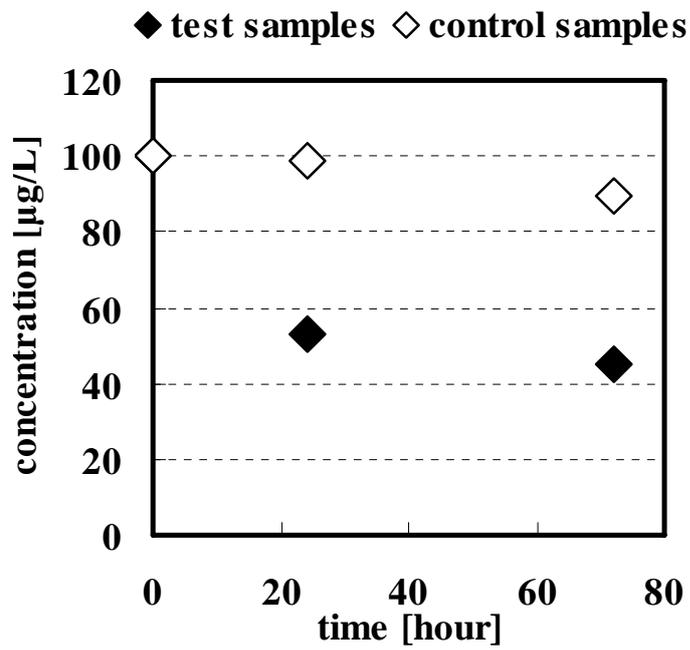


図-2.16 水溶液試料中の BPA 濃度の経時変化

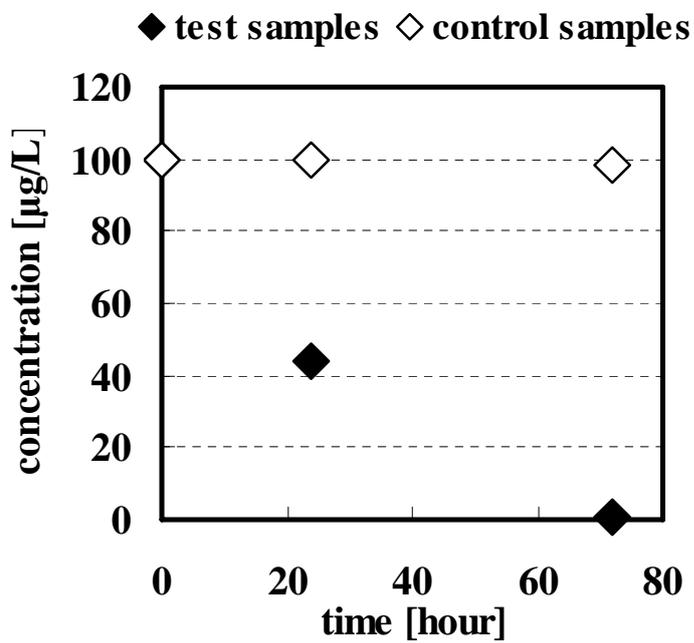


図-2.17 水溶液試料中の E2 濃度の経時変化

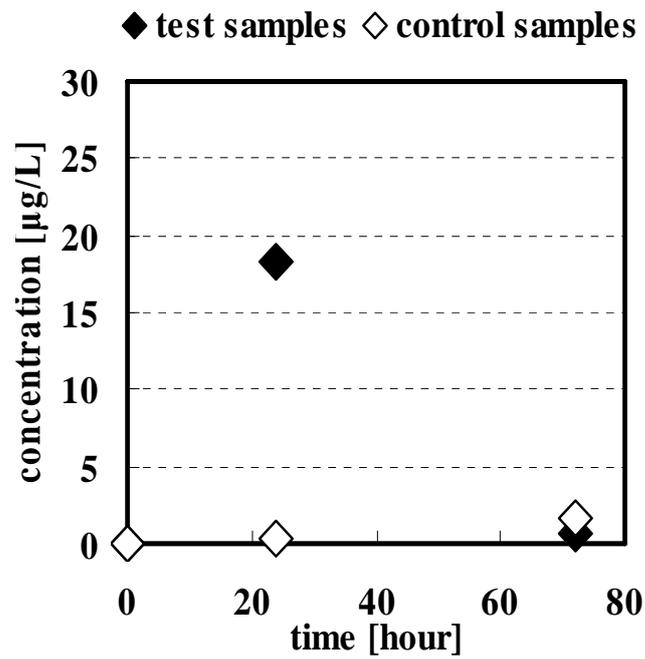


図-2.18 水溶液試料中の E1 濃度の経時変化

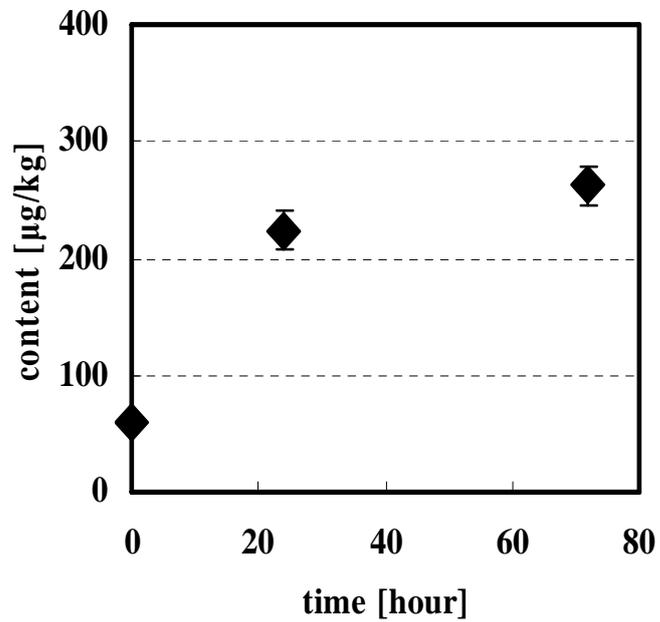


図-2.19 藻類試料中の BPA 含量の経時変化

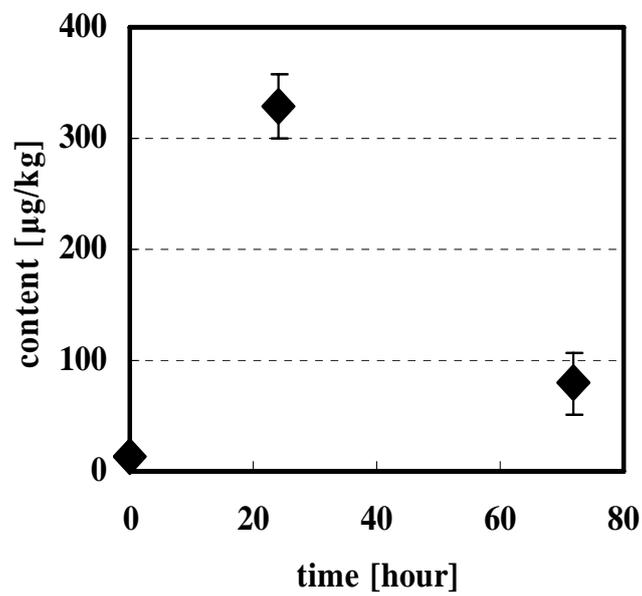


図-2.20 藻類試料中の E2 含量の経時変化

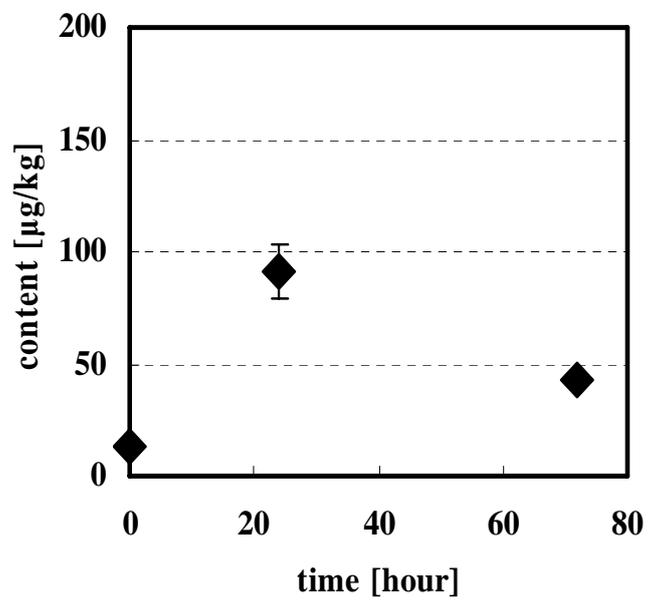


図-2.21 藻類試料中の E1 含量の経時変

実験前

実験開始72時間後

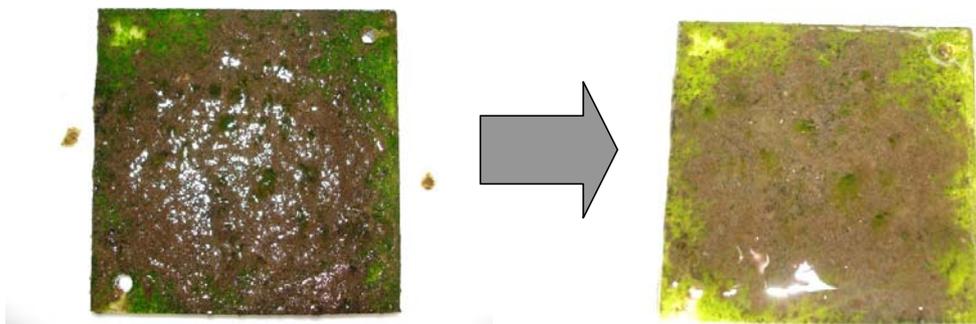


図-2.22 バイオフィルムの発達

2.3.3 EDCs 浄化能力に水温変化が及ぼす影響

図-2.23～図-2.25 にそれぞれの水温の条件による BPA, E2 及び E1 の水溶液内の濃度の経時変化を示す。10℃と 17℃での水溶液中の BPA 濃度はほぼ同じ挙動を示し、温度による吸収量の差異はみられなかったが、25℃では BPA の吸収量が大幅に増加した。E2 に関しては BPA よりも大きく温度依存性が見られ、10, 17, 25℃と水温が高くなるにつれて水溶液中の E2 濃度が減少した。これらの結果より、アナカリスは水温の上昇に伴い、BPA, E2 の吸収能力が増加すると考えられる。また E1 については 25℃で最も大きな濃度を示した。これは 25℃で E2 の減少量が最も大きかったため、E2 から E1 への変換量が多かったことによると考えられる。

図-2.26～図-2.28 にそれぞれの水温の条件による BPA, E2 及び E1 の植物体内の含量の経時変化を示す。BPA についてはどの温度についても 12 時間後に最も高い含量を示し、その後は BPA 含量が減少していく傾向を示した。E2 も 17℃のケースを除いては同様の傾向であった。また含量の温度ごとの差異は 25℃で、BPA, E2 共に全体的に低い含量を示した。これは、25℃の水温では、水溶液中での濃度変化から観察されたように吸収能力が大きいだけでなく、分解能力についても大きくなり、植物体内の BPA, E2 含量が小さかったと考えられる。E1 に関しては温度による差異が本実験からは見られなかった。

表-2.3 に各水温における実験開始 72 時間後の BPA, E2 の除去率を示す。BPA の除去率は 25℃で 17, 10℃と比較し 4 倍であった。E2 おいては水温が高いほど除去率が大きく、25℃では 17℃と比較して 2 倍の除去率となり、BPA, E2 共に 25℃では著しく除去率が向上する結果となった。

以上より BPA, E2 のファイトレメディエーションには水温による植物の活性の変化が大きく関係していることが予想される。

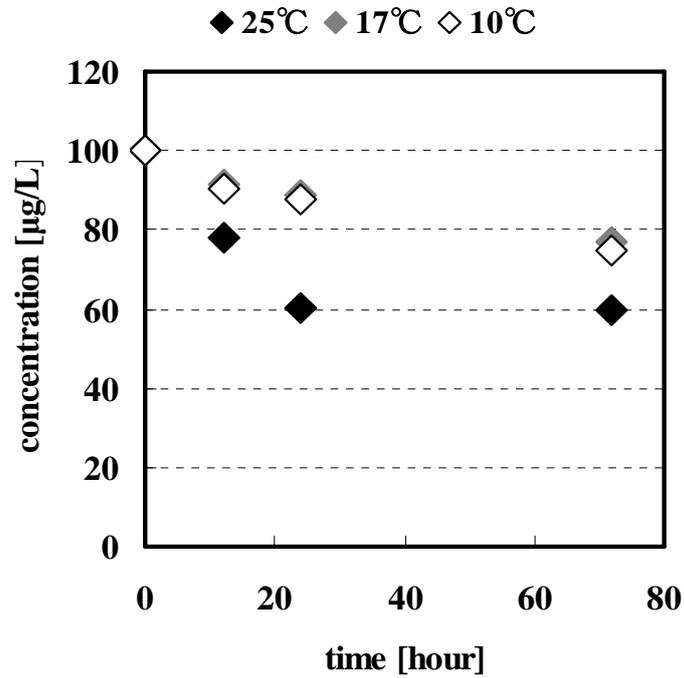


図-2.23 異なる水温での水溶液中の BPA 濃度

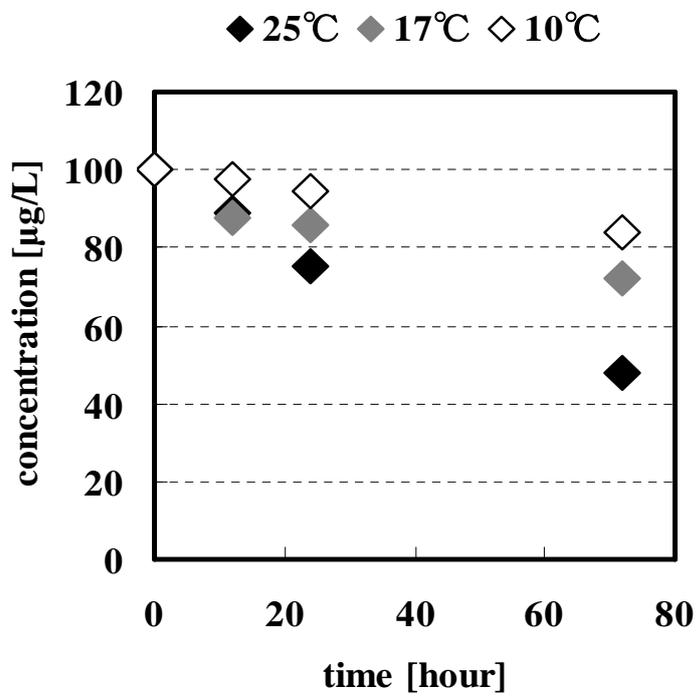


図-2.24 異なる水温での水溶液中の E2 濃度

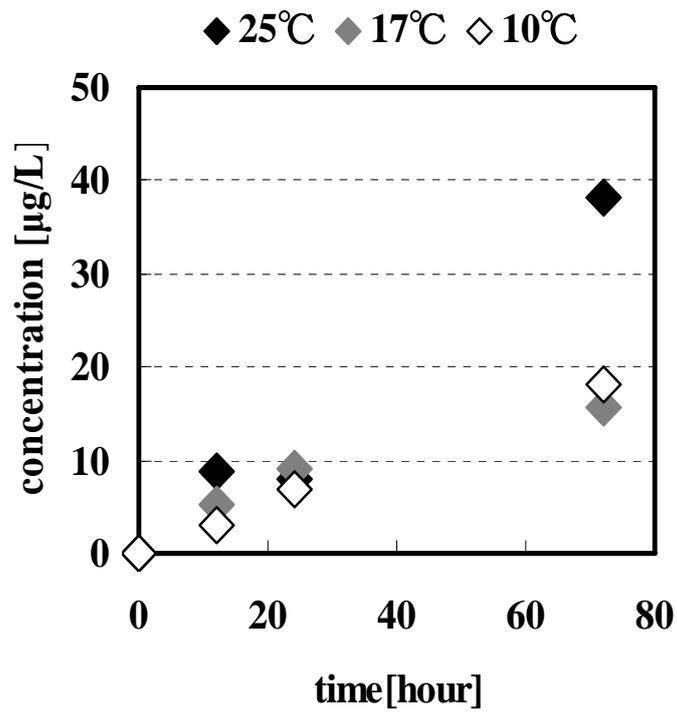


図-2.25 異なる水温での水溶液中の E1 濃度

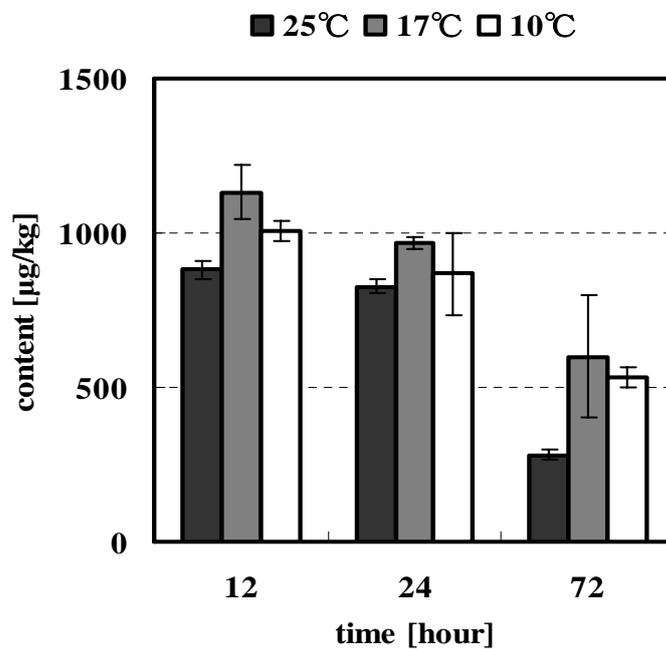


図-2.26 異なる水温での植物試料中の BPA 含量

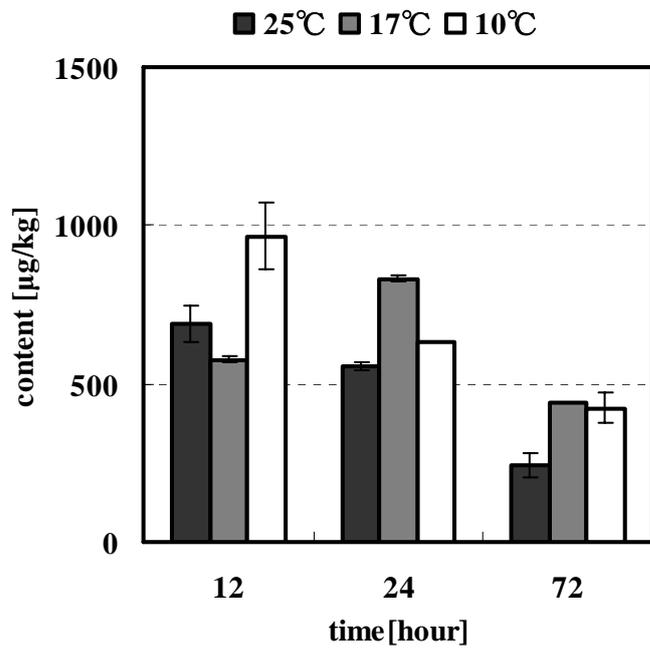


図-2.27 異なる水温での植物試料中の E2 含量

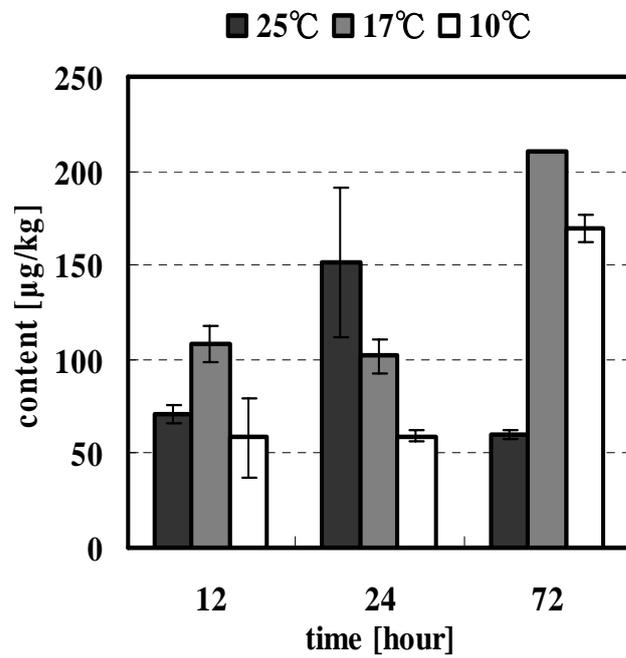


図-2.28 異なる水温での植物試料中の E1 含量

表-2.3 各水温における72時間経過後の除去率(%)

	BPA	E2
25°C	38	51
17°C	10	25
10°C	11	14

2.3.4 EDCs の浄化能力へ植物表面の微生物が及ぼす影響

図-2.29～図-2.31 に滅菌を行なったサンプルと滅菌を行なわなかったサンプルの BPA, E2 及び E1 の水溶液内の濃度の経時変化を示す. 水溶液中の BPA 及び E2 濃度に関してはどちらのサンプルもほぼ同じ挙動を示した. これより, BPA, E2 の除去にはアナカリスの表面に存在している微生物は関与しておらず, アナカリス自体が BPA 及び E2 の分解能力を持っていると考えられる. そのため BPA 及び E2 の分解経路としては, アナカリスは水中に存在するこれらの物質を体内中に吸収し, 体内で分解しているのではないかと考えられる.

また, 今までは植物体内及び植物表面を介した水溶液中での両方で分解反応が起きていると仮定していたため, 水溶液中での E1 の存在は水溶液中での E2 から E1 への反応によるものであると予測していた. しかし, 本実験から分解反応は植物体内でのみ起きていると考えられ, それにもかかわらず水溶液中に E1 が存在していることから, アナカリスは EDCs を一旦吸収したら体内に蓄積するのではなく, アナカリス体内から水溶液中への放出も行なっていると予測される. このことは, EDCs を大量に含有している植物の処理においては, 環境中への再放出の懸念があるため, 実際のファイトレメディエーションでは考慮していかなければならないことである.

◆ sterile water samples ◇ non-sterile water samples

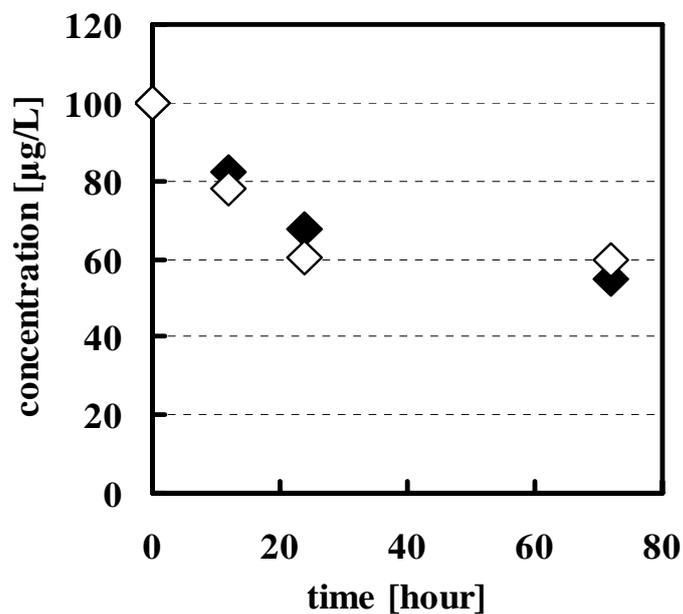


図-2.29 滅菌の有無による水溶液中の BPA 濃度の経時変化

◆ sterile water samples ◇ non-sterile water samples

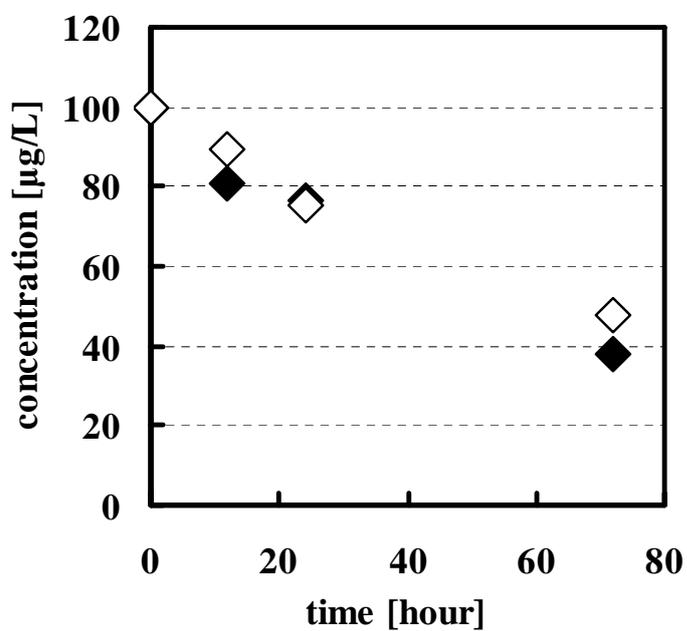


図-2.30 滅菌の有無による水溶液中の E2 濃度の経時変化

◆ sterile water sample ◇ non-sterile water sample

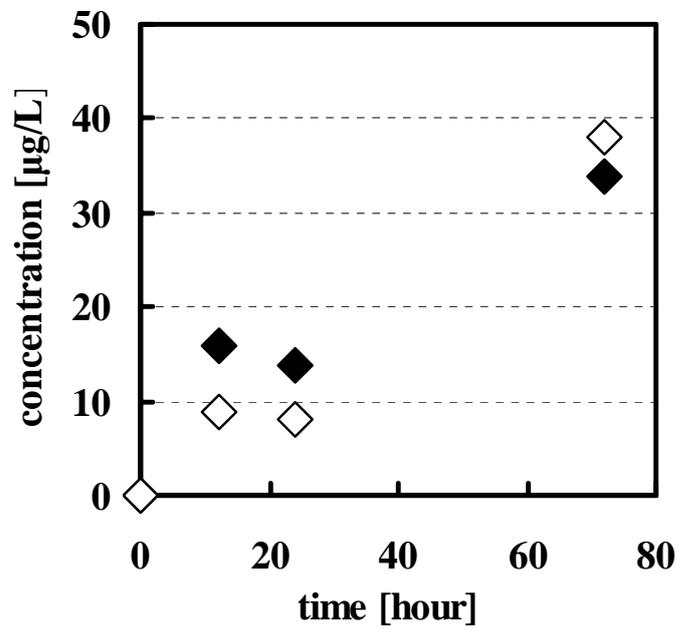


図-2.31 滅菌の有無による水溶液中の E1 濃度の経時変化

2.4 沈水植物における EDCs 吸収・分解速度の算定

2.4.1 EDCs 吸収・分解モデルの構築

本研究では Li らによるライグラスの農薬(trifluralin 及び lindane)の吸収, 分解モデルをもとにし, 水相と植物相の二相間での BPA, E2 の吸収, 放出, 分解を考慮した二相挙動モデルを提案する³⁵⁾. 二相間モデルの概略図を図-2.32 に示す. 図-2.32 中で C_w は水相中での EDCs 濃度, C_v を植物相中での EDCs 含量とする. 水-植物相中の EDCs の移動と植物相での分解は 1 次反応によるものを考えた. また, 水相での分解は 2.1 節での control sample を使った実験で小さいことが確認されたため, 本モデルには加えないこととした.

上記の吸収・放出過程, 分解過程を考慮し, 水相, 植物相について以下の式を定式化した.

水相での挙動

$$V \frac{dC_w}{dt} = -k_1 V C_w + k_2 M_v C_v \quad (2-2)$$

植物相での挙動

$$M_v \frac{dC_v}{dt} = k_1 V C_w - k_2 M_v C_v - k_3 M_v C_v \quad (2-3)$$

ここで

C_w : 水相中での EDCs 濃度 [$\mu\text{g/L}$]

C_v : 植物相中での EDCs 含量 [$\mu\text{g/kg}$]

V : 水溶液量 [L]

M_v : 植物重量 [kg]

k_1 : 吸収速度定数 [hr^{-1}]

k_2 : 放出速度定数 [hr^{-1}]

k_3 : 分解速度定数 [hr^{-1}]

とする. 式(2-2)及び(2-3)における $k_1 V C_w$ は水相から植物相への吸収, $k_2 M_v C_v$ は植物相から水相への放出, $k_3 M_v C$ は植物相での分解を表す項である.

2.4.2 モデルパラメータの推定方法

上述した二相モデルを用いて、実験値からモデル内のパラメータ(k_1 , k_2 , k_3)を推定するため、式(2-2)及び(2-3)を数値解析的に解き、水溶液の EDCs 濃度及び植物体内の EDCs 含量の実験値との相対誤差が最小になるようにカーブフィッティングを行った。

解析方法は $t=0$ [hr]時の水相中の初期濃度 $C_{w0}=100$ [$\mu\text{g/L}$]及び植物相中の初期含量 $C_{v0}=0$ [$\mu\text{g/kg}$]を与え、 $\Delta t=1/60$ [hour]の差分計算を行い、パラメータの最適化を行った。パラメータの最適化法には Shuffled complex evolution method(SCE-UA 法)を採用した。これはランダムなパラメータから出発し、遺伝的アルゴリズムを用いてそれを変化させることにより、競争原理によって最も誤差の小さいパラメータに入れ替えていく方法である³⁶⁾。

解析は水温が 25°C, 17°C, 10°Cでのアナカリスの吸収実験(2.3.1 及び 2.3.3)について行った。解析の手順としては、まず始めにサンプル数の最も多い 25°Cのケースについて最適化を行った。25°Cのケースでは 120 時間後には植物が衰弱していると考えられるため、72 時間後までの実験値を採用した。またパラメータ k_2 については既往の研究³⁵⁾において別の有機化学物質であるが 10^{-2} のオーダーであったため、 $10^{-2} < k_2 < 1.0$ の制限を設けた。その後吸収速度定数である k_1 は最も水温の高い 25°Cであると仮定し、25°Cで求められた k_1 の値を上限とし、17°C, 10°Cについて最適化を行った。

2.4.3 結果及び考察

表-2.4 に各パラメータの数値解析結果、図-2.33~図-2.38 に BPA および E2 における各温度での実験値とカーブフィッティング結果を示す。BPA については水相、植物相共に実験値に近い推定曲線を描けたが、E2 については水相では実験値と近いものになったが、植物相での E2 含量においてピークで推定曲線がピークを過小評価したため、精度の高い結果とはならなかった。

各パラメータについては、分解速度定数 k_3 は BPA, E2 共に 25°Cで極めて大きい値を示した。そして、E2 では水温が上がるにつれて k_3 は増加傾向を示した。これは、2.3.3 における実験の除去量と同様の関係を示している。また、水相中、の EDCs 量は植物相中の EDCs 量に比べて極めて大きく、推定曲線が BPA, E2 共に水相で実験値と近い値をとっていることから、 k_3 は実験の分解の傾向を再現できていると考えられる。 k_1 については 25°Cの場合

が最も高いと予測し、解析を行ったが、いずれの水温でも同じ値を取った。これは、EDCsを取り込む速度は光合成のような水温に影響される活動には関係せず、一定であったと考えられる。

図-2.39～図-2.44 に各温度における BPA および E2 の吸収、放出、分解量の経時変化を示す。分解量が多い 25°C のケースでは放出量が小さく、分解量が小さかった 17°C、10°C のケースでは放出量が大きかった。植物相に存在できる EDCs 量は水相内の EDCs 量に比較して極めて小さいことから、植物相内に吸収された EDCs はあまり蓄積されず、分解されるか水相内に放出されるものが大部分を占めていると考えられる。そのため分解速度定数 k_3 が大きな値の場合、放出速度定数 k_2 は小さな値を取り、 k_3 が小さくなると、 k_2 は大きくなっていく傾向であったと予測される。以上より、これらのパラメータは本実験での一連のファイトレメディエーションの現象を再現できていると考えられる。

パラメータ k_1 , k_2 , k_3 は定数であり常に同じ状態での実験結果からの解析が望まれる。しかし、本研究では生きた植物を使ったため、活性を一定に保てないことや個体差が推定曲線のずれになったと考えられる。また、17°C、10°C についてはサンプル数が少なかつたため、推定曲線の挙動が実際の挙動に近いものであるかの確認が不十分である。そのため、これらのことを考慮して、モデル化を発展させていくことが今後の課題として挙げられる。

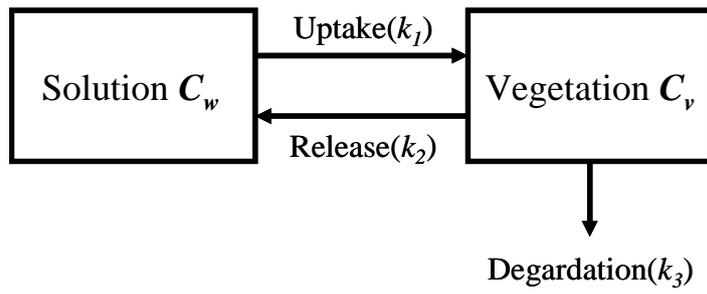


図-2.32 二相間モデルの概略図

表-2.4 各パラメータの数値解析結果

		k_1	k_2	k_3
BPA	25°C	0.014	0.010	0.264
	17°C	0.014	0.201	0.062
	10°C	0.014	0.207	0.083
E2	25°C	0.012	0.010	0.418
	17°C	0.012	0.234	0.153
	10°C	0.012	0.289	0.062

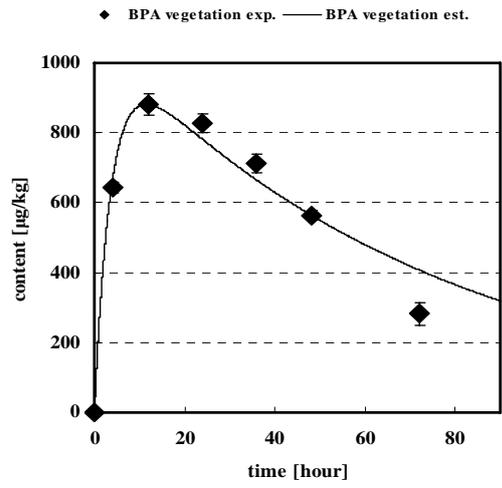
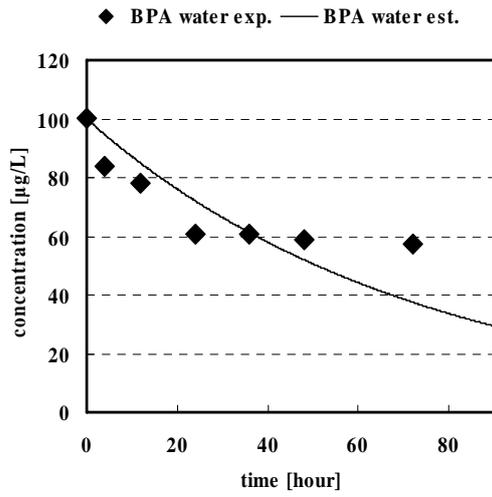


図-2.33 BPA の実験値とカーブフィッティングの結果(25°C)

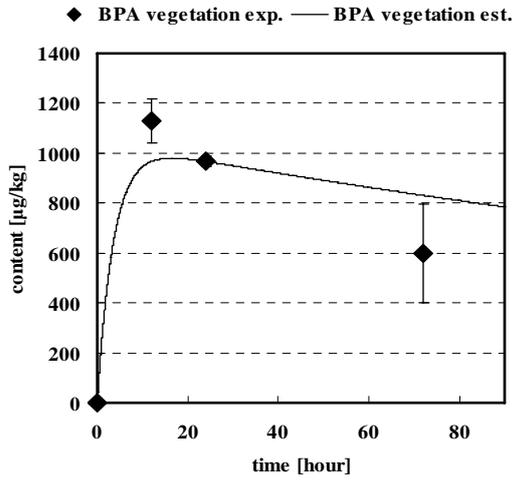
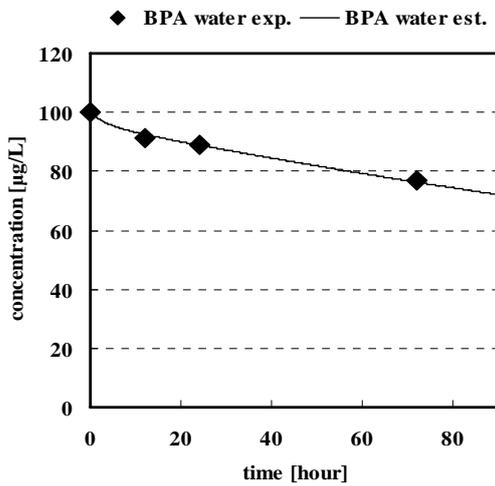


図-2.34 BPA の実験値とカーブフィッティングの結果(17°C)

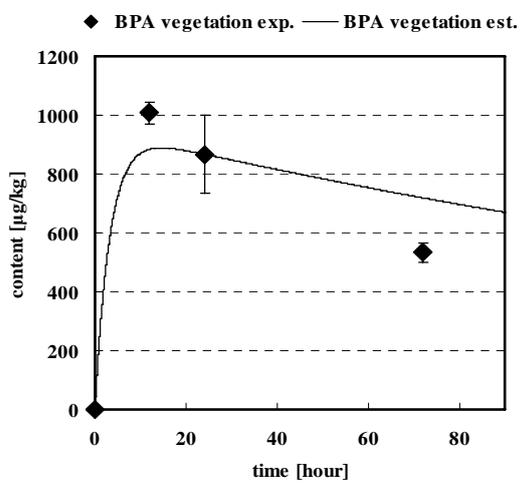
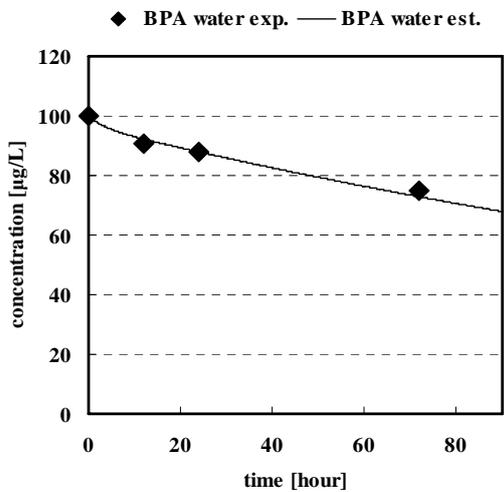


図-2.35 BPA の実験値とカーブフィッティングの結果(10°C)

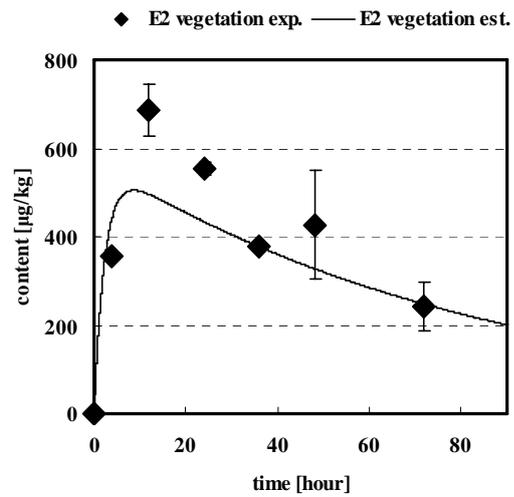
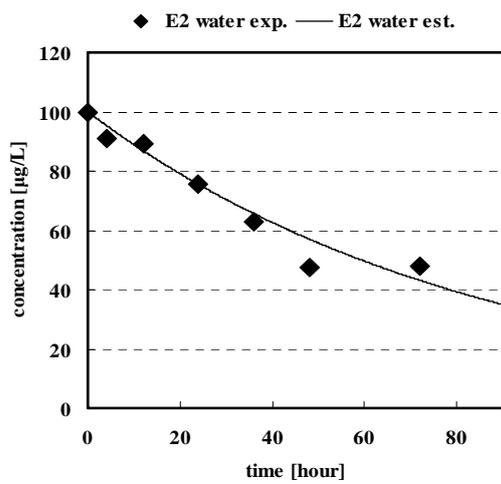


図-2.36 E2の実験値とカーブフィッティングの結果(25°C)

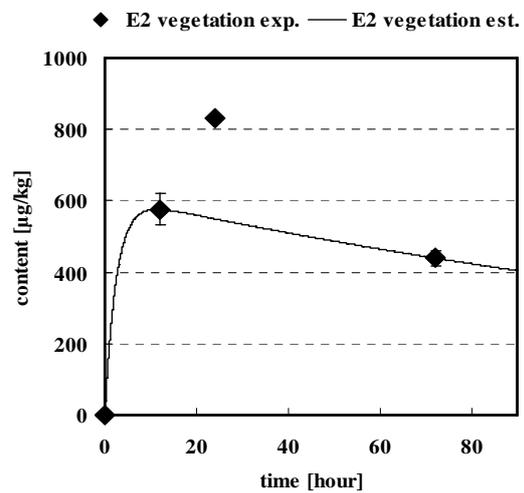
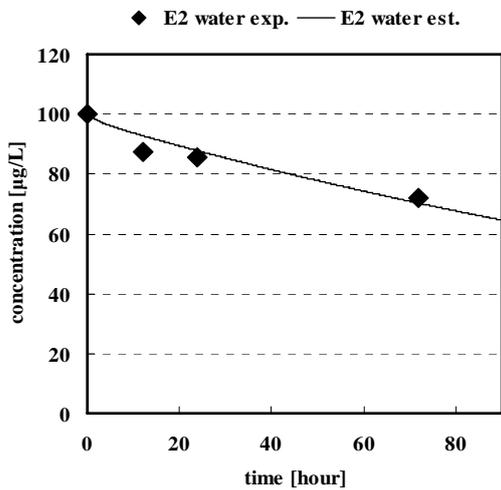


図-2.37 E2の実験値とカーブフィッティングの結果(17°C)

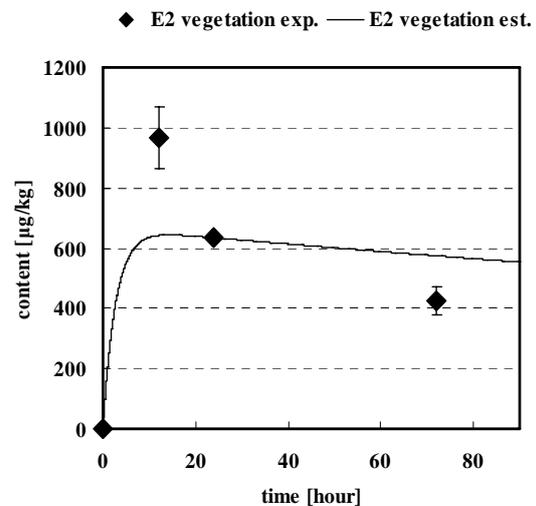
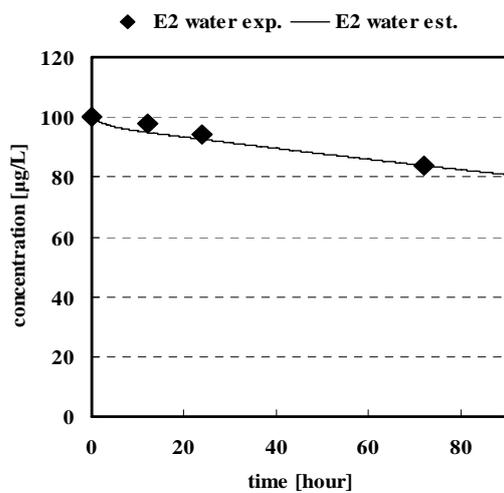


図-2.38 E2の実験値とカーブフィッティングの結果(10°C)

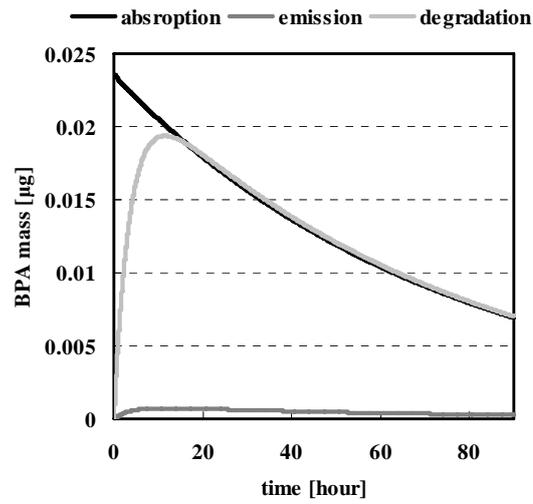


図-2.39 BPA の吸収, 放出, 分解量の経時変化(25°C)

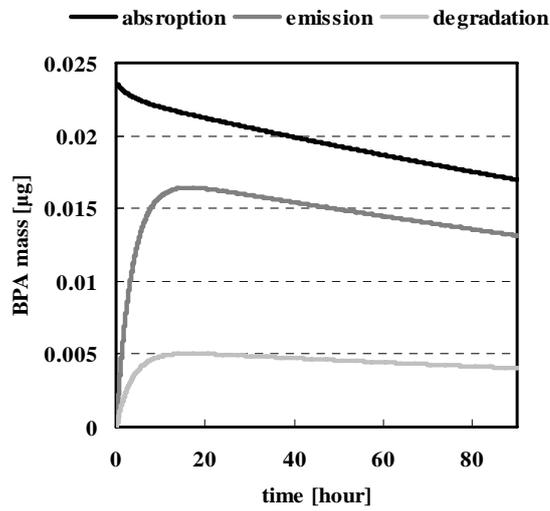


図-2.40 BPA の吸収, 放出, 分解量の経時変化(17°C)

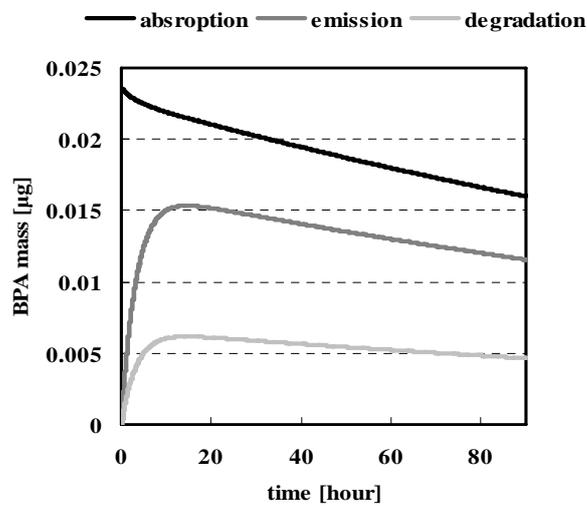


図-2.41 BPA の吸収, 放出, 分解量の経時変化(10°C)

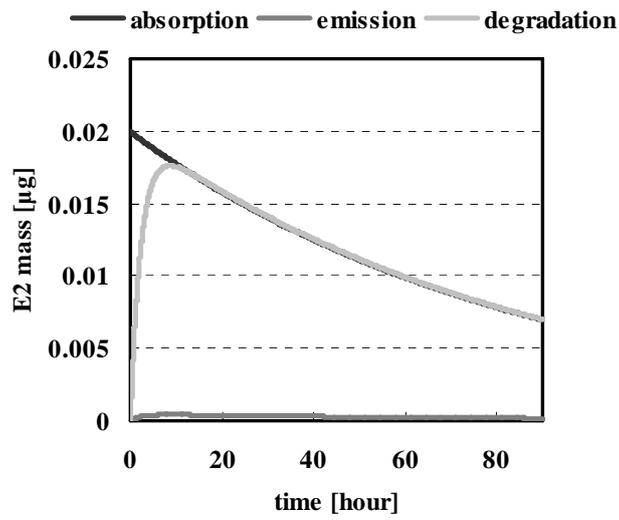


図-2.42 E2の吸収, 放出, 分解量の経時変化(25°C)

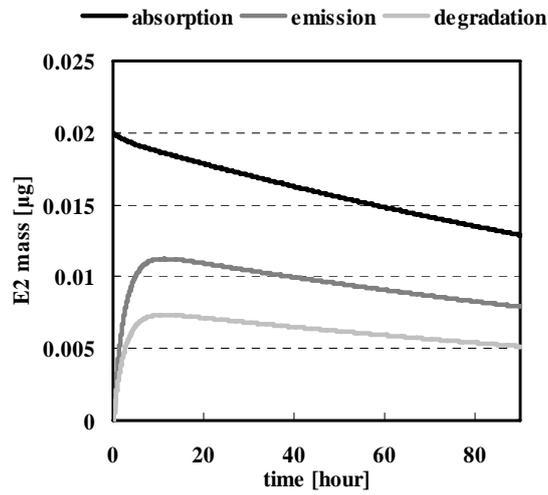


図-2.43 E2の吸収, 放出, 分解量の経時変化(17°C)

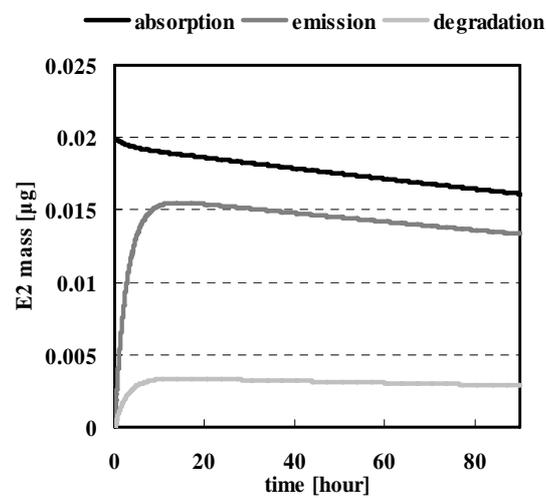


図-2.44 E2の吸収, 放出, 分解量の経時変化(10°C)

2.5 本章のまとめ

本章では、室内実験を通して沈水植物及び付着藻類による EDCs の除去特性の把握を行い、同時に、モデル化を行った。以下得られた知見を示す。

- ・ 沈水植物アナカリスは BPA 及び E2 体内に吸収し、体内中で除去していることが確認され、その過程において E2 は E1 に変換されていることがわかった。本実験の実験条件においては、実験開始 120 時間後には BPA を 34%、E2 を 51%除去した。
- ・ 付着藻類についても、同様に BPA、E2 の除去能力を有し、本実験の実験条件においては、実験開始 72 時間後には BPA を 43%、E2 を 98%除去した。
- ・ アナカリスの BPA、E2 の除去能力は水温による影響を受け、BPA については 10℃と 17℃では除去能力は変化しなかったが、25℃では著しく向上した。E2 については水温が高いほど、除去能力が向上する傾向にあった。
- ・ Ampicillin を添加して微生物の活性を抑えた実験系では、Ampicillin を添加していない実験系と比較し BPA、E2 の除去量の変化がみられず、BPA および E2 の除去は植物表面の微生物は関与しておらず、植物自身によるものであると推測された。
- ・ BPA、E2 の吸収・分解の二相モデルでは、BPA については比較的よく再現できたが、E2 については植物相でのピークを過小評価する傾向にあった。

第3章 流水中における水生植物による内分泌攪乱化学物質の吸収実験

3.1 実験の目的

本章では、流水中において沈水植物が EDCs を吸収・除去するか否かを検討する事を目的とする。また、静水中における吸収実験の結果との比較を行い、流速といった水理条件が沈水植物による EDCs の付着・吸収・除去に対して与える影響を考察する。

3.2 実験概要

3.2.1 実験使用水路概略

図-3.1 に示すアクリル製開水路に沈水植物を設置し、EDCs 溶液を流した。EDCs 溶液は循環ポンプ(口径：40mm, 全揚程：4.6m, 吐出量：0.25m³/min)を用いて上流端に運び水路内で循環させた。溶液を流して一定時間を経過させた後、水溶液試料および植物試料を水路内から採取して EDCs 濃度を分析した。実験は表-3.1 に示す 3 ケースの実験を行った。

3.2.2 実験使用植物及び実験使用内分泌攪乱化学物質

本実験では、静水中における吸収実験と同じく実験使用植物としてアナカリスを使用した。実験中に採取したアナカリスは長さ、茎径、湿潤重量を測定した。また EDCs として、ビスフェノール A(以下 BPA)と 17 β -エストラジオール(以下 E2)を使用した。実験開始時における水路内の E2, BPA 溶液の濃度は 100 μ g/L に調節して実験を行なった。

水路内に投入する E2, BPA 量及び設置するアナカリス量は、その重量比が前章の静水中における吸収実験と同程度となるように設定した。本実験ではアクリル製開水路に 100 μ g/L の E2, BPA 溶液 70L を投入した。よって湿潤重量約 700g のアナカリスを水路内に設置して実験を行なった。

3.2.3 分析方法

水溶液試料、植物試料の分析法は E2, BPA 共に ELISA 法³⁷⁾⁻⁴⁰⁾を採用した。水溶液試料に関しては、水路内を流れる E2, BPA 溶液から 2mL 採取し E2, BPA 濃度を測定した。植物試料に関しては、水路内に設置したアナカリス群落内から無作為に 1 本採取して、静水中における吸収実験と同じ前処理を行った後に E2, BPA 濃度を測定した。

3.2.4 植物設置方法

アナカリスは図-3.2 に示す植物固定装置を複数本用意し、図-3.3 に示すように水路内に並べて設置した。また設置地点に関しては図-3.4 に示すように、上流端からの水の流れが平衡に達したと思われる地点に、アナカリスを植えた植物固定装置を設置した。アナカリスの長さは水深とほぼ等しくなるように切り揃え、上流から流れてくる E2, BPA は全てアナカリス群落を通過して、下流端へと流れるように設定して実験を行なった。

3.2.5 実験方法

a) 水溶液、植物中の E2, BPA 濃度、含量の経時変化

表-3.1 に示した 3 ケースの実験において、実験開始後 4, 12, 24 時間経過時に水溶液試料及び植物試料の採取を行った。採取された試料内の E2, BPA 濃度を分析する事により、時間の経過に伴う水溶液及びアナカリス体内の E2, BPA 濃度変化を調べた。また得られた結果と、静水中における吸収実験で得られた水溶液及びアナカリス体内の E2, BPA の濃度の経時変化の比較を行い、静水や流水といった水理条件が水溶液及び植物体内の E2, BPA の挙動に与える影響について考察した。

b) 植物への付着及び吸収を考慮した水溶液-植物間の E2, BPA の挙動

表-3.1 で示した Case1 及び Case2 で得られた植物試料に関して、静水中における吸収実験と同じく、アナカリス表面を洗浄した水を廃棄せず回収し E2, BPA 濃度を分析した。検出された E2, BPA をアナカリス表面に付着した分とみなし、各試料の残存率の変動から付着・吸収過程を調べた。なお、水溶液試料の E2, BPA 残存率及び植物表面、体内の残存率を式(3-1)、式(3-2)および式(3-3)に定義した。そして Case3 のアナカリスを設置しない場合の結果と統合し、流水中のアナカリスによる E2, BPA 除去率を算定した。

水溶液試料における E2 及び BPA の残存率

$$a_w = 100 \times C / C_0 \quad (3-1)$$

ここで, $a_w(\%)$: 水溶液試料における残存率, $C(\text{g})$: 試料内に含まれる E2 または BPA 濃度, $C_0(\text{g})$: 実験開始時の水溶液内の E2, BPA 濃度である.

植物試料(表面, 体内)における E2 及び BPA の残存率

$$a_s = 100 \times m_s / m_0 \times M_{all} / M \quad (3-2)$$

$$a_v = 100 \times m_v / m_0 \times M_{all} / M \quad (3-3)$$

ここで, $a_s, a_v(\%)$: 植物表面, 植物体内における E2 または BPA の残存率, $m_s, m_v(\text{g})$: 各試料内に含まれる E2 または BPA 重量, $m_0(\text{g})$: 実験開始時に水路内に存在する E2 または BPA 重量, M : 植物試料の湿潤重量(g). M_{all} : 水路内に設置した植物全体の湿潤重量(g)である.

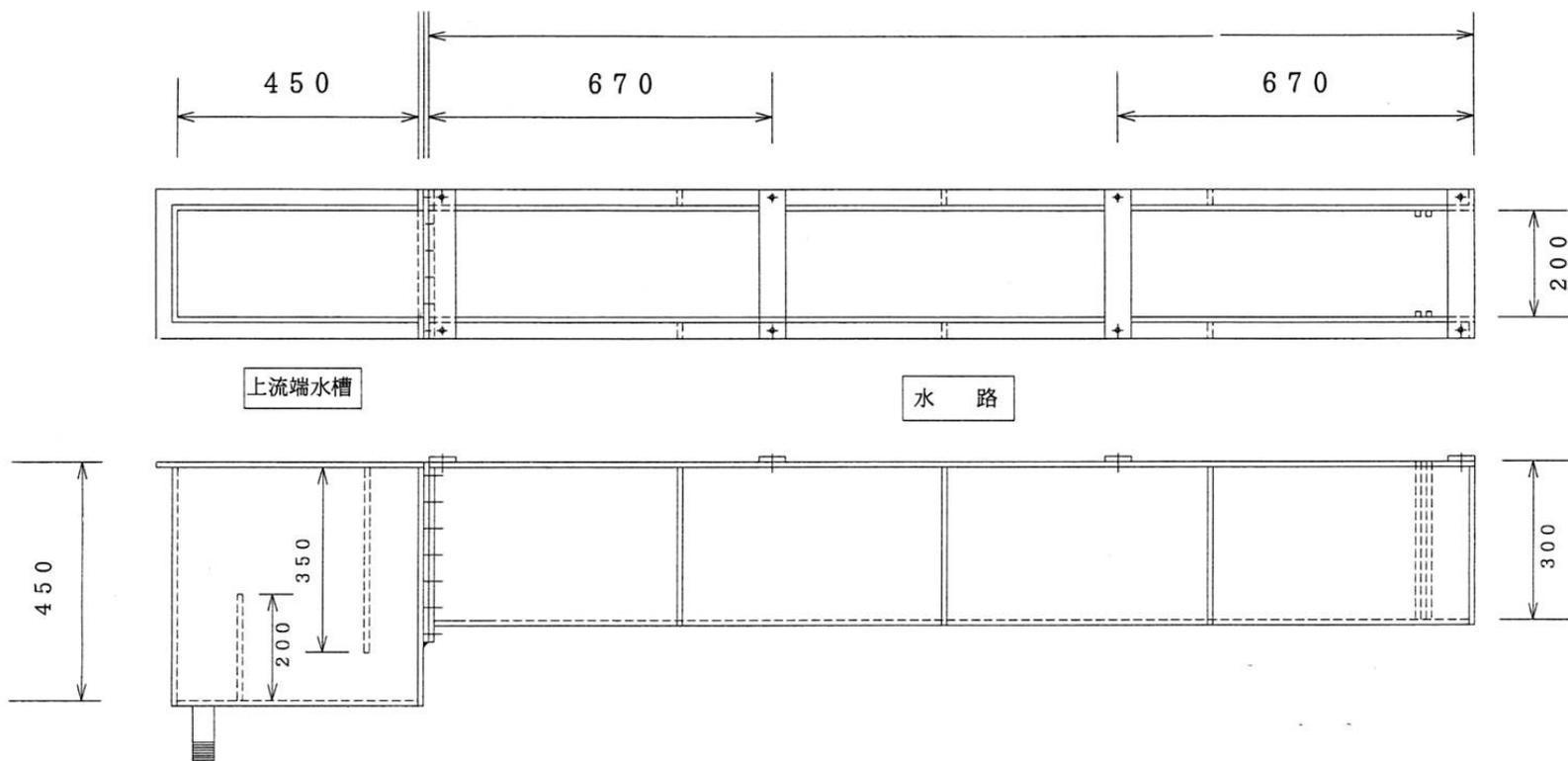


図-3.1 実験用開水路図 (mm)

表-3.1 実験条件

Case	水温 (°C)	光の 照射	照度 (lux)	植物 投入	平均水深 (cm)	平均流速 (cm/s)	エネルギー 勾配	フルード数
1	25	有	3000	有	11	20	0.005	0.19
2	25	有	3000	有	11	5	0.009	0.05
3	25	有	3000	無	11	20	0.006	0.19

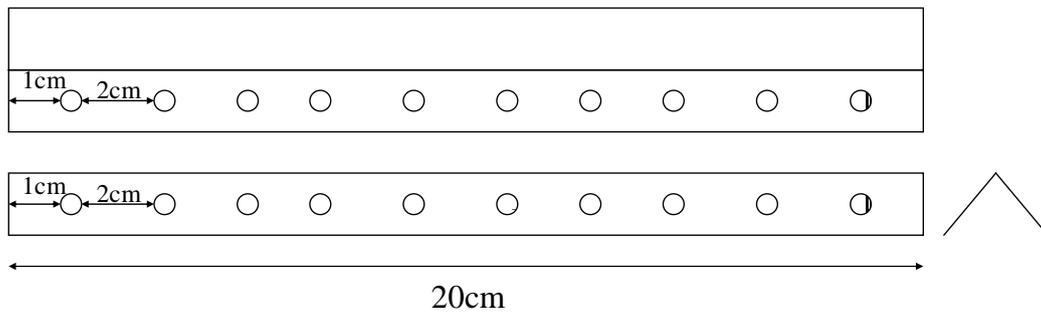


図-3.2 植物固定装置

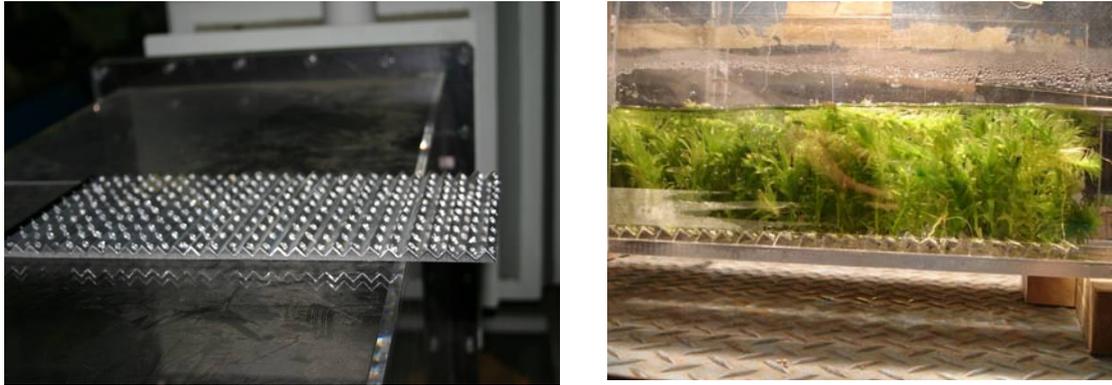


圖-3.3 植物固定裝置設置風景

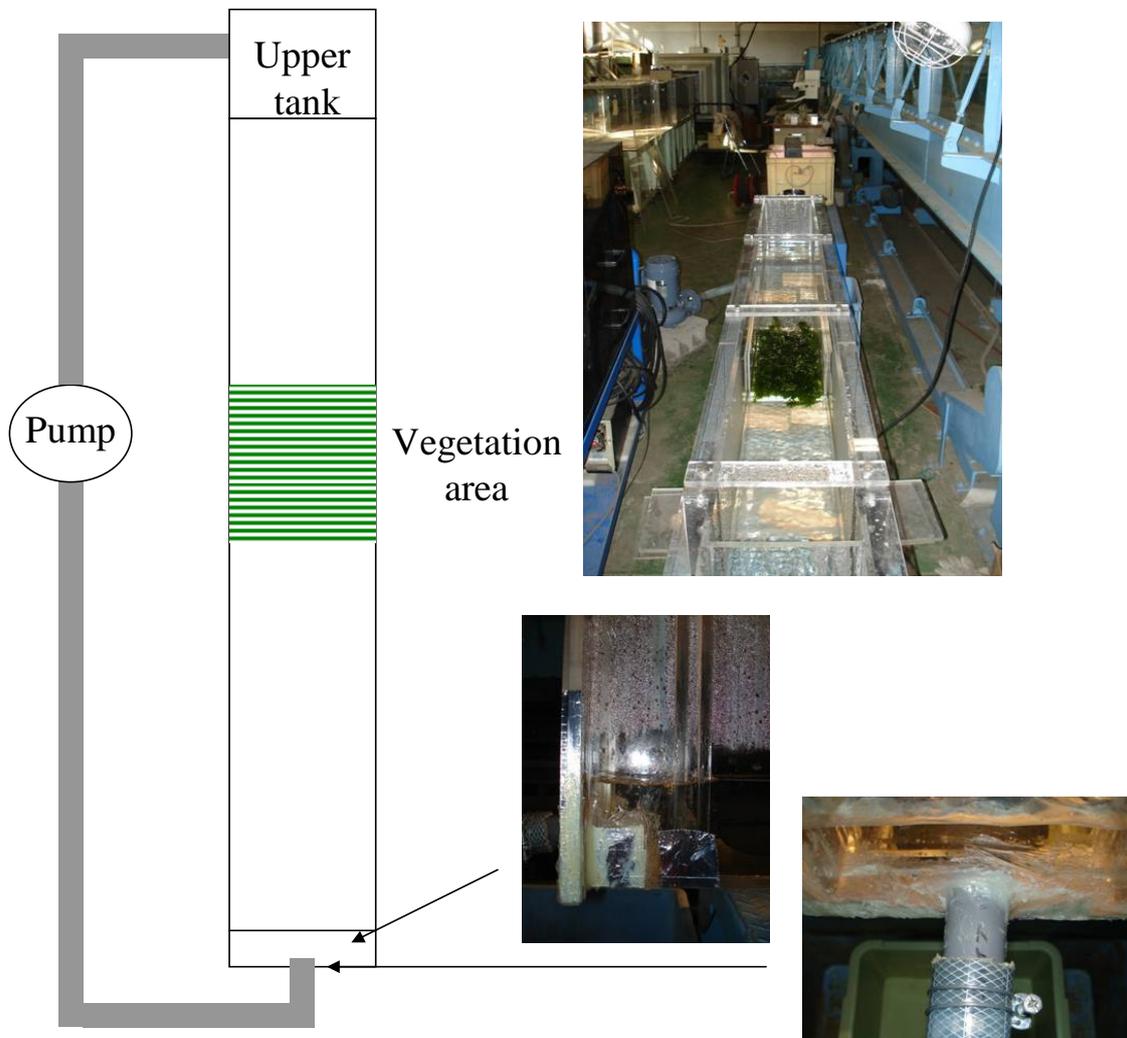


圖-3.4 植物設置圖

3.3 実験結果及び考察

3.3.1 水溶液、植物中の E2, BPA 濃度、含量の経時変化

図-3.5~図-3.7 に、各 Case における水溶液試料内の E2, BPA 濃度の経時変化を示す。Case1, Case2 共に水溶液中の E2, BPA 濃度が時間の経過に比例して減少した。アナカリスを設置しない Case3 は、E2, BPA 濃度の減少が Case1, Case2 と比較して小さかった。このことから、Case1, Case2 における水溶液中の E2, BPA 濃度の減少はアナカリスの設置が寄与したと考えられる。図-3.8 及び図-3.9 は、Case1 及び Case2 におけるアナカリス体内の E2, BPA 含量の経時変化である。Case1, Case2 共に時間の経過に比例してアナカリス体内の E2, BPA 含量が増加した。このことから流水中において、水溶液中の E2, BPA の減少にアナカリスによる E2, BPA の吸収が寄与している事がわかった。

図-3.10 及び図-3.11 は、静水中と流水中における水溶液試料内の E2, BPA 濃度の経時変化を比較した図である。実験開始 4 時間経過時において、Case1 は静水(Still water)と比較して水溶液内の E2, BPA 濃度の減少が小さかった。Case2 は静水と比較して BPA 濃度に関しては同程度、E2 濃度に関しては静水以上の減少が見られた。静水中における吸収実験の結果では、4 時間経過時の水溶液内の E2, BPA の減少に、アナカリス表面への付着が大きく寄与していた。また、流れが遅い Case2 や静水と比較して、流れが速い Case1 において E2, BPA 濃度の減少が小さかった。これらの事から、流れが速いほど流れによって水溶液からアナカリス表面への E2, BPA の付着が阻害され、水溶液内の E2, BPA の減少が静水中よりも小さくなる事が考えられる。実験開始 24 時間経過時においては、Case1, Case2 共に静水時と同程度の E2, BPA が減少した。流水中における吸収実験では、静水中と比較して 4 時間経過時の E2, BPA の減少量が小さくなる傾向見られるが、24 時間経過時の水溶液内の E2, BPA 減少量に関しては、静水と流水の違いによる差があまり見られなかった。

図-3.12 及び図-3.13 は、静水中と流水中における植物試料内の E2, BPA 含量の経時変化を比較した図である。E2 含量は、静水中(Still water)よりも流水中(Case1, 2)の方が大きかった。また BPA 含量に関しては、静水と流水による差はあまり見られなかった。Case1 と Case2 を比較すると、流れが遅い Case2 における E2, BPA 含量が、微量ながら Case1 における含量と比較して大きくなった。

水溶液内の E2, BPA 濃度の経時変化から, アナカリス表面への付着が水の流れにより阻害される可能性が示唆された. しかしアナカリス体内の E2, BPA 含量は, 静水中と比較して同程度または流水中における含量がより大きくなる傾向が見られた.

3.3.2 植物への付着及び吸収を考慮した水溶液-植物間の E2, BPA の挙動

図-3.14~3.17 は Case1, Case2 における水路内の E2, BPA 残存率の経時変化である. 流れが速い Case1 は流れが遅い Case2 と比較して植物表面の E2, BPA 残存率が小さく, 植物表面の E2, BPA 残存率の時間変動は Case1, Case2 共に小さかった. また植物体内の E2, BPA 残存率は時間の経過と共に増加した. 流れが速くなると植物表面の E2, BPA 残存率が小さくなる事, 植物表面の E2, BPA 残存率の時間変動が微小である事, また植物体内の E2, BPA 残存率が時間の経過と共に増加している事を考慮すると, 流れが速いほど植物表面への E2, BPA の付着が減少するが, 水の流れにより常時一定量の E2, BPA が植物表面に供給され, 植物体内に吸収されると考えられる.

図-3.18 及び図-3.19 は, 実験開始 4 時間経過時における静水中, 流水中の各試料内に含まれる E2, BPA の残存率を比較した図である. 静水(Still water)及び Case2 と比較し, 流れが速い Case1 は植物表面の E2, BPA 残存率が小さかった. 植物体内の E2, BPA 残存率は実験サンプル全体に対して小さい割合であり, 静水中と同様に流水中でも水溶液内の E2, BPA の減少には, 植物表面への付着が主に寄与している事がわかった. また流れが速いほど植物表面への付着が小さくなる事がわかった.

図-3.20 及び図-3.21 は, 実験開始 24 時間経過時における静水中, 流水中の各試料内に含まれる E2, BPA の残存率を比較した図である. 植物表面及び植物体内の E2 残存率は静水が最も小さく, Case2 が最も大きくなった. 対して BPA は植物表面の残存率は E2 と同様に静水が最も小さく, Case2 がもっとも大きくなった. 植物体内の BPA 残存率は静水が最も大きくなった. 静水中では, 水の流れが無い為にアナカリス表面に多量に E2, BPA が付着した後, 水溶液からアナカリスに一定量の E2, BPA が供給され続ける事は無いと考えられる. 対して流水中におけるアナカリスは, 図-3.14~3.17 に示したように常に一定量の E2, BPA が水の流れにより供給される為, 24 時間経過時においても植物表面に E2, BPA が一定量残存していると考えられる.

以上の実験結果を用いて、式(3-4)で定義した流水中のアナカリスによる水路内の E2, BPA の除去率を求めた。

$$\text{除去率(\%)} = 100 - \left(a_w + a_s + a_v + \frac{C_0 - C_{blank}}{C_0} \times 100 \right) \quad (3-4)$$

ここで、 $a_w(\%)$: 24 時間経過時における水溶液内の E2, BPA 残存率、 $a_s(\%)$: 24 時間経過時における植物表面の E2, BPA 残存率、 $a_v(\%)$: 24 時間経過時における植物体内の E2, BPA 残存率、 $C_{blank}(\text{g/L})$: Case3 における 24 時間経過時の水溶液内の E2, BPA 濃度、 $C_0(\text{g/L})$: 実験開始時の水溶液内の E2, BPA 濃度である。水温 25°C、可視光常時照射時において、24 時間経過時のアナカリスによる E2, BPA 除去率を表-3.2 に示す。E2 除去率は流れが速くなるにつれ小さい値となり、BPA 除去率に関しては流れが遅いほど小さくなった。

表-3.3 に植物表面と植物体内の残存率比を示す。アナカリス表面への E2, BPA の付着に対する水流による障害をこれまでに述べてきたが、表-3.3 に示したように Case1 における残存率比は他の Case2 や Still water と比較して大きかった。このことから植物表面に付着する E2, BPA 量は流れにより減少するが、植物体内に吸収される E2, BPA 量は、付着量との比との用いて考えると大きな差は無いとも考えられる。同じ水生生物である河床に付着した藻類の一次生産力は、河川底面近傍の乱れの大きさにより増すとの報告⁴¹⁾や、沈水植物の多くはある程度水の動きが見られる水域でよく育つという報告⁴²⁾から、本実験における水の流れもアナカリスが有する生物活性を活発にし、結果的にアナカリス体内への E2, BPA の吸収が、静水中における吸収実験と比較して促進した可能性が示唆される。

本実験の結果、アナカリスへの付着・吸収に静水中におけるそれとの違いが見られるが、流水中においても沈水植物アナカリスは E2, BPA を吸収・除去する事がわかった。

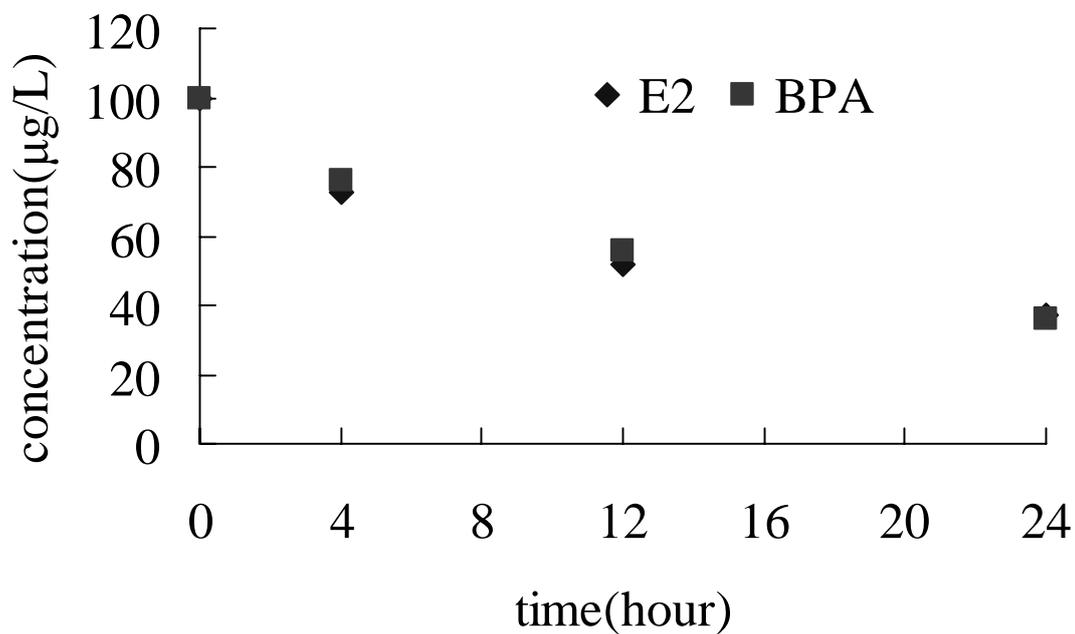


図-3.5 水溶液試料内の E2, BPA 濃度の経時変化(Case1)

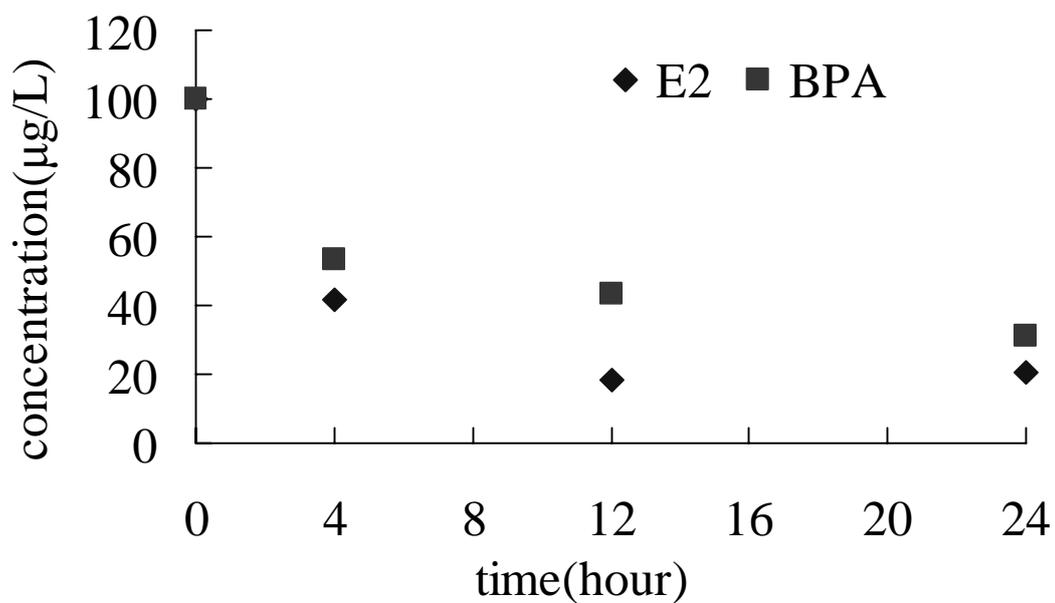


図-3.6 水溶液試料内の E2, BPA 濃度の経時変化(Case2)

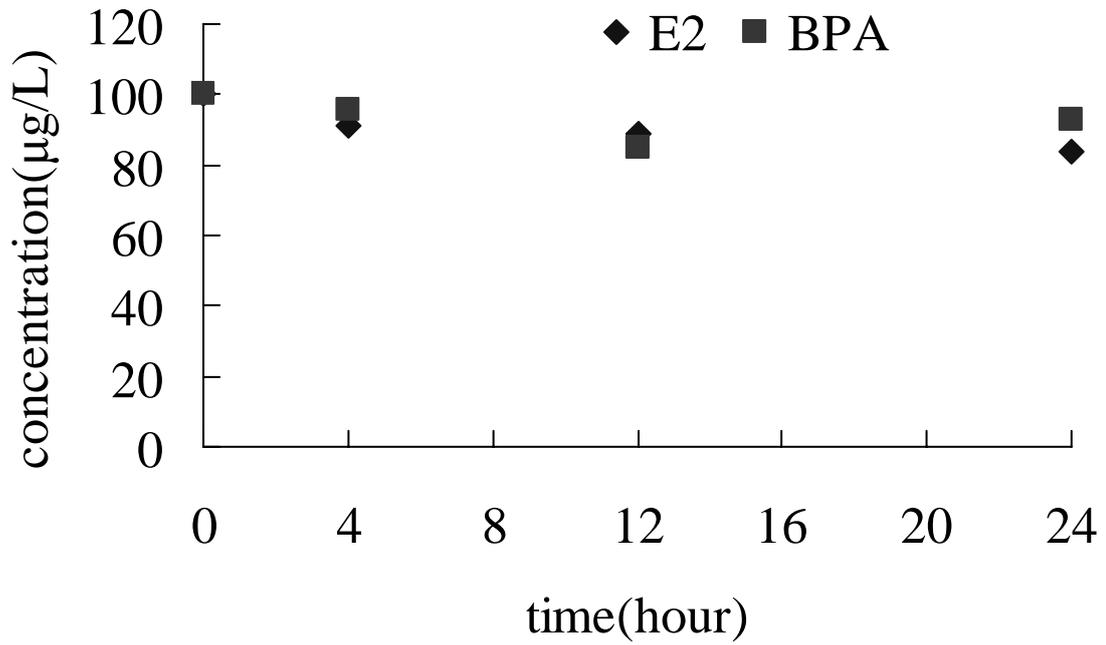


図-3.7 水溶液試料内の E2, BPA 濃度の経時変化(Case3)

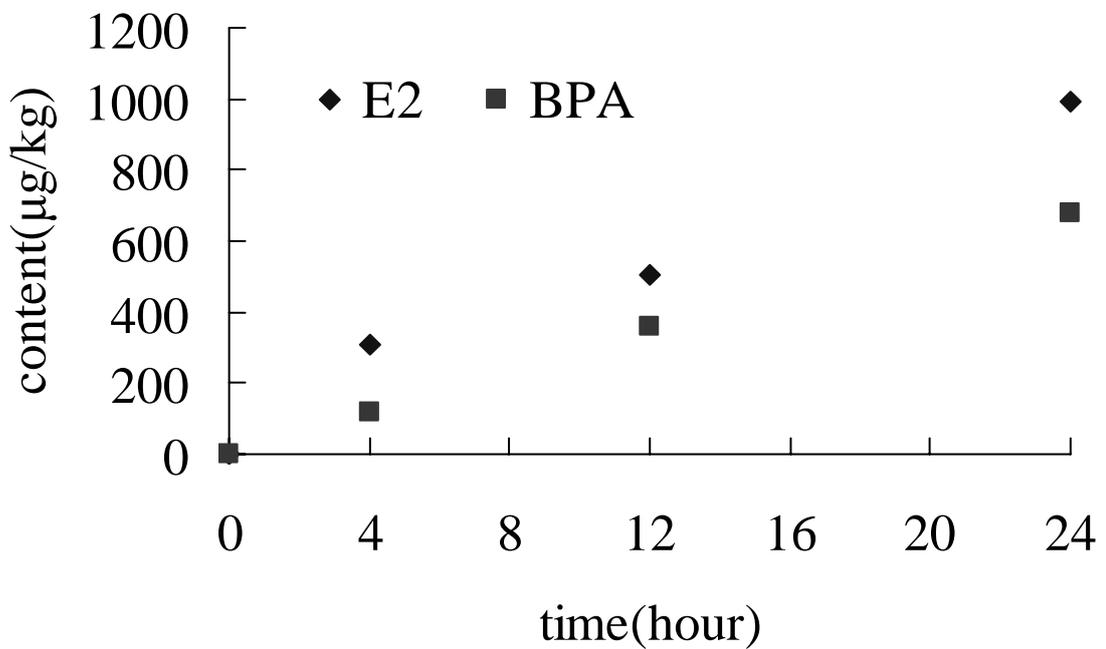


図-3.8 植物試料内の E2, BPA 含量の経時変化(Case1)

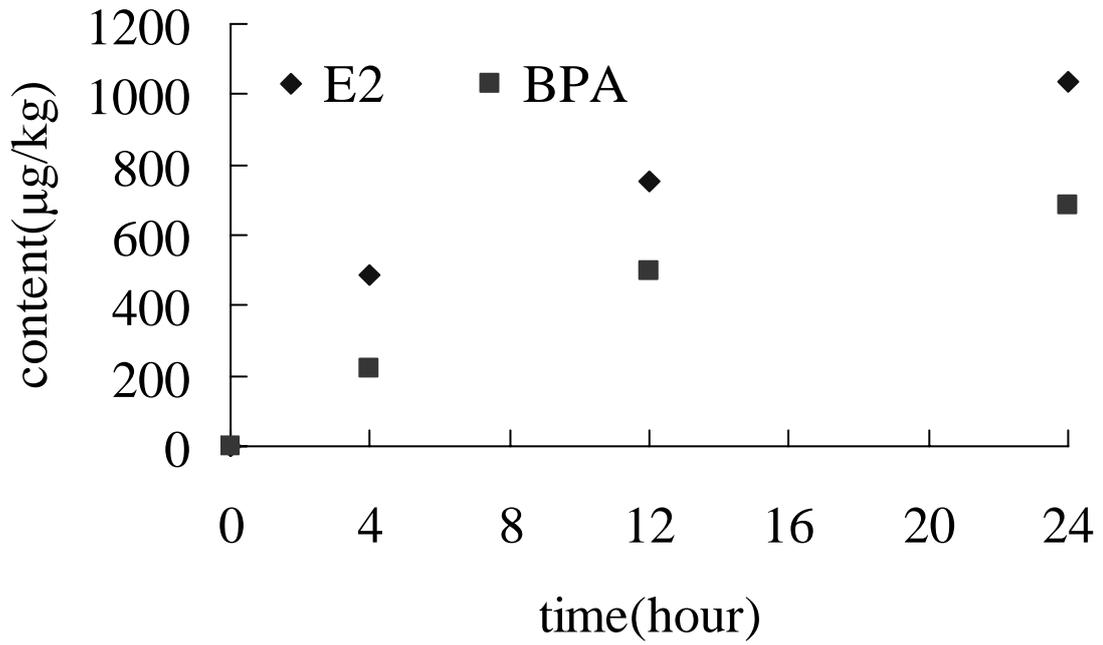


図-3.9 植物試料内の E2, BPA 含量の経時変化(Case2)

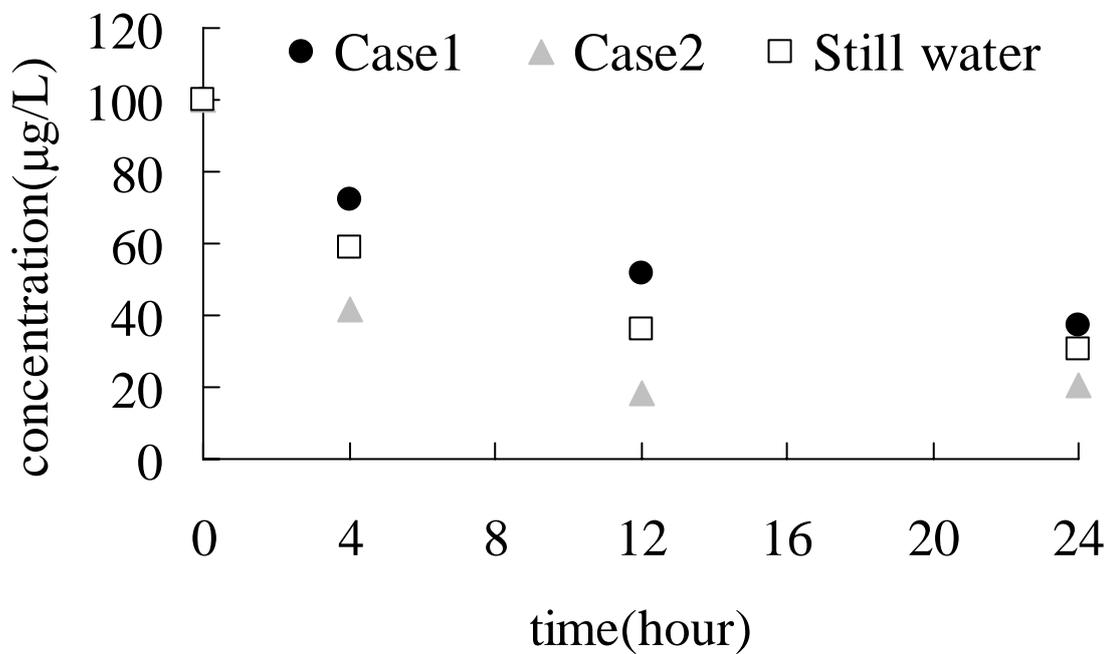


図-3.10 静水及び流水中における水溶液内の E2 濃度の経時変化

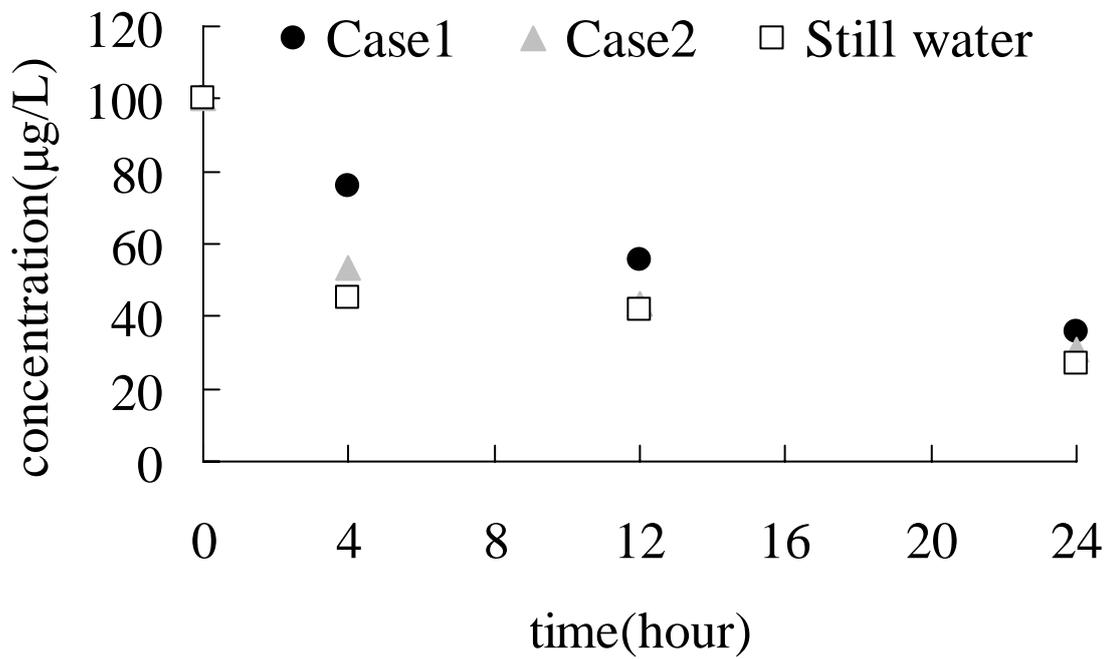


図-3.11 静水及び流水中における水溶液内の BPA 濃度の経時変化

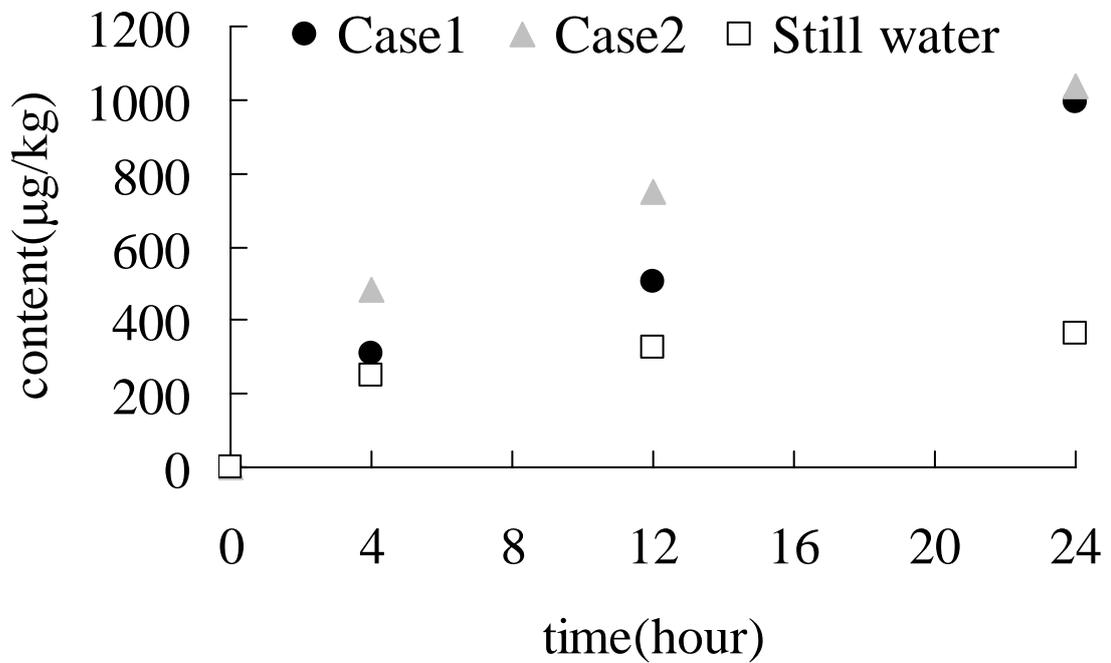


図-3.12 静水及び流水中におけるアナカリス体内の E2 含量の経時変化

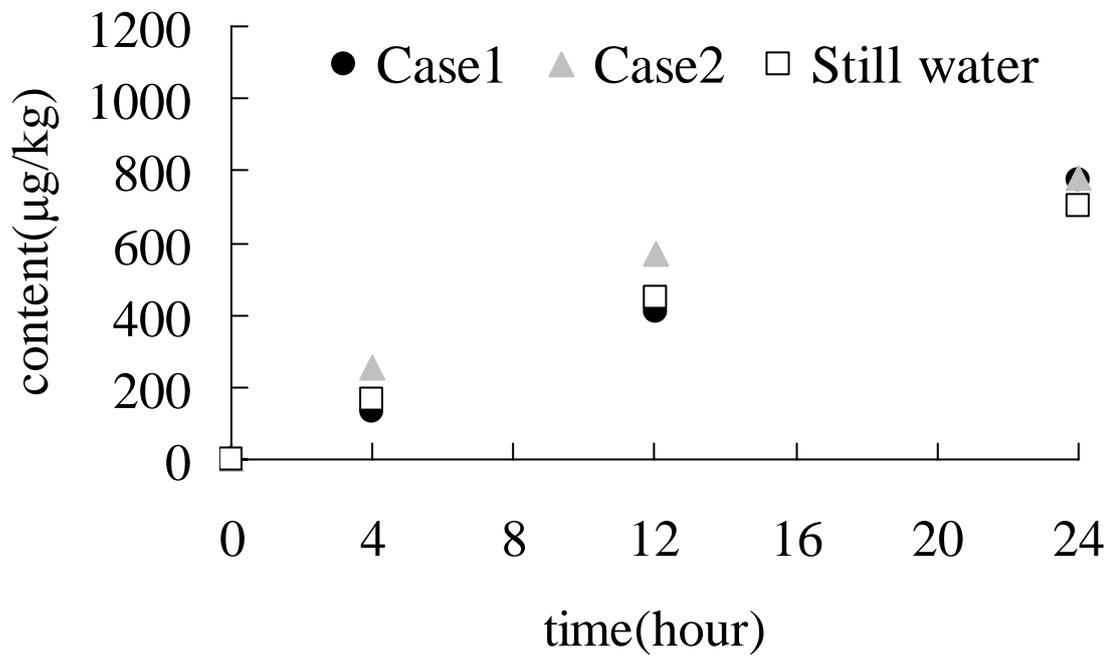


図-3.13 静水及び流水中におけるアナカリス体内の BPA 含量の経時変化

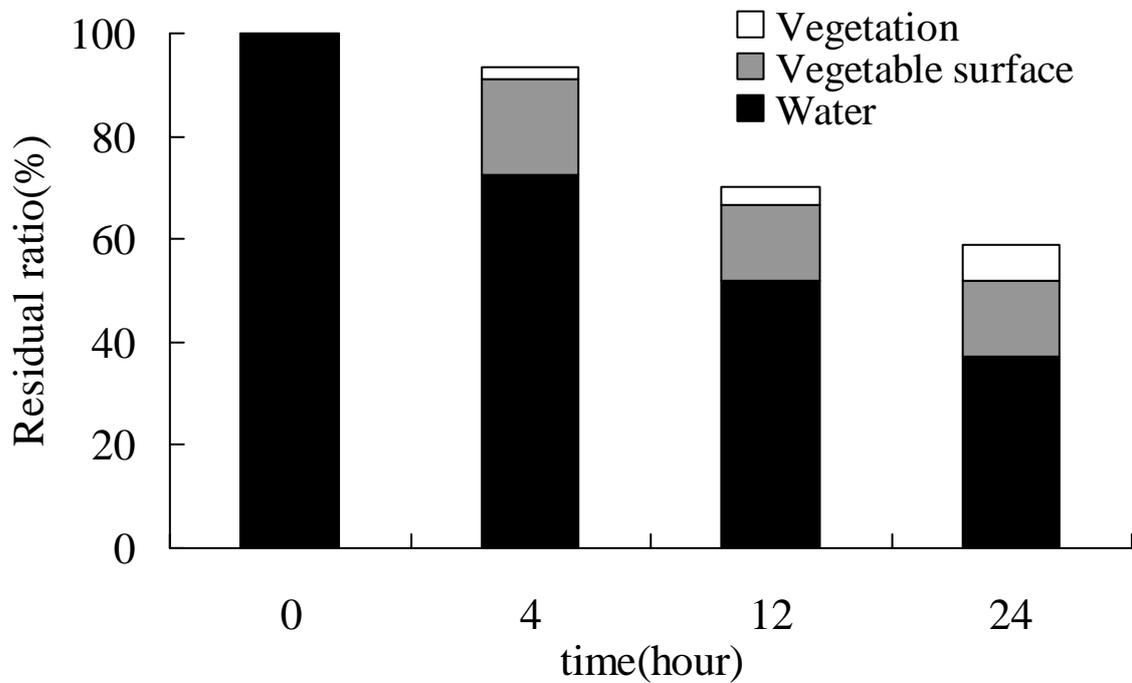


図-3.14 開水路内の E2 残存率の経時変化(Case1)

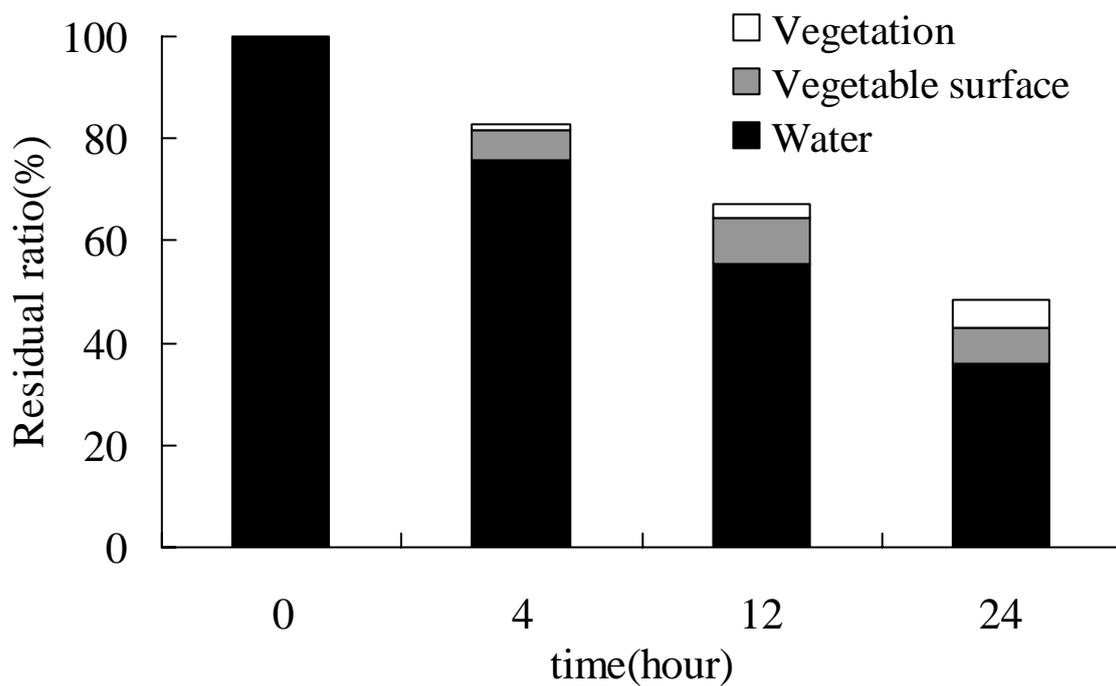


図-3.15 開水路内の BPA 残存率の経時変化(Case1)

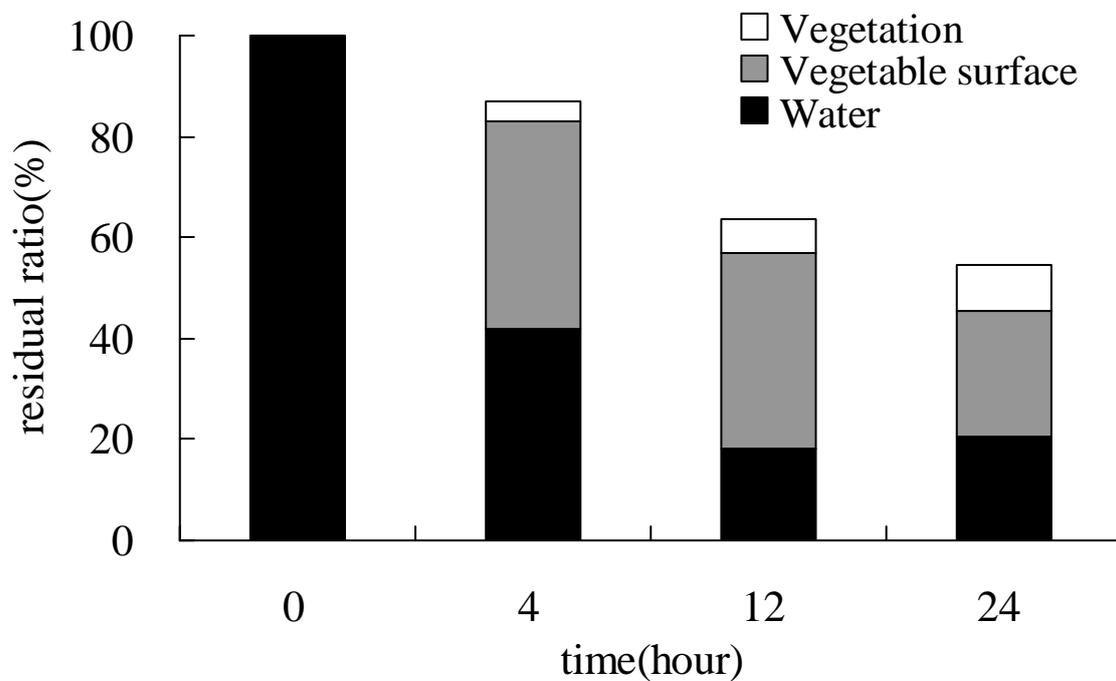


図-3.16 開水路内の E2 残存率の経時変化(Case2)

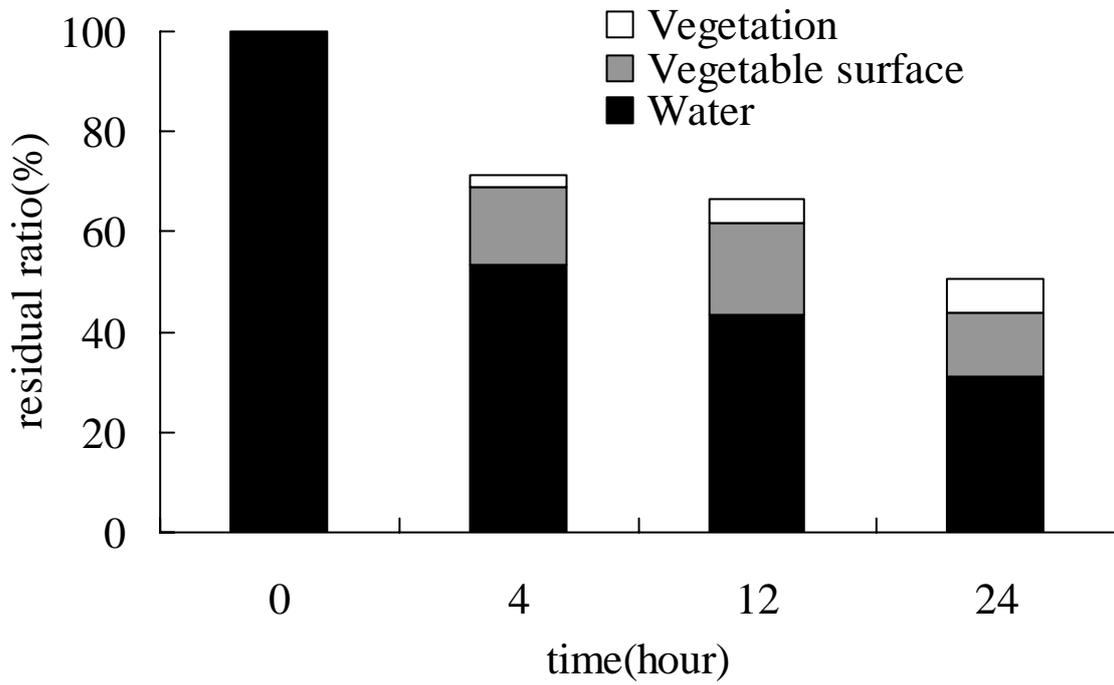


図-3.17 開水路内の BPA 残存率の経時変化(Case2)

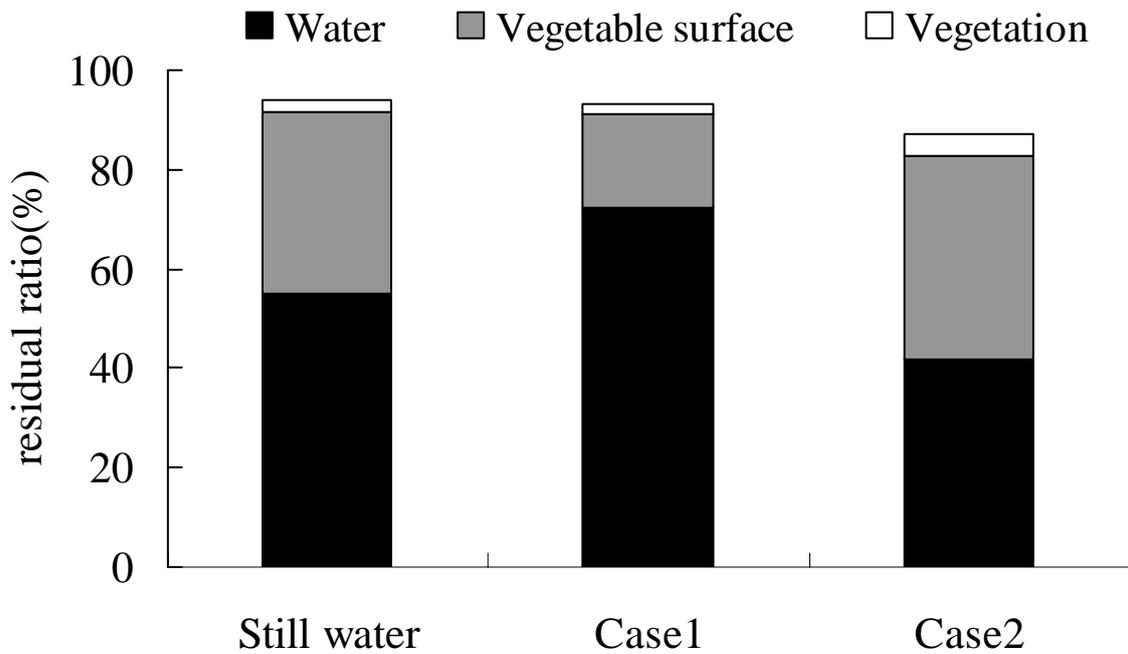


図-3.18 開水路内の E2 残存率(4 時間後)の静水中と流水中の比較

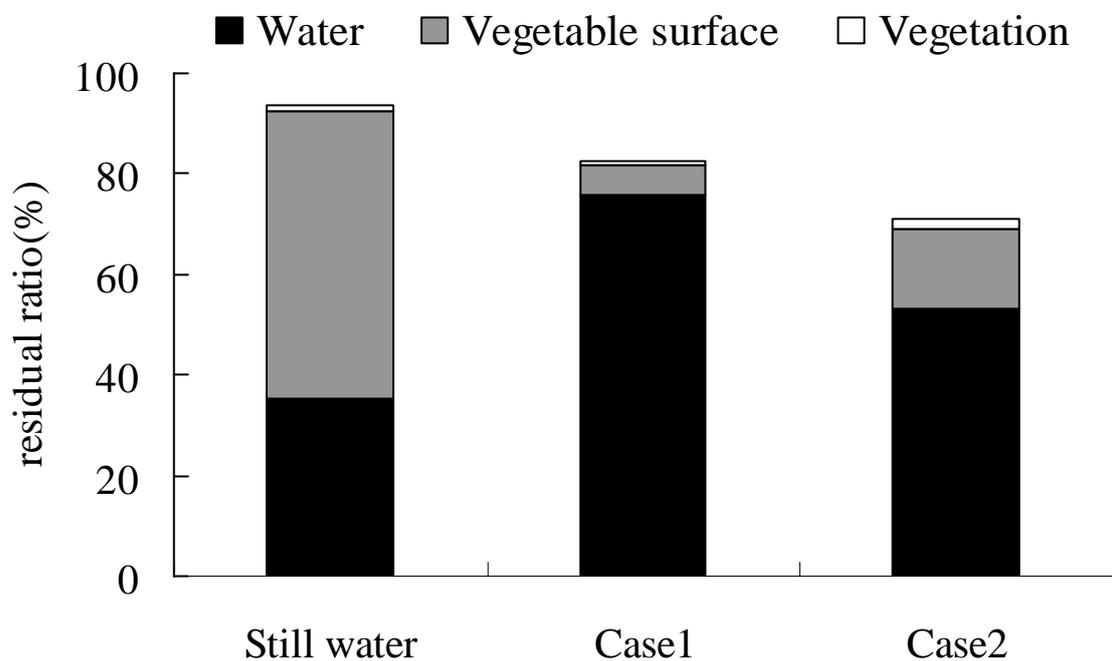


図-3.19 開水路内の BPA 残存率(4 時間後)の静水中と流水中の比較

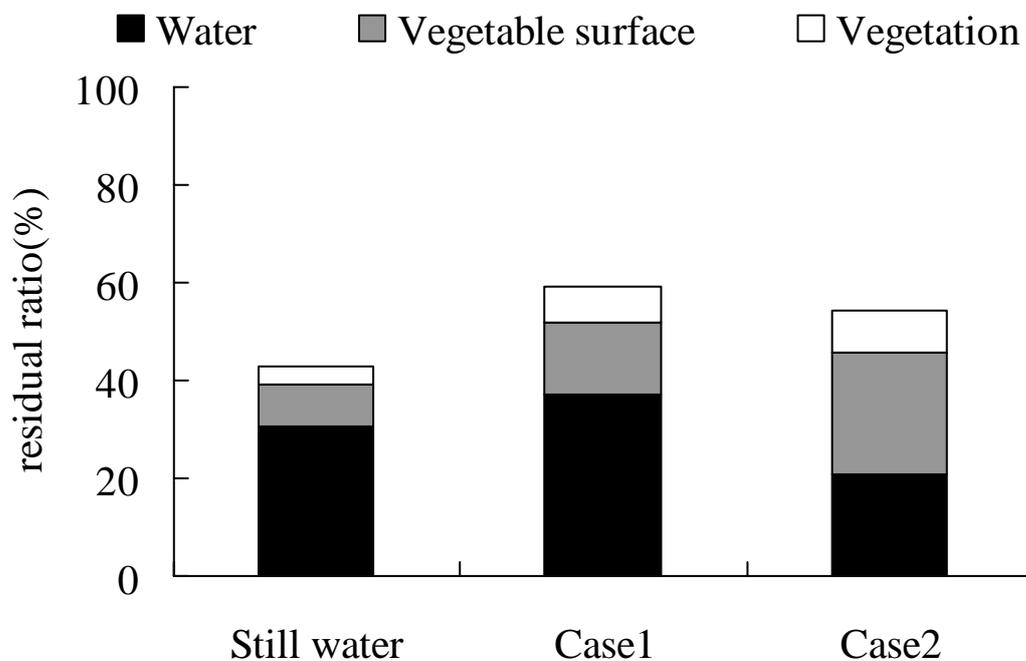


図-3.20 開水路内の E2 残存率(24 時間後)の静水中と流水中の比較

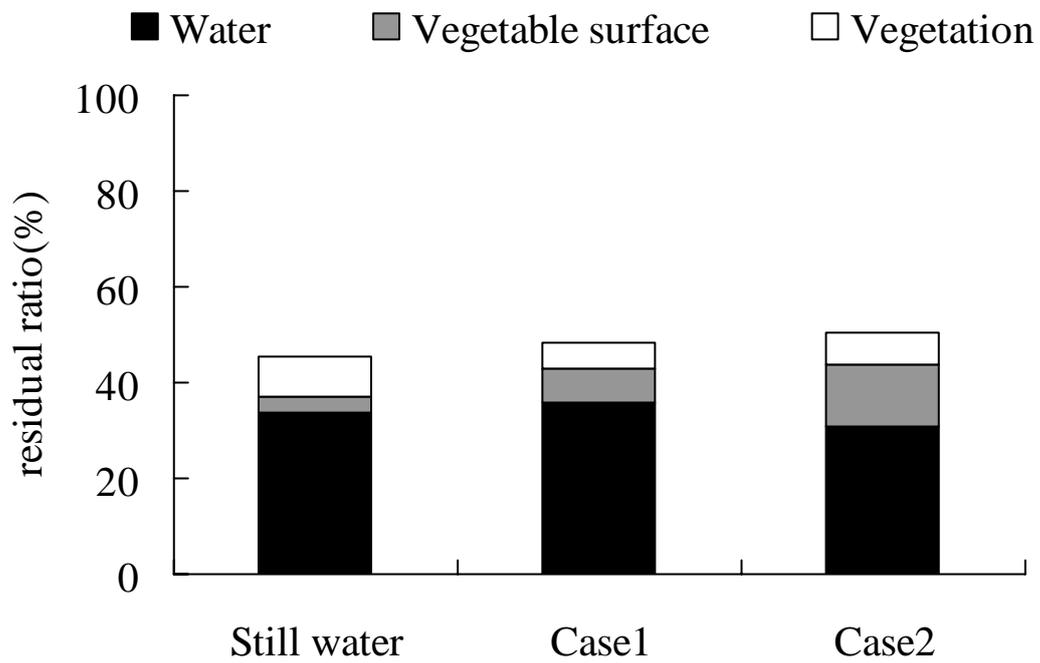


図-3.21 開水路内の BPA 残存率(24 時間後)の静水中と流水中の比較

表-3.2 各 Case における E2, BPA 除去率(%)

	E2	BPA
Still water	41	31
Case1	25	44
Case2	29	42

表-3.3 植物表面と植物体内の残存率比(植物体内/植物表面)

	E2		BPA	
	4 時間	24 時間	4 時間	24 時間
Still water	0.06	0.44	0.02	3.61
Case1	0.12	0.48	0.16	0.78
Case2	0.10	0.36	0.14	0.52

3.4 本章のまとめ

E2, BPA 溶液が流れている開水路に沈水植物アナカリスを設置し、一定時間経過後の水溶液、アナカリス表面及びアナカリス体内に残存した E2, BPA を測定した。得られた結果を用いて流水中において沈水植物が内分泌攪乱化学物質を吸収・除去するか否かを検討した。また、静水中における吸収実験の結果との比較を行い、流れといった水理条件が沈水植物の内分泌攪乱化学物質付着・吸収・除去に対して与える影響を考察した。以下得られた知見を示す。

- ・ 実験開始から時間の経過と共に水溶液内の E2, BPA が減少し、アナカリス体内の E2, BPA が増加したことから、水路内の E2, BPA の減少にアナカリス体内への吸収が寄与している事がわかった。
- ・ 静水中における吸収実験と比較し、水の流れによりアナカリス表面への E2, BPA の付着が阻害され、実験開始後 4 時間経過時における水溶液内の E2, BPA 減少が小さくなった。また流れが速いほどその傾向が強くなった。
- ・ 水溶液、植物表面及び体内の E2, BPA 残存率の経時変化から、流れが速いほどアナカリス表面への E2, BPA の付着が減少するが、水流により常時一定量の E2, BPA がアナカリス表面に供給される傾向が見られた。
- ・ 可視光常時照射及び水温一定(25°C)の条件下、実験開始 24 時間経過時において沈水植物アナカリスは、水路内から E2 を 25~29%、BPA を 42~44%除去した。
- ・ 水の流れはアナカリス表面への E2, BPA の付着を阻害するが、アナカリス体内への吸収を促進させる効果がある可能性が示唆された。

第4章

都市用水路内の植物による内分泌攪乱化学物質の吸収に関する現地調査

4.1 調査の目的

本章では、実際の都市用水路での調査を行い、現状としてどれだけの EDCs が水中に排出されているかについて定量的な把握を行う。さらに、都市用水路内に実際に生息している沈水植物の群生及び付着藻類について、EDCs の吸収・分解能力の検討を行なうことにより、実際の現場における EDCs のファイトレメディエーションの適用性を行なうことを目的とした。

4.2 調査方法

4.2.1 調査対象河川

調査対象河川としては神奈川県川崎市を流れる二ヶ領用水を選定した。二ヶ領用水は多摩川を水源とし、川崎市多摩区(上河原堰堤)から幸区までを流れる全長 32km の用水路である。古くから農業用水に用いられ、現在では散策路や水生植物などといった水辺環境が整備され環境用水として利用されている。この二ヶ領用水内の図-4.1 に示す川崎市中原区内ではアナカリスの群生が繁茂している区間が存在する。その植生域を含む区間を調査対象領域として選び、2006年2月、5月、8月、11月の4回に渡り現地調査を行った。

4.2.2 EDCs 分析方法

実河川における EDCs 濃度は2章の吸収実験における EDCs 濃度と比較して極めて低濃度であり GC-MS/SIM 法では検出が困難である。そのため、本章での EDCs の分析については抗体または抗原を酵素で標識化することにより対象物質を高感度で測定できる ELISA キット(日本エンバイロケミカルズ株式会社)を利用した ELISA 法を採用した³⁷⁾⁻⁴⁰⁾。現地調査で

の分析対象の EDCs は BPA, E2 の 2 物質とした。

a) 抽出法

水試料は 500mL をガラス繊維フィルター(GF/C)でろ過を行い, 2 章と同様の手順で固相抽出を行った。植物, 付着藻類試料に関しても 2 章における植物及び付着藻類の抽出法と同様の手順に従った。

b) ELISA 法

ELISA 法のフローを図-4.2 に示す。抽出液は 40°C の吹付け試験管濃縮装置にセットし, 窒素ガスを吹き付けて溶媒を除去した。これに 10%メタノール溶液を加え, 激しく振り混ぜ再溶解させた。抗原酵素複合体溶液 0.5mL, 測定試料 0.5mL の順に試験管に分注し, 静かに混合させた。これを, 抗 BPA モノクロナール抗体固相化チューブ及び抗 E2 モノクロナール抗体固相化チューブに 0.5mL 分注し, 室温で 60 分間反応させた。その後, 反応液を捨て抗体固相化チューブ 1 本あたり 3mL の洗浄液を用いて 3 回洗浄した。3 回目の洗浄液を捨てた後, 裏返したチューブをキムワイプ上で軽くたたいて, 洗浄液を完全に除去した。このチューブに発色液 0.5mL を加え 30 分間反応させた。その後, 発色停止液 0.5mL を添加し, この反応液を分光光度計(U-2010, (株)日立製作所)により吸光度を測定した。

4.2.3 調査方法

a) 流下に伴う河川水中の EDCs の濃度変化

調査区間内の河川水を採水し BPA, E2 濃度を測定することで, 区間内での流下による BPA, E2 の挙動の地点変化を調べた。採水地点及び付近の様子を図-4.3 に示す。午後 13:00 から午前 14:00 までの間に地点 1 から順に地点 5 までの 5 箇所において採水を行った。採水地点は地点間距離を測る目安とする為, 用水路に架かっている橋を基準に設定し, レーザー距離計を使用して地点間距離を計測した。調査区間の地点 1 から 4 の間においては用水路上流からの流入以外に排水等の流入は無かった。

採水には 500mL のガラス瓶を使用し, 各地点の河川水で瓶を 3 回洗浄し, その後河川水 500mL を採水した。河川水中の BPA, E2 の測定は採水後 2 日以内に行った。同時に各地点において水温計による水温測定, リトマス試験紙による pH 測定, プロペラ流速計による流速の測定もそれぞれ行った。

b) 河川水に含まれる EDCs の時間変動及び季節変動

地点 3 において 2 月, 5 月, 9 月, 11 月にそれぞれ数回ずつ採水を行い, 季節による BPA, E2 濃度の変動について調べた. 採水を行った日を表-4.1 に示す.

時間変動については地点 3 において午前 0 時から午後 24 時まで, 4 時間おきに 7 回の採水を行い, 一日のなかで BPA, E2 の排出量がどれだけ変動しているかについての調査を行った. なお, 調査日は 2006 年 5 月 31 日である.

c) 沈水植物及び付着藻類による河川水中の EDCs の吸収・分解

地点 3 において河川水の採取と同時にアナカリスの採取及び図-4.4 に示すような石に付着した藻類を剥ぎ取り, 体内の BPA, E2 含量を測定する事で, 実河川に群生しているアナカリス及び付着藻類が BPA, E2 を吸収しているかを調べた. なお 5 月の調査では, 沈水植物であるエビモ(学名: *Potamogeton crispus*)の群生も調査区間内に存在したため, 同様に BPA, E2 の含量を調べた. さらに, 室内実験で使用した体内に BPA 及び E2 を含まないアナカリスを 2 房用意し, 地点 3 において図-4.5 のように水路内に静置した. 静置して 1 日経過後と 7 日経過後の正午にそれぞれ 1 房ずつ回収して, アナカリス体内の BPA, E2 含量を分析した.



図-4.1 二ヶ領用水

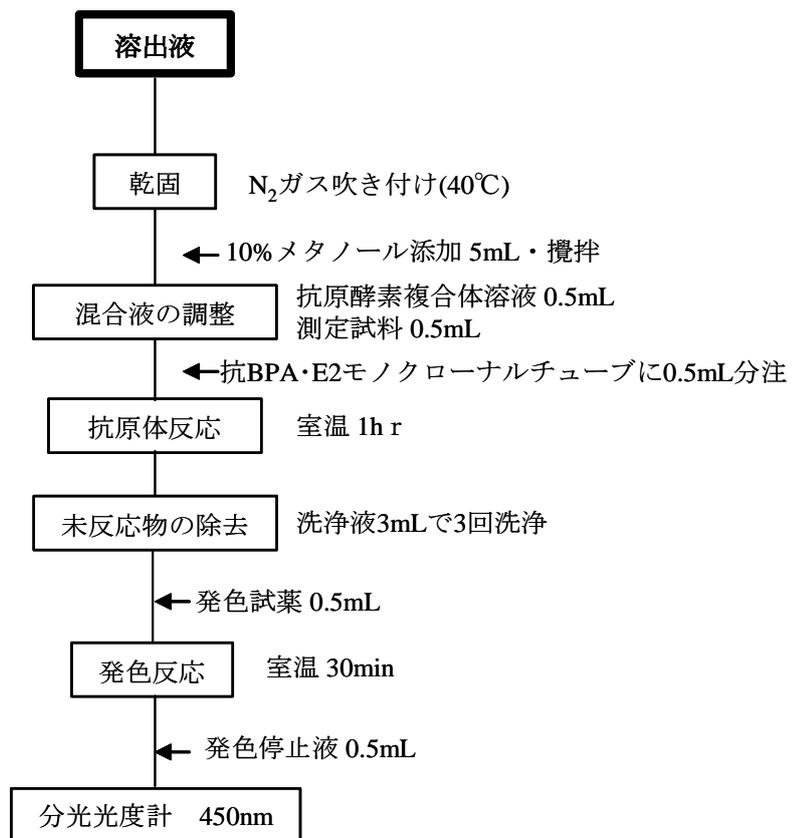


図-4.2 ELISA 測定法

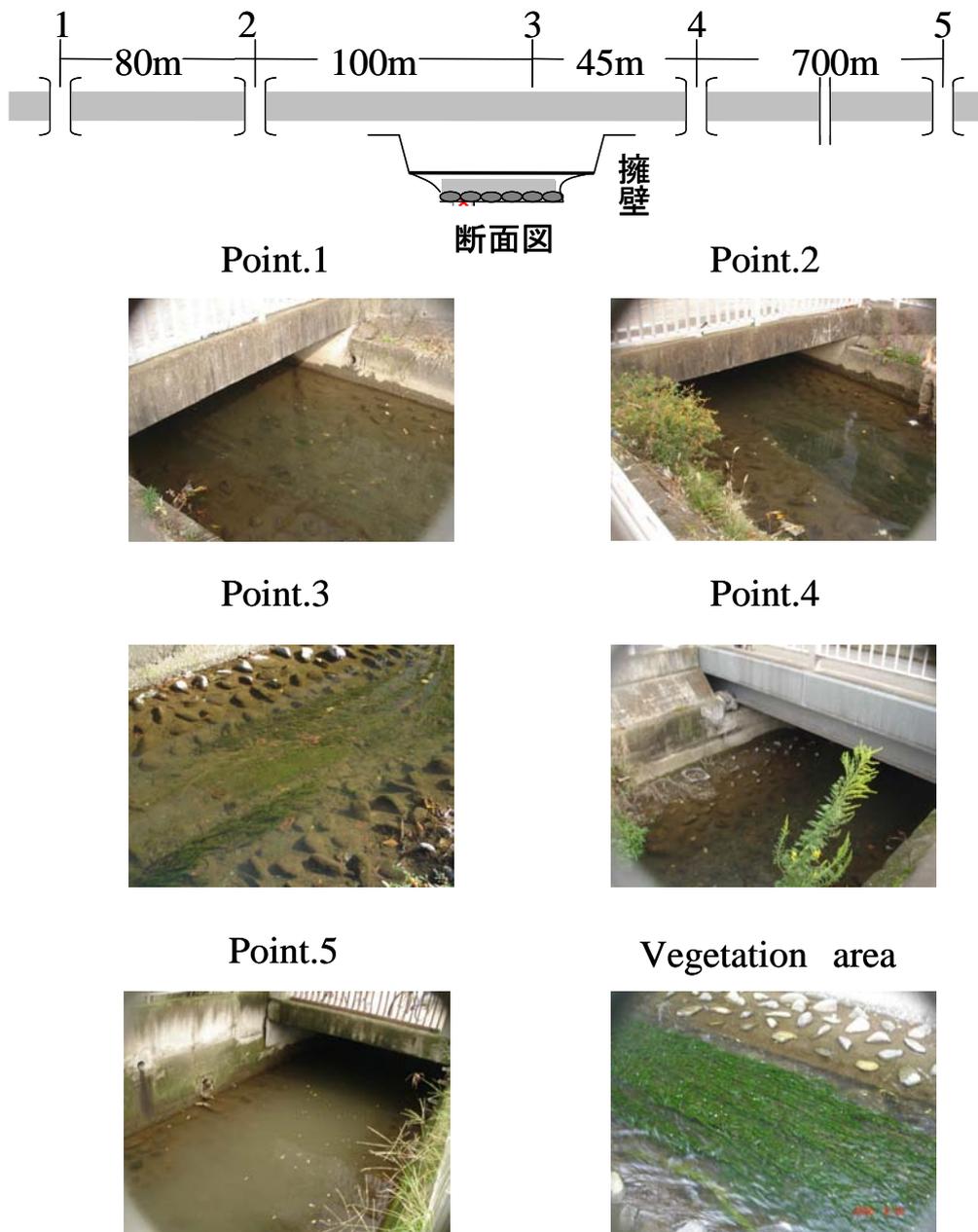


图-4.3 採水地点

表-4.1 採水日

月	日
2	13日 , 14日, 20日, 21日, 22日
5	21日, 23日 , 24日, 30日, 31日
8	28日 , 29日, 9月4日
11	22日 , 23日, 29日

太字は区間全体の採水を行った日である.



図-4.4 付着藻類



図-4.5 設置したアナカリス

4.3 調査結果及び考察

4.3.1 流下に伴う河川水中の EDCs の濃度変化

表-4.2 に各地点における水温、pH、水深、流速の観測値、図-4.6 に各月ごとの調査対象領域での植生の分布を示す。二ヶ領用水では 2 月は植生域が比較的小さいが 4 月から 5 月にかけて上流側にエビモの植生域ができ、それが夏ごろにかけてアナカリスの植生域に遷移し、アナカリスの植生域が大きく広がる。その後、11 月ごろまではその大きな植生域が存在するが 12 月、1 月にかけてアナカリスが急激に減少し、最終的には 2 月の小さい植生域に戻るとというのが年間での変化である。

図-4.7 及び図-4.8 に各地点における河川水中の BPA、E2 濃度を示す。どの月においても地点 1~4 までは、流下に従って BPA、E2 が減少していく傾向を示した。特に 8 月については BPA、E2 の両物質ともに、流下による大きな減少が見られた。この減少は水路内の物体への吸着、水路内のアナカリスの群生及び付着藻類による吸収、水中及び底質に存在する微生物による分解等の作用が考えられる⁴³⁾⁴⁶⁾。

ここで、式(4-1)で定義する減少速度を用いて、BPA、E2 の減少量について検討する。

$$\text{減少速度}(\text{ng/L/min}) = a_{1\sim4} \div \sum_{i=1}^3 \frac{x_{i,i+1}}{v_{i,i+1}} \quad (4-1)$$

ここで、 $a_{1\sim4}(\text{ng/L})$: 地点 1 と 4 の BPA 及び E2 の濃度差、 $x_{i,i+1}(\text{m})$: 地点 i と $i+1$ の間の地点間距離、 $v_{i,i+1}(\text{m/min})$: 地点 i と $i+1$ の間の平均流速である

図-4.9 及び図-4.10 地点 1~4 の間の BPA、E2 の減少速度を示す。減少速度は他の月と比べて 8 月に極めて大きい結果となった。これは、2 章の吸収実験において、水温が高いほど BPA、E2 の吸収・分解能力が大きかったことから推測されるように、8 月は他の月に比べ水温が高いため、アナカリスによる吸収・分解能力が他の月に比べて大きく、BPA、E2 の大幅な減少をもたらしたのではないかと考えられる。河川水中の微生物についても、既往の研究から水温の上昇に伴い活性の増大し、汚染物質の分解能力が増加するという報告も得られており、BPA 及び E2 の 8 月における減少速度の増加には河川水中の藻類や微生物も影響を与えていると考えられる⁴⁷⁾⁴⁸⁾。

さらに、図-4.6 で挙げたように 5 月まではアナカリスの植生域の範囲は小さいが、8 月

になると植生域の範囲が急激に増大した。また、アナカリス 1 本の大きさは冬場では長いものでも 50cm 程度であったが、8 月になると 2m 程度に成長するため、BPA、E2 の減少速度にはアナカリスの成長度合いとも大きく関連しているのではないかと考えられる。

11 月は植生の大きさ自体は 8 月と比べてあまり変わらなかったが BPA 及び E2 の減少速度は小さくなった。これについては昨年の例では 12 月、1 月においてアナカリスは急激に枯れて、植生域が減少してしまったことから、11 月頃ではアナカリスの活性が弱ってきており、そのため BPA、E2 の減少速度が小さくなってしまったと考えられる。

表-4.2 各調査地点における観測値

2月

point	Water temperature [°C]	pH	Depth of water [cm]	Flow velocity [cm/sec]
1	10	6.5	29	27.5
2	10	6.5	27.5	32.4
3	10	7	25.5	35.3
4	10.5	6.5	27.5	33.6

5月

point	Water temperature [°C]	pH	Depth of water [cm]	Flow velocity [cm/sec]
1	19	7	35	36.8
2	19	7	37	38.8
3	19	7	38	45.4
4	19	7	32	51

8月

point	Water temperature [°C]	pH	Depth of water [cm]	Flow velocity [cm/sec]
1	24	6.5	34.5	26.9
2	24	7	40	21.6
3	24	7	39	37.8
4	24	7	27	30.4

11月

point	Water temperature [°C]	pH	Depth of water [cm]	Flow velocity [cm/sec]
1	15.5	6.5	37	29.2
2	15.5	7	41.5	35
3	15.5	7	45	52.5
4	15.5	7	30	38.1

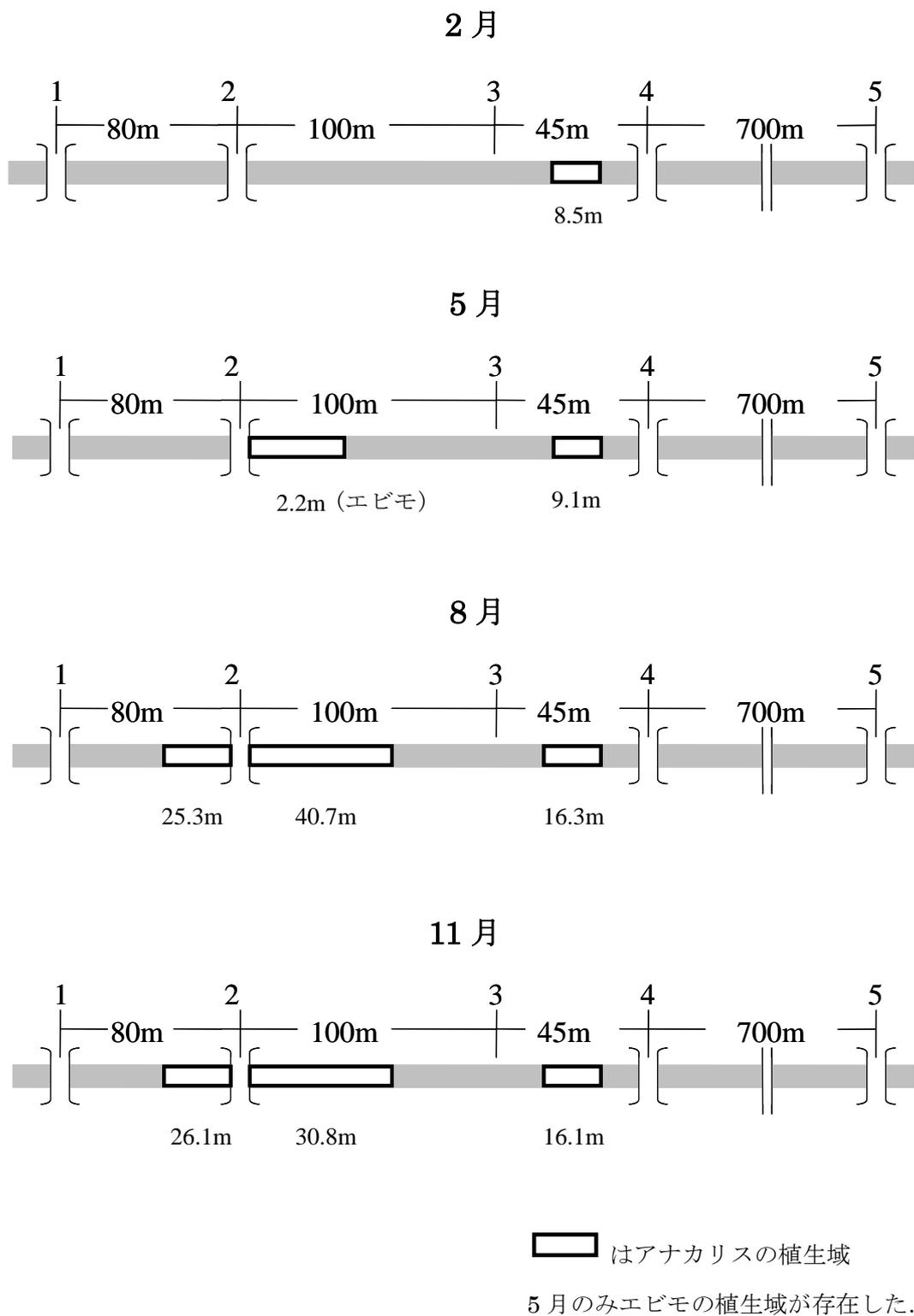


図-4.6 各月毎の植生分布

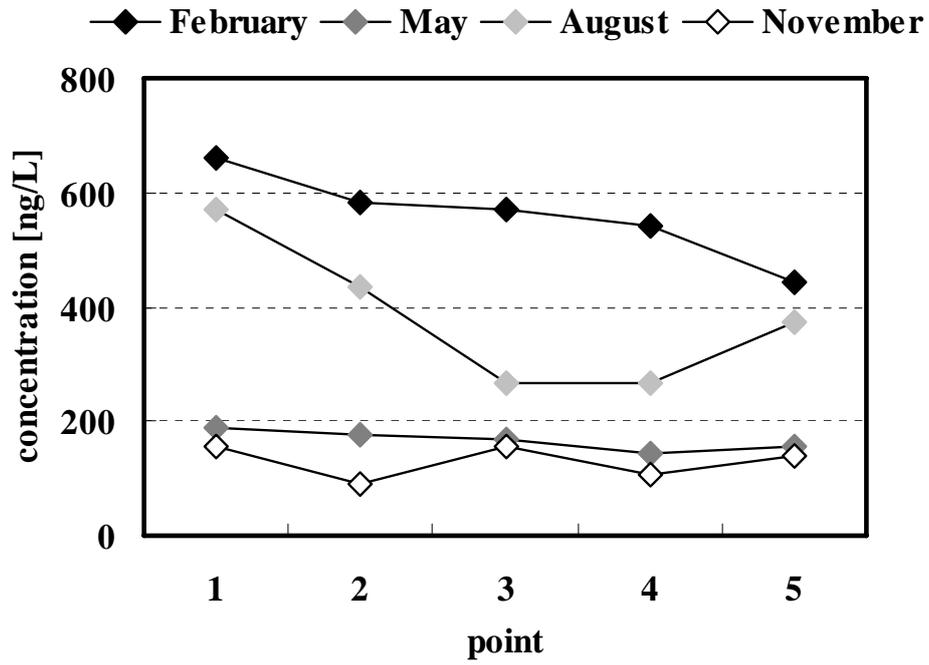


図-4.7 各地点における BPA 濃度

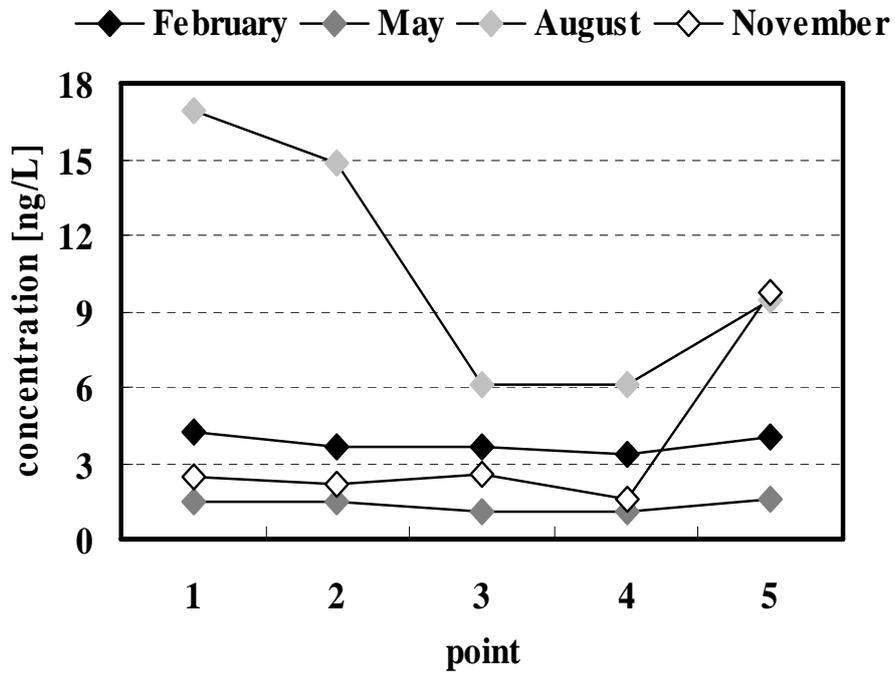


図-4.8 各地点における E2 濃度

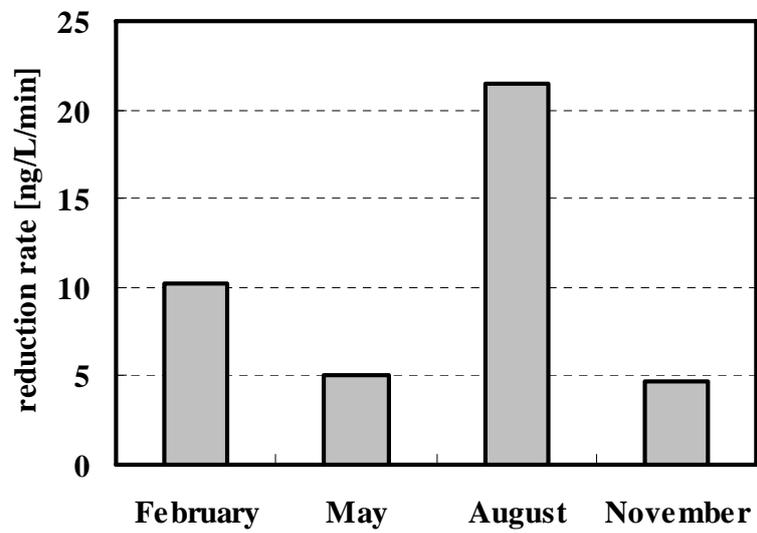


図-4.9 地点 1-4 間における BPA 減少速度

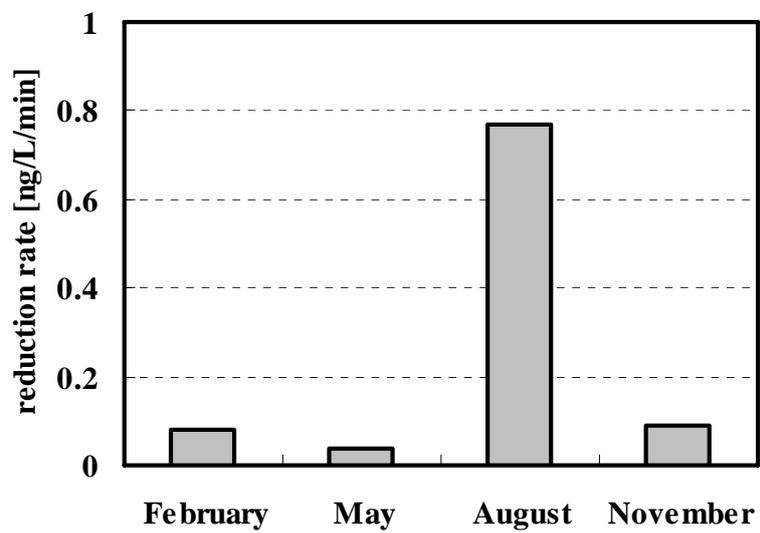


図-4.10 地点 1-4 間における E2 減少速度

4.3.2 河川水に含まれる EDCs の時間変動及び季節変動

図-4.11 及び図-4.12 に地点3における BPA, E2 の一日における二ヶ領用水の河川水中の EDCs 濃度の 4 時間ごとの濃度変化を示す。BPA では 8 時ごろから濃度が上昇し 12 時にピークに達し、20 時ごろまで濃度が減少しつづけ、深夜にかけては比較的低濃度であった。それに対して E2 は 8 時に濃度が上昇し始めると、24 時までその高い濃度を保ち、その後の深夜には濃度が低くなった。一般的に BPA は主に工業的に排出され、E2 は主に生活排水から排出されると考えられている。このことより、BPA は工場排水などが多く排出される昼間の時間帯に高く、E2 は人間が活動している時間帯なので、BPA よりも幅広い時間帯について、高濃度であったと考えられる。しかし、時間変動に関する調査は一度しか行えなかった。再現性の点からも、引き続き調査を行い、排出源の特定を行っていく必要がある。

図-4.13 及び図-4.14 に各月による地点3における二ヶ領用水内の河川水中の BPA, E2 濃度を示す。BPA, E2 ともに 8 月において比較的高い値を示したが、特に BPA については日ごとのばらつきが多かった。また、濃度が高かった 8 月については、調査区域より上流からの図-4.15 に示すような横流入が目立った。この横流入を採水して濃度を測定したところ、河川中の濃度と比べて BPA, E2 ともにはるかに高濃度であり、特に BPA では 10 倍以上の濃度差が見られた。夏場については、水の使用量も増え、このような横流入が増加したため、河川水中の BPA, E2 濃度が増大したと考えられる。しかし排出量以外の点に関して、例えば河川の自浄作用の点などからは、本調査では BPA, E2 の濃度の顕著な季節変動は見られなかった。

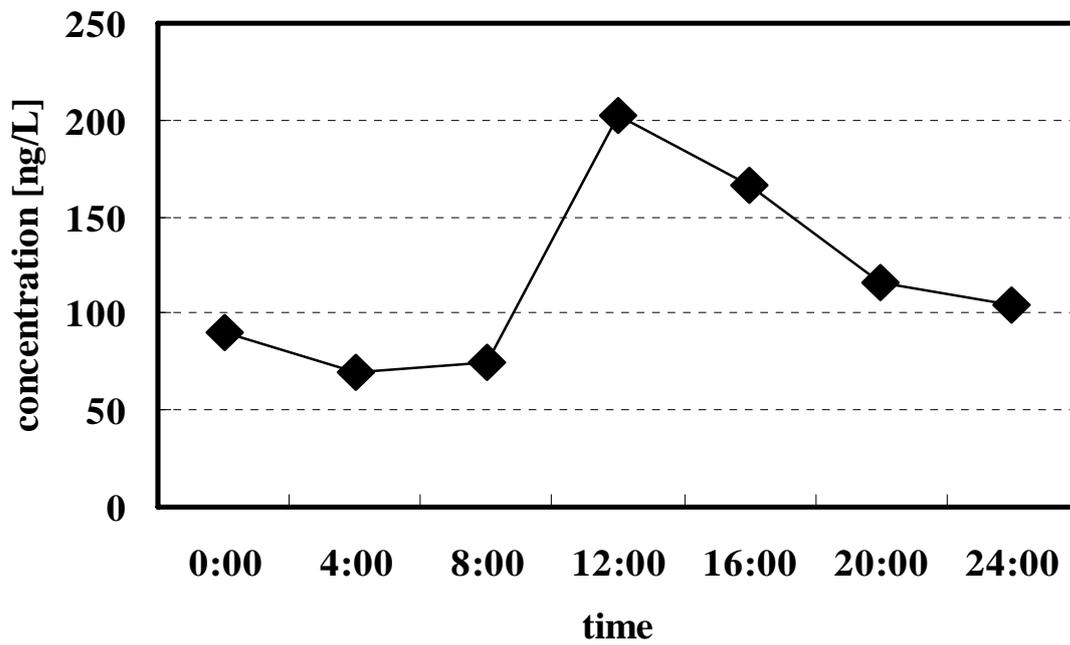


図-4.11 BPA 濃度の時間変化

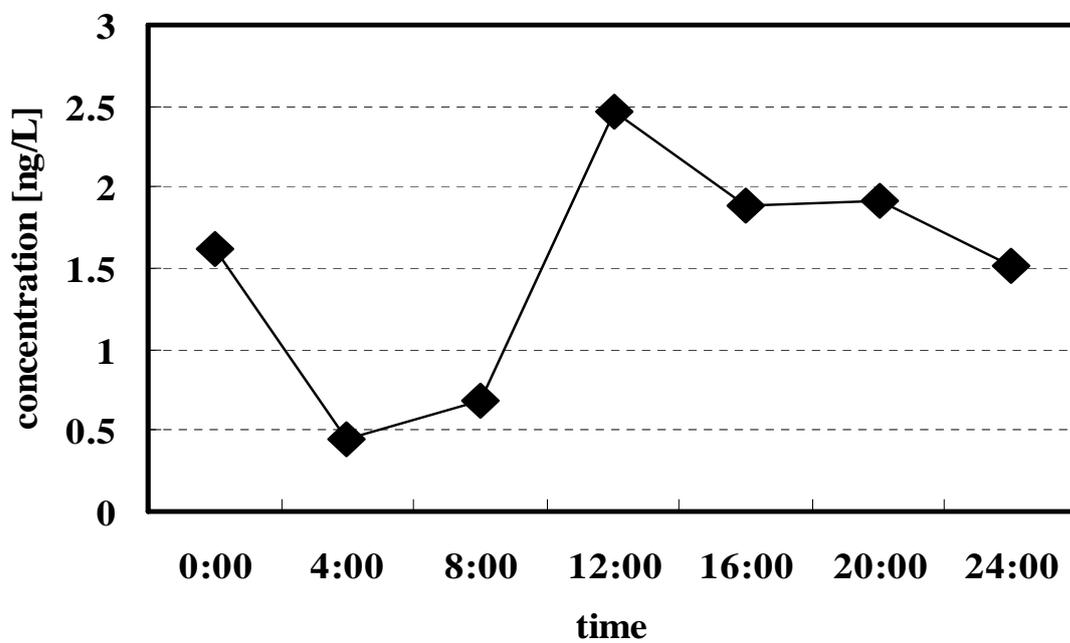


図-4.12 E2 濃度の時間変化

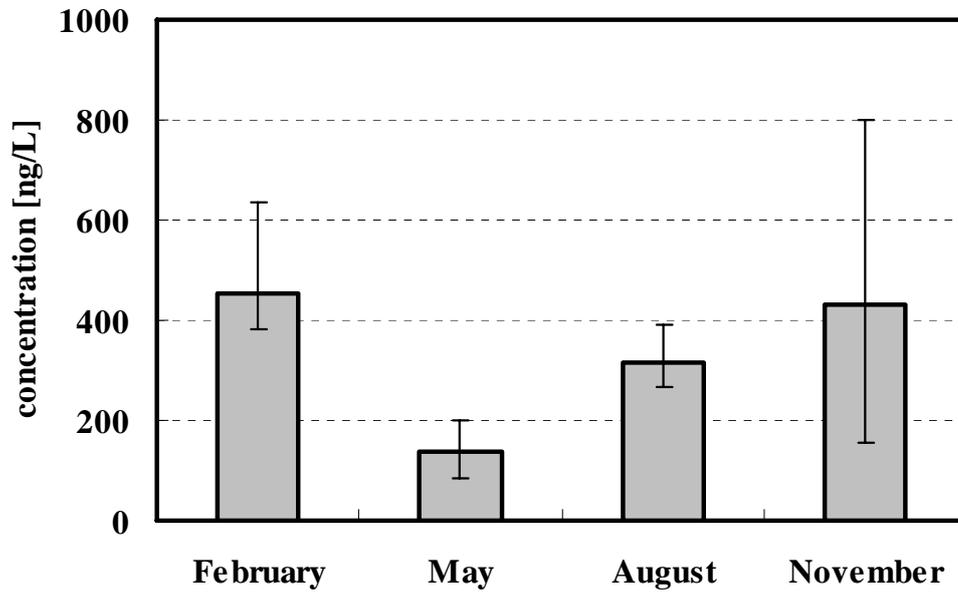


図-4.13 各月におけるニヶ領用水での BPA 濃度

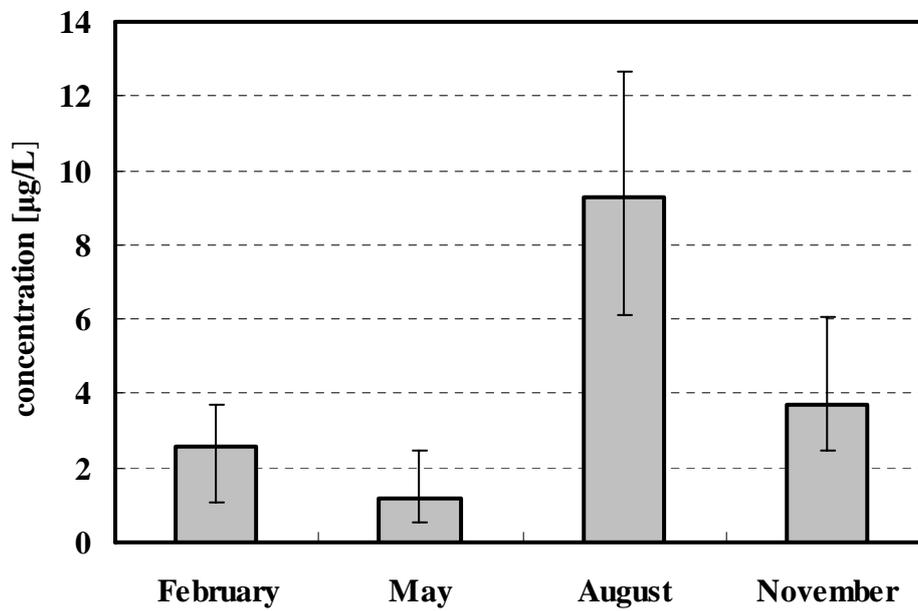


図-4.14 各月におけるニヶ領用水での E2 濃度

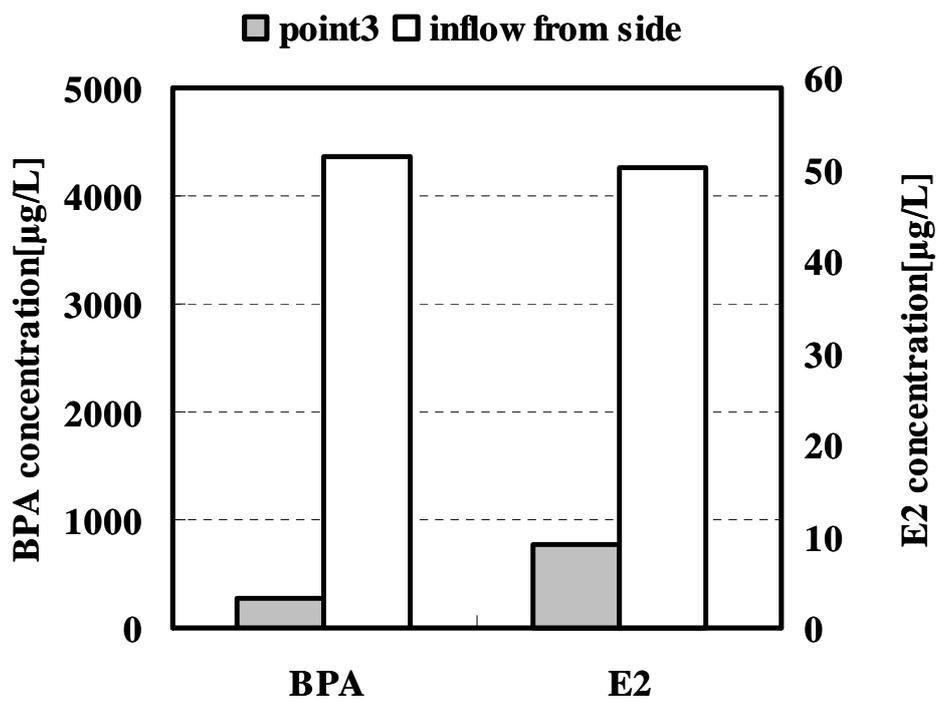


図-4.15 横流入とそのBPA, E2濃度

4.3.3 沈水植物及び付着藻類による河川水中のEDCsの吸収・分解

図-4.16及び図-4.17に、採取したアナカリス体内の各々の月におけるBPA, E2含量及び、そのときの地点3での河川水中のBPA, E2濃度を示す。どの月においてもアナカリスからBPA, E2はともに検出された。図-4.18及び図-4.19に、採取した付着藻類体内の各々の月におけるBPA, E2含量及び、そのときの地点3での河川水中のBPA, E2濃度を示す。二ヶ領用水に生息する付着藻類は図-4.20に示す *Melosira* や *Achnanthes* のような珪藻類が大部分を占めている。付着藻類体内の含量はE2についてはアナカリスと比較し、若干低い値であったが、BPAについてはほぼ同程度の量含有していた。このことから、2章の吸収実験で設定した初期濃度(100µg/L)に比べて極めて低濃度である実際の河川においても、アナカリス及び付着藻類はBPA, E2をともに吸収しており、採水地点1~4の間でのBPA及びE2の減少に寄与していることがわかった。

また各月ごとのアナカリス及び付着藻類体内のBPA, E2の含量の変動については11月を除いて、河川水中の濃度と関連しており、水中でのBPA, E2濃度が高いときは、体内中の含量も高く、水中でのBPA, E2濃度が低いときは、体内中の含量も低い傾向が見られた。しかし、11月については水中のBPA, E2に濃度の減少にもかかわらず、アナカリス及び付着藻類体内中の含量は大きな値を示した。

ここで、式(4-2)で定義した濃縮度を用い検討する。

$$\text{濃縮度} = \frac{\text{アナカリス, 藻類体内中のBPA, E2含量}[\mu\text{g/kg}]}{\text{河川水中のBPA, E2濃度}[\mu\text{g/L}]} \quad (4-2)$$

BPA, E2の濃縮度の月変化を図-4.21及び図-4.22に示す。濃縮度についてはBPA, E2ともに2~8月まではほぼ一定であったが、11月についてはアナカリス、付着藻類ともに著しく大きな値を示した。古賀らによる現地観測²⁰⁾でのアナカリスの濃縮度の月変化を図-4.23に示す。10月ではあるがBPA, E2共に本研究と同様、大きな濃縮度を示した。また、既往の研究であるが、ネダシグサについても11月にかけて、同様にBPAの濃縮度が急激に増加していくという報告もある⁴⁹⁾。これは2~8月にかけては河川水のBPA, E2濃度に対応して、アナカリスや付着藻類は吸収、分解を行うが、11月になると、アナカリスについては今後、枯死する季節でもあり、アナカリス及び付着藻類の活性が低下し、BPA, E2を体内に吸収はするが分解能力が低下してしまい、体内に蓄積してしまう結果になったのであろうと考

えられる。

5月の観測では地点2と3の間では沈水植物のエビモが植生域をつくっていたため、エビモについても採取し、BPA、E2含量を分析した。その結果を、**図-4.24**に示す。エビモの体内のBPA、E2含量はアナカリスと比較すると、若干少ないが、BPA及びE2を吸収しており、5月における水中からのBPA、E2の減少にはエビモが大きく寄与していることが考えられる。

図-4.25及び**図-4.26**に用水路内に設置したアナカリスの1日後と7日後のBPA、E2含量を示す。どの月も設置して1日後のアナカリスのBPA、E2含量は設置して7日後のBPA、E2含量に比較して大きい値を示した。**図-4.27**に示す古賀らによる現地観測²⁰⁾においても、本研究と同様の結果が観察されている。これは、2章の吸収実験での実験開始12~24時間後にアナカリス体内のBPA、E2濃度が最大になり、その後は植物体内で分解されていく結果と一致している。そのため、実際の河川中におけるBPA及びE2についてもアナカリスは吸収し、体内で分解しているのではないかと予測される。

本調査により、実際の現場でのEDCsに関するファイトレメディエーションの適用の可能性が見込まれた。しかし、季節により種の遷移や、植生域の拡大・縮小、植物の成長や衰弱により、BPA、E2の吸収・分解能力が変化する結果になった。そのため、実際の現地でのファイトレメディエーションについて考える際は、植物のライフスパンを考慮し、植物種の選定をしていく必要がある。

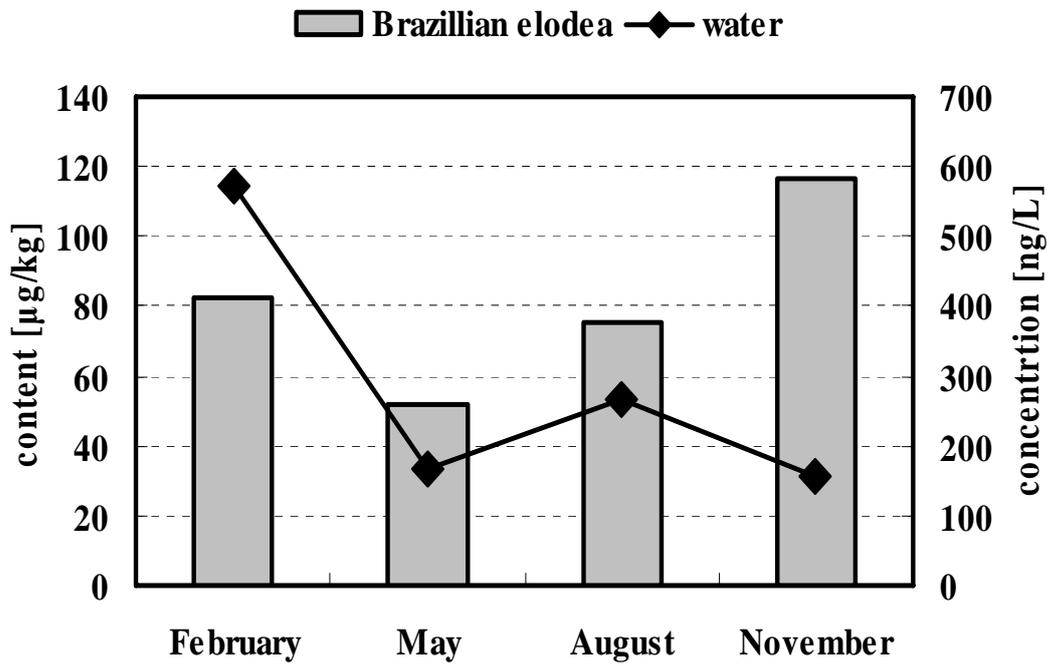


図-4.16 アナカリス体内の BPA 含量の月変動

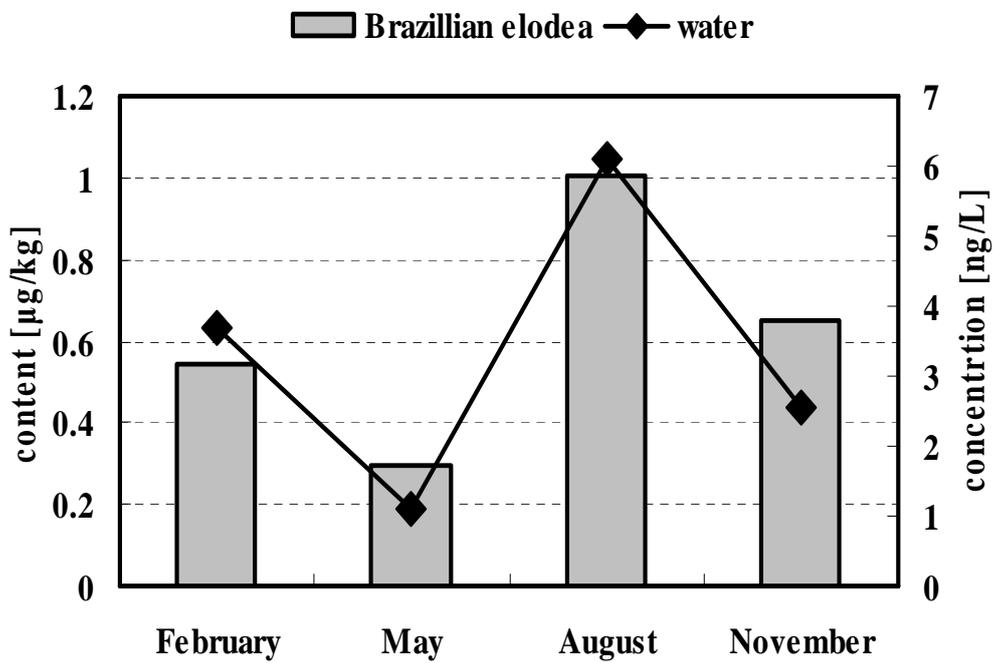


図-4.17 アナカリス体内の E2 含量の月変動

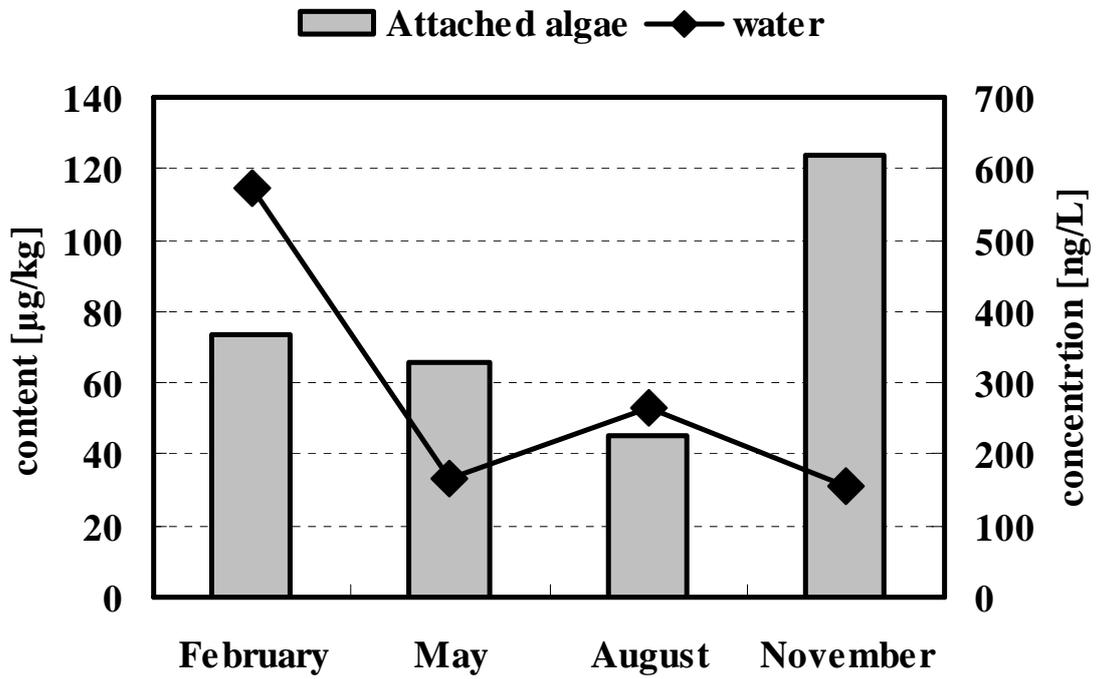


図-4.18 付着藻類体内の BPA 含量の月変動

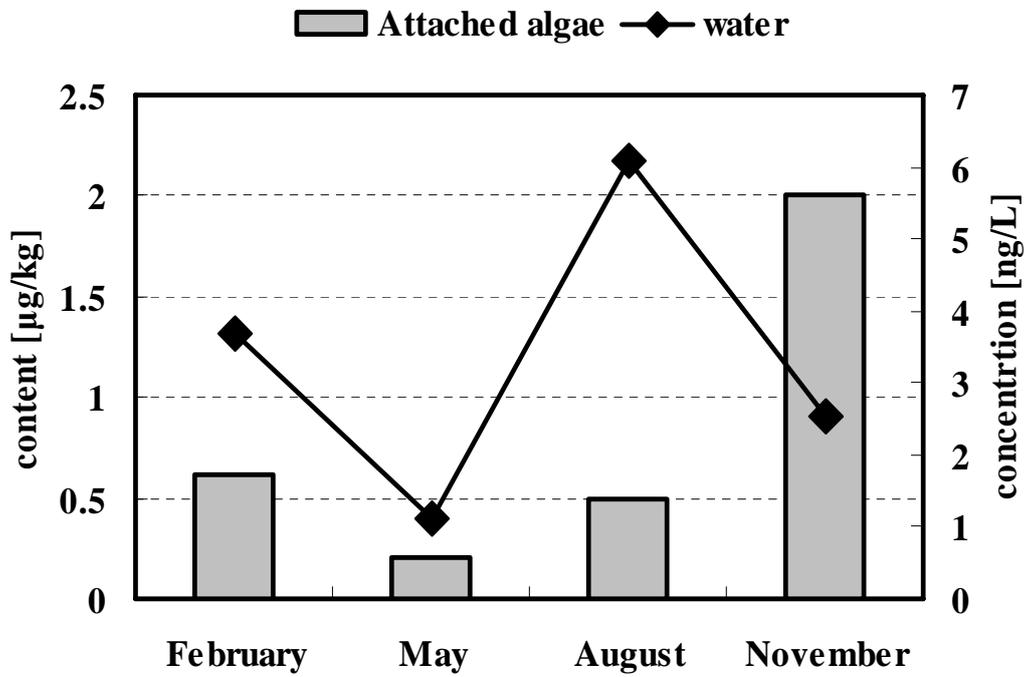
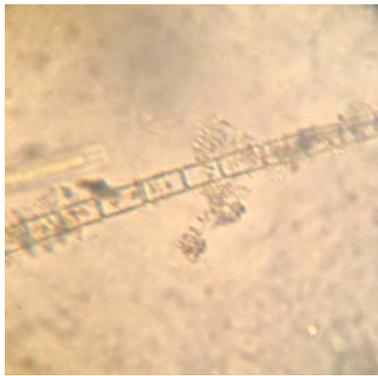


図-4.19 付着藻類体内の E2 含量の月変動



Melosira



Achnanthes

図-4.20 二ヶ領用水に生息する付着藻類

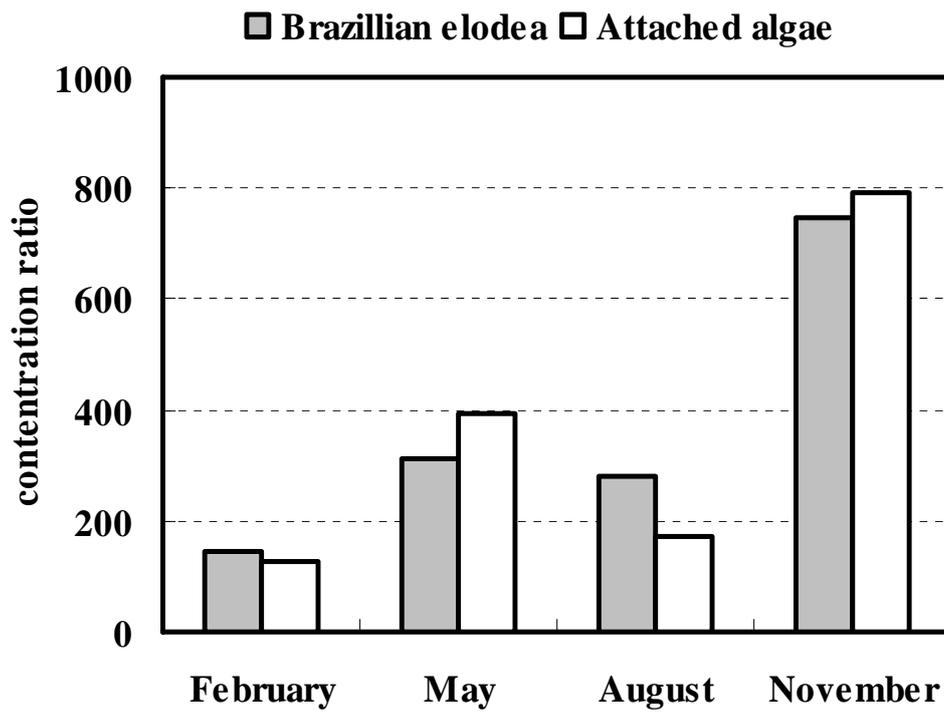


図-4.21 BPA の濃縮度の月変動

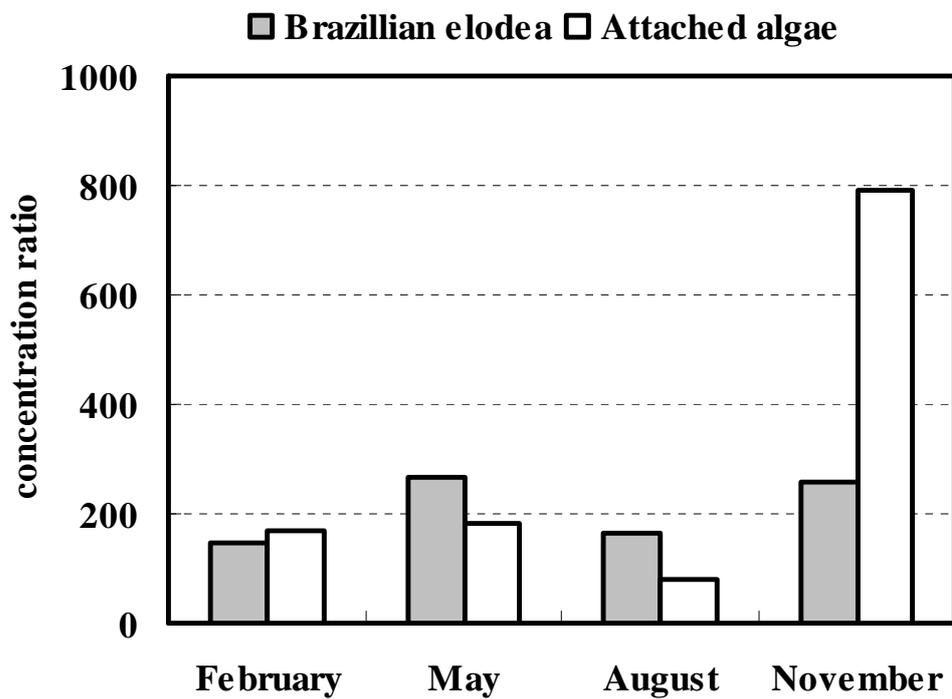


図-4.22 E2 の濃縮度の月変動

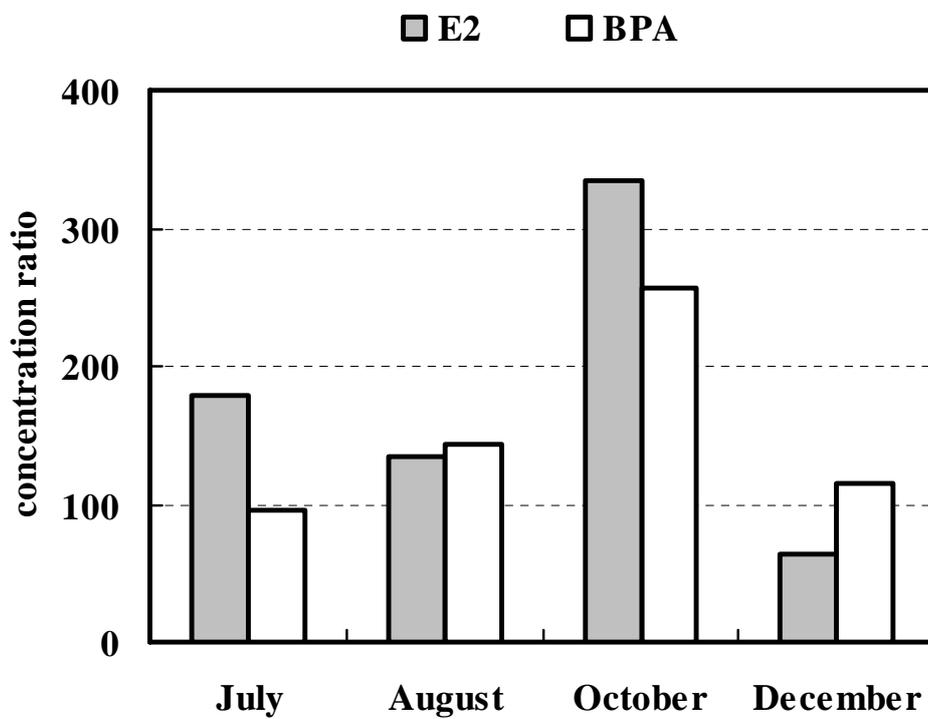


図-4.23 アナカリスの EDCs 濃縮度の月変動(2005 年)²⁰⁾

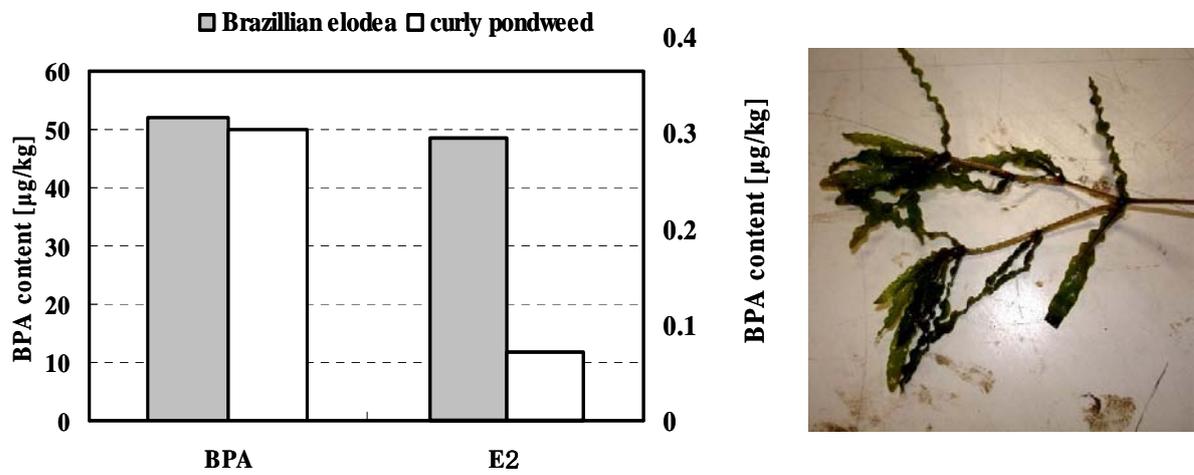


図-4.24 エビモの E2, BPA 含量

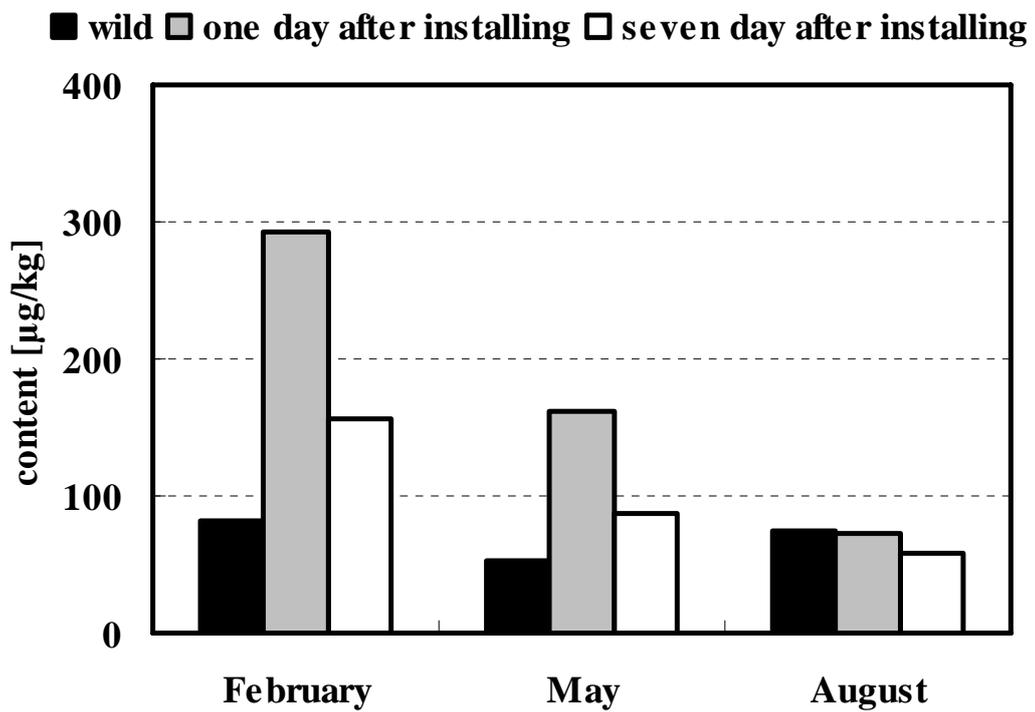


図-4.25 設置したアナカリスの BPA 含量

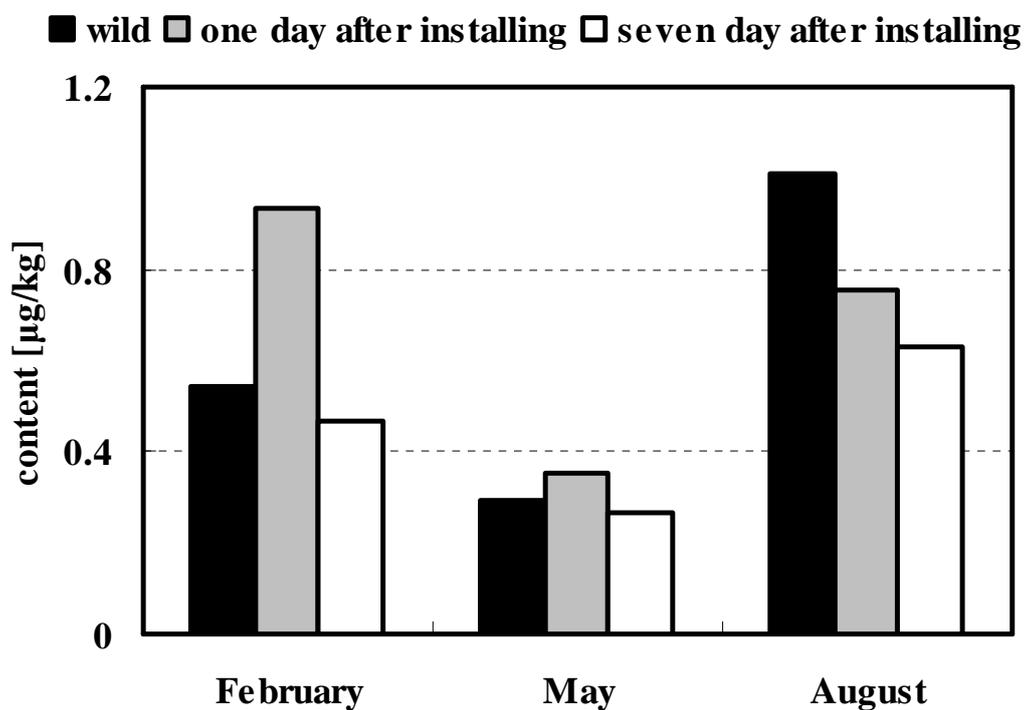


図-4.26 設置したアナカリスの E2 含量

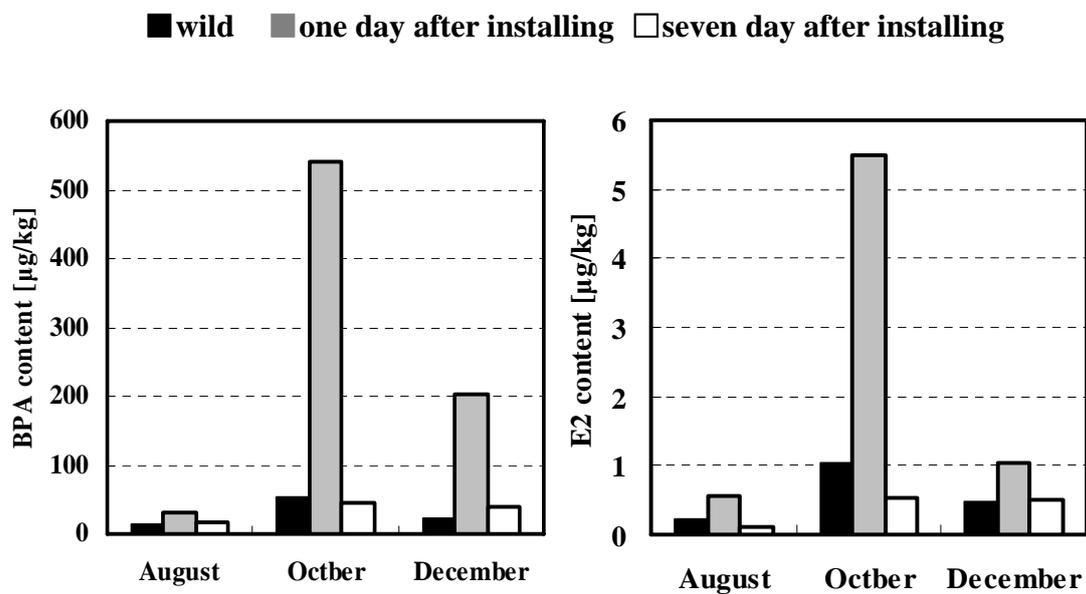


図-4.27 設置したアナカリスの EDCs 含量(2005 年)²⁰⁾

4.3.4 ニヶ領用水におけるアナカリスの EDCs 浄化能力の試算

第 2 章において、同定されたパラメータを用い、以下の式より 2 月と 8 月における、一日あたりの BPA, E2 分解量を試算した.

$$\text{分解量} = k_3 C_v M_p T$$

ここで,

C_v : 植物相中での EDCs 濃度 [$\mu\text{g}/\text{kg}$]

k_3 : 分解速度定数 [hr^{-1}]

M_p : 植物重量 [kg]

T : 日照時間 [hour]

とする. 植物相内では EDCs は常に飽和状態と仮定し, C_v は常に一定とした. 分解速度定数 k_3 は二章で得られた結果を使い, 2 月の除去量の計算では 10°C のケース, 8 月の除去量の計算では 25°C のケースの値を採用した. 植物重量 M_p は実際に 2 月と 8 月に測定した, 植生面積と植生密度から算定した. さらに, EDCs の除去については日射のある時間帯にしか起こらないと仮定し, 計算を行った. 除去量の計算に使ったパラメータを表-4.3 に示す.

以上の計算結果から 2 月においては 1 日あたり BPA : 1.56mg, E2 : 0.007mg が分解され, 8 月においては BPA : 474.6mg, E2 : 10.8mg 分解されると試算され, 2 月と比較し, 8 月は分解能力が 100 倍以上高いということが予測された.

図-4.28 に日中における BPA, E2 の収支の概略図を示す. ここで, 日中というのは EDCs が吸収・分解されると考えられる日照時間内を示し, 8 月については 12 時間, 2 月については 10 時間とした. 観測で得られた流下による減少量と比較すると, 試算されたアナカリスによる分解量は, 8 月においては 20%程度であり, 2 月においては 1%に満たない. 実際に河川では, 水中に微生物や藻類が存在しており, それらによる EDCs の分解や太陽光による光分解が考えられる. また, アナカリスの植生域は水路を覆いつくすように密集しており, 流水の影響により, EDCs を吸収しているものだけでなく, アナカリス表面に吸着しているものが多いのではないかと考えられる. また, 植物の根圏の底質には微生物も大量に存在していると考えられているため, これらの多々の要因の相互作用により EDCs の浄化が行われていると考えられる.

表-4.3 計算に利用したパラメータ

	February		August	
	BPA	E2	BPA	E2
C_v [$\mu\text{g}/\text{kg}$]	82.1	0.54	75.1	1.01
k_3 [hour^{-1}]	0.083	0.062	0.264	0.418
M_v [kg]	20.2	20.2	2233.4	2233.4
T [hour]	10	10	12	12

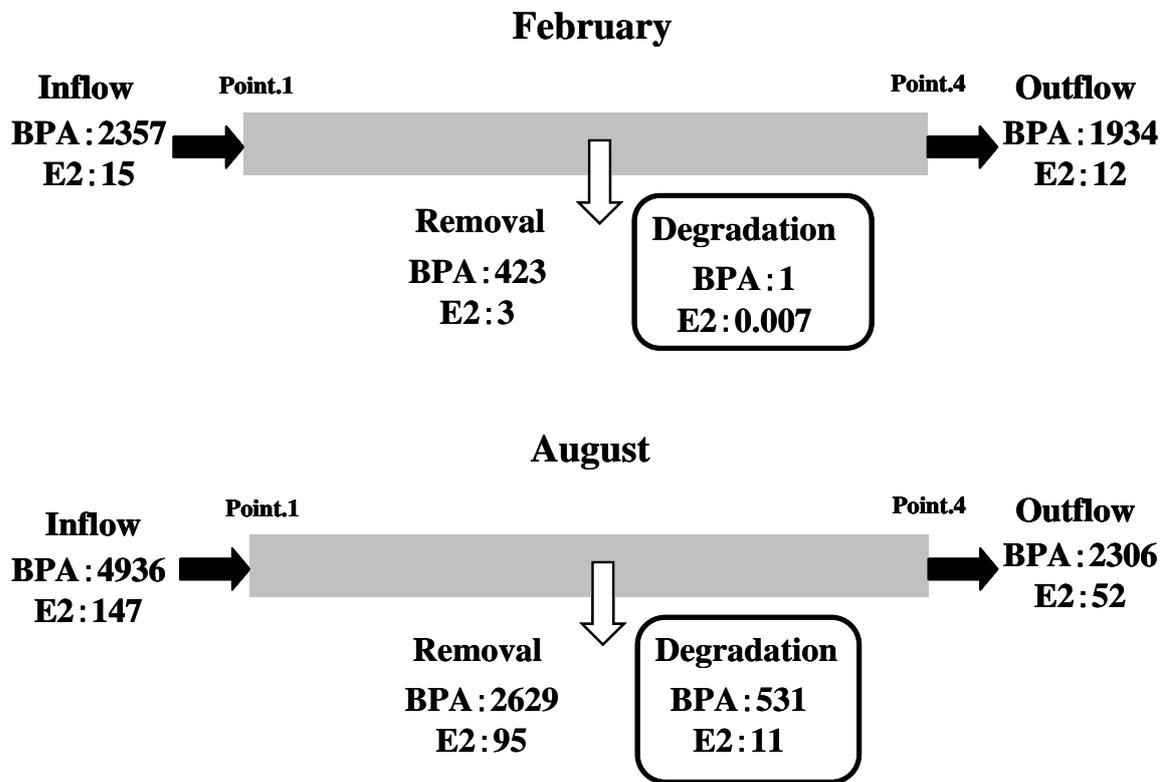


図-4.28 日中における BPA, E2 の収支 (mg)

4.4 本章のまとめ

実際に都市用水路内に生息している沈水植物及び付着藻類に対するファイトレメディエーションへの適用性を検討する事を目的とし、神奈川県川崎市を流れる二ヶ領用水において現地調査を実施した。以下に得られた知見を示す。

- 二ヶ領用水において BPA, E2 は検出されたが、人体に影響を及ぼすと考えられている濃度と比較して、低濃度であった。また、一日の時間変動について、BPA は工業活動が行われていると考えられる日中に濃度が増加し、E2 については人間が活動していると考えられる時間帯は深夜に比べて濃度が高い傾向にあった。
- BPA, E2 は流下に伴い減少する傾向を示したが、減少量については水温やアナカリスの成長や付着藻類量の季節による変化が影響し、8月時に最も大きな減少量を示した。
- 本研究における吸収実験時に設定した濃度と比較して極低濃度の BPA, E2 に関してもアナカリス及び付着藻類は体内に吸収した。さらに、アナカリスについては、設置実験により吸収した BPA, E2 を植物体内で分解している可能性を有することがわかった。
- 二ヶ領用水の調査地点 1~4 の区間において、EDCs は2月に1日あたり BPA : 1.56mg, E2 : 0.007mg, 8月では BPA : 474.6mg, E2 : 10.8mg 除去されると試算された。この結果は、用水路中での正味の減少量のいずれも 20%以下であり、実河川ではアナカリスだけでなく微生物や藻類、またそれらの相互作用により EDCs の浄化が行われていると考えられる。

第5章 結論及び今後の課題

5.1 本研究の結論

本研究では、都市用水路のような比較的汚染の進んでいる水域においても生息可能である沈水植物アナカリスおよび付着藻類を利用し、EDCsの環境条件の変化における吸収・分解能力に及ぼす影響の評価を行い、実際の現場におけるファイトレメディエーションの適用性について検討することを目的とし、室内実験及び現地観測を実施した。以下に得られた主な知見を示す。

- **静水中における水生植物による内分泌攪乱化学物質の吸収実験（第2章）**
 - ・ 沈水植物アナカリスはBPA及びE2体内に吸収し、体内中で除去していることが確認された。本実験の実験条件においては、実験開始120時間後にはBPAを34%、E2を51%除去した。
 - ・ 付着藻類についても、同様にBPA、E2の除去能力を有し、本実験の実験条件においては、実験開始72時間後にはBPAを43%、E2を98%除去した。
 - ・ アナカリスのBPA、E2の除去能力は水温による影響を受け、25℃において他の低温のケースと比較して除去能力は著しく向上した。
 - ・ BPA、E2の除去は植物表面の微生物は関与しておらず、植物自身によるものと推測された。
 - ・ BPA、E2の吸収・分解の二相モデルでは、BPAについては比較的よく再現できたが、E2については植物相でのピークを過小評価する傾向にあった。
- **流水中における水生植物による内分泌攪乱化学物質の吸収実験（第3章）**
 - ・ 実験開始から時間の経過と共に水溶液内のE2、BPAが減少し、アナカリス体内のE2、BPAが増加したことから、水路内のE2、BPAの減少にアナカリス体内への吸収が寄与している事がわかった。
 - ・ 静水中における吸収実験と比較し、水の流れによりアナカリス表面へのE2、BPAの付着が阻害され、実験開始後4時間経過時における水溶液内のE2、BPA減少が小さ

くなった。また流れが速いほどその傾向が強くなった。

- 水溶液、植物表面及び体内の E2, BPA 残存率の経時変化から、流れが速いほどアナカリス表面への E2, BPA の付着が減少するが、水流により常時一定量の E2, BPA がアナカリス表面に供給される傾向が見られた。
- 可視光常時照射及び水温一定(25°C)の条件下、実験開始 24 時間経過時において沈水植物アナカリスは、水路内から E2 を 25~29%, BPA を 42~44%除去した。
- 水の流れはアナカリス表面への E2, BPA の付着を阻害するが、アナカリス体内への吸収を促進させる効果がある可能性が示唆された。
- **都市用水路内における内分泌攪乱化学物質の挙動に関する現地調査 (第 4 章)**
 - ニヶ領用水における、EDCs の一日の時間変動について、BPA は工業活動が行われていると考えられる日中に濃度が増加し、E2 については人間が生活活動していると考えられる時間帯は深夜に比べて濃度が高い傾向にあった。
 - BPA, E2 は流下に伴い減少する傾向を示したが、減少量については水温やアナカリスの成長や付着藻類量の季節による変化が影響し、8 月時に最も大きな減少量を示した。
 - 本研究における吸収実験時に設定した濃度と比較して極低濃度の BPA, E2 に関してもアナカリス及び付着藻類は体内に吸収した。さらに、アナカリスについては、吸収した BPA, E2 を植物体内で分解している可能性を有することがわかった。
 - ニヶ領用水の調査地点 1~4 の区間において、室内実験のパラメータを用いた試算を行った結果、EDCs は 2 月に 1 日あたり BPA : 1.56mg, E2 : 0.007mg, 8 月では BPA : 474.6mg, E2 : 10.8mg 除去されると試算された。

5.2 今後の課題

本研究では沈水植物と付着藻類を使用し、室内実験及び現地観測を行った。生物を使用した実験では生物ごとの個体差によるデータの変動が見られた。また、本実験では実験溶媒に純水を使ったため、植物が衰弱し、活性が一定に保てなかった。これらのことを考慮し、

実験を行うことにより、モデル式を精度の高いものへ発展させていくことが望まれる。

また、本研究では沈水植物アナカリスにのみ焦点を絞って、浄化能力の評価を行った。しかし、実際の河川内においては藻類や微生物による EDCs の浄化の影響も大きい。そのため、これらの藻類や微生物についても EDCs の吸収・分解能力を評価するための実験を行っていくことにより、河川全体での EDCs 浄化能力の評価を行っていく必要がある。

付録 二ヶ領用水における付着藻類の同定結果

表-1 付着藻類同定結果(2月)

藻類同定計数結果

No	門	綱	目	科	属	種名	細胞数
1	藍色植物	藍藻	ネンジュモ	スキトネマ	フレクトネマ	<i>Plectonema</i> sp.*	14,000
2				オシラトリア	シンプロカ	<i>Synproca</i> sp.*	8,900
—				—	—	<i>Nostocales</i> sp.*	670
3	不等毛植物	珪藻	中心	タラシオシラ	キクロテラ	<i>Cyclotella meneghiniana</i>	4,700
4						<i>Cyclotella stelligera</i>	1,200
5				メロシラ	メロシラ	<i>Melosira varians</i>	34,000
6					プレウロシラ	<i>Pleurosira laevis</i>	1,800
7			羽状	ディアトマ	ディアトマ	<i>Diatoma vulgare</i>	3,500
8					フラジラリア	<i>Fragilaria caputellata</i>	21,000
9						<i>Fragilaria capucina</i>	61,000
10						<i>Fragilaria construens</i>	4,700
11						<i>Fragilaria parasitica</i>	5,800
12						<i>Fragilaria vaucheriae</i>	8,200
—						<i>Fragilaria</i> sp.	5,800
13					マルティアナ	<i>Martyana martyi</i>	1,200
14					シネドラ	<i>Synedra acus</i>	1,200
15						<i>Synedra inaequalis</i>	18,000
16						<i>Synedra ulna</i>	19,000
17				ナビクラ	アンフォラ	<i>Amphora ovalis</i>	2,300
—						<i>Amphora</i> sp.	12,000
18					カロネイス	<i>Caloneis molaris</i>	3,500
19					キンベラ	<i>Cymbella minuta</i>	1,200
20						<i>Cymbella naviculiformis</i>	1,200
21						<i>Cymbella prostrata</i>	2,300
22					フルスツリア	<i>Frustulia vulgare</i>	5,800
23					ゴンフォネマ	<i>Gomphonema parvulum</i>	33,000
24				ナビクラ		<i>Navicula confervacea</i>	1,200
25						<i>Navicula cryptocephala</i>	36,000
26						<i>Navicula goeppertiana</i>	3,500
27						<i>Navicula gregaria</i>	4,700
28						<i>Navicula minima</i>	25,000
29						<i>Navicula pupula</i>	4,700
30						<i>Navicula radiosa</i>	1,200
31						<i>Navicula subminuscula</i>	2,300
32						<i>Navicula viridula</i>	20,000
—						<i>Navicula</i> spp.	7,000
33					ロイコスフェニア	<i>Rhoicosphenia abbreviata</i>	1,200
34				アクナンテス	アクナンテス	<i>Achnanthes clevei</i>	35,000
35						<i>Achnanthes convergens</i>	16,000
36						<i>Achnanthes exigua</i>	18,000
37						<i>Achnanthes lanceolata</i>	110,000
38						<i>Achnanthes minutissima</i>	7,000
39					コココネイス	<i>Cocconeis placentula</i>	23,000
40				ニツチア	バシラリア	<i>Bacillaria paradoxa</i>	3,500
41					ニツチア	<i>Nitzschia amphibia</i>	41,000
42						<i>Nitzschia dissipata</i>	3,500
43						<i>Nitzschia filiformis</i>	2,300
44						<i>Nitzschia frustulum</i>	14,000
45						<i>Nitzschia linearis</i>	61,000
46						<i>Nitzschia palea</i>	820,000
47						<i>Nitzschia solgensis</i>	12,000
48						<i>Nitzschia acicularis</i>	1,100
—						<i>Nitzschia</i> spp.	3,500
49					スリレラ	<i>Cymatopleura solea</i>	1,200
50						<i>Surirella angusta</i>	9,300
51	緑色植物	緑藻	クロロコクム	セネデスムス	セネデスムス	<i>Scenedesmus abundans</i>	1,800
52						<i>Scenedesmus quadricauda</i>	890
—						CHLOROCOCCALES sp.*	1,300
細胞数							1,568,160
種類数	3門	3綱	4目	10科		52種	

注1) *は群体数を示す。
単位: 細胞数(群体数)/mL

表-2 付着藻類同定結果(5月)

藻類同定計数結果

No.	門	綱	目	科	属	種名	river.5
1	藍色植物	藍藻	ネンジュモ	スキトネマ	プレクトネマ	<i>Plectonema</i> sp. *	89.000
2				オシラトリア	オシラトリア	<i>Oscillatoria</i> sp. *	220
3					シンプロカ	<i>Symploca</i> sp. *	13.000
—						<i>Nostocales</i> sp.*	1.100
4	不等毛植物	珪藻	中心	タラシオシラ	キクロテラ	<i>Cyclotella meneghiniana</i>	10.500
5				メロシラ	メロシラ	<i>Melosira varians</i>	1,100.000
6					ヒドロセラ	<i>Hydrosera whampoensis</i>	440
7					プレウロシラ	<i>Pleurosira laevis</i>	10.000
8			羽状	ディアトマ	ディアトマ	<i>Diatoma vulgare</i>	21.000
9					フラジラリア	<i>Fragilaria capucina</i>	105.000
10						<i>Fragilaria construens</i>	430.000
11						<i>Fragilaria vaucheriae</i>	65.000
—						<i>Fragilaria</i> sp.	115.000
12					シネドラ	<i>Synedra ulna</i>	65.000
13				ナビクラ	アンフォラ	<i>Amphora ovalis</i>	31.500
—						<i>Amphora</i> sp.	400.000
14					カロネイス	<i>Caloneis molaris</i>	21.000
15					キンベラ	<i>Cymbella prostrata</i>	42.000
16					ゴンフォネマ	<i>Gomphonema parvulum</i>	105.000
17					ナビクラ	<i>Navicula accomoda</i>	31.500
18						<i>Navicula cryptocephala</i>	170.000
19						<i>Navicula goeppertiana</i>	50.000
20						<i>Navicula gregaria</i>	21.000
21						<i>Navicula minima</i>	430.000
22						<i>Navicula pupula</i>	31.500
23						<i>Navicula radosa</i>	95.000
24						<i>Navicula seminulum</i>	31.500
25						<i>Navicula subminuscula</i>	21.000
26						<i>Navicula viridula</i>	10.500
—						<i>Navicula</i> spp.	75.000
27					ロイコスフェニア	<i>Rhoicosphenia abbreviata</i>	65.000
28				アクナンテス	アクナンテス	<i>Achnanthes clevei</i>	65.000
29						<i>Achnanthes delicatula</i>	21.000
30						<i>Achnanthes exigua</i>	220.000
31						<i>Achnanthes lanceolata</i>	1,050.000
32						<i>Achnanthes minutissima</i>	21.000
33					ココネイス	<i>Cocconeis pediculus</i>	42.000
34						<i>Cocconeis placentula</i>	125.000
35				ニツチア	バシラリア	<i>Bacillaria paradoxa</i>	21.000
36					ニツチア	<i>Nitzschia amphibia</i>	850.000
37						<i>Nitzschia dissipata</i>	95.000
38						<i>Nitzschia filiformis</i>	21.000
39						<i>Nitzschia fonticola</i>	1,550.000
40						<i>Nitzschia frustulum</i>	190.000
41						<i>Nitzschia levidensis</i>	21.000
42						<i>Nitzschia linearis</i>	270.000
43						<i>Nitzschia palea</i>	220.000
44						<i>Nitzschia solgensis</i>	42.000
45						<i>Nitzschia acicularis</i>	10.500
—						<i>Nitzschia</i> spp.	50.000
46				スリレラ	スリレラ	<i>Surirella angusta</i>	10.500
47	緑色植物	緑藻	クロロコクム	セネデスムス	セネデスムス	<i>Scenedesmus abundans</i>	1.800
—						<i>Scenedesmus</i> sp.	1.800
48			サヤミドロ	サヤミドロ	サヤミドロ	<i>Oedogonium</i> sp.*	670
細胞数							8,556.030
種類数	3門	3綱	5目	11科		48種	

注1) *は群体系数を示す。
単位: 細胞数(群体系数)/mL

表-3 付着藻類同定結果(8月)

藻類同定計数結果

No.	門	綱	目	科	属	種名	river.8			
1	藍色植物	藍藻	ネンジュモ	ネンジュモ	アナベナ	<i>Anabaena</i> sp. *	440			
2				オシラトリア	オシラトリア	<i>Oscillatoria</i> sp. *	1,300			
3				シンプロカ	シンプロカ	<i>Synproca</i> sp. *	670			
4	不等毛植物	珪藻	中心	タラシオシラ	キクロテラ	<i>Cyclotella meneghiniana</i>	29,000			
5					タラシオシラ	<i>Thalassiosira weissflogii</i>	4,100			
6					メロシラ	<i>Melosira varians</i>	140,000			
7					ヒドロセラ	<i>Hydrosera whampoensis</i>	890			
8					プレウロシラ	<i>Pleurosira laevis</i>	7,100			
9					羽状	ディアトマ	ディアトマ	<i>Diatoma vulgare</i>	2,100	
10							フラジラリア	<i>Fragilaria capucina</i>	4,100	
11								<i>Fragilaria construens</i>	82,000	
12								<i>Fragilaria vaucheriae</i>	49,000	
—								<i>Fragilaria</i> sp.	2,100	
13							シネドラ	<i>Synedra acus</i>	440	
14								<i>Synedra ulna</i>	49,000	
15							ナビクラ	アンフォラ	<i>Amphora</i> sp.	97,000
16						カロネイス		<i>Caloneis molaris</i>	4,100	
17						キンペラ		<i>Cymbella prostrata</i>	1,600	
—						<i>Cymbella</i> sp.		220		
18						フルスツリア		<i>Frustulia vulgaris</i>	220	
19						ゴンフォネマ		<i>Gomphonema parvulum</i>	16,000	
20						ナビクラ		<i>Navicula cryptocephala</i>	10,000	
21								<i>Navicula goeppertiana</i>	18,000	
22								<i>Navicula gregaria</i>	6,200	
23								<i>Navicula lanceolata</i>	2,100	
24								<i>Navicula minima</i>	170,000	
25								<i>Navicula pupula</i>	8,200	
26							<i>Navicula radiosa</i>	2,100		
27							<i>Navicula seminum</i>	12,000		
28							<i>Navicula subminuscula</i>	2,100		
29							<i>Navicula veneta</i>	2,100		
30							<i>Navicula viridula</i>	33,000		
—					<i>Navicula</i> spp.	58,000				
31			アクナンテス	アクナンテス	<i>Achnanthes clevei</i>	41,000				
32						<i>Achnanthes exigua</i>	110,000			
33						<i>Achnanthes lanceolata</i>	220,000			
34						<i>Achnanthes minutissima</i>	2,100			
—						<i>Achnanthes</i> sp.	78,000			
35					ココネイス	<i>Cocconeis pediculus</i>	4,100			
36						<i>Cocconeis placentula</i>	14,000			
37				ニツチア	バシラリア	<i>Bacillaria paradoxa</i>	21,000			
38						ハンチア	<i>Hantzschia amphioxys</i>	220		
39						ニツチア	<i>Nitzschia acicularis</i>	2,100		
40						<i>Nitzschia amphibia</i>	60,000			
41						<i>Nitzschia dissipata</i>	8,200			
42						<i>Nitzschia fonticola</i>	16,000			
43						<i>Nitzschia frustulum</i>	43,000			
44						<i>Nitzschia levidensis</i>	4,100			
45						<i>Nitzschia linearis</i>	4,100			
46						<i>Nitzschia palea</i>	120,000			
47						<i>Nitzschia solgennensis</i>	14,000			
48						<i>Nitzschia subacicularis</i>	12,000			
—						<i>Nitzschia</i> spp.	31,000			
49			スリレラ	スリレラ	<i>Gymatopleura solea</i>	220				
50							<i>Surirella linearis</i>	440		
51							<i>Surirella tenera</i>	670		
52	緑色植物	緑藻	クロロコクム	セネデスムス	セネデスムス	<i>Scenedesmus acuminatus</i>	890			
53									<i>Scenedesmus quadricauda</i>	890
—									<i>Scenedesmus</i> sp.	3,600
—										CHLOROCOCCALES sp.
細胞数						1,627,250				
種類数	3門	3綱	4目	10科	53種					

注1) *は群体数を示す。
単位: 細胞数(群体数)/mL

表-4 付着藻類同定結果(11月)

藻類同定計数結果

No.	門	綱	目	科	属	種名	river.11
1	藍色植物	藍藻	ネンジュモ	オシラトリア	オシラトリア	<i>Oscillatoria</i> sp. *	1,100
2					シンプロカ	<i>Synproca</i> sp. *	440
3	不等毛植物	珪藻	中心	タラシオシラ	キクロテラ	<i>Cyclotella meneghiniana</i>	12,000
4						<i>Cyclotella stelligera</i>	890
5				メロシラ	メロシラ	<i>Melosira varians</i>	310,000
6					プレウロシラ	<i>Pleurosira laevis</i>	8,400
7			羽状	ディアトマ	フラジラリア	<i>Fragilaria capucina</i>	14,000
8						<i>Fragilaria construens</i>	51,000
9						<i>Fragilaria vaucheriae</i>	1,800
—						<i>Fragilaria</i> sp.	47,000
10					シネドラ	<i>Synedra inaequalis</i>	2,700
11						<i>Synedra ulna</i>	12,000
12				ナビクラ	アンフォーラ	<i>Amphora montana</i>	890
13						<i>Amphora pediculus</i>	36,000
—						<i>Amphora</i> sp.	1,800
14					カロネイス	<i>Caloneis</i> sp.	1,800
15					キンベラ	<i>Cymbella prostrata</i>	1,300
16					フルスツリア	<i>Frustulia vulgaris</i>	220
17					ゴンフォネマ	<i>Gomphonema parvulum</i>	12,000
18					ナビクラ	<i>Navicula atomus</i>	890
19						<i>Navicula confervacea</i>	440
20						<i>Navicula cryptocephala</i>	3,500
21						<i>Navicula cryptotenella</i>	8,000
22						<i>Navicula goeppertiana</i>	14,000
23						<i>Navicula gregaria</i>	5,300
24						<i>Navicula minima</i>	110,000
25						<i>Navicula pupula</i>	4,400
26						<i>Navicula seminulum</i>	15,000
27						<i>Navicula subminuscula</i>	1,800
28						<i>Navicula viridula</i>	1,800
—						<i>Navicula</i> sp.	46,000
29					ロイコスフェニア	<i>Rhoicosphenia abbreviata</i>	890
30				アクナンテス	アクナンテス	<i>Achnanthes clevei</i>	63,000
31						<i>Achnanthes exigua</i>	75,000
32						<i>Achnanthes lanceolata</i>	110,000
33						<i>Achnanthes minutissima</i>	890
—						<i>Achnanthes</i> sp.	32,000
34					コココネイス	<i>Cocconeis pediculus</i>	2,700
35						<i>Cocconeis placentula</i>	12,000
36				ニツチア	バシラリア	<i>Bacillaria paradoxa</i>	5,300
37					ハンチア	<i>Hantzschia amphioxys</i>	440
38					ニツチア	<i>Nitzschia amphibia</i>	26,000
39						<i>Nitzschia dissipata</i>	2,700
40						<i>Nitzschia fonticola</i>	890
41						<i>Nitzschia frustulum</i>	7,100
42						<i>Nitzschia levidensis</i>	440
43						<i>Nitzschia linearis</i>	8,000
44						<i>Nitzschia palea</i>	12,000
—						<i>Nitzschia</i> sp.	26,000
45				スリレラ	スリレラ	<i>Suirella tenella</i>	440
46	緑色植物	緑藻	クロロコクム	セネデスムス	セネデスムス	<i>Scenedesmus quadricauda</i>	1,800
—						<i>Scenedesmus</i> sp.	440
47				アミミドロ	ベディアストルム	<i>Pediastrum duplex</i>	890
48			ホシミドロ	ツツミモ	クロステリウム	<i>Closterium</i> sp.	220
細胞数							1,115,610
種類数	3門	3綱	5目	11科		48種	

注1) *は群体数を示す。

単位: 細胞数(群体数)/mL

表-5 付着藻類同定結果(アクリル板培養)

藻類同定計数結果

No.	門	綱	目	科	属	種名	river.10				
1	藍色植物	藍藻	ネンジュモ	オシラトリア	シンプロカ	<i>Symphoca</i> sp. *	220				
2	不等毛植物	珪藻	中心	タラシオシラ	キクロテラ	<i>Cyclotella meneghiniana</i>	520				
3				メロシラ	メロシラ	<i>Melosira varians</i>	150,000				
4			羽状	ディアトマ	プレウロシラ	プレウロシラ	<i>Pleurosira laevis</i>	2,200			
5					フラジラリア	フラジラリア	<i>Fragilaria capucina</i>	2,100			
6							<i>Fragilaria construens</i>	15,000			
—							<i>Fragilaria</i> sp.	4,800			
7							シネドラ	<i>Synedra ulna</i>	2,200		
8				ナビクラ			アンフォラ	アンフォラ	<i>Amphora</i> sp.	4,100	
9							ゴンフォネマ	ゴンフォネマ	<i>Gomphonema parvulum</i>	860	
10							ナビクラ	ナビクラ	<i>Navicula confervacea</i>	170	
11									<i>Navicula goeppertiana</i>	170	
12									<i>Navicula gregaria</i>	520	
13								<i>Navicula minima</i>	9,800		
14								<i>Navicula pupula</i>	340		
15								<i>Navicula radiosa</i>	340		
16								<i>Navicula schroeterii</i>	170		
17								<i>Navicula seminulum</i>	2,100		
18					<i>Navicula subminuscula</i>	1,200					
19					<i>Navicula veneta</i>	340					
20					<i>Navicula viridula</i>	170					
—				<i>Navicula</i> spp.	1,500						
21	アクナンテス			アクナンテス	アクナンテス	<i>Achnanthes clevei</i>	1,000				
22						<i>Achnanthes exigua</i>	11,000				
23						<i>Achnanthes lanceolata</i>	19,000				
24						<i>Achnanthes minutissima</i>	690				
—						<i>Achnanthes</i> sp.	1,000				
25						ココネイス	<i>Cocconeis placentula</i>	1,700			
26					ニツシア			ニツシア	ニツシア	<i>Bacillaria paradoxa</i>	1,000
27										<i>Nitzschia amphibia</i>	10,000
28										<i>Nitzschia dissipata</i>	340
29										<i>Nitzschia fonticola</i>	1,400
30		<i>Nitzschia frustulum</i>	1,900								
31		<i>Nitzschia levidensis</i>	170								
32		<i>Nitzschia linearis</i>	860								
33		<i>Nitzschia palea</i>	3,300								
34		<i>Nitzschia solgensis</i>	340								
—		<i>Nitzschia</i> spp.	4,100								
35	緑色植物	緑藻	クロコクコム	スリレラ	スリレラ	<i>Surirella</i> sp.	220				
—					セネデスムス	セネデスムス	<i>Scenedesmus quadricauda</i>	440			
—						<i>Scenedesmus</i> sp.	670				
37				アメミドロ	ベディアストルム	<i>Pediastrum duplex</i>	890				
38		カエトフォラ目	カエトフォラ	クロニオフォラ	<i>Cloniophora</i> sp.	18,000					
細胞数							276,840				
種類数	3門	3綱	5目	11科		38種					

注1) *は群体系数を示す。
単位: 細胞数(群体系数)/mL

参考文献

- 1) 日本水環境学会関西支部：アプローチ環境ホルモン -その基礎と水環境における最前線-, 技報堂出版, 2003.
- 2) Theo Colborn, John Peterson Myers, Dianne Dumannoski : 奪われし未来, 翔泳社, 2001.
- 3) 環境庁：内分泌攪乱化学物質問題への環境庁の対応方針について - 環境ホルモン戦略計画 SPEED'98 - , 1998.
- 4) 環境省：化学物質の内分泌かく乱作用に関する環境省の今後の対応方針について -ExTEND2005-, 2005.
- 5) 環境省：環境白書, 2005
- 6) 国土交通省河川局河川環境課：平成 17 年度全国一級河川における微量化学物質に関する実態調査の結果について(ダイオキシン類, 内分泌かく乱化学物質), 2006.
- 7) 宮島潔, 中田典秀, 小森行也, 山下尚之, 鈴木穰, 田中宏明：下水処理水放流先河川における付着藻類中のエストロゲン濃度, 第 42 回下水道研究発表会講演集, 2005.
- 8) EPA : Introduction to Phytoremediation, 2000.
- 9) F.E. Dierberg, T.A. Debusk, S.D. Jackson, M.J. Chimney, K. Pietro : Submerged aquatic vegetation-based treatment wetlands for removing phosphorous from agricultural runoff, Water Research, vol.36, pp.1409-1422, 2002.
- 10) O. Keskinan, M.Z.L. Goksu, M. Basibuyuk, C.F. Forster : Heavy metal adsorption properties of a submerged aquatic plant (*Ceratophyllum demersum*), Bioresource Technology, vol.92, pp.197-200, 2004.
- 11) 王効挙, 李法雲, 岡崎正規, 杉崎三男：ファイトレメディーションによる汚染土壌修復, 埼玉県環境科学国際センター報, 第 3 号, 2002.
- 12) Jacqueline Marie Tront, F. Michael Saunders : Role of plant activity and contaminant speciation in aquatic plant assimilation of 2,4,5-trichlorophenol, Chemosphere, vol.64, pp.400-407, 2006.
- 13) Pamela J. Rice, Todd A. Anderson, Joel R. Coats : Phytoremediation of Herbicide-Contaminated Surface Water with Aquatic Plants, Phytoremediation of soil and water contaminants, pp.133-151, 1997.
- 14) 永瀬裕康：微細藻類による重金属の選択的吸着除去, 水環境学会誌, vol.28, No.2, pp.17-21, 2005.
- 15) 久納誠, 丹羽薫, 中本信忠, 福渡隆：糸状藻類のリンおよび窒素吸収能の日周期性に関する実験的研究, 水環境学会誌, vol.20, No.5, pp.338-346, 1997.
- 16) Kirk T. Semple, Ronald B. Cain, Stefan Schmidt : Biodegradation of aromatic compounds by microalgae, FEMS Microbiology Letters, vol.170, pp.291-300, 1999
- 17) M. Imadeddin Nouredin, Toshio Furumoto, Miki Yamagishi, Yutaka Ishida, Hiroshi Fukui : Absorption, Translocation and Metabolism of Bisphenol A, a Possible Endocrine

- Disruptor, In Rice Seedlings, *Environmental Control in Biology*, vol.42, No.1, pp.31-39, 2004.
- 18) 斎藤貴：水生植物による内分泌攪乱化学物質のファイトレメディエーション，資源環境対策，vol.38, No.2, pp.47-52, 2002.
 - 19) 廣岡孝志，永瀬裕康：内分泌かく乱化学物質の生物分解と環境浄化への応用-光独立栄養微生物の利用-，*Journal of Environmental Biotechnology*, vol.3, No.1, pp.23-32, 2003.
 - 20) 古賀智之，池田駿介，大澤和敏，金井康一：沈水植物による水中の環境ホルモン浄化に関する基礎的研究，*水工学論文集*，vol.50, pp. 1093-1098, 2006.
 - 21) A. Fritioff, L. Kautsky, M. Greger：Influence of temperature and salinity on heavy metal uptake by submersed plant, *Environmental Pollution*, vol.133, pp.265-274, 2005.
 - 22) 矢島久美子：コカナダモの生育条件に関する研究，第2報：光合成速度に及ぼす照度，温度の影響，群馬県衛生公害研究所年報，通号19, pp.109-113, 1987.
 - 23) Corwin Hansch, Albert Leo, David Hoekman：Exploring QSAR –Hydrophobic, Electronic, and Steric Constants, American Chemical Society, 1995.
 - 24) Maricel V.Maffini, Beverly S.Rubin, Carlos Sonnenschein, Ana M.Soto：Endocrine disruptors and reproductive health: The case of bisphenol-A, *Molecular and Cellular Endocrinology*, vol.254-255, pp.179-186, 2006.
 - 25) 井口泰泉：水環境と水生生物への内分泌攪乱物質の影響，*水環境学会誌*，vol.22, No.8, pp.636-641, 1999.
 - 26) F.Lahnsteiner, B.Berger, M.Kletzl, T.Weismann：Effect of 17 β -estradiol on gamete quality and maturation in two salmonid species, *Aquatic Toxicology*, Vol.79, Issue.2, pp.233-246, 2006.
 - 27) 多田満，軽部智美，小神野豊：ヌカエビを用いた 17 β -エストロジオールの繁殖影響，*水環境学会誌*，Vol.26, No.11, pp.707-712, 2003.
 - 28) 田畑彰久，亀井翼，眞柄泰基，渡辺哲理，宮本信一，大西悠太，伊藤光明：ヒメダカビテロジェニンを指標としたノニルフェノール，ビスフェノール A，17 β -エストロジオールおよびこれらの混合曝露の影響，*水環境学会誌*，Vol.26, No.10, pp.671-676, 2003.
 - 29) 嶋津暉之，和波一夫，杉江あゆみ，加田誠，高橋憲一，加地弘一：多摩川等の環境ホルモン問題に関する研究(その3) - エストロジェン様物質の総量測定法 - ，*東京都環境科学研究所年報*，pp.165-175, 2000.
 - 30) 環境庁水質保全局水質管理課：外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル，1998.
 - 31) 菊田友哉：固液間の化学物質の分配に着目した微量有害物質の活性汚泥法での分解モデルの構築，東京工業大学大学院 理工学研究科 土木工学専攻 修士論文，2003.
 - 32) 北見秀明，渡辺哲男，北原滝男，石原良美，高野二郎：高速液体クロマトグラフィーによる飲料水及び河川水中のビスフェノール A の定量，*分析化学*，Vol.51, No.11, pp.1027-1035, 2002.
 - 33) 児島正敏，森文彦，藤枝正之：排水中の微量有機成分の分析に関する研究(第3報)，千

- 葉県産業支援技術研究所研究報告, No.2, pp.8-12, 2004.
- 34) Huilong Xia, Xiangjuan : Phytoremediation of ethion by water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) from water, *Bioresource Technology*, Vol.97, Issue.8, pp.1050-1054, 2006.
 - 35) Hui Li, Guangyao Sheng, Wentao Sheng, Ouyong Xu : Uptake of trifluralin and lindane from water by ryegrass, *Chemosphere*, Vol.48, pp.335-341, 2002.
 - 36) 大澤和敏: LQ 型の浮遊土砂流出モデルの構築および適用 東京大学大学院 農学生命科学研究科 修士論文, 2001.
 - 37) タケダ環境汚染診断薬 E2 ELISA キット使用説明書, 武田薬品工業株式会社
 - 38) タケダ環境汚染診断薬 BPA ELISA キット使用説明書, 武田薬品工業株式会社
 - 39) 林隆義, 山辺真一, 吉岡敏行, 西島倫子, 今中雅章 : ELISA 法を用いた水中の女性ホルモン分析, 岡山環境保健センター年報, No.26, pp.21-23, 2002.
 - 40) Yuzuru HAYASHI, Rieko MATSUDA, Katsutoshi Ito, Waka NISHIMURA, Kazuhiro IMAI, Masako MAEDA : Detection Limit Estimated from Slope of Calibration Curve: An Application to Competitive ELISA, *Analytical Sciences*, Vol.21, pp.167-169, 2005.
 - 41) 戸田祐嗣, 赤松良久, 池田駿介 : 水理特性が付着藻類の一次生産特性に与える影響に関する研究, 土木学会論文集, No.705, pp.161-174, 2002.
 - 42) 生嶋功 : 生態学講座 7 水界植物群落の物質生産 I, 共立出版, 1972.
 - 43) J.-H. Kang, F. Kondo : Bisphenol A Degradation by Bacteria Isolated from River Water, *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, Vol.43, pp.265-269, 2002.
 - 44) 大谷仁己 : 高分子, 内分泌攪乱物質ならびに毒性物質の生分解 10.ビスフェノール A の生分解, 防菌防黴, Vol.32, No.11, pp.551-556, 2004.
 - 45) Guang-Guo Ying, Rai S. Kookana, Ying-Jun Ru : Occurrence and fate of hormone steroids in the environment, *Environment International*, Vol.28, pp.545-551, 2002.
 - 46) 大森俊雄 : 多摩川の河岸土, 底土, 河川水の内分泌攪乱物質分解能とその強化に関する研究, とうきゅう環境浄化財団報告書, vol.30, 2001.
 - 47) 嶋津暉之, 和波一夫, 関善行, 大原拓也 : 都内水域の環境ホルモン問題に関する研究(その 2) 河川におけるエストロゲンの消失, 東京都環境科学研究所年報, pp.63-71, 2003.
 - 48) Jeong-Hun Kang, Fusao Kondo : Effects of bacterial counts and temperature on the biodegradation of bisphenol A in river water, *Chemosphere*, Vol.49, pp.493-498, 2002.
 - 49) 米丸紫陽子, 前田明子, 出口実歩, 桜井直樹 : 黒瀬川河川水中のノニルフェノールとビスフェノール A の濃度とそれらの植物への蓄積, 広島大学総合科学部紀要IV理系編, 第 29 巻, pp.81-93, 2003.

「^{た ま が わ か せんすい ふく}多摩川河川水に^{ないぶんびつかくらんぶつしつ すいせいしょくぶつ}含まれる内分泌攪乱物質の水生植物

による^{きゅうしゅう ぶんかいきこう かん けんきゅう}吸収・分解機構に関する研究」

(研究助成・学術研究 VOL. 36-N0. 265)

著 者 ^{いけだ しゅんすけ}池田 駿介

発行日 2008年3月31日

発行者 財団法人 とうきゅう環境浄化財団

〒150-0002

東京都渋谷区渋谷1-16-14 (渋谷地下鉄ビル内)

TEL (03) 3400-9142

FAX (03) 3400-9141