

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

FUNDAMENTAL STUDY ON ENDOCRINE DISRUPTERS PURIFICATION BY SUBMERGED AQUATIC VEGETATION

古賀智之¹・池田駿介²・大澤和敏³・金井康一⁴

Tomoyuki KOGA, Syunsuke IKEDA, Kazutoshi OSAWA and Kouichi KANAI

¹学生会員 東京工業大学大学院 理工学研究科土木工学専攻 (〒152-8552 東京都目黒区大岡山二丁目12-1)

²フェロー会員 工博 東京工業大学教授 理工学研究科 (同上)

³正会員 農博 東京工業大学大学院 理工学研究科土木工学専攻 (同上)

⁴学生会員 東京工業大学大学院 理工学研究科土木工学専攻 (同上)

Phytoremediation that attracts the attention is an effective technology of removing endocrine disrupters in soils, ground water and surface water. In this study, the absorption experiment of 17 β -estradiol (E2) and bisphenol A (BPA) using *Egeria densa* and the field survey in the Nikaryo-yosui were performed in order to investigate whether submerged vegetation in a river can apply to the phytoremediation of endocrine disrupters. The absorption experiment revealed that *Egeria densa* absorbed E2 and BPA. From the result of field survey, the reduction rate of E2 and BPA concentrations in the area with vegetation was larger than that in the area without vegetation. Moreover, *Egeria densa* in a river absorbed E2 and BPA, and possibly removed.

Key Words : Phytoremediation, Endocrine disrupters, Submerged vegetation, Absorption experiment

1. はじめに

近年, 我々の生活域を流れる河川は, 従来の治水, 利水機能に重点をおいた河川計画ではなく, 環境や生物に配慮した自然豊かな川づくりにより, 地域住民の憩いの場として機能しつつある. しかし同時にそのような河川は, 我々の生活環境から排出される内分泌攪乱物質(環境ホルモン)が, 工場廃水や下水処理水といった様々な経路を通して, 極微量であるが流れ込む問題にさらされている事が既往の研究¹⁾²⁾により明らかになってきた.

そのような処理場を通過して実河川中に排出された極微量の環境ホルモンを除去する方法の一つとして注目されている方法が, 植物の自浄作用を利用した環境修復改善技術(ファイトレメディエーション)である. ファイトレメディエーションは従来の化学物質等を用いた人為的な浄化法とは対照的に, 環境に対する負荷の低い浄化法として注目を浴びており, 有害化学物質による土壌汚染の分野で盛んに研究³⁾されている. また水域におけるファイトレメディエーションに関する研究も, 数種類の水生植物による重金属や環境ホルモン物質の吸収実験により, 水

生植物がそれらの物質を吸収するとの結果を得た斎藤の研究⁴⁾等がある. しかし, 水生植物体内における環境ホルモン物質の挙動や, 実際の水域に群生している水生植物による水域内の環境ホルモンの吸収能力に関しては詳細にわかっていないのが現状である.

そこで, 本研究では水中で生育し, 体の表面全体で物質吸収を行う沈水植物の, 環境ホルモン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する. 具体的には, 静水中の沈水植物を用いた環境ホルモンの吸収実験を行ない, 環境ホルモンに対する吸収・除去能力の有無を検証する. さらに, 沈水植物を有する実水路において現地調査を行い, 環境ホルモンに対するファイトレメディエーション効果について考察する.

2. 実験及び調査概要

(1) 実験概要

図-1に示す実験サンプルを複数用意し, 表-1に示す7ケースの実験を行った. 各実験において一定時間沈水植物を環境ホルモン溶液に浸した後, 水溶液試

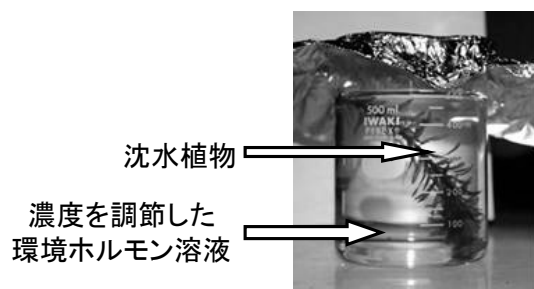


図-1 実験サンプル図

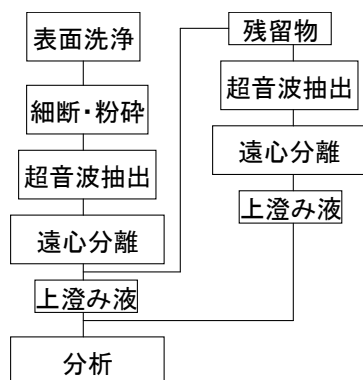


図-2 植物試料の前処理法

料、植物試料に分けて環境ホルモン濃度を分析した。沈水植物として日本各地の水域に群生しているアナカリス(学名: *Egeria densa*)を使用した。環境ホルモン物質として、エポキシ樹脂に使われるビスフェノールA(以下BPA)と天然エストロゲンの一つである17β-エストラジオール(以下E2)を使用した。これらの環境ホルモンは生物の生殖障害の原因物質と言われている。溶液の初期濃度はBPA, E2共に100μg/Lとして、溶液500mLにアナカリス約5gを浸して実験を行なった。本実験は使用したアナカリス個々の吸収能力の違いを考慮し、同一の実験条件において2回以上実験を行ない、得られた値を平均して結果の考察を行った。

水溶液試料の分析には操作が簡便なELISA法⁵⁾⁶⁾を採用し、植物試料の分析に関しても図-2に示す前処理を行った上でELISA法による分析を行った。植物試料に関してはELISA法により得られた値との比較の為、同試料を用いて環境ホルモン物質調査暫定マニュアル⁷⁾に記載のGC-MS法による分析を同時に行った。それらの分析値の差は最大で15%程度となった。このことから本研究において、ELISA法により得られた植物試料の分析値を用いて、植物体内におけるE2とBPAの挙動を把握する事が可能であるとした。

アナカリスは実験で使用する前に純水に7日間以上浸した。そして実験開始前にアナカリス体内に含まれるE2及びBPAの濃度をGC-MS法により分析したところ、それらの物質が検出されなかった。よって本実験で使用したアナカリスは、体内にE2及びBPAを含まない試料とみなせる。

表-1 実験条件

実験	水温(℃)	光の照射	照度(lux)	植物投入	溶液の種類	経過時間(hour)
1	25	有	3000	有	E2,BPA	24
2	25	有	3000	無	E2,BPA	24
3	25	無	-	有	E2,BPA	24
4	25	有	3000	有	E2,BPA	2
5	25	有	3000	有	E2,BPA	4
6	25	有	3000	有	E2,BPA	12
7	25	有	3000	有	E2,BPA→純水	24→24

a) 植物及び光の有無の影響

表-1の実験1と2に示したようにアナカリスを投入するサンプルと投入しないサンプルを2つ用意し、植物投入の有無による24時間後の水溶液中のE2, BPA濃度の違いを調べた。また実験3に示したように光を照射しないサンプルを用意し、実験1と3の比較により、光の有無によるアナカリスを投入した水溶液中の24時間後のE2, BPA濃度の違いを調べた。

b) 水溶液、植物中のE2, BPA濃度の経時変化

アナカリスをE2, BPA水溶液に浸す時間を変えた実験1及び4~6で得られる水溶液、アナカリス体内のE2, BPA濃度を用いて、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、水溶液、アナカリス内のE2, BPAの量を式(1)で定義した残存率を用いて表した。

$$a = 100 \times m / m_0 \quad (1)$$

ここで、 $a(\%)$: 残存率, $m(g)$: 試料内に含まれるE2またはBPA重量, $m_0(g)$: 実験開始時に水溶液に含まれるE2またはBPA重量である。

c) アナカリス体内のE2, BPAの挙動

表-1に示した実験7は実験1と同じ条件(水温, 照度)で、E2, BPA溶液に24時間浸したアナカリスを表面洗浄した後、純水500mLに24時間浸した実験である。実験7におけるアナカリスは、純水投入時ににおいて実験1と同程度の含量のE2, BPAを体内に有していたとみなせる。このことから実験1と7の結果を用いて、アナカリス体内におけるE2, BPAの挙動について調べた。

d) 実験サンプル全体におけるE2, BPAの挙動

実験1と5において、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、付着・吸収過程を調べた。そして実験2のアナカリスを投入しない場合の結果と統合し、アナカリスによるE2, BPA除去率を算定した。

(2) 調査概要

実際の水路における沈水植物の環境ホルモンに対するファイトレメディエーション効果について考察する為、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行った。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の用水路であり、古くから農業用

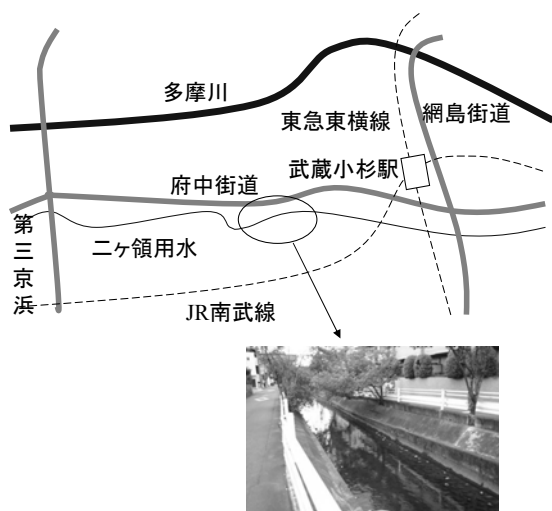


図-4 二ヶ領用水

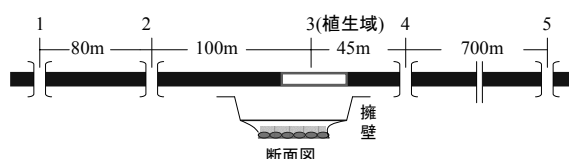


図-5 二ヶ領用水調査地点

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。この二ヶ領用水でアナカリスが繁茂している水域として、図-4に示す川崎市中原区内を流れている区間を選んだ。河川水を採取しE2, BPA濃度をELISA法によって分析した。図-5に調査地点を示す。午前11:00から12:00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。地点3付近において、用水路底面全体を覆うようにアナカリス群落が存在する。調査区間内において用水路上流からの流入以外に排水等の流入は無かった。各調査地点において河川水を採取すると共に、水温計による水温測定、リトマス試験紙によるpH測定、プロベラ流速計による流速測定も行った。

地点3においてアナカリスを3房採取し、アナカリス体内におけるE2, BPA濃度を、図-2に示した前処理を行った後、ELISA法によって分析した。また同時に、体内にE2及びBPAを含まないアナカリスを2房用意し、地点3において用水内に静置した。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E2, BPA濃度をELISA法によって分析した。

3. 結果と考察

(1) 室内実験

a) 植物及び光の有無の影響

図-6は実験1~3における水溶液中のE2, BPA濃度の比較である。実験1と2を比較するとアナカリスの有無により、24時間後の水溶液中のE2, BPA濃度に差が見られた。アナカリスを投入しない実験2の水

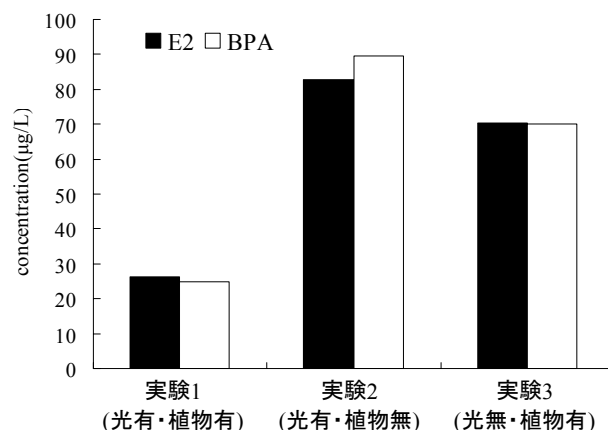


図-6 実験条件を変えた場合の24時間後の溶液中のE2, BPA濃度

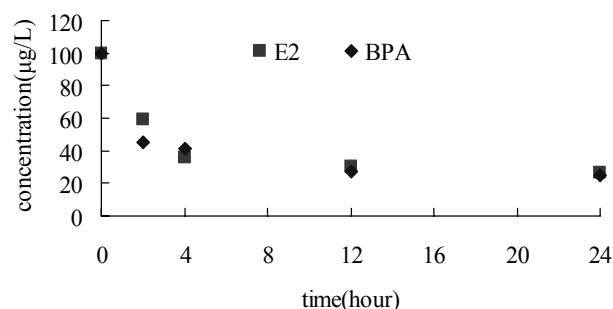


図-7 水溶液中のE2, BPA濃度の経時変化

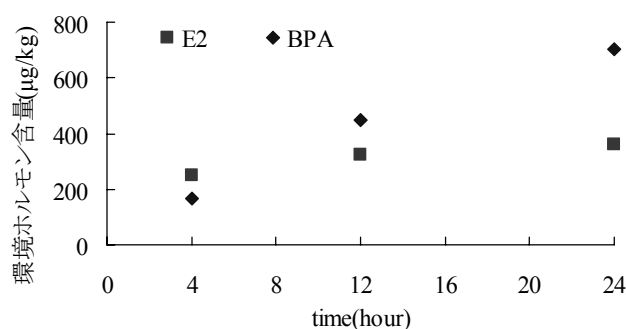


図-8 植物試料中のE2, BPA含量の経時変化

溶液は、投入した1の水溶液と比較してE2, BPA濃度の顕著な減少が見られない為、アナカリスの投入が水溶液中のE2, BPA濃度の減少に大きく寄与したと考えられる。また実験1と3を比較すると、光を照射しない実験3における水溶液中のE2, BPA濃度の減少量が実験1におけるE2, BPA濃度の減少量よりも小さかった。光の照射の有無はアナカリスの生物活性に影響を与えられ、水溶液内のE2, BPA濃度の減少に差が現れる事がわかった。

b) 水溶液、植物中のE2, BPA濃度の経時変化

図-7に実験1及び4~6で得られた水溶液内のE2とBPA濃度の経時変化を示す。4時間後において、E2, BPA共に初期投入量の50%以上が水溶液内から減少し、さらに24時間経過までに約70%のE2, BPAが水溶液内から減少した。図-8に植物試料(アナカリス)体内のE2とBPA含量の経時変化を示す。なおア

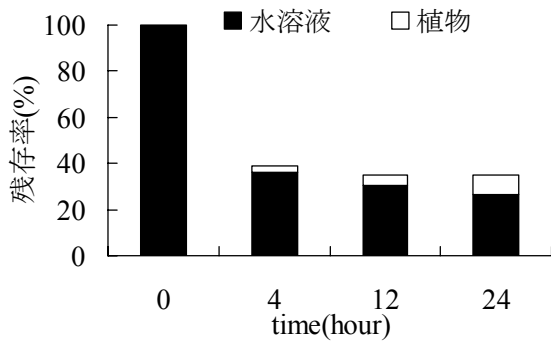


図-9 水溶液試料, 植物試料内のE2残存率の経時変化

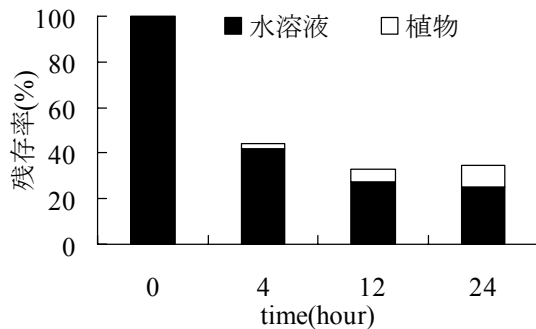


図-10 水溶液試料, 植物試料内のBPA残存率の経時変化

ナカリスの重量は湿潤量である。時間の経過に比例して、アナカリス体内におけるE2とBPA含量が増加する傾向が見られた。実験開始時においてアナカリス体内にはE2, BPAが存在しない為、アナカリスは水溶液からE2, BPAを体内に吸収したと考えられる。

図-9, 10は水溶液試料及び植物試料内に含まれるE2及びBPAの残存率の経時変化である。実験開始後4時間が経過すると、水溶液試料のE2, BPAの残存率が40%程度となるのに対し、同じ時間におけるアナカリス体内のE2, BPA残存率の増加は微量であった。このことから4時間経過時における水溶液内のE2, BPA濃度の減少において、アナカリス体内への吸収はあまり寄与しないと考えられる。4, 12, 24時間後におけるE2, BPA残存率を見ると、水溶液内のE2及びBPA残存率の減少量がほぼアナカリス体内におけるE2及びBPA残存率の増加量と一致した。このことから時間の経過と共に水溶液内のE2, BPAはアナカリス体内へ吸収されていったと示唆される。

c) アナカリス体内のE2, BPAの挙動

図-11は実験7の結果である。なお0時間後の値は実験1の結果であり、実験7の実験開始時の含量と仮定した。結果を見ると、アナカリス体内にE2, BPAが蓄積された状態とした後(0時間後)、純水に浸してE2, BPAの吸収を停止させた場合、24時間後におけるアナカリス体内のE2, BPA含量が約50%減少した。同時に水溶液中のE2, BPA濃度を測定したところ、24時間後におけるアナカリス体内のE2, BPA質量の約1/6にあたる量が水溶液中に存在した。この量はアナカリス体内におけるE2, BPAの減少量に対して非常に小さい。このことからアナカリス体内にお

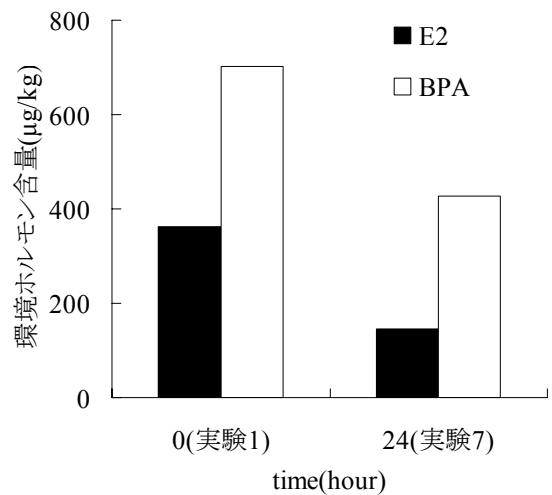


図-11 アナカリス体内におけるE2, BPAの変化

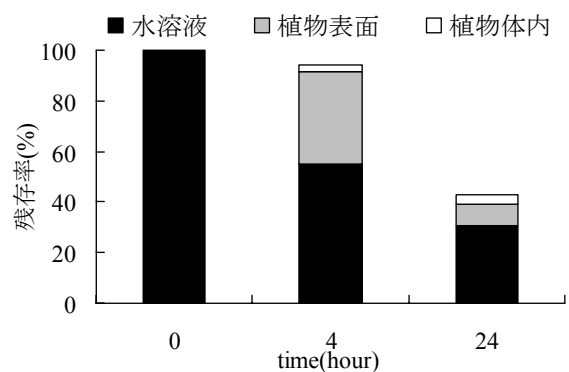


図-12 実験サンプル全体におけるE2残存率の経時変化

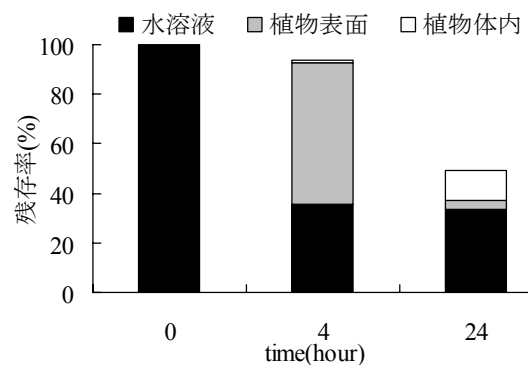


図-13 実験サンプル全体におけるBPA残存率の経時変化

いてE2, BPAが減少する主な原因は、水溶液への溶出によるものではなく、アナカリスが有するE2, BPA除去能力によるものと考えられる。なお、本実験においてアナカリス体内でのE2, BPAの具体的な反応系を明らかにするまでには至っていないが、既往の研究⁸⁾において毒性の低い代謝物に代謝される事が確認されつつある。

以上の結果より、アナカリスは水溶液に含まれるE2及びBPAを体内に吸収し、体内で減少させる能力を有する事がわかった。

d) 実験サンプル全体におけるE2, BPAの挙動

図-12, 13は実験サンプル全体におけるE2, BPA残存率の経時変化である。実験開始時において水溶液内に100%存在していたE2, BPAは、4時間経過時において、植物表面のE2, BPA残存率が大幅に増加している結果が示しているように、アナカリス表面に大量に付着していることがわかる。植物試料内の残存率が微量であることから、実験開始から4時間後までにおける水溶液内のE2, BPAの減少は、アナカリス表面への付着による寄与が大きく、植物体内への吸収による寄与は小さい事がわかった。

アナカリスを浸して24時間が経過すると、植物表面のE2, BPA残存率が4時間後に比較して大幅に減少した。水溶液中の24時間後のE2, BPA残存率も4時間後と比較して緩やかであるが減少した。アナカリス体内における残存率は時間の経過と共に増加していた。これらの結果から、4時間後においてアナカリス表面に付着したE2, BPAは、水溶液に再度排出されずにアナカリス体内に吸収された事が考えられる。

実験サンプル全体の残存率を実験開始時と比較すると、E2, BPA共に約1/2まで減少した。c)において述べたように、アナカリスは体内に蓄積しているE2, BPAを減少させる機能を有すると考えられ、24時間後における実験サンプル全体のE2, BPA残存率が減少したのは、その機能による寄与が大きいと考えられる。

以上の実験結果を用いて、式(2)で定めるE2, BPAの除去率を求めた。

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

ここで、 $a_w(\%)$: 実験1における水溶液内のE2, BPA残存率、 $a_s(\%)$: 実験1における植物表面のE2, BPA残存率、 $a_v(\%)$: 実験1における植物体内のE2, BPA残存率、 $C_{\text{blank}}(\text{g/L})$: 実験2における水溶液内の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。その結果、実験条件とした水温25℃、可視光常時照射時の24時間経過時におけるアナカリス投入による実験サンプルからのE2除去率は41%、BPA除去率は31%となった。

(2) 現地調査結果

表-2に図-5に示した二ヶ領用水における水温、pH、流速の観測値を示す。それらの値の調査地点による差は見られなかった。図-14は図-5で示した二ヶ領用水における各調査地点のE2濃度及びBPA濃度である。食品衛生法により定められたBPAの溶出基準は2500μg/L以下であり、今回調査区間で検出されたBPAはその基準よりはるかに低い値であった。E2に関する水環境中における明確な安全基準は定められていないが、東京都水道局の水質基準が80ng/L以下(暫定)であることから、今回検出されたE2は人体に影響しない量であるといえる。

表-3は各地点間におけるE2, BPA濃度の減少速度である。減少速度は各調査地点間の濃度の差に、流

表-2 各調査地点における水温、pH、流速

調査地点	水温(℃)	pH	流速(cm/s)
1	26.5	6	45
2	26.5	6.5	46
3	26.5	6.5	45
4	26.5	6.5	45
5	26.5	6.5	45

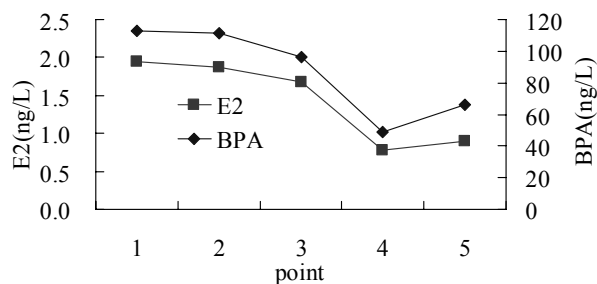


図-14 二ヶ領用水中の地点毎におけるE2, BPA濃度

表-3 各調査地点におけるE2, BPA濃度の減少速度

point	減少速度(ng/L/min)	
	E2	BPA
1~2	0.02	0.33
2~3	0.05	4.14
3~4	0.53	28.10

速をかけて調査地点間距離で割ることにより算出した。表中に示すように、地点1~2においてE2及びの減少速度は小さいが、水路底面全体にアナカリスが繁茂している地点3~4におけるE2, BPAの減少速度は、他の地点間の減少速度と比較して大きい。この区間に生育しているアナカリスは水面付近まで成長しており、河床に付着している藻類よりも、水中の物質が付着しやすい環境にあったと考えられる。このことからアナカリスへのE2, BPAの付着が水中のE2, BPA濃度の減少に大きく寄与していると考えられる。

地点3において繁茂しているアナカリスを採取し、体内のE2, BPA濃度を測定したところ、E2が0.22μg/kg、またBPAが14.52μg/kg検出された。調査地点において群生しているアナカリス体内からE2, BPAが検出されたことから、水域において検出される比較的低濃度のE2, BPAに対しても、室内実験と同様にアナカリスによる吸収が行われる事が確認された。また地点2~4における水中のE2及びBPAの減少は、他の調査区間には群生していないアナカリス表面への付着と、アナカリス体内への吸収が寄与していると考えられる。

室内実験で設定した環境ホルモン濃度は100μg/Lと今回調査した水環境中の環境ホルモン濃度よりはるかに高濃度である。そこで実際の水環境で検出される比較的低濃度かつ今回現地調査を行った水路のような流れがある場所において、体内にE2, BPA

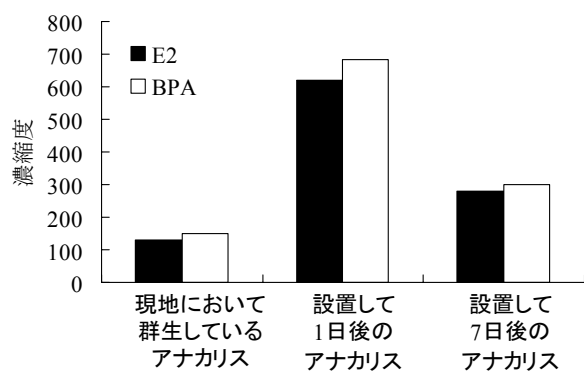


図-15 アナカリス体内のE2, BPA濃縮度

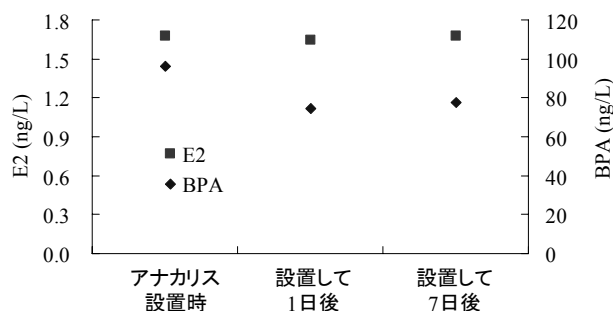


図-16 アナカリス採取時の
地点3における水中のE2, BPA濃度

を含まないアナカリスを地点3に設置し、一定期間経過後の体内E2, BPA濃度を測定した。

図-15は各アナカリスのE2及びBPA濃縮度である。濃縮度はアナカリス体内のE2, BPA濃度を採取時の水中のE2, BPA濃度で割った値である。設置して1日経過後のE2, BPA濃縮度は調査地点に群生しているアナカリスのE2, BPA濃縮度の約6倍であった。設置して7日後のE2, BPA濃縮度は、調査地点に群生しているアナカリスによるE2, BPA濃縮度の約2倍であった。

図-16に各アナカリス採取時の地点3における水中のE2, BPA濃度を示す。期間中における降雨はなかったため、アナカリス設置期間中における水中の濃度の変動はアナカリス体内における含量変化に対して小さかったと考えられる。このことから設置して7日後の濃縮度が1日後の濃縮度と比較して低下したのは、吸収されたE2, BPAがアナカリス体内で除去された事によるものであると予想される。以上のように、室内実験と比較して極めて低濃度である実際の河川水中のE2, BPAに対しても、アナカリスはそれらを吸収し、体内で除去している可能性を有する事がわかった。

4. 結論

沈水植物アナカリスによる環境ホルモン物質17β-エストラジオール(E2)及びビスフェノールA(BPA)の吸収実験を行ない、それらの物質に対する吸収・除去能力の有無について検証した。またアナカリス

が群生している二ヶ領用水において現地調査を行い、環境ホルモン物質に対するファイトレメディエーション効果を検証した。以下得られた知見を示す。

- 1) アナカリスは静水中において水溶液中のE2, BPAを吸収、除去する能力を有している事がわかった。アナカリスは体表面へ4時間程度でE2, BPAを大量に付着させた後、さらに時間をかけて体内へ吸収すると同時に、体内においてE2, BPAを減少させた。その除去率は水温25℃、可視光常時照射のもと、24時間でE2が41%、BPAが31%となった。
- 2) 二ヶ領用水では微量ながらE2, BPAが検出された。アナカリスが繁茂している区間は、アナカリスが繁茂していない区間よりもE2及びBPA濃度の減少速度が大きかった。また現地で採取したアナカリス体内からもE2, BPAが検出され、実際の水環境で検出される程度の低いE2, BPA濃度かつ流水中においてもアナカリスはそれらの物質を吸収する事がわかった。
- 3) 用水路内に環境ホルモン物質を含有しないアナカリスを設置し、E2, BPA濃縮度の経時変化を調べた結果、アナカリスはE2, BPAを吸収した後体内で除去している可能性が示唆される。

謝辞：本研究は日本学術振興会科学研究費補助金萌芽研究(課題番号：17656157、研究代表者：池田駿介)および財団法人とうきゅう環境浄化財団2005年度多摩川およびその流域の環境浄化に関する調査・試験研究助成金(研究代表者：池田駿介)の支援を受けたものである。記して謝意を表する。

参考文献

- 1) 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)、東京都環境科学研究所年報 2003, pp. 63-71.
- 2) 中村佳代、福井吉孝、太田裕史、柳沢哲士：河川におけるビスフェノールA-新河岸川を例として、水工学論文集、第47巻, pp. 1093-1098, 2003.
- 3) たとえば森川弘道、高橋美佐、川村義史：PCP及びPAHを含む土壌のファイトレメディエーション、環境バイオテクノロジー学会誌 1巻 1号, pp. 10-13, 2001.
- 4) 斉藤貴：水生植物による内分泌攪乱物質のファイトレメディエーション、ECO INDUSTRY, 第7巻, pp. 5-13, 2002.
- 5) 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。
- 6) タケダ環境汚染診断薬 17β-エストラジオール ELISAキット使用説明書、武田薬品工業株式会社。
- 7) 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(水生生物)、1998.
- 8) たとえば森田昌敏、矢木修身、中嶋信美、高木博夫、田邊潔、彼谷邦光、白石寛明、佐野友春、畠山成久：内分泌攪乱化学物質総合対策研究、環境中動態解明に関する研究、国立環境研究所年報(平成12年度), pp. 138-139, 1999.

(2005. 9. 30 受付)