

畜産廃棄物農地投与による環境保全

- 植物根圏土壌におけるエストロゲンの抽出挙動 -

京都大農 ○櫻井 伸治 京都大炉 藤川 陽子 福井 正美 京都大農 梅田 幹雄
大阪産業大学 角本 真澄美 菅原 正孝 濱崎 竜英 山形スリーエム(株) 阿部 悠子 電源開発(株) 新庄高久

1. はじめに

内分泌かく乱作用をもつ人工化学物質よりも人畜の排泄物由来の天然女性ホルモン（エストロゲン）の影響が卓越する場合があることが指摘されている。土壌への畜産排泄物等の投与によりかく乱作用は緩和される可能性があるが十分な知見はない。本研究では土壌吸着試験、植物ポット試験と抽出試験を行なって、エストロゲンが土壌に吸着された状態で存在する時、エストロゲンの吸着、分解、形態変化に土壌と植物の及ぼす影響を検討した。

2. 実験方法 **2-1 土壌吸着試験** 供試土壌は広島県世羅郡甲山町芦田湖水浄化施設に設置された畜産廃水処理の土壌浸透施設で使用済みとなった黒ボク土とした。固液比 1:10 でアジ化ナトリウム 0.01%を含む模擬河川水に天然女性ホルモンの一種であるエストロン、エストラジオール(以下 E1, E2)を各初期濃度が 0.1mg/L になるように単一で添加して実験を行なった。吸着試験試料を 25℃、湿度 70%の恒温恒湿室にて所定期間静置して上澄み液をガラス繊維ろ紙でろ過して E1, E2, E3（エストリオール）濃度を測定した。 **2-2 植物ポット試験** 供試土壌は土壌吸着試験と同じである。植物育成は 25℃の恒温室で行ない、日光類似のスペクトルの蛍光灯で 12 時間光を当てた。供試植物はマメ科のシロツメクサ(*Trifolium repens*)を使用した。E1, E2, E3 混合添加ならびに E2 単一添加の 2 通りの方法で土壌に予めエストロゲンを加えた。前者の添加濃度は 2, 20μg E1,E2,E3/kg 乾土、後者のそれは 10, 100μg E2 /kg 乾土とした。E1, E2, E3 を添加していない土壌でシロツメクサを生育させたものおよび各濃度でシロツメクサを植えていないもの（以下, NP）を対照試験とした。一般に E2 は E1, E3 に比べてそれぞれ 100, 10 倍エストロゲン活性が強い。ここでは便宜的に E2 の濃度を基準として E1,E2,E3 混合添加土壌中のエストロゲンを E2 相当濃度に換算し、2, 20μg E1,E2,E3 混合/kg 乾土はそれぞれ 2.22, 22.2μg E2 等量/kg 乾土と呼ぶ。植物育成期間は 1 ヶ月と短期間で供試土壌の栄養成分も考慮して栄養塩の補給はせずにほぼ毎日 50mL の超純水のみを供給した。別のポットで発芽させた苗を移植し、これを試験開始時とした。その後ある期間ごとにポットを解体し、植物体と根圏域の土壌を採取し植物体の乾燥重量（105℃、4 時間）と土壌中のエストロゲンの抽出濃度を測定した。 **2-3 エストロゲン抽出** 土壌水中の E1-E3 濃度を測定するために、土壌 20g（湿重）を超純水 80mL にて 1 日振とうさせ、その後ガラス繊維ろ紙でろ過することで土壌水試料を得た。水抽出後の土壌を風乾後、土壌 7.5g をメタノール：1M 酢酸 30mL で 30 分振とう・抽出液を得て、引き続き土壌残渣をメタノール 30mL で 5 分振とうしてこれを先のメタノール・酢酸抽出液と混合して溶媒抽出液とした。これらの抽出液中の E1, E2, E3 濃度を測定し土壌水中および溶媒抽出液中のエストロゲンをそれぞれ水溶態と吸着態とした。

3. 結果と考察 **3-1 土壌吸着試験** 土壌吸着試験によって得られた測定値から E1, E2, E3 の吸着効率を定量的に

表 1 各土壌における E1, E2, E3 の K_d 値 単位：mL/g

	液肥田	化肥田	使用済み黒ボク土	EPA	Drummer
E1	23.3	40	6300	3.4	48.1
E2	990	990	1700	3.6	83.2
E3	10	23.3	-	-	-

評価するために Henry 型線形吸着が成立すると仮定して、固液間吸着分配係数 K_d を求めた。 K_d 値を表 1 に示す。また参考値として京都府南

丹市八木町の水田土（液肥田，化学肥料田），EPA の砂質土（Ohio, USA）¹⁾ および Drummer のシルト質土壌（Indiana, USA）¹⁾ の K_d 値も記載した。ただし水田圃場での吸着試験は E1, E2, E3 を混合添加している。表から E1, E2 の吸着性は土壌によって大きく異なること、また植物ポット試験で用いた使用黒ボク土では他の土壌と異なり E1 の方が E2 より多く吸着されることが判った。ただし今回の K_d 値は初期濃度が 1 種類のみの試験から概算している。

キーワード エストロゲン，土壌吸着試験，植物ポット試験，エストロゲン抽出試験，水抽出，溶媒抽出

連絡先 〒590-0494 大阪府泉南郡熊取町朝代西 2-1010 京都大学原子炉実験所 Tel 0724-51-2447

吸着能の高い黒ボク土では液相中検出濃度が過少であったので、より正確な K_d 値を求めるには全量の 30-70%²⁾を回収できるような固液比で吸着等温試験を行なう必要がある。 **3-2 植物ポット試験** **3-2-1 生育状況と水溶態 E2**

含水比から求めた土壌水の E2 濃度および各濃度におけるシロツメクサの乾燥重量経時変化をそれぞれ表 2、図 1 表 2 E2 の土壌水濃度($\mu\text{g/L}$)経時変化

添加濃度	19日	27日	34日
0	ND	0.13	ND
2.22	ND	ND	ND
10	0.85	ND	ND
22.2	2.12	0.06	ND
100	1.23	ND	ND
100(NP)	1.50	0.04	ND

ND: 検出限界($0.02 \mu\text{g/L}$)以下

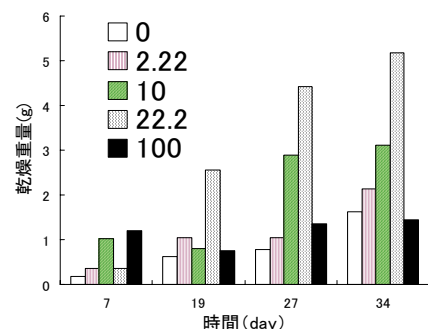


図1 各E2濃度での植物乾燥重量

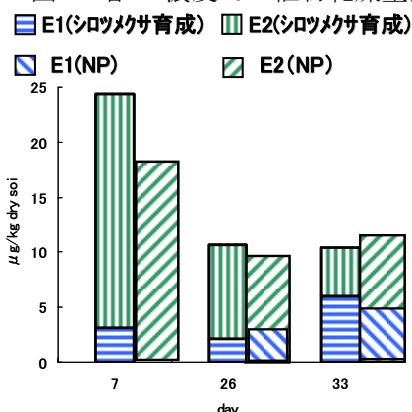


図2 吸着態 E1, E2 の濃度

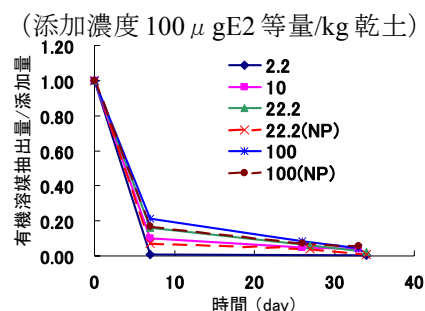


図3 エストロゲン活性の経時変化

(添加濃度 $100 \mu\text{g E2}$ 等量/kg 乾土) 目までで急激なエストロゲン活性の減少が見られた。これは灌漑水による物理的なエストロゲンの流亡・分解・経根吸収によると考えられるが、今後検討する。7日目以降はエストロゲン活性の減少率は緩やかになっているが、E2 から E1 への酸化 (図 2) によって緩やかに減少している。土壌内のエストロゲン活性は 35 日後には実験当初の数%までに低下した。

4. まとめ 本研究で吸着された E2 が土壌中で E1 に酸化、それに伴う土壌のエストロゲン活性の減少並びにシロツメクサの生長促進効果および高濃度での生長抑制効果が観測され、土壌水中の E2 の影響が考えられた。土壌の吸着性はポット・吸着試験で同じ傾向にあったが K_d 値は若干の差があった。結果植物の影響を検討するには短期間であったため、今後長期的な試験を行う必要がある。 **参考文献** 1) L. S. Lee *et al.* 2003, Environmental Science and Technology 37 (18), 4098-4105; 2) Z. Yu *et al.* 2004, Environmental Toxicology and Chemistry 23 (3), 531-539