

東北大学工学部 学生会員 ○小林 万里子  
 東北大学大学院工学研究科 正会員 中野 和典  
 東北大学大学院工学研究科 正会員 西村 修

### 1. はじめに

近年、エストロゲンによる水域及び水生生物への影響が懸念されている。エストロゲンは、主に下水処理場の処理水中に存在しており、環境水へと流れ込んでいる。生態系では生物濃縮が起こり得るため、一次生産者である藻類に対するエストロゲンの濃縮性の有無は、エストロゲンの生態系への影響を考える上で非常に重要であると考えられるが、十分に明らかになっていないのが現状である。そこで、本研究では、下水処理水が直接流入する水路内に発生した糸状藻類に対してエストロゲンが蓄積しうるのかという点について明らかにすることを目的として調査を行った。

### 2. 実験方法

#### 2.1 試料採取

2005年12月6日、宮城県上谷刈浄化センターにおいて水質試料と藻類試料のサンプリングを行った。この浄化センターでは、最終処理として紫外線処理を行っている。この下水処理水が直接流入する水路内に自然発生した糸状藻類を、金属製のバットに取り、アルミ箔をかぶせて氷冷したままで実験室まで運搬した。水質試料は、あらかじめアセトンで潤した茶褐色のガラス製の瓶に入れ、塩酸を加えてpHが2~3になるように調整し、氷冷したままで実験室まで運搬した。

#### 2.2 エストロゲンの測定

本研究では、エストロン(E1), 17 $\beta$ -エストラジオール(E2), エストリオール(E3), エチニルエストラジオール(EE2)の各エストロゲン濃度を測定し、蓄積性に関する検討を行った。

水質試料の前処理は、下水試験方法(追補暫定版)に基づいて行った。まず、GFD及びGFCを用いてろ過し、その溶液をC<sub>18</sub>Diskに通水し、吸着させた。C<sub>18</sub>Diskはヒーターを用いて完全に乾燥させ、酢酸エチル/メタノール(5:1)6mlで溶解し、窒素ガスを用いて濃縮乾固させた。その後、ヘキ

サン/ジクロロメタン(1:1)1mlで再び溶解し、この溶液をフロリジルカラムに通した。このとき、アセトン/ジクロロメタン(1:9)6mlの分画溶液を試料とし、これらを再び窒素ガスを用いて濃縮乾固させた。LC/MS(SHIMADZU, LCMS-2010A)で測定する際は、メタノール200μlで再溶解し、よく攪拌してから測定を行った。

藻類試料については、採取後、湿潤重量1gずつに分けて凍結乾燥機にかけてフリーズドライした。そして、フリーズドライした藻類試料に2mlのメタノールを加えて粉碎し、その溶液をエッペンチューブに入れて遠心分離機にかけた。そこで得た溶液を窒素ガスで濃縮乾固させた。その後ヘキサン/ジクロロメタン(1:1)1mlで溶出し、フロリジルカラムに通した。フロリジルカラムには2回通水し、そこで得られた溶液を窒素ガスを用いて濃縮乾固させ、藻類試料とした。LC/MSで測定する際は、メタノール200μlで再溶解し、よく攪拌してから測定を行った。

### 3. 結果及び考察

#### 3.1 水質試料

下水処理水中のエストロゲン濃度を図1に示す。どのエストロゲンに関しても、検出された濃度はppt(ng/L)レベルであった。建設省(現・国土交通省)

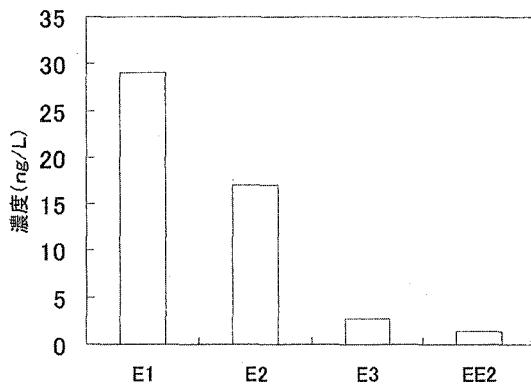


図1 下水処理水中のエストロゲン濃度

の調査では、下水処理水における E2 濃度は平均で 10ng/L と報告されており<sup>1)</sup>、本実験で測定された E2 の濃度は、同じレベルの値を示していた。また、嶋津らは、E1 と E2 の 2 物質の関係について、下水処理水中では、E1 濃度が E2 濃度を 3~5 倍上回るという報告をしており<sup>2)</sup>、本実験においても E1 の濃度が E2 よりも高かったことから、これらの報告と同様の結果を示していた。また、小森らは、下水処理水における EE2 の濃度について、LC/MS/MS を用いて測定した場合、すべて検出下限の 0.23ng/L 以下になったという報告をしている<sup>3)</sup>が、本実験では 1.4 ng/L と高い値を示した。

### 3.2 藻類試料

糸状藻類中のエストロゲン濃度を図 2 に示す。藻類試料は、湿潤重量 1kg 当たりの質量で求めた。図 2 より、E1 の濃度が最も高く、EE2 の濃度が最も低くなかった。また、E3 に関しては検出下限 (LC/MS で 1 μg/L) 以下であった。藻類試料の濃度は、検出下限以下となった E3 を除く 3 物質について、水質試料濃度と同様の傾向を示した。E1 の濃度は、E2 濃度の約 3 倍となり、水質試料よりも濃度の差が広

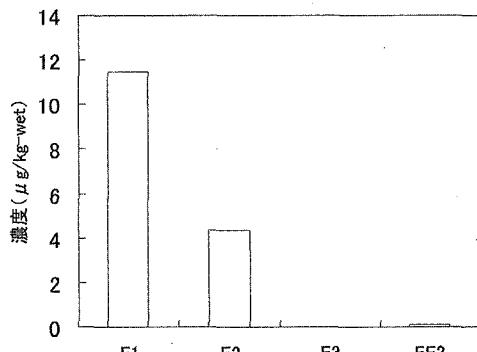


図2 糸状藻類中のエストロゲン濃度

がっていることがわかる。

### 3.3 濃縮係数

濃縮係数とは、次式で求められ、生物濃縮を考慮する際の指標として用いられている。それぞれの物質についての濃縮係数の結果を表 1 に示す。

$$\text{濃縮係数} = \frac{\text{藻類中濃度} (\mu\text{g}/\text{kg-wet})}{\text{処理水中濃度} (\mu\text{g}/\text{L})}$$

表1 濃縮係数

エストロゲン	濃縮係数
E1	396
E2	256
E3	-※
EE2	90

※ ーは検出下限以下のため算出不可

濃縮係数に関しても、検出下限以下となった E3 を除く 3 物質について、水質試料濃度と同様の傾向を示した。最も高い E1 の濃縮係数は、396 倍であり、非常に大きな値を示している。Takahashi *et al* は、E2 に関して、付着藻類に対する濃縮係数を 64~1200 倍と推定しており<sup>4)</sup>、本実験における糸状藻類の濃縮係数はその範囲内にあることが明らかとなった。これより、藻類に対するエストロゲンの蓄積が示唆され、これらを餌とする水生生物に更に濃縮が起こりうる可能性があるため、今後は、藻類を食餌とする生物間での更なる濃縮について検討する必要がある。また、本研究で測定したエストロゲンに加え、未知エストロゲン活性物質の存在も示唆<sup>4)</sup>されているため、それについても検討していく必要がある。

### 4. まとめ

- 下水処理水中から、ng/L レベルでエストロゲンが検出され E1, E2, E3, EE2 の順に濃度が低くなる傾向が見られた。また、糸状藻類からもエストロゲンが検出され、同様の傾向を示した。ただし、藻類中の E3 は検出下限以下であった。
- 濃縮係数は、E1 が 396 倍と最も大きく、次いで E2 が 256 倍、EE2 が 90 倍となった。これより、下水処理水が流入する水路内に発生した藻類には、エストロゲンを体内に蓄積する傾向があることを示唆した。
- 今後は、総エストロゲン活性による評価や、より高次の生物間での濃縮について検討していく必要がある。

### 参考文献

- 建設省都市局下水道部：平成 11 年度下水道における内分泌搅乱化学物質に関する調査報告書、平成 12 年。
- 嶋津ら：東京都環境科学研究所年報 2001, pp82-89, 2001.
- 小森ら：第 42 回下水道研究発表会講演集, pp61-63, 2005.
- A.Takahashi *et al* : Water Science and Technology, Vol.47, No.9, pp71-76, 2003.