

B-62 河川水中の溶存有機鉄錯体と懸濁物質が海水混合域においてエストロゲンの挙動に及ぼす影響

○古川 隼士^{1*}・鈴木 祥広²

¹宮崎大学大学院工学研究科 (〒889-2192宮崎県宮崎市学園木花台西1-1)

²宮崎大学工学部土木環境工学科 (〒889-2192宮崎県宮崎市学園木花台西1-1)

* E-mail: furukawa@civil.miyazaki-u.ac.jp

1. はじめに

今日の水環境における問題の一つとして外因性内分泌攪乱物質と称される化学物質による生態系さらには人体への影響が危惧されている。その化学物質の中でも17 β -エストラジオール (E2) は、内分泌攪乱作用としての活性度が他の物質と比較して著しく高く、また、河川等の環境中においても高い頻度で検出されている。

本研究の研究対象エリアである河口・沿岸域では、河川水と海水とが混合することで、河川水中に存在するフミン物質鉄等の微量金属や有機物質などの溶存・懸濁物質が、凝集・沈降することが古くから知られている¹⁾。また、河口・沿岸域は生物生産性が高く、しかも河川水中の多様な溶存・懸濁物質の挙動に劇的な変化をもたらす化学的反応に富んだエリアである。Isobeら²⁾による調査において、東京湾における表層堆積物中には、E2が広い範囲で分布しており、特に河口に近いエリアにおいて比較的高い濃度で検出されている。このようにE2が表層堆積物に蓄積することで、河口・沿岸域の生態系に影響を及ぼす可能性も否定できない。しかしながら、河口・沿岸域におけるE2の挙動に関する知見は極めて少ないのが現状である。そこで本研究では、①土壌から抽出したフミン物質鉄とE2標準物質で作成した模擬河川水と人工海水の混合、②実河川水と天然海水の混合における鉄、有機物およびE2の変化から、河川水中の溶存物質あるいは懸濁物質の凝集とエストロゲンの動態との関係について検討した。

2. 実験材料および方法

2. 1 実験材料

2. 1. 1 模擬河川水

本研究では、河川水中の溶存フミン物質鉄 (FA-Fe)

が海水と混合した際に生じる凝集プロセスに着目した。そこで、有機物質、鉄、E2を高濃度に設定した模擬河川水を作成し混合実験に用いた。フミン物質鉄の抽出方法は、採取してきた土壌試料 (森林土壌、河口底泥) を0.1NのNaOH水溶液を用いてアルカリ抽出した。抽出液をガラス繊維濾紙 (GF/F, Whatman製) で濾過し、濾液をFA-Fe抽出液 (森林FA-Fe、河口FA-Fe) とした。人工河川水400mLと各FA-Fe抽出液100mL (有機炭素濃度300mg/Lに調整) を混合させ、pH7.0に調整した。混合液を攪拌器を用いて50rpmで24時間攪拌し、攪拌後、凝集・凝析したFA-FeをGF/F濾紙で濾過して除去し、この濾過模擬河川水と人工海水を用いて海水混合実験を行った。人工海水は混合後に塩分35psuになるように、塩分を2倍の70psuに調整した。

2. 1. 2 実河川水および天然海水

河川流量に対して下水処理水や家庭排水の占める割合が高い都市河川として八重川 (宮崎市、1級河川) を選定し、表層水を採取した。海水は宮崎県青島水産試験場内で配水されている砂濾過海水を、さらにGF/F濾紙で濾過して実験に用いた。

2. 2 実験方法

2. 2. 1 海水混合実験方法

模擬河川水の実験では、模擬河川水500mLにE2標準物質が最終濃度10ng/Lとなるように添加し、続いて人工海水500mLと混合し25°C、100rpmで6時間攪拌した。また、コントロールとしてFA-Fe非添加の混合液についても同様の混合実験を行った。

実河川水の実験では、河川水500mLと濾過海水500mL (3連) を混合し25°C、100rpmで6時間攪拌した。なお、河川水は溶存物質の影響を検討する場合は、混合実験前にGF/F濾紙で濾過して実験に用いた。懸濁物質の影響を検討する場合は、懸濁物質を除去せずに実験に用いた。

2. 2. 2 分析項目

攪拌後の試料を未濾過試料と濾過試料とに分け、それぞれの試料において全有機炭素濃度 (TOC) と溶存有機炭素濃度 (DOC), 全鉄濃度 (T-Fe) と溶存鉄濃度 (D-Fe) を測定した。E2 濃度は、濾過試料と濾過した際の濾紙を分別し、酵素免疫定量 (ELISA) 法 (ELISA キット, 日本エンバイロケミカルズ製) でそれぞれ分析した。

2. 2. 3 E2 測定方法

ELISA 法における試料の前処理法は、濾過試料はコンディショニング済みの C18 固相カートリッジ (SPE カラム, J. T. Baker 社製) に通水し、蒸留水とヘキサンで洗浄後、ジクロロメタンで溶出した。溶出液は、窒素ガス気流で濃縮乾固させた。残留物は、ジメチルスルホキシド (DMSO) とメタノール (1/10) で溶解し、溶解液が 1% DMSO, 10% メタノールとなるように蒸留水で調整し、この溶解液中の E2 を分析した。濾紙に残った懸濁物質はメタノールで超音波抽出し、再度濾過した。濾液を濃縮乾固させ、残留物を DMSO とメタノール (1/10) で溶解し、溶解液が 1% DMSO, 10% メタノールとなるように蒸留水で調整し、この溶解液中の E2 を分析した。

2. 2. 4 標準添加法による E2 測定法の評価

ELISA キットによる E2 の測定法の定量性について、E2 標準物質を用いた標準添加法による評価を行った。濾過実河川水と濾過天然海水を混合した未知試料に E2 濃度が 0, 0.5, 1.0, 2.0 ng/L となるように E2 標準物質を添加し、E2 濃度を分析した。E2 標準物質添加濃度と E2 濃度測定値は極めて高い相関 ($R=0.998$) を示した。そこで、検量線の傾きから回収率を求めると 76.5% となった。標準添加法によって未知試料の E2 濃度を求めると、0.98 ng/L となる。一方、キットの検量線から未知試料の E2 濃度を求めると 0.70 ng/L であり、回収率を考慮するとほぼ一致する結果となった (図-1)。すでに ELISA 法による E2 測定は、機器分析と比較して 4~5 倍高く検出されることが報告されている³⁾。しかしながら、本測定法は、海水混合前後における E2 濃度変化の定性的な評価が十分に可能であると判断した。

3. 結果と考察

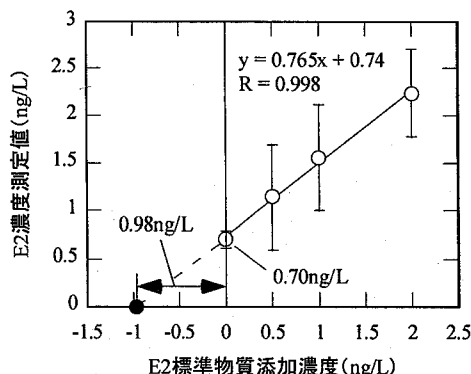


図-1 標準添加法による E2 検量線
(エラーバー: $\pm$ SD, $n=3$)

3. 1 模擬河川水中の抽出フミン物質鉄と E2 の挙動

各 FA-Fe を用いた混合実験における有機炭素濃度変化を図-2 に示した。森林 FA-Fe では TOC と DOC で、それぞれ 28.5 mg/L と 14.3 mg/L となり、河口 FA-Fe では、それぞれ 25.8 mg/L と 25.3 mg/L となった。森林 FA-Fe では、フミン物質の凝集が認められた。しかしながら、河口 FA-Fe では濃度変化が認められず、海水と混合したにもかかわらず、混合液中には有機物質が高濃度で存在した。

各 FA-Fe を用いた混合実験における鉄濃度変化を図-3 に示した。森林 FA-Fe, 河口 FA-Fe における T-Fe と D-Fe の濃度は、それぞれ 98.8 μ g/L と 5.37 μ g/L, 161.3 μ g/L と 80.3 μ g/L であり、海水混合によって、T-Fe の 50% 以上が懸濁態として除去された。河川水中の FA-Fe は、海水と混合することによって、鉄がフミン物質から遊離し、水酸化鉄フロックとして、凝集したと考えられる⁴⁾。

このときの溶存 E2 濃度変化を図-4 に示した。コントロールと各 FA-Fe の溶存 E2 濃度は一致し、その濃度も所定の設定濃度の 10 ng/L とほぼ一致した。FA-Fe の鉄が溶存態から懸濁態の水酸化鉄へ変化し、濾過によって除去されたにもかかわらず (図-3), 共存する E2 は溶存態として安定的に存在した。

3. 2 実河川水中の E2 濃度変化

攪拌後の混合液の鉄濃度と有機炭素濃度の変化におい

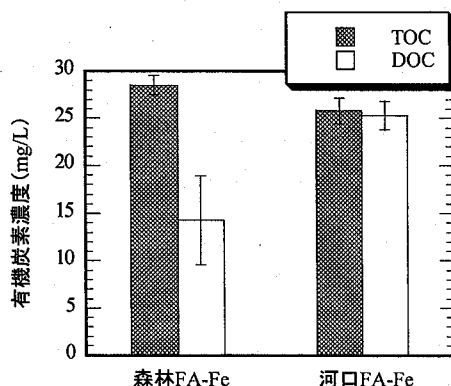


図-2 模擬河川水中の有機炭素濃度変化 (エラーバー: $\pm$ SD, $n=2$)

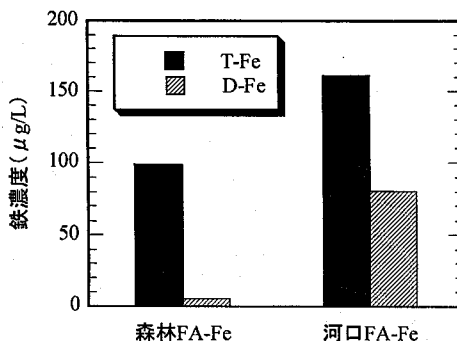


図-3 模擬河川水中の鉄濃度変化

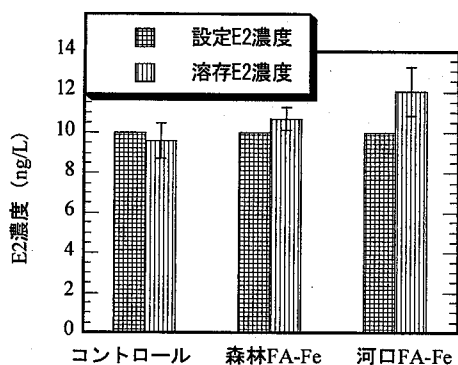


図-4 模擬河川水中の E2 濃度変化 (エラーバー: $\pm$ SD, $n=2$)

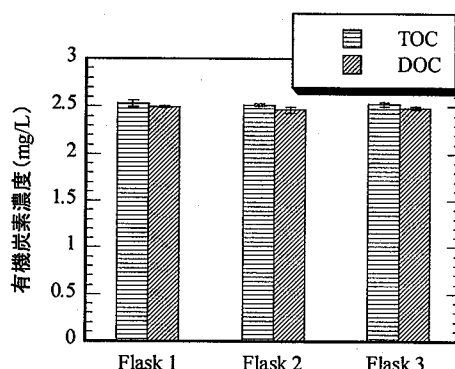


図-6 濾過河川水中の有機炭素濃度変化 (エラーバー: $\pm$ SD, $n=2$)

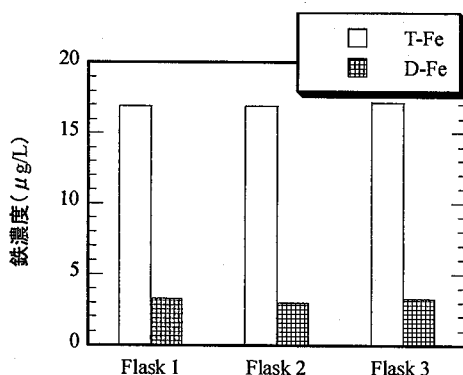


図-5 濾過河川水中の鉄濃度変化

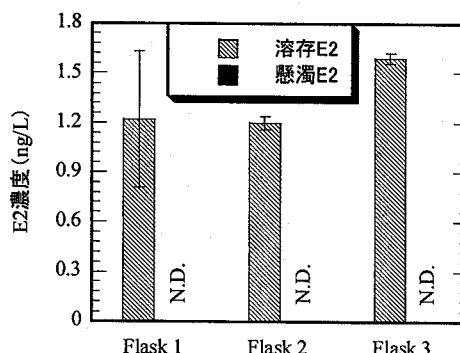


図-7 濾過河川水中の E2 濃度変化 (エラーバー: $\pm$ SD, $n=2$, N.D.: 検出下限値以下)

て、T-Fe と D-Fe の濃度はそれぞれ $17.0\mu\text{g/L}$ と $3.13\mu\text{g/L}$ であり、河川水中の溶存鉄は海水と混合することで T-Fe の約 80% が凝集し濾過によって除去された (図-5)。鉄濃度変化は、模擬河川水の混合実験と同様の結果が得られた。しかしながら、混合液の TOC と DOC の濃度はそれぞれ 2.53mg/L と 2.48mg/L であり、濃度変化はほとんどなく、海水と混合したにもかかわらず、有機物質は溶存態として保存的な挙動を示した (図-6)。模擬河川水の混合実験において、森林 FA-Fe では約 50% の濃度減少が確認されたが (図-2)、河口 FA-Fe と実河川水では、溶存有機物質のほとんどが海水混合後も溶存態として存在し続けることが示唆された。

一方、このときの溶存 E2 濃度と濾紙上に残った懸濁物質から再抽出した懸濁 E2 濃度をみても、溶存 E2 濃度は $1.20\sim 1.59\text{ng/L}$ の範囲で検出された。しかしながら、懸濁 E2 濃度はいずれの試料においても検出下限値以下 (0.25ng/L) であり、濾紙上には E2 がほとんど存在しなかったと判断される (図-7)。

さらに、懸濁物質の影響を検討した実験の結果、攪拌後、濾過によって混合液中の相当量の懸濁物質が除去されたにもかかわらず、濾液中の溶存 E2 濃度は、 $0.81\sim 1.31\text{ng/L}$ だった。これに対して、懸濁 E2 濃度はいずれの試料においても検出下限値以下であった。

4. まとめ

(1) 模擬河川水中の FA-Fe の鉄が海水との混合によってフミン物質から遊離し、凝集したにもかかわらず、共存する E2 濃度は変化しなかった。

(2) 河川水中の溶存有機物質、すなわちフミン様物質は、海水と混合しても溶存態として安定的に存在した。

(3) 模擬河川水、実河川水を用いたいずれの混合実験においても、有機物質、鉄、E2 は同様の挙動を示した。

以上のことから、河口・沿岸域において海水と混合しても、E2 は河川水中の溶存物質あるいは懸濁物質の影響を受けず、溶存態として安定的に存在することが示唆された。

参考文献

- 1) 栗原康 (1988) 河口・沿岸域の生態学とエコテクノロジー.
- 2) Isobe, T., Serizawa, S., Horiguchi, T., Shibata, Y., Managaki, S., Takada, H., Morita, M. and Shiraishi, H. (2006) Horizontal distribution of steroid entrogens in surface sediments in Tokyo Bay, *Environmental Pollution*, 144, 632-638.
- 3) 岡安祐司 (2006) 河川・下水道分野における ELISA の利用, *水環境学会誌*, 29, 523-527.
- 4) 藤井学, 佐々木陽, 大友俊, 渡部徹, 大村達夫 (2006) 松島湾における溶存有機物質と鉄の空間分布及び季節変化, *水環境学会誌*, 29, 69-176.