

流水中における内分泌攪乱化学物質の 沈水植物による浄化

ENDOCRINE DISRUPTING CHEMICALS PURIFICATION
BY SUBMERGED AQUATIC VEGETATION IN RUNNING WATER

金井康一¹・古賀智之²・池田駿介³・大澤和敏⁴

Kouichi KANAI, Tomoyuki KOGA, Syunsuke IKEDA and Kazutoshi OSAWA

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)

³フェロー会員 工博 東京工業大学教授 理工学研究科 (同上)

⁴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)

Phytoremediation which means a technology that vegetation absorbs and removes chemical compounds is noticed for its possibility of applications. In this study, the absorption experiment of 17 β -estradiol (E2) and bisphenol A (BPA), which are called Endocrine disrupting chemicals, was performed using *Egeria densa* in order to investigate how E2 and BPA are absorbed by vegetation in running water. A field survey in the Nikaryo-yosui was carried out in order to investigate whether submerged vegetation in a river can apply to the phytoremediation of Endocrine disrupting chemicals. The absorption experiment revealed that E2 and BPA adhered to the surface of *Egeria densa* in a few hours and they were absorbed there into the body of *Egeria densa* after 24 hours passed. From the results of field survey, the reduction rate of E2 and BPA in the vegetated zone was larger than that in the zone without vegetation. Moreover, *Egeria densa* in a river also absorbed E2 and BPA, and possibly removed under the condition which was much lower concentration compared with the absorption experiment.

Key Words : Phytoremediation, Endocrine disrupting chemicals, Submerged vegetation, Channel experiment

1. はじめに

生活排水に含まれる内分泌攪乱化学物質(以下EDCs)は、下水処理場において大部分が除去されながらも、極微量であるが河川に排出されていることが、近年明らかにされてきた¹⁾。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り、ヒトの健康に対する悪影響も懸念されている。

そのような河川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り、近年、水域や土壤汚染の分野で盛んに研究されている²⁾。水域におけるファイトレメディエーションについての研究としては、斎藤による数種類の水生植物を用いた重金属やEDCsの吸収実験から、水生植物がそれらの物質を吸収するとの結果が得られている³⁾。また、古賀ら⁴⁾による沈水植物を用いたEDCsの吸収実験により、沈水植物はEDCsを吸収し、体内で分解しているとの結果が得られている。しかし、実河川のような流れのある場での水性植物体内へのEDCsの吸収挙動に関しては研究されていない。

そこで本研究では流水中でのEDCsに対するファイトレメディエーションの適用性を検討することを目的とした。具体的には、実験水路を用いてEDCsに対する沈水植物の吸収実験を行い、流水中でのEDCsの吸収・除去特性の検証をした。そして古賀らにより行なわれた静水中のEDCsの吸収実験と比較を行った。さらに、沈水植物を有する実河川において現地調査を行い、EDCs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した。

2. 流水中におけるEDCsの吸収実験

(1) 実験概要

図-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、吸収実験を行なった。溶液は循環ポンプ(口径：40mm、全揚程：4.6m、吐出量：0.25m³/sec)を用いて上流端に運び水路内で循環させた。水温は25℃に設定し、可視光3000luxを常時照射のもと、表-1に示す3ケースの実験を行った。溶液は水路に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から採取し、EDCs濃度を分析した。

本研究では沈水植物として日本各地の水域に群生しており、都市河川のような汚染の進んでいる水域でも生育することのできるアナカリス(学名: *Egeria densa*)を使用した。本研究で対象とされるEDCsとしては、エストロゲン作用が大きいと報告されている17β-エストラジオール(以下E2)及びポリカーボネート樹脂やエポキシ樹脂に使われ、我々の生活環境の中に広く存在しているビスフェノールA(以下BPA)を使用した。古賀ら⁴⁾による静水中のE2、BPAの吸収実験では、100μg/LのE2、BPA溶液500mLに対して湿潤重量にして約5gのアナカリスを浸漬して吸収実験が行なわれた。その実験との比較を行なうため、実験水路内の初期濃度はE2、BPA共に100μg/Lに調整して、溶液70Lに湿潤重量約700gのアナカリスを水路内に設置して実験を行った。

水溶液試料の分析には操作が簡便なELISA法を採用し、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⁵⁾⁶⁾。また植物試料の前処理で表面洗浄に用いた水は回収し、アナカリス表面への付着分とみなし、E2、BPA濃度を分析した。なお、本研究で用いたELISAキットの定量下限値はE2が0.05μg/L、BPAが5μg/Lである。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に記載のGC-MS法による分析を同時に行った⁷⁾。それらの分析値の差は最大で15%程度であった。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。

植物試料である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。そのため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し実験を行った。

(2) 実験結果及び考察

a) 水溶液、植物中のE2、BPA濃度、含量の経時変化

図-3、図-4にCase1～3及び静水中での吸収実験における水溶液試料のE2、BPA濃度の経時変化の比較を示す。

表-1 実験条件

Case	植物 設置	平均流速 (cm/s)	エネルギー 勾配	フルード数
1	有	20	0.005	0.19
2	有	5	0.009	0.05
3	無	20	0.006	0.19

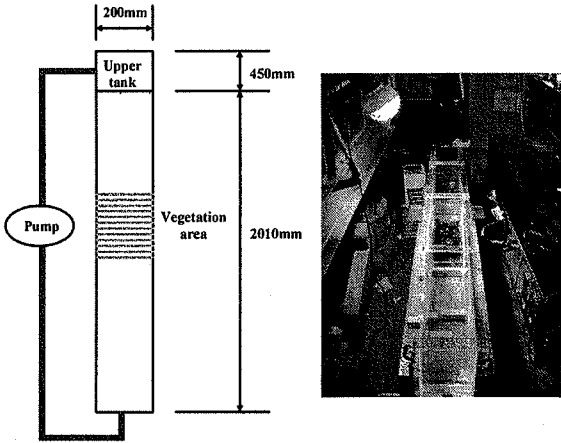


図-1 実験水路概要

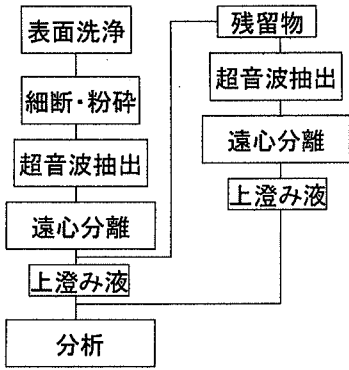


図-2 植物試料の前処理法

Case1、Case2では共に水溶液中のE2、BPA濃度は時間の経過に比例して減少した。この減少量はアナカリスを設置していないCase3に比較して大きかった。このことからCase1、Case2におけるE2、BPA濃度の減少にはアナカリスが寄与したと考えられる。また、静水中での吸収実験の結果と比較すると実験開始4時間経過時において、Case1ではE2、BPAの濃度の減少は小さく、Case2では静水中と同程度の減少であった。しかし、実験開始24時間経過時にはE2、BPAの濃度の減少量はどのCaseも共に同程度であった。静水中の吸収実験結果では、実験開始4時間経過時での水溶液内のE2、BPA濃度の減少はアナカリス表面への付着が大きく寄与していることが知られている。このことから、速い流れであるCase1では、流れによりE2、BPAのアナカリス表面への付着が阻害され、水溶液内のE2、BPAの減少が小さくなったと考えられる。

図-5、図-6にCase1、Case2と静水中での吸収実験におけるアナカリス体内のE2、BPA含量の経時変化の比較を

示す。静水中での吸収実験の結果と同様、Case1、Case2共に時間経過に比例して、アナカリス体内のE2、BPA含量が増加した。これは流水中においても、水溶液中のE2、BPAの減少にはアナカリスによるE2、BPAの吸収が寄与していることがわかった。さらに、静水中の結果と比較すると、E2含量は流水中のほうが大きく、BPA含量は静水中、流水中同程度であった。

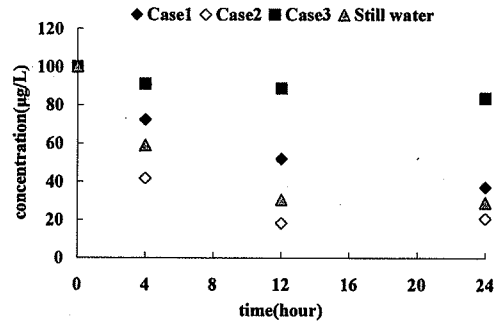


図-3 水溶液試料内のE2濃度の経時変化

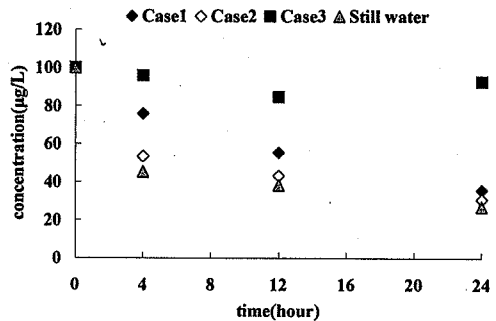


図-4 水溶液試料内のBPA濃度の経時変化

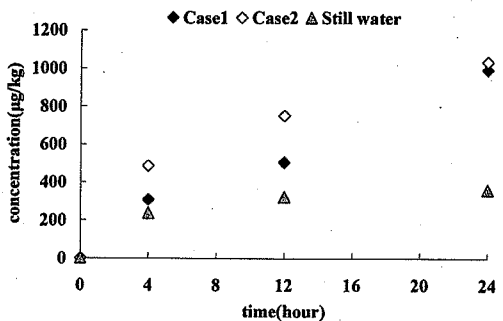


図-5 植物試料内のE2濃度の経時変化

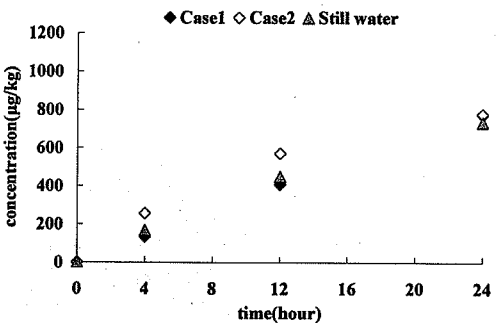


図-6 植物試料内のBPA濃度の経時変化

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

図-7、図-8は実験開始4時間経過時における実験サン水溶液、植物表面及び植物体内のE2、BPA残存率である。ここで残存率とは実験開始時における実験サンプル全体のE2、BPA量に対する一定時間経過後での各部分に存在するE2、BPA量の割合として定義する。静水及び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。またCase1、Case2共にアナカリス体内のE2、BPA残存率は実験サンプル(水溶液、植物表面、植物体内)全体に対して微小な値であった。このことから、流水中においても、実験開始4時間経過時における水溶液内のE2、BPAの減少には、植物表面への付着が寄与していることがわかった。

図-9、図-10は実験開始24時間経過時における水溶液、植物表面及び植物体内のE2、BPA残存率である。植物表面のE2、BPA残存率は、静水が最も小さく、Case2が最も大きくなった。これは、流水中のアナカリスへE2、BPAが水流により常に供給されるため、アナカリス表面にE2、BPAが一定量残存していると考えられる。しかし、Case1のような速い流れでは、水流により付着が阻害されてしまうと予測される。また、静水中では流れによるE2、BPAの供給がないため、E2、BPAの植物表面への付着量が流水と比較して小さくなると予測される。このため、Case2の付着率が最も大きくなったと考えられる。

以上の実験結果を用いて、アナカリスによるE2、BPAの除去率を式(1)を用いて求めた。

$$\text{除去率} = 100 - \left(a_w + a_s + a_v + \frac{C_0 - C_{\text{blank}}}{C_0} \right) \quad (1)$$

ここで、 a_w (%) : 実験開始24時間経過時における水溶液内のE2、BPA残存率、 a_s (%) : 実験開始24時間経過時における植物表面のE2、BPA残存率、 a_v (%) : 実験開始24時間経過時における植物体内のE2、BPA残存率、 C_{blank} (g/L) : Case3における実験開始24時間経過時の水溶液内のE2、BPA濃度、 C_0 (g/L) : 実験開始時の水溶液内のE2、BPA濃度、である。

水温25℃、可視光常時照射時において、実験開始24時間経過時のアナカリスによるE2、BPA除去率を表-2に示す。静水と流水では除去率に10%前後の差が見られ、E2では静水中のほうが除去量は大きかった。これは流水中では流れによりE2の吸収・除去が阻害されたからだと考えられる。それに対してBPAでは流水中のほうが除去量は大きかった。この理由としては、植物表面への付着傾向が物質によって異なったことが原因として考えられる。アナカリスのE2、BPAの吸収のメカニズムとしては、まず植物表面へ付着し、付着したものが体内へ吸収され、体内で除去されていると考えられる。図-8、図-10から、静水中ではある一定時間後、溶液中のBPA濃度変化はあまり見られず、付着があまり進んでいない。それに対し

本実験において、E2, BPAはアナカリス体内で除去されていることがわかった。しかし具体的な反応系を明らかにするに至っていない。なお、既往の研究においてE2, BPAは毒性の低い物質に代謝されることが確認されつつある⁸⁾。

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

実際の水路における沈水植物のEDCsに対するファイトレメディエーション効果について調べる為、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。この二ヶ領用水でアナカリスが繁茂している水域として、図-11に示す川崎市中原区内を流れている区間を選び、調査時期としては8月、10月、12月の3回に調査を行った。図-12に調査地点を示す。午前11:00から午前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。また、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、プロペラ流速計による流速測定も行った。

用水路の地点3付近においては、用水路底面全体を覆うようにアナカリス群落が存在しており、その群落の中からアナカリスを3房採取した。また同時に、体内にE2及びBPAを含まないアナカリスを別に2房用意し、地点3において用水内に設置した。設置して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。

河川水及びアナカリス内のE2、BPA濃度の測定には簡易固相抽出により100倍濃縮を行った後、水路での吸収実験と同様にE2、BPA濃度をELISA法によって分析した。

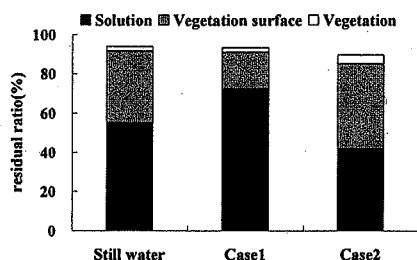


図-7 水溶液-植物間におけるE2残存率(4時間後)

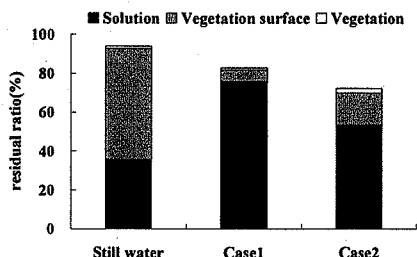


図-8 水溶液-植物間におけるBPA残存率(4時間後)

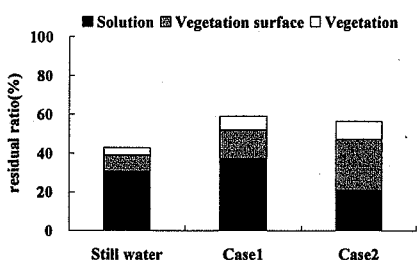


図-9 水溶液-植物間におけるE2残存率(24時間後)

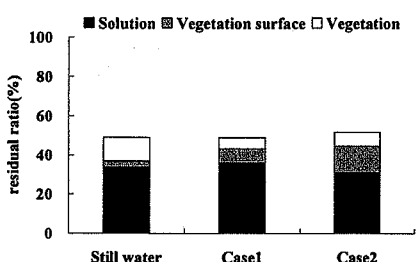


図-10 水溶液-植物間におけるBPA残存率(24時間後)

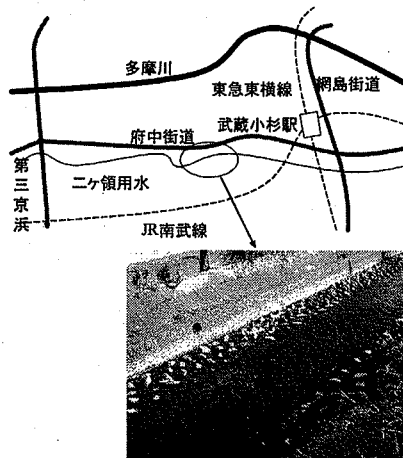


圖-11 二ヶ領用水

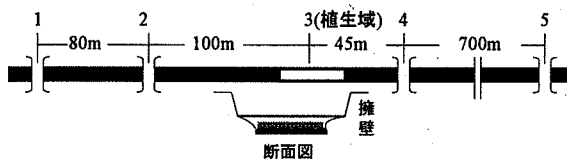


図-12 ニヶ領用水調査地点

(2) 現地調査結果及び考察

表-3に地点3における各月のpH、流速、水温を示す。pH、流速に関しては各月であり差は見られなかった。

図-13、図-14に各地点におけるE2、BPA濃度を示す。どの月においても地点1～4までは下流に行くに従ってE2、BPA濃度が減少した。調査区間内では上流からの流入以外に横流入や排出はなく、E2、BPAの減少は、水路内の物体への吸着、水路内の生物による吸収・分解等が寄与していると考えられる。以上の結果を用いて、式(2)で定義したE2、BPAの減少速度を求めた。

$$\text{減少速度} = \frac{\text{地点間のE2,BPA濃度差}}{\text{地点間距離}} \times \frac{\text{地点間}}{\text{平均流速}} \quad (2)$$

各調査地点間のE2、BPAの減少速度を図-15、図-16に示す。特に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減少速度が大きかった。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、水中の物質が吸収されやすい環境にあったと考えられる。そのため、この区間でのE2、BPAの大きな減少は、アナカリスへのE2、BPAの付着が大きく寄与していると考えられる。

また、8月、10月、12月の順にE2、BPAの減少速度が減少していく傾向にあった。これは主に水温の影響を受けているのではないかと考えられる。沈水植物は水温だけでなく、光量や日照時間といったほかの外部影響も受けるため、水温のみで考えるのは十分ではないが、光量に関しては10～50klxで光飽和に達することが報告されている⁹⁾。観測日は晴天であったため50klx以上の光量があり、光量に関しては飽和状態であったと考えられる。また、沈水植物が光合成といった生産活動を行なううえで、水温の影響を受けることはすでに既往の研究で報告されている⁹⁾。そのため、水温はE2、BPAの浄化を考えるうえで重要な因子であり、浄化における最適な水温が存在することが示唆された。

図-17、図-18に地点3において採取されたアナカリス体内のE2、BPA含量及び用水路内に設置したアナカリスのE2、BPA含量を示す。アナカリス体内のE2、BPA含量は10月が最大であった。8月では、アナカリス体内におけるE2、BPAの除去能力が活発になり、アナカリス体内でのE2、BPAの除去量が他の月と比較して大きかったと予測される。一方で12月では、アナカリス群生区間でのE2、BPAの減少速度が小さいことから、アナカリスに

おけるE2、BPAの吸収能力の低下が予測され、これらのことからアナカリスの体内のE2、BPA含量は10月で最大となったと考えられる。

また、どの月においても設置して1日経過後のアナカリスのE2、BPA含量は、地点3に群生している野生のアナカリスと比較して高い値を示した。それに対して、設置して7日経過後のアナカリスのE2、BPA含量は、野生のアナカリスのE2、BPA含量に比較的近い値を示した。アナカリス設置期間中は降雨はなかったため、設置期間中における水中の濃度変動はアナカリス体内における含量変動に対して小さかったといえる。このことから設置して7日経過後のアナカリスのE2、BPA含量が1日経過後のアナカリスのE2、BPA含量と比較して低下したのは、吸収と分解には時間差があり、アナカリスに吸収されたE2、BPAに対して、それに遅れてアナカリス体内での分解が行われたからであると考えられる。アナカリスによるE2、BPAの吸収、分解のメカニズムについてはさらなる検討が必要である。

以上より、吸収実験で設定したE2、BPA濃度に比べて、極めて低濃度である実際の用水路においても、アナカリスはE2、BPAを吸収し、分解することがわかった。これにより、実際の汚染水域でのアナカリスによるファイトレメディエーションの適用の可能性が示唆された。

表-3 地点3における観測値

月	pH	流速(cm/s)	水温(℃)
8月	6.5	45	26.5
10月	6.5	44	22
12月	6.5	43	10

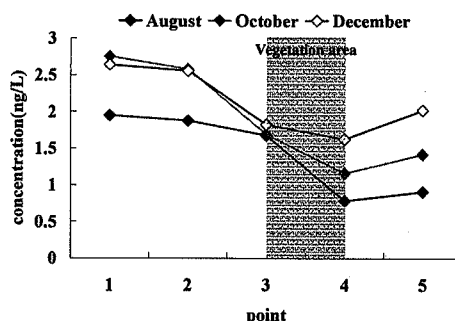


図-13 各調査地点におけるE2濃度

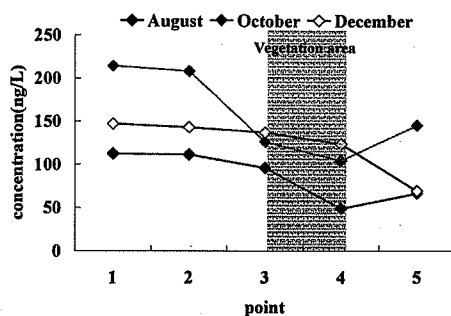


図-14 各調査地点におけるBPA濃度

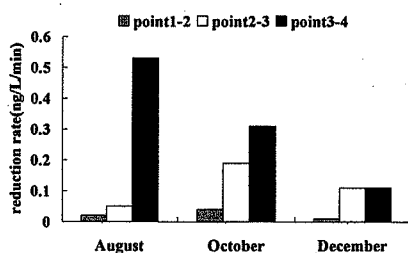


図-15 各調査地点間におけるE2の減少速度

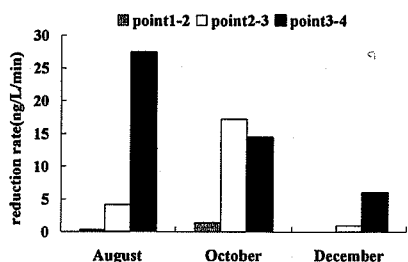


図-16 各調査地点間におけるBPAの減少速度

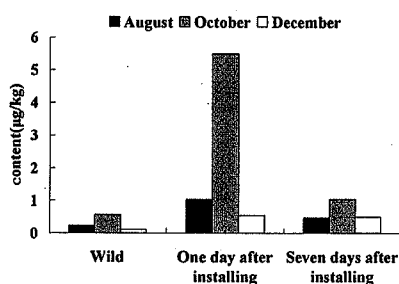


図-17 設置したアナカリス体内のE2含量

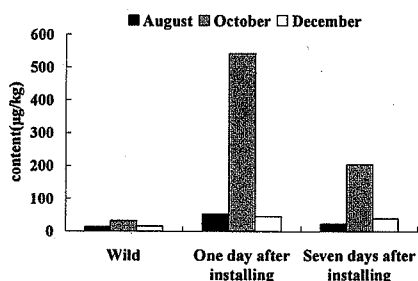


図-18 設置したアナカリス体内のBPA含量

4. 結論

本研究では、沈水植物アナカリスが実河川のような流水中に含まれるEDCsであるE2、BPAのファイトレメディエーションの適用性に関する検討を行なう事を目的とし、実験水路での吸収実験及び二ヶ領用水における現地調査を行なった。以下に得られた知見を示す。

1) 沈水植物アナカリスは流水中においてもE2、BPAを体内に吸収し、除去する機能を有することがわかった。

また流れが速いほど、アナカリス表面へのE2、BPAの付着は減少するが、長時間経過後も流水により常に一定量のE2、BPAが供給され、アナカリス表面に付着している傾向が見られた。

2) アナカリスは可視光常時照射及び水温一定(25℃)の条件下で、24時間経過時に100μg/LのE2、BPA溶液を流速0.2m/sではE2を25%、BPAを44%、流速0.05m/sではE2を29%、BPAを42%除去した。

3) 二ヶ領用水ではアナカリスが繁茂している区間では、アナカリスが繁茂していない区間と比較して、E2、BPAの減少量は大きかった。この減少にはアナカリスが寄与しており、二ヶ領用水のような実際の用水路においても、E2、BPAを吸収し、除去していることが示された。

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) たとえば嶋津暉之、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 pp. 63-71, 2003.
- 2) 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.
- 3) 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.
- 4) 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, 第50巻, pp. 1093-1098, 2006.
- 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.
- 9) 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, pp. 23-31, 1972.

(2006. 4. 6受付)