

# 河川水と海水のバッチ式混合実験におけるエストロゲンの挙動

古川 隼士<sup>1)</sup>・鈴木 祥広<sup>2)</sup>

## Behavior of Estrogen Determined by Batch-mixing Experiments using River water and Seawater

Takashi FURUKAWA and Yoshihiro SUZUKI

### Abstract

It is noted that dissolved matter in river water such as humic substances and dissolved iron coagulates and precipitates when it is mixed with seawater in an estuary. However, the behavior of estrogen in an estuary is still little known. In this study, the behavior of 17 $\beta$ -estradiol (E2) in an estuary was determined by batch-mixing experiments using river water and seawater focusing on the behavior of E2 upon its coagulation with dissolved substances. Artificial river water enriched with E2, humic substances and iron and river water collected from an urban area were tested in the mixing experiments. When using artificial river water, most of the dissolved humic substances derived from sediment of the estuary were determined to exist as dissolved organic carbon after mixing with seawater. Similarly to the artificial river water, dissolved organic matter in river water stably existed as a dissolved fraction after mixing with seawater. Therefore, a large part of the dissolved organic substances in river water comprising humic substances remained in the dissolved fraction after mixing with seawater. In contrast, more than 80% of the dissolved iron in both artificial river water and urban river water coagulated and was removed from liquid phase. In the mixing experiments it was observed that the E2 concentration did not decrease and that E2 remained in the dissolved fraction of the mixture. From the results of the batch-mixing experiments, we conclude that the behavior of E2 in river water differs from that of dissolved iron, which coagulated upon mixing with seawater, and it is stable in a mixture of river water and seawater.

### Key Words:

17 $\beta$ -estradiol (E2), Estuary, Fe, Humic substance, Dissolved and suspended matter

## 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 (EDCs, いわゆる環境ホルモン) 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。その物質の中でも人畜由来である 17 $\beta$ -エストラジオール (E2) は、し尿中に普遍的に存在しており、また E2 は EDCs としての活性度が、ほかの化学物質と比較して著しく高いことから<sup>1, 2)</sup>、調査

対象の最重要物質に位置付けられている。わが国では、平成 10 年度から「環境ホルモン戦略計画 SPEED98」のプロジェクトのもとで、河川・湖沼等の水環境中<sup>3-5)</sup>、あるいは下水や下水処理プロセス<sup>6, 7)</sup>における EDCs と疑われる数十種類の物質について実態調査が実施され、知見・情報が集積されつつある。これらの調査結果から、水環境中には E2 をはじめとする EDCs と疑われる物質が広く存在していること、また、EDCs のほとんどは下水処理の過程で大きく低減されることなどがわかっている。しかしながら、現行の下水処理場の処理工程では E2 を含むエストロゲンを完全に除去すること

1) 博士後期課程 資源環境科学専攻 大学院生

2) 土木環境工学科 准教授

ができないため、その一部が処理水中に残留して河川や湖沼等に流出する場合がある<sup>8,9)</sup>。特に、E2 はほかの EDCs と比較して除去率が低く、放流水中に数~数十  $\text{ng} \cdot \text{l}^{-1}$  オーダーで含まれ、河川水中に放流されていると考えられる。さらに、下水道未整備地区において、浄化槽で処理される処理水中には依然として E2 が比較的高濃度で存在しており、合流先の河川に負荷されている<sup>10)</sup>。

一方、本研究における研究想定エリアである河口域は、河川水と海水とが混合することで、河川水中に存在する溶存鉄等の微量金属や有機物質等の溶存・懸濁物質が、凝集・沈降することが古くから知られている<sup>11)</sup>。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。これらの挙動に連動して、さまざまな微量汚染物質も強く影響を受けると考えられる。特に、河川水に含まれる溶存フミン物質およびそれと錯体を形成する鉄、いわゆるフミン物質鉄<sup>12)</sup>が海水と混合することによって凝集する過程は、河川から河口における物質輸送において、最も重要な役割を果たしていると考えられる。河川に流出した E2 をはじめとするエストロゲンは、最終的に河口域まで運搬される。しかしながら、河川水・海水混合エリアにおける E2 の動態に関する情報や知見は極めて少ない。E2 は最も EDCs としての活性度が強い天然エストロゲンであるから、表層堆積物に E2 が蓄積する過程があれば、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。したがって、このエリアにおける E2 の挙動を明らかにすることは極めて重要なことである。しかしながら、河口域における E2 に関する情報・知見が少ない理由として、河口域では河川水と海水との混合・拡散が極めて複雑であるために直接観測することが困難であること、濃度が極めて低濃度であることに加えて、塩分の大幅に異なる試料について、塩分影響を考慮しつつ一斉に正確な測定を実施することは非常に困難であることが挙げられる。

そこで本研究では、河口・沿岸域における河川水中の溶存物質あるいは懸濁物質の凝集プロセスと E2 の挙動との関係について、河川水と海水のバッチ式混合実験から検討することにした。模擬的に溶存フミン物質鉄と E2 の濃度を高濃度に設定した試水ならびに都市河川水を用いた二つの混合実験を実施し、両者の結果から河口域における E2 の挙動を推察することを目

的とした。なお、E2 測定にあたっては、定量性についていくつかの問題点が指摘されているものの、簡便かつ高感度の分析が可能である酵素免疫測定法 (ELISA 法) を採用した。

## 2. 材料および方法

### 2.1 材料

#### 2.1.1 模擬河川水および人工海水

本研究では、河口域において河川水と海水とが混合することで、河川水中のフミン物質鉄 (FA-Fe) が凝集するプロセスに着目した。そこで、海水との混合前後における各濃度変化を的確に把握できるように、有機物質、鉄、および E2 を一般的な都市河川よりも10倍程度高い濃度に設定した模擬河川水を作成した。模擬河川水を作成するにあたって、森林と河口域からそれぞれ土壌を採取し、その土壌試料から FA-Fe を抽出した。森林土壌は、宮崎大学の敷地内になる山王1号池周辺の土壌を採取した。河口底泥は宮崎県清武町から宮崎市を流下する都市河川である八重川 (1級河川) の河口付近から採取した。FA-Fe 抽出方法<sup>13)</sup> は、はじめに各土壌試料 (森林土壌、河口底泥) に0.1M の NaOH 水溶液を混合させアルカリ抽出を行った。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<sup>14)</sup> 800ml と各 FA-Fe 抽出液 (有機炭素濃度  $300\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$  に調整) 200ml を混合させ、pH7.0 に調節した。その後、人工河川水中に FA-Fe を溶存態として安定させるために、混合液を振とう培養器 (BR-180LF, 旋回, Taitec 製) を用いて  $25^{\circ}\text{C}$ , 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た。この濾液に含まれている溶存有機物と溶存鉄を溶存 FA-Fe と想定し、この溶存 FA-Fe を添加した濾過模擬河川水と人工海水<sup>14)</sup> を用いて混合実験を行った。また、人工海水の塩分は海水の影響が最も大きくなる条件を想定し、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 都市河川水および天然海水

都市河川の選定にあたっては、河川流量に対して、生活排水あるいは下水処理水の占める割合が高い八重川を選定し、河川の表層水を採取した。天然海水は、宮崎県青島水産試験場内で配水されている砂濾過海水

を実験室に持ち帰り、さらに GF/F 濾紙を用いて濾過して実験に用いた。以降、都市河川水と天然海水を用いた全ての混合実験において、上記の河川水と海水試料を用いた。採取した河川水試料は実験室に持ち帰り、

(1) 溶存物質の影響を検討する場合は、混合実験前に GF/F 濾紙で濾過して使用した。次に、(2) 懸濁物質の影響を検討する場合は、採水する際、はじめに柄杓を用いて河川表層を攪拌し、河川の底質を懸濁させてから採水し、高濃度の懸濁物質を含んだ試料を以降の実験に用いた。また、(3) 河口域において、潮汐作用によって発生する浮泥の巻き上げを想定した浮泥懸濁海水を作成した。作成方法は、八重川河口において浮泥を高濃度に含んだ試料を採取し、実験室に持ち帰り、250 $\mu\text{m}$  のふるいを通過した試料について、3000rpm で20分間遠心分離を行った。その後上澄みを捨て、浮泥を回収し濾過した天然海水に所定の懸濁物質 (SS) 濃度となるように懸濁させ、浮泥懸濁海水を作成した。

## 2.2 実験方法

### 2.2.1 模擬河川水を用いた混合実験

模擬河川水を用いた混合実験では、2.1.1で示した模擬河川水500ml に E2標準物質が最終濃度10ng $\cdot\text{l}^{-1}$ となるように添加し、続いて人工海水500ml と混合させ、25 $^{\circ}\text{C}$ 、100rpm で6時間攪拌した。また、FA-Fe の凝集が E2の挙動に与える影響について、FA-Fe が存在しない場合における E2濃度変化を検討するために、コントロールとして FA-Fe 無添加である、人工河川水400ml、Milli-Q 水100ml、および人工海水500ml の混合液 (設定 E2濃度: 10ng $\cdot\text{l}^{-1}$ ) についても同様の実験を行った。また、河川水中に溶存フミン物質がフリーの無機鉄イオン ( $\text{Fe}^{3+}$ ) が存在した条件を想定した実験も平行して行った。すなわち、濾過人工河川水500ml (設定 E2濃度: 10ng $\cdot\text{l}^{-1}$ ) と濾過人工海水500ml に鉄濃度が最終濃度1000 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ となるように鉄標準溶液 ( $\text{Fe}^{3+}$ , 和光純薬工業製) を添加した模擬河川水を作成し、同様に混合実験を行った。この実験の場合のコントロールは無機鉄イオン無添加、濾過人工河川水500ml と濾過人工海水500ml に E2濃度を10ng $\cdot\text{l}^{-1}$ となるように添加した試料とした。

全ての実験において攪拌後、試料を未濾過試料と濾過試料に分け、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、それぞれの濃度を比

較した。また、E2は、各模擬河川水とコントロールの濾過試料中の E2濃度を測定し、初期設定濃度10ng $\cdot\text{l}^{-1}$ と比較し、海水混合前後の濃度変化を検討した。

### 2.2.2 都市河川水を用いた混合実験

都市河川水を用いた混合実験では、2.1.2で示した(1) 濾過都市河川水と濾過天然海水、(2) 高濁度都市河川水と濾過天然海水、および(3) 濾過都市河川水と浮泥懸濁海水をそれぞれ500ml ずつ (各3連, Flask 1, 2, および3) 混合させた。その後、25 $^{\circ}\text{C}$ 、100rpm で6時間攪拌した。

攪拌後は、模擬河川水を用いた場合と同様に、試料を未濾過試料と濾過試料に分け、TOC と DOC, T-Fe と D-Fe を測定し、それぞれの濃度を比較した。また、E2は濾過試料中の E2を溶存 E2、濾紙上の懸濁物質から E2を抽出した抽出液を懸濁 E2と定義し、それぞれ分別して測定した。懸濁 E2が検出された場合、河川水中の溶存物質の凝集フロック、あるいは懸濁物質に付着し、液相から除去されたと判断した。

## 2.3 各項目の測定方法

### 2.3.1 有機炭素濃度の測定方法

TOC と DOC の測定には、全有機炭素濃度計 (島津製作所製, TOC-5000, あるいは TOC-V) を用いた。試料を入れるバイアル瓶は、450 $^{\circ}\text{C}$  で4時間熱処理したものを使用した。

### 2.3.2 鉄濃度の測定方法<sup>15)</sup>

鉄濃度は発光試薬 Ferrozine (PDTS, 和光純薬工業製) を用いた比色分析によって測定した。鉄の分析に用いるガラス器具等は、あらかじめ酸洗浄済みのものを用いた。各試料40ml に発光試薬を1.0ml 加え、140 $^{\circ}\text{C}$  に設定したホットプレートを用いて、沸点で約30分間加熱し続けた。その後、各試料を常温まで冷却し、酢酸アンモニウム緩衝液を1.0ml 加え、十分に攪拌した後、試料を比色管に移し、Milli-Q 水で50ml にメスアップした。10分間静置させた後、吸光光度計 (UV-2450, 島津製作所製) を用いて10cm のガラスセルで波長562nm の吸光度を測定した。鉄標準溶液 (1000mg/L, 和光純薬工業製) を用いて、上記の方法により鉄濃度の検量線を作成し、未知試料の鉄濃度 (T-Fe, D-Fe) を測定した。

### 2.3.3 E2の測定方法<sup>10)</sup>

E2の測定には、抗原抗体反応を利用した酵素免疫定量法 (ELISA 法) の分析キット (日本エンバイロケミカルズ製, 常盤化学工業製) を用いた。

濾過試料の ELISA キット測定の前処理法は、全ての混合実験において以下の方法で行った。濾過試料をメタノール (HPLC 用, 和光純薬工業製) 5ml と蒸留水 5ml×2 でコンディショニング済みの C18 固相カートリッジに通水し、蒸留水 5ml×2, ヘキサン (HPLC 用, 和光純薬工業製) 5ml で洗浄後、ジクロロメタン (エストラジオール分析用, 和光純薬工業製) 5ml で溶出した。溶出液は、窒素ガス気流により溶媒を揮発させ濃縮乾固させた。残留物は、ジメチルスルホキシド (DMSO, 和光純薬工業製) とメタノールを 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 (最終容量 2ml) した。この溶解液中の E2 濃度を測定した。

濾紙上の懸濁物質も全ての混合実験において以下に示す方法で行った。濾過に使用した濾紙にメタノール 4ml を添加し、超音波抽出した抽出液を、ガラス繊維濾紙 (GF/F, Whatman 製) を用いて濾過した。濾液をロータリーエバポレーター (40°C) を用いて乾固させ、残留物は、DMSO とメタノールを 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 (最終容量 3ml) した。この溶解液中の E2 濃度を測定した。模擬河川水と都市河川水の濾過試料、ならびに濾紙からの抽出液の E2 の検出下限値は、キットの定量下限値と濃縮倍率 (模擬河川水, 50 倍濃縮; 都市河川水, 150 倍; 抽出液, 100 倍) から算出して、それぞれ 0.50, 0.17, 0.25 ng · l<sup>-1</sup> とした。

### 2.4 標準添加法による E2 測定法の評価

河川水中における E2 の ELISA 法による分析は、交差反応性や反応阻害物質の共存によって影響を受けるため、厳密な定量評価は困難であるとされる。河川水中には E2 の抗原抗体反応を妨害する夾雑物質が数多く存在しており、その夾雑物質の中でも有機物質であるフミン物質は、E2 の過大評価の原因物質になりうるという報告がなされている<sup>16)</sup>。すでに ELISA 法による流入下水中の E2 濃度の測定は、LC-MS/MS を用いた機器分析法と比較して 4~5 倍高い濃度で検出されることが報告されている<sup>17)</sup>。

そこで、試料の前処理法から ELISA キットによる E2

の測定の一連の操作における E2 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。濾過都市河川水 500ml と濾過天然海水 500ml を混合した未知試料に、E2 濃度が 0, 1.0, 3.0, 5.0 ng · l<sup>-1</sup> となるように E2 標準物質を添加し、2.3.3 に示した方法で測定した。E2 標準物質添加濃度と E2 濃度測定値は高い相関関係 (r=0.986) を示した (Fig. 1)。標準添加法によって未知試料の E2 濃度を求めると、1.0 ng · l<sup>-1</sup> となった。また、添加濃度と測定値の関係すなわち検量線の傾きから E2 の回収率を求めると 79% であった。一方、同一の未知試料について、ELISA キットの常法にしたがって未知試料の E2 濃度を測定し、回収率で補正すると、0.8 ng · l<sup>-1</sup> であり、標準添加法で得られた値に近い値を示した。以上のことから、ELISA 法を採用した本測定法は、海水混合前後における E2 濃度変化について、半定量的な評価は十分に可能であると判断し、本実験で得られた結果をもとに E2 の挙動を推察することとした。

## 3. 結果と考察

### 3.1 模擬河川水中の溶存有機物質、鉄および E2 の変化

森林と河口の FA-Fe を用いた混合実験における有機炭素濃度変化を Fig. 2 に示す。森林土壌 FA-Fe では TOC と DOC で、それぞれ 28.5 mg · l<sup>-1</sup> と 14.3 mg · l<sup>-1</sup> となった。河口底泥 FA-Fe では、それぞれ 25.8 mg · l<sup>-1</sup> と 25.3 mg · l<sup>-1</sup> となった。森林土壌 FA-Fe では、フミン物質の凝集が認められたが、河口底泥 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。起源の異なる

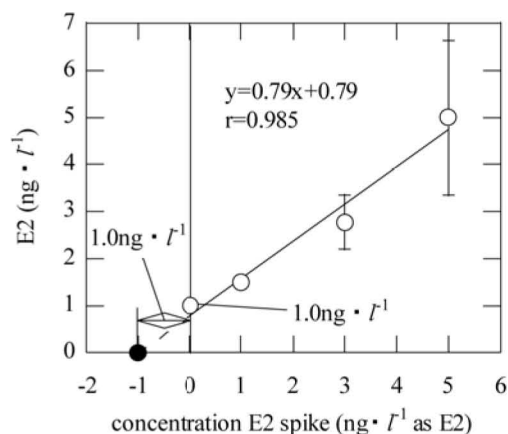


Fig. 1 E2 calibration curve obtained by standard addition method (mean ± SD, n=3).

る溶存フミン物質では海水混合による挙動が異なることが示唆された。

**Fig. 3** に各 FA-Fe を用いた混合実験における鉄濃度変化を示す。森林土壌 FA-Fe では T-Fe と D-Fe は、それぞれ  $98.8\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  と  $5.37\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  となり、海水混合によって、T-Fe の大部分が懸濁態となり、濾過によって除去された。また、河口底泥 FA-Fe においても T-Fe と D-Fe は、それぞれ  $161.3\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  と  $80.3\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  となり、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、粒子状の水酸化鉄フロックとして凝集したと考えられる。これまでの報告において、河川水中の溶存鉄は海水との混合によって、急激な鉄濃度の減少が示されており<sup>18)</sup>、本実験においても同様の挙動を示したと考えられる。

つぎに、模擬河川水中の E2 変化について、各 FA-Fe 添加とコントロールの場合を比較した (**Fig. 4**)。FA-Fe 添加・非添加いずれにおいても溶存 E2 濃度は極めて近い値を示し、各 FA-Fe とコントロールとの間には有意差が認められなかった ( $p<0.05$ )。また、どの実験区においても E2 濃度は  $9.6\sim 12.0\text{ng}\cdot\text{l}^{-1}$  の範囲内であり、設定濃度の  $10\text{ng}\cdot\text{l}^{-1}$  とほぼ一致した。また、溶存フミン物質をフリーとした実験区についても  $\text{Fe}^{3+}$  添加・非添加における E2 濃度を比較した。攪拌後、混合液中には目視で確認できるほどの鉄凝集フロックが懸濁しており、濾過によって T-Fe の大部分が除去された。しかしながら、E2 濃度は  $\text{Fe}^{3+}$  の添加・非添加の試料のいずれの濾液からも設定濃度の  $10\text{ng}\cdot\text{l}^{-1}$  とほぼ一致した測定結果が得られた。E2 の無機鉄コロイドへの吸着は認

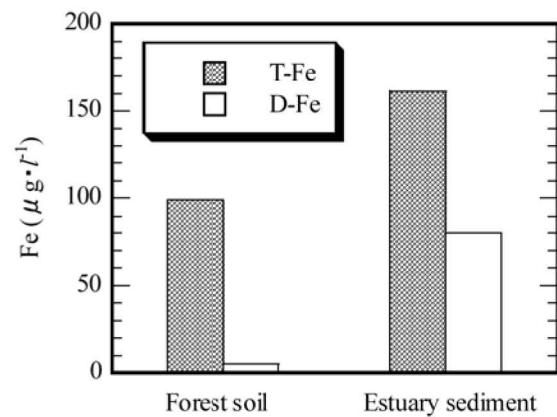
められなかった。

模擬河川水の混合実験の結果から、海水との混合によって河川水中の FA-Fe の鉄が凝集し、濾過によって除去されたにもかかわらず、共存する E2 は海水混合後も溶存態として安定的に存在することが示唆された。

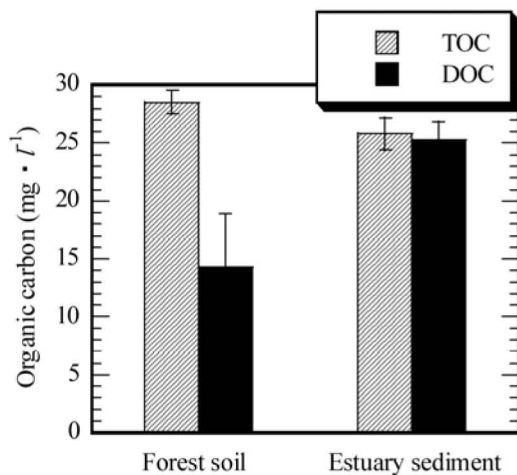
### 3.2 都市河川中の有機物質、鉄および E2 の変化

#### 3.2.1 都市河川水中の溶存物質の影響

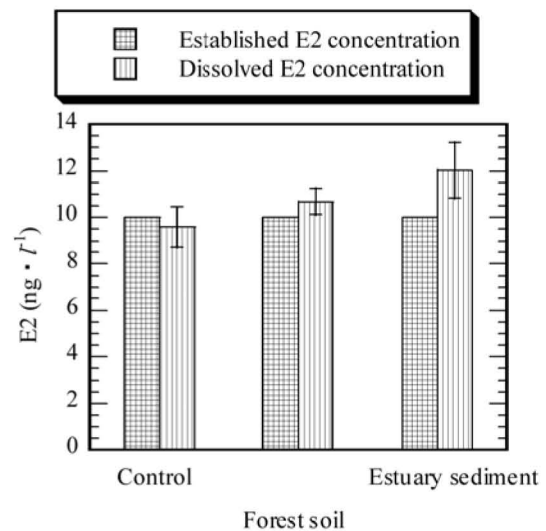
都市河川水中の溶存物質が E2 の挙動に与える影響について、都市河川水と海水をそれぞれ濾過してから混合させ、各成分の濃度変化を測定した。**Fig. 5** に攪拌後の有機炭素濃度変化を示す。混合液中の TOC と DOC は平均 ( $n=3$ ) して  $2.53\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$  と  $2.48\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$  であった。TOC と DOC について比較すると、両者間では有意差 ( $p<0.05$ ) が認められなかった。このことから、本実



**Fig. 3** Fe concentration in the mixture using enriched river water and artificial sea water.



**Fig. 2** Fumic substance – Fe (FA-Fe) as organic carbon concentration in the mixture using enriched river water and artificial seawater (mean  $\pm$ SD,  $n=2$ ).



**Fig. 4** E2 concentration in the mixture using enriched river water and artificial seawater (mean  $\pm$ SD,  $n=2$ ).



験に用いた都市河川水中の溶存有機炭素は、海水と混合・攪拌後においても、溶存態として保存的な挙動を示すことがわかった。また、本実験に用いた八重川河川水中の溶存有機炭素濃度 (DOC) に対する溶存フミン物質の濃度を測定した。河川水中からのフミン物質の抽出は福島ら<sup>19)</sup>の方法に従った。溶存フミン物質と DOC はそれぞれ  $1.26\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$  と  $4.47\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$  で検出され、溶存フミン物質/DOC の値が 0.28 であった。フミン物質は、一般的な河川では DOC の約 50% を占めるといわれており、清澄な河川、すなわち DOC 濃度が低い河川においてその割合が最大となる<sup>20)</sup>。したがって、下水道未整備地区 (清武町) を流下する八重川のような河川では、DOC 中において、フミン物質以外の有機炭素成分が多かったために、フミン物質の割合が 28% と低い値を示したと考えられる。

Fig. 6 には、攪拌後の T-Fe と D-Fe の変化を示す。T-Fe と D-Fe は、それぞれ平均 ( $n=3$ ) で  $17.0\pm 0.15\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  と  $3.13\pm 0.16\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  であった。都市河川水中の溶存鉄のうちの約 80% は、海水混合後には懸濁態として除去されたと考えられる。模擬河川水を用いた混合実験と同様に、海水との混合によって溶存鉄は、その一部が懸濁態の水酸化鉄フロックを形成し、濾過によって除去されたと考えられる。

Fig. 7 には、都市河川水中の溶存 E2 の攪拌後における濾液中の E2 濃度と濾紙上の E2 濃度の測定結果を示す。濾液中の E2 は、平均  $1.33\text{ng}\cdot\text{l}^{-1}$  ( $n=3$ ) で検出された。しかしながら、懸濁 E2 は、いずれのフラスコにおいても検出下限値以下 ( $0.25\text{ng}\cdot\text{l}^{-1}$ ) であり、濾紙上の懸濁物質には E2 がほとんど存在しなかったと考え

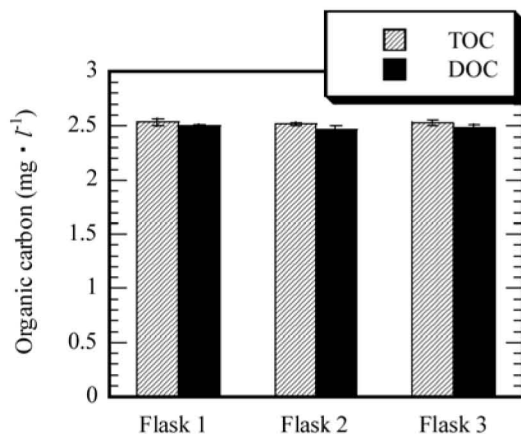


Fig. 5 Organic carbon concentration in the mixture using filtered municipal river water and filtered seawater (mean $\pm$ SD,  $n=2$ )

られる。

都市河川水中の溶存 E2 は、海水と混合しても、共存する溶存鉄の凝集の影響を受けずに溶存態として安定に存在した。また、模擬河川水を用いた混合実験においても、海水混合によって凝集したフロックに付着することはなく、溶存態として安定的に存在した。これらの二つの混合実験の結果から、都市河川水中の溶存フミン物質等の溶存有機物質および溶存鉄は、海水混合域において、E2 の挙動に影響を及ぼす可能性は極めて小さいことが示唆された。

### 3.2.2 都市河川水中の懸濁物質の影響

E2 の挙動に対する河川水中の懸濁物質の影響について検討するため、高濁度河川水 (懸濁物質濃度,  $62\text{mg/L}$ ) と濾過海水を用いた混合実験を行った。Fig. 8 には、攪

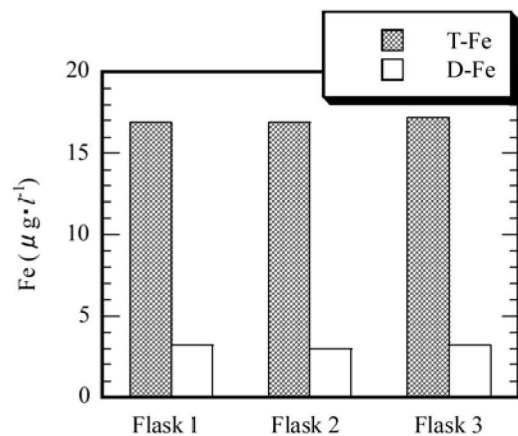


Fig. 6 Fe concentration in the mixture using filtered municipal river water and filtered seawater.

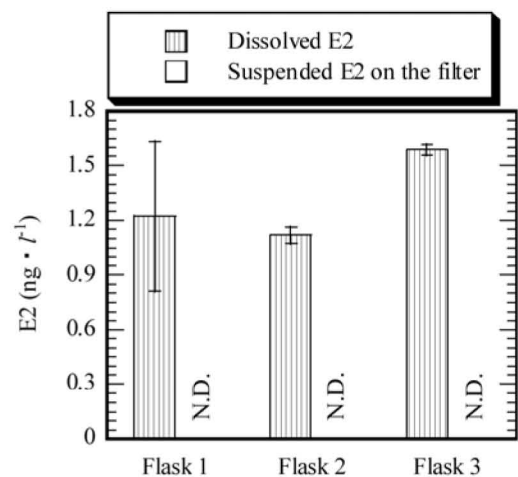


Fig. 7 E2 concentration in the mixture using filtered municipal river water and filtered seawater (mean $\pm$ SD,  $n=2$ ). N.D. indicates not detected ( $<0.25\text{ng/L}$ ).

拌後の混合試料の TOC と DOC の変化について示す。混合試料中の TOC と DOC は、それぞれ平均 ( $n=3$ ) で  $2.22\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$  と  $2.15\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$  であった。いずれのフラスコにおいても、海水混合による濃度減少は TOC の約 10% 未満であり、TOC と DOC の間には、有意差 ( $p<0.05$ ) が認められなかった。濾過河川水を用いた混合実験においても DOC は安定に存在したことから、都市河川中の溶存有機物質は海水を混合した後も、大部分が溶存態として安定に存在すると考えられる。混合試料中の T-Fe と D-Fe は、それぞれ平均 ( $n=3$ ) で  $730 \pm 50.7\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$  と  $5.85 \pm 1.65\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$  であり、T-Fe の大部分 (98%以上) が懸濁態として濾過によって除去された。海水との混合によって、鉄は初めから懸濁態として存在していた鉄と、溶存態であった鉄の一部が凝集し、濾過によって除去されたと考えられる。

高濁度の懸濁物質を含んだ河川水と海水を混合した場合、有機物質は溶存態として安定に存在し、これに対して T-Fe はほとんどが濾過によって懸濁態として除去された。このような条件における E2 濃度の変化を調べた (Fig. 9)。E2 は混合試料の濾液中から平均値  $1.12\text{ng} \cdot \text{l}^{-1}$  ( $n=3$ ) で検出された。しかしながら、濾紙上に回収された懸濁物質の抽出した懸濁 E2 は検出下限値以下 ( $0.25\text{ng} \cdot \text{l}^{-1}$ ) であった。懸濁物質中には E2 がほとんど存在しなかったと判断される。また、河口域の潮汐作用によって発生する浮泥の影響について検討した混合実験も同様の結果を示した。攪拌後、濾液中の溶存 E2 は平均  $1.28\text{ng} \cdot \text{l}^{-1}$  ( $n=3$ ) で検出された。しかしながら、濾過によって相当量の懸濁物質が濾紙上に回収され、鉄も T-Fe の 97%以上の濃度減少を示し

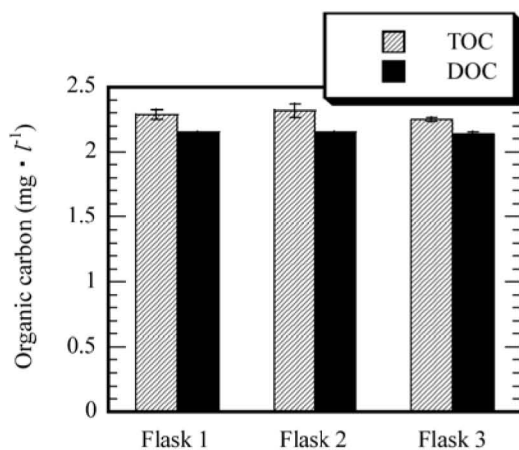


Fig. 8 Organic carbon concentration in the mixture using unfiltered municipal river water and filtered seawater (mean  $\pm$ SD,  $n=2$ ).

たにもかかわらず、懸濁物質から抽出した懸濁 E2 は検出されなかった。

海水との混合後、高濁度河川水あるいは浮泥懸濁海水中の鉄の大部分が懸濁態として除去されたにもかかわらず、共存する E2 は溶存態として安定的に存在することがわかった。このことから、都市河川水中の E2 は、海水と混合しても懸濁物質に付着あるいは吸着して底質へ沈降する可能性は低く、河口域において河川水中の懸濁物質とは異なる挙動を示すことが示唆された。

### 3.3 河口・沿岸域における E2 の挙動

東京湾の底質におけるエストロゲンとその抱合体の調査において、E2 が表層堆積物中に広い範囲で分布して、特に河口に近いエリアにおいて比較的高い濃度 ( $0.4 \sim 0.5\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$ ) で検出されている<sup>21)</sup>。河川水中の E2 は河口域で堆積する経路があると考えられる。しかしながら、本研究では、模擬河川水および都市河川水を用いた各混合実験において、いずれの実験でも E2 は溶存態として存在し続け、海水混合による凝集フロックあるいは懸濁物質への付着等は認められなかった。E2 の疎水性の度合を示すオクタノール/水分係数 ( $\text{Log } K_{ow}$ ) は  $3.10 \sim 4.01$  と報告されており<sup>22~24)</sup>、E2 は中程度の疎水性物質であると考えられる。したがって、河川水中の E2 は凝集フロックや懸濁物質に対する吸着性はそれほど高くない物質であるために、ほとんどの E2 が溶存態として液相に残留したと推察される。河口域において様々の溶存物質や懸濁物質の輸送に大

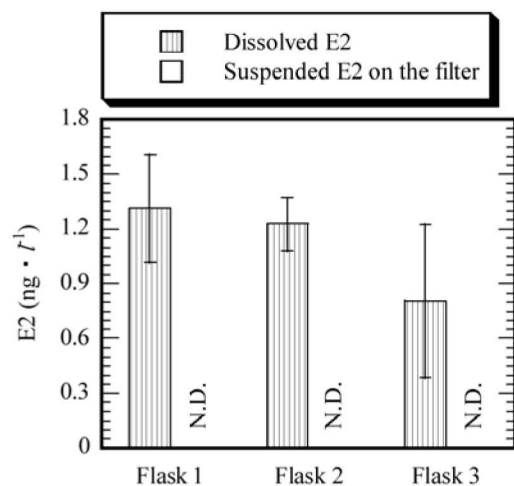


Fig. 9 E2 concentration in the mixture using unfiltered municipal river water and filtered seawater (mean  $\pm$ SD,  $n=2$ ). N.D. indicates not detected ( $<0.25\text{ng/L}$ ).

きく寄与する溶存フミン物質などの有機物質や溶存鉄は、E2の挙動にはほとんど影響を及ぼさないことが強く示唆された。E2は、微生物や細菌といったその他の要素が関与した別途の経路によって、河口・沿岸域に蓄積している可能性が高い。

#### 4. まとめ

(1) 模擬河川水を用いた混合実験において、森林土壌 FA-Fe は海水との混合によって、フミン物質の凝集が認められた。しかしながら、河口底泥 FA-Fe を用いた場合、ならびに都市河川水を用いた混合実験では、いずれにおいても凝集による明確な濃度減少は認められなかった。海水との混合後も、ほとんど有機物質は溶存態として安定していた。

(2) 鉄は全ての混合実験において同様の挙動を示し、D-Fe の50%以上は海水との混合によって、凝集し懸濁態の鉄となって液相から除去された。

(3) 溶存 FA-Fe と E2 の濃度を高濃度に設定した模擬河川水および実際の都市河川水を用いた海水との混合実験において、いずれの実験においても E2 は溶存態として液相に安定的に存在した。

これらの結果から河川水中の E2 は、海水との混合で生じる溶存・懸濁物質の凝集・沈殿とは異なる挙動を示すことが強く示唆された。

#### 参考文献

- 1) Matsui, S., Takigami, H., Matsuda, T., Taniguchi, N., Adachi, J., Kawami, H. and Shimizu, Y. (2000) Estrogen and estrogen mimics contamination in water and the role of sewage treatment, *Water Science and Technology*, **42**, 173-179.
- 2) 田畑彰久, 亀井翼, 真柄泰基, 渡辺哲理, 宮本信一, 大西悠太, 伊藤光明 (2003) ヒメダカビテロジェニンを指標としたノニルフェノール, ビスフェノール A, 17 $\beta$ -エストラジオールおよびこれらの混合曝露の影響, *水環境学会誌*, **26**, 671-676.
- 3) 是沢裕二 (1999) 河川における内分泌攪乱化学物質に関する実態調査の概, *下水道協会誌*, **36**, 8-11.
- 4) 藤塚哲郎 (1999) 中小河川における環境ホルモンの実態調査, *下水道協会誌*, **36**, 12-20.
- 5) 田中宏明 (1999) 水環境における内分泌化学物質の実態調査, *水環境学会誌*, **22**, 629-632.
- 6) 栗林栄, 二階堂悦生, 杉本東 (2002) 下水処理場における環境ホルモンの実態調査, *用水と排水*, **44**, 39-45.
- 7) 堀江信之 (1999) 下水道における内分泌攪乱化学物質実態調査の概要, *下水道協会誌*, **36**, 21-25.
- 8) Baronti, C., Curini, R., D'Ascenzo, G., Corcia, A. D., Gentili, A. and Samperi, R. (2000) Monitoring natural and synthetic estrogens at activated sludge sewage treatment plants and in a receiving river water, *Environ. Sci. Technol.*, **34**, 5059-5066.
- 9) Snyder, S. A., Villeneuve, D. L., Snyder, E. M. and Giesy, J.P. (2001) Identification and quantification of estrogen receptor agonists in wastewater effluents, *Environmental Science & Technology*, **35**, 3620-3625.
- 10) 鈴木祥広, 平良浩保, 増田純雄, 高橋伸幸, 満山宗人, 下津義博, 丸山俊朗 (2003) 都市排水路およびその合流先河川におけるエストロゲンの実態調査, *水環境学会誌*, **26**, 791-795.
- 11) 栗原康 (1988) 河口・沿岸域の生態学とエコテクノロジー.
- 12) Andrew, L. R. and Waite, T. D. (2003) Kinetics of iron complexation by dissolved natural organic matter in coastal waters, *Marine Chemistry* **84**, 85-103.
- 13) 渡辺彰 (2002) 我が国の腐植物質研究とその展望, 2. 腐植物質の抽出および分画, *日本土壤肥料学会誌*, **73**, 797-796.
- 14) McCulloch, G. A.: Preparing organisms for toxicity tests 8010 E, 8-7-8-14. in Clesceri, L. S., Greenberg, A. E. and Eaton, A. D., (ed.), (1998) Standard methods for examination of water and wastewater, 20th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
- 15) Stooky, L.L. (1979) Ferrozine-A new spectrophotometric reagent for iron, *Analytical Chemistry*, **42**, 779-781.
- 16) 伊藤禎彦, 長坂俊樹, 中西岳, 野中愛, 百々生勢 (2000) 水道水中のエストロゲン様作用の特性と制御性に関する研究, *環境工学研究論文集*, **37**, 333-344.
- 17) 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.
- 18) 藤井学, 佐々木陽, 渡部徹, 大村達夫 (2004) 河口・沿岸域におけるフミン鉄の錯体平衡と凝集特性,



- 環境工学研究論文集, **41**, 389-400.
- 19) 福島武彦, 石橋敏昌, 今井章雄, 尾崎則篤, 西井祥則 (2000) 広島湾における溶存有機物の動態, 水環境学会誌, **23**, 360-366.
- 20) 今井章雄 (2004) 水環境におけるフミン物質の特徴と役割, 水環境学会誌, **27**, 2-7.
- 21) Isobe, T., Serizawa, S., Horiguchi, T., Shibata, Y., Managaki, S., Takada, H., Morita, M. and Shiraishi, H. (2006) Horizontal distribution of steroid estrogens in surface sediments in Tokyo Bay, *Environmental Pollution*, **144**, 632-638.
- 22) Lee, L. S., Strock, T. J., Sarmah, A. K. and Rao, P. S. (2003) Sorption and dissipation of testosterone, estrogens, and their primary transformation products in solids and sediment, **37**, 4098-4105.
- 23) Yamamoto, H. and Liljestrand, H. M. (2003) The fate of estrogenic compounds in the aquatic environment: sorption onto organic colloids, *Water Science and Technology*, **47**, 77-84.
- 24) Yu, Z., Xiao, B., Huang, W. and Peng, P. A. (2004) Sorption of steroid estrogens to solids and sediments, *Environmental Toxicology and Chemistry*, **23**, 531-539.