

様式3

愛媛大学沿岸環境科学研究センター  
共同利用・共同研究拠点「化学汚染・沿岸環境研究拠点」  
共同研究報告書

平成 30 年 2 月 23 日

化学汚染・沿岸環境研究拠点 拠点長 殿

申請者（研究代表者）

所属機関 \_\_鳥取大学\_\_\_\_\_

職 \_\_准教授 \_\_\_\_\_

氏名 \_\_寶來佐和子\_\_\_\_\_

e-mail \_\_horais@muses.tottori-u.ac.jp\_\_\_\_\_

下記の共同研究について、別紙の通り報告します。

1 研究課題

野生生物を用いた微量元素モニタリング

2 研究組織

氏名	所属	職	分担研究課題
寶來佐和子	鳥取大学	准教授	
国末達也	愛媛大学	教授	
拠点対応教員			

3 研究内容 （別紙）

1 研究課題名

2 野生生物を用いた微量元素モニタリング

3

4 寶來 佐和子 (鳥取大学), 国末 達也 (愛媛大学)

5

## 6 研究目的

7 鳥取県は現在、「環境立県」を掲げて様々な活動に取り組んでいるが、行  
8 政が着手できていない潜在的な環境科学的課題がある。一例を挙げると、日南  
9 町に誘致した産業による不適切な排水や廃棄物処理による河川の汚染である。  
10 そこで本研究は日南町日野川水系上流部における河川水、堆積物、生物種の微  
11 量元素レベルを明らかにし、生態影響評価を実施することを目的とした。

12

## 13 試料と方法

14 **環境モニタリング試料**：日野川水系上流部 7 地点 (非汚染地点：① KU およ  
15 び② ZU, 養豚場排水：③ JS, ②ZU と③JS の合流部：④ JSM, 畜産  
16 施設周辺の湧水地点：⑤ SKU, ⑤ SKU の下流：⑥ SKL, ⑥ SKL の  
17 下流と別水系の合流部：⑦ SKM) から河川水と堆積物試料を採取した  
18 (Fig.1)。

19 生物種の採集は、以下のとおりである。小原川上流 (コオニヤンマ幼生 1 個体、  
20 トノサマガエル 2 個体、シュレーゲルアオガエル 1 個体、アカガエル 1 個体、  
21 ツチガエル 1 個体、アカハライモリ 3 個体)、

22 銭上山川上流 (タカハヤ 8 個体)、

23 森林開発地周辺 (アカガエル 3 個体、ツチガ  
24 エル 9 個体、アカハライモリ 7 個体、シオカラ  
25 トンボ幼生 5 個体) であった。

26 **曝露試験の試料**：ニセネコゼミジンコ

27 (*Ceriodaphnia dubia*) を供試した。WET 試験

28 に使用した河川水・排水試料は ZU, JS および SKU の 3 地点から採水した。

29 **微量元素分析**：堆積物試料は誘導結合プラズマ発光分光分析装置 (ICP-AES) を  
30 用いて 21 元素 (Al, Li, Mg, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Rb, Sr, Ag,  
31 Cd, Sn, Sb, Ba, Pb) を測定した。河川水および生物試料は誘導結合プラズマ質



Fig.1 中国地方における日野川水系上流部の調査地点

32 量分析計 (ICP-MS) を用いて 23 元素 (Li, Mg, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn,  
33 As, Se, Rb, Sr, Mo, Ag, Cd, In, Sn, Sb, Ba, Pb, Bi) を測定した。認証物質を用  
34 いた回収率試験の結果は Mn 100%~As 115%であった。

35 **曝露試験の方法**：タカハヤへの曝露試験は曝露区および、対象区共に 3 区 (4 匹  
36 /1 区) 用意し、半止水式 (24 時間毎の換水) で 3~15 日間の曝露を行った。ニ  
37 セネコゼミジンコを用いた WET 試験は、国立環境研究所に依頼した。

38 **窒素・炭素安定同位体分析**：採取した両生類 5 種、魚類 2 種、水生昆虫 1 種を  
39 供試した。分析機器は質量分析計 (IR-MS) を用いて測定した。測定誤差は  
40  $\pm 0.2\%$  (SD) であった。

41

## 42 **結果と考察**

43 **河川水中微量元素濃度の比較**：非汚染地点 (ZU) および畜産排水 (JS) を比  
44 較した結果、11 元素 (Li, Mg, Mn, Fe, Co, Ga, As, Rb, Sr, Cs, Ba) が ZU より  
45 も JS で有意に高値であった。その中でも、ZU における河川水中 Mn 濃度は中  
46 央値 2.3  $\mu\text{g/L}$  であった一方、JS は中央値 679  $\mu\text{g/L}$  で ZU よりも約 295 倍高値  
47 であった。さらに、畜産施設周辺の湧水地点 (SKU) は河川水中 Mn 濃度が中  
48 央値 4780  $\mu\text{g/L}$  で、ZU よりも約 2090 倍、JS よりも約 7 倍有意に高値であっ  
49 た。SKU における、河川水中 Mn 濃度の中央値は要監視項目の指針値 (200  
50  $\mu\text{g/L}$ )<sup>5)</sup> を約 24 倍超過し、全国河川水中 Mn 濃度 (0.2~1080  $\mu\text{g/L}$ , 平均値 4.8  
51  $\mu\text{g/L}$ )<sup>6)</sup> を少なくとも 4 倍以上超過したことが明らかとなった。そのため、SKU  
52 周辺に生息する水生生物への悪影響が懸念された。

53 **堆積物中微量元素濃度の比較**：森林開発地水系 (SKU, SKL および SKM) に  
54 おける、堆積物中 9 元素 (V, Cr, Mn, Co, Cu, Zn, Ga, Pb, Bi) は、SKU の下流  
55 (SKL) において最高値を示した。加えて、SKL の下流と別水系の合流部 (SKM)  
56 および、SKU 地点における堆積物中これら 9 元素は、ほぼ同レベルであった。  
57 SKL 付近は、一般道路が存在する。道路側溝堆積物は 8 元素 (Ca, Zn, Cu, Cr, Ni,  
58 Pb, Fe, Mn) が高濃度で含まれており<sup>7)</sup>、SKL における堆積物中 6 元素 (Cr, Mn,  
59 Cu, Zn, Ga, Pb) は、道路側溝堆積物による影響で、他地点よりも高値を示した  
60 ことが示唆された。また、3 元素 (Cu, Zn, Pb) は人為的な影響を示す元素とし  
61 て知られている<sup>7)</sup>。そのため、SKL 地点は人為的な微量元素負荷の可能性が推  
62 察された。

63 森林開発地水系における高 Mn 濃度の起源特定：森林開発地水系は河川水およ  
 64 び、堆積物中 Mn 濃度が著しく高値であった。そのため、濃縮係数 (Enrichment  
 65 Factor : E.F.)<sup>8)</sup> および、蓄積性に対する指標 (geo-accumulation index : I-geo)<sup>8)</sup>  
 66 を算出し、人為起源か天然起源の判別を行った。E.F.値とは、堆積物中元素 X  
 67 の濃度と地殻中の Al 含有量 (バックグラウンド濃度) の比率を算出することで、  
 68 河川に堆積している元素が、人為的な影響による濃縮か否か判断する手法であ  
 69 る。I-geo は、河川堆積物中の元素濃度を各汚染クラスに分類する指標である。  
 70 EF 値および I-geo の数式を以下に示す。

$$E.F. = [C(X)_{\text{sample}} / C(Al)_{\text{sample}}] / [C(X)_{\text{background}} / C(Al)_{\text{background}}] \quad (1)$$

$$I\text{-geo} = \log_2 [C(X)_{\text{sample}} / 1.5C(X)_{\text{background}}] \quad (2)$$

C (X) : 重金属 X 濃度

C (Al) : アルミニウム濃度

77 E.F.値が 10 以上の時、人為的な影響に  
 78 による濃縮を示す。加えて、重度な濃縮  
 79 (20 < E.F. ≤ 40) および、極度の濃縮 (E.F.  
 80 > 40) に分類することが出来る。非汚染地  
 81 点 (KU および ZU) では中央値が、それ  
 82 ぞれ 7.9 と 2.2 であった一方、森林開発地

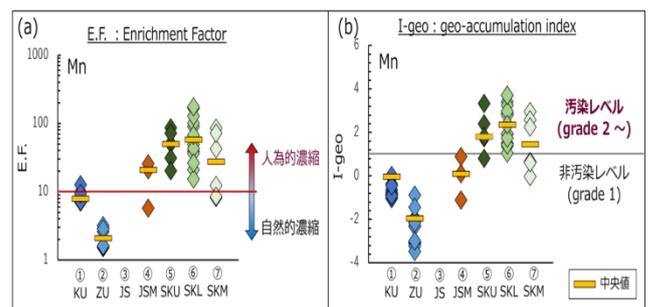


Fig 2 各地点における堆積物中 Mn 濃度の (a) E.F.および (b) I-geo 値

83 水系 (SKU、SKL および SKM) では中央値が、それぞれ 50.1、58.1 および 27.6  
 84 であった (Fig 2a)。よって、非汚染地点における堆積物中 Mn 濃度は、自然プ  
 85 ロセスによる堆積であった一方で、森林開発地水系では SKU から他水系との合  
 86 流部である SKM 付近において、Mn の人為的な濃縮が存在することが明らかと  
 87 なった。

88 I-geo は非汚染レベル (I-geo ≤ 1)、小規模な汚染レベル (1 < I-geo ≤ 2)、中規模  
 89 な汚染レベル (2 < I-geo ≤ 3)、大規模な汚染レベル (3 < I-geo ≤ 4) と分類すること  
 90 が出来る。KU および、ZU 地点における I-geo は、中央値がそれぞれ -0.02 と -1.95  
 91 であった一方、SKU における I-geo の中央値は 1.8、SKL における I-geo の中  
 92 央値は 2.4 であった (Fig 2b)。そのため、SKU および SKL は小・中規模な汚  
 93 染レベルに分類されたが、SKU における堆積物中 Mn 濃度の最大値は、I-geo

94 で 3.3 を示し、SKL は 3.7 を示した。このことから、SKU および SKL の堆積  
 95 物中 Mn 濃度は、試料の採取時期によって Mn の蓄積レベルが異なることが推  
 96 察された。また、E.F.および I-geo により、SKU および SKL の堆積物中 Mn 濃  
 97 度は、人為起源の可能性が示唆された。

98 **森林開発地水系における高 Mn 濃度の発生源特定：SKU 地点における、河川**  
 99 **水中 Mn 濃度は、中央値 4779  $\mu\text{g/L}$  を示し、SKL 地**  
 100 **点で中央値 2595  $\mu\text{g/L}$ 、SKM 地点で中央値 321  $\mu\text{g/L}$**   
 101 **と、下流に行くにつれて、河川水中 Mn 濃度の減少**  
 102 **が見られた。そのため、森林開発地水系における高**  
 103 **Mn 濃度は、SKU もしくは、その湧水周辺からの混**  
 104 **入であることが考えられた。森林開発地水系は SKU**  
 105 **地点が最上流部で、それより先は地下 1~30m 付近**

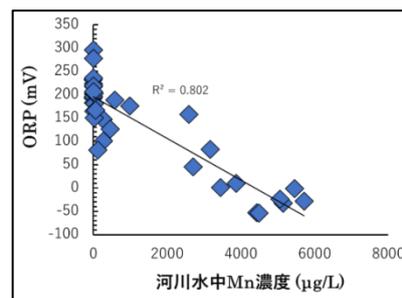


Fig 3 河川水中 Mn 濃度と ORP の関係

106 に存在する不圧地下水である。その地下水周辺の土地は、大規模な畜産廃棄物  
 107 の処分場として利用されている。加えて、森林開発地水系における河川水中 Mn  
 108 濃度と酸化還元電位 (ORP) に負の相関がみられた。ORP の低下に伴う、地殻  
 109 および河川堆積物中からの Mn 溶出は、先行研究において報告されている<sup>9)</sup>。こ  
 110 れらのことから、不圧地下水に畜産廃棄物の処理を行うことで、好気性微生物  
 111 による分解が発生、それに伴い酸素が消費され、不圧地下水が還元的な状態と  
 112 なり、地殻中からマンガン溶出の可能性が示唆された。

113 **森林開発地水系に生息する水生生物種への**  
 114 **影響評価：KU 地点では 11 種の水生生物を採**  
 115 **取した。その一方、SKU において採取された**  
 116 **生物種は 4 種である。この原因を究明するた**  
 117 **め、生物中窒素・炭素安定同位体比を用いた**  
 118 **食物網構造の評価を行った。KU および、SKU**  
 119 **におけるカエル類中窒素・炭素安定同位体比**  
 120 **は、それぞれ傾きが異なることが明らかとな**

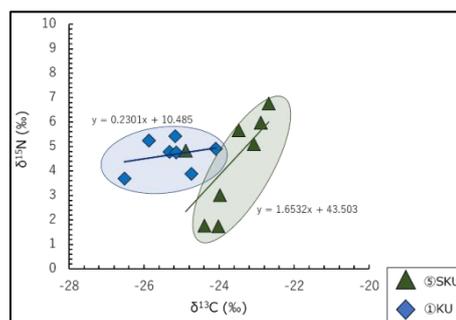


Fig 3 KU および SKU 地点におけるカエル類中窒素・炭素安定同位体比

121 った (Fig 3)。KU 地点における、カエル類中安定同位体比は、傾きが約 0.23 で  
 122 あった一方、SKU 地点における、カエル類中安定同位体比は、傾きが約 1.65  
 123 と、SKU 地点におけるカエル類は KU に生息するカエル類よりも、傾きが大き  
 124 いことが明らかとなった。窒素・炭素安定同位体比の勾配が小さくなることは、

125 多様な一次生産者による、食物網の複雑  
 126 化が原因であると報告されている<sup>10)</sup>。そ  
 127 の一方で、勾配が大きくなる要因として、  
 128 季節に伴う生息環境の変化および餌生物  
 129 の偏りがある<sup>10)</sup>。よって、KU に生息す  
 130 るカエル類は、非汚染地点において構成  
 131 される、複雑な食物網構造を反映してい  
 132 る一方で、SKU に生息するカエル類は、  
 133 森林開発地水系における、食物網構造の単純化を示唆する結果であった。

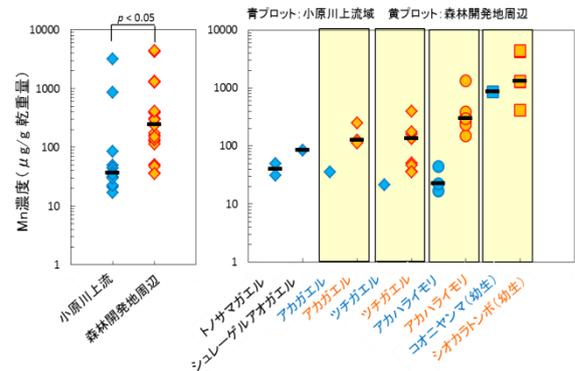


Fig.5 生物中Mn濃度の地域比較

134 **曝露試験による毒性影響評価：**曝露試験の結果、確認された影響は極度の活  
 135 動低下（遊泳異常）および、エラの激しい動き（異常呼吸）  
 136 であった。また対象区および、曝露区の合計数 24 匹のう  
 137 ち、3 匹は SKU 曝露水槽から飛び出しによる死亡が見ら  
 138 れた。3 回の SKU 水曝露試験において、タカハヤの死亡  
 139 は観察されなかったことから、SKU 水はタカハヤに対し  
 140 て、慢性的な毒性影響を及ぼす可能性が示唆された。曝  
 141 露区 (SKU) および、対象区におけるタカハヤ中微量元素  
 142 濃度の中央値比較は、Mn および Fe の 2 元素が、曝露区  
 143 のタカハヤにおいて、それぞれ 5.1 倍と 8.8 倍、有意に高  
 144 値であった (Fig 4)。

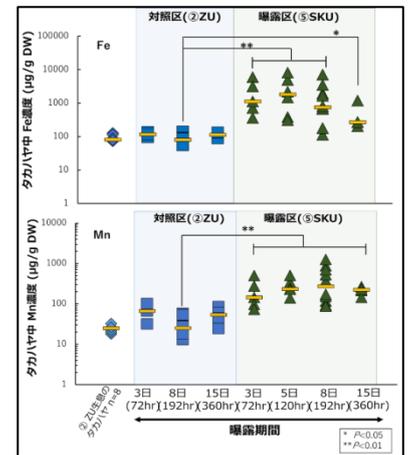


Fig 4 曝露試験およびZUに生息するタカハヤ中FeとMn濃度

145 ニセネコゼミジンコを用いた曝露試験の結果、対照区における、総産仔数の  
 146 平均は 27.7 匹であった一方、JS 80% (JS 80%, control 20%含む曝露水) におけ  
 147 る、総産仔数の平均は 32.5 匹で、対象区よりも産仔数が有意に高値であった。  
 148 その一方、SKU 40%曝露区における、総産仔数の平均は 22.6 匹、SKU 80%曝  
 149 露区における、総産仔数の平均は 14.1 匹で、対象区よりも有意に低値であった。  
 150 そのため、SKU 水は濃度依存的に、ミジンコの産仔数へ慢性的な悪影響を及ぼ  
 151 すことが明らかとなった。

152 **小原川源流域と森林開発地流域における生物中 Mn 濃度の比較：**

153 小原川上流域で採取した生物種 6 種 9 個体と、森林開発地周辺域で採取され  
 154 た生物種 4 種 24 個体中マンガンを比較した (Fig.5)。その結果、森林開発  
 155 地周辺で捕獲された生物種体内中マンガンの濃度は、小原川上流域に生息してい

156 た生物種より有意に高値を示した ( $p < 0.05$ ) (Fig.5 左)。また、同種を用いて  
157 地域比較解析を実施した結果、森林開発地においてアカガエルは約 3.5 倍、ツチ  
158 ガエルは約 6.3 倍、アカハライモリは約 13 倍、ヤゴは約 1.5 倍高値であった  
159 (Fig.5 右)。今回、森林開発地周辺で採集したこれら生物種に関して、アカガ  
160 エルおよびツチガエルは流域周辺の陸地に、アカハライモリは流域と異なる近  
161 接した水辺に、シオカラトンボの幼生のみが直下水の流域に生息していた。シ  
162 オカラトンボおよびコオニヤンマの幼生中 Mn 濃度は他の生物種より高値であ  
163 ったことから、多種と比べ Mn の生理的要求量は高く、直下水でも生存可能で  
164 あることが推察された。一方、アカハライモリは多種と比べ、環境水中レベル  
165 を強く反映する種であることが示唆された。

## 166 結論

167 森林開発地起源の高 Mn レベルは人為的であることが明らかとなり、その原因  
168 は埋却溝設置および使用に伴う地殻中の Mn 溶出であることが考えられた。窒  
169 素炭素安定同位体比分析により、森林開発地流域において、餌生物に偏りがあ  
170 ることが示された。偏りが生じた原因は、WET 試験の結果から、本流域水が動  
171 物プランクトン (本研究ではニセネコゼミジンコ) の繁殖を困難にしているた  
172 めであろう。両生類、とくにアカハライモリは本流域の Mn 曝露を強く反映す  
173 る種であることが示唆された。今後の課題として、Mn による毒性影響かあるい  
174 は他の化学物質曝露による影響かを解明していくことが急務となる。

## 175 参考文献

- 176 1)日南町議会 (2013)
- 177 2)森木ら：日野川水系上流部における栄養塩類および微量元素の環境モニタリングからみた環境汚染の動態評価 (2017)
- 178 3)G.Kimball : The effects of lesser known metals and one organic to fathead minnows (*Primephales promelas*) and *Daphnia magna*
- 179 (1978)
- 180 4)W. Birge : Aquatic toxicology of trace elements of coal and fly ash (1978)
- 181 5)環境省, “要監視項目及び指針値 (人の健康の保護に係る項目)
- 182 6)石橋融子, 熊谷博史, “自然由来による河川水中のマンガンの濃度の変動 (2013)
- 183 7)村上ら：道路粉塵及び雨水浸透層堆積物への重金属類の蓄積 (2006)
- 184 8)Pourkhabbaz et al : Application of geoaccumulation index and enrichment factor for assessing metal contamination in the
- 185 sediments of Hara Biosphere Reserve, Iran (2014)
- 186 9)Itai et al : Hypoxia-Induced Exposure of Isaza Fish to Manganese and Arsenic at the Bottom of Lake Biwa, Japan (2012)
- 187 10)Minagawa et al : Stepwise enrichment of  $\delta^{15}\text{N}$  along food chains: further evidence and the relation between  $\delta^{15}\text{N}$  and animal age
- 188 (1984)

## 189 研究成果リスト

- 190 原著論文：森木ら。日野川水系上流部における微量元素モニタリングと環境影響評価。環境化学会誌受理  
191 学会発表：森木翼ら，第 26 回環境化学討論会 (2017 年)。Moriki et al., SETAC 38<sup>th</sup> North America (2017)