

ノート

県下河川水中の環境ホルモン類の状況(第2報)

早川修二, 佐来栄治, 山川雅弘

Survey of Endocrine Disrupters in River Water in Mie Prefecture (2nd)

Shuji HAYAKAWA, Eiji SARAI and Masahiro YAMAKAWA

いわゆる環境ホルモン類(外因性内分泌攪乱物質)の中でフェノール系(ノニルフェノール, ビスフェノールA他)10物質について, 三重県下の7水系(36地点)を対象に, 年4回試料採取を行い, 固相抽出-誘導体化-GC/MS-SIM法で分析を行った。

その結果, 前年度と同様にビスフェノールA, ノニルフェノールなどが検出されその濃度範囲はビスフェノールAがND(0.01)~11.1 µg/L, ノニルフェノールがND(0.05)~2.4 µg/Lであった。

キーワード: 環境ホルモン, ノニルフェノール, ビスフェノールA, GC/MS, 水質

はじめに

人や野生動物の内分泌作用を攪乱し、生殖機能障害、悪性腫瘍等を引き起こす可能性のある外因性内分泌攪乱物質(いわゆる環境ホルモン)による環境汚染は、世代を越えた深刻な影響をもたらすおそれがあることから注目されている。

環境における環境ホルモン濃度の把握は環境省、国土交通省による全国調査、地方自治体による調査などで行われており、筆者らもこれまでに県北部の河川水などの調査を行ってきた¹⁻³⁾ところである。

本年度は昨年度の調査結果において、検出頻度の高かった、ビスフェノールAおよびノニルフェノール類を対象とし、比較的検出濃度の高かった、三滝川、天白川などの上流部や支川について調査を行ったので報告する。

実験方法

1. 調査対象河川および調査時期

表1に示した水系・河川(36地点)を対象として平成12年5, 8, 11および平成13年1月の4回調査を行った。(図1参照)

2. 調査対象物質

フェノール系10物質(ノニルフェノール, 4-n-オクチルフェノール, 4-tert-オクチルフェノール, 4-n-ヘプチルフェノール, 4-n-ヘキシルフェノール, 4-tert-ブチルフェノール, 4-n-ペンチルフェ

ノール, 2,4-ジクロロフェノール, ビスフェノールA)を調査対象とした。

3. 試薬・器具

アルキルフェノール類, ビスフェノールA: 関東化学, 東京化成その他市販試薬

硫酸ジエチル: 東京化成製

ビスフェノールA-d16: 関東化学製

内標準(フルオレン-d10, フェナンスレン-d10, クリセン-d12): CIL社その他市販試薬

固相抽出カートリッジ: Waters Sep-PakPlus P S 使用前に5 mLのn-ヘキサン, ジクロロメタン, 10mLのメタノールおよび20mLの精製水でコンディショニングを行った。

ジクロロメタン, n-ヘキサン, アセトン, メタノール, エタノール, 無水硫酸ナトリウム: 和光純薬製残留農薬分析用

水酸化カリウム: 和光純薬製特級

精製水: 蒸留水製造装置の蒸留水を全ガラス製蒸留器で2回蒸留したもの。

試料採水ピン, コニカルピーカー等ガラス器具: 使用前にアセトン, n-ヘキサンで洗浄後, 乾燥機で180分8時間以上加熱した。

BPA-d16溶液: ビスフェノールA-d16 10mgを秤量し, アセトンで20mLとしたものを, さらにアセトンで希釈し25 µg/mLとした。

表1 調査河川一覧

水系・河川名	試採取点	水系・河川名	試料採取点
三滝水系 三滝川 矢合川	4 高角橋, 5 神崎橋, 6 明治橋 1 猪の木橋, 2 高橋, 3 矢合橋	志登茂川	1 西河原橋, 2 宮下橋, 3 川北橋, 4 西浜橋
天白水系 天白川	1 上流, 2 小山町, 3 四郷高横, 4 下流(日永), 8 大井の川橋	愛宕川	1 ののこし橋, 2 愛宕A, 3 五反田, 4 下流
鹿化川 雨池川	5 下流 6 六呂見, 7 下流	外城田川	1 上流, 2 永楽橋, 3 支流, 4 野依橋
金沢川	1 上流, 2 金沢B, 5 金沢橋, 7 樋門	勢田川	1 上流, 2 中流, 3 下流
新川 田古知川	3 新川, 4 フジクラ横, 6 金沢A,		

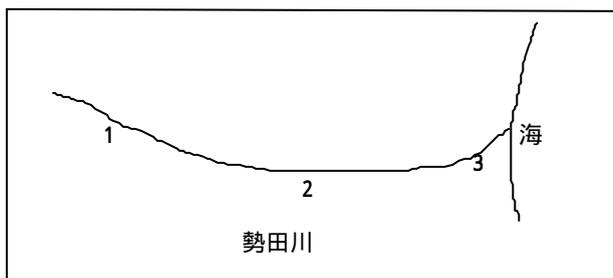
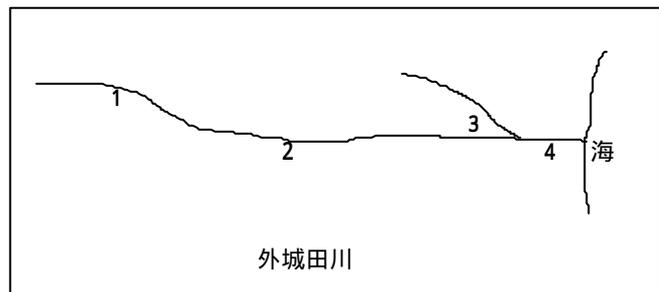
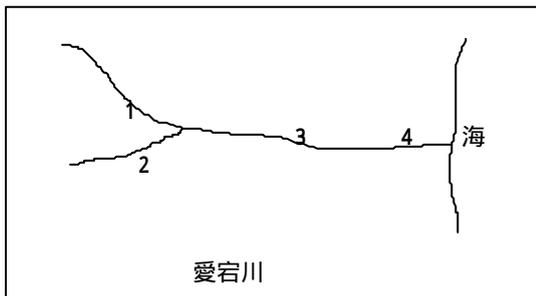
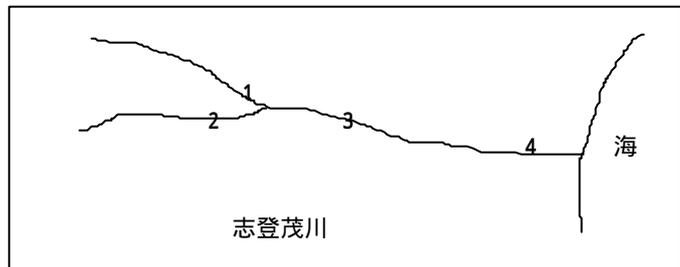
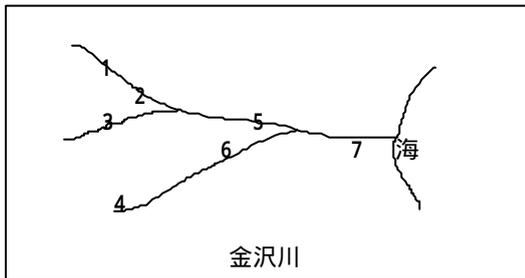
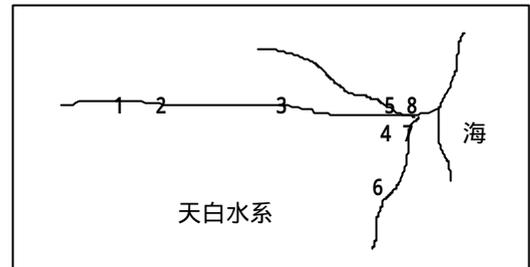
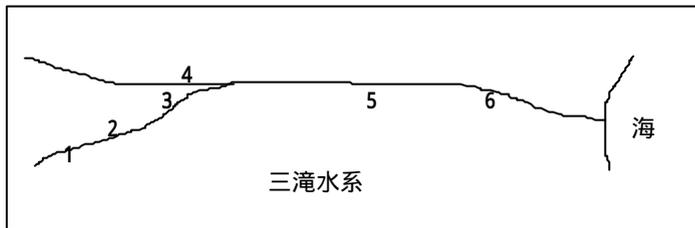


図1 調査地点概略図

図は試料採取位置関係を模式的に表したもので
実際の河川形状とは異なっています。

環境ホルモン類標準液 A：標準品各 20mg を秤り取りアセトンで 20mL としたものを、各 1 mL ずつ混合し 20mL としたもの (50 μ g/mL)。

環境ホルモン類標準液 B：環境ホルモン類標準液 A を n-ヘキサンで適宜希釈し、5 ~ 0.1 μ g/mL の標準液を調整した。それぞれ 1 mL を分取し、分析法に従って誘導体化後 1 mL にメスアップし、内標準液を 5 μ L 加えたもの。

内標準溶液：フルオレン-d10、フェナンスレン-d10、クリセン-d12 をそれぞれ 10mg 秤量し、アセトンで 20mL としたものを 1 : 1 : 2 の割合で混合後アセトンで希釈し 100 μ g/mL (クリセン-d12 は 200 μ g/mL) としたもの。

1N-水酸化カリウム / エタノール溶液 (1N-KOH/Et-OH) : 水酸化カリウム 56g を 50mL の精製水で溶解後 950mL のエタノールを加えたもの。

4. 分析法及び分析条件

フェノール系 10 物質の分析は、環境庁から示された方法⁴⁾ (固相抽出 - 誘導体化 (エチル化) - GC / MS - SIM 法) で行った。

すなわち、試料採水ビンから試料水 500 mL をコニカカルビーカーに分取後、塩酸 (1+11) を加え pH3.2 (\pm 0.2) に調整し、BPA-d 16 溶液 20 μ L を添加した後、全自動固相抽出装置 (Zymark 製) を用いて 15mL/min の速度で固相抽出カートリッジに通水した。通水後 10mL の精製水でカートリッジを洗浄し、遠心分離 (3000rpm, 10min) で脱水を行った。

カートリッジからの溶出は、4 mL のジクロロメタン、次いで 4 mL の n-ヘキサンで行った。溶出液は小ポートに少量の石英ウールを詰め、約 5g の無水硫酸ナトリウムを入れたもので脱水した。

次いで、窒素ガスを吹き付けて 1 mL に濃縮し、そのうちの 0.2mL は農薬類の分析用として分取後、残りの溶液をさらに窒素ガスで 0.2mL 程度に濃縮し、分析法に従って 1N-KOH/Et-OH 0.5ml とジエチル硫酸 0.2mL でエチル化を行い、内標準液 4 μ L を加えた n-ヘキサン 1 mL で抽出し、少量の無水硫酸ナトリウムで脱水後 GC / MS - SIM でフェノール系 10 物質の分析を行った。

なお、分析法のフローを図 2 に示す。

調査結果及び考察

1. 調査結果

1.1 調査結果概要

平成 12 年度に行った 7 水系 (36 地点) の調査結果の概要は、

・ノニルフェノールは、ND (0.05 μ g/L) ~ 2.4 μ g/L の範囲で検出され、検出率は 69% (98/143) であった。



図 2 分析法フロー

表 2 GC / MS 分析条件

GC/MS: HP5890II + HP5973A
 カラム: DB-50.25mm \times 30m, 0.25 μ m
 カラム温度: 50 (1.5min) - 30 /min -
 - 150 - 6 /min - 250 (5min)
 キャリアーガス: He ヘッド圧 80kpa
 注入方法: スプリットレス パージ時間 1 min
 注入口温度: 250
 インターフェース温度: 260

表 3 GC / MS - SIM 測定質量数

物質名	定量用	確認用
4-tert-ブチルフェノール	163	178
2,4-ジクロロフェノール	162	190
4-n-ペンチルフェノール	135	192
4-n-ヘキシルフェノール	135	206
4-tert-オクチルフェノール	163	135
4-n-ヘプチルフェノール	135	212
ノニルフェノール	177	163
4-n-オクチルフェノール	135	234
ペンタクロロフェノール	266	264
ビスフェノール A	269	284
ビスフェノール-A-d16 (上記 11 物質はエチル化体を測定)	280	
フルオレン-d10	176	
フェナンスレン-d10	188	
クリセン-d12	240	

・ビスフェノールAはND(0.01 μ g/L) ~ 11.1 μ g/Lの範囲で検出され、検出率は82%(118/144)であった。

・また、濃度的にはかなり低いものの4-tert-オクチルフェノールがND(0.01 μ g/L) ~ 0.91 μ g/Lの範囲で検出され、検出率は49%(70/144)であった。

・その他、4-tert-ブチルフェノールや2,4-ジクロロフェノールなども微量検出されたが、4-n-ペンチル、4-n-ヘキシル、4-n-ヘプチルおよび4-n-オクチルフェノールは検出限界未満であった。

これらの値を、11年度に行った県内河川調査結果や、環境庁の行った全国調査結果と比較すると(表4)、検出された物質は、ノニルフェノール、ビスフェノールA、4-tert-オクチルフェノールなどであり、また、それらの濃度範囲はビスフェノールAを除いて、ほぼ同程度であった。

検出率については11年度に比べて増加しているが、これは12年度調査対象河川として、11年度調査結果で比較的検出濃度高かった河川を選定したことにより、検出限界未満の検体数が減り、検出率が上がったものと考えられる。

ビスフェノールAについては、11年度には調査を行わなかった地点で高い値が検出された(矢合川 高橋: 5.9 μ g/Lと雨池川 六呂見: 11.1 μ g/L)。どちらも年4回調査のうち1回だけが高濃度であった。他の3回は2 μ g/L未満であり、11年度の最高値(1.5 μ g/L)と同程度であった。

1.2 ノニルフェノール、ビスフェノールAの年度別比較

ノニルフェノールおよびビスフェノールAについて各河川・支川の下流地点の10年度から12年度の年間平均濃度の推移を表5に示す。

なお、平均値は調査結果が検出限界未満の場合は、検出限界値の1/2として算出した。

矢合川のノニルフェノール(0.28->0.13->0.06 μ g/L)、三滝川のビスフェノールA(0.19->0.19->0.08 μ g/L)のように減少傾向が見られるものもあるが、全体的にはノニルフェノール、ビスフェノールAともはほぼ横這い状態であった。

表4 河川調査集計結果(H11,12年度)

物質名	H11年度 検出範囲 (μ g/L)	検出率 (%)	H12年度 検出範囲 (μ g/L)	検出率 (%)	H11年度 全国調査 (μ g/L)	検出率 (%)
4-tert-ブチルフェノール	<0.01-0.98	24	<0.01-0.69	38	<0.01-0.05	0.6
2,4-ジクロロフェノール	<0.02-0.11	5.7	<0.02-0.14	6.9	<0.01-0.07	15
4-n-ペンチルフェノール	<0.01-0.09	10	<0.01	0	<0.01	0
4-n-ヘキシルフェノール	<0.03	0	<0.03	0	<0.01	0
4-tert-オクチルフェノール	<0.01-0.07	14	<0.01-0.91	49	<0.01-0.61	16
4-n-ヘプチルフェノール	<0.01-0.01	0.6	<0.01	0	<0.01	0
ノニルフェノール	<0.05-2.3	36	<0.05-2.4	69	<0.1-4.6	26
4-n-オクチルフェノール	<0.01	0	<0.01	0	<0.01	0
ビスフェノールA	<0.01-1.5	62	<0.01-11.1	82	<0.01-0.71	47

検体数

157

144

170

H11年度全国調査は平成11年度環境庁調査で、河川の他に湖沼、海域、地下水の結果を含んでいます。

表5 ノニルフェノール、ビスフェノールA濃度の年度別比較

年度	ノニルフェノール			年度	ビスフェノールA		
	平成10	平成11	平成12		平成10	平成11	平成12
三滝川	0.07	0.11	0.07	三滝川	0.19	0.19	0.08
矢合川	0.28	0.13	0.06	矢合川	0.57	1.1	0.45
天白川				天白川			
大井の川橋	0.44	1.1	0.36	大井の川橋	0.38	0.29	0.29
四郷高横	0.10	0.30	0.07	四郷高横	0.58	0.18	0.24
金沢川樋門	0.35	0.56	0.49	金沢川樋門	0.15	0.13	0.32
志登茂川		0.52	0.23	志登茂川		0.13	0.04
愛宕川		0.95	1.1	愛宕川		0.08	0.13
外城田川		0.10	0.11	外城田川		0.01	0.03
勢田川		0.20	0.16	勢田川		0.04	0.04

単位: μ g/L

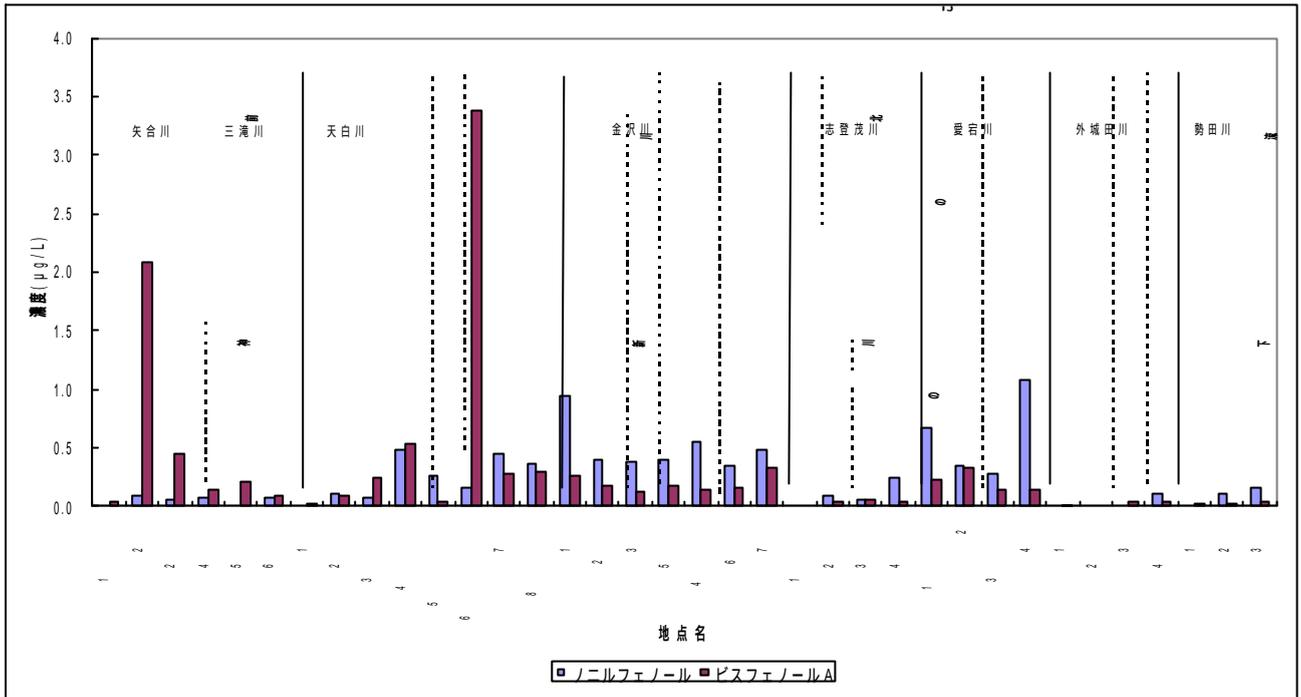


図3 ノニルフェノール，ビスフェノールAの平成12年度年平均値

表6 各水域・河川の状況

河川名	河川類型	流下経路	主な負荷要因
三滝川	A	菟野町から四日市市を流下	生活系排水系
矢合川		四日市西部の田園地帯，集落を流下	生活系排水・高橋の上流で処理場処理水などが流入している。
天白川		四日市市西部の高台から田園，市街地を流下	生活系排水・上流部(小山町)では処分場処理水が，下流部(日永)では下水処理水が流入している。
鹿化川		四日市市西部の高台から田園，市街地を流下	生活系排水
雨池川		四日市市の工場地，市街地を流下	生活系排水，工場・事業所排水が流入している。
金沢川(新川，田古知川)	C(金沢川)	鈴鹿市内を流下	生活系排水のほか，工場・事業所の排水も流入している。
愛宕川		松阪市内を流下	主として生活排水が流入している。
志登茂川	C	芸濃町津市北部を流下	生活系排水
外城田川	B～C	小俣町，伊勢市北部を流下	生活系排水
勢田川	C	伊勢市中心部を流下	生活系排水

注) 「主な負荷要因」は，筆者らの試料採取時の主観による。

1.3 ノニルフェノール，ビスフェノールAの河川別状況

ノニルフェノールおよびビスフェノールAについて各調査地点の12年度年間平均値を図3に示す。また各水域・河川の概要を表6に示す。三滝水系では，ビスフェノールAが，矢合川高橋で濃度が高くなった後，矢合橋で約1/4に減少し，神前橋，明治橋と流下に従って減少しているが，ノニルフェノールはあまり変化は見られなかった。

天白水系の中で，天白川では上流から下流(日永)へ流下するに従ってノニルフェノール，ビスフェノールA

とも徐々に増加しているが，濃度の低い鹿化川下流水と雨池川下流水と合流し大井の川橋で減少している。雨池川では，六呂見でビスフェノールAが高濃度であるが下流では約1/10に減少している。

金沢川，新川，田古知川はノニルフェノール，ビスフェノールAとも上流，支川の上流および下流で濃度がやや高く，その間は低い傾向が見られるが，濃度変化はあまり見られない。

愛宕川は，金沢川と同じような傾向である。

志登茂川，外城田川および勢田川は他の河川に比べて両物質とも濃度が低いものの，流下に伴って濃度が増加している傾向が見られる。

2. 考察

今回調査を行ったノニルフェノールは非イオン界面活性剤（主として工業用洗剤）の分解物やフェノール樹脂材料である。また、ビスフェノールAはポリカーボネート樹脂やエポキシ樹脂などのプラスチック原材料であり、これらの化学物質を製造・使用している事業所や廃棄施設が環境負荷の主な要因と考えられる。したがって、矢合川や雨池川でビスフェノールA濃度が高いのは事業系排水の寄与があると推測される。一方、ノニルフェノールは全般的に検出濃度が低く、事業系排水との関連は明瞭ではなかった。また、生活系排水の比率が高いと考えられる愛宕川でノニルフェノールが検出されていることから、国土交通省 都市・地域整備局水道部の報告⁵⁾（家庭系排水(団地汚水処理場流入下水:2ヶ所)のノニルフェノール濃度 0.7 ~ 1.5 $\mu\text{g/L}$)にあるように生活系排水の影響とも考えられる。

ホルモン様作用に関しては、ノニルフェノールのメダカのパーシャルライフサイクル試験で11.6 $\mu\text{g/L}$ で精巣卵、ピテロジェニン生産に有意が見られたとの環境省からの発表⁶⁾があったが、今回の調査では、この値を超えた地点は1地点もなかったものの、予測無影響濃度(影響がないと予測される水中濃度)0.608 $\mu\text{g/L}$ と比較すると、年平均濃度で3地点が超過している。

ビスフェノールAについては、横田弘文ら⁷⁾のヒメダカのライフサイクル試験で、精巣卵を有する固体が観測された濃度2000 $\mu\text{g/L}$ と比較すると、今回の調査の最高値11.1 $\mu\text{g/L}$ でも約1/180であった。

これらの結果、ノニルフェノールやビスフェノールAとも現時点ではメダカに影響を及ぼす濃度を下回っているが、予測無影響濃度を越えている地点があることや、検出頻度が高いことから今後も追跡調査や情報収集などが必要であると考えられる。

ま と め

平成11年度の調査結果において、検出頻度の高かった、ビスフェノールAおよびノニルフェノール類を対象とし、三滝水系(三滝川、矢合川)、天白水系(天白川、

鹿化川、雨池川)、金沢川、志登茂川、愛宕川、外城田川および勢田川の7水系(36地点)で調査を行い次の結果を得た。

1. ノニルフェノールはND(0.05) ~ 2.4 $\mu\text{g/L}$ の範囲で検出され、検出率は82%(118/144)であった。愛宕川および金沢川が比較的高い濃度であった。流下による濃度変化ははっきりしなかった。

2. ビスフェノールAはND(0.01) ~ 11.1 $\mu\text{g/L}$ の範囲で検出され、検出率は69%(98/143)であった。矢合川および雨池川が比較的高い濃度であったが、流下に伴い分解等により減少する傾向がみられた。

文 献

- 1) 佐来栄治, 早川修二 他: 河川水中のノニルフェノールおよびビスフェノールAの分析, 三重県環境科学センター研究報告, 19, 13-21 (1999)
- 2) 佐来栄治, 早川修二 他: 三重県北部河川のアルキルフェノール類とビスフェノールAについて(第2報), 三重県保健環境研究所年報(環境部門), 1, 37-51 (1999)
- 3) 早川修二, 山川雅弘 他: 県下河川水中の環境ホルモン類の状況, 三重県保健環境研究所年報, 2, 94-104 (2000)
- 4) 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(水質, 底質, 水生生物), 平成10年10月
- 5) 国土交通省 都市・地域整備局水道部: 平成12年度下水道における内分泌攪乱化学物質(環境ホルモン)に関する調査報告【概要】, 平成13年5月
- 6) 環境省総合環境政策局環境保健部: ノニルフェノールが魚類に与える内分泌攪乱作用の試験結果に関する報告(案), 平成13年8月
- 7) 横田弘文、ヒメダカを用いた試験法の開発, 第1回内分泌攪乱化学物質問題に関する国際シンポジウムアブストラクト, 56 (1998)