

原 著

四日市港周辺海域のエストロゲン様物質について

岩崎誠二, 加藤進, 国分秀樹, 高橋正昭,
松田知成¹⁾, 松井三郎¹⁾

伊勢湾内の四日市港周辺海域6地点のエストロゲン様物質を, 2000年9月~2000年3月にかけて酵母を利用したバイオアッセイで測定した。海水をろ過し, ろ過液とろ過残さのエストロゲン様物質をそれぞれ溶解性エストロゲン様物質及び不溶性エストロゲン様物質として測定した。その結果, 全調査期間を通じ, すべての地点でエストロゲン様物質が検出された。最大値は, 溶解性エストロゲン様物質で1.6ng/L, 不溶性エストロゲン様物質は1.1ng/L, またそれらの和である全エストロゲン様物質では2.3ng/Lであった。エストロゲン様物質の濃度は, 水温の高温期に低く, 低温期に高い傾向にあった。また河川の調査結果と同様に, 全般的に溶解性エストロゲン様物質の割合が高い傾向にあった。

キーワード: 内分泌かく乱性物質, エストロゲン様物質, 酵母法

はじめに

生活排水及び産業系排水には様々な種類の内分泌かく乱性物質が含まれることがあり, それらの物質が水環境に放出されたときに水生生物に与える影響が心配されている。内分泌かく乱性物質は, エストロゲン様物質(女性ホルモン様物質とも言う)に限定しても数多く報告されている。現在まで各研究・分析機関で実態調査が行われているが, それらの調査で通常使用されている機器分析法では個々の物質しか分析できず, しかも物質のエストロゲン活性に関しては別の試験法によらねばならない。環境水のような複雑な混合系でエストロゲン様物質の存在をスクリーニングするためには, エストロゲンとしての活性を一括して把握でき, しかも簡便かつ安価な方法が有用である。英国 Brunel 大学の P. Sumpter 教授らが開発した, ヒトエストロゲン受容体遺伝子を組み込んだ酵母(以下, 組換え体酵母)を用いたバイオアッセイ(以下, 酵母法)は, エストロゲンのヒト細胞内での作用をそのまま酵母の細胞内で再現し, 定量するものである¹⁾。本法は多種のエストロゲン様物質が存在する試料であっても, エストロゲン活性として一括して測定できる利点がある。酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) は, 取り扱いが容易で, 安全という利点もある。我々は, 三重県内の公共用水域におけるエストロゲン様物質の実態を把握するため, 酵母法を使用して県下 18 河川のエストロゲン様物質を測定した^{2, 3)}。その結果, 大

部分の河川から 0.5~15 ng/L の範囲でエストロゲン様物質が検出された。そこで高い値のエストロゲン様物質が検出された河川が流入している四日市港周辺海域の調査を行ったので報告する。

実験方法

1. 調査地点

図1に示す四日市港周辺海域6地点(St20~25)について, 2000,9~2001,3までの間, 月1回ずつ調査を行った。本地点は四日市港管理組合の定期調査地点であり, St-20, 21は環境基準で指定されるC海域, St-22,23はB海域, St-24,25はA海域である。なお, 海水は, 表層水を採取した。

2. エストロゲン様物質分析方法

酵母法は, Routledge et. al. の方法を準用した¹⁾。また, 海水のアッセイ用試料は, 滝上らの方法⁴⁾により調製した。すなわち, 海水2LをGF/Cろ紙でろ過し, ろ液のエストロゲン様物質を Sep-pak C18+カートリッジで吸着し, メタノールで溶出, 濃縮し, 窒素気流で乾固したのち, 0.2mLのジメチルスルホキシド(DMSO)で溶解し, アッセイ用試料とした。ろ過残さは秤量したのち, メタノールで超音波抽出, 濃縮したのち, ろ液と同様の操作でアッセイ用のDMSO溶液を調製した。

1) 京都大学大学院工学研究科環境工学専攻

なお、本研究では酵母法で検出された物質をエストロゲン様物質とし、 17β -エストラジオール活性当量として表した。各態別のエストロゲン様物質は、次のとおり定義した。

・溶解性エストロゲン様物質 (D-ES)

海水 1L のろ液に含まれるエストロゲン様物質

単位: ng/L

・不溶性エストロゲン様物質略称 (S-ES)

海水 1L のろ過残さに含まれるエストロゲン様物質

単位: ng/L

・全エストロゲン様物質 (T-ES)

溶解性エストロゲン様物質+不溶性エストロゲン様物質

単位: ng/L

・ろ過残さのエストロゲン様物質 (F-ES)

ろ過残さ重量あたりに含まれるエストロゲン様物質

単位: ng/g

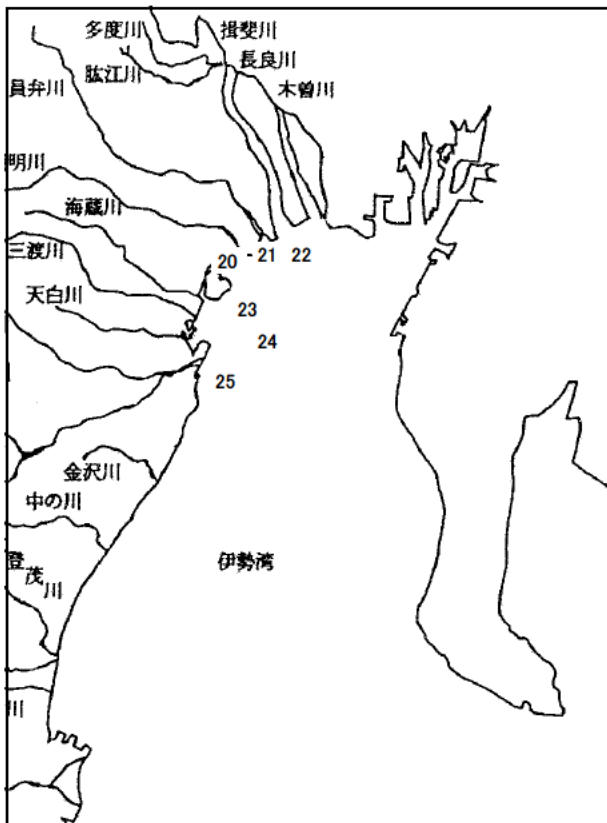


図1 調査地点

20四日市港管理組合定期調査地点 St-20

21以下同様

St-20,21 C海域 St-22,23 B海域

St-24,25 A海域

調査結果及び考察

1) 調査地点及び調査時期によるエストロゲン様物質の変動

エストロゲン様物質の調査結果は図2のとおりである。全エストロゲン様物質で、最大 2.3ng/L、溶解性エストロゲン様物質で 1.6ng/L、不溶性エストロゲン様物質では 1.1ng/L であった。また、溶解性エストロゲン様物質は全地点、全調査回で検出され、不溶性エストロゲン様物質も、11月及び12月の2ヶ月間では1度検出されただけであったが、他の月では全地点で検出された。図2のとおり、全エストロゲン様物質は、地点ごとの値もばらついてはいるが、全体的に月間単位で変動が見られた。図から、9~11月は各地点とも 0.5ng/L 前後であるが、1, 3月は 1.5ng/L

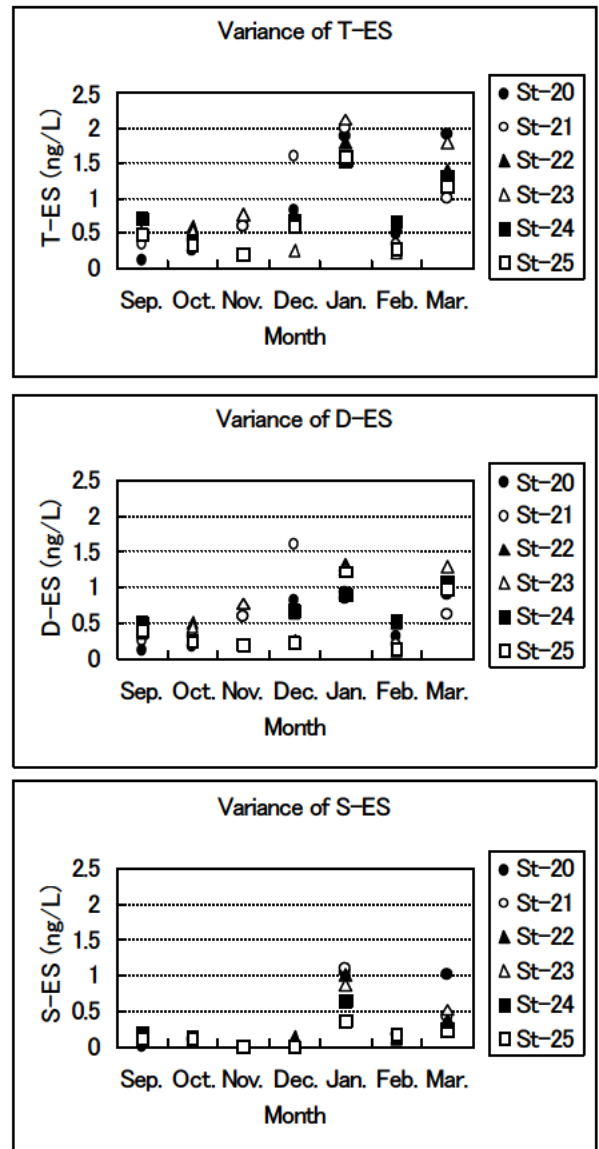


図2 各体エストロゲン様物質の月間変動

を上回る高い値であった。また、ろ過残さのエストロゲン様物質の月間変動は図3のとおりであった。

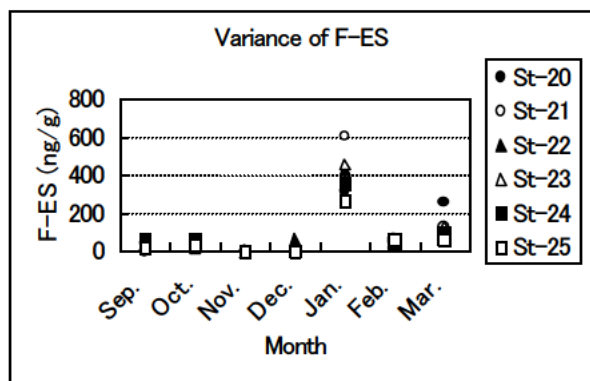


図3 ろ過物に含まれるエストロゲン様物質の月間変動

2) エストロゲン様物質の形態別分布

全エストロゲン様物質と、溶解性エストロゲン様物質及び不溶性エストロゲン様物質の関係は図4のとおりであった。酵母法ではエストロゲン活性を持つ物質を一括して検出、定量することができるが、検出されたエストロゲン様物質の化学種を定性することは困難である。そのため、海域から検出されたエストロゲン様物質がどのような物質に由来するかを特定することはできなかった。これらの物質を特定するためには機器分析の併用が必要となる。

3) 各態エストロゲン様物質の相関性

各態別エストロゲン様物質相互の相関係数は、いずれも0.5を超える有意な相関性を有していた(表1)。中でも、全エストロゲン様物質と溶解性エストロゲン様物質及び不溶性エストロゲン様物質と、ろ過残さのエストロゲン様物質の間には、相関係数が0.9を超える高い相関性があった。全エストロゲン様物質は、他の2項目との相関も高く、0.8を上回っていた。また、不溶性エストロゲン様物質とろ過残さのエストロゲン様物質の相関性も高い値を示した。

表1 各態エストロゲン様物質の相関性

	T-ES	D-ES	S-ES	F-ES
T-ES	1.00			
D-ES	0.90	1.00		
S-ES	0.85	0.54	1.00	
F-ES	0.81	0.53	0.93	1.00

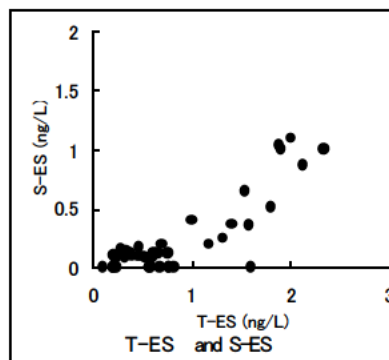
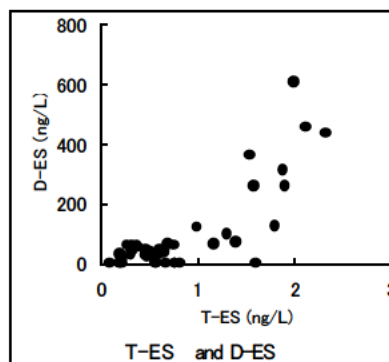
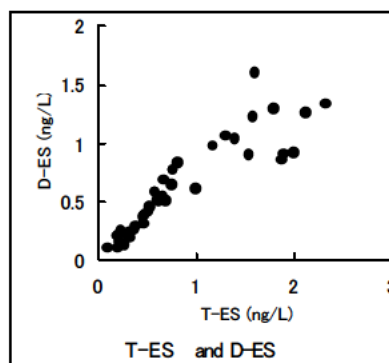


図4 各態エストロゲン様物質の関係

文 献

- 1) Edwin J. Routledge and John P. Sumpter, Estrogenic activity of surfactants and some of their degradation products assessed using a recombinant yeast screen. Environ. Toxic. Chem., 15, No3, 241-248 (1996)
- 2) 岩崎誠二 他, 第35回水環境学会年回講演集, 三重県内の公共用水域のエストロゲン様物質について, 240, 2001
- 3) 岩崎誠二 他, 三重県保健環境研究所年報(環境部門), 三重県内の公共用水域のエストロゲン様物質について, (2), 2001
- 4) H. Takigami, N. Taniguchi, T. Matsuda, M. Yamada,

Y. Shimizu and M. Matsui, The fate and behavior of human estrogens in a night soil treatment process. *Wat. Sci. and Technol.*, 42, 45-51 (2000)

Estrogenic Substances in Sea Area Surround Yokkaichi Port

Seiji IWASAKI, Hideki KOKUBU, Susumu KATO, Masaaki TAKAHASHI,
Tomonari Matsuda and Saburo Matsui

Key Words: Endocrine disrupting chemicals, Estrogenic substances, Yeast screen assay

Estrogenic substances were measured at six stations of sea area in Yokkaichi Port area (Ise Bay) during October 2000 to March 2001. The filtrate and filter residue were separated by filtration, and measured by yeast screen assay respectively. Result showed that estrogenic substances were detected at all stations during the season. The maximal concentration of estrogenic substances was 1.6 ng/L in the filtrate, 1.1 ng/L in the filter residue and 2.3 ng/L in total. The concentration of the estrogenic substances was low in autumn, and higher value was observed in winter. As like the previous results for the riverwater, higher proportion of the soluble estrogenic substances was found.