



河口堰は内分泌攪乱化学物質 (環境ホルモン)の堆積場を つくる

粕谷志郎*・船越吾郎

要 旨

ビスフェノール A (BPA) やノニルフェノールなどのフェノール化合物は、生活廃棄物として水域へ流入する。これらの化合物は、環境ホルモンとして、水生生物に悪影響を与えることが明らかとなっている。長良川河口堰の運用により、堰の上下流部の河床に、これらの化合物が高濃度で堆積していることを証明した。さらに、そのメカニズムが河口堰による水流変化であることを推定した。堆積物は嫌気的条件下にあり、好気性菌による分解から免れていることも明らかとなった。河口堰は環境ホルモンを堆積・保持する機能も果たしている。

はじめに

近年、水系へ排出されるフェノール化合物への注目が集まっている。これらの化合物は女性ホルモン様作用を有し、大西洋サケ¹⁾、アミ²⁾、ユスリカ幼虫³⁾などの水生動物へ有害な影響をあたえることが判明してきたからである。これらの化合物の中でビスフェノール A (BPA) はエポキシ樹脂とポリカーボネートプラスチックの原料となっている。エポキシ樹脂は缶詰の缶の食品に接する表面被覆や保護膜、仕上げに使われている。エポキシ樹脂は、レジンを基にした歯科用充填剤や接着剤にも使われている。BPA の人への曝露の多くはこれらの容器からの汚染によるものであるが、魚や貝類の BPA 濃度はかなり高いレベルに

*連絡先：〒 501-1193 岐阜市柳戸 1-1 岐阜大学地域科学部 mail: kasuyas@gifu-u.ac.jp

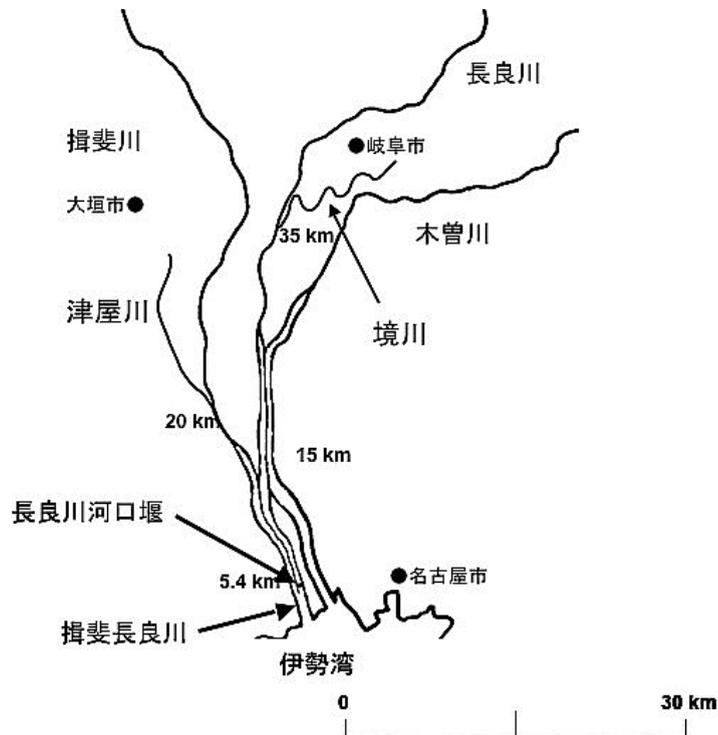


図1. 調査地点地図.

達している。シンガポールで売られているカニとエビから、それぞれ平均で 213 $\mu\text{g}/\text{kg}$ および 118 $\mu\text{g}/\text{kg}$ という高濃度の BPA が検出されている⁴⁾。BPA の排出基準は多くの国で定められていない。それは、環境中や体内で自然に分解されるためと思われる⁵⁾。BPA は好気性菌によって、河川では 2、3 日で分解されるとの報告もある⁶⁾。

ノニルフェノール (NP) とオクチルフェノールを含むアルキルフェノールは、非イオン界面活性剤として使われるアルキルフェノールエトキシレート (APEOs) の分解物である。APEOs は家庭用中性洗剤、殺虫剤、その他の化学物質の材料ともなる。また、APEOs は下水を通して環境中へ排出される。排出された NP は、嫌気性菌や好気性菌によって分解されることが報告されてきたが^{7,8)}、食用の魚にはこれら化学物質が

含まれている。オランダではコイの筋肉の NP が、シンガポールではマーケットで売られているエビの NP が、それぞれ 135 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、197 $\mu\text{g}/\text{kg}$ であったと報告された^{4,9)}。これらの事実は、環境中で必ずしもフェノール化合物が分解されているとは言えないことを示している。

方 法^{10,11)}

揖斐川と長良川の各地点で底質と河水水を採集し、以下の分析にあてた(図1)。底質の採取はエクマン・バージ採泥機に行い、水試料の採取は、シリコンチューブをハンドポンプにつないで、汲み上げにより行った。底層水は河床から 15 cm より、表層水は船上より、それぞれ採取された。中層水は水深の 1/2 の深さから採取された。溶存体と懸濁物を pore size 1.2 μm のガラスフィルター

(GF/C; Whatman, England)の通過部分と残余部分とで分けた。

底質試料(湿重量 25 g)に濃塩酸 3 mlを加え、アセトン 25 mlにて振とう抽出し、さらに超音波洗浄抽出を行った。遠沈した上清を 5%塩化ナトリウム水溶液 500 mlとよく混合し、ジクロロメタン 50 mlを加え、10 分間振とう抽出し、ジクロロメタン相をナス型フラスコに入れた。河川水試料 500 mlを 1 M 塩酸で pH 3 前後に調整し(採水直後に添加)塩化ナトリウムを 15 g(海水は無添加)加えた。これにジクロロメタン 50 mlを加え 10 分間振とう抽出し、ジクロロメタン相をナス型フラスコに入れた。各ジクロロメタン相は、ロータリーエバポレーターによって 1 ml 程度に濃縮後、試験管に移し、内標準溶液としてピレン-d10 とフェナントレン-d10 をそれぞれ 1 µg 添加した。窒素気流拭きつけにより約 0.5 ml に濃縮した各試料に 200 µl の *N,O*-bis (trimethylsilyl) trifluoroacetamide を加えてすばやく栓をし、よく振り混ぜた後、室温で 1 時間放置し、測定物質を誘導体化(TMS 体化)した。誘導体化終了後、ジクロロメタン 800 µl を加えて、GC/MS (GC Mate, 日本電子)により以下に示した条件にて各試料中の以下の物質を定量した。

Gas Chromatography (GC) の条件

カラム: 熔融シリカキャピラリーカラム BPX-5(25 m × 0.22 mm df = 0.25 µm)

カラム温度: 90 (1 min)-10 /min-280 (3 min)

注入口温度: 280

注入法: スプリットレス法、2 µl 注入
キャリアガス: He

Mass Spectrometry (MS) の条件

イオン化法: EI

イオン化電圧: 70 eV

イオン源温度: 250

検出モード: sim mode

定量された化合物: BPA と以下のアルキルフェノール類; 4-t-ブチルフェノール (4tBuP)、4-n-ペンチルフェノール (4nPeP)、4-n-ヘキシルフェノール (4nHexP)、4-n-ヘプチルフェノール (4nHepP)、4-n-オクチルフェノール (4nOP)、4-t-オクチルフェノール (4tOP)、4-n-ノニルフェノール (4nNP)、分岐 4-ノニルフェノール (4NP)。

結果と考察

長良川と揖斐長良川(両河川は 4.5 km あたりで合流する)の底質への BPA の堆積・貯留は顕著である。最も濃度が高いのは 34 km 地点で 50.1 µg/kg、次いで揖斐長良川 2 km 地点の 32.5 µg/kg であった。一方、揖斐川では 1.5-3.1 µg/kg と低く、両河川間で著しい差が見られた。4NP も長良川の底質で高い傾向を示した。4NP が最も高濃度であった地点は 34 km で 64.0 µg/kg であり、次いで 35 km 地点の 58.6 µg/kg であった(表 1)。35 km 地点は長良川の本流ではなく、支流の境川の河床にあたる。この川には岐阜市などの下水処理水が放流されることから、都市排水に起因する汚染と考えられる。4NP に関しては、揖斐川の 20 km 地点でも比較的高濃度であった。この地点は、大垣市などの下水処理水が注ぐ津屋川の合流点下流にあたり、底質はシルトである。一般に、環境ホルモンと言われる物質は、水に不溶か難溶解性であり、細かい粒子などに付着して存在することが多い。粒子径に反比例して総表面積は大きくなるため(図 2)、砂質に比べシルト、粘土ではこれらの吸着量が増す。4tOP と

表 1 . 底質の BPA とアルキルフェノールの濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$).

採集場所 (河口から の距離 km)	BPA	4tBuP	4tOP	4NP	4nPeP	4nHexP	4nHepP	4nOP	4nNP
	4月	4月/7月*	4月/7月	4月/7月	4月/7月	4月/7月	4月/7月	4月/7月	4月/7月
揖斐長良川									
2	32.5	-/-	-/0.3	5.8/6.5	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
長良川									
4	14.2	-/-	-/1.0	16.8/12.2	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
6	25.6	-/-	-/0.3	44.7/25.5	-/-	-/-	-/-	1.3/-	-/-
20	15.2	-/-	-/0.2	21.1/8.1	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
34	50.1	-/-	-/2.2	50.0/64.0	-/-	-/-	-/-	1.9/-	-/-
35	nt	-	3.0	58.6	-	-	-	-	-
37	nt	-	-	-	-	-	-	-	-
揖斐川									
6	1.5	-/-	-/-	4.6/4.3	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
15	3.1	-/-	-/0.4	8.4/11.9	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
20	nt	nt	nt/0.8	nt/29.3	nt	nt	nt	nt	nt

長良川 35 km と 37 km は 2005 年 3 月に、その他は 2005 年 4 月と 6 月に実施した。
 -/- : 検出せず . nt : 検査せず .

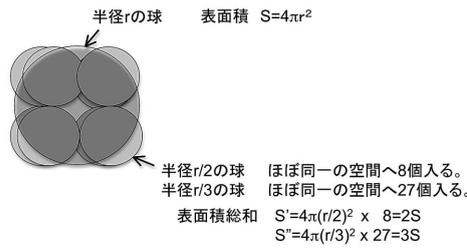
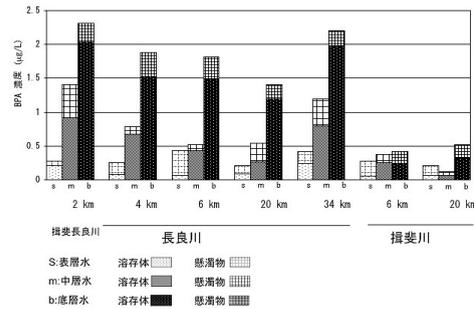


図 2 . 粒子径と総表面積の関係 .



4nOP もごく微量検出されたが、その他のアルキルフェノールは検出できなかった。これらは、使用量・排出量に依存して検出されたものと考えられる。

水試料では、長良川 34 km 地点と 20 km 地点で 0.3-0.44 $\mu\text{g}/\text{l}$ の 4NP を検出したが、これ以外のアルキルフェノールは検出できなかった。一方、BPA はいずれの地点の水試料からも検出できた。特に、長良川底層水では高濃度で検出でき、最も高いのは揖斐長良川 2 km 地点で、2.31 $\mu\text{g}/\text{l}$ 、次いで、34 km 地点の 2.20 $\mu\text{g}/\text{l}$ であった。表層水の濃度は 0.43 $\mu\text{g}/\text{l}$ (長良川 6 km 地点) から 0.21 $\mu\text{g}/\text{l}$ (同 20 km 地点) の範囲にあり、揖斐川の 0.28 $\mu\text{g}/\text{l}$ (6 km 地点) から

0.21 $\mu\text{g}/\text{l}$ (20 km 地点) に比べ、大きな差はなかった(図 3)。長良川底層水と表層水の濃度比率が最も高い時には、650 倍以上に達することがあり、中層水の濃度は両者の中間であった。底層水の BPA は溶存体が多くを占めた(図 3)。4NP では底層水と表層水での著しい濃度差は認められなかった。

これらの事実は、河口堰によって発生する特異な物理的現象によって説明できる。河口堰湛水域と河口堰下流の水中懸濁物の重量は、流れのある揖斐川、揖斐長良川に比較して極端に少ない(図 4)。しかし、単位重量あたりの懸濁物に付着する BPA の量は、河口堰湛水域と堰下流で多い(図 5)。この傾向が最も顕著な

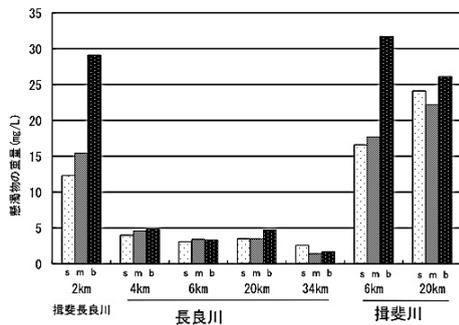


図4．各分画の懸濁物の重量．S:表層水,m:中層水,b:底層水．グラフの色分けは図3と同じ．

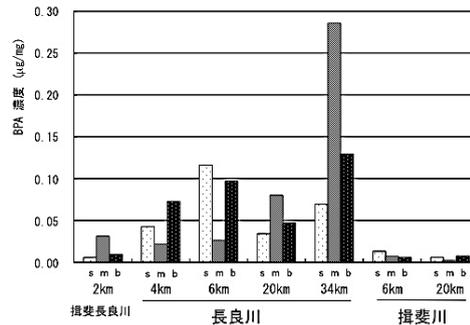


図5．懸濁物のBPA濃度．S:表層水,m:中層水,b:底層水．グラフの色分けは図3と同じ．

のは 34 km 地点であり、底質の BPA と 4NP も最も高濃度で検出できる地点である。堰の開閉で流速が変化するのは 29.5 km 地点までで、墨俣 (39.2 km) では流速の変化は確認できない¹²⁾。従って、この 2 地点の間に湛水域の最上流部があることは間違いない。懸濁物の性状からすると、34 km 地点のさらに上流部に湛水域の上限が出現したと考えられる。流れがある部分では、長良川も揖斐川のように懸濁物を巻き上げているものと考えられる。34 km 地点までの間で、急激に流速が減少したことにより、砂など比重の高い粒子が沈殿しきったものと推察できる。34 km 地点では、残った懸濁物の量は減少するものの、BPA や 4NP が吸着しやすい性状の浮遊物が残る。沈降しやすい懸濁物から沈殿を始め、沈降速度の遅い懸濁物は、さらに下流まで運ばれて沈殿してゆく。これらの懸濁物によって、フェノール化合物が湛水域の河床へ運ばれたと考えられる。堰下流での堆積は、湛水域での沈降を免れた細かい懸濁物や溶解物が塩分と出会うことで沈降し、逆流 (本報告書第 9 章、図 1) によって運ばれたものと推定できる。

堆積したフェノール化合物の中で、BPA はアルキルフェノールと比べると

水に溶けやすいことが明らかになっている (120-300 mg/l)¹³⁾。底層水の BPA 濃度は、その場所の底質の BPA 濃度と高い相関を示しており ($R^2 = 0.78$)、堆積物から溶解したと考えられる。従って、BPA の影響は底質の有機物を餌とする動物のみならず、底層で生息する動物にもおよぶ可能性が高い。

有機物の川底への堆積は、堆積物から酸素を含んだ水を遮断し、嫌気的条件を作り上げる。河口堰運用後、湛水域の広い範囲でメタンの発生が見られた。メタンはメタン生成微生物の活動によって放出されるもので、酸素が無い条件下でなされる。従って、堆積物中の BPA やアルキルフェノールは、好気性菌による分解から免れることになる。このようにして、河口堰は、上流より流下した環境ホルモンを効率よく堆積・保持する施設として機能している。

(本報告のデータは文献¹¹⁾より転載した。)

文献

- 1) Madsen, S. S., A. B. Mathiesen and B. Korsgaard. 1997. Effects of 17-estradiol and 4-nonylphenol on smoltification

-
- and vitellogenesis in Atlantic salmon (*Salmo salar*) Fish Physiol. Biochem., 17: 303-312.
- 2) Yamashita, Y., T. Okumura and H. Yamada. 2001. Intersexuality in *Acanthomysis mitsukurii* (Mysidacea) in Sendai Bay, northeastern Japan. Plankton Biol. Ecol., 48: 128-132.
- 3) Lee, S., and J. Choi. 2007. Effects of bisphenol A and ethynyl estradiol exposure on enzyme activities, growth and development in the fourth instar larvae of *Chironomus riparius* (Diptera, Chironomidae). Ecotoxicol. Environ. Saf., 68: 84-90.
- 4) Basheer, C., L. H. Kee and T. K. Siang. 2004. Endocrine disrupting alkylphenols and bisphenol-A in coastal waters and supermarket seafood from Singapore. Baseline, 48: 1145-1167.
- 5) Knaak, J. B. and L. I. Sullivan. 1966. Metabolism of bisphenol A in the rat. Toxicol. Appl. Pharmacol., 8: 175-184.
- 6) Kang, J. H. and F. Kondo. 2002. Effects of bacterial counts and temperature on the biodegradation of bisphenol A in river water. Chemosphere, 49: 493-498.
- 7) Tanghe, T., G. Devriese and W. Verstraete. 1998. Nonylphenol degradation in lab scale activated sludge units is temperature dependent. Water Res., 32: 2889-2896.
- 8) Chang, B. V., C. H. Yu and S. Y. Yuan. 2004. Degradation of nonylphenol by anaerobic microorganisms from river sediment. Chemosphere, 55: 493-500.
- 9) Vethaak, A. D., J. Lahr, S. M. Schrap, A. C. Belfroid, G. B. J. Rijs, A. Gerritsen, J. de Boer, A. S. Bulder, G. C. M. Grinwis, R. V. Kuiper, J. Legler, T. A. J. Murk, W. Peijnenburg, H. J. M. Verhaar and P. de Voogt. 2005. An integrated assessment of estrogenic contamination and biological effects in the aquatic environment of The Netherlands. Chemosphere, 59: 511-524.
- 10) 環境庁水質保全局水質管理課 . 1998 . ii ビスフェノール A とクロロフェノール類の分析法 . III-8-16 , 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) .
- 11) Funakoshi, G., and S. Kasuya. 2009. Influence of an estuary dam on the dynamics of bisphenol A and alkylphenols. Chemosphere, 75: 491-497.
- 12) 建設省中部地方建設局・水資源開発公団中部支社 . 1995 . 長良川河口堰調査報告書(第4巻), pp. 8-33-8-39. 建設省中部地方建設局・水資源開発公団中部支社 .
- 13) Staples, C. A., P. B. Dorn, G. M. Klecka, S. T. O'Block and L. R. Haariis. 1998. A review of the environmental fate, effects, and exposures of bisphenol A. Chemosphere, 36: 2149-2173.
-