

多摩川河口・下流域の魚介類内分泌攪乱物質
(有機スズ化合物とポリオキシエチレンアルキルフェニールエーテル系中性洗剤)
汚染に関する研究

2000年

大槻 晃

東京水産大学教授

目 次

はじめに	1
第 I 部 多摩川下流・河口域の有機スズ化合物汚染とその起源	2
I-1 緒 言	2
I-2 試料採取・採取地点と実験方法	3
I-2-1 水試料採取地点	3
I-2-2 マコカレイ (<i>Pleuronectes yokohamae</i>) の採取と採取地点	4
I-3 分析方法	4
I-3-1 水試料の分析方法	4
I-4 結果と考察	5
I-4-1 下流・河口域河川水の汚染	5
引用文献	10
第 II 部 多摩川下流・河口域のポリオキシエチレンアルキルフェニールエーテル 非イオン系中性洗剤汚染とその挙動	11
II-1 多摩川中流・下流域の河川水のNPE汚染	11
II-1-1 緒 言	11
II-1-2 APEの生産と使用	11
II-1-3 APEの生分解性	12
II-1-4 APEの毒性	14
II-1-5 APの内分泌攪乱作用	14
II-1-6 環境中のAPE濃度の報告例	16
II-1-7 試料採取と実験方法	17
II-1-7-1 試料採取地点	17
II-1-7-2 主な試薬	18
II-1-7-3 装 置	18
II-1-7-4 分析方法	18
II-1-7-5 生分解実験法	19
II-1-8 結果および考察	19
II-1-8-1 多摩川河川水中のAPE濃度とEO付加モル数の分布	19
II-1-8-2 多摩川河川水を用いたNPEの生分解実験	26
II-2 堆積物中のNPおよびNPE ₁ 抽出法の検討	26
II-2-1 緒 言	26
II-2-2 実 験	29
II-2-2-1 試 薬	29
II-2-2-2 装 置	29
II-2-2-3 試 料	29

II-2-3	検討条件	30
II-2-3-1	抽出溶媒の検討	30
II-2-3-2	超音波による抽出時間の検討	30
II-2-3-3	超音波抽出の回数の検討	30
II-2-3-4	クリーンアップ法の検討	30
II-2-3-5	添加回収実験	30
II-2-4	結果および考察	30
II-2-4-1	GC/MSによるNPおよびNPE ₁ の測定	30
II-2-4-2	抽出溶媒の検討	34
II-2-4-3	超音波による抽出時間の検討	34
II-2-4-4	超音波抽出の回数の検討	35
II-2-4-5	クリーンアップ法の検討	35
II-2-4-6	堆積物中のNPおよびNPE ₁ 抽出法	36
II-3	多摩川河口域におけるNPおよびNPE ₁ の挙動	37
II-3-1	緒言	37
II-3-2	試料採取地点と実験方法	37
II-3-2-1	試料採取地点と採取方法	37
II-3-2-2	分析方法	37
II-3-3	結果および考察	38
II-4	総合考察	47
	引用文献	49
	まとめ	54

はじめに

魚介類の内分泌攪乱現象の特徴は、従来用いられてきた毒性表示の半致死濃度 (LD₅₀) の 1000 分の 1 以下の極低濃度で現れることである。この内分泌攪乱物質は、ポリ塩化ダイオキシン類やポリ塩化ビフェニール類の様に、毒性が高く、自然環境において残留性が高い化学物質とは限らない。今日まで、欧州・米国・日本における巻貝の数種におけるインボセックス発生や米国のアポプカ湖におけるワニの個体数の減少とペニス萎縮現象の報告等、湖沼・河川生態系や沿岸生態系への影響を確認したとの報告は比較的少ない。しかしながら、現在人間が知ることが出来ない潜在的な生態系影響は多数存在する筈で、化学物質による人為汚染が顕在化する以前の比較すべき対照データが存在しない為に、統計的に影響の確認が出来ず公表されるに到っていない場合が多いと推察される。

本研究で取り上げた化合物は、ポリ塩化ビニール樹脂の安定剤や合成化学工業における触媒として使われ、また船底塗料や漁網中に付着生物防汚剤として添加され、現在では一部法律で規制されているトリブチルスズオキシドを含めた有機スズ化合物 (トリブチル体、ジブチル体、モノブチル体) とアルキルフェノール (AP) の先駆物質であるポリオキシエチレンアルキルフェニールエーテル (APE) 系中性洗剤である。両者とも内分泌攪乱物質として、又先駆物質として認められているもので (1, 2)、両物質による多摩川下流・河口域の汚染を 2 つに分けて扱う。

第 I 部 多摩川下流・河口域の有機スズ化合物汚染とその起源

I—1 緒言

東京湾では、ここ数年間、TBTの濃度は4~10 pptで推移しているが、この濃度は依然巻貝のインボセックスを引き起こす濃度(数 ppt)以上である(3)。他方、季節によってはジブチル(DBT)やモノブチルスズ化合物濃度(MBT)がTBT濃度をしばしば越えている(4)。その主な原因は、2つ考えられている。その一つは、今日も有力なTBTの水中での微生物学的及び物理化学的脱ブチル化反応によるというものである。他は、河川を通して陸上からの供給によるというものである。後者に関しては、多量のDBTがポリ塩化ビニール樹脂の安定剤として利用されていること、更にDBT合成の際に、MBTが副産物として混入されている可能性が考えられるが、フィールドでのこの仮説の検証が必要である。三種のフェニールスズ化合物も、過去に利用されたが、今日では東京湾では何れも殆ど検出(1 ppt>)されなくなっている(5)。東京湾におけるブチルスズ化合物の主な供給源は、多くの船舶に利用されてきたTBT含有の船底塗料であると考えられている。それ故に、多摩川下流・河口域の有機スズ汚染を考える場合、潮位の変動による東京湾海水の遡上によるものか、或いは多摩川の流域からの負荷による陸域起源によるものか、汚染状況の把握と共に、明らかにする必要がある。

有機スズ汚染の主な原因化合物の化学構造は、以下の通りである。

TBTO : $(n-C_4H_9)_2 Sn-O-Sn(n-C_4H_9)_2$, (第一種特定化合物)

TBT : $(n-C_4H_9)_3 Sn X$ (第二種特定化合物)

DBT : $(n-C_4H_9)_2 Sn X_2$

MBT : $(n-C_4H_9) Sn X_3$

Xは、主に塩化物、フ化物、水酸化物、及び酢酸塩である。

第一種特定化学物質のTBTOは、法律によって製造及び使用が禁止されているが、他のTBT化合物は第二種特定化合物として許可を得れば使用が可能な状況にある。

TBTOは、海洋環境中で直ちに分解し、TBT塩化物や炭酸塩等として存在すると考えられている。自然界では、微生物や光化学反応によってTBTが逐次脱ブチル化して、DBT、更にMBTに変化するとされている。

本章の研究の目的は、多摩川下流・河口域における有機スズ汚染の実態を把握すると共に、その汚染が河川を通しての陸上起源によるものか、或いは東京

湾内からの海水遡上によるものか、河川水及びムラサキイガイ、更には河口域に回遊するマコガレイ（特に、成熟雄）の血清中の雌固有タンパク質であるピテロジェニンを検出することで、明らかにしようとした。しかしながら、本研究を実施した1998年、1999年両年とも、夏季にける豪雨による河川水の影響が強く、塩分が20 (PSU) 以下に低下したため、羽田空港横ですら分析試料として供せるサイズのムラサキイガイの生息は見られず、採取は不可能であった。また、羽田沖におけるマコガレイの刺網による採取も、当初予定した1～3月の期間では成功せず、予備実験として行った1998年5月のデータのみとなった。

I-2 試料採取・採取地点と実験方法

I-2-1 水試料採取地点

多摩川下流・河口域で、多摩川大橋 (A)、六郷橋 (B)、大師橋 (C)、羽田空港横 (D)、羽田沖 (E) の5地点を選び (図1)、船上からステンレス製バケツで表層水を採取し、各地点ごとに三本のSPCガラス瓶に分取した。

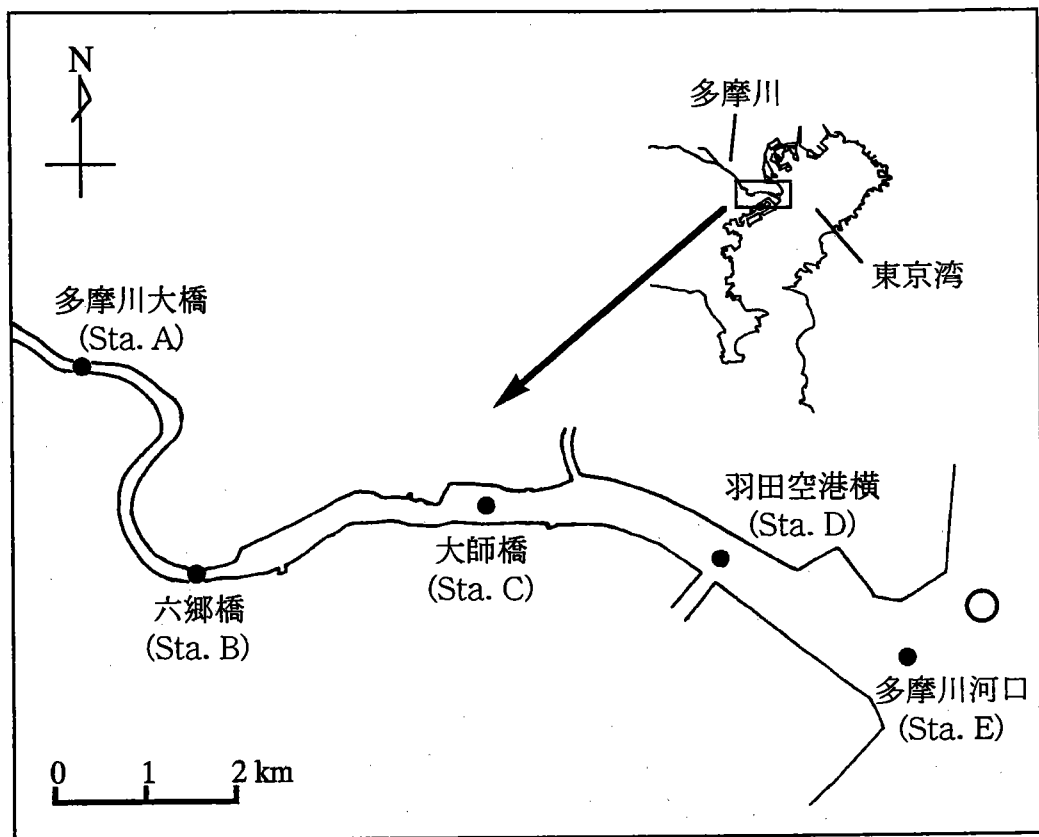


図1 多摩川下流域及び河口域におけるサンプリング地点

分取後直ちに、6 M 塩酸を各 20 ml ずつ添加して、クールボックス中に入れ、研究室に持ち帰った。

I-2-2 マコカレイ (*Pleuronectes yokohamae*) の採取と採取地点

東京湾のマコカレイは、体長と生長にはほぼ直線関係があり、雄は 135mm、雌は 150mm 以上体長があれば、性的には成熟個体となること、更に秋季から冬季にかけて多摩川河口に生息し、夏季には湾中央部から、横浜沖、横須賀沖に移動することが知られている (6)。1998 年 5 月、図 1 の E 地点の北東約 1km (○) で刺網で採取した。雄 20 匹、雌 18 匹が採捕され、体長と体重を測定後、生きた状態から注射器にて採血を行い、血漿は予めタンパク分解酵素阻害剤であるアプロチニンを添加してある滅菌試験管に移し、クールボックス中に保存し、研究室に持ち帰った。一晚静置後、遠心分離により血清を得、分析時まで、-40℃で保存した。

I-3 分析方法

I-3-1 水試料の分析方法

SPC ガラス瓶中の海水試料約 1.2 kg に対し、内標準物質として 40 ng のトリペンチルスズ塩化物及び 50 g の塩化ナトリウムを加え、更に抽出溶媒として 0.25 % トロポロン含有ベンゼン 5 ml 及び酢酸エチル 5 ml を加え、マグネチックスターラーで 10 分間攪拌抽出し、溶媒層をパスツールピペットで集める。同様の抽出操作を再度行い、抽出溶媒層を共栓付き沈澱管に合わせ、僅かな水層を分離するために遠心分離を行う。更に、この共栓付き沈澱管に無水硫酸ナトリウムを加え、抽出溶媒の脱水を行い、別の共栓付き沈澱管にベンゼン-酢酸エチル層を移し、窒素ガス流下で、1 ml まで濃縮する。これにヘキサンを加え、更に 1 ml の n-プロピル臭化マグネシウムを加え、抽出された有機スズ化合物のプロピル誘導体化を室温で、30 分間行う。更に、過剰の n-プロピル臭化マグネシウムを分解するため、10% 塩化アンモニウム溶液を 4 ml 加え、再度遠心分離を行い、抽出溶媒層を分離・採取する。この抽出溶媒層をシリカ・アルミナカラムを通し、更にヘキサン・ベンゼン溶液 7 ml で、カラムを洗浄し、流出溶媒を集める。再度、このクリーンアップされた溶媒層を、窒素ガス流で 0.25 ml まで濃縮する。この濃縮物 1 μ l を、炎光光度検出器付キャピラリー GC にて分離・定量を行った。検出限界は、1 μ l を注入した時、2 ppt (2 ng 塩化物 kg^{-1}) であった。各有機スズ化合物の回収率は、TBT 81%、DBT 108%、MBT 92%、TPT 91%、DPT 112%、MPT 77% であった。

I-3-2 化学発光法を用いるビテロジェニンの酵素免疫定量法 (8)

ビテロジェニン (Vg) は、通常は雌固有の卵黄タンパクの前駆体であり、エストロゲンによって卵生生物の雌の肝臓で合成される。それ故、成熟雄の血清中の Vg を検出することによって、内分泌攪乱物質による早期影響の一つの評価指標となる (7)。Vg は、主成分であるリポビテリンとフォスピチン、及びその他の成分から成る複合体である。本研究では、主成分であるリポビテリンの抗体を、北海道大学水産学部の原彰彦教授より、提供を受けて用いた。

測定法の概要は、以下の通りである。即ち、一次抗体を pH 9.5 の炭酸ナトリウム緩衝溶液に溶解して 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ とし、96 穴マイクロプレートの各ウエルに 50 μl ずつ加え、4 $^{\circ}\text{C}$ で一晚静置した。静置後、上澄液を捨て、トウイーン 20 を 0.05% を含んだ 磷酸緩衝液 200 μl で、各ウエルを 3 回洗浄し、ウシ血清アルブミン 1% を含む 磷酸緩衝液 200 μl ずつ加えて室温で 1 時間静置した。これは、抗体と結合していない各ウエルの器壁部分のブロッキングを意味する。

ウシ血清アルブミン 1% を含む 磷酸緩衝液で 0.01 ~ 1000 ng/ml に希釈した血清試料を各ウエルに 50 μl ずつ加え、室温で 2 時間静置した。更に、上澄液を捨て、上記の洗浄液で洗浄後、ビオチン標識抗体を二次抗体として各ウエルに 25 μl ずつ加え、室温で更に 2 時間静置した。静置後、上澄液を捨て、各ウエルをトウイーン 20 を 0.05% を含んだ 磷酸緩衝液で洗浄し、ストレプトアビジンアルカリフォスファターゼコンジュゲート 50 μl を各ウエルに添加し、室温で 1 時間静置した。更に、上澄液を捨て、同じ洗浄液で洗浄後、発光基質溶液を各ウエルに 50 μl ずつ加え、25 $^{\circ}\text{C}$ で 10 分間静置後、各ウエルの発光強度をマイクロプレートルミノメーターで測定した。

I-4 結果と考察

I-4-1 下流・河口域河川水の汚染

図 2 に、各地点の 3 種の プチルスズ化合物の濃度と塩分を示す。塩分は、東京湾海水がどの程度下流・河口域に遡上し、混合しているかの指標となる。しかし、試料採水時の潮位によっても、大きく変化することが予想される。本研究では、最も上流側である Sta.A (多摩川大橋) は、塩分が 0 ~ 5 (PSU) と東京湾海水の影響は低く、完全混合を仮定しても、その割合は最大 15% 以下と推定された。対照的に、Sta.E (羽田沖) では、東京湾海水が 30 ~ 100% を占めていることになった。

TBT は、東京湾の海水の影響を強く受けている Sta.E (羽田沖) や Sta.D (羽田横) では、潮位に関係なくほぼ毎回定量され 4 ~ 13 ppt であった。しかし、Sta.A

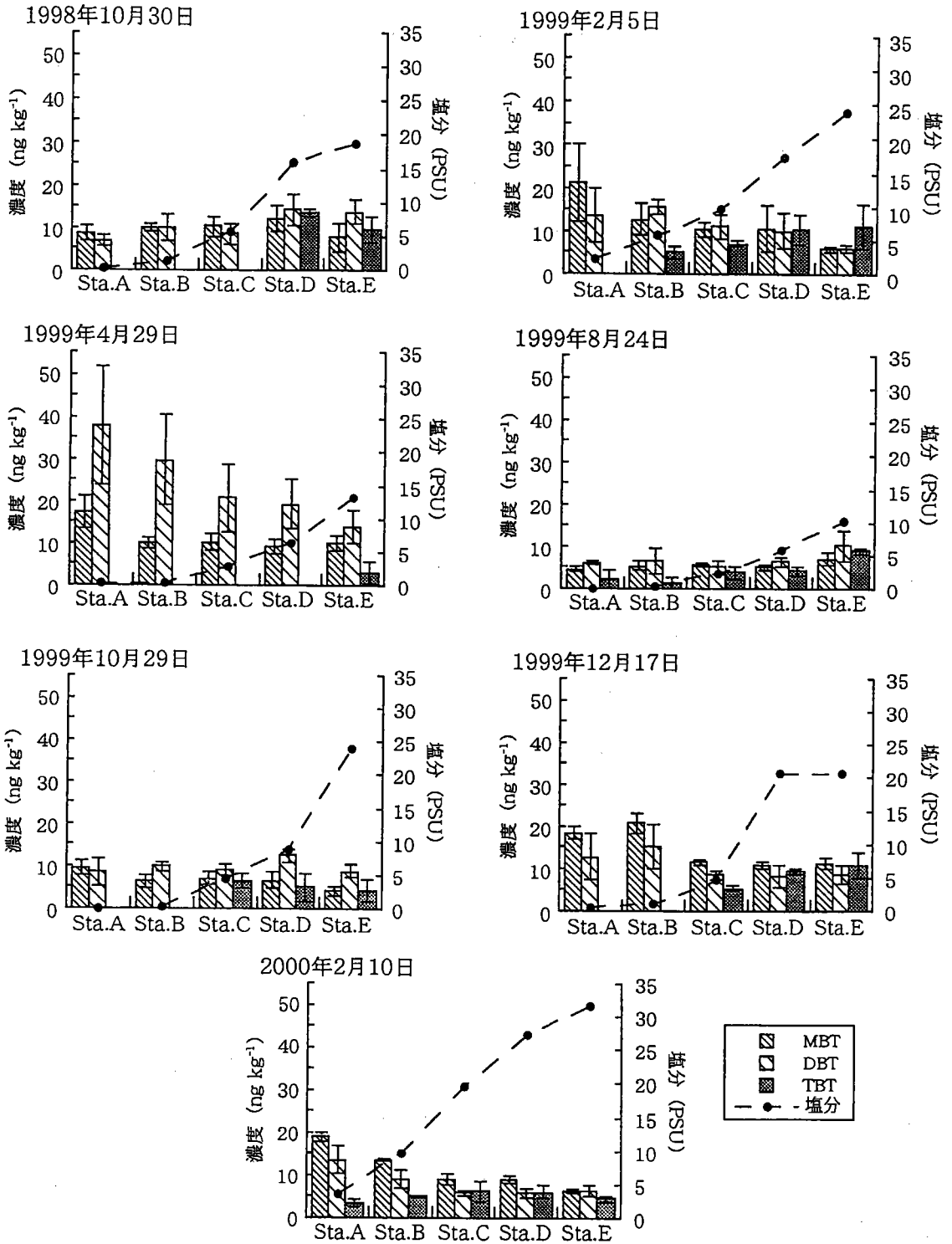


図2 多摩川下流域及び河口域におけるブチルスズ化合物濃度と塩分の変化

では、1999年8月の例外的なデータを除き、満潮時に3ppt観測された以外、各季節検出限界以下であった。これらの測定結果は、TBTは明らかに上流に向けて減少する傾向にあることを示した。このことは、TBTの供給源は東京湾海水であったことを示唆した。他方、DBTやMBTは全ての地点で常に観測され、上流に向けて高い傾向にあった。それらの濃度は、多摩川下流域の河川水は、DBT及びMBTを、少なくとも東京湾海水とほぼ同程度かそれ以上の濃度を含んでいたことを示し、その起源は陸上にあることを示唆した。

図3は、各試料採取地点における三種のブチルスズ化合物の存在割合を示す。これらの結果も、多摩川下流・河口域における有機スズ汚染は、その主体はDBTとMBTであり、その起源は主に陸上にあること、そして満潮時にTBT汚染が見られるが、その供給源は東京湾海水にあると結論された。

図4は、各地点における塩分と各ブチルスズ化合物濃度との相関関係を示す。DBT及びMBTと塩分との間には、負の関係が見られるが、有意な関係ではなかった。他方、TBTと塩分との間には、統計的に有意($P < 0.01$)な直線的な関係があることが明らかになった。この結果は、TBTの供給源は東京湾にあるとの結論を支持するものであった。

DBTとMBTの陸上起源仮説は、Quevauvillerら(9)の実験結果からも支持される。即ち、ポリ塩化ビニール樹脂の安定剤として添加されているDBTは、かなりの割合で不純物としてMBTを含んでおり、それらがある種のポリ塩化ビニール樹脂製品の表面から徐々に溶出して、河川に流入していると考えべきである。但し、この両化合物の生物毒性は、TBTに比べてかなり低いとされている。

有機スズ化合物を含む内分泌攪乱物質による水生生物への早期影響を把握するため、多摩川河口域に生息するムラサキイガイ及び初冬から春季に回遊してくるマコカレイの採取を2年間で6回にわたり試みたが、両年とも夏季に降雨量が多く、分析に供するサイズのムラサキイガイは生息せず、又マコカレイでは、測定に必要な成熟した雄個体が採取されず、1998年5月に行ったマコカレイの予備実験の結果のみとなった。

抗原抗体反応を利用した酵素免疫定量法による20個体の成熟雄マコカレイ血清中のVg濃度は、25~220 ng/mlであり、この値は人間活動の影響が比較的少ないとされる北海道知内沖の濃度(1.6~50 ng/ml)(8)と比較して、やや高く、最高値は、最大4倍以上であった。

しかしながら、本研究では試料の採取回数が1回と限られているため、更に多くの試料採取が必要である。又この高めの濃度が、どのような汚染物質によっているのか、今後の研究が必要である。

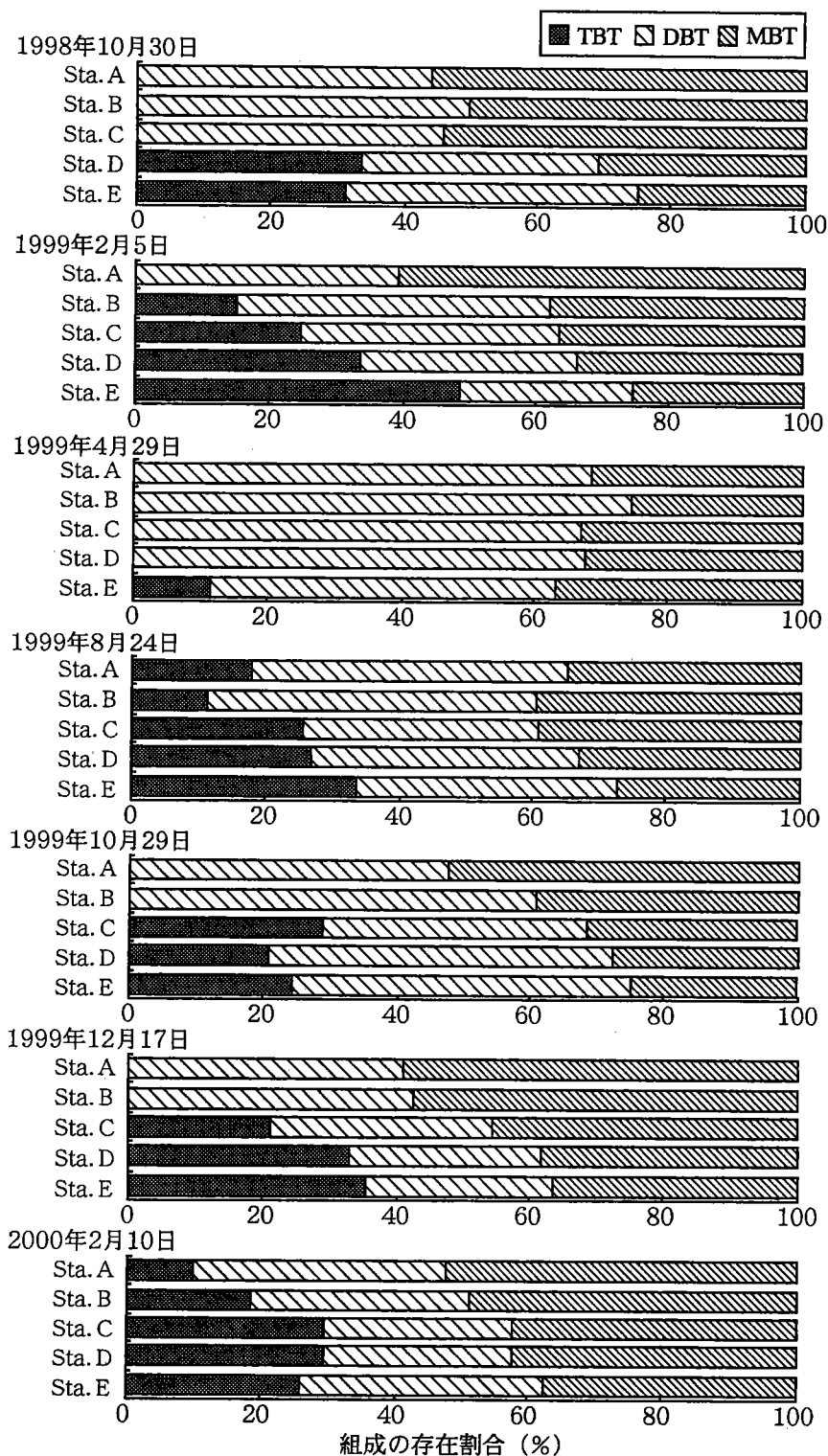


図3 多摩川下流域及び河口域における3種のブチルスズ化合物の存在割合の変化

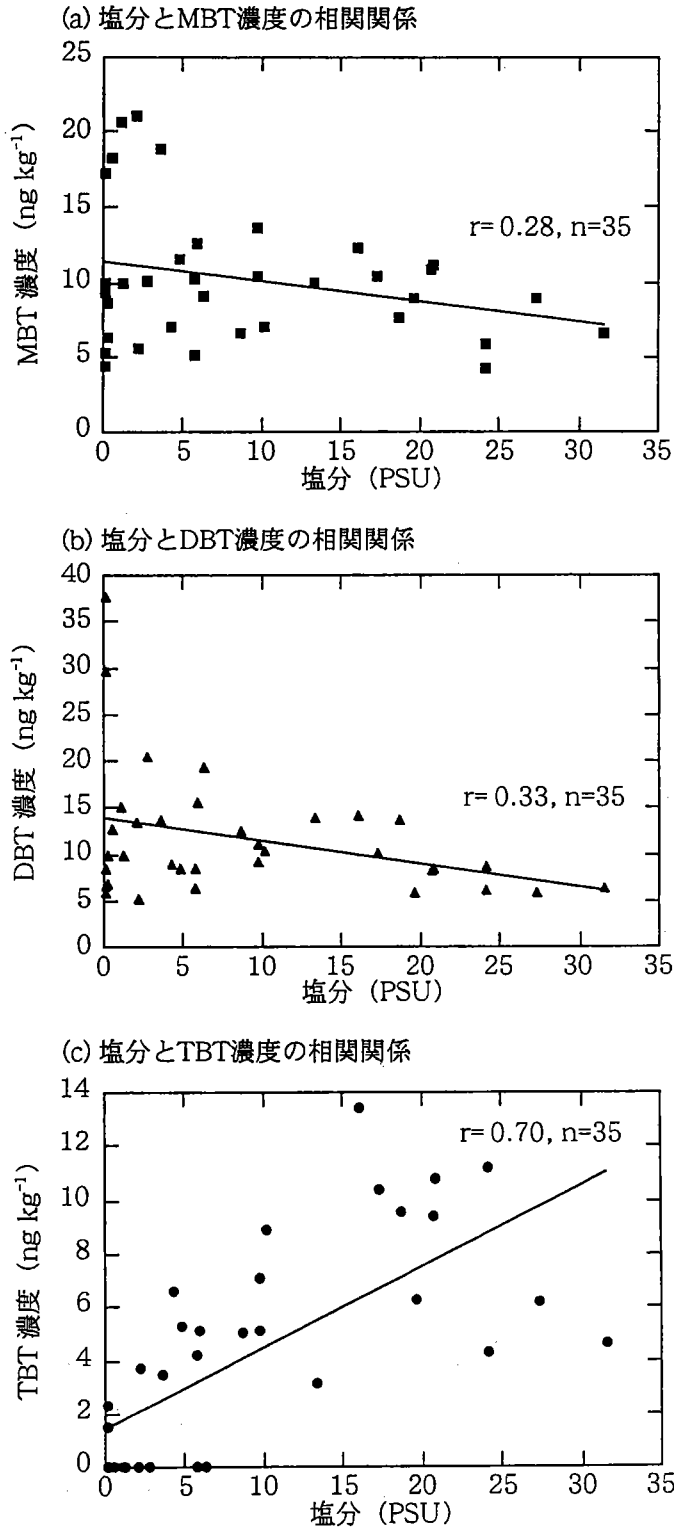


図4 多摩川河口域及び下流域における塩分とブチルスズ化合物濃度の相関関係

引用文献

- (1) Matthiessen, P. & P. E. Gibbs (1998): Critical appraisal of the evidence for tributyltin-mediated endocrine disruption in mollusks. *Environ. Toxicol. Chem.*, 17, 37-48.
- (2) Korach, S. K., V. L. Davis, S. W. Curtis, & W. P. Bocchinfuso, Xenoestrogens and Estrogen Receptor Action, 181-211. In *Endocrine Toxicology*, 2 nd Ed., Eds., J. A. Thomas & H. D. Colby, 1997, Taylor & Francis.
- (3) Gibbs, P. E., & G. W. Brayon (1986): Reproductive failure in populations of the dog-whelk, *Nucella lapillus*, caused by imposex induced by tributyltin from antifouling paints. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.*, 66, 767-777.
- (4) Hashimoto S., M. Watanabe, Y. Noda, T. Hayashi, Y. Kurita, Y. Takasu & A. Otsuki (1998): Concentration and distribution of butyltin compounds in a heavy tanker route in the Strait of Malacca and in Tokyo Bay. *Mar. Environ. Res.*, 45, 169-177.
- (5) Shiraishi, H. & Y. Soma (1992): Triphenyltin compounds in mussels in Tokyo Bay after restriction of use in Japan. *Chemosphere*, 24, 1103-1109.
- (6) Park, J. & M. Shimizu (1990): Age and growth of the marbled sole *Limanda yokohamae* in Tokyo Bay, Japan. *Bull. Korean Fish. Technol. Soc.*, 26, 309-316.
- (7) Harries, J. , D. A. Sheahan, S. Jobling, P. Matthiessen, P. Neall, E. J. Routledge,
- (8) R. Rycroft, J. P. Sumpter, and T. Tylor(1996): A survey of estrogenic activity in United Kingdom inland waters. *Environ. Toxicol. Chem.*, 11, 1993-2002.
- (9) Bessho, H., S. Iwakami, N. Hiramatsu, A. Hara & S. Hashimoto (2000): Development of a sensitive luminometric immunoassay for determining baseline seasonal changes in serum vitellogenin levels in male flounder (*Pleuronectes yokohamae*). *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, in press.
- (10) Quevauviller, P., A. Bruchet, & O. F. X. Donald(1991): Leaching of organotin compounds from polyvinyl chloride (PVC) material. *Appl. Organomet. Chem.*, 5, 125-129.

第Ⅱ部 多摩川下流・河口域のポリオキシエチレンアルキル フェニールエーテル非イオン系中性洗剤汚染とその挙動

Ⅱ-1 多摩川中流・下流域の河川水の NPE 汚染

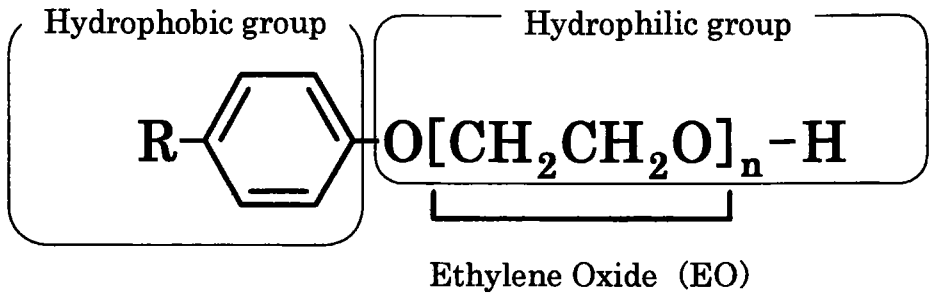
Ⅱ-1-1 緒言

ポリオキシエチレンアルキルフェニールエーテル (APE) は非イオン界面活性剤の 1 つである。界面活性剤は合成洗剤の主成分であり、従来、洗剤汚染問題として取り上げられてきたのは陰イオン界面活性剤、特に直鎖アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム (以下 LAS) であったが、非イオン界面活性剤は工業的利用条件下でも優れた性質を示すため、生産量が未だ伸びを示している。水環境中に大量に放出されつつある非イオン界面活性剤、中でも APE は、その毒性の高さからも注目を集めている。APE は、非イオン界面活性剤の 1 つであるポリオキシエチレンアルキルエーテル (以下 AE) よりも生産・使用量は少ないが、生分解性の悪さ、毒性の高さから、環境中での挙動や生態系への影響に関する研究が必要とされているが、未だ法的規制の対象となっていない。

Ⅱ-1-2 APE の生産と使用

日本における 1997 年の非イオン界面活性剤の総生産量は約 45 万トンであり、日常的に多量の非イオン界面活性剤が使用され、排出されている (1)。その内、APE の生産量は約 5 万トンであり、非イオン界面活性剤総生産量の約 10% を占めている。また、APE はヨーロッパで年間約 9 万トン、アメリカで約 21 万トン、世界的には約 50 万トンが生産されている (1、2)。

APE は、図 1 に示すように、様々な重合度を持つエチレンオキサイド (以下 EO) 鎖からなる親水基と、分枝型のアルキル基がフェノールのパラ位に結合した疎水基とから構成されている。アルキル基は炭素数が 8、9、10 のものがあり、それぞれポリオキシエチレンオクチルフェニールエーテル (以下 OPE) ポリオキシエチレンノニルフェニールエーテル (以下 NPE)、ポリオキシエチレンデシルフェニールエーテル (以下 DPE) と呼称されている。APE の中では、NPE の生産量が約 80% と最も多く、残りの大部分は炭素数 8 の OPE である。APE は、主に工業用の洗浄剤、分散剤として使用されており、家庭用の洗浄剤としてはほとんど使用されていない。また、1980 年代に APE が水環境中で分解されて APE よりも毒性の高いアルキルフェノール (以下 AP) が生成することが報告され、欧州の数カ国で家庭用洗浄剤としての使用が禁止され、ス



R : C₈H₁₇, octyl (OPE)

C₉H₁₉, nonyl (NPE)

C₁₀H₂₁, decyl (DPE)

n : 4-20

図1 ポリオキシエチレンアルキルフェニールエーテルの構造式

イスでは 2000 年までに工業用洗浄剤としての使用も規制されると報じられている (2)。

II-1-3 APE の生分解性

APE は水環境中で微生物により分解されて、APE よりも毒性の高い AP が生成することが知られている (3, 4)。APE はアルキル基が分枝型であるために微生物分解を受けにくく、生分解は末端 EO 基から進行し、EO 鎖が短くなる。好氣的な分解では最終的にアルキルフェノールモノエトキシレート (APE₁) やアルキルフェノールジエトキシレート (APE₂) を経てアキルフェノールとなるが、EO 鎖が短くなるほど、即ち、分解が進むほど APE の毒性は高くなる。そして、APE₁、あるいは APE₂ が嫌気分解を受けると毒性の高い AP が生成すると考えられている (図 2)。

APE の生分解に関する研究は、下水処理過程における AP の生成に関するものが殆どである (6-12)。1984 年の Science 誌上で報告された論文では、活性汚泥と消化汚泥中のノニルフェノール (以下 NP) 濃度の比較により、活性汚泥による好気分解ではノニルフェノールモノエトキシレート (以下 NPE₁)、ノニルフェノールジエトキシレート (以下 NPE₂) が生成し、その後の消化槽での嫌気分解で NP が生成することが明らかにされている (13)。

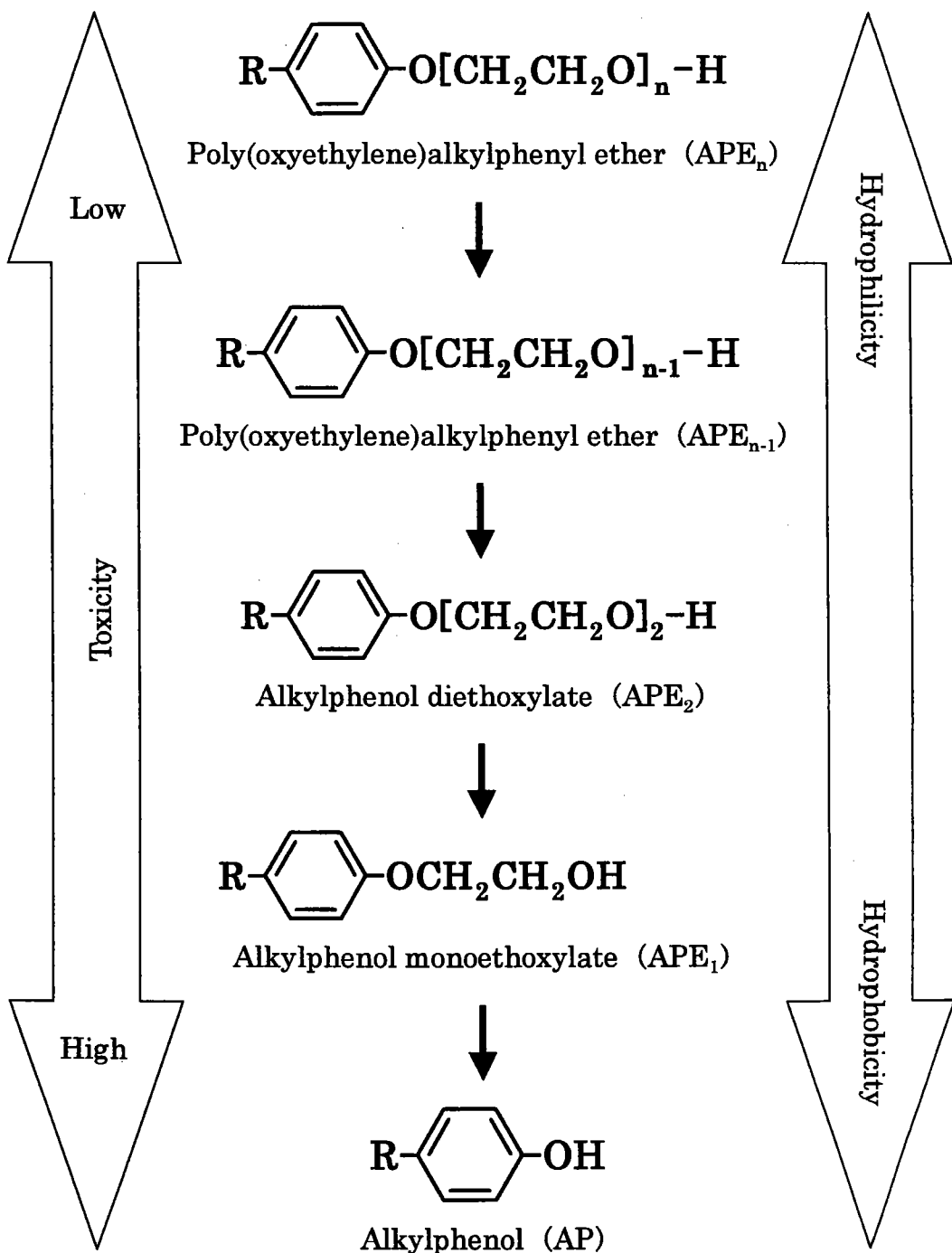


図2 水圏環境中におけるAPEの生分解経路

同様の過程は、日本の下水処理場でも確認されており、消化汚泥中の NP 濃度は、活性汚泥に比べ約 6 倍となっている (14, 15)。その他、世界各国で報告されている下水汚泥中の NP 濃度も、活性汚泥に比べ消化汚泥中の濃度が一桁高くなっており、嫌気分解による NP の生成は明らかである。また、APE から AP に至る過程で、APE のカルボン酸誘導体や、ハロゲン誘導体の生成も報告されている (図 3) (15-18)。

II-1-4 APE の毒性

界面活性剤の水生生物に対する毒性は、主として魚類の鰓等の呼吸組織への吸着による機能の乱れと鰓組織の障害による呼吸困難によるものとされている。したがって、水生生物に対する毒性は、界面活性剤の浸透、湿潤力などと密接に関係しており、大気中の酸素を利用する哺乳類に対する経口毒性とは異なると考えられている (1)。

APE の急性毒性試験は、NP と NPE₉ について、魚類や無脊椎動物を用いて行われたものが多く報告されている (30)。NPE の毒性は EO 鎖長が短い程高いため、毒性試験も NP に関するものが最も多い。淡水産魚類であるファットヘッドミノウを用いた試験では、NPE₉ の 96h-LC₅₀ が 6,600 μ g/L、NP のそれが 128 μ g/L と報告されている。工業用として利用されている NPE₉ の毒性と比較して、その分解生成物である NP の毒性は約 50 倍にも及んでいることになる。また、淡水産のミジンコを用いた試験でも NPE₉ の 48h-LC₅₀ が 14,000 μ g/L、NP のそれが 190 μ g/L と報告されており、ファットヘッドミノウと同様に、NP が NPE₉ の約 70 倍という高い毒性を示している。NP の毒性は、その他の魚類、無脊椎動物でも報告されており、その範囲は淡水産魚類の 96h-LC₅₀ が 209-221 μ g/L、海水産魚類の 96h-LC₅₀ が 70-310 μ g/L、淡水産無脊椎動物の 96h-LC₅₀ が 21-774 μ g/L、海水産無脊椎動物の 96h-LC₅₀ が 40-700 μ g/L とそれほど大きな差はない。

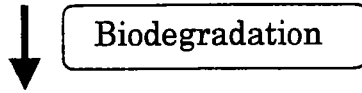
これらの濃度は、実際に環境水中で観測されている濃度に比べて 1~2 桁高い値である。したがって、環境水中に存在する NPE 濃度レベルでは、水生生物に対して強い毒性はないと言える。しかし、最近では AP や幾つかの APE 分解生成物が、このような低い濃度レベルでも、外因性内分泌攪乱物質として作用する可能性が指摘されている。

II-1-5 AP の内分泌攪乱作用

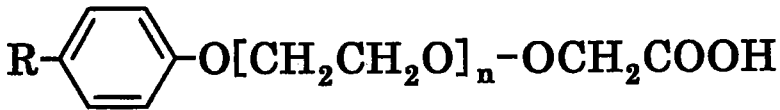
AP の内分泌攪乱作用については、1990 年代に入ってから大きく取り上げられるようになった (31-41)。Soto 等は、人の乳がん細胞 MCF-7 の培養系



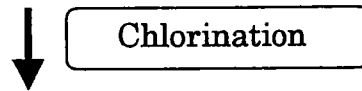
Poly(oxyethylene)alkylphenyl ether (APE_n)



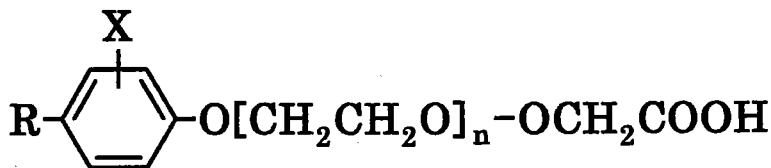
Poly(oxyethylene)alkylphenyl ether
n=1 : APE₁, n=2 : APE₂



Alkylphenoxy carboxylic acid
n=0 : APEC₁, n=1 : APEC₂



Halogenated poly(oxyethylene)alkylphenyl ether
X=Cl, n=1 : ClAPE₁, n=2 : ClAPE₂
X=Br, n=1 : BrAPE₁, n=2 : BrAPE₂



Halogenated Alkylphenoxy carboxylic acid
X=Cl, n=0 : ClAPEC₁, n=1 : ClAPEC₂
X=Br, n=0 : BrAPEC₁, n=1 : BrAPEC₂

図3 下水処理施設におけるAPEの分解生成物

へ NP を添加すると、女性ホルモンを添加した時と同様、がん細胞の増殖が引き起こされることを明らかにした。また、ポリスチレン製の遠沈管から溶出する物質が MCF-7 細胞の増殖異常を引き起こし、細胞培養実験を妨害したことから、容器に添加剤として使われていた NP の溶出を突き止めた (31)。

イギリスの河川において魚の雌雄同体増加の原因究明調査の一環として行われた研究では、NP が外因性内分泌攪乱作用の一因として働いている可能性が示唆された。網籠にニジマスを入れ下水処理水の流入する河川水中に移植したところ、調査した 5 つの河川のうち 4 つで下水処理水の流入地点近傍で、雄の魚で、雌固有の卵黄タンパクであるピテロジェニンの血中濃度の増加が認められ、下水処理水が内分泌攪乱作用を示すことが明らかにされた。特に、著しいピテロジェニン濃度の増加が認められた河川へ流入する下水処理水は羊毛工場からの排水を含んでおり、高濃度 (330 $\mu\text{g}/\text{L}$) の NP が検出された (32)。さらに、室内でニジマスの飼育水に NP を添加すると、同様に、ニジマスのピテロジェニンの濃度が上昇した。これらの研究から、Jobling 等はニジマスへの生殖異常を起こさせる NP の閾値は約 10 $\mu\text{g}/\text{L}$ と結論づけている (33)。

この濃度は環境水中で観察され得る濃度であり、今後より広範囲のモニタリングが必要になっていると言える。また、最近では NP と共に NPE の分解産物である NPE₁、NPE₂ およびカルボン酸誘導体 (NPEC) も内分泌攪乱作用を示すことが明らかにされてきている (33-36)。

II-1-6 環境中の APE 濃度の報告例

環境中の APE 濃度の報告例は非常に少なく、現在までにヨーロッパ (スイス、クロアチア、イタリア)、アメリカ、カナダのみである。実際に測定されているのは APE の中でも NPE のみであり、その濃度範囲は <0.1-257 $\mu\text{g}/\text{L}$ である (19-23)。

しかし、NPE の EO 鎖長に関する報告例はなく、環境中における NPE の濃度、NPE の持つ分解物生成の潜在性についての指摘はされていない。また、APE 分解物である AP および APE₁ の濃度に関しては、ヨーロッパ、アメリカ、日本等で環境水、堆積物について最近報告例が増加してきている。実際には AP および APE₁ を測定したものが殆どで、その濃度範囲は環境水中では、NP が N.D.-180 $\mu\text{g}/\text{L}$ 、NPE₁ が <0.06-69 $\mu\text{g}/\text{L}$ 、堆積物中では NP が <0.0029-41.1 $\mu\text{g}/\text{g-dry}$ 、NPE₁ が <0.0023-8.85 $\mu\text{g}/\text{g-dry}$ である (12, 14, 19-22, 24-29)。

Ⅱ—1-7 試料採取と実験方法

Ⅱ—1-7-1 試料採取地点

試料採取地点を図4に示す。多摩川では1997年12月26日、1998年4月21日、8月18日に行った。なお、Sta.3は多摩川に合流前の野川河川水の採取地点である。また、添加回収実験には1998年1月28日に多摩川のSta.4で採取した試料水を用いた。

試料は、河川中央にてステンレス製の採水バケツにより行った ($n=3$)。試料水は1LのSPCガラス瓶に分取し、微生物による分解を抑えるために、その場で9.5mol/L塩酸を1.5mL加え、pHを2程度に調整した。試料水は研究室に持ち帰り、ガラスフィルター(Whatman GF/C)によりろ過した後、10℃の暗所で保存し、48時間以内に分析に供した。

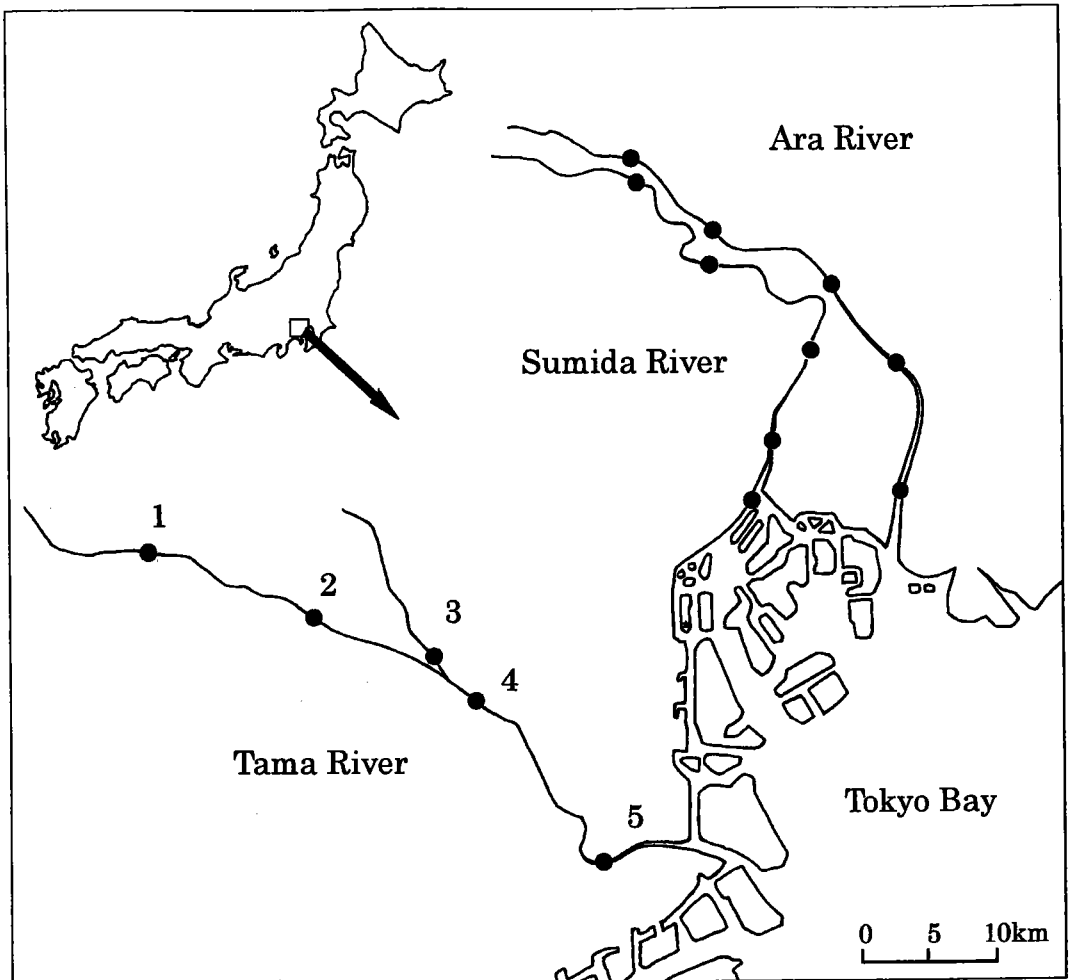


図4 多摩川中・下流域における採水地点

II-1-7-2 主な試薬

NPE 標準試薬 ポリエチレングリコールモノ-p-ノニルフェニールエーテル
(エチレンオキサイド数： $n=10$) 東京化成工業

OPE 標準試薬 ポリエチレングリコールモノ-p-オクチルフェニールエーテル
(エチレンオキサイド数： $n=10$) 東京化成工業

その他、試薬・有機溶媒は残留農薬試験用を用いた。更に、XAD-16 樹脂（アンバーライト社製）及び陰イオン交換樹脂 1×8-Cl 型（ダウエックス社製）を用いた。

II-1-7-3 装置

HPLC は、送液ポンプは日立製 L-6200、UV 検出器は島津 SPD-6A（検出：280nm）、カラムはウオーターズ μ -Bondasphere C-18（3.9mm ID×150mm）を用いた。エレクトロスプレーイオン源付質量分析計（ESI/MS）は、TSQ-700（Finnigan MAT）、濃縮試料送液シリンジポンプは、Harvard Apparatus Model 22 を用いた。

II-1-7-4 分析方法

分析法は、山岸ら（42）の抽出方法と、Otsuki & Shiraishi(43)の分析法を基に、以下の様に改良して用いた。

ろ過した試料水を、XAD-16 樹脂を充填したカラム（10cm×10mm ID）に流速 10mL/min で通液し、樹脂に界面活性剤を吸着させた。次に Milli-Q 水 100mL で洗浄した後、カラムに吸着させた界面活性剤を 150mL のメタノールで溶出させた。溶出した溶媒はロータリーエバポレーターで乾固させ、エタノール：水 50%：50%（v/v）に溶解した後、陰イオン交換樹脂カラム（5cm×8mm ID）にてクリーンアップを行い、陰イオン性物質を除去した。クリーンアップした濃縮液は再び乾固させ、1mL のメタノールに溶解した。以上の前処理により河川水から非イオン界面活性剤を分離・濃縮した後、UV 検出器付高速液体クロマトグラフ（HPLC）を用い、メタノール：水 50%：50%（v/v）からメタノール 100%への直線グラジエントによって APE をアルキル基鎖長により分離し、APE を定量・分取した。分取した APE は 10mmol/L 酢酸アンモニウム溶液と 10mmol/L 塩化カリウム溶液を加えた後、ESI/MS により EO 付加モル数の組成比を調べた。

添加回収実験は 1L の河川水に OPE・NPE 混合標準溶液 100mg/L を 1mL 添加し、 $n=3$ で、同様に行った。

II-1-7-5 生分解実験法

ろ過した河川水は 1L のガラス瓶 12 個に移し、NPE 標準溶液 1000mg/L を 1mL と、未ろ過の河川水を 1mL 加えた。河川水は光分解を防ぐためにアルミホイルで遮光し、好気条件にするためにマグネチックスターラーで攪拌し、恒温室で $12 \pm 2^\circ\text{C}$ 、 $20 \pm 2^\circ\text{C}$ にて、それぞれ $n=3$ で分解実験を行った。また、コントロールとして Milli-Q 水を用いた実験を、未ろ過水添加を除く全ての条件を同一にして $n=3$ で行った。試料水は、12、24、48、72、96、192 時間後に 25mL ずつ採水し、前述の分析方法により NPE の EO 付加モル数の組成比を測定した。ただし、クリーンアップ操作は行わなかった。

II-1-8 結果および考察

II-1-8-1 多摩川河川水中の APE 濃度と EO 付加モル数の分布

NPE 標準試薬を ESI/MS により測定したマススペクトルを図 5 に示した。

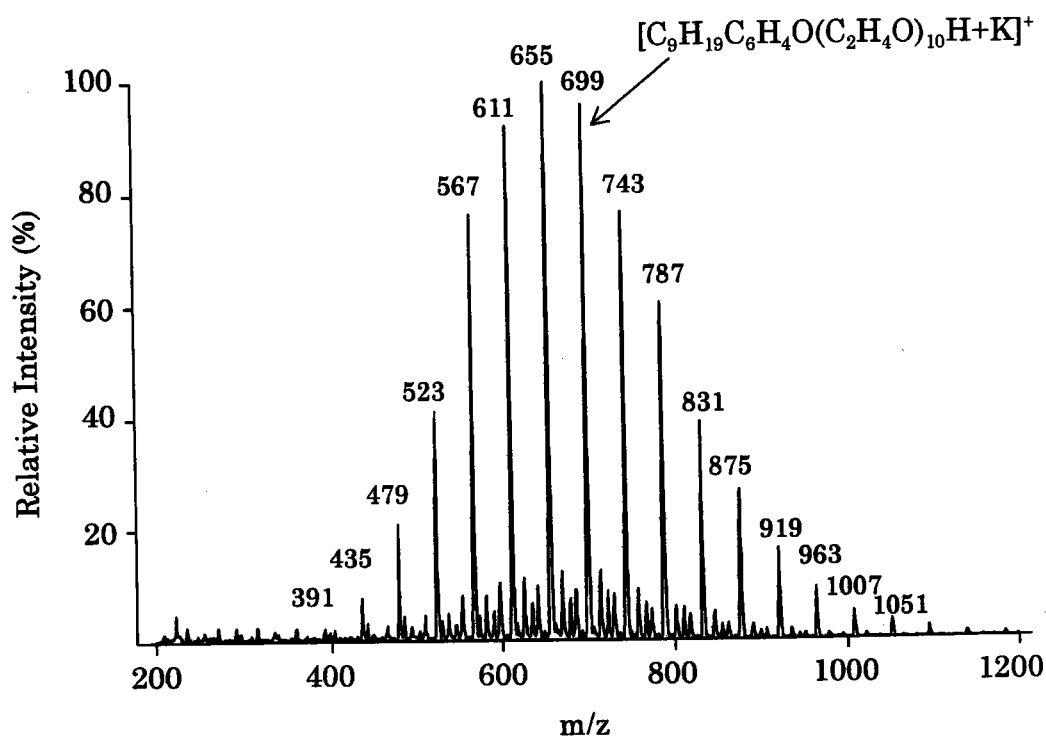


図5 標準物質として用いたNPEのESIマススペクトル

標準試薬は EO 付加モル数 9 の最大ピークを中心とした正規分布型のマスパターンを示していた。OPE 標準試薬を ESI/MS で測定した場合も同様のパタ

ーンが得られた。また、NPE のマススペクトルには NPE の前後に m/z 14 ずつ異なるピークが存在した。これは NPE の製造過程に混入した OPE および DPE であり、この試薬の純度が低いことを示唆した。合成洗剤の原料として用いられている APE は、本研究で用いた標準試薬とほぼ同じものであり、環境中に放出されている APE も同様なマスパターンを示す筈であった。

逆相 HPLC を用いて APE のアルキル鎖による分離を行ったところ、図 6 のように OPE と NPE を分離することができた。メタノール:水 50%:50%(v/v) の段階で溶出している大きなピークは C-18 カラムに吸着しない芳香族化合物であり、この方法を用いることによって容易に APE を単離・精製することが出来た。なお、HPLC による OPE および NPE の検出限界は、 $S/N=3$ で共に $1\mu\text{mol/L}$ であった。

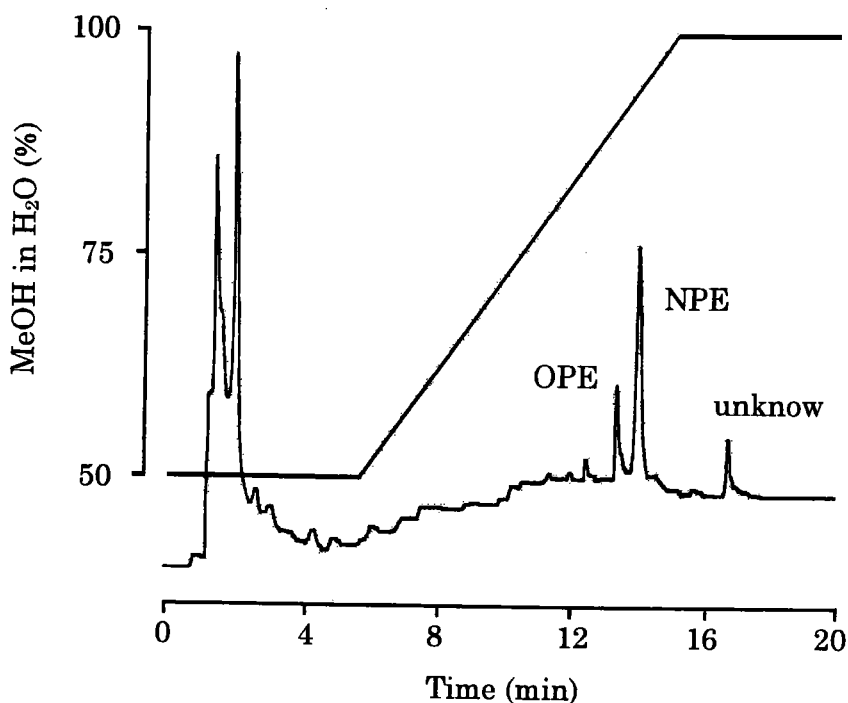


図 6 HPLC逆相吸着グラジエント溶出によるOPEとNPEの分離例

HPLC より分取した NPE を ESI/MS により測定したマススペクトルを図 7 に示した。標準試薬のマススペクトルよりも、HPLC より分取した NPE のマススペクトルの方が夾雑ピークが少ないことがわかる。このことから、逆相 HPLC による分離が APE の単離・精製に有効であることがわかった。しかし、

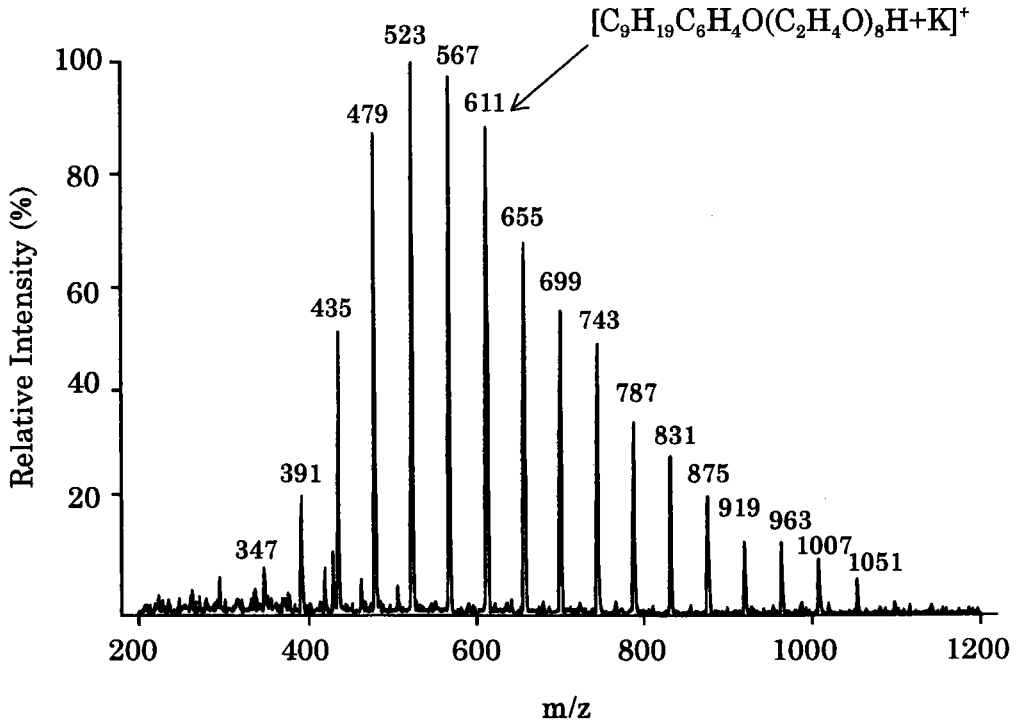


図7 実試料から分取されたNPE分画のESIマススペクトル例

ESI/MS を用いた APE の測定では、AP および APE₁ を測定することができないという欠点があった。APE の環境中における動態を知る上で AP および APE₁ の測定は不可欠であり、ガスクロマトグラフィー/質量分析計（以下 GC/MS）等を用いた測定が必要であると考えられた。

APE は EO 付加モル数によって分子量が異なるため、重量濃度を用いて濃度を表すのは適切でない。したがって、本研究における濃度の表記は、すべてモル濃度によって行うこととし、HPLC のピーク面積とモル濃度による検量線を作成した。10、20、50、100 μ g/mL に調整した OPE・NPE 混合標準溶液を、それぞれ HPLC により測定し、次にこの混合標準溶液を調整する際に用いた OPE と NPE の標品を ESI/MS により測定し、EO 付加モル数ごとの存在割合を求めた。ESI/MS により求めた EO 付加モル数ごとの存在割合から、各標準溶液中における EO 付加モル数ごとのモル濃度を求め、それぞれの EO 付加モル数の OPE・NPE について検量線を作成した。検量線は OPE、NPE について、それぞれ 15 本ずつ作成することができ、全ての検量線について十分な直線性が得られた。また、これらの検量線は切片が異なるものの、OPE

と NPE で全て勾配が等しかった。したがって、検量線は OPE については $y=1259x-150.6$ (図 8A)、NPE については $y=1097x-443.3$ (図 8B) を用いることとした。

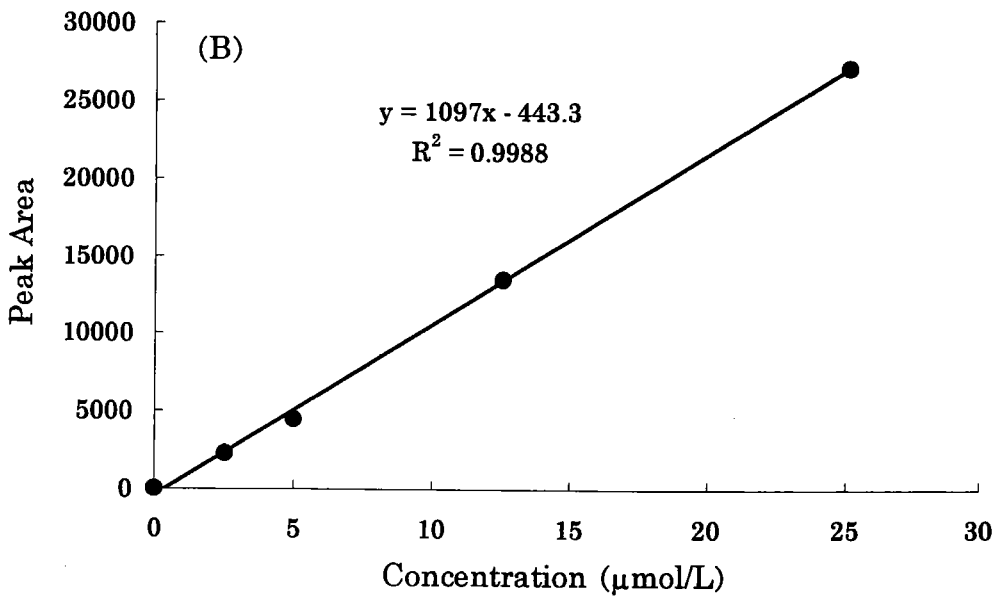
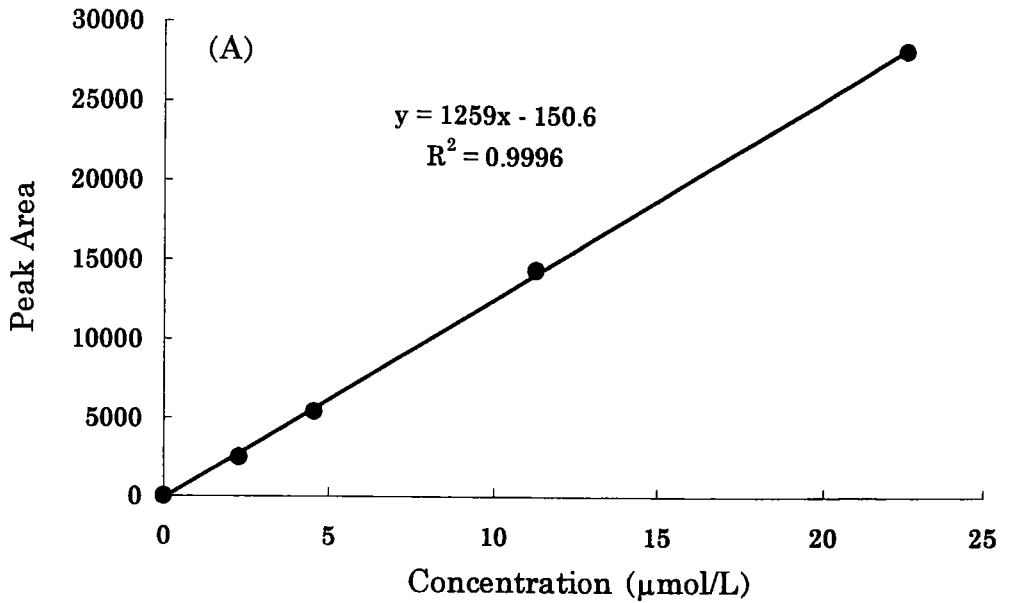


図 8 OPE(A)及びNPE(B)の検量線

また、この分析方法による河川水を用いた添加回収実験の結果は、OPE および NPE の回収率はそれぞれ100%(R.S.D.=0.856%)、91.1%(R.S.D.=5.06%)で良好な値が得られた。なお、この分析方法における定量下限は 1nmol/L であった。

次に、この方法を用いて実際に多摩川河川水中の APE 濃度および EO 付加モル数組成を測定した結果を示す。

NPE は全サンプルから検出された。しかしながら、OPE 及び DPE は検出されなかった。それ故、以下の研究では NPE とその分解物を中心に行うこととした。

東京都内河川水中の NPE 濃度を図 9 に示した。NPE 濃度はサンプリングした季節によって大きく異なり、夏季は 2.2-5.5 nmol/L、冬季は 7.1-16.6nmol/L の範囲であった。NPE の使用量が、季節的に大きく変化しないと仮定すると、この原因として考えられるのは河川水温の違いである。水温の高い夏季は、微生物がより活発に活動することによって NPE の EO 鎖がより早く分解される。NPE は EO 付加モル数が少ないほど疎水性が強いため、分解生成物は水中の粒子に吸着し、沈降・除去される可能性が考えられる。逆に、水温の低い冬季には微生物の活動が不活発なため、NPE が分解を受けず水中に残存することになる。

家庭用洗剤に配合されている界面活性剤の場合、季節によって使用量が著しく異なるため、使用量の変化による季節的な濃度変化が見られる。しかしながら、NPE の使用は殆どが工業用であり、季節的な使用量の変化から環境中の濃度が著しく変化することは考え難い。したがって、NPE 濃度の季節変化の主な原因は水温にあると考えても合理的である。

NPE の微生物による分解は、ESI/MS により測定した EO 付加モル数組成の結果から観察することができた。多摩川河川水中の NPE の EO 付加モル数分布の季節的变化を図 10 に示した。明らかに多摩川河川において NPE の EO 付加モル数分布は季節によって大きく異なっていた。NPE の EO 付加モル数分布は、冬季には EO 付加モル数 5-7 を中心とする正規分布に近いパターンを示し、夏季には EO 付加モル数 2-3 を最高とする偏った斜面分布のパターンを示した。EO 付加モル数分布の変化は微生物の分解によるものと考えられ、この結果は NPE 濃度の季節変化の主な原因は水温の変化に伴う微生物の活性の変化によっているとの解釈を支持するものであった。

また、磯部等の報告(14)では、都内 2 河川(隅田川、多摩川)における NP 濃度が夏季に高く、冬季に低いことが明らかになっている。このことは NPE が夏季により微生物分解を受け、分解産物である NP 濃度が高くなっているこ

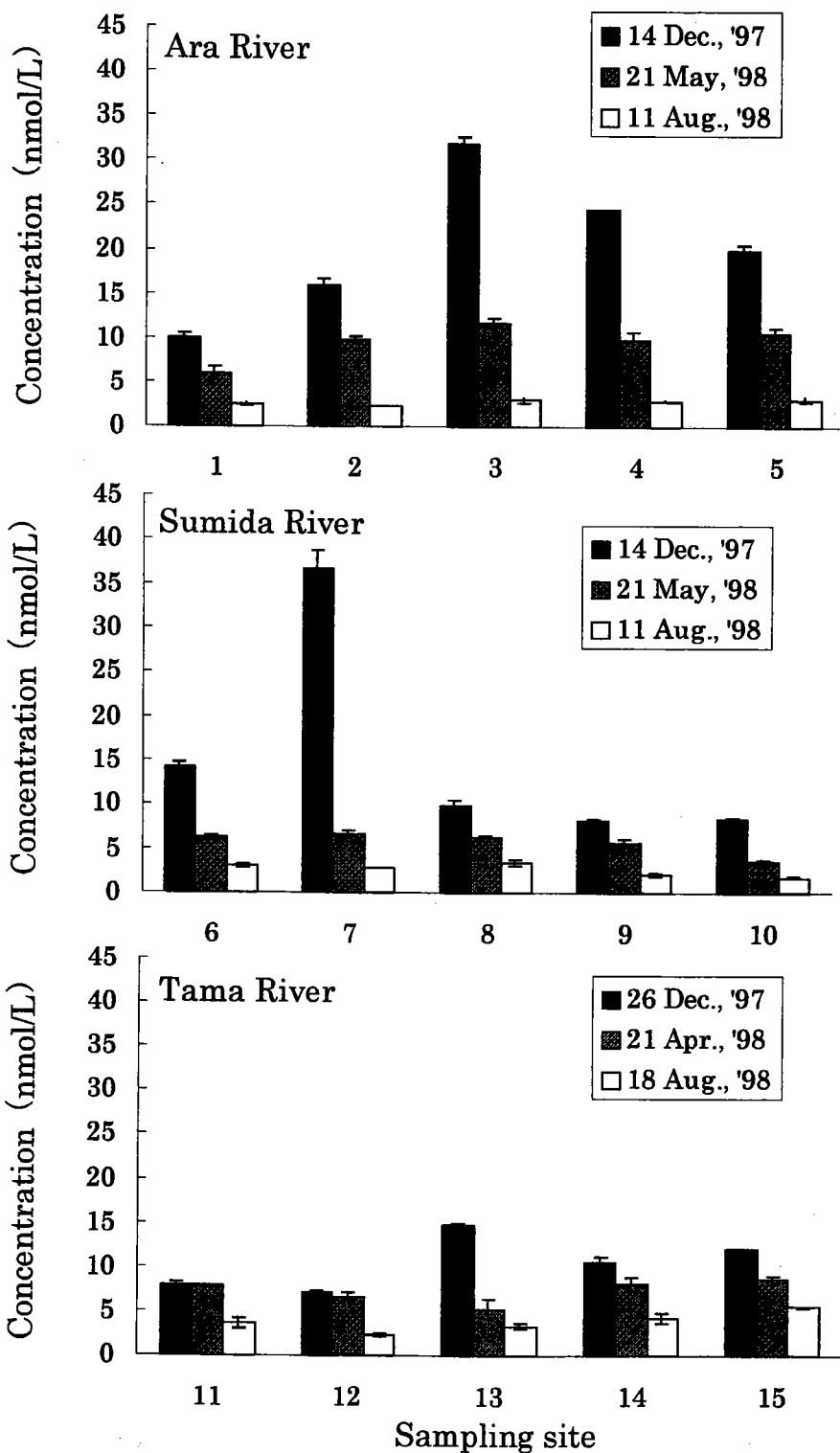


図9 多摩川中・下流域の河川水中のNPE濃度

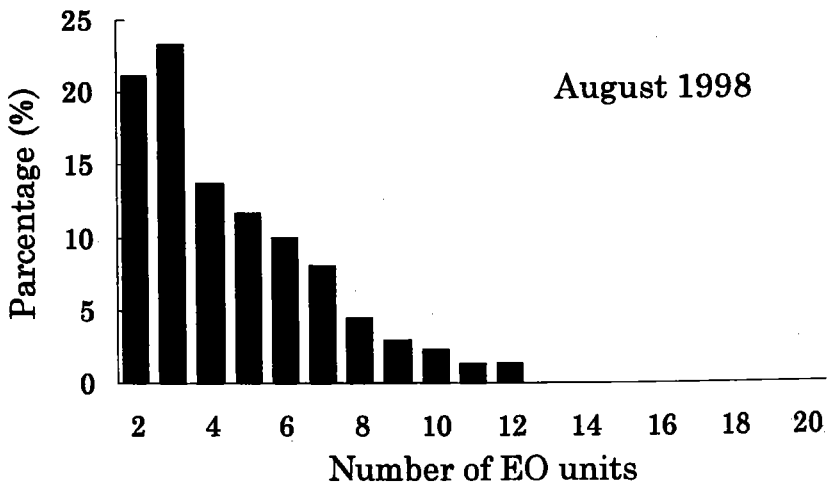
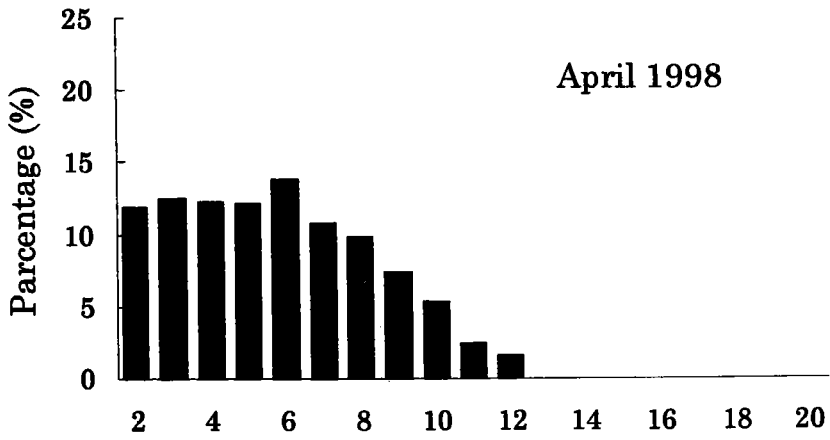
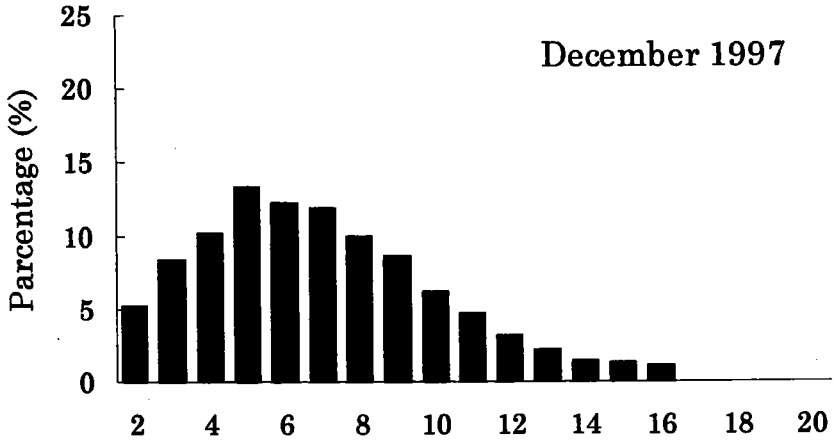


図10 採水地点11におけるNPEのEO付加モル数分布の季節変化

とを示唆していた。

以上のことより、直線グラジエント法を用いた逆相 HPLC と ESI/MS の併用による APE の測定は極めて有効な手段であることがわかった。また、この方法により東京都内の河川水中の APE を測定したところ、APE のうち大部分が NPE であり、NPE 濃度、EO 付加モル数組成が共に季節により著しく変化していることが明きらかになった。この原因は、NPE 濃度および EO 付加モル数組成が水温の違いによる微生物活性の変化に基づいていると解釈された。

II-1-8-2 多摩川河川水を用いた NPE の生分解実験

環境水中の NPE 濃度および EO 付加モル数組成を測定した結果、これらが季節的に大きく変化していることが明らかになった。この季節変化の原因としては、水温の違いによる微生物活性の変化が主に考えられた。そこで、この結論を更に確認するため、多摩川河川水を用いて温度条件を変えて NPE の分解実験を行った。

室温 $12 \pm 2^\circ\text{C}$ における分解実験の結果を図 11 に示した。図は上から 48、96、192 時間後の NPE の EO 付加モル数分布である。NPE は、48 時間後までは標準試薬のパターンと大きな変化がなく、EO 付加モル数 8 を中心とした正規分布パターンであった。96 時間後では、NPE の約 4 分の 1 が NPE_2 に変化していた。そして 192 時間後では、50% 以上の NPE が NPE_2 に変化した。これに対し、室温 $20 \pm 2^\circ\text{C}$ における分解実験の結果は図 12 のようになった。図は上から 48、72、96 時間後の NPE の EO 付加モル数分布である。NPE は、48 時間までは $12 \pm 2^\circ\text{C}$ の時とほぼ同様に EO 付加モル数 8 を中心としたパターンであった。しかし、72 時間後では約 50% の NPE が NPE_2 に変化し、96 時間後では 70% 以上が NPE_2 に変化した。 $12 \pm 2^\circ\text{C}$ の条件における 192 時間後のパターンと、 $20 \pm 2^\circ\text{C}$ の条件における 72 時間後のパターンはほぼ同じであり、NPE は水温 $20 \pm 2^\circ\text{C}$ で $12 \pm 2^\circ\text{C}$ のほぼ 2 倍以上の速度で分解されていることが明かとなった。尚、MilliQ 純粋水中に NPE を添加したコントロールでは、両温度とも全く分解されていなかった。 $12 \pm 2^\circ\text{C}$ の条件は初冬における水温を、 $20 \pm 2^\circ\text{C}$ の条件は初夏および秋季における水温を想定したものであった。これら結果は、先の結論を支持するものであった。

II-2 堆積物中の NP および NPE_1 抽出法の検討

II-2-1 緒言

河口域における NPE の挙動を明らかにするためには、堆積物中の NPE 濃

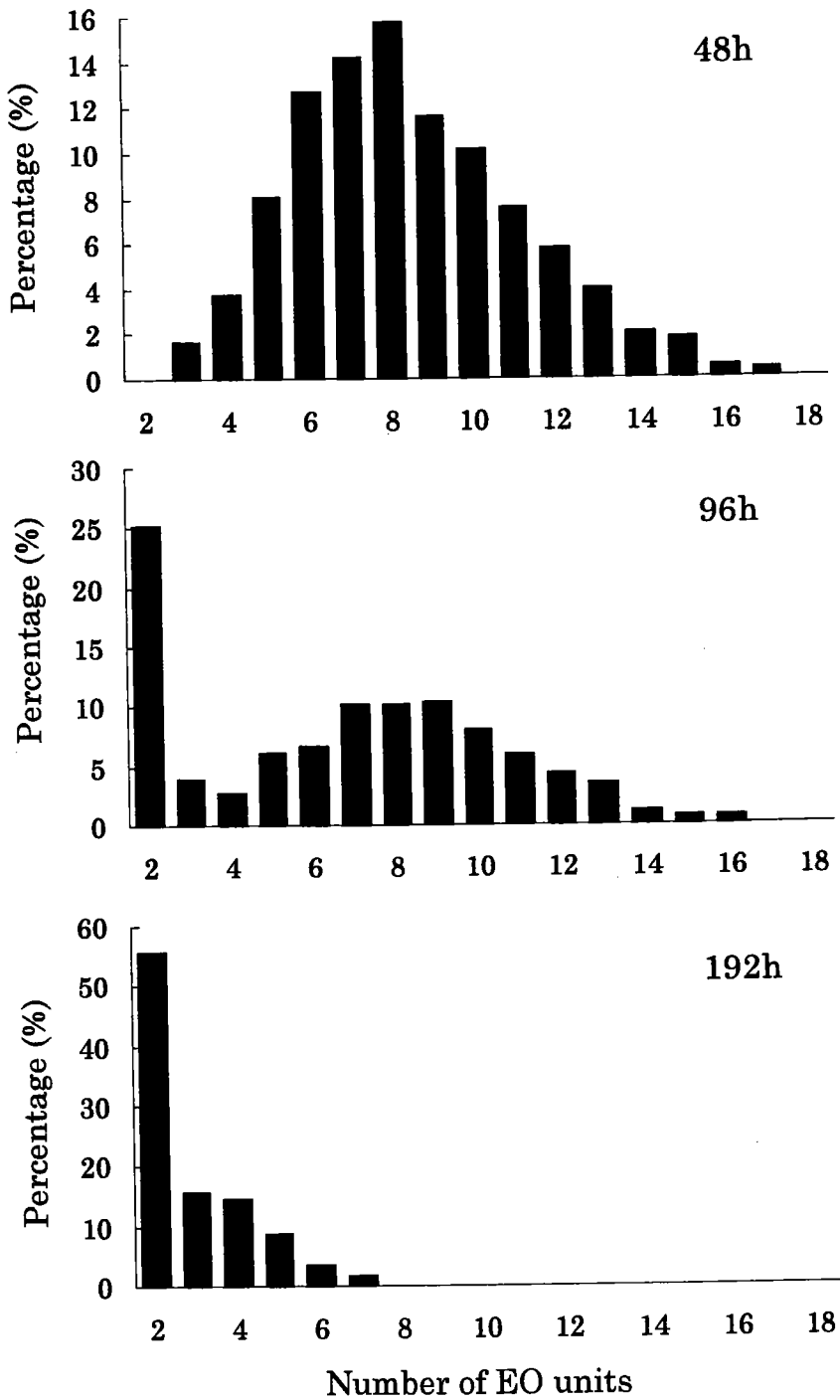


図11 多摩川濾過河川水中に添加されたNPEの実験条件下での生分解温度 $12 \pm 2^\circ\text{C}$

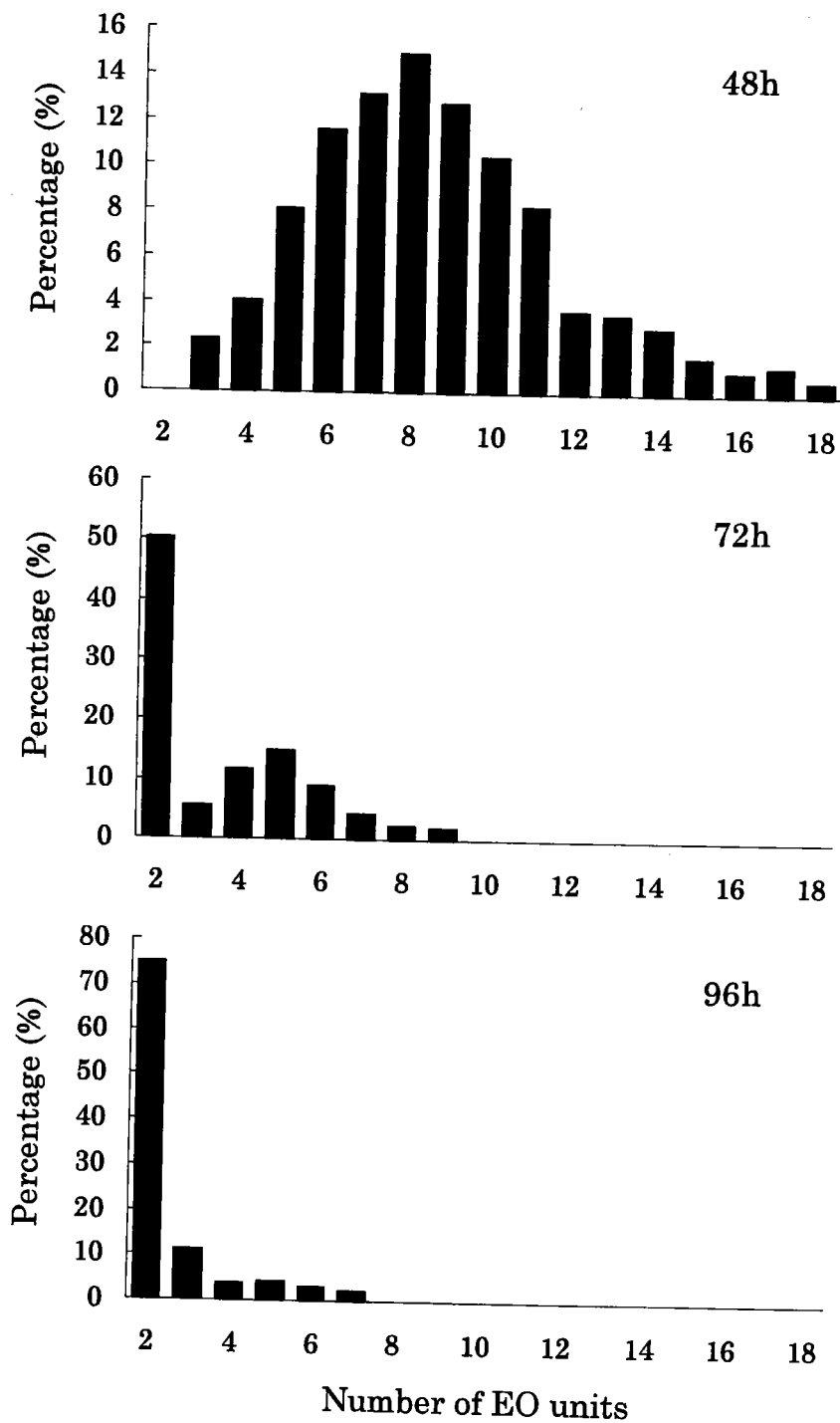


図12 多摩川濾過河川水中に添加されたNPEの実験条件下での生分解温度 $20 \pm 2^\circ\text{C}$

度を測定する必要がある。NPE は EO 鎖長が短い程疎水性が強く、河川水中の懸濁物に吸着され易くなるため、河口域ではそれらと沈降して堆積物中の NPE は NP と NPE₁ が主成分になることが予想された。したがって、堆積物中の NPE 抽出法の検討は NP および NPE₁ を対象にすることにした。NP と NPE₁ は前述の通り ESI/MS による検出・定量が不可能なため、幾つかの測定例 (12, 20, 25, 27, 28) がある GC/MS による定量を試みた。また、堆積物中の NP および NPE₁ の抽出については、ソックスレー抽出法が適応されてきたが (14, 22)、本研究では抽出時間が短く、抽出溶媒量が少量で済む超音波抽出法を検討した。

II-2-2 実験

II-2-2-1 試薬

用いた試薬は、以下のようであった。

NP 標準試薬	純度 99.0 %	シグマ
NPE ₁ 標準試薬	純度 99.0 %	林純薬工業
t-ブチルフェノール	純度 99.0 %	関東化学
ジクロロメタン	残留農薬試験用	和光純薬工業
エタノール	残留農薬試験用	和光純薬工業
ヘキサン	残留農薬試験用	和光純薬工業
酢酸エチル	残留農薬試験用	和光純薬工業
メタノール	残留農薬試験用	和光純薬工業
シリカゲル	particle size : 75-150 μ m	和光純薬工業

II-2-2-2 装置

用いた装置は、以下の通りであった。

ガスクロマトグラフ	Varian 3400
質量分析計	SSQ-700 (Finnigan MAT)
キャピラリーカラム	HP-5MS (Hewlett Packard, 30m \times 0.25mm)

II-2-2-3 試料

抽出法の検討には、1998年6月1日に多摩川河口 (Iの図1のSta. E) で採取した表層堆積物を用いた。採泥はエクマン・バージ採泥器により行い、採泥された堆積物はおおよそ表層から15cm深さの堆積物であった。

採泥した堆積物を3000rpmで15分間遠心分離し、間隙水を取り除いたものを湿試料とし、一部を直ちに凍結乾燥を行い、水分を完全に取り除いたものを乾燥試料として実験に供した。

II-2-3 検討条件

II-2-3-1 抽出溶媒の検討

抽出溶媒としてジクロロメタン（乾燥試料）、エタノール（湿潤試料および乾燥試料）を用いて抽出し、その結果から得られた濃度を比較することで適切な抽出溶媒を決定した。

II-2-3-2 超音波による抽出時間の検討

超音波による抽出時間を 10、20、30 分間に变化させて、同一試料の抽出を行い、その結果から得られた濃度を比較することで適切な抽出時間を決定した。

II-2-3-3 超音波抽出の回数の検討

1 回の超音波抽出時間を II-2-3-2 で決定した時間とし、超音波抽出の回数を検討するために、同一試料の 1 回目、2 回目、3 回目の抽出液をそれぞれ定量した。その結果、得られた濃度により、適切な抽出回数を決定した。

II-2-3-4 クリーンアップ法の検討

堆積物中の NP および NPE_1 抽出物のクリーンアップには、一般的にシリカゲルが使用されている。本研究においても同様にシリカゲルカラムを使用し検討を行った。尚、シリカゲルは Kumata *et al.*の方法に基づいて 5% H_2O 不活性化を行ったものを使用した (44)。

II-2-3-5 添加回収実験

添加回収実験は、抽出法の検討に用いた試料 10g に NP・ NPE_1 混合標準溶液 10mg/L を 1mL 添加し、上記の検討結果に基づく最適条件下で、 $n=3$ で行った。

II-2-4 結果および考察

II-2-4-1 GC/MS による NP および NPE_1 の測定

図 13 に NP および NPE_1 標準試薬の GC/MS のクロマトグラムを示した。NP および NPE_1 を GC で分離する場合、ノニル基の構造の異なる異性体から成る複数のピークが現れる。これまでに報告された論文では、11 本の異性体ピークに分離できると報告されていたが (12、14、28)、本研究では、主な 5 本のピークしか分離出来なかった。しかしながら、本研究の目的には、この程度の分離で十分と判断した。図 14 に NP の、図 15 に NPE_1 の、図 16 に内部標準物質である *t*-ブチルフェノール（以下 *t*BP）の GC/MS のマススペクトルを示した。NP では $m/z=135$ 、 NPE_1 では $m/z=179$ 、*t*BP では $m/z=135$ のフラグメントイオンがベースピークであった。そのため、これらのフラグメ

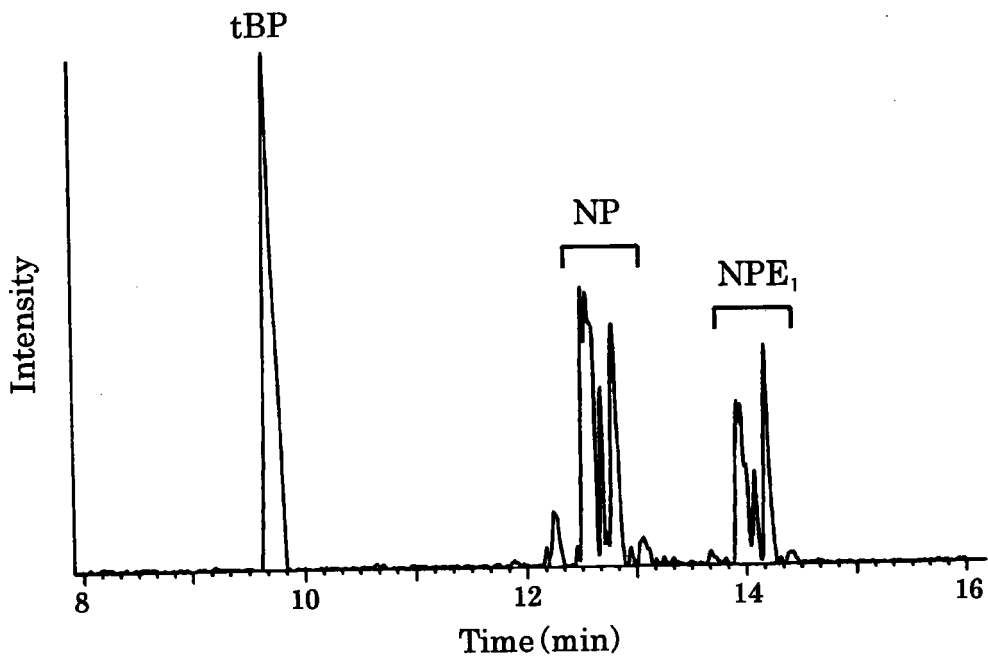


図13 NPとNPE₁の混合物のGC/MSマスキロマトグラム

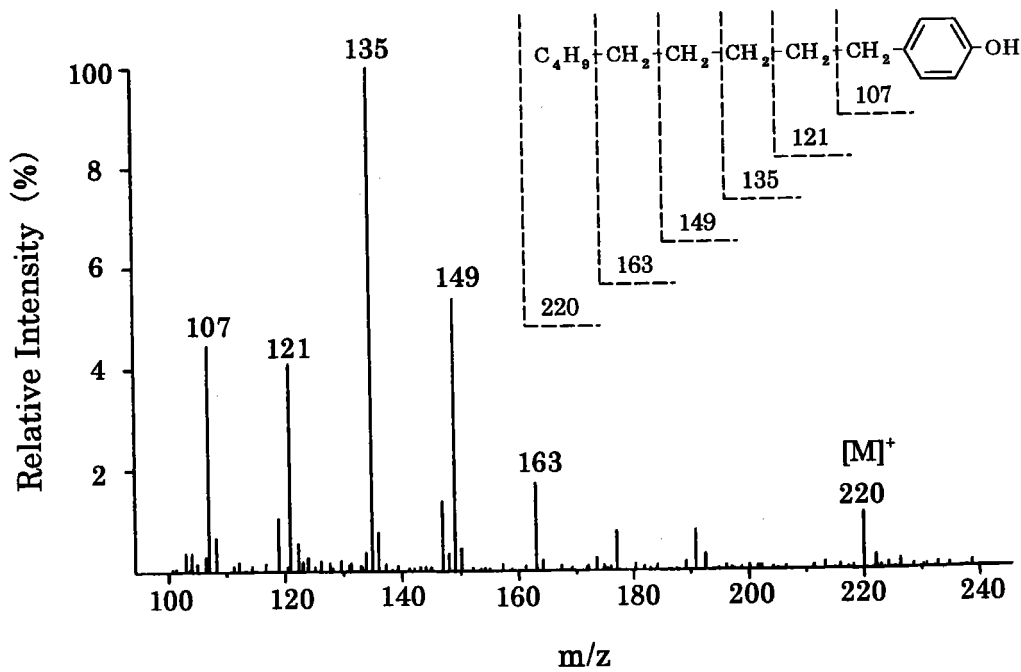


図14 NPのマスペクトル

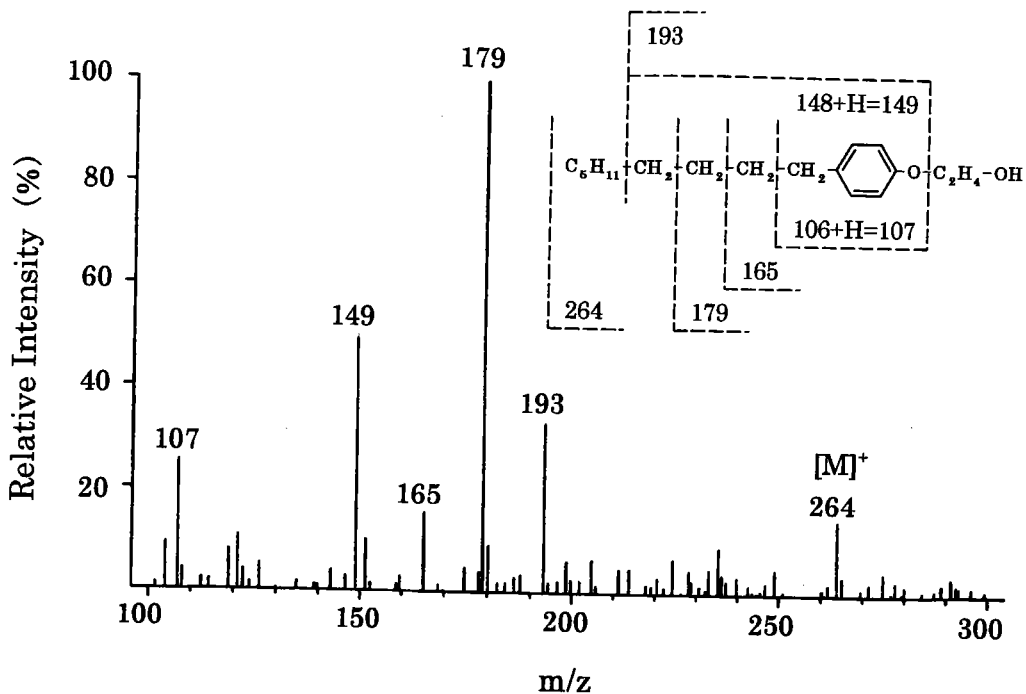


図15 NOE₁のマススペクトル

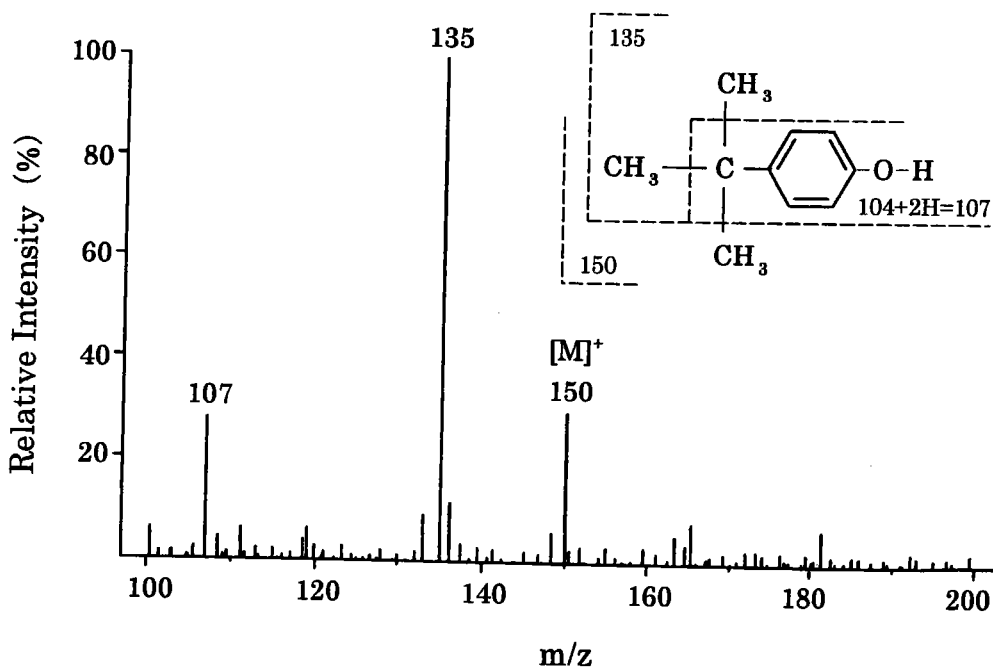


図16 tBPのマススペクトル

ントイオンをモニターする SIM モードを用いることにより、高感度な分析を行うこととした。定量は、それぞれのベースピークイオンである $m/z=135$ 、 179 により行い、別に、NP および NPE_1 であることを確認するために親ピークである $m/z=107$ 、 193 もモニタリングした。なお、GC/MS-SIM による NP および NPE_1 の検出限界は、 $S/N=3$ でそれぞれ 45nmol/L 、 200nmol/L であった。

検量線は、 10 、 100 、 250 、 500 、 $1000\mu\text{g/L}$ に調整した NP および NPE_1 標準溶液を GC/MS-SIM により測定し、5 本の異性体ピークのピーク面積の和と内部標準である tBP のピーク面積との比から作成した。検量線は NP、 NPE_1 共に十分な直線性が認められた (図 17)。試料の分析時には、毎回 100 、 250 、 500 、 $1000\mu\text{g/L}$ の標準溶液から検量線を作成し、定量を行った。

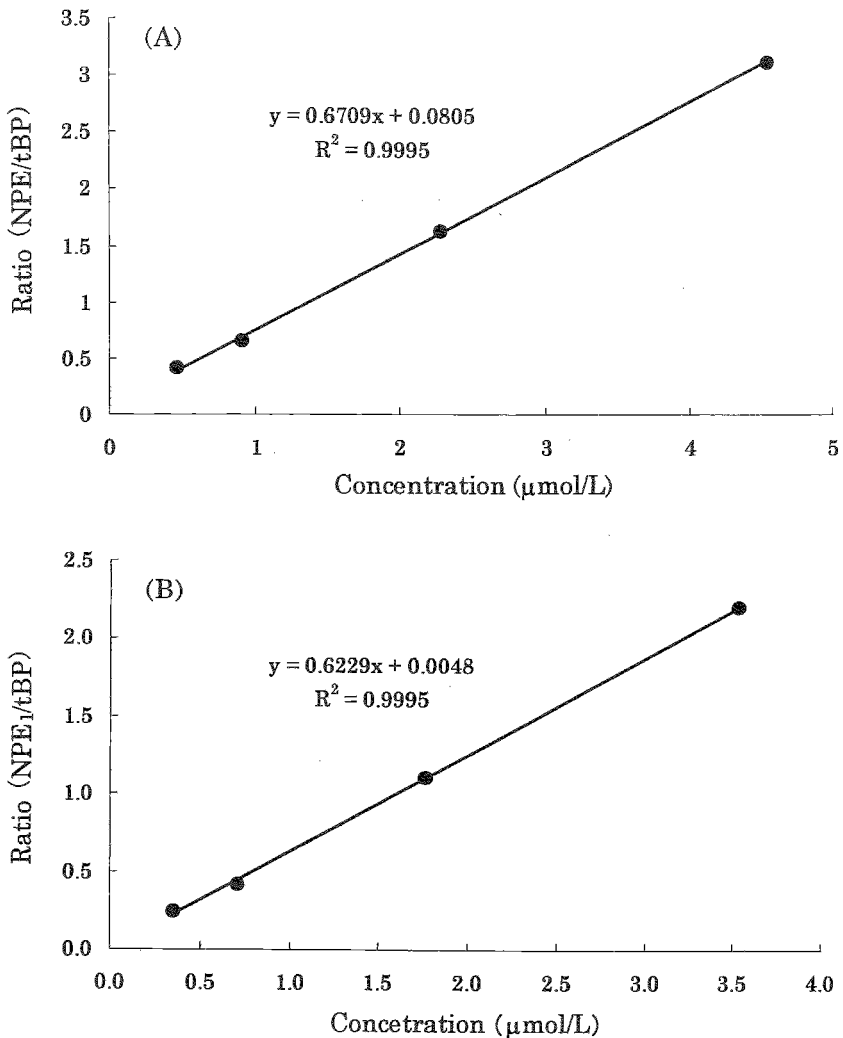


図17 NP(A)と NPE_1 (B)のSIMモードによる検量線

II-2-4-2 抽出溶媒の検討

抽出溶媒の違いによる抽出効率の比較を行った結果を図 18 に示した。乾燥試料に対してジクロロメタン及びエタノールを用いた場合、抽出率は高く、湿润試料に対するエタノールを用いた場合には抽出効率が悪く、バラツキも大きかった。乾燥試料に対してのジクロロメタンとエタノールとの比較では、NPE₁ に関してエタノールの方が抽出効率が高かったため、乾燥試料に抽出溶媒としてエタノールを用いることとした。

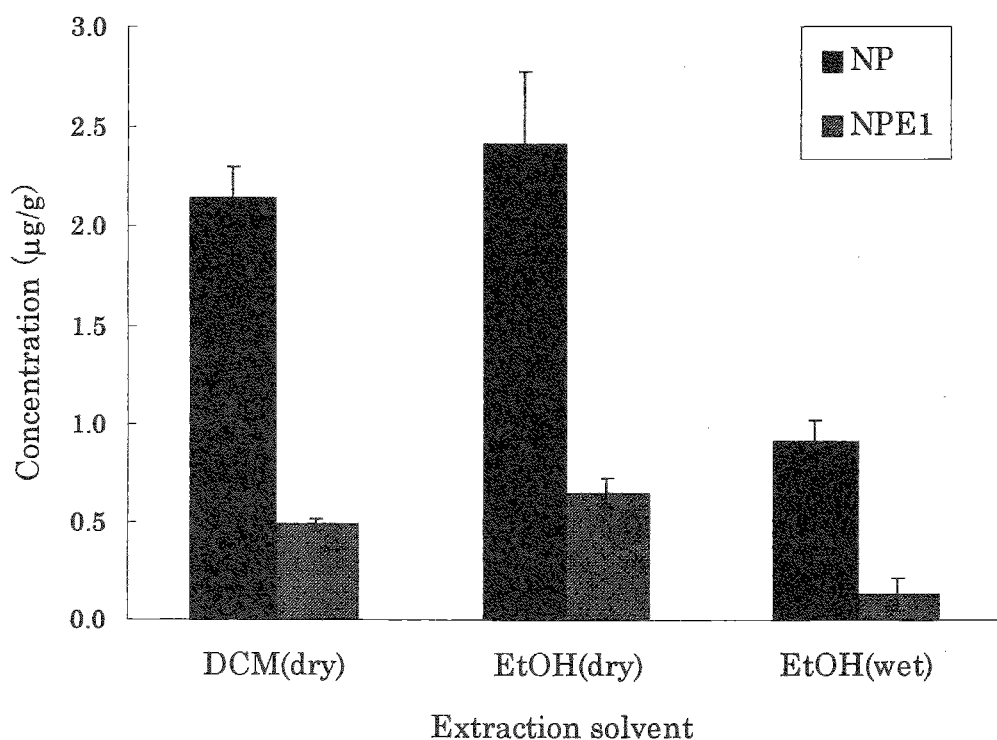


図18 超音波抽出法による堆積物中のNPとNPE₁の抽出量に及ぼす溶媒の影響

II-2-4-3 超音波による抽出時間の検討

抽出時間の違いによる抽出効率の比較を行った結果を図 19 に示した。10分間と 20、30 分間との間では明らかに抽出効率の差が見られたが、20 分間と 30 分間とではほとんど差が見られなかった。そこで、超音波による抽出時間は 20 分間で十分であると判断できるが、ここでは念のため抽出時間を 30 分間に設定して抽出を行うこととした。

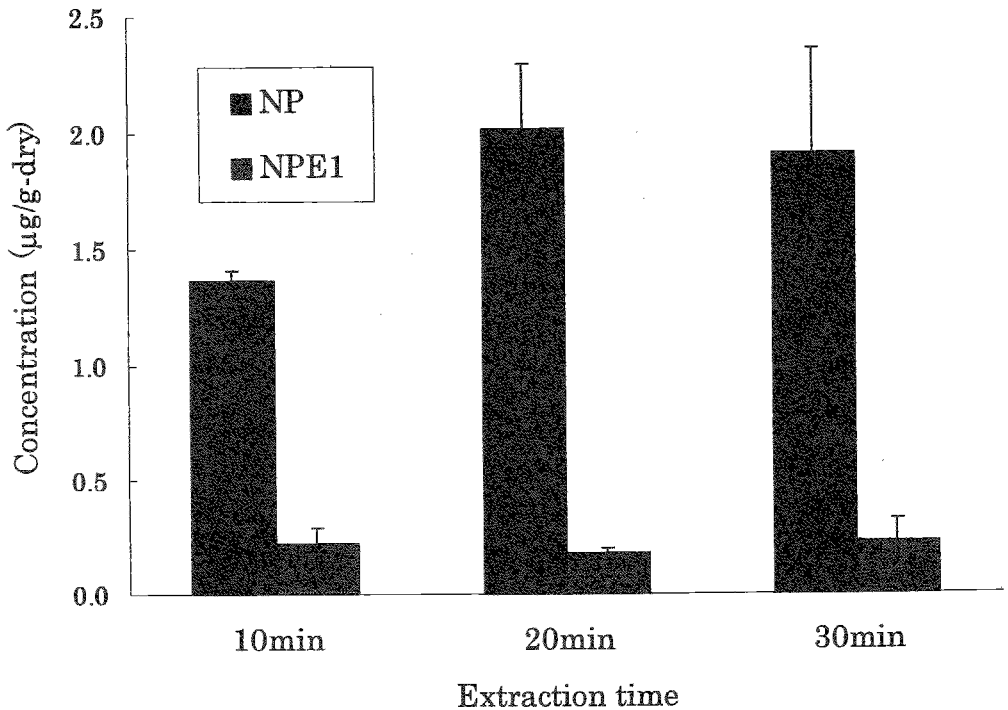


図19 超音波抽出法による堆積物中のNPとNPE₁の抽出量に及ぼす抽出時間の影響

II-2-4-4 超音波抽出の回数の検討

抽出回数による抽出効率の比較を行った結果を図 20 に示した。NP および NPE₁ は 1 回目の抽出で 80% 近くが抽出されたが、2 回目の抽出でも NP および NPE₁ は 20% 程度抽出された。しかし、3 回目の抽出では全く検出されなかった。したがって、超音波抽出の回数は 2 回に設定した。

II-2-4-5 クリーンアップ法の検討

5%H₂O 不活性化シリカゲルを使用し、ヘキサン及びジクロロメタンを展開溶媒として用いてクリーンアップ法を検討した結果、NP および NPE₁ はヘキサン：ジクロロメタン 90%：10% (v/v) までの分画には含まれておらず、ヘキサン：ジクロロメタン 40%：60% (v/v) の分画にほぼ全量が含まれていることが明らかになった。また、NPE についても検討を行ったところ、ヘキサン：ジクロロメタン 40%：60% (v/v) の分画の分取の後、酢酸エチルで洗浄し、酢酸エチル：メタノール 50%：50% (v/v) の分画にほぼ全量が含まれていることが明かとなった。しかし、未だ黄色の夾雑物が含まれていた。そのため、堆積物中の NPE を抽出する際には、更に検討が必要であった。

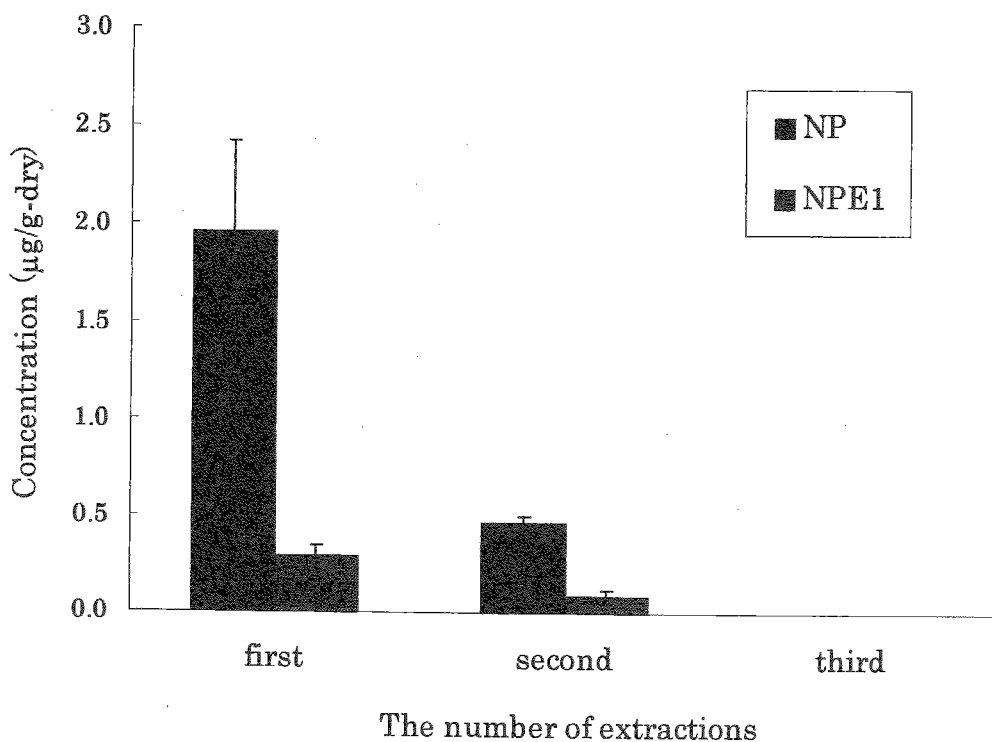


図20 超音波抽出法による堆積物中のNPとNPE₁の抽出量に及ぼす抽出回数の影響

II-2-4-6 堆積物中の NP および NPE₁ 抽出法

以上の結果から、堆積物中の NP および NPE₁ 抽出法は次のように決定した。まず、乾燥試料約 1g にエタノールを 10mL 加え、超音波抽出器にて 30 分間抽出を行った。抽出した試料は 3000rpm にて 15 分間遠心分離し、上澄み液を採取した。同様の操作を再度繰り返した後、上澄み液をロータリーエバポレーターにより乾固し、ヘキサン：ジクロロメタン 90%：10% (v/v) に溶解させた。次に、この濃縮試料を 5%H₂O 不活性化シリカゲルカラムを通過させ、少量のヘキサン：ジクロロメタン 90%：10% (v/v) でカラムを洗浄した後、ヘキサン：ジクロロメタン 40%：60% (v/v) にて NP および NPE₁ を溶出させた。ここで得られた試料は再びロータリーエバポレーターで濃縮させた後、窒素気流によって 0.5mL まで濃縮し、内標準物質として 500µg/L の tBP を 0.5mL 加えた。これを GC/MS-SIM により定量した。この分析方法による NP および NPE₁ の回収率は、それぞれ 94.4% (R.S.D.=12.0%)、94.9% (R.S.D.=19.9%) と、良好な結果が得られた。尚、この分析方法における NP および NPE₁ の定量下限はそれぞれ 50pmol/g-dry、200pmol/g-dry であった。

Ⅱ—3 多摩川河口域における NP および NPE₁ の挙動

Ⅱ—3-1 緒言

NP および NPE₁ は毒性の高さや残留性から注目すべき物質であるが、我が国の水圏環境中、特に堆積物中の両者の濃度レベルの把握は限られている。また、EO 付加モル数 2 以上の NPE を含めて測定された報告例は殆どない。本研究では、分解生成物としての NP および NPE₁ の多摩川の下流・河口域における運命を知るために、河川水と同時にⅡ—2 で検討した測定法を用いて堆積物への NP および NPE₁ の蓄積調査を行った。

Ⅱ—3-2 試料採取地点と実験方法

Ⅱ—3-2-1 試料採取地点と採取方法

I における図 1 の河川水採取地点と同じである。サンプリングは 1999 年 2 月 5 日、4 月 29 日、7 月 22 日、8 月 24 日、10 月 29 日の合計 5 回、5 地点で船上から行った。

採水は、I と同様に、ステンレス製の採水バケツを用いて行い、試料水は 1L の SPC ガラス瓶に採水した (n=3)。試料水は研究室に持ち帰った後、予め重量を測定したガラスフィルター (Whatman GF/C) によりろ過し、12 時間以内に分析を行った。ガラスフィルターは 60℃ で乾燥させた後、恒量とし、重量を測定後、-18℃ にて分析まで凍結保存した。

採泥は、スミスマッキンタイヤー採泥器 (20cm×20cm×10cm) を用いて行った。採泥器により採取された堆積物試料から、更に柱状コア試料を取り、0-2cm 及び 2-4cm の二つに分けた。

Ⅱ—3-2-2 分析方法

水試料は、I と同様に、ろ過して懸濁物質を除去した後、XAD-16 を充填したカラムに界面活性剤を吸着させた。カラムに吸着させた界面活性剤はメタノールで溶出させ、NPE 分析用の試料と NP および NPE₁ 分析用の試料とに分けた。NPE 分析用の試料は I と同様にクリーンアップ・定量・EO 付加モル数分布測定を行った。NP および NPE₁ 分析用の試料は、乾固させ、ヘキサン：ジクロロメタン 90%：10% (v/v) に溶解させた。この濃縮試料を 5% H₂O 不活性化シリカゲルカラムに通液し、少量のヘキサン：ジクロロメタン 90%：10% (v/v) で洗浄した後、ヘキサン：ジクロロメタン 40%：60% (v/v) にて NP および NPE₁ を溶出させた。ここで得られた試料は再びロータリーエバポレーターで濃縮させ後、窒素気流によって 0.1mL まで濃縮し、内標準物

質として 500 μ g/L の tBP を 0.1mL 加えた。これを GC/MS-SIM により定量した。

添加回収実験は 1L の河川水に NP・NPE₁ 混合標準溶液 200 μ g/L を 1mL 添加し、n=3 で、同様に行った。

堆積物試料については、II-2 で確立した分析方法により定量を行った。懸濁物試料は、冷凍保存しておいたガラスろ紙にエタノールを 40mL 加え、堆積物試料と同様に超音波抽出器にて 30 分間抽出を行い、再度繰り返した。次に、上澄み液をヘキサン：ジクロロメタン 90%：10% (v/v) に溶媒変換させ、5%H₂O 不活性化シリカゲルカラムによりクリーンアップした。ヘキサン：ジクロロメタン 40%：60% (v/v) の分画はロータリーエバポレーターで濃縮させ後、窒素気流によって 0.1mL まで濃縮し、内標準物質として 500 μ g/L の tBP を 0.1mL 加え、GC/MS-SIM により定量した。酢酸エチル：メタノール 50%：50% (v/v) の分画は乾固させた後に、メタノール 0.5mL に溶解し、HPLC により定量した。

II-3-3 結果および考察

河川水中の NP および NPE₁ の添加回収実験の結果、NP および NPE₁ の回収率はそれぞれ 81.6% (R.S.D.=15.8%) および 80.4% (R.S.D.=1.2%) で良好な結果が得られた。尚、この分析方法における定量下限はそれぞれ 20pmol/L、80pmol/L であった。

多摩川下流・河口域河川水中の NPE 濃度を測定した結果を図 21 に示した。夏季は 1.40-2.87nmol/L、冬季は 5.56-9.36nmol/L の範囲であり、NPE 濃度は夏季に低く、冬季に高いという I における中流・下流域河川水の結果と同様の傾向を示した。1999 年 2 月における多摩川河口域河川水中の NPE の EO 付加モル数分布を図 22 に示した。Sta. A および B では EO 付加モル数 3-7 を最高とする山斜面型のパターンを示していたが、Sta. D および E では EO 付加モル数 2 と 3 を最高とする指数減少分布パターンに変化していた。このような傾向は他の季節でも見られた。Sta. D および E は汽水域であることから、Sta. A および B と比較して、河川水が滞留する時間が長く、NPE の EO 鎖の分解が進んだと解釈される。そのため、冬季であっても、Sta. D および E では、NPE が Sta. A および B よりも微生物による分解を受け、EO 付加モル数の減少が進み、分布の中心が 2 と 3 に変化したと考えられる。I で行った生分解実験の結果において、水温が 12 \pm 2 の条件下で 192 時間後に NPE の EO 付加モル数が減少し、主として 3 以上の大きな EO 付加モル数の分子の EO 末端が切断され、EO 付加モル数 2 の分子が蓄積したと解釈された。河口

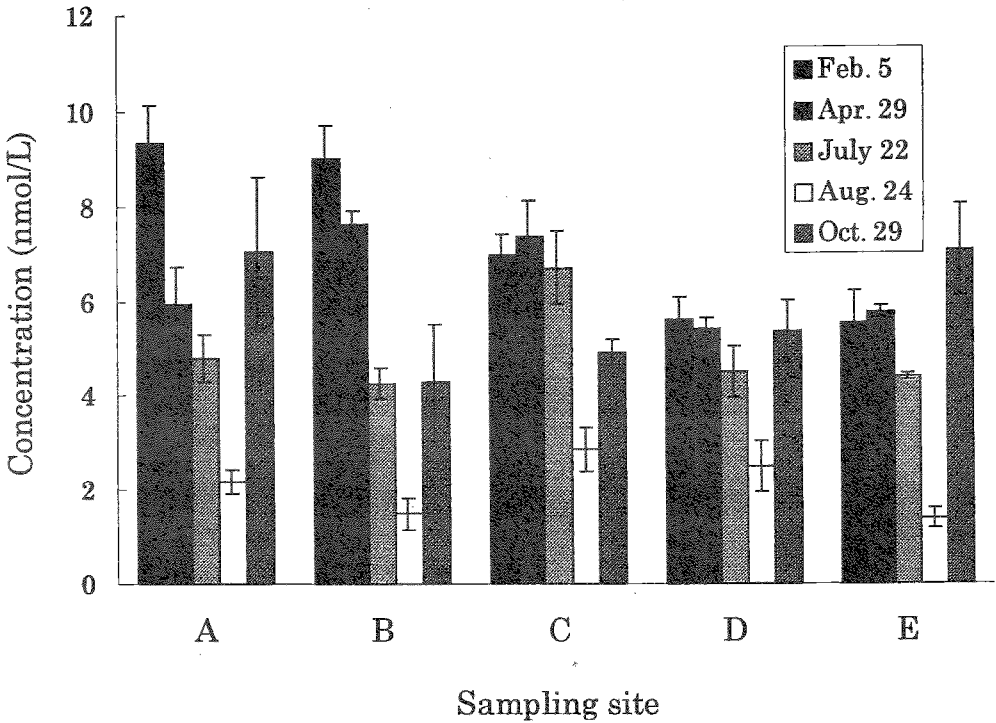


図21 多摩川下流・河口域5地点におけるNPE濃度の季節的変動

域においては、河川流下と共に分解を受けにくい冬季でも、河川水の滞留時間が長いために分解を受け、EO付加モル数分布の中心が2あるいは3に変化するという、生分解実験の結果と同様な結果が得られた。しかし、NPE濃度に関しては、Sta. DおよびEにおいても顕著な減少は見られず、多摩川河口域では夏季よりも冬季に多量のNPEが東京湾に輸送されているという結果となった。1999年10月の試料水について、NPE濃度とNPおよびNPE₁濃度を比較した結果を図23に示した。NPおよびNPE₁の濃度範囲は、それぞれ0.253-1.15nmol/L、0.246-1.62nmol/Lであった。重量換算ではそれぞれ0.0556-0.219 μ g/L、0.0649-0.453 μ g/Lの範囲であり、この値は日本やアメリカで報告されている濃度と同程度であった。また、河口域においても塩分の増加に伴う河川水中のNPおよびNPE₁濃度の減少は見られず、塩析効果による沈降の影響は殆どないものと考えられた。NPおよびNPE₁濃度は、全NPE濃度の10-28%を占めていた。EO付加モル数2以上のNPEは、NPおよびNPE₁の3-5倍存在し、NPおよびNPE₁の前駆物質としての重要性が示唆された。これに対し、懸濁物試料中にはNPEは検出されず、NPおよびNPE₁が殆どであった。溶存態と懸濁物態のNPおよびNPE₁濃度割合の比較を図24、25

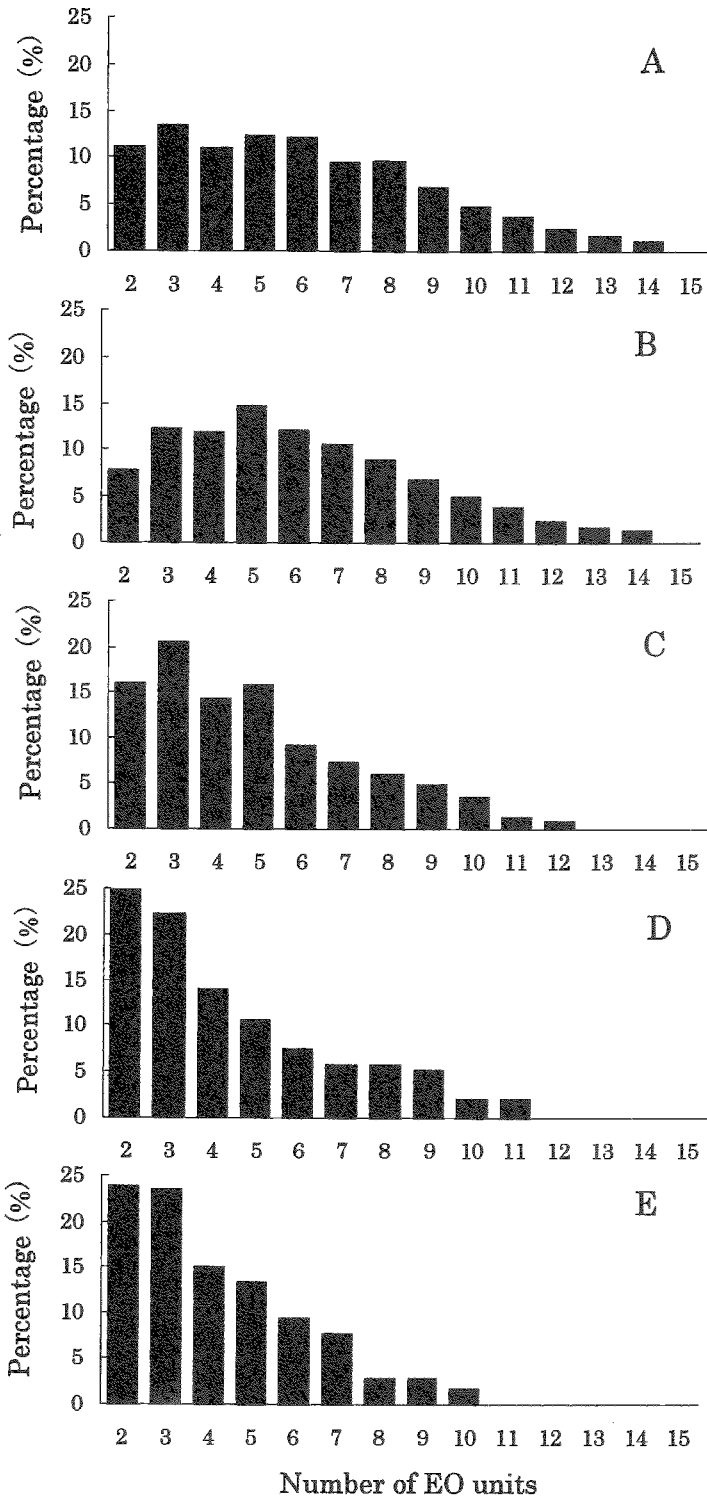


図22 多摩川下流・河口域5地点におけるNPEのEO付加モル数分布の変化
採水日 1999年2月5日

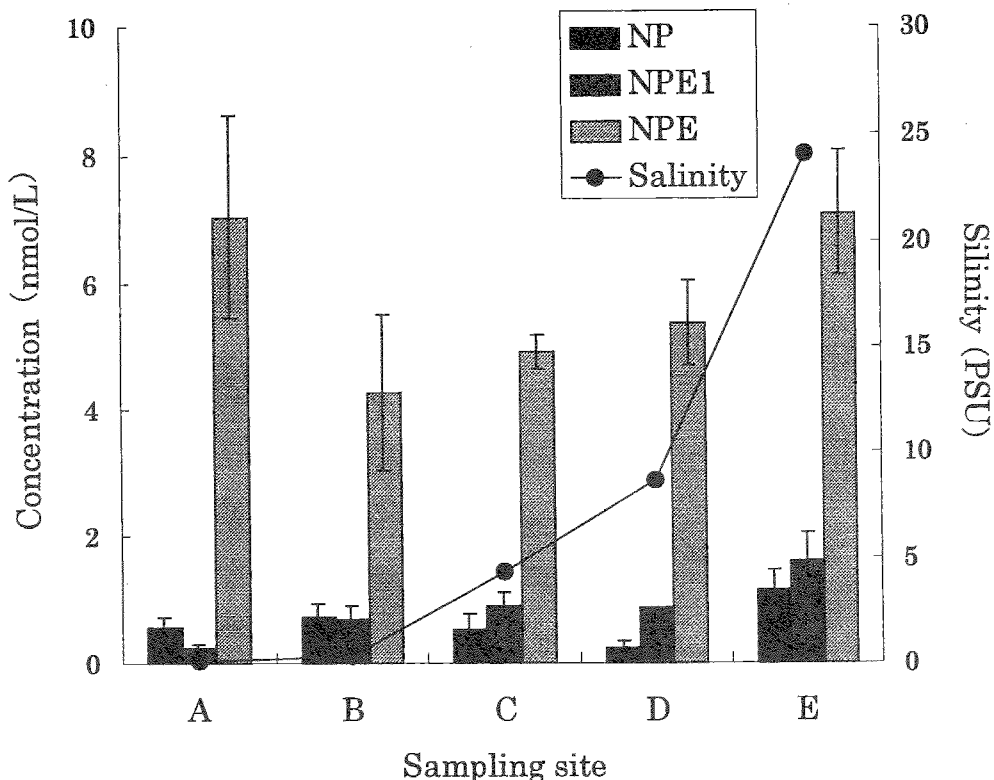


図23 多摩川下流・河口域5地点におけるNP、NPE₁、NPE濃度と塩分
採水日 1999年10月29日

に示した。懸濁物試料中の NP および NPE₁ 濃度は、それぞれ 2.5-19nmol/g、1.7-24nmol/g であり、河川水中に存在する NP および NPE₁ の懸濁物に吸着している割合はそれぞれ 9-33%、9-48%であった。これら結果から、堆積物中では NPE の存在割合は低く、NP および NPE₁ が重要な部分を占めていると推測された。

堆積物中の NP および NPE₁ の測定結果を図 26、27 に示した。なお、測定に用いた堆積物試料は、表層 0-2cm の堆積物で、深度による濃度の違いは認められなかった (図 28、29)。NP および NPE₁ 濃度はそれぞれ 0.41-3.4nmol/g-dry、0.27-8.8nmol/g-dry の範囲であった。重量換算ではそれぞれ 0.089-0.74 μ g/g-dry、0.072-2.3 μ g/g-dry であり、この値は日本で報告されている濃度よりやや低く、アメリカで報告されている濃度と同程度であった。堆積物中の NP および NPE₁ 濃度の季節的変動傾向は見られなかったが、1999年7月と1999年8月とでは著しい濃度の差が見られた。

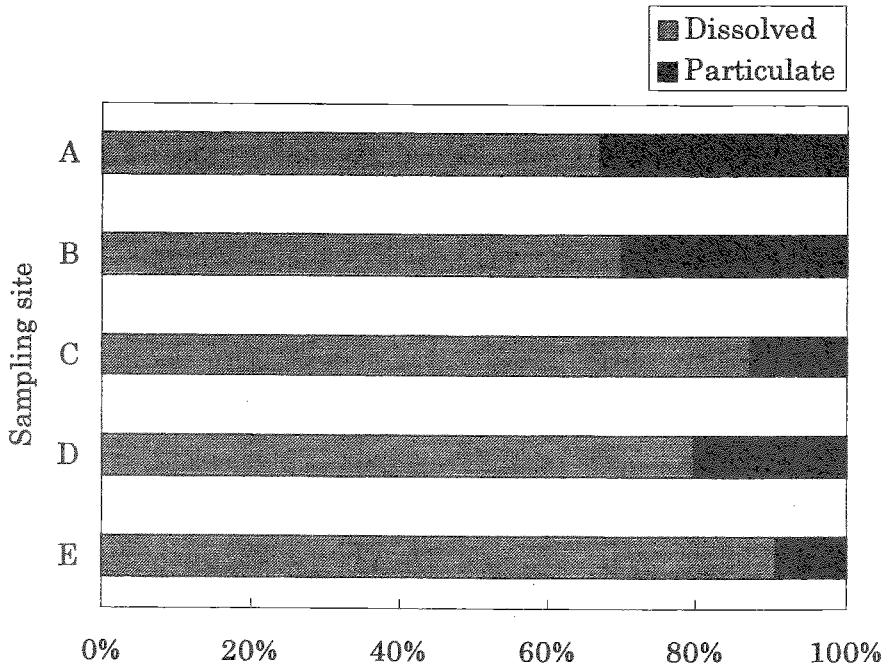


図24 多摩川下流・河口域5地点における河川水中のNPの溶存態と懸濁態の割合
採水日 1999年10月29日

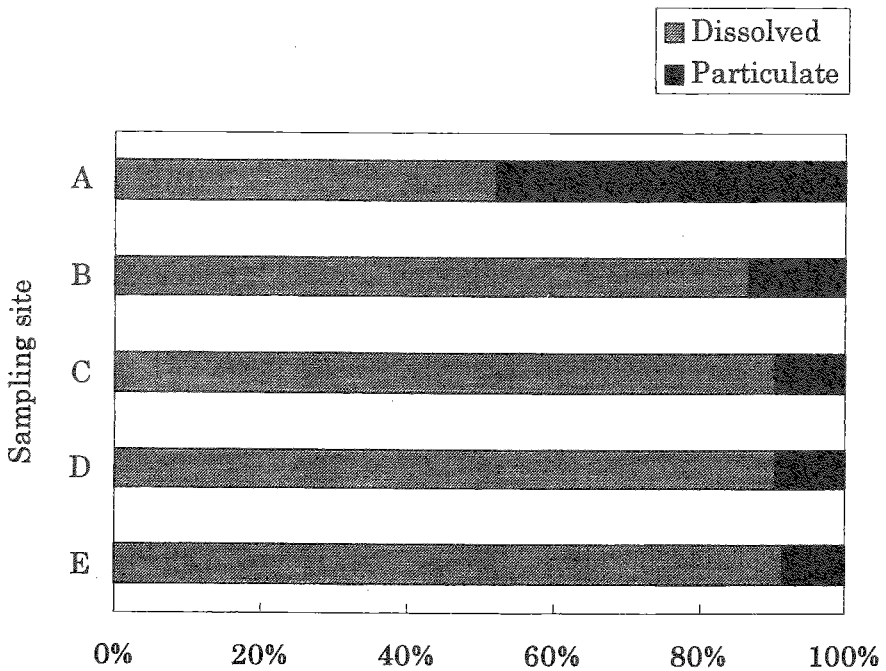


図25 多摩川下流・河口域5地点における河川水中のNPE₁の溶存態と懸濁態の割合
採水日 1999年10月29日

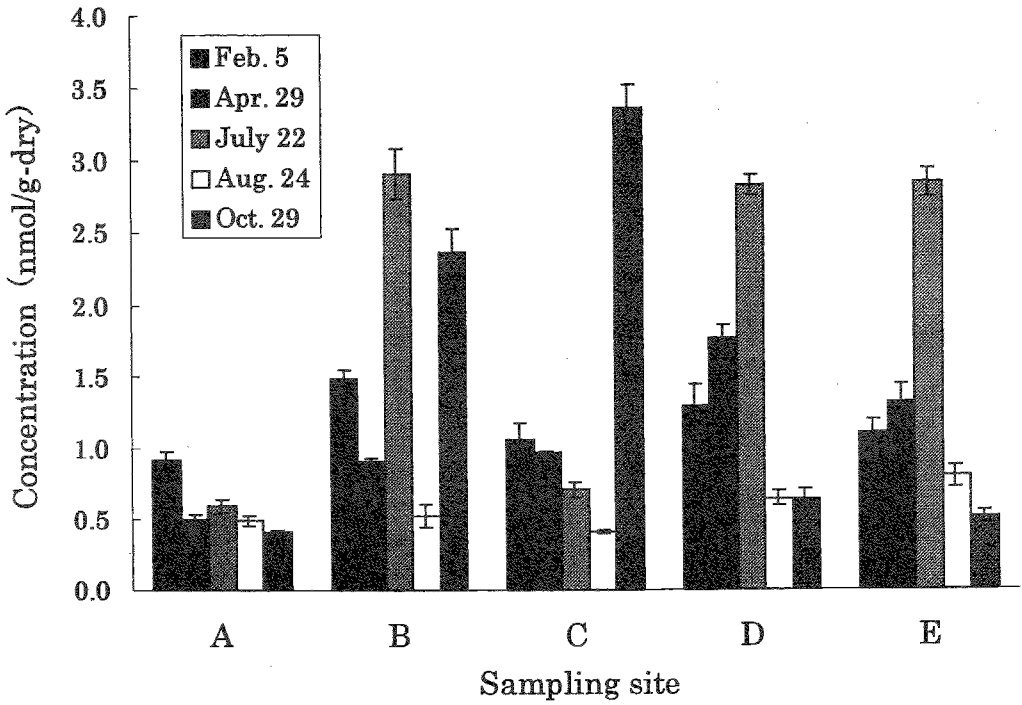


図26 多摩川下流・河口域 5 地点における河床表層堆積物中のNP濃度の季節変動

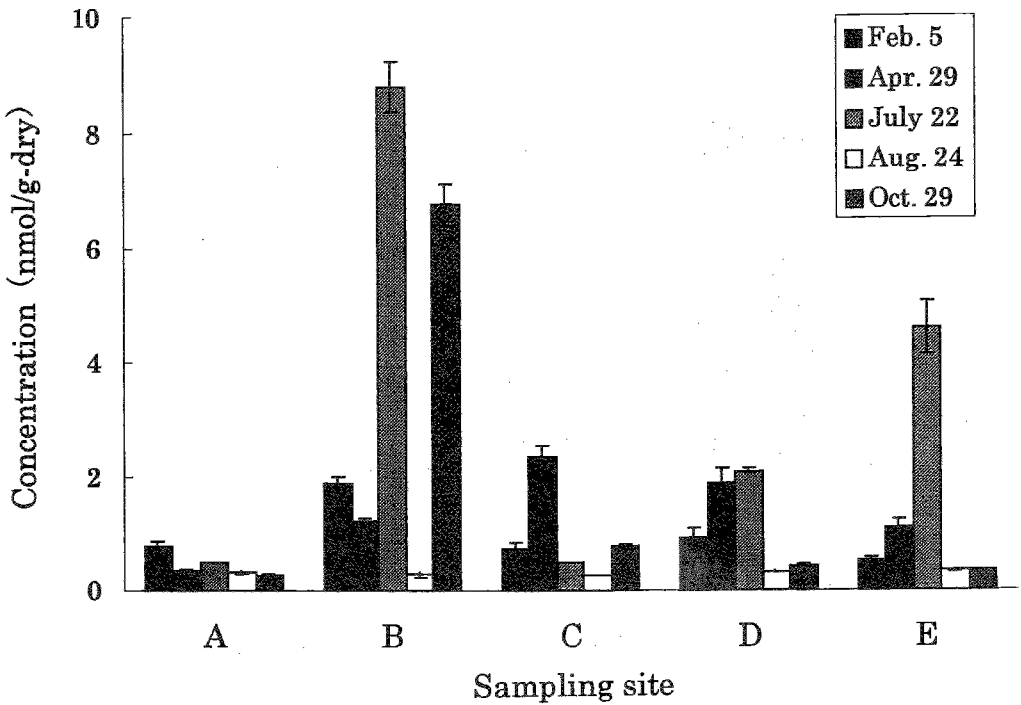


図27 多摩川下流・河口域 5 地点における河床表層堆積物中のNPE₁濃度の季節変動

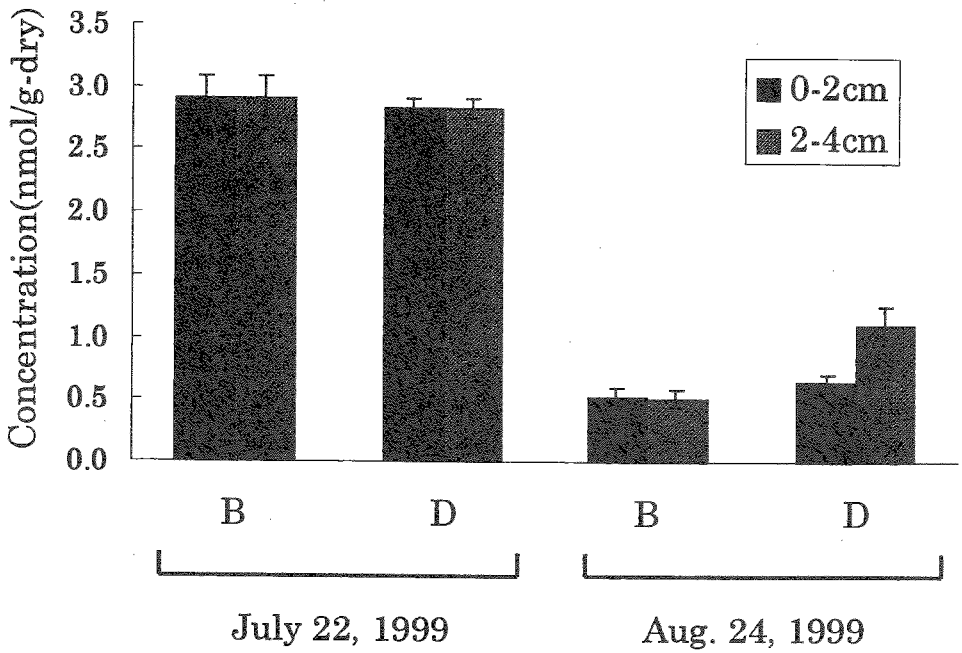


図28 多摩川下流・河口域B地点とD地点の表層堆積物
0-2cm層と2-4cm層中のNP濃度

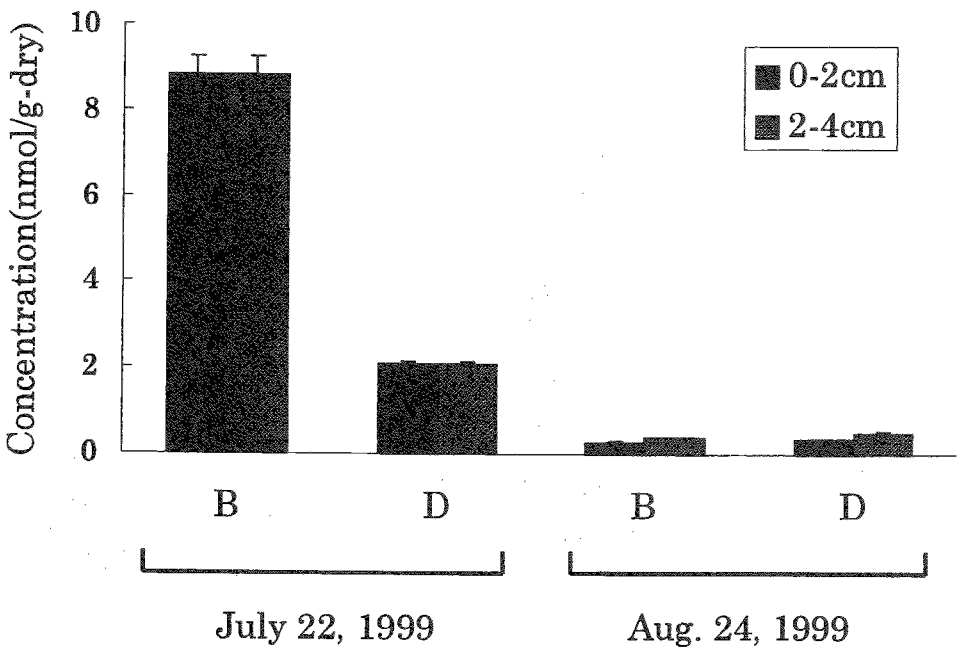


図29 多摩川下流・河口域B地点とD地点の表層堆積物
0-2cm層と2-4cm層中のNPE₁濃度

これは、8月のサンプリングの10日前、8月14日の豪雨により河川流量が増加し、表層堆積物が流失されたためと考えられた。このことは、多摩川河口域の堆積物中のNPおよびNPE₁が流量の増加により東京湾に容易に負荷されていることを意味する。また、堆積物中のNPおよびNPE₁濃度は、同時期であっても試料採取地点によっても大きく異なることが観察された。

汽水域であるSta. DおよびEにおいて、堆積物中の顕著な濃度の上昇は見られなかったことから、NPおよびNPE₁が堆積物中に高濃度で検出された原因は塩類の効果によるものではないと考えられた。そこで、採取された堆積物を、粒度63 μ m以下の粘土およびシルト分画と粒度が63 μ m以上の分画に分け、それぞれの割合を求めた(表1)。この結果から、多摩川河口域の堆積物

表1 多摩川下流・河口域5地点における河床表層堆積物中の粘土・シルト分画の割合の季節変動

Sampling date	Site No.	Sand (%)	Clay and silt (%)
Feb. 5	A	100.0	0.0
	B	29.1	70.9
	C	76.8	23.2
	D	20.8	79.2
	E	72.5	27.5
Apr. 29	A	100.0	0.0
	B	76.1	23.9
	C	84.5	15.5
	D	63.0	37.0
	E	65.2	34.8
July 22	A	100.0	0.0
	B	45.5	54.5
	C	95.0	5.0
	D	50.9	49.1
	E	24.0	76.0
Aug. 24	A	100.0	0.0
	B	87.0	13.0
	C	95.2	4.8
	D	3.6	96.4
	E	50.0	50.0
Oct. 29	A	100.0	0.0
	B	21.9	78.1
	C	58.3	41.7
	D	50.8	49.2
	E	43.0	57.0

はサンプリング地点によって粒度が異なっており、粘土およびシルト分画の割合が大きいほど NP および NPE_1 濃度が高くなる傾向が見られた。1999 年 8 月は河川流量の増加による濃度の低下が見られたため、8 月のデータを除いた全試料中の粘土およびシルト分画の割合と、NP および NPE_1 濃度との相関関係を検討した。NP および NPE_1 濃度は全堆積物中の粘土およびシルト分画の割合と弱い正の相関を示しており、相関係数は NP で $r=0.58$ (例えば、図 30)、 NPE_1 で $r=0.51$ であった。t 検定によるこれらの相関係数の信頼限界は共に 95% 以上であり、このことから NP および NPE_1 は粘土およびシルト分画粒子に吸着して、沈降したらしいことが示唆された。また、堆積物の粒度分布は 1999 年 7 月と 1999 年 8 月との間で大きな違いが見られた。このことは、河川流量の増加により多摩川河口域の表層堆積物が東京湾へと流失されていることを示唆し、表層堆積物の粒度は降雨量の影響を強く受けていることが明かとなった。

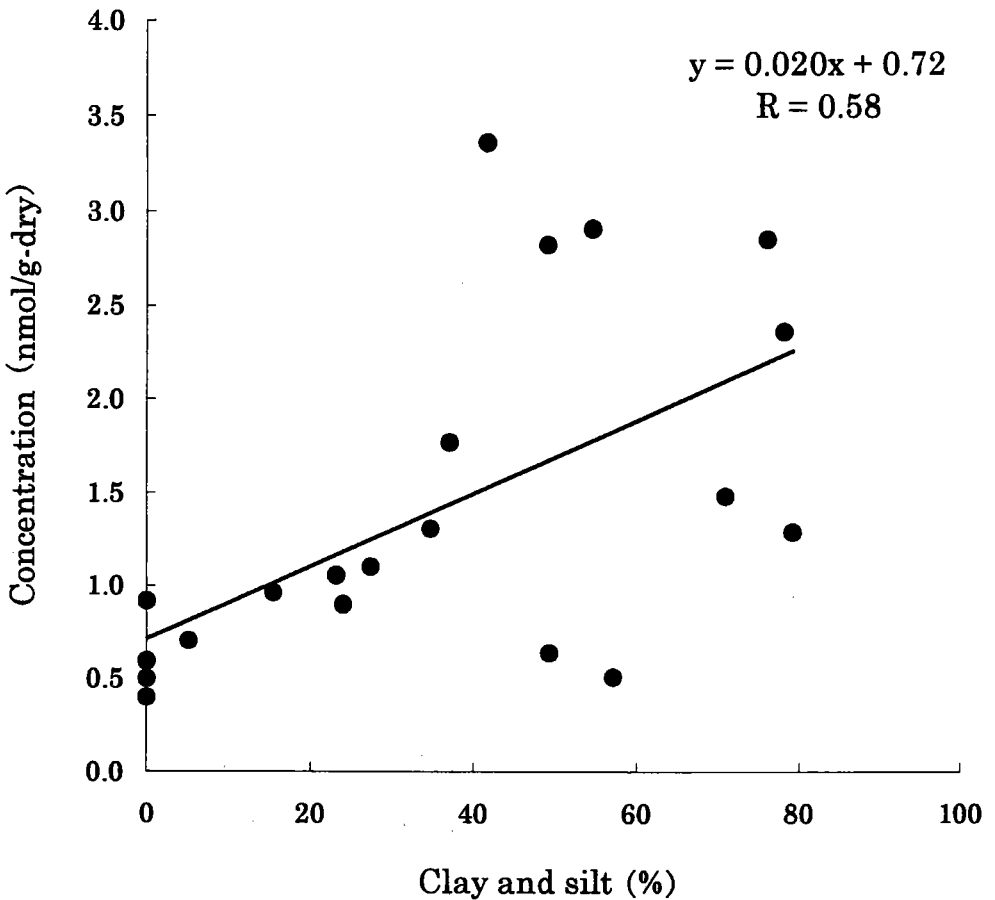


図30 表層堆積物中の粘土・シルト分画の割合とNP濃度の関係

以上の結果から、NPE 分解物である NP および NPE_1 が水中よりも堆積物中に多く存在していることが確認され、堆積物の中でも粒度が $63\mu\text{m}$ 以下の粘土およびシルト分画に吸着されていることが示唆された。又、堆積物中の NP および NPE_1 は、多摩川河口域では洪水等により東京湾に容易に負荷されていることが推測された。

II-4 総合考察

本研究により明らかにされた多摩川河口域を中心とする下流域河川及び河口域における NPE、NP および NPE_1 の挙動の模式図を図 31 に示した。

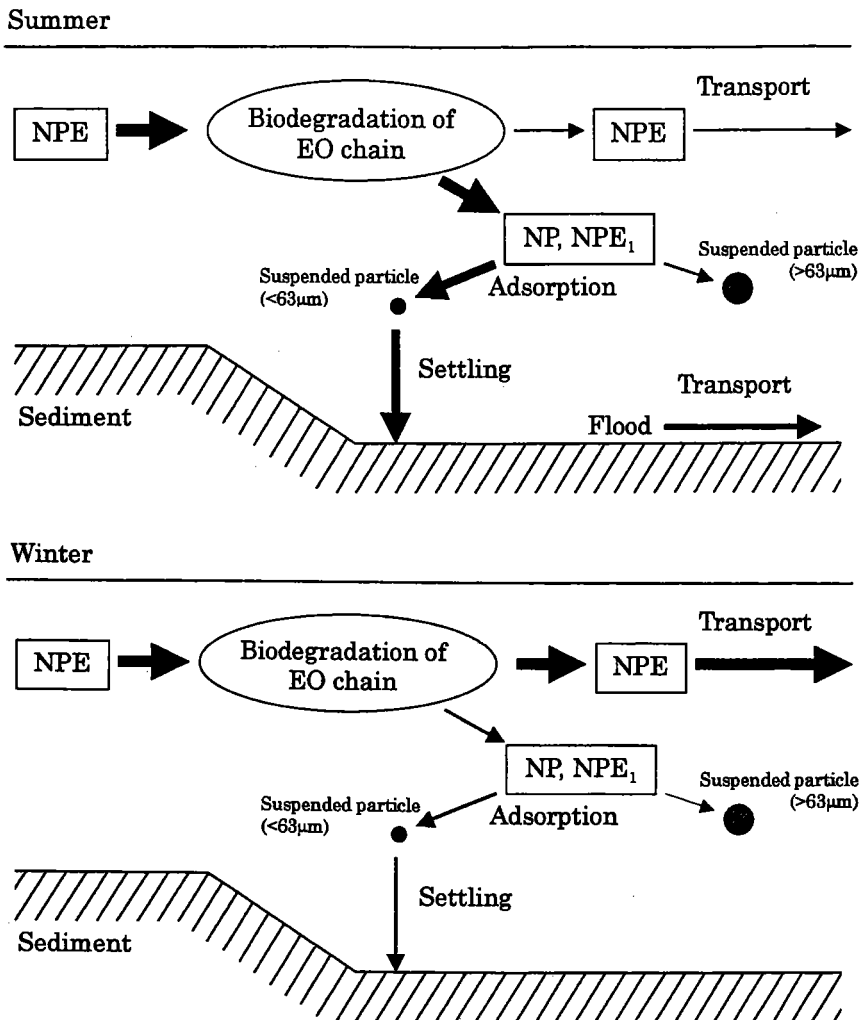


図31 多摩川下流・河口域におけるNPE、 NPE_1 、NPの挙動モデル
上：夏季、下：冬季

多摩川河川水中の NPE 濃度および EO 付加モル数組成は、夏季に低く、冬季に高い傾向を示し、季節により変化していることが明らかになった。NPE の EO 付加モル数組成分布のピークは、夏季では 2-5 が、冬季では 5-9 であった。この季節変化は水温による微生物活性の差が主因となっていることが推察されたため、河川水を用いて、NPE の生分解確認実験を行った。その結果、NPE 濃度および EO 付加モル数組成の季節変化の主因が水温の違いによる微生物活動の変化に基づくものであることが確認された。

多摩川河口域において河川水中の NPE 濃度および EO 付加モル数組成は、汽水域では冬季であっても NPE の EO 鎖の分解が進行しつつあり、EO 付加モル数組成の中心が 2-4 になっていた。しかし、NPE 濃度には顕著な変化が見られなかった。また、NPE 分解物である NP および NPE_1 の河川水、懸濁物および堆積物中の濃度を測定したところ、水中よりも懸濁物および堆積物中に多く存在していた。これらのことから、NPE は、夏季にはほとんどの EO 基が分解脱離され、NP および NPE_1 が生成され、更にそれらが懸濁物に吸着・沈降し、冬季にはほとんど EO 基は分解されず、東京湾に輸送されていることが明らかになった。

多摩川河口域の表層堆積物中の NP および NPE_1 濃度は、季節による変化は見られなかったが、1999 年 7 月と 1999 年 8 月との間で著しい変化が観察された。これは、8 月中旬の豪雨による河川流量の増加が、表層堆積物を東京湾へと消失させたと考えられた。多摩川河口域では河川流量の増加により、表層堆積物中の NP および NPE_1 が東京湾に流入負荷されていることが示唆された。多摩川下流・河口域の堆積物中の NP および NPE_1 濃度は、地点によって大きく異なることが観察され、粒度 $63\mu\text{m}$ 以下の粘土およびシルト分画の割合が高い堆積物中において、両者の濃度が高い傾向を示した。このことは、河川水中の NPE は、微生物による分解を受け、EO 鎖長の減少と共に、NP および NPE_1 が生成され、粒度の小さい粘土およびシルト粒子に吸着して、河床に沈降して、堆積物に蓄積されていることが推測された。

引用文献

- (1) 中村好伸 (1998) : 界面活性剤—歴史、種類と性質、用途 水環境学会誌, 21, 192-195.
- (2) R. Benner (1997) : European bans on surfactant tigger trans-atlantic debate. *Environ. Sci. Technol.* 31, 316A-320A.
- (3) M. Ahel, W. Giger and M. Koch (1994) : Behavior of alkylphenol polyethoxylate surfactants in the aquatic environment- I . Occurrence and transformation in sewage treatment. *Wat. Res.*, 28, 1131-1142.
- (4) A. D. Corcia and R. Samperi (1994) : Monitoring aromatic surfactants and their biodegradation intermediates in raw and treatment sewages by solid-phase extraction and liquid chromatography. *Environ. Sci. Technol.*, 28, 850-858.
- (5) M. H. I. Comber, T. D. Williams and K. M. Stewart (1993) : The effect of nonylphenol on *Daphnia magna*. *Wat. Res.*, 27, 273-276.
- (6) D. Wahlberg, L. Rengerg and U. Wideqvist (1990) Determination of nonylphenol and nonylphenol polyethoxylates as their pentafluorobenzoates in water, sewage sludge and biota. *Chemosphere*, 20, 179-195.
- (7) F. W. Jones and D. J. Westmoreland (1998) : Degradation of nonylphenol ethoxylates during the composting of sludges from wool scour effluents. *Environ. Sci. Technol.*, 32, 2623-2627.
- (8) M. Sekela, R. Brewer, G. Moyle and T. Tuominen (1999) : Occurrence of an environmental estrogen (4-nonylphenol) in sewage treatment plant effluent and the aquatic receiving environment. *Wat. Sci. Tech.*, 39, 217-220.
- (9) H. Hawrelak, E. Bennett and C. Metcalfe (1999) : The environmental fate of the primary degradation products of alkylphenol ethoxylate surfactants in recycled paper sludge. *Chemosphere*, 39, 745-752.
- (10) M. A. Manzano, J. A. Perales, D. Sales and J. M. Quiroga (1999) : The effect of temperature on the biodegradation of a nonylphenol polyethoxylate in river water. *Water. Res.*, 33, 2593-2600.

- (11) F. W. Jones and D. J. Westmoreland (1999) : Removal of wool wax, nonylphenol ethoxylates and pesticide residues from wool scour effluent. *Wat. Res.*, **33**, 1775-1780.
- (12) H. B. Lee and T. E. Peart (1995) : Determination of 4-nonylphenol in effluent and sewage treatment plant. *Anal. Chem.*, **67**, 1976-1980.
- (13) W. Giger, P. H. Brunner and C. Schaffner (1984) : 4-nonylphenol in sewage sludge : Accumulation of toxic metabolites from nonionic surfac-tants. *Science*, **225**, 623-625.
- (14) 磯部友彦, 佐藤正章, 小倉紀雄, 高田秀重 (1999) : GC-MS を用いたノニルフェノールの分析と東京周辺の水環境中における分布. *水環境学会誌*. **22**, 118-126.
- (15) 磯部友彦, 高田秀重 (1998) : 水環境中におけるノニルフェノールの挙動と環境影響. *水環境学会誌*, **21**, 203-208.
- (16) J. A. Field and R. L. Reed (1996) : Nonylphenol polyethoxy carboxylate metabolites of nonionic surfactants in U.S. paper mill effluents, municipal sewage treatment plant effluents, and river waters. *Environ. Sci. Technol.*, **30**, 3544-3550.
- (17) M. Ahel, T. Conrad and W. Giger (1987) : Persistent organic chemicals in sewage effluents. 3. Determinations of nonylphenoxy carboxylic acids by high-resolution gas chromatography/mass spectrometry and high-performance liquid chromatography. *Environ. Sci. Technol.*, **21**, 696-703.
- (18) H. Maki, H. Okamura, I. Aoyama and M. Fujita (1998) : Halogen-ation and toxicity of the biodegradation products of a nonionic surfactant, nonylphenol ethoxylate. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **17**, 650-654.
- (19) M. Ahel, W. Giger and C. Schaffner (1994) : Behavior of alkyl-phenol polyethoxyate surfactants in the aquatic environment- II . Occurrence and transformation in river, *Wat. Res.*, **28**, 1143-1152.
- (20) C. G. Naylor, J. P. Mieure, W. J. Adams, J. A. Weeks, F. J. Castaldi, L. D. Ogle and R. R. Romano (1992) : Alkylphenol ethoxylates in the environment. *J. Amer. Oil Chem.Soc.*, **69**, 695-703.
- (21) R. Kvestak, S. Terzic and M. Ahel (1994) : Input and distribution of alkylphenol polyethoxylates in a stratified estuary. *Marine Chem.*, **46**, 89-100.
- (22) A. Marcomini, B. Pavoni, A. Sfriso and A. A. Orio (1990) : Persistent metabolites of alkylphenol polyethoxylates in the marine environment. *Marine Chem.*, **29**, 307-323.

- (23) D. Y. Shang, R. W. Macdonald and M. G. Ikonomou (1999) : Persistence of nonylphenol ethoxylate surfactants and their primary degradation products in sediments from near a municipal outfall in the Strait of Georgia, British Columbia, Canada. *Environ. Sci. Technol.*, **33**, 1366-1372.
- (24) M. Ahel, C. Schaffner and W. Giger (1996) : Behavior of alkylphenol polyethoxylate surfactants in the aquatic environment-III. Occurrence and elimination of their persistent metabolites during infiltration of river water to groundwater. *Wat. Res.*, **30**, 37-46.
- (25) M. A. Blackburn and M. J. Waldock (1995) : Concentrations of alkylphenols in rivers and estuaries in England and Wales, *Wat. Res.*, **29**, 1623-1629.
- (26) M. Ahel and W. Giger (1985) : Determination of alkylphenol mono- and diethoxylates in environmental samples by high-performance liquid chromatography. *Anal. Chem.*, **57**, 1577-1583.
- (27) M. A. Blackburn, S. J. Kirby and M. J. Waldock (1999) : Concentrations of alkylphenol polyethoxylates entering UK estuaries. *Mar Pollut. Bull.*, **38**, 109-118.
- (28) J. Dachs, D. A. Van Ry and S. J. Eisenreich (1999) : Occurrence of estrogenic nonylphenols in the urban and coastal atmosphere of the lower Hudson River estuary, *Environ. Sci. Technol.*, **33**, 2676-2679.
- (29) 小島節子, 渡辺正敏 (1998) : 名古屋市内の水環境中のアルキルフェノールポリエトキシレート (APE) および分解生成物の挙動. *水環境学会誌*, **21**, 302-309.
- (30) C. A. Staples, J. Weeks, J. F. hall and Carter G. Naylor (1998) : Evaluation of aquatic toxicity and bioaccumulation of C8- and C9-alkylphenol ethoxylates. *Environ. Toxicol. Chem.*, **17**, 2470-2480.
- (31) A. M. Soto, H. Justicia, J. W. Wray and C. Sonnenschein (1991) : *p*-Nonylphenol : An estrogenic xenobiotic released from "modified" polystyrene. *Environ. Health Perspec.*, **92**, 167-173.
- (32) J. E. Harries, D. A. Sheahan, S. Jobling, P. Matthiessen, P. Neall, J. P. Sumpter, T. Tylor and N. Zaman (1997) : Estrogenic activity in five United Kingdom rivers detected by measurement of vitellogenesis in caged male trout. *Environ. Toxicol. Chem.*, **16**, 534-542.
- (33) S. Jobling, D. Sheahan, J. A. Osborne, P. Matthiessen and J. P. Sumpter (1996) : Inhibition of testicular growth in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to estrogenic alkylphenolic chemicals. *Environ. Toxicol.*

- Chem.*, 15, 194-202.
- (34) S. Jobling and J. P. Sumpter (1993) : Detergent compounds in sewage effluent are weakly oestrogenic to fish : An in vitro study using rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes. *Aqatic Toxicol.*, 27, 361-372.
- (35) R. White, S. Jobling, S. A. Hoare, J. P. Sumpter and M. G. Parker (1994) : Environmentally persistent alkylphenolic compounds are estrogenic. *Endocrinology*, 135, 75-182.
- (36) E. J. Routledge and J. P. Sumpter (1996) : Estrogenic activity of surfactants and some of their degradation products assessed using a recombinant yeast screen. *Environ. Toxicol. Chem.*, 15, 241-248.
- (37) C. E. Purdom, P. A. Hardiman, V. J. Bye, N. C. Eno, C. R. Tyler and J. P. Sumpter (1994) : Estrogenic effects of effluents from sewage treatment works. *Chem. Ecology*, 8, 275-285.
- (38) M. A. Gray and C. D. Metcalfe (1997) : Induction of testisova Japanese Medaka (*Oryzias Latipes*) exposed to p-nonylphenol. *Environ. Toxicol. Chem.*, 16, 1082-1086.
- (39) A. Lindsey Ashfield, T. G. Pottinger and J. P. Sumpter (1998) : Exposure of female juvenile rainbow trout to alkylphenolic compounds results in modifications to growth and ovosomaticindex. *Environ. Toxicol. Chem.*, 17, 679-686.
- (40) K. Liber, M. L. Knuth and F. S. Stay (1999) : An integrated evaluation of the persistence and effects of 4-nonylphenol in an experimental ecosystem. *Environ. Toxicol. Chem.*, 18, 357-362.
- (41) C. M. Lye, C. L. J. Frid, M. E. Gill, D. W. Cooper and D. M. Jones (1999) : Estrogenic alkylphenols in fish tissues, sediments, and waters from the U. K. Tyne and Tees estuaries. *Environ. Sci. Technol.*, 33, 1009-1014.
- (42) T. Yamagishi, S. Hashimoto and A. Otsuki (1998) : Tentative identification of persistent poly (glycidyl) monofluoro-octylphenyl ether nonionic surfactant in river waters and effluent from a secondary wastewater treatment plant. *Environ. Toxicol. Chem.*, 17, 670-674.
- (43) A. Otsuki and H. Shiraishi (1979) : Determination of poly (oxyethylene) alkylphenyl ether nonionic surfactants in water at trace levels by reversed phase adsorption liquid chromatography and field desorption mass spectrometry. *Anal. Chem.*, 51, 2329-2332.

- (44) H. Kumata, H. Takada and N. Ogura (1996) : Determination of 2- (4-morpholinyl) benzothiazole in environmental samples by a gas chromatograph equipped with a flame photometric detector. *Anal. Chem.*, **68**, 1976-1981.
- (45) K. Maruyama, M. Yuan and A. Otsuki (2000) : Seasonal changes in ethylene oxide chain length of poly (oxyethylene) alkylphenyl ether nonionic surfactants in three main rivers in Tokyo. *Environ. Sci. Technol.*, **34**, 343-348.

まとめ

多摩川河口・下流域における有機スズ汚染、特にブチルスズ化合物汚染は複雑で、毒性が高い TBT 汚染は、東京湾海水の遡上によって、巻貝等のインゴセックスを引き起こす濃度に達することが明らかになった。他方、DBT および MBT は、むしろ陸上起源であり、河口域から上流に向けて、濃度が増加することが観察された。後者は、塩化ビニール樹脂の安定剤として添加されたものが、溶出してきているものと推察された。

APE に関しては、多摩川河川水から検出・定量されたのは NPE のみであった。下流・河口域における河川水中の濃度は、2~15 nmol/L の範囲であり、毒性が高いとされる分解生成物である NP および NPE₁ 濃度は、それぞれ 0.25~1.15 nmol/L、0.25~1.62 nmol/L であり、重量換算すると数十~数百 ppt の範囲であった。しかしながら、河口域の表層堆積物中には、かなり蓄積されており、数十~数百 ppb のレベルであった。これらの濃度が、魚介類に内分泌攪乱現象を引き起こすかは今後の問題である。河口域で採取されたマコカレイの血清中の Vg 濃度が、汚染の殆どないと考えられる北海道知内沖のマコカレイのそれと比較して、高い値がえられたが、検体数が少ないため、今後の研究が必要である。

「た ま が わ か こ う 多摩川河口・か り 下 流域の魚介類_{ぎょかいりゆう}内分泌_{ないぶんび}攪乱_{かくらん}物質_{ぶつしつ}汚染_{おせん}に関する研究_{けんきゆう}」
あ り (有機_{あ り}スズ化合物_{かごうぶつ}とポリオキシエチレンアルキルフェニールエーテル系_{けい}中性_{ちゆうせい}洗剤_{せんざい})

(研究助成・学術研究 VOL. 29-No.209)

著 者 お お 大 つ き 槻 あ き ら 晃
発行日 2001年3月31日
発 行 財団法人 と う き ゅ う 環境浄化財団
〒150-0002
渋谷区渋谷1-16-14 (渋谷地下鉄ビル内)
TEL (03)3400-9142
FAX (03)3400-9141
