

多摩川及び東京湾から外洋域における
難分解性有機汚染物質の分布と運命予測

2005年

藤原 祺多夫
東京薬科大学生命科学部 教授

本報告書は平成15年度、16年度の助成金で研究した、多環式芳香族炭化水素（PAHs）を中心とする難分解性有機環境汚染物質（POPs）の分布を中心に研究報告したまとめである。PAHsは燃焼由来の、環境ホルモン作用、発癌性などの作用を持つ有機汚染物質であり、POPsに分類されない場合もあるが、Andrea Gambaro等によれば、POPsの一つとして取り上げられている（*Environ.Sci. Technol.*(2004), 38, 5357-5364）。本報告書では第1章は多摩川河口域におけるPAHsの除去過程の研究、第2章はこうしたPAHsが河川などの水環境中で、とくに太陽光などによってどのような化合物に分解してゆくかを調べた。すなわち環境汚染物質の運命予測とも言うべき研究である。第3章はこうした分解にかかわる物質として、太陽光誘起活性酸素種が考えられるが、フローインジェクション分析法をもちい、活性酸素種の一つであるスーパーオキシド陰イオンの多摩川での寿命測定の報告である。第4章は環境ホルモンアルキルフェノールの多摩川での分布も報告した。なお外洋域については現在も研究が進行しており、以下の概要に示す結果のみ得られている。

概要

多環式芳香族炭化水素（以下PAHsと略）は、難分解性有機汚染物質の一つとして、発癌性、環境ホルモン作用などの点から取り上げられている（例えば Andrea et al. *Environ. Sci. Technol.* 38, 5357-5364 (2004)）。PAHsは燃焼由来物質とされているが、とくに道路からのrun-offによる供給が、都市近郊では重要であると考え、溶存態においては多摩川、東京湾、及び太平洋外洋域についてその濃度を測定した。また多摩川については懸濁態についてもその河口域における除去過程を検討した。多摩川については、溶存態で5-50, 懸濁態で100-700 ng/Lを測定した。相模湾沖及び外洋域については海水100Lを2連のポリウレタンフォームに吸着して測定した。その結果相模湾表層海水で3-5環のPAHsについて、2, 300 pg/L、また赤道付近の海水から3-7環について100-318 pg/LのPAHsを測定した。またPAHsの太陽光分解によって生成する化合物についても同定した。

目 次

第1章 多摩川河口域におけるPAHsの除去過程の研究	1
1. 緒言	1
1-1. 背景	1
1-2. 目的	1
2. 試料	3
2-1. 調査値概要	3
2-2. 試料	4
3. 分析方法	7
3-1. 分析試薬および実験器具	7
3-2. 試料分析	8
3-3. 分析操作	9
4. 分析方法の検討	11
4-1. 分析方法における回収率の検討	11
4-2. 実験再現性の検討	11
5. 結果及び考察	13
5-1. PAHsの濃度分布	13
5-1-1. 多摩川田園調布堰におけるPAHs濃度	13
5-1-2. 多摩川河口域におけるPAHs濃度	15
5-1-3. 多摩川河口域堆積物中のPAHs濃度	17
5-2. 河口域における除去	18
5-2-1. 多摩川田園調布堰におけるPAHsの年間通過量	18
5-2-2. 多摩川河口域における除去	20
5-3. 発生源の推定	21
5-4. 毒性評価	25
6. 総括	30
7. 参考文献	32
第2章 多環式芳香族炭化水素の太陽光光分解に関する研究	34
第3章 フローインジェクション法に基づくスーパーオキシド陰イオンの天然 水中での寿命測定と、多摩川河川水への応用	38
第4章 多摩川におけるアルキルフェノール類（ノニルフェノール、 オクチルフェノール）の測定	52

第1章 多摩川河口域におけるPAHsの除去過程の研究

1. 緒言

1-1. 背景

近年、人類による自然環境への様々な汚染が深刻な問題となっている。特に産業革命以降、エネルギー源として化石燃料が使用され、様々な分野で我々の生活を豊かなものにしてきた。その一方で、後進国の工業化や各国における自動車使用量の増加に伴い、大気中に放出される排ガス量が年々増加し、我々に様々な影響を及ぼしている。このような事態に伴い、現在、問題となっている一つに排気ガスとして環境中に放出される有害物質による人体への影響が懸念されている。

その中でも本研究では、近年着目されている化石燃料の燃焼に伴い発生する多環芳香族炭化水素 (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons:PAHs) について注目した。PAHs の中には発ガン性やホルモン類似作用を引き起こすものが確認されており、これらの環境中における挙動を調べることは重要であると考えられる。

PAHs の主な発生源としては、自動車や工場の排気ガス、家庭用暖房器具、バイオマス燃焼等が挙げられる。発生源としては石油・石炭の不完全燃焼由来のものがほとんどを占め、人為的な燃焼活動が原因となっている。

燃焼により大気中に放出された PAHs は、大気中に停滞しているときに一部が雨水に溶解し、雨として地表に降り注ぐ(deposition)。地表に降り注いだ PAHs は、雨水が集合し、やがて河川として海に流れる。PAHs の水環境への進入経路として、前述した経路の他に、自動車から漏れた油、道路上に落ちた自動車排出粒子等の雨水による運搬(stormwater runoff)がある。河川水と海水が混じりあう河口域では、塩分の増加による凝集・沈降によって PAHs が河底で堆積物として蓄積されることにより自然浄化されていると考えられている。そこで本研究では、水環境における PAHs の挙動について着目した。

1-2. 目的

・目的(1)

本研究では多摩川河口域における PAHs の分布と除去に注目する。多摩川田園調布堰と河口域各地点の PAHs 濃度分布を測定し、河口域における除去過程を調べることにより、その動態を明らかにする。さらに、田園調布堰における PAHs 年間通過量を試算する。また、河口域での PAHs の分布から除去率を算出

することにより、試算した PAHs 年間通過量から、河口域における PAHs 年間除去量を試算する。

・目的(2)

既存の研究では、PAHs の起源推定は methylphenanthrene/phenanthrene (=MP/P) 比を検討することにより行われていた。化石燃料の燃焼生成物では MP/P 比が 1 以下の値を示し、ガソリン、アスファルト、軽油などの石油製品では 2 以上の値を示すことが知られている (Youngblood and Blumer, 1975 ; Prah1 *et al.*, 1984 ; Takada *et al.*, 1990)。この手法による起源推定によると、東京近辺においては石油流出起源由来の PAHs に強く影響を受けていることが示唆された。また、東京湾の堆積物は燃焼起源由来が主であることが示唆された。

しかし、近年、異性体比の検討による起源識別手法が確立された (Yunker *et al.*, 2002)。この手法では試料中の PAHs の異性体比を検討することにより、PAHs の起源推定をする。この手法では、石油燃焼・バイオマス燃焼・石油流出由来のいずれであるかといった、より正確な PAHs 起源が推定できることが確認されている。試料中の PAHs 組成は時間経過とともに変化するが、分子量が同じである異性体同士の組成比の変化はほとんど起こらない。すなわち、異性体比を用いることにより、PAHs 起源の推定をすることが可能であると考えられている。よって、異性体比の検討により、東京における PAHs 起源を確認することを目的とする。

2. 試料

2-1. 調査値概要

多摩川は山梨県塩山市の筈取山から発し、多くの支流を合わせ、東京湾に注ぐ、全長 138km（中下流 46km）、流域面積 1240km²、流域内人口 425 万人の一級河川である。河口域付近には京浜工業地帯が併設し、工場排水による影響を受けている。

多摩川河口域（汽水域）は河口から 16.8km 上流にある田園調布堰までの範囲で、海水の流入は田園調布堰で止められており、田園調布堰より上流の河川水は海水の流入による影響を受けていない。河口域では海水の流入による塩分の上昇が起きている。塩分の上昇による有機物の凝集・沈降が起こり、堆積物として河底に蓄積される。このように河口域は河川の上流・中流に対して特殊な環境であるので、本研究では調査対象地を多摩川田園調布堰と河口域にした。

試料採取地点を Fig. 2-1 に図示した。田園調布堰を TR-0 とし、下流に下るに従い、各地点を TR-1～9 とした。

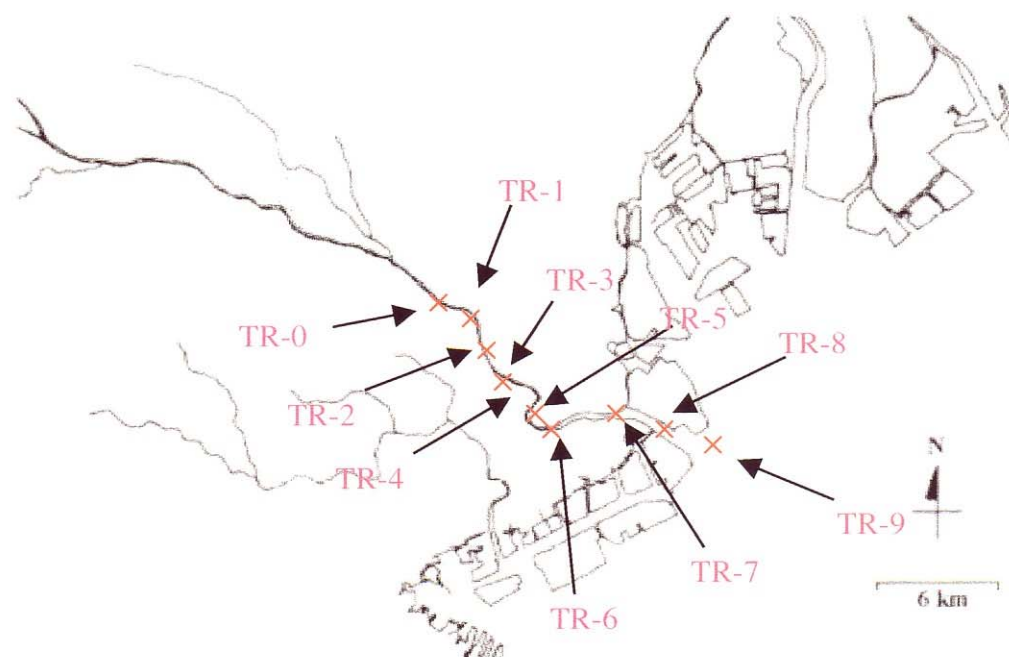


Fig. 2-1 河口域における試料採取地点

2-2. 試料

2-2-1. 懸濁態試料

2004.5.28～2004.12.14 に著者らが多摩川田園調布堰（TR-0）、多摩川河口域（TR-2～7 の計 6 地点）において採取した。採取方法としては、河川表層水をガラス繊維ろ紙（Whatman GF/F, $\phi 0.7 \mu\text{m}$ ）を用いてろ過をおこなった際に、GF/F 上に保持された懸濁粒子（ $> 0.7 \mu\text{m}$ ）を懸濁態試料とした。ろ過後の GF/F はアルミホイルで包み、ジッパー付きビニール袋に入れて、氷冷しながら暗条件で研究室に持ち帰り、抽出を行うまで -30°C で冷凍保存した。

試料採取時期、水質については Table. 2-2-1,2 に示した。

2-2-2. 溶存態試料

2004.5.28～2004.12.14 に著者らが多摩川田園調布堰（TR-0）、多摩川河口域（TR-2～7 の計 6 地点）において採取した。各地点で、採取時に水温、pH を HORIBA 製作所のガラス電極式水素濃度計（D-21）を用いて、電気伝導度、塩分濃度を HROBA 製作所の導伝率計（ES14 モデル）を用いて測定した。

採取方法としては、河川表層水をガラス繊維ろ紙（Whatman GF/F, $\phi 0.7 \mu\text{m}$ ）を用いてろ過をおこなったろ液を溶存態試料（ $< 0.7 \mu\text{m}$ ）とした。試料採取後、直ちに褐色ガラス瓶に入れ、氷冷しながら暗条件で研究室に持ち帰った。溶存態試料中の分析対象物質が生物分解されることを防ぐために、1M 塩酸を加え、pH4 以下に調製し、抽出を行うまで 4°C で冷蔵保存した。

試料採取時期、水質については Table. 1,2 に示した。

Table. 2-2-1 多摩川田園調布堰における試料採取時期

日時	塩分 (‰)	電動度 (ms/cm)	pH	懸濁粒子濃度 (mg/L)
2004.5.28	0.4	0.323	9.11	2.6
2004.6.30				2.2
2004.9.17	0.4	0.315	9.32	2.2
2004.10.15	0.3	0.499	7.91	28
2004.11.11	0.3	0.294	7.63	8.8
2004.11.26	0.3	0.280	8.69	3.9
2004.12.14	0.3	0.289	8.01	2.5

Table. 2-2-2 多摩川河口域試料採取地点 (2004.10.15)

地点名	所在地	田園調布堰か らの距離(km)	塩分 (‰)	電動度 (ms/cm)	pH	懸濁粒子濃度 (mg/L)
TR-2	戸出ポンプ場付近	7.0	0.3	0.189	7.70	12.99
TR-3	六郷橋直下	8.4	0.6	0.669	7.65	10.56
TR-4	川崎大師駅付近	9.6	0.2	5.27	7.45	29.76
TR-5	大師大橋直下	10.8	6.0	10.91	7.78	16.63
TR-6	羽田駅付近	12.0	12.4	22.1	7.84	16.98
TR-7	花王川崎工場付近	14.4	17.1	29.6	7.89	12.04

2-3-3. 堆積物試料

2002.6.13 に長南らによって採取された多摩川河口域堆積物試料（採取地点はTR-1,3~7,9 の7地点）を使用した。採取方法としては、エックマン採泥器（20cm×20cm×20cm）を用いて、船上から採泥した。採泥した泥はテフロンライナー付きのステンレス製タッパーに入れて氷冷しながら暗条件で研究室に持ち帰り、分析まで-30℃で冷凍保存した。

試料採取時期、水質については Table. 2-2-3 に示した。

Table.2-2-3 多摩川河口域堆積物試料採取地点（2002.6.13）

地点名	所在地	河口からの 距離 (km)	塩分 (‰)	電動度 (ms/cm)	pH	懸濁粒子濃度 (mg/L)
TR-1	多摩川大橋付近	-10.2	1.3	2.08	3.09	6.51
TR-3	六郷橋	-9.8	3.9	7.17	3.08	2.31
TR-4	川崎大師駅付近	-7.2	4.7	8.74	3.13	1.37
TR-5	大師大橋	-6.0	9.7	17.65	3.10	3.02
TR-6	羽田駅付近	-4.8	10.0	17.86	7.32	2.75
TR-7	花王川崎工場	-2.4	13.8	23.7	7.51	3.29
TR-9	多摩川トンネル付近	0	17.5	29.8	7.81	3.56

3. 分析方法

3-1. 分析試薬および実験器具

分析の際に使用した試薬を示す。

n-ヘキサン：Wako, for HPLC

ジクロロメタン：Wako, for HPLC

アセトン：Wako, for HPLC

メタノール：Wako, for HPLC

蒸留水：Wako, for HPLC

ジメチルホルムアミド (DMF)：SIGMA-ALDRICH, for HPLC grade

n-ペンタン：SIGMA-ALDRICH, for HPLC grade

DMF は重量に対し、5%蒸留水を加え、5%不活性化させて使用した。

無水硫酸ナトリウム：Wako

ガラス繊維円筒ろ紙：ADVANTEC 86R, 40 φ × 150mm, 28 φ × 100mm

ガラス繊維ろ紙：Whatman GF/F, φ 0.7 μ m

ガラス製パスツールピペット：IWAKI, IK-PAS-9P& IK-PAS-5P

試験管：IWAKI, TST-SCR16-125, 16×125m/m

石英ウール：fine

SPE カートリッジ：Water, Sep-Pak Plus

シリカゲル：Davison Chemical Corp. , F.C.(No923) 100-200mesh

その他に実験に用いたガラス器具は、全て実験用洗剤で洗浄後、純水で洗浄し、90°Cで乾燥させた。乾燥させたガラス器具は使用前に n-ヘキサンで洗浄し、窒素ガスを吹き付けて乾燥させてから使用した。

ガラス繊維円筒ろ紙、ガラス繊維ろ紙はマッフル炉 450°Cで加熱処理し、デシケーター内で放冷後、秤量した。

シリカゲルはマッフル炉で 450°C、約 24 時間加熱処理し、重量に対して 10%の蒸留水を加えて 12 時間振り混ぜて均一化し、n-ヘキサンを加えて保存した。

3-2. 試料分析

分析手順を Fig. 3-2 に示した。

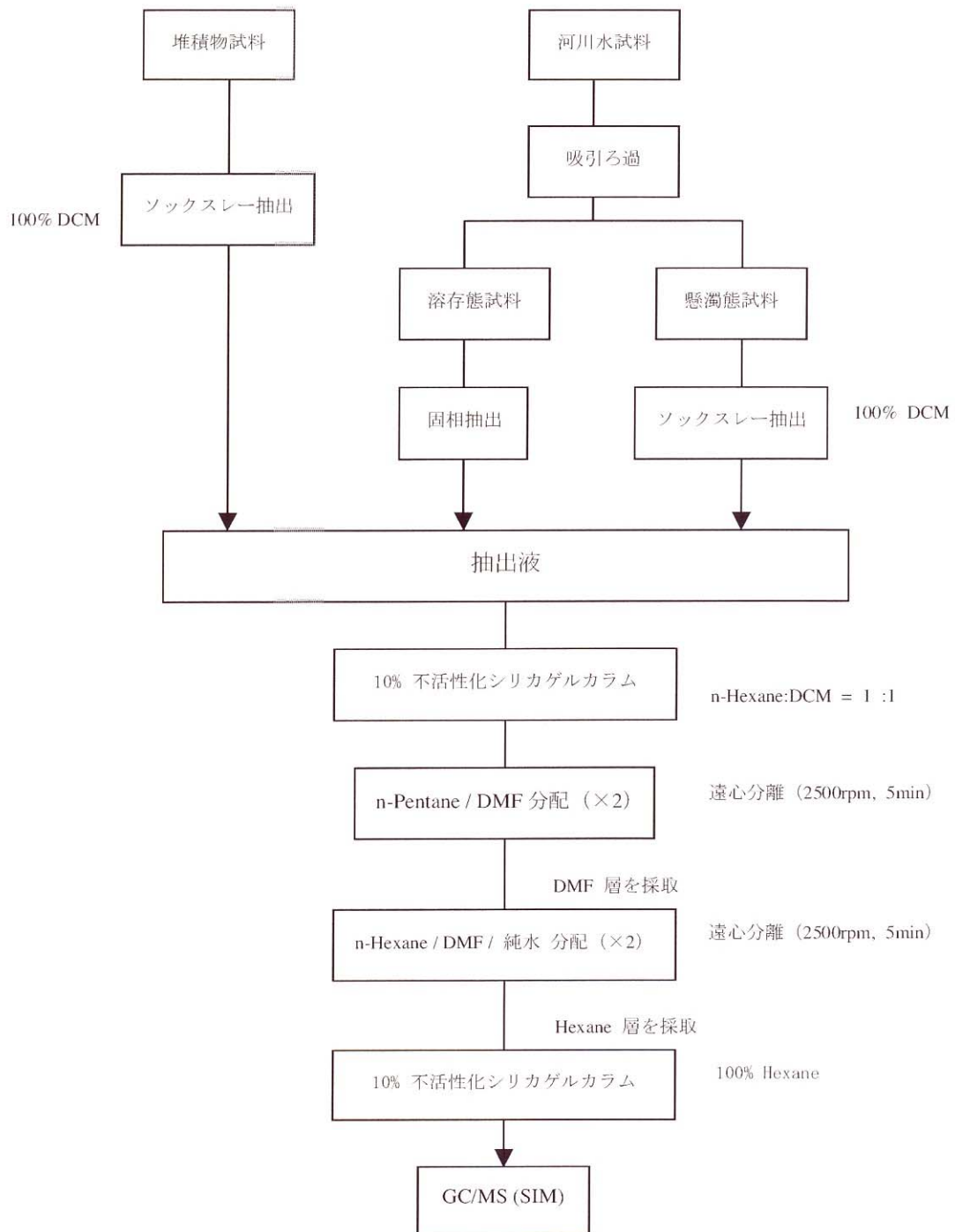


Fig 3-2. 実験操作のフローチャート

3-2-1. 懸濁対試料の抽出

凍結乾燥後、冷凍保存した試料の懸濁粒子重量を測定した後、試料を円筒ろ紙に入れて、DCM 約 30ml でソックスレー抽出 (15min/cycle) を 40cycle 行ない、堆積物試料の抽出液とした。抽出する際、d-PAHs (p-Terphenyl d-14) を加えた。

3-2-2. 溶存態試料の抽出

GF/F を用いたろ過により得たる液を SPE カートリッジによる固相抽出を行った。SPE カートリッジは使用前に注射塔を用いて、n-ヘキサン、DCM、メタノール、蒸留水の順で各 10mL ずつ流しコンディショニングを行った。ガラス製 2L 容リザーバーにコンディショニングした SPE カートリッジをセットし、試料を 20mL/min 以下の流速で通し、水中の化合物を吸着させた。試料を流しきった後、SPE カートリッジ内に残った水分を窒素ガスで押し出した。固相に吸着された化合物を DCM 20mL で溶出させた。溶出液は無水硫酸ナトリウムで脱水し、溶存態試料とした。抽出する際、d-PAHs を加えた。

3-2-3. 堆積物試料の抽出

凍結乾燥後、冷凍保存した試料 1-3g を量り、試料を円筒ろ紙に入れて、DCM 約 30ml でソックスレー抽出 (15min/cycle) を 40cycle 行ない、堆積物試料の抽出液とした。抽出する際、d-PAHs を加えた。

3-3. 分析操作

3-3-1. 10%不活性化シリカゲルカラムクロマトグラフィー (First Step)

パスツールピペット (IWAKI, IK-PAS-5P)、石英ウール、10%不活性化シリカゲルを用いてシリカゲルカラムを作った。試料をロータリーエバポレーターで濃縮後、窒素ガス吹き付けによりさらに濃縮し、Hexane/DCM[1:1] (10mL) で展開した。

3-3-2. DMF 分配および Hexane 分配

First Step で得た画分をロータリーエバポレーターで濃縮後、窒素ガス吹き付

けによりさらに濃縮し、Pentane (2mL) / 5%不活性化 DMF (2mL) を試験管に移し、攪拌後、遠心分離 (2500rpm, 5min) を行った。遠心分離後、分離した DMF 層を採取し、別の試験管に移した。残った Pentane 層に 5%不活性化 DMF (2mL) を加え、さらに遠心分離 (2500rpm, 5min) を行い、分離した DMF 層を採取し、別の試験管に移した。

採取した DMF 層に n-ヘキサン (2mL) /蒸留水 (4mL) を加え、攪拌後、遠心分離 (2500rpm, 5min) を行った。遠心分離後、分離したヘキサン層を採取し、別の試験管に移した。残った DMF/蒸留水層に n-ヘキサン (2mL) を加え、さらに遠心分離 (2500rpm, 5min) を行い、分離したヘキサン層を採取し、別の試験管に移した。

上記の操作で採取したヘキサン層に活性銅を少量加え、超音波 1-2 分により硫黄除去をおこなった。

3-3-3. 10%不活性化シリカゲルカラムクロマトグラフィー (Second Step)

硫黄除去後、ロータリーエバポレーターで濃縮後、窒素ガス吹き付けによりさらに濃縮し、シリカゲルカラムに n-ヘキサン (10mL) で展開した。得られた画分をロータリーエバポレーターで濃縮後、窒素ガス吹き付けによりさらに濃縮し、バイアルに移した。これを窒素ガス吹き付けで濃縮し、スクリーバイアルに移した。

3-3-4. 同定および定量

スクリーバイアルに移した画分のうち 2 μ L をガスクロマトグラフ質量分析計 (GC/MS) に導入して同定・定量した。測定は SIM. Mode で行った。測定値は回収率補正用内部標準物質 (*p*-Ter-phenyl d-14) の回収率により補正をおこなった。以下に GC/MS の使用条件を示す。

GC : Hewlett Packard HP5890 series II plus

質量分析計 : HP5972

カラム : J&W Scientific DB-5MS (length=35m, i.d=0.250mm)

キャリアーガス : ヘリウム (純度 : >99.9999%)

圧力 : 6.2psi、流量 : 0.7ml/min、線速度 : 28.3cm/sec

昇温条件 : 初期温度 70°C (5min 保持)

注入口温度 : 300°C、MS インターフェイス温度 : 310°C

4. 分析方法の検討

4-1. 分析方法における回収率の検討

3-3. に示した分析操作による回収率の確認をおこなった。多摩川堆積物 5.11g を DCM (139.04g) で抽出し、抽出液を定容し、これを標準試料とした。この標準試料の一部を分取し、回収率補正内部標準物質(*p*-Terphenyl- d_{14} :IS)を加え、これを 3-3. に示した分析操作により 2 連で分析し、IS の回収率確認をした。結果を Table.4-1 に表した。試料の回収率は 109%となったので、3-3. に示した分析操作で十分に分析できることが確認できた。

Table. 4-1 回収率の確認

	Sample.A	Sample.B
Recovery (%) [<i>p</i> -Terphenyl d_{14}]	109	109
相当する堆積物重量 (g)	1.000	1.000

4-2. 実験再現性の検討

多摩川堆積物抽出液を 3 つに分取した (Sample.C,D,E)。分取した抽出液に相当する堆積物重量を Table.4-2 に示した。これらを 3-3. に示した分析操作により、3 連で分析し、再現性と回収率を求めた。*p*-Terphenyl- d_{14} の回収率により、回収率補正した分析結果を Table.4-3 に示した。

この結果、変動係数 (C.V.) は anthracene : 20%, retene : 31%, benzo[b]fluorene : 35%, 2-methylpyrene : 36%, 1-methylpyrene : 35%, benzo[ghi]fluoranthene : 28%, cyclopenta [c,d] pyrene : 28%, coronene : 20% となり、やや高い値であったが、他は 11% 未満であり、再現性が確認できた。d-PAH 回収率は $81 \pm 0.16\%$ であった。これらの結果から、3-3. に示した分析操作で PAHs の分析が十分可能であると判断した。

Table. 4-2 分取した抽出液に相当する堆積物重量 (g)

	Sample. C	Sample. D	Sample. E
相当する堆積物重量 (g)	0.392	0.437	0.456

Table. 4-3 再現性の確認

compound name	sample.C	sample. D	sample.E	Average	標準偏差	変動係数 (c.v.)
naphthalene	24.96	20.21	21.66	22.28	2.43	11%
2-methlnaphthalene	15.52	12.93	13.96	14.145	1.31	9%
1,5-dimethylphenanthrene	9.43	7.77	8.15	8.45	0.87	10%
phenanthrene	113.16	129.39	101.97	114.84	13.79	12%
anthracene	29.60	21.17	21.35	24.04	4.82	20%
4H-cyclopentaphenanthrene	16.86	14.81	14.26	15.31	1.37	9%
3-MP	22.25	19.11	19.16	20.17	1.80	9%
2-MP	36.48	30.83	30.72	32.68	3.30	10%
9-MP	21.36	18.16	18.04	19.19	1.89	10%
1-methylphenanthrene	23.09	19.39	19.54	20.67	2.10	10%
fluoranthene	107.25	96.32	93.91	99.16	7.11	7%
pyrene	164.75	143.67	140.61	149.68	13.14	9%
retene	27.84	14.80	21.14	21.26	6.52	31%
Benzo[a]fluorene	21.07	19.63	19.14	19.95	1.00	5%
benzo[b]fluorene	9.36	4.42	8.35	7.38	2.61	35%
2-methylpyrene	8.19	3.78	7.06	6.34	2.29	36%
1-methylpyrene	5.67	2.51	4.71	4.30	1.62	38%
benzo[ghi]fluoranthene	18.03	18.69	10.72	15.81	4.42	28%
cyclopenta[c,d]pyrene	4.21	4.36	2.50	3.69	1.03	28%
benz[a]anthracene	70.24	65.82	64.02	66.70	3.20	5%
Chrysene	86.01	78.32	76.31	80.21	5.12	6%
benzo[b+j]fluoranthene	160.91	149.68	144.02	151.54	8.60	6%
benzo[k]fluoranthene	52.42	48.12	46.52	49.02	3.05	6%
benzo[e]pyrene	95.19	87.18	83.27	88.55	6.08	7%
benzo[a]pyrene	93.76	91.43	86.05	90.42	3.95	4%
perylene	175.67	171.51	160.15	169.11	8.03	5%
indeno[1,2,3-cd]pyrene	88.601	84.58	80.39	84.52	4.12	5%
benzo[ghi]perylene	109.94	103.00	97.68	103.54	6.15	6%
coronene	48.24	32.32	44.18	41.58	8.27	20%

5. 結果及び考察

5-1. PAHs の濃度分布

5-1-1. 多摩川田園調布堰における PAHs 濃度

著者らが多摩川田園調布堰において、2004.5.28～12.14 の期間、約一ヶ月間隔でサンプリングした河川水を溶存態試料 (<math><0.7 \mu\text{m}</math>) と懸濁態試料 (>math>>0.7 \mu\text{m}</math>) に分けて分析した。懸濁態試料は 3-2-1. に示した抽出方法で、溶存態試料は 3-2-2. に示した抽出方法でそれぞれ抽出し、抽出液をサンプルとした。サンプルを 3-3. に示した分析操作を行った後、GC/MS (SIM) で分析した結果、Table.5-1-1-1 に示したクロマトグラフが得られ、PAHs のピークを識別することができた。

分析した結果を Table.5-1-1-1 に示した。懸濁態試料の PAHs 濃度は 36.6～518.6 {平均:232.88(±63%)} [ng/L]であり、溶存態試料の PAHs 濃度は 15.13～75.56 {平均:38.86(±62%)} [ng/L]であった。塩分は 0.2～0.4‰の範囲であり、大差はなかった。

Table. 5-1-1-1. 多摩川田園調布堰における懸濁態・溶存態試料中の PAHs 濃度

試料採取日	PAHs 濃度 [ng/L] (懸濁態試料)	PAHs 濃度 [ng/L] (溶存態試料)
2004.5.28	426.1	NA ^{※2}
2004.6.30	312.4	NA
2004.9.17	104.0	35.39
2004.10.15	278.5	15.13
2004.11.11	86.1	47.31
2004.11.26	36.6	75.56
2004.12.14	386.4	20.99

※2 NA : 未分析

Table. 5-1-1-1 の結果から、懸濁粒子あたりの PAHs 濃度を算出し、Fig.5-1-1-1 に図示した。懸濁粒子あたりの PAHs 濃度は平均 49.49(±80%) [ng/mg]であった。また、懸濁粒子濃度と流量の関係を Fig.5-1-1-2 に図示した。

Fig.5-1-1-1 から懸濁粒子濃度の増加とともに PAHs 濃度が増加していることが確認できた。また、Fig.5-1-1-2 から流量の増加とともに懸濁粒子濃度が増加していることが確認できた。

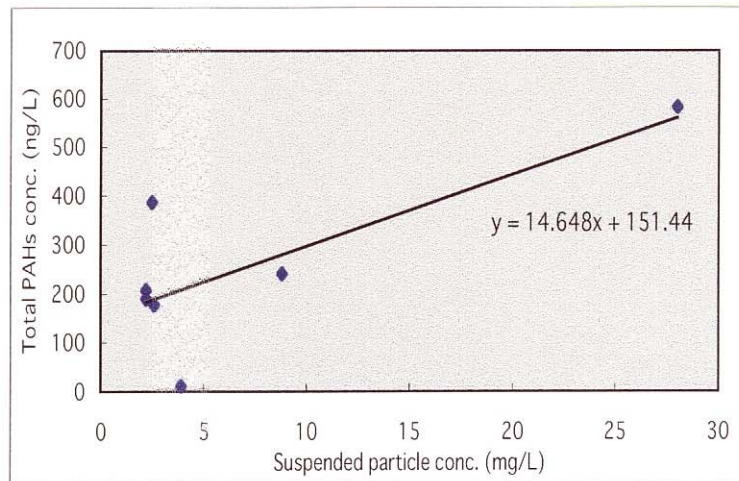


Fig.5-1-1-1 多摩川田園調布堰懸濁態試料中の懸濁粒子濃度と PAHs 濃度の関係

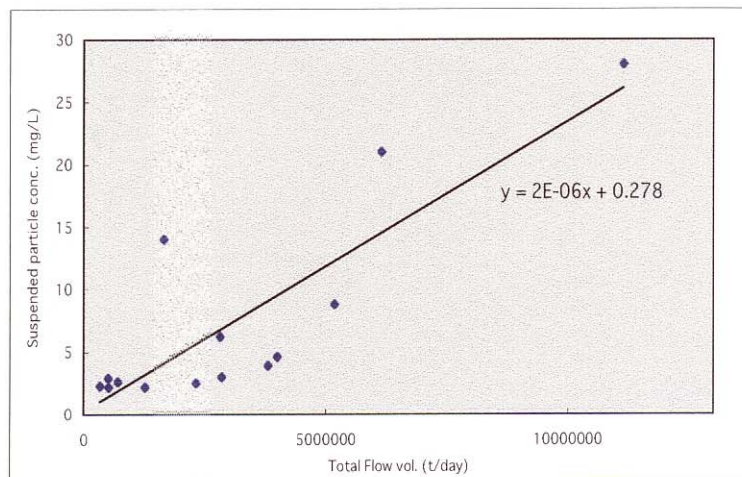


Fig.5-1-1-2 多摩川田園調布堰における流量と懸濁粒子濃度の関係

5-1-2. 多摩川河口域における PAHs 濃度

著者らが多摩川河口域において、2004.10.15 にサンプリングした河川水（6地点）を溶存態（ $<0.7\mu\text{m}$ ）と懸濁態（ $>0.7\mu\text{m}$ ）に分けて分析した。懸濁態試料は 3-2-1. に示した抽出方法で、溶存態試料は 3-2-2. に示した抽出方法でそれぞれ抽出し、抽出液をサンプルとした。

サンプルを 3-3. で示した分析方法で堆積物試料の前処理を行い、GC/MS (SIM. Mode) で分析した結果を Table.5-1-2-1 に示した。懸濁態試料の PAHs 濃度は 99.5～767.6 (平均 313.6 ± 216.8) [ng/L]、溶存態試料は 5.91～50.73 (平均 24.81 ± 18.86) [ng/L] であった。

また、Table.5-1-2-1 の結果を用いて、PAHs 濃度と塩分の関係を Fig. 5-1-2-1 に図示した。Fig. 5-1-2-1 からは低塩分の地点では塩分上昇により溶存態、溶存態+懸濁態=PAHs 合計量の両者共に PAHs 濃度が減少していることが確認できた。一方、塩分が 2‰付近から、塩分上昇により溶存態試料中の PAHs 濃度は上昇し、PAHs 合計量は減少した。

溶存態試料に関しては、①石油由来の PAHs の流入の可能性(燃焼由来の PAHs は $\phi 0.7\mu\text{m}$ 以下であるため、溶存態となる PAHs には石油由来の PAHs が多い)、②無機浮遊物質濃度の上昇による有機浮遊物質濃度の減少による PAHs の有機浮遊物質への吸着量の減少 などといった原因が考えられる。

懸濁態試料に関しては、塩分上昇による PAHs の除去が河口域にて行われていると推測できる。

Table. 5-1-2-1. 多摩川河口域における懸濁態・溶存態試料中の PAHs 濃度 (2004.10.15)

試料採取地点,	PAHs 濃度 [ng/L] (懸濁態試料)	PAHs 濃度[ng/L] (溶存態試料)
TR-2	356.35	22.06
TR-3	266.63	5.91
TR-4	767.61	9.72
TR-5	261.16	
TR-6	165.22	45.33
TR-7	99.54	50.73

PAHs 合計量が減少していることから、粒子と水の分配の関係について検討した。懸濁粒子あたりの PAHs 量 (= PAHs/SS) [ng/mg]を算出し、塩分との相関性について着目した。結果を Fig. 5-1-2-2 に示した。本来、塩分が上昇、すなわちイオン強度が増大すると有機物の溶解度は低下する。したがって、PAHs /SS は上昇するはずである。しかし、観測結果では PAHs /SS は上昇していない。このことは、PAHs の懸濁粒子への吸着能が低下したことを示している。

この原因として、①塩分の増加、②懸濁有機物質濃度の低下などといった要因による吸着阻害が起きていることが推測できるが、詳しいことは断定出来なかった。

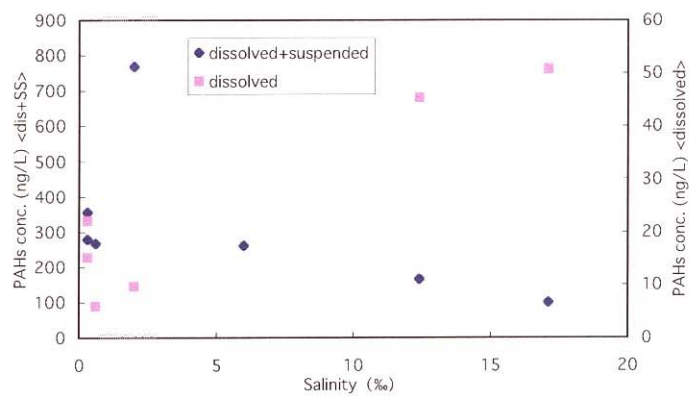


Fig. 5-1-2-1. 河口域における PAHs 濃度と塩分の関係

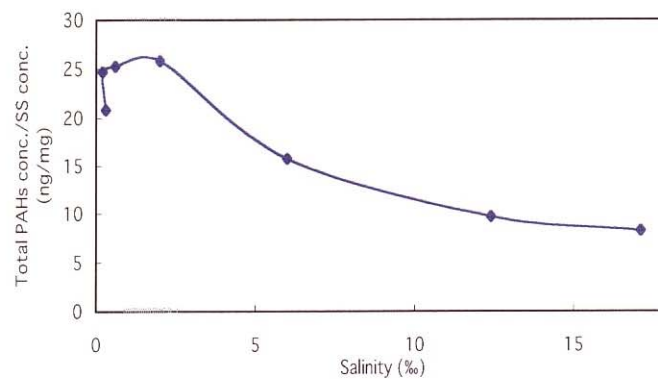


Fig. 5-1-2-2. 河口域における懸濁粒子あたりの PAHs 合計量 (ng/mg) と塩分 (‰) の関係

5-1-3. 多摩川河口域堆積物中の PAHs 濃度

2002.6.13 に長南らが採取した多摩川河口域堆積物 (7 地点) を分析した。3-2-1. で示した抽出方法で堆積物試料の抽出を行い、3-3. で示した分析操作を行った後で GC/MS (SIM. Mode) で分析した。分析結果を Table. 5-1-3-1 に示した。堆積物中の PAHs 濃度は 476.7~2191.1 (平均 1276.1±449.4) ng/g の範囲であった。

Table.5-1-3-1. 多摩川河口域堆積物中の PAHs 濃度 (2002.6.13)

試料採取地点	PAHs 濃度 [ng/g]
TR-1	2191.1
TR-3	1568.1
TR-4	476.7
TR-5	1491.2
TR-6	1480.5
TR-7	1631.1
TR9	1008.8

5-2. 河口域における除去

5-2-1. 多摩川田園調布堰における PAHs の年間通過量

5-1 の結果を踏まえて、田園調布堰における PAHs の年間通過量を試算した。試算するにあたって、以下のように仮定した。

仮定①：各試料採取日における最低流量日（2004.9.17, 14.68 [m³/s]）の懸濁態&溶存態試料中の PAHs 濃度を参考とする。

仮定②：懸濁態試料中の懸濁粒子あたりの PAHs 濃度は一定である。

仮定③：溶存態試料中の PAHs 濃度は一定である。

Table. 5-2-1-1. 各試料採取日における最低流量日の試料 PAHs 濃度
(2004.9.17 のデータに基づく)

	懸濁態試料	溶存態試料
PAHs 濃度 [ng/L]	104.04	35.39

流量の増加に懸濁粒子濃度が依存しているため、Fig.5-1-1-2 から得られた近似式 ($y=2E-06x+0.278$) に各試料の採取日における最低流量 (2004.9.17, 14.68 [t/day]) をあてはめ、懸濁粒子濃度を求めた。最低流量時の懸濁粒子濃度は 3.06 [mg/L] となった。

求めた懸濁粒子濃度を Fig.5-1-1-1 から得られた近似式 ($y=14.648x+151.44$) にあてはめて、PAHs 濃度を推定した。最低流量日の懸濁態試料中 PAHs 濃度は 104.04 [ng/L] となった。続いて、懸濁粒子あたりの PAHs 濃度を算出した。懸濁粒子あたりの PAHs 濃度は 18.83[ng/mg]であった。懸濁粒子の年間通過量が 14282.28[t/year]であることから、懸濁態試料における PAHs の年間通過量は 268.97 [kg/year]であることが試算できた。

また、溶存態試料の PAHs 濃度が 35.39[ng/L]であり、年間流量が 1197493632 [t/year]であったことから、溶存態試料における PAHs の年間通過量は 42.38 [kg/year]であることが試算できた。

以上の結果より、田園調布堰における PAHs の年間通過量は 311.35 [kg/year]であることが試算により明らかとなった。

Table. 5-2-1-2. 懸濁態試料中 PAHs の年間通過量

PAHs wt./SS particle wt. [ng/mg]	18.83
懸濁粒子年間負荷量 [t/year]	14282.28
PAHs 年間負荷量 [kg/year]	268.97

Table. 5-2-1-3. 溶存態試料中 PAHs の年間通過量

PAHs 濃度 [ng/L]	35.39
年間流量 [t/year]	1197493632
PAHs 年間負荷量 [kg/year]	42.38

Table. 5-2-1-4. 多摩川田園調布堰における PAHs 年間通過量

	懸濁態試料	溶存態試料	dis+ss
PAHs 年間負荷量 [kg/year]	268.97	42.38	311.35

5-2-2. 多摩川河口域における PAHs の除去

河口域において採取した試料のうち、塩分の最も低い試料(TR-2)と高い試料(TR-7)の比較により、河口域における PAHs の除去率を算出した。このとき、TR-2～7 間で高濃度の PAHs を含んだ排水等による汚染がなかったと仮定する。

Table. 5-2-2-1. 河口域における PAHs 濃度と塩分 (2004.10.15)

試料採取地点	PAHs 濃度 [ng/L]	塩分 (‰)
TR-2	378.41	0.2
TR-7	150.27	17.1

Table. 5-2-2-1 の値から、

$$1 - 150.27/378.41 = 1 - 0.397$$

$$= 0.603$$

$$\underline{60 [\%]}$$

$$311.35 \times 0.603 = 187.74$$

$$\underline{188 [\text{kg/year}]}$$

すなわち、除去率は 60%であり、河口域における PAHs の年間除去量は 188 [kg/year]であることが確認できた。

5-3. 発生源の推定

分析した各試料中の PAHs 異性体比を用いて、多摩川における PAHs の発生源の推定を行った。異性体比の比較により、PAHs が石油または燃焼由来であるか、さらには化石燃料燃焼またはバイオマス燃焼由来であるか推定することが出来る。

本研究では、以下の異性体比を対象として、PAHs の発生源の推定をおこなった。それぞれの値には、Table. 5-3-1 に示した特徴がある。

- Anthracene/An+phenanthrene = An/178,
- fluoranthene/Fl+pyrene = Fl/202
- benzo[a]anthracene/BaA+chrysene = BaA/228,
- indeno[1,2,3-*cd*]pyrene/InP+ benzo [ghi] pyrene = IP/IP+Bghi,
- 1,7-dimethylphenanthrene/2,6+1,7-DMP = 1,7/2,6+1,7-DMP

Table. 5-3-1 異性体比の値による発生源

	Isomer ratio	Source
X 軸	An / 178	<ul style="list-style-type: none"> • <0.1 … Petroleum • >0.1 … Combustion
	BaA / 228	<ul style="list-style-type: none"> • <0.2 … Petroleum • 0.2~0.35 … Petroleum & Combustion • >0.35 … Combustion
	IP/ IP+Bghi	<ul style="list-style-type: none"> • <0.2 … Petroleum • 0.2~0.5 … Petroleum Combustion • >0.5 … Wood Combustion
Y 軸	Fl/202	<ul style="list-style-type: none"> • <0.4 … Petroleum • 0.4~0.5 … Petroleum Combustion • >0.5 … Grass, Wood & Coal Combustion
	1,7/ 2,6+1,7-DMP	<ul style="list-style-type: none"> • <0.45 … Vehicle Emission • 0.45~0.7 … Wood Combustion • >0.7 … Wood Combustion

これらの異性体比に関して、X 軸を IP/IP+Bghi、Y 軸を An/178, Fl/202, BaA/228 として散布図を作成し、Fig. 5-3-1 に示した。さらに X 軸を 1,7 /2,6+1,7-DMP、Y 軸を An/178, Fl/202, BaA/228, IP/IP+Bghi として同様に散布図を作成し、Fig. 5-3-2 に示した。異性体比の比較から推定できた発生源を Table. 5-3-2, 5-3-3 に示した。

異性体比の比較から、多摩川河口域における PAHs の発生源は化石燃料の燃焼由来、特に石油燃焼由来が主であることが推定できた。さらに石油の流入による寄与の可能性も示唆された。また、バイオマス・石炭燃焼由来の寄与がほとんどないことが確認できた。

Table. 5-3-2 異性体比の比較による発生源の推定 (X 軸 : Fl/Fl+Py)

	Y 軸	X 軸 (Fl/Fl+Py)
An/178	Petroleum	Combustion
BaA/228	Petroleum (Petroleum Combustion)	Mixed Source
IP/IP+Bghi	Petroleum (Petroleum Combustion)	Petroleum Combustion

Table. 5-3-3 異性体比の比較による発生源の推定 (X 軸 : 1,7/2,6+1,7-DMP)

	Y 軸	X 軸 (1,7/2,6+1,7-DMP)
An/178	Combustion & Petroleum	Mixed Source
Fl/Fl+Py	Petroleum Combustion & Petroleum	Mixed Source
BaA/228	Combustion & Mixed Source	Mixed Source
IP/IP+Bghi	Petroleum Combustion	Mixed Source

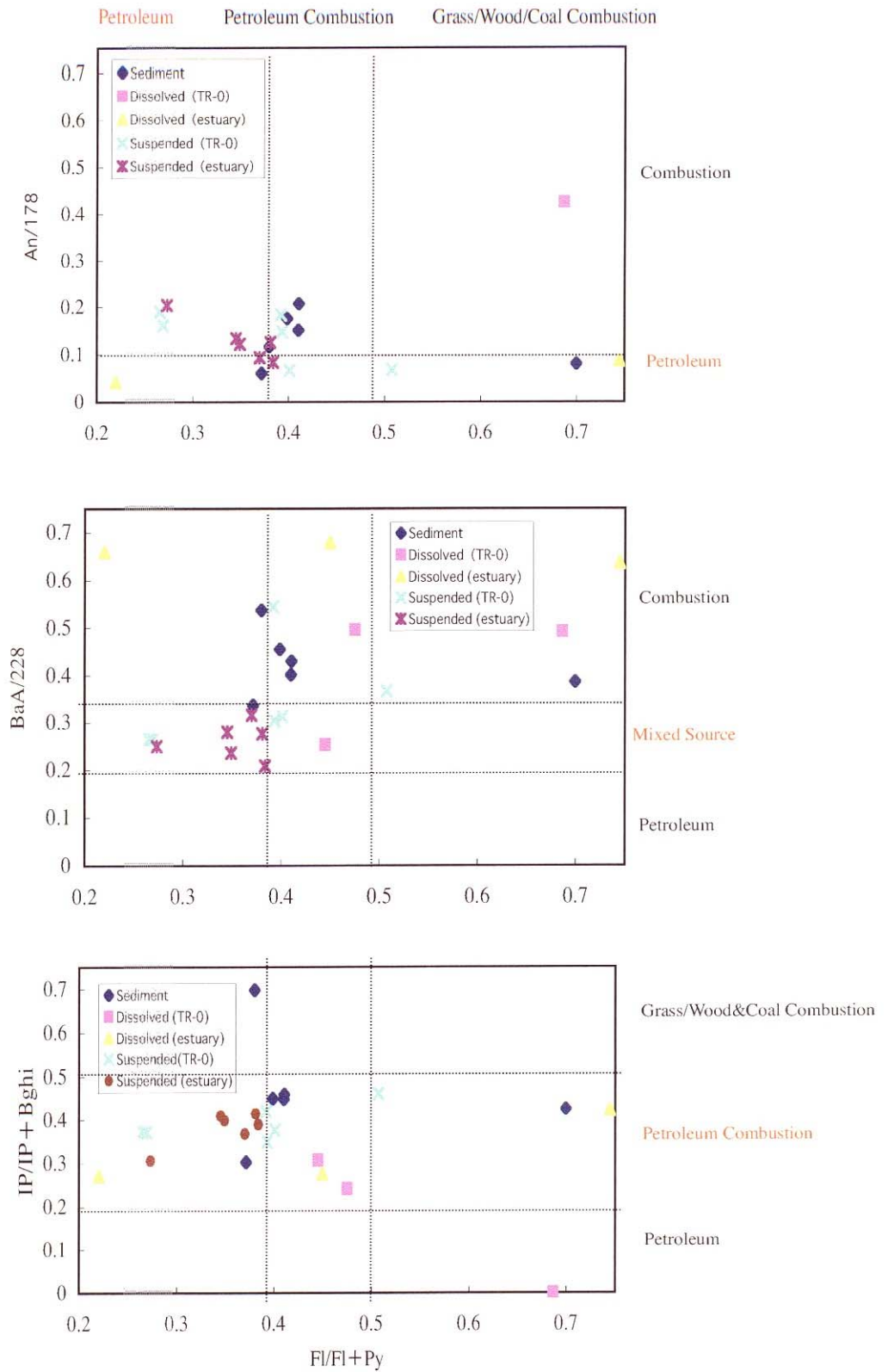


Fig. 5-3-1 異性体比の比較による発生源の推定 (X 軸: FI/FI+Py)

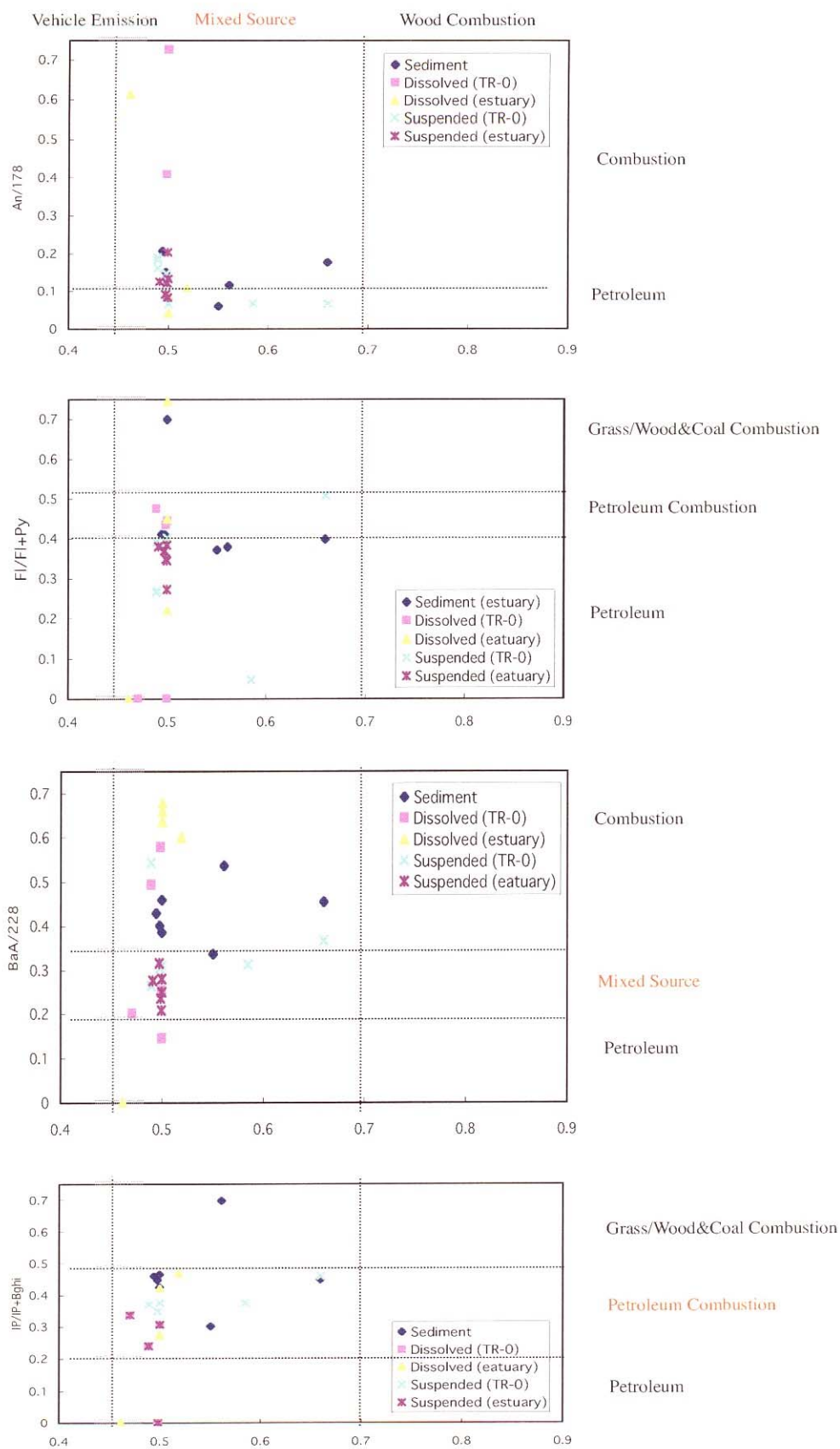


Fig. 5-3-2 異性体比の比較による発生源の推定 (x 軸: 1,7/2,6+1,7-DMP)

5-4. 毒性評価

BaPE 値による発癌性評価

既存の研究(Cecinato *et al*, 1997)では、PAHs の毒性評価がおこなわれている。この計算法では、Benzo[a]pyrene (=BaP)のみの毒性評価ではなく、BaP とその他の毒性の高い PAHs 化合物(Benzo[a]anthracene;BaA,Benzo[b]fluoranthene (Benzo[b]fluoranthene+Benzo[j+k]fluoranthene);BbkF,Dibenzo[a,h]anthracene;DBahA, Indeno[1,2,3-cd]pyren;IncdP)の毒性評価をあわせて算出することにより、PAHs 化合物による毒性を総合的に判断する指標となる。以下の式 (I) を用いて、BaP equivalent carcinogenic power (=BaPE)を求め、発癌性の比較をおこなう。

$$(I) \quad \text{BaPE} = \text{BaA} \times 0.06 + \text{BbkF} \times 0.07 + \text{BaP} + \text{DBahA} \times 0.6 + \text{IncdP} \times 0.08$$

TEF による毒性評価

多種の PAH のうち、どの化合物が毒性に対する貢献度が高いかを評価するために、Larsen *et al*. (1998)は BaP equivalents and percent contribution [B(a)P_{eq}(%)]という指標を導入した。この指標により、各試料の PAHs 化合物ごとの濃度と Toxic equivalence factor (TEF) を用いて、それぞれの毒性の寄与率を評価することができる。TEF とは、種々の PAHs 化合物の毒性を BaP の毒性に対する相対値として表した値である。B(a)P_{eq}(%)は以下の式 (II) を用いて求める。BaP の毒性を 100%とする。他の化合物に関しては、BaP に対して何%の毒性を保持するのかを求める。

$$(II) \quad \text{B(a)P}_{\text{eq}}(\%) = (\text{X}_{\text{TEF}} \times \text{X}_{\text{CONC}}) / (\text{BaP}_{\text{TEF}} \times \text{BaP}_{\text{CONC}}) \times 100$$

上記の式(I)を用いて、田園調布堰を通過する PAHs 毒性を算出した。計算対象としては、2004.9.17 の試料の PAHs 濃度を使用した。計算結果は Table. 5-4-1 に示した。田園調布堰試料 (2004.9.17) の BaPE 値は 4.70 となった。

さらに河口域における除去率の試算において対象とした TR-2, 7 について、毒性の評価をおこなった。計算結果を Table. 5-4-2 に示した。計算結果、BaPE 値は TR-2 で 11.50、TR-7 で 2.72 となった。河口域において PAHs の除去に伴う毒性の低下がおきていることが示唆された。

Table. 5-4-1 田園調布堰試料 (2004.9.17) の PAHs 濃度(ng/L)と BaPE 値

compound name	懸濁態試料	溶存態試料	合計量
Phenanthrene	5.41	1.22	6.63
Anthracene	1.25	3.25	4.46
Fluoranthene	2.63	0	2.63
Pyrene	4.09	1.30	5.38
Benzo[a]anthracene	1.60	0.03	1.62
Chrysene	2.39	0.15	2.54
Benzo[b]fluoranthene	3.09	0.47	3.56
Benzo[jk]fluoranthene	3.36	0.47	3.83
Benzo[a]pyrene	1.32	0.40	1.73
Indeno[1,2,3-cd]pyrene	2.19	0.09	2.28
Benzo[ghi]perylene	3.02	0.02	3.05
BaPE	4.70		

Table. 5-4-2 河口域試料 (2004.10.15) の PAHs 濃度(ng/L)と BaPE 値

compound name	TR-2 (ng/L)			TR-7 (ng/L)		
	懸濁態試料	溶存態試料	合計量	懸濁態試料	溶存態試料	合計量
Phenanthrene	35.58	12.82	48.40	7.41	9.81	17.22
Anthracene	3.61	1.48	5.09	1.89	0.42	2.32
Fluoranthene	5.19	1.41	6.6	3.65	1.28	4.93
Pyrene	8.85	4.76	13.61	9.71	4.56	14.26
Benzo[a]anthracene	2.33	0.64	2.971	0.49	0.28	0.77
Chrysene	5.05	0.45	5.49	1.48	0.14	1.62
Benzo[b]fluoranthene	7.75	0.81	8.557	2.14	0.13	2.27
Benzo[jk]fluoranthene	7.97	0.17	8.14	2.15	0.13	2.28
Benzo[a]pyrene	4.31	0	4.31	0.82	0	0.82
Indeno[1,2,3-cd]pyrene	4.959	0.54	5.48	1.04	0.02	1.05
Benzo[ghi]perylene	8.50	0.62	9.12	2.35	0.05	2.4
BaPE	11.50			2.72		

次に、上記の式(II)を用いて、各化合物の BaP 毒性に対する寄与率を算出した。田園調布堰試料の計算結果は Table. 5-4-3、河口域試料は Table. 5-4-4 に示した。寄与率が比較的高い化合物は Table. 5-4-5 に示した。田園調布堰試料、河口域試料ともに Fluoranthene, BbF, BjkF, IncdP の寄与率は高い値であった。

PAHs 化合物の BaP 毒性に対する寄与率については、物理化学的に安定であり、水に溶けにくい性質を持つ化合物は寄与率が高い結果となった。反対に、物理化学的に不安定であり、水に溶やすい性質を持つ化合物は寄与率が低い結果となった。これは BaP の物理化学的特性に起因するものであると考えられる。

また、Table. 5-4-5 に示したように、塩分上昇に伴って、河口域試料の一部の PAHs 化合物の寄与率が上昇していることが確認できた。この原因として、①BaP は光分解による除去の影響を他の化合物よりも受けやすいこと、②化合物のオクタノール/水分配係数の関与、といった2点により考察をおこなった。オクタノール/水分配係数とは、化合物の水への溶けやすさの指標となるもので、疎水性の化合物であると値が大きく、逆に親水性の化合物であると値が小さくなることが知られている。

Fluoranthene の寄与率が上昇していた。Fluoranthene は BaP よりも安定な化合物であり、オクタノール/水分配係数が BaP よりも小さい。よって、Fluoranthene は水中でも安定に存在することができるため、寄与率が上昇したのだと推測できる。

BaP と Benzo[b]fluoranthene, Benzo[jk]fluoranthene のオクタノール/水分配係数はほぼ等しいため、疎水分配による除去の度合いには大きな差はない。BbF, BjkF は BaP よりも環境中で安定に存在する。分解や河底への沈降などによる除去が BaP の光分解などによる除去の度合いよりも小さく、BbF, BjkF の方が BaP よりも保存的に挙動したために BF の寄与率が上昇したのだと推測できる。

これに対し、BaP と異なる物理化学的性質を持つ Indeno[1,2,3-cd]pyrene の寄与率が河口域内で変化しなかったことについては、以下のように説明することができる。IncdP はオクタノール/水分配係数が BaP より大きい。よって、BaP よりも IncdP の疎水分配による除去の度合いが大きいはずである。しかし、IncdP の寄与率にほとんど変化がなかった。これは、IncdP の除去は疎水分配によりおこなわれているのに対し、BaP では疎水分配に加え、光分解による除去が関与しているためである。よって、両化合物の減少度が見かけ上、等しくなったのだと推測できる。

これらの結果から、BaP 以外の寄与率の高い化合物、特に Fluoranthene, Benzo[b]fluoranthene, Benzo[jk]fluoranthene, Indeno [1,2,3-cd]pyrene についても今後、着目していくべきであることが示唆された。

Table. 5-4-3 田園調布堰試料 (2004.9.17) の B(a)Peq(%)

compound name	TEF	PAHs conc.(ng/L)	BaPeq (%)
Phenanthrene	0.0005	6.63	0.19
Anthracene	0.0005	4.46	0.13
Fluoranthene	0.05	2.63	7.63
Pyrene	0.001	5.38	0.31
Benzo[a]anthracene	0.005	1.62	0.47
Chrysene	0.03	2.54	4.42
Benzo[b]fluoranthene	0.05	3.56	10.30
Benzo[jk]fluoranthene	0.1	3.83	22.18
Benzo[a]pyrene	1	1.73	100.00
Indeno[1,2,3-cd]pyrene	0.1	2.28	13.17
Benzo[ghi]perylene	0.02	3.05	3.53

Table. 5-4-4 河口域試料 (2004.10.15) の B(a)Peq(%)

compound name	TEF	TR-2		TR-7	
		PAHs conc.(ng/L)	BaPeq (%)	PAHs conc.(ng/L)	BaPeq (%)
Phenanthrene	0.0005	48.40	0.56	17.22	1.04
Anthracene	0.0005	5.09	0.07	2.32	0.14
Fluoranthene	0.05	6.6	7.66	4.93	29.91
Pyrene	0.001	13.61	0.32	14.26	1.730
Benzo[a]anthracene	0.005	2.971	0.34	0.77	0.47
Chrysene	0.03	5.49	3.82	1.62	5.91
Benzo[b]fluoranthene	0.05	8.557	9.93	2.27	13.75
Benzo[jk]fluoranthene	0.1	8.14	18.89	2.28	27.67
Benzo[a]pyrene	1	4.31	100.00	0.82	100.00
Indeno[1,2,3-cd]pyrene	0.1	5.48	12.72	1.05	12.80
Benzo[ghi]perylene	0.02	9.12	4.23	2.4	5.81

Table. 5-4-5 田園調布堰・河口域試料における毒性寄与率の高い化合物

[B(a)Peq(%)]	2004.10.15		
Compound name	TR-0	TR-2	TR-7
Fluoranthene	7.63	7.66	29.91
Indeno[1,2,3-cd]pyrene	10.30	9.93	13.75
Benzo[jk]fluoranthene	22.18	18.89	27.67
Benzo[b]fluoranthene	13.17	12.72	12.80

6. 総括

・ PHAs の除去

本研究結果から、多摩川河口域において PAHs が除去されていることが確認できた。しかし、低分子量の PAHs 濃度が塩分上昇とともに上昇していることから、発生源を石油由来とする PAHs が河口域へ流入している可能性が示唆された。また、下流に進むに従い、溶存 PAHs 濃度が上昇していたことから、懸濁粒子中の有機物濃度が減少しているかどうかといった点との関連性についても議論の余地があることも示唆された。よって、河口域試料の懸濁粒子中の有機物濃度を測定し、塩分上昇による有機物濃度と無機物濃度の割合の変化を見ることにより、塩分上昇に伴った溶存 PAHs 濃度上昇の要因について議論することができる。

河口域への PAHs の負荷については、①前述の懸濁粒子中の有機物濃度を測定することによる懸濁有機物あたりの PAHs 濃度の測定、②河口域へ流入する排水中に含まれる PAHs 負荷量の測定、といった2点により、正確な年間負荷量が試算できるであろう。

・ 発生源の推定

多摩川における PAHs 起源は石油由来、異性体比の散布図から、特に石油燃焼由来が主であり、バイオマス・石炭燃焼由来の寄与がほとんどないことが推定できた。また、河口域において、一部の溶存態試料の PAHs 起源が石油起源である可能性が示唆されたので、石油の流入による PAHs 汚染の可能性が示唆された。よって、河口域に流入する石油起源の PAHs についても、今後、議論していくべきである。

・ 毒性評価

PAHs 化合物の毒性の寄与率は、田園調布堰試料、河口域試料ともに Fluoranthene, Benzo[b]fluoranthene, Benzo[jk]fluoranthene, Indeno [1,2,3-cd]pyrene が高い値であった。物理化学的に安定であり、水に溶けにくい性質を持つ化合物ほど高い結果となった。また、塩分上昇に伴って、河口域試料の一部の PAHs 化合物の寄与率が上昇していた。この結果から、BaP と各 PAHs 化合物の減少の度合いが異なっていることが確認できた。以下に寄与率の上昇した化合物の

ごとの考察を示す。

- Fluoranthene の寄与率が上昇したのは、BaP よりも安定な化合物であり、オクタノール/水分配係数が BaP よりも小さいことから、水中でも安定に存在することができるためである。
- BbF, BjkF は BaP の光分解などによる除去に対して、分解や河底への沈降などといった除去の度合いが小さく、また、BaP よりも保存的に挙動したためである。
- IncdP の寄与率にほとんど変化がなかったのは、IncdP の疎水分配による除去と BaP の疎水分配+光分解による除去による、両化合物の減少度が見かけ上、等しいためである。

これらの結果から、PAHs 化合物の特徴と河口域における除去作用との関連性について議論すると共に、今後、Benzo[a]pyrene 以外の化合物、特に Fluoranthene, Benzo[b]fluoranthene, Benzo[jk]fluoranthene, Indeno [1,2,3-cd]pyrene についても着目していくべきである。

7. 参考文献

- Mark B. Yunker, Robie W. Macdonald, Roxanne Vingarzan, Reginald H. Mitchell, Darcy Goyette, and Stephanie Sylvestre (2002) PAHs in the Fraser River basin: a critical appraisal of PAH ratio as indicators of PAH source and composition. *Organic Geochemistry*. 33, 489-515
- K. Maskaoui, J.L. Zhou, H.S. Hong, and Z.L. Zhang (2002) Contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons in the Jiulong River Estuary and Western Xiamen Sea, China. *Environmental Pollution*. 118, 109-122
- Cristina Maldonado, Josep M. Bayona, and Laurent Bodineau (1999) Source, Distribution, and Water Column Processes of Aliphatic and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Northwestern Black Sea Water. *Environ. Science & Technology*. 16, 2693-2702
- Sandra Perez, Jordi Dachs, and Damia Barcelo (2003) Sea Breeze Modulated Volatilization of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from the Masnou Harbor (NW Mediterranean Sea). *Environ. Sci. Technol.* 37, 3794-3802
- Ana Lucia, C. Lima, Timothy I. Eglinton, and Christopher M. Reddy (2003) High-Resolution Record of Pyrogenic Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Deposition during the 20th Century. *Environ. Sci. Technol.* 37, 53-61
- Bixian Mai, Shihua Qi, Eddy Y. Zeng, Quingshu Yang, Gan Zhang, Jiamo Fu, Guoying Sheng, Pingan Peng, and Zhishi Wang (2003) Distribution of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Coastal Region off Macao, China: Assessment of Input Sources and Transport Pathway Using Compositional Analysis. *Environ. Sci. Technol.* 37, 4855-4863
- Kai Li, Erik R. Christensen, Ryan P. Van Camp, and Ipek Imamoglu (2001) PAHs in Dated Sediment of Ashtabula River, Ohio, USA. *Environ. Sci. Technol.* 35, 2896-2902
- Matthew P. Fasnacht and Neil V. Blough (2002) Aqueous Photodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Environ. Sci. Technol.* 36, 4364-4369
- Yingjun Chen, Xinhui Bi, Bixian Mai, Guoying Sheng, and Jiamo Fu (2004) Emission characterization of particulate/gaseous phases and size association for polycyclic aromatic hydrocarbons from residential coal combustion. *Fuel*. 83, 781-790
- Cecinato A. (1997) *Annual Chim.* 87, 483
- Larsen J, Larsen P. In: Hester R, Harrison R (1998) Chemical carcinogens. Air

pollution and health. *The Royal Society of Chemistry*. P.33

H.Kumata, H.Takada, and others (2000) 中国, 日本, マレーシアのエアロゾル中の

多環式芳香族炭化水素組成, *Org. Geochem.* 15, 13-25

東京都水道局 多摩川田園調布堰における河川流量と濁度データ

(2004.1～2004.12)

第2章 多環式芳香族炭化水素の太陽光光分解に関する研究

Solar-Induced Decomposition of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Aquatic Media

Solar-induced decomposition of ten polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) was observed in aquatic media. All the PAHs observed were half-decomposed within 120 min. In anthracene derivatives, the decomposition rates are: anthracene = 1-methylanthracene < 2-methylanthracene < 9-methylanthracene. Addition of commercial humic acid did not make any effect on the decomposition rate for the observed PAHs. Deuterium water also hastened the decomposition of PAH. The products obtained by the solar radiation of PAH after extraction to DCM were mainly keton and hydroxyl delivatives.

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are originated from combustion of fossil fuel and biomass. Carcinogenic and or endocrine disruptive actions of PAHs are suspected on occasion of their exposure to human beings. On the hand, decomposition under the solar radiation has been discussed by several workers. In this process, it has been proposed that the active oxygen species participate the PAHs decomposition. Although the quantum yields of some PAHs have been obtained, the photo-chemical products were not elucidated. In this communication, the decomposition rates of anthracene derivatives are first given as well as the photo-products observed by a GC-MS.

PAHs were dissolved in acetonitrile and dissolved with 0.05 M phosphate buffer (80 %; pH 7.0). The concentration of PAHs was adjusted at 1 μ g/mL. The solution was in a quartz square cell with stirring, which was irradiated by a solar simulator (150 W, Oriel Co. Ltd.) through air-mass filters (AM0 and AM1.5). Output at the cell was about 0.97 W by measuring a power meter. The progress of the PAHs decomposition was monitored with a HPLC observed at the absorption of 253 nm (JASCO UV 930). The decomposition products were extracted to dichloromethane (DCM). After dehydration with unhydrated sodium sulfate, 20 μ L of DCM was injected into a GC-MS (GEOL Automass System II) and the chemical structure of decomposition product was judged from the GC-MS library. The acidic (< 3.0) or alkaline (.9.0) pH adjustment did not give the extrtact to DCM.

Half Life Time of PAHs

media	anthracene	1-methyl anthracene	2-methyl anthracene	9-methyl anthracene	benz [a] anthracene	pyrene	Benzo [a] pyrene	Benzo [e] pyrene	chrysene	fluorancene
buffer	74 min	74 min	52.5 min	28 min	73.4 min	120 min	47.7 min	48.1 min	11.8 min	159.6 min
deuterium	25 min	27.5 min	22.5 min	10 min	—	—	—	—	—	—

In the derivatives of anthracene, 9-methylantracene was most rapidly decomposed. On the other hand, the decomposition speed of 1-methyl derivative was not different from non-derivatized anthracene. This fact means the derivatization at the central part of anthracene gives the target for decomposition. Among the polycyclic aromatic hydrocarbons, the decomposition speeds are: chrysene > benz [a] pyrene > benz [a] anthracene > pyrene > benz [e] pyrene > fluoranthene. Addition of deuterium water made fast to these decomposition.

As the decomposition products, ketone and hydroxyl-compounds were found.

Figure1 Decomposition rate of PAHs

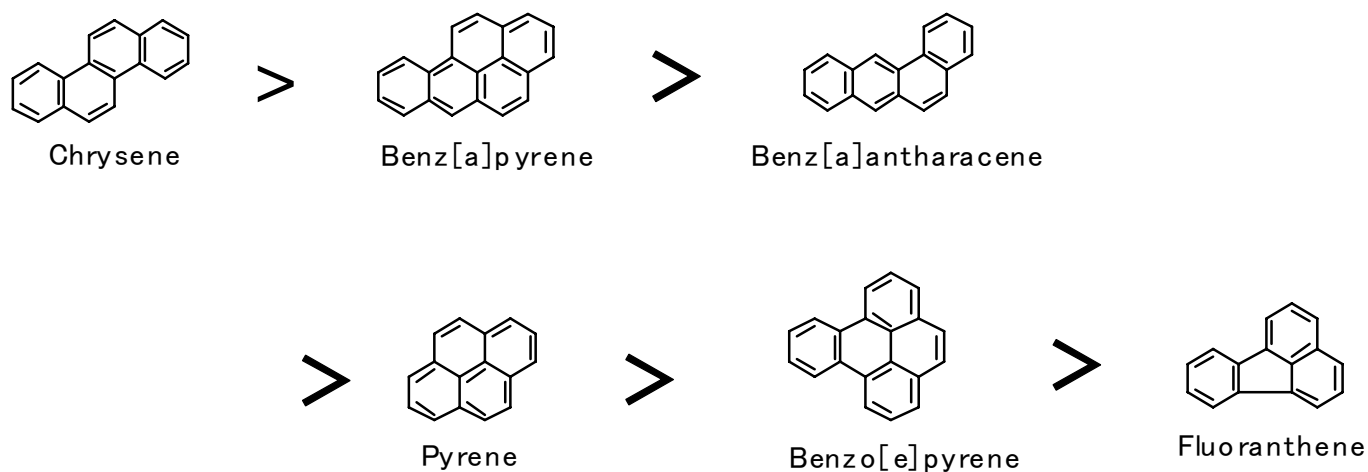


Figure 2 Procedure for decomposition products.

(next page)

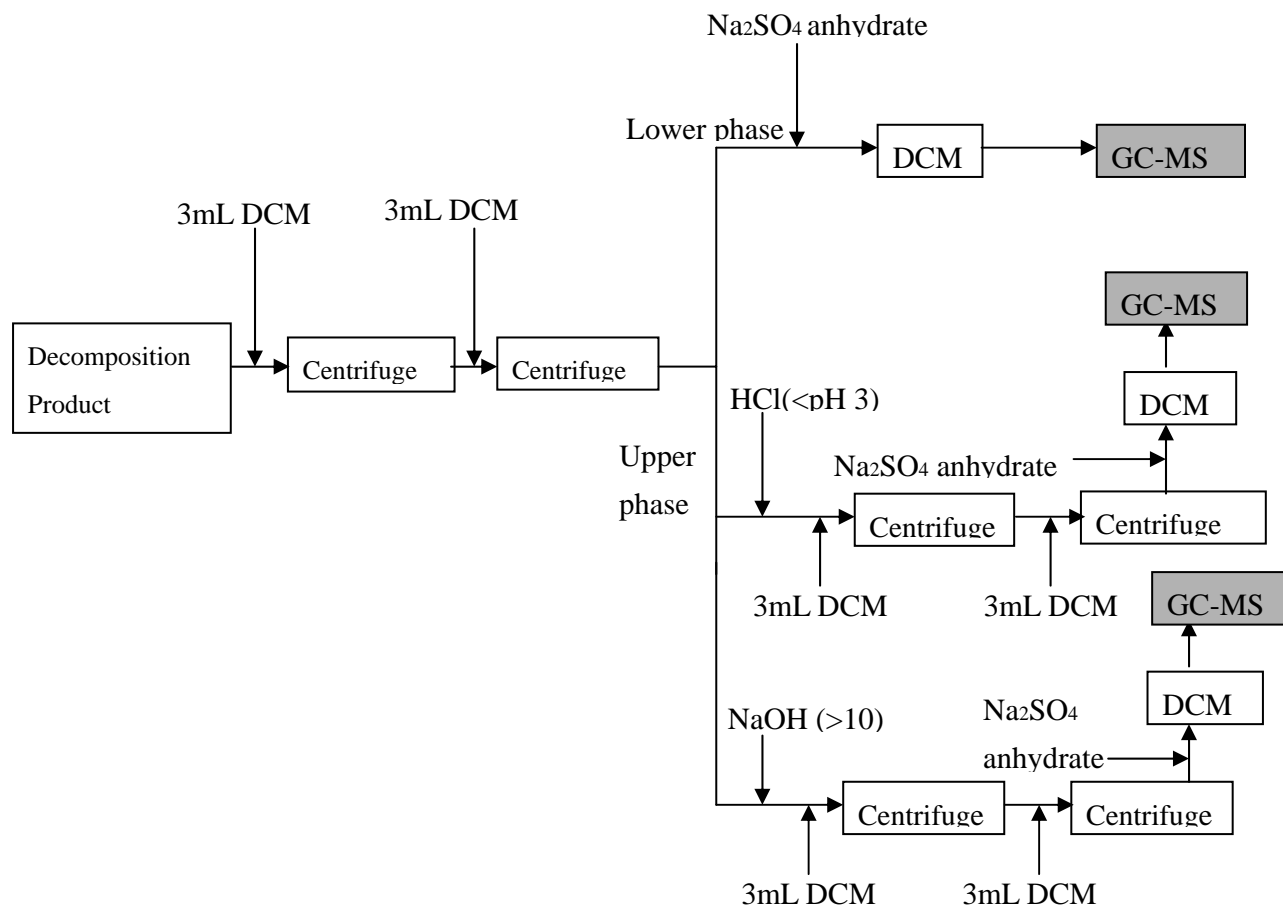


Figure 3 Photo-decomposition products from pyrene

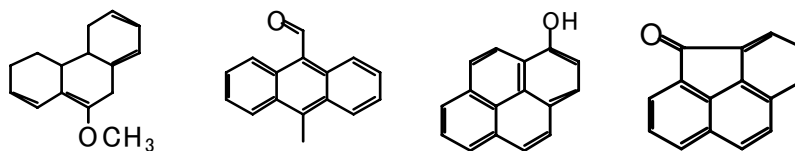


Figure 4 Photo-decomposition products from anthracene

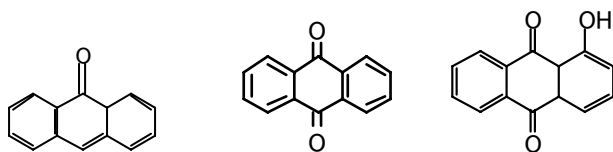


Figure 5 Photo-decomposition products from 1-methyl anthracene

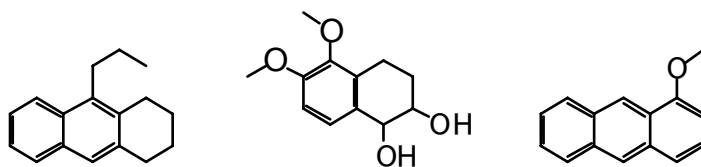


Figure 6 Photo-decomposition products from 2-methyl anthracene

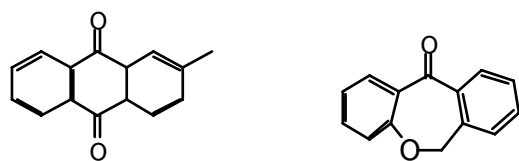
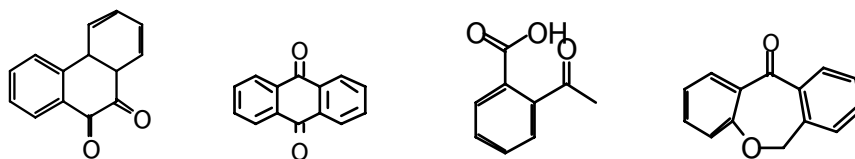


Figure 7 Photo-decomposition products from 9-methyl anthracene



第3章 フローインジェクション法に基づくスーパーオキシド陰イオンの天然水中での寿命測定と、多摩川河川水への応用

Abstract

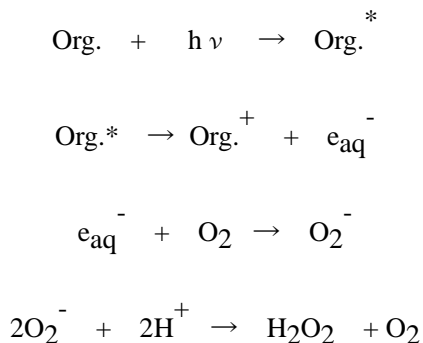
In connection with the photo-chemical processes in the aquatic environment, the evaluation system for the production ability of superoxide anion was constructed. The technique was based on the flow injection method with luminol chemiluminescence detection. The injected sample was first irradiated by a solar simulator in a vortex quartz cell (cell volume = 0.167 mL), whose vortex face was exposed to light after passing through two air-mass filters. The carrier was the aqueous solution at pH 11 adjusted by NaOH. After irradiation was finished, the carrier (with sample) flow was merged with 1.52 mM of the luminol solution and was introduced into a chemiluminescence detector. The results of the laboratory experiment show that the production of superoxide is linearly related to the concentration of humic acid up to 50 ppm, and also to that of dissolved oxygen. In addition, the chemiluminescence intensity (superoxide production) was proportionally related with the irradiation intensity of the solar simulator. By means of changing the flow rate of the carrier, the half-life time of superoxide at pH 11 aqueous solution was estimated as 15 s. ESR was measured for the sample containing 0.5 % humic acid, 0.5 % NaOH and 20 μ L DMPO (spin trap agent). ESR spectra were obtained after 5 min. irradiation of the solar simulator. In addition to the four sharp peaks due to OH radicals, a broad peak appeared at the middle of the OH signal. The obtained signal cannot conclusively be ascribed to superoxide, but, the peak that appeared, may be due to the radical produced in the humic acid molecule. The river water was collected at 18 points of the Tamagawa River located in Tokyo. Upstream, the production ability of superoxide was observed, but not downstream or in the estuarine district. Although the concentration of humic acid is much higher in the estuarine sample, some quenching mechanisms work for superoxide production.

Keywords : superoxide anion, flow injection analysis, humic acid, life time, river water.

1. Introduction

In natural waters, the superoxide anion, which is an active oxygen species generated via the photochemical process where the dissolved organic matter (DOM) plays an important role in their generation. In the initial stage of the solar-induced photochemical processes, the hydrated electron produced by the photolysis of DOM is proposed as the source of the superoxide anion. This

process was examined by Zika [1] and Zafariou [2] in the early 80th. The proposed reaction pathway for superoxide generation and quenching was as follows:



where Org. : dissolved organic matter like humic acid, $h\nu$: solar radiation, Org.^* : excited dissolved organic matter, e_{aq}^- : hydrated electron, O_2 : dissolved oxygen, O_2^- : superoxide anion, and H_2O_2 : hydrogen peroxide. Since their studies, Millero estimated the lifetime of superoxide in natural waters [3]. Kochany et al. suggest that indoles, including those in aqueous coal oil, show a high quantum yield to give superoxide anions via hydrated electrons, which participates in their autocatalyzed photo-oxidation [4]. In this case, the active oxygen species are utilized to remove organic substrates including polyaromatic hydrocarbons, colored substances, and COD [5]. In general, humic acid has been focused on as an mediator of superoxide production [6-9]. Furthermore, it causes cellular injury, i.e., Liang et al. [10] found that the commercial humic acid reduces the viability of rabbit articular chondrocyte cells. The poisonous effect of the humic acid is ascribed to the generation of superoxide anions via lactate dehydrogenase released in this biological system.

There are several methods of detecting the superoxide anion; fluorometry [11], absorption spectrophotometry [12,13], electrochemical technique [14], and chemiluminescence emission spectrometry [15-17]. These techniques are able to detect from $1 \mu\text{mol}$ to 10nmol/L of superoxide anion. Luminol (5-amino-2,3-dihydro-1,4-phthalazinedione) is commonly used as the reagent of chemiluminescence, i.e., it has been concluded that the superoxide anion reacts rapidly with luminol and primarily gives the chemiluminescence [18-20]. Since the occurrence of superoxide is of major interest in the biological tissue, luminol chemiluminescence is mainly applied in the living systems [21-25]. However, other fields also use luminol chemiluminescence. Nosaka et al. used this method for to monitor superoxide radicals produced in TIO_2 photocatalysis [26], where they found an immediate reaction between luminol and superoxide, but a slow reaction between luminol and H_2O_2 .

In this paper, a flow injection system with luminol chemiluminescence detection has been constructed for the sake of elucidating the photochemical production ability of superoxide anions in the respective natural water samples, i.e., the high capability of the flow injection system has been pointed out for the detection of superoxide not only for biological systems [27-32] , but also in natural water [33] .

2. Experimental

2.1. Materials

Analytical grade sodium hydroxide and luminol were and purchased from Wako Chem. Co. Humic acid was purchased from Aldrich Chem. Co. (AHA). These chemicals were used without further purification. In the case of humic acid, 1 (w/v) % AHA was dissolved into 0.01 M (= mol/L) NaOH and filtrated with a glass-fiber filter with 1- μ m-diameter pore. This solution was diluted with Milli-Q water and was used in the experiment. All the solutions (carrier and luminol in the flow injection analysis) were saturated with oxygen (18 mg/L) by bubbling oxygen (DO) for about 15 min. The amount of dissolved oxygen in the solution was measured by a DO meter (Iijima Electronics Co., model B-505). In ESR measurements, humic acid was dissolved in the NaOH solution at a concentration of 0.5 %, and the solution was filtrated by a membrane filter with 0.7- μ m-diameter pore. Then 20 μ L of DMPO (5,5-dimethyl-1-pyrrolin-N-oxide, purchased from Labotech Ltd.) was added to 140 μ L of the humic acid solution mentioned above.

2.2. Instruments

The system used in the present experiment is illustrated in Fig. 1. The flow lines were constructed by a Teflon tube of i.d. 0.5 mm and o.d. 1.5 mm. About 0.01M NaOH aqueous solution (adjusted pH = 11) was sent as a carrier to the system by a pump (JASCO:model PU-980) at a flow rate of 5 mL/min. Without the sample injection, the carrier travels to the flat vortex cell, which was made of a quartz tube (i.d. = 1 mm, o.d. = 2 mm). The volume of this cell is 0.167 mL. The vortex cell and two air mass filters (AM 0 (81090) and AM 1.5D (81092) purchased from Oriel Co.) were set in the cylinder that was placed in front of a 150-W solar simulator lamp (Oriel Co. model 68905). The irradiated energy collected on the surface of the vortex cell was about 0.85 W in its radiation intensity measured by a power meter (Ophir Japan Ltd.; type 89018). The sample was injected into a six-way injection port (Rheodyne Co. model 9725), from which to the exit of the vortex cell, the volume of the flow line was 260 μ L. Since the injection volume of the sample was 300 μ L, the sample solution already reached to the irradiation coil and was, therefore, immediately irradiated by the solar simulator after injection. The carrier flow started exactly 4 s after the sample injection. The solution flows in a tube at the length of 10 cm and was merged with the flow line of

luminol which was dissolved into 0.01 M NaOH solution at a concentration of 95 mM. The flow rate of the luminol solution was 1 mL/min. Both the carrier and luminol solutions were saturated by oxygen. The sample solution mixed with luminol was sent to the light emission detector (JASCO, model 825-CL), in which the detection was performed in the Teflon coil (i.d.:0.5 mm, length:80 cm, cell volume = 0.16 mL) faced on the photomultiplier.

ESR (JEOL: JES-FR 30 Free Radical Monitor) was used for the measurement. The sample containing 0.5% humic acid, 0.5% NaOH and 20 μ L DMPO (spin trap agent) was irradiated by the same solar simulator illustrated in Fig. 1 for 4 min. and was measured in a flat cell (LLC-048 made by LABOTEC Co. Ltd.) of which volume is 130 μ L.

2.3. Sampling of river water

The river water was sampled in the Asakawa River which is one of the branch streams of the Tamagawa River in Tokyo. Several points at the estuary of the Tamagawa River were also chosen for the sampling. These sampling points are indicated in Fig. 2. The river water was collected at midstream, and stored in a plastic bottle. After aeration, the sampled water filtrated with a sintered glass fiber filter with 0.7- μ m-diameter pores was measured according to the above-mentioned system. As an index of humic acid, fluorescence of the river water samples was measured by a fluorescence spectrophotometer (JASCO, model FP-777), where the fluorescence intensity was taken against the variations of the wavelengths of emission and excitation.

3. Results and Discussion

Figure 3 shows the chart track of flow injection when introducing various amounts of AHA through the injector shown in Fig. 1. In the figure, the chemiluminescence peak increases along with the increase of AHA up to 50 ppm, which means that AHA quantitatively contributes to the superoxide generation under light radiation. The some signals appeared without the irradiation of the solar simulator. The preparation of the solutions was carefully performed under the control of light. However, elimination of the signal due to the non-irradiated sample was difficult, i.e., the superoxide is not generated under complete darkness only. In Fig. 3, the flow injection signals were taken for different DO in the solution. The higher DO solution (18 mg/L) gave a higher chemiluminescence signal than the lower DO solution (4 mg/L). The DO concentration in the injected solution was changed by the bubbling period of oxygen; the concentration of DO increases from about 3-4 mg/L and becomes constant at 14-20 mg/L by changing the bubbling period from 0 to 20 min.

The chemiluminescence emission intensity is also dependent on the irradiation intensity of the solar simulator onto the vortex flow cell, in which a linear relationship was found as shown in Fig. 4. The intensity of the solar simulator radiation intensity was varied by using neutral density filters. It

is evident that the production of superoxide anions (or the substance causing the luminescence of luminol) is due to the photoreaction under the existence of humic acid. Figure 5 shows the relationship between the flow rate of the carrier solution and the chemiluminescence intensity, where the humic acid solution (50 ppm) was injected. The injection volume was 300 μ L which is sufficient to fulfill the humic acid solution from the injector to the whole irradiation cell. The irradiation time was 4 s which is a sufficient period to give the saturated signal for the chemiluminescence signal. The chemiluminescence signal detected (Iv) at the carrier flow rate of v is given as:

$$Iv = [I_b + I_p] e^{-\lambda \frac{VL}{v}} - I_b e^{-\lambda \frac{VL}{v}} \quad (1)$$

where I_b and I_p are the chemiluminescence signal without the irradiation of the solar simulator and the chemiluminescence signal assumed at the exit of the irradiation cell, respectively. λ and VL are the attenuation constant and the volume from the exit of the irradiation cell to the chemiluminescence detector, respectively. It is difficult to estimate I_p . However, I_p is related to difference between the chemiluminescence signals at 100% (I_{100}) and 0% (I_0) irradiations in Fig. 3. In this case, the Scheme (1) can be rewritten as

$$Iv = (I_{100} - I_0) e^{\lambda \frac{VL}{v^*}} \cdot e^{-\lambda \frac{VL}{v}} \quad (2)$$

where v^* is the flow rate of the carrier obtaining I_{100} and I_0 (in the present case, the flow rate was 5 mL/min ($1/v^* = 12$ s/mL)). Therefore, from the Scheme (2), λ is given by

$$\lambda = \frac{1}{VL \left(\frac{1}{v} - \frac{1}{v^*} \right)} \ln \frac{I_{100} - I_0}{Iv} \quad (3)$$

In the present flow injection system, VL was 1.88 mL and $I_{100} - I_0$ was about 70,500. When these values were used, λ were given as from 0.031 to 0.083 s^{-1} . The half-life was

$$t_{\frac{1}{2}} = \frac{\ln 2}{\lambda}$$

Since the averaged λ is about 0.064, a half-life of the superoxide anion in the pH 11 aqueous solution can be estimated as about 15 s (the range = 22.4 – 8.4 s). It can not be ignored the possibility that some reactive oxygen species (except for $\cdot OH$) interfere the chemiluminescence and

cause in the change of life time in the different carrier flow rate. When the tube length from the radiation coil to the merge of luminol was changed from 50 (life-time:24s) to 400(life time:11.5s) cm, the calculated half life time varied twice. This variation can be explained not the a decay mechanism of superoxide in the present flow injection system. This half- life is rather short compared to the value (100 s) given by Millero [3] ; he mathematically calculated the half-life as to the disproportionation of HO₂ based on the concentration of H₂O₂. His calculation was based on the two body reaction of HO₂. Although Millero's result was given for seawater, the order of the calculation and the observed values are close to each other. The linearity of flow rate and chemiluminescence was always given in the present samples, and seems to be negligible in exponential component. As for the half-life of superoxide, 10 min. was given in aprotic conditions, where ESR was employed for the measurement [34] . In addition, 5.7 min was obtained at pH 7.4 by the spin-trap ESR measurement [35] . The simple aqueous solution including seawater reduces the half- life of the superoxide anion compared to complex biological cells. As the substances affecting the life-time of superoxide, several metal ions existing in the river water can be considered. We inspected the sulfates of Fe(II) and Cu(II). These ions reduce the flow injection peak, but the life-time of superoxide was not influenced with their additions upto 100 μ M (mol/L). The main extinguish mechanism of superoxide is in the reaction participates with superoxide dismutase in the biological system. However, hydrogen ion is major species in river water as shown in the reaction scheme. Due to the past data [36], generation of hydrated electron was reduced by nitrate and nitrite ion. These ions are also candidate of the interferent.

Figure 6 shows the ESR spectra, where DMPO was used as a spin trap reagent. When DMPO was added after the irradiation, a very small signal was obtained. As shown in the figure, four peaks (which seem to be due to OH radicals) appeared irrespective of being with or without humic acid. Under the irradiation on the humic acid solution, a small peak appeared at the center of the ESR chart. The data given [37] is insufficient to ascribe this signal to superoxide, i.e., superoxide shows various branch signals close to four peaks of the OH radical. The obtained signal that appeared in the center of the ESR chart seems to correspond with the radicals occurring in the molecules of humic acid, which has many aromatic rings. The radicals may generate in the humic acid molecule after solar irradiation.

The present flow injection system was applied to the river water. The flow injection signals are shown in Fig. 7, where the river water was taken from the Asakawa River, upper stream of the Tamagawa River in the Tokyo district, Japan (the sampling points are shown in Fig. 2). In Fig. 7, the river water sampled in the upstream of the Asakawa River (sampling points:2 ~ 4 in Fig. 2) provided the slight increase in the intensity of chemiluminescence by irradiation of the solar simulator. The water at the lower stream gave the significant chemiluminescence signal either with irradiation or without irradiation of the solar simulator. This situation is the same in the water

sampled at the estuary of the Tamagawa River. The obtained results can not be explained by means of the photo-production of superoxide in the river water except for the upstream of the Asakawa River, but some reactive components originally exist in the river water making emission with luminol. Reports in literatures show that luminol reacts with H_2O_2 , also other than superoxide. However, the reaction between luminol and H_2O_2 is slow and the amount of H_2O_2 in river water is negligible for the chemiluminescence reaction. The several ingredients gave the luminol chemiluminescence either with or without the solar irradiation. As the result, the half life-time can be determined only the river water sampled around the upper stream of the Asakawa river (2.5-3.2 sec) by addition of 50 ppm AHA. The river water sampled at the estuary of the Tamagawa river (sampling points 1 to 10), gave the chemiluminescence either with or without irradiation of the solar simulator. Figure 8 shows examples of the three-dimensional measurement of excitation and emission for river water fluorescence. In this figure, emission observed at 450 nm corresponds to humic acid. The result in Fig. 8 shows that humic acid does not contribute to an increase (by photo-induction) of the intrinsic chemiluminescence in river water.

In conclusion, the present flow injection system is applicable for observing the photo-production of superoxide mediated by humic acid. However, due to luminol giving chemiluminescence with the substances existent in the natural river water, the photo-production of superoxide was conducted in a limited natural sample. In spite of the limited cases, it is important that the flow injection technique has a potential to measure the life-time of some unstable chemical species as shown in the case of the superoxide anions in the aquatic system.

Acknowledgements.

This work was supported by Grant in Aid No. 14320235 from the Ministry of Culture, Science and Education, Japan, and Grant No. 2003-03 from Tokyuu Environmental Science Foundation.

References

1. R. G. Zika "Marine Organic Photochemistry" In Marine Organic Chemistry. Ed. by E. K. Duursma and R. Dawson. pp 229-325, Elsevier (1981).
2. O. C. Zafiriou Natural water photochemistry. In Chemical Oceanography vol. 8. eds. by J. P. Riley and R. Chester pp. 339-379, Academic Press (1983).
3. F. J. Millero *Geochem. Cosmochem. Acta* 51 351-353 (1987).
4. J. Kochany and R. J. Maguire *Sci. Total Environ.* 44 17-31 (1994).
5. S. Meric, D. Kaptan, and O. Tunay *J. Environ Sci. Health A38* 2241-2250 (2003).
6. R. M. Baxter and J. H. Carey *Can. Nature* 306 575-576 (1983).
7. P. S. Nico, C. Anastasio, and R. J. Zasoski *Geochim. Cosmochim. Acta* 66 4047-4056 (2002).
8. K-J. Ho, T-K. Liu, T-S. Huang, and F-J. Lu *Ach. Technol.* 77 100-109 (2003).

9. J. Ueda, N. Ikota, T. Shinozuka, and T. Yamaguchi *Spectrochim. Acta*, A 60 2487-2492 (2004).
10. H. Liang, C. Tsai, P. Chen, and F. Lu *Life Sci.*, 65 1163-1173 (1999).
11. B. Tang, L. Zhang, J. Hu, P. Li, H. Zhang, and Y. Zhao *Anal. Chim. Acta*, 502 125-131 (2004).
12. B. Tang, Y. Wang, and L. Ma *Anal. Bioanal. Chem.* 378 523-528 (2004).
13. V. K. Kutala, N. L. Parinandi, J. L. Zeier, and P. Kuppusamy *Achieves Biochem. Biophys.* 424 81-88 (2004).
14. J. Xue, Y. Xian, X. Ying, J. Chen, L. Wang, and L. Jin *ibid.* 405 77-85 (2000).
15. S. I. Liochev and I. Fridovich *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 94 2891-2896 (1997).
16. Y. Tampo, M. Tsukamoto, and M. Yonaha *FEBS Lett.* 430 348-352 (1998).
17. D. Yao, A. G. Vlessidis, N. P. Evmiridis, Y. Zhou, S. Xu, and H. Zhou *Anal. Chim. Acta* 467 145-153 (2002).
18. G. Merenyi and J. S. Lind *J. Am. Chem. Soc.* 102 5830-5835 (1980).
19. H. Heinle, and J. El. Dessouki *J. Bioluminescence and Chemiluminescence* 10 71-76 (1995).
20. P. M. Easton, A. C. Simmonds, A. Rakishev, A. M. Egorov, and L. P. Candeias *J. Am. Chem. Soc.* 118 6619-6624 (1996).
21. L. Castro, M. N. Alvarez, and R. Radi *Achieves of Biochem. Biophys.* 333 179-188 (1996).
22. A. Daiber, M. August, S. Baidus, M. Wendt, M. Oelze, K. Karsten, A. L. Kleschyov, T. Munzel *Free Radical Biol. Med.* 36 101-111 (2004).
23. J. Faldt, M. Ridell, A. Karlsson, and C. Darlgren *Luminescence* 14 153-160 (1999).
24. S. Girotti, F. Fini, E. Ferri, R. Budini, S. Piazzzi, and D. Cantagalli *Talanta* 51 685-692 (2000).
25. R. Misiaszek, C. Crean, A. Joffie, N. E., Geacintov, and V. Shafirovich *J. Biol. Chem.* 279 32106-32115 (2004).
26. Y. Nosaka, Y. Yamashita, and H. Fukuyama *J. Phys. Chem.* 101, 5822- 5827 (1997).
27. S. Melton, R. A. Wheatley, I. Cakici, I. Kanzik, and A. Townshend *Anal. Lett.* 36, 749-765 (2003).
28. T. Toyo'oka, T. Kashiwazaki, and M. Kato *Talanta* 60 467-475 (2003).
29. M. Sariahmetoglu, R. A. Wheatley, Y. Cakycy, Y. Kanzyk, and A. Townshend *Pharmacol. Res.* 48 361-367 (2003).
30. B. Tang, L. Zhang, and L. Zhang *Anal. Biochem.* 326 (2004) 176-182.
31. D. Yao, A. Vlessidis, G. Athanasios, Y. Gou, X. Zhou, Y. Zhou, N. P. Evmiridis. *Anal. Bioanal. Chem.* 379 171-177 (2004).
32. H. Ukeda *Bunseki Kagaku* 53 221-251 (2004).
33. L. G. Malbon and D. W. King Abstracts of Papers, 223rd ACS National Meeting, Orland, FL, United States, April 7-11 (2002).

34. C. Deby, M. Boes, J. Pincemail, J. Bourdon-Neuray, and G. Deby-Dupont *NATO ASI Series, Series A: Life Science* 189 105-113 (1990).
35. N. Mankuratri, Y. Kotabe, and E. G. Janzen *Free Radical Biol. Med.* 21 889-894 (1996).
36. Y. Kumamoto, J. Wang, and K. Fujiwara, *Bull. Chem. Soc. Jpn*, 67, 720-727 (1994).
37. J. L. Zweier, P. Kuppusamy, and G. A. Luty *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 85 4046-4050 (1988).

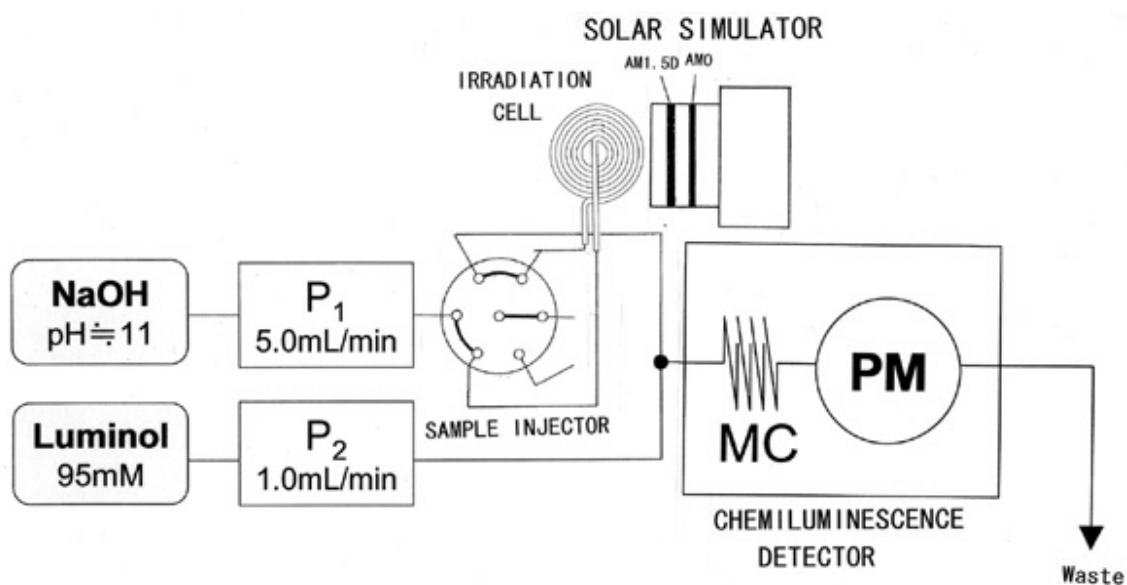


Fig. 1

Flow injection system for superoxide production. P₁, P₂: pump, AM1.5D, AM0: air-mass filter, MC: mixing coil, PM: photomultiplier, SAMPLE INJECTOR: six-way valve (Rheodyne 9275).

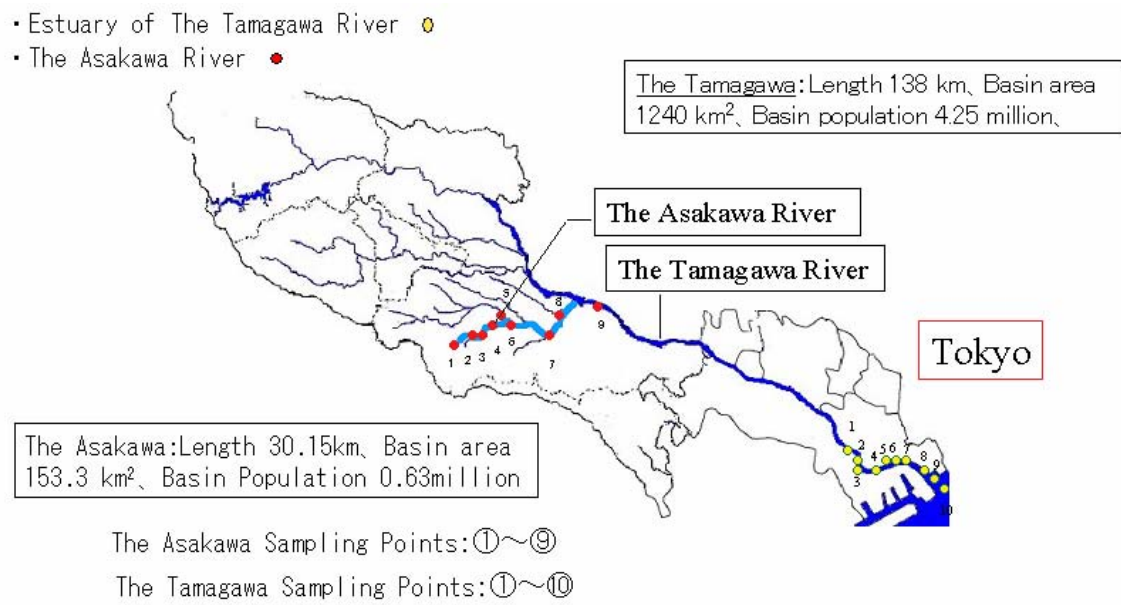


Fig. 2 Sampling points in river water.

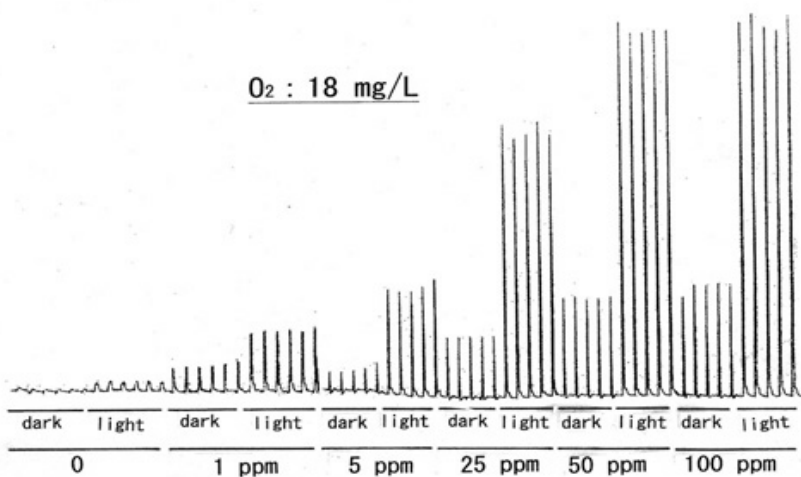
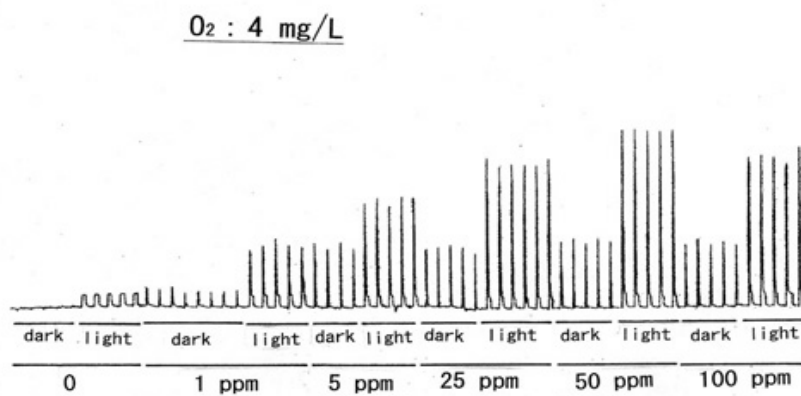


Fig. 3

Flow injection signals for humic acid solution of different concentrations.

Concentration of O₂ (dissolved oxygen) was changed by bubbling oxygen through the solution, which was measured by a DO meter. The concentration of AHA was 1 (w/v)%. The concentration of NaOH was 0.01 M (= mol/L) and the pH of the solution after mixing NaOH was pH 11. The concentration of luminol was 1.52 mM. The irradiation time of the solar simulator was 4 s.

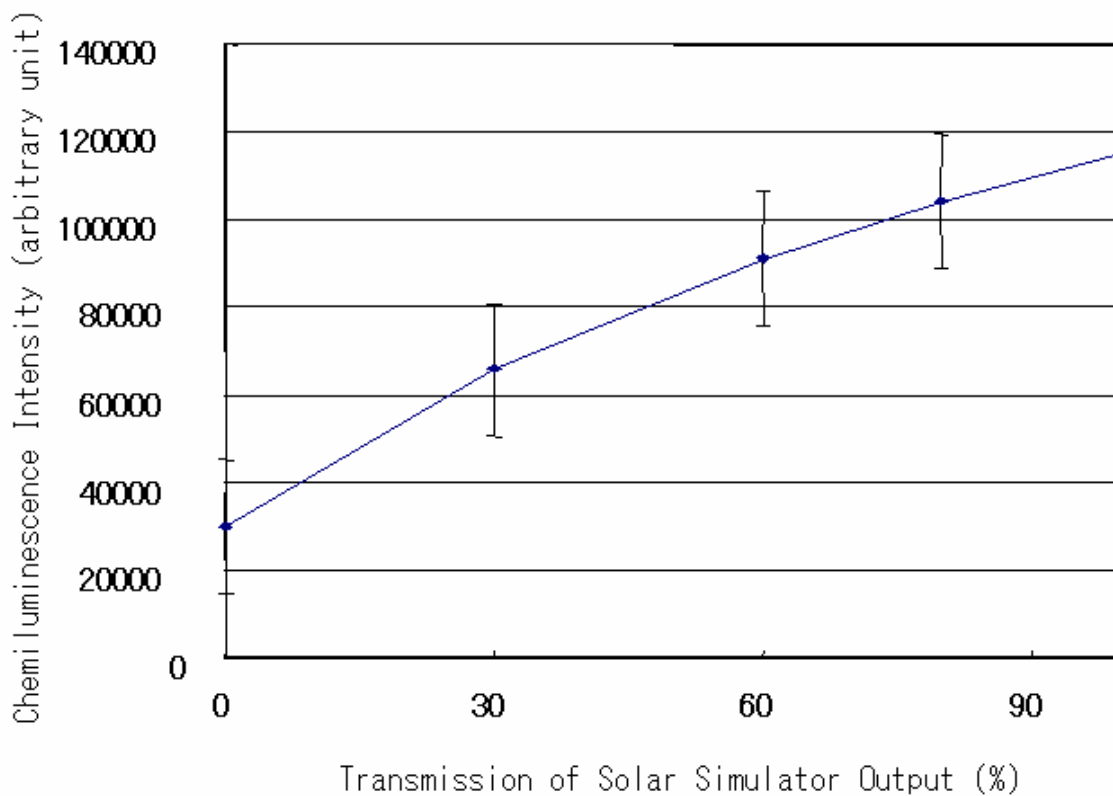


Fig. 4 Dependence of chemiluminescence intensity on irradiation intensity of solar simulator.

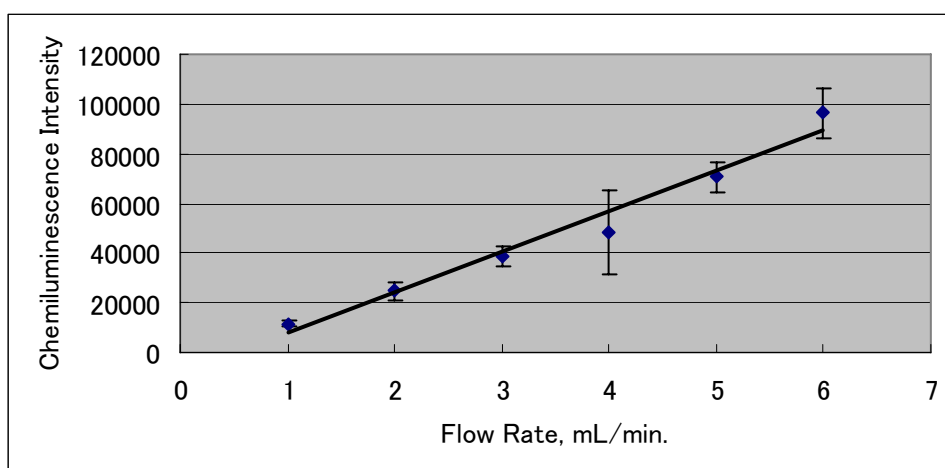


Fig. 5 Dependence of chemiluminescence intensity (arbitrary unit) on the flow rate of carrier solution.

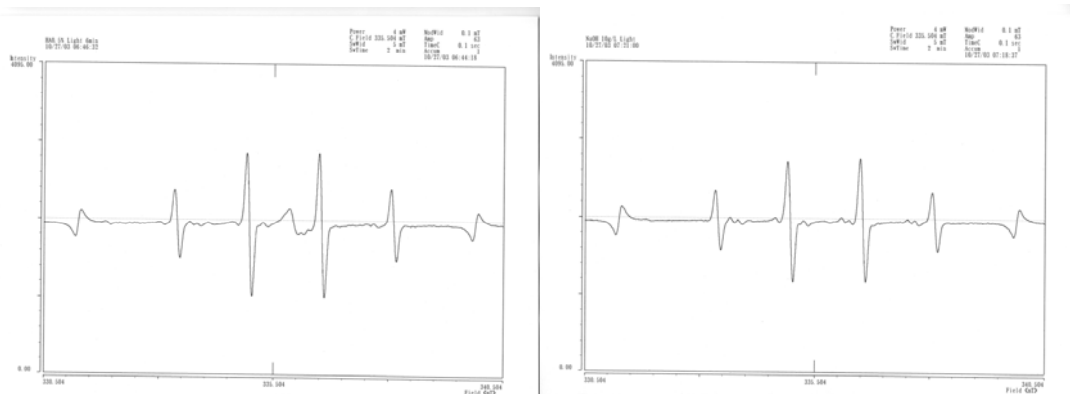


Fig. 6 ESR spectra for the solutions with (left) and without (right) humic acid.

In the left, ESR was measured for the sample containing 0.5 % humic acid, 0.5 % NaOH and 20 μ L DMPO (spin trap agent). ESR spectra were obtained just after 5 min. irradiation of the solar simulator. The right spectra is the same without humic acid.

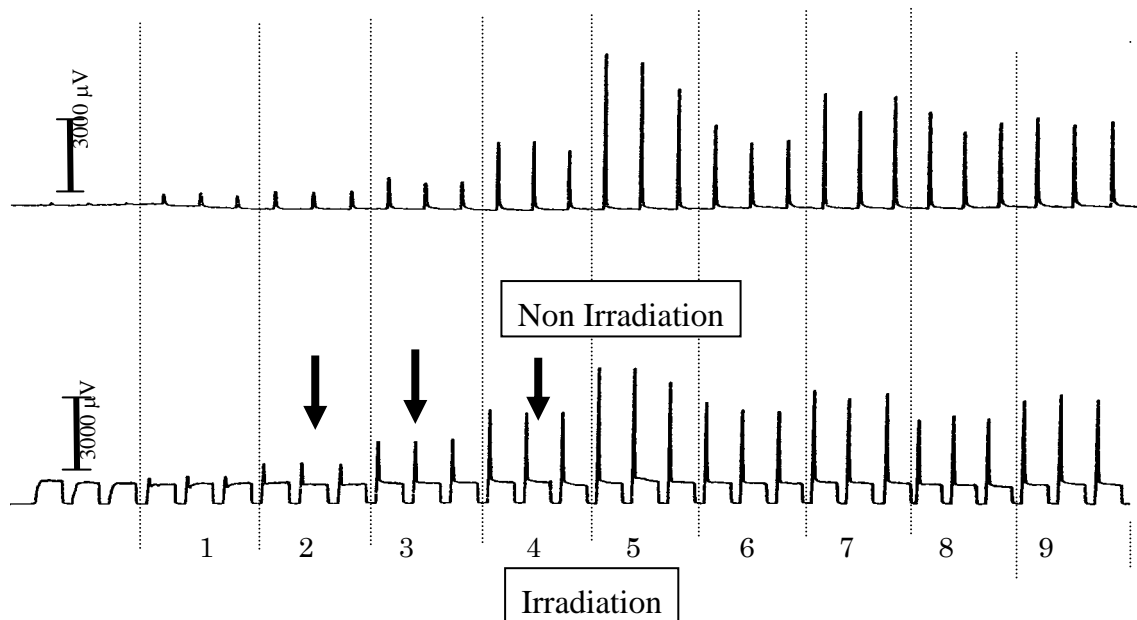


Fig. 7 Flow injection signals of the sample collected in the Asakawa River.

The flow injection signals with and without irradiation of the solar simulator were given. The number shown in the figure is the sampling points shown in Fig. 2.

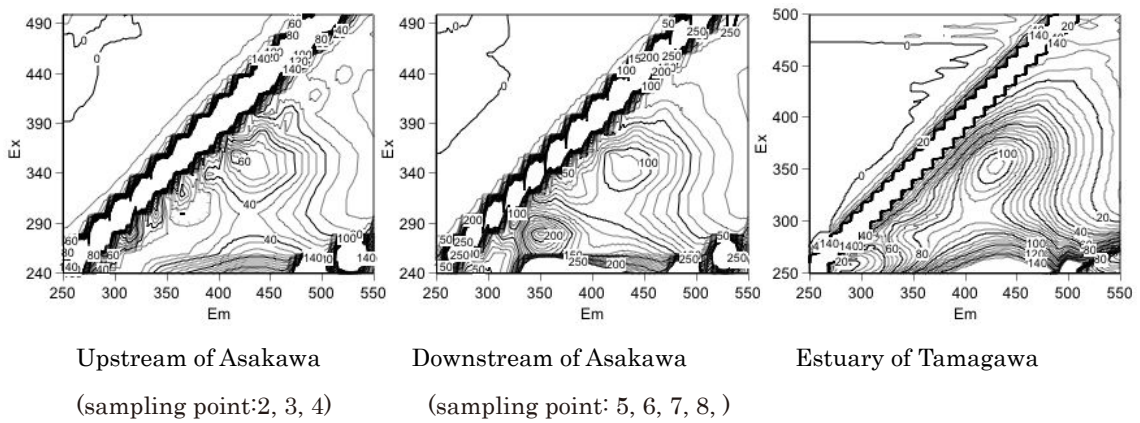


Fig. 8 Three dimensional measurement of excitation and emission (3DEEM) for river fluorescence.

多摩川河口域の水中および干潟表面からの アルキルフェノール類の非生物学的除去の可能性について

長 南 学* 熊 田 英 峰**
村 上 陽 子** 藤 原 祺 多 夫**

Possibility of Abiotic Removal of Alkylphenols from Water Column and Tidal Flat Surfaces in the Tamagawa River Estuary, Japan

Manabu CHONAN*, Hidetoshi KUMATA**,
Yoko MURAKAMI** and Kitao FUJIWARA**

- * Laboratory of Environmental Chemistry, School of Life Science, Tokyo University of Pharmacy and Life Science, 1432-1 Horinouchi, Hachioji, Tokyo 192-0392, Japan
** Laboratory of Environmental Chemistry, School of Life Science, Tokyo University of Pharmacy and Life Science, 1432-1 Horinouchi, Hachioji, Tokyo 192-0392, Japan

Abstract

The abiotic removal (i. e., flocculation and photolysis) of alkylphenols (i. e., nonylphenol (NP) and octylphenol (OP)) from the estuarine environment was studied by investigating the environmental distributions of these compounds in the Tamagawa river, Japan and the photoinduced decrease in their concentration in water and on the tidal flat. The concentrations of NP and OP in the dissolved form ($< 0.7\mu\text{m}$) as well as in the 'total' (dissolved and particulate form) form decreased by 50% in the upper part of the inter tidal zone (salinity: 0-7‰). The 'mixing experiment' in which river water (salinity: 0‰) was mixed with seawater (salinity: 31.3‰) at various rates revealed an almost linear inverse relationship between total-NP and -OP concentrations and water salinity. These results suggest that alkylphenols are removed from the water column through a process other than flocculation. Irradiated for 8 hours using a solar simulator, the concentration of NP and OP dissolved in $1\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ humic acid solution decreased significantly ($\sim 50\%$), whereas those in distilled water behaved more conservatively, this suggests that the photolytic decomposition of NP and OP can occur in natural waters. Although small, but significant amounts of alkylphenols were removed from a river sediment after a 6-hour exposure to sunlight, the anoxic production of NP and OP from their precursors in the sediment was revealed to be a far more important process than the photolytic decomposition.

Key words: abiotic removal of alkylphenols, river estuarine, photolysis, flocculation

1. はじめに

近年、ノニルフェノール (NP) やオクチルフェノール (OP) は内分泌かく乱作用を指摘されており、野生生物に対する影響が危惧されている¹⁾。環境中の NP, OP はノニルフェノールポリエトキシレート (NPnEO) やオクチルフェノールポリエトキシレート (OPnEO) から生成されるが、これらは好気条件下で微生物分解によりエトキシ (EO) 基が短縮され、アルキルフェノールジエトキシレートやアルキルフェノールモノエトキシレート, EO 基の末端がカルボキシル化したアルキルフェノキシカルボン酸といった中間体を生じ、最終的に嫌氣的微生物分解を受けてアルキルフェノールが生成される²⁻⁵⁾。

NPnEO は EO 基が短くなるほど毒性が高くなり、NP では NPnEO の約400倍の毒性を持つと言われている²⁾。

NP や OP のように下水に由来する成分は、直接あるいは間接的に河川に流入し、最終的には沿岸海洋域へ到達する。河口域において大きな負荷源がない場合、河川水中の環境汚染物質は流下とともに濃度が減少する。このような濃度変化の起こる原因は、汚染物質濃度の低い海水による希釈だけでなく、何らかの除去プロセスが働いているためだと考えられている⁶⁾。例えば、河口域における物質の除去過程として、淡水と海水の混合によるイオン強度の変化により溶存物質がフロック化したり、そうして生成した粒子に吸着したりして沈降・除去される

* 東京薬科大学大学院生命科学研究科 〒192-0392 東京都八王子市堀之内1432-1

** 東京薬科大学生命科学研究部環境衛生化学研究室 〒192-0392 東京都八王子市堀之内1432-1

等の過程が報告されている^{7,8)}。また、家庭用洗剤成分である直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩 (LAS) については、河口域での除去は上に述べたようなフロック化によるものではなく、微生物分解によるものが大半を占めると報告されている⁹⁾。

一方、NP、OP などの河口域における除去過程、特にフロック化や光化学的分解等の非生物学的なプロセスについては、まだ十分な研究がなされていない。わずかな例として、Jonkers et al.¹⁰⁾によって、河口域における非生物学的なプロセス、特にフロック化の存在が明らかにされた。

また、天然水中に存在するフルボ酸やフミン酸等の着色溶存有機物が光によって励起すると、活性酸素種の発生を誘起すると考えられている^{11,12)}。こうした水中での光化学過程は環境汚染物質を変性・分解するなど、その環境中での消長に深く関与する可能性がある。近年、このような見地から、フルボ酸やフミン酸共存下でのアニリン¹³⁾や PAHs¹⁴⁾などの環境汚染物質の光化学分解に及ぼす影響については研究がなされている。しかし、内分泌かく乱作用を持つアルキルフェノール類については、水中での光化学的な除去や溶存有機物との相互作用について明らかとされていない。

そこで本研究では、多摩川を調査対象とし、河口域における NP、OP の非生物学的な除去過程、特に光分解作用について明らかにすることを目的とした。

2. 試料採取地域概要

本研究では多摩川中流（府中堰より下流）より下流および河口域を調査対象とした。多摩川は山梨県笠取山に源を発し、東京西北部の雨水を集めて流下しているが、その河川水の大部分は上水道用に取水される。それ以降、多くの都市排水および秋川、浅川、野川などの支流を併せ東京湾へ注ぐ全長140km、流域面積1,240km²の河川である。海水の浸入は河口より12kmの丸子橋にある調布堰で止められている。調布堰における平均流量は毎秒30 m³、低水位流量は、毎秒13m³である。東京の多摩地区を主な流域とする典型的な都市河川で、流域人口は約300万人である。下水道普及率は55%で、生下水の流入は中流部から下流部にかけて広く存在する。BOD は上流部で1～2 ppm と低く、中流域で上昇し、それ以後調布堰まで6～11ppm と高い水準で推移するが、調布堰より下流では、海水の浸入により BOD 値は低下する¹⁵⁾。

3. 試料および方法

3.1 試料

3.1.1 試料採取

河川水試料は2001年11月27日に8地点、2002年6月13日に10地点で採取した。堆積物試料は、2001年11月27日に5地点、2002年6月13日に7地点でエックマン採泥器を用いて採取した。Fig. 1 に試料採取地点を示した。河川水試料は採水後直ちに実験室へ持ち帰り、予め加熱して有機物を除去したガラス繊維ろ紙 (Whatman GF/F) を用いて吸引ろ過した。ろ液 (溶存態試料) は塩酸酸性 (<pH2) として4°Cで、ろ紙上の懸濁粒子 (懸濁態試料) はアルミホイルに包んで-30°Cで、それぞれ分析まで保存した。また、河川堆積物は採取後、ステンレス容器に

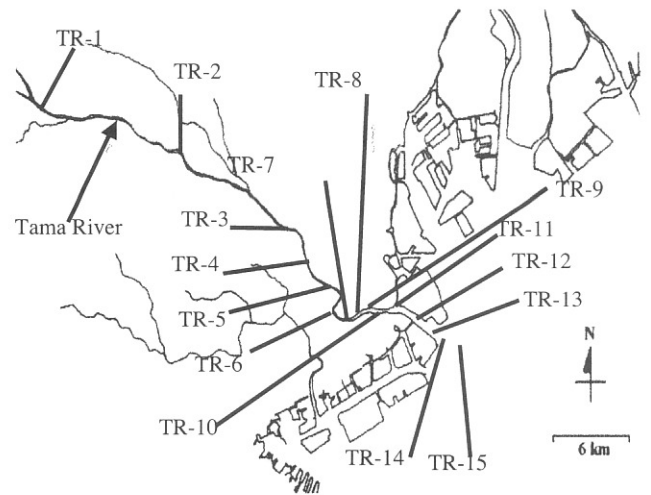


Fig. 1 Sampling location

入れて-30°Cで保存した。

3.1.2 海水—河川水混合実験

海水—河川水の混合が水中の NP、OP 濃度に及ぼす影響を調べるために、2001年12月16日に相模湾沖で採取した沿岸域海水と、2002年2月14日に浅川（東京都日野市）で採取した河川水をそれぞれガラス繊維ろ紙を用いてろ過した後に、それぞれ100:0, 80:20, 60:40, 20:80 (海水:河川水) の割合で混合、異なる塩分で4試料を調整し、河川水と同様にろ過し、フロック化による吸着・沈降物を除去した後に SPE カートリッジ (Waters Sep-Pack Plus tC18-env. Cartridge) で抽出した後、分析に供した。

3.1.3 水試料への光照射実験 (室内)

NP、OP の標準品を純水またはフミン酸水溶液 (1 ppm) に添加して100ppbの溶液500mlを2つ調整した。一方をガラス容器に入れ、化合物の揮発を防ぐために上部に置いた石英板を通して、太陽光シミュレーター (Oriol 66902, 150W Xe ランプ, AM #0 + AM #1.5D filter) による光照射を行った。他方は外部からの不純物の混入を防ぐためにアルミホイルで蓋をし、暗所で静置し、これをコントロールとした。一定時間 (0, 1, 2, 4, 8 時間) 毎に各溶液の一部を分取し、SPE カートリッジを用いて固相抽出し、河川水溶存態試料と同様に分析した。結果には各時間のコントロールに対するサンプルの比をとり、残存率として表した。

3.1.4 堆積物試料への現場での太陽光照射実験

2003年2月6日に多摩川六郷橋直下 (TR-7 付近) でエックマン採泥器を用いて採取した堆積物を、採取後直ちに250μmのステンレスメッシュを通して粗大粒子を除去後、均一に攪拌し、さらに5つのサブサンプルに分割した。そのうち1つのサブサンプルは分割後直ちにステンレス製タッパーに移して、容器外側からドライアイスで冷却し凍結させ、これをコントロール (control) とした。残りの4つのサブサンプルの内2つは、別々のガラスシャーレに移し、一方をそのままにした系 (Light)、もう一方は飽和塩化水銀溶液を堆積物の湿重量の1.5%添加した系 (Light+Hg) として、多摩川羽田空港付近 (TR-12) の干潟表面において太陽光照射を行った。これら2つのサブサンプルを光照射区と便宜的に総称する。日光照射は、2003年2月6日10～16時の6時間行い、こ

の間、干潟表面に照射された太陽光のエネルギーは紫外部のみで $44.0\text{J}\cdot\text{cm}^{-2}$ であった。試料採取と光照射地点が異なるのはTR-12では干潟のため、光分解の影響が強く影響している可能性を考慮したためである。残る2つのサブサンプルは別々のスクリーキャップボトルに移し、一方をそのままにした系(Dark)、もう一方は飽和塩化水銀溶液を堆積物の湿重量の1.5%添加した系(Dark+Hg)として、ボトルを密栓し、ボトル全体をアルミホイルで覆い、上記の光照射区試料への太陽光照射を行っている間、同じ干潟の泥中に埋没させて光照射を防いだ。これら2つのサブサンプルを光未照射区と便宜的に総称する。照射終了後、全ての試料を実験室に持ち帰り、通常の堆積物試料と同様に分析した。

3.2 実験器具・試薬類

NPとOPの標準品は、東京化成の4-ノニルフェノール、和光純薬のp-t-オクチルフェノール(環境分析用)をそれぞれ用いた。回収率補正用内部標準物質として林純薬工業のp-t-オクチルフェノール-d₆を、試料導入用の内部標準物質として和光純薬のアントラセン-d₁₀を、それぞれ使用した。また、光分解実験に用いたフミン酸標準物質はAldrich社のフミン酸ナトリウム塩を用いた。溶媒には関東化学の試薬特級のメタノール、ジクロロメタン(DCM)、アセトン、n-ヘキサン(ヘキサン)をそれぞれガラス製蒸留器で蒸留して用いた。また、実験に使用したガラス器具は全て、メタノール、アセトン、ヘキサンで洗浄してから用いた。

3.3 分析方法

NPおよびOPの分析方法はIsobe et al.の方法に準じた¹⁵⁾。以下に概要を示す。抽出は、堆積物試料および河川水懸濁態試料など固体試料の場合は、凍結乾燥後にDCMによるSoxhlet抽出(4 cycle \cdot h⁻¹ 13 hrs)で行った。水試料の場合はSPEカートリッジに蒸留水20mlを

流して脱塩した後にDCM 20mlで溶出させて固相抽出し、抽出液を得た。また、水試料、堆積物試料共に得られた抽出液を減圧濃縮し、5%不活性化シリカゲルカラム($\phi 11\times 90\text{mm}$)に添加、DCM/ヘキサン=25:75(v/v) 20mlを流して低極性の夾雑物を除去後、DCM/ヘキサン=65:35(v/v)20mlを流してNP、OP画分とした。これを100 μl まで窒素気流下で濃縮し、ピリジン(和光純薬特級)、無水酢酸(和光純薬特級)をそれぞれ50 μl 添加し、12時間反応させてフェノール性水酸基をアセチル化した後、1 M塩酸とヘキサンを加え、液一液抽出した。ヘキサン相を窒素気流下で濃縮し、溶媒を乾固後、試料導入用内部標準溶液で定容し、そのうち1 μl をGC/MS(HP5890 Series II plus/HP5972)に注入してNP、OP濃度を測定した。GC/MSの運転はSIMモードで行い、観測したフラグメントイオンはm/z=107, 121, 135, 149, 163, 177, 191, 206, 220, 262であった。測定結果はHP ChemStation上で積分計算を行い、各フラグメントイオンのピークエリアを合算した値を、検量線と比較してNP、OPの濃度を算出した。

4. 結果および考察

4.1 多摩川におけるNP、OPの分布

2001年11月27日および2002年6月13日に採取した河川水試料の分析結果をTable 1に示した。水試料中の溶存態NP、OP濃度はNPで $4.56\text{--}233\text{ng}\cdot\text{l}^{-1}$ 、OPで $0.08\text{--}17.5\text{ng}\cdot\text{l}^{-1}$ であり、既報¹⁶⁾と同程度であった。また全体の傾向として、上流から下流にかけて濃度が低下した。2001年11月のサンプルではTR-3でNPの濃度が最大値となっているのは付近に川崎市の下処理施設(等々力水処理センター)があり、処理水が流入していたためではないかと考えられる。OPは上流から下流に向かって濃度が低下していている事から、下水処理施設

Table 1 NP and OP concentrations in water samples from the Tamagawa River, Japan

	Distance from River mouth (km)	Salinity (‰)	Suspended particulate matter (mg \cdot L ⁻¹)	dissolved conc. (ng \cdot L ⁻¹)		particulate content (ng \cdot g ⁻¹)		particulate conc. (ng \cdot L ⁻¹)	
				NP	OP	NP	OP	NP	OP
27. Nov. 2001									
TR-1	-38	0.2	6.23	138	7.21	210	60	1.31	0.37
TR-2	-30	0.4	5.15	142	7.74	264	209	1.36	1.08
TR-3	-16	0.4	5.09	233	4.95	461	234	2.35	1.19
TR-4	-14	0.4	2.31	107	4.18	508	769	1.17	1.78
TR-5	-12	0.8	2.14	95.9	5.23	829	1590	1.77	3.40
TR-7	-9.1	1.5	3.15	74.9	3.83	335	306	1.06	0.96
TR-10	-5.5	7.3	1.24	49.6	3.14	78.1	23.0	0.10	0.03
TR-12	-2.5	7.9	1.43	19.1	1.85	51.5	26.6	0.07	0.04
13. Jun. 2002									
TR-5	-12	1.3	6.51	78.0	15.8	1490	304	9.70	1.98
TR-6	-9.7	2.9	9.22	82.4	17.5	1040	79.8	9.60	0.74
TR-8	-8.5	3.9	2.31	49.5	8.26	302	15.2	0.70	0.04
TR-9	-7.0	4.7	1.37	46.5	8.72	460	22.1	0.63	0.03
TR-10	-5.5	9.7	3.02	37.4	6.99	190	21.3	0.57	0.06
TR-11	-4.3	10.0	2.75	n.a.	n.a.	389	84.4	1.07	0.23
TR-12	-2.5	13.8	3.29	65.6	6.94	21.2	116	0.07	0.38
TR-13	-1.3	15.6	3.82	18.3	2.25	213	9.00	0.81	0.03
TR-14	0.1	17.5	3.56	4.56	0.08	285	61.3	1.01	0.22
TR-15	1.1	21.0	3.52	5.44	0.37	171	20.1	0.60	0.07

n.a.: not available because the sample was not analyzed

からの負荷はOPにはほとんど影響がなかったと推測される。

懸濁態試料中のNP, OPの濃度はNPで0.07-9.70 $\text{ng}\cdot\text{l}^{-1}$, OPで0.03-3.40 $\text{ng}\cdot\text{l}^{-1}$ となった。懸濁粒子濃度は塩分とともに増加しているが、懸濁態NP濃度およびOP濃度はTR-5付近で最大となった。TR-3より下流側では塩分の上昇が確認され、海水による希釈だけでなく、中田ら⁶⁾やJonkers et al.¹⁰⁾の報告にあるように、塩分の上昇に伴う吸着・沈降等の過程によって水中のNP, OP濃度が変化していると考えられる。

2001年11月27日および2002年6月13日に採取した河川堆積物試料の分析結果をTable 2に示した。また、Table 3に採取した堆積物の粒度分布を測定した結果を示し

Table 2 NP and OP concentrations in sediments from the Tamagawa River, Japan

	Salinity (‰)	Concentration ($\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ dry)	
		NP	OP
27. Nov. 2001			
TR-2	0.4	92.1	3.78
TR-5	0.8	8.64	0.52
TR-7	1.5	203	14.3
TR-10	7.3	150	6.45
TR-12	7.9	108	5.41
13. Jun. 2002			
TR-5	1.3	35.8	1.73
TR-8	3.9	340	109
TR-9	4.7	34.2	1.64
TR-10	9.7	8.97	0.76
TR-11	10.0	20.4	1.17
TR-12	13.8	11.5	3.43
TR-14	17.5	480	270

Table 3 The size distribution of particles in sediments from the Tamagawa River, Japan

	Distance from River mouth (km)	size distribution (%)	
		<63 μm	>63 μm
TR-5	-12	3.1	96.9
TR-8	-8.5	66.8	33.2
TR-9	-7.0	1.9	98.1
TR-10	-5.5	17.7	82.3
TR-11	-4.3	1.0	99.0
TR-12	-2.5	25.1	74.9
TR-14	0.1	53.9	46.1

*Distribution of the other point sediment is not analyzed

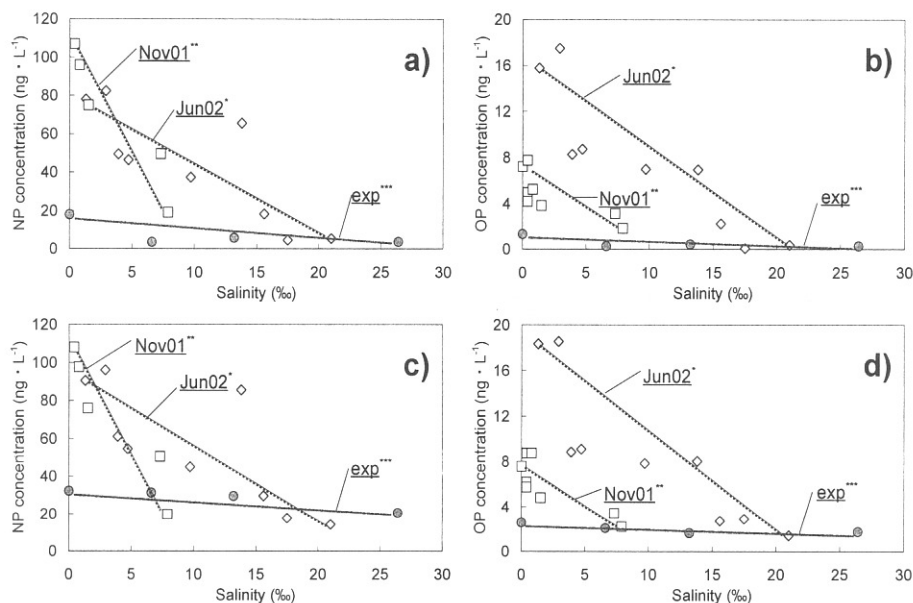


Fig. 2 Variations of dissolved (<0.7 μm) NP (a), 'dissolved' OP (b), total (sum of dissolved [$<0.7\mu\text{m}$] and particulate [$>0.7\mu\text{m}$] forms) NP (c), and 'total' OP (d) concentrations as a function of water salinity in the water samples from the Tamagawa River, Japan and in the mixing experiment. Legends: River water samples collected on Nov. 27, 2001 (\square) and on Jun. 13, 2002 (\diamond), mixing experiment where 'dissolved' phase of river water sample taken from the Asakawa River, Tokyo, Japan on Feb. 14, 2002 was mixed with 'dissolved' phase of sea water collected from offshore of the Sagami Bay, Japan on Dec. 16, 2001 (\bullet). Lines in each panel are 'theoretical mixing lines' that indicate theoretical variations of analyte concentrations when the fresh water sample (with lowest salinity) was mixed with the saline water sample (with the highest salinity) of the same samples series (*, **: theoretical mixing lines for river water samples [\diamond , \square], ***: theoretical mixing line for mixing experiment [\bullet]).

た。堆積物中の NP, OP 濃度は11月のサンプルで TR-5, 6月のサンプルで TR-5, 9, 10, 11の濃度がその他の地点と比較して低かった。Table 3の結果と併せて考えると、これらの地点では堆積物が砂質であったために見かけ上の濃度が薄まったと考えられる。また、それ以外の泥質の場所では高濃度で検出された。

以上の結果から多摩川における NP, OP 濃度変化の傾向について、以下の事が確認された。

- 1) 溶存態の NP, OP 濃度は下流に向かって低下する
- 2) 懸濁態の NP, OP は塩分 1%付近で極大値を示す
- 3) 堆積物中の NP, OP 濃度は下流に向かって上昇する

4.2 河川環境からの NP, OP の除去過程

上で述べた河口域での NP, OP 濃度低下の要因を考察するために、多摩川河川水中の NP, OP 濃度と塩分の関係を調べるとともに、河川水と海水を用いた混合実験を行った。Fig. 2 に河川水の観測結果 (Nov01, Jun02) と混合実験の結果 (mixing) を併せて塩分 vs 化合物濃度のダイアグラムとして示した。なお, Jun02 (◇), Nov01 (□) のプロットの X 値は各試料採取地点における塩分であるのに対し, mixing (○) のプロットの X 値は混合実験における混合後の試水の塩分をとっている。また, それぞれの試料について塩分の最も高い試料と最も低い試料をそれぞれのサンプル群に対するエンドメンバーとした。さらに河川水と混合実験では淡水側のエンドメンバーとなるデータ (塩分の最も低い試料) が異なるため, 河川水については TR-1 (塩分: 0.4‰) の NP, OP 濃度を, 混合実験については浅川河川水 (塩分: 0.2‰) の NP, OP 濃度を, それぞれ基準とした値を用いてグラフを作成した。

Fig. 2-a, 2-b から明らかなように, 河川水の観測結果 (Nov01, Jun02) および混合実験の結果 (mixing) の3種類のプロットに共通して溶存態の NP, OP は塩分の上昇とともに濃度が減少した。この濃度低下が NP, OP 濃度の異なる2つの水塊の混合によって起こる希釈によるものだとすれば, その濃度変化は図中の淡水側と海水側のエンドメンバーを結んだ直線(理論混合直線)によって表される。しかし, Fig. 2-a, 2-b 上の2回の河川観測結果 (Nov01, Jun02) および室内での混合実験 (mixing) も含めたデータの大部分は, 各プロットにおける理論混合直線の下側に位置しており, 河口域内でなんらかの除去過程が働いたことを示している。また塩分 0~7‰程度までの低塩分領域で, 全体の50%に相当する濃度減少が観測されたことから, NP, OP の除去は塩分に極めて敏感であると言える。これは, 堆積物中の NP, OP 濃度の分布が塩分1.5~4.7‰の地点で極大値 (Table 3) を示したことから調和的である。一方, 溶存態と懸濁態の合計濃度について同様な検討を行ったところ, 河川水のデータでは溶存態と同様な除去が認められたのに対し, 混合実験のプロットは理論混合直線に近く, 保存的な傾向を示した (Fig. 2-c, 2-d)。この事から実際の河川環境中ではイオン強度の増大によるフロック化以外の除去過程の存在も考えられる。また, 2002年6月の観測結果では, 塩分14‰付近で NP, OP 濃度が大きく上昇している。こ

れは, 中田らの報告⁶⁾にあるように河川水中で NP や OP の前駆物質であるエトキシレート体, カルボン酸体からの NP, OP の生成が卓越したためだと考えられる。

4.3 光照射実験

河川水中からの NP, OP の除去のうち, フロック化以外の非生物過程として, 光化学過程について検討した。純水およびフミン酸水溶液に NP, OP を添加して太陽光シミュレーターによる光照射を行った際の濃度変化を Fig. 3 に示した。純水への光照射による NP, OP の減少は僅かで, 光照射開始後8時間経過した時点での残存率は NP: 90%, OP: 80%であった (Fig. 3-a)。一方フミン酸を添加した系では, 光照射開始後8時間で NP: 53%, OP: 47%程度まで残存率が低下し (Fig. 3-b), 純水の場合よりも減衰が大きかった。水中の疎水性有機化合物を固相抽出法で濃縮する場合, フミン酸が共存すると, フミン酸分子に目的物質が吸着して, 固相抽出における回収率が低下する可能性がある。本研究で用いたのと同様なオクタデシル系の固相 (Sep Pack cartridge tC18) を用いた場合, pH 5 以上で水中のフミン酸およびフミン酸に吸着/結合した化合物のほぼ全てが固相に保

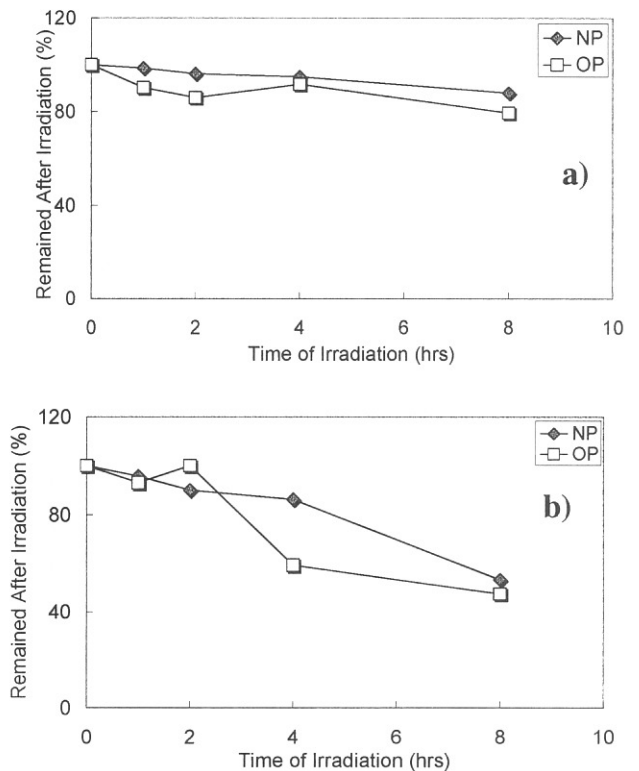


Fig. 3 Variations of NP and OP concentrations in distilled water (a) and in humic acid solution ($1.0\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$) (b) as a function of duration of light exposure. Initial concentrations of NP and OP were $100\ \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ for each solution. Light source: Oriel 66902 solar simulator with Xe lump (150W) and AM#0 + AM#1.5D filters. All the data is corrected for possible loss due to adsorption onto glassware's wall by dividing the concentration of analyte i , in the solution exposed to light, for j hours ($C_{i,\text{light},j}$) by its counterpart in the control sample kept dark for j hours ($C_{i,\text{dark},j}$) and normalized to the initial value as: $R_{i,j} = (C_{i,\text{light},j}/C_{i,\text{dark},j}) / (C_{i,\text{light},j}/C_{i,\text{dark},j})^* 100(\%)$

持されずに通過してしまう^{17,18)}。しかし、本研究では固相抽出に供する試水は、全て pH 3~4 の範囲に調整しているため、このような要因による抽出効率の低下は考えにくい。また、Fig. 3 で示した残存率は光照射区と同じ時間間隔でコントロール試料も分取・分析し、各時間のコントロール試料中 NP, OP 濃度に対する光照射区試料中 NP, OP 濃度の相対値として表現している。従って、フミン酸を添加した系 (Fig. 3-b) で、純水の場合 (Fig. 3-a) よりも残存率が低下したのは、フミン酸への吸着以外の要因によるものとも言える。フミン酸の様な高分子の溶存有機物質は光によって励起し、種々の活性酸素種を生成することが知られている¹⁹⁾。また、晴天時の河口~沿岸海域では、そうした活性酸素種の最も安定な化学形態である H₂O₂ が、水中のフミン質濃度に応じて生成されることが Fujiwara et al.²⁰⁾ によって報告されている。水環境中の NP, OP は、フミン酸等の共存物質が光励起して生成したラジカル類の攻撃を受け、間接的に分解・除去されるのだと考えられる。

水中からフロック化等によって除去された NP, OP は堆積物中に取り込まれ、その一部は再移動を繰り返して、河口付近の干潟に移行する。多摩川河口干潟では有機物が豊富に存在するため²¹⁾、干出時に太陽光を照射されることで、上と同様な光化学的な除去が起る可能性がある。そこで、多摩川羽田空港付近 (TR-12) の干潟上で検討を行った。結果を Fig. 4 に示す。

Hg 添加によって微生物活性を止めた状態では、光照射区試料の方が未照射区のものよりも僅かながら濃度が低下したことから、非生物的要因により干潟表面から NP, OP が除去されることが示された。一方、未照射区

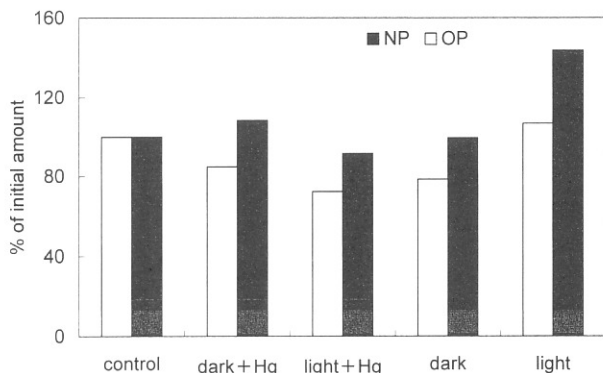


Fig. 4 NP and OP concentrations in sediment from the Tamagawa River (collected on Feb. 6, 2003, at TR-7) changed after *in-situ* sunlight exposure (6-hours) on the tidalflat surface near TR-12 on Feb. 6, 2003. control: subsample frozen immediately after sampling, +Hg: spiked with saturated HgCl₂ solution (1.5% (w/w) of wet weight of the sediment) to minimize bioactivity, dark: sealed in screw capped glass bottle immediately after sampling and kept dark during the experiment, light: transferred to glass dish and exposed to sunlight on the tidalflat surface for 6hours. Total energy of UV irradiated to the tidalflat surface during the experiment was 44.0J·cm⁻². All the subsamples except for 'control' were frozen immediately after the *in-situ* sunlight exposure experiment.

では Hg 添加の有無による差は分析法の誤差の範囲内では認められなかったのに対し、光照射区では Hg を添加した試料よりも、Hg を添加しない試料の方が高濃度であった。これは以下に述べるように、堆積物中に存在する微生物活動の影響によりエトキシレート体から NP, OP が生成されたためだと考えられる。

光照射区の試料は、直径21cm のガラスシャーレに 3 cm の厚みで直上水を極力取り除いた状態で堆積物を入れ、全体に光が当たるようにするため断続的 (2回/時間) に攪拌を行った。この実験に用いた六郷橋付近の堆積物試料は、粒径63μm 以下のシルト画分が7割弱を占める、有機物に富んだ泥質の堆積物である。このような堆積物では直上水との交換によって供給される酸素が重要である²²⁾。本実験のように直上水が存在しない状態では、堆積物表面から数 mm で酸化層が消失するため²³⁾、堆積物内部はもとの河床にあった時に比べ嫌氣的であったと考えられる。また、光照射区試料では堆積物の定期的な攪拌によって泥内に一時的に酸素が供給され、NP, OP のポリエトキシレート体から前駆物質であるモノエトキシレート体の生成が促され、さらに堆積物内部の酸素が消費された後に嫌気分解が起り、Hg によって生物活性を停止した堆積物中よりも NP, OP 濃度が高くなったのだと推察される。一方の未照射区試料 (Dark, Dark+Hg) は、スクリーキャップ瓶に密封して干潟に埋没させ、実験終了まで攪拌を行わなかった。このため、上記の光照射区試料において起こったような、好気条件と嫌気条件の反復に起因する NP, OP の前駆物質の生成が起りにくくなったと考えられる。

5. 結 論

内分泌かく乱化学物質として問題となっている NP, OP について、多摩川河口域における NP, OP の分布調査を行うとともに、NP, OP の濃度分布に影響する非生物的要因として、塩分との関連、光分解特性を調べた。本研究において河口域の水質調査を実施し、Jonkers et al.¹⁰⁾ による報告と同様な結果を得た。すなわち、河口域内で水中の NP, OP 濃度は、塩水の僅かな混入で急激に減少する一方、河口付近では濃度が増大する領域があることが示された。これは前駆物質からの NP, OP の生成速度が除去を卓越することによるものと推察された。その他、本研究で得られた結論を以下に列挙する。

1) 河川水—海水を実験室内で混合し、NP, OP 濃度の変化を調べた。混合実験において、溶存態 NP, OP 濃度は河口域内と同様に塩分の僅かな混入で急激に減少した。しかし、溶存態と懸濁態を併せた結果では河口域内と異なり、NP, OP 濃度は塩分の増大に対して保存的に変化した。河口域内では、イオン強度の増大によって溶存態の化合物が懸濁態へ移行する以外の除去が働いていることが分かった。

2) 水中に溶存する NP, OP は、フミン酸等の共存有機物の影響を受けて、その分解・除去が促進される可能性が示唆された。フミン酸は代表的な陸起源有機物であり、河川水中には DOC の数%程度の割合で存在する。実際の河川環境においても、フミン酸の光励起による、NP, OP の間接的な分解が起こっている可能性がある。ただし本研究では、フミン酸分子の光励起による吸着能

の変化が起こり, NP, OP の固相抽出における回収率が低下, 見かけ上 NP, OP が減少した可能性を捨てきれていないので, 今後の検討が必要である。

3) 水中から沈降した粒子が干潟表面で太陽光の照射を受けた場合, 極僅かながら NP, OP の除去が起ることが示された。しかしその速度は, 干潟泥内の還元的部位における NP, OP の嫌氣的生成の速度よりも遅く, 干潟環境中では光化学過程は支配的要因とはならないことが示唆された。

(原稿受付 2003年6月12日)

(原稿受理 2004年1月22日)

参 考 文 献

- 1) Maruyama, K., Yuan, M. and Otsuki, A. (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.
- 2) 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における分布, 水環境学会誌, **22**, 118-126.
- 3) LA Guardia, M.J., Hale, R.C., Harvey, E. and Mainor, T.M. (2001) Alkylphenol Ethoxylate Degradation Products in Land-Applied Sewage Sludge (Biosolids), *Environ. Sci. Technol.*, **35**, 4798-4804.
- 4) Bokern, M., Nimtz, M. and Harms, H. (1996) Metabolites of 4-n-Nonylphenol in Wheat Cell Suspension Cultures, *J. Agric. Food Chem.*, **44**, 1123-1127.
- 5) Legler, J., Van den Brink, C.E., Brouwer, A., Murk, A.J., Van der Saag, P.T., Vethaak, A.D. and Van der Burg B. (1999) *Toxicol. Sci.*, **48**, 55-66.
- 6) 中田典秀, 真名垣聡, 高田秀重 (2002) 女性ホルモンおよびフェノール系環境ホルモンの河口域における挙動, 第36回日本水環境学会年会講演集, 315.
- 7) Ritter, A.V., Massion, A., Boulange, T., Ryback, D. and Bottero, J.Y. (1999) Removal of Natural Organic Matter by Coagulation-Flocculation: A Pyrolysis-GC-MS Study, *Environ. Sci. Technol.*, **33**, 3027-3032.
- 8) Marshall, S.J., House, W.A. and White, G.F. (2000) Role of Natural Organic Matter in Accelerating Bacterial Biodegradation of Sodium Dodecyl Sulfate in Rivers, *Environ. Sci. Technol.*, **34**, 2237-2242.
- 9) Corcia, A.D., Casassa, F., Grescenzi, C., Marcomini, A. and Samperi, R. (1999), Investigation of the Fate of Linear Alkyl Benzenesulfonates and Coproducts in a Laboratory Biodegradation Test by Using Liquid Chromatography/Mass Spectrometry, *Environ. Sci. Technol.*, **33**, 4112-4118.
- 10) Jonkers, N., Laane, R.W.P.M. and Voogt, P.D. (2003) Fate of Nonylphenol Ethoxylates and Their Metabolites in Two Dutch Estuaries: Evidence of Biodegradation in the Field, *Environ. Sci. Technol.*, **37**, 321-327.
- 11) Zepp, R.G. (1988) Environmental photoprocesses involving natural organic matter, in Humic substances and their role in the environment, pp.193-214, New York, Wiley.
- 12) Vaughan, P.P. and Blough, N.V. (1998) Photochemical Formation of Hydroxyl Radical by Constituents of Natural Waters, *Environ. Sci. Technol.*, **32**, 2947-2953.
- 13) Fukushima, M., Tatsumi, K. and Morimoto, K. (2000) The Fate of Aniline after a Photo-Fenton in an Aqueous System Containing Iron (III), Humic Acid, and Hydrogen Peroxide, *Environ. Sci. Technol.*, **34**, 2006-2013.
- 14) Fasnacht, M.P. and Blough, N.V. (2002) Aqueous Photodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, *Environ. Sci. Technol.*, **36**, 4364-4369.
- 15) 東京都環境保全局 (1982) 昭和56年度都内河川, 湾内の水質測定結果, 東京都保全局.
- 16) Isobe, T., Nishiyama, H., Nakashima, A. and Takada, H. (2001) Distribution and Behavior of Nonylphenol, Octylphenol and Nonylphenol Monoethoxylate in Tokyo Metropolitan Area: Their Association with Aquatic Particles and Sedimentary Distributions, *Environ. Sci. Technol.*, **35**, 1041-1049.
- 17) Landrum, P.F., Nihart, S.R., Eadle, B.J. and Gardner, W.S. (1984) Reverse-Phase Separation Method for Determining Pollutant Binding to Aldrich Humic Acid and Dissolved Organic Carbon of Natural Waters, *Environ. Sci. Technol.*, **18**, 187-192.
- 18) Gardner, W.S. and Landrum, P.F. (1983) Aquatic and Terrestrial Humic Materials, Christman, R.F., Giessing, E.T., Eds., *Ann Arbor Science*, Ann Arbor, MI, 203-217.
- 19) Zepp, R.G., Braun, A.M., Hoigne, J. and Leenheer, J.A. (1987) Photoproduction of Hydrated Electrons from Natural Organic Solutes in Aquatic Environments, *Environ. Sci. Technol.*, **21**, 485-490.
- 20) Fujiwara, K., Ushiroda, T., Takeda, K., Kumamoto, Y. and Tsubota, H. (1993) Diurnal and seasonal distribution of hydrogen peroxide in seawater of the Seto Inland Sea, *Geochemical Journal*, **27**, 103-115.
- 21) Usui, T., Koike, I. and Ogura, N., (1998) *Estuar., Coast. and Shelf Sci.*, **54**, 205-216.
- 22) Koike, I. and Mukai, H. (1983) Oxygen and Inorganic Nitrogen Contents and Fluxes in Burrows of The Shrimps *Callinassa Japonica* and *Upogebia-Major*, *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **12**, 185-190.
- 23) Brotas, V., Amorimferreira, A., Vale, C. and Catarino, F. (1990) Oxygen Profiles in Intertidal Sediments of Ria Formosa (S Portugal), *Hydrobiologia*, **22**, 123-129.

「^{た ま がわおよ}多摩川^{とうきょうわん}及び東京湾^{がいよういき}から外洋域^{おける}における

^{なんぶんかいせいゆうきおせんぶつ}難分解性有機汚染物質^{ぶんぶ}の分布^{うんめいよそく}と運命予測

(研究助成・学術研究 VOL. 34-N0. 256)

著 者 ^{ふじわら}藤原 ^{きたお}祺多夫

発行日 2006年3月31日

発行者 財団法人 とうきゅう環境浄化財団

〒150-0002

東京都渋谷区渋谷1-16-14 (渋谷地下鉄ビル内)

TEL (03) 3400-9142

FAX (03) 3400-9141