

播磨灘および大阪湾のイガイ中のノニルフェノール

熊谷 哲、宇野 美奈子、松岡 智郁、井本 由美子

社会システム環境学大講座

Nonylphenol concentration in seawater and Blue Mussel collected
from Harimanada and Osaka Bay

Tetsu Kumagai, Minako Uno, Tomofumi Matsuoka, Yumiko Imoto

Laboratory of Environment for Social System,

School of Human Science and Environment,

University of Hyogo

Nonylphenol (NP) having an endocrine disrupter effect is used in the form of a poly(oxyethylene)nonylphenyl ether (NPnEO) as a non-ion surfactant. ethoxy straight chain is decomposed by the microbial degradation in environment, then NPnEO is converted to NP through the action. Consequently it is concerned about the effect of NP on wildlife. Blue Mussel has the tolerance, which is strong in pollution. In this study, seawater and Blue Mussel were collected in Harimanada and Osaka Bay enclosed coastal seas. We investigated the distribution and seasonal movement of NP concentration.

The result of the study showed that the concentrations of NP in seawater were gradually increasing from August. Moreover, the concentrations in Blue Mussel were the highest in almost all points in August. These results indicate that the water environment where Blue Mussel lives influenced them. The water temperature of 25°C demonstrated most efficient filtration capability in August and dissolved oxygen (DO) concentration was low in August and September, so the Blue Mussel took in sea water so much. NP concentration in Blue Mussel was varied in the short term. This was suggested that Blue Mussel could become the important indicator of NP concentration in seawater.

1. 1 はじめに

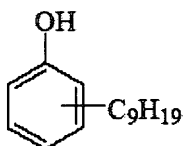
現在、内分泌攪乱作用を持つと疑われている物質は約 70 種類あると報告されており、日本でも環境調査が行われつつある。それらの物質の中で環境ホルモン作用を持つノニルフェノール(NP)は非イオン界面活性剤としてポリ(オキシエチレン)ノニルフェニルエーテル (ノニルフェノールエトキレート: NPnEO)の形で使用されているが、環境中で微生物等による分解を受けてエトキシ直鎖が切れNPとなる。このことより、環境中でのNPによる生物への影響が懸念されている。本研究では、閉鎖性水域である瀬戸内海の一部の大阪湾と明石海峡によりつながっている播磨灘で、海水と汚染に強い耐性のあるムラサキイガイを採取し、NPの濃度分布と経時変化を調査し、そこから採取場所や物質との関連性について考察を行った。

1. 2 ノニルフェノール

ノニルフェノール (NP) はノネンとフェノールとをアルキル化して製造されており^①、安定剤やフェノール樹脂、エステル類、非界面活性剤として使用されている。またノポリ(オキシエチレン)ノニルフェニルエーテル (NPnEO) のエトキシ直鎖が短くなることにより生成される。NPnEOは非イオン界面活性剤であり、乳化、分散、洗浄性に優れた性質を持つことから分散剤や洗浄剤とし

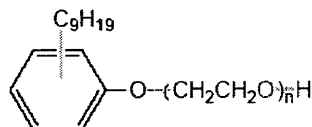
て金属工業、製紙工業、繊維工業などに使用されている。NPの内分泌攪乱作用が報告^②されたのは1991年のことで、ヒト乳癌細胞MCF-7を培養していたところ、このガン細胞が異常増殖している事が見出された。さらに1992年イギリスでは成熟したメスの魚類の特異タンパクであるピテロジェニンがオスの体内からも発見され、NPによって誘発されたものであると報告された^③。またアルキルフェノールエトキシレート類やその代謝産物には環境中

で12年以上もの耐久性を持つものもあると報告⁴⁾されている。これらの事よりNPは世界の政府レベルで初めて日本政府が「環境ホルモン作用を有する物質」と認定し、注目を浴びている物質である。



分子式： $C_9H_{19}C_6H_4OH$
 分子量：220.35
 融点： $-8^{\circ}C$
 沸点： $295^{\circ}C$

Fig.1 NPの構造



融点： $42\sim 43^{\circ}C$
 沸点： $268^{\circ}C$

Fig.2 NPnEOの構造

試料として用いたムラサキイガイは、日本全国に生息していて、足糸を分泌して岩礁などに付着し、植物プランクトン等を食べている。汚染に強い特性があり、日本では化学汚染状態を調べるためにモニターとして分析されてきた。本研究では体長3cm~5cmのものをを用いた。

2 実験方法

2.1 サンプルングポイント

サンプルングポイントはFig.3に示す。採取地点の播磨灘側は姫路・加古川・明石・北淡、大阪湾側は由良・ポートアイランド・武庫川・淀川・南港・泉大津の計10カ所とした。調査期間は2001年5月~10月までの6ヵ月間、月に1度海水とムラサキイガイを採取し、試料とした。

海水試料は、表層水をガラス瓶に採取し、冷蔵保存を行った。ムラサキイガイは岸壁等に付着していたものを熊手で採取し、冷蔵保存で持ち帰った後、直ちに殻を剥いて軟体部を $-20^{\circ}C$ で冷凍保存した。

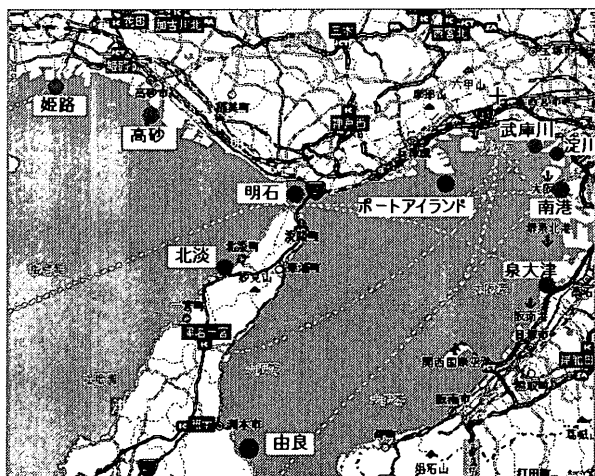


Fig.3 サンプルングポイント

2.2 海水中NP濃度測定の前処理法

海水試料は $0.44\mu m$ Millipore フィルターを用いて濾過し、フィルター上の残渣と濾液の部分に分け、濾液の部分に濃塩酸1mlとアスコルビン酸1gを加えた。予めアセトン洗浄後、蒸留水でコンディショニングを行った固相カートリッジ(Waters Sep-Pak PS-2)に先程の濾液1Lを通し、固相抽出を行った。次いで酢酸ジエチルで溶出し、窒素吹き付けにより蒸発乾固させた。硫酸ジエチル0.2mlでエチル誘導体化した後、内標準物質としてヘキサン溶液としたフェナントレン d-10を加え、無水硫酸ナトリウムで脱水した後0.5mlまで濃縮し、GC/MS-MSで測定を行った。

2.3 ムラサキイガイ中NP濃度測定の前処理法

イガイの軟体部(3~5g)にアスコルビン酸1gとメタノール40mlを加え、ホモジナイズを行った。この操作を2度繰り返した後、遠心分離をした。その後、上澄みを分液ロートに移し、ヘキサン20ml加えて10分間振とうさせ、脂質を除去した。さらにジクロロメタン50mlを加えて10分間振とうし、溶媒抽出操作を2度繰り返した。この溶液に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水した後、5%KOH/エタノール0.5mlを加えて30分間放置し、エチル誘導体化を行った。その後5%KOH/エタノールを用いて $60^{\circ}C$ で1時間ケン化処理を行い、蒸留水3ml、内標準物質フェナントレン d-10を添加した。そこにヘキサンを加え攪拌した後、ヘキサン層を取り出し、硫酸ナトリウムで脱水を行った。それをあらかじめ4%エーテル/ヘキサンでコンディショニングしておいたフロリジルカラム(Waters Sep-Pak Florisil)に流し、さらにエーテル/ヘキサン10mlを加えて脂質などの夾雑物を除去した。それにより抽出されたものを0.5mlまで濃縮しGC/MS-MSで測定した。

2.4 NP GC/MS-MS 測定条件

GC/MS-MS : Finnigan mat GCQ
 カラム : J&W Rtx5MS 30m×0.25mm
 カラム温度 : $60^{\circ}C(1min) \rightarrow (10^{\circ}C/min) \rightarrow 280^{\circ}C(10min)$
 注入口温度 : $250^{\circ}C$
 キャリアガス : He
 イオン化法 : EI
 イオン電圧 : $70eV$
 イオン源温度 : $250^{\circ}C$
 検出モード : MS-MS モード
 Precursor ion : $m/z=163$ Product ion : $m/z=135$
 Injection Volume : $2\mu l$

3 結果

各地点の海水中NP濃度とムラサキイガイ中NP濃度および海水の水温、溶存酸素(DO)濃度を下の Fig.4-1~ Fig.4-20 に示す。

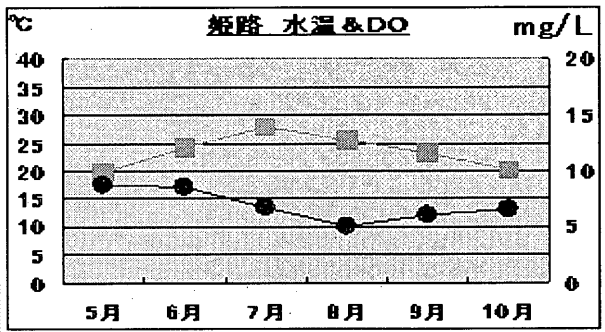
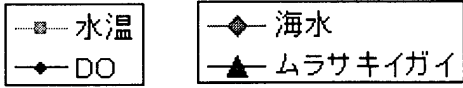


Fig.4-1 海水 Data 姫路

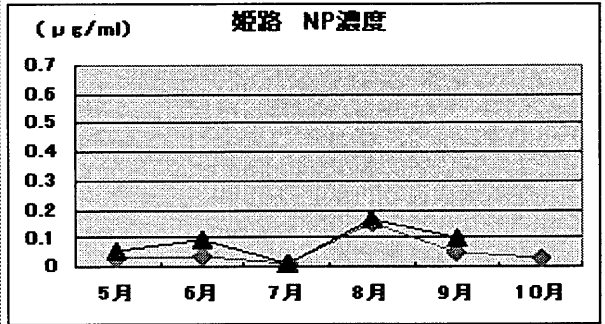


Fig.4-2 NP濃度 姫路

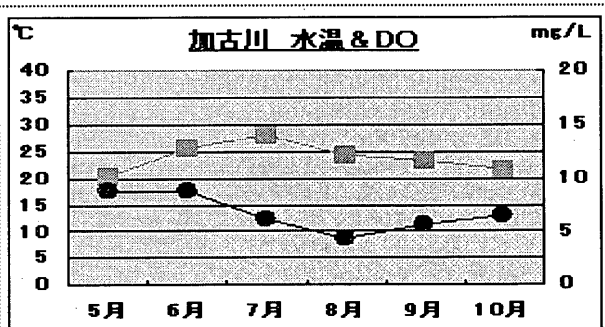


Fig.4-3 海水 Data 加古川

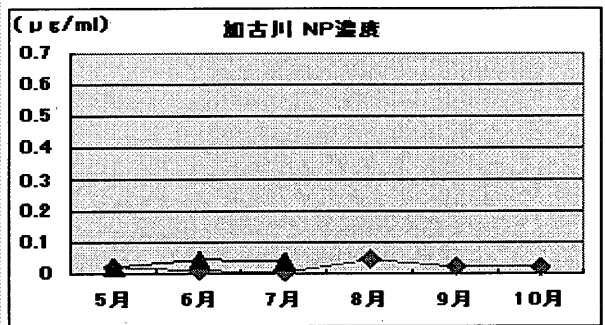


Fig.4-4 NP濃度 加古川

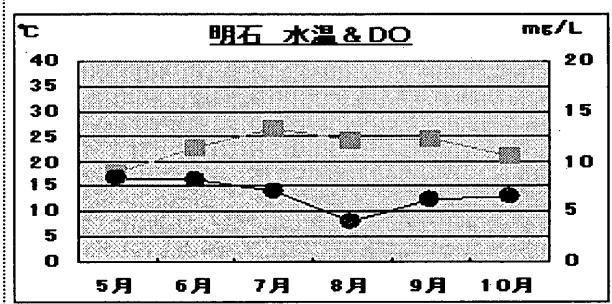


Fig.4-5 海水 Data 明石

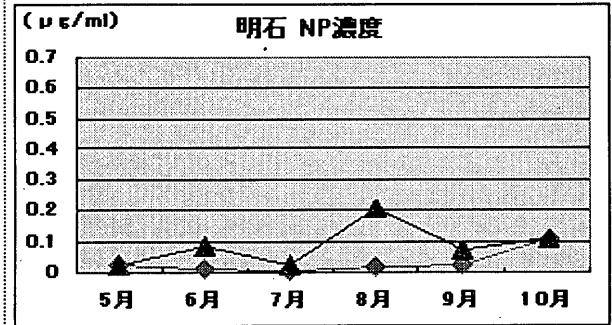


Fig.4-6 NP濃度 明石

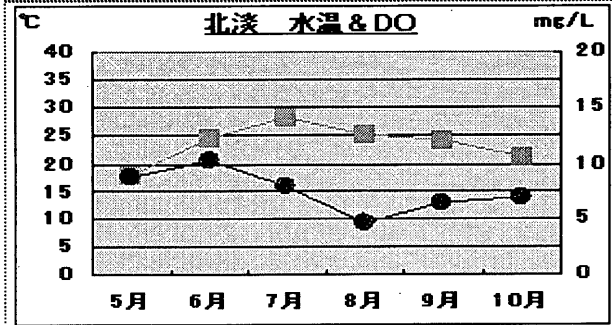


Fig.4-7 海水 Data 北淡

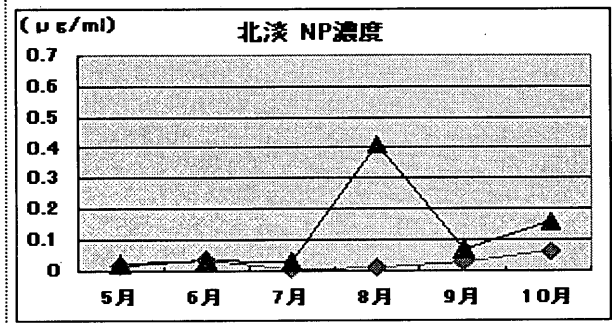


Fig.4-8 NP濃度 北淡

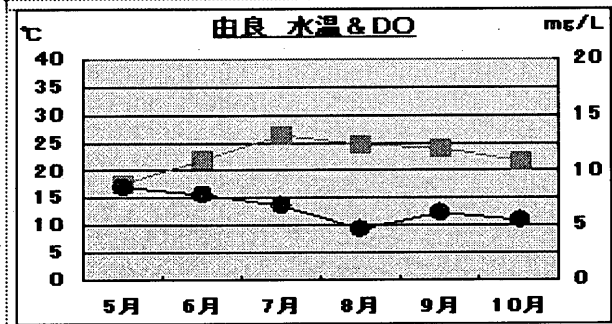


Fig.4-9 海水 Data 由良

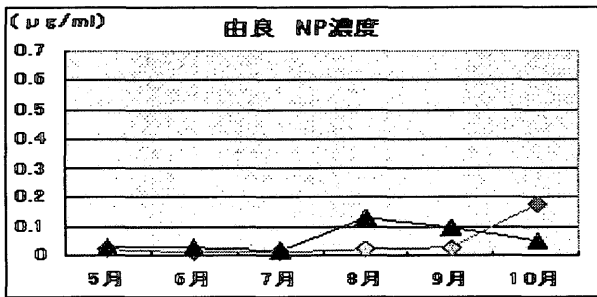


Fig.4-10 NP濃度 由良

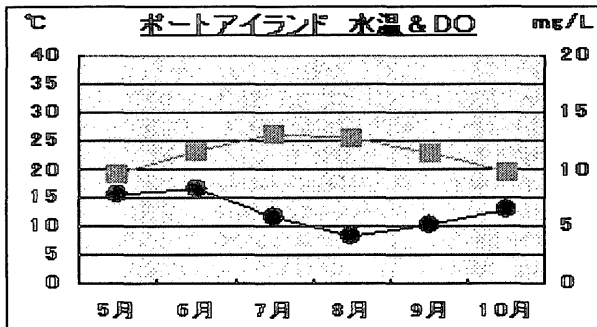


Fig.4-11 海水Data ポートアイランド

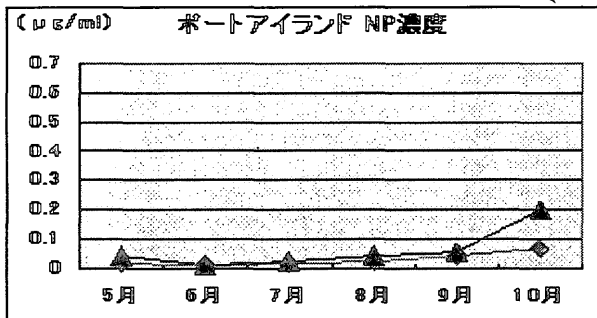


Fig.4-12 NP濃度 ポートアイランド

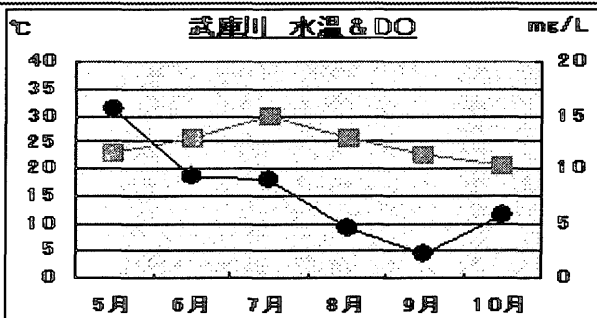


Fig.4-13 海水Data 武庫川

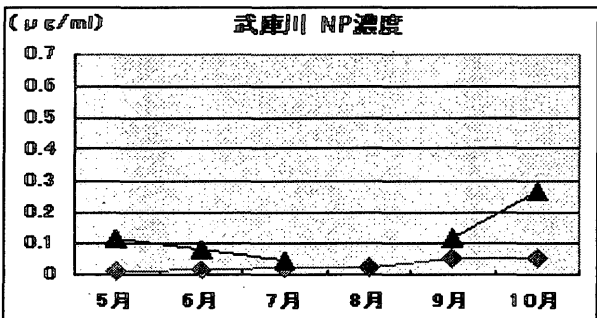


Fig.4-14 NP濃度 武庫川

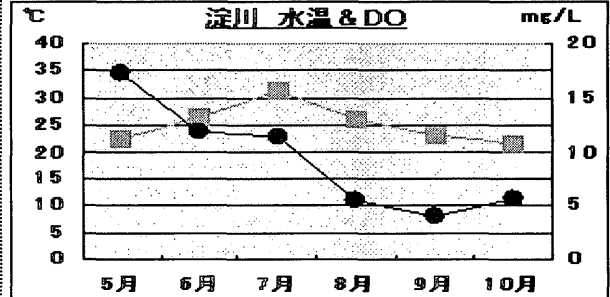


Fig.4-15 海水Data 淀川

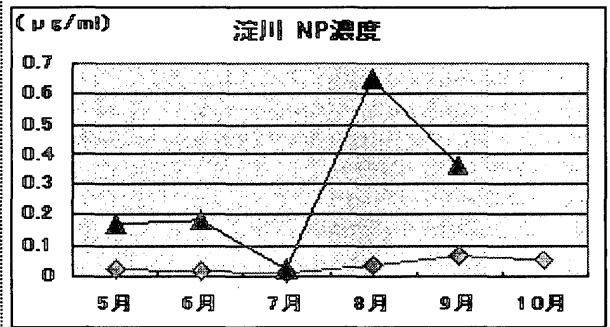


Fig.4-16 NP濃度 淀川

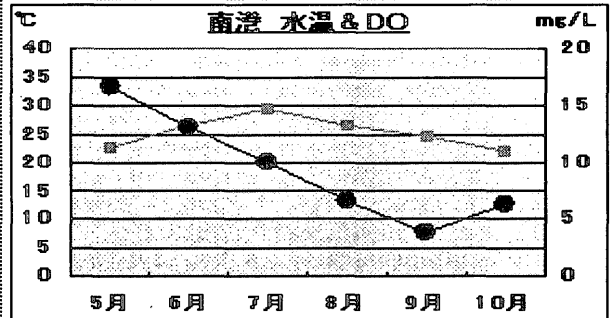


Fig.4-17 海水Data 南港

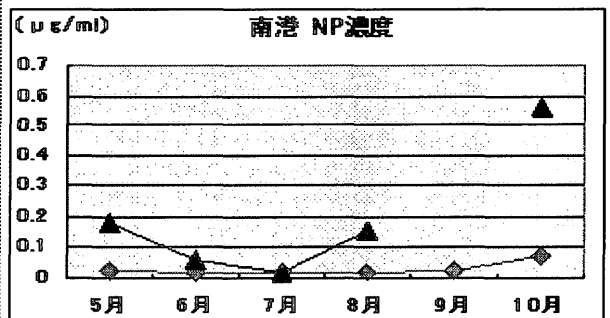


Fig.4-18 NP濃度 南港

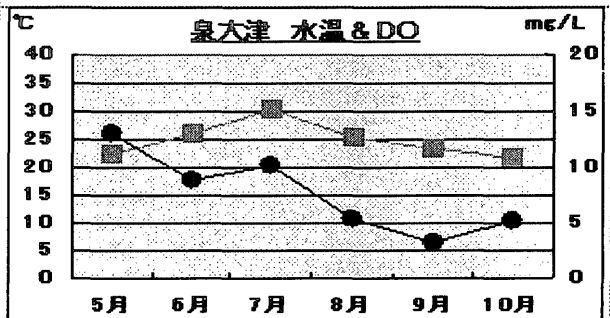


Fig.4-19 海水Data 泉大津

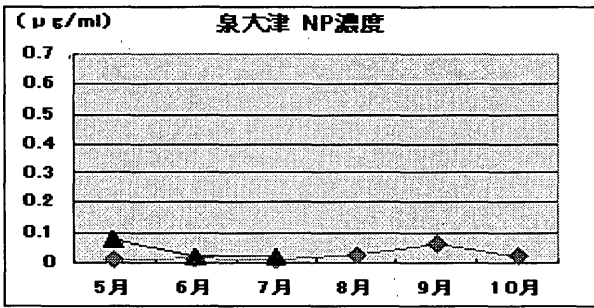


Fig.4-20 NP 濃度 泉大津

各地点における月ごとの降水量を Fig.5 に示す。ただし、ムラサキイガイの生息などを考慮して、調査日の2週間前から調査日までの雨量を合計したものである。

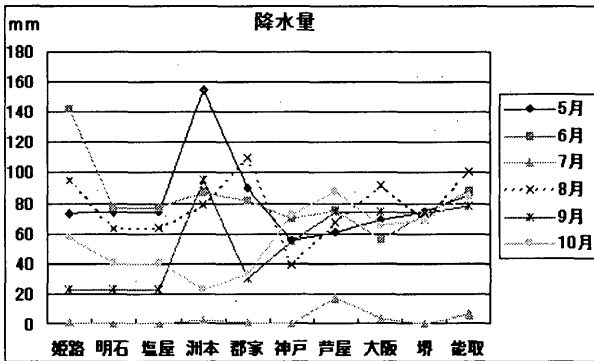


Fig.5 降水量

4 考察

水温はサンプリング時期により多少の温度差はあったものの調査地点間の差は小さく、春から夏にかけて25~30℃程度に上昇し、夏から秋にかけて20~22℃程度に低下する様子が観測された。各地点とも7月で最高値となった。また、8月の水温は、各地点でムラサキイガイが最も効率良く濾過能力を発揮できると言われている25℃付近^⑤であった。

DOは播磨灘側(姫路~北淡)においては地域による差がほとんどなく、地域的にほぼ安定した季節変動が見られた。5、6月で最も高い値を示し、ほぼ飽和状態に達していた。最も低い値となったのが8月である。一方、大阪湾側(由良~泉大津)では、季節変動及び地域変動の幅が播磨灘側に比べて大きい結果となった。しかし、播磨灘同様5月には飽和状態に達しており、6、7月には多少低下するものの比較的高い値を示した。そして8、9月には低い値となった。

海水中のNP濃度は播磨灘側において8月の姫路、10月の明石で0.1μg/Lを超えたものの、それ以外では検出限界以下(N.D.)~0.06μg/Lの範囲(検出限界 0.017μg/L)

であった。大阪湾側ではN.D.~0.072μg/LのNPが検出され、2つの流域による濃度差はあまり見られなかった。平成12年度の環境省による調査結果によると、海水中のNPは播磨灘沖及び大阪湾沖では検出されておらず(検出限界0.1μg/L)、大阪湾の西宮沖で0.1μg/Lであったことから、この値は妥当であると思われる。

両水域においては、8月以降に海水中のNP濃度が高くなる傾向があった。この理由として、雨量及び海水の混合が関係していると考えられる。NPは嫌気性条件下で生成されることと、水温、DO及び降雨量のグラフよりこの年の7月は殆ど雨が降っておらず水温も高かったことがわかり、海水は混合されず成層になっていたと言える。この時に底層でNPnEOが分解されることによってNPが生成し、8月の台風による集中豪雨で攪拌されたことによって底層水や堆積物から表層に上昇してきたのではないかと考察される。

ムラサキイガイ中のNP濃度は、播磨灘側でN.D.~0.41μg/g-dryの範囲であった。最も高い濃度が検出されたのは8月の北淡だった。一方、大阪湾側では8月の武庫川(0.93μg/g-dry)、淀川(0.65μg/g-dry)を除いてはN.D.~0.36μg/g-dryの範囲であり、海水と同様にムラサキイガイに関しても2つの流域での濃度差はあまり見られなかった。また磯部らによるムラサキイガイ中のNP濃度0.17±0.06μg/g-dryとの報告^⑥と比べて大きな違いは見られなかった。

次にムラサキイガイ中NP濃度の経時変化に着目してみると、両流域において同様な季節変動をしていることが確認された。この結果で最も特徴的な事は、ほとんどの地点において8月にNP濃度が著しく増加していたことである。この理由として、ムラサキイガイの生息する水環境による影響が考えられる。8月の水温がムラサキイガイが最も効率の良い濾過能力を発揮する25℃付近であるという事と、DO濃度が低く不飽和状態であったという事より、ムラサキイガイが酸素を求めてより多くの海水を取り込んだのではないかと考察される。従ってムラサキイガイ中のNP濃度は海水中の濃度に左右され短期的に変動することから、ムラサキイガイは海水中のNP濃度の指標となると考えられる。

5 参考文献

- ① 小澤美奈子：化学辞典 東京化学同人, 688 (1994)
- ② A Soto et al : P-Nonyl-Phenol: An estrogenic xenobiotic released from "modified" polystyrene. Environment Health Perspective, 167-173 (1991)

(3) Talmage, S. : Alcohol Ethoxylates and Alkylphenol Ethoxylates: Environmental and Human Safety of Major Surfactants (1994)

(4) Alison C. Nimrod and William H. Benson: : Environmental Estrogenic Effects of Alkylphenol Ethoxylates. Critical Reviews in Toxicology. 26,335-364

(5) 磯野良介 中村義治: 二枚貝による海水濾過量の想定とそれにおよぼす温度影響の種間比較 水環境学会誌 Vol, No11(2000)

(6) 磯部友彦 佐藤正章 小倉紀雄 高田秀重 : GC-MSを用いたノニルフェノールの分布と東京周辺の水環境中における分布 水環境学会誌 Vol, 22 No.4(1998)

(平成 16 年 10 月 4 日受付)