

黒瀬川及び二級峡ダムのアルキルフェノール類の濃度と 総エストロジェン活性に対する寄与率

吉田 操・桜井直樹

〒739-8528 広島大学大学院生物圏科学研究科, 広島県東広島市鏡山

要 旨 黒瀬川の3地点の河川水のアルキルフェノール類濃度は, ノニルフェノール (NP) が $0.15\sim 0.48\ \mu\text{g/L}$, ノニルフェノールモノエトキシレート (NP1EO) が $0.04\sim 0.2\ \mu\text{g/L}$, ノニルフェノールジエトキシレート (NP2EO) が $0.08\sim 0.58\ \mu\text{g/L}$, ビスフェノール A (BPA) が $0\sim 0.03\ \mu\text{g/L}$ であった。河川水中の上記アルキルフェノール類の総エストロジェン活性をエストロジェン・レセプター法で測定したところ, 天然エストロジェンの 17β エストラジオール (E2) 換算で $0.47\sim 0.99\text{ng/L}$ と算出された。河川水の総エストロジェン活性に対するアルキルフェノール類の寄与率は, NP が $1.85\sim 9.20\%$, NPEO が $0.07\sim 0.78\%$, BPA が $0\sim 0.04\%$ であった。二級峡ダムの水の NP と BPA 濃度は, 夏季よりも冬季の方が高かった。二級峡ダムの堆積土壌中の NP 濃度は $20\sim 100\ \mu\text{g/kg}$, BPA 濃度は $0\sim 5\ \mu\text{g/kg}$ であった。

キーワード: アルキルフェノール, エストロジェン活性, 黒瀬川, 二級峡ダム

緒 言

ノニルフェノール (NP) やビスフェノール A (BPA) は, 動物体内でエストロジェン様作用を有する環境ホルモンである。環境ホルモンは河川, 海洋, 土壌中に存在しており, 生態系への影響が懸念されている。本研究では, 黒瀬川の河川水中の NP 及び BPA 濃度と, 河川水の有するエストロジェン活性を比較し, 河川水の総エストロジェン活性に対して NP や BPA がどの程度寄与しているのかを明らかにすることを目的とした。

NP は, 非イオン界面活性剤のノニルフェノールエトキシレート (NPEO) の微生物分解によって生じ, 環境中に排出される。NP は魚類を用いた試験において, エストロジェン受容体 (ER) と結合し, 肝臓中のビテロジェニン (卵黄タンパク前駆体) 濃度を上昇させ, 精巣卵の出現や受精率の低下なども認められ, 魚類に対して低用量で内分泌攪乱作用を有することが強く推察された (環境省総合環境政策局, 2001)。組み替えヒト ER を用いた受容体結合試験において, NP は受容体結合性が天然エストロジェンの 17β -エストラジオール (E2) の $1/680\sim 1/71000$ という弱いエストロジェン作用が認められた (化学物質評価研究機構, 2001)。酵母ツーハイブリッド試験において, NP の転写活性化能は E2 の $1/670$ 以下で, 分岐型 NP で転写の活性化が認められたが, 直鎖型 NP では認められなかった (Nishihara *et al.*, 2000)。安全基準については, 最大無作用濃度 (NOEC) $6.08\ \mu\text{g/L}$ に安全係数 $1/10$ を乗じた $0.608\ \mu\text{g/L}$ が, 予測無影響濃度 (PNEC) とされた (環境省総合環境政策局, 2001)。

BPA はプラスチックのポリカーボネートや, 飲料缶や水道管の内面コーティングに使われるエポキシ樹脂の原料として, 工業的に広く使用されている。BPA は魚類を用いた試験において, 精子数の減少やビテロジェニン誘導 (Sohoni *et al.*, 2001), 精巣卵の形成 (Yokota *et al.*, 2000) などが見られ, エストロジェン様作用を有することが示された。BPA はヒトやラットの ER 結合試験においても, E2 の $1/500\sim 1/15,000$ の結合性を示し, ヒトまたはラットの ER を導入した酵母や動物細胞を用いたレポーター遺伝子アッセイでは, E2 の $1/600\sim 1/130,000$ の転写活性化能を有することが報告された (化学物質評価研究機構, 2001)。安全基

準としては、経済協力開発機構（OECD, 2002）が PNEC $1.6 \mu\text{g/L}$ と報告している。

NP や BPA がエストロジェン活性を有するとされているが、実際に河川水はどの程度エストロジェン活性を有し、河川水中に含まれる NP や BPA はどの程度寄与しているのだろうか。全国一級河川のエストロジェン活性の平成11年から平成13年の平均値は E2 当量で 0.8ng/L であった（田中ら, 2005）。河川水や下水処理場放流水のエストロジェン活性はほとんどが尿由来であると言われている。以前、多摩川のコイのメス化が問題になり、環境ホルモンが原因ではないかと疑われたが、実際は下水処理場からの排水中に含まれる尿由来の天然女性ホルモンが原因であった。2000年2月に測定した多摩川のエストロジェン様物質の総量は、E2 換算で 7ng/L であった（東京都公式ホームページより）。

黒瀬川は東広島市を流れる流路延長 50.6km の二級河川で、水質汚濁防止法の「生活環境の保全に関する環境基準」の A 類型（BOD 75%値 2mg/L ）に指定されている。黒瀬川は近年、東広島市の急激な開発と人口増加の影響により、水質が悪化する傾向にあった。広島県の調べでは、黒瀬川中流の樋の詰橋における BOD 75%値は近年 $2\sim 6\text{mg/L}$ と基準を上回って推移しており、2005 年度 BOD 値は $3.8\sim 6.3\text{mg/L}$ という調査結果が得られている（eco ひろしまの水質調査結果速報値より）。AA～C 類型の河川水中の2000年度の NP 濃度の95パーセンタイルは環境庁（現 環境省）調べで $0.40 \mu\text{g/L}$ 、建設省（現 国土交通省）調べで $0.10 \mu\text{g/L}$ であった。2003年に広島大学で行った黒瀬川の水質調査では、NP は多くの場合不検出 $\sim 1.5 \mu\text{g/L}$ 程度で推移していたが、10月に約 $10 \mu\text{g/L}$ という、環境基準を大きく上回る濃度で検出されており（米丸ら, 2005）、全国の A 類型の河川に比べて NP 汚染が高いようであった。同水質調査で BPA は最高で約 $3.5 \mu\text{g/L}$ で検出された。黒瀬川のエストロジェン活性は、これまで測定されていない。

本研究ではまず、黒瀬川の河川水を採取し、NP 及び NP 発生の起源である NPEO と、BPA の河川水中濃度を測定した。次に、河川水の有するエストロジェン活性を測定し、エストロジェン活性に対して NP や BPA がどの程度寄与しているのかを明らかにした。

また、黒瀬川下流近くの二級峡ダムにおいて、水中及び堆積土壌中の NP 及び BPA 濃度を測定した。二級峡ダムでは、2003年10月22日に水深 10m の水中 NP 濃度が約 $120 \mu\text{g/L}$ という高濃度で検出され（米丸, データ未発表）、深刻な NP 汚染が懸念されたためである。ダム水の NP 及び BPA 濃度を月ごとに調べ、堆積土壌については深さごとの NP 及び BPA 濃度を調べた。

材料および方法

試料の採取

黒瀬川河川水を、東広島市街地にある石ヶ瀬橋下と、それより下流にある田口の下水処理場の上流 10m 及び下流 10m の合計 3 地点から採水した。あらかじめヘキサソで洗浄したガラス瓶に河川水約 1L を採取した。採水後、アスコルビン酸 1g と塩酸 1mL を添加した。すぐ分析をしないものは 4°C で保存した。エストロジェン活性測定用に採取した水試料にはアスコルビン酸と塩酸は添加せず、採取後すぐに後述する前処理を行った。二級峡ダムの水を採水瓶（容量 1L）を用いて水深 0m, 5m, 10m から採水した。水深が10mない場合は、底の水（水深 $7\sim 8\text{m}$ ）を採水した。

二級峡ダムの堆積土壌を採取した。ゴムボートでダム湖の岸近くの水深 18cm の場所を選んだ。直径 15cm, 長さ 60cm のアクリルのパイプを、あらかじめ縦半分に切ったものをガムテープでとめあわせ、これを堆積土壌の層に垂直に突きさし、パイプを持ち上げ、先をアルミ板でふたをした。岸を持ち帰り、パイプのテープをはがし、パイプが切れているところに金属の板を入れて堆積土壌を縦半分に切った。アクリルのパイプからの環境ホルモンのコンタミを避けるため、縦半分に割った堆積土壌断面に 1.6cm 四方、長さ 49cm の桶状のアルミ柱をはめ込み、パイプに触れていない堆積土壌だけを抜き出した。採取した堆積土壌柱を 10cm ごと（約 50g）に切りだし、三角フラスコに入れた。3 倍量のメタノールを入れ、アルミホイルでふたをし、暗所で保管した。

環境ホルモンの分析

河川水及び堆積土壌に含まれる環境ホルモンの定量は、環境庁水質保全局水質管理課（1998）及び米丸ら（2003）の分析法に準拠して行った。定量は内標準法によって行った。サロゲート物質として 4-n-NP-2,

3, 5, 6-d4 (純度99.2%, 関東化学株式会社), NP1EO-d₄ (純度94.8%, 林純薬工業株式会社), BPA-d16 (純度99.9%, 関東化学株式会社) を、内標準物質としてフェナンスレン-d₁₀ (純度99%, Aldrich Chem.Co.) を用いた。河川水はエムポアディスク (3M Empore™2215, ジーエルサイエンス株式会社, 直径 47mm) に通水させた後、アルキルフェノール類を酢酸メチルで溶出させた。エチル誘導体化 (NP, BPA 分析用のみ。NPEO 分析用では行わない) し、ヘキサン抽出したものを試料液とした。堆積土壌はメタノール抽出、ジクロロメタン抽出した後エチル誘導体化し、ヘキサン抽出してフロリジルでクリーンアップしたものを試料液とした。

GC/MS (GCMS-QP5000, SHIMADZU) に試料液 1 μ L を注入し、環境ホルモンの分析を行った。カラムは DB-5 (J&W SCIENTIFIC, 30m, 0.25mm i.d., 膜厚 0.25 μ m), カラムの液相は 5%ジフェニル-95%ジメチルポリシロキサンである。キャリアガスは高純度ヘリウムガスを流量 0.7mL/分 で用いた。試料導入にはスプリットレス法 (サンプリング時間1.5分) を用いた。カラム入口圧 30kPa, 検出器電圧は 1.4keV, サンプリングインターバル0.2秒, 溶媒溶出時間7分に設定し, 選択イオンモニター (SIM) 法で検出した。

NP 及び BPA の分析条件は, 気化室温度280 $^{\circ}$ C, インタフェース温度280 $^{\circ}$ C, カラムの昇温は初期温度60 $^{\circ}$ Cで1分保持した後15 $^{\circ}$ C/分で280 $^{\circ}$ Cまで昇温, その後280 $^{\circ}$ Cで5分保持した。NP は混合物なので, m/z 163及び177の, 保持時間12.8~13.3分に溶出する7つの代表的ピークの面積和を求めた。BPA は m/z 269, 保持時間16.5分のピーク面積を定量に用いた。定量計算のため, 4-n-NP-2, 3, 5, 6-d₄ のピーク (m/z 139, 保持時間14.3分) 及び BPA-d16 のピーク (m/z 280, 保持時間16.4分) 面積を求めた。さらに, 回収率を求めめるためにフェナンスレン-d₁₀のピーク (m/z 188, 保持時間13.4分) 面積を用いた。

NPEO の分析条件は, 気化室温度280 $^{\circ}$ C, インタフェース温度290 $^{\circ}$ C, 昇温は初期温度50 $^{\circ}$ Cで2分保持した後10 $^{\circ}$ C/分で290 $^{\circ}$ Cまで昇温し, 2分保持した。NP1EO は m/z 179, 保持時間21.6~22.3分に溶出する5つのピーク面積の合計で計算した。NP2EO は m/z 223, 保持時間24.5~25.1分に溶出する5つのピーク面積の合計で計算した。定量及び回収率計算のため, NP1EO-d₄ のピーク (m/z 183, 保持時間21.5~22.2分の代表的な3ピーク) とフェナンスレン-d₁₀のピーク (m/z 188, 保持時間13.4分) 面積を用いた。

エストロジェン活性測定

エストロジェン活性はリガンド結合法で求めた。河川水 300mL をろ過し, エムポアディスクに通水した。酢酸メチル 10mL でエムポアディスクに吸着した物質を溶出させた。窒素を吹き付けて乾固させた後, DMSO 300 μ L を加え, 1000倍濃縮の試料 (脂溶性画分) とした。エムポアディスクに通した後の試料水をエバポレーターで濃縮乾固させ, 脱イオン水 10mL で再溶解させたものを水溶性画分の試料とした。

エストロゲンレセプター α キット (マイクロシステムズ) を用いてエストロジェン活性を測定した。この実験に使用した試薬は全てキットに含まれるものを使用した。エストロゲンレセプターを固定化させたマイクロプレートに TIF2-BAP 液 100 μ L と試料 5 μ L を加え, 4 $^{\circ}$ C で1時間静置した。ウェルを緩衝液で洗浄し, 基質液 (NPP) 100 μ L を加え, 室温で2時間反応させた。0.5N NaOH を 25 μ L 加えて反応を停止させ, 吸光マイクロプレートリーダー (MTP-450, CORONA) で 415nm の吸光度を測定した。E2 標準液より検量線を作成し, 試料中のエストロゲン活性を E2 当量で算出した。

結 果

黒瀬川河川水の環境ホルモン濃度とエストロゲン活性

1. 河川水の環境ホルモン濃度

黒瀬川の3地点から採取した水の NP, NP1EO, NP2EO 及び BPA の濃度を測定した。測定結果を Fig.1 に示す。NP 類の最高濃度はいずれも石ヶ瀬橋のサンプルで, NP 0.48 μ g/L, NP1EO 0.20 μ g/L, NP2EO 0.58 μ g/L であった。NP 類の濃度の順はいずれも石ヶ瀬橋 > 下水処理場下流 > 下水処理場上流であった。全ての地点で NP1EO より NP2EO の方が高濃度であった。下水処理場上流では NP1EO と NP2EO の合計値は NP 濃度より低く, 他の2地点では逆に NPEO の合計値は NP より高かった。BPA は下水処理場上流で 0.02 μ g/L, 下流で 0.03 μ g/L と比較的低濃度で検出され, 石ヶ瀬橋では検出されなかった。

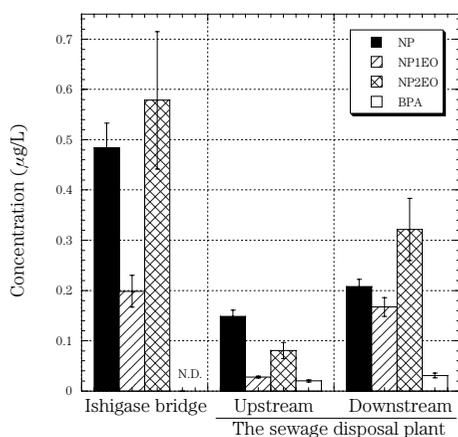


Fig.1. Concentrations of alkylphenols of the river water.

2. エストロジェン活性

NP, NPEO 及び BPA のエストロジェン活性をリガンド結合法で測定したものを Fig.2 に示す。濃度に比例して活性が高くなっており、NP>BPA>NPEO の順にエストロジェン活性が高かった。それぞれの物質 22mg/L に対するエストロジェン活性を E2 当量で算出したものを Table 1 に示す。NP は E2 の約1/10000, NPEO は約1/200000, BPA は1/70000の活性であった。

河川水の脂溶性画分の総エストロジェン活性を定量した (Fig.3)。総エストロジェン活性は河川水の濃縮倍率に比例して高くなった。河川水の総エストロジェン活性は1000倍濃縮試料の値より算出した (Table 2)。総エストロジェン活性は E2 当量で石ヶ瀬橋が 0.468ng/L, 下水処理場上流が 0.710ng/L, 下水処理場下流が 0.989ng/L であった。下水処理場下流が比較的高く、石ヶ瀬橋の2倍程度であった。河川水のエストロゲン活性と、その活性に対する環境ホルモンの寄与率を計算した (Table 2)。NP の寄与率は、石ヶ瀬橋で9.2%と最も高く、下水処理場は上流・下流とも2%程度であった。NPEO の寄与率も石ヶ瀬橋で0.78%と最も高く、他の2地点は0.1%以下であった。BPA の寄与率は下水処理場上流・下流で0.04%程度であった。河川

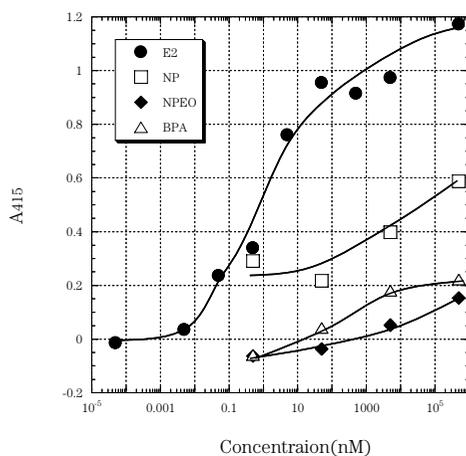


Fig.2. Estrogen activity of alkylphenols and E2.

Table.1. Estrogen activity of alkylphenols as 17 β -estradiol.

	Concentration (mg/L)	17 β -estradiol equivalent (ng/L)	Ratio of 17 β -estradiol
NP	22	1960	1/11200
NPEO	22	103	1/214000
BPA	22	306	1/71900

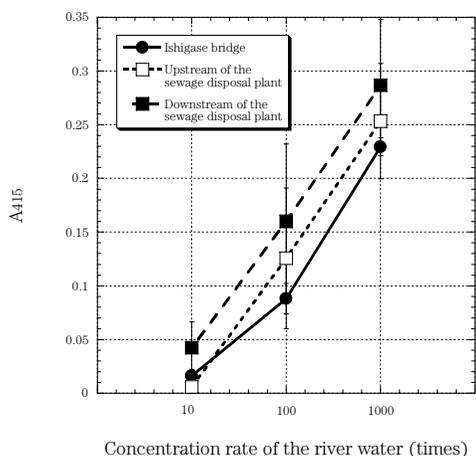


Fig.3. Estrogen activities in the river water.

Table.2. Total estrogen activity in the river water and contributions of alkylphenols to the total estrogen activity.

	Estrogen activity (ng/L · E2 equivalent)	Contribution to the total estrogen activity (%)			
		NP	NPEO	BPA	Others
Ishigase bridge	0.468	9.20	0.78	0.000	90.02
Upstream of sewage disposal plant	0.710	1.85	0.07	0.040	98.04
Downstream of sewage disposal plant	0.989	1.87	0.08	0.040	98.01

水のエストロゲン活性の90%以上が NP, NPEO, BPA 以外のものに由来していた。水溶性画分にはエストロゲン活性は検出されなかった。

二級峡ダムの環境ホルモン

1. 二級峡ダムの水の環境ホルモン濃度の月変動

NP 濃度の月変動を Fig.4 に示す。3月に水深 5m で約 1.15 μg/L, 水深 10m で約 0.35 μg/L と高かったが、その後は 0.2 μg/L 以下で推移した。水深の違いによる濃度レベルの差は見られなかった。BPA 濃度の月変動を Fig.5 に示す。不検出 ~0.13 μg/L で変動した。BPA は夏季の6~9月前半には比較的低濃度で検出された。水深の違いによる濃度レベルの差は見られなかった。

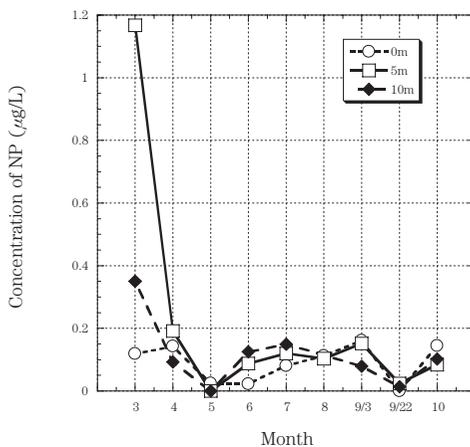


Fig.4. Monthly changes in NP level in the Nikyukyo dam.

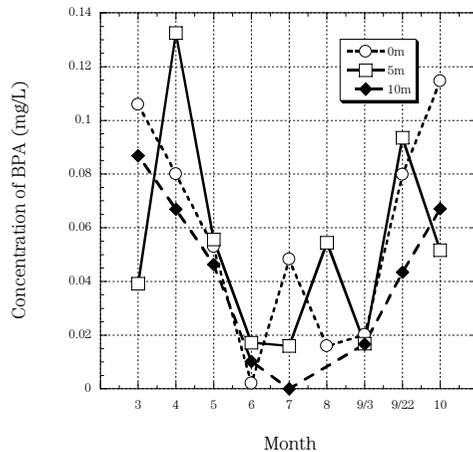


Fig.5. Monthly changes in BPA level in the Nikyukyo dam.

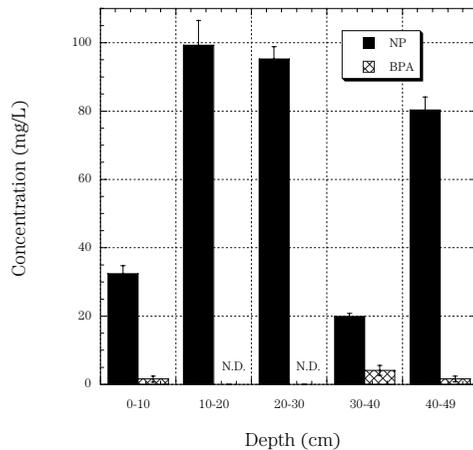


Fig.6. Concentrations of NP and BPA of subsoil in the Nikyukyo dam.

2. 二級峡ダムの堆積物の環境ホルモン濃度

サンプリングした二級峡ダムの堆積物は、深さ 25~40cm あたりが他の部分と比べて層に隙間が多く、土の粒径が少し大きく、色が少し明るめだった。植物片も多かった。他の部分は土の粒子が微細で揃っており、色は黒みがかった。堆積物の環境ホルモン濃度を Fig.6 に示す。堆積物の深さによって値に差があった。深さ 10~30cm の堆積物では、NP 濃度は高く 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 近かったが、BPA は不検出であった。逆に深さ 30~40cm の堆積物では、NP 濃度は 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ と低かったのに対して、BPA 濃度は約 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ と他の深さの BPA 濃度より高かった。深さ 0~10cm の堆積物の NP 濃度が 32 $\mu\text{g}/\text{kg}$ で比較的低かった。

考 察

黒瀬川河川水の環境ホルモンとエストロゲン活性

黒瀬川河川水の NP 濃度は、最も高い石ヶ瀬橋の NP 濃度でも 0.48 $\mu\text{g}/\text{L}$ で、環境基準の 0.608 $\mu\text{g}/\text{L}$ は下回っていた。市街地である石ヶ瀬橋の NP 濃度が下流の田口下水処理場よりも高かった。2003年度の水質調査(米丸ら, 2005)でも、NP 濃度は市街地の石ヶ瀬橋が高く (0.5~1.5 $\mu\text{g}/\text{L}$ 程度)、田口下水処理場は低かった (0.5 $\mu\text{g}/\text{L}$ 以下) ので、2003年度と同じような傾向であったといえる。市街地で高濃度なのは、生活排水に NP が含まれていることを示唆している。そして、下流に行くにつれて NP は希釈あるいは分解されて減少していると考えられる。NP も NPEO も、下水処理場上流よりも下流で高濃度であった。下水処理場

からの流入水中に NP や NPEO が含まれていると考えられる。NP 濃度に対する NPEO 濃度の割合を見ると、石ヶ瀬橋は約1.6倍、下水処理場下流は約2.3倍と、NPEO が NP より多く存在しているが、下水処理場上流では逆に NPEO は NP の0.7倍程度しか存在していない。田口下水処理場は石ヶ瀬橋より下流にあり、河川水中の NPEO は流れているうちに生物的分解によって NP に変化していると考えられる。いずれの地点でも、NP1EO より NP2EO が高濃度で検出された。今回の分析ではエトキシ基が3以上の NPEO が測定できなかったのだが、NP1EO、NP2EO よりも高濃度で存在している可能性も考えられる。

BPA 濃度はどの地点も低濃度であり、OECD の環境基準の $1.6 \mu\text{g/L}$ を大きく下回っていた。

NP のエストロジェン活性は E2 の1/10000程度と算出され、従来報告されていた ER 結合性が E2 の1/680 ~ 1/71000 という数値（化学物質評価研究機構，2001）と比べて中間程度の値を示した。BPA のエストロジェン活性は E2 の1/70000程度で、従来の報告の値1/500 ~ 1/15,000（化学物質評価研究機構，2001）と比べて4倍以上低くなった。NPEO は環境ホルモンではないが、NP の前段階の物質であるのでエストロジェン活性を測定してみたが、これはさらに活性が低く、E2 の1/200000程度であった。河川水のエストロジェン活性に対する環境ホルモンの寄与率は低く、最大でも NP の10%程度にとどまり、90%以上が環境ホルモン以外のものに由来していた。しかし、もし NP が E2 の1/680の活性を持つと仮定すると、NP の総エストロジェン活性に対する寄与率は100%を超える。今回エストロジェン活性の E2 換算は、アルキルフェノールの標準試料濃度が中程度の活性値より算出したが、試料濃度がもっと高い時の活性値を用いて計算すると、E2 換算値は10倍 ~ 100倍以上小さく算出される。また逆に、標準試料濃度の低い場合の値で計算すると、E2 換算値は高く算出される。エストロジェン活性を確実な数値として得るためには、E2 換算の方法や、活性測定方法自体のさらなる改良を試みなければならないと思われる。

総エストロジェン活性は下水処理場下流 > 下水処理場上流 > 石ヶ瀬橋の順に高かった。下流に行くにつれて活性が高くなっているため、流れているうちに原因物質がさまざまところから流入していると考えられる。黒瀬川の河川水の総エストロジェン活性は、 $0.5 \sim 1.0 \text{ng/L} \cdot \text{E2}$ 当量程度で、全国一級河川の平均 0.8ng/L （田中ら，2005）と近い値になった。メダカを使った試験では、E2 が 8ng/L でピテロジェニン合成が誘導されたという報告（石橋ら，2002）がある一方、E2 濃度範囲 $0.2 \sim 1.5 \text{ng/L}$ の河川のおのオスのコイのうち70%からピテロジェニンが検出されたという報告（環境省総合環境政策局，2003）もあり、黒瀬川の魚類のメス化が起こっている可能性はないとはいえない。やはりほとんど尿管由来なのかもしれない。

河川水のエストロジェン活性に対する環境ホルモンの寄与率が低かったという今回の結果から、黒瀬川は環境ホルモンに関して安全であるといえる。しかし NP では、 10ng/L でニジマス（Ren *et al.*, 1996）で、 22.5ng/L でメダカ（環境省総合環境政策局，2001）でピテロジェニン誘導が見られたという報告もある。これらの濃度は黒瀬川の河川水濃度よりも低いレベルである。また、近年 NP と BPA は、エストロジェン作用以外に、神経伝達系へ影響を与える危険性が報告された。牛の副腎髄質細胞を用いた実験で、NP と BPA がごく微量（ 10nM 、約 $2 \mu\text{g/L}$ ）で、カテコールアミン合成を促進したという報告がある（Yanagihara *et al.*, 2005）。カテコールアミンの一つであるアドレナリンは、挑戦や脅威、危険に直面した時に分泌され、攻撃性を増す働きをする。NP や BPA に曝露されることで生物の攻撃性が増す恐れがある。 10nM は河川水中 NP 濃度と同程度である。河川水中の環境ホルモンはできるだけ低減させるべきであると思われる。

二級峡ダムの環境ホルモン

二級峡ダムでは、2003年10月に水中 NP 濃度が約 $120 \mu\text{g/L}$ 、BPA 濃度が約 $9 \mu\text{g/L}$ と、黒瀬川河川水より桁違いに高く検出されたため、2004年3月 ~ 10月まで毎月の水質調査を行った。しかし、NP は3月が比較的高かったが、その後は $0.2 \mu\text{g/L}$ 以下で推移し、河川水と同程度の濃度であった（Fig.4）。BPA 濃度も、著しく高いことはなかった（Fig.5）。環境ホルモン濃度が水深に関係している傾向もなかった。二級峡ダムは不定期に放水することもあるので、ダムの水は通常は河川水と変わらないのではないかと考えられる。

二級峡ダムの堆積物の環境ホルモン濃度を測定した（Fig.6）。他の層の堆積物より粒径が大きかった深さ $30 \sim 40 \text{cm}$ の堆積物は、NP 濃度は $20 \mu\text{g/kg}$ と最も低く、BPA 濃度は約 $5 \mu\text{g/kg}$ と最も高かった。粒径が小さくて揃っている $10 \sim 20 \text{cm}$ の堆積物で NP 濃度は約 $100 \mu\text{g/L}$ と最も高く、BPA は不検出であった。このことから、堆積年度の違いだけでなく、粒径の大きさの違いによって、土壌への NP と BPA の吸着のしや

すさに違いがあることが考えられる。粒子が微細な土壌に NP は吸着しやすく、逆に BPA は粒子が粗い土壌に吸着しやすいのではないと思われる。表層に近い 0~10cm の堆積物の NP 濃度も低かった。下層よりも好氣的なため、微生物による NPEO の嫌氣的な分解活性が低く、NP の生成が少ないことが関係しているかもしれない。堆積物の環境ホルモン濃度の平均値は、NP は $65\mu\text{g/kg}$ 程度、BPA は $1.5\mu\text{g/kg}$ 程度であった。河川底質の NP 濃度は不検出 $\sim 5,600\mu\text{g/kg}$ であったと報告されている（環境省、2000年調べ）。また、BPA 濃度は最高値 $1,100\mu\text{g/L}$ で、調査地点の約55%で定量限界 ($0.2\mu\text{g/kg}$) 以下であったと報告されている（(独)製品評価技術基盤機構、2005）。二級峡ダム底質の環境ホルモン濃度は低くはないものの、著しく高いこともないようである。NP の底質生物への影響について、製品評価技術基盤機構は PNEC（予測無影響濃度） $23\mu\text{g/kg}$ 湿重と算出している。二級峡ダムの底質生物に関して、NP は危険なレベルにはないと考えられる。

引用文献

- 石橋弘志, 鎌迫典久, 有菌幸司 (2002) : メダカを利用したモニタリング, エンバイオ, 2: 39-44.
- 化学物質評価研究機構 (2001) 平成12年度経済産業省環境対応技術開発等委託調査研究－化学物質の内分泌かく乱効果に関する評価及び試験法の開発報告書, 62-67.
- 環境省総合環境政策局環境保健部 (2001) : ノニルフェノールが魚類に与える内分泌攪乱作用の試験結果に関する報告 (案)
- 環境省総合環境政策局環境保健部環境安全課 (2003) : 平成14年度 実環境における水生生物への影響調査結果について
- 環境庁水質保全局水質管理課 (1998) : アルキルフェノール類及びビスフェノール A の分析法 (外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル)
- 経済協力開発機構 (OECD) (2002) : SIDS Initial Assessment Profile, SIAM 14, 26-28.
- 新エネルギー・産業技術総合開発機構 (2005) : 化学物質の初期リスク評価書, Ver. 1.0, No. 1, ノニルフェノール.
- 田中宏明, 山下尚之 (2005) : し尿に由来する河川のエストロゲン汚染と魚類の雌性化, Journal of National Institutes of Public Health, 54 (1) : 22-28.
- (独) 製品評価技術基盤機構 ビスフェノール A リスク評価管理研究会 (2005) : ビスフェノール A のリスク管理の現状と今後のあり方.
- 米丸紫陽子, 前田明子, 出口実歩, 桜井直樹 (2003) : 黒瀬川河川水中のノニルフェノールとビスフェノール A の濃度とそれらの植物への蓄積, 広島大学総合科学部紀要 理系編, 29: 81-93.
- 米丸紫陽子, 吉田 操, 桜井直樹 (2005) : 黒瀬川のノニルフェノール, ビスフェノール A の濃度変動と排出源の推定, 環境化学, 15 (1) : 129-136.
- Nishihara, T. (2000) Estrogenic activities of 517 chemicals by yeast two-hybrid assay. J. Health Sci. 46: 282-298.
- Ren, L., Lewis, S.K. and Lech, J.J. (1996) : Effect of estrogen and nonylphenol on the post-transcriptional regulation of vitellogenin gene expression, Chemo- Biological Interaction, 100 : 67-76.
- Sohoni, P., Tyler, C. R., Hurd, K., Caunter, J., Hetheridge, M., Williams, T., Woods, C., Evans, M., Toy, R., Gargas, M. and Sumpter, J.p. (2001) Reproductive effects of long-term exposure to bisphenol A in the fathead minnow (*Pimephales promelas*) . Environ. Sci. Technol. 35: 2917-2925.
- Yanagihara, N., Toyohira, Y., Ueno, S., Tsutsui, M., Utsunomiya, K., Minhui, L. and Tanaka, K. (2005) : Stimulation of Catecholamine Synthesis by Environmental Estrogenic Pollutants, Endocrinology, 146 (1) : 265-272.
- Yokota, H., Tsuruda, Y., Maeda, M., Oshima, Y., Tadokoro, H., Nakazono, A., Honjo, T. and Kobayashi, K. (2000) Effect of bisphenol A on the early life stage in Japanese medaka (*Oryzias latipes*) . Environ. Toxicol. Chem. 19: 1925-1930.

Concentrations of alkylphenols of Kurose River and the Nikyukyo Dam and their contributions to the total estrogen activity

Misao Yoshida and Naoki Sakurai

*Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University,
Kagamiyama, Higashi-hiroshima 739-8528, Japan*

Summary

Concentrations of alkylphenols at three points of Kurose River were 0.15 - 0.48 $\mu\text{g/l}$ for nonylphenol (NP), 0.04 - 0.58 $\mu\text{g/l}$ for nonylphenol mono- (NP1EO) and di-ethoxylate (NP2EO) and 0 - 0.03 $\mu\text{g/l}$ for bisphenol A (BPA). Total estrogen activities corresponding to the above alkylphenols of the river were measured by an estrogen receptor method at 0.47 to 0.99 ng/l. The contribution of alkylphenol to the total estrogen activity in the river water was estimated at 1.85-9.20% for NP, 0.07-0.78% for NPEO and 0-0.04% for BPA. Concentrations of NP and BPA at Nikyukyo Dam were higher in winter than in summer. NP in the subsoil of the dam ranged from 20 to 100 $\mu\text{g/kg}$ and BPA from 0 to 5 $\mu\text{g/kg}$.