

短報

水道原水への内分泌攪乱物質 (環境ホルモン) 供給源としての 底泥の評価

上村 仁, 辻 清美, 伊藤伸一

The Evaluation of Sediment as Source of Endocrine Disrupters to Raw Water for Water Supply

Hitoshi UEMURA, Kiyomi TSUJI
and Shin-ichi ITOH

はじめに

水道水源となる湖沼の堆積物(底泥)は、湖周辺の土壌粒子、湖沼中の生物やその遺骸が沈殿、堆積したものである。これらの物質は水中を沈降する間に各種の化学物質を吸着し、水中から除去する作用を持っている。その結果として、湖環境において底泥は圧倒的に多量の化学物質を蓄積している。一方、浚渫や洪水時の巻き上がり、底泥表面付近の環境等によっては溶出を起こすことで汚染物質の供給源となる可能性も併せ持つ。水源において溶出が起きた場合、これらの化学物質が取水され、飲料水汚染を引き起こすことが懸念される。

筆者らは水道水源である津久井湖において、湖水中の窒素の65%近くが底泥からの溶出に由来することを窒素安定同位体比を用いることにより推定した^{1) 2)}。内分泌攪乱物質においても窒素と同様に底泥がその供給源として重要な役割を果たしているのかを明らかにすることを目的とした。

対象とした内分泌攪乱物質は、これまで神奈川県が水道原水のモニタリングを行ってきた中で、検出報告のある物質の一部(4-tert-オクチルフェノール、4-tert-ブチルフェノール、4-ノニルフェノール(以上、アルキルフェノール類)、ビスフェノールA、ベノミル)とし、平水時と洪水時における底泥からの溶出を想定した。

方 法

1. 試料採取

底泥試料は津久井湖の湖心部よりエクスマンバージ採泥器を用いて採取した。湖水試料は表層水については船上より直接ガラス瓶に採取し、水面下の湖水(水深15mおよび30m)についてはバンドン採水器により採取し、ガラス瓶中に保存した。持ち帰った試料は冷蔵(4℃)にて試験まで保存した。

2. 試 薬

4-tert-オクチルフェノール、4-tert-ブチルフェノールは和光純薬製標準品を、ベノミルは分解物であるカルベンダジムの和光純薬製標準品を、ビスフェノールAは関東化学製標準品を、4-ノニルフェノールは関東化学製(化成品)を使用した。塩化ナトリウムは和光純薬製試薬特級を電気炉中で500℃5時間加熱したもの、硫酸、水酸化ナトリウムは和光純薬製特級試薬、塩酸は和光純薬製アミノ酸自動分析用試薬をジクロロメタンで洗浄したもの、カラムクロマトグラフィー用シリカゲルはMalinckrodt社製、n-ヘキサン、酢酸エチル、ジクロロメタン、メタノールは和光純薬製残留農薬試験用(5000倍)、アセトニトリル、蒸留水は和光純薬製高速液体クロマトグラフィー用をそれぞれ使用した。

3. 抽出操作

水試料からのベノミル抽出方法は環境庁(当時)により示された方法³⁾および既報⁴⁾に従った。この方法は条件を変えて3回の抽出を行っており、抽出過程で十分に精製も行われていると考えられた。

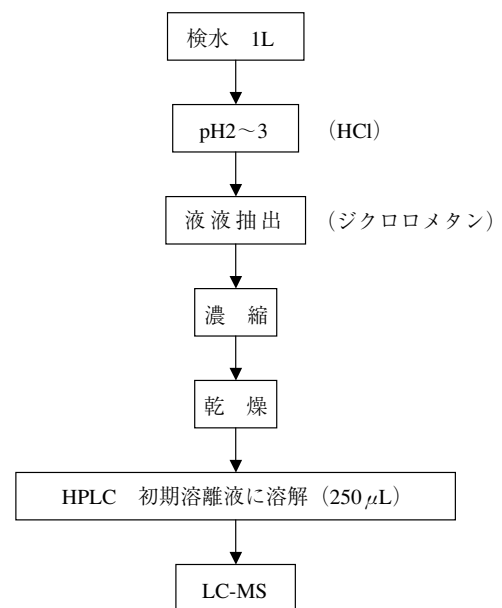


図1 アルキルフェノールおよびビスフェノールA抽出法(従来法)

一方、アルキルフェノール類やビスフェノールAについては従来は図1のような抽出法を用いてきた。この方法では抽出過程に精製操作が含まれていないため、底泥からの溶出物等の溶存物質が多い試料では夾雑物による妨害を受けたり、測定装置を汚染することが懸念された。そこで、抽出後にシリカゲルカラムクロマトグラフィーによる精製操作を加え、図2のような抽出法を開発した。微量の目的物質を分画することを考慮し、シリカゲルカラムにおける損失（回収率の低下）を回避するために、カラムサイズの縮小を図った。すなわち、クロマト管にはパスツールピペット（内径約5.5mm）を利用し、少量の石英ウール（500℃程度で加熱して有機物を除去した物）を詰めた後、n-ヘキサンに懸濁した5%含水シリカゲルを50mm程度充填して使用した。このカラムは、n-ヘキサン2mLで溶出する画分にアルカン類が、ジクロロメタン2mLで溶出する画分にアルキルフェノール類が、ジクロロメタン/メタノール（4：1）2mLで溶出する画分にビスフェノールAが出現した。よって、第一画分を廃棄し、第二、第三画分を採取し、溶媒を留去後LC/MSの初期溶離液250μLに溶解して測定溶液とした。なお、各々90%以上の回収率が得られた。

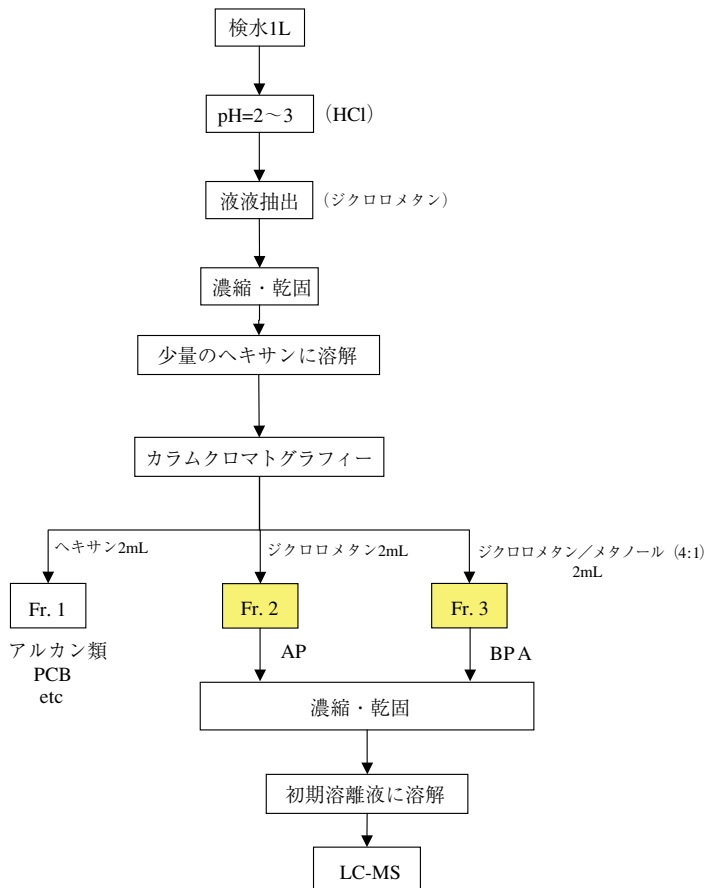


図2 新たに開発したアルキルフェノールおよびビスフェノールA抽出法

4. 測定

抽出後、LC/MSを用いて各物質の濃度を測定した。測定条件は既報^{4) 5)}に若干の修正を加え、以下の通りとした。

<HPLC条件>

- ・高速液体クロマトグラフ：Waters製 2690
- ・カラム：
 - [ペノミル]
 - Waters製Symmetry RP-18 (2.1mm φ×150mm)
 - [アルキルフェノール類およびビスフェノールA]
 - 日本分光製 Crest Pak C18 (2.1mm φ×150mm)
- ・溶離液：
 - [ペノミル]
 - 水/アセトニトリル (9:1) → (20min) → 水/アセトニトリル (2:8) (10min 保持) (直線グラジエント溶出)
 - [アルキルフェノール類およびビスフェノールA]
 - A (100%) → (10min) → B (100%) (10min 保持) (直線グラジエント溶出)
 - A: アセトニトリル/メタノール/水 (40:20:40)
 - B: エタノール
- ・流量：0.2mL/min
- ・注入量：10μL

<MS条件>

- ・質量分析計：Micromass製 Quattro LC
- ・キャピラリー電圧：3kV
- ・desolvation gas：窒素 (350℃)
- ・イオン源温度：130℃
- ・collision gas：アルゴン
- その他のMS条件は表1にまとめた。

5. 溶出実験

洪水時の底泥の巻き上げを想定して溶出実験を行った。1Lのガラス製ねじ口びんに湖水（表層水）を満たし、底泥10gを添加してマグネチックスターラーを用いて25℃の恒温室中で一昼夜激しく攪拌した。その後、底泥を遠心分離し、上清を前述の方法で処理して、溶出実験前後の目的物質の濃度を測定した。なお、試料採取の都合上、溶出用の湖水と鉛直分布調査用の湖水は試料採取日の異なる検体を使用した。

結果

1. 津久井湖における鉛直濃度分布

津久井湖の表層（水深0m）、中層（水深15m）、湖底部（水深30m）における各物質の濃度は図3のような分布を示した。ノニルフェノールと4-tert-ブチルフェノール

表1 質量分析部の測定条件

	イオン化モード	cone電圧	前段四重極 選択質量数	コリジョン エネルギー	後段四重極 選択質量数
ベノミル	ポジティブ	30V	191.9	20eV	159.8
ビスフェノールA	ネガティブ	40V	226.8	18eV	211.8
4-tert-ブチルフェノール	ネガティブ	40V	148.8	8eV	148.7
4-tert-オクチルフェノール	ネガティブ	45V	204.9	24eV	132.7
ノニルフェノール	ネガティブ	45V	218.9	30eV	132.7

ルは下部において濃度上昇が見られ、底泥から湖水への溶出が起きていることをうかがわせた。一方、ベノミルは表層部濃度に比較して中層以下では低濃度になっており、むしろ湖水から底泥への吸着が起きている可能性を示した。ビスフェノールAは顕著な傾向を示さなかった。また、用いた湖水試料からは4-tert-オクチルフェノールは検出されなかった。

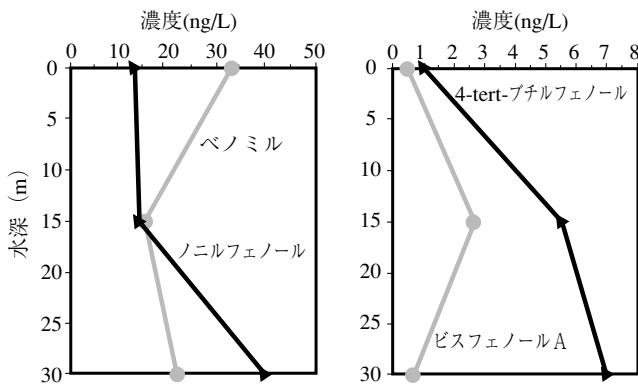


図3 津久井湖水中における濃度の鉛直分布

2. 底泥からの溶出

溶出実験の結果を表2に示した。

ベノミルは溶出実験後の濃度が著しく減少した。ビスフェノールA、4-tert-ブチルフェノール、4-tert-オクチルフェノール濃度は実験後に増加を示した。ノニルフェノールは若干濃度の減少が見られたが、はっきりとした傾向は示さなかった。

表2 各物質の溶出実験前後の濃度

	濃度 (ng/L)	
	溶出前	溶出後
ベノミル	22.36	9.66
ビスフェノールA	1.61	85.47
4-tert-ブチルフェノール	0.11	0.24
4-tert-オクチルフェノール	1.56	8.09
ノニルフェノール	19.29	14.71

考察

ベノミルは溶出実験の結果、むしろ底泥に吸着されていることが示唆された。これは、津久井湖水中において底層部で低濃度を示す状況と合致する。4-tert-ブチルフェノールは溶出実験において底泥から湖水への溶出傾向を示した。これは、津久井湖水中において底層部で高濃度を示す状況と合致する。

一方、ビスフェノールAは溶出実験では顕著な溶出挙動を示したが、実際の湖中ではこれに合致するような傾向は見られなかった。ノニルフェノールは実際の湖中では底泥から湖水への溶出傾向を示したが、実験室内の溶出実験ではこれを裏付けるような実験結果は得られなかった。このようなモデル実験と実環境における状況の違いは、底泥表層付近の環境（溶存酸素、酸化還元電位等）の違いによる可能性が考えられたが、今後の検討が必要である。

まとめ

ビスフェノールA、アルキルフェノール類について、抽出・精製法を確立した。パスツールピペットをクロマト管として利用した5%含水シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製が可能で回収率も良好であった。ベノミルは実試料、溶出実験のいずれでも湖水から底泥への吸着が示唆された。4-tert-ブチルフェノールは実試料、溶出実験のいずれでも底泥から湖水への溶出が示唆された。ビスフェノールAとノニルフェノールについては実試料における濃度分布と溶出実験における挙動は必ずしも一致せず、溶出挙動の解明にはさらに検討が必要であると考えられた。

ビスフェノールAやアルキルフェノール類については、条件次第では底泥から湖水への溶出が起き、水道原水への環境ホルモン供給源となる可能性は否定できず、今後も引き続き監視や検討が必要であると考えられた。

(平成15年8月14日受理)

文献

- 1) 上村仁：湖水の富栄養化の機構解明に関する研究一

- 底泥及び沈降物が富栄養化に及ぼす影響に関する研究一，平成11年度科学技術総合研究委託費 地域先端研究 研究成果報告書，pp.39-46 (2000)
- 2) 上村仁：津久井湖水中の窒素起源推定への安定同位体比の利用，水道協会雑誌，**808**, 36-41 (2002)
- 3) 環境庁水質保全局水質管理課：外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル (水質，底質，水生生物)，平成10 (1998) 年10月
- 4) 上村仁，節田節子：LC-MS/MSを用いた水中のベノミルの高感度分析，神奈川県衛生研究所研究報告，**29**, 36-38 (1999)
- 5) 上村仁，節田節子：水中のビスフェノールA超微量分析法の検討，神奈川県衛生研究所研究報告，**30**, 11-16 (2000)