

バイオアッセイと化学分析を用いた環境中における エストロゲン作用物質の検出 底質を例として

横浜国立大学大学院環境情報学府 山崎首春、古市琢磨、益永茂樹、中西準子

Identification of Estrogenic Activity in the Environment with Instrumental Analysis and in-vitro Bioassay (2) Sediment, by Shuharu YAMAZAKI, Takuma FURUICHI, Shigeki MASUNAGA, and Junko NAKANISHI (Graduate School of Environment and Information Sciences, Yokohama National Univ.)

1. はじめに

環境中に存在するエストロゲン作用物質による水棲生物への影響が懸念されている。エストロゲン作用物質には非常に活性が高く、微量でも生物に影響を与えることが危惧される人畜由来のホルモン物質がある。また、アルキルフェノール類やビスフェノール A(BPA)等の合成化学物質にもエストロゲン作用を有する物質が存在し、アルキルフェノール類の一つであるノニルフェノール(NP)はメダカをメス化するという報告もなされている。このように様々なエストロゲン作用物質が存在するが、実際どの物質がどの程度、総エストロゲン活性に寄与しているのか明らかにされていない。さらに、底質中に存在するエストロゲン作用物質が水環境中に放出され、水生生物に影響を与えることも考えられる。そこで本研究では、底質を対象として、GPC による分画、MVLN 細胞を用いたバイオアッセイ、および LC/MS(MS)による化学分析から、エストロゲン活性に寄与する物質の推定を行なった。

2. 実験方法

2.1 対象物質 前項³⁾で示した計 7 物質を本研究の調査対象物質とした。

2.2 調査試料 代表的な都市河川である多摩川の 6 地点、工業地帯である市原港付近の 5 地点を対象とし、採泥を行った (図 1)。

2.3 試料の前処理 採取した底質を凍結乾燥した後、乾燥重量 5 g の底質について超音波抽出を行なった。1ml まで濃縮した抽出物を、GPC カラムを用い分画し、バイオアッセイに供した。次いで LC/MS (MS)を用い、調査対象物質の測定を行なった。

2.4 エストロゲン活性の測定 前項³⁾と同様の方法でエストロゲン活性を測定した。

3. 結果および考察

図 2 に多摩川底質における各分画のエストロゲン活性を示す。画分 F7~F9 にエストロゲン活性を有する物質が存在していることが確認された。F7 には 17 エストラジオール(E2)、エストリオール(E3)、F8 にはエストロン(E1)、E2、エチニルエストラジオール(EE2)、BPA、F9 には E1 が溶出するため、これらの物質による可能性が考えられた。特に、下水処理放流水付近の底質でエストロゲン活性が高く、河川水³⁾と同様な結果を示した。このことから、多摩川底質におけるエストロゲン活性の寄与は、E2 や E1 による可能性が示唆された。しかし、化学分析の結果、人畜由来のホルモン物質濃度はどの物質も検出限界以下であり、この濃度ではバイオアッセイにおいても検出限界以下であることから、人畜由来のホルモン物質によるエストロゲン活性の寄与は低いと考えられた。他方、合成化学物質については、F7、F8 に BPA、F6 に NP、OP が検出されたが、いずれもバイオアッセイにおける検出限界以下であった。このことから、底質では、E1、E2 と同じ画分に含まれる対象とした物質以外の寄与が高いと考えられた。

図 3 に市原底質における各画分のエストロゲン活性の結果を示す。多摩川底質と同様の画分でエストロゲン活性を有する物質が存在していることが確認された。化学分析の結果も多摩川底質同様、NP、OP、BPA を除く物質は検出限界以下であった。検出された NP、

OP、BPA はいずれもバイオアッセイにおいて検出限界以下であったことから、対象とした物質以外の寄与が高いと考えられた。今回、化学石油工場の付近で高い活性を示した。ベンゾ[a]ピレン(B[a]P)などの多環芳香族物質(PAH)にもエストロゲン活性があり¹⁾、また、東京湾の底質において PAH がエストロゲン活性に寄与するという報告²⁾もあることから、市原底質の活性は PAH が寄与する可能性が考えられ、今後、PAH の溶出画分と寄与について検討する予定である。



図 1. 調査試料採取地点

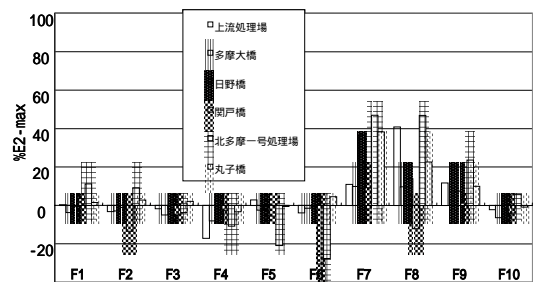


図 2. 画分におけるエストロゲン活性(多摩川)

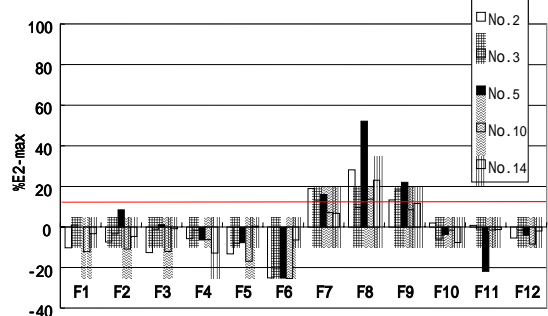


図 3. 画分におけるエストロゲン活性(市原)

参考文献

- 1) Clemons et al., Environ. Sci. Technol., 32, 1853-1860 (1998).
- 2) Kannan et al., Environ. Sci. Technol., 34, 3568-3573 (2000).
- 3) 古市ら、第 37 回日本水環境学会年会 (2003) .

謝辞

本研究は文部科学省産官学連帯イノベーション創出事業費補助金(独創的革新技術開発研究提案公募制度)の支援を受けた。また、(株)環境管理センター 石井氏に多大な協力を戴いた。ここに記して謝意を表す。