

# 阿嘉島沿岸のエストロゲン様物質及び その他水質汚濁物質の実態

岩崎 誠二  
三重県科学技術振興センター  
保健環境研究部

Current status of estrogen-like compounds and another water pollution indexes surrounding Akajima Island

S. Iwasaki

## ●はじめに

人為活動に伴って作り出された様々な化学物質が、水環境の生態系に影響を及ぼすことが知られている。中でも、近年特に注目されているのがエストロゲン（女性ホルモン）様の活性を有する物質（以下、エストロゲン様物質と言う）である。水環境で見出される代表的なエストロゲン様物質は、工業用界面活性剤に使用されているノニルフェノール、ポリカーボネート樹脂の原料であるビスフェノールAなどの化学物質がある。これらの他、哺乳動物のし尿に由来する17β-エストラジオール（E2）、その酸化物であるエストロン（E1）等のステロイド系天然ホルモン（以下、E2等と言う）が知られている。E2等は、浄化槽及び畜産業の排水等に、魚類のメス化を引き起こすほどの濃度が含まれていることが報告されている。これらの施設は、都市部でなくても設置されている。すなわち、E2等は、都市部の水環境でなくとも高い濃度で見いだされる可能性があることを示している。それゆえ、エストロゲン様物質のモニタリングは、さんご礁海域でも必要であるが、一般に水質モニタリングは、汚濁が進行した水域を優先的に実施する傾向があるので、実施例は少ない（Kawahata et al. 2004）。

本研究では、さんご礁海域におけるエストロゲン様物質の実態把握を目的として、阿嘉島における生活排水及び周辺海域のエストロゲン様物質及びその他の水質汚濁項目を測定した。なお、エストロゲン様物質の測定には、エストロゲン様物質を高感度で定量することができる酵母バイオアッセイを使用した。

## ●調査方法

採水日時 2003年12月6日

採水地点 阿嘉島の生活排水路、マエノハマ等、図1に示す10地点で採水した。

分析項目 pH、実用塩分濃度(PSU)、溶存酸素(DO)、化学的酸素要求量(COD)、硝酸態窒素(NO<sub>3</sub>-N)、亜硝酸態窒素(NO<sub>2</sub>-N)、アンモニア態窒素(NH<sub>4</sub>-N)、リン酸態リン

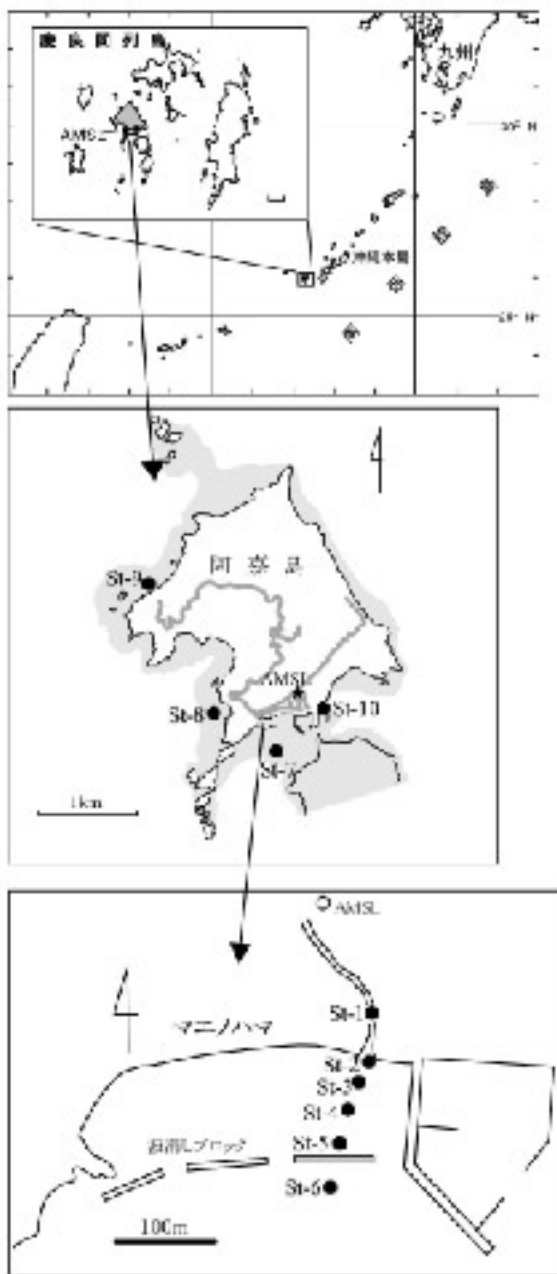


図1. 試料採水地点.

(PO<sub>4</sub>-P)、大腸菌群数、ふん便性大腸菌群数及びエストロゲン様物質の分析を行った。(表1)。また、St-1の流量を測定した。なお、本論文では、NO<sub>3</sub>-N、NO<sub>2</sub>-N、NH<sub>4</sub>-N及びPO<sub>4</sub>-Pの4項目を総称して、各態窒素・リンと呼ぶことにする。

pH、DO、COD、及び各態窒素・リンは、JIS K0102 工場排水試験法により分析を行った。PSUは、海洋観測指針により分析を行った。大腸菌群及びふん便性大腸菌群は、上水試験法により分析を行った。すなわち、大腸菌群は、BGLB培地を用いた最画数法 [単位:MPN (Most Probable Number) /100ml] で、ふん便性大腸菌群は、m-FC培地を用いた直接計数法 [単位:CFU (Colony Forming Unit) /100ml] で計数を行った。エストロゲン様物質は、Takigami et al. (2000) の方法により検水を10,000倍に濃縮したのち、Brunel大学のP. Sumpter教授らの研究グループが開発したヒトエストロゲン受容体遺伝子組換え体酵母(以下、hER)を利用したバイオアッセイ系 (以下、酵母法) を用いて分析を行った(Routledge and Sumpter 1996)。このhERの主染色体にはエストロゲン受容体遺伝子が導入されており、この遺伝子が産生しているエストロゲン受容体にエストロゲン様物質が結合すると複合体を形成する。こ

の複合体が、別途プラスミド上に組み込まれた*lac Z* 遺伝子を活性化することによって、最終的にエストロゲン強度に応じたβ-galactosidaseを産生する仕組みが組み込まれている。従って、β-galactosidase活性を測定することにより、エストロゲン様物質の強度を定量することができる。標準物質としてE2が使用されるので、本法で定量されたエストロゲン様物質の濃度は、ng E2等量/Lなどと表記される。なお、hERは、Sumpter教授に使用の承認を得た後、京都大学から株の分与を受けた(1999.9)。

流量は、JIS K 0094の8流量の測定に従って測定した。

また、pH、PSU、DO、COD、大腸菌群及びふん便性大腸菌群は、採水直後に分析を行った。各態窒素・リンは、0.45 μmのフィルターでろ過を行い、冷蔵で保存し、三重県に輸送した後(3日後)分析を行った。エストロゲン様物質は、各態窒素・リンと同じ方法でろ過を行い、ろ過液をSep-pak C18+ (Waters社製)に通水したのち、冷蔵で保存し、三重県に輸送した後、残りの分析処理を行った。

### ●結果

本調査では、阿嘉島の生活排水路 (St-1) からマエノハマ湾内、沖(St-2-7)、マエノハマの水質の影響を受けな

表1. 水質試験結果.

Site No.	pH	PSU	DO (mg/L)	COD (mg/L)	NO <sub>3</sub> -N (mg/L)	NO <sub>2</sub> -N (mg/L)	NH <sub>4</sub> -N (mg/L)	PO <sub>4</sub> -P (mg/L)	Coliform (MPN/100mL)	Fecal Col. (CFU/100mL)	Es.Sub. (ng/L)
S-1	7.7	0.82	6.5	40.0	0.51	0.180	5.79	1.37	230000	12000	8.2
S-2	8.1	2.98	7.2	2.66	0.045	0.020	0.282	0.054	33000	330	0.7
S-3	8.2	3.05	7.2	1.50	0.029	0.017	0.210	0.030	23000	200	0.6
S-4	8.2	3.20	7.2	1.48	0.020	0.007	0.105	0.015	4900	130	0.3
S-5	8.2	3.23	7.5	1.18	0.011	<0.005	0.054	0.007	3300	23	0.1
S-6	8.2	3.33	7.5	1.04	0.008	<0.005	0.022	<0.005	2300	5	<0.1
S-7	8.2	3.35	7.6	0.94	<0.005	<0.005	0.006	<0.005	<1	<1	<0.1
S-8	8.2	3.39	7.3	0.80	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<1	<1	<0.1
S-9	8.2	3.39	7.7	0.84	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<1	<1	<0.1
S-10	8.2	3.22	7.2	1.24	0.029	0.029	0.012	0.014	7900	100	0.6
英真湾湾口	8.3	3.12	8.5	1.50	*0.228			**0.016			1.0

Coliform: 大腸菌群数 Fecal Col.: ふん便性大腸菌群数 Es.Sub.: エストロゲン様物質 \*全窒素 \*\*全リン

いと考えられるヒズシ (St-8) 及びクシバル (St-9) の他、ナカマタ川流入先(St-10) の水質を調査した。その結果は表1のとおりである。COD以下の汚濁項目は、すべてSt-1が最も高い値であり、St-2以下では各項目ともおおむね/10以下の値であった。なお、生活排水路の流量は5.0-8.3m<sup>3</sup>/hであった。St-7、St-8及びSt-9では、CODは1mg/L未満、各態窒素・リンは、おおむね定量化限界(0.005mg/L)未満であった。St-10では、各項目ともマエノハマと同程度であったが、NH<sub>4</sub>-Nが相対的に低い値であった。大腸菌群数は、マエノハマでは10<sup>3</sup>のオーダー以上であったが、St-7-9では、検出されなかった。ふん便性大腸菌群数は、大腸菌群数の1/10-1/100程の低い値であり、大腸菌群数と同様、St-7-9では、検出されなかった。エストロゲン様物質は、St-1で8.2ng E2等量/Lであったが、マエノハマ沿岸では1ng E2等量/L未満であり、St-6より外洋の海域では定量下限値 (0.1ng E2等量/L) を下回った。

#### ●考察

阿嘉島は、南西諸島のほぼ中央に位置する周囲約10kmの小島である。人口は約350名であり、阿嘉島南部の阿嘉地区に居住している。当該地区の生活排水は、主として阿嘉地区の中央を流れる排水路を通じて海域に放流されている。

生活排水路の流量は、河川としてはごく小規模である。しかしながら、COD、各態窒素・リン及び大腸菌群等は、汚濁が進行した都市河川並の値であった。これらの物質は、ほとんどが生活排水に由来すると考えられる。各汚濁項目とも、St-2以下海域では急激に減少し、St-7-9では、各態窒素・リンは、木村ら(1993)及び青木・林原(1997)の結果と同様に低い値であった。比較のため、三重県の英虞湾の湾口における水質データを表1下段に示す(岩崎ら 2003)。英虞湾湾口の水質は、本州の沿岸域では比較的良好であるが、COD及び各態窒素・リンの値では、マエノハマの湾内と英虞湾湾口は、ほぼ同程度である。

大腸菌群及びふん便性大腸菌群は、St-1-6で検出されている。これらの細菌群は、いずれもふん便汚染の指標であるが、大腸菌群には自然界に生息する細菌も多数含まれている。一方、ふん便性大腸菌群は、大腸菌群と比較してふん便由来の特異性が高い。水環境における両者の比率は、大腸菌群：ふん便性大腸菌群で、通常10:1-100:1であり、

本調査でも同様の比率であった。環境省が例年行っている水浴場の水質判定では、判定基準の項目に、COD及びふん便性大腸菌群が用いられている。最高ランクであるAAの基準値は、COD2mg/L以下、ふん便性大腸菌群数2CFU/100mLである。なお、当該ランク付けは、年間の集客数が50,000人以上の水浴場に適用される。従って、マエノハマは水浴場としてはランキング適用外であるが、本判定基準を適用した場合、CODの値ではAAにランクされる。一方、ふん便性大腸菌群数にSt-3値(200 CFU/100mL)を適用した場合、Bランク相当であり、総合評価でもBランクで、沖縄方面の海域としては低い評価となる。しかしながら、今回の調査地点及び調査時期は、水浴場を評価するには適切ではない。マエノハマを水浴場として評価するには、別途な調査が必要である。

本調査でエストロゲン様物質の定量に用いた酵母法は、試料に含まれる総エストロゲン活性を把握することはできるが、エストロゲン様物質の化学種を特定することは困難である。しかしながら、当該地域には、化学工場等が見当たらないこと及びふん便性大腸菌群数が検出されていることから、本調査で見いだされたエストロゲン様物質は、E2等であることが推測される。E2が10ng/Lを上回れば魚類のメス化を引き起こすおそれがあり、1ng/L未満ではそれらのおそれがないことが知られている(Routledge et al. 1998)。本調査ではすべての海域で1ng E2等量/Lを下回っていたので、これらのエストロゲン様物質が、阿嘉島沿岸の魚類に及ぼす影響は小さいと考えられる。しかしながら、サンゴ類に対するエストロゲン様物質の影響は知見が少ないので、まず定期的なモニタリングが不可欠と考えられる。

陸水由来の汚濁物質は、海域に流入すると通常は、濃度が低減する。濃度が低減する要因として、希釈・拡散がまず考えられるが、その他、酸化作用等も想定される。そこで、それらの要因を推定するために、St-1における汚濁物質の濃度を1とした場合のSt-2-7の濃度を算出して、低減の度合いを比較した(以下、標準化濃度；図2)。その結果、COD、NH<sub>4</sub>-N、PO<sub>4</sub>-P及びm-FCは標準化濃度の値が小さく、NO<sub>3</sub>-N、大腸菌群数及びエストロゲン様物質は大きい値であった。それぞれの汚濁物質の濃度が、希釈効果だけで低減してゆくのであれば、標準化濃度は物質の種類によらず一定となるはずである。標準化濃度が小さいということは、その物質に希釈以外の要因、すなわち吸着、沈殿、生分解等の要因が作用している可能性を示唆するも

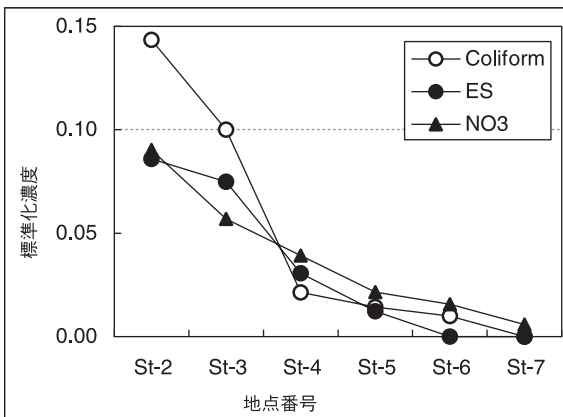
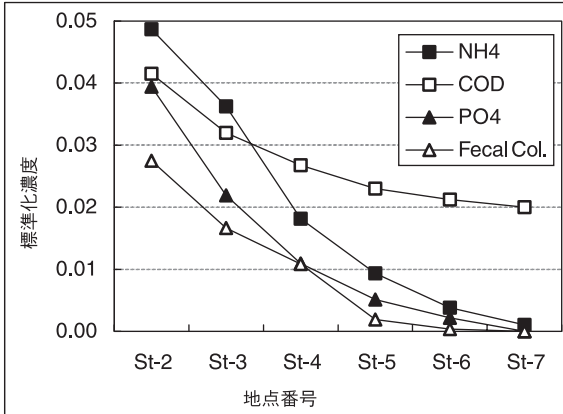


図2. St-1における汚濁物質の濃度の値を1とした場合のSt-2以下の濃度。

のである。その要因として、 $\text{NH}_4\text{-N}$ は、硝化細菌による酸化、 $\text{PO}_4\text{-P}$ は、海水の金属成分との不溶性物質の生成及び沈殿、あるいは海底のサンゴ砂への吸着が考えられる。また、 $\text{NH}_4\text{-N}$ は酸化されると $\text{NO}_2\text{-N}$ を経て $\text{NO}_3\text{-N}$ に変換される。そのため、 $\text{NO}_3\text{-N}$ は、 $\text{NH}_4\text{-N}$ から変換してきた $\text{NO}_3\text{-N}$ の増加分が上乘せられるため、標準化濃度が高い値であったと考えられる。E2は好気性条件化で容易にE1に酸化されるが、E1は、E2と比べ、酸化速度が遅いことが知られている (Ternes et al. 1999)。それゆえ、E1が残留していた可能性がある。また、ふん便性大腸菌群は水環境では大腸菌群よりも死滅速度が速いことが知られているので、大腸菌群よりも、標準化濃度の減少が大きくなったと考えられる。

現在、阿嘉島では下水道の整備が進行中である。将来的に、St-1の排水が下水道で処理された場合、今回調査を

行った項目の水質がどの程度改善されるか、興味深い。

#### ●謝辞

本研究を行うにあたりまして、採水及び試料の前処理で、阿嘉島臨海研究所の方々に大変お世話になりました。また、酵母バイオアッセイ法は、京都大学大学院地球環境学堂の松井三郎先生及び松田知成先生にご指導をいただきました。以上の方々に、深く感謝申し上げます。

#### ●引用文献

- 青木豊明・林原毅 1997. 阿嘉島のサンゴ礁における水質環境－クニバルにおける夏季の水質の日周変化－. みどりいし, (8): 11–15.
- 岩崎誠二・加藤進・高橋正昭・木村哲也・粟冠和郎・大宮邦雄・松田知成・松井三郎 2003. 英虞湾におけるエストロゲン様物質の挙動. 水環境学会誌, 26 (11): 687–692.
- Kawahata H, H. Ohta, M. Inoue and A. Suzuki 2004. Endocrine disrupter nonylphenol and bisphenol A contamination in Okinawa and Ishigaki Islands, Japan—within coral reefs and adjacent river mouths. Chemosphere, 55: 1519–1527.
- 木村匡・林原毅・下地和幸 1993. 阿嘉島のサンゴ礁と水質、沖縄本島との比較 (予報). みどりいし, (4): 20–22.
- Routledge E. J., D. N. Sheaha, C. Desbrow, G. C. Brighty, M. Waldoock and J. P. Sumpter 1998. Identification of estrogenic chemicals in STW effluent. 2. in vivo responses in trout and roach. Environ. Sci. and Technol., 32 (11): 1559–1565.
- Routledge E. J. and J. P. Sumpter 1996. Estrogenic activity of surfactants and some of their degradation products assessed using a recombinant yeast screen. Environ. Toxicol. and Chem., 15 (3): 241–248.
- Takigami H, N. Taniguchi, T. Matsuda, T. Yamada, Y. Shimizu and S. Matsui 2000. The fate and behavior of human estrogens in a night soil treatment process. Water Sci. Technol., 42 (7–8): 45–51.
- Ternes T. A., M. Stumpf, J. Mueller, K. Haberer, R. D. Wilken and M. Servos 1999. Behavior and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants – I. Investigations in Germany, Canada and Brazil. Sci. Total Environ., 225: 81–90.