

平成 15 年度 内分泌攪乱化学物質における
暴露経路調査結果について

平成 16 年 12 月

環境省総合環境政策局環境保健部環境安全課

I 水環境挙動モデルに使用する前駆物質に関する確認とパラメータ値の取得

1. ノニルフェノールに関する検討

水生生物に対する内分泌攪乱作用が指摘されているノニルフェノールは、そのまま環境中へ排出される以外に、ノニルフェノールエトキシレート (NPhEO) などの前駆物質が環境中で分解することによって生成されることが知られており、ノニルフェノールの環境中での挙動を考える際に、これらの前駆物質の環境中での挙動を考慮する必要があると考えられた。そのため、平成 14 年度までの暴露経路調査において、4-ノニルフェノールモノエトキシレート (NP1EO) の分解速度を求め、NP1EO からのノニルフェノール生成過程をノニルフェノールの水環境挙動モデルに組み入れた。

「平成 14 年度内分泌攪乱化学物質における環境実態調査 (水環境) について」(環境省水環境部)によると、環境中に NP1EO のほかにノニルフェノールジエトキシレート (NP2EO)、ノニルフェノキシ酢酸 (NP1EC)、ノニルフェノールモノエトキシ酢酸 (NP2EC) などの存在が報告されており、前駆物質としてエトキシレート類以外のエトキシ酢酸類からの考慮の必要性が示唆された。

本調査においては、環境中におけるアルキルフェノール (ノニルフェノール及び 4-t-オクチルフェノール) とその前駆物質と考えられる物質の存在状況を調査した。さらに、NP1EC 及び NP2EC の他、使用量の多いトリスノニルフェニルホスファイトの水中分解性とノニルフェノール生成の可能性について検討した。

さらに、一般的には NPhEO の生分解は、ポリエチレングリコール鎖側から進行すると考えられるが、アルキル基の分解によって短鎖長のアルキルフェノールが生成する可能性についても検討した。

(1) アルキルフェノール前駆物質の存在状況について

過去の環境実態調査において、ノニルフェノール及び4-t-オクチルフェノールが高濃度で検出されている石津川水系(大阪府堺市)において、ノニルフェノール、4-t-オクチルフェノール及びその前駆物質と考えられる物質の環境中における存在状況を調査した。

ア. 調査位置

水質調査および底質調査は、それぞれ石津川水系の4ヶ所において実施した(図1)。

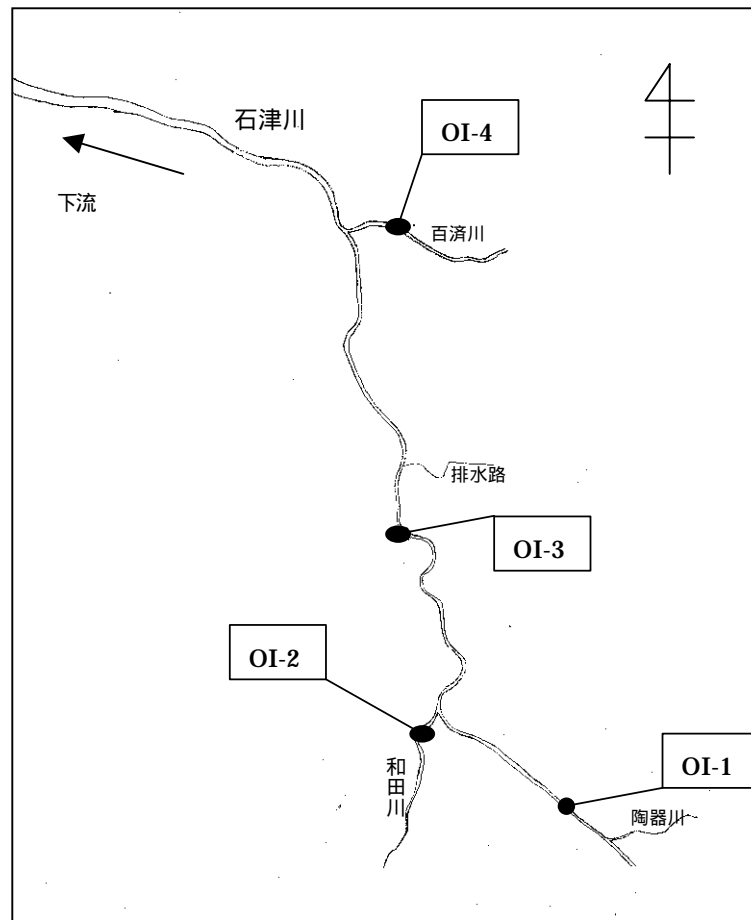


図1 調査位置図

イ．調査方法

各調査点において、採水及び採水を実施（平成 15 年 12 月 2～3 日）し、表 1 及び表 2 に示した項目について分析を実施した。

表 1 水質分析項目

調査対象項目		分析方法の概要	目標検出 下限値 ($\mu\text{g/L}$)
対象物質	細目		
アルキルフェノール類	ノルフェノール	溶媒抽出	0.1
	4-t-オクチルフェノール	LC/MS	0.01
アルキルフェノールエチキレート類	ノルフェノールエチキレート(n=1～15)	溶媒抽出	0.1
	オクチルフェノールエチキレート(n=1～15)	LC/MS	0.01
アルキルフェノールエチキ酢酸類	ノルフェノールエチキ酢酸(n=1～3)	溶媒抽出	0.1
	オクチルフェノールエチキ酢酸(n=1～3)	LC/MSMS	0.01
その他	トリスノルフェニルフォスファイト	溶媒抽出 LC/MS	0.1

表 2 底質分析項目

調査対象項目		分析方法の概要	目標検出 下限値 ($\mu\text{g/kg}$)
対象物質	細目		
アルキルフェノール類	ノルフェノール	溶媒抽出	15
	4-t-オクチルフェノール	LC/MS	1.5
アルキルフェノールエチキレート類	ノルフェノールエチキレート(n=1～15)	固相抽出又は溶媒抽出	20
	オクチルフェノールエチキレート(n=1～15)		2
アルキルフェノールエチキ酢酸類	ノルフェノールエチキ酢酸(n=1～3)	溶媒抽出	20
	オクチルフェノールエチキ酢酸(n=1～3)	LC/MSMS	2
その他	トリスノルフェニルフォスファイト	溶媒抽出 LC/MS	15

ウ．調査結果

水質調査結果を表 3～表 4 に、底質調査結果を表 5～表 6 に示した。全ての地点の水質調査において、ノニルフェノール、4-t-オクチルフェノール、NPnEO (n=1～15) NPnEC (n=1～3) OPnEO (n=1～15) 及び OPnEC (n=1～3) と全ての項目が検出された。

底質調査においては、ノニルフェノール、4-t-オクチルフェノール、NPnEO (n=1～3) NPnEC (n=1～3) OPnEO (n=1～12) 及び OPnEC (n=1～3) が検出された。

表 3 水質調査結果 (ノニルフェノール関連)

($\mu\text{g/L}$)

地点	ノニルフェノール	ノニルフェノール (1)イソキシル	ノニルフェノール (2)イソキシル	ノニルフェノール (3)イソキシル	ノニルフェノール (4)イソキシル	ノニルフェノール (5)イソキシル	ノニルフェノール (6)イソキシル	ノニルフェノール (7)イソキシル
OI-1	0.5	<0.1	1.3	1.6	1.2	1.5	1.5	2.1
OI-2	0.5	<0.1	1.0	1.2	0.7	0.7	0.7	1.0
OI-3	4.0	7.6	4.8	2.2	1.9	2.4	3.0	4.1
OI-4	1.5	7.1	5.5	4.2	4.8	5.8	4.6	5.6

地点	ノニルフェノール (8)イソキシル	ノニルフェノール (9)イソキシル	ノニルフェノール (10)イソキシル	ノニルフェノール (11)イソキシル	ノニルフェノール (12)イソキシル	ノニルフェノール (13)イソキシル	ノニルフェノール (14)イソキシル	ノニルフェノール (15)イソキシル
OI-1	2.7	3.1	3.4	3.3	3.0	2.6	2.1	1.8
OI-2	1.2	1.3	1.4	1.4	1.3	1.1	0.9	0.8
OI-3	5.7	7.2	8.5	9.1	9.2	8.8	8.5	8.9
OI-4	6.8	7.0	6.9	6.9	6.5	5.6	4.6	4.0

地点	ノニルフェキシ 酢酸	ノニルフェノールモノ イソキシ酢酸	ノニルフェノールジ イソキシ酢酸	トリスノニルフェニル フォスファイト
OI-1	2.2	4.1	2.1	<0.1
OI-2	1.5	2.9	1.6	<0.1
OI-3	6.0	18	5.1	<0.1
OI-4	9.2	11	5.9	<0.1

表 4 水質調査結果 (4-t-オクチルフェノール関連)

($\mu\text{g/L}$)

地点	4-t-オクチルフェノール	オクチルフェノール (1)エトキシレート	オクチルフェノール (2)イトキシレート	オクチルフェノール (3)イトキシレート	オクチルフェノール (4)イトキシレート	オクチルフェノール (5)イトキシレート	オクチルフェノール (6)イトキシレート	オクチルフェノール (7)イトキシレート
OI-1	0.92	0.57	0.028	0.02	0.27	0.12	0.04	0.08
OI-2	0.14	<0.01	0.03	0.02	0.24	0.06	0.03	0.06
OI-3	0.81	2.3	0.16	0.12	0.27	0.18	0.16	0.22
OI-4	0.26	0.71	0.11	0.10	0.46	0.29	0.11	0.14

地点	オクチルフェノール (8)イトキシレート	オクチルフェノール (9)イトキシレート	オクチルフェノール (10)イトキシレート *注	オクチルフェノール (11)イトキシレート *注	オクチルフェノール (12)イトキシレート *注	オクチルフェノール (13)イトキシレート *注	オクチルフェノール (14)イトキシレート *注	オクチルフェノール (15)イトキシレート *注
OI-1	0.10	0.10	0.10	0.10	0.09	0.08	0.06	0.06
OI-2	0.08	0.08	0.07	0.07	0.05	0.05	0.04	0.04
OI-3	0.40	0.30	0.34	0.32	0.30	0.24	0.19	0.18
OI-4	0.26	0.25	0.20	0.21	0.15	0.15	0.13	0.11

地点	オクチルフェノール 酢酸	オクチルフェノール モノエトキシ酢酸	オクチルフェノール ジエトキシ酢酸
OI-1	0.39	1.6	0.27
OI-2	0.32	2.0	0.14
OI-3	0.82	4.7	0.53
OI-4	0.79	2.2	0.55

注) オクチルフェノールイトキシレート (n=11~15) は、推定値 (標準品がないため)

表 5 底質調査結果（ノニルフェノール関連）

($\mu\text{g}/\text{kg}$)

地点	ノニルフェノール	ノニルフェノール (1)イソキシレント	ノニルフェノール (2)イソキシレント	ノニルフェノール (3)イソキシレント	ノニルフェノール (4)イソキシレント	ノニルフェノール (5)イソキシレント	ノニルフェノール (6)イソキシレント	ノニルフェノール (7)イソキシレント
OI-1	180	<20	<20	<20	<20	<20	<20	<20
OI-2	430	150	<20	<20	<20	<20	<20	<20
OI-3	1100	510	53	<20	<20	<20	<20	<20
OI-4	560	210	56	30	<20	<20	<20	<20

地点	ノニルフェノール (8)イソキシレント	ノニルフェノール (9)イソキシレント	ノニルフェノール (10)イソキシレント	ノニルフェノール (11)イソキシレント	ノニルフェノール (12)イソキシレント	ノニルフェノール (13)イソキシレント	ノニルフェノール (14)イソキシレント	ノニルフェノール (15)イソキシレント
OI-1	<20	<20	<20	<20	<20	<20	<20	<20
OI-2	<20	<20	<20	<20	<20	<20	<20	<20
OI-3	<20	<20	<20	<20	<20	<20	<20	<20
OI-4	<20	<20	<20	<20	<20	<20	<20	<20

地点	ノニルフェノール キシレント酸	ノニルフェノール モノイソキシレント酸	ノニルフェノール ジイソキシレント酸	トリスノニルフェノール フォスファイト
OI-1	<20	<20	<20	<15
OI-2	<20	35	<20	<15
OI-3	49	410	76	<15
OI-4	<20	50	<20	<15

表 6 底質調査結果 (4-t-オクチルフェノール関連)

($\mu\text{g}/\text{kg}$)

地点	4-t-オクチルフェノール	オクチルフェノール (1)エトキシレート	オクチルフェノール (2)エトキシレート	オクチルフェノール (3)エトキシレート	オクチルフェノール (4)エトキシレート	オクチルフェノール (5)エトキシレート	オクチルフェノール (6)エトキシレート	オクチルフェノール (7)エトキシレート
OI-1	11	<2	<2	<2	3	4	5	5
OI-2	24	4	2	<2	3	2	2	2
OI-3	40	13	2	<2	5	<2	<2	<2
OI-4	13	<2	3	<2	4	<2	<2	<2

地点	オクチルフェノール (8)エトキシレート	オクチルフェノール (9)エトキシレート	オクチルフェノール (10)エトキシレート *注	オクチルフェノール (11)エトキシレート *注	オクチルフェノール (12)エトキシレート *注	オクチルフェノール (13)エトキシレート *注	オクチルフェノール (14)エトキシレート *注	オクチルフェノール (15)エトキシレート *注
OI-1	4	3	3	2	<2	<2	<2	<2
OI-2	2	3	3	2	<2	<2	<2	<2
OI-3	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2
OI-4	2	3	2	2	2	<2	<2	<2

地点	オクチルフェノキシ酢酸	オクチルフェノール モノエトキシ酢酸	オクチルフェノール ジエトキシ酢酸
OI-1	<2	6	<2
OI-2	<2	13	<2
OI-3	2	65	5
OI-4	<2	6	<2

注) オクチルフェノールエトキシレート (n=11~15) は、推定値 (標準品がないため)

エ．考察

石津川（大阪府堺市）の水質調査において検出されたエトキシレート類及びエトキシ酢酸類の量を比較した。それぞれの分子量が異なるため、分子量の比からそれぞれの濃度をノニルフェノール及びオクチルフェノールの濃度に換算して集計したものを表 7 に示した。ノニルフェノール及び 4-t-オクチルフェノールそのものよりも、エトキシレート類及びエトキシ酢酸類の前駆物質が多く存在しており、環境中においてこれらの前駆物質からノニルフェノールや 4-t-オクチルフェノールが生成されるとすると、水質の評価において配慮すべき物質であることが示唆される。特に、水質調査及び底質調査においても、ノニルフェノールモノエトキシ酢酸（NP2EC）及びオクチルフェノールモノエトキシ酢酸（OP2EC）が、他の前駆物質と比較して高濃度で検出されており、ノニルフェノール及びオクチルフェノールの重要な前駆物質であると考えられた。

表 7 前駆物質のアルキルフェノール換算濃度

調査地点	ノニルフェノール		エトキシ酢酸類総計		エトキシレート類総計	
	測定濃度 ($\mu\text{g/L}$)	モル濃度 ($\mu\text{mol/L}$)	NP 換算濃度 ($\mu\text{g/L}$)	モル濃度 ($\mu\text{mol/L}$)	NP 換算濃度 ($\mu\text{g/L}$)	モル濃度 ($\mu\text{mol/L}$)
OI-1	0.5	0.002	5.8	0.026	11	0.054
OI-2	0.5	0.002	4.1	0.019	5.9	0.027
OI-3	4	0.018	20	0.091	37	0.166
OI-4	1.5	0.007	18	0.083	38	0.171

調査地点	オクチルフェノール		エトキシ酢酸類総計		エトキシレート類総計	
	測定濃度 ($\mu\text{g/L}$)	モル濃度 ($\mu\text{mol/L}$)	OP 換算濃度 ($\mu\text{g/L}$)	モル濃度 ($\mu\text{mol/L}$)	OP 換算濃度 ($\mu\text{g/L}$)	モル濃度 ($\mu\text{mol/L}$)
OI-1	0.92	0.004	1.547	0.007	0.963	0.005
OI-2	0.14	0.001	1.687	0.008	0.376	0.003
OI-3	0.81	0.004	4.136	0.020	3.164	0.015
OI-4	0.26	0.001	2.430	0.012	1.664	0.008

(2) ノニルフェノール前駆物質の水中半減期

前項の「アルキルフェノール前駆物質の存在状況について」において、アルキルフェノールのエトキシ酢酸類が環境中に存在し、アルキルフェノールの前駆物質として無視できないことが示された。これらの物質の環境中挙動とノニルフェノール生成過程をノニルフェノールの水環境挙動モデルへ組み込むため、ノニルフェノキシ酢酸 (NP1EC) 及びノニルフェノールモノエトキシ酢酸 (NP2EC) の水中半減期を求め、ノニルフェノールの生成を確認した。

また、環境中には検出されなかったが、トリスノニルフェニルホスファイトについて情報が少なく、国内使用量も多い(平成14年度:200t)¹ため、これについても水中半減期及びノニルフェノールの生成を確認した。

ア. 試験方法

ア) 被験物質濃度

分解試験の初期濃度は、分解過程において生成が予想されるノニルフェノールの検出が可能となることを考慮し、NP1EC 及び NP2EC は 500 µg/L に、トリスノニルフェニルホスファイトは 100 µg/L に設定した(表 8)。

表 8 被験物質一覧表

被験物質	ノニルフェノキシ酢酸	ノニルフェノールモノエトキシ酢酸	トリスノニルフェニルホスファイト
分子式	C ₁₇ H ₂₆ O ₃	C ₁₉ H ₃₀ O ₄	C ₄₅ H ₆₉ O ₃ P
分子量	278.4	322.4	689.01
CAS 登録番号	3115-49-9	106807-78-7	26523-78-4
純度 (HPLC)	林純薬工業	林純薬工業 99.6%	Aldrich 93.6% ^{d)}
Lot 番号	J020807030	J020530013	06606TA
環境中濃度 [μg/L]	1.5(東京都河川・内湾での 最大値) ^{a)} 0.8(全国下水処理場流入 下水の中央値) ^{b)} 1.5~9.2(大阪府石津 川) ^{c)}	1.8(東京都河川・内湾での 最大値) ^{a)} 44(全国下水処理場流入 下水の中央値) ^{b)} 2.9~18(大阪府石津 川) ^{c)}	報告例なし
被験区初期濃度 [μg/L]	500	500	100
検出限界値 [μg/L]	0.01	0.01	0.1

a) 「平成 14 年度 東京都河川・内湾の内分泌かく乱化学物質調査結果」東京都環境局(平成 15 年 6 月 17 日)

b) 「平成 12 年度 下水道における内分泌攪乱物質(環境ホルモン)に関する調査報告」国土交通省都市・地域整備局下水道部

c) 本調査結果

d) 重量換算濃度。市販品に純度記載なし。別途純度検定を実施したところ、ノニルフェノールを 4.5%、モノメチルビスノニルフェニルホスファイトと推定される不純物を約 1.9% 含む。

イ) 試験区

手賀沼^aの表層水による、NP1EC、NP2EC 及びトリスノニルフェニルホスファイトの分解試験を実施した。それぞれ 10 試験区及び 22 試験区を設定し、すべて 2 連 (n=2) で試験を実施した。

ウ) 装置および操作

手賀沼から採取した湖水を、ガラス水槽 (25 cm × 30 cm × 20 cm、ガラス板にて天井覆) に入れ、22 および 10 に設定した恒温庫に蛍光灯照射下 (約 1 万ルクス、24 時間/日) で一夜静置して馴化させたのち、被験物質をエタノール溶液 (0.5-1.0 mL) として各水槽に添加した。ステンレス製ヒシヤクで充分攪拌してから 15 分間放置後、再び攪拌しながら水溶液を褐色ビン (1L) に採水して直ちに氷冷し、これを 0 日目の試料とした。それ以後も採水時のみ攪拌を行い、分析用試料を採取した。

エ) 半減期の計算

各試験区の分析結果は、分析測定値のうち検出限界値未満に至る前までのデータを用い、2 連のデータの平均値から濃度対数近似直線の傾き ($-\log 2/T$ 、最小二乗法による) から半減期 (T) の計算を求めた。

^a 手賀沼は、湖水水質保全特別措置法による指定湖沼の一つとして、水質保全施策が総合的に講じられている。手賀沼の COD 年間平均値 (環境省) は、平成 12 年度まで 27 年連続ワースト 1 位 (平成 12 年度で 14 mg/L) であったが、平成 13 年度には 11 mg/L となりワースト 1 位を免れ、平成 14 年度には 8.2 mg/L に改善されワースト 5 外となった。平成 14 年度年間平均として、BOD 5.7 mg/L、全窒素 2.8 mg/L、全りん 0.20 mg/L が報告されている (千葉県)。これらの数値からも示されるように、手賀沼は、依然として富栄養化が進んだ湖沼である。

イ．分析結果

NP1ECの結果は、表 9 及び図 2 に示した。NP2ECの結果は、表 10 及び図 3 に示した。トリスノニルフェニルホスファイトの結果は、表 11 及び図 4 に示した。

表 9 ノニルフェノキシ酢酸分解試験分析結果

単位 (μg/L)

試験区 a)		0日	1日	7日	14日	21日	28日
10	NP1EC	450	450	420	380	370	270
	NP	0.1 ^{b)}	0.6	1.3	1.1	1.0	0.3
	NP1EC	730	500	430	400	400	280
	NP	0.1	0.3	1.1	0.2	0.9	0.9
22	NP1EC	390	430	310	260	210	160
	NP	0.1	0.5	0.9	0.4	0.7	0.4
	NP1EC	480	510	400	300	260	200
	NP	0.1	0.4	1.0	0.5	0.7	0.4

a) 2004年1月6日から2004年2月3日まで28日間試験

b) ND は検出限界値(0.1μg/L) 未満

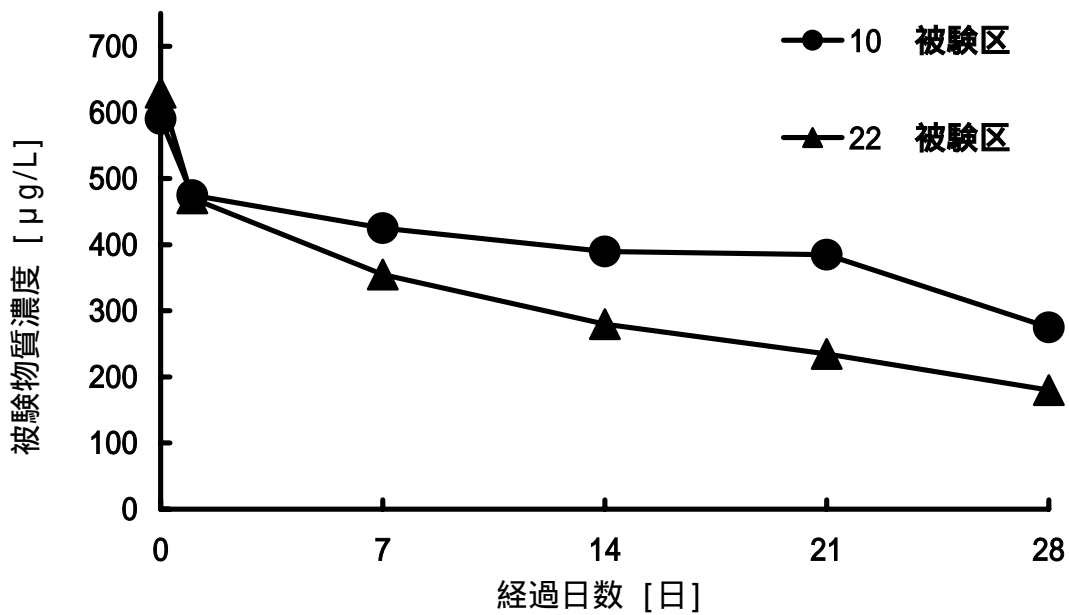


図 2 ノニルフェノキシ酢酸の水中濃度減少曲線

表 10 ノニルフェノールモノエトキシ酢酸分解試験分析結果

単位 (μg/L)

試験区 ^{a)}		0日	1日	7日	14日	21日	28日
10	NP2EC	700	540	420	400	370	280
	NP	ND ^{b)}	ND	0.1	ND	ND	0.1
	NP2EC	620	480	500	410	390	290
	NP	ND	ND	0.1	ND	ND	0.1
22	NP2EC	720	500	460	280	200	130
	NP	ND	ND	0.1	0.1	0.4	0.1
	NP2EC	520	470	390	260	180	120
	NP	ND	ND	0.1	0.5	0.4	0.1

a) 2004年1月6日から2004年2月3日まで28日間試験

b) ND は検出限界値(0.1μg/L) 未満

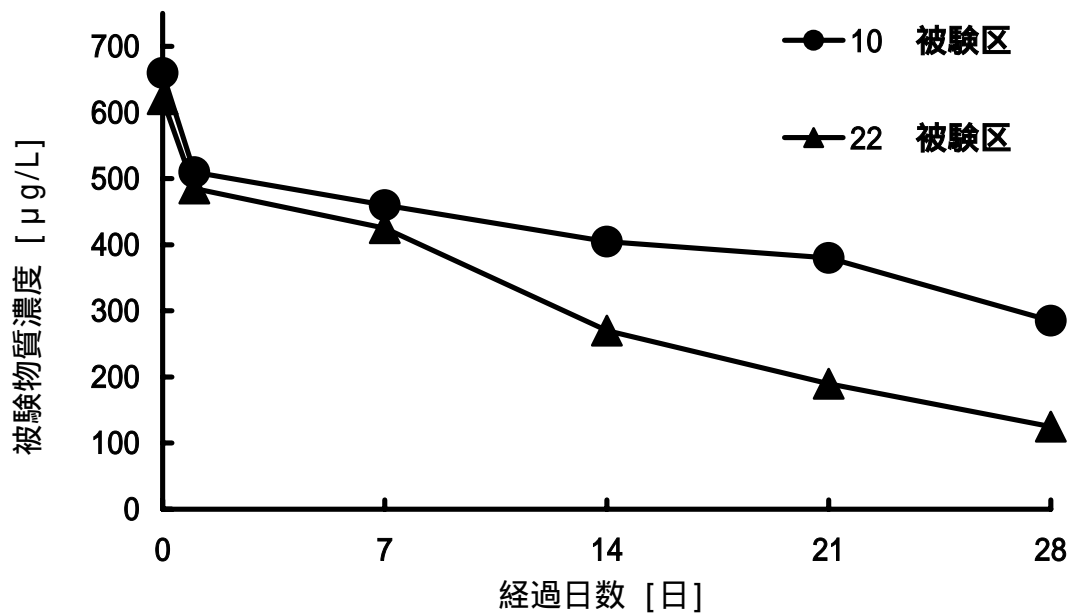


図 3 ノニルフェノールモノエトキシ酢酸の水中濃度減少曲線

表 11 トリスノニルフェニルホスファイト分解試験分析結果

単位 (μg/L)

試験区 ^{a)}		0日	1日	2日	7日	14日	21日	28日
10	TNPP	67	55	-	49	35	21	8.4
	NP	2.1 ^{b)}	2.0	-	1.0	0.7	0.2	ND
	TNPP	59	56	-	47	40	22	8.3
	NP	2.4	1.5	-	2.3	0.4	0.1	ND
22	TNPP	55	45	34	19	6.1	2.60	-
	NP	2.1	2.1	0.5	0.9	0.1	0.1	-
	TNPP	63	48	35	16	6.2	3.0	-
	NP	2.3	2.2	1.4	0.7	0.2	0.1	-

a) 2004年2月11日から2004年3月10日まで28日間試験

b) NDは検出限界値(0.1 μg/L)未満

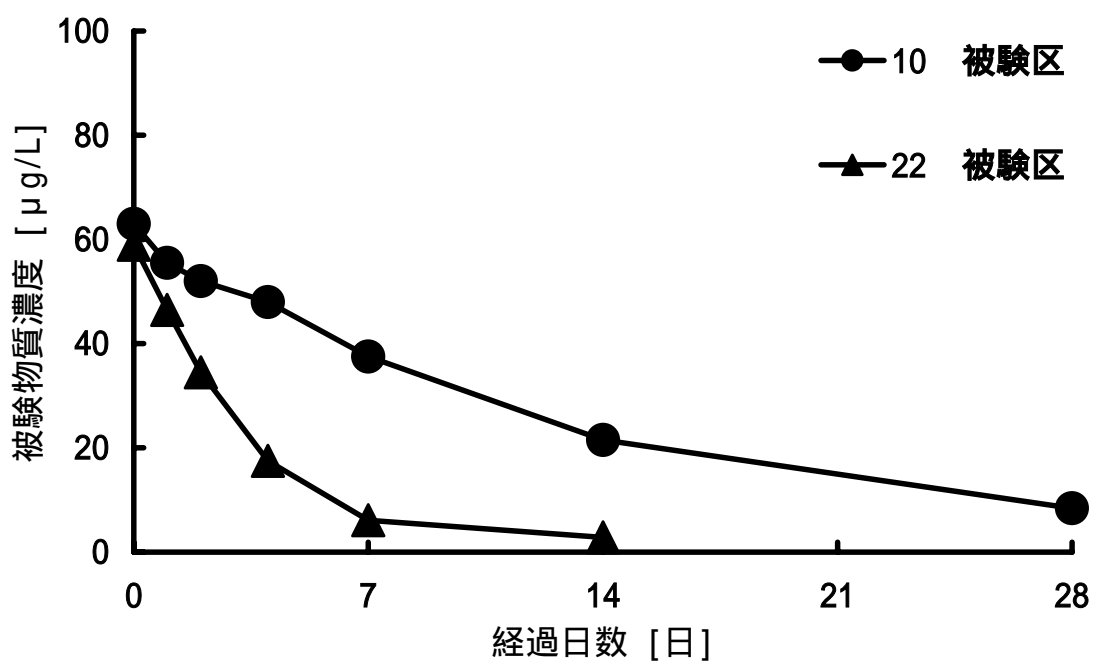


図 4 トリスノニルフェニルホスファイトの水中濃度減少曲線

ウ．半減期の計算

水中半減期の計算にあたっては、いずれの化合物においても、検出限界値未満に至る以前の全データを用いた。計算された各物質の半減期を表 12 にまとめた。

温度と水中半減期の関係がアレニウスプロット（分解速度定数の対数 絶対温度の逆数）²に従うと仮定し、2 つの温度における分解速度定数から内挿または外挿して任意の水温における水中半減期を求められるようにした（図 5）。その結果、ノニルフェノキシ酢酸は 16 ℃ : 23.9 日、4 ℃ : 46.5 日、ノニルフェノールモノエトキシ酢酸は 16 ℃ : 19.2 日、4 ℃ : 44.3 日と計算された。

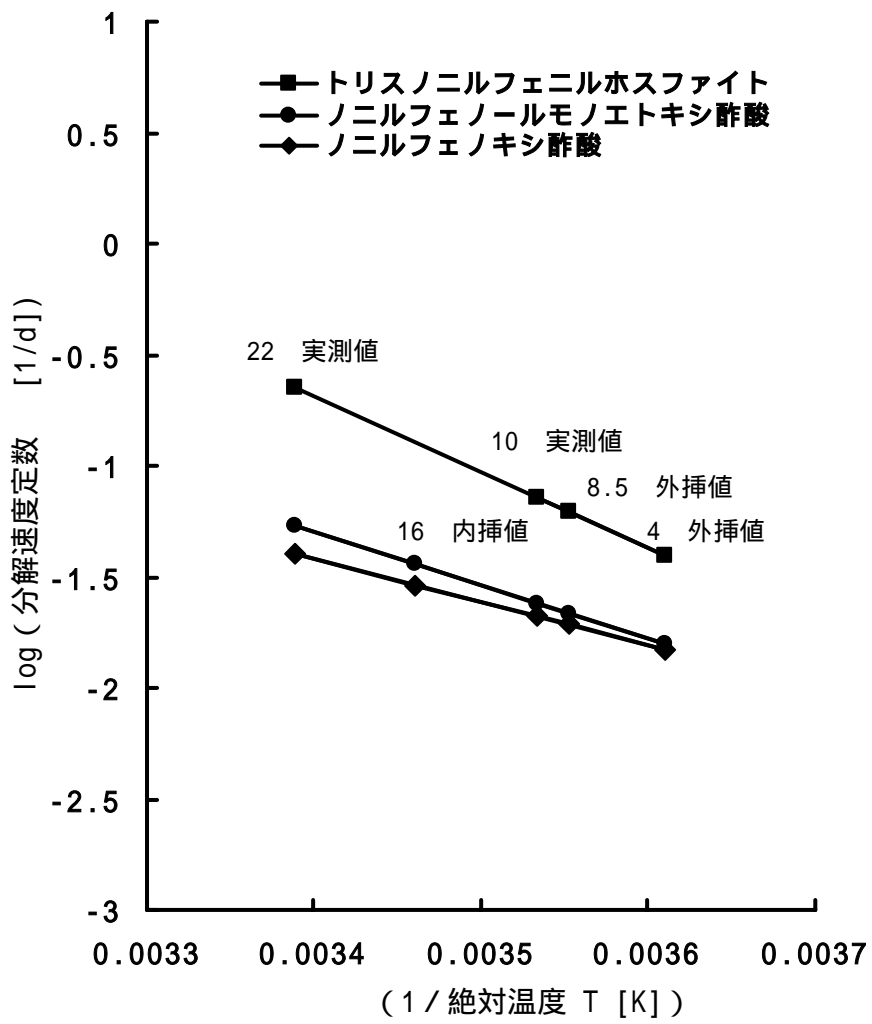


図 5 分解速度定数の対数值近似直線

表 12 各物質の半減期

被験物質名	試験水	温度 []	半減期 T [日]	出典	備考
ノニルフェノキシ 酢酸 (NP1EC)	手賀沼、湖水	22	17.4	本試験	実測値
		16	23.9		内挿値
		10	33.1		実測値
		8.5	36.0		外挿値
		4	46.5		外挿値
	米国、South Charleston Wastewater Treatment Works、都市下水排水	22	21.8 (18.6、馴 養期間 を考慮)	3	OECD 301B、理論 CO ₂ 換算、28 日間で分解率 59%、馴養期間として約 4 日間
	米国、Rhone-Poulenc Agricultural Company、ア ルキルフェノール・エトキ シレート馴養、工業排水	22	18.0 (15.4、馴 養期間 を考慮)	3	OECD 301B、理論 CO ₂ 換算、28 日間で分解率 66%、馴養期間として約 4 日間
ノニルフェノール モノエトキシ酢酸 (NP2EC)	手賀沼、湖水	22	12.9	本試験	実測値
		16	19.2		内挿値
		10	28.9		実測値
		8.5	32.1		外挿値
		4	44.3		外挿値
	米国、South Charleston Wastewater Treatment Works、都市下水排水	22	18.5 (15.8、馴 養期間 を考慮)	3	OECD 301B、理論 CO ₂ 換算、28 日間で分解率 65%、馴養期間として約 4 日間
USA、Tampa 湾、オリマル ジョン汚染、汽水	29	32.0 (12.0、馴 養期間 を考慮)	4	Static die-away、HPLC 換算、32 日間で分解率 50%、馴養期間として約 20 日間	
トリスノニルフェ ニルホスファイト (TNPP)	手賀沼、湖水	22	3.1	本試験	実測値
		10	9.7		
		8.5	11.2		外挿値
		4	17.8		
	標準活性汚泥	25	10.9	5	OECD 準拠、HPLC 換 算、28 日間で分解率 83%

エ．考察

本試験において、ノニルフェノキシ酢酸(NP1EC)は、ノニルフェノール(22、1.52日)やNP1EO(22、1.10日)よりも長い半減期(22、17.4日)をもつことが確認された(表13)。このため、NP1ECは、環境中に滞留して比較的高い濃度で検出されたものと考えられた。また、分解試験の全期に渡ってノニルフェノールが検出され(～1.3 µg/L)、試験の進行に従って一時的に濃度上昇が認められた。これは、NP1ECの分解によってノニルフェノールが生成されていることを示唆している。しかし、ノニルフェノールの半減期(22、1.52日)が、NP1ECの分解速度(22、17.4日)よりも短いため、分解産物の全てがノニルフェノールに転換されているとしても、ノニルフェノールが速やかに分解されているため、蓄積しなかったものと考えられた。

ノニルフェノールモノエトキシ酢酸(NP2EC)についても、ほぼ同様の結果が得られた。しかし、NP1ECよりも短い半減期(22、12.9日)を持つにも関わらず、0.5 µg/L程度のノニルフェノール濃度しか確認できず、NP1ECよりもノニルフェノールの生成能は低いことが示唆された。これは、NP2ECからノニルフェノールまでの分解途中において、NP1EO等の中間代謝物を経て、これらの半減期に依存して、ノニルフェノール生成速度が低くなっているためと考えられ。

また、トリノニルフェニルホスファイトは、ノニルフェノールよりも長い半減期(22、3.1日)をもつことが確認された。試験期間中にノニルフェノールが検出されたが、ノニルフェノールが減少傾向であること、トリノニルフェニルホスファイト標品に不純物としてノニルフェノールが約1.9%含まれていることから、検出されたノニルフェノールは不純物由来であると考えられ、トリスノニ

ルフェニルホスファイトの分解によるノニルフェノールの生成を確認することは出来なかった。しかし、環境中で検出されていないことから、ノニルフェノールの水環境挙動モデルでは、今のところ重要な要素ではないと考えられた。

ノニルフェノール関連物質の代謝経路を図 6 に示した。NP1EC 及び NP2EC は、ノニルフェノール生成の前駆物質の経路であり、その環境存在量からノニルフェノールの環境挙動を考える上で重要であることが示唆され、NP1EO と共に NP1EC 及び NP2EC の分解半減期は、ノニルフェノールの水環境挙動モデルにおいて重要なパラメータとなると考えられた。これらの値は、「平成 15 年度内分泌攪乱化学物質の環境挙動に関する詳細メカニズム調査」における詳細モデルのパラメータとして利用することとした。

表 13 ノニルフェノール関連物質の手賀沼湖水中半減期の比較

物質名	22 半減期 [日]	10 半減期 [日]	実施年度
ノニルフェノール (NP)	1.52	-	12
ノニルフェノールモノエトキシレート (NP1EO)	1.10	1.87	14
ノニルフェノキシ酢酸 (NP1EC)	17.4	33.1	15
ノニルフェノールモノエトキシ酢酸 (NP2EC)	12.9	28.9	15
トリノニルフェニルホスファイト (TNPP)	3.1	9.7	15

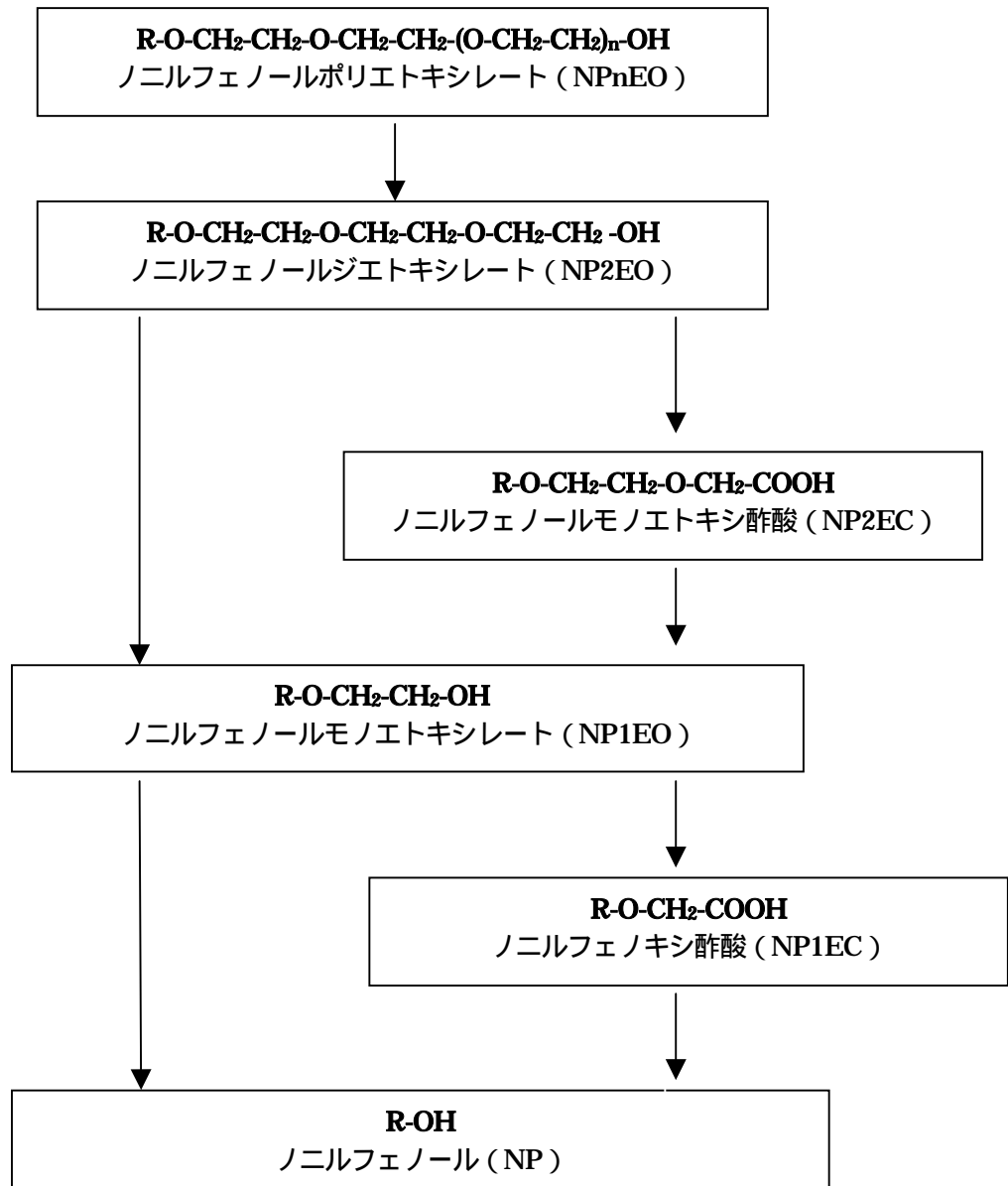


図 6 ノニルフェノール関連化学物質の推定代謝経路

R : ノニルフェニル基

: エトキシ酢酸の分解中間体として存在しないことを示唆する報告もある⁶

(3) 短鎖長アルキルフェノール生成の可能性について

ノニルフェノールエトキシレートの生分解は、一般にポリエチレングリコール鎖側から進行すると考えられるが、アルキル基の分解によって短鎖長のアルキルフェノールが生成する可能性について検討した。

ア．試験方法

ア) 被験物質

4-ノニルフェノール標準品

(分岐型、関東化学、Lot No.210G7205、CASNo.84852-15-3)

イ) 分解試験

(a) 基礎培地

基礎培地は、表 14 のとおり調整した。

表 14 基礎培地組成

試薬	質量
水	1 L
塩化カリウム	3.0 g
リン酸水素二カリウム	1.0 g
硫酸マグネシウム	0.25 g
塩化カリウム	0.25 g
硫酸鉄()	0.002 g
酵母エキス	0.3 g

(b) 活性汚泥

活性汚泥は、滋賀県内の下水道処理施設(処理方法:凝集剤添加活性汚泥循環変法)から、生物処理槽の嫌気処理工程の工程水を採取して使用した。

活性汚泥は、懸濁物質濃度(JIS K 0102 14.1)が 10,000 ~ 20,000mg/L になる

ように調整した。

なお、試験は、活性汚泥の採取後 5 時間以内に開始した。

(c) 馴化培養

乾熱滅菌(170℃、2 時間)した共栓付三角フラスコ(容量 1 L)に、500mL の基礎培地を入れ、添加区にはノニルフェノールを 30mg/L となるように添加し、対照区には無添加とした。

活性汚泥を接種した各フラスコは、密栓した後、72 時間、 25 ± 3 ℃ で振とう培養を行い、馴化とした。

5mL の馴化培養液を、新に調整した 30mg/L ノニルフェノール含有の 500mL 基礎培地(対照区はノニルフェノール含まず)に添加して、さらに 72 時間、 25 ± 3 ℃ で振とう培養した。

(d) 分解試験

馴化培養に用いたものと同様に、30mg/L ノニルフェノール含有の 500mL 基礎培地(対照区はノニルフェノール含まず)を入れた三角フラスコを、添加区及び対象区のそれぞれ 5 個準備した。それぞれに、馴化培養液を 5mL ずつ添加し、 25 ± 3 ℃ で振とう培養した。

培養開始時、培養開始後 4、7、14 及び 21 日後に、温度、pH、BOD 及びアルキルフェノール類(n=5~9)について分析を行った。

(e) アルキルフェノール分析方法

試料採取時に、添加区及び対象区の 5 つのフラスコの培地を混合して、それぞれの均一試料として、100mL の試料を採取し、分析まで-20℃ で凍結保

存した。試料を採取した培地は再びフラスコに分注し、培養を継続した。

100mL の試料液を分液ロートに移し、1mL の 0.5mg/mL (4-(1-メチル)オクチルフェノール-d5・メタノール溶液を内部標準として添加して、50mL のジクロロメタンで3回抽出を行った。抽出液を集めて、硫酸ナトリウムで脱水後、ロータリーエバポレーターで濃縮した。20mL のメタノールで再溶解後、100mL に定容して分析試料溶液とした。

分析は、LC-MS 法により、分析の諸条件は以下のとおりであった。

装置	MS 部 : TSQ-7000 (サーモエレクトロン)	
	LC 部 : LC-10Avp (島津製作所)	
カラム	Mightysil RP-18 GP、2.0×100mm、5μg (関東化学)	
ガードカラム	Mightysil RP-18 GP、2.0×5mm、5μg (関東化学)	
カラム温度	35	
移動相	A : 0.02mM 酢酸アンモニウム水溶液	
	B : 0.02mM 酢酸アンモニウムアセトニトリル溶液	
グラジエント条件	A/B : 70/30 (15分) 20/80 (22分) 20/80	
流速	0.2mL/min	
注入量	30μL	
イオン化法	ESI	
測定モード	ネガティブモード	
検出法	SIM	
モニターイオン	ペンチルフェノール	m/z 163
	ヘキシルフェノール	m/z 177
	ヘプチルフェノール	m/z 191
	オクチルフェノール	m/z 205
	ノニルフェノール	m/z 219
	4-(1-メチル)オクチルフェノール-d5	m/z 224
キャピラリー温度	280	
ESI スプレー電圧	4.5kv	
マルチプライヤー電圧	1,100V	
シースガス	窒素 75psi	

イ．試験結果

ア) 水温、pH、BOD

分解試験中の水温、pH（水素イオン濃度）及びBOD（生物学的酸素要求量）の測定結果は、表 15 に示した。

表 15 水温・pH・BOD の測定結果

培養日数	水温	対照区			添加区		
		pH	BOD (mg/L)	TOC (mg/L)	pH	BOD (mg/L)	TOC (mg/L)
開始時	25.0	7.1	150	110	7.2	7200	2000
4 日目	25.0	6.7	31	30	6.2	6900	2400
7 日目	24.2	6.8	31	30	6.2	7000	2400
14 日目	25.7	6.6	78	27	6.1	6400	2600
21 日目	26.4	6.3	120	20	6.1	6300	2400

イ) アルキルフェノール

アルキルフェノール(n=5~9)の測定結果を、表 16 に示した。添加区におけるノニルフェノール(n=9)は、時間の経過とともに減少し、その半減期は7.3日であった。また、オクチルフェノール(n=8)が添加区の全ての試料で、ヘプチルフェノール(n=7)は添加区の分解試験開始時及び試験開始後4日目において検出され、時間の経過とともに減少していた。本試験におけるオクチルフェノール及びヘプチルフェノールの見かけ上の半減期は、それぞれ、5.5日及び4.1日であった。

表 16 アルキルフェノール濃度測定結果

試料		アルキルフェノール類濃度 (mg/L)				
		n=5	n=6	n=7	n=8	n=9
対照区	開始時	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	4 日目	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	7 日目	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	14 日目	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	21 日目	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
添加区	開始時	N.D.	N.D.	0.04	0.38	12.3
	4 日目	N.D.	N.D.	0.01	0.24	8.70
	7 日目	N.D.	N.D.	N.D.	0.11	3.90
	14 日目	N.D.	N.D.	N.D.	0.04	1.94
	21 日目	N.D.	N.D.	N.D.	0.03	1.91

ウ. 考察

分解試験において、ノニルフェノール(n=9)は本条件下では、半減期 7.3 日で分解された。オクチルフェノール(n=8)が添加区の全ての試料で、ヘプチルフェノール(n=7)は添加区の分解試験開始時及び試験開始後 4 日目において検出された。しかし、これらの短鎖長アルキルフェノールは試験開始時に最大濃度を示した後に時間の経過とともに減少しており、ノニルフェノール由来のものでないことが示唆された。

これらのアルキルフェノールが当初から存在していたことを確認するために、試験に用いた 4-ノニルフェノール標準品を「アルキルフェノール分析方法」に示した LC-MS 法で分析した。その結果、4-ノニルフェノール標準品は、4.24%のオクチルフェノール及び 0.05%のヘプチルフェノールを含有しており、分解試験の試験開始時の濃度とほぼ一致していた(表 16)。この結果、添加区に認められたオクチルフェノール及びヘプチルフェノールは、添加した 4-ノニルフェノ

ール標準品に由来したものと示唆された。

短鎖長アルキルフェノールの実際の半減期が、ノニルフェノールの半減期と比較して著しく短い場合には、本データからノニルフェノールからの短鎖長アルキルフェノールが検出されない可能性が考えられる。しかし、本試験結果からは、ヘプチルフェノールが4.1日、オクチルフェノールが5.6日、ノニルフェノールが7.3日となっており、それぞれの分解速度に大差は認められなかった。また、ノニルフェノールの分解量が短鎖長アルキルフェノールの検出限界値と比較して著しく多いことから、本試験条件において、ノニルフェノールの分解によって短鎖長のアルキルフェノールが生成されている可能性は少ないものと考えられた。

しかし、今回の条件下では短鎖長アルキルフェノールの生成は認められなかったが、硝酸塩共存下 OPnEO を唯一の炭素源とした上昇流嫌気性汚泥床 (UASB : Upflow Anaerobic Sludge Blanket) 排水処理プロセスにおいて、OPnEO (n=5~12) からヘプチルフェノールジエトキシレート (HP2EO) およびプロピルフェノールトリエトキシレート (PP3EO) に変換されることが報告されており⁷⁾、アルキル炭素鎖の短縮反応を受ける可能性についても、注意が必要と考えられた。

2. ビスフェノールAに関する検討

ビスフェノールAは、そのものを工業利用する他、重合体として流通することが多く、これらの関連化合物からの環境中における生成が危惧される。そのため、ビスフェノールAの関連化合物からのビスフェノールA生成の可能性を検討した。

(1) 水中半減期パラメータの充実

ア. 試験方法

ア) 被験物質濃度

ビスフェノールAジグリシジルエーテル分解試験では、分解過程において生成が予想されるビスフェノールAの検出が可能となるように、初期濃度を100 µg/Lに設定した。(表8)

表 17 被験物質一覧表

被験物質	ビスフェノールAジグリシジルエーテル
分子式	C ₂₁ H ₂₄ O ₄
分子量	340.4
CAS 登録番号	1675-54-3
純度 (HPLC)	関東化学 88.0%
Lot 番号	00509
環境中濃度 [µg/L]	報告例なし
被験区初期濃度 [µg/L]	100
検出限界値 [µg/L]	0.01

(2) 分析結果

ビスフェノールAジグリシジルエーテルの結果は、表 18 及び図 7 に示した。

表 18 ビスフェノールAジグリシジルエーテル分析結果

($\mu\text{g/L}$)

試験区 ^{a)}		0日	1日	7日	14日	21日	28日
10	BisADGE	320	440	74	67	35	0.37
	BisA	ND ^{b)}	ND	0.07	ND	ND	ND
	BisADGE	440	520	70	55	25	0.28
	BisA	ND	ND	0.05	ND	ND	ND
22	BisADGE	360	300	62	9.4	ND	ND
	BisA	ND	ND	0.12	ND	ND	ND
	BisADGE	330	360	45	24	ND	ND
	BisA	ND	ND	0.11	ND	ND	ND

a) 2004年2月11日から2004年2月25日まで14日間試験

b) NDは検出限界値(ビスフェノールA:0.01 $\mu\text{g/L}$ 、ビスフェノールAジグリシジルエーテル:0.01 $\mu\text{g/L}$)未満

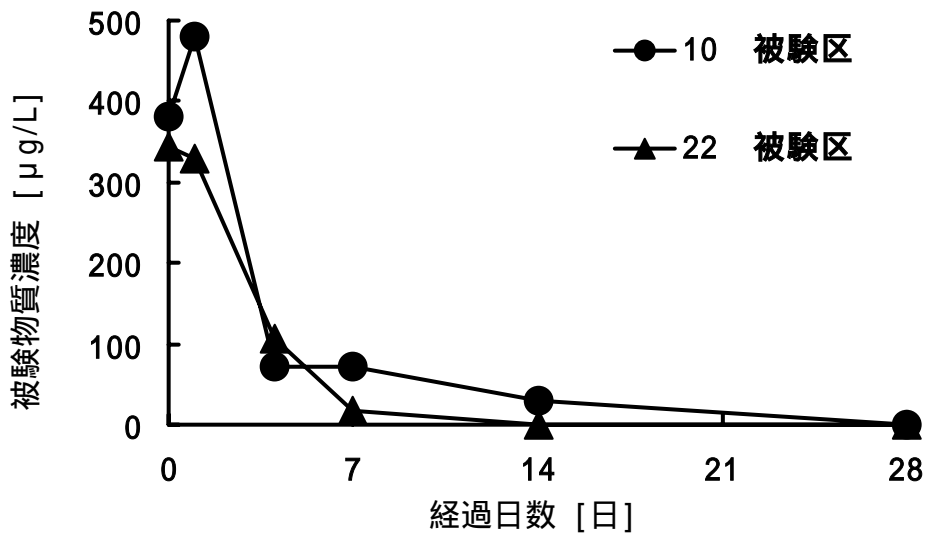


図 7 ビスフェノールAジグリシジルエーテル 水中濃度減少曲線

イ．半減期の計算

水中半減期の計算にあたっては、検出限界値未満に至る以前の全データを用いた。計算された各物質の半減期を表 19 に示した。

温度と水中半減期の関係がアレニウスプロット（分解速度定数の対数 絶対温度の逆数）² に従うと仮定し、2 つの温度における分解速度定数から外挿して任意の水温における水中半減期を求められるようにした（図 8）。その結果、水温 8.5 では 3.1 日、4 では半減期 3.9 日と推定された。

ビスフェノール A 関連化学物質の手賀沼の湖水における半減期の比較を、表 20 に示した。これらの値をビスフェノール A の水環境挙動モデルのパラメータとして利用した。

表 19 各物質の半減期

被験物質名	試験水	温度 []	半減期 T [日]	出典	備考
ビスフェノールAジグリシジルエーテル	手賀沼、湖水	22	1.6	本試験	実測値
		10	2.8		
		8.5	3.1		外挿値
		4	3.9		

表 20 ビスフェノールA関連物質の手賀沼湖水中半減期の比較

物質名	22 半減期 [日]	10 半減期 [日]	実施年度
ビスフェノールA	5.86	8.96	14
ビスフェノールAジグリシジルエーテル	1.6	2.8	15

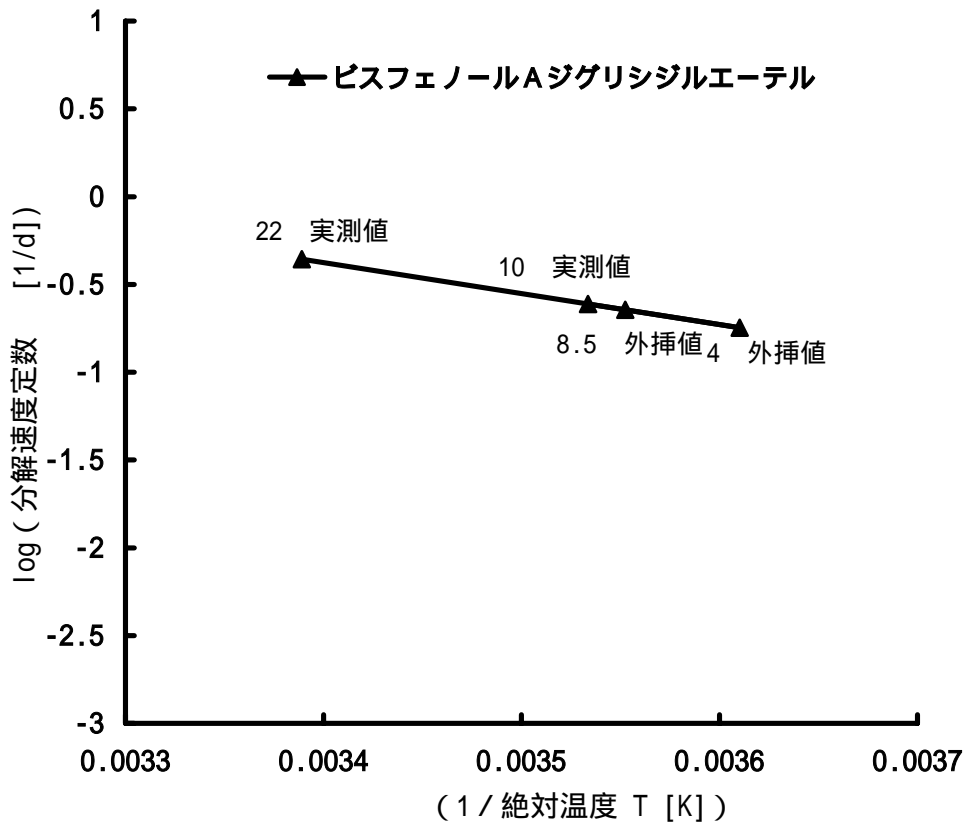


図 8 分解速度定数の対数值近似直線

(2) 考察

ビスフェノールAジグリシジルエーテルは、ビスフェノールA(22、5.86日)よりも短い半減期(22、1.6日)であった。環境中でほとんど検出されないのは、この半減期の短さのためと考えられた。

2日目にビスフェノールAが検出され、ビスフェノールAジグリシジルエーテルの分解によって、ビスフェノールAが生成されていることが示唆された。しかし、ビスフェノールAジグリシジルエーテル濃度の減少と比較して、ビスフェノールA濃度が低かった。ビスフェノールAの水中半減期が、ビスフェノールAジグリシジルエーテルの水中半減期より長いことから、生成されたビスフェノールAが速やかに分解されているとは考えにくい。そのため、ビスフェノールAジグリシジルエーテルからビスフェノールAの分解過程に中間代謝物があり、分解の律速となって蓄積している可能性や他の分解産物への経路があることを示唆している。

環境中において、ビスフェノールAジグリシジルエーテルが検出された報告がほとんど無いこと、分解半減期が短く環境中に堆積している可能性が少ないこと、ビスフェノールA生成能が低いことから、ビスフェノールAジグリシジルエーテルのビスフェノールA前駆物質としての重要性は低いものと考えられた。

また、平成14年度までに構築したビスフェノールAの水環境挙動モデルに、本調査で取得したパラメータを組み入れたが、ビスフェノールAジグリシジルエーテルの環境中濃度が検出限界値未満であることから、計算結果への影響は確認できなかった。

4 . 参考文献

- ¹ 化学工業日報 (2004) 14504 の化学商品
- 2 Mill M (1981) Laboratory Protocols for Evaluating the Fate of Organic Chemicals in Air and Water. EPA68-03-2227, US Environmental Protection Agency, Washington DC. p28.
- 3 Staples CA, Williams JB, Blessing RL, and Varineau PT (1999) Measuring the biodegradability of nonylphenol ether carboxylates, octylphenol ether carboxylates, and nonylphenol.. *Chemosphere*, 38, 2029-2039.
- 4 Potter TL, Simmons K, Wu J, Sanchez-Oliver M, Kostecki P, and Calabrese E (1998) Static die-away of a nonylphenol ethoxylate surfactant in estuarine water samples. *Environmental Science and Technology*, 33, 113-118.
- 5 財団法人化学物質評価研究機構 (2003) 化学物質安全性 (ハザード) 評価シート
- 6 Manzano MA, Perales JA, Sales D, and Quiroga JM (1998) Effect of Concentration on the Biodegradation of a Nonylphenol Polyethoxylate in River Water. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 61, 489-496.

- ⁷ Jimenez-Gonzalez A, Siles-Alvarado S, Monroy O (2003) Biodegradation of octylphenol polyethoxylates by denitrification. *Water Science and Technology*, 48, 165-170.

II 水生生物への移行経路の検討

対象物質の生物への取り込みを詳細に検討するために、水質からのコイへの取り込みと餌からの取り込みによる室内での生物濃縮試験を実施した。

1. 濃縮試験

ビスフェノールAの生物濃縮試験を行い、生物濃縮係数（水中濃度に対する魚中濃度の比：BCF_{ss}）、取込速度定数（ k_1 ）及び排出速度定数（ k_2 ）を求めた。合わせて、ビスフェノールAの分解産物である4,4-ジヒドロキシ-2,2-メチルスチルベンの蓄積についても検討した。

(1) 試験方法

OECDの「305 生物濃縮：魚による流水式試験」を参考に、実環境に近い暴露濃度条件を設定して試験を行った。

ア 試験物質

ビスフェノールA

イ 試験区分（濃度設定）

試験区分は3区分とした（表1）。

ビスフェノールAは、環境水中で検出され、平成14年度の環境実態調査によると、その濃度は最大値で19 μ g/L、95パーセントタイル値で0.29 μ g/Lであった。また、魚体中のビスフェノールAの検出限界値が0.6 μ g/kgであり、生物濃縮係数が10以上である場合に係数を算出できるように、環境中で認められる0.5 μ g/Lを低濃度区として設定した。また、その10倍濃度を高濃度区として設定した。

なお、ビスフェノールAはDMSO（ジメチルスルホキシド）に溶解して添加した。DMSOの飼育水中での最終濃度は0.01%であった。

表 1 生物濃縮試験 試験区分

区分	飼育水条件
1区	添加なし
2区	0.5 µg/L ビスフェノールA
3区	5 µg/L ビスフェノールA

ウ 試験装置

試験にはステンレス水槽（350×600×650mm、内側ガラス張り）を用い、100Lの飼育水を満たして使用した。

飼育水槽へ供給するビスフェノールA（対象区はDMSOのみ）は、それぞれ飼育水条件の10倍濃度の原液を作成して各区に用意した15Lの薬液槽から毎分80mLで1Lの混合槽に供給し、毎分800mLで供給される希釈水と混合した後、飼育水槽に供給した。

全ての配管、水槽類、ポンプの材質にはステンレススチール、ガラス、テフロン（一部の配管ジョイント部分はシリコン）を用いた。

エ 試験水・餌

飼育水（希釈水）は、上水を0.2µmのフィルターでろ過した後、活性炭カートリッジにより脱塩素したものをを用いた。

餌はこい稚魚用配合飼料を用いた（こい4号：日本農産工業）を用いた。

なお、試験に用いた飼育水（検出限界値：0.01µg/L）及び餌（検出限界値：2µg/kg）のビスフェノールA濃度が検出限界値未満であること、農薬等の有害物質が検出限界値未満であることは、事前に確認した。

オ その他の飼育条件

その他の飼育条件は表2に示した。

表 2 飼育条件

項目	設定値	実測値
飼育水槽水温	20	19.6 ~ 20.6
pH	-	7.0 ~ 6.5
溶存酸素量	-	72 ~ 98 %
給餌量	体重の1% × 2回 / 日	-

カ 魚類

試験には養魚場から入手したコイ（試験開始時平均体重 19.7g、平均体長 11.8cm）を用いた。試験に先立って魚体内のビスフェノールA濃度が検出限界値未満であることを確認し、28 日間の馴致飼育を行った。各試験区に 70 匹前後のコイを用いた。

キ 試験の実施

（ア）取込試験

各試験区で試験開始後の、1、2、4、8、14 及び 28 日目に各試験区 5 匹ずつのコイを取り上げ、速やかに冷凍保存して、分析に供した。同時に飼育水の分析も行った。

分析項目は、魚体及び飼育水について、ビスフェノール A とビスフェノール A の分解物である 4,4-ジヒドロキシ-*p*-メチルスチルベンとし、魚体については粗脂肪率も対象とした。

なお、魚体の分析に際して、5 匹のコイは混合して分析した。

（イ）排出試験

取込試験開始後 28 日目に全ての飼育水及び餌をビスフェノールA無添加のものに切り替え、1、2、3、4 及び 8 日目に、各試験区 5 匹ずつのコイを取り上げ、速やかに冷凍保存して、分析に供した。

分析項目は、魚体及び飼育水について、ビスフェノール A とビスフェノール A の分解物である 4,4-ジヒドロキシ-2,2-メチル Stilben とし、魚体については粗脂肪率も対象とした。

なお、魚体の分析に際して、5 匹のコイは混合して分析した。

(2) 試験結果

各試験区の取込試験における飼育水のビスフェノール A 濃度の実測値は表 4 に、取込試験及び排出試験の魚体内濃度はそれぞれ表 5 及び表 6 に、試験開始時と終了時における魚体中の粗脂肪率は表 10 に示した。

対照区 (1 区) において、8 日目及び 14 日目に飼育水からビスフェノール A が検出されたが、魚体中からはビスフェノール A は検出されなかった。

ビスフェノール A に暴露した試験区 (2 及び 3 区) では、1 日目から魚体内で検出され、高値を示した後に定常状態に達した (図 1)。定常状態に達したと見られる 4 日以降の水中濃度と魚体内濃度の平均値を用いて生物濃縮係数 (BCF_{ss}) を算出すると、低濃度区 (0.5 µg/L) では 13、高濃度区 (5 µg/L) では 16 であった。

また、排出試験では 3 日までに魚体内のビスフェノール A は検出限界値 (6 µg/kg) 未満となった。

図 2 の排出曲線の傾きからそれぞれの試験区における排出速度定数 k_2 を求めた。また取り込み試験の 0 ~ 1 日目のデータと k_2 から、取り込み速度定数 k_1 を求め、さらに動的生物濃縮係数 (BCF_k) を求めて表 3 に示した。

表 3 生物濃縮係数と取込・排出速度定数

試験区	定常状態 生物濃縮係数 (BCF _{ss})	排出速度定数 (k ₂) day ⁻¹	取込速度定数 (k ₁) day ⁻¹	動的生物濃縮 係数 (BCF _k)
2区(低濃度)	13	0.17	26	156
4区(高濃度)	16	0.22	27	126

表 4 飼育水のビスフェノールA濃度

(単位：μg/L)

	暴露日数						
	0	1	2	4	8	14	28
1区	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.05	0.04	N.D.
2区	0.56	0.53	0.54	0.55	0.70	0.61	0.63
3区	5.1	4.9	4.8	4.8	4.6	4.6	4.9

検出限界値：0.03μg/L、「N.D.」：検出限界値未満

表 5 魚体内のビスフェノールA濃度（暴露試験）

(単位：μg/kg)

	暴露日数						
	0	1	2	4	8	14	28
1区	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
2区	-	15	11	7.7	7.2	N.D.	9.8
3区	-	120	98	83	87	56	82

検出限界値：6μg/kg、「N.D.」：検出限界値未満

表 6 魚体内のビスフェノールA濃度（排出試験）

(単位：μg/kg)

	排出日数			
	1	3	4	8
1区	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
2区	8.3	N.D.	N.D.	N.D.
3区	66	N.D.	N.D.	N.D.

検出限界値：6μg/kg、「N.D.」：検出限界値未満

表 7 飼育水の 4,4-ジヒドロキシ- -メチルスチルベン濃度

(単位：μg/L)

	暴露日数						
	0	1	2	4	8	14	28
1区	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
2区	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
3区	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

検出限界値：0.03μg/L、「N.D.」：検出限界値未満

表 8 魚体内の 4,4-ジヒドロキシ- -メチルスチルベン濃度

(暴露試験)

(単位：μg/kg)

	暴露日数						
	0	1	2	4	8	14	28
1区	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
2区	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
3区	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

検出限界値：6μg/kg、「N.D.」：検出限界値未満

表 9 魚体内の 4,4-ジヒドロキシ- -メチルスチルベン濃度

(排出試験)

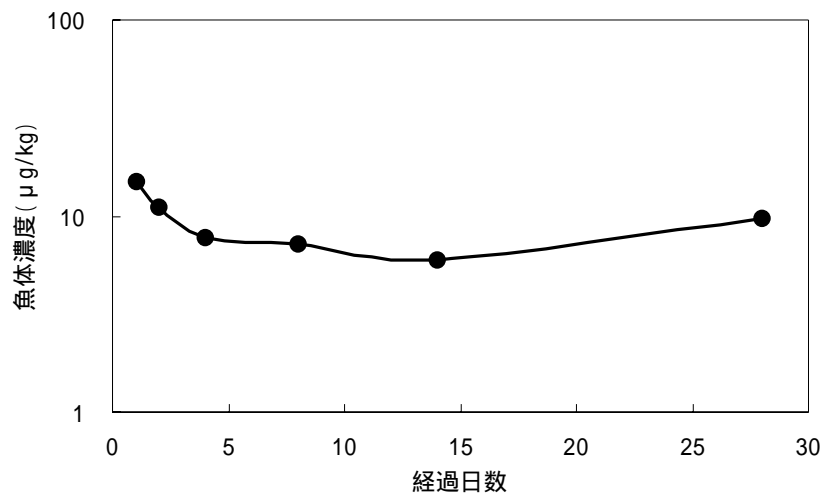
(単位：μg/kg)

	排出日数			
	1	3	4	8
1区	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
2区	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
3区	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

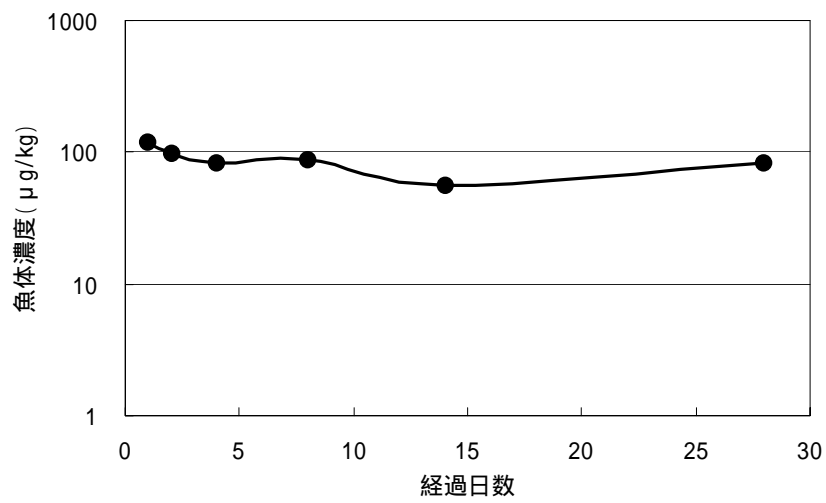
検出限界値：6μg/kg、「N.D.」：検出限界値未満

表 10 試験に用いたコイの粗脂肪率

試験	日	区	粗脂肪率 (%)	
暴露試験	0	1	1.7	
	1	1	1.6	
		2	2.0	
		3	2.0	
	2	1	1.6	
		2	1.6	
		3	2.2	
	4	1	2.0	
		2	2.0	
		3	1.4	
	8	1	1.4	
		2	2.0	
		3	2.0	
	14	1	1.7	
		2	2.2	
		3	1.6	
	28	1	1.7	
		2	1.4	
		3	1.4	
	排出試験	1	1	1.9
			2	2.3
			3	1.6
		2	1	2.3
			2	1.9
			3	1.5
		3	1	2.1
			2	1.4
3			1.7	
4		1	1.2	
		2	1.4	
		3	1.0	
8		1	1.5	
		2	2.0	
		3	1.5	

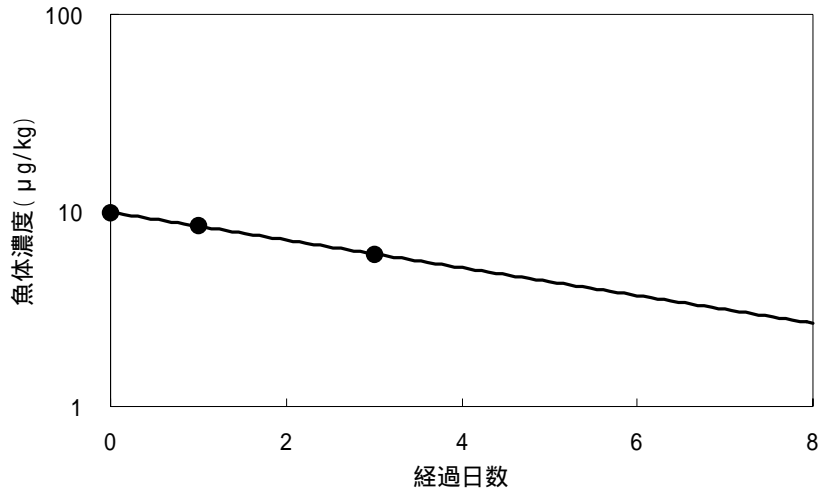


2区 (低濃度) の取り込み曲線

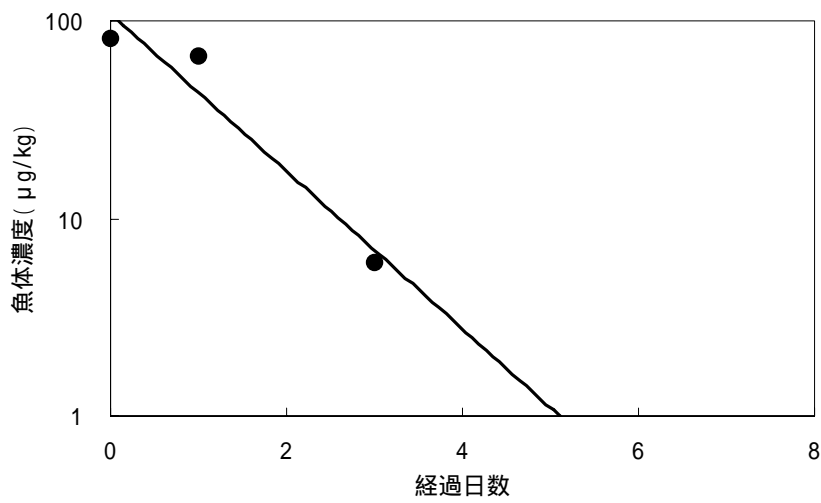


4区 (高濃度) の取り込み曲線

図 1 取り込み試験結果



2区 (低濃度) の排出曲線



4区 (高濃度) の排出曲線

図 2 排出試験結果

(3) 考察

本試験では、対照の飼育水中にビスフェノールAが検出された。これは、他の試験区の水槽と隣接して試験しているために、曝気による2区または3区からの汚染によるものと考えられた。

ビスフェノールAに暴露した試験区では、いずれも1日目に高い魚体内濃度を示し、2日目からビスフェノールA濃度が低下して4日目から定常状態に達した。これは、ビスフェノールAが速やかに魚体内に吸収・濃縮され、その後、ビスフェノールAの代謝活性の誘導に伴って排泄速度が上昇することによって、定常状態の魚体内濃度が低下したものと推察された。このため、定常状態の濃度から計算されるビスフェノールAのBCF_{ss}は、13~16と低く、暴露初期の取り込み速度に依存するBCF_kは、126~156と高くなった。しかし、定常状態には暴露から4日目と短期間に達するため、ビスフェノールAの生物影響を検討する上では、生物濃縮係数は13~16を適用し、濃縮性を考慮する必要は少ないと考えられた。

また、本試験では環境中で認められるビスフェノール濃度(平成15年度環境実態調査(水環境)、最大値;0.4μg/L)に準じた濃度設定を行った。高濃度における試験では、コイにおけるビスフェノールAの生物濃縮係数は、5.1~13.3(150μg/L)あるいは<20~67.7(15μg/L)となっており¹、低濃度においては生物濃縮係数が高くなる傾向が示唆されていたが、本試験結果から、実環境に近い濃度であっても、生物濃縮係数は13程度と低いことが示された。

なお、4,4-ジヒドロキシ-*p,p'*-メチルスチルベンは、ビスフェノールAの微生物分解産物として報告されているが、飼育水及び魚体から検出されず、魚体及び消化管内微生物等によるビスフェノールA代謝物として蓄積され

ていないことが示された。

(4) 参考文献

- ¹ (財)化学品検査協会編：化審法の既存物質安全点検データ集(1992)

表 平成 11～15 年度の実施状況

対象物質	主要曝露媒体の推定	水環境挙動モデル		水生生物への移行経路の検討	ED 作用	
		水環境挙動モデルの構築とパラメータの検証	パラメータの充実			
平成 12 年度優先取組物質	4-t-オクチルフェノール	H12	H11,H12,H13,H14	H13,H14	-	
	ノニルフェノール	H12	H11,H12,H14,H15	H12,H14,H15	H12	
	フタル酸ジ-n-ブチル	H12	H11,H12(x)	-	-	x
	フタル酸ジ-2-エチルヘキシル	H12	H12	H13	-	x
	フタル酸ジシクロヘキシル	H12	・	H14	H13	x
	ベンゾフェノン	H12	H11,H12	H13	-	x
	オクタクロロスチレン	H12	・	H14	H14	x
	トリフェニルスズ	H12	・	-	-	x
	トリブチルスズ	H13	H11,H12(x)	-	-	x
	フタル酸ブチルベンジル	H13	H13 (x)	-	-	x
	フタル酸ジエチル	H13	H13	-	-	x
アジピン酸ジ-2-エチルヘキシル	H13	H13 (x)	-	-	x	
平成 13 年度優先取組物質	ビスフェノール A	H13	H13,H14	H14,H15	H15	
	ペンタクロロフェノール	H13	・	-	-	x
	アミトロール	H13	・	-	-	x
	2,4-ジクロロフェノール	H13	・	-	-	x
	4-ニトロトルエン	H13	・	-	-	x
	フタル酸ジペンチル	H13	H13 (x)	-	-	x
	フタル酸ジヘキシル	H13	H13 (x)	-	-	x
フタル酸ジプロピル	H13	H13 (x)	-	-	x	
平成 14 年度優先取組物質	ヘキサクロロベンゼン	H14				x
	2,4,5-トリクロロフェニル酢酸	H14				
	ヘキサクロロシクロヘキサン	H14				x
	エチルパラチオン	H14				
	クロルデン	H14				
	オキシクロルデン	H14				
	trans-ノナクロル	H14				
	1,2-ジブフェ-3-クロロパ	H14				
	DDT (DDE,DDD)	H14				
	アルドリン	H14				
	エンドリン	H14				
	ディルドリン	H14				
	ヘプタクロル	H14				
	ヘプタクロル	H14				
	メトキシクロル	H14				
	マイレックス	H14				
	ニトロフェン	H14				
トキサフェン	H14					
アルディカーブ	H14					
キーボン	H14					
メチラム	H14					
ピンクロゾリン	H14					

- x : モデルの検証に着手したが対象水域で不検出のため検証不能
- ・ : モデルの検証未着手 (環境実態調査で検出率 0%または検出率 5%未満かつ検出下限値近傍)
- ・ : 環境実態調査で検出率 0%であるがフタル酸ジエチルと同時分析が可能なことから検証を実施
- : 既出の文献値あり
- ・ : 優先度が低い

空欄 : 未実施

毒性部分の凡例

- ・ : ED ; 試験濃度範囲で作用あり、 : ED 作用について再検討中
- x : ED ; 試験濃度範囲で作用なし、 「空欄」 : 未検討