

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 29 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23510080

研究課題名(和文) 新世代ビスフェノール類の分析法確立と水域汚染の実態解明および環境リスク評価

研究課題名(英文) Contamination and risk assessment of bisphenol analogues, alternatives of bisphenol A, in the aquatic environment.

研究代表者

中田 晴彦 (Nakata, Haruhiko)

熊本大学・自然科学研究科・准教授

研究者番号：60311875

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,300,000円、(間接経費) 1,290,000円

研究成果の概要(和文)：内分泌かく乱作用が疑われるビスフェノールAの代替物質を対象に、水環境汚染の実態把握とリスク評価を行った。その結果、河川水試料から感熱紙材料であるビスフェノールSとビスフェノールS monoPが高濃度で検出され、主な排出源として製紙工場の排水が考えられた。紙産業由来のBPS排出量を試算したところ、年間7,200 kgと推定された。

BPSとBPS-monoPのMEC(実測濃度)とPNEC(最大無影響濃度)の比は複数の地点で1.0を超過した。これらの物質が水生生物に影響を与える可能性が窺え、今後ビスフェノール代替物質の環境リスクを詳細に調査する必要がある。

研究成果の概要(英文)：The occurrence, concentrations and environmental risks of bisphenol analogues, a group of bisphenol A (BPA, CAS# 80-05-7) alternatives, were investigated in the aquatic environment. The high concentrations of bisphenol S (BPS, CAS# 80-09-1) and BPS-monoP (CAS# 95235-30-6) were ubiquitously detected in aqueous and sediment samples. The amount of BPS discharge was calculated as 7,200 kg per year, and the paper manufacturing plants may be a major source of BPS and BPS-monoP into the aquatic environment. The MEC/PNEC ratios of BPA, BPS and BPS-monoP were above 1.0 in several locations examined in this study, which implies their potential risks in the ecosystems.

研究分野：環境学

科研費の分科・細目：環境解析学 放射線・化学物質影響科学

キーワード：新世代ビスフェノール ビスフェノールS 分析法確立 水環境汚染の実態 生物濃縮 発生源解析 環境負荷量の推定

1. 研究開始当初の背景

ビスフェノール A (BPA; CAS#: 80-05-7)は、ポリカーボネートやエポキシ樹脂等の原料として国内で年間 45 万トンが製造・使用されている。ところが、BPA は 90 年代後半に内分泌かく乱化学物質としてヒトや生態系への影響が指摘されるようになり、2010 年に厚生労働省は「妊娠期の BPA 暴露により児動物の生育過程で生殖器官や中枢神経系等に広範な影響が生じる可能性があり、その閾値(濃度)は現在採用されている NOAEL (最大無影響濃度)より低い」との見解を示した。カナダやデンマークでは、ポリカーボネート製は乳瓶や幼児用玩具に BPA の使用が禁止されるなど、世界的に BPA の製造・使用への関心が高まっているが、近年その代替として「新世代ビスフェノール類 (BPs)」の市場流通量が増加傾向にあると報告されている。

BPs には、BPA と化学構造が類似する数十種類の存在が知られ、特殊ポリカーボネート樹脂や合成ゴムの原料等に使用されている。新世代ビスフェノールには、商標名でビスフェノール F (4,4'-BPF; CAS#: 620-92-8)、ビスフェノール C (CAS#: 79-97-0)、ビスフェノール AF (BPAF, CAS#: 1478-61-1)などがあり、そのうち約 40 種類は内分泌かく乱作用を有する疑いが指摘されているが、国内外におけるこの種の物質の製造・使用量の詳細は不明な点が多く、環境特性やリスク評価等に関する情報が欠落している。

2. 研究の目的

代表的な内分泌かく乱化学物質である BPA の代替として、近年、製造・使用量の増加と環境負荷が懸念される BPs を対象に、環境特性の把握とリスク評価を目的とする。具体的には、約 20 種類の BPs を対象に、「高感度分析法の確立」、「汚染実態の把握」、「発生源の定量解析」、「環境リスク評価」を行う。

3. 研究の方法

(1) 高感度分析法の確立

従来の BPA 分析法を一部改良し、目的物質の誘導体化とガスクロマトグラフ質量分析装置 (GC-MS)による分析条件を検討した。具体的には、BPs の水酸基 (-OH)の水素をトリメチルシリル (TMS)基 (-Si-(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>)に置換する誘導体化時の試薬の選定と反応時間等に関する最適条件の検討を行った。また、固体試料(底質・生物)の抽出法についても検討した。

(2) 汚染実態の把握

2010~2013 年にかけて、東北から九州に至る国内の複数地点で採集した水質(n=90)、底質(n=30)、生物(n=15)を分析に供した。また、二枚貝中の BPs 蓄積を調べ、水-生物間の蓄積の態様把握を試みた。

(3) 発生源の定量解析

BPA の代替として感熱紙顔色剤で使用されるビスフェノール S (BPS; CAS#: 80-09-1)とその類縁物質のビスフェノール S mono-P (BPS-monoP; CAS#: 95235-30-6)に着目した。具体的には、プラスチック原料製造工場、感熱紙製造工場、製紙工場の周辺で採取した水試料や排水処理施設の排水の濃度値から、各排出源からの環境負荷量とその寄与率を定量的に把握した。

(4) 環境リスク評価

藻類・甲殻類・魚類への EC<sub>50</sub> 値(半数影響濃度)を国内外の文献等から引用し、PNEC(予想無影響濃度)を算出した。本研究で測定した BPs の実測濃度と PNEC の比(MEC/PNEC)を指標に主な物質を太陽に環境リスクを評価した。

4. 研究成果

(1) 高感度分析法の確立

固相抽出カートリッジと溶出溶媒を検出したところ、カートリッジには Waters 社の MCX (500 mg, 6cc) を、溶出溶媒には酢酸エチルおよび酢酸エチル-メタノール混合液(1:1)を用いることで BPs の回収率が最も良好になることがわかった。また、BPs の誘導体化の条件を検討したところ、試薬には BSTFA+TMCS (99:1)を使用し、70 で 10 分間の反応時間を設定することが最適であることがわかった。上記の分析法で BPs 標準溶液を用いた添加回収試験を行ったところ、103±8.3%と良好な値を示し、実試料は本法に従って分析した。

また、固体試料の抽出はアセトンを用いた超音波の液固抽出法が適当で、その後はジクロロメタン、メタノールに順次転溶する手法が最も良好な回収率を示した。

(2) 汚染実態の把握

試料分析の結果、水質・底質・生物の全ての環境媒体から BPs が検出された。検出頻度は、BPS, BPS-monoP, BPA が高く、これらの広域汚染の存在が明らかになった。水試料の濃度値は、BPS と BPS-monoP が製紙工場や感熱紙工場周辺で高値を示した(図 1)。また、プラスチック製造工場や製紙工場周辺の試料では BPA や BPS が高い濃度を示し、それぞれ排出源からの影響が示唆された。

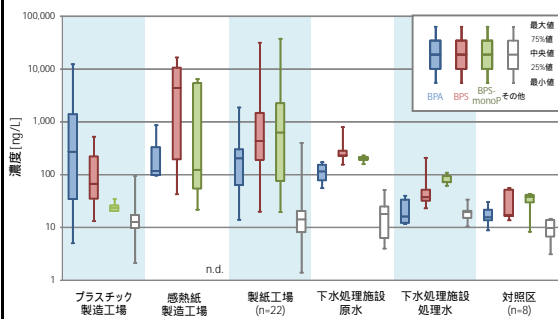


図 1 水試料中の BPs (BPS, BPS-monoP, BPA 等)の濃度値 (ng/L)

底質では、製紙工場の排水口付近で 1,000 ng/g (乾重量あたり) を超える高濃度の BPS と BPS-monoP が検出され、汚染の存在が確認された。また、プラスチック製造工場付近の河川底質から 60 µg/g を超える極めて高濃度の BPA が検出され、当該工場の排水が BPA の環境負荷に大きく寄与している可能性が窺えた。

生物試料については、海水流入が予想される河口近くの二枚貝から、BPA と BPS が検出された。BPS が野生生物から検出された例はこれまでになく、本報告が最初と思われる。水質 - 二枚貝間の BPS の生物濃縮係数 (BCF) は  $153 \pm 103$  (n=7) であった。この値は BPA の BCF 値 ( $123 \pm 111$ , n=7) とほぼ同程度であり、水溶解度の高い BPS が予想以上に生物蓄積する様子が示された。

上記以外にも、分析に供した環境試料から Bis-MP (CAS#: 6807-17-6), HPP (CAS#: 599-64-4), BPAF, 4,4'-BPF, 2,4'-BPF (CAS#: 2467-03-0) 等が検出された。Bis-MP と HPP は BPA 濃度が高値を示した水質から検出された。これらの物質は、工業用 BPA 製剤中に不純物として 0.02% 程度含有していることが報告されており、それが今回検出された理由と思われる。また、底質中 4,4'-BPF と 2,4'-BPF の濃度間には有意な相関が得られており ( $r=0.743$ ,  $p<0.01$ )、両物質の発生源は同じ可能性が窺えた。

### (3) 発生源の定量解析

BP<sub>s</sub> の排出源とされるプラスチック製造工場、感熱紙製造工場、製紙工場、排水処理施設の環境負荷量を算出した。一例として、製紙工場の BP<sub>s</sub> 水域排出量の算出式を以下に示した。なお、排水口付近の河川水中 BPA 濃度は、最小値 (210 ng/L) と最大値 (1,900 ng/L) を用いた。また、年間古紙消費量は 16,770,075 t/年 (公益財団法人古紙再生促進センター) を、古紙に対する処理水量を 20 ~ 150 m<sup>3</sup>/年の値をそれぞれ採用した。

**水域負荷量 (kg/年) = 製紙工場排水口付近の河川中 BP<sub>s</sub> 濃度値 (ng/L) x 年間古紙消費量 (t/年) x 古紙量に対する処理排水量 (m<sup>3</sup>/t)**

データ解析の結果、国内の製紙工場からの BP<sub>s</sub> の水域負荷量は、BPA: 70 ~ 4,700 kg/年, BPS: 370 ~ 80,000 kg/年, BPS-monoP: 370 ~ 95,000 kg/年と試算された。

これと類似の方法で、プラスチック製造工場、感熱紙製造工場、排水処理場からの BPA, BPS, BPS-monoP の年間負荷量を算出した結果を表 1 に示した。その結果、全ての物質で製紙工場からの寄与が最も大きく、最大で全体の 88 ~ 98% を占めることがわかった。また、BPS と BPS-monoP の水域負荷量は BPA の 5 ~ 20 倍であり、これらの物質が水環境中へ大量に排出されている様子が窺えた。過去の文献値から、感熱紙に BPA が使用されなく

なる直前の 2000 年時点の製紙工場由来の BPA 排出量は 120 ~ 50,000 kg/年と推定された。このことは、現在の感熱紙製造において BPS が質・量ともに BPA の代替となったことを示している。

表 1 各排出源からの BP<sub>s</sub> (BPS, BPS-monoP, BPA 等) の水域負荷量の推定 (kg/年)

[kg/year]	プラスチック製造工場	感熱紙製造工場	製紙工場	下水処理施設	合計
BPA	21	50	580 (70 - 4,700)	240	890
BPS	0.0076	950	5,800 (410 - 80,000)	550	7,200
BPS-monoP	0.00039	380	6,000 (370 - 95,000)	1,100	7,400
BPA(2000) <sup>1)</sup>	1.8	-	2,400 (120 - 50,000)	200	2,900

### (4) 環境リスク評価

本研究で得られた水試料中の BP<sub>s</sub> 濃度を基に、MEC/PNEC 比 (実測濃度と予測無影響濃度の比) を用いて BP<sub>s</sub> の生態リスクを評価した (図 2)。なお、BPA の評価にはファットヘッドミノーの三世代試験の孵化率の NOEC 値 (16 µg/L) を用いた。また、BPS は、慢性毒性試験において低値を示した甲殻類の繁殖抑制の NOEC 値 (2.65 mg/L) を、BPS-monoP は藻類の成長阻害の NOEC 値 (0.461 mg/L) をそれぞれ用いて PNEC 値を算出した。

その結果、BPA は調査した 8 地点において MEC/PNEC が 1 を超え、詳細な評価を行う必要性が示唆された。また、0.1 MEC/PNEC < 1 の地点は 17 カ所に上り、こうした場所では情報収集の必要性がある。

BPS については、MEC/PNEC が 1 を超えた地点は 1 カ所、0.1 ~ 1 の間の地点は 5 カ所存在した (図 2)。同様に、BPS-monoP でも 4 地点において MEC/PNEC が 1 を超え、0.1 ~ 1 の間は 13 カ所もあった。

本研究では、BPA の代替である BPS や BPS-monoP が水環境中に高濃度に含まれ、水生生物に影響を与える可能性を示した。今後、こうした物質の環境リスクについて詳細に調査する必要があると思われる。

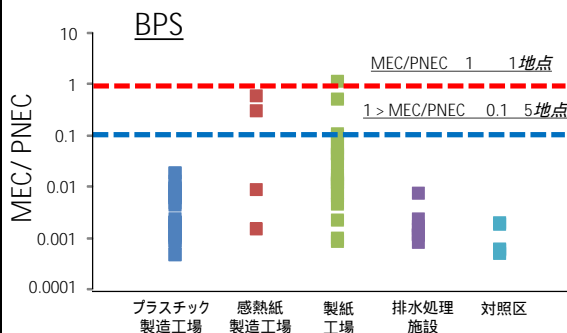


図 2 MEC/PNEC による水試料中の BPS 濃度の生態リスク評価

5. 主な発表論文等  
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

先山 孝則 (SAKIYAMA Takanori)  
大阪市立環境科学研究所・研究副主幹  
研究者番号： 80300995

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 4 件)

1. 渡辺咲子, 中田晴彦, 先山孝則 ビスフェノールSの環境動態と排出負荷量の推定 ビスフェノール A との比較 第48回日本水環境学会年会, 仙台市, 東北大学, 2014年3月19日.
2. 渡辺咲子, 中田晴彦, 先山孝則 ビスフェノールSとその類縁物質の存在と挙動 第22回環境化学討論会, 府中市, 東京農工大学, 2013年8月2日.
3. Watanabe, S., Nakata, H., Sakiyama, T. Bisphenols in wastewater treatment plants and environmental samples. SETAC (Society of Environmental Toxicology and Chemistry) Asia/Pacific 2012, Kumamoto, Japan, ANA ホテルニュースカイ, September 25, 2012.
4. 渡辺咲子, 先山孝則, 中田晴彦 新世代ビスフェノール類の分析法検討と水環境中の濃度分布 第21回環境化学討論会, 松山市, 愛媛県民文化会館, 2012年7月12日.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

環境省環境調査研究所において、本研究の成果の一部を発表した。

講演タイトル：規制対象となっていないが検出濃度・頻度が高い化学物質のモニタリングの役割と効果

日時：2013年10月25日

場所：環境省環境調査研究所(所沢市)

6. 研究組織

(1)研究代表者

中田 晴彦 (NAKATA Haruhiko)

熊本大学・大学院自然科学研究科・准教授  
研究者番号：60311875

(2)研究分担者

なし。

(3)連携研究者

渡辺 咲子 (WATANABE Sakiko)

熊本大学・大学院自然科学研究科・大学院生

研究者番号：なし。