

ヒドロキシメチルフェノール類の河川への流出事例*

梶原 佑介**・松尾 宏**・馬場 義輝**
田中 義人**・中村 又善**

キーワード ①木材保存剤 ②フェノール類 ③ヒドロキシメチルフェノール

要 旨

平成17年11月に福岡県県南地域を流れる河川において発生した魚類斃死の原因究明調査を行った。周辺の事業場等を調査した結果、この河川に隣接する木材加工工場において使用されていた木材保存剤を含んだ廃液の一部が、事業場敷地内の調整池に流れ込んでいるのが確認された。原因究明調査において、吸光光度法、ガスクロマトグラフ質量分析法の他に、高速液体クロマトグラフ法を併用することにより、ヒドロキシメチルフェノール等の多種のフェノール類による汚染についての状況把握及び汚染源の推定が可能となった。

1. はじめに

近年の公共用水域の常時監視結果では、人の健康の保護に関する項目は環境基準にほとんど適合している。また、生活環境の保全に関する項目についても、有機汚濁の指標であるBOD、COD等の値は、おおむね魚類の生息に影響のない程度の濃度になっている。しかしながら、農薬等の化学物質による魚の斃死が中小河川で突発的に発生しており^{1,2)}、斃死事故の原因を究明し、防止対策を講じていく必要がある。

水質事故が発生した場合、福岡県では河川管理者および水道事業者等の関係機関と連絡を取りながら対応し、原因者が判明した場合には、原因物質の除去等を指導するとともに必要に応じて継続的な水質検査を行っている。平成17年度において当研究所に持ち込まれた魚類斃死事例は3件であった。そのうち、県南地域を流れるA川で起きた魚類斃死は、フェノール類がその原因として

疑われたため、多種のフェノール類の測定を行い、原因を究明したので報告する。

2. 方 法

2.1 斃死現場の状況

平成17年11月、A川の流域約200mにわたって魚類の斃死が確認された。斃死魚はフナ、ハヤ、ナマズ、ウナギ、カマツカ、コイ等であった。当該流域の河川水はかすかに黒く着色しており、微臭を呈していた。周辺事業場の調査の結果、この河川に隣接する木材加工工場において、木材保存剤を含む廃液の一部が事業場内の調整池に流出しているのが確認された。また、この調整池は淡黒色を呈しており、臭気(フェノール臭)は魚類斃死現場河川水の微臭と酷似していた。翌日には河川の着色は無く、新たな斃死も無く、魚類の生息が確認できた。

*The Case of Effluent of Hydroxymethylphenols into the River

**Yusuke KAJIHARA, Hiroshi MASTUO Yoshiteru BABA, Yoshito TANAKA, Matayoshi NAKAMURA (福岡県保健環境研究所) Fukuoka institute of health and environmental sciences

2.2 試料採取地点

原因究明調査として、この地域を管轄する保健福祉環境事務所が採水を行い、当研究所が水質検査を行った。試料採取地点を図1に示す。試料は魚類斃死現場(C橋)、現場上流(B橋)および事業場敷地内の調整池から採取し、併せて木材保存剤を含んだ廃液及び木材保存剤も試料とした。

2.3 試薬類

フェノールは関東化学株式会社、*o*、*p*-クレゾールおよび2,4-キシレノールは和光純薬株式会社、*o*-ヒドロキシメチルフェノール(*o*-HMP)および*p*-ヒドロキシメチルフェノール(*p*-HMP)はMerck Schuchardt社のものを用いた。トリヒドロキシメチルフェノール(THMP)は市販されていなかったため、Kamoら³⁾の方法を基に合成し、赤外線吸収スペクトル(IR)及び核磁気共鳴スペクトル(NMR)を用いて物質の構造確認を行い標準品とした。図2にヒドロキシメチルフェノール(HMP)類の構造を示す。HMP類は木材保存剤の主成分として用いられており、HMP類を含む薬剤は、木材中で高分子化することにより細胞壁を

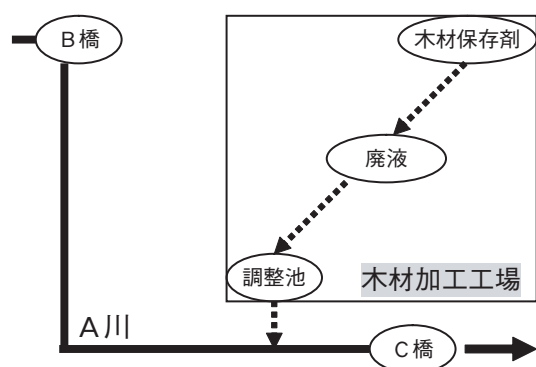


図1 試料採取地点

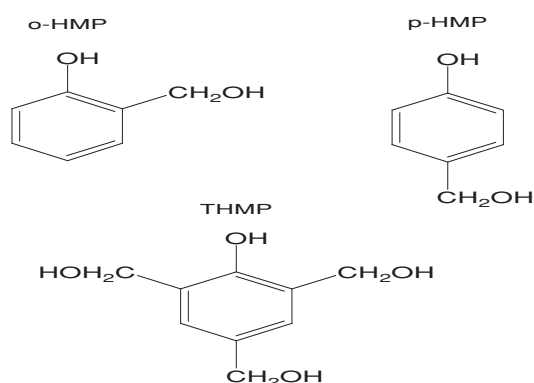


図2 HMP類の構造

固定し、腐朽菌やシロアリから木材を守る働きをする。

2.4 吸光度法(4-アミノアンチピリン反応)

試料を孔径0.45 μ mのメンブランフィルターで濾過した後、適量をメスシリンダー(有栓形)100 mLに採りメスアップし、塩化アンモニウム緩衝溶液3 mL、4-アミノアンチピリン溶液2 mL、ヘキサシアノ鉄(III)酸カリウム溶液2 mLを加え十分に振り混ぜ、約3分間放置した後、1 cm石英吸収セルを用いて波長510nmの吸光度を測定した。

2.5 ガスクロマトグラフ質量分析(GC/MS)法

試料50mLを分液ロート100mLに採り、塩化ナトリウム1.5gを加えた。塩酸(1+1)でpH3とし、ジクロロメタン10mL、さらにジクロロメタン5 mLで合計2回、各10分間振とう抽出した。抽出液を合わせ、無水硫酸ナトリウム約1gで脱水後、窒素を吹き付けることにより約0.5mLに濃縮した。得られた溶液に内部標準溶液(アセナフテン-d₁₀:10mg/L, 100 μ L)を添加し、ジクロロメタンを加え1 mLとし、GC/MSで測定した。

分析条件は以下のとおりである。

装置：ガスクロマトグラフ/質量分析計(島津製作所製 GC-17A/QP5000)、カラム：DB-5(J&W Scientific社製、内径0.25mm、長さ30m、膜厚0.25 μ m)、カラム温度：40 $^{\circ}$ C(3分)—5 $^{\circ}$ C/分—190 $^{\circ}$ C(1分)、注入口および検出器温度：200 $^{\circ}$ C、注入方法：スプリットレス、イオン化電圧：70 eV、測定質量数(フェノール：94, 65, *o*-クレゾール：108, 107, *p*-クレゾール：108, 107, 2,4-キシレノール：122, 107, アセナフテン-d₁₀：164, 80)

2.6 高速液体クロマトグラフ(HPLC)法

孔径0.45 μ mのメンブランフィルターで濾過した試料をアセトニトリルで希釈し、HPLCで測定した。

分析条件は以下のとおりである。

- ・装置：高速液体クロマトグラフ(島津製作所製 LC-VP)
- ・カラム：Mightysil, PR18, GP(関東化学株式会社製、内径4.6mm、長さ250 mm、膜厚5 μ m)
- ・移動相：(水：アセトニトリル=7：3)
- ・流速：1.0mL/min

- ・カラム温度：40℃
- ・波 長：UV 277nm
- ・注 入 量：10μL

3. 結果および考察

3.1 フェノール類の分析

JIS K 0102に基づいて、吸光光度法(4-アミノアンチピリン反応)でフェノール類を分析した。JIS K 0102に従えば、妨害物質を除去するために試料を蒸留後発色を行う。しかし、当該試料においては蒸留時の加熱の過程でHMP樹脂と考えられる橙色の沈殿物が生じたため⁴⁾、蒸留操作を省き発色を行った。吸光光度法の分析結果を表1に示す。

吸光光度法による分析の結果、斃死現場であるC橋で8.1mg/L、調整池で190mg/L、廃液で1000mg/Lのフェノール類が検出された。一方、現場上流のB橋ではフェノール類は検出されなかった。

次に、フェノール類の種類を特定するため、GC/MSでスキャン分析を行ったところ、4本のピークが見られた。データベース検索の結果、これらはフェノール、o-クレゾール、p-クレゾール、2,4-キシレノールと推定された。そのため、標準物質を用いたSIM分析を行い、魚毒性のあるフェノール、o-クレゾール、p-クレゾール、2,4-キシレノールを定量した。表2にGC/MS法による分析結果を、図3にクロマトグラム(TIC)を示す。

表1 吸光光度法によるフェノール類の分析結果 (単位：mg/L)

	フェノール類
B 橋	<0.1
C 橋	8.1
調整池	190
廃 液	1000

GC/MS法による分析の結果、斃死現場であるC橋でフェノール、o-クレゾール、p-クレゾール、2,4-キシレノールがそれぞれ0.93, 0.81, 1.2, 0.63mg/L、調整池でそれぞれ20, 8.6, 20, 9.5mg/L、廃液ではフェノールのみが150mg/L検出された。現場上流のB橋では検出されなかった。

この結果より、魚類斃死の原因は調整池を経由して流れ出た高濃度のフェノールを含んだ廃液であることが推察された。しかし、吸光光度法とGC/MS法によるフェノール類の測定結果に大き

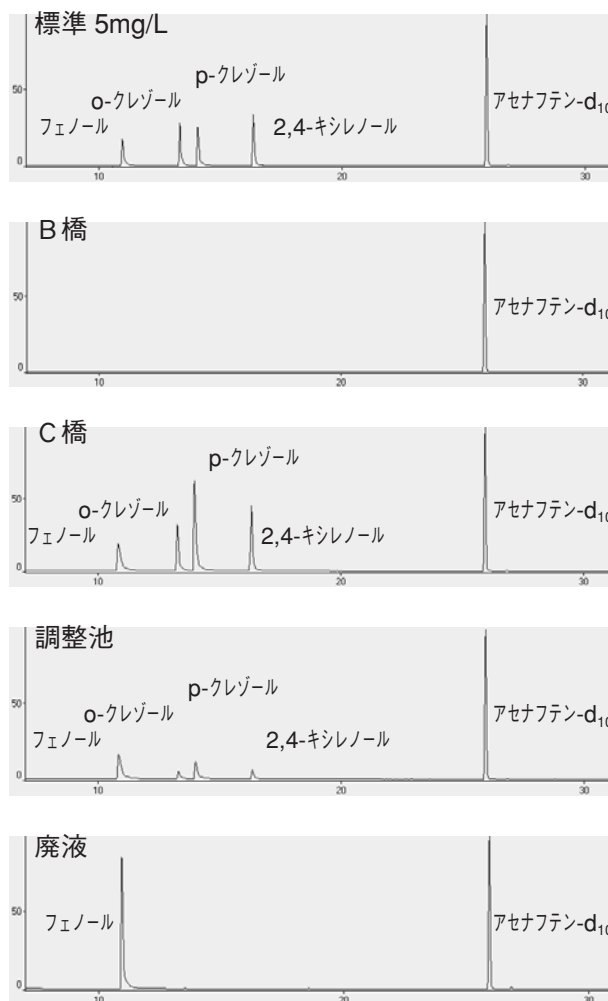


図3 GC/MSのクロマトグラム(TIC)

表2 GC/MS法によるフェノール類の分析結果

(単位：mg/L)

	フェノール	o-クレゾール	p-クレゾール	2,4-キシレノール
B 橋	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
C 橋	0.93	0.81	1.2	0.63
調整池	20	8.6	20	9.5
廃 液	150	<0.01	<0.01	<0.01

な差異があったことから、GC/MS法では検出されなかったフェノール類が河川に流れ込んだ可能性が示唆された。そこで、より明確な汚染状況の把握および汚染源の確定を行うため、HPLC法を用いて未確認のフェノール類の定量を行った。

3.2 HMP類の分析

汚染源として推定された木材加工工場では木材保存剤としてHMP類を使用していたため、HMP類に焦点を当て、HPLC法による分析を行った。

表3にHMP類の分析結果を、図4にクロマトグラムを示す。

HPLC法による分析の結果、斃死現場であるC橋でTHMP、p-HMPがそれぞれ19、7.5mg/L検出された。調整池ではTHMP、o-HMP、p-HMPがそれぞれ290、5.1、13mg/L、廃液ではそれぞれ1700、350、760mg/L、木材保存剤ではそれぞれ150,000、45,000、93,000mg/L検出された。現場上流のB橋では検出されなかった。HMP類は他の事業場では使用されていないため、フェノール類の流出経路が明らかとなった。

3.3 フェノール類の魚毒性

表4にフェノール類のニジマスに対する半数致死濃度 LC_{50} (96時間)^{5,6)}を、表5にフェノールのコイに対する半数致死濃度 LC_{50} (24時間)⁷⁾を示す。表2に示すとおり、C橋における採水時のフェノールの濃度は0.93mg/Lであり、表4および表5に示す半数致死濃度までは達していなかった。しかし、調整池の採水時におけるフェノールの濃度は20mg/Lと高かった。また、フェノール類は化学物質審査規制法に基づく好気的生物分解試験で良分解性と判定されており^{5,6)}、フェノール類が河川へ流出した当時は半数致死濃度を超えていた可能性がある。

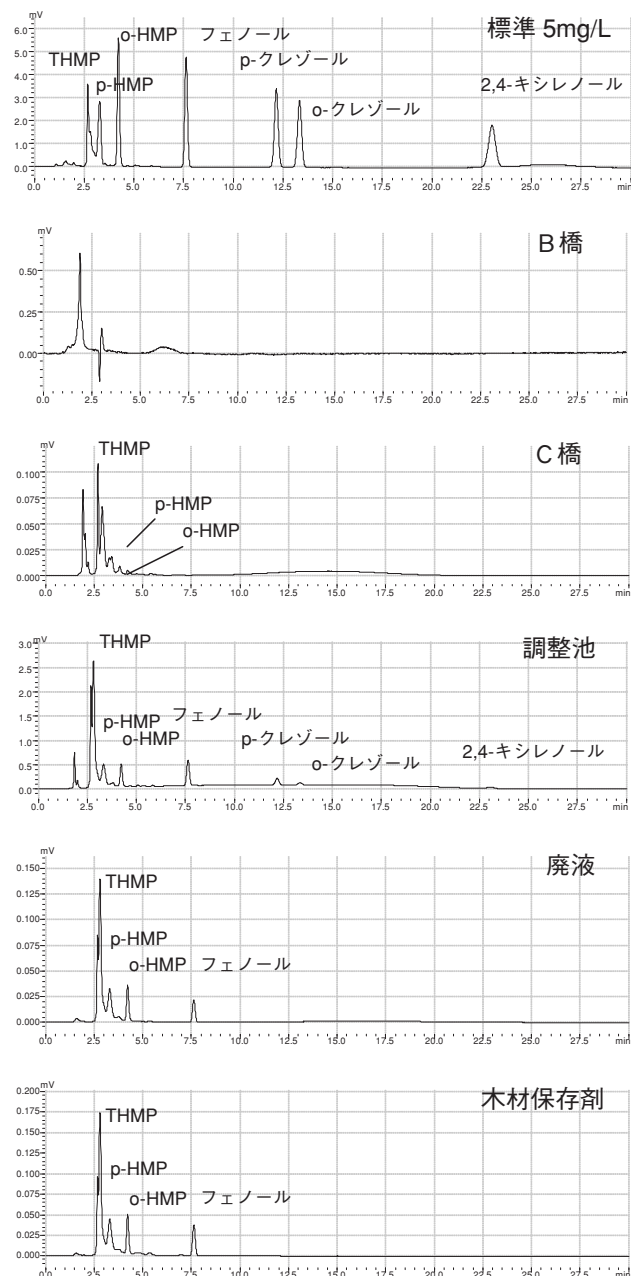


図4 HPLCのクロマトグラム

表4 ニジマスに対する半数致死濃度

(単位：mg/L)

	フェノール	o-クレゾール	p-クレゾール
LC_{50} (96時間)	10.5	8.4	7.9

表3 HPLC法によるHMP類の分析結果

(単位：mg/L)

	THMP	o-HMP	p-HMP
B 橋	<5	<1	<1
C 橋	19	<1	7.5
調整池	290	5.1	13
廃液	1700	350	760
木材保存剤	150,000	45,000	93,000

表5 コイに対する半数致死濃度

(単位：mg/L)

	フェノール
LC_{50} (24時間)	24.9

4. ま と め

福岡県南地域を流れるA川で発生した魚類斃死の原因究明調査を行った。高速液体クロマトグラフ法を用いた結果、河川へ流出した事例が少ないヒドロキシメチルフェノール類が検出された。この方法を用いることにより、フェノール類の汚染状況の把握及び汚染源の推定が可能となった。ただし、分析した試料の濃度が半数致死濃度には達していなかったことから、死因の確定には至らなかった。

謝 辞

本調査を実施するに当たり、試料採取等ご協力を頂いた保健福祉環境事務所の小森安治氏、木村健次氏、また、ご配慮とご助言を頂いた九州大学農学部森田光博教授、北九州生活化学センターの石黒靖尚氏に深謝いたします。

—参考文献—

- 1) 玉城不二美, 比嘉榮三郎: 沖縄県の公共用水域におけるへい死魚調査事例. 沖縄県衛生環境研究所所報, **40**, 175-178, (2006)
- 2) 廣田敏郎, 木下誠, 廣中博見: へい死魚のエラに付着した農薬の分析法の検討. 福岡市保健環境研究所所報, **27**, 91-96, (2001)
- 3) Kamo N, Higuchi M, Morita M: Condensation reaction of phenolic resins III: self-condensations of 2,4-dihydroxymethylphenol and 2,4,6-trihydroxymethylphenol (1). J Wood Sci, **48**, 491-496, (2002)
- 4) 大黒昭夫, 木材の存在下におけるレゾールの硬化について. 林試研報, **315**, 1-14, (1981)
- 5) 有害性評価書, フェノール, 新エネルギー・産業技術総合開発機構, Ver. 1.0, No. 32, (2005)
- 6) 有害性評価書, クレゾール, 新エネルギー・産業技術総合開発機構, Ver. 1.0, No. 94, (2005)
- 7) 魚のへい死事故調査の手引, 福岡市環境局環境保全部指導課, 15, (1992)