

フナムシ*Ligia* spp.におけるperfluorooctane sulfonateの蓄積

松永, 啓志
九州大学大学院農学研究院水産生物環境学研究室

Undap, Suzanne Lydia
Faculty of Fisheries and Marine Science, Sam Ratulangi University

本田, 匡人
九州大学大学院農学研究院水産生物環境学研究室

関口, 俊男
金沢大学環日本海域研究センター

他

<https://doi.org/10.15017/1543577>

出版情報：九州大学大学院農学研究院学芸雑誌. 70 (1), pp.21-25, 2015-02-27. 九州大学大学院農学研
究院

バージョン：

権利関係：

フナムシ *Ligia* spp. における perfluorooctane sulfonate の蓄積

松 永 啓 志・Suzanne Lydia Undap¹・本 田 匡 人・関 口 俊 男²
鈴 木 信 雄²・安 東 宏 徳³・大 越 和 加⁴・須 之 部 友 基⁵
武 田 哲⁶・宗 原 弘 幸⁷・島 崎 洋 平・大 嶋 雄 治*

九州大学大学院農学研究院水産生物環境学研究室
(2014年10月31日受付, 2014年11月14日受理)

Accumulation of perfluorooctane sulfonate in wharf roach, *Ligia* spp.

Satoshi MATSUNAGA, Suzzane Lydia Undap¹, Masato HONDA, Toshio SEKIGUCHI²
Nobuo SUZUKI², Hironori ANDO³, Waka SATO-OKOSHI⁴, Tomoki SUNOBE⁵
Satoshi TAKEDA⁶, Hiroyuki MUNEHARA⁷, Yohei SHIMASAKI, and Yuji OSHIMA*

Laboratory of Marine Environmental Science, Faculty of Agriculture, Kyushu University,
Hakozaki 6-10-1, Higashi-ku, Fukuoka 812-8581, Japan

はじめに

Perfluorooctane sulfonate (PFOS) は、直鎖状に並んだ8個の炭素原子すべてにフッ素原子が結合し、末端にスルホン酸基を持った構造をしている。その優れた界面活性を利用して、紙の防水剤、殺虫剤、一部の消火剤などに使用された。PFOSは環境中で難分解性および高蓄積性であり、神経毒性 (Slotkin et al., 2008) や免疫毒性 (Keil et al., 2008) など様々な毒

性作用を持つことが報告されたため、2009年に「残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約」において Persistent Organic Pollutants に指定された。また日本においても化学物質審査規制法において第一種特定化学物質に加えられたことで原則的な使用が禁止されてきた。

しかし、医療機器など代替不可なものについては使用が認められており、現在も海水 (Ju et al., 2008)、海産哺乳類 (Kannan et al., 2001)、湖川水及び魚類

¹ Faculty of Fisheries and Marine Science/ Sam Ratulangi University, Manado 95115, Indonesia

² 金沢大学環日本海域研究センター / 〒927-0553 石川県鳳至郡能都町小木ム4-1

³ 新潟大学理学部附属臨海実験所 / 〒952-2135 新潟県佐渡市達者87

⁴ 東北大学大学院農学研究科 / 〒981-8555 宮城県仙台市青葉区堤通雨宮町1-1

⁵ 東京海洋大学水圏科学フィールドセンター館山ステーション / 〒294-0308 千葉県館山市坂田670

⁶ 東北大学大学院浅虫海洋生物学教育センター / 〒039-3501 青森県青森市浅虫坂本9番地

⁷ 北海道大学北方生物フィールド科学センター水圏ステーション白尻水産実験所 / 〒041-1613 函館市白尻町152

¹ Faculty of Fisheries and Marine Science, Sam Ratulangi University, Manado 95115, Indonesia

² Institute of Nature and Environmental Technology, Kanazawa University, Noto-cho, Ishikawa 927-0553, Japan

³ Sado Marine Biological Station, Faculty of Science, Niigata University, Tassha, Sado 952-2135, Japan

⁴ Laboratory of Biological Oceanography, Faculty of Agriculture, Tohoku University, Amamiya-machi 1-1, Tsutsumidori, Aoba-ku, Sendai 981-8555, Japan

⁵ Tateyama Station, Field Center, Tokyo University of Marine Science and Technology, Sakata 670, Tateyama 294-0308, Japan

⁶ Research center for Marine Biology, Asamushi, Graduate School of Life Science, Tohoku University, Sakamoto 9, Asamushi 039-3501, Japan

⁷ Usujiri Fisheries Station, Field Science Center for Northern Biosphere, Hokkaido University, Usujiri 151, Hakodate 041-1613, Japan

* Corresponding author (yoshima@agr.kyushu-u.ac.jp)

(Sinclair et al., 2006) など様々な環境及び生物試料から検出されている。また、日本国内の河川水から10 ng/L (Senthilkumar et al., 2007)、東京湾海水中から59 ng/L、同水域から採取したスズキ (*Lateolabrax japonicus*) の血中から144 ng/gが検出されている (Taniyasu et al., 2003)。今後も土壌、河川、渚、さらに沿岸域など環境中におけるPFOSのモニタリングが必要である。特に、海と陸が接する境目である渚域は、重油をはじめPFOS等様々な汚染物質が漂着、蓄積しており、これらの汚染物質は生物に対して様々な影響を引き起こすと考えられる。しかしながら、渚域におけるPFOSの汚染は明らかでなく、その汚染の解明が必要である。

本研究では渚域に生息するフナムシを用いた。フナムシは日本だけでなく亜熱帯から温帯に広く分布するため汚染状況を比較しやすく、また、個体数が多いことからサンプルの確保が容易である。日本には本州以南にフナムシ (*Ligia exotica* Roux) が、北日本にはキタフナムシ (*Ligia cinerascens* Budde-Lund) が主に分布するとされているがその詳細は十分に明らかでない (伊藤, 2000)。本研究では両種を区別せず、一括してフナムシとして扱った。

本研究では、フナムシにPFOSを餌から曝露してその蓄積特性を解明するとともに、渚域から採取したフナムシを用いてPFOS汚染のモニタリングを試行した。

材 料 と 方 法

1. 材料

2012年9月18日に石川県能登町赤崎海岸で採取したフナムシ (0.53 ± 0.25 g-wet) を2日間無給餌で飼育後、曝露試験に用いた。プラスチック製の飼育水槽 (底面: 315 × 165 mm, 上面: 350 × 205 mm, 高さ: 215 mm) を用い、底面に人工海水 (SEALIFE; Nihonkaisui, Tokyo, Japan) で湿らせたペーパータオルを敷き、その中にフナムシを入れ、室温25°Cで飼育した。1日に1度乾燥しないように海水を追加し、2日に1度ペーパータオルを交換した。

2. PFOS曝露試験

テトラミン (Tetra, Melle, Germany) を餌として用いた。MeOHに溶解したPFOS (>97%; Strem chemicals, Newbury port, MA, USA) を0.1 mg/gとなるよう餌料に添加し、窒素ガスを用いて乾燥させた (PFOS添加餌料)。フナムシ30個体を前述と同じ飼育

水槽に入れ、PFOS添加餌料2 gを2日間自由摂餌させて曝露後、無給餌で飼育した。曝露後1, 3, 6, 12日目各6個体を取り出し、-30°Cで凍結保存後、PFOSの濃度を測定した。PFOS濃度は湿重量当たり (ng/g-wet) で求めた。

3. 環境試料

東北地方を中心に、白尻 (北海道)、浅虫 (青森)、八戸 (青森)、佐須 (宮城) (2地点)、女川 (宮城)、蒲生 (宮城)、松川浦 (福島)、館山 (千葉)、達者浜 (新潟)、狼煙 (石川)、能登 (石川)、津屋崎 (福岡)、多良 (長崎) の14地点からフナムシを採取した。サンプルは採取、凍結後、真空凍結乾燥機 (FreeZone^{2,5}, Labconco, Kansas City, MO, USA) を用いて36時間の凍結乾燥後、個体別にPFOSの濃度を測定した。PFOS濃度は乾燥重量当たり (ng/g-dry) で求めた。

4. PFOSの分析

PFOSの抽出精製及び分析は本田ら (Honda et al., 2013) の手法を改変したものを用いた。

フナムシは個体別に体重を測定後、遠沈管に移し、サンプル重量の9倍量の超純水を加えた。超純水を加えた後のサンプル重量が1 gに満たない場合は、さらに2倍量の超純水を加えた。次にポリトロンホモジナイザー (Kinematica AG, Littau, Switzerland) を用いてサンプルを1分間、2回ホモジナイズした。破碎後のサンプル1 mLを15 mLプラスチックチューブへ移し、サロゲートとして、同位体で標識された sodium perfluoro-1-[1,2,3,4,-¹³C₄] octanesulfonate, MPFOS; Wellington laboratories, Guelph, ON, Canada) 100 ng/mL in MeOHを200 µL加え、0.01 M NaOH in MeOHを3.8 mL加えた後、ソニケーター (BRANSON1510, BRANSON, Tokyo, Japan) を用いて30分間の超音波処理を行い、アルカリ分解を行った。サンプルを4°C, 12,000 rpmで10分間遠心分離し、上清1 mLを10 mLのチューブへ分注し、超純水を9 mL加えて希釈した。固相抽出にはSPEカートリッジ (Oasis WAX cartridge; Waters, Milford, MA, USA) を用いた。0.1% NH₄OH in MeOH 3 mL, MeOH 3 mL, 超純水 3 mL, 希釈後のサンプル 10 mLを順にカートリッジに通水した。その後、25 mM酢酸バッファー 3 mL MeOH 3 mLでカートリッジを洗浄した後、0.1% NH₄OH 4 mLを流しPFOSを溶出させ、本液を濃縮管に移した。通過液を濃縮器 (Turbo Vap II, Zymark, Hokinton, MA, USA) を用いて窒素ガ

表1 LC-MS-IT-TOF 分析条件

Column	Intersil ODS-4 (2.1 x 100 mm ; GL Sciences, Tokyo, Japan)
Mobile phase	A : 10 mM ammonium acetate, B ; acetonitril
Gradient condition	B ; 20-40% (1.5min) — 70% (14.5min) — 100% (4min)
Flow rate	0.15 mL/min
Injection volume	3 μ L
Detection limit	0.92 ng/mL
Monitor ions (m/z)	PFOS ; 498.93, MPFOS ; 502.94

スを吹き付けて1 mLまで濃縮し、0.22 μ m ナイロンメッシュフィルター (Starlab Scientific Co., Xi'an, China) を用いて濾過し、PFOS分析用のサンプルとした。

PFOSの分析は液体クロマトグラフ質量分析計 (LC-MS-IT-TOF ; Shimadzu, Kyoto, Japan) を用いて行った。スタンダードとしてPFOS (National Metrology Institution of Japan, Tsukuba, Japan) 1.58 ng/mL, 6.3 ng/mL, 15.8 ng/mL溶液を用いた。LC-MS-IT-TOF分析条件を表1に示す。

結果と考察

1. PFOS曝露試験

曝露前のフナムシにおけるPFOS濃度は検出限界値 (46 ng/g-wet) 以下であった。曝露後1日目におけるフナムシのPFOS濃度は $1,019 \pm 144$ ng/g-wetと上昇し、3日目でも $1,342 \pm 532$ ng/g-wetであった。その後PFOS濃度は減少傾向を示し、6日目に 914 ± 207 ng/g-wet、12日目において 377 ± 321 ng/g-wetであった (図1)。曝露後3, 6, 12日目の値に対して回帰式を算出し、フナムシにおけるPFOSの生物学的半減期を推定した結果11.9日と推測された。

他の生物におけるPFOSの生物学的半減期は、ニジマス (*Oncorhynchus mykiss*) で 12 ± 1.4 日 (Martin et al., 2002)、マガモ (*Anas platyrhynchos*) で14日 (Newsted et al., 2005) とフナムシの値と近かった。また、PFOSの生物学的半減期が 12 ± 1.4 日とフナムシと近かったニジマスでPFOS汚染のモニタリングが行われた結果、血液から最高 170 ± 64 ng/g-wetのPFOSが検出されている (Martin et al., 2004)。一方、フナムシにおけるTBTの生物学的半減期は今回算出されたPFOSのそれより短い約4日であった (Undap et al., 2013)。以上のことから、フナムシを用いたPFOSの汚染のモニタリングは有効だと考えられた。

2. 環境調査

環境調査の結果、臼尻 (北海道)、浅虫 (青森)、八戸 (青森)、佐須 (宮城) 2地点、女川 (宮城)、蒲生 (宮城)、松川浦 (福島)、館山 (千葉)、達者浜 (新潟)、狼煙 (石川)、能登 (石川) から採取したフナムシにおけるPFOSの濃度はすべて検出限界値 (14 ng/g-dry) 以下であった。しかし、津屋崎 (福岡) と多以良 (長崎) において採取したサンプル各6個体中1個体のみからPFOSが検出され、津屋崎 (福岡) で215 ng/g-dry、多以良 (長崎) で601 ng/g-dryであった (図2)。

サンプルを採取した14地点のうち、津屋崎 (福岡)、多以良 (長崎) の2地点の2個体を除きPFOSは検出されなかった。よって、今回調査した渚域におけるPFOSによる汚染は低いと推測された。しかし津屋崎 (福岡)、多以良 (長崎) の両地点において、各6個体中1個体からのみPFOSが高濃度で検出された。海水や底質がPFOSで汚染されている場合、各地点1個体のみでPFOSが検出されるとは考え難い。この原因の1つとして、2地点ではPFOSを高濃度に含有するプラスチック等などが漂着し、両個体がそれを摂取した可能性が考えられた。今後個体数を増やすとともに、

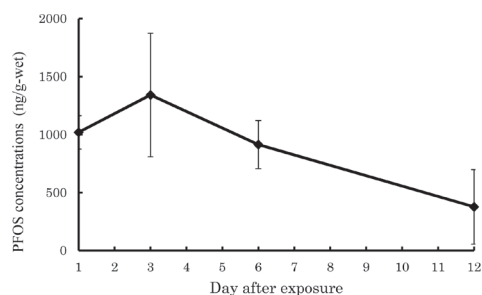


図1 PFOS (0.1 mg/g diet, 2日間) を曝露したフナムシにおけるPFOSの濃度変化

文 献

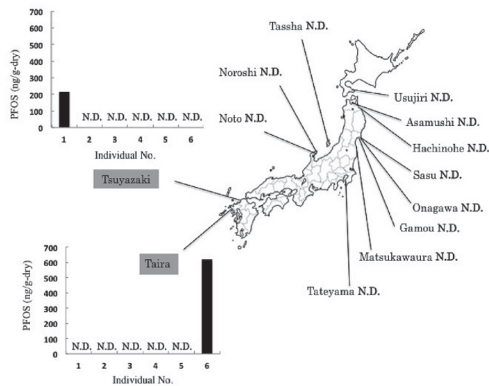


図2 日本沿岸から採取したフナムシにおけるPFOSの濃度 (N.D.: < 14 ng/g-dry)

海水、底質などについても調査を行い、PFOS汚染を明確にしていく必要がある。

今回の結果、日本周辺の渚域におけるPFOSの汚染は深刻ではないと示唆された。しかし、イトトンボ (*Enallagma cyathigerum*) の幼生でNOECが10 μ g/Lなどの報告 (Bots et al., 2010) があることから、津屋崎 (福岡)、多良良 (長崎) の個体のように、高濃度のPFOSを蓄積した個体では何らかの影響が懸念された。

フナムシを用いた渚域のモニタリングとして、Undap (2013) らがインドネシアを中心にフナムシのTBT濃度を調べた結果、水域の汚染度と関連があったとしている (Undap et al., 2013)。従来、渚域のバイオモニタリングにはムラサキガイ等の付着生物が用いられている。しかし、基質により生息範囲の制限を受け、サンプルの確保にも困難な場合がある。豊富なバイオマスと生息範囲の広さから、フナムシは渚域における汚染調査に有用な生物と考えられた。

要 約

本研究ではPFOSをフナムシへ曝露してその蓄積性を検討した。その結果、フナムシへPFOSが蓄積し、生物学的半減期は11.9日と推定された。さらに日本沿岸の14地点から採取したフナムシへのPFOSの体内濃度の測定を行った結果、港湾2地点の各1個体からのみPFOSが検出された。よって渚域におけるPFOSの汚染の程度は低いと推測された。今後、PFOSが検出された地点での分析個体数を増やし、渚域におけるPFOSの環境汚染をより明確にする必要がある。

Bots, J., Bruyn, L.D., Snijders, T., Branden, B.V., Gossam, H.V. 2010 Exposure to perfluorooctane sulfonic acid (PFOS) adversely affects the life-cycle of the damselfly *Enallagma cyathigerum*. *Environ. pollut.* **158**(3): 901-905

Honda, M., Muta, A., Akasaka, T., Inoue, Y., Shimasaki, Y., Kannan, K., Okino, N., Oshima, Y. 2014 Identification of perfluorooctane sulfonate binding protein in the plasma of tiger pufferfish *Takifugu rubripes*. *Ecotox. Environm. Saf.* **104**: 409-413

Horiguchi, H., Hironaka, M., Meyer-Rochow, V.B., Hariyama, T. 2007 Water Uptake via Two Pairs of Specialized Legs in *Ligia exotica* (Crustacea, Isopoda). *Biol. Bull.* **213**(2): 196-203.

伊藤 結 2000 分子系統解析に基づく日本産フナムシ類 (等脚目: 甲殻亜門) の系統生物地理. 月刊海洋 **32**(4): 246-251.

Ju, X., Y, Sasaki, K., Saito, N. 2008 Perfluorinated Surfactants in Surface, Subsurface Water and Microlayer from Dalian Coastal Waters in China. *Environ. Sci. Technol.* **42**(10): 3538-3542.

Kannan, K., Koistinen, J., Beckmen, K., Evans, T., Gorzelany, J.F., Hansen, K.J., Jones, P.D., Helle, E., Nyman, M., Giesy, J.P. 2001 Accumulation of Perfluorooctane Sulfonate in Marine Mammals. *Environ. Sci. Technol.* **35**(8): 1593-1598.

Keil, D.E., Mehlmann, M., Butterworth, L., Peden-Adams, M.M. 2008 Gestational Exposure to Perfluorooctane Sulfonate Suppresses Immune Function in B6C3F1 Mice. *Toxicol. Sci.* **103**(1): 77-85.

Martin, J.W., Mabury, S.A., Solomon, K.R., Muir, D.C.G., 2002 Bioconcentration and Tissue Distribution of Perfluorinated Acids in Rainbow Trout (*Oncirhynchus mykiss*). *Environ. Toxicol. Chem.* **22**(1): 196-204.

Martin, J.W., Whittle, D.M., Muir, D.C.G., Mabury, S.A., 2004 Perfluoroalkyl Contaminants in a Food Web from Lake Ontario. *Environ. Sci. Technol.* **38**(20): 5379-5385

Newsted, J.L., Jones, P.D., Coady, K., Giesy, J.P. 2005 Avian Toxicity Reference Values for Perfluorooctane Sulfonate. *Environ. Sci. Technol.* **39**(23): 9357-9362.

Senthilkumar, K., Ohi, E., Sajwan, K., Takasuga, T., Kannan, K. 2007 Perfluorinated Compounds in River Water, River Sediment, Market Fish, and Wildlife Samples from Japan. *Bull. Environm. Contam. Toxicol.* **79**: 427-431.

Slotkin, T.A., MacKillop, E.A., Melnick, R.L., Kristia A., Thayer, K.A., Seidler, F.J. 2008 Developmental Neurotoxicity of Perfluorinated Chemicals Modeled in *Vitro*. *Environ. Health Perspect.* **116**(6): 716-722.

- Sinclair, E., Mayack, D.T., Roblee, K., Yamashita, N., Kannan, K. 2006 Occurrence of Perfluoroalkyl Surfactants in Water, Fish, and Birds from New York State. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **50**(3): 398-410.
- Taniyasu, S., Kannan, K., Horii, Y., Hanari, N., Yamashita, N. 2003 A Survey of Perfluorooctane Sulfonate and Related Perfluorinated Organic Compounds in Water, Fish, Birds, and Humans from Japan. *Environ. Sci. Technol.* **37**(12): 2634-2639.
- Undap, S.L., Matsunaga, S., Honda, M., Sekiguchi, T., Suzuki, N., Khalil, F., Qiu, X., Shimasaki, Y., Ando, H., Sato-Okoshi, W., Sunobe, T., Takeda, S., Munehara, H., Oshima, Y. 2013 Accumulation of organotations in wharf roach (*Ligia exotica* Roux) and its ability to serve as biomonitoring species for coastal pollution. *Ecotox. Environm. Saf.* **96**(1): 75-79.

Summary

In an exposure test, wharf roach (*Ligia exotica* Roux) was exposed to perfluorooctane sulfonate (PFOS) via diet (0.1 mg/g-diet) for 2 days. 1 day after cessation of exposure, concentration of PFOS was increased to 1019 ± 144 ng/g-wet and still detected to 377 ± 321 ng/g-wet at 12 days after the exposure. Biological half-life of PFOS in wharf roach was estimated to be 11.9 days. In a field study, wharf roach were collected from 14 coastal sites in Japan. PFOS were detected from each one individual in Tsuyazaki, Fukuoka Pref. (215 ng/g-dry) and Taira, Nagasaki Pref. (601 ng/g-dry) . These results suggested that wharf roach could be a promised biomonitoring species for PFOS in coastal area.

Key words: biomonitoring, PFOS, wharf roach