

化学物質の影響把握と総量リスク評価手法の検討

桐山徳也・津田泰三・佐貫典子・宮下康雄・河原 晶・居川俊弘・中村光穂・古田世子・池田将平・一瀬 諭・瀧野明彦²⁾・藤森 匠¹⁾・卯田 隆¹⁾

要約

琵琶湖流域での化学物質の検出状況を把握するため、フェノール系防腐剤・殺菌剤およびベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤を対象に、ガスクロマトグラフ質量分析装置（GC/MS）を用いた一斉分析法を確立した。前者について、確立した一斉分析法を用いてモニタリングを行うとともに、その結果をもとに環境省のガイドラインに準拠した初期リスク評価を行った。また、環境中での高蓄積性、難分解性等の性質を有する有機フッ素化合物について、琵琶湖水、河川水および底泥を対象とした詳細な調査を実施するとともに、その結果をもとに初期リスク評価を行った。

生物応答を用いた生態影響試験は、前述のような個々の化学物質濃度の評価では捉えられない未知の化学物質や複数の化学物質による影響や毒性の有無を総体的に把握・評価できる。このため、ヒメダカによる急性毒性試験および環境省が制度への導入を検討している生態影響試験について技術的検討や試行を行った。

1. はじめに

化学物質は、世界で約 10 万種、わが国では約 5 万種流通していると言われている¹⁾。化学物質による環境汚染防止の取組としては、「水質汚濁防止法」による工場・事業場からの排水規制、公共用水域・地下水における水質の常時監視のほか、「特定化学物質の環境への排出量の把握等及び管理の改善の促進に関する法律（PRTR 法）」による化学物質の環境への排出量等の把握、事業者による化学物質の自主的な管理の改善の促進等、「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律（化審法）」による新規化学物質の製造・輸入における事前審査、残留性の高い化学物質の製造、輸入、使用等についての規制等がある。これらの取組をさらに推進していくためには、科学的な情報をもとに化学物質による環境への影響を評価する必要があるが、有害性や暴露、環境残留性等に関する情報が不足している。

そこで当センターでは、水質汚濁防止法に基づく排水規制や常時監視の対象となっていない化学物質を対象に、分析の省力化と琵琶湖流域での検出状況の把握を目的として「未規制化学物質の一斉分析方法の確立とリスク評価」と、国が制度導入を検討している生物応答を用いた試験の特性把握等を目的として「総量リスク評価のための生態影響試験等の手法確立」に取り組んでおり、各テーマにおける研究結果を報告する。

2. 未規制化学物質の一斉分析方法の確立と

リスク評価

琵琶湖流域における化学物質の検出状況を把握するため、フェノール系防腐剤・殺菌剤およびベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤を対象に、ガスクロマトグラフ質量分析装置（GC/MS）を用いた一斉分析法を確立した。確立した一斉分析法を用いてフェノール系防腐剤・殺菌剤のモニタリングを行うとともに、その検出値について環境省のガイドライン³⁾に準拠したリスク評価を行ったので、その結果について報告する。

また、当センターでは、2008 年度から 2009 年度までの実態把握調査²⁾以降、琵琶湖水や底泥を対象とした有機フッ素化合物（Perfluoroalkyl Compounds : PFCs）の追加調査を実施しており、その結果についても報告する。

2.1. フェノール系防腐剤、殺菌剤の一斉分析方法の検討

食品、医薬品、化粧品等に使用されるフェノール系防腐剤、殺菌剤について、木村ら⁴⁾および酒井⁵⁾による誘導体化法を参考に、ガスクロマトグラフ質量分析装置（GC/MS）を用いて、琵琶湖水および河川水等の環境水中濃度の分析法を検討した。

対象物質は、化粧品の防腐剤に幅広く使用される 2-フェノキシエタノール、パラベン類 6 物質（メチルパラベン、エチルパラベン、イソプロピルパラベン、プロピルパラベン、イソブチルパラベンおよびブチルパ

1)湖北環境事務所、2)南部環境事務所

ラベン) および薬用せっけんの殺菌成分として使用されるトリクロサンの計 8 物質とした。

検討した一斉分析方法により琵琶湖水、河川水における対象物質の検出状況を調査した。

2.1.1. 方法

2.1.1.1. 調査地点・調査時期

琵琶湖における調査地点は、滋賀県の公共用水域測定計画⁶⁾に掲げる琵琶湖水質調査(以下「琵琶湖水質調査」という。)地点のうち、8 地点(北湖 4 地点、南湖 4 地点)である(表 1 および図 1)。

2015 年度は、琵琶湖水質調査地点 5 地点(13C、13A、8C、6B および 4A)において、2016 年度は同地点 8 地点(17C'、17A、13C、13A、9B、8C、6B および 4A)において、5 月、8 月、11 月および 2 月の四半期ごとに、ステンレス製バケツにより表層水(水深 0.5m)をガラス瓶に採取した。いずれの試料も採取後直ちに冷蔵保存し、速やかに分析に供した。

表 1 フェノール系防腐剤・殺菌剤に係る琵琶湖水質調査地点

調査地点	
北湖	長浜沖(17C')、今津沖(17A)、 愛知川沖(13C)、北小松沖(13A)
南湖	堅田沖中央(9B)、新杉江港沖(8C)、 唐崎沖中央(6B)、浜大津沖(4A)

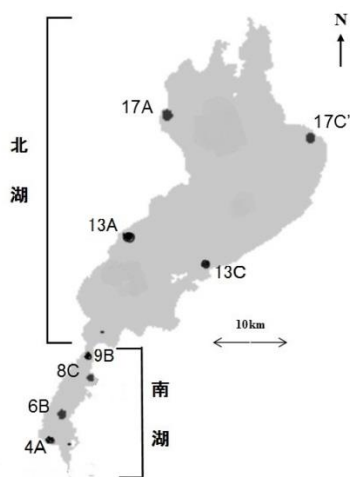


図 1 フェノール系防腐剤・殺菌剤に係る琵琶湖水質調査地点

2.1.1.2. 分析方法

固相抽出カラムに試料を通水し、蒸留水による洗浄、窒素ガス通気による乾燥を行った後、ジクロロメタンにより対象物質を溶出させ、誘導体化試薬である N, 0-

ビス(トリメチルシリル)アセトアミド(BSTFA)によりトリメチルシリル化した。これに内標準物質を添加後、GC/MS に供し検量線法により定量した(図 2)。

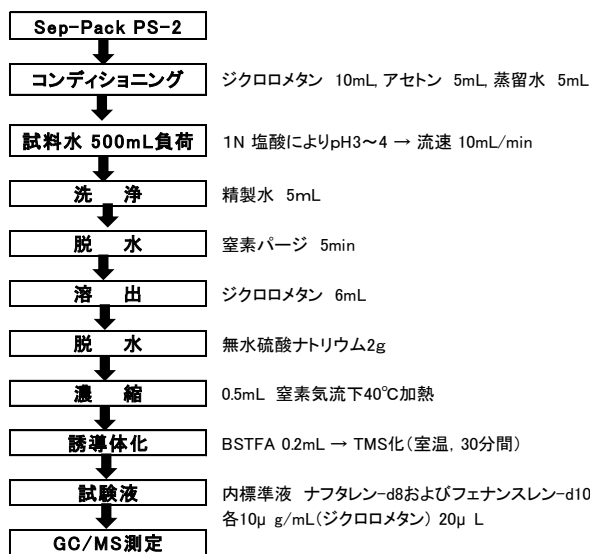


図 2 フェノール系防腐剤、殺菌剤の一斉分析に係る分析フロー

使用した試薬、検量線の作法方法および GC/MS の測定条件を以下に示す。

[使用試薬等]

固相抽出カラム: Waters 製 Sep-Pak PS2-Plus

ジクロロメタン: 関東化学製残留農薬試験用

無水硫酸ナトリウム: 関東化学製残留農薬試験用

N, 0-ビス(トリメチルシリル)アセトアミド: 和光純薬工業(株)製ガスクロマトグラフ用

ナフタレン-d8 およびフェナンスレン-d10: 関東化学製 GC/MS 内部標準用

精製水: ミリポア社製 Milli-Q Gradient にミリポア社製 EDS-Pak を接続して調製したもの

[検量線の作成]

防腐剤 8 種類の混合標準液各 0.1 µg/mL (ジクロロメタン溶液) から 0、10、20、50、100、200 µL を共栓付試験管 10mL に採取し、ジクロロメタン溶液 0.5mL を調製し、上記分析フローと同様に誘導体化後、内標準液 20 µL を添加し、GC/MS 測定用試験溶液とする。

[GC/MS 測定条件]

ガスクロマトグラフ: FINNIGAN Trace GC Ultra

カラム: RESTEK Rtx-5MS (30m × 0.25mm i.d., 膜厚

0.25 µm)、注入口: 250°C、注入量: 1 µL、注入方式:

スプリットレス、キャリアーガス: He 1.0mL/min カ

ラム温度: 50°C (1min) → 10°C/min → 300°C (5min)

質量分析計: FINNIGAN Polaris Q

イオン化電圧：70eV、イオン化電流：250 μ A、インターフェース温度：250 $^{\circ}$ C、イオン源温度：200 $^{\circ}$ C、スキャンモード：Full Scan、マスレンジ：100~500

2.1.2. 結果と考察

GC/MSによる定量は、2種類のモニターイオン（1st：定量イオン，2nd：確認イオン）で行い、琵琶湖水を対象に添加回収実験を実施した。その結果、いずれの物質も変動係数（CV）が20%以下であった。定量限界値はいずれの化合物も2ng/Lであった（表2）。

表3 フェノール系防腐剤、殺菌剤の分析条件および添加回収実験結果

化合物名	R.T.(min)	モニターイオン (m/z)		添加回収率 (%)		定量限界 (ng/L)
		1st	2nd	回収率 (n=3)	CV	
2-フェノキシエタノール	11.4	151	195	87	18	2
メチルパラベン	13.1	224	209	78	1	2
エチルパラベン	13.9	238	223	98	6	2
イソプロピルパラベン	14.3	252	237	88	6	2
プロピルパラベン	15.1	210	195	79	4	2
イソブチルパラベン	15.7	210	195	102	11	2
ブチルパラベン	16.2	210	195	83	11	2
トリクロサン	19.9	347	200	96	15	2

本法を琵琶湖水に適用した結果、2015年度は、4Aでメチルパラベン（3ng/L）、6Bでイソプロピルパラベン（3ng/L）、8Cでイソプロピルパラベン（2ng/L）、13Cでメチルパラベンおよびブチルパラベン（各3ng/L）がそれぞれ検出された。2016年度は、8Cでメチルパラベン（39ng/L）、プロピルパラベン（10ng/L）およびイソブチルパラベン（2ng/L）、13Aでブチルパラベン（3ng/L）、13Cでメチルパラベン（3ng/L）およびブチルパラベン（2ng/L）、17Aでブチルパラベン（2ng/L）およびトリクロサン（2ng/L）、17C'でプロピルパラベン（2ng/L）およびトリクロサン（2ng/L）がそれぞれ検出された。後述の2.4.3.1において、これらの検出値に係る初期リスク評価を行ったところ、「現時点では作業の必要なし」のレベルであった。

2.2. ベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤の一斉分析法の検討

劣化防止を目的としてプラスチック製品に使用されるベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤について、山口ら⁷⁾による方法を参考に、GC/MSを用いた一斉分析により、琵琶湖水等の環境水中濃度の分析法を検討した。

対象物質は、紫外線吸収能力が優れ、国内外に幅広く使用されるUV-P、UV-326、UV-327およびUV-328の4物質とした。

2.2.1. 方法

分液ロートに試料をとり、塩化ナトリウムおよび塩酸を添加し、ヘキサンにより溶媒抽出した後、ヘキサン層をロータリーエバポレーターで濃縮した。その後、ヘキサンで定容し、内標準物質を添加後、GC/MS（測定モード：MS/MS）に供し検量線法により定量した（図3）。

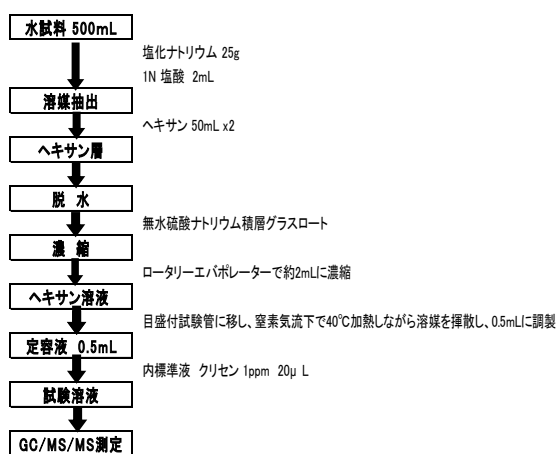


図3 ベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤の一斉分析に係る分析フロー

使用した試薬、検量線の作法方法およびGC/MSの測定条件を以下に示す。

[使用試薬]

ヘキサン：関東化学製残留農薬試験用
 塩化ナトリウム：関東化学製残留農薬試験用
 無水硫酸ナトリウム：関東化学製残留農薬試験用
 クリセン-d12：関東化学製GC/MS内部標準用
 精製水：ミリポア社製Milli-Q Gradientにミリポア社製EDS-Pakを接続して調製したもの

[検量線の作成]

紫外線吸収剤4種類の混合標準液各1 μ g/mL（ヘキサン溶液）から0、10、20、50、100、200 μ Lを共栓付試験管10mLに採取し、10mLに希釈して検量線標準液0~0.02 μ g/mLを調製する。各標準液1mLに内標準液クリセン-d12（ヘキサン溶液）40 μ Lを添加し、GC/MS測定用試験溶液とする。

[GC/MS測定条件]

ガスクロマトグラフ：FINNIGAN Trace GC Ultra
 カラム：RESTEK Rtx-5MS（30m \times 0.25mm i.d., 膜厚0.25 μ m） 注入口：250 $^{\circ}$ C、注入量：1 μ L、注入方式：スプリットレス
 キャリアーガス：He 1.0mL/min、カラム温度：50 $^{\circ}$ C（1min） \rightarrow 10 $^{\circ}$ C/min \rightarrow 300 $^{\circ}$ C（5min）
 質量分析計：FINNIGAN Polaris Q

イオン化電圧：70eV、イオン化電流：250 μ A、インターフェース温度：250 $^{\circ}$ C、イオン源温度：230 $^{\circ}$ C、スキャンモード：MS/MS、マスレンジ：100~500

2.2.2. 結果

添加回収実験は、琵琶湖水 500mL に 4 種類の紫外線吸収剤混合標準液各 0.1 μ g/mL (アセトン溶液) を 50 μ L 添加し、図 3 に示す分析フローに従い実施した。GC/MS による定量は定量用プロダクトイオンで行い、表 3 に示した添加回収率はこの定量値から算出した。UV-P はやや高めの値を示し、他の 3 物質は低めの値を示したが、概ね良好な値が得られた。一方、変動係数 (CV) については 2.7~10.1% であり良好な値を示した。定量限界値については UV-P が 5ng/L、UV-326、UV-327 および UV-328 が 1ng/L であり、低濃度の測定が可能であった。

本法を用いて琵琶湖水等の環境中における検出状況を調査する予定であり、その結果については後日報告する。

表 3 ベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤の分析条件および添加回収実験結果

化合物名	保持時間 (min)	プリカーサーイオン (m/z)	プロダクトイオン (m/z)		添加回収率 (%)		定量限界 (ng/L)
			定量	定性	回収率 (n=3)	CV	
UV-P	19.6	225	154	196	123	4.6	5
UV-326	23.7	315	300	272	78	2.7	1
UV-327	24.6	357	342	-	70	10.1	1
UV-328	24.5	322	252	133	73	8.1	1
内標 クリゼン-d12	23.2	240	236	212	-	-	-

2.3. 初期リスク評価

化学物質が琵琶湖等の環境水で検出された場合、追加調査等さらなる情報収集の要否を判断するための目安が必要となる。このため、琵琶湖水で検出された化学物質を対象に初期リスク評価 (生態リスク) を行った。

対象物質は、前述のフェノール系防腐剤、殺菌剤 8 物質および後述の 2.4 で追跡調査を実施した PFCs 7 物質 (PFOBS、PFOS、PFHxA、PFHpA、PFOA、PFNA および PFDA) とした。

2.3.1. 方法

環境省が定めた「化学物質の環境リスク初期評価ガイドライン (平成26年12月版)³⁾」に準拠し、15種類の未規制化学物質を対象とした初期リスク評価 (生態リスク) を行った。具体的なフローを図4に示す。水生生物 (藻類、甲殻類および魚類) に対する急性および慢性毒性データを文献検索により収集して予測無影響濃度 (PNEC) を設定し、琵琶湖水における検出濃度を

予測環境中濃度 (PEC) と仮定して、PECとPNECを比較した。

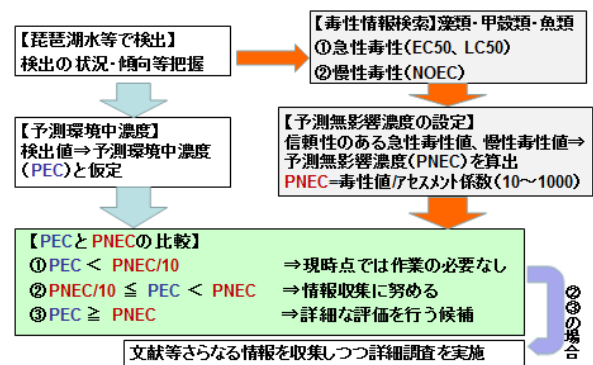


図4 初期リスク評価 (生態リスク) のフロー

2.3.2. 予測無影響濃度 (PNEC) の設定

2.1 で一斉分析法を検討したフェノール系防腐剤、殺菌剤の 2-フェノキシエタノール、メチルパラベン、エチルパラベン、イソプロピルパラベン、プロピルパラベン、イソブチルパラベンおよびブチルパラベンのほか、PFCsのうち、環境省による設定値⁸⁻⁹⁾のないPFCsのPFBS、PFDAおよびPFHpAを対象物質とした。

2.3.2.1. フェノール系防腐剤、殺菌剤

(1) 2-フェノキシエタノール

- 急性毒性値¹⁰⁾について、信頼できる知見のうち生物群ごとに値の最も低いものを整理し、そのうち最も低い値に対して情報量に応じたアセスメント係数を適用することにより、PNECを設定した。
- 藻類では72hrEC50が>500,000 μ g/L、甲殻類では48hr-EC50が488,000 μ g/L、魚類では96hr-LC50が344,000 μ g/Lであった。急性毒性値について3生物群の信頼できる知見が得られたため、アセスメント係数として100を用いることとし、上記の毒性値のうち最も低い値 (魚類の344,000 μ g/L) にこれを適用することにより、急性毒性値によるPNECとして3,440 μ g/Lが得られた。
- 本物質のPNECとして3,440 μ g/Lを採用した。

(2) メチルパラベン

- 急性毒性値¹¹⁻¹²⁾について、信頼できる知見および3.1.2.2で得られた結果のうち生物群ごとに値の最も低いものを整理し、そのうち最も低い値に対して情報量に応じたアセスメント係数を適用することにより、PNECを設定した。
- 藻類では72hrEC50が30,000 μ g/L、甲殻類では48hr-EC50が34,000 μ g/L、魚類では96hr-LC50が27,000 μ g/Lであった。急性毒性値について3生物群

の信頼できる知見が得られたため、アセスメント係数として100を用いることとし、上記の毒性値のうち最も低い値（魚類の27,000 μ g/L）にこれを適用することにより、急性毒性値によるPNECとして270 μ g/Lが得られた。

3. 本物質の PNEC として 270 μ g/L を採用した。

(3) エチルパラベン

1. 急性毒性値¹²⁾について、信頼できる知見および3.1.2.2で得られた結果のうち生物群ごとに値の最も低いものを整理し、そのうち最も低い値に対して情報量に応じたアセスメント係数を適用することにより、PNECを設定した。

2. 藻類では72hrEC50が52,000 μ g/L、甲殻類では48hr-EC50が7,400 μ g/L、魚類では96hr-LC50が8,900 μ g/Lであった。急性毒性値について3生物群の信頼できる知見が得られたため、アセスメント係数として100を用いることとし、上記の毒性値のうち最も低い値（甲殻類の7,400 μ g/L）にこれを適用することにより、急性毒性値によるPNECとして74 μ g/Lが得られた。

3. 本物質の PNEC として 74 μ g/L を採用した。

(4) イソプロピルパラベン

1. 急性毒性値¹²⁾について、信頼できる知見および3.1.2.2で得られた結果のうち生物群ごとに値の最も低いものを整理し、そのうち最も低い値に対して情報量に応じたアセスメント係数を適用することにより、PNECを設定した。

2. 藻類では72hrEC50が48,000 μ g/L、甲殻類では48hr-EC50が3,500 μ g/L、魚類では96hr-LC50が4,500 μ g/Lであった。急性毒性値について3生物群の信頼できる知見が得られたため、アセスメント係数として100を用いることとし、上記の毒性値のうち最も低い値（甲殻類の3,500 μ g/L）にこれを適用することにより、急性毒性値によるPNECとして35 μ g/Lが得られた。

3. 本物質の PNEC として 35 μ g/L を採用した。

(5) プロピルパラベン

1. 急性毒性値¹²⁾について、信頼できる知見および3.1.2.2で得られた結果のうち生物群ごとに値の最も低いものを整理し、そのうち最も低い値に対して情報量に応じたアセスメント係数を適用することにより、PNECを設定した。

2. 藻類では72hrEC50が36,000 μ g/L、甲殻類では48hr-EC50が2,000 μ g/L、魚類では96hr-LC50が4,100 μ g/Lであった。急性毒性値について3生物群の信頼できる知見が得られたため、アセスメント係数とし

て100を用いることとし、上記の毒性値のうち最も低い値（甲殻類の2,000 μ g/L）にこれを適用することにより、急性毒性値によるPNECとして20 μ g/Lが得られた。

3. 本物質の PNEC として 20 μ g/L を採用した。

(6) イソブチルパラベン

1. 急性毒性値¹²⁾について、信頼できる知見および3.1.2.2で得られた結果のうち生物群ごとに値の最も低いものを整理し、そのうち最も低い値に対して情報量に応じたアセスメント係数を適用することにより、PNECを設定した。

2. 藻類では72hrEC50が4,000 μ g/L、甲殻類では48hr-EC50が3,300 μ g/L、魚類では96hr-LC50が4,600 μ g/Lであった。急性毒性値について3生物群の信頼できる知見が得られたため、アセスメント係数として100を用いることとし、上記の毒性値のうち最も低い値（甲殻類の3,300 μ g/L）にこれを適用することにより、急性毒性値によるPNECとして33 μ g/Lが得られた。

3. 本物質の PNEC として 33 μ g/L を採用した。

(7) ブチルパラベン

1. 急性毒性値¹²⁾について、信頼できる知見および3.1.2.2で得られた結果のうち生物群ごとに値の最も低いものを整理し、そのうち最も低い値に対して情報量に応じたアセスメント係数を適用することにより、PNECを設定した。

2. 藻類では72hrEC50が9,500 μ g/L、甲殻類では48hr-EC50が1,900 μ g/L、魚類では96hr-LC50が3,100 μ g/Lであった。急性毒性値について3生物群の信頼できる知見が得られたため、アセスメント係数として100を用いることとし、上記の毒性値のうち最も低い値（甲殻類の1,900 μ g/L）にこれを適用することにより、急性毒性値によるPNECとして19 μ g/Lが得られた。

3. 本物質の PNEC として 19 μ g/L を採用した。

2.3.2.2. PFCs

(1) PFBS

1. 急性毒性値および慢性毒性値のそれぞれについて、信頼できる知見のうち生物群ごとに値の最も低いものを整理し、そのうち最も低い値に対して情報量に応じたアセスメント係数を適用することにより、PNECを設定した。

2. 急性毒性値¹³⁻¹⁷⁾については、藻類ではAlgae (*Selenastrum capricornutum*)に対する生長阻害の96h-EC50が2,347,000 μ g/L、甲殻類では *Daphnia*

*magna*に対する急性遊泳阻害の48h-EC50が2,183,000 $\mu\text{g/L}$ 、魚類ではFathead minnowに対する96h-LC50が1,938,000 $\mu\text{g/L}$ であった。急性毒性値について3生物群の信頼できる知見が得られたため、アセスメント係数として100を用いることとし、上記の毒性値のうち最も低い値（魚類の1,938,000 $\mu\text{g/L}$ ）にこれを適用することにより、急性毒性値によるPNECとして19,380 $\mu\text{g/L}$ が得られた。

- 慢性毒性値^{14,16-18)}については、藻類ではAlgae (*Selenastrum capricornutum*)に対する生長阻害のNOECが1,077,000 $\mu\text{g/L}$ 、甲殻類では*Daphnia magna*に対するNOECが502,000 $\mu\text{g/L}$ 、魚類ではFathead minnowに対するNOECが888,000 $\mu\text{g/L}$ であった。慢性毒性値について3生物群の信頼できる知見が得られたため、アセスメント係数として10を用いることとし、上記の毒性値のうち最も低い値（甲殻類の502,000 $\mu\text{g/L}$ ）にこれを適用することにより、慢性毒性値によるPNECとして50,200 $\mu\text{g/L}$ が得られた。
- 本物質のPNECとしては、魚類の急性毒性値をアセスメント係数100で除した19,380 $\mu\text{g/L}$ を採用した。

(2) PFHpA

- 急性毒性値²¹⁾について、信頼できる知見のうち生物群ごとに値の最も低いものを整理し、そのうち最も低い値に対して情報量に応じたアセスメント係数を適用することにより、PNECを設定した。
- 藻類ではAlgae (*Geitlerinema amphibium*)に対する生長阻害のEC50が517,000 $\mu\text{g/L}$ であった。急性毒性値について1生物群の信頼できる知見が得られたため、アセスメント係数として1,000を用いることとし、上記の毒性値（魚類の517,000 $\mu\text{g/L}$ ）にこれを適用することにより、急性毒性値によるPNECとして517 $\mu\text{g/L}$ が得られた。
- 本物質のPNECとして517 $\mu\text{g/L}$ を採用した。

(3) PFDA

- 急性毒性値¹⁹⁻²⁰⁾について、信頼できる知見のうち生物群ごとに値の最も低いものを整理し、そのうち最も低い値に対して情報量に応じたアセスメント係数を適用することにより、PNECを設定した。
- 藻類ではGreen Algae (*Pseudokirchneriella subcapitata*)に対する生長阻害の72hrEC50が10,600 $\mu\text{g/L}$ 、甲殻類では*Daphnia magna*に対するacute LC50が259,000 $\mu\text{g/L}$ 、魚類ではRainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)に対する96h-LC50が32,000 $\mu\text{g/L}$ であった。急性毒性値について3生物群の信頼できる知見が得られたため、アセスメント係数として100を用いることとし、上記の毒性値のうち最も低い

値（藻類の10,600 $\mu\text{g/L}$ ）にこれを適用することにより、急性毒性値によるPNECとして106 $\mu\text{g/L}$ が得られた。

- 本物質のPNECとして106 $\mu\text{g/L}$ を採用した。

2.3.3. 初期リスク評価（生態リスク）結果

2.3.3.1. フェノール系防腐剤、殺菌剤

フェノール系防腐剤、殺菌剤が検出された2015年度および2016年度の琵琶湖水調査結果および各物質のPNECを表4および表5にそれぞれ示した。いずれの物質においてもPNECを大きく下回っており、「現時点では作業の必要なし」のレベルであった。

表4 2015年度琵琶湖水中のフェノール系殺菌剤・防腐剤調査結果およびPNEC

物質名	琵琶湖水濃度 (ng/L)*				PNEC [‡] (ng/L)
	5月	8月	11月	2月	
2-フェノキシエタノール	<2	<2	<2	<2	3,440,000
メチルパラベン	<2	<2	<2~3	<2	270,000
エチルパラベン	<2	<2	<2	<2	74,000
イソプロピルパラベン	<2~3	<2~2	<2	<2	35,000
プロピルパラベン	<2	<2	<2	<2	20,000
イソブチルパラベン	<2	<2	<2	<2	33,000
ブチルパラベン	<2	<2	<2~3	<2	19,000
トリクロサン	<2	<2	<2	<2	28

* 調査地点 琵琶湖5地点 (4A, 6B, 8C, 13A, 13C)

‡ 2-フェノキシエタノール、メチルパラベン、エチルパラベン、イソプロピルパラベン、プロピルパラベン、イソブチルパラベン、ブチルパラベン:本報告書設定値 トリクロサン:環境省設定値²²⁾

表5 2016年度琵琶湖水中のフェノール系殺菌剤・防腐剤調査結果およびPNEC

物質名	琵琶湖水濃度 (ng/L)*				PNEC [‡] (ng/L)
	5月	8月	11月	2月	
2-フェノキシエタノール	<2	<2	<2	<2	3,440,000
メチルパラベン	<2	<2~39	<2	<2~2	270,000
エチルパラベン	<2	<2	<2	<2	74,000
イソプロピルパラベン	<2	<2	<2	<2	35,000
プロピルパラベン	<2	<2~10	<2	<2~2	20,000
イソブチルパラベン	<2	<2	<2	<2~2	33,000
ブチルパラベン	<2~3	<2	<2	<2	19,000
トリクロサン	<2	<2~2	<2	<2	28

* 調査地点 琵琶湖8地点 (4A, 6B, 8C, 9B, 13A, 13C, 17A, 17C)

‡ 2-フェノキシエタノール、メチルパラベン、エチルパラベン、イソプロピルパラベン、プロピルパラベン、イソブチルパラベン、ブチルパラベン:本報告書設定値 トリクロサン:環境省設定値²²⁾

2.3.3.2. PFCs

2014年度5月、8月、11月および2月の四半期ごとに琵琶湖4地点（北湖2地点、南湖2地点）の表層水を対象に、PFCs7物質に係る調査結果および各物質のPNECを表6に示した。

いずれの物質においても琵琶湖水中の濃度がPNECを大きく下回っており、「現時点では作業の必要なし」のレベルであった。

表 6 2014 年度 琵琶湖水中の PFCs 調査結果および PNEC

物質名	琵琶湖水濃度 (ng/L)*				PNEC [‡] (ng/L)
	5月	8月	11月	2月	
PFBS	<0.27	0.19~0.63	<0.27~0.31	0.19~0.63	19,400,000
PFOS	0.45~0.81	0.49~2.6	<0.44~1.1	0.53~2.6	23,000
PFHxA	0.96~2.0	0.88~6.0	<0.43~3.0	0.74~2.5	999,000
PFHpA	1.0~1.5	1.0~2.9	0.77~1.70	1.00~2.9	517,000
PFOA	3.3~4.7	3.2~11	2.8~6.5	3.2~11	310,000
PFNA	0.88~1.3	0.92~2.3	0.65~1.2	0.92~2.3	130,000
PFDA	<0.50	<0.50~0.91	<0.50	<0.50~0.91	106,000

* 調査地点 琵琶湖4地点 (6B, 8C, 12B, 17B)

‡PFHxA, PFNA: 第3期中期計画調査報告書設定値²³⁾

PFBS, PFHpA, PFDA: 本報告書設定値

PFOS, PFOA: 環境省設定値^{8,9)}

2.4. PFCs に係る追跡調査結果

PFCs は、親水基と疎水基を有する構造で、熱や化学的反応にも強い物性から、撥水・撥油性剤、界面活性剤等として衣類や金属など幅広く用いられてきた。

しかし2000年頃から地球規模での環境汚染が明らかになり、国内外で多くの調査が行われ、2009年にはPFCsの一種であるペルフルオロオクタンスルホン酸及びその塩(PFOS)は、高蓄積性、難分解性等の性質を有することが確認され、残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約(POPs条約)の附属書Bへの追加掲載が決定された。

これを受け国内では、2002年にPFOSおよびペルフルオロオクタンスルホン酸及びその塩(PFOA)が当時の化審法に基づく第二種監視化学物質に指定された。2010年にはPFOSが同法に基づく第一種特定化学物質に指定され、同物質は原則製造、使用、輸入が禁止された。また、2014年3月にPFOSおよびPFOAが、環境省の水環境保全に向けた取組のための要調査項目リストに追加された。

その後2016年には、PFOAおよびその関連物質についても、POPs条約の締結国会議の下部組織である残留性有機汚染物質検討委員会において、規制の必要性を評価することとなり、早ければ平成32年に日本国内での製造・輸入・使用等が禁止となる可能性がある。

当センターでは、琵琶湖流域でのPFOSおよびPFOAの検出状況を把握するため、2008年度から2009年度にかけて実態調査を行い、その結果を報告した²⁾。しかし、PFOSおよびPFOA以外にも炭素数の異なる類縁物質が環境水中で検出されることが報告²⁴⁻²⁸⁾されており、これらの検出状況を把握するため、2011年度から2015年度にかけて追加調査を実施したので報告する。

2.4.1. 調査方法

2.4.1.1. 調査地点・調査時期・調査物質など

2011年度から2016年度までに当センターで実施した調査概要を表7に示す。

2011年度は、琵琶湖水質調査地点のうち、図5に示す8地点(北湖4地点、南湖3地点、瀬田川1地点)において、四半期ごとに表層水(水深0.5m)をポリプロピレン製(PP製)バケツによりPP製のポリ瓶に採取した。11月と2月の調査では、水深約90mの今津沖中央(17B)においてバンドーン採水器で湖底から1m付近の底層水をPP製のポリ瓶に採取した。また、同計画に掲げる琵琶湖・瀬田川に流入する河川のうち、図6に示す12河川で8月に表層水を採取した。

2012年度から2016年度にかけては、琵琶湖水質調査地点のうち、5地点(北湖2地点、南湖2地点、瀬田川1地点)において5、8、11、2月の4半期ごとに表層水をPP製のポリ瓶に採取した。

2015年度は、琵琶湖水質調査地点のうち、図7に示す26地点(北湖19地点、南湖7地点)において、エクマンバージ採泥器により底泥をステンレス容器に採取した。

いずれの試料も採取後直ちに冷蔵保存し、速やかに分析に供した。

調査対象物質は、PFOSおよびPFOAを含む炭素数4(C4)、C6~C10のペルフルオロアルキルスルホン酸類(PFASs)およびC4~C14のペルフルオロアルキルカルボン酸類(PFCAs)の計17物質とした(表8)。

表 7 PFCs に係る琵琶湖水質調査概要

調査年度	調査月	調査対象	調査地点
2011	5、8、11、2	表層水	(北湖:4地点) 今津沖(17A)、今津沖中央(17B)、 長浜沖(17C)、南比良沖中央(12B) (南湖:3地点) 新杉江沖(8C)、杉江沖(168)、唐崎沖中央(6B) (瀬田川:1地点) 瀬田川(2)
	8	表層水	(琵琶湖に流入する河川:11河川) 姉川、犬上川、愛知川、日野川、 野洲川、守山川、葉山川、十禅寺川、 柳川、和邇川、安曇川 (瀬田川に流入する河川) 大戸川
	11、2	底層水	今津沖中央(17B)
2012 2015	5、8、11、2	表層水	(北湖:2地点) 今津沖中央(17B)、南比良沖中央(12B) (南湖:2地点) 新杉江沖(8C)、唐崎沖中央(6B) (瀬田川:1地点) 瀬田川(2)
2013	5~12	底質	琵琶湖内26地点

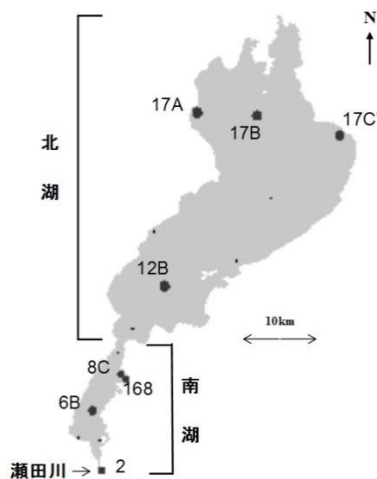


図 5 PFCs に係る琵琶湖水質調査地点

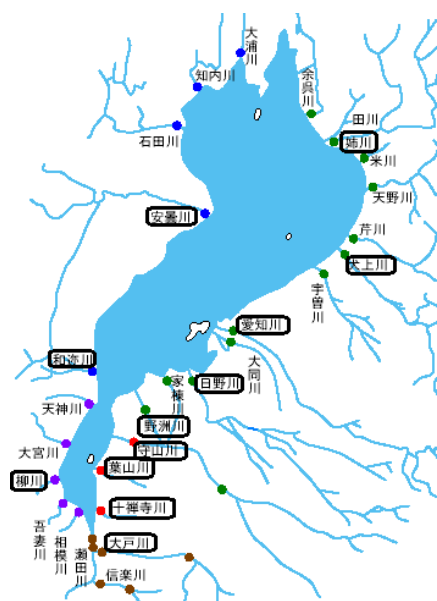


図 6 PFCs に係る河川調査地点 (○調査対象河川)

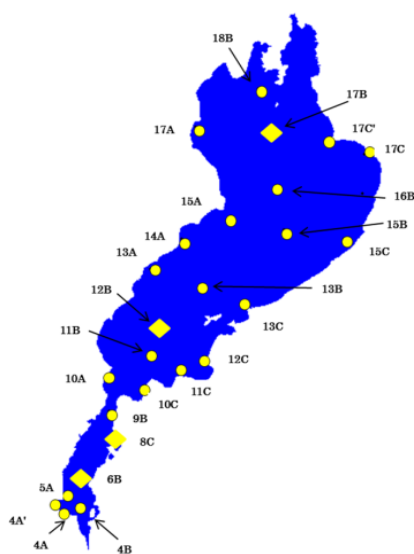


図 7 PFCs に係る底質調査地点

表 8 PFCs 調査に係る対象物質

PFCs 有機フッ素化合物		
PFASs ペルフルオロアルキルスルホン酸類		
C4	PFBS	ペルフルオロブタンスルホン酸
C6	PFHxS	ペルフルオロヘプタンスルホン酸
C7	PFHpS	ペルフルオロヘキサンスルホン酸
C8	PFOS	ペルフルオロオクタンスルホン酸
C9	PFNS	ペルフルオロノナンスルホン酸
C10	PFDS	ペルフルオロデカンスルホン酸
PFCAs ペルフルオロアルキルカルボン酸類		
C4	PFBA	ペルフルオロブタン酸
C5	PFPeA	ペルフルオロペンタン酸
C6	PFHxA	ペルフルオロヘキサン酸
C7	PFHpA	ペルフルオロヘプタン酸
C8	PFOA	ペルフルオロオクタン酸
C9	PFNA	ペルフルオロノナン酸
C10	PFDA	ペルフルオロデカン酸
C11	PFUnDA	ペルフルオロウンデカン酸
C12	PFDoDA	ペルフルオロドデカン酸
C13	PFTrDA	ペルフルオロトリデカン酸
C14	PFTeDA	ペルフルオロテトラデカン酸

2.4.2. 分析方法

2.4.2.1. 水質・底質試料の分析方法

水試料については、サロゲート物質を添加後、酢酸にて pH 約 3.6 に調整した。これを固相抽出カラムに通水し、酢酸溶液およびメタノール溶液による洗浄、遠心分離により脱水した後、アンモニア水-メタノール溶液により対象物質を溶出させ、窒素吹付けにより濃縮、定容にしたものを液体クロマトグラフータンデム型質量分析計 (LC/MS/MS) に供し検量線法により定量した (図 8)。

水試料に混濁物が多く存在する場合、固相抽出カラムへの通水に支障が生じることから、サロゲート物質添加後、必要に応じてガラス繊維性ろ紙 (WhatmanGF-C) によるろ過を行った。ろ過後、混濁物を含むろ紙をメタノールによる超音波抽出-遠心分離操作を繰り返して得た抽出液をろ過と混合し、pH 調整以降の操作を行った (図 9)。

ろ過操作の有無に関わらず、調査物質のサロゲートの回収率がそれぞれ 70% 以上得られることから、ろ過操作における分析への影響はないものと考えられた。

底質試料については、底質試料にサロゲート物質を添加後、メタノールによる超音波抽出-遠心分離を繰り返し実施して得た抽出液を精製水で希釈した。その後、水試料と同様の操作を行い、LC/MS/MS に供した (図 10)。

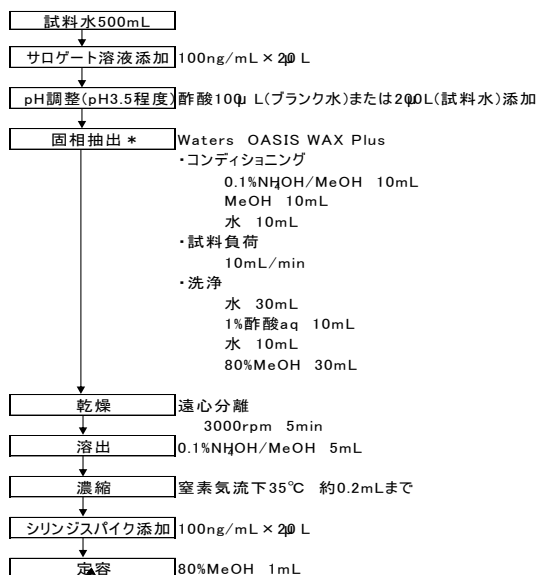


図 8 水試料中に含まれる PFCs に係る分析フロー

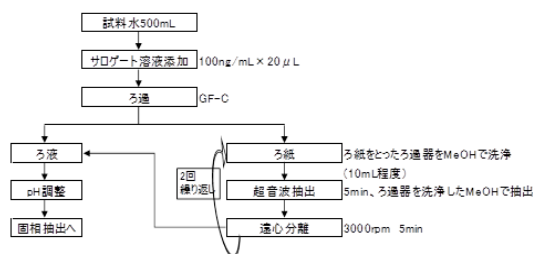


図 9 水試料（混濁時）中の PFCs に係る分析フロー



図 10 底質試料中の PFCs に係る分析フロー

使用した試薬、検量線の作法方法および LC/MS の測定条件を以下に示す。

[使用試薬等]

固相抽出カラム：Waters 製 Oasis WAX Plus
 PFASs , PFCAs : Wellington Laboratories 社製
 有機フッ素化合物ラベル化標準試薬 (サロゲート) :
 Wellington Laboratories 社製
 酢酸アンモニウム：関東化学株式会社製試薬特級

メタノールおよびアセトニトリル：和光純薬工業株式会社製 PFOS・PFOA 分析用
 精製水：ミリポア社製 Milli-Q Gradient にミリポア社製 EDS-Pak を接続して調製したもの

[LC/MS 測定条件]

LC	Waters Acquity UPLC
Column	Acquity UPLC BEH Shield RP18 (1.7μm, 2.1×100mm)
Temp	50°C
Retention gap Column	Acquity UPLC BEH C18 (1.7μm, 2.1×100mm)
Temp	50°C
Mobile Phase	A 10mM Ammonium Acetate aq B Acetonitrile
Gradient	0.0→12.0min B:30→99% 12.0→12.5min B:99→30%
Time	14.5min
Flow	0.3mL/min
Injection volume	5μL
MS	Waters Quattro Premier
Ionization Mode	ESI(-)
Source temp	110°C
Desolvation gas temp	450°C
Desolvation gas flow	600L/hr
Capillary voltage	0.5kV
Cone gas flow	50L/hr

2.4.2.2. 分析手法の精度

装置検出下限値 (IDL)、各測定方法の検出下限値 (MDL) および定量下限値 (MQL) を 2008 年度版化学物質環境実態調査実施の手引き²⁹⁾に記載された方法により算出した結果を表 9 に示した。

試料分析時に実施した添加回収試験の結果、水試料では、サロゲートの絶対回収率が 87%~107%、サロゲート補正をした分析対象物質の回収率が 79%~100%であった。一方、底質試料では、サロゲートの絶対回収率が 79%~95%、サロゲート補正をした分析対象物質の回収率が 75%~90%であり、水質、底質ともに良好であった。

表 9 PFCAs、PFASs の IDL、MDL および MQL

(上段 2 段：水質 下段 2 段：底質)

物質名	PFBS	PFHxS	PFHpS	PFOS	ip-PFNS	PFDS
IDL [ng/g-dry]	0.054	0.012	0.028	0.043	0.025	0.031
MDL [ng/g-dry]	0.11	0.26	0.10	0.17	0.11	0.082
MQL [ng/g-dry]	0.27	0.67	0.25	0.44	0.28	0.21

物質名	PFBA	PFPeA	PFHxA	PFHpA	PFOA	PFNA	PFDA	PFUnDA	PFDoDA	PFTriDA	PFTeDA
IDL [ng/g-dry]	0.023	0.034	0.035	0.033	0.042	0.023	0.052	0.056	0.035	0.033	0.047
MDL [ng/g-dry]	0.12	0.35	0.17	0.23	0.12	0.17	0.19	0.25	0.25	0.25	0.20
MQL [ng/g-dry]	0.31	0.89	0.43	0.43	0.32	0.45	0.50	0.65	0.64	0.63	0.51

物質名	PFBS	PFHxS	PFHpS	PFOS	ip-PFNS	PFDS
MDL [ng/g-dry]	0.012	0.015	0.011	0.033	0.005	0.036
MQL [ng/g-dry]	0.030	0.039	0.030	0.085	0.013	0.092

物質名	PFBA	PFPeA	PFHxA	PFHpA	PFOA	PFNA	PFDA	PFUnDA	PFDoDA	PFTriDA	PFTeDA
MDL [ng/g-dry]	0.034	0.011	0.030	0.020	0.019	0.084	0.021	0.146	0.054	0.063	0.059
MQL [ng/g-dry]	0.087	0.029	0.077	0.053	0.050	0.216	0.055	0.376	0.140	0.162	0.153

2.4.3. 調査結果および考察

2.4.3.1. 琵琶湖水（表層水）の調査結果

2011 年度に実施した琵琶湖・瀬田川水質における

PFCsに係る調査結果を図11に示す。炭素数12以上のPFCAsと炭素数9以上のPFASsは検出されなかった。

PFCsの検出濃度は、北湖4地点(12B、17A、17Bおよび17C)では10.6~13.5 ng/Lであり、年間を通じて大きな濃度差がなかった。6Bが北湖と同程度の値を示したが、8Cおよび168では北湖4地点および南湖6Bと比較して高い値を示した。同時期に調査³⁰⁾されたCOD濃度は、北湖4地点および6Bでそれぞれ2.5~2.7 mg/L、2.9 mg/Lであったのに対し、8Cおよび168でそれぞれ4.5 mg/Lおよび4.3 mg/Lとなり、同様の傾向を示した。8Cおよび168は、閉鎖性が高い赤野井湾内もしくはその付近に位置していることが一因と考えられる。一方、琵琶湖全域7地点における主なPFCsの構成比率は、平均値でPFOA>PFNA>PFHpA≧PFHxA≧PFBAの順となり、炭素数で見ると、C8のPFOA以外はC9、C7、C6、C4と炭素数の多い順に高かった。また、地点間で構成比率の大きな違いは見られなかった。

北湖の各地点および南湖中央域では、地点や季節による年間の濃度および構成比率に大きな違いが見られなかったこと等から、2012年度からは調査地点を北湖2地点(12Bおよび17B)、南湖2地点(6Bおよび8C)および瀬田川1地点(2)とした。

2011年度から2015年度までのPFCsの年間平均濃度の経年変化と構成比率の変化を図12に示す。各地点におけるPFCs濃度の経年変化に明確な傾向は認められなかった。琵琶湖中央部にある6B、12Bおよび17Bでは、それぞれ8.1~16.8 ng/Lであったのに対し、瀬田川(2)および東岸部の8Cでは、12.1~30.0 ng/Lと比較的高めの値であった。

構成比率の平均値の変化を見ると、2011年度と2012年度は同様の順序であったが、2013年度以降、PFOA以外は、C4のPFBAやC6のPFHxAの比率が高くなり、C9のPFNAやC7のPFHpAの比率が小さくなった。

PFOAおよびPFOSの2009年度から2015年度までの調査結果を併せて図13に示した。PFOAは2.3~14.9 ng/L、PFOSでtr~3.4 ng/Lであり、両物質とも減少傾向を示した。

PFOSおよびPFOAの代替物質とされるPFHxAとPFBS²⁵⁻²⁷⁾の経年変化を図14に示した。12Bでは両物質とも明確な傾向は認められなかったが、北湖よりも流入負荷の影響を受けやすい南湖の6BではPFHxAが緩やかな上昇傾向を示した。

琵琶湖表層における2011年度から2015年度までのPFCsの検出状況に明確な変動はないものの、PFOAおよびPFOSの減少傾向が各調査地点で、PFOAの代替物質で

あるPFHxA、およびPFHpAの増加傾向が一部の調査地点でそれぞれ認められた。これはPFOAおよびPFOAの規制の動きを受け、メーカー等による自主的なPFCsの使用削減や代替化等の対応がとられていることが一因と考えられる。

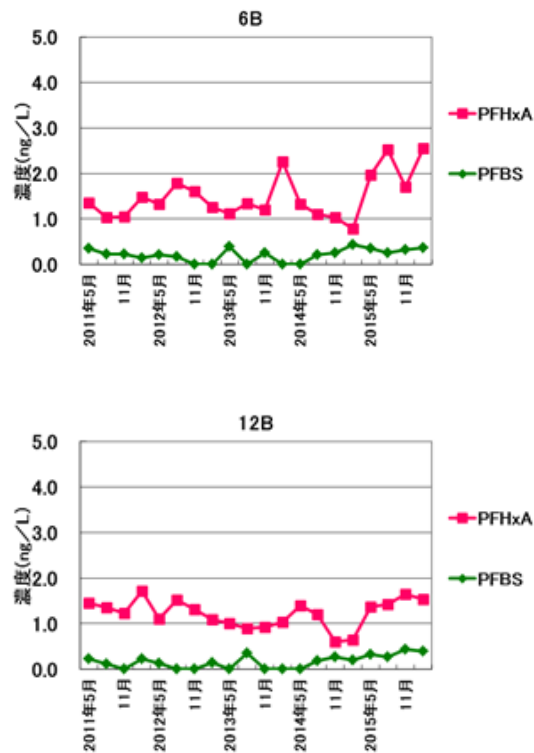


図14 唐崎沖中央(6B)および南比良沖中央(12B)におけるPFHxAおよびPFBSの経年変化

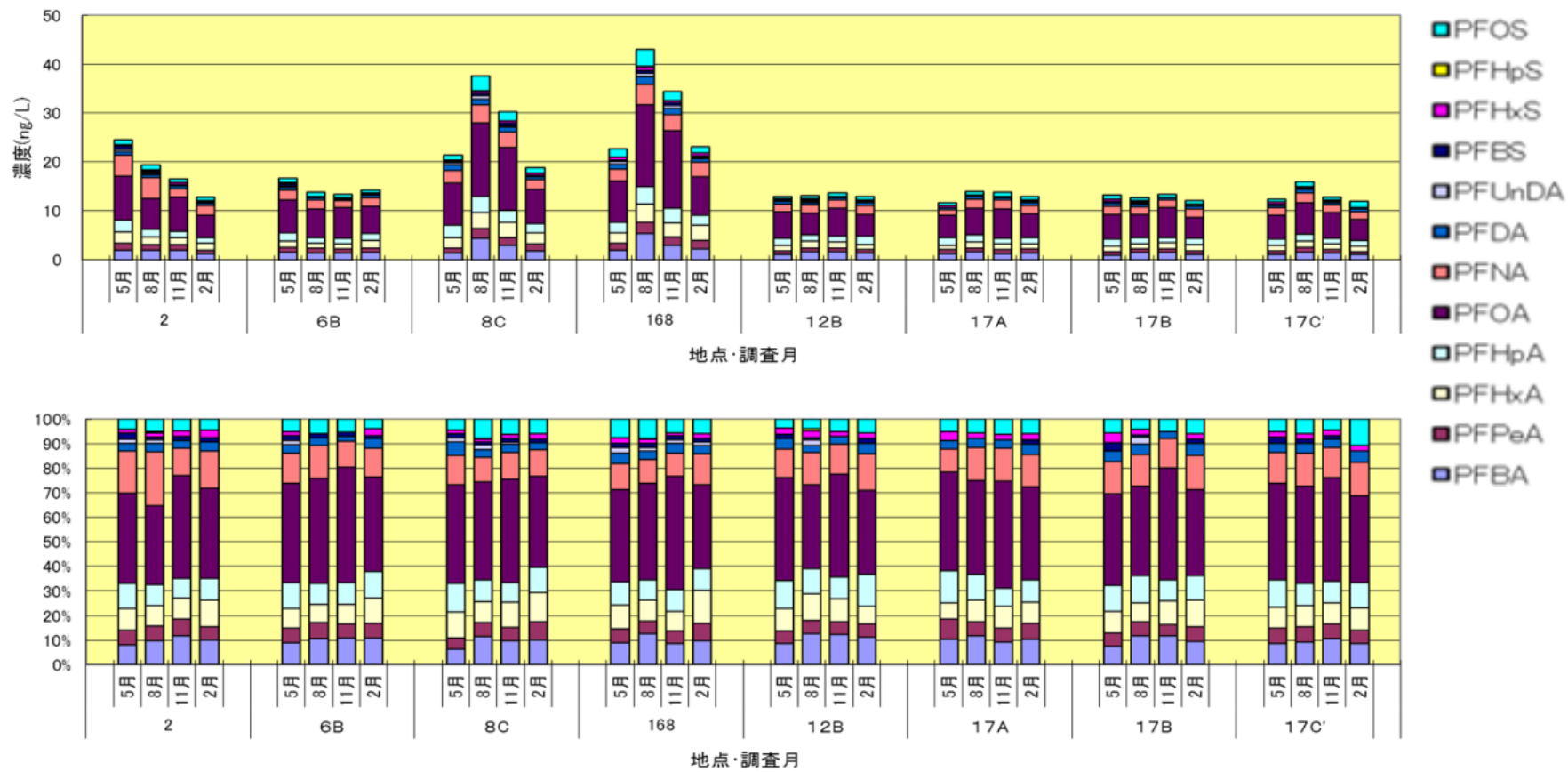


図 11 琵琶湖・瀬田川の各調査地点における調査月ごと PFCs 濃度（上）、組成割合（下）（2011 年度）

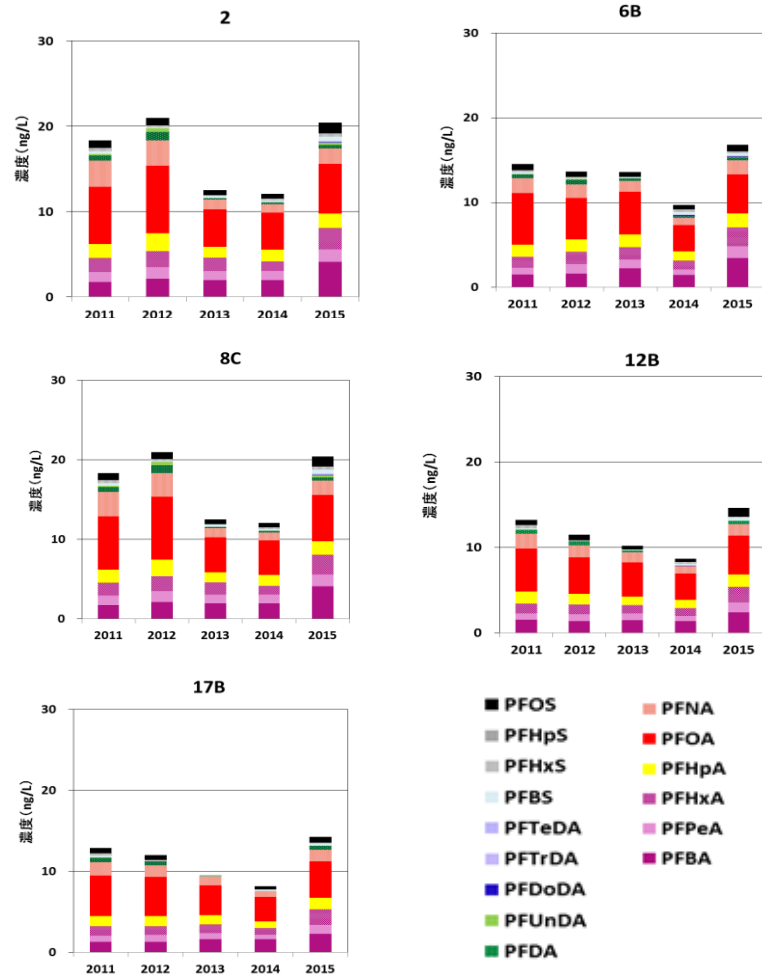


図12 琵琶湖・瀬田川における2011年度から2015年度までのPFCAの年間平均濃度の経年変化と構成比率の変化

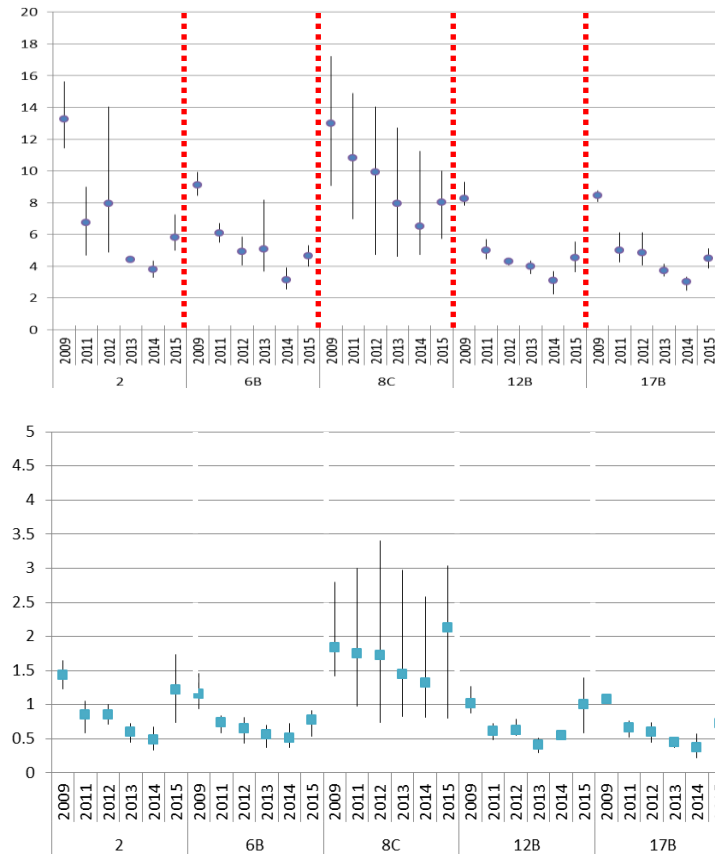


図13 琵琶湖・瀬田川における2009年度から2015年度までのPFOS（上）およびPFOA（下）の経年変化

2.4.3.2. 琵琶湖（底層水）の調査結果

2011 年度に実施した水深約 90m の今津沖中央(17B)の地点における、表層水（表層から 0.5m）と底層水（湖底から約 1m）の PFCs 濃度の調査結果を図 15 に示す。

琵琶湖北湖では、春から初冬にかけて水温成層が形成され³¹⁾表層と底層の湖水の混合が起こらなくなる。冬になり、表層の水温が低下して底層との温度差がなくなり季節風の影響を受けると、その成層が消滅し³¹⁾琵琶湖全層での湖水の鉛直混合が起こる。このことから、底層水の調査時期として水温躍層のある 11 月と、湖水の鉛直混合の起こった 2 月を選定した。

PFCs 濃度と構成比率とも、11 月と 2 月で表層水と底層水の間には顕著な差は見られなかった。2.4.3.1 で前述したとおり、北湖の表層水では地点・季節による大きな差が見られなかったことから、PFCs は、閉鎖性の高い水域や流入負荷の影響を受ける河口付近を除き、地点および水深によらずほぼ同様であると考えられた。

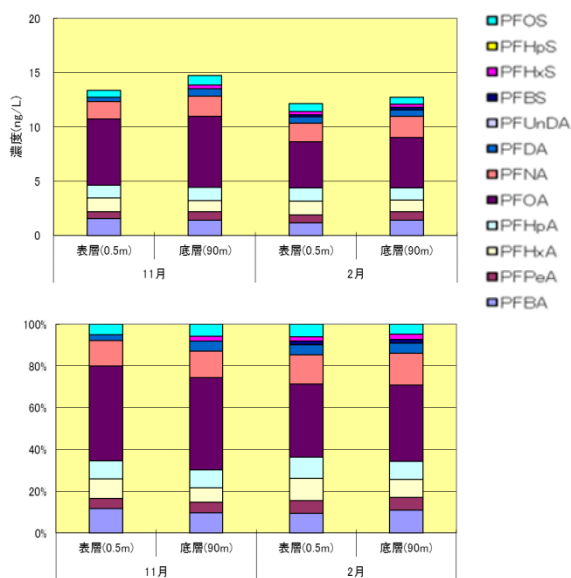


図 15 17B における表層水・底層水の PFCs 濃度（上）と構成比率（下）

2.4.3.3. 琵琶湖への流入河川の調査結果

2011 年に実施した琵琶湖・瀬田川への流入河川における PFCs 調査結果を図 16 に示す。調査時期は 8 月で、調査日の前 10 日間に顕著な降水は観測されなかった。

各河川で検出された PFCs の濃度範囲（平均値）は 0.48～59.2（26.4）ng/L であり、濃度差が大きか

った。琵琶湖と同様に C12 以上の PFCAs と C9 以上の PFASs は検出されなかった。河川ごとの結果では、南湖東部の流入河川および西部の和迹川で比較的高濃度であり、北部の姉川や犬上川、安曇川では多くの項目で検出下限未満や定量下限未満となった。PFCs の構成比率は、各河川に共通して PFOA（C8）が最も高く、次いで PFNA（C9）であった。

2.4.3.4. 琵琶湖底質の調査結果

2013 年 5～12 月に調査した底質における PFCs の検出状況を図 17 に示す。C4～C7 の PFCs と C9 の PFNA は検出されなかった。

PFCs 15 種類の合計濃度範囲（平均値）は ND～4.42（1.51）ng/g dry wt. であった。PFCs 合計濃度は北湖中央域の水深の深い粘土質の地点で高く、南湖中央域の水深の浅い粘土質の地点で低い傾向が認められた。一方、琵琶湖西岸の砂泥質では琵琶湖中央域より低濃度であり、琵琶湖東岸の砂泥質ではさらに低い値を示した。構成比率は、北湖中央域においては PFCs の構成比率は平均値で PFUnDA（C11）>PFTrDA（C13）>PFDoDA（C12）>PFDA（C10）の順番となっているが、南湖中央域（4B および 6B）では PFDoDA（C12）>PFTrDA（C13）>PFOS（C8）>PFDA（C10）となり、順番が異なった。一方、琵琶湖西岸では PFDoDA（C12）≥PFTrDA（C13）>PFUnDA（C11）>PFOS（C8）>PFDA（C10）、琵琶湖東岸では PFOS（C8）≥PFDA（C10）≥PFDoDA（C12）>PFOA（C8）となり、地点間で差が認められ、底質の性状により、構成比率が異なった。

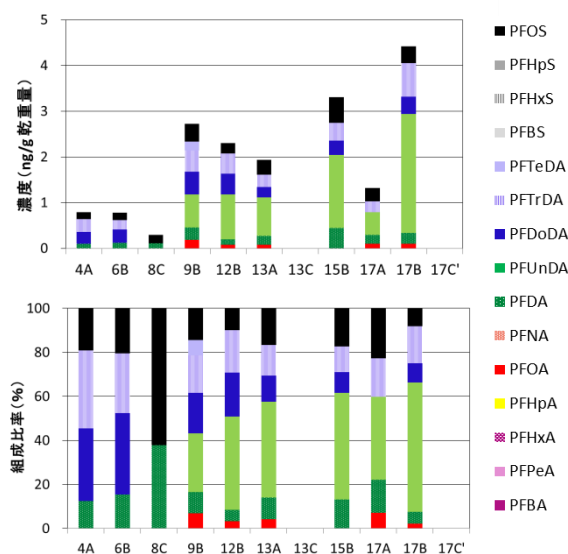


図 17 琵琶湖底質における各地点の PFCs 濃度（上）および構成比率（下）

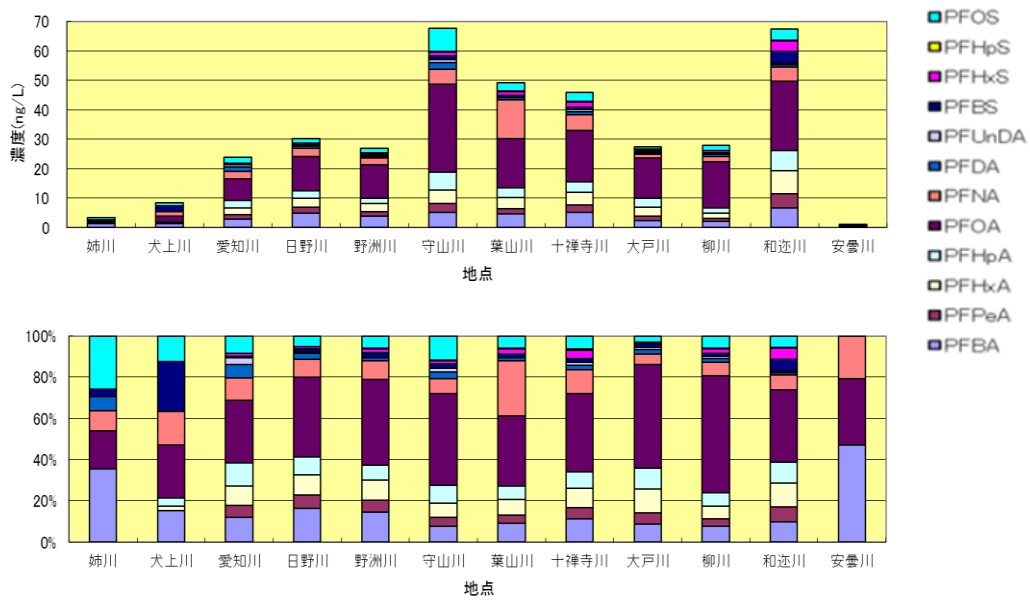


図16 琵琶湖・瀬田川への流入河川におけるPFCS濃度（上）および構成比率（下）（2011年度）

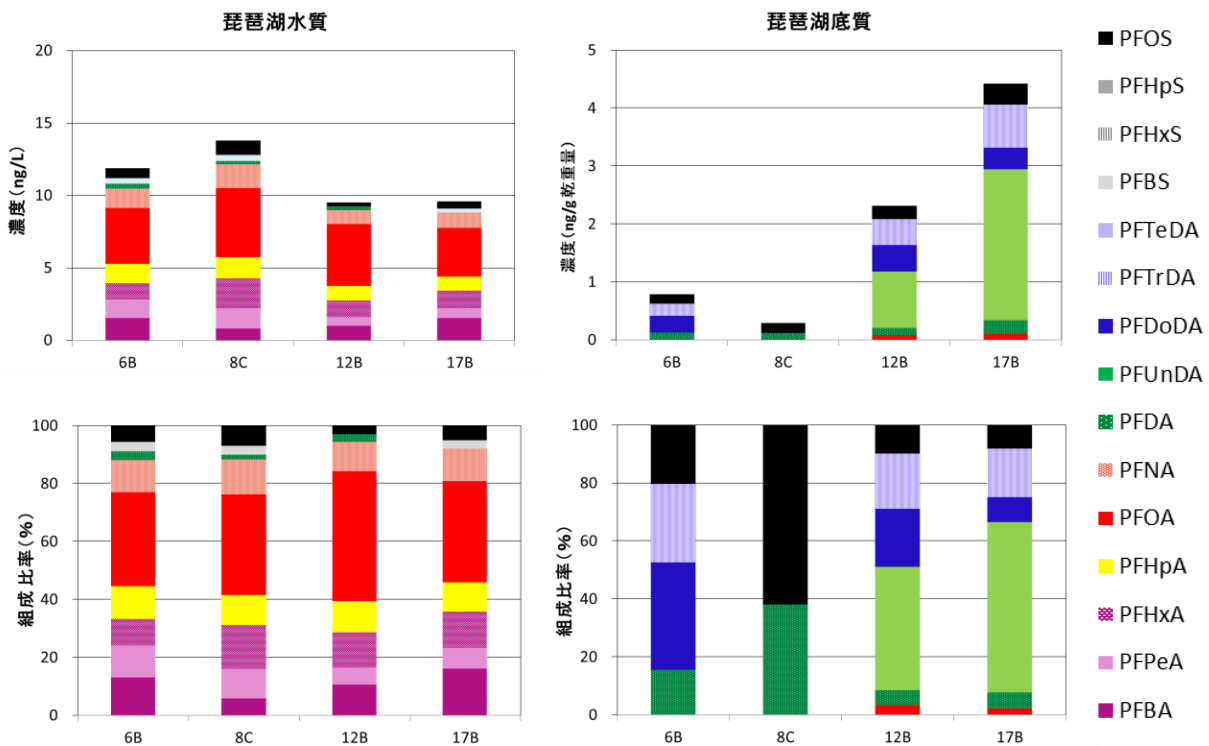


図18 琵琶湖表層水と底質のPFCS濃度（上）と構成比率（下）

2.4.3.5. 琵琶湖水質結果と底質結果の比較

2013年5～12月に調査した水質および底質におけるPFCs 15種類の検出状況の比較を図18に示す。水質では南湖(6Bおよび8C)と北湖(12Bおよび17B)との間でPFCs合計濃度の差が少なかったが、底質では北湖が南湖より高濃度となり、水深が深いほど(17B約90m、12B約60m、6B約4m、8C約2m)高い値を示した。一方、PFCsの構成比率は水質において南湖と北湖で違いがなく、PFOA(C8) > PFHxA(C6) ≥ PFBA(C4) ≥ PFNA(C9) ≥ PFHpA(C7) > PFPeA(C5) > PFOS(C8)の順番となったが、底質においては差があり、南湖でPFDoDA(C12) > PFTTrDA(C13) > PFOS(C8) > PFDA(C10)および北湖でPFUnDA(C11) > PFTTrDA(C13) > PFDoDA(C12) > PFOS(C8)の順番となった。

琵琶湖水ではC4～C9のPFCsの比率が大きく、C12～C14のPFCsが不検出となったが、琵琶湖底質ではC10～C13のPFCsおよびPFOSの比率が大きく、C4～C7のPFCsが不検出となった。栗原らは³²⁾、土壌試料を用いたPFCsの分配試験を行い、炭素数が長いPFCsほど分配定数が大きくなることを報告しており、炭素数C10～C13と炭素鎖が長めのPFCsは水中の懸濁物質に吸着し湖底に沈降しやすく、逆にC4～9と炭素鎖が短めのPFCsは水中に残存しやすいものと考えられた。

2.5. 結論

化粧品防腐剤に幅広く使用される2-フェノキシエタノール、パラベン類6物質(メチルパラベン、エチルパラベン、イソプロピルパラベン、プロピルパラベン、イソブチルパラベンおよびブチルパラベン)、薬用せっけんの殺菌成分として使用されるトリクロサンの計8物質について、GC/MSを用いた一斉分析法を開発し、琵琶湖水での検出状況について調査を行った。その結果、2-フェノキシエタノールおよびエチルパラベンを除く6物質が琵琶湖内で2～39ng/Lの濃度で検出された。

これらの物質について、環境省の「化学物質の環境リスク初期評価ガイドライン(平成26年12月版)³⁾」に準拠し初期リスク評価(生態リスク)を行った。その結果、琵琶湖水における検出値は、急性毒性データおよび慢性毒性データの文献検索結果等から設定したPNECを大幅に下回り、「現時点では作業の必要なし」のレベルであった。

2008年度から2009年度にかけて実施したPFOSおよびPFOAに係る実態調査に引き続き、2011年度から2015年度にかけて両物質とその類縁物質の計17種のPFCs

を対象とした追加調査を実施した。

2011年度の琵琶湖・瀬田川での表層水調査結果では、北湖の各地点および南湖中央域においてPFCsが10.6～13.5ng/Lの濃度で検出された。また地点や季節による年間の濃度および構成比率に大きな違いが見られなかった。北湖の水深約90m地点から採取した底層水中のPFCs濃度は、同地点での表層水と同程度であった。PFCsは、閉鎖性水域等一部の水域を除き、地点・水深によらずほぼ一様に分布しているものと考えられた。

2011年度から2015年度までの表層水中のPFCsの年間平均値には明確な傾向はないものの、個々の物質では、PFOAおよびPFOSの減少傾向や、これらの物質の代替物質であるPFHxA、およびPFHpAの増加傾向が認められた。その一因として、メーカー等による自主的なPFCの使用削減や代替化の措置が考えられた。

2011年度の琵琶湖・瀬田川への流入河川調査の結果、各河川で検出されたPFCsの濃度範囲(平均値)は0.48～59.2(26.4)ng/Lであり、濃度差が大きかった。琵琶湖と同様にC12以上のPFCAsとC9以上のPFASsは検出されなかった。

2013年度に実施した琵琶湖底質調査の結果、地点ごとに検出されるPFCsが異なっていたが、多くの地点でC9以上のPFCAsが検出され、PFOSの比率が高い地点が認められた。各地点でPFCsの検出物質と構成比率の割合に差が認められたのは、砂質や粘土質等の底質の性状の違い等によるものと考えられた。

2013年度の琵琶湖での水質調査結果と底質調査の結果を比較すると、南湖と北湖で表層水のPFCs濃度に差はなく、またC4～C9のPFCsの構成比率が大きく、C12～C14のPFCsは不検出であった。一方、琵琶湖底質では、南湖と北湖で差が認められ、C10～C13のPFCsおよびPFOSの構成比率が大きかった。炭素数C10～C13と炭素鎖が長めのPFCsは水中の懸濁物質に吸着し湖底に沈降しやすく、逆にC4～9と炭素鎖が短めのPFCsは水中に残存しやすいものと考えられた。

初期リスク評価(生態リスク)においてPNECを設定したPFCs7種(PFHxA、PFHpA、PFOA、PFNA、PFDA、PFBSおよびPFOS)について、本調査における琵琶湖水・河川水からの検出濃度は、いずれもPNECを大幅に下回っており、「現時点では作業の必要なし」のレベルであった。

今後は、一斉分析法を確立したベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤の琵琶湖流域での検出状況を把握するとともに、別の化学物質に係る一斉分析法の検討や実態調査に取り組み、情報収集を継続する予定である。

3. 総量リスク評価のための生態影響試験等の手法確立

生物応答を用いた生態影響試験は、前述した個々の化学物質濃度の評価では捉えられない、未知の化学物質や複数の化学物質による影響や毒性の有無を総合的に把握・評価できる。

当センターでは、毒性情報の少ない化学物質を対象としたヒメダカによる急性毒性試験を行い、その結果を前述の初期リスク評価に活用したので報告する。また、生物応答を用いた水環境の評価・管理に係る制度についての検討を環境省が行っており、これに関連する「生物応答を用いた排水試験法（検討案）」³⁶⁾（日本版 WET 試験）に準じて試験を行った結果についても報告する。

*WET(Whole Effluence Toxicity)

3.1. ヒメダカを用いた急性毒性試験

ヒメダカによる急性毒性試験法を試行した後、本法を毒性情報の少ない未規制化学物質に適用することにより急性毒性試験データを蓄積した。

急性毒性試験法の技術的な検討には、毒性情報の充実しているトリクロサン（殺菌剤）およびブタクロール（水田除草剤）を用いた。毒性情報収集の対象物質としては、一斉分析法の検討を行った防腐剤のパラベン類 6 物質（メチルパラベン、エチルパラベン、イソプロピルパラベン、プロピルパラベン、イソブチルパラベンおよびブチルパラベン）および紫外線吸収剤 4 物質（UV-P、UV-326、UV-327 および UV-328）を選択した。

3.1.1. 方法

OECD テストガイドライン 203³³⁾に準拠し、ヒメダカを化学物質に暴露し、死亡率を測定することにより化学物質の半数致死濃度 96hLC50 を求めた。

[試験条件]

試験方式：24h 毎の半止水式、暴露期間：96h、

収容量と供試魚の数：最高密度で 1.0 魚体 g/L とし各試験濃度区および対象区で 7 尾の供試魚を用いた。

試験濃度：5 濃度区を等比級数的にとり、公比は 2 とした。

飼育方法：温度 20±1℃ 明期 16h 給餌なし

3.1.2. 結果

3.1.2.1. ヒメダカによる急性毒性試験の試行結果

2014 年度に、トリクロサン（殺菌剤）およびブタク

ロール（水田除草剤）を用いてヒメダカによる急性毒性試験について検討を行った。測定結果は図 19 に示したとおりであり、両物質とも既存の文献値³³⁾と比較的一致しており、当センターにおいて本試験を実施することが確認できた。

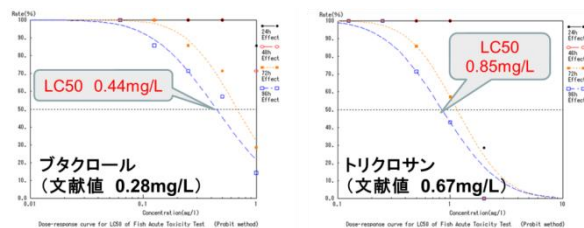


図 19 トリクロサンおよびブタクロールについての半数致死濃度（96hLC50）

3.1.2.2. ヒメダカによる急性毒性試験による毒性情報の収集

2015 年度にパラベン類 6 物質、2016 年度に紫外線吸収剤 4 物質を対象とし、ヒメダカによる急性毒性試験を実施した。一例としてプロピルパラベンの試験結果を図 20 に示した。パラベン類 6 物質の 96 時間後の半数致死濃度（96 h LC₅₀ 値）はメチルパラベン 26.7mg/L、エチルパラベン 8.9mg/L、イソプロピルパラベン 7.0mg/L、プロピルパラベン 4.1mg/L、イソブチルパラベン 7.6mg/L、ブチルパラベン 2.5~5.0 mg/L と炭素数の多い物質ほど毒性値が高い傾向にあることが確認された。この毒性データについては、2.3.2.1 における PNEC 設定のための毒性情報の一部として活用した。

紫外線吸収剤 4 物質の 96 時間後の 96 h LC₅₀ 値は UV-P、UV-326、UV-327 および UV-328 のいずれについても >10mg/L となり、ニジマス、コイ等の他魚種による文献値（UV-P>0.17mg/L、UV-326>1.0mg/L、UV-327>100mg/L、UV-328>0.078mg/L）^{18, 34-36)}と比較して矛盾のない値であった。

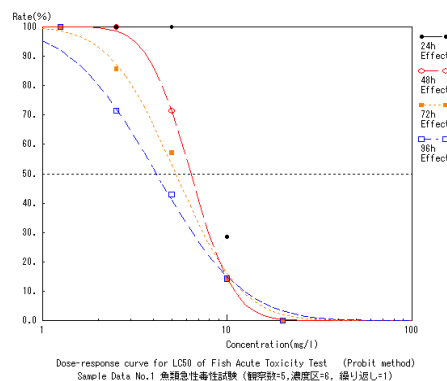


図 20 プロピルパラベンの LC50 値算出のための用量-反応曲線

3.2. 甲殻類と魚類を用いた WET 試験

WET 試験は、排水が生態系に与える影響を魚類、甲殻類、藻類などの水生生物を用いた毒性試験により、総合的に評価する試験方法である。欧米では 1990 年代に水質規制に導入され、アジアでは韓国が 2011 年に導入した。

現在、日本では、環境法令における排水規制や環境基準項目の水質評価は、個々の化学物質濃度を定量し、基準値と比較することとなっている。しかし、排水や環境水中には複数の化学物質が含まれており、前述の評価方法では、これらの複合的な影響が把握できず、課題の一つとなっている。

そこで、環境省が導入を検討しているのが日本版 WET 試験（以下「WET 試験」という。）である。検討されている方法は、生物の生死で毒性を判断するのではなく、生物が繁殖し次世代まで生き続けることができるかを確認することで、より低濃度の毒性影響を評価できると期待されている試験方法である。

当センターでは、環境省が導入を検討している WET 試験の標準化や体制の確立に貢献するため、国立環境研究所および地方環境研究所との共同研究（平成 25～27 年度の I 型共同研究、平成 28～30 年度の II 型共同研究）に参画し、甲殻類（ニセネコゼミジンコ）および魚類（ゼブラフィッシュ）に係る事業所排水や環境水を用いた WET 試験を実施した。

WET 試験の有効性を実証するため、試験生物である甲殻類（ニセネコゼミジンコ）および魚類（ゼブラフィッシュ）の飼育・培養方法を検討し、当センターでの飼育技術・継代培養方法を確立した。

さらに、WET 試験を用いて、未規制の化学物質を含有する模擬排水を用いた試験を行い、ヒメダカを用いた急性毒性試験との応答比較を行った。

3.2.1. 方法

3.2.1.1. 甲殻類（ニセネコゼミジンコ）

甲殻類を用いた試験では、ニセネコゼミジンコを用いてミジンコ繁殖試験を行った。この試験に使用するニセネコゼミジンコは、生後一週間以上経過し、累計産仔数が 15 匹以上、かつ産仔回数が 3 回以上の親から生まれた仔虫を試験水にばく露し、その後の繁殖の様子を観察する。死亡、産仔数とその状態、休眠卵の有

無等、繁殖への影響を指標とし、試験水の生物影響を評価した。

[試験条件]

試験方式：半止水式（二日に一回換水）

試験期間：8 日間

試験濃度：公比 2、3 濃度区（80%, 40%, 20%）

生物数：10 頭/濃度区、試験温度：26±1℃

照明：16h 明/8h 暗の周期

給餌：毎日 市販クロレラ及び YCT

3.2.1.2. 魚類（ゼブラフィッシュ）

魚類を用いた試験では、ゼブラフィッシュを用いて胚・仔魚期における短期毒性試験を行った。この試験法は、産卵後間もない受精卵を試験水にばく露し、その後の成長の様子を観察する。死亡、孵化の遅れ、遊泳障害等の影響を指標とし、試験水の生物影響を評価した。

[試験条件]

試験方式：止水式、試験期間：約 9 日間、

試験濃度：公比 2、3 濃度区（80%, 40%, 20%）もしくは 5 濃度区（希釈倍率 1.25 倍、2.5 倍、5 倍、10 倍、20 倍）

生物数：60 卵/濃度区、試験温度：26±1℃

照明：16h 明/8h 暗の周期、給餌なし

3.2.2. 結果

3.2.2.1. ニセネコゼミジンコ

共同研究において、2014 年度は環境水と事業所排水、2015 年度および 2016 年度は環境水（河川水）を用いた同一試料による試験を、前述の方法により試験条件を満たした個体を用いて実施した。2016 年度の試験結果を図 21 に示す。対照区において、親個体の死亡率が 20% 以下であったこと、産仔数とその状態および休眠卵の生産が確認されなかったことから試験は成立し、20% 濃度区と 40% 濃度区の合計産仔数が対照区の合計産仔数より多い結果となった。濃度区間の有意差はなく、この河川水はニセネコゼミジンコの繁殖に対する影響が低いと判断した。この結果について、他の調査機関と同様の傾向および結果であり、異なる施設での再現性を確認した。このことから試験生物の飼育、継代培養を含めた WET 試験の技術確立と、試験精度の確認ができた。

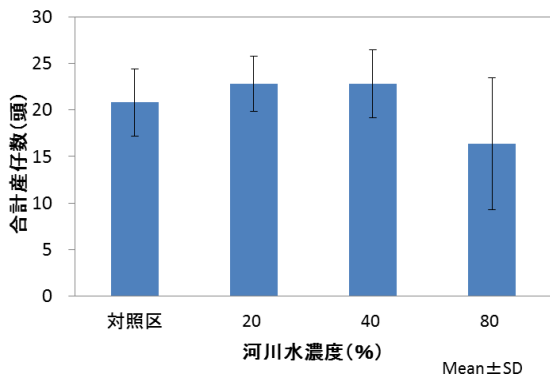


図 21 ニセネコゼミズを用いた WET 試験結果 (河川水)

3.2.2.2. ゼブラフィッシュ

共同研究において、2014 年度は飼育方法の検討を行い、2015 年度および 2016 年度は環境水 (河川水) を用いた同一試料による試験を、前述の方法により試験条件を満たした個体を用いて実施した。2016 年度の試験結果を図 22 に示す。ふ化率、ふ化後生存率、生存率、生存指数の最大無影響濃度 (NOEC) は、すべて河川水濃度 80% であった。全ての濃度区においてふ化は正常であり、有意差は認められなかったことから、この河川水はゼブラフィッシュに対する影響が低いと判断した。この結果について、他の調査機関と同様の結果であり、異なる施設間での再現性を確認した。このことから当センターにおける飼育方法を確立、短期毒性試験の技術確立と、試験精度の確認ができた。

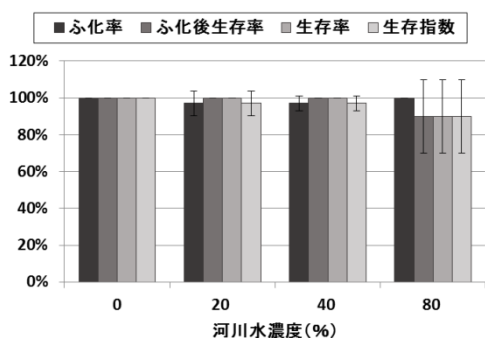


図 22 ゼブラフィッシュを用いた WET 試験結果 (河川水)

また、2015 年度にトリクロサン (殺菌剤)、2016 年度にベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤 4 物質 (UV-P、UV-326、UV-327 および UV-328) を対象とした短期毒性試験について検討を行い、WET 法とヒメダカによる急性毒性試験法の応答の差を確認した。トリクロサン含有水での魚類を用いた試験結果を図 23 に示す。

ヒメダカによる急性毒性試験実施済みのトリクロサン含有水を試験水として WET 法を実施した結果、LC50 値は 0.15mg/L、ヒメダカによる急性毒性試験法による 96hLC50 値は 0.67~0.85mg/L で、4~5 倍程度の応答であることを確認した。

ベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤 4 物質による WET 法を実施した結果、いずれについても最大無影響濃度が >10mg/L となり、ヒメダカによる急性毒性試験法と同程度の応答であることを確認した。

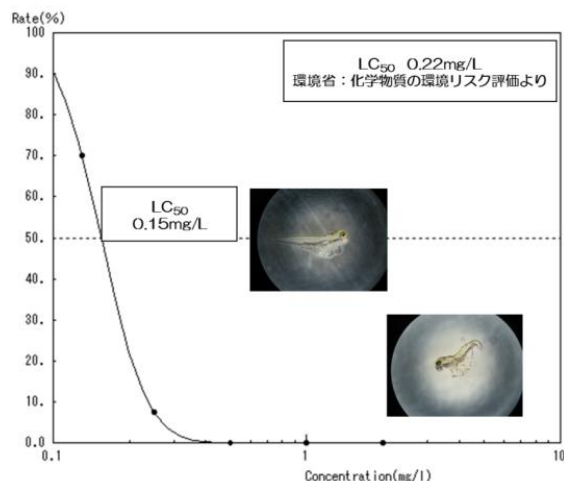


図 23 ゼブラフィッシュを用いた WET 試験結果 (トリクロン)

3.3. 結論

ヒメダカによる急性毒性試験法を毒性情報の少ない化学物質に適用し急性毒性試験データを取得し、2.3 における化学物質の初期リスク評価に活用した。対象物質は、パラベン類 6 物質 (メチルパラベン、エチルパラベン、イソプロピルパラベン、プロピルパラベン、イソブチルパラベンおよびブチルパラベン) のほか、紫外線吸収剤 4 物質 (UV-P、UV-326、UV-327 および UV-328) であり、パラベン類については本結果を PNEC を設定するための毒性情報として活用した。紫外線吸収剤については、毒性情報収集のための文献調査や琵琶湖流域での検出状況を調査したのち、PNEC や PEC を設定し初期リスク評価を行う予定である。

環境省において導入が検討されている WET 試験について、国立環境研究所および地方環境研究所との共同研究に参画し、試験生物の飼育・培養方法および WET 試験実施に係るノウハウを収集し、ニセネコゼミズおよびゼブラフィッシュに係る飼育技術・継代培養方法を確立することで試験の実施を可能とした。さらに、同一試料を用いた試験を行ったところ、他の参加機関と同様の結果が得られ、当センターで実施したニ

セネコゼミジンコおよびゼブラフィッシュに係る試験精度の確認ができた。

また、トリクロサン、ベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤含有水を対象にヒメダカによる急性毒性試験とゼブラフィッシュによる試験の応答比較を行った。その結果、トリクロサンについては、ヒメダカによる急性毒性試験に比べゼブラフィッシュによる試験の方が4~5倍程度感度が高く、ベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤含有水については大きな感度の差がなく、物質により応答差があることが確認できた。

引き続き、共同研究に参画し、WET試験に係る情報・技術交流を行うとともに、環境基準値に設定した模擬試料にWET試験を適用すること等により、同試験のノウハウの蓄積や特性把握を行う予定である。

4. 引用文献

- 1)環境省ホームページ：化学物質の環境リスク初期評価（第14次とりまとめ）の結果について。
<http://www.env.go.jp/press/103426.html>
- 2)居川俊弘、田中勝美、津田泰三、井上亜希子（2010）：琵琶湖および流入河川におけるPFOS・PFOAの汚染実態把握、琵琶湖環境科学研究センター研究報告書、6：124-128.
- 3)環境省ホームページ：化学物質の初期リスク評価ガイドライン（平成26年12月版）
<http://www.env.go.jp/chemi/report/h29-01/pdf/chpt1/1-2-1.pdf>
- 4)木村久美子、亀田豊、渡部茂和、益永茂樹（2012）：さいたま市内を流れる河川水における防腐剤の検出とその季節変動、第46回日本水環境学会年会講演集：525.
- 5)酒井学（2014）：鶴見川におけるプロピルパラベンについて、横浜市環境科学研究所報、38：12-14.
- 6)滋賀県ホームページ：平成29年度公共用水域測定計画（案）。
http://www.pref.shiga.lg.jp/shingikai/biwako_mizukankyou/20170328.html?edit=1
- 7)山口貴弘、柿本健作、永吉晴奈、小西良昌、梶村計志（2014）：魚介類中ベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤の汚染実態調査について、大阪府立公衛研所報、52：35-40.
- 8)環境省：化学物質の環境リスク評価 第6巻（平成20年5月）
<http://www.env.go.jp/chemi/report/h19-03/index.html>
- 9)環境省：化学物質の環境リスク評価 第9巻（平成23年3月）
<http://www.env.go.jp/chemi/report/h23-01/index.html>
- 10)日本化学物質安全・情報センター OECD：CCAP-SIAP/ITAP 日本語訳
- 11)環境省（Ⅱ）生態影響試験結果一覧（平成27年3月版）
- 12)Danish Ministry of the Environment, Survey of parabens (2013)
- 13)3M Technical Data Bulletin
- 14)Wildlife International Ltd: PFBS:A96-hour static acute toxicity test with the freshwater alga (*Selenastrum capricornutum*). Wildlife International Ltd., Project No. 454A-129 (2001)
- 15)Wildlife International Ltd.: Perfluorobutane sulfonate, Potassium salt (PFBS):A48-hour static acute toxicity test with the cladoceran (*Daphnia magna*). Wildlife International Ltd., Project No. 454A-118A (2001)
- 16)Wildlife International Ltd: Perfluorobutane sulfonate, potassium salt (PFBS): A 96-hour static acute toxicity test with the fathead minnow (*Pimephales promelas*). Wildlife International Ltd., Project No. 454A-115 (2001)
- 17)Wildlife International Ltd.: Perfluorobutane sulfonate, Potassium salt (PFBS):A96-hour static acute toxicity test with bluegill (*Lepomis macrochirus*). Wildlife International Ltd., Project No. 454A-114 (2001)
- 18)Wildlife International Ltd (2001) PFBS: A semi-static life-cycle toxicity test with the cladoceran (*Daphnia magna*). Wildlife International Ltd., Project No. 454A-130 (2001)
- 19)Latala, A., Nedzi, M. and Stepnowski, P.: Acute toxicity assessment of perfluorinated carboxylic acids towards the Baltic microalgae., *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 28, 167-171 (2009)
- 20)Boudreau T, Sibley P, Mabury SA, Muir DCG, Solomon KR: Toxicity of perfluoroalkyl carboxylic acids of different chain lengths to selected freshwater organisms, Department of Environmental Biology, Masters Thesis, University of Guelph, ON, p. 134 (2002)
- 21)Hoke R, Bouchelle L, Ferrell B, Sloman T, Rivenbark J.: Comparative acute toxicity of a suite of polyfluorinated acids to green algae, an invertebrate and freshwater fish. Poster

presentation. SETAC North America, 30th Annual Meeting, New Orleans, LA. (2009)

22)環境省ホームページ：化学物質の環境リスク評価 第7巻（平成21年3月）

<http://www.env.go.jp/chemi/report/h21-01/index.html>

23)琵琶湖環境科学研究センター研究報告書（平成24年度）

http://www.pref.shiga.lg.jp/d/biwako-kankyo/lber/03yomu/03-01kankoubutsu/03-01-03research_report/no9/files/report08.pdf

24) 近藤博文、蒲敏幸、田口寛(2011)：京都府内の河川における有機フッ素化合物の実態について，京都府保環研年報，56：72-76.

25) 浦山豊弘、吉岡敏行、藤原博一、山辺真一、前田大輔(2011)：有害化学物質の環境汚染実態の解明と分析技術の開発に関する研究－岡山県の公共用水域における有機フッ素化合物の環境実態調査－，岡山県環境保健センター年報，35：51-58.

26) 中堀靖範：有機フッ素化合物(PFCs)と直鎖アルキルベンゼンスルホン酸及びその塩(LAS)の同時分析法の開発及び農薬分析への適用性の評価(2013)，熊本県保健環境科学研究所報，43，：50-57.

27) 竹峰秀祐、井上実沙規、松村千里、山本勝也、近藤明(2014)：大阪湾のペルフルオロヘキサノ酸(PFHxA)の挙動の調査，第23回環境化学討論会講演要旨集，441.

28) 吉村誠司、鶴田朋子、巽有紀子、服部晋也、稲田康志、北本靖子(2016)：淀川水系を取り巻く有機フッ素化合物(PFCs)の変遷と大阪市の取り組み，大阪市水道局水質試験所調査研究ならびに試験成績，67：30-34.

29) 環境省(2008)：化学物質環境実態調査実施の手引き，67-100

30) 滋賀県(2009)：滋賀の環境2012（平成24年度版環境白書）－資料編－

31) 宗宮功編著(2000)：琵琶湖その環境と水質形成：99-124，技報堂出版，東京.

32) 栗原正憲、植村匡詞、吉澤正(2013)：廃棄物処分場における有機フッ素化合物の実態調査，千葉県環境研究センター年報，11：203-212.

33) OECD GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS 203 Fish, Acute Toxicity Test (1992)

34) SONGWON Safety Data Sheet acc. to OSHA HCS Version No: 6

35) OECD 化学物質対策の動向(第17報)－第28回OECD高生産量化学物質初期評価会議(2009年バリ)－

36) 排水(環境水)管理のバイオアッセイ技術検討分

科会(2015)：生物応答を用いた排水試験法(検討案)

5. 執筆分担

本研究は、環境監視部門化学環境係と同部門生物圏係とで実施した。本研究の原稿執筆は、「3.2 甲殻類と魚類を用いた WET 試験」とこれに関連する部分を生物圏係が担当し、その他の部分を化学環境係が担当した。