

緊急時における化学物質調査手法の検討

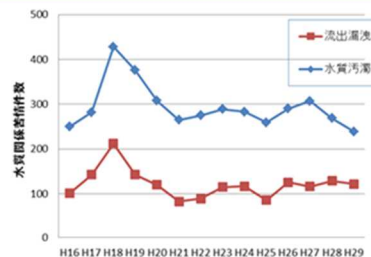
環境監視部門 化学環境係・生物圏係

1. 目的

化学物質の流出等緊急時の原因・影響把握に資する調査手法を確立するため、ガスクロマトグラフ質量分析計(GC/MS)・液体クロマトグラフ質量分析計(LC/MS)を用いた物質同定、簡易定量手法および安全性確認のための魚類を用いた急性毒性試験による調査手法の検討を進める。

【現状における課題】

- 依然減少しない水質苦情件数
- 多岐にわたる化学物質
- 化学物質の社会・自然への影響
- 気候変動に伴う風水害の増加による化学物質流出の懸念



滋賀県内での水質関係の苦情発生件数の推移
(公害等調整委員会の公害苦情調査結果から)

【課題解決に向けた対応】

① 緊急事故時の物質同定、簡易定量手法の確立

- 国立環境研究所等との共同研究による、GC/MSでのデータベース情報の取得
- 県内での移動排出量実態(PRTR情報)を基にした、LC/MS分析対象物質の選定、分析法の検討



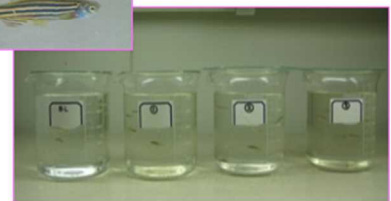
GC/MS



LC/MS

② 魚類を用いた緊急事故時の安全性の確認

- 国立環境研究所等との共同研究による、急性毒性試験に関する情報収集
- 環境基準項目について、魚の種類や成長度合いによる急性毒性試験結果の差異に関する知見の収集



急性毒性試験に用いるゼブラフィッシュ

2. 研究内容と結果

【サブテーマ①：機器分析による化学物質の緊急時調査手法の検討】

(1) 国立環境研究所Ⅱ型共同研究への参画

国立環境研究所と地方環境研究所で実施しているⅡ型共同研究「災害時等の緊急調査を想定したGC/MSによる化学物質の網羅的簡易迅速測定法の開発」に参画し、共通解析ソフト(各メーカーGC/MSのデータの読み込み、解析ができるソフト)の習得(図1)、GC/MS装置状態のチェック(異なるメーカーの

GC/MS でも、装置状態が一定の範囲内であることの確認)を実施して、当センター保有 GC/MS が本共同研究で使用可能であることを確認した。続いて、チェックスタンダード(約 100 種類の標準混合液)の測定を行い、検出の有無や検出濃度のばらつき具合の確認を行い、概ね良好な結果が得られた。

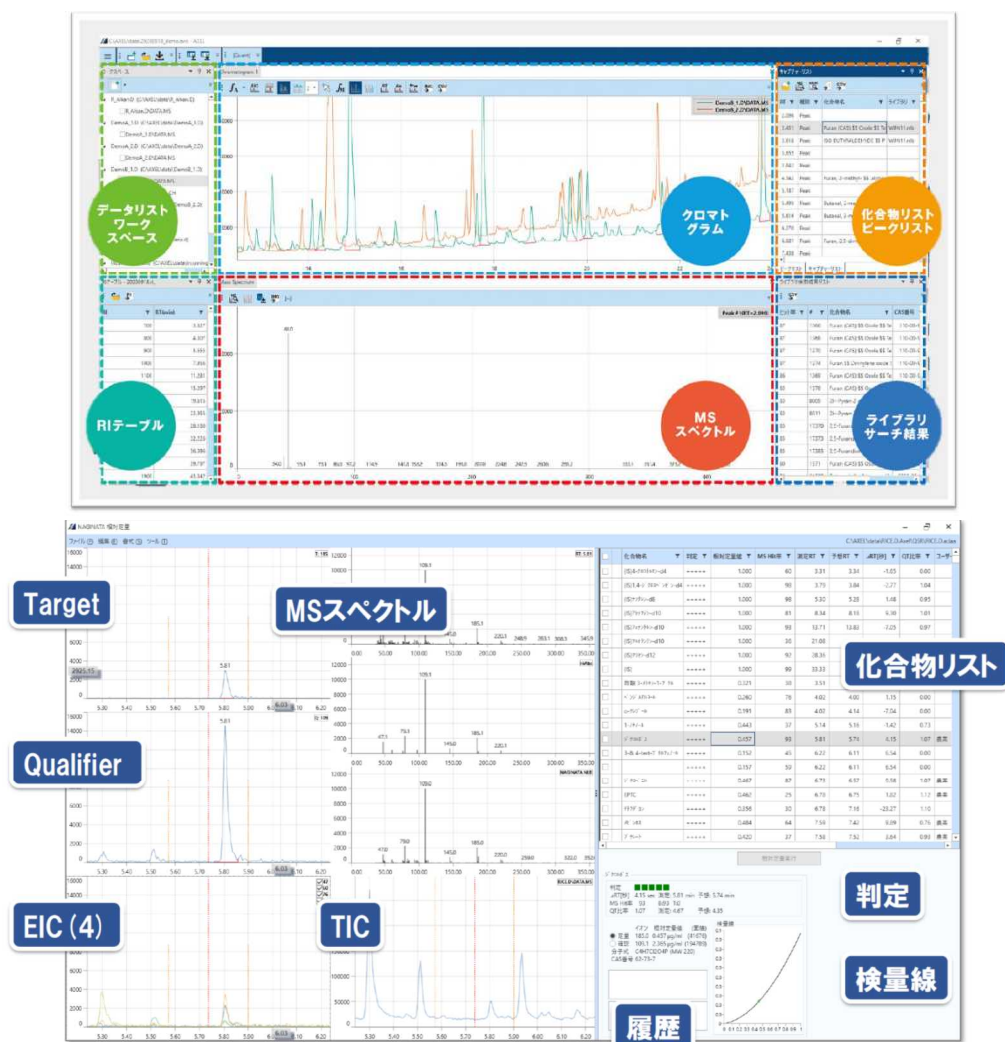


図 1 共通解析ソフトの解析画

(2) LC/MS 分析対象物質の見直し・分析方法の改良

・模擬濁水を用いた検討

河川底泥、琵琶湖底泥を用いて模擬濁水を作成し、第 5 期計画で検討した測定試料の調製方法が適用可能かを検討した(図 2)。その結果、第 5 期計画で分析可能となった 19 物質のうち、長鎖のポリ(オキシエチレン)=ノニルフェニルエーテル(NPE)を除く 18 物質について概ね測定可能であることがわかった。



図 2 濁水試料による試験

・分析時間の短縮化

ポジティブモードとネガティブモードを切り替えながらの同時分析(スイッチング分析)を行った結果、19 物質中 18 物質について概ね測定可能であった。4-*t*-ブチルフェノールについて、これまでの測定範囲では測定不可能であった。

・新規追加項目の検討

新規追加項目としてハロ酢酸類（クロロ酢酸(MCAA)、ジクロロ酢酸(DCAA)、トリクロロ酢酸(TCAA)）について検討を行った。これらの物質は、塩素消毒副生成物であり、クロロ酢酸およびトリクロロ酢酸は全国のPRTRデータで排出・移動量の実績がある。標準溶液の測定に関しては分析が可能であった(図3)。

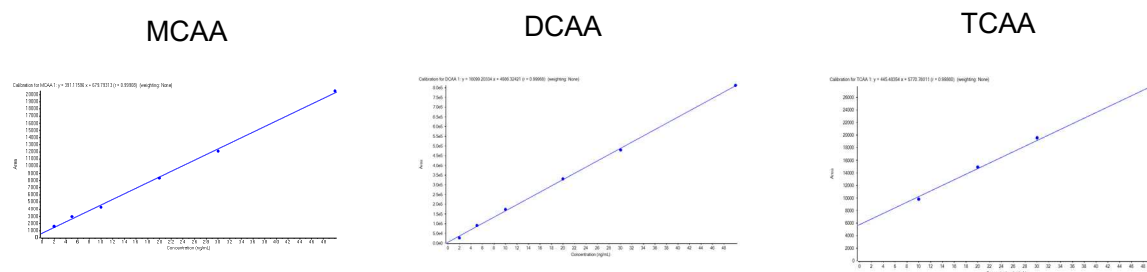


図3 MCAA、DCAA、TCAAの検量線

【サブテーマ②：魚類を用いた急性毒性試験による緊急時調査手法の検討】

(1) 急性毒性試験の精度確認

Ⅱ型共同研究「生物応答を用いた各種水環境調査方法の比較検討」に参画し、統一試料(河川サンプル)を対象とした、ゼブラフィッシュ(図4)を用いた急性毒性試験を実施した(図5)。その結果、すべての濃度区において生存は正常であり、対照区との有意差は認められなかったことから、当該河川水の96時間後の過半数致死濃度(LC50-96h)は80%以上と判断された。この結果について、他の試験機関が行った各種試験の結果と合致しており、当センターにおける飼育方法および急性毒性試験の技術確立と、試験精度の確認ができた。



図4 ゼブラフィッシュ
(上:メス、下:オス)

(2) ゼブラフィッシュの体長・系統による応答差の確認

ゼブラフィッシュの成長度および系統による結果の差異を比較するため、以下の3種類のゼブラフィッシュを用いて急性毒性試験を実施し、影響を比較した。

- ① 国立環境研究所系統のゼブラフィッシュで、ふ化後6か月程度以上経過した体長2cm程度のもの(以下、「国環研大」と呼ぶ。)
- ② 国立環境研究所系統のゼブラフィッシュで、ふ化後3か月程度経過した体長1cm程度のもの(以下、「国環研小」と呼ぶ。)
- ③ 市販のゼブラフィッシュで、体長1cm程度のもの(以下、「市販」と呼ぶ。)

対象物質には、亜鉛(塩化亜鉛)を選定した。なお亜鉛は、河川および湖沼における水生生物保全環境基準がいずれの類型でも0.03mg/Lと定められている。



図5 ゼブラフィッシュを用いた急性毒性試験の様子

その結果、それぞれの過半数致死濃度（LC50-96h）は以下の通り算出された。

	LC50-96h
国環研大	32.8mg/L
国環研小	28.3mg/L
市販	20.8mg/L

それぞれの LC50 間に 2 倍を超えるような差がなく、大きな感度の差はないものと考えられた。

(3) 急性毒性試験対応マニュアルの試案の作成・改訂

急性毒性試験対応マニュアル（試案）の作成を行った。試案においては、行政からの緊急依頼があった際に、当センターで急性毒性試験を実施する際の手順等について整理することができた。今後は、想定される事例や関係機関の役割等を明記したより実用的なものへとマニュアルを改訂することを目指していく。

3. まとめ

- II型共同研究「災害時等の緊急調査を想定した GC/MS による化学物質の網羅的簡易迅速測定法の開発」に参画し、共通解析ソフトの習得、GC/MS 装置状態のチェック、標準混合液の測定を実施し、当センター保有の GC/MS 状態が概ね良好であることが分かった。（サブテーマ①）
- LC/MS 分析対象物質の見直し・分析方法の改良を実施した結果、模擬濁水において概ね測定可能、同時分析法も概ね適用可能であった。また、新規対象物質（ハロ酢酸類）の標準物質が測定可能であった。（サブテーマ①）
- II型共同研究「生物応答を用いた各種水環境調査方法の比較検討」に参画し、当センターにおける飼育方法および急性毒性試験の技術確立と、試験精度の確認ができた。また、垂鉛を用いて急性毒性試験を実施した結果、ゼブラフィッシュの成長度・系統により大きな感度の差がないことが分かった。（サブテーマ②）
- 急性毒性試験対応マニュアル（試案）の作成を行い、試験手順等の整理を行った。（サブテーマ②）