

緊急時における原因物質等調査手法の活用

環境監視部門 化学環境係 大橋和也・山本昌幸¹⁾・佐貫典子・七里将一・古角恵美
生物圏係 岩本健也・藤原直樹・宮下康雄²⁾・河上新大

1. 目的

水質汚濁関連の事故・苦情は依然として発生しており、そのうち2割が原因不明であることに加え、近年は豪雨災害などによる不特定多数の化学物質の流出事故のリスクは高まっている（図1、図2）。

このため、事故原因となる化学物質やその流出源の特定のための広範な化学物質の定性分析が求められているが、現状、当センターでは標準物質が不足しているため、多くの化学物質について十分に分析できない状況にある。

よって、当該調査解析4では、体系だった分析手法の確立や、化学物質の網羅的簡易迅速分析の確立、生物毒性評価を活用した迅速な発生源・原因物質の特定手法を構築することで、関係機関への、水質事故の原因究明や現場説明に資する、適切な助言・情報を提供し、かつ、経験の浅い職員でも対応できる体制や手順の整備を行うことを目的としている。

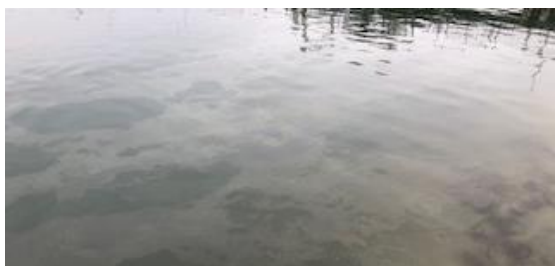


図1 油膜事案



図2 浸水被害

2. 研究内容と結果

【サブテーマ① 事故時等の原因物質等分析手法の再構築】

水質事故等が発生した際の原因物質特定のための分析手法の確立において、令和5年度は油類の漏洩による水質汚染事故への対応のため、油類判別のためのヘッドスペースガスクロマトグラフ質量分析計（HS-GC/MS）を使用した分析手法の検討を行った。

試験方法として、琵琶湖水に直接標準品（油類）を添加し、時間経過による揮発の効果を再現するため、0、5、24、48時間屋外放置した試料（図3）の比較を行った。試験に使用する標準品には、現場環境事務所への過去の水質汚濁関連事故についてのアンケート結果を参考として、以下の10種の油を選定した。

燃料油（鉱油）	ガソリン、混合ガソリン、灯油、軽油、重油
機械油（鉱油）	エンジンオイル（鉱油）
植物油	菜種油、オリーブオイル、ごま油、米油

以上の試料をHS-GC/MS（図4）により分析を行い、それぞれの標準品の特徴的なピークパターンを解析することで、時間経過による揮発の影響を受けた状態であっても油種の判別を可能とする手法があるか調査・解析を行った。



図3 作成試料



図4 HS-GC/MS

(1) 結果：由来が推定される明確なピークによる判別

植物油からは、脂肪酸の酸化によって生じるヘキサナールの明確なピークが表れた。ガソリンからは、ベンゼン、ペンテン、蟻酸-t-ブチルの明確なピークが表れた。これらのピーク(図5)はそれぞれの油種の特徴的なピークであり、確実な油種判断の手法に利用することが可能であると判明した。

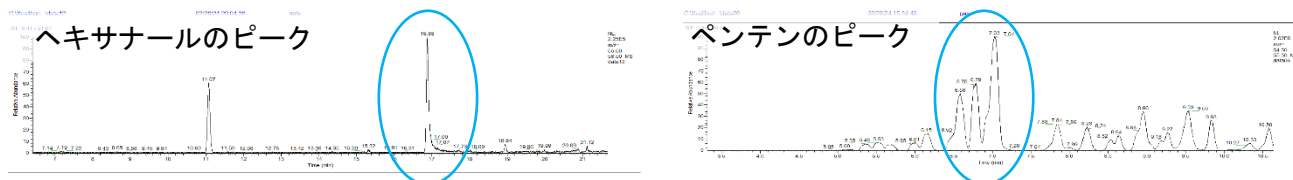


図5 HS-GC/MSでの植物油(左)とガソリン(右)の特徴的なピーク

(2) 結果：由来不明のピークパターンによる判別

ピークパターンの由来は不明であるものの、それぞれの油種に特徴的なピークパターン(図6)により、当該試験のために用意した標準品10種の油について、そのすべてで判別可能となった。

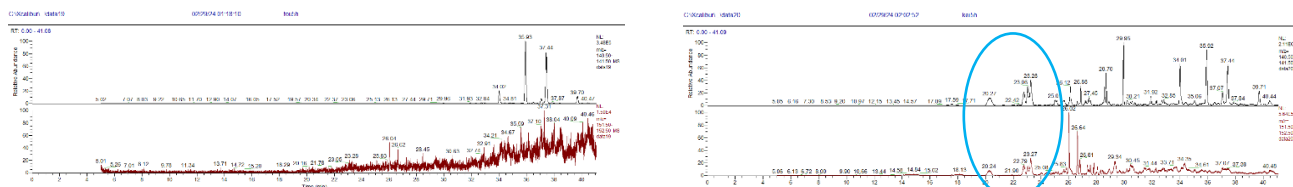


図6 HS-GC/MSでの灯油(左)と軽油(右)のピークパターンの比較

【サブテーマ② 緊急時原因物質等調査手法への活用(機器分析・生態影響評価)】

(1) 機器分析

水質事故等が発生した際に、ガスクロマトグラフ質量分析計(GC/MS)および液体クロマトグラフ質量分析計(LC/MS)を用いた原因物質特定のための分析手法の検討を行った。

① GC/MSを用いた検討(Ⅱ型研究)

網羅的簡易迅速測定法(全自動同定定量システム(AIQS))を活用して琵琶湖の状況を把握することを目的として、琵琶湖で環境基準値や指針値が定められている化学物質20項目の分析可否および精度確認、また水質事故時の比較対象となる平常時の化学物質のレベルを把握するためのデータ取得を行った。

表1 添加回収試験結果

(ア) 結果：精度確認

上記の化学物質20項目について琵琶湖水を用いて添加回収試験を行った結果、表1のとおりスクリーニング試験の目標回収率である50~200%以内となり良好な結果が得られた。

			平均値 (n=5)				
項目		報告下限値 ($\mu\text{g/L}$)	添加濃度 ($\mu\text{g/L}$)	相対定量値	回収率 (%)	RSD (%)	
生活環境項目		ニルフェノール	0.06	0.60	0.33	54	8.1
健康項目		シマジン	0.3	0.50	0.81	163	4.1
		オホペンカルブ	2	0.50	0.33	66	2.5
要監視項目	人の健康の保護関連	フェノキシカルブ	3	0.50	0.58	116	11.4
		イブプロフェラン	4	0.50	0.44	88	2.2
		ジクロロメス	0.8	0.50	0.34	69	11.8
		ダクタリジン	0.5	0.50	0.48	96	7.6
		ブロビザミド	0.8	0.50	0.62	124	3.2
		クロロピコリン (TPN)	5	0.50	0.25	51	5.6
		イブプロフェン	0.8	0.50	0.62	123	6.0
		フェニトロフオン	0.3	0.50	0.59	119	3.3
		イブサゾン	0.8	0.50	0.81	163	3.6
		EPN	0.6	0.50	0.49	98	2.9
		クロロピコリン (CNP)	0.1	0.50	0.51	103	2.8
		ダクタリジン	0.5	0.50	0.74	148	5.3
		オホペンカルブ	6	1.00	0.92	92	13.1
		水生生物関連	フェノール	1	1.00	0.52	52
4-tert-オクチルフェノール	0.1		0.60	0.35	58	13.2	
2,4-ジクロロフェノール	2		1.00	0.74	74	12.8	
アリン	2		1.00	0.37	37	14.6	

(イ) 結果：平常時データ

2023 年 8、11 月に琵琶湖の環境基準点 9 地点で分析を行った結果を図 7 に示す。

可塑剤・難燃剤、アルカン類、農薬類が検出された。琵琶湖で測定している項目も検出されたが、公定法の報告下限値よりもかなり低い値であった（チオベンカルブ： $2\mu\text{g/L}$ 、フタル酸ジエチルヘキシル： $6\mu\text{g/L}$ ）。アルカン類や現在琵琶湖水で測定していない農薬も検出されたが、検出されたアルカン類は毒性がない物質であること、また農薬は水質管理目標値の 1/50 以下とかなり低い値であった。

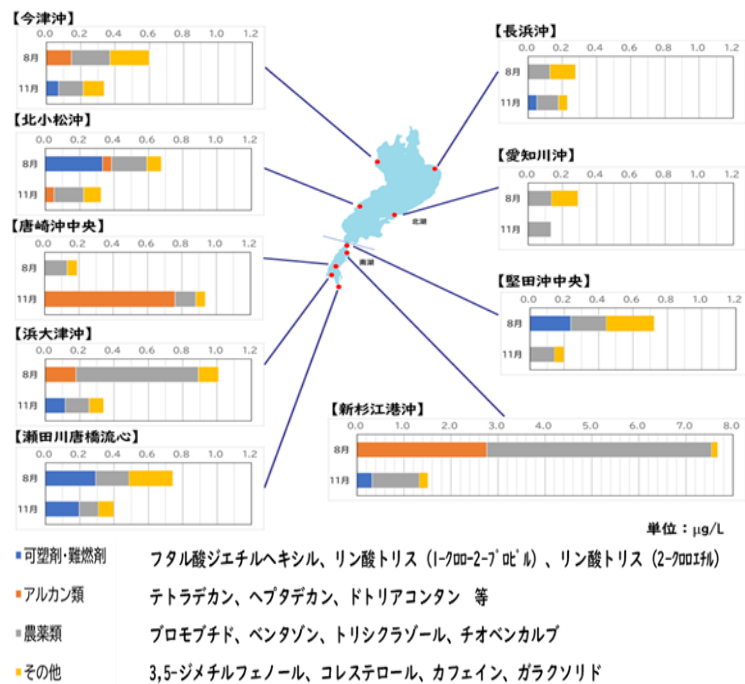


図 7 琵琶湖の平常時において検出された物質および調査地点

② LC/MS を用いた検討

有機フッ素化合物 (PFAS) である PFOS、PFOA の代替品として使用されている PFHxS (ペルフルオロヘキサンスルホン酸) が令和 3 年 2 月に要調査項目に位置付けられた。今後水質事故時等に行政からの依頼に対応するため分析検討を行った。

分析においては LC/MS の条件設定を行い、装置検出下限値、分析検出下限値 (MDL) および分析定量下限値 (MQL) を求めた。その結果、MDL および MQL は環境省が提示している目標値を満足していることから、当センターにおいて測定可能であることが確認できた。

(2) 生体影響評価

① 魚類急性毒性試験および甲殻類遊泳阻害試験の応答差の確認

行政からの緊急依頼があった際には迅速な対応が必要であるため、これまで技術的に容易な魚類急性毒性試験を行ってきた。魚種はゼブラフィッシュを用いた調査方法を検討してきたが、外来種ではなく、国内在来種を用いた試験が行えるように、ヒメダカを用いて並行試験を実施した。

また令和 4 年度より、*Daphnia magna* による甲殻類遊泳阻害試験の導入検討を行ってきた。甲殻類遊泳阻害試験も魚類と同様に、外来種の *Daphnia magna* だけではなく、琵琶湖に在来している種である *Daphnia pulicaria* を用いて並行試験を実施し、既存の種との応答差の確認を行った。

試験方法は、OECD テストガイドライン No. 203「魚類急性毒性試験」(1992 年) および OECD テストガイドライン No. 202「ミジンコ類急性遊泳阻害試験」(1984 年) に準じて試験を実施した。なお、試験物質は塩化ナトリウムを用いた。

② 試験結果

結果を表 2 にまとめた。魚類は半致死濃度数 (LC50)、甲殻類は半無影響濃度数 (EC50) を求めた。魚類急性毒性試験の結果は、ゼブラフィッシュの 96 時間半致死濃度数が 9.8g/L であり、ヒメダカが

14.3g/L であった。影響の差は試験濃度の設定公比の 2 倍を超えておらず、大きな差はないと評価した。甲殻類遊泳阻害試験の結果は、*D. magna* の 48 時間半無影響濃度数が 3.2g/L であり、*D. pulicaria* が 2.0g/L であった。影響の差は試験濃度の設定公比の 2 倍を超えておらず、大きな差はないと評価した。また、どの種も 24 時間以内に影響が確認されており、今回使用したような急性毒性を発現する物質については、試験終了時間より前に結果をおおむね推定可能であることが確認できた。

表 2 試験種および試験結果

試験種\時間	24 時間	48 時間	96 時間
魚類 (ゼブラフィッシュ)	(9.8g/L)	(9.8g/L)	9.8g/L
魚類 (ヒメダカ)	(14.3g/L)	(14.3g/L)	14.3g/L
甲殻類 (<i>D. magna</i>)	(4.8g/L)	3.2g/L	—
甲殻類 (<i>D. pulicaria</i>)	(4.5g/L)	2.0g/L	—

() 内の数字は試験中の指定時間における暫定的な値

③ 生物応答を用いた各種水環境調査方法の比較検討

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」では、7 河川の統一試料（河川サンプル）を対象とした生物応答を実施した。当センターでは、そのうち 2 河川の試料について魚類急性毒性試験および甲殻類遊泳阻害試験を実施した。その結果、試験を行った試料について影響は確認されなかった。他の試験機関が行った各種試験の結果と差異はなかった。試験における環境整備や技術確立、また他機関で発生した試験中断における原因究明および解決方法の模索について、ワークショップを実施し研究機関で共有を行った。

3. まとめ

- ・HS-GC/MS を用いることで、ガソリン等の 10 種類の油について、公共用水域の発生した油膜を再現した状況でこれらを判別することが可能となった。ただし、当該判別手法が異なるメーカーの製品にも適用できるか否か（汎用性）について、今後さらに確認する必要がある。

- ・着色の原因となる塗料や泡立ちの原因となる界面活性剤については、FT-IR、GC-FID、蛍光 X 線元素分析法を用いた分析手法を検討している。（サブテーマ①）

- ・環境基準値や指針値が定められている化学物質 20 項目について AIQS を用いて琵琶湖水を精度良く測定できることを確認した。

- ・琵琶湖の平常時のデータを取得し現状を確認することができた。8 月と 11 月では変動が大きかったため、今後は月 1 回データを取得し年変動を確認する予定である。

- ・有機フッ素化合物である PFHxS の測定が可能となった。今後はさらに他の PFAS の物質についても分析の可否を確認していく必要があると考える。

- ・魚類急性毒性試験および甲殻類遊泳阻害試験において OECD ガイドラインの生物種と国内在来種との比較試験を行い、両者に差がないことを確認した。

- ・Ⅱ型共同研究の統一試料を用いて、環境水での生物応答試験を実施した。その結果を他の研究機関と共有して、試験環境の整備などについて情報共有を行った。（サブテーマ②）