

濃縮毒性試験と GC/MS 一斉分析による慢性毒性原因物質の推定に関する研究

山口大学大学院 学生員○山下ひろえ 山口大学工学部 正会員 関根雅彦
山口大学工学部 正会員 神野有生 山口大学工学部 正会員 樋口隆哉
山口大学工学部 正会員 今井剛 山口大学工学部 正会員 山本浩一

1. 研究背景と目的

近年、農薬、重金属、内分泌攪乱化学物質に加え、医薬品や化粧品、日焼け止めなどに含まれる化学物質(PPCPs)が環境水中で検出されているが、検出濃度が微量で、急性毒性を引き起こすほどのレベルにならないことが多い。しかし環境中では、このような微量物質の長期滞留や多数の物質の複合影響により慢性毒性を引き起こす可能性が考えられる。よって、限られた有害物質の環境中濃度や排出量をモニタリングする方法だけで環境影響評価を行うのは不十分である。そこで本研究では、「ヒメダカ仔魚を用いた河川水濃縮試験」の研究を行ってきた。この手法は、環境水中の有害物質が生物に与える慢性毒性を、試料水濃縮により急性毒性として迅速に評価することができる。また、固相抽出法による濃縮であるため淡水に限らず海水の毒性評価も可能であると考えられる。しかし、海域における試験の実例がないことや、既往の研究において本手法の毒性結果は有機物汚濁との相関が高く、本手法の独自性が明確でないことなどの問題点があった。また本手法に限らず、生物試験は一般に原因物質の特定が難しいことも弱点として指摘されている。

そこで本研究では、ヒメダカ仔魚濃縮毒性試験を海域で行い、本手法が河川に限らず海域でも適用できることを実証し、本手法の適用範囲の広さを示す。また、化学工場が集中する海域の毒性試験を行うことで、有機物汚濁との相関の小さい有害物質による汚染の存在を示し、本手法の独自性を実証する。さらに、近年開発された 942 種の化学物質を一斉に同定・定量できる GC/MS 一斉分析データベースを用いて、環境水中の慢性毒性原因物質と疑われる物質の特定を試みる。

2. 研究方法

2.1. 濃縮毒性試験の方法

(1) 試料水の濃縮

- 採取した試料水 5L をろ過後、微量有機化合物に

対する吸着性能に優れた多孔質ポリスチレン樹脂(PS-2)に通水し、疎水性有機物を吸着させた。

- アセトン 20mL で脱離を行い、窒素気流下で 200 μ L(25000 倍)まで濃縮した。
- 活性炭処理水で 50mL(100 倍)まで希釈したものを試験水とした。

以上の操作により、5L の試料水を 100 倍濃縮した 50ml の試験水が出来上がった。

(2) ヒメダカ仔魚を用いた毒性試験方法

- 100 倍濃縮した試験水 50mL をガラスシャーレに 25mL ずつ入れ 2 系列にした。
- ヒメダカの仔魚を 10 尾ずつガラスシャーレに入れ、1, 2, 3, 6, 12, 24, 48 時間後に観察を行い、死亡数、遊泳障害数を記録した。

(3) 毒性試験評価方法

試験で得られた遊泳障害率・死亡率と経過時間の関係から、供試魚の 50%が死亡または遊泳障害を引き起こす時間を、半数致死時間(LT₅₀)・半数障害時間(ET₅₀)とし、数値定量化のため、これらの逆数(LT₅₀⁻¹, ET₅₀⁻¹)を評価指標とした。

半数障害時間、半数致死時間は、遊泳障害率および死亡率を用いて最小二乗法により求めた。

(4) 採水地点

東京、大阪、名古屋の水質汚染が問題視されている河川、海域 6 地点と、多くの化学工場が隣接した工業港である宇部港 6 地点の計 12 地点で毒性試験を行った。

2.2. GC/MS 一斉分析の方法

- 1L の試料水を毒性試験と同様にろ過し PS-2 に通水した。
- アセトン 20ml で脱離を行い、窒素でアセトンを完全に蒸発させた。
- ヘキサン 1ml に有機物を溶解し、これを GC/MS 分析装置に注入した。

3. 結果と考察

3.1. 毒性試験の結果

各地点の毒性試験結果を表 1、図 1 に、宇部港の各地点の毒性試験結果を表 2 に示す。

表 1. 各地点の毒性試験結果(1/hr)

	石津川 (大阪)	石津漁港 (大阪)	新名古屋発 電所(名古屋)	衣浦港 (名古屋)	東京湾 (東京)	綾瀬川 (東京)
ET ₅₀ ⁻¹	0.202	0.020	0.000	0.000	0.019	0.036
LT ₅₀ ⁻¹	0.075	0.020	0.000	0.000	0.018	0.030

表 2. 宇部港の各地点の毒性試験結果(1/hr)

	T01	T02	T03	T04	T05	T06
ET ₅₀ ⁻¹	0.016	0.018	0.016	0.018	0.000	0.016
LT ₅₀ ⁻¹	0.000	0.000	0.000	0.016	0.000	0.000

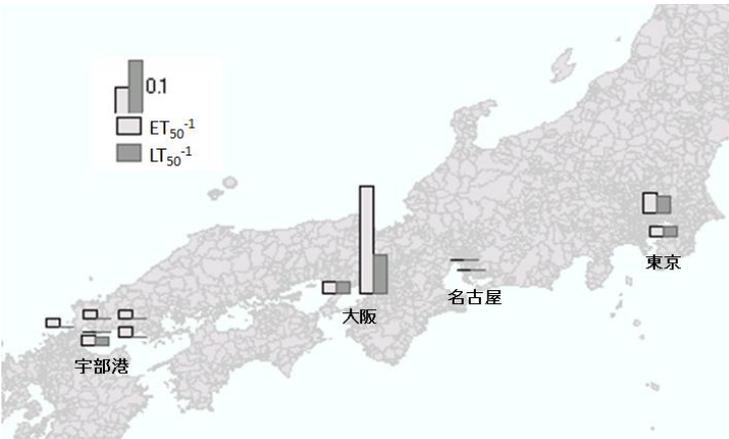


図 1. 全国各地点の毒性試験結果(1/hr)

3.2. 毒性試験結果と COD の関係

図 2 に示すように、本研究の毒性試験結果と有機物汚濁(COD)に相関性は見られなかった。

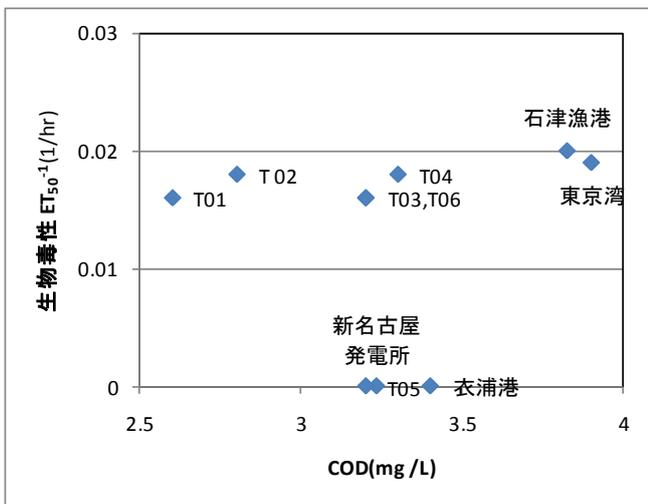


図 2. 毒性試験結果と COD の関係

3.3. GC/MS 一斉分析の結果

毒性試験で毒性の高かった石津川、石津漁港、宇部港 T02, T04 の 4 地点のサンプル解析を行った。慢性毒性の原因となっている可能性の高い物質の濃度を表 3, 4, 5 に示す。なお、T04 のサンプルでは、慢性毒性の原因となっている可能性の高い物質を特定するに至らなかった。

表 3. T02 の解析結果

物質名	濃度(mg/l)
Naphthalene	0.0062
Butyl benzyl phtalate	0.0128

表 4. 石津川の解析結果

物質名	濃度(mg/l)
3-&4-Methylphenol	0.1727
2,4-Dimethylphenol	0.0246
3- & 4-tert-Butylphenol	0.0537
4-Methyl-2,6-di-t-butylphenol	0.0227
4-tert-Octylphenol	0.0352
Nonylphenol	2.4974
2,5-Dichlorophenol	0.0295
2,4,5-Trichlorophenol	0.0510
Triclosan	0.1327
Butyl benzyl phtalate	0.2570
Quinoline	0.0480
Tris(2-chloroethyl) phosphate	0.5816
Diethyltoluamide	0.1824
Crotamiton	3.8814

表 5. 石津漁港の解析結果

物質名	濃度(mg/l)
Butyl benzyl phtalate	0.0309
Quinoline	0.0150
Tris(2-chloroethyl) phosphate	0.1061
Diethyltoluamide	0.0152
Crotamiton	0.5636

4. 結論

- 本手法は海域でも適用できることが実証された。
- 毒性試験結果と COD との間に相関性が見られなかったため、本手法の毒性指標としての独自性が示された。
- GC/MS 一斉分析により、多くのサンプルで慢性毒性の原因物質の疑いのある物質が特定できたが、原因物質の疑いのある物質が検出できないサンプルも見られた。