

様式 10-1

「研究者・研究機関」部門

河川基金助成事業

「豪雨災害を想定した化学物質毒性スクリーニング のオンサイト化の提案」

助成番号：2022 - 5211 - 019

福岡県保健環境研究所
研究員 古閑 豊和

2022 年度

1. はじめに

近年、我が国では気候変動に関連した豪雨災害が頻発している。令和5年6月の九州北部で総降水量が1200ミリを超える豪雨により中小河川が氾濫し浸水被害が発生したことは記憶に新しい¹⁾。このような豪雨災害の発生時には建物の倒壊や冠水によって重油や有害化学物質の漏洩・流出による二次災害が懸念されており、流出物質を速やかに調査し、汚染の範囲や拡大防止を図ることで、地域住民の安全・安心を守る必要がある。しかし、このような『緊急時』には定常時の環境基準物質（人の健康の保護に関する環境基準：27項目）のみを測定するだけでは安全性を評価することはできない。そのため災害時の化学物質汚染対策として標準物質を用いることなく、多成分の化学物質を自動同定・定量する手法としてGC/MS用自動同定・定量データベースシステム（Automated identification and determination system using a gas chromatograph-mass spectrometry (AIQS-GC)）が開発され、各地の地方環境研究所でその活用が広がっている²⁾³⁾。

様々な化学物質を同時測定できるAIQS-GCであるが複数検出された化学物質の水生生物への影響や相乗・拮抗作用などの複合的な影響評価は困難である。そのため、筆者らは公益財団法人河川財団の2020年度助成課題『豪雨災害を想定した緊急時環境調査手法の提案（助成番号：2020-5211-012）』において、化学物質のリスク評価に用いる生物応答試験とAIQS-GCを組み合わせた水質評価法（複合毒性評価システム）を開発した。開発した評価法を令和2年7月豪雨災害で発生した農薬流出事故に適応させた結果、機器分析で把握が困難な検出物質のリスクを評価することができた⁴⁾。ただし、生物応答試験は藻類・ミジンコ・魚類を用いるため極めて煩雑であり、試験結果を得るまで4日程度を要すことから、災害時に適用させるためには迅速性に課題があることが分かった。

一方、近年の計測技術の発展により植物の遅延蛍光（Delayed fluorescence (DF)）測定を活用した新しい生物応答試験法（DF試験）が開発されている⁵⁾⁶⁾。DFは植物や藻類などの光合成生物において暗所で観察される遅延蛍光現象であり、DFを用いた試験法は従来の藻類生長阻害試験の代替法として検証されている⁷⁾⁸⁾。DF試験は試験結果を得るまでに1日以内で完了するため、豪雨災害などの緊急時における水質評価に適している。さらに、必要なサンプル量が少なく（10 mL）、小型のローテーターで培養が可能であるため、採水現場（オンサイト）において水質評価が期待できる。そのため、災害発生時のオンサイトにてどの地点を優先的に調査するべきか判断する手法となり得る。

本研究では生物応答試験の迅速性の課題に対して、DF試験を採用した。さらにAIQS-GCを併用して試験結果が1日以内（最短4時間）で判明する毒性スクリーニング法の開発を行うとともにDF試験のオンサイト化を目指した。本研究で実施した内容は①オンサイトで適用可能な小型培養装置の開発と性能評価、②オンサイト試験への適用である。

キーワード：AIQS-GC, 遅延蛍光, 藻類生長阻害試験, DF試験

2. 研究方法

2. 1 小型培養装置の開発

藻類生長阻害試験のような藻類を用いた生物応答試験は一般的にコンプレッサー式の据え付けタイプの培養装置で一定時間培養後に藻類細胞の測定を行う。コンプレッサー式の培養装置は大型かつ50万円以上と高額なため、導入できる試験機関が少なく、さらに地球温暖化を促進する代替フロンを冷媒に使用するため、環境面からも問題である。さらに災害時における生物応答試験では水生生物への影響を迅速に評価する必要があり、採水現場（オンサイト）で使用できる培養装置が求められる。そこで、非コンプレッサー式の持ち運び可能な藻類の小型培養装置の開発を目指した。

2. 2 小型培養装置の性能評価（化学物質の感受性試験）

開発した小型培養装置の性能評価を実施するために、DF試験による化学物質の感受性試験を実施した。DF試験に用いた物質は従来の藻類生長阻害試験で用いられる物質を選定した⁹⁾。有機物質として3,5-ジクロロフェノール（3,5-DCP、富士フイルム和光純薬株式会社製、純度98.0%）を選定し、無機物質として重クロム酸カリウム（富士フイルム和光純薬株式会社製、純度99.5%）を選定した。化学物質の感受性評価は従来の藻類生長阻害試験を参考に測定開始前と培養開始24時間後の生物量から生長速度を算出して評価し、据え付け型の培養装置と結果を比較した⁹⁾。

2. 3 オンサイト調査を想定した藻類培養時間の検討

DF試験は培養後30分程度で藻類阻害影響を検知できることが報告されている¹⁰⁾。そのため、小型培養装置を用いたオンサイト調査を実施するにあたって培養時間（試験時間）の検討を実施した。検討物質は3,5-DCPと重クロム酸カリウムを用いた。検討は対照区と試験水を各物質のEC₅₀値（3,5-DCPは1.67 mg/L、重クロム酸カリウムは1.48 mg/L）となるように調製した1濃度区の限度試験で実施した。試験時間の決定は微弱発光計数装置から得られた測定値（Count per second）を対照区と試験区で比較することで行った。

2. 4 遅延蛍光を活用した藻類生長阻害試験（DF試験）

DF試験に用いた藻類株は、淡水産緑藻のムレミカヅキミモ（*Raphidocelis subcapitata*（NIES-35））である（図2.1）。小型培養装置の性能評価（化学物質の感受性試験）ではC培地で継代培養した藻類株をOECD培地（富士フイルム和光純薬株式会社製）に接種後、約3日で細胞密度 1.0×10^6 cells/mLに達したものをを用いた。

オンサイト調査で用いた藻類株については、緊急時を想定し、従来の前培養など実施する時間が無いと考えられるため、山守ら（2015）の方法を参考に液体窒素で凍結保存した藻類株を用いた¹¹⁾。まず 1.0×10^6 cells/mLとなるように10%ジメチルスルホキシド含有OECD培地にて細胞懸濁液を調製した。その後、クライオチューブに分注し、CoolCell容器（Corning社製）に入れ-80℃で3時間冷凍後に液体窒素で保存した。保存後に使用する際は30℃の水浴で解凍した。

試験液は、OECD培地を添加して調製した。試験液9.5 mLと細胞懸濁液0.5 mLを回転ガラス試験管に入れ培養試料とした。培養試料についてオンサイト試験は開発した小型培養装置にて培養した。研究所内でのDF試験は据え付け型培養装置内のローテーター（RT-50N、タイテック社製）を用い、回転

数10rpmで培養を行った。培養条件は、温度 $23 \pm 1^\circ\text{C}$ 、光強度 $100 \pm 15 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ の蛍光灯またはLEDライトによる連続均一照明で行った。細胞数測定は、パーティクルカウンター（CDA-1000, Sysmex製）を使用した。DF試験における遅延蛍光測定は、微弱発光計数装置ユニットC13796（浜松ホトニクス製）を用いて行った。測定時間について小型培養装置の性能評価は培養開始前と培養開始24時間後に実施した。オンサイト調査は培養開始前と培養開始30分後とした。オンサイト調査後に研究所にて実施したDF試験では培養開始前と培養開始24時間後に測定を実施した。

無影響濃度（NOEC）や阻害濃度は統計解析ソフトウェアR（Version 4.0.2, R Core Team, 2018）を用いて算出し、多重比較はmultcompパッケージを用いて行った¹²⁾。IC_x（x%阻害濃度）はdrcパッケージのロジスティック曲線を用いて解析・算出した。限度試験の解析に用いたt検定もRを用いて行った。

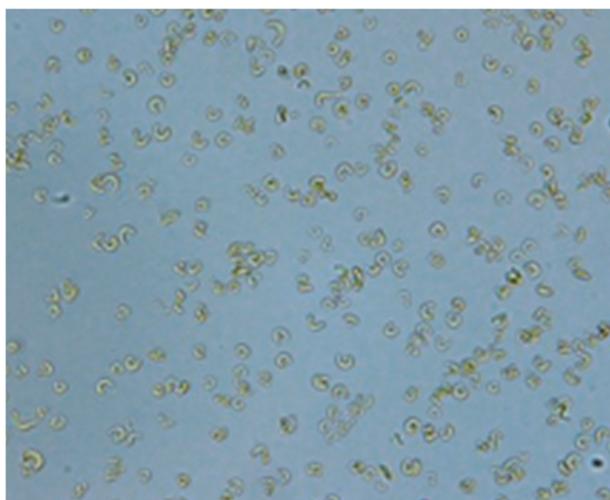


図 2.1 ムレミカツキモ (NIES-35)

2. 5 GC/MS用自動同定・定量データベースシステム（AIQS-GC）を用いた測定方法

AIQS-GCによる化学物質の測定は四重極型GC/MS（Agilent社製、5977B GC/MSD）を用いた。測定条件を表2.1に示す。同定と定量は、データベースソフトAXCEL-NAGINATA（西川計測株式会社製）による標準物質を必要としない測定法（検量線データベース法）を用いた。なお、検量線データベース法による測定を行う場合には、試料測定の前に装置性能をデータベース構築時の状態に調整する必要があるため、質量分析計のチューニング操作後に、装置性能評価用の化学物質（Captafol, Decafluorotriphenylphosphine, Benzothiazoleほか合計24物質）を測定して、その性能が基準値以上であることを確認した。本研究のAIQS-GCでは948物質を同定・定量した。

試料の前処理は既報に従った¹³⁾。内部標準物質は林純薬工業製のAIQS/NAGINATA内部標準Mix（10 mg/L, 4-Chlorotoluene-d₄, 1,4-Dichlorobenzene-d₄, Naphthalene-d₈, Acenaphthene-d₁₀, Phenanthrene-d₁₀, Fluoranthene-d₁₀, Chrysene-d₁₂, Perylene-d₁₂）を用いた。

また現在、我が国ではヘリウム供給不足が深刻化し、ヘリウムを用いる試験研究や化学分析への影響が懸念される。AIQS-GCはGC/MSを測定系としているため、ヘリウム供給不足の影響を受ける。本研究では代替ガスとして窒素や水素を用いた新しい測定法の検討も実施した。

表 2.1 GC/MS 測定条件

Instrument	Agilent 5977B GC/MSD	
GC conditions	Column	: J&W DB-5MS, 30 m×0.25 mm×0.25 μm (Agilent)
	Oven temp.	: 40°C (2 min)→8°C/min→310°C (5min)
	Injection temp.	: 250°C
	Interface temp.	: 280°C
	Injection mode	: Splitless
	Injection volume	: 1 μL
MS conditions	Ionization mode	: EI (70eV)
	Source temp.	: 230°C
	Quadrupole temp.	: 150°C
	Scan range	: 33-550 m/z
	Scan rate	: 2.8 scan/sec

2. 6 AIQS-GC以外の水質測定法（水質一般項目）

測定項目はpH, 電気伝導率 (EC), 全有機体炭素 (TOC), 懸濁物質 (SS), 全窒素 (T-N), 全リン (T-P), 残留塩素である。残留塩素以外の検査方法は, JIS K 0102 工場排水試験方法に従った¹⁴⁾。

pH 及び EC の測定機器は pH/EC メーター (MM-60R, TOADKK 製) を用いた。TOC は, 全有機体炭素計 (TOC-L, 株式会社島津製作所製) にて測定した。T-N 及び T-P の測定は分光光度計 (UVmini-1240, 株式会社島津製作所製) を用いた。残留塩素の測定は, 残留塩素計 (FTC-01, 株式会社カスタム) にて測定した。

2. 7 オンサイト試験方法

開発した小型培養装置を用いてオンサイト試験を実施した。採水は令和6年3月13日に実施した。採水は先行研究が行われている福岡県内のA川 (図2.2) を選定した。採水箇所は6地点 (St. 1~St. 6) であり, 採水車には小型培養装置, ポータブル電源, 遅延蛍光測定用の微弱発光計数装置ユニット, 解析用ノートパソコン (PC) を積載した。採水はバケツを用いてDF試験用の500 mLポリ容器と水質一般項目用の1Lポリ容器とAIQS-GC用の1Lガラス瓶に行った。採水後に各河川水80 mLにOECD培地 (5倍濃縮液) を20 mL添加し, 0.2 μm滅菌シリンジフィルター (日本ポール株式会社) でろ過した。その後のDF試験の手順は『2. 4 遅延蛍光を活用した藻類生長阻害試験 (DF試験)』に従った。オンサイト試験では対照区と1濃度区 (河川水濃度80%) の限度試験を実施した。

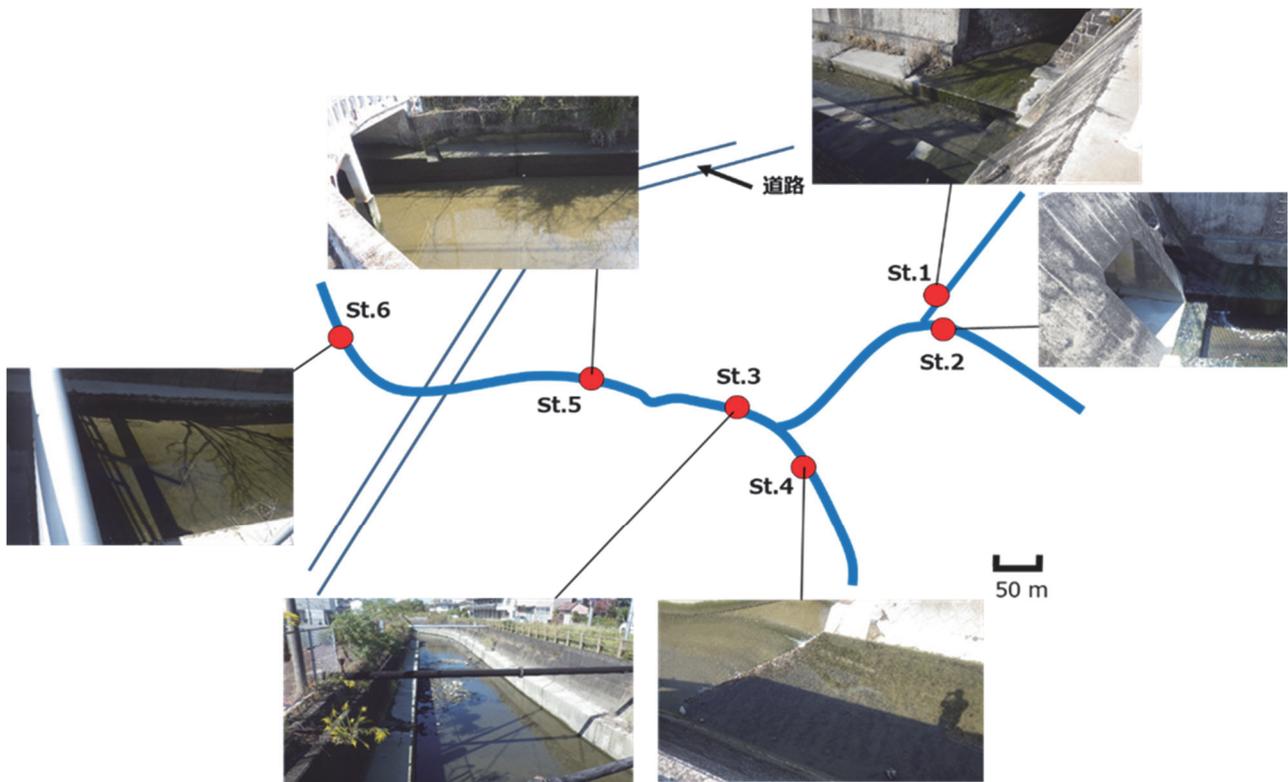


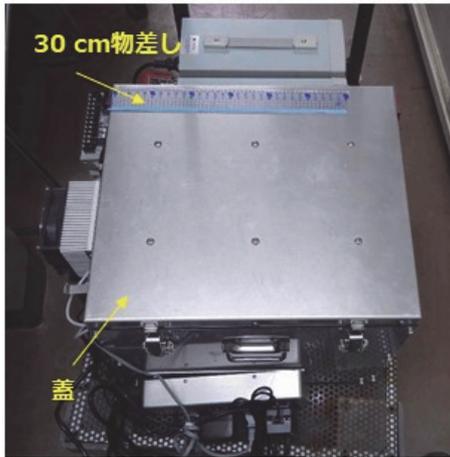
図 2.2 採水地点の写真

3. 結果と考察

3. 1 開発した小型培養装置の性能

開発した小型培養装置を図3.1に示す。本装置の特徴は光源をLEDライトとし、培養庫の冷却及び加温をペルチェ素子にて行い、さらに培養庫内の空気を小型ファンで循環させることで微細藻類の培養装置を小型化できた点にある。

LEDライトは従来用いられていた蛍光灯に比べて薄型で省電力が少ないメリットがある。また、LEDライトは放熱量が少ないが、閉鎖空間である培養庫内の温度を上昇させるため、外気温が低い場合の補助熱源として利用できる（図3.2）。次にペルチェ素子は直流電流で冷却・加温・温度制御を自由に行える小型で安価な半導体素子である。このペルチェ素子を培養装置に用いることで、騒音や振動を軽減でき、また代替フロン等の冷媒を用いることなく、微細藻類の培養が可能となった。そして培養庫内部に小型ファンを取り付けることで、ペルチェ素子で冷却または加温した空気を効率よく循環させ培養庫内の温度を一定（22℃設定）に保つことができた（図3.3と図3.4）。次に藻類培養方法について、小型ローテーターによる回転培養方法を採用することで省スペースでも効率よく藻類へ光を照射することが可能となった。これらの組み合わせによって、培養装置の小型化が実現できた。



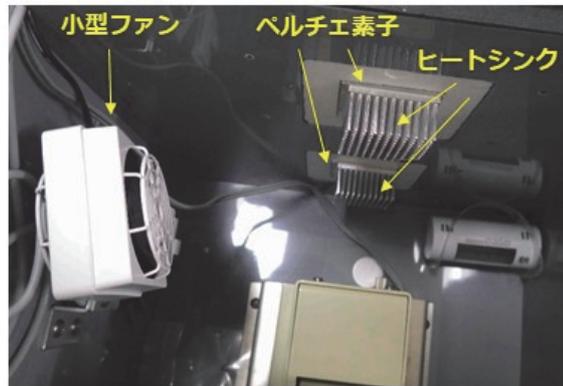
上部



蓋を開けた状態



背面



内部

図 3.1 開発した小型培養装置

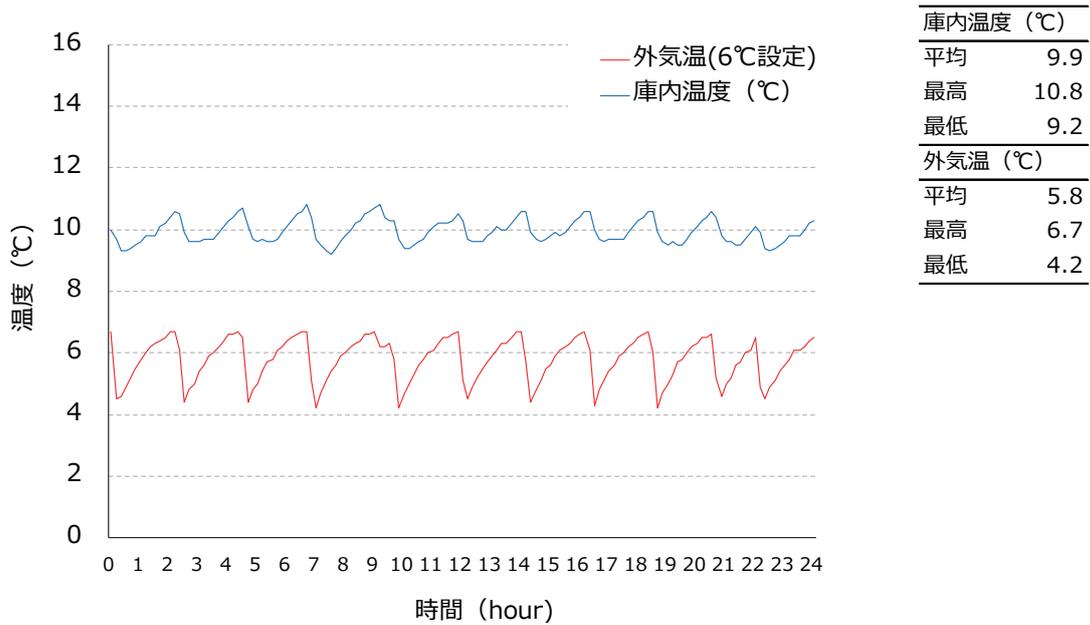


図 3.2 LED ライトのみ使用時の培養庫温度変化 (外気温 6°C)

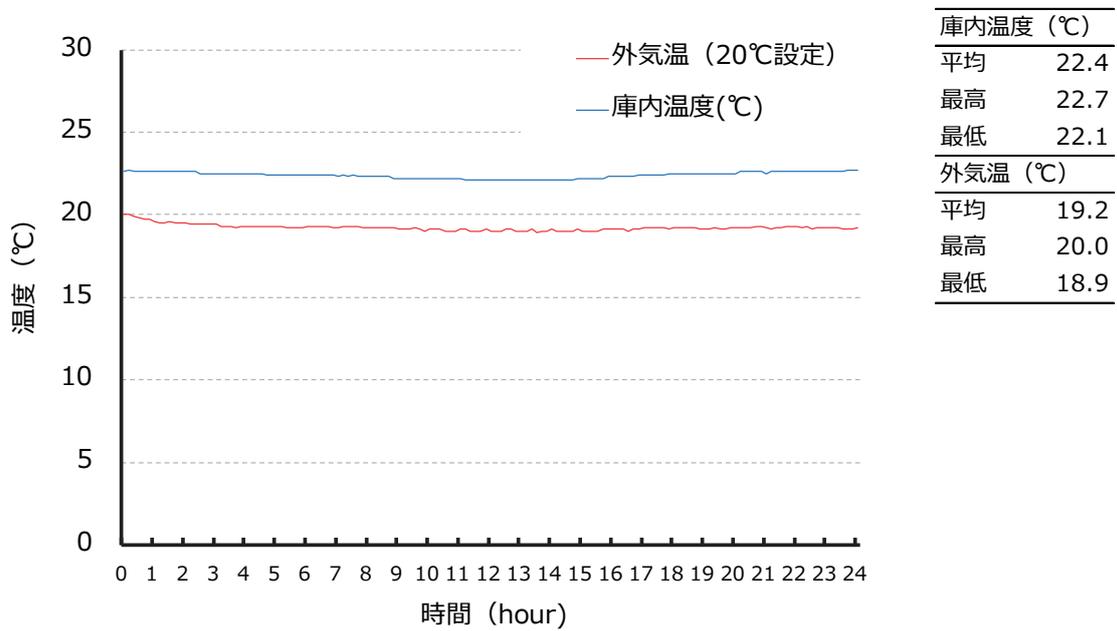


図 3.3 LED ライト+ペルチェ素子使用時の培養庫温度変化 (外気温 20°C)

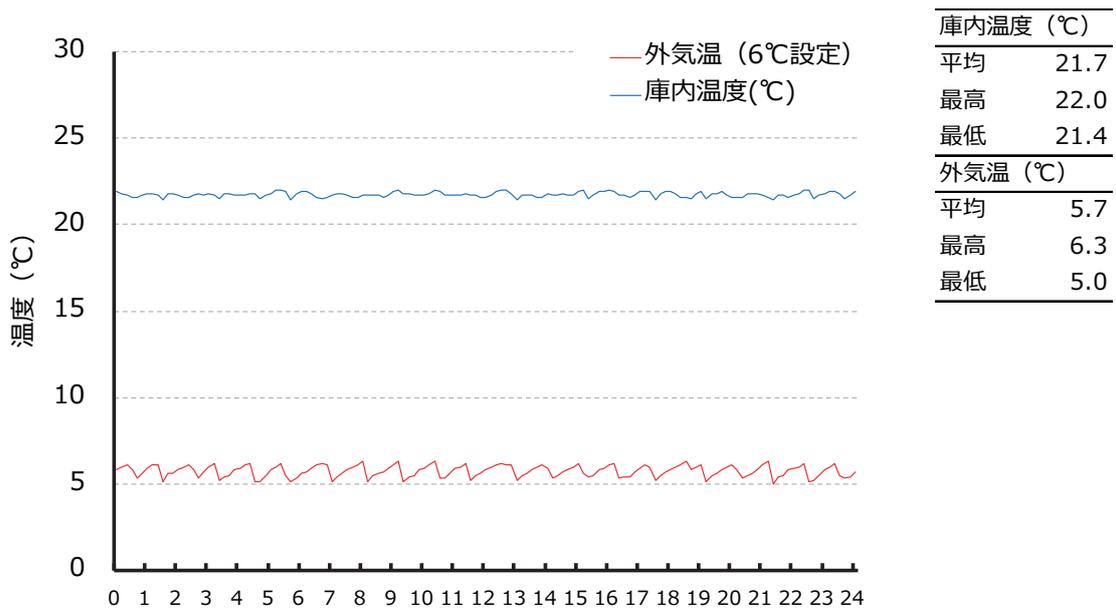


図 3.4 LED ライト+ペルチェ素子使用時の培養庫温度変化 (外気温 6°C)

3. 2 従来型の据え付け型培養装置と小型培養装置を用いた感受性試験結果

開発した小型培養装置の 3,5-DCP の NOEC, EC₁₀, EC₂₅, EC₅₀ はそれぞれ 0.64 mg/L, 1.47 mg/L, 1.57 mg/L, 1.67 mg/L であった (図 3.5)。従来の据え付け型培養装置の NOEC, EC₁₀, EC₂₅, EC₅₀ はそれぞれ 0.64 mg/L, 2.36 mg/L, 2.49 mg/L, 2.64 mg/L であった。

重クロム酸カリウムを用いた感受性試験では NOEC, EC₁₀, EC₂₅, EC₅₀ はそれぞれ 0.54 mg/L, 0.73 mg/L, 1.04 mg/L, 1.48 mg/L であり (図 3.5), 従来型の据え付け型培養装置の NOEC, EC₁₀, EC₂₅, EC₅₀ はそれぞれ 0.16 mg/L, 0.84 mg/L, 1.22 mg/L, 1.77 mg/L であった。

感受性試験の結果より, 重クロム酸カリウムの NOEC の値は異なっているものの, 小型培養装置の EC₁₀~EC₅₀ の値は据え付け型の培養装置の±50%以内であった。そのため開発した小型培養装置は据え付け型と同等の感受性を有していると判断した。

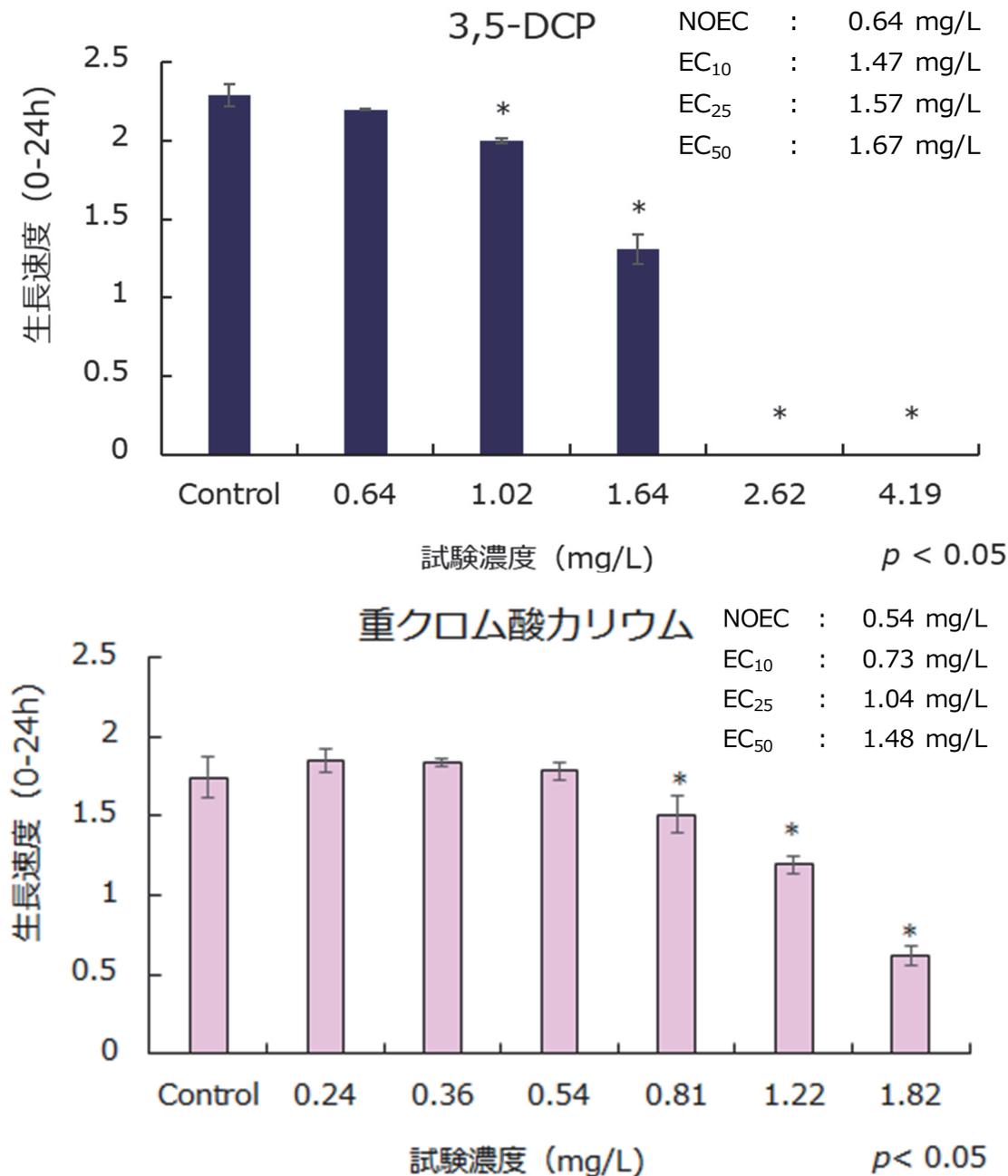


図 3.5 据え付け型培養装置と小型培養装置の感受性試験結果

3. 3 オンサイト調査を想定した藻類培養時間の検討

3,5-DCPと重クロム酸カリウムによるオンサイト調査を想定した藻類培養時間の検討結果を図3.6に示す。本検討では3,5-DCPと重クロム酸カリウムを同時に試験しており、対照区は同一である。3,5-DCPでは培養開始後30分の測定において対照区と比較して有意な差が得られた ($p < 0.05$)。一方、重クロム酸カリウムは培養開始後30分の測定では対照区と比較して有意な差が得られなかったが、培養開始後1440分 (24時間後) の測定では対照区と比較して有意な差 ($p < 0.05$) が得られた。本研究で開発した小型培養装置においてNIES-35は培養後10.6時間で倍化し増殖することを確認している。そのため、本研究では培養後30分で確認された影響は急性影響とし、世代交代を迎える曝露開始後10時間から24時間で確認された影響は慢性影響と定義した。本検討において重クロム酸カリウムは慢性影響のみと推測されたが、確認のため培養後3時間後、6時間後、10時間後の影響を再調査した。その結果、培養後10時間で対照区と比較して有意な差 ($p < 0.05$) が得られ、慢性影響を確認した。本研究では迅速性を重視しているため、オンサイト調査において藻類培養時間は急性影響を確認できる30分と決定した。しかし、重クロム酸カリウムのように慢性影響のみ確認される化学物質もあるため、試料水を従来どおり研究所に持ち帰り、24時間培養後に測定する必要もあると分かった。

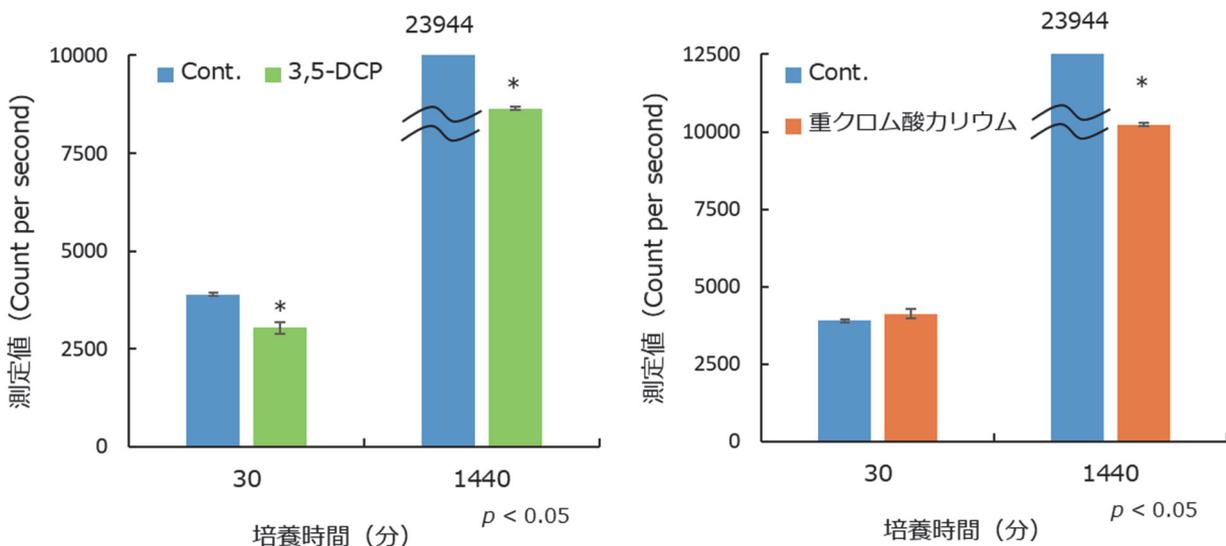


図 3.6 オンサイト調査を想定した藻類培養時間の検討結果

3. 4 DF試験を活用した調査手順

本研究のDF試験の検討結果より、図3.7に示す緊急時における毒性スクリーニングの調査手順を考案した。灰色で示した箇所がオンサイトで実施する項目であり、それ以外は試料を研究所に搬入後に実施する項目である。オンサイト調査におけるDF試験で急性影響を確認した試料を評価の優先度 (高) と判断し、研究所へ試料搬入後速やかに詳細試験 (AIQS-GC測定) を実施する。オンサイト調査で影響が確認できなかった試料は研究所内にて24時間培養後にDF試験を実施し、慢性影響が存在したものを優先度 (中) としてAIQS-GC測定を実施する。その他の試料は優先度 (低) として速やかな詳細試験は実施しないが、後日、AIQS-GC測定の実施の有無を判断することとした。なお、pHやTOCなどの一般水質項目は全ての調査地点においてこれまでと同様に研究所搬入後に測定する。

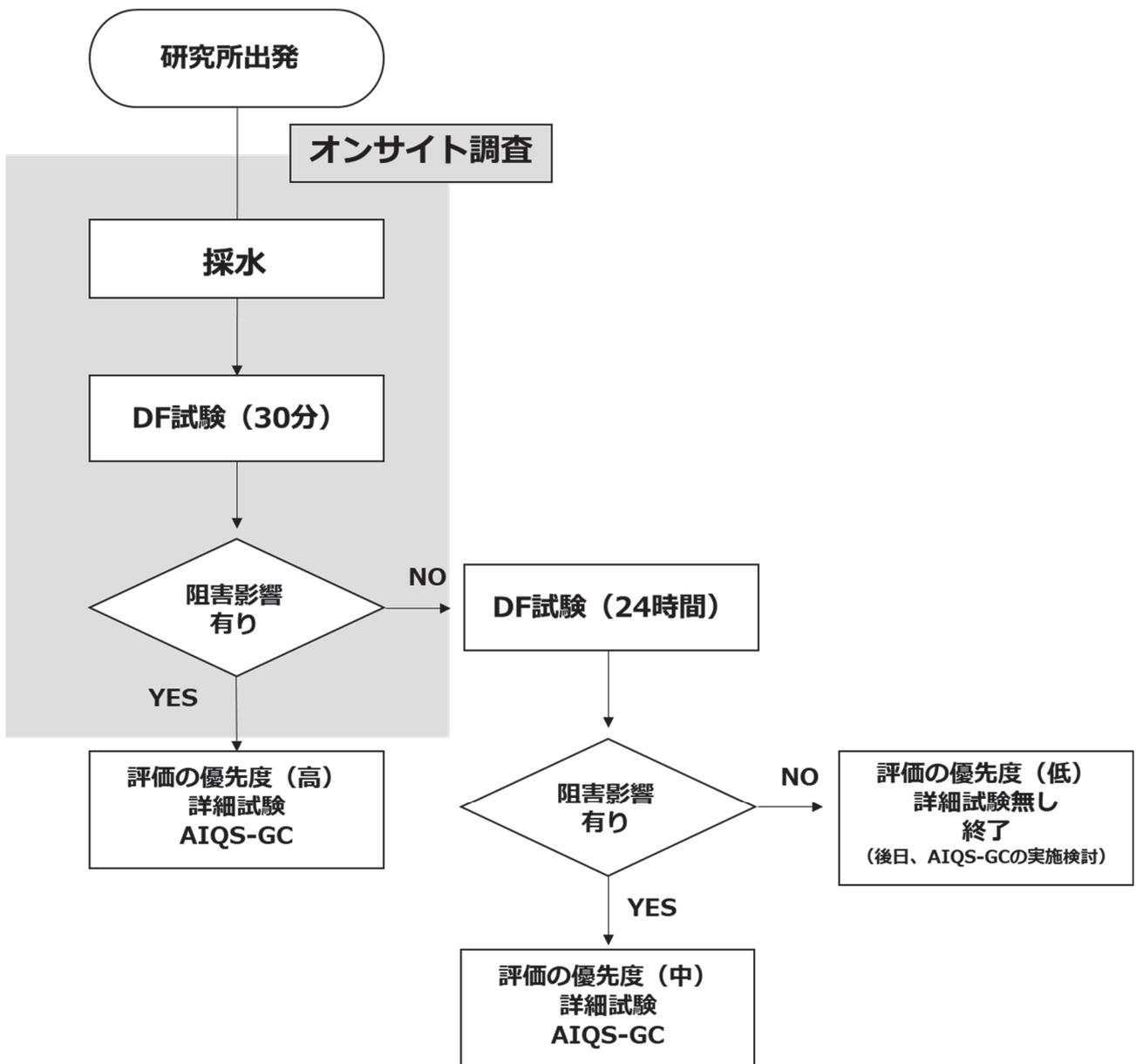


図3.7 調査フロー図

3.5 オンサイト調査結果

オンサイト調査におけるDF試験結果と調査風景をそれぞれ図3.8, 図3.9に示す。オンサイト調査において対照区と比較してSt.2で有意差が得られたため、急性影響有りと判断した。そのため、評価の優先度 (高) として研究所に検体を搬入後、速やかにAIQS-GC測定を実施した。その他の試料の急性影響は確認されなかったが、調査フローに従って研究所で慢性影響を確認した。

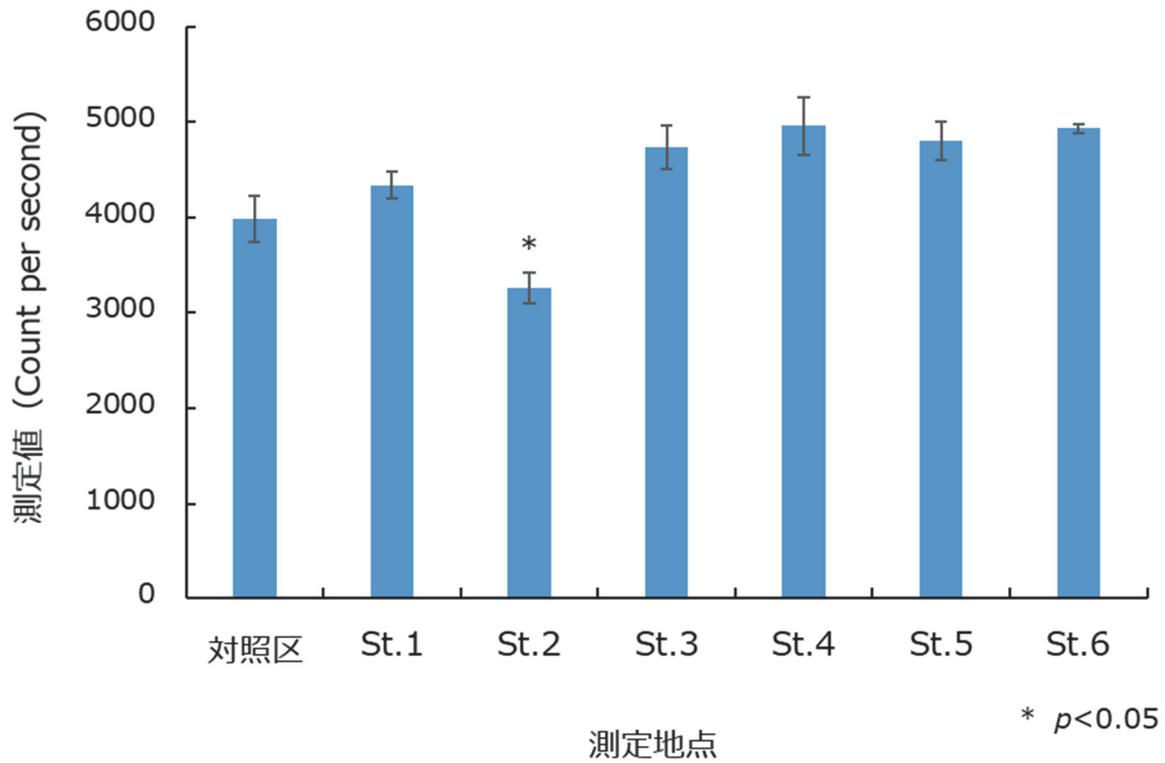


図 3.8 オンサイト調査結果 (DF 試験)



図 3.9 オンサイト調査の写真

3. 6 研究所搬入後の調査結果

3. 6. 1 一般水質項目

一般水質項目の測定結果を表3.1に示す。St. 5とSt. 6の電気伝導度がそれぞれ2800 $\mu\text{S}/\text{cm}$ 、3200 $\mu\text{S}/\text{cm}$ であったが、藻類に影響を与える値ではなかった。その他の項目についてはSt. 2のTOC、T-N、T-Pが他の地点よりも高い値であった。St. 2は事業場の排水口付近であるため事業場排水の影響を受けていることが推測された。

表 3.1 採水地点の水質測定結果

地点名	気温 (°C)	水温 (°C)	pH	EC ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	DO (mg/l)	T-N (mg/L)	T-P (mg/L)	TOC (mg/L)	残留塩素 (mg/L)
St. 1	17.3	15.1	7.7	720	10	2.2	0.19	3.8	0.05
St. 2	17.3	13.4	7.3	1100	9.3	17	1.5	6.6	0.06
St. 3	14.2	19.2	9.4	1200	15	2.5	0.32	3.0	0.06
St. 4	13.0	16.8	9.3	1100	12	3.1	0.38	3.0	0.07
St. 5	13.9	19.2	9.4	2800	15	2.8	0.31	3.1	0.06
St. 6	13.8	18.3	9.4	3200	16	2.7	0.30	3.1	0.04

3. 6. 2 DF試験結果（慢性影響）

オンサイト調査で急性影響が確認されなかったSt. 1, St. 3, St. 4, St. 5, St. 6について培養開始24時間後の測定値を評価した結果を図3.10に示す。対照区と比較してSt. 1の測定値が低くなり、慢性影響が確認された ($p < 0.05$)。よって、調査フローに従い速やかにAIQS-GC測定を実施した。その他の試料は慢性影響が確認されなかったため、評価の優先度が低いと判断し調査を終了した。

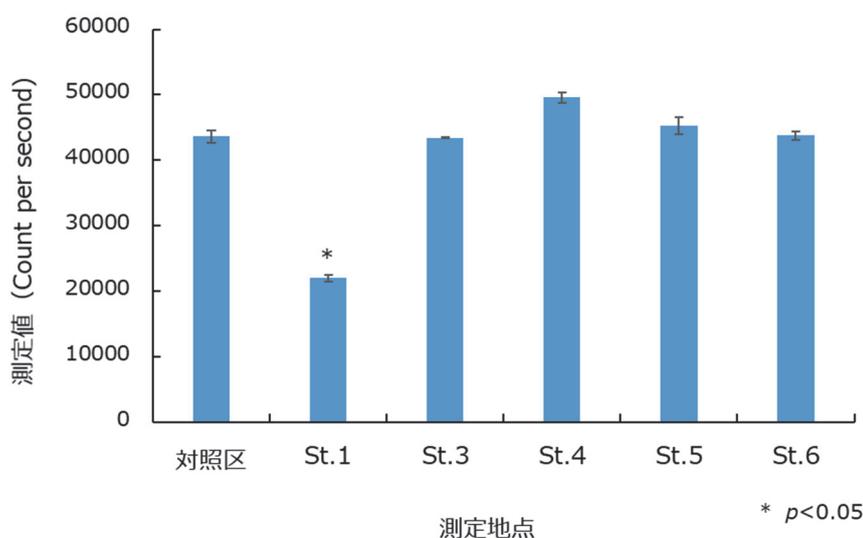


図 3.10 DF 試験結果（慢性影響）

3. 6. 3 AIQS-GC測定結果

AIQS-GCの結果を表3.2と図3.11に示す。急性影響の確認されたSt.2についてSt.1よりも化学物質の検出数が多く、検出濃度の合計値も高い値となった。本研究では藻類阻害影響の原因物質について調査していないが、藻類に低濃度で影響を与える農薬類の検出は無く、St.1やSt.2で検出された各物質濃度も0.042 µg/L～14 µg/Lの範囲と低濃度であるため、単一物質の影響よりも複合的な影響が推測された。また、今回は半揮発性物質の測定に有効なAIQS-GCでのみ化学物質測定を評価しているが、今後、親水性物質のスクリーニングに有効な液体クロマトグラフ飛行時間型質量分析 (LC-QTOF/MS) 用のAIQSの活用や金属類の網羅的測定を視野に入れたスクリーニング分析の開発が必要である。なお、既報では50 mLの試料量で前処理時間は10分で終了したが、本研究で用いたAIQS-GC用の試料前処理時間は定量下限を低くするため試料量を500 mLと増やした¹⁵⁾。そのため、試料抽出に分液ロートを用い、ロータリーエバポレータや窒素ガスの濃縮操作が追加されたため60分程度であった。分析時間は1検体あたり50分、解析時間は30分程で終了した。前処理時間が既報と比較して長くなったが、1検体あたりの測定時間は2時間20分であり、ハイスループットな化学物質のスクリーニング測定法であることが確認できた。

表 3.2 AIQS-GC で検出された化学物質の種類と検出数

検出物質種類	検出数	
	St. 1	St. 2
多環芳香族炭化水素 (PAHs)	–	1
医薬品・生活関連物質 (PPCPs)	5	6
エーテル	–	–
ケトン	1	2
脂肪族化合物	11	7
ニトロ化合物	–	–
ニトロソアミン	–	1
フェノール類	–	6
フタル酸エステル類	3	3
芳香族化合物	–	2
リン酸エステル	1	2
含硫黄化合物	2	3
殺菌剤	–	1
芳香族アミン	1	1
その他	5	7
合計	29	42

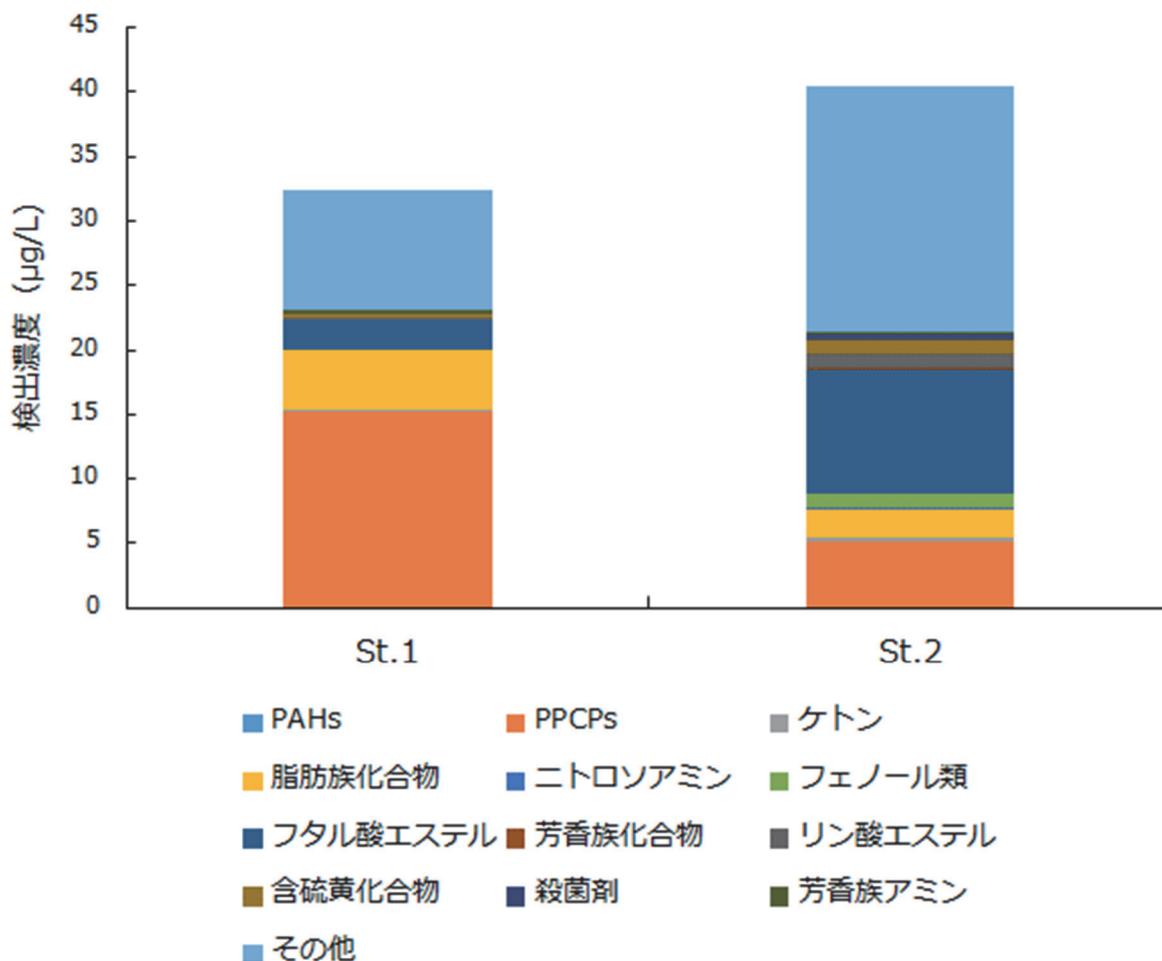


図 3.11 AIQS-GC 測定結果（合計値）

3.7 ヘリウム代替ガスを用いたGC/MSについて

ヘリウム代替ガスを用いた分析手法を開発した。その1つが大気圧ガスクロマトグラフィー（APGC）を用いた有機汚染物質の測定である。APGCは液体クロマトグラフィー質量分析法（LC/MS）のイオン化法である大気圧化学イオン化（Atmospheric pressure chemical ionization, APCI）法を応用したものであり、GC/MSで汎用的に用いられてきた電子イオン化（Electron ionization, EI）法と比べてフラグメンテーションが少なく高い感度で測定が可能である。本研究ではモデル物質としてシマジンとチオベンカルブの測定法を検討した。従来のヘリウムガスを用いるGC/MS法と比較して1.4–24倍の高感度測定ができていた¹⁶⁾。

次にAIQS-GCにおいて水素と水素専用イオン源を用いた測定法の検討を行った。カラムの長さを40 mとして、注入口圧力を4.53 psiと設定することで、ヘリウムキャリアガスと同程度の保持時間で測定することが可能であった。さらに装置性能評価サンプルを測定したところ概ね基準値を満たしていた。今後、異なる装置間の性能評価や測定物質数を増やして水素キャリアガス使用時におけるAIQS-GCの適用可能性を調査していく¹⁷⁾。

4. まとめ

本研究ではこれまで課題であった豪雨災害などの緊急時における生物応答試験の迅速化を解決するため、藻類の遅延蛍光 (DF) を用いた生物応答試験 (DF試験) を採用し、採水現場 (オンサイト) における毒性スクリーニング法の開発を目的とした。そのため、(1) オンサイト適用可能な小型培養装置の開発と性能評価、(2) オンサイトへの適用を実施した。

開発した培養装置の特徴は光源をLEDライトとし、培養庫の冷却及び加温をペルチェ素子にて行い、さらに培養庫内の空気を小型ファンで循環させることで微細藻類の培養装置を小型化できた点にある。さらに、3,5-DCPと重クロム酸カリウムによる化学物質の感受性試験を実施したところ、従来の据え付け型の培養装置と同等の性能を有していた。次にオンサイトにおける藻類試験時間 (培養時間) の検討では30分で阻害影響を確認できることが判った (急性影響と定義)。しかし、培養後24時間でのみ阻害影響が確認される (慢性影響と定義) 化学物質もあることから、オンサイト調査時と研究所内に搬入してからDF試験を実施する調査フローを構築し、これを緊急時における毒性スクリーニング調査手順とした。

本手法をオンサイト調査へ適用したところ、調査した6地点のうち1地点で急性影響を確認し、研究所に搬入後にさらに1地点で慢性影響を確認できた。急性および慢性影響を確認できた地点でAIQS-GCによる有機汚染物質の網羅分析を実施したところ、急性影響が確認された地点 (St. 2) で42物質の化学物質の検出を確認した。慢性影響が確認された地点 (St. 1) では29物質の化学物質の検出があった。

本研究のDF試験では最短30分、最長24時間で結果を得られた。さらに化学物質測定におけるAIQS-GCでは前処理から解析時間を併せて2時間20分で測定結果を得られた。本研究で検討したDF試験とAIQS-GCの組み合わせによって最短3時間程度で水質評価が可能となった。

本研究で用いたAIQS-GCは固定型のGC/MSを用いるため、オンサイトでは実施不可能であった。しかし、近年の技術革新によりポータブル型ガスクロマトグラフ質量分析計の開発が行われている¹⁸⁾。今後、オンサイトにおける前処理法の確立や、これら新技術の導入でオンサイトにおける毒性スクリーニング法の更なる迅速化が期待される。

5. 謝辞

本研究の遂行にあたり、福岡県保健環境研究所環境科学部水質課の各メンバーに多大な支援を頂いた。ここに記して謝意を表す。

6. 参考文献

- 1) 国土交通省気象庁, 梅雨前線による大雨 令和5年(2023年)6月28日~7月16日(速報), <https://www.data.jma.go.jp/stats/data/bosai/report/2023/20230808/20230808.html>(2024.4.2アクセス)
- 2) 門上 希和夫, 棚田 京子, 種田 克行, 中川 勝博, 有害化学物質一斉分析用ガスクロマトグラフィー/質量分析法データベースの開発, 分析化学, 53(6), 581-588 (2004). <https://doi.org/10.2116/bunsekikagaku.53.581>
- 3) 中島大介, 国立研究開発法人国立環境研究所公開講演会, 事故・災害時における半揮発性モニタリングのための網羅的分析法の開発, (2020).

- https://www.nies.go.jp/res_project/s17/dsstrchmrisk/2019/pss/7_s17pslide20200221.pdf (2024. 4. 2 アクセス)
- 4) 古閑豊和, 石橋融子, 宮脇崇, ターゲットスクリーニング分析と生物応答試験による豪雨災害時における河川水中有機汚染物質の調査, 分析化学, 70(10・11), 639-647 (2021). <https://doi.org/10.2116/bunsekikagaku.70.639>
- 5) Katsumata, M., Koike, T., Nishikawa, M., Kazumura, K., Tsuchiya, H., 2006. Rapid ecotoxicological bioassay using delayed fluorescence in the green alga *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Water Res.* 40, 3393-3400. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2006.07.016>.
- 6) Katsumata, M., Ikushima, Y., Bennett, K., Sato, Y., Takeuchi, A., Tatarazako, N., Hakamata, T., 2017. Validation of rapid algal bioassay using delayed fluorescence in an interlaboratory ring study. *Sci. Total Environ.* 605-606, 842-851. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.06.228>.
- 7) Goltsev, V., Zaharieva, I., Chernev, P., Strasser, R.J., 2009. Delayed fluorescence in photosynthesis. *Photosynth. Res.* 101, 217-232. <https://doi.org/10.1007/s11120-009-9451-1>.
- 8) Katsumata, M., Ikushima, Y., Bennett, K., Sato, Y., Takeuchi, A., Tatarazako, N., Hakamata, T., 2017. Validation of rapid algal bioassay using delayed fluorescence in an interlaboratory ring study. *Sci. Total Environ.* 605-606, 842-851. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.06.228>.
- 9) 環境省, 排水(環境水)管理のバイオアッセイ技術検討分科会, 生物応答を用いた排水試験法(検討案), 2013. <https://www.env.go.jp/water/files/sankou5.pdf> (2024. 4. 2 アクセス)
- 10) Berden-Zrimec, M., Drinovec, L., Zrimec, A., Tišler, T., 2007. Delayed fluorescence in algal growth inhibition tests. *Central European Journal of Biology.* 2, 169-181. <https://doi.org/10.2478/s11535-007-0014-1>
- 11) 山守 英朋, 長谷川 絵理, 岡村 祐里子, 大畑 史江, 淡水藻類を用いる生長阻害試験方法～実践的なノウハウの紹介～, 名古屋市環境科学調査センター年報第4号, 43-48, 2015.
- 12) R Core Team, 2018. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. <https://www.R-project.org>
- 13) 環境省水・大気環境局環境課, AIQS-GCによるスクリーニング分析法暫定マニュアル, 2023. <https://www.env.go.jp/content/000123882.pdf> (2024. 4. 2 アクセス)
- 14) 一般財団法人日本規格協会(2021): JISハンドブック JIS K 0102 :2016 工場排水試験方法.
- 15) 古閑豊和, 宮脇崇, 迅速前処理カートリッジを用いた環境水中有機汚染物質のターゲットスクリーニング法の開発, 分析化学, 68(6), 417-425, 2019. <https://doi.org/10.2116/bunsekikagaku.68.417>
- 16) 古閑豊和, 高橋浩司, 窒素キャリアガスを用いた大気圧ガスクロマトグラフィータンデム質量分析法による水質汚濁に係る環境基準の付表 6 シマジン及びチオベンカルブの測定法検討, 環境化学, 33, 74-82, 2023. <https://doi.org/10.5985/jec.33.74>
- 17) 古閑豊和, 高橋浩司, 宮脇崇, AIQS-GC への水素キャリアガスの適用 —装置性能評価の検証—, 第58回日本水環境学会年会講演要旨集, 310, 2024.

18)BRUKER, 緊急対応および環境分析用 GC/MS, <https://www.bruker.com/ja/products-and-solutions/cbrne-detectors/gc-ms/e2m.html>. (2024.4.8 アクセス)