

令和4年度 化学物質安全対策

大学・公的研究機関と連携した化学物質管理高度化推進事業

経口暴露による魚類の化学物質蓄積性と経鰓暴露との関連性

調査報告書

令和5年3月

国立大学法人 鹿児島大学 水産学部

調査課題名：経口暴露による魚類の化学物質蓄積性と経鰓暴露との関連性

研究代表者： 國師 恵美子

職名：助教

所属：鹿児島大学 水産学部

所属機関住所：〒890-0056 鹿児島県鹿児島市下荒田4丁目 50-20

調査体制：以下に実施体制を示す

調査代表者：	國師 恵美子	鹿児島大学水産学部水圏環境保全分野	助教
研究協力者：	宇野 誠一	鹿児島大学水産学部水圏環境保全分野	教授
研究協力者：	山崎 雅俊	鹿児島大学水産学部水圏環境保全分野	助教
実施者：	竹下 諒	鹿児島大学水産学部水圏環境保全分野	修士1年
	内村 未来	鹿児島大学水産学部水圏環境保全分野	修士1年
	今村 和貴	農林水産学研究科 水産資源科学専攻	修士2年
	松尾 純平	連合農学研究科 農水圏資源環境科学専攻	博士1年
	福上 周作	連合農学研究科 農水圏資源環境科学専攻	博士1年

目次

1. 概要と目的	5
1. 1 研究の概要	5
1. 2 研究の背景と目的.....	5
2. 実験方法	6
2. 1 対象物質	6
2. 2 試験魚の畜養及び馴化.....	10
2. 3 試験魚の畜養及び馴化.....	11
2. 4 飼育水及び水質測定.....	12
2. 5 試験餌料の調整.....	12
2. 6 給餌	12
2. 7 試料採取および前処理.....	12
2. 8 各試験物質の分析方法（PAHs 混合物試験）	12
2. 8. 1 餌料及び魚体中の PAHs 混合物分析方法.....	12
2. 8. 2 魚体中 PAHs 測定時の GC/MS の測定条件.....	14
2. 9 各試験物質の分析方法（農薬混合物試験）	14
2. 9. 1 餌料及び魚体中の農薬混合物分析方法及び GC/MS の測定条件.....	14
2. 9. 2 魚体中農薬混合物測定時の GC/MS の測定条件.....	15
2. 10 各試験物質の分析方法（紫外線吸収剤類混合物試験）	16
2. 10. 1 餌料及び魚体中の紫外線吸収剤類混合物分析方法及び測定条件.....	16
2. 10. 2 魚体中紫外線吸収剤測定時の LC/MS/MS 定条件.....	17
3. 結果と考察	18
3. 1 PAHs 類混合物餌料投与法試験の結果と考察.....	18
3. 1. 1 ヒメダカを用いた毒性試験.....	18
3. 1. 2 餌中濃度.....	18
3. 1. 3 PAHs 混合物添加餌料の経口暴露による魚体内蓄積濃度と生物濃縮性...18	
3. 2 農薬混合物餌料投与法試験の結果と考察.....	19
3. 2. 1 ヒメダカを用いた毒性試験.....	19
3. 2. 2 餌中濃度.....	19
3. 2. 3 農薬類混合物添加餌料の経口暴露による魚体内蓄積濃度と生物濃縮性.19	
3. 3 紫外線吸収剤類混合物餌料投与法試験の結果と考察.....	20
3. 3. 1 ヒメダカを用いた毒性試験.....	20
3. 3. 2 餌中濃度.....	20
3. 3. 3 紫外線吸収剤類混合物添加餌料の経口暴露による魚体内蓄積濃度と生物	

濃縮性	20
4. 魚類の化学物質蓄積に関する今後の課題と実施すべきテーマ	22
5. 人材育成	23
6. 参考文献	24

1. 概要と目的

1. 1 研究の概要

本研究は令和3年度に本事業で実施した、「餌料投与法を用いた難水溶性物質の蓄積性を評価するためのデータ構築」の後継研究にあたる。前研究では $\log K_{ow}5$ 以上の難水溶性物質の経口濃縮性を調べたが、令和4年度ではそれよりも $\log K_{ow}$ が低い物質の経口濃縮性を検証した。主に $\log K_{ow}5$ 以下の物質を対象とし、コイに餌料投与法による暴露試験を行った。その結果、多環芳香族炭化水素類のフェナントレンとその派生物、メチルフェナントレンに関して多少高い蓄積性が観察されたものの、その他の物質に関しては、高蓄積性のものはなかった。また、今回対象とした物質では、 $\log K_{ow}$ 、あるいは BCF と BMF 間で明瞭な相関は観察されなかった。

1. 2 研究の背景と目的

化学物質の製造、輸入、使用の実態は常に変動しており、それに伴って有害性に関する新たな知見も得られている。このような状況を随時反映し、我が国の経済の状態や産業の発展などを考慮しつつ、時代に即した化学物質管理制度の見直しを一定期間ごとに行うことが求められている。令和2年8月の化学物質審議会物質選定小委員会報告書で示された中長期的課題の中には、「有害性の評価」に関するいくつかの問題があげられており、今後これらを解決する必要がある。

化審法での化学物質蓄積性評価は OECD TG305 に基づく経鰓濃縮試験により得られた結果について行われている。しかし、この試験は水に溶解した化学物質が魚体に吸収されたときの体内蓄積を評価するものであり、水溶解性が乏しい難水溶性物質については、TG305 試験の適用は難しいとされてきた。そのため、最近、日本では餌料投与法による経口暴露評価が化審法に加えられた。化審法において餌料投与による評価例は増えてきたが、一方でその問題点も見出されてきた。現行では経口濃縮係数 (BMF) 0.007 以下の物質が高蓄積性ではないと扱われるが、この 0.007 という値は生物濃縮係数 (BCF) の高蓄積性が疑われる 1000~5000 L/kg に当たる BMF 値を概想し、さらに不確実性を考慮して大きな安全係数を乗じたかなり安全サイドに立った厳格な値であるという意見もある。そもそも、この 0.007 という数値はデータが揃った時点で再検討するという事で餌料投与法がスタートしたこともあり、今後、科学的根拠に基づいた追加の検証を重ねて、将来再検証されるべきだと考える。そのためには、化審法で実施される新規化学物質における経口濃縮性のみならず、広範囲な既存化学物質の経口濃縮性のデータを得ることも重要となってくるだろう。

上記を踏まえ、本研究では3年間の研究を計画し、将来の化審法における化学物質蓄積性試験を再検討する際に参考となるような経口濃縮データの構築を、現在市場に流通している物質や、野外環境で検出されるような既存化学物質の経口濃縮性を検証することを目

的とする。昨年度は疎水性の高い物質数種に関する経口濃縮性に焦点をあて、コイの経口暴露試験を行った。これに対して令和 4 年度は、多少なりとも水に溶解して水暴露試験が可能であるために経口濃縮性が数多く検討されてきた物質群に焦点をあてて、このような物質群でも経口濃縮性が観察されるか、検証することを目的とした。

2. 実験方法

2. 1 対象物質

本年度の対象物質は、昨年度検討した物質群から注視する点を変えた。すなわち、昨年度は $\log K_{ow}$ が 5 以上になる物質や BCF が 1000L/kg になることが報告され、ある程度経口濃縮性を持つことが期待されるものを選別した。これに対して本年度はこれよりも $\log K_{ow}$ が低く、5 以下のものを中心として選別した。このような物質は、教科書的には腸管吸収して肝臓に運ばれ、血流と共に体内循環するまでかなりの部分が代謝・分解を生体内で受けることが期待され、結果として経口濃縮性は低いとされる。物質選別の際には昨年同様、PRTR 対象物質を参考に BCF や BMF データが論文などで公表されているものを中心に選別した。対象物質群は機器分析を実施する上で同時分析が可能な物質群ごとに 3 つのグループに分類し、それぞれの物質群ごとに添加した餌による経口暴露試験を行った。1 つ目のグループは、石油や燃焼由来で環境中から検出される多環芳香族炭化水素類 (PAHs) の中からジベンゾチオフェン、フェナントレン、2-メチルフェナントレン、9-メチルフェナントレン、アントラセンの 5 種とした (表 1)。2 つめのグループは農薬類でありイプロベンホス (IBP)、ダイアジノン、フェニトロチオン (MEP)、プレチラクロール、ブタクロールなどを対象とした (表 2)。3 つ目のグループは紫外線吸収剤類であり、オキシベンゾン、ジオキシベンゾン、2,2'-ジヒドロキシ-4,4'-ジメトキシベンゾフェノン (DHDMBP)、サリチル酸フェニル、サリチル酸ベンジル、ドロメリゾール、エトクリレン及びアボベンゾンを対象とした (表 3)。暴露対象物質は $\log K_{ow}$ がほぼ 3~5 以下の物質を選定した。

試薬は PAHs 類では、化学分析フェントレン、アントラセン及びジベンゾチオフェンは東京化成株式会社 (TCL) 製、2-メチルフェナントレン及び 9-メチルフェントレンは和光純薬株式会社 (Wako) 製を用いた。農薬類は、全て Wako 製、紫外線吸収剤は、全て TCL 製を用いた。分析で用いたヘキサン、アセトン、アセトニトリルは残留農薬・PCB 分析用、エタノールは HPLC 分析用、無水硫酸ナトリウム、水酸化カリウム、ワコーゲル (C-300) はカラムクロマトグラフ用、フロリジル PR は残留農薬用ですべて富士フィルム和光純薬株式会社製を用いた。農薬分析で用いた QuEChERS 法の DisQuE サンプル前処理キットは Waters 株式会社製の脂質が多いサンプル向けの欧州メソッド (EN 15662) 用を用いた。

表 1. 本研究で用いた試験対象物質 (PAHs 類)

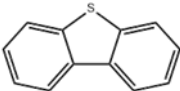
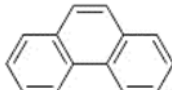
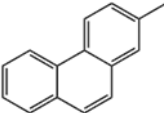
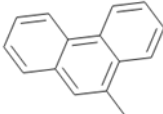
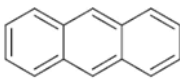
物質名	LogKow	水溶解度	構造式
ジベンゾチオフェン	4.38	1.47 mg/L	
フェナントレン	4.46	1.15 mg/L	
2-メチルフェナントレン	4.86	0.28 mg/L	
9-メチルフェナントレン	4.89	0.31 mg/L	
アントラセン	3.39	1.35 mg/L	

表 2. 本研究で用いた試験対象物質（農薬類）

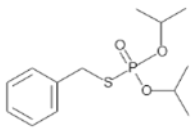
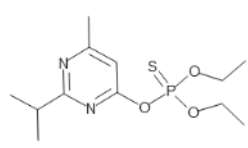
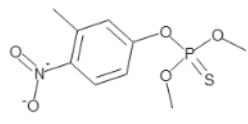
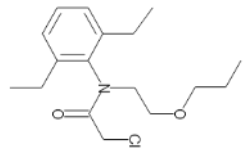
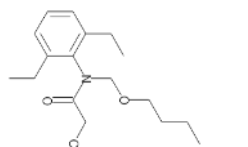
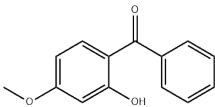
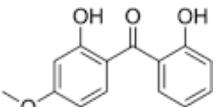
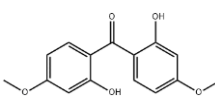
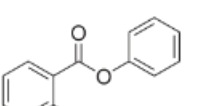
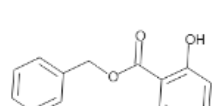
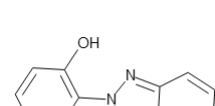
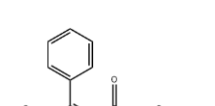
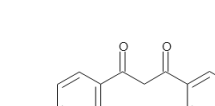
物質名	LogKow	水溶解度	構造式
IBP	3.37	540 mg/L	
ダイアジノン	3.30	60 mg/L	
MEP	3.43	19 mg/L	
カルボスルファン	3.90	74 mg/L	
プロチオホス	4.50	16 mg/L	

表 3. 本研究で用いた試験対象物質（紫外線吸収剤類）

物質名	LogKow	水溶解度	構造式
オキシベンゾン	3.79	3.7 mg/L	
ジオキシベンゾン	3.82	162 mg/L	
DHDMBP	3.90		
サリチル酸フェニル	3.82	不溶	
サリチル酸ベンジル	4.31	不溶	
ドロメトリゾール	3.42	不溶	
エトクリレン	4.01	不溶	
アボベンゾン	4.51	2.2 mg/L	

2. 2 試験魚の畜養及び馴化

餌料投与試験では試験物質を添加した餌を試験魚に与えて行うため、飼育水中濃度を厳格にモニターする必要はないが、試験魚が十分に遊泳できるだけの密度と溶存酸素の確保のため、また餌を投与時に残餌が残ってしまった場合や糞などから水中に餌が溶解してしまっても速やかに除去されるように、本研究では流水式水槽を用いた。この装置は令和3年度に用いたものと同じのものである。我々がこの流水式水槽を動かすにあたり、基本的にサイフンの利用を念頭に水槽を設置した。飼育水槽の上に貯水槽（図1の2）を置き、貯水タンクをさらにもう1つ用意し（図1の4の貯水槽1が該当）、一定の水位以下になると注水タンクに自動的に水を追加するポンプと水位検知装置を設置して、貯水槽2の水位を常に一定に保ち、水位の高さの減少に伴った水流速の低下を防いだ。また、各水槽へのさらなる安定した流速での注水を達成するために、工業用の液体充填機（図1の1）を入手し、これを常時使用した。この充填機の使用により、万が一この装置が止まっても補助的にサイフンで水が流せるようなシステムにし、管理する人間が実験室内に常時滞在しなくてもある程度システムの自動化が達成された（ 50 ± 3 mL/min、各水槽中の水は1日に約1.2回交換）。特に②の液体充填機は工業用で作られているため、耐久性が高く、連続使用にも耐える上に、流速も自由に変えられるため、本研究での流速維持にはかなり有用であった。暴露試験期間中は2.7L/hに設定を行い、換水した。

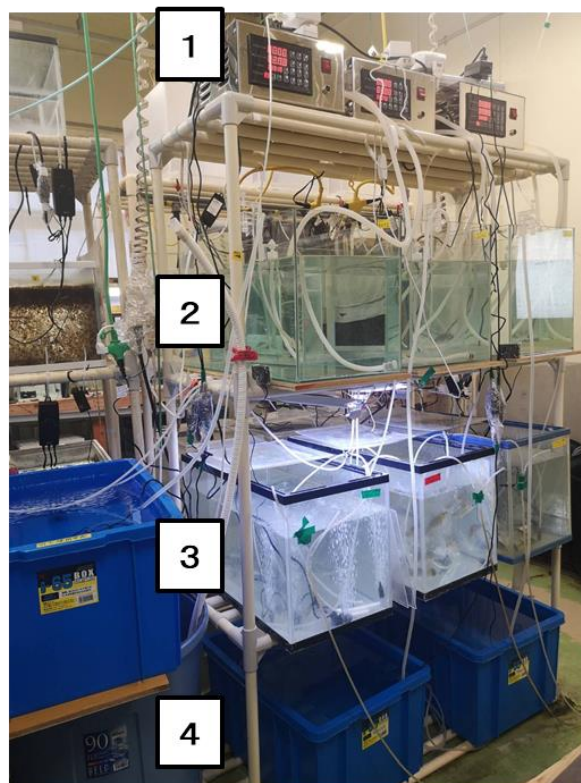
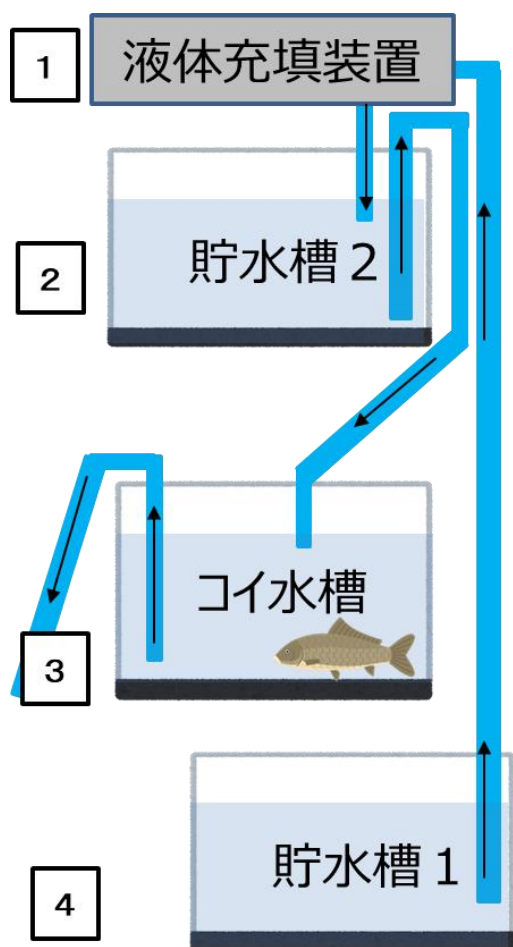


図1 経口暴露試験装置の概念図及び実際の暴露試験の写真

1：液体充填装置、2：貯水槽、3：試験魚のいる水槽、4：予備貯水槽

2. 3 試験魚の畜養及び馴化

本研究で用いたコイは山口県下関市にある国立研究開発法人水産研究・教育機構 水産大学校から当歳魚を供与して頂いた。コイを入手後、約 2 ヶ月間実験室内の 200 L ポリカーボネート製タンク内で馴致し、育成した。飼育水は水道水を 1 日曝気し、脱塩素したものを用いた。馴致期間中、水温は調温せず、フィード・ワン株式会社製の新観賞魚用ペレット錦鯉用フードを毎日給餌した。

毒性試験で用いたヒメダカは鹿児島大学水産学部環境保全学研究室で、10 年以上にわたり継体飼育をしているものを用いた。毒性試験には 6～10 ヶ月齢のものを用いた。試験実施前までは 25℃設定の空調装置を備えた室内に設置した水槽内で飼育し、毎日テトラミン（スペクトラム ブランズ ジャパン株式会社）とアルテミア幼体を与えた。アルテミアは孵化後 24 時間以内のものを与えた。蓄積試験及び毒性試験に用いたコイ、およびヒメダカの雌雄判別は特に行わなかった。

2. 4 飼育水及び水質測定

飼育水は 24 時間以上曝気により脱塩素した水道水を用いた。試験に使用する飼育水は馴化時に使用した水質であり、馴化及び試験期間中も異常な外観や挙動は示さず斃死魚もいなかった。試験期間中は毎日すべての水槽の水温、pH、溶存酸素を測定し、飼育水の水質が試験結果に影響を与えないように確認を行った。

2. 5 試験餌料の調整

餌に試験物質を添加する際には、餌料中の試験物質が均一になるように適宜有機溶媒（ジエチルエーテル、アセトンなどの揮発性を有する溶剤）に溶解させて餌に混合した。この際、添加する溶剤が多くなると、餌が型崩れを起こしてしまうことや、餌中の成分が溶出してしまうことも考えられたため、使用する有機溶剤は最小限になるようにした。

2. 6 給餌

馴化期間中一定量の餌（コイの魚体中 1–2%（湿重量）程度）を給餌し、餌や給餌する実験担当者への忌避行動が起こらないように馴化させた。試験期間中の給餌量は試験魚の急速な成長や給餌不足が起こらないようにするためにも、試験中の魚体採取時に体重を測定し、適宜給餌量の調整を行い、試験期間を通して一定の給餌量を保つこととした。給餌は全ての試験魚が摂餌できるように、一度に投与せずに、少量を小まめに分けて投与した。給餌後 30 分から 1 時間以内にすべての水槽から糞や残餌を除去するためにサイフォンで水換えを行った。

2. 7 試料採取および前処理

餌料投与試験の期間は 14 日間とし、試験餌料を最初に給餌する前を 0 日目とし、以降給餌開始した次の日から暴露 1 日目とした。魚体内濃度中の試験物質を測定する日程は試験開始から 0、5、7、10、14 日目とし、低濃度区及び高濃度区からそれぞれランダムに 5 尾ずつ採取した。コントロール区は 0、7、14 日目に水槽からランダムに 5 尾ずつ採取した。採取した魚は全長、体長、総湿重量、腸管を除去した湿重量を記録し、すみやかに液体窒素で凍結後、ガラス瓶に保管し 24 時間の凍結乾燥を行った。凍結乾燥後は乾燥重量を測定し、はさみやフードプロセッサーを用いて細かく粉碎し、全ての部位が均一に混ざるように攪拌を行い分析まで冷凍庫にて保管した。

2. 8 各試験物質の分析方法（PAHs 混合物試験）

2. 8. 1 餌料及び魚体中の PAHs 混合物分析方法

魚体中の各 PAHs 濃度の分析は Uno et al（2010）を改変して実施した（図 2）。

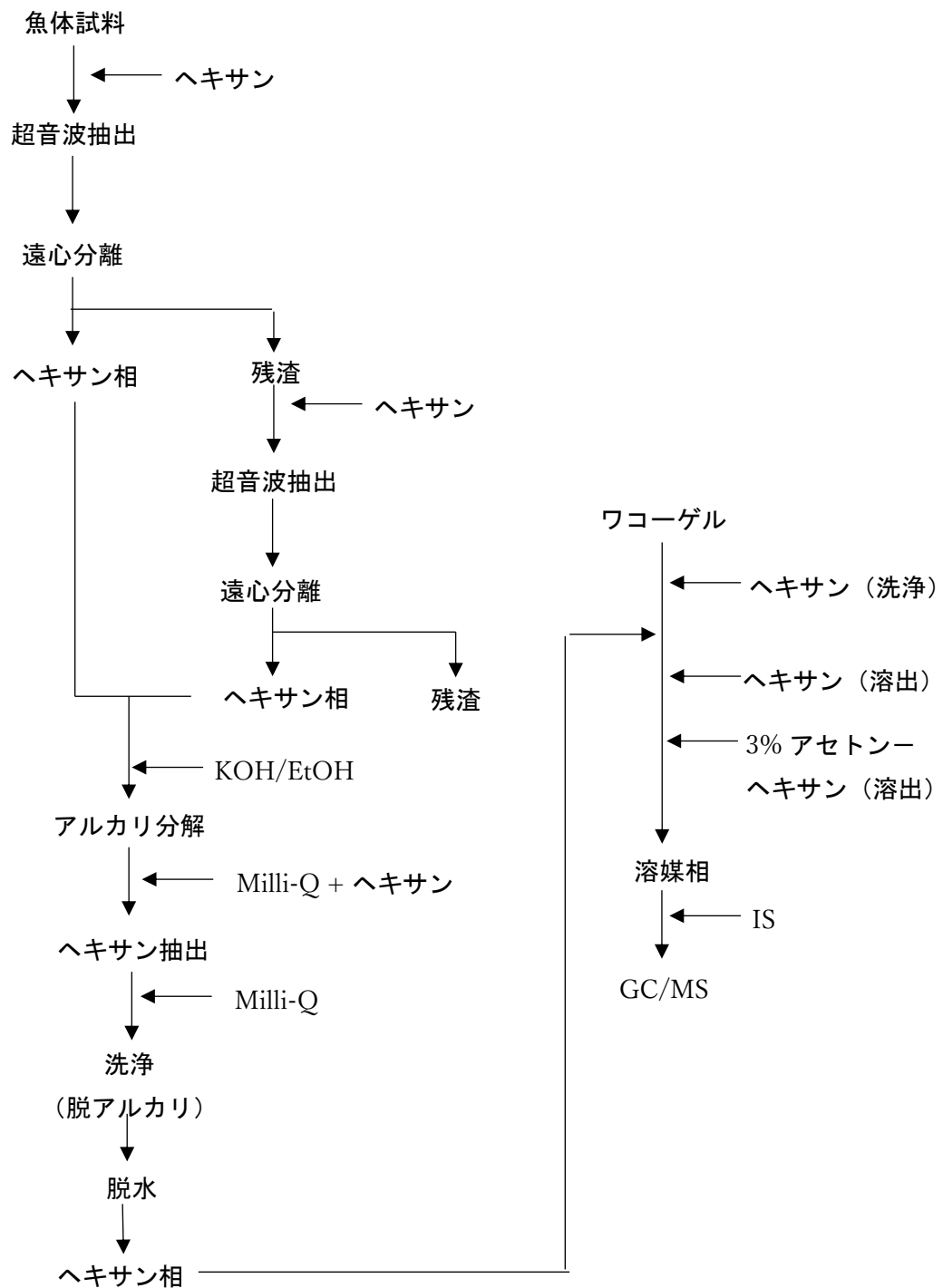


図2 魚体中 PAHs の分析手順の概略

2. 8. 2 魚体中 PAHs 測定時の GC/MS の測定条件

測定は株式会社島津製作所製の GCMS-QP2020-NX により行った。オートサンプラーは島津製の AOC-20s Plus、オートインジェクションは島津製の AOC-20i Plus を用いた。GC/MS 測定条件は以下の通りとした。

注入口温度：280℃

イオン源温度 230℃

注入量：1 µL

注入モード：スプリットレス

カラム：Agilent J&W GC カラム DB-5 MS（長さ 30 m、内径 0.25 mm、膜厚 0.25 µm、アジレント・テクノロジー株式会社）

昇温条件：60℃（1 分間保持）→30℃/min で昇温→180℃（5 分間保持）→30℃/min で昇温→300℃（2 分間保持）

分析時間：16 分間

分析モード：SIM モード

2. 9 各試験物質の分析方法（農薬混合物試験）

2. 9. 1 餌料及び魚体中の農薬混合物分析方法及び GC/MS の測定条件

魚体中農薬混合物の分析は凍結乾燥の試料を QuEChERS 法（Sayed et al, 2021）を採用し、前処理を行った後、GC/MS 測定に供した（図 3）。GC/MS での昇温条件などは 2. 9. 2 項と同様とした。

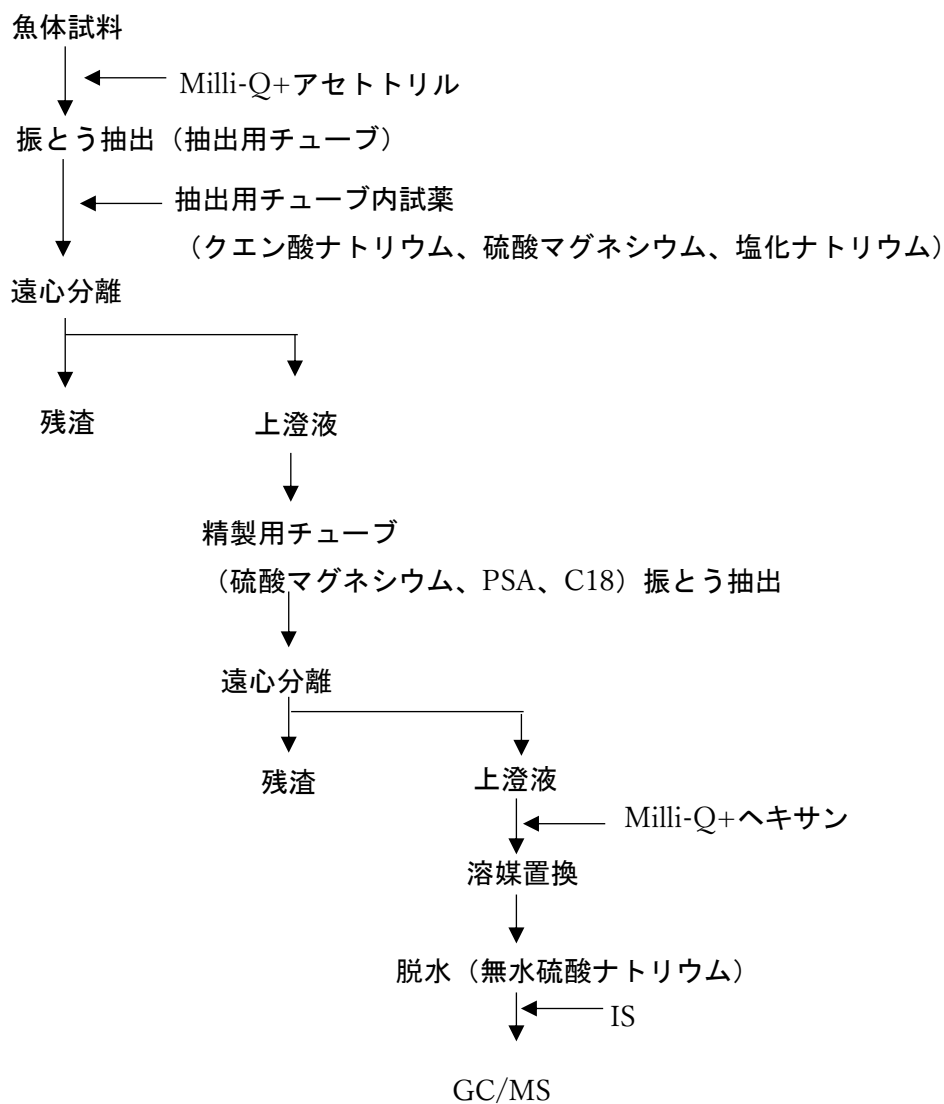


図3 魚体中農薬類の分析手順の概略

2. 9. 2 魚体中農薬混合物測定時の GC/MS の測定条件

測定は株式会社島津製作所製の GCMS-QP2020-NX により行った。オートサンプラーは島津製の AOC-20s Plus、オートインジェクションは島津製の AOC-20i Plus を用いた。GC/MS 測定条件は以下の通りとした。

注入口温度：250℃

イオン源温度 230℃

注入量：1 mL

注入モード：スプリットレス

カラム：Agilent J&W GC カラム DB-1 HT（長さ 30 m、内径 0.25 mm、膜厚 0.1 mm、
アジレント・テクノロジー株式会社）

昇温条件：60°C（1 分間保持）→20°C/min で昇温→225°C（1 分間保持）→2°C/min で昇
温→230°C（1 分間保持）5°C/min で昇温→300°C（5 分間保持）

分析時間：32 分間

分析モード：SIM モード

2. 1 0 各試験物質の分析方法（紫外線吸収剤類混合物試験）

2. 1 0. 1 餌料及び魚体中の紫外線吸収剤類混合物分析方法及び測定条件

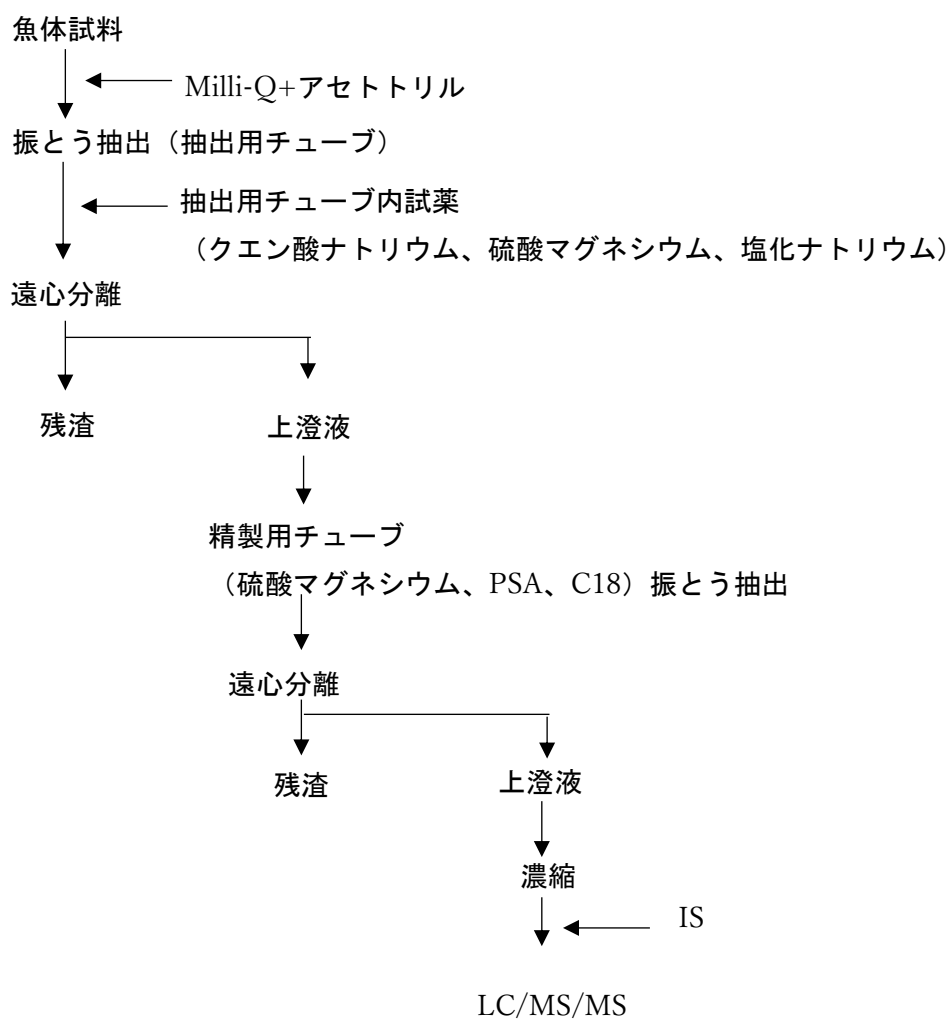


図 4 魚体中紫外線吸収剤類の分析手順の概略

2. 10. 2 魚体中紫外線吸収剤測定時の LC/MS/MS 定条件

測定は株式会社 SCIEX 製の LC/MS/MS-QTRAP4500 を用いた。測定条件は以下の通りとした。

カラム：Inertsil HP 3 μm （内径 2.1 mm、長さ 100 mm）、GL サイエンス製

カラム温度：40 $^{\circ}\text{C}$

移動相：A 液－メタノール、B 液－超純水

グラジエント条件：0-2 分（B: 70 %）→2-7 分（B: 98 %）→7-12 分（B: 98 %）
→12-17 分（B: 70 %）

流速：0.2 mL/min

注入量：5 μL

分析時間：17 分間

分析モード：ESI Positive と Negative 同時測定

3. 結果と考察

3. 1 PAHs 類混合物餌料投与法試験の結果と考察

3. 1. 1 ヒメダカを用いた毒性試験

餌料投与試験での餌中濃度を決定するために、ヒメダカを用いた経口暴露による毒性試験を予備試験として行った。PAHs の混合物を 0.1 mg/g、1 mg/g、10 mg/g の設定で餌に混合し、ヒメダカに体重 1%相当を与える経口投与試験を 2 週間行った。その結果、暴露による斃死は確認されなかったため、暴露濃度を 1 mg/g、10 mg/g とした。

3. 1. 2 餌中濃度

本研究の PAHs 混合物暴露試験で使用する餌中の対象物質の濃度測定を行った。その結果、コントロール区ではジベンゾチオフェンとアントラセンは検出されなかったが、フェナントレンとメチルフェナントレンは検出された。特にフェナントレンのコントロール区の検出濃度は高く、本物質は大気中にも恒常的に存在していることが知られているが、餌の原料となる魚粉からの影響もおおきくうけていると考えられる。低濃度区と高濃度区の餌中濃度はそれぞれジベンゾチオフェンで 0.74 ± 0.06 mg/g、 7.36 ± 1.1 mg/g、フェナントレンは 0.87 ± 0.03 mg/g、 8.45 ± 0.68 mg/g、2-メチルフェナントレンは 0.81 ± 0.01 mg/g、 8.46 ± 0.68 mg/g、9-メチルフェナントレンは 0.75 ± 0.01 mg/g、 8.73 ± 0.68 mg/g、アントラセンは 0.75 ± 0.09 mg/g、 8.1 ± 1.4 mg/g であり、概ね設定値に近い値であった。

3. 1. 3 PAHs 混合物添加餌料の経口暴露による魚体内蓄積濃度と生物濃縮性

コイの PAHs 混合物添加餌料による経口暴露試験の BMF を表 4 に示した。PAHs 混合物の経口暴露では、フェナントレンとメチルフェナントレンは魚体内中から検出され、ある程度の蓄積が認められた。また、暴露 14 日目の終了時でも体内濃度の増加が観察され、両物質は暴露 14 日目ではまだ平衡状態に達していなかった可能性があり、より正確な BMF を算出するためにはより長期間の暴露が必要である。また、低濃度暴露区で BMF が高くなる濃度依存性が認められた。同時期に暴露した基準物質濃度の変動は小さかったことから、混合物中のジベンゾチオフェンとアントラセンは魚体内中から検出されなかったことから、取り込みの違いはおそらくフェナントレンの構造によるものであると考えられる。

表 4 PAHs 経口暴露による BMF と文献値の BCF との比較

物質名	BMF	BCF (文献値)
ジベンゾチオフェン	検出されず	817-2410 (コイ)
フェントレン	L: 0.031~0.313 H: 0.013~0.036	2360 (ファットヘッドミノー)
2-メチルフェナントレン	L: 0.011~0.088 H: 0.003~0.007	3020 (計算値)
9-メチルフェナントレン	L: 0.0127~0.0138 H: 0.0006~0.0014	4 571 (計算値)
アントラセン	検出されず	903-2820 (コイ)

3. 2 農薬混合物餌料投与法試験の結果と考察

3. 2. 1 ヒメダカを用いた毒性試験

毒性試験は PAHs のときと同様に行い、餌中農薬類濃度は 0.1 mg/g、1 mg/g、10 mg/g とした (設定値)。その結果、斃死は確認されなかったため、暴露濃度を 1 mg/g、10 mg/g とした。

3. 2. 2 餌中濃度

本研究の農薬類混合物暴露試験で使用する餌中の対象物質の濃度測定を行った。その結果、コントロール区では試験に用いた農薬類全ての物質が検出されなかった。低濃度区と高濃度区の餌中濃度は、プレチラクロール以外は概ね設定値に対して 80% 弱のブタクロールと IBP、ダイアジノン、MEP は設定値に対して 90% 以上の近い値であった。

3. 2. 3 農薬類混合物添加餌料の経口暴露による魚体内蓄積濃度と生物濃縮性

コイの農薬類混合物添加餌料による経口暴露試験の BMF を表 5 に示した。農薬混合物の経口暴露では、全ての物質が魚体内中から暴露開始から終了時まで検出されなかった。本研究で使用した農薬類は BCF の文献値も低いことから、コイの体内で蓄積する可能性は低いことが考えられた。昨年度使用した農薬類の中には logKow が高い農薬で生体内への取り込みが確認された物質もあったが、農薬類はベンゼン環が連なった構造をしている PAHs とは異なり、直鎖の立体障害が小さな構造をもつ物質は代謝のされやすさなど、構造による違いがあるために蓄積性も異なることが考えられる。

表 5 農薬類経口暴露による BMF と文献値の BCF との比較

物質名	BMF	BCF (文献値)
IBP	検出されず	4～14 (モツゴ、コイ)
ダイアジノン	検出されず	65～78 (コイ)
MEP	検出されず	28.9～299 (ブルーギル、メダカ)
プレチラクロール	検出されず	281 (ブルーギル)
ブタクロール	検出されず	162 (ブルーギル)

3. 3 紫外線吸収剤類混合物餌料投与法試験の結果と考察

3. 3. 1 ヒメダカを用いた毒性試験

毒性試験は PAHs のときと同様に行い、餌中農薬類濃度は 1 mg/g、10 mg/g、100 mg/g とした (設定値)。その結果、斃死は確認されなかったため、暴露濃度を 10 mg/g、100 mg/g とした。

3. 3. 2 餌中濃度

本研究の紫外線吸収剤混合物暴露試験で使用する対象物質をの濃度測定を行った。その結果、コントロール区からは対象物質は全て検出されなかった。低濃度区と高濃度区の餌中濃度はエトクリレンが設定濃度に対して 40% 弱の検出濃度であったが、その他の物質に関しては概ね設定濃度に近い値であった。

3. 3. 3 紫外線吸収剤類混合物添加餌料の経口暴露による魚体内蓄積濃度と生物濃縮性

コイの紫外線吸収剤類物添加餌料による経口暴露試験の BMF を表 6 に示した。14 日間の経口暴露の結果、本研究で対象とした物質は DHDMBP やサリチル酸フェニルなどの物質を除いて検出されたが、いずれも体内濃度は低く BMF は餌料投与法により高蓄積性ではないと判断されている 0.007 の 10 倍から 100 倍以上低い値を示した。また、BCF の文献値のデータが少なく、いずれも計算値のみのデータであったが、いずれの物質も BCF と BMF との間には明瞭な関係は見出すことができないと考えられた。

表 6 紫外線吸収剤類経口暴露による BMF と文献値の BCF との比較

物質名	BMF	BCF（文献値）
オキシベンゾン	L:0.00009～0.00036 H:0.00007～0.00019	38、94、502（計算値）
ジオキシベンゾン	L:0.00008～0.00011 H:0.0001～0.0004	40、524（計算値）
DHDMBP	検出されず	524（計算値）
サリチル酸フェニル	検出されず	154（計算値）
サリチル酸ベンジル	L:検出されず H:0.00007～0.00023	320（計算値）
ドロメリゾール	L:0.00003～0.00026 H:0.00003～0.00019	494（コイ）
エトクリレン	L:0.00002～0.0002 H:0.00002～0.0011	205（計算値）
アボベンゾン	L:0.00041～0.00062 H:0.00007～0.00010	数十倍程度（計算値）

4. 魚類の化学物質蓄積に関する今後の課題と実施すべきテーマ

将来の化審法における化学物質蓄積性試験を再検討する際に参考となるような経口濃縮データの構築を、現在市場に流通している物質や、野外環境で検出されるような既存化学物質の経口濃縮性を検証することを目的とし、2021年度より2年間の継続研究を行ってきた。昨年度はlogKow5以上の疎水性の高い物質のうちPAHs類と農薬類及びテルフェニル類から各6物質合計18種を選定し、コイの経口暴露試験を行った。その結果、試験対象としたlogKowが高い物質やBCFで高蓄積性といわれる物質でも、BMFが高くないことが確認された。しかし、logKowが5以下の物質でも、5以上のものと同様にBMFが低くなるか否かに関するデータは不足しており、logKowとBMFとの相関関係を調べる上でもそのデータを得ることは必須であると考えられた。そのため、本年度はlogKow3~5の物質中から、PAHs類、農薬類及び紫外線吸収剤類を合計18種選定し、昨年度同様の経口暴露試験をコイに実施した。その結果、PAHs類のフェントレンやその派生物の蓄積性が多少高くなり、濃度依存性も見られた。低濃度区では高蓄積性の指標とされているBMF=0.007を超えるものも散見されたが、昨年度から行ってきた他のPAHs類ではこのような傾向はみられなかったことから、フェントレン骨格をもつ化学物質は経口蓄積性が高い可能性が示唆された。一方、昨年度及び今年度行った農薬類の経口蓄積はほぼ全てBMFが検出されなかったことから、現在、農地などで使用されている農薬類の経口蓄積性は低いと考えられる。

昨年度及び今年度行った経口蓄積試験では体内濃度が検出限界以下であるものが多く、BMFの算出ができないものが多かった。そのため、BCFとBMFの間には明瞭な関係性が見出すことができなかった。さらに、logKowとBMFとの相関性も見られなかったことから、経口濃縮性に影響を与えるのは物質構造や体内での分解性や被薬物代謝などの要因が関わっている可能性が考えられた。しかし、いずれの結果もコイを用いた試験結果のみであるため、臓器構造の異なる魚類あるいは栄養段階や脂質含有量の異なる水生生物などの種間差の有無については既存のデータは限定されており、その詳細はほとんど知られていない。そのため、複数生物種のBMFを得て、その値を比較することにより、化学物質の経口濃縮性の理解が深まることが期待できるため、今後の課題として実施すべきテーマであると考ええる。

5. 人材育成

化学物質影響評価を担う業界を目指す若者は減少しつつある、と言われている。その原因をはっきりと言及することはできないが、どのような業務に携わるかが余り知られておらず、先入観ありきで敬遠されている面もあるかもしれない。そのため、代表者が所属する研究室の学生を中心として、化審法に携わったときに触れるような実験、その評価法など、学生を実際に実験に参加させて、その一端に触れるような機会を一定期間設けている。この取り組みは昨年度も実施しており、内容としては余り変わらないため、同様の内容を以下、再掲する。

例えば、近年の環境汚染物質研究では蓄積のみを扱った研究は少なくなっているのは事実である。しかし、生物における毒性発現メカニズムを考えると、化学物質は生物体内に入った後、一定濃度まで体内濃度上昇があり、影響発現閾値を超えたとき、初めて個体に影響が現れる。そのため、個々の化学物質の蓄積性を知ることは極めて重要であり、かつ、生物影響リスク評価を実施する上での最初の一步といえる。しかし、反面、蓄積試験の特殊性は学生などの若者がその内容を理解するまでに時間を必要とし、また生物中化学物質の分析技術は高度なものが要求される、生物の飼育技術も高いものが要求される、など、高度な実験テクニックが随所に要求される。そのため、我々の研究室では本改題の採択に伴い、定期的な勉強会を行い、学生間での蓄積試験全般の知識と技術の定着を図った。この試みを通して、実験なども試験担当者以外も飼育実験の組み立てや解剖にも加わり、手を動かして経験を積ませる機会を得ることができた。勉強会や実験など知識や経験に乏しい部分は研究協力者であるベテラン研究者にアドバイスを適宜受けるようにし、知識と技術の継承を行っていった。なお、本研究で得られた研究結果は本研究に携わった学生が学会発表、および投稿論文化する予定である。

6. 参考文献

Añasco, N., Uno, S., Koyama, J., Matsuoka, T., Kuwahara, N. Assessment of pesticide residues in freshwater areas affected by rice paddy effluents in southern Japan. *Environ. Monit. Assess.* 2010. 160. 371-383.

Cheikyula, J. O., Koyama, J., Uno, S. Comparative study of bioconcentration and EROD activity induction in the Japanese flounder, red sea bream, and Java medaka exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environ. Toxicol.* 2008. 23. 354-362.

環境省環境管理局水環境部企画課. 要調査項目等調査マニュアル（水質、底質、水生生物）. 平成 15 年.

環境省環境リスク評価室. 化学物質の環境リスク評価 第 4 巻. [13]フェナントレン. 平成 23 年.

環境省環境リスク評価室. 化学物質の環境リスク評価 第 5 巻. [2]アントラセン. 平成 23 年.

Uno S., Shiraishi H., Hatakeyama S., Otsuki, A. Uptake and depuration kinetics and BCFs several pesticides in three species of shellfish (*Corbicula leana*, *Corbicula japonica*, and *Cipangopludina chinensis*): Comparison between field and laboratory experiment. *Aquat. Toxicol.* 1997. 39. 23-43.

Uno, S., Koyama, J., Kokushi, E., Monteclaro, H., Santander, S., Cheikyula, J. O., Miki, S., Añasco, N., Pahila, I. G., Taberna Jr., H. S., Matsuoka, T. Monitoring of PAHs and alkylated PAHs in aquatic organisms after one month from Solar I oil spill off the coast of Guimaras Island, Philippines. *Environ. Monit. Assess.* 2010. 165. 501-515.

Uno, S., Kokushi, E., Añasco, N. C., Iwai, T., Ito, K., Koyama, J. Oil spill off the coast of Guimaras island, Philippines: distributions and changes of polycyclic aromatic hydrocarbons in shellfish. *Mar. Pollut. Bull.* 2017. 124. 962-973.

Sayed A, Chys M, De Rop J, Goeteyn L, Spanoghe P, Sampers I. Pesticide residues in treated wastewater and products of Belgian vegetable- and potato processing companies. *Chemosphere.* 2021. 280.