



愛研技術通信

掲 示 板

法令・告示・通知・最新記事・その他

○「第2回生態影響試験チャレンジテスト」結果報告

～ WET 試験の精度が維持されていることが確認できました ～

平成30年6月に国立研究開発法人 国立環境研究所主催の「第2回生態影響試験チャレンジテスト」が行われ、その結果が平成30年9月11日の日本環境毒性学会で公表されました。本号ではこの試験結果を報告します。なお、日本環境毒性学会での発表資料は「一般財団法人 セタックジャパン」のホームページ(<http://setac-ea.org/>)で公開される予定です。

【開催の趣旨】

第1回チャレンジテストでは様々な種類の生物応答試験で模擬排水の毒性評価を行いました。第2回のチャレンジテストでは環境省から提案されている「生物応答を用いた排水管理手法の生態影響試験法（WET試験）」と「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律」（化審法）や「農薬取締法」などに記載された既存の試験法に限定されました。

それぞれの機関が共通のサンプル（模擬排水）について試験を行い、その結果を総合的に比較することによって、複合化学物質の評価に適した試験法の洗い出しとそれらの適用妥当性を検証するとともに、将来取り組むべき課題の抽出に役立てていくことを目的としています。

試験機関間、試験方法間の優劣を競うことは目的ではなく、より良い水環境の保全を目指すために複数の化学物質の影響を知る評価手法の1つとして、生態影響試験の普及啓発に資することも目的としています。

弊社は今回「甲殻類（ニセネコゼミジンコ）を用いる繁殖試験」と「胚・仔魚期の魚類（ゼブラフィッシュ）を用いる短期毒性試験」に参加しました。

【 試験参加機関 】

試験参加機関は民間機関が 13 機関、公的機関及び大学が 3 機関、地方の環境研究所が 4 機関、個人 1 機関の合計 21 機関が参加しました。

「甲殻類（ニセネコゼミジンコ）を用いる繁殖試験」に参加した機関が 14、「藻類（ムレミカツキモ）を用いる生長阻害試験」に参加した機関が 13、「胚・仔魚期の魚類（ゼブラフィッシュ）を用いる短期毒性試験」に参加した機関が 12、その他の生態影響試験に参加した機関が 8 です。

参加機関と試験数

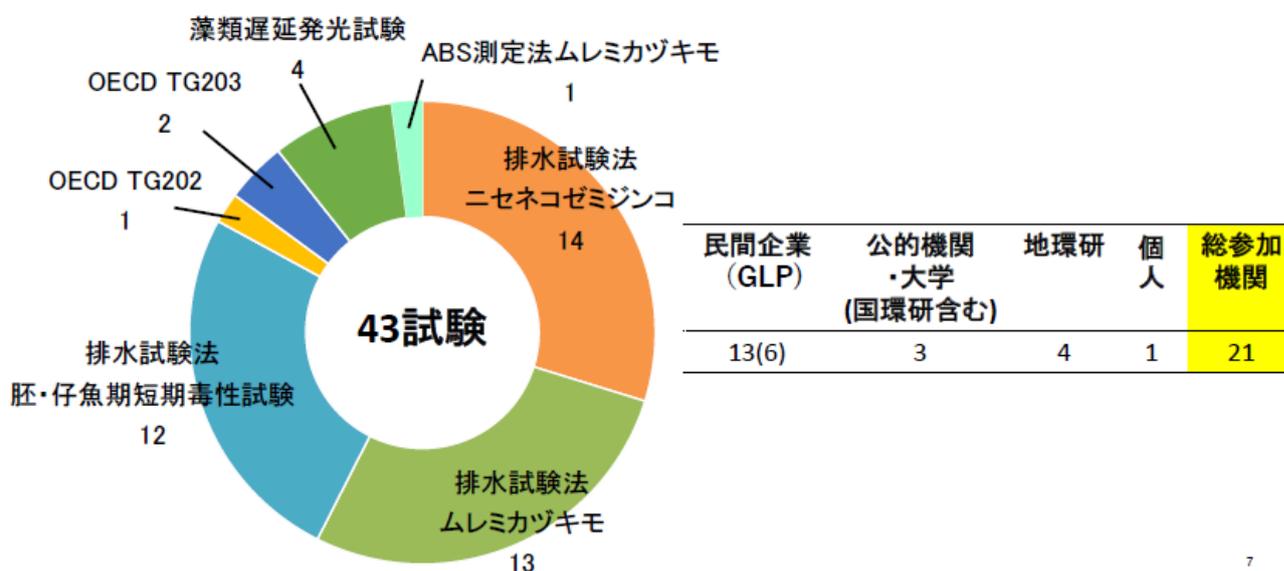


図 1. 試験参加機関と総試験数

【 模擬排水の概要 】

模擬排水試料は人工調整水（硬度 80~100mg/L）に 3 種類の試薬と食用色素を添加して調整したものを 1 ヶ月程度冷暗所で保存し、毒性を安定化させたものです。添加した試薬は、非ステロイド性抗炎症剤の 1 種である「ジクロフェナクナトリウム」、除草剤の 1 種である「ジウロン」、殺虫剤の 1 種である「ピリプロキシフェン」です。

排水基準は満足している模擬排水ですが、「ジウロン」と「ピリプロキシフェン」は水生生物に対する毒性が非常に強いとされている物質です。

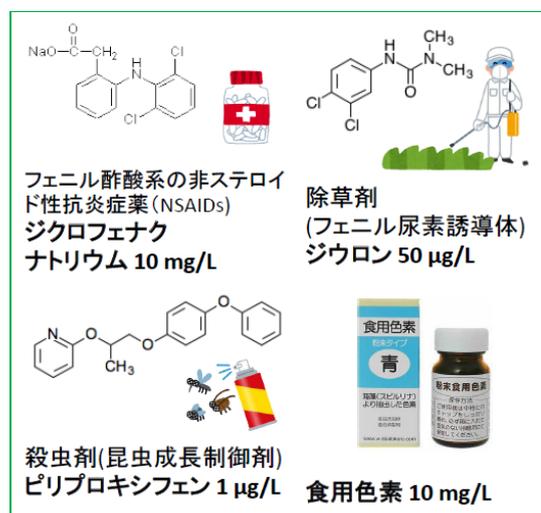


図 2. 添加薬剤

なお、「ジクロフェナクナトリウム」の安全データシートには水性生物に対する毒性は「データが無い」となっています。

【 WET 試験結果の概要 】

WET 試験の試験結果の概要を表 1. に示します。なお、弊社の試験機関番号は 8 番です。

「藻類を用いる生長阻害試験」では 7 機関、「甲殻類（ニセネコゼミジンコ）を用いる繁殖試験」では 3 機関、「胚・仔魚期の魚類（ゼブラフィッシュ）を用いる短期毒性試験」では 9 機関が「毒性なし」(TU ≤ 10) の評価をしましたが、生物試験であることを考慮すれば、試験法ごとにある程度の範囲内に試験結果は集約しているといえます。

弊社の報告した毒性評価は、参加機関の多数とほぼ一致していました。生物試験は試験結果にある程度の変動幅があることを考慮すれば、妥当な試験結果を報告できたと考えられます。

表 1. WET 試験結果一覧表

試験機関 番号	NOEC (%)			TU		
	藻類	ミジンコ	魚類	藻類	ミジンコ	魚類
2	<5	5	20	>20	20	5
4	20			5		
5	10	5	5	10	20	20
6	5	10	20	20	10	5
7	5	5	10	20	20	10
8		10	10		10	10
9		5			20	
10	10	5	10	10	20	10
11			10			10
12	5	<5	20	20	>20	5
13	10	5	10	10	20	10
14	10	<5	5	10	>20	20
15		20			5	
16	<5	5	5	>20	20	20
17		5			20	
18	10			10		
20	10			10		
21-1	5	<1.25	20	20	>80	5
21-2		0.31			323	

愛研の
報告値

注 1 NOEC (最大の無影響濃度) : 各影響指標について、対照区と比較して統計学的に有意な低下が認められた最も低い試験濃度が LOEC (最小影響濃度)、その一つ下の試験濃度が NOEC (最大無影響濃度)。

注2 TU (Toxic Unit) : NOEC の逆数をとったもので、放流先で毒性影響が見られなくなるために必要な希釈倍率。TU が 10 を超える場合改善の必要ありと評価されることが想定されている。これは、放流先で約 10 倍に希釈されるという想定のもと、排水基準が水質環境基準の 10 倍に設定されていることに倣っている。

注3 試験機関番号 21 は国立環境研究所。21-1 は本試験の結果、21-2 は予備試験（試薬添加直後）の試験結果。「甲殻類（ニセネコゼミジンコ）を用いる繁殖試験」で国立環境研究所のみ TU が高いのは、試料の配送に使用した容器に生態毒性物質が吸着し、国立環境研究所以外の試料の生態毒性が弱まった可能性がある。

【 試験結果の考察 】

- ・今回の試験は先回同様、参加試験機関の優劣を競うものではありません。どの試験機関のデータが正しいとは言い難いですが、試験法ごとにある程度の範囲内に結果は集約していることが分かりました。
- ・試験条件には、「生物応答を用いた排水管理手法の生態影響試験法」に記載されていない細かな条件があります。今回アンケート調査で各社の試験条件を収集しましたが、試験結果に繋がる考察は得られませんでした。しかし、それらについてもある程度条件をそろえる必要があるか今後検討の余地があります。

【 今後の愛研での WET の取り組み 】

一昨年に、お客様からご提供いただいた排水試料を用いて「胚・仔魚期の魚類（ゼブラフィッシュ）を用いる短期毒性試験」を行い、その結果を「平成 28 年度 第 24 回日環境協・環境セミナー 全国大会 in 岐阜 by 長良川」で発表しました。昨年は、「甲殻類（ニセネコゼミジンコ）を用いる繁殖試験」のご依頼をいただき、試験結果をご報告しました。

今回の「第 2 回生態影響試験チャレンジテスト」の結果から「甲殻類（ニセネコゼミジンコ）を用いる繁殖試験」試験結果の妥当性が確認でき、昨年参加した「胚・仔魚期の魚類（ゼブラフィッシュ）を用いる短期毒性試験」の試験精度が維持できていると考えられます。

国立環境研究所は「チャレンジテスト」を今後も開催したいとの意向があります。次回以降もこの試験に参加して技術の研鑽に努めていきます。

○ 「土壌汚染対策法施行令の一部を改正する政令」等の閣議決定について

～ 1,2-ジクロロエチレンの基準が追加されます ～

平成30年9月25日 環境省 報道発表抜粋

「土壌汚染対策法施行令の一部を改正する政令」が平成30年9月25日に閣議決定されました。特定有害物質に「1,2-ジクロロエチレン」が追加されます。また、国等が行う汚染土壌の処理の特例の規定の適用に関する読替え規定が設けられました。施行は平成31年4月1日です。

【 概要 】

① 特定有害物質の追加

土壤汚染対策法（平成 14 年法律第 53 号）第 2 条第 1 項の規定による特定有害物質に「トランス-1,2-ジクロロエチレン」を追加して、現行の「シス-1,2-ジクロロエチレン」とあわせた「1,2-ジクロロエチレン」として指定されました。

基準値：0.04mg/L以下であること

② 国等が行う汚染土壌の処理の特例の規定の適用に関する読替え

改正法による改正後の土壤汚染対策法（以下「法」という。）第 27 条の 5 においては、国又は地方公共団体（以下「国等」という。）が行う汚染土壌の処理の事業について、当該国等の機関が都道府県知事と協議し、その協議が成立することをもって、汚染土壌の処理の業の許可があったものとみなすこととし、国等が行う汚染土壌の処理の特例の規定の適用に関し必要な事項を政令で定めることとされています。このため、国等が行う汚染土壌の処理の特例の規定の適用に関し必要な事項を定めました。

○ 世界初！イメージング質量分析法により昆虫体内の農薬動態を可視化

～ イメージング質量分析により見えないものをみる新技術 ～

平成30年9月10日 大阪大学 報道発表抜粋

大阪大学大学院工学研究科の新聞秀一准教授らの研究グループは、マトリックス支援レーザー脱離イオン化イメージング質量分析法（MALDI-IMS）を用いて、ショウジョウバエ中のネオニコチノイド系農薬の一つであるイミダクロプリド分布を可視化することに世界で初めて成功しました。



図.1 イメージング質量分析装置 iMScopeTRIO
（大阪大学工学部 HP より引用）

【 背景 】

これまで、様々な農薬について、植物ならびに昆虫体内での分布はほとんど明らかになっていませんでした。また、昆虫体内での農薬や生体分子の分布情報を得るための標本作成方法が困難であるという課題がありました。

環境負荷を低減する農薬開発において、新たな農薬評価手法が求められており、その一つとしてMALDI-IMSが注目を集めつつあります。

新間准教授らの研究グループでは、ショウジョウバエ中のイミダクロプリド分布を明らかにするために、昆虫（本研究ではモデル動物であるショウジョウバエ）から測定用標本作製するための手法を検討し、MALDI-IMS専用機であるiMScopeTRIO（島津製作所）を用いて分布情報を可視化しました。

【 概要 】

新間准教授らの研究グループは、モデル動物としてショウジョウバエを用い、イミダクロプリドを混合した餌を与えた後、ショウジョウバエの凍結切片標本作製しイミダクロプリドをMALDI-IMSにより直接検出しました。

イオン化の際、イミダクロプリドはグアニジン化（注）することを証明し、分布情報可視化にはグアニジン化イミダクロプリドのシグナルを用いました。グアニジン化イミダクロプリドのシグナルは、摂食後に腹部周囲で拡散する様子が可視化され、90分後には脳をはじめとする全身で検出されることを示しました。本研究結果により、新しい農薬評価手法が確立されるとともに、今後、摂食前後での生体分子変化を観察することで、昆虫生理学研究の新たなツールとなることが期待されます。

（注）グアニジン化：イミダクロプリドの $=N-NO_2$ より NO_2 が外れて $=NH$ の形になること

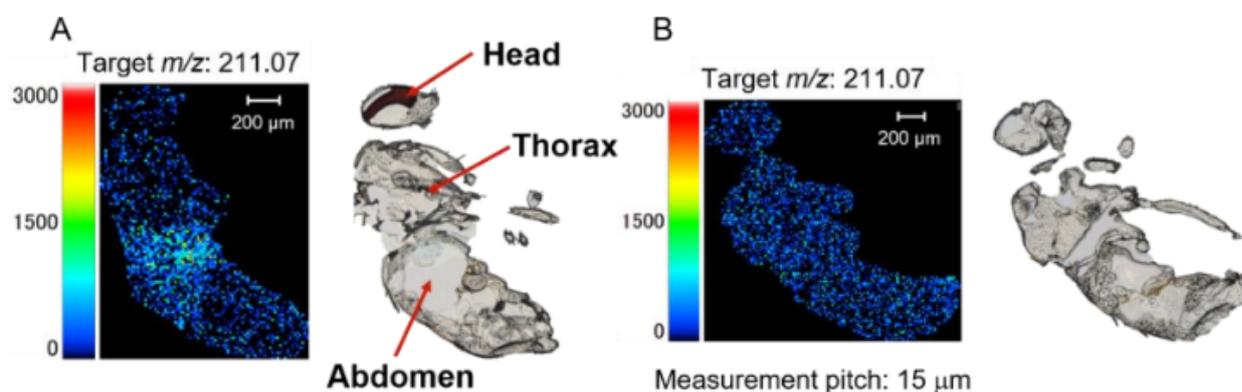


図.2 ショウジョウバエ体内におけるイミダクロプリド分布
(A)イミダクロプリド摂食後, (B)イミダクロプリド未摂食

【 マトリックス支援レーザー脱離イオン化イメージング質量分析法 (MALDI-IMS) とは 】

質量分析法の基本原理は、イオン(電気を帯びた原子、分子)を一定の速度に加速して磁場の中を通過させてやると、そのイオンの持っている質量数(重さ)に応じて磁場の強度により軌道が曲げられるという性質を利用したものです。そのため試料をイオン源でイオン化し、気相に存在するイオンにする必要があります。

図.1に質量分析法の基本原理を示します。この図ではイオン源として電子を利用しています。

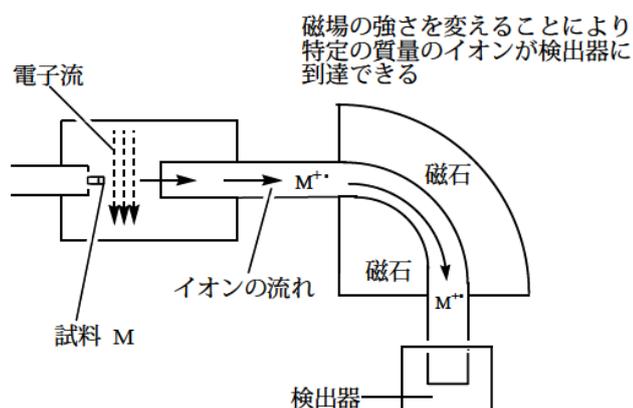


図.1 質量分析法の基本原理

イオン化法には色々な方法が考案されていますが、MALDI-IMS法は、マトリックスと言われる補助剤と試料を混ぜレーザーを当て、発生したイオンを質量分析により検出する方法です。

固体や液体などの物質は、高温にすればするほど壊れるよりも気化の方が促進されるという性質があります。光のエネルギーを吸収しやすい物質(マトリックス)と試料分子を混ぜてレーザー光を当てると、マトリックスが試料分子よりも先にエネルギーを吸収し、試料分子が壊れないでイオン化するのを助けます。このように、試料分子のイオン化を助ける補助剤をマトリックスといいます。島津製作所の田中耕一さんらのグループがこの技術を開発し、ノーベル賞を受賞しました。田中さんらのグループは、コバルトとグリセリンを混ぜたものをマトリックスとして使用しました。

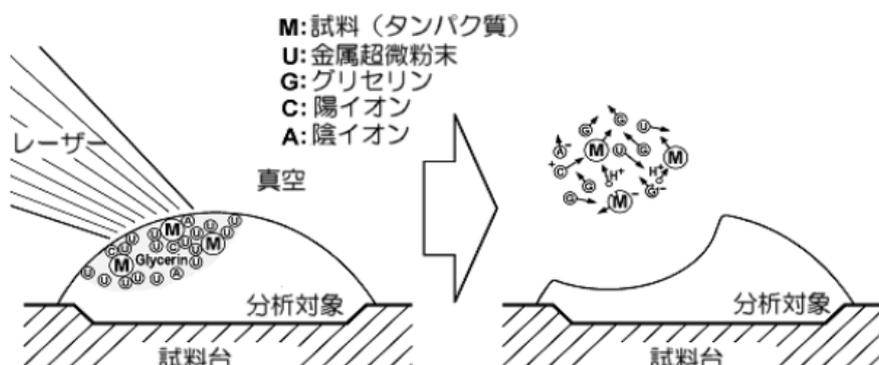


図.2 イオン化の模式図(島津製作所ホームページより引用)

MALDI/MS (マトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析計) は合成高分子や生体高分子の質

量を把握し、分子量情報のほかに化合物やその部分構造の組成式を求めることに使用されていましたが、近年イメージング機能を有する装置が開発されました。イメージング質量分析法により有機化合物の分布情報が得られることになり、医薬分野で代謝物、機能性物質の生体内での分布解析等、化学工業分野で部材の不良劣化解析等に適用されています。ちなみに、本研究で使用された「iMScopeTRIO」の本体価格は1億5000万円です。

編集後記

小惑星探査機「はやぶさ2」が6月27日に小惑星「リュウグウ」に到着し、9月22日に小型ローバー「MINERVA-II」が「リュウグウ」に着地、10月3日には小型着陸機「MASCOT」も着地に成功しました。前回ははやぶさプロジェクトでは成功しなかったミッションが今回は順調に成功しているようです。10月下旬ごろから、「はやぶさ2」本体の「リュウグウ」着地が試みられる予定でしたが、「リュウグウ」の地形が岩だらけで、着地地点の選定に時間がかかり来年に延期されました。どんな成果を持ち帰ってくれるか楽しみです。(A. K.)



写真左：「MINERVA-II」が撮影した「リュウグウ」写真右：「リュウグウ」に着陸する「MASCOT」
(JAXAホームページより引用)



株式会社 愛 研

(<http://www.ai-ken.co.jp>)

本 社 〒463-0037 名古屋市守山区天子田 2-710

電話(052)771-2717 FAX(052)771-2641

半田営業所 〒475-0088 半田市花田町 2-65

電話(0569)28-4738 FAX(0569)28-4749