

ノンターゲット分析による下水の毒性原因の推定

いであ株式会社 環境創造研究所 ○澤井 淳、安田 侑右、中本 貴士、岡村 哲郎、森 大樹、宮本 信一

Non-target analysis and whole effluent toxicity test as estimating tool for the cause of sewage toxicity by Atsushi SAWAI, Yusuke YASUDA, Takashi NAKAMOTO, Tetsuro OKAMURA, Taiki MORI, Nobukazu MIYAMOTO (Inst. of Environ. Ecol. /IDEA Consultants, Inc.)

1. はじめに

事業場排水の生物応答試験（日本版 WET 試験）で毒性がみられた場合、必要に応じて、毒性削減方法を検討するために毒性原因の特徴化が求められる。

毒性原因が有機化合物群であると特徴化された際に、毒性削減対策を選定するための情報を得る1つの手法として、ノンターゲット分析の適用を試みた。

2. 方法

(1) 下水試料

平成26年11月に、都市部の下水処理場から活性汚泥処理前の一次処理水および活性汚泥処理後の二次処理水を塩素消毒前に採水した。下水処理水は、冷蔵、遮光条件で24時間以内に試験施設に搬入し、ナイロンメッシュでろ過後、固相抽出して得られたメタノール溶出液を試験溶液の調製およびノンターゲット分析に供した。

(2) 藻類生長阻害試験

一次処理水および二次処理水について、それぞれ1Lを固相カラム（OASIS HLB、日本 Waters）に通し、メタノール10mLで抽出した。抽出液は、窒素を吹き付けて1mLに濃縮した後、OECD培地で1L

に希釈し、ムレミカヅキモを用いる藻類生長阻害試験（藻類試験）に供した。試験は、環境省の「排水（環境水）管理のバイオアッセイ技術検討分科会」において作成された試験法案¹⁾に準拠した。藻類試験の試験条件を表1に示す。

(3) ノンターゲット分析

GC-TOF/MSを用いて、固相抽出した一次処理水および二次処理水のノンターゲット分析を実施した。固相抽出した一次処理水は、メタノールでさらに10倍希釈し、分析に供した。測定条件を表2に示す。

3. 結果と今後の課題

藻類試験の結果、固相抽出した一次処理水および二次処理水の無影響濃度（NOEC）はそれぞれ5%および80%であり、固相抽出した一次処理水でのみ毒性がみられた。ノンターゲット分析により、化学物質情報（ライブラリ）との一致率を示す Hit rate が50%以上の化学物質が、一次処理水において190物質、二次処理水において238物質検出された。また、一次処理水でのみ検出された化学物質は118物質であった。

表1 藻類試験条件

項目	藻類試験条件
ばく露方式	止水式、振とう培養（100 rpm）
ばく露期間	72時間
試験区	一次処理水：5、10、20、40、80% 二次処理水：80%
連数（繰返し）	3連／試験濃度区、6連／対照区
試験生物	ムレミカヅキモ (<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>)
試験生物数	5×10 ³ cells/mL／試験容器
試験用水	OECD培地
試験液量	100 mL／試験容器
試験温度	23±2 °C
照明	白色蛍光灯、連続光、 光量子束密度60～120 μmol/m ² /s
給餌	なし
エンドポイント	生長速度、生長阻害率

表2 GC-TOF/MSによるノンターゲット分析の測定条件

GC (Agilent 7890A)	
Column	DB-5MS (Agilent), 30 m×0.25 mm×0.25 μm
Oven	70 °C (1.5 min) → 16 °C/min → 200 °C (0.5 min)
Carrier Gas	He
Flow Rate	0.5 mL/min (Constant Flow)
Inlet Temp.	250 °C
Injection	Splitless
Injection vol.	1 μL
TOF/MS (Agilent 7200 Series)	
Ionization	EI
Electron Energy	70 eV
Ionization / Emission Curr.	35 μA
Ion Source Temp.	230 °C
Interface Temp.	280 °C
Acquisition Rate	4 spectrum/sec.
Mode	Scan mode, m/z 50～700

一次処理水でのみ検出され、Hit rate が 80%以上であった化学物質を表 3 に、物性推算ソフト EPI Suite (US EPA, 2012) を用いて推算した物性値および下水処理での除去率を表 4 および表 5 に示す。また、構造活性相関による生態毒性推定ソフト ECOSAR (US EPA, 2012) で推定した藻類の半数影響濃度 EC₅₀ と下水処理での除去率推算値の関係を図 2 に示す。OECD の有害性分類において、最も有害性が高い分類であるカテゴリーI に相当 (EC₅₀ が 1 mg/L 以下) し、下水処理での除去率が 90%未満と推定された物質は 3 物質であった。ノンターゲット分析から、毒性の高い化学物質の大部分が下水処理により除去されると推定され、固相抽出した二次処理水に毒性がみられないという結果と整合した。

今後は、GC-TOF/MS では検出困難な水溶性の高い物質について、LC-MS/MS 等を用いたノンターゲット分析の検討を進めていく。

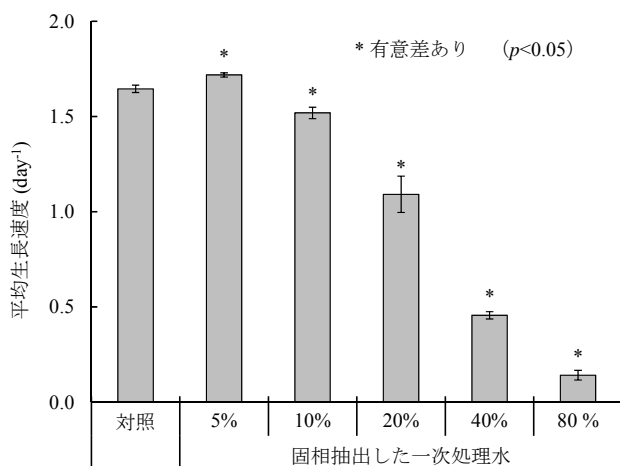


図 1 固相抽出した一次処理水の平均生長速度

表 3 一次処理水でのみ検出された Hit rate 80%以上の化学物質

Hit rate (%)	物質名	構造式	分子量
95.1	4-メチルインドール	<chem>Cc1ccc[nH]1</chem>	131.18
87.0	N,N-ジメチルドデシルアミン	<chem>CN(C)CCCCCCCCCCC</chem>	213.41
86.5	ラウリン酸	<chem>CCCCCCCCCCCCCCCC(=O)O</chem>	200.32
82.7	シクロドデカン	<chem>C1CCCCCCCCCCC1</chem>	168.33
81.7	フマル酸ビス(2-エチルヘキシル)	<chem>CCCCC/C=C\CCCC(=O)OCC</chem>	340.51
81.1	エライジン酸	<chem>CCCCC/C=C/C=C\CCCCCCCC(=O)O</chem>	282.47

表 4 一次処理水でのみ検出された Hit rate 80%以上の化学物質の物性推算値

物質名	物性推算値			
	Log Kow	蒸気圧 (Pa)	水溶解度 (mg/L)	ヘンリー定数 (atm·m ³ /mole)
4-メチルインドール	2.54	1.45E+00	1.88E+02	2.13E-06
N,N-ジメチルドデシルアミン	5.44	2.12E+00	4.70E+00	4.88E-03
ラウリン酸	4.60	1.88E-01	1.10E+01	9.30E-06
シクロドデカン	6.12	3.12E+00	1.01E+00	1.54E+00
フマル酸ビス(2-エチルヘキシル)	7.94	2.60E-01	1.00E+02	2.23E-06
エライジン酸	7.64	6.84E-03	2.05E-02	1.94E-05

表 5 一次処理水でのみ検出された Hit rate 80%以上の化学物質の下水処理での除去率推算値

物質名	下水処理での除去率推算値			
	生物分解 (%)	汚泥吸着 (%)	揮発 (%)	合計 (%)
4-メチルインドール	76.17	1.47	0.04	77.68
N,N-ジメチルドデシルアミン	78.85	21.04	0.08	99.97
ラウリン酸	82.44	17.34	0.01	99.79
シクロドデカン	55.00	37.66	7.27	99.94
フマル酸ビス(2-エチルヘキシル)	78.15	21.84	0.00	99.99
エライジン酸	78.15	21.83	0.00	99.99

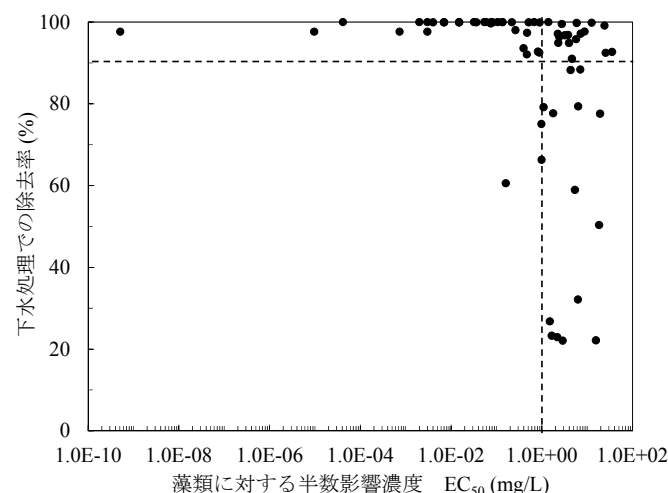


図 2 一次処理水でのみ検出された化学物質の藻類に対する毒性推定値と下水処理での除去率推算値の関係

参考文献

- 1) 渡部ら (2012) 第 21 回環境化学討論会, 3C-02