

下水試料を用いた毒性原因物質の網羅的探索技術の検討

○澤井淳¹, 岡村哲郎¹, 宮本信一¹, 新福優太², 高梨啓和²

(1)いであ(株), (2)鹿児島大院・理工)

【はじめに】

環境省は、既存の排水規制を補完する新たな排水管理手法として、排水の生物試験（WET: Whole Effluent Toxicity）の導入を検討している。排水に毒性がみられた場合、原因を探索・同定するために、毒性削減評価（TRE: Toxicity Reduction Identification）¹⁾および毒性同定評価（TIE: Toxicity Identification Evaluation）²⁾を実施し、毒性を低減させることが求められる。しかし、下水のように多種多様な有機化合物が混在する場合、原因の探索が難しく、米国では下水処理場における毒性削減の成功率が 35% との報告がある（表 1）³⁾。毒性に寄与している化学物質（群）を同定できれば、効率的に毒性削減できると考えられる。本研究では、下水試料の固相抽出画分に、毒性が既知の化学物質を添加した模擬試料を用いて、精密質量分析および多変量解析により、毒性原因物質の同定を試みた。

表 1 米国で実施された TRE の状況³⁾

	TRE事例 総数	TRE事例数（割合）			
		毒性が削減された	毒性が完全に 削減されていない またはTRE実施中	毒性が消滅した	毒性が削減 されたか不明
工場	20	9 (45%)	4 (20%)	3 (15%)	4 (20%)
下水処理場	57	11 (19%)	24 (42%)	9 (16%)	13 (23%)
合計	77	20 (26%)	28 (36%)	12 (16%)	17 (22%)

【方法】

3 か所の下水処理水を固相抽出（OASIS HLB, Waters, USA）して、各処理水の 100 倍濃縮メタノール溶液（ α_0 、 β_0 、 γ_0 ）を調製した。そこへ、藻類に対する毒性が既知である 5 種類の化学物質（表 2）を添加した試料（ α_1 、 β_1 、 γ_1 ）を調製した。6 種類の試料について、LC/MS（Synapt G2 Si HDMS, Waters, USA）を用いた精密質量分析を実施した。

表 2 化学物質の添加濃度と推定毒性強度

添加した化学物質	各試料への添加濃度/100 ($\mu\text{g/L}$)						藻類への 無影響濃度 NOEC ($\mu\text{g/L}$)
	α_0	β_0	γ_0	α_1	β_1	γ_1	
A トリクロサン	0	0	0	2	4	8	1
B ビスフェノールA	0	0	0	2	20	0.2	320
C パーフルオロオクタン酸	0	0	0	0.001	0.01	0.1	191
D ドデシルベンゼン スルホン酸ナトリウム	0	0	0	10	5	2.5	1,000
E エチニルエストラジオール	0	0	0	0.016	0.004	0.001	54
推定毒性強度TU*	1.25	1.25	1.25	2.02	4.07	8.00	-

Study for the Identification Methodology of Toxic Chemicals in Effluent by the Comprehensive Chemical Analysis Using Sewage Samples

Atsushi SAWAI*, Tetsuro OKAMURA, Nobukazu MIYAMOTO, Yuta SHINFUKU, Hirokazu TAKANASHI

*Corresponding Address: IDEA Consultants, Inc., 1334-5 Riemon, Yaizu, Shizuoka

421-0212 JAPAN, Tel:+81-54-622-9552, Fax: +81-54-622-9522, E-mail:sw20320@ideacon.co.jp

【結果と考察】

6 種類の試料 ($\alpha 0$, $\beta 0$, $\gamma 0$, $\alpha 1$, $\beta 1$, $\gamma 1$) の LC/MS による精密質量分析の結果(図 1)、3,472 個のコンポーネントが検出された。このうち推定毒性強度 (TU: Toxic Unit) と関係があるものを、フィルター設定により 151 個、OPLS 回帰分析により 10 個、保持時間およびピーク形状確認により 3 個、重回帰分析により 1 個のコンポーネントに絞り込んだ(図 1)。重回帰分析により絞り込まれたコンポーネントの分子式を推定するために、高分解能・高質量精度 LC/MS (LTQ Orbitrap XL, Thermo Fisher Scientific, USA) を用いて再測定した。また、同位体パターン解析により、モノアイソトピックマスが 288.9407 Da、炭素数が約 12 個、塩素数が 3 個の化学物質と推測され、マススペクトルのシミュレーション結果から分子式が $C_{12}H_6O_2Cl_3$ と推定された(図 3)。高分解能 MS による実測マススペクトルデータベース m/z Cloud を用いたデータベースマッチングにより、本物質はトリクロサンと推定された。また、標準物質による分析により、保持時間およびマススペクトルが一致することを確認した。

【結論】

精密質量分析と多変量解析を用いて、下水処理水に、藻類に影響がある濃度で添加したトリクロサンを毒性原因物質として探索できた。模擬試料を用いて、精密質量分析と多変量解析を用いた未知の毒性原因物質の探索技術が有効であることが確認できた。今後、有機化合物が毒性原因と推定された実試料を用い、本手法の有効性を検証していく。

【参考文献】

- 1) US EPA, Generalized methodology for conducting industrial toxicity reduction evaluations, 1989.
- 2) US EPA, Toxicity Identification Evaluation Characterization of Chronically Toxic Effluents Phase I, 1992.
- 3) Texas Association of Clean Water Agencies, Report on Freedom of Information Act Request to U.S. Environmental Protection Agency by Texas Coalition of Publicly Owned Treatment Works Regarding Sublethal Toxicity Reduction Evaluations, 2010.

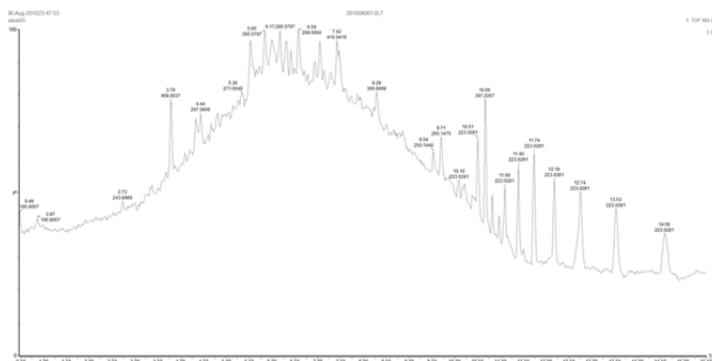


図 1 下水試料の測定結果例

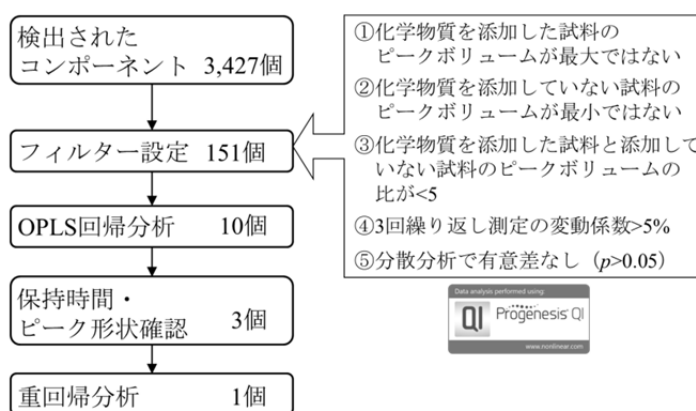


図 2 毒性原因物質絞り込みの流れ

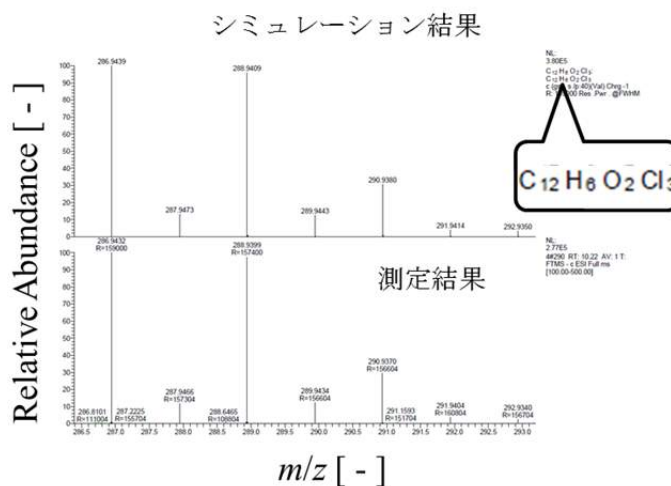


図 3 マススペクトルのシミュレーション結果