

水環境保全に向けた 要調査項目の一斉評価手法の開発と 要調査項目候補選定への展開

研究代表者： 栗栖 太
(東京大学大学院工学系研究科
附属水環境工学研究センター)

研究分担者： 中島典之
(東京大学環境安全研究センター)

春日郁朗
(東京大学大学院工学系研究科
都市工学専攻・日越大学)

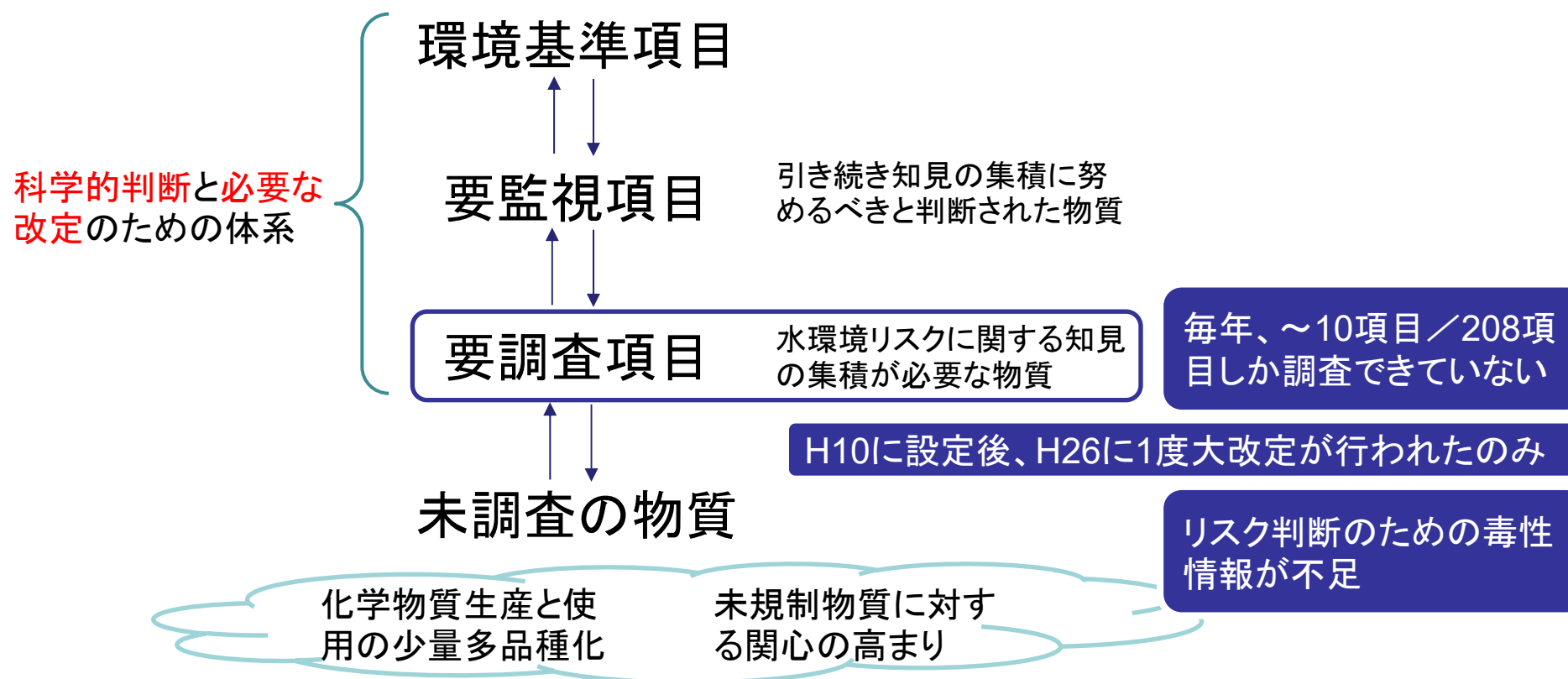


平成29年度～令和元年度

研究経費(累計額)：112,998千円(間接経費含む)

要調査項目をめぐる現状

環境基準は、
「常に適切な科学的判断が加えられ、必要な改定がなされ」
る必要（環境基本法）



迅速に評価し、柔軟に出し入れする体制が求められている

要調査項目調査の理想像にむけて

- ①調査手法の効率化→実効ある調査へ
一斉分析により、必要となる項目をスクリーニング
詳細調査を行い、要監視項目への昇格を検討
- ②現在捉えられていない物質まで拡張
網羅的に分析を行い、検出状況から
注視すべき物質を抽出

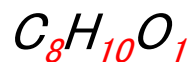
高分解能・高質量精度
の質量分析により可能
にならないか？

高質量精度

精密質量を小数点以下4-5桁まで高精度で測定可能

ex.精密質量
122.0732

分子式推定

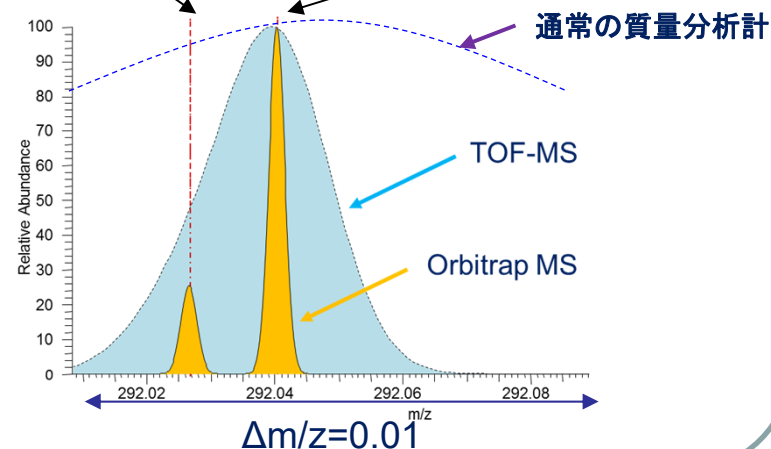


	整数質量	精密質量
^{12}C	12	12.00000
^1H	1	1.00783
^{16}O	16	15.99491

高分解能

$[\text{M}+\text{H}]^+ = 292.02656$
 $\text{C}_8\text{H}_{11}\text{O}_3\text{N}_5\text{ClS}$

$[\text{M}+\text{H}]^+ = 292.04031$
 $\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{O}_5\text{NPS}$



研究開発目的



水質汚濁に係る環境基準の要調査項目について

- 毒性情報をもとに水環境リスクの有無を判別するために必要な情報を収集
- 要調査項目スクリーニング分析としての一斉分析手法を開発
- 未知スクリーニング分析により、要調査項目の候補情報収集し監視できる仕組みを提案

上記目的のために、

- (1) 溶存有機物質の未知スクリーニング分析および要調査項目の一斉分析手法の確立
- (2) 要調査項目の生態毒性の初期スクリーニング評価
- (3) 荒川河川水等を対象とした要調査項目の実態調査

を行う。

(1) 要調査項目分析法開発の戦略



分析の効率化を目指し、1次スクリーニングに用いることができる方法を開発

1種類の方法で可能な限り多数の物質を分析

＋高分解能MSの長所を活用して、物質同定の確度を担保

試料前処理法：

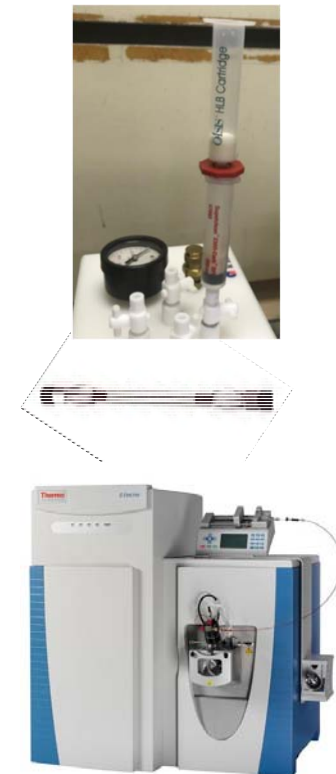
複数の固相抽出カートリッジの組み合わせ3種を検討

HPLC分離条件：

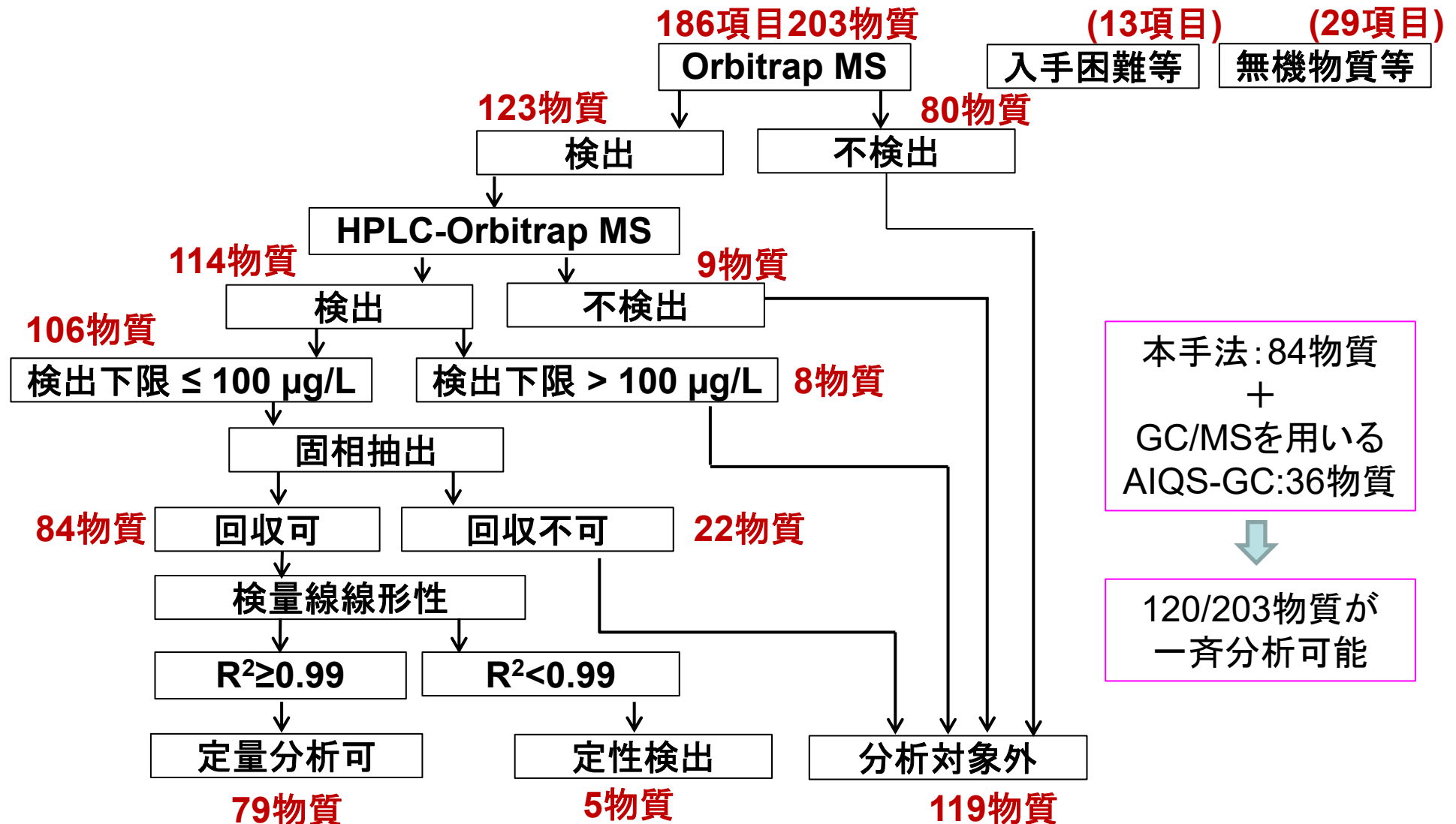
5種類のカラムを検討

検量線データ：

標準列は作成するが、環境マトリクスの影響は考慮しない

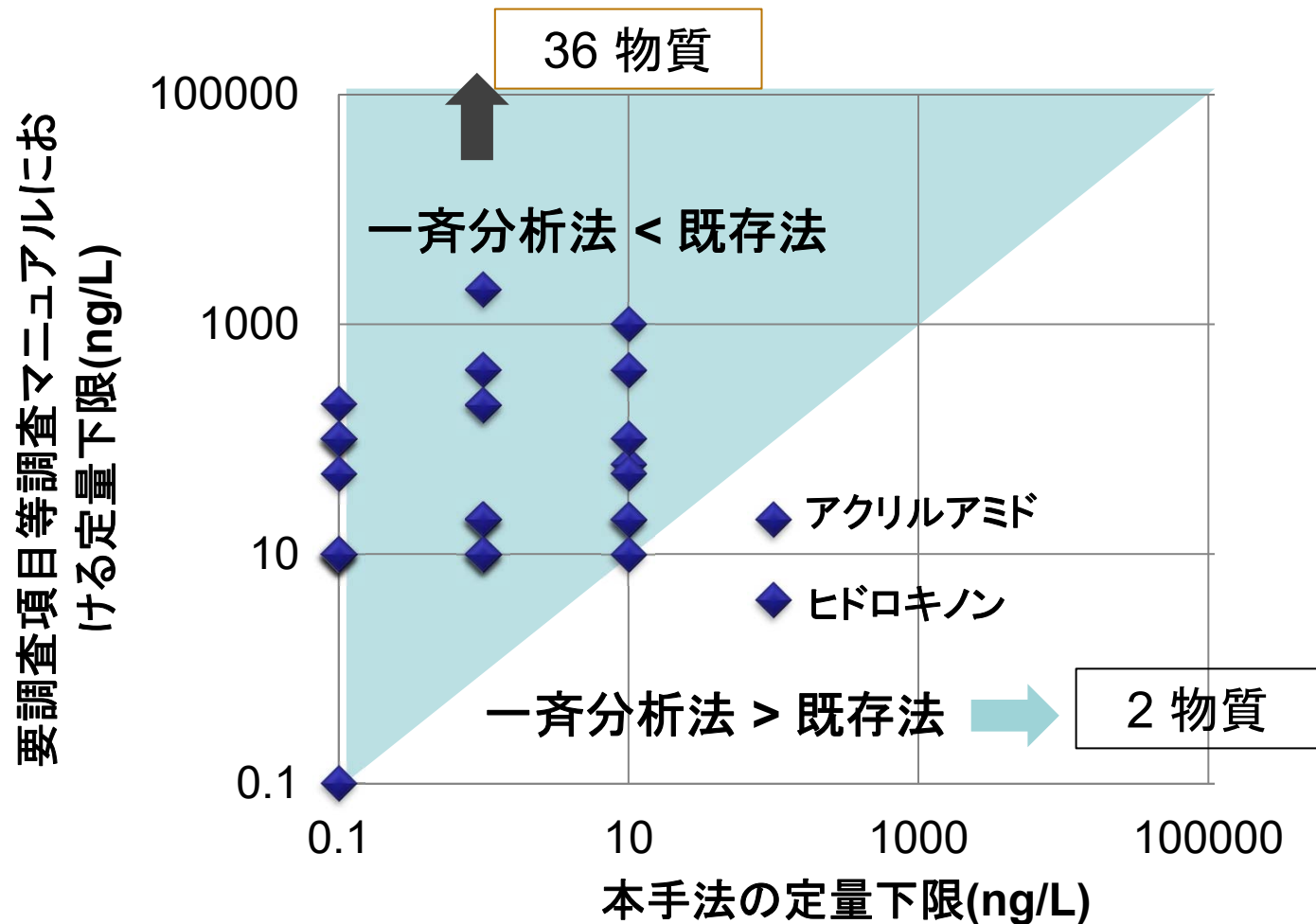


分析法開発の流れ



分析対象84物質のうち、40物質は環境省未調査

環境省測定マニュアルとの比較



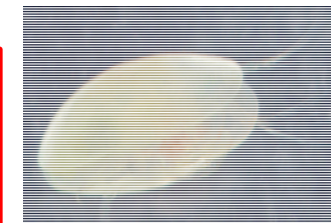
環境省要調査項目等調査マニュアルに記載されている
定量下限よりも低い濃度まで測定可能な物質が大半

(2) 要調査項目における目標値の設定

要調査項目の
一斉分析

1)各物質はどうい
う濃度レベルで問
題となるのか？

2)固相への分配を経て、特に
底生生物へ影響を与える物質
群への評価はどうするのか？



底生カイミジンコ
H. incongruens

水生生物に関する要調査項目(139種)



- ①毒性情報の抽出、精査(ECOTOX knowledgebase等)
- ②①でデータが十分にある場合、**PNEC試算**
- ③①でデータが不十分な場合、標準種による試験データの取得(分析委託)→②へ

PNEC: Predicted no effect concentration(予測無影響濃度)

浮遊水生生物に問題
ないレベルを設定

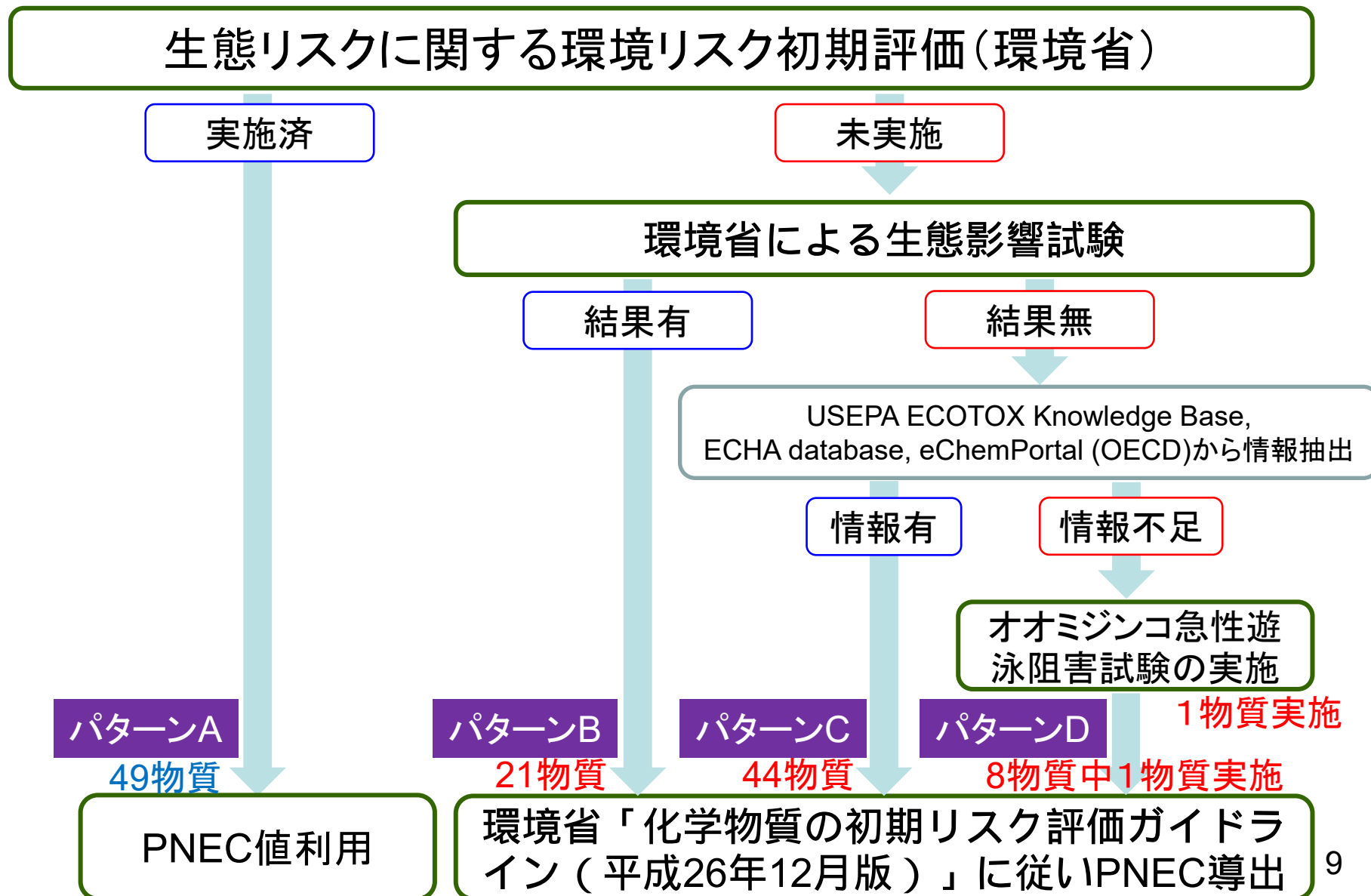
水生生物に関する要調査項目(139種)



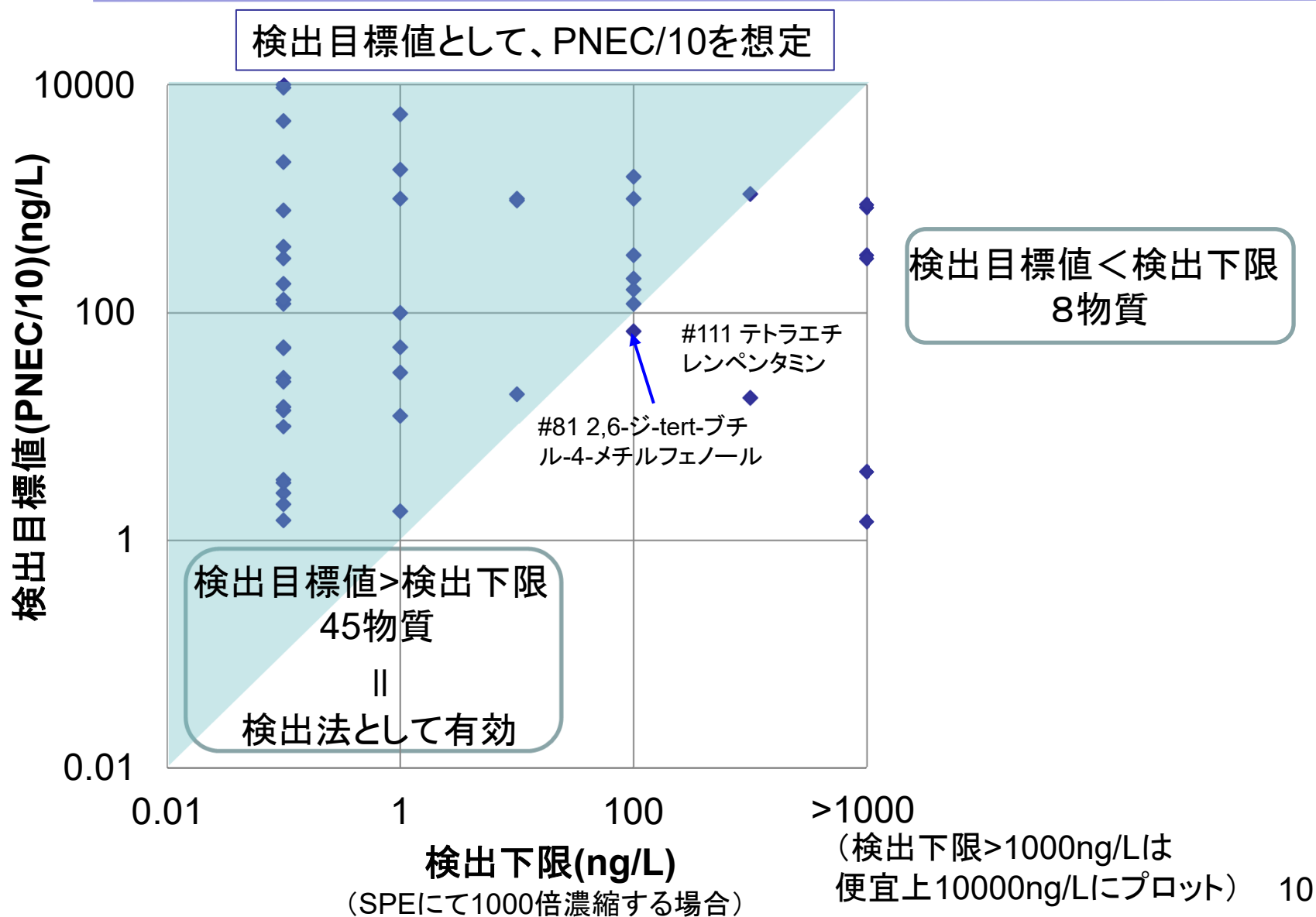
- ①Kow値情報整理(PubChem等)
- ②毒性試験実施(固相由来の毒性評価):
Kowが大きい物質($\log Kow > 3$)を選定
汚染藻類を調製し底生カイミジンコで試験
- ③**固相毒性も勘案した水中PNECを推定**
②の結果+環境中での平衡分配仮定

底生生物にも問題な
いレベルを設定

1) 要調査項目(水生生物保全)のPNEC導出手順

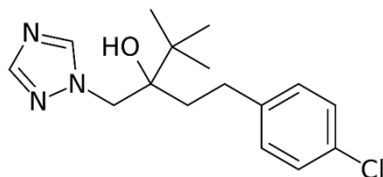


検出下限と検出目標値の比較



2) 疎水性が高い物質の底生甲殻類毒性評価

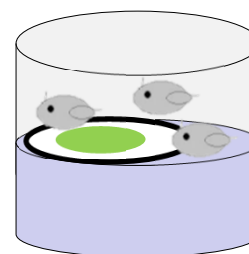
試験物質 **テブコナゾール**
(#114、 $\log K_{ow}=3.7$)



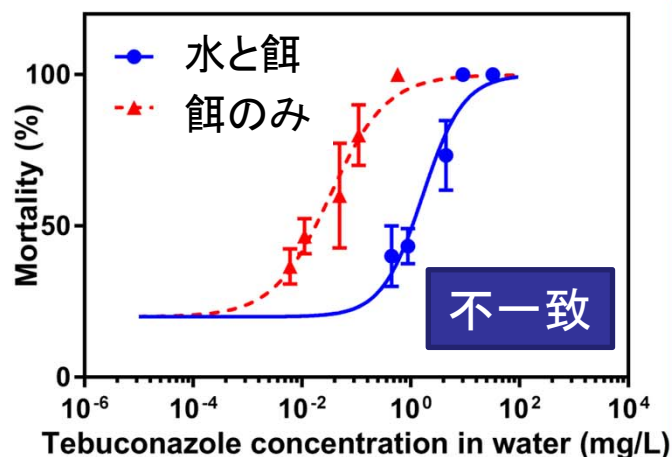
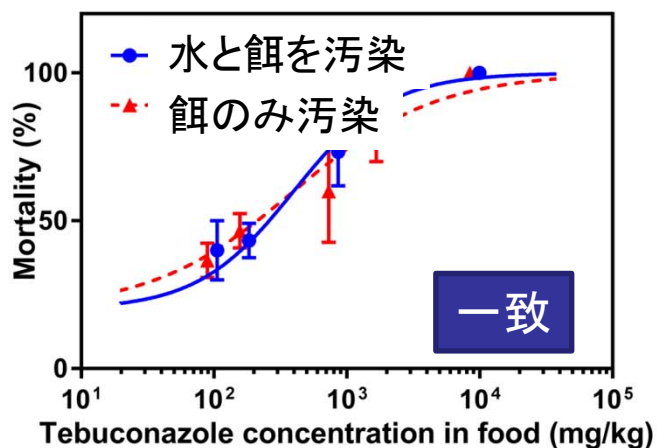
曝露方法

底生甲殻類 (*Heterocypris incongruens*)
・6日致死毒性試験 ISO14371

事前に汚染させ
た緑藻類を給餌



12時間毎に上層水と
ろ紙を交換し、水中へ
の再溶解を最小化



横軸 各試験条件での
餌中および水中の濃度
= 試験条件が違っても
同様の関係ならば、その
横軸が主要な毒性要因

= 餌が主要な毒性要因
であることが分かる

平衡分配を仮定

LC50: 210 mg/kg → 底質PNEC: 46 $\mu\text{g/kg}$ → 水中PNEC: 0.077-0.98 $\mu\text{g/L}$

浮遊生物(藻類、甲殻類、魚類)から求めた水中PNEC値(1.2 $\mu\text{g/L}$)より低く、
(底質経由による)底生生物への毒性が考慮されるべき物質と判明

●荒川流域地形分類図

凡 例

- 山地
- 丘陵
- 盆地
- 台地
- 低地

10km

利根川

武蔵水路

荒川

S1: 中津

S2: 正喜

S3: 二枚

S4: 高尾

S5: 治水

S6: 笹目

秋ヶ瀬取水堰

荒川水再生センター

(朝霞浄水場、大久保浄水場へ)

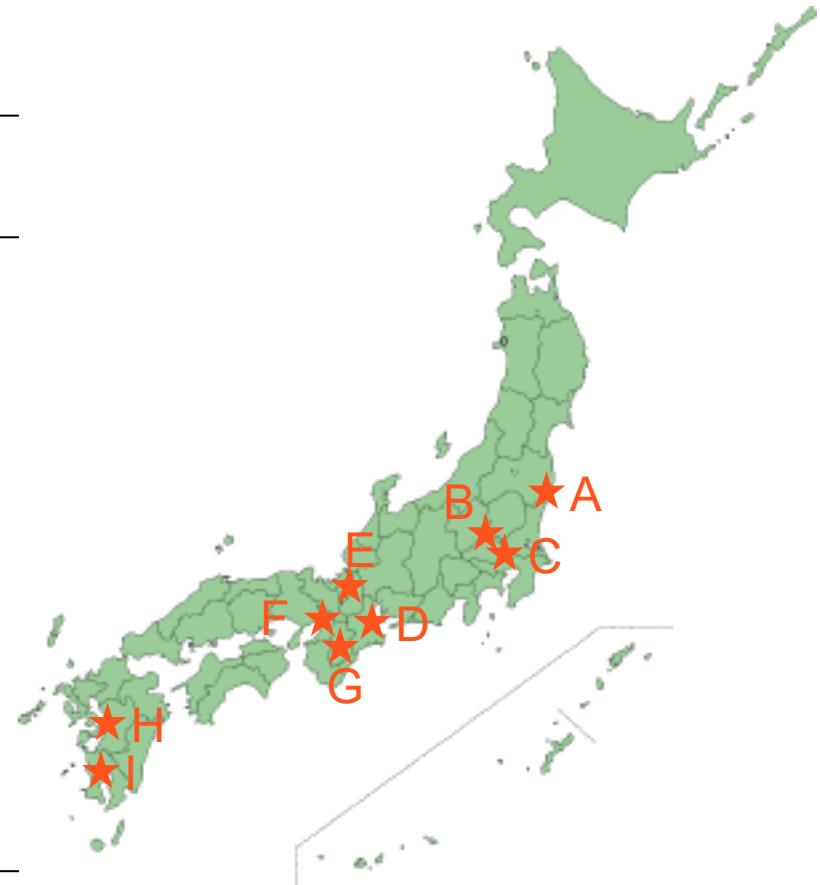
- 要調査項目の一斉分析
- 要調査項目候補物質のノンターゲット分析

環境省水環境課と連携した調査



環境省による要調査項目存在量調査地点の9
地点の試料を分析

ID	水域	地点	都道府県	平均BOD (mg/L)
A	蛭田川	蛭田橋	福島県	4.0
B	休泊川	泉大橋	群馬県	4.0
C	古綾瀬川	綾瀬川合流点前	埼玉県	2.7
D	天白川	大井の川橋	三重県	データなし
E	琵琶湖	堅田沖中央	滋賀県	3.4(COD)
F	大正川	平野川合流点前	大阪府	3.7
G	岡崎川	岡崎川流末	奈良県	5.3
H	水俣川	産島橋	熊本県	0.6
I	甲突川	松方橋	鹿児島県	0.7



環境省 平成30年度公共用水域水質測定結果より

<https://www.env.go.jp/press/files/jp/113086.pdf>

確立した要調査項目分析法



- 試料量: 1L, 3連
- 試料前処理: GF/Fフィルタろ過後、固相抽出(HLB+AC2)
- HPLC: Ultimate3000 (Thermofisher)
 - カラム: InertSustain AQ-C18
(GL Science, 3 μ m, 3 $\times$ 50 mm)
 - 移動相: メタノール, 超純水 (ともに0.01%ギ酸添加)
- 質量分析: 四重極-Orbitrap質量分析計QExactive Focus (Thermo)
 - イオン化: エレクトロスプレーイオン化法(+ve, -ve)
 - データ取得方法: Data-dependent SIM分析
- 物質同定: プレカーサーイオン+フラグメントイオン1つの精密質量、
保持時間
- 定量: 標準物質による(10倍希釈列、内標準法)

荒川における調査結果一覧(一例)



ID	化合物名	測定された濃度(Measured environment conc.)																														未調査		
		4月					6月					8月					10月					12月												
		1	2	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6				
192	マラチオン																																	
196	メタクリル酸 2,3-エポキシプロピル																																	●
200	N-メチルジデカン-1-イルアミン																																	
202	N-メチル-2-ピロリドン																																	●
203	メトミノストロビン																																	●
204	メラミン																																	
205	モノエタノールアミン																																	
206	モリネート																																	
208.01	リン酸トリス (2-エチルヘキシル)																																	
208.02	リン酸トリス(2-クロロエチル)																																	
208.03	リン酸トリトリル																																	
208.04	リン酸トリフェニル																																	
208.05	リン酸トリブチル																																	

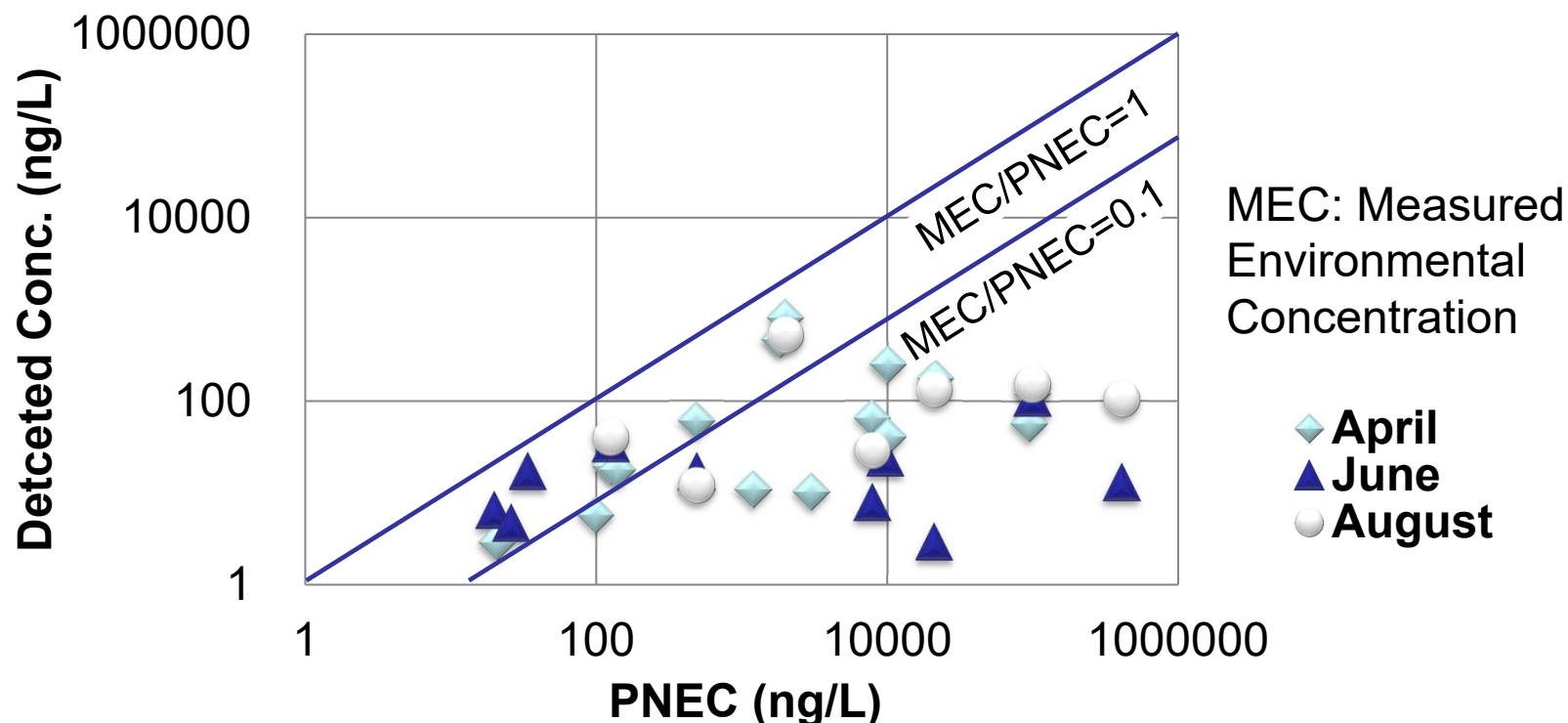
検出下限 検出されず 1 2 4 6 8 10 20 30 40 60 80 100 300 500 1000 1500 2000 (ng/L)

29試料に対し、84物質のスクリーニング分析を行い、合計**54物質**を検出
うち、環境省要調査項目存在状況調査でまだ調査されていない物質：**28物質**



開発した分析手法で一次スクリーニングが可能となった

検出濃度とPNEC値の比較(4, 6, 8月採水分)



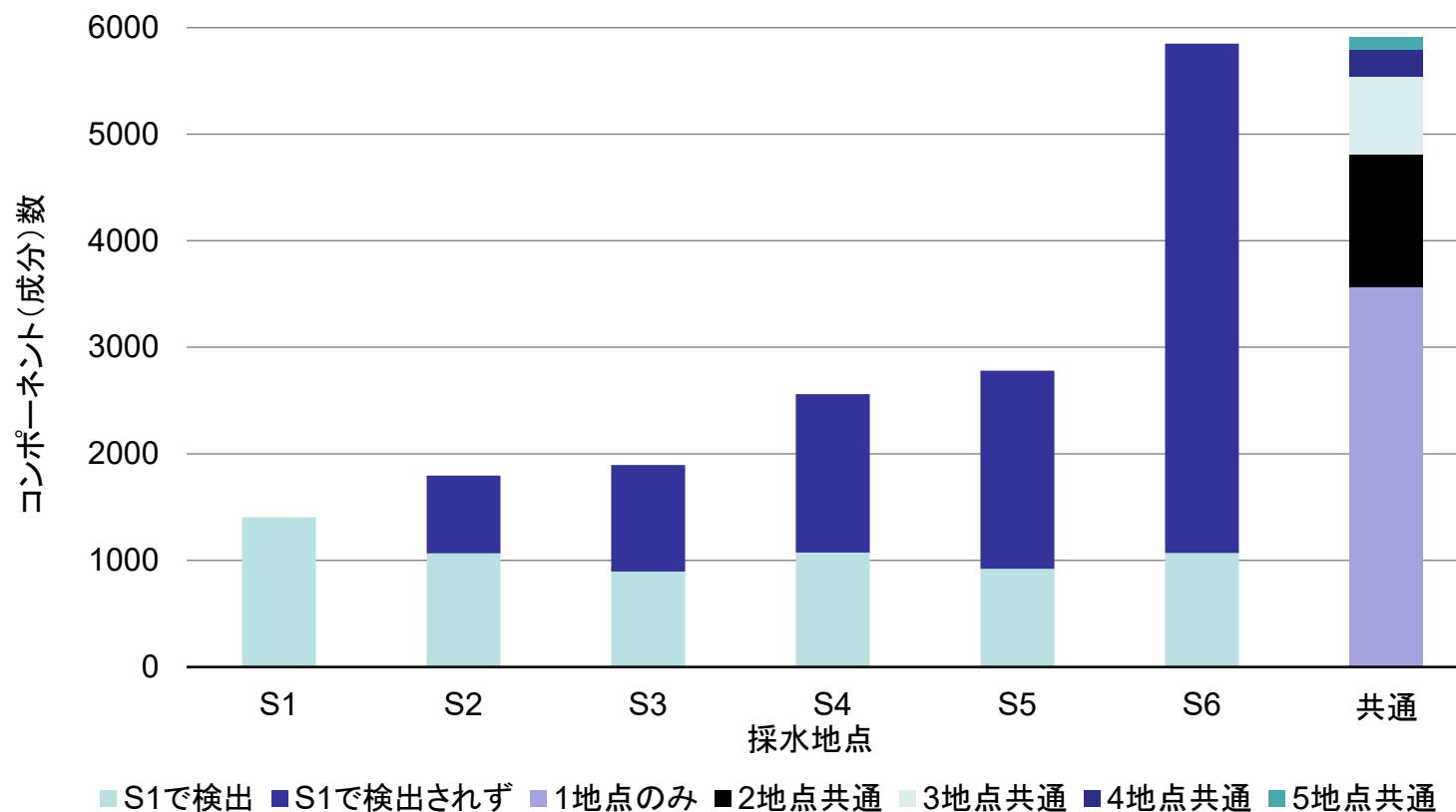
MEC/PNEC > 0.1:
より詳細な調査の
対象



- 22 イミダクロプリド
- 71 ジシクロヘキシルアミン
- 79 1,3-ジフェニルグアニジン
- 89 N,N-ジメチルドデシルアミン
- 108 2,4-ジクロロフェノキシ酢酸
- 109 デカン酸
- 127 トリクロサン及び塩素付加体
- 200 N-メチルジデカン-1-イルアミン

今後、詳細な測定が必要となる物質のリストが得られた

未知スクリーニング分析結果(12月採水分)



最上流地点S1で検出されなかった成分 人為起源物質とみなす

毎回の採水において検出された人為起源物質 要調査項目候補と考えることができる

本研究により得られた成果の主な活用



- 要調査項目の存在状況調査に、本研究で開発した分析法を用いることができる
 - スクリーニング分析の考え方を調査に導入し、効率的な調査を行うことができる。
- 要調査項目を環境基準項目・要監視項目に格上げするかどうかの議論をするために必要なPNEC値(暫定指針値)を導出した。
 - 調査手法の選定・開発において、必要となる検出下限の目標値としても活用できる。
 - 疎水性有機物質の底質や浮遊粒子への分配も考慮した水質管理方法の提案も行った。
- 荒川等を対象にした測定結果は、今後の存在状況調査において、調査の優先度として活用できる。
 - PNEC値と比較して高濃度で検出された物質については重要性が高く、調査を進めていくべきである。

「国民との科学・技術対話」の実施

- 1) 地域連携公開セミナー「LC-MSを用いた未知スクリーニング分析の現状について」(主催:富山県立大学、平成29年6月23日、参加者約50名)にて講演
- 2) 「東大水フォーラム」公開シンポジウム(主催:東京大学大学院工学系研究科社会連携・産学協創推進室、令和元年2月14日、参加者約100名)にて成果紹介