

令和 2 年 5 月 7 日現在

機関番号：13301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2018～2019

課題番号：18H06493・19K21556

研究課題名(和文)ケモメトリクス手法を用いた下水由来未知毒性物質群の管理指標の開発

研究課題名(英文) Chemometric approach to development of indicators for "toxic unknowns" in municipal wastewater

研究代表者

原 宏江 (HARA-YAMAMURA, Hiroe)

金沢大学・地球社会基盤学系・助教

研究者番号：70823524

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：下水再利用システムの普及・拡大のためには、個別の化学物質によらず処理水の毒性を包括的に評価することが重要であるとともに、毒性作用の原因物質を迅速に検出する手法の開発が不可欠である。本研究では、広範な下水試料に対して水質分析および細胞毒性試験を実施してデータベースを構築し、細胞毒性に影響する水質パラメータをケモメトリクスの手法により探索した。208件のデータセットに対してElastic net回帰を実施した結果、細胞毒性の増加に寄与する16個の水質パラメータが推定された。推定された蛍光特性値に基づき、比較的高分子かつ疎水性の有機物が下水由来の細胞毒性に寄与する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

都市下水は、身近に存在し、天候に左右されにくい水資源として世界各地で活用が進められている。本研究の成果は、下水試料中の未知毒性物質群を簡便・迅速に特定しうる管理指標の開発を推進するために必要な基礎的知見を提供する。このことは、下水再利用システムにおける健康リスク低減ならびにシステム管理の効率化に資するものである。

研究成果の概要(英文)：Comprehensive evaluation of effluent toxicity regardless of individual chemicals and development of rapid detection method of causative agents are necessary to further expand water reuse system. In this study, water quality analysis and cytotoxicity test were conducted for wastewater samples with various compositions, and those parameters affected cytotoxicity was investigated by chemometric approach. The Elastic net regression analysis using 208 datasets estimated 16 water quality parameters which contributed increase in cytotoxicity. The estimated parameters related to fluorescence character suggested a possibility that hydrophobic dissolved organic matters with relatively high molecular weight were involved in the appearance of cytotoxicity.

研究分野：環境工学

キーワード：未規制化学物質 Elastic net回帰 細胞毒性試験 EEM

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

都市下水の再利用は、水資源の質の低下および量の枯渇への対策のひとつであるが、下水中の農薬や医薬品等の微量汚染物質の中には、高度処理によっても除去困難なものがあり、再利用水の安全性に対する潜在的な脅威となっている。これまでは、毒性の懸念される化学物質について機器分析を行い、各物質の濃度と許容摂取量の比較から下水処理水の安全性を評価してきた。しかしながら、既存の手法では、未知の化学物質については検討できないため、包括的な毒性評価とはいえない。一方で、試料を「分けずに」3次元励起蛍光分析や高分解能フーリエ変換型質量分析に供した際に、物質は特定できないものの、毒性作用と呼応するシグナル変化が存在することを確認しており、環境分析により得られる多変量データには、現在、活用されていない情報群が示唆されている。さらに水質と毒性のデータベースを充実させ、これらの情報をもとにケモメトリクス的手法によって次元圧縮や回帰分析等を行うことで、毒性作用の原因物質の推定に有用な情報が抽出可能であると考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、広範な水試料に対して水質分析および細胞毒性試験を実施してデータベースを構築し、細胞毒性を決定する水質パラメータをケモメトリクス的手法により探索すると共に、蛍光特性に基づく下水由来毒性作用の管理指標を開発する。

3. 研究の方法

模擬下水試料の作製: 2018年8月~2019年9月、国内4都市7ヶ所の下水処理施設において最初沈殿池越流水を採取した。下水試料を孔径0.22µmのフィルターを用いて過滅菌後、様々な割合で混合し、計208の模擬下水試料を作製した。

細胞毒性試験: ヒト肝癌由来細胞株 (HepG2) を用いた細胞毒性試験を実施した。試料及びコントロールとしてMQ水を培地成分とそれぞれ混合し、最適pHに調整した。本溶液を細胞培養液と置換し、48時間後、MTTアッセイにより細胞生存率を測定した。

水質分析: pH、電気伝導度、紫外線吸光度、DOC、DN、アンモニウムイオン、亜硝酸イオン、硝酸イオン、リン酸イオン、硫酸イオン、塩化物イオンを測定した。分光蛍光高度計(日本分光)により3次元蛍光スペクトルを測定した。

統計解析: フリー統計ソフトRにglmnetパッケージを導入し、1985個の水質パラメータを説明変数、細胞生存率を目的変数としてElastic net回帰を行った。

4. 研究成果

異なる乱数シードを用いて回帰分析を20回繰り返し、18回以上出現した水質パラメータとその回帰係数(平均値)を表1に示す。1985個の水質パラメータのうち細胞生存率の変化を説明する上で重要な変数は、13の蛍光スペクトルの他、硝酸イオン、亜硝酸イオン、塩化物イオンの計16項目と推定された。蛍光スペクトルのうち、回帰係数の絶対値が最も大きいグループは、励起波長235~250nmかつ蛍光波長260~275nmの近接した領域に位置した(図1)。当該領域には、比較的高分子かつ疎水性の(主に塩基性)有機物のピークが出現することがわかっている¹。また、これら蛍光スペクトルの強度値の高い試料は、複数の施設・異なる採水時期の下水試料において見られたことから、普遍的な下水成分が細胞毒性に寄与する可能性が示唆された。

表1 Elastic net 回帰分析の結果

水質パラメータ	回帰係数(平均値)	水質パラメータ	回帰係数(平均値)
Ex240/Em265	-0.33393	Ex220/Em265	-0.03208
Ex235/Em260	-0.25538	Ex260/Em280	-0.01433
Ex250/Em275	-0.24580	Ex225/Em260	-0.00652
NO ₃ ⁻	-0.09720	Ex315/Em350	-0.00132
Ex320/Em335	-0.07576	Ex335/Em385	-0.00115
NO ₂ ⁻	-0.06159	Ex335/Em375	-0.00073
Ex315/Em330	-0.03752	Ex340/Em390	-0.00053
Ex240/Em280	-0.03603	Cl ⁻	-0.00047

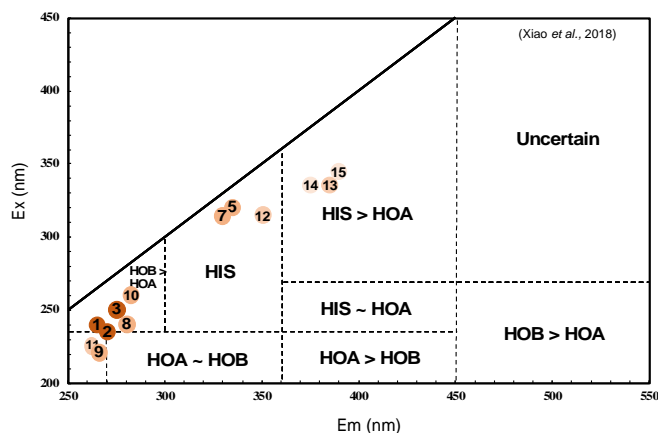


図1 EEM マップにおける蛍光スペクトルの位置 (ベースマップは Xiao et al., 2018¹による)

本研究では、208 のデータセットに対し Elastic net 回帰を適用し、細胞毒性に寄与する 16 個の水質パラメータを推定した。比較的高分子かつ疎水性の有機物が下水由来の細胞毒性に寄与する可能性が示唆された。

<参考文献>

1. Xiao, K. *et al.* Characteristic Regions of the Fluorescence Excitation-Emission Matrix (EEM) to Identify Hydrophobic/Hydrophilic Contents of Organic Matter in Membrane Bioreactors. *Environ. Sci. Technol.* **52**, 11251-11258 (2018).

以上

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名	Jingya Zhan, Hiroe Hara-Yamamura, Ryo Honda, Norihisa Matsuura, Ryoko Ikemoto-Yamamoto, Ikuo Tsushima
2. 発表標題	Application of Chemometric Approach to Investigation of Cytotoxic Substances Originated from Municipal Wastewaters
3. 学会等名	The 12th International Conference Challenges in Environmental Science & Engineering, Kaohsiung, Taiwan (国際学会) (国際学会)
4. 発表年	2019年

1. 発表者名	原宏江, 詹静雅, 森永悠太, 本多了, 山口裕通, 松浦哲久, 池本良子, 山村寛
2. 発表標題	ケモトリクス手法を用いた下水由来毒性物質群の探索
3. 学会等名	第54回日本水環境学会年会、岩手
4. 発表年	2020年

1. 発表者名	詹静雅, 日比野友裕, 森田諭史, 原宏江, 松浦哲久, 本多了, 對馬育夫
2. 発表標題	ケモトリクス手法を用いた下水由来毒性物質群の探索
3. 学会等名	第54回日本水環境学会年会、甲府
4. 発表年	2019年

1. 発表者名	森田諭史, 原宏江, 本多了
2. 発表標題	3次元励起蛍光スペクトル分析を用いた下水由来溶存有機物の特性解析
3. 学会等名	平成30年度日本水環境学会中部支部研究発表会、金沢
4. 発表年	2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----