

## シアノトキシンに関する文献調査

研究代表者	秋葉	道宏
研究分担者	浅田	安廣
研究協力者	佐野	友春



厚生労働科学研究費補助金 (健康安全・危機管理対策総合研究事業)  
気候変動に伴う水道システムの生物障害等リスク評価とその適応性の強化に向けた研究  
分担研究報告書

研究課題：シアノトキシンに関する文献調査

研究代表者 秋葉 道宏 国立保健医療科学院 生活環境研究部 特任研究官  
研究分担者 浅田 安廣 国立保健医療科学院 生活環境研究部 主任研究官  
研究協力者 佐野 友春 国立環境研究所 環境計測研究センター シニアスタッフ

研究要旨

WHO 飲料水水質ガイドラインの更新に伴う変更点の一つとして、シアノトキシンに関するガイドライン値の変更が記載された。その中で特に大きな変更点としては、ガイドライン値として新たに *Anatoxin-a variants*、*Cylindrospermopsins*、*Saxitoxins* が追加されたことである。そこで、この変更に伴い、シアノトキシンの分析方法、処理方法に関する文献整理を行った。シアノトキシン分析方法では、質量分析の発展に伴い、一斉分析や迅速分析方法に関する手法の検討が進められていることが明らかとなった。シアノトキシンの処理方法では、各処理方法でのシアノトキシン除去・分解に対する処理効果が異なることが示され、シアノバクテリア本体の除去と溶存シアノトキシンの除去・分解の両者共に処理を行うためには、水源での状況を踏まえた上で効果的な組み合わせを検討する必要があることを示した。

A. 研究目的

湖沼の富栄養化等による水源水質の悪化に伴う藻類の異常増殖により、水道水の水質悪化、異臭味問題などが生じている。一方、世界では藻類の異常発生に伴う健康影響として、シアノバクテリア（藍藻類）が産生する毒性物質（シアノトキシン）について着目している。その中でも WHO 飲料水水質ガイドラインで記載されていた *Microcystin-LR* は、日本においても要検討項目として暫定目標値が記載されている。シアノトキシンの中ではガイドライン項目として *Microcystin-LR* のみを取り上げられていたのは、シアノトキシンに関する毒性評価の情報が限定されていたことによるものである。

令和4年3月に更新された WHO 飲料水水質ガイドライン第4版（第1及び第2補遺を含む）<sup>1</sup>が公表され、ガイドライン値の修正、追加が行われた。更新された項目にはシアノトキシンに関する内容が組み込まれており、ガイドライン値等が大幅に更新された。シアノトキシンについて、主な変更点は下記の通りである。

- ・ *Microcystin-LR* を *Total Microcystins* に変更
  - ・ シアノトキシンとして、*Anatoxin-a variants*、*Cylindrospermopsins*、*Saxitoxins* が新たに追加
  - ・ シアノトキシンのガイドライン値として短期曝露によるガイドライン値を新たに設定
- 一方、日本国内ではシアノトキシンの追加項目に対する調査自体があまり進められておらず、情報が非常に限定されていることから、これらの情

報収集が今後の水質基準等での検討において重要となると言える。そこで、今後の検討に向けた情報収集として、下記の2項目について中心的に文献調査を行なった。

- ・ シアノトキシン分析方法
- ・ シアノトキシン処理方法

B. 研究方法

最新のシアノトキシンに関する取り組みがまとめられている WHO 飲料水水質ガイドライン第4版（第1及び第2補遺を含む）<sup>1</sup>並びに WHO が出版している「*Toxic Cyanobacteria in Water*」<sup>2</sup>をベースに文献調査を行った。なお、以降では *Microcystins* を MCs、*Anatoxin-a variants* を ATXs、*Cylindrospermopsins* を CYNs、*Saxitoxins* を STXs と表記する。

C. 研究結果および D. 考察

- ・ シアノトキシン分析方法

まず、シアノトキシンが持つ毒性<sup>2)</sup>について整理する。MCs は、肝臓毒性を持つ物質であり、急性毒性としては洞様毛細血管の損傷による肝臓出血、慢性毒性としては肝肥大や腫瘍促進（グループ 2B）が確認されている。ATXs は、摂取すると脳を含む体内全体に分布し、神経毒性を示す物質である。CYNs は、肝臓、腎臓、赤血球に対して毒性を持つ物質である。STXs は、摂取するといれん、筋肉および呼吸麻痺などの神経学的作用が生じる物質である。

続いて、WHO 飲料水水質ガイドライン第4版

(第1及び第2補遺を含む)に記載されたシアノトキシンのガイドライン値<sup>1)</sup>を表1にまとめる。重要な点としては、STXsの短期曝露に対するガイドライン値以外は暫定値ということである。これは、毒性評価に関する情報が限定されていることが理由に挙げられている。しかし、暫定値ではあるがガイドライン値は数 $\mu\text{g/L}$ レベルであり、測定を行うためには高感度な分析技術が求められると言える。

ここで、WHO 飲料水水質ガイドライン第4版(第1及び第2補遺を含む)に記載されたシアノトキシンの分析方法とその感度に関する情報<sup>2)</sup>を表2にまとめる。重要な点は、質量分析の発展に伴い、LC-MS/MSによる分析が全てのシアノトキシンに対して感度良く分析可能となっている点である。本手法では、化学物質ごとに標準物質による検量線が必要ではあるが、感度が良いことから濃縮等の前処理が必要なくなるという利点がある。そのため、現在のシアノトキシン分析の試料前処理方法としては、操作が簡略化された凍結再融解による手法が取り入れられている<sup>3-5)</sup>。

さらに近年では、シアノトキシンの一斉分析に関する検証も進められている。既にUSEPAでの分析方法では、ATXsとCYNsの同時分析<sup>4)</sup>について記述されている。さらにMatsukiらはMCs、ATXs、CYNsの一斉分析方法について取り組んでおり、実際のアオコが発生した湖沼での測定に適用し、その有用性を示している<sup>5)</sup>。また、Total MCsの測定として、田中らはMCsの共通骨格Adda残基の2-Methyl-3-methoxy-4-phenylbutyric acid(MMPB)に着目したLC-MS/MSによるTotal MCsの迅速分析方法を開発している<sup>6)</sup>。このように、シアノトキシンの分析方法については分析技術の発展に伴い、研究が進んでいることがわかる。

#### ・シアノトキシン処理方法

ここでは、シアノトキシンの処理方法について「Toxic Cyanobacteria in Water」<sup>2)</sup>をベースに整理する。処理方法を検討する上で重要な点は、シアノトキシンを産生する「シアノバクテリア本体」を除去するか、シアノバクテリアの体内から放出されて水中に存在する「溶存シアノトキシン」を除去あるいは分解するかである。表3に各処理方法とシアノバクテリア本体、溶存シアノトキシンの除去・分解効果をまとめる。

シアノバクテリア本体を除去するためには、物理的処理として凝集沈殿処理、砂ろ過処理、膜ろ過処理が有効である。注意点としては、沈殿したフロックやろ材に捕捉されたフロックに含まれるシアノバクテリアが老化または細胞溶解によりシアノトキシンを放出する可能性があるため、頻繁な排泥および逆洗浄を行う必要があることである。

続いて、溶存シアノトキシンの除去・分解するためには、活性炭による除去あるいは化学酸化処理による分解が有効である。しかし、活性炭処理では、活性炭の材質等で除去性能が変わるため注意が必要である。また、化学酸化処理による分解は非常に有効であり、特にオゾン処理では全ての物質に有効であるが、塩素処理においてはATXsのみ分解効果が小さいことについて注意が必要である。塩素処理においては、日本では水道原水中の藻類の制御のため、処理工程前に塩素を注入する前塩素処理を行っているが、その場合シアノバクテリアの細胞内に存在する毒素を放出する可能性があることから、その後の処理工程でのシアノトキシンの除去効果を踏まえた塩素注入率の判断も必要となると考えられる。また、化学酸化処理による副生物としてTHMsやHAAs等が確認されているため、副生成物とのバランスについても検討が必要であると考えられる。最後に膜ろ過処理ではシアノバクテリア本体の除去にも有効なMF膜あるいはUF膜では孔径が大きいいため、溶存シアノトキシンの除去に有効ではないが、NF膜やRO膜では孔径によっては溶存シアノトキシンの除去に対して有効に働く可能性がある。

以上のように、シアノトキシンの処理には、シアノバクテリア本体の除去と溶存シアノトキシンの除去・分解の両者が必要である。そして、各処理方法で効果が異なることから、水道水源でのシアノバクテリアの発生状況、シアノトキシン濃度に合わせて効果的な処理方法の組み合わせを考えていく必要があると言える。

#### E. 結論

WHO 飲料水水質ガイドライン第4版(第1及び第2補遺を含む)で新たに変更があったシアノトキシンについて、分析方法、処理方法について文献整理を行った。

・シアノトキシン分析方法では、質量分析の発展に伴い、一斉分析や迅速分析方法の検討が進められていることが明らかとなり、既に実用可能な手法の存在も確認された。

・シアノトキシンの処理方法では、各処理方法でのシアノトキシン除去・分解に対する処理効果が異なることを示した。また、シアノバクテリア本体の除去と溶存シアノトキシンの除去・分解の両者共に処理を行うためには、水源での状況を踏まえた上で効果的な組み合わせを検討する必要があることを示した。

#### F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Asada Y, Hayasaka S, Miyoshi T, Tokuyasu M, Akiba M. Effects of raw water quality on adsorptive removal of 2-methylisoborneol by powdered activated carbon under non-equilibrium conditions. *AQUA - Water Infrastructure, Ecosystems and Society*, 2023. (accepted)

神里良太, 浅田安廣, 小松一弘, 高篠鮎人, 浦上正, 茂田裕充, 秋葉道宏. 粉末活性炭の短時間接触による 2-メチルイソボルネオール除去に対する競合吸着有機物の特性評価. 水道協会雑誌. 2022;91(12):4-13.

2. 学会発表

仲門拓磨, 浅田安廣, 三好太郎, 増田貴則, 秋葉道宏. 藻類由来有機物が粉末活性炭処理によるカビ臭原因物質除去に及ぼす影響. 令和 4 年度全国会議 (水道研究発表会); 2022.10.19-21; 名古屋.

早坂俊一, 三好太郎, 浅田安廣, 秋葉道宏. 粉末活性炭処理による 2-MIB 除去への原水水質の影響評価に向けた水質指標の探索. 令和 4 年度全国会議 (水道研究発表会); 2022.10.19-21; 名古屋.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定も含む。) 該当なし

I. 参考文献

1) WHO (2022) Guidelines for drinking-water quality: Fourth edition incorporating the first and second addenda, WHO, Switzerland, 583p.

2) WHO (2021) Toxic cyanobacteria in water - Second edition, CRC press, London, 858p.

3) Greenstein, K.E., Zamyadi, A., Glover, C.M., Adams, C., Rosenfeldt, E., Wert, E.C. (2020) Delayed Release of Intracellular Microcystin following Partial Oxidation of Cultured and Naturally Occurring Cyanobacteria. *Toxins*, 12, 335(Article number).

4) USEPA (2015) Method 545, URL: <https://www.epa.gov/esam/method-545-determination-cylindrospermopsin-and-anatoxin-drinking-water-liquid-chromatography>. (2023 年 4 月 25 日時点)

5) Matsuki, M., Shimizu, N., Tobiishi, K., Tanaka, Y., Yamaguchi, H., Sano, T. (2022) An Analytical Method for Simultaneous Measurement of Various Cyanotoxins Using Stable Isotope-Labeled Surrogates and a Microbial Flora Analysis to Assign Each Cyanotoxin to its Source. *Journal of Water and Environment Technology*, 20(6), 261-272.

6) 田中義人, 飛石和夫, 村田さつき, 永島聡子, 高木博夫, 佐野友春 (2013) LC/MS/MS によるトータルミクロシスチンの迅速分析法の検討. 全国環境研会誌, 38(3), 140-144.

表 1 シアノトキシンに関するガイドライン値一覧<sup>1)</sup>

	MCs	CYNs	ATXs	STXs
	(μg/L)			
AL1	1 (lifetime pGV)	0.7 (lifetime pGV)	3 (1/10 of AL2)	0.3 (1/10 of AL2)
AL2	12 (short-term pGV)	3 (short-term pGV)	30 (short-term provisional reference)	3 (acute GV)

\*長期曝露に対するガイドライン値ではなく、短期曝露の 1/10 の濃度である

表2 シアノトキシン分析方法一覧<sup>1)</sup>

手法 物質	PPA	RBA	ELISA	HPLC- UVPAD	LC- MS/PAD	HPLC-FD (ポストカラム 誘導化法、プレカラム誘 導化法)	LC- MS/MS*
MCs	+		++	++	++		+++
CYLs			++	++	++		+++
ATXs		+	++			+++	+++
SXTs		++	+			+++	+++

検出下限：+ (ガイドライン値(GV)の 1/10 から GV)、++(GV の 1/50 から 1/10)、  
+++ (GV の 1/100 以下)

PPA:Protein Phosphatase assay, RBA:Receptor-binding assay, PAD:Photodiode Array Detector  
FD : Fluorescence Detector

\*化学物質ごとに標準物質による検量線が必要

表3 シアノトキシン処理方法一覧<sup>2)</sup>

	粉末活性炭	凝集沈澱 ・砂ろ過	膜ろ過	オゾン	粒状活性炭	生物処理	塩素処理
シアノバクテリア 本体	na	+++	+++	- (溶出)	na	na	- (溶出)
溶存シアノトキシン MC-LR	++	na	-	+++	++	+++	+++
MC-LA	+	na	-	+++	+	+++	++
MC-YR	+++	na	-	+++	+++	ie	+++
MC-RR	+++	na	-	+++	+++	ie	+++
CYLs	++	na	-	+++	ie	+++	+++
ATXs	ie	na	-	+++	ie	ie	-
STXs	++	na	-	++	++	-	++

+++ : >80%除去、++ : 50-80%除去、+ : 20-50%、-:処理方法として推奨しない

ie : 根拠不十分、na : 不適用