

201036025A

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

異臭被害原因物質の同定・評価及び
浄水処理工程における挙動
並びに低減化に関する研究

平成22年度 総括・分担研究報告書

研究代表者
西村 哲治
(国立医薬品食品衛生研究所)

平成23 (2011) 年 3 月

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

異臭被害原因物質の同定・評価及び 浄水処理工程における挙動 並びに低減化に関する研究

平成22年度 総括・分担研究報告書

研究代表者

国立医薬品食品衛生研究所 西村 哲治

分担研究者

京都大学大学院 越後 信哉

北海道大学大学院 松下 拓司

国立保健医療科学院 小坂 浩司

平成23 (2011) 年 3 月

目 次

I. 総括研究報告書

- 異臭被害原因物質の同定・評価及び浄水処理工程における挙動
並びに低減化に関する研究・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 1

西村 哲治

II. 分担研究報告書

1. 異臭原因物質の同定・定量に関する研究：臭気物質およびVOCの
信頼性の高い網羅的迅速定量分析法の開発ー多次元データベース
の構築と定量分析値の計量トレーサビリティの確保ー・・・・・・・・ 11

西村 哲治

2. 水道におけるトリクロラミンとその前駆物質の実態に関する研究・25

小坂 浩司

3. 臭気物質の生成機構に関する研究・・・・・・・・・・・・・・・・ 33

越後 信哉

4. 超微粉化活性炭によるクロラミン類の還元的分解・・・・・・・・ 47

松下 拓

III. 研究成果の刊行に関する一覧表・・・・・・・・・・・・・・・・ 63

IV. 研究成果の刊行物・別刷・・・・・・・・・・・・・・・・ 65

I . 総括研究報告書

異臭被害原因物質の同定・評価及び浄水処理工程における挙動
並びに低減化に関する研究

研究代表者 西村哲治 国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部

研究要旨

水道水中に存在する臭気物質および揮発性有機化合物について、信頼性の高い網羅的迅速定量分析法の開発のため、認証標準物質がなくても国際単位系への計量トレーサビリティを確保して定性および定量を行うことができる多次元データベースの構築確立をすすめた。現状では、GC/MSの日差変動である検出感度のばらつきが大きく、この問題を解決しなければ、精度の高い分析法の構築が困難であることが確認された。

平成22年9月から10月および平成23年1月から2月に採水した全国15箇所の水道原水を塩素処理した結果、地域によらず、全ての水道原水からトリクロラミンが検出されたが、その生成能は水道原水の地域によって大きく異なっていた。水道原水のトリクロラミン生成能は、アンモニア態窒素濃度と弱い正の相関を示したが、全有機炭素濃度、全有機窒素濃度、全アミノ酸濃度、および遊離アミノ酸濃度との間には相関が認められなかった。相対的には、アンモニアが最も相関が高いことが示された。

複数のカルキ臭原因物質の臭気強度に対する相乗効果はなく、相加的あるいはやや相殺的な効果が認められた。N-クロロアルドイミン類の分析法について整備し、実際の水道原水を塩素処理した水から検出することができた。しかし、これらの物質の濃度はトリクロラミンと比べて低く、臭気強度に対するトリクロラミンの寄与率は20%程度であるのに対し、N-クロロアルドイミン類のうち寄与率が比較的高かったN-クロロアセトアルドイミンで10-20%程度であった。また、単一の指標としては全有機窒素濃度が、他の指標濃度よりも塩素処理後の臭気強度との相関が高いことが示された。

浄水場に近い条件において、本検討で用いた3種の活性炭（通常炭）のいずれによっても30～40分でトリクロラミンを検出限界値未満まで分解でき、モノクロラミン、ジクロラミンが生成していることが認められなかった。最終的には、窒素ガスに還元されると推測された。通常炭から調製した微粉炭では、通常炭よりも速くトリクロラミンを分解することが明らかとなった。トリクロラミンの分解には活性炭の材質と粒径が影響していると推測された。トリクロラミン分解速度定数と外表面積の総和の間には正の相関があり、全比表面積や容積の大小との間に相関が認められなかった。

研究分担者

越後信哉 京都大学大学院工学研究科
准教授

小坂浩司 国立保健医療科学院

水道工学部 研究員

松下 拓 北海道大学大学院工学研究院
准教授

A. 研究目的

国際単位系 (SI) への計量トレーサビリティが確保されていない市販標準品または市販試薬を検量線作成用の標準物質とした分析結果は、計量トレーサビリティが確保できないという問題が生じる。したがって、多くの化合物の定量分析値の計量学的な信頼性は現状においても強固なものであるとは言えない状況にある。さらに、本研究の対象とする臭気物質および揮発性有機化合物 (VOC) については、気散し易い性質をもつことから、得られた定量分析値の SI への厳格なトレーサビリティを確保するため、信頼性の高い SI トレーサブルな多次元データベースを用いた網羅的迅速定量分析法の開発が重要な課題である。そこで、多次元データベースの構築を目的として、定量精度の向上に関する検討を行った。

全国 15 箇所の水道原水を塩素処理し、トリクロラミン生成能の全国的な値の分布、およびトリクロラミン生成能と水質一般項目との関連性について検討した。トリクロラミン前駆物質の一つであるアミノ酸は、塩素消費量が多いことや、生物分解性が高いことから、残留塩素濃度の維持や微生物再増殖の抑制等の観点からも注目されているため、あわせて、全国の水道原水中のアミノ酸濃度について検討した。

これまでの調査により、トリクロラミンだけでは塩素処理水中のカルキ臭の臭気強度が説明できないことが示されてきた。この原因として、別の物質の寄与、トリクロラミンとの相乗効果が考えられるが、トリクロラミン以外の物質の測定例は極めて限られている。そこで、アンモニウムイオン由来のカルキ臭とアミノ酸由来のカルキ臭の複合効果について検討した。あわせて、いくつかの *N*-クロロアルドイミン類について分析法を整備し、中部地方以西の水道原水として用いられている 13 の河川水を

塩素処理し、トリクロラミンおよび *N*-クロロアルドイミンの生成能と臭気強度との比較を行った。さらに、これらの物質のカルキ臭に対する寄与率の評価を行った。

トリクロラミンはアンモニア性窒素と次亜塩素酸が反応することによって生成するため、トリクロラミンの抑制には前駆物質であるアンモニア性窒素を除去することが必要となる。アンモニア性窒素の除去方法としては生物酸化やオゾン酸化といった方法が挙げられるが、生物酸化には冬場の除去効率低下という欠点がある。これは冬場の低水温により微生物の活性が低下するからである。冬場の低水温は避けられず、水温を上げようとするときにさらにエネルギーが必要になる。また、オゾン酸化は高度な設備を必要とするため、すべての浄水場がオゾン酸化を取り入れることは困難である。このような理由から、生物酸化やオゾン酸化に頼らないアンモニア性窒素の除去法として活性炭処理が考えられている。活性炭は還元剤としての作用を持ち、遊離塩素、モノクロラミン、ジクロラミンを分解することが知られている。実浄水場に近い条件にて、活性炭による低濃度のトリクロラミンおよび含窒素有機物由来のカルキ臭の分解除去できるか検討した。

B. 研究方法

1. 核磁気共鳴装置 (NMR) : オートサンプラー付き JNM-ECA (600 MHz) (日本電子株式会社製)。qNMR および qNMR 多変量解析のケミカルシフト値は、HMD を基準シグナル (0 ppm) とし、 δ 値を ppm 単位で表した。qNMR 標準液の調製および標準液中の HMD の濃度校正は従法に従った。

2. ガスクロマトグラフ/質量分析計 (GC/MS) : Shimadzu QP2010 Plus (島津製作所株式会社製)。VOC の分析条件は、カラム Inert Cap AQUATIC (0.25 mm i. d. \times 60 m,

1 μm); 気化室温度 150°C; カラム温度 40 °C (1 min) - 5 °C/min \rightarrow 80°C - 10 °C/min \rightarrow 200°C (4 min); イオン源温度 220°C; インターフェイス温度 200°C; キャリヤガス He (100 kPa); 注入量 2 μL ; 注入方法: スプリット; スプリット比 100; インサート: 片側テーパーウールなし; イオン化電圧 70 eV; 測定モード: 選択イオンモニタリング (SIM)。内部標準物質 (IS) には VOC の告示法で用いられているフルオロベンゼン、*p*-ブロモフルオロベンゼンおよび 1, 4-ジオキサン-*d*₈を用いた。

3. GC/MS による VOC の検量線の作成: 23 種の化合物につき IS ごとに、0.5、1、2、5、10、20 mg/L の濃度で 3 種の検量線を作成した。各濃度 5 回測定し、5 回の平均による検量線を 5 本作成した。

4. 実態調査の概要: 平成 22 年 9 月から 10 月、平成 23 年 1 月から 2 月に、一定の事業規模、および水源の種類を考慮し、全国 15 箇所の表流水を水源とする浄水場を調査対象とした。

5. トリクロラミン生成能の評価方法: 各種溶液の作製や希釈は、水道水を Gradient A10 (Millipore) で精製した超純水を使用した。次亜塩素酸ナトリウム溶液は、ツルクロン TW (鶴見曹達) を精製水に希釈して使用した。原水を pH7 (6mM リン酸緩衝液)、水温が 20°C となるよう調整し、次亜塩素酸ナトリウムを加えて反応を開始させた。反応時間は 24 時間とし、反応終了後の遊離塩素濃度が 1.0 \pm 0.2 mg-Cl₂/L となるように設定した。原水の代わりに、リン酸緩衝液を同様の手順で作製してブランクとした。このとき、塩素の注入率は、1.4 ~ 7.2 mg-Cl₂/L の範囲であった。原水中のトリクロラミン濃度とブランクとの差をトリクロラミン生成能とした。遊離塩素濃度は DPD/FAS 滴定法で測定した。

6. トリクロラミン濃度の測定方法: 試

料水をヘッドスペース用 20mL バイアルに分取し、内部標準として 1, 1, 2-トリクロロエタン-*d*₃ を添加し、約 5 秒間激しく振り混ぜた後、35°C に保持された加温器に 3 分間静置した。ガスタイトシリンジを用いて気体を 1.5mL 採取し、GC/MS (6890N/5975C、Agilent Technologies) にマニュアル注入した。カラムは HP-1MS (長さ 15 m、内径 0.25 mm、膜厚 0.25 μm 、Agilent Technologies) を用い、注入口温度は 40°C、キャリアガスはヘリウム、流量は 1.0 mL/min、昇温条件は 30°C (1.5 分) \rightarrow 30°C/分 \rightarrow 60°C (0.5 分) とした。検出は、パルスドスプリットモード (スプリット比 2:1) で、SIM 法により行った。トリクロラミンの場合、定量イオンとして *m/z* 51 を、内部標準の場合、定量イオンとして *m/z* 100 を選定した。トリクロラミン濃度の定量下限値は 15 $\mu\text{g-Cl}_2/\text{L}$ であった。

7. アミノ酸濃度の測定方法: 17 種の遊離アミノ酸は、試験管エバポレータ (TVE-1000、EYELA) で 40°C とし、5 倍に濃縮した。結合アミノ酸は、塩酸による加水分解を行い、構成する遊離アミノ酸として測定した。遊離アミノ酸濃度は、高速液体クロマトグラフ (Prominence アミノ酸分析システム、島津製作所) を用い、*o*-フタルアルデヒドによりポストカラム誘導体化した後、蛍光検出器で測定した。アミノ酸の定量下限値はグリシン、セリン、フェニアラニン、 β -アラニンは 0.03 μM 、それ以外のアミノ酸は 0.05 μM であった。

8. 三点比較法による臭気強度の測定: 臭気強度の測定方法は、従来の上水試験法に比べてパネル間のばらつきの少ない三点比較法による官能試験を用いた。試料の希釈倍率はそれぞれ 2-200 倍の 8 段階とした。

パネルは 6 人とし、測定データのうち各試料について最高・最低のものを除き、それぞれ残り 4 人分のデータの幾何平均を算

出し、その試料の臭気強度とした。また、パネルおよびオペレータは、触れる回数の多い無臭プラスチックにパネルの手のにおいが付着するのを防止することを目的として試験中ポリエチレン手袋を着用した。

9. *N*-クロロアルドイミンの測定：河川水は、浄水施設の取水口付近から採水した。西日本地域の水系の異なる13箇所の河川を対象とした。水試料は、孔径1 μ mのガラス濾紙(GA-100、ADVANTEC製)を用いて減圧ろ過を行った後、冷暗所に保存した。

塩素処理は、24時間後の残留塩素が1 mg-Cl₂/Lとなるように塩素注入率を決定した上で塩素処理を行った。また、pHを一定に保つため、リン酸緩衝液(最終濃度1 mM)を用いて、pHを7に調整した。*N*-クロロアルドイミンの生成能については、原水を10倍にロータリーエバポレーターで濃縮した後、10倍量の塩素注入率で処理し、分析値を10で除した濃度を生成能とした。

10. 活性炭：市販の粉末活性炭(通常炭)A、B、C(それぞれPICA製SP23、PICA製MP23、フタムラ化学製太閤W)とそれらをさらに粉碎した微粉化活性炭を用いた。

11. トリクロラミン分解速度実験：1Lのトリクロラミン溶液に、通常炭または微粉炭を2 mg/Lになるように添加した後、マグネティックスターラーを用いて約200 rpmで攪拌しつつ、所定の時間ごとに採水した。これを孔径0.2 μ mのPTFEメンブレンフィルタ(Advantec)でろ過して活性炭を除去した後、DPD比色法(American Public Health Association, 2005)によりクロラミン類及び遊離塩素濃度を測定した。

12. 含窒素有機物由来カルキ臭の分解実験：pH 7.0に調整した0.1 mMリン酸緩衝液に、0.1 μ Mになるようにアミノ酸(L-フェニルアラニンもしくはL-アスパラギン)を添加した。ここに次亜塩素酸ナトリウムを添加して、遊離残留塩素1 mg-Cl₂/L

で、一晚塩素処理を行い、含窒素有機物由来のカルキ臭を生成した。その後、5 mg/Lとなるように活性炭を添加し、30分間攪拌した。活性炭添加前後の試料の臭気強度を、三点比較法により評価した。

13. 特記事項：臭気強度の評価にあたっては、パネル、すなわちヒトに化学物質を曝露する必要がある。このため、実験に先立っては「京都大学大学院工学研究科ヒトを対象とする研究実施要項」に従って申請を行い、承認を得た。

C. 結果及び考察

1. 臭気物質およびVOCの信頼性の高い網羅的迅速定量分析法の開発

1) 内部標準物質の純度測定

得られた定量分析値のSIへの厳格なトレーサビリティを確保するため、VOCの告示法においてISとして用いられているフルオロベンゼン、*p*-ブロモフルオロベンゼンおよび1,4-ジオキサン-*d*₈について、定量核磁気共鳴法(quantitative NMR: qNMR)により計量トレーサビリティが確保されていない標準品の純度を明らかにした。

qNMRは、他の定量分析法のほとんどが個々の化合物に特有の物性値を利用しているに対し、化合物中に等価に存在する水素原子の数を指標として定量分析値を求める方法である。すなわち、一つの¹H-NMRスペクトル上に2つの化合物が同時に観察される場合、プロトンシグナル面積比は2つの化合物のモル濃度に比例することから、一方の化合物の純度と濃度が明らかであれば、もう一方の化合物の純度あるいは含量を、観察されるシグナル面積比と調製値の関係から算出可能であることを利用している。したがって、qNMRは、測定対象と同一の化合物の定量用標準品を必要とせず、別の物質を基準として定量分析が可能な定量法であり、SIにトレーサブルな一次標準測定法

のうち、一次標準比率法の資格を原理的に有する方法である。

フルオロベンゼン、*p*-ブロモフルオロベンゼンおよび 1,4-ジオキサン- d_8 の市販試薬製品は、GC 面積百分率により求められた純度値がそれぞれ 95.0%以上、98.0%以上、99%と表示されているものである。純度値を算出した結果、フルオロベンゼンおよび *p*-ブロモフルオロベンゼンはそれぞれ $73.0 \pm 7.0\%$ 、 $96.6 \pm 2.2\%$ ($n=3$ 、 $Ave \pm RSD$) であった。一方、1,4-ジオキサン- d_8 は、分子中の水素が重水素に置換されたものであり、水素のシグナル強度比を指標とした qNMR 測定による純度決定ができない。そこで、1,4-ジオキサン- d_8 の純度決定は、不純物として混入が考えられる 1,4-ジオキサンの含量を測定し、間接的に 1,4-ジオキサン- d_8 の純度として算出した。すなわち、1,4-ジオキサンに由来するシグナルから 1,4-ジオキサン- d_8 中の 1,4-ジオキサンの含量は $0.75 \pm 0.03\%$ ($n=3$ 、 $Ave \pm RSD$) と算出されたため、これを差し引くことによって 1,4-ジオキサン- d_8 の純度は 99.3%以下であると見積もられた。なお、フルオロベンゼンは揮発しやすいため、精密な秤量が困難な物質である。そのため、qNMR による絶対純度測定においても、調液操作中にフルオロベンゼンが揮発し、結果として正確な値が求められていない可能性は否定できない。また、今回 qNMR により求められた 1,4-ジオキサン- d_8 の純度は、試薬製品中に 1,4-ジオキサン- d_8 以外に不純物として 1,4-ジオキサンだけが混入していると仮定した場合である。したがって、*p*-ブロモフルオロベンゼン以外の絶対純度については正確に算出されていないかもしれないが、qNMR により得られた絶対純度は、試薬メーカーの表示値とは異なる結果となった。

2) VOC の検量線の日差変動

計量学的に正確に絶対純度が既知の標準

物質を用いて、ガスクロマトグラフ/質量分析計 (GC/MS) の測定精度を検討した。すなわち、機器分析によるばらつきの大きさについて検証するため、VOC を数種選び、GC の保持時間、MS スペクトルにおけるレスポンスファクター値、検量線など、VOC の検出感度の日差変動を検証した。

告示法に従い、フルオロベンゼン、*p*-ブロモフルオロベンゼンおよび 1,4-ジオキサン- d_8 を IS とし、VOC の内、ベンゼン、ジブromクロロメタン、1,4-ジクロロベンゼン、テトラクロロエチレン、トルエン、1,1,2-トリクロロエタン、*o*-キシレン、*m*-キシレンおよび *p*-キシレンについて 0.5、1、2、5、10、20 mg/L の濃度溶液を調製し、各濃度 5 回測定し、5 回の平均による検量線を作成した。この操作を 5 日間別の日に行い、5 本の検量線の日差変動を評価した。なお、*m*-キシレンおよび *p*-キシレンについては良好なピーク分離がされなかったため、両者の和の面積値により検量線を作成した。その結果、検量線の傾きには、IS の違いによるばらつきの差は観察されなかったが、どの IS を用いても別の日に作成された 5 日間の検量線には大きな日差変動が観察された。フルオロベンゼンを IS としてテトラクロロエチレンを測定した検量線ではこの傾きの変動が一番小さかったが、各濃度 5 回測定の RSD をみると、RSD の小さい 20 mg/L でも 4.2-8.6%であった。また、テトラクロロエチレン以外は日差変動が大きい結果となった。また、*p*-ブロモフルオロベンゼンを IS としたベンゼンの測定では、傾きの最小が 0.0685、最大が 0.1823 で 2.7 倍、フルオロベンゼンを IS とした 1,4-ジクロロベンゼンの測定では、傾きの最小が 0.0175、最大が 0.0582 で 3.3 倍の大きな差が観察された。これらの結果より、1 試料当たり 5 回測定の RSD に示される機器分析によるばらつきが大きく、検量線でそれら

の平均をとって、見掛け上、相関係数が良好になったとしても、GC/MSの日差変動が非常に大きいことが明らかとなった。

3) 定量分析値の誤差要因

2) で得られた検量線のばらつきが定量分析値に与える影響をみるため、7.5 および 15 mg/L の試料を作製し、得られた面積比の平均値で、5 本の検量線から定量分析値を算出した。最小値と最大値で倍以上異なるものや最小値から最大値の範囲に想定した濃度が入らないものがあつた。また、5 本の検量線をさらに平均化した 1 本の検量線から得られた定量分析値を算出した結果、7.5 mg/L では 4.32~20.97 mg/L、15 mg/L では 4.90~38.18 mg/L と、想定した濃度より大きく外れるものがあつた。さらに、1 試料より得られた 5 つの定量分析値のばらつき (RSD) は、2) と同様大きかつた。

2. 水道におけるトリクロラミンとその前駆物質の実態に関する研究

1) 全国の水道原水中のトリクロラミン生成能およびトリクロラミン生成能と水質一般項目との関連性

全国の 15 か所の水道原水において、塩素処理後の全ての原水からトリクロラミンが検出され、生成能の値は、9 月調査では 17~140 $\mu\text{g-Cl}_2/\text{L}$ (平均 61 $\mu\text{g-Cl}_2/\text{L}$)、1 月調査では 6~130 $\mu\text{g-Cl}_2/\text{L}$ (平均 72 $\mu\text{g-Cl}_2/\text{L}$) であつた。また、生成能は原水により大きく異なり、関東・関西などの地域による差は認められなかつた。なお、ブランクからもトリクロラミンが 14~30 $\mu\text{g-Cl}_2/\text{L}$ (平均 20 $\mu\text{g-Cl}_2/\text{L}$) 程度の濃度で検出された。

原水中のアンモニア態窒素濃度は、9 月調査では 0.02 から 0.27 mg-N/L (平均 0.04 mg-N/L)、1 月調査では 0.02 から 0.31 mg-N/L (平均 0.08 mg-N/L) であつた。水道原水のトリクロラミン生成能は、前駆物質の一つであるアンモニア態窒素濃度と正の相関を示した ($r^2 = 0.69$)。1 月調査におけ

るアンモニア態窒素濃度の値が、9 月調査の値よりも大きかつた原水は、9 箇所あり、トリクロラミン生成能の値も上回つた。

原水中の全有機炭素濃度は、9 月調査では 0.74~2.50 mg-C/L (平均 1.60 mg-C/L)、1 月調査では 0.34~3.60 mg-C/L (平均 1.10 mg-C/L) であつた。水道原水のトリクロラミン生成能と、全有機炭素濃度には相関が認められなかつた ($r^2 = 0.15$)。

原水中の全有機窒素濃度は、9 月調査では 0.00~0.32 mg-N/L (平均 0.15 mg-N/L)、1 月調査では 0.02~0.22 mg-N/L (平均 0.11 mg-N/L) と、最大値、最小値、平均値は、それぞれ同程度の値であつた。水道原水のトリクロラミン生成能と、全有機窒素濃度には相関が認められなかつた ($r^2 = 0.24$)。

アミノ酸の総量と塩素処理後のトリクロラミン生成能両者の間に相関は認められなかつた ($r^2 = 0.42$)。また、遊離アミノ酸濃度も同様に、トリクロラミン生成能との関連性は認められなかつた ($r^2 = 0.13$)。

2) 全国の水道原水中のアミノ酸濃度

原水中の遊離アミノ酸濃度、および全アミノ酸濃度は原水により大きく異なり、それぞれ 0~0.004 mg-N/L (平均 0.002 mg-N/L)、0.02~0.20 mg-N/L (平均 0.06 mg-N/L) であつた。遊離アミノ酸、全アミノ酸濃度が全有機窒素に占める割合はそれぞれ 0.1%~3.7% (平均 1.3%)、13%~94% (平均 41%) であつた。遊離アミノ酸、全アミノ酸について、モル濃度で存在率の平均値が高かつたのは、それぞれグリシン (31.9%)、セリン (31.3%)、アラニン (13.7%) およびグリシン (24.4%)、アラニン (12.9%)、アスパラギン (9.9%) であつた。

3) 複合効果について

アミノ酸を塩素処理した後の臭気について評価した結果、フェニルアラニン由来の臭気に関しては、臭気強度がアンモニア由来の臭気と相加的であつた。一方、ロイシ

ン由来とアンモニア由来の臭気は相加よりは臭気強度が低下する傾向が見られた。

3. 臭気物質の生成機構に関する研究

1) *N*-クロロアルドイミン類の分析方法の検討

アミノ酸を塩素処理した際に生成する *N*-クロロアルドイミン類の検出方法を検討した結果、バリン、ロイシン、イソロイシンについては、*N*-クロロアルドイミン類のピークは小さく、定量が困難な場合があった。しかし、イオン化電圧を 40 eV に替えることによりバリン由来の *N*-クロロアルドイミン類のピーク面積が 70 eV に比べて増加した。一方、Leu 由来の場合は測定するイオン (m/z 77) の検出感度が向上しているが、Ile 由来の場合では測定するイオン (m/z 55) の感度が低下した。Ile 由来の *N*-クロロアルドイミン類の検出感度は高く、感度の低い Leu および Val 由来の *N*-クロロアルドイミン類を測定するためには、イオン化電圧を低くすることで検出に必要な感度の向上を図ることが良いと考えられる。しかしながらイオン化電圧を低くするとフィラメントの寿命を縮めることになる。そこで、設定条件はイオン化電圧を 45 eV とした。各 *N*-クロロアルドイミンの検出限界は初期アミノ酸濃度に換算すると Ile 由来 (*N*-chloro-2-methyl-butyr-aldimine) で約 2 nM、Leu 由来 (*N*-chloroisovaleraldimine) で約 7 nM、そして Val 由来 (*N*-chlorobutyraldimine) で約 3 nM であった。

グリシン由来の *N*-クロロアルドイミン類の分子イオンの検出割合は少ないため、質量荷電比 63 の検出は難しい。また、クロホルムやクロラミンの検出イオンと重なっているため、質量荷電比 49、61、62 の検出は難しい。さらに質量荷電比 14 および 28 は空気中に多量に存在する窒素と同じ質量荷電比であるため、検出できない。以上のことから、グリシン由来の *N*-クロロア

ルドイミン類は、現状では測定できないことが明らかとなった。

アラニン、およびフェニルアラニン由来の *N*-クロロアルドイミン類の定量下限は初期アミノ酸濃度換算で、0.5 μ M および 1 μ M まで検出できたが、それ以下の濃度は検出できなかった。

2) 測定例

淀川水系において採取した水に塩素処理を行い、トリクロラミン濃度、*N*-クロロアルドイミン類およびカルキ臭臭気強度の測定を行った。サンプリング地点は琵琶湖、木津川、宇治川、桂川および淀川である。木津川、宇治川、桂川は 3 川の合流部手前で採取した。また、A 浄水場の水についてもトリクロラミン濃度および各種 *N*-クロロアルドイミンの測定を行った。原水を塩素処理したサンプルにおいても、検出可能な量の *N*-クロロアルドイミンが生成することが確認できた。桂川の臭気強度は原水そのものの臭気が非常に強く、カルキ臭の臭気強度を測定できなかった。なお、どの測定値も臭気強度とは正の相関を持っていなかった。

3) 臭気強度とトリクロラミンおよび *N*-クロロアルドイミン濃度の関係

カルキ臭の臭気強度と *N*-クロロアルドイミンとの間には明確な相関が認められなかった。また、カルキ臭の臭気強度とトリクロラミン濃度の間には明確な相関を見出すことはできなかった。しかし、臭気強度と全有機窒素の間には一定の相関があることが示された。塩素処理前のアミノ酸の 35% が *N*-クロロアルドイミン類に変換すると仮定して、塩素処理後のアミノ酸の臭気強度から推算すると、*N*-クロロアセトアルドイミンの臭気閾値は 3.0 nM、*N*-クロロ-2-メチルブチルアルドイミンの臭気閾値は 2.4 nM となった。

リン酸緩衝液の影響を含めた臭気強度へ

の寄与率は、平均してトリクロラミンで約20%、*N*-クロロアセトアルドイミン類で約10%となった。また、リン酸緩衝液の影響を除いた寄与率は、平均してトリクロラミンで約19%、*N*-クロロアセトアルドイミン類で約18%となった。*N*-クロロ-2-メチルブチルクロロアルドイミン、*N*-クロロ-3-メチルブチルクロロアルドイミンおよび *N*-クロロ-2-メチルプロピオンクロロアルドイミンのカルキ臭臭気強度への寄与率はリン酸緩衝液の影響の有無にかかわらず、1.5%以下であった。このことから、相対的には、塩素処理水におけるカルキ臭の臭気強度は、トリクロラミンおよび *N*-クロロアセトアルドイミン類の影響を強く受けることがわかるが、それでもなお20%程度であり、カルキ臭強度を特定の物質の濃度で説明することは現状では難しいと考えられた。

以上の結果は、トリクロラミン以外にも複数の物質がカルキ臭に関与しており、今後は各物質の挙動・生成実態と合わせて、いくつかの物質の寄与をまとめて評価する必要があるといえる。

4. 超微粉化活性炭によるクロラミン類の還元的分解

1) 通常炭を用いたトリクロラミン分解実験

活性炭を添加した場合は、本検討で用いた3種のいずれの活性炭を用いても30~40分でトリクロラミン濃度を定量下限値以下に分解できることがわかった。このとき、遊離塩素も濃度が減少し、60分後の残存率は約85%であった。対照試験では60分後でも残存率が約98%だったことから、遊離塩素も活性炭により分解されていることがわかった。しかし、その分解速度はトリクロラミンの分解速度の4~20%程度であったため、活性炭によりトリクロラミンを選択的に分解できたといえる。

モノクロラミンとジクロラミンは、実験

の間は検出されなかった。このことから、トリクロラミンは活性炭により分解してもモノクロラミン、ジクロラミンには変化しないことがわかった。さらに、ジクロラミンは、窒素ガスに還元されることから、トリクロラミンも同じように反応し、窒素ガスに還元されたと推察した。

各活性炭のトリクロラミン分解速度に着目すると、活性炭によってトリクロラミンの分解速度に差があり、通常炭Aは通常炭B、Cに比べて分解速度が小さいことがわかった。通常炭Aと通常炭B、Cの間には、材質と粒径の違いがある。材質に関しては、通常炭Aはヤシ殻活性炭であるのに対し通常炭B、Cはいずれも木質活性炭である。また、通常炭Aの粒径は約19 μm であるのに対し、通常炭B、Cの粒径は約13 μm である。このことから、トリクロラミンの分解には活性炭の材質と粒径が影響している可能性があることがわかった。

2) 微粉炭を用いたトリクロラミン分解実験

トリクロラミンに微粉炭を添加した場合、本検討で用いた3種から作製したいずれの活性炭を用いても、3~4分でトリクロラミン濃度は定量下限値以下になった。この結果から、粒径が小さくなるほどトリクロラミンの分解速度が大きいことがわかった。

通常炭の場合と同様、この実験においてもモノクロラミン、ジクロラミンも検出されなかった。また、遊離塩素の残存率は10分後で約90%だった。対照試験における10分後の遊離塩素残存率は約99%だったことから、遊離塩素はやはり活性炭によって分解されているものの、その分解速度はトリクロラミンの分解速度の1%以下であり、微粉炭を用いてもトリクロラミンの選択的な分解が可能であることが示された。

3) 細孔分布の影響

微粉化しても活性炭の全比表面積、メソ

孔、ミクロ孔の細孔容積はほとんど変化しておらず、全比表面積やメソ孔、ミクロ孔の容積の大小とトリクロラミンの分解速度の間に相関がないことを示している。すなわち、活性炭の細孔はトリクロラミンの分解に影響しないと考えられた。

一方、活性炭の単位体積当たりの外表面積が大きい程トリクロラミン分解速度が大きい傾向があり、活性炭の外表面積の総和とトリクロラミン分解速度定数の間には正の相関がある可能性が示された。このことは、トリクロラミンの分解反応が活性炭の外表面で行われることを示唆している。

4) 含窒素有機物由来カルキ臭の分解

いずれのアミノ酸を塩素処理した場合でも、活性炭添加前のカルキ臭は、遊離残留塩素由来の臭気強度より大きく、遊離残留塩素以外にカルキ臭を発する物質が存在することがわかった。この試料中には無機クロラミンが存在していなかったことから、試料中のカルキ臭を発する物質は、有機クロラミンあるいはアルデヒドなどの臭気物質であると推察された。活性炭を添加すると、試料の臭気強度が大きく減少した。このことは、活性炭の添加により、有機クロラミンあるいはアルデヒドなどの臭気物質由来のカルキ臭が除去可能であることを示唆している。

D. 結論

水道水中の臭気原因物質に対する迅速、正確、網羅的な定量分析法としてSIトレーサブルなGC/MSデータベース法の開発のため、VOCの一斉分析に用いられる内部標準物質について、絶対純度、GCの保持時間、NMRやMSスペクトルなどを多次元データベースに登録した。

高い分析精度および再現性を確保することを目指し、認証標準物質が入手可能であるVOC 23種を用い、検量線の日差変動を検討

した結果、現状では、GC/MSの検出感度のばらつき（日差変動）が大きく、この問題を解決しなければ、精度の高い分析法の構築が困難であることが確認された。しかし、MS検出器の検出感度の変動を制御する新手法を再定義することによって、測定対象の標準品を必要としない網羅的迅速定量分析法の構築が可能であることが示唆された。

全国 15 箇所の水道原水の塩素処理後の全ての原水からトリクロラミンが検出され、生成能の値は原水により大きく異なった。また、関東・関西などの地域による差は認められなかった。水道原水のトリクロラミン生成能は、前駆物質の一つであるアンモニア態窒素濃度と弱い正の相関を示したが、他の前駆物質である全有機炭素濃度、全有機窒素濃度、全アミノ酸濃度、および遊離アミノ酸濃度との間には、相関が認められなかった。これらの結果から、トリクロラミンは、アンモニアと、一部の含窒素有機化合物のいずれもが前駆物質であるため、生成能の大きさを、いずれかだけでは推測することが困難であるが、相対的には、アンモニアが最も相関があることが示された。

全国の水道原水中の遊離アミノ酸濃度、および全アミノ酸濃度は原水により大きく異なっていた。遊離アミノ酸、全アミノ酸について、モル濃度で存在率の平均値が高かったのは、それぞれグリシン、セリン、アラニンおよびグリシン、アラニン、アスパラギンであった。

バリン、ロイシン、イソロイシンに由来する *N*-クロロアルドイミンの分析法について整備し実際の水道原水を塩素処理した水からも検出した。

単一のカルキ臭原因物質とカルキ臭の相関は低かった。トリクロラミンの寄与率は20%、*N*-クロロアルドイミン類のうち寄与率が比較的高かった *N*-クロロアセトアルドイミンで10-18%であった。また、単一の

指標としては全有機窒素の方が、他の指標（アンモニウムや個別物質濃度）よりも塩素処理後の臭気強度との相関が高かった。

複数のカルキ臭原因物質の共存で相乗効果は確認されず、相加的あるいはやや相殺的な効果が認められた。

活性炭の添加により、トリクロラミンをほぼ完全に分解除去可能であることが分かった。この効果は、活性炭を微粉化することにより、大幅に向上することが分かった。また、フェニルアラニンやアスパラギンを塩素処理した際に生成されるカルキ臭も、活性炭添加により除去可能であることがわかった。以上より、生物分解に頼らないカルキ臭の除去法として、活性炭処理を提案できる可能性が示唆された。

E. 研究発表

1) 論文発表

1. 小坂浩司, 鈴木恭子, 伊藤貴史, 越後信哉, 浅見真理, 秋葉道宏: アミノ酸の塩素処理によるトリクロラミンの生成特性, 環境工学研究論文集, 47, 93-98 (2010).
2. 久本祐資, 越後信哉, 伊藤 禎彦, 大河内由美子, 小坂浩司: 溶存有機物を構成する窒素化合物のカルキ臭生成能, 環境工学研究論文集, 47, pp. 99-108, 2010.

2) 学会発表

1. 杉本直樹, 田原麻衣子, 多田敦子, 久保田領志, 清水久美子, 山崎 壮, 河村葉子, 合田幸広, 西村哲治: qNMR に基づく有機化合物の微量分析の検討, 第 47 回全国衛生化学技術協議会年会 (2010.11).
2. Sugimoto, N., Tahara, M., Kubota, R., Shimizu, K., Hayakawa, K., Nishimura, T., Development of a novel quantitative GC/MS using multi-dimensional property database. Pacifichem2010 (2010.12).

3. 中村怜奈, 宮内裕紀, 石原祥之, 小坂浩司: 全国の水道原水中のトリクロラミン生成能の実態調査, 第 45 回日本水環境学会年会. 中村怜奈, 小坂浩司, 浅見真理, 秋葉道宏: 高度浄水処理におけるトリクロラミン生成能の実態調査, 第 62 回全国水道研究発表会.
4. 久本祐資, 中村怜奈, 小坂浩司, 越後信哉, 大河内由美子, 浅見真理, 伊藤 禎彦, 水道原水中のアミノ酸濃度に関する実態調査, 第 62 回全国水道研究発表会.
5. 久本祐資, 越後信哉, 伊藤 禎彦: 溶存有機物を構成する窒素化合物からのカルキ臭生成特性: オゾン処理の影響, オゾン協会 第 19 回年次研究会講演会, 2010.
6. Echigo, S., Itoh, S., Phattarapattamawong, S. (2010) Evaluation and control of chlorinous odor after drinking water chlorination, PACIFICHEM 2010; 2010 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies, ENVR 150.
7. 安藝朋子, 井阪雅仁, 松下拓, 松井佳彦 (2011) 活性炭による有機・無機クロラミン類の還元的分解, 第 45 回日本水環境学会年会講演要旨集, 381.
8. 井阪雅仁, 安藝朋子, 松下拓, 松井佳彦 (2011) クロラミン類を含む浄水カルキ臭の粉末活性炭による除去, 第 62 回全国水道研究発表会.

F. 知的財産権の出願・登録状況 (予定も含む.)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

II. 分担研究報告書

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）

異臭被害原因物質の同定・評価及び浄水処理工程における挙動

並びに低減化に関する研究

平成 22 年度分担研究報告書

研究課題：異臭原因物質の同定・定量に関する研究

臭気物質およびVOCの信頼性の高い網羅的迅速定量分析法の開発

～多次元データベースの構築と定量分析値の計量トレーサビリティの確保～

研究分担者 西村 哲治 国立医薬品食品衛生研究所生活衛生化学部 部長

研究協力者 田原 麻衣子 国立医薬品食品衛生研究所生活衛生化学部 研究員

研究協力者 杉本 直樹 国立医薬品食品衛生研究所生活衛生化学部 室長

研究要旨

臭気物質および揮発性有機化合物（VOC）の信頼性の高い網羅的迅速定量分析法の開発のための基礎研究を行った。水道水中の臭気物質およびVOCについて、測定対象化合物の絶対純度、ガスクロマトグラフィーの保持時間、核磁気共鳴法や質量スペクトルのレスポンスファクター値などの要素を組み込み、認証標準物質がなくても国際単位系への計量トレーサビリティを確保する対象物質の定性および定量を行うことができる多次元データベースの構築確立を検討した。内部標準物質の絶対純度測定およびガスクロマトグラフ/質量分析計（GC/MS）の検出感度の安定性について検証したところ、現状では、GC/MSの検出感度のばらつき（日差変動）が大きく、この問題を解決しなければ、精度の高い分析法の構築が困難であることが確認された。計量トレーサビリティが確保された多次元データベースを用いた迅速分析法を構築するためには、さらに、試験操作および機器分析の不確かさの要因について引き続き詳細に検証する必要があることがわかった。

A. 研究目的

近年、環境分析の分野において、定量分析値の信頼性確保や精度管理が重要視されている。有機化合物の定量分析にはクロマトグラフ法が広く採用されており、信頼性の高い分析法の構築のために、バリデーションが行われる。しかし、バリデーションは誤差が原因で生じる誤りの確率が許容できる範囲であることを立証するものであり、国際単位系（International System of Units: SI）への計量トレーサビリティを確保するものではない。また、クロマトグラフ法では、定量分析値の信頼性確保のために検量線作成用の標準物質が不可欠であるが、現状では、第三者による純度が保証された標準物質は少なく、多くは試薬メーカーそれぞれが独自に純度を値付け

ただけのいわゆる市販標準品または市販試薬しか入手することができない。これらの市販標準品または市販試薬のSIへの計量トレーサビリティが確保されていない以上、これを検量線作成用の標準物質の代用とした分析結果は、計量トレーサビリティが当然確保できないという問題が生じる。したがって、多くの化合物の定量分析値の計量学的な信頼性は現状においても強固なものとは言えない状況にある。

水道水質基準に関する省令において、カビ臭として代表されるジェオスミン、2-メチルイソボルネオール（2-MIB）や揮発性有機化合物（volatile organic compounds: VOC）の分析法は、ページ・トラップ・ガスクロマトグラフ-質量分析計およびヘッドスベ

ース-ガスクロマトグラフ-質量分析計による一斉分析法が検査方法として定められている。前述の分析精度の信頼性の問題点を解消するために、VOCについては、個々の物質の認証標準物質 (certified reference material: CRM) や校正事業者登録制度 (Japan Calibration Service System: JCSS) で登録された校正事業者により濃度が値付けされた混合標準液が市販されている。一方、カビ臭、臭気物質および一部の VOC では、CRM や JCSS による標準物質の供給が完全には整備されておらず、メーカー独自法で調製および管理を行っているものが残されている。したがって、現在においても、これらの定量分析値の計量トレーサビリティは確保できていない。また一方で、水道水中のカビ臭、臭気物質や VOC は、標準状態で大気中に容易に揮散することから、得られる定量分析値の高い信頼性を確保するためには、分析操作のバリデーションと共に、試験操作の迅速性が可能な限り要求される。したがって、水道水中のカビ臭等の揮発性物質については、迅速かつ網羅的なスクリーニングだけでなく、計量学的に正確な定量分析が可能な手法の開発が望まれている。

このような背景から、本年度は、臭気物質および VOC の信頼性の高い SI トレーサブルな多次元データベースを用いた網羅的迅速定量分析法 (Quantitative GC/MS - Multi-Dimensional Property Database: qGC/MS-MDPD) の開発のため、多次元データベースの構築と定量精度の向上に関する基礎研究を行った。このようなデータベースを参照して化合物を定性分析する方法は既に門上らより実用化されている¹⁾が、定量性については改善の余地が大きく残されている。我々が開発研究を行っている qGC/MS-MDPD は、従来の GC/MS 定量分析法とは根本的に原理が異なる (Fig. 1)。従来法では、SI トレーサビリティが欠如しているため、得られた定量分析値の信頼性が厳密な意味で確保できていない。一方、qGC/MS-MDPD は、SI トレーサビリティが確保された化合物に関する多次元情報 (絶対純度、NMR および MS スペクトル、保持時間 (保持指標)、検量線情報等) をデータベースに登録した後、これを参照するだけで精度の高い定量分析値を算出可能

とする方法である。よって、化合物の多次元情報を登録する際には時間がかかるものの、一旦登録した化合物については、再度検量線作成等の分析操作をすることなく、迅速且つ網羅的な定量分析を可能とするものである。よって、構築された本法の分析精度と迅速性は、従来の GC/MS 一斉分析法を凌駕するものになると考えられる (Fig. 2)。

本年度の研究においては、qGC/MS-MDPD 開発に必要な基礎的な知見を得るために、以下の2点について検討した。(1) 得られた定量分析値の SI への厳格なトレーサビリティを確保するため、計量トレーサビリティが確保されていない標準品の純度を明らかにした。すなわち、VOC の告示法において内部標準物質 (Internal Standard: IS) として用いられているフルオロベンゼン、*p*-プロモフルオロベンゼンおよび 1, 4-ジオキサン-*d*₈ について、これらの市販標準品の絶対純度を定量核磁気共鳴法 (quantitative NMR: qNMR) により評価した。また、本法により得られた絶対純度を多次元データベースに登録した。

(2) 計量学的に正確に絶対純度が既知の標準物質を用いて、ガスクロマトグラフ/質量分析計 (GC/MS) の測定精度を検討した。すなわち、機器分析によるばらつきの大きさについて検証するため、VOC を数種選び、GC の保持時間、MS スペクトルにおけるレスポンスファクター値、検量線などを検討した。

B. 研究方法

1) 試薬および試料

VOC は、和光純薬工業株式会社製 JCSS 揮発性有機化合物 23 種混合標準液を用いた。なお、本報告書では、ベンゼン、ジブromクロロメタン、1, 4-ジクロロベンゼン、テトラクロロエチレン、トルエン、1, 1, 2-トリクロロエタン、*o*-キシレン、*m*-キシレン、*p*-キシレンの計 9 種 VOC について検討した (Fig. 3)。また、測定に供した 9 種の VOC の JCSS による値付け濃度を Table 1 に示した。

高純度ヘキサメチルジシラン (hexadimethyldisilane: HMD) は和光純薬工業株式会社製特注品、重アセトン-*d*₆ (99.9 atom % D) および重メタノール-*d*₄ (99.8 atom % D) は Isotec 製、フタル酸ジエチル

(diethyl phthalate: DEP) は、独立行政法人 産業技術総合研究所製の認証標準物質 (NMIJ CRM 4022-b: 純度 99.98±0.01(w/w%) (99.74±0.09 (mol/mol %))を用いた。GC/MS の IS として、フルオロベンゼン、*p*-ブromofluorobenzene および 1, 4-ジオキサン-*d*₈ は和光純薬工業株式会社製を購入し、それぞれ化学用、特級、試薬のグレードを使用した。メタノールは関東化学株式会社製 高速液体クロマトグラフィ用を用いた。

2) 装置

核磁気共鳴装置 (NMR) : オートサンプラー付き JNM-ECA (600 MHz) (日本電子株式会社製)。qNMR および qNMR 多変量解析のケミカルシフト値は、HMD を基準シグナル (0 ppm) とし、 δ 値を ppm 単位で表した。

ガスクロマトグラフ/質量分析計 (GC/MS) : Shimadzu QP2010 Plus (島津製作所株式会社製)。

ウルトラマイクロ天秤:XP2U(メトラートレド製)。試料の秤量値は、特に断りのない限り、最小目盛 0.0001 mg まで読み取った値を用いた。

なお、標準液および試料溶液の調製には、化学用体積計 (20~100 mL メスフラスコ) または電動オートピペッター (マルチピペット Xstream (エッペン ドルフ製)、10 mL (不確かさ±0.4%)、1~5 mL (不確かさ±0.5%)) を用いた。

3) qNMRによるVOC用内部標準物質の純度測定

3. 1) qNMR 標準液の調製および濃度校正

qNMR 標準液の調製および標準液中の HMD の濃度校正は既報²⁾に準じた。すなわち、HMD 約 100 mg を精密に量り取り、アセトン-*d*₆ またはメタノール-*d*₄ 25 mL に定容した。この溶液をアセトン-*d*₆ またはメタノール-*d*₄ で 5 倍希釈したものを qNMR 用標準液とした。qNMR 用標準液中の HMD の濃度を下記に従い、CRM の一つである DEP により校正して求めた。DEP 約 10 mg を精密に量り取り、qNMR 用標準液 1.0 mL に溶解した。この溶液 0.6 mL を NMR 試験管 (5 mm ϕ × 200 mm、日本電子株式会社製) に封入したものを HMD 濃度校正用試料溶液とした。この溶液を qNMR に付し、DEP の CH₂ × 2 および HMD の CH₃ × 6 に由来するシグナル面積、分子量、

濃度等を式 (1) に代入し、qNMR 用標準液中の HMD の濃度を校正した。

$$W_{HMD} = \frac{M_{HMD} \times I_{HMD}}{H_{HMD}} / \frac{M_{DEP} \times I_{DEP}}{H_{DEP} \times W_{DEP}} \times \frac{P_{DEP}}{100} \quad (1)$$

ただし、 W_{HMD} 、 W_{DEP} = HMD および DEP の濃度 (mg/mL)、 M_{HMD} 、 M_{DEP} = HMD および DEP の分子量 (146.38 および 222.24)、 H_{HMD} 、 H_{DEP} = HMD の CH₃ × 6 および DEP の CH₂ × 2 のプロトン数、 I_{HMD} 、 I_{DEP} = HMD の CH₃ × 6 および DEP の CH₂ × 2 のシグナル面積、 P_{DEP} = DEP の純度 (99.98 w/w%)。

3. 2) フルオロベンゼンおよび *p*-ブromofluorobenzene の純度測定

フルオロベンゼン約 5-10 mg を精密に量り取り、3. 1) で校正した qNMR 用標準液 (アセトン-*d*₆) 1.0 mL に溶解した。この溶液 0.6 mL を NMR 試験管に封入したものを試料溶液とした。また、*p*-ブromofluorobenzene についても、qNMR 用標準液 (メタノール-*d*₄) で同様に調製したものを試料溶液とした。次に、この試料溶液を qNMR に付し、HMD のシグナル強度面積、測定対象の化合物に由来するそれぞれの特定シグナルの相対面積、分子量、濃度等を式 (2) に代入し、測定対象の化合物の純度を算出した。

$$P_{IS} = \frac{I_{IS} / H_{IS}}{I_{HMD} / H_{HMD}} \times \frac{M_{IS} / W_{IS}}{M_{HMD} / W_{HMD}} \times 100 \quad (2)$$

ただし、 W_{HMD} 、 W_{IS} = HMD および測定対象化合物 (IS) の濃度 (mg/mL)、 M_{HMD} 、 M_{IS} = HMD および IS の分子量、 I_{HMD} 、 I_{IS} = HMD および IS の特定基のシグナル強度面積、 H_{HMD} 、 H_{IS} = HMD および IS の特定基のプロトン数、 P_{IS} = IS の純度 (w/w%)。

3. 3) qNMR測定条件および解析処理

qNMR 測定条件の基本情報は Table 2 に示した。qNMR データ解析には、定量解析ソフトウェア Alice for qNMR (日本電子株式会社製) を用いた。qNMR データをフーリエ変換および自動位相補正した後に、qNMR 基準物質および測定対象化合物の情報から自動解析処理を行い、式 (1) または式 (2) に従い、qNMR 標準液中の HMD の濃度 (W_{HMD}) (mg/mL)

および測定対象化合物の純度 (P_{IS}) (w/w%) を算出した。

4) GC/MS による VOC の分析

4. 1) GC/MS 分析条件

告示法 (水質基準に関する省令 (平成 15 年厚生労働省令第 101 号 : 別表第 14 又は別表第 15)) に準拠した GL Sciences のアプリケーションデータ (No. GA001-0000) を参考に分析条件を設定した。GC/MS の測定条件は以下に記述する。なお、*m*-および *p*-キシレンはピーク分離できなかったため、両者の総和とした。IS には VOC の告示法で用いられているフルオロベンゼン、*p*-ブromofluorobenzene および 1,4-ジオキサン- d_8 を用いた。

GC/MS 条件 : カラム、Inert Cap AQUATIC (0.25 mm i.d. × 60 m, 1 μ m) ; 気化室温度、150°C ; カラム温度、40 °C (1 min) → 5 °C/min → 80°C → 10 °C/min → 200°C (4 min) ; イオン源温度、220°C ; インターフェイス温度、200°C ; キャリヤガス、He (100 kPa) ; 注入量、2 μ L ; 注入方法、スプリット ; スプリット比、100 ; インサート、片側テーパールなし ; イオン化電圧、70 eV ; 測定モード、選択イオンモニタリング (SIM) ; モニターイオン (m/z) ; Table 3 に示す。

4. 2) 検量線の作成

それぞれの化合物につき IS ごとの 3 種の検量線を作成した。VOC 23 種混合標準液 1000 mg/L はメタノールで 50 mg/L に希釈した。フルオロベンゼン、1,4-ジオキサン- d_8 および *p*-ブromofluorobenzene はそれぞれ 15、66、30 μ L を正確に量り取りメタノール 20 mL に定容し、IS 混合標準溶液とした。VOC の最終濃度が 0、5、1、2、5、10、20 mg/L となるよう、23 種混合標準液または 50 mg/L 溶液を量り取り、IS 混合標準溶液 100 μ L と合わせてメタノール 10 mL で定容した。各濃度 5 回測定し、5 回の平均による検量線を 5 本作成した。

C. 結果及び考察

1) 内部標準物質の純度測定

VOC の一斉分析に関する告示法 (ページ・トラップ-ガスクロマトグラフ-質量分析計による一斉分析

法 (別表第 14)、ヘッドスペース-ガスクロマトグラフ-質量分析計による一斉分析法 (別表第 15)) では、クロマトグラフィーなどを行う際、量のおかった特定の物質を IS として試料に加えて分析し、一定量添加した内部標準物質と試料中の測定対象物質のピーク面積比から定量分析値を算出するという内標準法が採用されている。VOC の一斉分析法における内部標準物質には、クロマトグラフ上にピークが観察されること、VOC のピークと重ならないこと、試料水中に夾雑物として混入しないことが考慮され、フルオロベンゼン、*p*-ブromofluorobenzene および 1,4-ジオキサン- d_8 が規定されている。内標準法ではその測定原理上、内標準物質の純度および添加量が常に一定でなければ、高い定量精度を得ることができない。しかしながら、フルオロベンゼン、*p*-ブromofluorobenzene および 1,4-ジオキサン- d_8 について計量トレーサビリティが確保された標準物質は現在流通していない。

NMR は、低分子から分子の定性的な分子情報が得られる構造解析には欠かせない分光法であることが知られている。一方、我々はこれまでに、国際単位系 (SI) に基づく計量トレーサビリティが確保された新たな定量分析法として、NMR を用いた定量法 (quantitative NMR (qNMR)) の開発している。qNMR は、他の定量分析法のほとんどが個々の化合物に特有の物性値を利用しているに対し、化合物中に等価に存在する水素原子の数を指標として定量分析値を求める方法である。すなわち、一つの $^1\text{H-NMR}$ スペクトル上に 2 つの化合物が同時に観察される場合、プロトンシグナル面積比は 2 つの化合物のモル濃度に比例することから、一方の化合物の純度と濃度が明らかであれば、もう一方の化合物の純度あるいは含量を、観察されるシグナル面積比と調製値の関係から算出可能であることを利用している。したがって、qNMR は、測定対象と同一の化合物の定量用標準品を必要とせず、別の物質を基準として定量分析が可能な定量法であり、SI にトレーサブルな一次標準測定法のうち、一次標準比率法、すなわち「物質の基準となる別の化学物質を用い、それとの比較において目的の化学物質の物質量を測れる方法」

の資格を原理的に有する方法である。そこでまず、本法を応用し、VOCの一斉分析に用いられるISの絶対純度をqNMRにより測定した。

絶対純度の検証対象のISとしては、フルオロベンゼン、*p*-ブロモフルオロベンゼンおよび1,4-ジオキサン- d_8 の市販試薬各1製品を用いた。これらの市販試薬製品は、GC面積百分率により求められた純度値がそれぞれ95.0%以上、98.0%以上、99%と表示されているものである。Fig.4にそれぞれのqNMRスペクトルを示した。スペクトル上に観察された基準物質HMDおよび各ISに由来する各シグナル面積、水素数、濃度等を関係式(2)に代入し、それぞれの純度値を算出した。その結果、フルオロベンゼンおよび*p*-ブロモフルオロベンゼンはそれぞれ73.0±7.0%、96.6±2.2% (n=3, Ave±RSD)であった(Table 4)。一方、1,4-ジオキサン- d_8 は、分子中の水素が重水素に置換されたものであり、水素のシグナル強度比を指標としたqNMR測定による純度決定ができない。そこで、1,4-ジオキサン- d_8 の純度決定は、不純物として混入が考えられる1,4-ジオキサンの含量を測定し、間接的に1,4-ジオキサン- d_8 の純度として算出した。すなわち、1,4-ジオキサンに由来するシグナルから1,4-ジオキサン- d_8 中の1,4-ジオキサンの含量は0.75±0.03% (n=3, Ave±RSD)と算出されたため、これを差し引くことによって1,4-ジオキサン- d_8 の純度は99.3%以下であると見積もられた。なお、フルオロベンゼンは揮発しやすいため、精密な秤量が困難な物質である。そのため、qNMRによる絶対純度測定においても、調液操作中にフルオロベンゼンが揮発し、結果として正確な値が求められていない可能性は否定できない。また、今回qNMRにより求められた1,4-ジオキサン- d_8 の純度は、試薬製品中に1,4-ジオキサン- d_8 以外に不純物として1,4-ジオキサンだけが混入していると仮定した場合である。したがって、*p*-ブロモフルオロベンゼン以外の絶対純度については正確に算出されていないかもしれないが、市販試薬製品に表示された純度値は、フルオロベンゼン、*p*-ブロモフルオロベンゼン、1,4-ジオキサン- d_8 がそれぞれ95.0%以上、98.0%以上、99%とされており、qNMRにより得られた絶対純度は、試

薬メーカーの表示値とは異なる結果となった。

GC/MSによる一斉分析用のISとしては、これを用いた定量分析値の精度の確保のために、純度が正確に求められていること、常に一定量が添加できることが要求される。このことを踏まえれば、絶対純度を求めることが困難な1,4-ジオキサン- d_8 、揮発しやすく正確な秤量が困難であるフルオロベンゼンはISとしては不適であると思われた。したがって、この点についてはさらに詳細に調査すると共に、他の物質をISとすることも視野に入れ検討すべきことと考えられた。

2) VOCの検量線の日差変動

VOCの一斉分析において、測定対象のVOCそれぞれについて検量線を作成する必要がある。また、高い定量精度を得るためには、GC/MS装置の検出感度ができるだけ実試料の測定時と同じ状態である必要があることから、検量線の作成は実試料の測定の直前又は直後に通常行わなければならない。このため、告示法に従い実際の分析操作を行った場合には、実試料1つに対して5回測定、検量線作成のために濃度の異なる標準混合液を最低5回測定する必要がある、非常に時間と労力を要することとなっている。一方、VOCは保存状態が悪いとき、揮散による濃度減少が懸念されることから、迅速な分析を要求される。実際、水道水質の検査機関は、高い定量精度を保ちつつ、迅速な一斉分析法の開発を待ち望んでいる。我々の提案するqGC/MS-MDPDによるVOCの一斉分析は上述の問題点を解決する可能性が高い。そこで、本研究では基礎的な知見を得るためVOCの検出感度の日差変動を検証した。

告示法に従い、フルオロベンゼン、*p*-ブロモフルオロベンゼンおよび1,4-ジオキサン- d_8 をISとし、VOCの内、ベンゼン、ジブromクロロメタン、1,4-ジクロロベンゼン、テトラクロロエチレン、トルエン、1,1,2-トリクロロエタン、*o*-キシレン、*m*-キシレンおよび*p*-キシレンについてGC/MSの測定精度を検討した(Fig.5)。すなわち、各VOCについて濃度0.5、1、2、5、10、20 mg/Lを調製し、各濃度5回測定し、5回の平均による検量線を作成した。この操作を5日間別の日に行い、5本の検量線の日差