

変動を観察した (Fig. 6)。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が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*-プ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 の試料を作成し、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。各 5 本の検量線より算出された最小値および最大値を Table 5 にまとめた。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) と同様大きかった。

D. まとめ

水道水中の臭気は、揮発性が高い物質で構成されていると考えられ、各化合物の同定および正確な定量分析には迅速な対応が必要とされる。そこで、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の基礎研究を行った。すなわち、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。次に、高い分析精度および再現性を確保することを目指し、モデル実験として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。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。しかしながら、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。我々の提案する SI トレーサビリティが確保された GC/MS データベース法は、水道水中の臭気物質等のモニタリングおよび正確な定量分析を可能とし、水道水質検査法等への応用が期待される。また、同法の開発によって得られた知見は、水道水質検査法の分析精度を向上するための基礎情報として有用であると考えられる。

E. 参考文献

1. Kadokami, K., Tanada, K., Taneda, K., Nakagawa, K. (2005) Novel gas chromatography-mass spectrometry database for automatic identification and quantification of micropollutants, *J. Chromatogr. A*, 1089, 219-226.
2. 田原麻衣子, 杉本直樹, 末松孝子, 有福和紀, 齋藤剛, 井原俊英, 吉田雄一, 多田敦子, 久保田領志, 清水久美子, 山崎壮, 棚元憲一, 中澤裕之, 西村哲治 (2009) qNMR に基づく有機リン系農薬イソキサチオンオキシソンの品質管理、*日本食品化学学会誌*, 16 (1), 28-33.

F. 研究発表

- 1) 論文発表
なし

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. Pacificchem2010

(2010.12).

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定も含む。)

1. 特許取得
該当なし。
2. 実用新案登録
該当なし。
3. その他
該当なし。

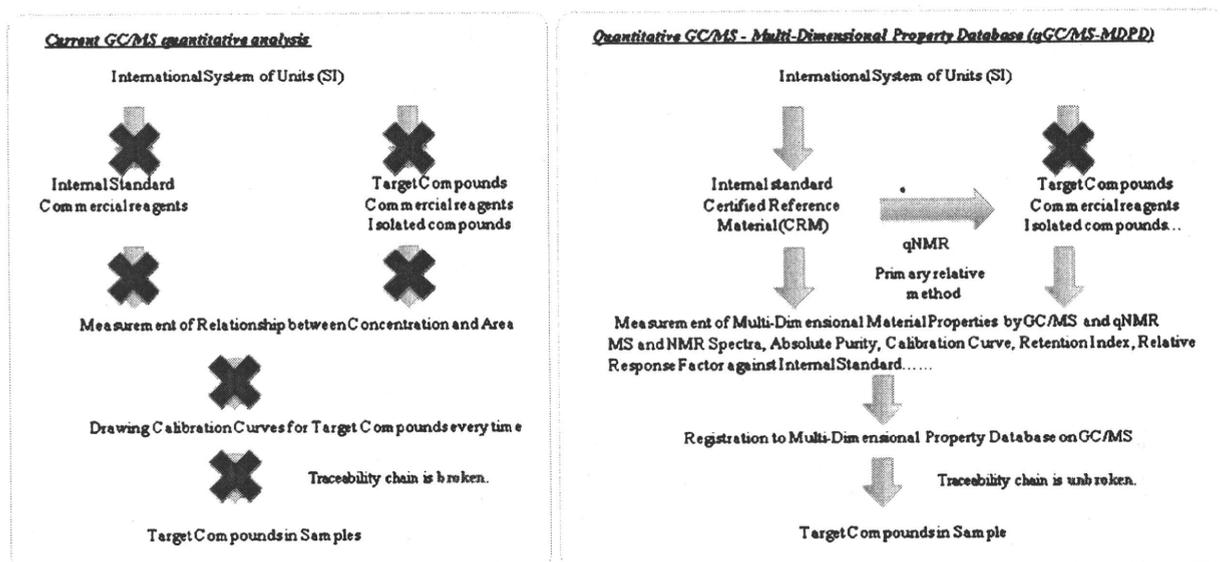


Fig. 1 Difference between Current GC/MS quantitative analysis and our proposed qGC/MS-MDPD system

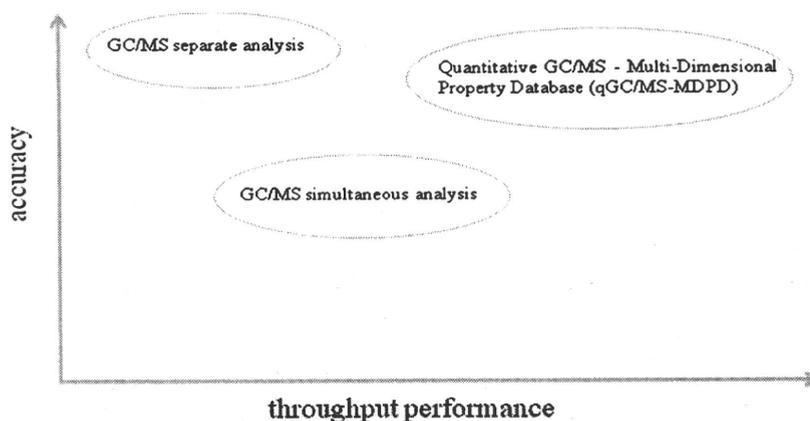


Fig. 2 Relationship between accuracy and throughput performance

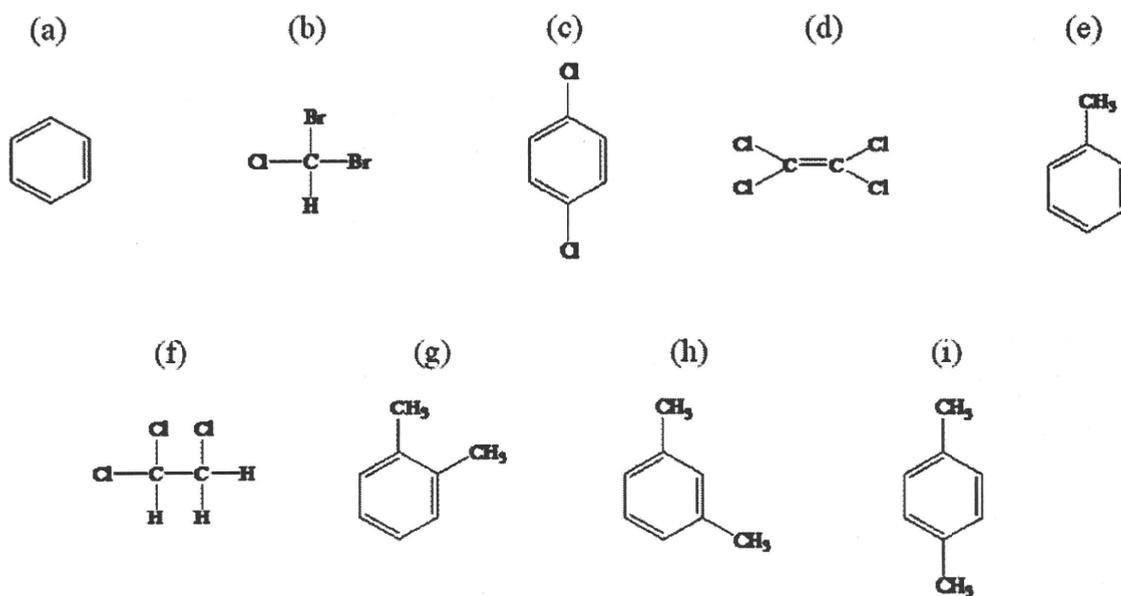


Fig. 3 Chemical structures of VOC: (a) Benzene, (b) Dibromochloromethane, (c) 1,4-Dichlorobenzene, (d) Tetrachloroethylene, (e) Toluene, (f) 1,1,2-Trichloroethane, (g) *o*-Xylene, (h) *m*-Xylene, (i) *p*-Xylene

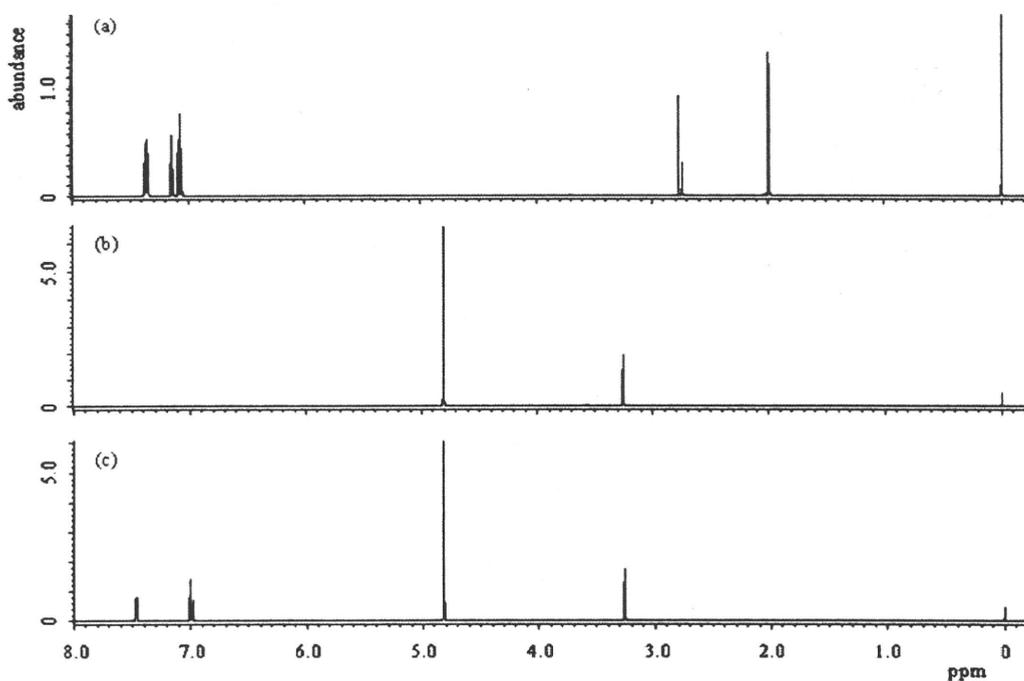


Fig. 4 qNMR spectra of (a) fluorobenzene, (b) 1,4-Dioxane- d_8 and (c) *p*-bromofluorobenzene used as the internal standards for the GC/MS simultaneous analysis of VOCs

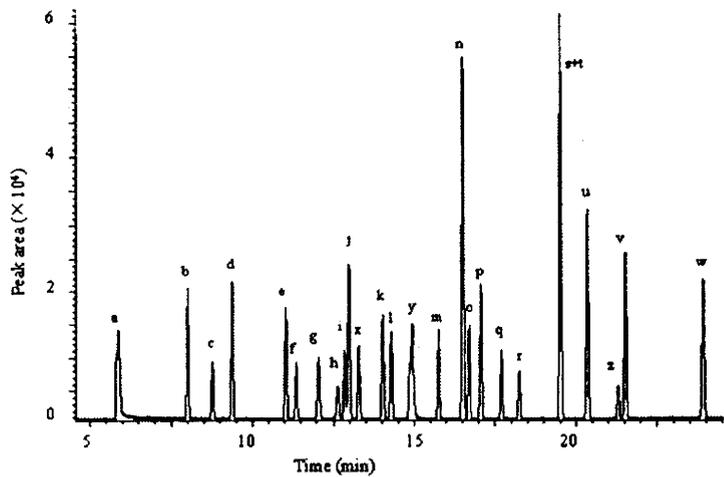
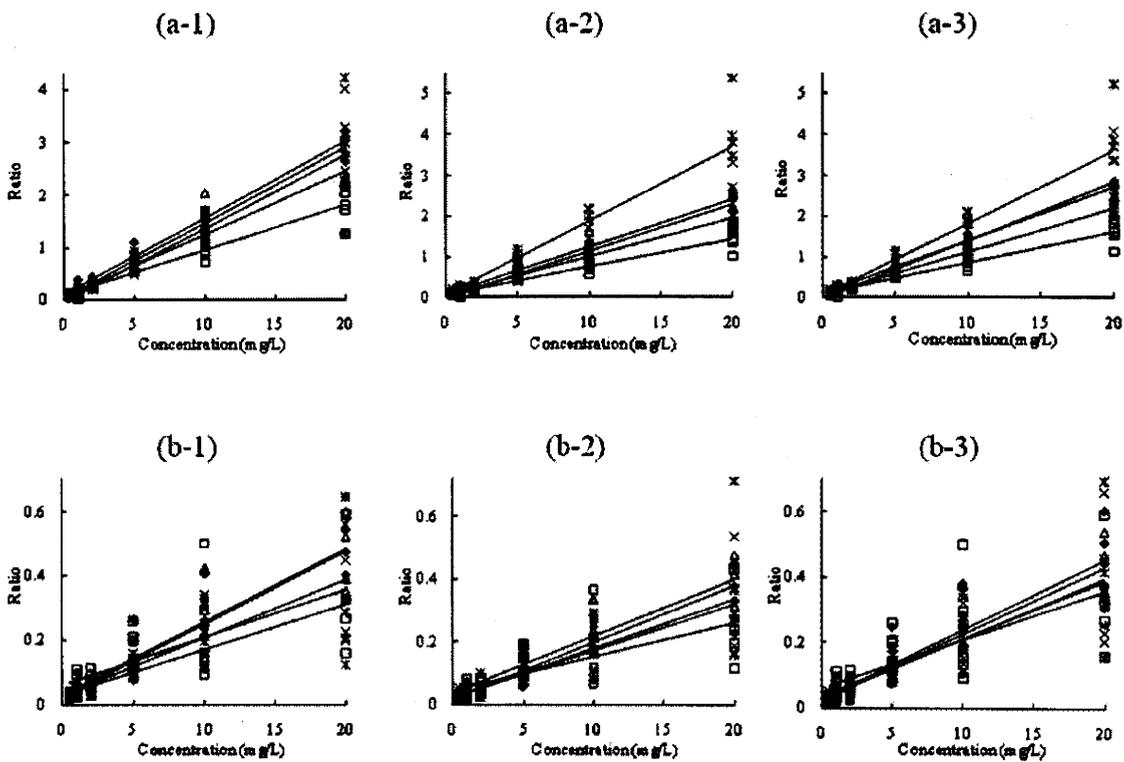
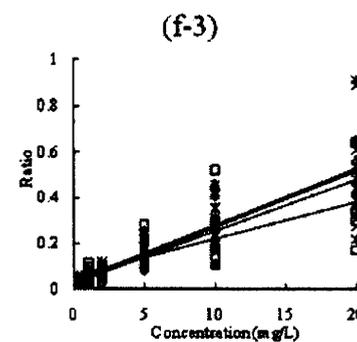
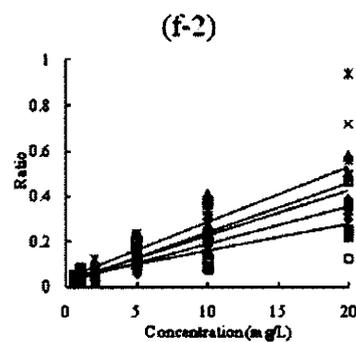
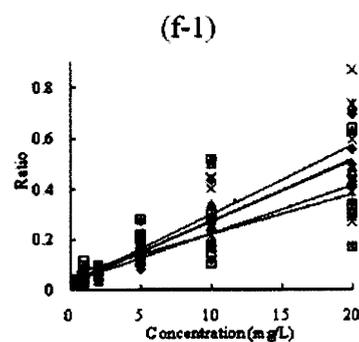
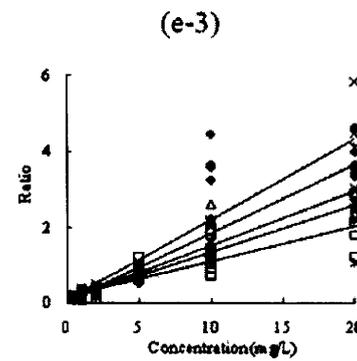
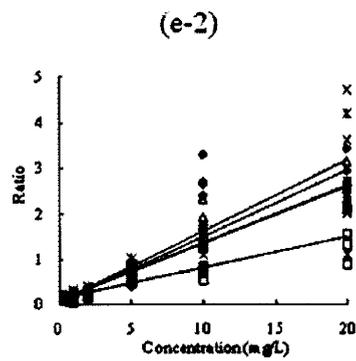
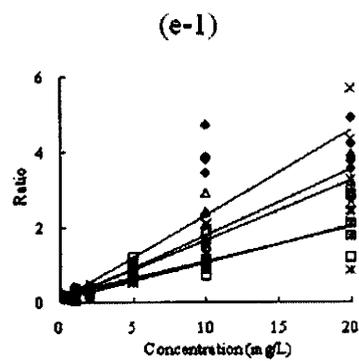
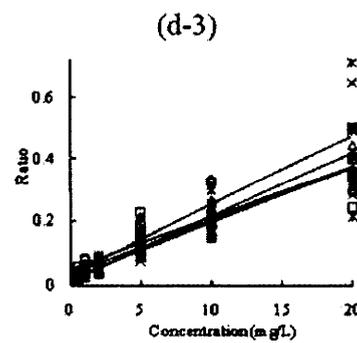
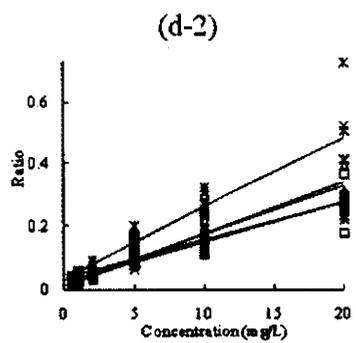
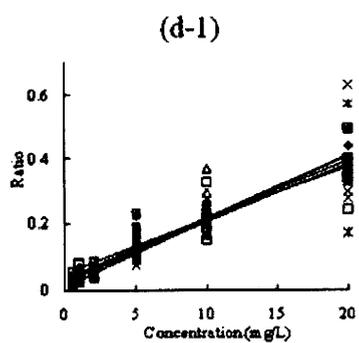
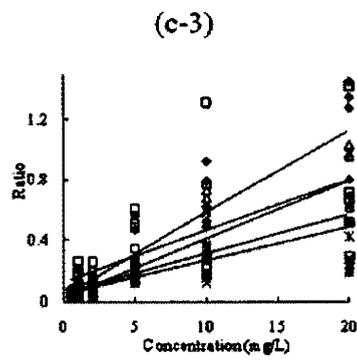
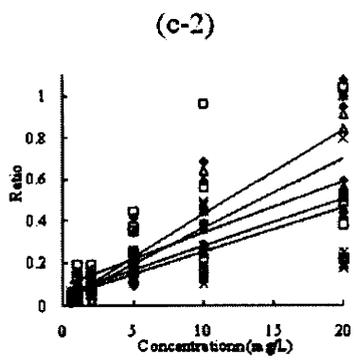
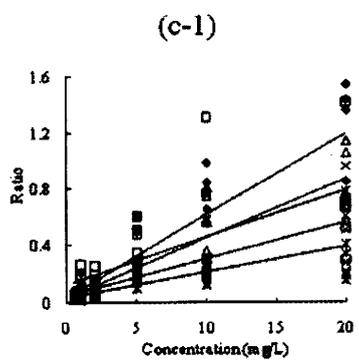


Fig. 5 GC/MS profile of VOCs

a: 1,1-dichloroethene, b: dichloromethane, c: *trans*-1,2-dichloroethene, d: *cis*-1,2-dichloroethene, e: chloroform, f: 1,1,1-trichloroethane, g: tetrachloromethane, h: 1,2-dichloroethane, i: benzene, j: trichloroethene, k: 1,2-dichloropropane, l: bromodichloromethane, m: *cis*-1,3-dichloro-1-propene, n: toluene, o: *trans*-1,3-dichloro-1-propene, p: 1,1,2-trichloroethane, q: tetrachloroethene, r: dibromochloromethane, s: *m*-xylene, t: *p*-xylene, u: *o*-xylene, v: bromoform, w: 1,4-dichlorobenzene, x: fluorobenzene, y: 1,4-dioxane-*d*₈, z: *p*-bromofluorobenzene





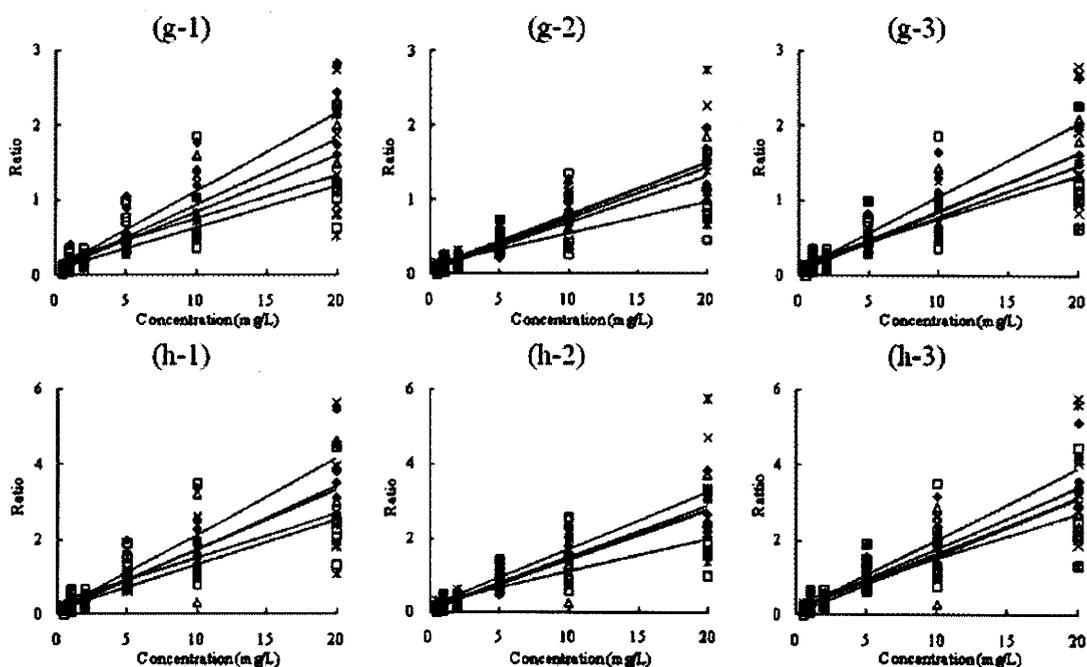


Fig. 6 Relative calibration curves of VOC

(1) Fluorobenzene, (2) *p*-Bromofluorobenzene, and (3) 1,4-Dioxane-*d*₈ as IS:

(a) Benzene, (b) Dibromochloromethane, (c) 1,4-Dichlorobenzene,

(d) Tetrachloroethylene, (e) Toluene, (f) 1,1,2-Trichloroethane, (g) *o*-Xylene,

(h) *m*-Xylene and *p*-Xylene.

The calibration line was described by average of five data points each at the concentrations. Variation was observed by five calibration lines.

Table 1 Concentration of VOC standards by JCSS

VOC	Concentration (mg/L)	Expanded Uncertainty (%)
Benzene	998	1.1
Dibromochloromethane	1006	1.4
1,4-Dichlorobenzene	999	1.0
Tetrachloroethylene	1002	0.9
Toluene	1000	0.9
1,1,2-Trichloroethane	1007	1.2
<i>o</i> -Xylene	995	0.9
<i>m</i> -Xylene	1004	1.3
<i>p</i> -Xylene	994	1.2

Table 2 Instruments and acquisition parameters

Spectrometer	JNM-ECA600 (JEOL)
Probe	5 mm broadband autotune probe
¹³ C decoupling	Multi pulse decoupling with Phase and Frequency switching (MPF-8)
Spectral width	-5 ~15 ppm
Data points	64000
Auto filter	on (8 times)
Flip angle	90°
Pulse delay	60 s (>5*T ₁)
Scan times	8
Sample spin	no spin
Probe temperature	22-25°C
Sample solvent	Acetone- <i>d</i> ₆ or Methanol- <i>d</i> ₄
qNMR reference material	HMD
Primary standard material	DEP
Window function	-

Table 3 Monitor ion and retention time of target compounds

	Monitor ion (<i>m/z</i>)	Retention time (min)
<u>VOC</u>		
Benzene	78	12.94
Toluene	91	16.45
1,1,2-Trichloroethane	97	17.02
Tetrachloroethylene	166	17.66
Dibromochloromethane	129	18.20
<i>m</i> -Xylene	91	19.45
<i>p</i> -Xylene	91	19.45
<i>o</i> -Xylene	91	20.29
1,4-Dichlorobenzene	146	23.87
<u>Internal standard</u>		
Fluorobenzene	96	13.24
1,4-Dioxane- <i>d</i> ₄	96	14.85
<i>p</i> -Bromo fluorobenzene	95	21.48

Table 4 Summary of the absolute purities of IS standards determined using qNMR

	Signal	1	2	3	Average (%)	RSD* (%)
Fluorobenzene	Signal region (ppm)	7.07	7.14	7.36		
	Purity (%)	73.18	72.73	72.95	73.0	0.3
<i>p</i> -Bromofluorobenzene	Signal region (ppm)	7.00	7.46	—		
	Purity (%)	96.79	96.49	—	96.6	0.2

*RSD: relative standard deviation

Table 5 Estimated quantity values of VOCs from the internal standard method

Internal standard: (1) Fluorobenzene,
(2) *p*-Bromofluorobenzene, (3) 1,4-Dioxane-*d*₈

(1)

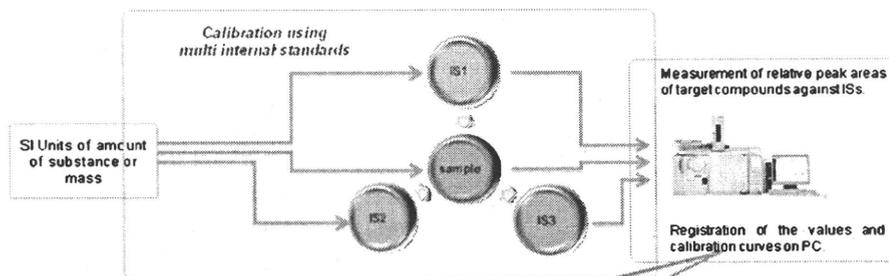
	7.5 mg/L				15 mg/L			
	Min	Max	Ave	RSD	Min	Max	Ave	RSD
Benzene	6.75	11.57	8.55	12.49	15.37	26.25	18.89	3.33
Dibromochloromethane	7.94	12.78	9.50	31.56	12.79	20.63	15.48	20.31
1,4-Dichlorobenzene	2.49	9.70	4.32	35.71	3.09	10.85	4.90	14.82
Tetrachloroethylene	12.26	13.12	12.64	24.26	18.69	20.56	19.46	15.89
Toluene	6.23	14.08	9.21	16.31	11.04	25.72	16.42	13.85
1,1,2-Trichloroethane	8.11	11.65	9.57	27.17	14.38	22.30	17.31	20.15
<i>o</i> -Xylene	5.74	10.86	7.61	24.17	9.69	18.28	13.05	13.27
<i>m</i> -Xylene and <i>p</i> -Xylene	4.75	10.56	8.10	22.80	10.66	18.83	14.59	15.79

(2)

	7.5 mg/L				15 mg/L			
	Min	Max	Ave	RSD	Min	Max	Ave	RSD
Benzene	8.24	21.63	14.03	32.46	22.58	59.80	38.18	11.19
Dibromochloromethane	13.82	22.26	16.64	23.67	29.13	47.53	34.41	11.35
1,4-Dichlorobenzene	6.44	11.50	8.35	11.41	9.54	17.50	12.78	9.70
Tetrachloroethylene	14.23	26.85	20.97	15.70	28.42	53.79	41.21	9.34
Toluene	12.62	27.98	15.64	9.39	28.43	64.43	35.49	7.06
1,1,2-Trichloroethane	12.18	25.11	16.24	18.43	28.39	58.90	37.12	12.60
<i>o</i> -Xylene	11.72	18.66	13.22	13.10	25.56	41.76	28.82	4.06
<i>m</i> -Xylene and <i>p</i> -Xylene	11.37	19.19	13.71	12.33	26.29	45.48	31.45	9.01

(3)

	7.5 mg/L				15 mg/L			
	Min	Max	Ave	RSD	Min	Max	Ave	RSD
Benzene	7.41	16.61	10.53	36.56	16.64	37.83	23.56	20.20
Dibromochloromethane	10.46	12.80	11.69	28.23	17.39	22.76	19.71	3.67
1,4-Dichlorobenzene	3.69	9.19	5.53	27.13	4.81	11.20	6.79	25.39
Tetrachloroethylene	12.61	16.75	15.23	21.86	20.29	26.65	24.37	7.27
Toluene	8.08	17.25	11.21	12.75	14.89	32.73	20.79	6.85
1,1,2-Trichloroethane	10.55	14.63	11.60	20.92	19.76	28.67	21.71	4.13
<i>o</i> -Xylene	7.49	10.91	9.29	15.50	13.25	20.54	16.74	12.13
<i>m</i> -Xylene and <i>p</i> -Xylene	8.21	11.35	9.76	13.59	15.29	22.48	18.37	5.68



Monitor ion and retention time of target compounds

	Monitor ion (m/z)	Retention time (min)
VOC		
Benzene	78	12.94
Toluene	91	16.45
1,1,2-Trichloroethane	97	17.02
Tetrachloroethylene	166	17.66
Dibromochloromethane	129	18.20
<i>m</i> -Xylene	91	19.45
<i>p</i> -Xylene	91	19.45
<i>o</i> -Xylene	91	20.29
1,4-Dichlorobenzene	146	23.87
Internal standard		
Fluorobenzene	96	13.24
1,4-Dioxane- <i>d</i> ₆	96	14.85
<i>p</i> -Bromofluorobenzene	95	21.48

臭気物質およびVOCの信頼性の高い網羅的
迅速定量分析法の構築

【検討項目】

1. 計量トレーサビリティの確保(H22終了)
2. 多次元データベース(MDPD)(構築中)
3. 分析法の検証(現在RSD 10~30%)
4. 分析法の検証(継続目標RSD <10%)

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」
分担研究報告書

研究課題：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

分担研究者	小坂 浩司	国立保健医療科学院	水道工学部
分担研究者	越後 信哉	京都大学大学院	地球環境学堂
研究協力者	中村 怜奈	国立保健医療科学院	水道工学部
研究協力者	久本 祐資	京都大学大学院	工学研究科
研究協力者	浅見 真理	国立保健医療科学院	水道工学部

研究要旨

トリクロラミンはカルキ臭の原因物質の一つであり、前駆物質としてアンモニアや、アミノ酸をはじめとする一部の含窒素有機化合物が知られている。平成22年9月~10月、平成23年1月~2月に、全国15箇所の水道原水を塩素処理し、ヘッドスペースーガスクロマトグラフ質量分析法(HS-GC/MS法)によって、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。同時に、全国の水道原水中のアミノ酸濃度について検討した。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6~140 $\mu\text{g}\cdot\text{Cl}_2/\text{L}$ と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。また、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 $\text{mg}\cdot\text{N}/\text{L}$ (平均0.002 $\text{mg}\cdot\text{N}/\text{L}$)、0.02~0.20 $\text{mg}\cdot\text{N}/\text{L}$ (平均0.06 $\text{mg}\cdot\text{N}/\text{L}$)であった。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%)であった。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、アスパラギンであり、米国における調査結果と大きな差がないことが示された。

A. 研究目的

トリクロラミンはカルキ臭の原因物質の一つであり、前駆物質としてアンモニアや、アミノ酸をはじめとする、一部の含窒素有機化合物が知られている。これまで、浄水場の工程水を用いたトリクロラミンの生成特性¹⁾や、アミノ酸等の含窒素有機化合物からの生成能の評価²⁾等が行われているが、検討は限定的である。この理由の一つとして、DPD法³⁾では、有機クロラミンを、トリクロラミンを含む無機クロラミン類として検出する場合があるため、有機物が存在する実際の環境水中のトリクロラミン濃度の測定には、質量分析法等、より精度の高い方法が必要であることによる。水道においてカルキ臭やトリクロラミンに対する関心は高まってきているが、これらが水道原水の塩素処理によってどの程度生成するか、特に全国的な検討は、ほとんど報告されていない。また、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が、国内水道における原水中のアミノ酸濃度に関する報告は、極めて限定的である。そこで本研究は、全国15箇所の水道原水を塩素処理し、ヘッドスペースーガスクロマトグラフ質量分析法(HS-GC/MS法)によって、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。併せて、全国の水道原水中のアミノ酸濃度について検討した。

B. 研究方法

1. 実態調査の概要

平成22年9月~10月、平成23年1月~2月に、水道原水における消毒副生成物の実態調査を行った(それぞれ9月調査、1月調査)。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。具体的な測定項目は、トリクロラミン生成能、アン

モニア態窒素(NH₄-N)、全窒素(TN)、全有機炭素(TOC)、硝酸態窒素(NO₃-N)、亜硝酸態窒素(NO₂-N)、E260、全有機窒素(TON)(TNよりNH₄-N、NO₃-N、NO₂-Nを減じて算出)、遊離アミノ酸および全アミノ酸(遊離アミノ酸と結合アミノ酸の和)17種類であった。

2. トリクロロアミン生成能の評価方法

本実験では、各種溶液の作成や希釈において、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 りん酸緩衝液)、水温が 20°C となるよう調製し、その後、次亜塩素酸ナトリウムを加えることで反応を開始させた。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±0.2 mg-Cl₂/L となるように設定した。原水の代わりに、りん酸緩衝液について同様の手順で作成したものをブランクとした。このとき、塩素の注入率は、1.4~7.2mg-Cl₂/L の範囲であった。原水中のトリクロロアミン濃度とブランクとの差をトリクロロアミン生成能とした。24 時間後の遊離塩素濃度は DPD/FAS 滴定法で測定した。

3. トリクロロア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 10mL 分取し、内部標準として 1,1,2-トリクロロエタン-d₃ 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 1.0mL/min、昇温条件は 30°C(1.5 分) → 30°C/分 → 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。トリクロロアミンの場合、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。トリクロロアミン濃度の定量下限値は 15μg-Cl₂/L であった。

4. アミノ酸濃度の測定方法

アミノ酸の前処理について、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⁴⁾。アミノ酸の定量下限値はグリシン、セリン、フェニルアラニン、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。

C. 研究結果および D. 考察

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

図 1 に全国の水道原水中のトリクロロアミン生成能を示す。塩素処理後の全ての原水からトリクロロアミンが検出され、生成能の値は、9 月調査では 17~140μg-Cl₂/L(平均 61μg-Cl₂/L)、1 月調査では 6~130μg-Cl₂/L(平均 72μg-Cl₂/L)であり、平均値は 1 月調査の方が若干大きい値であった。また、生成能の値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った。なお、ブランクからトリクロロアミン濃度は 14~30μg-Cl₂/L(平均 20μg-Cl₂/L)程度検出された。これらのうち、トリクロロアミン濃度の定量下限値未満の値が検出された場合においても、トリクロロアミンのピークが認められたことから、トリクロロアミン生成能を評価する際、ブランク濃度を 0 とするよりも、何らかの値を減ずるのが妥当であると考えられた。このときの値として、定量下限値 15μg-Cl₂/L を与えるよりも、概想的な値であるが、検出された値をブランク濃度として評価するのが適切であると判断した。よって、一部のブランク濃度を、トリクロロアミン濃度の定量下限値未満の値として評価した。

図 2 に水道原水中のトリクロロアミン生成能とアンモニア態窒素濃度の関係を示す。原水中のアンモニア態窒素濃度は、9 月調査では 0.02~0.27mg-N/L(平均 0.04mg-N/L)、1 月調査では 0.02~0.31mg-N/L(平均 0.08mg-N/L)であった。図中、アンモニア態窒素濃度の定量下限値 0.02mg-N/L 未満を 0 とした。水道原水のトリクロロアミン生成能は、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った原水は、15 箇所中 9 箇所であった。これらの原水は、トリクロロアミン生成能の値も、1 月調査の方が 9 月調査を上回った。また、あるアンモニア態窒素濃度におけるトリクロロアミン生成能は、特に定量下限値未満において、原水により大きくばらつきが認められた。

図 3 に水道原水中のトリクロロアミン生成能と全有機炭素濃度との関係を示す。原水中の全有機炭素濃度は、9 月調査では 0.74~2.50mg-C/L(平均 1.60mg-C/L)、1 月調査では 0.34~3.60mg-C/L(平均 1.10mg-C/L)であった。全有機炭素濃度の値は、原水及び調査時期により大きく異なったが、平均値は 9 月調査の方が大きい値であった。水道原水のトリクロロアミン生成能と、全有機炭素濃度には相関が認められなかった($r^2 = 0.15$)。

図 4 に水道原水中のトリクロロアミン生成能と全有機窒素濃度との関係を示す。原水中の全有機窒素濃度は、9 月調査では 0.00~0.32mg-N/L(平均

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

図5に9月調査における水道原水中のトリクロロアミン生成能と全アミノ酸濃度の関係を示す。アミノ酸の種類によって、塩素処理後のトリクロロアミン生成能は異なることが報告されている²⁾が、アミノ酸の総量で見た場合、両者の間に相関は認められなかった($r^2=0.42$)。また、遊離アミノ酸濃度についても同様に、トリクロロアミン生成能との関連性は認められなかった($r^2=0.13$)。

2. 全国の水道原水中のアミノ酸濃度

図6に9月調査における全国の水道原水中の遊離アミノ酸濃度を、図7に9月調査における全国の水道原水中の全アミノ酸濃度を示す。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0~0.004mg-N/L(平均0.002mg-N/L)、0.02~0.20mg-N/L(平均0.06mg-N/L)であった。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%)であった。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(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%)であった。一方、米国16浄水場原水中における遊離アミノ酸、全アミノ酸で、モル濃度で存在率の平均値が高かったのはそれぞれセリン(17.3%)、グリシン(14.5%)、グルタミン酸(8.0%)およびグリシン(13.5%)、アラニン(10.2%)、セリン(8.9%)であったと報告しており⁹⁾、日本国内の結果と大きな差がないことが示された。

E. 結論

1) 全国15箇所の水道原水を塩素処理し、ヘッドスペースーガスクロマトグラフ質量分析法(HS-GC/MS法)によって、トリクロロアミン生成能の全国的な値の分布、およびトリクロロア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。塩素処理後の全ての原水からトリクロロアミンが検出され、生成能の値は6~140 $\mu\text{g-Cl}_2/\text{L}$ と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ロアミン生成能は、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、トリクロロアミンは、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。

2) 全国の水道原水中のアミノ酸濃度について検討した。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0~0.004mg-N/L(平均0.002mg-N/L)、0.02~0.20mg-N/L(平均0.06mg-N/L)であった。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%)であった。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、アスパラギンであり、米国における調査結果と大きな差がないことが示された。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 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ロアミンの生成特性, *環境工学研究論文集*, 2010, 47, 93-98.

2. 学会発表

- 1) 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ロアミン生成能の実態調査, 第45回日本水環境学会年会(発表予定).
- 2) 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ロアミン生成能の実態調査, 第62回全国水道研究発表会(発表予定)
- 3) 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(発表予定)

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定も含む。)

1. 特許取得

該当なし。

2. 実用新案登録

該当なし。

3. その他

該当なし。

I. 参考文献

- 1) 深瀬勝己, 田中航也, 上口浩幸, 林広宣: トリクロロアミンのHS-GC/MSによる分析条件と生成特性の検討, 第61回全国水道研究発表会講演集, 2010, 488-489.
- 2) 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

るトリクロロアミンの生成特性, *環境工学研究論文集*, **2010**, 47, 93-98.

3) APHA, AWWA, WEF : *Standard Methods for the Examination of Water & Wastewater 21th edition*, **2005**.

4) 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*, **2010**, 47, 99-108.

5) Dotson A. and Westerhoff P.: Occurrence and removal of amino acid during drinking water treatment, *J. AWWA*, **2009**, 101 (9), 101-115.

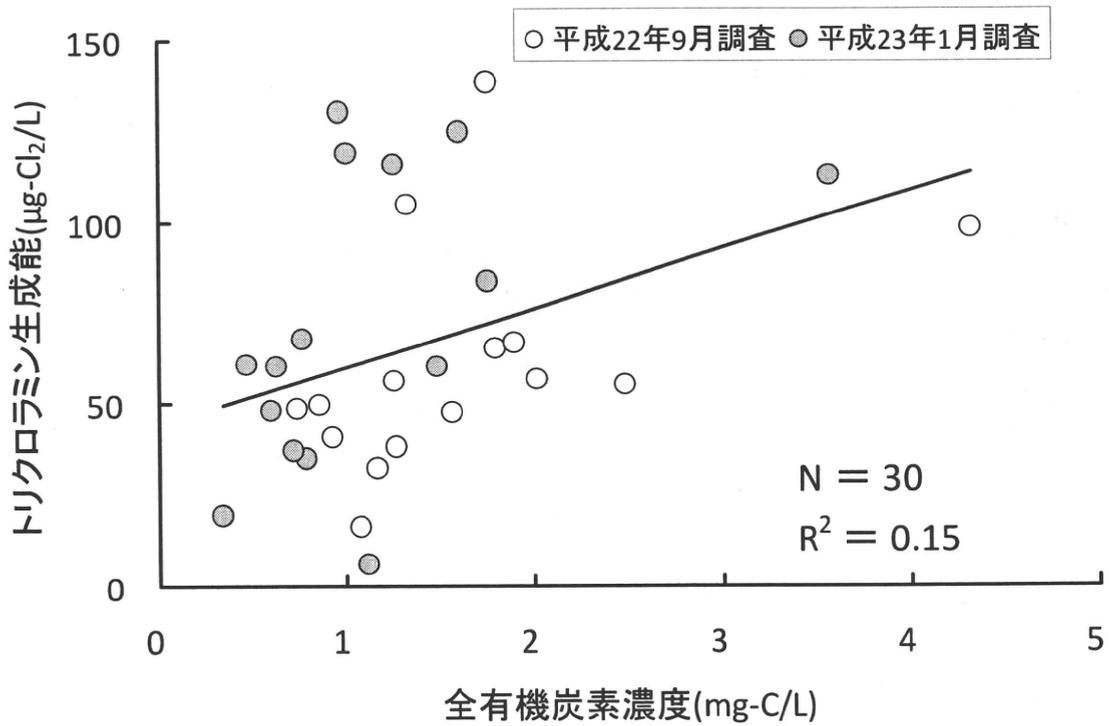


図3 水道原水中のトリクロロアミン生成能と全有機炭素濃度の関係

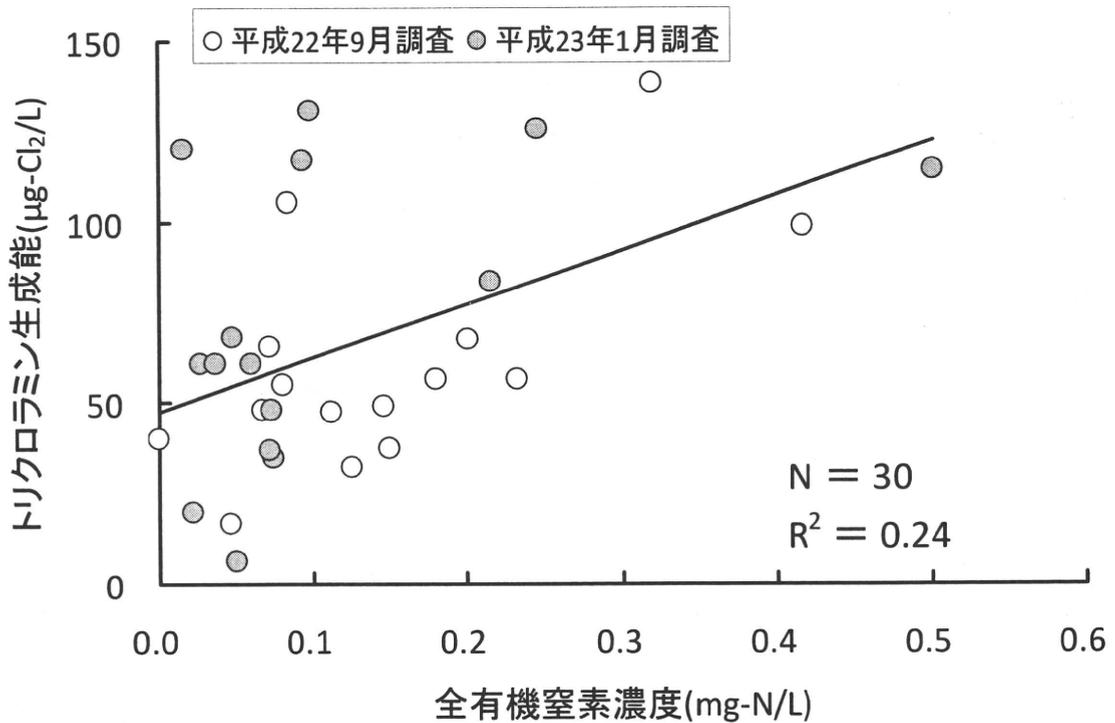


図4 水道原水中のトリクロロアミン生成能と全有機窒素濃度との関係

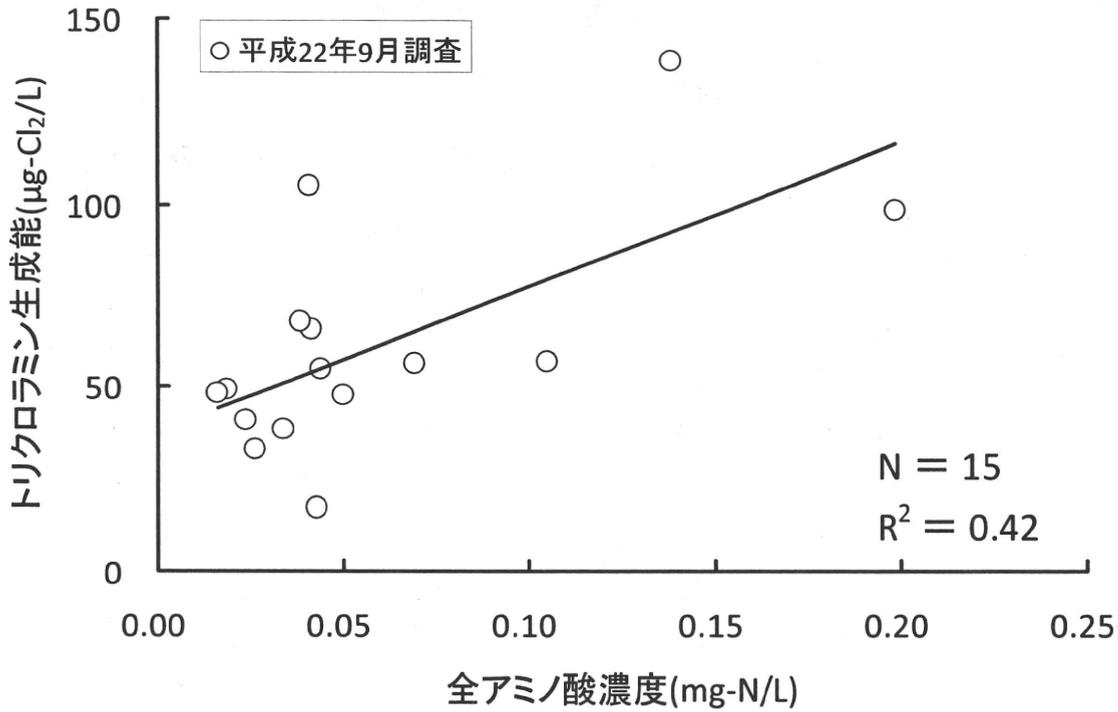


図5 9月調査における水道原水中のトリクロロアミン生成能と全アミノ酸濃度の関係

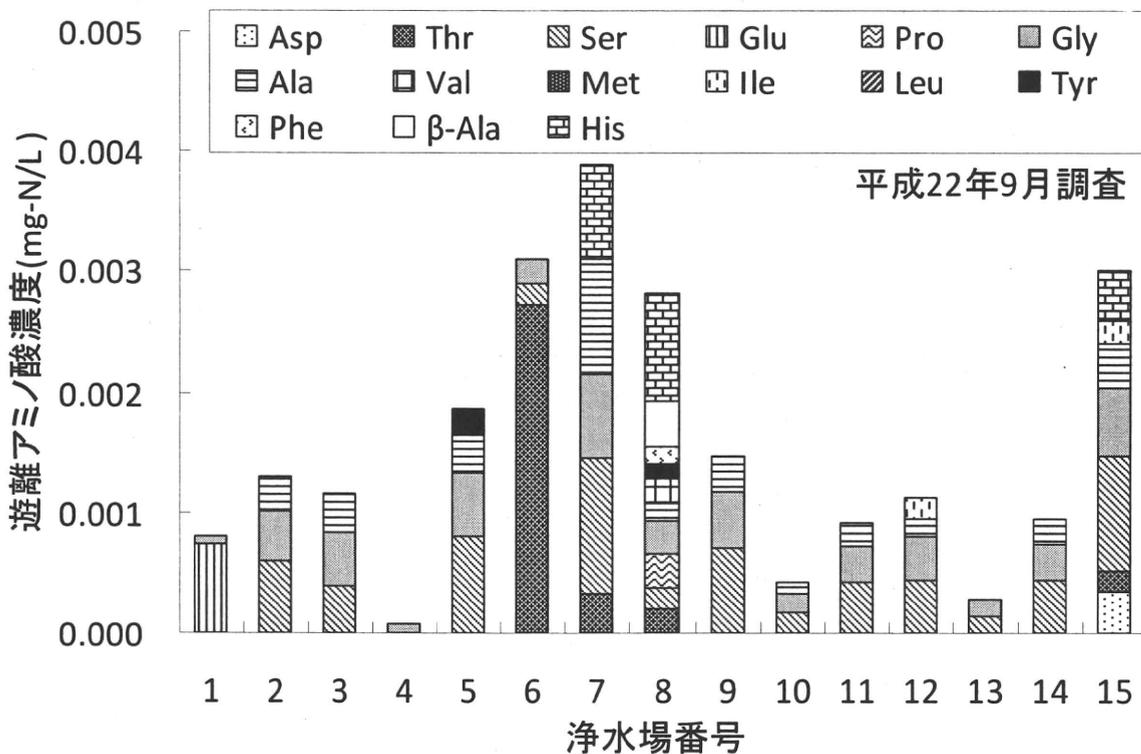


図6 9月調査における全国の水道原水中の遊離アミノ酸濃度 (Asp : アスパラギン酸、Thr : スレオニン、Ser : セリン、Glu : グルタミン酸、Pro : プロリン、Gly : グリシン、Ala : アラニン、Val : バリン、Met : メチオニン、Ile : イソロイシン、Leu : ロイシン、Tyr : チロシン、Phe : フェニルアラニン、β-Ala : β-アラニン)

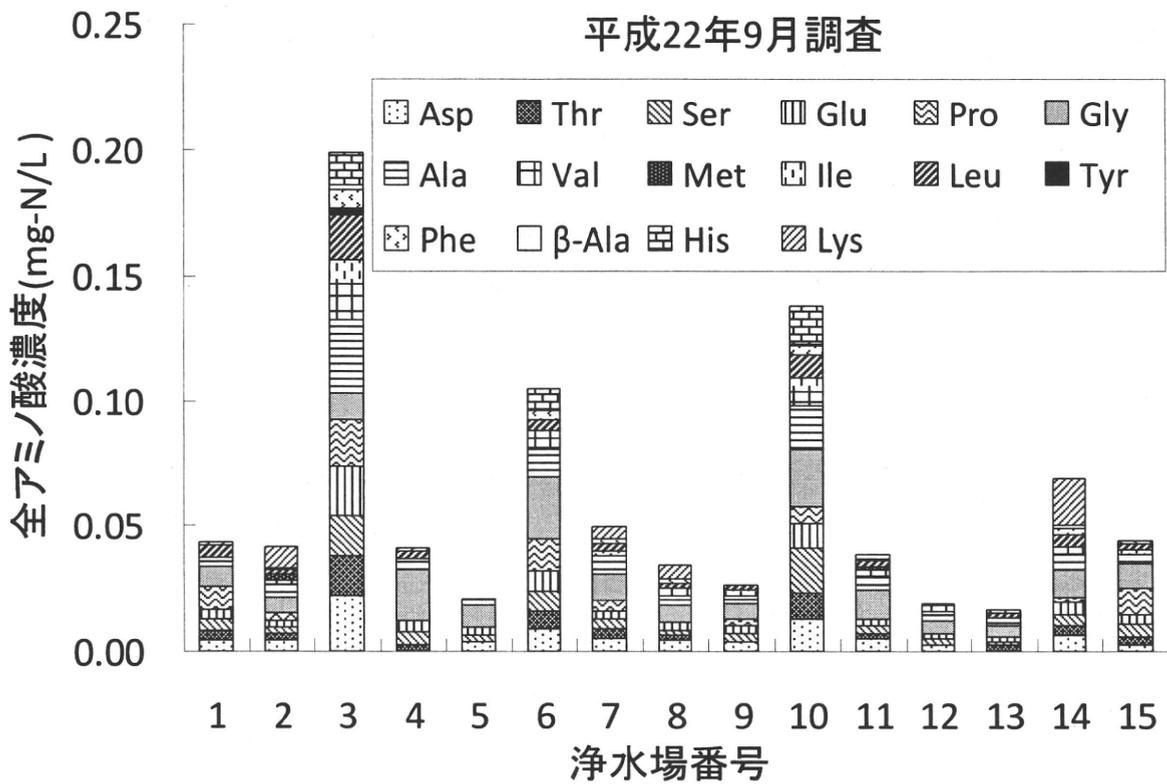


図7 9月調査における全国の水道原水中の全アミノ酸濃度 (Asp: アスパラギン酸、Thr: スレオニン、Ser: セリン、Glu: グルタミン酸、Pro: プロリン、Gly: グリシン、Ala: アラニン、Val: バリン、Met: メチオニン、Ile: イソロイシン、Leu: ロイシン、Tyr: チロシン、Phe: フェニルアラニン、 β -Ala: β -アラニン、His: ヒスチジン、Lys: リジン)

平成 22 年度 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」
分担研究報告書

臭気物質の生成機構に関する研究

研究分担者 越後信哉（京都大大学大学院地球環境学堂）

研究要旨

トリクロロラミンや *N*-クロロアルドイミンのカルキ臭への寄与や、複数のカルキ臭原因物質の複合効果について検討した。今回の調査範囲では、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。あわせて、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、これらの物質を実際の水道原水を塩素処理した水からも検出した。ただし、これらの物質の濃度はトリクロロラミンと比べて低いものと推定された。また、単一のカルキ臭原因物質と実際の塩素処理水のカルキ臭強度の相関は低かった。トリクロロラミンの寄与率は 20%程度、*N*-クロロアルドイミン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。

A. 研究目的

水道水の快適性を確保する上ではカルキ臭を含めた臭気の評価は必要不可欠である。水道水のカルキ臭は複数の化学物質が原因となって発生すると考えられるが、その主たるものの一つとして、トリクロロラミン(NCl_3)が挙げられる。トリクロロラミンはアンモニウムイオン(NH_4^+)や窒素を含有する溶存有機物が塩素処理されることにより生じるといわれている。しかし、カルキ臭の原因物質にはこの経路以外にも有機窒素化合物由来のトリクロロラミン、クロロアルドイミン($-\text{C}=\text{N}-\text{Cl}$)、有機クロラミンなどの有機物が考えられている。すなわち、現状ではカルキ臭原因物質の化学的描像は依然として不明であるといえる。そこで本研究では、まずカルキ臭原因物質の重要な前駆体と考えられるアミノ酸の実態調査を行った。また、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、いくつかのクロロアルドイミンについて分析法を既報¹⁾を参考に整備し、水道原水を塩素処理した場合の臭気強度とクロロアルドイミンやトリクロロラミン濃度との関係について検討した。

本研究での具体的な検討項目は以下の三点

である。

(1) 複数のカルキ臭原因物質の複合効果に関する検討

複数の臭気(物質)が共存するときの臭気は定量的評価が難しく知見がほとんどない。臭気の種類はさまざまあり臭気の混合した際の効果もさまざまであると考えられる。しかし、複数のカルキ臭原因物質の影響を定量的に評価・把握する際の判断材料として、カルキ臭原因物質前駆体として重要であるアンモニアと遊離アミノ酸由来の臭気の複合効果について調査が必要であると考えた。本研究では、昨年度の遊離アミノ酸の塩素処理後の臭気強度の調査で、臭気強度が高かったフェニルアラニンを用いてアンモニア由来の臭気との混合効果を調査した。

(2) *N*-クロロアルドイミンの分析法の整備

これまでの調査により、トリクロ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、トリクロロラミンとの相乗効果が考えられるが、トリクロ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、HS-GC/MS法によりいくつかの*N*-クロロアルドイミンの分析法を整備した。なお、既報²⁾ではダイナミック・ヘッドスペース法に

よるものが多いが、本研究では通常のヘッドスペース（スタティック・ヘッドスペース）法を用いた。

(3) 中部地方以西の13の河川水（水道原水として用いられているもの）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ポテンシャルと臭気強度との比較を行った。あわせて、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。

B. 実験方法

1. 複合効果に関する検討

(1) 操作手順

以下の手順にしたがって実験を行った。

- ① 0.1 μM フェニルアラニン水溶液, 20 $\mu\text{g}\cdot\text{N/L}$ アンモニア水溶液, 0.1 μM フェニルアラニン水溶液+20 $\mu\text{g}\cdot\text{N/L}$ アンモニア水溶液, 100 mM リン酸緩衝液を調製。
- ② それぞれの試料にリン酸緩衝液を 0.1 mM になるように添加。
- ③ 1日後の遊離残留塩素濃度が 1 $\text{mg}\cdot\text{Cl}_2/\text{L}$ になるように塩素を添加した。
- ④ 1日後官能試験により臭気強度を測定。

(2) 三点比較法による臭気強度の測定

臭気強度の測定方法として、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試験中ポリエチレン手袋を着用した。これは、手のおいがフラスコに付着することで、触れる回数の多い無臭フラスコにパネルの手のおいが付着するのを防止することを目的としている。

2. *N*-クロロアルドイミンの測定

側鎖が炭化水素のみのアミノ酸である, Ala, Gly, Ile, Leu, Phe および Val についての定量可能性を検討した。その結果、定量可能と判断できた Ile, Leu および Val 由来の *N*-クロロアルドイミンについて検量線の測定を行った。まず、測定試料の作成方法を以下に示す。

- ① 各アミノ酸 2-10 mmol を 100 mL の Milli-Q にそれぞれ溶解させ、これらをアミノ酸原液とする。
- ② リン酸緩衝液 1 mM (pH7) を用いて各アミノ酸を希釈し、アミノ酸濃度を 1 mM とする。

③ 次亜塩素酸ナトリウムを塩素注入率 5 mM として添加する。

④ 暗所で 3 時間静置する。

また、*N*-クロロアルドイミンの測定は HS-GC/MS 法により行う。GC/MS に導入するまでの操作手順を以下に示す。

- ① 測定するサンプルを 50 mL バイアルに 40 mL 入れる。
- ② バイアルをテフロンコート製の栓とアルミシールにより密封する。
- ③ バイアルを 40 $^{\circ}\text{C}$ のウォーターバスで加温する。
- ④ 20 分以上経過後にバイアルを激しく震蕩する。
- ⑤ ヘッドスペース部から 3 mL のガスをシリンジで採取する。
- ⑥ ガスを GC に導入する。
- ⑦ バイアルを再度加温し、20 分以上経過後に GC に導入する。

GC/MS による *N*-クロロアルドイミンの測定メソッドを表 1 に示す（以下図表はすべて末尾に示す）。

3. *N*-クロロアルドイミンの測定

実験で用いた河川水には、実際の浄水処理に用いられる原水を想定し、浄水施設の取水口付近から採水したものを用いた。採水は、容量 1 L のねじロビンおよび容量 300 mL のねじロビンを共洗いした後、ビンを満たすように行った。

採水地点は、西日本地域の水系の異なる 13 箇所の河川を対象とした。採水した試料は、孔径 1 μm 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 1 $\text{mg}\cdot\text{Cl}_2/\text{L}$ 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。

臭気強度の測定方法は 1. と同様とした。また、*N*-クロロアルドイミンの生成ポテンシャルについては、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、2. で確立した方法により分析した上で、10 で除した濃度を生成ポテンシャルとした。これは十分な分析感度を確保するための措置である。トリクロラミンの分析方法はヘッドスペース-GC/MS 法によった²⁾。全有機窒素の分析は国立保健医療科学院に依頼した。

4. 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. 研究結果および考察

1. 複合効果について

アンモニウムイオンとフェニルアラニンに関する1回目の測定結果を図1に、2回目の測定結果を図2に示す。

臭気強度から判断すると、1回目と2回目どちらも相加的となった。アンモニアの塩素処理後の臭気強度が高くなるパネルもいたが、混合試料は同等かまたは相加的に近いパネルが多い結果となった。フェニルアラニンの塩素処理後の臭気はカルキ臭に近いとのパネルの意見が多く、またアンモニアの塩素処理後の臭気もカルキ臭に近いというパネルの意見が多かった。ただフェニルアラニンに関してはカルキ臭に近いが若干違う臭気(さわやか、生臭い臭気が少しする)が感じられたとの意見もあった。フェニルアラニン由来の臭気に関しては1回目も2回目も臭気強度がアンモニア由来の臭気と相加的であり、似たような臭気では相加の傾向が近いと考えられる。

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。ロイシン由来の臭気はアンモニア由来の臭気とは異質であり、それぞれの臭気異なるときは臭気の低下が見られると考えられた。

2. *N*-クロロアルドイミン類の分析方法の検討

(1) バリン (Val) ,ロイシン (Leu) ,イソロイシン (Ile)

一般的傾向として、想定される濃度範囲での*N*-クロロアルドイミンのピークは小さく、定量が困難な場合があった。そこで、感度の向上を目的としてイオン化電圧の操作を行った。

イオン化電圧を40 eVに変化させたときのVal由来の*N*-クロロアルドイミンのクロマトグラムを、70 eVのスペクトルも併せて図3に示す。本研究で定量に用いるイオンの質量荷電比は70であり、図3を見ると、この検出ピーク面積が増加していることがわかる。

LeuおよびIle由来の*N*-クロロアルドイミンのクロマトグラムを図4, 図5に示す。Leu由来

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のもとの検出感度は高く、優先すべきは感度の低いLeuおよびVal由来のものであるため、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行うこととする。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、以降の測定ではイオン化電圧を45 eVとし、フィラメントの様子を逐次確認することとした。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-butyraldimine)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。LeuおよびVal由来の*N*-クロロアルドイミンの臭気閾値は0.25 $\mu\text{g/L}$ (約20 nM)および0.2 $\mu\text{g/L}$ (約1.9 nM)との報告がある¹⁾。アミノ酸を塩素処理することで生成される*N*-クロロアルドイミンは、理想的な条件であっても初期アミノ酸量の約35%である¹⁾。理想的な条件で反応が進んだと仮定し、その臭気閾値に相当する初期アミノ酸濃度を計算すると、Leu由来の*N*-クロロアルドイミンは検出限界が閾値よりも僅かに大きくなった(閾値は検出限界の85%程度の値)。Val由来の*N*-クロロアルドイミンは検出限界が閾値よりも小さく、臭気が認識される濃度範囲全域で測定できると考えられる。

(2) グリシン (Gly)

Glyはアミノ基の側鎖が水素である最も単純なアミノ酸であるが、それ故に測定時のリテンションタイムが短く他の物質とピークが重なり、得られる質量荷電比も小さくなってしまふ。Gly由来の*N*-クロロアルドイミンから検出されると考えられる質量荷電比を表3に示す。*N*-クロロアルドイミンの、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、クロロホルムやクロロ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、Gly由来の*N*-クロロアルドイミンは、現状では測定できない。

(3) アラニン(Ala)およびフェニルアラニン(Phe)

AlaおよびPheは側鎖がそれぞれメチル基、