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) レジオネラ検査の標準化及び消毒等に係る公衆浴場等における衛生管理手法に関する研究

平成 25 年度 分担研究年度終了報告書

- 消毒副生成物の暴露評価

研究分担者: 神野 透人 国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部第一室

縣 邦雄 アクアス株式会社 つくば総合研究所

八木田 健司 国立感染症研究所 寄生動物部

研究協力者: 香川(田中) 聡子 国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部第一室

田原 麻衣子 国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部第一室 岡元 陽子 国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部第一室 川原 陽子 国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部第一室 真己 加織 国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部第一室

杉山 寛治 株式会社マルマ 研究開発部 小坂 浩司 国立保健医療科学院 水道工学部 泉山 信司 国立感染症研究所 寄生動物部

研究要旨: 湯水の節約や温泉資源の保護を目的として循環式浴槽を使用する公衆浴場では、主に塩素系消毒剤によるレジオネラ属菌対策が講じられている。しかし、アルカリ性の泉質などでは十分な殺菌力が得られないことが知られている。モノクロラミンはこのような場合の有力な代替消毒剤であるが、浴槽水中で生成するおそれのある消毒副生成物に関しては限られた情報しか得られていない。そこで、本研究では小型のクローズド・ループ・ストリッピング (CLS) 装置を考案し,CLS-加熱脱離 (TD)-GC/MS および TD-GC/MS 法によるそれぞれ浴槽水中、浴室空気中のジハロメタン 6 化合物およびトリハロメタン 10 化合物の一斉分析方法を開発し、公衆浴場 2 施設で実態調査を行った。さらに、塩素消毒/モノクロラミン消毒で生成することが予想されるハロ酢酸類についても LC/MS/MS による分析方法を開発し、浴槽水中にヨウ素化ハロ酢酸類が存在することを確認した。その結果、モノクロラミン消毒は消毒副生成物の低減化に概ね有効であるものの,ヨウ素イオンを含む源泉ではヨウ素化 THMs である $CHBrI_2$ 、 CHI_3 および $CHBr_2$ I の生成量が顕著に増加すること、これらの $CHBrI_3$ は気相中にも存在し、経気道暴露される可能性があることが明らかになった。

A. 研究目的

湯水の節約や温泉資源の保護を目的として循環式浴槽を使用する公衆浴場では、主に次 亜塩素酸ナトリウムまたは次亜塩素酸カルシウム、塩素化イソシアヌル酸など塩素系消毒 剤によるレジオネラ属菌対策が講じられている。しかし、泉質がアルカリ性の浴槽水中では、殺菌力が非解離型(HCIO)の1/100程度に過ぎない次亜塩素酸イオン(CIO)の比率が増加するために、塩素系消毒剤の効果が大幅に 低下することが知られており、このような塩素系薬剤の欠点を補う代替消毒剤が必要とされている。

このような背景から、先行する厚生労働科学研究(健康安全・危機管理対策総合研究事業)「公衆浴場等におけるレジオネラ属菌対策を含めた総合的衛生管理手法に関する研究(研究代表者:国立感染症研究所 倉 文明,平成 22-24 年度)」では、皮膚刺激性などの健康影響に関して安全性が高く、かつ浴槽水中で

の残留性を兼ね備えた代替消毒剤としてモノ クロラミンに着目し、有用性の実証試験が進 められて来た。

その過程で、著者らはモノクロラミン消毒の導入によって総トリハロメタン濃度などが顕著に低下し、消毒副生成物の経気道及び経皮曝露による健康リスクを効果的に低減できることを明らかにした。ただし、同時に、ヨウ素 (ヨウ化物) イオンを含有する泉質では、塩素消毒およびモノクロラミン消毒のいずれによってもヨウ素化トリハロメタン類が生成することを見出し、浴室空気からの経気道曝露も含めたヨウ素化消毒副生成物の詳細な曝露評価が必要であることも明らかになった。

そこで本研究では、小型クローズド・ループ・ストリッピング(CLS)-加熱脱離(TD)-GC/MS 法および TD-GC/MS 法によるそれぞれ浴槽水中、浴室空気中のジハロメタン(DHMs) 6 化合物およびトリハロメタン(THMs) 10 化合物の分析方法を開発し、公衆浴場 2 施設で実態調査を行った。さらに、塩素消毒/モノクロラミン消毒で生成することが予想されるヨウ素化八口酢酸類(HAAs)についても LC/MS/MS による分析方法を開発し、浴槽水中に存在することを確認した。

B. 実験方法

1. 浴槽水および浴室空気のサンプリング

静岡県内の公衆浴場 2 施設でサンプリングを行った.浴槽水は 40 mL ガラスバイアルに採水し,少量のアスコルビン酸ナトリウムを添加した後に冷蔵して研究室に輸送した.浴室内空気のサンプリングは,床上約1.2 m の位置に設置した携帯型ポンプ GSP-300FT-2 (Gastec) で浴室内の空気を100 mL/min の流速で1分間(採取量0.1 L),5分間(0.5 L)または30分間(3 L)吸引し,直列に接続した2本の不活性処理ステンレス製 Tenax TA 吸着管(CAMSCO,GL Science)にDTHMs を吸着させた。

2. 小型 CLS-TD-GC/MS による水中の DTHMs 16

化合物の同時分析

小型 CLS 装置の構成を図 1 に示した。試料水 10 mLを 22 mL マイクロコネクター型インピンジャー (Sigma-Aldrich) に採り、NaCl 3 gを加えた後にポンプMP-Σ30 (Shibata)を用いて100 mL/min の流速で 30 分間空気を循環し、試料水から揮散した DTHMs を不活性処理ステンレス製 Tenax TA 吸着管 (CAMSCO, GL Science) に吸着させた。

Tenax TA 吸着した DTHMs を TD-GC/MS で 定量した。TD 装置は Shimadzu TDTS-2010 を 用い、以下の条件で DTHMs を脱着させた。

加熱脱離: 280°C, 50 mL He/min, 10 min

コールドトラップ冷却温度: -15°C

コールドトラップ加熱: 280°C, 10min

バルブ及びライン温度: 250℃

スプリット比: 10

コールドトラップから脱着した DTHMs を GC カラムに導入し、Shimadzu GC/MS QP-2010 で 定量を行った。

カラム: Restek Rtx-1 (0.32 mm×60 m, 1 μm) キャリアガス及び線速度: He, 30 cm/sec 昇温プログラム: 40°C - (3°C/min) - 100°C-

(20°C/min) - 250°C

トランスファーライン温度: 250℃

イオン源温度: 200℃ イオン化法: EI,70 eV

表1に各DTHMsのSIM測定イオンを示した。

3. TD-GC/MS による空気中の DTHMs 16 化合物の分析

不活性処理ステンレス製 Tenax TA 吸着管に吸着させた浴室空気中の DTHMs をTD-GC/MS で定量した。測定は浴槽水中のDTHMs の分析と同一の条件で行った。C.結果と考察に示したような破過容量による制限から、CH₂Cl₂は0.1 L、CH₂ClBr と CHCl₃は0.5 L、それ以外のDTHMs は 3 L の空気をサンプリングした Tenax TA 吸着管を用いて定量を行った。直列に接続した後段の吸着管についても測定を行い、破過が起きていないことを確認した。

4. LC/MS/MS による水中の HAAs の同時分析

Microsep Advance Centrifugal Device (Pall) を用いて試料水を 3000 rpm で 20 分間遠心し、夾雑する垢などの懸濁物質を限外ろ過により除去した後に分析に供した。

Mono-HAAs 3化合物(CH2ClCOOH (MCAA)、 CH₂BrCOOH (MBAA), CH₂ICOOH (MIAA)), Di-HAA 6 化合物(CHCl₂COOH (DCAA)、 CHBr₂COOH (DBAA), CHI₂COOH (DIAA), CHBrClCOOH (BCAA), CHClICOOH (CIAA), CHBrICOOH (BIAA) および Tri-HAAs 3 化合 物(CCl₃COOH (TCAA), CBrCl₂COOH (BDCAA), CBr₂ClCOOH (DBCAA)) の計 12 HAAs につい て LC/MS/MS による分析条件を最適化した。 CBr₃COOH は検討を行った LC 条件下ではカ ラムから溶出しなかったため、分析の対象か ら除外した。また、CI3COOH については異な る2社から標準物質を入手したが、qNMR測 定の結果からはいずれも DIAA が主成分 (60 ~ 70%) であり、Diazomethane によるメチル誘 導体の GC/MS 測定でも TIAA に該当するピー クが検出されなかったため、同様に対象から 除外した。

LC/MS/MS分析にはShimadzu LCMS-8040を用い、以下の条件で測定を行った。

移動相: 0.1%ギ酸水溶液:0.1%ギ酸添加メタノール=70:30-0:100 (30-40 min)

流量: 0.2 mL/min

カラム: Waters Atlantis T3

 $(4.6 \text{ mm} \times 150 \text{ mm}, 3 \mu\text{m})$

カラム温度: 30 試料注入量: 50 µL

イオン化法: ESI Negative Ion Mode インターフェイス電圧: -3.5 kV、

検出器電圧: -1.68 kV

ドライングガス流量: 15 mL/min

DL 温度: 250

ヒートブロック温度: 200

測定イオン: Scan mode, 50-500

SRM mode (MRM Transitions

を表 2 に示した)

1. ヨウ素化 DTHMs および HAAs 分析法の確立 まず、ヨウ素化 DTHMs の高感度分析法につ いて検討を行った。水質基準に係る標準的な 検査方法では、CH₂Cl₂ および 4 種の THMs (CHCl₃、CHBrCl₂、CHBr₂Cl、CHBr₃) の分析方 法としてパージ・トラップ-GC/MS またはヘッ ドスペース-GC/MS による一斉分析法が採用 されている。しかし、市販の装置を用いて予 備的な検討を行った結果では、ヨウ素化 THMs、 特にCHI。の回収率が低いために十分な感度を 得ることができなかった。そこで、図1に示 した小型 CLS 装置を考案し、室内空気中の揮 発性有機化合物の分析に汎用されている TD-GC/MS と組み合わせることによって、揮 発性の高い CH₂Cl₂ から沸点が 200℃ を超える CHI3までの DTHMs 16 化合物の同時分析法を 確立した。SIM 法の測定イオン表 1 に、 TD-GC/MS で測定した SIM クロマトグラムを 図2に示した。

本研究で確立した TD-GC/MS を用いることによって、浴室空気中の DTHMs も併せて測定することが可能である。ただし、 CH_2CI_2 や CH_2BrCI 、 $CHCI_3$ に対する Tenax TA 吸着剤の吸着能は弱く、特に高湿度の条件下では容易に破過が生じることが知られている (図 3)。そこで、浴場施設の浴室内空気のサンプリングでは 3 通りの採取量 $(0.1\ L,0.5\ L$ および $3\ L)$ でサンプリングを行い、かつ 2 本の Tenax TA 吸着管を直列に接続し、後段への漏出がないことを確認して定量を行った。

塩素消毒を行った水道水中には THMs の他に、塩素化および臭素化 HAAs が主要な消毒副生成物として存在することが知られている。そこで、本研究では協力研究者の田原らが開発した LC/MS/MS による塩素化・臭素化 HAAs 分析法をさらに改良し、ヨウ素化 HAAs も含めた一斉分析法を開発した。ただし、CHI3COOH については市販の標準品の純度が不十分であったため、また CHBr3COOH についてはカラムへの不可逆的な吸着が生じている可能性があるため、これらの 2 化合物を除いた 12 HAAs を測定の対象とした。最終的なMRM Transitions を表 2 に、標準物質の MRM

C. 結果

クロマトグラムを図4に示した。

2. モノクロラミン処理を導入した浴場施設 における浴槽水および浴室空気中のヨウ 素化消毒副生成物

試験的にモノクロラミン消毒を導入した施 設 H の浴槽水中および浴室空気中 DTHMs 濃 度を表 3 に、浴槽水中の HAAs 濃度を表 5 に 示した。塩素消毒浴槽水では CHCl3 と CHBrCl2、 CHBr₂CI が主要な THMs で、濃度はそれぞれ 9.8 µg/L、8.3 µg/L、7.4 µg/L であった。浴室空 気中でも同様の傾向がみられ、CHCl₃ (16.0 $\mu g/m^3$), CHBrCl₂ (12.1 $\mu g/m^3$), CHBr₂Cl (8.4 μg/m³) が比較的高い濃度で検出された。これ に対して、塩素消毒を行った場合と比較して モノクロラミン消毒を行った場合には消毒副 生成物の生成が顕著に抑制され、浴槽水中お よび浴室空気中の Total DTHMs 濃度はそれぞ れ 5%、12%まで低下した。 同様の傾向が HAAs でも認められ、施設 H では塩素消毒の場合に は DCAA、ついで MCAA の濃度が最も高く、 測定を行った 12 HAAs の合計 (Total HAAs) は 61.9 μg/L であったのに対し、モノクロラミ ン処理ではTotal HAAs 濃度は10%まで低下し た。また、ヨウ素化 HAAs としては塩素消毒、 モノクロラミン消毒に関わらず MIAA が検出 されたものの、濃度はいずれの場合も約 1 μg/L という低い値であった。したがって、施設 H においては消毒副生成物曝露の観点からモノ クロラミン消毒の導入は極めて有効であった と言える。

一方、源泉中に Br イオンが 24.8 mg/kg、I イオンが 1.5 mg/kg の濃度で含まれる施設 Y の場合には、施設 H でみられたようなモノクロラミン消毒の導入による DTHMs 濃度の著しい減少は観察されなかった。施設 Y の浴槽水中および浴室空気中 DTHMs 濃度と浴槽水中HAAs 濃度をそれぞれ表 4、表 5 に示した。塩素消毒時の浴槽水では CHBr $_3$ が主要かつほぼ唯一の THM 種で、その濃度は $49.9~\mu$ g/L であったのに対し、モノクロラミン消毒時の浴槽水では 3 種類のヨウ素化 THMs、すなわち CHI $_3$ 、CHBr $_2$ および CHBr $_2$ I が主要な THM 種へと変化し、濃度はそれぞれ $26.1~\mu$ g/L、 $13.2~\mu$ g/L、

5.3 μg/L であった。Total THMs で比較すると、 塩素消毒時には Total THMs 濃度は 55.4 µg/L、 モノクロラミン消毒時には Total THMs 濃度は 48.4 μg/L であり、ほとんど減少は認められな かった。浴室空気中の DTHMs 濃度についてみ ると、塩素消毒時に 131.3 μg/m³ であった CHBr₃はモノクロラミン消毒時には 2.1 μg/m³ まで低下したものの、その代わりとして CHBrI₂ (8.6 μ g/m³), CHI₃ (7.1 μ g/m³), CHBr₂I (6.6 µg/m³) が浴室空気中から検出されるよう になった。Total THMs を指標として判断する と、モノクロラミン消毒時の浴室空気中 Total THMs 濃度は塩素消毒時の 19%まで低下して おり、経気道曝露の観点からは顕著な低減効 果があると言える。ただし、この場合には、 主要な THM 種が CHBr3 からヨウ素化 THMs に変化したことの毒性学的な意義を慎重に考 慮する必要があると考えられる。浴槽水中の HAAs についてみると (表 5)、Total HAAs 濃度 は塩素消毒時の 36.0 μg/L に対してモノクロラ ミン消毒時には約30%程度まで低下しており、 浴室空気中 DTHMs ほどではないものの、モノ クロラミン消毒の導入による有効な低減化が 認められたと言えよう。

D. まとめ

小型 CLS-TD-GC/MS による浴槽水中のDTHMs 分析法、TD-GC/MSによる浴室空気中DTHMs 分析法、並びにLC/MS/MSによる浴槽水中のHAAsの一斉分析法を開発・確立した。これらの方法を用いて、試験的にモノクロラミン消毒を導入した浴場施設における浴槽水・浴室空気中DTHMs 濃度および浴槽水中HAAs濃度の実態調査を行った。その結果、モノクロラミン消毒は消毒副生成物の低減化に概ね有効であるものの、ヨウ素イオンを含む源泉ではヨウ素化DTHMsであるCHBrl2、CHI3およびCHBr2Iの生成量が顕著に増加すること、これらのDHTMs は気相中にも存在し経気道曝露される可能性があることが明らかになった。

透人: LC/MS/MS を用いた直接分析法による水中のハロ酢酸類の定量. 日本薬学会第134年会(2014.3、熊本)

- E. 研究発表
- E-1 論文発表 なし
- E-2 学会発表

田原麻衣子,香川(田中)聡子,岡元陽子, 杉山寛治,五十嵐良明,倉 文明,神野 F. 知的所有権の取得状況 なし

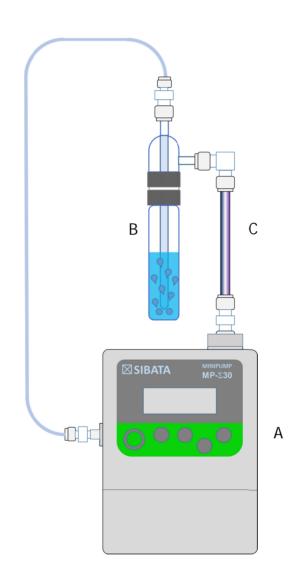


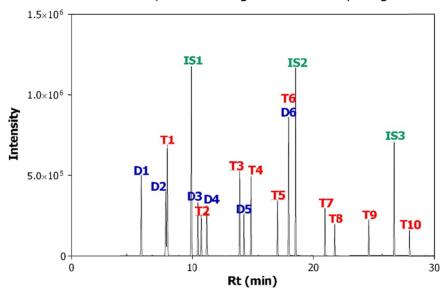
図1 小型クローズド・ループ・ストリッピング装置

A, 空気サンプリング用ポンプ MP- 30; B, 22 mL マイクロコネクター型インピンジャー; C, 不活性処理ステンレス製 Tenax TA 吸着管

表 1 加熱脱離-GC/MS によるジハロメタン類およびトリハロメタン類分析の SIM 測定イオン

Group #	Start Time	End Time	DHMs, THMs and ISs	Rt (min)	Montor Ions			
	(min)	(min)	,	. ,	Quant.	Qualitative		e
1	4.00	9.00	CH₂Cl₂	5.79	84	49	86	
			CH ₂ BrCl	7.81	130	49	128	
			CHCl ₃	7.94	83	47	85	
2	9.00	12.50	Fluorobenzene	9.91	96	70		
			CH ₂ Br ₂	10.50	174	95	172	
			CHBrCl₂	10.77	129	85	127	
			CH₂ClI	11.23	176	127	178	
3	12.50	16.00	CHBr ₂ Cl	13.90	129	127	131	
			CH₂BrI	14.25	220	127	222	
			CHCl₂I	14.83	83	85	175	210
4	16.00	20.00	CHBr ₃	17.05	173	171	175	252
			CHBrClI	17.95	129	127	131	256
			CH_2I_2	17.97	268	127	141	
			1-Bromo-4-fluorobenzene	18.54	95	174	176	
5	20.00	23.00	CHBr ₂ I	20.95	173	171	175	300
			CHClI ₂	21.75	175	127	177	302
6	23.00	30.00	CHBrI ₂	24.58	219	127	221	346
			1,4-Dibromobenzene	26.65	236	75	234	
			CHI ₃	27.95	267	127	394	

TD-GC/MS Chromatogram of 16 DTHMs, 10 ng



D1, CH_2CI_2 ; **D2**, CH_2BrCI ; **D3**, CH_2Br_2 ; **D4**, CH_2CII ; **D5**, CH_2BrI ; **D6**, CH_2I_2 ; **T1**, $CHCI_3$; **T2**, $CHBrCI_2$; **T3**, $CHBr_2CI$; **T4**, $CHCI_2I$; **T5**, $CHBr_3$; **T6**, CHBrCII; **T7**, $CHBr_2I$; **T8**, $CHCII_2$; **T9**, $CHBrI_2$; **T10**, CHI_3 ; **IS1**, Fluorobenzene; **IS2**, 1-Bromo-4-fluorobenzene; **IS3**, 1,4-Dibromobenzene

図 2 ジハロメタン 6 化合物およびトリハロメタン 10 化合物の SIM クロマトグラム

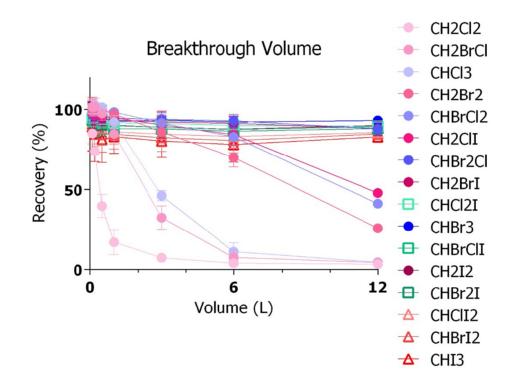


図3 ジハロメタン類およびトリハロメタン類の Tenax TA 吸着管 破過容量

表 2 LC/MS/MS による八口酢酸類分析の MRM 測定イオン

Compounds		Precursor ion (m/z)	Product ion (m/z)	
Chloroacetic acid	MCAA	139.05	92.90	
Dichloroacetic acid	DCAA	173.05	126.95	
Trichloroacetic acid	TCAA	207.05	116.85	
Bromoacetic acid	MBAA	185.00	138.95	
Dibromoacetic acid	DBAA	262.90	216.85	
Bromochloroacetic acid	BCAA	173.00	128.95	
Bromodichloroacetic acid	BDCAA	206.95	162.90	
Dibromochloroacetic acid	DBCAA	296.80	206.80	
Iodoacetic acid	MIAA	185.00	126.90	
Diiodoacetic acid	DIAA	356.80	310.80	
Chloroiodoacetic acid	CIAA	218.95	126.90	
Bromoiodoacetic acid	BIAA	262.90	128.85	

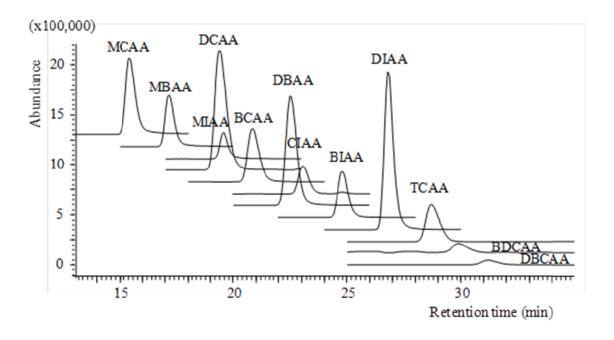


図 4 八口酢酸類 12 化合物の MRM クロマトグラム

表3 試験的にモノクロラミン消毒を導入した施設 H の浴槽水中および浴室空気中 DTHMs 濃度

DTUM	塩素消毒浴		モノクロラミン	モノクロラミン消毒浴槽・浴室			
DTHMs	浴槽水 (μg/L)	浴室空気 (µg/m³)	浴槽水 (μg/L)	浴室空気 (µg/m³)			
CH2Cl2	0.14	ND	ND	ND			
CH2BrCl	ND	ND	ND	ND			
CH2Br2	ND	ND	ND	ND			
CH2ClI	ND	ND	ND	ND			
CH2BrI	ND	ND	ND	ND			
CH2I2	ND	ND	ND	ND			
CHCl3	9.78	16.00	0.26	1.58			
CHBrCl2	8.33	12.08	0.14	0.58			
CHBr2Cl	7.41	8.35	0.23	0.60			
CHCl2I	0.10	0.45	ND	0.09			
CHBr3	2.66	2.47	0.65	1.19			
CHBrClI	ND	0.09	0.18	0.04			
CHBr2I	ND	0.06	ND	0.08			
CHClI2	ND	0.64	ND	0.05			
CHBrI2	ND	ND	ND	ND			
CHI3	ND	0.77	ND	0.61			
Total DHMs	0.14	ND	ND	ND			
Total THMs	28.27	40.91	1.45	4.81			

表 4 試験的にモノクロラミン消毒を導入した施設 Y の浴槽水中および浴室空気中 DTHMs 濃度

DTI IM-	塩素消	肖毒時	モノクロラ	モノクロラミン消毒時			
DTHMs	浴槽水 (μg/L)	浴室空気 (μg/m³)	浴槽水 (μg/L)	浴室空気 (µg/m³)			
CH2Cl2	ND	ND	ND	ND			
CH2BrCl	ND	ND	ND	ND			
CH2Br2	ND	0.06	ND	0.02			
CH2ClI	ND	ND	ND	ND			
CH2BrI	ND	ND	0.15	0.05			
CH2I2	0.20	0.17	0.46	0.22			
CHCl3	ND	0.30	ND	0.28			
CHBrCl2	0.14	0.70	ND	0.11			
CHBr2Cl	2.71	9.27	0.16	0.30			
CHCl2I	0.23	0.09	0.26	0.17			
CHBr3	49.90	131.33	0.86	2.08			
CHBrClI	0.34	0.50	0.56	0.57			
CHBr2I	1.15	2.03	5.26	6.57			
CHClI2	0.14	0.15	2.04	2.30			
CHBrI2	0.31	0.34	13.23	8.62			
CHI3	0.14	0.17	26.05	7.10			
Total DHMs	0.20	0.23	0.61	0.28			
Total THMs	55.04	144.89	48.40	28.09			

表 5 試験的にモノクロラミン消毒を導入した施設 H および Y の浴槽水中 HAAs 濃度

		HAAs濃度 (μg/L)					
HAAs	施		施割	ξY			
	塩素	モノクロラ	ミン	塩素		モノクロラ	ミン
MCAA	12.3		2.5	ND		ND	
DCAA	28.0	ND			7.3		8.1
TCAA	5.0	ND		ND		ND	
MBAA	2.8	ND			2.0	ND	
DBAA	3.6		1.7		24.4	ND	
BCAA	8.9	ND			2.3	ND	
BDCAA	ND	ND		ND		ND	
DBCAA	ND	ND		ND		ND	
MIAA	1.3		1.4	ND		ND	
DIAA	ND	ND		ND			1.8
CIAA	ND	ND		ND		ND	
BIAA	ND	ND		ND			1.6
Total HAAs	61.9		5.6		36.0		11.5