

平成 25-27 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) 分担研究報告書

水道における水質リスク評価および管理に関する総合研究
- 水質分析法に関する研究 -

研究分担者	小林憲弘	国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部
	鈴木俊也	東京都健康安全研究センター 薬事環境科学部
	川元達彦	兵庫県立健康生活科学研究所 健康科学部
	門上希和夫	北九州市立大学 国際環境工学部
研究協力者	五十嵐良明	国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部
	久保田領志	国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部
	小杉有希	東京都健康安全研究センター 薬事環境科学部
	木下輝昭	東京都健康安全研究センター 薬事環境科学部
	渡邊喜美代	東京都健康安全研究センター 薬事環境科学部
	小田智子	東京都健康安全研究センター 薬事環境科学部
	井上亘	兵庫県立健康生活科学研究所 健康科学部
	谷畑智也	兵庫県立健康生活科学研究所 健康科学部
	阿部晃文	川崎市上下水道局 水管理センター 水道水質課
	柏木勉	川崎市上下水道局 水管理センター 水道水質課
	境泰史	公財)北九州生活科学センター
	大窪かおり	佐賀県衛生薬業センター
	宮脇崇	福岡県保健環境研究所 計測技術課
	高木総吉	大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部
	吉田仁	大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部
	安達史恵	大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部

研究要旨

水質分析法に関する研究として、農薬、有機物、無機物を対象に、新規分析法を開発するとともに、網羅分析法に関する検討を併せて行った。

農薬については、現在の標準検査法では、固相抽出による前処理後に GC/MS や LC/MS で分析している農薬および標準検査法のない農薬(合計 140 農薬)を対象に、前処理を行わずに LC/MS/MS に直接注入して一斉分析できるかどうかを検討した。アスコルビン酸ナトリウムおよびチオ硫酸ナトリウムいずれの脱塩素処理剤を用いて

処理した水道水を試験した場合も、全体として良好な回収率および併行精度が得られ、目標値の各農薬の目標値の 1/100 超 1/10 以下の濃度では 114～117 物質が、目標値の 1/100 以下の濃度においても 105 物質が妥当性評価ガイドラインの真度（70～120%）および併行精度（25%あるいは 30%）の目標を満たした。

有機物については、現在、GC/MS により分析されているホルムアルデヒドについて、DNPH 誘導体化後に LC/UV または LC/MS で定量する分析法を開発した。その結果、UV 法および MS 法ともに、妥当性評価ガイドラインの目標を満たした。また、分析時間が告示法よりも短く、アセトアルデヒドも同時に分析可能であった。さらに、本分析法の妥当性評価を行った結果、DNPH 誘導体化-LC/MS/MS 法は妥当性評価ガイドラインの真度・併行精度の目標を満たし、既存の告示における精度の目標（有機物：20%）を満たしたことから、標準検査法として十分な精度を持つことが示された。

また、質量分析計を用いたフローインジェクション分析法による水試料中の非イオン界面活性剤の同定手法の検討を行った結果、対象とした 13 種類全ての界面活性剤に特有のマスペクトルを得ることができた。それらの検出下限値はいずれも 1mg/L 程度で、その濃度レベルの汚染事故であれば、本分析法が適用可能である。しかし、水環境中の濃度レベルを測定するためには、濃縮法の検討が必要である。

無機物については、オキソハロゲン酸の新規分析法を開発するとともに、クロムの価数分離手法及び高感度化のための条件等に関する検討を行った。具体的には、オキソハロゲン酸として、過塩素酸、臭素酸および塩素酸の LC/MS/MS による同時分析法の開発を行った。実試料で検討した結果、分析時間はいずれも 10 分以内であり、さらに基準値・目標値と比べて高感度分析が可能となった。また、毒性の高い六価クロムと三価クロムを分離した同時分析法をポストカラム付イオンクロマトグラフにより検討し、六価クロムを高感度に検出することを可能とした。

網羅分析法については、米国 NIST の無料マスペクトル検索ソフトに自作のデータベースを組み込むことで、GC/MS 向けの汎用全自動同定システムを開発した。統一した GC 条件及び MS チューニングを採用することで、機種依存無く確実に未知物質を同定できた。現在の登録物質は約 1000 物質であるが、簡単に物質追加ができ、市販の全 GC/MS で標準物質を使用することなく未知物質の同定が可能である。

LC-高分解能 MS を用いたターゲットスクリーニング手法の検討では、開発した固相抽出-LC-TOF/MS スクリーニング分析法を実試料に適用した結果、開発法が LOCs のスクリーニングに有効である事が確認された。開発法を用いることにより、短時間、低コスト、省力に多数物質を分析でき、さらに有害な廃棄物量も減らすことが可能である。本開発法は、1) 環境水や水道水のスクリーニング分析、2) 対象物質の標準試薬が入手できない時の分析、3) 環境汚染事故や地震などの緊急時の安全性評価や原因物質の特定などに有効な手法である。また、本法ではマスペクトルが得られるため、測定データを用いて後日ノンターゲット分析やレトロスペクティブ分析を実施することも可能である。

A. 研究目的

水質分析法に関する研究では、水質分析に有用かつ必要性の高い新規分析法を開発するとともに、平常時および異常発生時の簡便かつ網羅的な水質スクリーニング手法についての検討を継続している。また、これらの分析法の妥当性評価を行うとともに、水道事業体および地方衛生・環境研究所、保健所に普及させることで、水質検査に関わる機関の分析技術の向上と水質監視体制の強化を図ることを目的としている。平成 25～27 年度にかけて、農薬、有機物、無機物を対象に、新規分析法を開発するとともに、網羅分析法に関する検討を併せて行った。

農薬については、多成分をより迅速かつ簡便に測定することができる一斉分析法を開発した。有機物については、水道水中のホルムアルデヒドのDNPH誘導体化-液体クロマトグラフ法の検討および質量分析計を用いたフローインジェクション分析法による水試料中の非イオン界面活性剤の同定手法の検討を行った。

無機物については、水道水中のオキシハロゲン酸の分析法に関する検討と、水道原水中のクロムの価数を分離した同時分析法に関する検討を行った。

網羅的分析法については、GC-MS 向け汎用未知物質同定システムの開発を行った。また、LC-高分解能 MS を用いたターゲットスクリーニング手法の検討も併せて行った。

1. 水道水の検査対象農薬の LC/MS/MS 一斉分析法の検討

水道水中の農薬類は、毒性評価結果が暫定的な物質や、検出レベルは高くないものの水質管理上注意喚起すべき物質が多いことから、「水質管理目標設定項目」に設定されている。ここで、検査対象とする農薬は、基本的には各水道事業者がその地域の状況を勘案して適切に選択することになっているが、500 を超える登録農薬の中から検出可能性のある農薬

を選定することは非常に困難である。そこで、近年の国内推定出荷量、上水および原水における検出状況、一日許容摂取量 (ADI) 等のデータに基づいて、水道原水から検出される可能性が高いと考えられる農薬類のリストが厚生労働省から通知されており、同リストは随時改定されている。

その最新のリスト (厚生労働省, 2013) では、農薬類を 水質基準農薬類 (0 物質)、対象農薬リスト掲載農薬類 (120 物質)、要検討農薬類 (16 物質)、その他農薬類 (84 物質)、除外農薬類 (14 物質) の 5 つに区分し、測定の優先順位が付けられている。これらの農薬の標準検査法は、固相抽出による前処理後に GC/MS や LC/MS で分析する方法が大部分であるが、前処理が煩雑で検査に大きな労力が掛かる。水道事業体では通常、これらのリストを参考に、非常に多くの物質を分析対象とする場合が多いことから、検査に要する労力をできるだけ軽減するため、多物質の一斉分析法が有用と考えられる。

そこで、固相抽出による前処理後に GC/MS や LC/MS で分析している農薬を中心に、前処理を行わずに LC/MS/MS に直接注入して一斉分析できるかどうかを検討した。我々は過去に農薬 76 物質を対象に、水道水試料を LC/MS/MS により直接導入する一斉分析法を新たに開発し (小林ら, 2014a; 2014b)、開発した分析法は後に水道水の標準検査法 (別添方法 20) となった。今回の検討では、別添方法 20 の対象農薬と同時に分析を行うための条件を確立することとした。

また、平成 25 年 10 月から「水道水質検査方法の妥当性評価ガイドライン」が適用されたことにより (厚生労働省, 2012)、機器分析による全ての水道水質検査において、分析精度がガイドラインの目標を満たすかどうかを確認する必要がある。そこで、本研究においても、同ガイドラインに従った妥当性評価を実施した。

2. 水道水中のホルムアルデヒドの DNPH 誘導体化 - 液体クロマトグラフ法の検討

現在、水道水中のホルムアルデヒドの測定は、告示法の別表第 19 溶媒抽出-誘導体化-ガスクロマトグラフ-質量分析法 (GC/MS 法) により行うこととされている。この方法ではヘリウムガスが必須となるが、ヘリウムガスの供給が不足、あるいは途絶えた場合には、検査に支障をきたす可能性がある。したがって、ヘリウムガスを使用しない代替法の検討が必要である。

既存のホルムアルデヒドの分析法として、ペンタフルオロベンジルヒドロキシルアミン (PFBOA)、2,4-ジニトロフェニルヒドラジン (DNPH) および *o*-(4-シアノ-2-エトキシベンジル)ヒドロキシルアミン (CNET または CEBHA) 等の試薬によりホルムアルデヒドを誘導体化後、ガスクロマトグラフまたは液体クロマトグラフで分離定量する方法がある。水中のホルムアルデヒドの分析においては、クロモトロブ酸や 4-アミノ-3-ヒドラジノ-5-メルカプト-1,2,4-トリアゾール (AHMT) による比色法や、DNPH 誘導体化後に液体クロマトグラフ (LC) で分析する方法が複数報告されている。

今年度は、ホルムアルデヒドの他に要検討項目アセトアルデヒドを加え、DNPH 誘導体化後に逆相系 LC カラムを用いて分離し、紫外部吸収検出器または質量分析計で定量する一斉分析法について検討することとした。

3. LCMS/MS を用いたホルムアルデヒドの新規分析法の妥当性評価

さらに、国立医薬品食品衛生研究所において、本分析法の分析条件の最適化を行い、東京都健康安全研究センターの分析条件と比較するとともに、「水道水質検査方法の妥当性評価ガイドライン」に基づいて、検査方法の妥当性評価を行った。

4. 質量分析計を用いたフローインジェクショ

ン分析法による水試料中の非イオン界面活性剤の同定手法の検討

界面活性剤は、分子中に疎水基と親水基を併せ持つ化合物で、液相と固相、液相と液相等の 2 相が接する部分の界面張力の調整等に用いられている。界面活性剤は、陰イオン界面活性剤、陽イオン界面活性剤、非イオン界面活性剤および両性界面活性剤の大きく 4 種類に分類される。それらの中には PRTR 制度の第一種指定化学物質に指定され、年間出荷量は 100 トンを超えるものもある。界面活性剤のヒトに対する毒性は一般的に低いものの、水道においては、発泡等を起こし、場合によっては利用上の障害を来す等の問題がある。界面活性剤を含む製品は家庭用品をはじめ工業用にも使用されるなど汎用されていることから、これまでにいくつかの河川水等の水道原水の汚染事故が発生しており、現在、水道の水道水質基準項目に生産量が比較的多い陰イオン界面活性剤や非イオン界面活性剤が含まれている。

水道の水質基準の陰イオン界面活性剤の分析法については、水質基準に関する省令の規定に基づき厚生労働大臣が定める方法の別表第二十四 (以下、LC-Flu 法) により測定することと定められている。この方法では、水道水中の陰イオン界面活性剤 炭素数 10 から 14 の直鎖アルキルベンゼン (以下、LAS)、を固相抽出により抽出・濃縮した後、蛍光検出器を備えた高速液体クロマトグラフで分析しており、5 種類の LAS を個別に分離定量することが可能である。しかし、陰イオン界面活性剤には、LAS の他にアルキル硫酸塩 (以下、AS) やポリオキシエチレンアルキルエーテル硫酸塩 (以下、AES) 等があるが、LC-Flu 法では、それらを測定することができない。

一方、非イオン界面活性剤の分析法については、水質基準に関する省令の規定に基づき厚生労働大臣が定める方法の別表第二十八の一 (以下、PAR-UV 法) または、十八の二 (以

下, PAR-LC-UV 法)により測定することと定められている。PAR-UV 法では, 水試料中の非イオン界面活性剤を固相抽出により抽出後, トルエンで溶出し, トルエン層でコバルトイオンと非イオン界面活性剤の錯体を形成させ, PAR 試薬でコバルトイオンを水層に逆抽出し, 水層のコバルト-PAR 錯体を比色法により定量することを原理としている。また, PAR-LC-UV 法は, 試験溶液の調製は基本的に PAR 法と同じで, 検出感度を高めるために, コバルト-PAR 錯体を LC で分離し, UV で定量する改良法である。PAR-UV 法および PAR-LC-UV 法ともに, コバルトイオンと錯体を形成する化学物質を網羅的に捕えることが可能であり, ポリオキシエチレンアルキルエーテル(以下, AE)の他に, ノニルフェノールエトキシレート(以下, NPE)やオクチルフェノールエトキリレート(以下, OPE)等の非イオン界面活性剤も同時に検出されるが, それらを分別定量することは不可能である。また, 比色法であることから, 非イオン界面活性剤以外の化学物質が誤検出される可能性もある。

上記の2つの基準項目の測定法における問題点を解決するための一つの方法として, フローインジェクション分析(以下, FIA)法が挙げられる。FIA 法は, 比較的新しい自動分析手法の一つであり, 試料を直接または反応試薬を細管に通して混合・反応させ, 下流部に設置した検出器で定量する方法である。FIA 法は, 分離カラムを使用せずに, 試験溶液中の化学物質を定性・定量することが可能であることから, 迅速かつ簡便で高精度な分析手法と言える。FIA 法を水道における発泡汚染事故等の危機管理時の原因物質の迅速な同定に適用するため, 平成 26 年度は, 非イオン界面活性剤と水溶性ポリマーを分析対象とし, 検出器に選択性や感度の高い質量分析計を用いたフローインジェクション分析(FIA/MS)法について検討した。平成 27 年

度は, PRTR 制度の第一種指定化学物質に指定されている界面活性剤で, 前年度に対象としなかったものを分析対象とし, FIA/MS 法の適用について検討することを目的とした。

5. 水道水中のオキシハロゲン酸の分析法に関する検討

水道水の殺菌目的で使用する次亜塩素酸ナトリウムには, 不純物として有害な臭素酸(HBrO_3)や塩素酸(HClO_3)が含まれているケースがある。また, 両物質は浄水処理のオゾン酸化により臭化物イオン(Br^-)や塩化物イオン(Cl^-)から生成する消毒副生成物としても知られている。

一方, 過塩素酸(HClO_4)は, 米国では環境水への汚染事例(California Department of Health Services), 日本では飲料水や食品中での検出事例(高附ら, 2009; 小坂ら, 2007)が報告されている。過塩素酸は, 燃料エンジン, 花火 安全マッチ等の原料として使用されるが, 有害であるため, 河川水等への汚染事故が発生した場合, 飲料水への混入が懸念される(National Research Council, 2005; 前田ら, 2011)。

これらの, オキシハロゲン酸の分析法として, 臭素酸にはポストカラム付イオンクロマトグラフ法, 塩素酸にはイオンクロマトグラフ法が告示法として示されているが, 特に臭素酸分析においては, 高濃度の劇物(試薬)を使用する方法であること, また操作が煩雑であることから熟練を要する方法となっている。一方, 過塩素酸の分析法は未設定となっている現状がある。

そこで, 本研究では, LC-MS/MS によるオキシハロゲン酸の迅速かつ高感度な同時分析法の開発を目的とした。

6. 水道原水中のクロムの価数を分離した同時分析法に関する検討

水道水質基準においてクロム(Cr)は, 「六

価クロム化合物」として規定されている。一方で、Cr の告示法で示されているフレームレス原子吸光度法、誘導結合プラズマ - 発光分光分析法、誘導結合プラズマ - 質量分析法は、いずれも価数を分離する前処理が含まれていないことから、Cr の総濃度を測定する方法となっている。これは、水質基準の適用を受けるのは塩素処理された水であるため、原水中に三価のクロム (Cr(III)) が含まれていたとしても塩素により酸化されて六価 (Cr(VI)) に変化していること、浄水中に六価に酸化されていないものが存在していても、三価のものは毒性が低く、問題にならないということによるものである (日本薬学会, 2010; 日本水道協会, 2011)。このような背景を理解した上で、水道水質管理計画に基づく監視地点の水道原水を対象とした測定法として、また水道水源で高濃度のクロムが検出された場合の原因究明と対応策の一環として Cr(III) と Cr(VI) を分離した方法の確立も重要と考えられ、分析方法の検討を実施した。

7. GC-MS 向け汎用未知物質同定システムの開発

化学物質は現代社会の基礎的物資であり、100,000 種以上の化学物質が全世界で年間 4 億トン以上生産・使用されている。この様に化学物質は、我々の生活を豊かにする必要不可欠な存在であるが、一部の化学物質はヒトの健康や生態系に悪影響を与えてきた。その為、健康被害や環境汚染が明らかになった物質は各種の基準により規制・モニタリングがされている。しかし、規制物質以外でも不適切な使用や廃棄、および地震等による非意図的な流出が原因で生じる環境汚染が懸念される。例えば、農薬による食品汚染は消費者の関心が高く、全国各地で報告される魚へい死事件の原因の 1 つは化学物質である (馬場, 2012)。東日本大震災では、地震や津波による工場の損壊により、化学物質が環境中に流出

したと考えられている (環境省, 2013)。また、不適切な廃棄の例として、2012 年 5 月の利根川でのヘキサメチレンテトラミンの排出がある (小林ら, 2013; 厚生労働省, 2013)。これらの事件・事故による汚染は、法律を強化しても無くすことは困難であり、地震などでの 2 次被害の防止対策も必要である。この様な事件・事故に対応して安全を担保するには、まず原因物質の迅速な究明が必要であることは論を待たない。

有機化学物質の検出同定には、クロマトグラフと質量分析計を組み合わせた手法が最も有効であり、環境や食品分析には従来から GC/MS が多用されている。GC/MS で未知汚染物質を同定する最も一般的な手法は、全イオンモニタリング (TIM, スキャン法) で試料を測定し、原因物質と思われるピークのマススペクトルを NIST データベース (NIST) などを用いてライブラリー検索し、候補物質を探し出す。次に、候補物質の標準品を測定して保持時間とマススペクトルが試料のそれと一致することをもって同定する。この様に原因物質の同定には、標準品の測定が必要であり、迅速な原因究明を妨げている。

筆者らは、この標準品が必要という GC/MS の測定上の制限の解決を目指して研究を進め、全自動同定・定量データベース法 (AIQS-DB) を開発した (門上ら, 2004; Kadokami et al., 2005)。AIQS-DB を用いれば、標準品を用いることなくデータベース登録物質を同定・定量することができる。しかし、現在販売されている AIQS-DB は、使用する装置毎にソフトウェアを購入しなければならず、これが普及とデータベース登録物質数の拡大を妨げている。

本研究では、この機種依存を無くして市販の全ての GC-MS で使用できる汎用同定システムの開発を目標とした。

8. LC-高分解能 MS を用いたターゲットスク

リーニング手法の検討

世界で使用されている化学物質の数は70,000～100,000物質に登ると推定されている(UNEP, 2006)が、環境濃度が測定されている物質は非常に限られている。日本ではわずか53物質が環境基準項目と要監視項目としてモニタリングされているだけであり、環境や水道水の安全性評価、特に汚染事故や災害時の2次被害などの防止には不十分である。このような事態に対応するには、可能な限り多数の物質をできる限り早く分析することが求められる。しかし、従来の個別分析法でこれらに対応しようとするれば、多数の分析法を用いる必要があり、長時間、高コスト、大量の資源の使用と廃棄物の発生等の問題がある。この問題を解決する手段として、迅速かつ網羅的に濃度把握が可能な高効率なスクリーニング分析が、非常に有効な手法である。

このような背景の元、我々はスクリーニング分析用にGC/MS向け自動同定定量データベースシステム(AIQS)を開発(門上ら, 2004; Kadokami et al., 2005)し、AIQSの性能を活かした水質試料の前処理法を開発した(陣矢ら, 2011; Jinya et al., 2013)。本分析法では、半揮発性化学物質を1時間に約1000種分析することが可能であり、環境水の分析に適用してその有効性を確認している(Kadokami et al., 2009; Hank et al., 2013)。

さらに、平成24年度にはLC-TOF-MSを用いてGC/MS分析に適していない約300種の化学物質(LC適用物質, LOCs)を一斉に測定するLC-TOF/MS用AIQSを開発した。今年度は開発したLC-TOF/MS用AIQSの性能を最大限に活かせる水質試料用のスクリーニング分析法(試料前処理法)の開発を目的として研究を実施した。

GC/MSおよびLC-TOF/MSの2種のスクリーニング分析を用いれば、水中に存在する約1200物質をpptレベルで検出することができ、環境水や水道水の安全性評価に非常に有効で

ある。

B. 研究方法

1. 水道水の検査対象農薬のLC/MS/MS一斉分析法の検討

1.1. 対象物質

本研究では、対象農薬リスト掲載農薬類(120物質)、要検討農薬類(16物質)、その他農薬類(84物質)、除外農薬類(14物質)のうち、現在の標準検査法では、固相抽出による前処理後にGC/MSやLC/MSで分析している農薬および標準検査法のない農薬(合計140農薬)を対象とした。

1.2. 標準品・試薬

(1) 精製水

ミリ-Q SP standard (Millipore製)により精製して得られたものを使用した。

(2) メタノール

関東化学(株)製の高速液体クロマトグラフ用を使用した。

(3) 酢酸アンモニウム

和光純薬工業(株)製の特級品を使用した。

(4) アスコルビン酸ナトリウム

和光純薬工業(株)製の特級品を使用した。

(5) チオ硫酸ナトリウム

和光純薬工業(株)製の特級品を使用した。

(6) 農薬混合標準原液

各農薬の標準品は、和光純薬工業(株)の残留農薬分析用の規格品を使用した。

1.3. 標準液の調製

各農薬の標準品10mgを秤量してメスフラスコに採り、メタノールで10mLに定容して標準原液を調製した(各1000mg/L)。また、

各標準原液の 100 μ L をメスフラスコに採り、10 mL に定容して各農薬の標準液を調製した（各 10 mg/L）。これを必要に応じて適宜希釈して試験に用いた。

1.4. 分析条件の最適化

調製した各農薬の標準液および混合標準液を用いて LC/MS/MS (Shimadzu Prominence UFLC-LCMS 8050, 島津製作所) の分析条件の検討を行った。最初に、各農薬の個別標準液を用いて、スキャンモードにより各農薬の ESI ポジティブイオンおよびネガティブイオンモードのマスペクトルを測定し、最も強度の強いイオンを MRM モードにおけるプリカーサイオンとして選択した。次に、選択したプリカーサイオンから得られるプロダクトイオンのスキャンを行い、最も強度の強いイオンを定量イオンとして、2 番目に強度の強いイオンを確認（定性）イオンとして選択した。スキャンモードによる分析で、最も強度の強いイオンが一つに絞れなかった場合は、複数のプリカーサイオンでプロダクトイオンスキャンを行い、最も強度の強いプロダクトイオンを定量イオンとして選択した。

各農薬のモニターイオンを決定後、混合標準溶液を用いて LC/MS/MS 一斉分析条件を検討した。別添方法 20 の対象農薬との一斉分析を可能とするため、過去に別添方法 20 の対象農薬の分析法を検討した際の分析条件^{2,3)}と同条件で分析を行ったが、グラジエント条件のみ若干の変更を行った。

1.5. 分析法の妥当性評価

1.5.1. 検査試料水の調製

我が国の水道水質管理において、目標値の 1/10 を超えて検出される物質については、原則として個別に水質基準が設定されるため、目標値の 1/10 を超えるかどうかを正確に判定できる分析法が必要である。すなわち、水道水質検査法として、目標値の 1/10 以下の定

量下限が求められる。さらに、農薬類については、原則として目標値の 1/100 の濃度まで分析を行うこととされている（厚生労働省、2003）。そこで、各農薬について目標値の 1/10 の濃度および 1/100 の濃度の 2 濃度となるように混合標準液を添加した水道水を調製した。

洗浄済みのガラス瓶に水道水 500 mL を採取し、脱塩素処理剤を 20 mg 添加した後、よく攪拌した。脱塩素処理剤による分解等の影響について知見を得るため、脱塩素処理剤はアスコルビン酸ナトリウムとチオ硫酸ナトリウムそれぞれを使用し、試験結果を比較した。農薬混合標準液をアスコルビン酸ナトリウム脱塩水道水およびチオ硫酸ナトリウム脱塩水道水に上記の濃度となるように添加し、検査試料水を調製した。また、空試験用の試料水として、農薬混合標準液未添加の脱塩素処理水道水を用意した。各濃度の添加試料および空試験の検査試料は 5 つずつ調製し、よく攪拌した後で、それぞれ 1 回ずつ（合計 5 回）分析操作を行った。

各農薬の目標値と検査試料水中の各農薬の添加濃度を示した。

1.5.2. LC/MS/MS 分析

最適化した分析条件を用いて、検査試料水（高濃度および低濃度）および空試験用試料水の 100 μ L を LC/MS/MS に注入し、各農薬のピーク面積および S/N 比を求めた。各農薬の添加試料中のモニターイオンのピーク面積から、必要に応じて空試験試料中のピーク面積を差し引いた後、作成した検量線を用いて添加試料中の各農薬の濃度を求めた。

1.5.3. 検量線の作成

農薬混合標準溶液を精製水に添加し、各農薬につき 5 つの検量線用の標準液を調製した。また、検量線のブランクとして、農薬混合標準溶液未添加の精製水を用意した。検量線用標準液および検量線ブランクは、検査試料水

と同様に LC/MS/MS 分析を行い、各農薬の検量線用標準液中のフラグメントイオンのピーク面積から検量線ブランク中のピーク面積を必要に応じて差し引いた後、検量線を作成した。検量線用標準液は 5 回の繰り返し測定を行い、再現性および直線性を確認した。

2. 水道水中のホルムアルデヒドの DNPH 誘導体化 - 液体クロマトグラフ法の検討

2.1. 水試料の採取および保存

水試料は、精製水およびアセトニトリルで洗浄したガラス瓶に採取し、満水にして直ちに密栓し、速やかに試験した。速やかに試験できない場合は、冷蔵保存し、72 時間以内に試験した。なお、残留塩素が含まれている場合には、1% 塩化アンモニウム溶液を水試料 100 mL あたり 0.5 mL 加えた。

2.2. 試験操作

(1) 前処理

水試料 10 mL (水試料に含まれるホルムアルデヒドまたはアセトアルデヒドの濃度が 0.060 mg/L を超える場合には、0.005 ~ 0.060 mg/L となるように精製水を加えて 10mL に調製したもの) を採り、20%リン酸 0.2 mL、DNPH 溶液 0.5 mL を加えて混合した。室温で 20 分間静置後、一定量採り、試験溶液とした。

(2) 分析

上記(1)で得られた試験溶液の一定量を LC に注入し、ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドの DNPH 誘導体のピーク面積を求め、下記により作成した検量線から試験溶液中の対象物質の濃度を求め、検水中の対象物質の濃度を算定した。

2.3. 検量線の作成

ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒド標準液を段階的にメスフラスコ 4 個以上に採り、それぞれに精製水を加えて 10 mL とした。この

場合、調製した溶液のホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドとしての濃度は、上記に示す検水の濃度範囲を超えないようにした。以下、上記と同様に操作して、ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドの濃度とホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドの DNPH 誘導体のピーク面積との関係を求めた。

2.4. 空試験

精製水 10 mL を採り、以下、上記と同様に操作してホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドの濃度を求め、上記に示す検水の濃度範囲の下限値を下回ることを確認した。

3. LC/MS/MS を用いたホルムアルデヒドの新規分析法の妥当性評価

3.1 前処理条件の最適化

水試料 10 mL を採り、20%リン酸 0.2 mL および 0.2%DNPH 溶液 0.5 mL を加えて混合する。室温で 20 分間静置後、一定量採り、試験溶液とした。上記で添加するリン酸および 0.2%DNPH 溶液は、0.1 ~ 0.5 mL および 0.25 ~ 1.25 mL の範囲でそれぞれ変動させ、クロマトグラムに変化がみられるかどうかについて検討した。また、0.2%DNPH 溶液の保存期限についても確認試験を行った。

3.2 LC/MS/MS 分析条件の最適化

東京都健康安全研究センターによって得られた LC/MS/MS 分析条件を参考に、ホルムアルデヒド-DNPH 誘導体およびアセトアルデヒド-DNPH 誘導体のモニターイオンや移動相等の LC/MS/MS 分析条件の最適化を行った。

最適化した分析条件を用いて、試験溶液の一定量を LC/MS/MS に注入し、ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドの DNPH 誘導体のピーク面積を求め、作成した検量線から検水中の対象物質の濃度を算定した。

3.3 妥当性評価

最適化した分析条件において、本分析法の妥当性評価を行った。水道水試料を、精製水およびアセトニトリルで洗浄したガラス瓶に採取し、1%塩化アンモニウム溶液を水試料100 mLあたり0.5 mL加えて残留塩素を除去した。

上記の水道水に、ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドをホルムアルデヒドの基準値(0.08 mg/L)および基準値の1/10(0.008 mg/L)となるように各物質の標準溶液を添加した試料を5つずつ調製し、本分析法により測定を行った。添加濃度に対する定量値の割合を回収率として算出し、繰り返し試験における併行精度を求めた。

4. 質量分析計を用いたフローインジェクション分析法による水試料中の非イオン界面活性剤の同定手法の検討

4.1 試薬・器具

非イオン界面活性剤として、ノニルフェノールエトキシレート(NPE, EO=1-15)、オクチルフェノールエトキシレート(OPE, EO=1-10)、ドデシルアルコールエトキシレート(AE1-20, EO=1-20)は林純薬工業製、ドデシルアルコールエトキシレート(AE7, EO=7)、水溶性ポリマーとして、ポリエチレングリコール(PEG)-300、PEG-700、PEG-1000、ポリプロピレングリコール(PPG)-400、PPG-600およびPPG-1000は和光純薬工業製を用いた。固相抽出装置はセップパックコンセントレーター(日本ウォーターズ製)を用いた。

4.2 試験溶液の調製

PAR法に準じて、FIA/MSおよびLC/MS用の試験溶液を調製した。すなわち、予めメタノール5 mL、ついで精製水5 mLでコンディショニングしたエムポアディスクEZカートリッジRP-1(住友スリーエム製)に、水試料1 Lを流速50 mL/minで通水した。窒素ガス

で固相を乾燥後、トルエン5 mLで溶出し、溶出液を窒素気流下で乾固した後、メタノール1 mLに溶解し、これを試験溶液とした。

4.3 FIA/MS および LC/MS

PAR法陽性物質の定性では、FIA/MSを使用し、その分析条件は、つぎのとおりであった。

【FIA】HARVARD Apparatus PumpII:50 μ L/min

【MS】イオン化法:ESI⁺、キャピラリー:3 kV、コーン電圧:50 V、イオン源温度:120、脱溶媒温度:350

また、PAR法陽性物質の成分組成を調べるためにLC/MSを使用し、装置は2690セパレーションモジュールおよびZMD(ウォーターズ)で構成した。分析条件は、つぎのとおりであった。

【LC】カラム:Inertsil PH(2.1x250 mm, 5 μ m, ジーエルサイエンス製)、カラムオープン温度:40、移動相:メタノール-水(60:40)

-リニアグラジエント,20 min-メタノール-水(100:0)-15 min保持、流速:0.2 mL/min

【MS】イオン化法:ESI⁺、キャピラリー:3 kV、コーン電圧:50 V、イオン源温度:120、脱溶媒温度:350

5. 水道水中のオキソハロゲン酸の分析法に関する検討

5.1. 分析方法の検討

5.1.1 対象物質:オキソハロゲン酸

分析法の開発を対象としたオキソハロゲン酸は、臭素酸、塩素酸および過塩素酸の3種類とした。また、内部標準物質として過塩素酸-¹⁸Oを用いた。

5.1.2. 分析装置及び測定条件

分析時間の短縮化(迅速性)のため、超高速液体クロマトグラフを適用した。また、妨害物質を排除して選択性を高めるMS/MS機能を適用し、高感度分析条件を確立すること

とした。以下に、最適な分析条件を示した。

[LC]

超高速液体クロマトグラフ：Acquity UPLC
(Waters 社製)

分離カラム：IC-Pak Anion HR (φ4.6mm×75
mm, 6μm, Waters 社製)

溶離液：50mM 酢酸アンモニウム
(pH10.0)：アセトニトリル=1：1

流速：0.7mL/min

カラム温度：30

注入量：20μL

[MS]

検出器：Acquity TQD (Waters 社製)

イオン化：ESI (-)

モード：MS/MS ; MRM

測定イオン：

臭素酸 (プリカーサ - イオン：m/z127, 129
プロダクトイオン：m/z111, 113)

塩素酸 (プリカーサ - イオン：m/z83, 85
プロダクトイオン：m/z67, 69)

過塩素酸 (プリカーサ - イオン：m/z99, 101
プロダクトイオン：m/z83, 85)

過塩素酸-¹⁸O (プリカーサ - イオン：m/z107
プロダクトイオン：m/z89)

5.1.3. MS/MS 法による高感度化条件の検討

TIC (トータルイオンクロマトグラム) から特徴的なイオン (プリカーサーイオン) を選択し、それぞれに対して MS/MS モードから得られるによるプロダクトイオンの中から最適なイオンを選択し、定量イオンと確認イオンとした。また、内部標準物質として過塩素酸-¹⁸O (10mg/L) を試料 1mL に対して 5μL 添加 (m/z107 をプリカーサーイオン, m/z89 を定量用のプロダクトイオン) した。これを LC-MS/MS 用試験溶液とした。

5.1.4. 陰イオン類の影響に関する検討

臭素酸、塩素酸および過塩素酸の分析に対する陰イオン類の影響の有無について検討した。オキソハロゲン酸の定量に妨害となる可能性のある陰イオン類として、臭化物イオン、硫酸イオン、チオシアン酸イオン、硝酸イオン、亜硝酸イオンおよび塩化物イオンが想定されるため、精製水に臭化物イオン 1mg/L、硫酸イオン 40mg/L、チオシアン酸イオン 10mg/L、硝酸イオン 20mg/L、亜硝酸イオン 1mg/L、塩化物イオン 50mg/L を添加した模擬試料を調製し、臭素酸 1μg/L、塩素酸 60μg/L および過塩素酸 2.5μg/L (基準値、目標値等の 1/10 濃度) となるように添加した水試料について LC-MS で分離条件等を検討した。

5.1.5. 妥当性評価

分析法の妥当性を評価する試料として、河水および水道水に 3 物質 (臭素酸、塩素酸、過塩素酸) を、それぞれ基準値、目標値の 1/10 濃度を添加した。さらに、サロゲート 10ng を添加して分析に供した。また、水道水中の亜塩素酸イオンから塩素酸イオンへの酸化、塩素酸イオンから過塩素酸イオンへの酸化を抑制するために、水道水に 2 種類の抗酸化剤 (アスコルビン酸ナトリウム VC 10mg/L、エチレンジアミン EDA 50mg/L) を添加した試料、計 4 種類を用いた。

6. 水道原水中のクロムの価数を分離した同時分析法に関する検討

6.1. 前処理方法

クロムの測定試料と溶離液 (4.3. に記載) の 10 倍濃度の溶液を 9 : 1 の割合で混合した溶液を調製する。この調製液を温浴で 80 に加熱し、10 分間反応させた後、放冷し、pH を 6.8 に調整する。この前処理は、Cr () とピリジンジカルボン酸 (PDCA) を反応させて錯体を形成させるための操作であり、Cr () が存在すれば、薄い紫色に着色する。

6.2. 原理

イオンクロマトグラフ法による遷移金属イオン(Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Cu^{2+} 、 Ni^{2+} 等)の測定で、溶離液にPDCAを使用し、試料中の遷移金属イオンとPDCAの錯体を形成させ、金属による錯体生成定数の差を利用して分離する方法がある。その際に生成される M^{3+} のイオンに対する錯体は、 $\text{M}(\text{PDCA})_2$ というような2分子配位した6配位構造と推定されている⁴³⁾。このことから、上記1.の前処理により生成された $\text{Cr}(\quad)$ の錯体は、 $\text{Cr}(\text{PDCA})_2$ と推定され、この金属錯体の薄い紫色の吸収(可視部520nm)を測定する。これに対して、 $\text{Cr}(\quad)$ はクロム酸イオン(CrO_4^{2-})として分離される。その後、ジフェニルカルバジドによる吸光度法⁴⁴⁾を用いたポストカラム誘導体化により、 $\text{Cr}(\quad)$ とジフェニルカルバジドとの反応で生じる紫紅色の錯化合物を可視部520nmの吸光により測定する。

6.3. ポストカラム付イオンクロマトグラフの分析条件

装置：Dionex ICS-1000

カラム：Dionex IonPac CG5A/CS5A

溶離液：2 mmol/L 2,6 ピリジンジカルボン酸 / 2 mmol/L NaHPO_4 / 10 mmol/L NaI / 50 mmol/L CH_3COONa / 2.8 mmol/L LiOH

流量：1.0 mL/min

反応試薬：2 mmol/L ジフェニルカルバジド / 10%メタノール / 0.5 mol/L H_2SO_4

検出器：UVD-510 UV-Vis 検出器(520nm)

注入量：250 μL

7. GC-MS 向け汎用未知物質同定システムの開発

本システムを用いたデータベース登録物質の同定手順及びデータベースへの新規物質登録手順を図7-1に示す。

7.1. 試薬

GC-MS 装置性能評価標準液(CS)に含まれるn-アルカン標準混合液は林純薬工業から購入し、その他は関東化学、和光純薬工業、Dr.Ehrenstorfer から購入した。それらを残留農薬分析用ヘキサンに溶解し、1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ に調製した。

7.2. 装置と測定条件

GC-MS は島津製作所製の GC-MS-QP2010 Plus、アジレントテクノロジー製の 5975C MSD、及びサーモフィッシャーサイエンティフィック製の TSQ Quantum GC を使用した。保持時間やマススペクトルは、GC 測定条件やMS チューニングによって変動するため、測定条件を統一し、データベース登録および試料測定を行った。

7.3. 検索ソフトウェアとパラメーター

近年ではコンピュータの性能向上により、TIMで得られた全イオン電流クロマトグラム(TICC)から複数のピークが重なったマススペクトルをデコンボリュートし、独立したマススペクトルを抽出するソフトウェアが開発されている。デコンボリューションとは、GC-MS で得られた TICC からピークを分離、補正することで夾雑イオンを除いたマススペクトルを取り出すことである。本研究では、米国国立標準技術研究所(National Institute of Standards and Technology : NIST)のフリーウェア ”AMDIS (Automated Mass spectral Deconvolution & Identification System)” ver 2.71 を採用した。AMDIS は市販の全ての GC-MS の測定データを解析でき、デコンボリューション処理で得られたマススペクトルと保持時間を用いてデータベース検索をして物質の同定を行う。一般に、AMDIS でのデータベース検索には NIST マススペクトルデータベースを使用するが NIST データベースには保持

時間が登録されていない。一方、AMDIS ではユーザーが独自のデータベースを作成することができるため、本研究では保持時間とマススペクトルの2種のデータベースを作成した。また、保持時間やマススペクトルは測定条件を統一すれば、GC-MS に拘わらずほぼ同一であり (Kadokami et al., 2005), 複数の機種で測定したデータを持ち寄ることでデータベース登録物質数の拡大を容易に行うことができる。本研究では、誤不検出をゼロとすると同時に、誤検出の発生を最小限に抑えるように AMDIS の解析パラメーターを設定した。

7.4. データベースの構築

AMDIS と組み合わせたデータベースは、n-アルカン(C9~C33)の昇温保持指標(PTRI)ライブラリー及び約 1,000 物質の情報を登録したターゲットライブラリーの2種である。ターゲットライブラリー登録物質は、農薬、工業薬品及び医薬品・パーソナルケア製品 (PPCPs), 日本やアメリカの規制物質や環境から検出例のある物質であり、測定可能な物質である。各データベースには 物質名、CAS No., PTRI, 及びマススペクトルを登録している。

7.5. 登録物質の同定及び新規物質登録手順

7.5.1. データベース登録物質の同定手順

GC-MS の測定条件を設定した後、米国環境保護庁が採用しているデカフロロトリフェニルフォスフィン(DFTPP)のフラグメントパターンを満足する方法(US EPA Method 625)で MS をチューニングする。次に、CS を測定し、n-アルカンの保持時間と装置が所定の性能を維持していることを確認した後、解析対象試料を測定する。AMDIS で測定データを直接読めない場合は、TICC データを Net CDF ファイルに変換する。AMDIS で CS の n-アルカン(C9~C33)を同定し、PTRI ライブラリーの保持時間を更新する。最後に、解析対象試料の TICC をデコンボリューション後、保持時間

を更新した PTRI ライブラリーと約 1,000 物質のマススペクトルを登録したターゲットライブラリーを用いて登録物質を同定する。

7.5.2. 新規物質のデータベース登録手順

GC-MS の測定条件を設定し、CS を測定する。n-アルカンの保持時間と GC-MS の性能を確認した後、新規登録物質を測定する。NIST など市販のマススペクトルライブラリーで新規登録物質のマススペクトルに問題がないことを確認した後、必要に応じて TICC データを Net CDF ファイルに変換する。AMDIS で CS の n-アルカン(C9~C33)を同定し、PTRI ライブラリーの保持時間を更新する。新規登録物質の TICC をデコンボリューション後、保持時間とマススペクトルをデータベースに登録する。

8. LC-高分解能MSを用いたターゲットスクリーニング手法の検討

8.1 試薬

分析用農薬は関東化学株式会社および林純薬工業株式会社の農薬混合標準溶液を用いた。分析用医薬品は、関東化学株式会社、東京化成工業株式会社、和光純薬工業株式会社、フナコシ株式会社、Dr. Ehrenstorfer GmbH, Fluka, LKT laboratories, Sigma-Aldrich, Santa Cruz Biotechnology から購入した。各標準品をメタノール又はアセトニトリルに溶解して標準原液 (1000 µg/mL) を調製し、-20 °C で保存した。標準原液をメタノールで希釈し、実験用の混合標準液を調製した。サロゲートまたは内標準物質として使用した重水素ラベル化体は、関東化学株式会社、林純薬工業株式会社、Wellington Laboratories, Cambridge Isotope Laboratories, Sigma-Aldrich から購入し、対象物質と同様に混合標準液を調製した。LC / MS 用メタノールとアセトニトリル、および残留農薬試験・PCB 試験用ジクロロメタンは、関東化学株式会社製を用いた。HPLC 用 1mol/l

酢酸アンモニウム溶液は、和光純薬工業株式会社製を用いた。固相は Waters Sep-Pak PS-2, Oasis HLB Plus および Sep-Pak AC2(全て Nihon Waters)を使用した。Whatman GMF-150 ガラス繊維ろ紙(47 mm)は、GE Healthcare Japan から購入した。固相抽出装置(GL-SPE vacuum manifold system)は、GL サイエンスから購入した。HPLC 用精製水は、水道水を Milli-Q-Plus 超純水システム (Millipore) で精製して使用した。LC-TOF/MS は、アジレント製 (Agilent 1200 HPLC, 6220 MSD) を用いた。全てのガラス器具およびプラスチック器具は、洗剤と精製水で洗浄後、使用前にメタノールで洗浄して使用した。

8.2 モデル化合物

本研究の対象物質である AIQS 登録 LOCs は、表 8-1 に示した LC-TOF/MS 条件および ESI ポジティブモードで測定可能な物質である。AIQS 登録 LOCs の中から、Log Pow -2.20 から 8.53 の極性から構成される 257 物質をモデル化合物として用いて分析法を検討した。なお、抽出固相の選定では 128 種の農薬 (log Pow -2.20 ~ 5.03) を使用した。

8.3 抽出固相の検討

検討した 5 種の固相は使用する前にジクロロメタン 10 mL, メタノール 10 mL および精製水 20 mL を通水してコンディショニングした。

8.4 固相抽出

水試料(200 mL)にリン酸緩衝液(1 M, pH 7.0)とサロゲート物質を加えた後、ガラス繊維ろ紙(47 mm, GF/C)でろ過した。ろ紙はメタノール 3 mL で 2 回超音波抽出した。ろ液は上に Sep-Pak PS2 (または Oasis HLB Plus), 下に Sep-Pak AC2 を直列に接続した固相に毎分 10 mL の速度で吸引通水した。通水後、窒素ガスを 40 分流して脱水し、AC2 側から

メタノール 5 mL, 続いてジクロロメタン 3 mL を流して溶出した。溶出液をろ紙抽出液と併せ、窒素気流で 200 μ L まで濃縮した。濃縮液に内標準溶液を加え (40 μ L), 続いてメタノールを加えて 400 μ L とした後、シリンジフィルター (Millipore Milliex LG, Merck Millipore) でろ過して最終試料液とした。

8.5 LC-TOF/MS 測定 (同定と定量)

LC-TOF/MS 測定条件を Table 1 に示す。試料はフラグメント電圧を変えて (100 V および 100, 150, 200, 250 V の 4 電圧) 2 回測定した。100V の測定結果は同定と定量に用い、4 電圧での測定データは、100V で検出された物質のフラグメントイオンを確認することで確実な同定に用いた。

モデル化合物とサロゲート物質の定量は、内標準法で行った。検量線は 9 段階の濃度 (0, 0.004, 0.010, 0.020, 0.040, 0.10, 0.20, 0.40, 1.0 μ g mL⁻¹) を調製し、内標準 (methomyl-d3, pirimicarb-d6 および imazalil-d5) を各 0.20 μ g /mL になるよう添加し、LC には 2 μ L を注入した。

C . 結果と考察

1. 水道水の検査対象農薬の LC/MS/MS 一斉分析法の検討

1.1. 分析条件の最適化

最適化により決定した全農薬共通の LC/MS/MS 一斉分析条件および各農薬の個別の LC/MS/MS 一斉分析条件を表 1-1 に示す。また、140 農薬を 10 μ g/L に調製した混合標準液を LC/MS/MS に 100 μ g/L 注入して得られた MRM クロマトグラムを図 1-1 に示す。溶出時間が早い数農薬についてはピーク形状が良好ではなかったが、その他の農薬については概ね良好なピーク形状と分離が得られた。

1.2. 分析法の妥当性評価

いずれの脱塩素処理剤を用いた場合も、全

体として良好な回収率および併行精度が得られた。

アスコルビン酸ナトリウムで脱塩素処理した水道水を用いた場合は、目標値の 1/100 超 1/10 以下の濃度では 117 物質が、目標値の 1/100 以下の濃度においても 105 物質が妥当性評価ガイドラインの真度(70~120%)および併行精度(25%あるいは30%)の目標を満たした。

チオ硫酸ナトリウムで脱塩素処理した水道水を用いた場合は、目標値の 1/100 超 1/10 以下の濃度では 114 物質が、目標値の 1/100 以下の濃度においても 105 物質が妥当性評価ガイドラインの真度および併行精度の目標を満たした。

いずれの脱塩素処理剤を用いた場合も、ガイドラインの目標を満たす回収率が得られなかった農薬が6~9物質、測定中に徐々に感度低下がみられ定量が困難であった物質が7物質、定量下限値未満となった物質が10~22物質あり、これらの物質数は脱塩素処理剤の違いによらず、ほぼ同じであった。

ただし、一部の農薬については、脱塩素処理剤の違いにより異なる結果となった。アスコルビン酸ナトリウムを用いた場合は、エトフェンブロックスおよびフラザスルフロンの回収率が低く、またカルバリル(NAC)が、測定中の感度低下により定量が困難であった。

一方、チオ硫酸ナトリウムを用いた場合は、チオジカルブおよびメタミドホスの回収率が低く、ベンフラカルブが測定中の感度低下により定量が困難であった。

上記の6農薬は、脱塩素処理剤との反応によって分解あるいはイオン化阻害を受けたことが考えられるが、その原因については明らかにすることはできなかった。

本法を用いて一斉分析を行う場合は、測定対象とする農薬によって脱塩素処理剤を使い分ける必要があると考えられる。

2. 水道水中のホルムアルデヒドの DNPH 誘導体化 - 液体クロマトグラフ法の検討

2.1. ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒド-DNPH の LC 分析条件および誘導体化時間

カラムに逆相系 ODS カラム、移動相にアセトニトリル-水系を用いて、ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒド-DNPH 誘導体の分析条件の検討を行った。その結果、ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒド-DNPH 誘導体のピークはそれぞれ保持時間約 7.5 分および 9.0 分に認められた。両誘導体は比較的短時間(10分以内)で良好な分離が可能であった。また、この LC 条件下において、精製水の他に、水試料に東京都多摩地域の飲用井戸水や多摩川の河川水を用いた場合にも、妨害ピークは認められず、選択性は高いと考えられる。

ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドの DNPH 誘導体化に要する時間を調べたところ、室温 10 分で、両誘導体のピーク面積値がプラトーに達したことから、誘導体化に要する時間は室温 20 分にする事とした。

2.2. ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒド-DNPH 誘導体の検量線および定量下限値

ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒド-DNPH 誘導体の検量線の直線性について、濃度範囲 0.005 ~ 0.080 mg/L で、それぞれ $\gamma^2=0.998$ および $\gamma^2=0.997$ 以上と良好な結果であった。なお、ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒド-DNPH 誘導体については、空試験の場合に若干のピークが認められ、検量線は原点を通過しなかった。

2.3. 残留塩素除去剤の検討

ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドは消毒副生成物であることから、採水から分析開始までの間の増加を防ぐために、採水時に残留塩素を除去する必要がある。そこで、代表的な残留塩素除去剤としてチオ硫酸ナトリウム、亜

硫酸水素ナトリウム、塩化アンモニウムまたはアスコルビン酸ナトリウムを用いて、本分析法に対する影響を調べた。その結果、塩化アンモニウムは濃度 0.1 ~ 100 mg/L で、ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドのDNPH誘導体化に影響を及ぼさなかった。ついで、影響が少なかったのはチオ硫酸ナトリウムであったが、EPA method 554 (U.S.EPA, 1992) では、チオ硫酸ナトリウムを使用してはならないとされている。その他の還元剤については、ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドのDNPH誘導体化に影響を及ぼし、正確な測定が出来ないことがわかった。

2.4. ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドのDNPH誘導体化に及ぼすpHの影響

アルデヒド類とDNPHの反応はpHに依存することが知られている。そこで、本反応系における至適pHをリン酸緩衝液およびリン酸を用いて検討した。その結果、ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドともに、pH3以下でDNPH誘導体の生成量が高いことがわかった。また、リン酸の場合には、水試料10mLに対して20%リン酸の添加量が0.05 ~ 0.5 mLの範囲でDNPH誘導体の生成量がほぼ一定になることがわかった。そこで、20%リン酸の添加量を水試料10mLに対して0.2 mLにすることとした。

2.5. DNPH誘導体化-LC法の妥当性評価

水道水質検査の妥当性評価ガイドラインに従い、定量下限値および真度を調べた。空試験により、ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドはそれぞれ0.002および0.0008 mg/L検出され、定量下限値はそれぞれ0.006および0.002 mg/Lであった。

真度については、添加濃度0.01 mg/Lにおける回収率を調べた。ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドはそれぞれ94±13% (変動係数14%) および94±12% (変動係数13%) と良好な結果であり、水道水質検査の妥当性評価ガイ

ドラインの評価目標を満たすことがわかった。

2.6. ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドの標準液の安定性

ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドの標準液を遮光下、4℃で保存し、安定性を調べた。その結果、両化合物とも調製から16日後の濃度はほとんど同じであり、保存が可能であることがわかった。

2.7. ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒド-DNPH誘導体の安定性

オートサンプラーにより自動分析する場合、測定化合物の安定性を調べる必要がある。そこで、ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドをDNPHで誘導体化し、遮光下、4℃に静置し、経時的に残存量を調べた。その結果、ホルムアルデヒド-DNPH誘導体は28時間後に100%、72時間後に80%であった。一方、アセトアルデヒド-DNPH誘導体は徐々に減少し、28時間後に88%、76時間後に76%に減少した。したがって、誘導体化後28時間以内に測定すれば、連続分析時の変動を20%未満に抑えられることがわかった。

2.8. ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドのブランク値

市販のDNPHを開封し、冷蔵庫(4℃)に保存したものは、空試験値が徐々に増加し、3ヶ月後には0.005 mg/Lを超えるようになった。この状態のDNPHを使用した場合に、濃度依存的にDNPH誘導体が生成されず、その上、検量線の直線性も悪化した。一方、同じ冷蔵庫内に保存してあった同ロットで未開封のものを使用した場合には、空試験値が低く、良好な検量線が得られた。これらのことから、開封したDNPHにおけるブランク値の増加は、冷蔵庫内のホルムアルデヒドとDNPHが反応したためと考えられる。

ホルムアルデヒド分析について、JIS法や環境

省の方法では、市販の DNPH をアセトニトリル-水系の溶媒から再結晶により精製したものを使用することとされている。しかし、水道水のホルムアルデヒドの基準値は0.08mg/Lで、その1/10 値まで測定すれば良いことから、市販の DNPH をそのまま使用しても差し支えないと言える。しかし、空試験値の3倍が定量下限値を超えるようになった場合には、新しいものに交換、または、再結晶により精製したものを使用する必要がある。

2.9. ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒド-DNPH の LC/MS/MS 分析

以上、LC/UV 法により良好な結果が得られたことから、LC/MS/MS 法による測定条件の検討および精度を調べた。

質量分析計の測定条件について、イオン化法として ESI 法を用いた場合、ポジティブモードでは、ほとんどイオンが認められず、感度はネガティブモードの方が良かった。また、キャピラリー電圧については、2.5 kV で比較的高い感度が得られた。コーン電圧は40 V、コリジョンエネルギーは10 V が至適条件であった。

LC/UV 法で確立した誘導体化条件に従い試験溶液を調製し、LC/MS/MS 法で分離定量した。その結果、ブランク値はホルムアルデヒド 0.0017 mg/L、アセトアルデヒド 0.0026 mg/L で定量下限値は LC/UV 法と同程度であった。ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒド-DNPH 誘導体の検量線の直線性について、濃度範囲 0.005 ~ 0.060 mg/L で、それぞれ $\gamma^2=0.998$ および $\gamma^2=0.998$ 以上と良好な結果であった。また、添加濃度 0.01 mg/L で真度および併行精度を調べたところ、それぞれホルムアルデヒド 97%および 4%、アセトアルデヒド 93%および 2%と良好な結果が得られた。水試料に東京都多摩地域の飲用井戸水や多摩川の河川水を用いた場合にも、妨害ピークは認められず、選択性は高いと考えられる。

LC/MS/MS 法は、LC/UV 法と比較し定量下限

値や分析精度がほとんど同じであることがわかった。装置の定量下限値としては、LC/MS/MS 法の方が LC/UV 法より低かったが、ホルムアルデヒドのブランク値が数 $\mu\text{g/L}$ であり、これを下げない限り分析法としての感度は LC/MS/MS 法と LC/UV 法は同程度と言える。

3. LC/MS/MS を用いたホルムアルデヒドの新規分析法の妥当性評価

3.1 前処理条件の最適化

20%リン酸の添加量については、100, 200, 500 μL 添加時のクロマトグラムを比較したが、いずれも違いはみられなかったため、東京都健康安全研究センターの検討と同じ 200 μL 添加を選択した。

0.2%DNPH 溶液の添加量については、250, 500, 1000, 1250 μL 添加時のクロマトグラムを比較したところ、250 μL と 500 μL 添加のクロマトグラムに違いはみられなかったが、1000 μL 以上添加でベースライン上昇とピーク形状が悪化し、DNPH 溶液を大量に添加すると、クロマトグラムに影響がみられることがわかった。そのため、最終的に 0.2%DNPH の添加量は、500 μL 添加を選択した。

なお、0.2%DNPH 溶液の調製後 1 ヶ月経過後と調製直後の溶液を用いた試験結果を比較したところ、ブランク値に違いはみられなかったことから、保存状態が良ければ 1 ヶ月程度は使用可能と判断した。

3.2 LC/MS/MS 分析条件の最適化

最適化したホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒド-DNPH 誘導体の LC/MS/MS 分析条件を表 3-1 に示す。また、この分析条件におけるホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒド DNPH 誘導体の LC/MS/MS クロマトグラムを図 3-1 に示す。

東京都健康安全研究センターと国立医薬品食品衛生研究所で、使用している装置のメーカー（および機種）および分離カラムに違

いがあったものの、概ね同じ最適分析条件が得られた。

移動相組成については、精製水：アセトニトリルの比率を 30～70%で検討したところ、精製水：ACN = 50:50 の時、ピーク強度が最大となったため、この組成を採用した。

3.3 妥当性評価

0.005～0.1 mg/L の範囲で良好な直線性および再現性が得られており、測定上の問題はみられなかった。

ホルムアルデヒド、アセトアルデヒドともに、いずれの添加濃度においても良好な回収率と併行精度が得られており、本分析法はホルムアルデヒドの基準値の 1/10 の濃度まで、高精度に分析可能であることが示された。

4. 質量分析計を用いたフローインジェクション分析法による水試料中の非イオン界面活性剤の同定手法の検討

PAR 法で陽性となり得る物質である PEG、PPG、OPE、NPE および NPEC 等 9 種を用いて、PAR 法による発色の程度を調べた。非イオン界面活性剤および水溶性ポリマーともに、一成分が 10 μ g になるように添加した。AE (C12,EO=7)と比較した場合、発色の程度は、NPE、OPE、PPG、PEG の順で強く、PAR 法では、AE1-20 だけでなく、PPG、OPE、NPE も陽性になった。真柄ら (1999～2001) の報告では、OPE や NPE も PAR 法で陽性になるが、LAS や PEG は環境中の濃度レベルではほとんど影響を及ぼさないとしている。本研究で、PAR 法により PPG も AE1-20 と同程度の強さで陽性を示すことが明らかになった。

FIA/MS 法により、非イオン界面活性剤等を測定した。非イオン界面活性剤および水溶性ポリマーの濃度は 10 mg/L メタノール溶液を用いた。本 FIA/MS の条件下では、各化合物のスペクトルは Na⁺負荷体として検出された。AE1-20 の FIA/MS スペクトルは m/z

341-1090 の範囲で認められ、各ピーク間の差は m/z 44 であった。これは、ポリオキシエチレン基に由来するものと考えられる。PEG 等の FIA/MS スペクトルは、PEG-300、PEG-700 および PEG-1000 で、それぞれ m/z 217-525、m/z 349-833 および m/z 261-1142 の範囲で認められた。アルキルフェノール等の FIA/MS スペクトルについては、OPE および NPE が、それぞれ m/z 317-670 および m/z 375-904 の範囲で認められた。これら化合物は、AE1-20 と同様に、いずれの化合物も分子内にポリオキシエチレン基を有していることから、各スペクトルの差は m/z 44 であった。これに対して、PPG 等の FIA/MS スペクトルについては、PPG-400、PPG-600 および PPG-1000 で、それぞれ m/z 273-680、m/z 380-1028 および m/z 409-1144 の範囲で認められた。各ピーク間の差は m/z 58 で、これはポリオキシプロピレ基に起因するものと考えられる。以上の結果から、FIA/MS スペクトルの各ピークの m/z を比較することにより、AE1-20 と他の化合物とを区別することが可能であることが分かった。

水試料を濃縮操作なしで FIA/MS で測定した場合、対象化合物の FIA/MS スペクトルを検出するためには 0.5 - 1 mg/L の濃度が必要である。これは非イオン界面活性剤の発泡の最低濃度 0.02 - 0.05 mg/L よりも高いことから、実際の発泡事故の場合には濃縮操作が必要である。そこで、PAR 法に採用されている固相カラムによる濃縮を行って得られた試験溶液を FIA/MS 法でスペクトルを測定する方法について検討した。東京都の多摩川羽村堰付近の河川水に各非イオン界面活性剤を最終濃度が 0.02 mg/L になるように添加し、固相抽出後の濃縮液を FIA/MS で分析した。非イオン界面活性剤等を添加していない羽村堰の河川水からは m/z 497, 363 および 242 が検出されたが、その他に m/z 200 以上では特に大きなピークは認められなかった。非イオン界面活性剤等を添加した場合、PPG-1000 は回収率は

10%程度であったが、その他のものについては、十分な感度で測定可能で、固相抽出を行わない場合と同じような FIA/MS スペクトルが得られた。

東京都内の専用水道（病院）において、地下水を飲用水等の生活用水に利用する目的で、井戸を掘削し、水道法に基づく水質検査を実施したところ、PAR 法による非イオン界面活性剤が基準値を超えて検出されたことから、本方法を用いてその汚染物質を同定することとした。

当該施設の原水および浄水を PAR 法の比色法により分析した時の値は、それぞれ 0.052 および 0.055 mg/L であった。本施設では浄水処理として塩素処理を行っているが、汚染物質は、残留塩素では分解されないものであると推察された。

当該施設の原水から調製した試験溶液を FIA/MS 法によりマススペクトルを測定した。そのピークは m/z 331 ~ 969 に認められ、各ピークの差は 58 であった。非イオン界面活性剤の PAR 法による分析では、コバルトイオンと錯体を形成する物質は陽性となり得る。そこで、ポリオキシエチレン基を分子内に有している非イオン界面活性剤（NPE、OPE）、水溶性ポリマー（PEG、PPG）の水溶液を調製し、FIA/MS 法によりマススペクトルを測定した。当該施設の原水および浄水から調製したマススペクトルは、最大ピークは m/z 622 で、スペクトルパターンは PPG と良く一致した。一方、OPE、NPE および AE1-20 のスペクトルパターンと異なっており、PAR 法に陽性となった汚染物質は、PPG であると同定された。

PPG の組成比を調べるために、当該施設の原水および浄水から調製した試験溶液を LC/MS に注入し、成分分析を行った。原水および浄水ともに、PPG と同じ保持時間にピークが認められ、各ピークのマススペクトルもほとんど同じであった。一方、その他の界面活性剤については、保持時間とマススペクトル

ルが一致するピークは認められなかった。

以上の結果から、当該施設の原水や浄水中に混入したものは、PPG（平均分子量 600）であると考えられる。

これまでに、水道水源である河川水の PPG による汚染事例が報告されている。また、PEG や PPG のような水溶性ポリマーは、井戸の掘削時に発泡剤としてされる場合がある（佐野，1997）。そのため、新設井戸の場合には、PAR 法により非イオン界面活性剤が検出されることがあることから、掘削時に使用したポリマーが検出されなくなるまで捨水等を行い、その後を使用を開始する必要があると言える。

平成 27 年度は、平成 26 年度に対象としなかった非イオン界面活性剤、陽イオン界面活性剤、陰イオン界面活性剤等について、ZMD を用いて FIA-MS 法を検討した。

HDTMAC は、ESI⁻ ではマススペクトルが得られず、ESI⁺ で測定可能であった（図 4-1）。HDMAC は塩化物塩であり、検出されたイオンは m/z 284 であることから、塩化物イオンが外れた 4 級のアンモニウムイオンの形で検出されることがわかった。

AO は、分子量が 229 であり、ESI⁺ では m/z 230 と m/z 252 にスペクトルが検出され、それぞれプロトンが負荷した $[M+H]^+$ イオン および $[M+Na]^+$ イオンであると推察される（図 4-1）。また、 m/z 460 および m/z 482 のスペクトルは、それぞれ二量体 $[2M+H]^+$ および $[2M+Na]^+$ と考えられる。

AS については、炭素数 12、14 および 16 の分子量が、それぞれ 288、316 および 344 で、いずれもナトリウム塩である。ESI⁻ では各 AS とともにナトリウムイオンが外れた形で検出された（図 4-2）。

AES については、ポリオキシエチレン基が 1 から 3 までのものを ESI⁻ で測定した結果を示す。いずれも m/z 265 のイオンが最も強度が高く、オキシエチレン基の重合数が増えるごとに m/z 44 増加したスペクトルが観察された

(図4-3)

LASについては、河川水に混合標準液を添加し、FIA-MS法により測定した(図4-4)。その結果、河川水AおよびBにLASを添加した場合、添加濃度1mg/Lにおいては十分に検出可能であることがわかった。しかし、水道におけるLASの基準値は0.2mg/L以下であることから、定量下限値をその1/10とすると、FIA-MS法では、100倍ほどの濃縮が必要であると考えられる。

以上のZMDにおける測定結果を、表6に示す。スペクトルパターンの機種依存性に関して、AOの場合、Xevo TQDでFIA-MS分析したところ、ZMDで観察されたm/z460のイオンは非常に小さかった。したがって、MSの装置により、検出されるイオンは変わらないが、各物質のスペクトルパターンは若干異なることが予想される。

FIA-MS法の市販の家庭用洗剤への適用について検討した。市販の家庭用洗剤10mg/Lメタノール溶液を調製し、Xevo TQDを用いてFIA-MS法で分析した(図4-5)。当該洗剤の成分表の表示は界面活性剤31%(AO, AES, AE, AS)であった。ESI-ではm/z265, 309, 353および397のイオンが認められ、標準物質のAESとスペクトルパターンが良く一致していることがわかった。また、ESI+では、m/z230イオンが観察され、これは標準物質のAOのスペクトルパターンと一致した。

以上より、今回対象とした界面活性剤については、水中の濃度が1mg/L程度であれば、前処理をすることなく検出が可能であることが示唆された。ただし、河川水等では、浮遊物質などが含まれる場合があることから、遠心分離等の前処理をする必要があると考えられる。また、日本の河川水中の界面活性剤のモニタリングによれば、検出濃度は最高でも100μg/Lを超えていないことから、そのレベルでの分析をするためには、今後、前処理法の検討が必要である。

5. 水道水中のオキソハロゲン酸の分析法に関する検討

5.1. 臭素酸、塩素酸および過塩素酸イオンのMS/MS条件

臭素酸イオンのMS/MSスペクトルを図5-1に示した。臭素には同位体の質量数79と81が存在しているため、臭素酸イオンの分子イオンピークとしてm/z127(左上図)とm/z129(右上図)が検出された。さらに、臭素酸イオンのイオン化に必要なコーンボルテージ(CV)として40V、イオンの解裂エネルギー(CE)として15eVを適用した結果、m/z127およびm/z129のプリカーサーイオンは酸素原子¹⁶Oがひとつ取り除かれて、それぞれm/z111(左下図)、m/z113(右下図)のプロダクトイオンが得られた。m/z111を定量イオン、m/z113を確認イオンとした。

同様に、図5-2に塩素酸イオンのMS/MSスペクトルを示した。塩素は質量数35と37の同位体が存在するため、分子イオンピークとしてm/z83と85が検出された。CVとして50V、CEとして15eVを与えた結果、それぞれ¹⁶Oが脱離してm/z67と69が検出され、それぞれを定量イオン、確認イオンとした。

さらに、図5-3に過塩素酸イオンのMS/MSスペクトルを示した。過塩素酸と同様に、塩素は質量数35と37の同位体が存在するため、分子イオンピークとしてm/z99と101が検出された。CVとして50V、CEとして15eVを与えた結果、それぞれ¹⁶Oが脱離してm/z83と85が検出され、それぞれを定量イオン、確認イオンとした。

5.2. 臭素酸、塩素酸および過塩素酸イオンのMS/MSクロマトグラム

臭素酸イオン、塩素酸イオンおよび過塩素酸イオンはそれぞれ各10μg/Lで、MS/MSの定量イオンを選択・決定した。3物質ともに分離、ピーク形状は良好であった。

5.3. 陰イオン類の影響に関する検討

臭素酸、塩素酸および過塩素酸イオンの MS/MS クロマトグラムを図 5-4 に示した。臭素酸イオンピークでは塩化物イオン、塩素酸イオンでは亜硝酸イオンのピーク、過塩素酸イオンではチオシアン酸イオンピークが近接していることが分かったが、MS クロマトグラムで分離が良好であったことから 臭素酸、塩素酸、過塩素酸イオンの MS/MS による定量には全く問題がないことが分かった。

また、いずれの対象物質についても検量線の相関係数 r は高く、臭素酸で $r = 0.998$ 、塩素酸で $r = 0.998$ 、過塩素酸で $r = 0.994$ であり、濃度範囲 ($0 \sim 50 \mu\text{g/L}$) においても直線性は良好であった。

調製した模擬水には、比較的高い濃度の臭化物イオン、塩化物イオン等の陰イオン類が含まれているが、各対象物質に対して妨害ピークは認められず、10 分程度の短時間で分析が可能な条件を確立することができた。

5.4. 妥当性評価結果

臭素酸 $1 \mu\text{g/L}$ 添加時における妥当性評価結果を表 5-1 に示した。いずれの項目も適合条件を満たしていることが分かった。また、塩素酸 $60 \mu\text{g/L}$ 添加時における妥当性評価結果を表 5-2 に示した。いずれの項目も適合条件を満たしていることが分かった。さらに、過塩素酸 $2.5 \mu\text{g/L}$ 添加時における妥当性評価結果を表 5-3 に示した。いずれの項目も適合範囲を満たしていることが分かった。

また、3 物質の測定値について、現行法と本研究で開発した LC/MS/MS 法とで比較した。なお、試料は水道水に臭素酸、塩素酸、過塩素酸を添加した試料で、現行法による測定値、LC/MS/MS 法による測定値、LC/MS/MS 法と現行法との比を%ものである。

過塩素酸は通知法がないため、IC 法による結果を示したが、いずれも 100% 近傍の値を

示し、今回開発した LC/MS/MS 法は現行法（臭素酸、塩素酸のイオンクロマトグラフ法）と比較して同等性を有する分析法であることが明らかとなった。また、1 検体当たりの分析時間が現行法の 1/4 の時間で、迅速な分析が可能となった。

6. 水道原水中のクロムの価数を分離した同時分析法に関する検討

精製水で調製した $\text{Cr}(\text{VI})$ $100 \mu\text{g/L}$ と $\text{Cr}(\text{III})$ $1 \mu\text{g/L}$ の混合液の測定結果を図 6-1 に示した。それぞれの標準品として、クロム(VI)は硝酸クロム・9 水和物を、 $\text{Cr}(\text{III})$ は 100mg/L クロム標準液（二クロム酸カリウム）を用いたが、溶出時間は、 $\text{Cr}(\text{VI})$ は 3.5 分、 $\text{Cr}(\text{III})$ は 5.9 分で、十分に分離が可能であった。感度は、面積値として $\text{Cr}(\text{VI})$ よりも $\text{Cr}(\text{III})$ の方が 2 桁程度高感度であった。しかしながら、 $\text{Cr}(\text{III})$ 単独の標準液を注入しているにも関わらず、 $\text{Cr}(\text{VI})$ のピークが検出されるという現象が認められた。そのピーク強度は、 $\text{Cr}(\text{VI})$ 濃度の約 0.14%に相当している。このことについては現時点では、クロム(VI)の標準品として用いた硝酸クロム・9 水和物の不純物として $\text{Cr}(\text{III})$ が含まれていた、前処理反応により $\text{Cr}(\text{VI})$ の一部が $\text{Cr}(\text{III})$ に酸化されたことなどの理由を考えている。このことを考慮した上で、 $50 \mu\text{g/L}$ の $\text{Cr}(\text{VI})$ の水質基準に対して $1 \mu\text{g/L}$ の定量は十分可能と考えられた。しかしながら、今後は上記の課題を克服するための検討を行う必要があるものと考えている。具体的には、 $\text{Cr}(\text{VI})$ のみの定量に特化し、 $\text{Cr}(\text{III})$ を高感度に定量できる分離カラムへの変更等も一策と考えている。

7. GC-MS 向け汎用未知物質同定システムの開発

本システムは、市販の全ての GC-MS において標準品を使用せずにデータベース登録物

質を迅速かつ確実に同定することを目的としている。そのためには、装置に拘わらず正確な保持時間予測とマススペクトルの再現性が求められる。この2つの課題を解決する手法として、GC-MSの測定条件を定めた上でPTRIを用いた保持時間予測とMSのターゲットチューニングを採用した。また、誤不検出をゼロとし、誤検出の発生を最少に抑えるAMDISのパラメーターを検討した。これらにより短時間で確実にデータベース登録物質を同定することができる。

7.1. 保持時間の予測精度

保持時間は、GCにおいて物質を同定するための必須情報であるが、カラムやオープン温度などの測定条件で容易に変化する。一方、Vanらが発表したPTRIは、装置や測定条件への依存性が保持時間に比べて非常に小さいことが知られている(Van Den Dool et al., 1963)。筆者らは装置や測定条件を固定した上で、様々な物質のPTRIをデータベース化することで標準品を用いることなく精確に保持時間を予測できることを明らかにした⁵⁻⁷⁾。本研究でもこの手法を取り入れて複数の機種での保持時間予測精度を検討した。複数の機種を用いた場合でも、データベース登録PTRI値と実測PTRI値の差は4以内と高い再現性を示した。代表的なAMDISパラメーターを用いて、PTRIの有無による同定能力の違いを検討した結果、PTRIとマススペクトルを組み合わせることで誤検出が抑制され、同定の確かさが格段に向上したため、正しいPTRIは同定に必須な情報である。なお、カラム長、膜厚、キャリアーガスの線速度を正確に知ることは難しく、それらが原因でデータベースと実測のPTRI値の差が大きい場合は、CSに含まれるperylene-*d*₁₂のPTRIから最適なカラムヘッド圧を求めて正確にPTRIを予測することが可能である⁵⁻⁸⁾。

7.2. MSチューニングの同定への影響

全てのGC-MSで信頼できる結果を得るためには、GC-MS測定条件を同一にし、性能を一定以上に保つ必要がある。前述のように本システムはカラムやオープン温度を統一することで、異なる機種でもPTRIを確実に予測することができる。しかし、MSのチューニングがデータベース登録時と異なっていれば、マススペクトルが異なったものとなり、誤不検出が発生する可能性がある。本システムでは、MSのチューニング法としてUS EPA Method 625で指定する手法を採用している。今回用いたGC-MS-QP2010 Plusおよび5795C MSDではこのMSチューニングを用いることができるが、TSQ Quantum GCではこのチューニングができないため、DFTPPのマススペクトルは示すように異なっていた。その結果、データベース登録スペクトルとTSQ Quantum GCで測定したマススペクトルに違いが生じて類似度が低下し、時には誤不検出が生じた。一方、GC-MS-QP2010 Plusと5795C MSDでは、全ての物質が高い類似度で確実に同定された。以上から、MSのチューニングの統一が必要であることが確認された。

7.3. AMDISパラメーターの同定への影響

本システムは異なる機種でもGC測定条件とMSのチューニングを統一することで誤不検出の発生を抑制することができるが、同定精度を向上するには、AMDISの解析パラメーターの最適化が必要である。そこで、グリーンピースの抽出液1 mLに農薬標準液(50物質混合)を1 µg添加し、添加物質を最も多く同定できるAMDISパラメーターを検討した。最も良い結果が得られた(誤不検出が無く、誤検出の発生が最少)AMDISパラメーターを示す。最小類似度を示すMinimum match factorは、誤不検出の発生を最小限に抑えることを優先して"40"に設定した(Ragnar Norli et al., 2010)。PTRIは高い精度で予測できるため、

同定タイムウィンドウ範囲を”5 秒”に設定した。Component width は”7”を基本とし、CS の n-アルカン同定状況によって数値を増減した。Adjacent peak subtraction は同定への影響が小さいため、“Two”に設定した (Meng and Szelewski, 2010)。Sensitivity の“High”と“Very High”の同定への影響は小さかったが、Shape requirement を Resolution と同等、もしくはそれ以上の値にすると同定数が減少することが確認された。

次に、農薬混合標準液(97 物質)を 3 種類の野菜抽出液(1 mL)に各 1 µg 添加して、Shimadzu GC-MS-QP2010 で測定し、最適化した AMDIS パラメーターで解析した。添加物質の大半を同定できたが、共通する物質で類似度の低下や誤不検出が確認された。これは何らかの夾雑物の影響を受けていることや装置の感度が原因であると考えられた。ピーク強度が小さい場合や妨害ピークが存在する場合など、「きれいな」マススペクトルが得られない場合、Component width や同定タイムウィンドウ範囲の変更及びリバースサーチを採用することで同定精度が向上することが確認された。

7.4. 汎用性の確認

筆者らは、標準品を用いることなくデータベース登録物質を同定・定量できる AIQS-DB を開発した。しかし、現在販売されている AIQS-DB は、使用装置毎にソフトウェアを購入しなければならず、普及や登録物質数の拡大を妨げている。本研究では、市販の全ての GC-MS で使用できる汎用同定システムの開発を目的としており、開発システムは正確な保持時間予測とマススペクトルの高い再現性を備えている。この検討では、標準液と環境試料を複数の機種で測定し、開発システムの同定結果と市販の AIQS-DB の同定結果を比較した。

まず、60 物質の混合標準液を 3 種の GC-MS

で測定した。試料測定時の MS チューニングが異なる TSQ Quantum GC において、データベース登録スペクトルと測定マススペクトルが異なったため、AIQS-DB と AMDIS の両方で pentachlorophenol や trans-nonachlor の類似度が低下して、一部が誤不検出となった。一方、同一の MS チューニングを採用した 2 機種は全ての物質を高い類似度で確実に同定した。したがって、本システムは「きれいな」マススペクトルを得ることで、複数の機種でもデータベース登録物質を迅速かつ確実に同定できることが確認された。

次に、大量の夾雑物を含む底質試料を MS のチューニングを統一した GC-MS-QP2010 Plus および 5975C MSD で測定し、本システムの同定結果とベテラン分析者が AIQS-DB を用いてマニュアル解析した結果を比較した。AMDIS ではピーク強度の小さい物質ほど類似度が低下し、AIQS-DB でのマニュアル同定物質が誤不検出となる傾向を示した。しかし、環境試料中の有害物質は低濃度であり、また、夾雑物による妨害ピークの影響で「きれいな」マススペクトルが得られることは希であるため、本システムの自動スクリーニングの結果は良好と考えられた。

以上より、本システムは機種に拘らず正確な保持時間とデコンボリューション処理による「きれいな」マススペクトルに基づき、データベース登録物質を確実に同定できることを確認した。また、試料に夾雑物を多く含む場合でも本システムの自動スクリーニングは市販の AIQS-DB と同等の同定能力を発揮し、分析者のマニュアル同定を併せることで同定精度の向上が期待できる。

7.5. 実試料への適用例

2 種の実試料(地下水及びネギ)を用いて本システムの性能を確認した。地下水試料は北九州市内の緑地で採取し、ジクロロメタン液々抽出で得た最終試料液を測定及び同定性

能を評価した。マトリックスの少ない地下水試料では、TNT とその代謝物を確実に同定できた。試料採取地は過去に弾薬庫として使用されていた歴史があり、現在でも TNT やその代謝物によって地下水が汚染されていることが示された。

ネギ試料は、超臨界抽出で得た最終試料液を測定した。地下水試料よりもマトリックスを多く含み、TICC にも多くのピークが出現したが、農薬の Methamidophos や EPN が検出された。以上より、本システムはマトリックスの量に関わらず、データベース登録物質を迅速かつ確実に同定することができ、環境汚染の原因究明や残留農薬などの食品・環境の安全性評価への適用が期待できる。

8. LC-高分解能MSを用いたターゲットスクリーニング手法の検討

今年度の目的は、広範な物理化学的性質から構成される AIQS に登録した 300 種の LOCs のスクリーニング分析法を開発することである。そこで、目標回収率を 50%、また目標検出限界は使用した LC-TOF/MS の装置検出限界およびヨーロッパでの医薬品の環境リスク評価で求められる濃度から、 $0.01 \mu\text{g/L}$ とした。

8.1 固相選択

スクリーニング分析法に適した固相を探し出すために市販の 5 種類のカートリッジ型の固相を検討した。検討は 128 種の農薬を精製水 200mL に $0.5 \mu\text{g/L}$ になるよう添加し、「2.4. 固相抽出」に従って操作した。その結果、固相間で回収率に明確な違いが認められた。C18 カートリッジでは、 $\log \text{Pow}$ 2 以下の農薬の回収率が低かったが、PS2, HLB および PLS-3 では $\log \text{Pow}$ 0~4 での回収率はほぼ同じであった。以上から、これら 3 カートリッジは広範囲の極性の物質を定量的に抽出できることが確認された。一方、AC2 カートリッジは他の 4 種類のカートリッジが抽出できな

かった農薬に高い回収率を示した。AC2 は 20 農薬の回収率が他の 4 カートリッジより良かった。以上の結果から、対象 LOCs の抽出に最も適しているのは、AC2 と他の 3 固相の組み合わせであることが確認された。

8.2 固相抽出装置とシリンジフィルターの選択

固相抽出においては、抽出装置やシリンジフィルターの素材などに関心が払われることは少ない。しかし、本研究では広範囲の極性から構成される多くの LOCs を対象としているため、それらが回収率に及ぼす影響を調べた。

固相抽出では吸引型と加圧型の 2 種の抽出装置が一般的に使用される。加圧型では試料水を送液にフルオロカーボン樹脂製のチューブが使用されるため、一部の物質が吸着する可能性がある。また、LC 測定前に試料液のろ過に用いられるシリンジフィルターにも種々の素材があり、素材によっては対象 LOCs が吸着する可能性がある。

加圧型および吸引型の装置(AQUALoader III, GL science and GL-SPE manifold system)を用いて、「固相選択」と同様の添加回収試験を行い、両者の回収率を比較した。その結果、加圧型では $\log \text{Pow}$ が 4 以上の農薬の回収率が吸引型と比べて低かった。疎水性の高い物質が流路などに吸着するためと考えられる。

シリンジフィルターの検討では、素材の異なる 3 種(Millex LG, Nihon Waters, Millex GS, Nihon Waters および 13CP020AS, Advantec)を検討した。128 種の農薬を添加した 20%メタノール水溶液をフィルターでろ過して吸着の有無を調べた。その結果、Millex GS と 13CP020AS において $\log \text{Pow}$ 4 以上の物質の吸着が認められた。また、吸着の程度はメタノール濃度が高くなるに伴い低下したが、50%メタノール溶液でも一部が吸着した。以上から、固相抽出では吸引型の装置、シリ

ジフィルターには Millex LG を使用することとした。

8.3 精製水を用いた添加回収試験結果

固相選択で選んだ2種の固相の組み合わせ (HLB + AC2 および PS2 + AC2) を用いて、添加回収試験を行った。添加した257種のモデル化合物の極性は、 $\log Pow$ -2.20 ~ 8.53 であり、添加濃度は0.05 および 0.2 $\mu\text{g/L}$ である。前処理は「固相抽出」に従い、回収率は式(1)で求めた。

$$\text{回収率 (\%)} = 100 \times (A-B) / C \quad (1)$$

ここで、A = 検出濃度, $\mu\text{g/L}$; B = ブランク値, $\mu\text{g/L}$; C = 添加濃度, $\mu\text{g/L}$ である。

濃度 0.2 $\mu\text{g/L}$ で50%以上の回収率が得られた物質は、HLB + AC2 が245物質、PS2 + AC2 が240物質であった。また、それらの平均回収率は、80.1%と79.4%であった。この結果から、開発スクリーニング法は広範なLOCsを定量的に分析できることが確認された。なお、回収率が低い物質は、水溶性が大きく固相に捕集されない物質、または疎水性が大きく分析操作中に器具などに吸着し易い物質のいずれかであった。これらを精確に分析するには個別分析法を開発する必要がある。

検量線の最低濃度と分析操作から計算したモデル化合物の検出限界値は、0.004 ~ 0.40 (平均 0.039) $\mu\text{g/L}$ であり、過半数の検出限界が目標とする0.01 $\mu\text{g/L}$ 以下であった。

8.4 下水道放流水を用いた添加回収試験結果

開発したスクリーニング分析法の実試料での分析性能を評価するため、多量の夾雑物を含み分析が比較的に難しい下水道放流水を用いて添加回収試験を行った。北九州市内の5下水道処理場の放流水に190種のモデル化合物を0.20 $\mu\text{g/L}$ になるよう添加し、「固相抽

出」に従って操作した。また、無添加試料も同様に処理して式(2)から回収率を求めた。

$$\text{回収率 (\%)} = 100 \times (A-B) / C \quad (2)$$

ここで、A = 添加試料の検出濃度, $\mu\text{g/L}$; B = 無添加試料の検出濃度, $\mu\text{g/L}$; C = 添加濃度, $\mu\text{g/L}$ である。

添加した190物質の内、25物質が無添加試料からも検出された。特に、sulpiride は添加濃度の約5倍0.79 ~ 1.24 $\mu\text{g/L}$ が無添加試料から検出され、100%を超える回収率の原因となっている。Sulpiride を除く、174物質($\log Pow$ -2.2 ~ 8.53)の回収率は50%以上であった。幾つかの物質の回収率が低かったものの、実環境試料においても開発スクリーニング法が対象LOCsを一斉に分析できることが確認された。

8.5 サロゲート物質とマトリックスの影響

サロゲート物質分析は、個々の試料の分析の妥当性を評価するのに有用な手法である。本研究でもサロゲート物質を固相抽出前に試料に添加して回収率を求めた。使用したサロゲート物質は、スクリーニング対象物質全体の物理化学的性質をカバーしているわけではないが、回収率から個々の試料の分析評価とマトリックスの影響が把握できる。

抽出固相としてPS2とAC2を使用した時の精製水と下水処理場放流水の添加回収試験でのサロゲート物質の平均回収率および相対標準偏差は、それぞれ72.5と60.9%、21.1と16.2%であった。下水処理場放流水の回収率が精製水に比べて低い原因は、マトリックスの影響(イオン化抑制(Jinn et al., 2005))と思われる。マトリックスによるイオン化抑制は、LC/MSを用いた定量の課題の1つである。これを解決するには、試料精製によるマトリックス除去が有効であるが、広範な極性のLOCsを一斉分析するスクリーニング分析

では、精製操作により対象物質が除去される可能性があるため精製を採用できない。また、重水素や¹³Cラベル化体を用いた同位体希釈法もマトリックスの影響補正に有効な手法であるが、全対象物質のラベル化体の入手が困難であり、分析が非常に高コストとなるため実用的ではない。

精製水と放流水の添加回収試験の結果を比較したところ、添加190物質の内、放流水の72物質の回収率が精製水に比べて10%以上低かった。また、その72物質の内、42物質の保持時間は20分未満であり、保持時間20分未満の物質の66%を占めていた。一方、保持時間20分以上の119物質では、25物質(21%)のみが放流水において低回収率であった。また、6種のラベル化物を精製水と放流水の最終試料液に添加してマトリックス効果を調べるたが、モデル化合物と同様に放流水の保持時間20分未満の5物質の検出濃度が、精製水と比べて10%以上低かった。これらの結果から、マトリックスの影響は保持時間20分以下で主に見られた。ただ、検出濃度の低下は平均23%であり、精製操作を行わないスクリーニング分析としては許容できるレベルと考えられる。

8.6 フラグメントイオンを用いた検出確認

本研究で使用したLC-TOF/MSは10000程度の質量分解能を有し、精密質量分析が可能である。そのため、ピーク保持時間情報と併せることで、同定の確実さは相当に高い。しかし、LCのピーク分離能と保持時間の再現性は、キャピラリーGCと比較して低く、またESIで生成するイオンは通常分子量関連イオンのみであるため、高分解といえども誤同定が生じる可能性がある。実際に下水処理場流入水から除草剤のsiduronが誤検出された。このことから、確実な同定には追加情報が必要である。本研究では昨年度、複数のフラグメンター電圧(100, 150, 200, 250 V)で生成する

インソースフラグメントイオンを用いてより確実な同定ができることを示した。誤同定のSiduronの場合、定量用の測定(フラグメンター電圧100 V)でsiduronが検出されたと見なされる試料を、複数のフラグメンター電圧を用いて再測定し、フラグメントイオンの有無を標準物質のフラグメントイオンと比較した。その結果、標準物質で得られたフラグメントイオン(図8-1A)が試料(図8-1B)からは見つからなかったため、siduronは誤検出であることが確認された。一方、血糖降下薬のmetformin場合は、標準品(図8-2A)と同様のインソースフラグメントイオンが試料(図8-2B)からも検出されたため、試料中にmetforminが確実に存在することが確認された。

厚生労働省の残留農薬分析法(135農薬)が採用しているLC-MS/MS-SRMのプロダクトイオンと本研究で得られたインソースフラグメントイオンを比べたところ、両者は一致していたことから、インソースフラグメントイオンはプロダクトイオンと同じであることが確認された。しかし、インソースフラグメントイオンのイオン強度はSRMのプロダクトイオンと比較して小さいため、試料中の対象物質濃度が低い時はインソースフラグメントイオンが検出できない可能性がある。

8.7 下水処理場入流水と放流水への適用結果

開発スクリーニング法の有効性を確認するため、北九州市内の5カ所の下水処理場の放流水を分析した。下水処理場の水質を選んだのは、マトリックスが多く分析が難しいからである。検出物質と濃度を図8-3に示すが、1回以上検出された物質は29種であった。それらは全てインソースフラグメントイオンを生成するため、複数電圧で測定して検出を確認した。検出物質の多くは国内の下水処理場からの検出が報告されている(成宮ら, 2009; 鈴木ら, 2010; Nakada et al., 2006)。しかし、最高濃度で検出された血糖降下薬の

metformin に関しては、国内での報告はない。サロゲート物質の回収率は 46～106%（平均 67%）であり、精製水の添加回収実験の結果に比べて若干低かった。原因はマトリックスによるイオン化抑制の可能性もある。また、二重分析での 2 つの分析値の差は、平均値の 0～62.6%（平均 11.6%）であった。以上の結果から、分析の精確さおよび再現性は共に、スクリーニング分析としては十分な性能であることが確認された。さらに、300 物質の測定から汚染の全体像が把握でき、また予期しない metformin や農薬を検出できたことから、開発スクリーニング法の有効性が確認された。

D. 結論

1. 水道水の検査対象農薬の LC/MS/MS 一斉分析法の検討

対象農薬リスト掲載農薬類（120 物質）、要検討農薬類（16 物質）、その他農薬類（84 物質）、除外農薬類（14 物質）のうち、現在の標準検査法では、固相抽出による前処理後に GC/MS や LC/MS で分析している農薬および標準検査法のない農薬（合計 140 農薬）を対象に、前処理を行わずに LC/MS/MS に直接注入して一斉分析できるかどうかを検討した。

アスコルビン酸ナトリウムおよびチオ硫酸ナトリウムいずれの脱塩素処理剤を用いて処理した水道水を試験した場合も、全体として良好な回収率および併行精度が得られ、目標値の各農薬の目標値の 1/100 超 1/10 以下の濃度では 114～117 物質が、目標値の 1/100 以下の濃度においても 105 物質が妥当性評価ガイドラインの真度（70～120%）および併行精度（25%あるいは 30%）の目標を満たした。

ただし、一部の農薬については、脱塩素処理剤との反応によって分解あるいはイオン化阻害を受けたことが示唆されたことから、本法を用いて一斉分析を行う場合は、測定対象とする農薬によって脱塩素処理剤を使い分け

る必要があると考えられる。

2. 水道水中のホルムアルデヒドの DNPH 誘導体化 - 液体クロマトグラフ法の検討

上記の検討結果をまとめると、つぎのようになる。

(1) DNPH 誘導体化および分離時間

誘導体化に係る時間は室温 10 分で、ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒド-DNPH 誘導体は ODS カラムを用い 10 分以内に溶出し、良好な分離が可能であった。また、LC/UV および LC/MS/MS 法ともに、妨害ピークはクロマトグラム上に認められなかった。

(2) 定量下限値

LC/UV 法および LC/MS/MS 法ともに、ホルムアルデヒドの水道水質基準値 0.08 mg/L の 1/10 を測定可能であった。

(3) 検量線

LC/UV 法では、ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドの水試料中濃度 0.005～0.080 mg/L で良好な直線性 ($r^2 > 0.997$) が得られた。LC/MS/MS 法では、ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドの水試料中濃度 0.005～0.60 mg/L で良好な直線性 ($r^2 > 0.998$) が得られた。

(4) 真度（回収率）と平行精度

LC/UV 法および LC/MS/MS 法ともに、添加濃度 0.01mg/L におけるホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドの回収率および変動係数は、良好で、妥当性評価ガイドラインの評価目標である回収率 70～120%以内、併行精度 15%未満を満たしていた。

(5) 水試料中に存在する残留塩素の影響

残留塩素はホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドの測定を妨害したが、塩化アンモニウムの添加により改善された。

(6)DNPH 誘導体の安定性

ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒド-DNPH 誘導体は遮光下 4 で経時的に徐々に減少するが、誘導体化後 28 時間以内に測定すれば、変動は 20%以内に入ることがわかった。

以上のことから、DNPH 誘導体化-液体クロマトグラフ法は水道水の妥当性評価ガイドラインの評価目標を満たすことから、告示法別表第 19 の代替法となり得ることが示唆された。また、本法は、誘導体化および誘導体化の分析時間が短いことから、緊急時に必要とされる迅速性の観点からみた場合、別表第 19 よりも優れた方法であると言える。

3. LCMS/MS を用いたホルムアルデヒドの新規分析法の妥当性評価

DNPH 誘導体化-LC/MS/MS は妥当性評価ガイドラインの真度・併行精度の目標を満たし、既存の告示における精度の目標(有機物: 20%)を満たすことから、別表第 19 の代替法となり得ることが示唆された。また、本法は、誘導体化および分析時間が短いことから、緊急時に必要とされる迅速性の観点からみた場合、別表第 19 よりも優れている。さらに、ヘリウムガスを使用しない方法であるため、ヘリウムガスの枯渇時にも分析が可能である。

ただし、本法を告示法の代替法とするためには、今後、室内精度や室間精度等々を評価するために国立衛研だけでなく複数機関によるバリデーション試験を実施し、妥当性や汎用性について評価する必要がある。

4. 質量分析計を用いたフローインジェクション分析法による水試料中の非イオン界面活性剤の同定手法の検討

水道水質基準項目の非イオン界面活性剤は、比色法により測定していることから、汚染物質の特定はできない。基準値を超えるよ

うな健康危機管理に係る事故の場合には、汚染源の特定や除去処理方法等の対策を講じる上で、迅速に原因物質を特定する必要がある。今回検討した FIA/MS 法は、原因物質を迅速に特定可能な各種界面活性剤の系統的な分析が可能であった。

平成 27 年度は、PRTR 法の対象となっている界面活性剤の中で、26 年度に検討した非イオン界面活性剤を除く、13 物質について FIA-MS 法により ESI スペクトルを測定した。その結果、対象とした 13 種類全ての界面活性剤に特有のマススペクトルを得ることができた。それらの検出下限値はいずれも 1mg/L 程度で、その濃度レベルの汚染事故であれば、本分析法が適用可能である。しかし、水環境中の濃度レベルを測定するためには、濃縮法の検討が必要である。

5. 水道水中のオキシハロゲン酸の分析法に関する検討

本法は、水中からの濃縮・精製操作を行わずに、超高速液体クロマトグラフ/タンデム型質量分析計(LC-MS/MS)を用いたエレクトロスプレーイオン化(ESI)のネガティブイオン検出により定量する方法とした。

1. 実試料で LC/MS/MS 法の適用性を検討した結果、3 物質(臭素酸、塩素酸および過塩素酸)の同時分析が可能で、かつ分析時間はいずれも 10 分以内(迅速同時分析)であった。
2. 臭素酸、塩素酸、過塩素酸の各定量下限値はそれぞれ 0.5 μ g/L, 0.5 μ g/L, 0.05 μ g/L で、臭素酸の基準値 10 μ g/L(1/20)、塩素酸の基準値 600 μ g/L(1/1200)、過塩素酸の目標値 25 μ g/L(1/500)に対して低濃度レベルまでの測定が可能であった。
3. 臭素酸、塩素酸、過塩素酸の妥当性評価試

験に本法を適用した結果、すべて満足できる良好な結果であった。

4. 本法から得られた結果は、PC-IC法、IC法による水道水中臭素酸、塩素酸、過塩素酸の分析結果とも同等性が認められ、実用性の高い分析法であることが確認された。

6. 水道原水中のクロムの価数を分離した同時分析法に関する検討

毒性の異なるクロムの六価と三価を価数分離し、定量する分析方法の確立を目的として、ポストカラム付イオンクロマトグラフを用いて検討した。その結果、若干の課題はあるものの、Cr(Ⅵ)とCr(Ⅲ)を分離して、6分以内に両者の検出が可能であった。また、50μg/LのCr(Ⅲ)の水質基準に対して1μg/Lの定量が十分可能と考えられた。

7. GC-MS 向け汎用未知物質同定システムの開発

本研究では、NISTが提供するマススペクトル検索ソフトのAMDISとプライベートライブラリーを組み合わせ、市販の全てのGC-MSで使用可能な汎用同定システムを開発した。開発したシステムはGC-MS測定条件を統一し、保持時間を正しく予測することでGC-MS機種に拘らず、データベース登録物質を迅速かつ確実に同定することができる。

現在、プライベートライブラリーには約1,000物質の情報を登録しているが、震災時などの緊急時モニタリング、水道や土壌、食品などの各種基準に対応するには不十分である。本システムは測定条件を統一すれば、機種を問わず新規物質の登録ができるため、データベース登録物質数の拡大が容易であり、環境・食品の迅速な安全性確認や環境汚染事故の原因究明など、様々な用途に適用することが可能である。

8. LC-高分解能MSを用いたターゲットスクリーニング手法の検討

開発した固相抽出-LC-TOF/MSスクリーニング分析法を実試料に適用した結果、開発法がLOCsのスクリーニングに有効である事が確認された。開発法を用いることにより、短時間・低コスト・省力に多数物質を分析でき、さらに有害な廃棄物量も減らすことが可能である。

本開発法は、1)環境水や水道水のスクリーニング分析、2)対象物質の標準試薬が入手できない時の分析、3)環境汚染事故や地震などの緊急時の安全性評価や原因物質の特定などに有効な手法である。また、本法ではマススペクトルが得られるため、測定データを用いて後日ノンターゲット分析やレトロスペクティブ分析を実施することも可能である。

E. 健康危機情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 微量化学物質による環境汚染の安全性評価 - ノンターゲット分析の必要性和手法 - (総説), 門上希和夫, 安全工学, 52, pp155-161, 2013.
- 2) 網羅分析法を用いた中国長江の化学物質調査, 松浦直紀, 川瀬敬三, 片山慎介, 杜旭, 李雪花, 陳景文, 門上希和夫, 環境化学, 24(3), pp83-92, 2014.
- 3) GC-MS向け汎用ターゲットスクリーニングシステムの検討, 川瀬敬三, 門上希和夫, 分析化学, 64(1), pp43-50, 2015.
- 4) Monitoring of 1300 organic micro-pollutants in surface waters from Tianjin, North China, Lingxiao Kong, Kiwao Kadokami, Shaopo Wang, Hanh Thi Duong, Hong Thi Cam

- Chau, Chemosphere, 122, pp125-130, 2015.
- 5) 化学物質網羅分析法の開発と途上国の環境調査, 門上希和夫, 地球環境, 19(2), 165-172, 2014.
 - 6) Combining Passive Sampling with a GC-MS-Database Screening Tool to Assess Trace Organic Contamination of Rivers: a Pilot Study in Melbourne, Australia, Graeme Allinson, Mayumi Allinson and Kiwao Kadokami, Water Air Soil Pollut, pp 226-230, 2015. DOI 10.1007/s11270-015-2423-5
 - 7) Occurrence of 1153 organic micropollutants in the aquatic environment of Vietnam, H. T. C. Chau, K. Kadokami, H. T. Duong, L. Kong, T. T. Nguyen, T. Q. Nguyen and Y. Ito, Environ Sci Pollut Res, pp1-13, 2015. DOI 10.1007/s11356-015-5060-z
 - 8) Groundwater screening for 940 organic micro-pollutants in Hanoi and Ho Chi Minh City, Vietnam, Hanh Thi Duong, Kiwao Kadokami, Hong Thi Cam Chau, Trung Quang Nguyen, Thao Thanh Nguyen, Lingxiao Kong, Environ Sci Pollut Res, 22 (24), 19835-19847, 2015. DOI 10.1007/s11356-015-5180-5.
- 健二, 三枝慎一郎, 古谷智仁, 杉本智美, 五十嵐良明: 固相抽出 - GC/MS による水道水中農薬類の一斉分析法の妥当性評価. 平成 25 年度全国水道研究発表会 (2013.10.25 福島県郡山市).
- 5) 小林憲弘, 久保田領志, 五十嵐良明: LC/MS/MS を用いた水道水中のアルデヒド前駆物質の一斉分析法の開発. 第 50 回全国衛生化学技術協議会年会 (2013.11.8 富山県富山市).
 - 6) 小林憲弘: 水道水質検査方法の開発に関する最近の話題と今後の課題. 第 50 回全国衛生化学技術協議会年会 (2013.11.8 富山県富山市).
 - 7) 菱木麻佑, 小杉有希, 鈴木俊也, 保坂三継, 中江 大, 水道水中ホルムアルデヒドの誘導体化 - HPLC による分析法, 第 48 回日本水環境学会年会 (仙台)
 - 8) 川元達彦, 矢野美穂, 前田絵理, 森田寛子, 鈴木俊也, 三橋隆夫: LC/MS/MS を適用した水道水中臭素酸及び塩素酸の同時分析法の開発, 第 50 回全国衛生化学技術協議会年会, 講演集 p.202-203 (2013.11)
 - 9) GC-MS プライベートライブラリーを用いた汎用スクリーニング手法の開発, 川瀬敬三, 門上希和夫, 第 22 回環境化学討論会 (2013.8.1 東京都府中市).
 - 10) LC/TOF-MS 用全自動同定・定量データベースシステムの開発 - 環境水・農産物への適用 -, 大窪かおり, 中園陽子, 宮脇崇, 門上希和夫, 第 22 回環境化学討論会 (2013.8.1 東京都府中市).
 - 11) Development of Wide Use GC-MS Database for Non-target Analysis, Kiwao Kadokami* and Keizo Kawase, Asianalysis XII (2013.8.23 福岡市).
 - 12) LC/TOF-MS 用全自動同定・定量データベースシステムの開発: 環境試料への適用, 大窪かおり, 平成 25 年度化学物質

2. 学会発表

- 1) 小林憲弘, 久保田領志, 浅見真理, 五十嵐良明: 水道水中のホルムアルデヒド簡易・迅速分析法の妥当性評価. 第 22 回環境化学討論会 (2013.7.31 東京都府中市).
- 2) 小林憲弘, 久保田領志, 塚本多矩, 五十嵐良明: 水道水中のホルムアルデヒド前駆物質の LC/MS/MS 一斉分析法の開発. 第 22 回環境化学討論会 (2013.8.1 東京都府中市).
- 3) 小林憲弘, 水道水中の農薬類の GC/MS および LC/MS/MS 一斉分析方法の開発 環境科学会 2013 年会 (2013.9.4 静岡県静岡市).
- 4) 小林憲弘, 久保田領志, 田原麻衣子, 木村謙治, 林広宣, 山田義隆, 小林利男, 舟洞

- 環境実態調査環境科学セミナー
(2014.1.23 東京都)
- 13) データベースを用いた化学物質の網羅分析法の開発, 門上希和夫, 第 59 回日本水環境学会セミナー (2014.2.3 東京都)
- 14) LC/TOF-MS を用いた水試料中の難揮発性農薬の一斉分析法開発, 伊福知美, 吉田悠祐, チャウ ティーカムホン, 門上希和夫, 日本水環境学会九州支部研究発表会 (2014.3.1 鹿児島県霧島市)
- 15) LC/TOF-MS を用いた水試料中の難揮発性化学物質の網羅分析法開発, 吉田悠祐, 伊福知美, チャウ ティーカムホン, 門上希和夫, 第 47 回日本水環境学会年会 (2013.3.18 仙台市)
- 16) 小林憲弘, 久保田領志, 五十嵐良明: 水道水中のイミノクタジン・ジクワット・パラコートの一斉分析法開発. 日本水道協会 平成 26 年度全国会議 (2014.10. 31 愛知県名古屋市).
- 17) 鈴木俊也, 小杉有希, 保坂三継, 中江 大, 専用水道における非イオン界面活性剤の検出事例について, 第 51 回全国衛生化学技術高議会年会 (2014.11 別府市).
- 18) Hanh Thi Duong, Kiwao Kadokami, Naoki Matsuura, Shinsuke Katayama, Hong Thi Cam Chau and Trung Quang Nguyen: Occurrence of 940 organic micro-pollutants in environment waters in Hanoi, Vietnam. SETAC Europe 24th Annual Meeting (2014.5.11-15, スイス バーゼル).
- 19) Hong TC Chau, Hanako Shirasaka, Yusuke Yoshida, Tomomi Ifuku, Hanh T Duong, Trung Q Nguyen, Thao T Nguyen and Kiwao Kadokami: Occurrence and Risk Assessment of 278 Water-soluble Chemicals in Vietnamese River Water. SETAC Asia/Pacific 2014 Conference (2014.9.14-17 オーストラリア アデレード).
- 20) Lingxiao Kong, Kiwao Kadokami, Duong Thi Hanh, Chau Thi Cam Hong: Monitoring of semi-volatile organic contaminants in surface waters from Tianjin, North China. SETAC Asia/Pacific 2014 Conference (2014.9.14-17 オーストラリア アデレード).
- 21) Kiwao KADOKAMI, Hanh Thi DUONG, Hong Thi Cam CHAU, Thao Thanh NGUYEN and Trung Quang NGUYEN: SCREENING ANALYSIS OF 1200 MICRO-POLLUTANTS IN RIVER WATER IN VIETNAM, ICAEC 2014 (2014.11.24-26 タイ バンコク).
- 22) 柳田真志, 藤家将吾, 門上希和夫: 北九州市内浄化センターにおける医薬品および高極性農薬の存在実態, 日本水環境学会九州支部研究発表会 (2015.2.28 鹿児島県霧島市).
- 23) 藤家将吾, 柳田真志, 門上希和夫, Prof.Dr.Biljana: 網羅分析法を用いたセルビア北部河川の半揮発性化合物の汚染実態, 日本水環境学会九州支部研究発表会 (2015.2.28 鹿児島県霧島市).
- 24) 持永啓汰, 門上希和夫: GC/MS を用いた下水中の半揮発性化学物質の網羅分析. 日本水環境学会九州支部研究発表会 (2015.2.28 鹿児島県霧島市).
- 25) 吉田悠祐, 藤家将吾, 柳田真志, 門上希和夫: LC-高分解能 MS を用いたターゲットスクリーニング手法の検討. 第 49 回日本水環境学会年会 (2013.3.16-18 金沢市).
- 26) 片山慎介, 門上希和夫, 境泰史, 木村淳子, 中原世志樹: GC/MS 向け汎用全自動同定・定量データベースシステムの検討. 第 49 回日本水環境学会年会 (2013.3.16-18 金沢市).
- 27) 久保田領志, 小林憲弘, 五十嵐良明: 固相抽出-LC/MS によるハロアセトアミド

- 類の分析法の開発及び水道水中の存在実態. 第 24 回環境化学討論会(2015.6.24 北海道札幌市).
- 28) 小林憲弘, 久保田領志, 菱木麻佑, 小杉有希, 鈴木俊也, 五十嵐良明: LC/MS/MS を用いた水道水中ホルムアルデヒドとアセトアルデヒドの同時分析. 第 24 回環境化学討論会(2015.6.24 北海道札幌市).
- 29) 小林憲弘, 久保田領志, 五十嵐良明: 水道水中の GC/MS 分析対象農薬の LC/MS/MS 一斉分析方法の検討. 環境科学会 2015 年会(2015.9.7 大阪府吹田市).
- 30) 小林憲弘, 久保田領志, 菱木麻佑, 小杉有希, 鈴木俊也, 五十嵐良明: LC/UV および LC/MS/MS による水道水中ホルムアルデヒドとアセトアルデヒドの同時分析法の検討. 日本水道協会 平成 27 年度全国会議(水道研究発表会)(2015.10.21 埼玉県さいたま市).
- 31) 久保田領志, 小林憲弘, 五十嵐良明: 水道水中ハロアセトアミド類の分析法の開発およびその存在実態. 第 52 回全国衛生化学技術協議会年会(2015.12.3 静岡県静岡市).
- 32) 小林憲弘, 久保田領志, 菱木麻佑, 小杉有希, 鈴木俊也, 五十嵐良明: HPLC/UV および LC/MS/MS による水道水中ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドの同時分析. 第 52 回全国衛生化学技術協議会年会(2015.12.3 静岡県静岡市).
- 33) 小林憲弘, 矢代和史, 久保田領志, 五十嵐良明: 塩素処理による水道水中プロチオホスの分解物の生成. 第 50 回日本水環境学会年会(2016.3.18 徳島県徳島市).
- 34) 鈴木俊也, 小杉有希, FIA/MS による非イオン界面活性剤の同定手法, 第 52 回全国衛生化学技術協議会年会(静岡市)
- 35) Grand Designs for Wastewater Recycling in Antarctica - Challenge of Micro-contaminant Assessment, Mayumi Allinson, Kiwao Kadokami, Daisuke Nakajima, Peter Scales, Graeme Allinson, Adrian Knight, Jianhua Zhang, Michael Packer, Kathy Northcott, Vincent Pettigrove, Stephen Gray, SETAC Europe 25th Annual Meeting, 2015. May 3-7, 2015, Barcelona, Spain. (2015.5.3-7 , スペイン バルセロナ)
- 36) Screening analysis of 1170 organic micro-pollutants in sewage treatment plants in Kitakyushu, Japan, Kiwao Kadokami, Masashi Yanagida, Keita Mochinaga, 7th Symposium Chemistry and Environmental Protection-EnviroChem 2015, June 9-12, 2015, Palic, Serbia. (2015.6.9-12 , セルビア パリック)
- 37) Screening of 1170 organic micro-pollutants in sewage treatment plants in Kitakyushu, Japan, Kiwao Kadokami, Masashi Yanagita, Keita Mochinaga, SETAC North America 36th Annual Meeting, November 1-5, 2015, Salt Lake City, UT, USA. (2015.11.1-5, 米国 ソルトレークシティ)
- 38) Comprehensive analytical method for polar-organic compounds in water samples by liquid chromatography time-of-flight mass spectrometry, H.T. Chau, K. Kadokami, SETAC North America 36th Annual Meeting, November 1-5, 2015, Salt Lake City, UT, USA. (2015.11.1-5, 米国 ソルトレークシティ)
- 39) Monitoring on 1300 organic micro-pollutants in surface waters from Tianjin and Jinan, Northern China, L. Kong, K. Kadokami, S. Wang, T. Duong, H.T. Chau, SETAC North America 36th Annual Meeting, November 1-5, 2015, Salt Lake City, UT, USA. (2015.11.1-5, 米国 ソルトレークシティ)

- 40) 北九州市内の下水処理場における 1170 種の微量有機汚染物質のスクリーニング分析 - 化学物質排出源単位の推計 - , 門上希和夫, 柳田真志, 持永啓汰, 第 24 回環境化学討論会 (2015.6.24-26, 札幌市)
- 41) Monitoring of 1300 organic micro-pollutants in surface waters from Tianjin, Northern China, Lingxiao Kong, Kiwao Kadokami, Shaopo Wang, Hanh Thi Duong, Hong Thi Cam Chau, 第 24 回環境化学討論会 (2015.6.24-26, 札幌市)
- 42) Screening and analysis of 940 organic micro-pollutants in groundwaters in Hanoi and Hochiminh City, Vietnam, Duong Thi Hanh, Kiwao Kadokami, Katayama Shinsuke, Trung Quang Nguyen, 第 24 回環境化学討論会 (2015.6.24-26, 札幌市)
- 43) Development of a comprehensive analytical method of polar organic pollutants in water samples by liquid chromatography time-of-flight mass spectrometry, Chau Thi Cam Hong, Kiwao Kadokami, 第 24 回環境化学討論会 (2015.6.24-26, 札幌市)
- 44) Assessment of Trace Organic Contaminants Removal by an Advanced Wastewater Treatment Plant for Antarctica, Mayumi Allinson, Graeme Allinson, Kiwao Kadokami, Daisuke Nakajima, Peter Scales, Adrian Knight, Jianhua Zhang, Michael Packer, Kathy Northcott, Stephen Gray, 第 24 回環境化学討論会 (2015.6.24-26, 札幌市)
- 45) 東日本大震災の被災地における化学物質環境実態追跡調査結果(平成 23 ~ 25 年度調査総括: その 2), 高橋厚, 森大樹, 松村徹, 門上希和夫, 柴田康行, 第 24 回環境化学討論会 (2015.6.24-26, 札幌市)
- 46) 下水処理場における半揮発性化学物質の挙動, 加来菜美, 門上希和夫, 日本水環境学会九州支部発表会 (2015.2.27, 佐賀市)
- 47) 下水処理場における極性化学物質の挙動, 藤村健二, 佐野拓哉, 門上希和夫, 日本水環境学会九州支部発表会 (2015.2.27, 佐賀市)

G. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案特許

なし

3. その他

なし

H. 参考文献

- Ilho Kim, Hiroaki Tanaka, Photodegradation characteristics of PPCPs in water with UV treatment, *Environment International*, 35 (2009) 793–802
- Imma Ferrer, E. Michael Thurman, Multi-residue method for the analysis of 101 pesticides and their degradates in food and water samples by liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1175 (2007) 24–37
- Imma Ferrer, E. Michael Thurman, Analysis of 100 pharmaceuticals and their degradates in water samples by liquid chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1259 (2012) 148–157
- Juan F. Garcí'a-Reyes, Bienvenida Gilbert-Lopez, Antonio Molina-Dí'az, Determination of Pesticide Residues in Fruit-Based Soft Drinks, *Anal. Chem.* 80 (2008) 8966–8974
- Milagros Mezcuá, Octavio Malato, Juan F. Garcí'a-Reyes, Antonio Molina-Dí'az,

- Amadeo R. Fernández-Alba, Accurate-Mass Databases for Comprehensive Screening of Pesticide Residues in Food by Fast Liquid Chromatography Time-of-Flight Mass Spectrometry, *Anal. Chem.* 81 (2009) 913–929
- M.J. Gómez, M.M. Gómez-Ramos, O. Malatob, M. Mezcua, A.R. Fernández-Alba, Rapid automated screening, identification and quantification of organic micro-contaminants and their main transformation products in wastewater and river waters using liquid chromatography–quadrupole-time-of-flight mass spectrometry with an accurate-mass database, *Journal of Chromatography A*, 1217 (2010) 7038–7054
- Swedish Chemical Agency: “Chemicals in the everyday environment”, available from <<http://www.kemi.se/en/Start/Chemicals-in-the-everyday-environment/>>
- U.S.EPA METHOD 554, 1992.
- Tahrim Nurfaizah Abu, Abdullah Md. Pauzi, Aziz Yang Farina Abdul, Determination of human pharmaceuticals in pre- and post-sewage treatment, *AIP Conference Proceedings*, 1571 (2013) 760
- UNEP, UNEP News Release, February, 2006 (2006).
- Kiwao Kadokami, Kyoko Tanada, Katsuyuki Taneda, Katsuyuki Nakagawa, Novel gas chromatography-mass spectrometry database for automatic identification and quantification of micropollutants, *J. Chromatogr. A*, 1089 pp219-226, 2005.
- Daisuke Jinya, Tomomi Iwamura, and Kiwao Kadokami, Comprehensive Analytical Method for Semi-volatile Organic Compounds in Water Samples by Combination of Disk-type Solid-phase Extraction and Gas Chromatography-Mass Spectrometry Database System, *Anal. Sci.*, 29 (4), pp483-486, 2013.
- Kiwao Kadokami, Daisuke Jinya, and Tomomi Iwamura, Survey on 882 Organic Micro-Pollutants in Rivers throughout Japan by Automated Identification and Quantification System with a Gas Chromatography – Mass Spectrometry Database, *J. Environ. Chem.*, 19, pp351-360, 2009.
- D. T. Hanh, K. Kadokami, N. Matsuura and N. Q. Trung, Screening analysis of a thousand micro-pollutants in Vietnamese rivers, *Southeast Asian Water Environment* 5, pp195-202, 2013.
- European Medicines Evaluation Agency. 2006. Guideline on the Environmental Risk Assessment of Medicinal Products for Human Use. EMEA CHMP/SWP/4447/00. Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP), London, England.
- Jim X. et al., Minimization of ion suppression in LC–MS/MS analysis through the application of strong cation exchange solid-phase extraction (SCX-SPE), *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 37, pp359-367, 2005.
- Nakada N, Tanishima T, Shinohara H, Kiri K, Takada H, Pharmaceutical chemicals and endocrine disrupters in municipal wastewater in Tokyo and their removal during activated sludge treatment, *Water Res.*, 40, pp3297-3303, 2006.
- California Department of Health Services, http://www.cdph.ca.gov/certlic/drinking_water/Pages/Perchlorate_history.aspx
- National Research Council, Health implications of perchlorate ingestion, National Academies Press (2005)
- NIST MS Search Program, <http://chemdata.nist.gov/mass-spc/ms-search/>
- Kiwao KADOKAMI, Kyoko TANADA, Katsuyuki TANEDA, Katsuyuki NAKAGAWA: Novel gas chromatography-mass spectrometry

- database for automatic identification and quantification of micropollutants. *J.Chromatogr A*, 1089 pp219-226 (2005)
- H. Van Den Dool, P. Dec. Kratz : A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas liquid partition chromatography. *J.Chromatogr*, 11 , 463 (1963)
- Hans Ragnar Norli, Agnethe Christiansen, Borge Holen: Independent evaluation of a commercial deconvolution reporting software for gas chromatography mass spectrometry analysis of pesticide residues in fruits and vegetables. *J.Chromatogr A*, 1217 pp2056-2064 (2010)
- Chin-Kai Meng and Mike Szelewski : Can "Deconvolution" Improve GC-MS Detectability? Application Note, Agilent Technologies (2010)
- 厚生労働省：水質基準に関する省令の規定に基づき厚生労働大臣が定める方法。厚生労働省告示第261号。平成15年7月22日。(最終改正平成26年3月31日)(2003a)。
- 厚生労働省：水質基準に関する省令の規定に基づき厚生労働大臣が定める方法。厚生労働省健康局水道課長通知。平成15年10月10日付健水発第1010001号(最終改正平成26年3月31日)(2003b)。
- 厚生労働省：水質基準に関する省令の制定及び水道法施行規則の一部改正等並びに水道水質管理における留意事項について(別添5 水質基準項目の測定精度)。厚生労働省健康局水道課長通知。平成15年10月10日付健水発第1010001号(2003c)。
<http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/kenkou/suido/kijun/dl/kabetten5.pdf>
- 厚生労働省：水道水質検査方法の妥当性評価ガイドラインについて。厚生労働省水道課長通知，健水発0906第1号，平成24年9月6日(2012)。
<http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/kenkou/suido/hourei/jimuren/dl/120906-1.pdf>
- 厚生労働省：水道水質検査方法の妥当性評価ガイドラインに関する質疑応答集(Q&A)について。厚生労働省健康局水道課通知。平成26年1月15日付水道課事務連絡(2014)。
- 佐野守宏：ポリプロピレングリコールの掘削泥水添加剤への応用、石油化学、1997、40(6)、534-538。
- 真柄泰基ら：、平成10~12年度、界面活性剤の水道水源水域及び利水過程における挙動と適正管理に関する研究(1999~2001)。
- 原口紘丞：ICP 発光分光の基礎と応用，p167-168，講談社(東京)(1986)。
- 矢野美穂，川元達彦：分析化学 60(5) p433-440 (2011)。
- 門上ら：第47回日本水環境学会年会講演集，p336(2013)
- 森脇洋：LC/MS データベースの構築について：大阪市立環境科学研究所
- 齊藤静夏，根本了，松田りえ子，Multi-Residue Analysis of Pesticides in Agricultural Products by Liquid Chromatography Time-of-Flight Mass Spectrometry, 食品衛生学雑誌，53 (2012) No. 6 p. 255-263
- 秋山由美，松岡智郁，三橋隆夫，Multi-residue screening method of acidic pesticides in agricultural products by liquid chromatography/time of flight mass spectrometry, 日本農薬学会誌，34 (4) (2009) 265-272
- 永洞真一郎，LC/MS法による医薬品類の一斉分析法の開発に関する検討，北海道環境科学研究センター所報，第32号
- 小西千絵，宝輪勲，中田典秀，小森行也，鈴木穰，田中宏明，水環境中医薬品のLC-MS/MSによる一斉分析法の検討，環境工学研究論文集，Vol. 43 (2006) P 73-82
- 小森行也，岡安祐司，鈴木穰，下水道未整備地域の小河川における医薬品の実態調査，学会誌「EICA」，(2007) 12 (2/3)，

- 久保田領志, 田原麻衣子, 清水久美子, 西村哲治, 高速液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析法による環境水中 PPCPs の分析と水環境中の存在実態, Bull. Natl. Inst. Health Sci., 126, (2008) 98-103
- 島崎大, 久保田領志, 鈴木俊也, 西村哲治, 国包章一, 浄水場における医薬品の存在状況と浄水処理による除去性, 用水と廃水, 50(7)(2008) 59-64,
- 成宮正倫, 奥田隆, 中田典秀, 山下尚之, 田中宏明, 大岩俊雄, 下水処理過程における医薬品類の存在実態と挙動, 環境工学研究論文集, 46 (2009) 175-185
- 小森行也, 鈴木穰, 生活排水の処理状況が異なる都市域小河川における医薬品の存在実態と生態リスク初期評価, 32(3) (2009) 133-138
- 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知: 食品に残留する農薬, 飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法について, 食安発第 0124001 号, 平成 17 年 1 月 24 日, 2005
- 門上ら 第 48 回日本水環境学会年会講演集, p334 (2014)
- 厚生労働省 (2013) 農薬類の分類の見直しについて. 厚生労働省健康局水道課長通知. 平成 25 年 3 月 28 日付健水発 0328 第 4~7 号.
<http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/kenkou/suido/hourei/jimuren/dl/130328-3.pdf>
- 小林憲弘, 久保田領志, 田原麻衣子, 杉本直樹, 塚本多矩, 五十嵐良明 (2014a) 水道水中の農薬類の LC/MS/MS 一斉分析法の開発. 環境科学会誌, 27(1), 3-19.
- 小林憲弘, 久保田領志, 高玲華, 安藤正典, 五十嵐良明 (2014b) 液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析 (LC/MS/MS) による水道水中農薬類の一斉分析法の妥当性評価. 水道協会雑誌, 83(4), 3-14.
- 真柄泰基ら, 平成 10 年度から 12 年度, 界面活性剤の水道水源水域及び利水過程における挙動と適正管理に関する研究.
- 佐野守宏: ポリプロピレングリコールの掘削泥水添加剤への応用, 石油化学, 1997, 40(6), 534-538.
- 日本石鹼洗剤工業会調査資料, 界面活性剤の環境モニタリングとリスク評価の最新結果 (2014)
http://jsda.org/w/02_anzen/3kankyo_15_2014.html
- 門上希和夫, 棚田京子, 種田克行, 中川勝博, 有害化学物質一斉分析用ガスクロマトグラフィー/質量分析法データベースの開発, 分析化学, 53, pp581-588, 2004.
- 陣矢大助, 岩村幸美, 門上希和夫, 楠田哲也, 固相抽出法と GC-MS 自動同定定量データベース法による水試料中半揮発性化学物質の包括分析法の開発, 環境化学, Vol. 21, pp.35-48, 2011.
- 成宮正倫, 奥田隆, 中田典秀ら, 下水処理過程における医薬品類の存在実態と挙動, 環境工学研究論文集, 第 46 巻, 2009.
- 鈴木俊也, 小杉有希, 保坂三継, 矢口久美子, 小縣昭夫, 西村哲治, 中江大, 多摩川流域の下水処理場における医薬品の存在実態, 東京健安研七報, 61, pp333-339, 2010.
- 高附巧ら, 食品衛生学雑誌, 50(4), 184 (2009)
- 小坂浩司ら, 水環境学会誌, 30(7), 361 (2007)
- 前田絵理ら, 分析化学, 8, 659 (2011)
- 日本薬学会編: 衛生試験法・注解 2010, p755, 金原出版 (東京).
- 日本水道協会: 上水試験法 (解説編) 2011 年版, p381 (東京)
- 金井 豊: イオンクロマトグラフィーにおける陰・陽イオンの保持挙動と陸水分析への応用, 地質調査書月報, 38, 10, 587-600 (1987)
- 上水試験法 2011 年版. 金属類編, 日本水道協会.
- 馬場義輝: 魚類のへい死について, 福岡県保健環境研究所年報第 39 号, pp104-106 (2012)
- 環境省: 平成 24 年度東日本大震災の被災地における化学物質環境実態追跡調査研究の公表について,

<http://www.env.go.jp/press/press.php?serial=16518>

- 小林憲弘,杉本直樹,久保田領志,野村雅彦,
五十嵐良明:利根川水系の浄水場にお
けるホルムアルデヒド水質汚染の原因
特定,水道協会雑誌,81,pp63-68(2013)
- 厚生労働省:利根川水系におけるホルムアル
デヒドによる水道への影響について
(第6報・速報),
<http://www.mhlw.go.jp/stf/houdou/2r985200002cd75-att/2r9852000002cdb1.pdf>
- 門上希和夫,棚田京子,種田克行,中川勝博:
有害化学物質一斉分析用ガスクロマト
グラフィー/質量分析法データベース
の開発,分析化学,53,pp581-588(2004)

表1-1. LC/MS/MS 一斉分析条件

項目	設定値
カラム	Shim-pack FC-ODS (2.0 mm I.D. ×150 mm, 粒径 3µm, 島津製作所)
移動相 A	5 mM 酢酸アンモニウム水溶液
移動相 B	5 mM 酢酸アンモニウムメタノール溶液
LC グラジエント条件	B5% (0 min) – B45% (4 min) – B75% (24–27 min) – B5% (27.1–40 min)
流速	0.20 mL/min
カラム温度	40°C
サンプルクーラー温度	5°C
注入量	100 µL
イオン化法	ESI 法 (ポジティブイオンモード / ネガティブイオンモード)
プローブ電圧	+4.5 kV (ESI ポジティブ) / -3.5 kV (ESI ネガティブ)
MS ネブライザーガス流量	1.5 L/min
ドライングガス流量	10 L/min
脱溶媒部(DL)温度	250°C
ヒートブロック温度	400°C

**表3-1. ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒド-DNPH 誘導体の
LC/MS/MS 分析条件**

	東京都健康安全研セ	国立衛研
装置	2695 Separation Module-Ultima PT(日本 ウォーターズ)	LCMS-8030 Plus (島津製作所)
分離カラム	TSK-Gel ODS 80T or 120T (4.6×250 mm, 5 µm, 東ソー)	Shim-Pak FC-ODS (2.0 mm×150 mm, 3 µm, 島津製作所)
カラム温度	40	40
移動相	精製水 : ACN = 45:55	精製水 : ACN = 50:50
移動相流速	0.2 mL/min	0.2 mL/min
イオン化法	ESI-	ESI-
モニターイオン (ホルムアルデヒド)	209 > 163, 151	209 > 151
モニターイオン (アセトアルデヒド)	223 > 163, 151	209 > 163
注入量	20 µL	10 µL

表5-1 臭素酸1 µg/L添加時における妥当性評価結果

臭素酸(1 µg/L添加)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	判定
河川水	104.7	7.9	8.3	
水道水 + VC	95.8	4.8	5.2	
水道水 + EDA	92.8	5.0	5.9	
水道水	95.9	4.2	6.1	
適合範囲	70 ~ 120	< 25	< 30	適合

表5-2 塩素酸60 µg/L添加時における妥当性評価結果

塩素酸(60 µg/L添加)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	判定
河川水	104.2	4.7	5.6	
水道水 + VC	101.3	1.0	2.8	
水道水 + EDA	99.5	2.1	3.9	
水道水	98.1	2.8	4.9	
適合範囲	70 ~ 120	< 25	< 30	適合

表5-3 過塩素酸2.5 µg/L添加時における妥当性評価結果

過塩素酸(2.5 µg/L添加)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	判定
河川水	107.8	2.2	3.9	
水道水 + VC	99.8	1.6	3.9	
水道水 + EDA	99.5	2.4	4.4	
水道水	101.6	1.6	3.8	
適合範囲	70 ~ 120	< 25	< 30	適合

表 7-1 GC-MS 測定条件

GC-MS	: GC-Quadrupole MS
[GC]	
Column	: J&W DB-5 MS (30 m×0.25 mm i.d, 0.25 μm film)
Column oven temp.	: 40 (2 min) - 8 /min - 310 (5 min)
Injection temp.	: 250
Injection mode	: Splitless, 1 min for purge-off time
Carrier gas	: He
Linear velocity	: 40 cm/s, constant flow mode or constant linear velocity mode
[MS]	
Interface temp.	: 300
Ion source temp.	: Recommended temp of GC-MS
Ionization method	: EI
Tuning Method	: Target tuning for US EPA method 625
Mass range	: m/z 45 to 600

表 8-1. LC-TOF-MS 条件

LC : Agilent 1200	
Column	GL Sciences Inertsil ODS-4 (2.1×150mm, 3μm)
Mobile phase	A : 5mmol CH ₃ COONH ₄ in H ₂ O B : 5mmol CH ₃ COONH ₄ in CH ₃ OH
Gradient profile	A 95:B 5 (0min) – A 5:B 95 (30min-50min)
Column temp	40
Injection volume	2μL
Flow rate	0.3 mL/min
MS : Agilent 6220 MSD	
Ionization	ESI-Positive
Measurement mode	Scan
Fragmentor Voltage	100, 150, 200, 250V
VCap voltage	3500V
Scan range (m/z)	50-1000

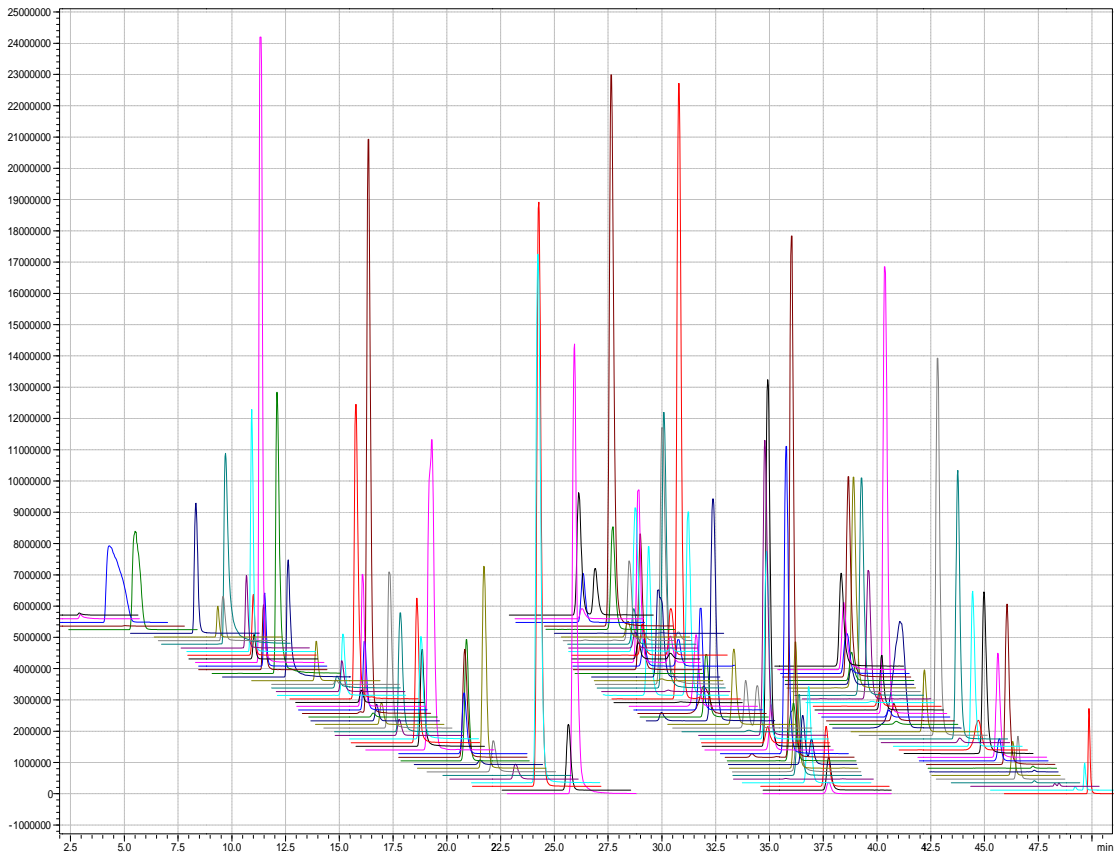


図 1-1. 140 農薬の LC/MS/MS 一斉分析クロマトグラム

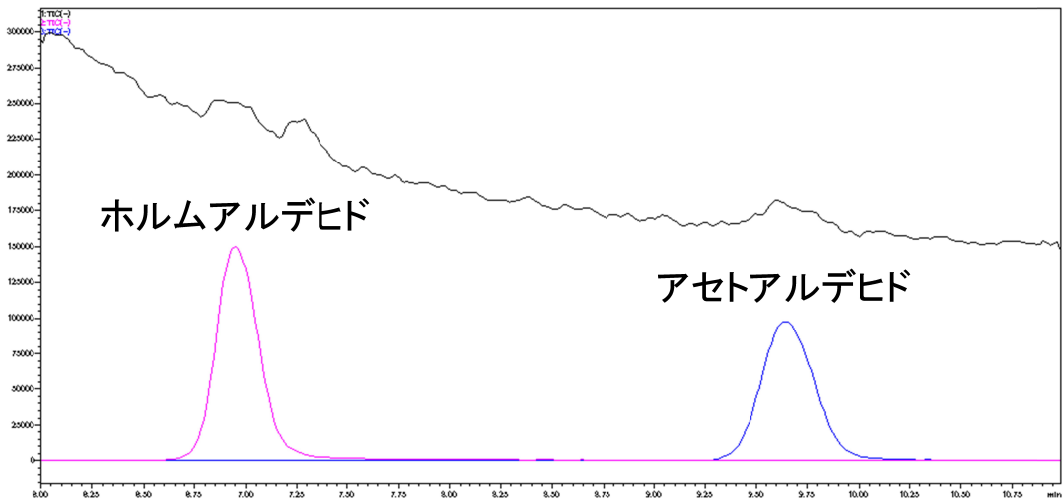


図 3-1. ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒド DNPH 誘導体の LC/MS/MS クロマトグラム

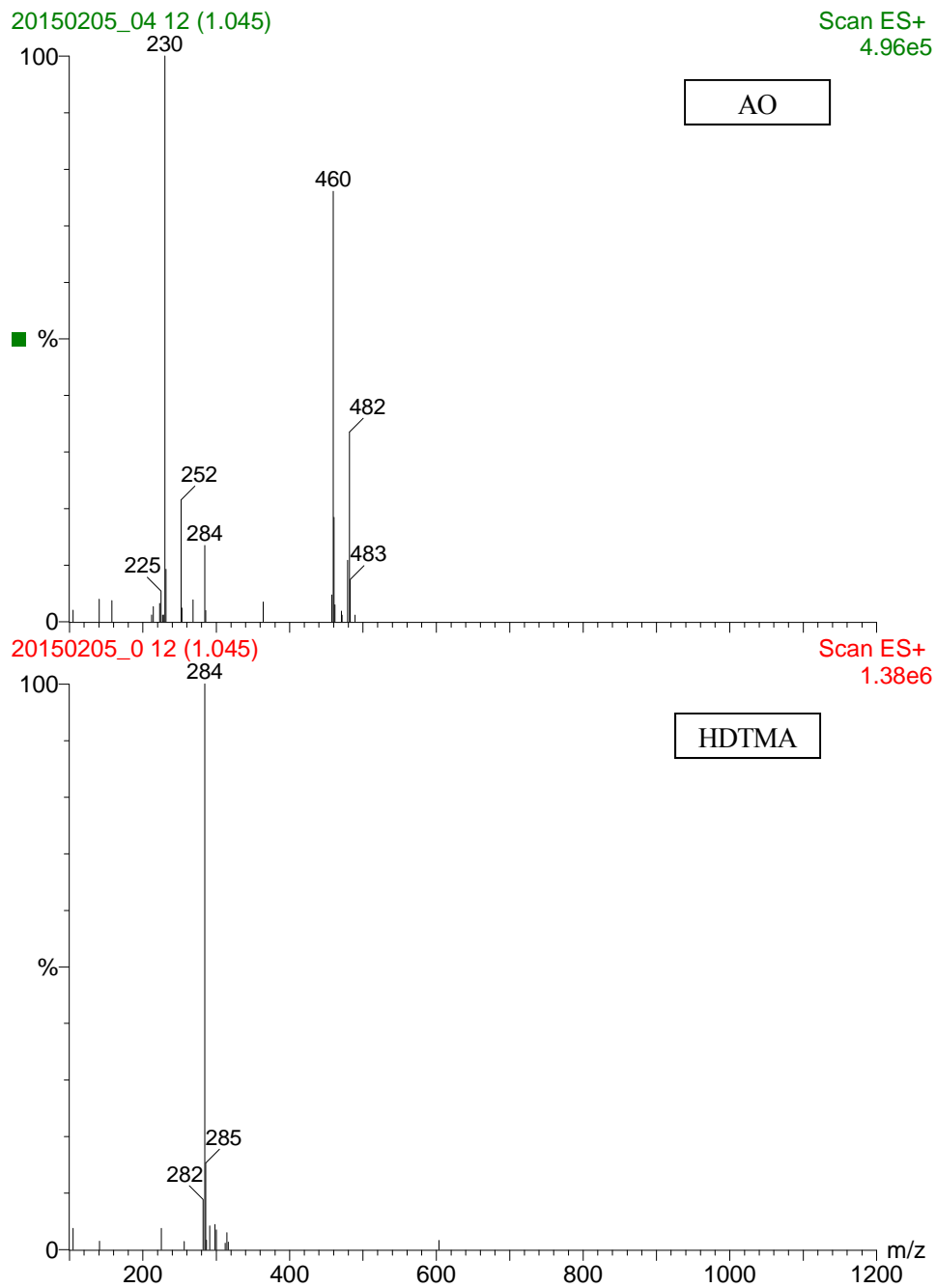


図 4-1 . ヘキサデシルトリメチルアンモニウム=クロリド (HDTMAC) および N,N-ジメチルドデシルアミン=N-オキシド (AO) の FIA-MS の ESI マススペクトル

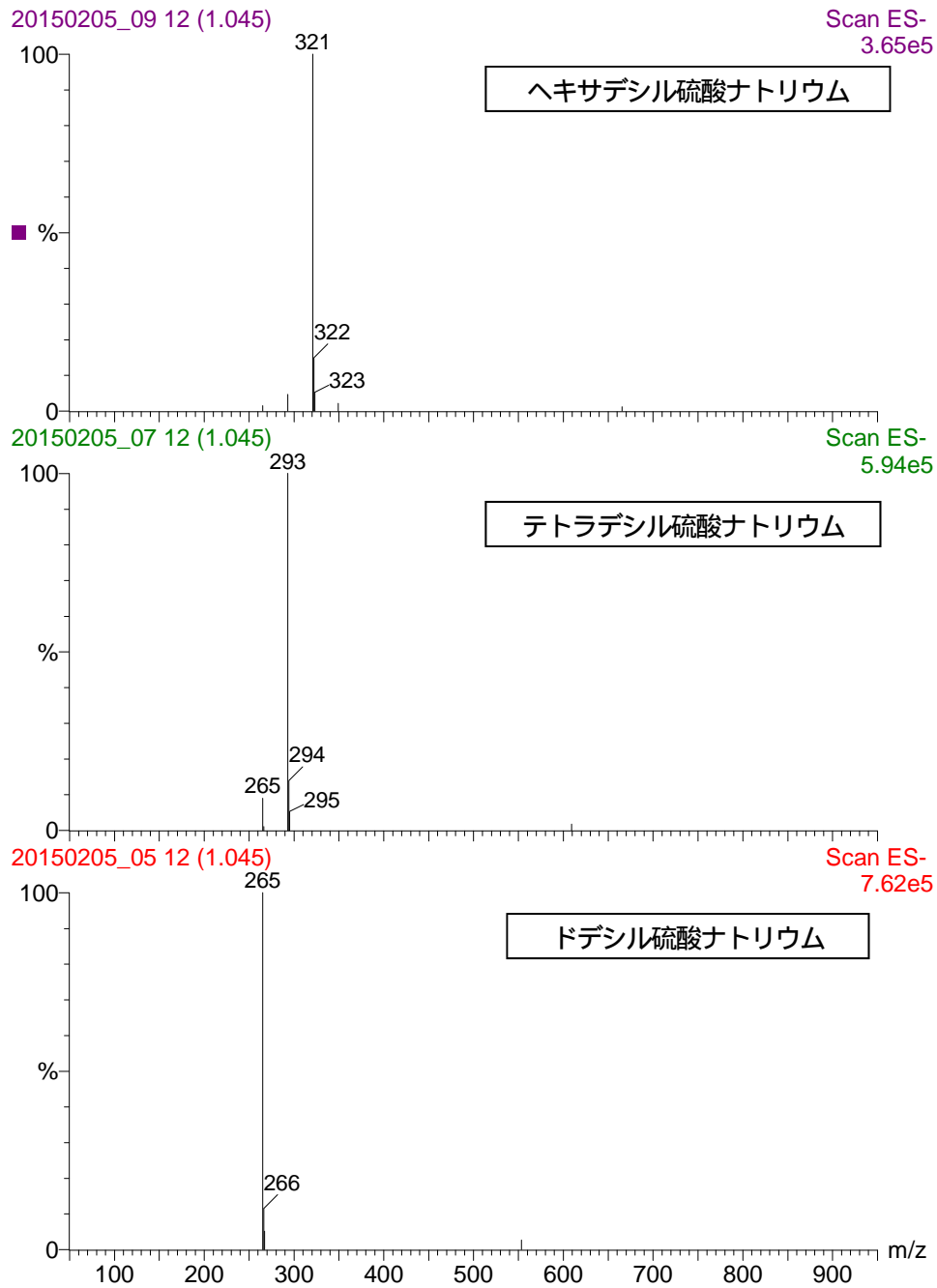


図 4-2 . アルキル硫酸塩 (ドデシル硫酸ナトリウム, テトラデシル硫酸ナトリウムおよびヘキサデシル硫酸ナトリウム) の FIA-MS の ESI マススペクトル

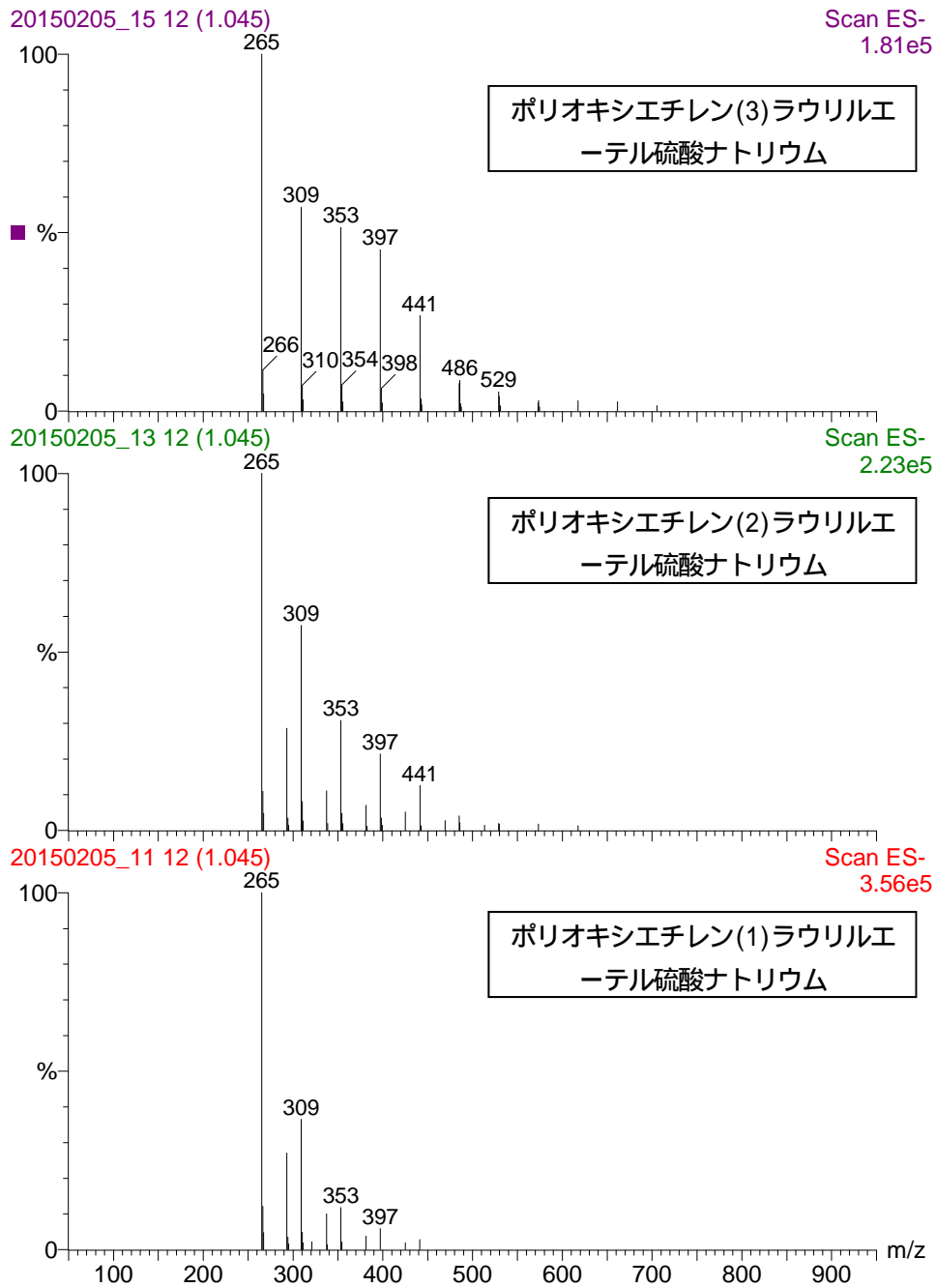


図 4.3 . ポリオキシエチレンアルキルエーテル硫酸塩 (AES , エマール 170J (ポリオキシエチレン(1) ラウリルエーテル硫酸ナトリウム), エマール 270J (ポリオキシエチレン(2) ラウリルエーテル硫酸ナトリウム), エマール 20C (ポリオキシエチレン(3)ラウリルエーテル硫酸ナトリウム)) の FIA-MS の ESI スペクトル

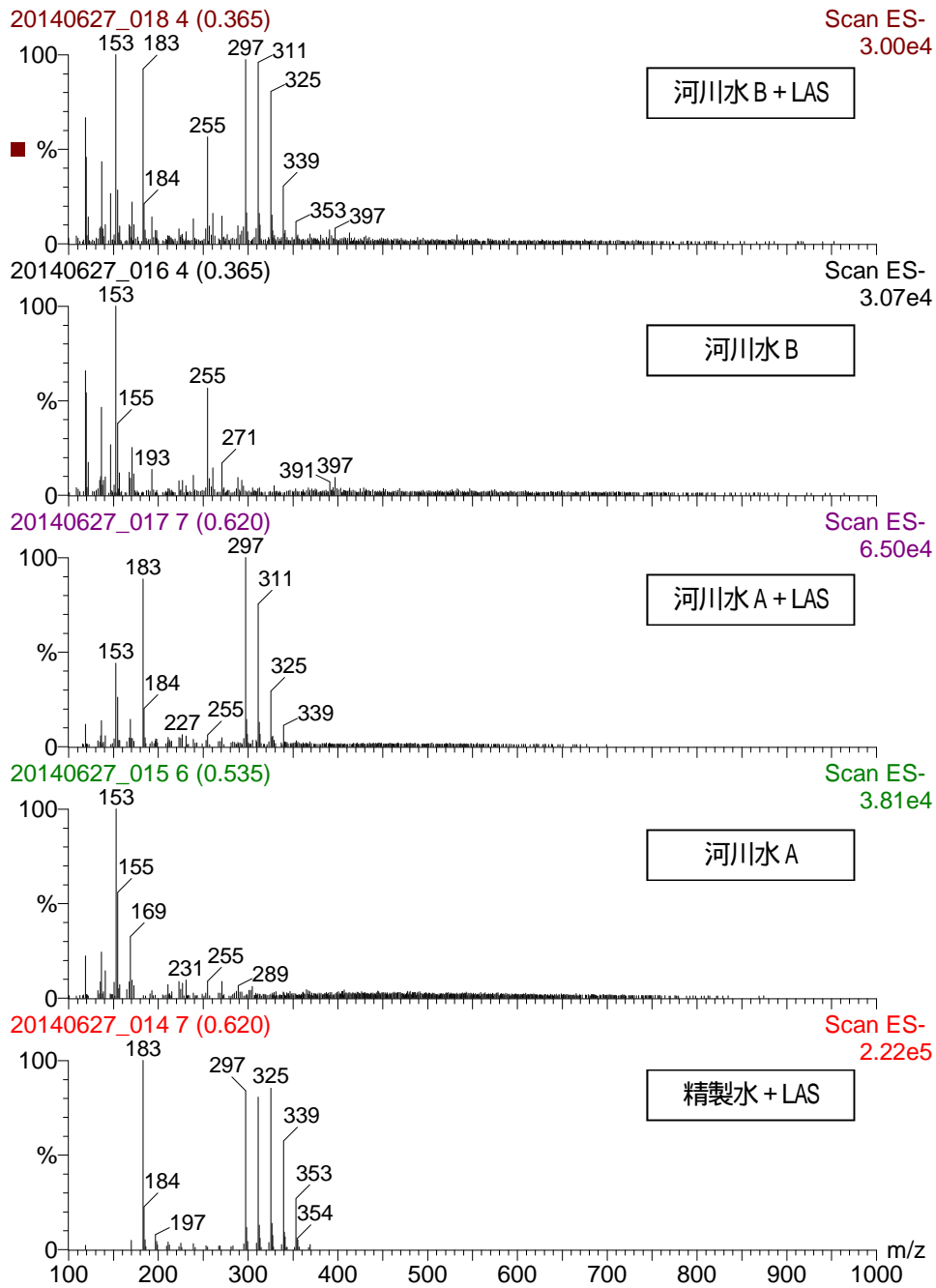


図4-4 . 市販の洗剤を河川水にLAS (C10-C14) 添加した時のFIA-MS のESI スペクトル
 河川水:フレッシュ度50%, LAS 添加濃度:1 mg/L

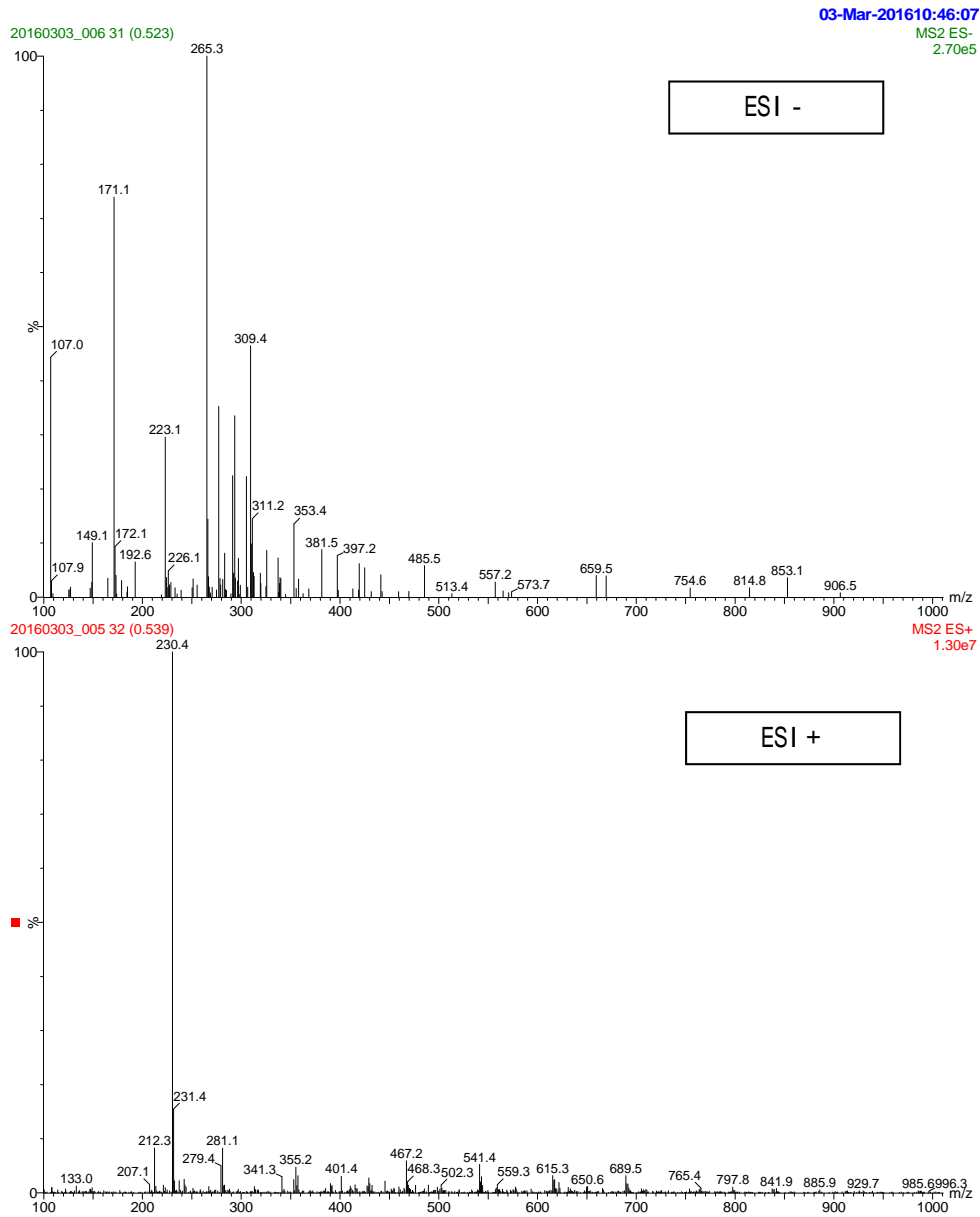


图4-5 . 市販の家庭用洗剤のFIA-MSのESIスペクトル
家庭用洗剤の濃度：10 mg/L , 成分表示 (31% , AO , AES , POE , AS)

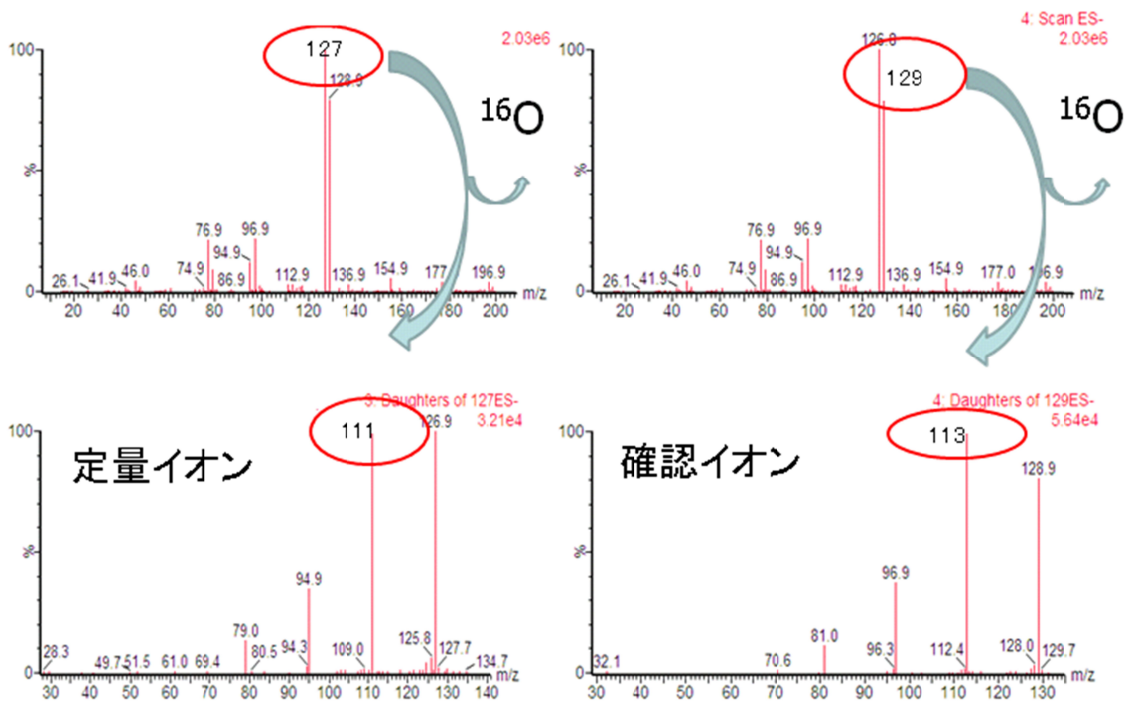


図5-1 臭素酸イオンのMS/MS スペクトル

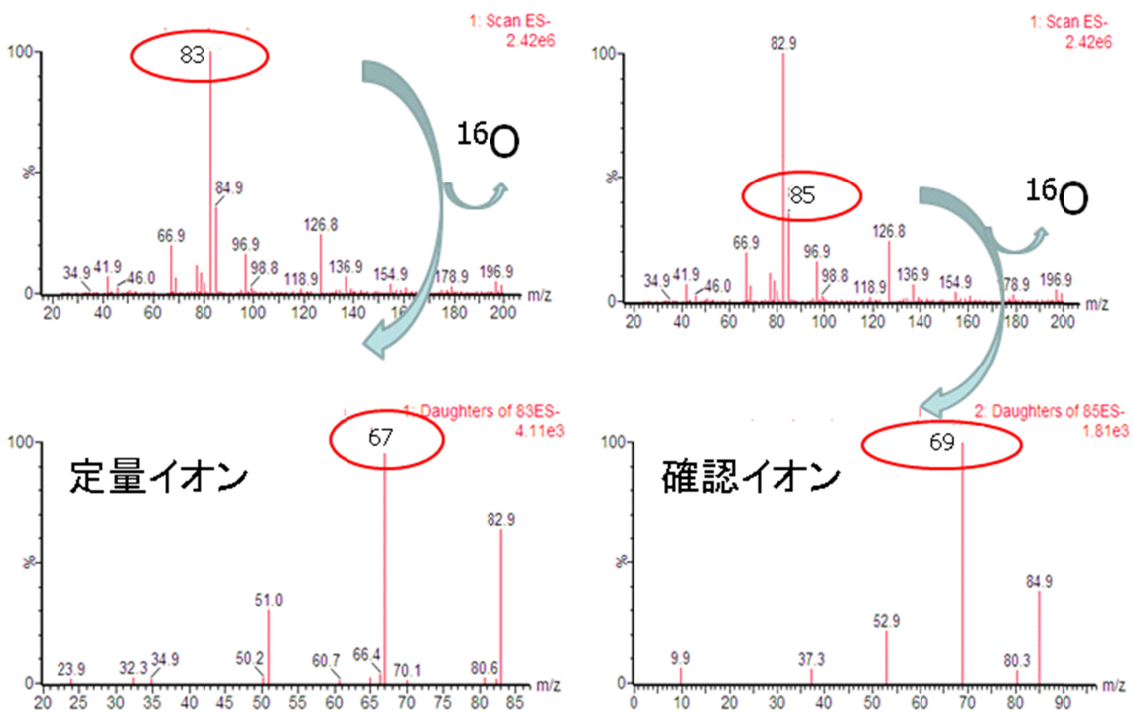


図5-2 塩素酸イオンのMS/MS スペクトル

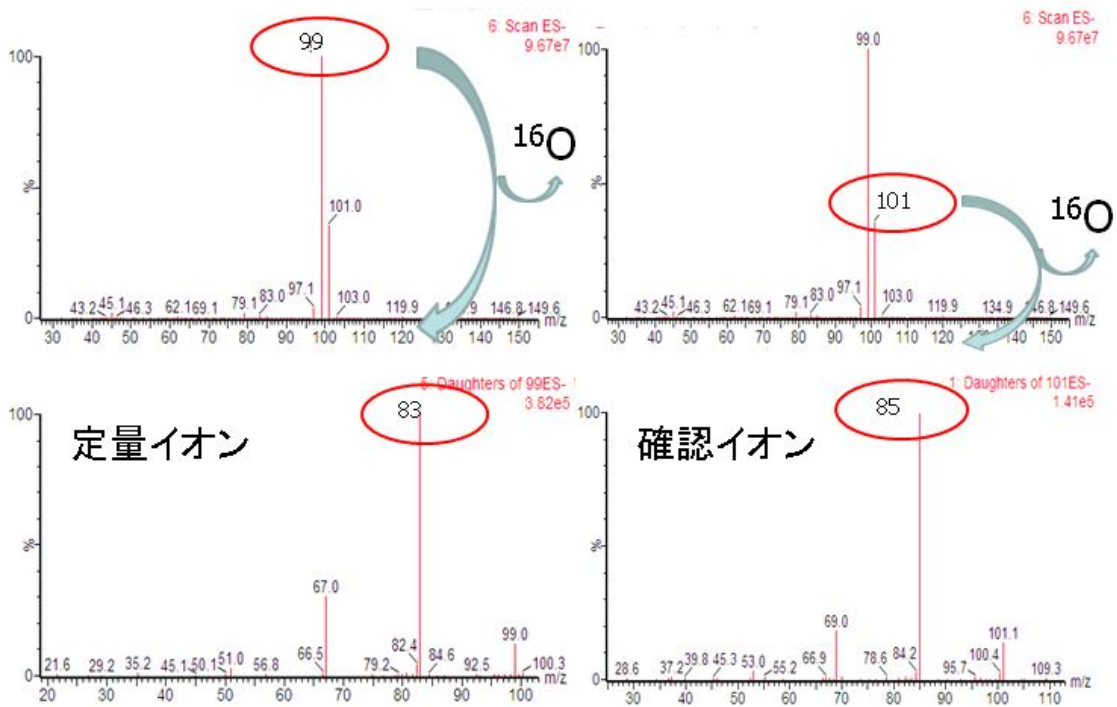


図5-3 過塩素酸イオンのMS/MS スペクトル

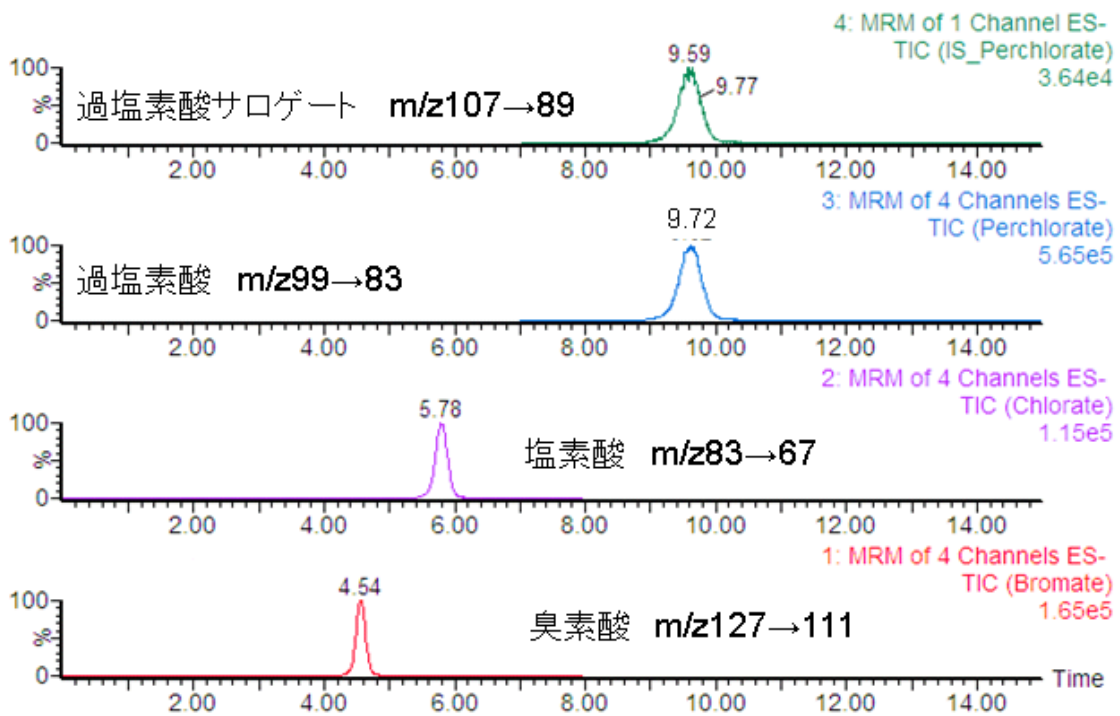


図5-2 臭素酸、塩素酸および過塩素酸イオンのLC-MS/MS クロマトグラム

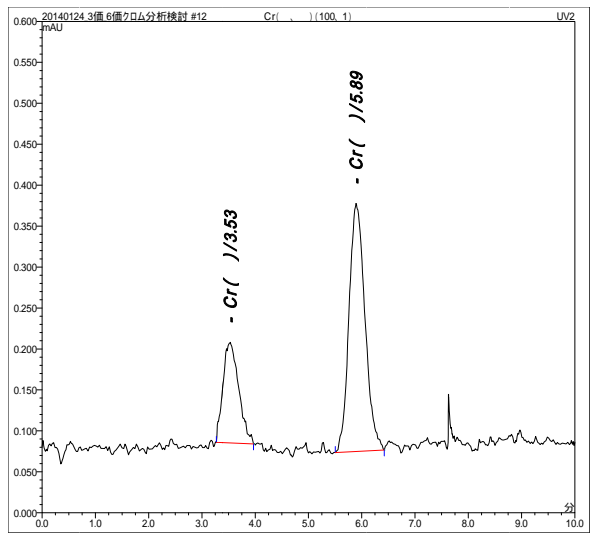


図6-1. Cr(VI) 100 µg/L、Cr(VI) 1 µg/L の混合液のクロマトグラム

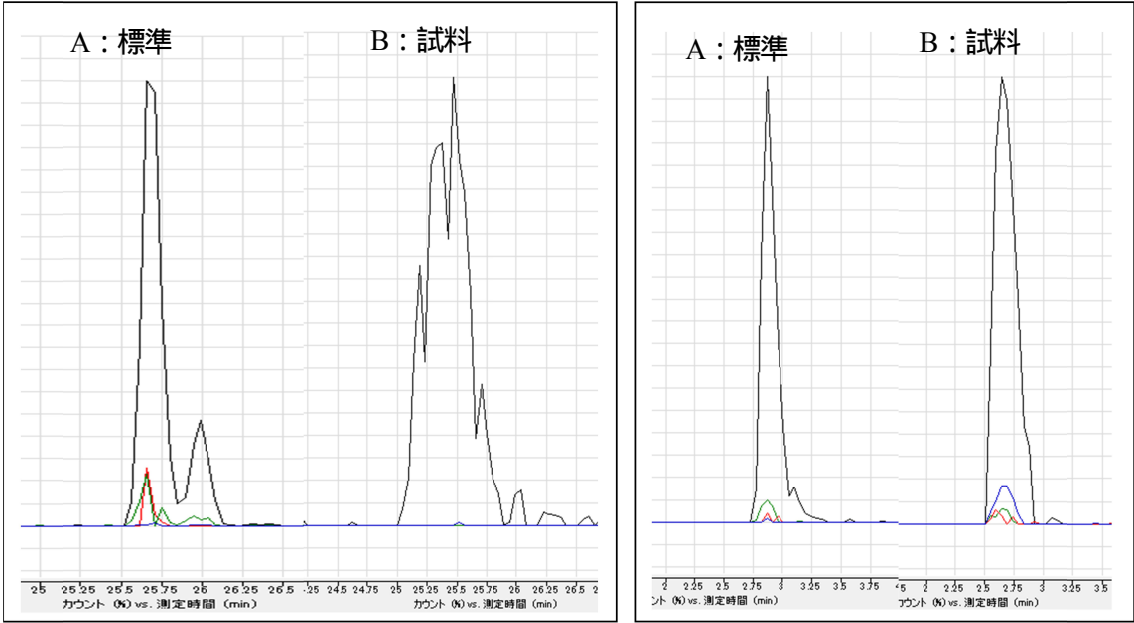


図8-1. インソースフラグメントイオンによる誤検出の例 (Siduron) (左)

図8-2. インソースフラグメントイオンによる検出の例 (Metformin) (右)

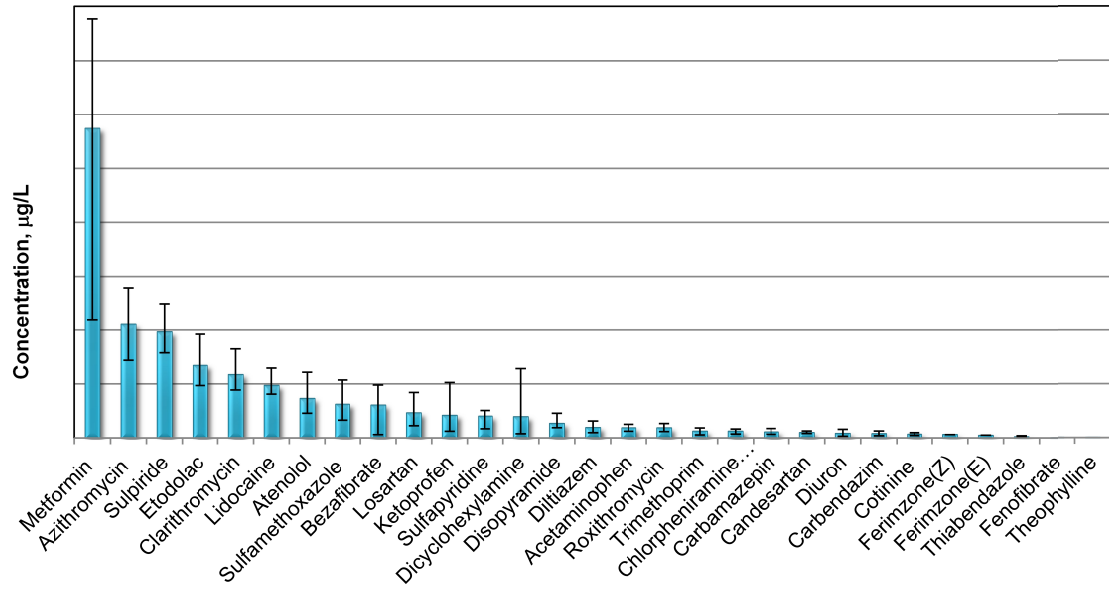


図8-3. 北九州市内の5下水処理場での検出物質