

— 博士論文 —

液体クロマトグラフィー/タンデム型質量
分析法による水道水試料中微量成分の
高感度迅速分析技術の開発

Development of rapid and sensitive analytical method for
trace components in drinking water samples by liquid
chromatography / tandem mass spectrometry

2018 年 3 月

古川 浩司

(目次)

第1章 緒言	6
1.1. はじめに	7
1.2. 水道法	11
1.2.1. 水道法の概要	11
1.2.2. 水道異質基準値, 目標管理設定項目及び要検討項目	11
1.3. 水道法水質基準項目の公定法(告示法及び標準検査法)	18
1.4. 迅速分析法の定義と利点	21
1.5. 液体クロマトグラフィー/タンデム型質量分析法	22
1.5.1. はじめに	22
1.5.2. 高速液体クロマトグラフィー	23
1.5.3. 質量分析法	27
1.6. 本研究の検討された分析手法の妥当性評価方法	39
1.7. 本研究の目的	40
参考文献	42
第2章 LC/MS/MSによる水道原水中のトリブチルスズ及びトリフェニルスズ分析法	50
2.1. 緒言	51
2.2. 方法	54
2.2.1. 標準液の調製方法	54
2.2.2. LC/MS/MS装置及び測定条件の検討手順	54
2.2.3. 添加回収試験の前処理方法	55
2.3. 結果及び考察	57
2.3.1. LC/MS/MS測定条件の検討結果及び考察	57
2.3.1.1. プリカーサイオン(M1)の検討	57
2.3.1.2. プロダクトイオン(M2)の検討	61
2.3.1.3. 分離カラム及び移動相の検討	62
2.3.1.4. 検量線の直線性, 変動係数, 装置検出, 装置定量下限値算出	62
2.3.2. 海水を用いた添加回収試験	68
2.3.3. 分析方法検出下限値及び定量下限値の算出	70
2.4. まとめ	70
参考文献	71

第3章 LC/MS/MS による水道原水中のアニリン迅速分析法	74
3. 1. 緒言	75
3. 2. 方法	78
3. 2. 1. 試薬	78
3. 2. 2. LC/MS/MS 測定条件の最適化	78
3. 2. 3. 検量線（直線性の確認）並びに変動係数，定量下限値及び RSD の算出	79
3. 2. 4. 試料の前処理法	79
3. 2. 5. 添加回収試験	80
3. 3. 結果及び考察	81
3. 3. 1. LC/MS/MS 測定条件の検討	81
3. 3. 1. 1. プリカーサイオンの最適化	81
3. 3. 1. 2. プロダクトイオンの最適化	82
3. 3. 2. アニリン-d5 の内部標準物質への適合性	86
3. 3. 3. 検量線（直線性）、定量下限値及び RSD（並行精度）	87
3. 3. 4. 本分析法による環境試料への添加回収試験結果と GC/MS 法との比較	88
3. 4. まとめ	90
参考文献	91
第4章 内部標準物質を用いた LC/MS/MS による水道水中の陰イオン界面活性剤分析	94
4. 1. 緒言	95
4. 2. 研究方法	97
4. 2. 1. 試薬	97
4. 2. 2. 試験液の調製	97
4. 2. 3. LC/MS/MS 測定条件	99
4. 2. 4. 分析条件の最適化	100
4. 2. 4. 1. LAS 測定強度とカルシウム硬度の相関関係の検討	100
4. 2. 4. 2. 内部標準物質の検討	100
4. 2. 4. 3. LAS 標準液の検量線，定量下限値及び RSD（併行精度）	100
4. 2. 4. 4. 添加回収試験	100
4. 2. 4. 5. 妥当性評価	101
4. 3. 結果と考察	102
4. 3. 1. LAS 測定におけるイオンサプレッションとカルシウムの関係	102
4. 3. 2. 内部標準物質の検討	104
4. 3. 3. LAS 標準液のピーク形状，検量線及び定量下限値	106

4. 3. 4. 水道水及び原水の添加回収試験	108
4. 3. 5. 本分析法の水道水への適用	111
4. 4. まとめ	112
参考文献	113
第5章 LC/MS/MS による水道水中のテフリルトリオン分析法	114
5. 1. 緒言	115
5. 2. 研究の方法	116
5. 2. 1. 試薬	116
5. 2. 2. 試料の調整方法と測定条件の検討	116
5. 2. 3. 添加回収試験及び妥当性評価	117
5. 3. 結果と考察	118
5. 3. 1. LC/MS/MS 測定条件の検討	118
5. 3. 1. 1. プリカーサイオンの検討	118
5. 3. 1. 2. プロダクトイオンの検討	119
5. 3. 1. 3. 検量線, 変動係数, 装置検出及び定量下限値の算出	120
5. 3. 2. 本分析法の水道水への適用	122
5. 4. まとめ	124
参考文献	125
第6章 マルチモードカラムを用いた LC/MS/MS による水道水中の臭素酸分析法	126
6. 1. 緒言	127
6. 2. 研究の方法	129
6. 2. 1. 試薬	129
6. 2. 2. 測定方法及び条件	129
6. 2. 3. 検量線の作成	130
6. 2. 4. 添加回収試験	130
6. 3. 結果と考察	131
6. 3. 1. LC 部の測定条件の検討	131
6. 3. 2. MS/MS 測定条件の検討	131
6. 3. 3. 検量線と定量下限値	134
6. 3. 4. 臭素酸と共存物質のピーク分離の確認	135
6. 3. 5. 水道水への添加回収試験と妥当性評価	137
6. 4. まとめ	139

参考文献	140
第7章 LC/MS/MS による水道水中の塩素酸分析法の検討	142
7.1. 緒言	143
7.2. 研究の方法	144
7.2.1. 試薬	144
7.2.2. 試験液の調製	144
7.2.3. LC/MS/MS 測定条件及び試料濃度の算出方法	146
7.2.4. 塩素酸標準液の検量線, 併行精度 (RSD) 及び試料定量下限値の算出	146
7.2.5. 塩素酸と共存物質のピーク分離の確認	146
7.2.6. 添加回収試験と妥当性評価	146
7.3. 結果と考察	147
7.3.1. 塩素酸標準液の検量線の直線性	147
7.3.2. 塩素酸標準液繰返し測定による併行精度 (RSD) と試料定量下限値	148
7.3.3. 共存物質の分離状況	148
7.3.4. 添加回収試験による妥当性評価	149
7.3.5. 実試料による塩素酸の選択性	151
7.4. まとめ	153
参考文献	154
第8章 LC/MS/MS による水道原水中の臭化物イオン分析法	156
8.1. 緒言	157
8.2. 研究の方法	159
8.2.1. 試薬	159
8.2.2. 測定方法及び条件	159
8.2.3. 添加回収試験	160
8.3. 結果及び考察	161
8.3.1. 臭化物イオンと共存物質とのピーク分離の確認	161
8.3.2. 臭化物イオンの定量イオン	162
8.3.3. 検量線並びに変動係数, 装置検出及び定量下限値の算出	163
8.3.4. 添加回収試験及び妥当性評価	164
8.4. まとめ	165
参考文献	166

第9章 結言	168
本論文に対する関連主要論文及び参考論文	174
謝辞	178

第 1 章 緒言

1. 1. はじめに

水道水は、高度に発展した都市施設として、日常生活、産業活動、医療用水などに必要不可欠な存在であり、受益者の健康、生活に直接大きな影響を及ぼす最も重要なライフラインの1つである。

この重要なライフラインである水道水の安全を確保するため、国（主に厚生労働省）、研究機関（国立医薬品食品衛生研究所や大学など）、都道府県（衛生研究所等を含む）、水道事業者（市町村や民間の専用水道事業者）、水質検査登録機関（水質検査を行おうとする者は水道法¹⁾第20条第3項の規定に基づき厚生労働大臣の登録を受ける必要がある：平成29年10月現在264機関）の各々の関係機関が各々の役割を果たしながら連携が図られている。

ところで、水道水は自然界を循環している環境水（河川水、表流水、伏流水、地下水）を原水とし、水道事業者等によって図1-1に示した処理工程による浄化を行うことで、各家庭や事業所等に供給されている²⁾。

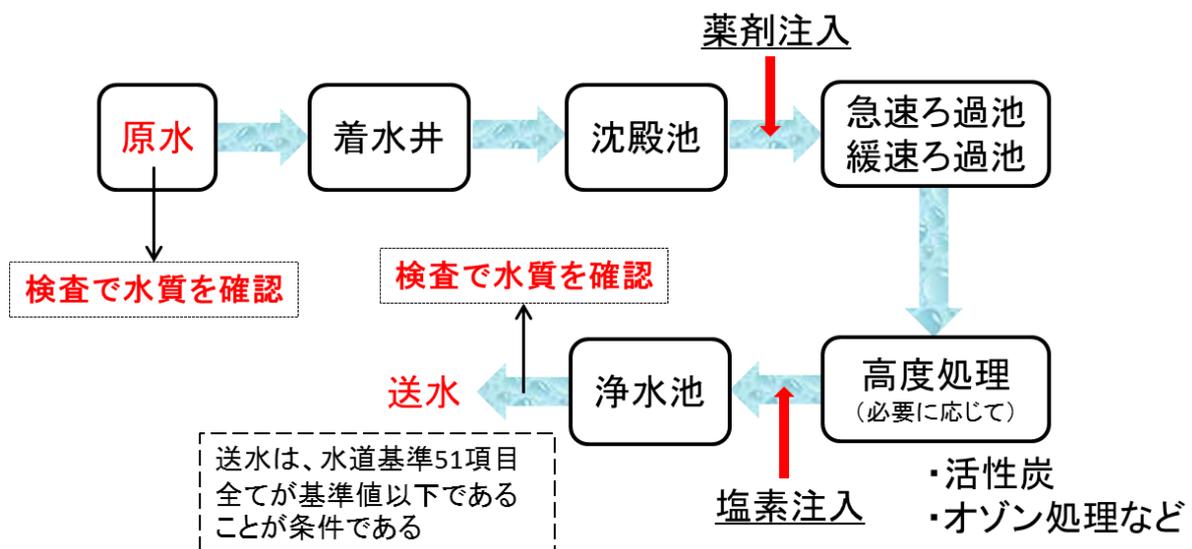


図1-1 浄水場における処理フロー

水道事業者等にとって、安全かつ清浄な水の供給を確保することは、最も基本的な義務であり、これを常時確保するため状況に即応した水質の管理が不可欠であることから、水道法によって、水道水が水質基準に適合するかどうかを判断するための水道水質の定期及び臨時の検査を水道事業者に義務づけている¹⁾。

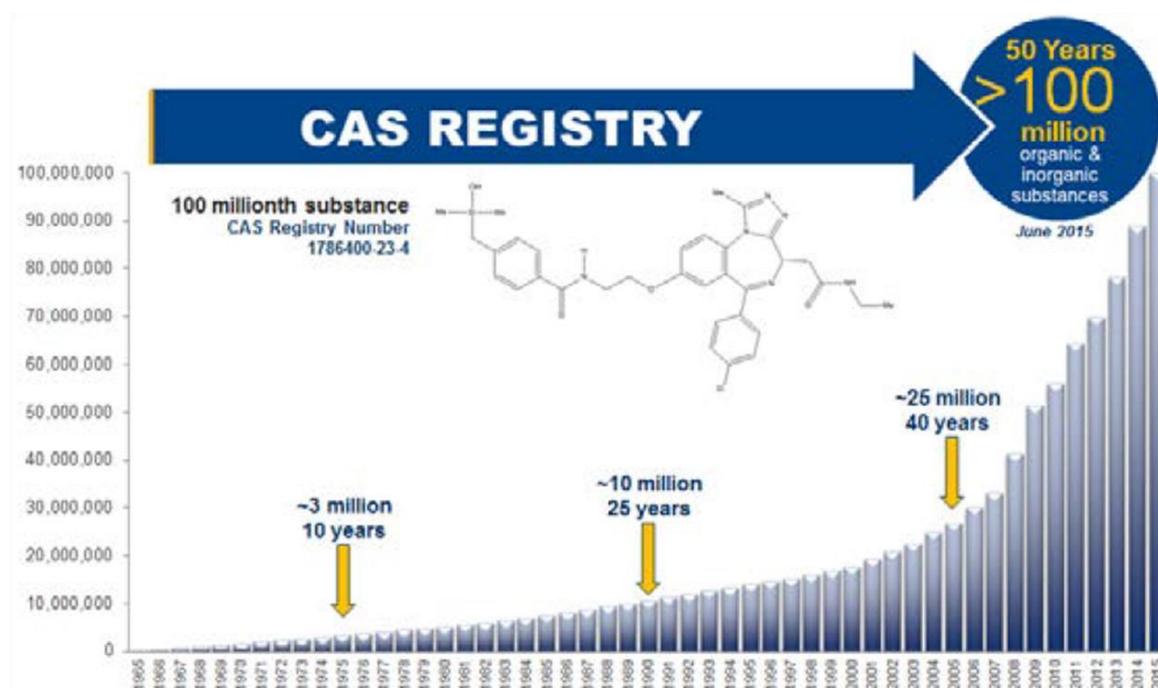
水道事業者等が水道水の安全と品質を確保するには、適切な条件（薬剤注入量や高度処理の選択など）で水道原水を処理する必要がある。また、水道により供給される水の水質

は、水源の水質の変動、使用水量の変動等に伴い変化することがあることから、定期的な水質検査は、水質を把握して処理工程を管理することやその異常を発見するためにも重要な工程であるとされている³⁾。

しかしながら、今日、安全な水道水質を確保するための国内の水質検査の実施体制について、以下の問題点が指摘されている。

(1) 水道水源汚染物質の拡大

世界的に登録される化学物質の数は、年々、爆発的に増加しており、2015年6月には化合物のCAS番号(ケミカル・アブストラクト・サービス: Chemical Abstracts Service)が1億件を超えた(図1-2参照。引用: CASプレスリリース⁴⁾)。このことは、様々な市場に新たな化合物が流通していることを意味し、同時に、未知なる有害性を有した化合物による水道原水の環境汚染リスクが高まることが予想される。



出展: CAS (Chemical Abstracts Service)の Media Releases⁴⁾より

図1-2 CAS REGISTRYの50年間の伸び

実際、新たに開発されるテフリトリオンなどの農薬による水道原水汚染も問題化されている⁵⁻⁷⁾。

また、平成24年5月に発生した霞ヶ浦水源の処理困難物質によるホルムアルデヒドの水道基準値の超過による大規模な取水停止の事象が発生している⁸⁻¹¹⁾。なお、この汚染事故について、霞ヶ浦水源流域関連の水道事業者により広域的な検査体制が構築され

ていたことから、幸運にも利用者の健康被害が発生する前に事態を收拾することができた。しかし、ホルムアルデヒドは、水道法上年に4回の検査しか義務づけられていないことから^{3,12)}、もし、他の水源で同様の汚染事故が発生した場合、見過ごされた可能性が高い。さらに、汚染事故当時、水道法で定められた水道水中のホルムアルデヒド分析法¹³⁾は、前処理時間が要する誘導化-ガスクロマトグラフ質量分析法（以下、「GC/MS法」と略）のみであり、ホルムアルデヒドの水質検査に時間を要することから、汚染事故時の迅速な対応に課題が残った。このため、小林らはこの汚染事故の課題に対応するため、液体クロマトグラフ（液体クロマトグラフ質量分析法など）を使用したホルムアルデヒドの迅速分析法¹⁴⁾を開発し、平成28年度より水道水の告示法に追加されている¹³⁾。



出典：リスクマネジメント最前線¹¹⁾

図 1-3 産業廃棄物処理業者と影響を受けた利根川水系の浄水施設の位置関係

さらに、近年では、テロによる水道水源の汚染の危険性が懸念されており、健康影響のリスクの高い新たな化合物の検査方法の確立や分析法の迅速化が求められている。

(2) 迅速なシステムフィードバック手法の開発の要求

水道水の処理過程（特に次亜塩素酸ナトリウムによる消毒）で発生する消毒副生成物等を抑制するには、実際に処理フロー内の水質の状況を把握し、処理システムのフィードバックする必要がある。このため、水質を迅速に把握できる高精度な分析手法の開発が求められている。

例えば、飲料原水中に臭化物イオンが含まれている場合、オゾン処理により飲料水中に発がん性を指摘されている臭素酸¹⁵⁾を生成する可能性がある¹⁶⁻¹⁷⁾。このため、水道処理事業者からは、水道水源の臭化物イオンと処理水の臭素酸を低濃度まで迅速に測定可能な分析法の確立が求められている。実際、2016年10月、山梨県で製造されたペットボトルの水から基準値を超える臭素酸が検出され、食品衛生法違反に基づき回収命令が出された事例がある¹⁸⁾。

(3) 水道事業体の厳しい予算状況

水道水を供給する水道事業体の予算と人員は、人口減による水需要の減少と老朽化した水道管の更新費用の増加を理由に、年々、削減を求められている。この予算と人員の削減は、水道事業の業務の中で、安全な水道水質を確保するために必要な水質検査に関する予算と人員を削減することで対応する傾向にある。この削減傾向は、今後も促進していくことが予想されている。このため、水道事業体は、限られた予算と人員で効率的に水質検査を行う必要があり、精度が高く効率的な迅速分析法を求めている¹⁹⁾。

(4) 熟練分析技術者の不足と分析料金単価の低価格化

近年、厚生労働省水道登録機関を中心とした分析機関では、分析技術者の熟練不足が懸念されている。これは、水道検査を含む環境分析市場の競争が激しく、受託分析単価が著しく低下しており、その結果、分析技術者に行う教育訓練の資金が回せない悪循環から抜け出せない状態の分析機関が増加しているためである。例えば、一般的な有機スズ化合物やアニリンなどで使用される分析法は、熟練な分析技術者が行わないと正確な定量が難しい前処理工程が採用されている。

このため、熟練分析技術を持たない分析者でも水道水の正確な定量が可能であり、作業効率性が良い分析方法の開発が求められている。

以上のように、現在の日本の水道水の安全な水質確保するためには、上述の課題が解決できる迅速な分析法の開発が重要である。

本章では、本研究で関連する水道法（概要と基準値等：1.2 節）、水道告示法（1.3 節）、迅速分析法（1.4 節）、液体クロマトグラフィー／タンデム型質量分析法（1.5 節）について、その概要を解説し、1.6 節で本研究の目的を述べる。

1. 2. 水道法

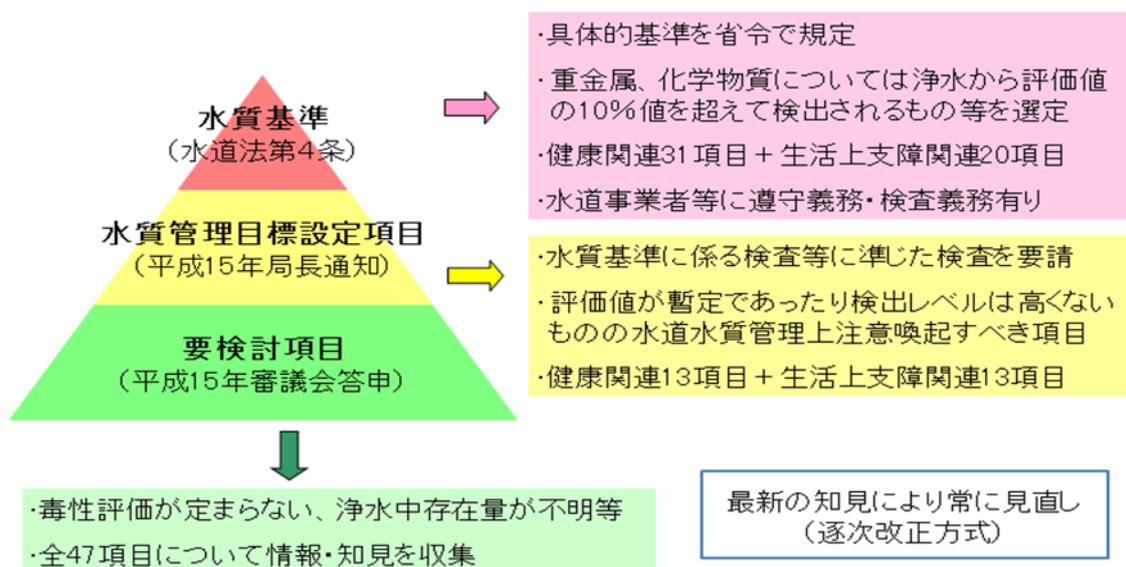
1. 2. 1. 水道法の概要

水道法¹⁾は、水道（上水道）事業について定める厚生労働省管轄の法律であり、水道の布設及び管理を適切かつ合理的ならしめるとともに、水道を計画的に整備し、及び水道事業を保護育成することによって、清浄にして豊富低廉な水の供給を図り、もって公共衛生の向上と生活環境の改善に寄与することを目的として制定されている。

また、国及び地方公共団体は、水道が国民の日常生活に直結し、その健康を守るために欠くことのできないものであり、かつ、水が貴重な資源であることにかんがみ、水源及び水道施設並びにこれらの周辺の清潔保持並びに水の適正かつ合理的な使用に関し必要な施策を講じなければならないとされている。さらに、国民は、前項の国及び地方公共団体の施策に協力するとともに、自らも、水源及び水道施設並びにこれらの周辺の清潔保持並びに水の適正かつ合理的な使用に努めなければならないとされている。

1. 2. 2. 水道異質基準値，目標管理設定項目及び要検討項目

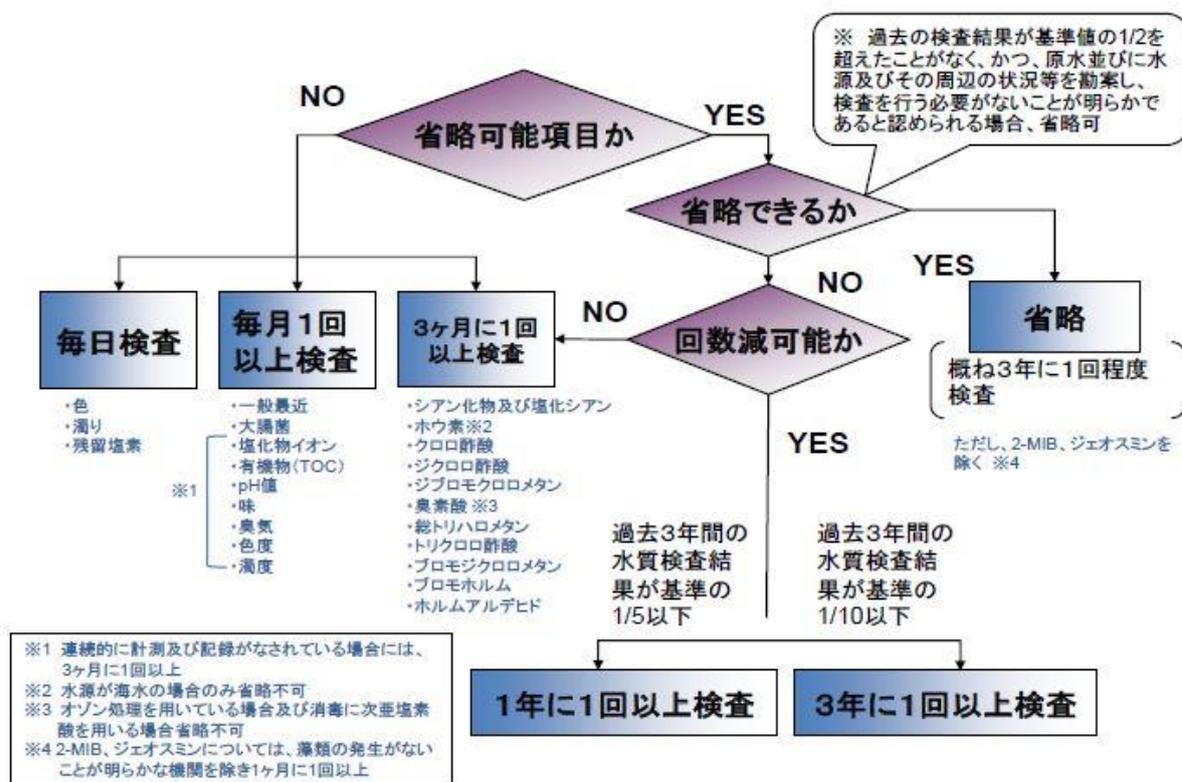
水道水は、水道水質の安全性を確保するため、水道法に基づく「水道水質基準」と「水質管理目標設定項目」及び「要検討項目」の3段階の категорияが階層的に定められている（図1-4参照）。また、これらの項目は、全国の水質検査結果や最新の科学的知見によって逐次見直しが行われている（逐次改正）。さらに、水道事業者は、水質基準項目等の検査について、水質検査計画を事前に策定し需要者に情報提供することを義務付けられている。



出典：厚生労働省 HP より²⁰⁾

図1-4 水道水質基準等について

水道法第4条に基づく「水道水質基準」は、水質基準に関する省令（平成15年5月30日厚生労働省令第101号²¹⁾）によって、現在、51項目毎に基準値が定められている（表1-1参照）。水道事業者が提供する水道水は、この水質基準に適合する必要があることから、水道事業者には、水道法により、定期的な水質検査が義務づけられている（図1-5参照）。



出展：平成22年度 第1回水質検査の信頼性確保に関する取組検討会配布資料³⁾

図1-5 水質検査の頻度減・省略の判断フロー

この省令²¹⁾で定められた水道水質基準の51項目は、大きく2つに分類される。

1つは、一般細菌、カドミウム、水銀、鉛、トリハロメタンなど、人の健康に悪影響を与えないよう設定された「健康に関する項目」（31項目：表1-1の黄色の部分）である。もう1つは、鉄、ナトリウム、カルシウム、かび臭物質、色、濁り、味、臭気など生活上の障害がないよう設定された「性状に関する項目（生活上支障関連項目）」（20項目：表1-1の青色の部分）である。

なお、人の健康への影響に関する基準値は、「急性毒性（一時的に多量に摂取することによる障害）」「慢性毒性（長期間摂取することにより次第に現れる障害）」「発ガンの危険性」などのリスク管理である。これらの対象物質は、動物実験の結果などから得られた、物質ごとの一日許容摂取量（TDI）を元に基準値が定められている。水質基準値は、このTDIを用いて、生涯にわたって飲み続けても健康に影響のない許容濃度（体重50kgの成人が1日2Lの水を飲んでも問題が発生しない）を計算して水質基準が定められている。

表 1-1 水質基準項目と基準値（51 項目）

項目	基準	項目	基準
一般細菌	1mlの検水で形成される集落数が100以下	総トリハロメタン	0.1mg/L以下
大腸菌	検出されないこと	トリクロロ酢酸	0.03mg/L以下
カドミウム及びその化合物	カドミウムの量に関して、0.003mg/L以下	ブロモジクロロメタン	0.03mg/L以下
水銀及びその化合物	水銀の量に関して、0.0005mg/L以下	ブロモホルム	0.09mg/L以下
セレン及びその化合物	セレンの量に関して、0.01mg/L以下	ホルムアルデヒド	0.08mg/L以下
鉛及びその化合物	鉛の量に関して、0.01mg/L以下	亜鉛及びその化合物	亜鉛の量に関して、1.0mg/L以下
ヒ素及びその化合物	ヒ素の量に関して、0.01mg/L以下	アルミニウム及びその化合物	アルミニウムの量に関して、0.2mg/L以下
六価クロム化合物	六価クロムの量に関して、0.05mg/L以下	鉄及びその化合物	鉄の量に関して、0.3mg/L以下
亜硝酸態窒素	0.04mg/L以下	銅及びその化合物	銅の量に関して、1.0mg/L以下
シアン化物イオン及び塩化シアン	シアンの量に関して、0.01mg/L以下	ナトリウム及びその化合物	ナトリウムの量に関して、200mg/L以下
硝酸態窒素及び亜硝酸態窒素	10mg/L以下	マンガン及びその化合物	マンガンの量に関して、0.05mg/L以下
フッ素及びその化合物	フッ素の量に関して、0.8mg/L以下	塩化物イオン	200mg/L以下
ホウ素及びその化合物	ホウ素の量に関して、1.0mg/L以下	カルシウム、マグネシウム等(硬度)	300mg/L以下
四塩化炭素	0.002mg/L以下	蒸発残留物	500mg/L以下
1,4-ジオキサン	0.05mg/L以下	陰イオン界面活性剤	0.2mg/L以下
シス及びトランス-1,2-ジクロロエチレン	0.04mg/L以下	ジェオスミン	0.00001mg/L以下
ジクロロメタン	0.02mg/L以下	2-メチルイソボルネオール	0.00001mg/L以下
テトラクロロエチレン	0.01mg/L以下	非イオン界面活性剤	0.02mg/L以下
トリクロロエチレン	0.01mg/L以下	フェノール類	フェノールの量に換算して、0.005mg/L以下
ベンゼン	0.01mg/L以下	有機物(全有機炭素(TOC)の量)	3mg/L以下
塩素酸	0.6mg/L以下	pH値	5.8以上8.6以下
クロロ酢酸	0.02mg/L以下	味	異常でないこと
クロロホルム	0.06mg/L以下	臭気	異常でないこと
ジクロロ酢酸	0.03mg/L以下	色度	5度以下
ジブロモクロロメタン	0.1mg/L以下	濁度	2度以下
臭素酸	0.01mg/L以下	(空白)	(空白)

また、図 1-4 に示した通り、水質基準 51 項目以外にも、水質管理上留意すべき項目である水質管理目標設定項目（表 1-2～4：農薬類を含む 26 項目）や、毒性評価が定まらない物質や水道水源や水道水中検出実態が明らかでない項目である要検討項目（表 1-5）を明確に位置づけ、継続的に情報・知見の収集が進めている²⁰⁾。

表 1-2 水質管理目標設定項目と目標値（26 項目）

項目	目標値	項目	目標値
アンチモン 及びその化合物	アンチモンの量に関して、0.02mg/L 以下	マンガン 及びその化合物	マンガンの量に関して、0.01mg/L 以下
ウラン 及びその化合物	ウランの量に関して、0.002mg/L 以下（暫定）	遊離炭酸	20mg/L 以下
ニッケル 及びその化合物	ニッケルの量に関して、0.02mg/L 以下	1,1,1-トリクロロエタン	0.3mg/L 以下
1,2-ジクロロエタン	0.004mg/L 以下	メチル-t-ブチルエーテル	0.02mg/L 以下
トルエン	0.4mg/L 以下	有機物等（過マンガン酸カリウム消費量）	3mg/L 以下
フタル酸ジ(2-エチルヘキシル)	0.08mg/L 以下	臭気強度（TON）	3 以下
亜塩素酸	0.6mg/L 以下	蒸発残留物	30mg/L 以上 200mg/L 以下
二酸化塩素	0.6mg/L 以下	濁度	1 度以下
ジクロロアセトニトリル	0.01mg/L 以下（暫定）	pH 値	7.5 程度
抱水クロラール	0.02mg/L 以下（暫定）	腐食性 （ランゲリア指数）	-1 程度以上とし、極力 0 に近づける
農薬類（注）	検出値と目標値の比の和として、1 以下	従属栄養細菌	1mL の検水で形成される集落数が 2,000 以下（暫定）
残留塩素	1mg/L 以下	1,1-ジクロロエチレン	0.1mg/L 以下
カルシウム、マグネシウム等（硬度）	10mg/L 以上 100mg/L 以下	アルミニウム 及びその化合物	アルミニウムの量に関して、0.1mg/L 以下

表 1-3 水質管理目標設定項目（農薬類）と目標値 その 1

項目	目標値 (mg/L)	項目	目標値 (mg/L)
1,3-ジクロロプロベン (D-D)	0.05	カルプロパミド	0.04
2,2-DPA (ダラボン)	0.08	カルボフラン	0.005
2,4-D (2,4-PA)	0.03	キノクラミン (ACN)	0.005
EPN	0.004	キャプタン	0.3
MCPA	0.005	クミルロン	0.03
アシュラム	0.9	グリホサート	2
アセフェート	0.006	グルホシネート	0.02
アトラジン	0.01	クロメプロップ	0.02
アニロホス	0.003	クロルニトロフェン (CNP)	0.0001
アミラズ	0.006	クロルピリホス	0.003
アラクロール	0.03	クロロタロニル (TPN)	0.05
イソキサチオン	0.008	シアナジン	0.004
イソフェンホス	0.001	シアノホス (CYAP)	0.003
イソプロカルブ (MIPC)	0.01	ジウロン (DCMU)	0.02
イソプロチオラン (IPT)	0.3	ジクロベニル (DBN)	0.03
イプロベンホス (IBP)	0.09	ジクロルボス (DDVP)	0.008
イミノクタジン	0.006	ジクワット	0.005
インダノファン	0.009	ジスルホトン (エチルチオメトン)	0.004
エスプロカルブ	0.03	ジチアノン	0.03
エディフェンホス (EDDP)	0.006	ジチオカルバメート系農薬	0.005 (二硫化炭素として)
エトフェンブロックス	0.08	ジチオピル	0.009
エトリジアゾール (エクロメゾール)	0.004	シハロホップブチル	0.006
エンドスルファン (ベンゾエピン)	0.01	シマジン (CAT)	0.003
オキサジクロメホン	0.02	ジメタメトリン	0.02
オキシシン銅 (有機銅)	0.03	ジメトエート	0.05
オリサストロビン	0.1	シメトリン	0.03
カズサホス	0.0006	ジメピペレート	0.003
カフェンストロール	0.008	ダイアジノン	0.003
カルタップ	0.3	ダイムロン	0.8
カルバリル (NAC)	0.05	ダゾメット、メタム (カーバム) 及びメチルイソチオシアネート	0.01 (メチルイソチオシアネートとして)

表 1-4 水質管理目標設定項目（農薬類）と目標値 その2

項目	目標値 (mg/L)	項目	目標値 (mg/L)
チアジニル	0.1	ブプロフェジン	0.02
チウラム	0.02	フルアジナム	0.03
チオジカルブ	0.08	プレチラクロール	0.05
チオファネートメチル	0.3	プロシミドン	0.09
チオベンカルブ	0.02	プロチオホス	0.004
テフリルトリオン	0.002	プロピコナゾール	0.05
テルブカルブ (MBPMC)	0.02	プロピザミド	0.05
トリクロピル	0.006	プロベナゾール	0.05
トリクロルホン (DEP)	0.005	プロモブチド	0.1
トリシクラゾール	0.1	ベノミル	0.02
トリフルラリン	0.06	ペンシクロン	0.1
ナプロバミド	0.03	ベンゾピシクロン	0.09
パラコート	0.005	ベンゾフェナップ	0.005
ピペロホス	0.0009	ベンタゾン	0.2
ピラクロニル	0.01	ペンディメタリン	0.3
ピラゾキシフェン	0.004	ベンフラカルブ	0.04
ピラゾリネート (ピラゾレート)	0.02	ベンフルラリン (ベスロジン)	0.01
ピリダフェンチオン	0.002	ベンフレセート	0.07
ピリブチカルブ	0.02	ホスチアゼート	0.003
ピロキロン	0.05	マラチオン (マラソン)	0.7
フィプロニル	0.0005	メコプロップ (MCPP)	0.05
フェントロチオン (MEP)	0.01	メソミル	0.03
フェノブカルブ (BPMC)	0.03	メタラキシル	0.06
フェリムゾン	0.05	メチダチオン (DMTP)	0.004
フェンチオン (MPP)	0.006	メチルダイムロン	0.03
フェントエート (PAP)	0.007	メトミノストロピン	0.04
フェントラザミド	0.01	メトリブジン	0.03
フサライド	0.1	メフェナセット	0.02
ブタクロール	0.03	メブロニル	0.1
ブタミホス	0.02	モリネート	0.005

表 1-5 要検討項目と目標値

項目	目標値 (mg/L)	項目	目標値 (mg/L)
銀及びその化合物	-	フタル酸ブチルベンジル	0.5
バリウム及びその化合物	0.7	マイクロキスチン-LR	0.0008 (暫定)
ビスマス 及びその化合物	-	有機すず化合物 (TBT0)	0.0006 (暫定)
モリブデン及びその化合物	0.07	ブロモクロロ酢酸	-
アクリルアミド	0.0005	ブロモジクロロ酢酸	-
アクリル酸	-	ジブロモクロロ酢酸	-
17-β-エストラジオール	0.00008 (暫定)	ブロモ酢酸	-
エチニル-エストラジオール	0.00002 (暫定)	ジブロモ酢酸	-
エチレンジアミン四酢酸 (EDTA)	0.5	トリブロモ酢酸	-
エピクロロヒドリン	0.0004 (暫定)	トリクロロアセトニトリル	-
塩化ビニル	0.002	ブロモクロロアセトニトリル	-
酢酸ビニル	-	ジブロモアセトニトリル	0.06
2,4-トルエンジアミン	-	アセトアルデヒド	-
2,6-トルエンジアミン	-	MX	0.001
N,N-ジメチルアニリン	-	キシレン	0.4
スチレン	0.02	過塩素酸	0.025
ダイオキシン類	1pgTEQ/L (暫定)	パーフルオロオクタンスルホン酸 (PFOS)	-
トリエチレントトラミン	-	パーフルオロオクタン酸 (PFOA)	-
ノニルフェノール	0.3 (暫定)	N-ニトロソジメチルアミン (NDMA)	0.0001
ビスフェノールA	0.1 (暫定)	アニリン	0.02
ヒドラジン	-	キノリン	0.0001
1,2-ブタジエン	-	1,2,3-トリクロロベンゼン	0.02
1,3-ブタジエン	-	ニトリロ三酢酸 (NTA)	0.2
フタル酸ジ (n-ブチル)	0.01	(空白)	(空白)

1. 3. 水道法水質基準項目の公定法（告示法及び標準検査法）

法律等で定められている環境基準値や目標値には国などが定める専用の検査方法があり、それらの検査方法を、一般的に“公定法”と呼ばれている。

水道法が定める水道基準項目についても検査方法は定められており、表 1-6 及び 1-7 に示した通り、平成 15 年（最終改正：平成 28 年 3 月）に告示された「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」²⁰⁾（以下、「告示法」と略）にしたがって検査を行うことが義務づけられている。また、水質管理目標設定項目の検査については、図 1-6 に示した通り厚生労働省水道課長が通知する「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、別紙 4 水質管理目標設定項目の検査方法」（以下、「標準検査法」と略）²²⁾に準拠して検査を行うのは一般的である。ただし、水道水質基準とは異なり、分析精度²³⁾を担保した分析法であれば、独自の方法で検査を実施してもよいことになっている。一方、要検討項目の検査方法は定められておらず、文献等を参考に、水質検査を実施する機関が分析精度²³⁾を確保した独自の分析法で検査することになる。

なお、告示法及び標準検査法については、「水質検査技術の進歩は格段のものがあり、これらの技術革新を適切にとり入れていくことも必要である」、「水質検査技術の革新等に柔軟に対応できるようにするため、公定検査法以外であっても、これらと同等以上の方法と認められる検査方法については、これを積極的に公定検査法と認める柔軟なシステムを工夫することが必要である」²³⁾などの観点から、最新の科学的知見を踏まえて水質検査法について検討を行う必要があるとされている。このため、厚生労働省健康局水道課長が設置する「水道水質検査法検討会（水質検査の専門家で構成）」において検討後、随時、告示法及び標準検査法の改正や新規分析法の追加が行われている。

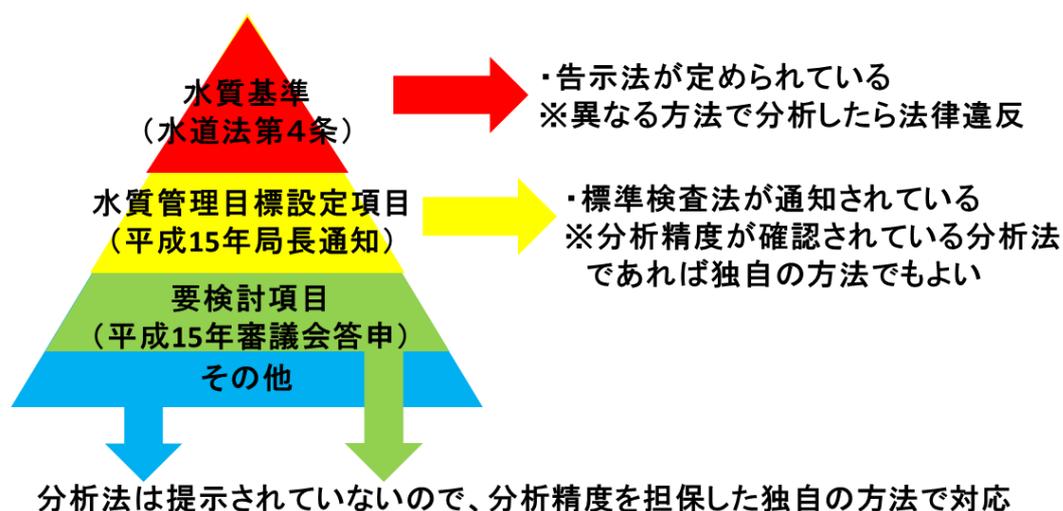


図 1-5 水道水質基準等と検査法の関係

表 1-6 水質基準項目と告示法 その 1

検査項目	告示法
一般細菌	検査方法告示の別表第1 標準寒天培地法
大腸菌	検査方法告示の別表第2 特定酵素基質培地法
カドミウム及びその化合物	検査方法告示の別表第5 誘導結合プラズマ発光分光分析法 検査方法告示の別表第6 誘導結合プラズマ-質量分析法 など
セレン及びその化合物	
鉛及びその化合物	
ヒ素及びその化合物	
六価クロム化合物	
ホウ素及びその化合物	
亜鉛及びその化合物	
アルミニウム及びその化合物	
鉄及びその化合物	
銅及びその化合物	
ナトリウム及びその化合物	
マンガン及びその化合物	
水銀及びその化合物	検査方法告示の別表第7 還元気化原子吸光度法
亜硝酸態窒素	検査方法告示の別表第13 イオンクロマトグラフ法
硝酸態窒素及び亜硝酸態窒素	
フッ素及びその化合物	
塩化物イオン	
塩素酸	検査方法告示の別表第16の2 イオンクロマトグラフ法
シアン化物イオン及び塩化シアン	検査方法告示の別表第12 イオンクロマトグラフ-ポストカラム吸光度法
臭素酸	検査方法告示の別表第18 イオンクロマトグラフ-ポストカラム吸光度法 検査方法告示の別表第18の2 液体クロマトグラフ-質量分析法
クロロ酢酸	検査方法告示の別表第17 溶媒抽出-誘導体化-ガスクロマトグラフ質量分析法 検査方法告示の別表第17の2 液体クロマトグラフ質量分析法
ジクロロ酢酸	
トリクロロ酢酸	
ホルムアルデヒド	検査方法告示の別表第19 溶媒抽出-誘導体化-ガスクロマトグラフ質量分析法 検査方法告示の別表第19の2 誘導体化-高速液体クロマトグラフ法 検査方法告示の別表第19の3 誘導体化-液体クロマトグラフ質量分析法

表 1-7 水質基準項目と告示法 その2

検査項目	告示法
陰イオン界面活性剤	検査方法告示の別表第24 固相抽出-高速液体クロマトグラフ法
非イオン界面活性剤	検査方法告示の別表第28 固相抽出-吸光光度法 検査方法告示の別表第28の2 固相抽出-高速液体クロマトグラフ法
フェノール類	検査方法告示の別表第29 固相抽出-誘導体化-ガスクロマトグラフ質量分析法 検査方法告示の別表第29の2 固相抽出-液体クロマトグラフ質量分析法
四塩化炭素	検査方法告示の別表第14 パージ・トラップ-ガスクロマトグラフ質量分析法 検査方法告示の別表第15 ヘッドスペース-ガスクロマトグラフ質量分析法
1,4-ジオキサン	
シス-1,2-ジクロロエチレン及び	
トランス-1,2-ジクロロエチレン	
ジクロロメタン	
テトラクロロエチレン	
トリクロロエチレン	
ベンゼン	
クロロホルム	
ジブロモクロロメタン	
総トリハロメタン	
ブロモジクロロメタン	
ブロモホルム	
1,4-ジオキサン	検査方法告示の別表第14 パージ・トラップ-ガスクロマトグラフ質量分析法 検査方法告示の別表第15 ヘッドスペース-ガスクロマトグラフ質量分析法 検査方法告示の別表第16 固相抽出-ガスクロマトグラフ質量分析法
ジェオスミン	検査方法告示の別表第25 パージ・トラップ-ガスクロマトグラフ質量分析法 検査方法告示の別表第26 ヘッドスペース-ガスクロマトグラフ質量分析法 検査方法告示の別表第27 固相抽出-ガスクロマトグラフ質量分析法 など
2-メチルイソボルネオール	
カルシウム、マグネシウム等 (硬度)	検査方法告示の別表第5 誘導結合プラズマ発光分光分析法 検査方法告示の別表第6 誘導結合プラズマ-質量分析法 検査方法告示の別表第22 滴定法 など
蒸発残留物	検査方法告示の別表第23 重量法
有機物(TOC)	検査方法告示の別表第30 全有機炭素計測法
pH	検査方法告示の別表第31 ガラス電極法など
味	検査方法告示の別表第33 官能法
臭気	検査方法告示の別表第34 官能法
色度	検査方法告示の別表第36 透過光測定法
濁度	検査方法告示の別表第41 積分球式光電光度法

1. 4. 迅速分析法の定義と利点

本論文では、迅速分析法を、従来の分析法（精密分析法）と比較して、前処理や測定工程が効率化または簡便化された分析法で、かつ、精密分析法と同等の精度と真度（回収率）を有する分析法と定義した。

近年、水道事業者が実施する水道法検査では、人口減による水需要の減少と老朽化した水道施設の更新費用の増加により、水質管理の為の予算・人員が削除されて続けており、水道水の安全を確保するためにも、より効率的な検査方法（迅速分析法）が求められている背景¹⁹⁾もあり、迅速分析法の需要が高まっている。また、迅速分析法は、抽出・精製工程を簡便できることから、従来の精密分析と比較して、低コストで結果が得られることも大きな利点である。このため、これまでの精密分析よりも水質検査の頻度を増加することも可能となり、水道水源及び水道水の水質をより正確に把握することが可能となる。

迅速分析法とよく似た表記で、スクリーニング分析法がある。スクリーニング分析法は、水道水や水源においえる汚染物質の網羅的な把握や汚染事故の迅速な検知などに使用されることが想定されていることから、水道事業者におけるスクリーニング分析法のニーズが非常に高く、様々な機関で検討が進められている。

スクリーニング分析法には、迅速分析法よりもより簡便で、かつ、幅広く物質に対応できることが求められていることから、精密分析や迅速分析ほど精度と真度（回収率）を要求されない。なお、精密分析、迅速分析及びスクリーニング分析の関係は、表 1-8 にまとめた。

表 1-8 精密分析、迅速分析及びスクリーニング分析の関係

分析手法	精密分析	迅速分析	スクリーニング分析
測定対象	×：1～数項目	○：1～数項目	◎：多成分
迅速性・簡便性 (測定時間)	×：1～数日以内	○：半日以内	◎：数時間以内
併行精度 (RSD%)	◎：無機物<10 ◎：有機物<20	◎：無機物<10 ◎：有機物<20	△：<50
真度 (回収率)	◎：70～130 %	◎：70～130 %	△：10～1000 %

1. 5. 液体クロマトグラフィー／タンデム型質量分析法

1. 5. 1. はじめに

現在、液体クロマトグラフィー／タンデム型質量分析法（liquid chromatography - tandem mass spectrometry；以下、「LC/MS/MS 法」と略；図 1-7 を参照）は、ガスクロマトグラフィー／質量分析法（以下、「GC/MS 法」と略）に変わり、水道・食品・製薬・環境・工業材料など様々な分野で、急速に幅広く普及してきている。

これは、GC/MS 法は測定対象試料を揮発性の有機溶媒、または、ガス状に変化させる必要があるのに対し、LC/MS/MS 法は、GC/MS 法と同様に有機溶剤で試料を導入するだけでなく、水溶性の試料を直接導入が可能である。このため、試料の転溶、抽出などの前処理工程が削減可能である（GC/MS 測定に必要な誘導化工程を省略することが可能な場合もある）。また、LC/MS/MS 装置の測定感度は、GC/MS 装置と比較すると 100～1000 倍程度高く、高感度分析が可能である（高感度分析が可能であることは、希釈のみ迅速な前処理で分析できることを意味する）。さらに、GC/MS 法の測定対象物質が 200℃付近で気化し、かつ、熱分解しない比較的分子量の化合物に限定されるのに対し、LC/MS/MS 法の測定対象物質は、図 1-8 に示した通り、極性から微極性で、比較的高分子量の化合物まで幅広く対応できる。この様に、測定対象が幅広い LC/MS/MS 法は、分析工程において最も作業効率が悪い前処理工程を簡素化が可能であり、分析工程全体の迅速化に大きく寄与できることから、様々な分野で本装置が急速に普及している。

LC/MS/MS 法の原理は、図 1-9 に示した通り、最初に液体クロマトグラフィーを用いて試料成分を相互分離し、質量分析計で 2 段階以上の質量分析を行うものである。そこで、以下の節では、高速液体クロマトグラフィーの概論、イオン化の概論、質量分析法の概論、イオン化の概論、LC/MS/MS 装置の概論の順に概説を行う。



図 1-7 LC/MS/MS 装置の外観 (Agilent 製)

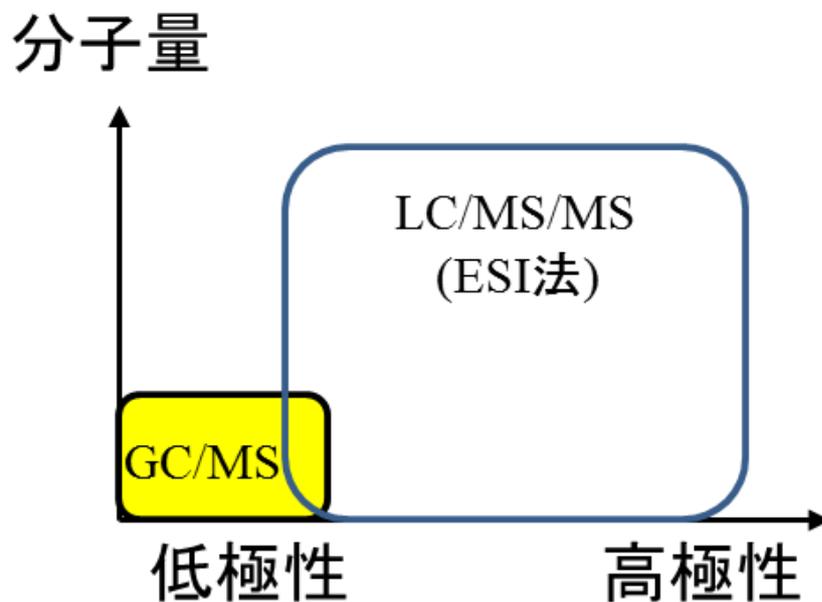


図 1-8 LC/MS/MS 及び GC/MS の測定適用範囲

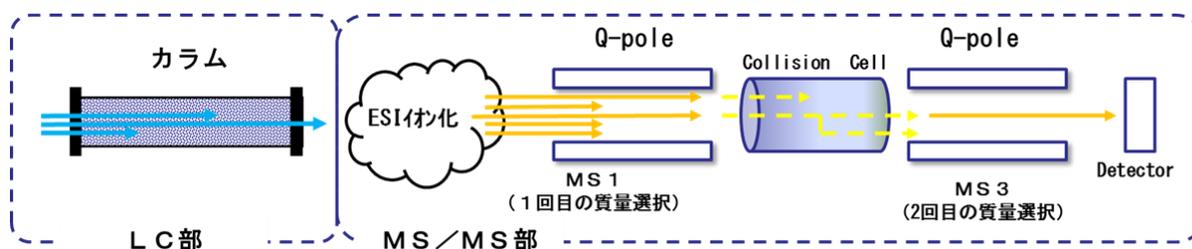


図 1-9 LC/MS/MS の構成図

1. 5. 2. 高速液体クロマトグラフィー

液体クロマトグラフィー単独の分析装置の場合、一般的に、高速液体クロマトグラフィー法（High Performance Liquid Chromatography；以下、「HPLC 法」と略；図 1-10 参照）と呼ばれる。HPLC 法はカラムクロマトグラフィーの一種であり、移動相として高圧に加圧した有機溶剤や水溶系を用いる分析手法である。HPLC 装置は、主に、移動相、送液ポンプ、インジェクター（試料注入装置）、分離カラム、検出器、PC（データ処理）で構成されている。ここでは、移動相、分離カラム、検出器について概説を行う。



図 1-10 HPLC 装置の外観（Agilent 製）

(1) 移動相

HPLC 法の移動相には、表 1-9 に示した通り、分配（順相、逆相）、サイズ排除、イオン交換などさまざまな分離モードに対応した有機溶剤や水系溶媒（緩衝溶液）、または、その混合液が使用される。

一方、LC/MS/MS 法で使用できる移動相には制限がある。これは、LC/MS/MS 法で使われる ESI イオン化法（1.1 で概説）では、溶媒の揮発性とプロトン供与体となり得るかどうか重要であるためである。このため、有機溶剤にはメタノールやアセトニトリルのように、極性のプロトン供与性溶媒が使用されるのが一般的である。また、ESI 法の機構上、不揮発性の緩衝液（リン酸塩水溶液や過塩素酸ナトリウム水溶液など）は使用できないので注意が必要である。なお、LC/MS/MS 法で使用できる緩衝液は、揮発性塩である酢酸アンモニウムやギ酸アンモニウムの水溶液である。

表 1-9 HPLC 及び LC/MS/MS で使用される分離モードと移動相

モード	固定相	移動相	相互作用	LC/MS/MS への適用	特徴
順相	シリカゲル	有機溶媒	吸着	△	脂溶性成分 の分離
逆相	シリカ C18 (ODS)	水系/メタノール 水系/アセトニトリル	疎水性	◎	最も良く利 用される手 法
GPC (非水系)	ポリマー	有機溶媒	ゲル浸透	△	分子量分布 測定
GFC (水系)	親水性ポリマ ー	緩衝液	ゲル浸透	×	生体高分子 の分離
イオン交換	イオン交換体	緩衝液	電気親和力	LC/MS 系× IC/MS/MS◎	イオン性成 分の分離
HILIC	シリカゲル	水系/メタノール 水系/アセトニトリル	親水性相互 作用	◎	極性化合物 に適用
マルチモード	ODS 系+ イオン交換態	水系/メタノール 水系/アセトニトリル	電気親和力	◎	イオン性化 合物に適用

(2) 分離カラム

HPLC 法の分離カラム (図 1-11 参照) には, 表 1-9 で示した通り, 試料や目的の分析に合わせて様々な固定相が充填されたものが使用される. ①分析する順相カラム (主にシリカゲル), ②水/メタノール系の溶媒を移動相として, ③疎水性相互作用を利用して様々な試料を分離する逆相カラム, ④細孔を利用して, 試料成分を分子の大きさ順に分離する GPC 用カラム, ⑤電氣的親和力によって, イオン成分を分離するイオン交換カラムなど, 分離モードによって様々なカラムの種類が存在する²⁴⁾.

なお, LC/MS/MS 法で最も多く使用される分離モードは, シリカゲルの表面に C18 基を導入した ODS (Octadecylsilyl Silica) 系カラムを用いた逆相分配モードである. これは, ODS 系カラムではその表面が疎水性基で覆われているため, 移動相には極性の水とアセトニトリルなどの有機溶剤の混液が用いられるが, 分離だけでなく使用される移動相が質量分析計でのイオン化に適していることもある²⁵⁾. なお, 逆相分配モードの分離カラムは, 農薬などの有機化合物の分析に非常に常適した分離モードである.

一方、逆相分配モードの場合、極性の強い有機化合物や無機化合物などの保持できない欠点がある。このため、近年、HILIC とよばれる親水性相互作用を利用した分離モードやイオン交換と逆相系の固定材を混ぜたマルチ分離モードを用いた LC/MS/MS 分析法の検討が進められている。



図 1-11 HPLC 法及び LC/MS/MS 法に使用される分離カラム

(3) 検出器

HPLC 法では、目的とする試料に応じて、紫外可視分光検出器、PDA 検出器、示差屈折率検出器、蛍光分光検出器、電気化学検出器、電気伝導度検出器、質量分析検出器（質量分析法）、旋光度検出器、円二色性検出器、蒸発光散乱検出器など様々な検出器を用いる。例えば、特定の成分のみを検出したい場合は選択性の高い蛍光分光検出器や紫外可視検出器、含まれている多くの成分を検出したい場合は、PDA 検出器や蒸発光散乱検出器、示差屈折検出器などを使用する。なお、液体クロマトグラフィー法で使用される検出器において、一般的に最も選択性が高く測定感度が高いのは質量分析検出器（質量分析法）である。

1. 5. 3. 質量分析法

質量分析 (mass spectrometry ; 以下, 「MS」と略)法の基本的な原理は, 物質をイオン化させて生成した陽イオンまたは陰イオンを m/z (イオンの質量乗/電荷比) に従って分離し, 各々のイオンの強度を測定して, 定性・定量分析を行う手法である²⁵⁾.

この分析法は, ①fg (10^{-15} g) レベルあるいはそれ以下の検出が可能な極めて高感度な測定法であることや, ②分子量が 100 万におよぶタンパク質なども測定可能なことから, その有用性は非常に高く, 現在最も広く用いられている分析手法の 1 つである²⁹⁾.

MS 装置の構造は, 一般的に, 試料導入部, イオン化部 (イオン源), 質量分離部, 検出部 (検出器), 真空排気部, 装置制御・データ処理部等からなる. なお, MS 装置内は, イオンが他の粒子 (ガス) に衝突して, 強度の低下やノイズが上がらないように十分に真空を保つ必要がある.

MS 法の測定プロセスとしては, まず, 導入した試料をイオン源でイオン化する. 試料をイオン化後は, その質量/電荷比 (m/z) によって運動性が異なるため, 質量分離 (表 1 参照) を行い, 検出器を用いて検出する. MS 装置で用いられる質量分離法の主な種類とその分離の原理を表 1-10 に示した²⁹⁾. なお, この表中で最も汎用性が高い質量分離方法は, 安価で定量性が高く, 非常に扱いやすい四重極質量分析計である. また, 近年では, 複数の MS 法を用いるトリプル四重極質量分析計の様な MS/MS 法も広く用いられるようになっている.

この章では, イオン化法, 四重極質量分析計, MS/MS 法について概説を行う.

表 1-10 MS 装置の代表的な質量分離法と原理

分離部	原理	長所	短所
四重極型 (Q-pole)	軌道安定性	安価で定量性が高く, 扱いやすい	分解能が低い
イオントラップ型	軌道安定性	安価	定量性が低い
飛行時間型 (TOF)	飛行時間	高分解能, 高分子の測定が可能	定量性がやや低い, やや高価
磁場セクター型	磁場中でのローレンツ力	高分解能	高価, 維持が難しい
イオンサイクロン共鳴型	サイクロン周波数	高分解能	非常に高価, 維持も難しい

(1) イオン化法(Ionization)

比較のため GC/MS 法で一般的に使用される EI 法と本研究の LC/MS/MS 法で用いた ESI 法について概説を行う。

i) EI(electron Ionization:電子イオン化)法

EI 法は、気化した試料に熱電子をあててイオン化する方法で、GC/MS 法で最も使用されるイオン化法である。

EI 法の概略図を図 1-12 に示すが、本イオン化法は測定対象物をガス化して行なう必要がある。このため、液体あるいは固体試料の場合、予め気化させる必要がある。このため、試料の気化が前提である GC/MS 法には適しているが、試料の気化工程が無い LC/MS/MS 法には使用しにくい。また、一般的に、試料を気化させるのに熱を加えるため、熱不安定物質や難揮発性物質のイオン化は不可能である。なお、熱不安定物質、難揮発性物質については、メチル化、シリル化、アシル化等の誘導体化で揮発性、熱安定性が得られる物質の場合は測定が可能となる。

EI 法は、通常、70eV のエネルギーでイオン化を行なうため、分子イオンの生成とともに余剰エネルギーによるフラグメントイオンが生成することから、非常にハードなイオン化方法とされている。この余剰エネルギーにより生成するフラグメントイオンの情報から、化合物の構造解析やライブラリー検索を利用した試料の同定が可能であり、定性能力に優れたイオン化方法である。

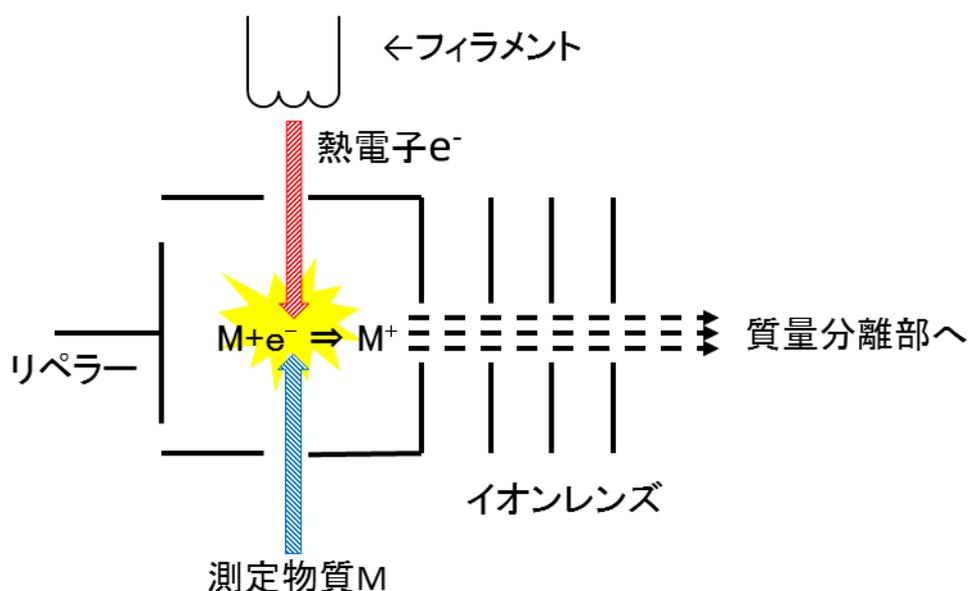


図 1-12 EI 法の概略図

ii) ESI(electrospray ionization:エレクトロスプレーイオン化)法

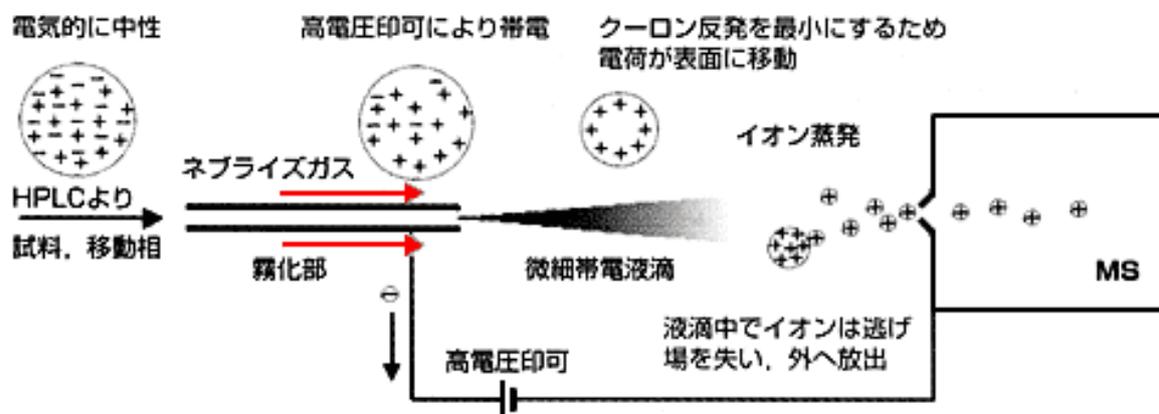
ESI法は、大気圧イオン化法の一つである。本イオン化法は、図 1-13 及び 1-14 で示した通り、試料溶液を噴霧後、高電圧を印加して試料自らイオン化する現象を利用したイオン化法であり、LC/MS/MS法で最も一般的に使用されるイオン化法である³⁰⁻³¹⁾。

ESI法の最大の特徴は、測定対象に余剰なエネルギーを与えにくいことからフラグメントイオンの発生数は少ないことがあげられる。このため、ESI法は、EI法と比較すると非常にソフトなイオン化法である。また、ESI法は試料の気化を必要としないことから、液体試料をMS装置に注入するLC/MS/MS法に非常に適しており、熱不安定物質や難揮発性物質の測定にも適したイオン化法でもある。

ESI法で生成するイオン種は、 $[\text{分子量} + \text{H}]^+$ 、 $[\text{分子量} - \text{H}]^+$ のイオンが主である。また、移動相溶媒の種類や酸などの添加剤の種類によって、 $[\text{分子量} + \text{Na}]^+$ 、 $[\text{分子量} + \text{NH}_4]^+$ 、 $[\text{分子量} + \text{CH}_3\text{COO}]^-$ などイオン種が付加した構造体のイオンが生成することもある。

ESI法によるイオン化に適した試料は、一般的に、水やメタノール、アセトニトリルなどに比較的溶解しやすい微～高極性の化合物であり、多環芳香族炭化水素化合物(PAHs)の様な無極性の化合物にはあまり適さない場合が多い。

なお、ESI法は、先に述べた通り、ハードなイオン化であるEI法とは異なり、構造情報を持つフラグメントイオンが得られない。このため、ESI法には、測定結果の定性能力が低くなる欠点がある。この定性能力が低い対策として、CapillaryやFragmentor等に通常より高めの電圧を印加する方法、または、後述するMS/MS法を用いて、測定イオンの構造情報を持つフラグメントイオンを生成させることで、ESI法の定性能力を向上させている。



出展：島津製作所 HP より³⁰⁾

図 1-13 ESI イオン化法の概略

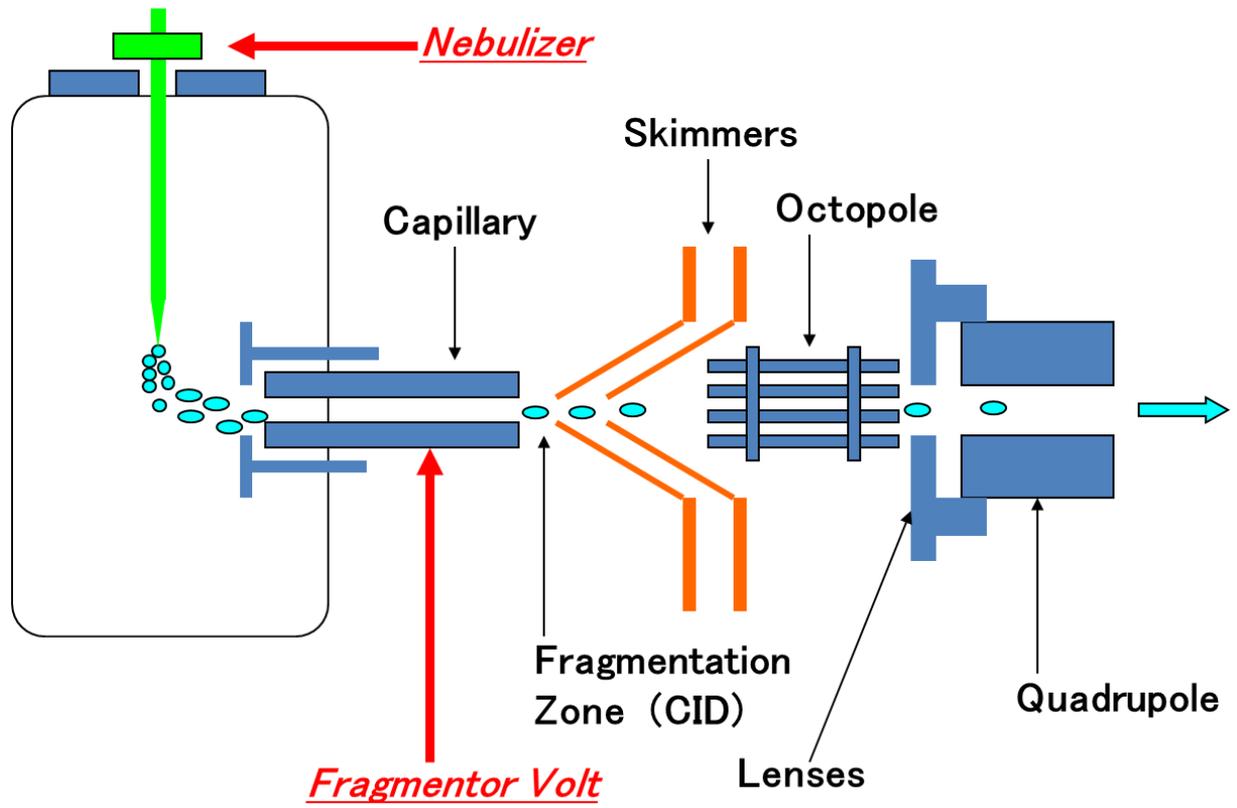


図 1-14 ESI イオン化法部の構造

(2) 四重極形質量分析計（以下、「Q-MASS」と略）

Q-MASS は、1953 年に Bonn 大学の Paul らによって考案された磁場を使用せずにイオンの軌道安定性を利用した質量分析法である³²⁻³³。Q-MASS の装置構成は、図 1-15 に示すように、4本の平行なロッド状電極から成り、相対する電極の極性を同じにして直流電圧と高周波交流電圧を重ね合わせた電圧、 $\pm (U+V\cos \omega t)$ を印加し（ U は直流電圧、 V は交流電圧の最大値、 $\omega = 2\pi\nu$ 、 ν は高周波の周波数）四重極電場を形成している³²⁻³⁵。

また、基本的な配置は図に示すように、四重極の一端にはイオン源があり、もう一端には検出器があるのが一般的な構造である。

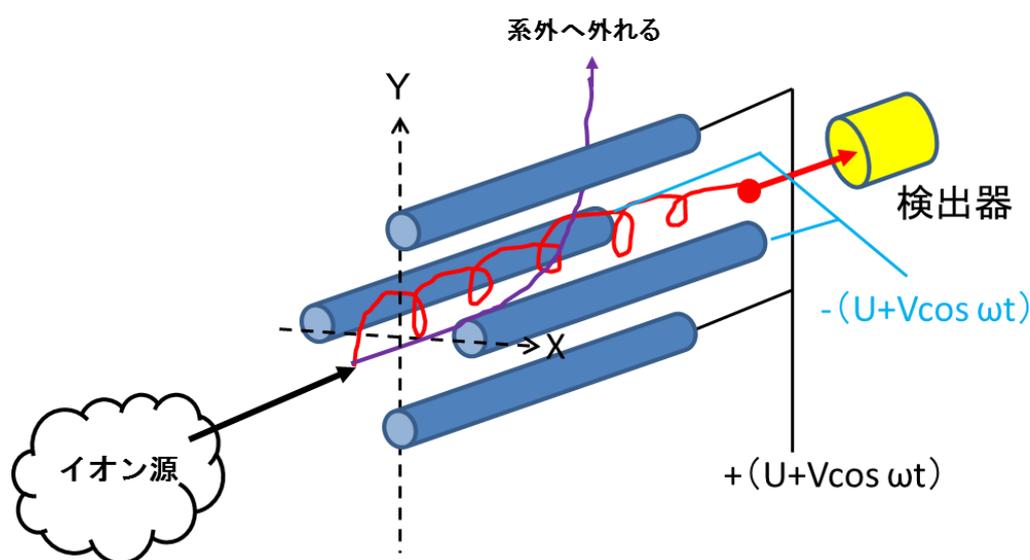


図 1-15 四重極形質量分析計の構造

Q-MASS の特徴は、

- i) 作動真空度が低くてすむ（通常 10^{-5} Torr 付近）
- ii) 小型化が可能
- iii) 高速走査が可能（最新のものでは $10,000u/sec$ 以上 u =統一原子質量単位）,
- iv) 安価
- v) 操作が容易
- vi) 堅牢性が高く保守が容易

など多くの利点を持つ³⁵。

i) は排気系（ポンプ）を小さくできることで装置の小型化を可能にするばかりではなく真空装置である Q-MASS の立ち上げ時間の短縮化を可能にする。また、装置への導入許容量を多くできるので GC/MS 法や LC/MS 法などのシステムや大気圧下でのイオ

ン化法との組み合わせを構築しやすい．ii) は Q-MASS がベンチトップ型であることを当り前にし，装置設置面積を小さくできる利点とも結びついている．iii) は早いサンプリングを必要とするキャピラリーGC と結合するときには有利で，精度の高いクロマトグラムや濃度依存性の少ない質量スペクトルの測定を可能にした．iv) は普及が進んだことによりコストダウンが図られた結果で，購入しやすい利点につながっている．v) は特に専任のオペレーターは不要で，多くの人々が Q-MASS を道具として使用で，人的なコスト削減にも役立っている．vi) は故障が少なく稼働時間を長くでき，またメンテナンスや故障時の対応が素早くできる．

なお，ii)，iii) の特徴に関連して各種分離分析装置との組み合わせが容易であることも特徴で，実際に組み合わせは GC (ガスクロマトグラフ)，LC (液体クロマトグラフ)，CE (キャピラリー電気泳動)，SFC (超臨界流体クロマトグラフ)，IC (イオンクロマトグラフ) など多岐にわたる．また，イオン化法との組み合わせも先に述べた EI 法や ESI 法以外にも，CI (化学イオン化)，APCI (大気圧化学イオン化)，FAB (高速原子衝撃)，MALDI (マトリックス支援レーザー脱離イオン化)，ICP-MS，SIMS (二次イオン質量分析) など極めて多く存在する．

一方，Q-MASS の短所としては

- ① 質量分解能に限度がありユニット分解能(例えば m/z 85 と 86, m/z 500 と 501 のように質量 (u) が 1 つ違うイオンを完全に分離できること) 程度
- ② 測定質量範囲が磁場形や飛行時間形の装置に比べて狭い
などがあげられる³⁵⁾．

しかしながら，得られる情報や測定法が限定されることもあるが，実用上はユニット分解能で十分な場合が多く，また普及している GC/MS や LC/MS に対しては十分な測定質量域を確保しているので特に問題はなることは少ない．

Q-MASS は原則として質量分析が適用される全ての分野で用いられていると言っても過言ではない³⁵⁾．基礎科学としては，化学³⁶⁻⁴⁰⁾，薬学⁴¹⁾，医学⁴²⁾，農学⁴³⁾，生物学⁴⁴⁾，地質学⁴⁵⁻⁴⁶⁾，天文学⁴⁷⁻⁴⁸⁾，考古学⁴⁹⁾等に，応用科学としては食品⁵⁰⁻⁵²⁾，香料⁵³⁻⁵⁴⁾，環境⁵⁵⁻⁷²⁾，一般化学(化成品)⁷³⁻⁷⁴⁾，石油・石化⁷⁵⁻⁷⁶⁾，高分子⁷⁷⁻⁷⁹⁾，半導体⁸⁰⁾，電子材料⁸¹⁾，法医⁸²⁻⁸³⁾，化学兵器⁸⁴⁾，金属⁸⁵⁻⁸⁷⁾，メタボロミクス⁸⁸⁾ etc 等など，極めて多岐にわたって Q-MASS が適用されている³⁵⁾．

著者も，レーザーアブレーション・分子ビーム法 (LAMB 法) によるクラスターと一価の金属イオンの反応で生成した金属錯体イオンの構造解析に Q-MASS を使用し，ナノテクノロジーの基礎研究に貢献した⁸⁹⁻⁹¹⁾．

(3) トリプル四重極質量分析計

トリプル四重極質量分析計は、図 1-16 に示した通り、2つの Q-mass (Q1 及び Q3) で衝突室 (Q2) を挟んで直列に連結 (Q1-Q2-Q3) したものである。なお、Q2 のコリジョンセル (Collision cell) では、不活性ガス分子 (通常は、窒素ガスやヘリウムガスを使用) を希薄に充填させ、Q1 で選択したイオン (このイオンをプリカーサーイオン [precursor ion] と呼ぶ) を衝突させて衝突誘起解離 (collision induced dissociation: 以下、「CID」と略) によりフラグメンテーションを起こさせる。この構造情報を与える開裂したフラグメントイオンは、プロダクトイオン (product ion) と呼ばれる^{25,31,92)}。

本装置は、開発当初、コリジョンセルとして四重極が用いられたことから、現在でもトリプル四重極質量分析計と呼ばれている。しかし、現在、市場で販売されている本装置のコリジョンセルは四重極の代わりに多重極などが用いられており、「トリプル四重極質量分析計」は装置構成を厳密に表現している用語ではなくなった。このため、より広義な用語として「タンデム質量分析計」と表記されることが多くなったか、この場合には質量分離部が四重極に限定されない点に留意する必要がある⁹²⁾。

トリプル四重極質量分析計 (以下、「MS/MS」と略) は、一般的に前処理装置としてクロマトグラフを連結して使用する。ガスクロマトグラフを連結したものを GC/MS/MS、液体クロマトグラフを連結したものを LC/MS/MS と呼ぶ。クロマトグラフの検出器として用いることで、質量分離による高い選択性が得られ、高感度な定量分析が可能となる。また、MS/MS 法では、様々なモードにより高感度定量や構造解析が行える⁸⁸⁾。

ここでは、本研究で使用した、SCAN 測定モード、SIM 測定モード、プロダクトイオン SCAN 測定モード及び SRM 測定 (MRM 測定) モードについて概説を行う。

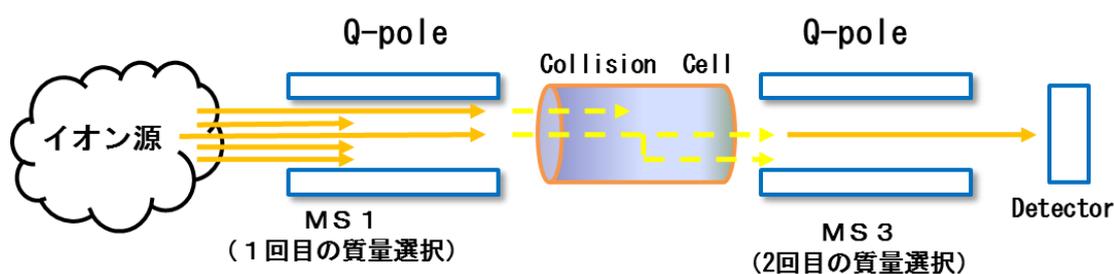


図 1-16 MS/MS 装置の構成図

i) SCAN 測定法

Q-MASS における SCAN 測定とは、特定の質量範囲の質量スペクトルを一定時間の間隔で全イオン検出を測定するモードで、主に定性分析に用いられている。一方、MS/MS 法における SCAN 測定法とは、図 1-17 に示した通り、Q1 で SCAN 測定を行い、Q2 及び Q3 ではそのままイオンを全て透過させる方法である²⁵⁾。

この測定法は、Q-MASS における SCAN 測定と同様に、イオン化で生成するイオン種を測定することで測定対象物を構成する分子構造に関する情報が得ることができる。また、後述する SIM 測定法、プロダクトイオン SCAN 測定法及び SRM 測定 (MRM 測定) 法の測定に必要なプリカーサーイオンの最適化に重要な役割を果たす測定法である。

なお、ESI イオン化法は、通常、測定対象化合物の分子量にプロトンなどが付加する場合が多いので、分子量の情報が得やすい。図 1-18 は、ボスカリド (農薬: 分子量 342) 標準液を SCAN 測定法で測定し得られた MS スペクトルであるが、ボスカリドの分子量 +1 の m/z のピークが検出された。

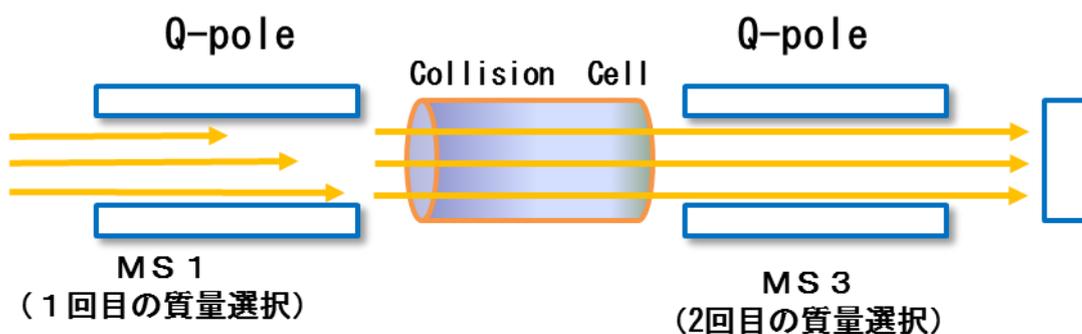


図 1-17 SCAN 測定法の構成

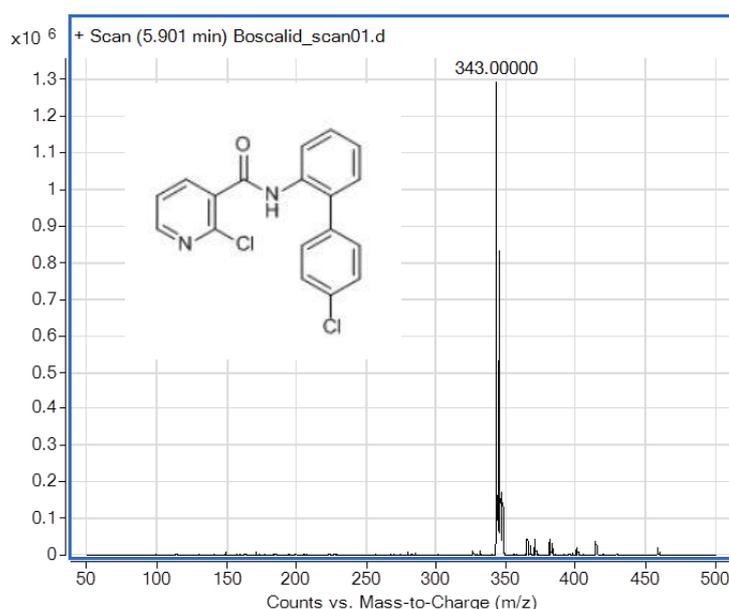


図 1-18 SCAN 測定法によるボスカリド標準液の MS スペクトル

ii) SIM 測定法 (selected ion monitoring)

SIM 測定法とは、図 1-19 に示した通り、Q1 でイオンを選択し、Q2 及び Q3 ではそのままイオンを全て透過させる方法である²⁵⁾。

SIM 測定法は、特定のイオンのみをモニタリングするモードであるため、定性能力は低い。しかし、本測定法は、特定イオンの測定時間 (dwell time) を長く設定でき、検出するピークの S/N 比が大幅に向上することから、SCAN 測定法よりも高感度で測定が可能である (図 1-20 参照)。このため、SIM 測定法は定量分析として有効な方法である。なお、SIM 測定法は GC/MS 法や LC/MS 法などのシングル Q-MASS の定量分析に適用される測定法であり、MS/MS 法の定量分析にはあまり使用されない (MS/MS 法では、後述する SRM 測定法が一般的に使用される)。

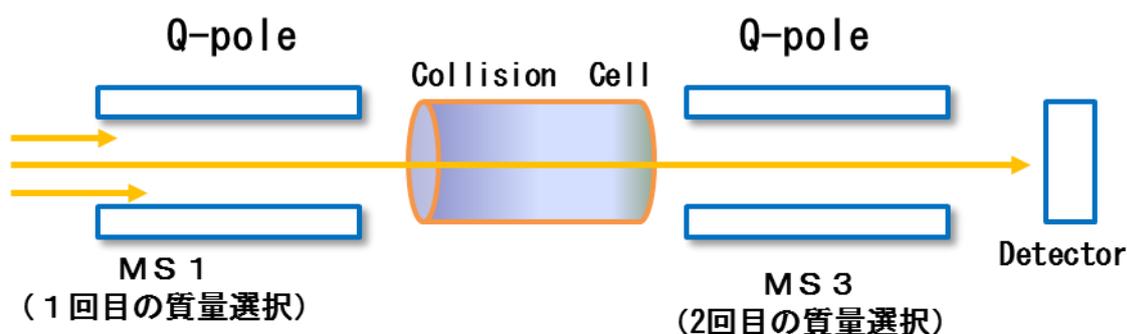


図 1-19 SIM 測定法の構成

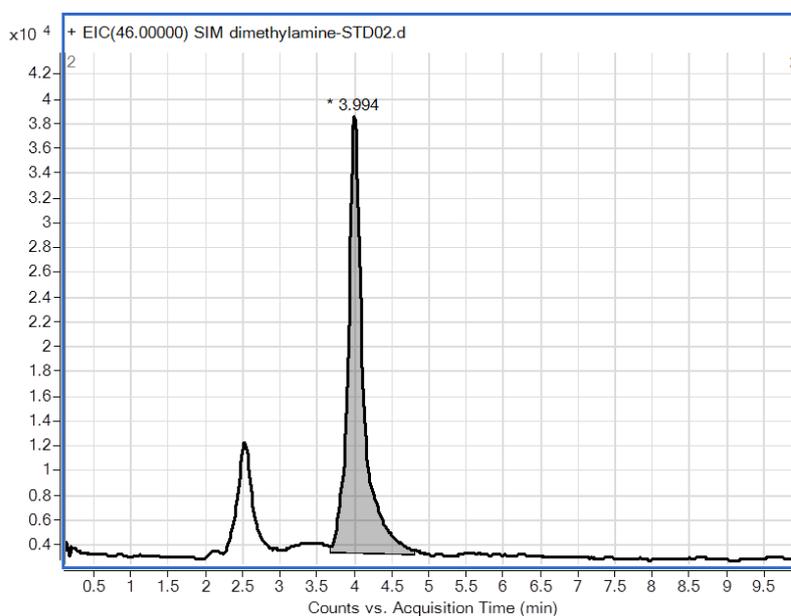


図 1-20 ジメチルアミド標準液測定による SIM クロマトグラム

iii) プロダクトイオン SCAN 測定法 (product ion scan)

プロダクトイオン SCAN 測定法では、図 1-21 に示した通り、Q1 で特定のプリカーサーイオンを選択し、Q2 のコリジョンセルに導入し、CID で得られたプロダクトイオンを Q3 で SCAN 測定し検出させる方法である²⁵⁾。なお、プリカーサーイオンは、通常、i) で概説した SCAN 測定法で最適化を行う。

プロダクトイオン SCAN 測定法は、プリカーサーイオンが推定される構造の場合、実際に測定結果をつき合わせることで、測定対象の構成する分子構造情報の確定に有効である。図 1-22 は、ボスカリド標準液をコリジョンエネルギー5V から 20V に変化させたプロダクトイオン SCAN 測定法で得られた MS スペクトルである。この図から、コリジョンエネルギーが大きくなると、図 1-22 で示したボスカリド構造式の A 及び B で解離した m/z307 及び 140 のイオンが検出されていることがわかる。

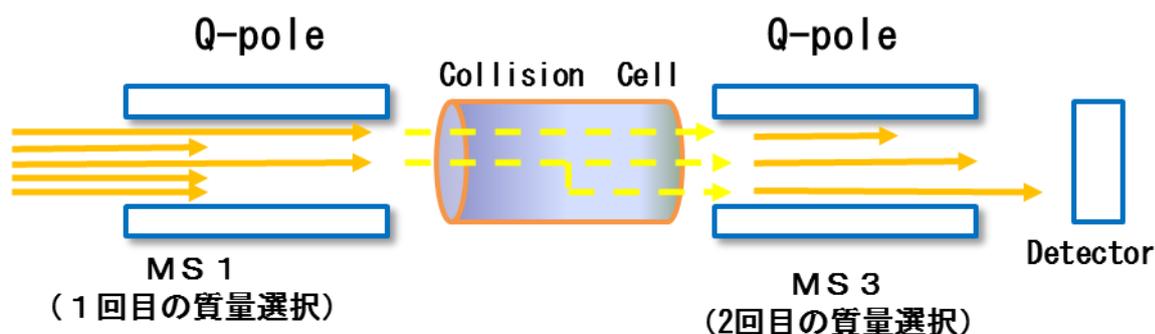


図 1-21 プロダクトイオン SCAN 測定法の構成

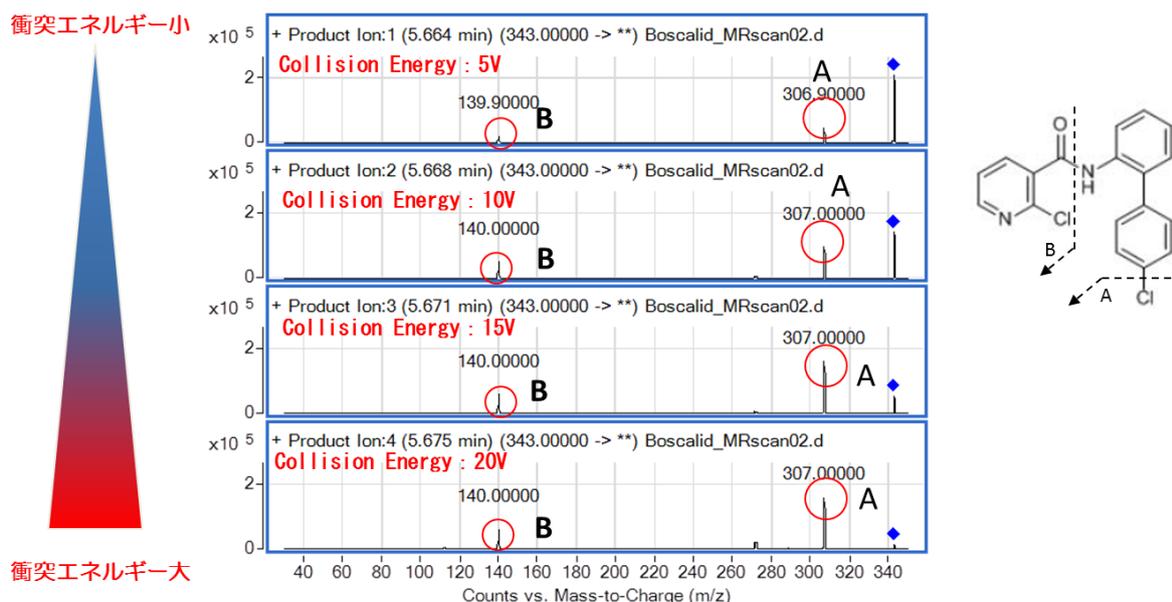


図 1-22 プロダクトイオン SCAN 測定法によるボスカリド標準液の MS スペクトル (コリジョンエネルギー5V から 20V に変化させて場合の比較)

iv) SRM 測定法 (selected reaction monitoring)

SRM 測定法は、MRM 測定法 (selected reaction monitoring) と呼ばれ、Q-MASS で使用される SIM 測定法よりも選択性が高く高感度測定が可能な測定法である。本測定法は、図 1-23 で示した通り、Q1 でプリカーサーイオンを選択し、Q2 において CID を行い、Q3 で特定のプロダクトイオンを選択して検出させる方法である²⁵⁾。なお、プリカーサーイオンは i) で概説した SCAN 測定法で、プロダクトイオンは ii) で概説したプロダクトイオン SCAN 測定法で最適化を行うのが一般的である。

SRM 測定法は、Q1 及び Q3 で各々特定のイオンを選定するため、非常に選択性の高い測定が可能となり、マトリックスの影響を大幅に低減することができる²⁵⁾。また、SIM 法と同様に、Q1 及び Q3 で特定イオンの測定時間 (dwell time) を長く設定でき、検出するピークの S/N 比が大幅に向上でき、高感度で測定が可能である (図 1-24 参照)。

さらに、SRM 測定法で得られるクロマトグラムは、図 1-25 で示した通り、Q-MASS で一般的に使用される SIM 測定法のクロマトグラムよりもバックグラウンドが低く、検出されるピークの S/N 比が良好であり、高感度測定が可能である。これは、SRM 測定法が Q2 のコリジョンセルにおける CID で新たに生成したイオンのみを通過できるように設定しているため、SRM 測定法は SIM 測定法よりも選択性が飛躍的に高まり、バックグラウンドノイズが低減されるためである²⁵⁾。このため、MS/MS 法の定量分析には、一般的に SRM 測定法が使用される。なお、イオンの透過率 (絶対量) については、SRM 測定法よりも、イオンを除去する CID がない SIM 測定法の方が高い (ノイズも高くなるので、S/N 比は向上しない)。

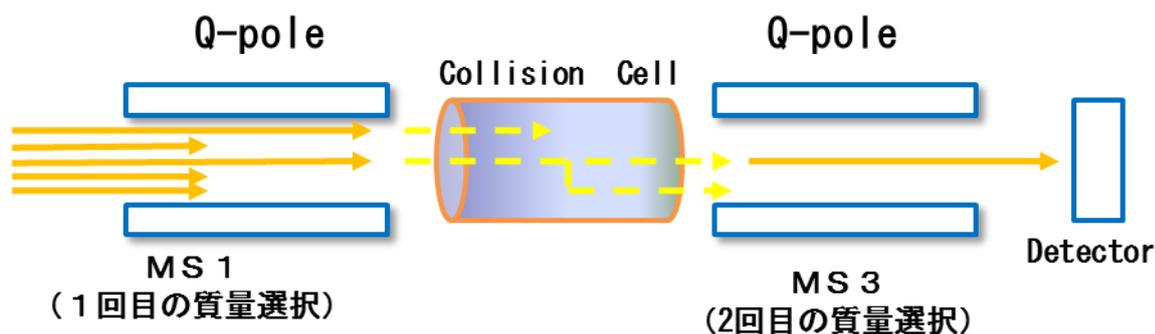


図 1-23 SRM 測定法の構成

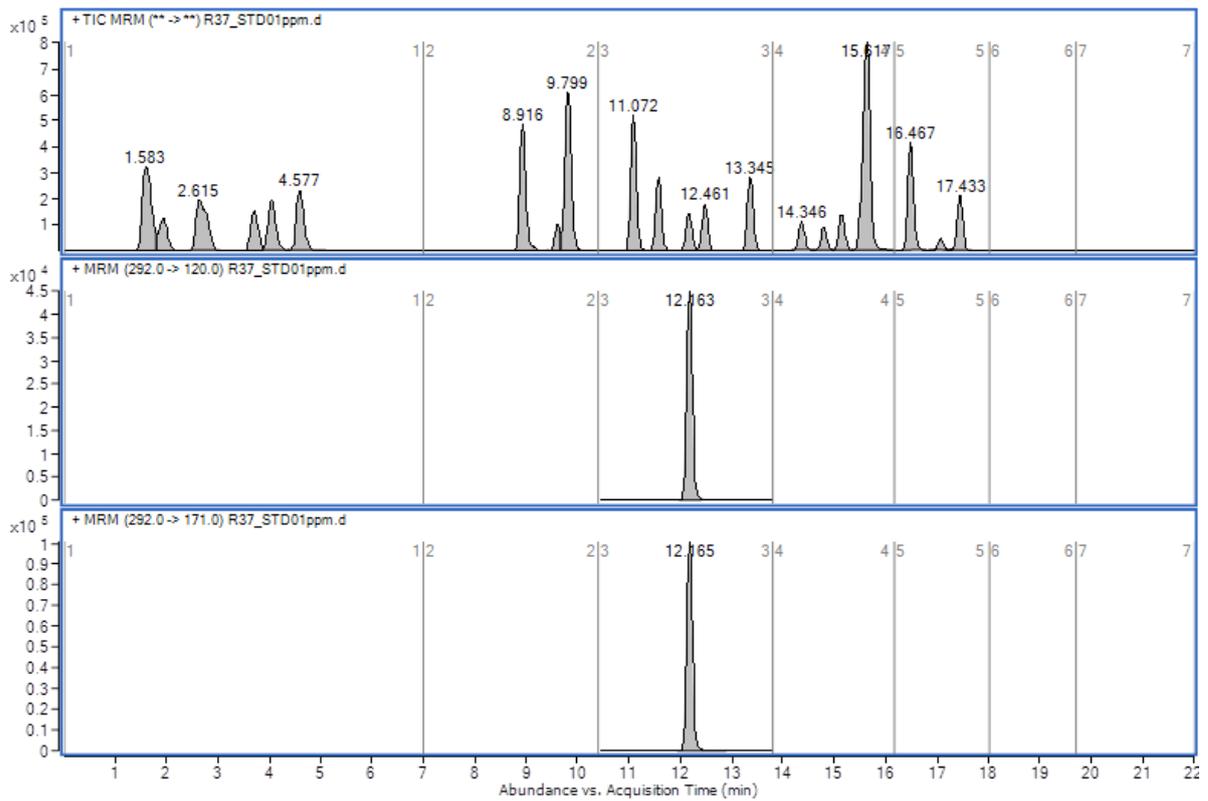
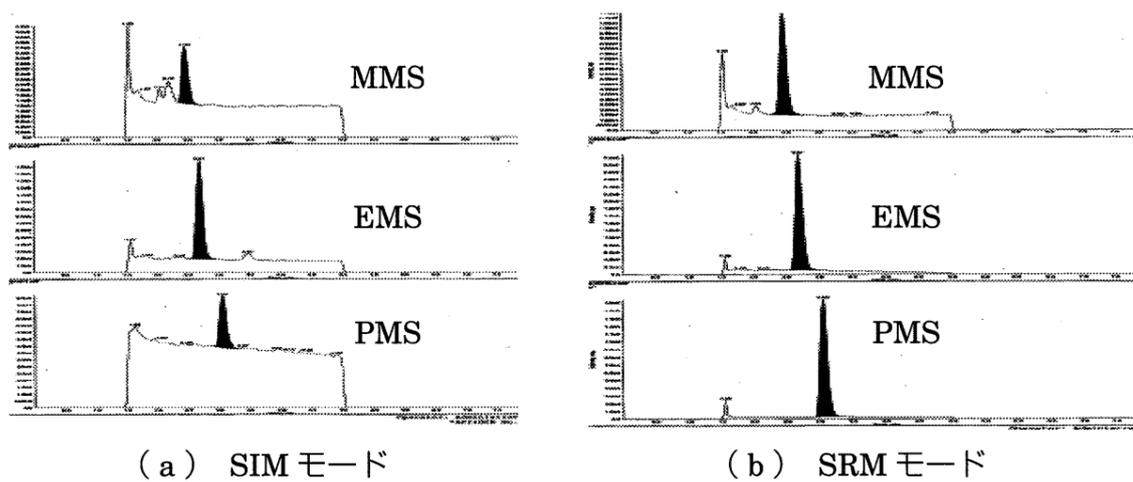


図 1-24 農薬混合標準液測定による SRM クロマトグラム



出展：LC/MS,LC/MS/MS の基礎と応用（中村洋著）より²⁵⁾

図 1-25 SIM 法及び SRM 法によるクロマトグラムの比較

1. 6. 本研究の検討された分析手法の妥当性評価方法

本論文の第2章から第8章で検討された分析手法の妥当性評価については、以下の①～③に示した基準で実施した。

分析手法の評価方法

- ①：定量下限値付近の標準液繰返し測定の変動係数が10%以下であること。
- ②：適切な直線性を有する検量線が得られていること（相関係数が0.99以上）。
- ③：実試料への添加回収試験結果が夾雑物の影響を受けず適切なピーク形状が得られ、かつ、以下の条件を満たしていること。

○水道処理水

平成15年課長通知（健水発第1010001号）⁹³⁾で定められる併行精度を満たし、かつ、妥当性評価ガイドライン⁹⁴⁾で示された室内精度（無機物 RSD \leq 15%，有機物 RSD \leq 25%，農薬類 RSD \leq 35%）及び真度（70～130%）を満たすこと。

○水道原水

併行精度が10%以下（有機物が20%以下）で、かつ、真度が70～120%であること。または、妥当性評価ガイドライン³⁸⁾で示された室内精度（無機物 RSD \leq 15%，有機物 RSD \leq 25%，農薬類 RSD \leq 35%）及び真度（70～130%）を満たすこと。

1. 7. 本研究の目的

1.1. で述べた通り、安全な水道水質を確保するためには、水道原水及び処理水の水質検査による実態状況（水道水源の環境汚染状況や消毒副生成物の実測濃度）の把握が非常に重要である。

しかしながら、現在の日本の水道水について、安全な水質を確保するためには、

- (1) 水道水源汚染物質の拡大
- (2) 迅速なシステムフィードバック手法の確立
- (3) 水道事業体の厳しい予算状況
- (4) 熟練分析技術者の不足と分析料金単価の低価格化

などの課題を解決できる高性能で迅速な分析法の開発が求められている。

そこで、本研究では、従来の分析手法では迅速、または、高感度に分析することが難しかった物質（水質基準項目、水質管理目標設定項目、要検討項目など）に対して、近年、検査機関における普及率が高い LC/MS/MS 法の利点を最大限に生かした高性能で迅速な分析手法を開発し、水道事業体が安全な水道水質を容易に確保できるように手助けすることを目的とした。

なお、本研究で開発した分析法については、物質毎に第 2 章から第 8 章で論じており、それぞれの概要は以下の通りである。

第 2 章は、LC/MS/MS 法を用いた環境水中のトリブチルスズおよびトリフェニルスズ分析法開発の検討内容を示した。一般的に、有機スズ化合物は Grignard 試薬を用いたアルキル誘導體化による GC/MS 法で測定される。しかし、この分析法は複雑な誘導體化工程を有しており、特に、低濃度付近における測定結果は作業者の技量にも左右されやすいことから、誘導體化工程の見直しが求められている。

第 3 章は、LC/MS/MS 法を用いた環境水中のアニリン分析法開発の検討内容を示した。一般的に、環境水中のアニリン分析法は固相抽出-ガスクロマトグラフ/質量分析法（以下、「GC/MS 法」と略）で測定される。しかし、GC/MS 法の測定は、試料をアセトンなどの有機溶剤に溶かす必要があるため、固相抽出などの前処理が必要であるが、この前処理時に試料が減圧状態に置かれるため、揮発性のアニリンが揮散してしまう可能性があった。このため、前処理操作に一定の配慮が必要であることから、抽出工程の見直しが求められている。

第 4 章は、LC/MS/MS 法を用いた水道水中の陰イオン界面活性剤分析法開発の検討内容を示した。一般的に、陰イオン界面活性剤は固相抽出-液体クロマトグラフィー法（蛍光検

出器)で測定される。しかし、この分析法は、陰イオン界面活性剤が複数に分離する上、水道水中に蛍光性物質が存在した場合、誤認する恐れがあった。また、水源事故など緊急時に迅速に対応できるように、固相抽出を省略した迅速分析法も求められている。

第5章は、平成29年4月に厚生労働省において、対象農薬リスト掲載農薬類に格上げされたテフリトリオンについて、水道水及び水道水源の汚染状況の早急な把握を目的に迅速分析法の開発を行った。

第6章は、LC/MS/MS法を用いた水道水中の臭素酸分析法開発の検討を示した。一般的に、臭素酸はイオクロマトグラム-ポストカラム吸光光度法で測定されるが、①高濃度硫酸使用による装置負荷、②低検出感度、③共存物質分離が困難、④装置の低汎用性などの問題が存在し、新たな分析法の検討が求められている。

第7章は、LC/MS/MS法を用いた水道水中の塩素酸分析法開発の検討を示した。一般的に、塩素酸はイオンクロマトグラフ法(以下、「IC法」)で測定され、通常の水道試料であれば測定結果に問題が生じることは少ない。しかし、共存物質が多く含まれる試料では、塩素酸が臭化物イオンと硝酸イオンの間に近接して検出し、塩素酸を誤認するおそれがあり、新たな分析法の検討が求められている。

第8章は、LC/MS/MS法を用いて、定量下限値1.0 µg/Lの性能を有する臭化物イオン分析法の開発を示した。

水道原水中に臭化物イオンが含まれている場合、オゾン処理により処理水中に発がん性が高い臭素酸を生成する可能性がある。臭素酸濃度を基準値の1/10程度までに抑えるには、水道原水中の臭化物イオン濃度を1 µg/L付近まで把握しながらオゾン処理の運転管理をするのが理想である。しかし、臭化物イオンは、一般的にIC法で測定されるが、その定量下限値100 µg/L付近であり臭素酸濃度を基準値の1/10程度間に抑えるための運転管理できない。このため、定量下限値1.0 µg/L付近の新たな化物イオン分析法の開発が求められている。

参考文献

- 1) 水道法，厚生労働省，<<http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/topics/bukyoku/kenkou/suido/hourei/suidouhou/index.html>>，（参照 2017.07.31）.
- 2) 水道水質管理 Q&A：全国給水衛生検査協会，319-391，2002.
- 3) （配布資料 2-1）水道法に基づく水質検査制度：平成 22 年度第 1 回水質検査の信頼性確保に関する取組検討会，水質検査の信頼性確保に関する取組検討会（厚生労働省），<http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/kenkou/suido/kentoukai/dl/kensa_annai02.pdf>，（参照 2017.07.31）.
- 4) Media Releases，CAS (Chemical Abstracts Service)，<<http://www.cas.org/news/media-releases/100-millionth-substance>>，（参照 2017.07.31）.
- 5) 水道原水での検出濃度が高い農薬への対応について（案），平成 27 年度第 2 回水質基準逐次改正検討会資料 2；厚生労働省，<http://www.mhlw.go.jp/file05-Shingikai-10901000-Kenkoukyoku-Soumuka/0000068171_2.pdf>，（参照 2017.07.31）.
- 6) 除草剤テフリトリオンについて，メールマガジンかわら版@iph；大阪府立公衆衛生研究所，第 154 号，2016 年 6 月 30 日，<<http://www.iph.pref.osaka.jp/merumaga/back/154-1.htmlf>>，（参照 2017.07.31）.
- 7) 神奈川県相模川流域における河川水及び水道水のネオニコチノイド系農薬等の実態調査：佐藤 学，上村 仁，小坂浩司，浅見真理，鎌田素之，水環境学会誌，**39(5)**，153-162(2016).
- 8) （健水発 0328 第 1 号）水道水源における水質事故への対応の強化について：厚生労働省健康局水道課長通知，平成 25 年 03 月 28 日.
- 9) 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物質の特定：小林憲弘，杉本直樹，久保田領志，野本雅彦，五十嵐良明，水道協会雑誌，**81(7)**，63-68(2012).
- 10) 利根川水系ホルムアルデヒド水質事故の概要と提起された課題：金見拓，日本リスク研究学会誌，**23(2)**，57-64（2013）.
- 11) 利根川水系の浄水場におけるホルムアルデヒド検出事故；東京海上日動リスクコンサルティング株式会社，リスクマネジメント最前線，1-7(2012)，<http://www.tokiorisk.co.jp/risk_info/up_file/201207032.pdf>，（参照 2017.07.31）.
- 12) （健水発第 1010001 号）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：厚生労働省健康局水道課長通知，平成 15 年 10 月 10 日（最終改正：平成 28 年 03 月）.
- 13) 厚生労働省令告示第 261 号「水道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」，平成 15 年発出（最終改正：平成 28 年 03 月）.
- 14) 液体クロマトグラフィーによる水道水中のホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒド同時分析法の開発と妥当性評価：小林憲弘，鈴木俊也，小杉有希，菱木麻佑，加登優樹，

- 金田智, 植田紘行, 河相暢幸, 北本靖子, 土屋かおり, 木村慎一, 古川浩司, 岩間紀知, 中村弘揮, 粕谷智浩, 堀池秀樹, 京野完, 高原玲華, 馬場紀幸, 佐藤信武, 久保田領志, 五十嵐良明, 水環境学会誌, **39(6)**, 211-224(2016).
- 15) IARC:IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, Vol52, 1990.
- 16) Speciation of halogenides and oxyhalogens by ion chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry : Mari Pantsar-Kallio, Pentti K.G Manninen, Anal.Chim.Acta, **360**, 161-166(1998).
- 17) Ajay Kumar, Sabyasachi Rout, Rakesh Kumar Singhal, Journal of Environmental Protection, **2**, 571-580(2011).
- 18) ペットボトルの水に臭素酸, 山梨 ; 共同通信 47NEWS, 2016 年 10 月 28 日, <<https://this.kiji.is/164712340137395709?c=113147194022725109>>, (参照 2017.07.31).
- 19) 【基調講演】水道水質検査方法の改正のポイントと今後の改正方針 : 小林憲弘, 水質分析セミナー2017 配布資料, 株式会社島津製作所 & ジーエルサイエンス株式会社, 1-32(2017).
- 20) 水質基準について ; 厚生労働省, <<http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/topics/bukyoku/kenkou/suido/kijun/index.html>>, (参照 2017.07.31).
- 21) 厚生労働省令第 101 号「水道法第 4 条第 2 項の規定に基づき水質基準に関する省令」平成 15 年 5 月 30 日.
- 22) 厚生労働省健康局水道課長通知 : 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 4 水質管理目標設定項目の検査方法, 平成 15 年 10 月 10 日 (健水発第 1010001 号).
- 23) 水道水質検査法検討会 ; 厚生労働省, <<http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/topics/bukyoku/kenkou/suido/kentoukai/suidou.html>>, (参照 2017.07.31).
- 24) HPLC の基礎 (3) 分離モードとグラジエント ; 日本分光, <<https://www.jasco.co.jp/jpn/technique/internet-seminar/hplc/hplc3.html>>, (参照 2017.07.31).
- 25) LC/MS,LC/MS/MS の基礎と応用 : 中村 洋 (日本分析学会編), オーム社, 2014.
- 26) 水道水中のグルホシネート・グリホサート・AMPA の LC/MS/MS 一斉分析法の妥当性評価 : 小林憲弘, 木下輝昭, 鈴木俊也, 高木総吉, 吉田仁, 望月映希, 小林浩, 辻清美, 上村仁, 植田紘行, 齋藤信裕, 岩間紀知, 粕谷智浩, 古川浩司, 塚本多矩, 市川千種, 久保田領志, 五十嵐良明, 環境科学会誌, **29(3)**, 137-148(2016).

- 27) 水道水中のイミノクタジン・ジクワット・パラコート LC/MS/MS 一斉分析法の妥当性
 評価：小林憲弘，久保田領志，齋藤信裕，木村謙治，宮崎悦子，平林達也，水田裕進，
 木村慎一，宮本紫織，大倉敏裕，中村弘揮，粕谷智浩，古川浩司，塚本多矩，市川千種，
 高原玲華，林田寛司，京野完，佐久井徳広，山本五秋，齋藤香織，五十嵐良明，環境科
 学会誌，**29(1)**，3-16(2016).
- 29) 質量分析法；長谷部 潔，一般社団法人 日本分析機器工業会，
 <<https://www.jaima.or.jp/jp/analytical/basic/mass/method/>>，（参照 2017.07.31）.
- 30) LC-MS のはなし「イオン化法」；島津製作所，<<http://www.an.shimadzu.co.jp/hplc/support/lib/ictalk/47/47intro.htm>>，（参照 2017.07.31）.
- 31) LC-MS のはなし液体クロマトグラフィー/質量分析計」：和気弘明，J. Jpn. Soc. Colour
 Mater.，**78(9)**，441-449(2005).
- 32) Ein neues Massenspektrometer ohne Magnetfeld : Von Wolfgang Paul und Helmut Steinwedel,
 Z.Naturforsch, **8**, 448-450(1953).
- 33) 四重極型質量分析計：笠間健詞，J.Mass Spectrom. Soc. Jap, 44(3), 393-405(1996).
- 34) 最新機器分析講座「四重極型，イオントラップ型，飛行時間型 各質量分析計の分離
 機構と特徴」；島津製作所，<<http://www.an.shimadzu.co.jp/hplc/support/lib/ictalk/61/61intro.htm>>，（参照 2017.07.31）.
- 35) 四重極形質量分析計の原理と応用；代島茂樹，一般社団法人 日本分析機器工業会，
 <<https://www.jaima.or.jp/jp/analytical/basic/mass/qms/>>，（参照 2017.07.31）.
- 36) 質量分析法による構造解析：佐々木 誠，化学と教育，44(11)，730-734(1998).
- 37) Magic-Number-like Behavior of Ammonia Ligands in Mixed-Ligand Metal Complexes
 $M^+(NH_3)_m(CH_3OH)$. Preferred Coordination of Ammonia Ligands in the First Coordination
 Sphere : Yasuhiro Horiki, Satoru Nishio, Hisanori Shinohara, Hiroyasu Sato, J.Phys.Chem.,
98, 10436-10439(1994).
- 38) Highly Selective Solvation of Monopositive Metal Ions in the Gas Phase as Revealed by the
 Laser Ablation-Molecular Beam Method Using Ammonia-Water Binary Clusters : Osamu Ito,
 Yasuhiro Horiki, Satoru Nishio, Akiyoshi Matsuzaki, Hiroyasu Sato, Chemical Letters,
 5-6(1995).
- 39) Coordinatively unsaturated cobalt ion in $Co^+(H_2O)_n$ ($n = 4-6$) probed with infrared
 photodissociation spectroscopy : Kazuki Furukawa, Kazuhiko Ohashi, Nobuhiro Koga,
 Toshitaka Imamura, Ken Judai, Nobuyuki Nishi, Hiroshi Sekiya, Chemical Physics Letters,
508, 202-206(2011).
- 40) Coordination and solvation of V^+ with ammonia molecules: Infrared photodissociation
 spectroscopy of $V^+(NH_3)_n$ ($n = 4-8$) : Nobuhiro Koga, Kazuhiko Ohashi, Kazuki Furukawa,

- Toshitaka Imamura, Ken Judai, Nobuyuki Nishi, Hiroshi Sekiya, *Chemical Physics Letters*, **539-540**, 1-6(2012).
- 41) 多次元ガスクロマトグラフ質量分析法の薬物分析への応用：飯田順子，高橋誠二，分析化学，**38(12)**，659-666(1989).
- 42) Analysis of Drugs of Abuse in Biological Specimens : Koichi Saito, Rieko Saito, Yuu Kikuchi, Yusuke Iwasaki, Rie Ito, Hiroyuki Nakazawa, *Journal of Health Science*, **57(6)**, 472-487(2011).
- 43) 誘導結合プラズマ質量分析法及び誘導結合プラズマ発光分析法によるサクラ試料の多元素定量分析：勝木富美恵，保倉明子，岩畑大悟，生熊崇人，小栗佐知子，原口紘，分析化学，**47(11)**，835-844(1998).
- 44) 質量分析を用いた膜貫通型タンパク質のハイスループット定量法：武森信暁，生物物理，**56(2)**，116-119(2016).
- 45) 天然および人工起源メタンの炭素同位体比測定：佐野有司，増田昌彦，高畑曾毅強，野尻幸宏，向井直人，脇田人史，坂東宏博，地球化学，**26**，105-114(1992).
- 46) 四重極質量分析計による，多成分系ガスの定量分析に関する問題点の検討：釜島 力，森清寿郎，岩石鉱物科学，**32(1)**，1-11(2003).
- 47) 質量分析法による模擬星間じん陽子線照射生成物の分析：笠松隆志，金子竹男，土屋正彦，小林憲正，分析化学，**45(6)**，569-574(1996).
- 48) 10 K の氷から光脱離する水の核スピン異性体比と宇宙の水の起源について：羽馬哲也，香内晃，渡部直樹，*J. Vac. Soc. Jpn.*，**60(7)**，264-274(2017).
- 49) 誘導結合プラズマ質量分析法による考古学試料の鉛同位体比測定法の検討：松岡信明，川村秀久，佐伯國夫，小池正実，百島則幸，岡部裕俊，分析化学，**45(2)**，201-206(1996).
- 50) 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，別添，厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知，平成 17 年 1 月 24 日（食安発第 0124001 号）.
- 51) アセトニトリル抽出およびミニカラム精製を用いた GC/MS, GC-ECD, GC-FTD による農産物中残留農薬の多成分分析法：近藤治美，天川映子，佐藤 寛，青柳陽子，安田和男，食品衛生学雑誌，**44(3)**，161-167(2003).
- 52) GC/MS/MS を用いた加工食品中の残留農薬一斉分析法の検討：北川陽子，起橋雅浩，高取 聡，岡本 葉，福井直樹，村田 弘，住本建夫，尾花裕孝，食品衛生学雑誌，**50(5)**，243-252(2009).
- 53) 市販精油の品質評価：森真啓，池田紀和，加藤敬香，南野美紀，渡部一仁，*Pharmaceutical Society of Japan*，**122(3)**，253-261(2002).
- 54) Direct Analysis in Real Time Mass Spectrometry を用いた食品フレーバーリリースのリア

- ルタイム連続分析システムの開発：佐川岳人，工藤由貴，西口隆夫，川向孝知，坂倉幹始，塩田晃久，星 大海，松本恵子，渡辺 淳，日本食品科学工学会誌，**62(7)**，335-340(2015).
- 55) シマジン及びチオベンカルブの測定方法：環境庁告示第 59 号付表 5，
<http://www.env.go.jp/kijun/wt_a05.html>，（参照 2016-09-25）.
- 56) 「直鎖アルキルベンゼンスルホン酸及びその塩の測定方法」：環境庁告示第 59 号付表 12，<http://www.env.go.jp/kijun/wt_a12.html>（参照 2016-09-25）.
- 57) LC/MS を用いた化学物質分析法開発マニュアル：環境庁環境保健部環境安全課(2002).
- 58) Determination of Anilines in River Water, Sediment, 参照 2017.08.1 and Fish Samples by Gas Chromatography–Mass Spectrometry：T. Okumura, K. Imamura and Y. Nishikawa, J. Chromatographic Sci., **4**, 190-198(1996).
- 59) 液体クロマトグラフィー/大気圧イオン化質量分析法による N-メチルカルバメート系農薬の一斉分析：滝埜昌彦，山上 仰，代島茂樹，分析化学，**46(7)**，555-561(1997).
- 60) Screening of Volatile Organic Compounds in River Water by Headspace GC/MS：Akiko TANABE, Kuniaki KAWATA, Hideko MITOBE, Masaaki SAKAI, Journal of Environmental Chemistry, **7(1)**, 69-79(1997).
- 61) Determination of triorganotin species in water samples by liquid chromatography-electrospray-mass spectrometry：Gonzalez-Toled, Ramon C., Maria D.P. and Merce G., J. Chromatogr. A, **946**, 1-8(2002).
- 62) LC/MS による環境中の Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) の分析：佐々木和明，齋藤憲光，岩手県環境研センター年報，**2**，101-103 (2002).
- 63) Perfluorooctanoate and Perfluorooctane Sulfonate Concentrations in Surface Water in Japan：Norimitsu Saito, Kouji Harada, Kayoko Inoue, Kazuaki Sasaki, Takeo Yoshinaga, Akio Koizumi, Journal of Occupational Health, **46(1)**, 49-59(2004).
- 64) IC/MS/MS 法を用いた環境水及び水道水中のハロゲン酸分析法と過塩素酸の検出：浅見真理，小坂浩司，松岡雪子，鴨志田公洋，環境化学，**17**，363-375 (2007).
- 65) Determination of Hexaconazole in Surface Water Samples from River and the Sea by Liquid Chromatography-Electrospray Tandem Mass Spectrometry：Hiroko TSUKATANI, Kazuhiro TOBIISHI, Yoshito TANAKA, Kenji SAKURAGI, Tasoh IKEURA, Matayoshi NAKAMURA, Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, **72(1)**, 149-154(2008).
- 66) Analysis of triorganotin compounds in water sanmples by hydrophilic interaction liquid chromatography-electrospray ionization-mass spectrometry：Sano T., Takagi H., Nagano K. and Nishikawa M., J. Chromatogr. A, **1217**, 4344-4346(2010).
- 67) Behavior of paddy pesticides and major metabolites in the Sakura River, Ibaraki, Japan：Takashi Iwafun, Keiya Inao, Takeshi Horio, Nobusuke Iwasaki, Atsushi Yokoyama, Takashi

- Nagai, *Journal of Pesticide Science*, **35(2)**, 114-123(2010).
- 68) 液体クロマトグラフ/質量分析計による水道水中のハロ酢酸類の定量法の確立：田原麻衣子，杉本直樹，久保田領志，西村哲治，水道協会雑誌，**907**，18-22 (2010).
- 69) 半揮発性化学物質多成分同時分析のためのガスクロマトグラフー四重極型質量分析計の性能評価物質：陣矢大助，岩村幸美，門上希和夫，宮川治彦，中川勝博，近藤友明，楠田哲也，分析化学，**60(12)**，965-975(2011).
- 70) Development of a Screening Method for the Determination of PCBs in Water Using QuEChERS Extraction and Gas Chromatography–Triple Quadrupole Mass Spectrometry : Jia-Wei SHI, Yong-Gang ZHAO, Zhen-Jun FU, Ji-Ge LI, Yu-Fei WANG, Tian-Chi YANG, *Analytical Sciences*, **28(2)**, 167-173(2012).
- 71) 水道水中の農薬類の LC/MS/MS 一斉分析法の開発：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，環境科学会誌，**27(1)**，3-19 (2014).
- 72) 水道水中のイミノクタジン・ジクワット・パラコートの LC/MS/MS 一斉分析法の開発：小林憲弘，久保田領志，佐々木俊哉，五十嵐良明，環境科学会誌，**28(2)**，117-125(2015).
- 73) 有機 EL 薄膜作成技術 II—ドライプロセス—：八瀬清志，高田徳幸，谷垣宣孝，応用物理，**70(4)**，455-459(2001).
- 74) 四重極質量分析装置によるカーボンナノチューブ合成時のリアルタイムガス分析(熱工学 II)：大賀陽介，井上修平，松村幸彦，日本機械学会中国四国支部総会・講演会 講演論文集，2015.53(2015).
- 75) 直留ガソリン中脂肪族硫黄化合物の定性分析：藤井敏博，分析化学，**25(3)**，141-145(1976).
- 76) 最新有機地球化学分析装置の原油・根源岩試料分析への適用；探査技術課，独立行政法人 石油天然ガス・金属鉱物資源機構，
<http://www.jogmec.go.jp/library/recommend_library_10_000088.html>，
(参照 2017.10.08).
- 77) 熱分解ガスクロマトグラフィー/質量分析法による高分子の末端構造解析：伊藤芳郎，分析化学，**47(10)**，747-748(1998).
- 78) 熱布およびクラフト粘着テープに使用されているアクリル系粘着剤の熱分解ガスクロマトグラフィー質量分析法による分析：雲岡義雄，日本法科学技術学会誌，**10(1)**，11-18(2005).
- 79) Screening of Phthalates in Polymer Materials by Pyrolysis GC/MS : Fumitaka MARUYAMA, Shigehiko FUJIMAKI, Yuki SAKAMOTO, Yukihiko KUDO, Haruhiko MIYAGAWA, *Analytical Sciences*, **31(5)**, 3-5(2015).
- 80) UltraTrace Analysis of Semiconductor Grade Reagents By ICP-MS : Donald Potter, Amanda

- Walsh, Edward McCurdy, Robert C Hutton, *Analytical Sciences*, **7**, 467-470(1991).
- 81) Rapid Determination of Decabromodiphenyl Ether in Polystyrene by Thermal Desorption-GC/MS : kihiko HOSAKA, Chuichi WATANABE, Shin TSUGE, *Analytical Sciences*, **21(10)**, 1145-1147(2005).
- 82) 新しい質量分析技術の法医学領域への応用:石井 晃,金子理奈,平田ゆかり,浜島 誠, *Journal of the Mass Spectrometry Society of Japan*, **56(3)**, 131-138(2008).
- 83) 誘導体化ガスクロマトグラフィー質量分析による生体試料中陰イオン性毒物などの分析:鹿毛 茂利,工藤 恵子,池田 典昭, *日本法科学技術学会誌*, **17(2)**, 63-74(2012).
- 84) 可搬型 GC/MS による化学兵器物質の分析; Robert V. Mustacich, Agilent Technologies, プリケーションノート, <http://www.chem-agilent.com/pdf/low_5990-6396JAJp.pdf>, (参照 2017.10.08).
- 85) 工場排水試験法 (金属): JIS K 0102(2013).
- 86) ICP 質量分析法による微量鉄の定量 (高純度アルミニウムへの適用): 今北 毅, あたりあ, **33(4)**, 388-390(1994).
- 87) Multielement Determination of Rare Earth Elements in Geochemical Samples by Liquid Chromatography/Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry : Akihide ITOH, Tadashi HAMANAKA, Wei RONG, Katsuya IKEDA, Hideyuki SAWATARI, Koichi CHIBA, Hiroki HARAGUCHI, *Analytical Sciences*, **15(1)**, 17-22(1999).
- 88) メタボロミクス: 福田真嗣, *アレルギー*, **65(1)**, 75-76(2016).
- 89) Novel coordination chemistry of monopositive metal ions in the gas phase as studied by the laser ablation-molecular beam (LAMB) method. Reactions with ammonia-acetone binary clusters : Koji Furukawa, Satoru Nishio, Akiyoshi Matsuzaki, Hiroyasu Sato, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, **124(1-2)**, 9-14(1999).
- 90) Laser ablation-molecular beam method : a simple and versatile diagnosis to study chemistry of monopositive metal ion in the gas phase : Osamu Ito, Koji Furukawa, Yasuhiro Horiki, Satoru Nishio, Akiyoshi Matsuzaki, Hiroyasu Sato, *Applied Surface Science*, **106**, 90-93(1996).
- 91) Limited coordination number and competitive coordination in ammonia-water mixed-ligand complexes of monopositive metal ions as studied by the laser ablation-molecular beam method : Experiment and simulation : Hiroyasu Sato, Akiyoshi Matsuzaki, Satoru Nishio, Osamu Ito, Koji Furukawa and Takashi Kawasaki, *Journal of Chemical physics*, **108(10)**, 3940-3954(1998).
- 92) トリプル四重極質量分析計の原理と応用; 窪田雅之, 一般社団法人 日本分析機器工業会, <<https://www.jaima.or.jp/jp/analytical/basic/mass/triplequad/>>, (参照 2017.07.31).

- 93) 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：水質管理目標設定項目の検査方法，別添 4，厚生労働省健康局水道課長通知，平成 15 年 10 月 10 日（健水発第 1010001 号）.
- 94) 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，平成 24 年 9 月 6 日（健水発 0906 第 1 号，最終改正：平成 29 年 10 月 18 日付け薬生水発 1018 第 1 号）.

第 2 章 LC/MS/MS による水道原水中のトリブチ ルスズ及びトリフェニルスズ分析法

2.1. 緒言

イボニシ¹⁾やバイ²⁾の貝類にメスがオス化する現象を引き起こすことが知られているトリブチルスズ化合物（以下、TBT）やトリフェニルスズ化合物（以下、TPT）などの有機スズ化合物は、殺菌剤、防黴剤、防汚剤として漁業用ネットや船底塗料などに長年使用されてきた。しかし、1980年代中頃からの魚介類汚染が問題となり、1982年にTBTを規制する法律がフランスで最初に制定されて以降、多くの国で同様の措置がとられている。日本でもビス＝トリブチルスズ＝オキシド（TBTO）が1989年12月に化学物質審査規制法において第1種特定化学物質に指定され、製造、輸入及び使用が禁止されており、その他、数種類の有機スズ化合物についても1989年12月と1990年9月に第2種特定化学物質に指定された。さらに、1997年に日本塗料工業会がトリブチルスズ含有塗料の製造を禁止したため、現在では使用量が大幅に減少していると考えられる。しかし、最近ではハマチ養殖漁場において防虫用に使われていたことが発覚し社会問題に発展したことや、欧米諸国では25 m以上の大型船に対して有機スズ含有塗料の全面禁止の規則が無いことなどもあり、環境への汚染が進む可能性が十分にある。また、水道水においても、要検討項目として目標値0.0006 mg/Lが定められており、今後、原水や浄水中におけるアニリン存在量の実態調査が必要な項目である。

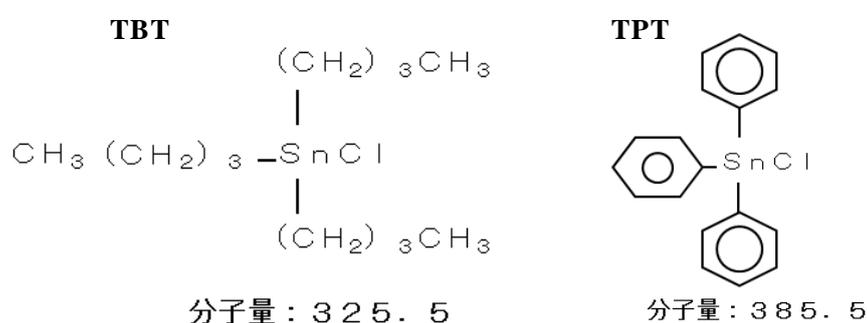


図 2-1 TBT と TPT の構造式と分子量

TBT 及び TPT の分析方法には、当初、平成 10 年 10 月に環境庁が示した外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル⁴⁾（以下、「暫定マニュアル」と略；図 2-2 参照）に記載されている Grignard 試薬を用いたアルキル誘導體化による GC/MS 法が使用された。この分析方法は、Grignard 試薬を利用することから複雑な誘導體化工程を有しており、特に、低濃度付近における定量分析の測定結果は、作業者の技量にも左右されやすい。また、暫定マニュアルの検出下限値は、海水中において環境ホルモン作用を示すとされる濃度 1 ng/L であり^{1,5)}、汚染状況把握の為には、さらなる高感度な微量分析方法の開発が必要とされていた。

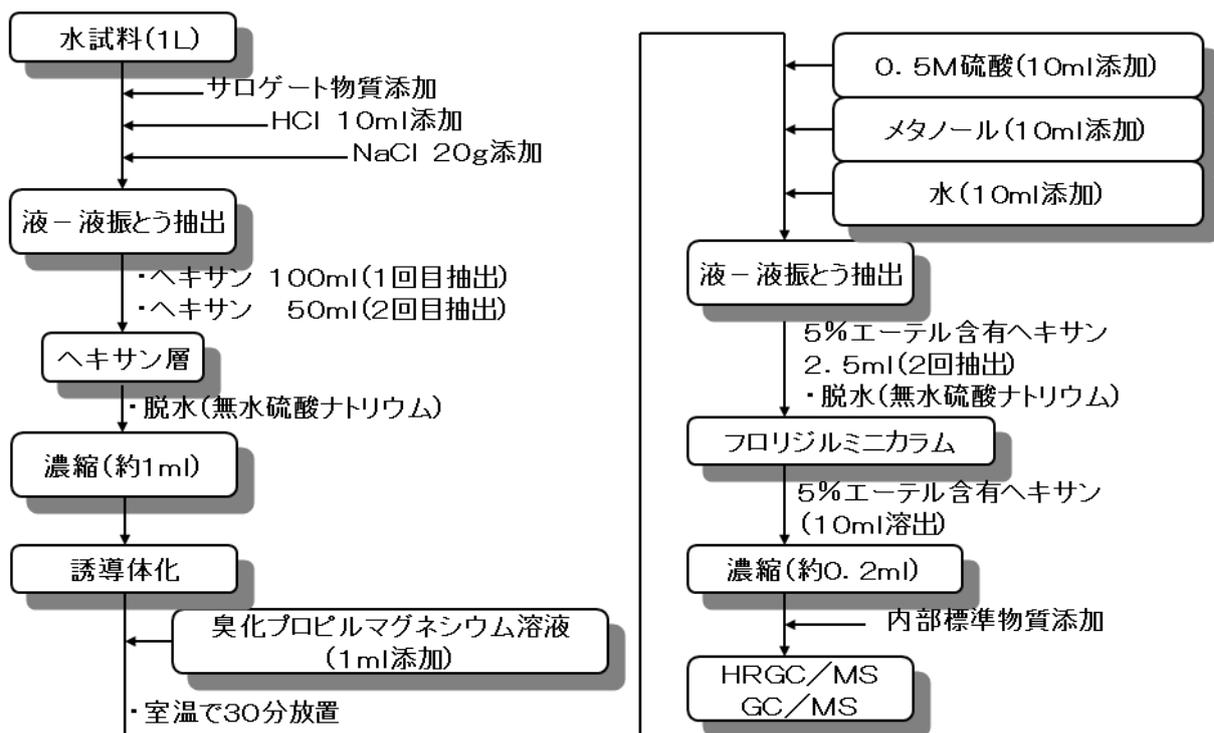


図 2-2 暫定マニュアルによる TBT と TPT 分析フロー

一方、1ng/L レベルの定量下限値が可能な TBT 及び TPT の分析法としては、ガスクロマトグラフィ (GC) と誘導結合プラズマ質量分析 (ICP-MS) を組み合わせた GC/ICP-MS 法による分析の検討が報告されている⁶⁻⁸⁾。しかし、この分析方法は、高価で汎用性の低い GC/ICP-MS 装置を使用することから、一般に使用できる分析法として普及していない。また、岩村らは、テトラエチルホウ酸ナトリウム誘導體化-GC/MS 法による TBT 及び TPT 分析法の検討を行い、検出下限値として、TBT : 0.16ng/L と TPT : 0.30ng/L が得られているが⁹⁾、この分析は汎用性の高い GC/MS 装置を使用していることから、環境省が平成 14 年に示した「要調査項目等調査マニュアル」¹⁰⁾の有機スズ化合物分析法 (目標定量下限値 : TBT0.9ng/L, TPT0.6ng/L) のもとになっており、現在では、TBT 及び TPT 分析において、最も一般的な方法として採用されている。

しかしながら、この分析方法の誘導體化工程で使用されるテトラエチルホウ酸ナトリウムは高価な試薬であることや、試薬がキムワイプ等に付着すると空気中の水分を吸収し発熱して燃える可能性があるなどのいくつかの問題点も存在する¹⁰⁾。分析者の安全性と作業効率の向上の観点から考えると、誘導體化工程は省略できる方が望ましい。このため、最近では、GC/MS 法に変わり誘導體化工程の省略が可能な LC/MS 法による TBT 及び TPT 分析方法が、Gonzalez-Toled¹¹⁾、上島¹²⁾ 及び Sano¹³⁾らによって検討されている。LC/MS (/MS) 装置は、近年、普及率が急速に高まった汎用性の高い分析装置であり、農薬、界面活性剤、

ハロ酢酸類，有機臭素化合物及び有機フッ素化合物（PFOS・PFOA類）などに幅広く分析法が検討され，報告例も数多く存在する¹⁴⁻²¹⁾。

そこで本研究において，海水試料を用いて分析者の安全性と作業効率の向上を目的に誘導体化工程を省略した LC/MS/MS による水道原水中の TBT 及び TPT の分析方法の検討を行い，良好な結果が得られたので報告する。

2. 2. 方法

2. 2. 1. 標準液の調製方法

- ・ 10 mg/L TBT 標準液：最初に，100 mg/L の TBT 標準原液を調製するため，塩化トリブチルスズ標準品を 10 mg 精秤し，メタノールに溶解し 100 mL とした．次に，100 mg/L の TBT 標準原液から 1 mL 採取し，メタノールで 10 mL に希釈・調製した．
- ・ 10 mg/L TPT 標準液：最初に，100 mg/L の TPT 標準原液を調製するため，塩化トリフェニルスズ標準品を 10 mg 精秤し，メタノールに溶解し 100 mL とした．次に，100 mg/L の TPT 標準原液から 1 mL 採取し，メタノールで 10 mL に希釈・調製した．
- ・ 10 mg/L トリブチルスズ-d27 (以下，TBT-d27 と省略) 標準液：最初に，100 mg/L の TBT-d27 標準原液を調製するため，塩化トリブチルスズ-d27 標準品を 10 mg 精秤し，メタノールに溶解し 100 mL とした．次に，100 mg/L の TBT-d27 標準原液から 1 mL 採取し，メタノールで 10 mL に希釈・調製した．
- ・ 10 mg/L トリフェニルスズ-d15 (以下，TPT-d15 と省略) 標準液：最初に，100 mg/L の TPT-d15 標準原液を調製するため，塩化トリフェニルスズ-d15 標準品を 10 mg 精秤し，メタノールに溶解し 100 mL とした．次に，100 mg/L の TBT 標準原液から 1 mL 採取し，メタノールで 10 mL に希釈・調製した．
- ・ 5 µg/L サロゲート物質標準液：10 mg/L の TBT-d27 及び TPT-d15 標準液から各 50 µL 採取し，メタノールで 100 mL に希釈・調製した．

2. 2. 2. LC/MS/MS 装置及び測定条件の検討手順

本分析方法の検討に用いた LC/MS/MS 装置システムには，1200HPLC-6410LC/MS/MS (Agilent Technologies 社製) を使用した．また，LC/MS/MS 測定条件の検討の手順については，「化学物質環境実態調査における LC/MS を用いた化学物質の分析法とその解説」¹⁵⁾ の第 1 部に記されている“分析法開発における LC/MS 分析条件設定の実際”及び「化学物質環境実態調査実施の手引き」²²⁾ の第 4 章に記されている“分析法開発調査”を参考にし，以下の順で検討を行った．

- ①プリカーサイオン(M1)検討
- ②プロダクトイオン (M2) 検討
- ③分離カラムの検討
- ④移動相，分離カラムの検討結果及び考察
- ⑤検量線 (直線性の確認) 並びに変動係数，装置検出及び定量下限値の算出

2. 2. 3. 添加回収試験の前処理方法

本研究で検討を行った TBT 及び TPT の前処理方法は、環境庁の暫定マニュアル⁴⁾を参考にし、誘導体工程を省略した図 2-3 に示すフローを採用した。また、高感度分析が可能な LC/MS/MS 装置を使用することから、水試料の使用量を 1000 mL から 100 mL に減らし、作業性の向上を図った。以下に、前処理方法の詳細を記載する。

最初に試料 100 mL を 200 mL の分液ロートに入れ、5 µg/L サロゲート物質標準液を 0.5 mL (絶対量 TBT-d27 : 2.5 ng, TPT-d15 : 2.5 ng)、塩酸 1 mL 及び塩化ナトリウム 5 g を添加した。次に、ヘキサン 20 mL を加えて 10 分間振とう抽出した。さらに、ヘキサン 20 mL で再抽出を行い、抽出したヘキサン層を合わせた。そのヘキサン層に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水・ろ過した後、ロータリーエバポレーターを用いて 40 °C で蒸発乾固直前まで減圧濃縮した。その後、メタノールを加えて 0.5 mL に定容した。この前処理を行った検液を LC/MS/MS 装置に 10 µL 注入し、定量分析を行った。

検量線は次のように作成した。10 mg/L の TBT 及び TPT 標準液を 0.10 ~ 10 µg/L の濃度範囲で、6 段階 (0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 5.0, 10 µg/L) にメタノールで希釈して検量線測定用の標準液を調製した。また、標準液調製の際に、各濃度の標準液に対して、サロゲート物質の濃度はいずれも 5 µg/L になるように添加した。

次に、調製した標準液を LC/MS/MS 装置に注入し、測定して得られる各対象物のピーク面積とサロゲート物質のピーク面積比を算出して検量線を作成した。なお、本検討報告における TBT 及び TPT の標準液濃度は、全て塩化物として算出している。

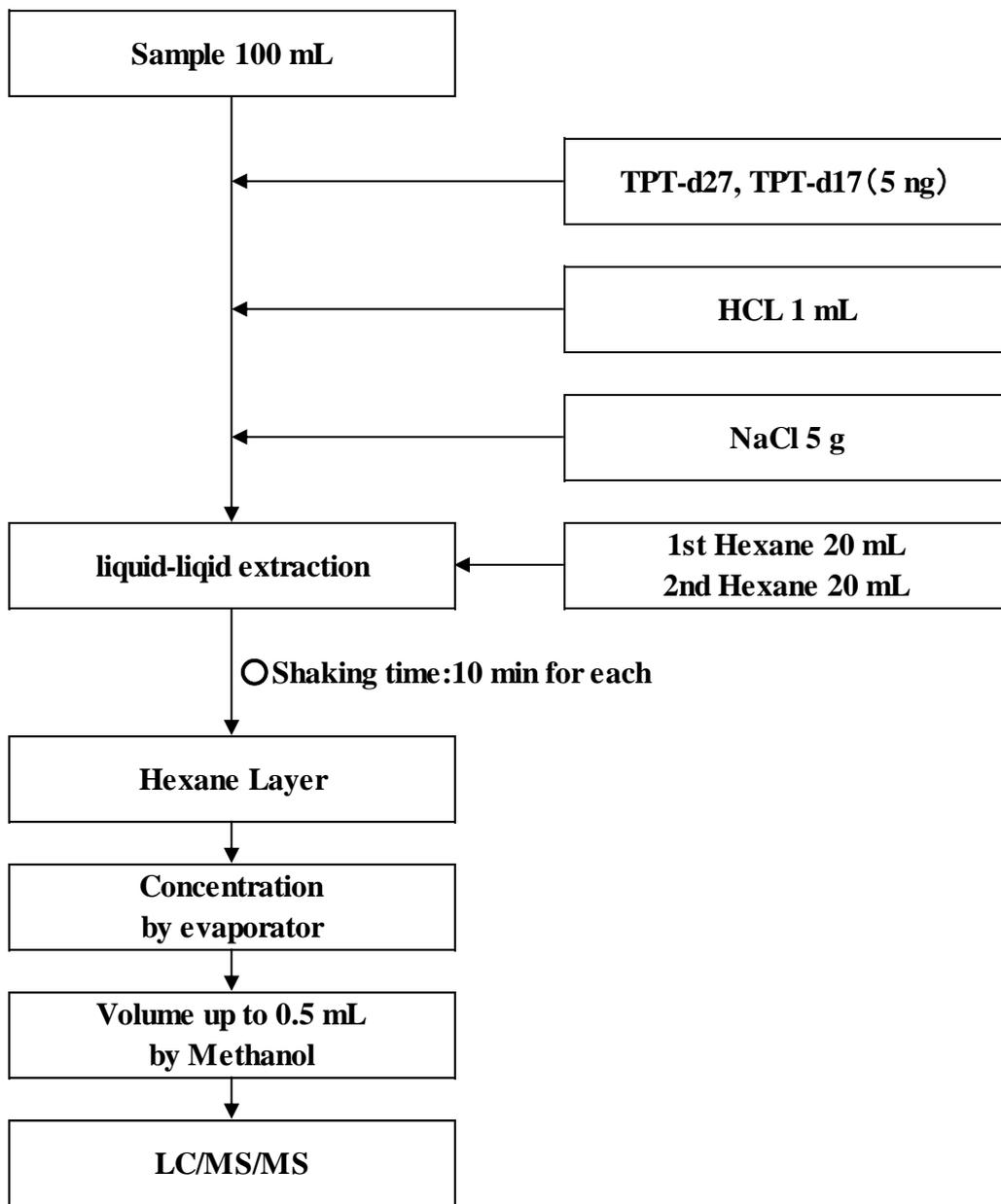


図 2-3 海水中の TBT および TPT 分析フロー

2. 3. 結果及び考察

2. 3. 1. LC/MS/MS 測定条件の検討結果及び考察

2. 3. 1. 1. プリカーサイオン(M1)の検討

LC/MS/MS 測定のための諸条件を検討するためには、最初に、TBT, TPT, TBT-d27, TPT-d15 のプリカーサイオン(M1)として最適な測定イオンを検討することが必要である。このため、各測定対象物の標準液 (10 mg/L : メタノール) 1 μ L を LC/MS/MS 装置に注入し、MS-SCAN 測定 (測定範囲 : m/z 100-500) を行った。

図 2-4 は、TBT, TPT, TBT-d27, TPT-d15 の MS-SCAN 測定 (全てポジティブモード) によって得られた MS スペクトルである。この図から MS スペクトルで測定された各測定対象物の最も強度が高いイオンは、TBT : m/z 291, TPT : m/z 351, TBT-d27 : m/z 318, TPT-d15 : m/z 366 であった。この測定結果は、 $[M-(C_4H_9)+1]^+$, $[M-(C_6H_5)+1]^+$ に相当するピークであり、Gonzalez-Toled ら¹¹⁾が TBT 及び TPT の LC/MS 測定の検討で報告している結果と一致していた。

また、図 2-5 にはスズ元素の安定同位体分布を、図 2-6~2-9 には TBT : m/z 291, TPT : m/z 351, TBT-d27 : m/z 318, TPT-d15 : m/z 366 付近の MS スペクトルの拡大図を示した。これらの図から、TBT : m/z 291, TPT : m/z 351, TBT-d27 : m/z 318, TPT-d15 : m/z 366 付近のピークは、多数に分裂していることがわかった。さらに、このピーク分裂の強度比は、スズ原子の自然存在の同位体強度比に一致しており、スズ原子を中心とした化合物を起因する化合物のピークであることが確認できた。

以上の結果から、MS-SCAN 測定で得られた TBT : 291 (m/z), TPT : 351 (m/z), TBT-d27 : 318 (m/z) および TPT-d15 : 366 (m/z) については、測定対象物質起因する分子に H⁺ が付加した 1 価の陽イオンであると考えられ、プレカーサイオン(M1)の質量数として最適であると判断した。

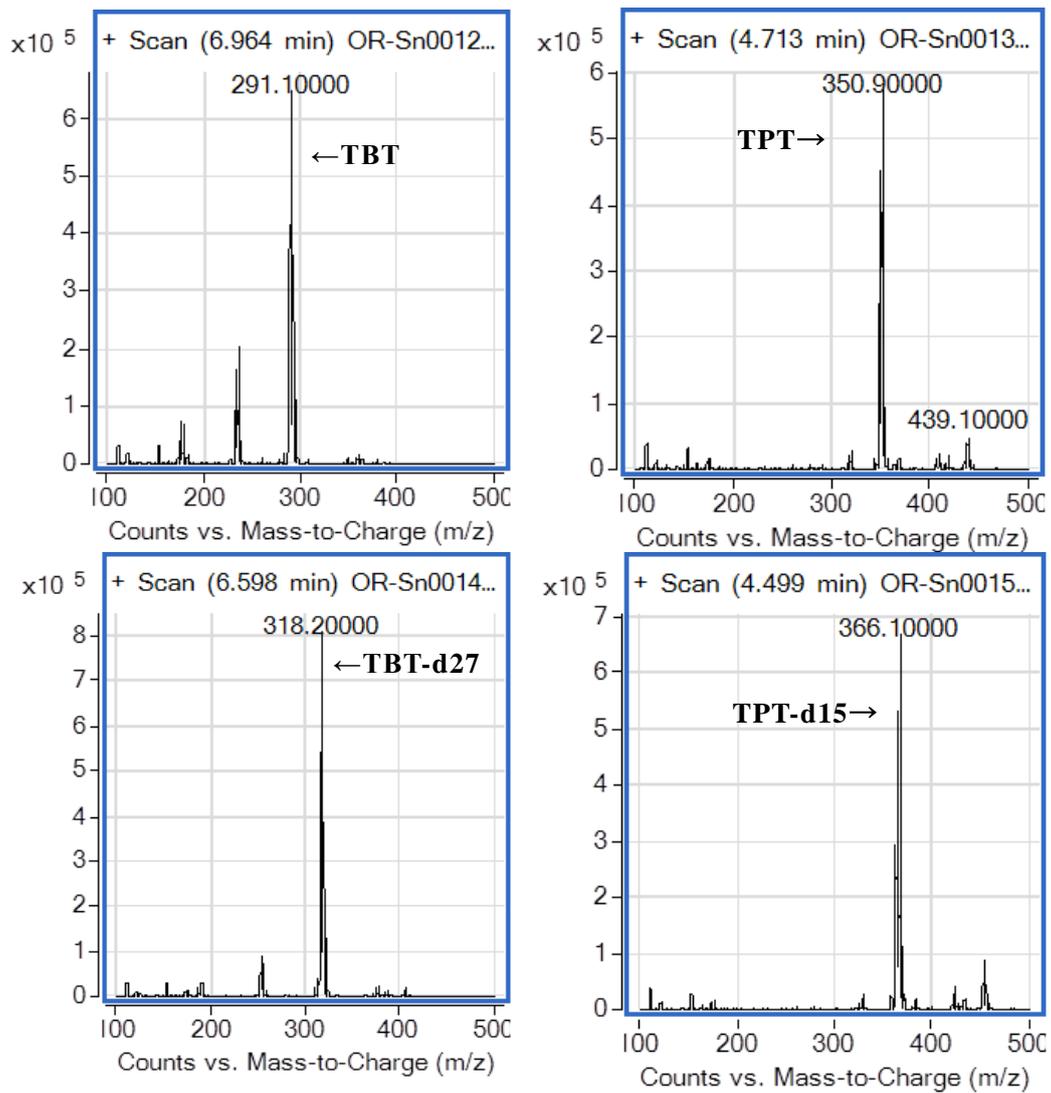


図 2-4 TBT, TPT, TBT-d27 および TPT-d15 の MS スペクトル

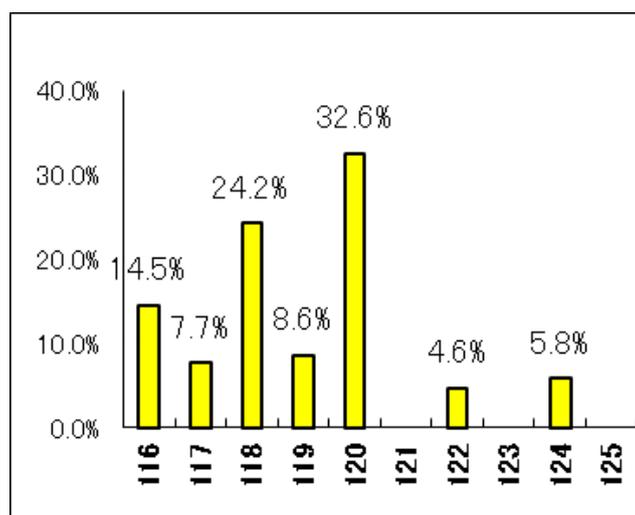


図 2-5 スズ元素の安定同位体分布

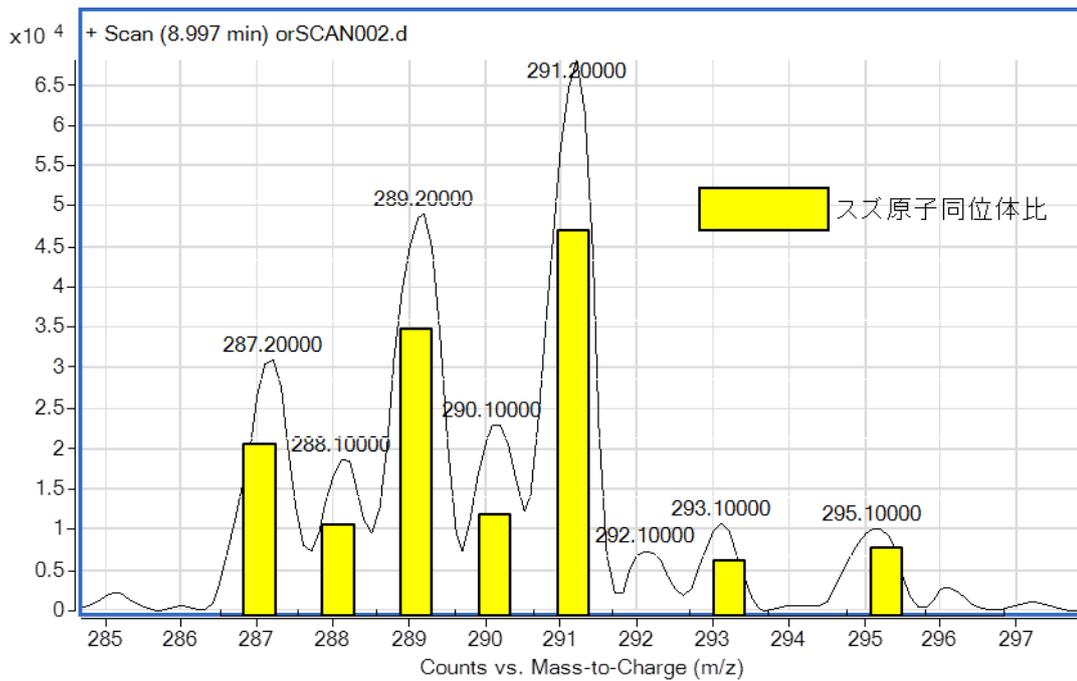


図 2-6 TBT : m/z 291 付近の MS スペクトルとスズ元素の安定同位体分布

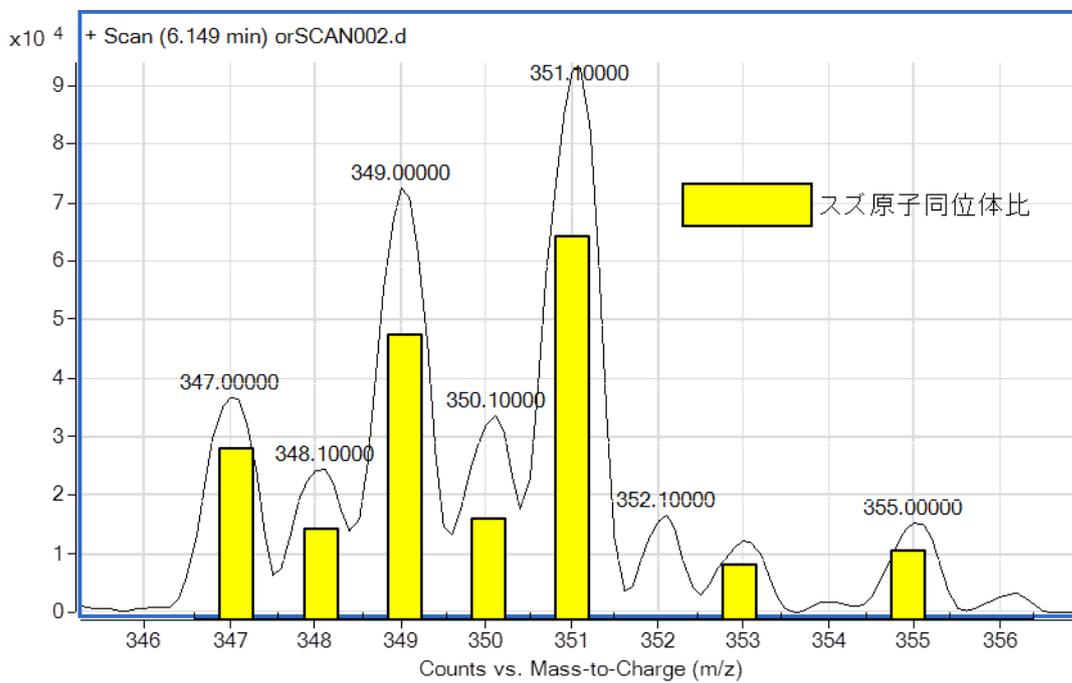


図 2-7 TPT : m/z 351 付近の MS スペクトルとスズ元素の安定同位体分布

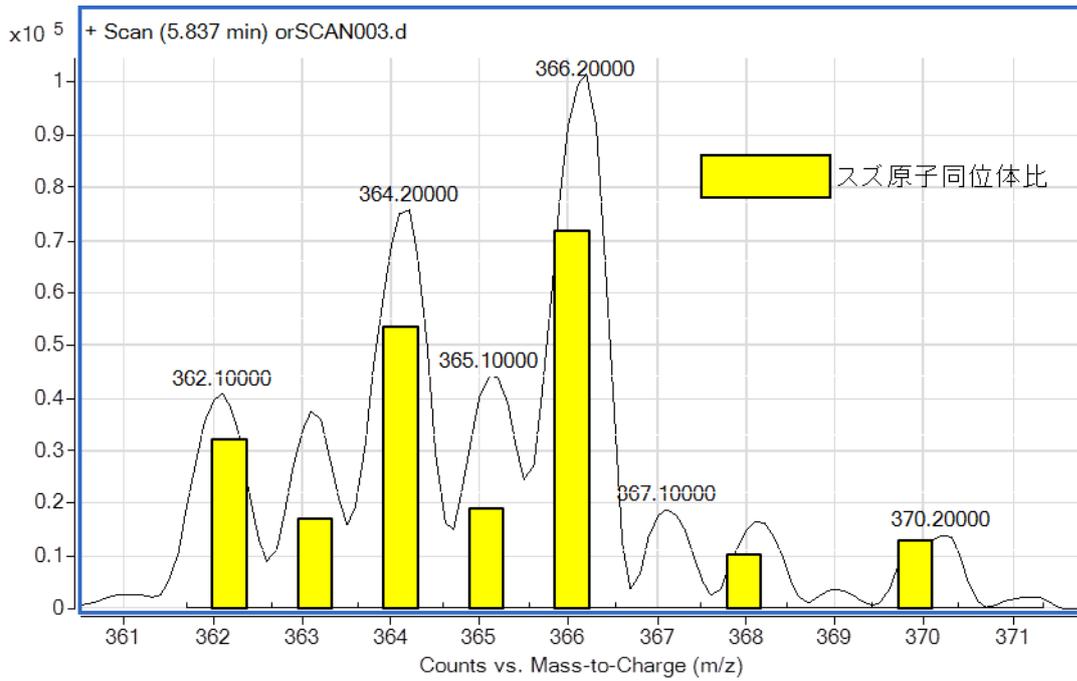


図 2-8 TBT-d27 : m/z 366 付近の MS スペクトルとスズ元素の安定同位体分布

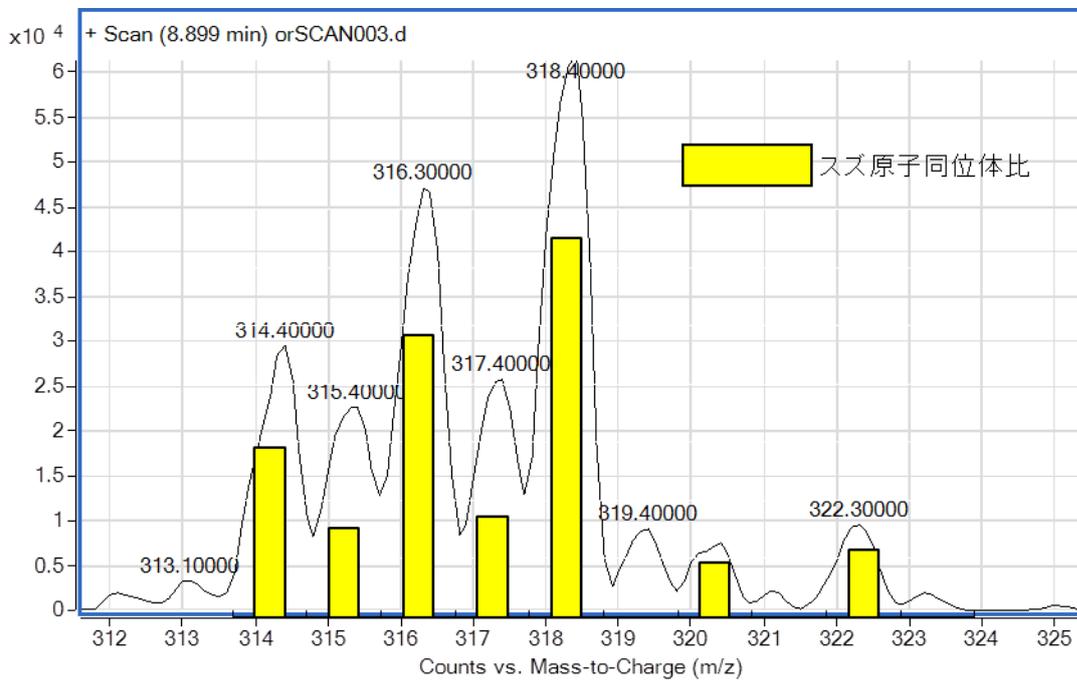


図 2-9 TPT-d15 : m/z 318 付近の MS スペクトルとスズ元素の安定同位体分布

2. 3. 1. 2. プロダクトイオン (M2) の検討

本分析法で使用する最適なプロダクトイオン(M2)を検討するため、各測定対象物の標準液 (10 mg/L : メタノール) 1 μ L を LC/MS/MS 装置に注入し、2. 3. 1. 1. で得られたプリカーサイオン(M1)のプロダクトイオン-SCAN 測定を行った。図 2-10 は、TBT, TPT, TBT-d27 及び TPT-d15 のプロダクトイオン SCAN 測定により得られた MS スペクトルである。

これらの図から、TBT 及び TBT-d27 については、それぞれ m/z 179 及び m/z 190 のプロダクトイオンの強度が最も高く測定され、TBT のプロダクトイオン(M2)として最適であることがわかった。この測定結果は、TBT のプリカーサイオン ($[M]^+ : m/z 291$) が、Collision Cell において窒素分子と衝突・解離し、プリカーサイオンから $[M - (C_4H_9)_2 + 2H]^+ (m/z 179)$ の構造を有するプロダクトイオンが生成した結果と考えられる。この解離工程は、Gonzalez-Toled らが TBT の LC/MS 測定条件検討の際に測定された Fragment イオン生成過程の考察と一致していた¹¹⁾。TPT 及び TPT-d15 については、図 2-10 よりそれぞれ m/z 197 及び m/z 202 のプロダクトイオンの強度が最も高く測定され、TPT のプロダクトイオン(M2)として最適であることがわかった。

この測定結果は、TPT のプリカーサイオン ($[M]^+ : m/z 351$) が、Collision Cell において窒素分子と衝突・解離し、プリカーサイオンからフェニル基が 2 個外れたプロダクトイオン ($[M - (C_6H_5)_2]^+ m/z 197$) が生成した結果と考えられる。この解離工程は、Gonzalez-Toled らが TBT の LC/MS 測定条件検討の際に測定された Fragment イオン生成過程の考察と一致していた¹¹⁾。

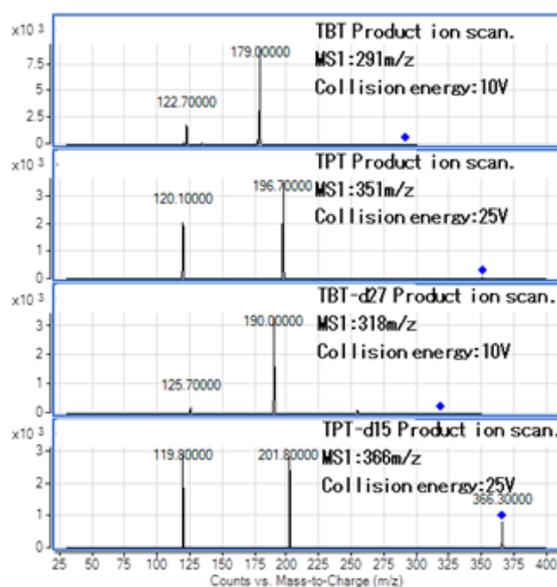


図 2-10 TBT, TPT, TBT-d27 および TPT-d15 のプロダクトイオン-SCAN 測定により得られた MS スペクトル

2. 3. 1. 3. 分離カラム及び移動相の検討

TBT 及び TPT の定量分析が可能なクロマトグラムを得るために、分離カラムの検討を行った。最初に、LC 分析で最も一般的に使用される逆相系分離カラム (L-columnODS : 3 μ m 2.1 mm \times 150 mm) を用いて、TBT 及び TPT のピーク形状の検討を行った。この結果、図 2-11 に示すとおり、TBT と TPT のピーク形状は、幅広くブロードであり、適切な定量分析が可能なピーク形状のクロマトグラムを得ることはできなかった。この測定結果は、Sano¹³⁾らによって、C18, C8, Ph 系の逆相系分離カラムを用いても同様の結果が得られたことが報告されており、TBT 及び TPT におけるスズ原子が逆相系分離カラムとの疎水性相互作用が強すぎるためであると考察されている。このため、Sano¹³⁾らは極性の高い固定相を持つ HILIC 系カラムを用いることで、TBT 及び TPT と分離カラムとの疎水性相互作用を弱め、TBT 及び TPT の良好なピーク形状を有したクロマトグラムを得ている。このため、本研究では、極性化合物の保持能力が ODS 系分離カラムよりも高いアルキルアミド系 Ascentis RP-Amide カラム (SUPELCO 社 : 3 μ m, 2.1 mm \times 150 mm) を用いて検討を行った。

移動相の条件としては、Gonzalez-Toled¹¹⁾及び Sano¹³⁾らの報告で採用されたアセトニトリル系の移動相 (アセトニトリル及び 0.1 %ギ酸含有の 5mM 酢酸アンモニウム水溶液のグラジェント分析) を用いてみたが、図 2-12(a)~(d)で示したように、TBT 及び TPT とともに ODS 系分離カラムよりも良好なピーク形状のクロマトグラムが得られたが、そのピーク形状は、依然幅広くブロードであり、定量分析に適したシャープな SRM クロマトグラムを得ることができなかった。

そこで、移動相の条件をメタノール及び 0.1 %ギ酸含有の 5 mM 酢酸アンモニウム水溶液のグラジェント分析に変更し、再度検討を行った。その結果、図 2-12(e)~(h)で示したとおり、TBT 及び TPT とともに良好なピーク形状を有する SRM クロマトグラムを得ることができた。



図2-11 ODS系カラム使用した場合のTBT及びTPT標準液のLC/MS/MS測定によるSIMクロマトグラム (1 mg/L)

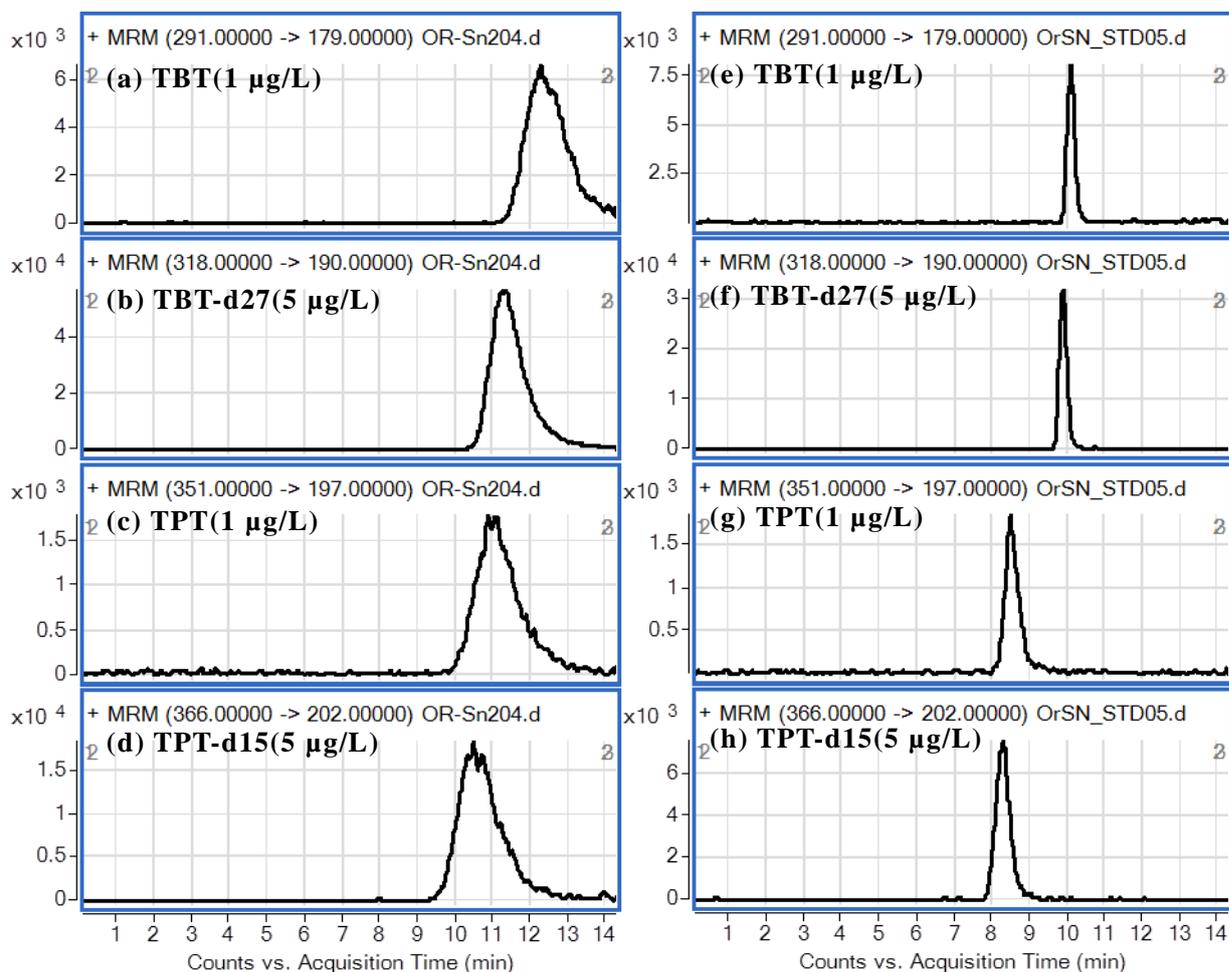


図 2-12 RP-Amide カラム使用した場合の TBT, TBT-d27, TPT 及び TPT-d15 標準液の SRM クロマトグラム : (a)~(d) は, 移動相にアセトニトリルを使用したケース : (e)~(h)は, 移動相にメタノールを使用したケース

2. 3. 1. 4. 検量線の直線性, 変動係数, 装置検出並びに装置定量下限値の算出

図 2-13 には, 表 2-1 の LC/MS/MS 測定条件下で得られた TBT 及び TPT の検量線を示したが, TBT 及び TPT とともに 0.9999 以上の相関係数が得られており, 0.1~10 μ g/L の濃度範囲で良好な直線性が確保できた。

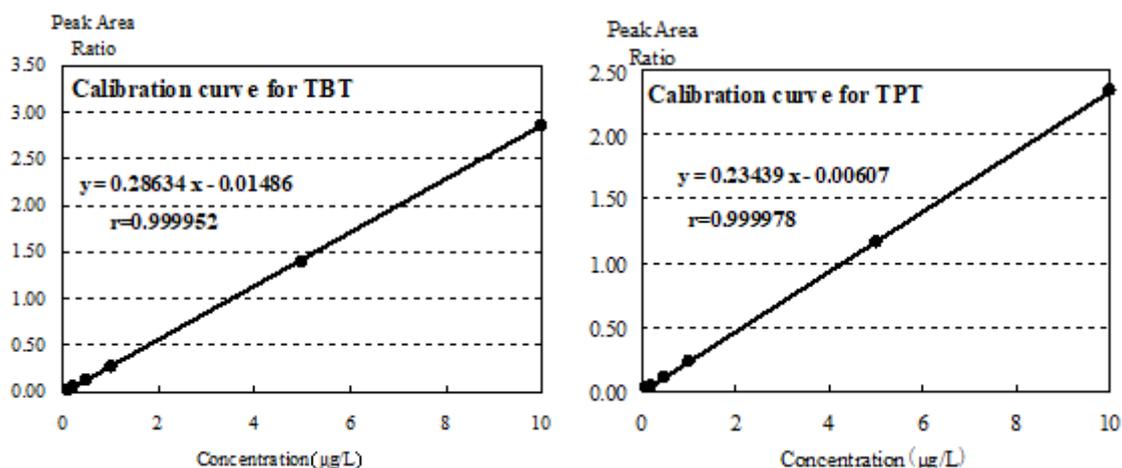


図 2-13 TBT および TPT 標準液の検量線

表 2-1 LC/MS/MS 測定条件

LC 部測定条件	
使用機器	Agilent 1200series
移動相	A:5 mM CH ₃ COONH ₃ with 0.1 %HCOOH B:CH ₃ OH
Gradient	A:B = 40:60(0 min) → B:60 % → 90 % (0 →7 min) → B:90 % (7 →15 min)
移動相流量	0.2 mL/min
カラム温度	40°C
使用分離カラム	SUPELCO Ascentis RP-Amide (3 μ m, 2.1 mm \times 150 mm)
注入量	10 μ L
MS/MS 部測定条件	
使用機器	Agilent 6410 LC/MS/MS
イオン化方法	ESI(positive)
Fragment Voltage	100 V
Collision Voltage	TPT,TPT-d15:25 V TBT,TBT-d27:10 V
Monitor ion	TBT MS1:291(m/z) → MS2:179(m/z) TBT-d27 MS1:318(m/z) → MS2:190(m/z) TPT MS1:351(m/z) → MS2:197(m/z) TPT-d15 MS1:366(m/z) → MS2:202(m/z)

次に、装置検出下限値（以下、IDL と略）及び装置定量下限値（以下、IQL と略）を「化学物質環境実態調査実施の手引き」²²⁾記載の以下の式で算出した。

$$\text{IDL} : \text{計算式} = t(n-1, 0.05) \times \sigma \times 2$$

$$\text{IQL} : \text{計算式} = \sigma \times 10$$

ここで、 σ : n 回の繰り返し分析値の標準偏差

$t(n-1, 0.05)$: 危険率 5 % , 自由度 $n-1$ の t 値（片側）, $n=7$ の場合は 1.9432

なお、「化学物質環境実態調査実施の手引き」では、IDL 及び IQL の算出には、 $S/N=10$ 程度の標準液を用いることになっている。表 2-1 の LC/MS/MS 測定条件では、図 2-14 に示すとおり、TBT が $0.1 \mu\text{g/L}$ 標準液で $S/N=10.7$ 、TPT が $0.2 \mu\text{g/L}$ 標準液で $S/N=8.6$ の数値が得られており、それぞれの濃度の標準液を IDL 及び IQL の算出に使用した。

表 2-2 は、 $0.1 \mu\text{g/L}$ の TBT 標準液及び $0.2 \mu\text{g/L}$ の TPT 標準液を 7 回繰り返し分析して得られた測定値の平均値、標準偏差、変動係数、IDL 及び IQL の算出結果である。この結果から、IDL については TBT 及び TPT とともに $0.1 \mu\text{g/L}$ 以下の数値を得ることができた。IQL についても TBT : $0.070 \mu\text{g/L}$ 、TPT : $0.14 \mu\text{g/L}$ の数値が得られており、表 2-1 の測定条件で高感度な定量分析が可能であることが示された。また、繰り返し試験の分析精度に関して、TBT 及び TPT 両物質の変動係数は 10 % 以下であり、再現性の高い良好な結果を得ることができた。

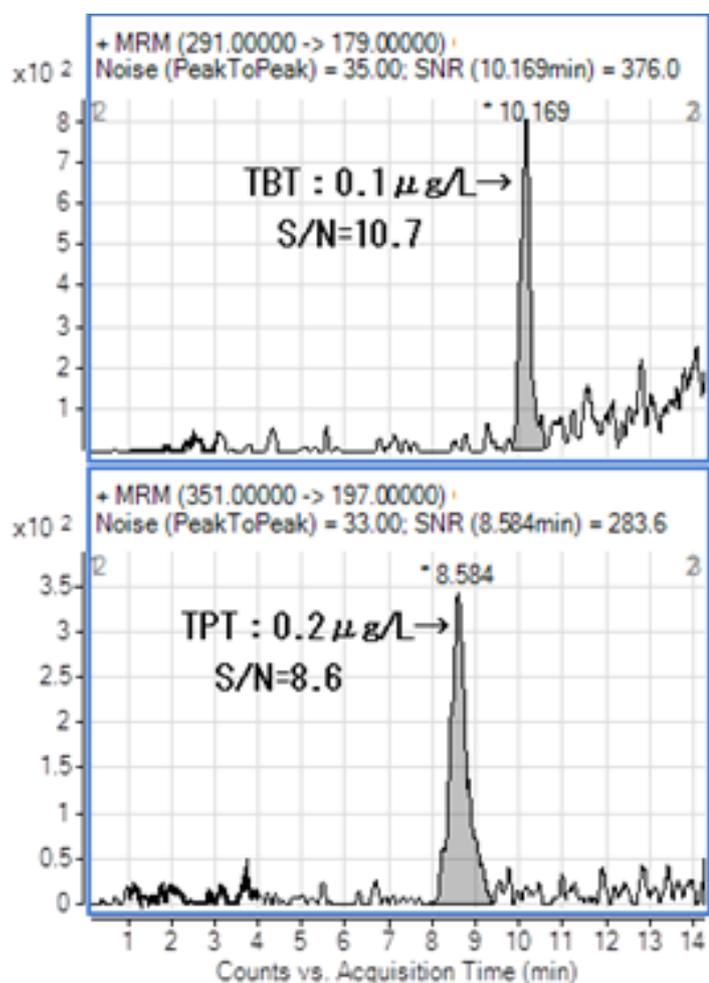


図 2-14 TBT (0.1 μg/L) および TPT (0.2 μg/L) 標準液における検出ピークの S/N 比

表 2-2 本分析法における IDL および IQL

	TBT	TPT
平均値(μg/L, n=7)	0.11	0.21
標準偏差	0.007	0.014
変動係数(%)	6.3	6.8
IDL(μg/L)	0.027	0.054
IQL(μg/L)	0.070	0.14

2. 3. 2. 海水を用いた添加回収試験

本分析方法の実試料へ適用した場合の定量性及び夾雑物の影響を確認するため、伊勢湾で採取した海水を用いた添加回収試験を図 2-3 のフロー図に従い実施した。なお、添加回収試験に使用した海水については、ブランク試験も実施し、図 2-15(a)~(d)に示したとおり、TBT 及び TPT とともに IDL 以下であることを確認した。

添加回収試験 (n=7) は、海水 1 L に TBT 及び TPT 標準品を 1 ng 添加して攪拌した試料を作成し、そこから 100 mL 試料を 7 回分採取して行った。図 2-15(e)~(h)は、添加回収試験で得られた SRM クロマトグラムであり、TBT, TPT 及び各サロゲート物質ともに夾雑物の影響を受けない良好なピーク形状であった。

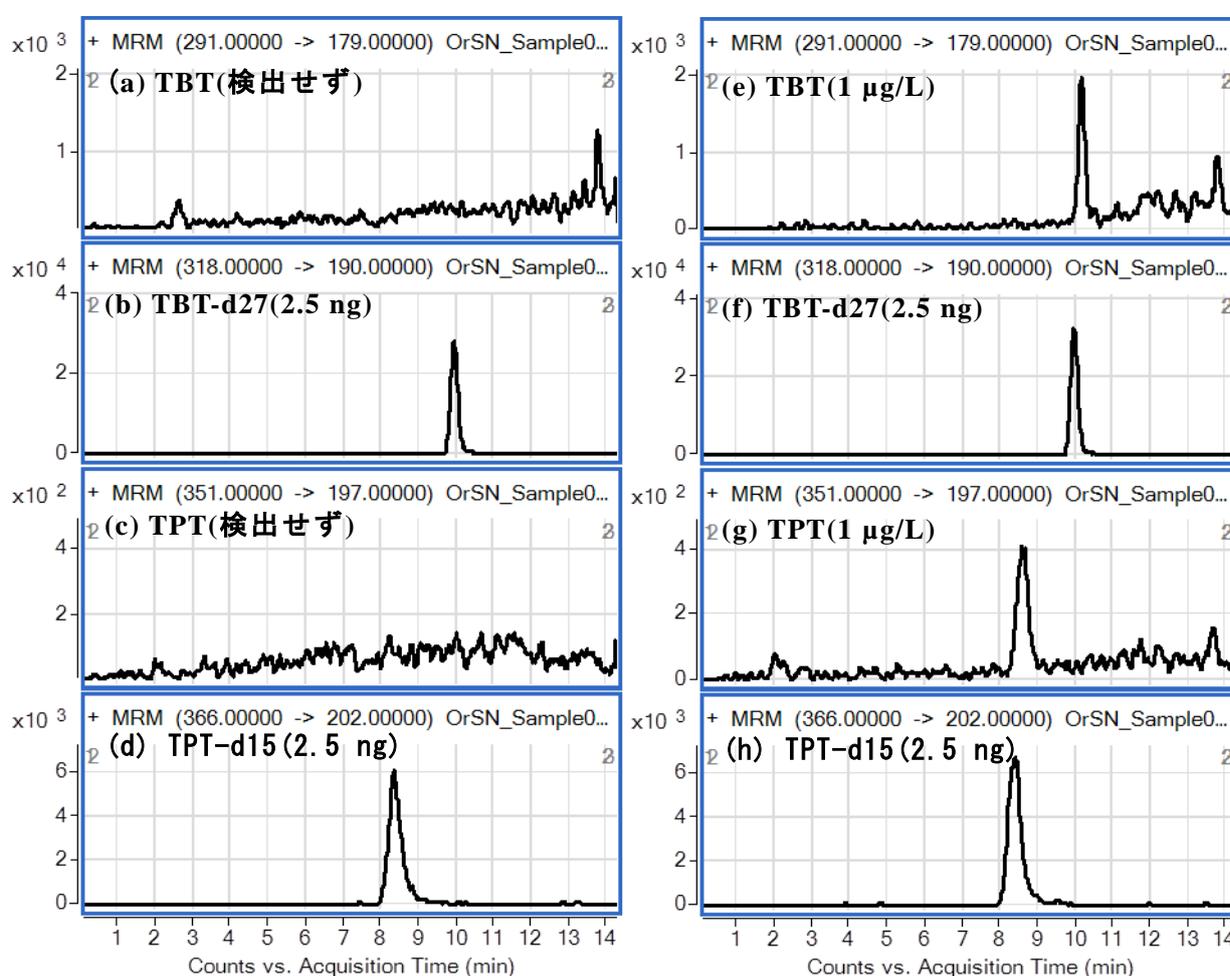


図 2-15 (a)~(d)は BL 試験 (海水) で得られた SRM クロマトグラム ; (e)~(h)は、海水中に TBT と TPT 標準液を 1 ng 添加した試料で得られた SRM クロマトグラム

次に、7回の添加回収試験で得られた平均濃度、添加回収率、変動係数及び標準偏差を表2-3に示す。この表から、設定濃度1 ng/Lの海水試料に対して、TBTの平均濃度が1.00 ng/L (n=7: 添加回収率100%)、TPTの平均濃度が1.01 ng/L (n=7: 添加回収率101%)の測定値が得られており、良好な添加回収試験結果を得ることができた。また、サロゲート物質の平均添加回収率についても、TBTが92.6%、TPTが89.9%であり、「化学物質環境実態調査実施の手引き」²²⁾が示す許容範囲内(50%以上120%以下)であった。さらに、繰り返し試験の変動係数についても、TBTが3.3%、TPTが2.7%であり、海水試料に対しても精度と再現性が高い分析方法であることが確認できた。

この添加回収試験結果における回収率及び再現性について良好な結果が得られた要因としては、①通常の分析法で採用される誘導体化工程を省略したため、分析操作の誤差が抑えられたこと、②試料の採取量を通常の1000 mLから100 mLに減らしたため測定装置への夾雑物の共存影響が抑えられたことが考えられる。

表 2-3 本分析法における MDL および MQL

	TBT	TPT
BL 試験(ng/L)	N.D.	N.D.
添加回収試験 : n=1(ng/L)	1.01	1.04
添加回収試験 : n=2(ng/L)	0.97	1.03
添加回収試験 : n=3(ng/L)	0.97	1.03
添加回収試験 : n=4(ng/L)	0.97	1.02
添加回収試験 : n=5(ng/L)	0.99	0.98
添加回収試験 : n=6(ng/L)	1.01	1.02
添加回収試験 : n=7(ng/L)	1.06	0.97
添加回収試験平均値(ng/L)	1.00	1.01
標準偏差	0.0330	0.0269
変動係数	3.3%	2.7%
サロゲート物質回収率	92.6%	89.9%
MDL(ng/L)	0.13	0.10
MQL(ng/L)	0.33	0.27

※N.D.は、検出下限値以下を示す。

2. 3. 3. 分析方法検出下限値及び定量下限値の算出

2. 3. 2で実施した添加回収試験の測定結果を使用して、本分析方法の検出下限値（以下、MDLと略）及び定量下限値（以下、MQLと略）の算出を行い、その結果を表2-3に示した。なお、算出には「化学物質環境実態調査実施の手引き」²²⁾を参照に以下の式を使用した。

MDL：計算式 = $t(n-1,0.05) \times \sigma \times 2$

MQL：計算式 = $\sigma \times 10$

ここで、 σ ：分析操作をn回の繰り返し測定値の標準偏差

$t(n-1,0.05)$ ：危険率5%，自由度n-1のt値（片側），n=7の場合は1.9432

算出の結果、MDLについては、TBT：0.13 ng/L、TPT：0.10 ng/Lの数値を得ることができた。また、MQLについても、TBT：0.33 ng/L、TPT：0.27 ng/Lの算出結果が得られており、表1の測定条件で高感度な定量分析が可能であることが示された。この算出結果から、本分析法が、岩村ら⁹⁾によって検討されたテトラエチルホウ酸ナトリウム誘導体化-GC/MS法（分析法検出下限値、TBT：0.18 ng/L（塩化物換算値）、TPT：0.33 ng/L（塩化物換算値））以上の検出感度を有することが確認できた。また、GC/MS法で採用されている高価なテトラエチルホウ酸ナトリウム試薬を用いた誘導体化工程を省略することが可能となったので、分析時間の短縮と作業者の安全性向上に寄与できた。

2. 4. まとめ

水道原水中（海水を使用）のトリブチルスズ（TBT）およびトリフェニルスズ（TPT）について、誘導体化を必要としない液体クロマトグラフィー／タンデム型質量分析計（LC/MS/MS）を用いた微量分析法の検討を行った。検討の結果、TBT及びTPTをそれぞれ1 ng/L添加した海水試料の回収試験では、TBTが100%、TPTが101%の回収率を得ることができた。

また、本分析方法の検出限界値は、TBTが0.13 ng/L、TPTが0.10 ng/Lであった。

参考文献

- 1) Imposex in Japanese gastropods (neogastropoda and mesogastropoda) ; effects of tributyltin and triphenyltin from antifouling paints : Horiguchi T., Shiraishi H., Shimizu M., Yamazaki S. and Morita M., *Marine Pollut. Bull.*, **31**, 402-405(1995).
- 2) 海産巻貝のインポセックス : 竹内正博, *ぶんせき*, **2**, 126-130(1999).
- 3) 平成 14 年度版「化学物質と環境」: 環境省総合環境政策局環境保健部環境安全課(2002).
- 4) 外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル(水質, 底質, 水生生物): 環境庁保全局水質管理課(1998).
- 5) Sex change in the female dog-whelk, *Nucella lapillus*, induced by tributyltin from antifouling paints : Gibbs P. E., Pascoe P. L. and Burt G. R., *J. mar. biol. Ass. U. K.*, **68**, 715-731(1988).
- 6) Tin speciation in the femtogram range in open ocean seawater by gas chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry using a shield torch at normal plasma conditions : Tao H., Rajendran R. B., Quétel C. R., Nakazato T., Tominaga M. and Miyazaki A., *Anal. Chem.*, **71**, 4208-4215(1999).
- 7) Inductively coupled plasma-mass spectrometry for elemental analysis and isotope ratio determinations in individual organic compounds separated by gas chromatography : Chong N. S. and Houk R. S., *Apply. Spectrosc.*, **41**, 66-748(1987).
- 8) GC-ICP-MS による微量有機スズ化合物の誘導体化分析 : 打田雅敏, 長谷川圭司, 阪本昌子, 山中葉子, 橋爪 清, *三重県保環研年報*, **3**, 112-114(2001).
- 9) 同位体/ガスクロマトグラフィー/質量分析法による水質及び底質の有機スズ化合物の一斉分析 : 岩村幸美, 門上希和夫, 陣矢大助, 花田喜文, 鈴木學, *分析化学*, **48**, 555-561(1999).
- 10) 要調査項目等調査マニュアル : 環境省水環境部企画課(2002).
- 11) Determination of triorganotin species in water samples by liquid chromatography-electrospray-mass spectrometry : Gonzalez-Toled, Ramon C., Maria D.P. and Merce G., *J. Chromatogr. A*, **946**, 1-8(2002).
- 12) 相生湾底質中における有機スズ化合物の LC/MS/MS による分析 : 上島彰子, 安杖直子, 熊谷哲, *第 14 回環境化学討論会講演要旨集*, 756-757(2005).
- 13) Analysis of triorganotin compounds in water samples by hydrophilic interaction liquid chromatography-electrospray ionization-mass spectrometry : Sano T., Takagi H., Nagano K. and Nishikawa M., *J. Chromatogr. A*, **1217**, 4344-4346(2010).
- 14) LC/MS を用いた化学物質分析法開発マニュアル : 環境庁環境保健部環境安全課(2002).
- 15) 化学物質環境実態調査における LC/MS を用いた化学物質の分析法とその解説 : 環境庁環境保健部環境安全課(2006).
- 16) 液体クロマトグラフィー/質量分析法による河川水中のミクロシスチン類の分析法の

- 検討：滝埜昌彦，代島茂樹，中原武利，環境化学，**11**，211-219(2001).
- 17) LC/MS/MS による環境水中アミトロールの分析：上堀美知子，環境化学，**13**，445-452(2003).
- 18) ゴルフ場農薬の液体クロマトグラフィ／タンデム型質量分析法による測定について：大野ちづ子，環境化学，**14**，649-660(2004).
- 19) LC/MS による環境中の Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) の分析：佐々木和明，齋藤憲光，環岩手県環境研センター年報，**2**，101-103(2002).
- 20) LC/MS/MS を用いた直接注入によるハロ酢酸分析法の検討：古川浩司，第 16 回環境化学討論会講演要旨集，506-507(2007).
- 21) LC/MS/MS を用いた直接注入によるハロ酢酸分析法の検討Ⅱ：古川浩司，第 17 回環境化学討論会講演要旨集，544-545(2008).
- 22) 平成 20 年度版化学物質環境実態調査実施の手引き：環境省総合環境政策局環境保健部環境安全課(2008).

第3章 LC/MS/MSによる水道原水中のアニリン 迅速分析法

3. 1. 緒言

アニリン（図 3-1 参照）は、主にウレタン原料であるジフェニルメタンジイソシアネートの中間体である 4,4'-メチレンジアニリンの合成原料として使用されるほか、染料、媒染料、ゴム薬品(硫化促進剤)、医薬品(肺炎、化膿疾患、解熱剤)、有機合成、殺菌剤、ペイント、ワニスなど幅広く使用されている。

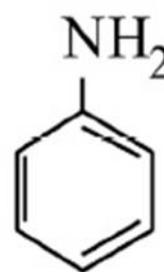


図 3-1 アニリンの構造式

しかし、アニリンがオオミジンコの水生生物に対し毒性影響を示したことから¹⁻²⁾、環境省では、水生生物の保全を目的にした要監視項目（指針値：淡水域 0.02 mg/L、海域 0.1 mg/L）に追加された³⁾。また、水道水においても、要検討項目として目標値 0.02mg/L が定められており、原水や浄水中におけるアニリン存在量の実態調査が必要な項目である。

アニリンの分析方法については、ガスクロマトグラフィー法⁴⁻⁵⁾やガスクロマトグラフィー/質量分析法⁶⁾（以下、「GC/MS 法」と略）などが検討されてきた。環境省は、環境試料中のアニリンの測定の告示法としては、物質の選択制と測定感度が有利な固相抽出-GC/MSを採用している⁷⁻⁸⁾。しかしながら、この分析法には、前処理時に減圧状態に置かれることで揮発性のアニリンが揮散してしまう問題があり、前処理操作に一定の配慮が必要となる。

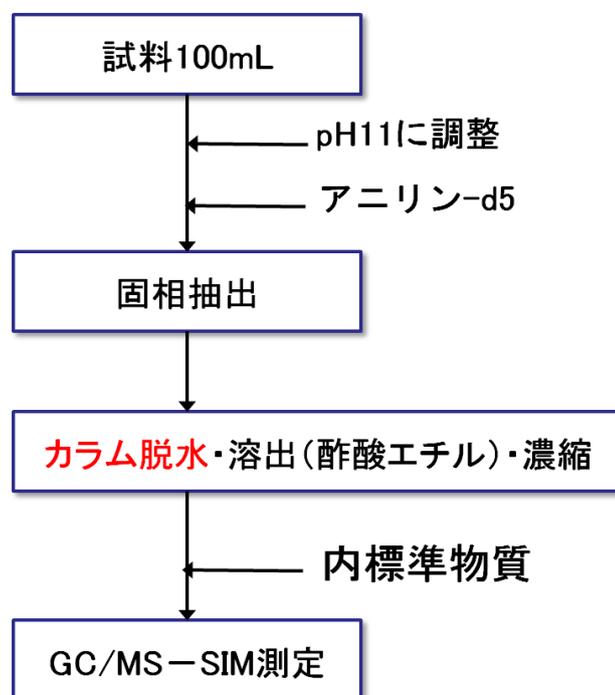


図 3-2 固相抽出-GC/MS 法によるアニリン分析のフロー

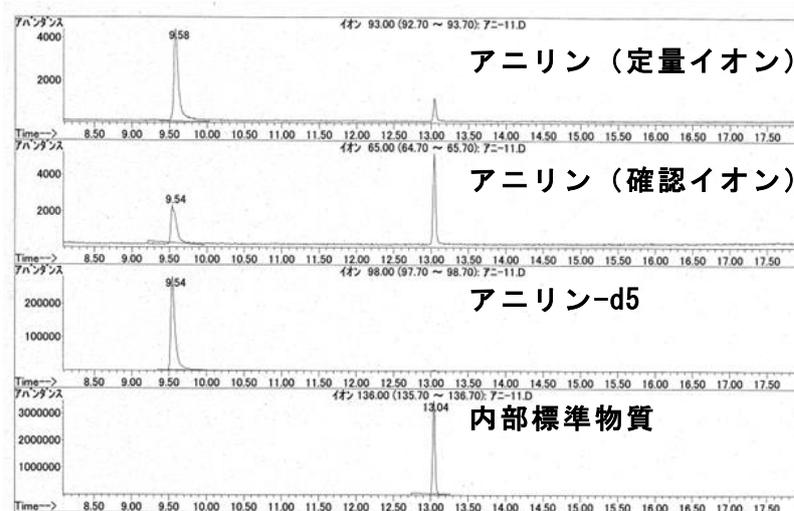


図 3-2 GC/MS 法によるアニリン標準液のクロマトグラム

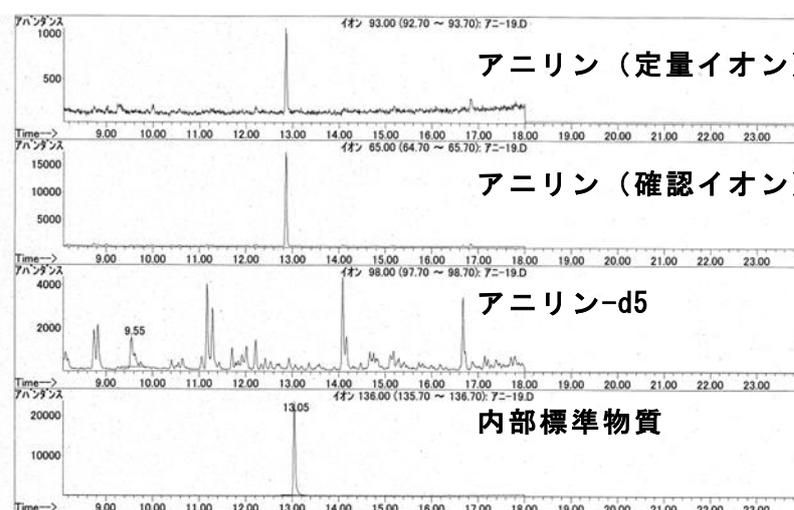


図 3-3 GC/MS 法による実試料のクロマトグラム（海水）

近年、GC/MS 法よりも測定感度と汎用性の高い分析方法として、液体クロマトグラフィー/タンデム型質量分析法（以下、「LC/MS/MS 法」と略）が注目されている。LC/MS/MS 法は、GC/MS 法と比較して、測定対象数が多いことや、測定感度が高いこと、水試料を直接装置に注入できるなどの多くの利点を有する。このため、これまでに、ハロ酢酸⁹⁻¹⁰⁾、農薬¹¹⁾、有機スズ¹²⁾、PFOS/PFOA（有機フッ素化合物）¹³⁾、LAS（陰イオン界面活性剤）¹⁴⁾など様々な項目について、LC/MS/MS 法を用いた分析法が検討されている。

しかし、LC/MS/MS 法はエレクトロスプレーイオン化などのイオン源を使用するため、高濃度のマトリックス（不揮発性塩）を含む試料中の検体は、適切なイオン化を行うことができない。このため、正確な分析のために環境試料（特に海水）を LC/MS/MS 装置に直接注入することは難しいことから、同位体希釈法を用いた LC/MS/MS 法の環境試料への適

用に関する報告はほとんどない。

そこで本研究では、GC/MS 法を用いた分析法で存在する課題解決と迅速化を目的に、LC/MS/MS 法と同位体希釈法を用いた水道原水中（海水と河川水を使用）のアニリン迅速分析の検討を行ったので報告する。なお、本分析法の定量下限値は、2 $\mu\text{g/L}$ （指針値の 10 分の 1）を目標とした。

3. 2. 方法

3. 2. 1. 試薬

- 1) アニリン標準原液 (1000 mg/L) : 和光純薬工業社製アニリン標準品 100 mg をメタノールで 100 mL に定容とした。
- 2) 検量線作成用アニリン標準液 (0.05 ~ 2 mg/L) : アニリン標準原液 1 mL を Mill-Q 水で 100 mL に定容とした。その後、適量 Mill-Q 水で 0.05 ~ 2 mg/L 範囲になるように 6 段階に希釈した。
- 3) アニリン-2,3,4,5,6-d5 標準原液 (100 mg/L : 以下, 「アニリン-d5」と略) : 和光純薬工業社製アニリン-d5 標準品 10 mg をメタノールで 100 mL に定容とした。
- 4) 移動相 : 移動相に用いた酢酸アンモニウムは和光純薬工業社製試薬特級を, アセトニトリルには関東化学社製 LC/MS 分析用を使用した。また, 精製水には, Mill-Q 水を使用した。

3. 2. 2. LC/MS/MS 測定条件の最適化

本分析法の検討に用いた LC/MS/MS 測定条件を表 1 に示す。

LC/MS/MS 装置の LC 部には Agilent 社製 1260, MS/MS 部には Agilent 社製 6460 を使用した。

分離カラムには, GL サイエンス社製の InertSustain C18 2.1×150 mm(3 μm)を使用した。移動相には, A:0.1%ギ酸含有 0.5 mM 酢酸アンモニウム水溶液と B:アセトニトリルを使用し, A:B=95 : 5 のアイソクラティック測定とした。流速は 0.2 mL/min であり, 注入量は 20 μL であった。内部標準物質には, アニリン-d5 (サロゲート物質) を用いた。

MS/MS 部の測定条件は, アニリン分析のための最適化した次の条件を使用した。測定モードは ESI 法(positive), Fragment 電圧は, アニリン : 30 V, アニリン-d5 : 100 V とした。なお, MS/MS 部の測定条件の最適化は, 以下の順で検討を行った。

i) プリカーサイオンの検討

LC/MS/MS 測定のための諸条件を検討するには, 最初にアニリンの最適なプリカーサイオンを検討する必要がある。このため, アニリン標準原液を Mill-Q 水で 10 mg/L に希釈したアニリン標準液 1 μL を LC/MS/MS 装置に注入し, プリカーサイオンの MS-SCAN 測定を行った。

ii) プロダクトイオンの検討

本分析法で使用する最適なプロダクトイオンを検討するため, 10 mg/L のアニリン標準液 (Mill-Q 水) 1 μL を LC/MS/MS 装置に注入し, プロダクトイオン-SCAN 測定を行った。

表 3-1 LC/MS/MS 測定条件

	項目	条件
LC	装置	Agilent1260HPLC
	分離カラム	GL Sciences Inersustain C18 2.1×150 mm(3 μm)
	カラム温度	40 °C
	移動相 A	0.5 mM HCOONH ₄ /H ₂ O(Containing 0.1 % formic acid)
	移動相 B	Acetonitrile
	混合比率	A:B = 95:5
	流速	0.2 mL/min
	注入量	20 μL
MS/MS	装置	Agilent 6460
	イオン化法	ESI(positive)
	Fragment 電圧	Aniline (30 V), Aniline-d5 (100 V)
	定量イオン(m/z)	Aniline : 94 > 77 (Collision voltage : 20 V) Aniline-d5 : 99 > 54 (Collision voltage : 35 V)
	確認イオン(m/z)	Aniline : 94 > 51 (Collision voltage : 35 V)

3. 2. 3. 検量線（直線性の確認）並びに変動係数，定量下限値及び RSD の算出

表 1 の LC/MS/MS 測定条件で得られたアニリン標準液の検量線（0.05～2.0μg/L）の直線性を評価した。また，0.05 μg/L のアニリン標準液を 7 回繰り返し測定し，平均値，標準偏差（σ），定量下限値（10σ）及び RSD（併行精度）を算出した。

3. 2. 4. 試料の前処理法

試料の前処理は，以下のとおりに行った（図 3-4 参照）。

試料を超純水で 20 倍希釈した後，ガラス製 2 mL バイアルに 1 mL 採取し，サロゲート物質（アニリン-d5 : 100 μg/L）をマイクロピペットで 10 μL 添加し密栓したものを試験液した。得られた試験液は，表 1 に示した LC/MS/MS 測定条件でアニリンの定量分析を行った。

なお，検量線については，予め調製したアニリン標準液を 2 mL バイアルに 1 mL 採取し，サロゲート物質をマイクロピペットで 10 μL 添加して密栓したものを測定した。

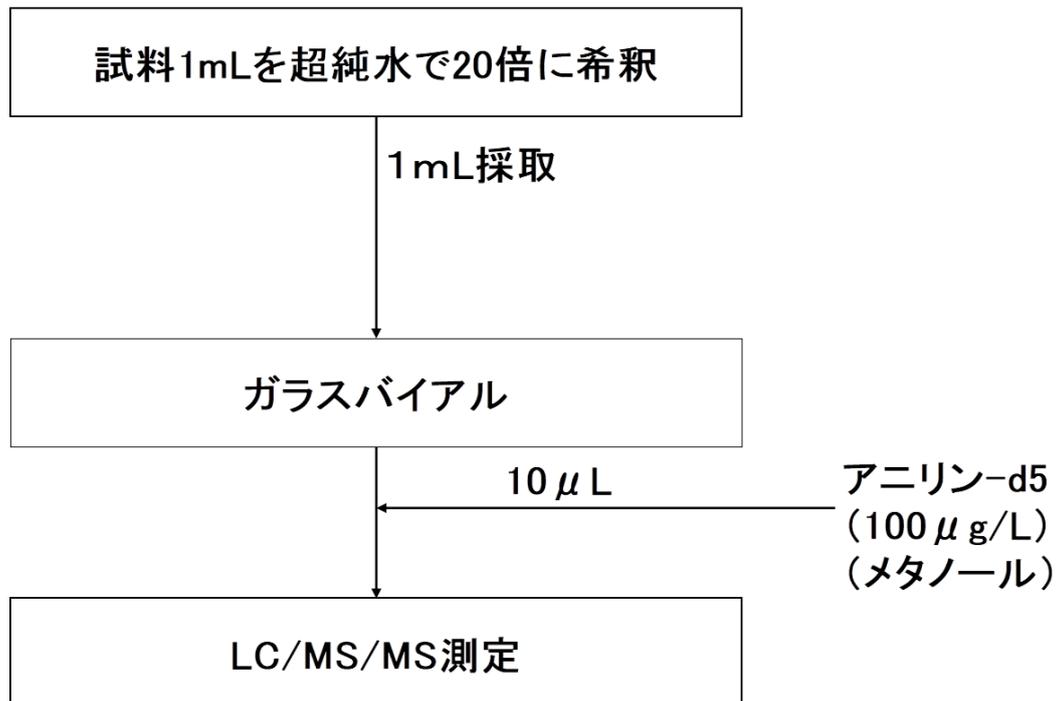


図 3-4 LC/MS/MS によるアニリン迅速分析の前処理フロー

3. 2. 5. 添加回収試験

本分析法が，様々な水道原水試料（河川水と海水）においても適切な回収率が得られるかを確認するため，2.2 及び 2.3 の測定条件で添加回収試験（7 併行×2 回）を行った．なお，添加回収試験に用いた試料は，以下のとおりに調製した．

2000 mg/L のアニリン標準液 1 mL を河川水（櫛田川）及び海水（伊勢湾）を用いて 1000 mL に希釈した試験液を用いた．この調製した試験液には，アニリンが各 2.0 μg/L（指針値の 1/10）存在する．

3. 3. 結果及び考察

3. 3. 1. LC/MS/MS 測定条件の検討

3. 3. 1. 1. プリカーサイオンの最適化

図 3-5 及び 3-6 には、アニリン及びアニリン-d5 の MS-SCAN 測定（全てポジティブモード）によって得られた MS スペクトルを示した。この図から MS スペクトルで測定された各測定対象物の最も強度が高いイオンは、アニリン： m/z 94、アニリン-d5： m/z 95 であった。これらのスペクトルで検出されたピークの m/z は、アニリン及びアニリン-d5 の $[M(\text{分子量})+1]^+$ に相当することから、測定対象物質起因する分子に H^+ が付加した 1 価の陽イオンであると考えられ、プレカーサイオン(M1)の質量数として最適であると判断した。

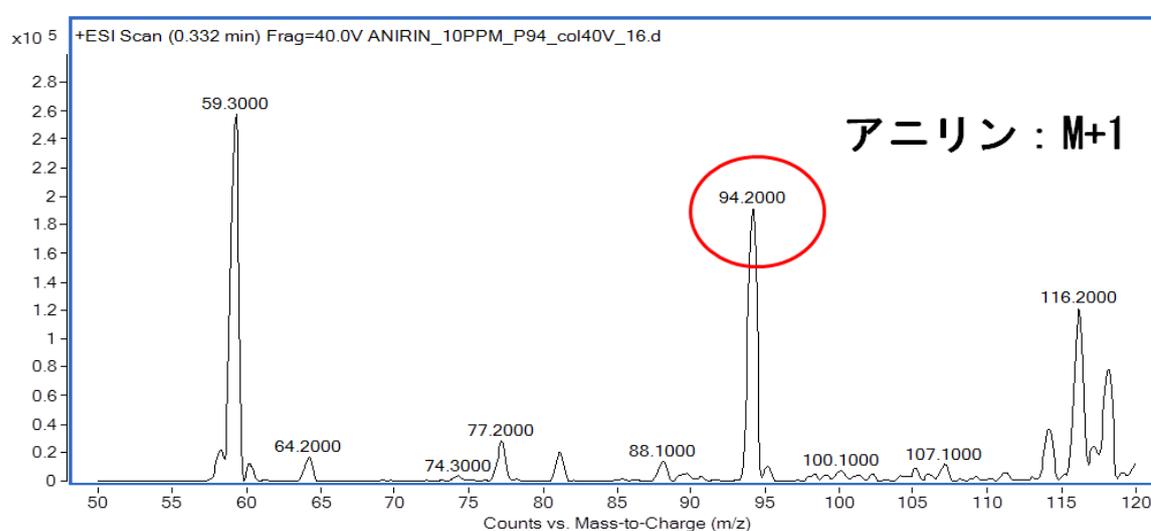


図 3-5 アニリン標準液の SCAN スペクトルによる MS スペクトル

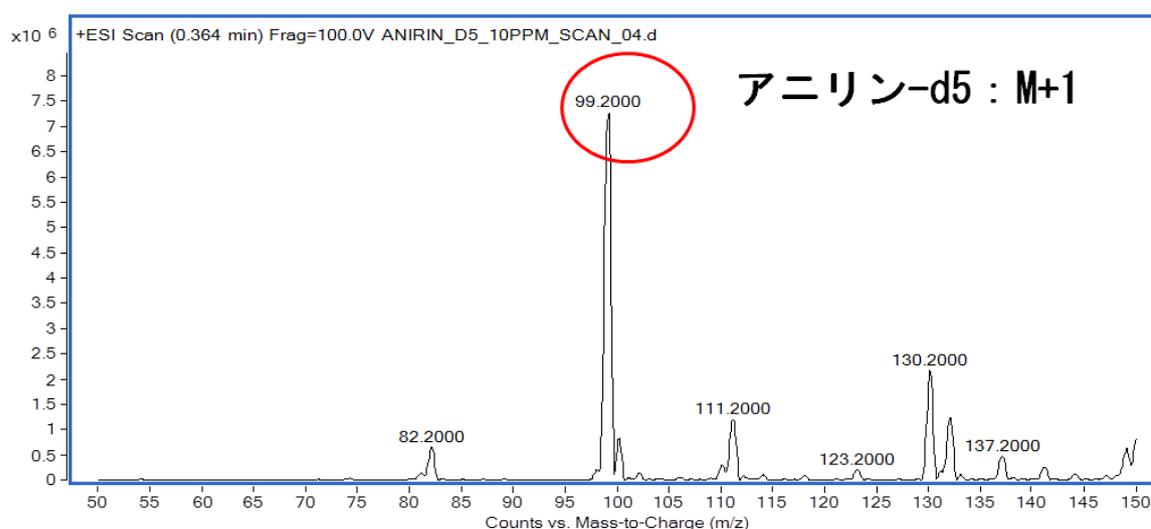


図 3-6 アニリン-d5 標準液の SCAN スペクトルによる MS スペクトル

次に、アニリン及びアニリン-d5 のプリカーサイオンの測定強度と Fragment 電圧の関係を図 3-7 に示した。

この図から、アニリンのプリカーサイオンの測定強度は、Fragment 電圧が 30V の測定条件が最も高かった。一方、アニリン-d5 のプリカーサイオンの測定強度は、Fragment 電圧が 100V の測定条件が最も高かった。

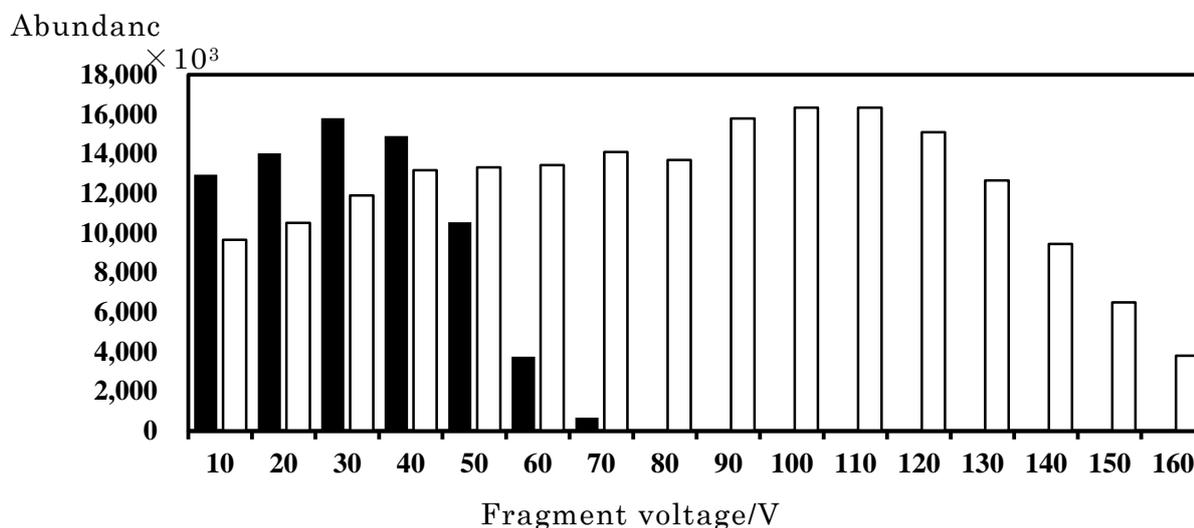


図 3-7 プリカーサイオン（アニリンとアニリン-d5）の測定強度と Fragment 電圧との関係；■はアニリンの測定強度を示し，□はアニリンの測定強度を示す

3. 3. 1. 2. プロダクトイオンの最適化

図 3-8 及び 3-9 には、アニリン及びアニリン-d5 のプロダクトイオン SCAN 測定により得られた MS スペクトルである。これらの図から、アニリンについては m/z 77 及び m/z 51 のプロダクトイオンが測定され、アニリン-d5 については m/z 82 及び m/z 54 のプロダクトイオンが測定された。この測定結果は、アニリンのプリカーサイオン ($[M]^+$: m/z 94) が、Collision Cell 内において窒素分子と衝突し、 $[M-(NH_2)]^+$ (m/z 77) の構造を有するプロダクトイオンと $[M-(NH_2)-(C_2H_2)]^+$ (m/z 51) の構造を有するプロダクトイオンが生成したことを示している。

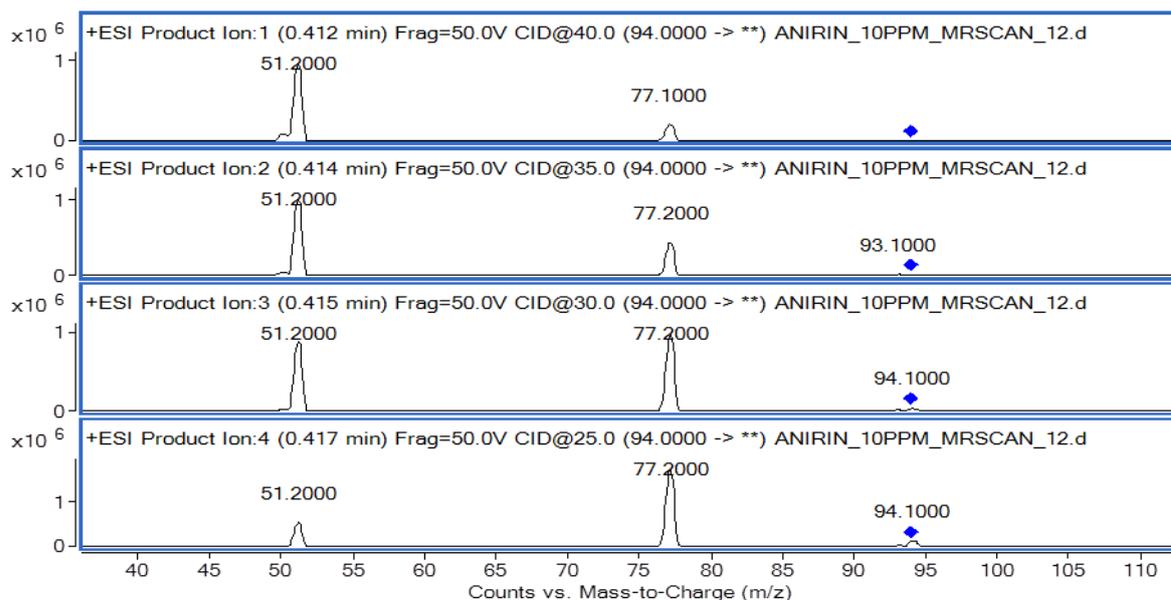


図 3-8 アニリン標準液のプロダクトイオン SCAN 測定による MS スペクトル

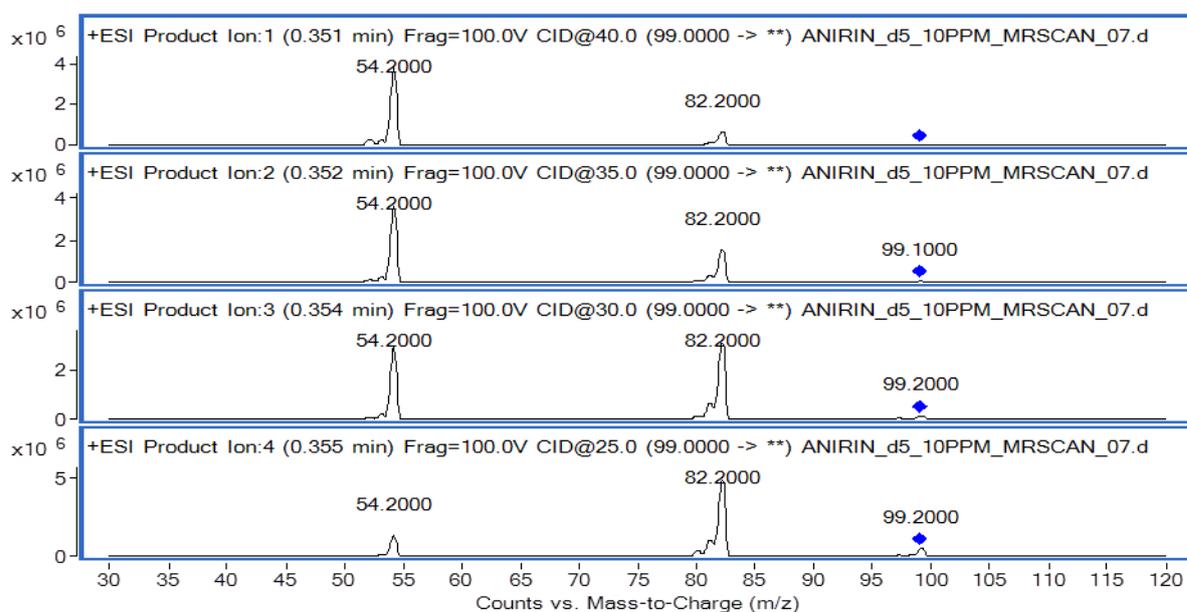


図 3-9 アニリン-d₅ 標準液のプロダクトイオン SCAN 測定による MS スペクトル

次に、アニリンのプロダクトイオンの最適な Collision Cell 電圧の検討を行った。

図 3-10 には、アニリンのプロダクトイオン (m/z 94>77, m/z 94>51) の測定強度と Collision Cell 電圧の関係を示した。この図から、プロダクトイオン (m/z 94>77) の測定強度は、Collision Cell 電圧が 20V の測定条件が、プロダクトイオン (m/z 94>51) の測定強度は、Collision Cell 電圧が 35V の測定条件が最も高かった。

Measured intensity of aniline

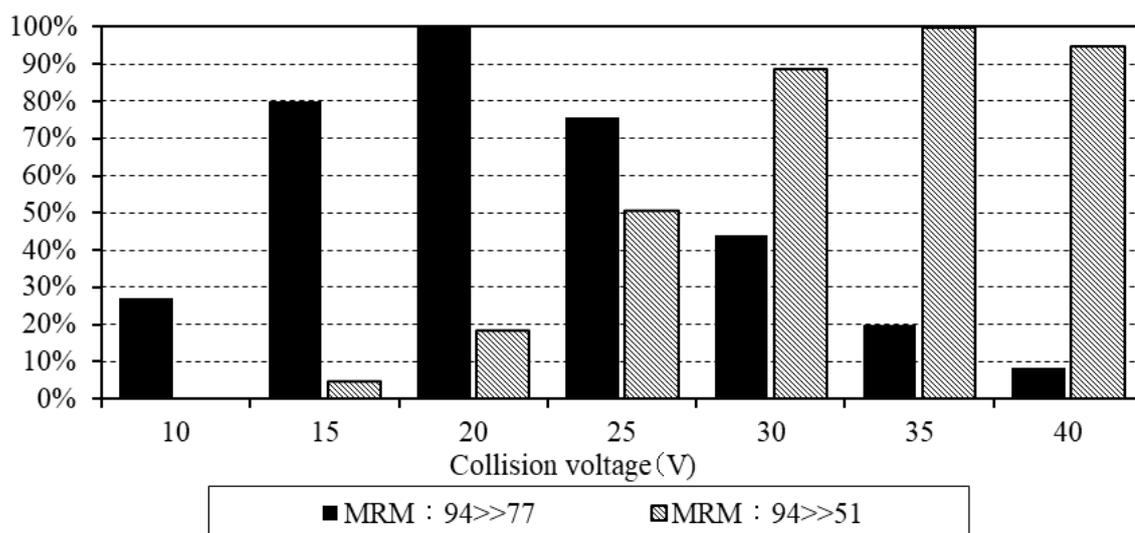


図 3-10 アニリンのプロダクトイオン測定強度と Collision Cell 電圧の関係

なお、最適化した Collision Cell 電圧条件でアニリン標準液 (0.05 mg/L) を SMR 測定した場合に得られる検出ピークの S/N 比は、図 3-11 に示した通り、m/z 94>77 の SMR クロマトグラム (S/N 比 : 10.4) よりも m/z 94>51 の SMR クロマトグラム (S/N 比 : 20.5) の方が高かった。

一方、アニリンを添加した海水 (2.0 µg/L) の m/z 94>77 及び m/z 94>51 の SRM クロマトグラムを図 3-12 に示す。この図から、m/z 94>51 の SRM クロマトグラムは、m/z 94>77 の SRM クロマトグラムと比較して、アニリンのピーク出現付近に共存物質による妨害ピークの影響を受けていることがわかった。

このため、アニリンの定量イオンには、S/N 比は低い共存物質の影響が少ない m/z 94>77 の SRM クロマトグラムを採用することにした。

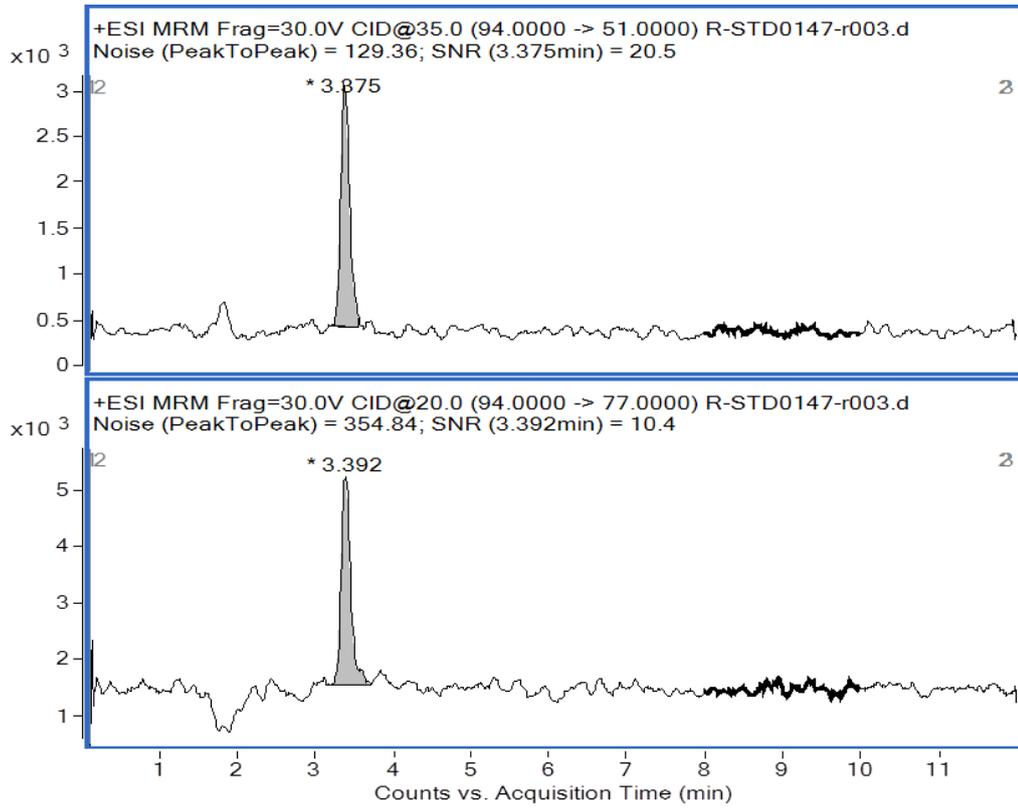


図 3-11 アニリン標準液（0.05mg/L）の SMR 測定による検出ピークの S/N 比

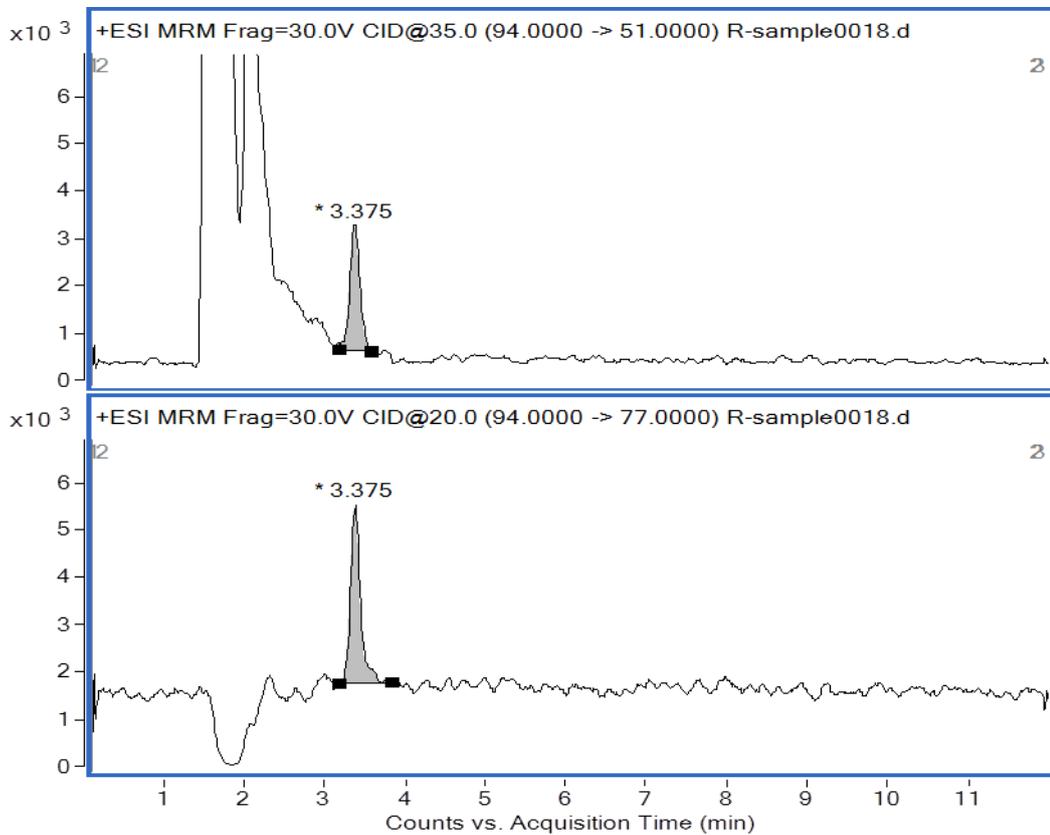


図 3-12 アニリン標準液添加回収試験の SRM クロマトグラム（試料：海水）

3. 3. 2. アニリン-d5 の内部標準物質への適合性

先で述べたように、本分析法で内部標準物質として使用を検討しているアニリン-d5 のプリカーサイオンは、測定対象であるアニリンのプリカーサイオンの安定性と異なる挙動を示した(図 3-10 参照). 具体的には、アニリンのプリカーサイオンの測定強度は、Fragment 電圧が 30 V の時が最も高かったが、アニリン-d5 のプリカーサイオンの測定強度は Fragment 電圧が 100 V の時が最も高かった.

この最適な Fragment 電圧の違いは、アニリンのプリカーサイオンは、アニリン-d5 のプリカーサイオンと比較すると、フラグメンテーションを起こしやすく不安定のため、高い Fragment 電圧では[M+1]⁺に相当するピークを検出することは難しいためと考えられる. これは、アニリン-d5 に存在する D 原子は、H 原子の 2 倍の質量を持つため、分子内の転移反応やフラグメンテーションなどが起こりにくいためと推測される¹⁵⁾. このため、アニリン-d5 のプリカーサイオンは、アニリンのプリカーサイオンよりも安定しているため、高い Fragment 電圧でも安定してイオンが生成され、測定強度が高くなったと考えられる.

また、アニリン及びアニリン-d5 のプロダクトイオンの生成工程及び Collision Cell 電圧については同じ挙動を示した. さらに、測定されたアニリン及びアニリン-d5 のリテンションタイムは、図 3-13 で示した通り、それぞれ 3.358 min 及び 3.291 min とほぼ同じ保持時間で検出しており、LC 部も同じ挙動を示すことが確認できた.

以上のことから、アニリン-d5 は、プリカーサイオンの Fragment 電圧を最適化することで、アニリンのプリカーサイオンと同じ挙動を示すように調整可能であり、内部標準物質(サロゲート物質)として使用可能であると判断した.

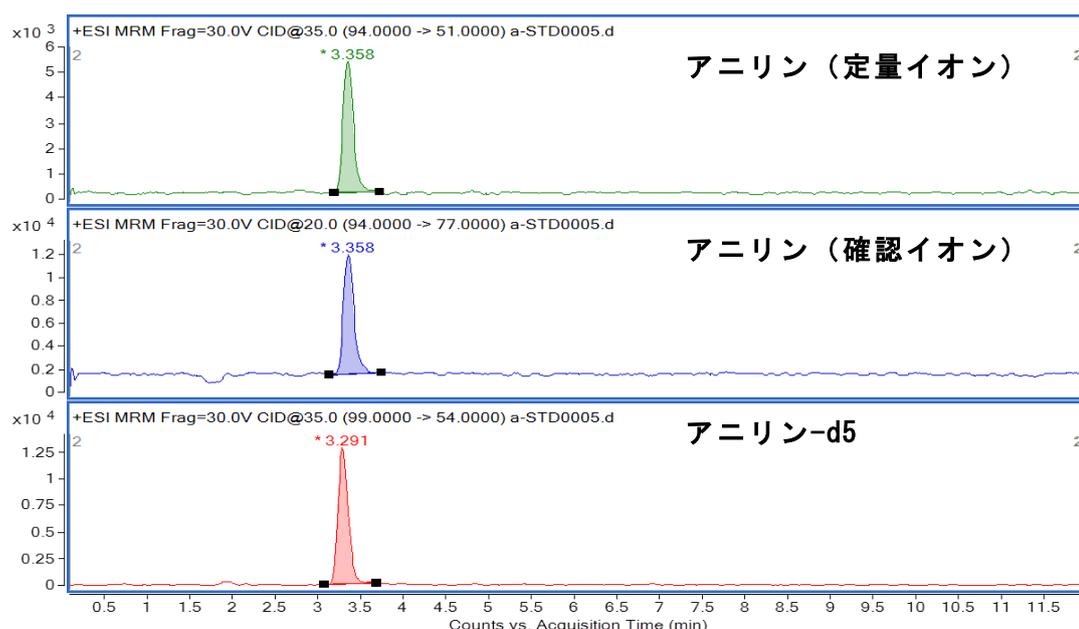


図 3-13 アニリン及びアニリン-d5 標準液 (0.5mg/L) の SMR クロマトグラム

3. 3. 3. 検量線（直線性），定量下限値及び RSD(並行精度)

表 3-1 の LC/MS/MS 測定条件で得られたアニリン標準液の検量線（0.05 ～2.0 μg/L）の検量線を図 8 に示した。この図から，算出した検量線の重相関係数が 0.999 以上であり，良好な直線性を有していることが確認できた。

次に，0.05 μg/L のアニリン標準液を繰り返し測定して得られた平均値，標準偏差（σ），定量下限値（10σ）及び RSD（併行精度）を表 3-2 に示す。この表から，アニリンの平均値は 0.052 μg/L，RSD が 6.1 %であり，非常に良好な結果が得られた。また，本分析法のアニリンの装置定量下限値（10σ）は 0.032 μg/L であった。

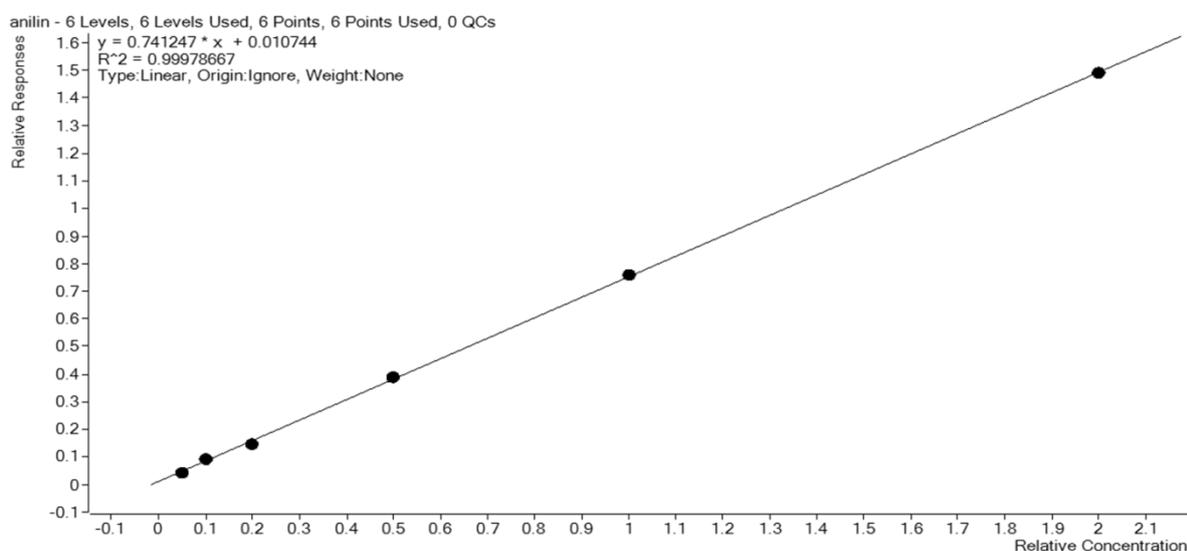


図 3-13 アニリンの検量線と直線性（0.05 ～2.0 μg/L）

表 3-2 アニリン標準液繰り返し測定による均值，標準偏差，定量下限値及び RSD

平均値（μg/L）	標準偏差（σ）	装置定量下限値（10σ）	RSD(%)
0.052	0.0032	0.032	6.1

注：アニリン標準液濃度；0.05 μg/L

注：繰り返し測定；n=7

3. 3. 4. 本分析法による環境試料への添加回収試験結果と GC/MS 法との比較

表 3-3 には、アニリンが各 2.0 µg/L (指針値の 1/10) 濃度になるように添加した環境試料 (河川水及び海水) を用いて実施した回収試験 (7 併行×2 回) の結果を示した。

この表から、河川水におけるアニリンの回収率が 100.3 ~101.6 %, RSD が 6.15 ~6.31 % と非常に良好な回収試験結果が得られた。また、塩類などの含有率が高い海水試料においても、回収率が 98.5 ~103.4 %, RSD が 3.91 ~4.49 % と良好な結果が得られた。

また、図 3-14 及び 3-15 には、河川水及び海水にアニリンを添加した試料の測定で得られた SRM クロマトグラムを示した。これらの図から、アニリンの測定に妨害を及ぼすような共存物質のピークは観測されず、選択性の高い良好なピーク形状が得られた。

なお、河川水 No.1 の測定結果から算出した定量下限 ($10 \times S/N$) は 0.83 µg/L であり、目標の分析法定量下限値 2 µg/L を満たしていた。

以上のことから、本分析法が 0.001 mg/L 濃度 (指針値の 1/20) のアニリンが測定可能であり、環境省の告示法 (固相抽出-GC/MS 法) で示されているアニリンの定量下限値 0.002 mg/L 濃度 (指針値の 1/10) と同等以上の性能を有することが確認できた。また、本分析法が、塩類などの含有率が高い海水試料においても、共存物質の影響を受けずに良好で選択性の高い定量分析が可能であることを示すことができた。

本分析法は、環境省の告示法 (固相抽出-GC/MS) と比較して、作業時間として約 3 時間程度要する固相抽出工程を省略できることから、アニリン分析作業の大幅な迅速化が可能となった。また、本分析法は、固相抽出工程を省略可能なため、固相抽出-GC/MS 法で問題となったアニリンの揮散に伴う測定結果の誤差を抑えることも可能である。

表 3-3 実試料に対する添加回収試験結果 (河川水及び海水 : n=7, 2 日間)

試料	添加濃度	n	測定濃度	回収率 (%)	RSD (%)
河川水 (No.1)	BL	2	ND	-	-
	2.0 µg/L	7	2.03 µg/L	101.6	6.15
河川水 (No.2)	BL	2	ND	-	-
	2.0 µg/L	7	2.01 µg/L	100.3	6.31
海水 (No.1)	BL	2	ND	-	-
	2.0 µg/L	7	2.07 µg/L	103.4	3.91
海水 (No.2)	BL	2	ND	-	-
	2.0 µg/L	7	1.97 µg/L	98.5	4.49

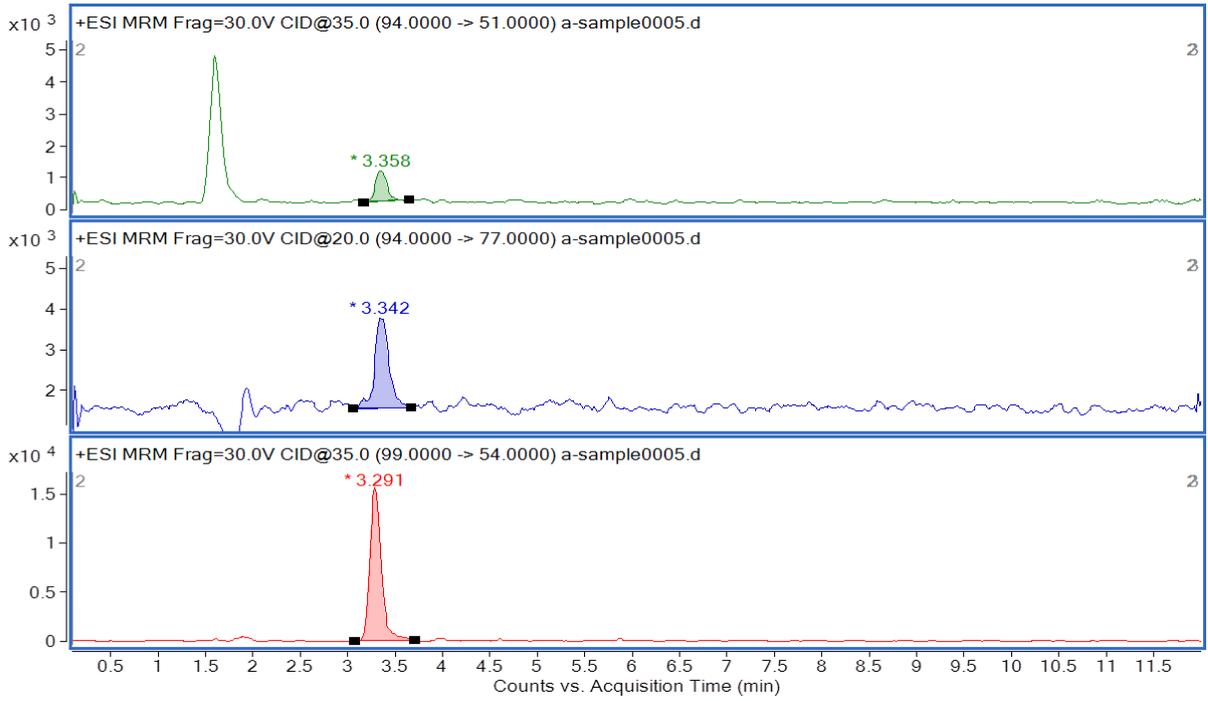


図 3-14 添加回収試験で得られた SRM クロマトグラム (河川水 ; 2.0 $\mu\text{g/L}$)

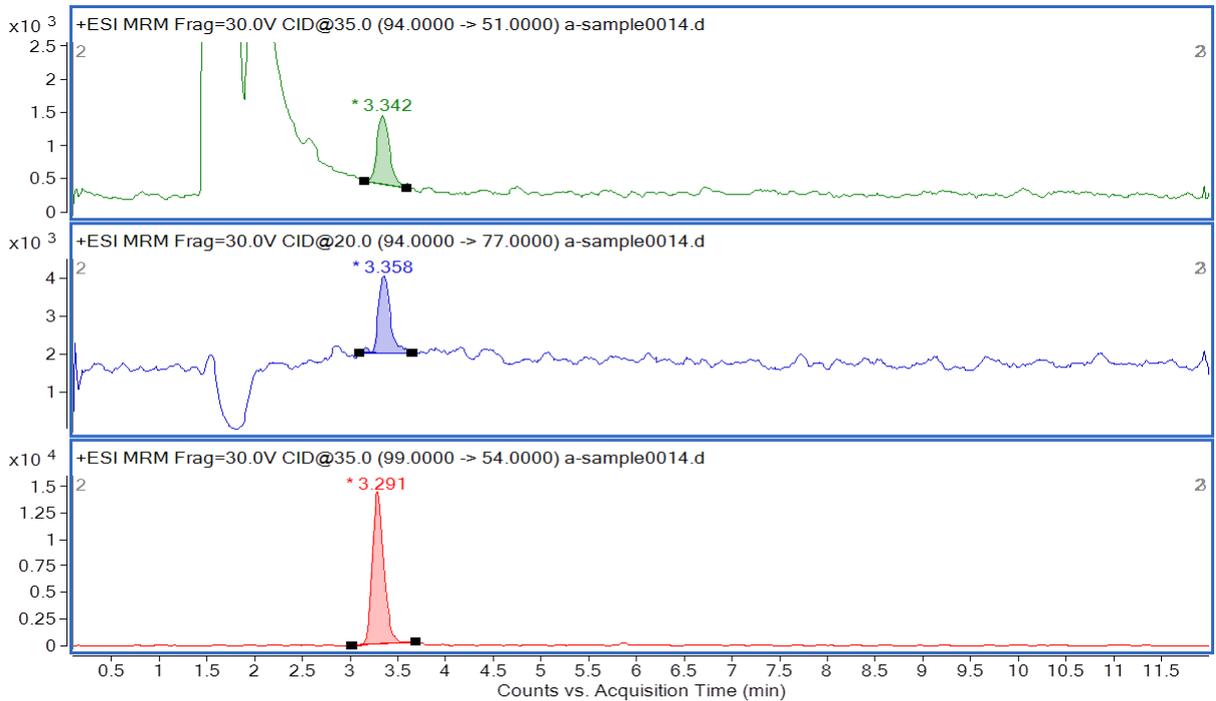


図 3-15 添加回収試験で得られた SRM クロマトグラム (海水 ; 2.0 $\mu\text{g/L}$)

3. 4. まとめ

LC/MS/MS 装置を用いて水道原水中（海水及び河川水）のアニリン迅速分析法の検討を行い得られた知見を以下に記す。

- 1) 本分析法におけるアニリン標準液の検量線は、0.05 ～2 $\mu\text{g/L}$ の濃度範囲で良好な直線性が得られ、0.05 $\mu\text{g/L}$ 臭素酸標準液の RSD（併行精度）は、6.1 %と良好であった。また、本分析法の定量下限値は 0.032 $\mu\text{g/L}$ であった。
- 2) 河川水及び海水の添加回収試験（7 併行×2 回）においても、回収率が 98.5 ～103.4 %，RSD が 3.91 ～4.49 %と非常に良好な結果が得られ、本分析法が環境試料中のアニリン分析法として有効であることが確認できた。
- 3) 本分析法が 0.001 mg/L 濃度（指針値の 1/20）のアニリンが測定可能であり、環境省の告示法（固相抽出-GC/MS 法）で示されているアニリンの定量下限値 0.002 mg/L 濃度（指針値の 1/10）と同等以上の性能を有することが確認できた。
- 4) 本分析法が、塩類などの含有率が高い海水試料においても、共存物質の影響を受けずに良好で選択性の高い定量分析が可能であることを示すことができた。
- 5) 本分析法は、環境省の告示法（固相抽出-GC/MS 法）と比較して、作業時間として約 3 時間程度要する固相抽出工程を省略できることから、アニリン分析作業の大幅な迅速化が可能となった。また、本分析法は、固相抽出工程を省略可能なため、固相抽出-GC/MS 法で問題となったアニリンの揮散に伴う測定結果の誤差を抑えることも可能となった。
- 6) 本分析法の検討で用いた LC/MS/MS による同位体希釈法は、水道原水や環境試料中の有害物質の分析に応用でき、水試料中の有害物質を迅速かつ正確に分析することが可能な有望な方法である。

参考文献

- 1) Results of the harmful effects of water pollutants to *Daphnia magna* in the 21 day reproduction test : R. Kühn, M. Pattard, K. Pernak and A. Winterv, *Wat.Res*, 989, **23**, 501-510(1989).
- 2) Reproducibility of Short-term and reproduction toxicity experiments with *Daphnia magna* and comparison of the sensitivity of *Daphnia magna* with *Daphnia pulex* and *Daphnia cucullata* in short-term experiments : J.H.Canton and D. M. M. Adema, *Hydrobiologia*, **59(2)**, 135-140(1978).
- 3) 環境省通知環水大発第 1303272 号(2014) : 環境省,
<<https://www.env.go.jp/hourei/add/e032.pdf>>, (参照 2017.08.17).
- 4) Analysis of aniline and aminophenol in aqueous solution using electron capture gas chromatography: R.T. Coutts, E.E. Hargesheimer, F.M. Pasutto and G. B. Baker, *J. Chromatogr. Sci.*, **19**, 151-155(1981).
- 5) Biodegradation studies of aniline and nitrobenzene in aniline plant waste water by gas chromatography : S.S. Patill and V.M. Shinde, *Environ. Sci. Technol.*, 22, 1160-1165(1988).
- 6) Determination of Anilines in River Water, Sediment, and Fish Samples by Gas Chromatography-Mass Spectrometry : T. Okumura, K. Imamura and Y. Nishikawa, *J. Chromatographic Sci.*, **4**, 190-198(1996).
- 7) 要調査項目等調査マニュアル(水質, 底質, 水生生物) : 環境庁水質保全局水質管理課, 平成 12 年 12 月, <<https://www.env.go.jp/water/chosa/h12-12/index.html>>, (参照 2017.08.17).
- 8) 別紙 3-3 アニリンの測定方法 : 環境省,
<<https://www.env.go.jp/council/09water/y094-14/mat04-09.pdf>>, (参照 2017.08.17).
- 9) Establishment of Direct Quantitation Method of Haloacetic Acids in Tap Water Using Liquid Chromatography/Mass Spectrometry : M. Tahara, N. Sugimoto, R. Kubota and T. Nishimura, *J. Japan Water Works Association*, **907**, 18-22(2010).
- 10) Precision of LC/MS and LC/MS/MS analysis of haloacetic acids in tap water under the existence of anionic species : M. Tahara, N. Kobayashi, R. Kubota, T. Tsukamoto, N. Sugimoto and T. Nishimura, *J. Japan Water Works Association*, **931**, 20-27(2012).
- 11) 小林憲弘, 久保田領志, 佐々木俊哉, 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 LC/MS/MS 一斉分析法の妥当性評価, *環境科学会誌*, **28(2)**, 117-125(2015).
- 12) LC/MS/MS による海水中のトリブチルスズ及びトリフェニルスズ分析 : 古川浩司, 橋本 真, 橋爪 清, *環境技術*, **42(3)**, 175-182(2013).
- 13) Perfluorooctane sulfonate concentrations in surface water in Japan : N. Saito, K. Sasaki, K. Nakatome, K. Harada, T. Yosinaga and A. Koizumi, *A. Environmental Contamination and*

Toxicology, **45**, 149-158(2003).

14) 直鎖アルキルベンゼンスルホン酸及びその塩の測定方法:環境庁告示第 59 号付表 12,
<http://www.env.go.jp/kijun/wt_a12.html>, (参照 2017.08.17).

15) J. Matsuo, Chemical education, **61(5)**, 244-247(2013).

第4章 内部標準物質を用いた LC/MS/MS による 水道水中の陰イオン界面活性剤分析法

4. 1. 緒言

陰イオン界面活性剤(主成分:直鎖アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム;以下「LAS」と略)は,水道水質基準項目(基準値:0.2 mg/L以下)¹⁾であり,平成15年厚生労働省告示第261号の別表第24(以下,「告示法」と略)²⁾において,固相抽出-高速液体クロマトグラフ法で測定すると定められている.

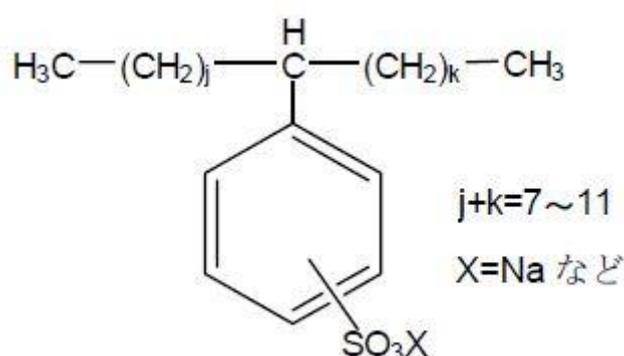


図 4-1 直鎖アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウムの構造式

告示法は,固相抽出により試料を濃縮して得られた試験溶液の一定量を高速液体クロマトグラフ(以下,「HPLC」と略)に注入し,デシルベンゼンスルホン酸ナトリウム(以下,「LAS-C10」と略),ウンデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム(以下,「LAS-C11」と略),ドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム(以下,「LAS-C12」と略),トリデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム(以下,「LAS-C13」と略)及びテトラデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム(以下,「LAS-C14」と略)を対象物質として分離し,蛍光検出器(励起波長 221 nm, 蛍光波長 284 nm)で検出し,それぞれの濃度の合計を陰イオン界面活性剤濃度として算出するものである.HPLCの分離条件によっては,測定対象物質が複数に分離する上,水道水中に蛍光性のある物質³⁻⁴⁾が存在して各LASの保持時間と一致した場合,陰イオン界面活性剤として誤認するおそれがある.しかし,告示法では,陰イオン界面活性剤として検出された場合の確認方法が規定されていない.

近年,水道水や環境水中の有害物質の分析法開発では,前処理方法の簡略化を目的とする場合,液体クロマトグラフ/タンデム型質量分析計(以下,「LC/MS/MS」と略)が採用されることが多い.これは,LC/MS/MS及び液体クロマトグラフ/質量分析計(以下,「LC/MS」と略)は共に,水試料を有機溶剤などに転溶せずに直接装置に導入できることから固相抽出などによる前処理作業の省略が可能となり,分析時間の短縮や分析コストの削減が可能になるためである.また,LC/MS/MSは,LC/MSと比較して,測定物質への選択性が優れ

ており、試料を濃縮・精製しなくても基準値以下を容易に測定できる場合が多いのも理由である。このため、LC/MS/MS は、ハロ酢酸^{2),6-8)}、PFOS・PFOA（有機フッ素化合物類⁵⁾、有機スズ⁹⁾、農薬¹⁰⁾、LAS¹¹⁾など様々な項目の分析法に検討され、報告例も数多く存在する。

そこで、一般社団法人全国給水衛生検査協会に設置されている飲料水検査検討委員会（委員：船坂鎌三，川口寿之，工藤清惣，中澤智子，山田悠貴，古川浩司，以下、「委員会」と略）では、告示法で陰イオン界面活性剤が検出された場合の確認方法として、LC/MS の適用について検討したところ、固相抽出による濃縮操作を省略しても告示法と同等以上の選択性が得られたことを報告した¹²⁾。しかしながら、その後、LC/MS を用いて様々な試料を用いて検討を行った結果、硬度の高い水道水や夾雑物の多い水道原水においては、図 4-2 に示したとおり、各 LAS の回収率低下（イオンサプレッション）が確認された。

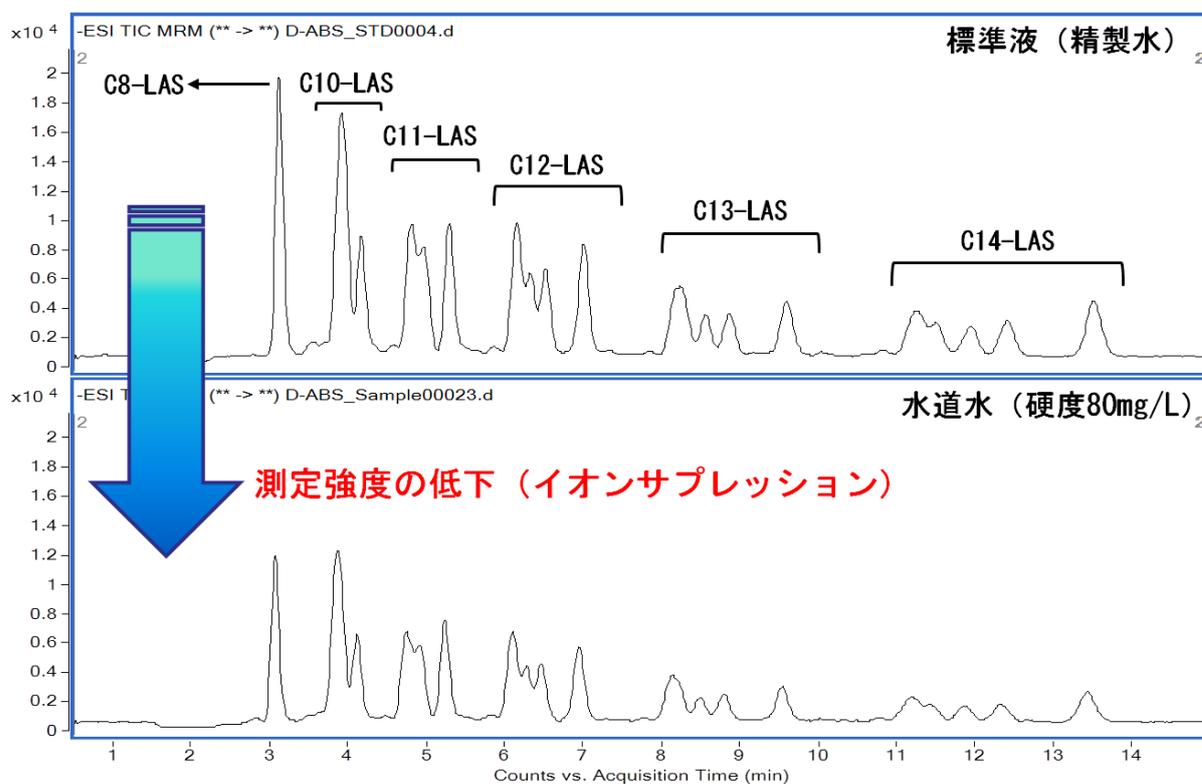


図 4-2 LC/MS/MS 法による各 LAS のイオンサプレッション

このため、本研究では、LC/MS/MS とイオンサプレッションの補正が可能な内部標準物質を用いた水道水中の陰イオン界面活性剤の分析法（以下、「本分析法」と略）を確立したので報告する。

4. 2. 研究方法

4. 2. 1. 試薬

- 1) LAS 混合標準原液: 和光純薬工業社製の陰イオン界面活性剤標準液 (LAS-C10, LAS-C11, LAS-C12, LAS-C13 及び LAS-C14 の各濃度 1.0 mg/mL : メタノール溶液) を使用した.
- 2) 混合内部標準液: 内部標準物質には, 和光純薬工業社製のオクチルベンゼンスルホン酸ナトリウム (以下, 「LAS-C8」と略) 標準液 (濃度 1.0 mg/mL : メタノール溶液) とデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム (以下, 「LAS(C¹³)-C12」と略) 標準液(濃度 10 µg/mL : メタノール溶液)を使用した. また, 混合内部標準液は, LAS-C8 内部標準液と LAS(C13)-C12 内部標準液を各々 500 µg/L 濃度になるようにメタノールで混合希釈して調製した.
- 3) 移動相: 酢酸アンモニウムは和光純薬工業社製試薬特級を, アセトニトリルには関東化学社製 LC/MS 分析用を使用した. また, 精製水には, Mill-Q 水を使用した.

4. 2. 2. 試験液の調製

試験液の調製は, 以下のとおりに行った (図 4-3 及び 4-4 参照).

試料を LC/MS/MS 測定用ガラス製 2 mL バイアルに 1 mL 採取し, 混合内部標準液 (500 µg/L) をマイクロシリンジで 10 µL 添加し密栓したものを試験液とした.

なお, 検量線作成用標準液については, 予め精製水で調製した検量線作成用 LAS 混合標準液 (各 LAS 濃度 : 4.0 ~40 µg/L) を 2 mL バイアルに 1 mL 採取し, 混合内部標準液をマイクロシリンジで 10 µL 添加して密栓して調製した (内部標準液濃度 : 5.0 µg/L).



図 4-3 試験液調製の状況

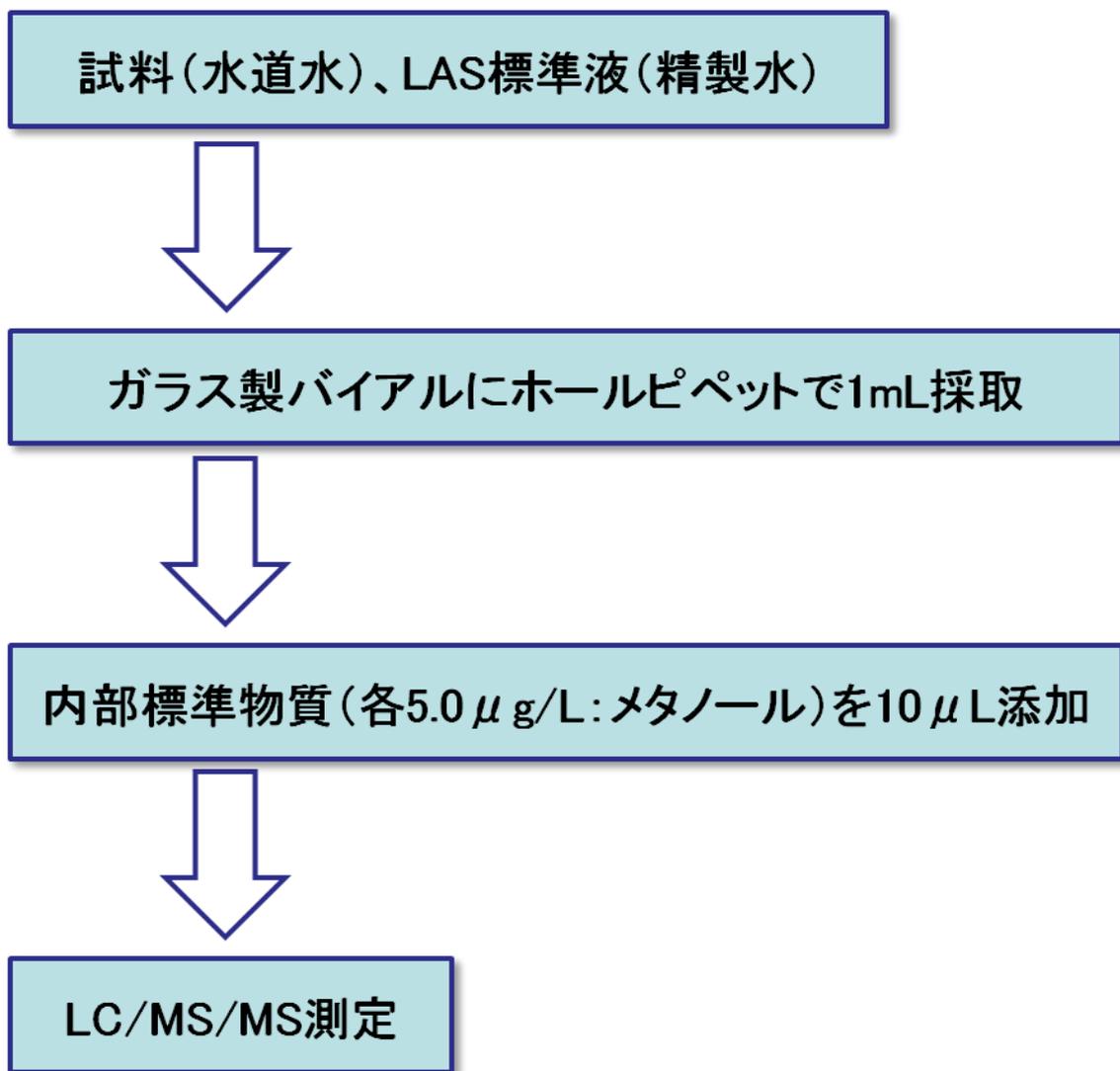


図 4-4 試験液の調製フロー図

4. 2. 3. LC/MS/MS 測定条件

本分析法の検討に用いた LC/MS/MS 測定条件を表 4-1 に示す。LC/MS/MS の LC 部には Agilent 社製 1260, MS/MS 部には Agilent 社製 6460 を使用した。分離カラムには, 化学物質評価研究機構社製の L-columnODS 2.1×150 mm(3 μm)を使用した。移動相には, 0.10 %ギ酸含有 50 mM 酢酸アンモニウム水溶液とアセトニトリルのアイソクラティック測定とし, 流量は 0.2 mL/min とした。また, LAS-C10~C12 は内部標準物質 LAS(C¹³)-C12 を, LAS-C13~C14 は内部標準物質 LAS-C8 を選択し, 内標準法で定量を行った。

表 4-1 LC/MS/MS 測定条件 (三重県環境保全事業団)

装置名	Agilent 1260HPLC	
分離カラム	化学物質評価研究機構社製 L-columnODS 2.1 ×150 mm(3 μm)	
LC 部	移動相	A : 50 mM 酢酸アンモニウム水溶液 (0.1 %ギ酸) B : アセトニトリル A : B = 35 : 65
	カラム温度	40 °C
	流量	0.2 mL/min
	注入量	20 μL
装置名	Agilent 6460 LC/MS/MS システム	
イオン化法	ESI 法(Negative)	
フラグメント電圧	150 V	
MS/MS 部	LAS-C10 : 297 >183	LAS-C11 : 311 >183
モニターイオン (m/z)	LAS-C12 : 325 >183 LAS-C14 : 353 >183	LAS-C13 : 339 >183 LAS(C ¹³)-C12 : 331 >176
	LAS-C8 : 269 >183	

4. 2. 4. 分析条件の最適化

4. 2. 4. 1. LAS 測定強度とカルシウム硬度の相関関係の検討

LAS の LC/MS/MS 測定で発生するイオンサプレッションの原因物質を特定するため、水道水中のカルシウム硬度（以下、「Ca 硬度」と略）と LAS 測定強度との相関関係を検討した。

検討方法としては、標準液（各 LAS 濃度 0.10 mg/L：精製水）と Ca 硬度を 20～200 mg/L に調製した試料（各 LAS 濃度 0.10 mg/L）を表 1 の LC/MS/MS 測定条件で測定し、得られた各 LAS 強度を比較した。なお、Ca 硬度が異なる LAS 標準液を以下のとおりに調製した。

0.040 mol/L の塩化カルシウム水溶液を 100 mL 全量フラスコ①～④に、①0 mL、②0.5 mL、③1 mL、④5 mL 採取した。次に、全量フラスコ①～④に LAS 混合標準液（各 10 mg/L：精製水）をそれぞれ 1 mL 加えた後、精製水で 100 mL に定容し調製した。なお、調製した試験液には、Ca 硬度が、①0 mg/L、②20 mg/L、③40 mg/L、④200 mg/L 含まれている。また、全ての試験液には、各 LAS が 0.10 mg/L 含まれている。

4. 2. 4. 2. 内部標準物質の検討

本分析法で使用する内部標準物質を検討した。なお、内部標準物質には、市販標準品の購入が可能であり LAS-C11～C14 によく似た構造式を有する LAS-C8（平成 25 年環境省告示第 30 号付表 12¹¹⁾で内部標準物質として使用）と LAS(C13)-C12 を用いた。

検討方法としては、各 LAS 濃度（4.0 μg/L）と内部標準物質濃度（5.0 μg/L）が一定になるように調製した 3 種類の水道原水（総硬度 16, 35, 80 mg/L）を表 1 の測定条件で測定し、総硬度に対する LAS と内部標準物質の測定強度比の変動（RSD）を求め、RSD が小さい内部標準物質を本分析法に適用することにした。

4. 2. 4. 3. LAS 標準液の検量線（直線性）、定量下限値及び RSD（併行精度）

表 4-1 の LC/MS/MS 測定条件で得られた各 LAS 標準液（4.0 ～40 μg/L：精製水）の検量線の重相関係数を算出し、検量線の直線性を検討した。また、4.0 μg/L の各 LAS 標準液を 5 回繰り返し測定し、平均値、標準偏差（ σ ）、定量下限値（ 10σ ）及び RSD を算出した。

4. 2. 4. 4. 添加回収試験

本分析法が、総硬度の異なる水道水及び水道原水においても適切な回収率が得られるかを確認するため、4.2.2 及び 4.2.3 の測定条件で添加回収試験を行った。なお、各 LAS の添加回収試験に用いた試料は、以下のとおりに調製した。

400 μg/L の LAS 混合標準液 1 mL を各 8 種類の水道水及び水道原水を用いて 100 mL に希釈した試験液を用いた。この調製した試験液には、LAS-C10～C14 が各 4.0 μg/L（基準

値¹⁾の 1/10：陰イオン界面活性剤として 0.020 mg/L) 存在する。また、各 LAS の添加回収試験に用いた試料の総硬度と回収率の関係を確認するため、総硬度が 10 mg/L 付近、40 mg/L 付近、80 mg/L 付近になるように水道水と原水をそれぞれ選択した。また、2 分析機関による本分析法の再現性を総硬度の近い 2 種類の水道水で確認を行った。

実際に使用した試料の総硬度は、水道水 A が 8.0 mg/L、水道水 B 及び C が 40 mg/L、水道水 D 及び E が 80 mg/L、原水 F が 16 mg/L、原水 G が 35 mg/L、原水 H が 80 mg/L であった。なお、水道水 C 及び E は岩手県内で、それ以外は三重県内で採取した。

4. 2. 4. 5. 妥当性評価

本分析法が水道水中の陰イオン界面活性剤 (LAS-C10~C14 の総和) の分析法として妥当であるかを評価するため、4.2.4.4 で調製した水道水 B の添加回収試験を各 5 併行の 5 日間繰返して実施した。

4. 3. 結果と考察

4. 3. 1. LAS 測定におけるイオンサプレッションとカルシウムとの関係

LC/MS/MS を用いた水道水中の陰イオン界面活性剤の直接注入分析法の検討を行った。しかし、検討の初期段階で、水道水中の各 LAS 測定強度が同じ濃度の LAS 標準液（各 LAS 濃度：0.10 mg/L）に対して 46~86 %程度に低下するイオンサプレッションを確認した（図 4-5 参照）。この現象が発生すると、標準液と比較して水道水中に存在する LAS の測定強度が低減し、本分析法の定量性に大きな問題が生じることから、各 LAS のイオンサプレッションの影響を低減する操作が必要となる。そこで、影響を低減する操作の内容を検討するために、イオンサプレッションを発生させる水道水中の共存物質の検討を行った。

各 LAS 測定の強度（標準液の LAS 測定強度を 100%とする）

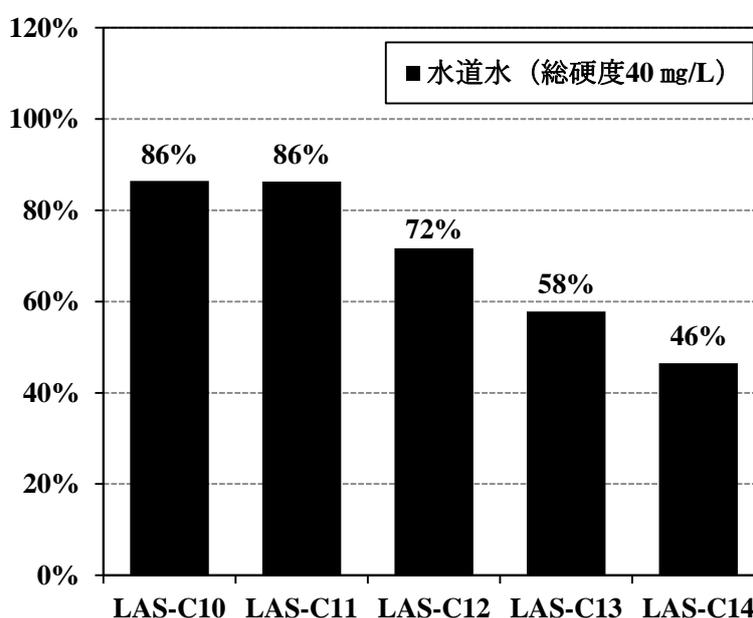


図 4-5 LC/MS/MS による標準液と水道水中の各 LAS 測定強度の関係
(標準液の LAS 強度を 100%としたときの水道水の LAS 強度を示している)

一般的に、水道水は、有機物、重金属などの夾雑成分の含有量が少ない媒体である。このため、LAS のイオンサプレッションを発生させる共存物質としては、水道水の含有量が比較的に高いカルシウムイオン（以下、「 Ca^{2+} 」と略）などのミネラル成分と推測される。さらに、 Ca^{2+} は、陰イオン界面活性剤との間で水不溶性塩である錯体（コンプレックス）を形成することが知られている。

実際、篠田らは硫酸アルキル塩類[$\text{R}_{17}\text{SO}_4\text{X}$: $\text{X}=\text{Na}, \text{Ca}1/2$]において、ナトリウム塩と比較して、カルシウム塩の方が界面活性剤の水への溶解度が急激に上昇するクラフト温度が $30\text{ }^\circ\text{C}$ 以上高いことを報告している（ナトリウム塩： $30\text{ }^\circ\text{C}$ ，カルシウム塩： $71\text{ }^\circ\text{C}$ ）¹³⁾。また、LAS はアルキル塩類よりもベンゼン環を有する分だけ疎水性が高いことから、 Ca^{2+}

と錯体を形成した際、不溶性が更に高まると考えられる。このため、 Ca^{2+} を多く含有している水道水については、水溶解度の低い LAS カルシウム塩の生成するため、ESI への分析種到達量が減少し、その結果、LAS の LC/MS/MS 測定感度が低下するイオンサプレッションが発生する可能性が高いと考えられる。以上のことから、本分析法におけるイオンサプレッションの原因物質は Ca^{2+} と推測し、水道水中の Ca 硬度濃度と LAS 測定強度との相関関係の検討を行った。

図 4-6 には、Ca 硬度が 20 ～200 mg/L 範囲の LAS 混合標準液（各 LAS 濃度を 0.10 mg/L に調製）を LC/MS/MS 測定し得られた各 LAS 濃度を示した。この図から、Ca 硬度が 40 mg/L 及び 200 mg/L の LAS 標準液の測定値は、20 mg/L の標準液と比較して各 LAS の測定値が低くなるイオンサプレッションの発生を確認した。また、図 3 における Ca 硬度 40 mg/L に調製した標準液で測定された各 LAS の測定強度（標準液測定強度に対して 48～80%）は、図 4-5 で示した総硬度 40 mg/L の水道水における各 LAS 測定強度（標準液測定強度に対して 46～86%）とよく一致していた。

これらの結果から、水道水の直接 LC/MS/MS 測定による各 LAS のイオンサプレッションは、水道水中に共存する Ca^{2+} が一要因であることを確認できた。

各 LAS 測定強度（Ca 硬度 0mg/L の LAS 測定強度を 100%とする）

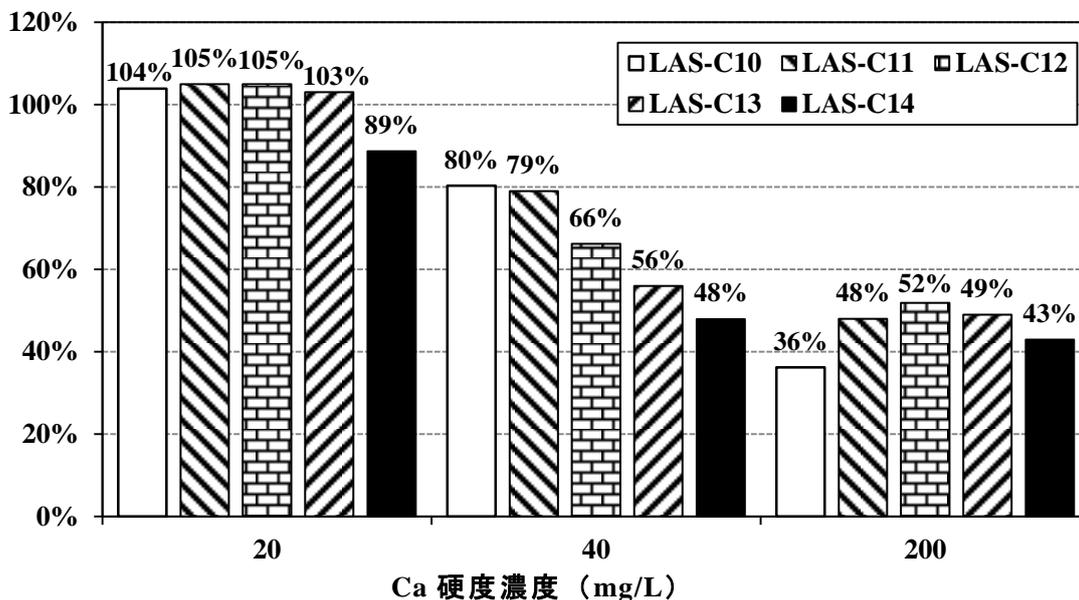


図 4-6 Ca 硬度と LAS 測定強度の関係（各 LAS 濃度：0.10 mg/L）

4. 3. 2. 内部標準物質の検討

本分析法の定量精度を向上させるためには、水道水に共存する Ca^{2+} が原因で発生する各 LAS のイオンサプレッションの影響を低減する方法の検討が必要である。

まずは、陽イオン交換カラムなどの固相カラムを用いて、水道水中の Ca^{2+} を除去する方法の検討を行った。しかし、各 LAS が適切な回収率を得られない場合や、固相カラムそのものから LAS が汚染し結果として操作 BL 値が高くなる場合もあり、適切な精製法を確立することはできなかった。そこで、内部標準物質によって補正する内標準法の検討を行った。

図 4-7 には、3 種類の水道原水（総硬度 16, 35, 80 mg/L）における LAS と内部標準物質の測定強度比の変動を示した。

この図から、LAS-C10～C12 に内部標準物質 LAS(C^{13})-C12 を用いた場合、測定強度比の変動は $\text{RSD}=1.0 \sim 2.9 \%$ と一定であった。このため、LAS(C^{13})-C12 は内部標準物質として適していると判断した。一方、内部標準物質 LAS-C8 を用いた場合、総硬度が高くなると測定強度比が高くなる傾向を示し、測定強度比は $\text{RSD}=8.8 \sim 11.6 \%$ と大きく変動した。このため、LAS-C8 は内部標準物質として不適であると判断した。

LAS-C13 及び LAS-C14 に内部標準物質 LAS-C8 を用いた場合、測定強度比の変動は $\text{RSD}=1.6 \sim 3.4 \%$ と一定であった。このため、LAS-C8 は内部標準物質として適していると判断した。一方、内部標準物質 LAS(C^{13})-C12 を用いた場合、総硬度が高くなると測定強度比は低くなる傾向を示し、測定強度比は $\text{RSD}=7.8 \sim 11.1 \%$ と大きく変動した。このため、LAS(C^{13})-C12 は内部標準物質として不適であると判断した。

次に、図 4-8 には、水道水（総硬度 40 mg/L）に各 LAS 濃度が $4.0 \mu\text{g/L}$ になるように添加し、絶対検量線法、内部標準法による定量結果の差異を求めた概要を示した。この図から、LAS-C10～C12 では、内部標準物質に LAS(C^{13})-C12 を用いることによりほぼ 100 % の定量結果を得ることができた。一方、LAS-C13～C14 では、内部標準物質に LAS-C8 を用いることにより 91.5 % 及び 77.5 % の定量結果を得ることができた。

以上のことから、本分析法の検討では、LAS-C10～C12 の内部標準物質に LAS(C^{13})-C12 を、LAS-C13～C14 の内部標準物質に LAS-C8 を用いることが最適であると判断した。

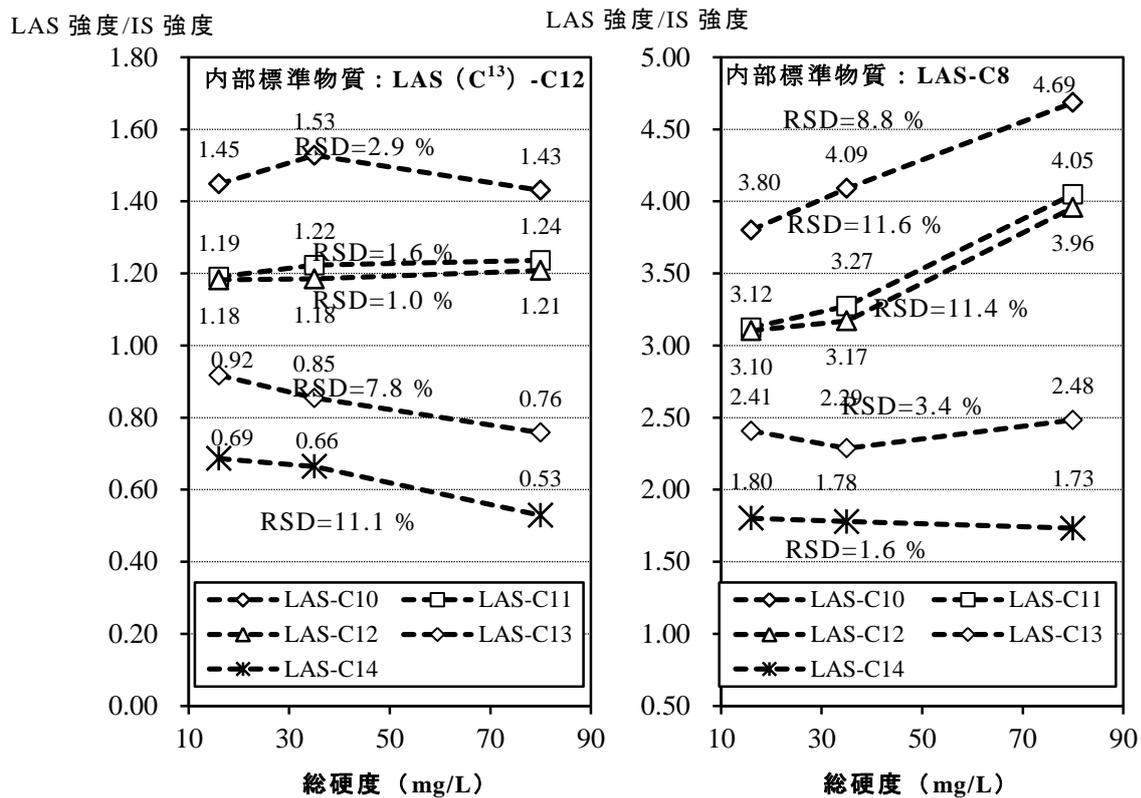


図 4-7 3 種類の水道原水における LAS と内部標準物質の測定強度比の変動

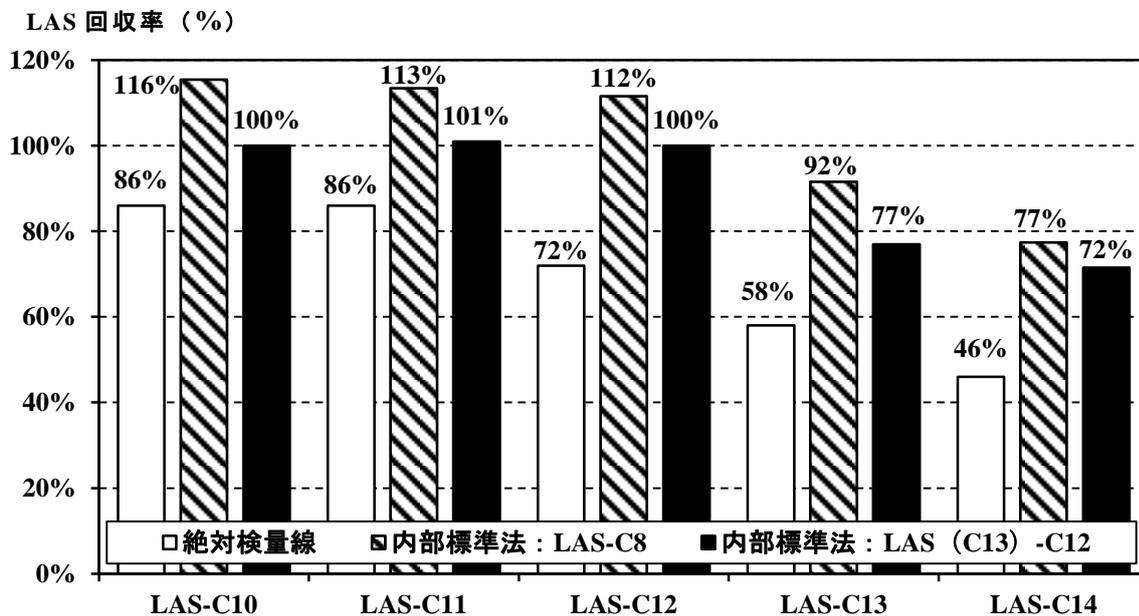


図 4-8 絶対検量線法及び内部標準法による水道水中の LAS の回収率結果
(各 LAS 濃度：4.0 μg/L，水道水の総硬度：40 mg/L)

4. 3. 3. LAS 標準液のピーク形状, 検量線及び定量下限値

図 4-9 には, LAS 標準液 (各 LAS 濃度 : 4.0 $\mu\text{g/L}$) を測定し得られた SRM クロマトグラムを示す. この図から, 各 LAS のピークの S/N 比 (高さ) は 30.2 以上であり, ピーク形状も良好であった.

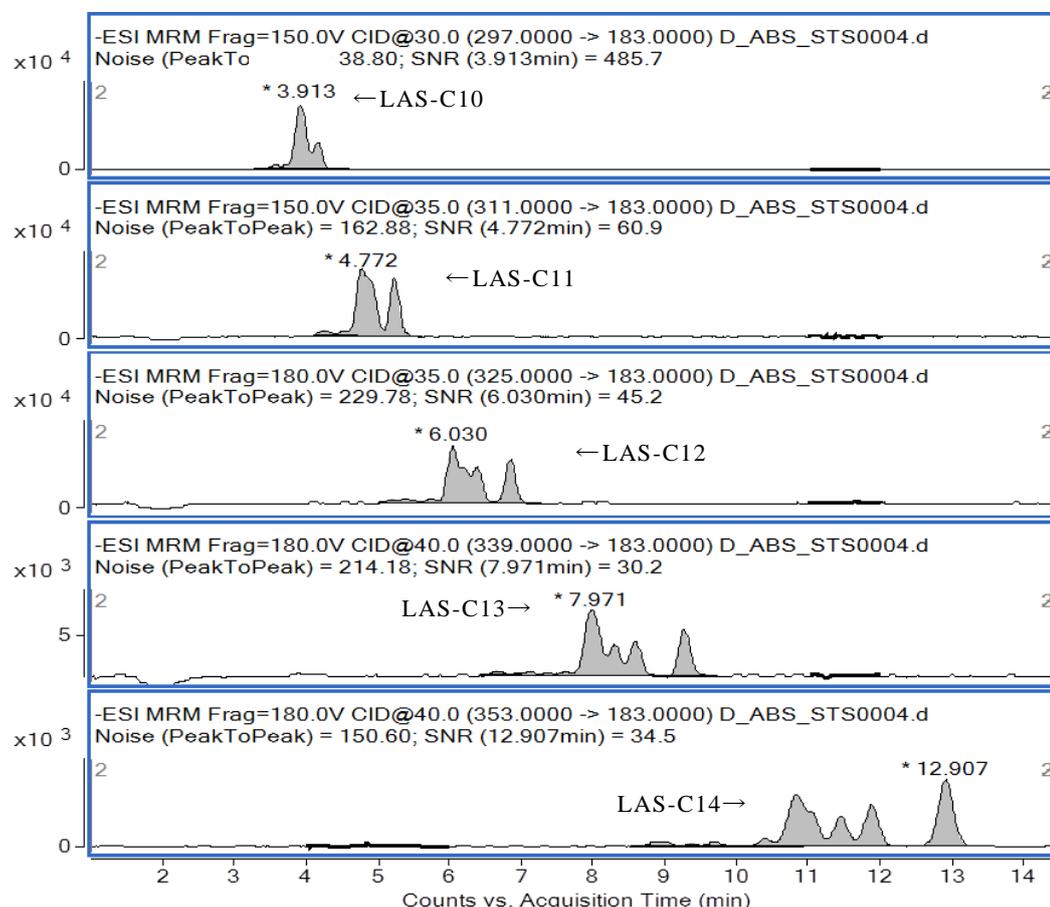


図 4-9 LAS 標準液中の SRM 測定クロマトグラム (各 LAS 濃度 : 4.0 $\mu\text{g/L}$)

次に, 表 4-1 の LC/MS/MS 測定条件で得られた各 LAS 標準液 (4.0 ~ 40 $\mu\text{g/L}$: 精製水) の検量線を図 4-10 に示した. この図から, 算出した検量線の重相関係数が全ての LAS において 0.999 以上であり, 本分析法において各 LAS の検量線が良好な直線性を有していることが確認できた.

また, 4.0 $\mu\text{g/L}$ の各 LAS 標準液を 5 回繰り返し測定して得られた平均値, 標準偏差 (σ), 定量下限値 (10σ) 及び RSD (併行精度) を表 4-2 に示す. この表から, 各 LAS の平均値は 3.91 ~ 4.05 $\mu\text{g/L}$, RSD が 1.22 ~ 2.63 % と非常に良好な結果が得られた. また, 本分析法の 10σ による各 LAS の定量下限値は 0.490 ~ 1.06 $\mu\text{g/L}$ であり, 陰イオン界面活性剤の水道水質基準の 1/10 以下の測定が可能であった.

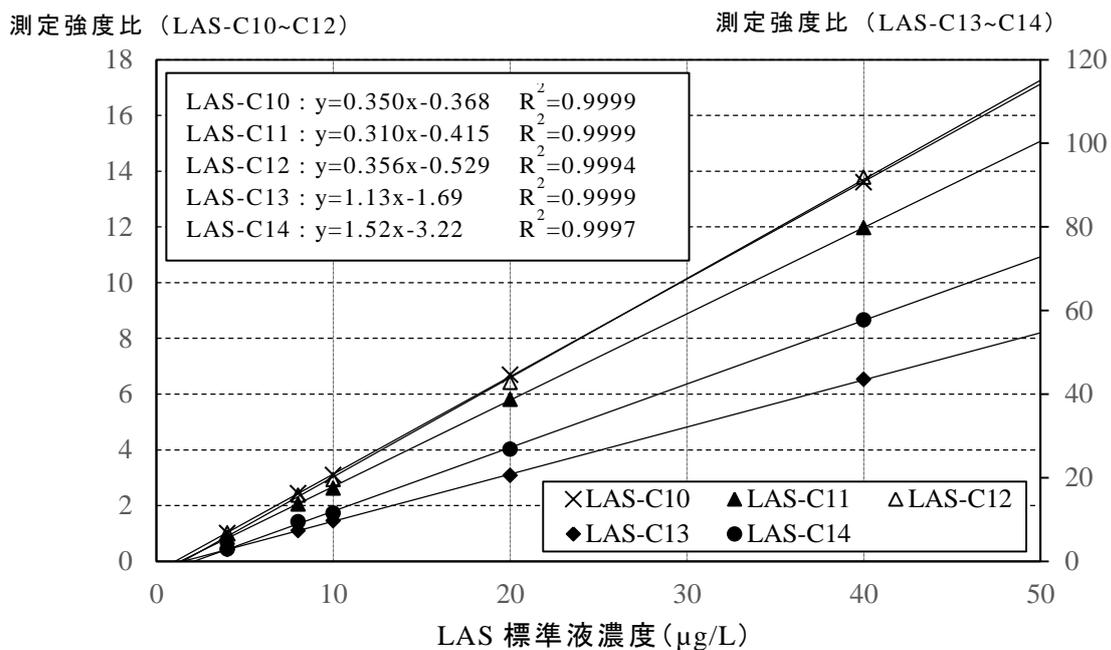


図 4-10 各 LAS 標準液の検量線 (濃度 : 4.0 ~ 40 μg/L)

表 4-2 LAS 標準液繰り返し測定(n=5)による平均値, 標準偏差, 定量下限値, RSD

各 LAS	平均値 (μg/L)	標準偏差 (σ)	定量下限 (10σ)	RSD(%)
LAS-C10	4.01	0.106	1.06	2.63
LAS-C11	4.02	0.0490	0.490	1.22
LAS-C12	3.98	0.0783	0.783	1.97
LAS-C13	4.05	0.0604	0.604	1.49
LAS-C14	3.91	0.0643	0.643	1.65 %

4. 3. 4. 水道水及び原水の添加回収試験

表 4-4 には、2.5 で調製した総硬度が 8 種類の水道水及び水道原水に対する LAS 添加回収試験結果を示した。なお、水道水 C 及び E は、岩手県薬剤師会検査センター（測定条件は表 4-3）の分析室で、それ以外は三重県環境保全事業団（測定条件は表 4-11）の分析室で試験を実施した。

この表から、水道水 A～E における LAS-C10～C14 の回収率は 72.2 ～122 %であり、妥当性評価ガイドライン¹⁴⁾ が示す 70 %以上の良好な結果を得られた。また、岩手県及び三重県の 2 つの分析機関の結果はよく一致しており、本分析法の再現性が高いことが確認された。

一方、原水 F～H における LAS-C10～C13 の回収率は 83.6 ～124 %と妥当性評価ガイドライン¹⁴⁾ が示す 70 %以上の良好な結果を得ることができた。しかし、LAS-C14 に関しては 59.0 ～68.1 %と低い回収率であった。このため、原水の LAS-C14 については、内部標準物質 LAS-C8 を用いてもイオンサプレッションの補正には不十分であり、本分析の適用は難しいことがわかった。

次に、水道水添加回収試験液の測定で得られた各 LAS の SRM クロマトグラムを図 4-11 に示した。この図から、水道水を前処理せずに直接測定しても、各 LAS のピークに妨害を及ぼすような夾雑物のピークは観測されず、良好なピーク形状が得られており、本分析法が高い選択性を有することが確認できた。

表 4-3 LC/MS/MS 測定条件 (岩手県薬剤師会検査センター)

LC 部	装置名	Waters 2695	
	分離カラム	GL サイエンス製 Inertsil ODS-4 2.1 ×150 mm(3 μm)	
	移動相	A : 50 mM 酢酸アンモニウム水溶液 (0.1 %ギ酸) B : アセトニトリル A : B = 35 : 65	
	流量	0.2 mL/min	
	注入量	50 μl	
	MS/MS 部	装置名	Waters Quattro micro
イオン化法		ESI 法(Negative)	
フラグメント電圧		150 V	
モニターイオン (m/z)		LAS-C10 : 297 >183	LAS-C11 : 311 >183
		LAS-C12 : 325 >183	LAS-C13 : 339 >183
		LAS-C14 : 353 >183	LAS-C8 : 269 >183
		LAS(C ¹³)-C12 : 331 >176	

表 4-4 水道水及び原水添加回収試験結果 (各 LAS : 4.0 μg/L)

試料種類	分析機関	回収率 (% : n=5)				
		LAS-C10	LAS-C11	LAS-C12	LAS-C13	LAS-C14
水道水 A (総硬度 8.0 mg/L)	三重県	98.0	96.7	92.6	90.0	75.2
水道水 B (総硬度 40 mg/L)	三重県	100	101	100	91.6	77.4
水道水 C (総硬度 40 mg/L)	岩手県	110	109	107	107	82.8
水道水 D (総硬度 80 mg/L)	三重県	99.1	106	103	89.5	72.2
水道水 E (総硬度 80 mg/L)	岩手県	107	101	122	99.1	74.6
水道原水 F (総硬度 16 mg/L)	三重県	113	113	97.1	83.6	68.1
水道原水 G (総硬度 35 mg/L)	三重県	121	111	105	85.3	59.0
水道原水 H (総硬度 80 mg/L)	三重県	124	99.2	112	85.3	67.0

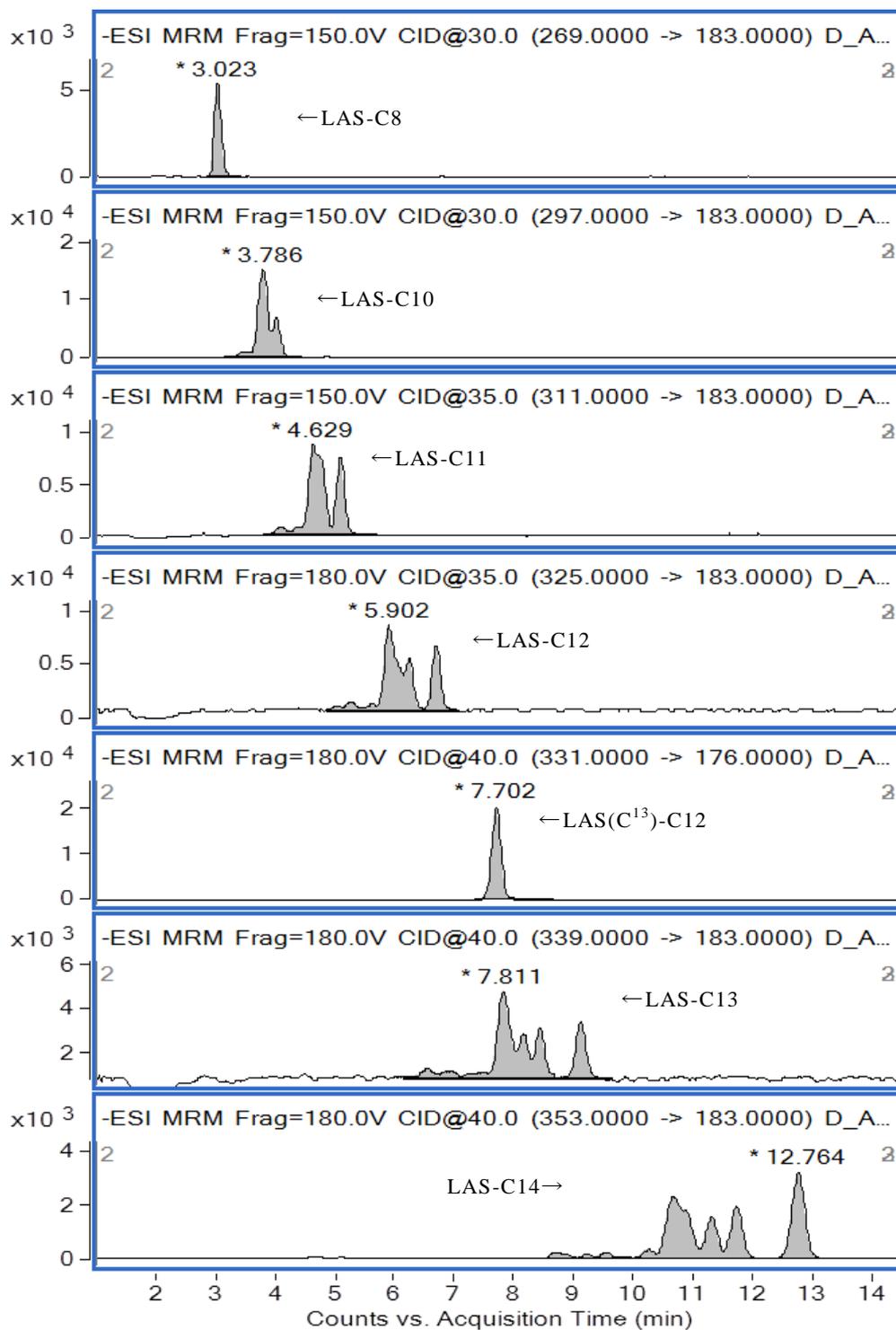


図 4-11 水道水中の各 LAS の SRM 測定クロマトグラム (各 LAS 濃度 : 4.0 µg/L)

4. 3. 5. 本分析法の水道水への適用

表 4-5 には、水道水中の陰イオン界面活性剤（LAS-C10～C14 の総和）の分析法としての本分析法の妥当性評価を示した。

この表から、併行精度 3.54 %、室内精度 7.47 %、真度 95.2 %と良好な結果が得られた。これらは、平成 15 年課長通知（健水発第 1010001 号）¹⁵⁾ で定められる併行精度（RSD：20 %（有機物））と妥当性評価ガイドライン¹⁴⁾ の室内精度（有機物：RSD ≤ 25 %）と真度（70 ~130 %）を満たす結果であり、本分析法が陰イオン界面活性剤の水道水質検査法として有効であることを示すことができた。

また、本分析法は、作業時間として約 2 時間程度要する固相抽出による濃縮操作を省略できることから、水道水中の陰イオン界面活性剤の分析の迅速化が可能となった。

表 4-5 水道水に対する陰イオン界面活性剤の妥当性評価結果

	試験 1	試験 2	試験 3	試験 4	試験 5
n=1	19.2 µg/L	18.0 µg/L	19.8 µg/L	20.0 µg/L	17.7 µg/L
n=2	18.8 µg/L	17.5 µg/L	18.7 µg/L	19.4 µg/L	18.1 µg/L
n=3	18.6 µg/L	17.8 µg/L	20.9 µg/L	20.3 µg/L	20.0 µg/L
n=4	18.7 µg/L	17.7 µg/L	19.0 µg/L	19.9 µg/L	19.2 µg/L
n=5	18.9 µg/L	17.7 µg/L	19.7 µg/L	19.9 µg/L	20.5 µg/L

評価項目	評価結果	目標値
併行精度（RSD：%）	3.54	<20
室内精度（RSD：%）	7.47	≤25
回収率（%）	95.2	70 ~130

注 1：添加回収試験に使用した水道水の総硬度は 40 mg/L

注 2：各 LAS の添加濃度は 4.0 µg/L（陰イオン界面活性剤として基準値の 1/10 相当：0.020 mg/L）

注 3：添加回収試験は、各 5 併行の 5 日間繰返しで実施した

4. 4. まとめ

- 1) 物質選択性と検出感度が高い LC/MS/MS と内部標準物質を用いて、水道水中の陰イオン界面活性剤の直接注入分析法の検討と水道水への妥当性を評価した。
- 2) 検討の結果、水道水中の LAS の LC/MS/MS 測定によるイオンサプレッションが水道水中に共存する Ca^{2+} に起因して発生することを確認した。
- 3) 本分析法における各 LAS の検量線は 4.0 ~ 40 $\mu\text{g/L}$ の濃度範囲で良好な直線性を示した。また、4.0 $\mu\text{g/L}$ 標準液の併行精度は 1.22 ~ 2.63 % と非常に良好であり、各 LAS の定量下限値は 0.490 ~ 1.06 $\mu\text{g/L}$ であった。
- 4) 総硬度が異なる水道水及び原水に対して各 LAS の添加回収試験を行った。その結果、水道水における LAS-C10~C14 の回収率は 72.2 ~ 122 % であり、良好な結果を得られた。一方、原水中の LAS-C10~C13 の回収率は 83.6 ~ 124 % と良好な結果であったが、LAS-C14 は 59.0 ~ 68.1 % と低い回収率であった。
- 5) 水道水基準値の 1/10 濃度である 20 $\mu\text{g/L}$ 濃度の陰イオン界面活性剤 (LAS-C10~C14 の総和) の添加回収試験 (5 日間, 各 5 併行) を総硬度 40 mg/L の水道水で行った。その結果、併行精度 3.54 %, 室内精度 7.47 %, 回収率 95.2 % の結果が得られ、水道水に対する本分析法の妥当性を評価することができた。
- 6) 本分析法は、固相抽出による濃縮操作を省略できることから、水道水中の陰イオン界面活性剤の分析の迅速化が可能となった。

参考文献

- 1) 厚生労働省令第 101 号「水道法第 4 条第 2 項の規定に基づき水質基準に関する省令」平成 15 年 5 月 30 日.
- 2) 厚生労働省令告示第 261 号「水道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」平成 15 年 7 月 22 日.
- 3) 水道水中の蛍光物質について：海賀信好，中野壮一郎，手塚美彦，石井忠浩，衛生工学シンポジウム論文集，248-242(1996).
- 4) 水環境中のヒト用医薬品の存在実態及び環境中濃度の予測：鈴木俊也，Ann. Rep. Tokyo Metr. Inst. Pub. Health，**63**，69-81(2012).
- 5) LC/MS による環境中の Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) の分析：佐々木和明，齋藤憲光，環岩手県環境研センター年報，**2**，101-103(2002).
- 6) LC/MS/MS を用いた直接注入によるハロ酢酸分析法の検討：古川浩司，第 16 回環境化学討論会講演要旨集，506-507(2007).
- 7) 液体クロマトグラフ/質量分析計による水道水中のハロ酢酸類の定量法の確立：田原麻衣子，杉本直樹，久保田領志，西村哲治，水道協会雑誌，**907**，18-22 (2010).
- 8) 陰イオン存在下における水道水中のハロ酢酸類の LC/MS 及び LC/MS/MS 分析の定量精度の検証：田原麻衣子，小林憲弘，久保田領志，塚本多矩，杉本直樹，西村哲治，水道協会雑誌，**931**，20-27 (2012).
- 9) LC/MS/MS による海水中のトリブチルスズ及びトリフェニルスズ分析：古川浩司，橋本真，橋爪 清，環境技術，**42(3)**，175-182(2013).
- 10) 水道水中のイミノクタジン・ジクワット・パラコートの LC/MS/MS 一斉分析法の開発：小林憲弘，久保田領志，佐々木俊哉，五十嵐良明，環境科学会誌，**28(2)**，117-125(2015).
- 11) 「直鎖アルキルベンゼンスルホン酸及びその塩の測定方法」：環境庁告示第 59 号付表 12，<http://www.env.go.jp/kijun/wt_a12.html> (参照 2016-09-25).
- 12) 陰イオン界面活性剤分析における LC-MS 法への応用：北原 敏，工藤清惣，中澤智子，川口寿之，山田悠貴，船坂鎌三，奥村明雄，水道協会雑誌，**952**，2-6(2014).
- 13) 硬水中で使用できるイオン性界面活性剤：篠田耕三，柴田 裕，油化学，**42(2)**，81-85(1993).
- 14) 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，平成 24 年 9 月 6 日 (健水発 0906 第 1 号，最終改正：平成 29 年 10 月 18 日付け薬生水発 1018 第 1 号).
- 15) 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：水質管理目標設定項目の検査方法，別添 4，厚生労働省健康局水道課長通知，平成 15 年 10 月 10 日 (健水発第 1010001 号).

第5章 LC/MS/MSによる水道水中のテフリルト リオン分析法

5. 1. 緒言

トリケトン系農薬であるテフリルトリオンは、主に水稲用除草剤に使用されるために開発され、2010年に農薬登録された新しい農薬であり¹⁾、近年、国内の出荷量が急増している農薬でもある²⁻³⁾。また、テフリルトリオンは、水に対する溶解度が64.2g/L(pH 7.0, 20℃)¹⁾と非常に水溶性が高いことから、テフリルトリオンが散布された水田付近から河川水等に移行して環境水を汚染することが懸念される。実際、平成24年から平成26年における水道原水及び河川水において、テフリルトリオンは全調査地点の10%を超える地点で検出されており、非常に高い検出頻度であったことが報告されている²⁾。

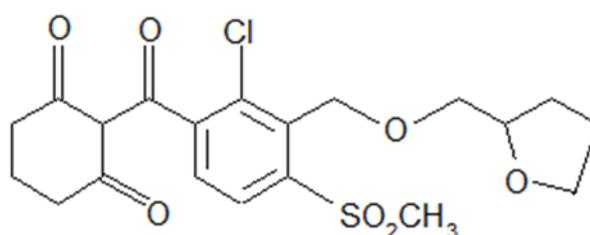


図 5-1 テフリルトリオンの構造式

このため、厚生労働省では、テフリルトリオンを要検討農薬類から対象農薬リスト掲載農薬類に格上し、水道水におけるテフリルトリオンの水質モニタリング体制を強化していくことを示している（平成29年4月1日施行予定）²⁾。しかしながら、水試料に対するテフリルトリオンの分析法の報告は、佐藤ら⁴⁾が河川水に対して検討した固相抽出-液体クロマトグラフィー/タンデム型質量分析法（以下、「LC/MS/MS」と略）だけである。

佐藤ら⁴⁾が用いたLC/MS/MSは、近年、測定感度と物質選択性の高い分析法として注目されており、ハロ酢酸⁵⁾、農薬⁶⁻⁷⁾、有機スズ⁸⁾、PFOS・PFOA⁹⁾、LAS（陰イオン界面活性剤）¹⁰⁾など様々な項目の分析に検討されている。また、LC/MS/MSは、水試料を有機溶剤などに転溶せずに直接装置に導入できることから、固相抽出などによる前処理作業の省略が可能であり、分析時間の短縮やコストの削減が可能となる。

そこで、本研究では、直接注入-LC/MS/MS法を用いて、水道水中のテフリルトリオンが、厚生労働省が定める目標値（0.02 mg/L）の1/100である0.02 µg/Lまで測定可能な分析法の検討を行った。また、本分析法の水道水への妥当性を評価したので同時に報告する。

5. 2. 研究の方法

5. 2. 1. 試薬

i) テフリルトリオン標準原液 (1000 mg/L)

和光純薬工業社製テフリルトリオン標準品を 100 mg 精秤し、アセトニトリル (HPLC 用：関東化学社製) で 100 mL に定容した。

ii) 検量線作成用テフリルトリオン標準液

テフリルトリオン標準原液 1mL を Milli-Q 水で 100 mL に定容とした。その後、適時、Milli-Q 水で 0.02, 0.04, 0.1, 0.2 $\mu\text{g/L}$ になるように 4 段階に希釈した。

iii) 移動相

移動相に用いた酢酸アンモニウムは和光純薬工業社製試薬特級を、アセトニトリルには関東化学社製 LC/MS 分析用を使用した。また、精製水には、Milli-Q 水を使用した。

5. 2. 2. 試料の調整方法と測定条件の検討

試料に残留塩素が存在する場合、アスコルビン酸ナトリウムを用いて残留塩素を除去し、ガラス製バイアルに採取したものを試験液とした。試験液は、表 1 に示す測定条件を用いて、LC/MS/MS に直接注入し測定を行った。また、検量線については、2.1 で調整した検量線作成用テフリルトリオン標準液を用いて測定した。

なお、LC/MS/MS 測定条件の最適化は、以下の順で検討を行った。

i) プリカーサイオンの検討

LC/MS/MS 測定のための諸条件を検討するには、最初にテフリルトリオンの最適なプリカーサイオンを検討する必要がある。このため、テフリルトリオン標準原液を Milli-Q 水で 10 mg/L に希釈したテフリルトリオン標準液 1 μL を LC/MS/MS 装置に注入し、プリカーサイオンの MS-SCAN 測定 [SCAN 測定範囲：m/z 220 - 550] を行った。

ii) プロダクトイオンの検討

本分析法で使用する最適なプロダクトイオンを検討するため、10 mg/L のテフリルトリオンの標準液 (Milli-Q 水) 1 μL を LC/MS/MS 装置に注入し、プロダクトイオン-SCAN 測定 [プリカーサイオン：m/z 443, SCAN 測定範囲：m/z 100 - 450] を行った。

iii) 検量線 (直線性の確認) 並びに変動係数, 定量下限値及び RSD の算出

表 5-1 の LC/MS/MS 測定条件で得られたテフリルトリオン標準液の検量線 (0.02~0.2 $\mu\text{g/L}$) の直線性を評価した。また、0.02 $\mu\text{g/L}$ のテフリルトリオン標準液を 5 回繰り返し測定し、平均値, 標準偏差 (σ), 定量下限値 (10σ) 及び RSD (併行精度) を算出した。

表 1 LC/MS/MS 測定条件

LC 条件 <Agilent 社製 1260HPLC>	
カラム	GL サイエンス社 InertSustain C18 2.1×150 mm 3 μm
注入量	50 μL
カラム温度	40 °C
流速	0.2 mL/min
移動相	A 液:0.5 mM 酢酸アンモニウム水溶液 B 液 : アセトニトリル A:B = 60:40 → A:B = 0:100(26min)
MS 条件 <Agilent 社製 6460>	
イオン化法	ESI 法 Positive
定量イオン	443 m/z > 262 m/z Collision Cell 電圧 : 10 V
確認イオン	443 m/z > 341 m/z Collision Cell 電圧 : 30 V

5. 2. 3. 添加回収試験及び妥当性評価

本分析法が水道水中のテフリトリオンの分析法として妥当であるかを評価するため、水道水の添加回収試験を各 5 併行の 5 日間繰返し実施した。なお、テフリトリオンの添加回収試験に用いた試験液は、以下のとおりに調製した。

テフリトリオン標準原液を Milli-Q 水で 10 μg/L まで希釈したテフリトリオン標準液から 1 mL 採取し、水道水（三重県津市）で 500 mL に定容した試験液を用いた。この試験液には、テフリトリオンが 0.02 μg/L 存在する（目標値の 1/100）。

5. 3. 結果と考察

5. 3. 1. LC/MS/MS 測定条件の検討

5. 3. 1. 1. プリカーサイオンの検討

図 4-2 は、テフリルトリオンの MS-SCAN 測定（全てポジティブモード）によって得られた MS スペクトルである。この図から、テフリルトリオンの MS スペクトルで測定された最も強度が高い質量数は、 m/z 443 であった。この測定された質量数は、テフリルトリオンの分子量²⁾ (M : 442.91) に相当するピークであり、佐藤ら⁴⁾の検討で報告している結果と一致していることから、テフリルトリオンのプリカーサイオンとして適切であると判断した。

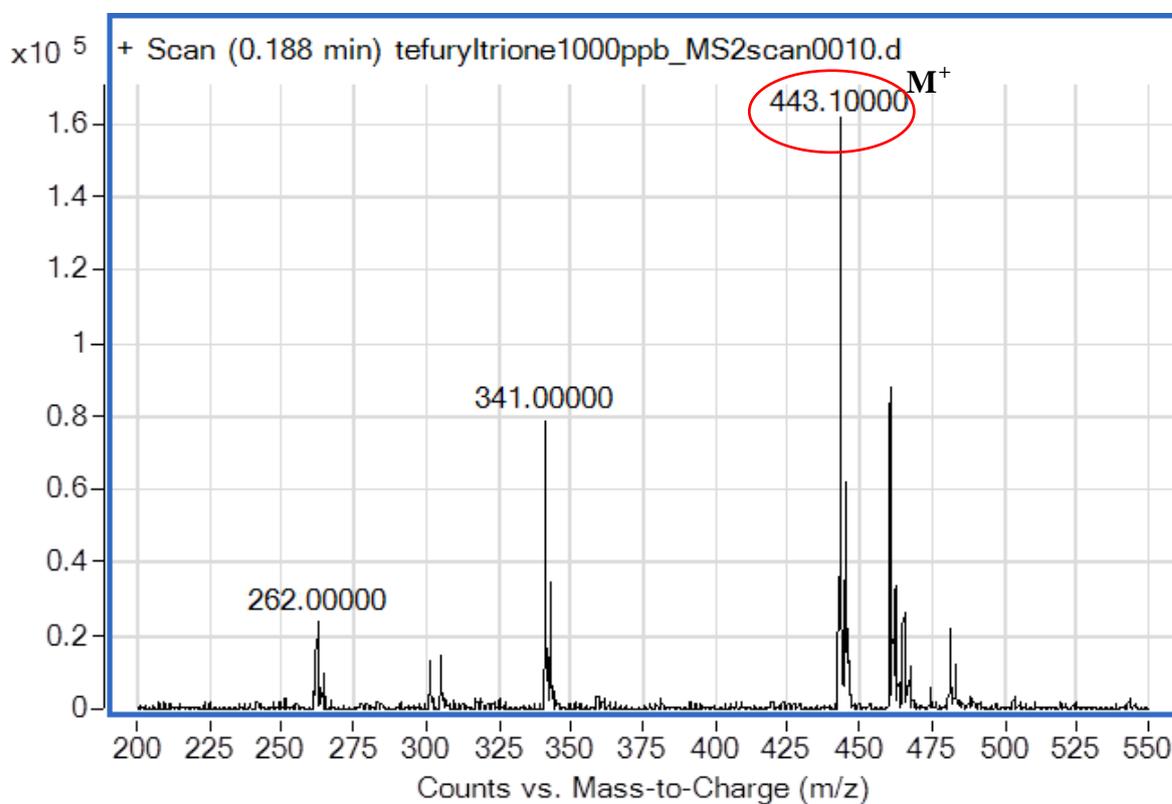


図 4-2 テフリルトリオン標準液(10 mg/L)の MS スペクトル

5. 3. 1. 2. プロダクトイオンの検討

図 4-3 は、テフリルトリオン（プリカーサイオン：m/z 443）のプロダクトイオン-SCAN 測定し得られた MS スペクトルである。この図より、テフリルトリオンのプリカーサイオンから、主に、m/z 341 及び m/z 262 のプロダクトイオンが検出された。

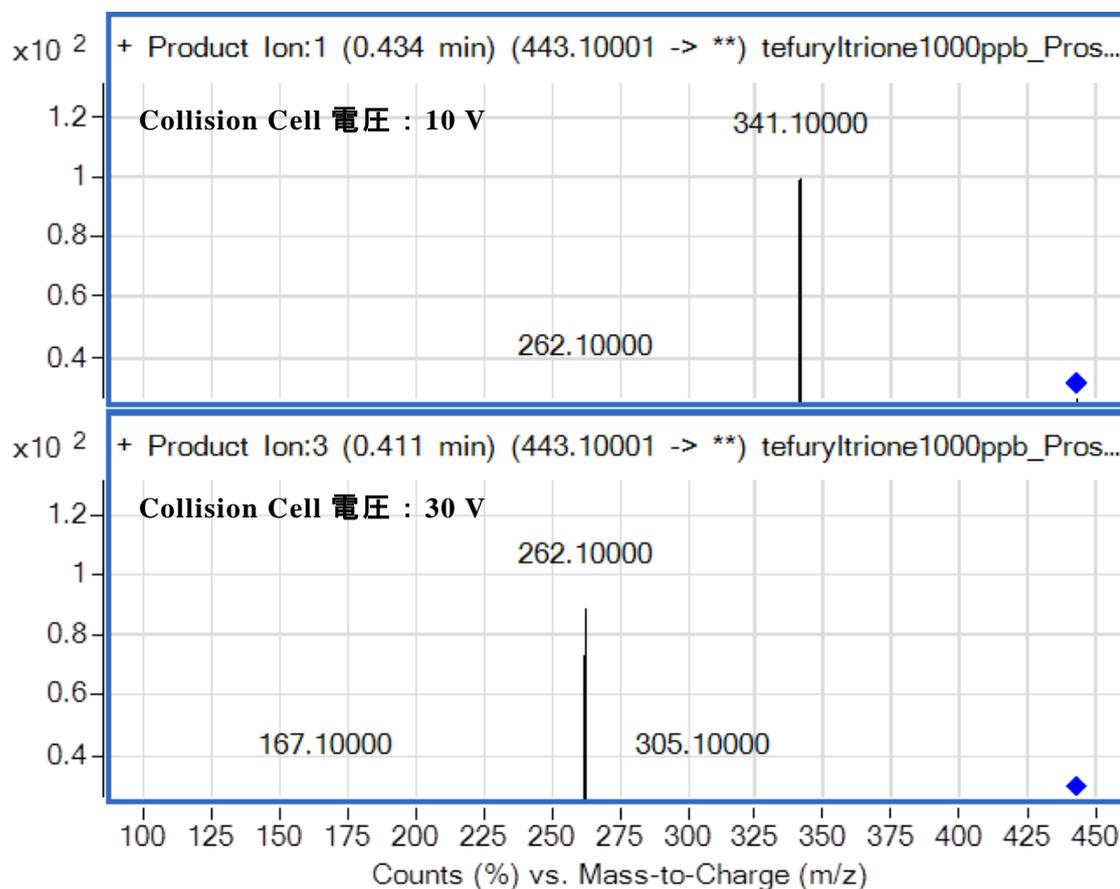


図 4-3 テフリルトリオン標準液(10 mg/L)のプロダクトイオン-SCAN 測定によって得られた MS スペクトル（プリカーサイオン：m/z 443）

この質量数は、テフリルトリオンのプリカーサイオンが、Collision Cell において窒素分子と衝突・解離し、図 4-4 で示したテフリルトリオン構造式の A 部分で解離したプロダクトイオン[M-(O-CH₂-C₄H₇O)-H]⁺と、図 4-4 の A 及び B の部分で解離したプロダクトイオン[M-(O-CH₂-C₄H₇O)-(SO₂CH₃)-H]⁺が生成したためと考えられる。なお、m/z 443 > 341（プリカーサイオン > プロダクトイオン）の測定強度は Collision Cell の電圧が 10 V の測定条件の時に、また、m/z 443 > 262 の測定強度は Collision Cell の電圧が 30 V の測定条件の時に、最も強度が高かった。

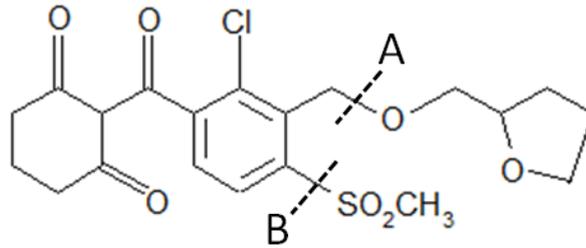


図 4-4 テフリトリオンの構造式及び予想されるフラグメンテーションパターン

次に、図 4-5 には、 $0.02 \mu\text{g/L}$ のテフリトリオン標準液を測定し得られた SMR クロマトグラムを示す。佐藤ら⁴⁾の報告では、テフリトリオンの定量イオンには、 $m/z 443 > 341$ のプロダクトイオンを採用している。しかし、この図から、 $m/z 443 > 262$ の SMR クロマトグラムの S/N 比 (64.7) は、 $m/z 443 > 341$ のクロマトグラムの S/N 比 (10.7) よりも高かった。また、 $m/z 443 > 341$ の SMR クロマトグラムは、測定後半にベースラインが上がる傾向にあった。

以上のことから、テフリトリオンの定量イオンには、 $m/z 443 > 262$ のプロダクトイオンを最適であると判断した。

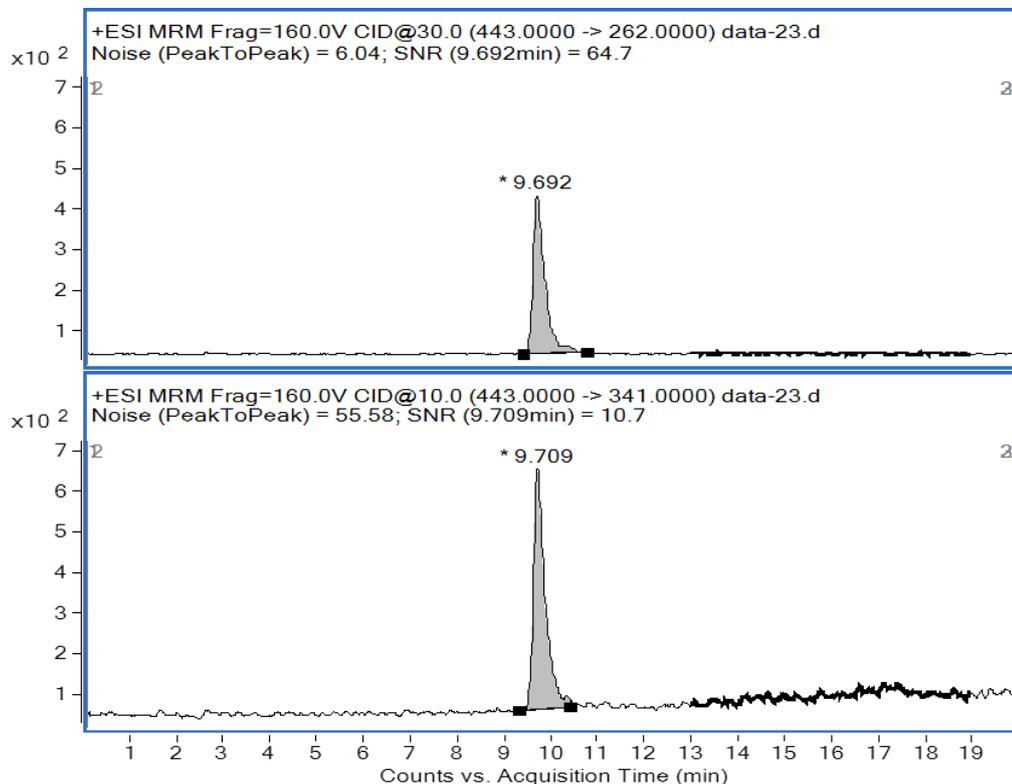


図 4-5 テフリトリオン標準液 ($0.02 \mu\text{g/L}$) の SMR クロマトグラム

5. 3. 1. 3. 検量線（直線性の確認），変動係数，装置検出及び定量下限値の算出

表 5-1 の LC/MS/MS 測定条件で得られたテフリルトリオン標準液の検量線（0.02～0.2 μg/L）の検量線を図 4-6 に示した．この図から，算出した検量線の重相関係数が 0.999 以上であり，良好な直線性を有していることが確認できた．

また，0.02 μg/L のテフリルトリオン標準液を繰り返し測定して得られた平均値，標準偏差（σ），定量下限値（10σ）及び RSD（併行精度）を表 5-2 に示す．この表から，テフリルトリオン標準液の平均値が 0.021 μg/L，RSD（併行精度）が 1.2 % であり，非常に良好な結果が得られた．また，本分析法の 10σ による定量下限値は 0.0025 μg/L であった．

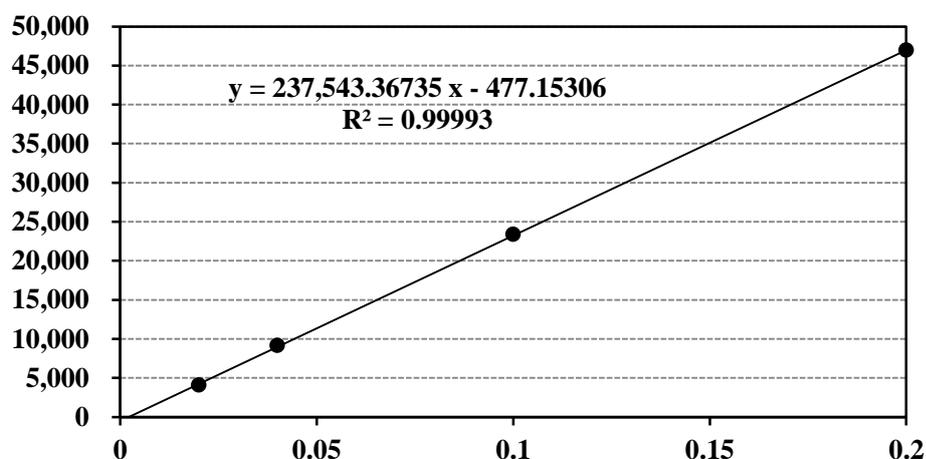


図 4-6 テフリルトリオン標準液（0.2 ～0.02μg/L）の検量線

表 5-1 標準液繰返し測定による平均値，標準偏差，定量下限値，RSD

平均値（μg/L）	標準偏差（σ）	定量下限値（10σ）	RSD(%)
0.021	0.00025	0.0025	1.2

注：測定回数；n=5

5. 3. 2. 本分析法の水道水への適用

表 5-3 には、添加回収試験結果 (n=5, 5 日間) で得られた水道水中のテフリルトリオンの分析法としての本分析法の妥当性評価を示した。

この表から、併行精度 1.8 %, 室内精度 3.5 %, 真度 104 %の結果が得られた。この結果は、平成 15 年課長通知 (健水発第 1010001 号)¹¹⁾ で定められる併行精度 (RSD : <20% (有機物)) と妥当性評価ガイドライン¹²⁾ の室内精度 (農薬類 : RSD ≤ 35 %) 及び真度 (70 ~ 130 %) を満たす非常に良好な結果であった。

また、水道水試料の添加回収試験にて得られた MRM クロマトグラムを図 4-7 に示す。この図から、テフリルトリオンの検出時間付近では、水道水中に含まれる共存物質の影響を受けておらず、本分析法が高い選択性を有することが確認できた。

以上のことから、本分析法がテフリルトリオンの水道水質検査法として有効であることを示すことができた。

表 5-3 水道水に対するテフリルトリオン分析法の妥当性評価結果

評価項目	評価結果	目標値
併行精度 (RSD : %)	1.8	< 20
室内精度 (RSD : %)	3.5	≤ 35
回収率 (%)	104	70 ~ 130

注 1 : テフリルトリオンの添加濃度は 0.02 µg/L

注 2 : 添加回収試験は、各 5 併行の 5 日間繰返しで実施した

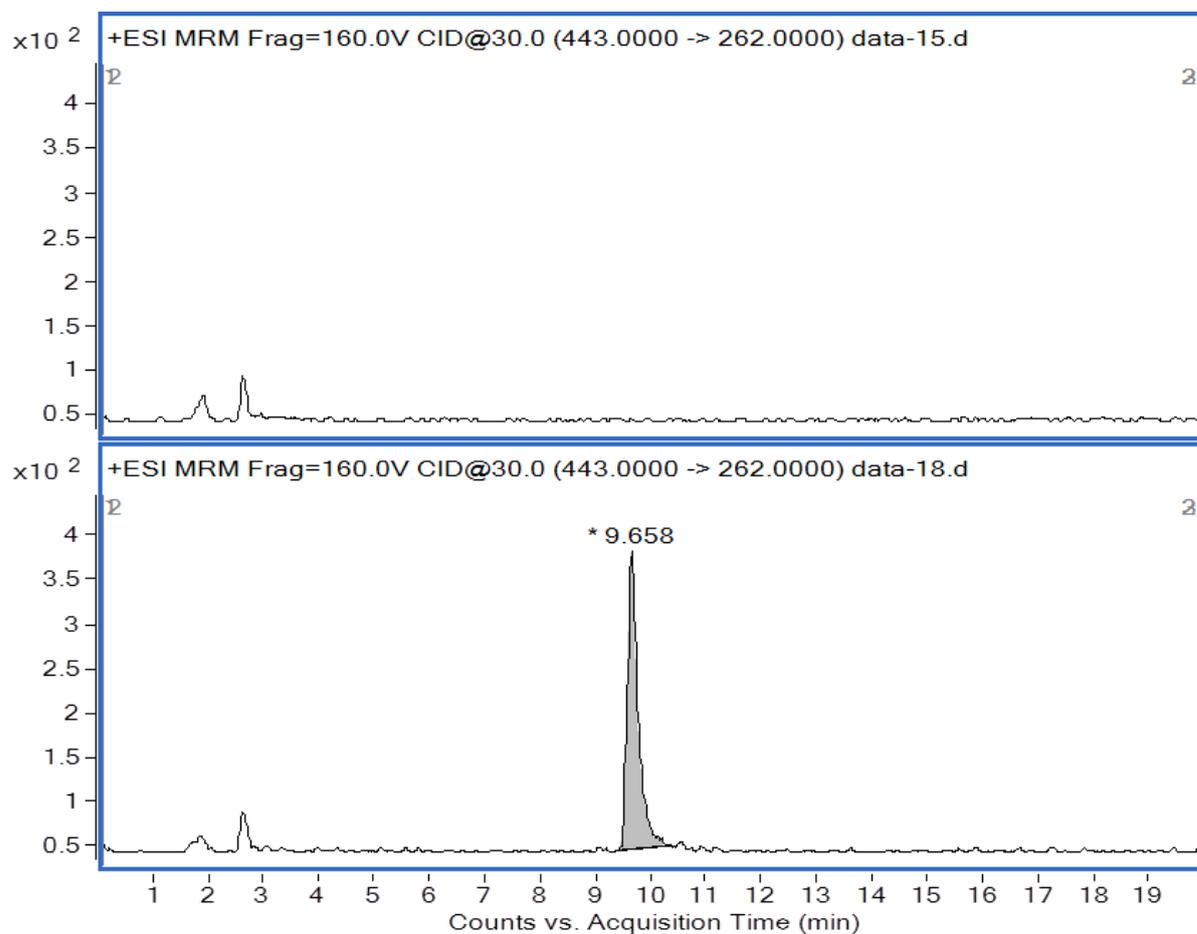


図 4-7 水道水添加回収試験で得られた MRM クロマトグラム
 上段：BL 試験 下段：テフルトリオン添加水道水 (0.02µg/L)

5. 4. まとめ

LC/MS/MS 法による水道水中のテフリルトリオン分析法の検討で得られた知見を以下に記す.

- 1) 本分析法におけるテフリルトリオン標準液の検量線は, 0.02 ~0.2 $\mu\text{g/L}$ の濃度範囲で良好な直線性が得られた. また, 0.02 $\mu\text{g/L}$ テフリルトリオン標準液の RSD (併行精度) は 1.2 % と良好であった. また, 本分析法の定量下限値は 0.0025 $\mu\text{g/L}$ であった.
- 2) 水道水への添加回収試験 (n=5, 5 日間) の結果, 併行精度 1.8 %, 室内精度 3.5 %, 真度 104 % と良好な妥当性評価結果が得られた. この結果は, 本分析法がテフリルトリオンの水道水質検査法として有効であることを示している.

参考文献

- 1) 新規水稻用除草剤有効成分「テフリトリオン」の開発：伊藤雅仁，雑草と作物の制御，**8**，43-44(2012).
- 2) 水道原水での検出濃度が高い農薬への対応について（案）：平成 27 年度第 2 回水質基準逐次改正検討会資料 2，厚生労働省，
<http://www.mhlw.go.jp/file/05-Shingikai-10901000-Kenkoukyoku-Soumuka/0000068171_2.pdf>（参照 2016-09-25）.
- 3) 大阪府立公衆衛生研究所；除草剤テフリトリオンについて，メールマガジンかわら版 @iph，**第 154 号**，2016 年 6 月 30 日，
<<http://www.iph.pref.osaka.jp/merumaga/back/154-1.html>>（参照 2016-09-25）.
- 4) 神奈川県相模川流域における河川水及び水道水のネオニコチノイド系農薬等の実態調査：佐藤 学，上村 仁，小坂浩司，浅見真理，鎌田素之，水環境学会誌，**39(5)**，153-162(2016).
- 5) 液体クロマトグラフ/質量分析計による水道水中のハロ酢酸類の定量法の確立：田原麻衣子，杉本直樹，久保田領志，西村哲治，水道協会雑誌，**907**，18-22 (2010).
- 6) 水道水中の農薬類の LC/MS/MS 一斉分析法の開発：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，環境科学会誌，**27(1)**，3-19 (2014).
- 7) 水道水中のイミノクタジン・ジクワット・パラコート LC/MS/MS 一斉分析法の開発：小林憲弘，久保田領志，佐々木俊哉，五十嵐良明，環境科学会誌，**28(2)**，117-125(2015).
- 8) LC/MS/MS による海水中のトリブチルスズ及びトリフェニルスズ分析：古川浩司，橋本真，橋爪 清，環境技術，**42(3)**，175-182(2013).
- 9) LC/MS による環境中の Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) の分析：佐々木和明，齋藤憲光，環岩手県環境研センター年報，**2**，101-103(2002).
- 10) 「直鎖アルキルベンゼンスルホン酸及びその塩の測定方法」：環境庁告示第 59 号付表 12，<http://www.env.go.jp/kijun/wt_a12.html>（参照 2016-09-25）.
- 11) 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：水質管理目標設定項目の検査方法，別添 4，厚生労働省健康局水道課長通知，平成 15 年 10 月 10 日（健水発第 1010001 号）.
- 12) 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，平成 24 年 9 月 6 日（健水発 0906 第 1 号，最終改正：平成 29 年 10 月 18 日付け薬生水発 1018 第 1 号）.

第6章 マルチモードカラムを用いた LC/MS/MS による水道水中の臭素酸分析法

6. 1. 緒言

臭素酸 (HBrO_3) は、水道水中のオゾン高度処理普及に伴いその副生成物として生じることや次亜塩素酸ナトリウム水溶液の製造時における不純物成分であることなどが知られており、水道水の消毒副生成物として注目されている。

また、国際がん研究機関 (IARC) では、臭素酸を Group2 (発がんの可能性のあること) に分類し発がん性を指摘していることから、日本においても水道水質基準項目に指定され、その基準値は 0.01 mg/L ($10 \text{ }\mu\text{g/L}$) と設定されている¹⁾。このため、臭素酸をモニタリングするための水質検査法として、定量下限値 $1 \text{ }\mu\text{g/L}$ 以下の高感度が求められている。さらに、臭素酸は処理工程において適切に除去する実用的な方法がないため、基準値を超過しないように臭素酸濃度を常時モニタリングする必要がある、迅速で作業効率のよい分析法が求められている。

現在、水道水中の臭素酸の分析法は、厚生労働省告示第 261 号の別表第 18 (告示法) において、イオンクロマトグラフィー (IC) -ポストカラム吸光光度法が規定されている²⁾。この方法は、極性の高い臭素酸イオンを IC で分離した後、亜硝酸ナトリウム溶液及び臭化カリウム-硫酸溶液を注入し、三臭化物を生成させ、UV 検出器 (268 nm) で検出する方法である。しかしながら、この告示法には、①高濃度の硫酸を使用するため装置への負荷が高い (作業効率も悪い)、②検出感度 $1 \text{ }\mu\text{g/L}$ が限界である (図 6-1 参照)、③共存物質の分離が難しい場合がある、④IC-ポストカラム吸光光度装置の汎用性が乏しいなどのいくつかの問題点が存在する。

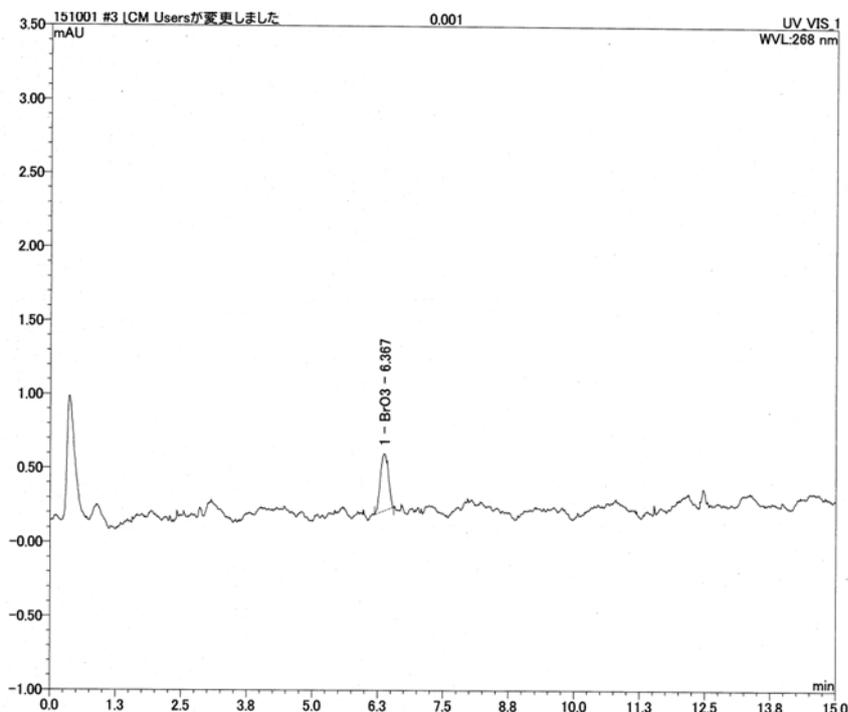


図 6-1 IC-ポストカラム吸光光度法による臭素酸分析 ($1 \mu\text{g/L}$ 標準液)

臭素酸については、告示法で IC-ポストカラム吸光光度法が規定される前より、高感度な IC-タンデム型質量分析計 (IC/MS/MS) を用いた分析法が検討されている。Charles 及び Pepin は、高感度で選択性の良い IC-タンデム型質量分析計 (MS/MS) を用いた臭素酸を含むハロゲン酸の分析法を報告し、臭素酸に対して 0.05 µg/L の定量下限値を実現した³⁾。また、浅見らは、IC-MS 及び IC-MS/MS を用いて、環境中及び水道水中の臭素酸を含むハロゲン酸分析の検討を行った⁴⁻⁵⁾。

しかしながら、これらの既報³⁻⁵⁾の分析法は、全て 100 µL 注入の大量注入法であり、臭素酸の定量に共存物質の影響を受けやすい測定条件であった。また、いずれの報告においても、水道水に対する分析法の妥当性を評価されていない。さらに、IC-MS/MS 装置は、①高価であること、②測定対象が極性の化合物に限定されるなどの理由のため、水質検査機関における普及率が低く、告示法と同様に汎用性が低いという問題点が残る。

IC-MS/MS 法よりも汎用性が高い分析法として、LC/MS/MS 法がある。LC/MS/MS 法は、ハロ酢酸、農薬、有機スズ、PFOS・PFOA (有機フッ素化合物類)、LAS (陰イオン界面活性剤) など様々な項目の分析法に応用されている^{6~12)}。また、LC/MS/MS 装置は高価な装置に分類されるが、適用可能な分析用途が幅広く、検査機関における普及率が高い。さらに、水道水質基準項目 (ハロ酢酸) の告示法に適用されるなど公的にも汎用性の高い装置に位置づけられている²⁾。

このため、本研究では、汎用性が高い LC/MS/MS 法を採用するため、本装置で使用できる移動相で極性の高い臭素酸と他のイオン性化合物が適切に分離することが可能なマルチモードカラム (逆相+陰イオン交換) を用いた水道水中の臭素酸分析法の検討を行った。また、本分析法の水道水への妥当性を評価したので、報告する。

6. 2. 研究の方法

6. 2. 1. 試薬

臭素酸標準原液には、関東化学製の 1000 mg/L 標準原液を使用し、遮光条件下で 4°C に保存した。

LC/MS/MS 装置の移動相に用いた酢酸アンモニウムは、和光純薬工業社製試薬特級を、ギ酸及びアセトニトリルには関東化学社製 LC/MS 分析用を使用した。

また、精製水には、Mill-Q 水を使用した。

6. 2. 2. 測定方法及び条件

試料は、LC/MS/MS 装置に直接注入して測定を行った。

また、本分析法の検討で用いた LC/MS/MS の測定条件は、以下の通りである（表 6-1 を参照）。

LC/MS/MS 装置の LC 部には Agilent 社製 1260, MS/MS 部には Agilent 社製 6460 を使用した。分離カラムには、Shodex 社の RSpak JJ-50 2D マルチモードカラム（逆相+陰イオン交換）を使用した。移動相には、200 mM 酢酸アンモニウム水溶液（0.1 %ギ酸含有）とアセトニトリルのグラジエント測定とした。なお、その他の LC 条件は表 6-1 に示す。

臭素酸のモニターイオン（前駆イオン/プロダクトイオン）は、定量イオンは 127/111, 確認イオンは 127/95 のネガティブ-ESI 法を選定した。共存物質のモニターイオンは、浅見らの報告⁵⁾を参考に、塩素酸イオンは 83/67, 硝酸イオンは 62/62 を、臭化物イオンは 79 /79 を、塩化物イオンは 35/35 を、硫酸イオンは 96 /96 を選定した（測定モードは、全てネガティブ-ESI 法）。

なお、共存物質の保持時間については、あらかじめ、塩素酸、硝酸イオン、臭化物イオン、塩化物イオン、硫酸イオンの 100 mg/L の各標準液を個別に測定し確認を行った（全て、和光純薬工業社製標準液 1000 mg/L を希釈調製して使用した）。

表 6-1 LC/MS/MS 測定条件

LC 部測定条件	
使用機器	Agilent 1260
移動相	A : 200 mM CH ₃ COONH ₃ aq(0.1 % Formic acid) B : CH ₃ CN A : B = 15 : 85
Gradient	B : 85 %(0 min) → 85 %(9 min) → 50 %(13 min) → 50 %(21 min) → 85 %(26 min)
カラム温度	40 °C
移動相流量	0.3mL/min
使用分離カラム	RSpak JJ-50 2D(Shodex) 2.0×150mm
注入量	10 μL
MS/MS 部測定条件	
使用機器	Agilent 6410 LC/MS/MS
イオン化方法	ESI(Negative)
Fragment 電圧	100 V
Collision Voltage	定量イオン:40V 確認イオン:20V
Monitor ion	臭素酸 (定量イオン) MS1 : 291(m/z) → MS2 : 179(m/z) 臭素酸 (確認イオン) MS1 : 366(m/z) → MS2 : 202(m/z)

6. 2. 3. 検量線の作成

検量線を作成するための臭素酸標準液は、臭素酸標準原液（1000 mg/L）から精製水で 0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0, 10 μg/L の濃度に調製して作成した。次に、調製した標準液を測定し、得られた面積値を用いて検量線を作成した。

6. 2. 4. 添加回収試験

水道水への本分析法の妥当性を評価するため、5 日間、各 5 併行の臭素酸標準液の添加回収試験を行った。

臭素酸の添加回収試験には、100 μg/L 標準液 1 mL を水道水で 100 mL に希釈し調製した試料を用いた。水道水は、三重県環境保全事業団分析室（三重県津市）で採取した。

なお、水道水には若干濃度の臭素酸が含まれる。このため、添加回収試料と同数の 5 併行測定を行い、その平均濃度を試料に用いた水道水の臭素酸濃度の空試験値とし、添加回収試験から得られた測定結果から空試験値を差し引いた結果を臭素酸の添加回収濃度とした。

6. 3. 結果と考察

6. 3. 1. LC 部の測定条件の検討

LC/MS/MS 装置の分離カラムには、一般的に、C18 などの逆相系分離カラムが用いられる。しかし、今回の測定対象である臭素酸は、非常に極性の高い化合物であり、通常の C18 系分離カラムでは適切に保持することはできない。このため、本分析法では、LC/MS/MS 装置に使用できる移動相を用いても臭素酸の適切な保持が可能な様に第 4 級アンモニウム基を導入された Shodex 社の RSpak JJ-50 2D マルチモード分離カラム（逆相+陰イオン交換）を用いて検討を行った。

移動相には、陰イオン交換系カラムとの保持力が非常に強い硫酸イオン（水道水に含まれる共存物質）がマルチモード分離カラムから確実に溶出することを目的に、200 mM の酢酸アンモニウム水溶液とアセトニトリルを用いた。これは、マルチモード分離カラム内に共存物質である硫酸イオンが残留することで、次測定の臭素酸の保持量が少なくなり、測定される臭素酸のピーク面積値が小さくなることを防ぐためである。また、移動相の pH が高くなるないように、200 mM の酢酸アンモニウム水溶液に 0.1 % (V/V) のギ酸を添加して pH 調製を行った。

本分析法は試料を直接 LC/MS/MS 装置に注入する方法である。LC/MS/MS 法では、試料中にイオン化の阻害を促進する妨害物質が多数存在し臭素酸の保持時間と重なると、臭素酸の定量結果に大きな影響を及ぼす可能性がある。このため、試料注入量は、100 μ L の大量注入法で検討されている IC/MS/MS 法³⁻⁵⁾より大幅に少ない 10 μ L とした。

6. 3. 2. MS/MS 測定条件の検討

i) プリカーサイオンの検討

図 6-2 には、臭素酸標準液（10 mg/L）の MS-SCAN 測定（全てポジティブモード）によって得られた MS スペクトルを示した。この図から MS スペクトルで測定された各測定対象物の最も強度が高いイオンは、 m/z 127 であった。このスペクトルで検出されたピークの m/z は、臭素酸の $[M[\text{分子量}]-1]^+$ に相当することから、測定対象物質起因する分子に H^+ が脱落した 1 価の陰イオンであると考えられ、浅見らの報告⁵⁾と一致しており、プレカーサイオン(M1)の質量数として最適であると判断した。

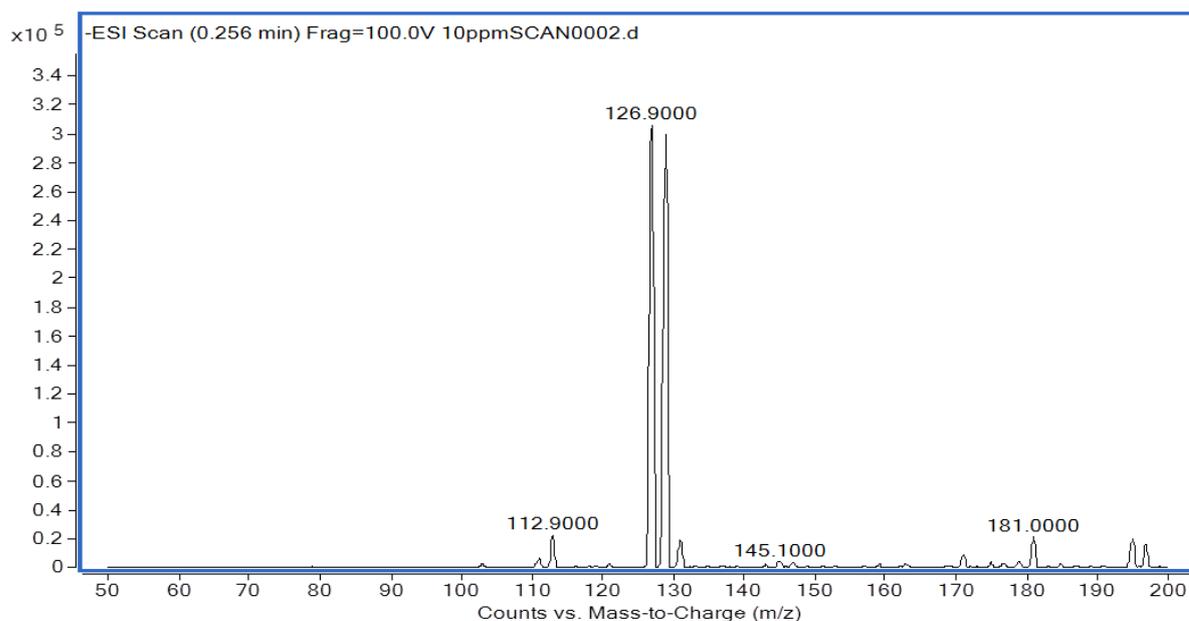


図 6-2 臭素酸標準液の SCAN 測定による MS スペクトル

ii) プロダクトイオンの検討

図 6-3 には、臭素酸標準液のプロダクトイオン SCAN 測定により得られた MS スペクトルである。この図から、主に m/z 111, m/z 95, m/z 79 のプロダクトイオンが測定された。この測定結果は、臭素酸のプリカーサイオン (BrO_3^- : m/z 127) が、Collision Cell 内において窒素分子と衝突し、酸素原子が脱落した BrO_2^- (m/z 111), BrO^- (m/z 95), Br^- (m/z 79) の構造を有するプロダクトイオンが生成したことを示している。

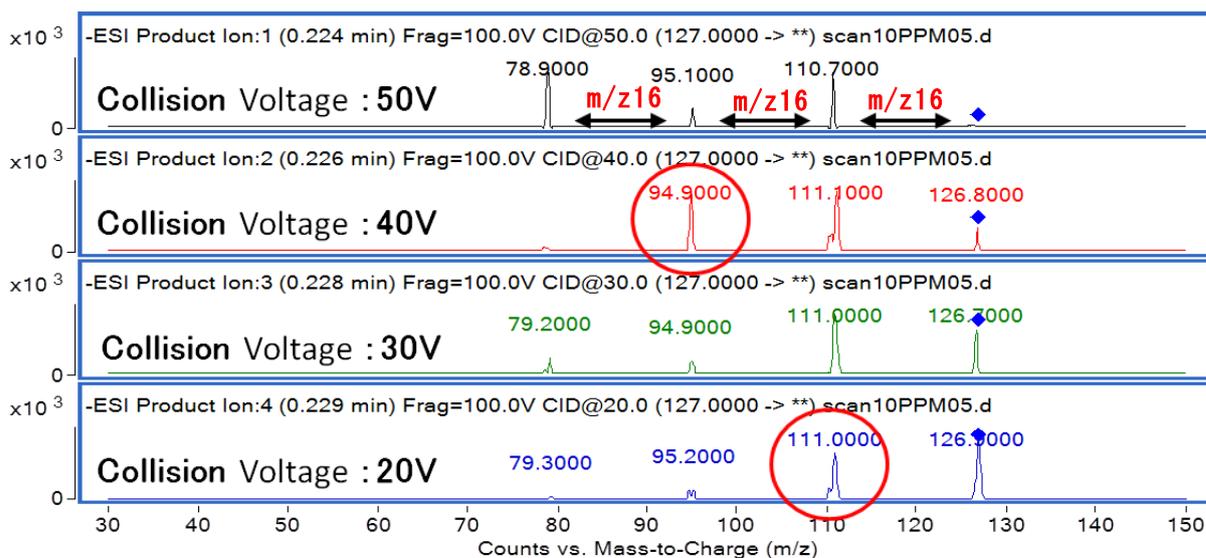


図 6-3 臭素酸標準液のプロダクトイオン SCAN 測定によって得られた MS スペクトル (プリカーサイオン: m/z 127)

次に、アニリンのプロダクトイオンの最適な Collision Cell 電圧(検討範囲: 10 ~ 50 V)の検討を行った。その結果、プロダクトイオン (m/z 127>111) の測定強度は、Collision Cell 電圧が 20 V の測定条件が、プロダクトイオン (m/z 127>95) の測定強度は、Collision Cell 電圧が 40 V の測定条件が最も高かった。一方、プロダクトイオン (m/z 127>79) の測定強度は、Collision Cell 電圧が 10 ~ 50 V の範囲で最適化することはできなかった。

また、図 6-4 に、0.1 $\mu\text{g/L}$ 臭素酸標準液を測定し得られた SRM クロマトグラムを示す。この図から、6.4 分付近において、良好なピーク形状を有する m/z 127 > 111 及び m/z 127 > 95 の SRM クロマトグラムが得られた。また、 m/z 127 > 95 の SMR クロマトグラムにおける臭素酸の S/N 比は 14.8 であり、 m/z 127 > 111 の SMR クロマトグラムにおける臭素酸の S/N 比は 14.8 であった。

以上のことから、臭素酸の定量イオンには m/z 127 > 111 の SMR クロマトグラムが、また、確認イオンには m/z 127 > 95 の SMR クロマトグラムが最適であると判断した。

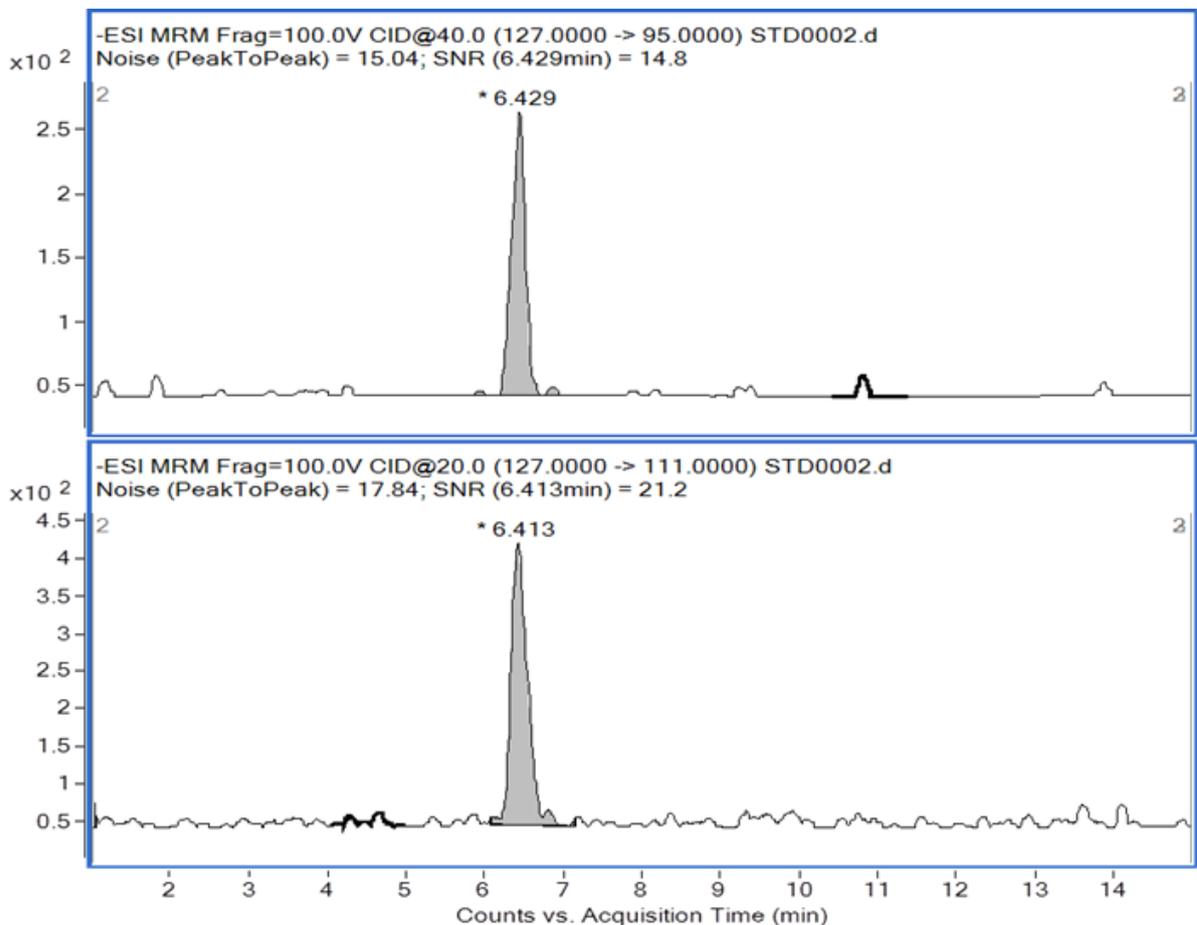


図 6-4 臭素酸標準液 (0.1 $\mu\text{g/L}$) の SRM クロマトグラム

6. 3. 3. 検量線と定量下限値

図 6-5 には、0.1 ~10 µg/L の濃度範囲で作成した臭素酸標準液の検量線を示す。この図から、0.1 ~10 µg/L の広い濃度範囲で良好な直線性 ($R^2=0.99996$) が認められた。

次に、0.1 µg/L の臭素酸標準液を繰り返し測定して得られた平均値、標準偏差 (σ)、 10σ (定量下限値) 及び併行偏差 (RSD) を表 6-2 に示す。この表から、平均値 0.102 µg/L (測定濃度±5%以内)、RSD が 6.11 % と良好な結果が得られた。

また、本分析法の 10σ による定量下限値は 0.06 µg/L であり、100 µL の大量注入法で検討されている IC/MS/MS 法³⁻⁵⁾と同等レベルの定量下限値を 10 µL の注入条件で得ることができた。

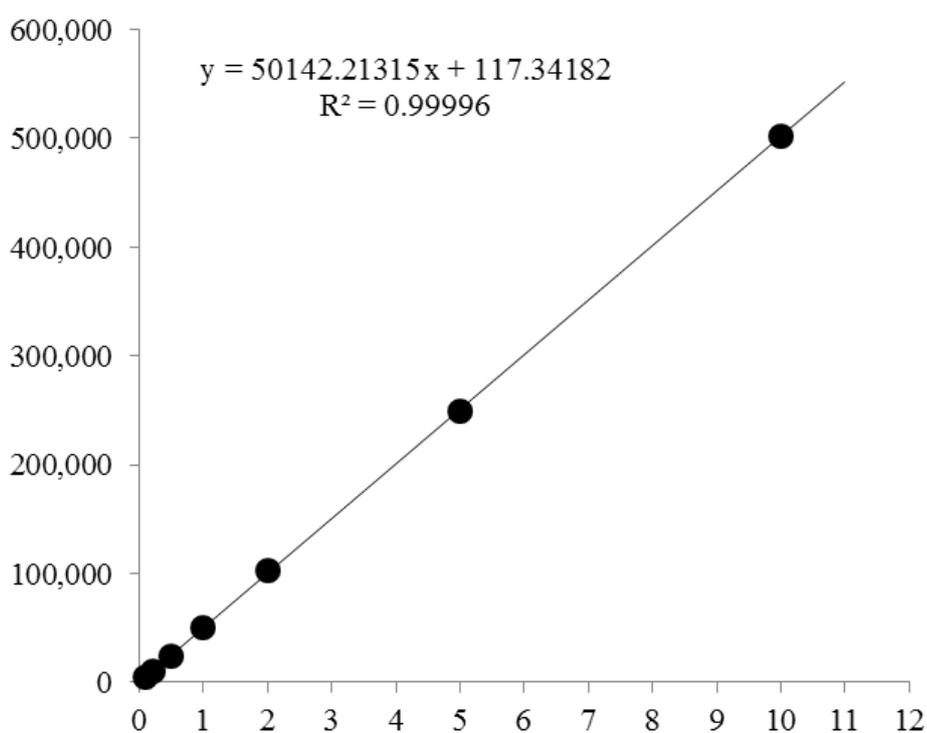


図 6-5 LC/MS/MS 法による臭素酸標準液の検量線 (0.1 ~10 µg/L)

表 6-2 臭素酸標準液の繰返し測定結果

標準液濃度	測定結果 (µg/L)					平均値 (µg/L)	標準偏差 (σ)	10 σ	RSD%
	n=1	n=2	n=3	n=4	n=5				
0.1 µg/L	0.099	0.102	0.106	0.109	0.093	0.102	0.00622	0.0622	6.11

6. 3. 4. 臭素酸と共存物質のピーク分離の確認

一般的に、水道水には、ミネラル成分を中心とした無機イオンを多く含むが、有機物、重金属などの存在量が少ない媒体である。このため、臭素酸の定量に影響を及ぼす可能性がある共存物質は、主に無機イオンであると推測した。本分析法では、水道水中の存在濃度が高い、塩素酸（消毒副生成物：次亜塩素酸ナトリウムの分解物）、硝酸イオン、臭化物イオン、塩化物イオン、硫酸イオンと臭素酸との分離状況を検討した。なお、塩素酸は臭素酸同様に水質基準項目である。しかし、実際の水道水中では、塩素酸は臭素酸の約 100 倍程度の高い濃度で存在する場合が多い。このため、本分析法では、塩素酸を臭素酸の定量に影響を及ぼす可能性がある共存物質とした。

図 6-6 は、添加回収試験用に調製した水道水を測定し、臭素酸と他の共存物質の分離状況を示した SRM クロマトグラムである。この図から、共存物質である塩素酸、硝酸イオン、臭化物イオン、塩化物イオン、硫酸イオンの保持時間はそれぞれ、4.6, 5.5, 8.5, 9.6, 18.6 分付近であり、臭素酸と適切に分離していることが確認できた。また、得られた臭素酸のピーク形状は良好であり、臭素酸の定量に水道水中に存在する共存物質の影響は少ないと判断した。

さらに、保持力が強い硫酸イオンがマルチモード分離カラムから溶出し検出されていることを確認できた。このことは、水道水に含まれる共存物質（無機イオン）の大部分は、マルチモード分離カラムから確実に溶出できることを示している。したがって、本分析法で水道水中の臭素酸を連続測定しても、共存物質が次測定の臭素酸の定量性に影響を与える可能性は少ないと考えられる。

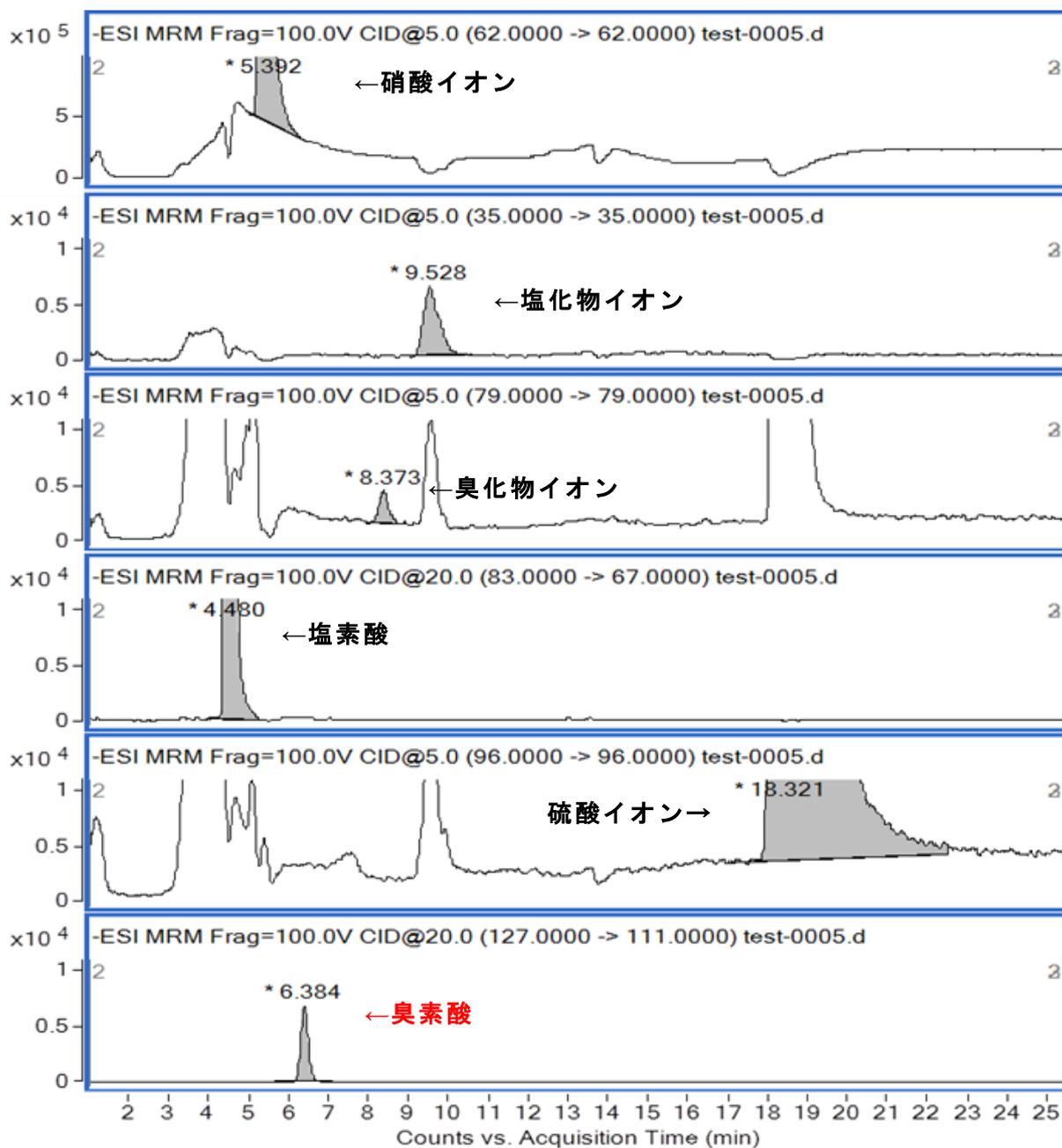


図 6-6 水道水中の臭化物イオン，塩化物イオン，硝酸イオン，硫酸イオン，塩素酸及び臭素酸の SMR クロマトグラム（水道水には臭素酸を 1 μg/L に添加）

6. 3. 5. 水道水への添加回収試験と妥当性評価

水道水中の臭素酸の回収試験（5日間、各5併行）の結果から、併行精度（RSD）、室内精度（RSD）、真度（回収率）を算出し、本分析法の水道水に対する妥当性を評価した。表 6-3 には、その算出結果を示した。

この表から、併行精度（RSD）は 4.13 %、室内精度（RSD）は 5.16 %、真度（回収率）は 98.4 %と良好な結果が得られた。この結果は、平成 15 年課長通知（健水発第 1010001 号）¹³⁾ で定められる併行精度（RSD：<10 %）と妥当性評価ガイドライン¹⁴⁾ の室内精度（無機物：RSD ≤ 15 %）及び真度（70 ~ 130 %）を満たす結果であり、本分析法が臭素酸の水道水質検査法として有効であることが確認できた。

また、図 6-7 には、水道水に臭素酸を添加した試料の測定で得られた SRM クロマトグラムを示した。この図から、臭素酸の測定に妨害を及ぼすような共存物質のピークは観測されず、選択性の高い良好なピーク形状が得られた。

なお、妥当性評価に用いた水道水中における臭素酸の空試験値を定量したところ、図 6-4 に示したとおり、0.22 ~ 0.35 µg/L 範囲であった。

表 6-3 LC/MS/MS 直接分析法による臭素酸の妥当性評価結果（水道水）

	回収試験 1	回収試験 2	回収試験 3	回収試験 4	回収試験 5
BL	0.32	0.33	0.35	0.25	0.27
n=1	0.88	0.97	0.88	0.92	0.91
n=2	0.93	1.03	1.07	0.97	0.90
n=3	0.87	1.08	1.03	0.92	0.92
n=4	0.94	0.94	0.99	0.91	0.90
n=5	0.90	0.99	0.92	0.92	1.00

評価項目	結果	目標値
併行精度(RSD : %)	4.13	<10
室内精度(RSD : %)	5.16	≤ 15
真度 (回収率 : %)	98.4	70 ~ 130

注 1: 臭素酸添加濃度は 1 µg/L.

注 2: 測定回数は、n=5 の 5 日間

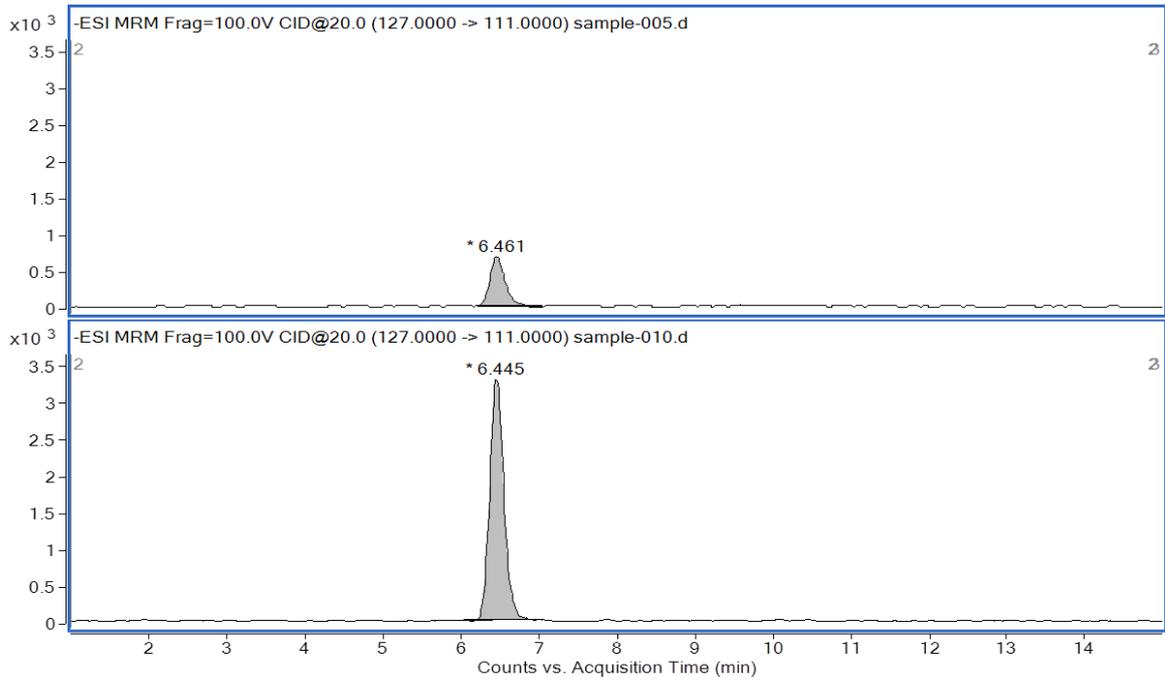


図 6-7 水道水中の臭素酸の SMR クロマトグラム
 (上段：水道水 (BL 値), 下段：臭素酸標準液を添加した水道水)

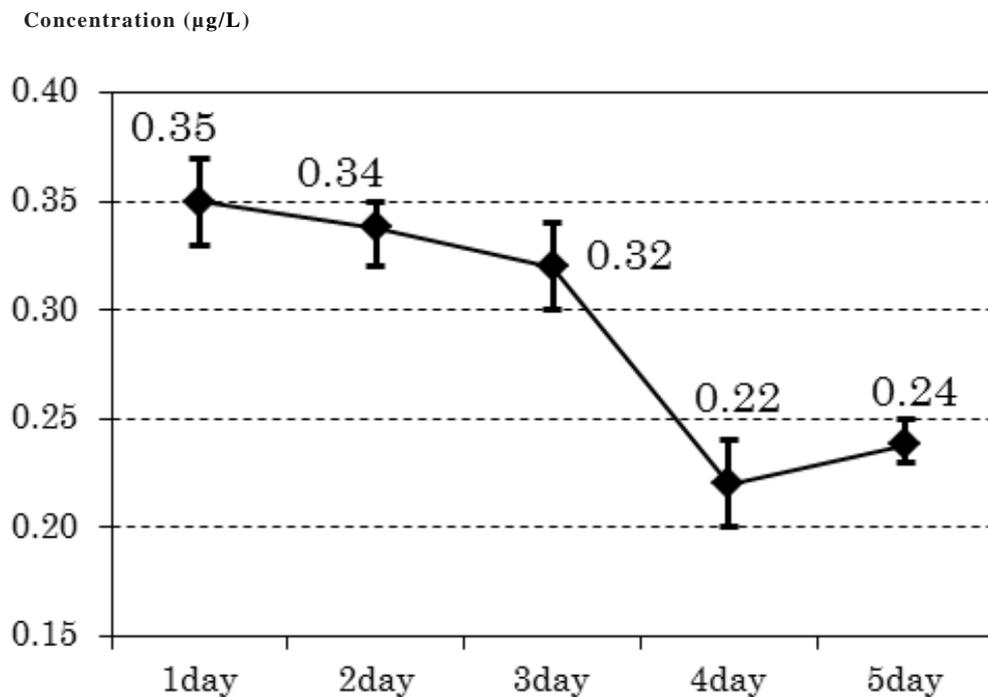


図 6-4 水道水中の臭素酸の BL 値 (n=5, 5days)

6. 4. まとめ

本研究により得られた知見を以下に記す.

- 1) 分離カラムに Shodex 社の RSpak JJ-50 2D マルチモードカラム (逆相+陰イオン交換) を用いることで, 水道水中の共存物質である塩素酸, 硝酸イオン, 臭化物イオン, 塩化物イオン及び硫酸イオンと臭素酸のピーク分離が容易となり, 水道水の直接注入が可能となった.
- 2) 本分析法における臭素酸の検量線は, 0.1 ~10 µg/L の濃度範囲で良好な直線性を示し, 0.1 µg/L 臭素酸標準液の併行精度 (RSD) は, 6.11 %と良好であった. また, 本分析法の定量下限値は 0.06 µg/L であった.
- 3) 水道水中の臭素酸の添加回収試験の結果, 併行精度 (RSD) 4.13 %, 室内精度 (RSD) 5.16 %, 真度 (回収率) 98.4 %と良好な結果が得られ, 本分析法が臭素酸の水道水質検査法として有効であることが確認できた.

参考文献

- 1) 厚生労働省令第 101 号「水道法第 4 条第 2 項の規定に基づき水質基準に関する省令」平成 15 年 5 月 30 日.
- 2) 厚生労働省令告示第 261 号「水道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」, 平成 15 年発出 (最終改正:平成 28 年 03 月).
- 3) Electrospray ion chromatography - tandem mass spectrometry of oxyhalides at sub-ppb levels : Charles L. and Pepin D., Anal. Chem., **70**, 353-359 (1998).
- 4) Simultaneous analysis of disinfection byproduct ions with ion chromatograph-mass spectrometry: Asami M., Sekiguchi Y., Inoue Y. and Aizawa T., International Water Association 3rd World Water Congress, e20880a(2002).
- 5) IC/MS/MS 法を用いた環境水及び水道水中のハロゲン酸分析法と過塩素酸の検出: 浅見真理, 小坂浩司, 松岡雪子, 鴨志田公洋, 環境化学, **17**, 363-375 (2007).
- 6) LC/MS による環境中の Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) の分析: 佐々木和明, 齋藤憲光, 岩手県環境研センター年報, **2**, 101-103 (2002).
- 7) LC/MS/MS を用いた直接注入によるハロ酢酸分析法の検討: 古川浩司, 第 16 回環境化学討論会講演要旨集, 506-507(2007).
- 8) 液体クロマトグラフ/質量分析計による水道水中のハロ酢酸類の定量法の確立: 田原麻衣子, 杉本直樹, 久保田領志, 西村哲治, 水道協会雑誌, **907**, 18-22 (2010).
- 9) 陰イオン存在下における水道水中のハロ酢酸類の LC/MS および LC/MS/MS 分析の定量精度の検証: 田原麻衣子, 小林憲弘, 久保田領志, 塚本多矩, 杉本直樹, 西村哲治, 水道協会雑誌, **931**, 20-27 (2012).
- 10) LC/MS/MS による海水中のトリブチルスズ及びトリフェニルスズ分析: 古川浩司, 橋本真, 橋爪清, 環境技術, **42(3)**, 175-182(2013).
- 11) 陰イオン界面活性剤分析における LC-MS 法への応用: 北原敏, 工藤清惣, 中澤智子, 川口寿之, 山田悠貴, 船坂鎌三, 奥村明雄, 水道協会雑誌, **952**, 2-6(2014).
- 12) 水道水中のイミノクタジン・ジクワット・パラコート LC/MS/MS 一斉分析法の開発: 小林憲弘, 久保田領志, 佐々木俊哉, 五十嵐良明, 環境科学会誌, **28(2)**, 117-125(2015).
- 13) 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: 水質管理目標設定項目の検査方法, 別添 4, 厚生労働省健康局水道課長通知, 平成 15 年 10 月 10 日 (健水発第 1010001 号).
- 14) 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, 平成 24 年 9 月 6 日 (健水発 0906 第 1 号, 最終改正:平成 29 年 10 月 18 日付け薬生水発 1018 第 1 号).

第7章 LC/MS/MSによる水道水中の塩素酸分析法の検討

7. 1. 緒言

塩素酸は、浄水過程で消毒剤として使用される二酸化塩素及び次亜塩素酸ナトリウムの分解で生成する消毒副生成物であり、特に、次亜塩素酸ナトリウムの長期保存状況によっては、塩素酸の濃度が大幅に上昇することが知られている¹⁾。また、塩素酸は、赤血球の障害作用などにより耐容一日摂取量（30 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ ）が定められており、検出頻度も高いことから、水道水質基準項目（基準値：0.6 mg/L 以下）²⁾に定められている。

塩素酸の分析法は、平成 15 年厚生労働省告示第 261 号の別表第 16 の 2（以下、「告示法」と略）³⁾において、イオンクロマトグラフ法（以下、「IC 法」と略）で測定すると定められている。しかし、一般的な IC 法では、図 7-1 に示した通り、塩素酸が臭化物イオンと硝酸イオンの間に近接して検出するため、測定試料に含まれる共存イオンの量やカラムの劣化状況によって、共存物質を塩素酸として誤認するおそれがあることが指摘されている⁴⁾。一方、告示法では、それらが塩素酸として検出された場合の確認方法が規定されていない。

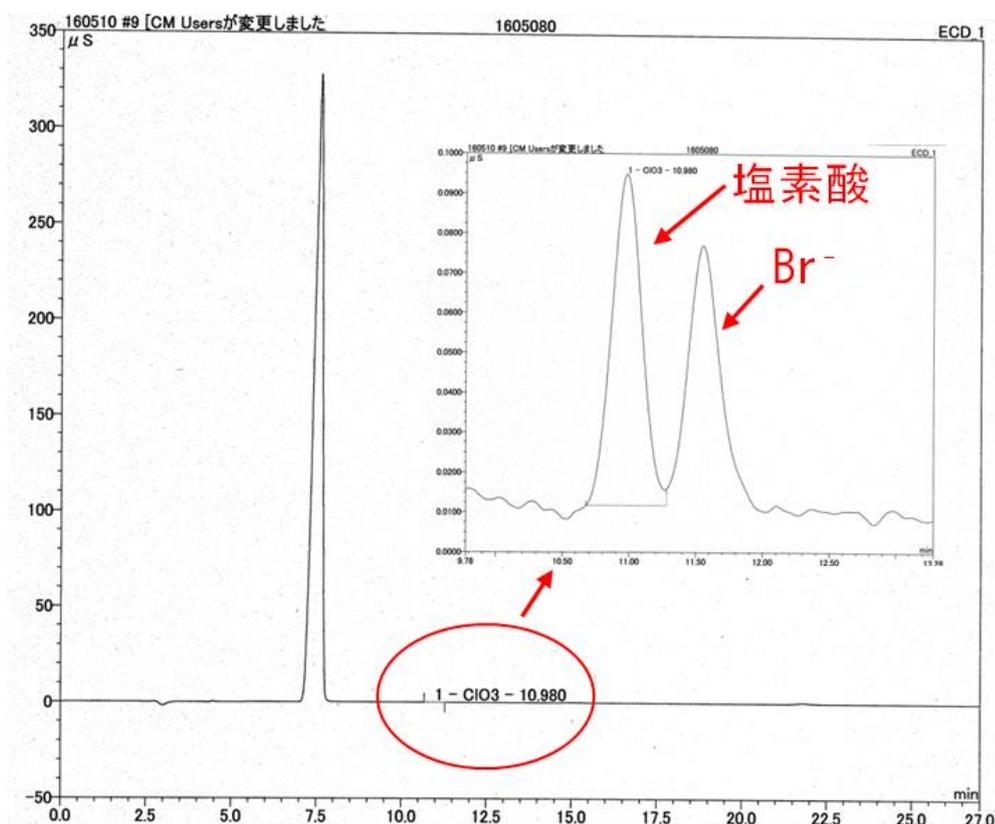


図 7-1 IC 法による水道水中の塩素酸分析
(試料中の塩化物イオン：60 mg/L)

告示法に変わる塩素酸分析法の検討としては、高感度で選択性の高い IC-タンデム型質量分析計 (IC/MS/MS) を用いた分析法が検討されている。Charles 及び Pepin は、IC/MS/MS を用いたハロゲン酸の分析法を報告し、塩素酸に対して 1.0 µg/L の定量下限値を実現した⁵⁾。また、浅見らは、IC-MS 及び IC-MS/MS を用いて、環境中及び水道水中の塩素酸を含むハロゲン酸分析の検討を行い、塩素酸に対して 0.5 ~0.05 µg/L の定量下限値を実現した⁶⁻⁷⁾。

しかし、これらの既報⁵⁻⁷⁾では、試料中に存在する塩素酸濃度が 200 µg/L 以下の範囲で検討されており、実際の水道水に存在する 200 ~1470 µg/L⁸⁾付近での実用性が検討されていない。また、IC/MS/MS 装置は、①高価であること、②測定対象が極性の化合物に限定されることなどの理由により水質検査機関での普及率が低く、汎用性が高くないという問題点もある。

近年、水道水や環境水中の有害物質等 (ハロ酢酸^{3),9-11)}、PFOS・PFOA¹²⁾、有機スズ¹³⁾、農薬¹⁴⁾、LAS¹⁵⁻¹⁶⁾など)の分析法に、液体クロマトグラフィー/タンデム型質量分析法 (以下、「LC/MS/MS 法」と略) が採用されている。これは、LC/MS/MS 法には水試料を有機溶剤などに転溶せずに直接装置に導入できることや測定物質への選択性や測定感度が非常に優れているなどの利点があるためである。また、最近では、LC/MS/MS 法は、極性の高い無機化合物にも汎用性を広げている。一般社団法人全国給水衛生検査協会に設置されている飲料水試験法検討委員会 (委員: 船坂鏝三, 川口寿之, 工藤清惣, 中澤智子, 佐藤亮平, 古川浩司)¹⁷⁾や小坂ら¹⁸⁾は、極性の高い化合物の適切な分離が可能なマルチモードカラムと LC/MS/MS 法を組み合わせた水道水中の臭素酸分析法の検討を行いその有効性を確認しており、同方法は平成 29 年 4 月より臭素酸の告示法³⁾に採用された。

そこで、本研究では、告示法では共存物質と適切に分離できない塩素酸が検出された場合の確認方法として、選択性の高い LC/MS/MS 法を用いた分析法 (以下、「本分析法」と略) について水道水質検査として妥当性の評価をおこなったところ良好な結果が得られたので報告する。

7. 2. 研究の方法

7. 2. 1. 試薬

塩素酸標準原液は、関東化学製の 1000 mg/L 標準原液を使用した。

LC/MS/MS の移動相に用いた酢酸アンモニウムは、和光純薬工業製試薬特級を、ギ酸及びアセトニトリルには関東化学製の液体クロマトグラム質量分析用を使用した。精製水は、メルク株式会社製純水製造装置で精製した Milli-Q 水を用いた。

7. 2. 2. 試験液の調製

測定試料に残留塩素が含まれている場合は、告示法に従い、予め検水 1 L に対して 50 mg/mL のエチレンジアミン溶液 1 mL を加えて脱塩素処理を行った³⁾。次に、試料を精製水で 100 倍 (V/V) に希釈してから装置に注入して測定を行った。

7. 2. 3. LC/MS/MS 測定条件及び試料濃度の算出方法

LC/MS/MS 装置の LC 部には Agilent 製 1260, MS/MS 部には Agilent 製 6460 を、分離カラムには Shodex 製 RSpak JJ-50 2D マルチモードカラム (逆相+陰イオン交換) を使用した。その他の測定条件は、臭素酸分析検討時の条件¹⁷⁾や告示法³⁾、浅見らの報告⁷⁾を参考に、表 7-1 に示した条件を用いた。

なお、本分析法は、試料を精製水で 100 倍 (V/V) 希釈して LC/MS/MS 測定を行っている。このため、試料中の塩素酸濃度は、以下の計算式で算出した。

$$\text{試料濃度}(\mu\text{g/L}) = \text{装置測定濃度}(\mu\text{g/L}) \times 100 \quad \dots\dots(1)$$

表 7-1 LC/MS/MS 測定条件

LC 部	注入量	10 μ L
	移動相	A : 200 mM 酢酸アンモニウム水溶液(0.1%ギ酸) B : アセトニトリル B : 85 %(0 min) \rightarrow 85 %(9 min) \rightarrow 50 %(13 min) \rightarrow 50 %(21 min) \rightarrow 85 %(26 min)
	流量	0.3 mL/min
MS/MS 部	イオン化法	ネガティブ-ESI 法
	測定イオン (m/z)	塩素酸 (定量) : 83>67 塩素酸 (確認) : 83>51

7. 2. 4. 塩素酸標準液の検量線、併行精度 (RSD) 及び試料定量下限値の算出

表 7-1 の測定条件で得られた塩素酸標準液 (0.2 ~ 100 µg/L) の検量線の重相関係数を算出し、適切な直線性が得られる塩素酸の濃度範囲を検討した。また、0.5 µg/L の塩素酸標準液を 5 回繰り返し測定し、平均値、標準偏差 (σ)、併行精度 (RSD) 及び試料定量下限値 ($10\sigma \times 100$) を算出した。

7. 2. 5. 塩素酸と共存物質のピーク分離の確認

表 7-1 の測定条件における塩素酸と水道水中の存在濃度が高い塩化物イオン、硝酸イオン、臭化物イオン、硫酸イオンとの分離状況を確認するため、塩素酸を添加した市販のミネラルウォーター (商品名: Volvic) の LC/MS/MS 測定を行った。また、マルチモード分離カラムから保持力の強い硫酸イオンが溶出し検出されていることの確認を行った。これは、分離カラム内に共存物質である硫酸イオンなどが残留することで次測定の塩素酸の保持量が少なくなり、測定される塩素酸のピーク面積値が小さくなることを防ぐためである。

なお、共存物質のモニターイオンは、臭素酸分析検討時の報告¹⁷⁾を参考に、塩化物イオンは 35>35 を、硝酸イオンは 62>62 を、臭化物イオンは 79>79 を、硫酸イオンは 98>98 を選定した (測定モードは、全てネガティブ-ESI 法)。共存物質の保持時間については、あらかじめ、塩化物イオン、硝酸イオン、臭化物イオン、硫酸イオンの 100 mg/L の各標準液を個別に測定し確認を行った (全て、和光純薬工業製標準液 1000 mg/L を希釈調製して使用した)。

7. 2. 6. 添加回収試験と妥当性評価

水道水に対して塩素酸標準液の添加回収試験を実施することで、本分析法の水道水に対する妥当性を評価した。なお、試料中の塩素酸濃度は、式(1)を用いて算出した。また、添加回収試験は、5 併行・5 日間の繰り返し測定で実施した。

添加回収試験に用いた水道水 (塩素酸 50 µg/L 添加試料) は、水道水 1000 mL に 1000 mg/L 塩素酸標準原液 50 µL 加えて調製した試料を用いた。調製に使用した水道水は、三重県環境保全事業団分析室 (三重県津市) で採取した。

なお、次亜塩素酸ナトリウムで消毒された水道水には塩素酸が必ず含まれる。このため、添加回収試験実施時には、塩素酸標準液無添加試料を 5 併行測定を行い、その平均濃度を試料に用いた水道水に含まれる塩素酸濃度の空試験値とした。添加回収濃度は、添加回収試験から得られた測定結果から空試験値を差し引いた値とした。

7. 3. 結果と考察

7. 3. 1. 塩素酸標準液の検量線の直線性

図 7-2 には、本分析法で得られた塩素酸標準液の検量線 (a: 0.2 ~ 10 µg/L, b: 10 ~ 500 µg/L) を示す. この図から、0.2~10 µg/L の濃度範囲で算出した検量線の重相関係数は 0.999 以上であり、検量線は良好な直線性を有していることが確認できた. 一方、塩素酸濃度が 10 µg/L 以上になると、検量線の直線性は著しく失われることがわかった. また、検量線の上限を上げことを目的に、測定条件を注入量 1µL まで減らして検量線の直線性の検討を行った. しかしながら、イオン性の高い塩素酸の親イオンは、ESI イオン化過程で大量に発生し、イオン源内でサチュレーション (イオンの過飽和状態) を起こしていることが推測され、10 µg/L 以上で適切な直線性を有する検量線は得ることはできなかった. このため、表 7-1 の測定条件では、適切な検量線を引ける塩素酸標準液の濃度範囲は、0.2 ~ 10 µg/L までと考えられた. なお、本分析法は試料を 100 倍希釈に調製して測定を行うことから、適切な検量線範囲から算出される試料中の塩素酸濃度範囲は、20 ~ 1000 µg/L になる. この検量線の濃度範囲は、実施の水道水に存在する塩素酸濃度 (200 ~ 1470 µg/L⁸⁾) 付近であり、また、塩素酸の基準値の 1/10 から基準値までの範囲 (60 ~ 600 µg/L) を含んでいることから、実用性の高い濃度範囲と考えた.

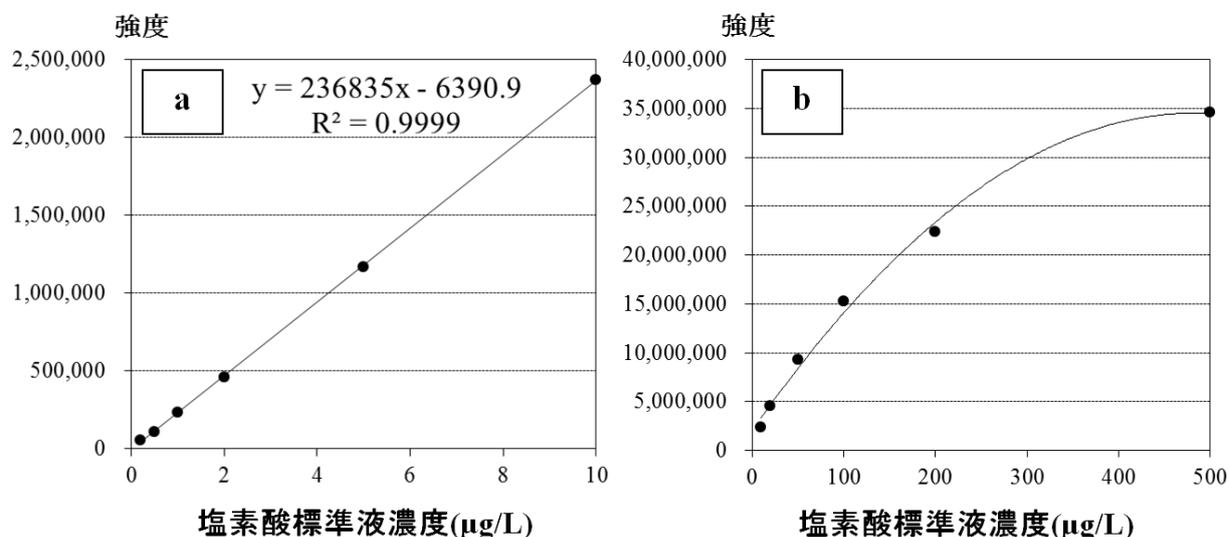


図 7-2 塩素酸標準液の検量線 (a : 0.2 ~ 10 µg/L, b : 10 ~ 500 µg/L)

7. 3. 2. 塩素酸標準液繰返し測定による併行精度 (RSD) と試料定量下限値

表 7-2 には、0.5 µg/L の塩素酸標準溶液を 5 回繰返し測定して得られた平均値と標準偏差と定量下限値及び RSD を示した。この表から、平均値 0.49 µg/L、標準偏差 (σ) 0.0222 µg/L、併行精度 (RSD) 4.56 % と良好な結果が得られ、平成 15 年課長通知 (健水発第 1010001 号)¹⁹⁾ で定められる併行精度 (RSD : < 10 % (無機物)) を満たした。

また、この分析法の試料定量下限値 ($10\sigma \times 100$) は 22.2 µg/L であった。

表 7-2 塩素酸標準液繰返し測定による平均値、標準偏差、定量下限値、RSD

平均値 (µg/L)	標準偏差 (σ)	定量下限値 (10σ)	RSD(%)
0.49	0.0222	22.2	4.56

注：測定回数；n=5

7. 3. 3. 共存物質の分離状況

図 7-3 には、塩素酸を添加したミネラルウォーターを表の測定条件で得られた SRM クロマトグラムを示した。

この図から、塩素酸は保持時間 4.5 分に検出された。一方、試料中の共存物質である硝酸イオンは保持時間 5.4 分付近に、臭化物イオンは保持時間 8.3 分付近に、塩化物イオンは保持時間 9.5 分付近に、硫酸イオンは保持時間 18.4 分付近にピークが検出されており、塩素酸と共存物質が適切に分離していることが確認できた。また、保持力の強い硫酸イオンが検出されていることから、水道水に含まれる共存物質 (無機イオン) の大部分は、マルチモード分離カラムから確実に溶出していると考えられた。このため、臭素酸分析の検討時¹⁷⁾と同様に、本分析法で水道水中の塩素酸を連続測定しても、共存物質が次測定の塩素酸の定量に影響を与える可能性は少ないと考えられる。

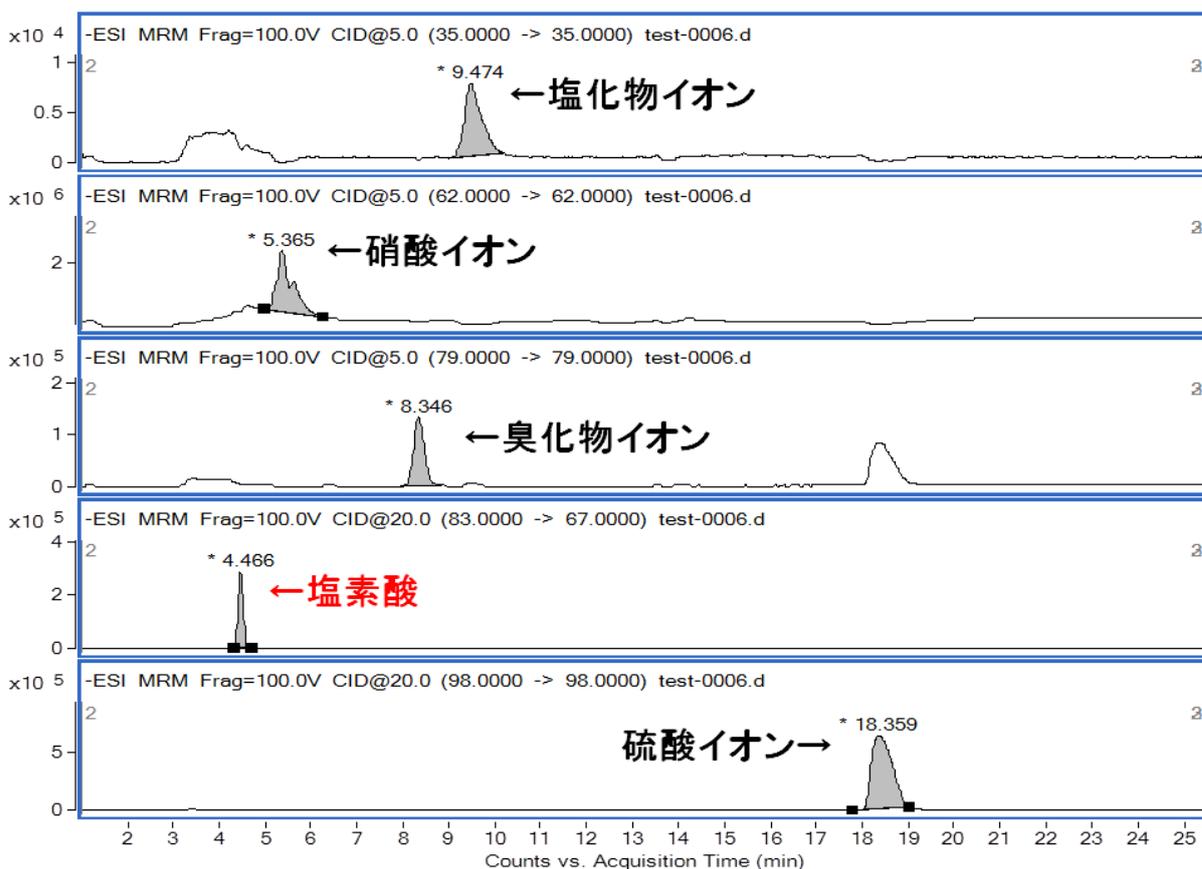


図 7-3 塩素酸を添加したミネラルウォーターの SRM クロマトグラム

7. 3. 4. 添加回収試験による妥当性評価

表 7-3 には、塩素酸標準液の添加回収試験結果（添加濃度：50 $\mu\text{g/L}$ ：5 併行の 5 日間）と妥当性評価を示した。この表から、併行精度（RSD）8.99%，室内精度（RSD）9.47%，真度（回収率）105%と良好な結果が得られた。これらは、平成 15 年課長通知（健水発第 1010001 号）¹⁹⁾ で定められる併行精度（RSD： $<10\%$ （無機物））と妥当性評価ガイドライン²⁰⁾ の目標値室内精度（無機物 RSD $\leq 15\%$ ）と真度（70 ~130%）を満たす結果であり、本分析法が塩素酸の水道水質検査法に適用可能であることを示すことができた。

一方、告示法（測定条件：表 7-4）による精製水を用いた妥当性評価試験（添加濃度 60 $\mu\text{g/L}$ ：2 併行の 5 日間）では、併行精度（RSD）8.37%，室内精度（RSD）10.5%，真度（回収率）92.1%が得られている²¹⁾。

以上のことから、本分析法の妥当性評価は、告示法の妥当性評価とほぼ同程度であることが確認できた。

表 7-3 水道水に対する塩素酸の添加回収試験と妥当性評価の結果

	試験 1	試験 2	試験 3	試験 4	試験 5
空試験 (n=5)	83.0 µg/L	40.1 µg/L	72.3 µg/L	49.2 µg/L	44.0 µg/L
添加回収試料 1	137 µg/L	90.7 µg/L	129 µg/L	104 µg/L	95.4 µg/L
添加回収試料 2	132 µg/L	90.1 µg/L	134 µg/L	104 µg/L	88.5 µg/L
添加回収試料 3	136 µg/L	88.5 µg/L	122 µg/L	99.2 µg/L	97.5 µg/L
添加回収試料 4	149 µg/L	91.5 µg/L	120 µg/L	100 µg/L	89.7 µg/L
添加回収試料 5	134 µg/L	90.2 µg/L	132 µg/L	101 µg/L	100 µg/L

評価項目	評価結果	目標値
併行精度 (RSD : %)	8.99	<10
室内精度 (RSD : %)	9.47	≤ 15
真度 (回収率 : %)	105	70 % ~ 130

表 7-4 IC 測定条件

装置名	Thermo Fisher Scientific 社製 ICS-1500
注入量	100 µL
分離カラム	Thermo Fisher Scientific 社製 IonPac AS22 (内径 4 mm)
溶離液	4.5 mmol/L 炭酸ナトリウム +1.4 mmol/L 炭酸水素ナトリウム混合水溶液
溶離液流量	1.0 mL/min

7. 3. 5. 実試料による塩素酸の選択性

図 7-4 には、表 7-4 の測定条件による告示法を用いて、実試料（水道水）、臭化物イオン標準液及び塩素酸標準液を測定し得られたイオンクロマトグラムを示した。この図から、告示法で検出された実試料中の塩素酸のピークには、臭化物イオンとは異なる共存物質が被っており、塩素酸が適切に分離できていないことがわかった。

一方、図 7-5 には、同じ実試料と塩素酸標準液を本分析法で用いて得られた SRM クロマトグラムを示した。この図から、本分析法で検出された塩素酸のピークは、選択性の高いタンデム型質量分析計を用いることで、告示法で測定された共存物質の影響は観測されず、選択性の高い良好なピーク形状が得ることができた。

以上のことから、本分析法は、検出器にタンデム型質量分析計を用いることで、告示法では適切に分離が不可能な水道水中の塩素酸のピークを適切に検出することができ、選択性の高い分析方法であることが確認できた。

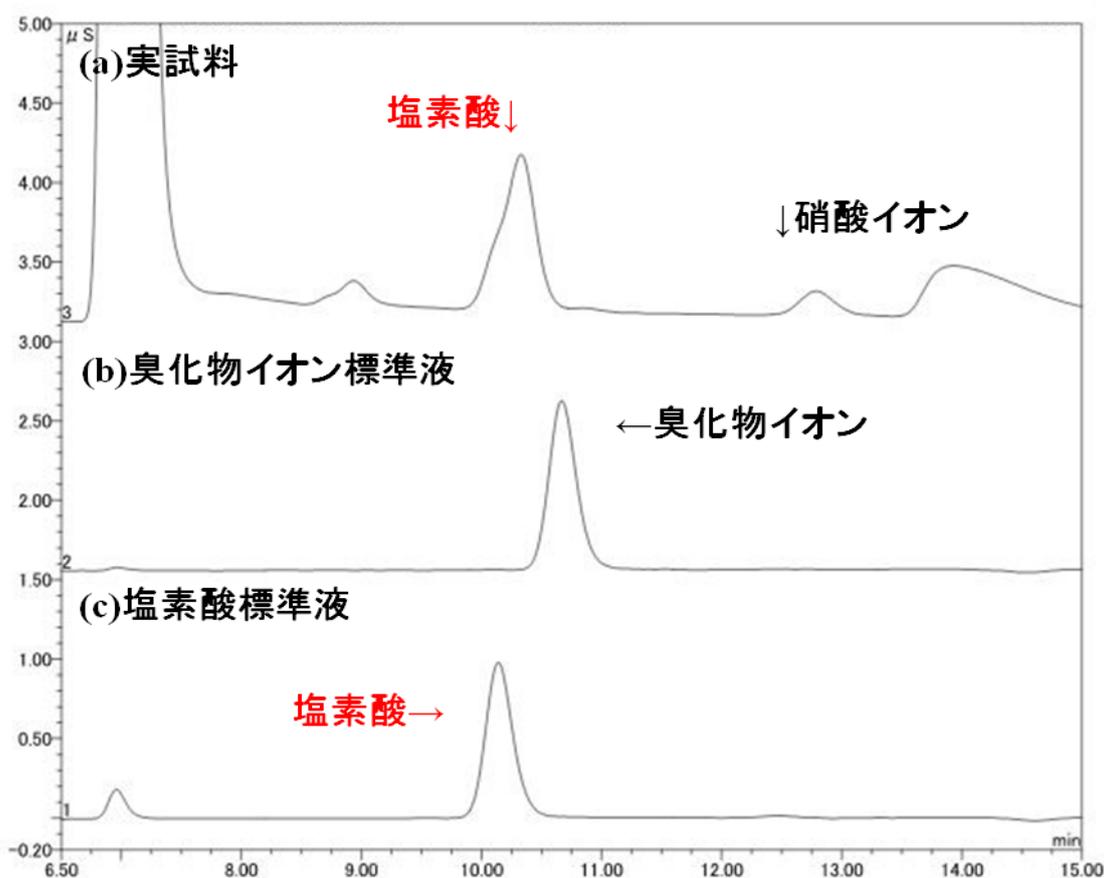


図 7-4 IC 法による塩素酸付近のイオンクロマトグラム：(a) 実試料（水道水），(b) 臭化物イオン標準液(1.0 $\mu\text{g/L}$)，(c) 塩素酸標準液(1.0 $\mu\text{g/L}$)

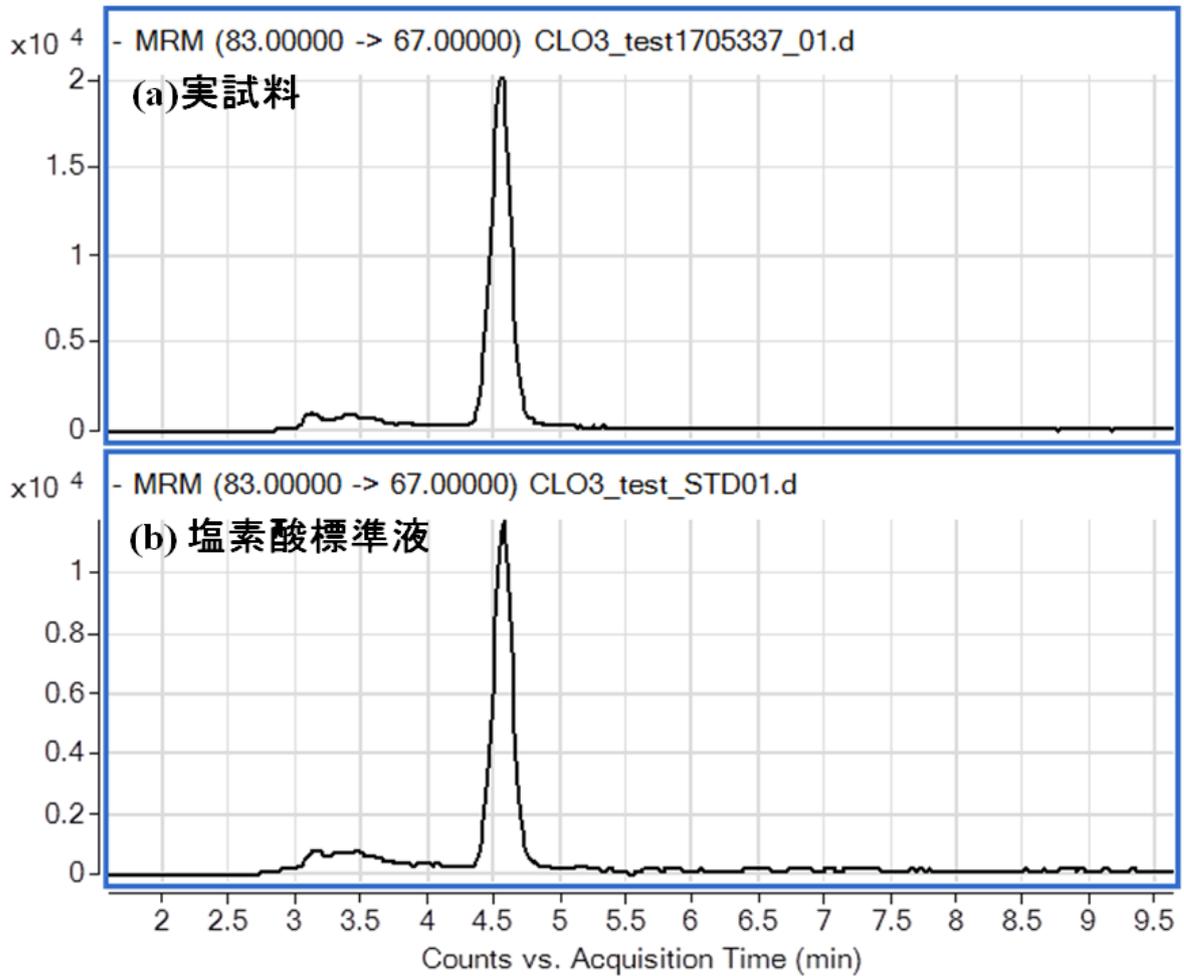


図 7-5 LC/MS/MS 法による塩素酸の SRM クロマトグラム : (a) 実試料 (水道水), (b) 塩素酸標準液(1.0 µg/L)

7. 4. まとめ

- 1) 本分析法における塩素酸の検量線は、標準液濃度 0.2 ~ 10 $\mu\text{g/L}$ (試料濃度 : 20 ~ 1000 $\mu\text{g/L}$) の範囲で良好な直線性を示した。また、0.5 $\mu\text{g/L}$ の塩素酸標準溶液を 5 回繰り返し測定した結果、平均値 0.49 $\mu\text{g/L}$ 、標準偏差 (σ) 0.0222 $\mu\text{g/L}$ 、併行精度 (RSD) 4.56 % と良好な結果が得られた。なお、本分析法の試料定量下限値は 22.2 $\mu\text{g/L}$ であった。
- 2) 水道水中の塩素酸の添加回収試験 (5 併行の 5 日間 : 添加濃度 50 $\mu\text{g/L}$) の結果、併行精度 (RSD) 8.99 %、室内精度 (RSD) 9.47 %、真度 (回収率) 105 % と良好な結果が得られ、本分析法が塩素酸の水道水質検査法に適用可能であることを示すことができた。
- 3) 本分析法は、検出器にタンデム型質量分析計を用いることで、告示法では分離が困難な水道水中の塩素酸のピークを適切に検出することができ、選択性の高い分析法であることが確認できた。

参考文献

- 1) 水道用次亜塩素酸ナトリウムの取扱い等の手引き (Q & A), 社団法人 日本水道協会, 平成 20 年 3 月.
- 2) 厚生労働省令第 101 号「水道法第 4 条第 2 項の規定に基づき水質基準に関する省令」平成 15 年 5 月 30 日.
- 3) 厚生労働省令告示第 261 号「水道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」, 平成 15 年発出 (最終改正:平成 28 年 03 月).
- 4) 東京都水道水質検査精度管理で判明した検査機関における塩素酸分析実施上の問題点: 小西浩之・栃本博・鈴木俊也・富士栄聡子・小杉有希・保坂三継・中江 大, 東京健安研七年報, **61**, 383-388(2010).
- 5) Electrospray ion chromatography - tandem mass spectrometry of oxyhalides at sub-ppb levels : Charles L. and Pepin D., Anal. Chem., **70**, 353-359(1998).
- 6) Simultaneous analysis of disinfection byproduct ions with ion chromatograph-mass spectrometry : Asami M., Sekiguchi Y., Inoue Y. and Aizawa T., International Water Association 3rd World Water Congress, e20880a(2002).
- 7) IC/MS/MS 法を用いた環境水及び水道水中のハロゲン酸分析法と過塩素酸の検出: 浅見真理, 小坂浩司, 松岡雪子, 鴨志田公洋, 環境化学, **17**, 363-375 (2007).
- 8) 飲料水中の塩素酸及び臭素酸の実態調査: 小西浩之, 富士栄聡子, 栃本博, 小杉有希, 矢口久美子, 東京健安研七年報, **59**, 271-278(2008).
- 9) LC/MS/MS を用いた直接注入によるハロ酢酸分析法の検討: 古川浩司, 第 16 回環境化学討論会講演要旨集, 506-507(2007).
- 10) 液体クロマトグラフ/質量分析計による水道水中のハロ酢酸類の定量法の確立: 田原麻衣子, 杉本直樹, 久保田領志, 西村哲治, 水道協会雑誌, **907**, 18 -22 (2010).
- 11) 陰イオン存在下における水道水中のハロ酢酸類の LC/MS および LC/MS/MS 分析の定量精度の検証: 田原麻衣子, 小林憲弘, 久保田領志, 塚本多矩, 杉本直樹, 西村哲治, 水道協会雑誌, **931**, 20-27 (2012).
- 12) LC/MS による環境中の Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) の分析: 佐々木和明, 齋藤憲光, 岩手県環境研センター年報, **2**, 101 -103 (2002).
- 13) LC/MS/MS による海水中のトリブチルスズ及びトリフェニルスズ分析: 古川浩司, 橋本 真, 橋爪 清, 環境技術, **42(3)**, 175-182(2013).
- 14) 水道水中のイミノクタジン・ジクワット・パラコート の LC/MS/MS 一斉分析法の開発: 小林憲弘, 久保田領志, 佐々木俊哉, 五十嵐良明, 環境科学会誌, **28(2)**, 117-125(2015).
- 15) 「直鎖アルキルベンゼンスルホン酸及びその塩の測定方法」, 環境庁告示第 59 号付表 12.

- 16) 内部標準物質を用いた LC/MS/MS による水道水中の陰イオン界面活性剤の直接注入法：古川浩司，川口寿之，工藤清惣，中澤智子，山田悠貴，船坂鎌三，奥村昭雄，環境科学会誌，**30(1)**，1-10(1993).
- 17) マルチモードカラムを用いた LC/MS/MS 法による水道水中の臭素酸分析：古川浩司，川口寿之，工藤清惣，中澤智子，山田悠貴，船坂鎌三，奥村昭雄，分析化学，**65(10)**，587-592(2016).
- 18) ミックスモードカラムを用いた液体クロマトグラフタンデム質量分析計による水道水中の臭素酸イオンとハロ酢酸類の一斉分析法の検討：小坂浩司，浅見真理，大久保慶子，秋葉道宏，水道協会雑誌，**86(2)**，2-12(2017).
- 19) 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：水質管理目標設定項目の検査方法，別添 4，厚生労働省健康局水道課長通知，平成 15 年 10 月 10 日（健水発第 1010001 号）.
- 20) 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，平成 24 年 9 月 6 日（健水発 0906 第 1 号，最終改正：平成 29 年 10 月 18 日付け薬生水発 1018 第 1 号）.
- 21) 水道水質検査方法の妥当性評価：三重県環境保全事業団，
<http://www.mec.or.jp/k_bunseki/cate/suido/w_datousei/>，（参照 2017.07.31）.

第 8 章 LC/MS/MS 法による水道原水中の臭化物 イオン分析法

8. 1. 緒言

水道原水中に臭化物イオンが含まれている場合、オゾン処理により水道水中に臭素酸を生成する可能性がある¹⁾。臭素酸は、国際がん研究機関（IARC）において Group2（発がんの可能性のあること）に分類され、発がん性を指摘されている²⁾。このため、日本の水道法においても臭素酸の水道水基準項目が指定されており、その基準値は 0.01 mg/L (10 µg/L) と設定されている³⁾。

水道原水のオゾン処理における臭素酸イオンの生成量は、オゾン注入率、反応時間及び原水中の臭化物イオン濃度などに比例することが知られている。Ajay Kumar らは、ボトル水中の臭素酸濃度は、臭素酸濃度 (µg/L) = 0.31×臭化物イオン濃度 (µg/L) + 2.37 (r=0.78) と臭化物イオン濃度と強い相関関係を示した⁴⁾。この報告から、水道原水のオゾン処理した水道水の臭素酸濃度を基準値 (10 µg/L) の 1/10 レベルまで確実に管理するには、水道原水中に存在する臭化物イオン濃度を 1 µg/L 付近まで把握して浄水処理して管理すること重要である。

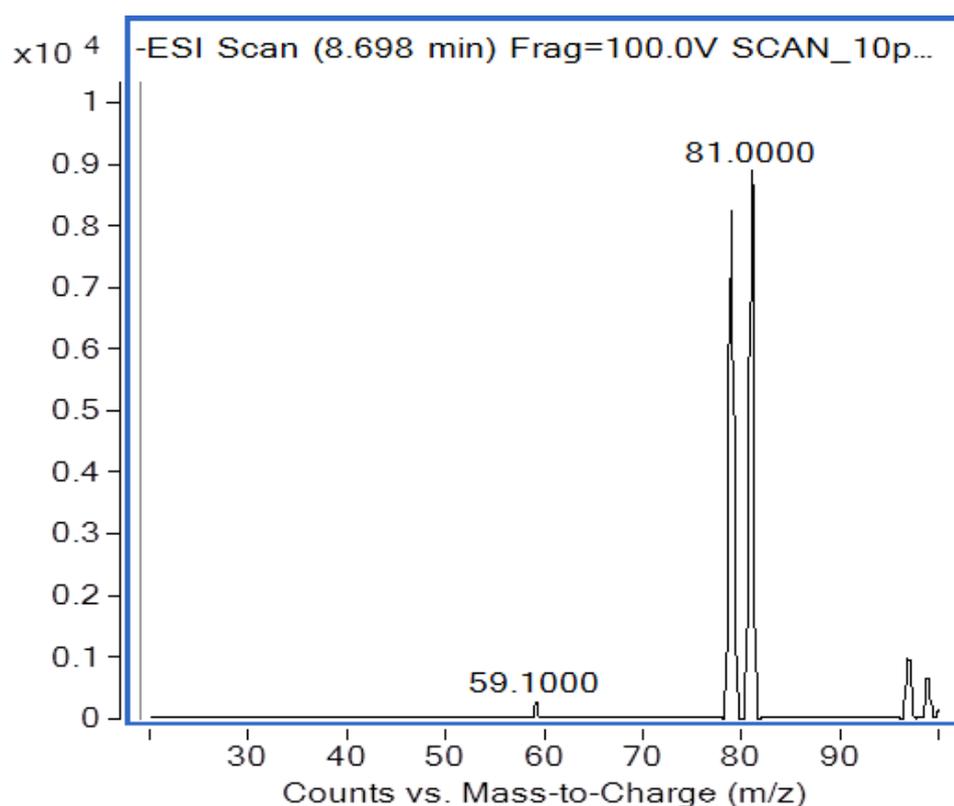


図 8-1 臭素酸標準液の SCAN 測定による MS スペクトル
(検出強度は、臭素の同位体比 (79Br : 81Br=0.5069 : 0.4931) とほぼ同じ)

水試料中の臭化物イオンの分析は、一般的に、イオンクロマトグラフ法（以下、「IC法」）が用いられる⁵⁾。しかし、このIC法による臭化物イオン濃度の定量下限値は、原理的に1000 µg/L付近が限界であり、臭素酸濃度を基準値（10 µg/L）の1/10レベルまでを確実に浄水工程を管理するための1 µg/L付近の臭化物イオン定量分析は不可能である。

水道原水中における臭化物イオン濃度を1 µg/L付近まで定量分析が可能な分析方法として、これまでにIC法とタンデム型質量分析法（MS/MS）を組み合わせたIC/MS/MS法⁶⁾やイオンクロマトグラフ法と誘導結合プラズマ質量分析法（ICP-MS）を組み合わせたIC/ICP-MS法⁷⁾が検討されている。しかし、これらの分析方法は、非常に高価で汎用性の低い装置を使用することから、一般的な分析法として普及するのは難しい。

これまでに検討されたIC-MS/MS法やIC/ICP-MS法よりも汎用性が高い代替法として、液体クロマトグラフィー/タンデム型質量分析法（以下、「LC/MS/MS法」）が挙げられる。LC/MS/MS法は、近年、ハロ酢酸^{8,9)}、農薬¹⁰⁾、有機スズ¹¹⁾、PFOS・PFOA（有機フッ素化合物類）¹²⁾、LAS（陰イオン界面活性剤）¹³⁻¹⁴⁾など様々な項目の分析法に検討され、報告例も数多く存在する。また、LC/MS/MS装置は高価な装置に分類されるが、適用可能な分析用途が幅広いこともあり、国内の検査機関における普及率が高い。

著者らは、以前、このLC/MS/MS法と極性の高い化合物の適切な分離が可能なマルチモードカラム（逆相+陰イオン交換）を用いて、水道水中の臭素酸分析法の検討を行い、臭素酸の水道水質検査法として有効であることを確認した¹⁵⁾。

そこで、本研究では、極性の高い化合物を適切に分離・定量分析が可能なマルチモードカラムによるLC/MS/MSを参考に、定量下限値1.0 µg/Lを目標とした水道原水中の臭化物イオン分析法の検討を行ったので報告する。

8. 2. 研究の方法

8. 2. 1. 試薬

i) 検量線作成用臭化物イオン標準液

和光純薬工業社製臭化物イオン標準原液（1000 mg/L）1 mL を Milli-Q 水で 100 mL に定容とした。その後、適時、Milli-Q 水で 10, 5, 2, 1, 0.5 μg/L になるように段階的に希釈した。

ii) 移動相

移動相に用いた酢酸アンモニウムは和光純薬工業社製試薬特級を、アセトニトリルには関東化学社製 LC/MS 分析用を使用した。また、精製水には、Milli-Q 水を使用した。

8. 2. 2. 測定方法及び条件

試料の測定は LC/MS/MS に直接注入し行った。

表 8-1 には使用した LC/MS/MS 測定条件を示す。この測定条件は、著者らが LC/MS/MS による臭素酸イオン分析の検討で得られた結果を使用した¹⁵⁾。

また、LC/MS/MS 測定条件の最適化の検証は以下の通りに検討を行った。

表 8-1 LC/MS/MS 測定条件

LC 部	装置	Agilent1260HPLC
	分離カラム	RSpak JJ-50 2D(Shodex) 2.0×150 mm
	移動相 A	200 mM CH ₃ COONH ₃ aq(0.1% Formic acid)
	移動相 B	Acetonitrile
		A : B = 15 : 85
		B : 85 %(0 min) → 85 %(9 min) → 50 %(13 min)→ 50 %(21 min)→ 85 %(26 min)
	カラム温度	40 °C
	流量	0.3 mL/min
注入量	10 μL	
MS/MS 部	装置	Agilent 6460
	イオン化方法	ESI(Negative)
	定量イオン(m/z)	Bromide ion : 81 > 81
	確認イオン(m/z)	Bromide ion : 79 > 79

i) 臭化物イオンと共存物質とのピーク分離の確認

水道原水中に存在する共存物質と臭化物イオンが適切に分離できていることを確認するため、市販のミネラルウォーター（Volvic）を表 8-1 に示す測定条件で測定を行った。

なお、共存物質のモニターイオンは、硝酸イオンは 62/62 を、塩化物イオンは 35/35（前駆イオン/プロダクトイオン）を、硫酸イオンは 96/96 を選定した（測定モードは、全てネガティブ-ESI 法）。また、共存物質の保持時間については、あらかじめ、臭化物イオン、硝酸イオン、塩化物イオン、硫酸イオンの 100 mg/L の各標準液を個別に測定して確認を行った（全て、和光純薬工業社製標準液 1000 mg/L を希釈調製して使用した）。

ii) 検量線（直線性の確認）並びに変動係数、定量下限値及び RSD の算出

表 8-1 の LC/MS/MS 測定条件で得られた臭化物イオン標準液の検量線（0.5～10 μ g/L）の直線性を評価した。また、1.0 μ g/L の臭化物イオン標準液を 7 回繰り返し測定し、平均値、標準偏差（ σ ）、定量下限値（10 σ ）及び RSD（併行精度）を算出した。

8. 2. 3. 添加回収試験

本分析法が水道原水中の臭化物イオン分析法として妥当であるかを評価するため、地下水に対する臭化物イオンの添加回収試験（7 併行）を実施した。

臭化物イオンの添加回収試験には、100 μ g/L 臭化物イオン標準液から 1 mL 採取し、地下水で 100 mL に定容した試料を用いた。

8. 3. 結果及び考察

8. 3. 1. 臭化物イオンと共存物質とのピーク分離の確認

一般的に、水道原水にはミネラル成分を中心とした無機イオンを多く含むが、有機物、重金属などの存在量が少ない場合が多い。そこで、本研究では、臭化物イオンの定量に影響を及ぼす可能性がある共存物質は、飲料原水中の存在濃度が比較的に高い、硝酸イオン、塩化物イオン、硫酸イオンであると推測した。

このため、表 8-1 で示した LC/MS/MS 測定条件で得られた臭化物イオンと共存物質とのピークの分離状況の確認を行い、臭化物イオンの定量性への影響を検討した。

図 8-2 には、市販のミネラルウォーター（Volvic）を測定して得られた SRM クロマトグラムを示した。この図から、測定された臭化物イオンは保持時間 8.3 分付近であった。一方、共存物質である硝酸イオンは保持時間 5.4 分付近に、塩化物イオンは保持時間 9.5 分付近に、硫酸イオンは保持時間 19.6 分付近にピークが検出され、臭化物イオンと適切に分離していることが確認できた。なお、なお、共存物質の保持時間については、あらかじめ、臭化物イオン、硝酸イオン、塩化物イオン、硫酸イオンの 100 mg/L の各標準液を個別に測定して確認を行った（全て、和光純薬工業社製標準液 1000 mg/L を希釈調製して使用した）。

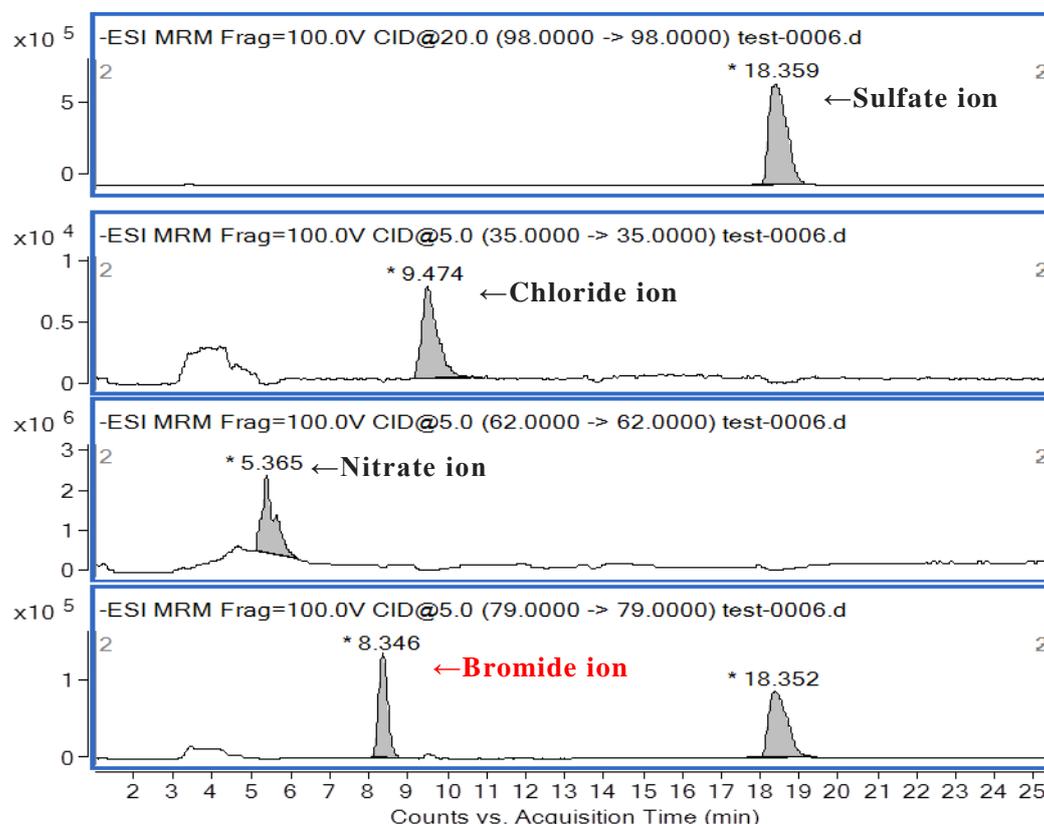


図 8-2 ミネラルウォーター中の臭化物イオン，硫酸イオン，塩化物イオン及び硝酸イオンの SMR クロマトグラム

また、保持力が強い硫酸イオンがマルチモード分離カラムから溶出し検出していることを確認できた。以前にも検討を行ったが、分離カラム内に共存物質である硫酸イオンなどが残留すると、次測定の臭化物イオンの保持量が少なくなり、測定される臭化物イオンのピーク面積値が小さくなる¹⁵⁾。硫酸イオンの溶出が確認できたことは、表 8-1 の測定条件で飲料原水中に多く含まれる無機イオンの共存物質の大部分が分離カラムから溶出されたことを示している。このため、本分析法の連続測定においても、臭化物イオンの定量に共存物質が与える影響が少ないことを示すことができた。

8. 3. 2. 臭化物イオンの定量イオン

図 8-3 には、1.0 µg/L の臭化物イオン標準液を測定し得られた SRM クロマトグラムを示す。この図から、81/81 の SRM クロマトグラムの S/N 比 (57.7) は、79/79 のクロマトグラムの S/N 比 (30.2) よりも高かった。また、79/79 の SRM クロマトグラムは、測定後半にベースラインが上がる傾向にあった。

以上のことから、臭化物イオンの定量イオンには、81/81 が最適であると判断した

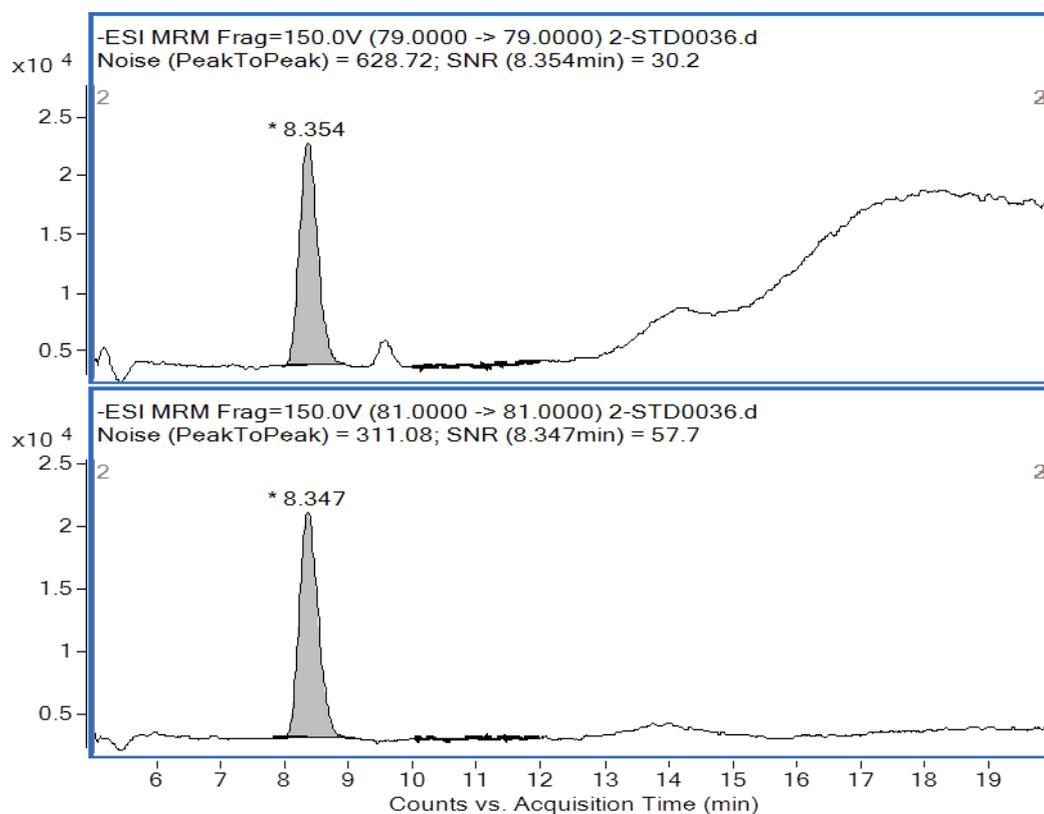


図 8-3 臭化物イオン標準液の SRM クロマトグラム (1.0 µg/L)

8. 3. 3. 検量線（直線性の確認）並びに変動係数，装置検出及び定量下限値の算出

図 8-4 は，表 8-1 の LC/MS/MS 測定条件で得られた臭化物イオン標準液の検量線（10 ～ 0.5 μg/L）の検量線を示す．この図から，算出した臭化物イオン検量線の重相関係数が 0.999 以上であり，良好な直線性を有していることが確認できた．

また，1.0 μg/L の臭化物イオン標準溶液を繰り返し測定した結果，表 8-2 に示したとおり，平均値 1.06 μg/L，標準偏差（σ）0.0251，RSD（再現性）2.4 %と良好な結果が得られた．なお，この分析法の定量下限値（10σ）は 0.25 μg/L であった．

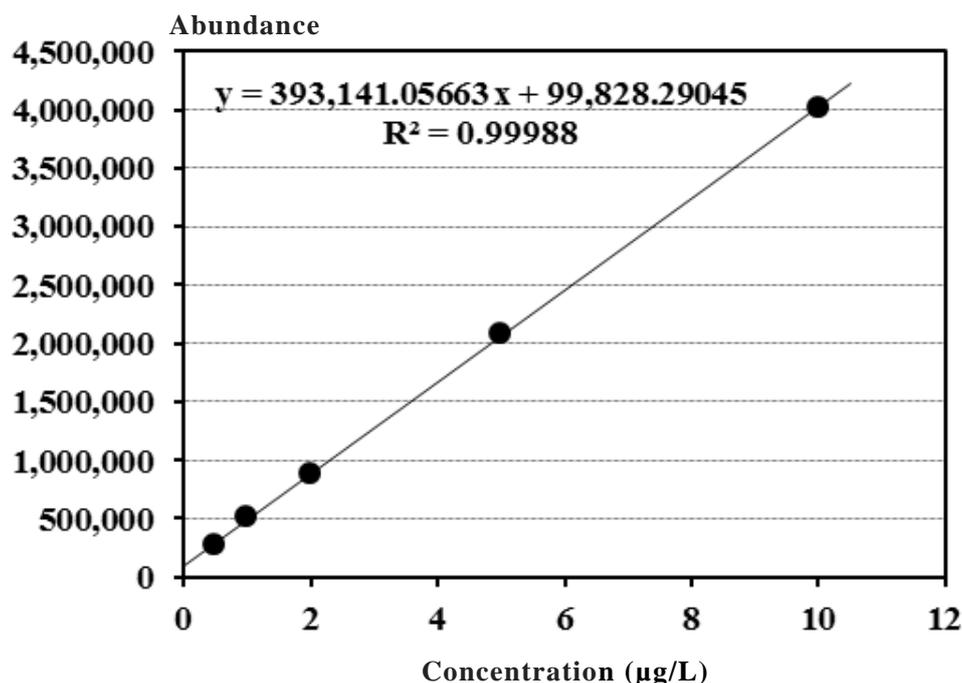


図 8-4 臭化物イオンの検量線（濃度：10 ～ 0.5 μg/L）

表 8-2 臭化物イオン標準液（1.0 μg/L）の繰り返し測定結果

標準液濃度	測定結果(μg/L)							平均値 (μg/L)	標準偏差 (σ)	10σ	RSD(%)
	n=1	n=2	n=3	n=4	n=5	n=6	n=7				
1.0 μg/L	1.08	1.07	1.07	1.02	1.04	1.08	1.03	1.056	0.0251	0.251	2.4

8. 3. 4. 添加回収試験及び妥当性評価

表 8-4 には、8.2.4 で調製した水道原水（地下水）に対する添加回収試験（n=7）の結果を示した。この表から、地下水における臭化物イオンの回収率が 81.4 %，RSD が 2.4 % と良好な回収試験結果が得られた。

次に、図 8-5 に添加回収試験にて得られた SRM クロマトグラムを示す。この図から、添加回収試験で得られた臭化物イオンのピーク形状は良好であった。また臭化物イオンの検出時間付近では、地下水に含まれる共存物質の影響を受けておらず、本分析法が高い選択性を有することが確認できた。

この結果から、本分析法が、地下水などの水道原水中の臭化物イオンを従来の IC 法(100 µg/L)よりも 100 倍程度低い 1.0 µg/L 付近の濃度まで測定することが可能である。

表 8-4 添加回収試験測定結果(n=7)

試料	添加濃度 (µg/L)	n	測定結果 (µg/L)	回収率 (%)	RSD(%)
地下水	-	7	2.34	-	1.7
	1.0	7	3.15	81.4	1.4

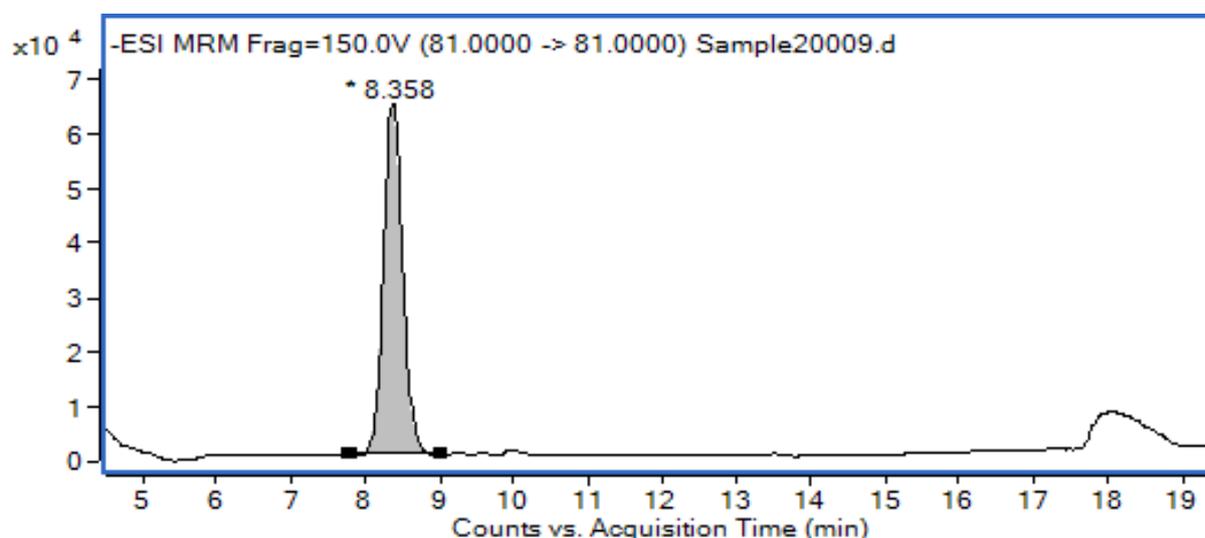


図 8-5 地下水中の臭化物イオンの SMR クロマトグラム（添加濃度：1µg/L）

8. 4. まとめ

本研究により得られた知見を以下に記す.

- 1) 分離カラムに Shodex 社の RSpak JJ-50 2D マルチモードカラム(逆相+陰イオン交換)を用いた LC/MS/MS 法により, 水道原水中の共存物質である硝酸イオン, 塩化物イオン及び硫酸イオンと臭化物イオンのピーク分離が可能となった.
- 2) 本分析法における臭化物イオンの検量線は, 0.5 ~10 µg/L の濃度範囲で良好な直線性を示し, 1.0 µg/L 臭素酸標準液の併行精度 (RSD) は, 2.4 %と良好であった. また, 本分析法の定量下限値は 0.25 µg/L であった.
- 3) 地下水中の臭化物イオンの添加回収試験 (n=7) の結果, 回収率が 81.4 %, RSD が 2.4 %と良好な結果が得られた.

参考文献

- 1) Speciation of halogenides and oxyhalogens by ion chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry : Mari Pantsar-Kallio, Pentti K.G Manninen, *Anal.Chim.Acta*, **360**, 161-166(1998).
- 2) IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans : IARC, **Vol52**, (1990).
- 3) 厚生労働省令第 101 号「水道法第 4 条第 2 項の規定に基づき水質基準に関する省令」平成 15 年 5 月 30 日.
- 4) Health Risk Assessment for Bromate (BrO₃) Traces in Ozonated Indian Bottled Wat : Ajay Kumar, Sabyasachi Rout, Rakesh Kumar Singhal, *Journal of Environmental Protection*, **2**, 571-580(2011).
- 5) JIS K 0102 35.3 Ion chromatographic method(2016).
- 6) IC/MS/MS 法を用いた環境水及び水道水中のハロゲン酸分析法と過塩素酸の検出 : 浅見真理, 小坂浩司, 松岡雪子, 鴨志田公洋, *環境化学*, **17**, 363-375 (2007).
- 7) イオンクロマトグラフィー/誘導結合プラズマ質量分析法及びエレクトロスプレーイオン化質量分析法を用いた水道水中の臭素の化学形態別分析 : 倉田 圭吾, 鈴木 美成, 古田 直紀, *分析化学*, **59(9)**, 811-816(2010).
- 8) 液体クロマトグラフ/質量分析計による水道水中のハロ酢酸類の定量法の確立 : 田原麻衣子, 杉本直樹, 久保田領志, 西村哲治, *水道協会雑誌*, **907**, 18-22 (2010).
- 9) 陰イオン存在下における水道水中のハロ酢酸類の LC/MS および LC/MS/MS 分析の定量精度の検証 : 田原麻衣子, 小林憲弘, 久保田領志, 塚本多矩, 杉本直樹, 西村哲治, *水道協会雑誌*, **931**, 20-27 (2012).
- 10) 水道水中のイミノクタジン・ジクワット・パラコート の LC/MS/MS 一斉分析法の開発 : 小林憲弘, 久保田領志, 佐々木俊哉, 五十嵐良明, *環境科学会誌*, **28(2)**, 117-125(2015).
- 11) LC/MS/MS による海水中のトリブチルスズ及びトリフェニルスズ分析 : 古川浩司, 橋本真, 橋爪 清, *環境技術*, **42(3)**, 175-182(2013).
- 12) LC/MS による環境中の Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) の分析 : 佐々木和明, 齋藤憲光, *岩手県環境研センター年報*, **2**, 101-103 (2002).
- 13) 陰イオン界面活性剤分析における LC-MS 法への応用 : 北原 敏, 工藤清惣, 中澤智子, 川口寿之, 山田悠貴, 船坂鎌三, 奥村明雄, *水道協会雑誌*, **952**, 2-6(2014) .
- 14) 内部標準物質を用いた LC/MS/MS による水道水中の陰イオン界面活性剤の直接注入法 : 古川浩司, 川口寿之, 工藤清惣, 中澤智子, 山田悠貴, 船坂鎌三, 奥村明雄, *環境科学会誌*, **30(1)**, 1-10(2017).
- 15) マルチモードカラムを用いた LC/MS/MS 法による水道水中の臭素酸分析 : 古川浩司, 川口寿之, 工藤清惣, 中澤智子, 山田悠貴, 船坂鎌三, 奥村明雄, *分析化学*, **65(10)**,

587-592(2016).

第 9 章 結言

第1章で述べた通り、安全な水道水質を確保するためには、水道原水及び処理水の水質検査による実態状況（水道水源の環境汚染状況や消毒副生成物の実測濃度）の把握が非常に重要である。

しかしながら、現在の日本の水道水について、安全な水質を確保するためには、

- (1) 水道水源汚染物質の拡大
- (2) 迅速なシステムフィードバック手法の確立
- (3) 水道事業体の厳しい予算状況
- (4) 熟練分析技術者の不足と分析料金単価の低価格化

などの課題を解決できる高性能で迅速な分析法の開発が求められている。

そこで、本論文は、従来の分析法では高感度で分析することが難しかった水道水中の微量化学物質に対し、液体クロマトグラフィー／タンデム型質量分析法（以下、「LC/MS/MS法」と略）を用いた、迅速で高性能な分析法を開発することで、水道事業体が安全な水道水質を容易に確保できることを目的とし研究を行った。

第1章は、本研究の背景や関連法令、LC/MS/MS法などの概説、本研究の目的を示した。

第2章は、LC/MS/MS法を用いた水道原水中のトリブチルスズおよびトリフェニルスズ分析法開発の検討内容を示した。一般的に、有機スズ化合物はGrignard試薬を用いたアルキル誘導体化によるGC/MS法で測定される。しかし、この分析法は複雑な誘導体化工程を有しており、特に、低濃度付近における測定結果は作業者の技量にも左右されやすいことから、誘導体化工程の見直しが求められていた。

本章の検討の結果、TBT及びTPTをそれぞれ1 ng/L添加した海水試料の回収試験では、TBTが100%、TPTが101%の回収率を得ることができた。また、本分析方法の検出限界値は、TBTが0.13 ng/L、TPTが0.10 ng/Lであった。

以上のことから、LC/MS/MS法を用いることで誘導化を実施しなくて有機スズ化合物の測定が可能となり、迅速で高性能な有機スズ化合物分析法が開発できた。

第3章は、LC/MS/MS法を用いた水道原水中のアニリン分析法開発の検討内容を示した。一般的に、環境水中のアニリン分析法は固相抽出-ガスクロマトグラフ/質量分析法（以下、「GC/MS法」と略）で測定される。GC/MS法の測定は、試料をアセトンなどの有機溶剤に溶かす必要があるため、固相抽出などの前処理が必要である。しかし、この前処理時に試料が減圧状態に置かれるため、この工程で揮発性のアニリンが揮散してしまう可能性があり、前処理操作に一定の配慮が必要であった。

本章の検討の結果、アニリン標準液の検量線は、0.05～2.0 µg/Lの濃度範囲で良好な直

線性が得られた。また、0.05 µg/L アニリン標準液の RSD(併行精度)は 6.1 %と良好であった。さらに、水道原水（河川水と海水）の添加回収試験（7 併行×2 回）を行った結果、回収率が 98.5 ~103.4 %，RSD が 3.91 ~6.3 %と非常に良好な結果が得られ、本分析法が環境試料中のアニリン分析法として有効であることが確認できた。また、本分析法は、環境省の告示法（固相抽出-GC/MS 法）と比較して固相抽出工程を省略できることから、アニリン分析の迅速化が可能となった。

以上のことから、LC/MS/MS 法を用いることで、アニリンの揮散が指摘されている固相抽出工程が省略でき、迅速で高性能なアニリン分析法が開発できた。

第 4 章は、LC/MS/MS 法を用いた水道水中の陰イオン界面活性剤分析法開発の検討内容を示した。一般的に、陰イオン界面活性剤は固相抽出-液体クロマトグラフィー法（蛍光検出器）で測定される。しかし、この分析法は、陰イオン界面活性剤が複数に分離する上、水道水中に蛍光性物質が存在した場合、誤認する恐れがある。また、水源事故など緊急時に迅速に対応できるように、固相抽出を省略した迅速分析法も求められていた。

本章の検討の結果、LC/MS/MS 測定による直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩（以下、「LAS」と略）測定強度のイオンサプレッションが、水道水中に存在するカルシウムイオンに起因して発生することを確認した。このため、LAS-C10~C12 の内部標準物質に LAS(C¹³)-C12 を、LAS-C13~C14 の内部標準物質に LAS-C8 を用いて、各 LAS のイオンサプレッションによる測定強度の低下の補正を行った。その結果、水道水に対して併行精度 3.54 %，室内精度 7.47 %，回収率 95.2 %の妥当性評価が得られ、厚生労働省が通知する「水道水質検査方法の妥当性評価ガイドライン」の目標値を満たした。

以上のことから、選択性が高い LC/MS/MS 法を用いることで、陰イオン界面活性剤の選択性が向上し、かつ、固相抽出工程を省略した迅速な分析法が開発できた。

第 5 章は、平成 29 年 4 月に厚生労働省において、対象農薬リスト掲載農薬類に格上げされたテフリトリオンについて、水道水及び水道水源の汚染状況の早急な把握を目的に迅速分析法の開発を行った。

本章の検討の結果、テフリトリオンの検量線は 0.2 ~0.02 µg/L の濃度範囲で良好な直線性が得られた。また、0.02 µg/L テフリトリオン標準液の併行精度は 1.2 %であった。さらに、水道水の添加回収試験（n=5, 5 日間）を実施し、妥当性を評価した結果、併行精度 1.8 %，室内精度 3.5 %，真度 104 %ともに良好な結果が得られた。

以上のことから、試料を直接注入することが可能な LC/MS/MS 法を用いることで、迅速で高性能なテフリトリオン分析法が開発できた。

第6章は、LC/MS/MSを用いた水道水中の臭素酸分析法開発の検討を示した。一般的に、臭素酸はイオクロマトグラム-ポストカラム吸光光度法で測定されるが、①高濃度硫酸使用による装置負荷、②低検出感度、③共存物質分離が困難、④装置の低汎用性などの問題が存在した。そこで、本章では、無機イオンが適切に分離可能なマルチモード分離カラム（逆相+陰イオン交換）とLC/MS/MS法を組み合わせることで、迅速で高性能な臭素酸分析法の開発を行った。

本章の検討の結果、臭素酸は、塩素酸、硝酸イオン、臭化物イオン、塩化物イオン及び硫酸イオンと適切に分離でき、ピーク形状も良好であった。また、臭素酸の検量線は、0.1～10 µg/Lの濃度範囲で良好な直線性が得られた。0.1 µg/L臭素酸標準液の併行精度は6.11%と良好であった。さらに、水道水の添加回収試験を行った結果、併行精度4.13%、室内精度5.16%、真度98.4%ともに良好な結果が得られ、厚生労働省が通知する「水道水質検査方法の妥当性評価ガイドライン」の目標値を満たした。

なお、本分析法は、これまでLC/MS/MS法では適切にクロマト分離が困難であった無機イオンに対して非常に有効な分析手法であり、LC/MS/MS法の測定対象を大きく広げることが可能となった。

第7章は、LC/MS/MSを用いた水道水中の塩素酸分析法開発の検討を示した。一般的に、塩素酸はイオンクロマトグラフ法（以下、「IC法」）で測定され、通常の水道試料であれば測定結果に問題が生じることは少ない。しかし、共存物質が多く含まれる試料では、塩素酸が臭化物イオンと硝酸イオンの間に近接して検出し、塩素酸を誤認するおそれがある。そこで本章では、第6章で開発したマルチモード分離カラム+LC/MS/MS法を用いることで、塩素酸の選択性が向上し、迅速で高性能な分析法が開発を行った。

本章の検討の結果、塩素酸の検量線は、標準液濃度0.2～10 µg/L（試料濃度：20～1000 µg/L）の濃度範囲で良好な直線性が得られた。また、0.5 µg/L塩素酸標準液（n=5）の繰り返し測定での併行精度（RSD）は、4.56%と良好であった。さらに、水道水の添加回収試験（50 µg/L, n=5, 5 days）を行った結果、併行精度（RSD）8.99%、室内精度（RSD）9.47%、真度（回収率）105%と良好な結果が得られ、厚生労働省が通知した「水道水質検査方法の妥当性評価ガイドライン」の目標値の範囲内であった。

以上のことから、LC/MS/MS法は、イオンクロマトグラフ法では分離が困難な水道水中の塩素酸のピークを適切に検出すること可能であり、選択性の高い分析法であることが確認できた。

第8章は、LC/MS/MSを用いて、定量下限値1.0 µg/Lの性能を有する水道原水中の臭化物イオン分析法の開発を示した。

水道原水中に臭化物イオンが含まれている場合、オゾン処理により処理水中に発がん性が高い臭素酸を生成する可能性がある。臭素酸濃度を基準値の 1/10 程度までに抑えるには、水道原水中の臭化物イオン濃度を 1 $\mu\text{g/L}$ 付近まで把握しながらオゾン処理の運転管理をするのが理想である。しかし、臭化物イオンは、一般的に IC 法で測定されるが、その定量下限値 100 $\mu\text{g/L}$ 付近であり臭素酸濃度を基準値の 1/10 程度間に抑えるための浄水処理管理が難しい。このため、定量下限値 1.0 $\mu\text{g/L}$ 付近の新たな臭化物イオン分析法の開発を行った。

本章の検討の結果、臭化物イオンの検量線は、0.5~10 $\mu\text{g/L}$ の濃度範囲で良好な直線性を示し、1.0 $\mu\text{g/L}$ 臭化物イオン標準液の併行精度 (RSD) は、2.4 %と良好であった。さらに、地下水の添加回収試験 (n=7) を行った結果、回収率が 90 %、RSD が 1.4 %と良好な結果が得られた。

以上のことから、第 6 章は開発したマルチモード分離カラム+LC/MS/MS 法を用いることで、定量下限値 1.0 $\mu\text{g/L}$ の高感度で、迅速で高性能な水道原水中の臭化物分析法が開発できた。

以上の通り、従来の手法では分析が難しかった水道水及び原水（環境水）中の環境有害物質について、LC/MS/MS 法を用いることで迅速かつ精度良く分析が可能な手法の開発を行うことができた。特に、これまで LC/MS/MS 法では適切にクロマト分離が困難であった無機イオンに対して非常に有効な分析手法が開発でき、LC/MS/MS 法の測定対象を大きく広げることが可能となった。

本論文の成果は、水質管理の検査精度の向上と検査頻度が増加させることができ、水道事業者が安全な水道水質を確保に貢献できるものと考えられる。

また、本論文で開発した分析手法は、検討対象である水道関連の分野だけでなく、排水・大気・食品製品・医薬関連の品質管理分析にも応用可能であり、各分野の安全性向上に寄与することが期待できる。

本論文に対する関連主要論文及び参考論文

関連主要論文

- LC/MS/MS による海水中のトリブチルスズ及びトリフェニルスズ分析：古川浩司，橋本真，橋爪 清，環境技術， **42(3)**， 175 - 182(2013).
- マルチモードカラムを用いた LC/MS/MS 法による水道水中の臭素酸分析：古川浩司，川口寿之，工藤清惣，中澤智子，山田悠貴，船坂鎌三，奥村明雄，分析化学， **65(10)**， 587 - 592(2016).
- LC/MS/MS による水道水中のテフリトリオン分析法の検討：古川浩司，橋本 真，萩尾珠世，岡 佑季，坂倉功達，金子 聡，環境技術， **45(12)**， 650 - 655(2016).
- 内部標準物質を用いた LC/MS/MS による水道水中の陰イオン界面活性剤の直接注入法：古川浩司，川口寿之，工藤清惣，中澤智子，山田悠貴，船坂鎌三，奥村明雄，環境科学会誌， **30(1)**， 1 - 10(2017).
- Determination of bromide ion in beverage raw water using liquid chromatography / tandem mass spectrometry (LC/MS/MS) : Koji FURUKAWA, Makoto HASHIMOTO, Satoshi KANECO, *Studies in Science and Technology*, **6(1)**, 67 - 71(2017).
- LC/MS/MS による水道水中の塩素酸分析法：古川浩司，川口寿之，工藤清惣，中澤智子，佐藤亮平，船坂鎌三，奥村明雄，環境科学会誌， **30(6)**， 365-372(2017).
- Optimization of analytical conditions for Rapid Determination of Aniline in Environmental Water by Liquid Chromatography / Tandem Mass Spectrometry : Koji FURUKAWA, Makoto HASHIMOTO, and Satoshi KANECO, *Analytical Sciences*, **33(10)**, 1189 - 1191(2017).
- Novel coordination chemistry of monopositive metal ions in the gas phase as studied by the laser ablation-molecular beam (LAMB) method. Reactions with ammonia-acetone binary clusters : Koji Furukawa, Satoru Nishio, Akiyoshi Matsuzaki, Hiroyasu Sato, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, **124(1-2)**, 9 - 14(1999).

参考論文

- ・水道水中のカルタップ・ピラクロニル・フェリムゾン LC/MS/MS 一斉分析法の開発と妥当性評価：小林憲弘，久保田領志，水田裕進，木村慎一，木村謙治，宮崎悦子，植田紘行，齋藤信裕，加登優樹，古川浩司，粕谷智浩，岩間紀知，高原玲華，林田寛司，塚本多矩，五十嵐良明，水道協会雑誌，**85(10)**，7-21(2016).
- ・水道水中のイミノクタジン・ジクワット・パラコート LC/MS/MS 一斉分析法の妥当性評価：小林憲弘，久保田領志，齋藤信裕，木村謙治，宮崎悦子，平林達也，水田裕進，木村慎一，宮本紫織，大倉敏裕，中村弘揮，粕谷智浩，古川浩司，塚本多矩，市川千種，高原玲華，林田寛司，京野完，佐久井徳広，山本五秋，齊藤香織，五十嵐良明，環境科学学会誌，**29(1)**，3-16(2016).
- ・水道水中のグルホシネート・グリホサート・AMPA の LC/MS/MS 一斉分析法の妥当性評価：小林憲弘，木下輝昭，鈴木俊也，高木総吉，吉田仁，望月映希，小林浩，辻清美，上村仁，植田紘行，齋藤信裕，岩間紀知，粕谷智浩，古川浩司，塚本多矩，市川千種，久保田領志，五十嵐良明，環境科学学会誌，**29(3)**，137-148(2016).
- ・液体クロマトグラフィーによる水道水中のホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒド同時分析法の開発と妥当性評価：小林憲弘，鈴木俊也，小杉有希，菱木麻佑，加登優樹，金田智，植田紘行，河相暢幸，北本靖子，土屋かおり，木村慎一，古川浩司，岩間紀知，中村弘揮，粕谷智浩，堀池秀樹，京野完，高原玲華，馬場紀幸，佐藤信武，久保田領志，五十嵐良明，水環境学会誌，**39(6)**，211-224(2016).
- ・液体クロマトグラフィータンデム質量分析による水道水中の臭素酸イオン分析条件の検討と妥当性評価：小林憲弘，小坂浩司，浅見真理，中川慎也，木下輝昭，高木総吉，中島孝江，古川浩司，中村弘揮，工藤清惣，粕谷智浩，土屋かおり，寺中郁夫，若月紀代子，加登優樹，小関栄一郎，井上智，村上真一，金田智，関桂子，北本靖子，堀池秀樹，米久保淳，清水尚登，高原玲華，齊藤香織，五十嵐良明，水環境学会誌，**40(6)**，223-233(2017).

謝辞

本論文の執筆にあたり、多大なるご指導、ご鞭撻を賜りました三重大学大学院 工学研究科 教授 金子 聡先生に心から感謝の意を表します。

本研究に際し、終始御懇篤な御指導を賜りました厚生労働省 国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部第三室 室長 小林憲弘先生、一般社団法人全国給水衛生検査協会に設置されている飲料水試験法検討委員会所属の船坂鎌三委員長様、川口寿之副委員長様、工藤清惣委員様、中澤智子委員様、佐藤亮平委員様、一般社団法人全国給水衛生検査協会の会長 奥村明雄様、事務局長 中嶋貴司様、大和田いづみ様に心から感謝の意を表します。

本研究は一般財団法人三重県環境保全事業団で行ったものであり、研究の機会を与えて頂きました前理事長 森本 彰様（現相談役）、理事長 高沖芳寿様、専務理事 岡本道和様、調査部長 北村和宣様、調査部技監 井面英二様、調査部第一分析課長 寺澤爵典様、第一分析課指導監 小林 正様、審査部管理課長 河野昭宏様、廃棄物管理部施設課 大上竜也様、調査部第二分析課 橋本 真様、萩尾珠世様、岡 佑季様、大谷美怜様、本澤大生様、川井満貴子様、小林珠美様、岡村由紀様、中村彰史様、鹿重美紀様、松田彰子様、調査部第一分析課管理チーム 鈴木淳史様、坂倉功達様ならびに元調査部長 河野一之様、元環境分析課指導監 福田雅生様、橋爪 清様、広瀬和久様、鳥居奈穂子様、黒田紗希様、立石一希様をはじめ事業団内の全ての方に感謝をいたします。

また、学生時代に研究活動の基礎を教えて頂きました元三重大学工学部教授 故佐藤博保様、元三重大学工学部准教授 松崎章好様、元三重大学工学部助手（元立命館大学理工学部教授）故西尾 悟様に心から感謝をいたします。

最後に本研究に対して妻 千景、娘 琴子と晶子のご理解とご援助に感謝をいたします。