

# 1. 高分解能質量分析計を用いた水質異常原因物質の特定（I） —多変量解析の活用—

中野 耕太  
山田 圭一  
今中 壮一

## 1. はじめに

安全で良質な水道水を安定的に供給するためには、平常時における水源水質の特徴把握に加えて、水質異常発生時における水質変動や原因物質を検知する分析方法の確立が必要不可欠である。しかし、水質検査や水質試験において測定対象ではない未規制物質に起因する水質異常の場合、その原因特定は極めて困難であることから、標準品を用いず水質を網羅的に把握するノンターゲットスクリーニングが近年試みられている<sup>1)</sup>。

液体クロマトグラフ高分解能質量分析計(以下、LC-HRMS)は、精密質量を取得可能な高い分解能を有しており、検出される化合物の組成式を高い精度で推定できるため、ノンターゲットスクリーニングに活用されているが、常在成分やバックグラウンドノイズ等も含めた膨大な数の物質が検出されるため、その中から水質異常原因物質を選択的に抽出するのが煩雑であった。そこで、LC-HRMSを用いて取得したノンターゲットスクリーニングのデータを対象に、従来のボルケーノプロットによる2群間差比較に加え、ピーク面積値比を2次元比較する評価手法を考案し、適用したところ水質異常原因物質を選択的に抽出されることがわかった。

## 2. 調査方法

### 2. 1 測定試料

令和4年に、水道事業者Aにおいて浄水の全有機炭素(TOC)濃度が水質基準値を超過する事例が発生した。本調査では、水質異常原因究明のために提供を受けた水質異常当日の原水及び浄水に加え、水質異常発生の前日の原水及び浄水を測定試料とした。

### 2. 2 試料採水及び前処理、分析条件

高速液体クロマトグラフは、Vanquish Flex UHPLC (Thermo Fisher Scientific 製)、高分解能質量分析計は、Q Exactive Focus (Thermo Fisher Scientific 製) を使用した。前処理方法、分析条件は著者ら<sup>2)</sup>の方法に基づいて行った。

### 2. 3 データ解析

水質異常原因物質を探索するため、ボルケーノプロットを用いた2群間差比較を行った。ボルケーノプロットとは、どの物質がどちらの試料で有意に多く含まれるかを網羅的に可視化することができる手法であり、得られる散布図の形が火山の噴火に似ているため、“ボルケーノプロット”と呼ばれている。散布図の各点は検出された各物質であり、縦軸- $\log_{10}(P\text{-value})$ は  $t$ -検定の有意水準を、横軸  $\log_2 \text{Fold Change}$  はピーク面積の平均値の比を底を2とする対数で表したものであり、縦軸が大きいほど2群間で有意な差があり、横軸の値の絶対値が大きいほど2群間の差が大きいことを示している。

本調査においては、水質異常の影響を受けていない試料と比較して4倍以上(横軸の絶対値が2以上)、かつ  $P < 0.05$  (縦軸が1.3以上)の物質を水質異常原因物質の候補と評価し、分子量や組成の確認、および候補物質の探索を行った。

### 3. 結果と考察

水質異常前日と当日の浄水および原水のクロマトグラムを比較したが、顕著な差は確認されなかったことから、ボルケーノプロットを用いた解析を試みた。水質異常当日浄水と前日浄水を対象に行った解析結果を図-1に示すが、横軸の正領域に位置する水質異常当日の浄水から複数の物質が検出された。しかし、これらの中には、水質異常に影響を及ぼさない原水由来の成分も含まれていると推測されたため、原水水質と合わせて比較することで、水質異常原因物質との識別を試みた。

原水及び浄水ともに  $P < 0.05$  となる物質のみを対象とし、 $\text{Log}_2$  Fold Change (当日浄水/前日浄水) と  $\text{Log}_2$  Fold Change (当日原水/前日原水) の関係をグラフ化することで、異常当日の原水と浄水に共通して多く検出された物質の抽出を試みた。その結果を図-2に示す。なお、図-2において、横軸と縦軸共に検出対象である  $|\text{Log}_2 \text{ Fold Change}| \geq 2$  の領域を網掛けで示した。第1象限の網掛け領域に位置する物質が水質異常当日の原水と浄水に共通して多く含まれる物質であり、水質異常当日浄水と前日浄水を比較した際に当日浄水に多く含まれていた 36 物質から 5 物質を選択的に抽出することができた。このうちピーク面積が最大であった物質の組成式は  $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}_7$  と推定されたが、考えられる構造異性体の数が非常に多く、構造決定には至らなかった。また、この 5 物質のピーク面積値はいずれも非常に小さかったため、これらは TOC 濃度上昇の原因物質とともに流入した可能性はあるものの、主たる原因物質ではないと判断した。これらのことから、今回の TOC 濃度上昇の主たる原因物質は逆相カラムに保持されにくい親水性の物質であると推測されたため、誘導体化法などにより原因物質を検出可能な状態にする必要があると考えられた。

このように、前処理なしのスクリーニング分析では水質異常の主たる原因物質の構造決定には至らなかったが、本手法は従来のボルケーノプロットから平常時の原水にも含まれる物質と区別し、水質異常原因物質を抽出できることがわかった。

### 4. まとめ

LC-HRMS を用いて、水質異常の原因物質の特定を試みた。データ解析の際にボルケーノプロットを用いることや、水質異常前日および当日の原水および浄水に含まれる物質の二次元比較を行うことで、原水に由来する水質異常原因物質を選択的に抽出することができた。なお、本報告の内容は、日本水道協会令和5年度全国会議で発表<sup>3)</sup>、および水道協会雑誌で報告<sup>4)</sup>したものである。

#### 【参考文献】

- 1) Wang, B., Wan, Y., Zheng, G., and Hu, J.: Evaluating a tap water contamination incident attributed to oil contamination by nontargeted screening strategies. *Environ. Sci. Technol.* Vol. 50, No. 6, pp. 2956-2963, 2016.
- 2) 中野耕太、外山義隆、今中壮一：高分解能質量分析計を用いた淀川水系における微量有機物のスクリーニング調査、令和4年度全国会議(水道研究発表会)講演集、pp. 638-639
- 3) 中野耕太、山田圭一、今中壮一：高分解能質量分析計を用いた水質異常原因物質の特定 (I) ー多変量解析の活用ー、令和5年度全国会議(水道研究発表会)講演集、pp. 734-735
- 4) 山田圭一、中野耕太、今中壮一：誘導体化ノンターゲットスクリーニング法を活用した水質異常原因物質の特定、水道協会雑誌、第92巻、第11号、pp. 2-13(2023)

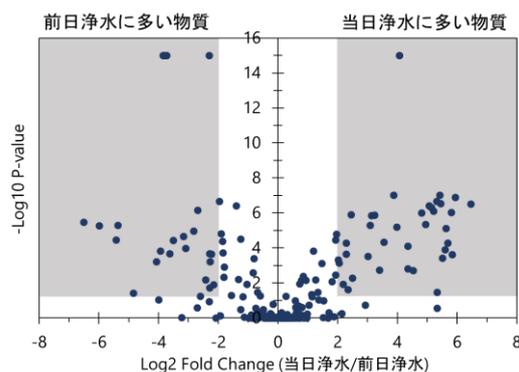


図-1 ボルケーノプロットを用いた水質異常当日/前日浄水に含まれる物質の解析

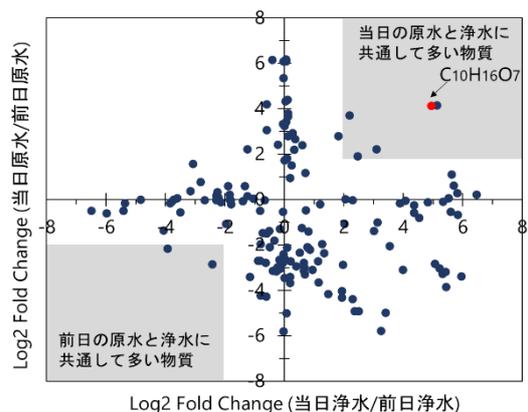


図-2  $\text{Log}_2$  Fold Change の二次元比較による原水由来成分との識別