

4. 高分解能質量分析計と多変量解析を用いた水質異常の検知および原因物質特定手法の検討

中野 耕太
山田 圭一
今中 壮一

1. はじめに

本市では水質異常時における迅速な原因物質の特定を目的として、高分解能質量分析計(LC-HRMS)を用いたノンターゲットスクリーニングによる有機物の網羅的探索手法の確立に向けた調査研究に取り組んでおり、著者らはこれまでに LC-HRMS を用いた淀川水系における微量有機物の実態調査を実施し、平常時の水質データの蓄積および多変量解析によるデータの可視化手法について報告している¹⁾。本調査では、水源において高濃度の工場排水が流入した事例を想定し、河川表流水に工場排水を添加して調製した試料を LC-HRMS によって分析し、得られたデータを多変量解析により可視化することで添加試料の識別および添加試料に特徴的な物質の抽出が可能かを検証した。

2. 調査方法

2. 1 試料の調製

淀川表流水である本市柴島浄水場原水を各日1検体ずつ連続で5日間採水し、それぞれを試料A~Eとした。また、試料Cに染色工場の排水を1%添加した試料を試料C'とした。試料A~E、C'をLC-MS用ガラスバイアルに1mL分注し、分析に供した。

2. 2 分析および解析

分析装置はLC-HRMSを使用し、表-1に記載の分析条件に従い分析を行った。分析によって得られたデータをCompound Discoverer 3.2 (Thermo fisher Scientific)を用いてクロマトグラムの解析及びデータの抽出を行い²⁾、得られた各物質の面積値を多変量解析ソフトウェアSIMCA 15.0 (Sartorius Stedim Data Analytics AB)に取り込み、主成分分析及び直交部分的最小二乗判別分析(以下、判別分析)による多変量解析を行った³⁾。

3. 結果および考察

3. 1 データの前処理

試料A~E及びC'の測定により合計2537物質が検出された。このデータを「対ブランク水面積値比」、「精度確認用試料の変動係数」、「各試料間の面積値比」、「Welchのt検定」等のデータの前処理により、ノイズピークや常在成分等を除外した結果、各試料における特徴的な物質は253物質まで絞られた。

3. 2 主成分分析による添加試料の識別

前述の253物質を対象に、主成分分析によって各試料間の類似性を比較し添加試料の識別を試みた。主成分分析とは統計解析の一種で、データセットに含まれる情報を低次元化し主成分に集約しプロットすることで、試料間の類似性を可視化できる手法であり、スコアプロットの寄与率が大きい主成分軸においてプロット間の距離が遠いほど試料間の類似性が低いことを示す。本調査では、第1主成分(PC1)軸および第2主成分(PC2)軸でプロットし、各試料間の類似性を可視化した。

各試料の主成分スコアプロットを図-1に示す。PC1軸で試料C'が、PC2軸で試料A、Eと試料B、C、Dが分離され、各主成分の寄与率はそれぞれ59%(PC1)と17%(PC2)であった。したがって、寄与率の高いPC1軸で距離が遠くプロットされた試料C'が他の5試料と含まれる物質が異なる、すなわち5つの試料間で最も類似性が低いと考えられた。このことから、主成分分析によって添加試料を識

表-1 LC-HRMSの分析条件

【LC条件】							
装置	Thermo Fisher Scientific Vanquish Flex UHPLC						
分析カラム	ChromaNik Technologies SunShell RP-AQUA 2.1 mm × 100 mm, 2.6 μm						
ガードカラム	ChromaNik Technologies SunShell Guard Cartridge Column RP						
移動相	A	200 mM 酢酸アンモニウム					
	B	メタノール					
	C	精製水					
Flow rate	0.3 mL/min						
Injection volume	50 μL						
Column temp.	40 °C						
Flow gradient	Time [min]	0	3	5	16	23	33
	A[%]	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
	B[%]	0	0	50	97.5	97.5	0
	C[%]	97.5	97.5	47.5	0	0	97.5

【MS条件】	
装置	Thermo Fisher Scientific Q Exactive Focus
Ionization	ESI /positive, negative
Spray Voltage	3.5 kV/positive, 2.5 kV/negative
Capillary temp.	320 °C
Aux gas heater temp.	350 °C
Sheath gas	50 arb
Aux gas	15 arb
S-Lens level	50 arb
【Full Scan】	
Resolution	70000 (FWHM)
Scan range	m/z 70-1000
【ddMS2】	
Resolution	17500 (FWHM)
Scan range	m/z 50-750
Stepped NCE	15, 30, 45 eV
Loop count	3

別できたと考えられた。

3. 3 判別分析による物質の抽出

次に判別分析によって試料C' に特徴的な物質の抽出を試みた。判別分析とは、複数の群に分類されている試料がどのような要因（物質）で分類されているかを解析する手法である。縦軸に試料C の分類への各物質の寄与率の高さを示す変数重要度(VIP 値)、横軸に検出された 253 物質を VIP 値の高い順に並べた棒グラフを図-2 に示す。

試料C' に特徴的な物質と推定される VIP 値の高い上位 50 物質について抽出し構造解析を行ったところ、50 物質の内 12 物質がそれぞれ合成染料 2 物質、黄変防止剤 1 物質、界面活性剤 9 物質として同定された。これらの物質は今回添加した工場排水に含まれる物質であることから、添加試料に特徴的な物質を抽出できたと考えられた。

4. まとめ

添加試料 1 検体を含む試料 6 検体を LC-HRMS により分析し、得られたデータを主成分分析により解析することで、添加試料を識別することができた。また、判別分析により工場排水由来と推定される物質を抽出することができたため、本分析法及び解析法は水質異常の検知と原因物質の特定に適用可能であると考えられた。

【参考文献】

- 1) 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 年度水道研究発表会講演集、日本水道協会、638-639 (2022)。
- 2) 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、92(11)、2-13 (2023)。
- 3) 山田圭一、中野耕太、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における直交部分的最小二乗判別分析の有効性検証、水道協会雑誌、93(4)、2-9 (2024)。

本報告は、日本水道協会水道研究発表会にて発表したものである。

(山田圭一、中野耕太、今中壮一：高分解能質量分析計と多変量解析を用いた水質異常の検知および原因物質特定手法の検討、令和 6 年度水道研究発表会、日本水道協会、698-699 (2024))

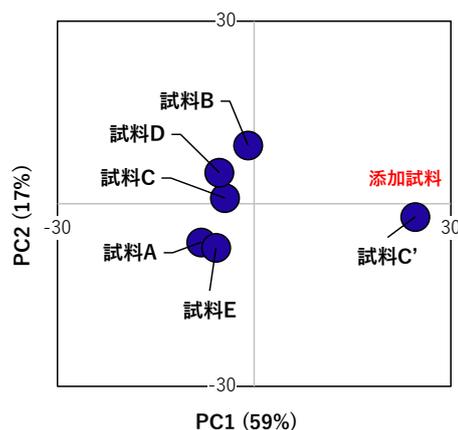


図-1 主成分スコアプロット

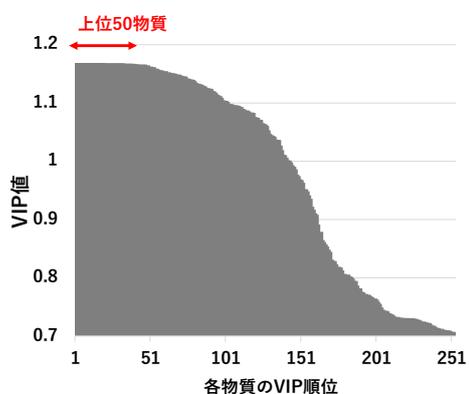


図-2 各物質のVIP値