

4. 高分解能液体クロマトグラフ質量分析計によるスクリーニング 分析調査に関する報告

外山 義隆
平林 達也
今中 壮一

1. はじめに

四重極型液体クロマトグラフ質量分析計は、主に水質検査等の定量分析に活用され、質量分析計のスタンダード機として、広く普及している。しかし、得られるマススペクトルはフラグメントイオンの生成する数が少なく、ガスクロマトグラフ質量分析計のようなライブラリーも整備されていないことから定性分析に優れているとは言い難い。一方、高分解能液体クロマトグラフ質量分析計（以下、HRLCMS）は、高い分解能を有し、精密質量を取得できることから、フラグメントイオンを構成している組成式を推定できるため、定性分析に長けている装置である。

そこで現在把握できていない淀川原水中に含まれる微量有機物の存在実態を調査するため、このようなHRLCMSの利点を活かしたスクリーニング分析法の検討を行った。スクリーニング分析とは、HRLCMSから網羅的に得られた情報をデータベースと照合することで、標準物質を用いなくても試料中に含まれる物質の推定が可能となる手法である。また、平常時における淀川原水のデータを蓄積しておくことで、水質事故発生時に平常時と比較し、その差分を解析することで、事故原因物質を捉えることにも活用できる。

本稿では、スクリーニング分析法の検討を行うとともに、定期的に本市の水源における試料水について、スクリーニング分析による情報を収集し、農薬及び人工甘味料に関する実態の把握を行ったので、その結果について報告する。

2. 調査方法

2. 1 試薬

精製水は超純水製造装置（Milli-Q Integral 10、Merck製）で精製したものを使用した。メタノール（関東化学製）及び酢酸アンモニウム（ジエールサイエンス製）はLC/MS用を使用し、アスコルビン酸ナトリウム（関東化学製）は特級を使用した。

2. 2 分析装置

液体クロマトグラフは、Vanquish Flex UHPLC（Thermo Fisher Scientific製）、質量分析計は、Q Ex active Focus（Thermo Fisher Scientific製）を使用した。

2. 3 試料の採取及び前処理

試料の採取には15mLポリプロピレン製遠沈管（サンプラテック製）を使用し、満水にして直ちに密栓した。試料に残留塩素が含まれる場合は、アスコルビン酸ナトリウム0.01～0.02gを予め加えたものに採取した。その後、採取した試料に10%量のメタノールを加えて混合し、スクリューパーバイアル（LC/MS用 Waters製）に分取した。濁質を有する試料は、10%量のメタノールを加えて混合し、カートリッジフィルター（孔径：0.2μm、IC MILLEX-LG、ミリポア製）を用いてろ過したものをスクリューパーバイアルに分取した。

2. 4 調査対象

水道水質基準において、農薬類は水質管理目標設定項目に位置付けられており、「対象農薬リスト掲載農薬類」、「要検討農薬類」、「その他農薬類」、「除外農薬類」に分類されている。調査対象とした農薬は、「その他農薬類」、または何れにも分類されない農薬であるものの、近畿5府県の出荷量が比較的多いものと

表-1 調査対象農薬の近畿5府県出荷量（2018年度）

農薬名	分子式	用途	近畿5府県出荷量 (t/year)
アミスプロム	C13H13BrFN5O4S2	殺菌剤	1.0
イソチアニル	C11H5C12N3O5	殺菌剤	2.9
イマズスルフロン	C14H13C1N6O5S	除草剤	11.1
クロラントラニリプロール	C18H14BrC12N5O2	殺虫剤	1.0
ビリフルキナゾン	C19H15F7N4O2	殺虫剤	1.1
フェノキサスルホン	C14H17C12N04S	除草剤	2.5
プロジアミン	C13H17F3N4O4	除草剤	2.0
プロスルホカルブ	C14H21N05	除草剤	11.7
ヘキサジノン	C12H20N4O2	除草剤	1.1
メタゾスルフロン	C15H18C1N7O7S	除草剤	0.3

した（表-1）。人工甘味料については、大阪市内河川で比較的高い濃度での検出が報告されている¹⁾アセスルファム及びスクラロースとした。

2. 5 採水地点

採水地点は、淀川本川9地点、淀川本川に流入する支川5地点及び淀川水系に処理水を放流する下水処理場及び工場（以下、事業所排水）9地点及び柴島浄水場原水とした。令和2年度の採水回数は、柴島浄水場原水については36回（6月17日から週1回の頻度で採水）、その他の淀川本川は3回、支川は2回、事業所排水は4回である。

また、柴島浄水場原水で検出された物質については、柴島浄水場における各処理過程の挙動についても調査を行った。採水地点を図-1、柴島浄水場の処理フローを図-2に示す。

3. 結果及び考察

3. 1 分析条件

分析条件を表-2に示す。本調査では、水質事故発生時の活用を想定していることから、分析の迅速性を優先するため、濃縮は行わず前処理のみの直接注入とした。分析条件は、多くの物質の検出と再現性が確保できるよう設定したものとなっている。

また、データの取得モードはData Independent Acquisition（以下、DIA）とした。DIAとは、イオン強度の強弱に関わらず、フルスキャンで設定した m/z の範囲における、検出可能な全成分に関するプリカーサイオン及びフラグメントイオンの精密質量スペクトルを取得できる方法であり、データの取りこぼしを最小限に抑えることができる特徴を持つ。DIAでデータを取得しておくことで、今後新たなターゲット物質が出てきた場合でも、再測定をすることなく、遡って過去の取得データの解析も可能となる。また、フラグメンテーションにはStepped Collision Energyモードを使用し、3パターンのコリジョンエネルギーでフラグメント化することで、最適なコリジョンエネルギーが不明な未知物質であっても、構造情報を取得することも可能となる。また、本装置は四重極型と同様、イオン化の正負極性切替が行えるため、正極（以下、pos）、負極（以下、neg）の同時分析が可能である。しかし、表-2に示す条件でpos、negの同時分析を行うと、スキャンポイント数が減少した。分解能を落とすことで、スキャンポイント数を増やせるため、上記の問題を解決できると考えられるが、定性能を優先し分解能は下げないこととし、pos、negは別々に分析することにした。

表-2の条件で分析を行い、データベース検索した結果の一例を図-3に示す。プリカーサイオンは理論 m/z に対して小数点以下3桁まで合致し、保持時間、同位体パターン及びプロダクトイオンパターンについても高い一致度を示していることから、この6.82分に検出されたピークはスクラロースであることが

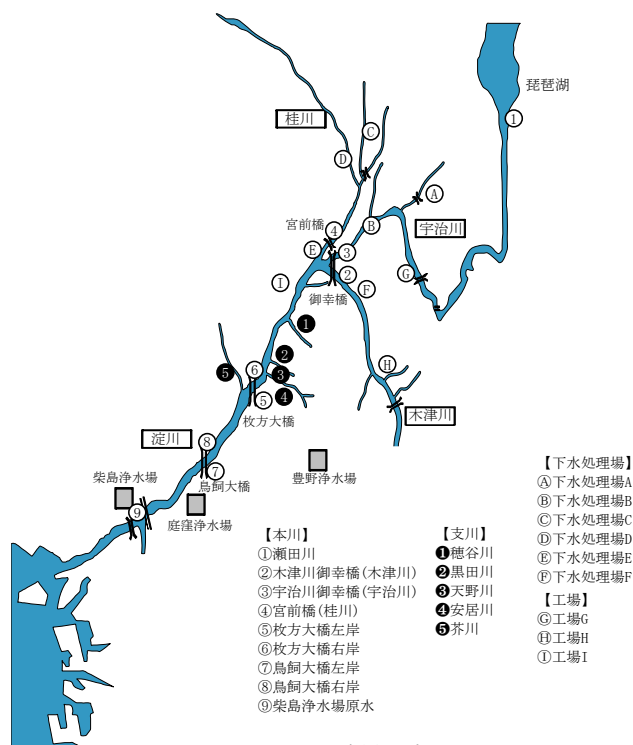


図-1 採水地点

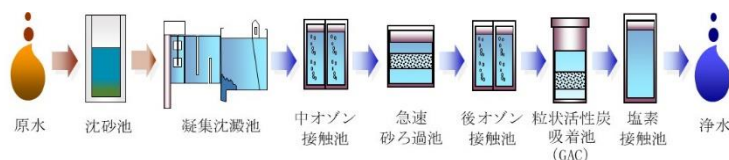


図-2 柴島浄水場処理フロー

表-2 分析条件

表-2 分析条件

【LC条件】		ThermoFisherScientific Vanquish Flex UHPLC								
Column		Waters ACQUITY UPLC BEH C18 1.7μm 2.1×100mm								
Mobile phase	A	5mM酢酸アンモニウム/精製水								
	B	5mM酢酸アンモニウム/メタノール								
Flow rate		0.3mL/min								
Injection vol.		50μL								
Column temp.		40℃								
Gradient	Time [min]	0	10	13	13.01	20	20.01	30		
	A [%]	95	5	5	1	1	95	95		
	B [%]	5	95	95	99	99	5	5		

【MS条件】		ThermoFisherScientific Q Exactive Focus	
Ionization mode	ESI		
Spray voltage	positive/3500V	negative/2500V	
Capillary temp.	250℃		
Aux gas heater temp.	300℃		
Sheath gas	50arb		
Aux gas	15arb		
S-Lens level	50		
【Full Scan】			
Resolution	70000 (FWHM)		
Mass width	m/z 70~1000		
【DIA】			
Resolution	17500 (FWHM)		
Isolation range	m/z 70~250, 250~550, 550~1000		
Stepped (N) CE	15, 35, 50 eV		

表-2の条件で分析を行い、データベース検索した結果の一例を図-3に示す。プリカーサイオンは理論 m/z に対して小数点以下3桁まで合致し、保持時間、同位体パターン及びプロダクトイオンパターンについても高い一致度を示していることから、この6.82分に検出されたピークはスクラロースであることが

推定される。このように、データベースの情報と照合することで、標準物質を用いずに物質の検出及び推定が可能であることが示された。

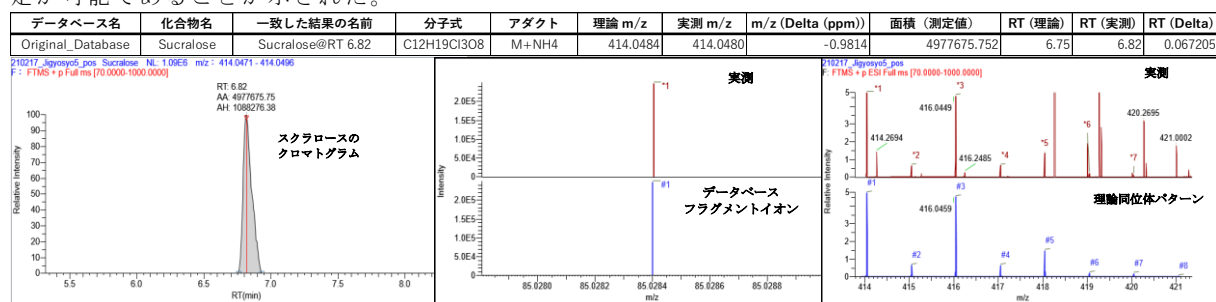


図-3 データベース検索結果の一例

3. 2 農薬類

3. 2. 1 検索結果

表-1の調査対象農薬について検索を行った結果、クロラントラニプロール、ヘキサジノン及びメタゾスルフロンが検出された。検出状況を図-4及び図-5に示す。

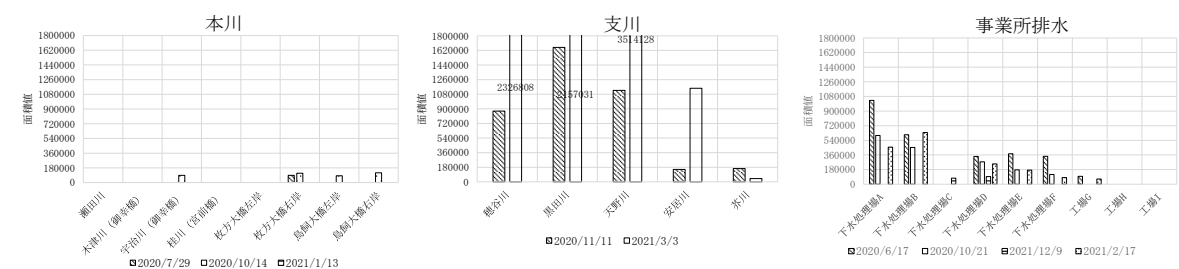
クロラントラニプロールは水稻、果樹、野菜、大豆及び茶等に使用される殺虫剤である²⁾。検出された採水地点は支川の穂谷川及び天野川であり、淀川本川及び事業所排水からは検出されなかった。この結果から、主に穂谷川及び天野川流域周辺で使用され、支川へ流入したものの、淀川本川での希釈に加え、水中光分解性半減期が0.31日であることから²⁾、流下中に分解することで、本川では検出されなかったと推察される。

ヘキサジノンは除草剤であり、使用目的は主として樹木等における雑草防除剤とされる³⁾。本川、支川及び事業所排水で検出され、特に芥川を除く、左岸側の4箇所の支川において、面積値が大きい結果となった。また、11月に比べて、3月の面積値の方が大きかったのは、ヘキサジノンは土壌処理型除草剤とし

クロラントラニプロール



ヘキサジノン



メタゾスルフロン



図-4 調査対象農薬の検出状況

でも使用されており³⁾、土壌処理型除草剤は雑草が繁茂する前の時期である2月から3月が散布に適した時期とされているため、その影響を受けた可能性があると考えられた。またヘキサジノン、土壌及び水中における推定半減期は60～230日であるため、土壌及び水中において分解されにくく、高い移動性を示す⁴⁾ことから、土壌中で残存していたものが降雨等の影響により流下した可能性も考えられた。

事業所排水では、下水処理場放流水で比較的季节を問わず、大きな変動無く検出された。また、工場排水1地点からも検出されている点については、構内で樹木用の除草剤として散布されたものが排水に含有したと推察する。

また、本川では宇治川での検出は確認されたものの、瀬田川、木津川及び桂川では検出されず、枚方大橋から下流の採水地点では検出されていることから、支川及び事業所排水が主な負荷源と考えられた。

メタゾスルフロンは水稻用除草剤として使用されており⁵⁾、本川から検出され、支川及び事業所排水からは検出されなかった。本川では、木津川及び桂川では検出されておらず、瀬田川、宇治川及び枚方大橋から下流で検出されていることを鑑みると、主に滋賀県の水田で使用されたものが、琵琶湖へ流入し、瀬田川、宇治川を通じて淀川本川へ到達したと推察された。

3. 2. 2 浄水処理過程における挙動

柴島原水で検出されたヘキサジノン及びメタゾスルフロンについて、浄水処理における挙動を調査した結果を図-6に示す。ヘキサジノンは、各処理において面積値は減少傾向を示しており、後オゾン接触池流出水以降は検出下限以下であった。ヘキサジノンはトリアジン系農薬であり(図-7)、オゾンとの反応性は低いとされるが⁶⁾、トリアジン骨格に結合するジメチルアミンはオゾンとの反応性があるため⁶⁾、オゾン処理で分解されたと推察する。また、メタゾスルフロンはスルホニルウレア系農薬であり(図-8)、構造的にオゾンとの反応性は高くないと推測されたが、中オゾン接触池で面積値が減少している挙動を示しており、また急速砂ろ過池でも面積値は減少し、急速砂ろ過池以降は検出下限以下であった。

3. 3 人工甘味料

3. 3. 1 検索結果

人工甘味料は、下水処理場における処理効率が低いと報告されており⁷⁾、下水処理場の影響指標となり得ると考えられている⁸⁾。その検索結果を図-9及び図-10に示す。事業所排水では、全ての下水処理場からアセスルファム及びスクラロースが検出された。既報⁷⁾のとおり、アセスルファム及びスクラロースは、下水処理過程での処理効率が低いことにより、排水に残留していることが確認された。アセスルファム及びスクラロースは、オゾンで分解すると報告⁹⁾されているが、各下水処理場のオゾン処理導入の有無による処理性の差異は認められなかった。また、工場排水2地点からの検出も確認されたが、人口甘味料の製造等を行っている工場ではないことから、排水には構内の生活雑排水も含有している可能性が考えられる。淀川支川においてもアセスルファム及びスクラロースが検出され、淀川右岸に位置する芥川と比較すると、左岸に位置する4支川の方が面積値は高い傾向を示し、アセスルファムについては、下水処理場排水と同程度の面積値で検出された。この結果から、淀川左岸の4支川は下水放流水や生活雑排水の負荷が高く、

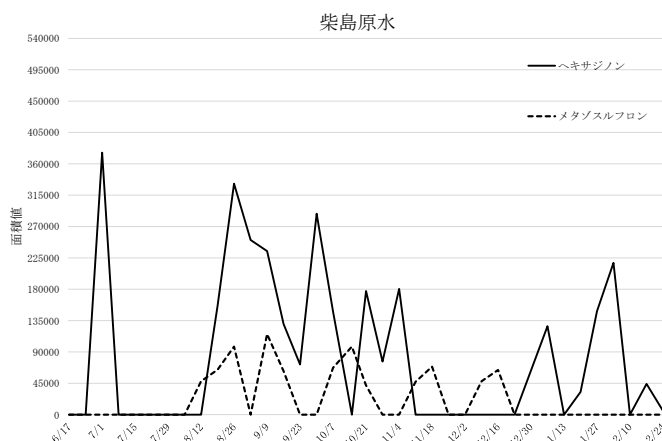


図-5 柴島浄水場原水の測定対象外農薬検出状況

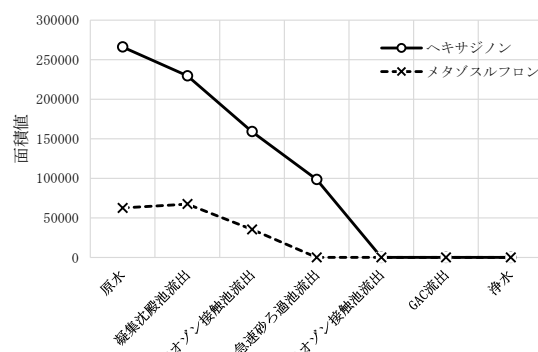


図-6 ヘキサジノン及びメタゾスルフロンの浄水処理における挙動

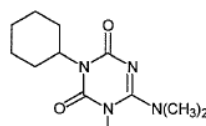


図-7 ヘキサジノン

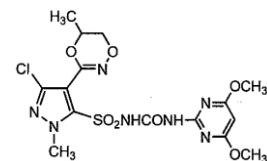


図-8 メタゾスルフロン

特に安居川ではその傾向が顕著であることが窺える。

淀川本川では、検出されない日があったものの、大きな変動は見られなかった。琵琶湖流域平均降水量を図-10に示すが、検出されなかった採水日付近では降水量が多い傾向であることから、降雨によって河川水における下水の割合負荷が低下したためと推測した。また、瀬田川での検出面積値が小さい傾向を示しており、下流の採水地点と比較して下水放流水や生活雑排水の負荷が低いことが窺える。以上の結果から、事業所排水及び支川からの流下が淀川本川の人工甘味料の負荷源となっていることが示され、人工甘味料は下水処理水や生活雑排水等の人為的な負荷影響の指標となることが確認された。

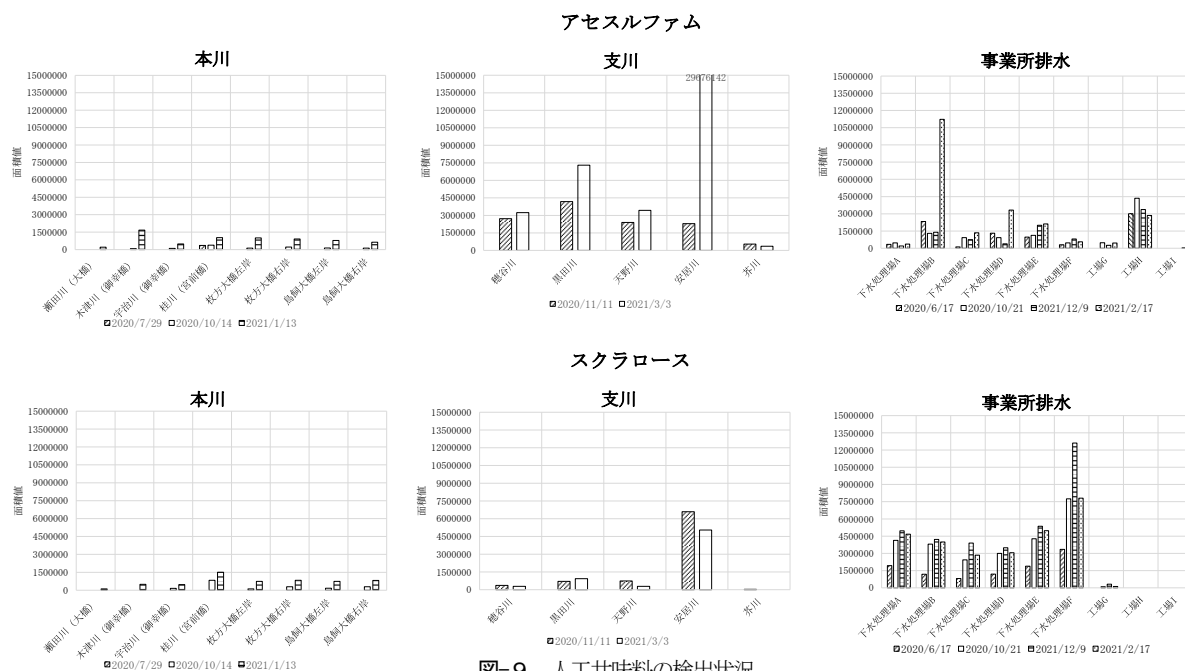


図-9 人工甘味料の検出状況

3. 3. 2 浄水処理過程における挙動

アセスルフアム及びスクラロースの浄水処理過程における挙動を調査した結果を図-11に示す。アセスルフアムは、中オゾン及び後オゾン接触池で面積値の減少が認められた。スクラロースについては、中オゾン接触池での面積値の減少はほぼ見られないが、後オゾン接触池で面積値の減少が認められた。オゾン処理で面積値が減少している挙動については既報⁹⁾と矛盾は無いが、アセスルフアムよりもスクラロースの方が分解は速いと報告されており、既報と本調査では相違が見られた。その他の処理ではアセスルフアムについては、急速砂ろ過処理で面積値の減少が見られるものの、両物質ともにGACではほぼ処理されておらず、浄水での残存が確認された。この結果から、アセスルフアム及びスクラロースは、浄水処理過程で完全に処理することは困難であることが示された。アセスルフアム及びスクラロースは、厚生労働大臣が指定する指定添加物に該当し、食品衛生法に基づき安全性が確認されており¹⁰⁾、浄水に残存することによる健康影響等の問題は無いと考えられる。

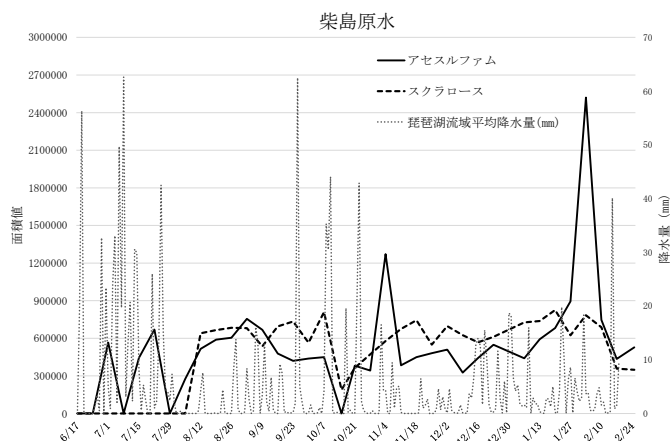


図-10 柴島浄水場原水の人工甘味料検出状況

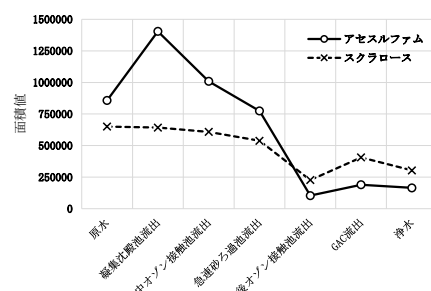


図-11 アセスルフアム及びスクラロースの浄水処理における挙動

4. まとめ

- 1) HRLCMS によるスクリーニング分析法を検討し、標準物質を用いずにデータベースの情報と照合することで、物質の検出実態の把握及び推定が可能となった。
- 2) スクリーニング分析により、「対象農薬リスト掲載農薬類」外農薬の検索を行った結果、クロラントラニプロール、ヘキサジノン及びメタゾスルフロンが検出された。
- 3) 柴島浄水場原水で検出されたヘキサジノン及びメタゾスルフロンについて、浄水処理での挙動を調査したところ、両物質とも処理過程において検出下限以下となっていることが確認された。
- 4) 人工甘味料を検索した結果、一部の工場排水を除く全ての採水地点でアセスルファム及びスクラロースが検出された。検出状況から事業所排水及び支川が人工甘味料の負荷源となっていることが示された。
- 5) 人工甘味料の浄水処理における挙動を調査した結果、オゾン処理で一定除去されているが、その他の処理過程ではほぼ処理されず、浄水にも残存していることが確認された。

5. 参考文献

- 1) 山口之彦、山本敦史、角谷直哉：大阪市内河川における人工甘味料の分布状況、大阪市立環境科学研究所報告、平成 28 年度、第 79 集、pp.29-34 (2017)
- 2) 一般社団法人日本植物防疫協会：農薬ハンドブック pp.106-108 (2016)
- 3) 一般社団法人日本植物防疫協会：農薬ハンドブック pp.720-721 (2016)
- 4) 食品安全委員会：農薬評価書、ヘキサジノン、pp.8 (2008)
- 5) 一般社団法人日本植物防疫協会：農薬ハンドブック pp.666-667 (2016)
- 6) 吉田隆、NTS：OH ラジカル類の生成と応用技術、pp.232-233 (2008)
- 7) M.Scheurer、HJ.Brabch、FT.Lange：Analysis and Occurrence of Seven Artificial Sweeteners in German Waste Water and Surface Water and in Soil Aquifer Treatment(SAT)、Anal Bioanal Chem、394(6) pp.1585-1594 (2009)
- 8) 長谷川敦子：LC/MS による環境水中の人工甘味料の分析、神奈川県環境科学センター研究報告、33 号、pp.58-62 (2011)
- 9) 陳冰子、李程、谷口省吾、濱崎竜英、水野忠雄：オゾン/過酸化水素処理による人工甘味料の分解、第 28 回日本オゾン協会年次研究講演会講演集、pp.107-110 (2019)
- 10) 独立行政法人農畜産業振興機構、近年における人工甘味料の動向、https://www.alic.go.jp/johos/joho07_000878.html