

LC-Q/TOF による災害時等を想定した水質の緊急調査手法の開発

山本道方*

Development of rapid measurement method in water samples by LC-Q/TOF
assuming emergency monitoring such as disaster

Masamichi Yamamoto*

キーワード：LC-Q/TOF，緊急調査手法

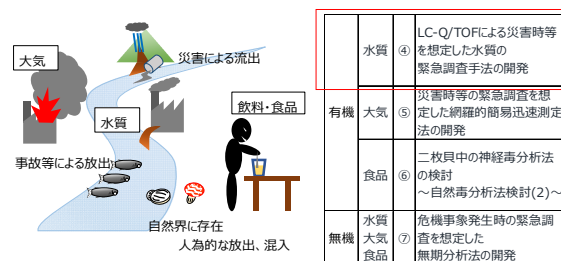
Key Words：LC-Q/TOF，rapid measurement method

はじめに

高度な分析技術を習熟し，化学物質の問題に適切に対応できることが我々に求められる役割である．今回の取組はまさにそのための取組であり，災害／事故で流出した有害物質によって健康被害が発生し緊急迅速な対応が必要となる事態（危機事象）に適切に対応するためには，原因物質を迅速に特定できる緊急調査手法の開発が必要となる．そうして始まったのが当センターの危機事象に対する取組である．全ての理化学グループがこの課題に取り組むことで，あらゆる危機事象への対応を目指した（図1）．そこで本報告では，水質に関する取組の成果について報告する．

まず取組にあたり危機事象への対応には何が必要か検討するところから開始した（図2）．これまで我々が注力してきた分析手法は既知物質を測定するいわゆるターゲット分析（図2中“1”で示す部分）であり，これまで行政検査に活用されてきた．しかし実はこの方法では全く未知のものが原因となる危機事象には対応することができない．危機事象における未知物質に対応するためには，未知のものを測定できるノンターゲット分析が必要となる（図2中“3”で示す部分）．さらに例えノンターゲット分析であっても，解析に

長時間を要するものであっては意味がない．迅速に，事案の発生した翌日，あるいは当日に結果を出すことが重要となる．つまり緊急調査手法の開発には，これまでとは全く異なる分析手法で，あらゆる原因物質を迅速に特定できる（図2中“4”で示す部分），新たな取組が必要だと考えた．



全ての理化学グループが取組、あらゆる危機事象に対応

図1．危機事象に対するセンターの取組

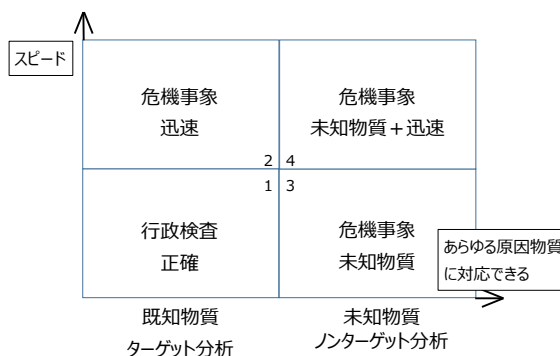


図2．本研究の着眼点

そこで新たに導入したのが LC-Q/TOF (図3) である。これまでの LC-MS/MS が決められた対象物質だけを測定するのに対し、LC-Q/TOF では全てを検出できる。このため全く未知のものであっても対応できるだけでなく、さらに検出した全ての物質について精密な質量を把握できる。すなわち LC-Q/TOF でノンターゲット測定すると、水質の全ての情報がデジタル化され記録できる。この膨大なデジタルデータ (環境デジタルデータ) から原因物質を絞り込み、精密質量から特定することができれば、危機事象において原因物質を迅速に特定できるものと考えた (図4)。

そこで本研究では、まずは普段の河川 (平常時) の状態を把握することから取組を開始した。危機事象に対応するためには、普段の河川にどのような化学物質がどの程度残留しているか十分に調査しておく必要があると考えた。

一方で、LC-Q/TOF によるノンターゲット分析では膨大な環境デジタルデータが得られるため、その中から原因物質をいかに特定できるかが課題となる。そこで着目したのが差分解析である。災害がまさに起きている地点と、その影響を受けていない地点で検体を採取し、測定結果を比較し、災害地点に顕著な化学物質を絞り込むことで、原因を迅速に特定できると考えた。このことを検証するため、工業製品を原因物質と見立てた模擬試料を調整し、差分解析を適用することで、原因物質を迅速に特定できるか検証した。

最後に、開発した緊急調査手法を実際の魚のへい死事故に適用することで、本手法によって緊急迅速に原因物質を特定できるかについて検証したので報告する。

実験方法

1. 試薬等

試薬は、富士フィルム和光純薬製のメタノール (LC/MS 用)、アセトニトリル (LC/MS 用)、アセトン (残留農薬・PCB 試験用 濃縮 5000)、1

mol/L 酢酸アンモニウム溶液 (高速液体クロマトグラフ用)、関東化学製のジクロロメタン (残留農薬・PCB 試験用 濃縮 5000)、残留農薬試験用農薬混合標準液 58 (農薬 35 成分を含有、各成分 10 mg/L) を使用した。精製水はヴェオリア・ジェネッツ製 PURELAB Chorus で精製したものを使用した。

固相カートリッジは Waters 製 Oasis HLB Plus Short Cartridge を使用した。ガラス繊維ろ紙は cytiva 製 Whatman GF/C φ47 mm を使用した。

2. 環境試料の前処理方法

前処理方法¹⁾は、環境試料 500 mL を固相抽出カラム (Oasis HLB) に通液した。通液できない程度の濁りがあった場合はあらかじめろ過処理し、ろ液及びろ紙をアセトンで超音波処理した抽出液を合わせたものを通液した。固相抽出カラムを脱水乾燥した後、メタノール 3 mL、アセトン 3 mL、ジクロロメタン 3 mL で溶出した。溶出液を濃縮乾固した後、メタノールで 1 mL に定容した。

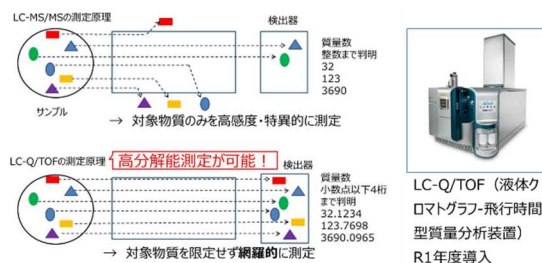


図3. LC-Q/TOF によるノンターゲット分析

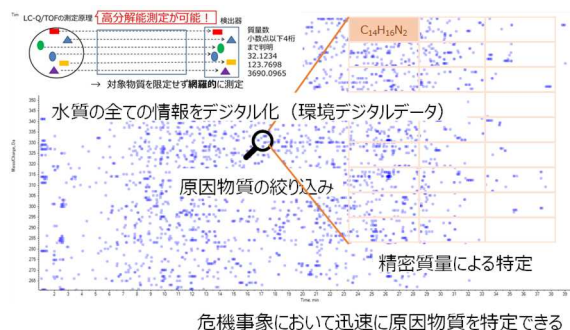


図4. 環境デジタルデータの活用による緊急調査手法の開発

3. 試験液の測定方法

測定は LC-Q/TOF を使用し、Q/TOF は ESI-positive または ESI-negative でイオン化、SWATH モードで測定、LC は ODS 系カラムを使用、グラジエント分析した (表 1)。

4. 模擬試料 (工業製品) の調製方法

原因物質と見立てた工業製品 (PFOS, 塩化ベンザルコニウム) を溶媒で希釈し、河川水中 1.0 µg/L に調製したものを模擬試料とした。工業製品を添加しない河川水と差分解析した。

5. 差分解析方法

原因物質が流入する地点 (事故時) とその影響を受けていない地点 (平常時) の 2 地点の試験液を LC-Q/TOF で測定し、得られた TIC クロマトグラムを重ね合わせ比較することで、事故時に顕著に存在する成分を絞り込んだ。TIC クロマトグラムには TOFMS 測定、あるいは Q/TOF 測定 (SWATH モードで測定したもので、プリカーサーイオンの質量範囲が分画された TIC クロマトグラム) によるものを使用した。

結果および考察

1. 県内河川における残留濃度調査 (平常時)

危機事象に対応するためには、普段の河川の状態をしっかりと把握しておく必要があることから、河川中にどのような化学物質がどの程度残留しているか調査した。普段の河川として和歌山市内の河川 (市堀川) のノンターゲット分析により得られた環境デジタルデータ (図 5) を示す。精密質量から特定された化学物質の一つにジメチルベンジジンがあり、複数の異性体が存在することから、流域で製造され、副生した異性体を精製で除去した排水が河川に流入しているものと予想された (図 6)。これ以外にも河川には多くの成分が検出された (図 7)。個々の成分について個別に濃度を把握することは難しいため、アバンドランスの順に整理すると、その上位にあるジメチルベンジジンの濃度から、普段の河川における工業製品の

残留濃度はおよそ 10 µg/L を下回るということが分かった。

表 1. 測定条件

[LC 条件]	
使用機種	: AB Sciex 製 Exion AC LC システム
カラム	: GL Sciences 製 Inertsil ODS-4HP 3 µm, 2.1×150 mm
移動相	: (A) 5 mM 酢酸アンモニウム水溶液
	: (B) 5 mM 酢酸アンモニウム含有メタノール
	: 0 → 30 min A : 95 → 5 B : 5 → 95 linear gradient
	: 30 → 40 min A : B = 5 : 95
	: 40 → 40.01 min A : 5 → 95 B : 95 → 5
	: 40.01 → 50 min A : B = 95 : 5
カラム流量	: 0.3 mL/min
カラム温度	: 40°C
試料注入液量	: 2 µL
[MS 条件]	
使用機種	: AB Sciex 製 X500R QTOF
イオン化法	: ESI
測定モード	: SWATH® Acquisition

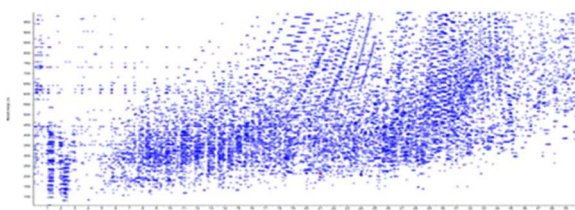


図 5. 平常時 (市堀川) の環境デジタルデータ

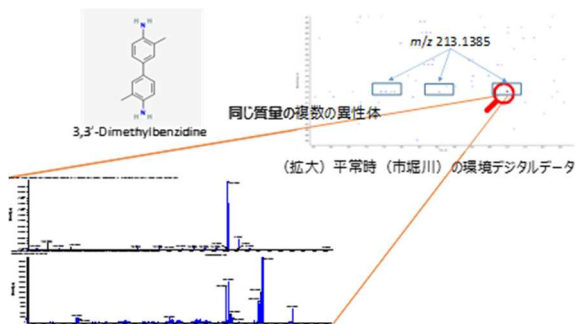


図 6. 特定された化学物質 (ジメチルベンジジン)

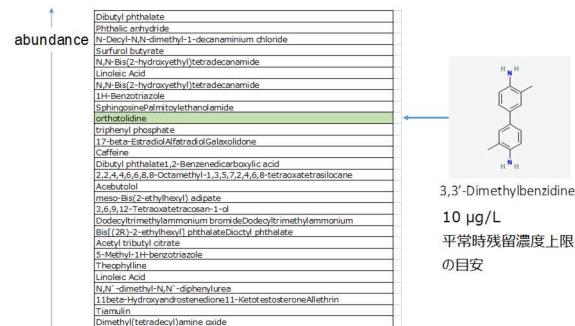


図 7. 平常時 (市堀川) で検出された PRTR・化審法対象物質

また県内河川を対象に農薬成分の残留状況を把握すると、普段の河川において多くの農薬成分が検出され、残留濃度は最大で 0.4 µg/L であることが分かった (図 8)。このように普段の河川の残留状況が分かると、これを基準として、これを超えて存在するものは危機事象における原因物質であると判断できる目安とすることができた。

2. 差分解析による原因物質の特定

問題は、この普段の河川の残留濃度を超えて存在する原因物質をいかに特定できるかにある。LC-Q/TOF によるノンターゲット分析で得られる環境デジタルデータは極めて膨大である。そこで着目したのが差分解析である。差分解析とは、災害がまさに起きている地点とその影響を受けていない地点で検体を採取し測定結果を比較する手法で、災害がまさに起きている地点に顕著なものを絞り込むと、原因を迅速に特定できると考えられる。このことを検証するため、工業製品を原因物質と見立てた模擬試料を調整し、これに差分解析を適用した。顕著な成分があり、その精密質量から PFOS を特定することができた (図 9)。さらに別の物質でも同様にすると、原因物質であるベンザルコニウムを特定でき、確かに差分解析を適用できることが検証できた (図 10)。差分解析を適用できる濃度範囲 (下限値) は、危機事象と平常時を区分する目安としての 10 µg/L を下回っており、十分な感度を有する (図 11)。

3. 緊急調査手法を実際の魚のへい死事故に適用した結果

令和 3 年度に県内で発生した魚のへい死事故で、当該地域を所管する県立保健所が極めて適切な対応で災害時/平常時の二つの地点で検体を採取した (図 12)。これを差分解析 (図 13) すると、顕著な成分が特定され、精密質量から農薬が特定された (図 14)。その濃度は 190 µg/L であり、農薬の目安となる 0.4 µg/L を大きく超過することから、確かに水質事故における原因物質であると特定された。水質事故の発生から原因の特定に

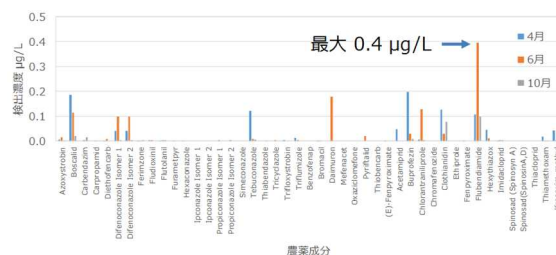


図 8. 河川中残留農薬調査結果
県内 3 河川 4 地点を対象に実施
(古川の結果を例示)

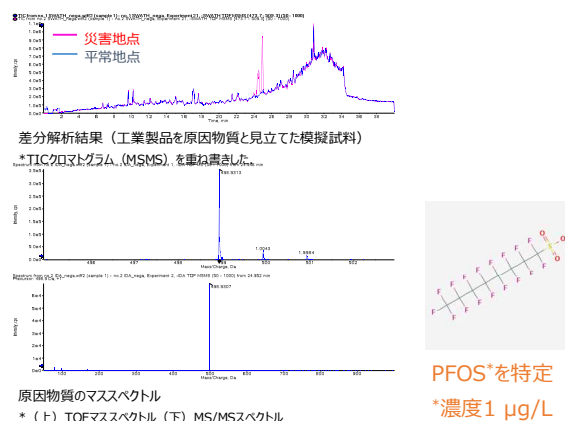


図 9. 差分解析の適用 (工業製品: PFOS)

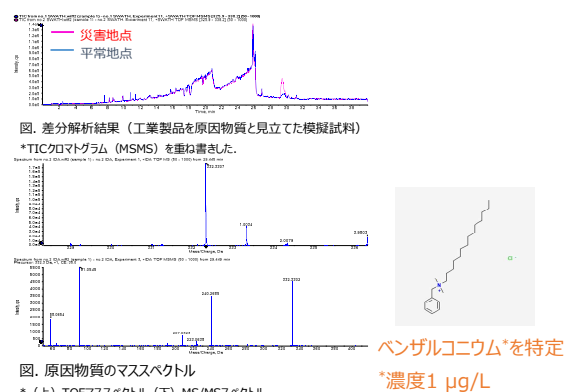


図 10. 差分解析の適用
(工業製品: ベンザルコニウム)

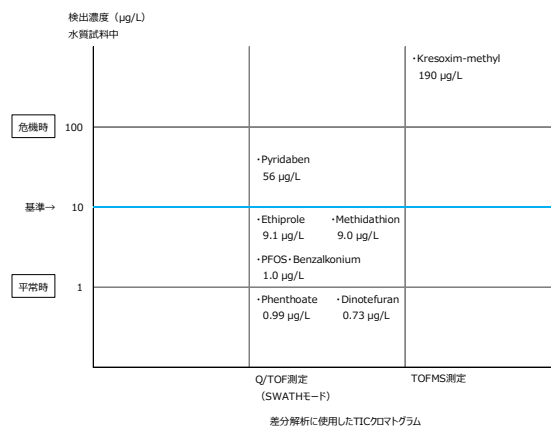


図 11. 差分解析の適用範囲

要した期間は1日であり、極めて迅速な特定に至った。

この結果を受け、県立保健所は当該農薬がこの地域で使用されている実態を確認した上で、農薬販売事業者を巻き込んだ啓発に取り組んだ結果、次年度には再発防止するに至った。この原因の特定から再発防止に至る成果は県内では初めての事例であり、全国的にも先進的な取組成果となった。



図 12. 魚のへい死事故（採取地点）

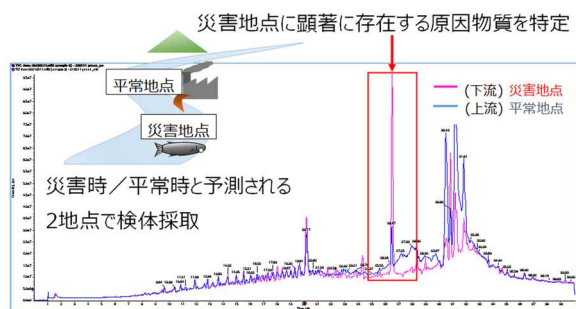


図 13. 魚のへい死事故（差分解析結果）災害地点（下流）平常地点（上流）のノンターゲット分析結果を比較

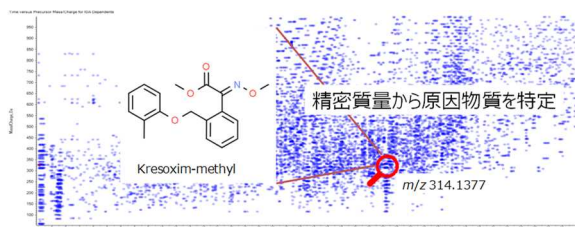


図 14. 災害地点(下流)の環境デジタルデータ

当センターではこの取組を全県的に実施したいと考えており、連携に向けて取組を実施している。時を選ばず発生する危機事象に対応するためには、複数名が対応できる体制構築が必要となる。そこで2名体制を構築し、令和4年度に依頼検査のあった4件全てに対応し、その内1件については原因特定に至った。また原因特定には県立保健所による適切な採水を前提としており、その実施を確保するため保健所担当者会議において、採水方法の周知を図った。一方で適切な採水の実施が困難と思われる事例があり、今後の課題である。

まとめ

本研究では、緊急調査手法の開発には新たな取組が必要であり、ノンターゲット分析及び膨大な測定結果から迅速に原因物質を特定できる、差分解析の手法に着目した緊急調査手法の開発に取り組んだ。結果、開発した緊急調査手法は、膨大な測定結果から迅速に原因物質を特定でき、さらに実際の魚の水質事故において適用することができた。この結果は、本手法の有効性を示すものであり、魚のへい死事故にとどまらず、災害/事故を想定した有害物質によって健康被害が発生し、緊急迅速な対応が必要となる事態（危機事象）において、原因物質を特定し適切な対応に貢献できる緊急調査手法として期待できる。今後、化学物質の問題に適切に対応できることが我々に求められる役割をしっかりと果たしていきたい。

文献

- 1) 西野貴裕等, 多種・新規化学物質の網羅的モニタリングと地域ネットワークを活用した統合的評価・管理手法の開発(5-1602), 環境研究総合推進費終了研究成果報告書, 平成30年度.