

PM_{2.5}の起源解明を目的とした指標性有機成分 一斉分析法の検討と発生源解析

阪井 裕貴・山本 真緒・杉本 恭利・中西 誠

An Index-related Organic Ingredient for the Purpose of the Elucidation Analyzes Examination
and the Outbreak Source of the Analysis all at once in the Origin of PM_{2.5}

Hiroki SAKAI・Mao YAMAMOTO・Kiyotoshi SUGIMOTO and Makoto NAKANISHI

緒言

微小粒子状物質（以下、PM_{2.5}）はイオン成分、無機元素成分、炭素成分等から構成される。有機炭素成分（OC）はPM_{2.5}の約20%を占める成分ではあるが、測定上の難しさや、項目の多さから詳細な解析が行われておらず、化学的性質、大気環境での動態などの解明が遅れている。そのような中で、近年PM_{2.5}発生源の指標となる成分の挙動に注目した調査が進められている。先行研究においては、レボグルコサン、ジカルボン酸、ピノン酸などが発生源の指標となり得ることが知られている¹⁾。当県では、昨年度ジカルボン酸類を含む11種類の成分について測定法検討を行ったところである²⁾。

本報では環境省より示されているレボグルコサン測定方法（誘導体化/GC-MS法³⁾）によりジカルボン酸類等17成分（昨年度よりマンノサン、グルコース、アラビトール、2-メチルスレイトール、2-メチルエリスリトール、3-ヒドロキシグルタル酸を追加）の同時分析法を検討した。さらに2016、2017年度の天理局、桜井局の試料各期14日間、計225日分のデータを基にPositive Matrix Factorization（PMF）解析を行ったので報告する。

方法

1. 測定方法

測定装置は島津製作所製GCMS-TQ8030、カラムはRtx-5MS（30 m × 0.25 mm × 0.25 μm）を用いた。測定条件は表1の通りとした。試料採取には、村田計測器サービス株式会社製MCAS-SJを用い、流量30 L/minで23.5時間捕集した。フィルターはPALL社製2500QAT-UP（石英製、直径47 mm）を用いた。

測定方法は環境省より示されているレボグルコサン測定方法（誘導体化/GC-MS法）に準じて行った。

質量濃度等その他の成分については、大気中微小粒子状物質（PM_{2.5}）成分測定マニュアル⁴⁾に従い試料採取、測定を行った。

表1 GC/MS条件

装置	GCMS-TQ8030
カラム	Rtx-5MS 30m × 0.25mm × 0.25μm
オープン温度	50°C(2min)-20°C/min-120°C-7°C/min-200°C-20°C/min-300°C(10min)
キャリアーガス	He圧力制御65.2kPa(1.16ml)
注入モード	スプリットレス 1μl
気化室温度	250°C
インターフェイス温度	250°C
イオン源温度	230°C
イオン化法	EI法
検出モード	SIM

2. 対象成分

測定対象成分は、昨年度手法を確立した2次生成物由来のマロン酸（C3）、コハク酸（C4）、グルタル酸（C5）、アジピン酸（C6）、ピメリン酸（C7）、スベリン酸（C8）、アゼライン酸（C9）、セバシン酸（C10）、フタル酸（Ph）、バイオマス燃焼由来のレボグルコサン（Lev）に追加して、バイオマス燃焼由来のマンノサン（Man）、花粉や生物片などの1次粒子由来のグルコース（Glu）、アラビトール（Ara）、イソプレン由来2次生成物由来の2-メチルスレイトール（2-MTT）、2-メチルエリスリトール（2-MET）、 α -ピネン由来の2次生成物由来のピノン酸（Pino）、3-ヒドロキシグルタル酸（3-HGA）の計17成分とした。

ただし、2-メチルスレイトール、2-メチルエリスリトールについては標準物質がないため meso-エリスリトールを代用した。

シュウ酸についても併せて検討した。また、測定にはイオンクロマトグラムを用いた。

3. 検量線の直線性, 定量下限値の確認及び添加回収試験

17成分について標準試料の測定を行い, 検量線を作成しその直線性を確認した(10~1000 µg/L). また50 µg/Lの標準液を5回測定し, その標準偏差から定量下限値を求めた.

また, PM_{2.5}実試料を用いて添加回収試験を行った. 採取した試料に混合標準液(500 µg/L相当量)を添加した試料と無添加の試料との差により回収率を求めた.

4. 解析方法

2016,17年度のイオンクロマトグラフにより測定したシュウ酸及びGC-MS一斉分析法により測定した17成分について下記の解析を行った.

1) 基礎的解析

有機成分について季節変動(対年間平均値)の濃度変動割合について考察を行った. また, 2016,17年度の各期に対してモニタリングを行った.

2) PMF解析

PM_{2.5}の発生源を推定する手段の一つとして, 統計的手法であるレセプターモデルの使用の研究が進められている⁵⁾. 中でもPMF解析とは, サンプル地点における各種成分の濃度変動から似通った濃度変動を示す成分を1つの因子とし, 因子ごとに個別の発生源を当てはめるモデル方法である.

PMFモデルは以下の[1]式で表される. ここで, x_{ij} は試料*i*中の成分*j*の濃度, g_{ik} は試料*i*に対する因子*k*の相対寄与, f_{kj} は因子*k*における成分*j*の濃度, e_{ij} は試料*i*中の成分*j*の観測値と計算値の残差である. PMFモデルでは任意の因子数*p*について計算を実行し, [2]式の*Q*を最小にする g_{ij} , f_{kj} 及び*p*を求める. なお, u_{ij} は試料*i*中の成分*j*の不確かさである⁶⁾.

$$x_{ij} = \sum_{k=1}^p g_{ik} f_{kj} + e_{ij} \quad \dots [1]$$

$$Q = \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^m \left(\frac{e_{ij}}{u_{ij}} \right)^2 \quad \dots [2]$$

測定した質量濃度, イオン成分(NO₃⁻, SO₄²⁻, Cl⁻, Na⁺, NH₄⁺, K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺), 無機元素成分(Al, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, As, Se, Rb, Cd, Sb, Pb), 炭素成分(OC, EC), 2.に記した有機成分17成分とシュウ酸を解析対象とした. 無機元素成分については, 成分測定マニュアル及びII型共同研究第5期報告書にて指標性が明らかになっている成分とした. また, データベースサンプル数は, 2016, 17年度の225サンプルとし, 解析を行った. また有機成分による解析結果の影響を見る

ために有機成分を除いた成分でもPMF解析を行った.

次に, これらの成分でイオンバランスと式[3]に示すマスクロージャーモデルによりスクリーニングを行い, 0.7以上1.3以下の範囲から外れた採取日のデータは精度に問題があるものとして除外するが今回は問題がなかったため, 有効サンプル数は225サンプルとした.

$$\begin{aligned} \text{質量濃度推定式} = & 1.375[\text{SO}_4^{2-}] + 1.29[\text{NO}_3^-] \\ & + 2.5[\text{Na}^+] + 1.4[\text{OC}] \\ & + [\text{EC}] + 9.19[\text{Al}] \\ & + 1.40[\text{Ca}^{2+}] + 1.38[\text{Fe}] \\ & + 1.67[\text{Ti}] \quad \dots [3] \end{aligned}$$

また, 表2に示した通り, 質量濃度については他の成分すべてのトータル変数であるため, この後の解析ではカテゴリーを“Weak”(誤差がカテゴリー“Strong”と比較して3倍)となるようにした. 有機成分なしのPMF解析では, Cl, Ca²⁺, Ni, Pb, OCについては解析途中でモデルと測定値間の再現性が他の成分に比べて低い結果を得たため, カテゴリーを“Strong”から“Weak”に変更した. Znについては, 測定値のうち検出下限値以下の割合が半数以上であり, PMF解析結果の信憑性がないため解析から除外した. 一方有機成分ありのPMF解析では, アゼライン酸については解析途中でモデルと測定値間の再現性が他の成分に比べて低い結果を得たため, カテゴリーを“Strong”から“Weak”に変更した. Zn, アジピン酸, ピメリン酸, スペリン酸, セバシン酸, フタル酸については, 測定値のうち検出下限値以下の割合が半数以上であり, PMF解析結果の信憑性がないため解析から除外した. またピノン酸については, 夏期, 反応により分解, あるいは揮発している可能性があったため解析対象から除外した. 解析はアメリカ合衆国環境保護庁(United States Environmental Protection Agency; EPA)が開発したEPA PMF 5.0を使用した. いくつかの発生源因子に分けるか, 最適な因子数を検討するために, 各成分それぞれにかかる不確かさ(Uncertainty)を5%, 10%, 15%, 20%の場合で, 因子数を6~15に変えて検討した. *Q*値を考慮し, 20回計算した時の*Q*値のRSD(%)が0%に近い因子数で, なおかつBootstrap法でそれぞれの因子における発生源を推定する際の指標性が高い成分が四分位範囲に収まっている割合が高いものを選んだ. その結果, 有機成分なしでも, ありでもUncertainty = 15%, 因子数8の時を最適と判断した. この条件下で, 100回の繰り返し計算を行った上で, Error Estimation, Bootstrap計算(100回)を行い, 解の安定性を確かめた.

結 果

1. 一斉分析法の検討

測定成分の検量線の直線性, 検出, 定量下限値及び添加回収試験

有機成分 17 成分について標準物質を測定し, 検量線の直線性を確認 (10, 50, 100, 500, 1000 µg/L) した。また添加回収率を 500 µg/L 相当の混合標準液を用いて行った結果を表 3 に示す。

表 3 より検量線の R² が全て 0.99 以上と直線性は良好であった。また定量下限値も 1 桁台と安定した結果が得られた。

また添加回収率は 70 ~ 120 % 内に収まっており, 良好な結果といえた。ただし, 以降の解析では検出下限値未満の割合が 50 % を超えた C6 ~ C8, C10 は解析対象から除いた。

2. モニタリング結果

1) モニタリング結果について (全体像)

年間平均値を 1 として各季節の平均値をとったグラフが図 1, 図 2 である。二次生成の指標の目安として, 各地における自動測定器で測定している Ox を比較した。

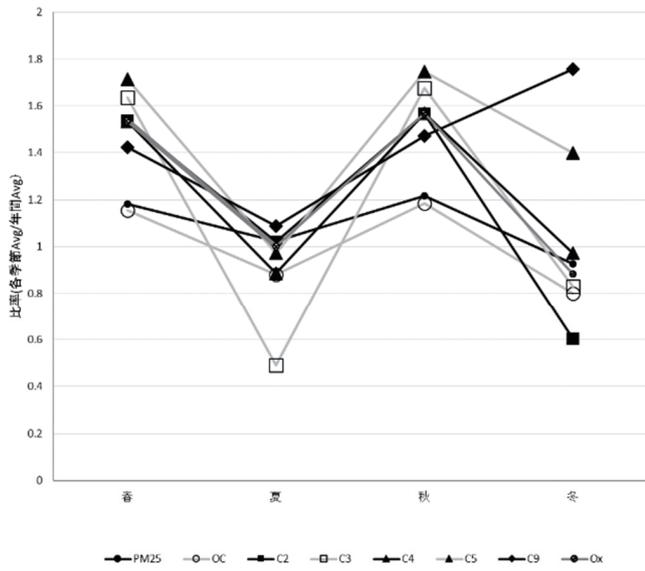
ジカルボン酸類はオキシダントの濃度と共に春期, 秋期に高くなる傾向があり, 2 次生成による影響が考えられた。レボグルコサンとマンノサンは秋期と冬期に高くなっており, バイオマス燃焼由来の影響が考えられた。グルコースとアラビトールは春期と夏期高くなっており, 花粉や生物片などの 1 次粒子による影響が考えられた。2-メチルスレイトールと 2-メチルエリスリトールは春期と夏期高くなっており, この時期植物活性が高まっていると考えられた。ピノン酸は夏期低濃度となっており, 揮発したのか, 別の物質へ反応が進んだ可能性が考えられた。3-ヒドロキシグルタル酸は春期と夏期高濃度になっており, α-ピネン由来 2 次生成による影響が考えられた。

表 2 PMF 解析カテゴリー分け

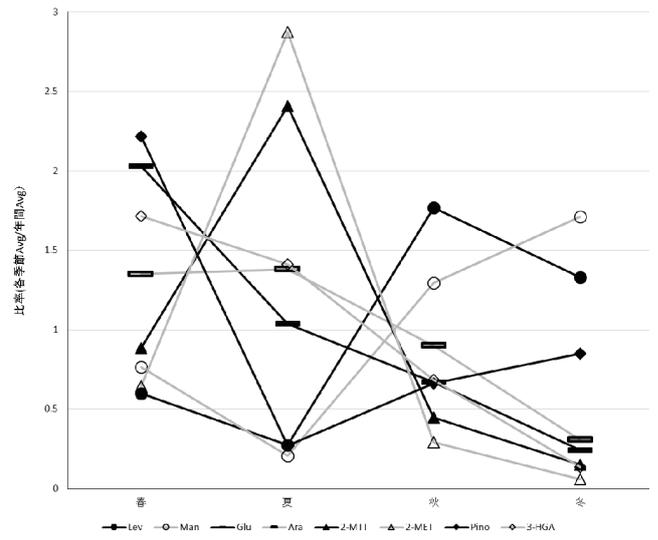
	有機成分なし	有機成分あり
Strong	NO ₃ ⁻ , SO ₄ ²⁻ , Mg ²⁺ , Na ⁺ , NH ₄ ⁺ , K ⁺ , Al, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Cu, As, Se, Rb, Cd, Sb, EC	Cl ⁻ , NO ₃ ⁻ , SO ₄ ²⁻ , Mg ²⁺ , Na ⁺ , NH ₄ ⁺ , K ⁺ , Ca ²⁺ , Al, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Cu, As, Se, Rb, Cd, Sb, Ni, Pb, OC, EC, C2, C3, C4, C5, Lev, Man, Glu, Ara, 2-MET, 2-MTT, 3-HGA
Week	PM2.5(Total Variableに設定), Cl ⁻ , Ca ²⁺ , Ni, Pb, OC	PM2.5(Total Variableに設定), C9
Bad	Zn	Zn, C6, C7, C8, C10, Ph, Pino

表 3 相関係数, 検出下限値, 定量下限値, 回収率

	略 号	10-1000ppbR ² 値	検出下限値 (ng/m ³)	定量下限値 (ng/m ³)	回収率 (n=3)
マロン酸	C3	0.995 以上	2.24	7.48	94 ~ 114%
コハク酸	C4	0.991 以上	0.84	2.79	101 ~ 113%
グルタル酸	C5	0.995 以上	0.73	2.44	95 ~ 117%
アジピン酸	C6	0.997 以上	1.31	4.36	96 ~ 102%
ピメリン酸	C7	0.996 以上	1.70	5.68	93 ~ 100%
スベリン酸	C8	0.994 以上	1.39	4.63	91 ~ 100%
アゼライン酸	C9	0.993 以上	1.35	4.50	91 ~ 104%
セバシン酸	C10	0.996 以上	0.96	3.21	85 ~ 95%
フタル酸	Ph	0.993 以上	1.55	5.17	70 ~ 79%
レボグルコサン	Lev	0.999 以上	0.41	1.38	86 ~ 116%
マンノサン	Man	0.995 以上	0.63	2.11	106 ~ 113%
グルコース	Glu	0.998 以上	0.22	0.73	76 ~ 98%
アラビトール	Ara	0.998 以上	0.29	0.96	76 ~ 95%
meso-エリスリトール	-	1.000 以上	0.19	0.62	83 ~ 87%
ピノン酸	Pino	0.998 以上	1.18	3.93	74 ~ 95%
3-ヒドロキシグルタル酸	3-HGA	0.997 以上	0.28	0.94	89 ~ 98%

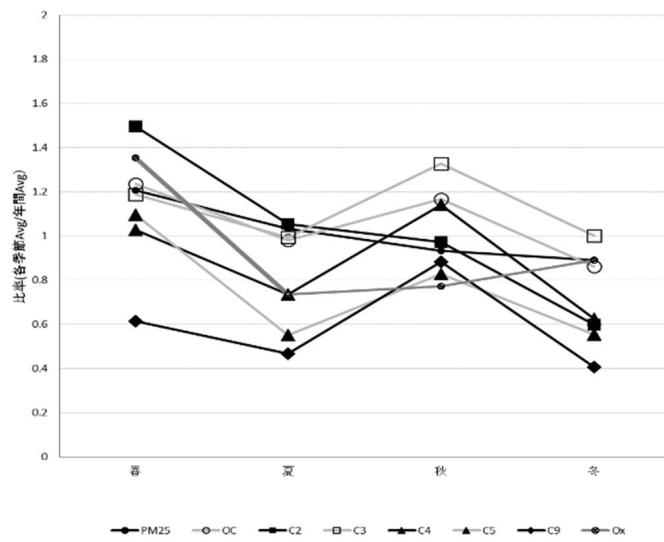


a) ジカルボン酸類

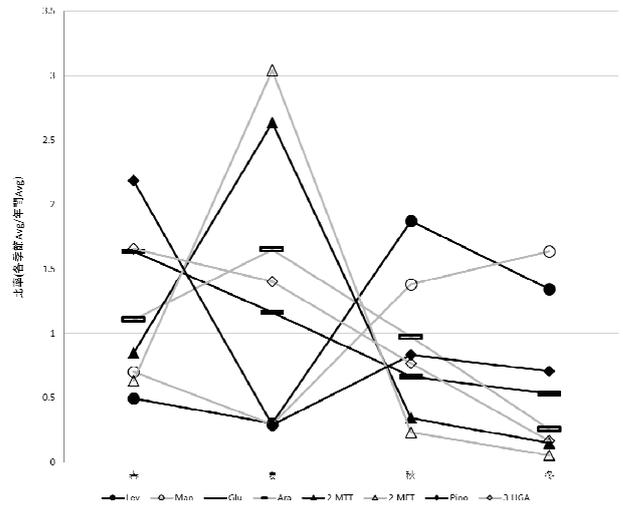


b) その他成分

図1 季節平均値（対年間平均値）の濃度変動割合（天理局）



a) ジカルボン酸類



b) その他成分

図2 季節平均値（対年間平均値）の濃度変動割合（桜井局）

2) モニタリング結果 (各期毎)

図1, 図2より天理局と桜井局は似たような濃度変動をしている。天理局における各期の濃度が高くなった年度について解析した。

I) 2016 年度春期

2016 年度春期天理局におけるモニタリング結果を図3に示した。

グルコース濃度が年間平均値 7.1 ng/m³ に対し, 14.9 ng/m³ であった。これは春に芽吹く木の花粉によるのではないかと考えられた。また5月17日と21日はレボグルコサン濃度が上昇していた。17日については15日に中国東北部において森林火災起源⁷⁾とされる粒子状物質が発生した影響により高濃度となったと考えられた。21日は図4の後方流跡線より大気が滞留し, 21日にかけて徐々にレボグルコサン濃度が蓄積していったと考えられた。

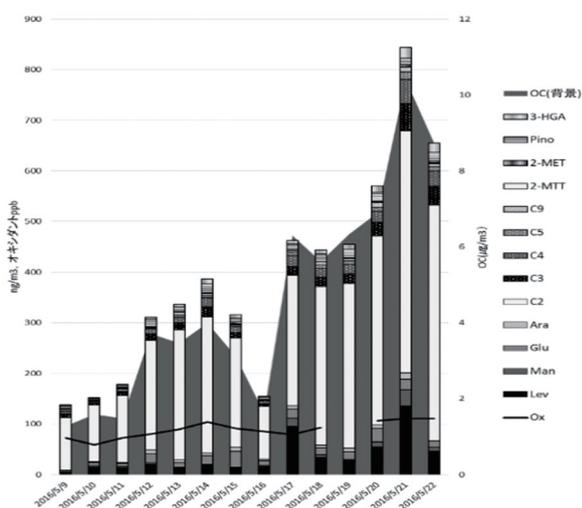


図3 モニタリング結果 (2016 年度春期)

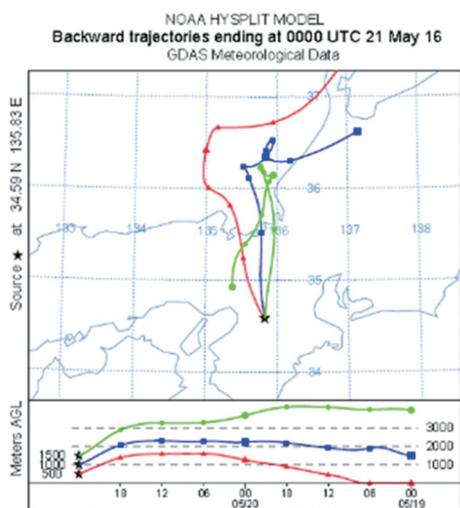


図4 5月21日の後方流跡線解析

NOAAARL.HYSPLIT Model

II) 2017 年度夏期

2017 年度夏期天理局におけるモニタリング結果を図5に示した。

2-メチルスレイトール年間平均値に対して夏期は2.2倍, 2-メチルエリスリトール年間平均値に対して2.7倍, 3-ヒドロキシグルタル酸年間平均値と比べて1.3倍と, 植物由来2次生成に関する成分濃度が高かった。これは気温が高く植物の活性が高まったことにより高濃度化したのではないかと考えられた。

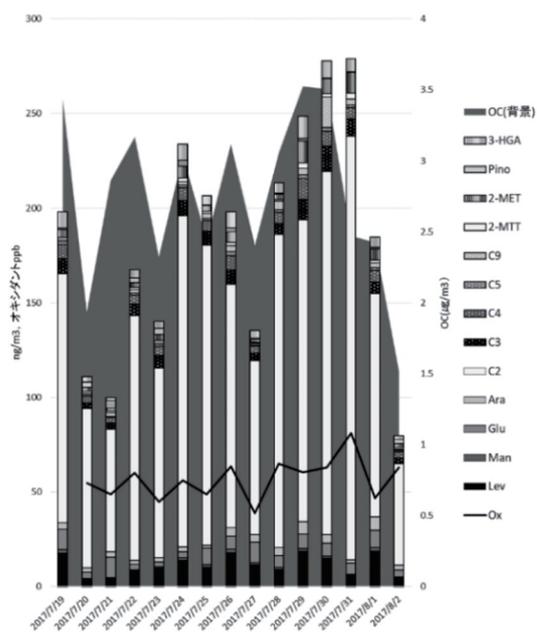


図5 モニタリング結果 (2017 年度夏期)

III) 2016 年度秋期

2016 年度秋期天理局におけるモニタリング結果を図6に示した。

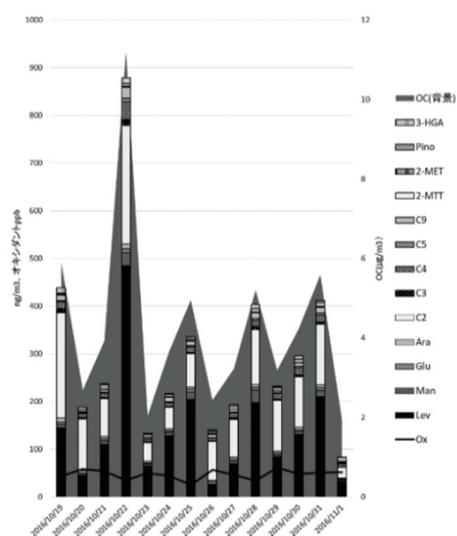


図6 モニタリング結果 (2016 年度秋期)

秋期はレボグルコサン濃度が高くなり、相対的にシュウ酸濃度が低く出ている。またOCの高い方から5つのピークに対していずれもレボグルコサンが高濃度になっており、野焼きによる影響が考えられた。

IV) 2016 年度冬期

2016 年度冬期天理局におけるモニタリング結果を図7に示した。

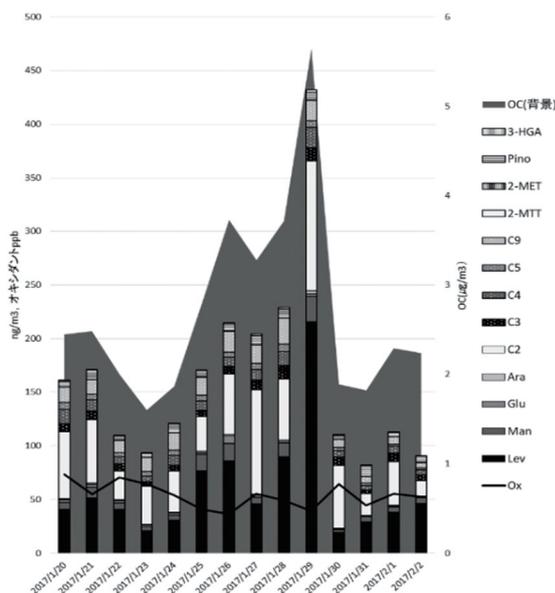


図7 モニタリング結果 (2016 年度冬期)

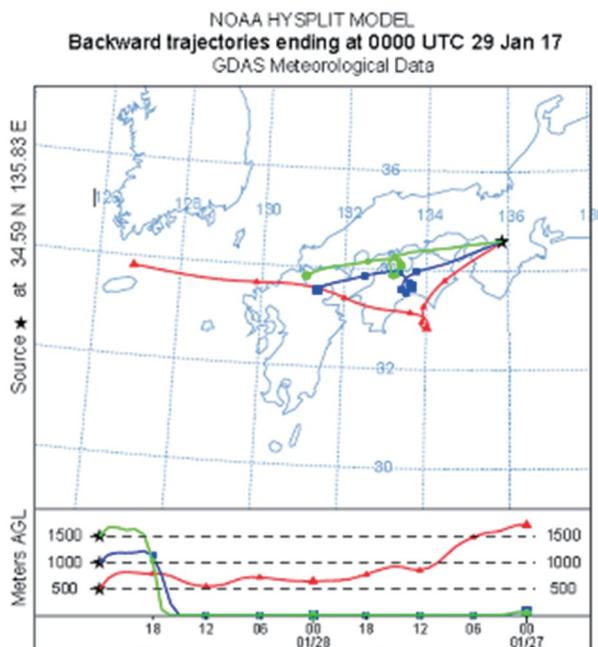


図8 後方流跡線解析

NOAAARL.HYSPLITModel

冬期は期間を通じてレボグルコサン濃度が高く推移し、1月29日は特に高くなっていった。後方流跡線解析(図8)を行ったところ大気が滞留している様子が見て取れた。

3) PMF 解析結果

有機成分ありのPMF解析結果のプロファイルを図9に示した。

因子1は、 SO_4^{2-} 、 NH_4^+ 、As、Seなどが高いので硫酸系2次粒子(石炭)と判断した。因子2は、 SO_4^{2-} 、 NH_4^+ 、Vなどが高いので硫酸系2次粒子(重油)由来であると考えた。因子3は、Al、Ti、Fe、Mn、Cu、Sbなどが高いので土壌・道路交通因子であると考えた。因子4は、 Na^+ 、 Mg^+ などが高いことから海塩であると判断した。因子5は、Cl、 NO_3^- 、が高いので半揮発性2次粒子と判断した。因子6は、レボグルコサン、マンノサンなどが高いことからバイオマス燃焼由来であると考えた。因子7は、2-メチルスレイトール、2-メチルエリスリトールが高いことからイソプレン由来2次粒子由来であると考えた。因子8はグルコース、アラビトール、C2~5、C9などが高いことからバイオプライマリー・2次粒子であると判断した。

2016、17年度天理局におけるPMF解析有機成分なし、ありの結果を図10、11に示した。

有機成分ありでは、イソプレン由来2次粒子(6.3%)、バイオプライマリー・2次粒子(10.5%)という二つの因子を新たに切り分けることに成功した。しかしながら、その他成分の因子の割合は同程度(29%)であり、有機成分ありでは、硫酸系2次粒子(石炭)因子、硫酸系2次粒子(重油)因子、土壌・道路交通因子の寄与が減った。

土壌と道路交通因子が減少したのは、硫酸系2次粒子(石炭)に指標成分の濃度が振り分けられた結果によるものだと考えた。

続いて2016年度の天理局における四季のPMF解析有機成分なし、ありを図12、13に示した。

有機成分なしでは、春期と夏期は硫酸系2次粒子の寄与が約35%を占めていた。これはオキシダント濃度が高いことにより SO_2 から硫酸塩への反応が進むからであると考えられた。また約7%バイオマス燃焼による寄与が見られた。

秋期はバイオマス燃焼と半揮発性2次粒子の寄与が計約23%見られた。

冬期は半揮発性2次粒子の寄与が約32%を占めていた。

有機成分ありでは、春期は、バイオプライマリー・

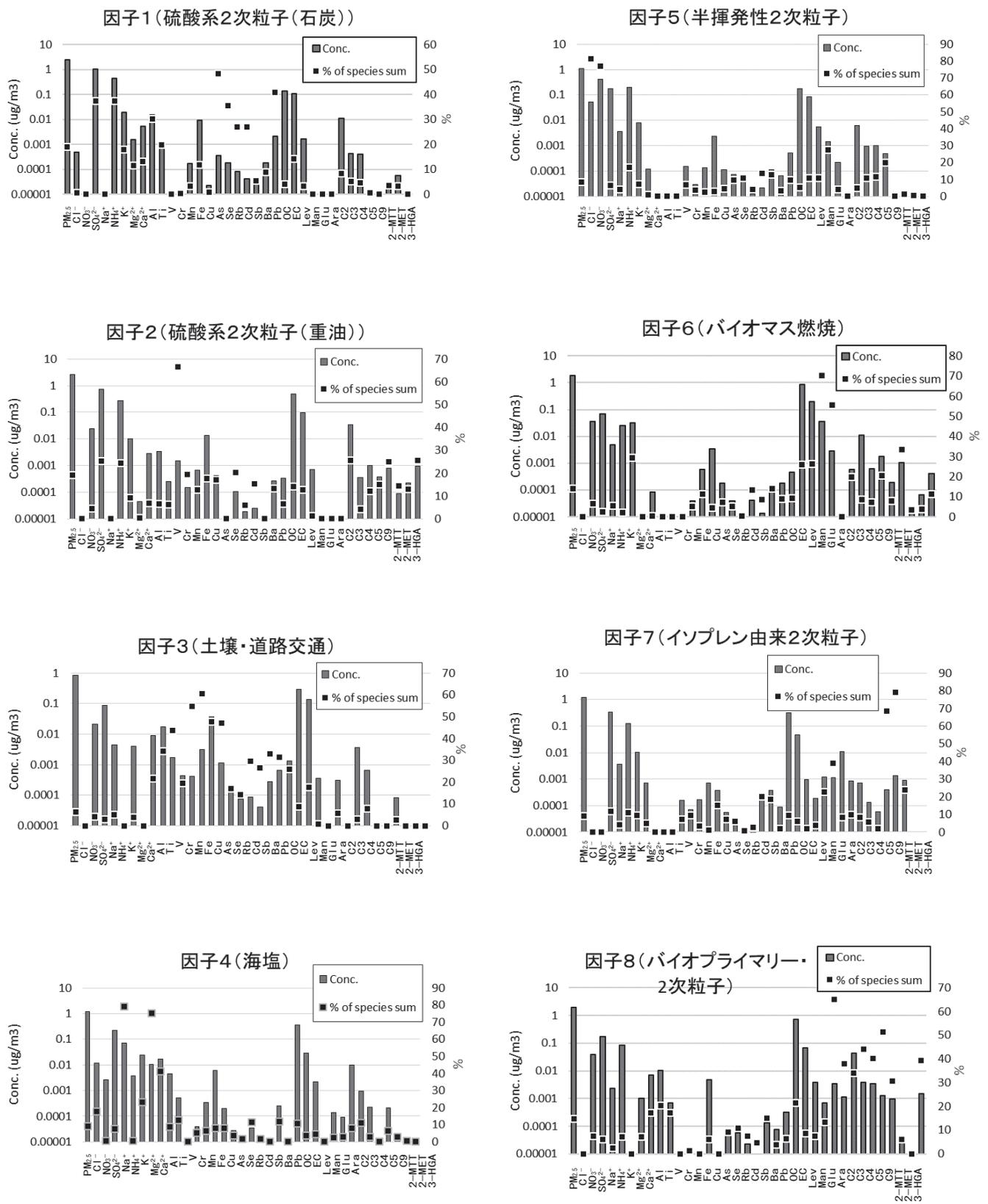


図9 有機成分ありのPMF解析結果プロファイル

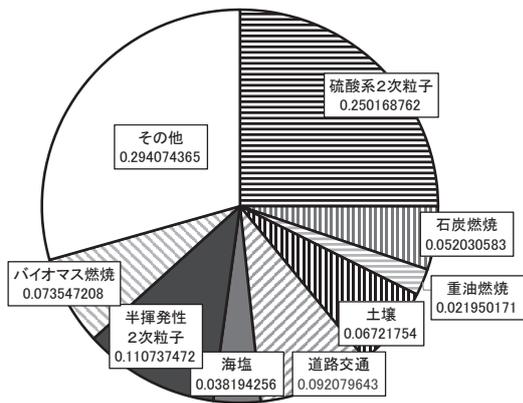


図10 有機成分なし PMF 解析結果

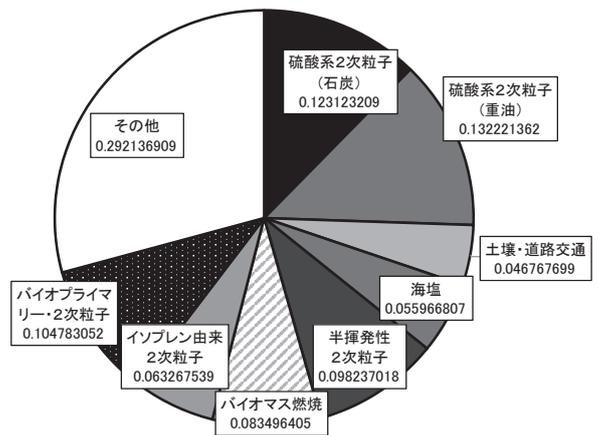


図11 有機成分あり PMF 解析結果

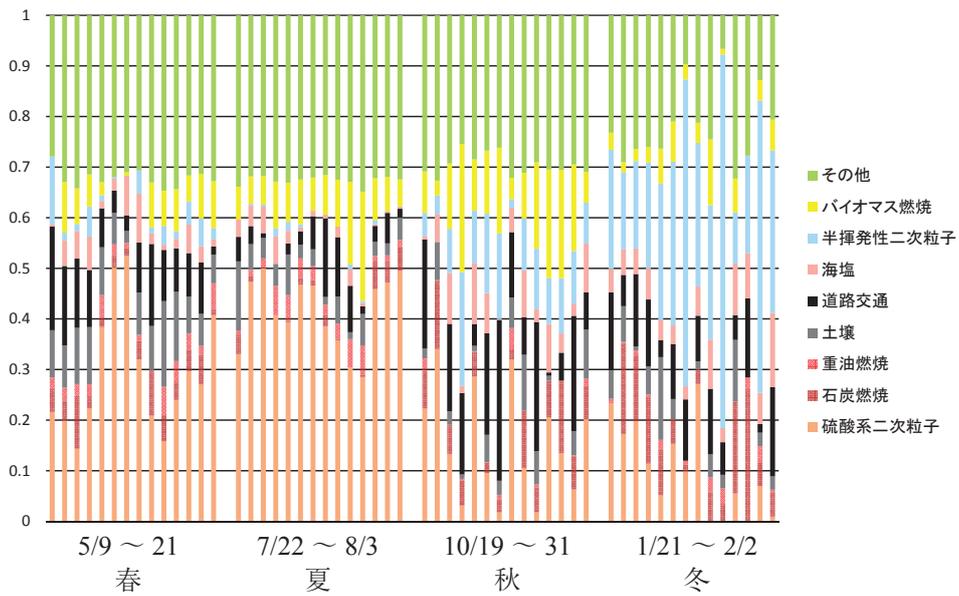


図12 有機成分なし PMF 解析結果寄与割合図

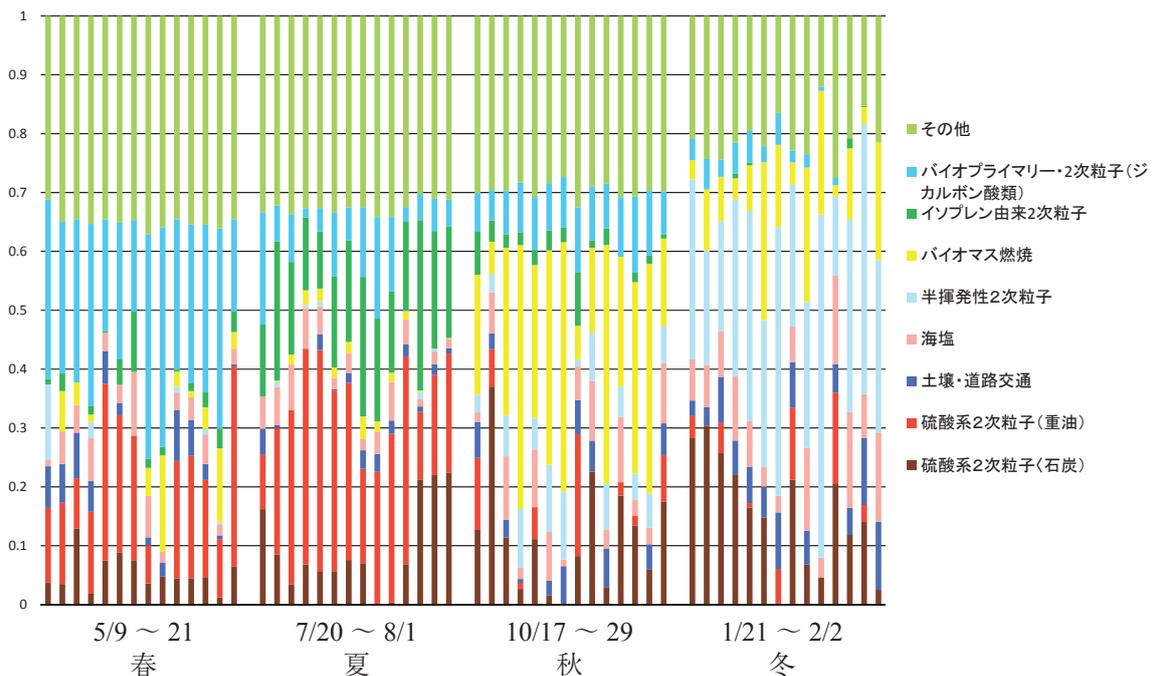


図13 有機成分あり PMF 解析結果寄与割合

2次粒子（ジカルボン酸類）による寄与割合が高く、全体の約27%を占めているが、これは春に芽吹く花粉の影響や、オキシダントによる2次生成の影響が考えられた。夏期はイソプレン由来2次粒子の寄与割合が9.7～28.9%と安定して存在していた。要因としては、気温が高いことにより植物活性が高まった可能性があった。秋期はバイオマス燃焼による寄与割合が最も高いところで44.8%であり、野焼きによる局所的な影響があった。冬期は半揮発性2次粒子による寄与割合が高く、全体の約31%を占めていた。冬期は気温が低いことによりNH₄ClとNH₄NO₃が粒子化するとされており⁸⁾、その説と矛盾しない結果となった。

以上のように、有機成分ありによるPMF解析で季節間での特徴的な影響を捉えることができた。

有機成分なしの解析結果では、春期と夏期は一定程度バイオマス燃焼による寄与が見られたが、有機成分ありでは春期や夏期にバイオマス燃焼の寄与は見られなかったことから、今回測定したレボグルコサンとマンノサンにより、切り分けの精度が上がったものと解釈できる。また有機成分を加えることで新たに抽出されたバイオプライマリー・2次粒子（ジカルボン酸類）とイソプレン由来2次粒子の因子についても主に春期と夏期において精度が上がったものと解釈できた。

考 察

今回有機成分の一斉分析により17成分中12成分が精度良く測定可能であったことがわかった。またPMF解析により有機成分ありでは新たに2因子の切

り分けに成功し、四季それぞれで特徴のある因子が分かった。

また今回切り分けられた2次粒子（ジカルボン酸類）や、硫酸系2次粒子などはオキシダントの影響が大きいと考えられ、今後国とのII型共同研究でもテーマになっているオキシダント濃度の低減に力を注ぐことはPM_{2.5}低減対策にとっても重要であると考えている。

文 献

- 1) 熊谷貴美代, 他: 全国環境研会誌, **42**, 10-15, (2017)
- 2) 杉本恭利, 他: 微小粒子状物質 (PM_{2.5}) の指標性のある有機炭素成分の一斉分析の検討とモニタリング, 奈良県景観・環境総合センター研究報告, **5**, 17-20 (2017)
- 3) 環境省: レボグルコサン測定方法 (誘導体化GC-MS法), (2014)
- 4) 環境省: 水・大気環境局, 微小粒子状物質 (PM_{2.5}) の成分分析ガイドライン (2011)
- 5) 飯島明宏: 入門講座 大気モデル-第5項レセプターモデル-, 大気環境学会誌, **46**, (4) A53-A60 (2011)
- 6) 中坪良平, 他: 兵庫県姫路市における大気中粒子状物質及びガス状物質の並行測定(2) - PM_{2.5} の発生源解析 -, (財)ひょうご環境創造協会兵庫県環境研究センター紀要, **3**, 21-25 (2012)
- 7) <https://tapsidb.cneas.tohoku.ac.jp/public/>
- 8) 坂本和彦: 微小粒子状物質 (PM_{2.5}) の測定, 大気環境学会誌, **46** (2011)

WET法による紀の川水系の生物影響評価について

平井 佐紀子・長尾 舞・山下 浩一

Bioassay in Kino River System using Whole Effluent Toxicity (WET) tests

Sakiko HIRAI・Mai NAGAO・Hirokazu YAMASHITA

緒言

現在の規制では日々増加する膨大な化学物質の一つ一つの測定も困難で、またこれらの化学物質の複合作用については判らない状態である。これらの課題についての解決法の一つとして、環境中に生息する水生生物への影響を直接的かつ包括的に図る方法（バイオアッセイ）がある。その中でも最近注目されているのがWET法による試験である。

本報では、平成30年度に搬入された、県内河川で比較的きれいな紀の川水系の環境基準点の上流と下流の2か所での河川水について、ニセネコゼミジンコを用いたWET手法による生物影響評価を行い、ミジンコの繁殖毒性に影響する物質の検討を行ったので報告する。

方法

1. 試料

平成30年4月から平成31年1月に搬入された紀の川水系の環境基準点の楢井不動橋と秋野川流末の、4月、8月、1月採水分の6検体を用いた。

2. 方法

各試料を0%（対照区）と5濃度区（5%、10%、20%、40%、80%）に調整し、ニセネコゼミジンコを用いる繁殖試験法¹⁾²⁾を実施した。試験条件は表に示すとおりである。

ミジンコ繁殖試験では、生後24時間以内のミジンコを試料を含む飼育水に7日間ばく露し、死亡数及び生まれた仔虫の数を調べ、対照区と比較することによりミジンコの繁殖に対する慢性毒性を明らかにした。

3. 飼育水について

飼育に使用する水は水道水を三菱レイヨン・クリンスイ(株)製の蛇口直結型浄水器（CSPシリーズ）のHGC9SWカートリッジを通した水にコントレックス

（硬度1475）を5%加えて硬度76に調整して飼育水とした。飼育水は調整したのち24時間以上エアレーションを行ったものを使用した。

4. データ解析方法

データの解析は、環境毒性学会のサイトにて配布されている解析ソフトECOTOX³⁾を使用した。

この解析ソフトで有意差検定を行い対照区との有意差が認められた濃度区の最低濃度区をLOEC（最低影響濃度）とし、LOECの一つ下の濃度区をNOEC（最大無作用濃度）とした。

5. 結果及び考察

河川水の結果を図1から図6に示す。図1~6の有意差有の試験濃度に**を示した。

平成30年4月および平成31年1月に搬入された2地点の河川水はすべての濃度区で有意差が無く、NOECが80%以上となった。これらの河川水の繁殖毒性は低いと考えられた。8月に搬入された楢井不動橋については、80%濃度区で有意差有りとなり、NOECは40%となった（図3）。しかし、秋野川流末については有意差無しとなった。平成30年8月の楢井不動橋のNOECが40%と繁殖毒性が高くなったので、当初の水質検査項目である、人の健康に影響するシアンやPb、Cd、As、Se、水銀などの有害重金属類と、ジクロロメタンなどの有害な揮発性物質（VOC）、農薬、イオン成分などを測定したが、いずれの有害物質も環境基準値以下でほとんど検出されず、ミジンコに対して毒性を示すものとは考えられなかった。

まとめ

平成30年8月の楢井不動橋でNOECが40%以下となった以外は有意差が無く、NOECは80%以上でミジンコに対する繁殖毒性は認められなかった。

8月採水の楢井不動橋の生活環境項目、重金属、

VOC, 農薬, イオン成分については繁殖毒性を示すような有害成分は認められず, 原因物質は不明であった.

文 献

- 1) 長谷川絵里: ニセネコゼミジンコを使用したミジンコ繁殖試験方法, 名古屋市環境科学調査センター年報第1号, 81-83 (2012)
- 2) 排水(環境水)管理のバイオアッセイ技術検討部会: 生物応答を用いた排水試験法(検討案)(2014)
- 3) www.intio.or.jp/jset/ecotox.htm

表 試験条件

項目	方法と条件
生物種	ニセネコゼミジンコ
試験媒体	飼育水
試験方法	半止水式
試験液量	15ml/容器
試験機関	7~8日
試験濃度	公比2、5濃度区
生物数	10匹/濃度区
試験温度	25±1℃
照明	16時間明/8時間暗
給餌	クロレラ、YCT

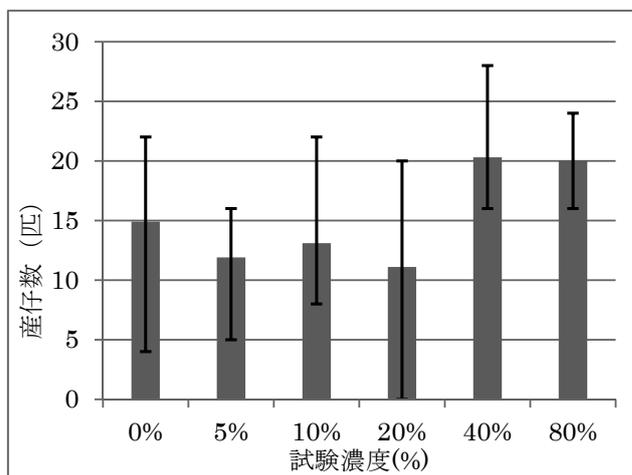


図1 平成30年4月 榑井不動橋 NOEC80%以上

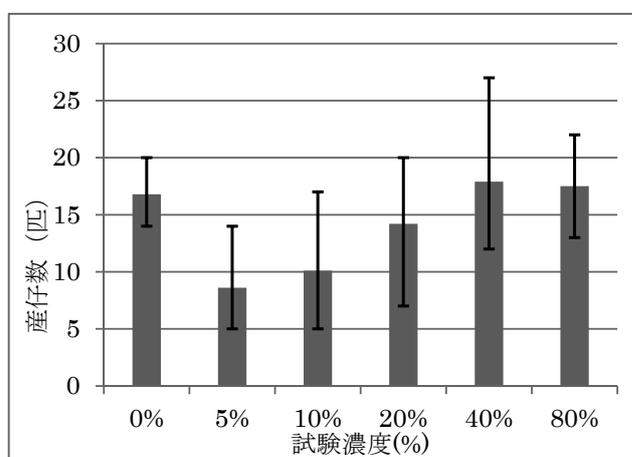


図2 平成30年4月 秋野川流末 NOEC80%以上

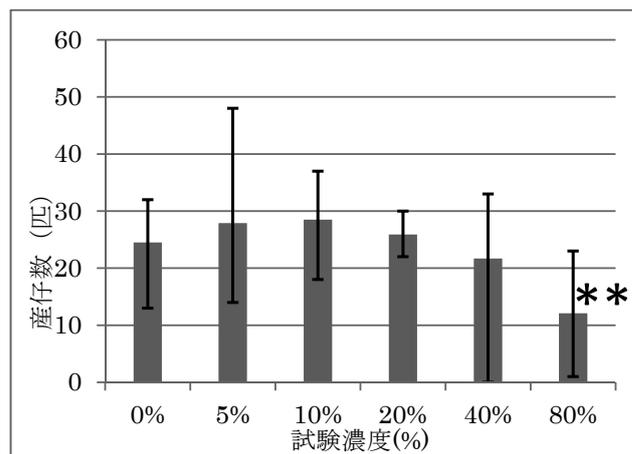


図3 平成30年8月 榑井不動橋 NOEC40%

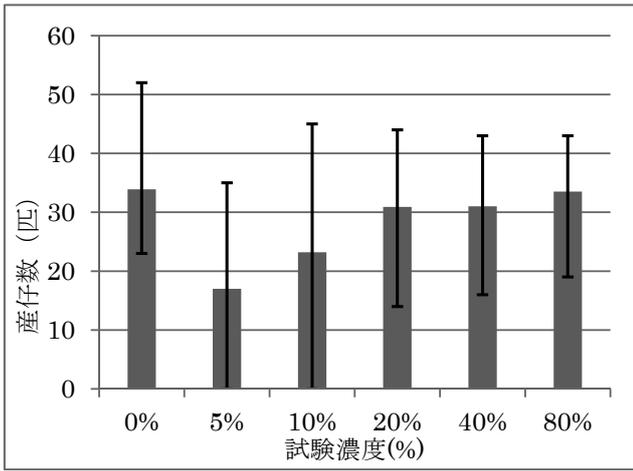


図4 平成30年8月 秋野川流末 NOEC80%以上

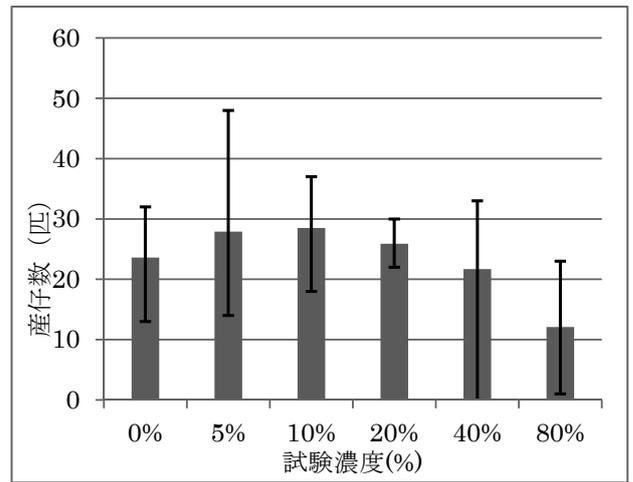


図6 平成31年1月 秋野川流末 NOEC80%以上

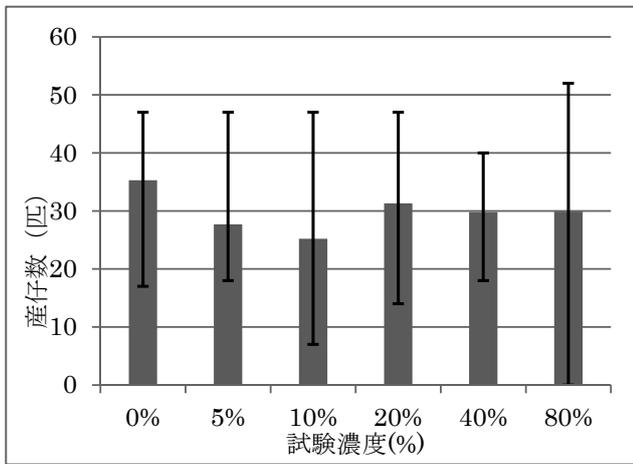


図5 平成31年1月 榑井不動橋 NOEC80%以上

河川水中に混入した土砂等に伴う水質試験結果への影響評価

浦西 克維・浦西 洋輔・山下 浩一

Influence of mixed soil particles in the river water samples on metal ion concentrations

Katsushige URANISHI・Yosuke URANISHI and Hirokazu YAMASHITA

緒言

河川等の採水については、採水日前において比較的晴天が続き水質が安定している日を選び¹⁾、底質の巻き上げ等による汚染を防止しつつ²⁾、実施する必要がある。しかし、突発的に発生する事故等における採水では、現場の状況を的確に把握し原因追求と対応策を検討する必要があるため、採水日の自由度が減少する。そのため、採水日当日の気象条件、水量等によっては、採水された水への土砂等異物混入が避けられない状況も考えられる。土砂には自然的な要因（土壌物質に吸着、鉱物に固有する等）で重金属類（鉛、ヒ素、カドミウム、六価クロム、セレン、水銀、フッ素、ホウ素等）が含まれる場合があり³⁾、これら異物が混入した状態で水質試験を実施した場合、水質汚濁の要因を誤って判断してしまう可能性がある。そこで、これら微量の土砂等の除去方法及び除去した場合の水質試験結果への影響について検討した。試料分析は、日本工業規格工場排水試験方法（JIS K0102）に定めるICP質量分析法による金属成分の試験方法に準じて実施した。なお、フッ素、ホウ素、ヒ素は本来、重金属には該当しないが、我が国の土壤汚染対策法第2条第1項に定める第二種特定有害物質（重金属等）として定められている⁴⁾ため、ここでは重金属等として取り扱う。

方法

1. 試料

2018年度内に搬入された県内の河川水のうち、目視で懸濁していることが確認でき、浮遊物質量（SS）が概ね20 mg/L以上のものを試料として用いた。

2. 試薬等

標準溶液の調製には、混合標準原液としてSPEX社製XSTC-622（10 µg/mL、5%硝酸ベース）を用いた。内標準溶液は富士フィルム和光純薬(株)製のビスマス標準液（100 µg/mL、5%硝酸ベース）、ベリリウム標準

液（100 µg/mL、5%硝酸ベース）、イットリウム標準液（1000 µg/mL、5%硝酸ベース）を用いた。試料の希釈等には小松電子(株)製うるぴゅあKE-0147Aで作製した超純水を用いた。硝酸は富士フィルム和光純薬(株)製の硝酸（1.42）を用いた。

試料のろ過には東洋濾紙(株)製の親水性PTFEタイプのメンブレンフィルターDISMIC-13HP（0.20 µm）を用いた。

3. 試料の調製

試料は富山化学工業(株)製2Lペットボトルに採水した。採水した試料の一部は、異物の除去効果を確認するためメンブレンフィルターでろ過もしくは、2時間程度静置した後の上層を採取し、ろ過済試料として使用した。ろ過していない試料を含むすべての試料と空試験用の超純水各50 mLは、SCP SCIENCE社製ポリプロピレン製デジチューブに採取し、硝酸濃度が1.0%（500 µL）となるように硝酸を加えた。これらを密栓後、100℃沸騰水浴中で20分間酸分解した。放冷後、メンブレンフィルターでろ過し、試験溶液とした。なお、試料の採水、採取、ろ過の各工程において、試料保管容器、フィルター類等に残留する重金属等の汚染防止を図るため、試料による共洗いを実施した。

4. 試料の測定

Agilent Technology社製ICP-MS 7900を用い、内部標準法により定量した。内標準物質は、各測定対象元素と質量数の近いものを選定した。装置の測定条件、測定成分をそれぞれ表1、2に示す。懸濁した検体中の重金属類の分析は13成分（ホウ素（B）、クロム（Cr）、マンガン（Mn）、ニッケル（Ni）、銅（Cu）、亜鉛（Zn）、ヒ素（As）、セレン（Se）、モリブデン（Mo）、カドミウム（Cd）、アンチモン（Sb）、鉛（Pb）、ウラン（U））を対象とした。検量線はブランク（0）、0.1、0.5、1.0、5.0、10、50、100、500、1000 ng/mLの範囲で作製し、検出濃度を

含む3点以上の検量線濃度を定量に用いた。本分析における検出下限値を表3に示す。

表1 ICP-MSの測定条件

ICP-MS	Agilent ICP-MS 7900
RF Power	1550 W
Sampling depth	8 mm
Carrier gas flow	1.05 L/min
Time for integral calculus	1 sec
Integral calculus	3 times

表2 測定成分

element	B	Cr	Mn	Ni	Cu	Zn
mass number	11	52	55	60	63	66
IS ^{**}	Be	Y	Y	Y	Y	Y
mass number (IS)	9	89	89	89	89	89
collision gas	He	He	He	He	He	He

element	As	Se	Mo	Cd	Sb	Pb	U
mass number	75	78	95	111	121	208	238
IS ^{**}	Y	Y	Y	Y	Y	Bi	Bi
mass number (IS)	89	89	89	89	89	209	209
collision gas	H ₂	H ₂	He	He	He	He	He

^{**}IS: Internal Standard

結果と考察

懸濁した河川水のうち、表3に示す7つの河川水を分析対象とした。河川AのSSは最も高く280 mg/Lであった。また、河川B1～B3は、同日に同一水系内の地点で採取されたものであった。これらの試料を用いて、以下3種類の検討を行った。まず、河川水Aを用いて、ろ過手法による異物除去効果の違いを検証した。その後、異物の成分組成が近いと考えられる同一河川内の3つの試料(B1～B3)を用いて、SS濃度毎に異物除去効果が異なるか比較した。最後に全試料を用いてSS別の異物除去効果について考察した。

1. ろ過手法による異物除去効果の比較

河川A(SS=280 mg/L)を対象に、ろ過手法による異物除去効果の比較をおこなった。具体的には、①沈降分離した後の上澄み液、②メンブレンフィルターろ過後のろ液、③①をメンブレンフィルターでろ過した後のろ液の3種について比較した。結果を図1に示す。Sbと定量下限値以下のSeとMoを除く全成分において、ろ過手法を問わず、ろ過による異物除去効果があることが確認された。特にCr, Zn, Cd, Pb, およびUはろ過手法に関係なく、ろ過後の成分濃度がろ過前の20%未満(残存比0.2未満)となっていた。一方、Bはどのろ過手法でも残存比は0.8～0.9の範囲を推

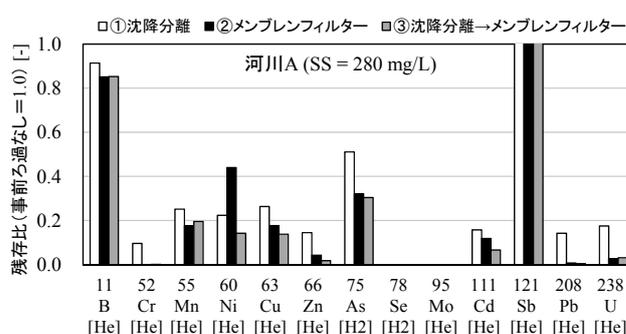


図1 ろ過による異物除去効果

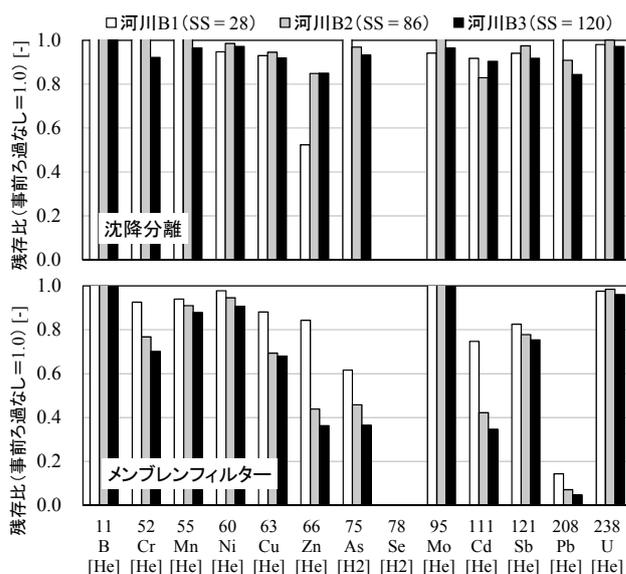


図2 浮遊物質(S)別のろ過による異物除去効果(上:上澄み液, 下:メンブレンフィルター)

移し、ろ過による異物除去の効果は小さかった。異物除去効率については、総じて手法①、②、③となるにつれ効果が高くなる傾向を示したが、手法①と比較して手法②と③の違いは小さかったため、以降の検証では手法①と手法②を対象とした。

なお、Niについては、他の成分の除去効果と傾向が異なり、手法①(残存比0.2)よりも手法②(同比0.4)の異物除去効果が低い傾向を示した。この要因については現時点でこれ以上の検証が不可能であったため、今後の課題とする。

2. 浮遊物質(S)と異物除去効果

次に、同日に採取された同一水系に属する河川Bの3検体(SS=28, 86, 120 mg/L)を対象に、①沈降分離した後の上澄み液、②メンブレンフィルターろ過後のろ液における、金属成分の残存比を検証した。結果を図2に示す。沈降分離は、SSが比較的低い河川B1のZnが残存比0.5となる以外は、どの河川水でも残存比は0.8以上となっており、2時間程度

表3 懸濁した河川水から検出された重金属類（単位：ng/mL）

	SS (mg/L)	11 B [He]	52 Cr [He]	55 Mn [He]	60 Ni [He]	63 Cu [He]	66 Zn [He]	75 As [H ₂]	78 Se [H ₂]	95 Mo [He]	111 Cd [He]	121 Sb [He]	208 Pb [He]	238 U [He]
河川A	280	20	2.7	156	2.2	4.5	24.0	0.4	-	-	0.03	0.1	3.5	0.60
河川B1	28	2,062	0.7	677	1.3	1.5	8.5	3.2	-	0.4	0.01	0.4	0.4	0.56
河川B2	86	1,117	0.5	470	0.8	2.6	7.0	1.9	-	0.3	0.01	0.4	1.3	0.43
河川B3	120	1,209	0.5	484	0.9	2.6	5.9	2.5	-	0.3	0.02	0.4	1.3	0.51
河川C	29	592	0.5	1,249	4.6	4.3	15.9	4.7	-	3.6	0.05	0.9	1.1	0.21
河川D	35	184	1.6	2,272	5.5	2.6	50.4	1.0	0.28	61.6	0.10	1.6	1.3	0.62
河川E	86	389	1.5	2,461	9.8	9.4	39.2	7.5	-	3.6	0.09	1.2	2.7	0.15
定量下限値	1	1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.01	0.1	0.1	0.01

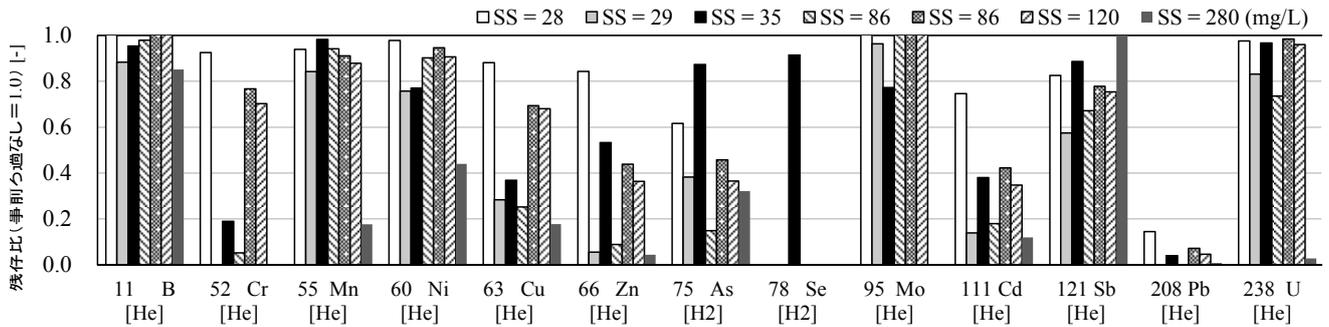


図3 河川水試料をろ過した場合の重金属類の残存比

の静置では成分濃度の変化は少ないことが確認された。一方、メンブレンフィルターろ過の場合、B、Mo、Uと定量下限値未満のSeを除いてSSが大きいほどろ過による異物除去効果が上昇する傾向を示した。河川B3のZn、As、Cdはメンブレンフィルターろ過により、残存比が0.4未満となっており、沈降分離とは対照的にろ過による影響を強く受けていた。また、PbについてはSSに関係なく残存比が0.2未満となっていた。ろ過による著しい異物除去効果が見られたAs、Cd、Pbは人の健康の保護に関する環境基準が設定されている物質であり、突発的に発生する事故等における水質検査の際、検査対象とされる可能性が高い。突発的事例発生時、当日の気象条件等から採水時に異物混入が避けられない場合、重金属類の濃度を過剰に見積もってしまう可能性がある。

3. 全試料を用いたSS別の異物除去効果

最後にSSが20 mg/L以上であった7つの河川水試料について、メンブレンフィルターでろ過した場合の残存比をSS値順で比較した(図3)。採取した河川が異なり、異物の組成も異なっていることも影響したためか、傾向に一貫性は見られなかったが、概ねSSが上昇するに伴い、メンブレンフィルターによる異物除去効果が上昇していた。河川水Bと同様にAs、Cd、Pbの濃度はろ過による異物除去効果が顕著であり、採水時のサンプル状況が検査結果に大きく影響することが確認された。

まとめ

河川水中に混入した土砂等の異物が重金属類濃度を与える影響を評価した。重金属類13成分を対象にろ過の有無による濃度変化を比較したところ、下記について明らかにした。

- ①河川A(SS=280 mg/L)を対象に、ろ過手法別に異物除去効果の比較をおこなったところ、沈降分離よりも、メンブレンフィルターによるろ過の異物除去効果が大きかった。
- ②特にCr、Zn、Cd、Pb、およびUはろ過手法に関係なく、残存比が0.2未満にまで低下した。
- ③河川Bから採取されたSSの異なる試料3種においても、沈降分離より、メンブレンフィルターによるろ過の異物除去効果が大きい傾向は変わらなかった。
- ④SSが20 mg/L以上であった7つの河川水試料においても、概ねSSが上昇するに伴い、メンブレンフィルターによる異物除去効果が上昇していた。

本報においては、混入した異物の特定には至っていないが、ろ過による異物除去が検査結果に少なからず影響を与えることが明らかとなった。前述したとおり、As、Cd、Pbは人の健康の保護に関する環境基準が設定されている物質であり、突発的に発生する事故等における水質検査の際、検査対象とされる可能性が高い。このため、突発的事例発生時、当日の気象条件等から採水時に異物混入が避けられない場合は、重金属類の

濃度を過剰に見積もってしまう可能性があることに留意する必要がある。今後も調査を継続し、検査結果の信頼性の向上に努める予定である。

参考文献

- 1) 昭和 46 年 9 月 30 日付け環水管 30 号環境庁水質保全局長通知「水質調査方法」
- 2) 環境省環境保健部環境保全課：化学物質環境実態調査実施の手引き（平成 27 年度版），（2016）
- 3) 和田信一郎：土壌中における重金属類の動態，地球環境，**15 (1)**，15-21（2010）
- 4) 環境省：土壌汚染対策法の概要，https://www.env.go.jp/water/dojo/gl_ex-me/pdf/01_chpt1.pdf

ニセネコゼミジンコを用いた WET 法による県内事業所排水の生物影響評価について

長尾 舞・平井 佐紀子・山下 浩一

Whole effluent toxicity (WET) tests of wastewater on *Ceriodaphnia dubia*

Mai NAGAO・Sakiko HIRAI and Hirokazu YAMASHITA

緒 言

現在の化学物質の規制方法は、有害性が明らかにされた物質を個別に規制しているが、毒性情報が未知のものや規制に至らない化学物質の影響、さらには環境中での物質間の複合的な影響については対応できていない。そこで、水環境への影響や毒性の有無を総体的に把握・評価する手法として、生物応答を利用した排水管理手法 (Whole Effluent Toxicity: 以下, WET 法) が注目されている。

WET 法は、欧米では 1990 年代に水質規制に導入されており、日本でも環境省により平成 22 年度に「生物応答を利用した水環境管理手法に関する検討会」が設置され¹⁾、現在も WET 法の導入について検討が続けられている。また、一部の企業及び公的研究機関においては、自主的取組の一環として導入している例もある²⁾。

本調査では、県内事業所の排水について WET 法による生物影響評価を行い、ニセネコゼミジンコへの影響を総体的に評価した。

方 法

試料は、水質汚濁防止法に基づき定期立入している県内 4 事業所 (製品工場) の排水とした (表 1)。

試験には、国立研究開発法人 国立環境研究所から提供を受けたニセネコゼミジンコ (*Ceriodaphnia dubia*) を用いた。ニセネコゼミジンコは、欧州、北米、アフリカなどに生息する外来種で、成虫の体長は約 1 mm、成熟期間は約 3 日である。

試験は、環境省が設置する「生物応答を利用した水環境管理手法に関する検討会」において平成 27 年 11 月に公表されたミジンコ繁殖試験法³⁾に基づき、表 2 の条件下で実施した。ミジンコ繁殖試験では、生後 24 時間以内のミジンコを、1 濃度区あたり 10 個体で 7 日間ばく露し、死亡数及び産まれた仔虫の数を調べ、対象区と各濃度区を比較して、統計学的に有意な低下

が認められた場合にはその濃度区以上について毒性が認められることとなる。

データ解析には、日本環境毒性学会にて配布されている解析ソフト「ECOTOX」⁴⁾を使用した。解析手順は、まず得られたデータで Bartlett 検定を行い、等分散性が認められる場合にはパラメトリック手法の Dunnett の検定を、等分散性が認められない場合にはノンパラメトリック手法の Steel の検定を用いて、対照区と各濃度区の有意差を検定した。これらの解析により、有意な低下が見られる最低の試験濃度を最小影響濃度 (LOEC)、LOEC の一段階下の濃度区を最大無影響濃度 (NOEC) とし、試料間の NOEC について比較した。

表 1 対象事業所

事業所名	主な製品
A 事業所	粘着材・接着剤
B 事業所	化学製品 (リン酸塩類等)
C 事業所	金属製品 (アルミ製品)
D 事業所	ゴム製品

表 2 試験条件

項目	方法と条件
生物種	ニセネコゼミジンコ
試験方法	半止水式
試験液量	15ml / 容器
試験期間	7 日
試験濃度	5 濃度区 (5, 10, 20, 40, 80%)
生物数	10 匹 / 濃度区 (n = 10)
試験温度	25 ± 1°C
照明	16 時間明 / 8 時間暗
給餌	クロレラ, YCT

結果および考察

4事業所について試験を行った結果を図1に示す。対象区と比較し、有意差が見られた濃度区には「※」を記す。全ての濃度区で影響が見られなかったのはD事業所のみで、他の3事業所については影響が見られた。

以上の結果を踏まえ、NOECとニセネコゼミジンの産仔数に影響を与えるとされる金属類⁵⁾の測定結果を比較した(表3)。金属類はB, Cr, Mn, Ni, Cu, Zn, As, Se, Mo, Cd, Sb, Pb, Uの13項目を測定したが、公共用水域における報告下限値未満のものは記載を省略した。また、記載があるもので、報告下限値未満のものはNDとした。

まず、NOEC ≥ 80%のD事業所ではB, Mnが検出され、Bは4事業所のうち最も高濃度で検出された。しかし、D事業所では産仔数への影響は見られなかったことから、B, Mnは産仔数に影響を与えないものと考えられる。

次に、A事業所及びC事業所ではZnがそれぞれ0.010 mg/L, 0.015 mg/L検出された。また、C事業所については、40%, 80%の濃度区における親虫の死亡率が100%となった。Znの検出濃度は公共用水域における環境基準値0.03 mg/Lより低い値ではあったが、ニセネコゼミジンコに対するZnの毒性は報告されており⁵⁾、比較的低濃度でもニセネコゼミジンコに対して毒性を示すと推察される。

最後に、B事業所では、重金属類はBのみが検出された。D事業所の結果からBが影響する可能性は

低いと考えると、重金属類以外の要因が考えられる。B事業所では、食品添加物・医薬品添加剤・試薬・工業用薬品等多種多様の製品を製造していることから、環境基準が設けられていない物質の影響や、物質間の複合影響の可能性も考えられる。原因究明には、測定項目を追加し、検討を進める必要がある。

表3 NOECと金属類濃度の比較

事業所名	NOEC	Zn	Mn	B [mg/L]
A事業所	40%	0.010	0.15	0.35
B事業所	5%	ND	ND	0.58
C事業所	20%	0.015	ND	0.68
D事業所	≥80%	ND	0.15	3.3

文 献

- 1) 生物応答を利用した水環境管理手法に関する検討会：生物応答を利用した排水管理手法の活用について(2015)
- 2) 長谷川 絵理, 西 史江, 岡村 祐里子他：名古屋市環境科学調査センター年報, 81-83 (2012)
- 3) 排水(環境水)管理のバイオアッセイ技術検討分科会：生物応答を用いた排水試験法(検討案), 20-24 (2013)
- 4) 日本環境毒性学会 HP：<http://jset.jp>
- 5) 藤原尚美, 野中信一, 豊久志朗 他：環境化学 Vol.25 No.1, 35-42 (2015)

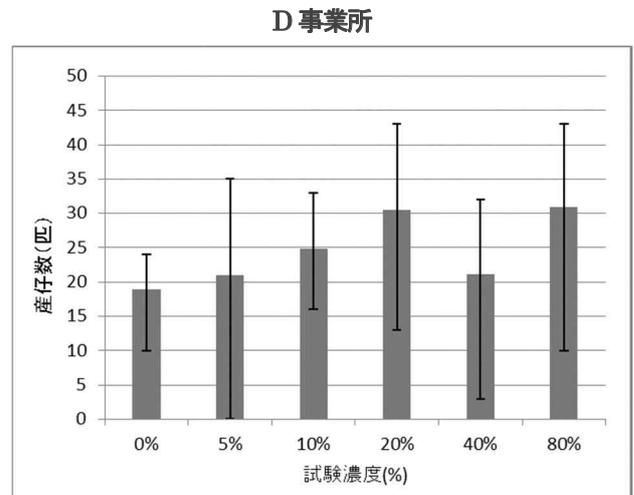
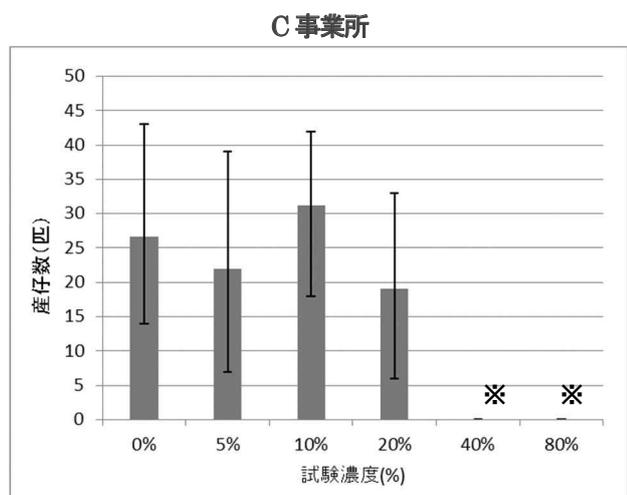
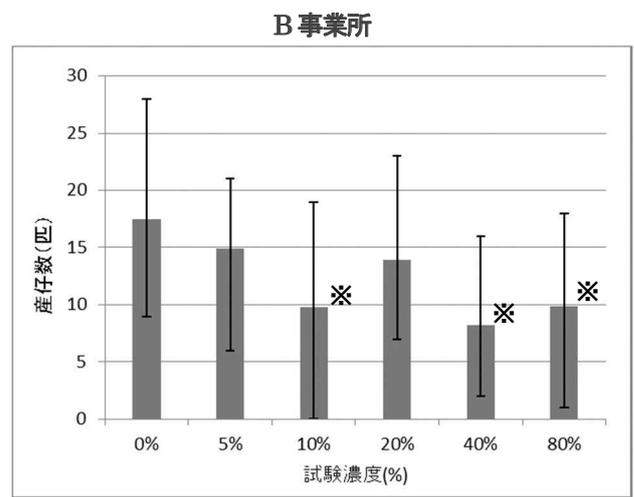
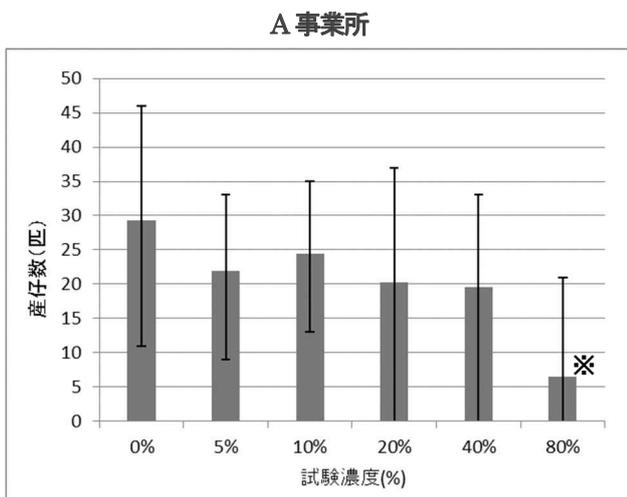


図1 ミジンコ繁殖試験の結果

高速向流クロマトグラフを用いた農薬分析法の開発

浦西 洋輔・浦西 克維・山下 浩一

Simultaneous Analyses of Pesticides in Environmental Water using High-speed Counter-current Chromatography

Yosuke URANISHI・Katsushige URANISHI and Hirokazu YAMASHITA

1. 緒言

高速向流クロマトグラフィー (high-speed countercurrent chromatography, 以下 HSCCC) は強い遠心力とアルキメデスのスクリー効果によってカラム内に液体を固定し、その液体と混和しない他の液体を送液することで、二相間での分配平衡を利用して目的物の分離を行う手法である¹⁻³⁾。HSCCC は固体充填剤を用いないため、溶質の充填剤表面への不可逆的な吸着が起こらない。更に、固体充填剤に親和性が高く移動相では溶出できない物質でも、固定相が液体であるため、カラム内の液体固定相から目的物を回収できる特徴的なクロマトグラフィーである。

HSCCC は、主にタンパク質の分離・分取に用いられている⁴⁾他、金属イオン⁵⁾や、カテキン類⁶⁾、抗酸化物質⁷⁾、食品中の残留農薬⁸⁾の分離・分析法等、多くの分野で応用されている。しかしながら、環境水中に残留する農薬の分離に HSCCC を適用した報告はなされていない。

そこで本研究では、河川水を試料とし、前処理として HSCCC を用いた多成分農薬一斉分析法について検討した。

2. 実験方法

2.1 試料

環境水中の農薬調査を想定し、河川水を試料とした。今回の検討では、添加回収試験における Matrix の影響を調べるため、懸濁物質の少ない (SS : < 1 mg/L) 河川水 (以下 LMS) と懸濁物質の多い (SS : > 10 mg/L) 河川水 (以下 HMS) の 2 種類のブランク試料 (図 1) を用いた。

2.2 試薬

アセトン、ヘキサン、トルエンは残留農薬・PCB 試験用、メタノール、酢酸アンモニウム溶液は LC/MS 分析用 (以上、富士フイルム和光純薬(株)製)、tert-ブチルメチルエーテル (以下 MTBE) は関東化学(株)製残留農薬・PCB 試験用を使用した。農薬混合標準原液は、富士フイルム和光純薬(株)製の農薬混合標準液水質-1-2 及び関東化学(株)製の農薬混合標準液 65 を使用し、LC/MS/MS 測定用の標準原液はメタノールで、GC/MS 測定用の標準原液はアセトンで適宜希釈して調製した。精製水は、小松電子(株)製うるびゅあ KE-0147A で作成した超純水を用いた。



図 1. 試料水 (左 : LMS, 右 : HMS)



図 2. 高速向流クロマトグラフ

2. 3 装置, 器具

前処理用の HSCCC 装置は, クツワ産業(株)製高速向流クロマトグラフ (Easy-PREPccc H 型, 図 2) を用いた。カラムチューブには, 内径 1.0 mm, 内容積 30 mL のテフロンチューブを用いた。固定相の溶出確認は(株)島津製作所製 LC20A SPD20A を用いた。

なお, 前処理後の農薬成分の分析に使用した機器及び測定条件は表 1 に示した。

2. 4 前処理方法

HSCCC 装置を用いた前処理方法は次のとおりとした。まず, カラム内に固定相 (*n*-hexane, MTBE, toluene 混合溶液) を充填させた後, 移動相 (試料 20 mL) を導入し, 高速向流クロマトグラフを 3 分間回転させ, 固定相と移動相を十分に向流分配させた。次に, 固定相を流速 1 mL/min で送液し, 固定相を押し出した。農薬は固定相中にトラップされるため, 検出器を用いて固定相の溶出を確認し, 固定相 1 mL を回収した。回収した固定相は窒素ガス気流下で乾固直前まで溶媒留去し, LC/MS/MS 用の試料はメタノールを, GC/MS 用の試料はアセトンを加えて溶解させ, 全量を 1 mL とした。

本調査では, 移動相を水 (河川水) とし, 固定相の溶媒比率を変化させることで, 目的物の分離・抽出効率の変動について検討した。

表 1. GC/MS 及び LC/MS/MS 測定条件

GC/MS	
GC system	GC-2010 Plus (Shimadzu)
Column	Rtx-5MS 30 m × 0.25 mm × 0.25 μm
Column Temp	70°C(2 min) → 15°C/min → 200°C(0 min) → 4°C/min → 260°C(0 min) → 20°C/min → 280°C(3 min)
Carrier gas	Helium, 1.47 mL/min
Injection Temp	250°C
Injection Volume	Spritless, 1 μL
MS system	
Interface Temp	250°C
Ion source Temp	230°C
LC/MS/MS	
LC system	Acquity UPLC system (Waters)
Column	ACQUITY UPLC HSS C18 1.7 μm, 2.1 × 100 mm
Mobile Phase	A: 5 mM Ammonium acetate B: Methanol
Percentage of mobile phase A	95% A (0.7 min) → liner gradient, 0.8 min → 70% A → liner gradient, 7 min → 30% A → liner gradient, 2 min → 5% A → liner gradient, 1.5 min → 95% A
Flow Rate	0.4 mL/min
Column Temp	40°C
Injection Volume	5 μL
MS/MS system	
Ionization mode	ESI-Positive, ESI-Negative
Capillary voltage	0.5 kV (Positive, Negative)
Source temperature	150°C
Desolvation Temp	600°C
Desolvation gas	Nitrogen, 1000 L/hr

表 2. HSCCC-GC/MS 法を用いた添加回収試験結果 (n = 1)

Concentration Sample Solvent	1 ppm						Octanol-water partition coefficient (Log Pow)
	LMS						
	<i>n</i> -hexane:MTBE: toluene =						
Pesticides	0:1:0	3:1:0	3:1:0.5	3:1:1	2:2:1	1:3:1	
Alachlor	64%	69%	68%	89%	71%	83%	3.0
Butamifos	33%	45%	38%	73%	36%	52%	4.6
Cafenstrole	42%	62%	58%	96%	46%	57%	3.2
Captan	45%	50%	46%	74%	59%	74%	2.5
Diazinon	52%	48%	47%	73%	61%	77%	3.4
Dithiopyr	48%	55%	45%	82%	49%	63%	4.4
Etofenprox	43%	62%	56%	94%	35%	57%	6.9
Flutoranil	59%	78%	75%	96%	58%	79%	3.7
Iprodione	47%	67%	63%	98%	50%	67%	3.0
Isoprotholane	62%	82%	81%	103%	62%	76%	2.8
Mepronil	48%	67%	66%	96%	49%	72%	3.6
Napropamide	60%	76%	76%	99%	59%	75%	-
Pencycuron	56%	72%	64%	98%	67%	85%	4.6
Propiconazole	55%	76%	73%	93%	51%	74%	3.7
Propyzamide	66%	70%	69%	86%	71%	79%	2.9
Pyributicarb	31%	47%	40%	77%	35%	41%	4.7

※添加回収率が許容範囲 (70% ~ 120%) から外れた項目を網囲いで示した。

2. 5 添加回収試験

HSCCC-GC/MS 法は 1.0 mg/L, HSCCC-LC/MS/MS 法は 0.1 mg/L となるよう混合標準液を河川水に添加し、回収率を求めた。添加回収試験の評価については、化学物質環境実態調査実施の手引き⁹⁾に基づき回収率が 70 ~ 120 % 以内であれば良好な結果であると判断した。測定は、装置への負荷を考慮して、HSCCC-GC/MS 法では懸濁物質の少ない LMS のみを、より感度の高い HSCCC-LC/MS/MS 法については LMS 及び HMS の両方を対象とした。

3. 結果と考察

3. 1 HSCCC-GC/MS 法を用いた添加回収試験

HSCCC 装置を用いて前処理を行った後、GC/MS にて測定を行った結果を表 2 に示す。HSCCC における固定相の検討として、まず非水溶性溶媒である *n*-hexane に、modifier (分離・抽出の改善を目的として加える添加材) として水にやや溶けやすい MTBE を組み合わせた。結果、*n*-hexane : MTBE : toluene = 3 : 1 : 0 の条件において良好な回収率が得られた農薬は、6 種のみであった。そこで、*n*-hexane と MTBE の中間的な水溶性を持つ toluene を加えることとした。toluene の比率として、1 割程度 (*n*-hexane : MTBE : toluene = 3 : 1 : 0.5) では、toluene を全く加えない結果 (*n*-hexane : MTBE : toluene = 3 : 1 : 0) と大きな変化が無かったため、toluene の比率を上げたところ (*n*-hexane : MTBE : toluene = 3 : 1 : 1, 2 : 2 : 1, 1 : 3 : 1), *n*-hexane : MTBE : toluene = 3 : 1 : 1 の条件において最も良好な結果が得られ、計 16 種の農薬について HSCCC 装置を用いた前処理が適用可能であった。

HSCCC を用いて目的物の分離を成功させるためには、適した溶媒系の選択が肝要である。既報¹⁰⁾では、HSCCC に使用する固定相の選択として、単一の溶媒系で成功することは稀で、modifier を加え 2 ~ 3 種類の溶媒を組み合わせたことが多いと述べている。本結果においても、MTBE 単相や *n*-hexane/MTBE の二相系よりも、*n*-hexane/MTBE/toluene といった水溶性の異なる三相の溶媒を使用する必要があった。また、これら三相の溶媒比率を変化させることで、抽出効率の上昇が見られた。

3. 2 HSCCC-LC/MS/MS 法を用いた添加回収試験

3. 1 にて良好な結果が得られた固定相の溶媒比率 (*n*-hexane : MTBE : toluene = 3 : 1 : 1) を用い、HSCCC 装置による前処理を行った後、LC/MS/MS にて測定を行った。結果、HSCCC-LC/MS/MS 法は計 28 種の農薬

表 3. HSCCC-LC/MS/MS 法を用いた添加回収試験結果 (n = 1)

Concentration	0.1 ppm		Octanol - water partition coefficient (Log Pow)
	Sample	HMS	
Solvent	<i>n</i> -hexane:MTBE: toluene =		
Pesticides	3:1:1		
Acetamiprid	0%	0%	0.8
Azoxystrobin	104%	86%	2.5
Bensulide	84%	74%	-
Boscalid	103%	112%	2.9
Butamifos	79%	82%	4.6
Cafenstrole	116%	114%	3.2
CafenstroleMetabolite	0%	0%	-
Clothianidin	0%	0%	0.7
Cumyluron	107%	98%	2.6
Cyclosulfamuron	0%	0%	1.5
Cyproconazole	106%	92%	3.1
Diazinon	84%	86%	3.4
Difenoconazole	76%	77%	4.4
Dithiopyr	66%	67%	4.4
Ethoxysulfuron	0%	0%	0.0043
Flazasulfuron	0%	0%	1.3
Flutolanil	99%	100%	3.7
HalosulfuronMethyl	0%	0%	-0.018
Imidacloprid	0%	0%	0.57
Isoprothiolane	101%	108%	2.8
Isoxathion	81%	83%	3.7
Mecoprop	0%	0%	-0.43
Mepronil	102%	96%	3.6
Metalaxyl	0%	0%	1.7
Oxaziclomefone	83%	91%	3.7
Pencycuron	90%	87%	4.6
Pendimethalin	92%	97%	5.1
Propiconazole	95%	92%	3.7
Propyzamide	100%	99%	2.9
Pyributycarb	66%	69%	4.7
Siduron	102%	80%	-
Simazine	0%	0%	2.1
Simeconazole	102%	104%	3.2
Tebuconazole	100%	89%	3.7
Tebufenozide	88%	97%	4.2
Terbucarb	91%	102%	-
Tetraconazole	95%	92%	3.5
Thiamethoxam	0%	0%	-0.13
Thifluzamide	99%	115%	4.1
Triclopyr	103%	101%	-
Triflumizole	85%	84%	5.0
TriflumizoleMetabolite	100%	92%	-

※添加回収率が許容範囲 (70% ~ 120%) から外れた項目を網囲いで示した。

について良好な回収率を得ることができた (表 3)。今回の添加回収試験では、LMS と HMS との間で、添加回収率に大きな差は見られなかった。また、オクタノール/水分係数 (以下 Log Pow) を比較すると、Log Pow : 2.2 ~ 2.5 を境に、この値より低い農薬は全く回収されなかった (図 3)。

四ノ宮¹¹⁾ は、本報とほぼ同種の農薬について固相カートリッジを用いた前処理を行い、河川水中農薬分析におけるマトリックス効果を調査しているが、保持時間の短い農薬が特に強いイオン化抑制を受けていると報告している。また、Bonfiglio ら¹²⁾ は、生体試料

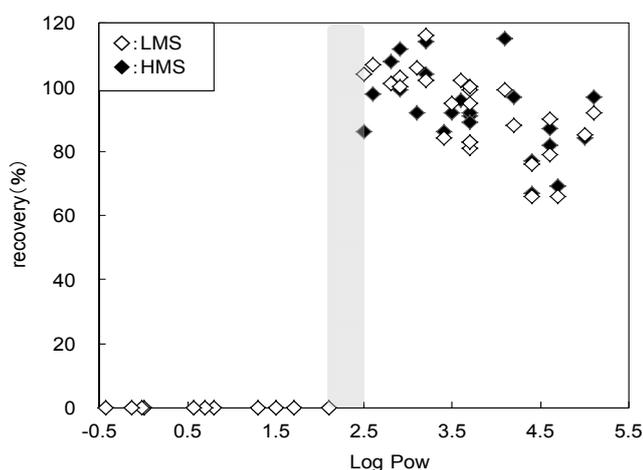


図3. 添加回収率と Log Pow の相関

を対象とした有機化合物の分析において、極性の高い物質ほどイオン化抑制を受けやすい傾向があると報告している。今回、Log Pow の低い親水性の農薬については全く回収されておらず、極性の高い物質におけるイオン化抑制効果を比較することはできなかった。しかし、これら Log Pow の低い農薬がマトリックス成分による影響を受けていた可能性については、今後さらなる検討が必要と考える。例えば、本報では、ハード面、すなわちカラムの回転速度・時間、運転時の温度、流速については検討していない。Duら¹³⁾は、流速が遅いほど固定相への保持は強くなると報告しており、これらの項目について検討すれば農薬の回収率をさらに向上できる可能性がある。

4. まとめ

HSCCC を用いた前処理法を用いて、農薬の一斉分析法について検討した。結果、HSCCC-GC/MS 法において 16 種類、HSCCC-LC/MS/MS 法において 28 種類の農薬について良好な添加回収率を得ることができた。このことから、農薬成分は限定されるが HSCCC 装置が環境水中の農薬一斉分析法に適用できることが判明した。また、HSCCC-LC/MS/MS 法で LMS と HMS

の 2 種類の試料を用いて Matrix の影響を比較したところ、添加回収率に大きな差は見られなかった。本調査では、Log Pow の低い農薬は全く回収できなかったため、今後は流速等の項目についてさらに検討を重ね、農薬の回収率向上に努めたい。

謝 辞

本研究において、クツワ産業株式会社様より高速向流クロマトグラフ装置 Easy-PREPccc H 型を貸与いただきました。この場を借りて厚くお礼申し上げます。

参考文献

- 1) Y. Ito : *J. Chromatogr. A*, **1065**, 145-168 (2005)
- 2) 北爪英一 : ぶんせき, **6**, 287-293 (2008)
- 3) 岡田靖則 : *Chromatography*, **31** (1), 45-50 (2010)
- 4) K. Shinomiya, Y. Kabasawa, K. Ynagidaira, et al : *J. Chromatogr. A*, **1005**, 103-112 (2003)
- 5) 石井一行, 田中由香, 秦恭子, 他 : 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **53** (9), 953-958 (2004)
- 6) A. Yanagida, A. Shji, Y. Shibusawa, et al : *J. Chromatogr. A*, **1112**, 195-201 (2006)
- 7) 井之上浩一, 木村友美, 小島弘之, 他 : 日本食品化学学会誌, **18** (2), 71-76 (2011)
- 8) 岡田靖則, 岡田吉弘 : (公社) 日本食品衛生学会 第 114 回学術講演会公演要旨, (2018)
- 9) 環境省環境保健部環境保全課 : 化学物質環境実態調査実施の手引き (平成 27 年度版)
- 10) 原田健一 : *Pharmaceutical Society of Japan*, **25** (6), 551-556 (1989)
- 11) 四ノ宮美保 : 環境化学, **26** (4), 191-201 (2016)
- 12) Bonfiglio R, King RC, Olah TV, et al : *Rapid Commun. Mass Spectrin.*, **13**, 1175-1185 (1999)
- 13) Qizhen Du, Caijuan Wu, Guojun Qian, et al : *J. Chromatogr. A*, **835**, 231-235 (1999)

