

<報 文>

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*

—水質事故への適用事例—

弓庭一輝**・山本道方**

キーワード ①LC-Q/TOF ②水質事故

要 旨

当センターでは、災害/事故等により環境中に拡散した化学物質によって人の健康が損なわれるおそれがある等緊急迅速な対応が求められる環境危機事象において、迅速に原因物質を特定できる緊急調査手法の開発に取り組んでいる。今回、緊急調査手法を実際に発生した水質事故に適用した結果、魚のへい死事故及び着色水による水質事故について迅速に原因物質を特定することができた。

1. はじめに

環境危機事象とは、突発的に発生する災害/事故等により環境中に拡散した化学物質によって人の健康が損なわれるおそれがある等、緊急迅速な対応が求められる事態であり、適切に対応するためには迅速な原因物質の特定が求められる。

しかしながら、これまで我々が注力してきた既知物質を高感度・高精度で分析するいわゆる「ターゲット分析」は、全く想定外の未知物質が原因物質となる環境危機事象に上手く対応することができない。多くのターゲットをあらかじめ登録しておくことで、網羅的に分析する手法も検討されているが、全くの未知物質には対応できない¹⁾。環境危機事象に対応するためには未知物質を特定できる新たな緊急調査手法が必要となる。

そこで着目したのが、あらかじめ何を測定するかを決めずに測定するいわゆるノンターゲット分析である。ノンターゲット分析による高分解能測定により、精密質量数から組成式を特定することができれば、全くの未知物質であっても、それが何かを特定できると考え、新たに導入したのがLC-Q/TOFである。

これまでにノンターゲット分析で検出される膨大な成分の中から迅速に原因を特定するためには差分解析が有効であり、環境中1 µg/L以上の濃度で残留する原因物質の特定に適用できることを報告した²⁾。また、あらかじめ平常時における残留濃度を把握し事故時と比較することで原因物質を確実に特定できること等を報告してきた²⁾。

今回の報告では、開発した緊急調査手法を実際に発生した水質事故に適用し、未知の原因物質を迅速に特定できた事例について報告する。

2. 実験方法

2.1 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) 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。

2.2 環境試料の前処理方法³⁾

2.2.1 魚のへい死事故

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、ろ液とろ紙をアセトンで超音波処理した抽出液を合わせ通液した。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に定容したものを試験液とした。

*Development of Rapid Measurement Methods Using LC-Q/TOF for Disaster and Emergency Situations

**Kazuki YUBA, Masamichi YAMAMOTO (和歌山県環境衛生研究センター) Wakayama Prefectural Research Center of Environment and Public Health

2.2.2 着色による水質事故

環境試料500 mLをろ過処理し、ろ液は2.2.1の方法で処理した。

ろ紙残渣はアセトン10 mLで超音波抽出し、抽出液を濃縮乾固した後、メタノールで1 mLに定容したものを試験液とした。

2.3 試験液の測定方法

測定はLC-Q/TOF (AB Sciex製X500R) を使用し、Q/TOFはESI-positive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)。

表1 測定条件⁴⁾

[LC条件]	
使用機種	: AB Sciex製 ExionAC LCシステム
カラム	: GL Sciences製 Inertsil ODS-4HP 3 μ m, 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
試料注入量	: 2 μ L
[MS条件]	
使用機種	: AB Sciex製 X500R
イオン化法	: ESI-positive
測定モード	: SWATH [®] Acquisition

2.4 解析方法

2.4.1 差分解析

解析にはSciex OS (AB Sciex製) を使用した。

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地点について試験液を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未知成分を絞り込んだ。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) を使用した。事故時に顕著に存在する未知成分は、スペクトルパターン及び精密質量数から組成式の推定を行った。

2.4.2 ライブラリ検索

ライブラリはNIST2017を使用した。差分解析 (2.4.1) を適用できなかった場合、事故時と平常時の2地点の測定結果をライブラリに登録されている化合物と照合し、検索された化合物を比較することで事故時に顕著に存在する未知成分を絞り込んだ。

3. 結果と考察

3.1 魚のへい死事故対応

3.1.1 事故概要

令和3年5月、県内河川において約5,000匹の魚がへい死する水質事故が発生、所管の保健所職員が迅速に対応し、へい死魚が認められた流域の最上流 (平常時) 及び下流 (事故時) の2地点で検体を採取した (図1)。



図1 試料採取地点 (魚のへい死事故)

採取した水質試料は速やかに当センターに搬入され、前処理及びLC-Q/TOFにより測定、解析を行い、事故発生の翌日に原因物質として農薬成分が特定された。

この結果を受けて保健所は農林部局、農薬販売事業者等と共同して再発防止のための啓発活動に取り組んだ。これまでのところ当該地域で同様の魚のへい死事故は再発していない。

3.1.2 差分解析による原因物質の特定

事故時及び平常時の2地点におけるTICクロマトグラム (TOFMS測定) を重ね合わせ、差分解析した結果を図2に示す。事故時に特異的なシグナルが溶出時間26.4分に存在した。抽出したマススペクトルの精密質量数及び同位体パターンから組成式は $C_{18}H_{19}NO_4$ で農薬成分であるクレソキシムメチルと推定された (図3)。

さらに標準物質 (Dr. Ehrenstorfer GmbH製 99 %) による同定を行うことでクレソキシムメチルであることが裏付けられ、残留濃度が190 μ g/Lであることが判明した。

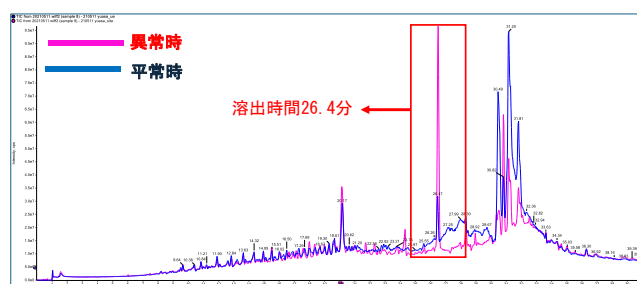


図2 異常時と平常時のTICクロマトグラム (TOFMS m/z 50-1,000) を重ね合わせ差分解析した結果 (図の縦軸はIntensity, 横軸は溶出時間 (分))

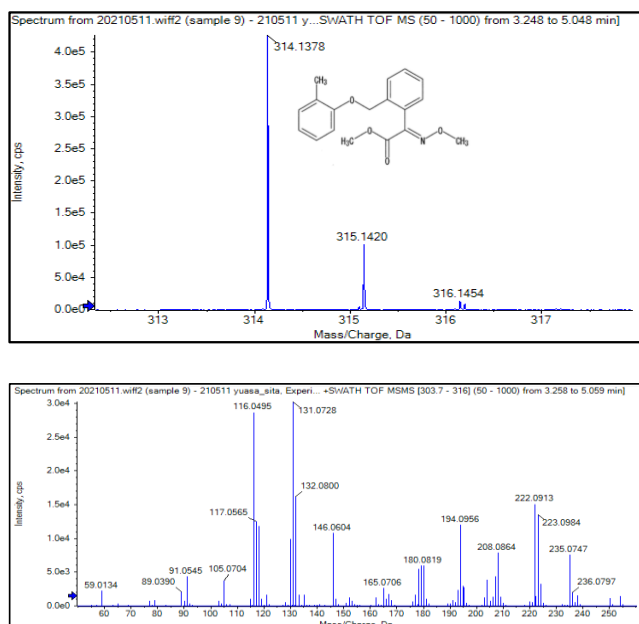


図3 事故時に顕著なシグナル（溶出時間26.4分）のマススペクトル（上：MSスペクトル，下：MS/MSスペクトル）

3.1.3 平常時河川の残留濃度との比較

普段の河川水中にも多くの農薬が検出されるが、平常時における最大濃度は0.4 $\mu\text{g/L}$ であった²⁾。一方、今回の水質事故の原因物質であるクレソキシムメチルの残留濃度は190 $\mu\text{g/L}$ であり、平常時の値を大きく超過した。このことから、魚のへい死事故における原因物質がクレソキシムメチルであると裏付けられた。

3.2 着色水による水質事故

3.2.1 事故概要

令和6年6月、県内の水路が紫色に着色する水質事故が発生した（図4）。所管の保健所職員が現地調査したところ、着色は一帯に広がり、上流側は暗渠となっていたため発生源の特定には至らなかった。へい死魚は確認されず、生魚が確認されたことから緊急性はないものと判断された。採水は当日の着色水を事故時としたが、平常時を採水できる地点がなかったため、翌日着色がなくなった状態を平常時とした（図5）。

原因物質の特定を受けて、保健所は水路の周辺事業者への注意喚起を行い、再発防止に努めた。



図4 紫色に着色した水路の状況（上：水質事故当日，下：水質事故翌日）



図5 当センターに搬入された水質試料（左：水質事故当日，右：水質事故翌日）

3.2.2 試料の前処理

ろ過後のろ紙残渣は紫色に着色した（図6）。ろ紙残渣

からの抽出液はろ液に戻さずにそのまま試験液とした。

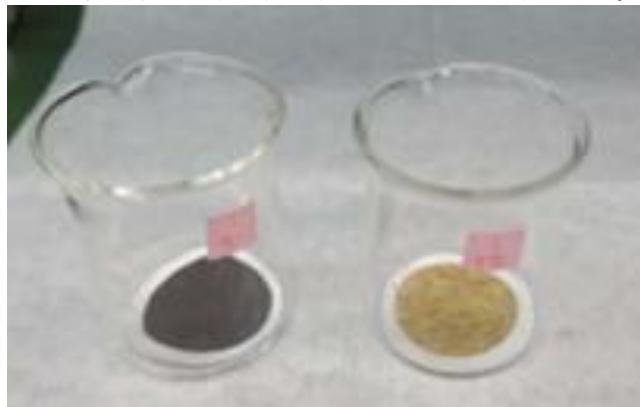


図6 ろ紙残渣（左：事故時，右：平常時）

3.2.3 原因物質の特定

TICクロマトグラムを比較する差分析では、事故時と平常時で顕著な差異は認められなかった。

このため、事故時と平常時の測定結果についてライブラリに登録されている化合物と照合した結果、事故時において色素成分であるクリスタルバイオレットが検出された（図7）。標準物質（片山化学工業製 特級）の溶出時間、マススペクトルが一致したことからクリスタルバイオレット（図8）と同定した。

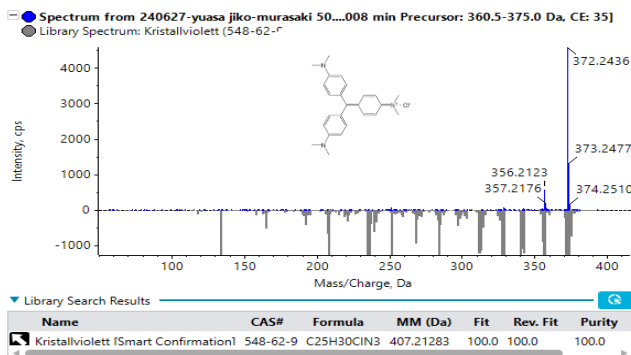


図7 スペクトルライブラリー検索の結果（図中上側：ろ紙残渣の抽出液のMSMSスペクトル，下側：ライブラリに登録されているクリスタルバイオレットのMSMSスペクトル）

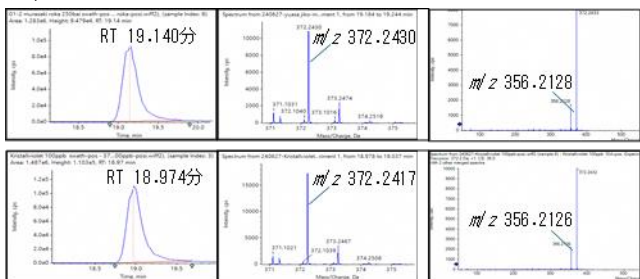


図8 クリスタルバイオレット（標準物質）の溶出時間及びマススペクトルの比較（上段：ろ紙残渣の抽出液，下段：標準物質，いずれも左から順にクロマトグラム，MS

スペクトル，MS/MSスペクトル）

162

事故時のクリスタルバイオレットの残留濃度は0.17 µg/Lであった。

4. まとめ

今回、緊急調査手法を実際に発生した水質事故に適用した事例について報告した。魚のへい死事故対応では、差分析で効果的に原因物質を絞り込むことにより、事故発生の翌日に原因物質を特定するに至った。着色水による水質事故では、事故時と平常時のライブラリ検索の結果を比較することで、より微量な原因物質についても効果的に特定できることを示した。今回、水質事故への適用例を報告したが、本検討はこれらに限定するものではなく、環境危機事象に広く適用できる緊急調査手法として期待される。

5. 引用文献

- 1) 浦西洋輔，高林泰斗，北岡洋平，平山可奈子，田原俊一郎：AIQSを用いた異常水質原因特定事例について．全国環境研会誌，Vol. 49，No. 2，28-33，2024
- 2) 山本道方：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．和環衛研年報，No. 68，52-55，2022
- 3) 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
- 4) (株) エービー・サイエックス：QTOFシステムを用いた自動同定・定量データベース (AIQS-LC) 及びターゲットスクリーニング法，https://sciex.jp/form-pages/lp_aiqs_screening (2025. 8. 18 アクセス)