

<報 文>

札幌市衛生研究所における分析法開発への取り組みについて*

折原智明**・柴田 学**

キーワード ①分析法開発 ②エコ調査

要 旨

札幌市衛生研究所では環境調査への取り組みとして、環境省の化学物質環境実態調査（エコ調査）に参加し、環境中の化学物質濃度の実態把握に努めてきた。昭和60年度以降取り組んだ分析法開発の経過を示し、一部の分析方法について開発過程での困難点等について紹介し、課題や問題点についても記した。

1. はじめに

札幌市衛生研究所は、保健・環境にかかわる科学的かつ技術的中核機関として、市民の健康、食の安全及び生活環境の安全・安心を守るための試験検査を行うとともに、それに関連した調査研究、情報の収集・解析・提供を行っている。保健福祉局に属しているものの、環境局からの分析業務も定常的に担っており、他都市の自治体で言えば”保健環境センター”的な位置づけである。

1.1 保健科学分野

食中毒や感染症の原因となる細菌やウイルスの検査、新生児、乳児、妊婦を対象に、先天的な病気を未然に防止するための検査とそれらに関する調査研究を行っている。また、市内感染症の発生动向や病原体検出状況を提供している。事務係、微生物係及び母子スクリーニング係の3係を設置している。

1.2 生活科学分野

食品や生活環境の安全性を確保するため、食品に含まれる添加物・農薬・放射能等の検査や大気・水・土壌等に含まれる環境汚染物質等の検査を行うとともに、それらに関する調査研究を行っている。また厚生労働省や環境省の委託調査のほか、他の自治体等との共同研究に参加し、市内における食品の安全性や環境中の化学物質の把握に努めている。食品化学係、大気環境係及び水質環境係の3係を設置している。

大気環境係及び水質環境係では、環境省が実施する化学物質環境実態調査（エコ調査）に参加しており、この

中で初期環境調査や詳細環境調査と並んで、分析法開発に昭和60年度以降取り組んできている。水質環境、大気環境に関する様々な物質を対象としてきた。

今回、当研究所で取り組んできた分析法開発の一覧を示し、一部の分析法について開発過程等を紹介する。

2. 分析法開発物質と分析方法の経歴

エコ調査で受託した分析法開発の一覧を表1に示す。昭和60年度（1985年度）に中島純夫が初めて分析法開発を受託し、以後15年間、毎年度新たな物質について分析法開発を担当してきた。

しかし平成12年度（2000年度）から6年間、分析法開発を受託しない期間があった。これは平成12年度よりダイオキシン類の分析を開始し、その分析担当に当時分析法開発を担っていた小田達也を配置換えしたためである。当研究所の職員は行政職のため定期的な異動があり、様々な前処理・測定手法を駆使する分析法開発を担うには、ある程度の分析経験が必要であり、他の職員では難しかった様である。また、ダイオキシン分析に人員を割いたことにより時間的な余裕が減ったことも考えられる。

その後、平成18年度（2006年度）から分析法開発を再開させた。これは昭和60年度に初めて分析法開発を受託した中島純夫が、再び当研究所に配属されたため再開可能となったと言える。

中島は当初、LC/MSで検討を開始したが上手くいかなかった様で、翌平成19年度（2007年度）にLC/MS/MSを整備し、即、分析法開発に投入した。

*Effort to develop analytical methods at the Sapporo City Institute of Public Health

**Tomoaki ORIHARA, Manabu SHIBATA (札幌市衛生研究所) Sapporo City Institute of Public Health

表1 分析法開発年度と開発物質

年度	開発物質	対象媒体	前処理方法	測定方法	担当者	
昭和	60 メトキシフェノール(2-, 3-, 4-)	水質, 底質	溶媒抽出	GC/MS	中島純夫	
	61 アクリロニトリル, メタアクリロニトリル	水質, 底質	固相抽出	GC/MS	中島純夫	
	62 ムスクキシレン	水質, 底質, 生物	溶媒抽出	GC/ECD	西野茂幸	
	63 ジシクロペンタジエン	水質, 底質	溶媒抽出	GC/MS	西野茂幸	
平成	元 ジフェニルアミン	水質, 底質, 生物	溶媒抽出	GC/MS	西野茂幸	
	2 ε-カプロラクタム	水質, 底質, 生物	固相抽出	GC/MS	西野茂幸	
	3 チオファネートメチル	水質, 底質, 生物	溶媒抽出	GC/MS	西野茂幸	
	4 アセフェート	水質, 底質, 生物	固相抽出	GC/FPD	西野茂幸	
	5 エタノールアミン	水質, 底質	溶媒抽出	GC/MS	西野茂幸	
	6 エチレングリコール, 1,2-ブチレングリコール, ヘキシレングリコール	水質, 底質	溶媒抽出	GC/MS	小田達也	
	7 ヒドロキノン	水質, 底質	溶媒抽出	GC/MS	小田達也	
	8 クロロベンゼン, スチレン, 1-メチルエチルベンゼン, 2,4-ジクロロトルエン	水質, 底質	バージ&トラップ	GC/MS	小田達也	
	9 ピリジン-トリフェニルボラン	水質, 底質*	固相抽出	HPLC/PDA	小田達也	
	10 メタクリル酸エステル類(4物質)	水質, 底質	固相抽出	GC/MS	菅原雅哉	
	11 ジオクチルスズ化合物	水質, 底質, 生物	溶媒抽出	GC/MS	小田達也	
	12 -					
	13 -					
	14 -					
	15 -					
	16 -					
	17 -					
	18 (2-メルカプトベンゾチアゾール)	(検討中)			(LC/MS)	(中島純夫)
	19 (2-メルカプトベンゾチアゾール)	(検討中)			(LC/MS/MS)	(中島純夫)
	20 2-メルカプトベンゾチアゾール (β-トレンボロン)	水質, 底質 (検討中)	固相抽出		LC/MS/MS-ESI (LC/MS/MS)	中島純夫 (小林美穂子)
	21 (β-トレンボロン) (4-ビニル-1-シクロヘキセン)	(検討中)			(LC/MS/MS) (GC/MS)	(折原智明) (立野英嗣)
	22 4-ビニル-1-シクロヘキセン (β-トレンボロン)	大気 (検討中)	固相捕集		GC/MS (LC/MS/MS)	立野英嗣 (折原智明)
	β-トレンボロン	水質	固相抽出		LC/MS/MS-APCI	折原智明
	23 (1, 1-ジクロロエチレン) (2, 3-エポキシ-1-プロパノール)	(検討中)			(GC/MS) (GC/MS)	(立野英嗣) (立野英嗣)
	24 1, 1-ジクロロエチレン ジクロロアニリン類 (2, 3-エポキシ-1-プロパノール) (トナリド)	大気 水質 (検討中)	キャニスター捕集 固相抽出		GC/MS GC/MS (GC/MS)	立野英嗣 阿部敦子 (立野英嗣) (折原智明)
	25 トナリド, ガラクソリド ブタン-2-オン=オキシム 2, 4-ジメチルアニリン類 (2, 3-エポキシ-1-プロパノール)	水質 大気 水質, 底質 (検討中)	固相抽出 固相捕集 固相抽出		GC/MS GC/MS GC/MS (GC/MS)	折原智明 立野英嗣 阿部敦子 (立野英嗣)
	26 2, 3-エポキシ-1-プロパノール (β-ヨノン)	大気 (検討中)	固相捕集		GC/MS (GC/MS)	立野英嗣 (折原智明)
	β-ヨノン	水質	固相抽出		GC/MS	折原智明
	27 りん酸(2-エチルヘキシル)ジフェニル, りん酸ジ-n-ブチルフェニル (o-アニシジン, 2-メトキシ-5-メチルアニリン, 2-ナフチルアミン)	水質 (検討中)	固相抽出		LC/MS/MS-APCI (GC/MS)	折原智明 (阿部敦子)
	りん酸トリフェニル	水質	固相抽出		GC/MS	折原智明
	28 りん酸トリフェニル (o-アニシジン, 2-メトキシ-5-メチルアニリン, 2-ナフチルアミン)	水質 (検討中)	固相抽出		LC/MS/MS-APCI (GC/MS)	折原智明 (阿部敦子)
	o-アニシジン, 2-メトキシ-5-メチルアニリン, 2-ナフチルアミン	大気	固相捕集		GC/MS	阿部敦子
	29 アジルサルタン (レボフロキサシン)	水質 (検討中)	固相抽出		LC/MS/MS-ESI (LC/MS/MS)	折原智明 (折原智明)
30 レボフロキサシン, (R)-オフロキサシン	水質	固相抽出		LC/MS/MS-ESI	折原智明	
令和 元 (17β-エストラジオール, 17α-エチニルエストラジオール)	(検討中)			(LC/MS/MS)	(折原智明)	

* : 平成9年度の底質は回収率不足により開発中止

平成21年度（2009年度）からは、それまでの水質・底質・生物の対象媒体に加えて、立野英嗣により大気についても分析法開発を開始した。

昭和60年度（1985年度）～平成11年度（1999年度）までは、前処理方法については「溶媒抽出」、測定方法については「GC/MS」が主体の方法であったことがわかる。また分析法開発期間も1物質群1年で検討を終えていた。

平成18年度（2006年度）以降は、前処理方法については「固相抽出（捕集）」が主体となり、測定方法については「GC/MS」の他「LC/MS/MS」も多用されている。また分析法開発に要する期間が数年かかる場合も増えていった。これはLC/MS/MSの条件設定の難しさや、多成分一斉分析あるいは高感度分析の要望等があったことも影響しているのではないかと考えられる。

昭和60年度（1985年度）から令和元年度（2019年度）までの35年間で31件（水質26件、大気5件、現在1件が検討継続中）を受託したが、担当者はある程度限られた人員で実施されていたと言える。

なお開発した各物質の分析方法は、環境省から「化学物質と環境 化学物質分析法開発調査報告書」として毎年度発行されているが、国立環境研究所のホームページで検索することが出来る様になっている。

3. 開発過程での困難事例

ここでは分析法開発過程での開発が難しかった点について、いくつか事例を紹介する。

3.1 *o*-アニシジン、2-メトキシ-5-メチルアニリン、2-ナフチルアミン（大気）

大気試料のカートリッジ捕集による3物質のGC/MSによる同時分析について、平成27年度（2015年度）から平成29年度（2017年度）にかけて取り組んだ。

過去にリン酸を安定剤として用いた例があったことから、安定剤としてリン酸、アスコルビン酸、アスコルビン酸ナトリウムについて検討したが、逆相固相カートリッジ（Sep-Pak C18）を用いアスコルビン酸を浸漬させたものでは回収率が向上しなかった。

そこで方針を変えて、酸化されやすいアミノ基側を結合させて捕集することを目的に硫酸を含浸させた陽イオン交換カートリッジ（Bond Elute PRS）を用いたが、これも回収率がよくなかった。

このため、酸化防止剤として、アミノ基を有し目的物質よりも酸化されやすい物質を検討したところ、*p*-アミノフェノールを添加したSep-Pak Plus PS2を用いて要求下限値と回収率で好結果が得られた。これを基に細目を詰めたうえで分析方法として完成した。

3.2 β -トレンボロン（水質）

この開発には4年もの検討期間を要してしまった。ステロイド骨格のためコリジョンで壊れにくく、感度アップに必要な大きなプロダクトイオンが得にくかった。コリジョンガスに重いキセノンを使った検討なども行ったが感度が上がらなかった。また河川水等から抽出した試験液はLC/MS/MS-ESI測定でのイオン化抑制に悩まされた。分析法開発では検討会議にて検討委員からのアドバイスがあり、開発担当者一人で全ての検討を計画し開発するわけではなく、この物質も鈴木茂検討委員（中部大学）からAPCIで行ってみてはとのアドバイスがあり、このイオン化法はイオン化抑制を受けにくいことがわかり、分析法の開発を終えることができた。

3.3 トナリド、ガラクソリド（水質）

この開発は当初トナリドについてのみであった。トナリドは石鹼などに添加される香料である。開発途中で実施した河川水への添加回収試験において、回収率が数百パーセントとなってしまい原因がすぐにはわからなかった。よく調べると質量数が全く同じで、MSで生成する主イオンも同じ質量数、さらにリテンションタイムも同じであるガラクソリドが被っていることが判明した。ガラクソリドもトナリドと同じ用途の香料であり、白石寛明検討委員（国立環境研究所）から情報提供があり原因解明することができた。GCカラムの変更（DB-5MS→DB-FFAP）等により2物質及びガラクソリドの異性体を分離させることが可能となり、2物質の分別分析方法として開発を終えることができた。

3.4 リン酸トリフェニル（水質）

この物質はリン酸エステル類であり、LC/MS/MSで前年度（平成27年度）に開発を終えたりん酸(2-エチルヘキシル)ジフェニル及びりん酸ジ-*o*-ブチルフェニルも含めて開発を行った。これらりん酸エステル類はGCでもLCでも分析が可能であり、両方の方法で分析法を開発した。実際のところは、りん酸(2-エチルヘキシル)ジフェニルの開発終了後、リース機器返却によって感度を確保出来るLC/MS/MSが無くなりGC/MSで検討を行っていたが、約1年後にLC/MS/MSを整備することが出来、GC/MSと併せて分析方法を開発することができた。

3.5 レボフロキサシン、(*R*)-オフロキサシン（水質）

開発要望はレボフロキサシンのみであった。逆相LCでは異性体の(*R*)-オフロキサシンとの分離が困難であったことから、当初は異性体分離させない方法も考えた。しかし、環境水中の両異性体の存在比が不明であったこと、

両異性体は薬効が異なることから、分別測定方法を目指すよう竹峰秀祐検討委員（埼玉県環境科学国際センター）からアドバイスがあり、順相LCとして2物質の分離検討を行った。順相LC/MS/MSと逆相LC/MS/MSではマススペクトルが異なることや、ガラスや金属に吸着する性質への対応もあり、検討には手間がかかった。また順相でグラジエント測定を実施すると吸着防止用の添加剤が析出しLCの流路を塞ぐため、アイソクラティックでの方法として開発を行った。

4. 分析機器整備

現在の分析法開発にはGC/MSやLC/MS/MSは必須の機器と言える。どちらも環境基準や排水基準にかかる検査に必要な機器であるため、地方環境研究所には整備されていると考えられる。しかし分析法開発に用いるには、既存分析方法には無い物質を測定するために、ある程度感度良好で付加機能を有した機器を整備する必要があると言える。

GC/MSについては、平成29年度（2017年度）に更新整備する際、高温で分解する物質に対応するため温度可変の注入口を装備する様にした。PTV注入口もあるが、昔から使い慣れたオンカラム注入口を付加した仕様とした。また排気能力も考慮し、少量ならば水溶媒も直接注入可能な機種とし、分析法開発での固相抽出時の検討（水溶媒中の目的物質がスルーするか否かの確認）を行いやすくするようにした。

LC/MS/MSについては、水質環境部門だけでは費用的に単独整備が難しく、リース機返却時に新たに整備することが出来なかった。平成28年度（2016年度）に整備を行ったが、これは食品化学係との共用化で可能となった。環境研究所として単独で存在していたらLC/MS/MSは整備出来ず、平成28年度（2016年度）以降の分析法開発は行えなかった。またICP/MSやイオンクロマトグラフといった機器は水質環境部門のものを食品化学係が共同使用してもおり、今後も機器の共用化は進むと思われる。

LC/MS/MSの機種選定に当たっては、環境基準だけであればLASの測定が可能であれば問題ないが、分析法開発で開発した物質は測定可能なことを条件とした。そうでなければ過去に実施した市内の化学物質調査が出来ないためである。具体的には、りん酸エステル類の標準液を濃度を知らせずにLC/MS/MSの4メーカーにAPCI法での分析を依頼した。このとき食品化学係も併せてコルヒチン等

の自然毒及びクロラムフェニコール等の動物用医薬品についてESIイオン化法での試料分析を依頼した。各メーカーは中位機種（見積価格約2,500～3,500万円の価格帯）で分析を行い測定結果には大きな開きが生じ、感度的に要求を満たした機種を選定することができたが、手間や時間は結構かかった。

5. 今後の課題と問題点

これまで色々な分析法開発に取り組んできたが、今後も継続していくにはいろいろと懸念事項がある。

まずは、人材の育成である。これまで分析法開発を担っていたベテランが退職等で徐々に数を減らす中、新しい職員は通常の業務に追われて通常外の業務である分析法開発には取り組みづらい状況となっている。また、業務の外部委託化や職員定数減の圧力にも常にさらされている。このような悪条件の中だが、業務量の見直しなどを通じて新しい職員が通常外の業務にも取り組めるように環境を整えていく必要がある。

次に、分析機器の更新が難しくなっている。分析法開発のためには通常使っている装置よりも若干グレードの高い装置や新しい分析原理の装置が必要となることも多いが、そのような機器をそろえる予算の捻出が極めて難しくなっている。特に昨年からの新型コロナウイルス感染症対策のための支出の大幅な増加に伴い、自治体財政がひっ迫の度を増しており、来年度以降予算面での制約がさらに激化することが予想される。このため、数年前から通常分析機器についても他部門との共用化などで極力台数を減らし少ない予算をできるだけ有効に活用するように努めている。だが、反面共用化によりマシンタイムの空きが少なくなることにつながり、分析法開発に向ける余力が減少することにつながっている。

6. おわりに

以上のとおり、当研究所でのエコ調査における分析法開発についての取り組みをまとめたが、当研究所がエコ調査に参加することは、環境の保全、つまり市民の健康を守るために資すると考えるからである。様々な化学物質による環境汚染が騒がれているが、日々調査し状況を把握していくことが大切である。これを読んで下さった皆様が、業務等の中で少しでも参考になる事があれば幸いである。