

Environment Research and Technology Development Fund

環境研究総合推進費 終了研究成果報告書

「水環境保全に向けた要調査項目の一斉評価手法の開発と要調査項目候補選
定への展開」

(5-1706)

平成29年度～令和元年度

Development of Simultaneous Analysis Methods for
“Investigated Items” and Selection Procedures for Their Candidates
for Water Environment Conservation

〈研究代表機関〉

国立大学法人 東京大学

令和2年5月

目次

I. 成果の概要	1
1. はじめに（研究背景等）	
2. 研究開発目的	
3. 研究開発の方法	
4. 結果及び考察	
5. 本研究により得られた主な成果	
6. 研究成果の主な発表状況	
7. 研究者略歴	
II. 成果の詳細	
II-1 水環境保全に向けた要調査項目の一斉評価手法の開発と 要調査項目候補選定への展開	17
(国立大学法人東京大学)	
要旨	
1. はじめに	
2. 研究開発目的	
3. 研究開発方法	
4. 結果及び考察	
5. 本研究により得られた成果	
6. 国際共同研究等の状況	
7. 研究成果の発表状況	
8. 引用文献	
III. 英文Abstract	64

I. 成果の概要

課題名 5-1706 水環境保全に向けた要調査項目の一斉評価手法の開発と要調査項目候補選定への展開

課題代表者名 栗栖 太 (国立大学法人 東京大学 大学院工学系研究科 附属水環境工学研究センター 准教授)

研究実施期間 平成29～令和元年度

研究経費(累計額) 119,367千円

(平成29年度: 37,667千円、平成30年度: 44,035千円、令和元年度: 37,665千円)

本研究のキーワード 要調査項目、一斉分析、精密質量分析、ターゲットスクリーニング分析、生態リスク、底質毒性

研究体制

(1) 水環境保全に向けた要調査項目の一斉評価手法の開発と要調査項目候補選定への展開(国立大学法人 東京大学)

1. はじめに

水環境保全に向けた取組のための要調査項目(以下要調査項目)は、平成10年に300項目が設定され、平成26年に208項目に見直された。環境省により「要調査項目等存在状況調査」が行われてきたものの、毎年多くても20項目程度の調査が行われているに過ぎず、現状の調査ではまったく追いついていない。

環境基準体系において調査管理すべき対象物質は、化学物質の生産、使用状況や、初期リスク評価等の進展に基づき、常に見直されていく必要がある。なかでも要調査項目は、要監視項目、ひいては環境基準項目の予備軍として、上位項目の対象とすべきかどうかを迅速に評価していくべきである。近年、化学物質の製造と使用は少量多品種化し、かつ入れ替わりも激しくなっている。測定コストが低減でき、かつ新たな調査対象物質にも迅速に対応できる分析法が開発できれば、環境基準の体系をいっそう理想に近づけることができる。

近年、高分解能/高質量精度の精密質量分析計の登場により、測定される精密質量から分子式を推定できることから、多種の対象物質の一斉分析や、事前に分析対象を決めず網羅的に分析を行う未知スクリーニング分析が現実的になってきた。研究代表者の栗栖と分担者の春日は、環境工学分野での未知スクリーニング分析の応用を試みてきた。これまでに、都市内水資源、微生物再増殖に利用される基質、さらに下水再生水処理工程に対する分析を先駆的に報告している。

そこで本研究では、これまでに開発してきた精密質量分析計による分析技術による要調査項目の一斉分析法を開発するとともに、生物毒性評価に基づいて水環境リスクの有無を判定するための手法を開発する。さらに未知スクリーニング分析により、将来における調査対象項目の変化にも対応するための分析技術を確立する。

2. 研究開発目的

本研究では、水質汚濁に係る環境基準の要調査項目について、入手可能な毒性情報をもとに、水環境リスクの有無を判別するために必要な分析感度を整理しつつ、スクリーニング分析としての一斉分析手法を開発することを目的とする。さらに、低分子有機化合物の未知スクリーニング分析による調査監視手法により、将来要調査項目になりうる物質についても、事前に情報収集し監視できる仕組みを提案することも目的とする。

(1) 環境水に対する溶存有機物質の未知スクリーニング分析および要調査項目の一斉分析手法の確立では、できる限り多くの要調査項目を一斉分析できるようにするため、幅広い物性を持った有機物を同時に試料から抽出する前処理方法を開発する。さらに分析の信頼性と定量性を高めるため、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)による分離条件の最適化を行う。開発された分析手法は、要調査項目に対する一斉分析法として確立するほか、そのまま溶存有機物質の未知スクリーニング分析手法として未知物質の分析に活用する。

(2) 要調査項目の生態毒性の初期スクリーニング評価では、すでに毒性情報が存在する項目については濃度の評価値を決定し、情報が存在しない項目については、溶存態はオオミジンコを、底質に移行しやすい物質についてはカイミジンコを用いた底質スパイク試験により毒性の初期スクリーニング評価を行い、評価値を提案する。

(3) 荒川河川水等を対象とした要調査項目の実態調査では、(1)で開発された手法を用いて要調査項目の一斉分析を行うとともに、(2)で検討した生態毒性情報をもとに、検出定量された要調査項目濃度と比較して評価を行う。また、未知スクリーニング分析により要調査項目候補を抽出する手法についての検証を行う。さらに、環境省水環境課と連携し、環境省が行う要調査項目の存在状況調査で採取する試料の一部の分析も行い、先行的に要調査項目の評価を試みる。

3. 研究開発方法

(1) 環境水に対する溶存有機物質の未知スクリーニング分析および要調査項目の一斉分析手法の確立
1) 対象物質の選定および精密質量分析計による検出可否

要調査項目208項目のうち、無機化合物および分子量が50未満の化合物を除外し、163項目を対象とした。一部の項目には複数の化合物が含まれており、合計203化合物を試験した。対象化合物の検出の可否については、Orbitrap MS (Exactive, Thermo Fisher Scientific, USA) を使用して実施した。イオン化は、エレクトロスプレーイオン化(ESI)法を使用して、正 (ESI+) と負 (ESI-) の両方のイオン化モードで行った。

2) HPLCカラムの選択

最適なHPLCカラムを選択するために、混合標準溶液 (1つの溶液あたり10-30物質、各化合物で10 mg/L) を調製し、高速液体クロマトグラフ (HPLC) で分離しESI-Orbitrap MSで検出した。検討したHPLCカラムは、1) Atlantis dc18(Waters), 2) InertSustain AQ-C18 (GL Science), 3) Hypersil Gold C18, (Thermo Fisher Scientific), 4) Xbridge BEH C18 (Waters), 5) PLRP-S (Agilent)の5種類である。HPLCはUltimate3000シリーズ (Thermo Fisher Scientific, USA) を使用し、表2に示すカラムを検討した。カラム温度は40°Cに設定した。移動相のグラジエントは、(A) 水 (LCMSグレード、0.01%ギ酸を含む) および (B) メタノール (0.01%ギ酸を含む) を使用した。カラムの特性に応じて、流量とグラジエントプログラムを設定した。PLRP-Sカラムには50 μ L/minの流量を使用し、その他のカラムには200 μ L/minの流量を使用した。サンプルの注入量はすべて10 μ Lに設定した。

3) 固相抽出カートリッジの選択

固相抽出(SPE)には、3つの異なるタイプのカートリッジ構成を検討した。1つ目はスチレン-ジビニルベンゼン (SDVB) ポリマーのカートリッジであり、ノンターゲットスクリーニング分析に広く使用されているBond Elute PPL(Agilent)を単独で使用した。次に、微量汚染物質のターゲット分析に広く使用されているN-ビニルピロリドンとスチレン-ジビニルベンゼンの共重合体が用いられているOasis HLB Plus (Waters)、および活性炭カートリッジのSep-Pak AC2Plus(Waters)を直列接続したもの (HLB + AC2) を用いた。3つ目に、手詰めの多層カートリッジを用いた。最初の層はOasis HLB Plus、2番目の層はポリスチレンポリマーであるIsoolute ENV+ (Phenomenex、カリフォルニア、米国)、陰イオン交換樹脂Strata X-AWおよび陽イオン交換樹脂Strata X-CWの混合物であり、最後の層は活性炭ENVICarbを、手作業で充填したカラムを用いた。

1リットルのMilli-Q水に0.1 μ g/Lの標準物質を添加し、これら3つの異なるSPEカートリッジを使用し

て抽出した。試験はすべて3連で実施した。いずれも、カートリッジは最初に各プロトコルに従ってコンディショニングを行った。HLB + AC2および多層カートリッジで処理する場合には、標準溶液にリン酸緩衝液（1 mol/L）または酢酸アンモニウム（1 mol/L）1 mLを、それぞれ添加した。次に、標準溶液のpHを、それぞれPPL、HLB + AC2カートリッジ、および多層カートリッジに通水する前に、それぞれ32%のHCl、リン酸バッファーもしくはギ酸で、pHを2、7もしくは6.5-5.5に調整した。次に、カートリッジを窒素ガスで40分間パージして乾燥させた。PPLカートリッジからの溶出には、10 mLのメタノールを使用した。HLB + AC2および多層カートリッジは、カートリッジを逆さにし、活性炭側から溶出した。LB + AC2カートリッジについてはメタノール5 mLとジクロロメタン3 mLを使用して溶出した。多層カートリッジは、5%のアンモニアを含むメタノールと酢酸エチルの1：1混合物6 mL、酢酸1.7%を含むメタノールと酢酸エチルの1：1混合物3 mL、メタノール2 mLを順次用い溶出した。これらの溶出液を窒素ガスパージによりさらに濃縮した。混合物をメタノールで1 mLとしたのち、HPLC-Orbitrap MSで分析した。化合物の回収率（R）は式（1）で計算した。

$$R = (C_D - C_B) / C_0 \times 100\% \quad (1)$$

ここで、 C_D は検出された濃度(ng/L)、 C_B はブランクの濃度(ng/L)、 C_0 はスパイクした化合物の濃度(ng/L)である。

（２）要調査項目の生態リスクの評価

１）暫定指針値（検出目標値）の算出

一斉分析における検出レベルの目標設定を行うため、要調査項目のうち水生生物への影響に係る項目105項目から無機物12項目を除いた合計93項目の有機物について、環境省「化学物質の初期リスク評価ガイドライン（平成26年12月版）」におけるPNEC導出手法を用い、暫定指針値の導出を試みた。具体的には、以下のA～Dの順に行った。

A：すでに環境省で生態リスクに関する環境リスク初期評価が実施されているものはその報告書に記載の生態影響に関するPNECを参照した。

B：環境リスク初期評価は実施されていないものの、環境省HPで生態影響試験結果が公表されているものについてはそれをもとにPNECを導出した。

C：A、Bに該当しない物質については、USEPAのECOTOX Knowledgebaseに収集されている情報から、淡水性の室内試験であり、致死、繁殖、成長、個体群増殖、行動について毒性評価を行っており、試験期間が極端に短いもの（1日未満）を除き、毒性のエンドポイントが濃度情報で得られるものを、抽出した。

D：Cにおいても情報が得られない場合にはECHA (European Chemicals Agency)データベースおよびeChem Portal (OECD)より毒性試験情報を入手しPNEC値を導出した。

２）暫定指針値導出のための基礎情報追加

上記１）の導出において、情報が限られていた物質のうち2- [(3-ドデカンアミドプロパン-1-イル) (ジメチル) アンモニオ] アセタート（要調査項目番号120、CAS番号4292-10-8、別名Lauroylamide Propylbetaine）について、オオミジンコ（*Daphnia magna*）の急性遊泳阻害試験を行った。試薬は米国 Santa Cruz Biotechnology, Inc.社より購入した製品番号SC-488785を用い、OECD 化学品テストガイドラインNo.202「オオミジンコ遊泳阻害試験」（2004年）に準拠して実施した。ただし、上記試験法の試験上限濃度である100 mg/L を超える濃度についても試験を実施し毒性値を算出した。

３）疎水性が高い物質の底生甲殻類毒性評価

要調査項目のうち水生生物への影響に係る項目に含まれ、オクタノール水分配係数が比較的高い物質として、A) 4-tert-ブチルフェノール(以下4tBP、要調査項目番号161) logKow=3.29、B) テブコナゾール(要調査項目番号114) logKow=3.7、C) 2,6-ジ-tert-ブチル-4-メチルフェノール(以下BHT、要調査項目番号81) logKow=5.10、さらに要監視項目からD) 4-tert-オクチルフェノール(以下4tOP) logKow=5.28を選定し、淡水産底生甲殻類カイミジンコ（ISO14371毒性試験種*Heterocypris incongruens*）を用いたスパイク試験により毒性の初期スクリーニング評価を行った。得られた毒性値をもとに、底質中無影響濃度を

算出し、平衡分配を仮定して水中濃度に換算し、調査時の目標検出下限を検討した。毒性試験は、曝露経路を区別することを目的として、ISO 14371のカイミジンコ底質毒性試験手法を改変して実施した。改変した主要な点は以下の通りである：A)事前に試験対象物質を用いて汚染した餌を投与した、B)餌の藻類はガラス繊維ろ紙GF/F上に捕捉して試験容器に入れることで投与した。12時間毎（4tOPのみ予備試験結果より24時間毎）に新たな汚染藻類捕捉ろ紙と交換した。ろ紙交換時に、試験容器に等量（4mL）の新たな試験水を投入したのち等量を引き抜くことで、水中の試験物質濃度の変化も抑制した、C)標準底質として、疎水性物質の吸脱着の影響が小さい石英砂を基本とし、カイミジンコの生育に重要な炭酸カルシウムを添加（重量比で石英砂90%、CaCO₃10%）したものを用いた。この組成は6日間のカイミジンコの成長（体長増分）を評価指標として予め決定した（学術論文Gu et al (2020)として公表）。

上記の改変手法による毒性試験を、2つの曝露条件下（combined and dietary exposure）で実施した。すなわち汚染藻類作成（25℃暗所で12～24時間振とう）時の吸着平衡濃度を測定し、その平衡溶存濃度で試験水を汚染した系（combined＝餌・水ともに汚染）と試験水は清浄な状態とした系（dietary＝餌のみ汚染）である。この2つの曝露条件での異なる汚染物質濃度に対する6日間致死率または成長阻害率から用量応答曲線を描いた。汚染物質濃度（横軸）として水中濃度および藻類中濃度の2つの図を作成し、条件によらず同様の用量応答関係が得られる媒体（水または藻類）が毒性に主たる寄与をしていると解釈した。

（3）荒川河川水等を対象とした要調査項目の実態調査

2019年4月から12月までの2か月ごとに荒川の上流から下流に分布する5地点（図3.1.1のS1、2、4、5、6）と武蔵水路の1地点（図3.1.1のS3）から試料を採取した。試料は、孔径1 μmのガラス繊維フィルター（Whatman、GF/B）を使用してろ過した。リン酸緩衝液（1 mL; 1 mol/LのNaH₂PO₄-Na₂HPO₄; pH 7.0）およびサロゲート（Acetamiprid (pyridylmethyl-13C6)、Imidacloprid (4, 4, 5, 5-D4)、Carbofuran (Ring-13C6)、Clothianidin (Methylene-13C; Thiazole-13C3; 15N)、Chlorpyrifos (Diethyl-D10)各200 ng）を1 Lのろ過水サンプルに加えた。試料のpHは7.0に調整した。次に、試料をHLB+AC2カートリッジに10 mL/minの流量で通水した。カートリッジを40分間窒素ガスパージで乾燥させたのち、5 mLのメタノールと3 mLのジクロロメタンをAC2側から通液して、分析対象化合物を溶出した。次に、溶出液を窒素ガスパージによりさらに濃縮した。混合内部標準（Dinotefuran (Furylmethyl-13C5)、Malathion (D10)、Dicyclohexyl phthalate (Ring-1,2-13C2, Dicarboxyl-13C2)、Tris(2-chloroethyl) phosphate (D12)各200 ng）を添加し、メタノールで1 mLに再構成した。

試料は、混合内部標準を加えた混合標準溶液とともに、HPLC-Q Exactive Focus Orbitrap MS（Thermo Scientific、USA）を用い、選択イオンモニタリング-data dependent MS/MSモード（SIM-ddMS2）で分析した。イオン化は、エレクトロスプレーイオン化(ESI)法を使用して、正（ESI+）と負（ESI-）の両方のイオン化モードで行った。分解能100,000(@ m/z 200) でm/z 50 -1500に対しフルマスキャンを行った。MS/MS分析の衝突エネルギー(CE)は30 eVに設定した。得られたデータの解析には、Quan / Qual Browser



図3.1.1 荒川における調査地点

表3.1.1 環境省要調査項目存在量調査と連動した調査の採水地点

ID	水域	地点	都道府県
A	蛭田川	蛭田橋	福島県
B	休泊川	泉大橋	群馬県
C	古綾瀬川	綾瀬川合流点前	埼玉県
D	天白川	大井の川橋	三重県
E	琵琶湖	堅田沖中央	滋賀県
F	大正川	平野川合流点前	大阪府
G	岡崎川	岡崎川流末	奈良県
H	水俣川	産島橋	熊本県
I	甲突川	松方橋	鹿児島県

Xcalibur 4.0 (Thermo Fisher Scientific) を用いた。試料中の対象物質の濃度は、内部標準法によって計算した。

さらに、環境省水環境課との連携により、2019年に環境省が実施した要調査項目存在状況調査における試料採取時において、表3.1.1の地点の試料を採取してもらい、本研究で開発した手法を用いて分析を行った。

また、未知スクリーニング分析として、荒川において採水した試料に対して、Bond Elut PPLカートリッジ (Agilent) を用いて固相抽出処理を行った後、四重極-Orbitrapタンデム型質量分析計Q Exactive focus (Thermo Fisher Scientific) を用いてLC/MS分析した。LCカラムにはInert Sustain AQ-C18カラム (GL Science) を用い、移動相にはギ酸をそれぞれ0.01%添加したメタノールと超純水を用いた。ESI化法のネガティブイオンモードを用い、検出対象の m/z は100-1000とした。ピーク強度が高いピークに対してはMS/MS分析を行った。得られたマススペクトルを、ソフトウェアCompound Discoverer 3.0 (Thermo Fisher Scientific) を用いて処理し、同一分子由来の同位体ピーク等をまとめてコンポーネント化した。各コンポーネントの分子式を m/z から推定し、データベース $mzCloud$ を用いて物質名を推定した。検出強度が10,000以上のコンポーネントを対象とした。

4. 結果及び考察

(1) 環境水に対する溶存有機物質の未知スクリーニング分析および要調査項目の一斉分析手法の確立

1) ESI-Orbitrap MSによる検出

濃度10 mg/Lとした203化合物の標準溶液を、個別にESI-Orbitrap MSにフローインジェクションモードで注入し、検出可否を調べた。ポジティブ、ネガティブイオンモードそれぞれにおいて、分子の脱プロトン化/プロトン化イオンの精密質量を確認し、いずれかのイオン化法において質量誤差が5 ppm未満で、強度が 10^4 を超えるピークが見られた化合物を検出されたとした。結果として、123化合物がOrbitrap MSによって検出できることが示された。

2) HPLCカラムの選択

より多くの化合物を保持し分離する最適なHPLCカラムを選択するために、123化合物について数種類ごとに混合した標準溶液を5つの異なるカラムを用いてHPLCでの分離を試みた。最適なHPLCカラムは、次の基準に従って段階的に選択した。(1) カラム分離後のOrbitrap MSによる検出 (2) ホールドアップタイムよりも長く保持される保持能力 (3) クロマトグラムのすべてのピーク面積の合計に対する最大ピーク面積の割合 (%Area) によって定義される分離能力。ほとんどすべての化合物が、カラムを用いた分析においても検出され、いずれのカラムも(1)の基準では差がなかった。(2)では、カラムによって9-16種の化合物は保持されず、PLRP-Sカラムがもっとも多くの化合物を保持した。しかし、これらの差に比べて、(3)ピーク分離能にはカラム間で大きな差が出た。 $\%Area \geq 70\%$ となる化合物の数が最大であったのはInertSustain AQ-C18カラムであり、69の化合物を分離した。以上より、InertSustain AQ-C18が本研究において最適なカラムと判断された。

3) 各物質の定量性と定量下限

InertSustain AQ-C18カラムを用いたHPLC- Orbitrap MSで良好な分離を示した69化合物に加え、カラムでの保持は不十分なものの検出可能な物質を加えた114種類の化合物に対して、標準溶液の10倍希釈系列を準備し、検量線の直線性と検出下限、定量下限を確認した。検出限界 (MDL) (定性的にのみ検出できる化合物の場合) または定量限界 (MQL) (定量的に測定できる化合物の場合) は、検出された最低濃度を採用し、SPE前処理における濃縮係数 (1000倍) を想定して推定した。検量線の決定係数 (R^2) が0.99を上回った95化合物については、定量可能とし、 $R^2 < 0.99$ であった残りの19化合物は、定性的に検出可能とした。

本研究において定量可能な化合物のうち、1999年から2018年にかけて環境省が実施した要調査項目の存在状況調査において、個別分析による定量方法が示されているものの定量下限を比較した。33種類の化合物について、本研究で開発した方法によるMQLは従来の分析法のMQLよりも低かった。本研究で開発したHPLC-Orbitrap MSによる方法が従来の分析法よりも感度が高く、水環境中で低濃度の化合物を

測定する場合に有利であることが示された。

要調査項目については基準値となる濃度は設定されていないため、水生生物に関する項目については以下の(2)で検討したPNEC濃度、およびヒト健康に関する項目については水道法における目標値利用し、問題となりうる濃度レベルと、検出下限の比較を行った。43化合物のMQLをPNEC/10と比較したところ、38化合物はPNEC/10値よりも低いMQLを示した。残りの5つの化合物、アクリルアミド (ID 2)、2,6-ジ-tert-ブチル-4-メチルフェノール (ID 81)、デカン酸 (ID 109)、ヒドロキノン (ID 145) およびブプロフェジン (ID 164) については、検出下限はPNEC/10値よりも高かった。このことより、大部分の化合物について、MQLは環境モニタリングに用いるのに十分低いものであるといえた。

4) 固相抽出カートリッジの選択

SPE前処理で最大限回収するために、本研究ではPPL、HLB+AC2、および多層カートリッジを用いた検討を、MDLが100 ng/L未満の106化合物に対して実施した。HLB+AC2カートリッジにより、84種類の化合物がSPEによって回収され、そのうち5種類がHPLC-Orbitrap MSによって定性的に検出され、残りの79種類の化合物はHPLC-Orbitrap MSによって定量化できた。これらの定量可能な化合物のうち52種類は、50%を超える回収率で回収できた。回収率50%未満の27化合物と、Orbitrap MS 分析で定性検出のみ可能な5化合物の計32化合物は定性的に検出できる物質とした。HLB+AC2カートリッジは、他の2つのカートリッジよりも高い回収率を示したことから、SPE前処理方法として選択された。

5) 開発された分析法のまとめ

検討の結果、HPLCシステムでInertSustain AQ-C18カラムを使用し、SPE処理でHLB + AC2カートリッジを使用するSPE- HPLC-Orbitrap MS分析法を確立した。供試203化合物のうち84化合物が本手法で検出でき、52化合物が定量可能であり、残りの32化合物は定性的に検出できた(表4.1.1)。定量には、プロトン化/脱プロトン化された前駆体イオンを用いることとした。さらに、MS/MS分析も行い、明確なプロダクトイオンが得られる物質については、その1つを確認イオンとした。

表4.1.1 本研究で開発された方法により分析可能な物質及び検出条件の一覧

ID	項目名・物質名	過去の調査	検討対象	定量/定性	MDL (ng/L)	MQL (ng/L)	SPE 回収率 (%)	PNEC (ng/L)
2	アクリルアミド		○	定性	1	100	6.7	
3	アクリル酸	NO	○					3000
4	アクリル酸エステル類							
4.01	アクリル酸メチル		○					3600
4.02	アクリル酸エチル		○					1900
4.03	アクリル酸 n-ブチル		○					10000
4.04	アクリル酸2-ヒドロキシエチル		○					10000
4.05	アクリル酸2-(ジメチルアミノ)エチル		○					250
4.06	アクリル酸2-エチルヘキシル		○					
5	アセタミプリド		○	定量	1	10	77.1	500
7	アセトン		○					
8	アセトンシアンヒドリド	NO	○					500
9	アセフェート		○					14.6
10	2-アミノピリジン	NO	○	定性	0.1	0.1	30.3	
11	アミノフェノール類							
11.01	o-アミノフェノール	NO	○					18
11.02	m-アミノフェノール	NO	○					500
11.03	p-アミノフェノール	NO	○					250
12	アルキル硫酸ナトリウム							2040
15	イソデカノール(8-メチル-1-ノナノール)							4000
16	イソブチルアルデヒド	NO	○					
17	2-イソブトキシエタノール	NO	○					
18	イソブレン		○					
19	(R)-4-イソプロパニル-1-メチルシクロヘキサ-1-エン		○					2400
20	イソホロン	NO	○					
21	イベルメクチン	NO	○					3.0×10 ⁻⁵
22	イミダクロプリド	NO	○	定量	1	1	108.7	20.7
23	イミノクタジナルベシル酸塩		○					
24	2-エチルヘキサノ酸	NO	○	定性	10	10	36.9	
25	エチレングリコール	NO	○					
26	エチレングリコールモノアルキルエーテル及びアセテート類							
26.01	エチレングリコールモノアルキルエーテル		○					
26.02	エチレングリコールモノブチルエーテルアセテート		○					
27	エチレンジアミン	NO	○					1600
28	エチレンジアミン四酢酸		○					55000

29	2- (2-エトキシエトキシ) エタノール	NO	○	定性	100	-	回収	
30	塩化アルキルジメチルベンジルアンモニウム	NO	○					180
31	塩化エチル		○					
35	1-オクタノール		○					
36	オリサストロビン	NO	○	定量	0.1	0.1	92.5	
40	カルボフラン		○	定量	0.1	0.1	87.7	
41	キザロホップエチル		○	定量	0.1	0.1	136.9	100
43	キャプタン		○					
45	グリホサート		○					
46	グルホシネート		○					
47	クレゾール類							
47.01	o-クレゾール		○					8400
47.02	m-クレゾール		○					8900
47.03	p-クレゾール		○					5200
48	クロチアニジン	NO	○	定量	10	10	91.4	125.2
49	クロルピリホス		○					0.35
50	クロロアニリン類							
50.01	o-クロロアニリン		○	定量	1	1	55.4	
50.02	m-クロロアニリン		○	定性	0.1	10	37.0	
50.03	p-クロロアニリン		○	定性	0.1	1	49.7	
51	1-クロロ-2- (クロロメチル) ベンゼン	NO	○					2000
52	クロロ酢酸類							
52.01	モノクロロ酢酸		○					
52.02	ジクロロ酢酸		○					
52.03	トリクロロ酢酸		○					
53	クロロニトロベンゼン類							
53.01	o-クロロニトロベンゼン		○					5300
53.02	m-クロロニトロベンゼン		○					
53.03	p-クロロニトロベンゼン		○					3200
53.04	1-クロロ-2,4-ジニトロベンゼン							1400
53.05	1,2-ジクロロ-3-ニトロベンゼン							16000
53.06	1,4-ジクロロ-2-ニトロベンゼン							10000
55	酢酸ビニル		○					
57	酸化プロピレン		○					
59	シアナジン		○	定量	1	10	66.0	
61	ジウロン	NO	○	定量	1	1	85.9	
62	ジェタノールアミン	NO	○	定性	1	1	1.6	10000
63	1,3-ジオキソラン	NO	○					
64	シクロヘキサノン	NO	○					
65	シクロヘキサン	NO	○					9000
66	N-(シクロヘキシルチオ)フタルイミド	NO	○					1000
67	ジクロベニル	NO	○					
68	2,4-ジクロロトルエン	NO	○					4.0×10 ⁻²
69	1,3-ジクロロ-2-プロパノール		○					
70	ジクロロベンゼン類							
70.01	o-ジクロロベンゼン		○					14000
70.02	m-ジクロロベンゼン		○					17000
70.03	p-ジクロロベンゼン		○					10000
71	ジシクロヘキシルアミン		○	定量	0.1	0.1	71.1	490
72	ジスルホトン	NO	○	定量	1	1	59.4	3.7
73	2,4-ジニトロフェノール		○	定性	0.1	1	47.1	
75	ジノテフラン	NO	○	定量	0.1	1	96.8	7900
76	シハロホップチル	NO	○					6000
77	ジフェニルアミン		○	定量	0.1	1	113.0	270
78	ジフェニルエーテル	NO	○					3200
79	1,3-ジフェニルグアニジン	NO	○	定量	0.1	1	89.8	1800
80	ジブチルスズ化合物							
80.01	ジブチル二塩化スズ		○					
80.02	ジブチルスズジラウラート		○					
81	2,6-ジ-tert-ブチル-4-メチルフェノール		○					690
82	ジベンジルエーテル		○					980
84	2,4-ジ-tert-ペンチルフェノール	NO	○					1200
85	N,N-ジメチルアセトアミド	NO	○	定性	10	10	26.1	
86	N-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミド	NO	○					
88	ジメチルジスルフィド	NO	○					890
89	N,N-ジメチルデシルアミン	NO	○	定性	0.1	0.1	23.1	26
90	N,N-ジメチルデシルアミン-N-オキシド	NO	○					40
91	N,N-ジメチルプロパン-1,3-ジイルジアミン	NO	○					36400
92	ジメチルホルムアミド		○					
93	シメトリン		○	定量	0.1	1	93.3	
96	ジラム							97
98	水酸化テトラメチルアンモニウム	NO	○					
100	ダイムロン	NO	○	定量	10	10	92.1	
102	チアクロブリド	NO	○	定量	1	10	72.4	7
103	チアジニル	NO	○	定量	0.1	0.1	51.8	
104	チアメトキサム	NO	○	定量	10	10	80.4	9670
105	チオウレア	NO	○					18000
106	チオシクラム	NO	○	定量	10	10	86.7	194
107	チオファネートメチル		○	定量	1	1	57.4	300
108	2,4-D	NO	○	定性	0.1	1	34.2	140

109	デカン酸	NO	○	定性	100	100	26.2	750
110	1-デシルアルコール		○					290
111	テトラエチレンペンタミン	NO	○					180
112	テトラヒドロメチル無水フタル酸	NO	○	定性	0.1	0.1	31.9	94000
113	3,7,11,15-テトラメチルヘキサデカ-1-エン-3-オール	NO	○					8000
114	テブコナゾール		○	定量	0.1	0.1	75.4	1200
115	テフリルトリオン	NO	○	定性	1	1	33.9	
116	テレフタル酸ジメチル	NO	○					17000
117	テレフタル酸	NO	○	定性	1	1	0.3	
119	1-ドデカノール	NO	○					900
120	2-[(3-ドデカンアミドプロパン-1-イル)]	NO	○					3000
121	ドデカン酸メチル	NO	○					400
122	tert-ドデカンチオール	NO	○					110
123	ドデシル硫酸ナトリウム	NO	○					5900
124	トリエタノールアミン	NO	○	定量	0.1	0.1	75.8	
125	トリエチレングリコールジメチルエーテル	NO	○	定量	0.1	1	67.1	
126	1,3,5-トリグリシジルイソシアヌラート	NO	○	定性	100	-	回収	
127	トリクロサン		○	定性	0.1	1	35.0	34
128	1,2,3-トリクロプロパン		○					
129	トリシクラゾール	NO	○	定量	0.1	1	88.0	
130	トリフルリン		○					84
131	3,5,5-トリメチル-1-ヘキサノール	NO	○					15000
132	ナフタレン		○					20000
133	ニアクリル酸ヘキサメチレン	NO	○	定量	0.1	0.1	79.7	3800
134	ニテンピラム	NO	○	定量	10	10	73.2	406000
135	2,2',2''-ニトリロ三酢酸のナトリウム塩	NO	○					
136	ニトロソアミン類							
136.01	N-ニトロソジメチルアミン		○	定性	1	10	0.2	
136.02	N-ニトロソジエチルアミン		○	定性	0.1	1	34.0	
136.03	N-ニトロソジ-n-プロピルアミン		○	定性	0.1	1	18.1	
136.04	N-ニトロソジブチルアミン		○	定性	0.1	10	36.6	
136.05	N-ニトロソジフェニルアミン		○	定量	1	1	58.7	
136.06	N-ニトロソピロリジン		○	定量	0.1	1	60.8	
137	ニトロトルエン類							
137.01	2-ニトロトルエン		○					
137.02	3-ニトロトルエン		○					
137.03	4-ニトロトルエン		○					
138	ニトロベンゼン		○					
139	ニトロメタン	NO	○					
140	1-ノナノール		○					3100
144	(1-ヒドロキシエタン-1,1-ジイル) ジホスホン酸	NO	○					67500
145	ヒドロキノ		○					15
146	ビフェニル		○					72
148	ピラクロニル	NO	○	定量	0.1	1	87.1	
149	ピラゾレート	NO	○	定性	1	1	32.4	
150	ビリジン		○	定性	0.1	0.1	4.0	100
151	ピロカテコール	NO	○					15600
152	フェリムゾン	NO	○	定量	1	1	103.1	6200
153	フェントラザミド	NO	○					
154	フサライド	NO	○					10700
155	ブタクロール		○	定量	0.1	0.1	96.7	
156	1,3-ブタジエン		○					
157	フタル酸エステル類							
157.01	フタル酸ジメチル		○	定量	0.1	1	76.4	
157.02	フタル酸ジアリル		○	定量	0.1	1	106.2	
157.03	フタル酸ジ-n-ブチル		○	定量	0.1	1	64.0	
157.04	フタル酸ジイソブチル		○	定量	0.1	1	64.0	
157.05	フタル酸ブチルベンジル		○	定量	0.1	1	100.5	
157.06	フタル酸ジシクロヘキシル		○	定量	0.1	0.1	72.0	
157.07	フタル酸ビス(2-メトキシエチル)		○					
158	2-ブタノンオキシム	NO	○	定性	0.1	100	12.3	
159	tert-ブチル=ヒドロペルオキシド	NO	○					1400
160	2-s e c-ブチルフェノール	NO	○					3200
161	4-tert-ブチルフェノール	NO	○					3200
162	N-(tert-ブチル)-2-ベンゾチアゾールスルフェンアミド	NO	○					950
163	2-ブテナール	NO	○					720
164	ブプロフェジン	NO	○	定量	0.1	0.1	71.2	
165	フルトラニル		○	定量	0.1	0.1	120.4	1300
166	ブレチラクロー		○	定量	0.1	0.1	96.7	32
167	プロシドン	NO	○					
168	4, 4'- (プロパン-2,2-ジイル) ジフェノール		○					11000
169	プロパン-1,2-ジオール	NO	○					
170	プロペナゾール		○					
171	プロモブチド	NO	○	定量	0.1	0.1	91.4	
172	プロモプロパン類							
172.01	1-プロモプロパン		○					
173	ヘキサデシルトリメチルアンモニウム塩酸塩	NO	○					10
174	ヘキサプロモシクロドデカン	NO	○	定性	100	-	回収	

175	ノルマルヘキサン		○					
176	ベノミル		○					
177	ベルフルオロオクタナ酸		○	定性	0.1	0.1	42.0	
178	ベルフルオロオクタンスルホン酸		○					
179	ベンゾトリクロライド	NO	○					
180	ベンゾビスクロン	NO	○	定量	1	1	69.5	
181	ベンゾ[a]ピレン		○					
182	ベンタクロロベンゼン		○					
183	ペンタゾン		○	定性	0.1	0.1	48.2	
184	ペンディメタリン		○	定量	1	1	85.4	
185	ポリ塩化ナフタレン		○					
185.01	モノクロロナフタレン	NO	○					
186	ポリ(オキシエチレン)オクチルフェニルエーテル							2100
187	ポリ(オキシエチレン)ドデシルエーテル硫酸エステルナトリウム							3120
188	ポリ(オキシエチレン)ノニルフェニルエーテル(混合)							383
189	ポリカーバメート							910
192	マラチオン		○	定性	10	-	回収	0.1
193	マンゼブ							95
194	マンネブ							100
195	メタクリル酸	NO	○					
196	メタクリル酸 2,3-エポキシプロピル	NO	○	定量	100	100	58.7	10000
197	メタクリル酸 2- (ジメチルアミノ) エチル	NO	○					48000
200	N-メチルジデカン-1-イルアミン		○	定性	0.1	0.1	3.5	20
201	メチルナフタレン類							
201.01	1-メチルナフタレン	NO	○					2200
201.02	2-メチルナフタレン	NO	○					2300
202	N-メチル-2-ピロリドン	NO	○	定性	10	-	回収	
203	メトミノストロビン	NO	○	定量	1	1	102.8	
204	メラミン		○	定量	0.1	0.1	54.2	
205	モノエタノールアミン(2-アミノエタノール)(エタノールアミン)		○	定性	0.1	1	0.05	
206	モリネート		○	定量	0.1	10	56.1	
208	リン酸エステル類							
208.01	リン酸トリス (2-エチルヘキシル)		○	定性	0.1	1	32.6	1300
208.02	リン酸トリス(2-クロロエチル)		○	定量	0.1	10	94.9	100000
208.03	リン酸トリトリル		○	定量	0.1	0.1	69.2	
208.04	リン酸トリフェニル		○	定量	0.1	1	75.1	3000
208.05	リン酸トリブチル		○	定量	0.1	0.1	100.8	21000
208.06	リン酸トリス (1, 3-ジクロロ-2-プロピル)		○					
208.07	リン酸トリクレジル							150
208.08	リン酸トリス(2,3-ジブプロモプロピル)							3100
208.09	リン酸トリス(ジメチルフェニル)							1700

過去の調査：過去に環境省による要調査項目存在状況調査が1度以上行われているかどうか、検討対象：本研究で対象とした物質、定量／定性：定量分析が可能な物質、定性的な検出のみ可能な物質、MDL：Method Detection Limit、MQL：Method Quantification Limit、SPE回収率：HLB+AC2を用いた場合の回収率。定性、とあるのは定量分析できない化合物であるが、検出下限以上かどうかは判断可能なもの。

(2) 要調査項目の生態リスクの評価

1) 暫定指針値（検出目標値）の算出

研究開発方法に従って導出されたPNEC値を表4.1.1に示す。要調査項目には指針値等が示されておらず、この一覧表に示す値は、今後の要調査項目の調査結果を解釈する上での暫定的な指針値として使えらると思えられる。

2) 暫定指針値導出のための基礎情報追加

項目番号120 (2- [(3-ドデカンアミドプロパン-1-イル) (ジメチル) アンモニオ] アセタート) については、データベース上の情報より3000ng/Lと導出できた(表4.1.1)ものの、根拠とした情報は不確実性が高いと考えられたことから、本研究課題においてオオミジンコの急性遊泳阻害試験を行った。その結果、48 時間の 50%遊泳阻害濃度 (48-h EC₅₀) は95.1 mg/L (95%信頼区間：78.4～115 mg/L) となった。アセスメント係数1000を用いてPNEC値を計算すると95.1 µg/Lとなり、この値は表4.1.1に記載したPNEC値よりも大きいため、安全側の評価を優先する観点から表4.1.1の計算結果の方を優先した。

3) 疎水性が高い物質の底生甲殻類毒性評価

一例として、4-tert-ブチルフェノール汚染藻類をカイミジンコ6日試験で評価した際の結果を図4.1.1に示す。上層水を藻類と平衡分配状態となるように汚染した場合(図中Combined)と、上層水を汚染しなかった場合(図中Dietary)の2系の実験結果を、横軸を藻類中濃度(food)とした場合と水中濃度(water)とした場合とで整理した。藻類中濃度で整理した場合2つの実験系を説明できる線が引けるのに

対し、横軸を水中濃度とした場合には、2つの実験系で大きな乖離がある。この比較により、平衡分配条件下（combined）におけるカイミジンコの致死毒性は、餌由来で生じていると考えることができる。本試験により、4tBPおよびテブコナゾールでは餌由来で、4tOPでは溶存態由来で生じていることが分かった。BHTについては、明確な結論が導き出せなかった。

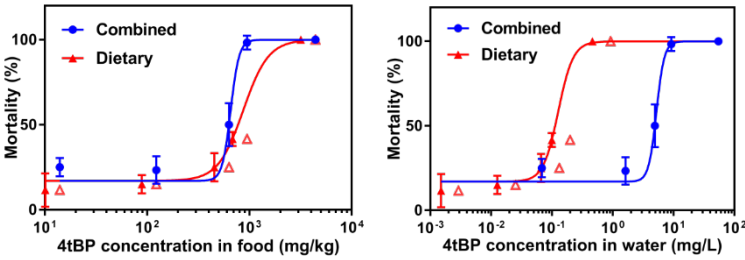


図4.1.1 4-tert-ブチルフェノールの曝露経路による用量応答曲線の差異（6日間カイミジンコ底質毒性試験）

図4.1.1の結果において汚染懸濁物質（藻類）が毒性主要因と判定された4tBPおよびテブコナゾールについて、実験的に求めた懸濁態の毒性値を平衡分配係数により水中濃度に換算した場合に、目標検出下限値に変更が生じるかどうかを考察した。その結果、4tBPは3.0 $\mu\text{g/L}$ 、テブコナゾールは0.077-0.98 $\mu\text{g/L}$ となった。浮遊生物（藻類、甲殻類、魚類）の毒性値より求めた水中PNEC値（表4.1.1）は、4tBPは3.2 $\mu\text{g/L}$ 、TEBは1.2 $\mu\text{g/L}$ であり、これと底生生物の毒性値より求めた上述の値を比較すると、4tBPは同等であったが、テブコナゾールの安全側の値（0.077 $\mu\text{g/L}$ ）の場合には底生生物の毒性値より求めた値が約1/16となった。この結果は、疎水性有機物のモニタリングに対する目標検出下限値設定の根拠として底生生物を用いた試験を活用することの必要性を示す一例となったと言える。今後、他の底生生物種での同様の試験手法の確立と、毒性試験データの蓄積が求められる。

（3）荒川河川水等を対象とした要調査項目の実態調査

1）荒川における要調査項目の調査

荒川の5地点、および武蔵水路において、2019年4月から12月まで2カ月おきに計5回採水して分析した。分析結果の濃度を表4.1.2に示す。5回の採水において、合計45項目（54化合物）が川の少なくとも1つの採水地点で検出された。これら検出された項目のうち、28項目については、これまでの環境省による要調査項目存在状況調査において過去に1度も調査が行われたことがない項目である。本研究により、これまでに調査されていなかった物質について、濃度を示すことができた。なお、本項における濃度の計算には、SPEによる回収率は考慮しなかった。これは、サンプルマトリックスによって回収率が異なる可能性があるためである。

表4.1.2 荒川で調査における検出結果の一覧

ID	化合物名	測定された濃度(Measured environment conc.)																								未調査	HMEC/ 水道法目標値	HMEC/TDI	HMEC/PNEC							
		4月						6月						8月						10月										12月						
		1	2	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1					2	3	4	5	6		
2	アクリルアミド	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	-	0.1-1	-		
5	アセタミプリド	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	-	-	-	
10	2-アミノピリジン	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	-	-	-	
22	イミダクロプリド	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	-	-	0.1-1	
24	2-エチルヘキサン酸	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	-	-	-	
29	2- (2-エトキシエトキシ) エタノール	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	-	-	-	
36	オリサストロビン	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	-	-	-	
40	カルボフラン	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	
41	キザロホップエチル	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	
48	クロチアニジン	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	-	-	0.1-1
50.01and/or 50.02and/or 50.03	o-クロロアニリン and/or m-クロロアニリンand/or p-クロロアニリン	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	

[illegible]

検出下限 検出されず 1 2 4 6 8 10 20 30 40 60 80 100 300 500 1000 1500 2000 (ng/L)



a-ブタクロール (ID 155) およびブレチラクロール (ID 166) の水道法目標値との比較

b-フタル酸ジ n -ブチル (ID 157.03) の水道法目標値との比較

c-フタル酸ジ n -ブチル (ID 157.03) のTDIとの比較

d-プレチラクロール (ID 166) のPNECとの比較

水道法目標値：水道法の水質管理目標設定項目および要検討項目における目標値

HMEC: Highest Measured Environmental Concentration, 測定濃度の最大値

TDI: Tolerable Daily Intake, 耐受一日攝取量

2) 環境省と連携した要調査項目の調査

本研究により開発された方法は、環境省水環境課との連携により、環境省による要調査項目存在状況調査を実施している9河川・湖沼の試料についても適用した。合計43項目（54物質）が少なくとも1つの川または湖で検出され、そのうち25物質は、これまで環境省によって実施された存在状況調査では調査されていない物質である（個別の検出結果は成果の詳細を参照）。特に、これらの25の未調査物質のうち、14物質が5つ以上の川または湖で検出されたことから、今後より詳細な調査を行う必要がある物質と位置付けることができた。一方、30物質はいずれの試料からも検出されなかった。これらの物質については、調査における重要度が低いといえる。

3) 調査結果に基づいた測定項目の優先順位付け

荒川における測定結果と、9河川・湖沼における測定結果のすべてについて、測定環境濃度の最大値（HMEC）を、水道法の水質管理目標設定項目および要検討項目における目標値（水道法目標値）、TDI、およびPNEC値と比較した。

人への健康影響の観点からは、水道法目標値およびTDIとの比較で評価できる。今回のすべての測定結果において、水道法目標値/10およびそれらのTDI値を超えて検出されたものはなかった。TDI/10を超過していたものは、アクリルアミド（ID 2）、シアナジン（ID 59）、およびジウロン（ID 61）であった。したがって、今回分析を行った84物質については、人の健康影響の観点から直ちに健康影響について問題となりうるレベルで検出された化合物はないといえる。ただし、上記3物質については、今後の継続的な調査は必要となると考えられる。

水生生物への影響の観点からは、PNEC値との比較で評価される。N、N-ジメチルドデシルアミン（ID 89）、2,4-ジクロロフェノキシ酢酸（ID 108）、デカン酸（ID 109）、ブタクロール（ID 155）、プレチラクロール（ID 166）、マラチオン（ID 192）およびN-メチルジデカン-1-イルアミン（ID 200）については、1地点以上PNEC値よりも高い濃度で検出された（ブタクロール（ID 155）とプレチラクロール（ID 166）は分離検出できていないため、それらの濃度和として評価している）。さらに、イミダクロプリド（ID 22）、クロチアニジン（ID 48）、ジシクロヘキシルアミン（ID 71）、1,3-ジフェニルグアニジン（ID 79）、2,4-ジクロロフェノキシ酢酸（ID 108）、トリクロサン（ID 127）、ピリジン（ID 150）およびリン酸トリフェニル（ID 208.04）は、PNEC/10を超過していた。これらの物質については、今後より詳細な調査が必要になる候補として、他の物質よりも優先度が高いといえることができる。これらの化合物については、対象化合物を標的として最適化した分析方法により定量を行っていくことが望まれる。一方、本調査により検出されなかった化合物や、水道法目標値、TDIまたはPNECのいずれにおいても10%未満の濃度で検出された化合物については、重要性の低い化合物として仕分けすることができる。

4) 河川水試料の未知スクリーニング分析

荒川における要調査項目調査と並行して、同一試料を未知スクリーニング分析により分析した。各地点において、800–5900種の化合物のピーク（コンポーネントと呼ぶ）が検出された。一例として、2019年12月における検出コンポーネント数を図4.1.2に示す。

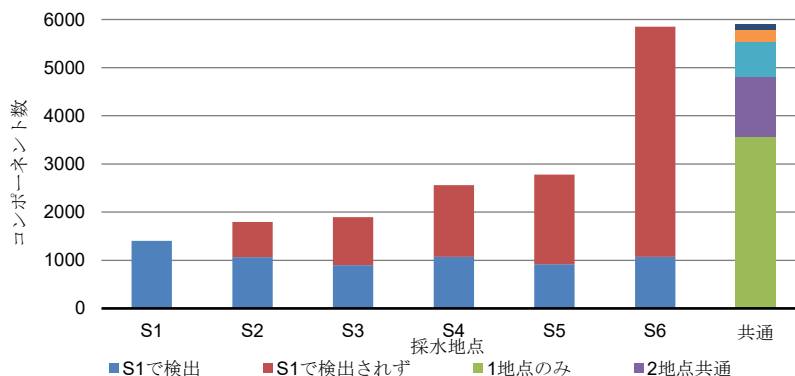


図 4.1.2 未知スクリーニング分析により検出されたコンポーネント数（2019年12月採水）

最上流地点S1よりも上流には民家はほとんどなく、人為起源由来の汚染の流入はほとんどないものと考えられることから、S1地点では検出されず、S2地点以降でのみ検出されているコンポーネントを

人為起源物質と定義した（図4.1.2）。人為起源物質は、河川の流下とともに増加する傾向が認められた。これら人為起源物質の中で高頻度に検出されるものについては、今後調査を要する物質の候補、すなわち要調査項目物質の候補と考えることができる。2019年6月から12月までの4回の採水において、各地点において全ての採水回で検出されていたコンポーネントを抽出したところ、計57コンポーネント抽出された。それらのコンポーネントについて、分子式の推定を行うとともに、化合物名の推定をおこなった。化合物名の候補が得られたものを表4.1.3に示す。現時点ではあくまで候補であることに注意は必要であるものの、これら化合物名の候補が得られた候補については、フラグメント解析を詳細に進め物質推定の精度を高めるとともに、候補物質の標準品を入手することで同定を行っていくことで、要調査項目候補物質として調査対象に加えていくことができる。採水月すべてにおいて検出されたわけではないため表4.1.3には掲載されていないが、9/20サンプル、および6/20サンプルで検出された[M-H]⁺=211.1128および286.1449については、MS/MSスペクトルよりCumylphenol, Etodolacと推定され、標準物質を用いて分析した結果、これらの物質である可能性が極めて高いことが確認できた。本研究において、このように要調査項目物質の候補を、環境中からの検出状況をもとに抽出していく手法について提示することができた。

表4.1.3 荒川河川水の未知スクリーニング分析において人為起源物質として高頻度に検出されたもの

分子量	分子式	化合物名
186.0344	C8 H10 O3 S	Xylenesulfonate
242.0975	C15 H14 O3	Equol
250.1567	C15 H22 O3	Gemfibrozil
272.0720	C15 H13 Cl N2 O	1-(4-Chlorobenzyl)-4,6-dimethyl-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carbonitrile
278.1882	C17 H26 O3	Paradol
286.0877	C14 H14 N4 O S	3-(2,1,3-Benzothiadiazol-4-ylamino)-2-(2,2-dimethylpropanoyl)acrylonitrile
300.1033	C14 H20 O5 S	8-(4-Sulfophenyl) octanoic acid
302.0825	C16 H14 O6	Hematoxylin
316.0620	C13 H17 Cl N2 O3 S	N-[2-Chloro-4-(piperidinosulfonyl)phenyl]acetamide
324.1760	C18 H28 O3 S	Piperonyl sulfoxide
328.2252	C18 H32 O5	2,3-dinor-8-epi-prostaglandin F1alpha
330.0777	C17 H14 O7	Aflatoxin G2
354.1527	C14 H26 O10	Isopropyl 6-O-[(2R,3R,4R)-3,4-dihydroxy-4-(hydroxymethyl)tetrahydro-2-furanyl]-D-glucopyranoside
380.1659	C23 H24 O5	7-[[{(2E)-3,7-Dimethyl-2,6-octadien-1-yl]oxy}-1,3-dihydroxy-9H-xanthen-9-one
418.2359	C23 H32 O4	(3β,9ξ)-3,14-Dihydroxycarda-5,20(22)-dienolide
435.2270	C24 H29 N5 O3	Valsartan

5. 本研究により得られた主な成果

(1) 科学的意義

研究開発目的（1）における分析法の開発を達成することにより、極めて幅広い物性を持っている84物質について、一斉分析法を確立した点が新規性が高い。100種類を超える物質の同時分析の開発例は近年珍しくないが、ほとんどにおいて物性が類似した物質の数が多い。精密質量分析計を用いた多物質一斉分析法の新たな適用方法を示した研究と言える。

研究開発目的（2）のうち、溶存態の生態毒性として、米国の毒性データベースに掲載がなかった要調査項目番号120（2-[（3-ドデカンアミドプロパン-1-イル）（ジメチル）アンモニオ]アセタート）について甲殻類急性毒性試験を実施した。混合物としての毒性試験結果は米国のデータベースに掲載されていない文献に情報があるが、純物質としての結果は現時点では見つけられておらず、科学的意義がある。

さらに研究開発目的（2）のうち粒子に分配しやすい物質について、水生生物のうち特に底生生物に対する懸濁態としての曝露を検討すべきである。しかし、従来の底質毒性試験手法は、曝露経路が複雑であり懸濁態の曝露を判別できない。本研究では淡水産底生カイミジンコを用い、溶存態・懸濁態の異なる曝露経路での毒性を評価する手法について、人工底質組成を含めて検討し開発し、その活用事例を示した。

また、本研究開発目的の総合的な目的として掲げた「水質汚濁に係る環境基準の要調査項目について、入手可能な毒性情報をもとに、水環境リスクの有無を判別するために必要な分析感度を整理

しつつ、スクリーニング分析としての一斉分析手法を開発すること」についても、生態影響等毒性情報が不足し、かつ環境中濃度の情報も不足している要調査項目の物質について、両方の情報を効率的に得る手法を示すことができた。これは、レギュラトリーサイエンスの観点から極めて意義が大きい。本研究により開発した手法により、今後より厳密かつ詳細に調査を進めて行くべき物質と、調査の優先度が高くない物質に優先順位付けをすることができる。さらに、未知スクリーニング分析により、測定対象を定めずに分析を行い、その検出頻度や検出状況をもとに、より詳細に調査をおこなう物質を抽出する手法を示すことができた。

（２）環境政策への貢献

＜行政が既に活用した成果＞

特に記載すべき事項はない。

＜行政が活用することが見込まれる成果＞

要調査項目のスクリーニング分析法を確立したことにより、環境省による存在状況調査に活用できる。本研究で開発された手法を用いることで、要調査項目のうち84物質について、一斉スクリーニング分析を行うことが可能であり、特にこれまで一度も存在状況調査がなされていない40物質について、環境中における存在状況の調査を実施できる。

本研究課題により、要調査項目のうち水生生物保全のための項目について、各種のデータベース値および新規に毒性試験を実施した結果によりPNEC値を導出し、それをもとに要調査項目の環境中での検出における目標とすべき検出下限を設定した。

要調査項目の中には、粒子に分配しやすい物質（logKowが高い物質）が多く含まれており、水生生物のうち特に底生生物に対しては、溶存態ではなく懸濁態としての曝露を検討すべきである。懸濁態としての曝露手法について手法の確立はなされておらず、本研究ではISOで標準化された淡水産底生カイミジンコを用いた懸濁態由来の毒性を把握する手法を開発した。さらに、この手法により得られた毒性値から、粒子に分配しやすい物質の水中からの目標検出下限導出例を示し、今後のデータ蓄積の方向性を明らかにした。

将来、要調査項目を環境基準あるいは要監視項目に格上げするかどうかの議論をするためには、基準値や指針値の1/10値を超えているかどうかという実測データが必要不可欠となる。本研究課題で既存の毒性試験データから暫定的な指針値を導出したことで、新規環境測定技術の開発目標が設定でき、環境基準体系に則った一貫したモニタリングデータの蓄積を可能にしたと考えている。

また、研究開発目的（３）に掲げた実態調査を実施した。埼玉県荒川における通年の採水と分析、また環境省水環境課との連携により要調査項目存在状況調査の調査地点9か所における採水と分析を行った結果から、要調査項目の検出状況のデータを示した。得られたデータを上述の目標値やほかの毒性情報と比較することにより、今後より詳細な調査を行う必要がある項目と、検出状況や目標値との比較から優先順位が低い項目について整理した。今後の調査項目の選定にあたり、優先度を検討するために重要な情報となる。

さらに、本研究開発目的の総合的な目的の1つとして掲げていた、未知スクリーニング分析による要調査項目候補物質の選定手法について、新たな環境基準体制への提言として示すことができた。将来における環境監視の在り方についての情報を行政に提供し、今後の研究開発が極めて意義深いことを示した。

以上示してきたように、研究開発目的に掲げたものを、本研究において達成することができた。

6. 研究成果の主な発表状況

（１）主な誌上発表

<査読付き論文>

- 1) Y. GU, T. TOBINO and F. NAKAJIMA: Sci. Total Environ., Vol. 702, article 134993, (2020), Effect of calcite saturation state on the growth and mortality of *Heterocypris incongruens* and a proposal for an reference artificial sediment in the sediment toxicity test ISO14371.
- 2) 石井淑大、栗栖太、畠山準、春日郁朗、古米弘明：環境科学会誌、（受理済）（2020），入間川へ流入する有機汚濁物質と浄水処理後の残留状況のノンターゲットスクリーニング分析

(2) 主な口頭発表（学会等）

- 1) PHUNGSAI, P., KURISU, F., KASUGA, I. and FURUMAI, H. : Water and Environmental Technology Conference, Sapporo, Japan, 2017
Application of Sequential Solid Phase Extraction to Dissolved Organic Matter for Unknown Screening Analysis with an Orbitrap Mass Spectrometer
- 2) 澤野井隆之、中島典之、飛野智宏：第52回日本水環境学会年会（2018）
「ジフェニルアミン汚染餌が底生カイミジンコの繁殖に及ぼす影響」
- 3) 石井淑大、栗栖太、春日郁朗、古米弘明:第53回日本水環境学会年会講演集(2019)
「精密質量分析計を用いた一斉スクリーニング分析による河川水中要調査項目の存在状況評価」
- 4) 畠山準、松原直也、栗栖太、春日郁朗、古米弘明:第53回日本水環境学会年会講演集(2019)
「荒川支流入間川における未規制有機汚染物質の精密質量計を用いたノンターゲット分析」
- 5) XIE, L., KURISU, F., KASUGA, I. and FURUMAI, H. :第53回日本水環境学会年会講演集(2019)
“Development of A Simultaneous Quantification Method with HPLC Followed by High Resolution Mass Spectrometry for “Youchousa-koumoku” to be Surveyed by The Ministry of The Environment, Japan”
- 6) XIE, L., KURISU, F., KASUGA, I. and FURUMAI, H. : The 7th IWA Specialist Conference on Natural Organic Matter in Water, Tokyo, Japan. (2019)
“Development of a simultaneous screening analysis of organic micropollutants with various chemical properties in environmental water by high performance liquid chromatograph coupled with Orbitrap mass spectrometer”
- 7) ISHII, Y., HATAKEYAMA, J., KURISU, F., KASUGA, I. and FURUMAI, H. (2019) : The 7th IWA Specialist Conference on Natural Organic Matter in Water, Tokyo, Japan. (2019)
“Tracking the Fate of Dissolved Organic Matter from River Source Water to Finished Drinking Water”
- 8) XIE, L., KURISU, F., KASUGA, I. and FURUMAI, H. : Water and Environmental Technology Conference 2019, Osaka, Japan, 2019
“Simultaneous Determination of Organic Micropollutants with Various Chemical Properties in Environmental Water based on HPLC-High Resolution Mass Spectrometry”
- 9) Y. GU, F. NAKAJIMA and T. TOBINO : 第53回日本水環境学会年会（2019）
“Comparison of dietborne and waterborne toxicities of 4-tert-butylphenol towards benthic crustaceans *Heterocypris incongruens*.”
- 10) Y. GU, F. NAKAJIMA and T. TOBINO : Water and Environment Technology Conference 2019（2019）
“Effect of calcite saturation on the endpoints of sediment toxicity test using *Heterocypris incongruens*.”
- 11) Y. GU, F. NAKAJIMA and T. TOBINO : 8th IWA-ASPIRE Conference and Exhibition 2019（2019）
“Evaluation of dietborne toxicity of hydrophobic organic chemicals to a benthic crustacean, *Heterocypris incongruens*.”
- 12) XIE, L., KURISU, F., KASUGA, I. and FURUMAI, H.: 第54回日本水環境学会年会講演集(2020)
“A newly developed method with HPLC-Orbitrap MS for simultaneous analysis of items to be surveyed (Youchousa-koumoku) by the Ministry of the Environment, Japan and its application to Ararakawa River”

13) 石井淑大、栗栖太、春日郁朗、古米弘明：第54回日本水環境学会年会講演集(2020)

「非意図的な処理水再利用のある入間川における溶存有機物の精密質量分析計を用いた追跡」

7. 研究者略歴

研究代表者：栗栖 太

東京大学大学院工学系研究科博士課程修了、博士（工学）、現在、東京大学大学院工学系研究科准教授

研究分担者：

1) 中島 典之

東京大学大学院工学系研究科博士課程修了、博士（工学）、現在、東京大学環境安全研究センター教授

2) 春日 郁朗

東京大学大学院工学系研究科博士課程修了、博士（工学）、現在、東京大学大学院工学系研究科准教授、および日越大学 環境工学修士課程プログラム JICA長期派遣専門家

II. 成果の詳細

II-1 水環境保全に向けた要調査項目の一斉評価手法の開発と要調査項目候補選定への展開

国立大学法人 東京大学

大学院工学系研究科 附属水環境工学研究センター	栗栖 太
環境安全研究センター	中島典之
大学院工学系研究科 都市工学専攻	春日郁朗

平成29～令和元年度研究経費（累計額）：119,367千円（研究経費は間接経費を含む）
 （平成29年度：37,667千円、平成30年度：44,035千円、令和元年度：37,665千円）

[要旨]

水環境保全に向けた取組のための要調査項目（以下要調査項目）は208項目あるものの、毎年多くても20項目程度の調査しか行えていない。また、要調査項目には基準値なくリスク判断のための毒性情報も不足している。さらに、要調査項目に限らず、環境中に放出されている多数の化学物質の評価も求められている。そこで本研究では、精密質量分析計を用いることにより、迅速評価のためのスクリーニング分析手法を開発した。生態影響を判別するためのPNEC濃度の評価と整理を行うとともに、底生生物への影響を評価する手法の開発を行った。さらに、未知スクリーニング分析により未規制物質を監視できる仕組みの提案を試みた。試料前処理法の固相抽出法や、HPLCにおける分離条件を検討し、精密質量分析計により84物質を一斉にスクリーニング分析可能な手法が開発できた。このうち40物質については要調査項目存在状況調査での調査例がない物質であり、新規手法の有用性が示された。生態影響については、水生生物への影響に関わる項目について、115物質の水中PNEC値を導出した。さらに、底生生物への毒性影響が水中濃度由来か餌中濃度由来かを明らかにする方法を開発し、4物質について評価を行った結果、テブコナゾールについては底生生物の摂餌による毒性をPNEC値算出に用いる必要がある可能性を明らかにした。開発した分析手法を用い、荒川河川水等の分析を行い、54物質を検出でき、うち28物質は存在状況調査でのデータがなく、環境中濃度について新規な情報を提供できた。検出された物質のうち16物質はPNEC/10よりも高い濃度で、うち7物質はPNEC値よりも高い濃度で検出されており、今後の詳細な調査が必要となる物質として挙げることができた。さらに、荒川河川水試料に対して未知スクリーニング分析を行い、高頻度に検出された物質を抽出し、今後調査が必要な物質の候補として、物質推定を行うことができた。

[キーワード]

要調査項目、一斉分析、精密質量分析、生態リスク、底質毒性

1. はじめに

水環境保全に向けた取組のための要調査項目（以下要調査項目）は、平成10年に300項目が設定され、平成26年に208項目に見直された。環境省により「要調査項目等存在状況調査」が行われてきたものの、毎年多くても20項目程度の調査が行われているに過ぎず、現状の調査ではまったく追いついていない。

環境基準体系において調査管理すべき対象物質は、化学物質の生産、使用状況や、初期リスク評価等の進展に基づき、常に見直されていく必要がある。なかでも要調査項目は、要監視項目、ひいては環境基準項目の予備軍として、上位項目の対象とすべきかどうかを迅速に評価していくべきである。近年、化学物質の製造と使用は少量多品種化し、かつ入れ替わりも激しくなっている。測定コストが低減でき、かつ新たな調査対象物質にも迅速に対応できる分析法が開発できれば、環境基準の体系をいっそ

う理想に近づけることができる。

近年、高分解能／高質量精度の精密質量分析計の登場により、測定される精密質量から分子式を推定できることから、多種の対象物質の一斉分析や、事前に分析対象を決めず網羅的に分析を行う未知スクリーニング分析が現実的になってきた。研究代表者の栗栖と分担者の春日は、環境工学分野での未知スクリーニング分析の応用を試みてきた。これまでに、都市内水資源、微生物再増殖に利用される基質、さらに下水再生水処理工程に対する分析を先駆的に報告している。

そこで本研究では、これまでに開発してきた精密質量分析計による分析技術による要調査項目の一斉分析法を開発するとともに、生物毒性評価に基づいて水環境リスクの有無を判定するための手法を開発する。さらに未知スクリーニング分析により、将来における調査対象項目の変化にも対応するための分析技術を確立する。

2. 研究開発目的

本研究では、水質汚濁に係る環境基準の要調査項目について、入手可能な毒性情報をもとに、水環境リスクの有無を判別するために必要な分析感度を整理しつつ、スクリーニング分析としての一斉分析手法を開発することを目的とする。さらに、低分子有機化合物の未知スクリーニング分析による調査監視手法により、将来要調査項目になりうる物質についても、事前に情報収集し監視できる仕組みを提案することも目的とする。

(1) 環境水に対する溶存有機物質の未知スクリーニング分析および要調査項目の一斉分析手法の確立では、できる限り多くの要調査項目を一斉分析できるようにするため、幅広い物性を持った有機物を同時に試料から抽出する前処理方法を開発する。さらに分析の信頼性と定量性を高めるため、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)による分離条件の最適化を行う。開発された分析手法は、要調査項目に対する一斉分析法として確立するほか、そのまま溶存有機物質の未知スクリーニング分析手法として未知物質の分析に活用する。

(2) 要調査項目の生態毒性の初期スクリーニング評価では、すでに毒性情報が存在する項目については濃度の評価値を決定し、情報が存在しない項目については、溶存態はオオミジンコを、底質に移行しやすい物質についてはカイミジンコを用いた底質スパイク試験により毒性の初期スクリーニング評価を行い、評価値を提案する。

(3) 荒川河川水等を対象とした要調査項目の実態調査では、(1)で開発された手法を用いて要調査項目の一斉分析を行うとともに、(2)で検討した生態毒性情報をもとに、検出定量された要調査項目濃度と比較して評価を行う。また、未知スクリーニング分析により要調査項目候補を抽出する手法についての検証を行う。さらに、環境省水環境課と連携し、環境省が行う要調査項目の存在状況調査で採取する試料の一部の分析も行い、先行的に要調査項目の評価を試みる。

3. 研究開発方法

(1) 環境水に対する溶存有機物質の未知スクリーニング分析および要調査項目の一斉分析手法の確立

1) 未知スクリーニング分析に用いる固相抽出法の検討

まず、逐次抽出法1として、Ratpukdiら(2009)¹⁾の手法に倣い親水性、疎水性および酸、塩基、中性の6画分に分けて抽出したものを、イオン交換樹脂で脱塩する方法を試みた。Bond Elute ENV (Agilent)、Strata X-C(Phenomenex)、Strata X-AW(Phenomenex)の3種類のSPE用カートリッジを用い、ENVカートリッジについては3つ (ENV1、ENV2、ENV3) 用いて異なる条件で抽出・溶出した(図3.1.1)。まず各カートリッジを10mLのMeOHでリンスした後、ENVは2.0L、X-Cは4.0L、X-AWは6.0LのMilliQ水で洗浄した(カートリッジ洗浄に用いる水量についても本研究の中で検討し、溶出するDOCを低減できる最低量の水量として上記を決定した)。その後、ENV1、X-AWは10mLのMilliQ水、ENV2は10mLの0.1N NaOH水溶液、ENV3、X-Cは10mLの0.1N HCl水溶液でコンディショニングを行った。ENV1にはpH=7、ENV2にはpH=10、ENV3、X-CにはpH=2、X-AWにはpH=7にそれぞれ調整した試料を通水した。その後、ENV1、X-AWは10mLのMilliQ水、ENV2は10mLの0.1N NaOH水溶液、ENV3、X-C

は10mLの0.1N HCl水溶液で、カートリッジに残留した無機塩類を洗い流した。空気中にて5分間カートリッジを乾燥させた後、ENV1をMeOH、ENV2を0.1N HCl水溶液、ENV3、X-CとX-AWを0.1N NaOH水溶液それぞれ10mLで溶出した。溶出回収した画分のうち、ENV1抽出画分（疎水性中性、HPON(Hydrophobic Neutral)画分）、ENV2抽出画分（疎水性塩基、HPOB(Hydrophobic Base)画分）、および最後のX-AWを通水した試料（親水性中性、HPIN(Hydrophilic Neutral)画分）については、陰イオン交換樹脂を用いて、またENV3抽出画分（疎水性酸、HPOA(Hydrophobic Acid)画分）、X-C抽出画分（親水性塩基、HPIB(Hydrophilic Base)画分）、X-AW抽出画分（親水性酸、HPIA(Hydrophilic Acid)画分）については、陽イオン交換樹脂を用いて脱塩を行った。

また、逐次抽出法2として、揮発性の酸、塩基を用いて溶出を試みた。逐次抽出1からの変更点は、洗浄、コンディショニング、溶出において、0.1N HCl水溶液を用いていた箇所を5%HCOOHを含むMeOHに、0.1N NaOH水溶液を用いていた箇所を5%NH₄OHを含むMeOHに変更した点である。また、揮発性の酸・塩基を用いることで、逐次抽出法1で追加した脱塩処理を省いた（図3.1.2）。

いずれも試料として、代表的な天然有機物試料としてSuwanee River Natural Organic Matter (SRNOM)水溶液と、埼玉県荒川より採取した河川水を用いて評価を行った。SRNOMは10mg/L水溶液を調製し1L用いた。荒川河川水については、1Lを用いて試験に供した。

各カートリッジ通水後の試料および溶出液のDOC濃度を測定した。溶出液のDOC濃度測定は、溶出液2mLを40℃で1時間、N₂ガスにより有機溶媒を揮発させたのち、DOMを20mLのMilliQ水に再溶解させることで、DOC濃度を測定した。本試験方法による有機溶媒の残留は無視できる程度であることを、別途MilliQ水を用いたブランク試験で確認した。

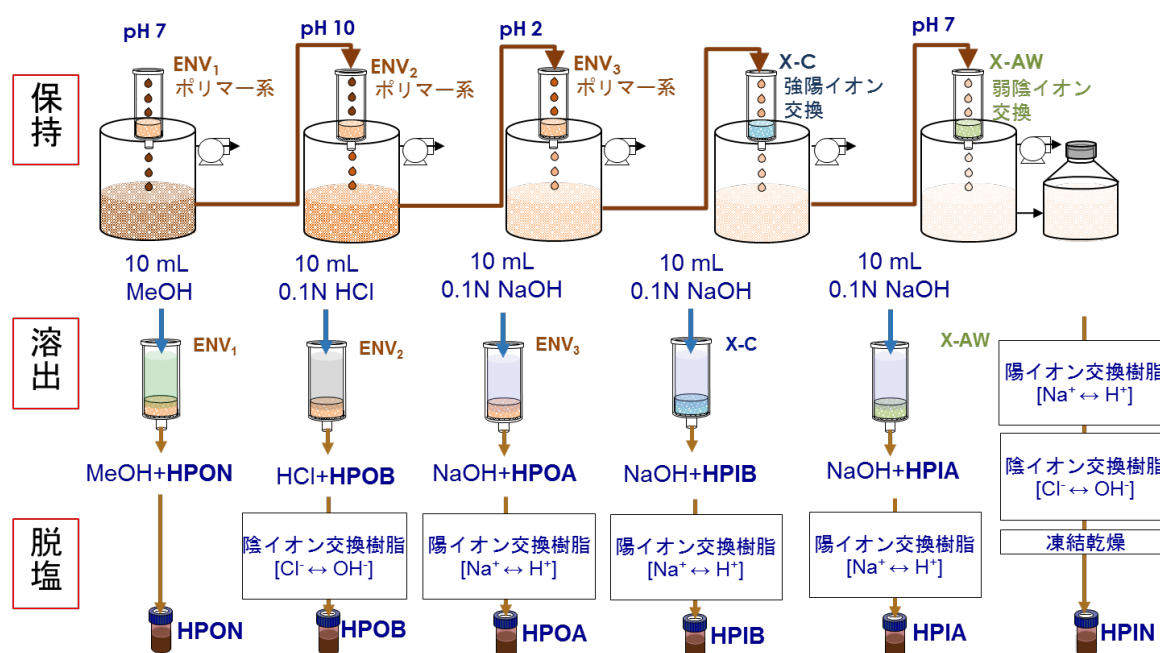


図3.1.1 逐次抽出法1（脱塩処理の追加）

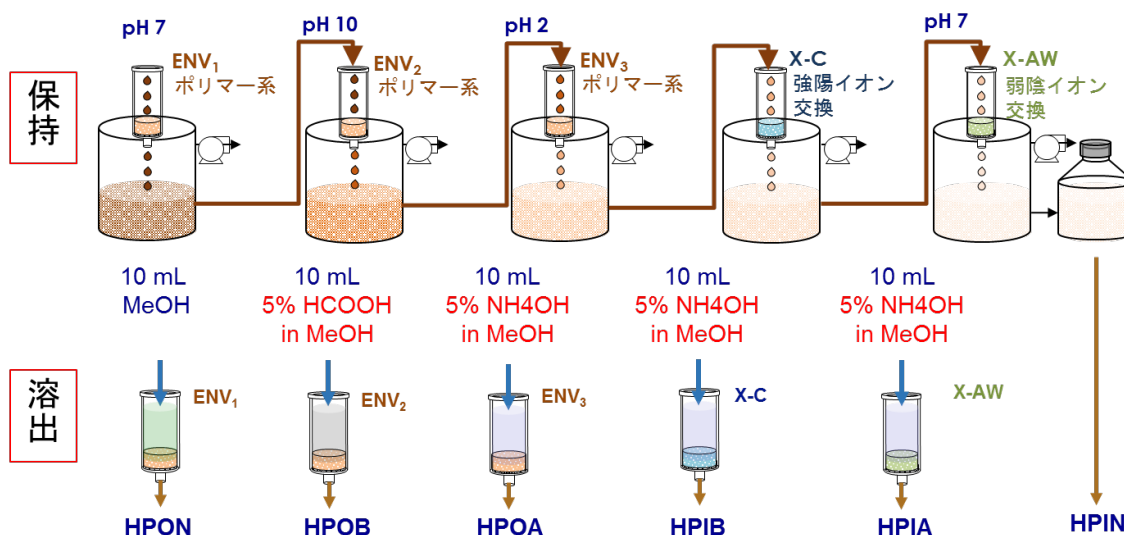


図3.1.2 逐次抽出法2（揮発性酸・塩基で溶出）

2) 要調査項目の一斉分析手法検討対象

要調査項目208項目のうち、無機化合物および分子量が50未満の化合物を除外し、163項目を対象とした。一部の項目には複数の化合物が含まれており、合計203化合物を試験した（表3.1.1）。

表3.1.1 要調査項目のうち対象とした物質と物性

ID	項目名・物質名	CAS NO.	分子式	分子量 (g/mol)	沸点 (°C)	log Kow	存在状況調査の履歴
2	アクリルアミド	79-06-1	C ₃ H ₅ NO	71.08	87.00 - 125.00	-1.65	
3	アクリル酸	79-10-7	C ₃ H ₄ O ₂	72.06	141	0.35	NO
4	アクリル酸エステル類						
4.01	アクリル酸メチル	96-33-3	C ₄ H ₆ O ₂	86.09	80.7	0.80	
4.02	アクリル酸エチル	140-88-5	C ₅ H ₈ O ₂	100.12	98.9	1.32	
4.03	アクリル酸n-ブチル	141-32-2	C ₇ H ₁₂ O ₂	128.17	146.6	2.36	
4.04	アクリル酸2-ヒドロキシエチル	818-61-1	C ₅ H ₈ O ₃	116.12	191	-0.21	
4.05	アクリル酸2-(ジメチルアミノ)エチル	2439-35-2	C ₇ H ₁₃ NO ₂	143.18	95	0.42	
4.06	アクリル酸2-エチルヘキシル	103-11-7	C ₁₁ H ₂₀ O ₂	184.27	275	4.09	
5	アセタミプリド	135410-20-7	C ₁₀ H ₁₁ ClN ₄	222.67	352.40 ± 52.00	0.62	
7	アセトン	67-64-1	C ₃ H ₆ O	58.08	46.50 ± 3.00	-0.24	
8	アセトンシアンヒドリン	75-86-5	C ₄ H ₇ NO	85.1	171	-0.55	NO
9	アセフェート	30560-19-1	C ₄ H ₁₀ N ₃ PS	183.17	340.48	-0.85	
10	2-アミノピリジン	504-29-0	C ₅ H ₆ N ₂	94.11	210.6	0.48	NO
11	アミノフェノール類						
11.01	o-アミノフェノール	95-55-6	C ₆ H ₇ NO	109.13	267	0.62	NO
11.02	m-アミノフェノール	91-27-5	C ₆ H ₇ NO	109.13	164	0.15 - 0.17	NO
11.03	p-アミノフェノール	123-30-8	C ₆ H ₇ NO	109.13	284	0.04	NO
16	イソブチルアルデヒド	78-84-2	C ₄ H ₈ O	72.11	64.5	0.77	NO
17	2-イソブトキシエタノール	4439-24-1	C ₆ H ₁₄ O ₂	118.17	0.768	0.75	NO
18	イソプレン	78-79-5	C ₅ H ₈	68.12	34.067	2.30	
19	(R)-4-イソプロペニル-1-メチルシクロヘキサ-1-エン	5989-27-5	C ₁₀ H ₁₆	136.23	178	4.38	
20	イソホロン	78-59-1	C ₉ H ₁₄ O	138.21	215.2	1.67	NO
21	イベルメクチン	70288-86-7	C ₄₈ H ₇₄ O ₁₄	875.11	185	5.6	NO
22	イミダクロプリド	138261-41-3	C ₉ H ₁₀ ClN ₅ O ₂	255.66	375.01	-0.41	NO
23	イミノクタジンアルベシル酸塩	169202-06-6	C ₇₂ H ₁₃₁ N ₇ O ₉ S ₃	1335.05	1191.7	2.05	

24	2-エチルヘキサン酸	149-57-5	C8H16O2	144.21	228	2.64	NO
25	エチレングリコール	107-21-1	C2H6O2	62.07	197.3	-1.36	NO
26	エチレングリコールモノアルキルエーテル及びアセテート類						
26.01	エチレングリコールモノアルキルエーテル	110-80-5	C4H10O2	90.12	85	-0.21	
26.02	エチレングリコールモノブチルエーテルアセテート	112-07-2	C8H16O3	160.21	192	1.57	
27	エチレンジアミン	107-15-3	C2H8N2	60.1	117	-2.04	NO
28	エチレンジアミン四酢酸	60-00-4	C10H16N2O8	292.24	557.81	-3.86	
29	2- (2-エトキシエトキシ) エタノール	111-90-0	C6H14O3	134.17	196	-0.54	NO
30	塩化アルキルジメチルベンジルアンモニウム	959-55-7	C17H30ClN	283.88	100	1.63	NO
31	塩化エチル	75-00-3	C2H5Cl	64.51	12.3	1.43	
35	1-オクタノール	111-87-5	C8H18O	130.23	195.16	3.07	
36	オリサストロビン	248593-16-0	C18H25N5O5	391.42	524.69	2.77	NO
40	カルボフラン	1563-66-2	C12H15NO3	221.25	310	2.32	
41	キザロホップエチル	76578-14-8	C19H17ClN2O4	372.8	220	4.28	
43	キャプタン	133-06-2	C9H8Cl3NO2S	300.59	437.61	2.8	
45	グリホサート	1071-83-6	C3H8NO5P	169.07	417.49	-4	
46	グルホシネート	53369-07-6	C5H12NO4P	181.13	433.91	-3.96	
47	クレゾール類						
47.01	o-クレゾール	95-48-7	C7H8O	108.14	191.04	1.98	
47.02	m-クレゾール	108-39-4	C7H8O	108.14	202.27	1.98	
47.03	p-クレゾール	106-44-5	C7H8O	108.14	201.98	1.94	
48	クロチアニジン	210880-92-5	C6H8ClN5O2S	249.68	363.86	0.64	NO
49	クロルビリホス	2921-88-2	C9H11Cl3NO3PS	350.59	160	5.11	
50	クロロアニリン類						
50.01	o-クロロアニリン	95-51-2	C6H6ClN	127.57	208.8	1.9	
50.02	m-クロロアニリン	108-42-9	C6H6ClN	127.57	230.5	1.88	
50.03	p-クロロアニリン	106-47-8	C6H6ClN	127.57	232	1.88	
51	1-クロロ-2- (クロロメチル) ベンゼン	611-19-8	C7H6Cl2	161.03	217	3.08	NO
52	クロロ酢酸類						
52.01	モノクロロ酢酸	79-11-8	C2H3ClO2	94.5	189	0.22	
52.02	ジクロロ酢酸	79-43-6	C2H2Cl2O2	128.94	194	0.92	
52.03	トリクロロ酢酸	76-03-9	C2HCl3O2	163.39	196.5	1.33	
53	クロロニトロベンゼン類						
53.01	o-クロロニトロベンゼン	88-73-3	C6H4ClNO2	157.55	246.2	2.2	
53.02	m-クロロニトロベンゼン	121-73-3	C6H4ClNO2	157.55	230.5	1.88	
53.03	p-クロロニトロベンゼン	100-00-5	C6H4ClNO2	157.55	242	2.39	
55	酢酸ビニル	108-05-4	C4H6O2	86.09	72.7	0.73	
57	酸化プロピレン	75-56-9	C3H6O	58.08	34.23	-1.52	
59	シアナジン	21725-46-2	C9H13ClN6	240.69	369.47	2.22	
61	ジウロン	330-54-1	C9H10Cl2N2O	233.09	353.86	2.68	NO
62	ジエタノールアミン	111-42-2	C4H11NO2	105.14	268.8	-2.18	NO
63	1, 3-ジオキソラン	646-06-0	C3H6O2	74.08	78	-0.37	NO
64	シクロヘキサノン	108-94-1	C6H10O	98.14	155.4	0.86	NO
65	シクロヘキサン	110-82-7	C6H12	84.16	80.7	3.44	NO
66	N-(シクロヘキシルチオ)フタルイミド	17796-82-6	C14H15NO2S	261.34	371.10 ± 27.00	3.66	NO
67	ジクロベニル	1194-65-6	C7H3Cl2N	172.01	270	2.74	NO
68	2, 4-ジクロロトルエン	95-73-8	C7H6Cl2	161.03	201	4.24	NO
69	1, 3-ジクロロ-2-プロパノール	96-23-1	C3H6Cl2O	128.99	176	0.78	
70	ジクロロベンゼン類						
70.01	o-ジクロロベンゼン	95-50-1	C6H4Cl2	147	180.2	3.38	
70.02	m-ジクロロベンゼン	541-73-1	C6H4Cl2	147	173	3.48	
70.03	p-ジクロロベンゼン	106-46-7	C6H4Cl2	147	174.12	3.57	
71	ジシクロヘキシルアミン	101-83-7	C12H23N	181.32	256	4.4	
72	ジスルホトン	298-04-4	C8H19O2PS3	274.4	132.00 - 133.00	4.02	NO
73	2, 4-ジニトロフェノール	51-28-5	C6H4N2O5	184.11	418.70 ± 35.00	1.67	
75	ジノテフラン	165252-70-0	C7H14N4O3	202.21	312.06	-0.19	NO
76	シハロホップブチル	122008-85-	C20H20FNO4	357.38	439.27	4.47	NO

		9					
77	ジフェニルアミン	122-39-4	C12H11N	169.22	302	3.44	
78	ジフェニルエーテル	101-84-8	C12H10O	170.21	258	4.21	NO
79	1,3-ジフェニルグアニジン	102-06-7	C13H13N3	211.27	170.00	2.89	NO
80	ジブチルスズ化合物						
80.01	ジブチル二塩化スズ	683-18-1	C8H18Cl2Sn	303.85	135	0.97	
80.02	ジブチルスズジラウラート	77-58-7	C32H64O4Sn	631.57	560.50 ± 19.00	3.12	
81	2,6-ジ-tert-ブチル-4-メチルフェノール	128-37-0	C15H24O	220.35	265	5.1	
82	ジベンジルエーテル	103-50-4	C14H14O	198.26	298	3.31	
84	2,4-ジ-tert-ペンチルフェノール	120-95-6	C16H26O	234.38	169.00 - 170.00	6.31	NO
85	N,N-ジメチルアセトアミド	127-19-5	C4H9NO	87.12	165.9	-0.77	NO
86	N-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミド	7651-02-7	C23H48N2O	368.64	496.90 ± 28.00	7.82	NO
88	ジメチルジスルフィド	624-92-0	C2H6S2	94.2	109.8	1.77	NO
89	N,N-ジメチルドデシルアミン	112-18-5	C14H31N	213.4	260	5.5	NO
90	N,N-ジメチルドデシルアミン-N-オキシド	1643-20-5	C14H31NO	229.4	426.62	4.67	NO
91	N,N-ジメチルプロパン-1,3-ジイルジアミン	109-55-7	C5H14N2	102.18	133	-0.35	NO
92	ジメチルホルムアミド	68-12-2	C3H7NO	73.1	213	-0.66	
93	シメトリン	1014-70-6	C8H15N5S	213.3	337.22	2.8	
98	水酸化テトラメチルアンモニウム	75-59-2	C4H13NO	91.15	110	-2.47	NO
100	ダイムロン	42609-52-9	C17H20N2O	268.35	413.31	4.04	NO
102	チアクロプリド	111988-49-9	C10H9CIN4S	252.72	383.00	2.33	NO
103	チアジニル	223580-51-6	C11H10CIN3OS	267.73	463.33	3.25	NO
104	チアメトキサム	153719-23-4	C8H10CIN5O3S	291.71	395.22	0.80	NO
105	チオウレア	62-56-6	CH4N2S	76.12	98.40 ± 23.00	-1.08	NO
106	チオシクラム	31895-21-3	C5H11NS3	181.34	255.27	1.38	NO
107	チオフアネートメチル	23564-05-8	C12H14N4O4S2	342.39	457.02	1.09	
108	2,4-D	94-75-7	C8H6Cl2O3	221.04	160	2.81	NO
109	デカン酸	334-48-5	C10H20O2	172.26	268.7	4.09	NO
110	1-デシルアルコール	112-30-1	C10H22O	158.28	231.1	4.57	
111	テトラエチレンペンタミン	112-57-2	C8H23N5	189.3	341.5	3.16	NO
112	テトラヒドロメチル無水フタル酸	11070-44-3	C9H10O3	166.17	247.98	1	NO
113	3,7,11,15-テトラメチルヘキサデカ-1-エン-3-オール	505-32-8	C20H40O	296.53	126.5	8.28	NO
114	テブコナゾール	107534-96-3	C16H22CIN3O	307.82	394.85	3.7	
115	テフリルトリオン	473278-76-1	C20H23CIO7S	442.91	574.03	2.62	NO
116	テレフタル酸ジメチル	120-61-6	C10H10O4	194.18	288	2.4	NO
117	テレフタル酸	100-21-0	C8H6O4	166.13	351.37	2.00	NO
119	1-ドデカノール	112-53-8	C12H26O	186.33	259	5.40	NO
120	2-[(3-ドデカンアミドプロパン-1-イル)]	4292-10-8	C19H38N2O3	342.52	583.40 ± 45.00	4.28	NO
121	ドデカン酸メチル	111-82-0	C13H26O2	214.34	267	6.5	NO
122	tert-ドデカンチオール	25103-58-6	C12H26S	202.4	214.82	5.46	NO
123	ドデシル硫酸ナトリウム	151-21-3	C12H25NaO4S	288.38	216	1.6	NO
124	トリエタノールアミン	102-71-6	C6H15NO3	149.19	335.4	-2.30	NO
125	トリエチレンジグリコールジメチルエーテル	112-49-2	C8H18O4	178.23	216	-0.76	NO
126	1,3,5-トリグリシジルイソシアラート	2451-62-9	C12H15N3O6	297.26	514.87	-2.77	NO
127	トリクロサン	3380-34-5	C12H7Cl3O2	289.55	120	4.76	
128	1,2,3-トリクロロプロパン	96-18-4	C3H5Cl3	147.43	157	2.63	
129	トリシクラゾール	41814-78-2	C9H7N3S	189.24	324.81	2.28	NO
130	トリフルラリン	1582-09-8	C13H16F3N3O4	335.28	139.00 - 140.00	5.34	
131	3,5,5-トリメチル-1-ヘキサノール	3452-97-9	C9H20O	144.25	194	3.11	NO
132	ナフタレン	91-20-3	C10H8	128.17	217.9	3.34	

133	二アクリル酸ヘキサメチレン	13048-33-4	C12H18O4	226.27	259.18	2.96	NO
134	ニテンピラム	150824-47-8	C11H15ClN4O2	270.72	369.32	0.40	NO
135	2,2',2''-ニトリロ三酢酸のナトリウム塩	10042-84-9	C6H7NNa2O6	235.1	498.2	-4.13	NO
136	ニトロソアミン類						
136.01	N-ニトロソジメチルアミン	62-75-9	C2H6N2O	74.08	152	-0.57	
136.02	N-ニトロソジエチルアミン	55-18-5	C4H10N2O	102.14	176.9	0.48	
136.03	N-ニトロソジn-プロピルアミン	621-64-7	C6H14N2O	130.19	206	1.36	
136.04	N-ニトロソジブチルアミン	924-16-3	C8H18N2O	158.24	116	2.63	
136.05	N-ニトロソジフェニルアミン	86-30-6	C12H10N2O	198.22	151.00 - 153.00	3.13	
136.06	N-ニトロソピロリジン	930-55-2	C4H8N2O	100.12	214	-0.19	
137	ニトロトルエン類						
137.01	2-ニトロトルエン	88-72-2	C7H7NO2	137.14	225	2.3	
137.02	3-ニトロトルエン	99-08-1	C7H7NO2	137.136	222	2.41	
137.03	4-ニトロトルエン	99-99-0	C7H7NO2	137.14	238	2.4	
138	ニトロベンゼン	98-95-3	C6H5NO2	123.11	210.8	1.85	
139	ニトロメタン	75-52-5	CH3NO2	61.04	101.19	-0.33	NO
140	1-ノナノール	143-08-8	C9H20O	144.25	213.37	4.02	
144	(1-ヒドロキシエタン-1,1-ジイル) ジホスホン酸	2809-21-4	C2H8O7P2	206.03	456.79	-3.52	NO
145	ヒドロキノン	123-31-9	C6H6O2	110.11	285	0.59	
146	ビフェニル	92-52-4	C12H10	154.21	254.00 - 255.00	4.01	
148	ピラクロニル	158353-15-2	C15H15ClN6	314.77	450.02	3.09	NO
149	ピラゾレート	58011-68-0	C19H16Cl2N2O4S	439.31	551.65	3.90	NO
150	ピリジン	110-86-1	C5H5N	79.1	115.2	0.65	
151	ピロカテコール	120-80-9	C6H6O2	110.11	245	0.90	NO
152	フェリムゾン	89269-64-7	C15H18N4	254.33	374.85	2.98	NO
153	フェントラザミド	158237-07-1	C16H20ClN5O2	349.82	498.58	2.4	NO
154	フサライド	27355-22-2	C8H2Cl4O2	271.91	358.72	3.2	NO
155	ブタクロール	23184-66-9	C17H26ClNO2	311.85	156	4.50	
156	1,3-ブタジエン	106-99-0	C4H6	54.09	-4.5	1.99	
157	フタル酸エステル類						
157.01	フタル酸ジメチル	131-11-3	C10H10O4	194.18	283.7	1.56	
157.02	フタル酸ジアリル	131-17-9	C14H14O4	246.26	161	3.23	
157.03	フタル酸ジn-ブチル	84-74-2	C16H22O4	278.34	340	4.72	
157.04	フタル酸ジイソブチル	84-69-5	C16H22O4	278.34	296.5	4.11	
157.05	フタル酸ブチルベンジル	85-68-7	C19H20O4	312.36	370	4.91	
157.06	フタル酸ジシクロヘキシル	84-61-7	C20H26O4	330.42	218	6.20	
157.07	フタル酸ビス(2-メトキシエチル)	117-82-8	C14H18O6	282.29	340	1.11	
158	2-ブタノンオキシム	96-29-7	C4H9NO	87.12	151.5	0.65	NO
159	tert-ブチル=ヒドロペルオキシド	75-91-2	C4H10O2	90.12	36	1.35	NO
160	2-sec-ブチルフェノール	89-72-5	C10H14O	150.22	228	3.27	NO
161	4-tert-ブチルフェノール	98-54-4	C10H14O	150.22	244	3.31	NO
162	N-(tert-ブチル)-2-ベンゾチアゾールスルフェンアミド	95-31-8	C11H14N2S2	238.37	358.32	0.27	NO
163	2-ブテナール	4170-30-3	C4H6O	70.09	102.2	0.60	NO
164	ブプロフェジン	69327-76-0	C16H23N3OS	305.44	408.64	4.3	NO
165	フルトラニル	66332-96-5	C17H16F3NO2	323.31	421.77	3.7	
166	プレチラクロール	51218-49-6	C17H26ClNO2	311.85	135	4.08	
167	プロシミドン	32809-16-8	C13H11Cl2NO2	284.14	442.03	3.08	NO
168	4,4'-(プロパン-2,2-ジイル)ジフェノール	80-05-7	C15H16O2	228.29	220	3.32	
169	プロパン-1,2-ジオール	57-55-6	C3H8O2	76.09	187.6	-0.86	NO
170	プロベナゾール	27605-76-1	C10H9NO3S	223.25	350.13	1.4	
171	ブロモブチド	74712-19-9	C15H22BrNO	312.25	394.6	3.47	NO
172	ブロモプロパン類						
172.01	1-ブロモプロパン	106-94-5	C3H7Br	122.99	71	2.1	
173	ヘキサデシルトリメチルアンモニウム塩酸塩	505-86-2	C19H43NO	301.6	100	6	NO
174	ヘキサブROMシクロドデカン	25637-99-4	C12H18Br6	641.7	514.10 ± 50.00	6.56	NO

175	ノルマルヘキサン	110-54-3	C6H14	86.18	68.7	3.90 - 4.11	
176	ベノミル	17804-35-2	C14H18N4O3	290.32	519.58	2.12	
177	ペルフルオロオクタン酸	335-67-1	C8HF15O2	414.07	189	4.81	
178	ペルフルオロオクタンスルホン酸	1763-23-1	C8HF17O3S	500.13	249	4.49	
179	ベンゾトリクロライド	98-07-7	C7H5Cl3	195.47	221	2.92	NO
180	ベンゾビスクロン	156963-66-5	C22H19ClO4S2	446.97	581.84	3.06	NO
181	ベンゾ[a]ピレン	50-32-8	C20H12	252.31	310.00-312.00	6.20	
182	ペンタクロロベンゼン	608-93-5	C6HCl5	250.34	277	4.60	
183	ペンタゾン	25057-89-0	C10H12N2O3S	240.28	415.31	2.34	
184	ペンディメタリン	40487-42-1	C13H19N3O4	281.31	552.97	5.56	
185	ポリ塩化ナフタレン						
185.01	モノクロロナフタレン	25586-43-0	C10H7Cl	162.62	259	4	NO
192	マラチオン	121-75-5	C10H19O6PS2	330.36	156 -157	2.36	
195	メタクリル酸	79-41-4	C4H6O2	86.09	162.5	0.93	NO
196	メタクリル酸 2,3-エポキシプロピル	106-91-2	C7H10O3	142.15	189	0.81	NO
197	メタクリル酸 2- (ジメチルアミノ) エチル	2867-47-2	C8H15NO2	157.21	186	1.5	NO
200	N-メチルジデカン-1-イルアミン	7396-58-9	C21H45N	311.59	357.30	8.88	
201	メチルナフタレン類						
201.01	1-メチルナフタレン	90-12-0	C11H10	142.2	244.7	3.87	NO
201.02	2-メチルナフタレン	91-57-6	C11H10	142.2	241.1	3.86	NO
202	N-メチル-2-ピロリドン	872-50-4	C5H9NO	99.13	202	-0.46	NO
203	メトミノストロビン	133408-50-1	C16H16N2O3	284.31	451.03	4.39	NO
204	メラミン	108-78-1	C3H6N6	126.12	329.78	-1.14	
205	モノエタノールアミン(2-アミノエタノール)(エタノールアミン)	141-43-5	C2H7NO	61.08	171	-3.22	
206	モリネート	2212-67-1	C9H17NOS	187.3	136.5	3.21	
208	リン酸エステル類						
208.01	リン酸トリス (2-エチルヘキシル)	78-42-2	C24H51O4P	434.63	215	4.23	
208.02	リン酸トリス (2-クロロエチル)	115-96-8	C6H12Cl3O4P	285.49	300	0.75	
208.03	リン酸トリトリル	1330-78-5	C21H21O4P	368.36	265	5.477	
208.04	リン酸トリフェニル	115-86-6	C18H15PO4	326.2831	370	4.59	
208.05	リン酸トリブチル	126-73-8	C12H27PO4	266.3141	289	4	
208.06	リン酸トリス (1, 3-ジクロロ-2-プロピル)	13674-87-8	C9H15Cl6O4P	430.9048	457.40 ± 40.00	3.65	

3) ESI-Orbitrap MSによる検出

対象化合物の検出の可否については、Orbitrap MS (Exactive、Thermo Scientific、USA) を使用して実施した。イオン化は、エレクトロスプレーイオン化(ESI)法を使用して、正 (ESI+) と負 (ESI-) の両方のイオン化モードで行った。ともに、スプレー電圧4.5 kV、キャピラリー温度250° Cとし、シースガス (30AU) およびスweepガス (0AU) として高純度窒素ガスを使用しました。キャピラリー、チューブレンズ、スキマーの電圧は、ESI-モードではそれぞれ-25、-100、-30 Vに設定し、ESI+モードではそれぞれ32.5、90、22 Vに設定した。分解能100,000(@ m/z 200) でm/z 50 -1500に対しフルマススキャンを行った。

4) HPLCカラムの選択

最適なHPLCカラムを選択するために、混合標準溶液 (1つの溶液あたり10-30物質、各化合物で10 mg/L) を調製し、高速液体クロマトグラフ (HPLC) で分離しESI-Orbitrap MSで検出した。HPLCはUltimate3000シリーズ (Thermo Scientific、USA) を使用し、表3.1.2に示すカラムを検討した。Atlantis dc18、InertSustain AQ-C18、Hypersil Gold C18およびXbridge BEH C18はC18結合シリカカラムで、PLRP-Sカラムは疎水性のポリスチレン-ジビニルベンゼン (PS-DVB) 充填カラムである。カラム温度は40° Cに設定した。移動相のグラジエントは、(A) 水 (LCMSグレー

ド、0.01%ギ酸を含む) および (B) メタノール (0.01%ギ酸を含む) を使用した。カラムの特性に応じて、流量とグラジエントプログラムを設定した。PLRP-Sカラムには50 μ L/minの流量を使用し、その他のカラムには200 μ L/minの流量を使用した。InertSustain AQ-C18、Hypersil Gold C18およびXbridge BEH C18カラムの場合、グラジエントは95%Aおよび5%Bで4分間保持したのち、4分後から12分後まで100%Bに直線的に変化し、100%Bに12分間保持した。次に24分後から28分後まで5%Bに直線的に戻し、95%Aおよび5%Bで12分間平衡化してから、次の分析を開始した。Atlantis dc18カラムは100%水で使用できるため、グラジエントプロセスは100%Aで開始および終了し、他の条件は上記と同じとした。PLRP-Sカラムの場合、移動相のグラジエントはInertSustain AQ-C18に適用したものと同一としたが、グラジエントでの保持時間と平衡化時間は3分間延長した。サンプルの注入量はすべて10 μ Lに設定した。

表3.1.2 検討したHPLCカラム

名称	充填剤	サイズ	粒径	メーカー
Atlantis dc18	C18-bonded silica	50 $\times$ 3 mm	3 μ m	Waters, Milford, USA
InertSustain AQ-C18	C18-bonded silica	50 $\times$ 3 mm	3 μ m	GL Sciences, Tokyo, Japan
Hypersil Gold C18	C18-bonded silica	50 $\times$ 3 mm	3 μ m	Thermo Scientific, Waltham, MA
Xbridge BEH C18	C18-bonded silica	50 $\times$ 3 mm	3.5 μ m	Waters, Milford, USA
PLRP-S	Polystyrene-divinylbenzene	150 $\times$ 1 mm	3 μ m	Agilent Technologies, Santa Clara, CA

5) 固相抽出カートリッジの選択

固相抽出(SPE)には、3つの異なるタイプのカートリッジ構成を検討した(表3.1.3)。1つ目はスチレン-ジビニルベンゼン(SDVB)ポリマーのカートリッジであるBond Elute PPL(Agilent)を単独で使用了。PPLはノンターゲットスクリーニング分析に広く使用されている²⁾。次に、N-ビニルピロリドンとスチレン-ジビニルベンゼンの共重合体が用いられているOasis HLB Plus(Waters)、および活性炭カートリッジのSep-Pak AC2Plus(Waters)を直列接続したものをを用いた。HLBとAC2の組み合わせ(HLB + AC2)は、微量汚染物質のターゲット分析に使用されている³⁾。3つ目に、多層カートリッジをもちいるSchollée et al(2015)⁴⁾の方法を用いた。最初の層はOasis HLB Plus、2番目の層はポリスチレンポリマーであるIsoelute ENV + (Phenomenex、カリフォルニア、米国)、陰イオン交換樹脂Strata X-AWおよび陽イオン交換樹脂Strata X-CWの混合物であり、最後の層は活性炭ENVICarbを、手作業で充填したカラムを用いた。

1リットルのMilli-Q水に0.1 μ g/Lの標準物質を添加し、これら3つの異なるSPEカートリッジを使用して抽出した。いずれも、カートリッジは最初に各プロトコルに従ってコンディショニングを行った。HLB + AC2および多層カートリッジで処理する場合には、標準溶液にリン酸緩衝液(1 mol / L)または酢酸アンモニウム(1 mol / L) 1 mLを、それぞれ添加した。次に、標準溶液のpHを、それぞれPPL、HLB + AC2カートリッジ、および多層カートリッジに通水する前に、それぞれ32%のHCl、リン酸バッファーもしくはギ酸で、pHを2、7もしくは6.5-5.5に調整した。通水流量は、PPLおよびHLB + AC2カートリッジでは10 mL/min、多層カートリッジでは8 mL/minとした。次に、カートリッジを窒素ガスで40分間パージして乾燥させた。PPLカートリッジからの溶出には、10 mLのメタノールを使用した。HLB + AC2および多層カートリッジは、カートリッジを逆さにし、活性炭側から溶出した。LB + AC2カートリッジについてはメタノール5 mLとジクロロメタン3 mLを使用して溶出した。多層カートリッジは、5%のアンモニアを含むメタノールと酢酸エチルの1:1混合物6 mL、酢酸1.7%を含むメタノールと酢酸エチルの1:1混合物3 mL、メタノール2 mLを順次用い溶出した。これらの溶出液を窒素ガスパージによりさらに濃縮した。混合内部標準(各200 ng、表3.1.4)を加え、混合物をメタノールで1 mLとしたのち、HPLC-Orbitrap MSで分析した。化合物の回収率(R)は式(1)で計算した。

$$R = (C_D - C_B) / C_0 \times 100\% \quad (1)$$

ここで、 C_D は検出された濃度(ng/L)、 C_B はブランクの濃度(ng/L)、 C_0 はスパイクした化合物の濃度(ng/L)である。

表3. 1. 3 検討した固相抽出カートリッジ

NO.	略号	商品名	充填剤	メーカー
1	PPL	Bond Elut™ PPL	Styrene-divinylbenzene (SDVB) polymer	Agilent Technologies, Santa Clara, CA
2	HLB + AC2	Oasis HLB Plus; Sep-Pak AC2Plus	Styrene-divinylbenzene (SDB) + N-vinylpyrrolidone; Activated carbon	Waters, Milford, USA
3	Multi-layer	-	Styrene-divinylbenzene (SDB) + N-vinylpyrrolidone; Anion exchange (Strata XAW) + cation exchange (Strata XCW) + polymeric Isolute ENV+; Activated carbon	Waters, Milford, USA; Phenomenex, California, USA; Biotage, Tokyo, Japan

表3. 1. 4内部標準物質

化合物名	分子式	MW(g/mol)
Dinotefuran (Furylmethyl-13C5)	13C5C2H14N4O3	207.17
Malathion (D10)	C102H10H9O6PS2	340.42
Dicyclohexyl phthalate (Ring-1,2-13C2, Dicarboxyl-13C2)	13C4C16H26O4	334.39
Tris(2-chloroethyl) phosphate (D12)	C62H12Cl3O4P	297.56

(2) 要調査項目の生態リスクの評価

1) 暫定指針値（検出目標値）の算出

一斉分析における検出レベルの目標設定を行うため、要調査項目のうち水生生物への影響に係る項目105項目から無機物12項目を除いた合計93項目の有機物について、暫定指針値の導出を試みた。

暫定指針値の導出手法として、①水生生物保全環境基準設定における目標値導出手法、②環境リスク初期評価におけるPNEC導出手法、の2つの方法を検討した。要調査項目が環境基準・要監視項目に関連して設定されていることを鑑み①で導出することを優先して検討したが、導出に足る十分な毒性情報が入手できないことが判明したため、最終的に②の手法で導出を進めた。

PNEC値を導出するための情報として、以下のA～Dの順に行った。

A：環境省で生態リスクに関する環境リスク初期評価が実施されているものはその報告書に記載の生態影響に関するPNECを参照した。

B：環境リスク初期評価は実施されていないものの、環境省HPで生態影響試験結果が公表されているものについてはそれをもとにPNECを導出した。

C：A、Bに該当しない物質については、USEPAのECOTOX Knowledgebaseに収集されている情報から検索、抽出し、整理した。情報の検索、抽出方法は以下の通りとした。まずCAS番号を検索語として水生生物毒性情報を検索した。検索によりヒットした情報から、以下の条件で情報を抽出した。

- ・ 淡水性の試験であるもの（項目名 Media Type、属性 FW のみ抽出）
- ・ 試験条件が室内試験であるもの（項目名 Test Location、属性 LAB のみ抽出）
- ・ 毒性試験の評価項目 Effect のうち、属性が MOR、REP、GRO、POP、BEH（それぞれ致死、繁殖、成長、個体群増殖、行動）のみ抽出
- ・ 試験期間 Obs. days が適切であるもの（例：1日未満を除外）
- ・ 項目 Endpoint のうち濃度情報が得られる以下の属性のみ抽出（EC、IC、LC、LD、NR-RETH、NR-ZERO、NOEC、NOEL、LOEC、LOEL、MATC）

D : Cにおいても情報が得られない場合にはECHA (European Chemicals Agency) データベースおよびeChem Portal (OECD) より毒性試験情報を入手しPNEC値を導出した。

B～DにおけるPNEC算出手法は、環境省「化学物質の初期リスク評価ガイドライン（平成26年12月版）」に従った。

2) 暫定指針値導出のための基礎情報追加

上記1) の導出において、情報が限られていた物質のうち2- [(3-ドデカンアミドプロパン-1-イル) (ジメチル) アンモニオ] アセタート (要調査項目番号120、CAS番号4292-10-8、別名Lauroylamide Propylbetaine) について、オオミジンコ (*Daphnia magna*) の急性遊泳阻害試験を行った。

試薬は米国Santa Cruz Biotechnology, Inc. 社より購入した製品番号SC-488785を用いた。この物質はヤシ由来の界面活性剤であり製品の多くが混合物として市販されているが、純物質として市販され研究期間中に入手可能であった本製品が毒性評価に適していると考えた。なおメーカーより提供されたSafety Data Sheetにおいて生態毒性情報は未知とされている。

本試験は、OECD 化学品テストガイドラインNo. 202「オオミジンコ遊泳阻害試験」（2004年）に準拠して実施した。ただし、上記試験法の試験上限濃度である100 mg/L を超える濃度についても試験を実施して毒性値を算出した。

暴露方式： 半止水式（24 時間後に試験液の全量を換水）

暴露期間： 48 時間

暴露区数： 被験物質を含む6 暴露区および対照区

暴露濃度： 被験物質濃度400 mg/L、200 mg/L、100 mg/L、50.0 mg/L、25.0 mg/Lおよび13.0 mg/L (公比：2) (w/v)

連 数： 4 連／暴露区、4 連／対照区

試験生物： オオミジンコ *Daphnia magna* (ふ化後24 時間未満の幼体)

供試生物数： 20 個体／暴露区 (5 個体／連)

試験液量： 15 mL／容器 (収容密度 3 mL／個体)

試験水温： 20±1℃

通 気： なし

照 明： 白色蛍光灯光、16 時間明期／8 時間暗期

給 餌： なし

対照区および各暴露区について、暴露開始から24 時間後および48 時間後（暴露終了時）に、遊泳阻害を受けた個体数および外見の異常を観察し、暴露期間中の累積遊泳阻害率を算出した。各暴露濃度における累積遊泳阻害率を基に、試験生物に対する50%遊泳阻害濃度 (EiC_{50}) をProbit 法で算出した。また、暴露期間中にすべての試験生物が遊泳阻害であった最低暴露濃度 (100%阻害最低濃度： EiC_{100}) および暴露期間中に遊泳阻害がみられなかった最高暴露濃度 (0%阻害最高濃度： EiC_0) を算出した。これらにより、被験物質の48 時間暴露での試験生物に対する有害性を評価した。

なお、対照区における暴露48 時間後の累積遊泳阻害率は0%であり、試験の有効性基準を満たした。また、試験液の水質 (水温、溶存酸素濃度およびpH) は、暴露期間を通して適正な範囲に維持されており、試験結果の信頼性に影響を及ぼした要因はなかった。

3) 疎水性が高い物質の底生甲殻類毒性評価

疎水性が高い化合物については、助剤等により溶存させて浮遊生物への毒性を評価するよりも、微粒子に付着させ底質に混合して底生生物への毒性評価を行う方が、現実の環境条件に近いと考えられる。そこで、要調査項目のうち水生生物への影響に係る項目に含まれ、オクタノール水分配係数が比較的高い物質を選び淡水産底生甲殻類カイミジンコ (IS014371毒性試験種*Heterocypris incongruens*) を用いたスパイク試験により毒性の初期スクリーニング評価を行った。さらに得られた毒性値をもとに、底質中無影響濃度を算出し、平衡分配を仮定して水中濃度に換算し、調査時の目標検出下限を検討し、1) で算出したPNEC値と比較することで、疎水性物質のモニタリングのあり方について考察した。

毒性試験は、以下の4つの物質について行った。

4-tert-ブチルフェノール(以下4tBP、要調査項目番号161) logKow=3.29

テブコナゾール(要調査項目番号114) logKow=3.7

2,6-ジ-tert-ブチル-4-メチルフェノール(以下BHT、要調査項目番号81) logKow=5.10

4-tert-オクチルフェノール(以下4tOP、要監視項目) logKow=5.28

4tOPは要調査項目ではないが、4tBPと構造に類似点があり疎水性が高いことから試験対象に加えた。

毒性試験は、曝露経路を区別することを目的として、ISO 14371のカイミジンコ底質毒性試験手法を改変して実施した。改変した主要な点は以下の通りである。

- (1) ISO手法では清浄な環境で培養した藻類を餌として分散状態で投与するのに対し、本検討では事前に試験対象物質を用いて汚染したものを投与した。
- (2) ISO手法では試験中の、餌や水の交換は行わない。今回は曝露系の汚染物質濃度変化を抑制するための工夫を行った。具体的には、汚染藻類からの脱着の影響を抑えるため、藻類はガラス繊維ろ紙GF/F上に捕捉して試験容器に入れ、12時間毎(4tOPのみ予備試験結果より24時間毎)に新たな汚染藻類捕捉ろ紙と交換した。ろ紙交換時に、試験容器に等量(4mL)の新たな試験水を投入したのち等量を引き抜くことで、水中濃度の変化も抑制した。
- (3) ISO手法では標準底質の明確な指示がなく、一般にはMicrobiotest社が市販する参照底質を用いることが多い。しかしながらこの底質は自然由来であり組成が不明である。そこで、疎水性物質の吸脱着の影響が小さい石英砂を基本とし、カイミジンコの生育に重要な炭酸カルシウムを添加(重量比で石英砂90%、CaCO₃10%)したものを用いた。この組成は6日間のカイミジンコの成長(体長増分)を評価指標として予め決定した(学術論文Gu et al (2020)として公表)。

上記の改変手法による毒性試験を、2つの曝露条件下(combined and dietary exposure)で実施した。すなわち汚染藻類作成(25℃暗所で12~24時間振とう)時の吸着平衡濃度を測定し、その平衡溶存濃度で試験水を汚染した系(combined=餌・水ともに汚染)と試験水は清浄な状態とした系(dietary=餌のみ汚染)である。現実には、dietary系であっても試験中に汚染藻類からの脱着が生じるが、頻繁に藻類及び水を交換することにより試験期間中の変動を抑えた(交換までの脱着率は4tBP 28%、テブコナゾール16%、BHT 46%、4tOP 14%)。この2つの曝露条件での異なる汚染物質濃度に対する6日間致死率または成長阻害率から用量応答曲線を描いた。汚染物質濃度(横軸)として水中濃度および藻類中濃度の2つの図を作成し、条件によらず同様の用量応答関係が得られる媒体(水または藻類)が毒性に主たる寄与をしていると解釈した。

(3) 荒川河川水等を対象とした要調査項目の実態調査

1) 荒川を対象とした要調査項目の調査

2019年4月から12月までの2か月ごとに荒川の上流から下流に分布する5地点(図3.1.3のS1、2、4、5、6)と武蔵水路の1地点(図3.1.3のS3)から試料を採取した。試料は、孔径1 μmのガラス繊維フィルター(Whatman、GF/B)を使用してろ過した。リン酸緩衝液(1 mL; 1 mol/LのNaH₂PO₄-Na₂HPO₄; pH 7.0)およびサロゲート(各200 ng、表3.1.5)を1 Lのろ過水サンプルに加えた。試料のpHは7.0に調整した。次に、試料をHLB+AC2カートリッジに10 mL/minの流量で通水した。カートリッジを40分間窒素ガスパージで乾燥させたのち、5 mLのメタノールと3 mLのジクロロメタンをAC2側から通液して、分析対象化合物を溶出した。次に、溶出液を窒素ガスパージによりさらに濃縮した。混合内部標準(各200 ng、表3.1.5)を添加し、メタノールで1 mLに再構成した。

試料は、混合内部標準を加えた混合標準溶液とともに、HPLC-Q Exactive Focus Orbitrap MS (Thermo Scientific、USA)を用い、選択イオンモニタリング-data dependent MS/MSモード(SIM-ddMS2)で分析した。SIMスキャン用のOrbitrap MSの設定は、前述のものと同様である。HPLCシステムの流量は400 μL/minに設定した。MS/MS分析の衝突エネルギー(CE)は30 eVに設定した。得られたデータの解析には、Quan / Qual Browser Xcalibur 4.0 (Thermo Fisher Scientific)を用い

た。試料中の対象物質の濃度は、内部標準法によって計算した。さらに、得られたデータをZスコア法で正規化し、Rソフトウェアを用いて時系列クラスター法で解析した。



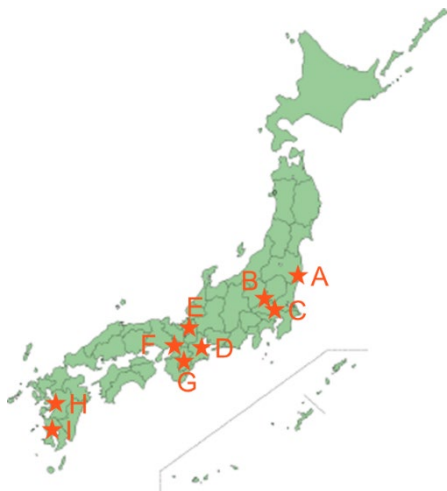
図3. 1. 3 荒川における調査地点

表3. 1. 5 サロゲートおよび内部標準物質

化合物名	種別	分子式	MW (g/mol)
Acetamiprid (pyridylmethyl-13C6)	Surrogate	13C6C4H11C1N4	228. 63
Imidacloprid (4, 4, 5, 5-D4)	Surrogate	C9H6D4C1N5O2	259. 69
Carbofuran (Ring-13C6)	Surrogate	13C6 C6 H15 N O3	227. 21
Clothianidin (Methylene-13C; Thiazole-13C3; 15N)	Surrogate	13C4C2H8C115NN4O2S	254. 64
Chlorpyrifos (Diethyl-D10)	Surrogate	C9HD10C13N03PS	360. 65
Dinotefuran (Furylmethyl-13C5)	Internal standard	13C5C2H14N4O3	207. 17
Malathion (D10)	Internal standard	C102H10H9O6PS2	340. 42
Dicyclohexyl phthalate (Ring-1,2-13C2, Dicarboxyl-13C2)	Internal standard	13C4C16H26O4	334. 39
Tris(2-chloroethyl) phosphate (D12)	Internal standard	C62H12C13O4P	297. 56

2) 環境省と連携した要調査項目の調査

さらに、環境省水環境課との連携により、2019年に環境省が実施した要調査項目存在状況調査における試料採取時において、図3. 1. 4の地点の試料を採取してもらい、本研究で開発した手法を用いて分析を行った。



ID	水域	地点	都道府県	平均BOD (mg/L)
A	蛭田川	蛭田橋	福島県	4. 0
B	休泊川	泉大橋	群馬県	4. 0
C	古綾瀬川	綾瀬川合流点前	埼玉県	2. 7
D	天白川	大井の川橋	三重県	データなし
E	琵琶湖	堅田沖中央	滋賀県	3. 4 (COD)
F	大正川	平野川合流点前	大阪府	3. 7
G	岡崎川	岡崎川流末	奈良県	5. 3
H	水俣川	産島橋	熊本県	0. 6
I	甲突川	松方橋	鹿児島県	0. 7

図3. 1. 4 環境省要調査項目存在量調査と連動した調査の採水地点

3) 荒川試料に対するノンターゲット分析

上記項目4)において採水した試料に対して、Bond Elut PPLカートリッジ (Agilent) を用いて固相抽出処理を行った後、四重極-Orbitrapタンデム型質量分析計Q Exactive focus (Thermo Fisher Scientific) を用いてLC/MS分析した。LCカラムにはInert Sustain AQ-C18カラム (GL Science) を用い、移動相にはギ酸をそれぞれ0.01%添加したメタノールと超純水を用いた。イオン化にはエレクトロスプレーイオン化法のネガティブイオンモードを用い、検出対象のm/zは100-1000とした。ピーク強度が高いピークに対してはMS/MS分析を行った。得られたマススペクトルを、ソフトウェアCompound Discoverer 3.0 (Thermo Fisher Scientific) を用いて処理し、同一分子由来の同位体ピーク等をまとめてコンポーネント化した。各コンポーネントの分子式をm/zから推定し、データベースmzCloudを用いて物質名を推定した。検出強度が10,000以上のコンポーネントを対象とし、各地点での検出頻度などを解析した。

4. 結果及び考察

(1) 環境水に対する溶存有機物質の未知スクリーニング分析および要調査項目の一斉分析手法の確立

1) 未知スクリーニング分析に用いる固相抽出法の検討

従来、ノンターゲットスクリーニング分析を目的として、非特異的に幅広い有機物を抽出するためには、ポリマー系の固相抽出カートリッジ単体で用いる方法が主に使われてきた。本研究においては、ポリマー系のカートリッジを用いつつ、試料を中性、酸性、アルカリ性に変えて通水することで、イオン化される物質の回収率向上と、さらに極性の高い物質を回収するため、イオン交換樹脂カートリッジによる抽出を組み合わせた方法を適用した。ただし、抽出物を質量分析計で分析するには、試料のpHを変えたり、カートリッジに保持された成分を回収したりする際に用いる酸およびアルカリ溶液の塩分が問題となる。そこで、以下2つの方法を試みた。逐次抽出法1 (脱塩処理追加) : 回収された溶出液から、塩分を除去する方法、逐次抽出法2 (揮発性酸・塩基による溶出) : 溶出液を回収する際に、揮発性の酸・塩基を用いることで、抽出液を直接MS分析にかけることができるようにした方法。

まずはじめに、カートリッジから溶出するDOCを低減するのに必要な洗浄水量を決定するため、ENV、Strata X-C、Strata X-AWの各カートリッジについて、カートリッジへのMilliQ水通水量と通水した後のDOC濃度との関係を調べた。試料として10mgC/L SRNOM水溶液を用いることから、回収率に影響を与えない溶出DOC濃度として、0.3mgC/L以下を設定した。この濃度以下にするために、ENVでは2.0L、Strata X-Cでは4.0L、Strata X-AWでは6.0LのMilliQ水を通水する必要があることがわかった (データ示さず)。

つぎに、天然有機物の標準物質として用いたSRNOMを用いて回収率の比較を行った。回収された有機物の各画分ごとの割合を図4.1.1に示す。いずれの抽出法においても、6画分すべてを合わせると98%, 82%と極めて高い回収率を得ることができた。ただし、HPIN (親水性中性) 画分はいずれのSPEカートリッジにも保持できなかった画分であり、この画分を質量分析にかけけるには、他の画分同様脱塩を行うだけでなく、凍結乾燥などの方法により濃縮、回収する必要がある。SPEカートリッジに保持され回収できた残りの5画分で見ると、それぞれ75%, 71%であった。画分ごとに見ていくと、HPOA (疎水性酸) の画分がいずれも大半を占めていた。

つづいて、実際の河川水を用いて回収試験を行った (図4.1.2)。PPLカートリッジ単体では42%であった回収率が、逐次抽出1により全6画分で80%まで向上させることが可能であった。また、SPEカートリッジに保持できた5画分でも回収率は57%であり、PPL単体の回収率を上回った。画分ごとの組成としては、SRNOMでは、疎水性酸の画分が大半を占めているのに対し、河川水DOMでは、疎水性酸のほか、疎水性中性や親水性中性もそれぞれ総DOMの20%程度を占めていた。また、逐次抽出法2においても同様に、疎水性酸の画分がもっとも多く回収された。ただし、逐次抽出法2においてはカートリッジからのDOC溶出が無視できない程度に大きくなる傾向にあった。逐次抽出法1と比較した場合に、コンディショニングの条件が異なることから、コンディショニングの際にDOC溶出を促進してしまう要因があるものと

考えられた。

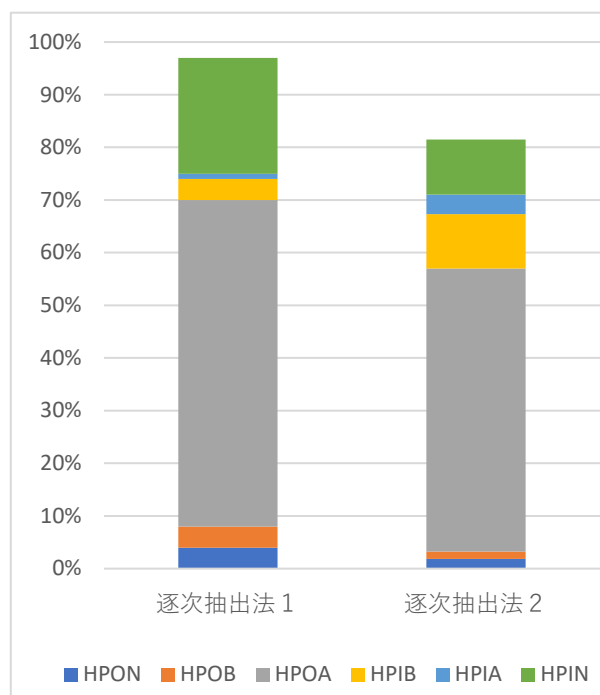


図4.1.1 逐次抽出法によるSRNOMの回収

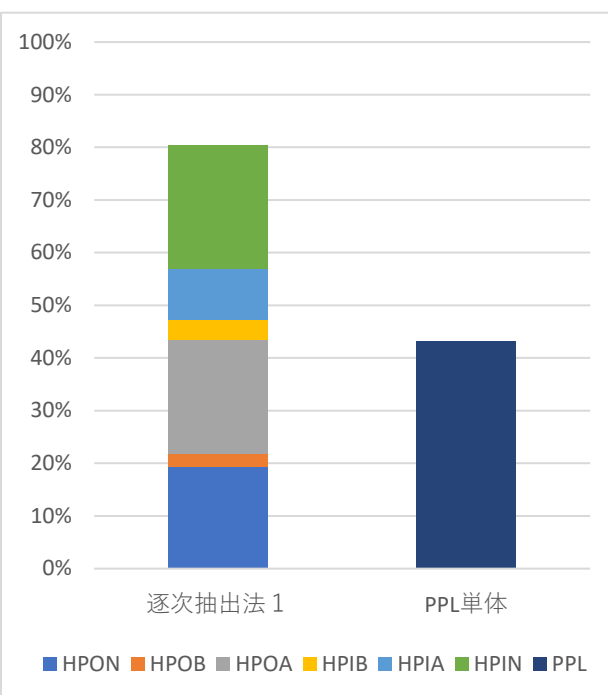


図4.1.2 逐次抽出法による河川水DOMの回収

抽出された河川水DOMを、Orbitrap質量分析計でノンターゲット分析を行った。分析により得られたコンポーネント数は、PPL抽出物が2561種であったのに対し、逐次抽出物は3277種あり、より多種類の物質を抽出できていることが確認できた（図4.1.3）。このうち962種は逐次抽出法でのみ回収できおり、PPLでのみ回収できた246種を大きく上回った。また、画分ごとのコンポーネント数を見ると、HPIN画分以外はおおむねDOCベースの回収率と一致したものの、HPINについては極めて少ないコンポーネントしか検出できなかった（図4.1.4）。これは、HPIN画分が、凍結乾燥により回収は可能であっても、質量分析で検出しにくい物質群であることを意味している。親水性中性画分に分画される物質群が、質量分析におけるイオン化が困難な物質である可能性が高い。

得られたコンポーネントに対して推定される分子式の元素組成から、2つの抽出法により抽出された物質の違いを検討した。図4.1.5は、それぞれの分析結果をKendrick mass plotで示したものである。ここでKendrick Mass(KM)、およびKendrick Mass Defect(KMD)は以下の式により計算される：

$$KM = \text{分子量} \times 14/14.01565$$

$$KMD = \text{abs}(\text{nominal KM} - KM)$$

ここでnominal KMはKMに最も近い整数値。CH₂の精密質量で分子量を基準化することにより、(CH₂)_nの違いを持つ分子式が同一KMDを持つようになる。また、KMDの値は(CH₂)_nを除いた骨格部分に固有の値となる。PPL抽出物と逐次抽出物を比較すると、同一KMDを持つ化合物のなかでよりnominal KMが大きいものが、特に疎水性中性(HPON)画分として回収できていることがわかる。つまり、同一骨格を持つものでまとめた場合に、よりCH₂鎖の長いものが、疎水性酸画分として回収できている、ということが言える。

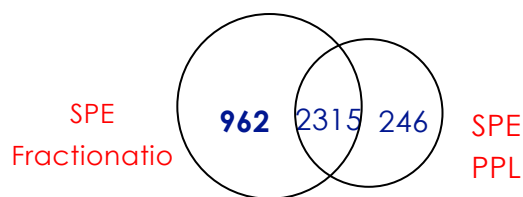


図4.1.3 検出されたコンポーネント数の比較

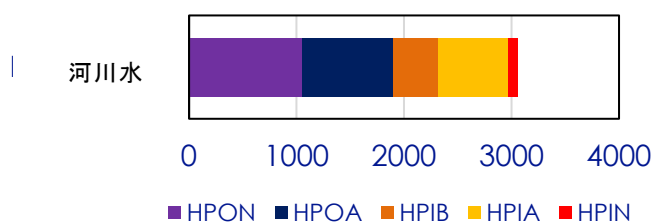


図4.1.4 画分ごとのコンポーネント数

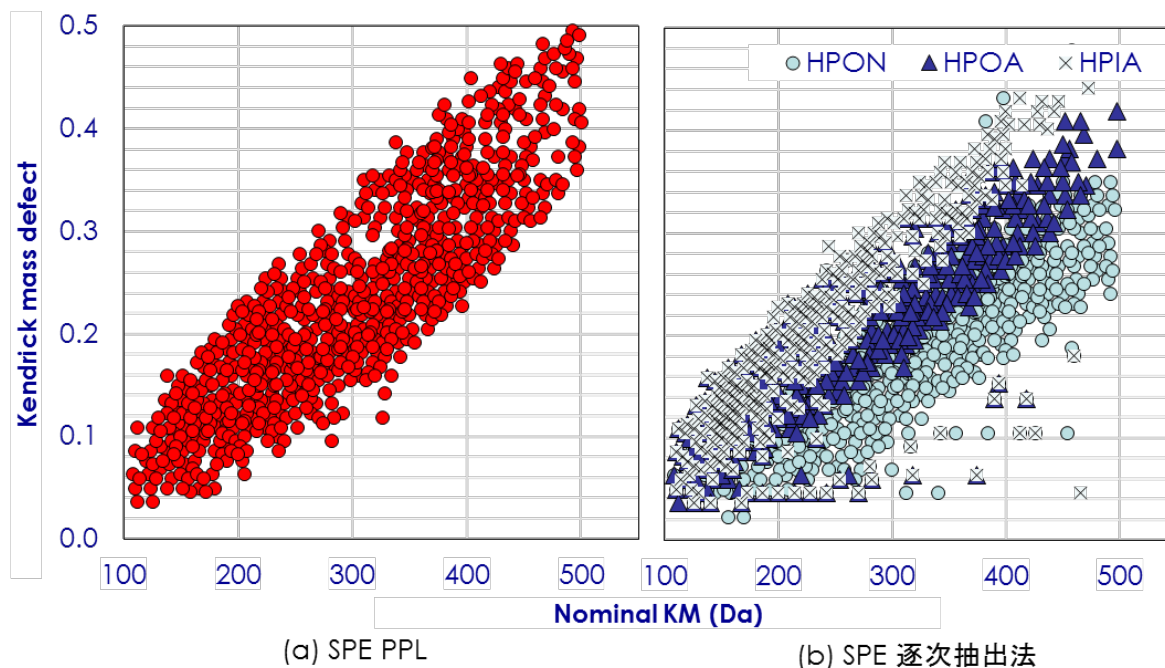


図4.1.5 Kendrick Mass Plotによる分子式の特徴の比較

2) ESI-Orbitrap MSによる検出

「要調査項目」リストの化合物は、非常に多様な特性を持っている。我々の知る限り、Orbitrap MSを適用して、このような多様な物理化学的特性を持つ化合物を検出するのは初めてである。濃度 10 mg/Lとした203化合物の標準溶液を、個別にESI-Orbitrap MSにフローインジェクションモードで注入し、検出可否を調べた。ポジティブ、ネガティブイオンモードそれぞれにおいて、分子の脱プロトン化/プロトン化イオンの精密質量を確認し、いずれかのイオン化法において質量誤差が5 ppm未満で、強度が 10^4 を超えるピークが見られた化合物を検出されたとした。結果として、123化合物がOrbitrap MSによって検出できることが示された(図4.1.6)。残念ながら、80化合物については10 mg/Lの濃度ではOrbitrap MSによって検出できなかった(図4.1.6)。これらの不検出の化合物は、その後の分析からは除外した。

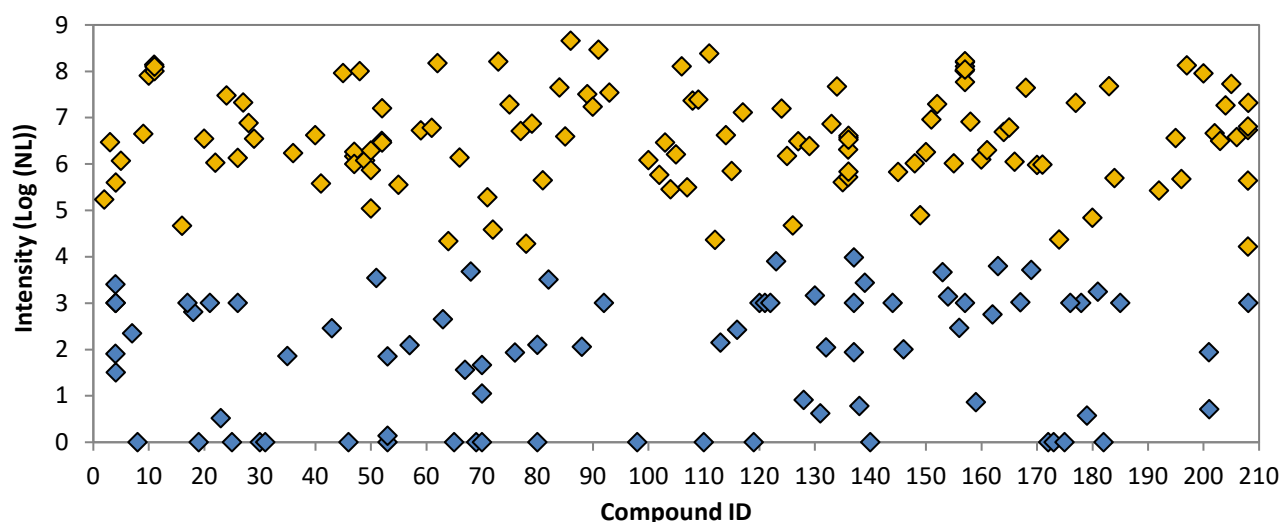


図4.1.6 ESI-Orbitrap MSによる対象物質の検出

3) HPLCカラムの選択

より多くの化合物を保持し分離する最適なHPLCカラムを選択するために、数種類ごとに混合した標準溶液を5つの異なるカラムを用いてHPLCでの分離を試みた。Atlantis dc18カラムは、100%水を含む移動相で使用できるため、親水性極性化合物に対して強い選択性をもたらすと考えられた。InertSustain AQ-C18カラムは、通常のC18カラムと比較して、極性の高い化合物を強力に保持するように設計されているものである。Hypersil Gold C18は、HPLC-Orbitrap MSによるターゲット分析に広く使用されているものである^{5), 6)}。Xbridge BEH C18カラムは、ノンターゲット分析での使用例が見られたため選択した^{7), 8)}。PLRP-Sカラムは再現性が高く、小分子の分離に適しているとの特徴が製造元から示されていることから選択された。

最適なHPLCカラムは、次の基準に従って段階的に選択した。(1) カラム分離後のOrbitrap MSによる検出 (2) ホールドアップタイムよりも長く保持される保持能力 (本分析条件では、PLRP-Sカラムでは3分以上、その他のカラムでは2分以上) (3) クロマトグラムのすべてのピーク面積の合計に対する最大ピーク面積の割合 (%Area) によって定義される分離能力。 %Areaは、「分離されたピーク」、「不完全に分離されたピーク」、「分離されていないピーク」にそれぞれ対応して、「 $\geq 70\%$ 」、「 $70\% > \text{および} > 50\%$ 」および「 $\leq 50\%$ 」に分類した。カラム分離後にOrbitrap MSによって検出された化合物の数、各カラムに保持された化合物、および %Area が異なる化合物を図4. 1. 7にまとめた。図4. 1. 7に示すように、フローインジェクション分析によって検出されたほとんどすべての化合物が、カラムを用いた分析においても検出され、カラムによる不可逆的な保持はほとんど観察されなかった。検出された化合物のうち、9-16種の化合物はカラムに保持されず、HPLCシステムのホールドアップタイムで溶出した。PLRP-Sカラムは他のカラムよりも多くの化合物を保持し、その高い保持能力を示した。しかしながら、これらの保持された化合物のうち68化合物は、PLRP-Sカラムでは %Area $< 50\%$ であった (図4. 1. 7)。よって、PLRP-Sカラムの分離能力は満足のものではなかった。 %Area $\geq 70\%$ となる化合物の数が最大であったのはInertSustain AQ-C18カラムであり、69の化合物を分離した (図4. 1. 7)。以上より、InertSustain AQ-C18が本研究において最適なカラムと判断された。さらに、ホールドアップタイムに溶出した化合物や、分離が不完全であった ($70\% > \text{Area} > 50\%$) 場合でも、物質固有の保持時間と正確な質量を指定することで、スクリーニング分析の目的であれば検出定量可能と判断された。したがって、Orbitrap MSとInertSustain AQ-C18カラムを組み合わせた場合、合計114の化合物をスクリーニングできることが示された。

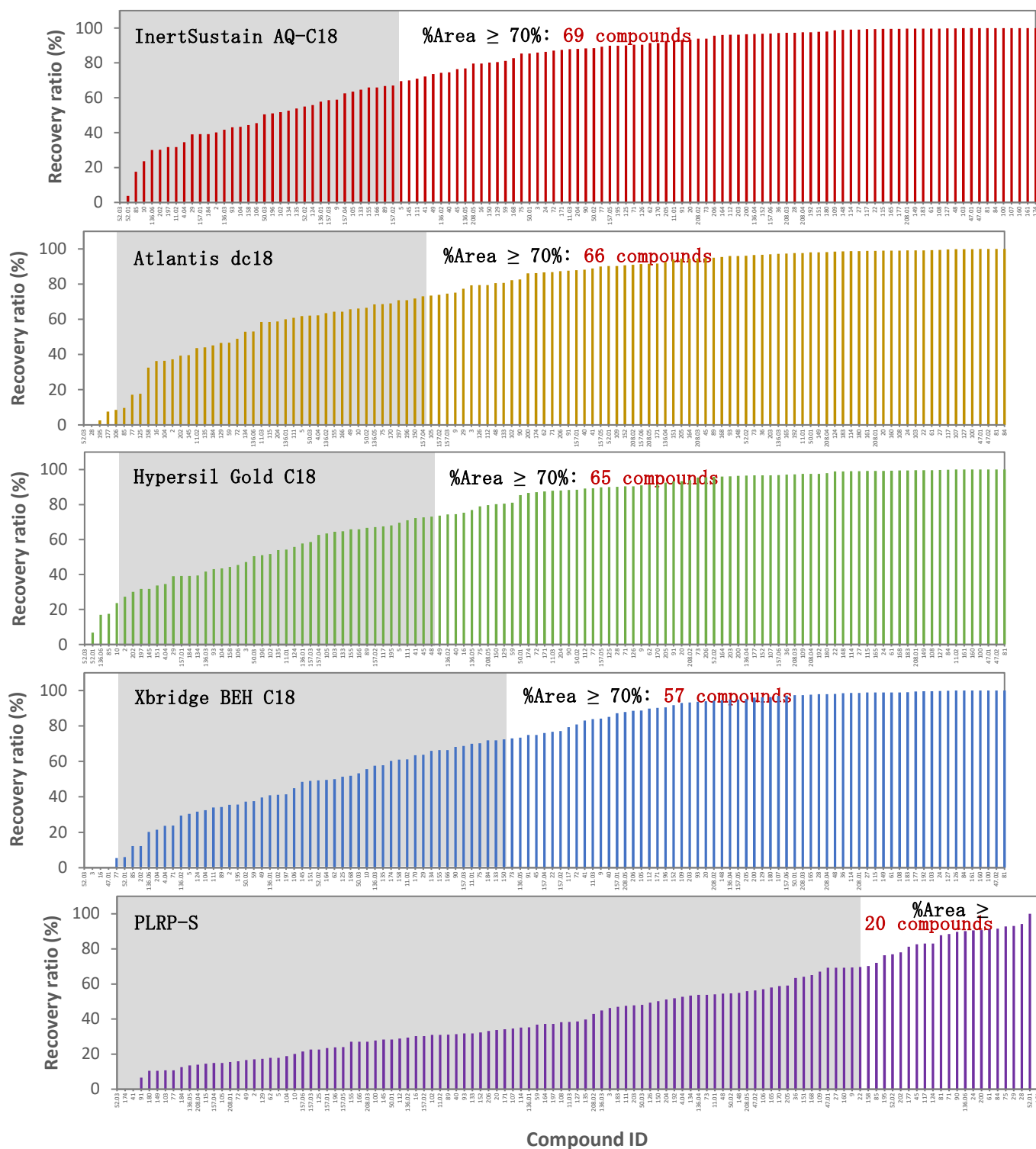


図4.1.7 HPLCカラム各種における分離。各物質の%Area値を昇順で示す。

一般的に、分離の程度は化合物の特性とカラムの吸着剤との親和性に依存するが、分離度と分子量、揮発性、親水性の相関分析では明らかな相関関係は見られなかった(表4.1.1)。Atlantis dc18、InertSustain AQ-C18、およびHypersil Gold C18カラムで完全に分離された化合物の分子量の範囲は、他の2つのカラムで分離された化合物よりも広い。特に、供試物質のうち唯一の高分子化合物(ヘキサブROMシクロデカン、MW = 641.7 g / mol)は、Xbridge BEH C18およびPLRP-Sカラムでは分離できなかった(図4.1.8)。さらに、Hypersil Gold C18で完全に分離された化合物のlog Kowは-3.86~8.88であったのに対し、他のカラムで分離された化合物のlog Kowは-2.3~8.88であ

った（図4.1.8）。したがって、Hypersil Gold C18カラムは、他のカラムよりも親水性化合物を分離できる可能性が高い。さらに、InertSustain AQ-C18およびXbridge BEH C18カラムで完全に分離された化合物のBPは64.5～581.84℃であったのに対し、他のカラムで分離された化合物のBPは116～581.84℃（図4.1.8）であり、InertSustain AQ-C18およびXbridge BEH C18カラムには低沸点の化合物を分離する機能がある。こうした情報は、他の研究においてHPLCカラムを選択する際の参考になると考えられる。

表4.1.1 %Area値と物性との相関

		MW(g/mol)	沸点(℃)	log Kow
%Area	InertSustain AQ-C18	0.37	0.25	0.30
	Atlantis dc18	0.19	0.14	0.28
	Hypersil Gold C18	0.38	0.21	0.32
	Xbridge BEH C18	0.44	0.29	0.28
	PLRP-S	-0.30	-0.07	-0.16

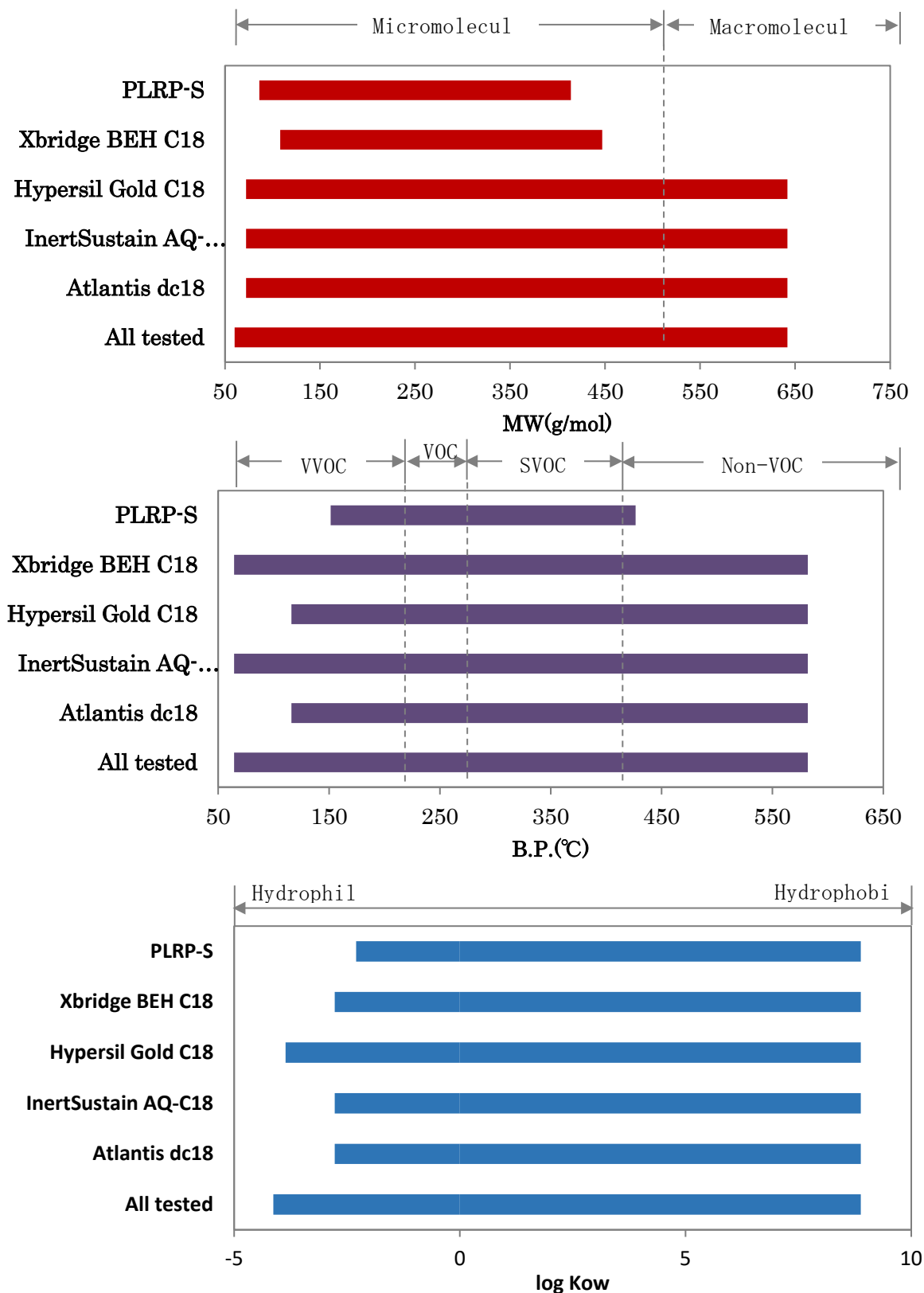


図4.1.8 HPLCで分離可能な物質(%Area ≥ 70%)の物性

4) 各物質の定量性と定量下限

InertSustain AQ-C18カラムを用いたHPLC- Orbitrap MSで検出可能な114種類の化合物に対して、標準溶液の10倍希釈系列を準備した。分子の脱プロトン化/プロトン化イオンを、それぞれ負/正の

イオン化モードで監視した。検出限界 (MDL) (定性的にのみ検出できる化合物の場合) または定量限界 (MQL) (定量的に測定できる化合物の場合) は、検出された最低濃度を採用し、SPE前処理における濃縮係数 (1000倍) を想定して推定した。検出イオンモードは、ネガティブモードとポジティブモードの両方で検出できる化合物については、MDL / MQLが低い方を選択した。検量線の決定係数 (R^2) が0.99を上回った95種の化合物については、定量可能とし、 $R^2 < 0.99$ であった残りの19の化合物は、定性的に検出可能とした。

本研究において定量可能な化合物のうち、1999年から2018年にかけて環境省が実施した要調査項目の存在状況調査において、個別分析による定量方法が示されているものの定量下限を比較した。MQLの比較表を表4.1.2に示す。33種類の化合物について、本研究で開発した方法によるMQLは従来の分析法のMQLよりも低かった。ペルフルオロオクタン酸 (ID 177) のMQLはCQLと同じであったが、アクリルアミド (ID 2) とヒドロキノン (ID 145) のMQLはCQLよりも高かった。これらの結果は、本研究で開発したHPLC-Orbitrap MSによる方法が従来の分析法よりも感度が高く、水環境中で低濃度の化合物を測定する場合に有利であることが示された。

要調査項目については基準値となる濃度は設定されていないため、水道法における目標値や、水生生物に対するPNEC濃度を利用し、問題となりうる濃度レベルと、検出下限の比較を行った。計29化合物のMQLを水道法目標値/10と比較したところ、比較したすべての化合物のMQLが水道法目標値/10よりも低いことが示された。MQLとTDI/10の比較は17の化合物について行われ、アクリルアミド (ID 2) を除いて、比較されたすべての化合物はTDI/10値よりも低いMQLを示した (表4.1.4)。さらに、43化合物のMQLをPNEC/10と比較し、38化合物はPNEC/10値よりも低いMQLを示した。残りの5つの化合物、アクリルアミド (ID 2)、2,6-ジ-tert-ブチル-4-メチルフェノール (ID 81)、デカン酸 (ID 109)、ヒドロキノン (ID 145) およびブプロフェジン (ID 164) については、検出下限はPNEC/10値よりも高かった (表4.1.2)。このことより、大部分の化合物について、MQLは環境モニタリングに用いるのに十分低いものであるといえた。

表4.1.2 本手法における定量下限 (method quantification limits, MQL) と要調査項目調査マニュアルに記載されている手法の定量下限 (quantification limits of conventional method, CQL)、および PNEC/10, TDI/10, 水道法目標値/10との比較

ID	Name	MQL (ng/L)	CQL (ng/L)	PNEC/10 (ng/L)	TDI/10 (ng/L)	水道法目標値 /10 (ng/L)
2	アクリルアミド	100	20	-	50	-
4.04	アクリル酸2-ヒドロキシエチル	10	-	1000	-	-
5	アセタミプリド	10	1000	50	-	-
10	2-アミノピリジン	0.1	-	-	-	-
11	アミノフェノール類					
11.01	o-アミノフェノール	1	-	1.8	-	-
11.02	m-アミノフェノール	1	-	50	-	-
11.03	p-アミノフェノール	1	-	25	-	-
22	イミダクロプリド	1	-	2.07	-	-
24	2-エチルヘキサノール	10	-	-	-	-
26	エチレングリコールモノアルキルエーテル及びアセテート類					
26.02	エチレングリコールモノブチルエーテルアセテート	100	-	-	-	-
36	オリサストロビン	0.1	-	-	-	-
40	カルボフラン	0.1	10	-	500	500
41	キザロホップエチル	0.1	-	10	2250	-
45	グリホサート	10	100	-	-	200000
48	クロチアニジン	10	-	12.52	-	-
49	クロルピリホス	1	10	-	750	300
50	クロロアニリン類					
50.01	o-クロロアニリン	1	20	-	-	-
50.02	m-クロロアニリン	10	20	-	-	-
50.03	p-クロロアニリン	1	20	-	1000	-
52.02	ジクロロ酢酸	0.1	-	-	900	3000

59	シアナジン	10	20	-	50	400
61	ジウロン	1	200	-	500	2000
62	ジエタノールアミン	1	-	1000	-	-
66	N-(シクロヘキシルチオ)フタルイミド	1	-	100	-	-
71	ジシクロヘキシルアミン	0.1	10	49	-	-
72	ジスルホトン(別名:エチルチオメトン)	1	-	-	10	400
73	2,4-ジニトロフェノール	1	-	-	500	-
75	ジノテフラン	1	-	790	-	-
77	ジフェニルアミン	1	-	27	6250	-
79	1,3-ジフェニルグアニジン	1	-	180	-	-
81	2,6-ジ-tert-ブチル-4-メチルフェノール	100	-	69	-	-
84	2,4-ジ-tert-ペンチルフェノール	100	-	120	-	-
85	N,N-ジメチルアセトアミド	10	-	-	-	-
89	N,N-ジメチルドデシルアミン	0.1	-	2.6	-	-
93	シメトリン	1	20	-	-	3000
100	ダイムロン	10	400	-	-	80000
102	チアクロプリド	10	-	-	-	-
103	チアジニル	0.1	-	-	-	10000
104	チアメトキサム	10	-	967	-	-
105	チオウレア	10	-	1800	-	-
106	チオシクラム	10	-	19.4	-	-
107	チオファネートメチル	1	2000	30	-	30000
108	2,4-D	1	-	14	2500	3000
109	デカン酸	100	-	7.5	-	-
112	テトラヒドロメチル無水フタル酸	0.1	-	9400	-	-
114	テブコナゾール	0.1	100	120	-	-
115	テフリルトリオン	1	-	-	-	200
117	テレフタル酸	1	-	-	-	-
124	トリエタノールアミン	0.1	-	-	-	-
125	トリエチレングリコールジメチルエーテル	1	-	-	-	-
127	トリクロサン	1	-	3.4	-	-
129	トリシクラゾール	1	400	-	-	10000
133	二アクリル酸ヘキサメチレン	0.1	-	380	-	-
134	ニテンピラム	10	-	40600	-	-
136	ニトロソアミン類					
136.0 1	N-ニトロソジメチルアミン	10	60	-	-	-
136.0 2	N-ニトロソジエチルアミン	1	-	-	-	-
136.0 3	N-ニトロソジn-プロピルアミン	1	-	-	-	-
136.0 4	N-ニトロソジブチルアミン	10	-	-	-	-
136.0 5	N-ニトロソジフェニルアミン	1	-	-	-	-
136.0 6	N-ニトロソピロリジン	1	-	-	-	-
145	ヒドロキノン	100	4	1.5	-	-
148	ピラクロニル	1	-	-	-	1000
149	ピラゾレート	1	-	-	-	2000
150	ピリジン	0.1	50	10	250	-
151	ピロカテコール	100	-	1560	-	-
152	フェリムゾン	1	-	620	-	5000
155	プタクロール	0.1	10	-	-	3000
157	フタル酸エステル類					
157.0 1	フタル酸ジメチル	1	10	-	-	-
157.0 2	フタル酸ジアリル	1	10	-	-	-
157.0 3	フタル酸ジn-ブチル	1	-	-	16500	1000
157.0 4	フタル酸ジイソブチル	1	-	-	-	-
157.0 5	フタル酸ブチルベンジル	1	200	-	50000	50000
157.0 6	フタル酸ジシクロヘキシル	0.1	200	-	-	-
158	2-ブタノンオキシム	100	-	-	-	-
160	2-sec-ブチルフェノール	100	-	320	-	-
164	ブプロフェジン	0.1	100	0	2250	2000

165	フルトラニル	0.1	100	130	-	-
166	プレチラクロール	0.1	10	3.2	-	5000
170	プロペナゾール	10	50	-	-	5000
171	プロモブチド	0.1	100	-	-	10000
177	ペルフルオロオクタン酸	0.1	0.1	-	-	-
180	ベンゾビスクロン	1	-	-	-	9000
183	ベンタズン	0.1	10	-	-	20000
184	ペンディメタリン	1	-	-	-	30000
196	メタクリル酸 2,3-エポキシプロピル	100	-	1000	-	-
200	N-メチルジデカン-1-イルアミン	0.1	-	0.2	-	-
203	メトミノストロビン	1	-	-	-	4000
204	メラミン	0.1	-	-	-	-
205	モノエタノールアミン(2-アミノエタノール)(エタノールアミン)	1	-	-	-	-
206	モリネート	10	10	-	500	500
208	リン酸エステル類					
208.0 1	リン酸トリス (2-エチルヘキシル)	1	20	130	-	-
208.0 2	リン酸トリス(2-クロロエチル)	10	20	10000	-	-
208.0 3	リン酸トリトリル	0.1	-	15	-	-
208.0 4	リン酸トリフェニル	1	10	300	-	-
208.0 5	リン酸トリブチル	0.1	10	2100	-	-

5) 固相抽出カートリッジの選択

SPE前処理で最大限回収するために、本研究ではPPL、HLB + AC2、および多層カートリッジを用いた検討を、MDLが100 ng/L未満の106化合物に対して実施した。最適なSPEカートリッジの評価は、Orbitrap MSによって検出された化合物の数、および回収率50%以上で回収された化合物の数によって選択した³⁾。各カートリッジによる回収化合物の数、および回収率が50%以上の化合物を図4.1.9にまとめた。HLB+ AC2カートリッジにより、84種類の化合物がSPEによって回収され、そのうち5種類がHPLC-Orbitrap MSによって定性的に検出され、残りの79種類の化合物はHPLC-Orbitrap MSによって定量化できた。これらの定量可能な化合物のうち52種類は、50%を超える回収率で回収できた(図4.1.9)。HLB+ AC2カートリッジは、他の2つのカートリッジよりも高い回収率を示したことから、SPE前処理方法として選択された。

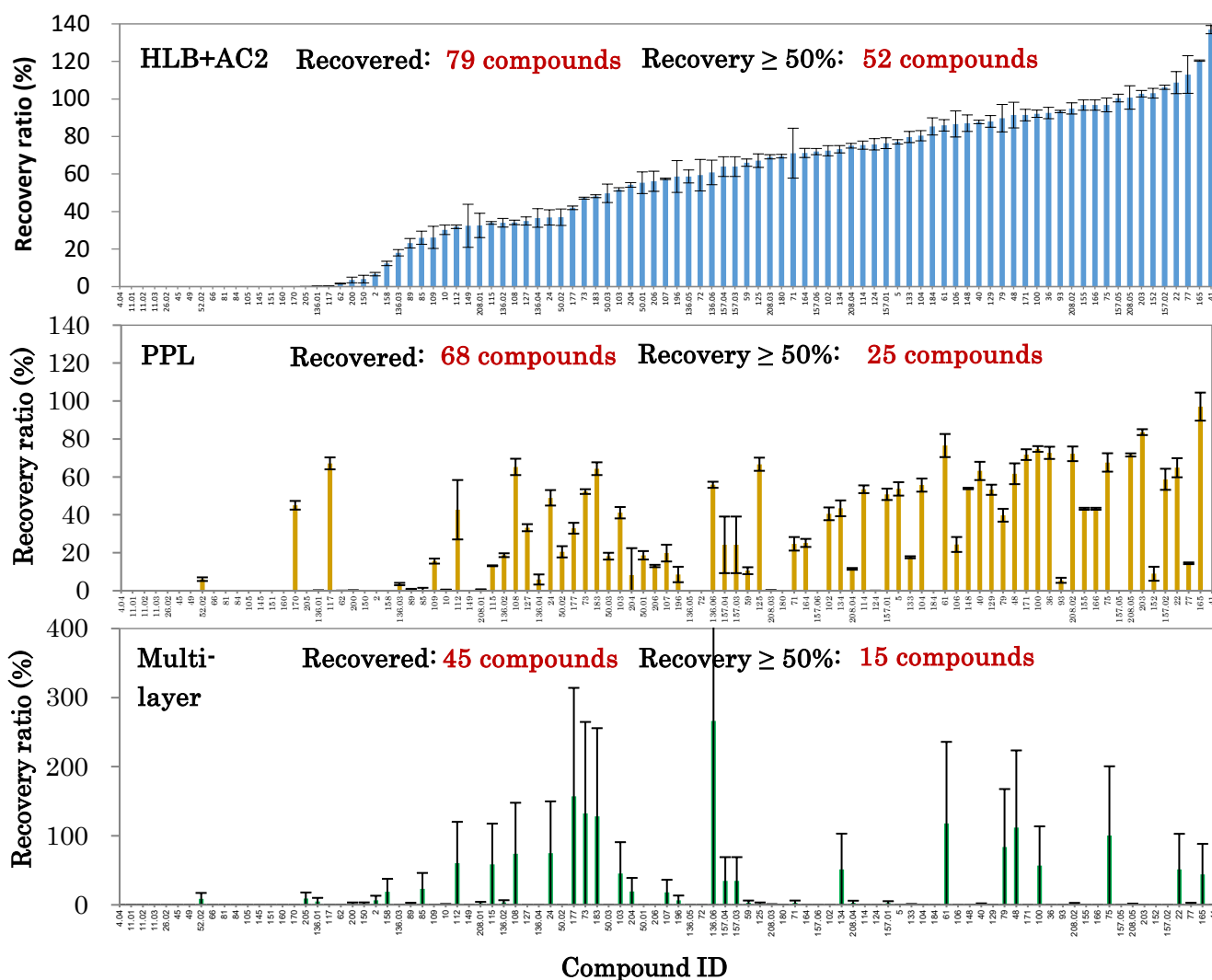


図4.1.9 固相抽出カートリッジによる回収率

6) 開発された分析法のまとめ

ここまでの検討の結果、HPLCシステムでInertSustain AQ-C18カラムを使用し、SPE処理でHLB + AC2カートリッジを使用するSPE- HPLC-Obitrap MS分析法を確立した。供試203化合物のうち84化合物が本手法で検出でき、52化合物が定量可能（検量線の直線性が $R^2 \geq 0.99$ 、SPE処理で回収率 $\geq 50\%$ の化合物）であり、残りの32化合物は定性的に検出できた（検量線の直線性が $R^2 < 0.99$ であるがSPE後に検出された化合物、および検量線が $R^2 > 0.99$ であるがSPE処理で回収率 $< 50\%$ の化合物）（表4. 1. 3）。

定量には、プロトン化/脱プロトン化された前駆体イオンを用いることとした。さらに、MS/MS分析も行い、明確なプロダクトイオンが得られる物質については、その1つを確認イオンとした（表4. 1. 3）。開発したメソッドの再現性は、 $0.1 \mu\text{g/L}$ の濃度をスパイクしたMilli-Qの3回のテストで検出された化合物の濃度の相対標準偏差（RSD）によって検証した。化合物のRSDは $0.04 \sim 13.29\%$ （表4. 1. 3）の範囲であり、これは日本の環境省のガイドライン（ $\text{CV} < 15\%$ ）に適合していた⁹⁾。

なお、開発した手法では、表4. 1. 5のブタクロルとプレチラクロル、およびフタル酸ジブチルとフタル酸ジイソブチルは異性体であって前駆体イオンの m/z が同じであり、かつカラムで十分に分離できず共溶出してしまう。したがって、これらの物質については、測定値は両化合物の濃度の和としてのみ測定可能である。

表4.1.3 本研究で開発された方法により分析可能な物質及び検出条件の一覧

ID	項目名・物質名	定量／定性の別 Quan/Qual	イオン化モード	定量プレカーサイ オン (m/z)	確認イ オン (m/z)	RT (min)	MDL (ng/L)	MQL (ng/L)	SPE 回収 率 (%)	RSD (%)
2	アクリルアミド	Qualitative	Positive	72.04494	55.01873	8.39	1	100	6.65	0.93
5	アセタミプリド	Quantitative	Positive	223.075	126.0106	7.53	1	10	77.12	1.17
10	2-アミノピリジン	Qualitative	Positive	95.06092	78.0346	0.83	0.1	0.1	30.29	2.51
22	イミダクロプリド	Quantitative	Positive	256.0601	175.0977	7.06	1	1	108.69	5.87
24	2-エチルヘキサン酸	Qualitative	Negative	143.1072	71.04989	7.17	10	10	36.88	4.06
29	2- (2-エトキシエトキシ) エタノール	Qualitative	Positive	135.1021	73.06559	9.47	100	-	Recovered	-
36	オリサストロビン	Quantitative	Positive	392.1934	116.0497	8.63	0.1	0.1	92.51	3.03
40	カルボフラン	Quantitative	Positive	222.113	123.0441	7.89	0.1	0.1	87.73	0.94
41	キザロホップエチル	Quantitative	Positive	373.0955	299.0578	9.28	0.1	0.1	136.93	2.19
48	クロチアニジン	Quantitative	Positive	250.0165	131.9669	7.41	10	10	91.40	6.84
50	クロロアニリン類									
50.01	o-クロロアニリン	Quantitative	Positive	128.0267	93.05776	7.81	1	1	55.35	5.76
50.02	m-クロロアニリン	Qualitative	Positive	128.0267	93.05776	7.56	0.1	10	36.99	4.38
50.03	p-クロロアニリン	Qualitative	Positive	128.0267	93.05776	7.13	0.1	1	49.72	4.92
59	シアナジン	Quantitative	Positive	241.0968	104.0013	7.84	1	10	66.04	1.94
61	ジウロン	Quantitative	Negative	231.0092	149.9742	8.38	1	1	85.94	3.04
62	ジエタノールアミン	Qualitative	Positive	106.0868	87.64967	1.82	1	1	1.63	0.21
71	ジシクロヘキシルアミン	Quantitative	Positive	182.1909	83.08615	7.24	0.1	0.1	71.11	13.29
72	ジスルホトン	Quantitative	Positive	275.0363	-	9.53	1	1	59.38	8.39
73	2,4-ジニトロフェノール	Qualitative	Negative	183.0042	95.01259	7.62	0.1	1	47.14	0.52
75	ジノテフラン	Quantitative	Negative	201.0988	61.00294	6.14	0.1	1	96.82	3.68
77	ジフェニルアミン	Quantitative	Positive	170.097	93.0578	9.09	0.1	1	113.01	10.01
79	1,3-ジフェニルグアニジン	Quantitative	Positive	212.1177	-	7.00	0.1	1	89.76	7.31
85	N,N-ジメチルアセトアミド	Qualitative	Positive	88.07624	70.06593	0.69	10	10	26.07	3.50
89	N,N-ジメチルドデシルアミン	Qualitative	Positive	214.2535	71.08629	8.52	0.1	0.1	23.14	2.52
93	シメトリン	Quantitative	Positive	214.1126	96.05611	7.89	0.1	1	93.27	0.63
100	ダイムロン	Quantitative	Negative	267.1497	98.98455	8.66	10	10	92.13	1.94
102	チアクロプリド	Quantitative	Positive	253.0315	126.0154	7.76	1	10	72.41	2.70
103	チアジニル	Quantitative	Negative	266.0155	70.99471	8.73	0.1	0.1	51.81	0.90
104	チアメトキサム	Quantitative	Positive	292.0271	181.0541	6.98	10	10	80.40	2.72
106	チオシクラム	Quantitative	Positive	182.0132	97.0082	3.01	10	10	86.67	6.96
107	チオファネートメチル	Quantitative	Positive	343.0535	151.0324	8.24	1	1	57.44	0.35
108	2,4-D	Qualitative	Negative	218.9616	160.9557	8.26	0.1	1	34.24	1.19
109	デカン酸	Qualitative	Negative	171.1385	-	9.03	100	100	26.24	5.90
112	テトラヒドロメチル無水フタル酸	Qualitative	Negative	165.0552	93.03329	8.00	0.1	0.1	31.90	0.93
114	テブコナゾール	Quantitative	Positive	308.153	70.04075	8.93	0.1	0.1	75.39	2.18

115	テフリルトリオン	Qualitative	Negative	441.0775	405.1011	8.29	1	1	33.94	0.72
117	テレフタル酸	Qualitative	Negative	165.0188	108.936	7.00	1	1	0.28	0.14
124	トリエタノールアミン	Quantitative	Positive	150.113	70.0659	0.71	0.1	0.1	75.83	3.01
125	トリエチレングリコールジメチルエーテル	Quantitative	Positive	179.1283	59.04999	7.23	0.1	1	67.12	3.62
126	1, 3, 5-トリグリシジルイソシアヌラート	Qualitative	Positive	298.1039	130.0147	6.82	100	-	Recovered	-
127	トリクロサン	Qualitative	Negative	286.94334	200.9489	9.22	0.1	1	34.97	2.16
129	トリシクラゾール	Quantitative	Positive	190.0439	126.0215	7.69	0.1	1	88.03	3.11
133	二アクリル酸ヘキサメチレン	Quantitative	Positive	227.1283	73.02914	8.56	0.1	0.1	79.70	2.97
134	ニテンピラム	Quantitative	Positive	271.0962	56.05037	6.64	10	10	73.22	1.95
136	ニトロソアミン類									
136.01	N-ニトロソジメチルアミン	Qualitative	Positive	75.05584	62.44997	1.75	1	10	0.19	0.07
136.02	N-ニトロソジエチルアミン	Qualitative	Positive	103.0871	53.99834	6.53	0.1	1	34.03	2.31
136.03	N-ニトロソジ n-プロピルアミン	Qualitative	Positive	131.1184	65.03935	7.85	0.1	1	18.05	1.69
136.04	N-ニトロソジブチルアミン	Qualitative	Positive	159.1497	57.07076	8.42	0.1	10	36.59	4.95
136.05	N-ニトロソジフェニルアミン	Quantitative	Positive	199.0871	-	8.65	1	1	58.70	3.46
136.06	N-ニトロソピロリジン	Quantitative	Positive	101.0715	55.05513	4.92	0.1	1	60.84	6.54
148	ピラクロニル	Quantitative	Positive	315.1125	169.0525	8.16	0.1	1	87.09	4.40
149	ピラゾレート	Qualitative	Positive	439.0286	172.9555	9.09	1	1	32.4053	11.47
150	ピリジン	Qualitative	Positive	80.05002	53.03951	0.82	0.1	0.1	4.015	2.03
152	フェリムゾン	Quantitative	Positive	255.161	132.1807	8.91	1	1	103.05	2.59
155	プタクロール	Quantitative	Positive	312.173	162.1276	9.24	0.1	0.1	96.74	2.74
157	フタル酸エステル類									
157.01	フタル酸ジメチル	Quantitative	Positive	195.0657	163.0388	7.87	0.1	1	76.42	2.87
157.02	フタル酸ジアリル	Quantitative	Positive	247.097	53.00308	8.61	0.1	1	106.23	1.13
157.03	フタル酸ジ n-ブチル	Quantitative	Positive	279.1596	149.0232	9.18	0.1	1	63.95	5.25
157.04	フタル酸ジイソブチル	Quantitative	Positive	279.1596	149.0233	9.20	0.1	1	63.95	5.25
157.05	フタル酸ブチルベンジル	Quantitative	Positive	313.144	176.1433	9.21	0.1	1	100.48	2.06
157.06	フタル酸ジシクロヘキシル	Quantitative	Positive	331.1909	149.0232	9.63	0.1	0.1	71.95	1.65
158	2-ブタノンオキシム	Qualitative	Positive	88.07624	73.05276	6.40	0.1	100	12.34	1.16
164	プロフェジン	Quantitative	Positive	306.164	57.07077	9.68	0.1	0.1	71.24	2.43
165	フルトラニル	Quantitative	Positive	324.1211	242.0608	8.90	0.1	0.1	120.41	0.36
166	プレチラクロール	Quantitative	Positive	312.173	162.1276	9.24	0.1	0.1	96.74	2.74
171	プロモブチド	Quantitative	Positive	312.0963	-	8.79	0.1	0.1	91.40	3.07
174	ヘキサプロモシクロデカン	Qualitative	Negative	634.643	-	9.96	100	-	Recovered	-
177	ペルフルオロオクタン酸	Qualitative	Negative	412.9659	168.9886	9.73	0.1	0.1	41.96	0.95
180	ベンゾビスクロン	Quantitative	Positive	447.0492	257.0626	8.97	1	1	69.53	0.96

183	ペンタゾン	Qualitative	Negative	239.049	132.0318	7.89	0.1	0.1	48.16	0.76
184	ペンディメタリン	Quantitative	Positive	282.1454	91.04221	9.55	1	1	85.36	4.57
192	マラチオン	Qualitative	Positive	331.0439	-	8.97	10	-	Recovered	-
196	メタクリル酸 2,3-エポキシプロピル	Quantitative	Positive	143.0708	57.03435	7.37	100	100	58.67	8.47
200	N-メチルジデカン-1-イルアミン	Qualitative	Positive	312.363	172.2057	8.85	0.1	0.1	3.54	1.50
202	N-メチル-2-ピロリドン	Qualitative	Positive	100.0762	58.02962	4.58	10	-	Recovered	-
203	メトミノストロビン	Quantitative	Positive	285.1239	194.0598	8.68	1	1	102.79	1.72
204	メラミン	Quantitative	Positive	127.0732	68.02512	0.78	0.1	0.1	54.21	1.23
205	モノエタノールアミン(2-アミノエタノール)(エタノールアミン)	Qualitative	Positive	62.06059	60.98222	0.73	0.1	1	0.05	0.04
206	モリネート	Quantitative	Positive	188.1109	55.05511	8.75	0.1	10	56.13	5.38
208	リン酸エステル類									
208.01	リン酸トリス (2-エチルヘキシル)	Qualitative	Positive	435.3603	98.98455	10.84	0.1	1	32.61	6.46
208.02	リン酸トリス (2-クロロエチル)	Quantitative	Positive	284.9617	63.00043	7.93	0.1	10	94.91	2.99
208.03	リン酸トリトリル	Quantitative	Positive	369.1256	166.0777	9.45	0.1	0.1	69.19	1.15
208.04	リン酸トリフェニル	Quantitative	Positive	327.0781	233.0359	9.01	0.1	1	75.07	1.25
208.05	リン酸トリブチル	Quantitative	Positive	267.172	98.98457	9.3	0.1	0.1	100.78	6.25

(2) 要調査項目の生態リスクの評価

1) 暫定指針値(検出目標値)の算出

導出されたPNEC値を表4.1.4に示す。また一般に環境基準項目等のモニタリングにおいては基準値や指針値の1/10値まで報告するのが一般的であることから、表中には検出目標としてPNECの1/10値を記載した。要調査項目には指針値等が示されておらず、この一覧表に示す値は、今後の要調査項目の調査結果を解釈する上での暫定的な指針値として使えると考えられる。

表4.1.4 要調査項目(水生生物への影響に係る項目)のPNEC値と検出目標値

要調査項目(水生生物への影響に係る項目のうち無機物を除いたもの)			検出目標 (PNEC/10)	PNEC	PNEC導出 reference		
番号	物質名	CAS番号	($\mu\text{g/L}$)	($\mu\text{g/L}$)	A	B	C
3	アクリル酸	79-10-7	0.3	3	○		
4	アクリル酸エステル類						
	アクリル酸メチル	96-33-3	0.36	3.6	○		
	アクリル酸エチル	140-88-5	0.19	1.9	○		
	アクリル酸n-ブチル	141-32-2	1	10	○		
	アクリル酸2-ヒドロキシエチル	818-61-1	1	10	○		
	アクリル酸2-(ジメチルアミノ)エチル	2439-35-2	0.025	0.25	○		
5	アセタミプリド	135410-20-7	0.05	0.5			○
8	アセトシアンヒドリン	75-86-5	0.05	0.5			○
9	アセフェート	30560-19-1	0.00146	0.0146			○
11	アミノフェノール類						
	o-アミノフェノール	95-55-6	0.0018	0.018	○		
	m-アミノフェノール	591-27-5	0.05	0.5	○		
	p-アミノフェノール	123-30-8	0.025	0.25	○		
12	アルキル硫酸ナトリウム	68955-20-4	0.204	2.04**			

15	イソデカノール(8-メチル-1-ノナノール)	25339-17-7	0.4	4	○	
19	(R)-4-イソプロペニル-1-メチルシクロヘキサン1-エン	5989-27-5	0.24	2.4		○
21	イベルメクチン	70288-86-7	3.0×10^{-9}	3.0×10^{-8}		○
22	イミダクロプリド	138261-41-3	0.00207	0.0207		○
27	エチレンジアミン	107-15-3	0.16	1.6	○	
28	エチレンジアミン四酢酸	60-00-4	5.5	55	○	
30	塩化アルキルジメチルベンジルアンモニウム	8001-54-5	0.018	0.18		○
41	キザロホップブチル	76578-14-8	0.01	0.1		○
47	クレゾール類					
	o-クレゾール	95-48-7	0.84	8.4	○	
	m-クレゾール	108-39-4	0.89	8.9	○	
	p-クレゾール	106-44-5	0.52	5.2	○	
48	クロチアニジン	210880-92-5	0.01252	0.1252		○
49	クロルピリホス	2921-88-2	3.5×10^{-5}	3.5×10^{-4}	○	
51	1-クロロ-2-(クロロメチル)ベンゼン	611-19-8	0.2	2		○
53	クロロニトロベンゼン類					
	1-クロロ-2,4-ジニトロベンゼン	97-00-7	0.14	1.4	○	
	1-クロロ-4-ニトロベンゼン	100-00-5	0.32	3.2	○	
	2-クロロニトロベンゼン	88-73-3	0.53	5.3	○	
	1,2-ジクロロ-3-ニトロベンゼン	3209-22-1	1.6	16	○	
	1,4-ジクロロ-2-ニトロベンゼン	89-61-2	1	10	○	
62	ジエタノールアミン	111-42-2	1	10		○
65	シクロヘキサン	110-82-7	0.9	9		○
66	N-(シクロヘキシルチオ)フタルイミド	17796-82-6	0.1	1		○
68	2,4-ジクロロトルエン	95-73-8	4.0×10^{-6}	4.0×10^{-5}		○
70	ジクロロベンゼン類					
	o-ジクロロベンゼン	95-50-1	1.4	14	○*	○
	m-ジクロロベンゼン	541-73-1	1.7	17	○*	○
	p-ジクロロベンゼン	106-46-7	1	10	○	
71	ジシクロヘキシルアミン	101-83-7	0.049	0.49	○	
72	ジスルホトン	298-04-4	3.7×10^{-4}	0.0037		○
75	ジノテフラン	165252-70-0	0.79	7.9		○
76	シハロホップブチル	122008-85-9	0.6	6		○
77	ジフェニルアミン	122-39-4	0.027	0.27	○	
78	ジフェニルエーテル	101-84-8	0.32	3.2		○
79	1,3-ジフェニルグアニジン	102-06-7	0.18	1.8		○
81	2,6-ジ-tert-ブチル-4-メチルフェノール	128-37-0	0.069	0.69	○	
82	ジベンジルエーテル	103-50-4	0.098	0.98	○	
84	2,4-ジ-tert-ペンチルフェノール	120-95-6	0.12	1.2		○
88	ジメチルスルフィド	624-92-0	0.089	0.89		○
89	N,N-ジメチルドデシルアミン	112-18-5	0.0026	0.026	○	
90	N,N-ジメチルドデシルアミン-N-オキシド	1643-20-5	0.004	0.04	○	
91	N,N-ジメチルプロパン-1,3-ジイルジアミン	109-55-7	3.64	36.4**		
96	ジラム	137-30-4	0.0097	0.097		○
102	チアクロプリド	111988-49-9	7.0×10^{-4}	0.007		○
104	チアメトキサム	153719-23-4	0.967	9.67		○
105	チオウレア(チオ尿素)	62-56-6	1.8	18	○	
106	チオシクラム	31895-21-3	0.0194	0.194		○

107	チオファネートメチル	23564-05-8	0.03	0.3		○
108	2,4-D(2,4-ジクロロフェノキシ酢酸)	94-75-7	0.014	0.14		○
109	デカン酸	334-48-5	0.075	0.75	○	
110	1-デシルアルコール	112-30-1	0.029	0.29	○	
111	テトラエチレンペンタミン	112-57-2	0.018	0.18		○
112	テトラヒドロメチル無水フタル酸	11070-44-3	9.4	94		○
113	3,7,11,15-テトラメチルヘキサデカ-1-エン-3-オール	505-32-8	0.8	8		○
114	テブコナゾール	107534-96-3	0.12	1.2		○
116	テレフタル酸ジメチル	120-61-6	1.7	17	○	
119	1-ドデカノール	112-53-8	0.09	0.9		○
120	2-[(3-ドデカンアミドプロパン-1-イル)(ジメチル)アンモニオ]アセタート	4292-10-8	0.30	3.0**		
121	ドデカン酸メチル	111-82-0	0.04	0.4		○
122	tert-ドデカンチオール	25103-58-6	0.011	0.11		○
123	ドデシル硫酸ナトリウム	151-21-3	0.59	5.9		○
127	トリクロサンおよび塩素付加体	3380-34-5	0.0034	0.034		○
130	トリフルラリン	1582-09-8	0.0084	0.084	○*	○
131	3,5,5-トリメチル-1-ヘキサノール	3452-97-9	1.5	15	○	
132	ナフタレン	91-20-3	2	20	○	
133	二アクリル酸ヘキサメチレン	13048-33-4	0.38	3.8		○
134	ニテンピラム	150824-47-8	40.6	406		○
140	1-ノナノール	143-08-8	0.31	3.1	○	
144	(1-ヒドロキシエタン-1,1-ジイル)ジスルホン酸	2809-21-4	6.75	67.5**		
145	ヒドロキノン	123-31-9	0.0015	0.015	○	
146	ビフェニル	92-52-4	0.0072	0.072	○	
150	ピリジン	110-86-1	0.01	0.1	○	
151	ピロカテコール	120-80-9	1.56	15.6		○
152	フェリムゾン	89269-64-7	0.62	6.2**		
154	フサライド	27355-22-2	1.07	10.7		○
159	tert-ブチル=ヒドロペルオキシド	75-91-2	0.14	1.4		○
160	2-sec-ブチルフェノール	89-72-5	0.32	3.2		○
161	4-tert-ブチルフェノール	98-54-4	0.32	3.2	○	
162	N-(tert-ブチル)-2-ベンゾチアゾールスルフェンアミド	95-31-8	0.095	0.95		○
163	2-ブテナール	4170-30-3	0.072	0.72		○
165	フルトラニル	66332-96-5	0.13	1.3		○
166	プレチラクロール (2-クロロ-N-(2,6-ジエチルフェニル)-N-(2-プロポキシエチル)アセトアミド)	51218-49-6	0.0032	0.032		○
168	4,4'-(プロパン-2,2-ジイル)ジフェノール (ビスフェノールA)	80-05-7	1.1	11	○	
173	ヘキサデシルトリメチルアンモニウム塩酸塩	112-02-7	0.001	0.01		○
186	ポリ(オキシエチレン)オクチルフェニルエーテル	9036-19-5 9002-93-1	0.21	2.1	○	
187	ポリ(オキシエチレン)ドデシルエーテル硫酸エステルナトリウム	9004-82-4	0.312	3.12**		
188	ポリ(オキシエチレン)ノニルフェニルエーテル(混合)	9016-45-9	0.0383	0.383	○*	○
189	ポリカーバメート	64440-88-6	0.091	0.91**		

192	マラチオン	121-75-5	1.0×10^{-5}	1.0×10^{-4}	○
193	マンゼブ	8018-01-7	0.0095	0.095	○
194	マンネブ	12427-38-2	0.01	0.1	○
196	メタクリル酸2,3-エポキシプロピル	106-91-2	1	10	○
197	メタクリル酸2-(ジメチルアミノ)エーテル	2867-47-2	4.8	48	○
200	N-メチルデジカン-1-イルアミド	7396-58-9	0.002	0.02**	
201	メチルナフタレン類				
	1-メチルナフタレン	90-12-0	0.22	2.2	○
	2-メチルナフタレン	91-57-6	0.23	2.3	○
208	リン酸エステル類				
	リン酸トリス(2-エチルヘキシル)	78-42-2	0.13	1.3	○
	リン酸トリス(2-クロロエチル)	115-96-8	10	100	○
	リン酸トリフェニル	115-86-6	0.3	3	○
	リン酸トリ-n-ブチル	126-73-8	2.1	21	○
	リン酸トリクレジル	1330-78-5	0.015	0.15	○
	リン酸トリス(2,3-ジブロモプロピル)	126-72-7	0.31	3.1	○
	リン酸トリス(ジメチルフェニル)	25155-23-1	0.17	1.7	○

PNEC導出reference : A 環境リスク初期評価、B環境省生態影響試験結果、C ECOTOX Knowledgebase

*環境リスク初期評価において、PNEC値が「～未満」とされており目標値設定ができない

**A, B, Cのいずれにも情報がないため、ECHA(European Chemicals Agency)データベースおよびeChemPortal(OECD)より追加的に情報を入手しPNEC値を導出した

2) 暫定指針値導出のための基礎情報追加

表4.1.1において、8物質（PNEC値に**が付されている物質）についてはUS-EPAのEcotox Knowledgebase上に該当データがなく、追加的に他のデータベースから毒性情報を検索し導出した。そのうち項目番号120（2-[（3-ドデカンアミドプロパン-1-イル）（ジメチル）アンモニオ]アセタート）についてもデータベース上の情報より導出できたものの、単一物質ではなくヤシ由来天然混合物での試験結果である可能性が高いことから、本研究課題において純物質を入手しオオミジンコの急性遊泳阻害試験を行った。

曝露48時間後の累積遊泳阻害率は、13.0 mg/L および25.0 mg/L 区において0%、50 mg/L区において5%、100 mg/L 区において50%、200 mg/L および400 mg/L 区において100%であった。この結果から48時間の50%遊泳阻害濃度（48-h EC₅₀）は95.1 mg/L（95%信頼区間：78.4～115 mg/L）となった。アセスメント係数1000を用いてPNEC値を計算すると95.1 μg/Lとなり、この値は表4.1.4に記載したPNEC値よりも大きいため、安全側の評価を優先する観点から表4.1.1の更新は行わなかった。混合物が単一物質よりも高い毒性を示した原因については今後の検討課題であるが、天然混合物中に共存する他の物質が原因であり、当該物質使用時も混合物として用いているならば、要調査項目として挙げるべき物質の再検討が必要になるかもしれない。

3) 疎水性が高い物質の底生甲殻類毒性評価

汚染藻類をカイミジンコ6日試験で評価した際の結果を図4.1.10に示す。上層水を藻類と平衡分配状態となるように汚染した場合（図中Combined）と、上層水を汚染しなかった場合（図中Dietary）の2系の実験結果を、横軸を藻類中濃度(food)とした場合と水中濃度(water)とした場合とで整理した。

4tBPおよびテブコナゾールでは、藻類中濃度で整理した場合2つの実験系を説明できる線が引けるのに対し、横軸を水中濃度とした場合には、2つの実験系で大きな乖離がある。対照的に4tOP（要監視項目）では、水中濃度では2つの実験系で同様の関係が見られるのに対し、藻類中濃度では明確な差異が認められる。この比較により、平衡分配条件下（combined）におけるカイミジンコの致死毒性は、4tBPおよびテブコナゾールでは餌由来で、4tOPでは溶存態由来で生じていることが分かった。一般に化

学物質のリスク評価において底質中濃度の指針値を求める際には、溶存態濃度での毒性値を求め、その水中濃度を平衡分配係数により底質中濃度に換算し、その濃度で同等の毒性があるものと仮定する。今回の4tBPおよびテブコナゾールの実験結果から、この従来の方法論では過小評価になる可能性があることが示された。このような物質の環境モニタリングにおける目標検出下限としては、粒子状物質への分配後の曝露を想定した設定が妥当であると言える（設定の試算については後述する）。

なお、BHTについては、明確な結論が導き出せなかった。BHTは有意（20%以上）な致死毒性が認められなかったため図中にはより高感度な指標とされる成長阻害率を示したが、最高濃度区でも毒性が低く、当該物質の溶解度を勘案すると環境中ではカイミジンコに影響が生じる濃度になるとは考えにくい。またここでは結果の詳細は割愛するが、本研究課題の初年度においては6日試験（致死）ではなく独自に開発した28日試験（繁殖）を用い、ジフェニルアミン（DPA、要調査項目番号77）の毒性を評価した。実測初期DPA濃度を用いると、6日間 LC_{50} は111.7 mg/g（95%信頼区間：61.8～161.8）、繁殖の無影響濃度NOECは2.25 mg/gとなったが、長期試験中のDPAのアニリンへの分解が認められており、毒性の主要因がDPAではなく分解産物のアニリンである可能性が高いため、以下の考察からは除外した。

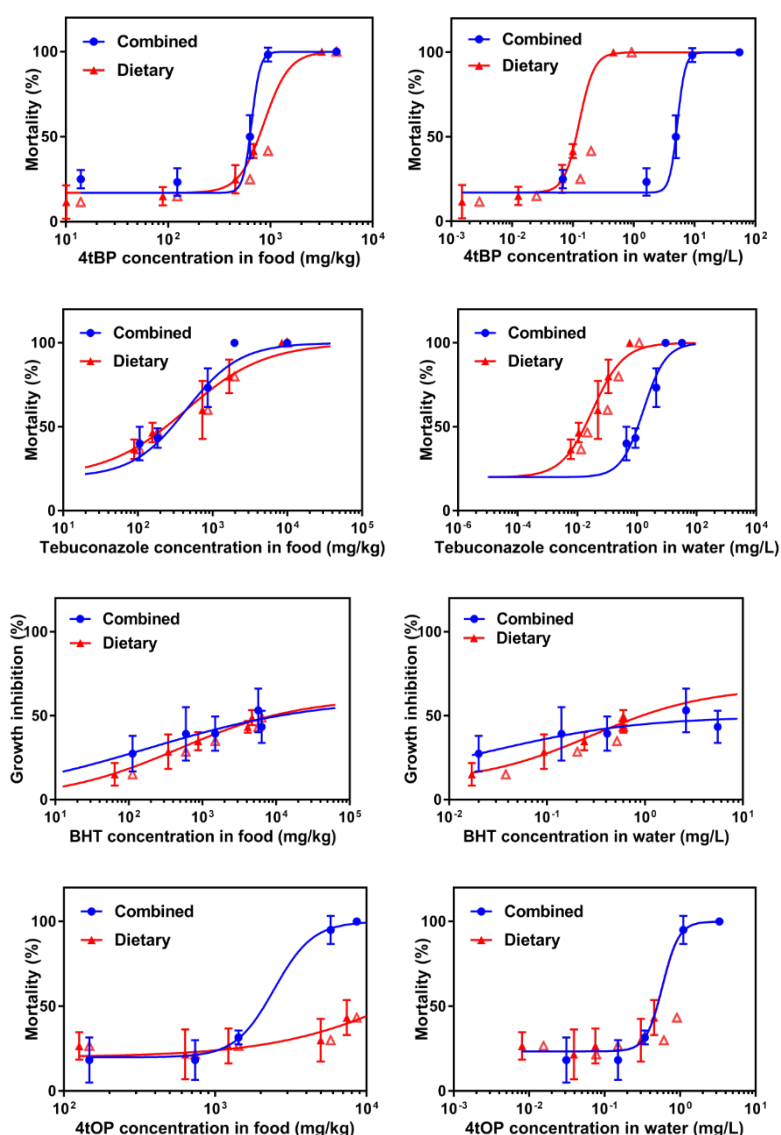


図4.1.10 疎水性物質の曝露経路による用量応答曲線の差異（6日間カイミジンコ底質毒性試験）

試験物質 4tBP:4-tert-ブチルフェノール, Tebuconazole:テブコナゾール, BHT:2,6-ジ-tert-ブチル-4-メチルフェノール, 4tOP:4-tert-オクチルフェノール

曝露方法 Dietary: 汚染藻類+清浄水、Combined: 汚染藻類+汚染水（平衡分配）
 毒性試験エンドポイント 6日間致死率（BHTのみ6日間成長阻害（致死毒性が低いため））

図4.1.10の結果において汚染懸濁物質（藻類）が毒性主要因と判定された4tBPおよびテブコナゾールについて、実験的に求めた懸濁態の毒性値を平衡分配係数により水中濃度に換算した場合に、目標検出下限値に変更が生じるかどうかを考察した。表4.1.2 に計算過程も含めて示した。まず図4.1.10の結果より餌中のLC50 ($LC50_{diet}$) を求め、アセスメント係数を1000として $PNEC_{diet}$ とし、本実験で用いた藻類細胞中の炭素含有量（実測）と、10%と設定した底泥中有機炭素量から底質中無影響濃度 $PNEC_{sed}$ に換算した。この $PNEC_{sed}$ と有機炭素-水分配係数 K_{oc} の文献値から平衡分配を仮定して水中無影響濃度（表4.1.2 の(D)）を導出したところ、4tBPは $3.0 \mu g/L$ 、テブコナゾールは $0.077-0.98 \mu g/L$ となった。

浮遊生物（藻類、甲殻類、魚類）の毒性値より求めた水中 $PNEC$ 値（表4.1.4）は、4tBPは $3.2 \mu g/L$ 、TEBは $1.2 \mu g/L$ であり、これと底生生物の毒性値より求めた表4.1.5の値を比較すると、4tBPは同等であったが、テブコナゾールの安全側の値（ $0.077 \mu g/L$ ）の場合には底生生物の毒性値より求めた値が約1/16となった。この計算では藻類中有機物と底泥中有機物を同等とみなして計算をしている点や K_{oc} の文献値に大きな幅がある点、また試験生物種が1種であるためアセスメント係数を1000としている点など、今後検討や改善を進めるべき課題があるものの、疎水性有機物のモニタリングに対する目標検出下限値設定の根拠として底生生物を用いた試験を活用することの必要性を示す一例となったと言える。今後、他の底生生物種での同様の試験手法の確立と、毒性試験データの蓄積が求められる。

表4.1.5 疎水性物質（4-tert-ブチルフェノール(4tBP)及びテブコナゾール）の底質中無影響濃度から導出した水中無影響濃度

	4tBP	tebuconazole	備考：導出方法
$LC50_{diet}$ (A)	770 mg/kg	210 mg/kg	図4.1.10より算出
$PNEC_{diet}$ (B) ($B=A/1000$)	770 $\mu g/kg$	210 $\mu g/kg$	アセスメント係数1000
$PNEC_{sed}$ (C) ($C=B \times (10/45.4)$)	170 $\mu g/kg$	46 $\mu g/kg$	藻類中有機炭素含量45.4%(mgC/mgDW)（実測） 底泥中有機炭素含量10%(mgC/mgDW)（設定値）
$PNEC_{water}$ (D) ($D=C/K_{oc}$)	3.0 $\mu g/L$	0.077-0.98 $\mu g/L$	水-底泥平衡分配を仮定し $PNEC_{sed}$ に相当する平衡水中濃度を計算（下段の K_{oc} 値を採用）
log K_{oc}	2.76	2.67-3.78	文献値

（３）荒川河川水等を対象とした要調査項目の実態調査

１）荒川を対象とした要調査項目の調査

荒川の5地点、および武蔵水路において、2019年4月から12月まで2カ月おきに計5回採水して分析した。試料の一般的な水質を図4.1.11に示す。S1地点からS4地点にかけて、流下に伴い各濃度は漸増していた。S3地点の武蔵水路は荒川とは多少異なる水質を持っており、DOC、 NO_3-N 濃度、電気伝導度ともに荒川の合流地点よりは多少高い濃度であった。S6地点はこの上流の水質とは大幅に異なる採水月もあった。これは、S6地点の上流において、荒川水循環センターの下水処理水の放流の影響が大きいものと考えられた。

要調査項目の濃度は表4.1.6に示す。5回の採水において、合計45項目（54化合物）が川の少なくとも1つの採水地点で検出された。これら検出された項目のうち、28項目については、これまでの環境省による要調査項目存在状況調査において過去に1度も調査が行われたことがない項目である。本研究により、これまでに調査されていなかった物質について、濃度を示すことができた。なお、本項における濃度の計算には、SPEによる回収率は考慮しなかった。これは、サンプルマトリックスによって回収率が異なる可能性があるためである。

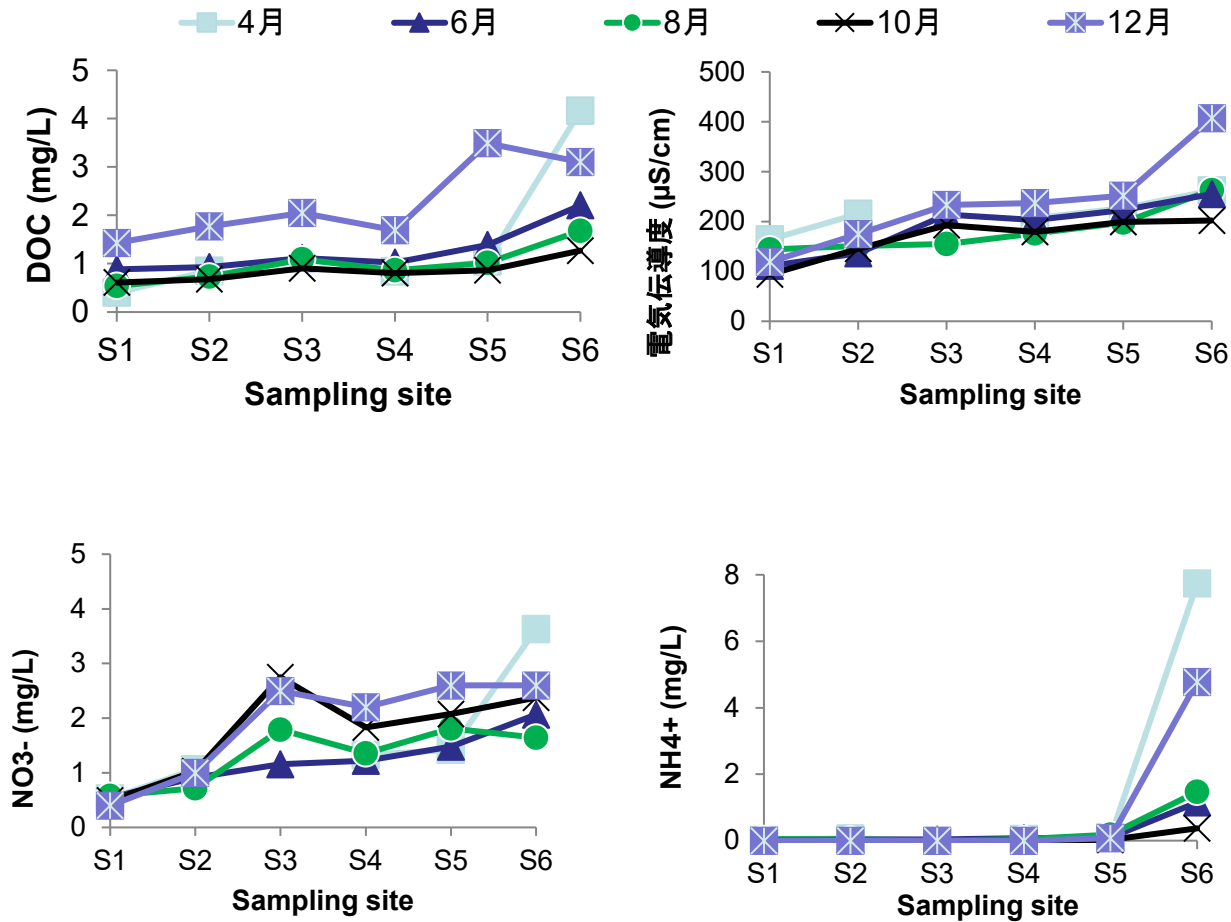


図4.1.11 荒川調査における基本的な水質

表4.1.6 荒川で調査における検出結果の一覧

ID	化合物名	測定された濃度 (Measured environment conc.)					未調査	HMEC/ 水道法目標値	HMEC/TDI	HMEC/PNEC
		4月	6月	8月	10月	12月				
		12456	123456	123456	123456	123456				
2	アクリルアミド	■						-	0.1-1	-
5	アセタミプリド									
10	2-アミノピリジン	■	■					●	-	-
22	イミダクロプリド	■						●	-	0.1-
24	2-エチルヘキサン酸	■	■	■	■	■	■	●	-	-
29	2- (2-エトキシエトキシ) エ	■						●	-	-
36	オリサストロビン			■	■	■		●	-	-
40	カルボフラン									
41	キザロホップエチル									
48	クロチアニジン	■	■	■	■	■	■	●	-	0.1-
50.01and/or 50.02and/or 50.03	o-クロロアニリン and/or m-クロロアニリン and/or p-クロロアニリン									
59	シアナジン	■	■	■	■	■	■		<0.1	0.1-1
61	ジウロン	■	■	■	■	■	■	●	<0.1	<0.1
62	ジェタノールアミン	■	■	■	■	■	■	●	-	<0.1
71	ジシクロヘキシルアミン	■	■	■	■	■	■		-	0.1-
72	ジスルホトン							●		
73	2,4-ジニトロフェノール	■	■	■	■	■	■		-	<0.1
75	ジノテフラン	■	■	■	■	■	■	●	-	<0.1

検出下限 検出されず 1 2 4 6 8 10 20 30 40 60 80 100 300 500 1000 1500 2000 (ng/L)

a-ブタクロール (ID 155) およびプレチラクロール (ID 166) の水道法目標値との比較

b-フタル酸ジ n -ブチル (ID 157.03) の水道法目標値との比較

c-フタル酸ジ n -ブチル (ID 157.03) のTDIとの比較

d-プレチラクロール (ID 166) のPNECとの比較

検出された化合物の時系列クラスターの結果を図4.1.12に示す。検出された化合物は4つのクラスターに分類された。クラスター1の化合物は、荒川の上流では検出されなかったか非常に低濃度で検出されたが、武蔵水路と荒川の中流および下流では一貫して高濃度であった。クラスター3の化合物は上流で低濃度であったものの、荒川の下流で急増した物質が含まれている。この結果は、荒川の上流から下流にかけてのDOC、 NH_4^+ 、 NO_3^- 濃度の変化と一致しているものである。一方、図4.1.12のクラスター2に示すように、2,4-ジニトロフェノール (ID 73)、2,4-ジクロロフェノキシ酢酸 (ID 108)、テブコナゾール (ID114)、ピリジン (ID 150)、フタル酸ジ n -ブチルおよび/またはフタル酸ジイソブチル (ID 157.03 および/または157.04) およびリン酸トリフェニル (ID 208.04) は、上流の地点S1で高濃度で存在していた物質群である。これらの化合物の起源については、さらなる分析が必要と考えられた。図4.1.12のクラスター4は、荒川の上流および下流では検出されなかったか、または低濃度で検出された物質で、武蔵水路または荒川の中流で高濃度を示した物質群である。特に武蔵水路で最高濃度を示したチアメトキサム (ID 104) は、利根川流域において多く使用され、武蔵水路の合流により荒川に流れ込んだ可能性がある。

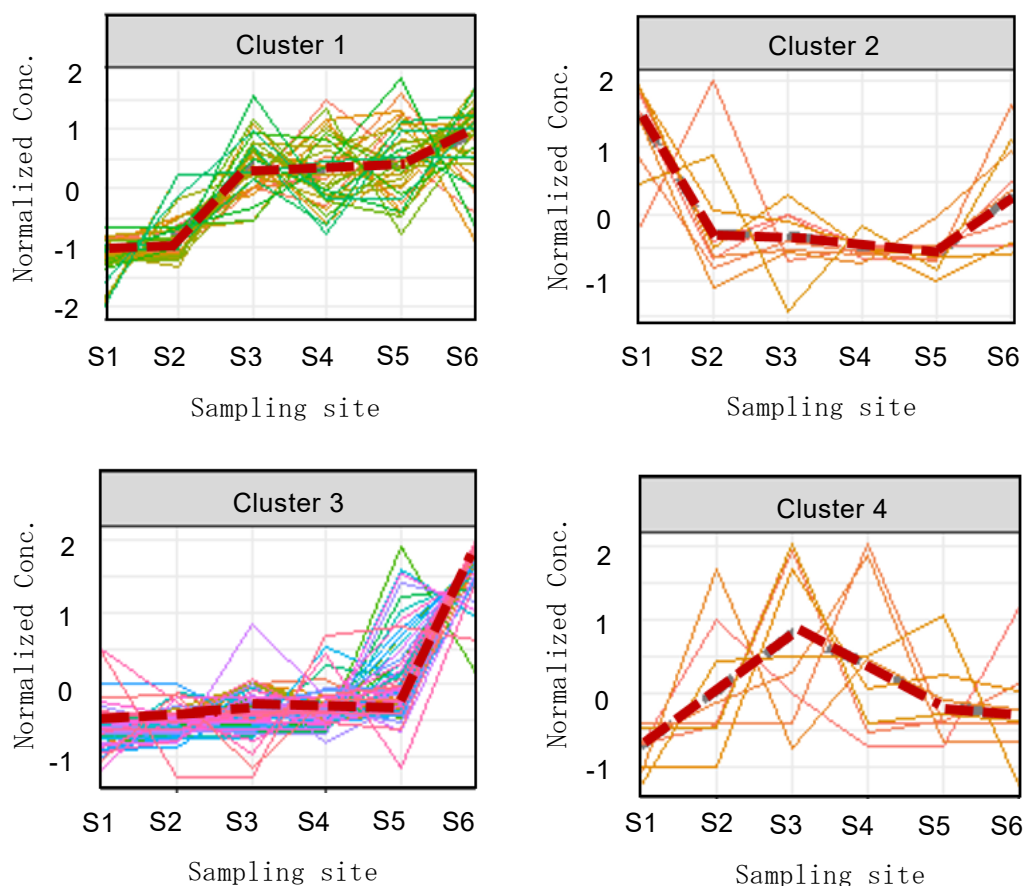


図4.1.12 荒川試料から検出された物質の濃度変化のクラスター解析

農薬の濃度の季節変動は、農業活動の季節変化によってもたらされる。6月に19の農薬物質が検出さ

れたが、これらの数は他の月に検出されたものよりも大幅に多かった。検出された除草剤は、4月または6月に年間最高濃度を示した。これらは、3月と4月の春の耕作と、雑草が急速に成長する5月と6月の雨季に必要な除草が原因と考えられる。6月には9種の除草剤が検出された。そのなかでは、ダイムロン(ID100)、ブタクロールおよび/またはプレチラクロール(ID 155および/または166)、プロモブチド(ID 171)およびモリネート(ID 206)は6月と8月もしくはいずれかの月に検出されており、これら5種類の除草剤は主に4月上旬に播種され、9月中旬に収穫される水稻に使用されたためと考えられる。残りの4種類の除草剤、シアナジン(ID 59)、ジウロン(ID 61)、2,4-ジクロロフェノキシ酢酸(ID 108)およびベンタゾン(ID 183)は、さまざまな種類の作物や園芸園芸用の観賞植物によく使用されていることから、その他の月においても検出されたものと考えられた。

測定環境濃度の最大値(Highest Measured Environmental Concentration, HMEC)が存在する物質について、その濃度を水道法の水質管理目標設定項目および要検討項目における目標値(水道法目標値)、TDI、およびPNEC値と比較した。比較したすべての化合物のHMECが水道法目標値の1/10($\text{HMEC} / \text{水道法} < 0.1$)よりも低かった。比較したすべての化合物は、それらのTDI値($\text{HMEC} / \text{TDI} < 1$)よりも低いHMECを示し、仮に荒川の河川水を直接飲用しても、これらの化合物により人に対して健康影響が出る可能性は極めて低いことが示された。ただし、アクリルアミド(ID 2)とシアナジン(ID 59)のHMECは、 $\text{TDI} / 10$ ($0.1 < \text{HMEC} / \text{TDI} < 1$)よりも高かったことから、監視を行う必要がある可能性が示された。

N、N-ジメチルドデシルアミン(ID 89)、デカン酸(ID 109)、ブタクロールおよび/またはプレチラクロール(ID 155および/または166)、マラチオン(ID 192)およびN-メチルジデカン-1-イルアミン(ID 200)については、HMECがPNEC値を超え($\text{HMEC} / \text{PNEC} > 1$)ていた。これらの化合物については、荒川の水生生物に対して悪影響を与える可能性があるため、より詳細な評価が必要と考えられた。さらに、イミダクロプリド(ID 22)、クロチアニジン(ID 48)、ジシクロヘキシルアミン(ID 71)、1,3-ジフェニルグアニジン(ID 79)、2,4-ジクロロフェノキシ酢酸(ID 108)、トリクロサン(ID 127)、ピリジン(ID 150)およびリン酸トリフェニル(ID 208.04)は、 $\text{PNEC} / 10$ ($0.1 < \text{HMEC} / \text{PNEC} < 1$)よりも高かった。

これらに加え、SPEにおける回収率を表4.1.5と同じと仮定した場合、以下の化合物についても検討の必要性がある可能性が出てくる。シアナジン(ID 59)の濃度は水道法目標値/10よりも高くなる可能性がある。アクリルアミド(ID 2)とシアナジンの濃度(ID 59)はTDIよりも高く、またピリジン(ID 150)はTDI/10よりも高くなる可能性がある。2,4-ジクロロフェノキシ酢酸(ID 108)の濃度はPNECよりも高く、ブタクロールおよび/またはプレチラクロール(ID 155および/または166)およびN-メチルジデカン-1-イルアミン(ID 200)もPNEC/10sよりも高い可能性がある。

以上の検討に基づき、荒川の河川水において、N、N-ジメチルドデシルアミン(ID 89)、2,4-ジクロロフェノキシ酢酸(ID 108)、デカン酸(ID 109)、ブタクロールおよび/またはプレチラクロール(ID 155および/または166)、マラチオン(ID 192)およびN-メチルジデカン-1-イルアミン(ID 200)については、水道法目標値、TDIまたはPNECよりも高い濃度を示した試料があったことから、より詳細な調査が必要になる候補としてあげることができる。さらに、アクリルアミド(ID 2)、イミダクロプリド(ID 22)、クロチアニジン(ID 48)、シアナジン(ID 59)、ジシクロヘキシルアミン(ID 71)、1,3-ジフェニルグアニジン(ID 79)、トリクロサン(ID 127)、ピリジン(ID 150)およびリン酸トリフェニル(ID 208.04)は、濃度が水道法目標値、TDIまたはPNECの10%を超える可能性があるため、次に検討を要する物質の候補として挙げることができる。これらの化合物については、対象化合物を標的として最適化した分析方法により定量を行っていくことが望まれる。一方、本調査により検出されなかった化合物や、水道法目標値、TDIまたはPNECのいずれにおいても10%未満の濃度で検出された化合物については、重要性の低い化合物として仕分けすることができる。

2) 環境省と連携した要調査項目の調査

本研究により開発された方法は、環境省による要調査項目存在状況調査を実施している9河川・湖沼の試料についても適用した。表4.1.7に示すように、合計43項目(54物質)が少なくとも1つの川または湖

で検出された。これらの検出された化合物のうち25物質は、これまで環境省によって実施された存在状況調査では調査されていない物質である。特に、これらの25の未調査物質のうち、14物質が5つ以上の川または湖で検出された（表4.1.7）ことから、今後より詳細な調査を行う必要がある物質と位置付けることができる。一方、30物質はいずれの試料からも検出されなかった。これらの物質については、調査における重要度が低いといえる（表4.1.7）。

測定環境濃度の最大値（HMEC）を、水道法の水質管理目標設定項目および要検討項目における目標値（水道法目標値）、TDI、およびPNEC値と比較した。荒川と同様に、比較したすべての化合物は、水道法目標値/10およびそれらのTDI値よりも低いHMECを示した。アクリルアミド（ID 2）、シアナジン（ID 59）、およびジウロン（ID 61）のHMECについては、TDI / 10を超過していた。2,4-ジクロロフェノキシ酢酸（ID 108）、デカン酸（ID 109）およびN-メチルジデカン-1-イルアミン（ID 200）のHMECはPNEC値を超過し、さらに、クロチアニジン（ID 48）およびトリクロサン（ID 127）のHMECはPNEC/10より高い値であった。SPEによる回収率が表4.1.5と同じであると仮定した場合、シアナジン（ID 59）の濃度は水道法目標値/10より高く、アクリルアミド（ID 2）の濃度は2,4-ジニトロフェノール（ID 73）の値はTDI/10よりも高い可能性がある。さらに、2,4-ジクロロフェノキシ酢酸（ID 108）およびトリクロサン（ID 127）の濃度もPNEC値を超える可能性がある。

以上の結果より、2,4-ジクロロフェノキシ酢酸（ID 108）、デカン酸（ID 109）、N-メチルジデカン-1-イルアミン（ID 200）については、最大の測定環境濃度がPNEC値を超えており、かつ6つ以上の川または湖で検出されたことから、水環境中における濃度のより詳細な評価が必要であると考えられる。つづいて、アクリルアミド（ID 2）、クロチアニジン（ID 48）、シアナジン（ID 59）、ジウロン（ID 61）、トリクロサン（ID 127）については、水道法目標値、TDIまたはPNECのいずれかの1/10を超過していたことから、次に重要な物質の候補と上げることができる。一方で、検出されなかった化合物や、水道法目標値、TDIまたはPNECの10%未満の濃度で検出された化合物については、重要度は高くないといえることができる。

表4.1.7 環境省と連携した要調査項目の調査結果

ID	化合物名	試料中濃度 (Measured environment conc.)									未調査 田舎川 でも 検出 あり	HMEC/ 水道法目標値	HMEC/TDI	HMEC/PNEC
		福島	群馬	埼玉	三重	滋賀	大阪	奈良	熊本	鹿児島				
2	アクリルアミド										●		0.1-1	
5	アセタミプリド													
10	2-アミノピリジン													
22	イミダクロプリド													
24	2-エチルヘキサン酸										●			
29	2- (2-エトキシエトキシ) エタノール													
36	オリサストロビン										●			
40	カルボフラン													
41	キザロホップエチル													
48	クロチアニジン										●		0.1-1	
50.01a nd/or 50.02a nd/or 50.03	o-クロロアニリン and/or m-クロロアニリン and/or p-クロロアニリン													
59	シアナジン										●	<0.1	0.1-1	
61	ジウロン										●	<0.1	0.1-1	
62	ジェタノールアミン										●		<0.1	
71	ジシクロヘキシルアミン													
72	ジスルホトン													
73	2,4-ジニトロフェノール										●			

75	ジノテフラン										●			<0.1
77	ジフェニルアミン												<0.1	<0.1
79	1,3-ジフェニルグアニジン													
85	N,N-ジメチルアセトアミド										●			
89	N,N-ジメチルドデシルアミン										●		<0.1	
93	シメトリン													
100	ダイムロン										●	<0.1		
102	チアクロブリド													
103	チアジニル													
104	チアメトキサム										●		<0.1	
106	チオシクラム													
107	チオファネートメチル													
108	2,4-ジクロロフェノキシ酢酸										●	<0.1	<0.1	>1
109	デカン酸										●			>1
112	テトラヒドロメチル無水フタル酸													
114	テブコナゾール										●		<0.1	
115	テフリルトリオン											<0.1		
117	テレフタル酸										●			
124	トリエタノールアミン													
125	トリエチレングリコールジメチルエーテル										●			
126	1,3,5-トリグリシジルイソシアヌラート													
127	トリクロサン										●		0.1-1	
129	トリシクラゾール										●	<0.1		
133	二アクリル酸ヘキサメチレン												<0.1	
134	ニテンピラム										●		<0.1	
136.01	N-ニトロソジメチルアミン										●			
136.02	N-ニトロソジエチルアミン										●			
136.03	N-ニトロソジn-プロピルアミン													
136.04	N-ニトロソジブチルアミン										●			
136.05	N-ニトロソジフェニルアミン										●			
136.06	N-ニトロソピロリジン													
148	ピラクロニル													
149	ピラゾレート													
150	ビリジン										●	<0.1	<0.1	
152	フェリムゾン													
155 and/or 166	ブタクロールand/or ブレチラクロール										●	<0.1 ^a	<0.1 ^d	
157.01	フタル酸ジメチル										●			
157.02	フタル酸ジアリル										●			
157.03 and/or 157.04	フタル酸ジn-ブチル and/or フタル酸ジイソブチル										●	<0.1 ^b	<0.1 ^c	
157.05	フタル酸ブチルベンジル										●	<0.1	<0.1	
157.06	フタル酸ジシクロヘキシル													
158	2-ブタノンオキシム										●			
164	ブプロフェジン													
165	フルトラニル												<0.1	
171	プロモプチド										●	<0.1		
174	ヘキサブロモシクロドデカン													
177	ベルフルオロオクタタン酸													
180	ベンゾビスクロン													
183	ベンタゾン										●	<0.1		
184	ベンディメタリン													
192	マラチオン										●			
196	メタクリル酸 2,3-エポキシプロピル													
200	N-メチルジデカン-1-イルアミン										●		>1	
202	N-メチル-2-ピロリドン										●			
203	メトミノストロビン										●	<0.1		
204	メラミン										●			
205	モノエタノールアミン													
206	モリネート										●	<0.1	<0.1	
208.01	リン酸トリス (2-エチルヘキシル)													

する化合物であると推定された。硫黄含有化合物は下水処理水など生活排水およびその処理水が流入した河川水において多く見られる傾向がある。本研究においても、同様の傾向が認められた。さらに、ピーク強度が十分にあるものについては MS/MS 分析を行っており、フラグメントイオンのピーク情報も加えて、Compound Discover により、データベース m/z cloud および Chemspider と照合することにより、物質の推定を行った。解析したコンポーネントのうち、約半数について、物質名の候補を得ることができた。しかしながら、検出されたイオンの一部についてのみ照合結果が得られたものもあり、イオン全体の構造を推定できなかったものも含まれている([similar to:で始まる物質]。

表4.1.8 荒川河川水のノンターゲット分析において人為起源物質として高頻度に検出されたもの

分子量	分子式	化合物名	S2	S4	S5	S6
186.0344	C8 H10 O3 S	Xylenesulfonate	○	○		
200.0502			○			○
202.0459	C12 H10 O S	DA9185000	○			○
218.1515	C11 H22 O4	[Similar to: Dibutyl phthalate; Δ Mass: 60.0004 Da]	○	○		
242.0975	C15 H14 O3	Equol	○			
250.1567	C15 H22 O3	Gemfibrozil				○
253.9901	C12 H8 Cl2 O2	[Similar to: Triclosan; Δ Mass: 33.9610 Da]	○			
258.0562	C11 H14 O5 S	[Similar to: 2-Chloro-6-fluoro-N-{4-methyl-3-[(methylsulfonyl)amino]phenyl}benzamide; Δ Mass: 97.9835 Da]	○	○		
258.2195	C15 H30 O3					
262.0665	C14 H14 O3 S		○			
266.1002	C10 H18 O8				○	
266.1883	C16 H26 O3	Juvenile hormone III		○		
270.1258	C17 H18 O3	[Similar to: 4-Cumylphenol; Δ Mass: -58.0057 Da]		○		
272.0720	C15 H13 Cl N2 O	1-(4-Chlorobenzyl)-4,6-dimethyl-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carbonitrile	○			○
274.0513	C11 H14 O6 S		○	○	○	○
276.0822	C15 H16 O3 S	[Similar to: N-(2,4-Difluorophenyl)-N'-[3-(1H-imidazol-1-yl)propyl]thiourea; Δ Mass: 20.0086 Da]	○			○
278.1882	C17 H26 O3	Paradol				○
284.1449	C15 H24 O3 S		○			
286.0877	C14 H14 N4 O S	3-(2,1,3-Benzothiadiazol-4-ylamino)-2-(2,2-dimethylpropanoyl)acrylonitrile	○			
288.0306	C11 H12 O7 S	[Similar to: Nafcillin; Δ Mass: 126.0944 Da]		○		○

290.0978	C16 H18 O3 S		○		
298.0882					○
298.1240	C15 H22 O4 S		○	○	
300.0670	C13 H16 O6 S				○
300.1033	C14 H20 O5 S	8-(4-Sulfophenyl) octanoic acid	○		○
302.0825	C16 H14 O6	Hematoxylin			○
304.1135	C17 H20 O3 S	[Similar to: 2-{2-[4-(3-Cyano-2-pyridinyl)piperazino]-2-oxoethoxy}acetic acid; Δ Mass: 0.0037 Da]	○	○	
310.1089	C12 H22 O7 S		○		
316.0620	C13 H17 Cl N2 O3 S	N-[2-Chloro-4-(piperidinosulfonyl)phenyl]acetamide		○	
320.0720					○
320.1624	C18 H24 O5	3653579	○		○
324.1760	C18 H28 O3 S	Piperonyl sulfoxide	○		
325.0445	C14 H15 N O4 S2	[Similar to: Flumetsulam; Δ Mass: 0.0000 Da]	○		
326.1553	C17 H26 O4 S				○
327.8881	C6 H10 Cl2 O3 S4			○	○
328.2252	C18 H32 O5	2,3-dinor-8-epi-prostaglandin F1alpha		○	○
330.0777	C17 H14 O7	Aflatoxin G2			○
330.0985	C11 H22 O9 S	[Similar to: (1 ξ)-1,5-Anhydro-1-[(2R,3R)-3,5,7-trihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-4-oxo-3,4-dihydro-2H-chromen-6-yl]-D-glucitol; Δ Mass: 120.0177 Da]			○
330.1143	C18 H19 Cl N2 O2	DG4976795			○
340.1711	C18 H28 O4 S		○		
342.1500				○	
342.1504	C17 H26 O5 S		○		
342.2044	C18 H30 O6			○	○
344.1626	C20 H24 O5	[Similar to: Fenoprofen; Δ Mass: -102.0683 Da]			○
344.1659	C17 H28 O5 S	[Similar to: Bisphenol A; Δ Mass: -116.0509 Da]	○	○	

346.2722	C19 H38 O5				○
354.1527	C14 H26 O10	Isopropyl 6-O-[(2R,3R,4R)-3,4-dihydroxy-4-(hydroxymethyl)tetrahydro-2-furanyl]-D-glucopyranoside		○	
354.1870	C19 H30 O4 S		○	○	
356.2024	C19 H32 O4 S		○		
380.1659	C23 H24 O5	7-[(2E)-3,7-Dimethyl-2,6-octadien-1-yl]oxy)-1,3-dihydroxy-9H-xanthen-9-one			○
396.0149	C22 H14 Cl2 O S	[Similar to: (1R,2R,3R,3aS,5aS,6R,7R,10R,10aR,10cR)-1,2,6,7-Tetrahydroxy-3,7,10a,10c-tetramethyl-4-oxo-2,3,3a,4,5a,6,6a,7,10,10a,10b,10c-dodecahydro-1H-phenanthro[10,1-bc]furan-10-yl β-D-glucopyranoside; Δ Mass: 134.2214 Da]			○
411.0504	C10 H21 N O12 S2		○		
418.2359	C23 H32 O4	(3β,9ξ)-3,14-Dihydroxycarda-5,20(22)-dienolide	○		
424.1771	C18 H32 O9 S			○	
435.2270	C24 H29 N5 O3	Valsartan	○		○
442.0203	C16 H24 Br Cl O5 S				○
442.1298	C20 H26 O9 S			○	

同様の検討を、荒川支流の河川である入間川でも実施した。特に入間川では、人為起源物質として抽出された物質の中で、下流に存在する浄水場において除去しきれず、浄水にも残留している物質を抽出した。そのなかで表 4.1.9 に示す物質は MS/MS 分析によるフラグメントパターンがデータベース上の物質と少なくとも一部一致した物質である。

表 4.1.9 入間川河川水に存在し、下流の浄水場でも残存した物質のうち、MS/MS フラグメントがデータベースと少なくとも一部一致した物質

検出分子量	推定分子式	質量誤差(ppm)	物質の候補	一致度*
266.1537	C ₁₂ H ₂₆ O ₄ S	0.41	Dodecyl sulfate	2/4
272.0686	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	0.40	Naringenin	1/9
300.1023	C ₁₄ H ₂₀ O ₅ S	2.70	8-(4-Sulfophenyl) octanoic acid	4/12
326.1910	C ₁₈ H ₃₀ O ₃ S	1.87	4-Dodecylbenzenesulfonic acid	2/4
328.1337	C ₁₆ H ₂₄ O ₅ S	2.19	10-(4-Sulfophenyl) decanoic acid	3/5

これら化合物名の候補が得られた候補については、フラグメント解析を詳細に進め物質推定の精度

を高めるとともに、候補物質の標準品を入手することで同定することができる。その一例として、採水月すべてにおいて検出されたわけではないため表4.1.8には掲載されていないが、荒川の採水試料中9/20サンプル、および6/20サンプルで検出された[M-H]⁺=211.1128および286.1449については、MS/MSスペクトルよりCumylphenol, Etodolacと推定され、標準物質を用いて分析した結果、これらの物質である可能性が極めて高いことが確認できた。

このように、未知スクリーニング分析によって検出頻度の高い物質を特定し、要調査項目候補物質として調査対象に加えていくことができる。本研究において、このように要調査項目物質の候補を、環境中からの検出状況をもとに抽出していく手法について提示することができた。

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

研究開発目的(1)における分析法の開発を達成することにより、極めて幅広い物性を持っている84物質について、一斉分析法を確立した点が新規性が高い。100種類を超える物質の同時分析の開発例は近年珍しくないが、ほとんどにおいて物性が類似した物質の数が多い。精密質量分析計を用いた多物質一斉分析法の新たな適用方法を示した研究と言える。

研究開発目的(2)のうち、溶存態の生態毒性として、米国の毒性データベースに掲載がなかった要調査項目番号120(2-[3-(ドデカンアミドプロパン-1-イル)(ジメチル)アンモニオ]アセタート)について甲殻類急性毒性試験を実施した。混合物としての毒性試験結果は米国のデータベースに掲載されていない文献に情報があるが、純物質としての結果は現時点では見つけられておらず、科学的意義がある。

さらに研究開発目的(2)のうち粒子に分配しやすい物質について、水生生物のうち特に底生生物に対する懸濁態としての曝露を検討すべきである。しかし、従来の底質毒性試験手法は、曝露経路が複雑であり懸濁態の曝露を判別できない。本研究では淡水産底生カイミジンコを用い、溶存態・懸濁態の異なる曝露経路での毒性を評価する手法について、人工底質組成を含めて検討し開発し、その活用事例を示した。

また、本研究開発目的の総合的な目的として掲げた「水質汚濁に係る環境基準の要調査項目について、入手可能な毒性情報をもとに、水環境リスクの有無を判別するために必要な分析感度を整理しつつ、スクリーニング分析としての一斉分析手法を開発すること」についても、生態影響等毒性情報が不足し、かつ環境中濃度の情報も不足している要調査項目の物質について、両方の情報を効率的に得る手法を示すことができた。これは、レギュラトリーサイエンスの観点から極めて意義が大きい。本研究により開発した手法により、今後より厳密かつ詳細に調査を進めて行くべき物質と、調査の優先度が高くない物質に優先順位付けをすることができる。さらに、未知スクリーニング分析により、測定対象を定めずに分析を行い、その検出頻度や検出状況をもとに、より詳細に調査をおこなう物質を抽出する手法を示すことができた。

(2) 環境政策への貢献

<行政が既に活用した成果>

特に記載すべき事項はない。

<行政が活用することが見込まれる成果>

要調査項目のスクリーニング分析法を確立したことにより、環境省による存在状況調査に活用できる。本研究で開発された手法を用いることで、要調査項目のうち84物質について、一斉スクリーニング分析を行うことが可能であり、特にこれまで一度も存在状況調査がなされていない40物質について、環境中における存在状況の調査を実施できる。

本研究課題により、要調査項目のうち水生生物保全のための項目について、各種のデータベース値および新規に毒性試験を実施した結果によりPNEC値を導出し、それをもとに要調査項目の環境中

での検出における目標とすべき検出下限を設定した。

要調査項目の中には、粒子に分配しやすい物質（logKowが高い物質）が多く含まれており、水生生物のうち特に底生生物に対しては、溶存態ではなく懸濁態としての曝露を検討すべきである。懸濁態としての曝露手法について手法の確立はなされておらず、本研究ではISOで標準化された淡水産底生カイミジンコを用いた懸濁態由来の毒性を把握する手法を開発した。さらに、この手法により得られた毒性値から、粒子に分配しやすい物質の水中からの目標検出下限導出例を示し、今後のデータ蓄積の方向性を明らかにした。

将来、要調査項目を環境基準あるいは要監視項目に格上げするかどうかの議論をするためには、基準値や指針値の1/10値を超えているかどうかという実測データが必要不可欠となる。本研究課題で既存の毒性試験データから暫定的な指針値を導出したことで、新規環境測定技術の開発目標が設定でき、環境基準体系に則った一貫したモニタリングデータの蓄積を可能にしたと考えている。

また、研究開発目的（3）に掲げた実態調査を実施した。埼玉県荒川における通年の採水と分析、また環境省水環境課との連携により要調査項目存在状況調査の調査地点9か所における採水と分析を行った結果から、要調査項目の検出状況のデータを示した。得られたデータを上述の目標値やほかの毒性情報と比較することにより、今後より詳細な調査を行う必要がある項目と、検出状況や目標値との比較から優先順位が低い項目について整理した。今後の調査項目の選定にあたり、優先度を検討するために重要な情報となる。

さらに、本研究開発目的の総合的な目的の1つとして掲げていた、未知スクリーニング分析による要調査項目候補物質の選定手法について、新たな環境基準体制への提言として示すことができた。将来における環境監視の在り方についての情報を行政に提供し、今後の研究開発が極めて意義深いことを示した。

以上示してきたように、研究開発目的に掲げたものを、本研究において達成することができた。

6. 国際共同研究等の状況

（1）協力案件名「未知スクリーニング分析における分析方法の最適化と未知物質の構造推定」

カウンターパート氏名・所属・国名：Juliane Hollender・スイス連邦水科学技術研究所（EAWAG）環境化学部門長・スイス

研究代表者の栗栖が平成29年度に同研究所の環境微生物学部門に滞在した際に、同研究所環境化学部門のHollender博士と数回にわたり打ち合わせを行った。Hollender博士らの研究グループで採用している固相抽出法について、未公表データ等の開示を受けつつ、未知スクリーニング分析の前処理としての有効性について議論した。Hollender博士らの手法について、論文等に記載されていない詳細な実験方法等のプロトコルの提供を受けるとともに、操作手順の解説を受けて、平成30年度において実際に検討し、上記研究グループでは評価していない炭素ベースでの回収率を評価した。

（2）フィリピン大学ロスバニョス校のJanice B. Sevilla-Nastor講師が研究代表を務めるフィリピンでの水生生物保全に係る有機フッ素化合物の環境基準設定に関する基礎的研究のForeign Collaboratorとして中島典之（東京大学）が参画。2020年4月より2年間、フィリピン大学の競争的資金（総額250万ペソ＝約530万円）。先方より研究メンバーが東京大学に来訪し、本研究課題において確立した毒性試験手法を習得、実施予定。

7. 研究成果の発表状況

（1）誌上発表

<論文（査読あり）>

- 1) Y. GU, T. TOBINO and F. NAKAJIMA: Sci. Total Environ., Vol. 702, article 134993, (2020), Effect of calcite saturation state on the growth and mortality of *Heterocypris incongruens* and a proposal for an reference artificial sediment in the sediment toxicity test ISO14371.
- 2) 石井淑大、栗栖太、畠山準、春日郁朗、古米弘明：環境科学会誌、（受理済）（2020），入間川へ流入する有機汚濁物質と浄水処理後の残留状況のノンターゲットスクリーニング分析

<その他誌上発表（査読なし）>

特に記載すべき事項はない。

（2）口頭発表（学会等）

- 1) PHUNGSAI, P., KURISU, F., KASUGA, I. and FURUMAI, H. : Water and Environmental Technology Conference, Sapporo, Japan, 2017
Application of Sequential Solid Phase Extraction to Dissolved Organic Matter for Unknown Screening Analysis with an Orbitrap Mass Spectrometer
- 2) 澤野井隆之、中島典之、飛野智宏：第52回日本水環境学会年会（2018）
「ジフェニルアミン汚染餌が底生カイミジンコの繁殖に及ぼす影響」
- 3) 石井淑大、栗栖太、春日郁朗、古米弘明:第53回日本水環境学会年会講演集(2019)
「精密質量分析計を用いた一斉スクリーニング分析による河川水中要調査項目の存在状況評価」
- 4) 畠山準、松原直也、栗栖太、春日郁朗、古米弘明:第53回日本水環境学会年会講演集(2019)
「荒川支流入間川における未規制有機汚染物質の精密質量計を用いたノンターゲット分析」
- 5) XIE, L., KURISU, F., KASUGA, I. and FURUMAI, H. :第53回日本水環境学会年会講演集(2019)
“Development of A Simultaneous Quantification Method with HPLC Followed by High Resolution Mass Spectrometry for “Youchousa-koumoku” to be Surveyed by The Ministry of The Environment, Japan”
- 6) XIE, L., KURISU, F., KASUGA, I. and FURUMAI, H. : The 7th IWA Specialist Conference on Natural Organic Matter in Water, Tokyo, Japan. (2019)
“Development of a simultaneous screening analysis of organic micropollutants with various chemical properties in environmental water by high performance liquid chromatograph coupled with Orbitrap mass spectrometer”
- 7) ISHII, Y., HATAKEYAMA, J., KURISU, F., KASUGA, I. and FURUMAI, H. (2019) : The 7th IWA Specialist Conference on Natural Organic Matter in Water, Tokyo, Japan. (2019)
“Tracking the Fate of Dissolved Organic Matter from River Source Water to Finished Drinking Water”
- 8) XIE, L., KURISU, F., KASUGA, I. and FURUMAI, H. : Water and Environmental Technology Conference 2019, Osaka, Japan, 2019
“Simultaneous Determination of Organic Micropollutants with Various Chemical Properties in Environmental Water based on HPLC-High Resolution Mass Spectrometry”
- 9) Y. GU, F. NAKAJIMA and T. TOBINO : 第53回日本水環境学会年会（2019）
“Comparison of dietborne and waterborne toxicities of 4-tert-butylphenol towards benthic crustaceans *Heterocypris incongruens*.”
- 10) Y. GU, F. NAKAJIMA and T. TOBINO : Water and Environment Technology Conference 2019（2019）
“Effect of calcite saturation on the endpoints of sediment toxicity test using *Heterocypris incongruens*.”
- 11) Y. GU, F. NAKAJIMA and T. TOBINO : 8th IWA-ASPIRE Conference and Exhibition 2019（2019）
“Evaluation of dietborne toxicity of hydrophobic organic chemicals to a benthic crustacean, *Heterocypris incongruens*.”
- 12) XIE, L., KURISU, F., KASUGA, I. and FURUMAI, H.: 第54回日本水環境学会年会講演集(2020)

“A newly developed method with HPLC-Orbitrap MS for simultaneous analysis of items to be surveyed

(Youchousa-koumoku) by the Ministry of the Environment, Japan and its application to Ararakawa River”

13) 石井淑大、栗栖太、春日郁朗、古米弘明：第54回日本水環境学会年会講演集(2020)

「非意図的な処理水再利用のある入間川における溶存有機物の精密質量分析計を用いた追跡」

(3) 知的財産権

特に記載すべき事項はない。

(4) 「国民との科学・技術対話」の実施

1) 地域連携公開セミナー「LC-MSを用いた未知スクリーニング分析の現状について」（主催：富山県立大学、平成29年6月23日、富山県立大学L-205教室、観客約50名）にて講演

2) 「東大水フォーラム」公開シンポジウム(主催：東京大学大学院工学系研究科社会連携・産学協創推進室、令和元年2月14日、東京大学山上会館、参加者約100名)にて成果紹介

(5) マスコミ等への公表・報道等

特に記載すべき事項はない。

(6) その他

特に記載すべき事項はない。

8. 引用文献

- 1) Ratpukdi, T., Rice, J.A., Chilom, G., Bezbaruah, A., Khan, E., 2009. Rapid fractionation of natural organic matter in water using a novel solid-phase extraction technique. *Water Environ Res.* 81, 2299-308.
- 2) Phungsai, P., Kurisu, F., Kasuga, I. and Furumai, H., 2016. Molecular characterization of low molecular weight dissolved organic matter in water reclamation processes using Orbitrap mass spectrometry. *WATER RES.* 100, 526-536.
- 3) Chau, H.T.C., Kadokami, K., Ifuku, T., Yoshida, Y., 2017. Development of a comprehensive screening method for more than 300 organic chemicals in water samples using a combination of solid-phase extraction and liquid chromatography-time-of-flight-mass spectrometry. *Environ Sci Pollut Res.* 24, 26396-26409.
- 4) Schollée, J.E., Schymanski, E.L., Avak, S.E., Loos, M., Hollender, J., 2015. Prioritizing Unknown Transformation Products from Biologically-Treated Wastewater Using High-Resolution Mass Spectrometry, Multivariate Statistics, and Metabolic Logic. *Anal Chem.* 87, 12121-12129.
- 5) Pereira, A.S. and J.W. Martin, 2014. On-Line Solid Phase Extraction-HPLC-Orbitrap Mass Spectrometry for Screening and Quantifying Targeted and Non-Targeted Analytes in Oil Sands Process-Affected Water and Natural Waters in the Athabasca Oil Sands Region. Oil Sands Research and Information Network, University of Alberta, School of Energy and the Environment, Edmonton, Alberta. OSRIN Report No. TR-45. 33.
- 6) Eddhif, B., Allavena, A., Liu, S., Ribette, T., Mrad, N.A., Chiavassa, T., Sergeant d'Hendecourt, L.L., Sternberg, R., Danger, G., Geffroy-Rodier, C., Poinot, P., 2018. Development of liquid chromatography high resolution mass spectrometry strategies for the screening of complex organic matter: Application to astrophysical simulated materials. *Talanta.* 179, 238-245.
- 7) Fu, L-L., Ding, H., Han, L-F., Jia, L., Yang, W-Z., Zhang, C-X., Hu, Y., Zuo, T-T., Gao, X-M., Gao, D-A., 2019. Simultaneously targeted and untargeted multicomponent characterization of Erzhi Pill by offline two-dimensional liquid chromatography/quadrupole-Orbitrap mass spectrometry. *J Chromatogr A.* 1584, 87-96.
- 8) Schemeth, D., Nielsen, N.J., Andersson, J.T., Christensen, J.H., 2019. A tiered analytical approach for target, non-target and suspect screening analysis of polar transformation products of polycyclic aromatic compounds. *Chemosphere.* 235, 175-184.

- 9) Kameya, T., Saito, M., Kondo, T., Toriumi, W., Fujie, K., Matsushita, T., Takanashi, H., 2012. Detection of fenitrothion and its degradation product 3-methyl-4-nitrophenol in water environment. J. Water Environ. Technol. 10, 427-436.

III. 英文Abstract

Development of Simultaneous Analysis Methods for “Investigated Items” and Selection Procedures for Their Candidates for Water Environment Conservation

Principal Investigator: Futoshi KURISU

Institution: The University of Tokyo
7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8656, JAPAN
Tel: +81-3-5841-7445 / Fax: +81-3-5841-8528
E-mail: kurisu@env.t.u-tokyo.ac.jp

[Abstract]

Key Words: Investigated Items, Simultaneous analysis, Target screening analysis, Ecological risk, Sediment toxicity

There are 208 substances on the list of ‘Investigated Items’ defined by the Ministry of the Environment (MoE), Japan, which needs to be surveyed in the environment. However, only at most 20 substances have been surveyed each year. Moreover, there is no standard value or guideline value for their concentration, as toxicity information is not sufficiently obtained. Further, there is an increasing number of unregulated compounds that are used and released into the environment. Therefore, in this research, we developed a screening analysis method for rapid evaluation by using a high resolution mass spectrometer. We derived the predicted no-effect concentration (PNEC) to evaluate ecological effects and developed a method to assess the impact on benthic organisms. Furthermore, we tried to propose an analytical scheme that can monitor unregulated substances by unknown screening analysis. By examining the solid-phase extraction methods for sample pretreatment and the separation conditions in HPLC, we were able to develop a method that allows simultaneous screening analysis of 84 compounds using a high resolution mass spectrometer. Of these, 40 compounds have not yet been surveyed by the MoE, indicating the usefulness of the new method. PNEC values of 115 substances were obtained and compiled from toxicity database. Additionally, we developed a method to judge whether the toxic effects on benthic organisms were derived from the concentration in water or the diet, and evaluated four compounds by the method. We found that the PNEC value for tebuconazole in water could be lower when the toxicity through their feed is considered than that directly in water. Using the developed screening method, we analyzed Arakawa river water samples and detected 54 compounds in total, of which 28 compounds have never been surveyed. We were able to provide new information on their concentrations in the environment. Of the detected substances, 16 were detected at concentrations higher than PNEC/10, and 7 of them were detected at concentrations even higher than the PNEC values. This study provided priority list of the compounds which require further detailed investigations in the future. In addition, we performed unknown screening analysis on the Arakawa river water samples, and successfully extracted the frequently detected compounds, which are the list of compounds of priority for further investigation.