

[技術資料]

LC/TOF MS を用いたプロファイリング分析の河川水中 PPCPs への適用

環境衛生課 草場潤一 大窪かおり 北島淳二
 医薬品課 八ヶ代一郎

1 目的

これまで我々は、水質事故等に対応することを目的として、農薬を対象とした LC/TOF MS による河川水のプロファイリング分析について検討してきた。

近年では農薬だけでなく、医薬品類及び日常生活品由来の微量化学物質(PPCPs)が水生生物へ及ぼす影響も問題視されている。今後、本県でも PPCPs による環境への影響が危惧されるため、その傾向を把握する手法として医薬品データベースを用いた多変量解析の適用を検討している。環境試料の分析では、しばしば夾雑物によるピークデータの妨害等が生じるため、精確な分析を実施するには、試料の前処理が重要になる。

そこで今回は、LC/TOF MS によるプロファイリング分析を河川水中 PPCPs へと適用するための適切な前処理条件の検討を行った。

2 方法

表1 前処理条件

① 試料

平成 24 年 4 月 17 日に佐賀県内 A 川 2 地点で採水し、農業集落排水処理施設汚水浄化センターからの処理排水(処理水)及びその上流に位置する河川水(河川水)を試料とした。

② 前処理・測定

試料は、表1に示す 3 通りの固相抽出法¹⁾を用いて、それぞれ 250 倍に濃縮した。濃縮後の試料は、表 2 の分析条件²⁾に設定した LC/TOF MS (Agilent6540)を用いて、positive モードで、3 回ずつ繰り返しスキャン測定した。

③ 解析

得られたデータは Agilent Mass Hunter Qualitative analysis for LC/MS を用いて、強度 20,000 以上の条件でピーク抽出した。これらのピークに対し、

固相抽出. I (固. I)	
カラム	Oasis MCX
コンディショニング	MeOH,5mL → 水,5mL
通水速度	5mL/min
洗浄	ギ酸/水(2/98),3mL
溶出	①MeOH,5mL → ②MeOH/アンモニア水(95/5),5mL
固相抽出. II (固. II)	
カラム	Oasis HLB Plus
コンディショニング	MTBE,3mL → MeOH,3mL → 水,3mL
通水速度	5mL/min
洗浄	MeOH/水(5/95), 3mL
溶出	MeOH/MTBE(10/90),6mL
固相抽出. III (固. III)	
カラム	Oasis MCX + HLB [連結]
コンディショニング	MeOH,5mL → 水,5mL
通水速度	5mL/min
洗浄	塩酸/水(1/119),2mL
溶出	MeOH/MTBE/アンモニア水(20/75/5),10mL

[技術資料]

当所で作成した医薬品等精密質量データベース(パーソナルケア用品を含む約 1,200 物質収録)を適用して、質量誤差 5ppm 以下かつ 0.0025Da 以下でデータベース検索を行った。データベースと一致したピークを対象に、Agilent Mass Profiler Professional を用いて多変量解析を行った。

表2 LC/TOF MS 分析条件

LC : Agilent 1200EL		MS : Agilent 6540 Q-TOF	
カラム	ZORBAX Eclipse C18, 2.1x100mm (3.5 μ m)	イオン源	Dual ESI
移動相	A : 5mM 酢酸アンモニウム/水	測定モード	positive
	B : 5mM 酢酸アンモニウム/MeOH	キャピラリー電圧	3,500V
流速	0.2mL/min	フラグメンター電圧	120V
グラジエント	A95 : B5 (0min) - A5 : B95 (30-45min)	スキャン範囲	90-1,500m/z

3 結果・考察

① データベース検索

医薬品等精密質量データベース検索によりヒットした物質数を表3に示す。上流の河川水に比べ、処理水からより多くの物質がヒットした。どの前処理条件においても、処理水からは 20 前後の物質が確認された。このことから、浄化センターの処理水には PPCPs が多く含まれ、一方、河川水では元々の汚染が少なく、また希釈等の影響によりヒットした物質が少ないと考えられた。河川水に比べ、PPCPs の挙動が明らかである処理水を対象に、以降の多変量解析を行った。

表3 データベースのヒット数

	固. I ①	固. I ②	固. II	固. III
河川水	0	1	4	1
処理水	8	12	23	18

② 主成分分析

処理水の主成分分析(PCA)の結果を、図1に示す。固. I では、溶出液の異なる①と②でプロットが大きく離れた。固. I で用いた MCX カラムは、逆相-陽イオン交換ミックスモード固相カラムであり、カチオン交換と逆相の 2 つの保持メカニズムを持っている。従って、中性有機溶媒である溶出液①では中性化合物が溶出され、塩基性有機溶媒である溶出液②では塩基性化合物が溶出されたために、PCA プロットが大きく離れたと考えら

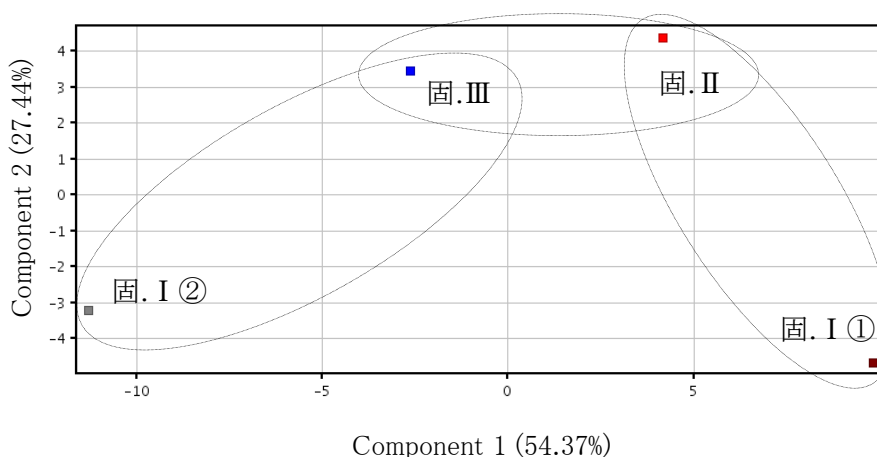


図.1 PCA スコアプロット(処理水)

[技術資料]

れた。また、プロファイルに着目したところ、固. I ②と固.Ⅲ、固. IIと固.Ⅲ及び固. I ①と固. II は近い位置関係を示した。これは、固. I ②と固.Ⅲは共に MCX カラムを用い、かつ、溶出液が塩基性であること、固. II と固.Ⅲは HLB カラムを使用していること、固. I ①と固. II は溶出液が中性の有機溶媒であることをそれぞれ裏付けていると考えられた。

③ クラスター分析

処理水のクラスター分析の結果は、図2に示す。固. I ①では中性化合物がヒットし、一方、固. I ②では塩基性化合物がヒットしており、相互補完的なプロファイルを示した。このことは、主成分分析の結果を裏付けるものとなった。固. II で用いた HLB カラムは、親水性及び親油性基を併せ持つ逆相充てん剤が封入された固相カラムである。そのため、図.2で示すように幅広い化合物がヒットしたが、一部の塩基性化合物は捕捉できなかった。また、残存夾雑物によるイオン化抑制を回避するため、固.Ⅲでは MCX に HLB を連結して固相抽出を行った。その結果、固. II と類似した挙動を示し、それに加え、固. I ②の塩基性部分とも類似したプロファイルとなった。ところがピーク強度に関しては、他の前処理条件と大きな違いは見られなかったことから、本試料かつ本分析条件においてイオン化抑制によるピークの妨害は考慮しなくてよいと考えられる。

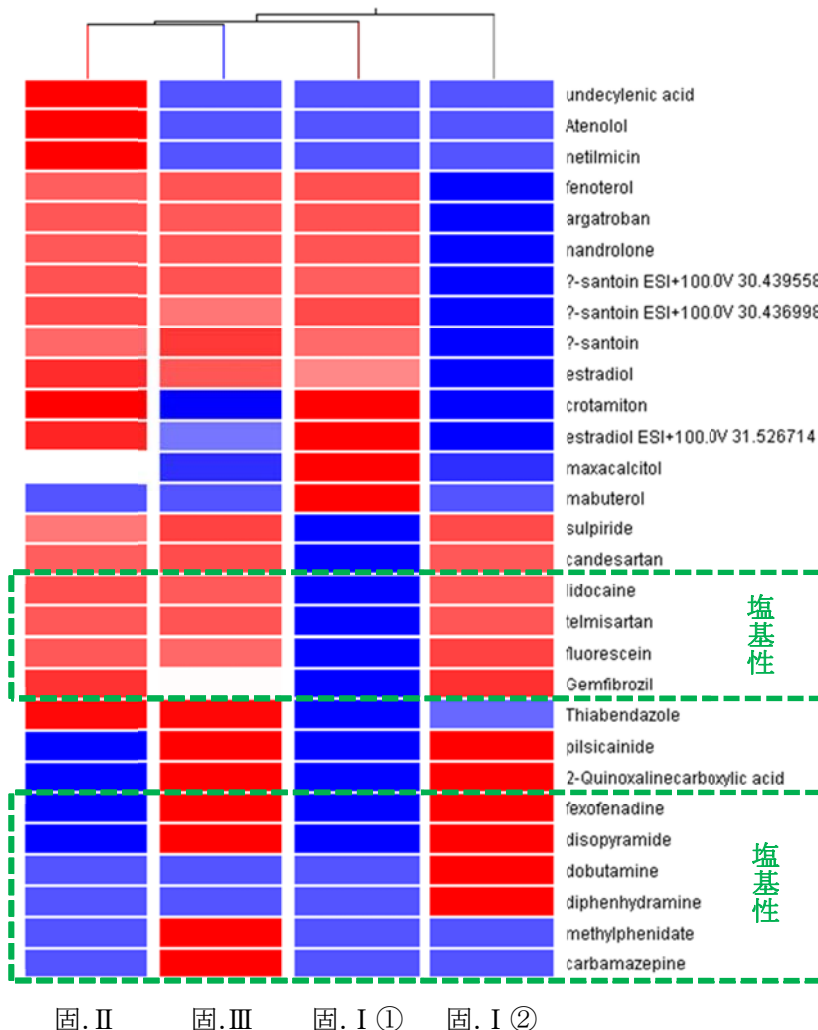


図.2 階層型クラスターツリー (処理水)

4 まとめ

種々の前処理条件において、LC/TOF MS による河川水中 PPCPs のプロファイリング分析を行った。前処理条件の違いは、検出できる化合物を特異的なものとした。塩基性化合物の選択的抽出に優れ、かつ HLB の特性を持ち低コストである MCX による前処理は、本分析条件において未知試料のプロファイリング分析に有用であると考えられた。

[技術資料]

5 参考資料

- 1) OASIS SAMPLE PREPARATION Application Notebook : p35, 43, 118-119 (2003)
- 2) 環境水のプロファイリング分析による事故原因物質の検索, 第48回全国衛生化学技術協議会講演集 p190-191 (2011)