

# 琵琶湖・淀川水系中に存在する *N,N*-ジメチルヒドラジン構造を持つ化学物質の検出および同定

京都大学大学院 地球環境学堂 Klou D.C. Hinneh, 多田悠人, 越後信哉

## 1. はじめに

染料などとして産業的に利用される *N,N*-ジメチルヒドラジン構造を含む化合物が水道原水に混入した際に、浄水処理過程において酸化剤（特にオゾン）と反応し、高収率で *N*-ニトロジメチルアミン（NDMA）を生成する（図1）。NDMAは発がん性が疑われる消毒副生成物であり、日本の水道水質基準体系において要検討項目に設定され、その管理が求められている。NDMAの目標値は100 ng/Lであり、トリハロメタンやハロ酢酸などの他の消毒副生成物の基準値や管理目標値（10～100 μg/L程度）と比較して100～1000倍も低いため、その制御手法を検討するためには、微量で存在するNDMAおよびその前駆体の挙動を捉える詳細なモニタリング手法の確立が必要不可欠である。

過去には、琵琶湖・淀川水系に位置する浄水場において、オゾン処理後にNDMAが生成したことが報告されており、その発生源および原因物質を調査したところ、産業排水に混入した *N,N*-ジメチルヒドラジン構造を持つ化合物、1,1,1',1'-テトラメチル-4,4'-(メチレン-ジ-*p*-フェニレン)ジセミカルバジド（TMDS）が原因物質として特定された[1]。これらNDMA前駆体は下水処理で十分に処理されず、そのまま環境水中に放出され、水道水源を汚染していた。また、近年の著者らの調査（未発表データ）では、オゾン処理を導入した同水系の複数の下水処理場において、処理後水には目標値を大幅に上回るNDMAが確認され、下水には依然として多様なNDMA前駆体が残存している可能性が示された。以上より、NDMA前駆体の調査のためには、簡便な検出手法が必要であることは言うまでもないが、前駆体の分析法については詳細に検討されていない。

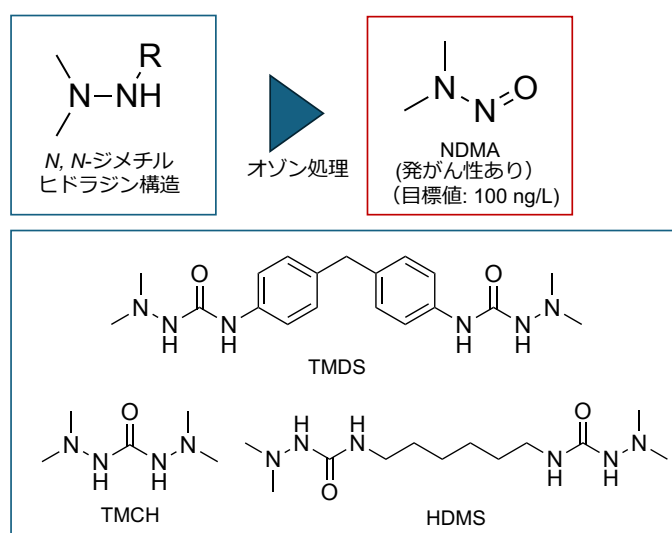


図1 NDMAの生成

環境水中のNDMA前駆体は、μg/L～ng/L程度の微量で存在すると考えられる。また、下水や産業排水を含む水試料は複雑なマトリックスを有するため、測定精度を向上のため

には、試料の濃縮および抽出操作が必要となる。先行研究において、陽イオン交換固相抽出 (SPE) カートリッジを用いた前処理手法で、淀川流域で採取した環境水において *N,N*-ジメチルヒドラジン構造含有 NDMA 前駆体である 1,1,5,5-テトラメチルカルボヒドラジド (TMCH) が抽出できることを示されている [2]。しかし、琵琶湖・淀川水系内の下水処理水で過去に検出例のある TMDs や 4,4'-ヘキサメチレンビス (1,1-ジメチルセミカルバジド) (HDMS) など、他の複数の *N,N*-ジメチルヒドラジン構造を含む NDMA 前駆体にも適用可能な前処理方法については検討されていない。

以上より本研究では、*N,N*-ジメチルヒドラジン構造を含む NDMA 前駆体の濃縮および抽出に最適な前処理方法の確立を行い、琵琶湖・淀川水系の環境水中に存在する NDMA 前駆体の検出および同定を試みた。具体的には、複数の試料 pH 条件下において各種 SPE カートリッジを比較検討し、最適な前処理手法を確立した。次いで、この手法を実際の環境水に適用して前駆体の抽出・濃縮を行い、精密質量分析から得られるフラグメンテーション情報を活用した同定手法 [3] を用いることで、水系中に存在する未知の NDMA 前駆体の特定を試みた。

## 2. 実験方法

本研究では、4 つの実験を実施した。第一に、開発した前処理法の評価に使用するための一斉分析法を開発した。次に、12 種類のモデル物質を用い、NDMA 前駆体を捕捉・回収するための SPE 前処理法を開発した。さらに、琵琶湖および淀川水系の環境水に開発した前処理法を適用し、試料中に含まれる NDMA 前駆体の抽出を行った。最後に、本研究で開発した SPE 前処理法と、LC-Orbitrap/MS による精密質量に基づいたフラグメンテーションパターン解析技術を組み合わせることで、環境水試料中の既知および未知の前駆体の同定を試みた。

### 2.1 試薬

特に断りのない限り、本研究で使用した試薬は富士フイルム和光純薬株式会社、東京化成工業株式会社、およびシグマアルドリッチより購入した。NDMA および NDMA 内部標準試料 (NDMA-*d*<sub>6</sub>) は AccuStandard, Inc. より購入した。

水溶液の調製等には、超純水製造システム (Milli-Q Academic; Merck Millipore) により精製した超純水を用いた。チオ硫酸ナトリウム水溶液 (6 g/L)、塩酸 (約 0.1 mM)、水酸化ナトリウム水溶液 (約 10 mM)、リン酸緩衝液 (pH 7, 500 mM)、ジクロロメタン/ジエチルエーテル混合溶液 (50:50; v/v)、NDMA 標準液 (100 mg/L)、および NDMA-*d*<sub>6</sub> 標準液 (100 mg/L) の各保存液は、使用直前にそれぞれ調製した。

### 2.2 対象物質

図 2 に示す通り、*N,N*-ジメチルヒドラジン構造を有し、オゾン処理による NDMA 生成能 (NDMAFP) が 3–140% (モデル物質に対する NDMA 生成量のモル比) である 12 種類の化合物をモデル物質として選定した。ここで NDMAFP は、過剰な酸化剤 (本研究ではオゾン) を添加した条件下で得られる NDMA 生成量であり、各化合物からの最大の NDMA 生成量を示す。対象化合物には、TMCH ( $pK_{a,1} = 12.3$ ;  $pK_{a,2} = 1.30$ )、TMDs (13.3; 1.30)、および HDMS (12.5; 1.57) に加え、*N,N*-4-トリメチルベンゼン-1-スルホノヒドラジン (TMBSH: 10.2; -0.57)、1,1,2-トリメチルヒドラジン (TMH: 8.96; 1.30)、2,2-ジメチルヒドラジンカルボン酸メチルエステル (DHME: 12.5; 1.57)、1-(ジメチルアミノ)-3-

フェニルチオ尿素 (DMPTSC: 13.8; 2.63) , 1,1-ジメチルセミカルバジド (DMSC: 12.8; 1.89) , ダミノジッド (DMASA: 12.5; 2.26) , 2-フルアルデヒドジメチルヒドラゾン (2-FDMH: データなし) , ホルムアルデヒドジメチルヒドラゾン (FDH: データなし) , およびテトラメチルテトラゼン (TMT: データなし) を選定した。

これら 12 種類のうち, 日本の下水処理水や河川水における主要な NDMA 原因物質として既知である TMCH, TMDS, および HDMS の 3 物質は, 一斉分析法の開発に用いた。前処理方法の最適化検討には, これらを含む全 12 物質を使用した。具体的な検討手順として, まず化学的特性が大きく異なる TMDS, TMH, および TMBSH の 3 物質を指標として抽出条件の絞り込みを行った。その後, 全 12 物質にも適用し, すべての化合物において最も良好な回収率が得られた条件を, 最終的な前処理条件として決定した。

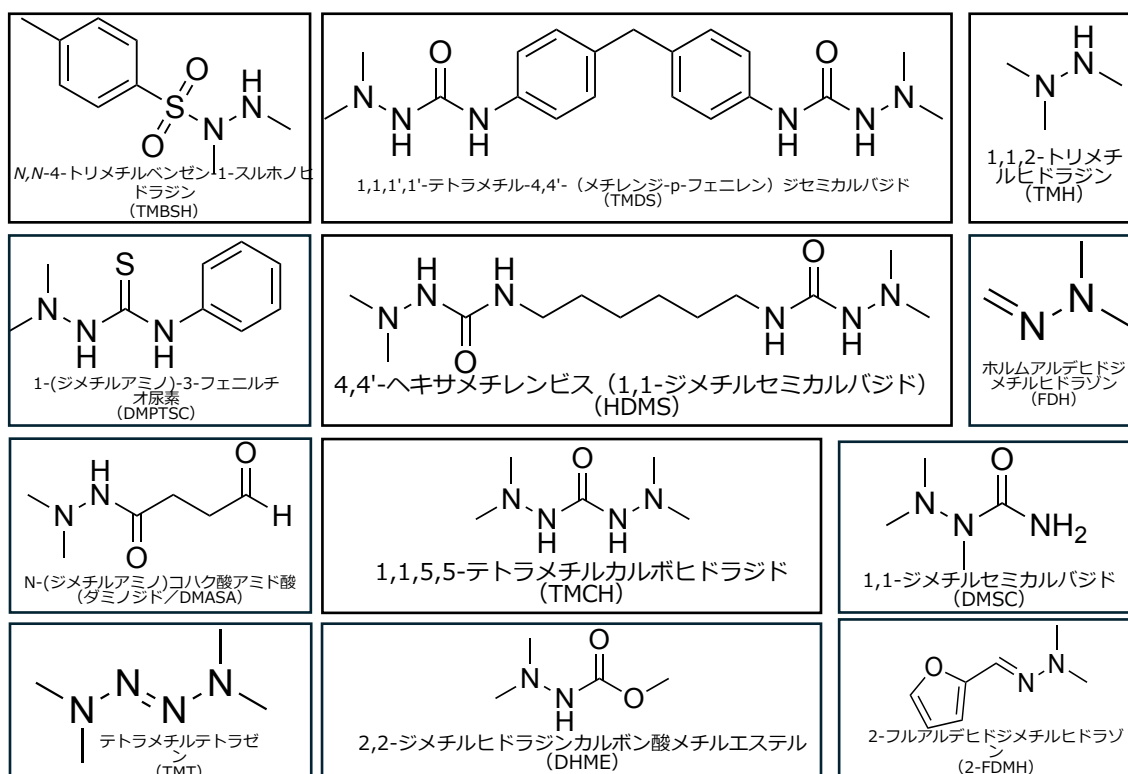


図 2 モデル物質

### 2.3 サンプリング

先行研究により NDMA 前駆体の存在が確認されている琵琶湖・淀川水系に位置する 2 カ所の下水処理場において, 処理場からの放流水を採取した (以下, S-1, S-2 と表記)。また, これら下水処理水の影響を受ける河川水を採取した (S-3)。さらに, 琵琶湖・淀川流域の 5 地点においても, 下水処理放流水 (S-4, S-5), 下水処理水影響河川水 (S-6, S-7, S-8) も採取した (表 1)。S-1, S-2, S-3 は, SPE 前処理手法の開発に使用した。S-4~S-8 は, 開発した前処理方法を実際に適用し, 試料中の NDMA 前駆体の検知・同定に使用した。試料は研究室に搬入後, 前処理で使用する SPE カートリッジの閉塞を防ぐため, 直ちに 0.8 μm のガラス繊維ろ紙 (ADVANTEC 製, GA-200) を用いてろ過した。各試料は, 4 °C で保管した。

表 1 環境水試料の特性

試料名	試料区分	採取日	DOC (mg/L)	原水 NDMA 濃度 (ng/L)	原水 NDMAFP (ng/L)
S-1	下水放流水	2024/8/22	2.35	16.8	147
S-2	下水放流水	2024/8/22	2.62	431	<LOQ (2)
S-3	河川水	2022/11/17	6.66	10.4	33.2
S-4	下水放流水	2025/11/27	4.72	24.3	77.0
S-5	下水放流水	2025/11/27	2.05	12.1	12.8
S-6	河川水	2025/11/27	1.84	4.88	9.16
S-7	河川水	2025/11/27	1.72	3.30	15.7
S-8	河川水	2025/11/27	2.43	3.13	14.9

## 2.4 NDMA 前駆体定量のための一斉分析法の開発

TMCH, TMDS, および HDMS を測定するための一斉分析法の開発を液体クロマトグラフ質量分析計 (LC-MS/MS) を用いて行った。LC 部には Prominence 20 A UPLC システム (島津製作所, 京都), MS 部にはポジティブモードのエレクトロスプレーイオン化法 (ESI+) を用いた質量分析計 (4000 QTRAP, SCIEX, USA) を用いた。LC カラムとして ACQUITY UPLC BEH C18 分析カラム (100 x 2.1 mm; 1.7  $\mu$ m, Waters) を用い, 移動相 A は 0.1% ギ酸水溶液, 移動相 B はアセトニトリルとした。グラジエント条件は以下の通りである: B 液 5% (0 min)  $\rightarrow$  60% (3 min)  $\rightarrow$  100% (9 min)  $\rightarrow$  100% (10 min)  $\rightarrow$  5% (11 min)。

## 2.5 SPE カートリッジの選定

NDMA 前駆体は親水性が高く, 疎水性相互作用のみを利用した従来の逆相系カートリッジでは保持が困難であると予想される。本研究で選定したモデル物質には, pKa が 1 付近の強酸性物質から 10~12 程度の塩基性物質までが含まれる。これらは中性条件下 (pH 7 付近) において, それぞれアニオンまたはカチオンとして存在するため, 効率的な捕捉にはイオン交換相互作用を利用できるカートリッジが適していると考えられる。一方で, 一部の前駆体はベンゼン環などの疎水性官能基を有しており, 逆相系吸着剤に対しても一定の親和性を示す可能性がある。そこで, 保持メカニズムの異なる 4 種類の SPE カートリッジ (Sep-Pak PS-2, Oasis HLB, Oasis MCX, Oasis WCX (いずれも Waters 社製)) を選定し, 比較検討を行った。以降これらカートリッジは PS-2, HLB, MCX, WCX と表記する。

PS-2 と HLB は, いずれも疎水性相互作用を主とする逆相吸着剤である。PS-2 はスチレン・ジビニルベンゼン共重合体で構成され, 主に非極性化合物の保持に適している。一方, HLB は親水性 (N-ビニルピロリドン) と疎水性 (ジビニルベンゼン) のユニットを併せ持つポリマー構造であり, 非極性から極性物質まで幅広い分析物を保持できる特長がある。これに対し, MCX と WCX は陽イオン交換基を導入したミックスモード型吸着剤である。MCX は強陽イオン交換基 (スルホン酸基) を有し, 主に弱塩基性化合物の保持に適している。一方, WCX は弱陽イオン交換基 (カルボキシ基) を有し, 第四級アンモニウムなどの強塩基性化合物の回収に用いられる。

## 2.6 SPE を用いた NDMA 前駆体の抽出方法

各モデル物質の 50 μM の水溶液を調製し、100 mL ずつ SPE カートリッジに通液した。SPE の詳細な抽出条件については表 2 に整理した。PS-2, HLB, WCX に通液する試料の pH は 7 または 10 に調整し、MCX に通液する試料は 2 または 7 に調整した。pH 調整は、0.1 mM HCl または 10 mM の NaOH を適宜添加することで行った。pH 調整後、コンセントレータ (Waters) を用い、流速 1 mL/分 で前処理済みの各カートリッジに試料を通液した。通液後の通過液は全量回収した。次いで、3 段階の工程 (洗浄, 溶出 1, 溶出 2) を行い、各溶出液を個別に回収した。

回収した溶出液中のメタノールが、ヒドロキシラジカルのスキャベンジャーとして作用し、オゾン処理における NDMA 生成に影響を及ぼすのを防ぐため、窒素 (N<sub>2</sub>) 吹付装置により 0.5 mL まで濃縮し、メタノールを除去した。その後、MQW で 500 mL に定容し、NDMAFP 試験に供した。再調製した試料の pH は、0.1 mM の HCl または 10 mM の NaOH を用いて 7 に調整した。なお、5%アンモニアメタノールによる溶出液については、濃縮後の pH が約 7 であることを pH 試験紙で確認したため、調整は不要と判断した。最終的に、5 mM リン酸緩衝液を添加し、NDMAFP 試験を実施した。それぞれの実験は複数回行った。

表 2 モデル NDMA 前駆体抽出のための SPE の条件

カートリッジ	Sep-Pak PS-2	Oasis HLB	Oasis WCX	Oasis MCX
前処理 (各 10 mL)	●メタノール ●MQW	●メタノール ●MQW	●メタノール ●5%アンモニア水 ●MQW	●メタノール ●2%ギ酸水 ●MQW
洗浄 (10 mL)	●N <sub>2</sub> 乾燥 (1.5 時間)	●MQW	●5%アンモニア水	●2%ギ酸水
溶出 1 (10 mL)	●メタノール	●メタノール	●メタノール	●メタノール
溶出 2 (10 mL)	—	—	●2%ギ酸 メタノール液	●5%アンモニア メタノール液

SPE 前後における NDMA 前駆体の回収率は通常、LC-MS/MS などを用いた分析手法により得られた対象物質の濃度比またはピーク面積比を算出することで評価される。しかし本研究では、NDMAFP 試験により得られた NDMAFP 比を、NDMA 前駆体濃度の代用指標として用いた。本手法は、各モデル物質を定量するために個別の LC-MS/MS 分析条件を確立するよりも簡便であり、かつ未知前駆体を含む環境試料に対しても直接適用可能である。NDMAFP に基づく回収率は、以下の式を用いて算出した。

$$\text{回収率 (\%)} = \frac{\text{NDMAFP}_{\text{Reconstituted}}}{\text{NDMAFP}_{\text{Raw}}} \times 100 \quad (1)$$

ここで、NDMAFP<sub>Reconstituted</sub> は 2.5 で述べた SPE 後の NDMAFP、NDMAFP<sub>Raw</sub> は SPE 前の NDMAFP である。

## 2.7 SPE による抽出におけるマトリックス効果

NDMA 前駆体は下水やその影響を受けた水域で検出されており、これらには化合物の回収を妨害する可能性のある複雑なマトリックス成分が含まれている。そこで、マトリックス成分がモデル前駆体の回収に及ぼす影響を評価し、開発した SPE 手法の有効性を検

証するため、下水処理水の影響を強く受けた河川水（S-3）を用いて添加回収実験を行った。

S-3のNDMA濃度は10 ng/Lであり、NDMAFP試験後のNDMAFPは33 ng/Lであった（表1）。この差分（23 ng/L）を、河川水中に本来存在するNDMA前駆体由来のNDMAFP（NDMAFP<sub>Blank</sub>）とした。また、各モデル前駆体をS-3に最終濃度が50 μMとなるよう添加し、抽出操作後のNDMAFPをNDMAFP<sub>Matrix</sub>とした。

マトリックス効果（ME）は、以下の式(2)を用いて算出した：

$$ME (\%) = \left( \frac{NDMAFP_{Matrix} - NDMAFP_{Blank}}{NDMAFP_{Reconstituted}} - 1 \right) \times 100 \quad (2)$$

ME > 0 は増強効果，ME = 0 はマトリックス効果なし，ME < 0 は抑制効果を示す。具体的には，|ME| < 20%を「低」，20% < |ME| < 50%を「中程度」，|ME| > 50%を「高」マトリックス効果と分類した。

## 2.8 実環境水試料への適用と従来法との比較

開発したSPE法の有効性を検証するため、特性の異なる3種類の環境水試料（S-1, S-2, S-3）を用いて、従来法との比較を行った。S-2に関しては、NDMAFPは定量下限未満（<2 ng/L）であったため、TMCH, TMDS, HDMSを8.0 μg/Lとなるよう添加し、添加回収試験を実施した。

従来法である「直接濃縮法」として、試料500 mLをエバポレーター（N-1300S-W, EYELA）により100倍濃縮（最終液量5 mL）し、前処理を完了した。一方、SPE法では、試料100 mLおよび500 mLをSPEカートリッジに通液し、溶出液を同様に窒素エバポレーターで0.5 mLまで濃縮することで、それぞれ200倍および1000倍の濃縮を行った。これら濃縮液を0.5 mLずつMQWにて500 mLになるように定容し、前処理前後のTMCH, TMDS, HDMSをそれぞれのLC-MS/MSで直接定量を行うことで回収率の比較を行った。環境水を用いているため、NDMAFP試験による評価ではマトリックスが異なるため正確な比較はできない。したがって直接定量法を採用した。

## 2.9 NDMAFP試験およびNDMAの測定・抽出

NDMAFP試験は、既報（Kosakaら [1, 2]）に従い、オゾン発生装置（AZH-3S, 浜松ベジタブル製）を用いたセミバッチシステムにより実施した。1 Lのガラス製反応容器内で、超高純度酸素ガス（京都帝酸）から生成したオゾンガスをバブリングすることで酸化反応を行った。オゾン処理条件は、試料量500 mL、気相オゾン濃度20 mg/L、オゾンガス流量1 L/min、反応時間20 min、温度20 °Cとした。また、NDMAおよび内標準物質であるNDMA-*d*<sub>6</sub>の抽出・定量分析は、既報の手法 [1, 2] に基づいて行った。

### 3. 結果と考察

#### 3.1 NDMA 前駆体定量のための一斉分析法の開発

まず、標準物質を用いた検討により、TMCH、HDMS、およびTMDSがいずれも良好にイオン化することを確認した。定量用および確認用のプロダクトイオン ( $m/z$ ) を以下に設定した。定量用プロダクトイオンは、TMCH、HDMS、TMDS でそれぞれ 147.0→85.0, 289.2→203.1, 371.1→285.1 とし、確認用プロダクトイオンはそれぞれ 147.0→59.0, 289.2→61.0, 371.1→106.0 とした。

各化合物の保持時間は、TMCHが2.0分、HDMSが5.0分、TMDSが6.2分であった。図3に示す通り、3化合物すべてにおいて良好な直線性が得られ ( $r^2 > 0.99$ )、定量限界 (LOQ) はいずれも 0.1  $\mu\text{g/L}$  であった。以上の結果から、本分析法は十分な定量性を有することが確認された。

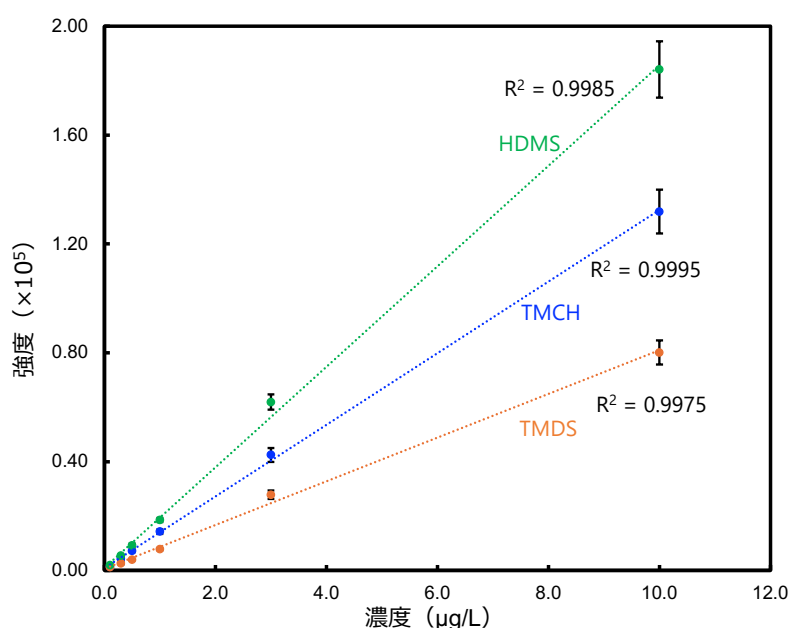


図3 TMCH, HDMS, および TMDS の検量線における直線性

#### 3.2 NDMA 前駆体に最適なカートリッジおよび抽出法の決定

対象化合物の官能基は多岐にわたるため、まず代表的な3化合物 (TMDS, TMBSH, TMH) を用い、4種類の SPE カートリッジにおける回収率を評価した。TMDSは、pH 7に調整してMCXに通液した際に最も高い回収率 (96%) を示した (図4B)。これは、プロトン化されたアミン窒素による陽イオン交換相互作用が主因であると考えられる。一方、WCX, PS-2, およびHLBにおける回収率は60~70%程度に留まり (図4C, E, G), これらの保持は疎水性相互作用が支配的であると推察された。TMBSHは、疎水性相互作用を主とするHLB (71%) およびPS-2 (60%) で良好な回収率を示した。また、pH 7のMCXにおいても50~60%程度の回収率が得られ、疎水性吸着と陽イオン交換が組み合わさった混合型の保持メカニズムの寄与が示唆された。一方、TMHはすべてのカートリッジで低い回収率 (<50%) に留まった。TMHの最大回収率は、試料をpH 2または7でMCXに通液した場合 (それぞれ43%および32%) に観察されたが、陽イオン交換による保持能力は限定的であった。

以上の結果から、検討した NDMA 前駆体群に対しては、陽イオン交換能を有する pH 7 での MCX の使用が最も汎用的であることが示された。しかし、TMBSH のような疎水性の高い前駆体に対しては、HLB もまた良好な回収率を与える有効な選択肢である。

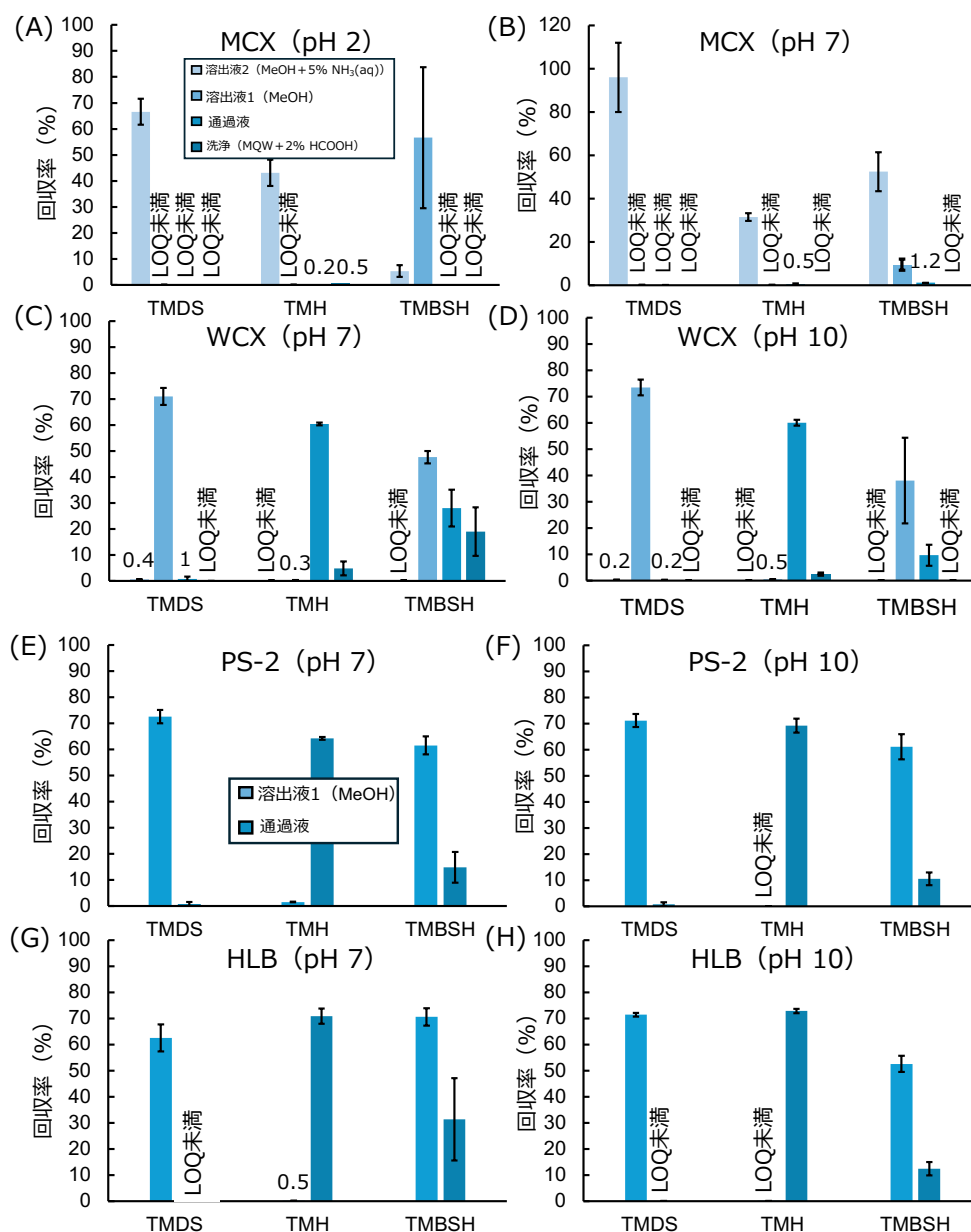


図4 3種類の代表的なモデル物質における回収率 ((A) MCX (pH 2), (B) MCX (pH 7), (C) WCX (pH 7), (D) WCX (pH 10), (E) PS-2 (pH 7), (F) PS-2 (pH 10), (G) HLB (pH 7), (H) HLB (pH 10)。なお、(A)の凡例は(A)~(D)に、(E)の凡例は(E)~(H)に共通して適用される。(MeOH: メタノール, HCOOH: ギ酸, NH<sub>3</sub>(aq): アンモニア水溶液。定量下限は2 ng/Lである。)

次に、全12種類の対象化合物について、pH 7条件下のMCXおよびHLBにおける回収率を評価した(図5)。HLBを用いた場合、多くのモデル化合物において回収率は低値に留まった。特にDHME, TMH, DMSC, およびDMASAの回収率は極めて低かった(<0.1~4%)。これは高い極性と揮発性を有していることが原因と考えられる。一方で、回収

率は物質の疎水性が増大するに伴い向上する傾向が見られ、TMCH ( $\log D_{ow} = -1.08$ ) の中程度の回収率 (18%) に対し、より疎水性の高い HDMS ( $\log D_{ow} = -0.77$ ) では 113% という顕著に高い回収率が得られた。また、TMDS (69%)、TMBSH (92%)、DMPTSC (84%) についても許容可能な回収率を示した。

MCX を用いた場合、ほとんどのモデル化合物で 70% を超える高い回収率が得られた。特に、下水由来の主要な NDMA 前駆体 3 物質 (HDMS, TMDS, TMCH) はいずれも 100% に近い回収率を示した。TMH, DMASA, DHME などの一部の化合物は比較的低い回収率 (<60%) であったが、これは pH 7 におけるイオン化が不十分であり、陽イオン交換による保持が限定的であったためと推察される。

以上の通り、主要な前駆体で極めて高い回収率が得られ、その他の物質においても概ね中程度以上の回収率が確保されたことから、環境水から多様な NDMA 前駆体を網羅的に回収する手法として、試料を pH 7 に調整し、MCX を使用することが極めて有効であることが示された。

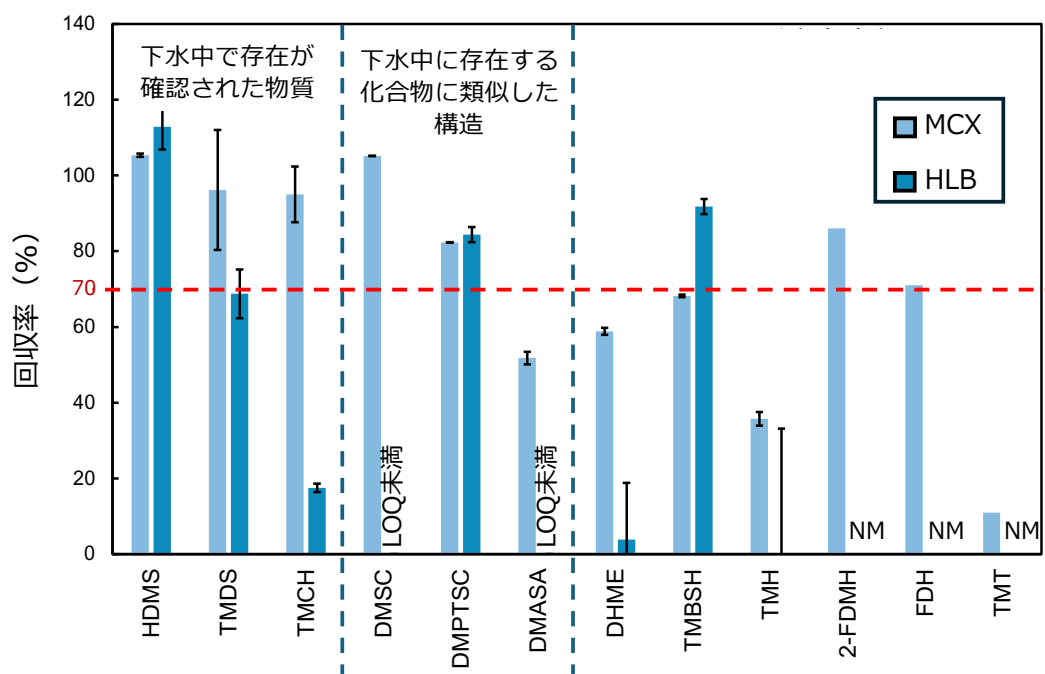


図5 pH 7 における MCX および HLB を用いた 12 種類のモデル NDMA 前駆体の回収率

表 3 に示すように、一部の極めて高極性な物質 (DMSO, DMASA, および DHME) を除き、検討した大半の NDMA 前駆体において実用上十分な回収率が得られた。下水影響水において NDMA 生成への寄与が極めて大きい主要な 3 物質 (HDMS, TMDS, TMCH) のマトリックスの影響は軽微 ( $|ME| < 20\%$ ) であり、安定した高い回収率が維持されていた。また、TMBSH や TMH, その他の前駆体についても、中程度のマトリックス効果は認められたものの、許容できる範囲内であった。

DMSC 等の一部の物質で回収率が低下したことは課題として残るが、対象とした 12 物質のうち 9 物質において良好なパフォーマンスを示しており、本手法は環境水中に潜在する多様な NDMA 前駆体を網羅的にスクリーニングするための前処理手法として、有効であることが示された。

表 3 NDMA 前駆体の回収率に対する河川水マトリックスの影響

化合物	マトリックス効果		備考	回収率 (%±%RSD)
	(ME)	(%)		
HDMS	-1		ME  < 20% (低)	99 (0.1)
TMDS	17		ME  < 20% (低)	117 (0.8)
TMCH	4		ME  < 20% (低)	104 (16)
DMSC	-86		ME  > 50% (高)	14 (0.7)
DMPTSC	-10		ME  < 20% (低)	90 (0.1)
DMASA	-92		ME  > 50% (高)	8 (11)
DHME	-71		ME  > 50% (高)	29 (0.1)
TMBSH	36		20% ≤  ME  ≤ 50% (中)	136 (0.2)
TMH	27		20% ≤  ME  ≤ 50% (中)	127 (0.5)

### 3.3 従来法との比較

pH 7 調整後の MCX を用いた 3 種類の環境試料における NDMA 前駆体の回収率は、いずれも 80%以上であり、相対標準偏差 (RSD) は 28%以下と良好な再現性を示した (図 6)。最大の前処理誤差 (RSD = 28%) は下水処理水 (S-2) で観察されたが、回収率自体は 100%に達しており、マトリックス効果の影響下においても本手法が有効に機能した。また、本研究の SPE 法 (200 倍濃縮) を、従来法である蒸発濃縮法と比較したところ、下水影響河川水 (S-3) において、蒸発濃縮法での回収率が 52% (RSD = 1%) に留まったのに対し、本 SPE 法では 80% (RSD = 8%) の高い回収率を達成し、より優れた前処理方法であることが示された。

さらに、さらなる高倍率濃縮の可能性を検討するため、通液量を 500 mL (1000 倍濃縮) とした検討も行ったところ、回収率は 52% (RSD = 1%) へと低下した。これは、通液量の増大に伴いカートリッジ内で NDMA 前駆体の破過が生じたことを示唆している。以上から、高倍率濃縮と高い回収率を両立させる最適な通液量は 100 mL (200 倍濃縮) であることが示された。

以上を踏まえ、pH 7 に試料を調整し MCX を用いた SPE 法 (200 倍濃縮) が、環境水中の NDMA 前駆体を効率的かつ安定して抽出する手法として最適であることが示された。

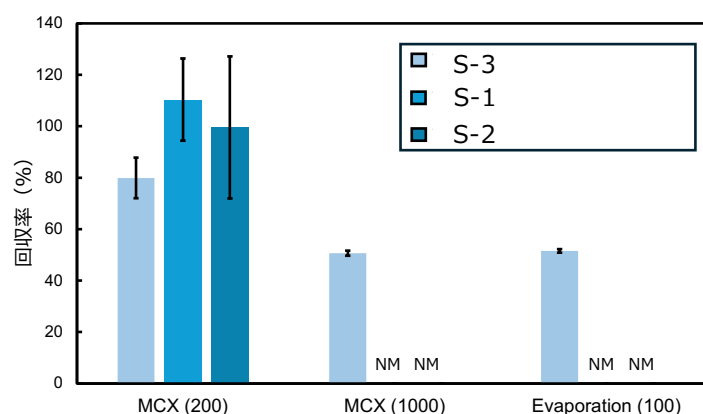


図 6 下水処理水中の NDMA 前駆体における、pH 7 条件での MCX を用いた SPE 法および濃縮法による回収率の比較 (n = 2) (x 軸の括弧内の数字は濃縮倍率を示す)

### 3.4. LC-Orbitrap/MS を用いた未知 NDMA 前駆体の同定

開発した前処理法と、LC-Orbitrap/MS による精密質量に基づいたフラグメンテーションパターン解析技術を組み合わせ、試料中の NDMA 前駆体の同定を試みた。琵琶湖・淀川水系にて採取した 5 つの試料に対し NDMAFP 試験を実施したところ、ある下水影響河川水試料 (S-4) において最高濃度 (77 ng/L) の NDMA 前駆体が検出された。そのため、本試料中における NDMA 前駆体の同定に焦点を当てた。

pH 7 の MCX を用いて前駆体を抽出した後、濃縮・精製した試料を LC-Orbitrap/MS に注入した。得られたマスクロマトグラム上には数百個の未知ピークが検出された。しかし、NDMA 前駆体は特徴的なフラグメンテーションパターンを示すことが知られている [3] ため、解析ソフト (Compound Discoverer 3.0) を用い、NDMA 前駆体に特徴的なプロダクトイオン ( $m/z$  61.0766) およびニュートラルロス (60.0688 Da, 108.0119 Da) をスクリーニング指標にピークの絞り込みを行った。その結果、ピーク数を 7 つまで絞り込むことに成功した。

精密質量からの組成式の割り当ておよびマススペクトルデータベース検索による比較検討の結果、 $m/z$  371.2188 を持つ物質が有力な NDMA 前駆体候補として推定された (図 7A)。 $m/z$  371.2188 は、既知の前駆体である TMDS と同一の精密質量および組成式 ( $C_{19}H_{26}N_6O_2$ ) を有していたため、TMDS の標準試薬を用いて同定を試みた。標準試料との LC による保持時間 (約 7.2 分) および MS/MS 測定によるスペクトルデータ (図 7B) が一致したため、S-4 中に含まれる未知物質の 1 つが TMDS であることが同定された。本研究で対象とした他のモデル物質の存在は確認できなかった。

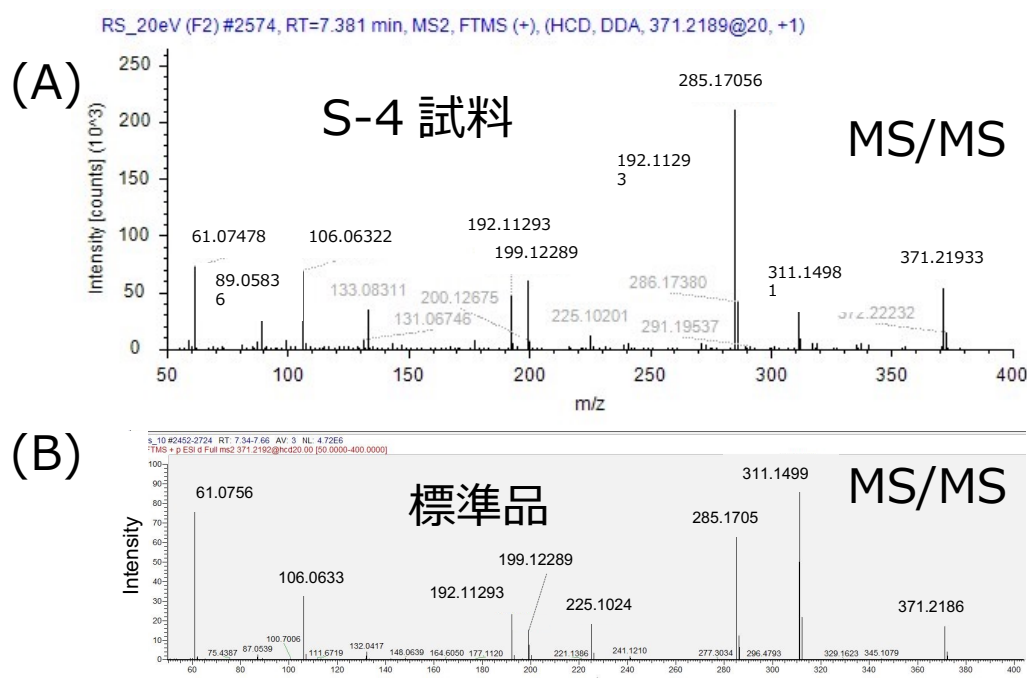


図 7 (A) 下水影響河川水中で検出された  $m/z$  371.2188 および (B) TMDS の標準試薬における MS/MS スペクトル

### 4. まとめ

本研究では、まずオゾンと反応して NDMA を生成する前駆体を対象に、LC-MS/MS を用いた一斉分析法を開発した。また、NDMA モデル前駆体物質を使用し、環境水からこれ

らを抽出するための前処理手法を確立した。この前処理手法では、試料を pH7 に調整し MCX カートリッジを利用し SPE を行うものである。開発した前処理法と、LC-Orbitrap/MS による精密質量に基づいた解析技術を組み合わせ、琵琶湖・淀川水系の環境水中に存在する NDMA 前駆体のひとつとして TMDS が同定された。

#### 謝辞

本研究は、令和7年度公益財団法人琵琶湖・淀川水質保全機構・水質保全研究助成により遂行された。深く御礼申し上げます。

#### 参考文献

- [1] K. Kosaka, M. Asami, Y. Konno, M. Oya, S. Kunikane, Identification of antiyellowing agents as precursors of N-nitrosodimethylamine production on ozonation from sewage treatment plant influent, *Environmental Science and Technology* 43 (2009) 5236–5241. <https://doi.org/10.1021/es900227g>.
- [2] K. Kosaka, M. Asami, K. Ohkubo, T. Iwamoto, Y. Tanaka, H. Koshino, S. Echigo, M. Akiba, Identification of a New N-Nitrosodimethylamine precursor in sewage containing industrial effluents, *Environmental Science and Technology* 48 (2014) 11243–11250. <https://doi.org/10.1021/es502284t>.
- [3] K.D.C. Hinneh, K. Kosaka, S. Echigo, S. Itoh, Predictable Liquid Chromatography Quadrupole Time-of-Flight Mass Spectrometry Fragmentation of Ozone-Reactive N-Nitrosodimethylamine Precursors Coupled with In Silico Fragmentation and Ion Mobility-Quadrupole Time-of-Flight Facilitates Their Identification, *Environmental Science and Technology* 56 (2022) 2345–2354. <https://doi.org/10.1021/acs.est.1c05888>.