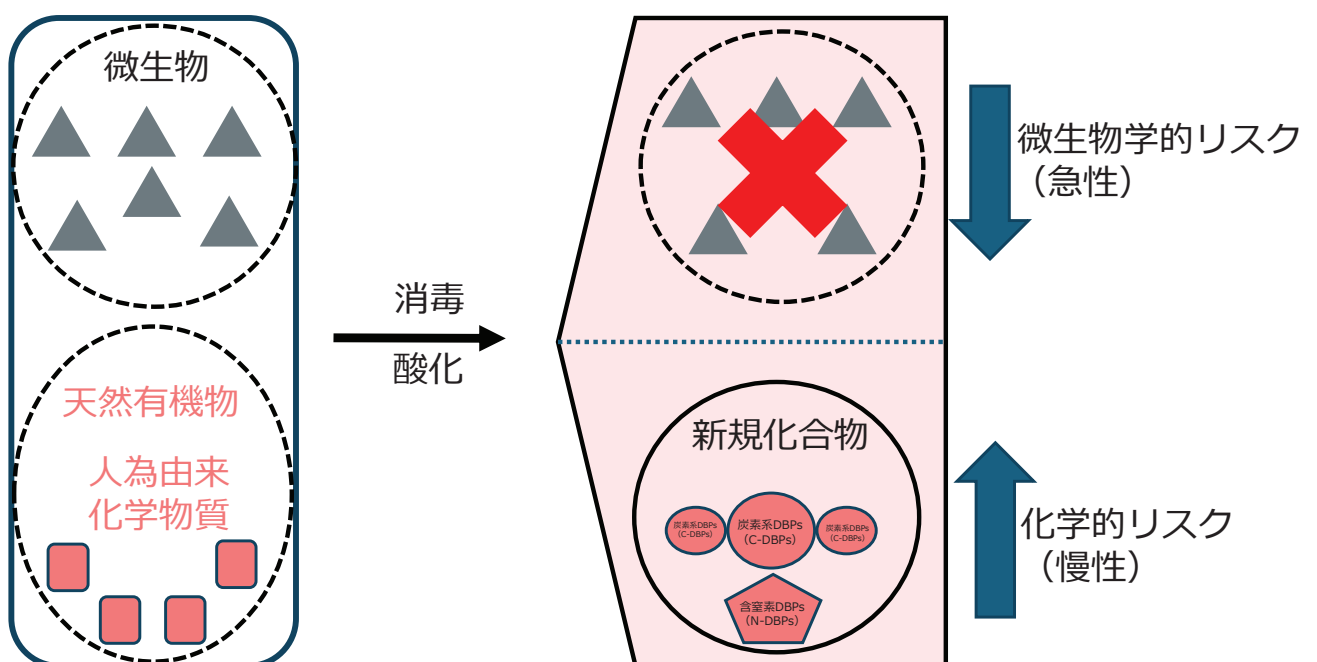


琵琶湖・淀川流域水系における *N,N*-ジメチルヒドラジン含有 化合物の検出および同定

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

2

背景：消毒副生成物（Disinfection byproducts, DBPs）



どのような化学物質を、どのように制御すべきか

背景：N-ニトロソジメチルアミン（NDMA）

- NDMAは、特にオゾン等の酸化剤を用いる浄水処理過程で生成する、ヒトに対する発がん性が疑われるDBPである。
- 日本においてNDMAは要検討項目に位置付けられており、目標値は100 ng/Lである。
- この目標値は、規制対象であるトリハロメタン（THM）およびハロ酢酸類（HAA）（いずれも数10 µg/L）より10～100倍低い。



背景：原水中のNDMA前駆体

水道原水中でNDMA前駆体の存在が多数報告されている。
前駆体の検出・定量法の整備が喫緊の課題である。

+

国内の既往研究では、産業起源で放出されるDMH構造を有する化学物質¹⁾がオゾン処理後に琵琶湖・淀川流域水系で観測されるNDMAの主要原因物質であることが示されている。

採水地点	試料区分	採取日	溶存有機炭素 (mg/L)	原水NDMA (ng/L)	NDMAFP (ng/L)
S-1	河川水	11.17.2022	6.66	10.4	33.2
S-2	河川水	3.16.2021	1.33	2.47	8.70
S-3	下水放流水	3.16.2021	3.54	24.1	391
S-4	下水放流水	3.16.2021	1.16	32.3	66.3
S-5	河川水	3.16.2021	1.52	87.1	34.8

対象化学物質は微量 (µg/L～ng/L)、複雑な水試料マトリックス化合物同定には、前処理（プレクリーンアップ）法の開発が必要である。

1) Kosaka, Koji, et al. *Environmental science & technology* 48.19 (2014)

目的

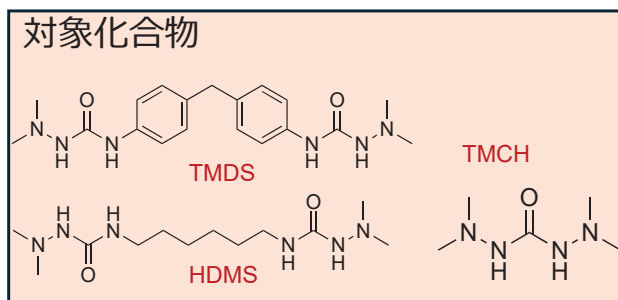
琵琶湖・淀川流域水系の環境水からの
N,N-ジメチルヒドラジン構造含有
化合物の検出・同定

- 課題1：NDMA前駆体の定量に向けた同時分析法の開発 **LC-MS/MS**
- 課題2：NDMA前駆体に対する最適カートリッジおよび抽出法の決定 **SPE**
- 課題3：環境水中の既知／未知NDMA前駆体の特定 **SPE + LC-HRMS** (例：Orbitrap)

課題1：NDMA前駆体
の定量に向けた
同時分析法の開発

方法1：NDMA前駆体を定量するための同時分析法の開発⁷

- 淀川流域におけるNDMAの原因物質として、HDMS、TMCH、TMDSの3化合物を選定した。
- 各化合物をMilli-Q水にスパイク添加し、LC-MS/MSにより分析した。
- カラムにはACQUITY UPLC BEH C18 (1.7 μm、100×2.1 mm) を用いた。**※逆相相互作用**
- 移動相は、A：0.1%ギ酸 (Milli-Q水)、B：アセトニトリルとした。
- グラジエント条件 (B%): 5% (0分) →60% (3分) →100% (9分) →100% (10分) →5% (11分)



※ 疎水性および塩基性の性質
イオン化モード：エレクトロスプレーイオン化 (ESI)

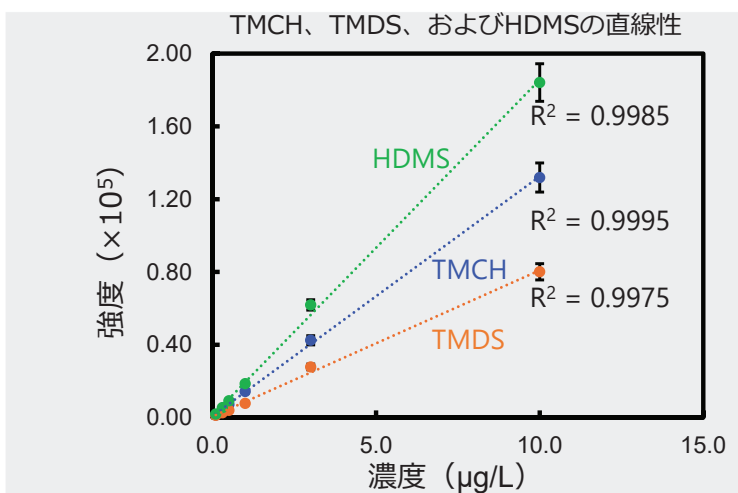
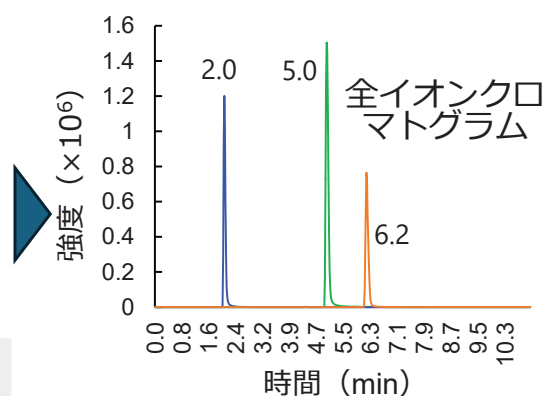


LC-MS/MS (ESI)

結果1：TMCH、TMDS、およびHDMSのクロマトグラムおよび直線性⁸

※ 装置定量下限 (LOQ) = 0.1 μg/L (S/N > 10)

	定量 (Q1/Q3)	確認 (Q1/Q3)	保持時間 (min)
TMCH	147.0/85.0	147.0/59.0	2.0
HDMS	289.2/203.1	289.2/61.0	5.0
TMDS	371.1/285.1	371.1/106.0	6.2



淀川流域におけるNDMAの3種の前駆物質を定量する同時分析法を確立した。

※ 現時点では装置定量下限 (LOQ) のみを評価した。

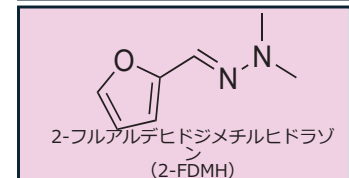
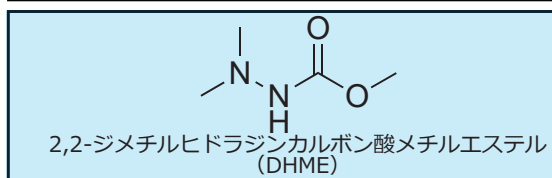
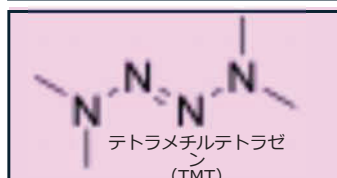
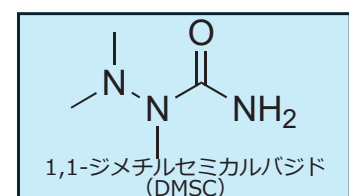
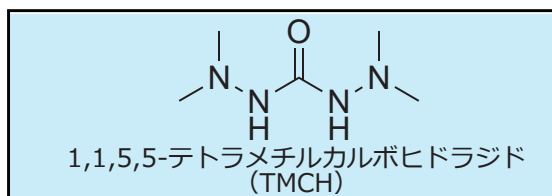
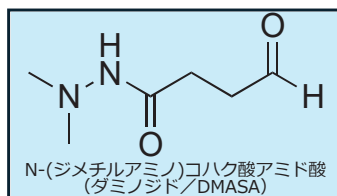
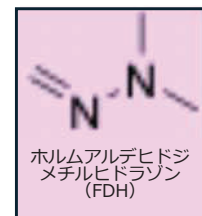
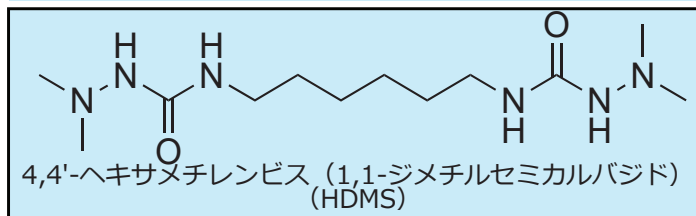
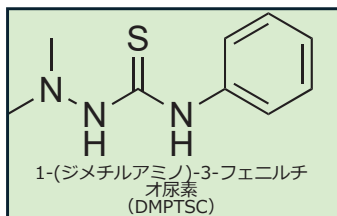
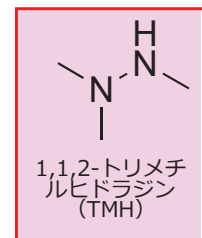
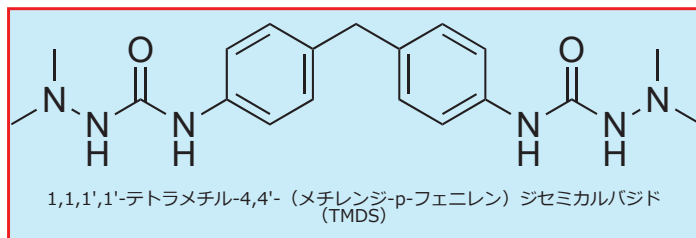
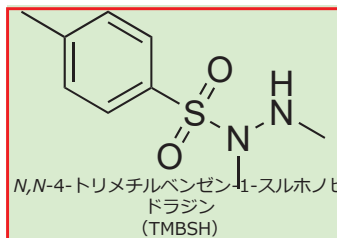
次に、化合物捕捉に最適なカートリッジを検討した。

課題2：NDMA前駆体に対する最適カートリッジおよび抽出法の決定

NDMA前駆体の代表的構造（12種）

10

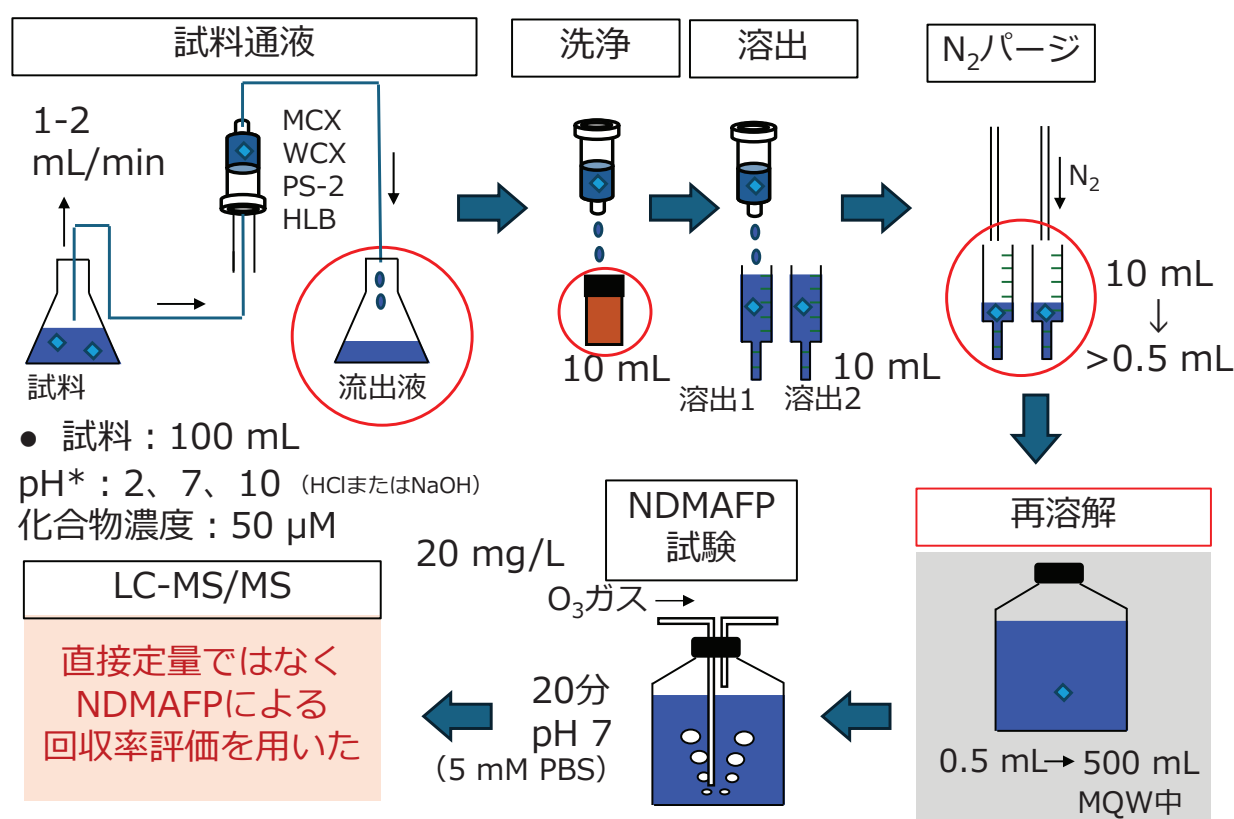
(アミドNの $pK_a \approx 1$) (アミンNの $pK_a \approx 10-12$) (疎水性部位)



方法2：対象化合物の固相抽出

カートリッジ	PS-2 (Stable)	HLB (pH: 0-14)	WCX ($pK_a \approx 5$)	MCX ($pK_a < 1$)
	Sep-Pak PS-2 (500 mg)	Oasis HLB Plus RP 抽出カートリッジ (225 mg)	Oasis WCX Plus 抽出カートリッジ (225 mg)	Oasis MCX Plus 抽出カートリッジ (225 mg)
コンディショニング (10 mL)	<ul style="list-style-type: none"> MeOH MQW 	<ul style="list-style-type: none"> MeOH MQW 	<ul style="list-style-type: none"> MeOH MQW + NH₃ 5% MQW 	<ul style="list-style-type: none"> MeOH MQW + HCOOH 2% MQW
洗浄 (10 mL)	N ₂ ガス下で1.5時間乾燥	<ul style="list-style-type: none"> MQW 	<ul style="list-style-type: none"> MQW + NH₃ 5% 	<ul style="list-style-type: none"> MQW + HCOOH 2%
溶出1 (10 mL)	<ul style="list-style-type: none"> MeOH 	<ul style="list-style-type: none"> MeOH 	<ul style="list-style-type: none"> MeOH 	<ul style="list-style-type: none"> MeOH
溶出2 (10 mL)	-	-	<ul style="list-style-type: none"> MeOH + HCOOH 2% 	<ul style="list-style-type: none"> MeOH + NH₃ 5%

MQW : Milli-Q水 ; MeOH : メタノール ; HCOOH : ギ酸

方法2：NDMA前駆体に対する最適カートリッジ¹²の選定および抽出法の検討

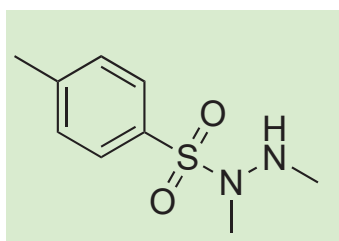
NDMA抽出方法

	AC2	Florisil	AC2 (負荷後) - Florisil
コンディショニング (20 mL)	ジクロロメタン/ ジエチルエーテル (50:50)	ヘキサン	/
	MeOH	ジクロロメタン/ ジエチルエーテル (50:50)	
	MQW	—	
乾燥	N ₂ パージ (1.5時間)		
溶出 (10 mL)			ジクロロメタン/ ジエチルエーテル (50:50)

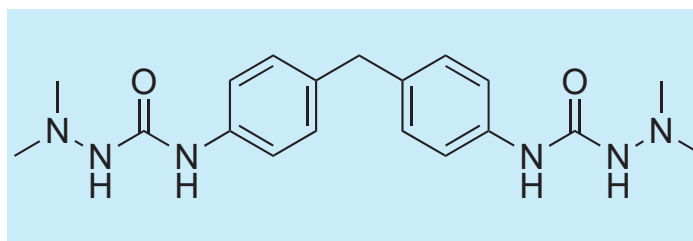
NDMAの抽出法は既報¹⁾に基づき決定した。

1) Kosaka, Koji, et al. *Environmental science & technology* 48.19 (2014)

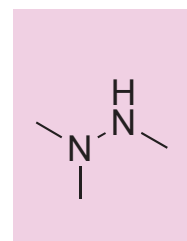
課題2a：3種の化学物質を用いた最適カートリッジおよび抽出法の検討



TMBSH

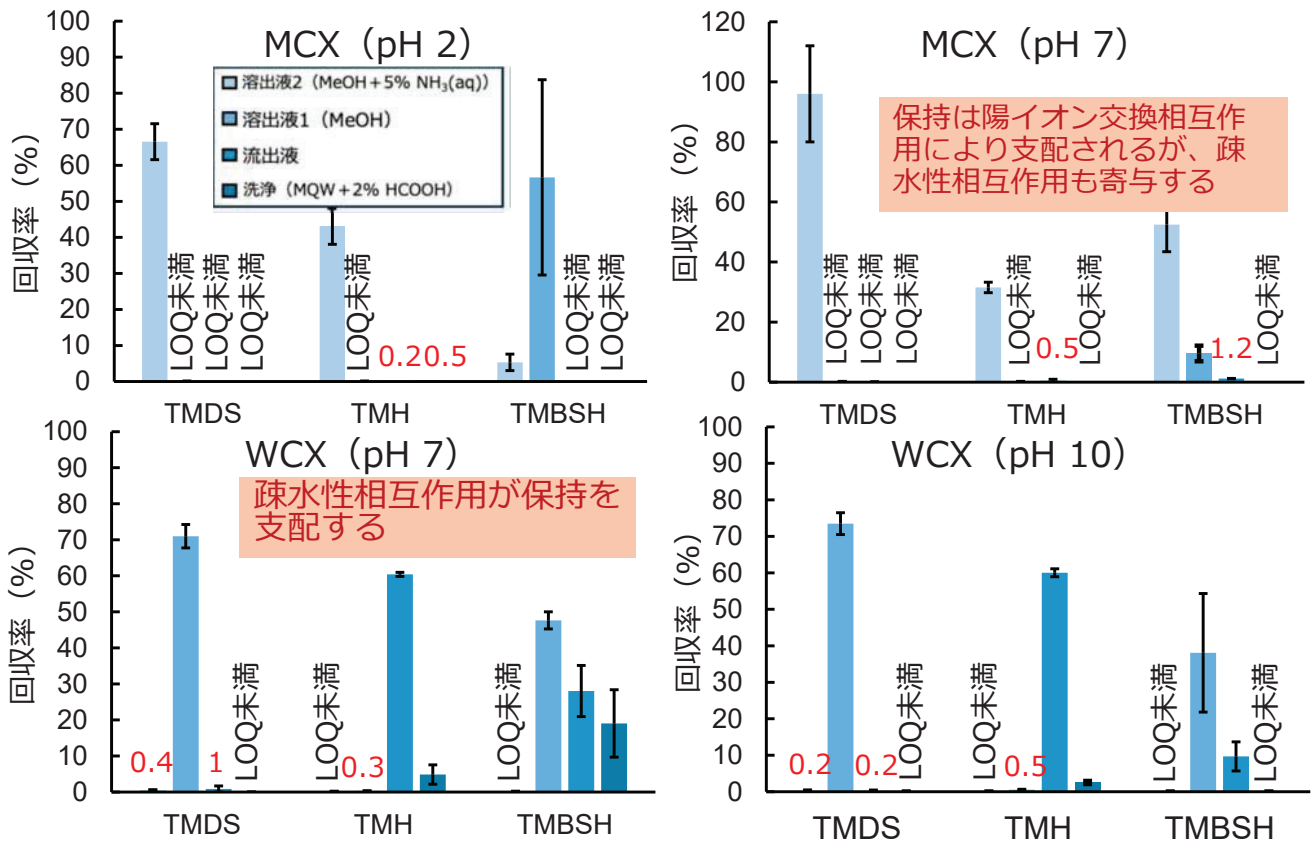


TMDS

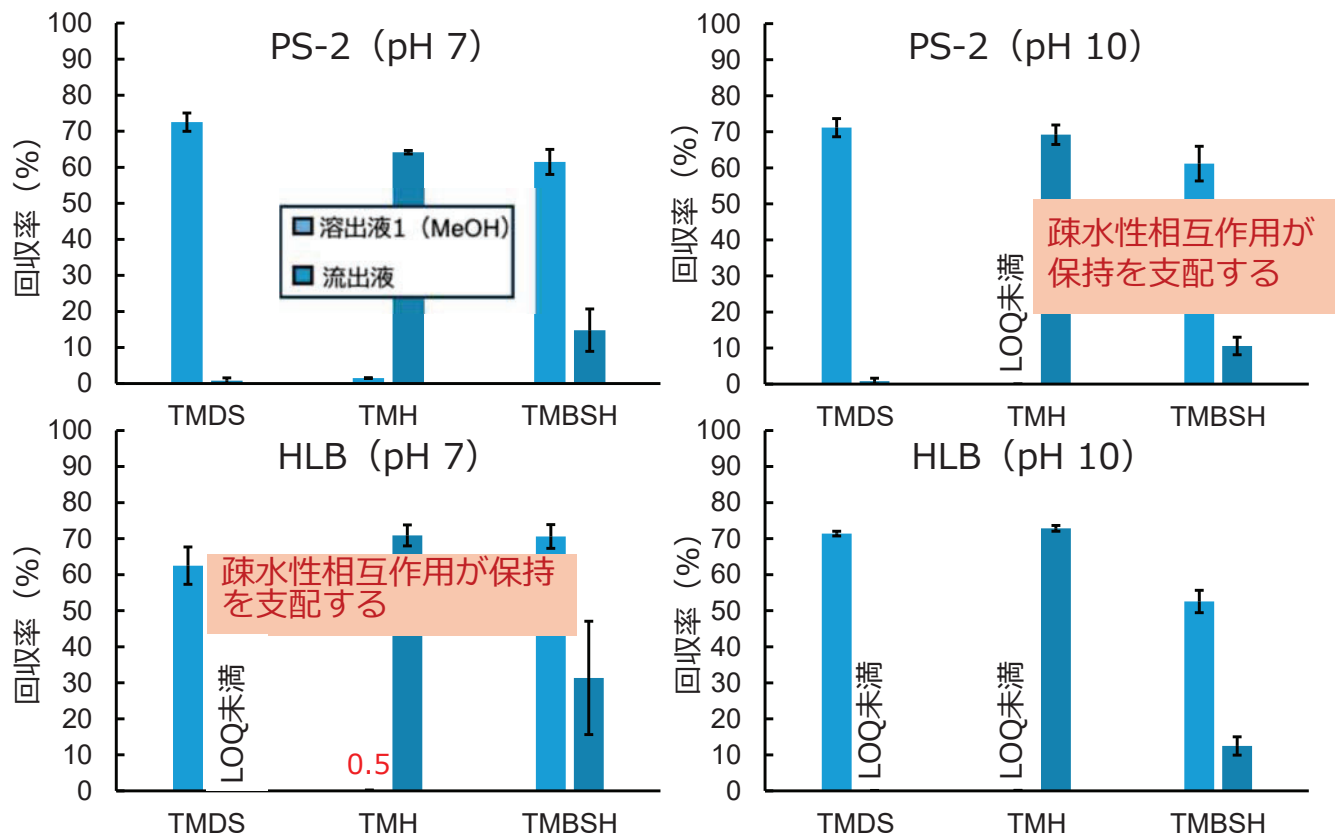


TMH

結果2a：3種の代表構造に対するカートリッジ比較¹⁵



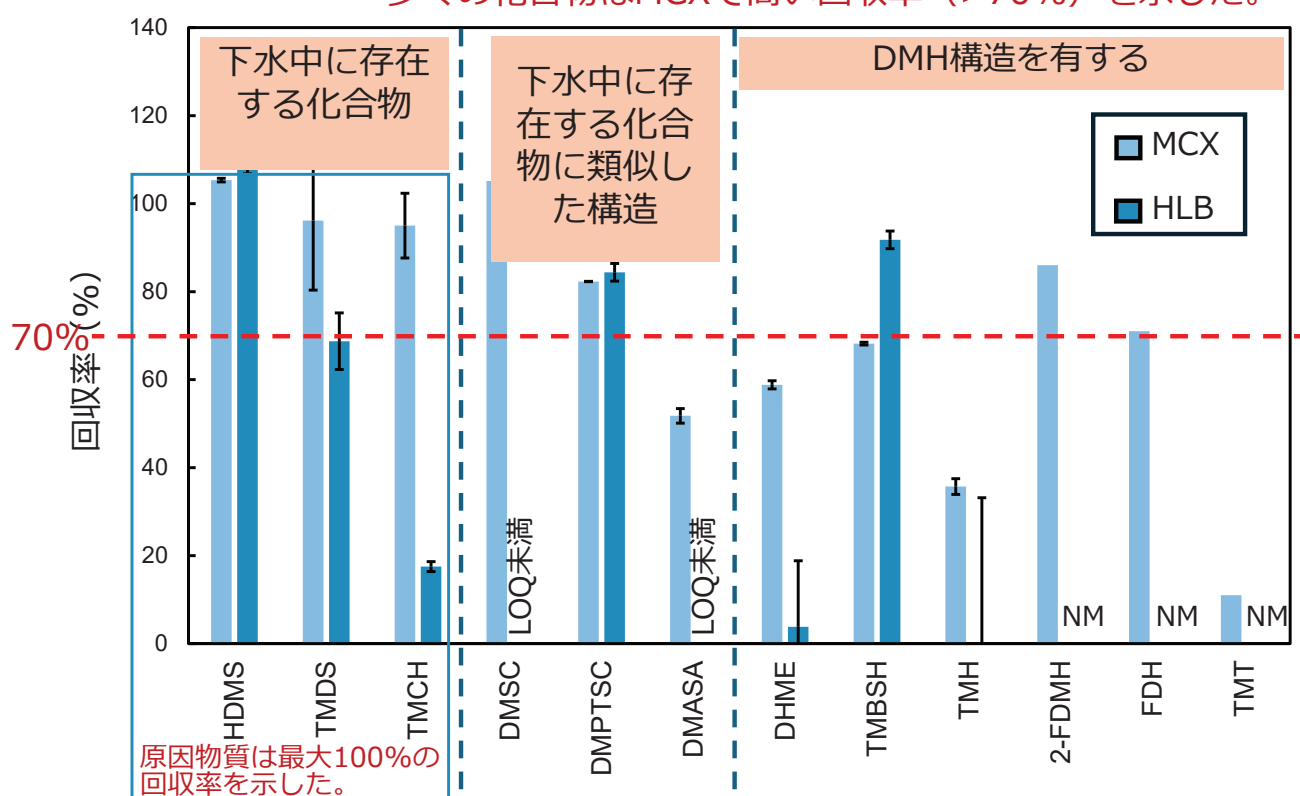
結果2b：3種の代表構造に対するカートリッジ比較¹⁶



課題2b：pH 7におけるHLBおよびMCXを用いた全対象化合物の回収率評価

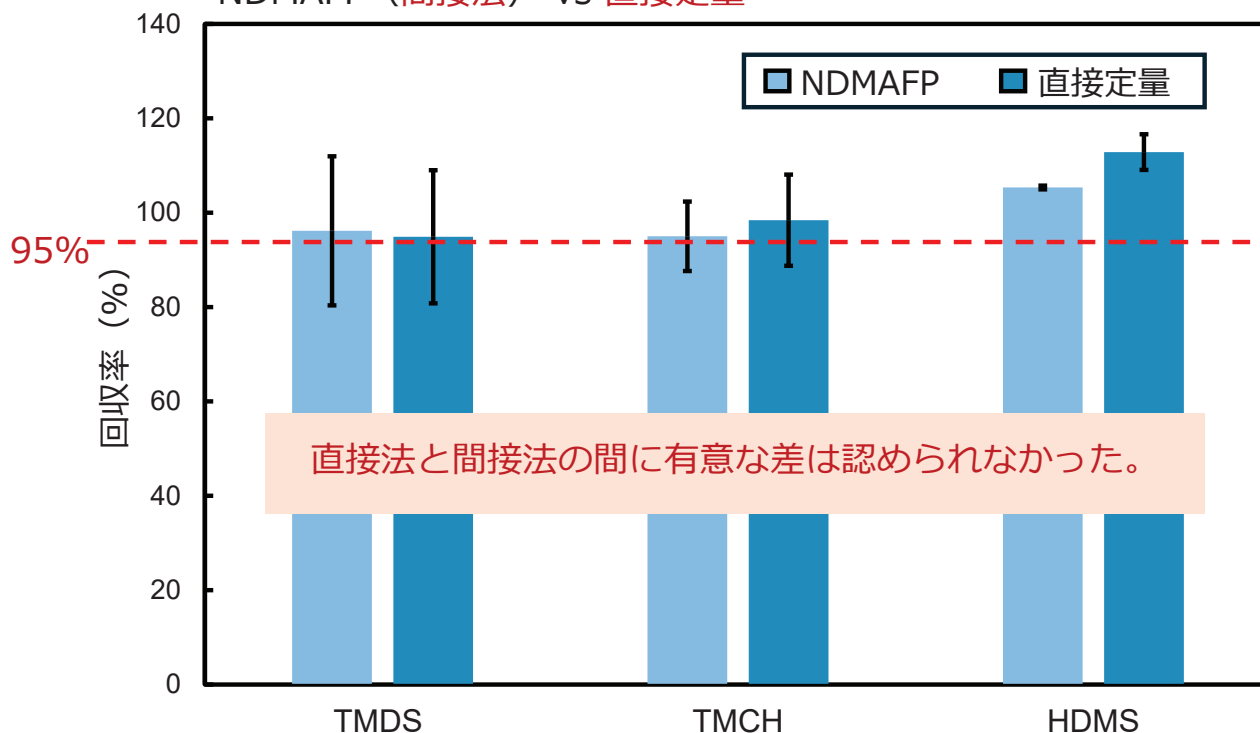
結果3：pH 7におけるMCXおよびHLBでの12化合物の比較¹⁸

多くの化合物はMCXで高い回収率 (>70%) を示した。



結果4：SPE法の妥当性確認 (分析法が回収率に与える影響)

NDMAFP (間接法) vs 直接定量



結果5：SPE法の妥当性確認 (試料マトリックスが回収率に与える影響)

化合物	マトリックス効果 (ME) (%)	備考	回収率 (%±%RSD)
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)

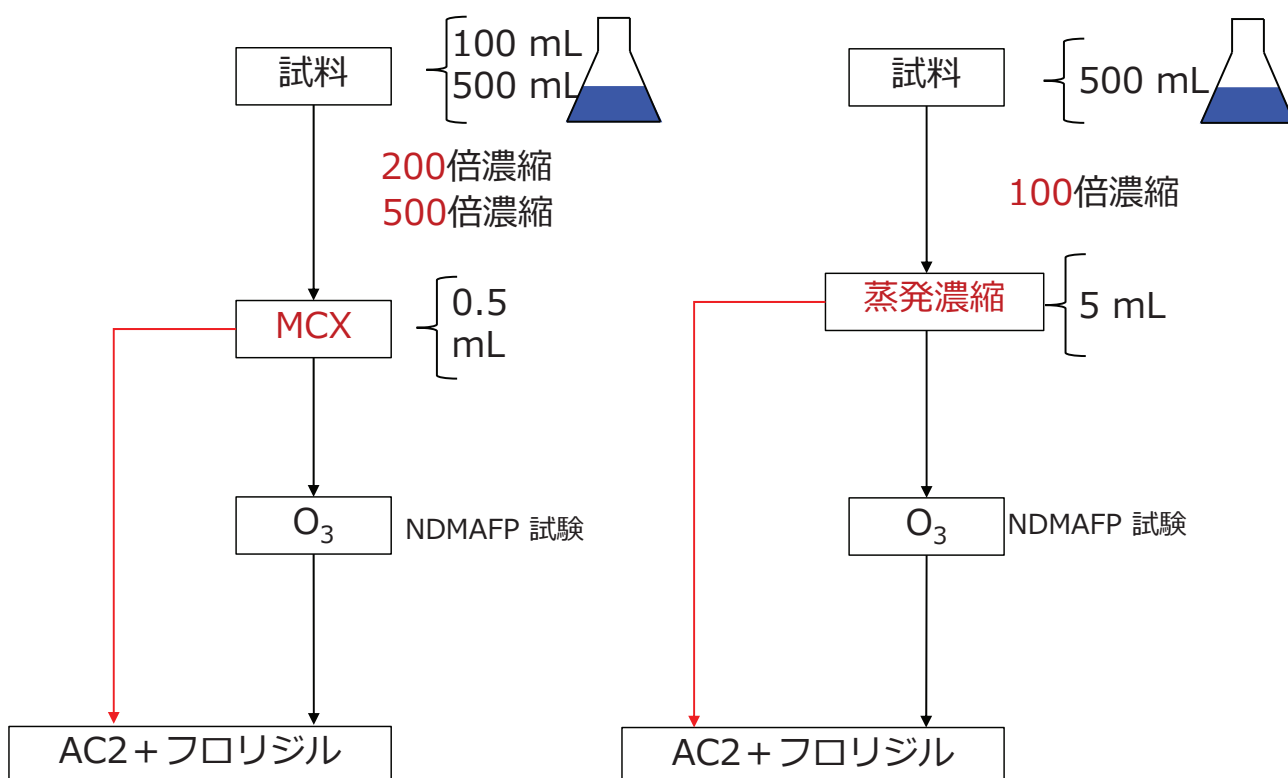
マトリックス：下水影響河川水；MQW：Milli-Q水；blank：未添加の試料マトリックス

$$\%ME = \left(\frac{NDMAFP_{matrix} - NDMAFP_{blank}}{NDMAFP_{MQW}} - 1 \right) \times 100$$

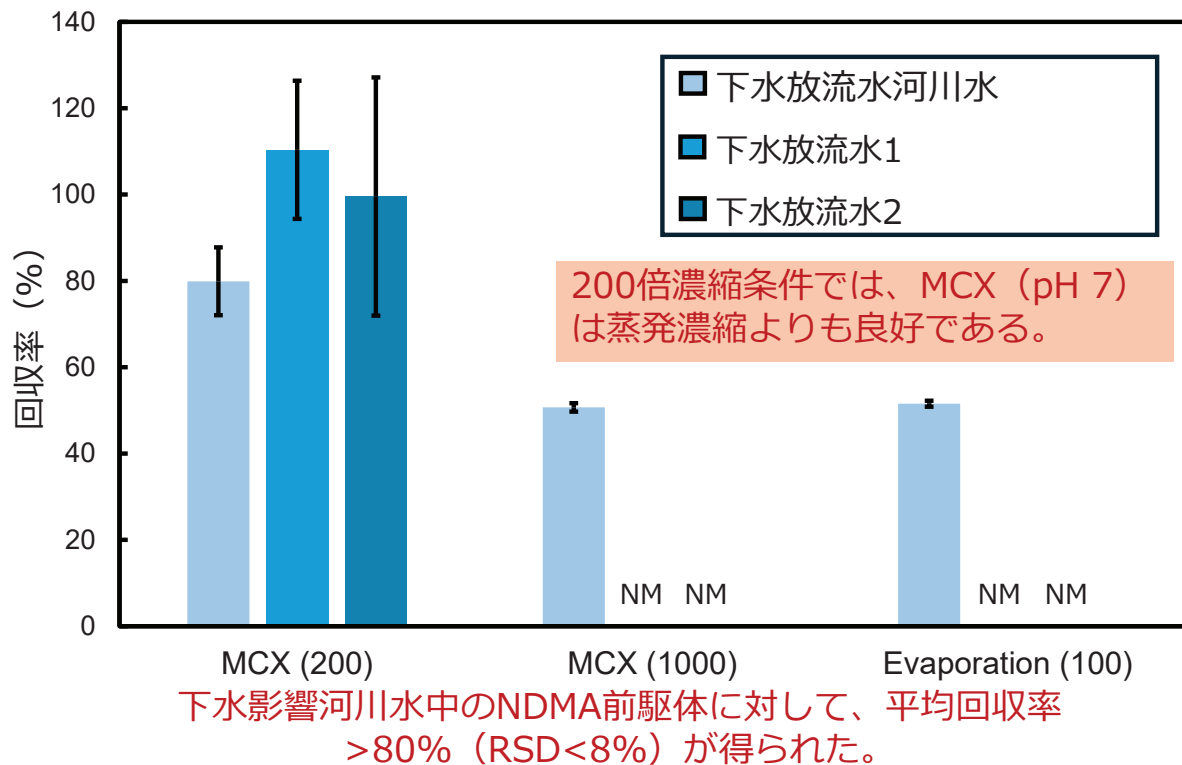
- 3種の原因物質 (HDMS、TMCH、TMDS) ではマトリックス効果はほぼ認められなかった。前駆体同定を主目的とするため、絶対回収率向上のためのマトリックス効果の完全除去は必須ではない。

課題2c：琵琶湖・淀川流域 試料への適用（pH 7の MCXによる前駆体抽出）

環境水からの前駆体抽出（MCX vs 蒸発濃縮）



結果6：pH 7のMCXによる環境水中前駆体の回収²³



24

まとめ

- 淀川流域水系におけるNDMA生成に関与する3種の原因物質 (TMCH、HDMS、TMDS) について、直接同時定量法を確立した。
- NDMA前駆体はpH 7条件下でMCXに良好に保持され、アルカリ性メタノール (MeOH) により回収可能であった。
- 保持機構には、陽イオン交換および逆相保持の双方が寄与する。

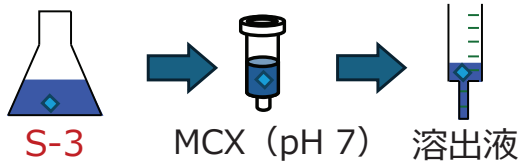
課題3：環境水中の既知／未知NDMA前駆体の特定

淀川流域で採取した試料のNDMA生成能²⁶ (NDMAFP)

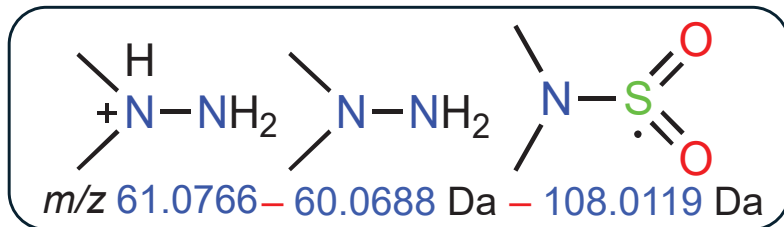
採水地点	試料区分	採取日	溶存有機炭素 (mg/L)	原水NDMA (ng/L)	NDMAFP (ng/L)
S-1	河川水	11. 27. 2025	1.84	4.88	9.16
S-2	河川水	11. 27. 2025	1.72	3.30	15.7
S-3	下水放流水	11. 27. 2025	4.72	24.3	77.0
S-4	下水放流水	11. 27. 2025	2.05	12.1	12.8
S-5	河川水	11. 27. 2025	2.43	3.13	14.9

- S-3ではNDMA前駆体濃度が高い。
- 次に、本研究で確立した手法および既報のフラグメンテーション解析に基づき、本試料中のNDMA前駆体を同定を行った。²⁾

方法4：環境水中の既知／未知NDMA前駆物質の同定²⁷



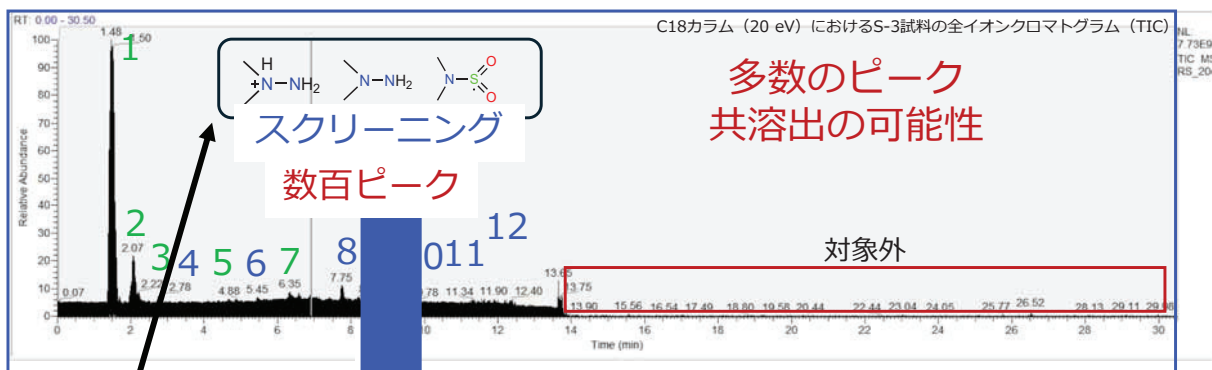
特異的フラグメンテーションパターンによる前駆体同定



2) Hinneh, Klon DC et al. *Environmental science & technology* 56.4 (2022)

NDMA前駆体に特異的な診断フラグメント²⁾

結果8：S-3試料における潜在的NDMA前駆物質ピークの抽出²⁸



Compound Discovererにより
7ピーク

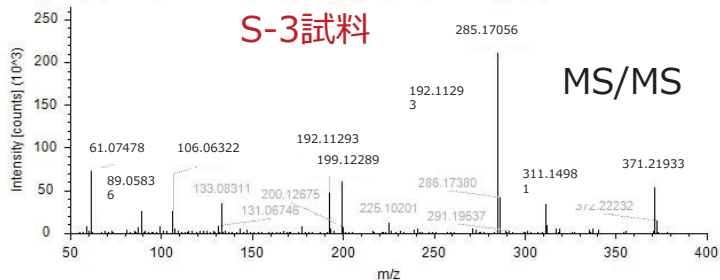
10, 20, 30 eV

精密質量 (m/z)	保持時間 (min)	分子式	精密質量 (m/z)	保持時間 (min)	化学式
145.1335	1.7	C7H8N2O	157.1336	2.7	C8H16N2O
199.1440	2.7	C10H18N2O2	143.1179	2.0	C7H14N2O
371.2186	7.4	C19H26N6O2	155.1542	5.1	C9H18N2
211.1441	5.1	C11H18N2O2			

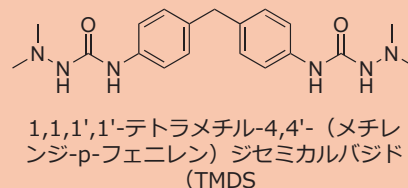
結果9 : m/z 371.2186の同定検討



RS_20eV (F2) #2574, RT=7.381 min, MS2, FTMS (+), (HCD, DDA, 371.2189@20, +1)



Same retention times and MS/MS data



m/z 371.2189はTMDSであることが示された (淀川流域における原因物質の一つ)。

まとめ

- 琵琶湖・淀川流域を含む環境水からNDMA前駆体を分離するため、pH 7条件下でMCXカートリッジを用いるSPE法を開発した。
- 本SPE法を高分解能質量分析 (HRMS ; 例 : Orbitrap) と組み合わせ、琵琶湖—淀川流域系におけるNDMA前駆物質の同定を実施した。
- TMDSは試料中に存在する前駆物質の一つとして同定された。

ご清聴ありがとうございました。