

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 30 日現在

機関番号：83201

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22580383

研究課題名（和文） 難分解性金属キレート剤を指標とした水環境汚染実態の解明

研究課題名（英文） Studies on the distribution of chelating agents in the aquatic environment - as an indicator of water pollution -

研究代表者

健名 智子（KEMMEI TOMOKO）

富山県衛生研究所・化学部・副主幹研究員

研究者番号：60416089

研究成果の概要（和文）：金属キレート剤であるアミノポリカルボン酸類(APCAs)を指標として化学汚染物質の水環境汚染実態を解明するため，APCAsの環境水中微量分析法を開発した．河川水～汽水～海水と塩濃度の異なる環境水試料中のAPCAsは，活性炭固相カートリッジを用いる分離濃縮を組み合わせるにより，HPLCを用いて分析することができた．またこのHPLC法を，食品中EDTAの分析にも応用した．

研究成果の概要（英文）：The chelating agent APCAs (Aminopolycarboxylic acids) are widely used, and as a result are showing up widely in the aquatic environment. To clarify the level of APCAs in water environment, we developed a preconcentration procedure for measuring APCAs concentration in water samples consists of various salinity by HPLC. A convenient HPLC method for quantitative determination of EDTA in foods was also developed.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2012年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：衛生化学

科研費の分科・細目：境界農学・環境農学

キーワード：金属キレート剤・HPLC法・水環境汚染

1. 研究開始当初の背景

エチレンジアミン四酢酸(EDTA)などのアミノポリカルボン酸系金属キレート剤(APCAs)は，世界中で幅広く使われている．使用されたAPCAsは主に水系に放出されるが，極めて安定なことから水環境中に広く残留していると考えられている．しかし，これまで高感度かつ簡便な分析法がなかったため，金属キレート剤の環境動態を詳細に検討した報告例はなかった．そこで我々は，2006

～2008年度の科学研究費補助金・基盤研究(C)「大量に排出される金属キレート剤が重金属の環境動態をどう変化させるか？」において，APCAsのHPLC法による一斉分析法を確立するとともに，石鹼洗浄剤に含まれるAPCAsの分析に応用した．さらに陰イオン交換固相カートリッジを用いる分離濃縮を組み合わせるにより，河川水の微量APCAsの定量に成功した．この方法を用い富山県内の西部を流れる小矢部川河川水試料につい

で測定を行ったところ、EDTA が河川水中に広く、またジエチレントリアミン五酢酸(DTPA) が局所的に高濃度に存在することを確認した。

2. 研究の目的

本研究は、分析対象を河川水～海水に至る水環境全般に広げ、金属キレート剤を指標として化学汚染物質の水環境実態を解明することを目的とした。APCAs は、毒性はさほど高くなく、生物濃縮性も低い化合物であるが、難分解性であること、現在も汎用されていること、環境中では主に水域に分布することから、これを指標として水域における化学物質の汚染源や輸送過程を推定することができる考えたためである。

先に我々が開発した陰イオン交換固相カートリッジを用いる前処理法はマトリックスとしての陰イオンの影響を強く受けた。そこで、分析対象を河川水と比べマトリックスを多く含む、汽水～海水へと広げるために、活性炭カートリッジを用いた固相抽出法を検討した。さまざまな塩濃度の水試料中の APCAs を分離濃縮できる固相抽出法を確立し、HPLC による APCAs 分析に適用した。

3. 研究の方法

(1) APCAs は極性が高く通常の固相では保持されにくい。また自然環境中では様々な重金属イオンと錯塩を形成している。APCAs の鉄錯体の安定度定数の高さを利用し、APCAs を Fe()-APCAs として活性炭カートリッジを用いて固相抽出する方法を検討した。

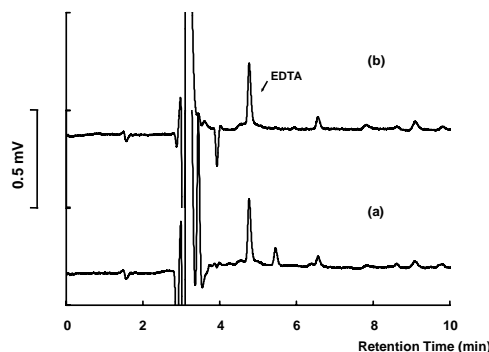
(2) 日本海側の半閉鎖性海域である富山湾とそこに流入する河川について、周辺環境を調査し、体系的な調査地点(採水地点・採水深度等)を選定した。すなわち、沿岸海域・河川周辺の工場・下水処理場等の位置および橋や海岸線の状況から調査地点を決めた。選定した採水地点で、年間を通じて採水した試料について APCAs の分析を行った。

(3) HPLC による APCAs の一斉分析法の応用として、EDTA が食品添加物として使用されていることから、食品中の EDTA の分析法を開発した。マトリックスの多い食品中の EDTA を分析するための前処理法を検討するとともに、HPLC 法を食品中の EDTA を測定できるよう改良した。

4. 研究成果

(1) EDTA をあらかじめ鉄錯体として活性炭カートリッジに吸着させ、塩酸含有メタノールを用いて溶出、これを濃縮乾固したのち移動相に溶解し HPLC 法により分析する方法を開発した。この方法により海水中の EDTA を 1.0 nM まで定量することが可能となった。その方法を小矢部川河口付近の海水サンプルに適

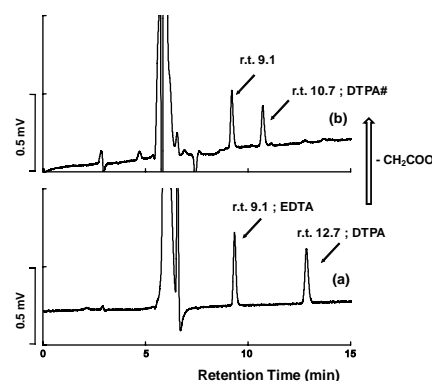
用し、これらの結果をまとめて、Analytica Chimica Acta 誌に投稿した(雑誌論文, 学会発表 -)。



図(1) (a)2010.5.11採水 小矢部川河口1km先表層海水 および (b)10 nM EDTA 標準水溶液 それぞれを活性炭カートリッジで抽出したクロマトグラム

Sunniest RP-AQUA 3 μ m, 150 mm \times 4.6 mm I.D. カラム (2本直列) 使用
移動相: 100 μ M 塩化第二鉄含有 5 mM 硫酸

(2) EDTA とともに河川水中での存在が確認されている DTPA について活性炭固相カートリッジにより濃縮について検討した。DTPA を EDTA と同様に濃縮し HPLC 法により分析したところ、DTPA 溶出部にピークは見られず、DTPA より早い保持時間にピークが見られた。このピークについて LC-MS/MS により解析を行ったところ、DTPA からカルボキシメチル基が1つ外れたものの鉄錯体のマススペクトルと一致した。そこで、このピークを用いて海水中の DTPA を分析する最適条件について検討し、海水中の DTPA を 1.0 nM まで定量する方法を確立した。(学会発表 -)。



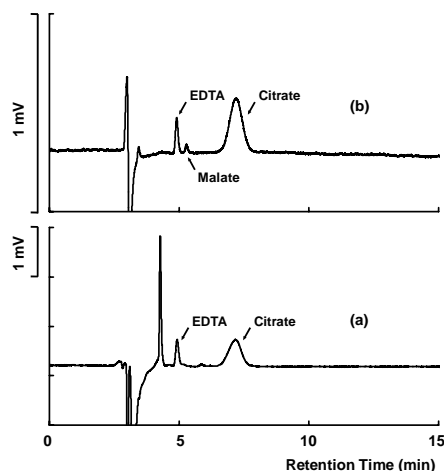
図(2) (a) 1 μ M EDTA・DTPA 標準水溶液のクロマトグラム および (b) 10 nM EDTA・DTPA 標準水溶液を活性炭カートリッジで抽出した (100倍濃縮) クロマトグラム

Develosil RPAQUEOUS カラム 5 μ m, 250 mm \times 4.6 mm I.D. カラム (2本直列) 使用
移動相: 100 μ M 塩化第二鉄含有 5 mM 硫酸

(3) 活性炭固相カートリッジを用いる濃縮法を、塩濃度の異なる様々な環境水(河川水・汽水・海水)中の EDTA および DTPA の同時分析のための前処理方法へと改良した。富山県内の 5 つの河川水およびその河口付近

の海水について、年間を通じてサンプリングを行い(10箇所/月×12月)、開発した方法を適用した。今後得られたデータをもとに、水環境中の APCAs の動態を解析し、結果をまとめて学会誌に投稿する予定である。

(4)食品中にはクエン酸やリンゴ酸のような有機酸が含まれる。EDTA とこれら有機酸が同時に分析できるよう、これまでに開発した HPLC 法を改良した。また、食品中 EDTA を測定するための超音波抽出による簡便な前処理法を開発した。これらの方法を用いて液体・固体食品中の EDTA を測定し、結果をまとめて Food Chemistry 誌に投稿した(雑誌論文, 学会発表 -)。



図(3) (a)豆水煮缶(白いんげんまめ)および (b)缶入り炭酸飲料(ジンジャール)のクロマトグラム

Develosil RPAQUEOUS カラム5 μ m, 250 mm×4.6 mm I.D.カラム(1本)使用
移動相: 100 μ M 塩化第二鉄含有 5 mM 硫酸

5. 主な発表論文等

(研究代表者, 研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計2件)

Tomoko Kemmei, Shuji Kodama, Atsushi Yamamoto, Yoshinori Inoue, Kazuichi Hayakawa, Determination of ethylenediaminetetraacetic acid in foods by reversed-phase high-performance liquid chromatography, Food Chemistry, 査読有, 138, 2013, 866-869,
DOI:10.1016/j.foodchem.2012.11.103

Tomoko Kemmei, Shuji Kodama, Hironori Fujishima, Atsushi Yamamoto, Yoshinori Inoue, Kazuichi Hayakawa, Determination of ethylenediaminetetraacetic acid in sea water by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography, Analytica Chimica Acta, 査読有, 709,

2012, 54-58,
DOI:10.1016/j.aca.2011.10.011

[学会発表](計9件)

健名 智子, 食品中 EDTA の HPLC 法による分析, 日本薬学会第 133 年会, 2013.3.28, パシフィコ横浜

健名 智子, HPLC 法による食品中 EDTA の分析, 日本分析化学会第 61 年会, 2012.9.20, 金沢大学角間キャンパス

健名 智子, HPLC 法による食品中 EDTA の分析, 日本薬学会第 132 年会, 2012.3.29, 北海道大学札幌キャンパス

Tomoko Kemmei, Determination of Aminopolycarboxylic Acids in the basin of the Oyabe River, The 5th Asia-Pacific Symposium on Ion Analysis, 2011.11.4, Guilin University of Technology, China

健名 智子, 小矢部川流域におけるアミノポリカルボン酸系金属キレート剤の分布, 日本分析化学会第 60 年会, 2011.9.16, 名古屋大学東山キャンパス

Tomoko Kemmei, Distribution of EDTA in the Water Area around the Mouth of the Oyabe River, IUPAC International Congress on Analytical Sciences 2011, 2011.5.24, Kyoto International Conference Center

健名 智子, 小矢部川河口周辺水域における EDTA の分布, 日本薬学会第 131 年会, 東日本大震災のため中止

Tomoko Kemmei, Determination of EDTA in Sea Water by Solid-Phase Extraction Combined with High-Performance Liquid Chromatography, The 4th Japan-China-Korea Joint Ion Analysis Symposium, 2010.12.10, Juroku Plaza, Gifu

健名 智子, 小矢部川下流部及びその河口海域における EDTA の分布, 日本分析化学会第 59 年会, 2010.9.17, 東北大学川内北キャンパス

6. 研究組織

(1)研究代表者

健名 智子 (KEMMEI TOMOKO)

富山県衛生研究所・化学部・副主幹研究員
研究者番号:60416089

(2)研究分担者

小玉 修嗣 (KODAMA SHUJI)
富山県衛生研究所・化学部・主幹研究員
研究者番号:70360807

山本 敦 (YAMAMOTO ATSUSHI)
中部大学・応用生物学部・教授
研究者番号:60360806

藤島 裕典 (FUJISHIMA HIRONORI)
富山県環境科学センター・水質課・
主任研究員
研究者番号: 80393099