

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 3 日現在

機関番号：17701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23760506

研究課題名(和文) 浄水処理により生成するニトロソアミン類のサブpptレベルでの動態解明

研究課題名(英文) Determination of N-nitrosamines at sub-ppt levels in tap water

研究代表者

児玉谷 仁 (Kodamatani, Hitoshi)

鹿児島大学・理工学研究科・助教

研究者番号：30434468

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円、(間接経費) 1,020,000円

研究成果の概要(和文)：近年、強い発がん性を持つとされるN-nitrosodimethylamine(NDMA)が、浄水処理過程において生成することが報告され新たな問題となっている。本研究では、報告者らが開発した高速液体クロマトグラフィー-オンライン紫外線照射-化学発光検出法を利用し、sub-pptレベルのNDMAを迅速に測定できる分析システムを確立し、日本の水道水におけるNDMAの存在状況とその挙動の一端を明らかにすることを目的に進めてきた。結果として、非常に簡易な前処理でsub-pptのNDMAを迅速に測定することができる測定法が確立された。そして、この分析法を利用した長期的なモニタリングを進め一定の知見を得た。

研究成果の概要(英文)：In recent years, N-nitrosodimethylamine (NDMA) which are potent mutagenic and carcinogenic compound in humans has been obtained as the byproducts of chlorine disinfection in drinking water supplies. Therefore, a sensitive and simple method for monitoring NDMA in tap water is urgently required. Recently, I developed a novel ultra-sensitive determination method for nitrosamines. This method is based on online UV irradiation after high-performance liquid chromatographic separation and subsequent luminol chemiluminescence detection.

In this study, I proposed a simple preparation procedure for measurement of NDMA in tap water. Furthermore, the developed method was used to monitor NDMA concentration in tap water. As the result, the seasonal change of concentration of NDMA in tap water was confirmed.

研究分野：分析化学

科研費の分科・細目：土木環境システム

キーワード：N-ニトロソジメチルアミン 消毒副生成物 水道水 化学発光 ルミノール HPLC 光化学反応

### 1. 研究開始当初の背景

近年、強い発がん性を持つとされるニトロソアミン類が、浄水処理過程において生成することが報告され、新たな問題となっている。日本においても平成 21 年より N-ニトロソジメチルアミン (NDMA) が水道水質基準の要検討項目として取り上げられ、その存在状況や生成機構についての知見の集積が求められている。すでに日本の水道水やその原水から数 ng/L の NDMA の存在が報告されているが、それがどのような要因で生成しているのかは詳細には明らかになっていない。現在、NDMA 測定に用いられている分析法 (固相抽出 - LC-MS/MS 法) では、ng/L レベルの測定を実施するためには 1000 倍もの濃縮操作が必要である。つまり、この煩雑な分析法が NDMA 研究を進めるうえでボトルネックとなっているといえる。

### 2. 研究の目的

本研究は、報告者らが開発した高速液体クロマトグラフィー - オンライン紫外線照射 - 化学発光検出法 (HPLC-PR-CL 法) を利用し、水道水中における sub-ppt レベルの NDMA を迅速に測定できる分析システムを確立し、日本の水道水における NDMA の存在状況とその挙動の一端を明らかにすることを目的に研究を進めた。

### 3. 研究の方法

水道水中の NDMA の継続的なモニタリングを可能とするため、測定システムの最適化および試料の前処理法の確立を進めた。

さらに日本の水道水中の NDMA の存在濃度を明らかにするため、全国 13 か所の水道水を採取し NDMA の測定を行った。そして特に高い NDMA 濃度が検出された地域と報告者の居住地である鹿児島市で年間を通じた継続的なモニタリングを進めた。

### 4. 研究成果

#### <水道水中 NDMA の分析法の確立>

開発測定システムは、塩基性条件下で NDMA に紫外線照射することにより生成した物質とルミノールの発光反応を検出するものである (Kodamatani et.al, J.Chromatogr A, 1216, 3163-3167, 2009)。そのため塩基性溶液を HPLC 溶離液として利用しなければならず、カラムの劣化が著しく、夾雑物との分離を難しくするだけでなく、ランニングコストの増大も引き起こしていた。そこで HPLC 分離後、紫外線を照射するまえに pH を塩基性側に調整する第三のポンプを採用したシステムとした (図 1)。このシステムによる NDMA の定量下限 (S/N=10) は 0.6 ng/であった。

分離カラムが長期的に利用できるようになったことから、カラム長を 250mm から 350mm まで伸ばし高分離にしたところ、これまで NDMA だと認識していたピークが 2 つに分かれ、他物質を NDMA と誤認していた

ことが明らかになった。開発法は無濃縮・無処理で ng/L レベルの NDMA を測定できるが、実試料においては、このように様々な夾雑物の影響を受けることが確認された。そこで夾雑物を除去できる前処理法について検討を進めた。

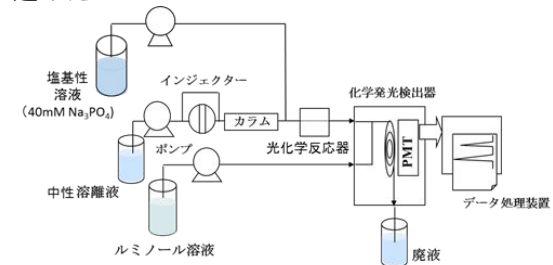


図 1 測定システムの構成

水道水には残留塩素物質が存在する。これは酸化力を持つことから、ルミノールと発光反応を起こす。結果、NDMA の検出を妨害するピークが生じることとなる。この残留塩素由来のピークを除去するため、アスコルビン酸を除去剤として添加することとした。0.1 mM となるように水道水にアスコルビン酸を添加したところ、残留塩素由来と考えられるピークが消滅することが確認された (図 2)。また NDMA はイオン性ではないため、陰イオン交換や陽イオン交換を実施することで夾雑物のみを効率よく除去できると考えた。さらに NDMA は親水性であるため、疎水性物質の検出は連続測定を妨害することとなる。

諸検討の結果、試料水に 1 mM となるようにアスコルビン酸添加後 (図 2)、逆相固相と陰イオン交換の両方の性質をもつ Oasis Max 固相抽出剤 (30 mg/1 mL, Waters) に試料を通して、そのろ液を試料とする (図 3) ことで水道水中の NDMA を効率よく連続測定することが可能となった。

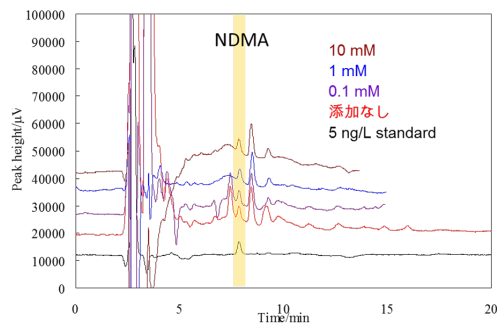


図 2 水道水へのアスコルビン酸添加効果

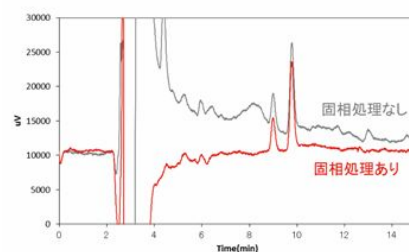


図 3 固相抽出による測定妨害物質除去

#### <全国調査>

2012年2月, 8月に全国13か所で水道水を連続1週間採取し測定を進めた。結果, ほとんどの地域でNDMAは検出されなかったが, 一部の地域でNDMAの存在が確認された。(NDMAのピークを誤認していた時期であるため正確なNDMA濃度データはない。)

#### <季節変動>

全国調査で比較的高いNDMAが測定された地域(高度浄化処理採用)で2013年5月より週2回の水道水試料の採取を依頼し, 測定を進めた(現在進行中)。水質(塩化物イオン, 硫酸イオン, 硝酸イオン, 総有機炭素の各濃度)は年間を通してほとんど変化がないのにもかかわらず, NDMA濃度は, 冬期に向けて徐々に高くなり, 1月で最大4.6 ng/Lとなった(図4)。そして, また徐々に減少していることを確認している。この季節変動が何に由来しているのか現時点では不明である。

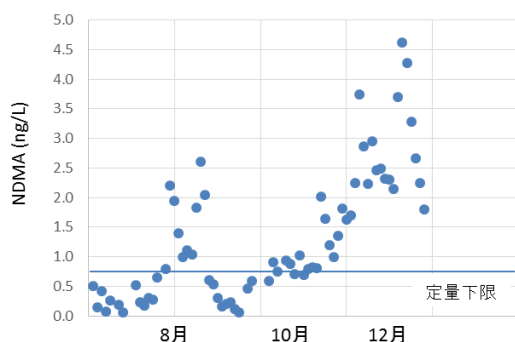


図4 NDMA濃度の季節変動

#### <鹿児島市水の年間モニタリング>

鹿児島市水道局の協力の下, 水道水およびその原水の測定を進めた。3か所の浄水場から2週間に一度試料を採取し冷蔵保管していたものを回収し測定を進めた。水道水のNDMA濃度は年間を通し1 ng/L以下であった。また原水からはNDMAは検出されなかった。しかしながら, 2013年11月~2014年1月の試料から原水・水道水を問わず数十 ng/LのNDMAが検出された。この原因は不明であるが, 試料を保存していた冷蔵庫に超純水を一定期間保存し, 試料として測定を進めた結果, NDMAが検出された。このことから, 試料の保管中に起こったコンタミネーションである可能性が高い。試料の保存状態, 試料保存容器等にも留意すべきであることが確認された。

NDMAが生成する可能性があるか検討するため, 試料水100 mLに塩素消毒処理を加え, NDMAの生成濃度を確認した。2mMとなるように添加試薬を試料水に加え, 10日間室温保管した後, 過剰の添加試薬を分解するためにアスコルビン酸を加え測定に用いた。結果を表1に示す。

表1 NDMAの生成実験

試料水	添加試薬	NDMA (ng/L)	sd	n
河頭原水	次亜塩素酸	0.0	0.0	3
	モノクロラミン	12.4	0.5	3
超純水	次亜塩素酸	0.0	0.0	3
	モノクロラミン	0.0	0.0	3

次亜塩素酸の添加ではNDMAの生成は確認されなかったが, モノクロラミンの添加では12.4 ng/LのNDMAが検出された。モノクロラミンは次亜塩素酸とアンモニアの反応により生成するため, アンモニア濃度がNDMA生成に大きな影響を与えている可能性が示唆された。

#### <まとめ>

本研究により, 実用に耐えうる ng/L レベルのNDMA監視法が確立された。開発法では濃縮等の時間がかかる前処理は必要なく非常に簡易かつ安価なシステムでNDMAのモニタリングが可能である。(1試料測定にかかる時間は前処理操作も含め15分以下である)今後, 継続したモニタリングを進め, NDMA生成についてもより詳細な検討を進めていく予定である。

#### <謝辞>

本研究にご協力を頂いた鹿児島市水道局の職員の方々に厚く御礼申し上げます。

#### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計3件)

1. Naoya Kishikawa, Naoko Kondo, Abena Amponsaa-Karikari, Hitoshi Kodamatani, Kaname Ohyama, Kenichiro Nakashima, Shigeo Yamazaki, Naotaka Kuroda, "Rapid determination of isoamyl nitrite in pharmaceutical preparations by flow injection analysis with on-line UV irradiation and luminol chemiluminescence detection", *Luminescence*, 29(1), 8-12, 2014. (査読あり) DOI: 10.1002/bio.2466

2. 児玉谷 仁, ルテニウム錯体化学発光反応におけるコリアクタント分子構造の最適化および環境・生体・食品中微量物質の分析, *分析化学*, 62(10), 891-901, 2013. (査読あり) ([https://www.jstage.jst.go.jp/article/bunsekikagaku/62/10/62\\_891/\\_article](https://www.jstage.jst.go.jp/article/bunsekikagaku/62/10/62_891/_article))

3. 児玉谷 仁, 富安 卓滋, クリーンテクノロジー-2013 9月号 P11-16 「微量化学物質を光らせて測る」(査読なし) ([https://www.nikko-pb.co.jp/products/detail.php?product\\_id=3093](https://www.nikko-pb.co.jp/products/detail.php?product_id=3093))

[学会発表](計6件)

1. ニトロソアミンを経由した第2アミンのHPLC-化学発光検出, 岩屋 良美, 永井 めぐみ, 児玉谷 仁, 山崎 重雄, 齊藤 恵逸, 第73回分析化学討論会(北海道大学, 函館)

キャンパス, 2013年5月18~19日)

2. 浄水処理過程におけるN-ニトロソジメチルアミンのモニタリング調査, 坂口 建, 児玉谷 仁, 橋口 尚樹, 有村 太一, 吉本 悟, 神崎 亮, 富安 卓滋, 第73回分析化学討論会(北海道大学, 函館キャンパス, 2013年5月18~19日)

3. HPLC-化学発光検出法による水道水中 N-ニトロソアミン類の分析, 伊藤 慎也・坂口 建・児玉谷 仁・山崎 重雄・富安 卓滋・齊藤 恵逸, 日本分析化学会第61年会(金沢大学, 2012年9月19~21日)

4. ルテニウム錯体化学発光反応におけるコリアクタント分子構造の最適化および環境・生体・食品中微量物質の分析, 児玉谷 仁, 日本分析化学会第61年会(金沢大学, 2012年9月19~21日)

5. 固相抽出と HPLC - 化学発光検出法を組み合わせた N-ニトロソアミン類の高感度分析, 伊藤慎也, 児玉谷 仁, 山崎重雄, 富安卓滋, 齊藤恵逸, 第72回分析化学討論会, 鹿児島大学(2012年5月19, 20日)

6. 水道水中 N-ニトロソジメチルアミンの高感度分析法の開発, 児玉谷 仁, 伊藤 慎也, 齊藤 恵逸, 富安 卓滋, 第46回日本水環境学会年会, 東洋大学(2012年3月14-16日)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

児玉谷 仁 (KODAMATANI, Hitoshi)

鹿児島大学・理工学研究科・助教

研究者番号: 30434468