

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 20 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25513003

研究課題名(和文) 新規の吸着剤の開発と環境モニタリングへの応用

研究課題名(英文) Development of Novel Adsorbent and Application for Environmental Monitoring

研究代表者

中野 武 (Nakano, Takeshi)

大阪大学・環境安全研究管理センター・招へい教授

研究者番号：00446791

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：尿中代謝物分析用の多機能吸着剤を合成し、尿中バイオマーカーの分析法を開発し、前処理を最適化した。LC-MS/MS 分析法の高選択化・高感度化と尿中DNA 損傷性バイオマーカー測定法を開発した。パッシブサンプラー用焼結樹脂多孔体を用いた、大気モニタリング手法を開発した。セルビアのベオグラード市内において、PUFを用いた大気モニタリングを実施し、PCBやPOPsの異性体組成や濃度レベルを推定した。パッシブサンプリングによる大気モニタリングの有用性を示した。

研究成果の概要(英文)：Multifunctional adsorbent for metabolite analysis in Urine was synthesized, analytical methods for biomarker in urine was developed. Pretreatment procedure was optimized. High selective and high sensitive method using LC-MS/MS analysis was established for 8-hydroxy-2-deoxyguanosine(8-OHdG) as urinary DNA damaging biomarker. Air monitoring method was developed using sintered porous resin body as passive sampling material. Air monitoring using PUF in Belgrade city, Serbia were conducted to estimate the isomeric distribution and concentration levels of PCB and POPs.

研究分野：環境化学

キーワード：吸着剤 PCB VOC Passive sampler PUF

## 1. 研究開始当初の背景

環境汚染物質による曝露状況の把握には、従来から、環境中化学物質のモニタリング結果が活用されてきた。しかし、曝露状況や生体影響を正確に把握するためには、環境中の化学物質のモニタリングだけでは不十分である。そこで、生体試料中汚染物質の測定による評価法が提案され、種々研究が始められているが未だ発展途上である。生体試料としては、血液、尿、組織などがあげられるが、中でも尿は好適な測定対象である。尿中汚染物質濃度から曝露状況が把握できるだけでなく、汚染物質の代謝物濃度及びその比率から健康状況の把握が可能となる。また、採取も容易であるためオンサイトでの経時的なサンプリングも可能である。

しかし、尿をはじめとする生体試料中には分析を妨害する様々な夾雑成分が高濃度で存在しているため、対象成分の測定は決して容易なものではない。多様でかつ微量の環境汚染物質を抽出した後、多段階の精製工程を経なければ測定に供することはできない。環境汚染物質の測定には高感度で多成分一斉分析が可能な LC/MS や GC/MS が用いられるが、MS は夾雑成分によりイオン化効率が大きく変化する。GC/MS ではイオン化効率の促進、LC/MS では抑制により、それぞれ増感及び減感現象が生じる。これらの影響を低減するために精製工程がさらに煩雑になり、対象成分の損失や汚染が生じて分析精度の低下を招いてしまう。つまり、生体影響評価には生体試料を分析するべきなのであるが、測定法上の問題が評価手法の確立において大きな障壁となっている。

環境汚染物質の多くは脂溶性の高い化合物であるため、尿からの抽出には疎水性相互作用型の固相抽出剤が多用される。疎水性相互作用のような非選択的な相互作用では夾雑成分も捕捉されるため、対象成分を高度に抽出・精製することは困難である。一方、代謝物は親水性化合物であるため、疎水性相互作用で高度捕捉することは困難である。

## 2. 研究の目的

(1) 新規吸着剤の設計・合成・開発  
各種化学物質のモニタリング用新規吸着剤の設計・合成技術に加え、極微量成分の環境モニタリングに対応する高感度選択的分析技術が不可欠である。本研究では、これらの課題に対する懸案の未解決問題である「選択的吸着捕集」「選択的溶出」のため、包接型吸着剤、多官能型・逆相・イオン交換型・両性イオン交換基導入型・ハロゲン選択性吸着剤、等の各種新規吸着剤を設計・合成する。また、気体透過膜への透過性を利用した大気パッシブサンプリング用素材の新規開発を行う。

多機能型高選択的吸着剤の開発  
そこで我々は、図 1 に示すような、対象成分

の特異的官能基を認識できるような官能基を複数持つ高選択的固相抽出剤を開発し、それらを利用した尿中の汚染物質及びその代謝物の測定法を開発することを本研究の目的とした。

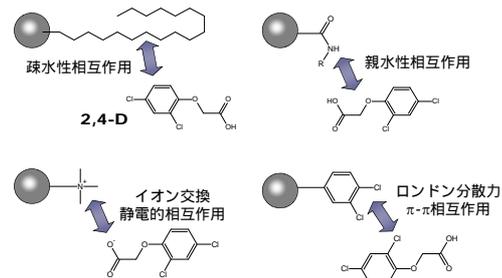


図 1 多機能型吸着剤の官能基と相互作用

我々は、種々の官能基を有する固相抽出剤を合成し、抽出選択性及び夾雑成分との分離能の向上に関して研究してきた。例えば、疎水性基材にイオン交換基を導入した固相抽出剤は、弱イオン性の化合物であっても強固に捕捉し、強溶媒でも容易に溶出されないため夾雑成分との分離が可能であることを確認している。これらの知見を基に、食品中水溶性農薬及び尿中環境汚染物質代謝物の抽出に利用している。さらに、両性イオン交換基を導入した固相抽出剤を合成し、極性化合物の抽出精製に関する研究も行っている。

極微量成分の測定法開発においては固相抽出剤・吸着剤の選択性の向上は必須課題である。そこで、上記知見及び基礎検討を基に、環境汚染物質に対して特異性を示す多数の官能基を導入した多足型固相抽出剤・吸着剤の設計・合成を行う。多足型固相抽出剤・吸着剤では複数の官能基に基づく相互作用により対象成分を強固に捕捉可能であるため、分離能の向上により夾雑成分の妨害を低減できると共に濃縮率も向上可能となる。結果として、極低濃度成分の測定が可能となる。

### (2) 環境モニタリングへの応用

複合相互作用を発現する新規な固相抽出剤・吸着剤を試作し、尿中環境汚染物質及びその代謝物測定法の確立を最終目的として本研究を行う。

新規に開発した選択的な前処理と、高感度選択的な LC/MS 分析、GC/MS 分析により、環境モニタリング手法を最適化し、神戸大学附属練習船深江丸の研究航海においてサンプリングした、大気試料の VOC、大気、尿試料の PAH、PAH 代謝物のモニタリングにより、本研究の環境モニタリング手法の有効性を実証する。各種吸着剤を用いた大気パッシブサンプリングにより、その特性を比較し、多くの有機汚染物の最適な吸着剤を検討する。

### 3. 研究の方法

我々は、長年に渡る環境モニタリング技術及び知見を基に、無電源環境においても長時間サンプリングが可能な大気モニタリング用パッシブサンプラーを開発する。

#### (1) 新規吸着剤の設計・開発

多機能型吸着剤を開発し、選択的吸着・選択的溶出による夾雑成分の除去手法を確立し、大気モニタリング用パッシブサンプラーを試作・開発する。

#### (2) 環境モニタリングへの応用と曝露評価

パッシブサンプラーを用いた大気中有害化学物質濃度のモニタリング手法を開発する。ヒト尿中バイオマーカーを簡便迅速に測定できる前処理-分析システムを開発する。ヒト尿中バイオマーカー測定により、ヒトのVOC・PAH曝露、活性酸素ストレスを推定する。大気経由の化学物質とヒト曝露との関連性を明らかにする。

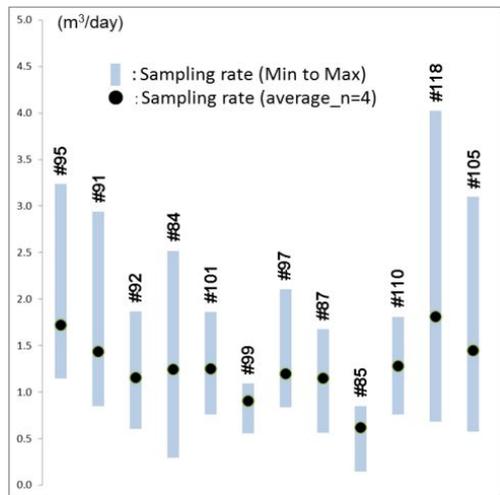


図2 5塩化PCB異性体のSampling rate

IUPAC No.	sampring rate (m³/day)	average
#95	1.1-3.2	1.7
#91	0.8-2.9	1.4
#92	0.6-1.9	1.2
#84	0.3-2.5	1.3
#101	0.8-1.9	1.3
#99	0.6-1.1	0.9
#97	0.8-2.1	1.2
#87	0.6-1.7	1.2
#85	0.1-0.9	0.6
#110	0.8-1.8	1.3
#118	0.7-4.0	1.8
#105	0.6-3.1	1.5

### 4. 研究成果

#### (1) 大気モニタリング

パッシブエアサンプラー(PAS)に捕集された絶対量 (ng) をアクティブエアサンプラー(AAS)の測定濃度 (ng/m³) と比較して各異性体の Sampling rate (m³/day) を求め (図2, 表1)。5塩素化体に含まれる12種類の異性体における sampling rate の平均値は0.6~1.8 m³/day となった。PASにおける sampling rate についての研究結果と同等(0.57~24 m³/day)のレベルであった。

#### (2) 尿中代謝物

本研究では、多環芳香族炭化水素 (PAHs) の尿中代謝物である水酸化 PAHs について、海技者特に機関士の労働環境中での PAH 曝露量評価法について検討した。naphthalene, phenanthrene, pyrene の尿中水酸化代謝物8化合物について分析法を検討した。尿の前処理には SepPak C18 による固相抽出を、測定には高速液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析法 (LC/MS/MS) を用い、非誘導体化法にて測定した (図3)。尿試料は航海中の乗組員から採取した。各水酸化物について機関士と他の乗組員と比較を行った。今回測定した機関士においては喫煙の影響が無視できず、作業環境中での PAHs による曝露について確認できなかったが、本分析法が PAHs の海技者曝露測定及びリスク評価に

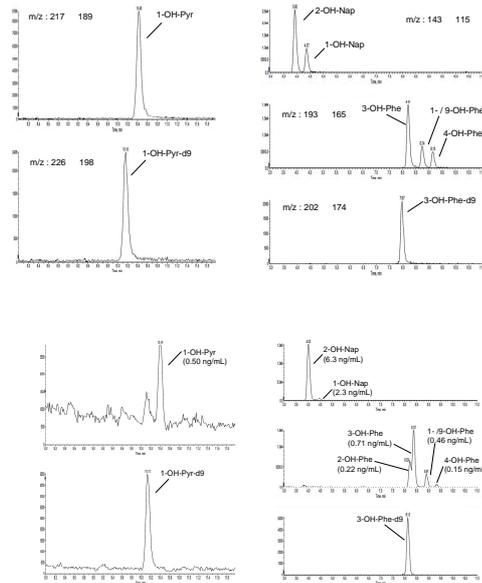


図3 GC-MS/MS クロマトグラム OH-PAHs (上段: STD、下段: 尿試料)

応用可能であることが示唆された。

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 33 件)

Shintaro Mise, Yuki Haga, Toshimasa Itoh, Akira Kato, Itsuko Fukuda, Erika Goto, Keiko Yamamoto, Miku Yabu, Chisato Matsumura, Takeshi Nakano, Toshiyuki Sakaki, Hideyuki Inui; Structural determinants of the position of 2,3,4,4',5-pentachloro biphenyl (CB118) hydroxylation by mammalian cytochrome P450 monooxygenases, May 2016, Toxicological Sciences

Xian Liang Sun, Teruhiko Kido, Seiji Honma, Rie Okamoto, Ho Dung Manh, Shoko Maruzeni, Muneko Nishijo, Hideaki Nakagawa, Takeshi Nakano, Eitetsu Koh, Takumi Takasuga, Dang Duc Nhu, Nguyen Ngoc Hung, Le Ke Son, Influence of dioxin exposure upon levels of prostate-specific antigen and steroid hormones in Vietnamese men, Environmental Science and Pollution Research, 23(8), 7807-7813,(2016), DOI 10.1007/s11356-015-5931-3

Katsunori Anezaki, Takeshi Nakano, Nobuhisa Kashiwagi; Estimation of Polychlorinated Biphenyl Sources in Industrial Port Sediments Using a Bayesian Semifactor Model Considering Unidentified Sources, Environ. Sci. Technol., 2016, 50 (2), 765–771, DOI: 10.1021/acs.est.5b03501

Vesna Milovanovic, Aleksandra Buha, Vesna Matovic, Marijana Curcic, Slavica Vucinic, Takeshi Nakano, Biljana Antonijevic; Oxidative stress

and renal toxicity after subacute exposure to decabrominated diphenyl ether in Wistar rats, Environmental Science and Pollution Research, DOI: 10.1007/s11356-015-5921-5

Kannan Narayanan, Haruhiko Miyagawa, Riki Kitano, Katsuhiro Nakagawa, Megumi Hirooka, Shunji Hashimoto, Vladimir P Beskoski, Haris Hafizal Abd Hamida, Fatemeh A Jahromi, Ignatius Phang, Ahmad Zaharin Aris, Donghao Li, Takeshi Nakano; Greener approaches to the measurement of polyaromatic hydrocarbons (PAHs) in unused and used crankcase motor oils from Malaysia, Environ Sci Pollut Res Int. 2015 Sep 21

Roland Weber, Margret Schlumpf, Takeshi Nakano, John Vijgen; The need for better management and control of POPs stockpiles, Environmental Science and Pollution Research, October 2015, Volume 22, Issue 19,14385-14390, DOI: 10.1007/s11356-015-5162-7

Kensaku Kakimoto, Haruna Nagayoshi, Naoya Inazumi, Atsushi Tani, Yoshimasa Konishi, Keiji Kajimura, Takeshi Ohura, Takeshi Nakano, Ning Tang, Kazuichi Hayakawa, Akira Toriba; Identification and Characterization of Oxidative Metabolites of 1-Chloropyrene, Chem. Res. Toxicol., 2015, 28 (9), 1728–1736, DOI: 10.1021/acs.chemrestox.5b00173

Yoshimasa Konishi, Kensaku Kakimoto, Haruna Nagayoshi, Takeshi Nakano; Trends in the enantiomeric composition of polychlorinated

biphenyl atropisomers in human breast milk, *Environ Sci Pollut Res Int.* 2016 Feb;23(3):2027-32. doi: 10.1007/s11356-015-4620-6.

Katsunori Anezaki, Takeshi Nakano ; Unintentional PCB in chlorophenylsilanes as a source of contamination in environmental samples, *J Hazard Mater.* 2015 Apr 28;287:111-7. doi: 10.1016/j.jhazmat.2015.01.026.

Shintaro Kawano, Toshiyuki Kida, Kazuhiro Miyawaki, Yasunori Fukuda, Eiichi Kato, Takeshi Nakano, Mitsuru Akashi; Adsorption capability of urethane-crosslinked heptakis (2,6-di-O-methyl)- $\beta$ -cyclodextrin polymers toward polychlorobiphenyls in nonpolar organic media, *Polymer Journal*, 47, 443-448 (June 2015) | doi:10.1038/pj.2015.13

Shintaro Kawano, Toshiyuki Kida, Kazuhiro Miyawaki, Yuki Noguchi, Eiichi Kato, Takeshi Nakano, Mitsuru Akashi; Cyclodextrin Polymers as Highly Effective Adsorbents for Removal and Recovery of Polychlorobiphenyl (PCB) Contaminants in Insulating Oil, *Jun 2014, Environ. Sci. Technol.*, 2014, 48 (14), 8094–8100, DOI: 10.1021/es404853h

Katsunori Anezaki, Narayanan Kannan, Takeshi Nakano; Polychlorinated biphenyl contamination of paints containing polycyclic- and Naphthol AS-type pigments, *May 2014, Environ Sci Pollut Res Int.* 2015 Oct;22(19):14478-88. doi:

10.1007/s11356-014-2985-6.

Xian Liang Sun, Teruniko Kido, Rie Okamoto, Ho Dung Manh, Shoko Maruzeni, Muneko Nishijo, Hideaki Nakagawa, Seijiro Honma, Takeshi Nakano, Takumi Takasuga, Dang Duc Nhu, Nguyen Ngoc Hung, Le Ke Son; Relationship between dioxin and steroid hormones in sera of Vietnamese men, *Biomarkers*, 2014 May;19(3):236-40. doi: 10.3109/1354750X.2014.899626.

Ho Dung Manh, Teruhiko Kido, Rie Naganuma, Sun Xian Liang, Supratman Supratman, Le Thai Anh, Shoko Maruzeni, Muneko Nishijo, Hideaki Nakagawa, Seijiro Honma, Takeshi Nakano, Takumi Takasuga, Dang Duc Nhu, Nguyen Ngoc Hung, Le Ke Son; Serum Dioxin Levels in Vietnamese Men more than 40 Years after Herbicide Spraying, *Feb 2014, Environ. Sci. Technol.*, 2014, 48 (6), pp 3496–3503, DOI: 10.1021/es404853h

Hiroshi MORIWAKI, Takanori SAKIYAMA, Yoshinari YAMOTO, Roland WEBER, Ryuichi ARAKAWA Peter BEHNISCH, Takeshi NAKANO; Analysis of thermal reaction products of chlorpyrifos using LC/MS and GC/MS, *Oct 2013, Bunseki kagaku*, Vol. 62 (2013) No. 10 p. 855-863, DOI: 10.2116/bunsekikagaku.62.855

〔学会発表〕(計 47 件)

平井哲也, 藪下尚智, 中野武; 海技者の多環芳香族炭化水素類曝露と酸化ストレスマーカーとの関連, 第24回日本環境化学討論会, 2015年6月, 札幌市

宮脇和博, 福田泰教, 加藤栄一, 中野武, 木田敏之, 明石満; 新規カラム技術を用いた高濃度 PCB 含有洗浄剤からの PCB の吸着除去, 第 24 回日本環境化学討論会, 2015 年 6 月, 札幌市

吉田卓矢, 羽賀雄紀, 松村千里, 鶴川正寛, 加藤栄一, 中野武; Calculation of PCB congener's Sampling rate using passive air sampler, 第 24 回日本環境化学討論会, 2015 年 6 月, 札幌市

高橋厚, 内田圭祐, 中村好宏, 稲葉康人, 松村徹, 中野武, 柴田康行東日本大震災の被災地における化学物質環境実態追跡調査結果(平成 23~25 年度調査総括: その 1), 第 24 回日本環境化学討論会, 2015 年 6 月, 札幌市

山本美幸, 松尾和彦, 川口広利, 小西良昌, 柿本健作, 中野武; 高分解能 GC/MS によるポリ塩化ビフェニル(PCBs)光学異性体の分析, 第 24 回日本環境化学討論会, 2015 年 6 月, 札幌市

羽賀雄紀, 鶴川正寛, 中野武, 松村千里, 藤森一男; 兵庫県におけるポリ塩化ナフタレンの環境中の濃度とリスク評価について, 第 24 回日本環境化学討論会, 2015 年 6 月, 札幌市

乾秀之, 三輪千晴, 見世慎太郎, 後藤絵里香, 羽賀雄紀, 松村千里, 中野武; ラット及びヒト由来シトクロム P450 モノオキシゲナーゼによるキラルポリ塩化ビフェニルの代謝, 第 24 回日本環境化学討論会, 2015 年 6 月, 札幌市

小西良昌, 先山孝則, 柿本健作, 永吉晴奈, 原田浩二, 小泉昭夫, 中野武; 陰膳中残留性有機汚染物質の鏡像異性体分析, 第 24 回日本環境化学討論会, 2015 年 6 月, 札幌市

先山孝則, 小西良昌, 柿本健作, 永吉晴奈, 東條俊樹, 原田浩二, 小泉昭夫, 中野武; 陰膳を用いた残留性有機汚染物質

(POPs)の曝露実態調査-有機塩素系化合物類の摂取量, 第 24 回日本環境化学討論会, 2015 年 6 月, 札幌市

永吉晴奈, 柿本健作, 稲角直也, 谷篤史, 小西良昌, 梶村計志, 大浦健, 中野武, 早川和一, 鳥羽陽; ヒトシトクロム P450 によるクロロピレンの in vitro 代謝解析, 第 24 回日本環境化学討論会, 2015 年 6 月, 札幌市

Aleksandra Djuric, Takeshi Nakano, Vladimir P. Beskoski, Ivana Ugljesic, Srdjan Miletic, Jelena Avdalovic, Gordana Gojgic-Cvijovic, Mila Ilic, Miroslav M. Vrvic; Congener specific analysis of PCBs after bioremediation of contaminated river sediment., 第 24 回日本環境化学討論会, 2015 年 6 月, 札幌市

中野武; 顔料等化成品中の副生 PCB, 第 26 回廃棄物資源循環学会研究発表会, 2016 年 9 月, 福岡市

中野武; セルビアの環境中 PCB、PFR、PAH の分布と環境浄化の試み, 第 18 回日本水環境学会シンポジウム, 2016 年 9 月, 長野市

〔その他〕  
ホームページ等  
9<sup>th</sup> PCB International Workshop  
<http://ee-net.ne.jp/pcb2016e>

JICA Grass Root Project  
<http://globalgreengroup.org/>

ICAEC 2014  
<http://j-ec.or.jp/icaec>

Pancevo Declaration  
<http://ee-net.ne.jp/serbia/Pancevo-Declaration-20150930.pdf>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

中野 武 (NAKANO TAKESHI)  
大阪大学・環境安全研究管理センター・  
招へい教授  
研究者番号: 00446791