

LC-MS/MS による環境負荷化学物質の分析に関する研究

巴山 忠

¹ 財団法人 九州産業衛生協会 環境科学センター, 839-0809 久留米市東合川 6-4-23

² 福岡大学薬学部 薬品分析学教室, 814-0180 福岡市城南区七隈 8-19-1

Studies on the analysis of environmental contaminants utilizing liquid chromatography with tandem mass spectrometry

Tadashi Hayama

¹ Environmental Science Center, Foundation for Kyushu Environmental and Occupational Health, 6-4-23 Higashi-aikawa, Kurume, Fukuoka 839-0809, Japan

² Faculty of Pharmaceutical Sciences, Fukuoka University, 8-19-1 Nanakuma, Jonan, Fukuoka 814-0180, Japan

Abstract

Recently, environmental contaminants have attracted attention to people in the world because they may cause certain toxicities for environment including human beings. Therefore, it is necessary that their residue levels in environmental fields are measured accurately by means of the appropriate methods. Many environmental contaminants, such as non-polar and/or volatile compounds, can be determined in a highly sensitive manner by gas chromatography (GC) with mass spectrometry (MS), although polar and/or non-volatile compounds were very difficult to determine by GC method. Recently, liquid chromatography (LC) with MS or tandem MS (MS/MS) has been developed for the purpose of the determination of unamenable compounds for GC methods. In this study, the analytical methods for the environmental contaminants, which are tetrabromobisphenol A, organophosphorus pesticides, and dithiocarbamate pesticides, were developed utilizing LC-MS/MS system. After the optimization of analytical procedures, the developed methods were applied to actual environmental samples in order to confirm the applicability of them.

Key Words: environmental contaminants, liquid chromatography, tandem mass spectrometry, determination.

緒言

近年、我々を取り巻く生活環境には様々な化学物質が氾濫しており、世界で流通及び生産されている化学物質は数十万種にも及んでいる。それらの一部は環境負荷化学物質と呼ばれ、ヒト及びそれを取り巻く生態系に対して悪影響を及ぼし、様々な健康被害を引き起こす原因又は増悪因子となる可能性があるため、大きな社会問題となっている。この問題に対処するためには、有害な化学物質について、正確な環境モニタリング調査を行い、汚染状況の科学的な評価を進め、その結果に基づき適切な環境リスク対策を講じていくことが必要である。また、そのための環境計測及び分析機器の技術開発を行っていくことが、社会的及び経済的にも非常に重要な課題となっている。

環境汚染状況のモニタリング、環境の質及び環境リスク評価等は、目視、味及び臭気等といったヒトの感覚のような物差しで直接判断することはできない。我々は様々な分析器具及び機器を用いて適当な方法でそれらを測定することにより、その結果を数値という客観的且つ科学的な物差しで示すことができる。環境負荷化学物質の測定には、従来よりガスクロマトグラフィー (GC) -質量分析 (MS) 法が多用されている。しかしながら、環境負荷化学物質の大半を占めていると考えられている高極性あるいは難揮発性物質の測定に、GC-MS 法が適しているとは必ずしも言えない。一方、近年、液体クロマトグラフィー (LC) -MS の飛躍的な性能向上に伴い、環境負荷化学物質の新規分析法開発が盛んに行われており、高極性あるいは難揮発性物質に対する有効な分析法として期待されている。環境負荷化学物質の測定に、LC-MS 法が適用された報告の中でも特に多いのは農薬類¹⁾⁻⁸⁾に関するものであり、環境媒体も水、土壌、底質、生物及び食品試料等と多岐に渡っている。その他として、エストラジオール⁹⁾やアルキルフェノール類¹⁰⁾及びそのエトキシレート¹¹⁾等の環境ホルモン類、藍藻毒¹²⁾及びカビ毒¹³⁾等の測定にも LC-MS 法が広く利用されている。また最近では、食品の加工過程で生成するアクリルアミド¹⁴⁾¹⁵⁾や、医療施設下水からの流入が問題となっている医薬品¹⁶⁾¹⁷⁾等の分析に LC-MS 法が利用されている。以上のように LC-MS 法は多種多様な環境負荷化学物質の測定に利用されており、その有用性も証明されていることから、今後も環境中における既知あるいは未知化合物の測定法としての更なる発展が期待されている。そこで本研究では、定量分析において最も汎用的及び効果的な四重極型の LC-タンデム質量分析 (MS/MS) 装置を利用し、環境負荷化学物質の新規測定法を開発すべく、次のような研究を行った。まず、臭素系難燃剤として広く利用されているテトラブロモビスフェノール A の LC-MS/MS 法による測定法の開発を行った。臭素系難燃剤は使用量が多く、毒性の高い臭素系ダイオキシン類の生成に関与しているとされている化学物質であり、様々な環境モニタリング調査の対象となっている。次に、高極性有機リン系農薬類の新規測定法の開発を行った。有機リン系農薬類の毒性

は高く、その使用に関しては従来より警笛が鳴らされていたが、最近では特に子供の脳や神経の発達に与える影響があるとして規制が強められている物質である。最後にジチオカーバメート系殺菌剤ポリカーバメートの簡便且つ高感度測定法の開発を行った。ポリカーバメートは、我が国では水道法において規制されている物質であるが、水及び多くの有機溶媒に不溶であることから直接分析することが非常に困難であるため、十分な実態調査が行われているとは言い難い。いずれの物質も既往の測定方法では、「誘導体化を要する」、「感度が低い」及び「前処理が煩雑」等々の理由から、それに代わる有効な測定法の開発が望まれている。

1. LC-MS/MSによる難燃剤テトラブロモビスフェノールAの分析

【目的】

難燃剤とは、プラスチック製品等の燃焼速度の低下や燃焼の抑制といった難燃効果を目的として使用されている化学物質のことである。その中でも高い難燃作用と低コストのため、臭素系難燃剤（BFRs）が広く使用されている。そのため、プラスチック製品等の使用・廃棄時に、BFRsが環境中へ放出される可能性は非常に高く、またその放出量も相当量になるものと考えられる。BFRsの中でも特に高い需要量をもっているテトラブロモビスフェノールA（TBBPA, Fig. 1）¹⁸⁾は、様々な環境モニタリング調査の対象となっており、一般環境中における検出事例も多く報告されている¹⁹⁾²⁰⁾。従来より、TBBPAの測定にはGC法が汎用されてきたが、高感度測定のためには誘導体化を必要とし、その操作は煩雑である。そこで本研究では、操作の簡便性及び感度の向上を期待して、LC-MS/MSによるTBBPAの測定法の開発を行った。さらに固相抽出法による前処理を組み合わせ、ヒト血清中におけるTBBPA濃度の計測を試みた。

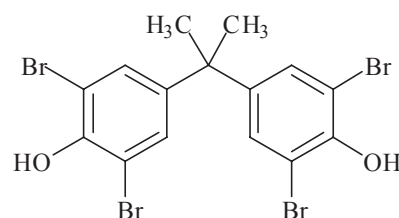


Fig. 1 Structural formula of tetrabromobisphenol A.

【方法】

LC-MS/MS測定条件: カラムには、Mightysil RP-18 GP (150 × 2.0 mm I.D., 粒径 3 μm; Kanto Chemical) を使用。移動相には、蒸留水 (移動相 A) 及びメタノール/アセトニトリル (4:1, v/v) (移動相 B) を用いて、グラジエント溶離 (0 – 0.5 min, 40% B; 0.5 – 2.5 min, linear change from 40% to 95% B; 2.5 – 10 min, 95% B; 10 – 10.1 min, linear change from 95% to 40% B) を行い、流速は 0.2 mL/min に設定。カラム温度は 40°C に設定し、試料は 5 μL 注入。MS/MS は、エレクトロスプレーイオン化 (ESI) ネガティブモード

で、Selected Reaction Monitoring (SRM) モード (m/z 542.7→445.8) による測定を行った。

ヒト血清前処理：ヒト血清にギ酸及びメタノールの混合液を加えて混合。逆相系の固相カートリッジで TBBPA を抽出。さらにシリカゲルカラムでクリーンアップ後、メタノールに再溶解して LC/MS/MS に注入。

【結果及び考察】

本法における TBBPA 標準品の検出下限 ($S/N = 3$) は 7.2 pg/mL (注入量当たり 0.13 fmol) と極めて高感度であった。また、本固相抽出法において TBBPA 添加 (5~100 pg/g serum) ヒト血清試料を前処理したときの回収率は、80 %以上と極めて良好であった。さらに、本法におけるヒト血清中 TBBPA の検出限界 ($S/N = 3$) は、0.8 pg/g serum であり、定量限界 {操作ブランク測定値の平均 ($n = 10$) + 操作ブランク測定値の標準偏差 ($n = 10$) $\times 10$ } は、4.2 pg/g serum であった。また、コントロール血清 (6.3 pg/g serum) 及びコントロール血清に 5, 10, 50 及び 100 pg/g serum となるように TBBPA を添加して 6 回同時に繰返し測定したときの精度 (相対標準偏差) は、それぞれ 7.0, 9.9, 10.0, 6.5 及び 7.4 %であった。本法は極めて高感度であり、また再現性も良好であることから、ヒト血清中に極微量に存在する TBBPA の測定に有用であると考えられる。本法を、健常人 5 名より得られた血清に適用した結果、平均で 7.4 pg/g serum の TBBPA が検出された (Table 1)。この値はこれまでの報告にある GC 法で測定された値 (2.2~7.5 pg/g serum) ²¹⁾²²⁾とよく一致していた。

Table 1 Concentrations of TBBPA in normal human serum

Sex ^{a)}	TBBPA (pg/g serum)
M	6.7
M	6.2
M	8.3
M	7.1
M	8.7
Mean	7.40
S.D.	1.06

a) M, male.

2. LC-MS/MS によるラットにおけるテトラプロモビスフェノール A の体内動態解析

【目的】

TBBPA は脂溶性が高く ($\log K_{ow} = 4.7 \sim 5.3$)、環境中に残留しやすいため、それを介して生物体内に蓄積する可能性が高いと考えられている。TBBPA の毒性¹⁸⁾は、急性毒性試験の結果 ($LD_{50} = 5000 \text{ mg/kg}$ 以上) から非常に低いと考えられているが、一方で低用量域において環境ホルモン様作用が疑われるといった報告もある^{23) 24)}。そこで本研究では、TBBPA の代謝及び排泄等の体内動態解析を行うため、LC-MS/MS 装置を用いて TBBPA 投与ラットの血清、脂肪組織、肝臓、腎臓、肺及び糞中における未変化体 TBBPA 濃度の測定を行い、さらに同装置を用いて TBBPA の代謝物の同定を行った。

【方法】

試料：ラット腹腔に 3 日間連続して TBBPA を投与 (5 及び 50 mg/kg 投与群) し、その最終投与から 24 時間後に採取した血清、脂肪組織、肝臓、腎臓及び肺を使用。また糞については、各投与から 24 時間後毎に採取した。

前処理：血清は、10 mM 酢酸アンモニウム/メタノール (1:4, v/v) で希釈後、超音波抽出。ろ過後、LC-MS/MS へ注入。肝臓、腎臓、肺及び糞は、メタノールを加えてホモジナイズ後、超音波抽出。抽出液を移動相で適宜希釈し、ろ過後、LC-MS/MS へ注入。脂肪組織については、他の組織と同様、メタノールで抽出。次いで、固相 (NH_2 カラム) を用いて精製。移動相で適宜希釈し、ろ過後、LC-MS/MS へ注入。

測定条件：カラムは ODS セミマイクロカラム、移動相は TBBPA の定量及び代謝物の同定に、それぞれ 10 mM 酢酸アンモニウム/メタノール (20/80, v/v) のアイソクラティック溶離及び 10 mM 酢酸アンモニウム/メタノール/アセトニトリルの混液によるグラジエント溶離 (0 – 0.5 min, 40% B; 0.5 – 2.5 min, linear change from 40% to 95% B; 2.5 – 10 min, 95% B; 10 – 10.1 min, linear change from 95% to 40% B) を行い、流速を 0.2 mL/min に設定。カラム温度は 40°C に設定し、試料は 10 μL 注入。MS/MS は ESI ネガティブモードで用い、TBBPA の定量及び代謝物の同定に、それぞれ SRM モード (m/z 542.7→445.8) 及び Neutral loss scan モード (m/z 176 及び 80) で測定。

【結果及び考察】

LC-MS/MS 法を利用することで、生体中における TBBPA 濃度を極めて容易に測定することが可能であった。本法により、ラット体内における TBBPA 濃度の測定を行った結果、肝臓において最も高濃度で検出され、つづいて腎臓、肺、血清及び脂肪組織の順で検出された (Table 2)。また、投与した TBBPA のほとんどは糞中に排泄されており、投与量の約 70 % を占めていた (Table 3)。さらに、Neutral loss scan モードを利用

して肝臓抽出液を測定した結果、TBBPAの代謝物と考えられるモノグルクロン酸抱合体及びモノ硫酸抱合体が検出された (Fig. 2 及び 3)。本実験では、既知化合物であるジグルクロン酸抱合体及びモノグルクロン酸モノ硫酸抱合体²⁵⁾を検出することはできなかったが、モノ硫酸抱合体は現在までに報告のない新規の TBBPA 代謝物であり、LC-MS/MS を用いることで同定が可能であった。

Table 2 Concentrations of TBBPA in serum, fat tissue, liver, lung and kidney of rats given TBBPA (mean \pm S.D., $n = 4$)

Dose	Concentration (ng/g)				
	Serum	Fat tissue	Liver	Lung	Kidney
Control	< LOD ^{a)}	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
5 mg/kg	19.6 \pm 7.4	13.8 \pm 9.3	238 \pm 99.4 (2.69) ^{b)}	42.3 \pm 16.9 (0.05) ^{b)}	70.8 \pm 33.5 (0.07) ^{b)}
50 mg/kg	319 \pm 176	222 \pm 160	1690 \pm 660 (18.2) ^{b)}	386 \pm 271 (0.45) ^{b)}	541 \pm 415 (0.53) ^{b)}

a) LOD, limit of detection.

b) Absolute amount (μ g).

Table 3 Concentrations of TBBPA in feces of rats given TBBPA^{a)}

Dose	Concentration (ng/g)			Total amount (mg)	% of dose
	day 1	day 2	day 3		
Control	< LOD	< LOD	< LOD	—	—
5 mg/kg	138 (2.75) ^{b)}	151 (3.52) ^{b)}	137 (2.69) ^{b)}	8.96	70.0
50 mg/kg	1350 (27.7) ^{b)}	1230 (29.5) ^{b)}	1760 (30.9) ^{b)}	88.0	68.2

a) Feces of 4 rats were pooled at 24 h after administration for each day.

b) Absolute amount (mg).

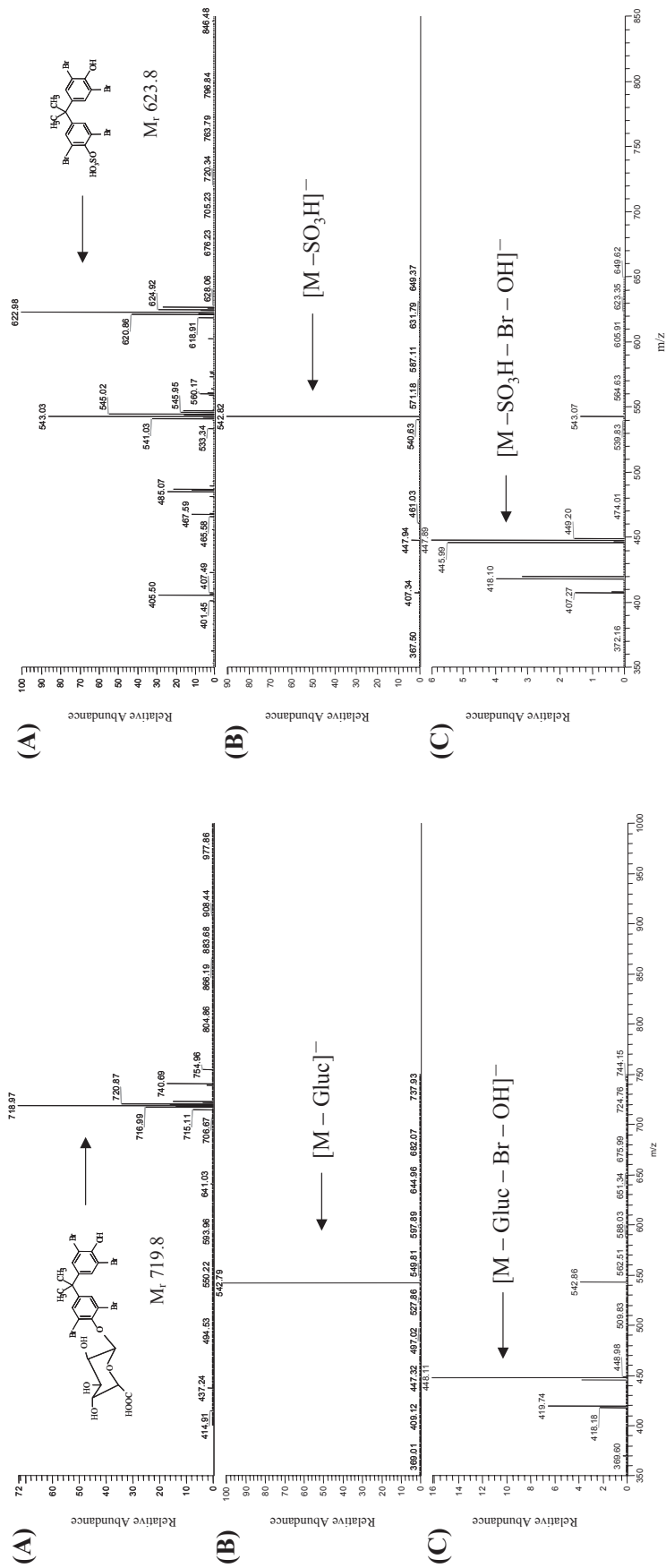


Fig. 2 Neutral loss scan MS and MS/MS (precursor ion, m/z 718.8) spectra of the monoglucuronide conjugate of TBBPA. (A) Neutral loss scan mass, m/z 176; (B) collision energy, 30 V; (C) collision energy, 50 V.

Fig. 3 Neutral loss scan MS and MS/MS (precursor ion, m/z 622.8) spectra of the monosulfate conjugate of TBBPA. (A) Neutral loss scan mass, m/z 80; (B) collision energy, 30 V; (C) collision energy, 50 V.

3. 親水性相互作用クロマトグラフィー/タンデム質量分析計による高極性有機リン系農薬類の分析

【目的】

コリンエステラーゼ阻害作用をもつ有機リン系農薬類 (OPPs)²⁶⁾は、殺虫剤として広く使用されており、ヒトを含む多くの動物に対してもその毒性を示すことから、国内外を問わずしばしば規制の対象となっている。特に、高極性を有する OPPs (Fig. 4) は、水系へ流出する可能性が極めて高いため、河川等の水道水源あるいは浄水における汚染実態を正確に把握しておかなければならない。従来より、環境中における高極性 OPPs の測定には GC 法あるいは逆相 LC 法が利用されているが、「前処理が煩雑」及び「感度不足」等の理由から、高極性 OPPs の適切な測定方法として確立されているとは必ずしも言えない。

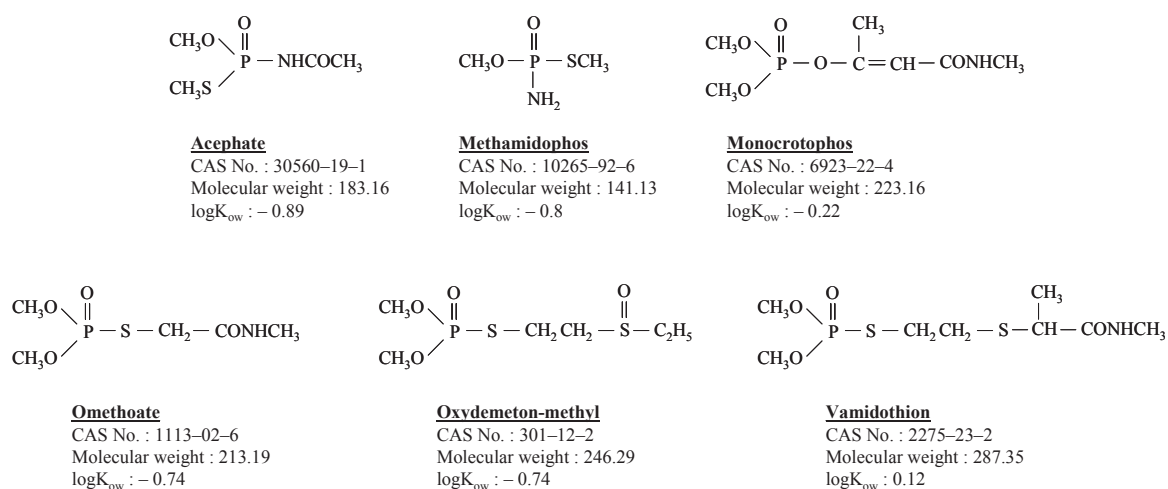


Fig. 4 Properties of polar organophosphorus pesticides.

親水性相互作用クロマトグラフィー (HILIC)²⁷⁾²⁸⁾は、逆相では保持し難く、順相では保持しすぎるような高極性の化合物 (アミノ酸、ペプチド及び有機酸等) の分離を目的として開発されたものである。HILIC は、シリカゲルをベースとした固定相をもち、移動相としてメタノールやアセトニトリル等の極性溶媒を使用する分離モードであり、その溶出順序は順相系のそれとほぼ同様である。HILIC では、有機溶媒比率の高い条件で高極性化合物を保持することが可能であるため、逆相分離モードと比較して、MS 及び MS/MS 検出において高極性化合物の測定感度を上昇させることが可能となる。そこで本研究では、HILIC 及び MS/MS を組み合わせて、高極性 OPPs の高感度測定法の開発を行った。さらに、活性炭カラムによる前処理法を組み合わせて、環境水中における高極性 OPPs の高感度測定を試みた。

【方法】

HILIC-MS/MS 測定条件：カラムには Waters 製 Atlantis HILIC Silica (2.1×150 mm I.D., 粒径 5 μm), 移動相には 0.2 %ギ酸を含むアセトニトリル/イソプロパノール/水の混液を用いて, アイソクラティックモードで溶離。MS/MS は, ESI ポジティブモードで使用し, SRM モード (Table 4) により測定。

水試料前処理：水質試料 50 mL を, 予めコンディショニングを行った活性炭カラム (GL-Pak 活性炭 Jr., 400 mg, GL サイエンス) に通水。活性炭カラムを水 10 mL で洗浄後, 遠心分離により水分を除去。次いで, 試料通水方向の逆から, アセトニトリル/イソプロパノールの混液 5 mL を流し, OPPs を溶出。そのうち 10 μL を HILIC/MS/MS に注入。

Table 4 SRM parameter of polar organophosphorus pesticides

Compound	Precursor ion (<i>m/z</i>)	Product ion (<i>m/z</i>)	CID ^{a)} (V)
Acephate	184	95	23
Methamidophos	142	94	20
Monocrotophos	224	127	24
Omethoate	214	183	16
Oxydemeton-methyl	247	169	20
Vamidothion	288	146	18
² H ₆ -acephate ^{b)}	190	98	23

a) CID, collision induced dissociation energy

b) Internal standard

【結果及び考察】

HILIC を用いることで, 逆相分離モードでは保持し難い高極性 OPPs を十分に保持させることが可能であった (Fig. 5)。また MS/MS 検出と組み合わせることで, 高極性 OPPs を極めて高感度に測定することが可能であった {検出限界 (*S/N* = 3) = 注入量当たり 0.13~1.0 pg}。さらに, 活性炭カラムによる抽出法を採用することで, 水試料中の高極性 OPPs を簡便且つ迅速に抽出することができ, 実試料マトリックスの影響を受けることなく測定することも可能であった。本法は, 高極性 OPPs の測定に極めて有効であり, 水道水源あるいは浄水を対象としたモニタリングに十分利用することが可能であると考えられる。本法を, 福岡県久留米市近郊の筑後川の流水から採取した河川水 5 試料に適用した。その結果, 一部の試料からアセフェートのみが 0.006~0.089 μg/L の範囲で検出されたが, 他の高極性 OPPs は検出されなかった (Table 5)。

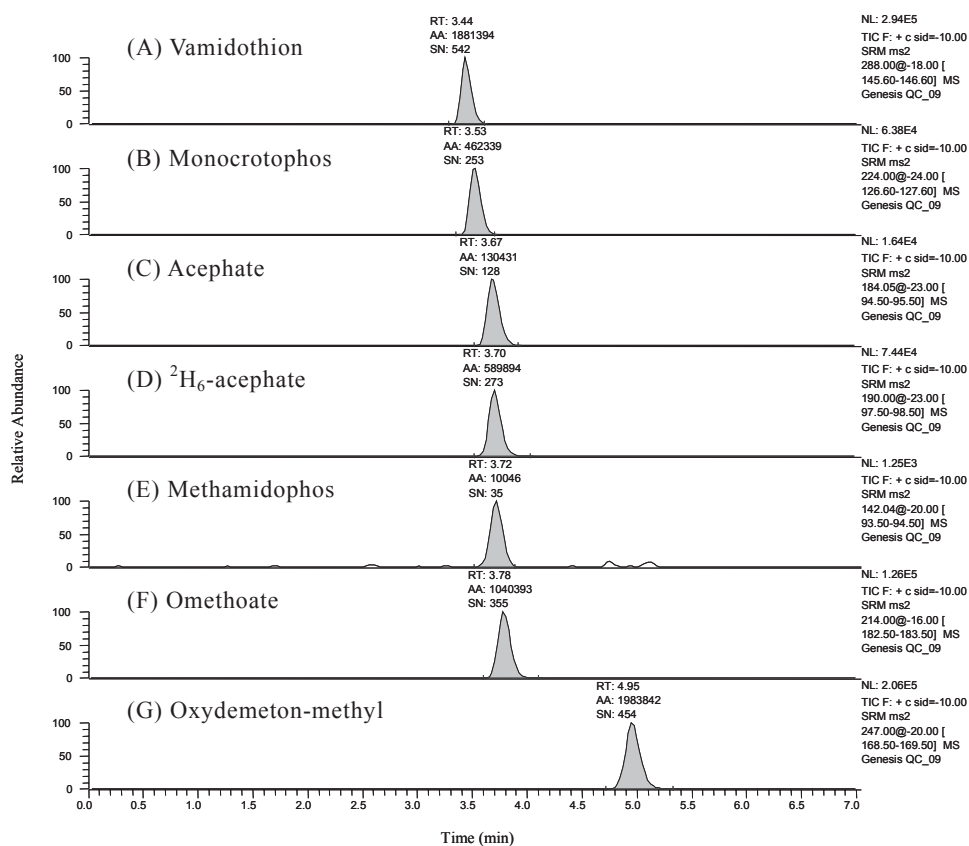


Fig. 5 SRM chromatograms of the standard solution of polar OPPs. (each 1 $\mu\text{g/L}$ except $^2\text{H}_6$ -acephate).

Table 5 Determination of polar OPPs in river water sample

Compound	Concentration ($\mu\text{g/L}$)				
	Location ^{a)}				
	A	B	C	D	E
Acephate	0.089	0.049	0.006	N.D.	N.D.
Methamidophos	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Monocrotophos	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Omethoate	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Oxydemeton-methyl	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Vamidotion	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

a) Samples were collected from five different locations of Chikugo River in Kurume.

4. LC-MS/MS による殺菌剤ポリカーバメートの簡便且つ高感度分析法の開発

【目的】

ポリカーバメートは、エチレンビスジチオカーバメート系殺菌剤（ジネブ、マンゼブ及びマンネブ等）及びジメチルジチオカーバメート系殺菌剤（ジラム及びチウラム等）と同系のジチオカーバメート系殺菌剤（DTCs）として分類されており、古くから果樹、野菜などの病害防除剤として広く使用されている。DTCs は、環境中において加水分解、酸化及び光分解などを受け易く、その変化生成物であるエチレンチオウレアが催奇性、発がん性、変異原性等の毒性を示すとの疑いがある²⁹⁾。ポリカーバメートは、平成 16 年 4 月の水質基準の改正に伴い、それを補完する項目として定められた水質管理目標設定項目の農薬類（101 種）の一つとして挙げられており、目標値として 30 µg/L が設定されている³⁰⁾。同法では、農薬類は原則として目標値の 1/100 まで測定するよう規定されているため、ポリカーバメートの場合は、0.3 µg/L までの測定感度が要求されている。ポリカーバメートを含むエチレンビスジチオカーバメート系殺菌剤は、水又はほとんどの有機溶媒に不溶であるため、それら自身を直接測定することはできない。次善の策として、アルカリ分解後に生じる物質をメチル化して測定する方法が採られている³¹⁾⁻³³⁾。しかしながら、前処理操作が極めて煩雑であるばかりではなく、採用されている HPLC/UV 検出法では十分な感度が得られないといった問題がある。そこで本研究では、水試料中におけるポリカーバメートの簡便且つ高感度測定法の開発を行った。ポリカーバメートをアルカリ分解してメチル化すると、ジメチルジチオカルバミン酸メチル（DMDC-methyl）及びエチレンビスジチオカルバミン酸ジメチル（EBDC-dimethyl）が生成される（Fig. 6）。

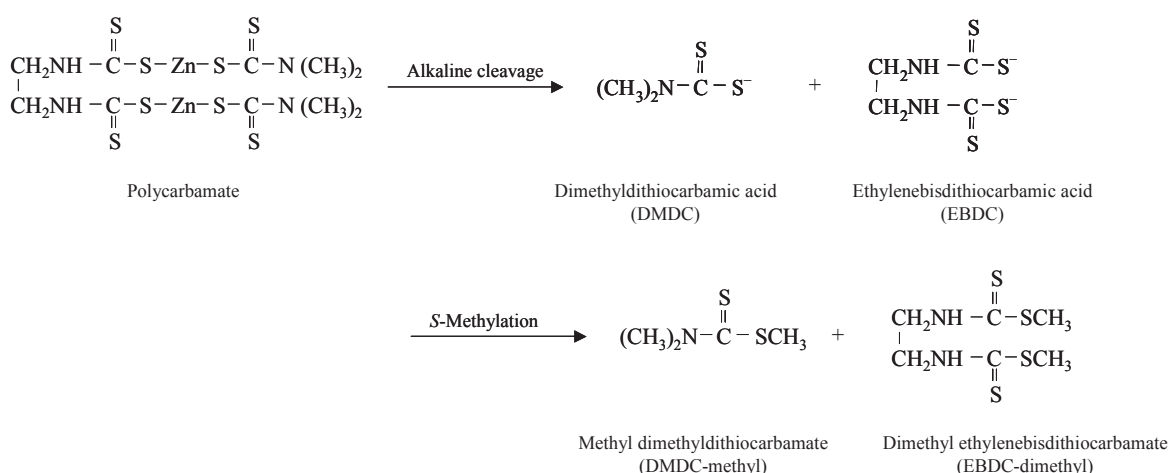


Fig. 6 Analytical scheme of polycarbamate.

DMDC-methyl 及び EBDC-dimethyl は、他の DTCs からのもどちらかが生成されるため、ポリカーバメートを測定する場合は、これら 2 物質を同時に定量することが望ましい。本研究では、前処理及び誘導体化の工程を簡略化するため、ポリカーバメートのアルカリ分解生成物を、硫酸ジメチルにより水溶液中で直接メチル化することとした。さらに、LC-MS/MS 装置を利用して両メチル化体を測定し、水質試料中におけるポリカーバメートの定量を試みた。

【方法】

前処理：水試料 5 mL に、アルカリ性 EDTA 溶液（15 w/v% EDTA・2Na 及び 10 w/v% L-システイン溶液に、2 M NaOH を加え pH 値を 10 付近に調整）2 mL を加えて室温で 60 分間放置。この溶液に 2 M 塩酸を加えて pH 値を 7 付近に調整した後、硫酸ジメチル 10 μ L を加えて十分混和し、室温で 15 分間放置。反応液を、予めコンディショニングを行った固相（Oasis HLB, 60 mg/3 mL, Waters）に負荷。固相を精製水 2 mL で洗浄後、アセトニトリル 1.5 mL で溶出。溶出液に精製水を加えて 2.5 mL に定容し、LC-MS/MS 装置に注入。

LC-MS/MS 測定条件：カラムには、Phenomenex LUNA C18 (2) (150 \times 4.6 mm I.D., 粒径 3 μ m) を使用。カラム温度は 40°C に設定し、移動相として水/メタノール (2:3, v/v) を用いて、流速 0.7 mL/min で送液し、試料は 50 μ L を注入。MS/MS は、大気圧化学イオン化法ポジティブモードで使用し、SRM モード (Table 6) により測定。

Table 6 SRM parameter of DMDC-methyl and EBDC-dimethyl

Compound	Precursor ion (m/z)	Product ion (m/z)	CID (V)
DMDC-methyl	136	88	16
EBDC-dimethyl	241	193	10

【結果及び考察】

本法により、ポリカーバメートから DMDC-methyl 及び EBDC-dimethyl を容易に生成させることが可能であり、さらに LC-MS/MS を利用することで、それらを高感度に測定することが可能であった (Fig. 7)。本法における水試料中ポリカーバメートの定量限界 ($S/N = 10$) は、DMDC-methyl 及び EBDC-dimethyl としてそれぞれ 0.20 μ g/L 及び 0.11 μ g/L であり、水道法において要求されている測定感度 (0.3 μ g/L) を十分に満足することができた。また、本法の実試料測定に対する有効性を示すため、ポリカーバメートを添加した水道水及び河川水試料に本法を適用した。その結果、蒸留水試料を同様に処理して得られた結果と良く一致しており、このことから本法が実試料に対して

極めて有効であることが示された。本法を河川水 8 試料に適用した結果、4 試料から微量の DMDC-methyl が検出されたが、DMDC-methyl よりも感度の良い EBDC-dimethyl がいずれの試料からも検出されなかったため、ポリカーバメート由来のものではないと考えられる (Table 7)。

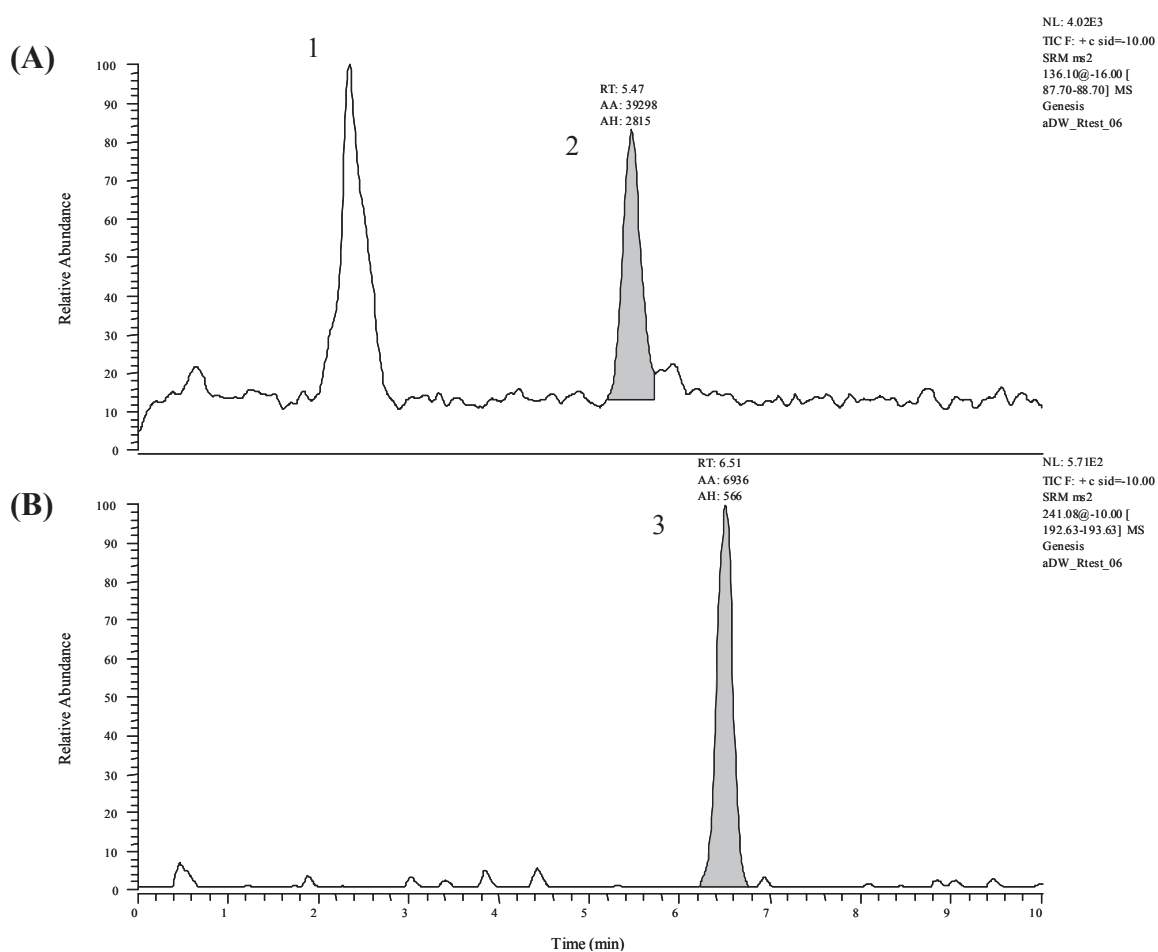


Fig. 7 SRM chromatograms of (A) DMDC-methyl and (B) EBDC-dimethyl obtained with polycarbamate-spiked distilled water samples (0.25 $\mu\text{g/L}$ added). Peaks: 1, cystein methyl ester; 2, DMDC-methyl; 3, EBDC-dimethyl.

Table 7 Concentrations of polycarbamate in river water samples.

Sample ^{a)}	Polycarbamate amount (µg/L)	
	Calculate for DMDC-methyl ^{b)}	Calculate for EBDC-dimethyl ^{c)}
1	N.D.	N.D.
2	0.144	N.D.
3	N.D.	N.D.
4	N.D.	N.D.
5	N.D.	N.D.
6	0.453	N.D.
7	0.256	N.D.
8	0.197	N.D.

a) Samples were collected from eight different locations of Chikugo River in Kurume.

b) Polycarbamate amount was determined in the form of DMDC-methyl.

c) Polycarbamate amount was determined in the form of EBDC-dimethyl.

総括

本研究では、環境負荷化学物質としてしばしば問題視されている難燃剤及び農薬類を対象に、LC-MS/MS法による新規測定方法の開発を行った。今回開発した方法は、いずれも実試料測定における有用性を確認しており、今後、国内外の多くの環境調査・リスク評価への活用に貢献できるものである。

謝辞

本研究は、福岡大学薬学部薬品分析学教室 山口政俊 教授の終始変わらざる暖かいご指導とご鞭撻の下に行われました。謹んで感謝の意を表します。また、本研究を行うにあたり、終始ご懇切丁寧なご指導を賜りました同教室 能田 均 教授に謹んで感謝致します。本研究を遂行するにあたり、ご協力いただきました福岡大学薬学部薬品分析学教室 吉田秀幸 助教、轟木堅一郎 助教に心より感謝申し上げます。また、本研究は財団法人 九州産業衛生協会 環境科学センターで行われたものであり、本研究の遂行にあたり、数々の討論にご参加いただきました同センター職員の皆様に深く感謝致します。

参考文献

- 1) C. Molina, D. Barcelo, G. Durand, *J. Chromatogr. A*, **712** (1995) 113.
- 2) N. H. Spliid, B. Koppen, *J. Chromatogr. A*, **736** (1996) 105.

- 3) R. B. Geerdink, A. Kooistra-Sijpersma, J. Tiesnitsch, P. G. M. Kienhuis, U. A. T. Brinkman, *J. Chromatogr. A*, **863** (1999) 147.
- 4) A. C. Hogenboom, J. Slobodnik, J. J. Vreuls, B. L. M. van Baar, W. M. A. Niessen, U. A. T. Brinkman, J. A. Rontree, *Chromatographia*, **42** (1996) 506.
- 5) J. Slobodnik, A. C. Hogenboom, J. J. Vreuls, B. L. M. van Baar, W. M. A. Niessen, U. A. T. Brinkman, *J. Chromatogr. A*, **741** (1996) 59.
- 6) A. Di Corcia, A. Costantino, C. Crescenzi, R. Samperi, *J. Chromatogr. A*, **852** (1999) 465.
- 7) J. M. Nogueira, T. Sandra, P. Sandra, *J. Chromatogr. A*, **996** (2003) 133.
- 8) N. Makihata, T. Kawamoto, K. Teranishi, *Anal. Sci.*, **19** (2003) 543.
- 9) 田嶋晴彦, 辻村和也, 山口政俊, *分析化学*, **49** (2000) 843.
- 10) I. C. Beck, R. Bruhn, J. Gandrass, W. Ruck, *J. Chromatogr. A*, **1090** (2005) 98.
- 11) B. Shao, J. Hu, M. Yang, *J. Chromatogr. A*, **950** (2002) 167.
- 12) S. Bogialli, M. Bruno, R. Curini, A. Di Corcia, A. Lagana, B. Mari, *J. Agric. Food Chem.*, **53** (2005) 6586.
- 13) M. Reinsch, A. Toepfer, A. Lehmann, I. Nehls, *Anal. Bioanal. Chem.*, **381** (2005) 1592.
- 14) K. Hoenicke, R. Gatermann, *J. AOAC Int.*, **88** (2005) 268.
- 15) P. Fohgelberg, J. Rosen, K. E. Hellenæs, L. Abramsson-Zetterberg, *Food Chem. Toxicol.*, **43** (2005) 951.
- 16) B. J. Vanderford, R. A. Pearson, D. J. Rexing, S. A. Snyder, *Anal. Chem.*, **75** (2003) 6265.
- 17) S. Castiglioni, R. Bagnati, D. Calamari, R. Fanelli, E. Zuccato, *J. Chromatogr. A*, **1092** (2005) 206.
- 18) WHO, Environmental Health Criteria 172, *Tetrabromobisphenol A and derivatives*, World Health Organization, Geneva, (1995).
- 19) U. Sellström, B. Jansson, *Chemosphere*, **31** (1995) 3085.
- 20) A. Sjödin, H. Carlsson, K. Thuresson, S. Sjölin, Å. Bergman, C. Östman, *Environ. Sci. Technol.*, **35** (2001) 448.
- 21) C. Thomsen, K. Janak, E. Lundanes, G. Becher, *J. Chromatogr. B*, **1** (2001) 750.
- 22) K. Jakobsson, K. Thuresson, L. Rylander, A. Sjödin, L. Hagmar, Å. Bergman, *Chemosphere*, **46** (2002) 709.
- 23) S. Kitamura, N. Jinno, S. Ohta, H. Kuroki, N. Fujimoto, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **293** (2002) 554.
- 24) J. A. Szymanska, A. Sapota, B. Frydrych, *Chemosphere*, **45** (2001) 693.
- 25) H. Hakk, G. Larsen, Å. Bergman, U. Örn, *Xenobiotica*, **30** (2000) 881.
- 26) WHO, Environmental Health Criteria 63, *Organophosphorus insecticides, A General*

- Introduction*, World Health Organization, Geneva, (1986).
- 27) A. J. Alpert, *J. Chromatogr.*, **499** (1990) 177.
- 28) H. Schlichtherle-Cerny, M. Affolter, C. Cerny, *Anal. Chem.*, **75** (2003) 2349.
- 29) WHO, Environmental Health Criteria 78, *Dithiocarbamate Pesticides, ETU and PTU, A General Introduction*, World Health Organization, Geneva, (1998).
- 30) 厚生労働省健康局長通知, 健発第 1010004 号 (2003).
- 31) K. H. Gustafsson, R. A. Thomson, *J. Agric. Food Chem.*, **29** (1981) 729.
- 32) Y. Hanada, T. Tanizaki, M. Koga, H. Shiraishi, M. Soma, *Anal. Sci.*, **18** (2002) 441.
- 33) T. Kawamoto, M. Yano, N. Makihata, *J. Chromatogr. A*, **1074** (2005) 155.