

2018 年度

博士学位論文

微量化学物質の環境動態及びリスク低減に関する
基礎的研究

Basic research on environmental dynamics of trace chemical
substances for the risk reduction

中部大学大学院

応用生物学研究科 応用生物学専攻

平生 進吾

微量化学物質の環境動態及びリスク低減に関する
基礎的研究

Basic research on environmental dynamics of trace chemical
substances for the risk reduction

平生 進吾

目次

I. 研究の背景と目的

II. 名古屋市内河川及び海水中残留農薬の月間変動に関する多変量解析

III. LC/MS/MS による環境水中の *N*-メチルジデカン-1-イルアミンの定量法の開発

IV. 総括

V. 業績

VI. 謝辞

I. 研究の背景と目的

I-1 研究の背景

一般に、化学物質とは、天然に存在する物質に対して人為的な合成された物質のことと理解されている。但し、取り扱う分野や法令によって微妙に定義が異なっている。例えば、化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律（いわゆる「化審法」）においては、第2条第1項に「『化学物質』とは、元素又は化合物に化学反応を起こさせることにより得られる化合物（放射性物質及び次に掲げる物を除く。）をいう。」と定められている¹⁾。その多くは産業革命以降に合成されており、2018年12月現在、**Chemical Abstracts Service (CAS)**に登録されている化学物質は、1億4000万件以上あり、日々追加され続けている²⁾。これらの化学物質は、須らくその物質固有の種々の性状（物理化学的性状・生態への毒性・人健康への影響など）をそれぞれ有している。そして、これらの化学物質は、その製造や使用を経て環境中へと放出される可能性があり、それに伴って人や動植物に悪影響（環境リスク）を及ぼすおそれがある。例えば、我が国において、1950年代から1960年代にかけて、有機水銀化合物による水俣病やカドミウム汚染によるイタイイタイ病などの多くの公害を経験した。水俣病は、工場排水に含まれていたメチル水銀が魚介類などに生体濃縮し、それを摂取した人間がメチル水銀中毒となったもので、昭和31（1956）年に公式に確認された。その後、我が国では、昭和45（1970）年の「公害国会」において、水質汚濁防止法³⁾や廃棄物処理法⁴⁾などの法律が新たに制定され、環境庁（現在の環境省）が設置されることになった。これらの環境保全対策により、水俣病などの公害は、収束に向かったものの、我が国のみならず全世界において使用されていた水銀化合物の根絶には至っていない。こうした中で、近年において、国際的な水銀によるリスク低減のための法的拘束力のある文書（条約）の制定を目指した結果、2013年10月に熊本市及び水俣市において外交会議が開催された。この会議において、水銀に関する水俣条約⁵⁾が採択されこととなり、2017年に発効した。この条約では、水銀の人為的排出から人の健康や環境を保護することを目的として、採掘から流通、使用、廃棄に至る水銀の適正な管理と排出の削減を定めることとなり、水銀によるリスク低減へと向かうこととなった。また、**PCB**類についても、カネミ油症事件等を通じて多大な環境リスクを持っていることが明らかとなった。**PCB**類とはポリ塩化ビフェニル **Polychlorinated Biphenyl : PCB**）の略称であり、分子中の塩素の数やその位置の違いにより理論的に209種類の異性体が存在することが知られている。熱的に安定で、不燃性や電気絶縁性が高いなどの特性から、変圧器やコンデンサーなどの電気機器の絶縁油、ノンカーボン紙の溶剤など様々な用途で利用されてき

たが、難分解性で脂溶性が高く、慢性的な摂取により体内に徐々に蓄積し、人体に対して様々な症状を引き起こす。しかしながら、その化学的にも極めて安定した物性により、処理が現在においても完全に終了しておらず、加えて河川や海域の底質に沈着して、継続的に水環境に環境リスクを及ぼしている。その一方で、水銀や PCB だけでなく、有害な化学物質は無数にあり、化学物質によるリスクの削減には至っていないのが現状である。

I-2 化学物質による環境リスク

一般に、これら化学物質による環境リスクは、物質固有の性状から導き出される「有害性の程度」と環境中への排出量や存在量から推定される「曝露量」によって評価される。

「有害性の程度」は、水生生物（藻類、甲殻類、魚類及び底生生物）を対象とした生体影響試験等により、人の健康及び生態系に対する有害性を特定し、用量（濃度）－反応（影響）関係から導き出すことができる⁶⁾。例えば、環境省による化学物質の生体影響試験では、OECD（Organisation for Economic Co-operation and Development：経済開発協力機構）の定めたテストガイドラインに準拠した方法⁷⁾により、環境省の優良試験所基準（Good Laboratory Practice: GLP）に適合している試験施設において実施している。藻類の試験の場合、*Pseudokirchneriella subcapitata*（単細胞緑藻類の一種、水系食物連鎖における生産者）を用いた藻類生長阻害試験（72 時間曝露した際の 50% 生長阻害濃度（EC50）及びその無影響濃度（NOEC））を行う。また、水系食物連鎖における一次消費者としてのオオミジンコ（*Daphnia magna*）を用いた甲殻類の試験の場合、ミジンコ急性遊泳阻害試験（48 時間曝露した際の半数遊泳阻害濃度（EC50））及び慢性毒性に関する試験としてのミジンコ繁殖試験（化学物質に 21 日間曝露した際の繁殖の 50% 阻害濃度（EC50）及びその無影響濃度（NOEC））を行う。水系食物連鎖における高次消費者としてのヒメダカ（*Oryzias latipes*）を用いた魚類の試験の場合、魚類急性毒性試験（96 時間曝露した際の半数致死濃度（LC50））、魚類延長毒性試験（14 日間曝露した際の半数致死濃度（LC50）及び致死に係る無影響濃度（NOEC））及び魚類初期生活段階毒性試験（卵の段階からふ化後約 30 日まで曝露した際の最小影響濃度（LOEC）及び無影響濃度（NOEC））を行っている。セスジユスリカ（*Chironomus yoshimatsui*）を用いた底生生物の試験の場合、底質添加によるユスリカ毒性試験（化後一齢幼虫から羽化まで（20～28 日間）被験物質に曝露した際に成長に及ぼす羽化率等）を行っている。

「曝露量」は、人及び生態系に対する化学物質の環境経由の曝露量の見積もりを行うために、環境中の存在量や流入量、残留・分解・移行の環境挙動など

を計測することにより導かれる⁶⁾。一般的に、主な環境媒体として、水質、大気、底質、生物などが考えられる。一般家庭や産業に伴い排出される化学物質の多くは、排水もしくは排ガスとして排出されることがほとんどである。これまで、日本人が被ってきた化学物質の曝露量について、過去にモニタリング調査が行われた。ダイオキシン類や金属類、農薬類などについて、血液検査（体内蓄積量）、尿調査（体外排出量）及び食事調査（摂取量）が行われた⁸⁾。この調査では、それらの化学物質は、大気や土壌などを直接吸引するだけでなく、環境中に放出されてから生体濃縮を経て摂取する経路も考えられており、必ずしも化学物質による曝露される経路が特定されていない。しかしながら、これらの媒体間において、化学物質は水質を中心として相互に移行することが想定されていることから、環境リスクを評価するに当たって、媒体としての水質は非常に重要と思われる。

I-3 化学物質による環境リスク管理

化学物質による環境リスクを評価した後に、化学物質による環境リスク管理（環境リスクマネジメント）が行われることになる^{9), 10)}。環境リスク管理では、環境リスクの低減を目的として「有害性の低い物質への代替」と「曝露量のコントロール」といった対策・提言が行われる¹¹⁻¹³⁾。例えば、アスベスト（石綿）は、天然の鉱物繊維で、耐熱性や耐薬品性などの特性から耐火壁や天井、外壁などの軽量耐火被覆材として広く使用されてきた。一方で、その細かい繊維が肺の中に入ると組織に刺さり、長期の潜伏期間を経て、肺がん、悪性中皮腫（悪性の腫瘍）などの病気を引き起こすおそれがあり、大気汚染防止法などの法規制がある。アスベストに対する環境リスクマネジメントとしては、建物の解体に伴うアスベストの飛散防止対策（曝露量のコントロール）や建材や空気中のアスベスト濃度の計測（曝露量のコントロール）、及び二酸化ケイ素と酸化カルシウムから構成されるロックウール（岩綿）への転換（有害性の低い物質への代替）などが行われている。アスベストのほか、環境リスクが高いと懸念されている化学物質として、PCB類、ダイオキシン類、農薬、界面活性剤（アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウムなど）などが知られている。

I-4 化学物質の法規制

環境リスクが高いと懸念される化学物質については、我が国の化審法と同様に各国で法規制が成されている。例えば、欧州連合（EU）においては、人の健康又は環境を損なうなどのリスクをもたらす化学物質を規制することを目的として、化学品の登録・評価・認可および制限に関する規則（Registration, Evaluation, Authorization and Restriction of Chemicals : REACH）が制定されてい

る。EU 域内で製造または輸入する物質の事業者は、欧州化学品庁に当該物質を登録する必要がある。また、アメリカにおいても、我が国や EU と同様に有害物質規制法（Toxic Substances Control Act : TSCA）が制定されている。この法律では、化学物質を既存化学物質と新規化学物質に分類している。既存化学物質とは、1975 年以降に製造、輸入または加工された化学物質であり、そのリストを TSCA インベントリー（TSCA Inventory）と呼ぶ。また、このインベントリーに登録されていない新規化学物質に対して、それを製造・輸入する製造者または輸入業者は、製造または輸入の前に環境保護庁（United States Environmental Protection Agency : EPA）へ届け出る必要がある。この届出の際に、有害性の有無を届出者が調べ、安全性を証明することとなっている。EPA は、有害性・曝露・分解性及び生物蓄積性の順に優先的にリスク評価を行っている。規制物質として、PCB 類やアスベスト、六価クロムなどが原則禁止されている。我が国においても、PCB 類は、1972 年（昭和 47 年）に製造が中止になった。さらに、PCB の処理を確実にかつ適正に推進するため、平成 13 年に「ポリ塩化ビフェニル廃棄物の適正な処理の推進に関する特別措置法」（PCB 特措法）が公布された¹⁴⁾。また、ポリ塩化ジベンゾーパラジオキシン（PCDD）とポリ塩化ジベンゾフラン（PCDF）の総称であるダイオキシン類についても、毒性が非常に強い性質を持つことが明らかとなり、平成 11 年にダイオキシン類対策特別措置法により厳しく規制が行われることとなった¹⁵⁾。これらの我が国の対策に加えて、国際的な動向として、先に挙げた水俣条約の他に、「残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約」（POPs 条約）がある¹⁶⁾。POPs（Persistent Organic Pollutants : 残留性有機汚染物質）とは、難分解性、高蓄積性、長距離移動性、有害性（人の健康・生態系）を持つ物質を指しており、PCB やダイオキシンに加えて有機塩素化合物の殺虫剤であるアルドリンやディルドリンや臭素系難燃剤であるヘキサブロモシクロデカン、界面活性剤であるペルフルオロオクタンスルホン酸（PFOS）が指定されている。特に、POPs による有害性（人の健康・生態系）として、従来までの毒性に加えて内分泌かく乱作用が懸念されている。この条約は、これらの製造・使用の原則禁止や原則制限などを目的としており、POPs の廃棄物の処理や POPs に関する調査研究、モニタリングなどの対策も求められている。我が国においては、この POPs 条約に基づく国内実施計画を策定し、結果を公表している¹⁷⁾。一方で、PFOS やペルフルオロオクタン酸（PFOA）に対しては高速液体クロマトグラフトンデム型質量分析法（LC/MS/MS）が用いられており、低濃度においても精度良く計測することが可能である。

I - 5 化学物質の高感度分析法

POPsに限らず、一般的な化学物質における「曝露量」を推定するために、環境中の化学物質を精度良く計測する手法開発が望まれている。アルドリンなどのPOPsのモニタリング分析法では、主にガスクロマトグラフ質量分析法（GC/MS）が用いられている。しかしGC/MSでは、化学物質を熱により気化させる必要があることから高沸点の化学物質や難揮発性の化学物質、熱的に不安定な化学物質、高極性の化学物質などの分析が困難である。近年の有機質量分析法の進歩はめざましく、GC/MSでは測定が困難であったそれらの化学物質を、ソフトなイオン化法による高速液体クロマトグラフタンデム型質量分析法（LC/MS/MS）の開発や改良により、極低濃度まで分析できるようになった¹⁸⁻²³⁾。現在も、新規の化学物質が登録される件数は増えており、それらの化学物質を幅広く分析できるLC/MS/MSは、主要な環境分析法になっている。

I-6 化学物質環境実態調査

わが国においても、環境省を中心として、新規に開発された化学物質や注目されている環境中微量化学物質などの有機質量分析法の開発が毎年行われる。これらの分析法開発は、我が国における水質や底質、大気などの環境媒体中の化学物質の濃度を計測するため、環境省が地方公共団体等の協力を得て実施している化学物質環境実態調査に用いることを目的として行われている。すなわち化学物質の環境実態調査を実施する前に、化学物質を環境媒体中から抽出、精製し、精度良く計測する分析法を開発する必要があるためである。さらに、開発した分析手法を用いて、環境中における微量化学物質の存在量を把握するのみならず、その化学物質の物性の評価や環境中における分解性などの環境動態を評価することは、リスク管理としての科学的な化学物質の規制方針（環境中の放出抑制や監視、管理など）に寄与することができると考えられる。現在、分析法の多くでGC/MSやLC/MS/MSが用いられている²⁴⁾。例えば、平成6年度の化学物質分析法開発調査報告書によれば、14件の開発が行われたうちGC/ECDによるものが1件でGC/MSによるものが13件であった²⁵⁾。その後、平成28年度の化学物質分析法開発調査報告書によれば、GC/MSによるものが13件でLC/MS/MSによるものが11件となっており、近年においてLC/MS/MSの適用が増加していることが明らかである²⁶⁾。これは、LC/MS/MSは、GC/MSでは適用が困難である難揮発性や極性の高い化学物質に対しても、適用が可能であることが理由である。

I-7 本研究の概要

本研究では、環境媒体として水質に着目し、環境リスクが高いと予想されるベンゾイミダゾール系や尿素系などの農薬類、界面活性剤等の原料として大量

に使用されている *N*-メチルジデカン-1-イルアミン(*N*-Methyldidecane-1-ylamine)を選定した。ベンゾイミダゾール系や尿素系などの農薬類は、その生体への毒性のほかに土壌吸着性を有しており、残留性が高く、長期間悪影響を及ぼしていることが予想される²⁷⁾。また、*N*-メチルジデカン-1-イルアミンは、*N*-メチルジデシルアミンやジデシルメチルアミンとも呼ばれる物質であり、近年急速に生産量が増えている新規の化学物質であるため、これまで正確な環境リスク初期評価が全く行われておらず、環境中における挙動等の科学的な情報が不足している^{28), 29)}。これらの化学物質の環境中における濃度を正確に測定することができる分析法を開発し、環境中の濃度を広く調査した。加えて、環境中における挙動や排出源の推定や地域特性、環境中の濃度分布や分解過程などに影響を及ぼす諸要因を実験的手法及び統計的手法により解析し、環境リスクの低減に寄与する基礎的な研究を行った。

以下に各章の内容を示す。

Ⅱ．名古屋市内河川及び海水中残留農薬の月間変動に関する多変量解析

我が国において広く使用されている農薬類は、あらゆる環境媒体に拡散されており、特に水環境への環境影響が懸念されている。特に、毒性などの人体等への影響が明瞭なチウラムやシマジンなどの農薬には、環境基準が設けられている³⁰⁾。一方で、これら以外の基準が設けられていない農薬についても、イソウロンやジウロンなどの尿素系農薬のように、安定的な化学物質であると共に土壌に吸着されやすく長期に亘って環境に影響を及ぼすと考えられる種類も多数存在している^{31), 32)}。また、登録が失効した農薬がある一方で、新規に登録される農薬もあり、多くの農薬についてこれまで環境影響は正確に把握できていたとはいえなかった。さらに、これまでの農薬の環境計測において、農薬の散布時期である春季から夏季にかけての報告がほとんどで、秋期や冬季において環境の現状はあまり重要視されてきていなかった^{33), 34)}。しかしながら、先の尿素系農薬のように農薬の中には長期間環境に晒されているにも拘らず、非常に安定なものも多数存在し、長期に渡って及ぼす環境影響を明らかにする必要がある。そのため、我々は、名古屋市内における河川及び海水中に存在する、尿素系農薬のように化学的に安定して存在できる農薬類の濃度を1年間に渡って調査を行った。その際には、尿素系農薬のように分子構造内に極性基をもつことから、極性の高い化学物質にも適用が可能である LC/MS/MS を用いて、多数の農薬類の一斉分析を行った。さらに、農薬類の濃度の変動などを解析するだけでは観測が困難な、環境中における農薬類の濃度に影響を及ぼす諸因子を明

らかにすることを目的として、従来まで主に用いられてきたクラスター分析や主成分分析に加えて、因子分析による多変量解析も行った。

Ⅲ. LC/MS/MS による環境水中の *N*-メチルジデカン-1-イルアミンの定量法の開発

2011 年に初めて化審法における優先評価化学物質に指定された *N*-メチルジデカン-1-イルアミンは、*N*-メチルジデシルアミンもしくはジデシルメチルアミンとも呼ばれる物質である。現在、この物質は、化審法において、「*N*-メチルジデカン-1-イルアミン（通し番号 100）」という名称で登録されているため、以後この名称で主に記述する。この物質は、2011 年には 113 t、2013 年には 224 t、2014 年には 530 t、2015 年には 517 t の輸入・製造量が報告されている比較的新しい化学物質である²⁸⁾。*N*-メチルジデカン-1-イルアミンは、陽イオン界面活性剤の一つであるアミンオキサイド 4 級アンモニウム塩の原料として用いられている。この物質は、皮膚や眼などの粘膜に接触することで重篤な薬傷・損傷を生じるなど一定の有害性が認められている^{35), 36)}。一方、化審法において、この物質の環境汚染した場合の環境リスクがないと判断できない化学物質として、2011 年に初めて優先評価化学物質に指定された^{28), 29)}。従って、*N*-メチルジデカン-1-イルアミンの環境における動態など多くの情報が不足している。環境水中における *N*-メチルジデカン-1-イルアミンによる環境リスクや環境動態を把握するためには、この物質の各種の毒性試験から得られた慢性毒性での無影響濃度(NOEC)を考慮すると、0.001 µg/L レベルの測定が求められる。これまで、環境中における µg/L レベルの *N*-メチルジデカン-1-イルアミンの分析に関して、この物質の酸化物等を除いてほとんど報告されていない^{37), 38)}。それは、この物質の log Pow が 8.88 であることから高い疎水性を有しており、構造中の四級アミン基による高い極性があると考えられる。一般に、高極性の化学物質を高感度に分析する手法として、LC/MS/MS が主要な分析法の一つである。しかしながら、これまで *N*-メチルジデカン-1-イルアミンの分析法の開発がほとんど報告されていないのが現状である。そこで、本研究では、環境水からの抽出法、試料のクリーンアップ方法等を検討し、環境水中の *N*-メチルジデカン-1-イルアミンを 0.001 µg/L レベルまで測定する手法を開発し、名古屋市内の環境について調査を行った。さらに、同分析法を用いて、*N*-メチルジデカン-1-イルアミンの環境水中における挙動等についても検討を行った。

【引用文献】

- 1) 経済産業省、化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律（化審法）（昭和 48 年 10 月 16 日法律第 117 号）
- 2) CAS, A DIVISION OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY
<http://www.cas-japan.jp/>
- 3) 環境省、水質汚濁防止法（昭和 45 年 12 月 25 日法律第 138 号）
- 4) 環境省、廃棄物の処理及び清掃に関する法律（昭和 45 年 12 月 25 日法律第 137 号）
- 5) 水銀に関する水俣条約（平成 29 年条約第 18 号）
- 6) 環境省、化学物質の環境リスク評価 第 16 巻（平成 30 年 3 月）
- 7) 経済産業省、新規化学物質等に係る試験の方法について（平成 15 年 11 月 21 日薬食発第 1121002 号、平成 15・11・13 製局第 2 号、環保企発第 031121002 号通知）
- 8) 環境省、日本人における化学物質のばく露量について 2017
- 9) 環境省、パンフレット「OECD の環境保健安全プログラム（日本語訳）」
- 10) 岡敏弘：リスクを管理する－はじめに－、pp368-371、「環境リスクマネジメントハンドブック」、中西準子他編集、朝倉書店、東京（2003）
- 11) 社産業管理協会、環境リスク管理の実務、（2003）
- 12) 島崎規子、環境リスク・マネジメントー環境リスク・マネジメントの取り組み事例と問題点一、城西国際大学紀要、**16**, 15-49（2007）
- 13) 経済産業省、特定化学物質の環境への排出量の把握等及び管理の改善の促進に関する法律（化管法）（平成 11 年 7 月 13 日法律第 86 号）
- 14) 環境省、ポリ塩化ビフェニル廃棄物の適正な処理の推進に関する特別措置法（平成 13 年 6 月 22 日法律第 65 号）
- 15) 環境省、ダイオキシン類対策特別措置法（平成 11 年 7 月 16 日 法律第 105 号）
- 16) 残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約（POPs 条約）（2004 年 5 月発効）
- 17) 環境省、POPs 条約に基づく国内実施計画点検結果（平成 28 年 10 月 6 日）
- 18) Takahashi, Y. and Onodera, S.: Laboratory procedure for analysis of volatile semi- and hardly-volatile pesticides in drinking water. *Journal of Environmental Chemistry*, **25**, 167-176 (2015)
- 19) Tahara, R.: Determination of traces of poly(oxyethylene)octylphenyl ether in environmental water. *Journal of Environmental Chemistry*, **25**, 109-118 (2015)
- 20) Takazawa, M. and Suzuki, S.: Measurement methods for aromatic amines in urine, shampoo-water mixture, and river water using solid phase extraction liquid

- chromatography / tandem mass spectrometry. *Journal of Environmental Chemistry*, **25**, 87-94 (2015)
- 21) Takenouchi, T. and Aoi, T.: Determination of drift of Neonicotinoid insecticide Thiachloprid caused by aerial spraying by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Environmental Chemistry*, **26**, 27-32 (2016)
- 22) Hasegawa, H., Hirao, S. and Suzuki, S.: Liquid chromatography-mass spectrometric analysis of p-cumylphenol and bisphenol A in environmental waters in Nagoya City. *Journal of Environmental Chemistry*, **26**, 21-26 (2016)
- 23) Yoshiyuki H., Shigeru S. and Kazuko K.: Deconjugation Characteristics of Ethylparaben Conjugates in Human Urine by Indirect Liquid Chromatography Tandem-mass Spectrometry. *Journal of Environmental Chemistry*, **28**, 1-8 (2018)
- 24) 環境省、「化学物質と環境」
- 25) 環境省、平成 6 年度 化学物質分析法開発調査報告書
- 26) 環境省、平成 28 年度 化学物質分析法開発調査報告書
- 27) 環境保健クライテリア (Environmental Health Criteria :EHC) 日本語抄 No.148 ベノミル (Benomyl), No.149: カルベンダジム (Carbendazim), 国際化学物質安全性計画 (International Programme on Chemical Safety : IPCS) (1993)
- 28) National Institute of Technology and Evaluation : Chemical Risk Information Platform (NITE-CHRIP)
- 29) Ministry of Economy, Trade and Industry Government of Japan : The Risk Assessment of a Priority Assessment Chemical Substances in Chemical Substance Control Law (2014)
- 30) 環境省、水質汚濁に係る環境基準 (環境庁告示第 59 号、昭和 46 年 12 月 28 日)
- 31) 水質汚濁に係る農薬登録保留基準の設定に関する資料 イソウロン (環境省、平成 29 年 9 月 26 日告示)
- 32) 水産動植物の被害防止に係る農薬登録保留基準の設定に関する資料 ジウロン (環境省、平成 25 年 9 月 11 日告示)
- 33) 永井里央、長井一文、今泉圭隆.: 水田農薬を対象とした排出推定モデルの甲突川への適用, *Annual report of Kagoshima Prefectural Institute for Environmental Research and Public Health*, **13**, 105-108 (2012)
- 34) Matsumoto, G., Koga, T., Noriyama, S., Fujikawa, K., Ishibashi, Y. and Baba, Y.: Runoff of pesticides around the paddy area, *Annual report of the Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences*, **41**, 92-96 (2014)
- 35) Japan Chemicals Collaborative Knowledge database (J-Check)
- 36) Tokyo Chemical Industry Co., LTD. : MSDS: D2311 (Didecylmethylanine) (2013)

- 37) Smith, K. R., Johannessen R. O. and Bauer D. P.: Comparing didecylmethamine oxide with stearyldimethylamine oxide. *J. Cosmet. Sci.*, **38**, 43-55 (1987)
- 38) Smith, K. R., Borland J. E., Sauer J. D. and Bauer D. P.: Di-*N*-alkylmethamine oxides. I. Didecylmethamine oxide comparison with stearyldimethylamine oxide. *Proc 2nd World Conf Deterg 1986*, 245-247 (1987)

Ⅱ．名古屋市内河川及び海水中残留農薬の月間変動に関する多変量解析

1．はじめに

今日では、病気の予防や除虫・除草など農業の効率化を目的として農作物の生産には、農薬の使用は欠かせないものとなっている。農薬の出荷量は、平成以降減少し続けているものの、近年ではほぼ横ばいであり、概ね合計で20万トン程度である¹⁾。ポリカーバメートなどのように登録が失効される農薬がある一方で、ネオニコチノイド系農薬のように新たに登録される農薬もあり、現在では登録が失効されたものも含めれば農薬としての種類は、増え続けている。特に、毒性などの人体等への影響が明瞭なチウラムやシマジンなどの農薬には、環境基準が設けられている²⁾。その一方で、これらを除いた基準が設けられていない農薬の場合、水質汚濁に係る農薬登録保留基準について設定されているものもある³⁾。水質汚濁に係る農薬登録保留基準とは、環境中予測濃度（水濁 PEC：水質汚濁の評価の観点から予測した濃度）が毒性及び残留性の試験結果に基づき環境大臣が定める基準値に適合しないなどの場合に農薬の登録を保留するものである。しかしながら、水濁 PEC は、主に数値計算により算定されるものであり、一過性の農薬の使用や河川底質への吸着等を考慮していない点や実測濃度を十分に反映できていない点など課題も見られる。従って、多くの農薬について、環境監視が十分になされていないため、農薬の過剰もしくは不適正な使用があった場合、環境中の存在量を計測することや生態系への影響（環境リスク）は適切に評価することができていない。

農薬は、非常に多くの種類があるため、それらの評価を行うために GC/MS や LC/MS/MS などを用いた様々な同時分析法が検討されてきた^{4), 5)}。また、環境省では、毎年化学物質環境実態調査を実施し、農薬類や化成品などの化学物質全般の環境調査を行なっている。例えば、平成24年度の調査において、ベンゾイミダゾール系農薬であるカルベンダジムがほぼ全国で観測された⁶⁻⁹⁾。カルベンダジムは、現在農薬として失効されているにもかかわらず、他の農薬であるベノミルやチオフアネートメチルなどが加水分解することで生成することが知られており、土壌における半減期が6～12ヶ月と分解しにくく、さらに土壌等に吸着されやすいため、環境中への残留性が高いと考えられる¹⁰⁾。また、イソウロンやジウロンなどの尿素系農薬も、環境中における半減期が500日以上と長期に亘って環境に影響を及ぼすと考えられる^{11), 12)}。

一般に、農薬類の調査日程は、農薬の排出量が最大となることが想定される春先から夏までの時期に行うことが多い^{13), 14)}。一方で、農薬類の排出量が少ないことが想定されている冬も含めた、月間毎や2週間に1度程度の頻度でほぼ年

間を通じて測定した結果を報告した例もある¹⁵⁻¹⁹⁾。それらの中で、GC/MS や LC/MS/MS を用いて、プロモブチドなどのアミド系農薬やチオベンカルブなどのカーバメート系農薬、アセタミプリドなどのネオニコチノイド系農薬について、分析対象としている。一方で、農薬は、近年においても新たな農薬が登録され続けており、現在でも様々な分析手法や環境動態の検討が行われている。さらに、非常に多くの種類があるため、それらの評価を行うために一斉同時分析の検討も成されてきた²⁰⁻²²⁾。それらの中で、ベンゾイミダゾール系農薬や尿素系農薬に加えて、フェノブカルブなどのカーバメート系農薬やトリシクラゾールなどのステロール生合成阻害剤などの多くの農薬類を分析対象としていた。その結果、河川水や海水からジウロンやダイムロンが比較的濃度が高く検出され、フェノブカルブやテブチウロン、プロポクスルなどの農薬類も観測されていた²⁰⁻²²⁾。例えば、フェノブカルブは、水質の条件によっては半減期が1年以上と比較的安定であり²³⁾、容易に分解しないことから、環境中である程度の濃度で存在していると推察される。また、我々は、カルベンダジム、イソウロン、ジウロン及びダイムロンの農薬について、名古屋市内の河川及び海域における濃度の計測を行った結果、農薬毎に高濃度となる時期が微妙に異なり、その時期は推奨されている農薬の使用時期と概ね一致することを明らかとした²⁴⁾。さらに、農薬の使用時期ではない冬季であっても、夏季と比較して低濃度ながらも検出されることもわかった。これらのことは、これら以外の世間で広く使用されている農薬の中で、比較的半減期の長い農薬についても同様な傾向を示すことが推測された。加えて、これまで、濃度変動などを解析するだけでは観測が困難である農薬類の環境中における分解物等の挙動追跡や特異性成分の探索、試料間の二群間比較などを目的として、主にクラスター分析及び主成分分析といった多変量解析が行われた²⁵⁻³⁰⁾。また、農薬類以外の環境測定の結果に対しても、クラスター分析及び主成分分析による解析の結果、地下水の水質特性や類型化、マーカー成分の抽出などが報告されてきた³¹⁻³³⁾。一般に、測定試料間の判別を目的として、クラスター分析のように測定データ群の識別分析が行われている。また、主成分分析については、起源の推定や特異性成分の探索などの目的として因子分析と比較して数多くの解析が行われている。この主成分分析は、多数の観測変数から少数の合成変数（主成分という）を作り出す手法であり、多数の観測変数を分散が最大になるように主成分へと集約することを目的としている。従って、観測変数に相当する農薬類の濃度が原因となり、主成分は結果となると解釈される。この点から言うと、主成分から農薬類の発生源などの原因を探索するのは、因果関係が逆であり、必ずしも正確な推定が得られるとは限っていない。一方、因子分析は、農薬類の濃度などの観測変数の背後に潜在する複数の共通因子が存在すると仮定して、その共通因子を

抽出して解析を行う手法である。即ち、因子分析では、農薬類の発生源や物理的な性状などの共通因子が原因であり、農薬類の濃度などの観測変数が結果となると解釈される。そのため、因子分析の因果関係は主成分分析と異なっており、農薬類の発生源などの原因を探索する意味においても適した手法と考えられる。さらに、因子分析は、個々の観測変数に固有の独自因子の存在を認めており、独自因子の存在を考慮していない主成分分析と明確に異なる手法である。加えて、因子分析は、個々の観測変数を互いに独立していると仮定している主成分分析に対して、独立しているとする仮定（バリマックス回転）だけでなく、個々の観測変数毎にある程度の相関を持っていると仮定（プロマックス回転）などの多様な解析条件を適用することができる。一方で、因子分析は、観測変数の分散が最大にするような主成分を合成する主成分分析がほぼ一義的に求められるのに対して、回転や因子数の決定などの多様な解析条件によって様々な解析結果が与えられてしまい、種々の解釈の余地が生じるなどの煩雑さもある。

そこで本研究では、過去に計測を行ったカルベンダジムなどの4種の農薬に加えて、Table 1に示すような同時に一斉分析が可能なカルバリルやフェノブカルブなどの14種類の農薬も含めた、名古屋市内の河川及び海域中における濃度の計測を行い、農薬類の経月変化を明らかにすることとした。さらに、得られた結果を基にして、農薬類の濃度の月間変動などを解析するだけでは観測が困難な、環境中における農薬類の濃度に影響を及ぼす諸因子を明らかにすることを目的として、主成分分析や因子分析などの多変量解析を行った。さらに、その結果を解析することで、各河川や海域の汚染の実態や名古屋市における農薬使用の実態や発生源の推定などの考察を行った。

2. 農薬類（18 成分）の一斉分析法の開発

2. 1 試薬

【試薬】

PL2005 農薬 LC/MS Mix I、II、III 及び 4（各 20 µg/mL アセトニトリル溶液）：林純薬工業製

ジウロン- d_6

：和光純薬工業

メタノール

：関東化学製 LC/MS 用

精製水

：超純水（対象物質がないことを確認する）。超純水製造装置オルガノ

PURELAB Ultra で精製したもの

【標準液の調製】

〔サロゲート標準原液〕

ジウロン- d_6 10.0 mg を正確に量り取り、メタノールで 100 mL に溶解し、100 mg/L の標準原液とする。

〔サロゲート標準溶液〕

サロゲート標準原液から段階的に希釈して、メタノールで希釈して 500 µg/L サロゲート標準溶液を調製した。

〔混合中間標準液〕

PL2005 農薬 LC/MS Mix I、II、III 及び 4 から、それぞれ 1 mL ずつ分取し、メタノールで 100 mL に希釈して、0.2 µg/mL（200 µg/L）メタノール混合中間標準液を調製した。

〔検量線作成用標準液〕

混合中間標準液を段階的に希釈して、0.10 µg/L から 100 µg/L を調製した。その際、0.10 µg/L から 100 µg/L の標準液それぞれに対して 500 µg/L ジウロン- d_6 サロゲート標準溶液を 4 µg/L になる様に添加した。このとき、Table 1 に示す 18 成分の農薬について、定量を行った。

【固相カートリッジ】

固相抽出カートリッジとして、Oasis HLB Plus LP（ウォーターズ，Milford，

MA, USA)

【実験器具】

GL サイエンス製全自動固相抽出装置（アクアトレース ASPE-799）、蓋付ガラス試験管、マイクロシリンジ、パスツールピペット

Table 1 Target pesticides, those use and the main application crops

Pesticides name	Use	The main application crops
Oxamyl	Carbamate based insecticide	Cucurbitaceae
Carbofuran-3-hydroxy	Metabolite of carbamate insecticide	Rice Plant
Propoxur	Carbamate based insecticide	Livestock
Carbaryl	Carbamate based insecticide	Fruit Tree, Vegetables
Fenobucarb	Carbamate based insecticide	Rice Plant
Cumyluron	Urea based herbicide	Rice Plant
Tepraloxym	Cyclohexanedione based herbicide	Vegetables
Tebufenozide	Benzoyl hydrazide based insecticide	Fruit Tree, Rice Plant
Triflumizole	Imidazole based fungicide	Fruit Tree, Vegetables, Rice Plant
Carbendazim	Benzimidazole based fungicides (Lapse) Decomposition products of Benomyl and Thiophanate methyl	Vegetables, Rice Plant, Fruit Tree
Vamidothion	Organophosphorus insecticide (Lapse)	Rice Plant, Vegetables
Tricyclazole	Blast fungicide	Rice Plant
Diflubenzuron	Urea based insect growth inhibitor	Fruit Tree, Vegetables
Isouron	Urea based herbicide	Tree
Diuron	Urea based herbicide	Fruit Tree, Rice Plant
Dymuron	Urea based herbicide	Rice Plant
Tebuthiuron	Urea based herbicide	Tree
Oxaziclomefone	Oxazinone herbicides	Rice Plant

2. 2 装置及び分析条件

2. 2. 2 LC/MS/MS 測定条件、検量線及び定量

【LC/MS/MS 測定条件】

農薬成分（18 成分）は、以下の条件で測定を行った。

〔LC 条件〕

装置 : Waters 製 Alliance2695

カラム : シグマアルドリッチ製 Ascentis Express C18

(10 cm × 2.1 mm, 2.7 µm)

移動相 : A : 精製水 、 B : アセトニトリル

0→1.0 min A : 80 → 55 B : 20 → 45 linear gradient

1.0→3.5 min A : 55 B : 45

3.5→6.0 min A : 55 → 50 B : 45 → 50 linear gradient

6.0→8.0 min A : 50 → 45 B : 50 → 55 linear gradient

8.0→17.5 min A : 45 → 5 B : 55 → 95 linear gradient

17.5→24 min A : 5 → 80 B : 95 → 20 linear gradient

24→30 min A : 80 B : 20

カラム流量 : 0.2 mL/min

カラム温度 : 40 °C

試料注入量 : 10 µL

〔MS 条件〕

機種 : Waters 製 QuattroMicro API

キャピラリー電圧 : 3.00 kV

コーンガス流量 : 50 L/hr

デソルベーションガス流量 : N₂ (700 L/hr)

ソース温度 : 100 °C

デソルベーション温度 : 350 °C

イオン化法 : ESI(+)-SRM

モニターイオン及び検出条件

Table 2 に従った。

〔検量線〕

各検量線用標準液 10 µL をそれぞれ LC/MS/MS に注入して測定を行った。

個々の農薬各々得られたクロマトグラムにおいて、対象物質のピーク面積を検

量線の縦軸、対象物質の濃度を横軸として、最小二乗法により一次の検量線を作成し、関係式及び相関係数を計算した。また、サロゲート標準ジウロン- d_6 による注入量補正等を行い、各農薬を定量した。

〔定量〕

試験液 10 μL を LC/MS/MS に注入して測定を行う。得られたクロマトグラム上の各対象物質のピーク面積から、サロゲート標準ジウロン- d_6 による注入量補正等を行い、各対象物質の試験液濃度(ng/mL)を求めた。

Table 2 Monitor pesticides

Monitor Pesticides			
Pesticides name	Monitor ion	Cone voltage (V)	Collision Energy (eV)
Vamidothion	288 > 166	25	15
Carbofuran-3-hydroxy	238 > 181	25	10
Carbendazim	192 > 160	30	20
Tricyclazole	190 > 163	40	30
Tepraloxydim	245 > 117	25	20
Propoxur	210 > 168	20	10
Tebuthiuron	229 > 172	30	20
Isouron	212 > 167	30	15
Carbaryl	202 > 145	20	10
Oxamyl	237 > 72	15	15
Diuron	233 > 72	30	20
Diuron- <i>d</i> ₆ (Surrogate)	239 > 78	30	20
Fenobucarb	208 > 95	15	15
Dymuron	269 > 151	25	15
Cumyluron	303 > 185	30	15
Diflubenzuron	328 > 158	10	20
Tebufenozide	353 > 133	15	20
Triflumizole	346 > 278	20	10
Oxaziclomefone	376 > 190	25	15

2. 3 調査試料

2. 2. 3 試料の採取及び前処理方法

〔試料の採取〕

2017 年の 1 月から 12 月まで毎月、Fig. 1 に示す河川 10 地点と海域 5 地点の計 15 地点で採取した。採水瓶には 1 L のポリプロピレン製瓶を用い、密栓して試験室に持ち帰り、冷蔵保管（4 °C）した。採水後、1 週間以内に前処理を行った。なお、試料の採水時および保管時において、測定対象とした農薬類の器具等への吸着や分解による損失の影響は認められなかった。

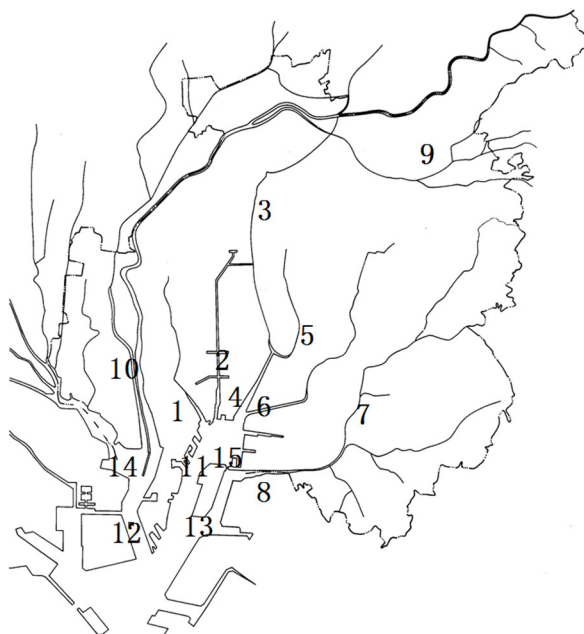
一般に、名古屋市の西部には、田畑が広がっており、No.10 の新川の上流域には、特に田畑が多い。その一方で、No.3 や No.4 の堀川のようにほぼ都市部を流れており、流域にあまり田畑が見られない河川もある。

〔前処理方法〕

試料水の前処理方法を Fig. 2 に示す。水質試料 200 mL を 300 mL 分液ロートに採り、25%食塩水 25 mL、アセトン 50 mL 及びヘキサン 50 mL を加えてから 10 分間激しく振とうする。静置後、ヘキサンを分取して、再びヘキサン 50 mL を加えて振とうする。ヘキサンを分取して先のヘキサンと合わせる。ヘキサン層をアセトニトリル 50 mL で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで脱水し、エバポレーターで数 mL 程度まで濃縮する。アセトニトリル 30 mL を加えて再度エバポレーターで数 mL 程度まで濃縮する。アセトニトリルで壁面を洗いながら試験管に移してアセトニトリルで 10 mL にしたものを試験液とする。

〔多変量解析ソフト〕

主成分分析や因子分析などの多変量解析には、College Analysis Ver.6.7（フリーソフト）を使用した。



No	Water Sampling Points	
	name	River Name
1	Arako River Pump Station	Arakogawa
2	Tokai Bridge	Nakagawa Canal
3	Koshio Bridge	Horikawa
4	Minato New Bridge	Horikawa
5	Hinode Bridge on Shin-Horikawa River	Shin-Horikawa
6	Doutoku Bridge	Yamazakigawa
7	Tenpaku Bridge	Tenpakugawa
8	Chidori Bridge	Tenpakugawa
9	Omori Bridge	Yadagawa
10	Hinode Bridge on Shinkawa River	Shinkawa
	name	Sea Name
11	Shiomi Pier West	Nagoya Port
12	Shonai River estuary	Nagoya Port
13	Shiomi Pier South	Nagoya Port
14	Fujimae Flats	Nagoya Port
15	Garden Pier	Nagoya Port

Fig. 1 Water sampling points in Nagoya city

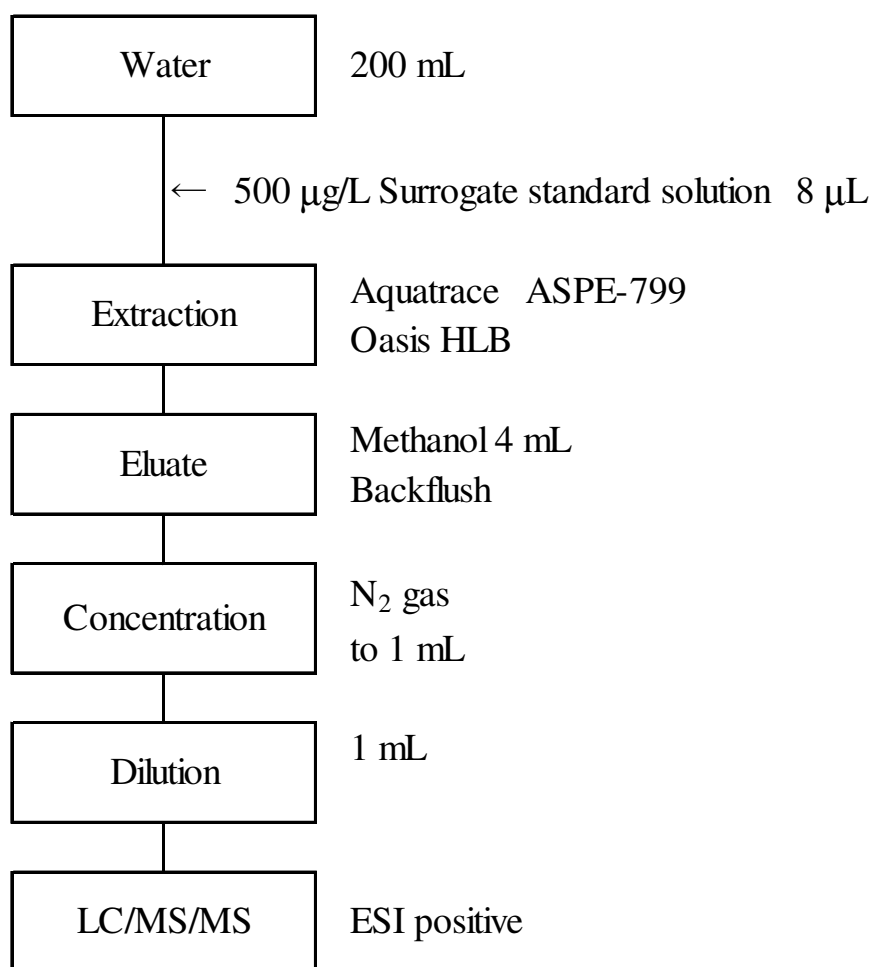


Fig. 2 Analysis scheme of the pesticides in environmental water

2. 2. 4 濃度の算出

試料水中の各農薬類の濃度 C (ng/L) は、次式により算出する。

$$C = (C_a - C_b) \times v / V$$

C_a : 検量線から求めた試験液中の対象物質濃度 (ng/mL)

C_b : 検量線から求めた空試験液中の対象物質濃度 (ng/mL)

v : 最終試験液量 (L)

V : 試料量 (L)

本分析法の場合、以下の数値を使用する。

$$v = 0.001 \text{ (L)}$$

$$V = 0.200 \text{ (L)}$$

即ち、

$$\begin{aligned} C &= (C_a - C_b) \times 0.001 / 0.200 \\ &= (C_a - C_b) \times 0.005 \end{aligned}$$

2. 2. 5 農薬類の分析方法の検出下限値 (MDL)、定量下限値 (MQL)、添加回収率及び CV 値

名古屋市内から採取した河川水 (No.10) に 1 µg/L 標準メタノール溶液を 1 mL 添加して、18 成分の農薬類それぞれの MDL、MQL、添加回収率及び CV(n=7)を求めた。なお、MDL 及び MQL の算出には、「化学物質環境実態調査実施の手引き (平成 27 年度版)」に従った。また、海水 (No.11) に 1 µg/L 標準メタノール溶液を 1 mL 添加して、18 成分の農薬類それぞれの添加回収率及び CV(n=7)を求めた。その結果を Table 3 に示す。河川水については、18 成分の農薬類を添加量の概ね 79%~112%の範囲で再現性良く回収することができた。さらに、海水については、18 成分の農薬類を添加量の概ね 75%~107%の範囲で再現性良く回収することができた。

Table 3 MDL, MQL and recovery rate of the pesticides in river water, and recovery rate of the pesticides in sea water.

Pesticides Name	River Water (n=7)				Sea Water(n=7)	
	MDL (µg/L)	MQL (µg/L)	Recovery Rate (%)	CV (%)	Recovery Rate (%)	CV (%)
Vamidothion	0.0014	0.0035	85	8.2	81	2.6
Carbofuran-3- hydroxy	0.0019	0.0049	113	8.7	104	2.6
Carbendazim	0.0014	0.0037	95	0.48	102	5.1
Tricyclazole	0.00084	0.0022	101	2.3	96	4.7
Tepraloxymid	0.00076	0.0019	94	4.2	85	4.1
Propoxur	0.00039	0.0010	98	2.1	88	3.5
Tebuthiuron	0.00081	0.0021	104	2.0	97	7.5
Isouron	0.0016	0.0041	98	6.7	100	4.0
Carbaryl	0.00059	0.0015	103	2.4	87	2.6
Oxamyl	0.0025	0.0064	112	5.8	107	7.0
Diuron	0.0019	0.0050	104	2.7	93	9.5
Fenobucarb	0.0013	0.0033	96	3.1	99	3.8
Dymuron	0.0018	0.0045	96	0.97	78	6.5
Cumyluron	0.00036	0.00092	81	2.3	80	2.3
Diiflubenzuron	0.0014	0.0036	105	6.9	101	3.2
Tebufenozide	0.0013	0.0034	99	6.8	93	1.7
Triflumizole	0.0025	0.0063	110	4.7	99	2.2
Oxaziclomefone	0.0010	0.0026	79	5.9	75	2.9

2. 2. 5 農薬類の濃度調査結果の概要

Fig. 3 に全 15 測定地点の全対象農薬類を合計した濃度についての 2017 年 1 月から 12 月の月別変化を示す。年間で対象農薬類が高い濃度を示している時期は、4 月から 7 月で連続しており、一般に年間で最も農薬が使用される時期と一致している。1 月においても高い濃度を示しているが、その後の月である 2 月はあまり高くないため、通常農薬を使用される時期を逸脱していることも考慮して一過性のものであると推察した。そこで、Fig. 4~7 に 2017 年 4 月から 7 月の測定地点毎の農薬類の濃度分布を示し、年間で対象農薬類が高い濃度を示している時期である 4 月から 7 月の月別のデータを比較して、各農薬の分布を評価した。

Fig. 4 の 2017 年 4 月 (April 2017) の結果では、最も濃度が高い地点が No.10 であり、No.1 や No.3、No.8 も次いで高濃度を示している。その農薬類の分布を見ると、テブチウロン (Tebuthiuron) が最も多く、オキサミル (Oxamyl) やジウロン (Diuron) も次いで多いことがわかった。一方で、No.11~15 の海域では、河川と比較して相対的に低濃度であることもわかった。また、海域の濃度分布については、No.10 の河口部に位置する No.12 及び No.14 の農薬類の結果について、明らかに No.10 からの影響を受けて他の海域よりも相対的に高濃度を示し、分布もある程度反映していると思われる。

Fig. 5 の 5 月 (May 2017) の結果を見ると、4 月の傾向とは異なり、No.1 が抜きん出て高い濃度を示しており、テブチウロンが主成分である。4 月の濃度結果で最も高い濃度を示した No.10 については、No.1 よりも低濃度を示しているが、それ以外の地点と比較すると、濃度が高い状況がわかった。また、海域の結果は、河川の結果と比較すると 4 月と異なり、同程度となった。

Fig. 6 の 6 月 (June 2017) の結果を見ると、再び No.10 が最も高く、次いで No.1 であった。さらに、それら以外の河川の結果は、概ね同程度の濃度結果を示した。また、海域は、4 月と同様に No.12 及び No.14 が高い濃度を示す傾向があった。一方で、その農薬成分の分布では、ダイムロン (Dymuron) が主成分となり、4 月及び 5 月と異なり、テブチウロンの比率が低下している。

Fig. 7 の 7 月 (July 2017) の結果を見ると、再び No.1 が最も高く、No.6 や No.10 が次いで高い濃度を示した。また、農薬成分の分布では、No.1 でテブチウロンの比率は非常に高いものの、それ以外の地点においては、テブチウロンと共にカルベンダジム (Carbendazim) やオキサミルやジウロンの比率が高くなる傾向が見られた。また、いずれの測定月において、河川中の農薬の濃度は、海域中の濃度よりも常に高い傾向を示していた。なお、バミドチオン (Vamidothion)、3-ヒドロキシカルボフラン (Carbofuran-3-hydroxy)、テプラロ

キシジム (Tepraloxydim) 及びジフルベンズロン (Diflubenzuron) の 4 種の農薬は、4 月から 7 月のみならず年間を通じてほとんど観測されなかった。これらの結果から、農薬の濃度は、全ての地点で毎月常に同程度では無いだけでなく、その検出された農薬の濃度分布も常に一定でなく、農薬の使用時期などの諸要因が影響を及ぼしている可能性が示唆された。そこで、水質中の農薬の分布に影響を及ぼしている要因を明らかにするため、年間で最も農薬の濃度が高い時期が連続している 4 月から 7 月の各農薬類のデータを使って多変量解析 (Multivariate Analysis) を試みた。その際には、ほとんど検出されなかったバミドチオン、3-ヒドロキシカルボフラン、テプラロキシジム及びジフルベンズロンの 4 成分は、多変量解析から除外して、残り 14 成分の農薬類を変量とした。今回、4 月から 7 月までの 4 ヶ月間に各月に採取された 15 地点において、それぞれ 14 の変量を持つ 60 個のデータを用いて、多変量解析を行った。

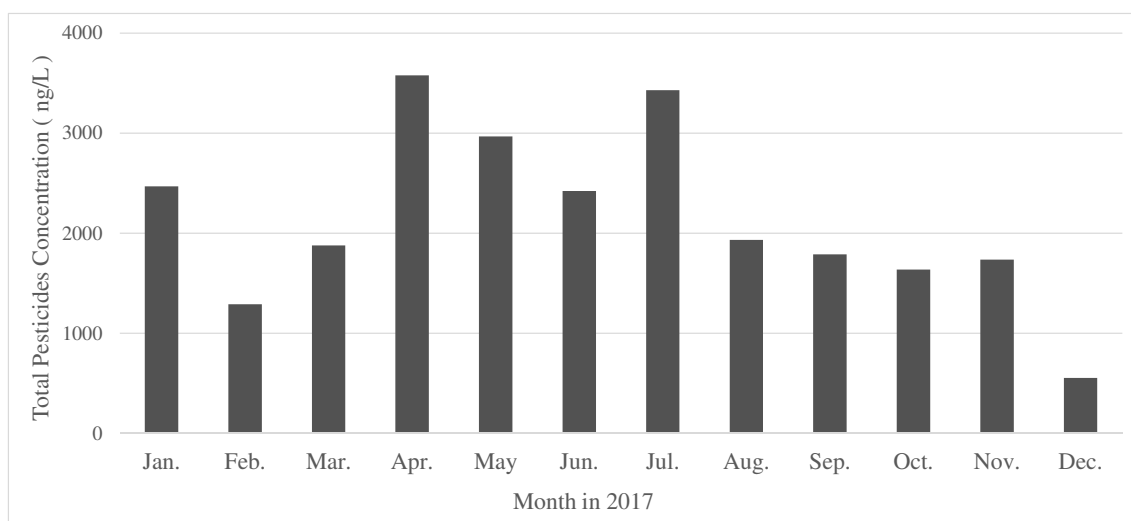


Fig. 3 Monthly change in total concentrations of the pesticides summed over the all sampling points.

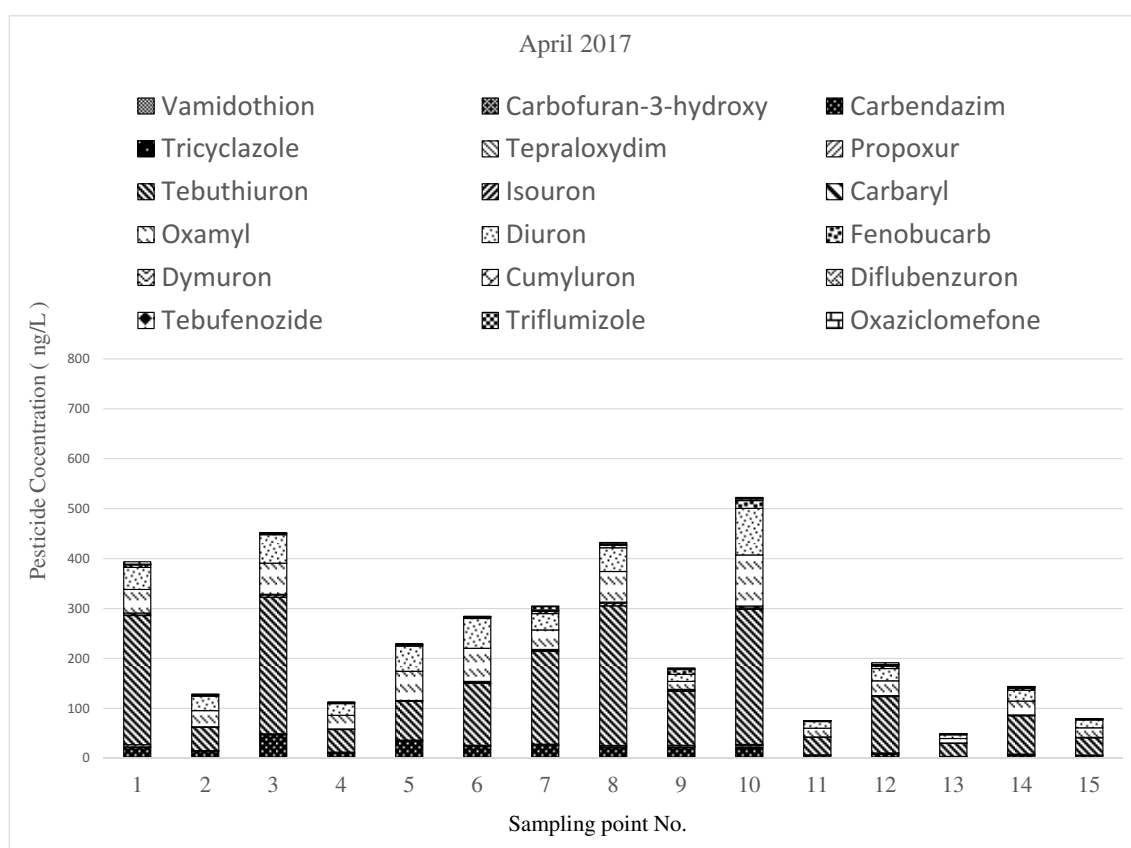


Fig. 4 Pesticide concentrations in 15 sampling points on April in 2017

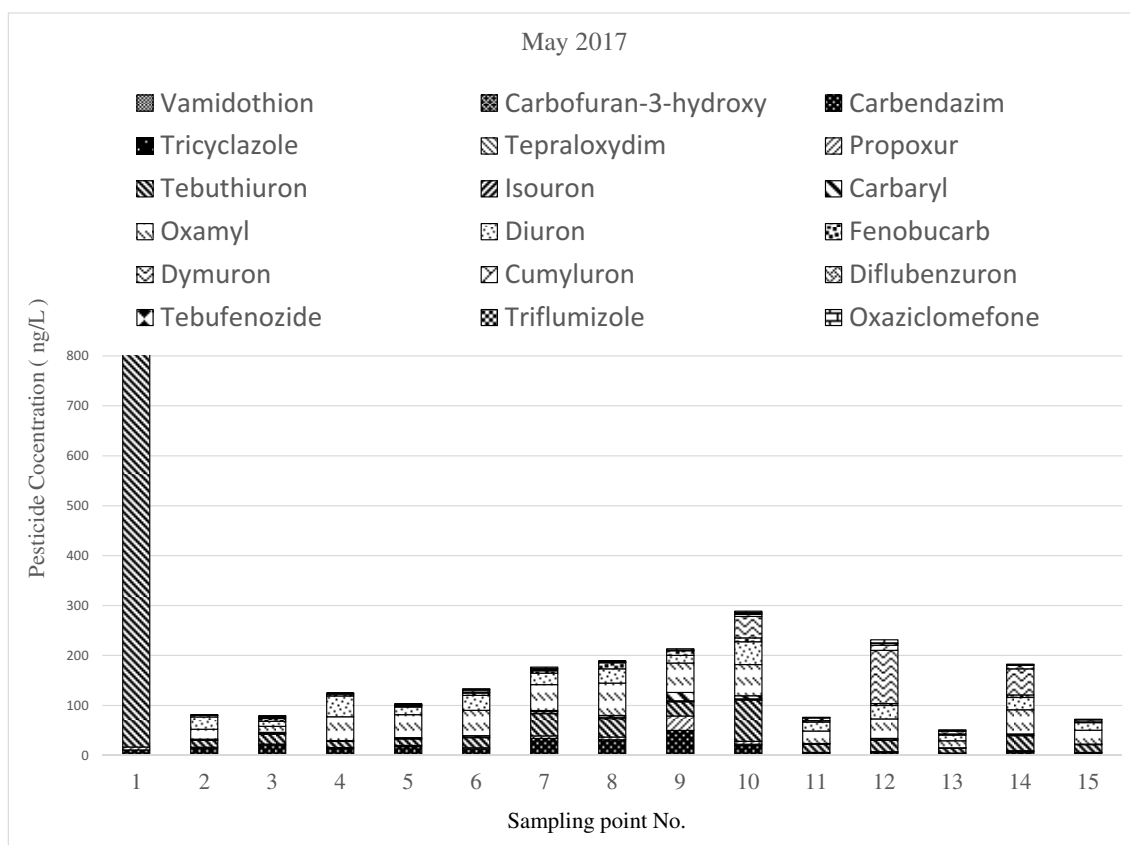


Fig. 5 Pesticide concentrations in 15 sampling points on May in 2017

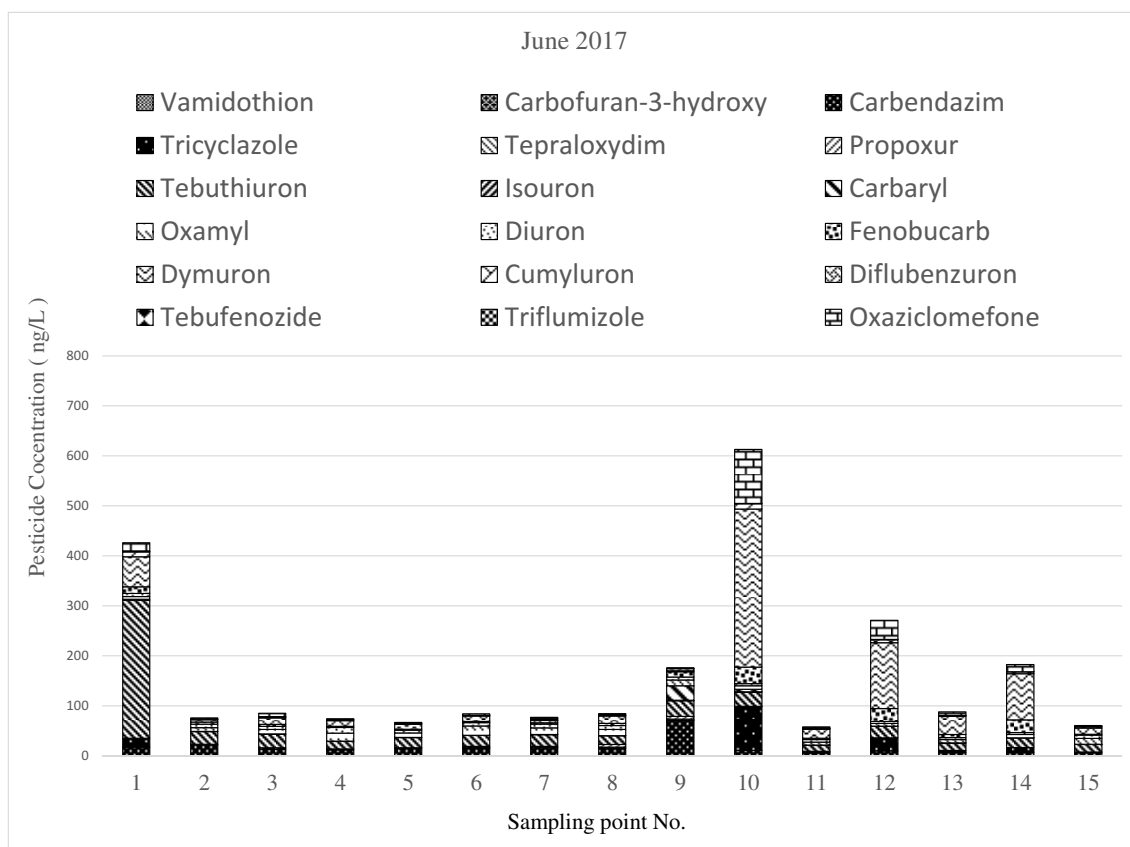


Fig. 6 Pesticide concentrations in 15 sampling points on June in 2017

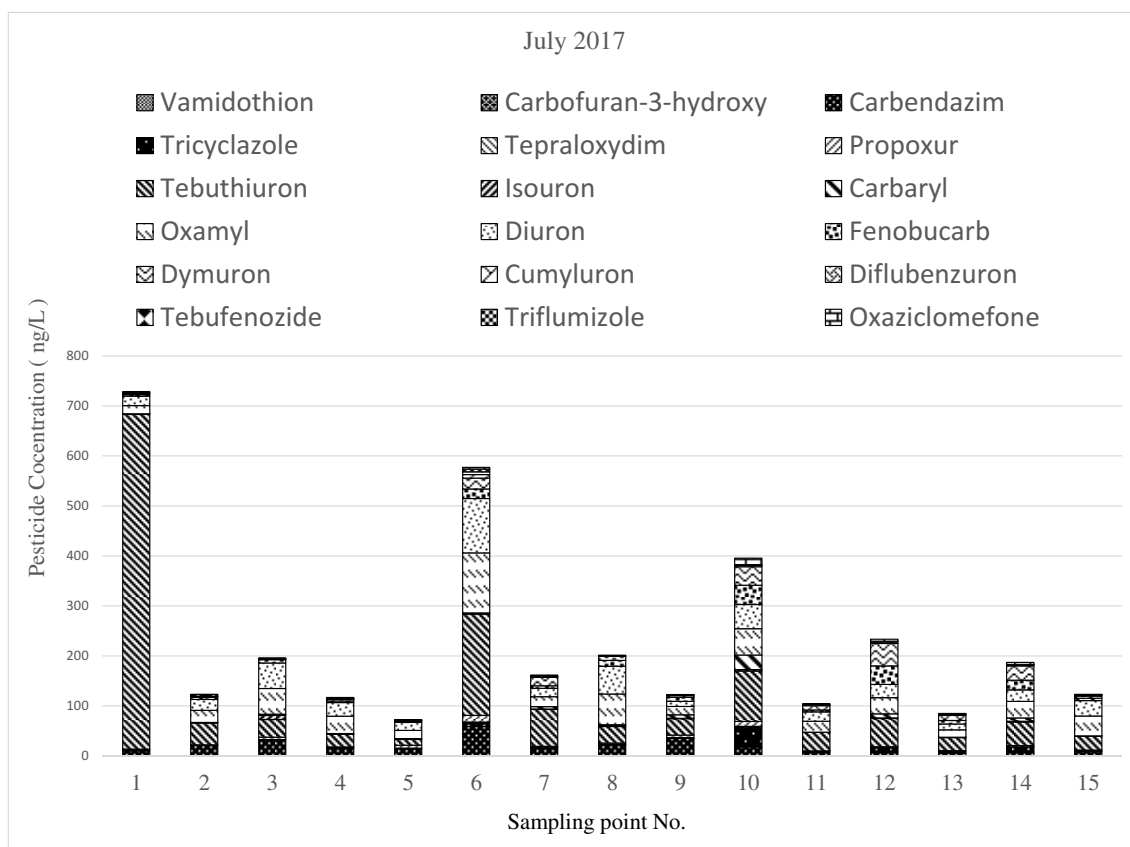


Fig. 7 Pesticide concentrations in 15 sampling points on July in 2017

3 多変量解析

3. 1 クラスター分析

Fig. 8 に、探索的多変量解析の手法の一つである階層クラスター分析 (Hierarchical Cluster Analysis) ³⁴⁻³⁶⁾ の結果を示す。階層クラスター分析とは、一変量を一次元としたときの多次元直交座標において、多変量で示される各座標間の距離 (ユークリッド距離) を計算し、距離が近いものから順番にまとまり (クラスター) でまとめていき、最終的に樹形図として示される。この際に、距離が近い座標同士は、似た性質を持つものとして認識され、逆に距離が遠い座標同士は、異なる性質を持つ座標として認識される。その結果、全体をいくつかの大きなクラスターに分類することができる、探索的多変量解析の手法の一つである。なお、クラスター間の距離測定方法として、ワード法 (Word Method) を用いた。Fig. 8 から、縦軸の距離 10 で大きく 2 つのクラスター (Cluster A 及び B) に分類できると考えられる。さらに、クラスター B の中で、距離 4 で 2 つのクラスター (Cluster B-1 及び Cluster B-2) に分類できると考えられる。クラスター A を構成するデータは、採取月に依存していないが、ほとんど河川の試料 (No.01-10) から構成されている。さらに、クラスター B-2 は、海域の試料 (No.11-15) で占めており、クラスター B-1 は、河川と海域が混在している。以上のことから、今回の観測されたクラスターは、主に河川と海域の性質をある程度反映した分類であると考えられるものの、それ以外の因子が寄与しているかについては十分に読み取ることができなかった。なお、6 月の No.10 のデータ (10-Jun.) は、どのクラスターからも孤立していた。

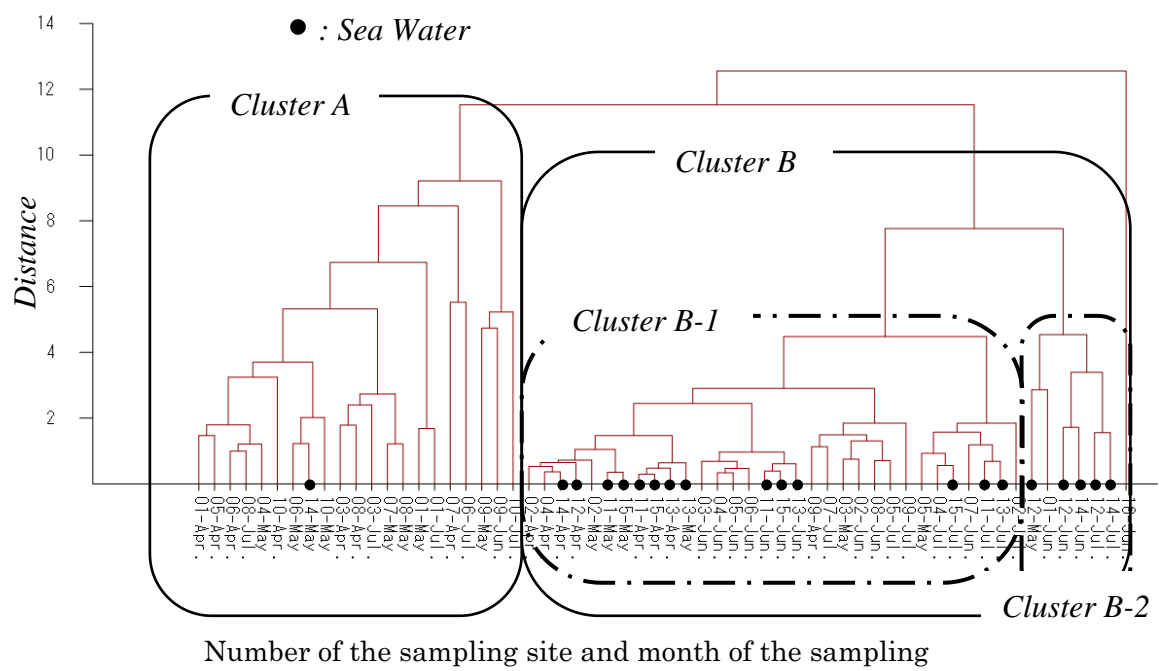


Fig. 8 Dendrogram of cluster analysis

3. 2 主成分分析

Fig. 9 に主成分分析 (Principal Component Analysis) ^{34, 37-38)}によって得られた、第一主成分及び第二主成分の主成分得点 (Principal Component Scores) の散布図を示す。主成分分析は、一変量を一次元としたときの多次元直交座標において、分散が最大となる座標軸を第一主成分軸とし、その第一主成分に直交し、かつ分散が最大になる座標軸を第二主成分軸とすることで、データの分散をもたらす内部因子を明らかにすることが期待できる。さらに、認識することが困難である多次元直交座標を認識が容易である平面座標に可視化できる効果もある。なお、各変量は、直交座標として図示していることから、互いに独立していると仮定している。また、今回のそれぞれの変量は、絶対値が互いに大きく異なっており、そのまま用いると絶対値の大きな変量の影響が不当に大きくなるため、規格化 ($[\text{【変量】} - \text{【平均値】}] / \text{【不偏標準偏差】}$) した値を用いた。Fig. 9 の主成分得点の散布図から、横軸の第一主成分の寄与率 (基のデータの反映率) は 28.5% であり、縦軸の第二主成分の寄与率は 25.9% であった。従って、この散布図は、基のデータの 54.4% の情報を反映している。測定データは、おおよそ原点付近に集中していることが観測できた一方で、6 月の No.10 のデータ (10-Jun.) は、クラスター分析の結果と同様にその他の測定データに対して孤立していることがわかった。そこで、原点付近を拡大した散布図を Fig. 10 に示す。概ね 3 つの領域に分類することが確認でき、その領域を構成する測定データは、クラスター分析とほぼ同様の測定データを示していた

(Cluster A、Cluster B-1 及び Cluster B-2)。Cluster A と Cluster B-1 を比較すると、第一主成分からの影響の差異がほとんど無く、第二主成分からの影響をそれぞれ正負逆に受けていることがわかる。一方、Cluster B-2 は、Cluster A 及び Cluster B-1 よりも、第一主成分からの影響が大きいことが確認できた。そこで、第一主成分及び第二主成分と変量 (各農薬類の濃度) との関係を図示した因子負荷量 (Factor Loading) を Fig. 11 に示す。Fig. 11 から、概ね 4 つの因子に分類できると考えられる (Factor 1 - 4)。Factor 1 は、トリシクラゾール

(Tricyclazole) やクミルロン (Cumyluron) などを含んでおり、第一主成分に対して強い負の影響を与えているが、第二主成分に対しては若干の負の影響を与えるに留まっている。Factor 2 は、フェノブカルブ (Fenobucarb) やカルバリル (Carbaryl) を含んでおり、第一主成分にはあまり影響を与えていないが、第二主成分に対してある程度の負の影響を与えている。Factor 3 は、オキサミル (Oxamyl) やジウロン (Diuron) などを含み、第一主成分に対してある程度の正の影響を与えている一方で、第二主成分に対して最も強い負の影響を与えている。Factor 4 は、テブフェノジド (Tebufenozide) やテブチウロン

(Tebuthiuron)を含んでおり、第一主成分に弱い正の影響を与え、第二主成分にも弱い負の影響を与えている。

Fig. 9、Fig. 10 及び Fig. 11 を総合的に評価すると、Fig. 10 のクラスターにおいて、Cluster A や Cluster B-1 は、オキサミルなどの Factor 3 から強い影響を受け、クラスターとして特徴付けられている。一方で、Cluster B-2 は、Factor 1 を構成するトリシクラゾールやクミルロンが影響を及ぼしていると考えられる。加えて、ある程度明確な因子が複数存在しており、その因子が強弱様々に作用して各農薬の濃度などに影響を及ぼしていることを因子負荷量が示唆している。しかしながら、主成分分析の第一主成分や第二主成分は、原理的に内在する因子の合成であることが多く、明確な因子の抽出が困難である。今回も、ある程度の因子の予想を行ったが、各因子間の差異は必ずしも明確ではなく、因子が意味するものは依然として不明である。そこで、通常、分析データからは、読み取ることが困難である内在する因子を抽出するために、多変量解析の一つである因子分析 (Factor Analysis) を試みた。

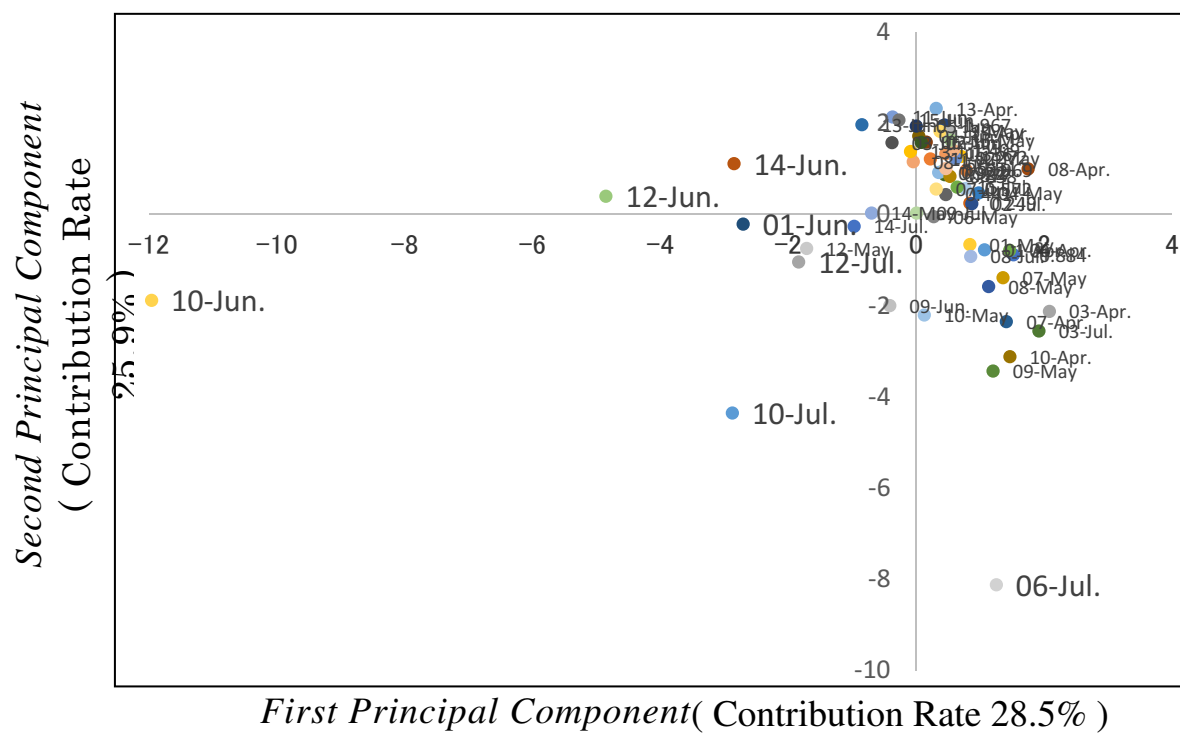


Fig. 9 Principal component scores of first and second principal component character assigned to the marked point shows the number of the sampling site and month of the sampling

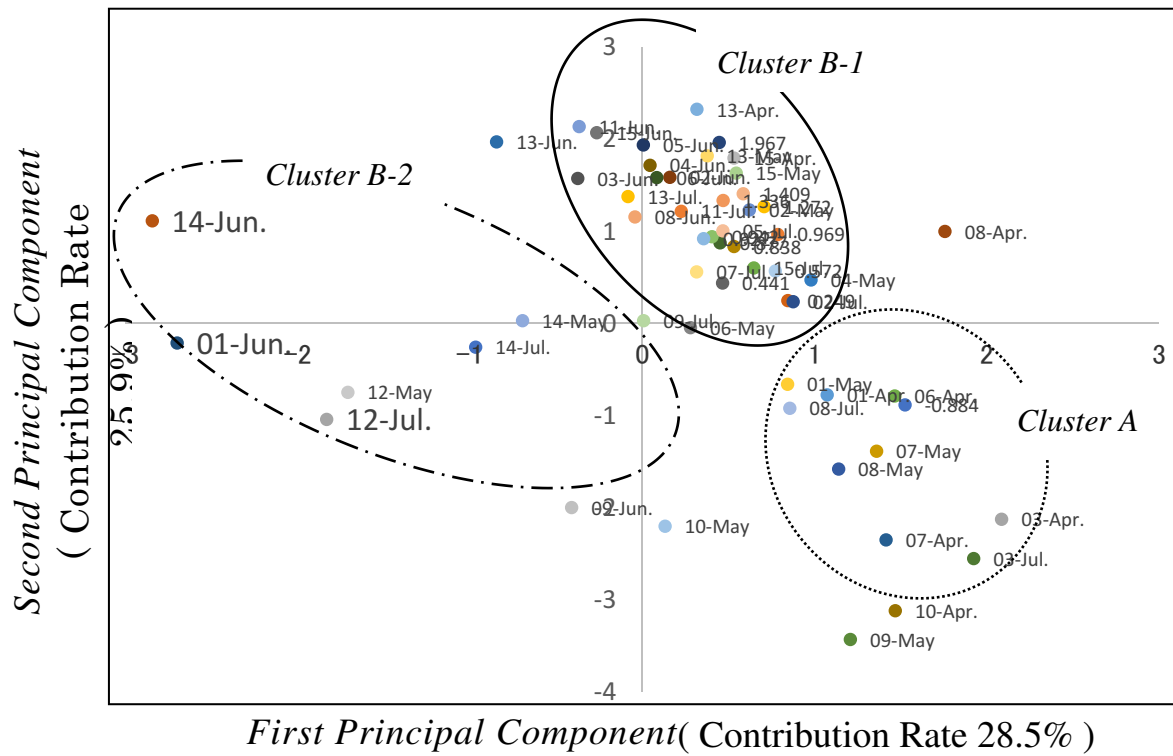


Fig. 10 Principal component scores of first and second principal component within the range of -3 to 3 at first principal component, and the range of -4 to 3 at second principal component character assigned to the marked point is the same as Fig.9

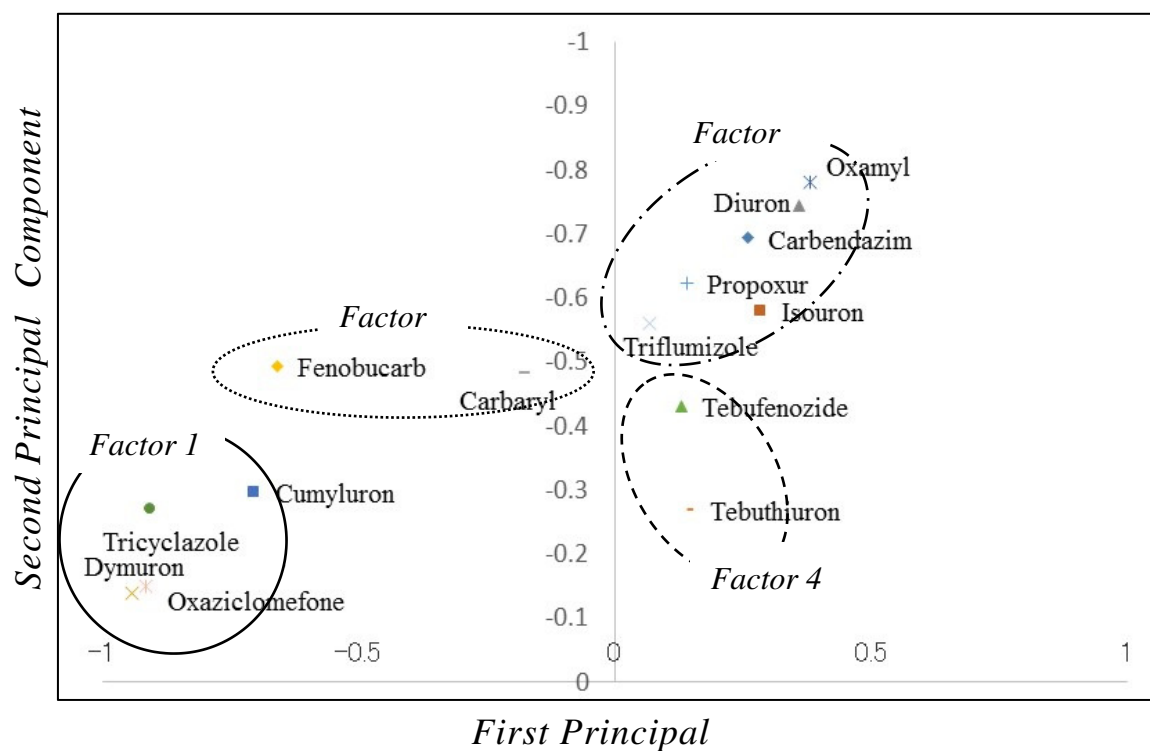


Fig. 11 Factor loading of first and second principal component

3. 3 因子分析

因子分析^{34, 39-40)}により、各変量が複数の因子からの影響を受けて濃度が決められていると仮定して、その因子の数や影響の程度などの解析を行った。即ち、以下の一般式で定義される、共通因子を求めた。

$$\text{【各変量の観測値】} = a_1 \times f_1 + a_2 \times f_2 + \cdots + a_i \times f_i + e$$

a_i : i 因子の因子負荷量

f_i : 共通因子 i (因子得点 i)

e : 誤差 (独自因子)

各変量のデータは、観測が可能である測定値を用いて、因子負荷量を数学的な処理計算により推定する。主成分分析と因子分析が異なる点は、主成分分析においては、第一主成分や第二主成分などが様々な因子の合成であることや独自因子も内包するのに対して、因子分析は、それらを区別して考慮した解析を行っている。Fig. 12 に、内在する共通因子数と相関行列固有値 (Correlation matrix eigenvalue) との比較 (スクリープロット) を示す。スクリープロットを用いて因子数の決定を行う際に、代表的な手法としてカイザーガットマン基準 (Kaiser-Guttman rule)、スクリープロット基準 (Scree Plot rule) 及び累積寄与率 (Contribution rate) が 0.5 に到達するところまででもって因子数を決定する方法の 3 つがある。カイザーガットマン基準は、相関行列固有値が 1 以上のものを因子数とする基準であり、その基準からすると Fig. 8 から、共通因子数は 4 つになる。また、スクリープロット基準は、プロットの傾きが急激に変化するところまでを因子数と決定するものであり、その基準からすると Fig. 8 から共通因子数は 3 つとなる。また、Table 4 に共通因子数を 5 と仮定して因子分析により得られた累積寄与率を示す。Table 4 から、累積寄与率が 0.5 に到達する因子数は、累積寄与率が 0.592 である、3 つの共通因子数の場合が相当していることがわかる。以上のことから、共通因子数は 3 つが妥当と判断した。Table 5 に、共通因子数を 3 としたときの因子分析により得られた、変量である 14 成分の農薬類の因子負荷量を示す。なお、因子分析の際の各種条件として、因子負荷量推定法として最尤法 (Likelihood Method)、因子得点推定法として回帰推定 (Regression Estimation)、回転として変量同士が独立していると仮定しているバリマックス回転 (Varimax rotation) を設定した。Table 5 から、オキサジクロメホンやトリシクラゾール、ダイムロンなど 5 種の農薬が共通因子 1 に対する因子負荷量が高く、ジウロンやオキサミルなど 5 種の農薬が共通因子 2 に対する因子負荷量が高く、カルバリルやカルベンダジムなど 3 種の農薬が共通因子

3 に対する因子負荷量が高くなっていることがわかった。また、テブチウロンは、どの共通因子とも因子負荷量が低く、共通因子とは異なる独自因子から影響を及ぼされていることもわかった。共通因子 1 について、構成する 5 種の農薬類に共通する要素として、適用作物として稲があり、実際に稲などに使用される例が多いことがわかった³⁷⁻⁴¹⁾。同様にして、共通因子 2 について、共通する要素を勘案すると、果樹に使用されていることが多いことがわかった。さらに、共通因子 3 については、野菜や家畜などへの適用が多いことがわかった。特に、共通因子 2 に対してもある程度の共通性を有しているカルベンダジムは、登録が失効している農薬で排出量が全く無いものの、ベノミルやチオファネートメチルが環境中で加水分解することで生成するといわれており^{6),7)}、ベノミルやチオファネートメチルの適用作物、即ち蜜柑などの果樹や大豆や蓮根などの野菜を反映した結果となったと考えられる⁴¹⁻⁴⁵⁾。従って、これらの共通因子は、それぞれの共通因子を構成する農薬類に共通する要素から推察して農薬の適用作物の違いを反映していると考察できた。なお、名古屋市における販売目的で作付け(栽培)した作物の種類別作付(栽培)面積は、「稲」の 33,778 アール(構成比 72.6%)、次いで「野菜類」が 7,438 アール(同 16.0%)で 2 位、「果樹類」が 3,987 アール(同 8.6%)である⁴⁶⁾。このことから、名古屋市全域では、稲作の水田が非常に多いことがわかる。一方で、名古屋市内には大規模なゴルフ場は存在しないため、ゴルフ場農薬の大規模な流出はほとんどないと考えられる。この名古屋市における作物の種類別作付面積のデータと比較して、いずれの因子についても名古屋市で現実に作付けがされている作物であり、因子分析の結果と必ずしも矛盾していない。一方、共通因子 1 に含まれるフェノブカルブについては、共通因子 3 にある程度の因子負荷量を有しているが、実際に豆科やなす科などの野菜にも使用されていることを反映していると考えられる。また、共通因子 2 に属するジウロンについても、果樹だけでなく豆科やなす科などへの適用がわかっており、因子負荷量とある程度の一致が見られる。これら以外の農薬についても、因子負荷量の傾向がフェノブカルブやジウロンと同様に、複数の用途に使用されている事実を概ね反映していることがわかった。独自因子の影響が強いテブチウロンについては、公園や庭園などに使用される除草剤であるが、独自因子がそれを反映しているかは不明である。

Table 6 に PRTR 情報を基にして推計された、平成 28 年(2016 年)の愛知県における各農薬の使用先使用量を抜粋した表を示す⁴⁷⁾。なお、カルベンダジムについては、ベノミルとチオファネートメチルの合計量で示している。また、空欄は、情報が無いことを示している。Table 5 と Table 6 を比較して、オキサジクロメホンやオキサミルなど合致していないものも見られるものの、共通因

因子 1 に分類されるフェノブカルブやクミルロン、共通因子 2 に分類されるジウロン、共通因子 3 に分類されるカルバリルやカルベンダジムについては、因子分析の結果と良く合致していた。

因子分析の結果から、サンプリング地点毎の特徴を明らかにするために因子得点による解析を試みた。Fig. 13、Fig. 14 及び Fig. 15 に、各因子の因子得点をプロットした散布図を示す。Fig. 13 では、4 月から 7 月にそれぞれサンプリングした地点毎に横軸に共通因子 1 を縦軸に共通因子 2 の因子得点をプロットした。ほとんどのサンプリングデータは原点付近に集中しているが、No.10 の新川日の出橋については、各月で大きく変遷していることがわかる。4 月から 5 月にかけて共通因子 2（果樹）のみの変移であり、5 月から 6 月及び 6 月から 7 月にかけて共通因子 1（稲）のみの変移である。続いて、Fig. 14 では、4 月から 7 月にそれぞれサンプリングした地点毎に横軸に共通因子 1 を縦軸に共通因子 3 の因子得点をプロットした。Fig. 13 と同様に No.10 の新川日の出橋が大きく変遷している。4 月から 5 月にかけてほぼ変動していないが、5 月から 6 月にかけてほぼ共通因子 1 に起因した変動している一方で、6 月から 7 月にかけて共通因子 1（稲）及び共通因子 3（野菜・家畜）の両方に起因する変移である。加えて、No.09 の大森橋についても 4 月から 7 月にかけて、共通因子 3 のみに起因した変動をしていることがわかった。Fig. 15 では、4 月から 7 月にそれぞれサンプリングした地点毎に横軸に共通因子 2 を縦軸に共通因子 3 の因子得点をプロットした。Fig. 14 と同様に No.10 の新川日の出橋及び No.09 の大森橋において、激しい変遷が認められた。No.10 の新川日の出橋については、共通因子 2 による変動よりも共通因子 3 による変動が大きいことがわかった。また、No.09 の大森橋についても共通因子 3 による激しい変遷が認められた。これらの結果は、名古屋市西部を流れる新川沿いには、田畑や果樹園などが広がっており、それらで使われた農薬類から極短時間で直接多大な影響を受けていることと考えられる。また、河川の上流に相当する No.09 の大森橋については、田畑による影響よりも野菜や家畜などの影響を強く受けていることが考えられる。これらの変遷は、各地点における固有の発生源からの多大な影響の結果であると考察できる。一方で、No.01 の荒子川ポンプ所については、4 月から 7 月にかけて概ね高濃度の農薬類が検出されていたものの各共通因子からの影響による変遷は、ほとんど無いと思われる。

以上の結果から、因子分析の結果は、ある程度農薬使用の実情を反映したものであると推定でき、使用量等の情報が無い農薬についても因子分析の結果でもってある程度の発生源を推定できることを示すことができた。

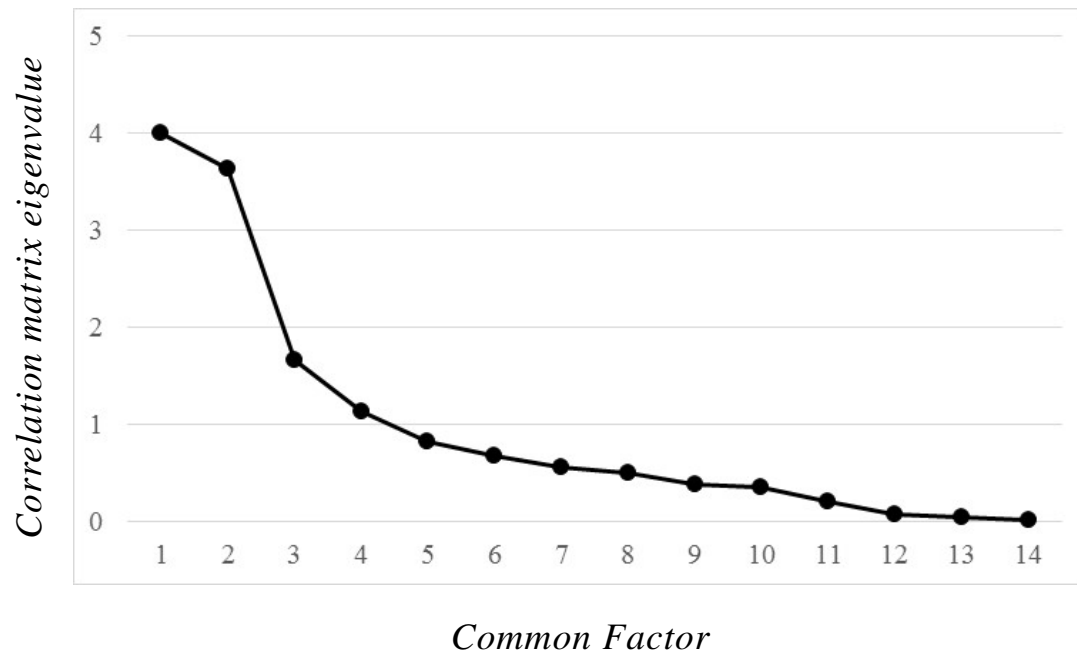


Fig. 12 Scree Plot of factor analysis

Table 4 Contribution rate and cumulative contribution rate of factor analysis at 5 factors

	Common Factor				
	1	2	3	4	5
Contribution Rate	0.266	0.184	0.142	0.074	0.032
Cumulative Contribution Rate	0.266	0.450	0.592	0.665	0.697

Table 5 Factor loading in factor analysis at 3 factors

		Factor				
		Common				Uniqueness
		1	2	3	Commonality	
Pesti cides	Oxaziclomefone	0.974	-0.086	-0.117	0.970	0.030
	Tricyclazole	0.961	-0.052	0.101	0.937	0.063
	Dymuron	0.938	-0.08	-0.128	0.902	0.098
	Fenobucarb	0.665	0.091	0.385	0.599	0.401
	Cumyluron	0.633	0.016	0.056	0.405	0.595
	Diuron	-0.071	0.925	0.228	0.912	0.088
	Oxamyl	-0.094	0.915	0.303	0.939	0.061
	Isouron	-0.051	0.464	0.255	0.283	0.717
	Tebufenozide	-0.034	0.463	-0.029	0.217	0.783
	Triflumizole	0.085	0.427	0.024	0.191	0.809
	Carbaryl	0.188	-0.141	0.972	1.000	0.000
	Propoxur	0.007	0.231	0.581	0.391	0.609
	Carbendazim	-0.052	0.334	0.550	0.417	0.583
	Tebuthiuron	-0.007	0.241	0.005	0.058	0.942
Contribution Rate		0.261	0.184	0.142		
Cumulative Contribution Rate		0.261	0.445	0.587		

Table 6 Estimated amount to use by usage based on the PRTR data of pesticides in Aichi prefecture in 2016

		amount to use by usage (kg/year)		
		rice field	fruit farm	field
Pesticides	Oxaziclomefone	110		140
	Tricyclazole			
	Dymuron			
	Fenobucarb	870		100
	Cumyluron	48		
	Diuron		530	160
	Oxamyl			6.4
	Isouron		3.9	16
	Tebufenozide	9.6		0.39
	Triflumizole			
	Carbaryl		160	1300
	Propoxur			
	Carbendazim	750	4200	4800
	Tebuthiuron			

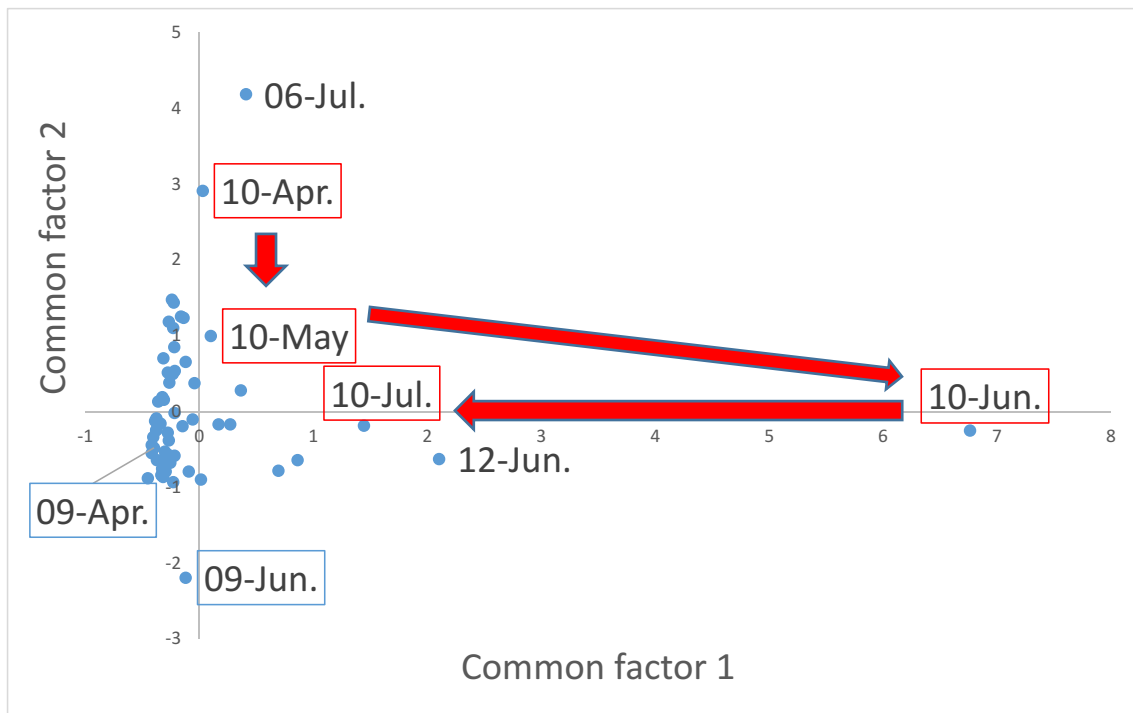


Fig. 13 Plot in factor score of common factor 1 and 2

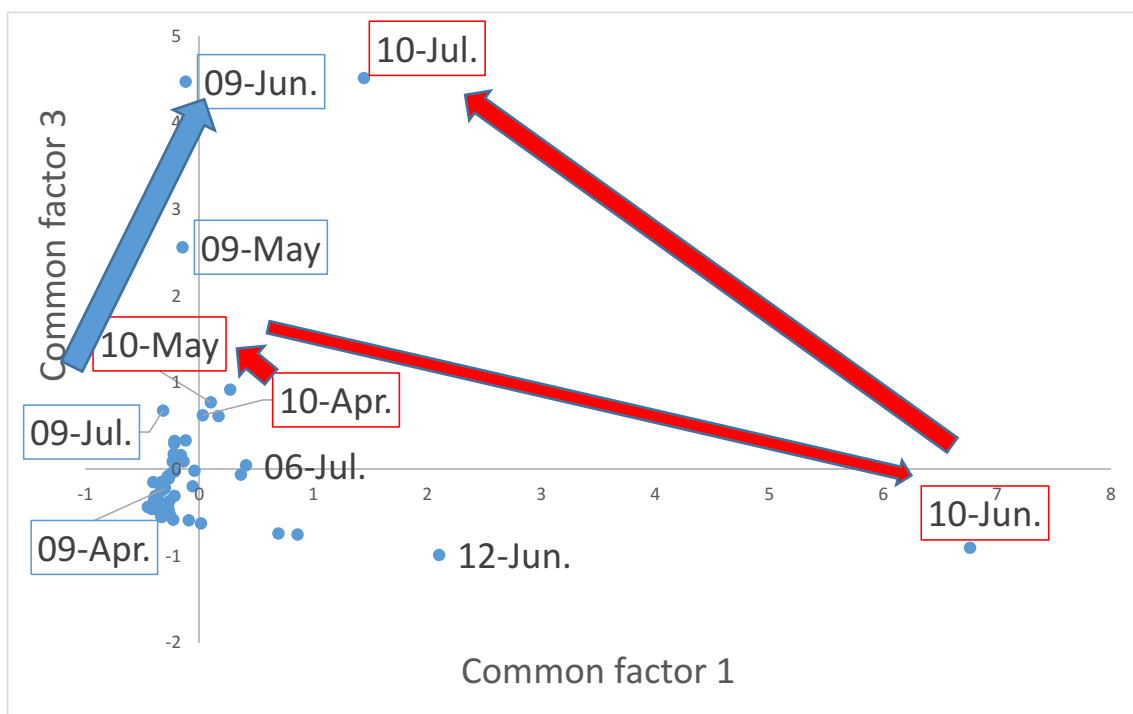


Fig. 14 Plot in factor score of common factor 1 and 3

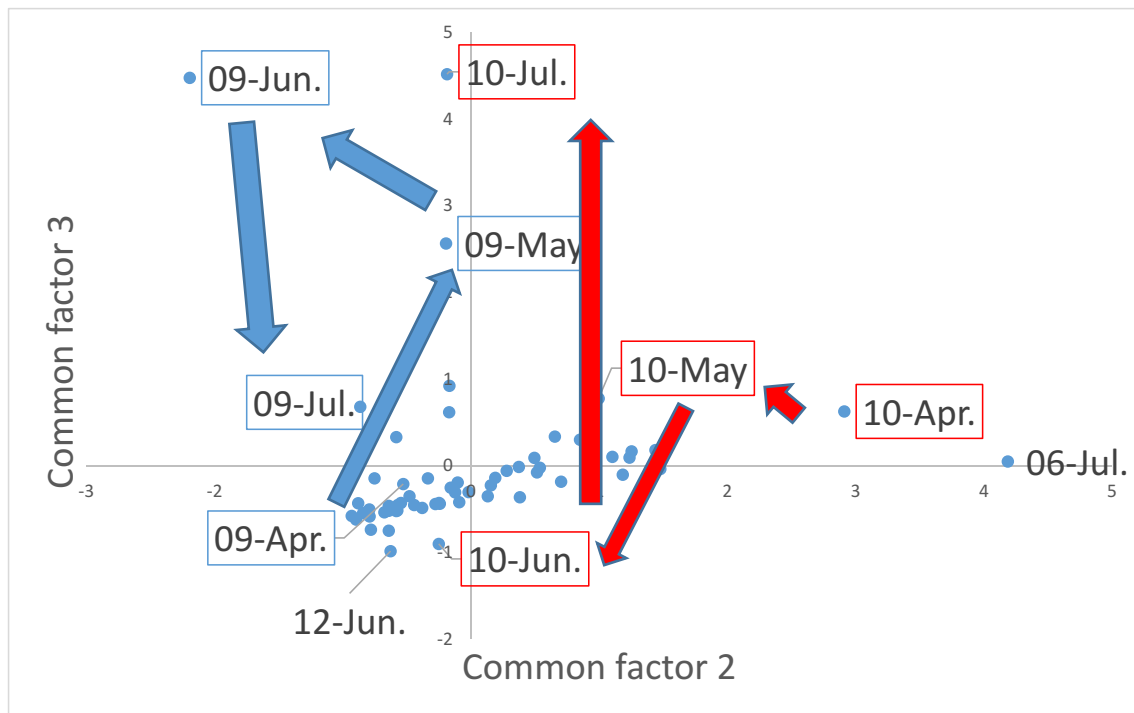


Fig. 15 Plot in factor score of common factor 2 and 3

4 まとめ

本研究では、LC/MS/MSにより河川や海域などの環境水中に残留している農薬の濃度を定量した。2017年の1年間の月別変化を観測すると、農薬を使用する時期とある程度連動していることがわかった。一方で、その検出される農薬の種類は、毎月常に一定ではないことがわかり、またそれらの組成比が何らかの要因に従って変化することが推察された。また、高濃度を示す地域や低濃度である地域など、地域の違いも明らかとなった。特に、4月から7月の結果は、年間を通して高い濃度を示しており、農薬を最も使う時期と合致している。これらの月別の変化や地域ごとの違いが起こる要因について、多変量解析による解析を試みた。クラスター分析により、3つのクラスターが見られ、河川や海域に起因して特徴付けられている可能性が示唆された。さらに、主成分分析により、クラスター分析と同様に3つのクラスターの存在する可能性が示唆されただけでなく、トリシクラゾールやクミルロンなどのそれぞれの農薬類の多寡が濃度の変動に寄与していることがわかった。加えて、因子分析を行った結果、通常計測することが困難な農薬類の適用作物の違いが構成要因として内在すると推察され、それらの諸要因を起因として、環境中の濃度に影響を及ぼしていることが示唆された。

Table 7に、3種の多変量解析によって得られた知見をまとめた。クラスター分析では、試料水が3つのクラスターに分類できた。また、主成分分析では、クラスター分析と同様な結果が得られ、クラスター毎の分類の原因となる農薬類の推定がある程度可能となった。さらに、因子分析により、農薬類が使用される適用作物がある程度反映した、共通因子が内在していることや発生源が推察できた。一方で、使用量や使用用途等の情報の無い農薬や少ない農薬についても、発生源を推定することができたと考えられる。

これらの結果は、今後、農薬類の環境リスク評価の際の基礎的なデータとして活用でき、農薬類の継続的な環境監視や農薬類の排出量の削減などの環境リスクを低減する対策へと繋げていくことが期待できる。

Table 7 Summary of multivariate analysis results

multivariate analysis	new finding
cluster analysis	(1) three clusters are found. (2) two clusters are belong to river waters, the other cluster is belong to sea waters.
principal component analysis	(1) three clusters are found with the principal component scores. (2) four factors are found with factor loadings. (3) one of the factors is mostly affected by Tricyclazole and Cumyluron.
factor analysis	(1) three factors are found. (2) the primaly factor might affect to pesticides applied to rice farming. (3) the secondaly factor might affect to pesticides applied to fruit growing. (4) the third factor might affect to pesticides applied to vegetable cultivation and fattening pens.

【引用文献】

- 1) 農林水産省資料 農薬の生産・出荷量の推移（平成元～28 農薬年度）
- 2) 環境省、水質汚濁に係る環境基準（環境庁告示第 59 号、昭和 46 年 12 月 28 日）
- 3) 農林水産省、農薬取締法第 3 条第 1 項第 4 号から第 7 号までに掲げる場合に該当するかどうかの基準を定める等の件（農林省告示第 346 号、昭和 46 年 3 月 2 日）
- 4) Takahashi, Y. and Onodera, S.: Laboratory procedure for analysis of volatile semi- and hardly-volatile pesticides in drinking water. *Journal of Environmental Chemistry*, **25**, 167-176 (2015)
- 5) Takenouchi, T. and Aoi, T.: Determination of drift of Neonicotinoid insecticide Thiacloprid caused by aerial spraying by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Environmental Chemistry*, **26**, 27-32 (2016)
- 6) 化学物質分析法開発調査報告書（平成 19 年度），2-メトキシカルボニルアミノベンゾイミダゾール（別名：カルベンダジム），1301-1317 (2007)
- 7) 化学物質分析法開発調査報告書（平成 19 年度），N-[1-(N-n-ブチルカルバモイル)-1H-2-ベンゾイミダゾリル]カルバミン酸メチル（別名：ベノミル）；2-メトキシカルボニルアミノベンゾイミダゾール（別名：カルベンダジム），1123-1141 (2007)
- 8) Hirao, S. and Watanabe, M.: A study on the analysis for Benomyl by LC/MS. *Annual Report of Nagoya City Environmental Science Research Institute*, **38**, 47-51 (2008)
- 9) 平成 24 年度版 化学物質と環境 ―初期環境調査― (2012)
- 10) 環境保健クライテリア（Environmental Health Criteria :EHC）日本語抄 No.148 ベノミル（Benomyl），No.149：カルベンダジム（Carbendazim），国際化学物質安全性計画（International Programme on Chemical Safety : IPCS）(1993)
- 11) 水質汚濁に係る農薬登録保留基準の設定に関する資料 イソウロン（環境省，平成 29 年 9 月 26 日告示）
- 12) 水産動植物の被害防止に係る農薬登録保留基準の設定に関する資料 ジウロン（環境省，平成 25 年 9 月 11 日告示）
- 13) 永井里央、長井一文、今泉圭隆.: 水田農薬を対象とした排出推定モデルの甲突川への適用, *Annual report of Kagoshima Prefectural Institute for Environmental Research and Public Health*, **13**, 105-108 (2012)
- 14) Matsumoto, G., Koga, T., Noriyama, S., Fujikawa, K., Ishibashi, Y. and Baba, Y.: Runoff of pesticides around the paddy area, *Annual report of the Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences*, **41**, 92-96 (2014)

- 15) Kondoh, H., Fukuyama, R. and Liu, A.: Simultaneous determination of pesticides and their seasonal variation in Ishikari river basin. *Journal of Environmental Chemistry*, **11**, 253-266 (2001)
- 16) Yoshida, M. and Fujimori, K.: The study of pesticide in the river water around the paddy area, *Bulletin of the Hyogo Prefectural Institute of Public Health and Environmental Sciences*, **2**, 28-36 (2005)
- 17) Yoshioka, T., Kenmotsu, K., Fujiwara, H., Nakagiri, M., Maeda, D., Takano, H. and Fujita, K.: Environmental survey of pesticides in the river water of Okayama. *Annual report of Okayama Prefectural Research Center of Environmental Science and Public Health*, **33**, 65-72 (2009)
- 18) Goto, Y., Sato, T., Narushima, T and Takahashi, Y.: Annual behavior of pesticides in river and tap waters in Niigata city. *Journal of Environmental Chemistry*, **19**, 487-495 (2009)
- 19) Sato, M., Uemura, H., Kosaka, K., Asami, M. and Kamata, M.: Survey of pesticide concentrations, including Neonicotinoids, in the Sagami river, its tributaries and tap water. *Journal of Japan Society on Water Environment*, **39**, 153-162 (2016)
- 20) Ninomiya, K.: Study on simultaneous analysis of pesticides by LC/MS/MS. *Annual Report of Yokohama Environmental Science Research Institute*, **33**, 47-51 (2009)
- 21) Ninomiya, K., Inukai, M., Koichi, Y., Shimomura, K. and Mizuo, H.: Study on investigation of pesticides using by LC/MS at rivers and sea in Yokohama City. *Annual Report of Yokohama Environmental Science Research Institute*, **34**, 61-64 (2010)
- 22) Tsuda, T.: Transition of pesticides in Lake Biwa. *Journal of Environmental Chemistry*, **27**, 103-109 (2017)
- 23) 水産動植物の被害防止に係る農薬登録保留基準の設定に関する資料 フェノブカルブ（環境省，平成 24 年 10 月 10 日告示）
- 24) Hirao, S., Hasegawa, H., Watanabe, M. and Suzuki, S.: Investigation of pesticides in river and sea water in Nagoya City. *Annual Report of Nagoya City Environmental Science Research Institute*, **6**, 29-35 (2017)
- 25) 大窪かおり、草葉潤一、北島淳二、中山秀幸: LC/Q-TOF による環境水中農薬の挙動追跡、Characterization of groundwater quality drinking water source in Izu-Oshima island by multivariate analysis. *Annual report of Saga Prefectural Institute of Public Health and Pharmaceutical Research*, **34**, 18-23 (2012)
- 26) Osman R., Saim N., Juahir H. and Abdullah Md P.: Chemometric application in identifying sources of organic contaminants in Langat river basin, *Environmental Monitoring and Assessment*, **184**, 1001-1014 (2012)

- 27) Takino, M.: Multivariate analysis and other data mining technique to visualize LC/MS data. *BUNSEKI KAGAKU*, **63**, 497-513 (2014)
- 28) Mac Loughlin Tomas M., Mac Loughlin Tomas M., Peluso L., et al.: Pesticide impact study in the peri-urban horticultural area of Gran La Plata, Argentina. *Science of the Total Environment*, **598**, 572-580 (2017)
- 29) Xie H., Wang X., Chen J., et al.: Occurrence, distribution and ecological risks of antibiotics and pesticides in coastal waters around Liaodong Peninsula, China. *Science of the Total Environment*, **656**, 946-951 (2019)
- 30) Garcia Reiriz Alejandro G., Olivieri Alejandro C., Teixido E., Ginebreda A. and Tauler R.: Chemometric modeling of organic contaminant sources in surface waters of a mediterranean river basin. *Environmental Science*, **16**, 124-134 (2014)
- 31) Fujiwara, T., Ohtoshi, K., Tang, X. and Yamabe, K.: Study on the characterization of groundwater quality in a coastal farming-area through the multivariate analysis. *Journal of Japan Society on Water Environment*, **24**, 724-732 (2001)
- 32) Tochimoto, H., Sekiyama, N., Yaguchi, K. and Seto, H.: Characterization of groundwater quality drinking water source in Izu-Oshima island by multivariate analysis. *Journal of Japan Society on Water Environment*, **28**, 759-767 (2005)
- 33) Sato, N.: Non-targeted screening and structural elucidation with UPLC/Q-TOF-MS and multivariate analysis. *Journal of Japan Society on Water Environment*, **39**, 372-375 (2016)
- 34) Mitsui, T., Okuyama, S. and Hida, M.: Qualitative and quantitative analysis using multivariate analysis. *BUNSEKI KAGAKU*, **53**, 773-791 (2004)
- 35) 滝埜昌彦：ミニファイル 分析化学者のための多変量解析入門 クラスター分析（基礎理論），ぶんせき，**11**，547-548 (2017)
- 36) 滝埜昌彦：ミニファイル 分析化学者のための多変量解析入門 クラスター分析（応用），ぶんせき，**12**，581-582 (2017)
- 37) 三井利幸：ミニファイル 分析化学者のための多変量解析入門 主成分分析（基礎理論），ぶんせき，**1**，17-18 (2017)
- 38) 三井利幸：ミニファイル 分析化学者のための多変量解析入門 主成分分析（応用），ぶんせき，**2**，62-63 (2017)
- 39) 服部敏明：ミニファイル 分析化学者のための多変量解析入門 因子分析（基礎理論），ぶんせき，**7**，303-304 (2017)
- 40) 服部敏明：ミニファイル 分析化学者のための多変量解析入門 因子分析（応用），ぶんせき，**8**，347-348 (2017)
- 41) 香月繁孝，飯塚慶久，後藤宗玄，数賀山靖：農薬便覧（第7版），化学工業日報社，(1989)

- 42) 農薬の手引き，化学工業日報社，(1999)
- 43) 農薬ハンドブック，日本植物防疫協会，(2011)
- 44) 農薬ハンドブック，日本植物防疫協会，(2016)
- 45) 農薬要覧 2017，日本植物防疫協会，(2017)
- 46) 2015 年農林業センサス（農林水産省）(2017)
- 47) エコケミストリー研究会，使いやすい PRTR 情報（平成 28 年度）(2018)

Ⅲ. LC/MS/MS による環境水中の *N*-メチルジデカン-1-イルアミンの定量法の開発

1. はじめに

洗剤は、人が生活するうえで多量に使用されている化学物質のひとつであり、シャンプーなどの頭髮用洗浄剤や、ボディーソープなどの皮膚用洗剤、食器洗浄するための台所用洗剤、衣服洗浄するための漂白剤など多岐にわたる。そして、洗剤は、主に親水基と疎水基を分子内に有する界面活性剤から構成されている。界面活性剤は、その用途や目的に応じて陰イオン界面活性剤、陽イオン界面活性剤、非イオン界面活性剤及び両イオン界面活性剤に概ね分類される¹⁾。例えば、陰イオン界面活性剤として、高級脂肪酸塩（いわゆる石鹼）や直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩（LAS）が代表的なものである。また、陽イオン界面活性剤として、アルキルトリメチルアンモニウム塩などの4級アンモニウム塩が代表的なものである。さらに、非イオン界面活性剤として、ノニルフェノールエトキシレート（NPE）が代表的なものである。これらの界面活性剤は、工業などの産業からだけでなく、広く一般家庭からも大量に排水を経て環境中に排出されることがわかっている。従って、これらの界面活性剤による環境汚染は、非常に重要な課題である。例えば、ノニルフェノールエトキシレートは、ノニルフェノールから合成される界面活性剤であるが、水環境中に放出されると、微生物の作用等によってエトキシ基が外れ、段階的にノニルフェノールジエトキシレートなどを経てノニルフェノールが二次生成される^{2), 3), 4)}。ノニルフェノールは、ノニルフェノールエトキシレートと比較して水生生物に対する毒性が高いと共に、内分泌かく乱作用も報告されている^{3), 4)}。こうした中で、水環境への影響が強いノニルフェノール及びLASについて、水質汚濁に係る環境基準が設けられ、環境監視が常に行われているところである⁵⁾。一方で、これら以外の界面活性剤やその派生物質などの詳細な環境実態については、情報が十分でないため、個々の化学物質の環境へのリスク評価が求められているのが現状である。

N-メチルジデカン-1-イルアミン(*N*-Methyldidecane-1-ylamine)は、IUPAC 命名法に従って、*N*-メチルジデシルアミン(*N*-methyldidecykamine)やジデシルメチルアミン(Didecylmethylamine)とも呼ばれ、陽イオン界面活性剤の一つであるアミンオキサイド4級アンモニウム塩の原料として用いられている。この陽イオン界面活性剤は、繊維や毛髪などの固体表面に強く吸着し、柔軟性や帯電防止性などを付与できるため、主に繊維の柔軟剤、ヘアリンス剤として使用されている^{6), 7)}。現在、陽イオン界面活性剤は5万トン前後の販売数量が報告されてお

り、すべての界面活性剤の中でおおむね5%前後である⁶⁾。一方、原料物質である*N*-メチルジデカン-1-イルアミンの輸入・製造量は、近年増加傾向にあり、2011年には113 t、2013年には224 t、2014年には530 t、2015年には517 tの輸入・製造量が報告されている⁸⁾。この原料物質は、皮膚や眼などの粘膜に接触することで重篤な薬傷・損傷を生じるなど一定の有害性が認められている⁹⁾¹⁰⁾。一方、化審法において、この物質の環境汚染した場合の環境リスクがないと判断できない化学物質として、2011年に初めて優先評価化学物質に指定された¹¹⁾。現在、この物質は、化審法において、*N*-メチルジデカン-1-イルアミンという名称で登録されているため、以後この名称で記述する。この物質に関して、我が国の環境リスクを把握するために、この物質の各種の毒性試験⁶⁾から得られた慢性毒性での無影響濃度(NOEC)を考慮すると、0.001 µg/L レベルの測定が求められる。

これまで、環境中におけるµg/L レベルの*N*-メチルジデカン-1-イルアミンの分析に関して、この物質の酸化物等を除いてほとんど報告されていない^{12), 13)}。それは、この物質の log P_{ow} が 8.88 であることから高い疎水性を有しており、構造中の四級アミン基による高い極性にあると考えられる。一方、近年では、求核性の化合物や疎水性の化合物に対して、高速液体クロマトグラフタンデム型質量分析計（以下 LC/MS/MS とする）によって測定が行われる例が増えてきた^{14) - 17)}。

そこで、著者等は、環境水からの抽出法、試料のクリーンアップ方法等を検討し、環境水中の*N*-メチルジデカン-1-イルアミンを 0.001 µg/L レベルまで測定する手法を開発し、名古屋市内の環境について調査を行った。さらに、同分析法を用いて、*N*-メチルジデカン-1-イルアミンの環境水中における挙動についても検討を行った。

2. 環境水中の *N*-メチルジデカン-1-イルアミンの分析法の開発

2. 1 *N*-メチルジデカン-1-イルアミンの化学構造及び物性

N-メチルジデカン-1-イルアミンの化学構造を Fig. 1 に示す。*N*-メチルジデカン-1-イルアミンは、IUPAC 命名法に従って、*N*-メチルジデシルアミン(*N*-methyldidecykamine)やジデシルメチルアミン(Didecylmethylanine)とも呼ばれている。現在、この物質は、化審法において、*N*-メチルジデカン-1-イルアミン(通し番号 100) という名称で登録されているため、以後この名称で記述する。

また、*N*-メチルジデカン-1-イルアミンの物性や用途、毒性は以下のとおりである。

【物性】³⁾

(1) 分子量	311.59
(2) CAS	7396-58-9
(3) 分子式	C ₂₁ H ₄₅ N
(4) 引火点	93.4 °C
(5) 融点	-7.4 °C
(6) 沸点	145 °C (0.3 kPa)
(7) 密度	0.81 g/cm ³
(8) 蒸気圧	0.00019 mmHg (25°C)
(5) LogPow	8.88

【毒性】

重篤な皮膚の薬傷・眼の損傷⁸⁾

【用途】

アミンオキサイド 4 級アンモニウム塩原料、繊維処理剤、消毒剤原料⁸⁾

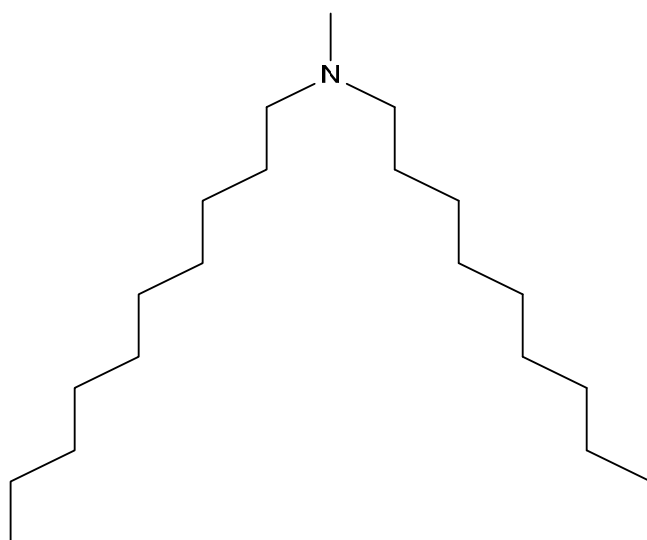


Fig. 1 Structure of *N*-Methyldodecane-1-amine

2. 2 環境水における分析法の検討

2. 2. 1 試薬及び実験器具

試験に使用した試薬及び実験器具を以下に示す。

【試薬】

N-メチルジデカン-1-イルアミン（ジデシルメチルアミン）

：東京化成製 >95.0%

アセトン

：和光純薬工業製 300 倍濃縮 残留農薬・PCB 分析用

ヘキサン

：和光純薬工業製 300 倍濃縮 残留農薬・PCB 分析用

アセトニトリル

：関東化学製 LC/MS 用

精製水

：超純水（対象物質がないことを確認する）。超純水製造装置オルガノ

PURELAB Ultra で精製したもの

ギ酸

：和光純薬工業製（約 99%） LC/MS 用

塩化ナトリウム

：和光純薬工業製 PCB・フタル酸エステル試験用

600° C で 4 時間加熱する

無水硫酸ナトリウム

：和光純薬工業製 PCB・フタル酸エステル試験用

（使用前に 10 g～20 g 当りアセトン 30 mL 及びヘキサン 30 mL で十分に洗浄する。）

【標準液の調製】

〔標準原液〕

N-メチルジデカン-1-イルアミン 20.0 mg を正確に量り取り、アセトニトリルで 20 mL に溶解し、1000 µg/mL の標準原液とする。

〔標準液〕

標準原液 1000 µg/mL を 100 µL 分取し、アセトニトリルで 100 mL に定容して 1000 ng/mL 標準液を調製する。

〔検量線作成用標準液〕

1000 ng/mL 標準液をアセトニトリルで順次希釈し、0.0500 ～ 100 ng/mL の検量線用標準液を作成する。

【実験器具】

ロータリーエバポレーター、メスフラスコ、蓋付ガラス試験管、マイクロシリ
ンジ、パスツールピペット

2. 2. 2 LC/MS/MS 測定条件、検量線及び定量

【LC/MS/MS 測定条件】

N-メチルジデカン-1-イルアミンは、以下の条件で測定を行った。

〔LC 条件〕

装置 : Waters 製 Alliance2695

カラム : シグマアルドリッチ製 Ascentis Express C18
(10 cm × 2.1 mm, 2.7 μm)

移動相 : A : ギ酸/精製水(0.1:99.9) 、 B : アセトニトリル

0→1.0 min A : 50 → 35 B : 50 → 65 linear gradient

1.0→8.0 min A : 35 B : 65

8.0→17.5 min A : 35 → 5.0 B : 65 → 95 linear gradient

17.5→24 min A : 5.0 → 50 B : 95 → 50 linear gradient

24→30 min A : 50 B : 50

カラム流量 : 0.2 mL/min

カラム温度 : 40 °C

試料注入量 : 10 μL

〔MS 条件〕

機種 : Waters 製 QuattroMicro API

キャピラリー電圧 : 3.00 kV

コーンガス流量 : 50 L/hr

デソルベーションガス流量 : N₂ (700 L/hr)

ソース温度 : 110 °C

デソルベーション温度 : 450 °C

イオン化法 : ESI(+)-SRM

モニターイオン及び検出条件

デュエルタイム (Sec)	コーン電圧 (V)	コリジョンエネルギー (eV)	測定イオン (m/z)
0.125	25	25	312 > 172 (定量)
0.125	25	25	312 > 85 (確認)

この MS 条件を決定する際に得られたマススペクトルを Fig. 2 及び Fig. 3 に示す。さらに、測定した標準液のクロマトグラムを Fig. 4 に示す。

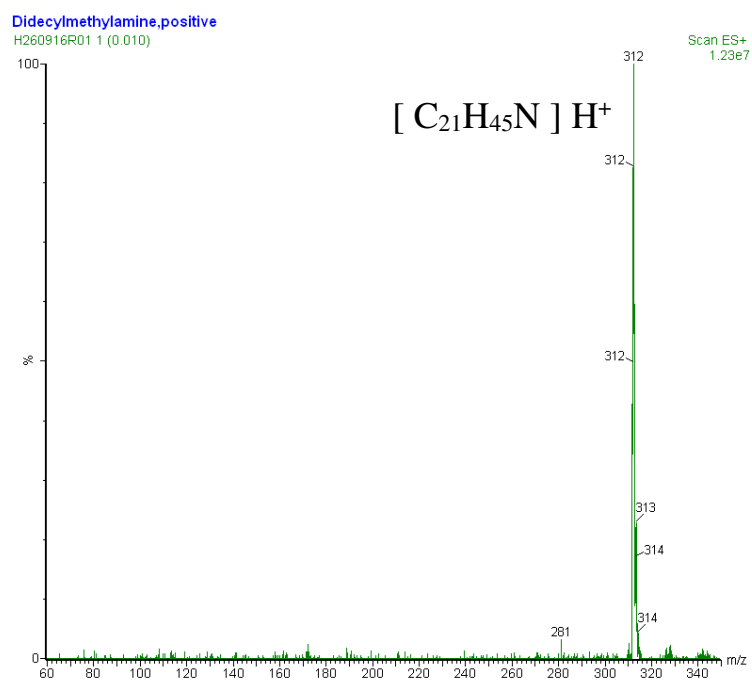


Fig. 2 Mass scan spectrum of *N*-methyldidecane-1-ylamine

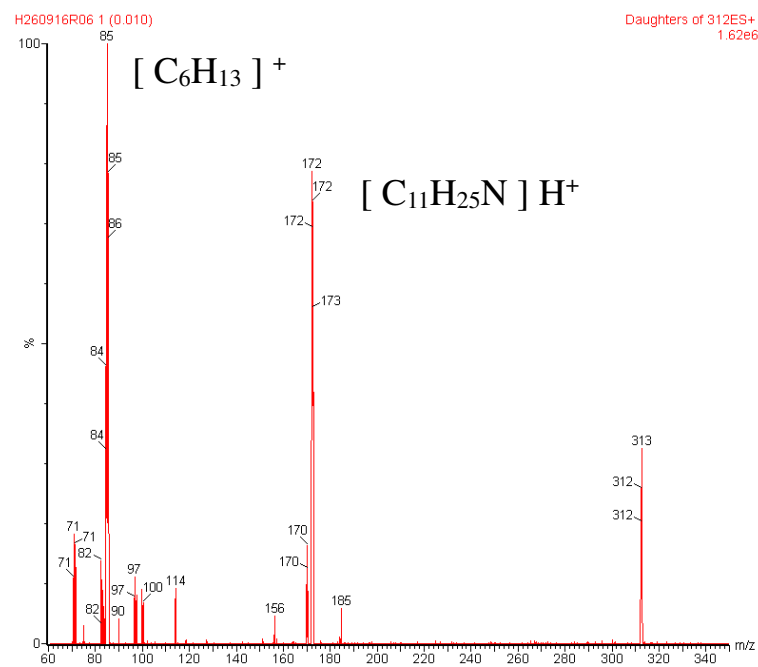


Fig. 3 Product ion spectrum of precursor ion in m/z 312.0

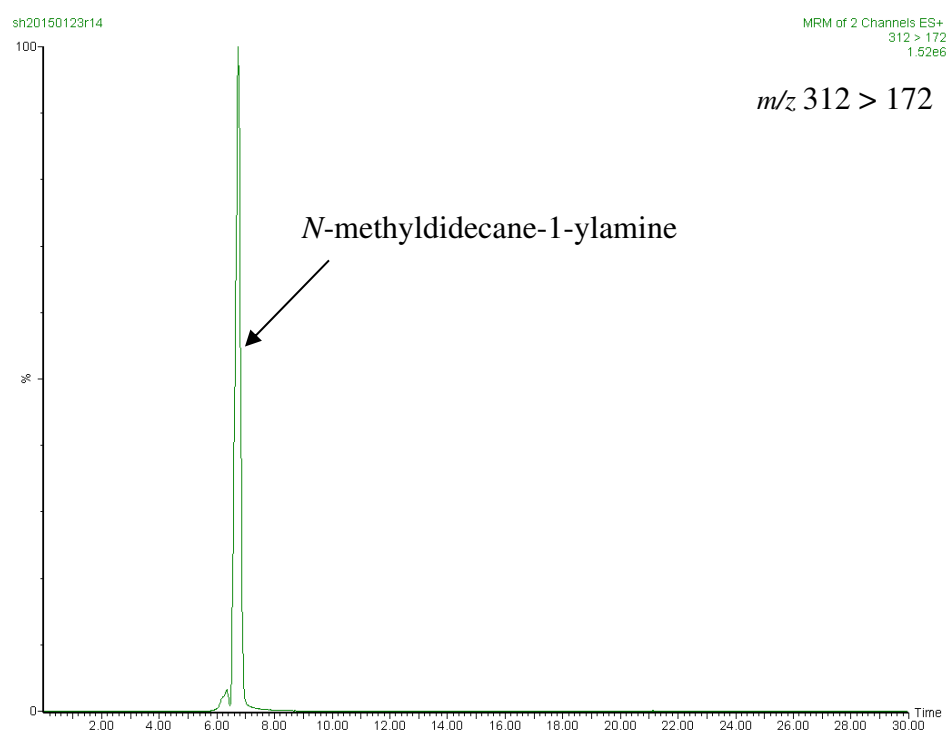


Fig. 4 Chromatogram of standard solution (100 ng/mL)

〔検量線〕

各検量線用標準液 10 μL をそれぞれ LC/MS/MS に注入して測定を行った。各々得られたクロマトグラムにおいて、対象物質のピーク面積を検量線の縦軸、対象物質の濃度を横軸として、最小二乗法により一次の検量線を作成し、関係式及び相関係数を計算した。Fig. 5 に得られた検量線を、検量線作成用データを Table 1 に示す。

〔定量〕

試験液 10 μL を LC/MS/MS に注入して測定を行う。得られたクロマトグラム上の対象物質のピーク面積から、対象物質の試験液濃度(ng/mL)を求める。

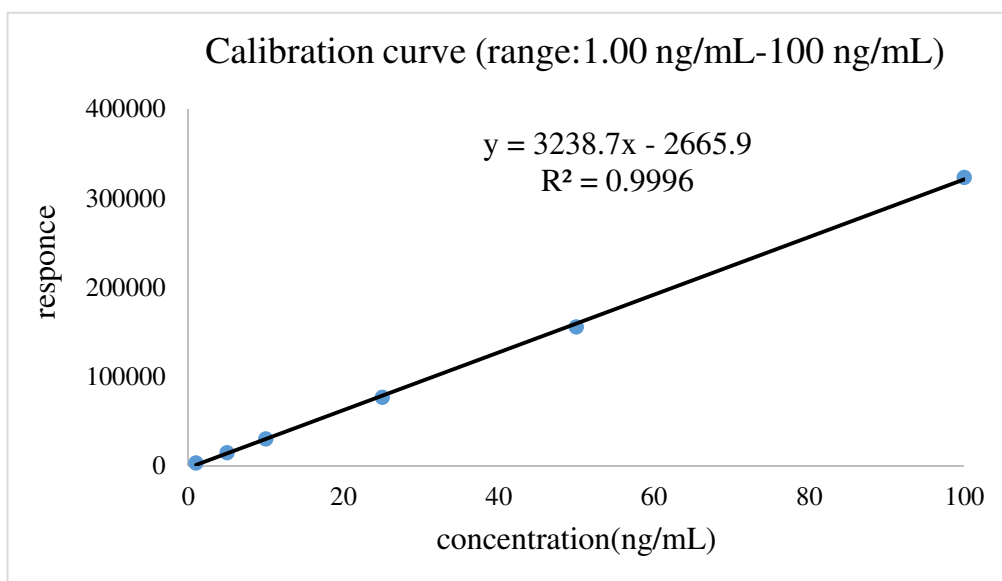


Fig. 5-1 Calibration curve (1.00 ng/mL-100 ng/mL)

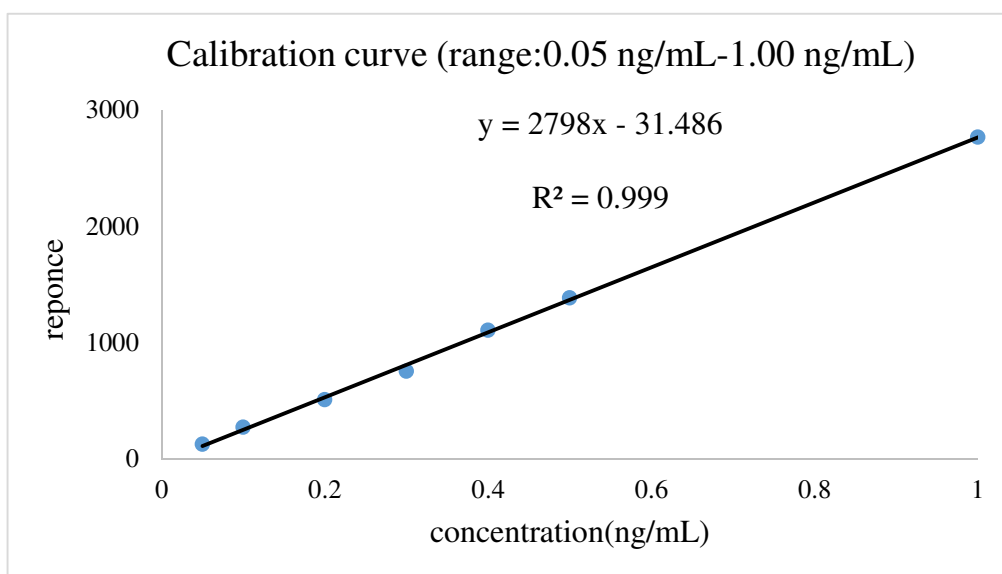


Fig. 5-2 Calibration curve (0.0500 ng/mL-1.00 ng/mL)

Table 1 Response of *N*-methyl-1-ylamine standard solution

Concentration of standard solution (ng/mL)	response	
	<i>N</i> -methyldidecane-1-ylamine	
	$m/z = 312 \rightarrow 172$	
0.05	124.2	
0.10	271.0	
0.20	507.1	
0.30	753.2	
0.40	1106.2	
0.50	1384.9	
1.00	2768.0	
5.00	14464.0	
10.00	29918.2	
25.00	76417.7	
50.00	155619.8	
100.00	323417.3	

2. 2. 3 試料の採取及び前処理方法

〔試料の採取〕

試料採取後、速やかに抽出を行う。但し、すぐに試験が行えない場合、100 mL をガラス瓶に分取して冷蔵保存すること。また、試験水に添加した *N*-メチルジデカン-1-イルアミンがガラス壁面に吸着する現象が確認されたため、試験の際には、ガラス瓶の壁面をアセトンでよく洗い、洗液を試料水と併せる。その場合においても、遅くとも 3 日以内に試験を行う。

〔前処理方法〕

試料水の前処理方法を Fig. 6 に示す。水質試料 100 mL を 300 mL 分液ロートに採り、25%食塩水 25 mL、アセトン 50 mL 及びヘキサン 50 mL を加えてから 10 分間激しく振とうする。静置後、ヘキサンを分取して、再びヘキサン 50 mL を加えて振とうする。ヘキサンを分取して先のヘキサンと合わせる。ヘキサン層をアセトニトリル 50 mL で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで脱水し、エバポレーターで数 mL 程度まで濃縮する。アセトニトリル 30 mL を加えて再度エバポレーターで数 mL 程度まで濃縮する。アセトニトリルで壁面を洗いながら試験管に移してアセトニトリルで 10 mL にしたものを試験液とする。

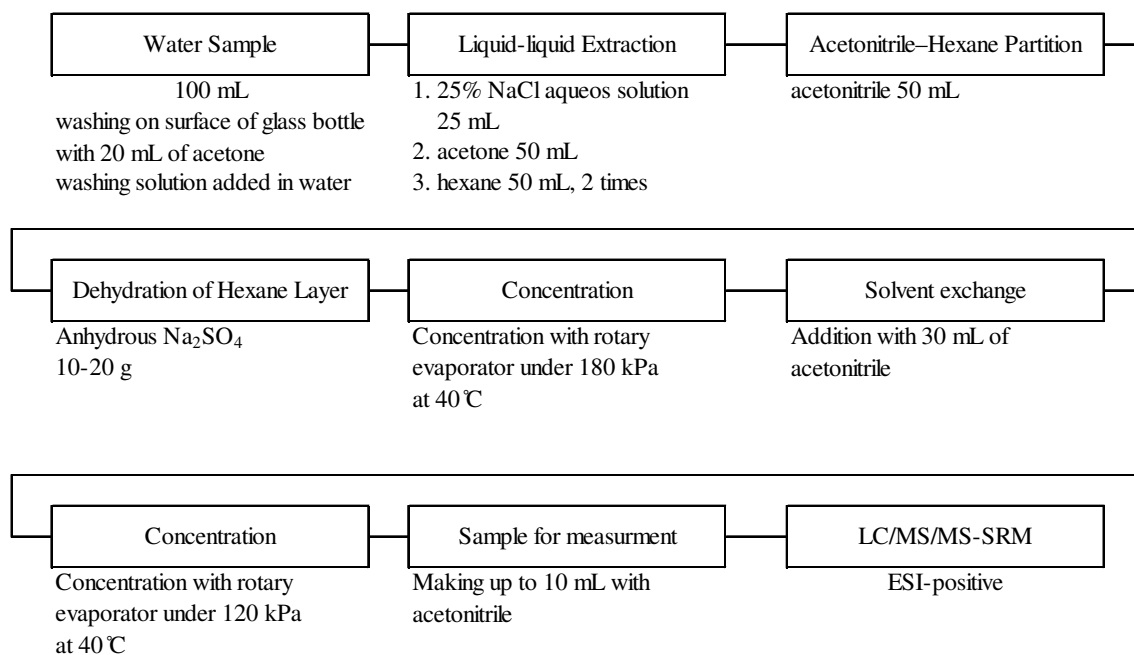


Fig. 6 Scheme of analysis

2. 2. 4 濃度の算出

試料水中の *N*-メチルジデカン-1-イルアミンの濃度 C ($\mu\text{g/L}$)は、次式により算出する。

$$C = (C_a - C_b) \times v / V$$

C_a : 検量線から求めた試験液中の対象物質濃度 (ng/mL)

C_b : 検量線から求めた空試験液中の対象物質濃度 (ng/mL)

v : 最終試験液量 (L)

V : 試料量 (L)

本分析法の場合、以下の数値を使用する。

$$v = 0.010 \text{ (L)}$$

$$V = 0.100 \text{ (L)}$$

即ち、

$$\begin{aligned} C &= (C_a - C_b) \times 0.010 / 0.100 \\ &= (C_a - C_b) \times 0.10 \end{aligned}$$

2. 2. 5 分析法の検出下限、添加回収率及び分解性スクリーニング試験

【測定方法の検出下限(MDL)及び定量下限(MQL)】

本試験方法における *N*-メチルジデカン-1-イルアミンの MDL 及び MQL は、名古屋市内の荒子川の河口部付近にある荒子川ポンプ所で得られた河川水に標準液を 0.0050 µg/L になるように添加し、Fig. 6 のフローに従って前処理を行った。得られた試験液を LC/MS/MS 測定して、各試験液の濃度を求めた。その結果を Table 2 に示す。なお、操作ブランク及び河川水から、*N*-メチルジデカン-1-イルアミンは検出されなかった。MDL 及び MQL の算出は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 28 年 3 月)に従って算出した¹⁸⁾。Table 2 の結果から、MDL は 0.00055 µg/L、MQL は 0.0014 µg/L となった。

【添加回収率】

河川水の添加回収率は、Table 2 に示した結果を用いて、添加量に対する検出濃度の比から算出した。また、名古屋港の潮見埠頭西で採取した海水試料を用いて、添加回収を行った。その結果を、まとめて Table 3 に示す。得られた添加回収率は、河川水で 98%、海水で 85% となって、その変動計数は 2.4~6.2 % と良好な結果が得られた。

【分解性スクリーニング試験】

pH を 5、7 及び 9 に調製した水 100 mL に *N*-メチルジデカン-1-イルアミンを 5.0 ng 添加し、0.05 ng/mL の濃度に調製した。20±5° C の暗所及び明所に保管し、1 時間後及び 7 日後に測定した。結果を Table 4 に示す。いずれの pH においても添加直後では、損失がほとんど見られなかったが、7 日後には相当の損失が認められた。加えて、pH 7 において、明所保存の場合と暗所保存の場合と比較すると明確な差異は認められなかった。

Table 2 Results of MDL and MQL

対象物質名	N-methyldidecane-1-ylamine
Sample	river water*1
Sample Volume (mL)	100
Added Amount (ng)	0.500
concentration of a sample ($\mu\text{g/L}$)	0.0050
solution volume (mL)	10
concentration of a solution (ng/mL)	0.0500
injection volume (μL)	10
blank ($\mu\text{g/L}$) ^{*1}	ND
no adding in sample ($\mu\text{g/L}$)	ND
sample 1 ($\mu\text{g/L}$)	0.00477
sample 2 ($\mu\text{g/L}$)	0.00497
sample 3 ($\mu\text{g/L}$)	0.00521
sample 4 ($\mu\text{g/L}$)	0.00502
sample 5 ($\mu\text{g/L}$)	0.00486
sample 6 ($\mu\text{g/L}$)	0.00487
sample 7 ($\mu\text{g/L}$)	0.00499
average ($\mu\text{g/L}$)	0.004956
standard deviation ($\mu\text{g/L}$)	0.000140
MDL ($\mu\text{g/L}$) ^{*2}	0.000545
MQL ($\mu\text{g/L}$) ^{*3}	0.00140
S/N ratio	9.5
CV (%)	2.8

*1 Arako River Pump Station (Arako River) in Nagoya City

*2 $\text{MDL} = t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$

*3 $\text{MQL} = \sigma_{n-1} \times 10$

Table 3 Addition recovery test in river and sea waters

Sample	Sample Volume (mL)	Added Amount (mg)	No. of experiments	concentration ($\mu\text{g/L}$)	Recovery Rate (%)	CV (%)
river water ^{*1}	100	0	1	ND	—	—
	100	0.0005	7	0.00492	98.3	6.2
sea water ^{*2}	100	0	1	ND	—	—
	100	0.0020	5	0.0170	85.2	2.4

*1 Arako River Pump Station (Arako River) in Nagoya City

*2 Shiomi Pier West (Nagoya Port) in Nagoya City

Table 4 Degradable screening

pH	No. of experiments	prepared concentration ($\mu\text{g/L}$)	concentration ($\mu\text{g/L}$) (residual rate (%) [*])		
			1 hour left	seven days left	
				dark place	bright place
5	2	0.05	0.049 (98.2)	0.016 (31.8)	-
7	2	0.05	0.048 (96.5)	0.0035 (7.09)	0.0066 (13.1)
9	2	0.05	0.045 (90.5)	0.0074 (14.7)	-

* Residual rate for prepared concentration

2. 2. 6 実験操作が高精度の定量値に及ぼす影響

標準液やブランク、河川水中の *N*-メチルジデカン-1-イルアミンの SRM クロマトグラムを Fig. 7 に示す。この際に、無水硫酸ナトリウムや塩化ナトリウムを起因とするブランクが観測された。

【無水硫酸ナトリウム】

ヘキサン抽出液を脱水するために使用する無水硫酸ナトリウムから、多量の *N*-メチルジデカン-1-イルアミンが溶出する現象が認められた。この現象は、無水硫酸ナトリウムをヘキサンで洗浄しても完全に除去できないことも併せて確認された。Fig. 7-(2) に得られたクロマトグラムを示す。一方で、無水硫酸ナトリウムをヘキサン及びアセトンで洗浄することで、Fig. 7-(3) に示すように *N*-メチルジデカン-1-イルアミンを無水硫酸ナトリウムから除去することができることがわかったため、試験操作に盛り込むことにした。

【塩化ナトリウム】

溶媒抽出の際に添加する塩化ナトリウムにもわずかながら *N*-メチルジデカン-1-イルアミンが存在していることがわかった。Fig. 7-(4) に得られたクロマトグラムを示す。そこで、塩化ナトリウムを 600℃で 2 時間加熱処理をすることで、Fig. 7-(5) に示すようにほぼ完全に *N*-メチルジデカン-1-イルアミンを除去することができた。

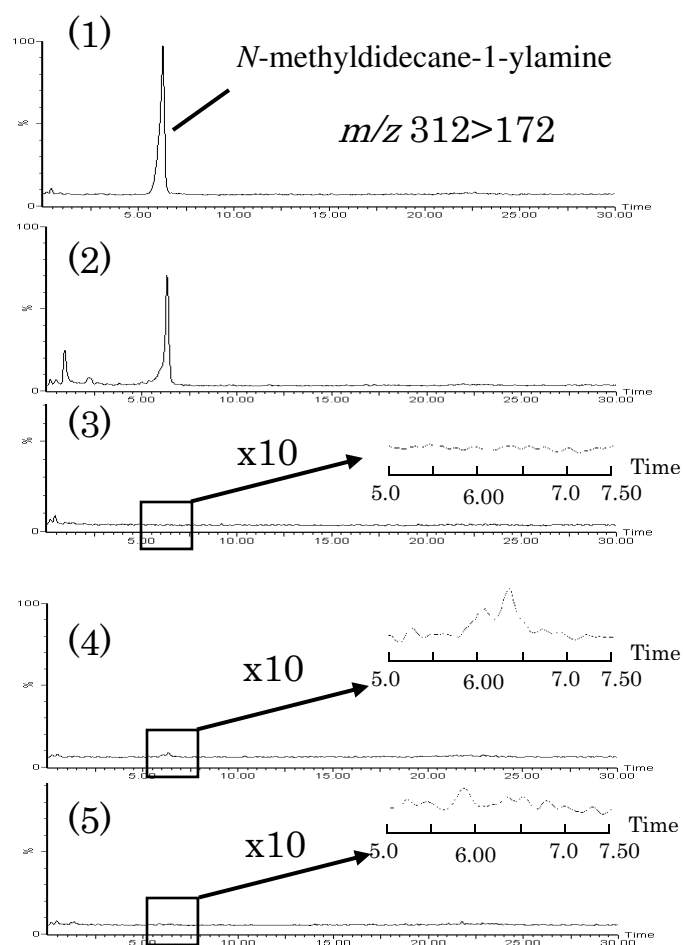


Fig. 7 Selected reaction monitoring (SRM) chromatograms of *N*-methyldidecane-1-ylamine

- (1) 1 ng/mL of standard solution
- (2) blank solution using anhydrous Na_2SO_4 washed with hexane
- (3) blank solution using anhydrous Na_2SO_4 washed with hexane and acetone
- (4) blank solution using non-purified NaCl
- (5) blank solution using NaCl baked at 600°C for 2 hours

2. 2. 7 開発した分析法の評価

水質中に含まれる *N*-メチルジデカン-1-イルアミンの分析法を開発した。河川水 100 mL に *N*-メチルジデカン-1-イルアミンを 0.500 ng 添加して試験を行った結果、本法における MDL は 0.00055 µg/L であり、添加回収率は、98%程度であった。

以上の結果から、本法は水質中に含まれる 0.001 µg/L オーダーの *N*-メチルジデカン-1-イルアミンの検出に適用可能であると判断される。

3 名古屋市内の河川及び海水における *N*-メチルジデカン-1-イルアミンの調査

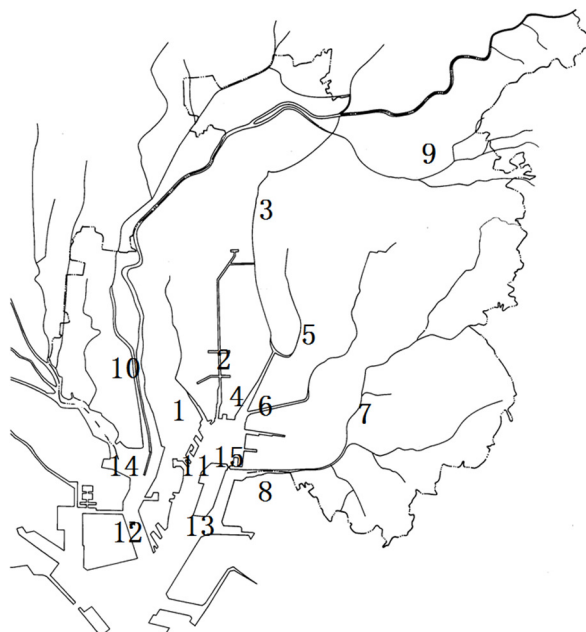
開発した *N*-メチルジデカン-1-イルアミンの分析法を用いて、名古屋市内の河川や海域の環境調査を行った。

3. 1 試料

水質試料は、名古屋市内有る 10 箇所の河川及び 5 箇所の名古屋港の海水を対象として、2017 年 6 月に分析を行った。Fig. 8 に調査を行った地点の概略図を示す。

3. 2 分析結果

分析の結果、いずれの地点からも *N*-メチルジデカン-1-イルアミンを検出されなかった。



No	Water Sampling Points	
	name	River Name
1	Arako River Pump Station	Arakogawa
2	Tokai Bridge	Nakagawa Canal
3	Koshio Bridge	Horikawa
4	Minato New Bridge	Horikawa
5	Hinode Bridge on Shin-Horikawa River	Shin-Horikawa
6	Doutoku Bridge	Yamazakigawa
7	Tenpaku Bridge	Tenpakugawa
8	Chidori Bridge	Tenpakugawa
9	Omori Bridge	Yadagawa
10	Hinode Bridge on Shinkawa River	Shinkawa
	name	Sea Name
11	Shiomi Pier West	Nagoya Port
12	Shonai River estuary	Nagoya Port
13	Shiomi Pier South	Nagoya Port
14	Fujimae Flats	Nagoya Port
15	Garden Pier	Nagoya Port

Fig. 8 Water sampling points in Nagoya city

4 N-メチルジデカン-1-イルアミンの分解挙動の評価

4. 1 N-メチルジデカン-1-イルアミンの分解挙動の経時的評価

N-メチルジデカン-1-イルアミンを添加して試料を様々な条件の下で 1 日～7 日間冷蔵保存した際の添加回収率を算出し、N-メチルジデカン-1-イルアミンの分解の挙動を評価した。その結果を、Table 5 に示す。

Experiment(1)及び(2)から、いずれの場合においても 3 日目まで安定して保存されているが、5 日以降に急速に消失したことがわかった (Fig. 9)。また、この現象は、保存容器の材質に依存することなく、発現していることから、この急速な損失は別に要因があると推察される。Experiment(3)及び(4)から、いずれの場合においても 2 日目まで安定して保存されているが、3 日目では共に損失が認められた (Fig. 10)。特に、海水に添加した(4)については、河川に添加した(3)よりもより損失が大きい結果となった。これは、海水に含まれる塩分の影響が考えられる。但し、どちらの場合においても 7 日目では初期濃度の 20%程度まで損失が確認された。Experiment(5)及び(6)から、Experiment(3)及び(4)と比較して、多少の変動が見られるものの 7 日目では同程度の損失が観測された (Fig. 11)。このことは、N-メチルジデカン-1-イルアミンの損失は、河川水や海水などに含まれる細菌等による生物分解の影響が少ないことを示唆している。一方、Experiment(7)、(8)及び(9)の結果から、いずれの場合においても、7 日目まで N-メチルジデカン-1-イルアミンの損失が認められなかった (Fig. 12)。また、Experiment(7)及び(8)から、メタノール中に微量含まれている可能性がある水分が N-メチルジデカン-1-イルアミンの損失に影響を及ぼしていないことも判った。N-メチルジデカン-1-イルアミンに存在する窒素原子上の非共有電子対に対して親和性を示す溶媒の存在下では、容易に損失が起こらないと考えられる。加えて、損失が起こる原因として、N-メチルジデカン-1-イルアミンが空気中や溶媒中の酸素による酸化によって、濃度の低下が引き起こされていると推察した。

また、これらの分解挙動から、通常の河川や海域などの環境水中において、ほとんど検出されなかった原因をほぼ明らかとすることができた。一方で、試料を冷蔵保存することで 3 日程度まである程度保持できることも確認された。

Table 5 Changes in concentration of *N*-methyldidecane-1-ylamine in prepared sample solutions preserved during 7 days at 4 °C

Experiment*	Addition		Preservation period (%)				
		Concentration	1 day	2 days	3 days	5 days	7 days
(1)	µg/L	0.005	103.2	101.7	96.7	0.0	0.0
(2)	µg/L	0.005	104.1	102.5	102.6	0.0	0.0
(3)	µg/L	0.005	104.4	101.4	53.8	-	25.5
(4)	µg/L	0.005	101.4	83.5	27.5	-	20.6
(5)	µg/L	0.005	99.9	84.9	80.8	-	29.4
(6)	µg/L	0.005	98.2	87.5	59.0	-	31.1
(7)	µg/L	0.005	102.7	96.2	97.5	96.1	94.9
(8)	µg/L	0.005	102.4	96.5	101.4	98.0	92.6
(9)	µg/L	0.005	104.1	99.9	96.2	100.2	98.6

* Experiment

- (1) preserved in hexane in glass tube
- (2) preserved in hexane in plastic tube
- (3) preserved in river water in glass bottle
- (4) preserved in seawater in glass bottle
- (5) preserved in autoclaved river water in glass bottle
- (6) preserved in autoclaved seawater in glass bottle
- (7) preserved in methanol in glass tube
- (8) preserved in methanol saturated with non-contaminated Na₂SO₄ in glass tube
- (9) preserved in acetonitrile in glass tube

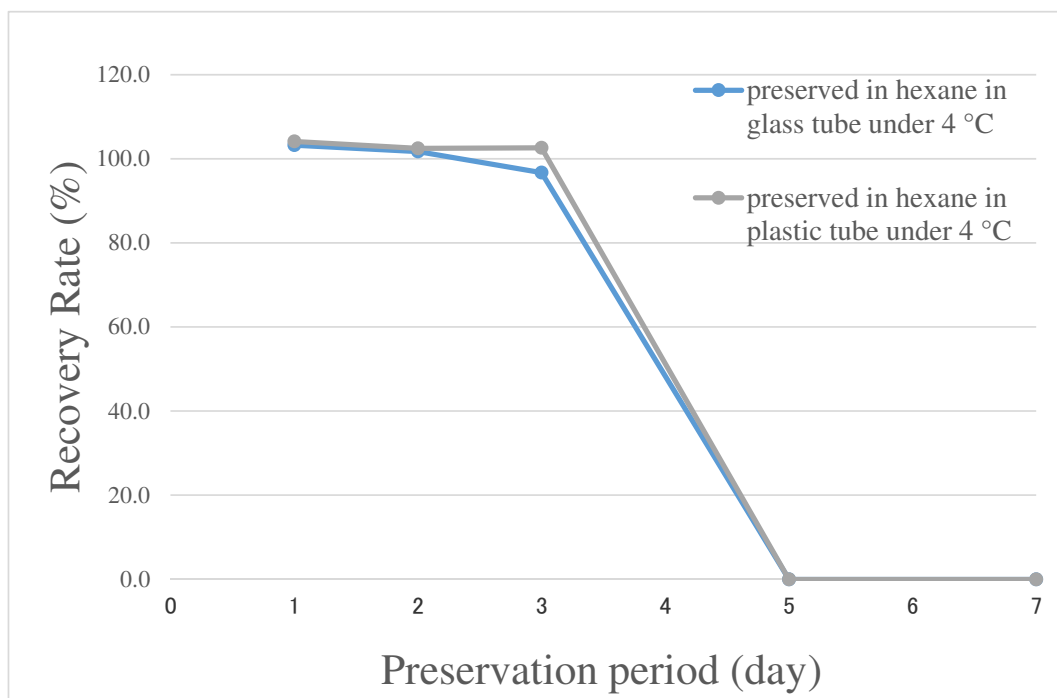


Fig. 9 Degradation behavior of *N*-methyldidecane-1-ylamine preserved in standard hexane solution in glass and plastic tube under 4 °C

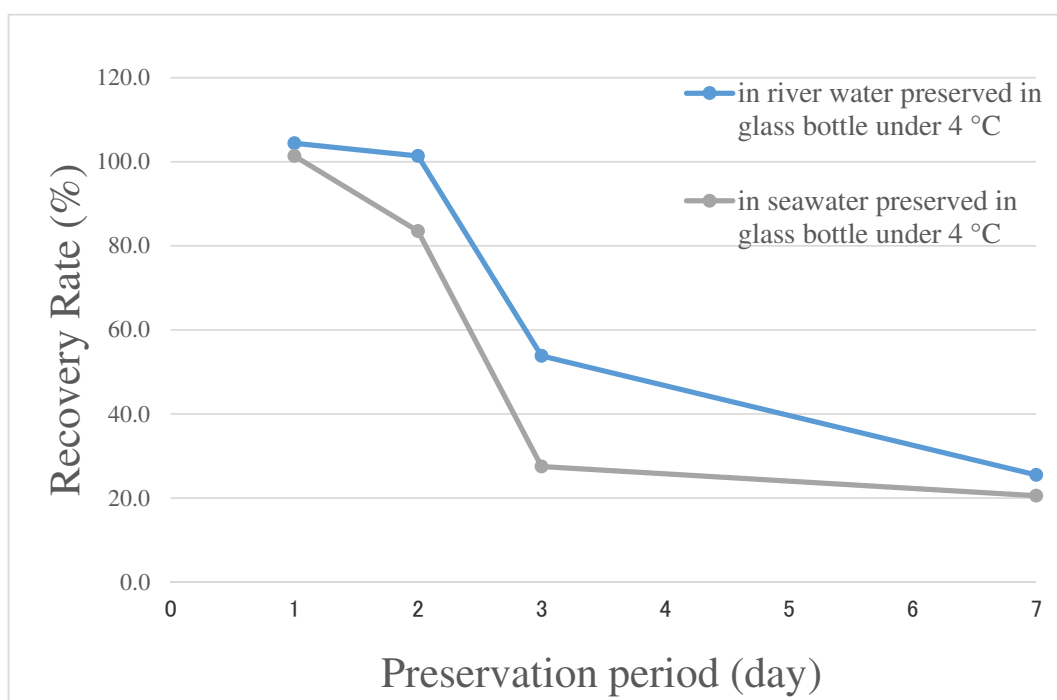


Fig. 10 Degradation behavior of *N*-methyldidecane-1-ylamine preserved in river water and seawater in glass bottle under 4 °C

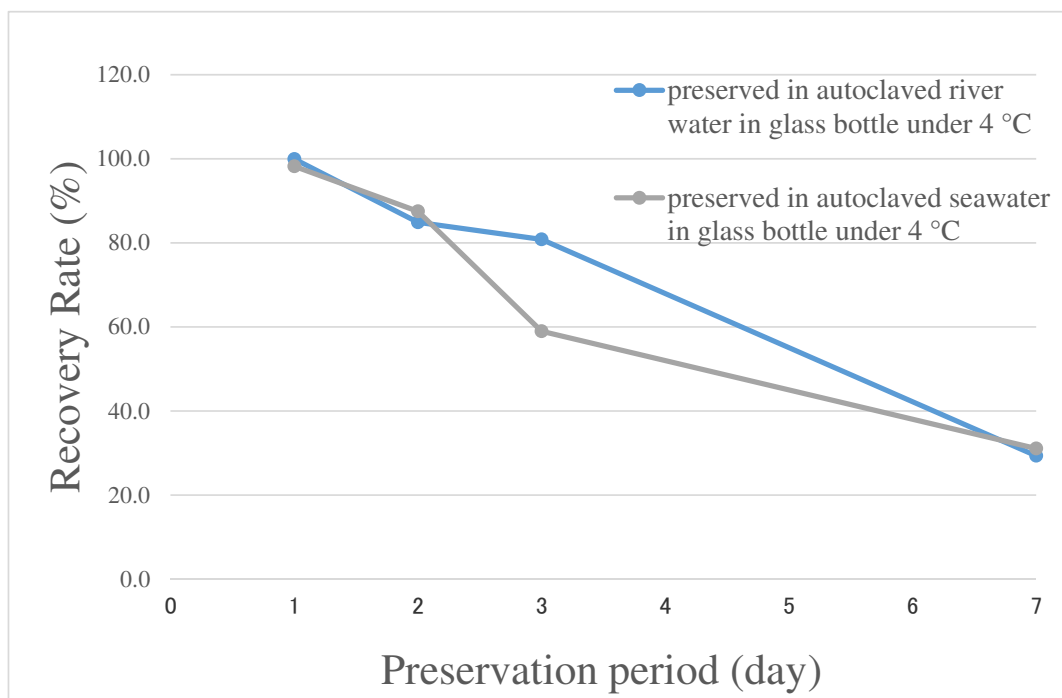


Fig. 11 Degradation behavior of *N*-methyldidecane-1-ylamine preserved in river water and seawater in glass bottle under 4 °C

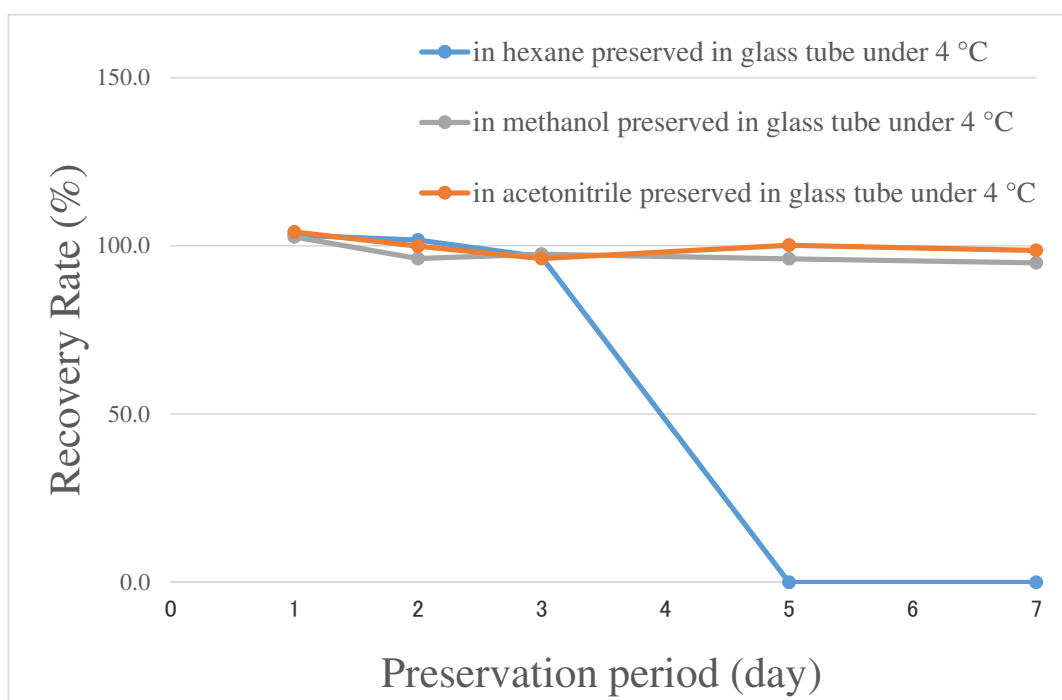


Fig. 12 Degradation behavior of *N*-methyldidecane-1-ylamine preserved in hexane, methanol and acetonitrile in glass tube under 4 °C

4. 2 *N*-メチルジデカン-1-イルアミンの分解過程の推定

N-メチルジデカン-1-イルアミンのヘキサン溶液において、顕著な分解が起こる原因を明らかとすることを目的として、ヘキサン溶液を1日～7日間冷蔵保存した試料を対象として、高分解能質量分析測定 (LC-QToFMS) を行った。

【LC/MS/MS 測定条件】

以下の条件で測定を行った。

〔LC 条件〕

装置 : Waters 製 UPLC Xevo TQD

カラム : シグマアルドリッチ製 Ascentis Express C18
(10 cm × 2.1 mm, 2.7 μm)

移動相 : A : ギ酸/精製水(0.1:99.9) 、 B : アセトニトリル

0→1.0 min A : 50 → 35 B : 50 → 65 linear gradient

1.0→8.0 min A : 35 B : 65

8.0→17.5 min A : 35 → 5.0 B : 65 → 95 linear gradient

17.5→24 min A : 5.0 → 50 B : 95 → 50 linear gradient

24→30 min A : 50 B : 50

カラム流量 : 0.2 mL/min

カラム温度 : 40 °C

試料注入量 : 1 μL

〔MS 条件〕

機種 : Waters 製 G2-S QToF (Fig. 13)

検出条件

Monitor ions	ESI-positive and ESI-negative <i>m/z</i> 50-500
Lock mass	Leucine enkephalin
Mass accuracy (ppm)	24 (precursor ion)
Resolution	50,000 (50%valley)
Cone voltage (V)	25
Collision Energy (eV)	25
Capillary voltage (kV)	3
Source Temp. (°C)	110
Desolvation Temp. (°C)	450
Desolvation Gas (L/hr)	700
Cone Gas (L/hr)	50

以上の測定条件の下で、Fig. 14 にそれぞれの保存期間で得られた標準液の ESI-positive におけるクロマトグラムを示す。

Fig. 14 から、調製後まもなくの標準液中には、保持時間が 4.5 分付近に *N*-メチルジデカン-1-イルアミンが大きなピークとして観測されており、3 日目まで十分に観測されている。しかしながら、5 日目以降は該当するピークが完全に消失しており、*N*-メチルジデカン-1-イルアミンが完全に分解したことを示している。一方、1 日目から 3 日目までのクロマトグラム上には、*N*-メチルジデカン-1-イルアミン以外の生成ピークも観測された（図中の B、C 及び D）。これらは、5 日目以降は、*N*-メチルジデカン-1-イルアミンと同様に消失しているため、分解中間物であったと思われる。そこで、B、C 及び D のマススペクトルの精密質量を解析し、物質の推定を試みた。Table 6 に推定結果を示す。Table 6 から、B 及び C は、酸素が付加した有機物と推定されたため、*N*-メチルジデカン-1-イルアミンから派生した酸化物であろうと考察した。但し、B については、相当酸化が進行していることになってしまうため、必ずしも正確な同定では無い可能性があるものの、精密質量数や付加する元素の限定等の条件からこのように同定した。また、D は、フタル酸エステルであると推定されたため、試験操作中に誤って混入したものでありと思われる。なお、ESI-negative においても同様の試験を行ったものの、顕著に高いピークなどはほとんど観測されなかった。

以上の結果から、酸化にいたる詳細なプロセスや分解生成物等の同定には至っていないものの、*N*-メチルジデカン-1-イルアミンは酸化することで損失していく性質を保持していると考えられることがわかった。

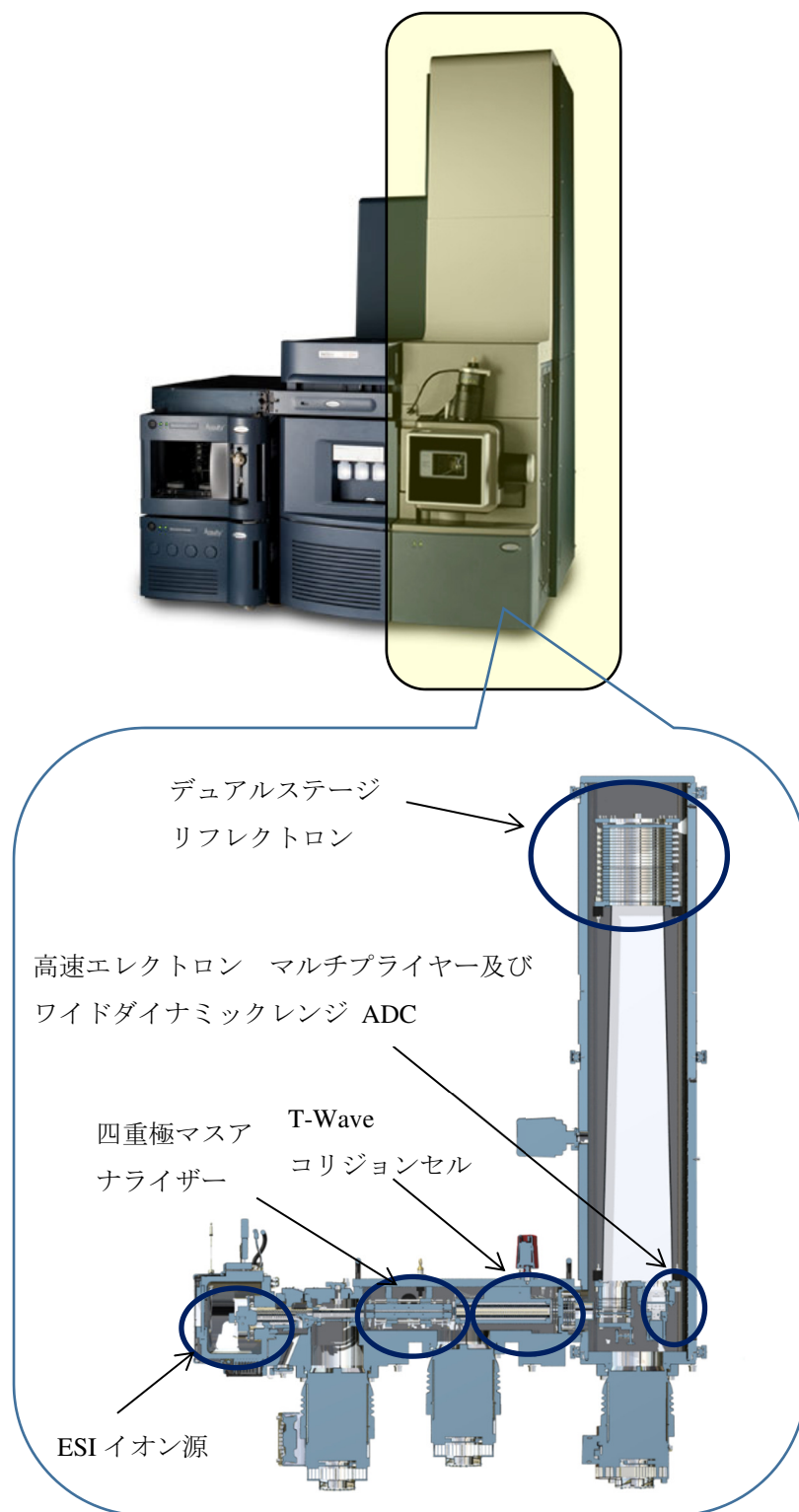
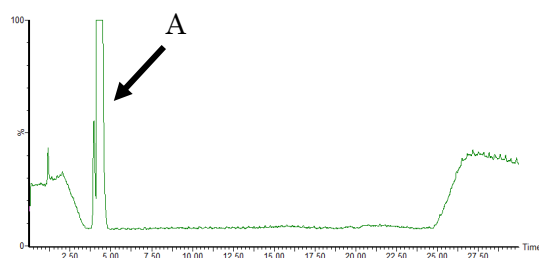
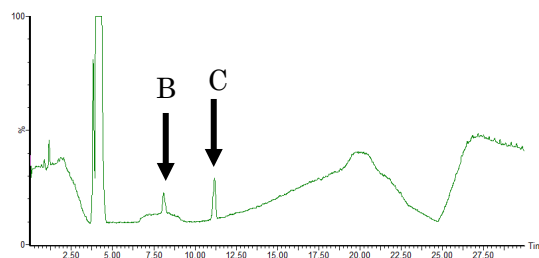


Fig. 13 Device configuration of QToFMS (XevoG2-S)

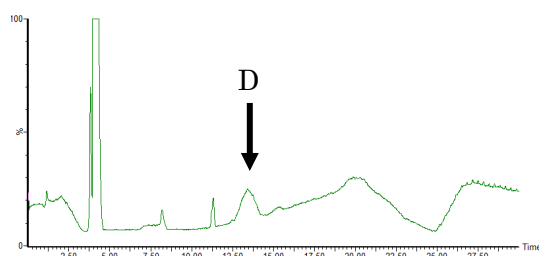
(1) 0 day



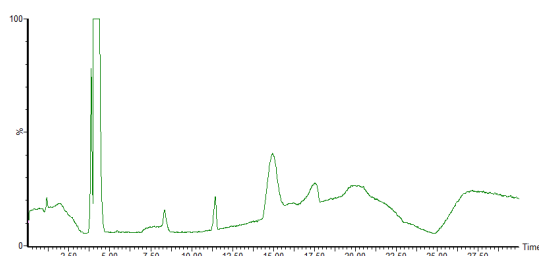
(2) 1 day



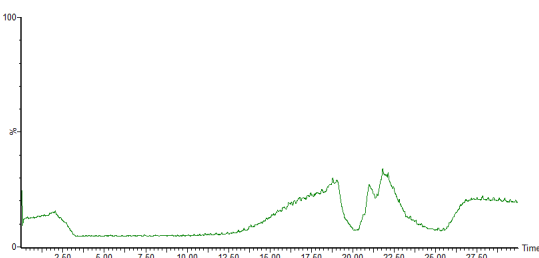
(3) 2 days



(4) 3 days



(5) 5 days



(6) 7 days

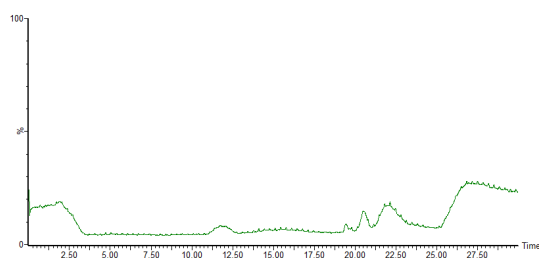


Fig.14 TICs (m/z 50 to 500 in positive mode) illustrating changes in concentration of *N*-methyldidecane-1-ylamine, prepared at 1.0 mg/L in hexane, preserved at 4 °C for 7 days

(1) 0 day, (2) 1 day, (3) 2 days, (4) 3 days, (5) 5 days, (6) 7 days of the preservation

A: *N*-methyldidecane-1-ylamine, B-D: peaks of unknown species

Table 6 Chemical candidates estimated for the peaks of A to D in Fig. 14 with the accurate mass spectra

Peak	Retention time (min)	Accurate mass of precursor ion (m/z)	Possible composition of precursor ion	Chemicals suspected
A	4.50	312.3643	C ₂₁ H ₄₆ N	<i>N</i> -methyldidecane-1-ylamine (original chemical)
B	8.22	301.1422	C ₂₁ H ₁₉ NO	an oxidized compound of the original chemical
C	11.33	385.2920	C ₂₁ H ₃₉ NO ₅	an oxidized compound of the original chemical
D	13.88	413.2659	C ₂₆ H ₃₇ O ₄	di-octyl- and di-(2-ethylhexyl)- esters of phthalic acid

5 まとめ

環境水中に含まれている *N*-メチルジデカン-1-イルアミンを、0.001 µg/L レベルで定量する分析法を新規に開発した。また、名古屋市内における河川や海域において、同手法を適用したところ、いずれの採取地点においても検出されなかった。さらに、河川水や海水に添加した模擬環境水やヘキサンやメタノールなどで調製した標準溶液を用いて、*N*-メチルジデカン-1-イルアミンの分解挙動の経時変化を追跡した結果、特定の条件化で顕著な分解と考えられる挙動を明らかにすることができた。これらの分解挙動を解析することを目的として、高分解能質量分析測定を行った結果、詳細な分解プロセスの解明には至らなかったものの *N*-メチルジデカン-1-イルアミンは酸化したと示唆される結果が得られた。

今後、*N*-メチルジデカン-1-イルアミンの環境リスクの評価の際に、新規に開発した分析法や酸化分解する傾向などの諸情報を有効に活用できると期待できる。

【引用文献】

- 1) 経済産業省、家庭用品品質表示法（昭和 37 年 5 月 4 日法律第 104 号）
- 2) 岡安祐司, 小森行也, 鈴木穰, 田中宏明, 八十島誠：活性汚泥処理における, ノニルフェノールエトキシレートからのノニルフェノールの生成. 水環境学会誌 **28(11)**, 671-676 (2005)
- 3) 独立行政法人産業技術総合研究所(2004): 詳細リスク評価書（リスク評価書シリーズ 3）ノニルフェノール
- 4) 環境省、資料 4：ノニルフェノールエトキシレートについて
- 5) 環境省、水質汚濁に係る環境基準（環境庁告示第 59 号, 昭和 46 年 12 月 28 日）
- 6) *Annual Report of Chubu University Research Institute for Biological Function*, **12**, 28-32 (2012)
- 7) Ministry of Economy, Trade and Industry Government of Japan : *Current Survey of Production, Statistics report “Chemical Industry”*
- 8) National Institute of Technology and Evaluation : Chemical Risk Information Platform (NITE-CHRIP)
- 9) Japan Chemicals Collaborative Knowledge database (J-Check)
- 10) Tokyo Chemical Industry Co., LTD. : MSDS: D2311 (Didecylmethylanine) (2013)
- 11) Ministry of Economy, Trade and Industry Government of Japan : The Risk Assessment of a Priority Assessment Chemical Substances in Chemical Substance Control Law (2014)
- 12) Smith, K. R., Johannessen R. O. and Bauer D. P.: Comparing didecylmethylanine oxide with stearyldimethylanine oxide. *J. Cosmet. Sci.*, **38**, 43-55 (1987)
- 13) Smith, K. R., Borland J. E., Sauer J. D. and Bauer D. P.: Di-N-alkylmethylanine oxides. I. Didecylmethylanine oxide comparison with stearyldimethylanine oxide. *Proc 2nd World Conf Deterg 1986*, 245-247 (1987)
- 14) Takazawa, M. and Suzuki, S.: Measurement methods for aromatic amines in urine, shampoo-water mixture, and river water using solid phase extraction liquid chromatography / tandem mass spectrometry. *Journal of Environmental Chemistry*, **25**, 87-94 (2015)
- 15) Tahara, R.: Determination of traces of poly(oxyethylene)octylphenyl ether in environmental water. *Journal of Environmental Chemistry*, **25**, 109-118 (2015)
- 16) Hasegawa, H., Hirao, S. and Suzuki, S.: Liquid chromatography-mass spectrometric analysis of *p*-cumylphenol and bisphenol A in environmental waters in Nagoya City. *Journal of Environmental Chemistry*, **26**, 21-26 (2016)
- 17) Moriwaki, H., Sakiyama, T., Yamoto, Y., Weber, R., Behnisch, P., Arakawa, R. and

Nakano, T.: Analysis of thermal reaction products of Chlorpyrifos using LC/MS and GC/MS. *BUNSEKI KAGAKU*, **62**, 855-863 (2013)

18) Ministry of the Environment Government of Japan : *CHEMICALS IN THE ENVIRONMENT* (2015)

IV. 総括

本博士論文「微量化学物質の環境動態及びリスクの低減に関する基礎的研究」は、著者が行った環境水中の農薬類や界面活性剤関連物質の環境動態に関する一連の結果とその考察である。

農薬は、現在の農業には必要不可欠な化学物質であるが、その一方にある環境リスクについてもその把握は、非常に重要であると考えられる。本研究から、環境水中の農薬類の濃度は、従来から指摘されてきたのと同様に農薬の散布時期である春季から夏季において濃度が高くなる傾向を示した。しかしながら、農薬の散布時期ではない、冬季においても濃度が以前と観測されることが明らかとなり、農薬類の土壌吸着による長期残留が認められた。さらに、農薬類による環境リスクは、農薬の散布時期である春季から夏季だけの一過性でなく、年間を通じて継続的に晒されていることが明らかとなった。これらの農薬類の環境動態に加えて、水質濃度のデータを用いて多変量解析を適用することで、農薬類の発生源の推定などを行うことができた。

N-メチルジデカン-1-イルアミンについては、環境中にほぼ認められないことが明らかとなった。さらに、その原因として、*N*-メチルジデカン-1-イルアミンが迅速に酸化しやすい化学物質であるといった物性の情報も得ることができた。

以上の結果から、農薬類及び *N*-メチルジデカン-1-イルアミンの微量化学物質の環境における動態が明らかとなり、加えてリスクの低減に向けて、発生源の推定からの農薬使用量の抑制といったリスク管理への基礎的なデータを得ることができた。

VI. 業績

1. 査読付学術論文

- 1.1. Hirao, S., Hitomi, H. and Shigeru, S.: LC/MS/MS Method for Detection of N-methyldidecane-1-ylamine in Environmental Water. *Journal of Environmental Chemistry*, **28**, 45-50 (2018)
- 1.2. 平生 進吾, 長谷川 瞳, 渡邊 正敏, 鈴木 茂 名古屋市内河川及び海水中残留農薬の月間変動に関する多変量解析 *Journal of Environmental Chemistry*, **28**, 141-150 (2018)

2. 査読無学術論文

- 2.1. 平生進吾、長谷川 瞳、化学物質と環境 平成 27 年度化学物質分析法開発調査報告書 N-メチルジデカン-1-イルアミン、1127-1147 (2016)
- 2.2. 平生 進吾, 長谷川 瞳, 渡邊 正敏, 鈴木 茂 名古屋市内河川・海域中のベンゾイミダゾール系及び尿素系農薬の経月変化 名古屋市環境科学調査センター年報, **6**, 29-35 (2017)

3. 学会発表等

- 3.1. 平生進吾、長谷川 瞳、渡邊正敏、LC/MS を用いた名古屋市内河川・海域中の農薬類の環境調査、第 50 回水環境学会年会（徳島）2016.03
- 3.2. 平生進吾、長谷川 瞳、鈴木 茂、LC/MS による化学物質分析法の基礎的研究(67)、第 25 回環境科学討論会（新潟）2016.06
- 3.3. 平生進吾、長谷川 瞳、水質中の N-メチルジデカン-1-イルアミンの分析、平成 28 年度化学物質環境実態調査 環境科学セミナー（東京）2017.01
- 3.4. 平生進吾、名古屋市内河川・海域中のベンゾイミダゾール系及び尿素系農薬の近年の動向について、平成 28 年度 名古屋市環境科学調査センター調査研究発表会（名古屋市）2017.02

- 3.5. 平生進吾、長谷川 瞳、渡邊正敏、名古屋市内河川・海域中のベンゾイミダゾール系及び尿素系農薬の近年の動向について、第 63 回名古屋市公衆衛生研究発表会（名古屋市） 2017.05
- 3.6. 平生進吾、長谷川 瞳、渡邊正敏、鈴木 茂、名古屋市内河川・海域中のベンゾイミダゾール系及び尿素系農薬の近年の動向について、平成 29 年度愛知県公衆衛生研究会（愛知県東浦町） 2017.12

VII. 謝辞

本研究の遂行と論文にあたり、多くの皆様の御指導頂きました。特に、本研究をまとめるにあたり、中部大学大学院応用生物学研究科の鈴木茂教授には、実験の進め方、学術論文の取り纏め方など、様々な事柄について御指導頂きました。本論文の完成に至ることができたのも、ひとえに同教授の温かい御指導の賜物であり、心より深く感謝致します。並びに、論文の作成にあたり、御指導頂きました中部大学大学院応用生物学研究科の堤内要教授及び石田康行教授に厚く感謝致します。

最後に、本研究にあたり様々な形でサポートして頂きました名古屋市環境科学調査センターの職員の皆様に心より感謝致します。