

## 学位論文要旨

題目 GC/MS 測定値の不確かさの推定とその応用に関する研究

氏名 中島 晋也

化学技術の進歩により、多種多様な化学物質が新たに合成されている。現在 CSA (Chemical Abstract Service) には約 7000 万種類に上る化学物質が登録されており、我々の身の回りには 6 万を超える化学物質が流通しているといわれている。

これらの化学物質が、私たちの生活を豊かで快適にしている。一方、化学物質による人や生体への影響も懸念されている。2007 年には、中国製冷凍餃子中毒事件ではメタミドホスやジクロロボスなど有機リン系殺虫剤が高濃度で混入され、大きな健康被害が発生した。また、環境に目を向けると、フライパンや鍋、防水加工や汚れ落ちの良い布地などに使われている、PFOS (パーフルオロオクタンスルホン酸) や PFOA (パーフルオロオクタン酸) は製造段階や使用段階で環境中に排出され、これらの化合物は難分解性で人の血液にも容易に取り込まれ蓄積されることから、その毒性が懸念されている。食品中の各種化学物質や環境からの人への暴露による被害を考えた場合、なるべく多くの化学物質について存在の有無とその濃度を正しく把握する必要がある。

一方定量分析では、様々な誤差要因により、得られる値にある程度のばらつきが生じる。この測定量のばらつきを数値として具体的に表した「不確かさ」は、計測の分野で急速に広まってきた考えであり、「測定の結果に付記される、合理的に測定量に結び付けられ得る値のばらつきを特徴づけるパラメータ」と国際的に定義されている [63, 64]。分析法の開発過程では、一般に併行精度を立証するバリデーションが行われるが、得られた分析値の真度と確度を評価するものではないため、一連の操作および測定の不確かさの評価が別途重要視され始めている。

従来の 1~数種類の化合物を対象とする GC/MS 分析において、不確かさの推定は、測定対象化合物の既知濃度溶液を調製したうえで、これを使用する装置で複数回測定し、得られた測定値を統計的に処理することで求められた RSD% を、不確かさとしている。例えば、日本薬局方 [77-79] では「試験を 6 回繰り返すとき、ピーク面積の相対標準偏差は 1.0% 以下である」と記されている。一方、GC/MS 法では、多数の化合物に対し、定量を行うため、全ての対象化合物の標準物質および既知濃度試料を使用して、繰り返し測定を行うことは現実的に非常に困難である。仮に、この繰り返し測定を行えば、GC/

MS法の最大の利点である、短時間かつ効率的な測定が損なわれる。

医薬品の分析などに用いられる HPLC において繰り返し測定によらない不確かさ推定の方法としては、Function of Mutual Information (FUMI) 理論 [80-83] (ISO 11843-7 [84]) がある。FUMI 理論とは、クロマトグラムでの上下のゆらぎ(ベースラインノイズ)と測定値のばらつき(面積測定値)が、両者ともに本来備わっているクロマトグラムの性質の側面であり、両者に相互関係があることを利用して、HPLC 分析のベースラインの揺らぎ(ノイズ)とシグナル(ピーク)の確率論的性質から、測定値の不確かさを予測する理論である。

そこで、本研究は多成分一斉分析に用いられる GC/MS 法において、効率的に測定値の不確かさを推定するために、FUMI 理論の適用性を検討し、食の安全と安心ならびに環境中における化学物質の実態解明に役立つ技術開発を目的とした。

第2章では、一般的に測定 RSD は、既知濃度試料の繰り返し測定により求めるが、多成分一斉分析 GC/MS 法では多種の化合物を対象としているため、繰り返し測定を行うことは時間的に困難であり、繰り返し測定によらない不確かさの推定方法が必要であることを示した。繰り返し測定に寄らない不確かさの推定方法として、2012 年に ISO に採用された、11843-7 Capability of detection Part 7: Methodology based on stochastic properties of instrumental noise (FUMI 理論)の GC/MS 法への適用可能性を検証した。5 濃度 16 種類の農薬標準液および試料由来の夾雑物として、りんごおよび小麦抽出液に添加した溶液の繰り返し測定のから求めた RSD は FUMI 理論から求めた RSD と良く一致し、GC/MS 法での不確かさ推定に FUMI 理論が適用可能なことを示した。測定値の不確かさを1回の測定から推定できるため、環境や食品中に存在する多数の要測定化学物質についても、本研究成果を適用すれば、不確かさを特定した測定結果を迅速に提供することが可能となる。これは、化学物質による生態系への影響を正しく評価する取り組みに対し、役立つ成果であると考ええる。

第3章では、分析値に含まれる不確かさの要因を解析するには、まず(定量分析値の RSD) $^2$  = (調製 RSD) $^2$  + (測定 RSD) $^2$  の式に示される、調整 RSD の大きさを評価することが必要であることを示し、水質管理目標設定項目に挙げられているブタミホスを測定対象としたモデル実験を行い、調整 RSD は、1.63%であることを示した。

第4章では、データベースを使用した検出と定量法である AIQS-DB 法の概要を述べた。AIQS-DB 法では、GC/MS 状態を一定に保つことで、データベースに登録された化合物情報を異なる装置や異なる日でも利用可能としている。保持時間は、リテンションタイムロッキング技術を用いて指標化合物が

常に同一の保持時間となるようにカラムヘッド圧を調整する。装置のコンディション(汚れや劣化)は、装置劣化の影響を受けやすい化合物を選定し、試料の測定に先立ちこれらを測定し、必要な部位をメンテナンスすることで装置コンディションを一定化している。また、検量線は内標準法を採用し、DFTPP チューニング法を用いることで、測定対象化合物と内標準化合物のピーク面積比を濃度に対して一定化している。

第5章では、GC/MS 質量分析部の校正方法として、オートチューニング法と deca fluoro triphenyl phosphine (DFTPP)チューニング法があり、AIQS-DB 法で採用している、DFTPP チューニング法はオートチューニング法に比べ、高質量数側で 1/10 程度の感度しか得られないことを挙げた。AIQS-DB 法を高感度なオートチューニング法で使用するために、DFTPP とオートチューニング変換式を開発し本式を用いて、AIQS-DB 法用データベースに登録されている内標準法検量線を補正した。実際に 46 農薬の測定結果を前述の補正した内標準法検量線で解析した結果、46 農薬中 37 農薬で定量値は 0.8~1.5 倍の範囲であり開発した補正式および補正検量線は正しく機能していることが示された。また、S/N 比は 46 農薬中 33 農薬で改善し、オートチューニング法による高感度化が有効であることが示された。これらの結果から、本手法は AIQS-DB 法に限らず、EPA625 メソッドの DFTPP チューニングを利用した他の測定法でも大幅な高感度化を実現可能という点で、今後様々な分析法への適用の拡大が期待され、効果と影響範囲が大きい新規成果であった。

第6章では、缶詰など食品用容器包装材は直接食品に触れて使用されることから、用いられている添加剤の食品への移行が懸念されており、EU の Commission Regulation (EU) No. 10/2011 [43]では 917 種類の添加剤リストアップされている。一方、食品に移行した添加剤の種類や濃度についての報告がほとんど無いことから、これら添加剤の迅速で簡便な測定法が必要とされている。そこで、新たに、添加剤 125 種類について AIQS-DB 法用データベースを構築し、さらにデータベース構築時と異なる GC/MS を用いて検出および定量性能の性能評価を行った。保持時間については検討した 60 添加剤すべてで、差は 6 秒以内、定量値については、ほとんどの添加剤で 0.5~2 倍の範囲であり、構築した添加剤データベースを用いて、迅速に検出と定量を行えることを示した。容器包装材の機能性を向上させるために、今後も新たな AFP が合成される。これらの化合物の内幾つかは、各企業が独自に開発しているため、分析用試薬として流通することは少なく、たとえ容器包装材に活用されていても、分析することは困難である。今回、開発した AFP データベースがあれば、新規 AFP を入手可能な立場にある機関で分析を行ったうえで、データベース化し、関係分析ラボに配布することで、増え続ける新規 AF

Pを容易に分析することが可能となると期待される。今回の研究では、その石杖を築くことができた。

第4章では、食品中の多種の化学物質を測定するには、多様な物性を持つ化学物質を一度に抽出が可能な前処理方法の開発が必要であることから、少溶媒で簡便な操作の Stir bar sorptive extraction (SBSE) 法に着目し、オクタノール/水分配係数 ( $\log K_{o/w}$ ) の異なる 6 種類の農薬をモデルとして、各種抽出条件を検討し、食品中の化学物質前処理方法を開発した。また、開発した前処理法を用いて 16 種類の加工食品中の化学物質を抽出し、GC/MS および前章で構築した 125 種類の添加剤データベースで解析した結果、Bisphenol A など多数の容器包装材由来と考えられる添加剤が検出され、新たに開発した SBSE 法による抽出およびその条件、AIQS-DB 法によるデータベースを用いた化合物の検出および定量は、食品中に残留または移行した多様な化学物質について、幅広く適用可能であることが判明した。

今回の研究によって、人や環境に影響を与えると懸念されている、食品中の残留農薬や容器包装添加剤由来の各種添加剤、そして環境中の環境汚染物質について、より高感度に、より幅広く検出が可能となり、さらに今まではその確からしさが分からず測定値の扱いが困難であった AIQS-DB 法の不確かさを明らかにした。これにより、人や環境への化学物質の影響を正しく計算することが可能になり、現在または将来にふたたび起こる可能性のある、化学物質被害を未然に防ぐ一助になると考える。