

## トリプル四重極型LC/MS/MSを用いた飲料水および環境水中のミクロシスチンの分析

アオコとは、池や湖沼等の水中で植物プランクトンが大量に増殖し水面に集積したもので、「水の華 (Water bloom)」あるいは「藻類ブルーム (Algal bloom)」と呼ばれています。アオコを形成する植物プランクトンの中には有毒物質を産生するものがあり、ミクロシスチンはアオコにより生成される肝臓毒の一種です。

WHO による飲料水水質ガイドライン<sup>1)</sup>では、ミクロシスチンの規制値を 1 μg/L 以下と定めています。ミクロシスチンには多くの類縁体が存在することが知られていますが、日本においては、ミクロシスチン LR が水道水質基準で要検討項目として指定されており、飲料水中に 0.8 μg/L という目標値が設けられています。

測定試料の前処理方法としては、固相抽出による濃縮とクリーンアップを施す手法が多く報告されています。

本稿では、煩雑な前処理を省略し、水試料中のミクロシスチン LR, RR, YR を高感度に測定した例をご紹介します。

M. Kawashima

### 試料の調製

ミクロシスチン LR, RR, YR 標準品を水/メタノール=8/2 (v/v)にて溶解・混合し、10 mg/L 混合標準原液を調製しました。これを超純水にて段階希釈し、検量線用標準試料を調製しました。

実試料として、ミネラルウォーター、水道水、池の水の3種それぞれに、ミクロシスチンを添加した試料を調製しました。「池の水」として採水した池は、農業用水のため池として作られたもので、都市公園内に位置します。

それぞれの試料は、固形物除去のため、遠心分離をした後にディスポーザブルフィルタにて濾過しました。この試料に、WHO の規制値である 1 μg/L になるようミクロシスチンを添加し、分析用試料としました。

### 分析条件

分析条件を表 1 に示しました。

表 1 分析条件

[HPLC conditions] (Nexera™ X2)	
Column	: Shim-pack Scepter™ C18-120 (2.1×100, 3 μm)
Mobile phases	: A) 0.1% formic acid in H <sub>2</sub> O B) 0.1% formic acid in Acetonitrile
Gradient Program	: B 5% (0-3 min) – B 55% (4 min) – B 95% (6-7 min) – B 5% (7.01-10 min)
Flow rate	: 0.35 mL/min
Column Temp.	: 40 °C
Injection volume	: 10 μL
Rinse type	: Internal and External
[MS conditions] (LCMS™-8060)	
Ionization	: ESI (Positive mode)
Probe Voltage	: +5.0 kV
Mode	: MRM
Nebulizing gas flow	: 3.0 L/min
Drying gas flow	: 10.0 L/min
Heating gas flow	: 10.0 L/min
DL Temp.	: 150 °C
Heat Block Temp.	: 200 °C
Interface Temp.	: 350 °C
Probe position	: +1.0 mm

[MS/MS parameters]

Compound	MRM transition (m/z)	DL/Qarray Bias (V)	Collision energy (V)
Microcystin YR	1045.20>135.10	20	-70.0
	1045.20>112.05		-67.0
Microcystin LR	498.30>135.10	20	-13.0
	498.30>90.95		-40.0
Microcystin RR	519.80>135.10	20	-33.0
	519.80>103.05		-61.0

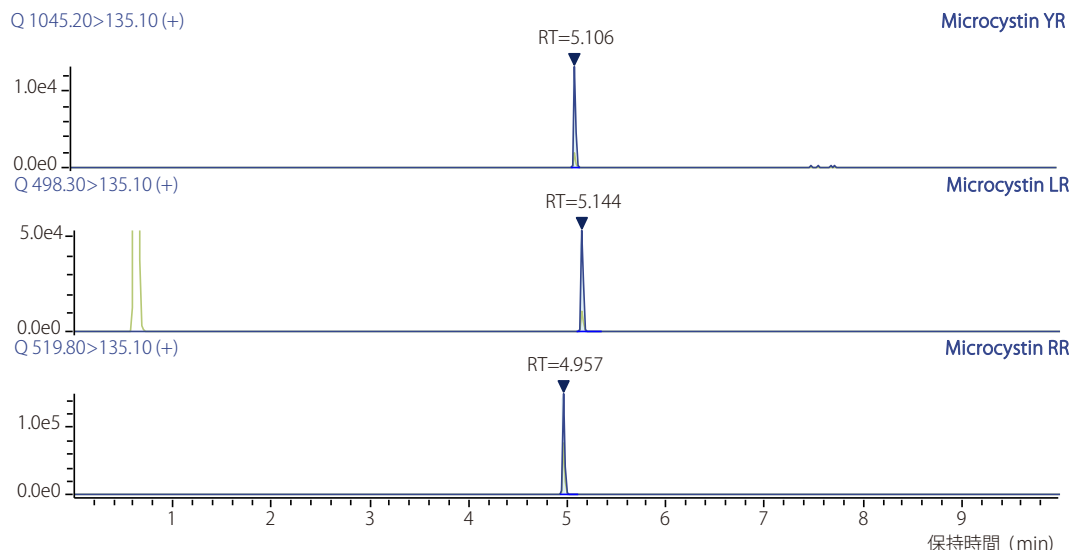


図 1 1 μg/L 標準試料のクロマトグラム

## ■ 標準試料の分析結果

0.1~10 µg/L の範囲で作成した検量線を図 2 に示しました。WHO のガイドラインによる規制値は 1 µg/L とされていますが、その 1/10 である 0.1 µg/L を含む範囲で、良好な直線性を示しました。

また、日本の水道水質基準の目標値の 1/10 である 0.08 µg/L において、6 回繰り返し分析を行い、再現性を確認した結果を表 2 および図 3 に示しました。全ての成分において、面積値再現性 10% 以下の良好な結果が得られました。

表 2 繰り返し分析 (n=6) における 0.08 µg/L 標準試料の再現性

Compound	Area%RSD	Rt%RSD
Microcystin YR	5.98%	0.04%
Microcystin LR	4.31%	0.04%
Microcystin RR	2.29%	0.02%

## ■ 水試料の分析結果

ミネラルウォーター、水道水、池の水にマイクロシスチンを添加した試料を分析し、絶対検量線法により定量した値から、回収率を算出し、その結果を表 3 に示しました。どの試料においても 70~130% 内の良好な回収率が得られました。

## ■ 結論

- 固相抽出による前処理を省略し、遠心分離とフィルタろ過のみのシンプルな前処理による分析方法を検討しました。
- ミネラルウォーター、水道水、池の水において、良好な回収率を示しました。
- 煩雑な処理工程を要する固相抽出や、時間のかかる濃縮を省略し、マイクロシスチンを迅速かつ正確に測定することができました。

表 3 水試料の添加回収率および面積値%RSD

Compound	ミネラル ウォーター	水道水	池の水	
Recovery	Microcystin YR	92.4%	78.7%	106.8%
	Microcystin LR	86.8%	83.5%	90.5%
	Microcystin RR	102.5%	94.9%	97.9%
Area%RSD	Microcystin YR	1.2%	2.3%	4.6%
	Microcystin LR	1.2%	1.9%	2.7%
	Microcystin RR	1.2%	2.3%	4.6%

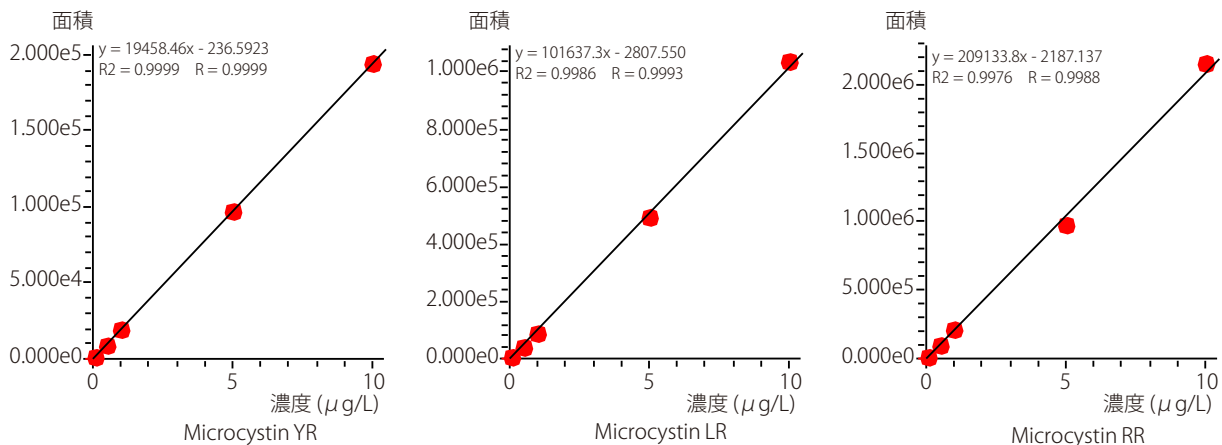


図 2 各成分の検量線

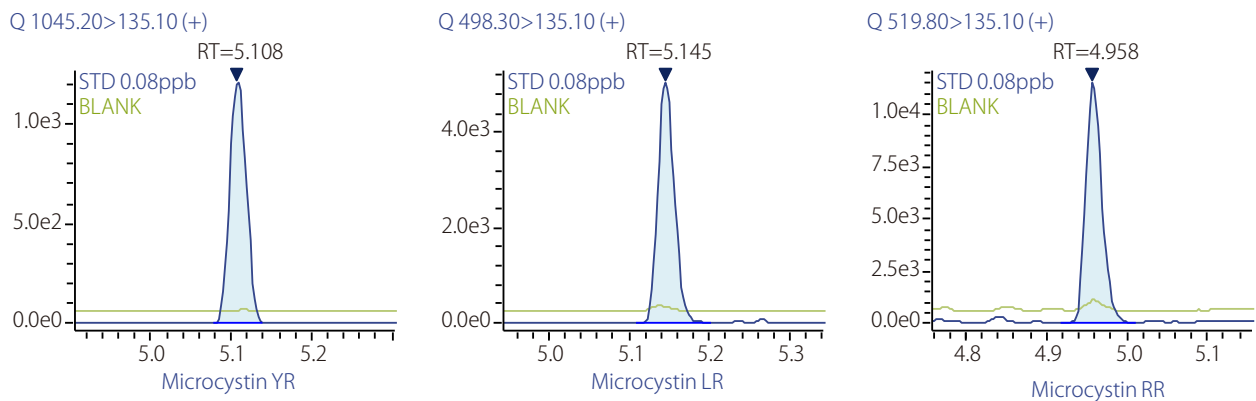


図 3 0.08 µg/L 標準試料のクロマトグラム

### <参考文献>

- 1) WHO (2003) Cyanobacterial toxins: Microcystin-LR in drinking-water. Background document for preparation of WHO Guidelines for drinking-water quality. Geneva, World Health Organization (WHO/SDE/WSH/03.04/57).

Nexera、Shim-pack Scepter、および LCMS は、株式会社 島津製作所の日本およびその他の国における商標です。

**株式会社 島津製作所**

分析計測事業部  
グローバルアプリケーション開発センター

初版発行：2019年11月

島津コールセンター ☎0120-131691  
(075) 813-1691

※本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。  
改訂版は下記の会員制 Web Solutions Navigator で閲覧できます。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>

会員制情報サービス「Shim-Solutions Club」にご登録ください。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/>

会員制 Web の閲覧だけでなく、いろいろな情報サービスが受けられます。