

## 学位論文の要旨

氏名

新福 優太

学位論文題目

高分解能質量分析と多変量解析の組み合わせによる  
水道水生ぐさ臭原因物質の探索と構造推定

本論文は、水道水生ぐさ臭の原因物質が十分に解明されていない実態に鑑み、これを探索し、かつその構造の部分的な推定を試みたものである。

第1章では、日本の上水道における生物障害、特に異臭味被害の発生状況と、これら进行管理するための水道法などの法体系を整理した。その結果、異臭味被害は閉鎖性水域における藻類の増殖が主原因となって引き起こされること、中でも生ぐさ臭は被害件数が多いにもかかわらず十分に実態が解明されていないこと、それゆえに基準項目化されるにいたっていないことなどを述べた。

第2章では、2,4-ジニトロフェニルヒドラジン (DNPH) により誘導体化した試料を想定した選択的な精製方法の開発を行った。その結果、弱陽イオン交換カラムを用いる固相抽出法によって、未反応DNPHを選択的に除去しつつDNPH誘導体を回収可能な精製方法を見出した。また、弱陽イオン交換カラムが選択的精製をもたらす機構を考察するために、密度汎関数理論を用いる量子化学計算によって、精製のメカニズムを検討した。これにより、固相とDNPH誘導体の複合体は、固相と未反応DNPHの複合体と比較した際に約11 kJ/molエネルギー的に安定であること、および精製には互いのフェニル基の $\pi$ - $\pi$ スタッキングが寄与している可能性が示唆された。

第3章では、高分解能LC/MSおよび多変量解析の組み合わせによる水道水生ぐさ臭原因物質の探索を実施した。既往研究から生ぐさ臭原因物質はアルデヒド類またはケトン類であることが予想されたため、はじめにDNPHにより誘導体化した臭気強度の異なる複数の水道原水試料および*Uroglena americana*培養液試料を高分解能LC/MSにより分析し、得ら

れたデータに対して差異解析およびPLS回帰分析を適用して、原因物質候補を抽出した。PLS回帰分析においては、回帰モデルの精度向上を目的として、モデル構築に使用する変数の取捨選択（インターバルOPLS回帰分析）を実施した。精密質量解析および天然同位体パターンを解析し、抽出された物質の分子式（誘導体化前）を $C_{13}H_{20}O_3$ と推定した。

第4章では、第3章で抽出された生ぐさ臭原因候補物質（FX）について、におい嗅ぎGCを用いてその臭気の有無を確認した。初めに、高分解能GC-APCI-MSを用いて水道原水試料及び*Uroglena americana*培養液試料を分析し、FXの分子量関連イオンが脱水プロトン付加体として検出されることを確認し、その保持時間を特定した。次に、特定した保持時間の周辺で溶出する成分の臭気を確認するため、3名の異なるパネラーによるにおい嗅ぎGC分析を実施した結果、3名のパネラー全員が10.1-10.6分に臭気を検知したため、FXは有臭成分であることが示唆された。

第5章では、高分解能LC-MS/MSおよび高分解能GC-EI/FI-TOFMSを用いるFXの部分的な構造推定を実施した。LC-MS/MS分析データに対しては閉殻ジェネラルフラグメンテーションルール(GFR)を適用してフラグメンテーション経路を考察した。一方、高分解能GC-EI/FI-TOFMS分析におけるFXの保持時間は未知であったため、まずはこれを特定するために、ソフトイオン化法であるFIを用いてFXの分子量イオンの検出を試みた。これにより、FXの保持時間および保持指標が判明したため、次にEIを用いて同じ保持指標におけるEIマススペクトルを解析することで、イオン化の際に生成したプロプロダクトイオンおよびニュートラルロスについて検討した。この際、開殻GFRによりフラグメンテーション経路を考察した。開殻GFRおよび閉殻GFRによる構造推定の結果、FXはメトキシシクロヘキセノンおよび末端アルキルケトンを有することが示唆された。また、14種の異なるFXの全体構造を推定した。第6章では、第2章から第5章までの研究結果に鑑みて、今後の本研究の展望を考察した。第7章では、本研究で得られた結果を総括した。

## Summary of Doctoral Dissertation

Title of Doctoral Dissertation:

Exploration and Structural Elucidation of the Causative Substance of Fishy Smell in Raw Water for Taps  
Using the Combination of High Resolution Mass Spectrometry and Multivariate Analysis

Name: Shinfuku Yuta

This thesis mainly comprises seven chapters. The causative substance of fishy smell in raw water for taps was explored by adopting the combination of high resolution mass spectrometry and multivariate analysis.

Chapter 1 discusses the status quo of fishy smell and current Japanese legal system regarding tap water quality control. Despite numerous effort, the causative substance of fishy smell in tap water still remains unclear. Thanks to its great sensitivity and selectivity, Mass spectrometry (MS) is the most promising technique to analyze environmental samples. Therefore, a non-targeted MS analysis was focused on to overcome this problem.

Chapter 2 describes a development of a selective purification method for samples derivatized with 2,4-dinitrophenylhydrazine (DNPH). Solid phase extraction (SPE) proved effective to remove unreacted DNPH, while recovering a DNPH derivative; both DNPH removal and DNPH derivative recovery exceeded 90%. While a weak cation exchange column was used in this SPE purification, the way how it worked for purification was unclear. Therefore, a quantum chemistry calculation based on density functional theory (DFT) was also performed, suggesting that the complexation between the DNPH derivative and the resin of solid phase is stabler than that between DNPH and the resin by ca. 11 kJ/mol. The phenyl rings of the DNPH derivative and the resin possibly formed  $\pi$ - $\pi$  stacking, which made the complexation energetically favorable.

Chapter 3 presents the exploration of the causative substance of fishy smell using the combination of liquid chromatography mass spectrometry (LC/MS) and MVA. Raw water samples collected in Kansai Region, Japan, and the culture media of *Uroglena americana*, an algae notorious for fishy odor occurrence, were derivatized with DNPH and analyzed using LC/MS. Differential analysis and interval orthogonal projection to latent structure regression analysis (iOPLS) were employed to narrow down the number of possible candidates of the causative substance. As a result, an ion whose  $m/z$  value was 403.1625 was chosen as a candidate. Its accurate mass and natural isotopic pattern indicated that its molecular formula before DNPH derivatization was  $C_{13}H_{20}O_3$  (hereafter this substance is referred to as FX).

In Chapter 4, GC-olfactometry (GC-O) analysis of FX was conducted to confirm if it has a detectable odor. First, it was analyzed using GC/MS to determine its retention time in GC (atmospheric chemical ionization was adopted in this analysis). Its molecular related ion was detected as  $[M-H_2O+H]^+$  at the retention time of 10.5 min. Following GC/MS analysis, GC-O analysis of three different raw water samples were carried out. The odor of these three samples were evaluated by three different panelists. Every panelist detected odor at 10.1-10.6 min, which implies that FX has odor. However, every panelist

evaluated its odor in different expressions, making it difficult to determine its type of odor.

Chapter 5 presents a partial structural elucidation of FX using LC-MS/MS and GC-MS. Unlike the previous chapter, GC-EI-MS analysis was conducted followed by the determination of the retention time of FX using field ionization (FI). In this chapter, the opened-shell GFRs and the closed-shell GFRs were utilized depending on the type of ionization methods. Three different neutral losses observed in LC-MS/MS analysis suggested that FX contains a cyclohexenone substituted with a methoxy group. Three product ions observed in GC/MS analysis suggested that FX contains a methoxy group and a terminal ketone, whose lateral chain is saturated hydrocarbon (propyl or butyl). Considering these results, 14 possible structures of FX were proposed.

Chapter 6 describes the future development of this research.

In Chapter 7, the results of this study were summarized.