

LC-MS/MSによるハロ酢酸類とホルムアルデヒドの同時分析法の検討

公益財団法人 島根県環境保健公社

○土井慎一 園山雅幸

1. はじめに

水道水質検査法である厚生労働省告示第 261 号の有機化学分析法は、近年、ガスクロマトグラフ質量分析法から液体クロマトグラフ質量分析計 (LC-MS) やトリプル四重極型液体クロマトグラフ質量分析計 (LC-MS/MS) を用いた検査法に移行されてきている。現在までクロロ酢酸、ジクロロ酢酸、トリクロロ酢酸 (以下、「ハロ酢酸類」という。)、フェノール類及びホルムアルデヒドの検査法に追加された。今後も安全性や分析の効率化等を考慮して逐次追加される可能性があるかと推察される。

現在、ハロ酢酸類とホルムアルデヒドは消毒副生成物に分類されており、検査頻度は同じであるが、検査法は別系統である。しかしながら、共に LC-MS/MS を用いた逆相系の分離条件、電子スプレーイオン化法 (ESI) で測定することから、これらを同時に分析することが可能ではないかと考えた。ただし、ホルムアルデヒドの分析では、前処理過程で誘導体化反応を要するため、ハロ酢酸類の分析精度への影響が非常に懸念される。

そこで、本検討では、同時分析を確立することを目的とし、誘導体化反応による影響を検証し、反応条件の最適化を行った。その結果、高精度な分析法を確立することができた。

2. 試薬及び装置

2-1. 試薬

ハロ酢酸混合標準原液はジーエルサイエンス製、ホルムアルデヒド標準原液は関東化学製、2,4-ジニトロフェニルヒドラジン (DNPH) は和光純薬工業製を使用した。

ハロ酢酸混合標準原液とホルムアルデヒド標準原液はアセトニトリルと純水で段階的に希釈し、ハロ酢酸類各 2mg/L とホルムアルデヒド 8mg/L の混合標準溶液を調製した。

また、DNPH はアセトニトリルで希釈し、0.1%DNPH 溶液を調製した。

2-2. 分析機器及び測定条件

分析機器及び測定条件を表 1 に示す。

表 1 LC-MS/MS 測定条件

| | |
|------------|--|
| 液体クロマトグラフ部 | |
| 液体クロマトグラフ | : Agilent 1260 |
| 移動相 | : A 0.2%ギ酸含有10mMギ酸アンモニウム水溶液 B アセトニトリル |
| グラジエント | : B 5%,4分-95%,6-14分 |
| カラム | : Inertsil ODS-3 (2.1mm,150mm,3µm) |
| 流速 | : 0.2mL/min |
| 注入量 | : 30µL |
| 質量分析計部 | |
| 質量分析計 | : Agilent 6460 |
| イオン化法 | : AJS ESI(-) |
| 乾燥ガス | : 10L/min,250℃ |
| ネブライザー | : 50psi |
| シースガス | : 11L/min,250℃ |
| キャピラリー電圧 | : 1500V |
| モニターイオン | : クロロ酢酸 93>35 (30V,8eV) ジクロロ酢酸 127>83 (70V,8eV) トリクロロ酢酸 117>35 (50V,6eV) ホルムアルデヒド 209>46 (70V,16eV) |

3. 実験及び結果と考察

3-1. リン酸の添加量と静置時間

ハロ酢酸類とホルムアルデヒドの同時分析法を構築する上で、酸や誘導体化剤の添加が必要である、ホルムアルデヒドの告示法を基本として検討を行った(図1)。

告示法では、ホルムアルデヒドをDNPH誘導体化させるために、(1+4)リン酸を200 μ L添加することとされているが、告示法通りリン酸を添加するとハロ酢酸類を感度良く検出することができなかつた。これは酸の影響により質量分析計でイオン化抑制等が起きていると考えられる。そこ

で、ハロ酢酸類のイオン化とホルムアルデヒドのDNPH誘導体化に支障を及ぼさない程度のリン酸の濃度及び添加量と、誘導体化反応に要する静置時間を検討した。

まず、純水に各基準値の1/10以下の濃度(ハロ酢酸類:0.002mg/L、ホルムアルデヒド:0.008mg/L)となるよう混合標準液を10 μ L添加し、純水で10mLに定容した。そこへ告示法より希薄な(1+100)リン酸を用い、0~500 μ Lの範囲で段階的に添加した。次いで、

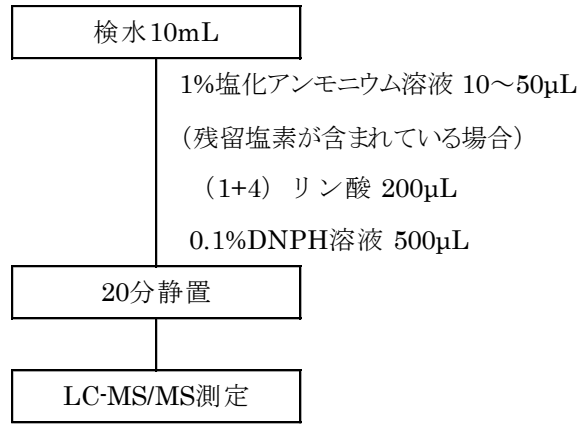
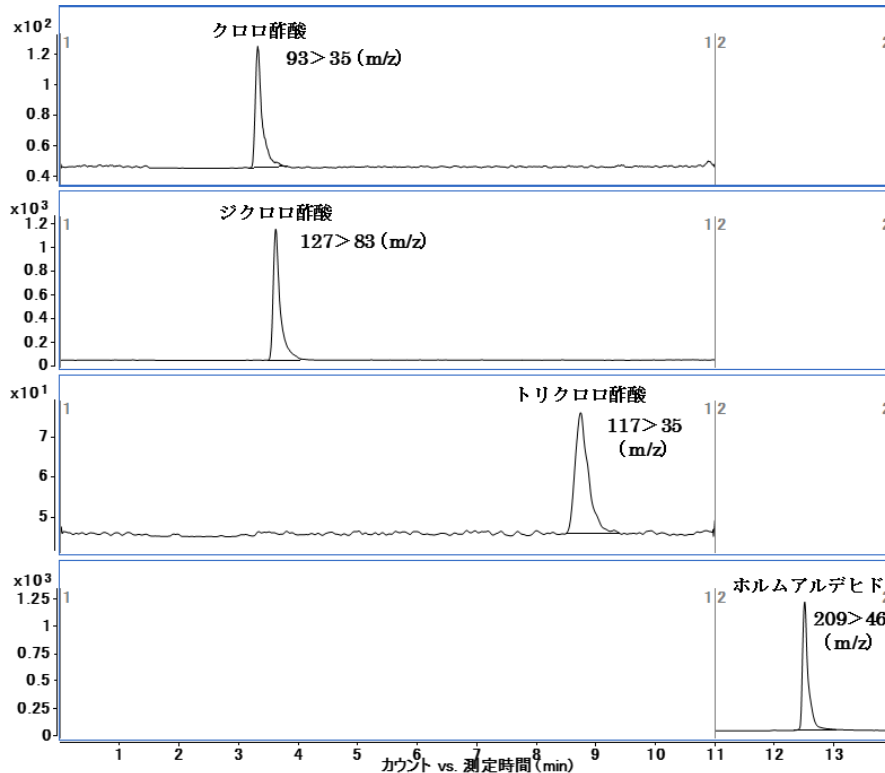


図1 ホルムアルデヒドの告示法



前処理条件:(1+100)リン酸 200 μ L、0.1%DNPH溶液 500 μ L、静置 2時間

図2 標準液のクロマトグラム

0.1%DNPB 溶液を 500 μ L 加え、静置後 1 時間毎に測定を行った。その結果、ハロ酢酸類はリン酸の添加量によってピーク面積値に変動は見られたが、全ての添加量で定量に十分なピーク感度を確保していた (図 2)。

ホルムアルデヒドについては、(1+100) リン酸の添加量を 500 μ L に増加させると静置 1 時間で反応はほぼ収束しているのではないかと考えられた (図 3)。

不揮発性酸であるリン酸は装置やカラムにさまざまな影響を及ぼしかねないため、リン酸の添加量は可能な限り少量が良い。そこで、2 時間の静置時間で反応が収束した、(1+100) リン酸を 100 μ L と 200 μ L の添加条件で、純水と水道水の面積値を比較し、その変動と反応の差を検証した。水道水には当検査室の水道水を用い、その基礎性状を図 4 に示す。

検証の結果、純水と水道水の変動係数はどちらのリン酸添加量でも 5%未満と非常に良好な結果が得られた。また、純水を 100%とした時の水道水の割合は、(1+100) リン酸 100 μ L の場合が 93%、200 μ L が 95%であった (図 4)。

各リン酸添加量による純水と水道水の反応の差は認められなかったが、今後さまざまな水道水に適用可能となるように、(1+100) リン酸の添加量を 200 μ L とした。

3-2. 添加回収試験

3-1 の結果から、ハロ酢酸類とホルムアルデヒドの同時分析フローを構築し (図 5)、そのフローの妥当性を評価するため、添加回収試験を行った。

試料は純水及び導電率の異なる 2 種類の水道水とし、特に水道水は塩化アンモニウムを使用して残留塩素を除去後、各基準値の 1/10 以下の濃度 (n=5) で行った。

検量線用標準液は、添加回収試験同様、図 5 のフローに従い調製した。濃度範囲

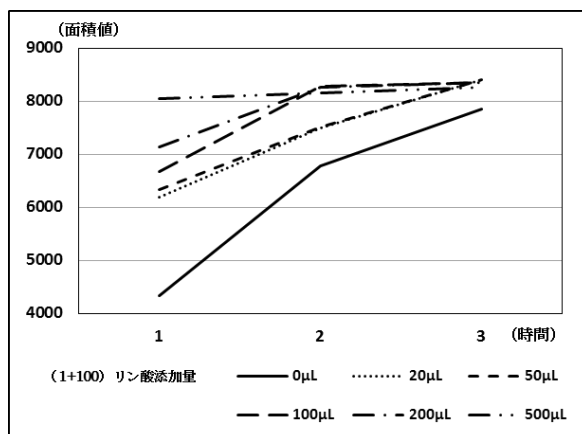


図 3 リン酸の添加量と静置時間によるホルムアルデヒドの面積値の変動

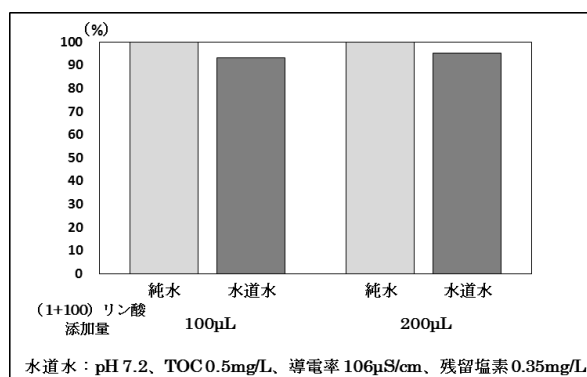


図 4 各リン酸添加量によるホルムアルデヒドの面積値の比率 (純水 100%) 及び水道水の基礎性状



図 5 ハロ酢酸類とホルムアルデヒドの同時分析フロー

は、ハロ酢酸類が 0.002~0.02mg/L、ホルムアルデヒドが 0.008~0.08mg/L とし、絶対検量線法にて検量線を作成したところ、各成分とも良好な直線性が得られた（相関係数 $r^2 \geq 0.999$ ）。

添加回収試験の結果、純水及び 2 種類の水道水試料でハロ酢酸類、ホルムアルデヒドともに平均回収率 84~104%、変動係数 5%未満と非常に良好な結果が得られた（表 2）。

表 2 添加回収試験結果 (n=5)

| 純水 | | | | |
|--------------------------|-------------|---------|---------|--------|
| 測定成分 | 設定濃度 (mg/L) | 回収率 (%) | 平均値 (%) | CV (%) |
| クロロ酢酸 | 0.002 | 95~99 | 98 | 1.7 |
| ジクロロ酢酸 | 0.002 | 95~97 | 96 | 1.3 |
| トリクロロ酢酸 | 0.002 | 92~104 | 98 | 4.6 |
| ホルムアルデヒド | 0.008 | 89~98 | 94 | 3.6 |
| 水道水① (導電率106 μ S/cm) | | | | |
| 測定成分 | 設定濃度 (mg/L) | 回収率 (%) | 平均値 (%) | CV (%) |
| クロロ酢酸 | 0.002 | 86~93 | 91 | 3.3 |
| ジクロロ酢酸 | 0.002 | 86~90 | 88 | 1.9 |
| トリクロロ酢酸 | 0.002 | 102~107 | 104 | 2.4 |
| ホルムアルデヒド | 0.008 | 86~94 | 91 | 3.3 |
| 水道水② (導電率380 μ S/cm) | | | | |
| 測定成分 | 設定濃度 (mg/L) | 回収率 (%) | 平均値 (%) | CV (%) |
| クロロ酢酸 | 0.002 | 86~90 | 88 | 2.4 |
| ジクロロ酢酸 | 0.002 | 83~86 | 84 | 1.8 |
| トリクロロ酢酸 | 0.002 | 84~95 | 88 | 4.8 |
| ホルムアルデヒド | 0.008 | 91~96 | 94 | 4.2 |

4. まとめ

ハロ酢酸類とホルムアルデヒドの同時分析を検討した結果、(1+100)リン酸 200 μ L、0.1% DNPH 溶液 500 μ L を添加し、2 時間静置することでハロ酢酸類とホルムアルデヒドが同時分析可能であった。

添加回収試験の結果、純水及び水道水試料について実用可能な精度が得られ、本法により効率的な検査が実現できると考える。

参考文献

水質基準に関する省令の規定に基づき厚生労働大臣が定める方法（平成 15 年厚生労働省告示第 261 号）