

第6章 応用編

6.1 LC/MSによる大気中環境ホルモン等の分析法

LC/MSをGC/MSのように環境での実測定に利用するための一つの試みとして、近年話題の環境ホルモンとゴルフ場農薬を対象にして分析法を検討した。

6.1.1 対象物質

表6.1.1-1 対象物質

対象物質	分子式	Cas.No.
ビスフェノールA	C ₁₅ H ₁₆ O ₂	80-05-7
2,4-ジクロロフェノール	OH(C ₆ H ₃)Cl ₂	120-83-2
ペンタクロロフェノール(PCP)	C ₆ Cl ₅ OH	87-86-5
2,4,5-トリクロロフェノキシ酢酸(2,4,5-T)	C ₈ H ₅ Cl ₃ O ₃	93-75-7
2,4-ジクロロフェノキシ酢酸(2,4-PA)	C ₈ H ₆ Cl ₂ O ₃	94-75-7
アミトロール	C ₂ H ₄ N ₄	61-82-5
アトラジン	C ₈ H ₁₄ ClN ₅	1912-24-9
アラクロール	C ₁₄ H ₂₀ ClNO ₂	15972-60-8
メソミル	C ₅ H ₁₀ N ₂ O ₂ S	16752-77-5
メトキシクロル	C ₁₆ H ₁₅ Cl ₃ O ₂	72-43-5
4-オクチルフェノール	C ₁₄ H ₂₂ O	1806-26-4
ノニルフェノール	C ₁₅ H ₂₄ O	25154-52-3
ケボン(クロルデコン)	C ₁₀ Cl ₁₀	143-50-0
メトリブジン	C ₈ H ₁₄ N ₄ OS	21087-64-9
M C P P	C ₁₀ H ₁₁ ClO ₃	7085-19-0
ペンシクロン	C ₁₉ H ₂₁ ClN ₂ O	66063-05-6
メプロニル	C ₁₇ H ₁₉ N ₂ O ₂	55814-41-0
アシュラム	C ₈ H ₁₀ N ₂ O ₄ S	3337-71-1

6.1.2 分析法概要

SEP-PAKplus PS-2を捕集管とし、大気試料を通気して対象物質を吸着捕集後、吸着剤に捕集した物質を溶媒抽出して濾過、濃縮しLC/MS-SIMで分析する。

6.1.3 分析法

6.1.3.1 試料捕集法

試料捕集管はWaters社のSEP-PAKplus PS-2を用いる。アセトニトリル5mlを通して洗浄し、純窒素を通じて乾燥させた試料捕集管に試料大気を0.7l/minの流速で、24時間通気して採取する。捕集後両端にキャップをはめて分析時まで冷蔵庫に保存する。

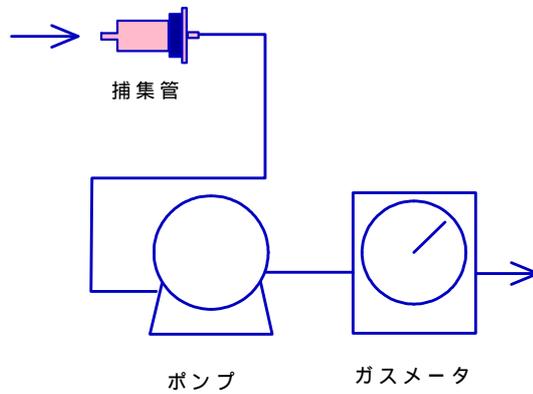


図6.1.3-1 試料捕集法

6.1.3.2 試験溶液の調製

ビスフェノールA d16をアセトニトリルに溶解して $1\mu\text{g/ml}$ としたものを内標準溶液とする。図6.3.2-2に示すように、捕集管の下にフィルター、上に注射筒を取り付け、アセトニトリル 2ml で抽出する。内標準溶液を $1\mu\text{l}$ 加えてロータリーエバポレータもしくは窒素吹きつけで 0.2ml まで濃縮したものを試験溶液とする。未使用の捕集管を同様に処理したものを空試験溶液とする。

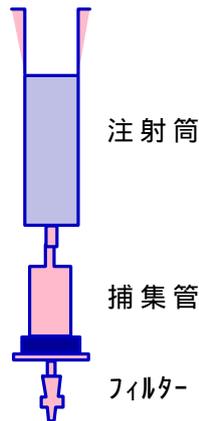


図6.1.3-2 試料抽出法

6.1.3.3 標準溶液の調製

各標準物質をアセトニトリルに溶解し、混合希釈してそれぞれが $10\mu\text{g/ml}$ となるようにしたものを標準原液とする。アセトニトリルで適宜希釈して標準物質が $1\sim 100\text{ng/ml}$ 、内標準物質が 5ng/ml になるように5段階以上の濃度の標準溶液を調製する。標準溶液は使用時に調製する。

6.1.3.4 測定条件

- ・ LC条件

機種 : Waters社製ALLIANCE2690

カラム : Waters Symmetry C18/3.5 μ m 2.1mm × 50mm (ODS)
 Shodex Asahipack GF310HQ4D 3.5 μ m 4.6mm × 150mm (G F)
 溶離液 : 5%CH3CN/水(3min) 100%アセトニトリル(20min) 0.3ml/min (中性)
 5%CH3CN/5mM CH3COONH4(3min) 100%(25min),0.3ml/min
 酢酸添加 pH4 (酸性)
 カラム温度 : 30
 注入量 : 10 μ l
 ・ MS条件
 機種 : Waters社製PLATFORM LCZ
 イオン化法 : ESI

6.1.3.5 検量線

各標準物質の混合標準液10 μ lをLC/MSに注入して分析する。得られた各標準物質のピーク面積と内標準物質のピーク面積の比から検量線を作成する。

6.1.3.6 定量

試験溶液10 μ lをLC/MSに注入して分析する。得られた各物質のピーク面積と内標準物質のピーク面積の比を検量線に照らして定量する。

6.1.3.7 濃度の算出

大気試料中の各項目の濃度(μ g/m³)は次式から算出する。

$$C(\mu\text{g}/\text{m}^3) = (W - Wb) \times \frac{(273 + t)}{V \times (273 + 20)} \times \frac{760}{P}$$

W : 検量線から求めた測定物質質量(ng)、後段からも検出された場合は前段との合計量。

Wb : 空試験溶液の測定物質質量(ng)

t : 試料採取時の平均気温()

V : 大気採取量(l)

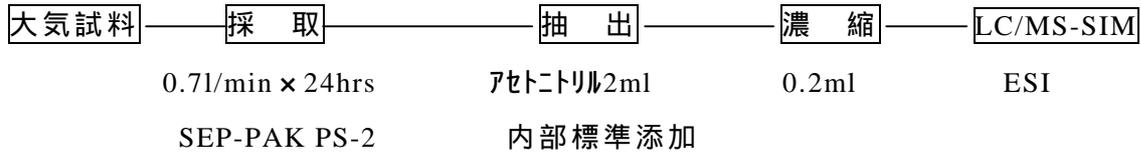
P : 試料採取時の気圧(mmHg)

6.1.4 試薬・器具など

アセトニトリル : (和光純薬) 高速液クロ用
 ビスフェノール A d16 : C I L ジャパン
 捕集管 : SEP-PAK+ PS-2 (Waters社製)
 フィルター : カラムガード LCR4(Millipore社製)

6.1.5 解説

6.1.5.1 分析法フローチャート



6.1.5.2 添加回収実験

標準物質を添加した捕集管と無添加の捕集管に同日同地点で環境大気を1000採取して分析し、その定量値の差から添加回収率を求めた結果を表6.1.5-1に示す。

表6.1.5-1 添加回収実験結果

添加量10～100ng、n=5

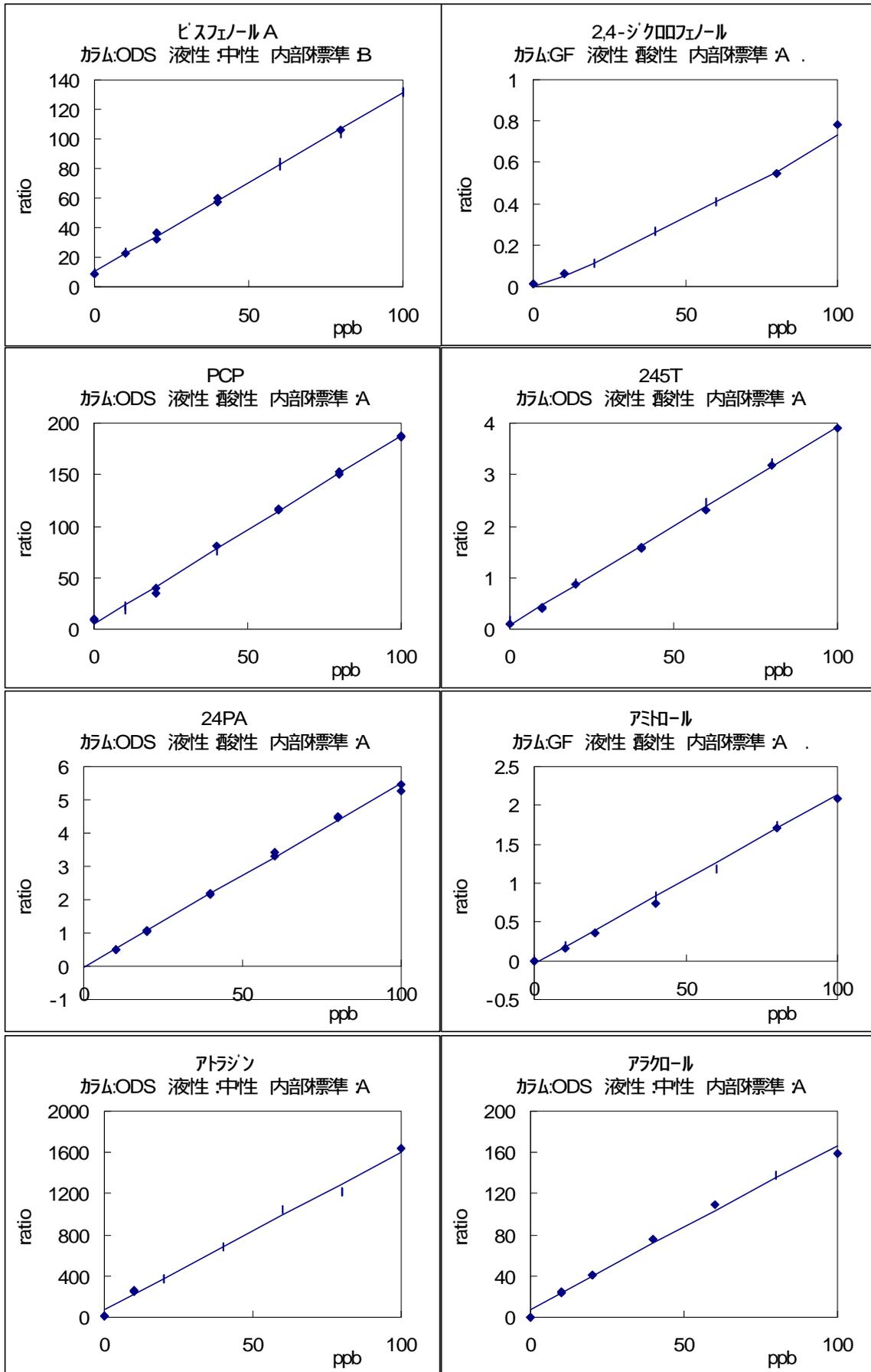
対象物質	カラム	溶離液	m.w.	m/z	添加量ng	回収率,%	c.v.,%
ビスフェノール A	ODS	中	228	227-	100	98.0	5
2,4-ジクロロフェノール	GF	酸	162	161-	100	92.4	7
ペンタクロロフェノール(PCP)	ODS	酸	266	265-	100	92.1	6
2,4,5-T	ODS	酸	254	253-	100	107	8
2,4-PA	ODS	酸	220	219-	100	88.3	7
アミトロール	GF	酸	84	83-	100	62.8	18
アトラジン	ODS	中	215	216+	100	90.9	4
アラクロール	ODS	中	237	238+	100	99.7	6
4-オクチルフェノール	ODS	中	206	205-	100	62.0	14
ノニルフェノール	ODS	中	220	219-	100	68.7	11
ケボン	ODS	中	490	507-	100	107	7
メトリブジン	ODS	中	214	215+	10	86.4	11
M C P P	ODS	酸	214	213-	100	93.8	6
ペンシクロン	ODS	酸	328	329+	100	99.0	14
メプロニル	ODS	酸	269	268-	100	87.9	7
アシュラム	GF	酸	230	229-	100	79.2	16

6.1.5.3 検量線

各物質の検量線を図6.1.5-1に示す。図中の内標準はA：アトラジン¹³C₃、B：ビスフェノールA d₁₆を示す。

6.1.5.4 クロマトグラム

標準試料及び環境試料のクロマトグラムの例を図6.1.5-2～6.1.5-4に示す。



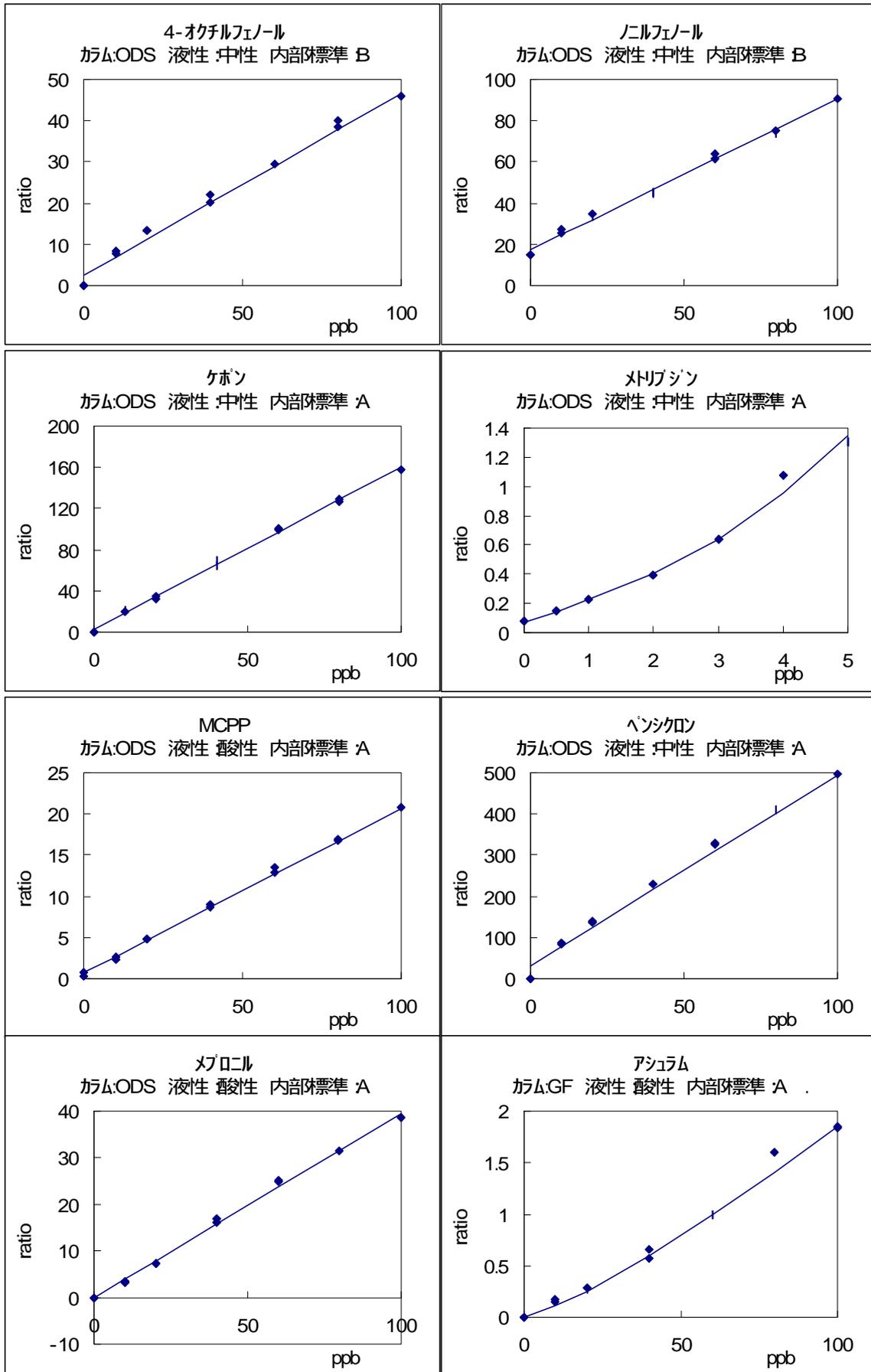


図 6.1.5-101 検量線

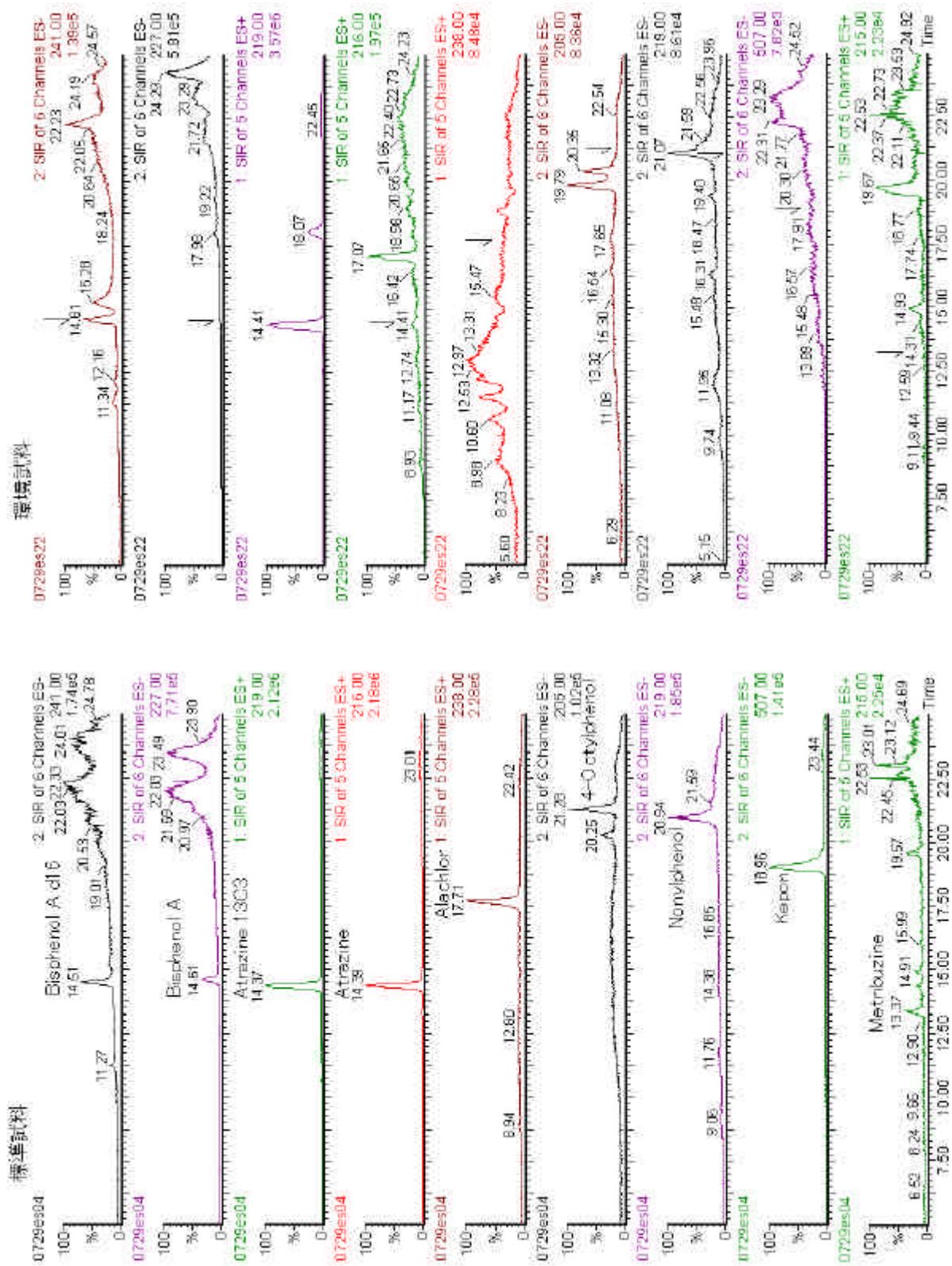


図5.15-2 標準試料及び環境試料のクロマトグラムの例(ODS, 中性)

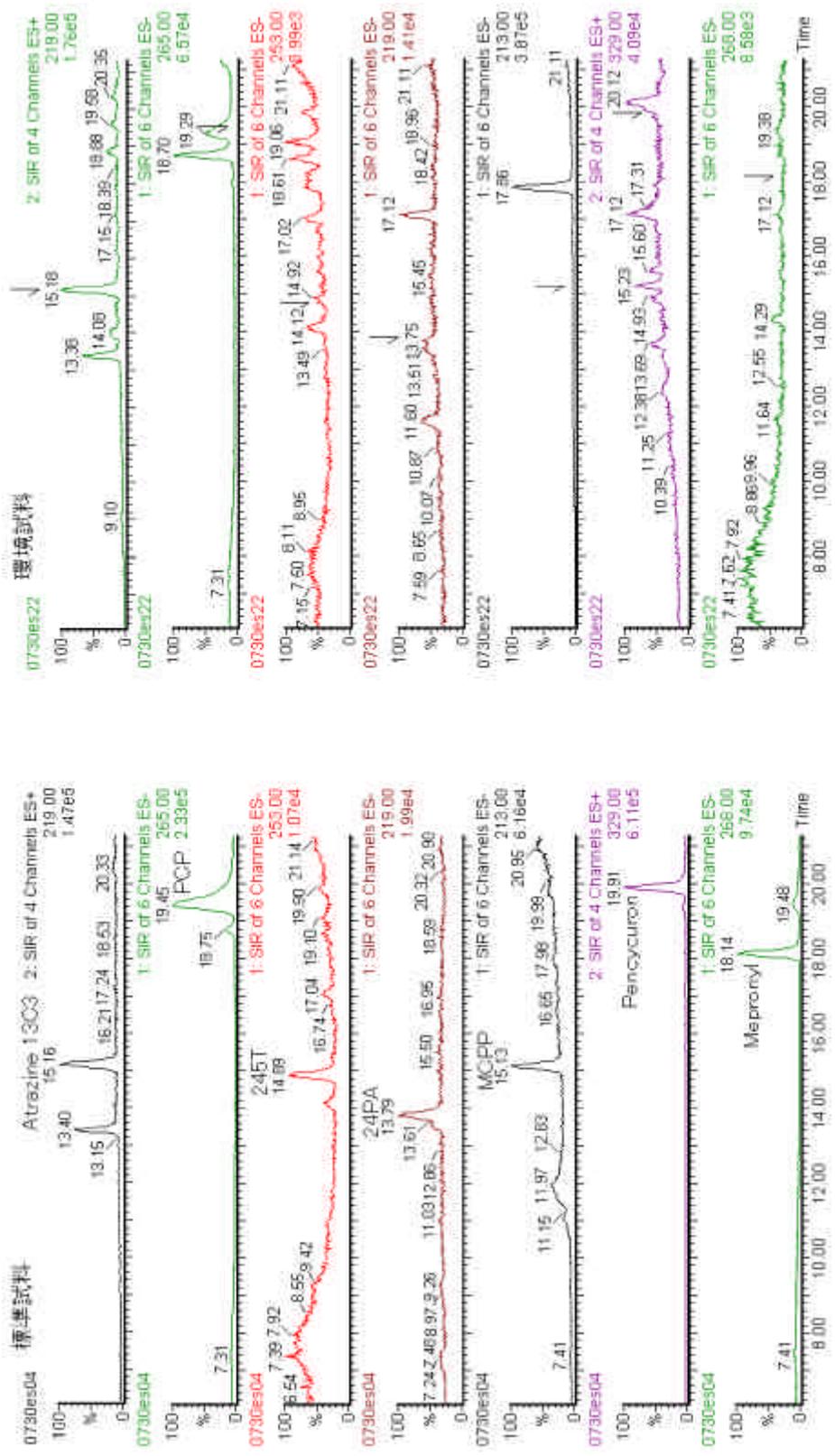


図6.1.5-3 標準試料及び環境試料のクロマトグラムの例(ODS、酸性)

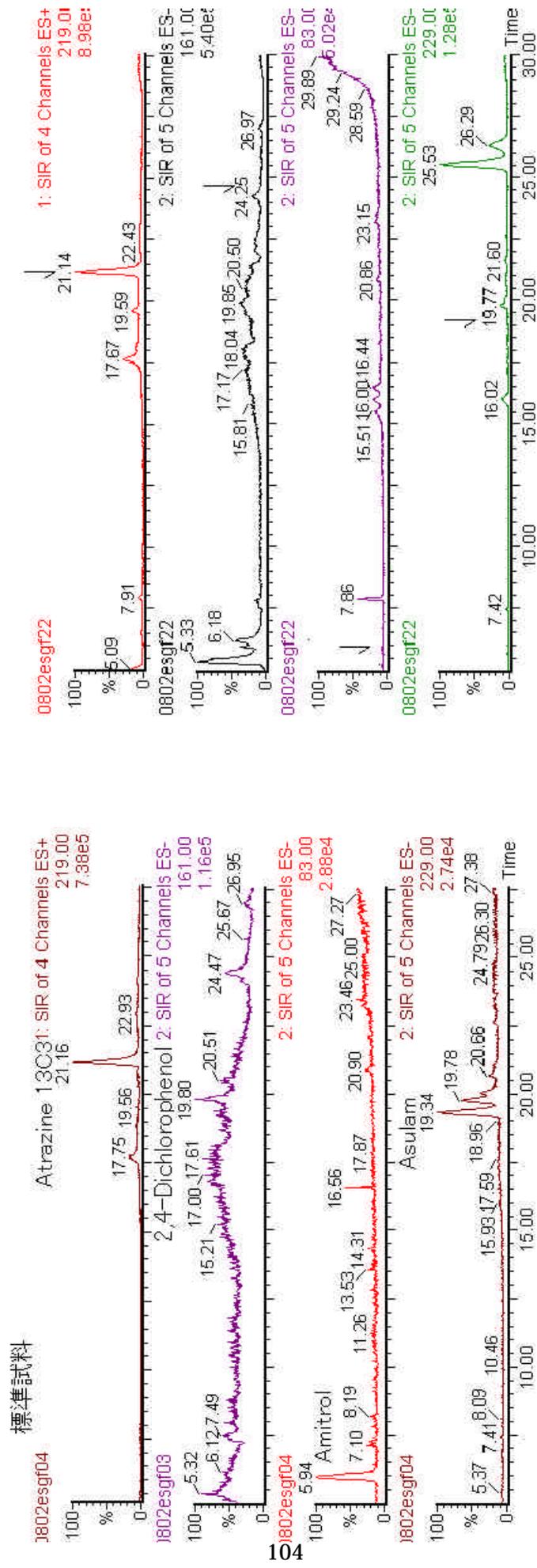


図6.1.5-4 標準試料及び環境試料のクロマトグラム(GF、中性)

6.1.6 参考文献

分析化学 Vol.48, No.6が環境ホルモン分析の特集を組んでいる。大気試料を対象としたのは多環芳香族炭化水素をGC/MSで測定したもので、LC/MSはないが、水系試料については多数のLC/MS分析例が報告されており、参考にすることができる。

今後の課題：回収率が低かったり変動が大きい物質について捕集法などを検討する必要がある。