

ホルムアルデヒド及び前駆物質の分析方法

ホルムアルデヒドの簡易分析法

国立医薬品食品衛生研究所生活衛生化学部
小林憲弘、久保田領志、五十嵐良明

今般の事故のようなホルムアルデヒドによる水質汚染事故に関しては、早急な状況把握と対応が求められ、方策を検討するためにも、生成したホルムアルデヒドの告示法によるガスクロマトグラフ質量分析計 (GC/MS) を使った長時間の前処理を要する正確な定量よりはむしろ迅速な測定法が求められる。

そこで、ホルムアルデヒドの簡易分析法として、一部の水道事業体で現在実際に行われている方法に関する情報を収集し、その中で有用と考えられた5つの方法について、実証試験を行った。今回の試験では、水道水にホルムアルデヒドを添加し、各方法による分析結果の真度 (回収率)、併行精度 (RSD%)、および定量下限値を、告示法 (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) 別表第 19) の分析結果と比較した。

1. 検討対象とした分析法

選択した5つの簡易分析法および告示法の概要を表1に示す。

表 1. ホルムアルデヒドの簡易分析法と告示法の概要

分析法	反応試薬	出典, 他
1 パックテスト*	MBTH	WAK-FOR [株式会社 共立理化学研究所]
2 MBTH 吸光光度法	MBTH	DR/2400 [HACH COMPANY]
3 アセチルアセトン吸光光度法 4-アミノ-3-ヒドラジノ-5-	アセチルアセトン	衛生試験法注解 参照
4 メルカプト-1, 2, 4-トリアゾール (AHMT) 吸光光度法	AHMT	衛生試験法注解 参照
5 告示法短縮法 (反応時間短縮)	PFBOA	平成 15 年厚生労働省告示第 261 号別表第 19 参照
6 告示法	PFBOA	平成 15 年厚生労働省告示第 261 号別表第 19 参照

*比色法に加え吸光度を測定する

2. 分析手順及びフローチャート

いずれの試験についても、東京都多摩市の水道水を検水とし、チオ硫酸ナトリウム溶液を添加して残留塩素を還元した後、ホルムアルデヒドを0（空試験）、0.04、および0.08 mg/Lの3濃度となるように添加し、各濃度につき5回の繰り返し分析を行った。なお、定量に用いた検量線は、0（ブランク）、0.02、0.04、0.06、0.08、および0.10 mg/Lの5濃度で作成した。

以下では各方法の分析手順とフローチャートを記載する。

1) パックテスト (WAK-FOR)

検水 1.5 mL に WAK-FOR（株式会社 共立理化学研究所）小パック 1 包を添加し、5～6 回振とうして反応させ、3 分間静置する。これをポリチューブに全量を吸い込み 5～6 回振とうして発色させ、1 分間静置する。これを、分光光度計を用いて吸光度を測定し、別途作成した検量線によってホルムアルデヒド濃度を定量する。

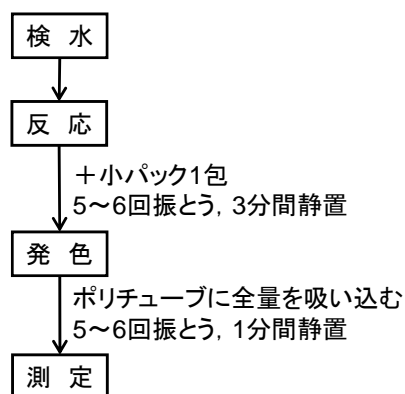


図 1. パックテスト (WAK-FOR) のフローチャート

2) MBTH 吸光光度法

検水 25 mL に MBTH 試薬 1 包 を添加し、20 秒間振とう後、5 分間静置する。これに低濃度ホルムアルデヒド用発色試薬 2.5 mL を添加し、10 分間静置して発色させる。これを、分光光度計（例えば DR/2400, HACH COMPANY USA.）を用いて吸光度を測定し、別途作成した検量線によってホルムアルデヒド濃度を定量する。

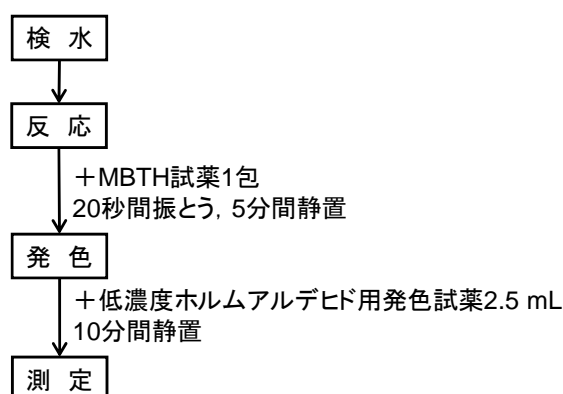


図 2. MBTH 吸光光度法のフローチャート

3) アセチルアセトン法

検水 10 mL にアセチルアセトン溶液 5.0 mL を添加し、60°C 中で 30 分間加温して反応させた後、30 分間放冷する。これを、分光光度計を用いて吸光度を測定し、別途作成した検量線によってホルムアルデヒド濃度を定量する。

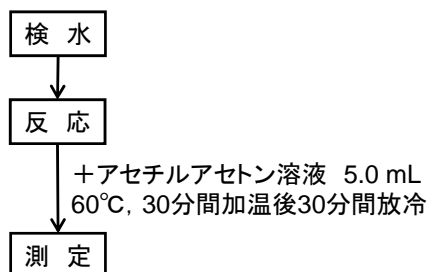


図 3. アセチルアセトン法のフローチャート

4) AHMT 吸光光度法

検水 2.0 mL に 5 mol/L KOH 溶液 2.0 mL および AHMT 溶液 2.0 mL を添加し、20 分間放置して反応させた後、 KIO_4 溶液 2.0 mL を添加する。これを、分光光度計を用いて吸光度を測定し、別途作成した検量線によってホルムアルデヒド濃度を定量する。

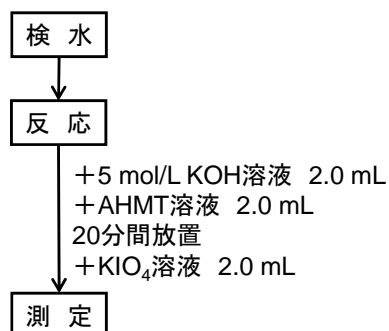


図 4. AHMT 吸光光度法のフローチャート

5) 告示法短縮法(反応時間短縮)

検水 50mL にペンタフルオロベンジルヒドロキシルアミン (PFBOA) 溶液 3mL を加え、60°C 保温、30 分間静置後、硫酸 (1+1) 0.8mL および塩化ナトリウム 20 g を加えて混合する。次に、内部標準添加ヘキサン 5mL を加えて 5 分間激しく振り混ぜ、数分間静置後、ヘキサン層を分取し、無水硫酸ナトリウムを少量加える。この溶液の一定量をガスクロマトグラフ—質量分析計 (GC/MS) に注入し、別途作成した検量線にホルムアルデヒド濃度を定量する。GC/MS 分析条件の一例を以下に示す。

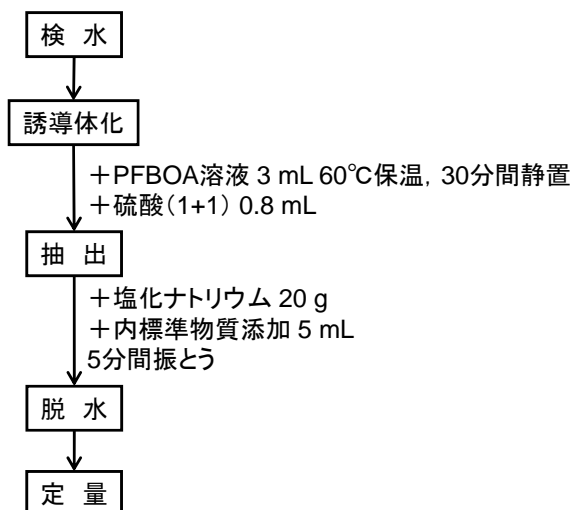


図 5. 告示法短縮法(反応時間短縮)のフローチャート

* GC/MS 分析条件

機種：6890N/5973inert[Agilent Technologies, Inc.]
カラム：DB-1 [Agilent Technologies, Inc.] ϕ 0.25 mm×60 m, 膜厚 1.00 μ m
導入系：パルスドスプリットレス
温度：注入口 250 °C
カラム 80°C(2 min 保持)→5 °C/min→110 °C(0 min 保持)→20 °C/min→250 °C(3 min 保持)
キャリアーガス：ヘリウム 2 mL/min
インターフェイス温度：280°C
イオン源温度：230°C
イオン化エネルギー：70 eV
イオン化法：EI
注入量：1 μ L
設定質量数：ホルムアルデヒド m/z 181, 195(確認イオン)
1-クロロデカン (内標準物質) m/z 91, 105(確認イオン)
* 内部標準物質

6) 告示法

検水 50mL にペンタフルオロベンジルヒドロキシルアミン (PFBOA) 溶液 3mL を加え、2 時間静置後、硫酸 (1+1) 0.8mL および塩化ナトリウム 20 g を加えて混合する。次に、内部標準添加ヘキサン 5mL を加えて 5 分間激しく振り混ぜ、数分間静置後、ヘキサン層を分取し、無水硫酸ナトリウムを少量加える。この溶液の一定量をガスクロマトグラフー質量分析計 (GC/MS) に注入し、別途作成した検量線にホルムアルデヒド濃度を定量する。

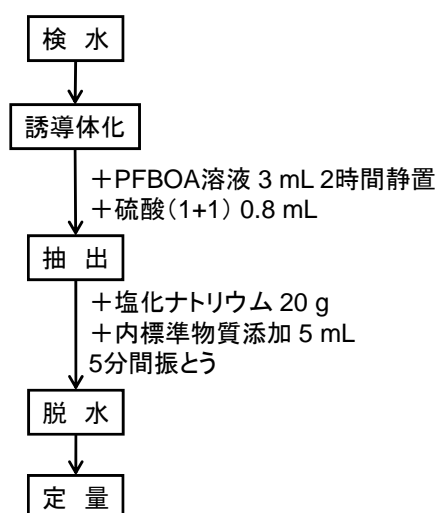


図 6. 告示法のフローチャート

3. 検討状況

表 2. 分析に要する時間等

分析法	反応試薬	分析時間	検出機器	分析場所
1 パックテスト	MBTH	数分	比色, 分光光度計	現場
2 MBTH 吸光光度法	MBTH	数十分	分光光度計	現場
3 アセチルアセトン吸光光度法	アセチルアセトン	数十分	分光光度計	現場
4 4-アミノ-3-ヒドラジノ-5-メルカプト-1,2,4-トリアゾール (AHMT) 吸光光度法	AHMT	数十分	分光光度計	現場
5 告示法短縮法(反応時間短縮)	PFBOA	数時間	GC/MS	実験室
6 告示法	PFBOA	半日	GC/MS	実験室

現在、各方法で分析が終了し、結果の解析を行っている。上記の5つの簡易分析法による分析結果を評価し、簡易分析法として有用な手法を選定する。この後、水道原水を用いた実証試験を行う予定である。

更に、水道原水を用いた実証試験においては、水道原水にホルムアルデヒド前駆物質（例えばヘキサメチレンテトラミン）を各濃度で添加し、次亜塩素酸ナトリウムを添加して塩素処理を行ってホルムアルデヒドを生成させ、水道水を用いた添加回収試験と同様のプロトコルによって各試験結果を比較し、原水でのホルムアルデヒド生成能の監視に対する簡易分析法の有用性について評価を行う。

以上

ホルムアルデヒド及びアセトアルデヒドの前駆物質の一斉分析法の開発及び検討

国立医薬品食品衛生研究所生活衛生化学部

小林憲弘、久保田領志、五十嵐良明

水質汚染事故が発生した場合に速やかに対策をとるためには、その原因物質を特定することが重要である。平成 24 年 5 月に利根川水系で発生した水道水質汚染事故においては、原因物質がヘキサメチレンテトラミンであることを化学分析によって明らかにしたことにより、排出源が特定され、事態の収束に繋がった。

しかしながら、ヘキサメチレンテトラミン以外のアルデヒド類前駆物質による水質汚染事故も想定され、これらの前駆物質の分析法が事前に整備されていなければ、原因物質を速やかに特定することは極めて困難である。

そこで、塩素消毒によって水質基準のホルムアルデヒド、要検討項目のアセトアルデヒド等のアルデヒド類が生成し水質汚染が発生した場合に、その原因を特定するために利用可能な、アルデヒド前駆物質の一斉分析法の開発を現在行っている。

対象物質は、ヘキサメチレンテトラミンを含む、水道における規制対象外物質（PRTR 法第一種指定化学物質 462 物質のうち、ホルムアルデヒド前駆物質であるアミン類およびその関連物質）とした。これらのうちアルデヒド類を生成する可能性のあるもの、すなわち N-アルキル基（メチル基、エチル基、n-プロピル基、n-ブチル基）を有する 42 物質について、環境、食品等の公定法、学術論文・学会要旨、研究所紀要等、分析法データベース（環境省の EnvMethod 等）、機器メーカーのアプリケーションノート等を参照し、分析法に関する情報を調査・収集し、データベースを作成した。

次に、これらの物質の中で、過去に国立医薬品食品衛生研究所において開発した、液体クロマトグラフ-タンデム型質量分析計（LC/MS/MS）を用いたヘキサメチレンテトラミンの分析方法*と類似の方法で測定できる可能性のあるものを選択し、これらの分析条件について検討した。

*ヘキサメチレンテトラミンの LC/MS/MS 分析条件

LC	機種：Shimadzu Prominence UFLC（島津製作所）
	カラム：Shim-pack FC-ODS、長さ 75 mm × 内径 2.0 mm、粒子径 3 μm（島津製作所）
	移動相 A：5 mM 酢酸アンモニウム水溶液
	移動相 B：5 mM 酢酸アンモニウムメタノール溶液
	グラジエント条件：B5%（0 min） - B40%（4 min） - B75%（39 min） - B100%（44-50 min） - B5%（50.1-60 min）
	流速：0.15 mL/min
	カラム温度：40°C
	サンプルクーラー温度：5°C
	注入量：100 μL
MS	機種：Shimadzu LCMS-8030（島津製作所）
	イオン化法：ESI Positive/Negative
	プローブ電圧：+4.5 kV（ESI+）/ -3.5 kV（ESI-）
	ネブライザーガス流量：1.5 L/min
	ドラインガス流量：10 L/min
	脱溶媒部（DL）温度：250°C
	ヒートブロック温度：400°C

最初に、各物質の個別標準溶液を用いて、スキャンモードにより各物質のESI ポジティブ(+)およびネガティブ(-)モードのマススペクトルを測定し、最も強度の強いイオンをMRMモードでの測定におけるプリカーサイオンとして選択した。次に、プロダクトイオンのスキャンを行い、各電圧(Q1 Pre Bias, CE, およびQ3 Pre Bias)の最適化を行った後で、最も強度の強いイオンを定量イオンとして、2番目に強度の強いイオンを定性イオンとして選択した

検討を行った物質のうち、ホルムアルデヒド又はアセトアルデヒドを生成しやすいと考えられる物質（農薬成分を除く）について分析条件の最適化を行った結果を以下の表に示す。

なお、ホルムアルデヒド又はアセトアルデヒドの生成しやすさの評価は、国立保健医療科学院の研究によるものである。

表 2. ホルムアルデヒド等の前駆物質の基本的情報と各物質の分析条件

基本的情報				分析条件			
類型	物質名	CAS No	分子式	分子量	イオン 化法	モニターイオン (m/z)	検出 感度
A-1	ヘキサメチレンテトラミン	100-97-0	C ₆ H ₁₂ N ₄	140.11	ESI+	141.1>42.2 141.1>112.1	++
A-1	1,1-ジメチルヒドラジン	57-14-7	C ₂ H ₈ N ₂	60.10	ESI+	61.1>44.1 61.1>45.1	+
A-1	N,N-ジメチルアニリン	121-69-7	C ₈ H ₁₁ N	121.18	ESI+	122.3>107.1 122.3>106.1	++
A-1	N,N-ジメチルドデシルアミン	112-18-5	C ₁₄ H ₃₁ N	213.40	ESI+	214.4>46.1 214.4>57.1	+
A-2	N,N-ジメチルドデシルアミン=N-オキシド	1643-20-5	C ₁₄ H ₃₁ NO	229.40	ESI+	230.4>58.1 230.4>62.1	+++
A-2	ヘキサデシルトリメチルアンモニウム=クロリド	112-02-7	C ₁₉ H ₄₂ ClN	320.00	ESI+	284.3>60.1 284.3>57.1	++
B	トリエチルアミン	121-44-8	C ₆ H ₁₅ N	101.19	ESI+	102.3>58.1 102.3>74.1	+
B	2-(ジエチルアミノ)エタノール	100-37-8	C ₆ H ₁₅ NO	117.19	ESI+	118.3>44.1 118.3>100.1	++

(注) 類型 A-1:ホルムアルデヒド前駆物質 (生成多), A-2:ホルムアルデヒド前駆物質 (生成少), B:アセトアルデヒド前駆物質

今後は、一斉分析が可能であるかどうか、分析条件の最適化を行うとともに、分析法の妥当性（真度と併行精度）について評価を行う。開発している一斉分析法は、アルデヒド類による水質汚染が発生した場合に、その原因物質（前駆物質）の速やかな特定に利用できると考えられる。

以上