

GCMSによる水中の微量有機化合物の定量における 内標準添加の必要性

中西 成子, 日野 隆信

Necessity of Addition of Internal Standard for Determination of Organic Compounds in Water by GCMS

Shigeko NAKANISHI and Takanobu HINO

I はじめに

水道水の水質基準に続き、環境基準および排水基準が改正され、いずれも検査方法として機器による多成分一斉分析方法が採用された。このため日常検査業務でガスクロマトグラフ・質量分析計(GCMS)が広く使用されるようになった。著者らは、GCMS法による水中の農薬および揮発性有機化合物(VOC)の測定に当たり、GCMSの応答値の安定性に問題があることに気が付いた。検討の結果、MSの応答値に経時変化があることが確認されたので、さらに内標準添加によるMS応答値の変動の補正を試みた。いくつかの興味ある知見が得られたので報告する。

II 実験方法

1. 試薬および標準液

アセトン、ジクロロメタン、ヘキサン：関東化学製残留農薬試験用

メタノール：和光純薬製トリハロメタン測定用

水：ヤマト科学製WAU-12型純水製造装置(活性炭→イオン交換→石英ガラス二段蒸留)で得られた水。VOC測定用は使用時沸騰煮沸処理をする¹⁾。

固相抽出用及び脱水用ミニカラム：ウォーターズ社製Sep-Pak Plus PS-2およびSep-Pak Dry。

農薬標準原液：和光純薬、林純薬、ジーエルサイエンス社製農薬標準品を用い、シマジンのみ100mg/l、他の農薬は500mg/lアセトン溶液を調製。

ヘキサクロロベンゼン(HCB)標準原液：和光純薬製農薬標準品を用い、HCBの1000mg/lヘキサン溶液を調製。

VOC標準原液：東京化成、関東化学、アルドリッチ社製の試薬を用い、VOCの1000mg/lメタノール溶液を調製。ただし、1,1-ジクロロエチレンは関東化学製のアンブル入り1000mg/lメタノール標準液を使用。

農薬測定用内標準原液：スベルコ社製アセナフテン-d₁₀、フェナントレン-d₁₀、p-ターフェニル-d₁₄、クリセン-d₁₂のアンブル入り標準液(2000mg/lのジクロロメタン又は500mg/lのアセトン溶液)を使用。

VOC測定用内標準原液：東京化成製フルオロベンゼンを用い、1000mg/lのメタノール溶液を調製。

2. 装置

加圧式固相抽出装置：ウォーターズ社製Sep-Pak コンセントレーター

P&T装置：電気化学計器製オートサンプラー付きGAS-20型

GCMS：A社製オートサンプラー付きイオントラップ型(農薬測定に使用)、B社製四重極型(VOC測定に使用)

3. GCMSの測定条件

(1) 農薬測定

カラム：J&W社製DB-5 ms (0.25mm×30m, 膜厚0.25μm)

キャリアーガス：He, 1ml/min

カラム温度：50°C (2min)→25°C/min→150°C→4°C/min
→230°C→5°C/min→280°C

注入口：スプリットレス注入口

測定モード：フルスキャン測定 (m/z=50~350)

(2) VOC測定

カラム：スベルコ社製VOCOL (0.32mm×60m, 膜厚3.0μm)

キャリアーガス：He, 1ml/min

カラム温度：35°C (4min)→6°C/min→160°C (8min)

測定モード：選択イオン測定(SIM)

4. 試験操作

4.1 農薬の測定

水に、水道水の基準項目と監視項目にある13種の農薬の標準液を添加したものを試料水とする。試料水200mlを水道水の水質基準に関する省令に基づく検査方法である固相抽出法¹⁾に従って濃縮・溶離し、この濃縮液に内標準液を加え、ジクロロメタンで2mlにメスアップしたものを試験溶液とする。試験溶液1μlをGCに注入する。

4.2 VOCの測定

容量10mlのバイアルに水5mlを採り、水道水の基準項目と監視項目にある23種のVOCの標準および内標準液を添加後、テフロンシートを融着したシリコンセプタムとアルミニウムキャップで密栓する。これを試料保持温度を20°CとしたP&T装置に入れ、ヘリウムを流量20ml/minで10分間通気し、目的成分をトラップ管に吸着させる。次にトラップ管を260°Cまで急速加熱し、吸着成分をキャピラリーカラムに導入する。

MSの応答値は、いずれの場合も得られたマスプロットグラムのピーク面積値とする。

III 結果と考察

1. 農薬測定におけるMSの応答値の経時変化

1.1 MS応答値の変動

固相抽出法による水中の農薬の添加回収実験を行ったところ絶対検量線法では良好な回収率が得られないことがあった。原因としては固相抽出での回収率が変動しているのではなく、GCMSによる定量に問題がありそうなので、MSの応答値の変動を調べ

た。水道水中の農薬の検査業務の間に挟んで、13種の農薬の混合標準液(0.5mg/lジクロロメタン溶液)1μlをGCMSに注入して測定を行い、その結果を1回目の応答値に対する比で表1に示した。測定のインターバル時間は46分30秒、全測定に要した時間は13時間11分であった。1回目の応答値に対する17回目の応答値の比はDDVPの0.71からCNPの0.53まで、いずれの農薬も測定が後になるほど減少し、その変動係数は11.8~25.0%(n=7)と大きかった。

表1 農薬測定の経時変化

(内標準による補正なし, n=7)

農薬名 測定No.	DDVP	BPMC	CAT	Propy- zamide	Diazi- none	TPN	IBP	MEP	Thioben- carb	Isopro- thiolane	Isoxa- thion	CNP	EPN
1	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
7	0.83	0.84	0.84	0.78	0.76	0.76	0.78	0.66	0.81	1.02	0.71	0.63	0.70
8	0.84	0.79	0.78	0.75	0.76	0.74	0.95	0.67	0.78	0.84	0.71	0.65	0.70
9	0.83	0.76	0.73	0.72	0.76	0.72	0.70	0.66	0.75	0.72	0.69	0.64	0.72
15	0.76	0.69	0.72	0.63	0.60	0.60	0.77	0.53	0.68	0.71	0.57	0.55	0.57
16	0.72	0.65	0.67	0.60	0.59	0.59	0.61	0.55	0.64	0.64	0.57	0.55	0.57
17	0.71	0.62	0.67	0.58	0.60	0.59	0.67	0.53	0.63	0.66	0.54	0.53	0.56
C.V.(%)	11.8	17.2	15.0	19.9	20.3	20.4	18.3	23.2	17.1	19.8	23.0	25.0	22.5

1.2 HCBのMS応答値の経時変化

MSの応答値が変動する要因としては、長時間測定における農薬標準液の安定性、GC注入側での農薬の吸着あるいは分解の影響、カラムの汚染、混入水分の影響等数多く考えられるので、GCMSの日常点検で応答値および質量スペクトルのチェックに使用する安定性に優れたHCBを用い、13種の農薬と同じ測定条件で経時変化を調べた。

10, 1, 0.03mg/l濃度のHCBのヘキサン溶液を調製し、各々オートチューンでMSの条件を設定後、45回繰り返し連続測定を行った。図1にHCBの質量スペクトルを、図2に0.03mg/l濃度でのMSの応答値の経時変化を各測定質量数毎(m/z=284, 142, 249)に示した。測定の始めに急激な応答値の減少が観測され、測定回数が増えるに従って減少カーブはなだらかになった。各測定質量数の減少カーブを応答値の比で比較すると良く一致したので、測定フラグメントの相対感度に大きな変化はなかったと言える。また、他の濃度での経時変化も同様な結果であり、感度の減少勾配に明確な濃度依存性は認められなかった。

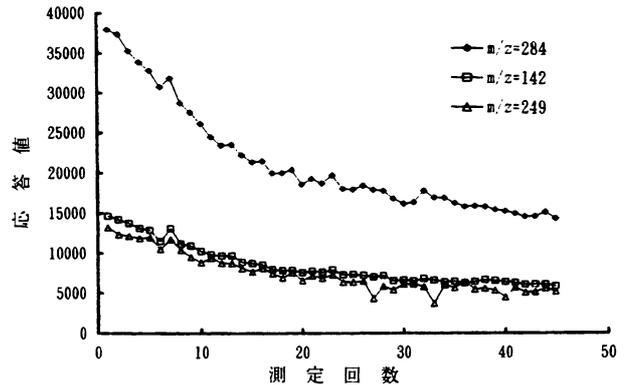


図2 HCB測定の経時変化(0.03mgHCB/l)

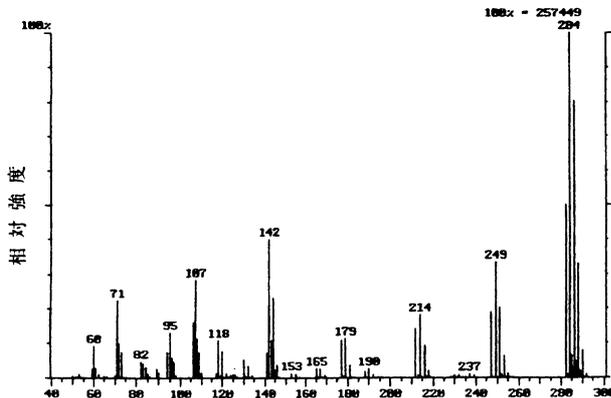


図1 ヘキサクロロベンゼンの質量スペクトル

1.3 HCBと内標準物質のMS応答値の経時変化

内標準添加によりMS応答値の経時変化を補正できるか検討するために、HCBと内標準物質を同時測定した。内標準としては農薬測定への適用が報告²⁾されている多環芳香族のd体からアセナフテン-d₁₀、フェナントレン-d₁₀を選び、HCBと各々1mg/l濃度となるヘキサン溶液を調製した。この溶液を、オートチューンでMSの条件を設定後連続測定した結果を、1回目の応答値に対する比で図3に示したが、HCB(m/z=284)と内標準であるアセナフテン-d₁₀(m/z=162)およびフェナントレン-d₁₀(m/z=188)との応答特性は良く一致した。

次に、目的物質の濃度と内標準の濃度が大きく異なる場合の経時変化を検討した。目的物質の測定濃度範囲は広く、一方内標準添加は一定濃度であるので、目的物質と内標準の応答値の経時変化に大きな濃度依存性があると補正ができなくなる。HCBが10mg/l、内標準が0.1mg/lのヘキサン溶液を調製し、同様に連続測定した結果を図4に示した。濃度が2桁異なるにも係らずHCBと内標準との応答特性は非常に良く一致し、応答値の経時

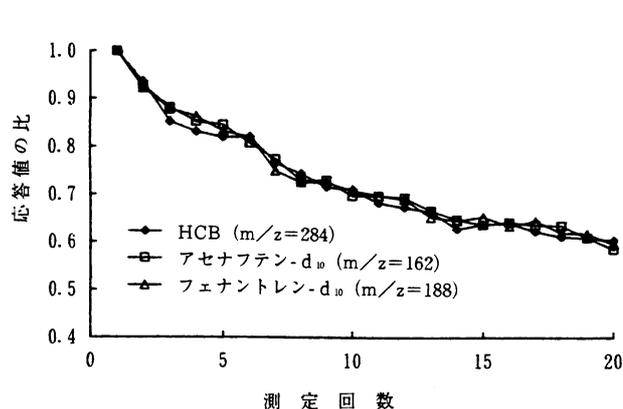


図3 HCBと内標準測定の時経変化 (各1.0mg/l)

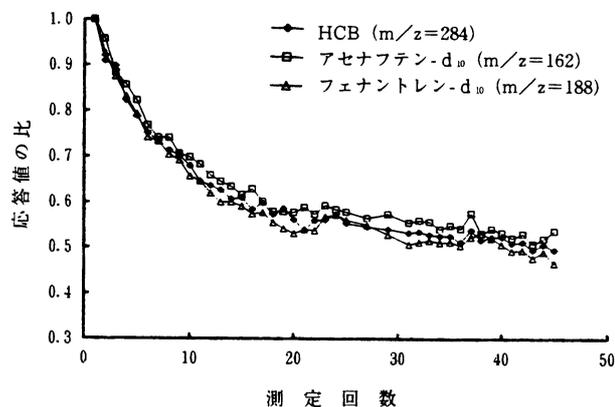


図4 HCBと内標準測定の時経変化 (HCB: 10mg/l, 内標準: 0.1mg/l)

変化の比は濃度に関係しないことが明らかになった。適当な濃度の内標準を用いることで、MSの応答値の変動を補正できる。

1.4 添加回収実験

水道水の基準にある13種の農薬の添加回収実験を行い、絶対検量線法と内標準法により濃度を算出した。実験は、各農薬が5 μg/l濃度となるように添加した試料水200mlを、II. 4の4.1の操作に従って試験溶液を調製後、標準液系列を5回測定し、続いて6回試料溶液を測定した。なお、内標準物質としては、アセ

ナフテン-d₁₀、フェナントレン-d₁₀、p-ターフェニル-d₁₄およびクリセン-d₁₂を用い、その添加濃度は試験溶液で0.1mg/lとした。絶対検量線法による測定では、各農薬の回収率は70.6~97.8%、変動係数は4.13~9.06%であった。一方内標準法による測定の結果を表2に示したが、回収率は88.3~101.3%、変動係数は1.78~3.82%となり、絶対検量線法による場合と比べて応答値の時経変化が補正され良好な結果が得られた。

表2 内標準法による農薬の添加回収実験結果

(添加濃度 = 5 μg/l, n = 6)

農薬名	DDVP	BPMC	CAT	Propy-zamide	Diazi-none	TPN	IBP	MEP	Thioben-carb	Isopro-thiolane	Isoxa-thion	CNP	EPN
内標準*	1	1	2	2	2	2	2	3	3	3	3	4	4
1	5.15	5.09	4.84	4.53	4.43	4.44	5.05	4.46	4.51	4.79	4.46	4.45	4.64
2	4.83	5.14	4.95	4.58	4.39	4.27	5.11	4.71	4.67	4.92	4.39	4.48	4.74
3	4.63	4.95	4.93	4.66	4.44	4.49	5.07	4.60	4.41	4.77	4.37	4.53	4.79
4	4.84	4.88	4.61	4.39	4.19	4.66	4.95	4.50	4.37	4.62	4.48	4.26	4.55
5	4.85	5.05	4.96	4.57	4.55	4.31	5.21	4.74	4.56	5.03	4.70	4.57	4.86
6	4.90	4.97	4.88	4.40	4.48	4.72	5.00	4.53	4.36	4.59	4.61	4.34	4.61
平均値	4.87	5.01	4.86	4.52	4.41	4.48	5.07	4.59	4.48	4.79	4.50	4.44	4.70
C.V.(%)	3.44	1.93	2.70	2.36	2.77	3.82	1.78	2.50	2.73	3.54	2.86	2.65	2.51

* 内標準 1: アセナフテン-d₁₀, 2: フェナントレン-d₁₀, 3: p-ターフェニル-d₁₄, 4: クリセン-d₁₂

2. VOC測定におけるMSの応答値の時経変化

VOC測定時のMSの応答値の変動は、水道水中のトリハロメタン類 (THM) の測定のクロスチェックで低値を示した検査機関の検査方法の見直しで明らかになった³⁾。該当機関はP & T法でC社製四重極型GCMS装置を用い、始めに標準液系列を測定しその後試料水を測定して絶対検量線法で定量を行っていた。原因を調べるためTHMの標準を検査途中に挟んで測定したところ25時間後で15%程度MSの応答値が低下していることが判明した。さらに内標準法で測定値を算出した別機関のB社製四重極型GCMS装置を用い、P & T法で同様な測定を行ったところ、こちらも18時間後に約22%程度MSの応答値が低下した。

B社製四重極型GCMS装置を用いP & T法による10 μg/l濃度でのVOCの60回の繰り返し連続測定を行った。オートチューンでMSの条件を設定後、測定のインターバル時間を1.5時間として測定した結果を図5に示した。ジクロロメタン (m/z=84)、p-ジクロロベンゼン (m/z=146) および内標準であるフルオ

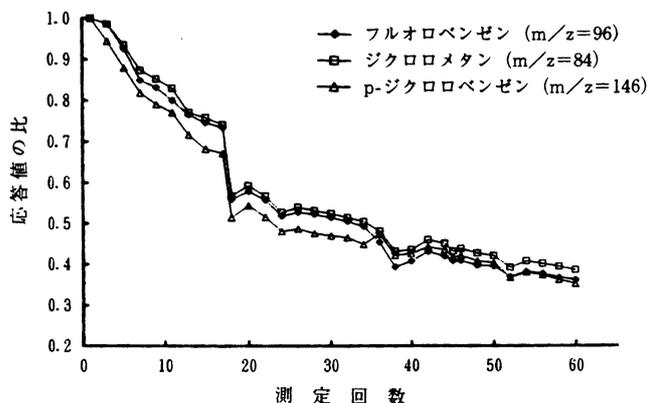


図5 VOCと内標準測定の時経変化 (各10 μg/l)

ロベンゼン ($m/z=96$) いずれも測定始めに応答値の大幅な減少が観測され、測定回数が増えるに従ってカーブはなだらかになった。他の測定対象化合物も同様な傾向を示した。VOC測定時の水分の残留によりMSの真空度が悪くなり応答値が減少するのではと考え、測定のインターバル時間を3時間として測定を行ったが、インターバル時間1.5時間と同様な結果であった。

IV まとめ

GCMSによる水中の農薬およびVOCの測定では、オートチューン直後は相対感度は最も高いが経時変化が大きく安定性に欠け、測定を繰り返すうちに相対感度は下がってくるが安定性は増してくるという結果が得られた。これまでに実施された外部精度管理でこのような現象が出てこなかったのは、精度管理のための試料は検量線用標準液の直後、または標準液の間に挟んで測定していたためであろう。一般に水素炎イオン検出器や電子捕獲型検出器といった他のGCの検出器では大きな経時変化は見られないので、相対感度の変動はGCによるものではなくMSで生じていると考えられる。原因としては、MS内の真空度の悪化、イオン源等ア

ナライザー部の汚染、エレクトロンマルチプライアーのイオン衝撃面の劣化等が考えられる。メーカーの早急な改善を期待したい。

MSを使用する水道水の検査法¹⁾の中でVOCの測定だけが内標準法を用いている。しかし実験に用いたすべてのMS(3メーカー、4台)は、測定時間の経過と共に相対感度が減少した。現時点におけるMSの安定性から考えると、快適水質項目および監視項目も含めて他の水道水の検査項目についても、内標準法を適用すべきであろう。なお、内標準法も内標準の選択、添加誤差や測定誤差等解決しなくてはならない問題がある。

文 献

- 1) 平成4年12月21日付、水質基準に関する省令、厚生省令第69号。
- 2) 奥村為男、今村清(1991): キャピラリー・GC/MSによる農薬の一斉分析について、水質汚濁研究, 14, 109-122.
- 3) 日野隆信、中西成子(1994): 各種分析法による水中の揮発性有機化合物のクロスチェックの結果、第31回全国衛生化学技術協議会年会講演集, 74-75.