

水道原水および処理水中の アクリルアミド分析

アプリケーション

環境

著者

Sophie Men, Johanne Beausse
Centre d'Analyses Environnementales
1, place de Turenne
F-94417 Saint Maurice cedex
France

Jean-Francois Garnier
Agilent Technologies France
1, rue Galvani
91745 Massy Cedex
France

要旨

Agilent の液体クロマトグラフィー/飛行時間型質量選択検出器 (LC/MSD TOF) とオンラインサンプル抽出を組み合わせ、飲料水中のアクリルアミドの高速・ハイスルーブット定量を実施できる液体クロマトグラフィー/質量分析 (LC/MS) 手法を開発しました。この手法の定量限界は 0.25 µg/L で、飲料水中に含まれるアクリルアミドの最大安全濃度を 0.5 µg/L とする世界保健機構ガイドラインの要件を満たしています。飛行時間型質量分析の利点である優れた感度に加えて、6.4 ppm という質量精度により、特異性の高さも証明されました。また、標準偏差は小数第 3 位以下であり優れた再現性も証明されています。

はじめに

アクリルアミドモノマー (図1参照) はポリアクリルアミドの合成要素で、水処理業界では凝集剤として使用され、特

に飲料水の浄水処理で水の清澄化に用いられます[1]。しかし、アクリルアミドモノマーは神経毒性や遺伝毒性を持つ発がん性物質であることが知られており、飲料水中のアクリルアミドモノマーは人体に悪影響を及ぼす可能性があります。

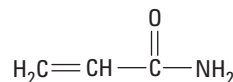


図1. アクリルアミドの構造

アクリルアミドの一般的な分析手法、ガスクロマトグラフィー/電子捕獲検出 (GC-ECD) と液体クロマトグラフィー/UV 吸光度検出 (LC-UV) には、それぞれ臭素化および固相抽出 (SPE) によるクリーンアップ操作が必要とされます。しかし、どちらの手法も、現時点で実現可能な検出限界 (LOD) と定量限界 (LOQ) は、世界保健機構 (WHO) のガイドラインで定められた 0.5 µg/L には程遠いものです[2]。現在使用されている手法では、求められている数値の 2 倍 (1 µg/L) を超える LOQ しか実現していません。

そのため環境分野では、飲料水中のアクリルアミドを低濃度で検出できる適切な手法が求められています。本アプリケーションノートでは、オンライン抽出と液体クロマトグラフィー/飛行時間型質量分析 (LC/TOF MS) を組み合わせた、高速かつハイスルーブットのアクリルアミド定量手法を紹介します。精密質量分析による正確な分子式決定と小数第 3 位以下の再現性 (%RSD) により、感度と特異選択性という点から Agilent LC/MSD TOF の利点が証明されています。



Agilent Technologies

本アプリケーションノートで紹介する手法は、C18 プレカラムによる目的成分のオンライン抽出と、その後の C18 クロマトグラフィー分離による同定および定量で構成されています。この手法の LOQ は 0.25 µg/L で、従来の手法よりも 4 倍も感度の高い LOQ が実現しています。さらに、プレカラム抽出と LC/MS の組み合わせにより、時間のかかる分析前の SPE および誘導体化処理を省くことができます。本手法のバリデーションと浄水処理施設 (DWTP) における分析結果も紹介します。

装置・器材と分析方法

試薬および標準物質

分析に使用する溶媒、HPLC 用純水、アセトニトリルは J. T. Baker 社 (Atlantic Labo、フランス、エジヌ) から入手しました。メタノールは Merk 社 (フランス、フォントネースポア) から、ギ酸 (95%-97%) は Sigma-Aldrich 社 (フランス、サンクウェンティン・ファラヴィエ) から入手しました。

アクリルアミドの純標準物質 (99.4%) は C. I. L. Cluzeau 社 (フランス、サントフォア・ラグランデ) から購入しました。

水の標準サンプルは、メタノールにアクリルアミドまたはアクリルアミド-d₃ を 100 mg/L 溶解した溶液を希釈して調整しました。

サンプル

分析実施までは、サンプルを 4°C で保管しました。水サンプルのろ過には、Whatman GD/X 0.45-µm フィルタを純水に、0.2-µm フィルタを純水と飲料水に使用しました。その後、アクリルアミド-d₃ 1 ng/mL を加えて定量しました。

オンライン抽出と LC/TOFMS の分析条件を表1 と表2 に示します。

表1. プレカラム抽出の最適化条件

装置	Agilent 1100 シリーズバイナリポンプ、オートサンプラ、6ポートスイッチングバルブ、カラムオープン
抽出カラム	ZORBAX SB-C18、4.6 mm × 12.5 mm × 5 µm
プレカラム温度	20 °C
注入量	400 µL
ロード流速	0.5 mL/min
ロード溶媒	100% HPLC 用純水
バックフラッシュ開始	0.6分 (分析カラム経由)
バックフラッシュ停止	3.2分 (廃液経由)

サンプルのロード後、バルブを分析カラムにスイッチし、アクリルアミドを表 2 に記載の条件で溶出しました。

表2. 最適化分析条件

HPLC 分離	Agilent 1100 バイナリポンプ 2 台、カラムオープン
カラム	ZORBAX SB-C18、2.1 mm × 150 mm × 5 µm
カラム温度	40 °C
分析流速	0.5 mL/min
溶出溶媒	A: 97% HPLC 用純水 (0.01% ギ酸) B: 3% CH ₃ CN (0.01% ギ酸)
バックフラッシュ	オフ
分析開始	0.6分
分析終了	3.2分
検出	Agilent MSD TOF
ソース	ESI
イオン極性	ポジティブ
乾燥ガス流速	12 mL/min
乾燥ガス温度	300 °C
ネプライザ圧	50 psi
フラグメンター電圧	150 V
オクタポールRF	100 V
質量範囲	50 から 1000 m/z
リファレンスイオン	121.05087 および 922.00979

このプロトコル（オンライン・プレカラム抽出法）は、実際のサンプルと HPLC 用純水に適用しました。サンプルフローの概略図を図 2 と図 3 に示します。

サンプル抽出

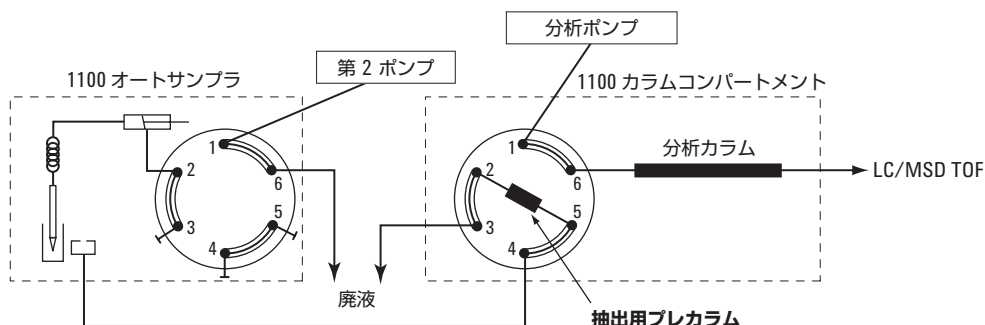


図2. プレカラムによるサンプル抽出

サンプルクロマトグラフィー

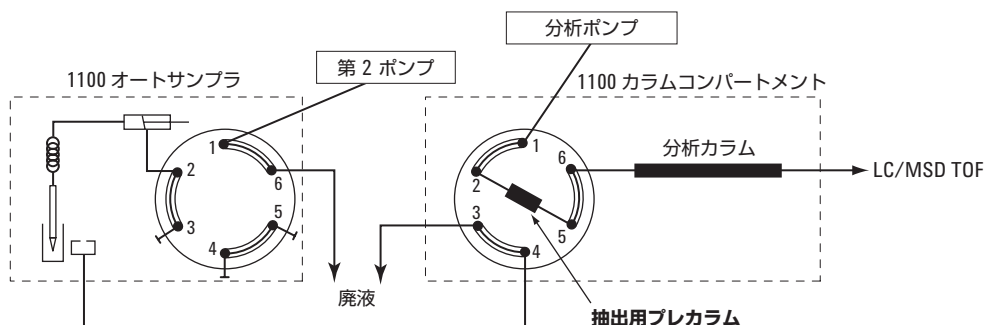


表3. アクリルアミドの同位体質量

結果と考察

クリーンな標準物質の特異選択性

表3 には、共溶出のリテンションタイム（RT）とアクリルアミド同位体質量の理論値および実験値の誤差を示しています。

表3. アクリルアミドの同位体質量

アクリルアミド	RT (分)	理論上のモノ同位体質量	定量イオン平均	質量精度 (amu)	質量誤差 (ppm)
天然型	1.93	72.0443	72.0454	0.0011	14
重水素化	1.93	75.0632	75.0647	0.0015	19.7

72.0454 という平均イオン質量から導き出せる分子式は、質量範囲を 20 ppm としても C_3H_5NO だけであることが注目されます。小さい分子の場合は可能性のある分子式の数はいくつかあるため、質量の大きい分子ほどの厳密な質量精度は必要ありません。7万7000種類の化合物を収録した ChemIndex データベースで検索すると、この分子式として妥当な化合物はアクリルアミド (C_3H_5NO) のみです。アクリルアミドの天然分子の水素数は 5 つですが、プロトン化イオンでは 6 つになります (図4参照)。

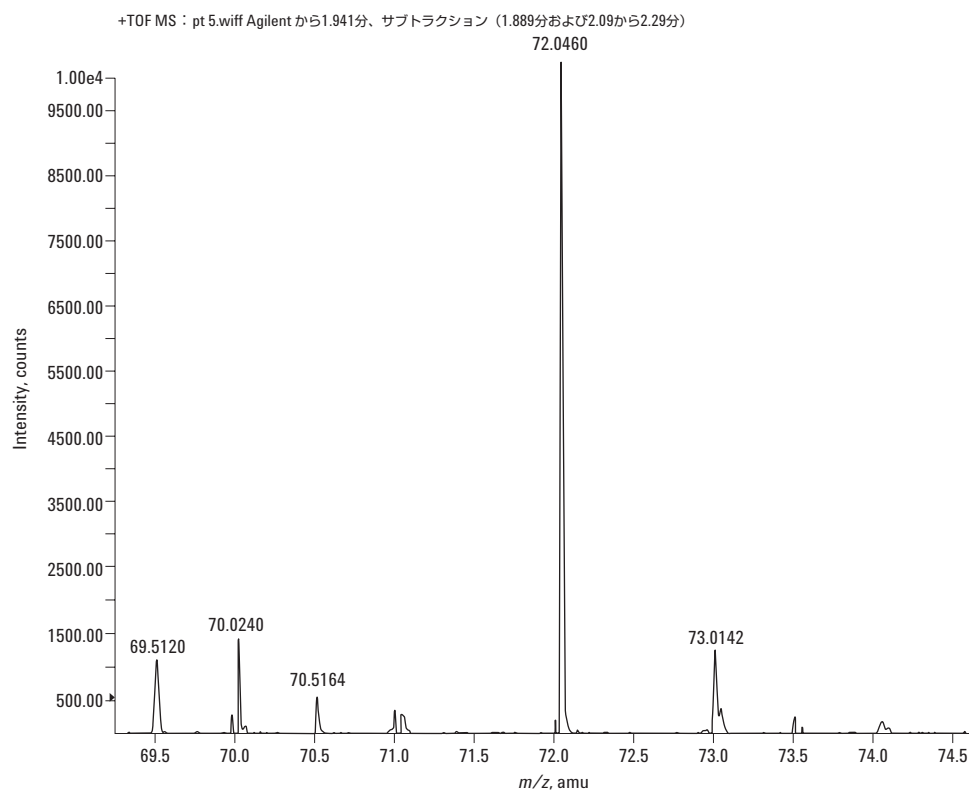


図4. 1回の注入により得られた 72.0460 におけるアクリルアミドのモノ同位体分子イオン質量 ($M+H$)⁺ の例

図5 と図6 は、アクリルアミドとアクリルアミド-d₃ の抽出イオンクロマトグラム (EIC) を示しています。各イオンは元の化合物のみに起因しています。

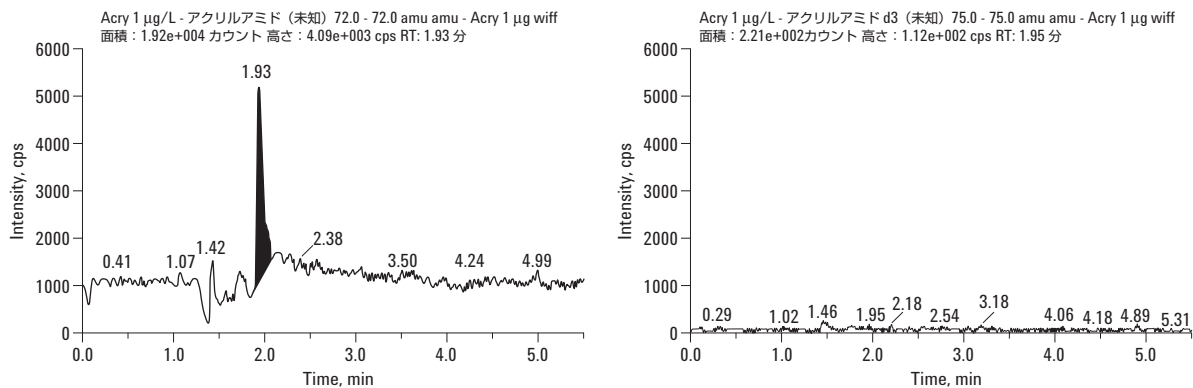


図5. アクリルアミド 1 $\mu\text{g/L}$ の抽出イオンクロマトグラム

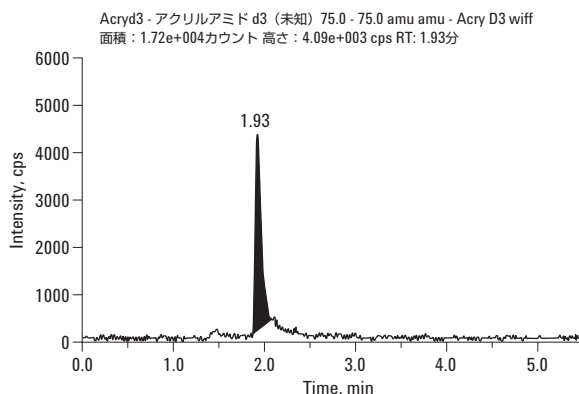
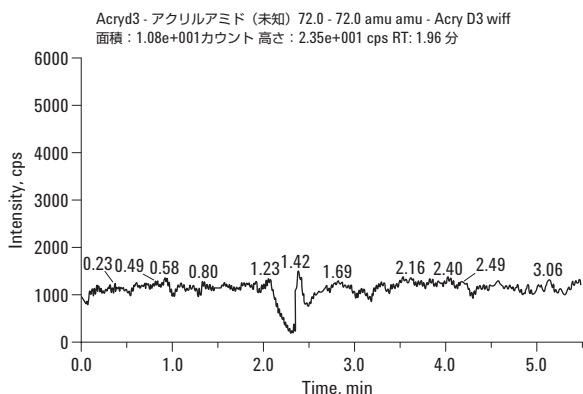


図6. アクリルアミド-d₃ 1 µg/L の抽出イオンクロマトグラム

直線性と LOQ

図 7 は、0.25 µg/L から 3 µg/L の範囲におけるアクリルアミドの内部標準検量線を示しています。

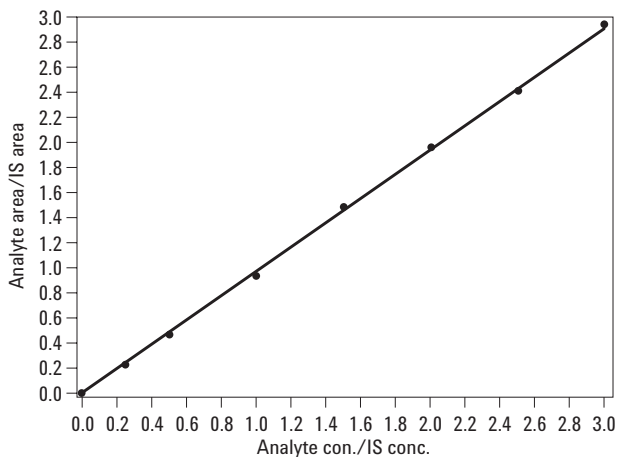


図7. アクリルアミド/アクリルアミド-d₃ のレスポンスの直線性プロット

これらの結果は、HPLC 用純水使用時の優れた直線性と、0.25 µg/L における許容可能な LOQ を証明しています。

表 4 と表 5 に示す結果も、本分析手法の有効性を証明しています。

表4. 0.25-3.00 µg/L における補正直線の再現性

補正直線	R ²	傾き	EI ⁻ -d ₃ エリアの %RSD
1	0.9980	0.98	5.5
2	0.9998	1.02	9.4
3	0.9998	1.06	11.9
4	0.9998	0.88	6.0
5	0.9994	0.84	5.5

*EI 抽出イオン

表5. 数値の相対誤差

濃度 µg/L (n = 5)	%RSD
0.25	4.3
0.50	9.2
1.00	5.7
1.50	4.3
2.00	3.4
2.50	2.2
3.00	2.5

精密質量の安定性

繰り返しのシーケンス分析で確認した SD はきわめて低く (小数第 4 位以下までで 10 %以下)、本手法による質量数決定の安定性の高さが証明されました。また、小数第 3 位までの質量数決定の理論値および実験値の比較では、相対誤差はアクリルアミド標準物質で約±0.0023、アクリルアミドの重水素化アナログで ±0.0027 でした。

表6. 精密質量の標準偏差 (SD)

シーケンス (サンプル数)	アクリルアミドの精密質量の SD	アクリルアミド-d ₃ の精密質量の SD
Seq 1 (30)	0.00050 (n = 24)	0.00050 (n = 29)
Seq 2 (30)	0.00046 (n = 23)	0.00040 (n = 29)
Seq 3 (53)	0.00055 (n = 43)	0.00030 (n = 53)
Seq 4 (53)	0.00072 (n = 30)	0.00036 (n = 53)

サンプルの特異選択性と再現性

サンプルの特異選択性と再現性に関するデータを表 7 に示します。

表7. 3か所の浄水処理施設における特異選択性と再現性

サンプル*	理論添加値 0.25 µg/L		理論添加値 0.5 µg/L	
	平均/%RSD	回収率 (%)	平均/%RSD	回収率 (%)
RW1 (n=4)	0.22/11.7	88	0.47/3.4	94
RW2 (n=5)	0.26/10.5	104	0.45/1.8	90
RW3 (n=3)	0.20/17.0	80	0.52/2.8	104
DW1 (n=4)	0.28/22.5	112	0.48/16.7	96
DW2 (n=5)	0.23/12.9	92	0.43/8.6	86
DW3 (n=3)	0.24/13.0	96	0.50/8.3	100

* RW 原水 (HPLC グレード) ; DW 飲用処理水

この分析により得られた回収率と RSD の値は、満足のいくものでした。

図8 にアクリルアミド 0.25 µg/L とアクリルアミド-d₃ 1 µg/L を添加した飲用処理水のデータを、図 9 に同様のスパイク添加をした水道原水のデータを示します。

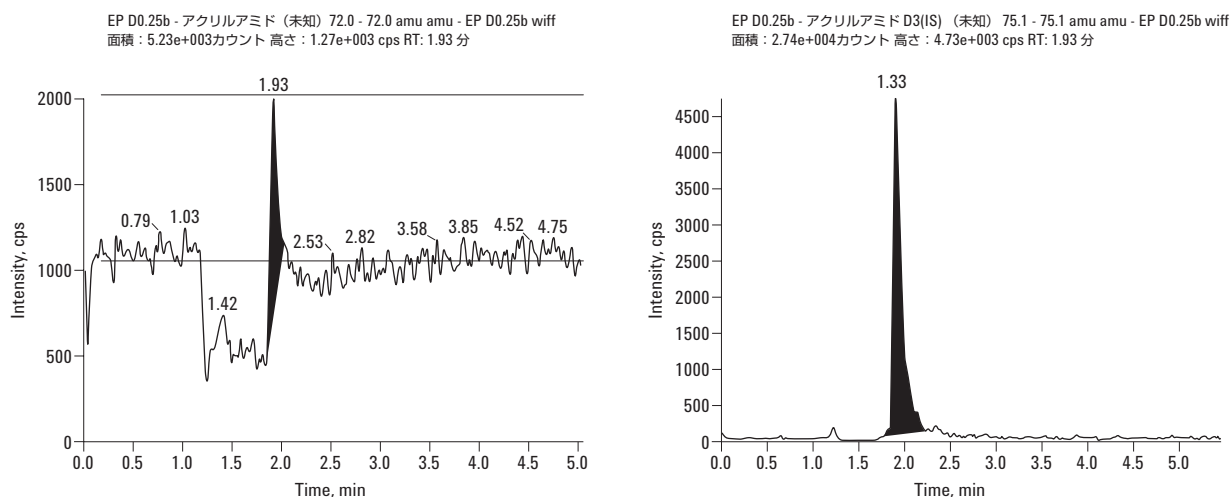


図8. アクリルアミド 0.25 µg/L とアクリルアミド-d₃ 1 µg/L を添加した飲料水

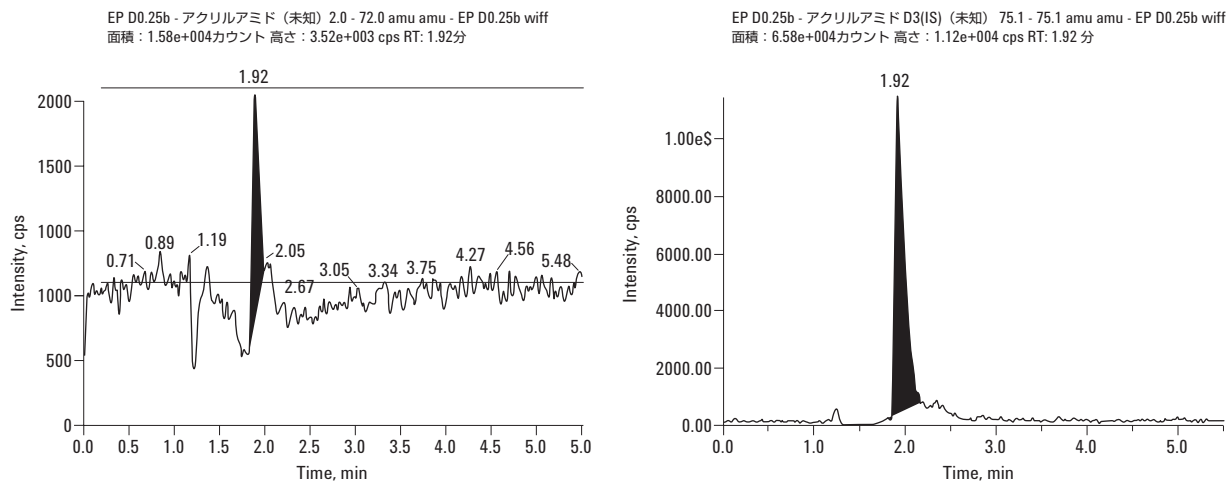


図9. アクリルアミド 0.25 µg/L とアクリルアミド-d₃ 1 µg/L を添加した生水 (HPLCグレード)

結論

本研究の目的は、浄水処理施設から採取した水サンプルに含まれる超微量アクリルアミドを検出できる手法を開発することです。このアプリケーションの質量検出手法として、飛行時間型質量分析 (TOF MS) が有効であることが、統計的データにより証明されました。この手法の感度はきわめて高く、0.25 µg/L という LOQ に合格しています。加えて、本手法の優れた特異性により、地表水、地下水、飲料水などのサンプルに含まれるアクリルアミドを確実に検出できます。また、オンライン抽出カラムスイッチング手法を組み合わせれば、分析時間を短縮することができます。

参考文献

1. J.T. Novak and J.H. O'Brien, (1975), J. Water Pollut. Control Fed., 47, 2397.
2. Guidelines for drinking-water quality, 2nd ed., vol. 1. Recommendations, Geneva, WHO, 1993, p.72.

謝辞

Alain Vervaecke 氏、Emmanuelle Godefroy 氏、Pascal Roman 氏 (以上 Agilent Technologies France)、および Jaumes C. Moralesi Sediles 氏 (Agilent Technologies Spain) に技術的なご支援をいただきました

詳細情報

Agilentの製品およびサービスの詳細については、
当社のWebサイト (www.agilent.com/chem/jp) を
ご覧ください。

お問い合わせは： 0120-477-111
横河アナリティカルシステムズ株式会社
〒192-0033 東京都八王子市高倉町9-1

Agilentは、本文書に含まれる誤り、および本文中製品の据付、作動、または使用
に関連して付随的または間接的に引き起こされる損害については、一切の責任を負
いません。

本文書に記載の情報、説明、および仕様は、予告なく変更されることがあります。

© Agilent Technologies, Inc. 2005

Printed in the USA

April 26, 2005

5989-2884JAJP