

## Agilent 6470 トリプル四重極 LC/MS を用いた河川水中芳香族アミン類の分析



### Author

滝埜 昌彦

アジレント・テクノロジー  
株式会社

### 要旨

本アプリケーションノートでは、Agilent 6470 トリプル四重極 LC/MS を用いて河川水中の芳香族アミン類の一斉分析する手法をご紹介します。

アゾ色素は合成染料として非常によく用いられ、染料に使用されている色素の約6割を占めます。これらアゾ色素はアゾ基の還元分解により発ガン性のある芳香族アミン類を生成することが知られています。平成27年7月9日に「有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律施行規則」の一部を改正する省令が公布され、24種類の特特定芳香族アミンを生成するアゾ色素が規制されました。これら特特定芳香族アミン類の分析にはGC-MS法やHPLC法が広く使用されていますが、近年トリプル四重極型質量分析計を用いたLC-MSが、環境試料中の微量分析に広く使用されるようになってきています。LC-MS法はGC-MS法と比較して試料を直接注入できる利点があり、試料前処理を極力省いた分析法が可能です。そこで本アプリケーションノートではLC-MSを使用した24種芳香族アミン類の一斉分析法を確立し、河川水の分析に適応しました。

Key words：芳香族アミン、一斉分析、河川水

## 分析条件

システム

1290 Infinity II ハイスピードポンプ (G7120A)  
 1290 Infinity II マルチサンプラ (G7167B)  
 1290 Infinity II マルチカラムサーモスタット (G7116B)  
 6470 トリプル四重極 LC/MS システム (G6470AA)  
 MassHunter Data Acquisition B.08.02

試料

混合標準液調製

表2の全24芳香族アミンを純水に溶解し、標準混合液を調製しました。

試料調製

全国5ヶ所の河川水1~5を0.45 μmのフィルターでろ過し測定試料としました。

表1. 分析条件

LC			
移動相	A:0.1%ギ酸水溶液 B:メタノール		
カラム	ZORBAX Eclipse Plus C18 RRHD(1.8 μm, 2.1 mm×100 mm) (P/N:959758-902)		
流速	0.2 mL/min		
カラム温度	40 °C		
注入量	50 μL	Time(min)	%B
試料溶媒	超純水	0.0	5
グラジエント	右図	40	100
分析時間	34分		
MS			
イオン源	Agilent Jet Stream(AJS)		
測定モード	Dynamic MRM (dMRM)		
乾燥ガス	350 °C 10L/min		
シースガス	400 °C 12 L/min		
ネブライザ圧	50 psi		
キャピラリー電圧	4000 V		
ノズル電圧	0 V		

表2. 各化合物のMRM条件

No	芳香族アミン	プリカーサー	プロダクト	CE	No	芳香族アミン	プリカーサー	プロダクト	CE
1	2,4-Diaminotoluene	123	106	15	13	4,4-Methylenedi-o-toluidine	227	120	25
2	2,4-Diaminobenzidine	139	124	15	14	2,6-Xylydine	122	105	20
3	Benzidine	185	168	20	15	2-Naphthylamine	144	127	25
4	4,4-Oxydianiline	201	108	20	16	4,4-Thiodianiline	217	124	25
5	4,4-Methylenedianiline	199	106	25	17	2,4,5-trimethylaniline	136	121	20
6	o-Anisidine	124	109	15	18	4-Chloro-o-toluidine	142	107	20
7	o-Toluidine	108	91	20	19	5-Nitro-toluidine	153	107	20
8	4-Chloroaniline	128	93	20	20	4-Aminobiphenyl	170	152	25
9	3,3-Dimethylbenzidine	213	196	20	21	3,3-Dichlorobenzidine	253	217	20
10	3,3-Dimethoxybenzidine	245	230	20	22	4-Aminoazobenzene	198	77	25
11	p-Cresidine	138	123	15	23	4,4-Methylene-bis-(2-chloroaniline)	267	231	20
12	2,4-Xylydine	122	107	20	24	o-Aminoazotoluene	226	91	25

CE: コリジョンエネルギー

## 結果

今回測定対象とした芳香族アミンはAJSイオン源を使用することで全てプロトン化分子イオン:(M+H)<sup>+</sup>がベースピークとして観察されました。従って、表2の通り(M+H)<sup>+</sup>をプリカーサーイオンとしたプロダクトイオンスペクトルを測定しました。標準液の測定結果を図1に示します。主プロダクトイオンはアミノ基、メチル基、ニトロ基或いは塩素が脱離したイオンや骨格イオンでした。従って、これらイオンをMRM法のプロダクトイオンに設定しました。

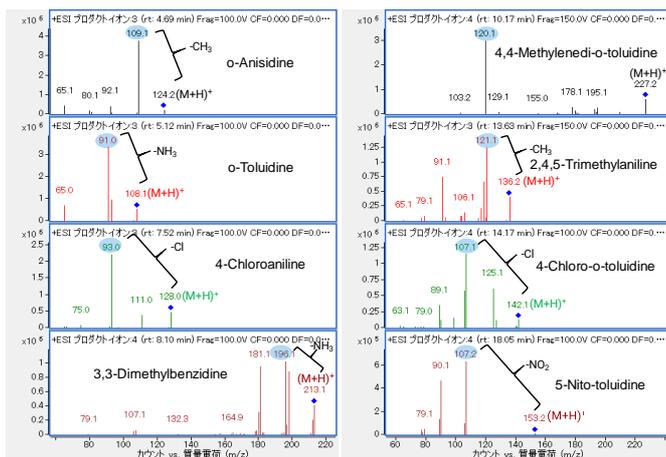


図1. 各芳香族アミンのプロダクトイオンスペクトル

分離条件はカラム中の残存シラノールへの吸着を抑えるため、酸性移動相(0.1%ギ酸)及びメタノールによるグラジエント条件で検討しました。また、芳香族アミン類は高極性の水溶性化合物も多いことから通常のODSカラムとPPFカラムで分離条件の検討を行いました。図2はPPFカラムとODSカラムでのMRMクロマトグラムを示します。PPFカラムでは極性の低い芳香族アミンの保持時間が早く分析時間の短縮にはなりましたが、極性の高い芳香族アミンの分離はODSカラムが良好であったことからODSカラムを選択しました。

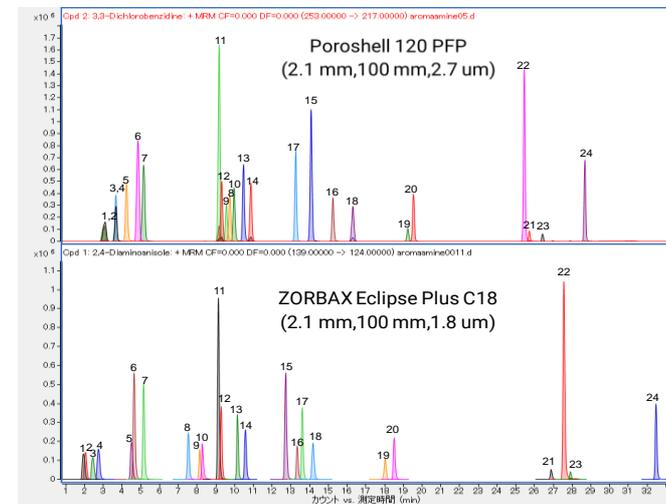


図2. 2種類のカラムによる芳香族アミンのMRMクロマトグラム(100 ng/mL)

河川水中芳香族アミンの分析に大量注入法を用いるため、0.5及び50  $\mu\text{L}$ 注入で0.1及び10 ng/mL標準液の測定を行い、芳香族アミンの強度及びピーク形状を比較しました。図3に芳香族アミンのMRMクロマトグラムを示します。50  $\mu\text{L}$ 注入において、溶出の最も遅いo-アミノアゾトルエンのみ強度の低下がありました。その他芳香族アミンは50  $\mu\text{L}$ 注入においても強度の低下はなくピーク形状も良好であったため、注入量は50  $\mu\text{L}$ としました。

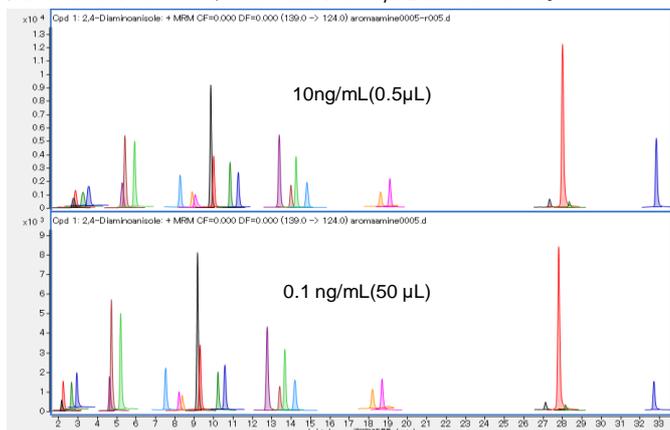


図3. 注入量の違いによる各芳香族アミンのMRMクロマトグラム

確立した分析法での感度、直線性及び再現性を確認しました。図4に1 ppt標準液のMRMクロマトグラムを示します。この濃度でS/Nを計算し、S/N=3を検出下限値としました。検出限界、直線性及び再現性は表3に示しました。

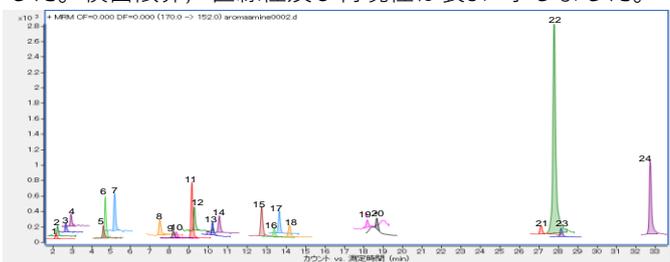


図4. 芳香族アミンのMRMクロマトグラム (濃度:1 ppt)

ホームページ

[www.agilent.com/chem/jp](http://www.agilent.com/chem/jp)

カスタムコンタクトセンタ

0120-477-111

[email\\_japan@agilent.com](mailto:email_japan@agilent.com)

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2018

Printed in Japan, October 17, 2018

Revised, December 14, 2021

LC-MS-201810TK-001

DE59994391

全国5ヶ所の河川水を確立した分析法で測定した結果、3ヶ所の河川水で芳香族アミン類が検出されました。図5に河川水のMRMクロマトグラム及び定量結果を示しました。河川水中芳香族アミンの添加回収試験は各河川水に芳香族アミン標準液を添加し1ppt添加河川水を作製しました。芳香族アミンの各添加回収率は表3に示しましたが、95~112%と良好でした。

表3. 芳香族アミン検出限界, 直線性, 再現性及び添加回収率

No	芳香族アミン	標準液				河川水				
		S/N 1ppt	検出限界 S/N=3	決定係数 1-1000ppt	RSD 10ppt	回収率,%				
1	2,4-Diaminotoluene	28	0.11	0.9991	5.09	112	103	105	108	99
2	2,4-Diaminotoluene	36	0.08	0.9998	4.79	101	104	106	107	108
3	Benzidine	24	0.12	0.9998	5.52	107	103	110	104	108
4	4,4-Oxydianiline	19	0.16	0.9997	5.21	98	109	98	103	101
5	4,4-Methylenedianiline	13	0.23	0.9995	3.47	107	101	98	103	107
6	o-Anisidine	43	0.07	0.9999	2.08	102	103	103	104	105
7	o-Toluidine	11	0.27	0.9999	5.15	101	107	105	107	102
8	4-Chloroaniline	17	0.17	0.9999	5.24	103	102	108	108	111
9	3,3-Dimethylbenzidine	17	0.18	0.9996	3.71	105	105	98	99	96
10	p-Cresidine	17	0.18	0.9985	5.42	107	104	103	95	92
11	p-Cresidine	79	0.04	0.9999	1.28	99	98	104	102	102
12	2,4-Xylydine	26	0.11	0.9998	5.62	97	102	100	104	101
13	4,4-Methylenedi-o-toluidine	13	0.23	0.9993	4.32	108	101	102	107	109
14	2,6-Xylydine	33	0.09	0.9999	5.46	90	91	91	96	100
15	2-Naphthylamine	114	0.03	0.9999	2.68	90	90	92	95	93
16	4,4-Thiodianiline	11	0.26	0.9997	3.18	107	107	102	95	110
17	2,4,5-trimethylaniline	25	0.12	0.9999	2.78	94	96	98	101	96
18	4-Chloro-o-toluidine	35	0.09	0.9999	1.90	91	96	94	98	93
19	5-Nitro-o-toluidine	29	0.10	0.9999	5.03	104	102	115	101	99
20	4-Aminobiphenyl	6	0.48	0.9995	3.22	100	104	108	103	107
21	3,3-Dichlorobenzidine	77	0.04	0.9995	3.97	100	107	107	99	103
22	4-Aminoazobenzene	135	0.02	0.9998	2.79	101	106	105	106	106
23	4,4-Methylene-bis-(2-chloroaniline)	18	0.16	0.9995	4.21	96	101	110	104	103
24	o-Aminoazotoluene	108	0.03	0.9987	3.78	98	102	101	102	100

T:n=5

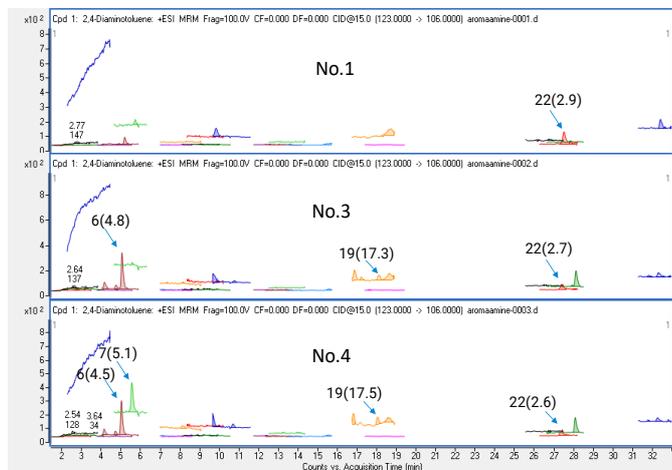


図5. 河川水中に検出された芳香族アミンのMRMクロマトグラム (濃度:ppt)

## まとめ

トリプル四重極型LC-MSを用いることで芳香族アミン類の高感度分析が可能となり、ろ過のみで河川水中の微量芳香族アミン類の分析が可能でした。今回確立した分析法による各芳香族アミン類の検出限界は0.04~0.48 pptで、直線性は決定係数で0.998以上と良好でした。また、河川水中各芳香族アミン類の添加回収率は95~112%でした。

全国5ヶ所の河川水を測定した結果、3ヶ所で検出され濃度は2.9~17.5 pptでした。