

1260 Infinity II LC システムによる シアン化物イオンおよび塩化シアンの ポストカラム吸光光度法分析

Authors

林 慶子
武部 静香
内藤 厚子
熊谷 浩樹

アジレント・テクノロジー
株式会社

要旨

シアン化物イオンおよび塩化シアンは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¹⁾）の別表第十二に準拠した方法で測定されます。

本アプリケーションノートではイオンクロマトグラフィーポストカラム吸光光度法を実施した例を紹介します。

システム

1260 Infinity II フレキシブルポンプ (G7104C)
 1260 Infinity II クォータリポンプ (G7111B) x 2
 1260 Infinity II バイアルサンプラ (G7129C) 注入量拡張ループ
 (0101-1252) 付き、冷却オプション付き
 1260 Infinity II マルチカラムサーモスタット (G7116B)
 1260 Infinity II ダイオードアレイ検出器 WR (G7115A)
 カラムオープン (センシュア科学製)

反応コイル：
 SUS 316 チューブ
 1/16、0.8 mm x 5 m、PN：6010-32805 (GL サイエンス製)

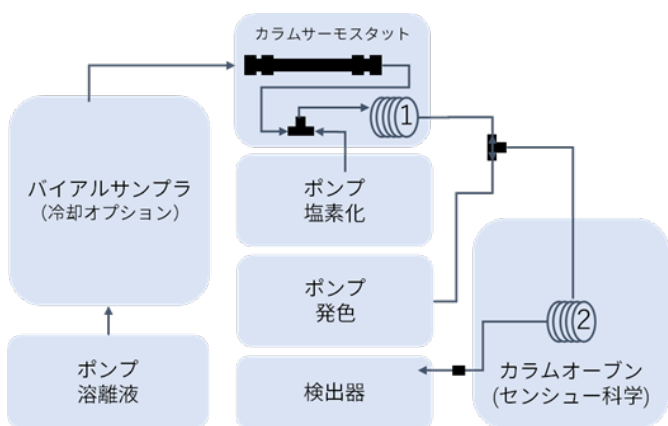


図 1. 流路図例

試料調製

あらかじめ冷却した 10 mM リン酸緩衝液 9 mL に 1.25 w/v% クロラミン T 溶液 50 μ L とシアン化物イオン標準液 100 μ L を加えて混合し 1 時間冷暗所で反応させました。これに 1 w/v% 亜硫酸水素ナトリウム 50 μ L を加えて十分混合しシアン化物イオン標準液 100 μ L を加えて、10 mM リン酸緩衝液で 10 mL にメスアップしてシアン混合標準液を作成しました。シアン混合標準液を冷却した 10 mM リン酸緩衝液で希釈したものを検量線用試料としました。実試料には水道水にリン酸緩衝液を加えたもの、これに 1 μ g/L シアン混合溶液を添加したものを添加回収試験に用いました。

オートサンプラではサンプルの分解を防ぐために 4 $^{\circ}$ C に冷却しました。

分析条件

表 1. 分析条件

LC	
カラム	Hi-Plex H USP L17、100 x 7.7 mm (PN：PL1170-2823)
カラム温度	40 $^{\circ}$ C
移動相	1 mM 硫酸
流速	1.0 mL/min
注入量	200 μ L
塩素化液	0.5 g クロラミンを 500 mL リン酸緩衝液に溶解したもの
流量	0.5 mL/min
反応コイル 1	0.8 mm x 80 cm、40 $^{\circ}$ C
発色液	1-フェニル-3-メチル-5-ピラゾロン 2.5 g をジメチルホルムアミド 150 mL に溶解し、別に 4-ピリジンカルボン酸ナトリウム 7.0 g を精製水 300 mL に溶かしたものを混合し、精製水を加えて 500 mL にしたもの
流量	0.5 mL/min
反応コイル 2	0.8 mm x 4 m、100 $^{\circ}$ C
検出	638 nm/4 nm、reference off

結果

図 1 に流路図を示しました。カラムではシアン化物と塩化シアンを分離します。塩素化液とシアン化物イオンは反応コイル 1 内で反応し、次に各ピークは発色液と 100 $^{\circ}$ C で反応コイル 2 内で反応して UV 検出器で検出されます。

図 2 に 10 μ g/L (基準値) および 1 μ g/L (基準値の 1/10) に調製したシアン混合標準液のクロマトグラムを示しました。10 分以内に良好に分離され、5.5 分にシアン化物イオン、7.0 分に塩化シアンを観測しました。

段階的に希釈した試料を用いて検量線を作成すると図 3 に示すように決定係数 (R²) 0.999 以上の良好な直線性を示しました。3 回繰り返し実行した標準試料の相対標準偏差の結果を表 2 に示しました。また、各ポイントの真度を求めた (表 3) と同様、95 ~ 110 % の定量真度が得られました。

次に水道水の分析と、水道水への添加回収試験を実施しました。図 4 に示すように水道水中からはシアン化物イオンおよび塩化シアンは観測されず、1 μ g/L 添加試料から各ピークが観測されました。この時の定量値はシアン化物イオン 1.017 μ g/L、塩化シアンが 1.070 μ g/L でした。

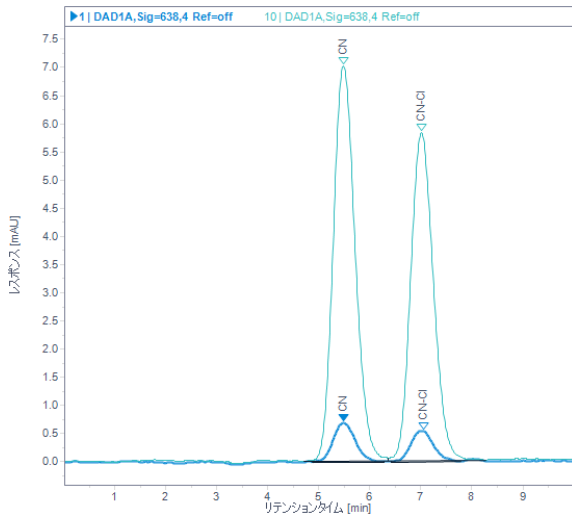


図 2. 10 µg/L (緑) および 1 µg/L (青) シアン混合標準液のクロマトグラム

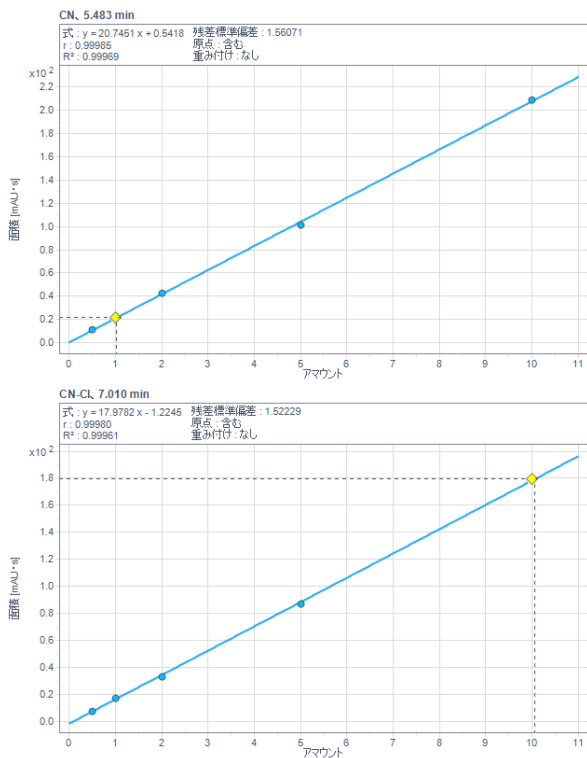


図 3. シアン化物イオン (上) および塩化シアン (下) の検量線

表 2. 標準試料の繰り返し分析結果 (N=3, RSD%)

濃度 (µg/L)	シアン化物イオン		塩化シアン	
	RT	Area	RT	Area
0.5	0.33	2.35	0.30	3.54
1	0.24	1.73	0.17	4.75
2	0.19	1.97	0.26	3.45
5	0.29	1.02	0.24	2.06
10	0.27	0.51	0.25	2.93

表 3. 各検量線ポイントの真度 (% , N=3 平均)

濃度 (µg/L)	シアン化物イオン	塩化シアン
0.5	109.5	109.4
1	101.2	108.1
2	100.9	95.2
5	97.9	98.8
10	100.5	100.4

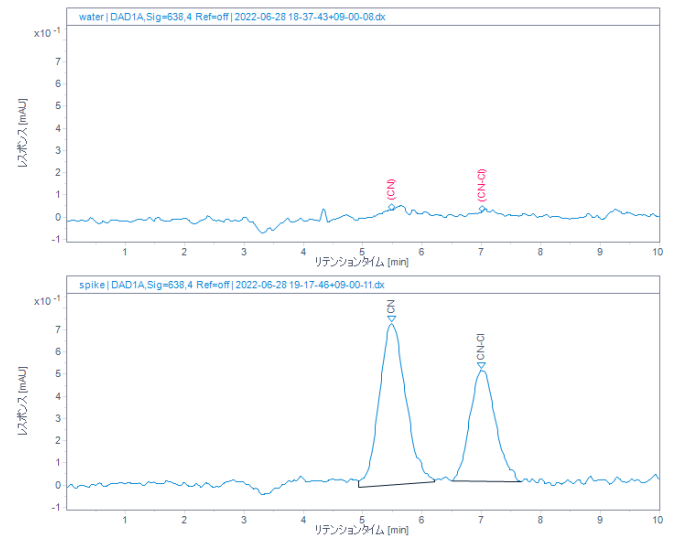


図 4. 水道水 (上) と水道水への添加回収試験試料 (1 µg/L添加) (下) のクロマトグラム

まとめ

シアン化物イオンおよび塩化シアンをポストカラム吸光光度分析で測定しました。水質基準の 1/10 濃度 (1 µg/L) における十分な感度を示し、良好な直線応答が得られました。繰り返し分析結果は 5 % RSD を大幅に下回る結果が得られ、各濃度における定量真度は 95 ~ 110 % の範囲でした。(妥当性評価ガイドライン²⁾ では繰り返し 10 % RSD、検量線各点の平均値の定量真度 80 ~ 120 % 以内とされています)

添加回収試験を実行したところ、シアン化物イオンで 101 %、塩化シアンで 107 % と良好な結果が得られました。

参考：

1) 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 7 月 22 日厚生労働省告示第 261 号[最終改正令和 4 年 3 月 31 日厚生労働省告示第 134 号])

2) 水道水質検査方法の妥当性評価ガイドライン (平成 24 年 9 月 6 日付健水発 0906 第 1 号別添) (最終改正：平成 29 年 10 月 18 日付け薬生水発 1018 第 1 号)

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンター

0120-477-111

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。

DE23672406

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc. 2022
Printed in Japan, July 11, 2022
5994-5122JAJP