

ノート

LC/MSを用いた大気中ニトロピレン類の 分析法検討(第2報)

山川雅弘，佐来栄治，早川修二

Determination Method of Nitro-substituted Polynuclear Aromatic Hydrocarbons in Ambient Air with LC/MS ()

Masahiro YAMAKAWA, Eiji SARAI, Shuji HAYAKAWA

液体クロマトグラフ質量分析計(LC/MS)を用いた大気中のニトロピレン類分析方法については前報¹⁾で報告したが，今回，さらに Nebrizer 圧などの LC/MS 条件および前回(内径 4.6mm)より細い，内径 3.0 および 2.1mm のカラムを用いて検討を行った．その結果，Nebrizer 圧，Corona 電流およびキャピラリー電圧を LC/MS メーカーの推奨値や典型値より低い値にすることで前報よりも感度良くニトロピレン類が分析することができた．また，内径 3.0 および 2.1mm のカラムでも，高感度にニトロピレン類を測定することができることがわかった．特に内径が小さいカラムは移動相溶媒の使用量が削減されるなどのメリットがあり，有用な方法と考えられる．また，実試料を用いて検討を行ったところ，今回用いた内径 2.1mm のカラムでは 1-ニトロピレンおよび 3-ニトロフルオランテンのピークが共存物質のピークと重なってしまった．しかしながら，内径 4.6 および 3.0mm のカラムでは共存物質のピークとは十分分離されており，大気中から 1-ニトロピレンが 0.030ng/m³ 検出された．

キーワード：1-ニトロピレン，ジニトロピレン，3-ニトロフルオランテン，LC/MS，大気

はじめに

最近，液体クロマトグラフ質量分析計(以下「LC/MS」)を用いて環境中の有害化学物質を分析した例が多く報告されている²⁾．環境省が実施している全国的な調査(化学物質環境汚染実態調査)でも LC/MS が用いられるようになった³⁾⁴⁾．当研究部でも前報で報告したとおり LC/MS を用いた大気中のニトロピレン類について，現在主に用いられている誘導体化を必要とする方法⁵⁾⁶⁾に代わる分析法の検討を行っている．今回，さらに LC/MS 条件の検討および内径 3.0 および 2.1mm のカラムによる検討を行ったので報告する．

実験方法

1. 対象物質

分析法を検討した物質を表 1 に示した．前報で検討した物質の内，特に回収率が悪かった 2-ニトロフルオレンを除く 5 物質を対象とした．

表 1 対象物質

物質名	分子量
3-ニトロフルオランテン	247
1-ニトロピレン	247
1,6-ジニトロピレン	292
1,8-ジニトロピレン	292
1,3-ジニトロピレン	292

2. 装置，試薬，器具類等

2.1 装置

・ LC/MS：Agilent Tec.社製 1100 シリーズ

2.2 試薬，器具類

・ 1-ニトロピレンおよび 3-ニトロフルオランテン：
Aldrich Chem.社製

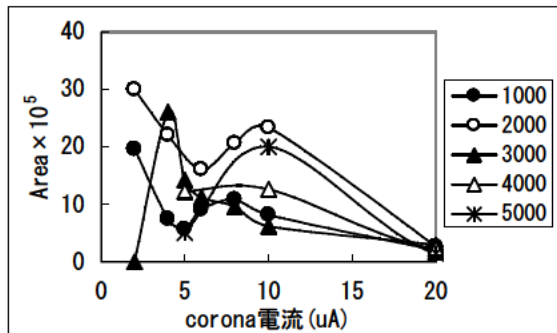


図1 Dry Gas Flow 1.0mL/min, Nebrizer 圧 10psig, キャピラリー電圧 1000 ~ 5000V における Corona 電流と 1-ニトロピレンのピーク面積との関係 (移動相 1mL/min)

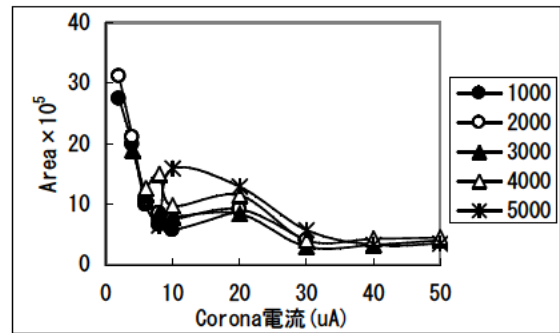


図2 Dry Gas Flow 2.0mL/min, Nebrizer 圧 20psig, キャピラリー電圧 1000 ~ 5000V における Corona 電流と 1-ニトロピレンのピーク面積との関係 (移動相 1mL/min)

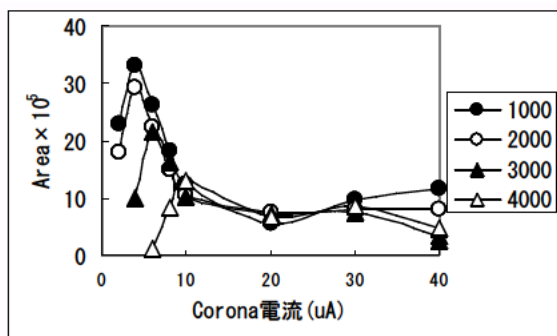


図3 Dry Gas Flow 3.0mL/min, Nebrizer 圧 30psig, キャピラリー電圧 1000 ~ 5000V における Corona 電流と 1-ニトロピレンのピーク面積との関係 (移動相 1mL/min)

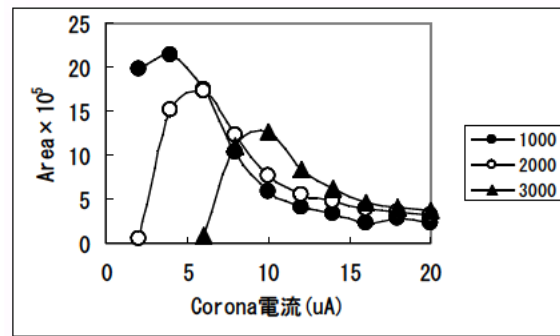


図4 Dry Gas Flow 4.0mL/min, Nebrizer 圧 40psig, キャピラリー電圧 1000 ~ 5000V における Corona 電流と 1-ニトロピレンのピーク面積との関係 (移動相 1mL/min)

- 1,6-, 1,8-および 1,3-ジニトロピレン : Accu Standard 社製 0.1mg/mL トルエン溶液
- メタノール : 関東化学 (株) 製液体クロマトグラフ用および和光純薬工業 (株) 製残留農薬試験用 300

検討結果および考察

1. フローインジェクション法による条件設定

フローインジェクション法 (カラムを用いず, 直接質量分析計で分析する) による条件の設定を行った. 今回は, 内径 4.6mm に加えて 3.0 および 2.1mm のカラムを検討するため, 移動相の流量をそれぞれ 1, 0.5 および 0.3mL/min で検討した. 以下に 1-ニトロピレンの結果を示した.

1. 1 移動相流量 1mL

液体クロマトグラフ (以下「LC」という) 移動相の流量が 1mL/min の場合については既に検討を行っている. 前報では, イオン化の条件について LC/MS の取り扱いマニュアルに記載された推奨値や典型値を参考にそ

表2 LC/MS フローインジェクション法の条件

条件	設定値
Dry Gas 温度	350 °C
Vaporizer 温度	400 °C
移動相	メタノール : 水 = 70:30 ~ 75:25
Fragmentor 電圧	60 V
ニトロピレン類注入量	約 1mg/L × 10uL

の付近を検討したが, 今回はより広い範囲で検討を行った.

表2に示した条件で Dry Gas Flow を 1.0, 2.0, 3.0, 4.0mL/min, Nebrizer 圧を 10, 20, 30, 40psig にそれぞれ固定し, Corona 電流を 2 ~ 40uA に, キャピラリー電圧を 1000 ~ 5000V に変化させて分析を行った. それぞれのキャピラリー電圧における Corona 電流と 1-ニトロピレンのピーク面積 (測定イオン $m/z=247$) の関係を図1~4に示した.

これによるといずれの Dry Gas Flow および Nebrizer

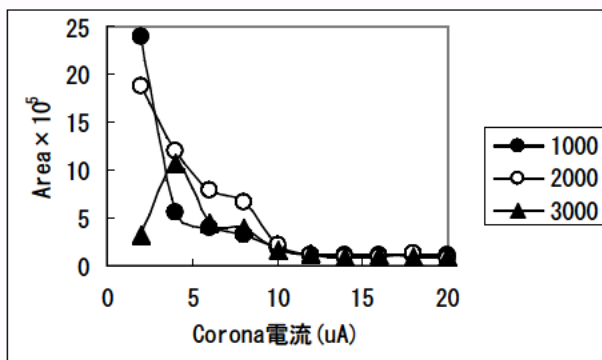


図5 Dry Gas Flow 1.0mL/min, Nebrizer 圧 10psig, キャピラリー電圧 1000 ~ 5000V における Corona 電流と 1-ニトロピレンのピーク面積との関係 (移動相 0.5mL/min)

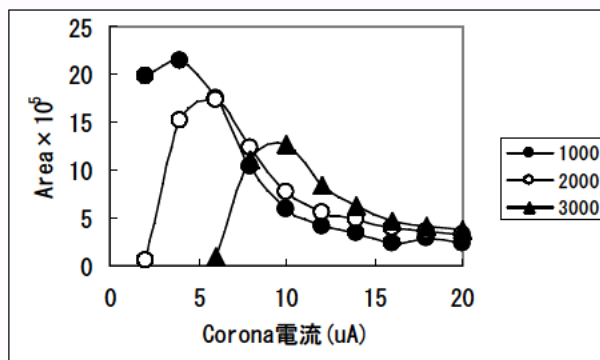


図6 Dry Gas Flow 2.0mL/min, Nebrizer 圧 20psig, キャピラリー電圧 1000 ~ 5000V における Corona 電流と 1-ニトロピレンのピーク面積との関係 (移動相 0.5mL/min)

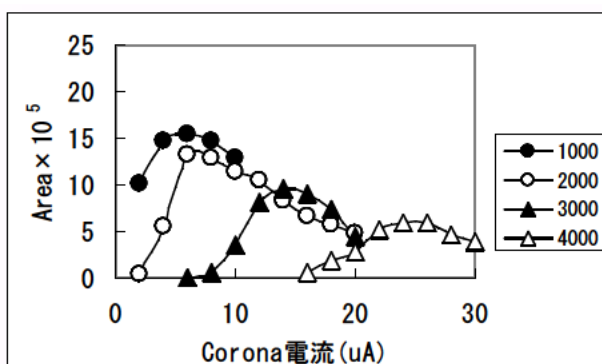


図7 Dry Gas Flow 3.0mL/min, Nebrizer 圧 30psig, キャピラリー電圧 1000 ~ 5000V における Corona 電流と 1-ニトロピレンのピーク面積との関係 (移動相 0.5mL/min)

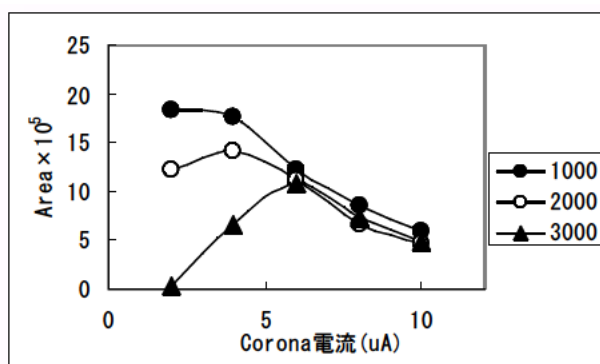


図8 Dry Gas Flow 1.0mL/min, Nebrizer 圧 20psig, キャピラリー電圧 1000 ~ 3000V における Corona 電流と 1-ニトロピレンのピーク面積との関係 (移動相 0.5mL/min)

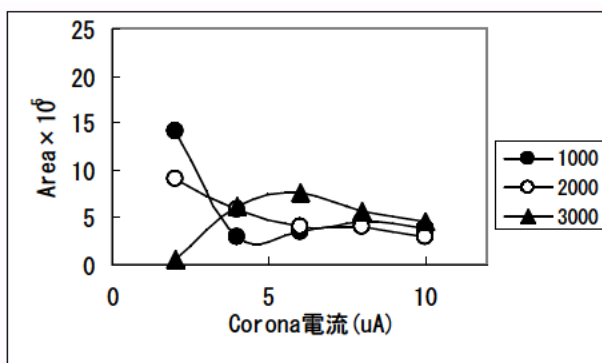


図9 Dry Gas Flow 2.0mL/min, Nebrizer 圧 10psig, キャピラリー電圧 1000 ~ 3000V における Corona 電流と 1-ニトロピレンのピーク面積との関係 (移動相 0.5mL/min)

圧でも 1-ニトロピレンのピーク面積が最大を示したのはキャピラリー電圧が 2000 又は 1000V であった。この中で最も 1-ニトロピレンのピーク面積が大きくなったのは Dry Gas Flow 3.0mL/min, Nebrizer 圧 30psig, キャピラリー

電圧 1000V, Corona 電流 4uA の条件であった。この値は, Dry Gas Flow を除いて LC/MS 取り扱いマニュアルによる推奨値や典型値 (Dry Gas Flow 3 ~ 5mL/min, Nebrizer 圧 60psig, キャピラリー電圧 4000V, Corona 電流 25uA) とは異なっていることがわかった。

1. 2 移動相流量 0.5mL/min

次に LC 移動相の流量を 0.5mL/min として 1. 1 と同様に検討を行った。その結果を図 5 ~ 9 に示した。これによると 1-ニトロピレンのピーク面積が最も大きくなったのは, Dry Gas Flow が 1.0mL/min, Nebrizer 圧が 10psig, キャピラリー電圧が 1000V, Corona 電流が 10uA のときであった。移動相の流量が 1mL/min の場合に比べて Dry Gas Flow および Nebrizer 圧が低くなったのは, 移動相の流量が低いため, Dry Gas Flow および Nebrizer 圧が高くなると対象物質がイオン化工程で窒素ガスにより強く押し出され, イオン化が進まなかったためと考えられる⁷⁾。

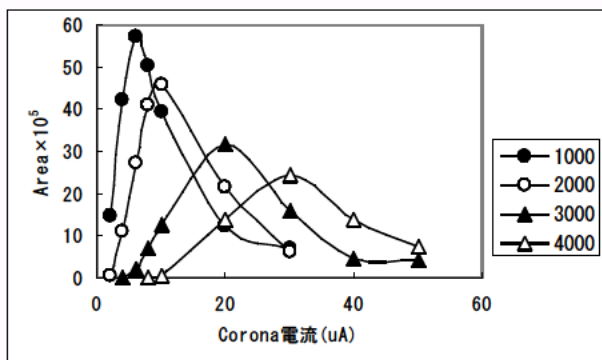


図 10 Dry Gas Flow 1.0mL/min, Nebrizer 圧 10psig, キャピラリー電圧 1000 ~ 4000V における Corona 電流と 1-ニトロピレンのピーク面積との関係 (移動相 0.3mL/min)

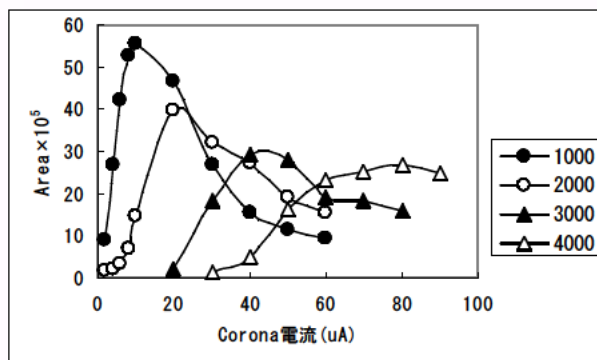


図 11 Dry Gas Flow 2.0mL/min, Nebrizer 圧 20psig, キャピラリー電圧 1000 ~ 4000V における Corona 電流と 1-ニトロピレンのピーク面積との関係 (移動相 0.3mL/min)

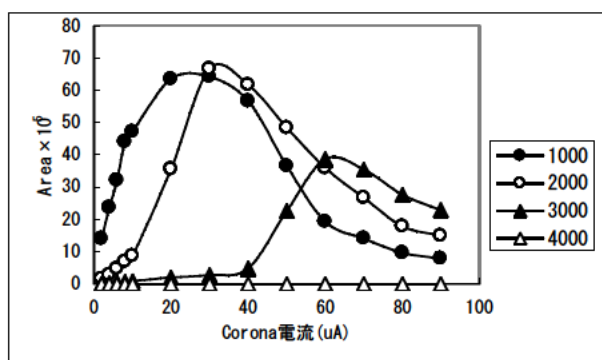


図 12 Dry Gas Flow 3.0mL/min, Nebrizer 圧 30psig, キャピラリー電圧 1000 ~ 4000V における Corona 電流と 1-ニトロピレンのピーク面積との関係 (移動相 0.3mL/min)

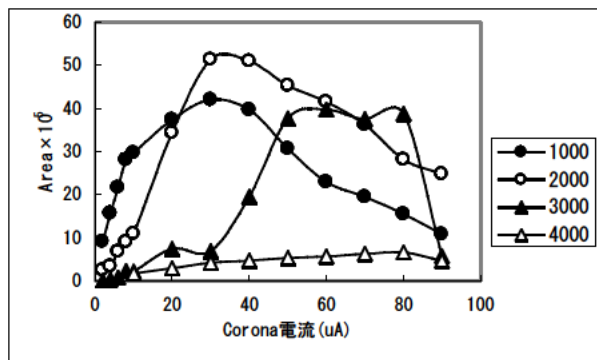


図 13 Dry Gas Flow 4.0mL/min, Nebrizer 圧 40psig, キャピラリー電圧 1000 ~ 4000V における Corona 電流と 1-ニトロピレンのピーク面積との関係 (移動相 0.3mL/min)

1. 3 流量 0.3mL/min

次に LC 移動相の流量を 0.3mL/min とし同様に検討を行った。その結果を図 10 ~ 13 に示した。流量 0.5mL/min の場合と比較すると同じ Dry Gas Flow, Nebrizer 圧, キャピラリー電圧の条件でも, Corona 電流が高い値のときに 1-ニトロピレンのピーク面積が最大となった。これは移動相の流量が低くなり, 同じ Dry Gas Flow, Nebrizer 圧でも勢い良く移動相溶媒が噴霧されるため, イオン化するための Corona 電流を高くする必要が生じたためと考えられる。なお, Dry Gas Flow および Nebrizer 圧は機器の性能上これ以下には設定が困難であった。

2. カラムを付けた検討

実際に LC カラムを付けて検討を行った。

2. 1 流量 1mL/min

LC カラムとして前報で対象物質の分離が良好であった Vydac (4.6mm × 250mm, 5μm) を使用した。

検討した条件は 1. 1 で良好な結果が得られたものを選択した。その条件および 1-ニトロピレン, 3-ニトロフルオランテン 1ng/mL 標準試料のイオンクロマトグラムを図 14 に示した。これによると, Dry Gas Flow が 2.0mL/min, Nebrizer 圧が 20psig の条件では, ノイズが大きくなってしまった。これは Dry Gas Flow と Nebrizer 圧が低いために移動相の霧化が不安定となってしまったことが考えられる⁷⁾。一方, Dry Gas Flow が 3.0 および 4.0mL/min, Nebrizer 圧が 30 および 40psig では前報の条件と比べても S/N 比が大きい良好なクロマトグラフが得られた。同様にジニトロピレン類のイオンクロマトグラムを図 15 に示した。ジニトロピレン類でもほとんど同じような傾向が見られた。

2. 2 流量 0.5mL/min

LC カラムとして Inertsil-ODS 3 (3.0mm × 150mm, 3μm) を用いて検討を行った。

検討した条件は 1. 2 で良好な結果が得られたものを

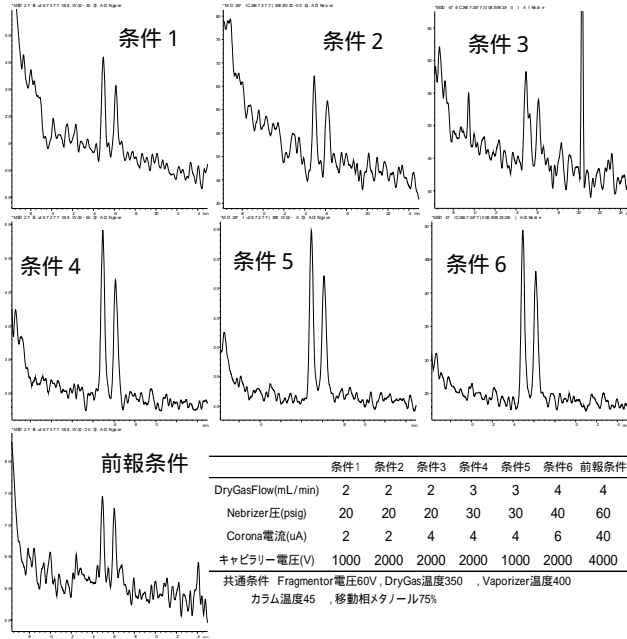


図 14 各イオン化条件におけるイオンクロマトグラム (移動相流量 1mL/min, Vydac カラム(4.6 × 250mm, 5μm)) (1)
ピーク左から 3-ニトロフルオランテン, 1-ニトロピレン

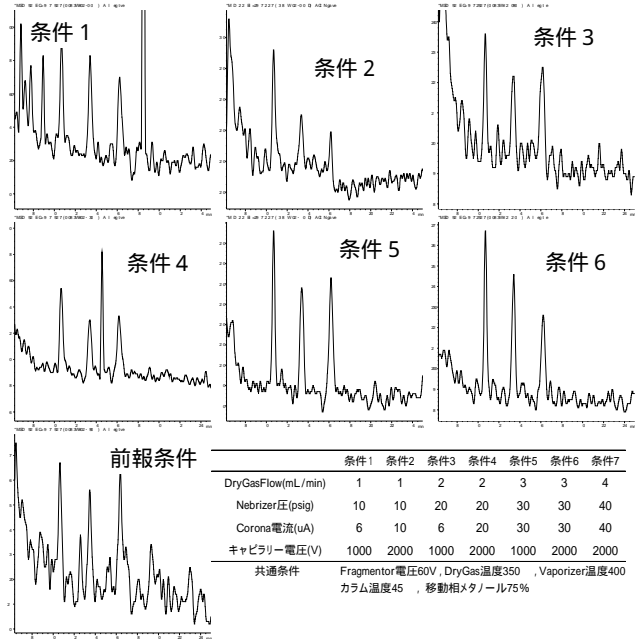


図 15 各イオン化条件におけるイオンクロマトグラム (移動相流量 1mL/min, Vydac カラム(4.6 × 250mm, 5μm)) (2)
ピーク左から 1,6-, 1,8-, 1,3-ジニトロピレン

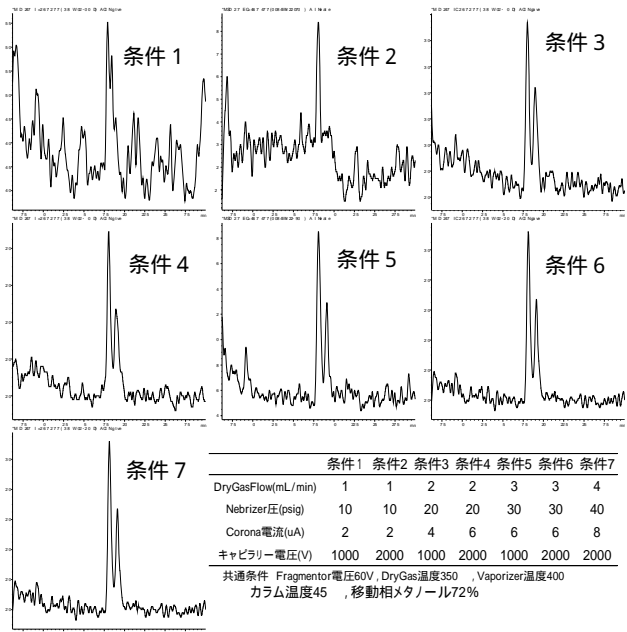


図 16 各イオン化条件におけるイオンクロマトグラム (移動相流量 0.5mL/min, Inertsil-ODS-3 カラム(3.0 × 150mm, 3μm))
ピーク左から 1-ニトロピレン, 3-ニトロフルオランテン

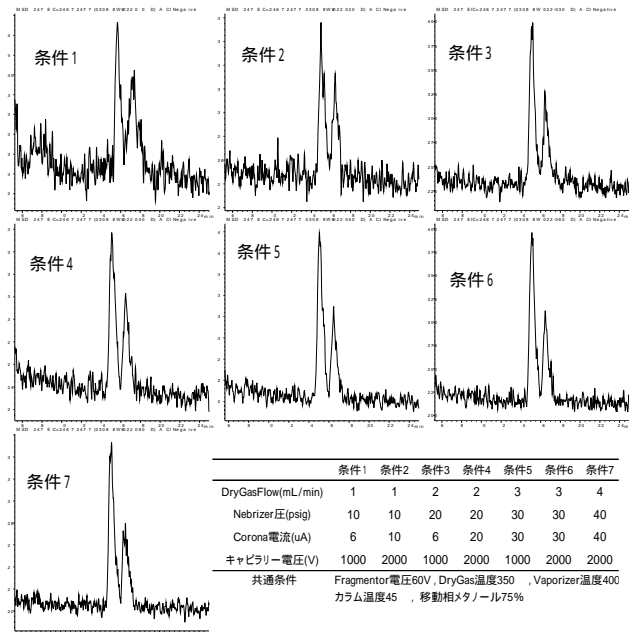


図 17 各イオン化条件におけるイオンクロマトグラム (移動相流量 0.5mL/min, Supercosil-LC-PA カラム(2.1 × 250mm, 5μm))
ピーク左から 1-ニトロピレン, 3-ニトロフルオランテン

表3 各移動相流量におけるカラムを付けて検討し、良好な結果が得られた分析条件

		条件A	条件B	条件C	前報
移動相流量	mL/min	1	0.5	0.3	1
移動相メタノール比率	%	70	72	75	70
LCカラム		*1	*2	*3	*1
DryGasFlow	mL/min	3	3	3	4
Nebrizer圧	psi	30	30	30	60
Corona電流	uA	6	6	30	40
キャピラリー電圧	V	1000	2000	1000	4000
共通条件	Fragmentor電圧60V, DryGas温度350, Vaporizer温度400 カラム温度45				
	*1 Vydac(4.6×250mm, 5um)				
	*2 Inertsil-ODS 3(3.0×150mm, 3um)				
	*3 Supercosil-LC-PAH(2.1×250mm, 5um)				

表4 検出限界

流量(mL/min)	単位:pg			
	1	1	0.5	0.3
条件	前報条件	条件A	条件B	条件C
3-ニトロフルオランテン	15	5	5	5
1-ニトロピレン	20	5	5	5
1,6-ジニトロピレン	5	2	2	2
1,8-ジニトロピレン	6	2	2	2
1,3-ジニトロピレン	6	2	2	2

選択した。その条件および、1-ニトロピレン、3-ニトロフルオランテン 1ng/mL 標準試料のイオンクロマトグラフを図16に示した。これによると、2.1と同様に低いDry Gas Flow, Nebrizer 圧ではノイズが大きくなったが、それぞれ2.0mL/min以上、20psig以上の条件で良好なピークが得られた。なお、ジニトロピレン類でも同様の結果が得られた。

2.3 流量 0.3mL/min

LCカラムとして Supercosil-LC-PAH(2.1 × 250mm, 5um)を用いて検討を行った。検討した条件は1.3で良好な結果が得られたものを選択した。その条件および1-ニトロピレン、3-ニトロフルオランテン 1ng/mL 標準試料のイオンクロマトグラムを図17に示した。その結果、条件5および6でS/N比が大きい良好なクロマトグラムとなった。なお、ジニトロピレン類でも同様の結果が得られた。

3. 検出限界

2.で検討した3つの流量で、それぞれS/N比が大きい良好なクロマトグラフが得られた条件を選び、検量線を作成後、S/N比が5~15付近の標準試料を5回分析し、その標準偏差の3倍を検出限界として求めた。選択した条件および前報の条件を表3に、結果を表4に示した。これによると3つの流量で従来法と比較して感度良く分析できることがわかった。特に移動相流量が

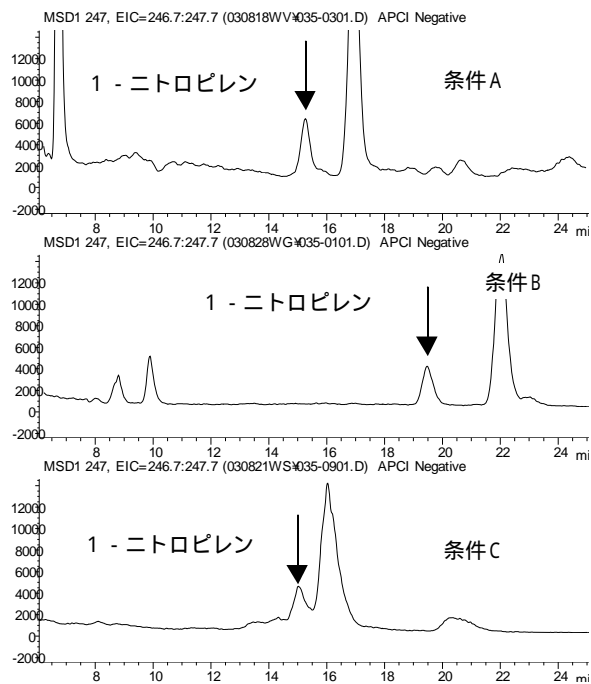


図18 各条件における実試料のイオンクロマトグラム

0.5mL/min や 0.3mL/min の低流量にした場合、メタノールなどの溶媒使用量が少ないというメリットがある。

4. 実試料による検討

国道23号三雲自動車排ガス測定局において平成15年1月9日~10日にかけて24時間、ハイボリュームエアサンプラーで大気を捕集し、前報のとおり前処理を行い、3.で検討した3つの方法で分析を実施した。その結果、今回は1-ニトロピレンのみ検出された。そのクロマトグラムを図18に示した。これによると、移動相流量0.3mLで Supercosil-LC-PAHカラムを用いた方法では、1-ニトロピレンの近くに共存物質のピークが見られ、それは3-ニトロフルオランテンのリテンションタイムと似かよっていた。このため、このカラムを用いた方法では分析ができないことがわかった。しかしながら、移動相流量を低くすることは上述のとおりメリットがあるため、他のカラムを用いて、妨害と分離することは今後の検討課題である。

なお、移動相流量1および0.5mL/minの方法では、対象物質を妨害するピークはみられず、良好なクロマトグラフが得られた。今回の測定で、1-ニトロピレンが0.030ng/m³ 検出された。

まとめ

前報に引き続き LCMS を用いた大気中ニトロピレン

類の分析方法検討を行ったところ、以下のとおりであった。

- 1) フローインジェクション法により条件の検討を行ったところ、キャピラリー電圧や Corona 電流は機器の推奨値、典型値と比べて低い設定値で前報の条件より大きいピーク面積が得られた。
- 2) 移動相の流量を 0.5 および 0.3mL/min に設定し、フローインジェクション法により LC/MS の条件を検討したところ、1mL/min と比べて低い Dry Gas Flow および Nebriizer 圧で良好なピーク形状、大きいピーク面積が得られた。
- 3) 実際に LC 用カラムを取り付けて移動相流量が 1,0.5 および 0.3mL/min における LC/MS の条件検討を行ったところ、フローインジェクション法で検討したよりも Dry Gas Flow および Nebriizer 圧は少し高い値で良好なピーク形状、大きいピーク面積が得られた。これはこれらの値が低いと、イオン化が不安定になるためと考えられた。
- 4) 検出限界を検討したところ、前報で検討した条件よりも感度よく分析できることがわかった。特に移動相流量を低くした場合、移動相に用いる溶媒使用量が削減できる。
- 5) 実試料による検討を行ったところ、移動相 0.3mL/min で Superco-LC-PAH (2.1 × 250mm, 5 μ m) カラムを用いた条件では、1-ニトロピレンおよび 3-ニトロフルオランテンが共存ピークと重なることがわかった。
- 6) 移動相流量を 1 および 0.5mL/min とした方法では、1-ニトロピレンおよび 3-ニトロフルオランテンは共存ピークとは重ならなかった。これらの方法で国道 23 号三雲自動車排ガス測定局で、測定を実施したところ、1-ニトロピレンが 0.030ng/m³ 検出された。

文 献

- 1) 山川雅弘, 佐来栄治, 早川修二(2002) : LC/MS を用いた大気中ニトロピレン類の分析法の検討, 三重県科学技術振興センター保健環境研究部年報, 4, 77-84 (2002)
- 2) 環境省環境保健部環境安全課 : 第 19 回環境科学セミナー (LC/MS 講演会) 講演要旨集(2002)
- 3) 環境省環境保健部環境安全課 : 平成 13 年度版化学物質と環境, 105
- 4) 環境省環境保健部環境安全課 : 平成 14 年度版化学物質と環境, 120
- 5) Hitoshi Kakimoto, Moritsugu Kimura, Yutaka Matsumoto, Shigekatsu Sakai, Fumio Kanoh, Tsuyoshi Murahashi, Kazuhiko Akutsu, Ryoichi Kizu, and Kazuichi

Hayakawa : Comparison of Atmospheric Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Nitropolycyclic Aromatic Hydrocarbons in Kanazawa, Sapporo and Tokyo, Journal of Health Science, 46(1)5-15(2000)

- 6) 酒井茂克, 松本寛, 早川和一 : 空気粒子状物質中のニトロアレン(NPAH)の分析方法, 生活環境中の汚染物質測定マニュアル, 公健協会発行, 57-78
- 7) Hewlett Packard (Agilent Tec.) : LC/MS 取り扱いマニュアル (CD-ROM 版)