

## 短報

# ホルムアルデヒド標準液 (メタノール溶液)のアンフル封入 保存の問題点

岩淵真樹, 長谷川一夫

## Problems of the Preservation of Glass Ampoule for Formaldehyde Standard Solution (Methanol Solution)

Masaki IWABUCHI and Kazuo HASEGAWA

### はじめに

現在、水道水の水質検査用の標準原液の多くはアンフルの形態で市販されている。我々は分析方法の迅速化、使用溶媒の低減化及び内部精度管理の向上等のために、いくつかの測定項目について希釈標準液をアンフルで保存して使用する方法を採用している。今回飲料水中のホルムアルデヒドを分析するために、市販ホルムアルデヒド標準液(1,000mg/lメタノール溶液)をメタノールで希釈してから、アンフルに小分け、封入して保存した標準液(10及び1mg/lメタノール溶液)を開封して検量線を作成したところ、適正な値が得られないことを経験した。そこで、この原因等について検討したので報告する。

### 方法

#### 1. 試薬、標準原液及び標準液

メタノールとアセトンは和光純薬工業株式会社残留農薬測定用を、アセトニトリルは同社高速液体クロマトグラフ用を、n-プロピルアルコールとエタノールは同社試薬特級を、イソプロピルアルコールは同社精密分析用を、ヘキサンは同社残留農薬・PCB試験用をそれぞれ用いた。o-(2, 3, 4, 5, 6-ペンタフルオロベンジル)ヒドロキシアミン(PFBOA)塩酸塩は和光純薬工業株式会社水質試験用を、ホルマリン及びアセチルアセトン同社試薬特級をそれぞれ用いた。ブランク水はエビアン(カルピス伊藤忠ミネラルウォーター株式会社)を使用した。精製水は逆浸透、イオン交換及び活性炭による処理により得られた水を用いた。

内部標準液として、1-クロロデカン(1,000mg/lヘキサン溶液)(関東化学株式会社水質試験用)をヘキサンで希釈して1mg/lヘキサン溶液にして使用した。

ホルムアルデヒド標準液は、以下の3種のものを使用した。PFBOA-ホルムアルデヒド標準液はPFBOA-ホルムアルデヒド標準原液(100ppmヘキサン溶液)(林純薬工業株式会社)をヘキサンで希釈してホルムアルデヒド濃度として1mg/lとした。ホルムアルデヒド標準液(10mg/l及び1,000mg/lアセトニトリル溶液)は生活用品試験法のホルムアルデヒド試験<sup>1)</sup>に準じてホルマリンを水のかわりにアセトニトリルで希釈して調製した。ホルムアルデヒド標準液(100mg/l水溶液)はホルムアルデヒド標準原液(1,000mg/lメタノール溶液)(和光純薬工業株式会社水質試験用)を精製水で希釈して調製した。

#### 2. 保存容器

アンフル管は、アズワン株式会社製の容量1ml褐色のものを、標準試薬保存容器は、有限会社桐山製作所製の容量100ml二重栓付き透明ガラスのものを使用した。

#### 3. 装置

ガスクロマトグラフ質量分析計(GC/MS)はAgilent社製ガスクロマトグラフ(HP6890)に同社製質量分析装置(HP5973)を装備したものをを用いた。分光光度計は島津製作所製紫外可視分光光度計UVmini-1240を用いた。

#### 4. 分析操作

##### 4. 1 GC/MSによるホルムアルデヒド濃度の測定

##### 4. 1. 1 試験溶液の調製

以下の(1)から(4)のとおり各溶媒をアンフルに封入し、その後開封して、溶媒を(1), (2)は200 $\mu$ l, (3), (4)は500 $\mu$ l, 共栓試験管に採取したブランク水50mlに添加し、水道水中のホルムアルデヒドの測定法<sup>2)</sup>に従ってヘキサンで抽出してGC/MS用試験溶液を調製した。

(1)メタノールを室温で10本のアンフルに調製者A, Bが各5本ずつそれぞれ約1ml採取して、バーナーで封入した。

(2)アンフルにメタノール約1ml採取して、水中5分間冷却後バーナーを用いて封入した。

(3)あらかじめ常圧下及び減圧下でアンフル内の空気をアルゴン置換させてから、メタノールをそれぞれアンフルに約1ml採取してバーナーで封入した。

(4)メタノールにかえて、アセトニトリル, n-プロピルアルコール, イソプロピルアルコール, エタノール及びアセトンを、室温でアンフルに約1mlずつ採取してバーナーで封入した。

##### 4. 1. 2 GC/MSによる定量方法

GC/MS用試験溶液1 $\mu$ lをGC/MSに注入し、内部標準法により定量した<sup>2)</sup>。検量線作成には、PFBOA-

表1 メタノールのアンプル封入によるホルムアルデヒド生成量

調製者	生成濃度 (mg/l)						変動係数 (%)	全体の平均 (mg/l)	全体の変動係数 (%)
	1本目	2本目	3本目	4本目	5本目	平均			
A	1.88	1.71	3.11	1.60	3.80	2.42	40.6	3.49	60.6
B	2.88	6.33	2.53	8.10	3.01	4.57	54.8		

※アンプル封入り前メタノール中のホルムアルデヒド濃度は0.3mg/l未満であった

ホルムアルデヒド標準液をヘキサンで希釈してホルムアルデヒド濃度として各0.01, 0.02, 0.1, 0.4mg/lにして使用した。GC/MS測定は以下の条件で行った。

カラム：DB-1(30m×0.25mm, 膜厚0.25μm, J&W社製)

カラム温度：50℃(1min)—5℃/min—130℃

キャリアガス：ヘリウム(1.0ml/min)

注入口温度：250℃

注入方法：スプリットレス注入

モニターイオン(M/Z):1-クロロデカン (91, 105),  
ホルムアルデヒド(181, 195)

#### 4. 2 吸光度法によるホルムアルデヒド濃度の測定

##### 4. 2. 1 試験溶液の調製

ホルムアルデヒド標準液(10mg/lアセトニトリル溶液)を標準試薬保存容器に入れたものとアンプル封入したものを、それぞれ冷蔵および冷凍の条件で保存し、吸光度測定用試験溶液①とした。

また、ホルムアルデヒド標準液(1,000mg/lアセトニトリル溶液)をアンプル封入操作したアセトニトリルと試薬ビン中のアセトニトリルを使ってそれぞれ100倍希釈したものを吸光度測定用試験溶液②とした。

##### 4. 2. 2 吸光度の測定方法

吸光度測定用試験溶液①及び②を精製水で2.5倍希釈した後、アセチルアセトン法<sup>1)</sup>によりそれぞれの吸光度を吸収波長413nmで測定した。なお、吸光度の信頼性を確保するためにホルムアルデヒド標準液(100mg/l水溶液)を2ml採取しアセトニトリルを20ml添加した後、精製水で50mlにしたものの吸光度を吸収波長413nmで測定した。

## 結果及び考察

### 1. 室温でのメタノールのアンプル封入

アンプル封入前のメタノール中のホルムアルデヒド濃

度は、0.3mg/l未満であったが、室温でアンプル封入したメタノールからは、表1のとおりホルムアルデヒドがAの調製者で平均2.42mg/l、Bの調製者で平均4.57mg/l、最高8.10mg/lで調製者間の差が大きかった。また、変動係数はそれぞれ40.6、54.8%で共に大きかった。ホルムアルデヒドはメタノールと空气中的酸素の反応で生成することが知られている<sup>3)</sup>。今回の実験でのメタノールからのホルムアルデヒドの生成率は約0.00016~0.00081w/v%であるが、生成濃度では我々が使用しているホルムアルデヒド標準液濃度10mg/l及び1mg/lと同程度であった。したがって、アンプル保存したホルムアルデヒドのメタノール標準液から適正な検量線が得られなかったのは、アンプル封入によりメタノールからホルムアルデヒドが生成されたことが原因と思われる。

### 2. 種々の条件下でのメタノールのアンプル封入

メタノールからのホルムアルデヒドの生成を低減させるために、アンプルを冷却してメタノールを封入した時と、常圧下及び減圧下で空気をアルゴン置換してメタノールを封入した時のそれぞれのホルムアルデヒド濃度は、表2のとおりであった。室温封入と比較して生成量及びばらつきはともに小さくなったが、平均値は0.97~

表2 メタノールを種々の条件でアンプル封入した時のホルムアルデヒド生成量

条件	最大値 (mg/l)	最小値 (mg/l)	平均値 (mg/l)	変動係数 (%)
冷却 (n=10)	1.51	0.80	1.09	20.6
常圧下アルゴン置換 (n=14)	1.64	0.46	0.97	28.7
減圧下アルゴン置換 (n=3)	1.98	1.59	1.84	11.8

1.84mg/lであり、冷却及び空気をアルゴン置換してもアンプル封入保存する標準液（10及び1mg/l）の調製には適さないことがわかった。

### 3. 他の溶媒のアンプル封入

表3にメタノールを他の溶媒にかえた場合の、封入前と封入後アンプルを開封した時の各溶媒中のホルムアルデヒド濃度を示した。アセトン及びアセトニトリル以外

表3 メタノール以外の溶媒のアンプル封入によるホルムアルデヒド生成量

溶媒	ホルムアルデヒド(mg/l)	
	封入前 (n=1)	封入後 (n=3)
アセトニトリル	<0.1	<0.1
n-プロピルアルコール	0.2	0.3
イソプロピルアルコール	<0.1	0.2
エタノール	<0.1	0.4
アセトン	<0.1	<0.1

は、アンプルに封入することでホルムアルデヒドが0.2～0.4mg/l検出された。アセトンはPFBOAとの反応生成物である非常に大きなピークがクロマト上に認められ、質量分析装置に悪影響を及ぼす。さらに、PFBOAがアセトンとすべて反応して、ホルムアルデヒドを誘導体化できなくなるので、希釈溶媒には適さない。したがって、今回の結果からはホルムアルデヒドの希釈溶媒としてアセトニトリルが使用できる可能性が考えられた。

### 4. ホルムアルデヒド標準液（アセトニトリル溶液）の保存

ホルムアルデヒド標準液（10mg/lアセトニトリル溶液）を標準試薬保存容器とアンプルに移し、アンプルは封入後それぞれ冷蔵保存と冷凍保存した場合の経時変化を吸光度で測定した。調製直前の吸光度を相対濃度100

%とした経時変化を図1に示した。冷蔵、冷凍とも標準試薬保存容器で保存すると2ヶ月にわたって相対濃度の変化がみられなかったがアンプル封入保存では、調製直後に約10%相対濃度が低下した。したがって、アセトニトリルもアンプル封入には適さないと思われる。

### 5. ホルムアルデヒド標準液（アセトニトリル溶液）のアンプル封入による吸光度減少の検討

ホルムアルデヒド標準液（アセトニトリル溶液）のアンプル封入によりホルムアルデヒドの吸光度が減少する原因が、加熱によってホルムアルデヒドが直接分解するのか、ホルムアルデヒドもしくはアセトニトリルの加熱生成物がホルムアルデヒドの分解に関与しているのかを調べるため以下の試験を行った。ホルムアルデヒド標準液（1,000mg/lアセトニトリル）を希釈して10mg/lにする際に、アンプル封入操作をしたアセトニトリルと試薬ビン中のアセトニトリルを使ってできた標準液の吸光度を比較した結果を表4に示した。アンプル封入操作を行ったアセトニトリルで希釈した場合は試薬ビン中のアセトニトリルより約2%低いという結果であった。更にt検定してみると両者の平均値に5%水準で有意差が認められた。上村らは、アンプル中で保管されたチウラムのアセトニトリル溶液の濃度がアセトニトリルから生じた加熱生成物とチウラムの反応により急激に低下すると報告している<sup>4)</sup>。今回の実験においてもアンプル封入時の加熱によって、アセトニトリルから生じた加熱生成物がホルムアルデヒドと反応し、ホルムアルデヒドの吸光度が減少した可能性が推定される。

メタノールはアンプル封入すると加熱生成物であるホルムアルデヒドが生成し、ホルムアルデヒド濃度が増加した。アセトニトリルはアンプル封入するとホルムアルデヒド濃度が減少した。他の溶媒についてもアンプル封

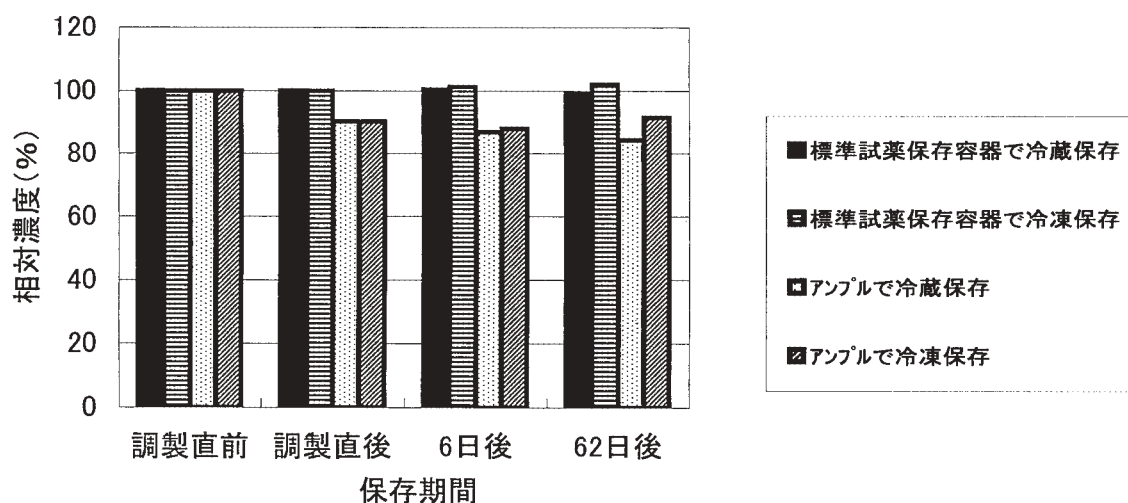


図1 保存形態別相対濃度の経時変化

**表 4** アンブル封入及び試薬ビン中のアセトニトリルにより調製したホルムアルデヒド標準液の吸光度の比較

試料No	アンブル封入したアセトニトリルで調製	試薬ビン中のアセトニトリルで調製
1	0.520	0.524
2	0.521	0.523
3	0.524	0.525
4	0.517	0.525
5	0.503	0.525
6	0.515	0.529
7	0.507	0.527
平均値	0.515	0.526
SD	0.0075	0.0019

入により目的とする物質の濃度を变化させる可能性が考えられる。したがって、アンブル封入を行う場合はこれらのことを十分に考慮することが必要と思われる。

#### まとめ

ホルムアルデヒドのメタノール標準液を希釈するための溶媒としてメタノールをアンブル封入すると、封入時にメタノールが酸化されてホルムアルデヒドが生成された。

アンブルを氷冷もしくはアルゴン置換しても、室温封入に比べて低濃度であるが、ホルムアルデヒドが生成さ

れたことから、メタノールは標準液濃度（10及び1mg/l）の調製には適さないことが明らかになった。

メタノール以外について、ホルムアルデヒドの希釈溶媒を検討したところ、アセトン及びアセトニトリルはホルムアルデヒドを生成しなかった。しかし、アセトンはPFOAと反応し、消費してしまうので希釈溶媒には適さない。

ホルムアルデヒド標準液（10mg/lアセトニトリル溶液）は、アンブル封入時にホルムアルデヒドの吸光度が低下したのでアセトニトリルもアンブル封入保存するための希釈溶媒には適さないことが明らかになった。

（平成18年7月20日受理）

#### 文 献

- 1) 日本薬学会編：衛生試験法・注解2000, pp.611, 金原出版, 東京(2000)
- 2) 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について, 厚生労働省告示第261号, 平成15年7月22日
- 3) 長倉三郎ほか: 理化学辞典, 第5版, pp.1325-1326, 岩波書店, 東京(1998)
- 4) 上村 仁, 伊藤伸一: チウラム標準液保存時の濃度減少について, 水道協会雑誌, 72(4), 34-37(2003)