

## 短報

### ナノ・マイクロLC/MSによる環境・廃棄物試料のグリーンケミストリ分析技術の開発

長谷川敦子, 鈴木茂\*, 柴田康行\*\*  
(環境保全部, \*中部大学, \*\*国立環境研究所)

共同研究 [平成 17 - 19 年度]

#### 1 目的

環境のための化学物質分析が環境汚染の原因になりかねない状況を改善するために、分析により消費される化学物質を減少させる必要がある。そこで、環境および廃棄物に関する化学分析分野のグリーンケミストリ技術として、複雑なマトリクスを含む試料中の極微量成分を分析するナノ・マイクロフロー LC および LC/MS 分析技術を開発することにより、分析の諸過程で発生する廃溶媒による環境負荷を削減する。

#### 2 方法

中部大学および国立環境研究所は、いくつかのメーカーと協力して、低流量で高い分析性能を発揮する LC システム、LC と MS のインターフェイス、イオン化装置などを試作した。当センターの研究分担は、試作品を実際の環境試料分析に用いて、問題点、課題点などを抽出し、開発担当にフィードバックすることで、さらなる改良のための情報を提供することである。

##### 2. 1 試料前処理

従来の溶媒多消費型 LC/MS で行っていた環境試料測定をマイクロ LC 仕様にアレンジするための検討を行った。

通常、河川水などの試料は、最終的には有機溶剤溶液となって測定に供される。グラディエント測定の場合はこの溶液が移動相初期条件と同じ組成であることが望ましいが、測定対象となる物質は極性が低いことが多く、最終溶液の水分濃度が高くなると析出したり感度が落ちたりすることがある。より多くの物質を対象にした試料溶液には有機溶剤濃度が高いものが有利だが、LC 測定で良好なピークを得るには水分濃度が高い方が望ましい場合が多い。マイクロ LC に用いるカラムにはその傾向が顕著なので、測定に適切な条件を検討しておく必要がある。

そこで、標準試料、河川水試料を例にし、3種類の主要な臭素化難燃剤（テトラブロモビスフェノール A : TBBP-A, ヘキサブロモシクロデカン : HBCD, デカブロモジフェニルエーテル : DBDE, それぞれの安定同位体を内標準物質として用いた）を対象物質として、析出などの問題が起こらずにピーク形状の良好になる条件を探した。なお、検討に用いた河川水試料は、500 mL をエムポアディスクで固相抽出して酢酸メチルで溶出、窒素吹きつけで乾固、アセトニトリルで定容して用いた。この方法で臭素化難燃剤や多くの農薬類が回収される。検討に用いた測定条件は以下のとおりである。

LC GL サイエンス MP711

カラム Monocap for fastflow 0.2 mm\*150 mm  
カラム温度 室温

溶離液 A : 水, B : アセトニトリル

0 → 1 min A : B = 90 : 10

1 → 10 min A : 90 → 0 B : 10 → 100

10 → 20 min A : B = 0 : 100 5 μL/min

注入量 5 μL

MS Applied Biosystems MDS SCIEX 製  
API3000 三連四重極型質量分析計

#### 2. 2 LC流路の検討

有機溶媒 100%の試料溶液を測定できるように、LC の改造を行った。新しく開発したミキサーや低容量向きのバルブを用い、LC の流路を変えて試料を有機溶媒ラインに導入した。通常は有機溶媒系と水系の混合が終わってから試料溶液を導入するため、分析開始時は水の割合が高く試料溶液にはある程度水分がないとピーク形状が悪くなったが、有機溶媒だけのラインに導入すれば、有機溶媒 100%の試料でもピーク形状は乱れないで済む。ただし、流速が遅いので初期時間を長くとる必要がある。

#### 3 結果と考察

##### 3. 1 試料溶液水分量とピーク形状

試料溶液のアセトニトリル濃度が 50%あるとカラムの先端濃縮効果が十分働かないと見られた。3つの対象物質のうち最も早く溶出する TBBP-A は比較的極性が高く、リーディングによるピーク形状の乱れが見られた。試料溶液の有機溶剤濃度を下げると TBBP-A のピーク形状は改善したが、HBCD の応答が不安定になった。

このように当初のシステムだと適正な溶媒濃度範囲が極めて狭いことがわかった。このことは組成の変わりやすい環境試料を扱う上で不都合である。よって、以後は試料溶液の有機溶媒濃度が高くてもよい測定条件を検討した。

導入する試験溶液量を 5  $\mu$ L から 0.1  $\mu$ L まで減少させるとアセトニトリル濃度 60%でも良好な分離が得られた。しかし 70%になると TBBP-A のピークが太くなり、80%では形状がゆがむようになった。試料注入量を少なくすると若干有機溶媒濃度が高い試料にも対応できるようになるが、100%有機溶媒試料には使用できないことがわかった。

### 3. 2 LC流路変更の効果

100%有機溶媒試料溶液を測定できるようにするため、LC 流路を変更した。

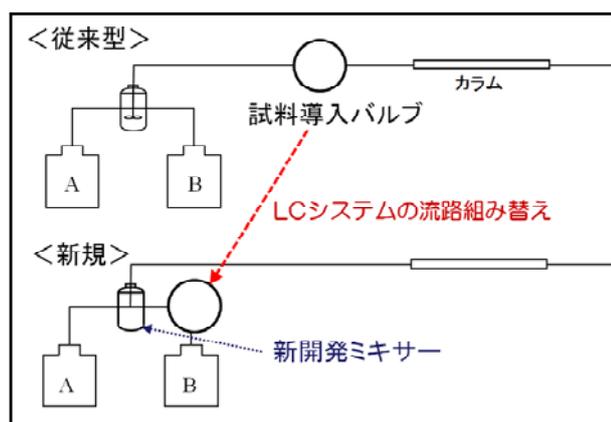


図1 流路を組み替えたLCシステム

図1に示すように、試料導入バルブを有機溶媒のみの流路に移動させた。移動相流量は全体では 5  $\mu$ L/min であるが、有機溶媒流路のみだと分析初期には 10%からのグラディエントなので 0.5  $\mu$ L/min である。試料導入はゆっくり行われ、カラム先端に濃縮される。このシステムで臭素化難燃剤を測定したクロマトを図2に示す。

溶離液 A : 水, B : アセトニトリル  
 0  $\rightarrow$  5 min A : B=90 : 10  
 5  $\rightarrow$  10 min A : 90  $\rightarrow$  0 B : 10  $\rightarrow$  100  
 10  $\rightarrow$  20 min A : B=0 : 100 5  $\mu$ L/min  
 注入量 5  $\mu$ L

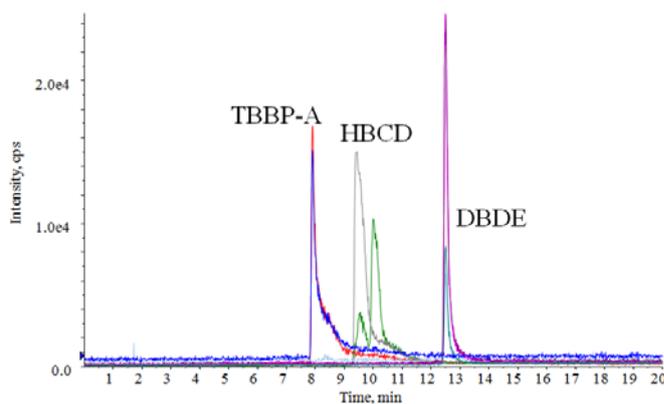


図2 新LCシステムでの測定例

図2に示すように、溶出の早い TBBP-A にテーリングが見られ、HBCD の異性体分離が不十分ではあるが、これまでは最も応答安定性が低かった DBDE のピーク形状や感度が大きく改善された。試料溶液を有機溶剤で調製し注入量は 5  $\mu$ L のままでも分離可能であった。このことはこれまで開発してきた環境中化学物質分析法をほとんどそのままマイクロ LC に移行可能であることを意味し、応用範囲が広がることになる。

### 4 まとめ

LC の流路や試料注入バルブの位置などを変更し溶媒ミキサーを改良することにより、これまでの溶媒多消費型 LC/MS に合わせて開発してきた分析法を大きく変えることなくマイクロ LC に適用可能であることを確認できた。今後さらにミキサーやバルブの改良を進め精度の高い測定ができるよう検討を重ねていく予定である。

環境分析における LC/MS の重要性はますます大きくなるであろう。移動相流量を mL 単位から  $\mu$ L 単位にできれば、有機溶媒の消費を押しさえられ、環境のための分析がかえって環境負荷になる事態を減らすことができる。

\* 共同研究：日本学術振興会(科学研究費補助金事業)基礎研究(A) に研究協力者として参加。他の研究協力者は、上堀美知子(大阪府環境農林水産総合研究所)、吉田寧子((株)住化分析センター)