

Application News

No. M269

GC/MS
Gas Chromatography Mass Spectrometry

トリプル四重極型ガスクロマトグラフ質量分析計を用いた河川水中のノニルフェノールの高感度分析

High Sensitive Analysis of Nonylphenol in River Water Using GC-MS/MS

ノニルフェノール (NP) は、界面活性剤の製造原料やゴムおよびプラスチックの酸化防止剤などに用いられてきましたが、近年、環境中で内分泌かく乱作用を引き起こす可能性がある物質 (環境ホルモン) に指定されました。

NP は、アルキルフェノール類の一種で、理論上 211 種の異性体が存在します。その中でも、ノネン (プロピレンの三量体) とフェノールの反応により生成される主成分は分岐型 4-NP です。

そのため、分岐型 4-NP の 13 異性体が、2012 年 8 月に“環境基本法に基づく水質汚濁に係る生活環境の保全に関する環境基準”のうち、“水生生物の保全に係る環境基準項目”に追加されました。分析方法は固相抽出ーガスクロマトグラフー質量分析法が採用されました。定量方法は、① 4-NP 標準品 (混合物) に含まれる 13 異性体の組成比を求め、② 各異性体の検量線を用いて検出された個々の異性体の濃度を算出し、③ それぞれの異性体にその組成比を乗じて積算します。

しかし、異性体別にガスクロマトグラフ質量分析計 (GC-MS) を用いて測定すると、分析カラムや装置感度などの影響により、組成比の低い 12 番目の異性体のピークを検出することが難しい場合があります。

本報では、*m/z* における選択性が高いトリプル四重極型ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC-MS/MS) を用いて河川水中のノニルフェノールの分析について検討を行いました。MS/MS の分析条件を最適化することで、GC-MS では測定が難しい 4-NP の 13 異性体を高感度で選択的に検出できました。また、夾雑物を多く含む河川水中の NP 分析において、回収率の低下が懸念されるクリーンアップ手順を省略しても、同定精度を損なわずに分析することができました。

K. Tanaka T. Kondo

標準試料の調製

Preparation of Standard Solution

ノニルフェノールの標準試料は、4-ノニルフェノール標準品 (コード No.: 28640-96, 関東化学)、4-(3,6-ジメチル-3-ヘプチル)フェノール-13C6 標準液 (コード No.: 043-32861, 和光純薬工業) および p-n-ノニルフェノール-d4 標準品 (コード No.: 141-07081, 和光純薬工業) を使用しました。

検量線作成用標準液は 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 $\mu\text{g/mL}$ で調製し、すべての検量線標準液系列で 4-(3,6-ジメチル-3-ヘプチル)フェノール-13C6 (サロゲート) が 0.1 $\mu\text{g/mL}$ 、p-n-ノニルフェノール-d4 (内標準) が 0.1 $\mu\text{g/mL}$ となるように調製しました。

分析条件

Analytical Conditions

本法の装置システムおよび装置パラメータを Table 1 に、測定に用いたイオンおよびトランジションを Table 2 に示します。

GCMS-TQ8040 は、シングル GC-MS としても高感度分析が可能な装置です。そのため、GC-MS モードと GC-MS/MS モードとを切り替えてデータを採取しました。

Table 1 GC-MS および GC-MS/MS の分析条件
Analytical Conditions of GC-MS and GC-MS/MS

トリプル四重極型ガスクロマトグラフ質量分析計:GCMS-TQ8040		MS	
GC		GC-MS	
カラム	: Rxi-5 ms (30 m \times 0.25 mm I.D., 0.25 μm) ^{*1}	イオン源温度	: 230 $^{\circ}\text{C}$
ガラスインサート	: シングルガスネックライナー, ウール付 ^{*2}	インターフェース温度	: 280 $^{\circ}\text{C}$
気化室温度	: 250 $^{\circ}\text{C}$	測定モード	: Q3SIM
注入モード	: スプリットレス	イベント時間	: 0.3 秒
サンプリング時間	: 1 分	GC-MS/MS	
試料注入量	: 2 μL	測定モード	: MRM
制御モード	: 線速度一定 (40 cm/秒)	ループ時間	: 0.3 秒
オープン温度	: 50 $^{\circ}\text{C}$ (1 分) \rightarrow (8 $^{\circ}\text{C}/\text{分}$) \rightarrow 300 $^{\circ}\text{C}$ (3 分)		
高圧注入	: 200 kPa (1.5 分)		

*1 コード No.: 13423 *2 コード No.: 567366

Table 2 GC-MS および GC-MS/MS のモニターイオン
Monitor Ions of GC-MS and GC-MS/MS

ID#	化合物名	GC-MS		GC-MS/MS	
		Target Ion	Ref. Ion	Target Ion	Ref. Ion
NP1	4-(2,4-ジメチルヘプタン-4-イル) フェノール	121	163	163.00 > 107.10	163.00 > 121.10
NP2	4-(2,4-ジメチルヘプタン-2-イル) フェノール	135	220	135.00 > 107.10	135.00 > 95.10
NP3	4-(3,6-ジメチルヘプタン-3-イル) フェノール	135	107	135.00 > 107.10	135.00 > 95.10
NP4	4-(3,5-ジメチルヘプタン-3-イル) フェノール	149	191	149.00 > 107.10	149.00 > 121.10
NP5	4-(2,5-ジメチルヘプタン-2-イル) フェノール	135	163	135.00 > 107.10	135.00 > 95.10
NP6	4-(3,5-ジメチルヘプタン-3-イル) フェノール	149	191	149.00 > 107.10	149.00 > 121.10
NP7	4-(3-エチル-2-メチルヘキサン-2-イル) フェノール	135	220	135.00 > 107.10	135.00 > 95.10
NP8	4-(3,4-ジメチルヘプタン-4-イル) フェノール	163	121	163.00 > 107.10	163.00 > 121.00
NP9	4-(3,4-ジメチルヘプタン-3-イル) フェノール	149	107	149.00 > 107.10	149.00 > 121.10
NP10	4-(3,4-ジメチルヘプタン-4-イル) フェノール	163	121	163.00 > 107.10	163.00 > 121.10
NP11	4-(2,3-ジメチルヘプタン-2-イル) フェノール	135	220	135.00 > 107.10	135.00 > 95.10
NP12	4-(3-メチルオクタン-3-イル) フェノール	191	163	191.00 > 107.00	191.00 > 121.20
NP13	4-(3,4-ジメチルヘプタン-3-イル) フェノール	149	107	149.00 > 107.10	149.00 > 121.10
Surr.	4-(3,6-ジメチル-3-ヘプチル)フェノール- ¹³ C ₆	155	113	155.00 > 113.10	155.00 > 127.10
I.S.	p-n-ニルフェノール-d4	111	224	224.00 > 111.10	224.00 > 98.10

13 異性体の分離

Separation of 13 Nonylphenol Isomers

4-ノニルフェノールの分析では、あらかじめ GC-FID を用いて 13 異性体ごとの組成比を求める必要があります。そのため、4-NP 標準液を測定し、13 異性体をそれぞれ分離できる GC 条件を検討しました。

分離に影響する要因として、分析カラムの種類およびキャリアガスの線速度、カラムオープンの昇温プログラムなどが考えられます。カラムオープンの昇温プログラムは検査方法で指定されているため、その他の条件について検討しました。

検討の結果、分析カラムは "Rxi-5ms (30 m × 0.25 mm I.D., 0.25 μm)" を使用し、キャリアガスの線速度は 40 cm/秒に設定することで、13 異性体ごとに分離することができました。(分析条件の詳細は Table 1 に記載)

Fig. 1 に 0.5 μg/mL の 4-ノニルフェノール標準液を GC-MS の Q3 スキャンモードで測定したトータルイオンカレントクロマトグラムを示します。

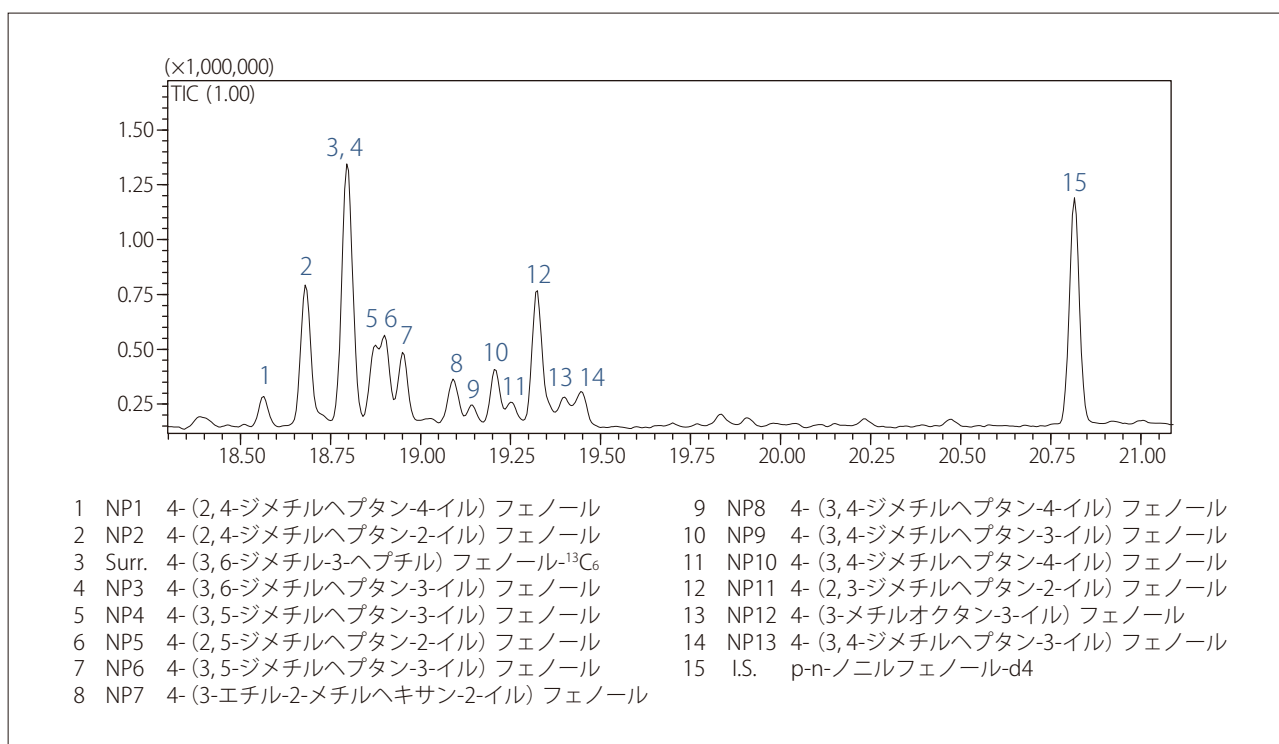


Fig. 1 4-ノニルフェノール標準液 (0.5 μg/mL) のトータルイオンカレントクロマトグラム
Total Ion Current Chromatogram of 4-Nonylphenol Standard Solution (0.5 μg/mL)

標準試料の分析

Analysis of 4-Nonylphenol Standard Solutions

0.01 µg/mL の 4- ノニルフェノール標準液（検量線の最小濃度）を GC-MS の Q3SIM モードおよび GC-MS/MS の MRM モードで測定した結果を Fig. 2 に示します。組成比が小さく感度が低い 12 番目の異性体（NP12）は、Q3SIM モードで検出することが困難でした。最適化した MRM モードで測定することにより、分析カラムのバックグラウンドの影響を受けず、50 倍程度感度が向上しました。

MRM モードでの定量性を確認するために、Q3SIM モードおよび MRM モードの繰り返し分析精度と検量線の直線性（相関係数：R）を Table 3 に示します。検量線の直線性は、全ての成分について 0.9999 以上でした。また、繰り返し分析精度は 6.01 %（NP12）以下と良好な結果が得られました。

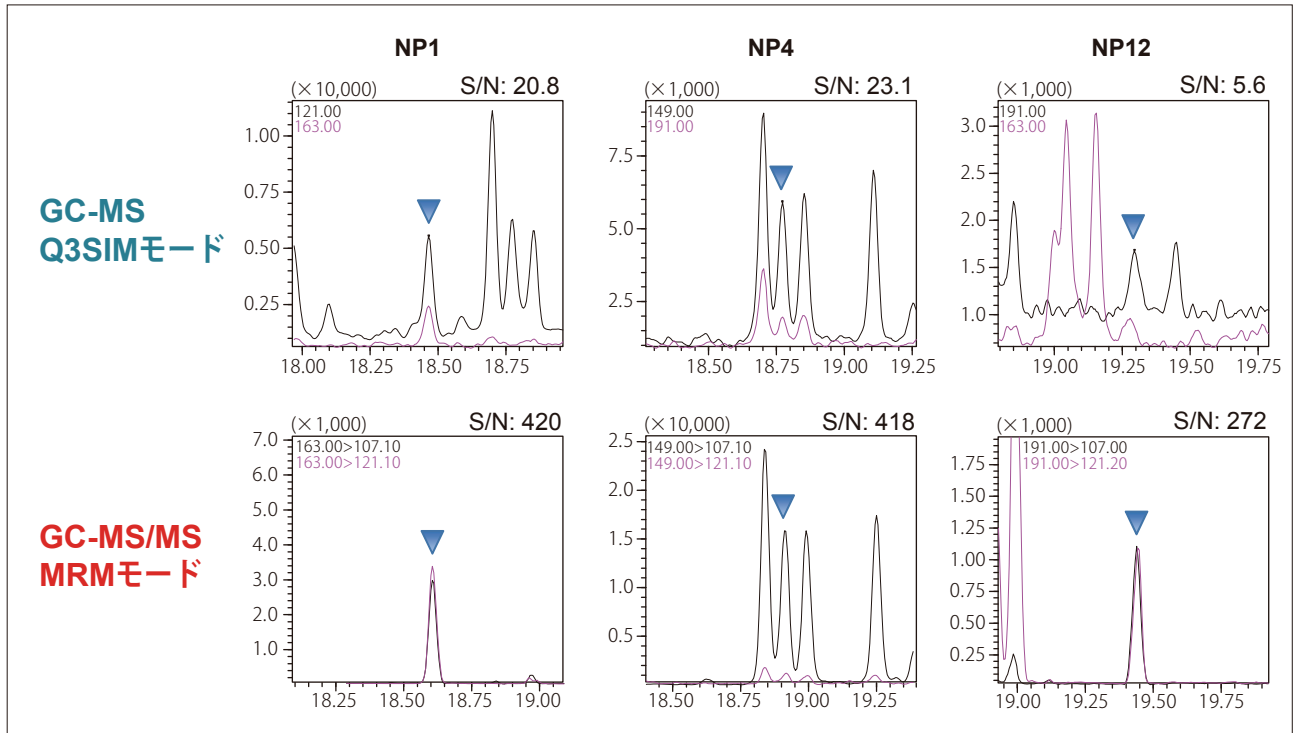


Fig. 2 NP1, NP4 および NP12 の SIM クロマトグラム (上) および MRM クロマトグラム (下) (0.01 µg/mL 標準液)
SIM Chromatogram (Top) and MRM Chromatogram (Bottom) of NP1 and NP4, NP12 (0.01 µg/mL Standard Solution)

Table 3 繰り返し分析精度および検量線の直線性 (0.01 µg/mL, n=5)
Repeatability and Linearity of Calibration Graph (0.01 µg/mL, n=5)

異性体 No.	GC-MS				GC-MS/MS			
	平均 (µg/mL)	標準偏差	%RSD	相関係数: R	平均 (µg/mL)	標準偏差	%RSD	相関係数: R
NP1	0.01005	0.00015	1.47	0.999999	0.01037	0.00038	3.64	0.999997
NP2	0.00980	0.00036	3.69	0.999993	0.00992	0.00014	1.42	0.999994
NP3	0.01015	0.00016	1.58	0.999999	0.01015	0.00025	2.47	0.999997
NP4	0.01037	0.00016	1.51	0.999998	0.01025	0.00024	2.34	0.999998
NP5	0.00980	0.00024	2.44	0.999999	0.00994	0.00027	2.74	0.999999
NP6	0.00986	0.00036	3.62	0.999999	0.00992	0.00032	3.23	0.999993
NP7	0.01029	0.00034	3.31	0.999992	0.00983	0.00029	2.95	0.999995
NP8	0.01033	0.00034	3.27	0.999997	0.00984	0.00021	2.15	0.999997
NP9	0.00941	0.00013	1.41	0.999992	0.01014	0.00030	2.97	0.999995
NP10	0.01034	0.00028	2.75	0.999995	0.00989	0.00010	1.05	0.999998
NP11	0.01026	0.00027	2.60	0.999996	0.01005	0.00013	1.31	0.999992
NP12	0.01019	0.00077	7.52	0.999986	0.00985	0.00059	6.01	0.999954
NP13	0.01012	0.00025	2.47	0.999999	0.01007	0.00035	3.52	0.999992

■河川水の4-ノニルフェノールの分析

Analysis of 4-Nonylphenol in River Water

河川水の前処理フローを Fig. 3 に示します。固相カラムは、Oasis HLB Plus Short Cartridge (コード No.: 186000132, Waters) を、加圧式固相抽出装置は、AQUALoader Twin SPL698T (コード No.: 6030-69804, ジェールサイエンス) を使用しました。本法では、溶出後に行うシリカゲルによるクリーンアップ手順を省略しました。

精製水および河川水に添加したサロゲート物質 (Surr.) の回収率を Table 4 に示します。実試料で回収率が低下しましたが、50 ~ 120 % の範囲内であるため、前処理段階での吸着などによるロスを最小限に抑えることができたと考えられます。

次に、前処理した河川水サンプルに 0.05 µg/mL となるように 4-ノニルフェノール標準液を添加し、夾雑成分の影響を確認しました。Fig. 4 (上) に示すように Q3SIM モードで測定した場合、NP1、NP4 および NP12 などは夾雑物の影響で同定が困難でした。これらの成分について MRM モードを用いて測定した結果を Fig. 4 (下) に示します。m/z で選択的に分離することで、夾雑成分の影響を受けず、ピーク同定が容易でした。

Table 4 サロゲート物質の回収率
Recovery of Surrogate

	精製水	河川水1	河川水2
回収率 (%)	77.3	66.0	64.2

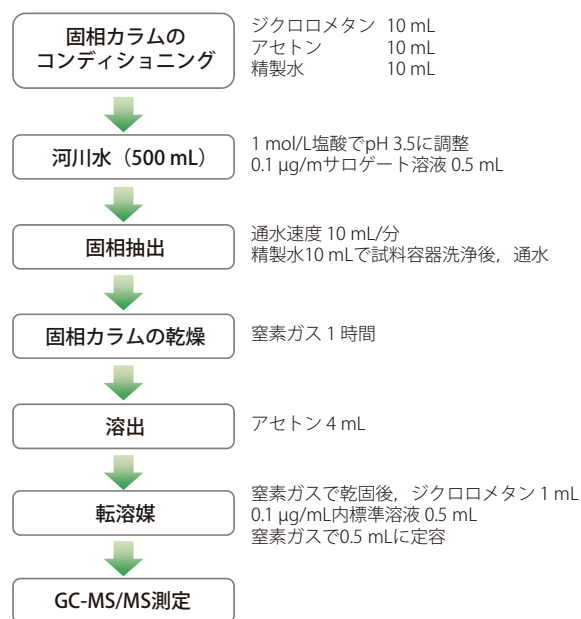


Fig. 3 河川水の前処理フロー
Sample Pretreatment Flow of River Water

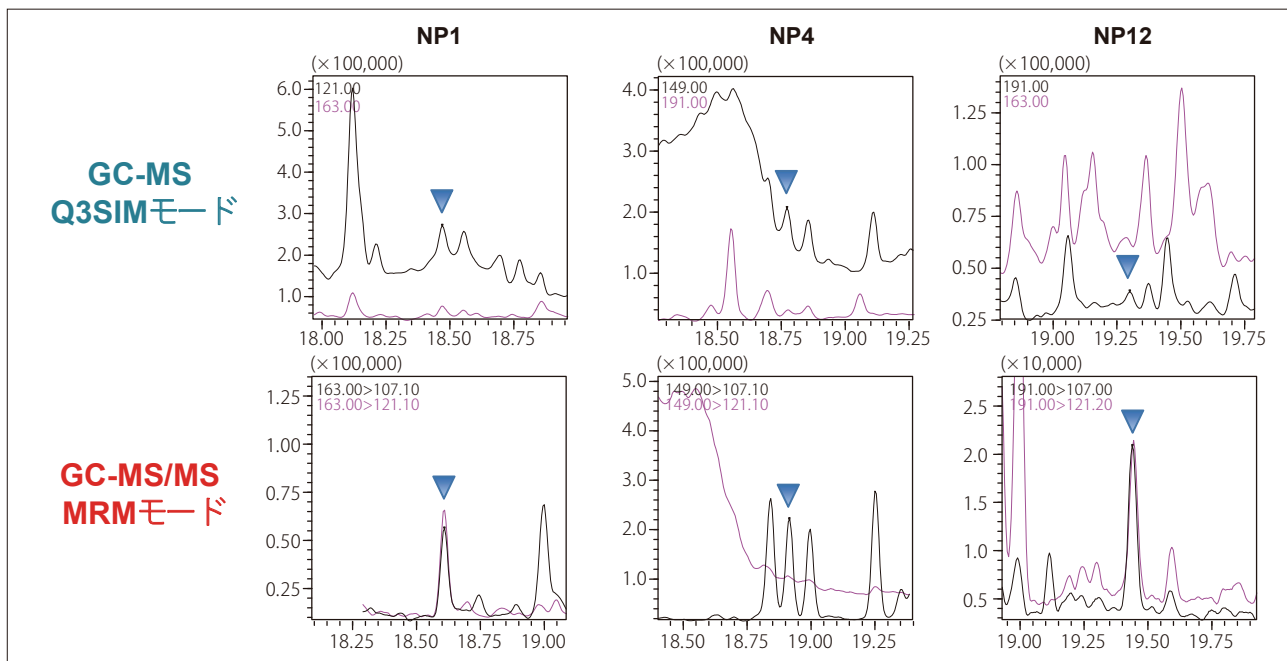


Fig. 4 標準添加した河川水サンプルの SIM クロマトグラム (上) および MRM クロマトグラム (下)
SIM Chromatogram (Top) and MRM Chromatogram (Bottom) of Spiked River Water Sample

■結論

Conclusions

従来 GC-MS を用いた水中のノニルフェノール分析において、異性体別に定量する上で問題となる NP12 の感度は、GC-MS/MS の MRM モードを最適化することで 50 倍程度向上しました。

また、GC-MS/MS を用いることで、GC-MS では夾雑成分と重なりが大きく同定が難しいピークについて m/z で選択的に分離が可能であったため、実試料における同定精度を向上させることができると考えられます。さらに、河川水のような夾雑成分を多く含むサンプルにおいても、煩わしいクリーンアップを省略でき、前処理の簡略化が実現できました。

株式会社 島津製作所

分析計測事業部
グローバルアプリケーション開発センター

初版発行：2014年9月

島津コールセンター ☎ 0120-131691
(075)813-1691

※本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。
改訂版は下記の会員制 Web Solutions Navigator で閲覧できます。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>

会員制情報サービス「Shim-Solutions Club」にご登録ください。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/>

会員制Webの閲覧だけでなく、いろいろな情報サービスが受けられます。