環境水サンプルのターゲットスクリーニングと新たなデータベースの作成

アプリケーションノート

環境

著者

Wayne Civil
National Laboratory Service
Starcross,
UK

概要

水政策枠組み指令 (WFD) の導入に対応するために、Agilent 5975 シリーズ GC/MSD のデコンボリューションレポート作成ソフトウェア (DRS) を用いて、複数残留物質のスクリーニングメソッドを開発しました。

また、揮発性有機化合物 (VOC) と半揮発性有機化合物 (SVOC) を含む 1000 種類を超えるターゲット化合物を網羅した新たなデータベースを作成しました。これにより、抽出サンプル中の有機汚染物質の迅速な同定およびレポート作成が可能になります。

Agilent Technologies

はじめに

欧州委員会は 2000 年 12 月、WFD 2000/60/EC 指令を導入しました。その主な狙いは、より良い水域環境の計画および実現を可能にすることです。2015 年までに欧州連合の全加盟国の水域環境を保全し、水質をさらに良くすることがこの指令の目標になっており、各国に河川流域管理計画の策定が求められています。イングランドとウェールズでは、11 の河川流域で管理計画があり、欧州連合全体ではさらに 40 の国際的な河川流域計画があります。

WFD は、地表淡水塊 (湖、小川、運河、河川など)、地下水、過渡水塊 (河口)、沿岸水 (干潮水位から 1 マイルまで) に適用されます。既存の EU 指令とは異なり、WFD はすべての水塊に適用されます。WFD のもとでは、監視的、運用的、および調査的な化学物質のモニタリングが求められます。環境機構 (EA) には、こうした化学物質モニタリングをコスト効率の良いものにすることが求められていますが、あらゆる場所で、あらゆる物質をモニタリングすることは不可能です。また、これまでの調査等では存在していない新規汚染物質を特定し、将来的なモニタリングの優先順位を通知する必要があります。

WFD に伴うこれらの問題に対応するために、EA は GC/MS のスクリーニングツールの開発を委託しました。その要件は以下のとおりです。

- WFD で定められた任意の水塊中に存在する幅広い汚染物質を検出できるスクリーニングメソッド
- 単一のサンプルで VOC と SVOC を同定できること
- 検出下限 (LOD) 0.1 µg/L
- 水塊の負荷およびリスクをバリデーションするための低コストソリューション
- 新規物質を追加できること

GC/MS を分析テクニックとして選択したのは、さまざまな化学物質の同定や測定に広く適用できるためです。5975 シリーズ GC/MSD では、優れた感度が得られ、GC/MS 用のデコンボリューションレポート作成ソフトウェア (DRS) に、リテンションタイムロックメソッドを用いています。これにより、Agilent GC/MSD ChemStation、自動質量スペクトルデコンボリューションおよび同定ソフトウェア (AMDIS)、NIST 質量スペクトル検索プログラム (NIST) で得られた結果が 1 つのレポートにまとめられます。この手法を取ることで、データ解析時間を短縮し、化合物同定の精度を高めるのに必要な自動化機能を得ることができます。

有害産業化学物質 (HIC) データベースを基に、1000 種類を超えるターゲット化合物を網羅する、より大規模な新ターゲットデータベースを作成しました。

実験方法

サンプル前処理

サンプル 1 L に内部標準を添加します。ジクロロメタン (DCM) 溶媒 50 mL を用いて 15 分間サンプルを液液抽出し、抽出液を採取します。その後、残ったサンプルを酸性化し、さらに 50 mL の DCM を用いて 15 分間液液抽出します。その後、抽出液をひとつにまとめて 1 mL に濃縮し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、オートサンプラバイアルに移して GC/MS で分析します。

結果と考察

分析テクニック

GC/MS を分析テクニックとして選択したのは、さまざまな化学物質の同定や測定に広く適用できるためです。また、DRS ソフトウェアを使用したのは、データ解析時間を短縮し、化合物同定の精度を高めるのに必要な自動化機能が得られるためです。機器および分析条件を表 1 に、使用したソフトウェアを表 2 に示しています。

表 1.　機器および分析条件

ガスクロマトグラフ	**Agilent 7890A シリーズ GC**
オートサンプラ	Agilent 7683B オートサンプラ
注入口	Agilent PTV (温度プログラム気化)
カラム	0.25 mm × 30 m、0.25 µm HP5-MS UI
キャリアガス	ヘリウム、コンスタント圧力モード
リテンションタイムロッキング	フルオレン、15.577 分でロック
オーブン温度プログラム	40 °C (0.2 分)、10 °C/min で 40～300 °C (8 分)
PTV 注入口パラメータ	コールドスプリットレス、20 °C (0.2 分)、720 °C/min で 20～300 °C
注入量	1.5 µL
分析時間	36 分
質量選択検出器	**Agilent 5975C Inert XL MSD、トリプルアクシスディテクタ (TAD) 搭載**
チューンファイル	atune.u
採取モード	EI フルスキャン
スキャン範囲	35～566 µm
イオン源、四重極、トランスファーライン温度	それぞれ 250 °C、150 °C、280 °C
溶媒待ち時間	1.82 分

表 2.　ソフトウェア

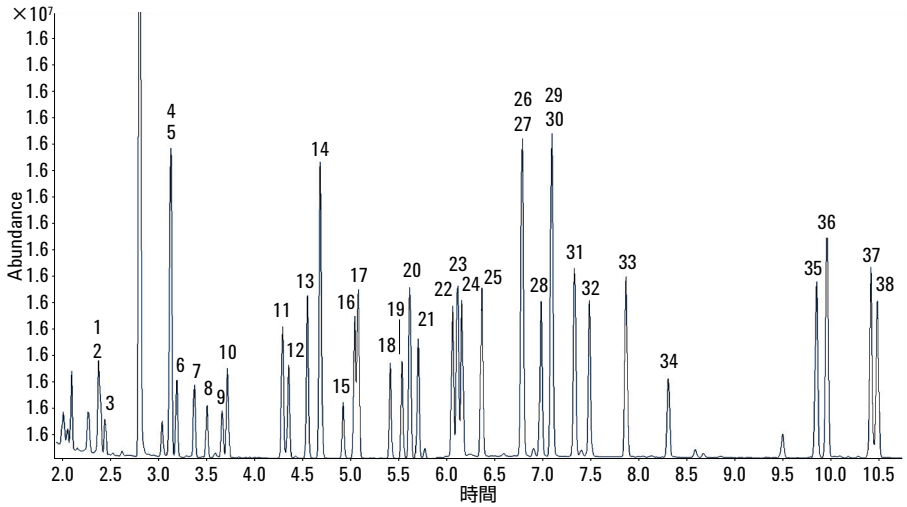
ソフトウェア
GC/MSD ChemStation
デコンボリューションレポート作成ソフトウェア (DRS)
自動質量スペクトルデコンボリューションおよび同定ソフトウェア (AMDIS)
NIST08 質量スペクトル化合物ライブラリ (NIST)
有害産業化学物質データベース (HIC)

目的の揮発性有機化合物 (VOC) 分析が良好なクロマトグラムが得られるように、注入口パラメータを最適化しました。5975 シリーズ GC/MSD は、VOC 分析に不可欠なコールドスプリットレス注入を使用でき、十分な感度を得ることができます。図 1 に、一般的なクロマトグラムの VOC の部分を示しています。

サンプル前処理

幅広い化合物を抽出するための手段として、中性および酸性条件で DCM を用いた液液抽出メソッドを選択しました。溶媒/マトリックスの相互作用を最大化し、エマルション生成を抑えるために、抽出にはボトルローラーを使用します。また、Zymark Turbo-Vap 濃縮装置を用いて抽出液を濃縮します。これにより、温度およびガス流速コントロールの際に目的の揮発性物質の損失を抑えることが可能になります。

サンプル採取および前処理の際には、十分な維持管理対策を講じ、汚染を混入させないことが重要です。ラボでは、専用のスクリーニング室を設け、高品質の DCM を使用すると効果的です。専用のガラス容器を 40～50 °C で保管すれば、ラボで一般的に見られるフタル酸汚染や空気中浮遊物質による汚染の影響を軽減することができます。サンプル前処理のバッチごとに、ブランク抽出を実施します。その後、抽出プロセス中に生じたなんらかの汚染について、ブランクにより補正します。



ピーク	化合物名	ピーク	化合物名	ピーク	化合物名
1	トリクロロエチレン	14	m/p-キシレン	27	1,2,4-トリメチルベンゼン
2	ジブロモメタン	15	ブロモホルム	28	1,3-ジクロロベンゼン
3	ブロモジクロロメタン	16	スチレン	29	sec-ブチルベンゼン
4	trans-1,3-ジクロロプロピレン	17	o-キシレン	30	1,4-ジクロロベンゼン
5	トルエン	18	1,1,2,2-テトラクロロエタン	31	p-イソプロピルトルエン
6	1,1,2-トリクロロエタン	19	1,2,3-トリクロロプロパン	32	1,2-ジクロロベンゼン
7	1,3-ジクロロプロパン	20	イソプロピルベンゼン	33	n-ブチルベンゼン
8	クロロジブロモメタン	21	ブロモベンゼン	34	3-クロロ-1,2-ジブロモプロパン
9	1,2-ジブロモエタン	22	2-クロロトルエン	35	1,2,4-トリクロロベンゼン
10	テトラクロロエチレン	23	n-プロピルベンゼン	36	ナフタレン
11	クロロベンゼン	24	4-クロロトルエン	37	1,2,3-トリクロロベンゼン
12	1,1,1,2-テトラクロロエタン	25	1,3,5-トリメチルベンゼン	38	ヘキサクロロブタジエン
13	エチルベンゼン	26	tert-ブチルベンゼン		

図 1.　抽出した Restek 502.2 VOC 混合液 1 µg/L のクロマトグラムの揮発性物質セクション

新たなターゲットデータベース

HIC データベースを基にして、水道業界および WFD に関連する新たなターゲットデータベース [1] を作成しました。データベースには、農薬、殺菌剤、軟体動物駆除剤、炭化水素、PAH、新規汚染物質、産業化学物質、代謝物、揮発性溶媒、医薬品およびパーソナルケア製品が含まれています。このデータベースは流動的なもので、常に拡大しています。現時点では、およそ 1000 種類の化合物が含まれています。

新規ターゲット化合物は簡単に追加できます。

1. 参照標準物質を入手し、RTL 分析メソッドをもとに分析
2. Chemstation でプロフィールを構築 (化合物の編集)
3. デコンボリューションしたスペクトルをターゲットライブラリに追加
4. ユーザーライブラリから AMDIS ライブラリと定量データベース (QDB) を作成

DRS レポートの解析

得られた結果は半定量的なもので、濃度の推定値は、既知濃度 (通常は 1 µg/L) の各化合物に関連する参照標準溶液を分析し、応答係数を得ることで算出します。完全な定量的分析は、データベース中の化合物の数が多く、標準物質一式の使用が必要となるため、現実的ではありません。

LOD は、化合物、サンプルマトリックス、サンプル量によって異なります。初期の要件は、0.1 µg/L の LOD を得ることです。この検出下限は、各農薬の濃度が 0.1 µg/L を超えてはならないと定めた EU 飲料水指令にもとづいています。表 3 を見ると、0.1 µg/L になるように化合物を添加した河川水の分析において、求められている LOD が得られていることがわかります。ここに示しているのは、分析した多くの化合物の一部です。この初期テストから、さらに大幅に低い LOD が実現可能であることがわかります。実際、ターゲットの 75 % は、0.02 µg/L 未満で検出されました。その一例を表 4 に示しています。こうした LOD を実現しているのは、5975 シリーズ GC/MSD の優れた感度によるものです。

表 3.　0.1 µg/L でターゲットを添加した河川水の検出結果

ターゲット化合物	化合物種	河川	ターゲット化合物	化合物種	河川
2-クロロフェノール	殺生物剤	✓	ジクロルボス	殺虫剤	✓
トリクロロエチレン	揮発性溶媒	✓	エチルベンゼン	揮発性溶媒	✓
2,4-ジメチルエステル	除草剤	✓	フェンクロルホス	殺虫剤	✓
2,4,5-トリクロロビフェニル	産業化学物質	✓	ヘキサクロロベンゼン	殺菌剤	✓
p,p′-DDE	農薬	✓	メトキシクロル	殺虫剤	✓
ピレン	PAH	✓	ペンタクロロベンゼン	産業化学物質	✓
アルドリン	農薬	✓	ピリミカルブ	殺虫剤	✓
アトラジン	除草剤	✓	シマジン	除草剤	✓
ベンゾ (a) ピレン	PAH	✓	トリエタジン	除草剤	✓
カフェイン	向精神薬	✓	ビンクロゾリン	殺菌剤	✓
メタアルデヒド	軟体動物駆除剤	✓	プロパクロル	除草剤	✓
カルベタミド	除草剤	✓	テトラクロロエチレン	揮発性溶媒	✓
クロルデン	殺虫剤	✓	メトキシクロル	殺虫剤	✓

表 4.　低い LOD が得られた化合物 5 種の DRS レポート

			添加量 (µg/L)	AMDIS		NIST	
R.T.	Cas no.	化合物名	ChemStation	マッチ	R.T. 差(秒)	リバースマッチ	ヒット数
2.4158	79016	トリクロロエチレン (揮発性溶媒)	0.01	48	4.8	90	1
7.7070	108623	メタアルデヒド (軟体動物駆除剤)	0.02	45	-0.8	82	1
17.8784	1912261	トリエタジン (除草剤)	0.01	40	-3.2	60	1
21.4323	129000	ピレン (PAH)	0.01	93	-4.4	93	2
23.715	298464	カルバマゼピン (医薬品)	0.01	66	-0.9	73	1

図 2 に示すように、ターゲット化合物分析用の DRS ソフトウェアアプリケーションは、ChemStation、AMDIS、NIST の解析結果を組み合わせることで、最終レポートが得られます。

確認プロセスでもっとも重要な最後のステップは、分析により得られた DRS の解釈です。たとえば、マッチファクターの低さは必ずしも陰性を意味するものではなく、ターゲット化合物が存在しているものの、濃度がきわめて低いことを意味する場合もあります。この点は、専用のテクニックで目的化合物を分析することで確認できます。または、提供された情報にもとづいて、十分に検討して判断することも可能です。

NIST ライブラリに質量スペクトルが収録されていない化合物を認識し、そうした化合物を見落とさないようにすることも重要です。ターゲットデータベース化合物のうち、53 種類は NIST08 に含まれていません。表 5 に示すサンプルの DRS レポートでは、陽性とされた 9 つの化合物のうち、4 つ (ピリメタニル、フルフェナセット、ボスカリド、ビキサフェン) は NIST08 に収録されていません。DRS レポートでは、NIST マッチ列が空白のまま残されており、これらの化合物を見落としてしまう可能性はおおいにあります。しかし、NIST に収録されていないことを認識すれば、提供されている情報を用いて判断を下すことができます。図 3 は、ボスカリドのリテンションタイム、抽出イオンクロマトグラム、スペクトル、イオン比を示しています。これにより、この化合物がサンプル中に存在することを確認することができます。最新版の NIST ライブラリ (NIST11) では収録されていない物質が減っているため、最新版を使用すればこの点は改善されます。ただし、ビキサフェンはまだ収録されていません。

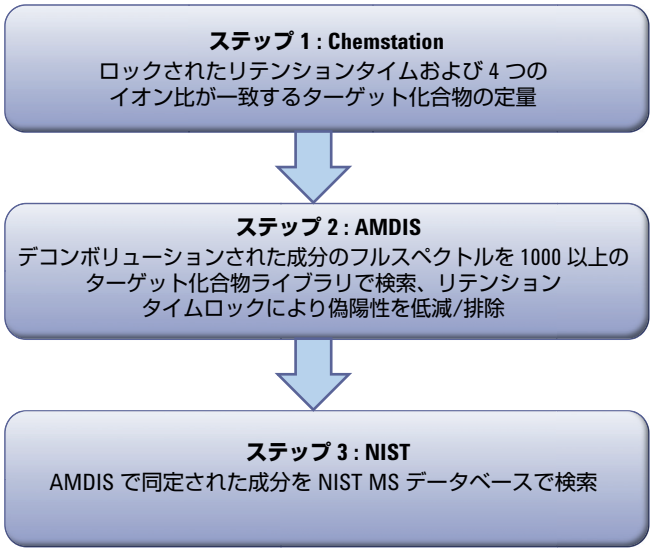


図 2.　DRS プロセスの概要

表 5.　サンプルの DRS レポート (ピリメタニル、フルフェナセット、ボスカリド、ビキサフェンは NIST08 に収録されていません)

			量 (µg/L)	AMDIS		NIST	
R.T.	Cas no.	化合物名	ChemStation AMDIS	マッチ	R.T. 差 (秒)	リバースマッチ	ヒット数
16.1975	10543574	N,N,N′,N′-テトラアセチルエチレンジアミン	0.06	42	-5.1	74	1
18.0320	53112280	ピリメタニル	0.15	94	-2.1		
18.5786	58082	カフェイン	0.1	87	-2.7	86	1
20.1009	67306030	フェンプロピモルフ	0.01	42	-7.2	71	1
20.2315	142459583	フルフェナセット	0.01	45	-1.1		
20.782	40487421	ペンジメタリン	0.04	52	-6.5	68	1
24.7148	18181801	ブロモプロピレート	0.01	41	-0.3	79	1
27.367	188425856	ボスカリド	0.46	58	-1.7		
27.7441	581809463	ビキサフェン	0.64	77	-1.7		
17.889		フェナントレン-d10	1				

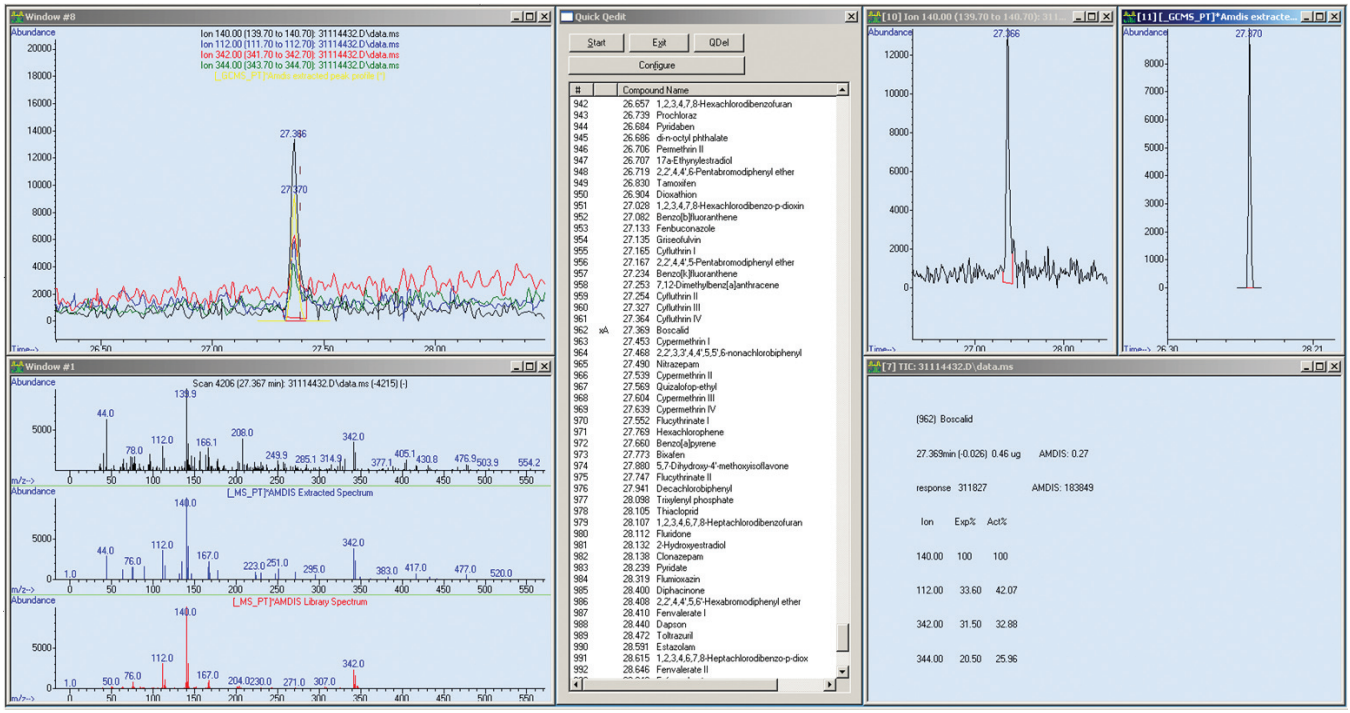


図 3.　確認されたボスカリド (殺菌剤) の陽性結果

分析時間

DRS の大きな利点の 1 つが、データ処理時間を大幅に短縮できることです。これにより、より多くのサンプルを処理できるようになります。約 40 分の GC/MS サイクル時間で、24 サンプルを一晩のシーケンスのあいだに分析し、翌日にはデータ処理およびレポート作成が完了しています。これにより、あらゆる事業でコストを削減できます。実際に汚染が生じている場合や、環境が危険にさらされており、情報が迅速に求められる場合に、分析スピードはきわめて重要です。

アプリケーション

このスクリーニングテクニックを用いたアプリケーションは、他に下水および産業廃水、塩水、飲料用水、埋め立て地浸出水、堆積物、土壌などがあります。

結論

WFD の導入に対応するために、Agilent 5975 シリーズ GC/MSD とデコンボリューションレポート作成ソフトウェア (DRS) を用いて、複数残留物質のスクリーニングメソッドを開発しました。このメソッドでは、GC 分析で検出できるほぼすべての農薬を検出することができます。機器の優れた感度により、濃度 0.01 µg/L の化合物でも検出が可能です。VOC と SVOC を含む 1000 種類以上のターゲット化学物質を網羅した新たなデータベースを作成しました。このデータベースには、NIST ライブラリに収録されていない化合物も含まれていますが、データベースはカスタマイズできます。DRS を使えば、データ処理時間が大幅に短縮され、実際の分析コストを削減できます。

参考文献

[1] 新たなターゲットデータベースの完全版は以下でご覧いただけます : www.natlabs.co.uk

詳細情報

本書に記載されたデータは代表的なものです。アジレント製品とサービスの詳細については、アジレントのウェブサイト www.agilent.com/chem/jp をご覧ください。

www.agilent.com/chem/jp

アジレントは、本文書に誤りが発見された場合、また、本文書の使用により付随的または間接的に生じる損害について一切免責とさせていただきます。

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。著作権法で許されている場合を除き、書面による事前の許可なく、本文書を複製、翻案、翻訳することは禁じられています。

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc., 2012
Printed in Japan
November 13, 2012
5991-1431JAJP

Agilent Technologies