

# HPLC-UV を用いた水道水質検査におけるホルムアルデヒド分析法の妥当性評価

橋本博之, 田中智子, 橋本レイコ, 草原紀子, 神力絢子, 小倉裕子, 西村真紀

Validation of the Analytical Method for Formaldehyde in Drinking water by HPLC-UV

Hiroyuki HASHIMOTO, Satoko TANAKA, Ruiko HASHIMOTO,  
Noriko KUSAHARA, Ayako SHINRIKI, Yuko OGURA and Maki NISHIMURA

## 要旨

水道水質検査におけるホルムアルデヒド分析法は、検査方法告示では別表第19の「溶媒抽出-誘導体化-ガスクロマトグラフィー質量分析法」、別表第19-2「誘導体化-高速液体クロマトグラフ法」および別表19-3「誘導体化-液体クロマトグラフィー質量分析法」の3つの方法が記載されているが、現在当所では別表19-3のLC/MS法を標準作業書に採用している。機器の故障時や危機管理事例の検査においても継続的、迅速に検査が実施可能となるように、新たに別表第19-2のLC/UV法について妥当性評価を実施したところ良好な結果が得られたので報告する。

キーワード：ホルムアルデヒド、飲料水、液体クロマトグラフ、フォトダイオードアレイ、妥当性評価

Keywords : Formaldehyde, Drinking water, High Performance Liquid Chromatograph, Ultraviolet Detector, Validation

(令和4年8月8日受付 令和4年9月13日受理)

## はじめに

水道水の水質基準項目<sup>1)</sup>であるホルムアルデヒドの検査は、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(平成15年厚生労働省告示第261号(以下、「検査方法告示」と記す))<sup>2)</sup>に準拠して実施されている。検査方法告示では別表第19の「溶媒抽出-誘導体化-ガスクロマトグラフィー質量分析法」、別表第19-2「誘導体化-高速液体クロマトグラフ法」(以下、「LC/UV法」と記す)および別表19-3「誘導体化-液体クロマトグラフィー質量分析法」(以下、「LC/MS法」と記す)の3つの方法が記載されており、当所の標準作業書(以下、「SOP」と記す)では、別表第19-3のLC/MS法が採用されている。今回、機器の故障時や危機管理事例の発生時など有事の際にも継続的および迅速に検査が実施可能となるよう、別表第19-3に基づき検査を実施しているLC/MSとは別の分析機器であるLC/UVを用いて、検査方法告示の別表19-2のLC/UV法の妥当性評価を実施したところ、良好な結果が得られたので報告する。

## 実験方法

### 1. 試料

水道水質検査方法の妥当性評価ガイドライン(以下、「ガイドライン」と記す)<sup>3)</sup>では、添加試料の調製に用いる水は原則として水道水を用いることとなっており、検査対象物が水道水の常在成分である場合には精製水等を用いた評価方法も併せて規定されている。今回の妥当性評価で用いる水は、当所の水質検査室の水道の蛇口から15分以上通水し、止水せずに採取した水および超純水製造装置で製造した水をそれぞれ、水道水、精製水として用いた。

### 2. 試薬等

塩化アンモニウム(試薬特級)、りん酸(試薬特級)、アセトニトリル(LC/MS用)、2,4-ジニトロフェニルヒドラジン(試薬特級)は富士フィルム和光純薬工業(株)より入手した。1w/v%塩化アンモニウム溶液は塩化アンモニウム1gに精製水を100mL加えて調製した。りん酸(1+4)はりん酸20mLに精製水を加えて100mLに定容し調製した。DNPH溶液は2,4-ジニトロフェニルヒドラジン0.1gをアセトニトリル100mLで溶解し調製した。ホルムアルデヒド標準原液(JCSS化学分析用(水質試験用))は関東化学(株)より入手した。

### 3. 器具および機器

高速液体クロマトグラフは島津製作所(株)製高速液体クロマトグラフ Nexera システム(LC-30AD×2, DGU-20A, SIL-30AC, CTO-20AC, SPD-M20A)を用いた。精製水はメルク社製 Milli-Q Integral5 を用いて調製した。

### 4. 測定条件

分析カラムは InertSustain C18 (5 μm, 4.6 mm ID × 150 mm) を用いた。移動相は精製水 50%、アセトニトリル 50% のアイソクラティック条件とし、流速は 1.0 mL/min とした。カラムオーブンの温度は 40°C、注入量は 20 μL とした。フォトダイオードアレイ検出器の測定波長は 360 nm とした。

### 5. ホルムアルデヒド中間標準液(10 μg/mL)の調製

ホルムアルデヒド標準原液(1 mg/mL) 1 mL をアセトニトリルで 100 mL とし、ホルムアルデヒド中間標準溶液を調製した。

6. 添加試料および空試験試料の試験溶液の調製

水道水には 100 mL あたり 1 w/v%塩化アンモニウム溶液 250 μL を添加し、前処理済み水道水とした。前処理済み水道水および精製水 10 mL をそれぞれ試験管に 5 本ずつとり、マイクロシリンジを用いて中間標準溶液を 8 μL 添加し、定量下限値濃度 (8 μg/L) とする添加試料とした。別に前処理済み水道水および精製水 10 mL をそれぞれ試験管に 2 本ずつとり、空試験用試料とした。これらの試料にリン酸 (1+4) を 200 μL、DNPH 溶液 500 μL を添加し 20 分間誘導体化したものを試験溶液とした。

7. 検量線用標準溶液の調製

ホルムアルデヒド中間標準液をマイクロシリンジを用いて精製水 10 mL に添加し、8、20、40、80 μg/L の標準溶液を調製した。これらの標準溶液を試験溶液と同様に誘導体化し、検量線用標準溶液 St1~St4 (8、20、40、80 μg/L) を作成した。

8. 妥当性評価

ガイドラインに従い、検量線の評価では、(1) キャリーオーバー、(2) 真度、(3) 精度を評価した。また、添加試料の評価では、検査員 1 名が、同一の添加試料を同一日に 5 併行で試験した場合の例に従い試験を実施し、(1) 選択性、(2) 真度、(3) 併行精度を評価した。

結果および考察

1. 妥当性評価結果

1) 検量線の評価

検量線の回帰式には直線回帰モデルを用い、重み付けおよび原点の強制通過は実施しなかった。各検量点 (St1~St4) を 3 回繰り返し測定した。

(1) キャリーオーバー

最高濃度の標準試料 (St4) の測定後にブランク試料 (精製水) を測定したところ、定量下限値 (8 μg/L) を下回っており、キャリーオーバーは確認されなかった。

(2) 真度

各濃度の標準試料を検量線により定量したところ、その濃度の平均値がいずれの濃度点においても調製濃度の 100.2~103.2% であり、真度の評価基準 (80~120%) を満たす結果であった (表 1)。

(3) 精度

各濃度の標準試料を検量線により定量したところ、各濃度の相対標準偏差 (RSD%) は 0.2~3.2% の範囲であり、精度の評価基準 (20% 以下) を満たす結果であった (表 1)。

2) 添加試料の評価

(1) 選択性

ガイドラインにおいて、選択性の評価は、原則として検査対象物を含まない水道水等を自らの SOP に基づく検査方法に従って試験し、定量を妨害するピークが無いことを確認することとなっている。当所の水道水では、ホルムアルデヒドは常在成分であり、妨害ピークの有無を確認する事が困難であることから精製水を用いて選択性を評価した。その結果、定量を妨害するピークは無く、選択性の評価基準を満たす結

果であった。

(2) 真度

当所では妥当性評価を実施する際には、原則水道水および精製水へ定量下限値濃度 (8 μg/L) とするよう添加した添加試料を 5 試行、それぞれの空試験試料を 2 試行測定している。当所の水道水の常在成分であるホルムアルデヒドは、空試験の結果から平均値で 1.919 μg/L であった。そのため、ガイドラインに従い水道水添加試料の試験結果から水道水空試験試料の試験結果を減算して評価したところ、5 個の添加試料の平均測定値の添加濃度に対する比は 101.5% であった。また、精製水添加試料の真度は 104.8% であった。以上の結果から、いずれも評価基準 (70~130%) を満たす良好な結果であった (表 2)。

(3) 併行精度

添加試料を検査方法に従って 5 回試験し、得られた試験結果の平均値の併行精度 (RSD) は 20% 未満と規定されている。水道水および精製水へ添加した試料の併行精度はそれぞれ 2.0%、1.8% であり、いずれも評価基準を満たす結果であった (表 2)。

まとめ

水道水の水質基準項目であるホルムアルデヒドの検査方法として当所の SOP では、検査方法告示の別表第 19-3 に基づき、LC/MS を用いた方法が採用されている。

今回、上記 LC/MS とは別の機器を用いて別表第 19-2 の LC/UV 法による検査方法の妥当性評価を実施したところ、検量線および添加試料について、妥当性評価項目のすべてが評価基準を満たした。そのため、本法をホルムアルデヒド検査法の第 2 法として SOP の策定をおこなった。

今後も水質基準項目のうち、第 2 法および同一機能を有する別機器等で実施可能な項目については、妥当性評価を随時実施し、水道水質検査の継続的な実施を可能としたい。

引用文献

- 1) 厚生労働省令第 101 号「水道法第 4 条第 2 項の規定に基づき水質基準に関する省令」平成 15 年 5 月 30 日
- 2) 厚生労働省告示第 261 号「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」最終改正平成 30 年 4 月 1 日

表 1 検量線の評価結果

	測定値 (μg/L)			
	St1	St2	St3	St4
1	8.000	20.000	40.127	80.004
2	8.224	20.122	40.197	80.172
3	8.534	20.271	40.908	80.364
平均	8.253	20.131	40.411	80.180
真度 (%)	103.2	100.7	101.0	100.2
RSD%	3.2	0.7	1.1	0.2

3) 厚生労働省健康局水道課長：健水発 0906 第1～4号「水道水質検査方法の妥当性評価ガイドラインについて」最終改正  
平成29年10月18日付け薬生水発 1018 第1号

表2 添加試料の評価結果

試料	測定値(μg/L)					平均 (μg/L)	真度 (%)	RSD%	
	1	2	3	4	5				
水道水	添加試料	9.886	9.966	9.910	10.248	10.182	10.038	125.5	1.6
	添加試料 (減算値)	7.967	8.047	7.991	8.329	8.263	8.119	101.5	2.0
	空試験	1.865	1.973	—	—	—	1.919	—	—
精製水	添加試料	8.288	8.653	8.334	8.341	8.285	8.380	104.8	1.8
	空試験	0	—	—	—	—	0	—	—