

N-ニトロソ化合物



N-ニトロソジメチルアミン

分子式: $C_2H_6N_2O$

分子量: 74.08

沸 点: 154 °C (760mmHg)

溶解性: 水, アルコール,
エーテルに可溶

N-ニトロソジエチルアミン

分子式: $C_4H_{10}N_2O$

分子量: 102.1

沸 点: 177 °C (760mmHg)

溶解性: 水, アルコール,
エーテルに可溶

N-ニトロソジ-n-プロピルアミン

分子式: $C_6H_{14}N_2O$

分子量: 130.2

沸 点: 81°C (5mmHg)

溶解性: -

N-ニトロソジ-n-ブチルアミン

分子式: $C_8H_{18}N_2O$

分子量: 102.1

沸 点: 116 °C (14mmHg)

溶解性: -

§ 1 分析法

水質試料は、塩化ナトリウムを加えジクロロメタンで抽出する。底質および生物試料は、水蒸気蒸留を行ない、得られた留液に塩化ナトリウムを加えジクロロメタンで抽出する。抽出液を脱水濃縮し、キャピラリーGC/MS-SIMで定量する。

試験法

【試料の採取および保存】

環境庁「化学物質環境調査における試料採取にあたっての留意事項」に従う。

【試料液の調製】

〔水質〕 試料水 500mlを1L容分液ロートにとり、ジクロロメタン 100mlおよび塩化ナトリウム 20gを加え10分間振とう抽出する。静置後ジクロロメタン層を分取し、水層に再びジクロロメタン 100mlを加え、同様に操作する。ジクロロメタン層を合わせ、無水硫酸ナトリウムを用いて脱水ろ過する。このろ液をKD濃縮器を用い 2mlまで

濃縮¹⁾し試料液とする。

〔底質〕試料 50gを500ml 容ナス型フラスコに採取し、精製水²⁾ 100ml、水酸化バリウム 20gおよび塩化ナトリウム 20gを加え、水蒸気蒸留³⁾を行う。受器にジクロロメタン 100mlを入れておき、留液が 200mlになるまで蒸留を続ける⁴⁾。ジクロロメタンおよび留液を 500ml容分液ロートに移し、塩化ナトリウム 20gを加え10分間振とう抽出する。静置後ジクロロメタン層を分取し、水層にジクロロメタン 100mlを加え、同様に操作する。ジクロロメタン層を合わせ、無水硫酸ナトリウムを用いて脱水ろ過する。このろ液をKD濃縮器を用い 2mlまで濃縮し試料液とする。

〔生物〕均質化した試料50g を500ml 容ナス型フラスコに採取し、以下、底質試料と同様に操作して試料液を得る。

(ニトロソジメチルアミン)⁵⁾

均一化した試料 10gと無水硫酸ナトリウム 40gを乳鉢中で混合し、ジクロロメタン50mlを加え振とう抽出する。無水硫酸ナトリウム層をのせたグラスフィルターを通して吸引ろ過し、さらに残さからジクロロメタン25mlで抽出する。抽出液を合せ、等量のヘキサンと混合しシリカゲルカラム (Merck7734 5g) に付加する。さらにヘキサン-ジクロロメタン (1:1) 100mlで洗浄した後、ジクロロメタン-メタノール (98:2) 100mlで溶出させる。溶出液を減圧濃縮器を用い40℃以下で10mlまで濃縮し、さらに濃縮用試験管に移し窒素気流下で 2mlまで濃縮し試験溶液とする。

【空試料液の調製】

〔水質〕精製水 100mlについて、水質試料の【試料液の調製】と同様の操作をして得られたものを空試料液とする。

〔底質および生物〕精製水 100mlについて、底質試料の【試料液の調製】と同様の操作をして得られたものを空試料液とする。

【標準液の調製】

N-ニトロソジメチルアミン、N-ニトロソジエチルアミン、N-ニトロソジ-n-プロピルアミン、N-ニトロソジ-n-ブチルアミン各 0.1g を別々にはかりとり、メタノールを加え正確に50mlとし、標準原液とする。標準原液を等量ずつ混合し、ジクロロメタンを用い適時希釈して標準溶液を作製する。

【測定】

（GC/MS 操作条件）

G C / M S : VG社製 70SE 型

カ ラ ム : Fused silica FFAP キャピラリーカラムφ0.25mm×50m

カラム温度 : 70℃（1分間保持）～140℃（8℃/分昇温）[NDMA]⁶⁾

70℃（1分間保持）～160℃（25℃/分昇温）[NDEA, NDPA, NDBA]

注入口温度 : 200℃ 注 入 法 : スプリットレス

キャリアーガス : ヘリウム 1.5kg/cm²

イオン源温度 : 250℃ イオン化電流 : 200 μA

イオン化法 : EI イオン化電圧 : 70 eV

設定質量数 : N-ニトロソジメチルアミン m/z 74.0480

N-ニトロソジエチルアミン m/z 102.0793

N-ニトロソジ-n-プロピルアミン m/z 130.1106

N-ニトロソジ-n-ブチルアミン m/z 116.0950

（検量線） 標準液 1μlをGC/MS に注入し、縦軸にピーク高さまたは面積、横軸に重量をとって検量線を作製する。

（定量） 試料液 1μlをGC/MS に注入してピーク高さまたは面積を測定し、検量線より定量値を求める。

（計算）

$$\text{計算値} (\mu\text{g/L}, \text{ng/g}) = \text{検出量} (\text{ng}) \times \frac{\text{最終試料量} (\mu\text{l})}{\text{GC注入量} (\mu\text{l}) \times \text{試料量} (\text{ml}, \text{g})}$$

（検出限界） 本分析法に基づく検出限界⁷⁾を下記に示す。

	水質	底質	生物
N-ニトロソジメチルアミン	0.03μg/L	0.3ng /g	0.5ng /g
N-ニトロソジエチルアミン	0.03μg/L	0.3ng /g	0.3ng /g
N-ニトロソジ-n-プロピルアミン	0.03μg/L	0.3ng /g	0.3ng /g
N-ニトロソジ-n-ブチルアミン	0.05μg/L	0.5ng /g	0.5ng /g

試薬および器具

【試薬】

N-ニトロソジメチルアミン：関東化学工業（株）特級
N-ニトロソジエチルアミン：関東化学工業（株）特級
N-ニトロソジ-n- プロピルアミン：東京化成工業（株）特級
N-ニトロソジ-n- ブチルアミン：関東化学工業（株）特級
メタノール：残留農薬試験用
ジクロロメタン：残留農薬試験用
水酸化バリウム：特級
塩化ナトリウム：特級
無水硫酸ナトリウム：残留農薬試験用
精製水：水道水をジクロロメタンで洗浄したもの

【器具】

水蒸気蒸留装置
KD濃縮器

..... 注 解

- 1) N-ニトロソジメチルアミンは揮発性が高いため 2ml以下に濃縮すると回収率が大きく低下する。他の 3種については 1ml程度まで濃縮可能である。
- 2) 市販のポリ容器入りの蒸留水からN-ニトロソジメチルアミンが多量に検出されるため注意を要する。今回は水道水をジクロロメタンで洗浄したものを使用した。
- 3) 蒸留装置の接続にゴム栓を使用するとゴム栓からニトロソアミンが溶出する可能性があるため、接続はすべてスリ合せのものを使用する。
- 4) 蒸留の時間が短すぎると回収が悪くなる。60～90分程度で 200mlの留液が溜まるように調節して蒸留を行う。

- 5) 魚類試料においては、水蒸気蒸留を行うと、加熱による二次生成のため数ng/g のニトロソジメチルアミンが検出された。そこで宮城県保健センターの高槻らの非加熱の方法（溶媒抽出法）を一部改良して検討した。水蒸気蒸留法と本法のブランク値および添加回収試験の結果を下表に示した。本法はニトロソジメチルアミンの二次生成が抑えられ、回収率も良好であった。

表 水蒸気蒸留法と溶媒抽出法の比較

	ブランク値	回収率（200ng 添加）
水蒸気蒸留法	7.6ng/g	98.5%
溶媒抽出法	< 0.5ng/g	99.7%

- 6) 本分析法で使用した質量分析計は加速電圧スイッチングによるSIMのため広質量数範囲を同時測定できず、同一検液を二度にわけて分析を行った。

- 7) 検出限界および定量限界は「検出限界等の定め方について」（昭和61年 5月29日）より算出した。

	DMNA（水質）		
試料濃度（ $\mu\text{g/l}$ ）	0.04	0.06	0.08
応答値（ x ）	6674	10880	13446
標準偏差（ σ_R ）	657	690	762
検出力（ D_n ）	0.009785	0.009448	0.01126
検出限界（ $D \times 3$ ）		0.03049	
定量限界（ $D \times 10$ ）		0.1016	

N D E A (水質)			
試料濃度 (µg/l)	0.04	0.06	0.08
応答値 (x)	5860	8968	11885
標準偏差 (σR)	714	551	649
検出力 (Dn)	0.01211	0.009153	0.01085
検出限界 (D×3)		0.03211	
定量限界 (D×10)		0.1070	

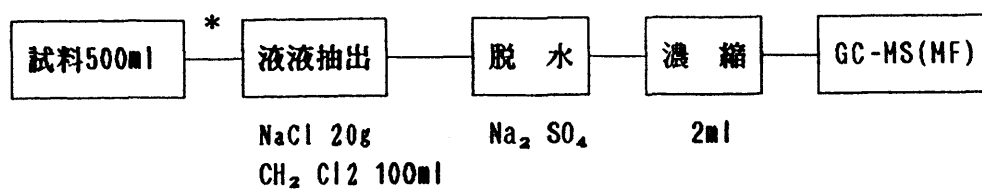
N D P A (水質)			
試料濃度 (µg/l)	0.04	0.06	0.08
応答値 (x)	4071	7303	10508
標準偏差 (σR)	188	684	667
検出力 (Dn)	0.004584	0.01395	0.01261
検出限界 (D×3)		0.03114	
定量限界 (D×10)		0.1038	

N D B A (水質)			
試料濃度 (µg/l)	0.04	0.06	0.08
応答値 (x)	4178	8019	11710
標準偏差 (σR)	176	1234	1327
検出力 (Dn)	0.004193	0.02293	0.02253
検出限界 (D×3)		0.04965	
定量限界 (D×10)		0.1655	

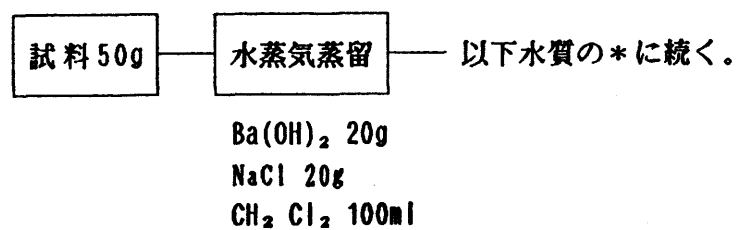
§ 2 解 説

[フローチャート]

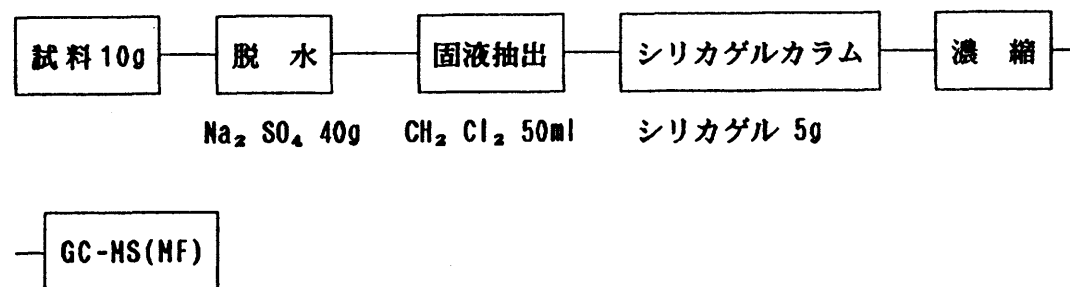
(水質)



(底質, 生物)



(生物[NDMA])



[分析法の検討]

1. 検量線

検量線の例を図-1 に示す。

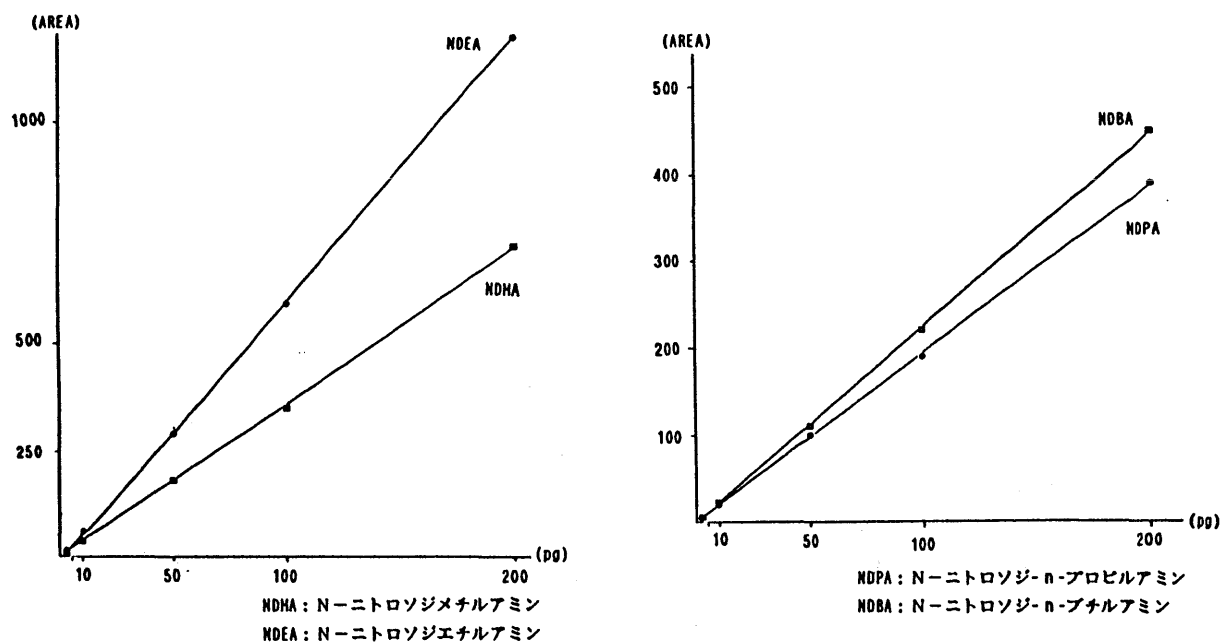


図-1 検量線

2. 添加回収実験結果

水質試料 500ml, 底質試料および生物試料 50gに標準物質を添加し, 本分析法に従って行った回収実験の結果を表-1 に示す。

表-1 回収実験結果

試料	物質名	添加量	試料量	回数	回収率	C V %
水質	NDMA	100ng	500ml	2	71.5	10.9
	NDEA	100ng	500ml	2	88.0	3.2
	NDPA	100ng	500ml	2	83.0	3.4
	NDBA	100ng	500ml	2	100.5	2.1
底質	NDMA	200ng	50g	2	87.5	2.4
	NDEA	200ng	50g	2	84.5	2.5
	NDPA	200ng	50g	2	84.5	2.5
	NDBA	200ng	50g	2	104.0	2.7
生物	NDMA	200ng	50g	2	93.5	6.8
	NDEA	200ng	50g	2	88.0	4.8
	NDPA	200ng	50g	2	98.5	2.2
	NDBA	200ng	50g	2	86.5	0.8

NDMA : N-ニトロソジメチルアミン

NDEA : N-ニトロソジエチルアミン

NDPA : N-ニトロソジ-n-プロピルアミン

NDBA : N-ニトロソジ-n-ブチルアミン

3. GC/MS-SIMの質量数の設定

各物質のマススペクトルを図-2 に示す。マススペクトルからSIM測定には, N-ニトロソジメチルアミン m/z 74, N-ニトロソジエチルアミン m/z 102, N-ニトロソジ-n-プロピルアミン m/z 130の分子イオンを使用することにした。N-ニトロソジ-n-ブチルアミンは分子イオンの感度が悪いため, m/z 116を使用することにした。

4. クロマトグラム

各物質の標準品および実試料のマスフラグメントグラムを図ー 3~14に示した。

5. 参考文献

佐藤昭男ら：食衛誌, Vol.26, No.2, 184 (1985)

川端俊治ら：Bull.of Japan. Soci. of Scie. Fish. , 40(1) , 87-96 (1974)

川端俊治ら：トキシコロジーフォーラム, Vol.6 (2) , 158 (1983)

高槻 　　ら　：日本食品衛生学会・第56回学術講演会　講演要旨集

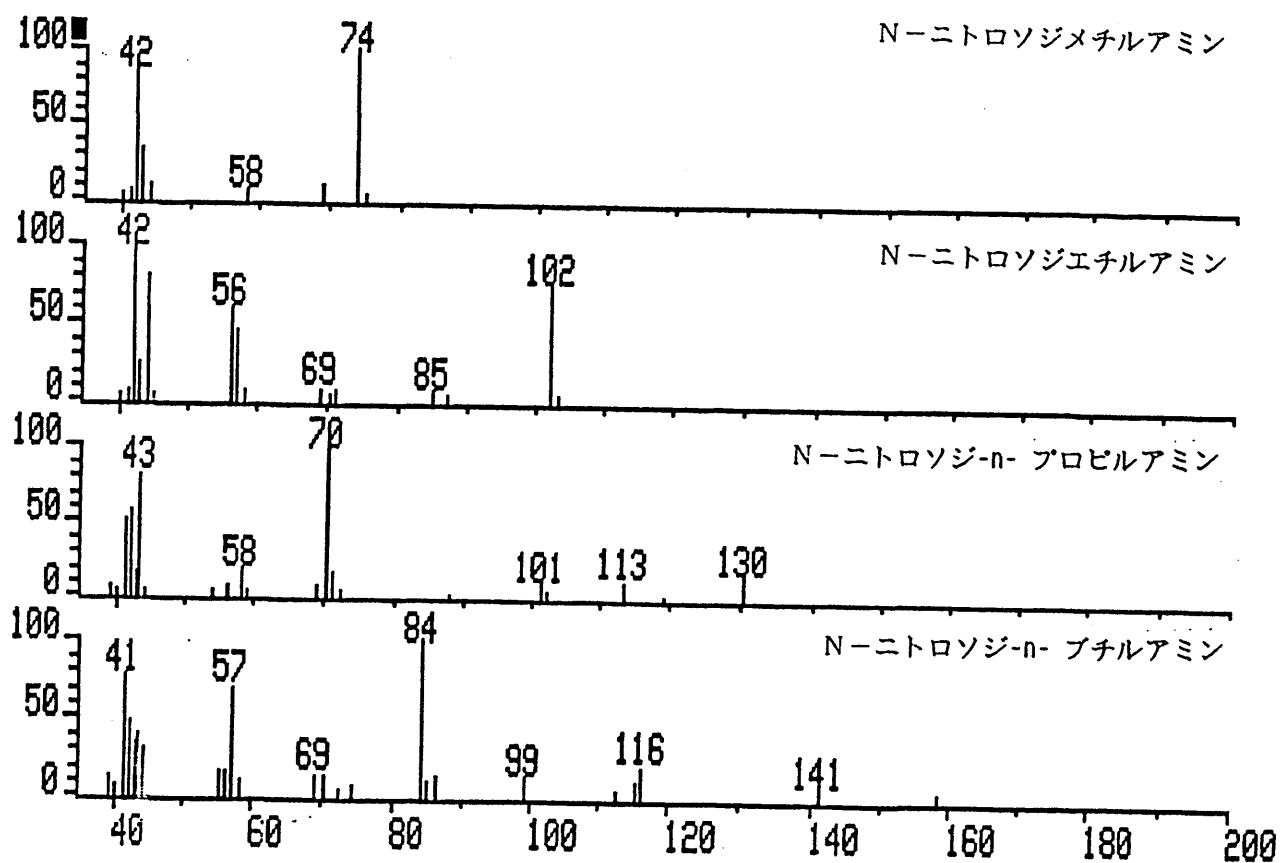


図-2 N-ニトロソアミンのマススペクトル

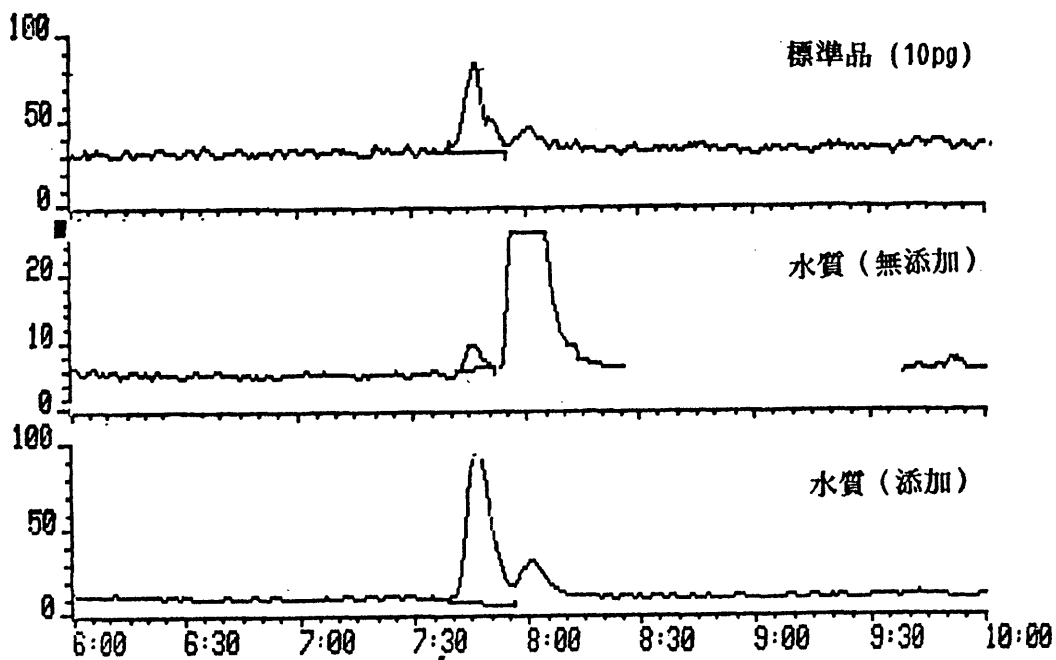


図-3 N-ニトロソジメチルアミンのマスフラグメントグラム

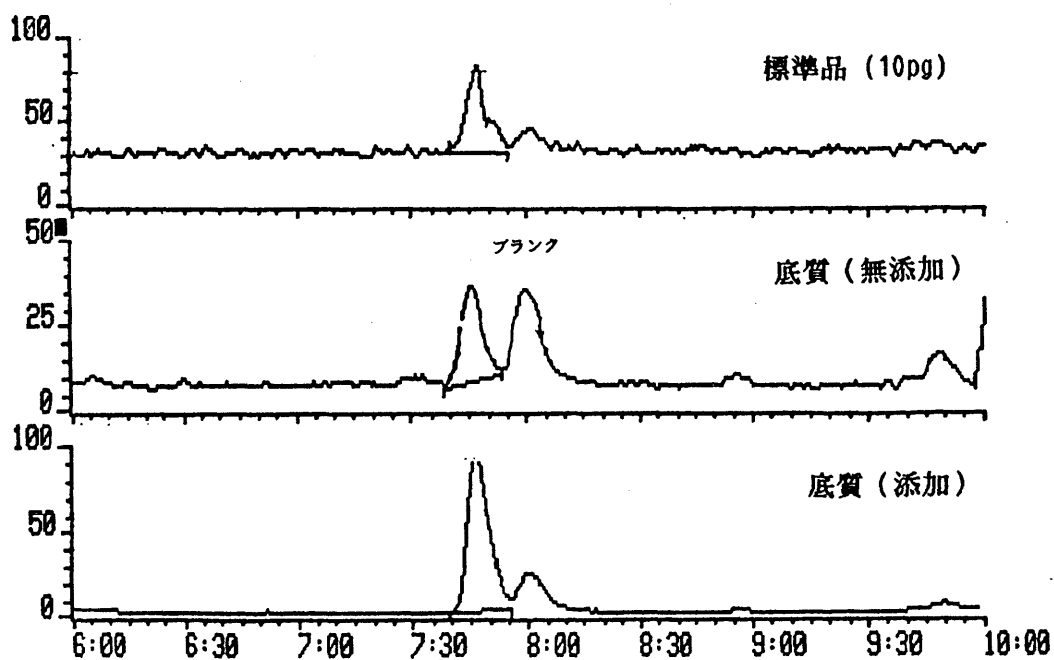


図-4 N-ニトロソジメチルアミンのマスフラグメントグラム

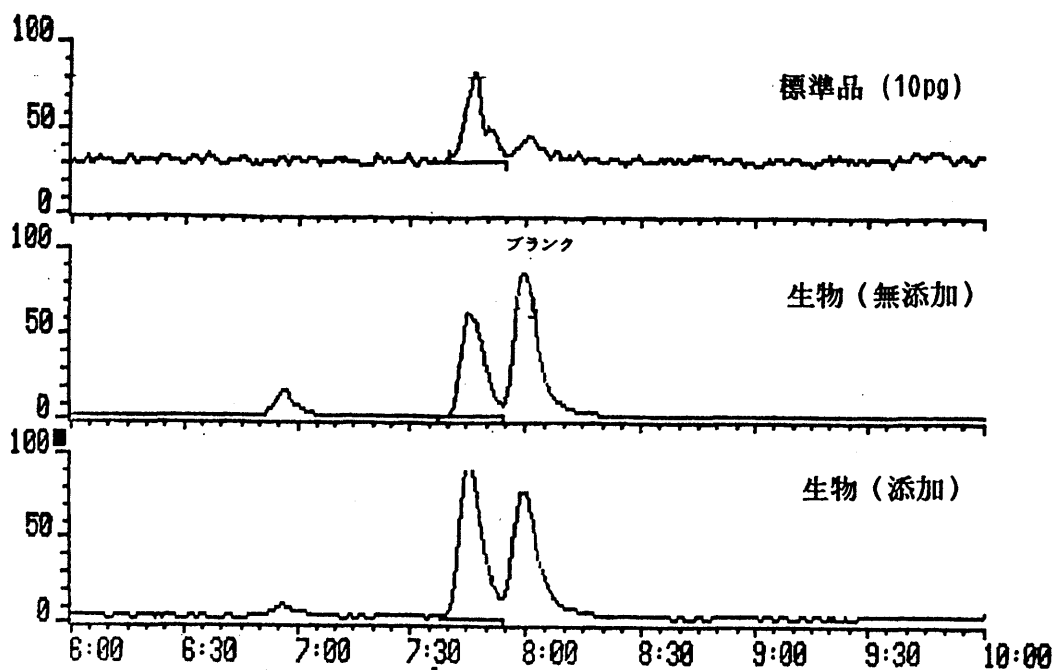


図-5 N-ニトロソジメチルアミンのマスフラグメントグラム

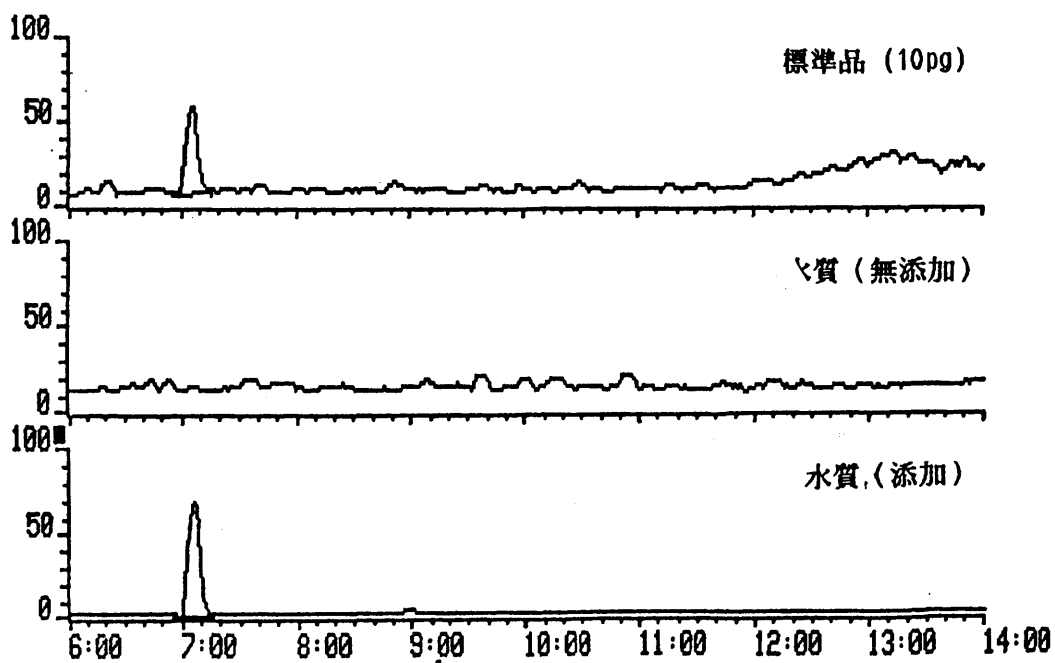


図-6 N-ニトロソジエチルアミンのマスフラグメントグラム

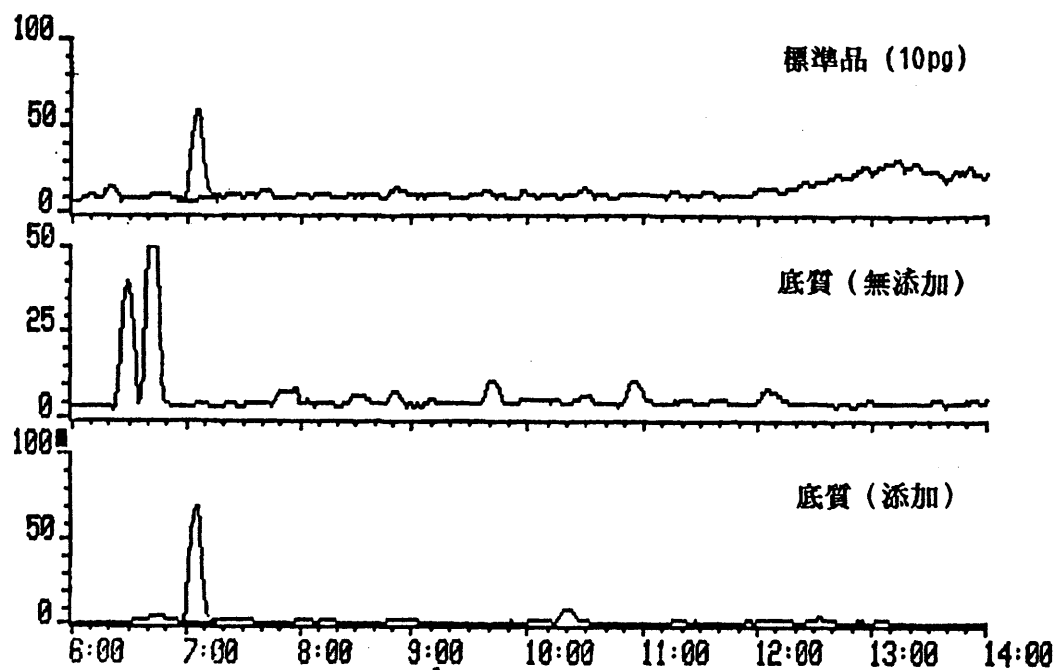


図-7 N-ニトロソジエチルアミンのマスフラグメントグラム

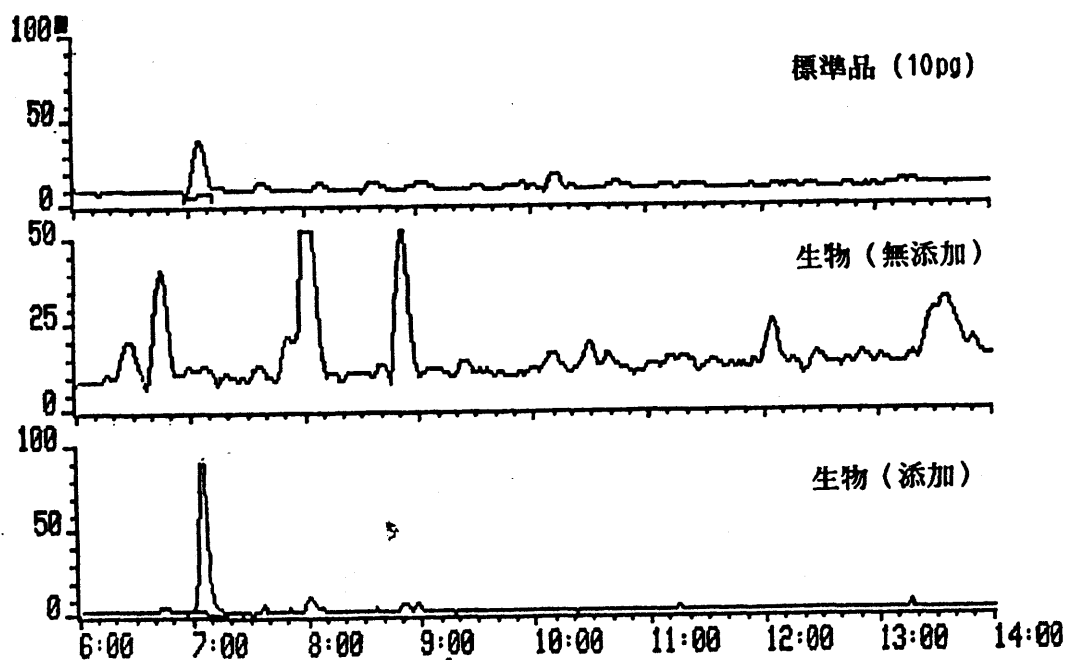


図-8 N-ニトロソジエチルアミンのマスフラグメントグラム

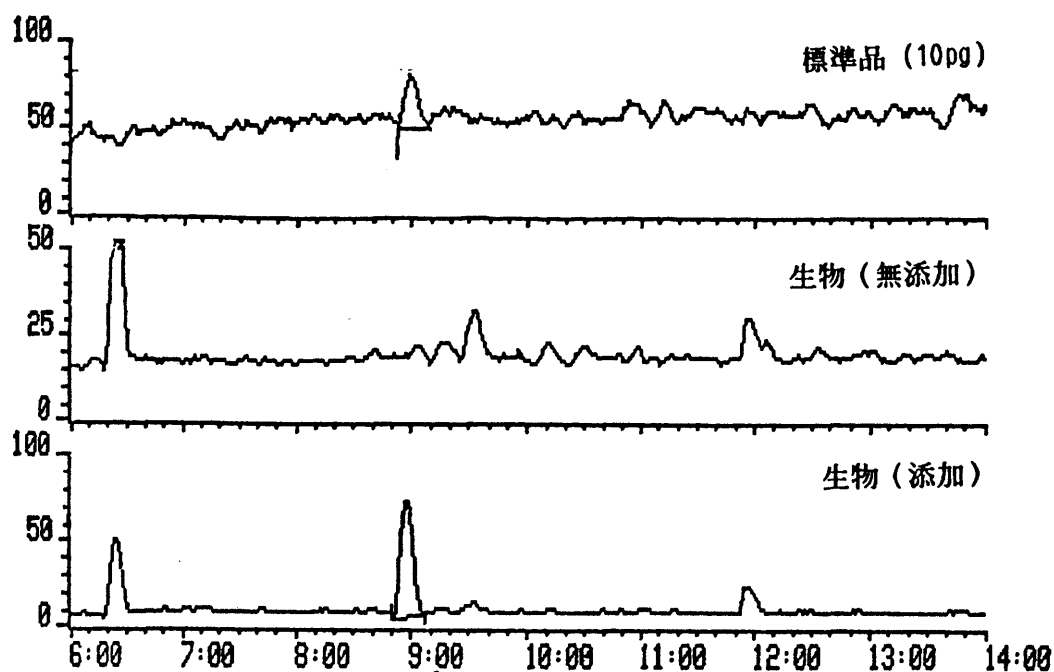


図-11 N-ニトロソジ-n-プロピルアミンのマスフラグメントグラム

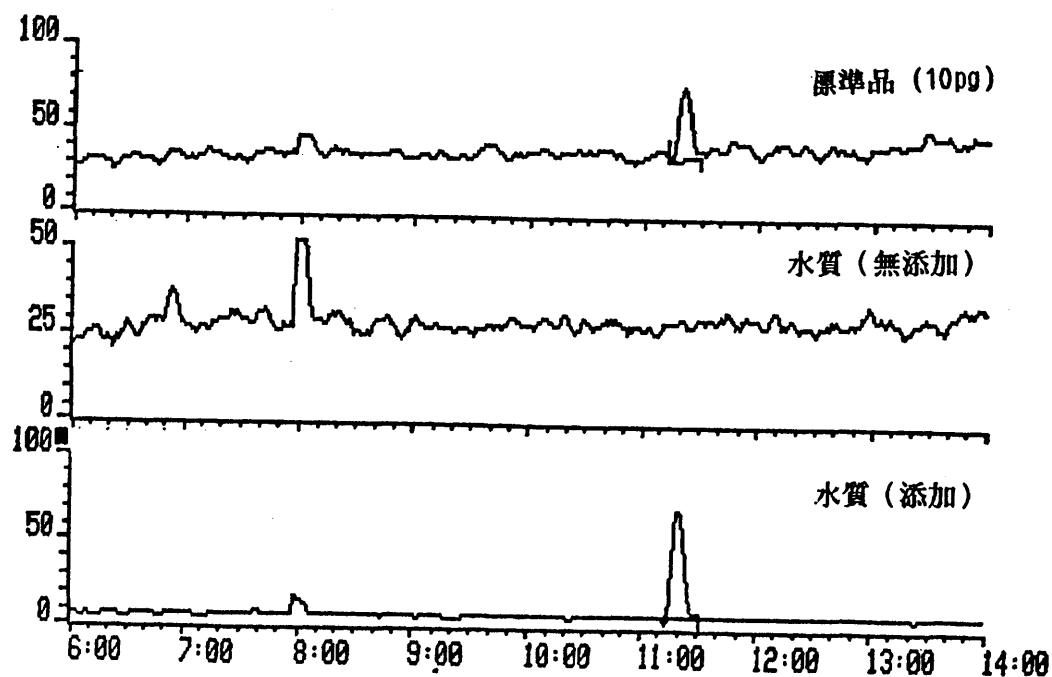


図-12 N-ニトロソジ-n-ブチルアミンのマスフラグメントグラム