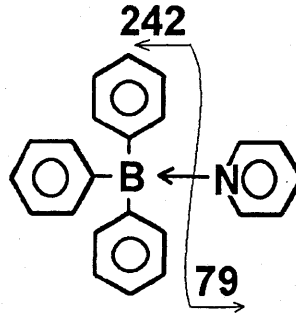


ピリジンートリフェニルボラン
Prydine-triphenylboron

〔構造式〕



物 性

分子式	分子量	水溶解度	LD ₅₀	CAS-No	用 途
C ₂₃ H ₂₀ BN	321.2	1 mg/L	426mg/kg [ラット(♂)]	971-66-4	魚網、船底等 の防汚剤

§ 1 分 析 法

水質試料 500mL を塩酸酸性下でディスク型の固相抽出を行い、アセトニトリルで溶出した後、LC/MS-SIM で定量する。

試 験 法

【試料の採取及び保存】

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。前処理操作から分析は試料採取後速やかに行う。

【試料の前処理及び試料液の調製】

<水試料>

試料 500mL (注 1) に 2 M 塩酸を加えて pH 2 以下に調整し (注 2)、固相ディスク (注 3) に通水する。通水後、アセトニトリル 20mL を用いて、固相ディスクから溶出させる。溶出液をロータリーエバポレーターで 1mL に濃縮し、試料液とする。

【空試験液の調製】

試料と同量の精製水を用いて【試料の前処理及び試料液の調製】の項に従って操作し、得られた試料液を空試験液とする。

【標準液の調製】

ピリジン-トリフェニルボラン 10mg を正確に秤取り、アセトニトリル 100mL に溶解し（注4）、100ng/ μ L の標準原液を作成する。標準原液をアセトニトリルで順次希釈し、0.05～5.0 ng/ μ L の標準溶液を作成する。

【測定】

<LC/MS 条件>

HPLC 条件

カラム : Inertsil ODS-80A, 5 μ m, 1.5×250mm, 理論段数 21,000
移動相 : 水-アセトニトリル(7:3) → 10分 → アセトニトリル(10分) →
→ 10分 → 水-アセトニトリル(7:3) (10分)
流量 : 0.2 mL/分
カラム温度 : 25 $^{\circ}$ C
注入量 : 2 μ L

MS 条件

ドリフト(コーン)電圧 : 30V
キャピラリー電圧 : 3.50kV
イオン源温度 : 100 $^{\circ}$ C
噴霧部温度 : 250 $^{\circ}$ C
窒素流量 : 400mL/分
モード : エレクトロスプレーイオン化法(ESI), 負イオン測定,
選択イオン検出法(SIM)
測定イオン : m/z 268, 267, 269

<検量線>

標準溶液 2 μ L を LC/MS に注入し、注入量 [ng] とピリジン-トリフェニルボランのピーク面積を用いて検量線を作成する。

<定量>

試料液 2 μ L を LC/MS に注入し、得られたピーク面積から検量線を用いて定量する。

<計算>

ピリジン-トリフェニルボラン濃度 (ng/mL 又は μ g/L) =
検出量(ng) × [最終液量(μ L) / 注入量(μ L)] / 分析に用いた試料量(mL)

<検出限界>

本分析法の検出限界を下記に示す。(注5)

試料量	最終液量	水質検出限界値
500mL	1 mL	0.030 μ g/L

試薬・器具

【試薬】

ピリジーントリフェニルボラン : 北興化学工業(株)から提供
アセトニトリル : 高速液体クロマトグラフ用
固相ディスク : Empore™ 抽出用ディスク(C18), 47mm

【器具】

ガラス器具 :

メスシリンダー、減圧ろ過器、コニカルビーカー(100mL)、ナス型フラスコ(100mL)

注 解

注1) SS成分の多い試料は、ガラス繊維ろ紙でろ過した後、ろ液に2M塩酸を添加し、固相ディスクに通水する。ろ過に用いたガラス繊維ろ紙は、アセトニトリル10mLで2度超音波抽出し、その抽出液を固相ディスクの抽出液と合わせる。

注2) 2M塩酸を用いた場合、数mLでpH2になるが、必ずpH試験紙等で確認した後、固相抽出を行う。

注3) 固相ディスクはアセトニトリル10mLと精製水20mLでコンディショニングを行ってから使用する。

注4) ピリジーントリフェニルボランは有機溶媒に溶解難いが、アセトニトリルに300ppm程度、メタノールでは10ppm程度なら溶ける。

注5) 検出限界は装置検出限界(IDL)を試料濃度に換算して算出した。装置検出限界は「分析法開発調査における装置検出限界(IDL)の算出手順」(平成11年)に従って、次のとおり算出した。測定時の代表的なクロマトグラムを合わせて示す。

表 IDL 算出結果 (装置注入容量:2 μ L)

試料量:500mL, 最終液量 :1mL	
注入液濃度 [ng/ μ L]	0.05
S/N	10
S/N適否	○
結果(1回)	0.050
結果(2回)	0.048
結果(3回)	0.046
結果(4回)	0.069
結果(5回)	0.055
結果(6回)	0.053
結果(7回)	0.059
標準偏差	0.00783
CV%[%]	14.4
IDL[ng/ μ L]	0.0152
IDL試料濃度換算値[ng/mL]	0.030

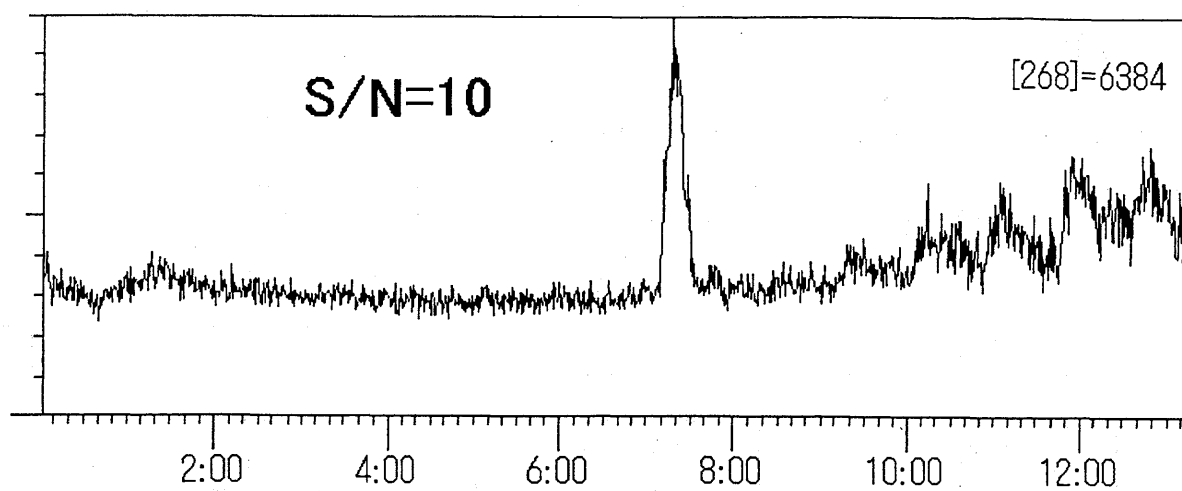
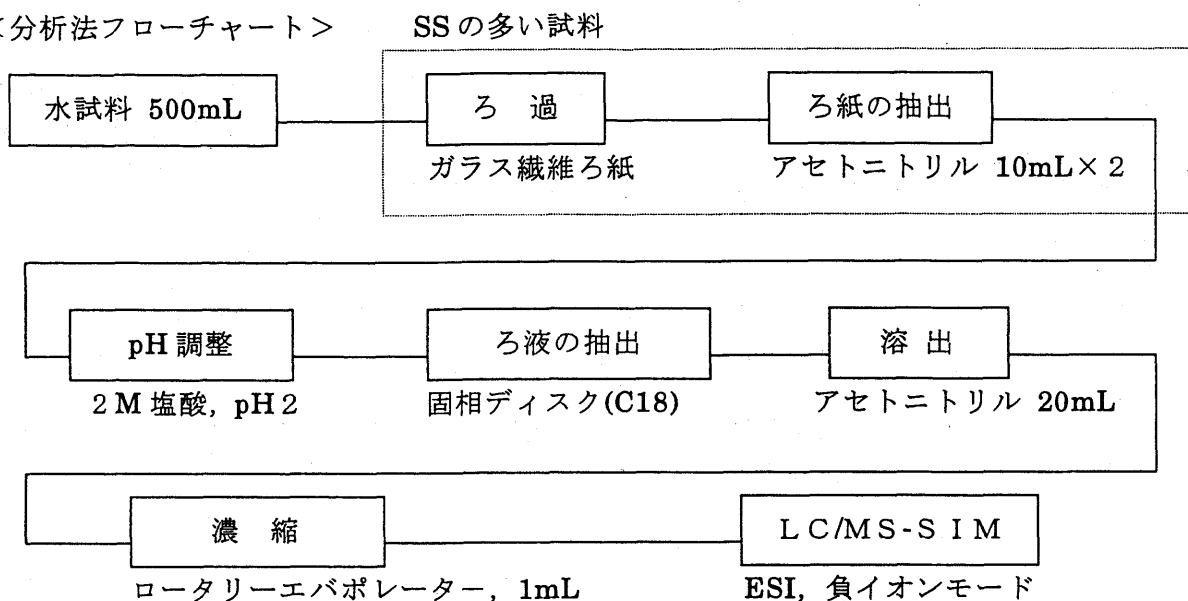


図 IDL 測定時(0.05 ng/ μ L 溶液注入)の SIM クロマトグラム

§ 2 解説

【分析法】

<分析法フローチャート>



<分析法の検討>

1. 検量線

図 1 に代表的な検量線を示す。

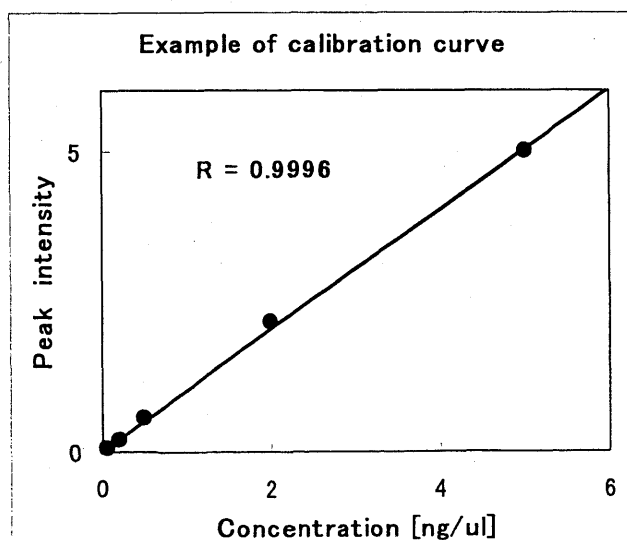


図 1 ピリジン-トリフェニルボランの検量線の例

2. LC/MS測定条件の検討

2-1. MS 測定モードの検討

ピリジン-トリフェニルボラン標準液 300 ng/μL を、シリンジポンプを用いて直接質量分析計に導入し、エレクトロスプレーイオン化 (ESI) の正及び負イオンモードで

マスペクトルを測定した。各々のマスペクトルを図2に示した。

ベースピークの強度は、正イオンが 2.41×10^4 、負イオンが 3.74×10^5 であり、負イオンの方が10倍以上強かったため、測定には負イオンモードを選択した。

負イオン ESI 測定におけるマスペクトルのベースピークイオンは、 m/z 268 であった。マスペクトル上の m/z 267 と 268 のピーク比がホウ素の同位体比 ($^{10}\text{B}:^{11}\text{B}=1:4$) と等しいことから、 m/z 268 のイオンは、ホウ素を1個含んでいるトリフェニルボランに由来するイオンであることが示唆されたため、 m/z 268 を定量イオンに選択した。

しかし、このイオンの分子組成については、アセトニトリルが負荷したトリフェニルボラン (m/z 242) からメチル基が脱離した $[(\text{C}_6\text{H}_5)_3\text{BCN}]$ などが考えられたが、組成は決定できなかった。

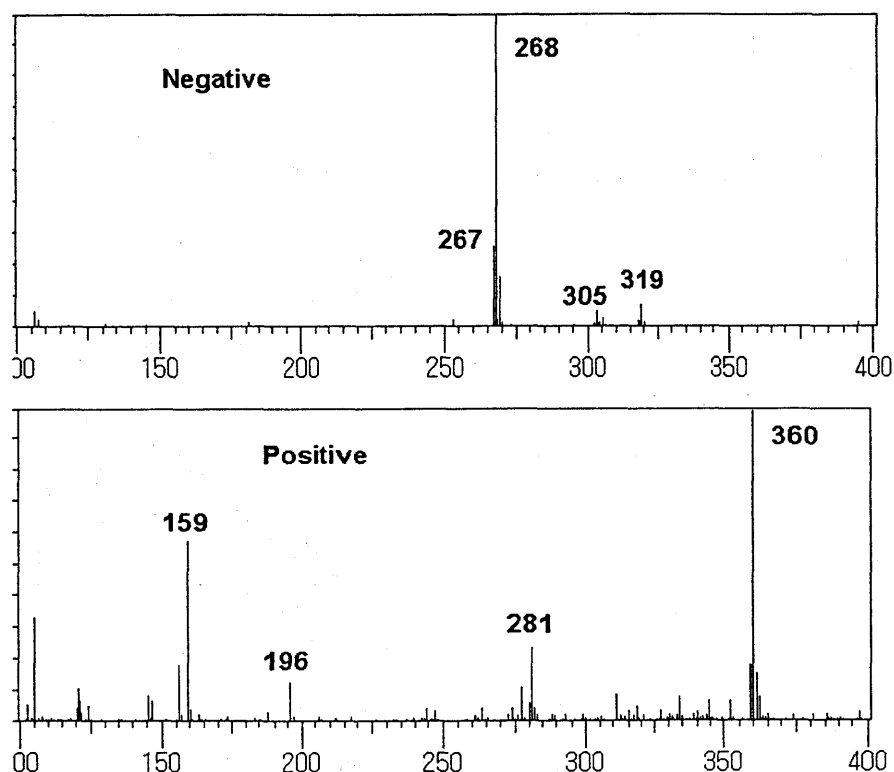


図2 直接導入によるマスペクトル (上: 負イオン、下: 正イオン)

2-2. 溶離条件の検討

10ng/ μL ピリジン-トリフェニルボラン標準溶液の1 μL を LC/MS に注入し、水-アセトニトリル系、0.02M 酢酸アンモニウム-アセトニトリル系及び酸性緩衝溶液 (0.1M 酢酸に 0.2M 酢酸アンモニウムを加えて pH3 に調製したもの) -アセトニトリル系の3つの移動相で、溶離条件の検討を行った。各々の移動相におけるマスキロマトグラムを図3に示した。

その結果、水-アセトニトリル系の移動相が最もベースラインのノイズが少なかったため、本分析法では水-アセトニトリル系の移動相を選択した。

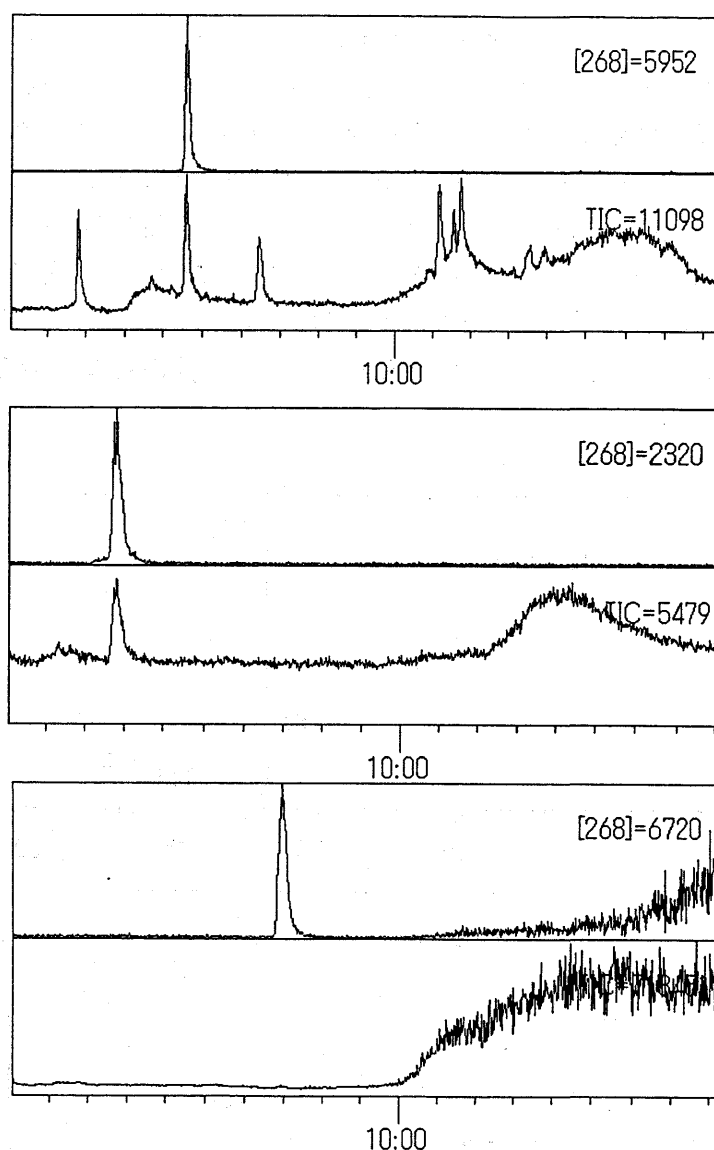


図3 移動相の影響（上段：水- CH_3CN 、中段：0.02M 酢酸アンモニウム- CH_3CN 、下段：酸性緩衝溶液- CH_3CN ）

2-3. 注入量の検討

LC/MS への注入量を決定するため、 $2\text{ ng}/\mu\text{L}$ ピリジン-トリフェニルボラン標準溶液を $1\sim 10\mu\text{L}$ の範囲で注入量を変えて HPLC に導入した。その結果、本カラムでは $5\mu\text{L}$ までは注入可能であった。各々の注入時におけるクロマトグラムを図4に示した。

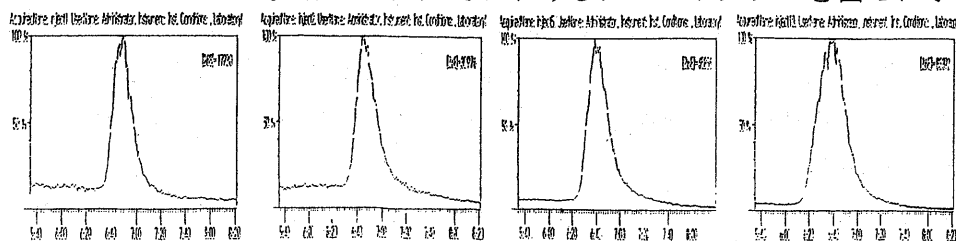


図4 注入量によるピーク形状の変化（注入量：左から1, 2, 5, $10\mu\text{L}$ ）
（溶離液：酸性緩衝溶液-アセトニトリル系）

2-4. ドリフト（コーン）電圧の検討

コーン電圧を変えてピリジン-トリフェニルボラン標準溶液 $10 \text{ ng}/\mu\text{L}$ を LC/MS に注入し、 $m/z268$ のピーク強度を測定した。

結果を図 5 に示した。この結果から分析には 30V を採用した。

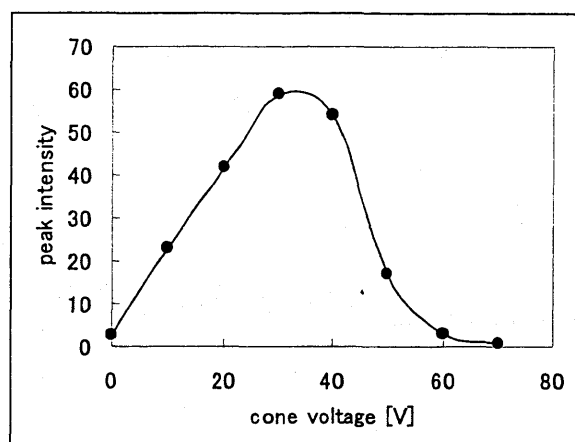


図 5 コーン電圧の影響

3. 標準品のマススペクトル及び SIM クロマトグラム

$100 \text{ ng}/\mu\text{L}$ のピリジン-トリフェニルボラン標準原液 $1 \mu\text{L}$ を LC/MS に注入し、ESI による負イオン測定を行った。そのときのマススペクトルは、図 2 に示した直接 MS に導入したときのマススペクトルと同じであった。

$0.5 \text{ ng}/\mu\text{L}$ の標準溶液 $2 \mu\text{L}$ を LC/MS に注入したときの SIM クロマトグラムを図 6 に示した。

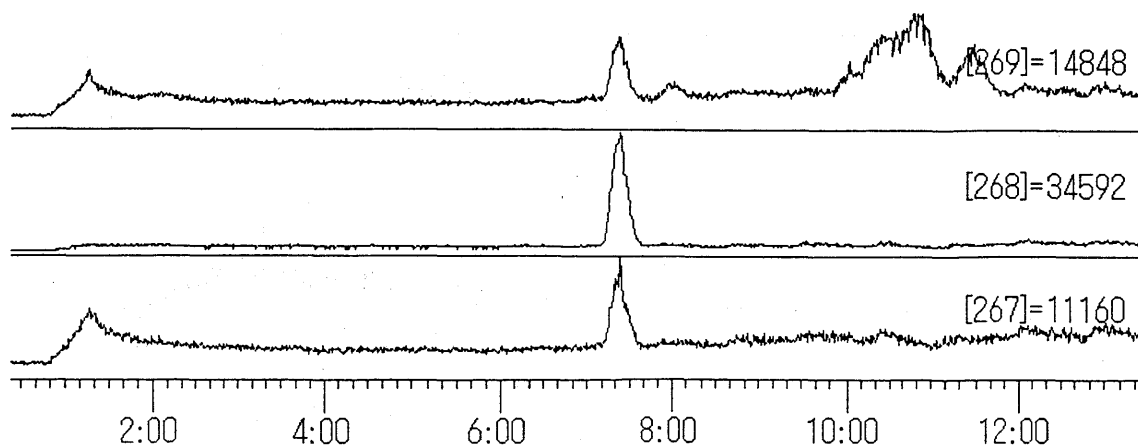


図 6 ピリジン-トリフェニルボラン標準溶液の SIM クロマトグラム ($0.5 \text{ ng}/\mu\text{L}$)

4. 添加回収試験

精製水、河川水及び海水の各々500mL にピリジン-トリフェニルボラン $0.2\mu\text{g}$ を添加し、回収試験を行った。結果を図7、図8及び表1に示した。

全ての試料で回収率 80%以上の良好な結果を示した。

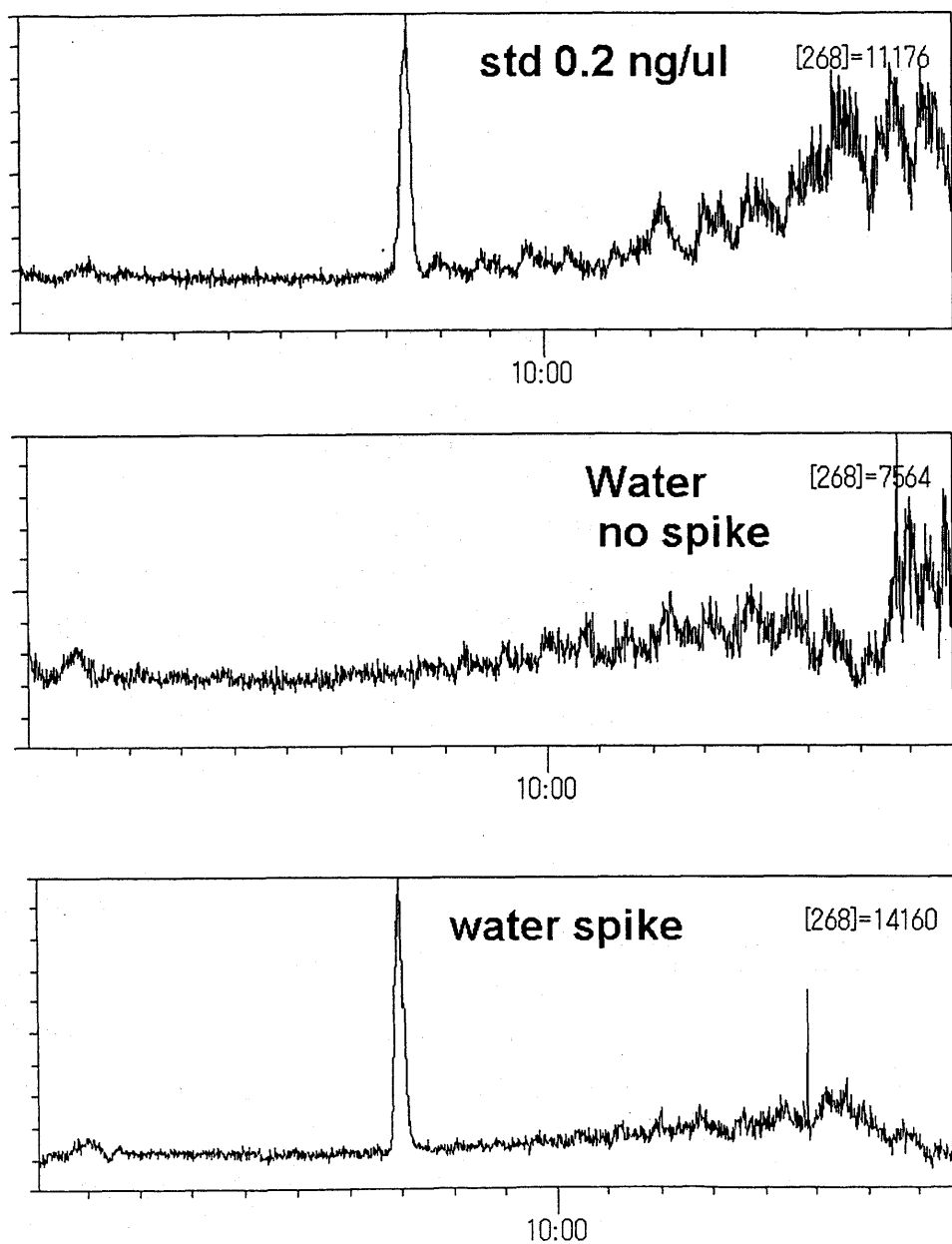


図7 添加回収試験結果－1

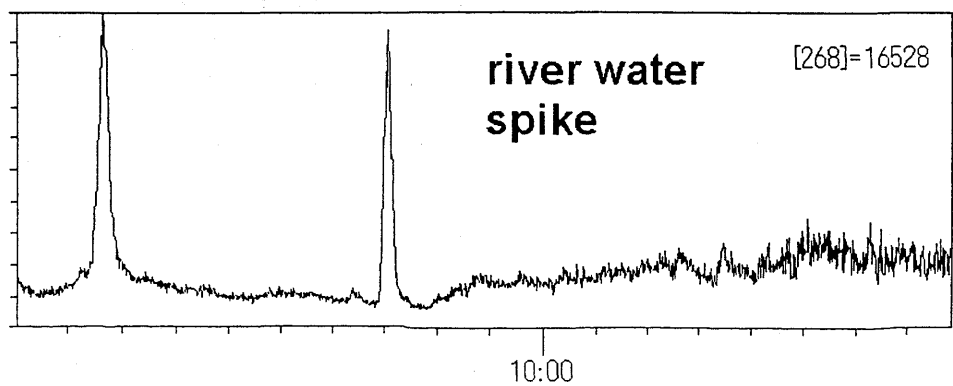
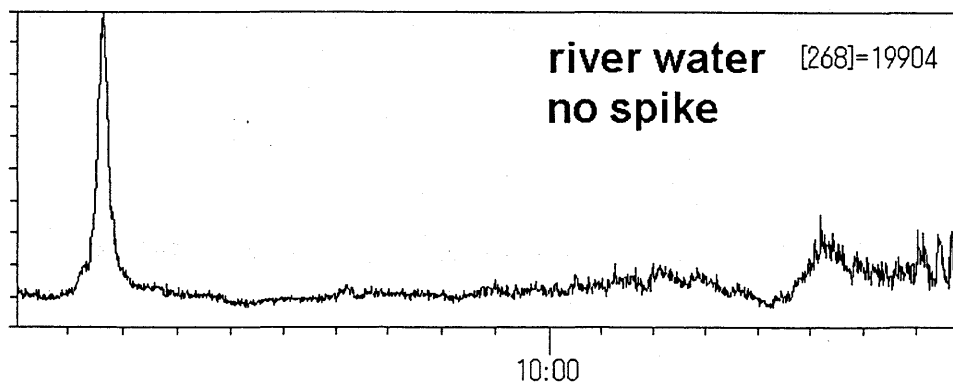
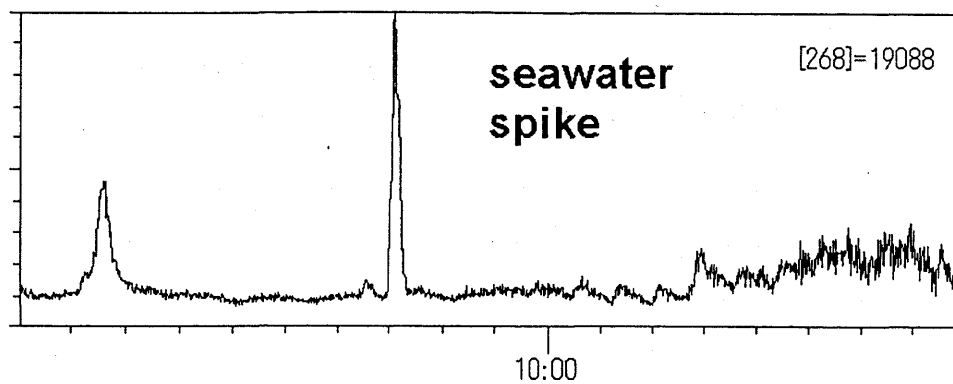
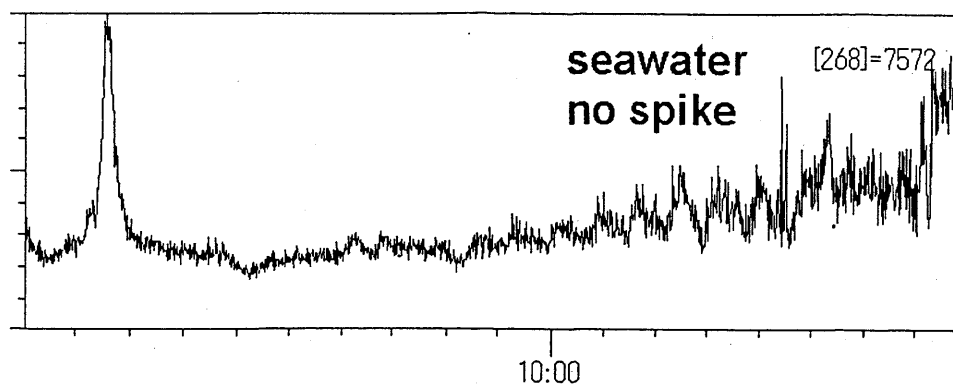


图 8 添加回收試驗結果－2

表 1 添加回収試験結果（試料 500mL に 0.2 μg 添加）

	精製水		海水		河川水	
	1 回目	2 回目	1 回目	2 回目	1 回目	2 回目
測定値[ppb]	0.340	0.398	0.406	0.394	0.328	0.354
回収率[%]	85.0	99.5	102	98.6	82.0	88.5

5 分解性スクリーニング

札幌市の行った分解性スクリーニングの結果を表 2 に示す。

表 2 分解性スクリーニング結果（平成 9 年度 分析法開発調査報告書から）

p H	初期濃度[$\mu\text{g/mL}$]	1 時間後 [%]	5 日後, 暗所 [%]	5 日後, 明所 [%]
5	0.5	90	84	—
7	0.5	94	97	78
9	0.5	91	89	—

【評価及び今後の検討課題】

本法により水環境試料中に存在する ppb 以下の濃度レベルの目的物質を分析することが可能である。

参考 平成 9 年度化学物質分析法開発調査報告書 札幌市衛生研究所担当

北九州市環境科学研究所

Tel:093-882-0333, Fax:093-871-2535

北九州市戸畑区新池 1-2-1

担当者：花田喜文、谷崎悌司

分析法フローチャート

物質名	分析法フローチャート	備考
ピリジン-トリフェニルボラン	水質試料 500mL → pH 調整 (pH 2, 2 M 塩酸) → → ディスク型固相抽出 (C18) → 溶出(アセトニトリル)→ → 濃縮 → LC/MS-SIM (ESI-負イオンモード)	LC/MS-SIM ESI-負イオン カラム : Inertsil ODS-80A 長さ : 250mm 内径 : 1.5mm 検出限界 <水質> 0.030 μg/L

Pyridine-triphenylboron

A water sample is adjust at pH2 with 2M hydrochloric acid, and passed through the C18 disk cartridge. Triphenylboron absorbed on the disk cartridge is eluted with acetonitrile. The sample solutions are concentrated to 1mL, and analyzed by negative ion-ESI-LC/MS-SIM.

Water sample (500mL) → pH adjustment (pH2, 2M HCl) →
→ extraction (C18 disk cartridge) → elution (acetonitrile) → concentration(1mL) →
→ LC/MS-SIM (negative-ESI)