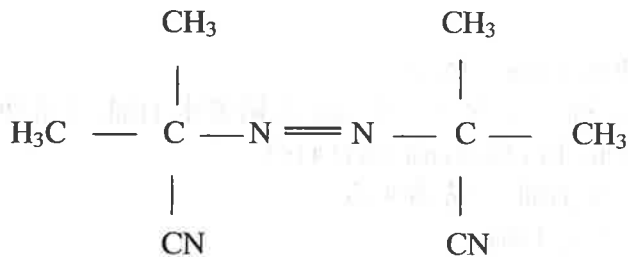


2, 2' - アゾビスイソブチロニトリル
 (別名: α , α' - アゾビスイソブチロニトリル、ABN)
 2, 2' - Azobisisobutyronitrile

【対象物質の構造】



CAS.No 78-67-1

【物理化学的性状】

物質	分子量	融点 ^{*)} (℃)	沸点 ^{*)} (℃)	LogPow ^{*)}
ABN	164.21	101.5	融点以上で分解	1.10

物質	水溶解度 ^{*)} (mg/100mL)	蒸気圧 ^{*)} (mmHg)
ABN	35	0.0067 (25℃)

*) SRC PhysProp Database (実測値)

【毒性情報、用途】

毒性：魚類（メダカ、96時間及び14日間 LC_{50} ） 何れも 10mg/L 以上

用途：重合開始剤、発泡剤

§ 1. 分析法

(1) 分析法の概略

水試料 300mL を固相カートリッジに通水し、対象物質を吸着する。カラムを脱水後、エタノールで溶出し、GC/MS (SIM) により定量する。

(2) 試薬・器具

【試薬】

2, 2' - アゾビスイソブチロニトリル (別名: ABN): 関東化学 特級

4-ニトロフェノール：林純薬工業
エタノール：残農試薬試験用
アセトン：残農試薬試験用
精製水：MILLIPORE Milli-Q SP TOC

【試薬の安定性、毒性】

ABNは衝撃を与えたり、加熱すると爆発することがあるので取り扱いには注意する。

【器具】

固相カートリッジ：Waters Sep-Pak Plus PS-2
使用前にアセトン 5mL、エタノール 5mL と精製水 10mL で洗浄する。
脱水カートリッジ：Waters Sep-Pak Dry (Sodium Sulfate)
使用前にエタノール 10mL で洗浄する。
ガラス繊維ろ紙：ワットマン GF/C ϕ 47mm
吸引ろ過器
固相吸引装置
ガラス注射筒
スピッツ管：容量 10mL

(3) 分析法

【試料の採取及び採取試料の保存】

「平成 15 年度版化学物質と環境 化学物質分析法開発調査報告書」初期環境調査試料採取要領に従う。

【試料の前処理】

水質試料 300mL (注 1) をあらかじめコンディショニングした固相カートリッジに毎分 10mL 以下で通過させる。精製水 10mL でカラムを洗浄し 45 分程度空気で吸引乾燥後、固相カートリッジの下部にコンディショニングした脱水カートリッジを連結する。固相カートリッジ上部からエタノール 5mL を展開し 10mL のスピッツ管で受け、試料処理液とする。

【試料液の調製】

試料処理液を、窒素パージにより 1mL まで濃縮し、内標準液 ($100 \mu\text{g/mL}$) を $5 \mu\text{L}$ 添加して試料液とする。

【空試料液の調製】

精製水 300mL を【試料の前処理】、【試料液の調製】と同様に操作し、空試料液とする。

【標準液の調製】

ABN の 100mg を秤量後アセトンに溶かし 100mL として標準原液 (1mg/mL) とする。
標準原液をアセトンで希釈して $10 \mu\text{g/mL}$ 及び $100 \mu\text{g/mL}$ の標準液を作成する。

【内標準液の作成】

4-ニトロフェノールの 5mg を秤量後アセトンに溶かし 50mL として内標準液 ($100 \mu\text{g/mL}$) とする。

【測定】

[GC/MS の測定条件]

使用機器 : GC/MS ; HP-5890 II / JEOL AX-505W
カラム : DB-5MS (5%フェニルメチルポリシロキサン相当)
($30\text{m} \times 0.32\text{mm i.d.} \times 0.25 \mu\text{m}$)
昇温条件 : 60°C (1min.) - 5°C/min. - 100°C (0min.) - 20°C/min. - 280°C (5min.)

注入法 : スプリットレス (パージ on time 1.5min)
 注入量 : 1 μ L
 注入口温度 : 110 $^{\circ}$ C (注2、3)
 キャリヤーガス : He 35kPa
 インターフェイス温度 : 240 $^{\circ}$ C
 イオン源温度 : 210 $^{\circ}$ C
 イオン化電流 : 300 μ A
 検出モード : SIM
 モニターイオン : ABN 68 (定量用)、69、121 (確認用)
 内標準物質 (4-ニトロフェニール) 144

[検量線]

エタノール 1mL に ABN 標準液 (10 μ g/mL) を 0~100 μ L と内標準液 (100 μ g/mL) を 5 μ L 加え、GC/MS (SIM) により定量し、得られた標準物質のピーク面積と内標準物質のピーク面積の比から検量線を作成する。

[定量]

試料液を GC/MS に注入し、得られた目的物質と内標準物質のピーク面積比から検量線により検出量を求める。次に、検出量と分析に供した試料量から次項の計算式により試料中の濃度を算出する。

[計算]

$$\text{計算値 } (\mu\text{g/L}) = \text{検出量 } (\mu\text{g}) / \text{試料採取量 (L)}$$

[装置検出下限 (IDL)]

本分析に用いた装置検出下限 (IDL) を以下に示す。(注4)

物質	IDL (μ g/mL)	試料量 (mL)	最終液量 (mL)	IDL 試料換算値 (μ g/L)
ABN	0.0032	300	1	0.011

[測定方法の検出下限 (MDL) と定量下限 (MQL)]

本測定方法における検出下限及び定量下限を次に示す。(注5)

物質	試料量 (mL)	最終液量 (mL)	検出下限値 (μ g/L)	定量下限値 (μ g/L)
ABN	300	1	0.042	0.11

(4) 注解（分析上の注意点等）

- (注1) 検体に濁り等ある場合はGF/Cでろ過する。詳細は“【分析法の検討】7. 試料のろ過について”を参照。
- (注2) A B Nは融点以上で分解するため注入口温度を 110℃とした。なお、一連の測定が終了した後、注入口温度を通常に戻し、カラムの焼き出しを実施する。
- (注3) A B Nの分解を考慮し、石英ウールのないインサートを使用する（ここでは Agilent No.5062-3587 の石英ウールを取り除き使用した）。
- (注4) 装置検出下限（IDL）は、「平成17年 3月 化学物質環境実態調査の手引き」により以下のとおり算出した。

物質名	A B N
試料量(L)	0.3
最終液量(mL)	1
注入液濃度(μg/mL)	0.03
装置注入量(μL)	1
結果1(μg/mL)	0.026
結果2(μg/mL)	0.027
結果3(μg/mL)	0.027
結果4(μg/mL)	0.028
結果5(μg/mL)	0.026
結果6(μg/mL)	0.027
結果7(μg/mL)	0.028
平均値(μg/mL)	0.027
標準偏差(μg/mL)	0.00082
IDL(μg/mL)	0.0032
IDL 試料換算値(μg/L)	0.011
S/N	10
CV (%)	3.0

$$IDL=t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$$

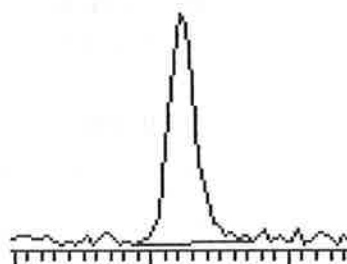


図1 IDL（注入量 30pg）の SIM クロマトグラム(m/z=68)

(注5) 測定方法の検出下限 (MDL)、定量下限 (MQL) は「平成17年3月 化学物質環境実態調査の手引き」により以下のとおり算出した。

物質名	A B N
試料量 (L)	0.3
標準添加量 (μg)	0.1
試料換算濃度 ($\mu\text{g/L}$)	0.33
最終液量 (mL)	1
注入液濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	0.1
装置注入量 (μL)	1
操作ブランク平均 ($\mu\text{g/L}$) ^①	0
無添加平均 ($\mu\text{g/L}$) ^②	0
結果 1 ($\mu\text{g/mL}$)	0.104
結果 2 ($\mu\text{g/mL}$)	0.096
結果 3 ($\mu\text{g/mL}$)	0.100
結果 4 ($\mu\text{g/mL}$)	0.098
結果 5 ($\mu\text{g/mL}$)	0.094
結果 6 ($\mu\text{g/mL}$)	0.100
結果 7 ($\mu\text{g/mL}$)	0.092
平均値 ($\mu\text{g/mL}$)	0.099
標準偏差 ($\mu\text{g/mL}$)	0.0032
DL ($\mu\text{g/mL}$)	0.012
MDL ($\mu\text{g/L}$)	0.042
MQL ($\mu\text{g/L}$)	0.11
S/N	50
CV (%)	3.3

$$\text{MDL} = t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2 \quad \text{MQL} = \sigma_{n-1} \times 10$$

① 操作ブランク平均：

試料マトリックスのみがない状態で他は同様の操作を行い測定した値の平均値

② 無添加平均：

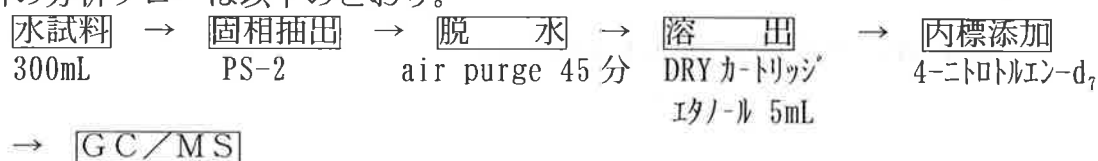
MDL 算出用試料に標準を添加していない状態で含まれる濃度の平均値

§ 2. 解説

【分析法フローチャート】

水質試料

水試料の分析フローは以下のとおり。



【分析法の検討】

1. 検量線

検量線の一例を示す。

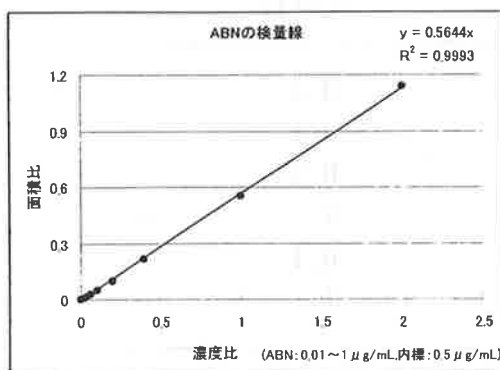


図2 検量線 (ABN : 0.01~1.0 $\mu\text{g/mL}$)

2. 低濃度回収実験

試料	精製水	河川水	海水
試料量 (mL)	300	300	300
添加量 (μg)	0.1	0.1	0.1
測定回数	7	7	3
ABN回収率	99.6 (2.7)	98.6 (3.3)	95.7 (4.2)

() 内は変動係数%

3. 注入口温度について

ABNは融点以上で分解するため通常の注入口温度では測定できない。図3、4に注入口温度 150℃と 240℃の場合のABNのマスキロマトグラムを示す。150℃ではABNの一部が分解したTMSN (Tetramethylsuccinonitrile、標準物質をGC/MSに注入し確認) と未知物質及びABNが検出され、240℃ではABNが全て分解されている。また、ABNはインターフェース或いはイオン源で熱分解され、TMSNと同じマススペクトルを示す。

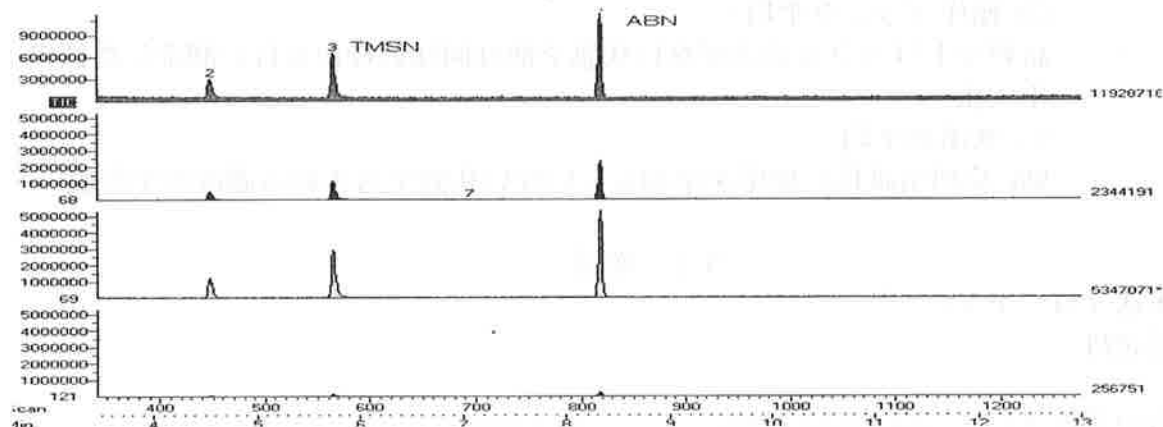


図3 ABN のマスキロマトグラム (注入口 150℃)

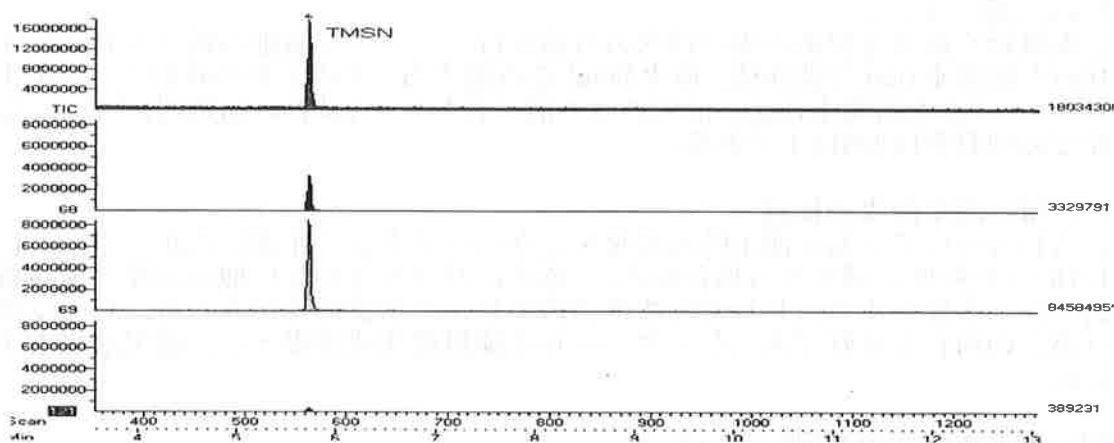
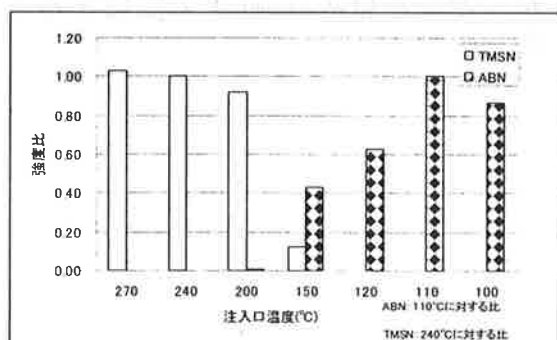


図4 ABNのマクロマトグラム（注入口 240℃）

4. 注入口温度とクロマトの関係

GCの注入口温度を変えABNとTMSNの強度の関係を検討した（図5）。ABNは注入口温度110℃に対し、TMSNは240℃に対する各温度での強度比で示した。



注入口温度が200℃以上ではほとんどはTMSNに分解され、120℃以下ではABNのままであり、本調査では試料によるインサートの汚れ等を考慮して注入口温度を110℃とした。ABNが検出された場合、注入口温度を240℃で再分析しABNのピークが消失し、TMSNピークが出現するとABNの確認となる。

図5 注入口温度とABN強度の関係

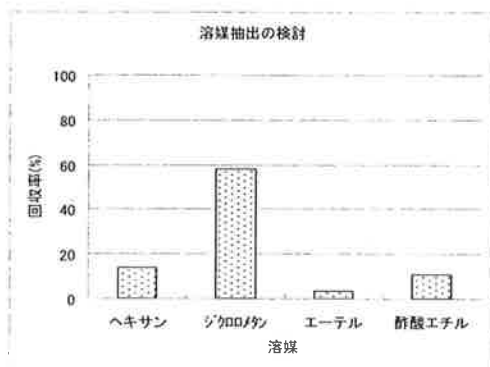
5. GCカラムと内標準物質の検討

ABNをGC/MSで分析するためのカラムを検討した。DB-5以外に極性物質用のWAX系カラムは、ABNのカラムからの溶出温度が150℃以上となり、カラム内でABNが分解しピークがブロードなためDB-5を使用することとした。ABNのベースピークは $m/z=69$ であるが、カラムからのブリードが大きく、定量は $m/z=68$ とした。

また、使用カラムは中沸点から高沸点系、一方、注入口温度や昇温条件が低沸点系であることから、低沸点から中沸点で使用される内標準物質数種類を検討した。比較的ガス化し易くカラムとの相性の良い4-ニトロトルエン- d_7 を使用することとした。

6. 抽出法の検討

精製水500mLにABNを1 μ g添加し、抽出溶媒（50mLで2回抽出）による回収率を検討した。



最も回収率の良いジクロロメタンで約60%と十分な回収率が得られず、固相抽出法を検討した。固相カートリッジで90%以上の回収率が得られ、固相カートリッジによる固相抽出法を採用した。

図6 抽出溶媒の検討

7. 試料のろ過について

試料に夾雑物や濁り等がある場合は次のろ過を行う。ガラス繊維ろ紙（φ47mm）をエタノール10mLと精製水10mLで洗浄後、検水300mLをろ過する。そのままの状態、ろ紙上の残渣をエタノール3mLと精製水10mLで溶出させる液に合わせ、【試料の前処理】を行う。なお、この操作での回収率は90%以上である。

8. GC/MS測定溶媒の検討

当初、ABNのGC/MS測定時の溶媒をジクロロメタンで作成したが、ロットにより感度が1/10～1/2程度に減少する場合があります。感度にバラツキがない他の溶媒で検量線の溶媒を検討した。溶媒によりABNと内標準物質のピーク形状に差がみられ、ピーク形状及びピーク高さの何れも良好であったエタノールを検量線作成溶媒とし、溶出溶媒もエタノールとした。

9. 固相からのABNの溶出について

精製水300mLにABNを添加し（0.1μg）、固相カートリッジに通水・乾燥後、脱水カートリッジを装着して溶出溶媒のエタノール

を分画採取した（図7）。ABNはエタノール3mLまでの分画に溶出したが、安全を見込み5mLまで採取することとした。

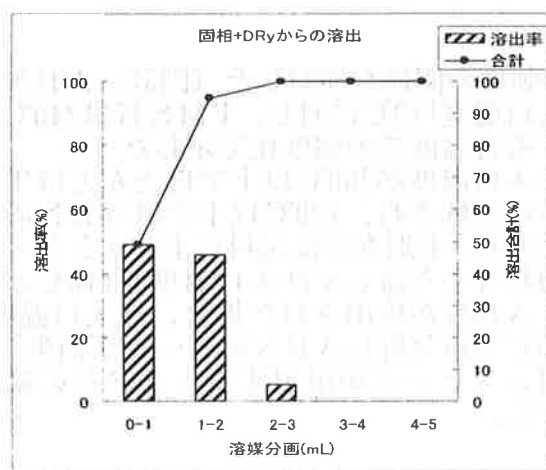


図7 固相からの溶出

10. 試料の保存性

ガラス瓶に入れた河川水にABNを添加し（濃度0.1μg/L）、冷蔵庫中で保存性を検討した（図8）。50日以上安定で、河川水中でのABNの保存性は良好と考えられる。

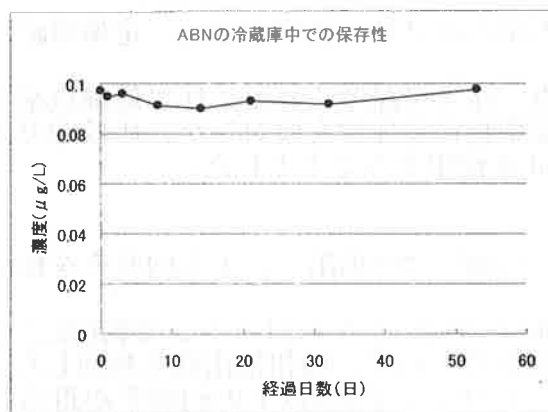


図8 試料の保存性

1 1. 分解性スクリーニング試験

ABN

(初期濃度：0.2mg/L での残存率、%)

pH	1 時間後	5 日後	
		暗 所	明 所
5	101	87	
7	99	93	97
9	97	93	

1 2. マススペクトル

ABNとTMSNのマススペクトルを示す。

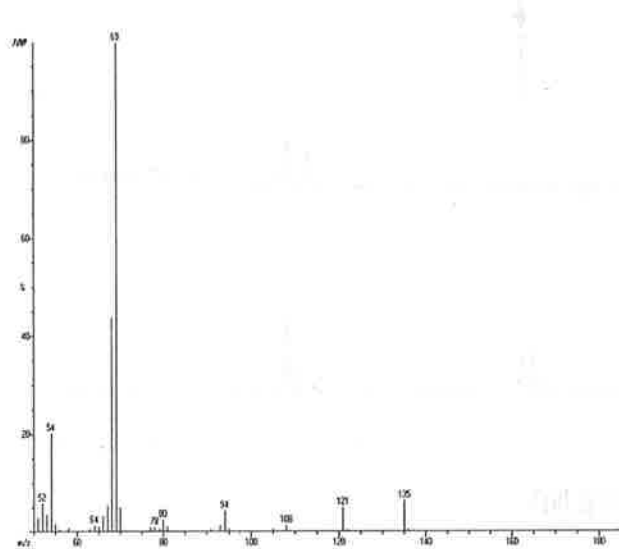


図 9 ABNのマススペクトル

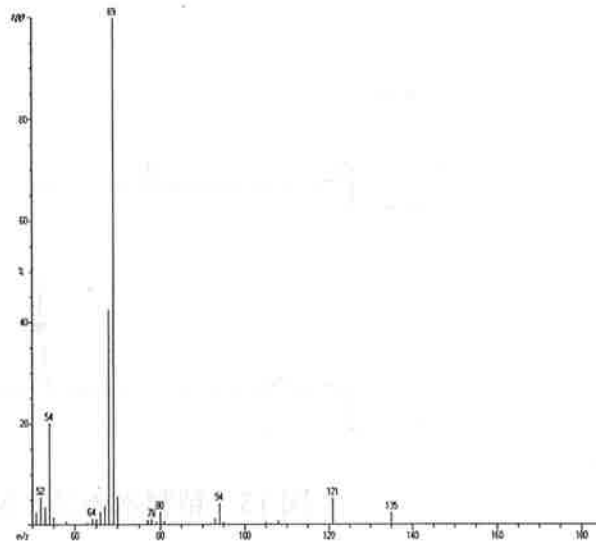


図 10 TMSNのマススペクトル

1 3. SIMクロマトグラム

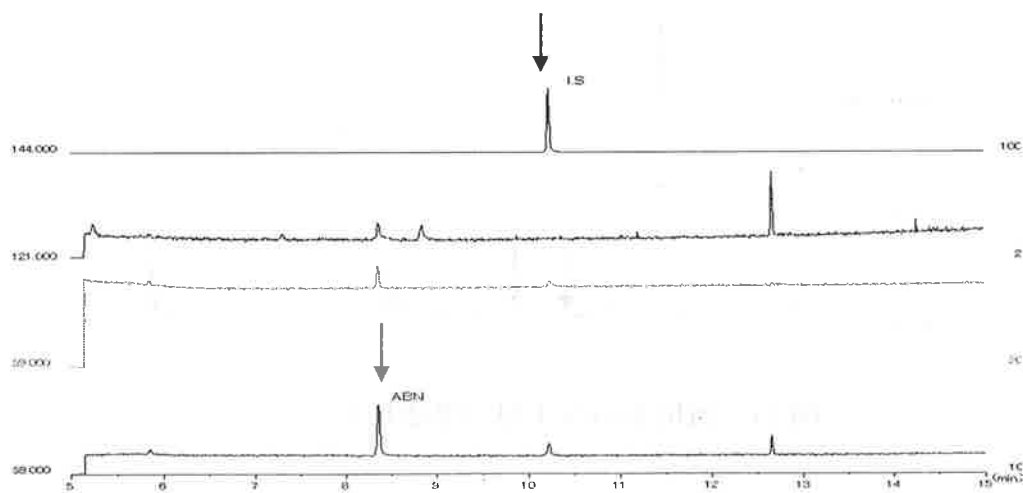


図 11 標準物質のSIM (0.1 μ g/mL、定量：m/z=68)

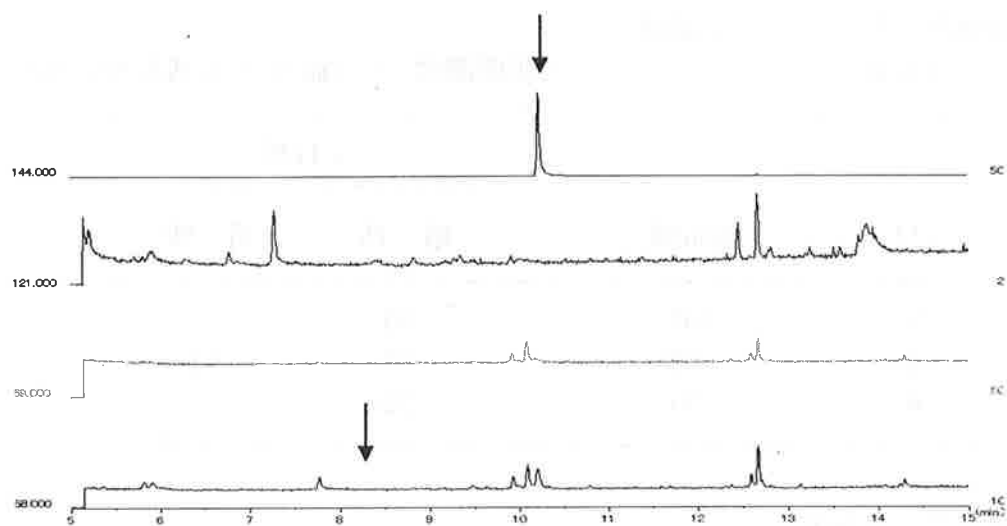


図 12 精製水の S I M (無添加)

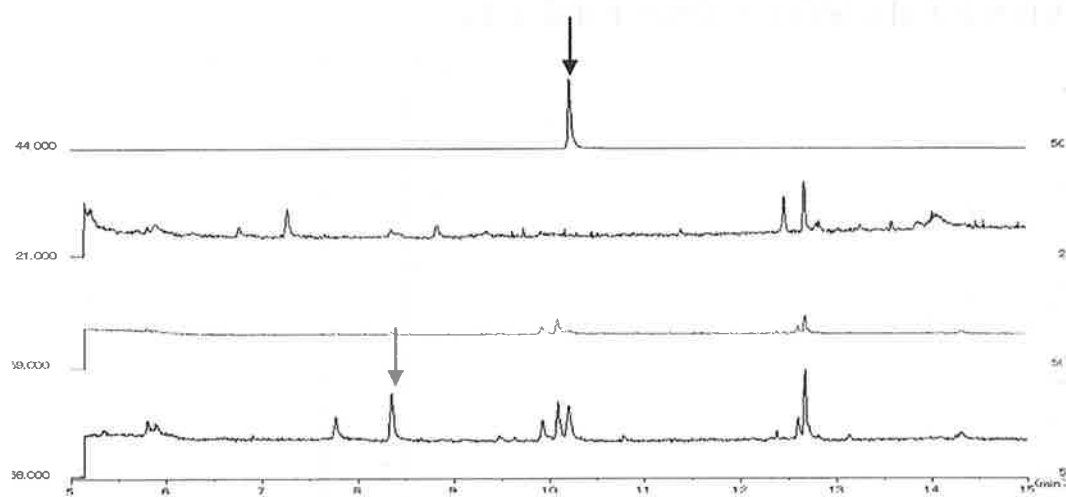


図 13 精製水の S I M (添加)

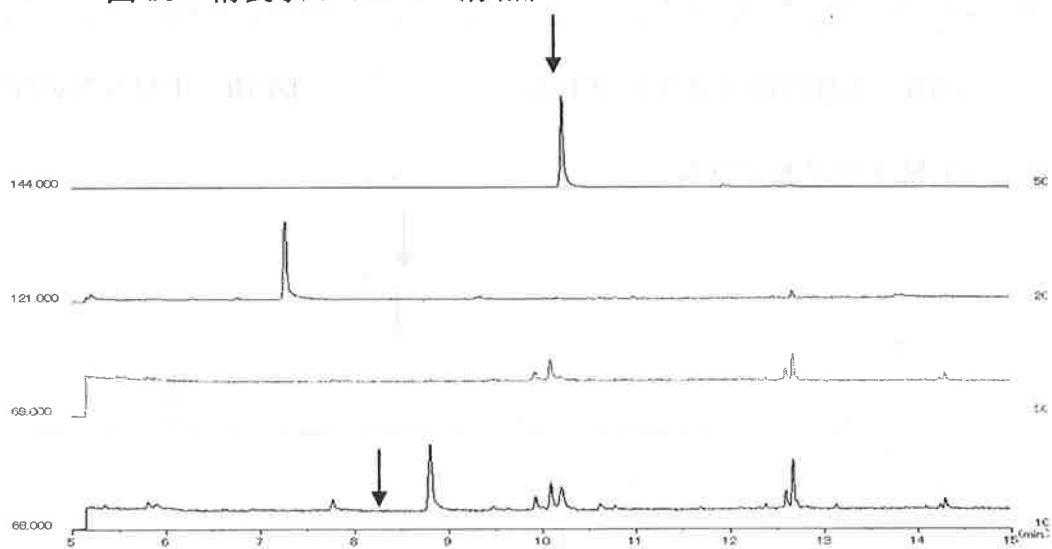


図 14 河川水の S I M (無添加)

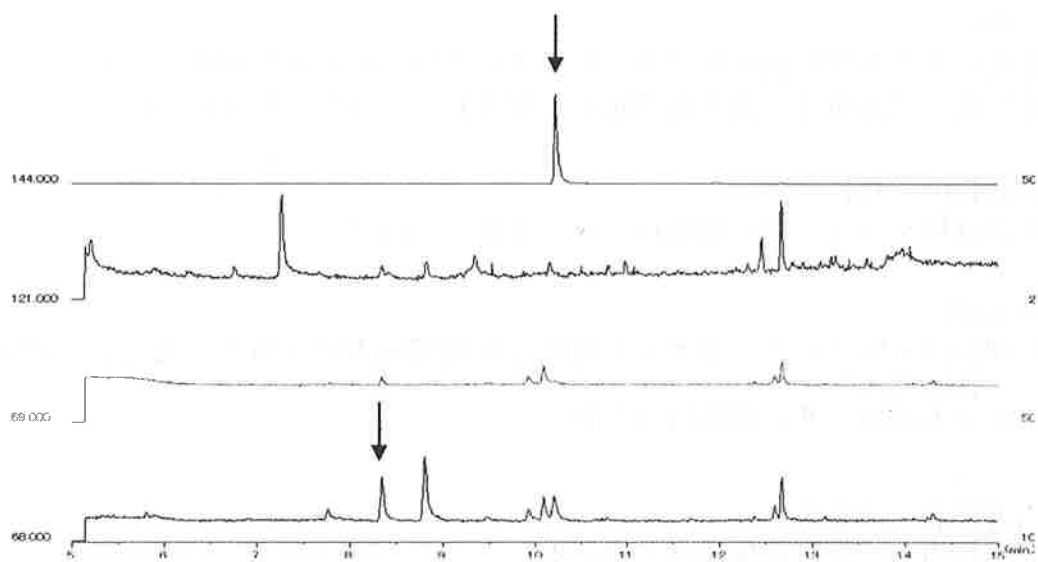


図 15 河川水の S I M (添加)

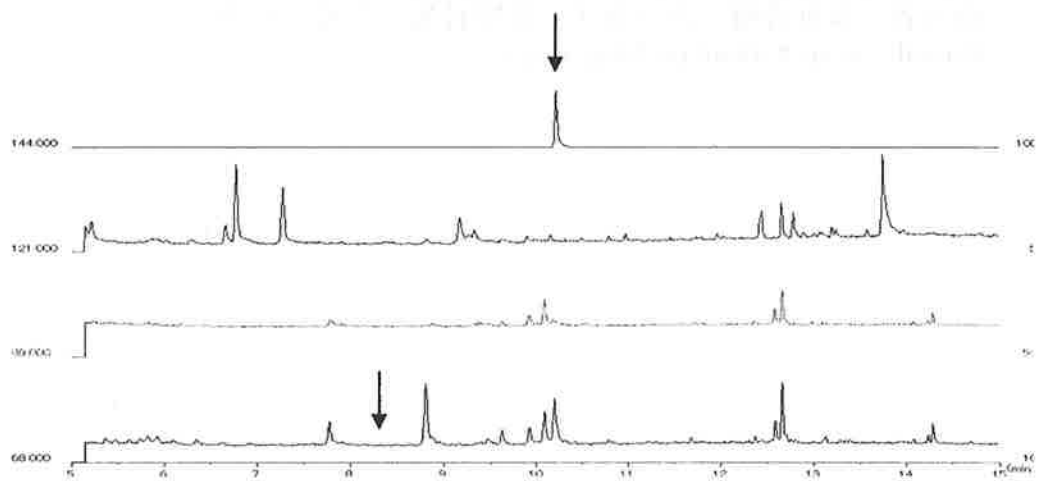


図 16 海水の S I M (無添加)

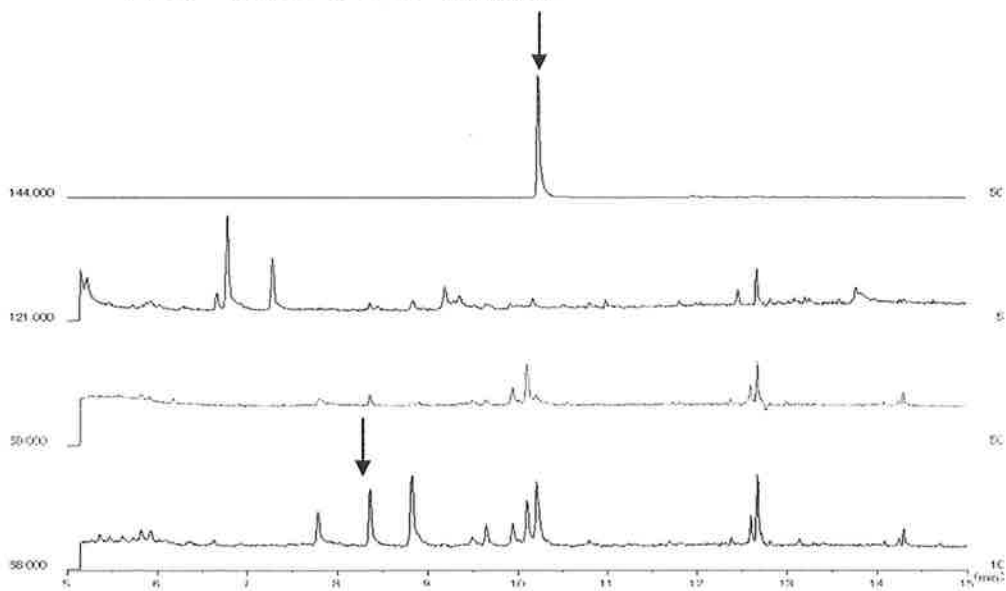


図 17 海水の S I M (添加)

【評 価】

本法により水中に ppb レベルで存在する A B N の定量が可能である。
本分析法で河川水、海水を測定したが A B N は検出されなかった。

【分析試料の送付】

水質試料をガラス瓶に採取後、クール便で送付する。

【参考文献】

- 1) (財)日本環境協会、昭和53年度化学物質環境調査分析方法報告書、山梨県立衛生公害研究所
- 2) 化学大辞典、共立出版株式会社

【担当者氏名・連絡先】

担当 長野県環境保全研究所
住所 長野市安茂里米村 1 9 7 8
Tel : (026) 227-0354 Fax : (026) 224-3415
担当者 笹井春雄 渡辺哲子 薩摩林光 土屋としみ
E-mail sasai-haruo@pref.nagano.jp

Target Compound

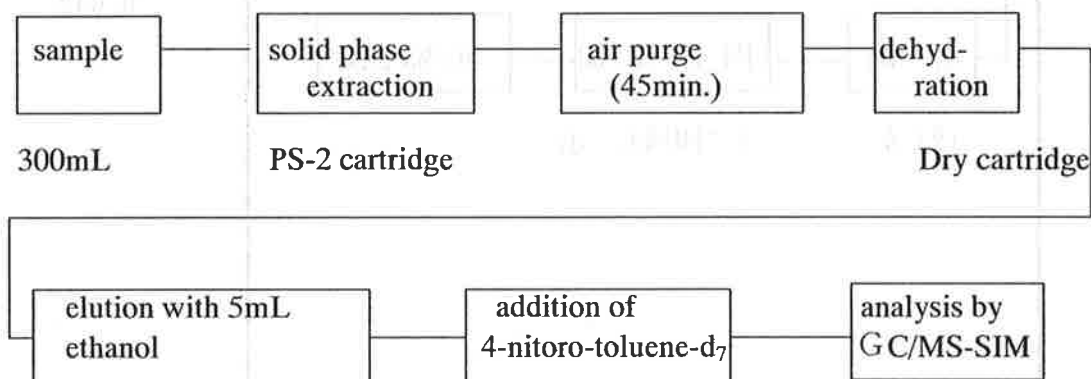
2,2'-Azobisisobutyronitrile

1. Abstract

A water sample was passed through a PS-2 cartridge for solid phase extraction. 2,2'-Azobisisobutyronitrile in the PS-2 cartridge was eluted with 5mL of ethanol. The extract was concentrated to 1 mL, and then an internal standard was added to the concentrate. Measurement was performed by GC/MS-SIM.

2. Flowchart

(Water sample)

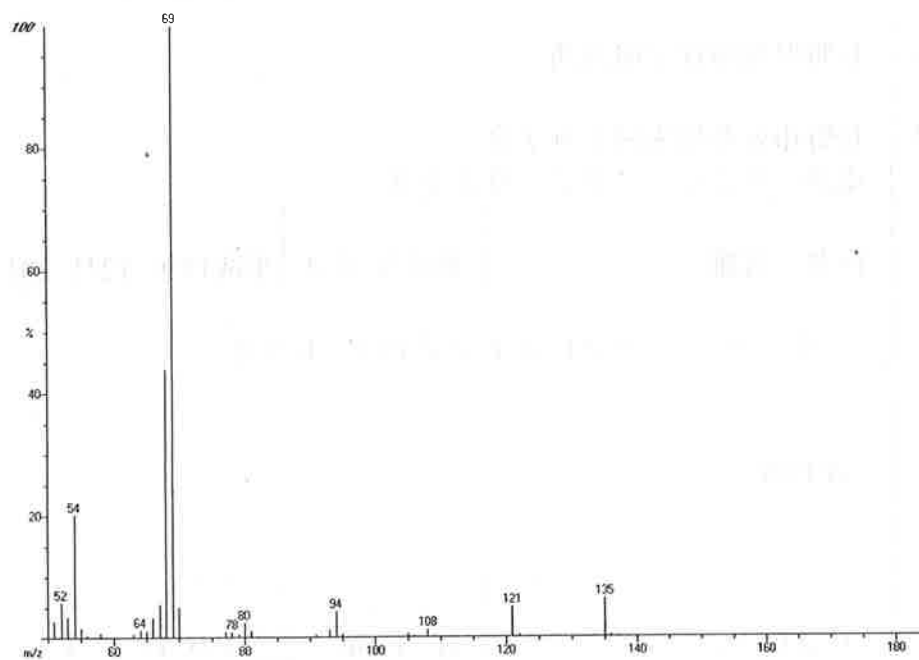


物質名	分析法フローチャート	備考
2, 2'-アゾ ビスイソブチ ロニトリル	水質 <pre> graph LR A[試料 300mL] --> B[固相抽出 PS-2 カートリッジ] B --> C[脱水・濃縮 乾燥45分 Dry カートリッジ] C --> D[溶出 エタノール] D --> E[内標添加 4-ニトロトルエン- d₇] E --> F[GC/MS 測定] </pre>	GC/MS カラム : DB-5MS カラム長 : 30m 内径:0.32mm 膜厚:0.25 μm 検出下限 : 水質 (μg/L) 0.042

マススペクトル付属データ

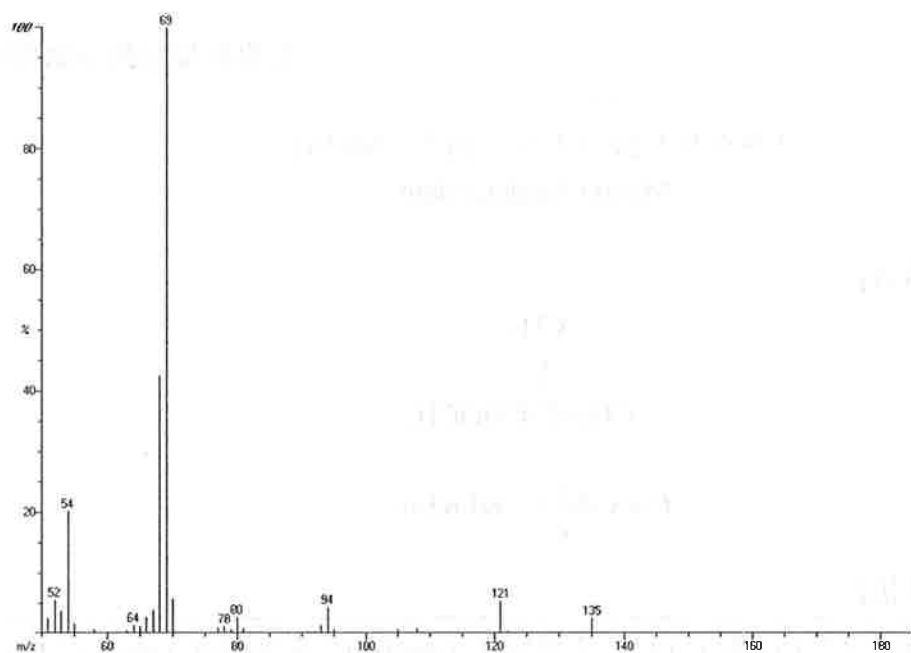
測定機関名	長野県環境保全研究所		
住所および 電話番号	長野市安茂里米村1978 電話 026-227-0354		
測定者	笹井 春雄	測定年月日	平成17年 12月 20日
物質名 (英語)	2, 2' - アゾビスイソブチロニトリル		
別 名 (英語)	ABN		
分子式	$C_8H_{12}N_4$	分子量	164.21
CAS登録番号 78-67-1		プライマリリスト番号:	
GC条件 機 種: HP5890 II カラム液層: DB-5MS カラム内径: 0.32 mm カラム長さ: 30 m カラム膜厚: 0.25 μm 温度条件: 60°C(1 min) $\rightarrow$ 5°C/min $\rightarrow$ 100°C(0 min) $\rightarrow$ 20°C/min $\rightarrow$ 280°C(5 min) ピーク 保持時間: 8.3 min PTRI: 1120 MS条件 機 種: JMS-AX505W MS方式: 磁場型 イオン化方法: EI その他: イオン化電圧 70 eV			
$ \begin{array}{ccccccc} & & \text{CH}_3 & & & \text{CH}_3 & \\ & & & & & & \\ \text{H}_3\text{C} & - & \text{C} & - \text{N} = \text{N} & - & \text{C} & - \text{CH}_3 \\ & & & & & & \\ & & \text{CN} & & & \text{CN} & \end{array} $			

ABN (2,2'-Azobisisobutyronitrile)



M/Z	BASE(%)
52	5.9
54	20.3
67	5.6
68	44.0
69	100
70	5.1
121	5.0
135	6.3

TMSN (Tetramethylsuccinonitrile)



M/Z	BASE(%)
52	5.5
54	20.2
68	42.7
69	100
70	5.7
121	5.4