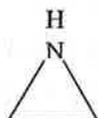


## エチレンイミン

### 対象物質及び構造式



Ethylene imine  
CAS 番号 151-56-4

### 物性

分子量	沸点 (°C)	蒸気圧 (kPa)	水溶解度(mg/L)	LogPow
43.1	56~57	21.3 (20°C)	混和する	-0.74 (計算値)

### 毒性、用途等

エチレンイミン

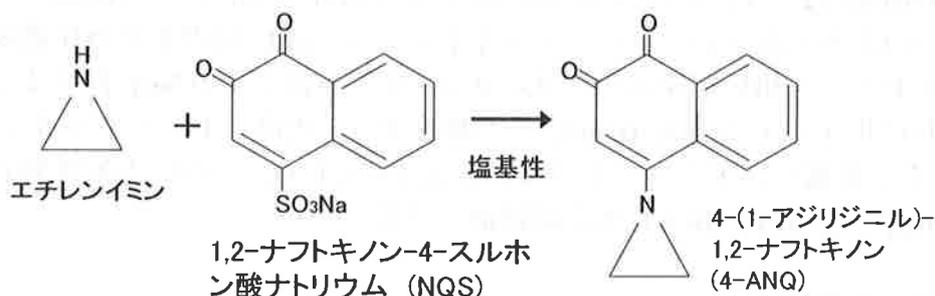
毒性情報 : ラット経口 LD<sub>50</sub> >15mg/kg

用途 : 農薬原料、染料原料、繊維処理剤等

## §1 分析法

### (1) 分析法の概要

水試料 200mL に 1,2-ナフトキノン-4-スルホン酸ナトリウム(NQS)水溶液を加えエチレンイミンを 4-(1-アジリジニル)-1,2-ナフトキノン(4-ANQ)に誘導体化する。誘導体化物をクロロホルムで抽出し、アセトニトリルに転溶する。これに内標準物質を加え LC/MS/MS で分析する。



## (2) 試薬・器具

### 〔試薬〕

エチレンイミン	: Ferakbrlin G mbH 社製
シマジン-d <sub>10</sub> (100 μg/mL アセトン溶液)	: Ehrenstorfer 社製
1,2-ナフトキン-4-カルボン酸ナトリウム(NQS)	: ACROS ORGANICS 社製
リン酸二水素ナトリウム	: 関東化学社製試薬特級
水酸化ナトリウム	: 関東化学社製試薬特級
塩化ナトリウム	: 関東化学社製残留農薬試験用
クロロホルム	: 関東化学社製残留農薬試験用
アセトン	: 関東化学社製残留農薬試験用
酢酸	: 関東化学社製試薬特級
アセトニトリル	: 関東化学社製 HPLC 用
HPLC 用蒸留水	: 関東化学社製 HPLC 用
精製水	

### 〔器具〕

分液ロート  
なす型フラスコ  
遠沈管

## (3) 分析法

### 【試料の採取及び保存】

環境省「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。

### 【試料の前処理】

試料水 200mL を 300mL の分液ロートに採取し、塩化ナトリウムを 6g、0.1M-リン酸緩衝液(pH11.7)を 2mL、8mg/mL-NQS 溶液を 5mL 加え、5 分間振とうしエチレンイミンを 4-ANQ に誘導体化する。これにクロロホルム 20mL を加えて 5 分間振とう抽出する。分液後、この抽出操作を再度行い、抽出液を合わせる。

### 【試料液の調製】

【試料の前処理】で得られた抽出液に精製水 100mL を加え、5 分間振とうし水洗する。クロロホルム層をロータリーエバポレータで 2mL 程度まで減圧濃縮する。濃縮液をアセトンを用いて遠沈管に洗い込み、窒素気流下で 0.5mL 程度まで濃縮し、アセトニトリル 1.5mL を加え 0.5mL まで濃縮する。再度アセトニトリル 1.5mL を加え 1mL まで濃縮し、アセトニトリルに転溶する(注 1)。これに内標準物質としてシマジン-d<sub>10</sub>(1 μg/mL)を 10 μL 加え試料液とする。

### 【空試験液の調製】

精製水 200mL で【試料の前処理】及び【試料溶液の調製】の操作を行い、得ら

れた試料液を空試験液とする。

【エチレンジイミン標準溶液の調製】

エチレンジイミン 250mg をアセトニトリル 25mL に溶解して 10mg/mL の標準原液を調製する。この標準原液をアセトニトリルで適宜希釈して標準溶液とする。

【NQS 溶液の調製】

0.8g の NQS を精製水 100mL で溶解させ、8mg/mL の NQS 溶液を調製する(注 2)。

【0.1M-リン酸緩衝液の調製】

リン酸二水素ナトリウム 0.2mol を精製水 100mL に溶解させ、pH メーターを用いて水酸化ナトリウム水溶液で pH11.7 に調整する。これを精製水で 200mL に定容する(注 3)。

【内標準溶液の調製】

シマジン-d<sub>10</sub>(100 μg/mL アセトン溶液)100 μL をアセトニトリルで希釈して 10mL とし、1 μg/mL の内標準溶液とする。

【測定】

〔LC/MS/MS 条件〕

LC 条件	機種	: Agilent 1100
	カラム	: SUPELCO 社製 Discovery HSF5 (150mm,2.1mm,3μm)
	溶離液	: A : 0.1%-酢酸水溶液 B : アセトニトリル
		: 0→12min B : 30→95%
		12→19min B : 95→95%
		19→20min B : 95→30%
		20→35min B : 30→30%
	流速	: 0.2mL/min
	カラム温度	: 30°C
	注入量	: 10 μL
MS 条件	機種	: Applied Biosystems API3000
	イオン化法	: ESI (+)
	イオン化電圧	: +5000V
	インターフェース温度	: 500°C
	モード	: SRM
	モニターイオン	: 4-ANQ = 200/172 シマジン-d <sub>10</sub> = 212/134

〔検量線〕

精製水 200mL にエチレンイミン標準溶液を 0.5～50ng 添加し、【試料の前処理】及び【試料液の調製】の操作を行う (注 4)。

検量線用標準溶液 10 $\mu$ L を LC/MS/MS に注入して分析する。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〕

試料溶液 10 $\mu$ L を LC/MS/MS に注入して分析する。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を検量線と照らして定量する。

〔濃度の算出〕

試料水中の濃度 C(ng/L)は次式により算出する。

$$C(\text{ng/L})=(W-W_b)/V$$

W : 検量線から求めた測定対象物質質量(ng)

W<sub>b</sub> : 空試験液の測定対象物質質量(ng)

V : 試料水量(L)

〔IDL〕

装置検出下限値(IDL)は、「化学物質環境実態調査の手引き」(平成17年3月)に従い、表1のとおり算出した。

表1 IDL

エチレンイミン	
試料量(L)	0.2
最終液量(mL)	1
注入濃度(ng/mL)	0.5
装置注入量( $\mu$ L)	10
結果(pg) test 1	4.40
test 2	4.70
test 3	5.10
test 4	5.07
test 5	4.82
test 6	4.95
test 7	4.69
平均値(pg)	4.8
標準偏差(pg)	0.247
c.v(%)	5.1
S/N	17.9
t(n-1,0.05)	1.9432
IDL(pg)	0.96
IDL(ng/mL)	0.096
IDL 試料換算(ng/L)	0.48

※結果(pg)=検出濃度(ng/mL) $\times$ 注入量( $\mu$ L)

※IDL(pg)=t(n-1,0.05) $\times$ 標準偏差(pg) $\times$ 2

〔MDL〕

測定方法の検出下限（MDL）及び定量下限（MQL）は、「化学物質環境実態調査の手引き」（平成17年3月）に従って、表2のとおり算出した。

表2 MDL及びMQL

		エチレンイミン
試料量(L)		0.2
標準添加量(ng)		0.5
試料換算濃度(ng/L)		2.5
最終液量(mL)		1
注入濃度(ng/mL)		0.5
装置注入量(μL)		10
ブランク平均(ng/L)		0
無添加平均(ng/L)		0
結果 (ng/L)	test 1	2.71
	test 2	3.04
	test 3	2.83
	test 4	2.91
	test 5	2.92
	test 6	2.80
	test 7	2.32
平均値(ng/L)		2.8
標準偏差(ng/L)		0.232
c.v.(%)		8.3
t(n-1,0.05)		1.9432
MDL 試料換算(ng/L)		0.90
MQL 試料換算(ng/L)		2.3

※MDL 試料換算(ng/L)=t(n-1,0.05)×標準偏差(ng/L)×2

※MQL 試料換算(ng/L)=標準偏差(ng/L)×10

(注1)

抽出液は若干呈色している。抽出液をヘキサンやメタノールに転溶すると、呈色の消失とともに対象物質のピークも確認できなくなる。このため、抽出後の溶液はヘキサンとメタノールに転溶してはならない。

(注2)

NQS 溶液は要時調製とし、調製後は使用まで冷暗所で保存する。

(注 3)

誘導体化は弱塩基～強塩基性下で進行するが、弱塩基では反応率に変動があるため、強塩基性とする。水酸化ナトリウムで試料水の pH を調整した場合、試料水によってはエマルジョンが発生するので緩衝液を用いる。

(注 4)

高濃度の 4-ANQ 溶液を希釈して作成した検量線と各濃度で誘導体化して作成した検量線では検量線の傾きが異なり、高濃度の溶液を希釈した場合の方が感度が良い。これは NQS 添加量によるものと考えられるため、誘導体化試薬は正確に量り取り、検量線は試料水と同じスケールで作成する。

また、精製水にエチレンジアミンを添加しないで誘導体化した場合でも、対象物質が溶出する保持時間付近でベースラインの上昇や妨害ピークが若干確認される。

## §2 解説

### 【分析法】

#### 〔フローチャート〕

分析のフローチャートを図1に示す。

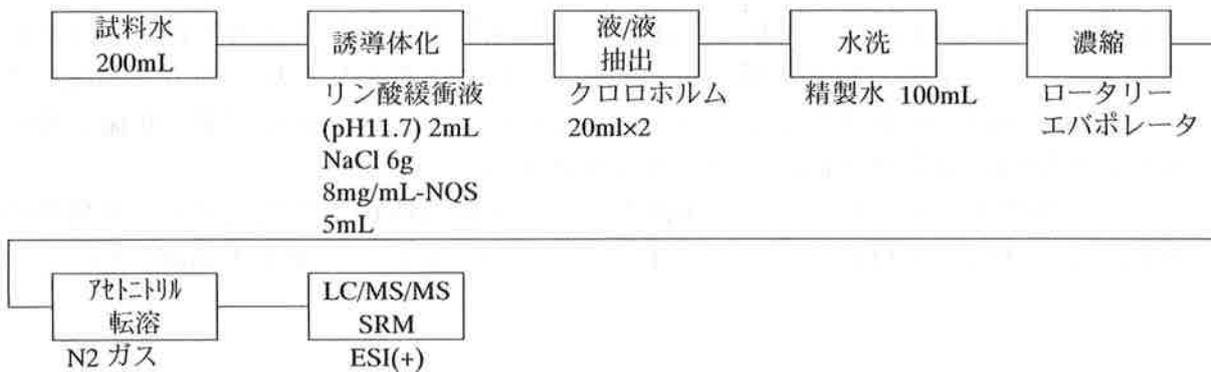
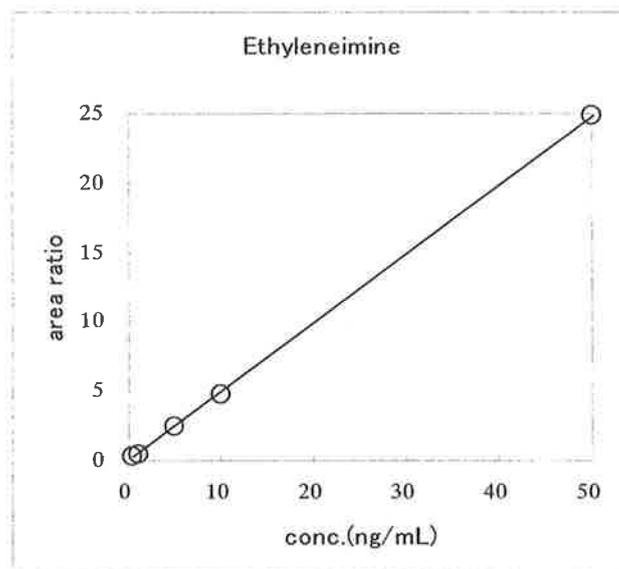


図1 分析フロー

### 〔分析法の検討〕

#### ・検量線

エチレンイミン 0.5~50ng を誘導体化させ、1mL に濃縮した溶液を用いて検量線作成した。結果を図2に示す。



Ethyleneimine  $y=0.501x$   $r^2=0.9999$

図2 検量線

・検量線のクロマトグラム

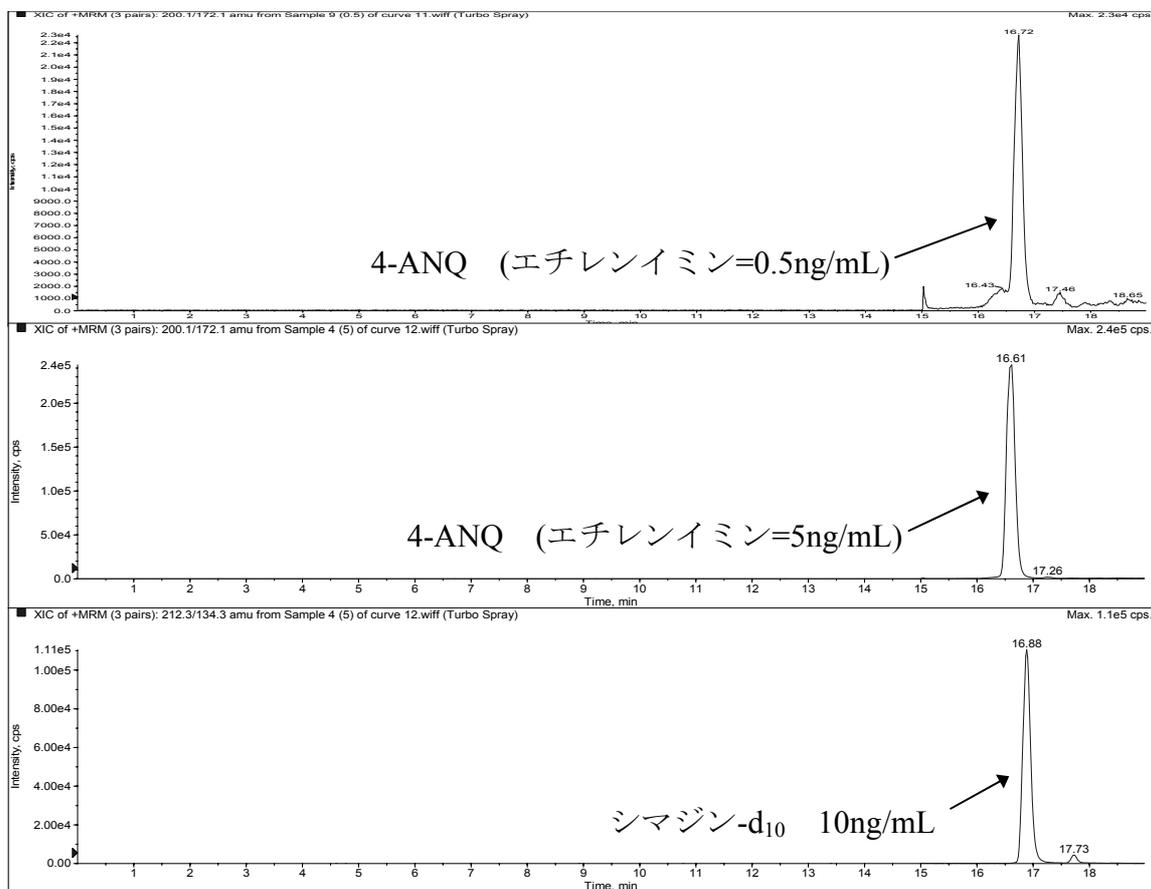


図3 検量線のクロマトグラム

・添加回収試験

河川水 200mL に対象物質を 5ng 添加し(試料換算で 25ng/L)、【試料の前処理】及び【試料液の調製】の操作を行い、添加回収試験を行った。また、無添加の場合についても行った。結果を表 3 及び図 4 に示す。無添加試料ではエチレンイミンの保持時間付近に妨害ピークが認められるが、この妨害は精製水にエチレンイミンを添加しない場合でも確認されるため、ブランク由来の夾雑物によるものと考えられる。なお、河川水中ではエチレンイミンは MDL 未満であった。

表 3 添加回収試験

エチレンイミン	
無添加濃度(ng/L)	<0.90
添加量(ng)	5.0
試験水濃度(ng/L)	25
回収率(%)	test 1 89
	test 2 97
	test 3 95
	test 4 94
	test 5 98
平均値(%)	95
標準偏差(%)	3.51
c.v.(%)	3.7

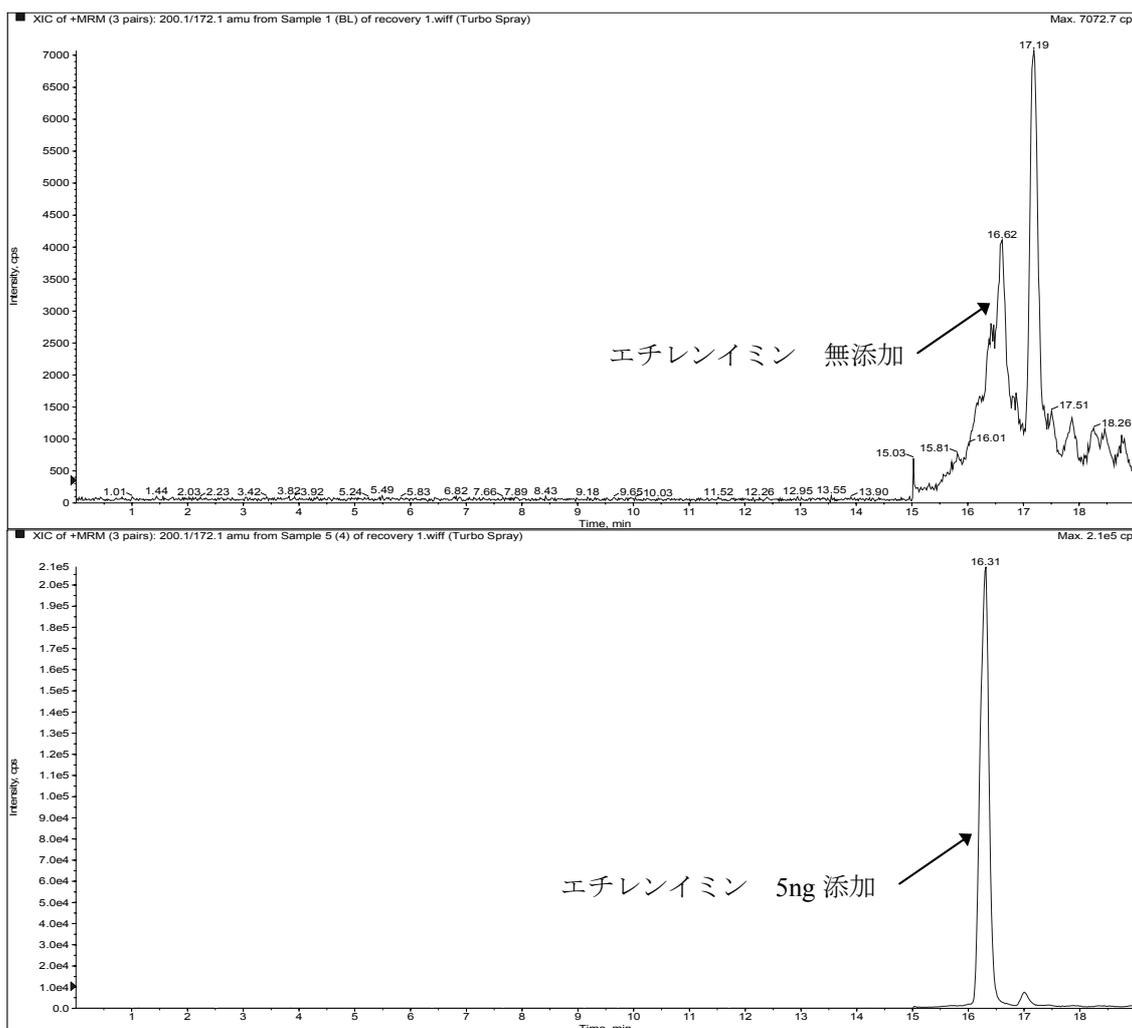


図 4 添加回収試験

・分解性スクリーニング試験

エチレンイミンについて分解性スクリーニング試験を行った。結果を表4に示す。

表4 分解性スクリーニング試験

pH	初期濃度 (ng/mL)	残存率(%)		
		1時間後	5日後	
			暗所	明所
5	10	100	100	—
7	10	100	99	74
9	10	100	100	—

・pHによる反応の影響

pH7.7と11.7で誘導体化反応の検討を行った。それぞれのpHでエチレンイミンを0.5~50ng添加し誘導体化させ、最終溶液量を1mLとして検量線を作成した。結果を表5に示す。pH7.7で誘導体化させた場合、反応は進行するがRRFにばらつきがあり相関係数も低く直線性が得られなかったが、pH11.7においては良好な直線性を示した。

表5 pHによる反応の影響

RRF	pH7.7	pH11.7
0.5ng/mL	0.409	0.467
1 ng/mL	0.266	0.435
5ng/mL	0.360	0.494
10ng/mL	0.471	0.470
50ng/mL	0.306	0.496
平均	0.36	0.47
標準偏差	0.0813	0.0248
c.v.(%)	22.6	5.3
相関係数	0.9939	0.9999

【評価】

本法により、水試料中のエチレンイミンの1ng/Lレベルの定量が可能である。

【参考文献】

- ・ David J Evans et. al., Rapid estimation of trace amounts of Ethyleneimine by High-Pressure Liquid Chromatography, *Journal of chromatography*, 115(1975), 391-395
- ・ NIOSH Manual of Analytical Methods(NMAM), Fourth Edition,8/15/1994

【担当者氏名・連絡先】

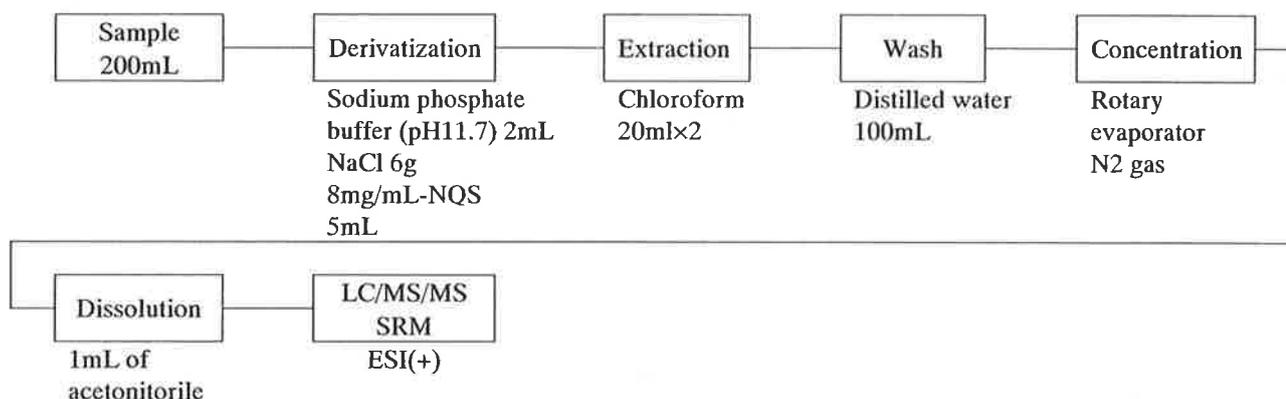
担当 : (財)日本環境衛生センター  
住所 : 〒210-0828 神奈川県川崎市川崎区四谷上町 10-6  
TEL : 044-288-4905  
FAX : 044-288-5232  
担当者 : 佐藤信武  
E-mail : [sato-n@jesc.or.jp](mailto:sato-n@jesc.or.jp)

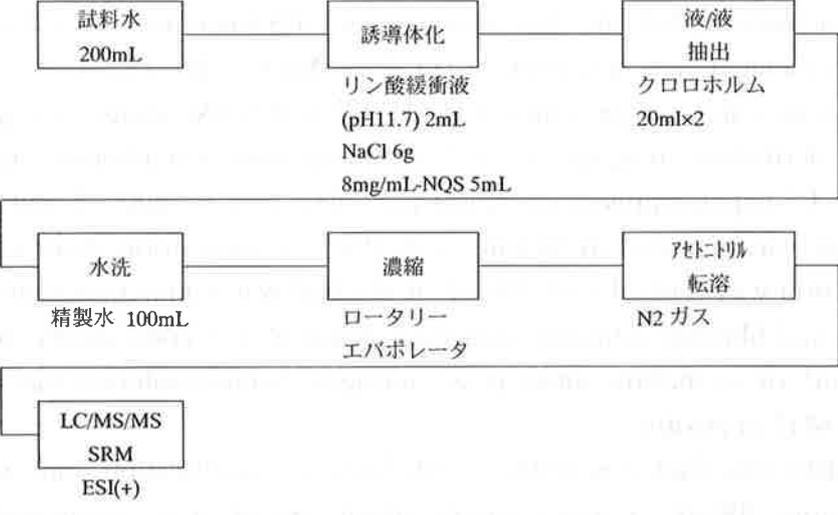
## Ethyleneimine

An analytical method for the determination of ethyleneimine in water by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC/MS/MS) was developed.

Ethyleneimine in water sample adjusted at pH11.7 with 0.1M-sodium phosphate buffer reacted with derivative reagent of 1,2-naphthoquinone-4-sulphonate (NQS), and 4-(1-aziridiny) -1,2-naphthoquinone (4-ANQ) was given as a product. 4-ANQ, derivative of ethyleneimine, was extracted by shaking with 20mL of chloroform (twice). Then lower layer of chloroform was washed with 100mL of distilled water and concentrated to 0.5mL by evaporating and blowing nitrogen. And the solvent of this concentrated solution was changed into 1mL of acetonitrile under gentle nitrogen. Sample solution was analyzed by LC/MS/MS-SRM (ESI positive).

Methodical detection limit was 0.90ng/L. Methodical quantification limit was 2.3ng/L. The recovery from 200mL of water sample added 5ng of target compound was 95% (Average value).



物質名	分析法フローチャート	備考
エチレンイミン	 <pre> graph LR     A[試料水 200mL] --&gt; B[誘導体化 リン酸緩衝液 (pH11.7) 2mL NaCl 6g 8mg/mL-NQS 5mL]     B --&gt; C[液/液抽出 クロロホルム 20ml x 2]     C --&gt; D[水洗 精製水 100mL]     D --&gt; E[濃縮 ロータリーエバポレータ]     E --&gt; F[アセトリル転溶 N2 ガス]     F --&gt; G[LC/MS/MS SRM ESI(+)]           </pre>	LC/MS/MS ESI(+)  カラム Discovery HSF5 長さ 150mm 内径 2.1mm 粒径 3 $\mu$ m  MDL エチレンイミン 0.90ng/L