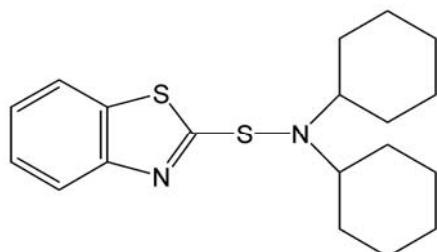


N,N-ジシクロヘキシリ-1,3-ベンゾチアゾール -2-スルフェンアミド

N,N-Dicyclohexyl-1,3-benzotiazole-2-sulfenamide

【対象物質の構造】



CAS 番号 : 4979-32-2

分子式 : C₁₉H₂₆N₂S₂

【物理化学的性状】

分子量	融点 (°C)	沸点(°C)	蒸気圧(Pa)	水溶解度(μg/L)	LogPow
346.55	99	>300	<7.0×10 ⁻⁵ (100°C)	1.9 (25°C)	>4.80(実測値)

化学物質ハザードデータ集（化学物質評価研究機構）による

【毒性・用途】

毒性 : メダカ (96-h LC₅₀) > 0.0334 mg/L

用途 : タイヤ加硫促進剤

§ 1 分析法

(1) 分析法の概要

水質試料をヘキサンで抽出し、濃縮後 GC/MS で測定する。

(2) 試薬及び器具

【試薬】

- N,N-ジシクロヘキシリ-1,3-ベンゾチアゾール-2-スルフェンアミド (DCBS)
: 和光純薬製
- クリセン-d₁₂ : Aldrich 製

- ・アセトン：残留農薬・PCB 試験用（5000 倍）
- ・ヘキサン：残留農薬・PCB 試験用（5000 倍）
- ・塩化ナトリウム：残留農薬・PCB 試験用
- ・硫酸ナトリウム（無水）：残留農薬・PCB 試験用
- ・シリカゲルカートリッジ：InertSep SI（500 mg/6 mL） ジーエルサイエンス製

【器具】

- ・振とう機
- ・濃縮器：ロータリーエバポレーター、窒素ガス吹き付け装置
- ・分液ロート、メスシリンダー、メスフラスコ、ナス型フラスコ、ロート、目盛付試験管など：洗剤で洗浄後、水ですすぎ、アセトンで洗浄し乾燥する。

（3）分析法

【試料の採取及び保存】

環境省「化学物質環境実態調査実施の手引き」（平成18年3月）に従う。ただし、試料容器の共洗いは行わない（注1）。

なお、DCBSは加水分解性があるため、試料採取後24時間以内に抽出操作を実施する。

【試料の前処理】

[水質試料]

試料容器1L中の全量をメスシリンダーで秤量して2L分液漏斗にとり、試料容器とメスシリンダーの内壁を少量のアセトンで洗浄し、試料水に合わせる（注1）。塩化ナトリウム50gを加え、完全に溶解する（注2）。

これにヘキサン50mLを加え10分間振とう抽出し、静置後ヘキサン層を分取する。抽出操作は2回繰り返す。

ヘキサン層を無水硫酸ナトリウムで脱水し、ロータリーエバポレーターで約2mLに濃縮したものを試料前処理液とする。

【試験液の調製】

試料前処理液に窒素ガスを緩やかに吹き付けて1mLに定容する。内標準液10μLを加えたものを試験液とする。

なお、通常クリーンアップ操作は不要であるが、GC/MSの測定で妨害等がある場合には、シリカゲルカートリッジによるクリーンアップを実施する。この場合、試料前処理液を1mLに定容したものを、あらかじめヘキサン10mLでコンディショニングしたシリカゲルカートリッジに負荷する。ヘキサン10mLを流し、溶出液は捨てる。その後、アセトン/ヘキサン（1:99）10mLでDCBSを溶出させる（注3）。これに窒

素ガスを緩やかに吹き付けて 1 mL に定容し、内標準液 10 μ L を加えたものを試験液とする。

【空試験液の調製】

〔水質試料〕

試料と同じ量の精製水を用い、【試料の前処理】及び【試験液の調製】の項に従つて操作し、得られた試験液を空試験液とする。

【標準液の調製】

〔標準原液〕

100 mL メスフラスコに DCBS を 100 mg 量り取り、ヘキサンを加えて定容し、標準原液を調製する。

〔内標準液〕

50 mL メスフラスコにクリセン- d_{12} を 50 mg 量り取り、ヘキサンを加えて定容し、内標準原液を調製する。これをヘキサンで希釈し、10 μ g/mL の内標準液を調製する。

【測定】

機種	JMS-K9 (日本電子)
カラム	DB-5MS 長さ 30 m、内径 0.25 mm、膜厚 0.25 μ m
カラム温度	50 °C (1 min) - 20 °C/min - 150 °C - 10 °C/min - 280 °C (1 min)
注入口温度	250 °C
注入法	スプリットレス
カラム流量	1 mL/min
インターフェース温度	230 °C
イオン源温度	230 °C
モニターイオン	DCBS : 180 (定量用) 98 (確認用) クリセン- d_{12} (内標準物質) : 240

〔検量線〕

標準原液をヘキサンで希釈し、DCBS の濃度が、20 ~ 1 ng/mL になるように検量線用標準液を調製する。うち 1 mL をとり、内標準液を 10 μ L 加え、GC/MS で測定する。DCBS とクリセン- d_{12} とのピーク面積比を求め、検量線を作成する。

〔定量〕

試験液 2 μ L を GC/MS に注入し、DCBS とクリセン- d_{12} とのピーク面積比より試験液中の DCBS とクリセン- d_{12} との濃度比を求める。

[濃度の算出]

$$\text{濃度 (ng/L)} = \frac{\text{濃度比} \times \text{添加したクリセン-}d_{12} \text{ の量 (ng)}}{\text{試料量 (L)}}$$

[装置検出下限 (IDL)]

本測定方法の検討に用いた GC/MS の装置検出下限(IDL)を表 1 に示す。(注 4)

表 1 対象物質の装置検出下限

物質名	IDL(ng/mL)	試料量(L)	最終液量(mL)	IDL 試料換算値(ng/L)
DCBS	0.63	1	1	0.63

[測定方法の検出下限 (MDL) 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表 2 に示す。(注 5)

表 2 対象物質の検出下限値と定量下限値

物質名	試料量 (L)	最終液量 (mL)	検出下限値 (ng/L)	定量下限値 (ng/L)
DCBS	1	1	0.65	1.7

注 解

- (注 1) DCBS は水溶解度が低いため、試料容器中では SS もしくは容器内壁に吸着している可能性が高い。よって、試料容器は共洗いを行わず、容器中の全量を分析に供する。
- (注 2) 海水の場合、塩化ナトリウムは不要である。
- (注 3) あらかじめシリカゲルカートリッジの溶出条件を確認しておく。
- (注 4) 装置検出下限 (IDL) は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 18 年 3 月) に従って、表 3 のとおり算出した。IDL 算出時のクロマトグラムを図 1 に示す。
- (注 5) 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実施の手引き」(平成 18 年 3 月) に従って、表 4 のとおり算出した。

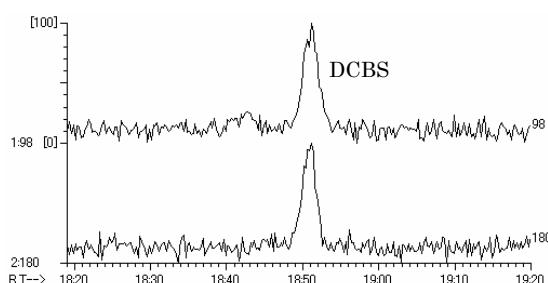


図 1 IDL 測定時のクロマトグラム (2 ng/mL)

表3 装置検出下限(IDL)の算出

物質名	DCBS
試料量・水質(L)	1
最終液量(mL)	1
注入濃度(ng/mL)	2
装置注入量(μL)	2
結果1(ng/mL)	1.79
結果2(ng/mL)	2.08
結果3(ng/mL)	1.76
結果4(ng/mL)	1.64
結果5(ng/mL)	2.00
結果6(ng/mL)	1.80
結果7(ng/mL)	1.67
平均値(ng/mL)	1.820
標準偏差(ng/mL)	0.16
IDL(ng/mL)	0.63
IDL試料換算値・水質(ng/L)	0.63
S/N	6
CV(%)	9.0

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

表4 検出下限(MDL)・定量下限(MQL)の算出

物質名	DCBS
試料量(L)	1
標準添加量(ng)	3
試料換算濃度(ng/L)	3
最終液量(mL)	1
注入液濃度(ng/mL)	3
装置注入量(μL)	2
結果1(ng/L)	2.29
結果2(ng/L)	2.15
結果3(ng/L)	2.45
結果4(ng/L)	2.32
結果5(ng/L)	2.68
結果6(ng/L)	2.28
結果7(ng/L)	2.38
平均値(ng/L)	2.364
標準偏差(ng/L)	0.17
MDL(ng/L)	0.65
MQL(ng/L)	1.7
CV(%)	7.1

$$\text{MDL} = t(n-1, 0.05) \times \frac{s}{n-1} \times 2$$

$$\text{MQL} = \frac{s}{n-1} \times 10$$

§ 2 解説

【分析法】

[フローチャート]

本分析法のフローチャートを図2に示す。

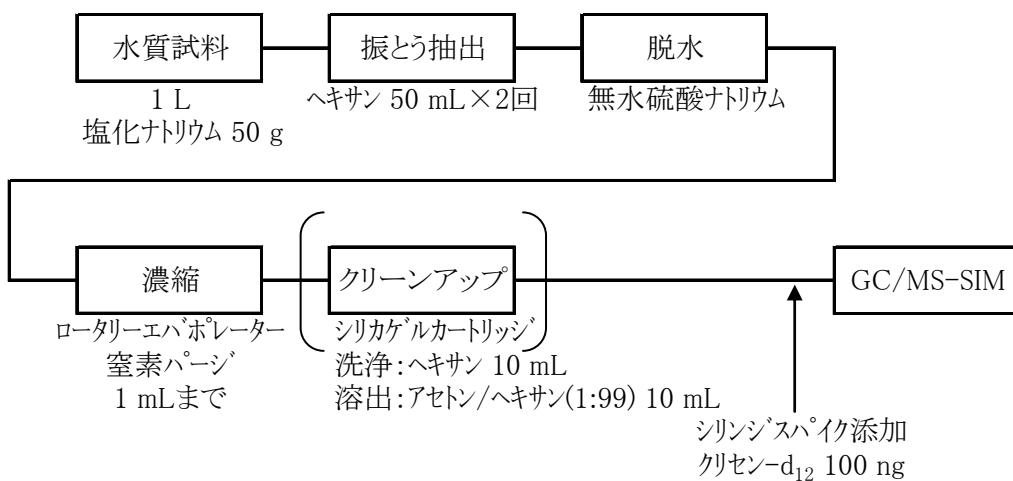


図2 分析法フローチャート

[検量線、クロマトグラム及びマススペクトル]

検量線、標準液のクロマトグラム及びマススペクトルを図3～図5に示す。

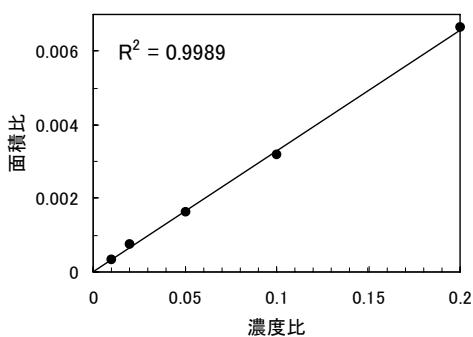


図3 検量線 (DCBS: 1~20 ng/mL、クリセン-d₁₂: 100 ng/mL)

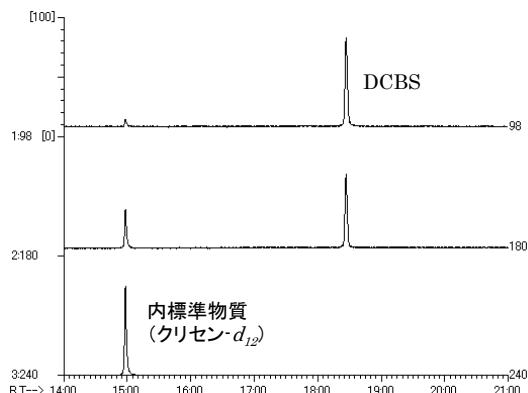


図4 標準液のクロマトグラム
(50 ng/mL)

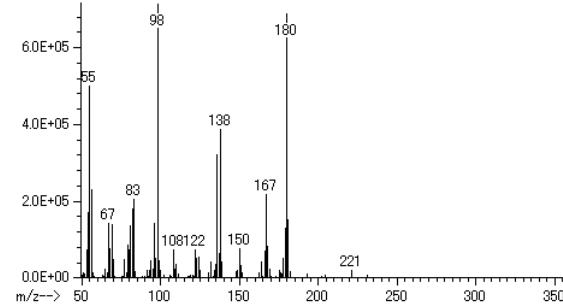


図5 DCBS のマススペクトル

[添加回収実験結果]

添加回収実験の結果を表5に示す。

表5 添加回収実験結果

試料名	試料量 (L)	添加量 (ng)	測定回数	検出濃度 (ng/L)	回収率 (%)	変動係数 (%)
河川水 (信濃川)	1	無添加	1	N.D.	-	-
	1	20	5	17.7	89	7.4
海水 (新潟市内)	1	無添加	1	N.D.	-	-
	1	20	5	18.4	92	4.7

[分解スクリーニング試験結果]

分解性スクリーニング試験結果を表 6 に示す。

表 6 分解性スクリーニング試験結果

物質名	pH	初期濃度 ($\mu\text{g}/\text{L}$)	1 時間放置後の 残存率(%)	5 日間放置後の残存率(%)	
				暗所	明所
DCBS	5	0.5	76	13	-
	7	0.5	84	44	33
	9	0.5	85	67	-

[試料の保存性試験結果]

河川水に DCBS を 50 ng/L となるように添加し、20 日後まで濃度を測定した。分析するまでの試料は冷蔵庫に保存した。結果を図 6 に示す。2 日後でも分解が認められたため、試料採取後直ち(24 時間以内)に抽出操作を実施する必要があると考えられた。

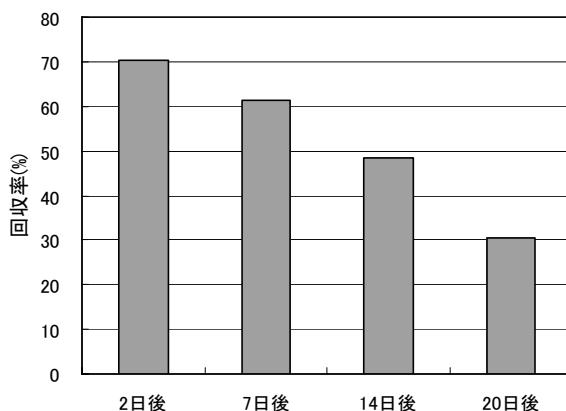


図 6 試料の保存性試験結果

[試験液の保存性試験結果]

試験液中における DCBS の安定性を確認するために、河川水の添加回収実験における試験液（定量値 17.7 ng/L、変動係数 7.4%）を 2 ヶ月後に再測定した。その結果、定量値 17.2 ng/L、変動係数 7.1%で、試験液中では DCBS は安定と考えられた。

[シリカゲルカートリッジによるクリーンアップの検討]

シリカゲルカートリッジ (InertSep SI、500 mg/6 mL) に DCBS100 ng を添加し、ヘキサン 10 mL 及びアセトン/ヘキサン(1:99) 5 mL × 3 で溶出し、GC/MS で定量した。得られた溶出パターンを表 7 に示す。

表 7 シリカゲルカートリッジの溶出パターン

溶出溶媒	ヘキサン				アセトン/ヘキサン(1:99)			
	0-10 mL	0-5 mL	5-10 mL	10-15 mL	0-10 mL	0-5 mL	5-10 mL	10-15 mL
回収率(%)	0	0	89	0				

〔環境試料の測定例〕

河川水（信濃川）及び海水（新潟市内）の添加（20 ng/L）無添加試料のクロマトグラムを図 7 に示す。いずれの試料からも DCBS は検出されなかった。

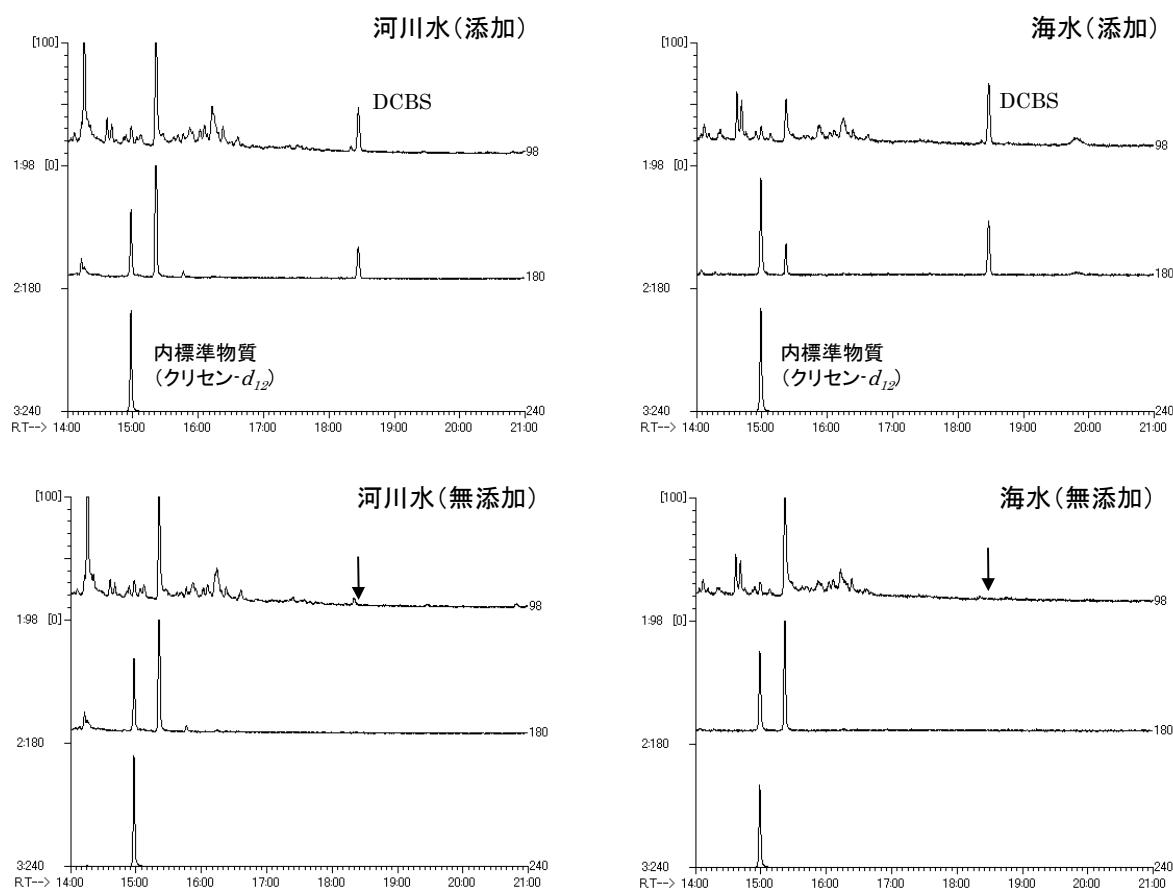


図 7 河川水（信濃川）及び海水（新潟市内）のクロマトグラム

【評価】

本法により、水質試料中の DCBS を 0.65 ng/L レベルで検出(1.7 ng/L レベルで定量) が可能である。

【参考文献】

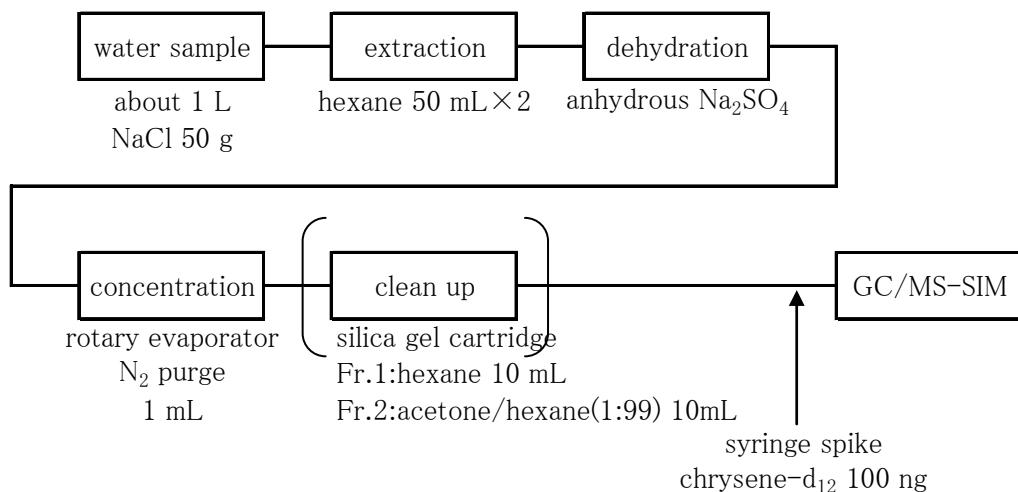
環境庁環境安全課：平成9年度 化学物質分析法開発調査報告書
(N-t-ブチル-2-ベンゾチアゾールアミド等、東京都立衛生研究所)

【担当者氏名・連絡先】

担当：新潟県保健環境科学研究所
住所：〒950-2144 新潟市西区曽和 314-1
TEL：025-263-9417 FAX：025-263-9410
担当者：茨木 剛、岩田聰美、種岡 裕
E-mail：ibaraki.tsuyoshi@pref.niigata.lg.jp

N,N-Dicyclohexyl-1,3-benzotiazole-2-sulfenamide

This method provides procedure for the determination of *N,N-Dicyclohexyl-1,3-benzotiazole-2-sulfenamide* in water samples by gas chromatography/mass spectrometry with selected ion monitoring (GC/MS-SIM). The water sample (about 1 L) is poured into a 2 L separatory funnel. The bottle is rinsed with a little amount of acetone, and the washings are added to the separatory funnel. After added with 50 g of sodium chloride, the sample is extracted twice with 50 mL of hexane. The extract is dried over anhydrous sodium sulfate and concentrated to 1 mL using a rotary evaporator and a gentle stream of nitrogen. Chrysene-*d*₁₂ is added as internal standard to the concentrate, and the analyte is determined by GC/MS-SIM. If necessary, the concentrate is cleaned up by silica gel cartridge. The concentrate is loaded onto silica gel cartridge and washed with 10 mL of hexane, and eluted with 10 mL of acetone/hexane (1:99). The method detection limit (MDL) and the method quantification limit (MQL) is 0.63 and 1.7 ng/L, respectively. The recovery of *N,N-dicyclohexyl-1,3-benzotiazole-2-sulfenamide* added river water was 89%, and the relative standard deviation was 7.4%.



物質名	分析法フローチャート	備 考
<i>N,N-ジ シクロ ヘキシル-1,3- ベンゾ チアゾ -ル-2-スルフェ ソミド</i>	<p>【水質】</p> <pre> graph LR A[水質試料 1 L] --> B[振とう抽出 ヘキサン 50 mL × 2回] B --> C[脱水 無水硫酸ナトリウム 塩化ナトリウム 50 g] C --> D[濃縮 ロータリーエバポレーター 窒素パージ 1 mLまで] D --> E[クリーンアップ シリカゲルカートリッジ 洗浄:ヘキサン 10 mL] E --> F[GC/MS-SIM 溶出:アセトン/ヘキサン(1:99) 10 mL シリンジスパイク添加 クリセン-d12 100 ng] </pre> <p>分析原理 : GC/MS-SIM-EI</p> <p>検出下限値 : 【水質】(ng/L) 0.65</p> <p>分析条件 : 機器 GC : Agilent 6890 MS : JMS-K9 カラム DB-5MS (J&W) 30m × 0.25 mm, 0.25 μm</p>	