いであ 株式会社

4,4’－メチレンビス(*N*,*N*’－ジメチルアニリン)

4,4'-Methylenebis(*N*,*N*-dimethylaniline)

別名：4,4'-ビス(ジメチルアミノフェニル)メタン

4,4'-Bis(dimethylaminophenyl)methane

4,4’－ジアミノジフェニルエーテル

4,4'-Diaminodiphenyl ether

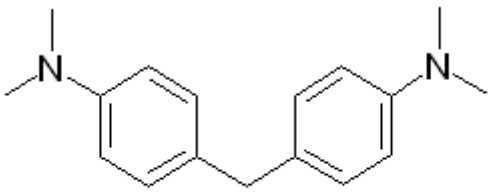
別名：4-アミノフェニルエーテル 4-Aminophenyl ether

3,3’－ジメトキシベンジジン

3,3’-Dimethoxybenzidine

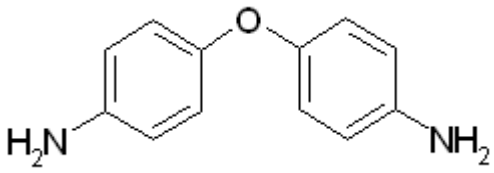
別名：*o*-ジアニシジン *o*-Dianisidine

【対象物質の構造】



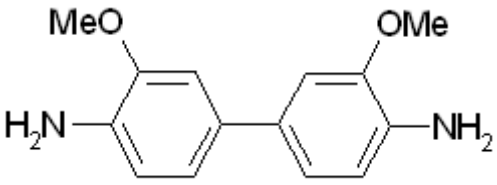
4,4’－メチレンビス(*N*,*N*-ジメチルアニリン)

CAS 番号：101-61-1 分子式： $C_{17}H_{22}N_2$



4,4’－ジアミノジフェニルエーテル

CAS 番号:101-80-4 分子式:$C_{12}H_{12}N_2O$



3,3’－ジメトキシベンジジン

CAS 番号：119-90-4 分子式：$C_{14}H_{16}N_2O_2$

【物理化学的性状】

物質名	分子量	沸点（℃）	蒸気圧	水溶解度 mg/L	LogPow
4,4'-メチレンビス(*N*,*N*-ジメチルアニリン)	254.4	390	2.86E-007 mmHg	4.14	4.37(EST)
4,4'-ジアミノジフェニルエーテル	200.2	350	4.36E-006 mmHg	560	1.36(EST)
3,3'-ジメトキシベンジジン	244.3	356	1.25E-007 mmHg	60	1.81(EST)

出展：（独）製品評価技術基盤機構　PRTR 制度対象物質データベース

Philip H. Howard, William M. Meylan, Handbook of Physical Properties of Organic Chemicals

【要求感度】

要求感度：0.025μg/kg-dry

【毒性】

4,4'－メチレンビス(*N*,*N*-ジメチルアニリン)

マウス（経口）LD_{50}：3160 mg/kg

4,4'－ジアミノジフェニルエーテル

マウス（経口）LD_{50}：685 mg/kg、ウサギ（経口）LD_{50}:700 mg/kg、モルモット（経口）LD_{50}:650 mg/kg

3,3'－ジメトキシベンジジン

ラット（経口）LD_{50}:1920 mg/kg

【用途】

4,4'－メチレンビス(*N*,*N*-ジメチルアニリン)：染料　合成中間体

4,4'－ジアミノジフェニルエーテル：アゾ染料

3,3'－ジメトキシベンジジン：染料　医薬，医薬中間体　合成中間体

§1　分 析 法

（1）分析法の概要

底質試料にアセトンを加えて振とう抽出した後、抽出液を精製水に加えて pH 9～11 に調整し、ジクロロメタンにより振とう抽出する。ジクロロメタン層を分取後、1 mol/L HCl 水溶液を加えて逆抽出を行う。ジクロロメタン層を除去した後、水層を pH 9~11 に調整し、再度ジクロロメタンによる振とう抽出を行う。ジクロロメタン層を分取して水洗した後、無水硫酸ナトリウムによって脱水する。

一方、アセトンによる振とう抽出後の底質に 6 mol/L NaOH 水溶液を加え、2 時間加熱還流抽出を行う。得られた抽出液については、上記に示したアセトン振とう抽出液と同様に前処理する。最終的に得られた各ジクロロメタン抽出液を混合し、濃縮後、アセトニトリルに転溶する。抽出液を N_2 ガスで濃縮し、1 mL に定容後、LC/MS/MS により測定する。

なお、本分析法は、後述する数々の検討の結果、最も回収率の良かった方法であるが、その回収率は約 30%と低かった。主な原因は底質試料からの抽出率の低さであり、これ以上の回収率向上が困難であったことから、本対象物質の分析方法を確立することができなかった。

（2）試薬・器具

4,4'－メチレンビス(*N*,*N*-ジメチルアニリン) ：和光純薬工業株式会社
4,4'－ジアミノジフェニルエーテル：和光純薬工業株式会社
3,3'－ジメトキシベンジジン：和光純薬工業株式会社
アセトン：和光純薬製残留農薬試験用 300
ジクロロメタン：和光純薬製残留農薬試験用 5000
メタノール：関東化学製高速液体クロマトグラフ用
アセトニトリル：関東化学製高速液体クロマトグラフ用
ギ酸：和光純薬製試薬特級
塩酸：和光純薬製試薬特級
水酸化ナトリウム：和光純薬製試薬特級
精製水：精製水製造装置(MILLIPORE 社製　Milli-Q A10)より精製した水を使用した。
ワコーゲル C-100 :和光純薬製カラムクロマト用
固相カートリッジ： Oasis HLB plus

【試薬の安定性・毒性】

有害性が高いため、暴露されないよう取り扱いに注意する。

【器具】

ビーカー(500 mL)、メスシリンダー(500 mL)、メスフラスコ(1 L, 100 mL, 10 mL)、分液ロート(1 L、500 mL)、丸底フラスコ(200 mL)、ナス型フラスコ(300 mL)、遠沈管（100 mL)、コンセントレーター、ロータリーエバポレーター、ガラスシリンジ(10 mL)、GL-SPE 濃縮管(10 mL：GL-サイエンス社製)、ホールピペット

（3）分析法

【試料の採取及び保存】

試料の採取及び保存については、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。

【試料の前処理及び試験液の調製】

試料 10 g を 100 mL 遠沈管に量りとり、アセトン 30 mL を加えて 10 分間振とう抽出を行う。振とう後、遠心分離（1200 rpm、5 分間）を行い、上澄みを回収する。この操作を 2 回繰り返す（ここまでの抽出操作を「抽出操作-1」とする）。

得られたアセトン抽出液を予め精製水を 500 mL 加えておいた 1 L 分液ロートに移し、これに 6 mol/L NaOH 水溶液（注 1）を 1 mL 添加した後、ジクロロメタン 50 mL を加えて振とう抽出を 10 分間行う。振とう後、十分に静置させ、下層のジクロロメタン抽出液を別の 1 L 分液ロートに分取する。抽出液分取後の水溶液に再度ジクロロメタンを 50 mL 加えて、先と同様に振とう抽出し、下層を分取する。分取したジクロロメタン抽出液は、1 回目の抽出液の入った 1 L 分液ロートに合わせる。

ジクロロメタン抽出液の入った 1 L 分液ロートに 1 mol/L HCl 水溶液（注 1）を 250 mL 加えて 10 分間振とう抽出する（逆抽出）。下層のジクロロメタンを取り除き、水層を 1 L ビーカーに移して、攪拌しながら 10 mol/L NaOH 水溶液（注 1）（注 2）により pH を 9～11 に調整する。

得られた水溶液を精製水による共洗いを含めて 1 L 分液ロートに移し、ジクロロメタン 50 mL を加えた後、10 分間振とう抽出する。振とう後、十分に静置させ、下層のジクロロメタン抽出液を別の 500 mL 分液ロートに分取する。抽出液分取後の水溶液に再度ジクロロメタンを 50 mL 加えて、先と同様に振とう抽出し、下層を分取する。分取したジクロロメタン抽出液は、1 回目の抽出液の入った 500 mL 分液ロートに合わせる。

ジクロロメタン抽出液の入った 500 mL 分液ロートに精製水 150 mL を加えて、5 分間振とうし、抽出液の水洗を行う。下層のジクロロメタン層を分取した後、少量の無水硫酸ナトリウムにより脱水する（抽出操作-1 からここまでの抽出操作を「抽出操作-2」とする）（注 3）。また、抽出操作-1 及び 2 によって得られた抽出液を「抽出液-1」とする。

一方、アセトン振とう抽出後の底質試料に 6 mol/L NaOH 水溶液（注 1）を 30 mL 加えて十分に混合した後、試料を 200 mL 丸底フラスコに移し、マントルヒーターを用いて加熱還流抽出を 2 時間行う。抽出液を室温まで冷却した後、底

質試料及び抽出液を 100 mL 遠沈管に移し、遠心分離（1,200 rpm、5 分間）により上澄みを回収する。上澄み抽出液は前述の抽出操作-2 と同様に前処理し、得られた抽出液を「抽出液-2」とする。

抽出液-1 及び抽出液-2 を 300 mL ナス型フラスコに移し合わせ、これにアセトニトリルを 50 mL 加えた後、ロータリーエバポレーターにより 5 mL 程度に濃縮する。濃縮後、アセトニトリルによる共洗いを含めて抽出液を GL-SPE 濃縮管に移す。N_2 ガスにより穏やかに 1 mL まで濃縮・定容して LC/MS/MS で測定する。

【空試験液の調製】

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】の項に従って操作し、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〕

4,4'－メチレンビス(*N*,*N*-ジメチルアニリン)、4,4'－ジアミノジフェニルエーテル、3,3'－ジメトキシベンジジン 10 mg を精秤してアセトニトリルで 100 mL とし、100 μg/mL の標準原液を作成する。

〔検量線用標準液〕

各標準原液を 1 mL ずつ採取し、アセトニトリルで 100 mL とし、1 μg/mL の混合標準液を作成する。混合標準液をアセトニトリルで順次希釈し、0.1,0.2, 0.5, 1, 2, 5, 10, 20, 50, 100 μg/L の標準液を作成する。

【測定】

〔LC/MS/MS の条件〕

LC 条件

機種：Agilent-1100

分析カラム：Waters　Atlantis　T3 (150 mm×2.1mm, 5 μm)

ガードカラム：Waters　Atlantis　T3 (10 mm×2.1mm, 5 μm)

移動相：A：10mM ギ酸アンモニウム水溶液

B：10mM ギ酸アンモニウム含有水/メタノール(1：9)

グラジェント：

0 min	A：B＝65：35
0→ 6.5 min	A：65→0　B：35→100 linear gradient
6.5→ 20 min	A：B＝0：100
20→ 21 min	A：0→65　B：100→35 linear gradient
21→ 35 min	A：B＝65：35

カラム温度：40 ℃
流速：0.2 mL/min
試料注入量：5 μL

MS/MS 条件
測定機器：Quattro Ultima
測定モード：ESI-Positive　SRM
キャピラリー電圧：1.5 kV
コーン電圧：20 V
コリジョンエネルギー：
○ 4,4’-メチレンビス（*N,N*-ジメチルアニリン）：17 eV
○ 4,4’－ジアミノジフェニルエーテル：15 eV
○ 3,3’－ジメトキシベンジジン：16 eV
イオン源温度：120 ℃
Desolvation 温度：300 ℃

モニターイオン(*m/z*)：
○ 4,4’-メチレンビス（*N,N*-ジメチルアニリン）：255>240
○ 4,4’－ジアミノジフェニルエーテル：201>108
○ 3,3’－ジメトキシベンジジン：245>230

〔検量線〕
標準液 5 μL を LC/MS/MS に注入し、標準物質の注入量とピーク面積を用いて検量線を作成する。

〔定量〕
試験液 5 μL を LC/MS/MS に注入し、ピーク面積より試験液中の対象物質濃度を測定する。

〔濃度の算出〕

$$\text{試料中の濃度(μg/kg-dry)} = \text{検出濃度(ng/mL)} \times \frac{\text{抽出後の最終液量（mL）}}{\text{分析試料量(g-dry)}}$$

〔装置検出下限（IDL）〕

本分析に用いた LC/MS/MS（Quattro Ultima）の IDL を次表に示す（注 4）

（底質試料）

物質名	IDL(ng/mL)	試料量(g-dry)	最終液量(mL)	IDL 試料換算値 (μg/kg-dry)
4,4'－メチレンビス (N,N-ジメチルアニリン)	0.026	7.0	1	0.0038
4,4'－ジアミノ ジフェニルエーテル	0.15	7.0	1	0.022
3,3'－ジメトキシベンジジン	0.037	7.0	1	0.0053

注　解

（注1）　高濃度の酸・アルカリを用いるため、抽出操作時は保護メガネやゴム手袋等を必ず装着する。

（注2）　本検討では、10 mol/L NaOH 水溶液を 22~25 mL 加えることで pH 9～11 に調整した。また、pH 調整時は pH 試験紙等で確認する。

（注3）　無水硫酸ナトリウムの量が多いと対象物質が吸着する可能性があるため、必要最低限の量で脱水する。また、抽出液をナス型フラスコに移す際は、ジクロロメタンで十分に洗い込みを行う。

（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 1 のとおり算出した。測定時の代表的なクロマトグラムを図 1 に示す。

表 1 装置検出下限(IDL)の算出

物質名	4,4'-メチレンビス(*N*,*N*-ジメチルアニリン）	4,4'-ジアミノジフェニルエーテル	3,3'-ジメトキシベンジジン
試料量(g-dry)	7.0	7.0	7.0
最終液量(mL)	1.0	1.0	1.0
注入濃度(ng/mL)	0.1	1.0	0.2
装置注入量(μL)	5.0	5.0	5.0
結果 1(ng/mL)	0.096	0.996	0.209
結果 2(ng/mL)	0.101	1.013	0.205
結果 3(ng/mL)	0.092	0.998	0.211
結果 4(ng/mL)	0.106	1.056	0.217
結果 5(ng/mL)	0.105	1.023	0.222
結果 6(ng/mL)	0.094	1.056	0.233
結果 7(ng/mL)	0.090	1.102	0.218
平均値(ng/mL)	0.098	1.035	0.216
σ_{n-1}(ng/mL)	0.0066	0.038	0.0093
IDL(ng/mL)	0.026	0.15	0.037
IDL 試料換算値（μg/kg-dry)	0.0038	0.022	0.0053
S/N	13	5.8	8.7
CV%	6.8	3.4	4.3

IDL＝t(n-1,0.05)×標準偏差×2　　t(n-1,0.05)＝1.943

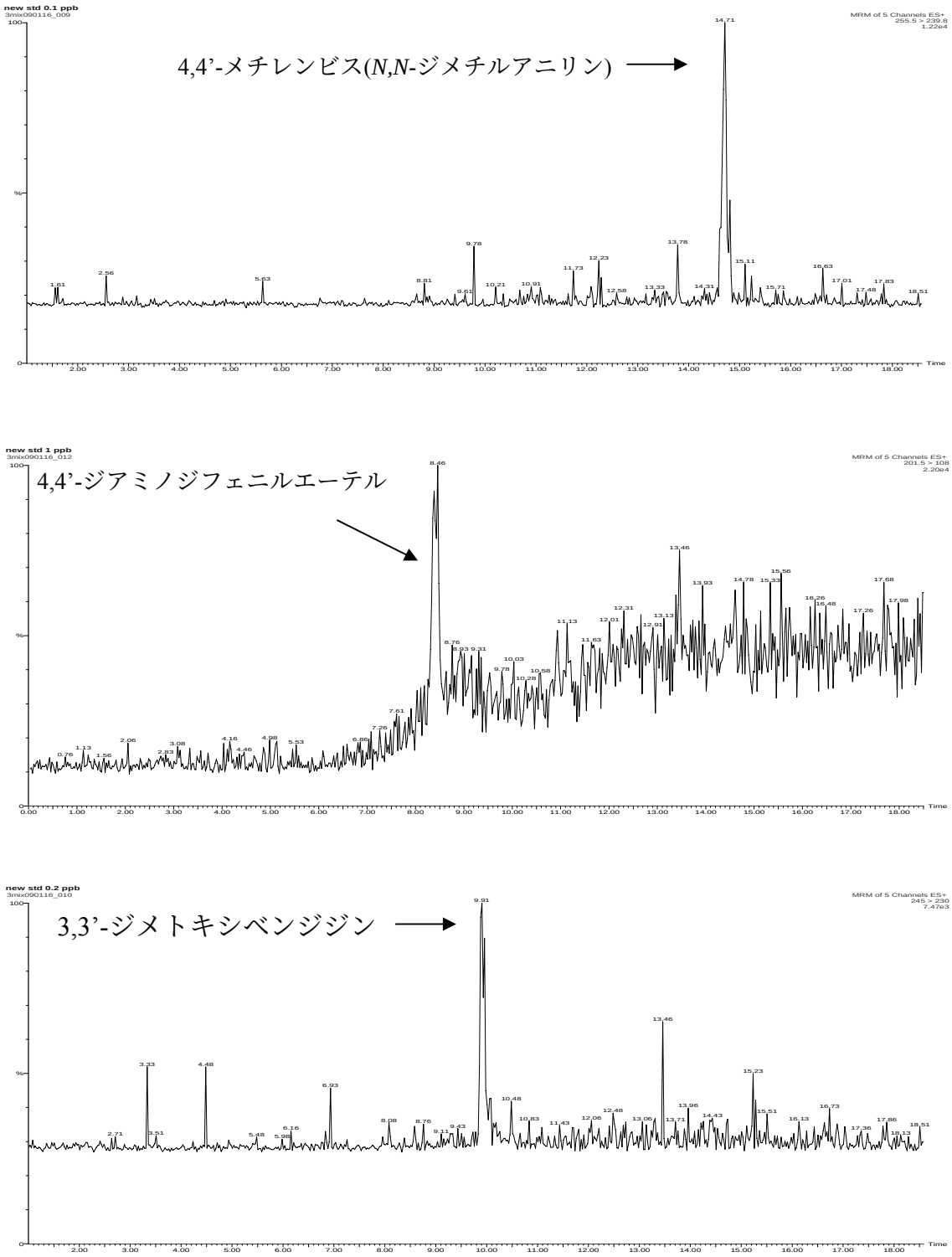


図 1　IDL 算出時のクロマトグラム
（4,4'-メチレンビス（*N*,*N*-ジメチルアニリン）：0.1 ng/mL、4,4'－ジアミノジフェニルエーテル：1 ng/mL、3,3'－ジメトキシベンジジン：0.2 ng/mL）

§2　解 説

【分析法】

〔フローチャート〕

分析法のフローチャートを図 2 に示す。

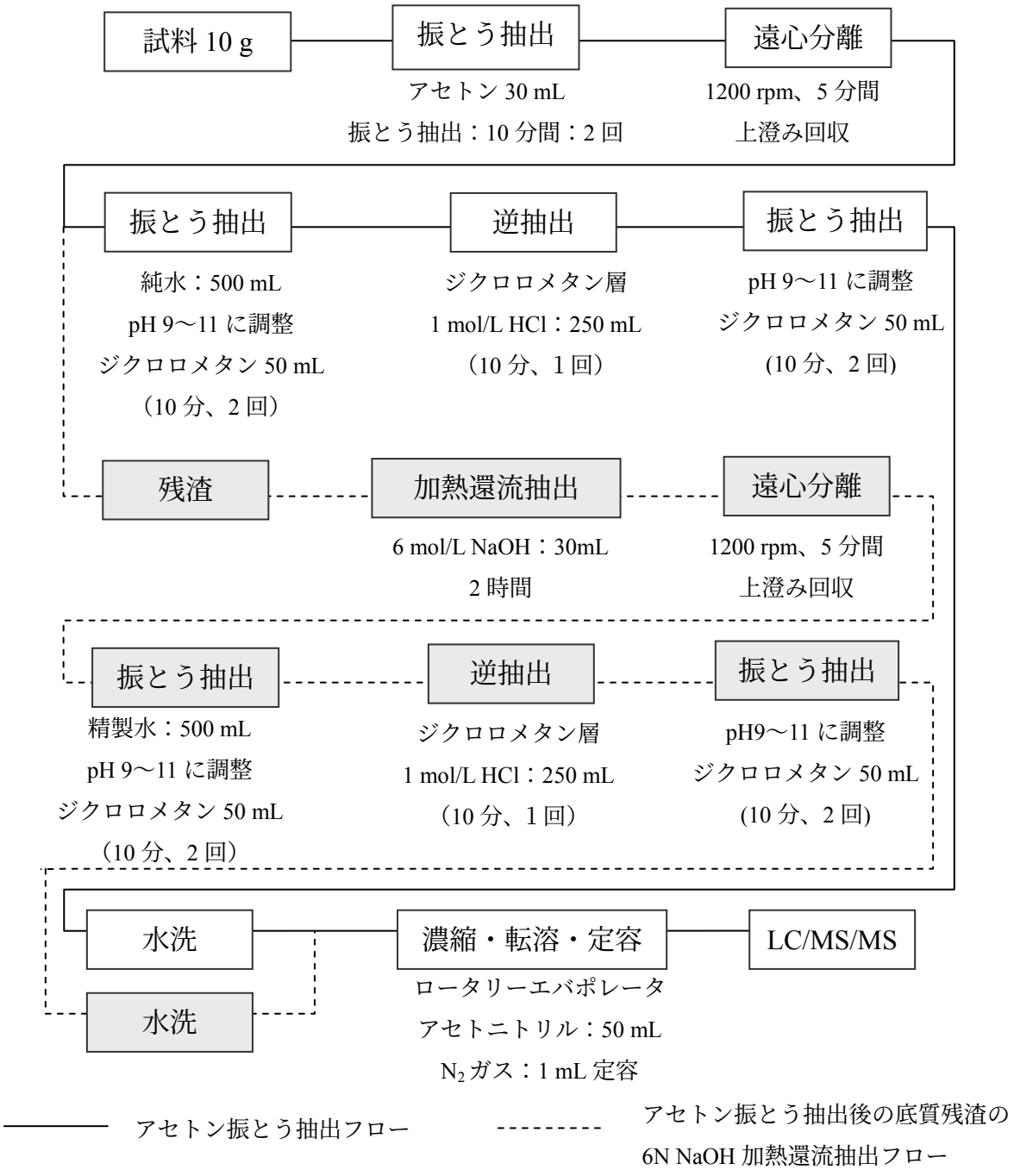


図 2　分析法フローチャート

[分析法の検討]

1. 検量線

検量線を図 3～5 に示す。

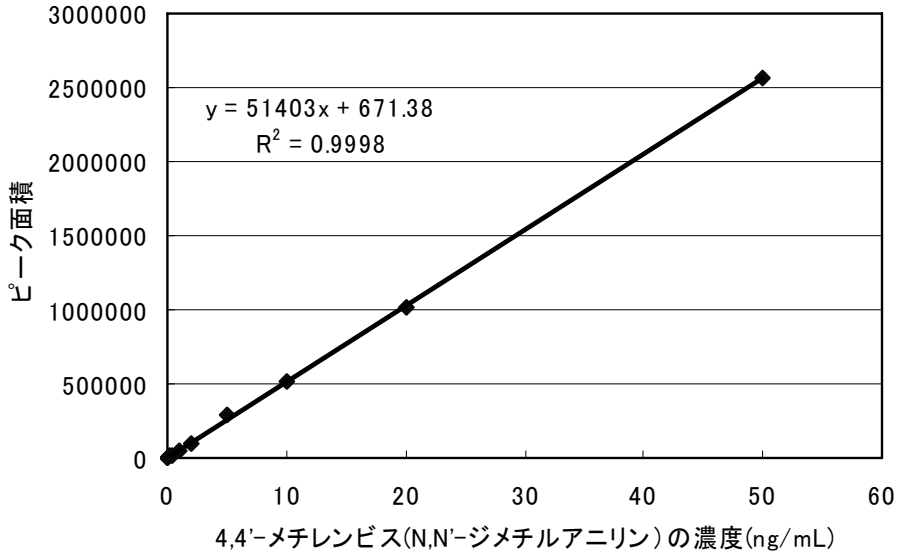


図 3　4,4'-メチレンビス(*N*,*N*-ジメチルアニリン)の検量線
(濃度範囲：0.1～50 ng/mL)

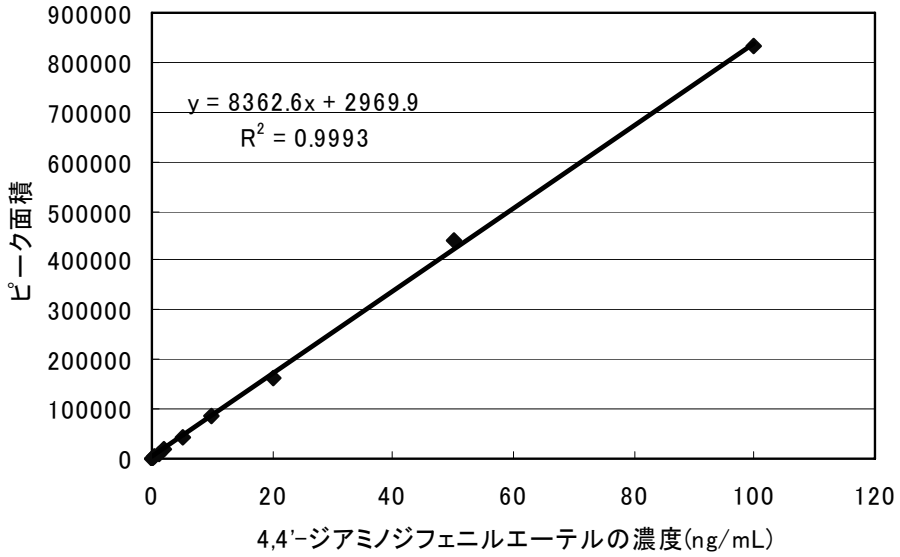


図 4　4,4'-ジアミノジフェニルエーテルの検量線
(濃度範囲：1～100 ng/mL)

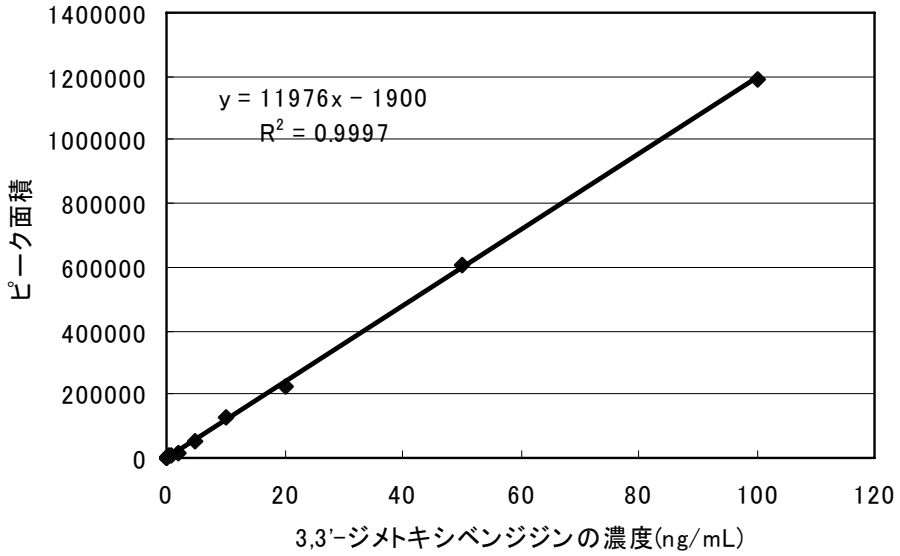


図 5　3,3'-ジメトキシベンジジンの検量線
(濃度範囲：0.2～100 ng/mL)

2. 標準物質のマススペクトル

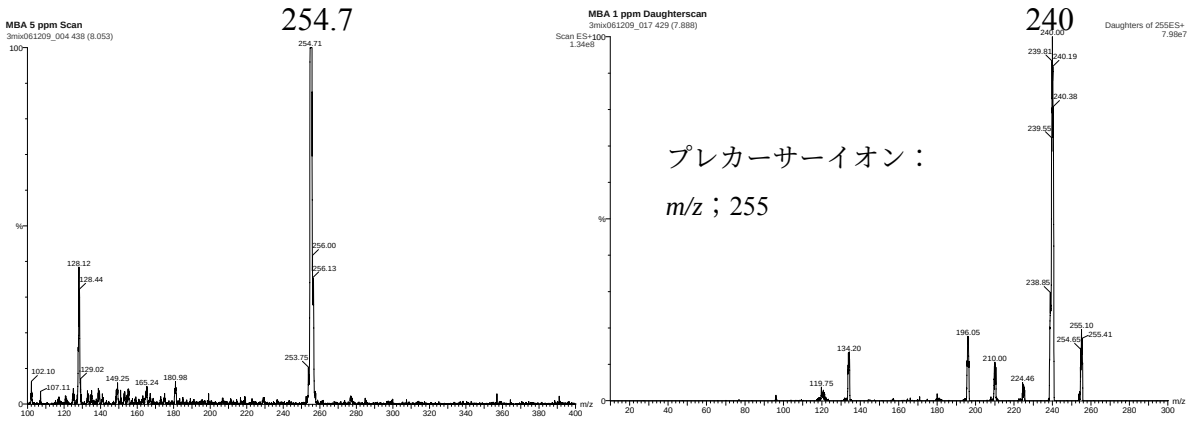


図 6　4,4'-メチレンビス(*N*,*N*-ジメチルアニリン)のプレカーサーイオンと
プロダクトイオンのマススペクトル

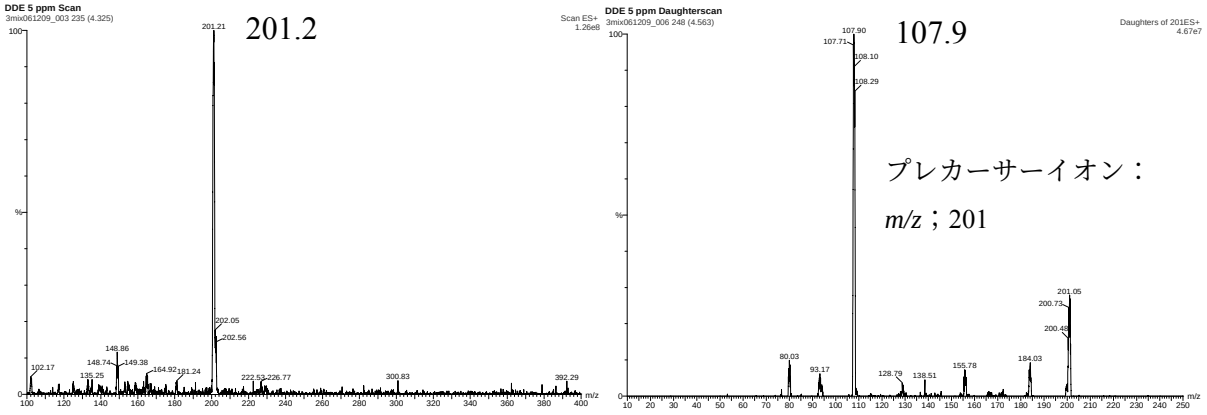


図 7　4,4’-ジアミノジフェニルエーテルのプレカーサーイオンと
プロダクトイオンのマススペクトル

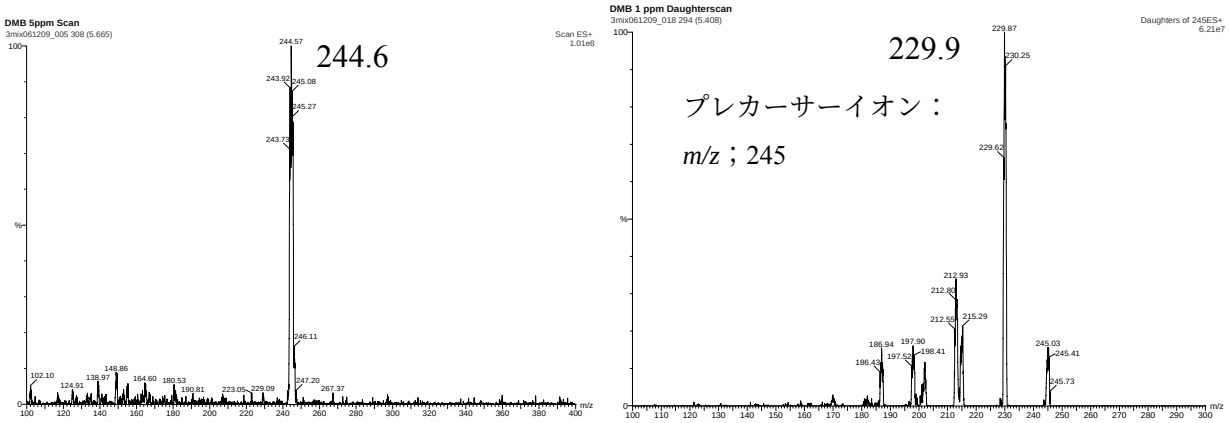


図 8　3,3’-ジメトキシベンジジンのプレカーサーイオンとプロダクトイオンの
マススペクトル

3.前処理法の検討

〔3.1 はじめに〕

本対象物質 3 種は塩基性化合物であるため、抽出操作以降のクリーンアップ操作として酸・アルカリ分配が有効であると考えられた。「平成 6 年度　化学物質分析法開発調査報告書」において、本対象物質の類似化合物として、3,3’-ジクロロベンジジン、4,4’-ジアミノジフェニルメタン、4,4’-ジアミノ-3,3’-ジクロロジフェニルメタンが分析されており、その前処理法の操作の中でも酸・アルカリ分配によりクリーンアップを実施している。従って、その手順を参考に、以下の図 9 に示すフローの通りに前処理を行い、後述する各前処理法の抽出効率を確認した。

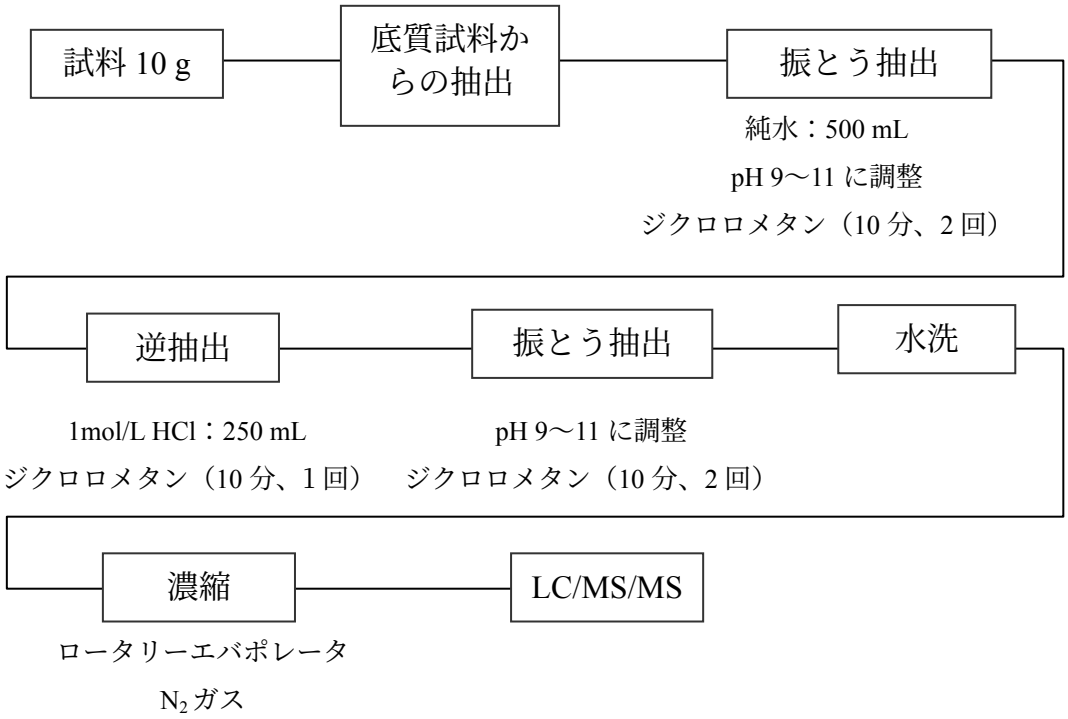


図 9　底質試料からの抽出効率確認のために実施した前処理フロー

〔3.2 検討に用いた底質試料の詳細〕

後述の前処理法の検討において用いた底質試料の詳細を表 2 に示す。前処理法の検討時に用いた試料は、H19 年に採取された奈良県大和川の底質である。

表 2　検討で用いた底質試料の詳細

	含水比 (%)	強熱減量 (%)	粘土・シルト分 (%)	細砂分 (%)	中砂分 (%)	粗砂分 (%)
奈良県大和川（砂質）	29.5	1.1	4.3	48.8	45.2	1.7

〔3.3 底質試料からの抽出方法の検討〕

3.3.1 有機溶媒を用いた振とう・超音波抽出法による回収率

湿泥 10 g に各対象物質を 500 ng 添加し、よく混合した後、アセトン 30mL で振とう抽出（10 分間）と超音波抽出（10 分間）をそれぞれ 2 回行い、各物質の

回収率を確認した。また、底質からのアセトン抽出液に各対象物質を 500 ng 添加して回収率を得ることで、底質試料の抽出操作以降の対象物質の損失を確認した。本検討では、最終液量を 1 mL した後、25 倍希釈し、最終濃度 20 ng/mL で測定した。

さらに、無添加の底質試料から本前処理法によって得られた最終抽出液（希釈無し）に各対象物質を 20 ng 添加して分析することで、LC/MS/MS でのイオン化抑制の有無を確認した。本検討の前処理フローを図 10、得られた結果を表 3 に示す。

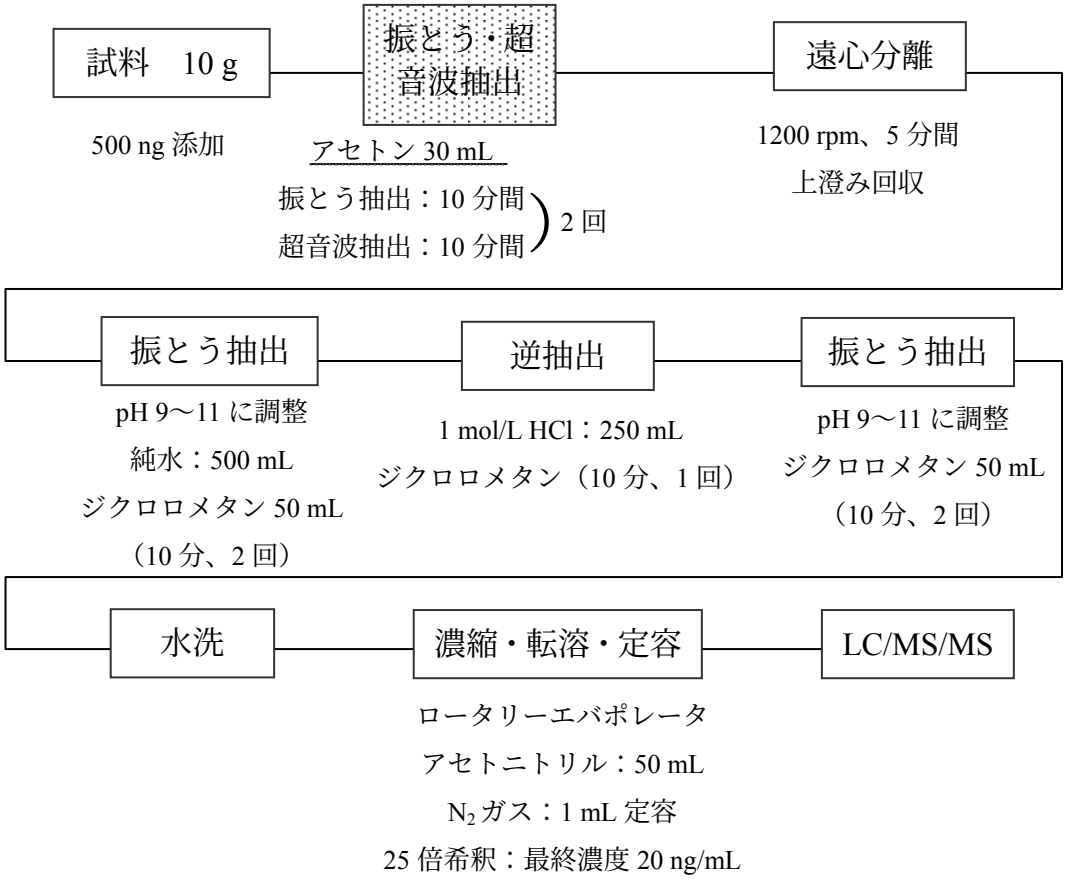


図 10　振とう・超音波抽出方法検討時の前処理フロー

表 3 アセトンを用いた振とう・超音波抽出法によって得られた回収率（%）

	4,4'-メチレンビス (*N*,*N*-ジメチルアニリン）	4,4'-ジアミノジフェニルエーテル	3,3'-ジメトキシベンジジン
添加量(ng)	500	500	500
最終液量(mL)	1	1	1
希釈率(倍）	25	25	25
最終濃度(ng/mL)	20	20	20
無添加(ng/mL)	ND※	ND	ND
添加-1(%)	29	43	8.5
添加-2(%)	33	42	6.3
添加-3(%)	29	41	8.2
平均回収率(%)	**30**	**42**	**7.7**
CV(%)	8.2	2.8	15
底質抽出液添加時の回収率(%)	**64**	**72**	**45**
最終抽出液添加時の回収率(%)	**95**	**89**	**92**

※ND は不検出を示す

表 3 の結果より、最終抽出液に各対象物質を添加したときの回収率はそれぞれ約 90%と非常に良好であったことから、MS/MS 部でのイオン化の抑制はほぼ無視してよいものと考えられる。

4,4’-メチレンビス（*N*,*N*-ジメチルアニリン）及び 4,4’-ジアミノジフェニルエーテルでは 30～40%の回収率が得られた。これら 2 物質については、振とう・超音波抽出によって得られた抽出液に標準物質を添加した場合の回収率が 60～70%と比較的良好であった。そのため、底質試料に添加した場合の回収率が 30～40%と低かった主な原因としては、底質試料からの抽出効率の低さが考えられた。

一方、3,3’-ジメトキシベンジジンにおいては、回収率の平均値が 7.7%と低く、変動係数も他の 2 物質に比較して高い結果となった。また、底質抽出液に添加した場合についても、その回収率は 45%と低く、この原因としては底質試料からの抽出効率の低さやクリーンアップ操作時の損失が考えられた。

3.3.2 酸性水溶液を用いた振とう・超音波抽出法による回収率

湿泥 10g に各対象物質を 500 ng 添加し、よく混合した後、3 mol/L 塩酸水溶液 30mL で振とう抽出（10 分間）と超音波抽出（10 分間）をそれぞれ 2 回行い、各物質の回収率を確認した。本検討についても 3.3.1 と同様に底質抽出液に対象物質を添加し、底質抽出操作以降の回収率を確認した。さらに、無添加の底質試料の最終抽出液に各対象物質を 20 ng 添加して分析することで、LC/MS/MS でのイオン化抑制の有無を確認した。本検討の前処理フローを図 11、得られた結果を表.4 に示す。

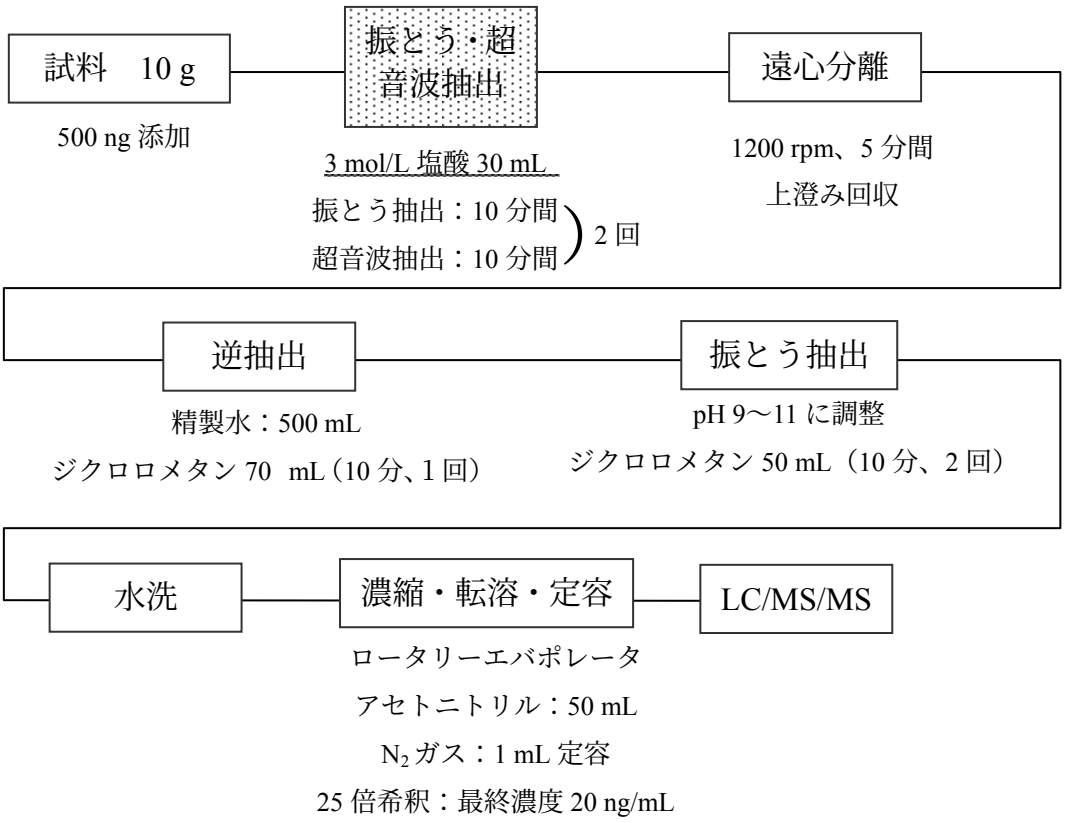


図 11　3 mol/L 塩酸による振とう・超音波抽出方法検討時の前処理フロー

表 4 3 mol/L 塩酸を用いた振とう・超音波抽出法によって得られた回収率（%）

	4,4'-メチレンビス (*N*,*N*-ジメチルアニリン）	4,4'-ジアミノジフェニルエーテル	3,3'-ジメトキシベンジジン
添加量(ng)	500	500	500
最終液量(mL)	1	1	1
希釈率(倍）	25	25	25
最終濃度(ng/mL)	20	20	20
無添加(ng/mL)	ND※	ND	ND
添加-1(%)	1.9	29	0.14
添加-2(%)	1.3	26	0.066
添加-3(%)	1.2	21	0.055
平均回収率(%)	**1.4**	**25**	**0.085**
CV(%)	28	15	51
底質抽出液添加時の回収率(%)	**68**	**74**	**42**
最終抽出液添加時の回収率(%)	**92**	**91**	**88**

※ND は不検出を示す

表 4 より、最終抽出液に添加したときの回収率はそれぞれ約 90%と非常に良好であったことから、MS/MS 部でのイオン化の抑制はほぼ無視してよいものと考えられた。

また、4,4'-ジアミノジフェニルエーテルの回収率は 25%であった。前処理より得られた底質抽出液に標準物質を添加した場合の回収率については 74%と良好な結果が得られたため、低回収率の主な原因としては底質試料からの抽出効率の低さが考えられた。

一方、他の 2 物質については底質試料から全く回収されない結果となったため、本抽出操作は適応できないことが明らかとなった。

3.3.3 高速溶媒抽出法による回収率

3.3.3.1 回収率の確認

湿泥 10 g に各対象物質を 500 ng 添加し、シリカゲル（ワコーゲル C-100）と混ぜ合わせてセルに詰めた後、高速溶媒抽出装置(ASE)によって抽出し、回収率の確認を行った。

検討した抽出溶媒はジクロロメタン/アセトン(1:1)、アセトニトリル、1%ギ酸含有アセトニトリル、1%トリエチルアミン含有アセトニトリルの 4 種類とした。検討時は、前日に試料の入ったセルを高速溶媒抽出装置に仕掛けて、翌日に得られた抽出液を前処理した。

また、本検討においても底質抽出液に添加して得られた回収率を確認した。これは、高速溶媒抽出の受けのボトルに予め各対象物質を 500 ng 程度加えておき（アセトニトリル 3 mL に添加)、翌日他の試料と併せて前処理を行って得られた結果である。さらに、最終抽出液に添加した場合の回収率よりイオン化抑制の有無も確認した。高速溶媒抽出法の抽出条件を下記に示す。また、本検討の前処理フローを図 12、得られた結果を表.5~8 に示す。

〔高速溶媒抽出法の抽出条件〕

使用機種：ASE-300（DIONEX 社製）
抽出溶媒：アセトン/ジクロロメタン(1：1)
　　アセトニトリル
　　1%ギ酸含有アセトニトリル
　　1%トリエチルアミン含有アセトニトリル
抽出圧力：1500 psi
オーブン温度：100 ℃
オーブン昇温時間：6 分
設定圧力保持時間：5 分
フラッシュ容積：セル容積の 100%
窒素ガスパージ：60 秒
抽出サイクル数：4 回

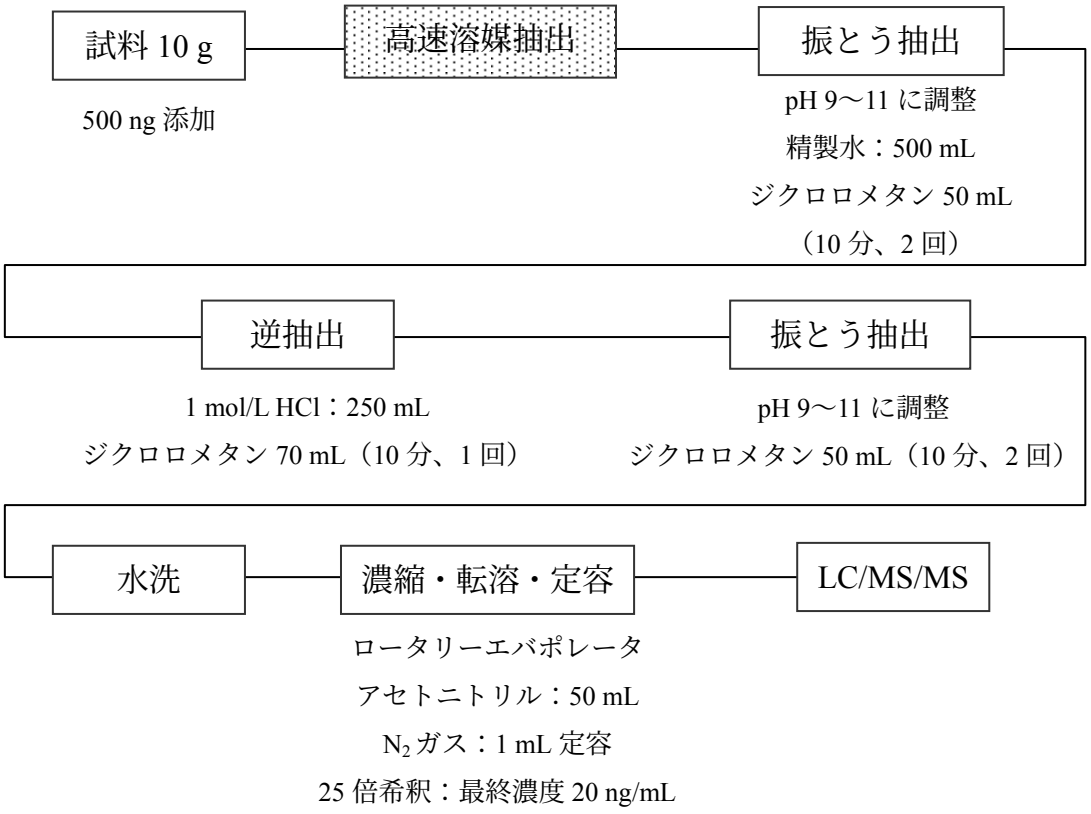


図 12　高速溶媒抽出方法検討時の前処理フロー

表 5　高速溶媒抽出法によって得られた回収率(%)－その 1－
（ 抽出溶媒：アセトン/ジクロロメタン(1：1) ）

	4,4'-メチレンビス (*N*,*N*-ジメチルアニリン)	4,4'-ジアミノジフェニルエーテル	3,3'-ジメトキシベンジジン
添加量(ng)	500	500	500
最終液量(mL)	1	1	1
希釈率(倍)	25	25	25
最終濃度(ng/mL)	20	20	20
無添加(ng/mL)	ND※1	—※2	ND
添加-1(%)	24	－	7.5
添加-2(%)	26	－	8.6
添加-3(%)	26	－	8.9
平均回収率(%)	**25**	**－**	**8.3**
CV(%)	4.7	－	8.8
底質抽出液添加時の回収率(%)	**94**	**－**	**83**
最終抽出液添加時の回収率(%)	**95**	**－**	**90**

※1： ND は不検出を示す。

※2：シリカゲルのみを詰めた BL のセルを分析したところ、4,4’-ジアミノジフェニルエーテルが高濃度で検出された。その濃度範囲は試料濃度で 0.024～4.6 μg/kg の範囲であり、抽出を行うたびに大きくばらつく結果となった。汚染の原因は、セルや装置内部の汚れと考えられ、これを低減することができなかったため、4,4’-ジアミノジフェニルエーテルについては高速溶媒抽出法の検討対象として除外した。

表 6　高速溶媒抽出法によって得られた回収率(%)－その 2－
（ 抽出溶媒：アセトニトリル ）

	4,4'-メチレンビス (*N*,*N*-ジメチルアニリン）	3,3'-ジメトキシベンジジン
添加量(ng)	500	500
最終液量(mL)	1	1
希釈率(倍）	25	25
最終濃度(ng/mL)	20	20
無添加(ng/mL)	ND	ND
添加-1(%)	14	6.2
添加-2(%)	22	15
添加-3(%)	15	5.3
平均回収率(%)	**17**	**8.7**
CV(%)	25	59
底質抽出液添加時の回収率(%)	**78**	**63**
最終抽出液添加時の回収率(%)	**91**	**89**

表 7　高速溶媒抽出法によって得られた回収率(%)－その 3－
（ 抽出溶媒：1%ギ酸含有アセトニトリル ）

	4,4'-メチレンビス (*N*,*N*-ジメチルアニリン）	3,3'-ジメトキシベンジジン
添加量(ng)	500	500
最終液量(mL)	1	1
希釈率(倍）	25	25
最終濃度(ng/mL)	20	20
無添加(ng/mL)	ND	ND
添加-1(%)	0.97	0.24
添加-2(%)	0.92	0.2
添加-3(%)	0.31	0
平均回収率(%)	**0.73**	**0.12**
CV(%)	50	88
底質抽出液添加時の回収率(%)	**63**	**1.5**
最終抽出液添加時の回収率(%)	**85**	**87**

表 8　高速溶媒抽出法によって得られた回収率(%)－その 4－
（ 抽出溶媒：1%トリエチルアミン含有アセトニトリル ）

	4,4'-メチレンビス (*N*,*N*-ジメチルアニリン)	3,3'-ジメトキシベンジジン
添加量(ng)	500	500
最終液量(mL)	1	1
希釈率(倍)	25	25
最終濃度(ng/mL)	20	20
無添加(ng/mL)	ND	ND
添加-1(%)	34	10
添加-2(%)	52	15
添加-3(%)	32	14
平均回収率(%)	**40**	**13**
CV(%)	28	20
底質抽出液添加時の回収率(%)	**81**	**75**
最終抽出液添加時の回収率(%)	**90**	**88**

表 5~8 の結果より、最終抽出液に添加したときの回収率はそれぞれ約 90%であったことから、これまでの前処理法と同様にイオン化の抑制は無視できるものであることが確認された。

また、各抽出溶媒による回収率を比較すると、1%トリエチルアミン含有アセトニトリルを用いた高速溶媒抽出法の回収率が最も良く、4,4'-メチレンビス（*N*,*N*-ジメチルアニリン）で 40%、3,3'-ジメトキシベンジジンで 13%であった。

抽出溶媒 4 種の中では、1%ギ酸含有アセトニトリルでの回収率が最も低い結果となった。また、3,3'-ジメトキシベンジジンについてはいずれの抽出溶媒においても回収率が低く、且つ分析値が大きくばらつく傾向が確認された。

3.3.3.2 対象物質の担体への吸着及び熱分解の確認

本検討で行った高速溶媒抽出法では、底質試料と担体であるシリカゲルを混合してセルに詰めるが、対象物質が担体へ吸着することで回収率が低下する可能性が考えられる。また、本抽出法の抽出温度は 100℃であるが、対象物質が熱

分解を起こして回収率が低下する可能性も考えられる。そこで、担体としてシリカゲルとガラスビーズ、抽出温度として 40℃と 100℃の各 2 条件で対象物質の回収率を確認した。

本検討の抽出溶媒はアセトニトリルとし、対象物質の添加量は 1 μg とした（セルに担体を詰めた後に添加）。また、得られた抽出液をそのまま分析（分析前に抽出液量をメスシリンダーで確認）し、標準添加法で定量した。試行回数は n=2 とした。得られた結果を図 13 及び 14 に示す。

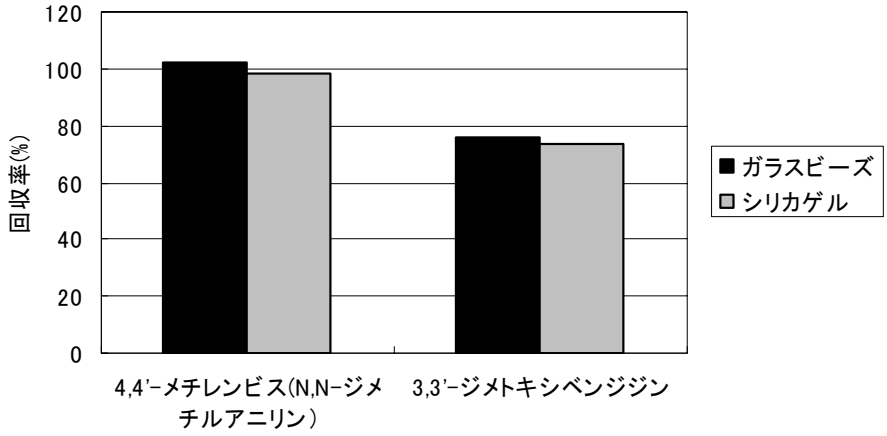


図 13 抽出温度 40 ℃における各担体からの回収率

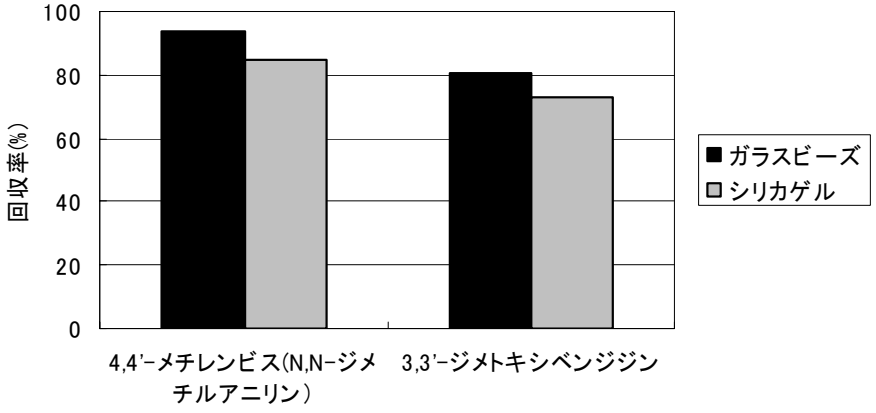


図 14 抽出温度 100 ℃における各担体からの回収率

図 13、14 より、各担体において良好な回収率が得られ、さらに抽出温度の違いによる差は確認されなかった。そのため、表 5~8 で示した各対象物質の低回収率の原因は担体や熱分解が原因でなく、主に底質試料からの抽出効率の低さであると確認された。

3.3.4 1 mol/L KOH エタノール溶液を用いた加熱還流抽出法による回収率

200 mL 丸底フラスコに湿泥 10 g を量り取り、これに各対象物質を 500 ng 添加した後、1 mol/L KOH エタノールを 50 mL 加えて 80℃で 2 時間加熱還流抽出し、回収率の確認を行った。本検討においても、底質抽出液に添加して得られた回収率と最終抽出液に添加した回収率を確認した。本検討の前処理フローを図 15、得られた結果を表 9 に示す。

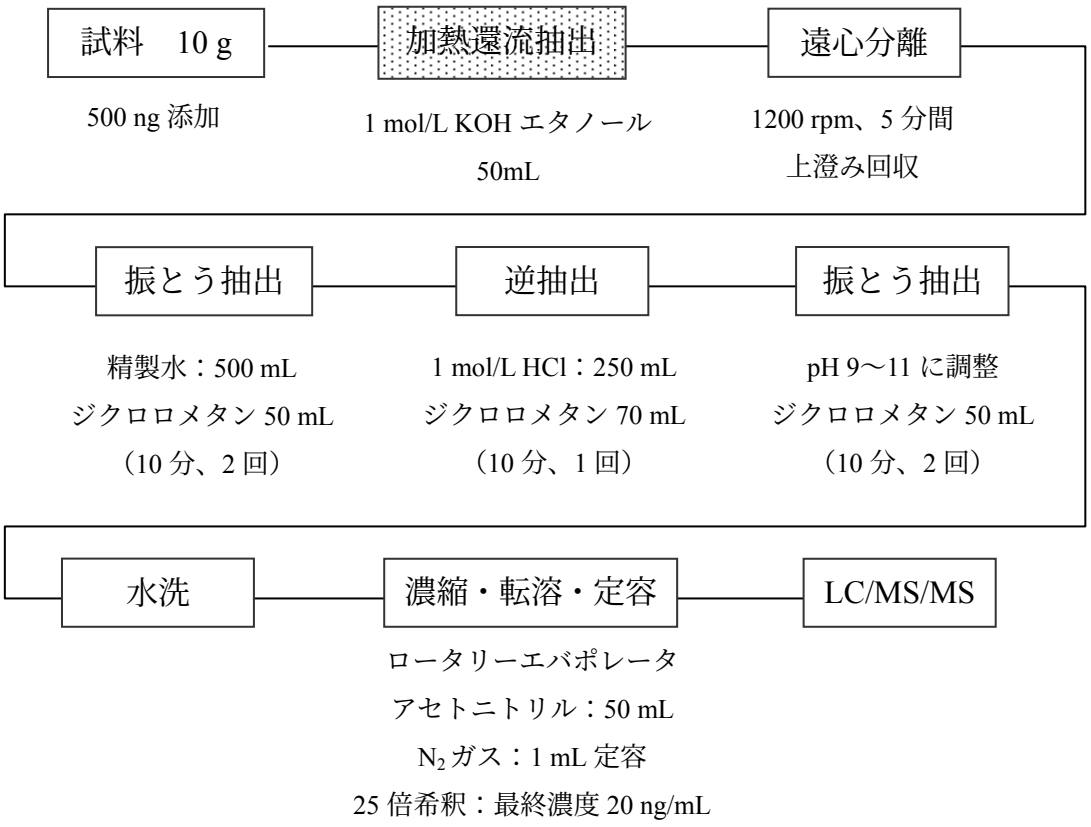


図 15　1 mol/L KOH エタノール加熱還流抽出方法検討時の前処理フロー

表 9 1 mol/L KOH エタノール加熱還流抽出法によって得られた回収率（%）

	4,4'-メチレンビス (*N*,*N*-ジメチルアニリン）	4,4'-ジアミノジフェニルエーテル	3,3'-ジメトキシベンジジン
添加量(ng)	500	500	500
最終液量(mL)	1	1	1
希釈率(倍）	25	25	25
最終濃度(ng/mL)	20	20	20
無添加(ng/mL)	ND	ND	ND
添加-1(%)	29	23	16
添加-2(%)	28	20	15
添加-3(%)	30	20	21
平均回収率(%)	**29**	**21**	**17**
CV(%)	3.8	10	20
底質抽出液添加時の回収率(%)	**84**	**79**	**63**
最終抽出液添加時の回収率(%)	**97**	**89**	**86**

表 9 より、全対象物質の回収率は 20~30%程度となった。また、これまでの検討結果と同様に､3,3’-ジメトキシベンジジンの回収率が最も低く且つ値が大きくばらつく傾向が確認された。

底質抽出液添加時及び最終抽出液添加時の回収率より、クリーンアップ時の損失及びイオン化抑制による影響は小さいことから、低回収率の原因は、これまでの前処理法と同様に底質試料からの抽出効率の低さであることが明らかとなった。

3.3.5 アセトン振とう抽出+6 mol/L NaOH 加熱還流抽出法による回収率

3.1 で述べたように、本対象物質の類似化合物である 3,3’-ジクロロベンジジン等 3 物質の底質試料の分析法が平成 6 年度化学物質分析法開発調査に報告されている。その調査では底質試料からの抽出方法として、アセトンによる振とう抽出後、その残渣を 6 mol/LNaOH 水溶液で加熱還流する方法を実施している。

本検討においても、その方法と同様な抽出方法を実施し、対象物質 3 項目の回収率を検討した。対象物質 500 ng 添加試料の最終抽出液濃度は、これまでの前処理法と同様に 20 ng/mL とした。本検討の前処理フローは図.2 に示したものである。また、得られた結果を表 10 に示す。

表 10 アセトン振とう+6 mol/L NaOH 還流抽出法によって得られた回収率（%）

	4,4'-メチレンビス (*N*,*N*-ジメチルアニリン）	4,4'-ジアミノ ジフェニルエーテル	3,3'-ジメトキシ ベンジジン
添加量(ng)	500	500	500
最終液量(mL)	1	1	1
希釈率(倍)	25	25	25
最終濃度(ng/mL)	20	20	20
無添加(ng/mL)	ND	ND	ND
添加-1(%)	37	36	23
添加-2(%)	33	31	18
添加-3(%)	33	26	18
平均回収率(%)	**34**	**34**	**20**
CV(%)	6.2	7.7	14
底質抽出液添加時の回収率(%)	**67 / 66※**	**83 / 72**	**55 / 60**
最終抽出液添加時の回収率(%)	**90**	**85**	**85**

※前者はアセトン振とう抽出液に添加し、その操作以降の回収率を示したもの。後者は底質試料残渣の 6 mol/L NaOH 還流抽出液に添加し、その操作以降の回収率を示したもの

表 10 の結果より、全対象物質の回収率は 20～30%程度の結果となり、これまでの前処理法の回収率とほぼ同様であった。また、4,4'-メチレンビス（*N*,*N*-ジメチルアニリン）及び 4,4'-ジアミノジフェニルエーテルの回収率は表 3 のアセトン振とう・超音波抽出の回収率とほぼ同様であったことから、底質試料残渣の 6 mol/L NaOH 還流抽出による効果はほとんどない可能性が考えられた。一方で 3,3'-ジメトキシベンジジンについては、表 3 と表 10 を比較すると、回収率が 7.7%から 20%と 10%程度向上したことから、6 mol/L NaOH 還流抽出の効果が若干表れたと考えられる。

本前処理法においても、クリーンアップ時の損失及びイオン化抑制による影響は前述した各前処理法の場合とほぼ同様であったことから、低回収率の原因は、底質試料からの抽出効率の低さであることが明らかとなった。

3.3.6 これまでの前処理方法検討結果のまとめ

これまで検討した前処理法によって得られた各対象物質の回収率を表 11～13 にまとめた（試料量：10 g、各対象物質の添加量：500 ng）。

表 11　4,4'-メチレンビス(*N*,*N*-ジメチルアニリン)の各前処理法による回収率(%)

抽出方法	底質抽出液 添加	回収率 平均値	CV
アセトン振とう・超音波抽出	64	30	8.2
3 mol/L 塩酸振とう・超音波抽出	68	1.4	28
ASE・アセトン/ジクロロメタン(1：1)※1	94	25	4.7
ASE・アセトニトリル	78	17	25
ASE・1%ギ酸アセトニトリル	63	0.73	50
ASE・1%TEA アセトニトリル	81	40	28
1 mol/L KOH エタノール加熱還流抽出	84	29	3.8
アセトン振とう+6 mol/L NaOH 還流抽出	67 / 66※2	34	6.2

※1：ASE=高速溶媒抽出

※2：前者はアセトン振とう抽出液に添加し、その操作以降の回収率を示したもの。後者は底質試料残渣の 6 mol/L NaOH 還流抽出液に添加し、その操作以降の回収率を示したもの（図 9 参照）

表 12　4,4'-ジアミノジフェニルエーテルの各前処理法による回収率(%)

抽出方法	底質抽出液 添加	回収率 平均値	CV
アセトン振とう・超音波抽出	72	42	2.8
3 mol/L 塩酸振とう・超音波抽出	74	25	15
ASE・アセトン/ジクロロメタン(1：1)※1	―	―	―
ASE・アセトニトリル	―	―	―
ASE・1%ギ酸アセトニトリル	―	―	―
ASE・1%TEA アセトニトリル	―	―	―
1 mol/L KOH エタノール加熱還流抽出	79	21	10
アセトン振とう+6 mol/L NaOH 還流抽出	83 / 72 ※1	34	7.7

※1 前者はアセトン振とう抽出液に添加し、その操作以降の回収率を示したもの。後者は底質試料残渣の 6 mol/L NaOH 還流抽出液に添加し、その操作以降の回収率を示したもの（図.9 参照）

表 13　3,3'-ジメトキシベンジジンの各前処理法による回収率(%)

抽出方法	底質抽出液 添加	回収率 平均値	CV
アセトン振とう・超音波抽出	45	7.7	15
3 mol/L 塩酸振とう・超音波抽出	42	0.085	51
ASE・アセトン/ジクロロメタン(1：1)※1	83	8.3	8.8
ASE・アセトニトリル	63	8.7	59
ASE・1%ギ酸アセトニトリル	1.5	0.12	88
ASE・1%TEA アセトニトリル	75	13	20
1 mol/L KOH エタノール加熱還流抽出	63	17	20
アセトン振とう+6 mol/L NaOH 還流抽出	55 / 60※1	20	14

※1 前者はアセトン振とう抽出液に添加し、その操作以降の回収率を示したもの。後者は底質試料残渣の 6 mol/L NaOH 還流抽出液に添加し、それ以降の回収率を示したもの（図 9 参照）

まず、表 11 より、4,4'-メチレンビス（*N,N*-ジメチルアニリン）では、アセトン振とう抽出法、1%トリエチルアミン含有アセトニトリルを用いた高速溶媒抽出法､アセトン振とう+6 mol/L NaOH 還流抽出法において 30%以上の回収率を得ることができた。また、各前処理方法とも底質抽出液に添加した場合の回収率は 60%以上と比較的良好な結果が得られたため、低回収率の主な原因は底質試料からの抽出効率の低さが考えられた。

次に、表 12 より、4,4'-ジアミノジフェニルエーテルでは、アセトン・超音波抽出法､アセトン振とう+6 mol/L NaOH 還流抽出法において 30%以上の回収率を得ることができた。また、底質抽出液に添加した場合の回収率は 70%以上と良好な結果が得られた。従って、4,4'-メチレンビス（*N,N*-ジメチルアニリン）と同様に、低回収率の主な原因は底質試料からの抽出効率の低さが考えられた。

最後に、表 13 より、3,3'-ジメトキシベンジジンでは、いずれの前処理法においても回収率は 20%以下を示し、最も良い回収率でアセトン振とう+6 mol/L NaOH 還流抽出法の 20%であった。また、底質抽出液に添加した場合においても、その回収率は前述の 2 物質と比較して 10~20%低く、各前処理法で得られた回収率も大きくばらつく傾向が見られた。

以上の結果より、対象物質を同時に底質試料から抽出する方法としてはアセトン振とう+6 mol/L NaOH 還流抽出法が最も効果的であると考えられた。しかし、各対象物質の回収率は 20～30%と低く、現時点ではこれ以上の回収率向上は困難であると推測される。

〔3.4 対象物質のガラス器具への吸着の確認〕

3.3.1～3.3.5 で行った前処理方法の検討では、低回収率の主な原因の一つとして底質試料からの抽出効率の低さが考えられた。一方で、3,3’-ジメトキシベンジジンの各前処理法の回収率は、20%以下と低く且つ変動係数も他の 2 物質に比較して大きい結果となっている。3,3’-ジメトキシベンジジンの分析結果が大きくばらつく原因として、ロータリーエバポレーターの濃縮過程、即ち対象物質がナスフラスコに吸着する可能性が考えられたため、この原因について検討・追究した。

ロータリーエバポレーターにおける濃縮損失を確認するために、300 mL のナス型フラスコにジクロロメタン 120 mL、アセトニトリル 50 mL を加え、これに各対象物質を 1 μg、200 ng、50 ng、20 ng、5 ng 添加し、約 5 mL まで濃縮した。濃縮後、これをアセトニトリルでの共洗いを含めて GL 試験管に移し、N_2 ガスで 1 mL まで濃縮してそれぞれの添加量に対する濃縮後の回収率を確認した。前述の過程を通して得られた回収率を表 14 に、N_2 ガス濃縮過程における回収率を表 14 に示す。

表 14 ロータリーエバポレーター+N_2 ガスによる濃縮損失

	4,4'-メチレンビス (*N*,*N*-ジメチルアニリン)		4,4'-ジアミノジフェニルエーテル		3,3'-ジメトキシベンジジン	
	回収率(%)	CV(%)	回収率(%)	CV(%)	回収率(%)	CV(%)
添加量：1 μg	93	2.9	101	1.7	90	2.3
添加量：200 ng	82	18	87	10	71	9.5
添加量：50 ng	54	7.1	91	1.6	4.2	75
添加量：20 ng	14	153	64	27	0.87	49
添加量：5 ng	4.4	141	32	12	1.8	29

各添加量：n=3

表 15　N_2 ガスによる濃縮損失

	4,4'-メチレンビス (*N*,*N*-ジメチルアニリン)		4,4'-ジアミノ ジフェニルエーテル		3,3'-ジメトキシ ベンジジン	
	回収率(%)	CV(%)	回収率(%)	CV(%)	回収率(%)	CV(%)
添加量：20 ng	94	0.6	104	2.2	89	0.9
添加量：5ng	86	4.8	103	7.2	78	5.4

各添加量：n=3

表 14 の結果より、4,4'-メチレンビス（*N*,*N*-ジメチルアニリン）及び 3,3'-ジメトキシベンジジンでは添加量 50 ng 以下で回収率が大きく減少し、そのばらつきも大きくなる結果が得られた。一方で、4,4'-ジアミノジフェニルエーテルでは、添加量 20 ng 以下で回収率が大きく減少する傾向が確認された。表 15 より、N_2 ガスによる濃縮過程では各対象物質とも低濃度で良好な回収率が得られているため、表.14 の回収率減少はロータリーエバポレーターによる濃縮過程が原因であることが明らかとなった。底質試料からの抽出効率の低さとエバポレーターによる濃縮損失が掛け合わさって表.11~13 に示す回収率になったものと推測される。

本対象物質は構造的にアミノ基を有しており、これらの影響でナスフラスコの壁面に吸着する可能性が考えられる。そのため、表 14 で示したように、高濃度では良好な回収率であるが、低濃度であると回収率が大きく減少し、且つ大きくばらつくという現象が起こっていると推測された。そのため、濃縮操作で使用するナスフラスコと試験管をシラン化処理し、再度同様な検討を行った。得られた結果を表 16 に示す。

〔ガラス器具のシラン化処理方法〕

1) シラン化処理試薬である SurfaSil 溶液（GL Science 社製）をアセトンに溶解し、5 wt/v%に調整する
2) ガラス器具（ナスフラスコ及び試験管）を先のアセトン溶液に 5~10 秒程度完全に浸す
3) ガラス器具をアセトン→メタノールの順で洗い流す
4) 洗浄後のガラス器具を 100 ℃で 20～60 分間加熱乾燥する
5) 室温に戻した後、アセトンで再度洗浄する。

表 16 ロータリーエバポレーター+N_2ガスによる濃縮損失（シラン化処理後）

	4,4'-メチレンビス (*N*,*N*-ジメチルアニリン)		4,4'-ジアミノ ジフェニルエーテル		3,3'-ジメトキシ ベンジジン	
	回収率(%)	CV(%)	回収率(%)	CV(%)	回収率(%)	CV(%)
添加量：1 μg	88	2.6	88	2.6	85	6.5
添加量：200 ng	86	4.8	90	2.4	72	6.2
添加量：50 ng	41	15	81	1.3	7.2	42
添加量：20 ng	9.9	47	67	5.0	0.8	35
添加量：5 ng	1.9	145	31	47	0.4	173

各添加量：n=3

表 14 及び 16 の結果より、各対象物質の回収率は各添加量においてほぼ同様であり、低濃度領域における損失を改善することができなかった。従って、低濃度領域において、底質試料の前処理過程でロータリーエバポレーターによる抽出液の濃縮操作を行うことは困難であることが明らかとなった。

〔3.5 他の濃縮操作（固相抽出法）の検討〕

底質試料を前処理する過程において抽出液の濃縮は必要不可欠であるが、表 14 及び 16 で示したように、本対象物質においてはロータリーエバポレーターを用いた濃縮操作を実施することは困難である。そのため、別の濃縮操作として固相抽出法を検討した。

3.5.1 固相抽出法の検討のねらい

表.11~13 に示した各前処理法の検討では、底質抽出成分を 1 mol/L 塩酸で逆抽出した後、対象物質が含まれた水層を塩基性領域に pH を調整し（pH 9~11）、ジクロロメタンを用いた振とう抽出により対象物質を抽出することが目的であった。しかし、低濃度領域ではロータリーエバポレーターによる濃縮操作ができない結果となったため、塩基性に pH を調整した水層を固相に通水し、これを溶出することで濃縮操作とする検討を行った。

3.5.2 固相カートリッジの選択

前処理で得られた水層は、逆抽出の影響により、ジクロロメタンが飽和となっている状態と推測される。そのため、通常の固相カートリッジでは目的物質、特に 3 物質の中でも水溶性が高い 4,4'-ジアミノジフェニルエーテルを保持できない可能性が高い。また、pH 調整を行うため NaOH 等が高濃度で水層に混入するために、イオン交換系のカートリッジを選択することはできない。

そのため、比較的幅広い物性の化合物を保持できるポリマー系カートリッジの Oasis HLB を本検討で用いる固相として選択した。

3.5.3　Oasis HLB からの溶出条件

Oasis HLB plus カートリッジからの分画試験結果を図 16 に示す。

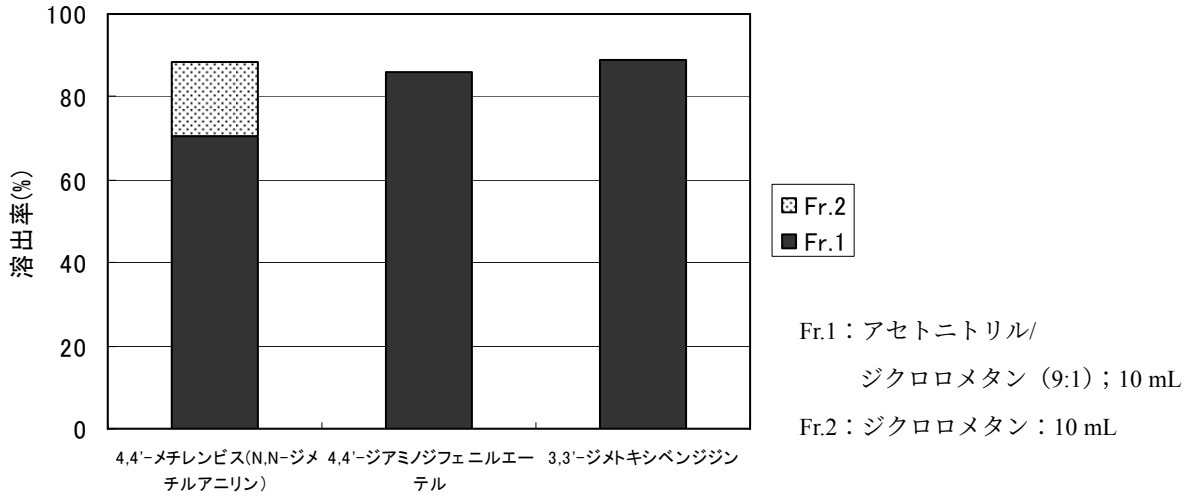


図 16 Oasis HLB からの溶出パターン

本検討では各対象物質の添加量は 20 ng とし、溶出はバックフラッシュ法を採用した。

検討の結果、アセトニトリル/ジクロロメタン 10 mL で 4,4'-ジアミノジフェニルエーテルと 3,3'-ジメトキシベンジジンが約 90%、次いでジクロロメタン 10 mL で先の溶出と合わせて 4,4'-メチレンビス（*N*,*N*-ジメチルアニリン）が同様に 90%溶出されることが明らかとなった。

3.5.4 通水液量（試料の希釈率）の検討

前述したように、逆抽出後の水層はジクロロメタン飽和状態であると推測されるため、対象物質を保持するために水層を希釈する必要が考えられた。そこで、逆抽出によって得られた水層の希釈率の違いによる回収率の変化を確認した。

まず、1 L 分液ロートに精製水 500 mL にアセトン 60 mL を加えて（アセトン振とう抽出法を想定）ジクロロメタンで 2 回振とう抽出を行う。次に、下層のジクロロメタン層を別の 1 L 分液ロートに移し、これに 1 mol/L 塩酸を 250 mL 加えて振とう抽出する。振とう後、下層のジクロロメタン層を取り除いて得られた水層を本検討で用いる試料とした。

得られた水層は精製水を加えて 1 倍希釈（250 mL そのまま）、2 倍希釈(500 mL)、4 倍希釈（1 L）し、各試料に対象物質を 20 ng 添加して回収率を確認した。
また、固相抽出時はカートリッジを 2 連結とした。得られた結果を図 17 に示す。

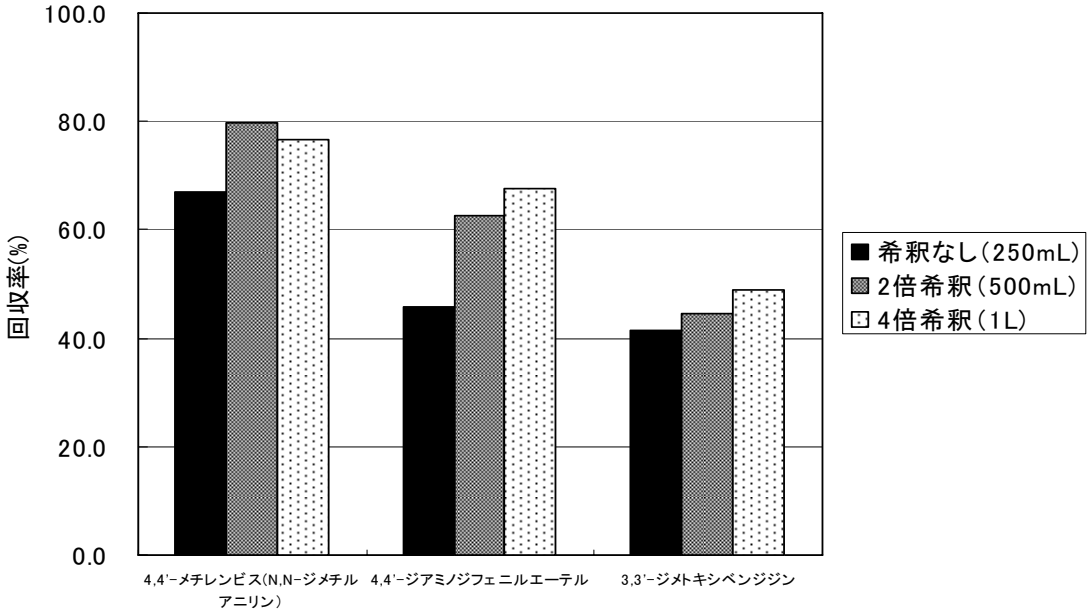


図 17 固相抽出法における試料希釈倍率の違いによる回収率の変化

図 17 より、4,4'-メチレンビス（*N*,*N*-ジメチルアニリン）及び 4,4'-ジアミノジフェニルエーテルについては、逆抽出後の水層を 2 倍希釈することにより添加量 20 ng であっても 60~80%の回収率が得られることが明らかとなり、ロータリーエバポレーターによる濃縮操作と比較して回収率が向上する結果となった。

一方で、3,3'-ジメトキシベンジジンについては、各希釈倍率においてもその回収率は約 40%と低い結果となったが、ロータリーエバポレーターの濃縮操作の

場合と比較すると回収率が大きく改善した。

以上の結果から、低濃度領域における対象物質の前処理操作においては、濃縮操作として固相抽出法が適当であることが明らかとなった。

3.5.5 固相抽出法を用いた高濃度添加回収試験

3.5.1~4 で述べたように、低濃度領域では濃縮操作として固相抽出法が適当であることが分かった。従って、底質試料からの抽出方法としてアセトン振とう抽出+6 mol/L NaOH 加熱還流抽出法、抽出液の濃縮方法として固相抽出法を組み合わせて高濃度添加回収試験(n=1)を行った。

各対象物質の添加量は 500 ng、1 μg、2 μg、5 μg、10 μg とした。また、濃縮操作としてロータリーエバポレーターを用いた方法も同様に行い、各濃縮方法の回収率を比較した(n=1)。得られた結果を表 17 に示す。

表 17 各濃縮方法の違いによる対象物質の回収率の差

	4,4'-メチレンビス (*N*,*N*-ジメチルアニリン)		4,4'-ジアミノ ジフェニルエーテル		3,3'-ジメトキシ ベンジジン	
	濃縮操作①	濃縮操作②	濃縮操作①	濃縮操作②	濃縮操作①	濃縮操作②
添加量：500 ng	34	23	34	20	20	15
添加量：1μg	35	20	30	25	19	18
添加量：2 μg	40	26	40	28	25	17
添加量：5 μg	43	38	43	33	30	25
添加量：10 μg	47	43	51	40	37	30

※ 濃縮操作①：ロータリーエバポレーターによる濃縮操作を用いた前処理法

※ 濃縮操作②：固相抽出法による濃縮操作を用いた前処理法

表 17 より、各対象物質ともロータリーエバポレーターによる濃縮操作で得られた回収率と固相抽出法での回収率を比較すると、ほぼ同様か前者の方が上回る結果となった。従って、固相抽出法を用いた濃縮操作により濃縮損失を軽減しても得られる回収率は変わらないことから、低回収率の主な原因は底質試料からの抽出効率の低さであることが明らかとなり、これ以上の回収率向上は困難であると考えられる。

また、添加量を多くすれば回収率が向上する傾向が見られ、添加量が 10 μg であれば回収率が 40～50%に向上することが確認された。

〔3.6 分析方法検討結果のまとめ】

3.1～5 で行った検討結果を以下にまとめた。

① 砂質成分の多い試料 10 g を用いて様々な前処理法により高濃度添加回収試験（500 ng 添加）を行った結果、アセトン振とう+6 mol/L NaOH 還流抽出法における回収率が最も高く、4,4’-メチレンビス（*N*,*N*-ジメチルアニリン、4,4’-ジアミノジフェニルエーテルで約 30%、3,3’-ジメトキシベンジジンで 20%であった。しかし、これ以上の回収率向上は困難であると考えられた。

② 各対象物質の底質試料からの回収率が低い原因として濃縮損失の可能性が考えられたため、濃縮損失確認試験を行った結果、低濃度領域ではロータリーエバポレーターによる濃縮損失が著しいことが明らかとなった。

③ ②の濃縮損失の主な原因として、対象物質のナスフラスコ（ガラス壁面）への吸着が考えられたため、その抑制のためにガラス表面のシラン化処理を行ったが、各対象物質の損失は改善されなかった。

④ ロータリーエバポレーターの濃縮操作の代わりに固相カートリッジを用いた濃縮を検討した結果、低濃度（添加量 20 ng）であっても 4,4’-メチレンビス（*N*,*N*-ジメチルアニリン）で 80%、4,4’-ジアミノジフェニルエーテルで 60%、3,3’-ジメトキシベンジジンで 40%の回収率が得られた。そのため、低濃度領域では、試料の濃縮方法としてロータリーエバポレーターによる濃縮よりも固相抽出法が適当であると考えられた。

⑤ 底質試料からの抽出方法としてアセトン振とう+6 mol/L NaOH 還流抽出法、抽出液の濃縮方法として固相抽出法を用いて高濃度添加回収試験を行った。その結果、①で得られた回収率とほぼ同様となり、濃縮損失を軽減した方法でも回収率は向上しなかったことから、低回収率の原因は主に底質試料からの抽出効率の低さであると考えられる。また、添加量を 10 μg にすれば各対象物質の回収率は 40~50%になることが分かった。

【評価】

数多くの検討の結果、底質試料中の 4,4’-メチレンビス（*N*,*N*-ジメチルアニリン）、4,4’-ジアミノジフェニルエーテル及び 3,3’-ジメトキシベンジジンを効率的に抽出することができず、現段階では分析困難な状況である。

数々の前処理方法の検討の結果、抽出方法としてはアセトン振とう+6 mol/L NaOH 抽出法が最も効果的であったが、高濃度の添加量でも回収率は 20～30%と低く、現時点でこれ以上の回収率向上は困難であると考えられる。

さらに、定量可能とされる絶対回収率約 50%を確保するためには、最低でも各対象物質 10 μg 以上の添加量が必要となり、その場合の試料濃度は 1000 μg/kg-wet となる。この濃度レベルで MDL や MQL を算出したとしても要求感度の 0.025 μg/kg-dry を満たすことは不可能であることから、本対象物質の分析法開発に関してこれ以上の向上は困難であると思われる。

【参考資料】

1) 環境省環境安全課　：平成 6 年度　化学物質分析法開発調査報告書（3,3’-ジクロロベンジジン、4,4’-ジアミノジフェニルメタン、4,4’-ジアミノ-3,3’-ジクロロジフェニルメタン；愛知県公害調査センター）

【担当者氏名・連絡先】

担当：いであ株式会社
住所：〒421-0212　静岡県焼津市利右衛門 1334-5
TEL：054-622-9552　FAX：054-622-9522
担当者：小野田　優
E-mail：ond20318@ideacon.co.jp