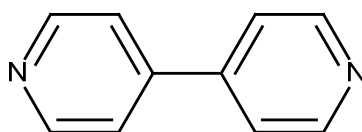


4,4'-ビピリジル

4,4'-Bipyridyl

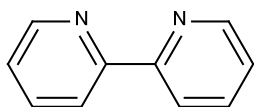
別名：4,4'-ビピリジン、4,4'-ジピリジル、4,4'-ジピリジン、 γ,γ' -ジピリジル、4,4'-bpy

【対象物質の構造】

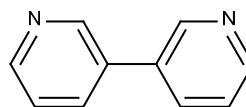


CAS 番号：553-26-4 分子式：C₁₀H₈N₂

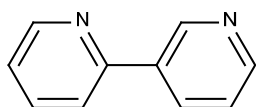
(4,4'-ビピリジルを含め 6 種の異性体が存在する)



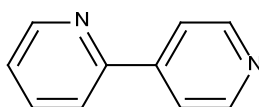
2,2'-Bipyridyl



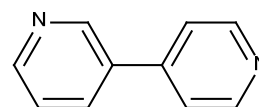
3,3'-Bipyridyl



2,3'-Bipyridyl



2,4'-Bipyridyl



3,4'-Bipyridyl

【物理化学的性状】

分子量 (モライツビツク質量)	融点 (°C)	蒸気圧 (mmHg)	水溶解度 (mg/L)	log P _{ow}
156.18 (156.069)	73 ¹⁾	5.56E-05 (25°C) ¹⁾ (7.49E-05 hPa [*])	4529 ¹⁾ (25°C)	1.06 (推定値 ²⁾)

*：換算値（1 mmHg = 1.33 hPa による）

【毒性、用途】

毒性情報：なし

用途：液晶原料³⁾

【適用法令】

化審法 第二種監視化学物質 官報公示整理番号 5-3723

化管法（PRTR 法）第二種指定化学物質 政令番号 2-75

出典：

- 1) Maryadele J. O'Neil (*Ed*), The Merck
- 2) International Uniform Chemical
- 3) 独立行政法人製品評価技術基盤機構(NITE) 調査

§1 分 析 法

(1) 分析法の概要

水質試料にリン酸を加え pH 6 に調整したものを固相カートリッジに通水し、対象物質を捕集する。固相カートリッジを遠心脱水後、メタノールで溶出して、シリンジスパイク内標準（以下、「内標準」という）を添加して試験液とする。試験液を LC/MS/MS-SRM ESI-Positive モードで定量する。

(2) 試薬・器具

【試薬】

4,4'-ビピリジル (4,4'-bpy)	: ACROS 製 (98%)
2,4'-ビピリジル (2,4'-bpy)	: ACROS 製 (98%) (注 1)
2,2'-ビピリジル (2,2'-bpy)	: 関東化学製 (99.5%) (注 1)
2,3'-ビピリジル (2,3'-bpy)	: 和光純薬工業製(97.0%) (注 1)
3,3'-ビピリジル (3,3'-bpy)	: ALDRICH 製 (注 1)
4,4'-ビピリジル- <i>d</i> ₈ (4,4'-bpy- <i>d</i> ₈)	: CDN Isotopes 製 (98atom%D)
メタノール	: 和光純薬工業製 LC/MS 分析用
ギ酸	: 和光純薬工業製 LC/MS 分析用
ギ酸アンモニウム	: 和光純薬工業製 特級
リン酸	: 和光純薬工業製 特級
精製水	: Milli-Q 水
固相カートリッジ	: Waters 製 Oasis HLB Plus

【標準液の調製】

〔標準原液〕

4,4'-ビピリジル 50.0 mg を正確に量り取り、50 mL 容のメスフラスコに加え、メタノールで定容し、1000 mg/L の標準原液を調製する。他の異性体も同様に調製する。

各標準原液をそれぞれ 0.100 mL 分取し、100 mL 容のメスフラスコに加え、メタノールで定容する (1.00 mg/L 混合標準液)。

〔内標準液〕

4,4'-ビピリジル- d_8 50.0 mg を正確に量り取り、50 mL 容のメスフラスコに加え、メタノールで定容し 1000 mg/L の内標準原液を調製する。

内標準原液を 0.100 mL 分取し、100 mL 容のメスフラスコに加え、メタノールで定容する (1.00 mg/L 内標準液)。

〔検量線用標準液〕

混合標準液をメタノールで順次希釈し、0.100 ng/mL～200 ng/mL の範囲で検量線用標準液を調製する。各濃度の標準液には内標準物質として、4,4'-ビピリジル- d_8 内標準液を 25.0 ng/mL の濃度になるように添加する。

【器具】

試料採取瓶 (500 mL)、ポリプロピレン製試験管 (15 mL) (注 2)、メスシリンダー、メスフラスコ、ピペット類、マイクロシリンジ、注射筒 (10 mL)
コンセントレーター：Waters 製コンセントレーター Concentrator Plus

【試薬の安定性・毒性】

取扱時、保護眼鏡、保護手袋及び保護マスク使用。

(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 21 年 3 月)に従う。試料は容量 500 mL 以上のガラス製容器に採取し冷暗所に保存する。

【試料の前処理及び試料液の調製】

水質試料 200 mL にリン酸を加えて pH 6 に調整し、あらかじめコンディショニング (注 3) した固相カートリッジ(Oasis HLB Plus)に 10 mL/min の速度で 20 分通水する。通水終了後の固相カートリッジに精製水 10 mL を通して洗浄した後、遠心分離機 (3000 rpm、10 分間) で脱水し、間隙水を除去する。次いで 5 mL のメタノールで溶出し 15 mL 容 ポリプロピレン製試験管に受ける。窒素ガス気流下で濃縮した後、内標準液 25 μ L を加えてメタノールで 1 mL に定容し、試験液とする。

【空試験液の調製】

試料と同量の精製水を用い、【試料の前処理及び試料液の調製】の項に従って

操作し、得られた試験液を空試験液とする。

【測定】

〔LC/MS 測定条件〕 (注 4)

LC/MS/MS 機器	: LC; 1200 (Agilent 製)、MS; 6460 (Agilent 製)		
カラム	: GL サイエンス製 InertSustain C18 (2 μ m, 2.1×100 mm)		
移動相	: A : 10 mmol/L ギ酸アンモニウム / 2 mmol/L ギ酸 B : 5 mmol/L ギ酸 / アセトニトリル		
	0→2 min	A : 90%	B : 10%
	2→12 min	A : 90→80%	B : 10→20%
	12→14 min	A : 80→5%	B : 20→95%
	14→16 min	A : 5%	B : 95%
	16→18 min	A : 5%→90%	B : 95%→10%
	18→23 min	A : 90%	B : 10%
流量	: 0.2 mL/min		
カラム温度	: 40°C		
試料注入量	: 2.0 μ L		
ガス温度	: 300°C		
ガス流量	: 10 mL/min		
シースガス温度	: 300°C		
シースガス流量	: 10 mL/min		
ネブライザーガス	: 50 psi		
ネブライザー電圧	: 500 V		
キャピラリー電圧	: 3500 V		
イオン化法	: ESI-Positive (イオンソース Agilent Jet Stream)		
測定モード	: SRM		
モニターイオン	: 4,4'、3,3'-ビピリジル : m/z 157>130 (定量)		
(注 5)	m/z 157>77 (確認)		
	: 2,3'、2,4'、2,2'-ビピリジル		
	: m/z 157>130 (定量)		
	m/z 157>78 (確認)		
	: 4,4'-ビピリジル- d_8 : m/z 165>137 (定量)		

〔検量線〕

検量線用標準液 2 μ L を LC/MS/MS に注入する。4,4'-ビピリジルについては、対象物質と内標準物質のピーク面積比と標準液濃度から検量線を作成する。その他の異性体については対象物質のピーク面積と標準液濃度から検量線を作成する。

〔定量〕

試験液 2 μL を LC/MS/MS に注入する。得られたピーク面積比またはピーク面積より、試験液中の濃度を測定する。

〔濃度の算出〕

試料水中濃度 C (ng/L) は次式により算出する。

〔4,4'-ビピリジル〕

$$C = R \cdot Q / V$$

R : 検量線から求めた内標準物質に対する対象物質の濃度比

Q : 試料中に添加した内標準の量 (ng)

(= 添加する内標準の濃度 (ng/μL) × 添加する内標準の容量 (μL))

V : 試料水量 (L)

本分析法に従った場合、以下の数値を使用する。

$$Q = 25.0 \text{ (ng)}$$

(= 添加内標準の濃度 (1.00 ng/μL) × 添加内標準の容量 (25 μL))

$$V = 0.200 \text{ (L)}$$

即ち、

$$C = R \times 125 \text{ (ng/L)}$$

である。

〔3,3'- 、2,4'- 、2,3'- 、2,2'- ビピリジル〕

$$C \text{ (ng/L)} = \text{検出濃度 (ng/mL)} \times \text{最終液量 (mL)} / \text{試料量 (L)}$$

〔装置検出下限値(IDL)〕

本分析に用いた LC/MS/MS の IDL を表 1 に示す。

表 1 IDL の算出結果

物質名	IDL (ng/mL)	試料量 (L)	最終液量 (mL)	IDL 試料換算値 (ng/L)
4,4'-ビピリジル	0.059	0.200	1.00	0.30
3,3'-ビピリジル	0.030	0.200	1.00	0.15
2,4'-ビピリジル	0.022	0.200	1.00	0.11
2,3'-ビピリジル	0.014	0.200	1.00	0.069
2,2'-ビピリジル	0.19	0.200	1.00	0.97

〔測定法の検出下限値(MDL)及び定量下限値(MQL)〕

本測定法における MDL 及び MQL を表 2 に示す。

表 2 MDL 及び MQL の算出結果

物質名	試料量 (L)	最終液量 (mL)	MDL (ng/L)	MQL (ng/L)
4,4'-ビピリジル	0.200	1.00	0.55	1.4
3,3'-ビピリジル	0.200	1.00	0.25	0.64
2,4'-ビピリジル	0.200	1.00	0.45	1.2
2,3'-ビピリジル	0.200	1.00	0.19	0.48
2,2'-ビピリジル	0.200	1.00	2.4	6.2

注 解

- (注 1) この分析法で他の異性体も同時測定可能である。4,4'-、3,3'-、2,4'-、2,3'-ビピリジルについては良好な回収率が得られ、2,2'-ビピリジルについては回収率が悪く、キレート性が強いことが原因と考えられる。
また、3,4'-ビピリジルについては市販の標準品がなく、検討を行っていない。
- (注 2) ガラス器具への吸着を懸念してプラスチック製試験管を使用していたが、検討の結果ガラス器具への吸着は確認されなかった。
- (注 3) 固相カートリッジ(Oasis HLB Plus)はメタノール 5 mL、精製水 10 mL でコンディショニングを行う。
- (注 4) LC/MS/MS の条件は、本測定に使用した機種特有のものである。
- (注 5) 本法で検討したビピリジル異性体はすべて同じ質量のプロダクトイオンを生成する。このため、それぞれの異性体をカラムで分離する必要がある。溶離液の調製方法を検討することで異性体の分離が可能となったが、使用するカラムにより分離条件が異なる可能性があるため、事前に確認が必要である。
- (注 6) IDL は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 21 年 3 月)に従って、表 3 のとおり算出した。測定時のクロマトグラムを図 1 に示す。

表 3 IDL の算出結果

物質名	4,4'-bpy	3,3'-bpy	2,4'-bpy	2,3'-bpy	2,2'-bpy
試料量 (mL)	200	200	200	200	200
最終液量 (mL)	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
注入液濃度 (ng/mL)	0.200	0.100	0.100	0.100	1.00
注入量 (μL)	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
結果 1 (ng/mL)	0.221	0.0836	0.0898	0.0800	0.754
結果 2 (ng/mL)	0.216	0.0997	0.0915	0.0786	0.659
結果 3 (ng/mL)	0.211	0.0879	0.0924	0.0724	0.724
結果 4 (ng/mL)	0.222	0.0959	0.0991	0.0779	0.700
結果 5 (ng/mL)	0.210	0.0814	0.0866	0.0766	0.637
結果 6 (ng/mL)	0.213	0.0893	0.0942	0.0838	0.771
結果 7 (ng/mL)	0.254	0.0789	0.1040	0.0803	0.742
平均値 (ng/mL)	0.2210	0.08810	0.09388	0.07852	0.7123
標準偏差 (ng/mL)	0.0153	0.00762	0.00579	0.00353	0.0499
IDL (ng/mL)*	0.059	0.030	0.022	0.014	0.19
IDL 試料換算値 (ng/L)	0.30	0.15	0.11	0.069	0.97
S/N 比	11	11	8.7	13	10
CV(%)	6.9	8.6	6.2	4.5	7.0

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

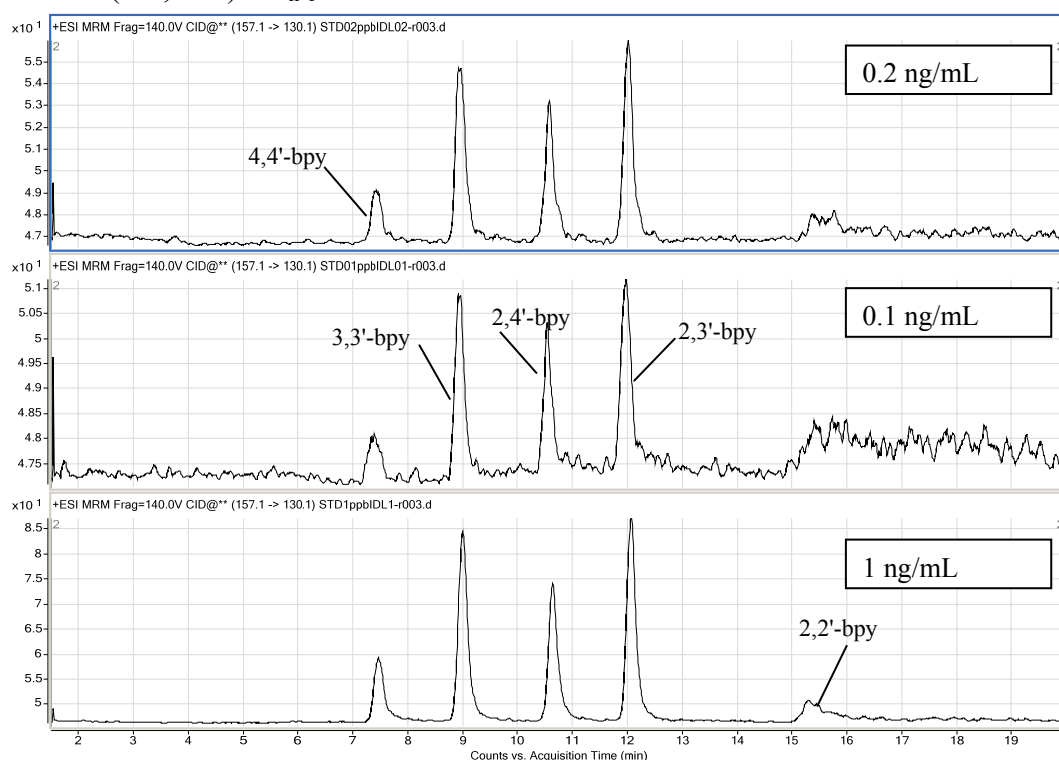


図 1 IDL 測定時のクロマトグラム

(注 7) MDL 及び MQL は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 21 年 3 月)に従って、表 4 のとおり算出した。測定時のクロマトグラムを図 2、3 に示す。

表 4 MDL 及び MQL の算出結果

物質名	4,4'-bpy	3,3'-bpy	2,4'-bpy	2,3'-bpy	2,2'-bpy
試料	河川水	河川水	河川水	河川水	河川水
試料量 (mL)	200	200	200	200	200
標準添加量 (ng)	0.500	0.200	0.500	0.200	2.00
試料換算濃度(ng/L)	2.50	1.00	2.50	1.00	10.0
最終液量 (mL)	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
注入液濃度 (ng/mL)	0.500	0.200	0.500	0.200	2.00
装置注入量 (μL)	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
操作ブランク平均 (ng/mL) ^{*1}	ND	ND	ND	ND	ND
無添加平均(ng/mL) ^{*2}	ND	ND	ND	ND	ND
結果 1 (ng/L)	2.20	0.775	2.44	1.16	4.23
結果 2 (ng/L)	2.37	0.721	2.58	1.07	4.76
結果 3 (ng/L)	2.41	0.801	2.52	1.13	3.80
結果 4 (ng/L)	2.20	0.655	2.62	1.09	3.34
結果 5 (ng/L)	2.43	0.651	2.68	1.10	3.12
結果 6 (ng/L)	2.15	0.691	2.80	1.05	3.10
結果 7 (ng/L)	2.52	0.635	2.60	1.01	3.36
平均値(ng/L)	2.326	0.7043	2.605	1.088	3.672
標準偏差(ng/L)	0.142	0.0644	0.116	0.0483	0.625
MDL (ng/L) ^{*3}	0.55	0.25	0.45	0.19	2.4
MQL (ng/L) ^{*4}	1.4	0.64	1.2	0.48	6.2
S/N 比	12	9.3	30	22	4.9
CV (%)	6.1	9.1	4.5	4.4	17

*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平均値 (n = 2)

*2 : 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 (n = 3)

*3 : $MDL = t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$

*4 : $MQL = \sigma_{n-1} \times 10$

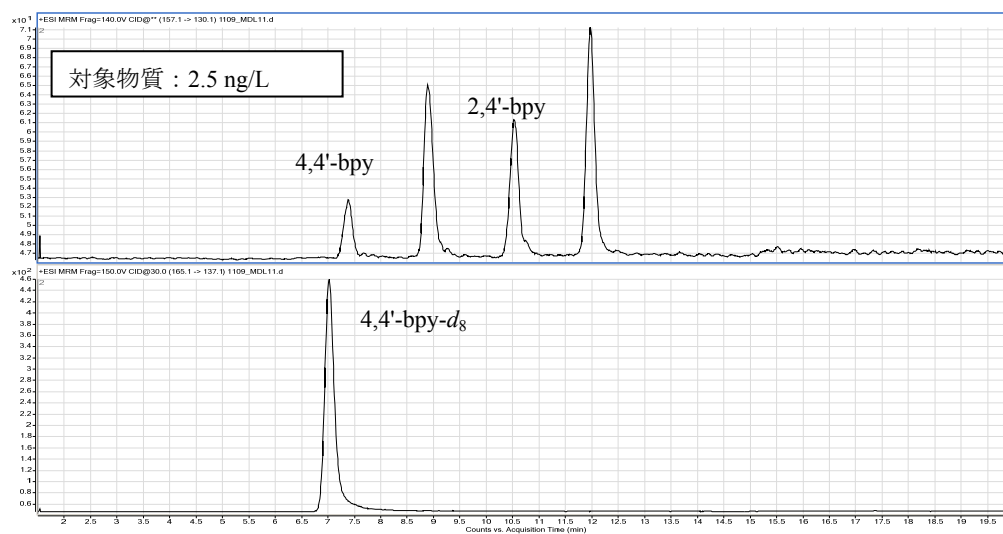


図2 MDL 測定時のクロマトグラム (対象物質 2.5 ng/L)

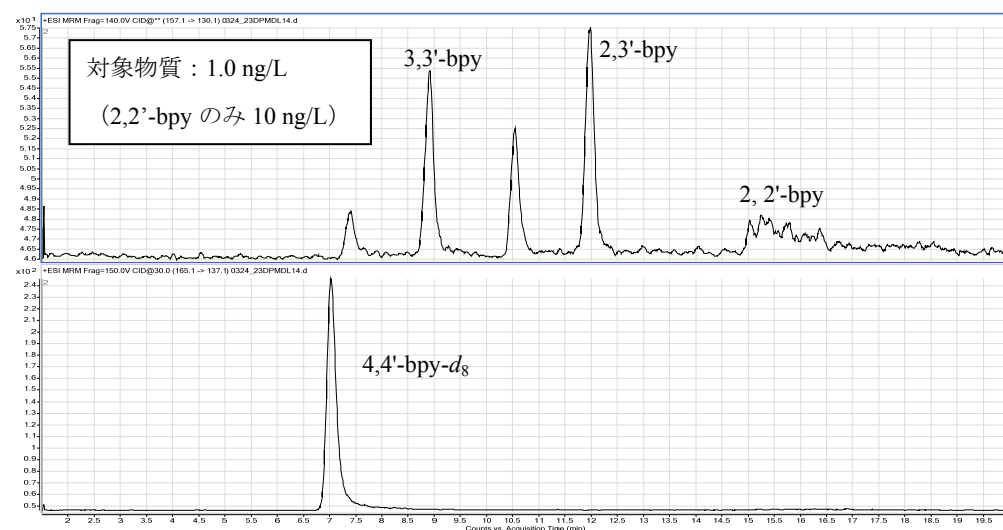


図3 MDL 測定時のクロマトグラム (対象物質 1.0 ng/L)

§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4に示す。

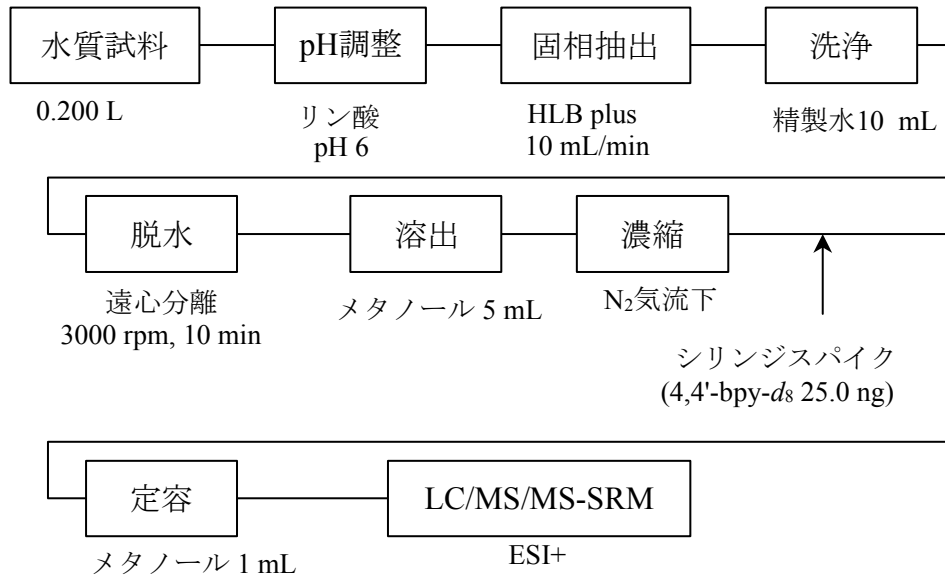


図4 分析法のフローチャート

〔検量線〕

4,4'-ビピリジルの検量線を図5、6に、検量線データを表5に示す。

3,3'-、2,4'-、2,3'-及び2,2'-ビピリジルの検量線を図7～14に、検量線データを表6に示す。

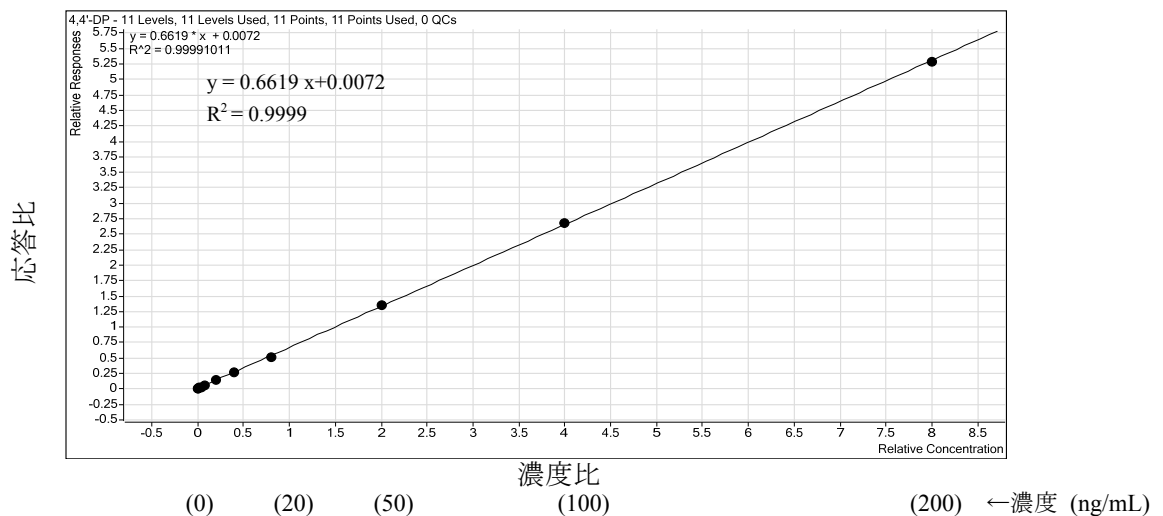


図5 4,4'-ビピリジル検量線（対象物質濃度範囲 0.1～200 ng/mL）

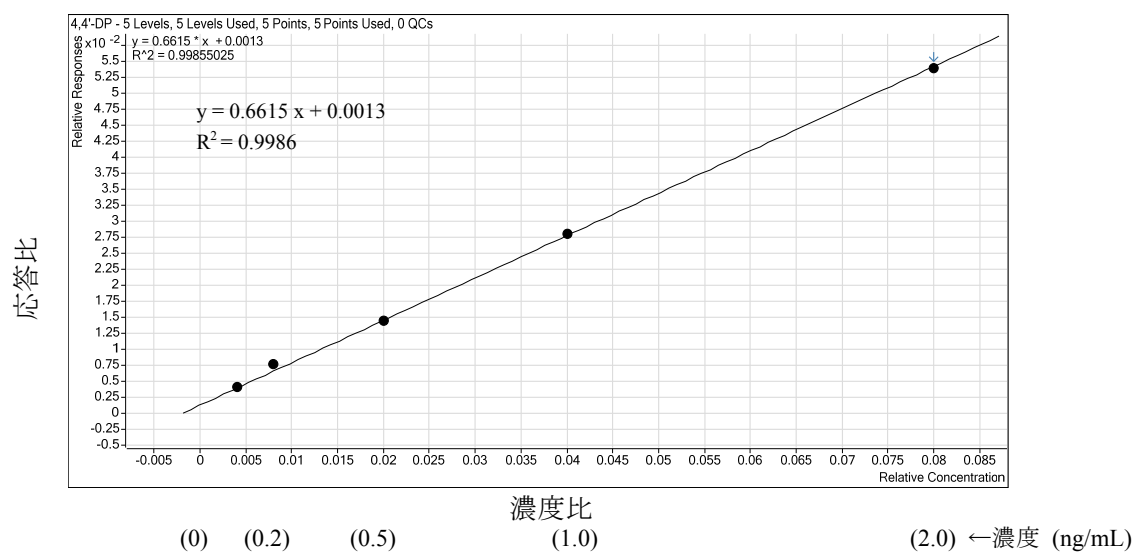


図 6 4,4'-ビピリジル検量線（対象物質濃度範囲 0.1～2 ng/mL）

表 5 検量線作成用データ（4,4'-ビピリジル）

濃度比	標準液	応答値		応答比
	濃度			
	(Cs) (ng/ml)	4,4'-bpy(As) (m/z 157>130)	内標準(Ais) (m/z 165>137)	(As/Ais)
0.004	0.100	51	5421	0.009
0.008	0.200	62	5539	0.011
0.020	0.500	102	5528	0.018
0.040	1.00	179	5612	0.032
0.080	2.00	304	5675	0.053
0.200	5.00	791	5651	0.140
0.400	10.0	1379	5268	0.262
0.800	20.0	2863	5487	0.522
2.000	50.0	7639	5639	1.355
4.000	100	15258	5676	2.688
8.000	200	30453	5765	5.282

* : 内標準液濃度 25.0 ng/mL

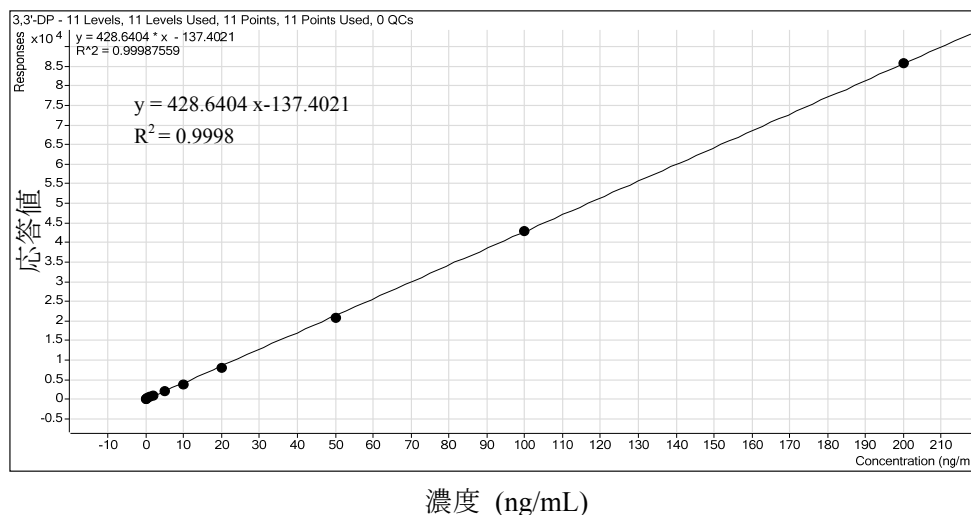


図7 3,3'-ビピリジル検量線（対象物質濃度範囲 0.1～200 ng/mL）

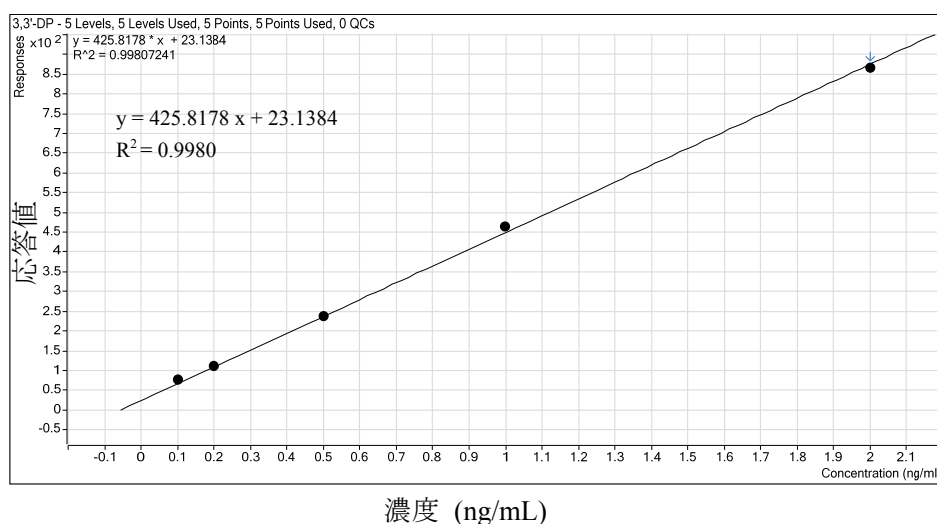


図8 3,3'-ビピリジル検量線（対象物質濃度範囲 0.1～2 ng/mL）

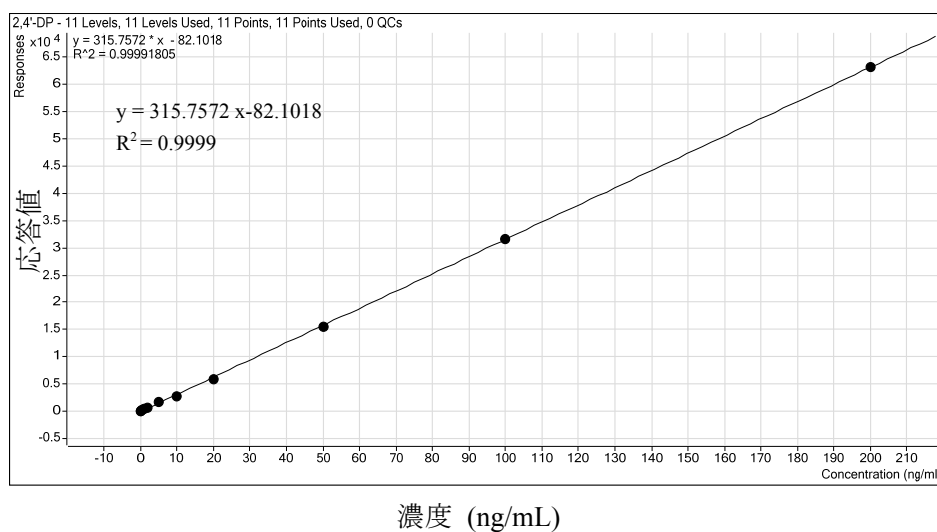


図9 2,4'-ビピリジル検量線（対象物質濃度範囲 0.1～200 ng/mL）

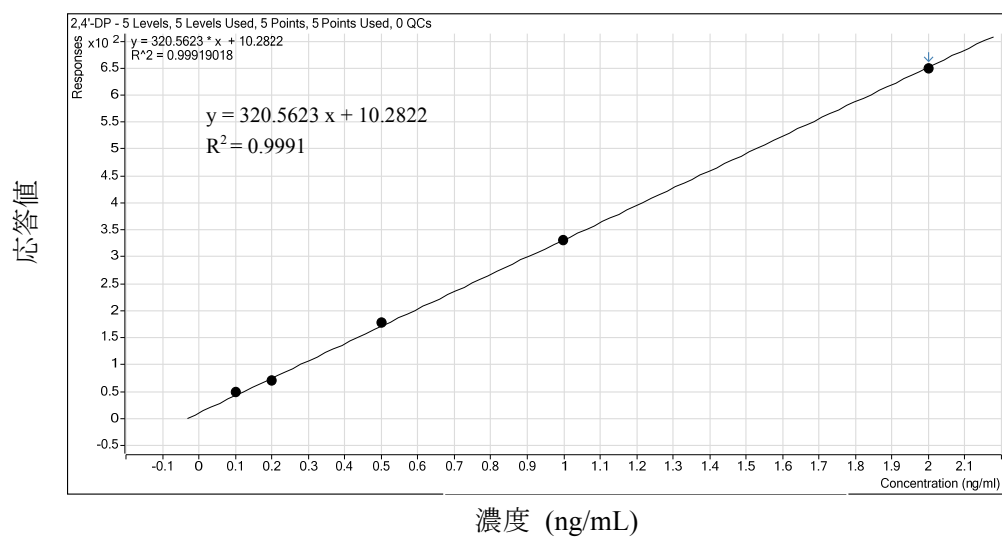


図 10 2,4'-ビピリジル検量線 (対象物質濃度範囲 0.1~2 ng/mL)

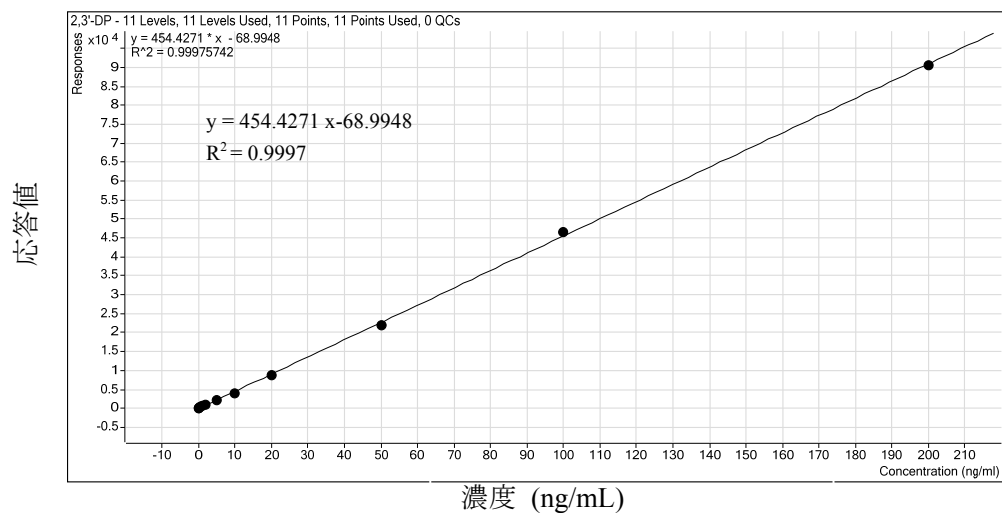


図 11 2,3'-ビピリジル検量線 (対象物質濃度範囲 0.1~200 ng/mL)

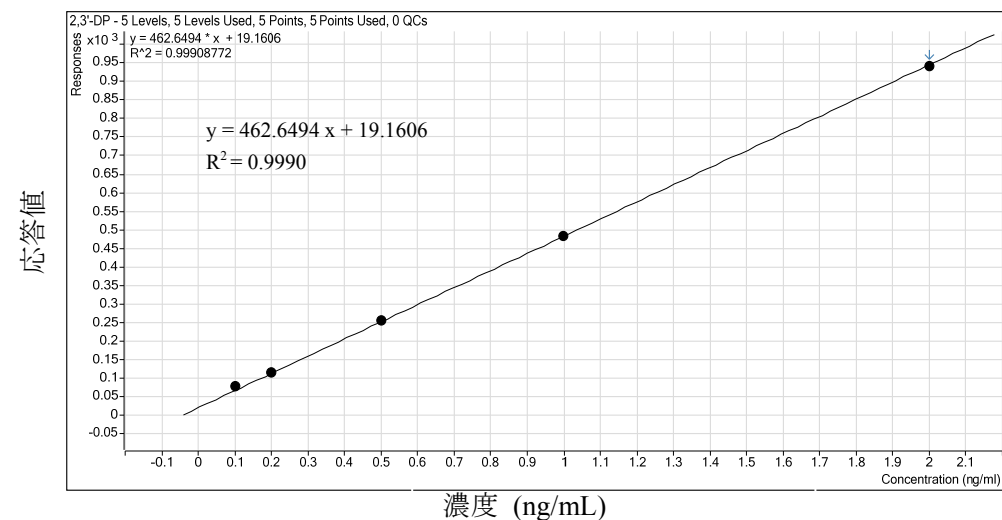


図 12 2,3'-ビピリジル検量線 (対象物質濃度範囲 0.1~2 ng/mL)

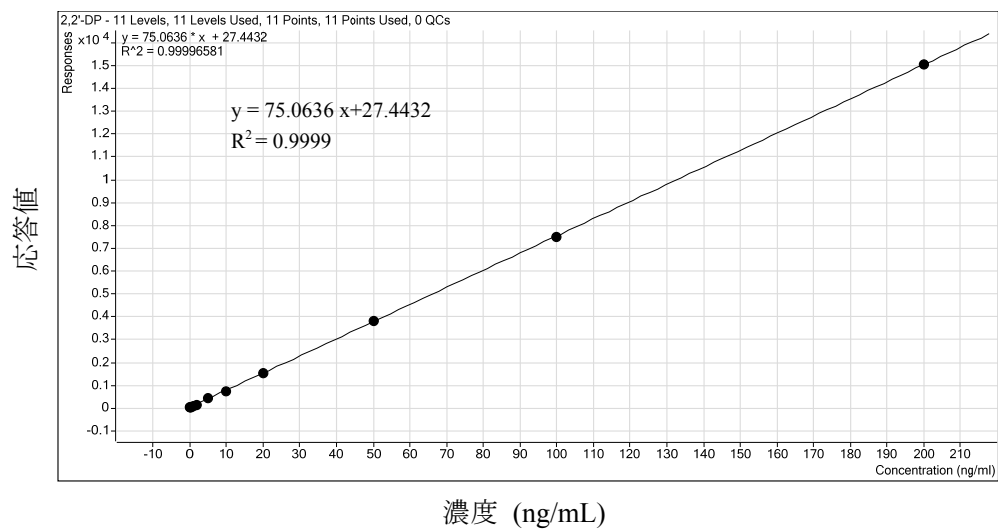


図 13 2,2'-ビピリジル検量線(対象物質濃度範囲 0.5～200 ng/mL)

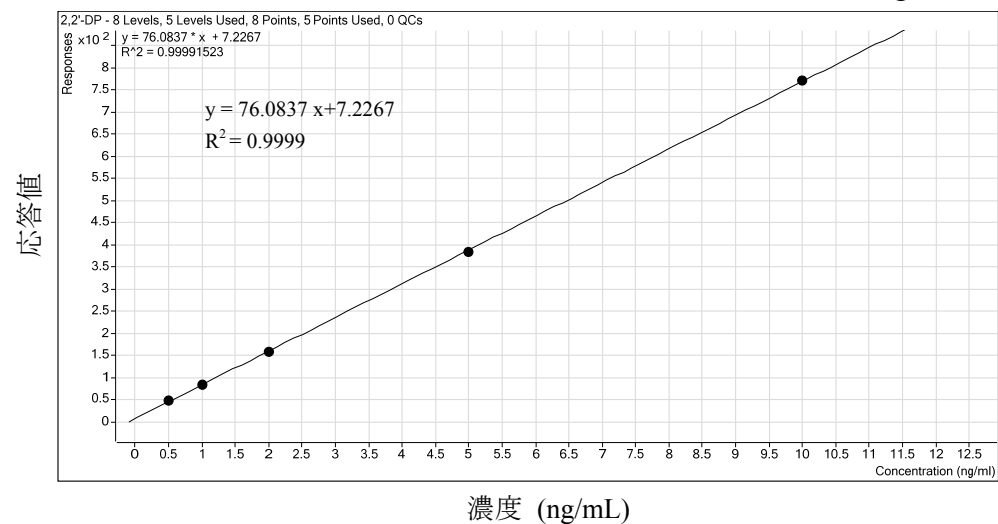


図 14 2,2'-ビピリジル検量線(対象物質濃度範囲 0.5～10 ng/mL)

表 6 検量線作成用データ (3,3'-、2,4'-、2,3'-、2,2'-ビピリジル)

標準液濃度 (Cs) (ng/ml)	応答値			
	3,3'-bpy(As) (m/z 157>130)	2,4'-bpy(As) (m/z 157>130)	2,3'-bpy(As) (m/z 157>130)	2,2'-bpy(As) (m/z 157>130)
0.100	124	72	109	—
0.200	161	101	149	—
0.500	256	186	272	52
1.00	520	376	537	108
2.00	843	592	872	159
5.00	2165	1613	2276	414
10.0	3784	2778	4014	729
20.0	7966	5894	8748	1543
50.0	20752	15545	22024	3835
100	42852	31613	46426	7503
200	85722	63094	90494	15043

〔標準液のクロマトグラム〕

標準液のクロマトグラムを図 15 に示す。

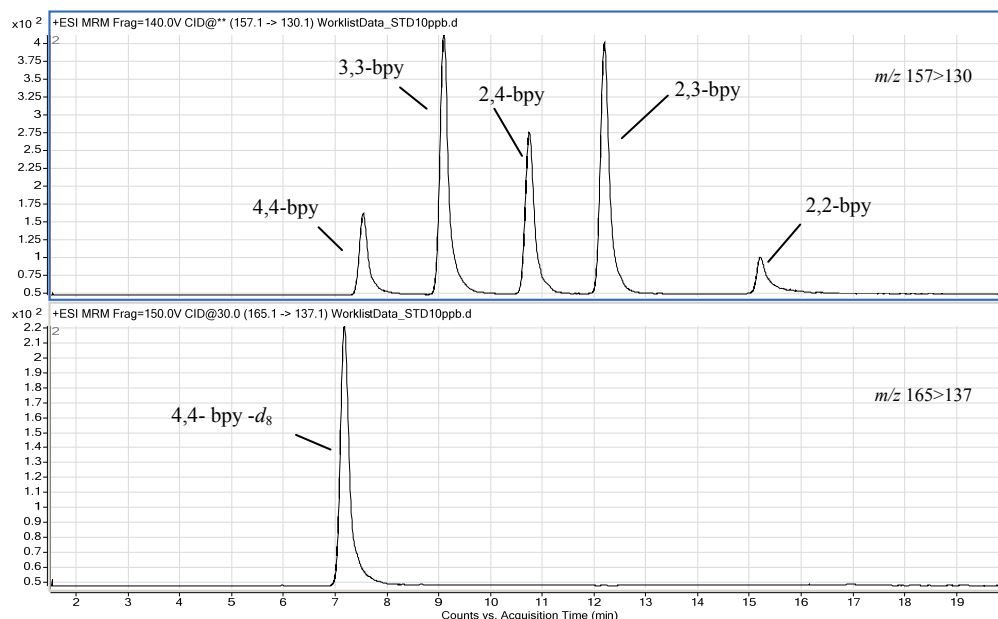


図 15 検量線用標準液 10 ng/mL のクロマトグラム

〔標準物質のマスペクトル〕

標準物質のマスペクトルを図 16～21 に示す。

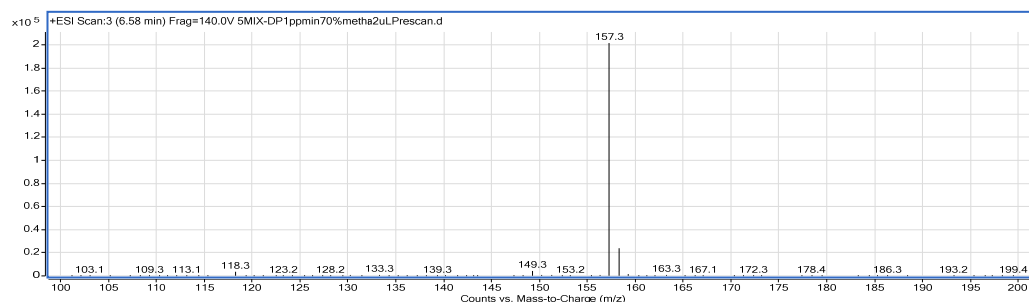


図 16-1 4,4'-ビピリジル (1 mg/L) のマスペクトル (MS スキャン)

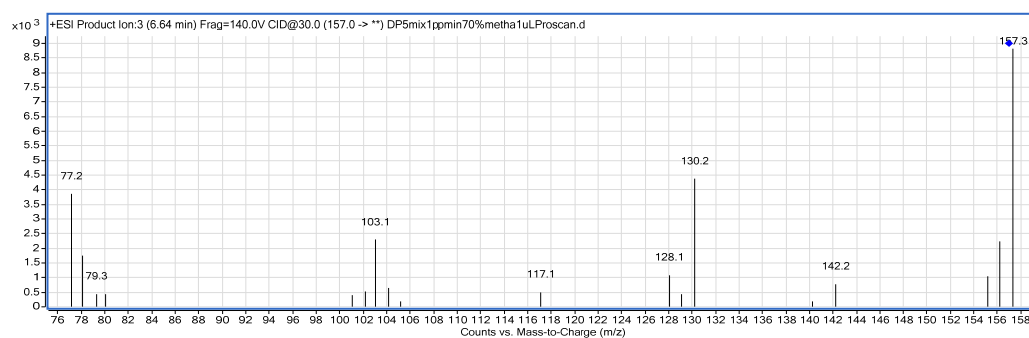


図 16-2 4,4'-ビピリジル (1 mg/L) のマスペクトル
(プレカーサーイオン m/z 157.3 としたプロダクトイオンスキャン)

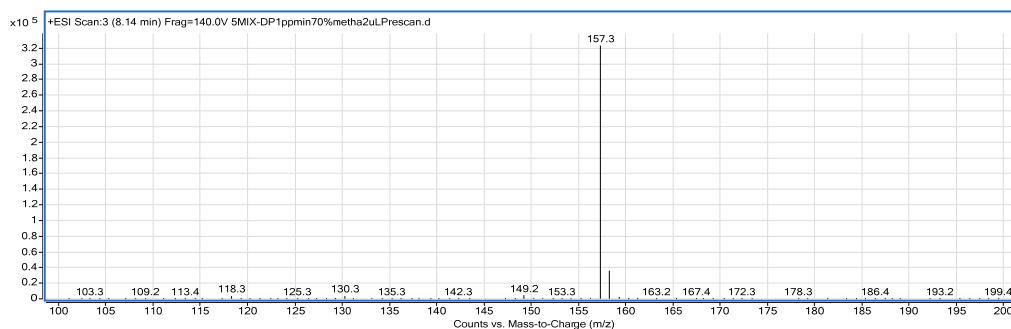


図 17-1 3,3'-ビピリジル (1 mg/L) のマススペクトル (MS スキャン)

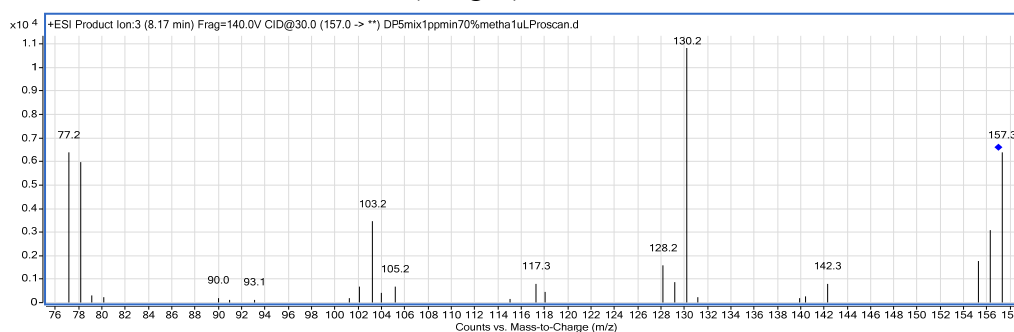


図 17-2 3,3'-ビピリジル (1 mg/L) のマススペクトル
(プレカーサーイオン m/z 157.3 としたプロダクトイオンスキャン)

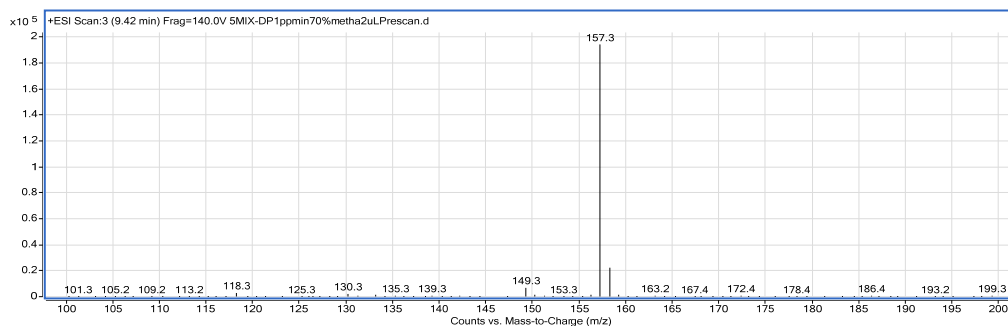


図 18-1 2,4'-ビピリジル (1 mg/L) のマススペクトル (MS スキャン)

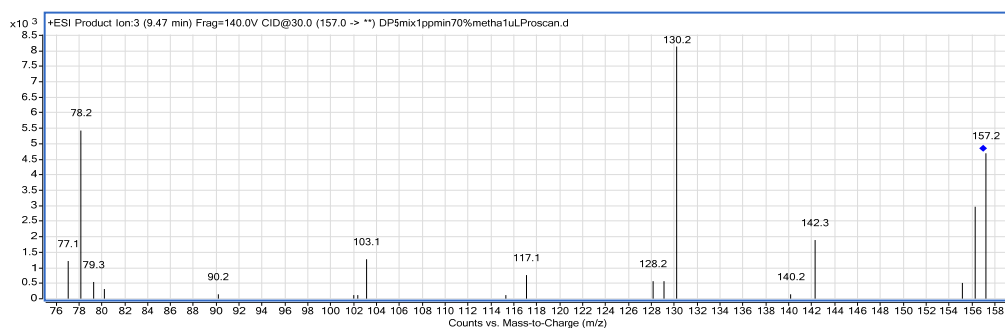


図 18-2 2,4'-ビピリジル (1 mg/L) のマススペクトル
(プレカーサーイオン m/z 157.3 としたプロダクトイオンスキャン)

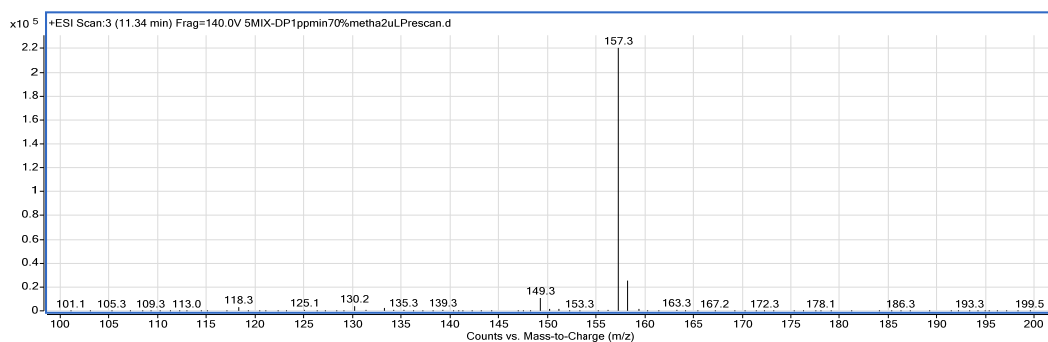


図 19-1 2,3'-ビピリジル (1 mg/L) のマススペクトル (MS スキャン)

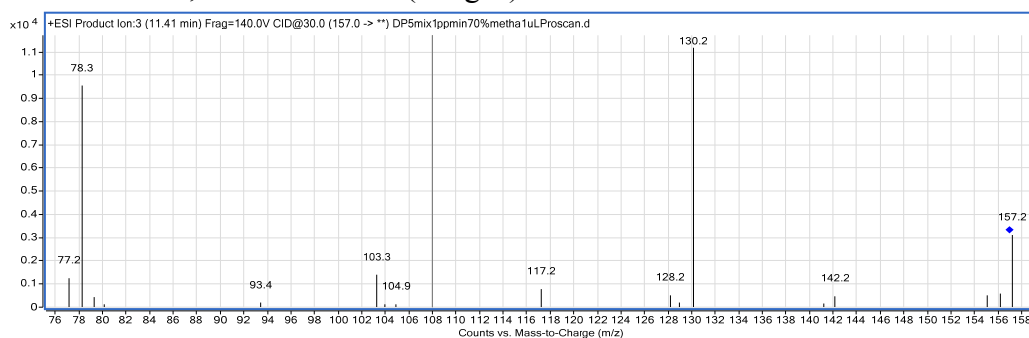


図 19-2 2,3'-ビピリジル (1 mg/L) のマススペクトル
(プレカーサーイオン m/z 157.2 としたプロダクトイオンスキャン)

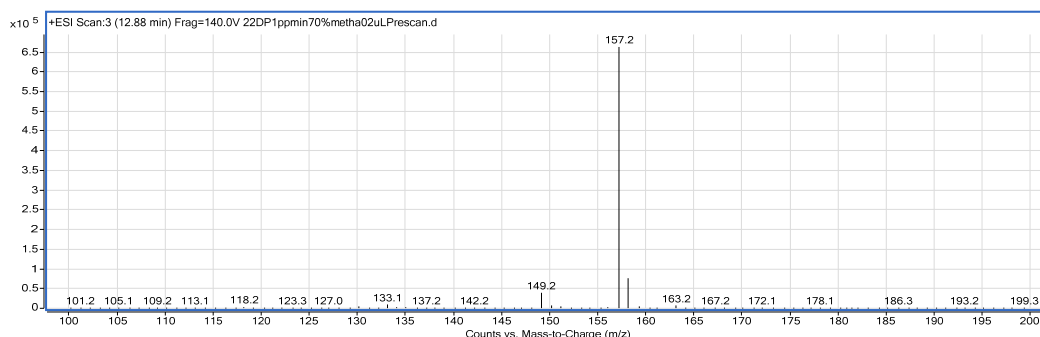


図 20-1 2,2'-ビピリジル (1 mg/L) のマススペクトル (MS スキャン)

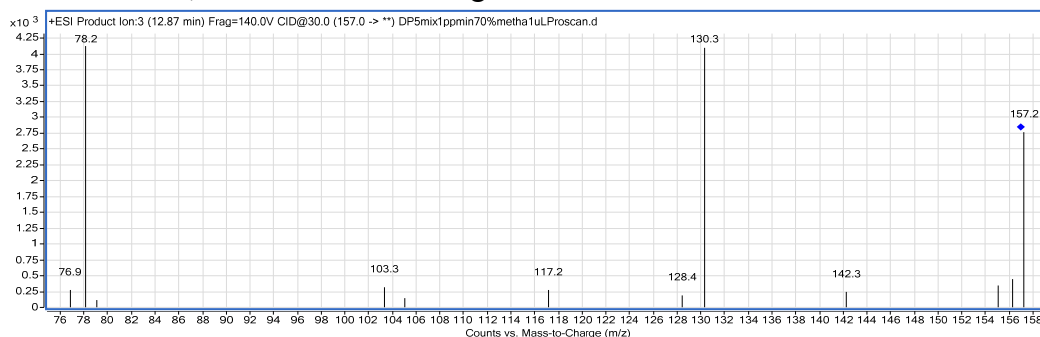


図 20-2 2,2'-ビピリジル(1 mg/L) のマススペクトル
(プレカーサーイオン m/z 157.2 としたプロダクトイオンスキャン)

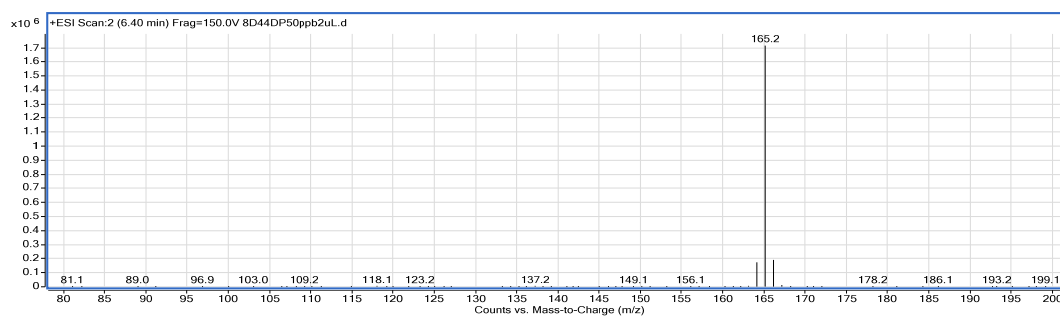


図 21-1 4,4'-ビピリジル- d_8 (1 mg/L) のマススペクトル (MS スキャン)

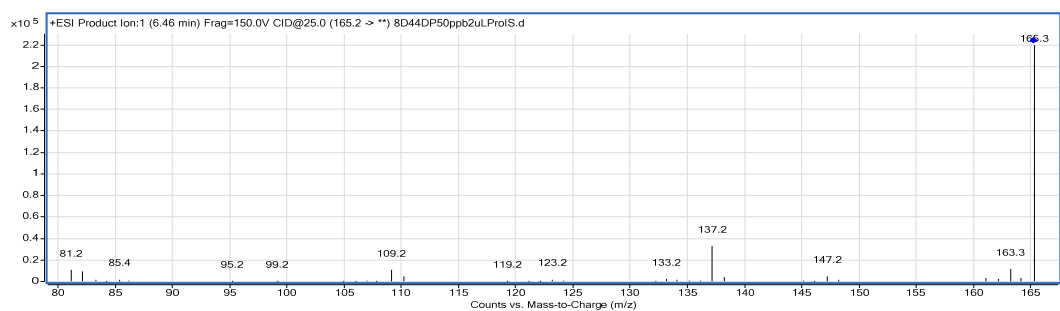


図 21-2 4,4'-ビピリジル- d_8 (1 mg/L) のマススペクトル
(m/z 165.3 のプロダクトイオンスキャン)

〔操作ブランク〕

操作ブランク試料のクロマトグラムを図 22 に示す。2,2'-ビピリジル検出付近のピークは、溶媒注入のみでも見られ対象物質ではないと考えられる。

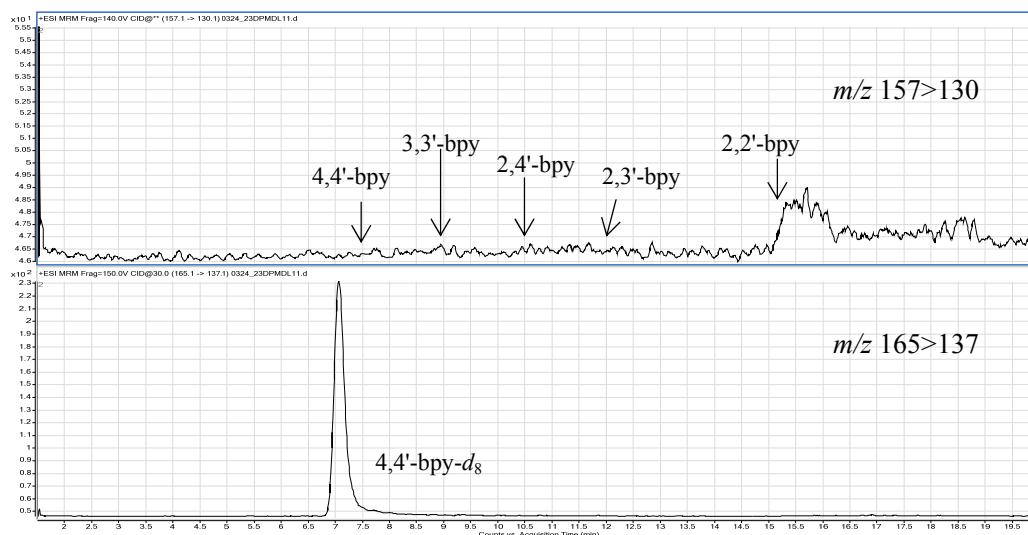


図 22 操作ブランクのクロマトグラム

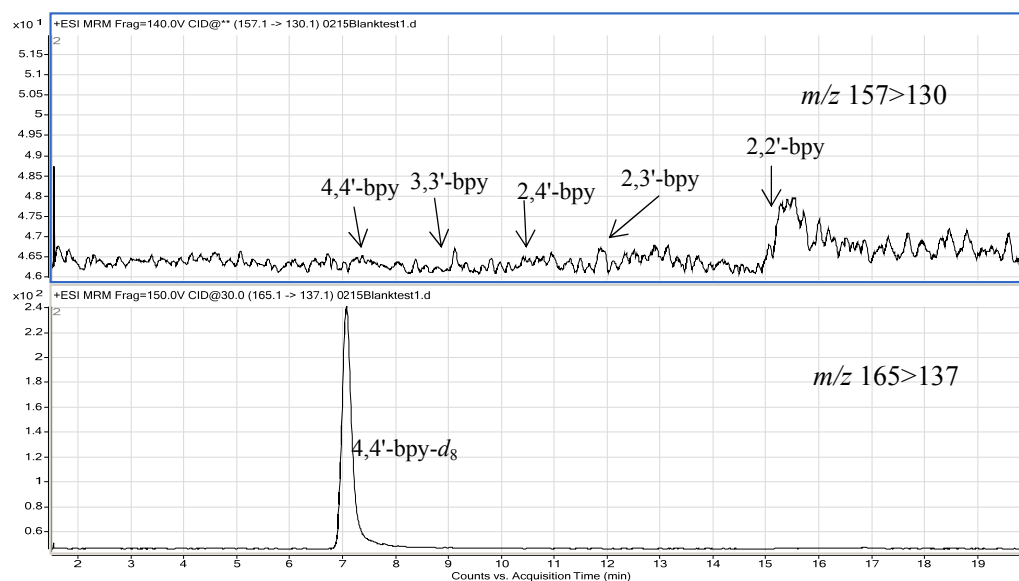


図 23 メタノール注入時のクロマトグラム

〔添加回収試験〕

精製水、河川水（諸葛川（濁質が比較的多い））、海水（大船渡湾）への添加回収結果を表 7～11 に、クロマトグラムを図 23～26 に示す。

表 7 4,4'-ビピリジル添加回収試験結果

試料名	試料量 (mL)	添加量 (ng)	試験数	検出濃度 (ng/L)	回収率 (%)	変動係数 (%)
精製水	200	無添加	2	ND	-	-
	200	4	5	16.9	85	4.0
河川水	200	無添加	2	ND	-	-
	200	0.5	7	2.33	93	6.1
	200	4	5	20.5	102	6.1
海水	200	無添加	2	ND	-	-
	200	4	5	20.1	101	5.9

表 8 3,3'-ビピリジル添加回収試験結果

試料名	試料量 (mL)	添加量 (ng)	試験数	検出濃度 (ng/L)	回収率 (%)	変動係数 (%)
精製水	200	無添加	2	ND	-	-
	200	4	5	16.8	84	1.1
河川水	200	無添加	2	ND	-	-
	200	0.2	7	0.743	70	9.1
	200	4	5	19.0	95	7.7
海水	200	無添加	2	ND	-	-
	200	4	5	16.7	84	7.8

表 9 2,4'-ビピリジル添加回収試験

試料名	試料量 (mL)	添加量 (ng)	試験数	検出濃度 (ng/L)	回収率 (%)	変動係数 (%)
精製水	200	無添加	2	ND	-	-
	200	4	5	17.8	89	1.3
河川水	200	無添加	2	ND	-	-
	200	0.5	7	2.61	104	4.5
	200	4	5	19.4	97	7.8
海水	200	無添加	2	ND	-	-
	200	4	5	16.6	83	7.3

表 10 2,3'-ビピリジル添加回収試験結果

試料名	試料量 (mL)	添加量 (ng)	試験数	検出濃度 (ng/L)	回収率 (%)	変動係数 (%)
精製水	200	無添加	2	ND	-	-
	200	4	5	17.6	88	2.4
河川水	200	無添加	2	ND	-	-
	200	0.2	7	1.09	109	4.4
	200	4	5	20.3	102	6.9
海水	200	無添加	2	ND	-	-
	200	4	5	17.5	87	9.0

表 11 2,2'-ビピリジル添加回収試験結果

試料名	試料量 (mL)	添加量 (ng)	試験数	検出濃度 (ng/L)	回収率 (%)	変動係数 (%)
精製水	200	無添加	2	ND	-	-
	200	40	5	35.6	18	11
河川水	200	無添加	2	ND	-	-
	200	2	7	3.67	37	17
	200	40	5	96.9	48	23
海水	200	無添加	2	ND	-	-
	200	40	5	82.9	41	28

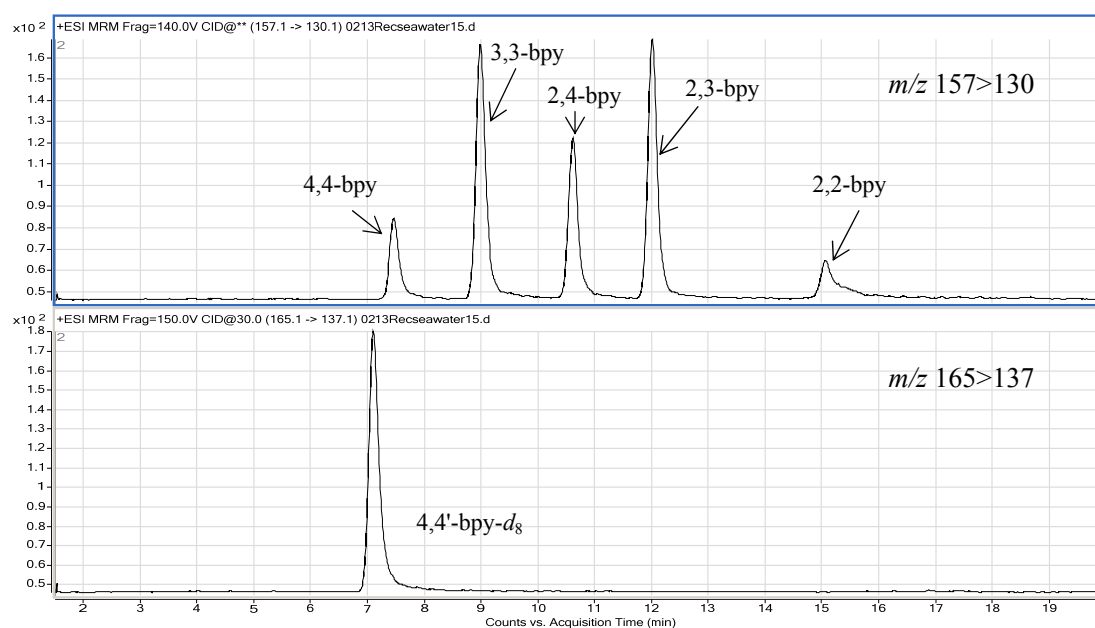


図 24 添加回収試験のクロマトグラム (40 ng 添加 海水：大船渡湾)

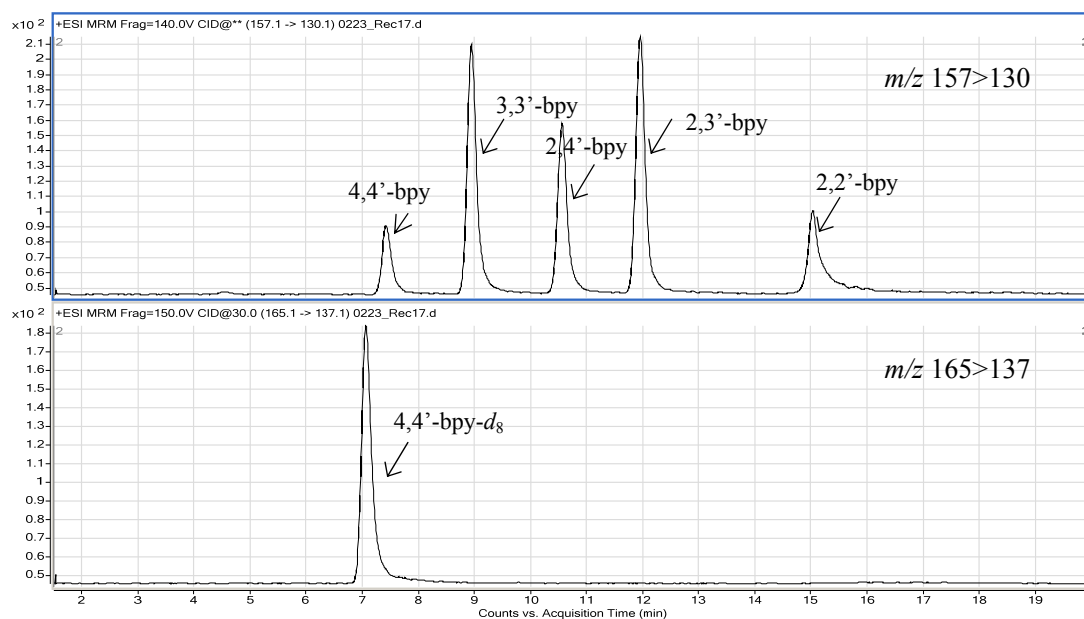


図 25 添加回収試験のクロマトグラム (40 ng 添加 河川水：諸葛川)

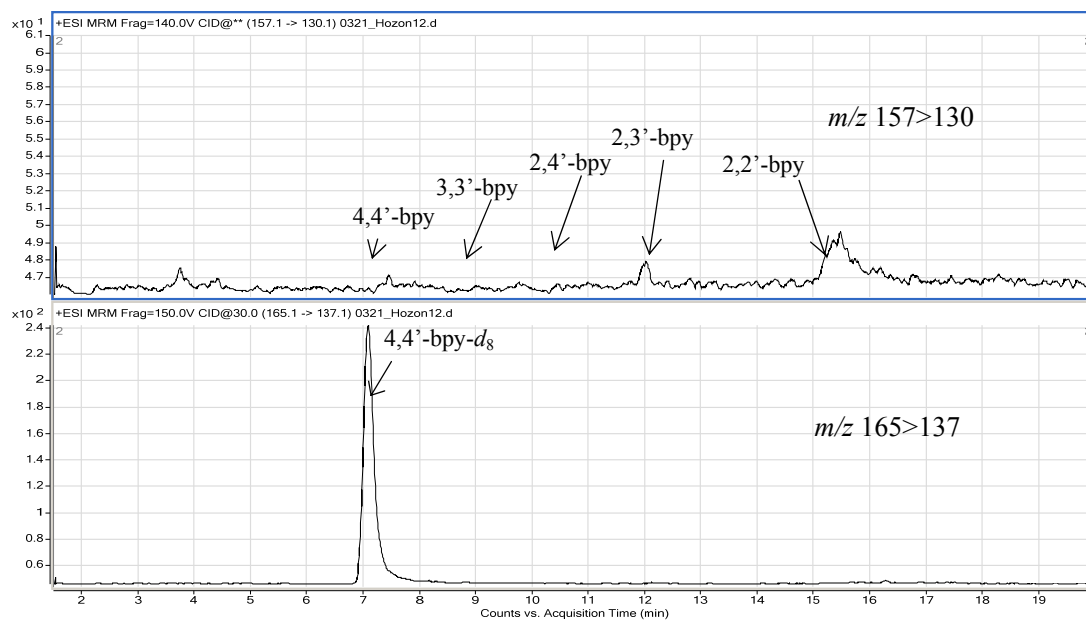


図 26 添加回収試験のクロマトグラム (大船渡湾海水 無添加)

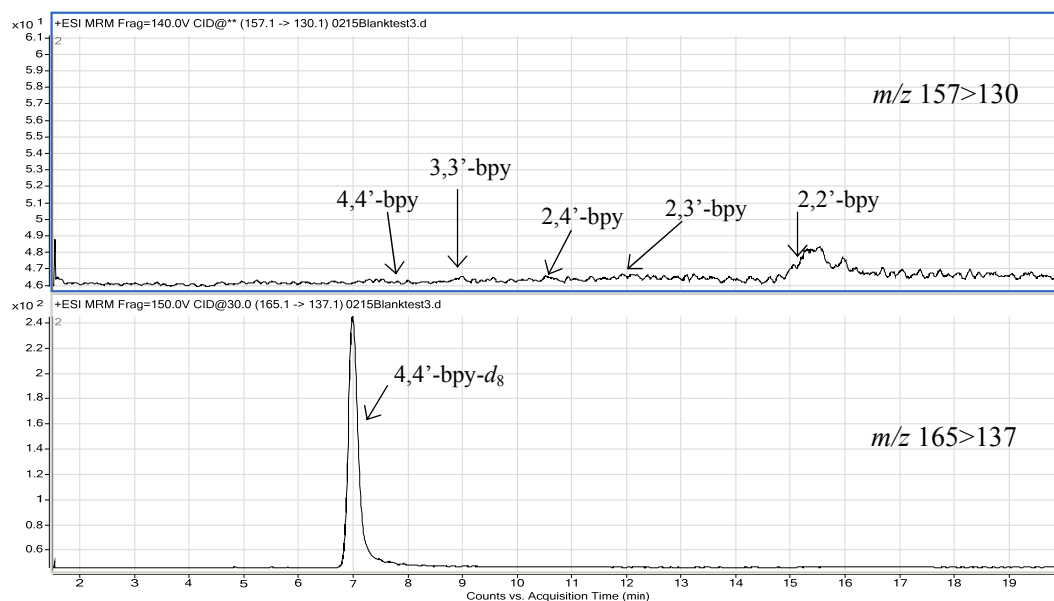


図 27 添加回収試験のクロマトグラム（諸葛川河川水 無添加）

〔分解性スクリーニング試験〕

分解性スクリーニング試験の結果を表 12 に示す。

表 12 分解性スクリーニング試験結果

物質名	pH	初期濃度 (ng/L)	1 時間後の残存率 (%)	7 日後の残存率(%)	
				暗所	明所
4,4'-bpy	5	0.020	105	96	-
	7	0.020	97	92	92
	9	0.020	95	80	-
3,3'-bpy	5	0.020	104	94	-
	7	0.020	86	87	85
	9	0.020	81	81	-
2,4'-bpy	5	0.020	104	97	-
	7	0.020	86	86	86
	9	0.020	83	85	-
2,3'-bpy	5	0.020	105	96	-
	7	0.020	97	92	92
	9	0.020	95	80	-

〔保存性試験〕

水質試料、試験液及び標準液の保存性試験の結果を表 13 に示す。

試料については【試料の採取及び保存】に示したように、ビピリジルを添加した水質試料を、冷蔵保存した後の濃度を測定した。

試験液については、添加回収試験から得られた試験液を冷蔵保存し、14 日後

に測定した。

標準液については検量線用標準液を冷蔵保存し、1 ヶ月後に測定した。

表 13 ビピリジルの保存性試験結果

試料名			初期濃度 ($\mu\text{g/L}$)	残存率(%)		
				7 日間	14 日間	1 ヶ月
4,4'-bpy	試料	河川水	0.005	109	-	-
		海水	0.005	98	-	-
	試験液	河川水	0.005	-	101	-
	標準液	検量線の最小濃度	0.1	-	-	106
3,3'-bpy	試料	河川水	0.005	96	-	-
		海水	0.005	87	-	-
	試験液	河川水	0.005	-	102	-
	標準液	検量線の最小濃度	0.1	-	-	87
2,4'-bpy	試料	河川水	0.005	97	-	-
		海水	0.005	89	-	-
	試験液	河川水	0.005	-	103	-
	標準液	検量線の最小濃度	0.1	-	-	101
2,3'-bpy	試料	河川水	0.005	107	-	-
		海水	0.005	90	-	-
	試験液	河川水	0.005	-	109	-
	標準液	検量線の最小濃度	0.1	-	-	96

〔注入量によるピーク形状の変化〕

注入量によるピーク形状の変化を図 28～30 に示した。メタノール 100%標準液では 5 μL 以上注入するとピーク形状が悪くなるので、注入量を 2 μL に減じている。アセトニトリル 100 %とメタノール 70 %では 10 μL まで変化がない。

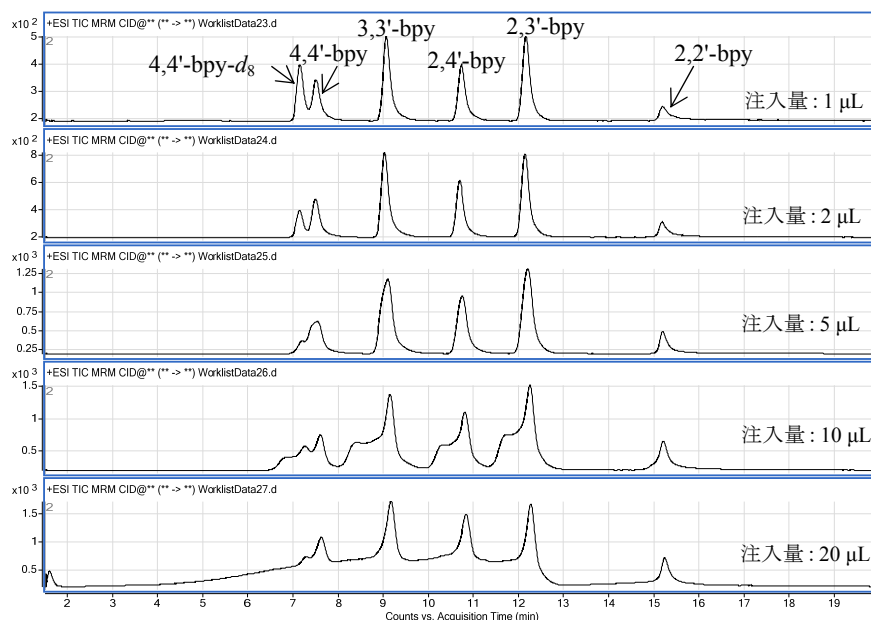


図 28 注入量によるピーク形状の変化（メタノール 100% 10 $\mu\text{g/L}$ 標準液）

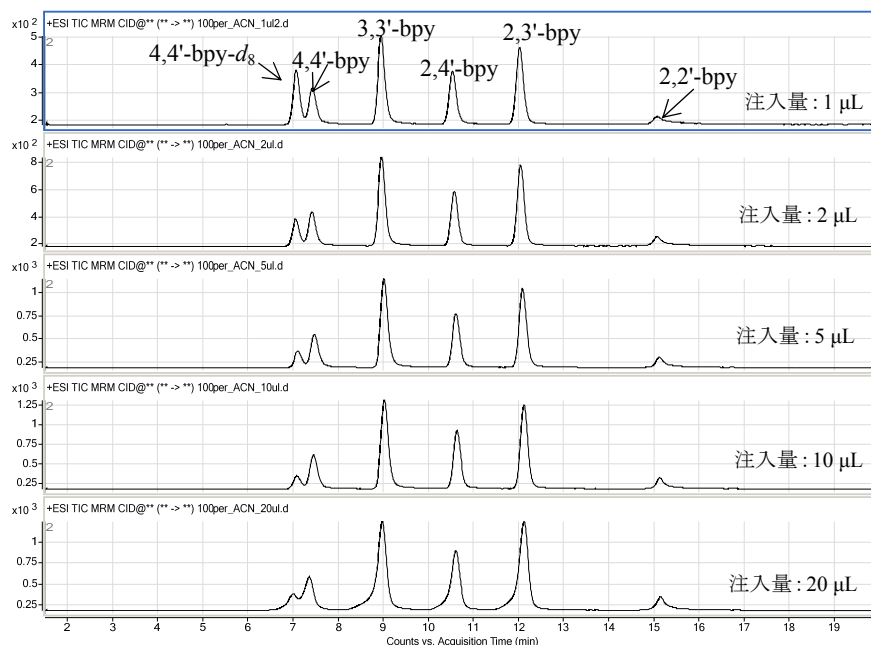


図 29 注入量によるピーク形状の変化（アセトニトリル 100% 10 $\mu\text{g/L}$ 標準液）

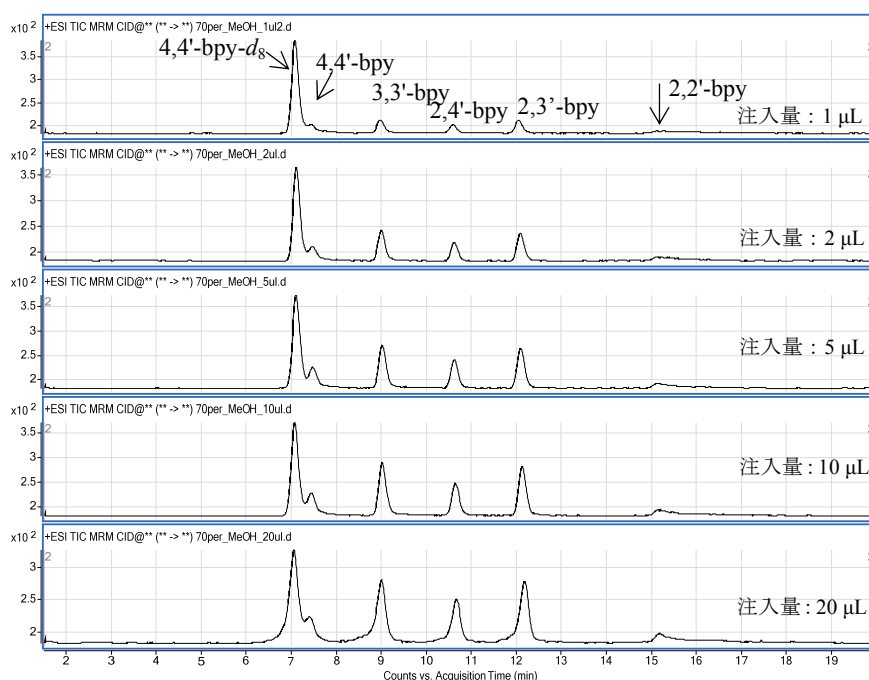


図 30 注入量によるピーク形状の変化（メタノール 70 % 1 µg/L 標準液）

〔カラム溶出順位と各異性体の物性 (log P、pKa)〕

各異性体の分離については、移動相の pH（移動相 A は pH 3.8 程度）と異性体ごとの log P および pKa のバランスで表 14 のような溶出順位が得られるのではないかと考えている。

表 14 各ビピリジルの物性（SRC PhysProp Database より抽出）

物質名	カラム溶出順位 (カッコ内は R.T.)	log P _{ow}	pKa
4,4'-ビピリジル	1 (7.4 min)	1.28	4.82
3,3'-ビピリジル	2 (8.9 min)	1.38	不明
2,4'-ビピリジル	3 (10.5 min)	1.58	4.77
2,3'-ビピリジル	4 (11.9 min)	1.46	4.42
2,2'-ビピリジル	5 (15.3 min)	1.50	4.33
3,4'-ビピリジル	標準物質未入手	不明	不明

〔分離カラムの検討〕

InertSustain C18 以外の分離カラムとしてポリマー系カラム (TSKgel)、アミドカラム(TSK Amide-80)および他社製の不活性 ODS カラム 2 種について検討を行った。ポリマー系及びアミドカラムは、溶媒（メタノールまたはアセトニトリル）と精製水またはギ酸アンモニウム緩衝液を溶離液として使用した場合、水リッチな条件でも保持が不十分で各異性体をそれぞれ分離することができなかった。

他社製の ODS カラムについては、10 mmol/L ギ酸アンモニウム / 2 mmol/L ギ酸及び 5 mmol/L ギ酸 / アセトニトリルを用いた分析法の溶出条件で各異性体の分離は可能であったが、2,2'-bpy のピークがブロードになったため、これまで通り InertSustain C18 を使用することとした。

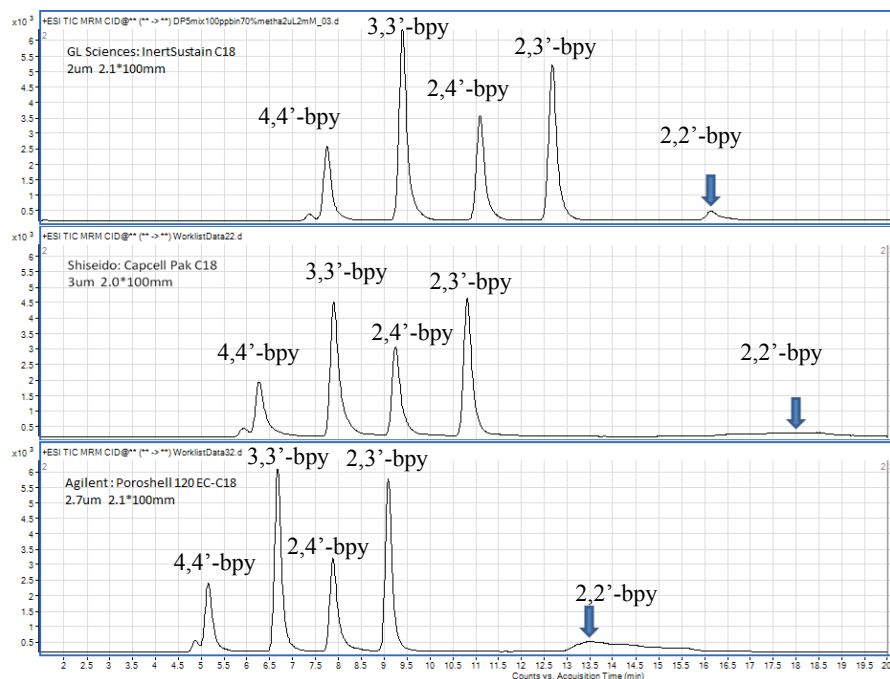


図 31 各社不活性 ODS カラムによるビピリジルの分離
(矢印のピークが 2,2'-bpy)

〔移動相の検討〕

移動相としてアセトニトリルを検討したところ、メタノールより分離が良く、また、アセトニトリルにギ酸を加えることで 2,2'-bpy のテーリングを幾分抑えることができた。

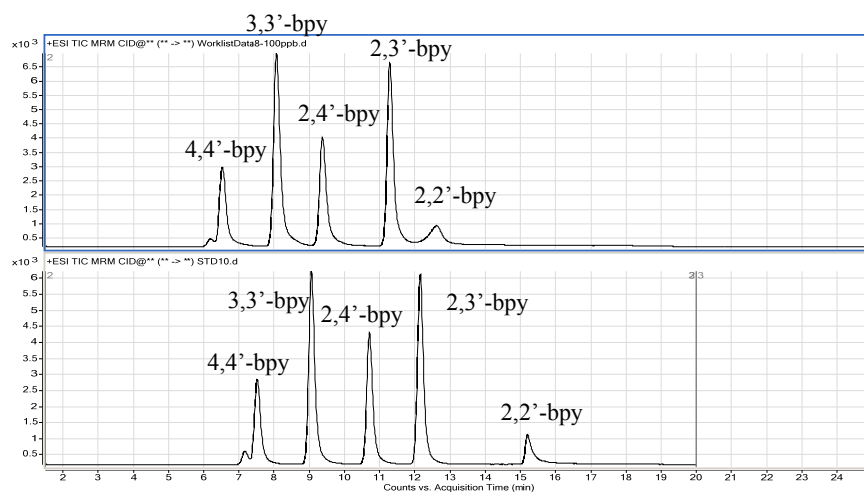


図 32 移動相の変更による分離比較
(上段：メタノール、下段：アセトニトリル)

〔固相抽出の検討〕

Waters 製 Oasis HLB および Sep-Pak Plus PS-2 について回収率を検討した。それぞれの固相をメタノール 5 mL、精製水 10 mL でコンディショニングした後、分析時のビピリジル濃度が 100 $\mu\text{g/L}$ となるように調製した試料 10 mL を通水し、精製水 10 mL で洗浄後メタノール 5 mL で溶出したときの回収率を示す。HLB、PS2 とともにすべての異性体を 90%以上で回収することができるが、HLB の方が若干成績が良かったので、以後の検討には HLB を用いることにした。

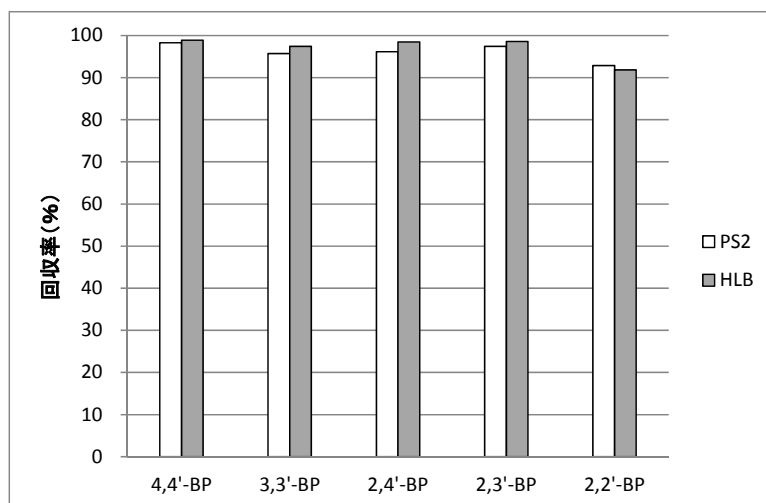


図 33 使用する固相の種類による回収率

〔固相抽出時の試料 pH の検討〕

10 mmol/L ギ酸アンモニウムにギ酸とアンモニアを加えることで pH 3~8 の緩衝液を作成した。各 pH の緩衝液 200 mL にビピリジル混合標準を添加し（分析時濃度 100 $\mu\text{g/L}$ ）、HLB で固相抽出を行った時の回収率を図 34 に示す。

2,2'-bpy 以外の異性体の回収率が全て 90%程度となるのは pH 6 の時で、低 pH の時では pKa が大きいものほど回収率が悪い。また、pH 6 以上になると回収率が低下していくようであった。2,2'-bpy は他の異性体と異なる挙動を示し、固相へのキレートやビーカーおよびコンセンレーターのラインへの吸着など何らかの作用が働いているように思われた。

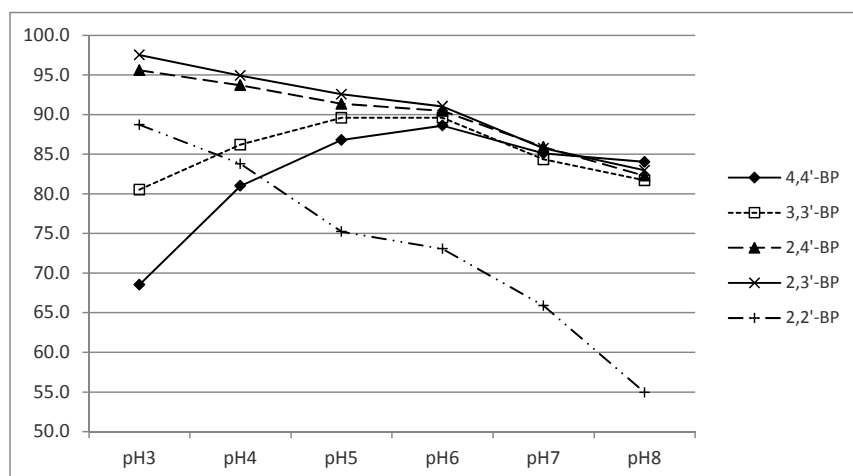


図 34 試料 pH による回収率の変化

〔環境試料の分析例〕

本法を用いて、岩手県内の河川水（諸葛川）及び海水（大船渡湾）を測定した結果、4,4'-ビピリジル他異性体はいずれも MDL 未満であった（図 35）。

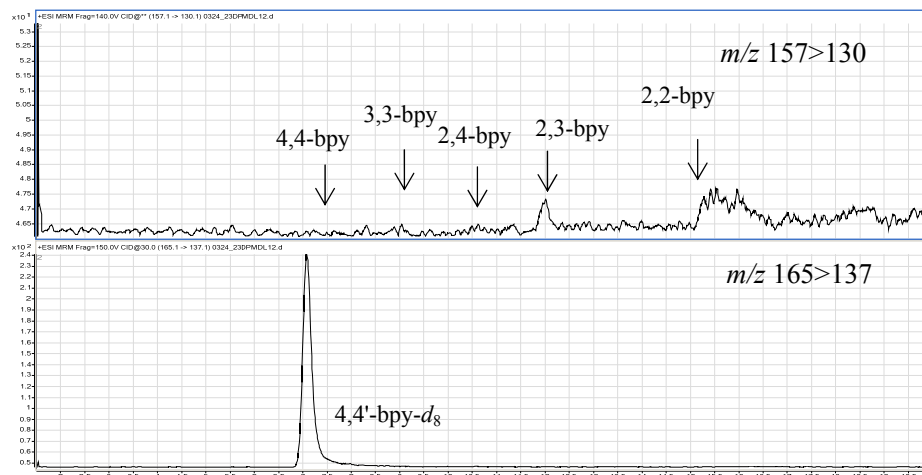


図 35 環境試料（河川水）のクロマトグラム

【評価】

本法の IDL は、0.059 ng/mL であり、試料換算濃度値は 0.00030 $\mu\text{g/L}$ である。検量線は、0.100～200 ng/mL の濃度範囲で $r^2 > 0.99$ と良好な直線性が確認された。本法の MDL は、0.00055 $\mu\text{g/L}$ であり、MQL は、0.0014 $\mu\text{g/L}$ である。

河川水及び海水に対する標準物質の添加回収試験結果は、90%以上であり変動係数は 10%以下であった。以上の結果から、本法により環境水中の 0.001 $\mu\text{g/L}$ オーダの 4,4'-ビピリジルの検出が可能と判断される。

【担当者連絡先】

所属先名称：岩手県環境保健研究センター

所属先住所：〒020-0852 盛岡市北飯岡一丁目 11-16

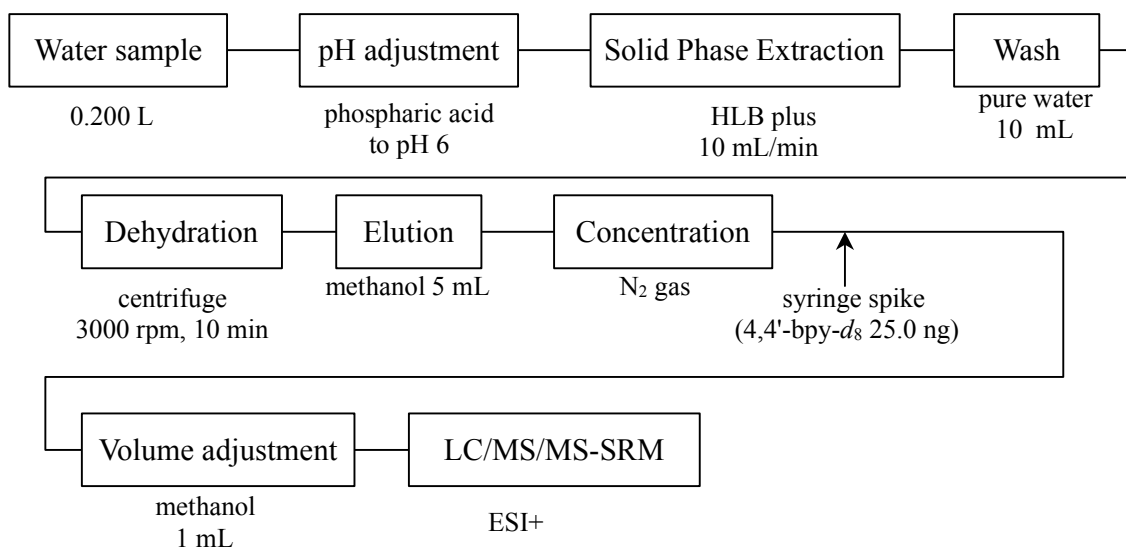
TEL：019-656-5666 FAX：019-656-5667

担当者名：伊藤 朋子

E-mail：tm-itou@pref.iwate.jp

4,4'-Bipyridyl

This method provides procedures for the determination of 4,4'-bipyridyl in surface water by liquid chromatography/tandem quadrupole mass spectrometry (LC/MS/MS). The ionization mode is positive ESI (electrospray ionization). After measured volume of a sample, approximately 0.2 L of surface water is adjusted to pH 6, and passed through a preconditioned solid phase extraction cartridge (Oasis HLB plus) at a flow rate of 10 mL/min. The cartridge is washed with 10 mL of pure water, and then the extract is eluted with 5 mL of methanol. The eluate is concentrated to 1.0 mL under gentle stream of ultra-pure grade nitrogen gas. The analytes are determined in the selected-reaction-monitoring (SRM) mode as the precursor/product ion pair of m/z 157>130. The method detection limit (MDL) and the method quantification limit (MQL) are 0.55 and 1.4 ng/L, respectively. The average of recoveries ($N = 7$) from 4.0 ng of 4,4'-bipyridyl added to 0.2 L of surface water from river and sea were 102% and 101%, and the relative standard deviation were 6.1% and 5.9%, respectively. Using this method, the target compounds in the river water (Morokuzu river) were not detected.



物質名	分析法フローチャート	備考
4,4'-ビピリジル	【水質】 <pre> graph LR A[水質試料 0.200 L] --> B[pH調整 リン酸 pH 6] B --> C[固相抽出 HLB plus 10 mL/min] C --> D[洗浄 精製水 10 mL] D --> E[脱水 遠心分離 3000 rpm, 10 min] E --> F[溶出 メタノール 5 mL] F --> G[濃縮 N2気流下] H[シリンジスパイク (4,4'-bpy-d8 25.0 ng)] --> G G --> I[定容 メタノール 1 mL] I --> J[LC/MS/MS-SRM ESI+] </pre>	分析法原理： LC/MS/MS-SRM ESI-ポジティブ 検出下限値： [水質] (ng/L) 0.55 分析条件： 機器 LC: 1200 (Agilent) MS: 6460(Agilent) カラム： InertSustain C18 (2μm, 2.1$\times$100mm)