CAS No	代表和名	英名	年度	自治体名	大気	水質	底質	生物	食事	ファイル名
141-32-2	アクリル酸n-ブチル	n-Butyl acrylate	2012	島津テクノリサーチ		○				adoc2012-1-001.pdf
96-33-3	アクリル酸メチル	Methyl acrylate	2012	島津テクノリサーチ		○				adoc2012-1-001.pdf
107-13-1	アクリロニトリル	Acrylonitrile	2012	島津テクノリサーチ		○				adoc2012-1-001.pdf
75-56-9	1,2-エポキシプロパン	1,2-Epoxypropane	2012	島津テクノリサーチ		○				adoc2012-1-001.pdf
108-05-4	酢酸ビニル	Vinyl acetate	2012	島津テクノリサーチ		○				adoc2012-1-001.pdf
	ジクロロアニリン類		2012	札幌市		○				adoc2012-1-050.pdf
608-27-5	2,3-ジクロロアニリン	2,3-dichloroaniline	2012	札幌市		○				adoc2012-1-050.pdf
554-00-7	2,4-ジクロロアニリン	2,4-dichloroaniline	2012	札幌市		○				adoc2012-1-050.pdf
95-82-9	2,5-ジクロロアニリン	2,5-dichloroaniline	2012	札幌市		○				adoc2012-1-050.pdf
608-31-1	2,6-ジクロロアニリン	2,6-dichloroaniline	2012	札幌市		○				adoc2012-1-050.pdf
95-76-1	3,4-ジクロロアニリン	3,4-dichloroaniline	2012	札幌市		○				adoc2012-1-050.pdf
626-43-7	3,5-ジクロロアニリン	3,5-dichloroaniline	2012	札幌市		○				adoc2012-1-050.pdf
120-95-6	2,4-ジ-tert-ペンチルフェノール	2,4-Di-tert-pentylphenol	2012	三重県		○	○			adoc2012-1-096.pdf
21564-17-0	2-(チオシアナートメチルチオ)-1,3-ベンゾチアゾール	2-(Thiocyanatomethylthio)-1,3-benzothiazole	2012	長野県		○				adoc2012-1-127.pdf
84-15-1	o-テルフェニル	o-Terphenyl	2012	新潟県		○				adoc2012-1-151.pdf
92-06-8	m-テルフェニル	m-Terphenyl	2012	新潟県		○				adoc2012-1-151.pdf
92-94-4	p-テルフェニル	p-Terphenyl	2012	新潟県		○				adoc2012-1-151.pdf
132-27-4	ナトリウム=1,1'-ビフェニル-2-オラート	Sodium-1,1'-biphenyl-2-olate	2012	福岡県		○				adoc2012-1-182.pdf
90-43-7	2-ヒドロキシビフェニル	2-Hydroxybiphenyl	2012	福岡県		○				adoc2012-1-182.pdf
580-51-8	3-ヒドロキシビフェニル	3-Hydroxybiphenyl	2012	福岡県		○				adoc2012-1-182.pdf
92-69-3	4-ヒドロキシビフェニル	4-Hydroxybiphenyl	2012	福岡県		○				adoc2012-1-182.pdf
106-99-0	1,3-ブタジエン	1,3-Butadiene	2012	化学物質評価研究機構		○				adoc2012-1-209.pdf
111-82-0	メチル=ドデカノアート	Methyl dodecanoate	2012	岡山県		○				adoc2012-1-227.pdf
110-42-9	デカン酸メチル	Methyl decanoate	2012	岡山県		○				adoc2012-1-227.pdf
2311-59-3	デカン酸イソプロピル	isopropyl decanoate	2012	岡山県		○				adoc2012-1-227.pdf
2035-99-6	オクタン酸イソペンチル	Octanoic acid, isopentyl	2012	岡山県		○				adoc2012-1-227.pdf
1731-86-8	ウンデカン酸メチル	Methyl undecanate	2012	岡山県		○				adoc2012-1-227.pdf
638-25-5	オクタン酸ペンチル	Pentyl Octanoate	2012	岡山県		○				adoc2012-1-227.pdf
30673-60-0	デカン酸プロピル	Propyl Decanoat	2012	岡山県		○				adoc2012-1-227.pdf
627-90-7	ウンデカン酸エチル	Ethyl Undecanoate	2012	岡山県		○				adoc2012-1-227.pdf
124-10-7	テトラデカン酸メチル	Methyl tetradecanoate	2012	岡山県		○				adoc2012-1-227.pdf
112-39-0	パルミチン酸メチル	Methyl Palmitate	2012	岡山県		○				adoc2012-1-227.pdf
112-61-8	ステアリン酸メチル	Methyl Stearate	2012	岡山県		○				adoc2012-1-227.pdf
1120-28-1	イコサン酸メチル	Methyle Icosanoate	2012	岡山県		○				adoc2012-1-227.pdf
929-77-1	ドコサン酸メチル	Methyl Docosanoate	2012	岡山県		○				adoc2012-1-227.pdf
75-65-0	2-メチルプロパン-2-オール	2-Methylpropan-2-ol	2012	化学物質評価研究機構		○				adoc2012-1-275.pdf
75-35-4	1,1-ジクロロエチレン	1,1-Dichloroethylene	2012	札幌市	○					adoc2012-2-301.pdf
88-06-2	2,4,6-トリクロロフェノール	2,4,6-Trichlorophenol	2012	川崎市	○					adoc2012-2-332.pdf
95-57-8	o-クロロフェノール	o-Chlorophenol	2012	川崎市	○					adoc2012-2-332.pdf
108-43-0	m-クロロフェノール	m-Chlorophenol	2012	川崎市	○					adoc2012-2-332.pdf
106-48-9	p-クロロフェノール	p-Chlorophenol	2012	川崎市	○					adoc2012-2-332.pdf
576-24-9	2,3-ジクロロフェノール	2,3-Dichlorophenol	2012	川崎市	○					adoc2012-2-332.pdf

CAS No	代表和名	英名	年度	自治体名	大気	水質	底質	生物	食事	ファイル名
120-83-2	2,4-ジクロロフェノール	2,4-Dichlorophenol	2012	川崎市	○					adoc2012-2-332.pdf
583-78-8	2,5-ジクロロフェノール	2,5-Dichlorophenol	2012	川崎市	○					adoc2012-2-332.pdf
87-65-0	2,6-ジクロロフェノール	2,6-Dichlorophenol	2012	川崎市	○					adoc2012-2-332.pdf
95-77-2	3,4-ジクロロフェノール	3,4-Dichlorophenol	2012	川崎市	○					adoc2012-2-332.pdf
591-35-5	3,5-ジクロロフェノール	3,5-Dichlorophenol	2012	川崎市	○					adoc2012-2-332.pdf
15950-66-0	2,3,4-トリクロロフェノール	2,3,4-Trichlorophenol	2012	川崎市	○					adoc2012-2-332.pdf
933-78-8	2,3,5-トリクロロフェノール	2,3,5-Trichlorophenol	2012	川崎市	○					adoc2012-2-332.pdf
933-75-5	2,3,6-トリクロロフェノール	2,3,6-Trichlorophenol	2012	川崎市	○					adoc2012-2-332.pdf
95-95-4	2,4,5-トリクロロフェノール	2,4,5-Trichlorophenol	2012	川崎市	○					adoc2012-2-332.pdf
609-19-8	3,4,5-トリクロロフェノール	3,4,5-Trichlorophenol	2012	川崎市	○					adoc2012-2-332.pdf
4901-51-3	2,3,4,5-テトラクロロフェノール	2,3,4,5-Tetrachlorophenol	2012	川崎市	○					adoc2012-2-332.pdf
58-90-2	2,3,4,6-テトラクロロフェノール	2,3,4,6-Tetrachlorophenol	2012	川崎市	○					adoc2012-2-332.pdf
935-95-5	2,3,5,6-テトラクロロフェノール	2,3,5,6-Tetrachlorophenol	2012	川崎市	○					adoc2012-2-332.pdf
87-86-5	ペンタクロロフェノール	Pentachlorophenol	2012	川崎市	○					adoc2012-2-332.pdf
141-43-5	2-アミノエタノール	2-Aminoethanol	2012	神奈川県	○					adoc2012-3-391.pdf
1961-77-9	クロルマジノン	Chlormadinone	2012	愛知県		○				adoc2012-3-409.pdf
302-22-7	酢酸クロルマジノン	Chlormadinone acetate	2012	愛知県		○				adoc2012-3-409.pdf
474-86-2	3-ヒドロキシエストラ-1,3,5(10),7-テトラエン-17-オン(別名エクイリン)	3-Hydroxyestra-1,3,5(10),7-tetraen-17-one	2012	愛知県		○				adoc2012-3-409.pdf
118-52-5	1,3-ジクロロ-5,5-ジメチルイミダゾリジン-2,4-ジオン	1,3-Dichloro-5,5-dimethylimidazolidine-2,4-dione	2012	千葉県		△				adoc2012-3-442.pdf
1937-37-7	ジナトリウム=4-アミノ-3-[4'-(2,4-ジアミノフェニルアゾ)-1,1'-ビフェニル-4-イルアゾ]-5-ヒドロキシ-6-フェニルアゾ-2,7-ナフタレンジスルホナート(別名：ダイレクトブラック38)	Disodium 4-amino-3-[[4'-[(2,4-diaminophenyl)azo][1,1'-biphenyl]-4-yl]azo]-5-hydroxy-6-(phenylazo)naphthalene-2,7-disulphonate	2012	岩手県		○				adoc2012-3-461.pdf
16090-02-1	ジナトリウム=2,2'-ビニレンビス[5-(4-モルホリノ-6-アニリノ-1,3,5-トリアジン-2-イルアミノ)ベンゼンスルホナート](別名：フルオレスセント260)	2,2'-(1,2-ethenediyl)bis[5-[[4-(4-morpholinyl)-6-(phenylamino)-1,3,5-triazin-2-yl]amino]-Benzenesulfonic acid], disodium salt	2012	岩手県		○				adoc2012-3-461.pdf
1694-09-3	ナトリウム=3-(N-{4-[(4-{ジメチルアミノ}フェニル)(4-{N-エチル[(3-スルホナトフェニル)メチル]アミノ}フェニル)メチレン]-2,5-シクロヘキサジエン-1-イリデン}-N-エチルアンモニオ)ベンゼンスルホナート(別名：アシッドバイオレット- 49)	[4-[[4-(dimethylamino)phenyl][4-[ethyl(3-sulphonatobenzyl)amino]phenyl]methylene]cyclohexa-2,5-dien-1-ylidene](ethyl) (3-sulphonatobenzyl) ammonium,sodium salt	2012	岩手県		○				adoc2012-3-461.pdf
112-18-5	N,N-ジメチルドデカン-1-イルアミン(DMDA)	N,N-Dimethyldodecan-1-ylamine	2012	福岡県		○				adoc2012-3-490.pdf
124-28-7	N,N-ジメチル-n-オクタデシルアミン(DMOA)	N,N-Dimethyloctadecylamine	2012	福岡県		○				adoc2012-3-490.pdf
62-56-6	チオ尿素	Thiourea	2012	神戸市		○				adoc2012-3-510.pdf
553-26-4	4,4'-ビピリジル	4,4'-Bipyridyl	2012	岩手県		○				adoc2012-3-531.pdf
366-18-7	2,2'-ビピリジル(回収率不良)	2,2'-Bipyridyl	2012	岩手県		△				adoc2012-3-531.pdf
581-46-4	3,3'-ビピリジル	3,3'-Bipyridyl	2012	岩手県		○				adoc2012-3-531.pdf
581-50-0	2,3'--ビピリジル	2,3'-Bipyridyl	2012	岩手県		○				adoc2012-3-531.pdf
581-47-5	2,4'-ビピリジル	2,4'-Bipyridyl	2012	岩手県		○				adoc2012-3-531.pdf
	3,4'-ビピリジル(未検討)	3,4'-Bipyridyl	2012	岩手県		×				adoc2012-3-531.pdf
822-06-0	ヘキサメチレン=ジイソシアネート	Hexamethylene=diisocyanate	2012	神奈川県	○					adoc2012-3-562.pdf
36861-47-9	3-(4-メチルベンジリデン)-1,7,7-トリメチルビシクロ[2,2,1]ヘプタン-2-オン	3-(4-Methylbenzylidene)-1,7,7-trimethylbicyclo[2.2.1]heptan-2-one	2012	岡山県		○				adoc2012-3-578.pdf

化学物質と環境

平成 24 年度　化学物質分析法開発調査報告書

平成 25 年 10 月

環境省総合環境政策局
環境保健部環境安全課

本報告書は、化学物質環境実態調査において、地方公共団体等に委託した化学物質分析法開発調査の報告書等について、平成 24 年度化学物質環境実態調査分析法開発検討会議（ＧＣ／ＭＳ水系)、平成 24 年度化学物質環境実態調査分析法開発検討会議（ＧＣ／ＭＳ大気系）及び平成 24 年度化学物質環境実態調査分析法開発検討会議（ＬＣ／ＭＳ）において検討した上で、とりまとめたものである。

なお、初期環境調査及び詳細環境調査の試料採取要領については、環境省「化学物質環境実態調査実施の手引き（平成 21 年 3 月)」を参照されたい。

（注）

１．目次中の○印は、環境中の微量化学物質の分析法の開発がなされたことを示し、△印は、環境中の微量化学物質の分析法の開発が困難とされたことを示す。

２．各分析法の冒頭、最後尾等に分析法開発担当者のコメント等が付されている場合があるので特に留意されたい。

３．本報告書において用いられている分析関係語句のうち、商品名を示すものについては、適当な一般名が見当らなかったためやむをえず使用しているものであり、環境省環境安全課においてその商品名の使用を推薦することを意味するものではない。

４．本報告書に記載する分析法は、環境省環境安全課が関係地方公共団体等の協力を得て実施している化学物質環境実態調査に使用するため開発されたものであるため、個々の化学物質について当該分析法が最良ではない場合もあり得ることを了解されたい。

化学物質環境実態調査分析法開発検討会議（ＧＣ／ＭＳ水系）

	門　上　希和夫	公立大学北九州市立大学大学院国際環境工学研究科　教授
座長	白　石　寛　明	国立環境研究所　環境リスク研究センター長
	服　部　幸　和	国立大学法人大阪教育大学　客員教授
	福　嶋　　実	国立大学法人愛媛大学　客員教授
	吉　岡　敏　行	岡山県環境保健センター　専門研究員

化学物質環境実態調査分析法開発検討会議（ＧＣ／ＭＳ大気系）

	今　村　　清	公立大学法人大阪府立大学 ２１世紀科学研究機構教育研究高度化支援センター研究員
	小　塚　義　昭	川崎市環境総合研究所　都市環境課　担当課長
座長	鈴　木　　茂	学校法人中部大学大学院応用生物学研究科　教授
	中　野　　武	財団法人ひょうご環境創造協会　参与（研究担当）
	長谷川　敦　子	神奈川県環境科学センター　主任研究員

化学物質環境実態調査分析法開発検討会議（ＬＣ／ＭＳ）

	上　堀　美知子	地方独立行政法人大阪府立環境農林水産総合研究所　専門員
	劔　持　堅　志	財団法人岡山県健康づくり財団　精度管理室　室長代理
	佐々木　和　明	岩手県環境保健研究センター　環境科学部長
座長	鈴　木　　茂	学校法人中部大学大学院応用生物学研究科　教授
	長谷川　敦　子	神奈川県環境科学センター　主任研究員
	八　木　正　博	神戸市環境保健研究所　環境化学部　副部長

（敬称略、五十音順、役職は検討委員会開催当時）

目　　次

1. 水質、底質及び生物の化学物質に関する分析法（GC/MS）

対象物質名	開発担当	対象媒体			分析法記載頁
		水質	底質	生物	
アクリル酸 *n*-ブチル	島津テクノリサーチ	○			1
アクリル酸メチル		○			
アクリロニトリル		○			
1,2-エポキシプロパン		○			
酢酸ビニル		○			
ジクロロアニリン類	札幌市				50
2,3-ジクロロアニリン		○			
2,4-ジクロロアニリン		○			
2,5-ジクロロアニリン		○			
2,6-ジクロロアニリン		○			
3,4-ジクロロアニリン		○			
3,5-ジクロロアニリン		○			
2,4-ジ-*tert*-ペンチルフェノール	三重県	○	○		96
2-(チオシアナートメチルチオ)-1,3-ベンゾチアゾール	長野県	○			127
o-テルフェニル	新潟県	○			151
m-テルフェニル		○			
p-テルフェニル		○			
ナトリウム=1,1'-ビフェニル-2-オラート	福岡県	○			182
1,3-ブタジエン	化学物質評価研究機構	○			209
メチル=ドデカノアート ≪デカン酸メチル、デカン酸イソプロピル、オクタン酸イソペンチル、ウンデカン酸メチル、オクタン酸ペンチル、デカン酸プロピル、ウンデカン酸エチル、テトラデカン酸メチル、パルミチン酸メチル、ステアリン酸メチル、イコサン酸メチル、ドコサン酸メチル≫	岡山県	○			227
2-メチルプロパン-2-オール	化学物質評価研究機構	○			275

※　≪ ≫括弧内の物質は、同時分析可能な物質であることを示す。

2. 大気中の化学物質に関する分析法（GC/MS）

対象物質名	開発担当	対象媒体	分析法記載頁
		大気	
1,1-ジクロロエチレン	札幌市	○	301
2,4,6-トリクロロフェノール ≪*o*-クロロフェノール、*m*-クロロフェノール、*p*-クロロフェノール、2,3-ジクロロフェノール、2,4-ジクロロフェノール、2,5-ジクロロフェノール、2,6-ジクロロフェノール、3,4-ジクロロフェノール、3,5-ジクロロフェノール、2,3,4-トリクロロフェノール、2,3,5-トリクロロフェノール、2,3,6-トリクロロフェノール、2,4,5-トリクロロフェノール、3,4,5-トリクロロフェノール、2,3,4,5-テトラクロロフェノール、2,3,4,6-テトラクロロフェノール、2,3,5,6-テトラクロロフェノール、ペンタクロロフェノール≫	川崎市	○	332

※ ≪ ≫括弧内の物質は、同時分析可能な物質であることを示す。

3. LC/MS による分析法

対象物質名	開発担当	対象媒体				分析法記載頁
		水質	底質	生物	大気	
2-アミノエタノール 化学物質分析法開発調査報告書（平成 20 年度）からの改訂	神奈川県				○	391
クロルマジノン	愛知県	○				409
酢酸クロルマジノン		○				
3-ヒドロキシエストラ-1,3,5(10),7-テトラエン-17-オン		○				
1,3-ジクロロ-5,5-ジメチルイミダゾリジン-2,4-ジオン	千葉県	△				442
ジナトリウム=4-アミノ-3-[4'-(2,4-ジアミノフェニルアゾ)-1,1'-ビフェニル-4-イルアゾ]-5-ヒドロキシ-6-フェニルアゾ-2,7-ナフタレンジスルホナート ≪ジナトリウム=2,2'-ビニレンビス[5-(4-モルホリノ-6-アニリノ-1,3,5-トリアジン-2-イルアミノ)ベンゼンスルホナート]、ナトリウム=3-(*N*-{4-[(4-{ジメチルアミノ}フェニル)(4-{*N*-エチル[(3-スルホナトフェニル)メチル]アミノ}フェニル)メチレン]-2,5-シクロヘキサジエン-1-イリデン}-*N*-エチルアンモニオ)ベンゼンスルホナート≫	岩手県	○				461
N,*N*-ジメチル-*n*-オクタデシルアミン	福岡県	○				490
N,*N*-ジメチルドデカン-1-イルアミン		○				
チオ尿素	神戸市	○				510

※ ≪ ≫括弧内の物質は、同時分析可能な物質であることを示す。

対象物質名	開発担当	対象媒体				分析法 記載頁
4,4'-ビピリジル ≪2,4'-ビピリジル、2,2'-ビピリジル、3,2'-ビピリジル、3,3'-ビピリジル≫	岩手県	○				531
ヘキサメチレン=ジイソシアネート	神奈川県				○	562
3-(4-メチルベンジリデン)-1,7,7-トリメチルビシクロ［2,2,1］ヘプタン-2-オン	岡山県	○				578

※　≪ ≫括弧内の物質は、同時分析可能な物質であることを示す。

平成 26 年 1 月 7 日

川崎市川崎区四谷上町 10 番 6 号
一般財団法人　日本環境衛生センター

「化学物質と環境　平成２４年度化学物質分析法開発報告書」
誤植のお詫びと訂正について

本書におきまして下記の誤植がありました。関係各位にご迷惑をおかけしたことを深くお詫びし、謹んで訂正いたします。修正シールを送付させて頂きますので、誠にお手数ですが該当箇所への貼付をお願いいたします。

◆ii 頁　目次　2. 大気中の化学物質に関する分析法（GC/MS）

【誤】2,4,6-トリクロロエチレン
【正】2,4,6-トリクロロフェノール

◆442 頁　1,3-ジクロロ-5,5-ジメチルイミダゾリジン-2,4-ジオン　分析法

【誤】1,3-Dichlor-5,5-dimethylimidazolidine-2,4-dione
【正】1,3-Dichloro-5,5-dimethylimidazolidine-2,4-dione

【誤】分子式：$C_5H_6C_{l2}N_2O_2$
【正】分子式：$C_5H_6Cl_2N_2O_2$

【誤】径気道
【正】経気道

修正シール

1,3-Dichloro-5,5-dimethylimidazolidine-2,4-dione

2,4,6-トリクロロフェノール　分子式：$C_5H_6Cl_2N_2O_2$　経気道

問い合せ先　　環境科学部　計測技術課　　担当：伴、鹿島
TEL 044-288-4905　　FAX 044-288-5232
e-mail: roundrobin@jesc.or.jp

１．水質、底質及び生物の化学物質に関する分析法（ＧＣ／ＭＳ）

株式会社島津テクノリサーチ
［対象媒体：水質］

アクリル酸 *n*-ブチル

_n_-Butyl acrylate

別名：·アクリル酸ブチル、ブタン-1-イル=アクリラート

Butyl acrylate、 Butane-1-yl-acrylate

IUPAC 名： Butyl acrylate

アクリル酸メチル

Methyl acrylate

別名：メチル=アクリラート、2-プロペン酸メチル

Methyl 2-propenoate

アクリロニトリル

Acrylonitrile

別名：2-プロペンニトリル、シアン化ビニル

2-Propenenitrile、Vinyl cyanide

1,2-エポキシプロパン

1,2-Epoxypropane

別名：酸化プロピレン

Propylene oxide

IUPAC 名：Methyloxirane

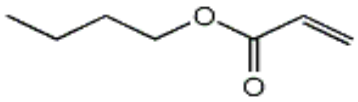
酢酸ビニル

Vinyl acetate

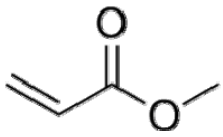
別名：ビニル=アセタート、酢酸ビニルモノマー

Vinyl acetate, monomer

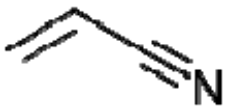
【対象物質の構造】



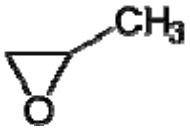
アクリル酸 *n*-ブチル
CAS 番号：141-32-2
分子式：$C_7H_{12}O_2$



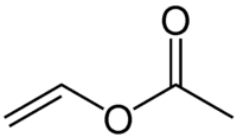
アクリル酸メチル
CAS 番号：96-33-3
分子式：$C_4H_6O_2$



アクリロニトリル
CAS 番号：107-13-1
分子式：C_3H_3N



1.2-エポキシプロパン
CAS 番号：75-56-9
分子式：C_3H_6O



酢酸ビニル
CAS 番号：108-05-4
分子式：$C_4H_6O_2$

【物理化学的性状】

物質名	分子量 [1)]	沸点 [2)] (°C)	蒸気圧 [2)] (hPa)	水溶解度 [2)] (mg/L)	log P_{ow} [2)]
アクリル酸 *n*-ブチル	128.17	145-149	4.3 (20°C)	1,400 (20°C)	2.38
アクリル酸メチル	86.09	80.5	91 (20°C)	60,000 (20°C)	0.8
アクリロニトリル	53.06	77	110 (20°C)	70,000 (20°C)	0.25
1.2-エポキシプロパン	58.08	34	590 (20°C)	400,000 (20°C)	0.003
酢酸ビニル	86.09	72	117 (20°C)	25,000 (20°C)	0.73

【毒性・用途】

物質名	毒性 (mg/kg)[1)]			用途 [3)]
アクリル酸 *n*-ブチル	ラット	経口 LD_{50}	900	乳化剤原料
	マウス	経口 LD_{50}	5,880	塗料原料
アクリル酸メチル	ラット	経口 LD_{50}	277	合成繊維原料
	ウサギ	皮膚 LD_{50}	1,243	合成樹脂原料
アクリロニトリル	ラット	経口 LD_{50}	78	合成繊維原料
	マウス	経口 LD_{50}	27	合成樹脂原料
1.2-エポキシプロパン	ラット	経口 LD_{50}	380	塗料溶剤原料
	マウス	経口 LD_{50}	440	合成樹脂原料
酢酸ビニル	マウス	経口 LD_{50}	1,613	ガムベース原料
	ウサギ	皮膚 LD_{50}	2,335	接着剤原料

出典

1) 和光純薬工業：製品安全データシート (MSDS)
2) 国立医薬品食品衛生研究所：国際化学物質安全性カード (ICSC)
3) 環境省 化学物質情報検索支援システム(chemi COCO)

§1 分 析 法

(1) 分析法の概要

水質試料を Tekmer 用オートサンプラーバイアルに入れ､内標準物質を加えて、パージ・トラップ GC-MS(PT-GC-MS)で測定を行う。ただし、アクリル酸 *n*-ブチルについてはアクリル酸メチル-d_3 を内標準とする。

(2) 試薬・器具

【試薬】

水酸化ナトリウム	：和光純薬工業製　特級
アクリル酸 *n*-ブチル	：和光純薬工業製　特級　98.0%
アクリル酸メチル	：関東化学製　鹿特級　>97.0%
アクリル酸メチル-d_3	：CIL 製　98.0% + 0.1% BHT
アクリロニトリル	：東京化成工業製　特級　>99.0%
アクリロニトリル-d_3	：CDN Isotopes 製　98 atom %D
1,2-エポキシプロパン	：東京化成工業製　特級　>99.0%
1,2-エポキシプロパン-d_6	：CDN Isotopes 製　98 atom %D
酢酸ビニル（モノマー）	：関東化学製　鹿 1 級　>99.0%
酢酸ビニル-d_6	：CDN Isotopes 製　98 atom %D
メタノール	：関東化学製　高速液体クロマトグラフ用　>99.8%
塩酸	：和光純薬工業製　特級
L(+)-アスコルビン酸	：和光純薬工業製　特級　99.6%
精製水	：コカ・コーラ製　ミネラルウォーター

【標準液の調製】

〔標準原液〕

アクリル酸 *n*-ブチル、アクリル酸メチル、アクリロニトリル、1,2-エポキシプロパン、酢酸ビニルの標準品を正確に 100 mg 量り取り、メタノールで 10 mL として 10.0 mg/mL の標準原液を調製する。

〔内標準液〕

内標準（アクリル酸メチル-d_3、アクリロニトリル-d_3、1,2-エポキシプロパン-d_6、酢酸ビニル-d_6 ）を正確に 100 mg 量り取り、メタノールで 10 mL として 10.0 mg/mL の内標準原液を調製する。これをメタノールで適宜希釈して 2.00 μg/mL の内標準液を調製する。

〔検量線用標準液〕

標準原液をメタノールで適宜希釈し、標準液を調製する。標準液濃度は、アクリル酸 *n*-ブチルは 0.0200～20.0 μg/mL 、アクリル酸メチル、アクリロニトリル、1,2-エポキシプロパン、酢酸ビニルは 0.200～20.0 μg/mL とする。

Tekmer 用オートサンプラーバイアルに精製水 40 mL を加え、密栓後、以下の検量線用標準液調製法一覧表に示した添加量で標準液及び内標準液を添加して、各濃度の検量線用標準液を調製する。

各物質の検量線範囲

物質名	検量線用標準液 (μg/L)
アクリル酸 *n* -ブチル	0.00500～2.50
アクリル酸メチル	0.0125～2.50
アクリロニトリル	0.0250～2.50
1,2-エポキシプロパン	0.0250～2.50
酢酸ビニル	0.0125～2.50
内標準物質	0.250

検量線用標準液調製法一覧表

検量線用標準液(μg/L)		0.0050	0.0125	0.0250	0.050	0.125	0.250	0.50	1.25	2.50
標準液	濃度 (μg/mL)	0.02	0.2	0.2	0.2	2.0	2.0	2.0	20.0	20.0
	添加量 (μL)	10.0	2.5	5.0	10.0	2.5	5.0	10.0	2.5	5.0
内標準液	濃度 (μg/mL)	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
	添加量 (μL)	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
精製水	(mL)	40	40	40	40	40	40	40	40	40

【器具】

pH メーター	：堀場製作所製 M-12
三角フラスコ（共栓付）	：100 mL, 500 mL, 1000 mL
メスフラスコ	：10 mL
ホールピペット	：1 mL, 20 mL
マイクロシリンジ（注 1）	：10 μL, 25 μL, 100 μL, 500 μL
Tekmer 用オートサンプラーバイアル	：GL サイエンス製 40 mL (P/N：S336-0040)

(3) 分析法

【試料採取及び保存】

試料採取及び保存は、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）に準拠して行う。

容量 100～200 mL 程度の密栓できるガラス製容器に満水となるように採取する。なお、採取は、1 g/L の濃度となるように *L*(+)-アスコルビン酸をあらかじめ添加した容器と添加しない 2 通りの容器で採取する。

試料容器は、メタノールで洗浄後、乾燥機で 105°C、30 分以上乾燥してから試料採取に用いる。

分析は、試料採取後 5 日以内に実施する。なお、アクリル酸 *n*-ブチルおよび酢酸ビニルは、アスコルビン酸無添加で濃度減衰が確認され、1,2-エポキシプロパンは、アスコルビン酸添加で濃度減衰が確認されている。このため、アスコルビン酸の添加および無添加試料で測定する項目は、それぞれ以下のとおりとする。

1) アスコルビン酸 無添加試料で測定する項目：

1,2-エポキシプロパン

2) アスコルビン酸 添加試料で分析する項目：

アクリル酸 *n*-ブチル、アクリル酸メチル、アクリロニトリル、酢酸ビニル

【試料の前処理及び試験液の調製】

水質試料 40 mL を Tekmer 用オートサンプラーバイアルに量り取り、栓を閉める。内標準液(2.00 μg/mL) 及びメタノールをマイクロシリンジで各 5 μL 添加し、十分に混合して試験液とする。

【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。

【測定】

〔パージ・トラップ条件〕（注 2）

装置	：4000J　Tekmar製
クライオフォーカス	：-180°C
塩析	：なし
サンプルループ	：20 mL
バルブ温度	：110°C

2012年度環境調査において、測定値にキャリーオーバーによると思われる異常値が散見された。試料測定前には複数回の洗浄が望まれる。(2013年度精査等検討会コメント)

トランスファー温度　：150°C
マウント温度　：室温
パージ時間　：10 min
パージ温度　：室温
パージ流速　：45 mL/min
トラップ管　：VOCARB 3000
ドライパージ時間　：3 min
ドライパージ温度　：室温
デソーブ時間　：6 min
デソーブ温度　：250°C

〔GC-MS 条件〕

機種　：GCMS-QP2010　島津製作所製
使用カラム　：AQUATIC 0.25 mm × 60 m, 1.0 µm　GLサイエンス製
カラム温度　：40°C (8 min) → 7°C/min → 160°C → 10°C/min → 220°C (1 min)
キャリヤーガスヘッド圧　：130 kPa
インターフェース温度　：220°C
イオン源温度　：200°C
イオン化電圧　：70 eV
イオン化　：EI
検出モード　：SIM
モニターイオン

アクリル酸*n*-ブチル	*m/z* 55（定量用）
	m/z 56（確認用）
アクリル酸メチル	*m/z* 55（定量用）
	m/z 85（確認用）
アクリル酸メチル-d_3	*m/z* 61（定量用）
	m/z 87（確認用）
アクリロニトリル	*m/z* 53（定量用）
	m/z 51（確認用）
アクリロニトリル-d_3	*m/z* 56（定量用）
	m/z 54（確認用）
1,2-エポキシプロパン	*m/z* 58（定量用）
	m/z 43（確認用）
1,2-エポキシプロパン-d_6	*m/z* 64（定量用）
	m/z 34（確認用）

酢酸ビニル	*m/z* 43（定量用）
	m/z 86（確認用）
酢酸ビニル-d_6	*m/z* 46（定量用）
	m/z 92（確認用）

〔検量線〕

検量線用標準液 40 mL の 20 mL を PT-GC-MS に導入して分析する。対象物質の内標準物質に対する濃度比とピーク面積比から検量線を作成する（注 3）。

〔定量〕

試験液 40 mL の 20 mL を PT-GC-MS に導入して分析する。得られた対象物質の面積と内標準物質の面積比から、検量線に照らして、対象物質の検出量を求める。

〔濃度の算出〕

試料中濃度 C (μg/L)は次式により算出する。

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

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 (μg)
（= 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 = 0.010 (μg)
（= 添加する内標準の濃度 (2.00 ng/μL) × 添加する内標準の容量 (5.0 μL)）
V = 0.0400 (L)

即ち、

$C = R \times 0.25$ (μg/L)

である。

〔装置検出下限値 (IDL)〕

本分析に用いた PT-GC-MS の IDL を表 1 に示す（注 4）。

表 1　IDL の算出結果

物質名	試料量 (L)	IDL (μg/L)
アクリル酸 *n*-ブチル	0.040	0.0015
アクリル酸メチル	0.040	0.0028
アクリロニトリル	0.040	0.0094
1,2-エポキシプロパン	0.040	0.0038
酢酸ビニル	0.040	0.0026

〔測定方法の検出下限値 (MDL)及び定量下限値 (MQL)〕

本測定方法における MDL 及び MQL を表 2 に示す（注 5)。

表 2　MDL 及び MQL の算出結果

物質名	試料量 (L)	MDL (μg/L)	MQL (μg/L)
アクリル酸 *n*-ブチル	0.040	0.0066	0.017
アクリル酸メチル	0.040	0.0079	0.020
アクリロニトリル	0.040	0.019	0.050
1,2-エポキシプロパン	0.040	0.015	0.038
酢酸ビニル	0.040	0.0074	0.019

注　解

(注 1) 吐出誤差 2%以下であることをあらかじめ確認しておくことが望ましい。精度を保証するため、校正されたデジタルマイクロシリンジや検量証明書付きマイクロシリンジの使用が有効である。例として SGE 製があるが推奨するものではない。

(注 2) 連続分析を行った場合、GC 溶出の早い 1,2-エポキシプロパンやアクリロニトリルにおいて、ピーク形状の悪化、リテンションタイムの変動、面積値の不安定さが不定期に起きる場合がある。

これらの事象が確認される場合には、前述の分析条件から①試料導入量の低減、②パージ流量の減少、 ③ドライパージ時間を長めに設定することで安定性が向上する。

(注 3) アクリル酸 *n*-ブチルは内標準に保持時間の異なるアクリル酸メチル-d_3 を適用しており、応答比(A/Ais)が大きく変動する場合があるので注意する。

(注 4) IDL は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 21 年 3 月) に従い、表 3 のとおり算出した。また、測定時のクロマトグラムを図 1 に示す。

表 3-1　IDL の算出結果

対象物質名	アクリル酸 *n*-ブチル	アクリル酸メチル
試料量 (L)	0.0400	0.0400
注入液濃度 (μg/L)	0.00500	0.0125
結果 1 (μg/L)	0.00530	0.0136
結果 2 (μg/L)	0.00588	0.0159
結果 3 (μg/L)	0.00477	0.0144
結果 4 (μg/L)	0.00518	0.0148
結果 5 (μg/L)	0.00561	0.0144
結果 6 (μg/L)	0.00501	0.0141
結果 7 (μg/L)	0.00501	0.0141
平均値 (μg/L)	0.005253	0.01448
標準偏差 (μg/L)	0.000384	0.000712
IDL (μg/L)*	0.0015	0.0028
S/N比	14	12
CV (%)	7.3	4.9

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

表 3-2　IDL の算出結果

対象物質名	アクリロニトリル	1,2-エポキシプロパン
試料量 (L)	0.0400	0.0400
注入液濃度 (μg/L)	0.0250	0.0250
結果 1 (μg/L)	0.0270	0.0280
結果 2 (μg/L)	0.0312	0.0300
結果 3 (μg/L)	0.0250	0.0285
結果 4 (μg/L)	0.0286	0.0274
結果 5 (μg/L)	0.0282	0.0297
結果 6 (μg/L)	0.0321	0.0290
結果 7 (μg/L)	0.0292	0.0295
平均値 (μg/L)	0.02875	0.02886
標準偏差 (μg/L)	0.00241	0.000976
IDL (μg/L)*	0.0094	0.0038
S/N比	12	16
CV (%)	8.4	3.4

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

表 3-3　IDL の算出結果

対象物質名	酢酸ビニル
試料量 (L)	0.0400
注入液濃度 (μg/L)	0.0125
結果 1 (μg/L)	0.0130
結果 2 (μg/L)	0.0147
結果 3 (μg/L)	0.0138
結果 4 (μg/L)	0.0144
結果 5 (μg/L)	0.0144
結果 6 (μg/L)	0.0147
結果 7 (μg/L)	0.0135
平均値 (μg/L)	0.01405
標準偏差 (μg/L)	0.000659
IDL (μg/L)*	0.0026
S/N比	12
CV (%)	4.7

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

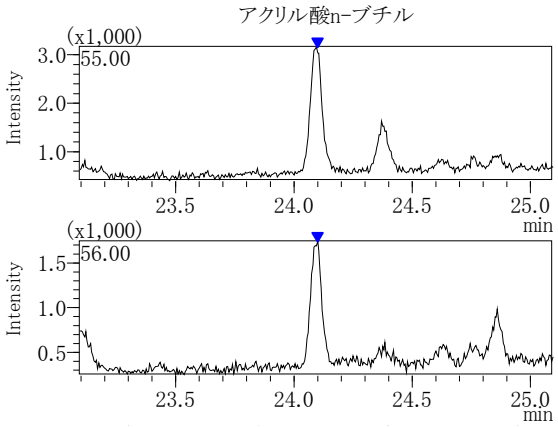


図 1-1　IDL 測定時のクロマトグラム
（アクリル酸 *n*-ブチル：注入液濃度 0.00500 μg/L）

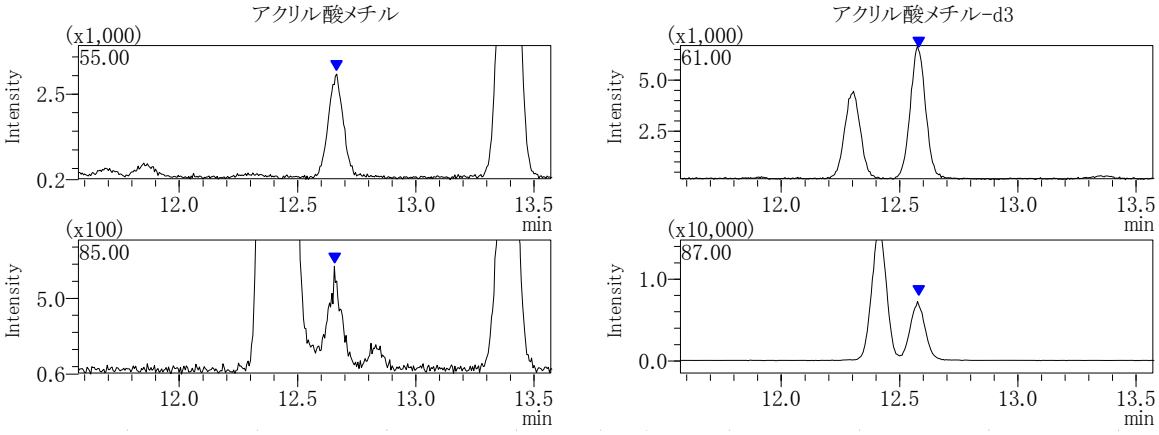


図 1-2　IDL 測定時のクロマトグラム
（アクリル酸メチル：注入液濃度 0.0125 μg/L、
アクリル酸メチル-d_3：注入液濃度 0.250 μg/L）

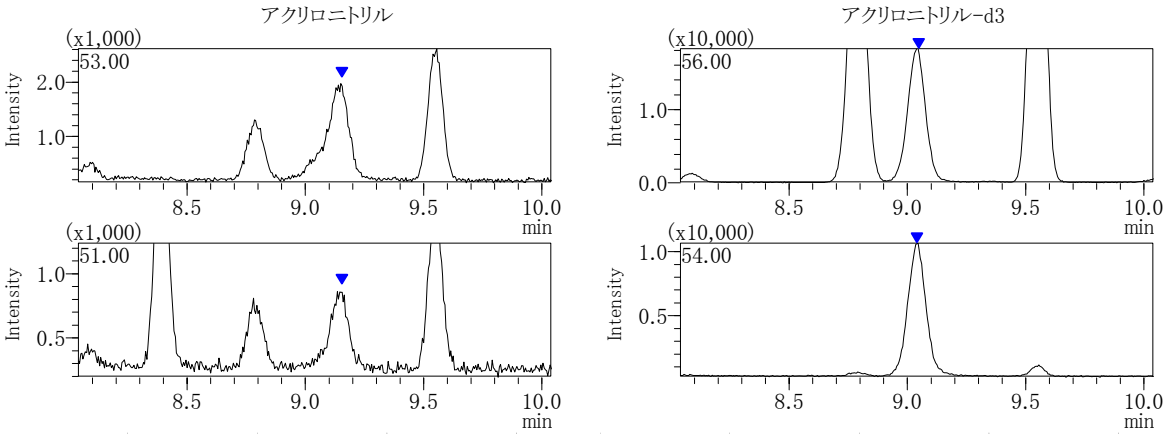


図 1-3　IDL 測定時のクロマトグラム
（アクリロニトリル：注入液濃度 0.025 μg/L、
アクリロニトリル-d_3：注入液濃度 0.250 μg/L）

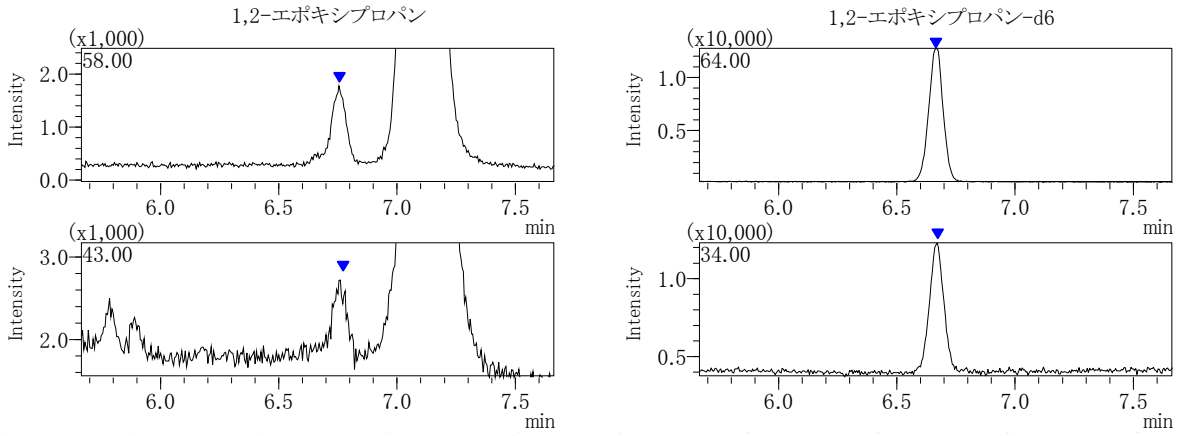


図 1-4　IDL 測定時のクロマトグラム
（1,2-エポキシプロパン：注入液濃度 0.0250 μg/L、
1,2-エポキシプロパン-d_6：注入液濃度 0.250 μg/L）

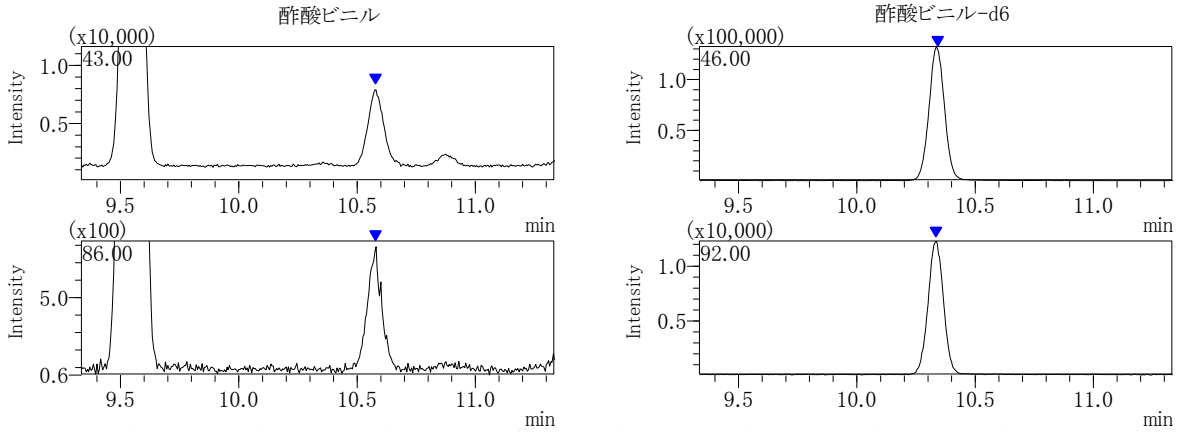


図 1-5　IDL 測定時のクロマトグラム
（酢酸ビニル：注入液濃度 0.0125 μg/L、
酢酸ビニル-d_6：注入液濃度 0.250 μg/L）

（注 5）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）に従い、表 4 のとおり算出した。また測定時のクロマトグラムを図 2 に、無添加試料測定時のクロマトグラムを図 3 に示す。

表 4-1　MDL 及び MQL の算出結果

対象物質名	アクリル酸 *n*-ブチル	アクリル酸メチル
試料	河川水	河川水
試料量 (L)	0.0400	0.0400
標準添加量 (μg)	0.000400	0.00100
試料換算濃度 (μg/L)	0.0100	0.0250
操作ブランク平均 (μg/L)[*1]	<0.0066	<0.0079
無添加試料 (μg/L)[*2]	<0.0066	<0.0079
結果 1 (μg/L)	0.0109	0.0274
結果 2 (μg/L)	0.00942	0.0235
結果 3 (μg/L)	0.00942	0.0284
結果 4 (μg/L)	0.0136	0.0297
結果 5 (μg/L)	0.0117	0.0269
結果 6 (μg/L)	0.0126	0.0282
結果 7 (μg/L)	0.0133	0.0291
平均値 (μg/L)	0.01155	0.02760
標準偏差 (μg/L)	0.00171	0.00204
MDL (μg/L)[*3]	0.0066	0.0079
MQL (μg/L)[*4]	0.017	0.020
S/N 比	36	50
CV (%)	14.8	7.4

*1：試料マトリ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 (n=2)

*2：MDL 算出用試料に標準を添加してない状態で含まれる濃度 (n=1)

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

*4：$MQL = \sigma_{n-1} \times 10$

表 4-2　MDL 及び MQL の算出結果

対象物質名	アクリロニトリル	1,2-エポキシプロパン
試料	河川水	河川水
試料量 (L)	0.0400	0.0400
標準添加量 (μg)	0.00200	0.00200
試料換算濃度 (μg/L)	0.0500	0.0500
操作ブランク平均 (μg/L)*1	<0.019	<0.015
無添加試料 (μg/L)*2	<0.019	<0.015
結果 1 (μg/L)	0.0628	0.0614
結果 2 (μg/L)	0.0530	0.0602
結果 3 (μg/L)	0.0641	0.0598
結果 4 (μg/L)	0.0634	0.0630
結果 5 (μg/L)	0.0698	0.0639
結果 6 (μg/L)	0.0646	0.0585
結果 7 (μg/L)	0.0626	0.0699
平均値 (μg/L)	0.06290	0.06238
標準偏差 (μg/L)	0.00500	0.00380
MDL (μg/L)*3	0.019	0.015
MQL (μg/L)*4	0.050	0.038
S/N 比	47	26
CV (%)	7.9	6.1

*1：試料マトリ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 (n=2)

*2：MDL 算出用試料に標準を添加してない状態で含まれる濃度 (n=1)

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

*4：$MQL = \sigma_{n-1} \times 10$

表 4-3　MDL 及び MQL の算出結果

対象物質名	酢酸ビニル
試料	河川水
試料量 (L)	0.040
標準添加量 (μg)	0.0010
試料換算濃度 (μg/L)	0.025
操作ブランク平均 (μg/L)*1	<0.0074
無添加試料 (μg/L)*2	<0.0074
結果 1 (μg/L)	0.0225
結果 2 (μg/L)	0.0180
結果 3 (μg/L)	0.0236
結果 4 (μg/L)	0.0232
結果 5 (μg/L)	0.0224
結果 6 (μg/L)	0.0228
結果 7 (μg/L)	0.0230
平均値 (μg/L)	0.02221
標準偏差 (μg/L)	0.00190
MDL (μg/L)*3	0.0074
MQL (μg/L)*4	0.019
S/N 比	47
CV (%)	8.5

*1：試料マトリ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 (n=2)

*2：MDL 算出用試料に標準を添加してない状態で含まれる濃度　(n= 1)

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

*4：$MQL = \sigma_{n-1} \times 10$

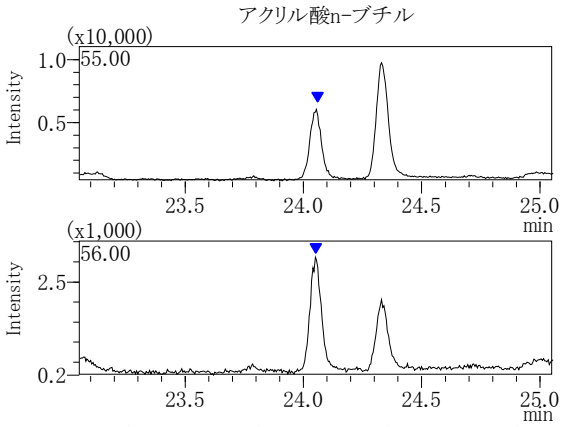


図 2-1　MDL 測定時のクロマトグラム
（アクリル酸 *n*-ブチル：試料換算濃度 0.0100 μg/L）

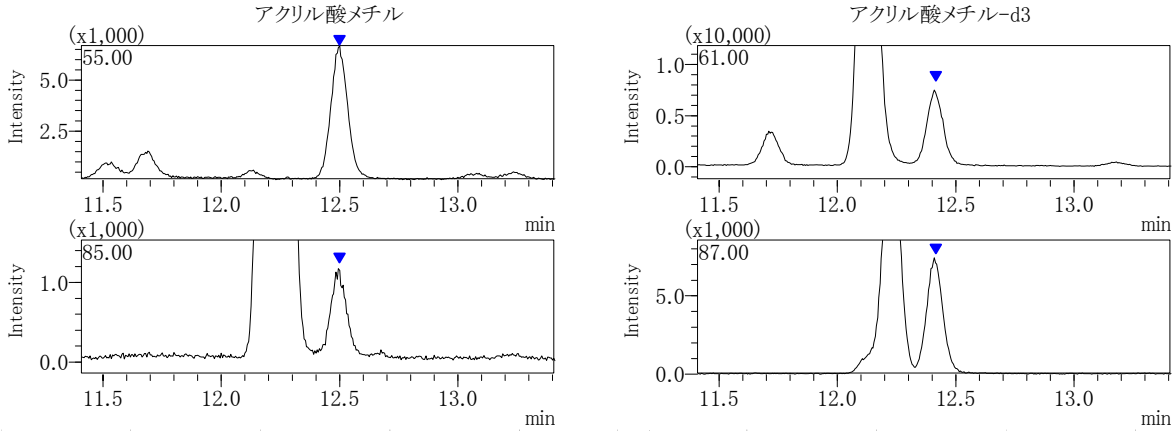


図 2-2　MDL 試験時のクロマトグラム
（アクリル酸メチル：試料換算濃度 0.0250 μg/L、
アクリル酸メチル-d_3：試料換算濃度 0.250 μg/L）

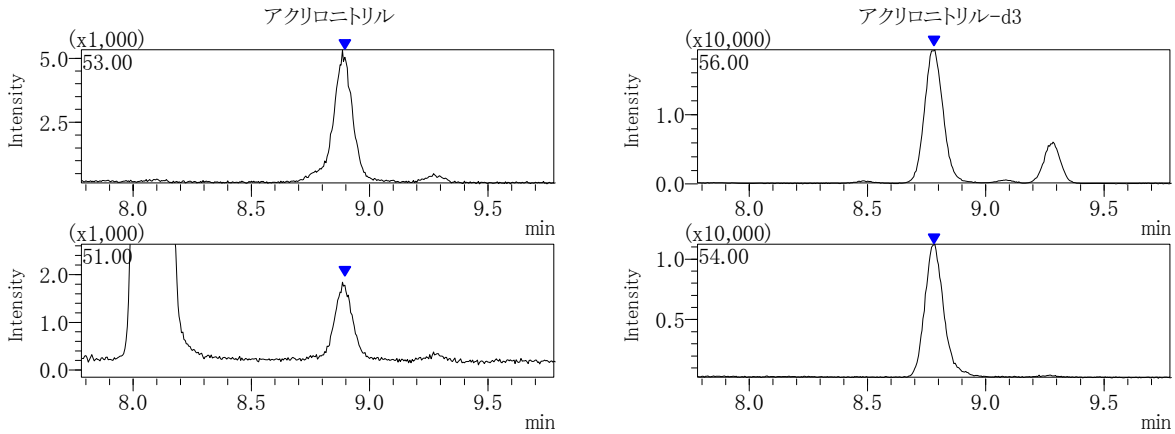


図 2-3　MDL 試験時のクロマトグラム
（アクリロニトリル：試料換算濃度 0.0500 μg/L、
アクリロニトリル-d_3：試料換算濃度 0.250 μg/L）

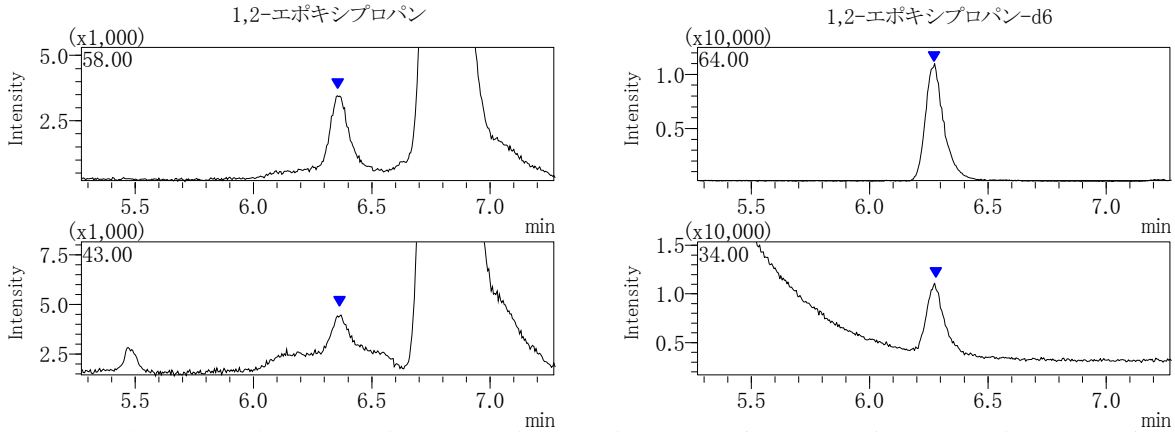


図 2-4　MDL 試験時のクロマトグラム
（1,2-エポキシプロパン：試料換算濃度 0.0500 μg/L、
1,2-エポキシプロパン-d_6：試料換算濃度 0.250 μg/L）

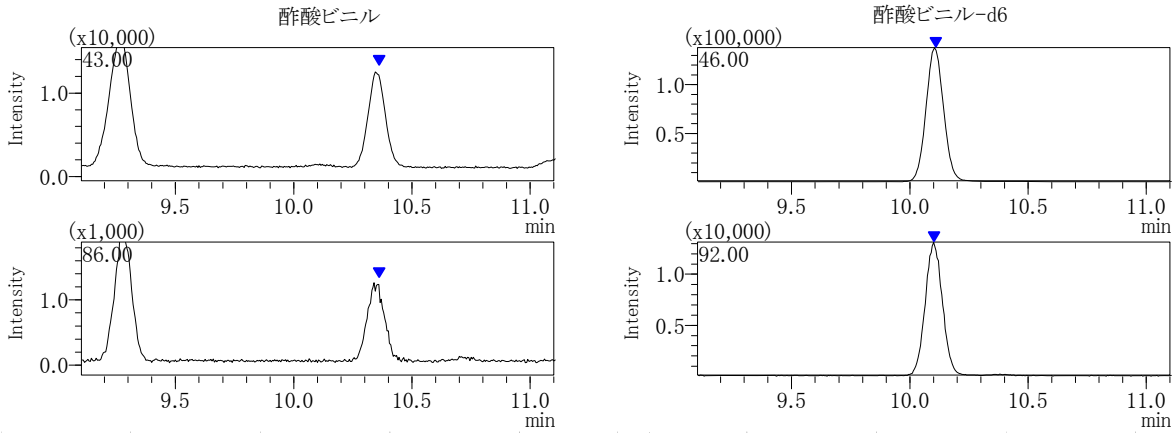


図 2-5　MDL 試験時のクロマトグラム
（酢酸ビニル：試料換算濃度 0.0250 μg/L、
酢酸ビニル-d_6：試料換算濃度 0.250 μg/L）

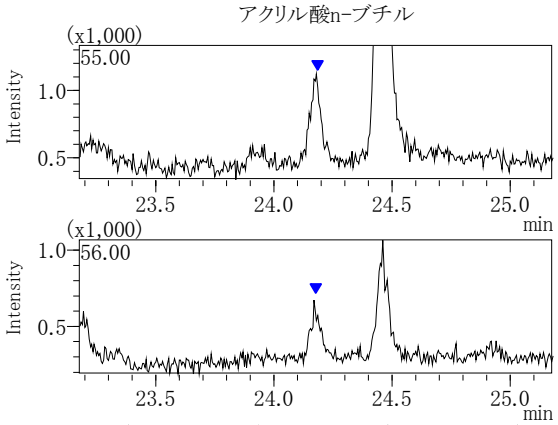


図 3-1　MDL 測定時の無添加試料のクロマトグラム（河川水）
（アクリル酸 *n*-ブチル）

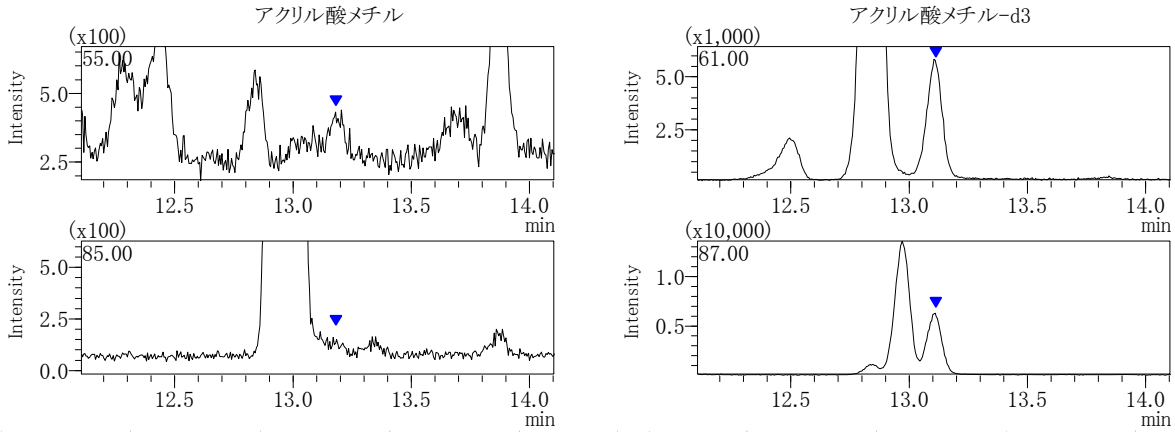


図 3-2　MDL 測定時の無添加試料のクロマトグラム（河川水）
（アクリル酸メチル、アクリル酸メチル-d_3）

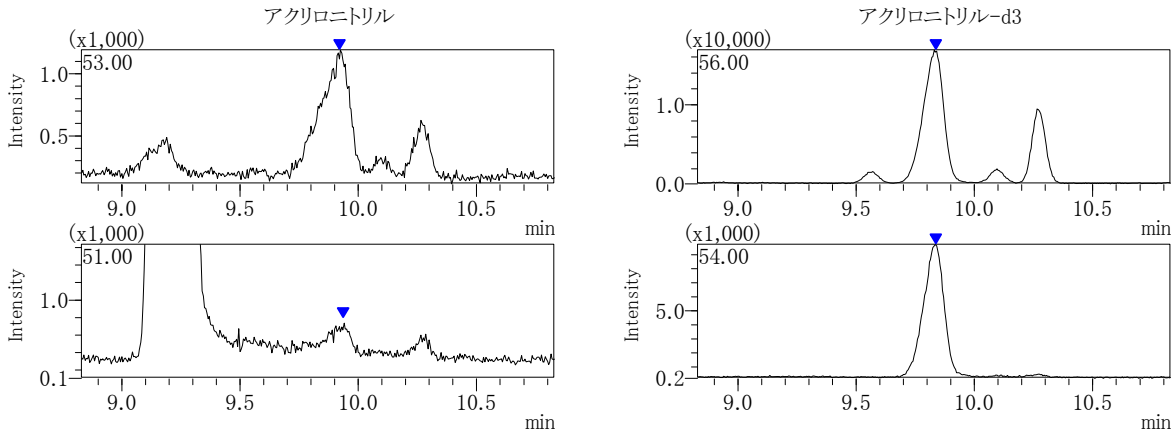


図 3-3　MDL 測定時の無添加試料のクロマトグラム（河川水）
（アクリロニトリル、アクリロニトリル-d_3）

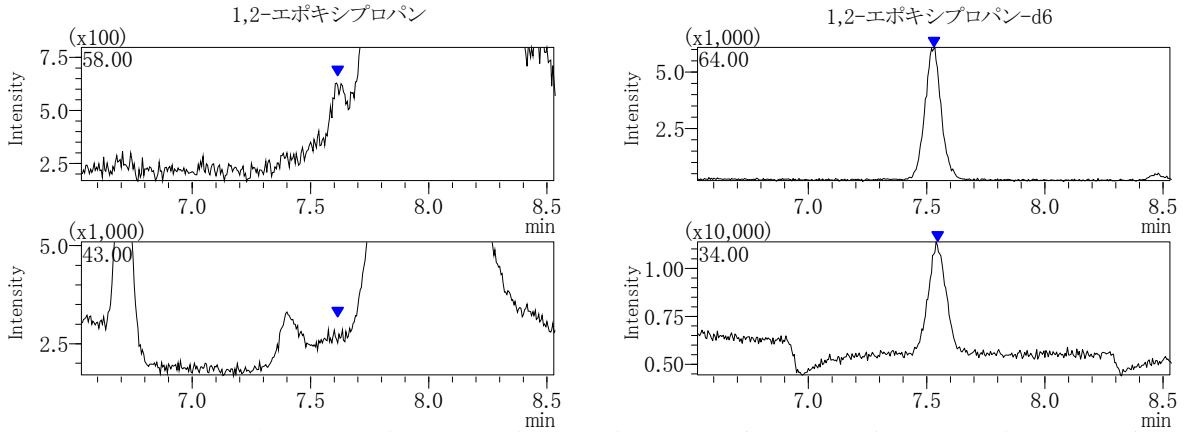


図 3-4　MDL 測定時の無添加試料のクロマトグラム（河川水）
（1,2-エポキシプロパン、1,2-エポキシプロパン-d_6）

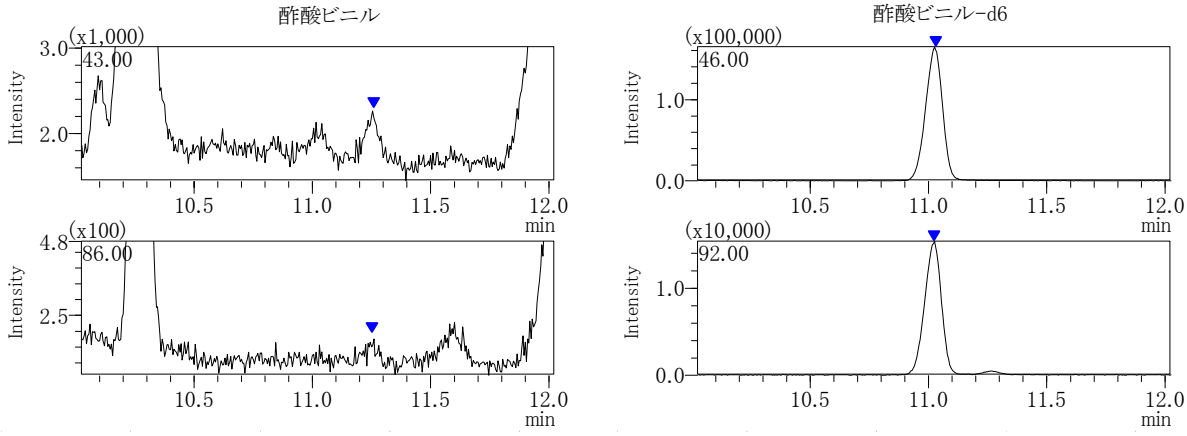


図 3-5　MDL 測定時の無添加試料のクロマトグラム（河川水）
（酢酸ビニル、酢酸ビニル-d_6）

§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 4 に示す。

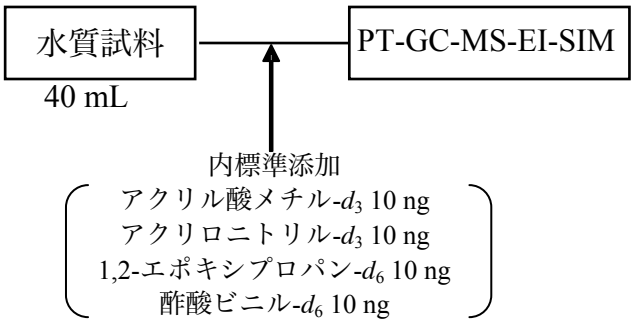


図 4　分析法のフローチャート

〔検量線〕

すべての対象物質の検量線の寄与率 R^2 は 0.995 以上であり、良好な直線関係が確認された。検量線を図 5〜9 に、検量作成用データを表 5〜14 に示す。なお、高濃度領域と低濃度領域は異なる日に測定したデータである。

低濃度領域 (0.00500～0.125 μg/L)　　高濃度領域 (0.125～2.50 μg/L)

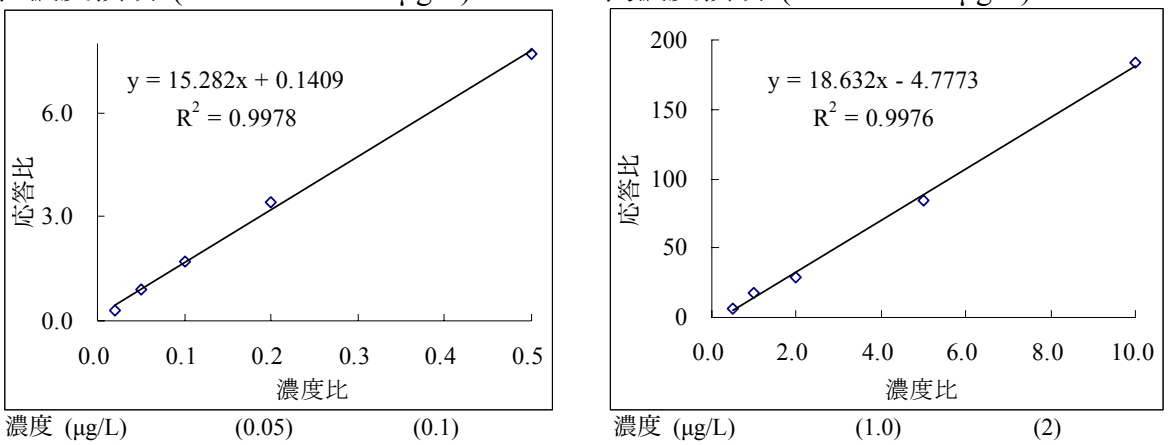


図 5　アクリル酸 *n*-ブチルの低濃度及び高濃度領域の検量線
（アクリル酸メチル-d_3：0.250 μg/L）

表 5　低濃度領域の検量線作成用データ（アクリル酸 *n*-ブチル）

標準液濃度 (μg/L) (C_s)	濃度比	応答値		応答比 (A_s/A_{is})
		対象物質(A_s) [アクリル酸 *n*-ブチル] (*m/z* 55)	内標準物質(A_{is}) [アクリル酸メチル-d_3]* (*m/z* 61)	
0.00500	0.020	9719	34110	0.28
0.0125	0.050	28476	31068	0.92
0.0250	0.10	54195	31355	1.7
0.0500	0.20	112929	33395	3.4
0.125	0.50	272011	35135	7.7

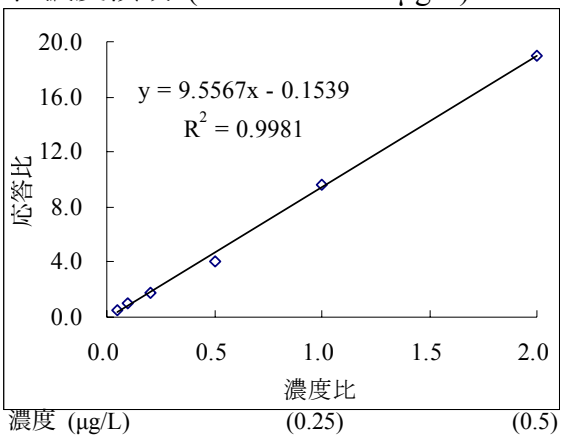
*：内標準物質濃度：0.250 μg/L (C_{is})

表 6　高濃度領域の検量線作成用データ（アクリル酸 *n*-ブチル）

標準液濃度 (μg/L) (C_s)	濃度比	応答値		応答比 (A_s/A_{is})
		対象物質(A_s) [アクリル酸 *n*-ブチル] (*m/z* 55)	内標準物質(A_{is}) [アクリル酸メチル-d_3]* (*m/z* 61)	
0.125	0.50	162962	23838	6.8
0.250	1.0	375944	21584	17
0.500	2.0	670983	22875	29
1.25	5.0	1865524	22226	84
2.50	10	4252235	23065	184

*：内標準物質濃度：0.250 μg/L (C_{is})

低濃度領域 (0.0125～0.500 μg/L)



高濃度領域 (0.125～2.50 μg/L)

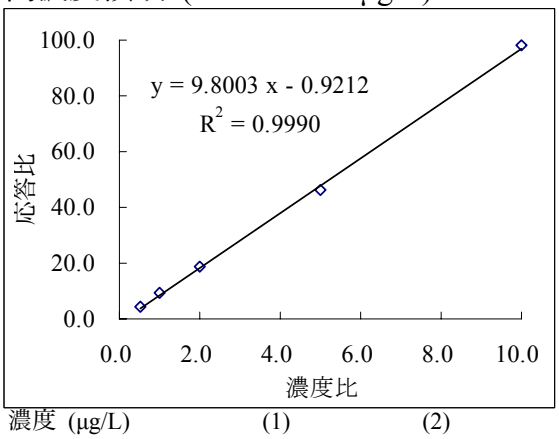


図 6　アクリル酸メチルの低濃度及び高濃度領域の検量線
（アクリル酸メチル-d_3：0.250 μg/L）

表 7　低濃度領域の検量線作成用データ（アクリル酸メチル）

標準液濃度 (μg/L) (C_s)	濃度比	応答値		応答比 (A_s/A_{is})
		対象物質(A_s) [アクリル酸メチル] (m/z 55)	内標準物質(A_{is}) [アクリル酸メチル-d_3]* (m/z 61)	
0.0125	0.05	15651	31068	0.50
0.0250	0.10	30546	31355	0.97
0.0500	0.20	59941	33395	1.8
0.125	0.50	140959	35135	4.0
0.250	1.0	276878	28971	9.6
0.500	2.0	578774	30098	19

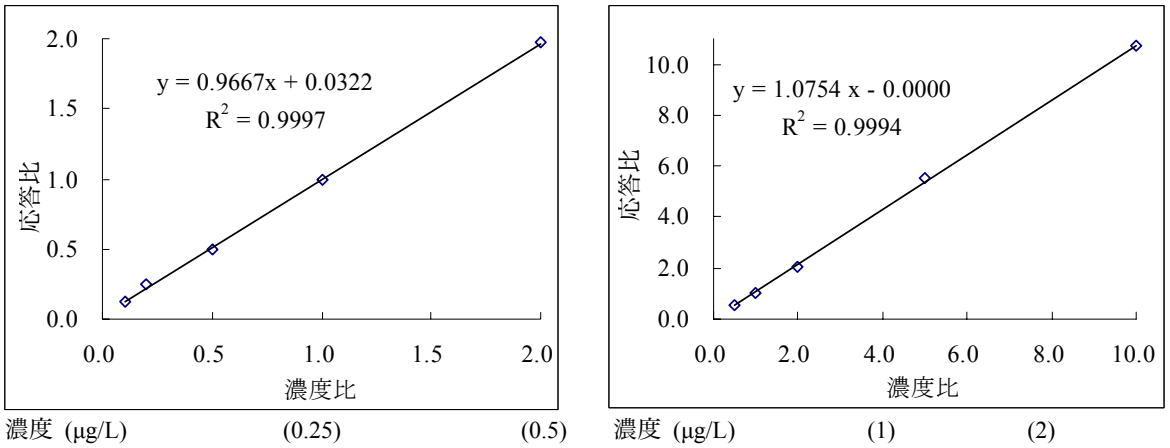
*：内標準物質濃度：0.250 μg/L

表 8　高濃度領域の検量線作成用データ（アクリル酸メチル）

標準液濃度 (μg/L) (C_s)	濃度比	応答値		応答比 (A_s/A_{is})
		対象物質(A_s) [アクリル酸メチル] (m/z 55)	内標準物質(A_{is}) [アクリル酸メチル-d_3]* (m/z 61)	
0.125	0.5	107261	23838	4.5
0.250	1.0	199229	21584	9.2
0.500	2.0	425339	22875	19
1.25	5.0	1031529	22226	46
2.50	10.0	2250961	23065	98

*：内標準物質濃度：0.250 μg/L (C_{is})

低濃度領域 (0.0250～0.500 μg/L)　　高濃度領域 (0.125～2.50 μg/L)



濃度 (μg/L)　(0.25)　(0.5)　　濃度 (μg/L)　(1)　(2)

図 7　アクリロニトリルの低濃度及び高濃度領域の検量線
（アクリロニトリル-d_3：0.250 μg/L）

表 9　低濃度領域の検量線作成用データ（アクリロニトリル）

標準液濃度 (C_s) (μg/L)	濃度比	応答値		応答比 (A_s/A_{is})
		対象物質(A_s) [アクリロニトリル] (m/z 53)	内標準物質(A_{is}) [アクリロニトリル-d_3]* (m/z 56)	
0.0250	0.10	6423	49904	0.13
0.0500	0.20	11213	46146	0.24
0.125	0.50	22337	45081	0.50
0.250	1.0	44664	44759	1.0
0.500	2.0	94150	47807	2.0

*：内標準物質濃度：0.250 μg/L (C_{is})

表 10　高濃度領域の検量線作成用データ（アクリロニトリル）

標準液濃度 (C_s) (μg/L)	濃度比	応答値		応答比 (A_s/A_{is})
		対象物質(A_s) [アクリロニトリル] (m/z 53)	内標準物質(A_{is}) [アクリロニトリル-d_3]* (m/z 56)	
0.125	0.50	19200	34085	0.56
0.250	1.0	36332	34367	1.1
0.500	2.0	69015	33786	2.0
1.25	5.0	205014	37045	5.5
2.50	10	350570	32770	11

*：内標準物質濃度：0.250 μg/L (C_{is})

低濃度領域 (0.025～0.500 μg/L)　　高濃度領域 (0.125～2.50 μg/L)

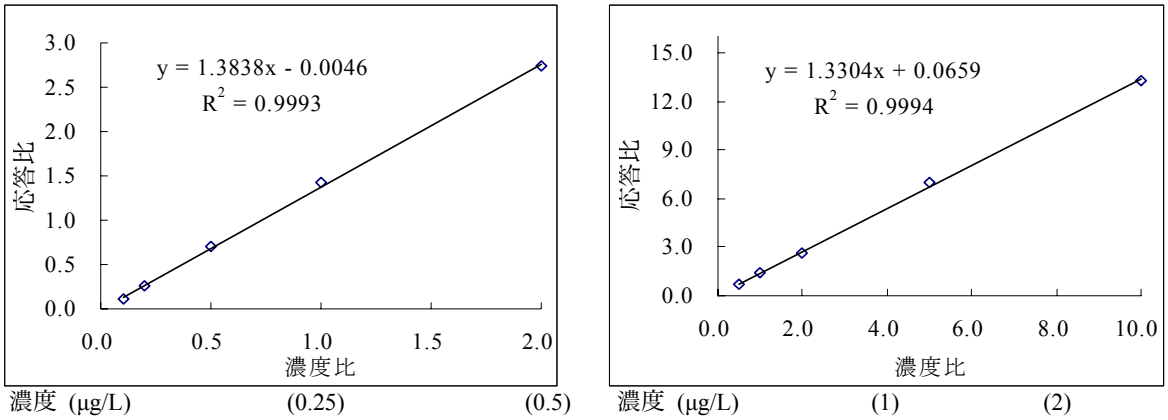


図 8　1,2-エポキシプロパンの低濃度及び高濃度領域の検量線
（1,2-エポキシプロパン-d_6：0.250 μg/L）

表 11　低濃度領域の検量線作成用データ（1,2-エポキシプロパン）

標準液濃度 (μg/L) (C_s)	濃度比	応答値		応答比 (A_s/A_{is})
		対象物質(A_s) [1,2-エポキシプロパン] (m/z 58)	内標準物質(A_{is}) [1,2-エポキシプロパン-d_6]* (m/z 64)	
0.0250	0.1	3694	31696	0.12
0.0500	0.2	6658	26006	0.26
0.125	0.5	23910	34271	0.70
0.250	1.0	48151	33773	1.4
0.500	2.0	87554	31957	2.7

*：内標準物質濃度：0.250 μg/L (C_{is})

表 12　高濃度領域の検量線作成用データ（1,2-エポキシプロパン）

標準液濃度 (μg/L) (C_s)	濃度比	応答値		応答比 (A_s/A_{is})
		対象物質(A_s) [1,2-エポキシプロパン] (m/z 58)	内標準物質(A_{is}) [1,2-エポキシプロパン-d_6]* (m/z 64)	
0.125	0.5	27608	39723	0.70
0.250	1	53972	38700	1.4
0.500	2	108682	41292	2.6
1.25	5	277854	40029	6.9
2.50	10	552029	41570	13

*：内標準物質濃度：0.250 μg/L (C_{is})

低濃度領域 (0.0125～0.500 μg/L)　　高濃度領域 (0.125～2.50 μg/L)

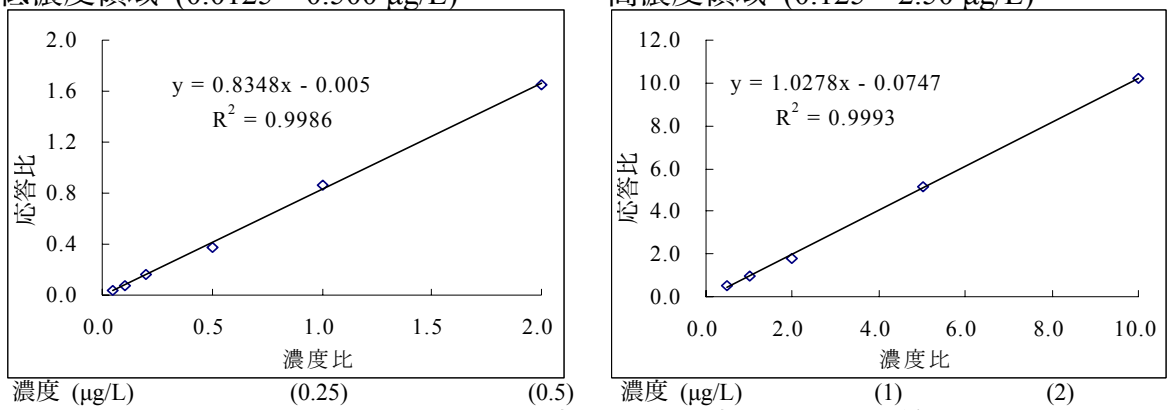


図 9　酢酸ビニルの低濃度及び高濃度領域の検量線
（酢酸ビニル-d_6：0.250 μg/L）

表 13　低濃度領域の検量線作成用データ（酢酸ビニル）

標準液濃度 (単位：μg/L) (C_s)	濃度比	応答値		応答比 (A_s/A_{is})
		対象物質(A_s) [酢酸ビニル] (m/z 43)	内標準物質(A_{is}) [酢酸ビニル-d_6]* (m/z 46)	
0.0125	0.050	12356	318795	0.039
0.0250	0.10	25517	322722	0.079
0.0500	0.20	44006	260934	0.17
0.125	0.50	102077	270772	0.38
0.250	1.0	219876	253990	0.87
0.500	2.0	438190	264798	1.7

*：内標準物質濃度：0.250 μg/L (C_{is})

表 14　高濃度領域の検量線作成用データ（酢酸ビニル）

標準液濃度 (単位：μg/L) (C_s)	濃度比	応答値		応答比 (A_s/A_{is})
		対象物質(A_s) [酢酸ビニル] (m/z 43)	内標準物質(A_{is}) [酢酸ビニル-d_6]* (m/z 46)	
0.125	0.50	87222	170588	0.51
0.250	1.0	189611	196016	0.97
0.500	2.0	349457	192572	1.8
1.25	5.0	987061	191008	5.2
2.50	10	1727020	169652	10

*：内標準物質濃度：0.250 μg/L (C_{is})

〔クロマトグラム〕

標準物質のクロマトグラムを図 10 及び図 11-1～図 11-5 に示す。

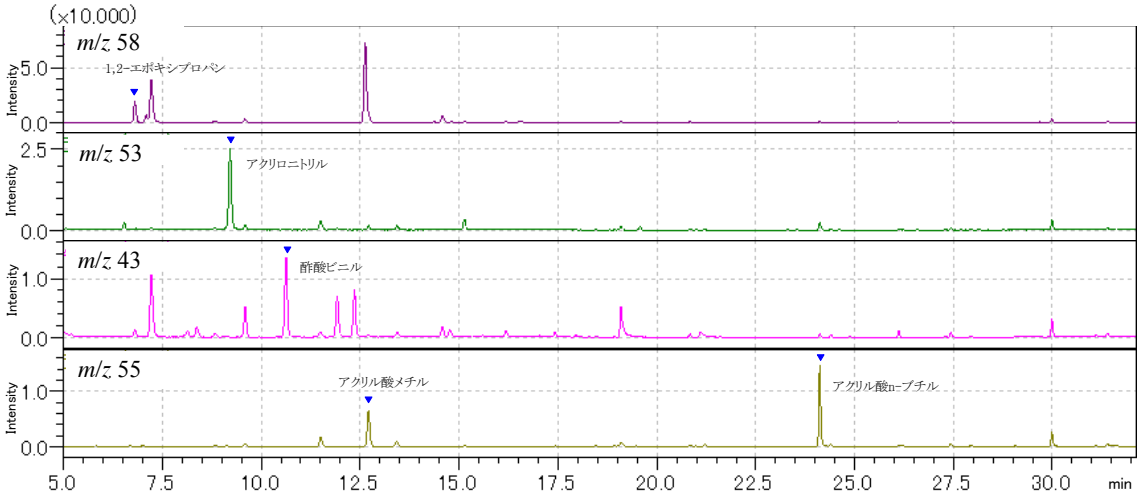


図 10　検量線用標準液のクロマトグラム(0.250 μg/L)

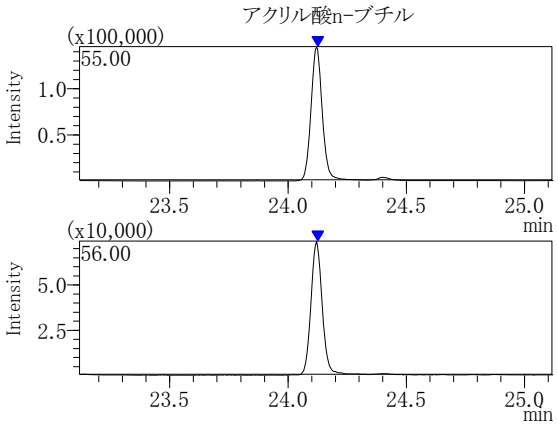


図 11-1　アクリル酸 *n*-ブチルの標準物質のクロマトグラム(0.250 μg/L)

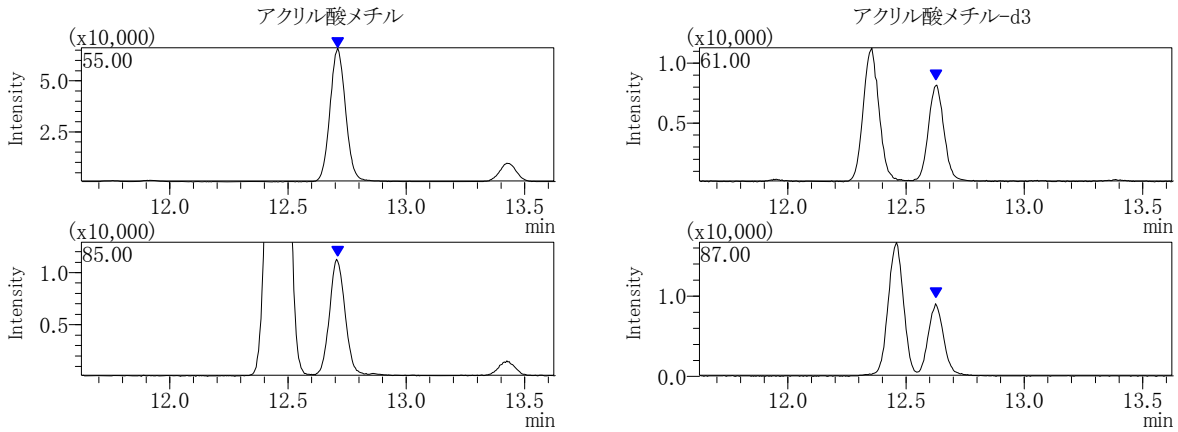


図 11-2　アクリル酸メチルの標準物質のクロマトグラム(0.250 μg/L)

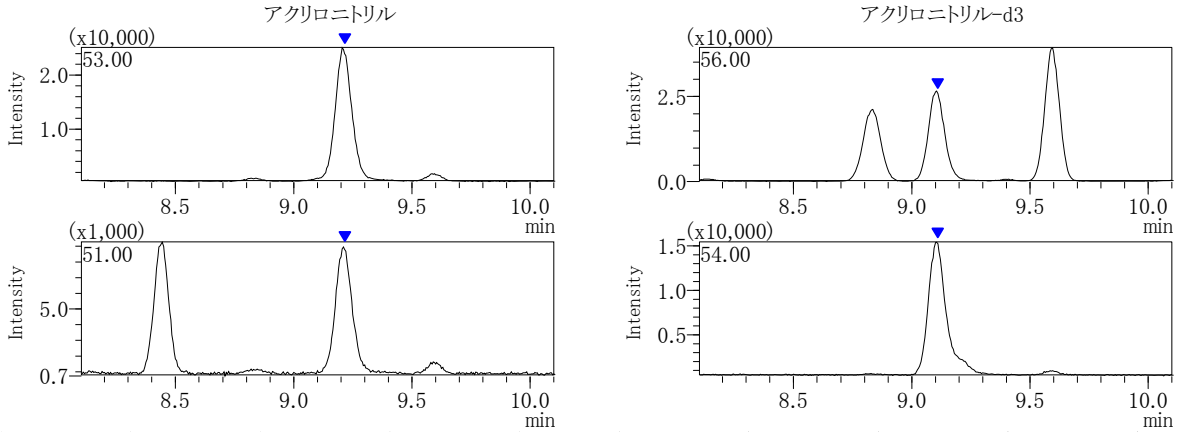


図 11-3　アクリロニトリルの標準物質のクロマトグラム(0.250 µg/L)

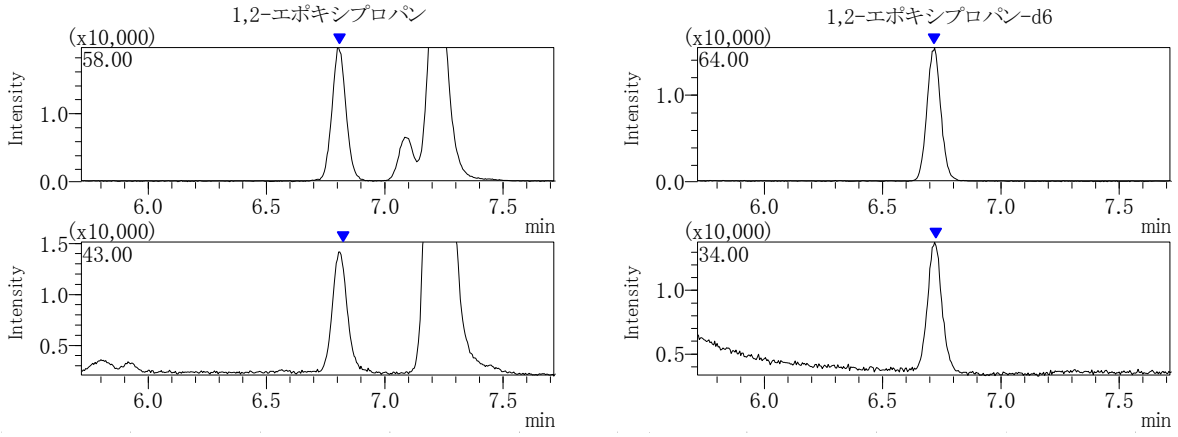


図 11-4　1,2-エポキシプロパンの標準物質のクロマトグラム(0.250 µg/L)

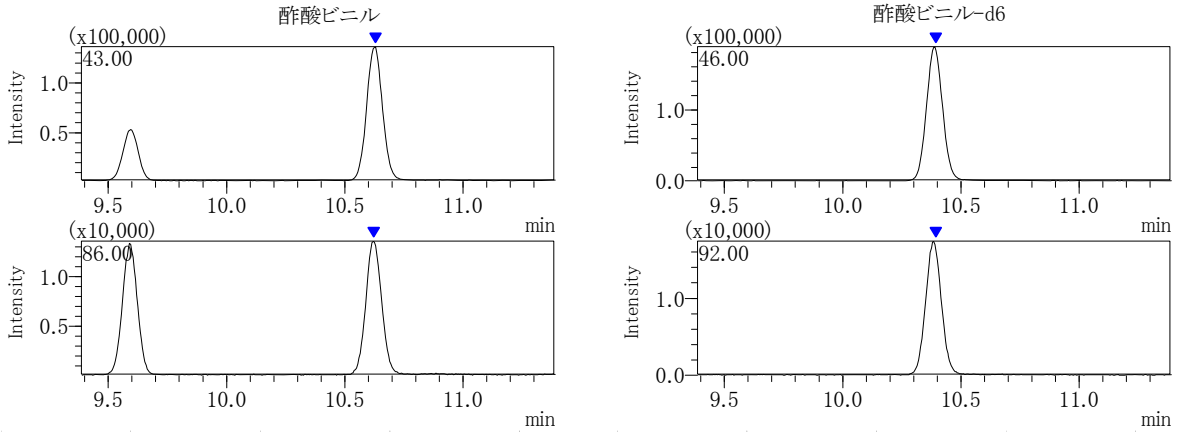


図 11-5　酢酸ビニルの標準物質のクロマトグラム(0.250 µg/L)

〔マススペクトル〕

標準物質、内標準物質のマススペクトルを図 12～20 に示す。

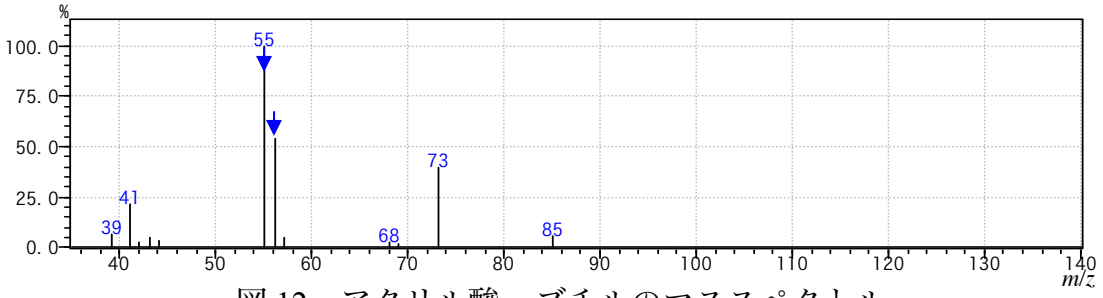


図 12　アクリル酸 *n*-ブチルのマススペクトル

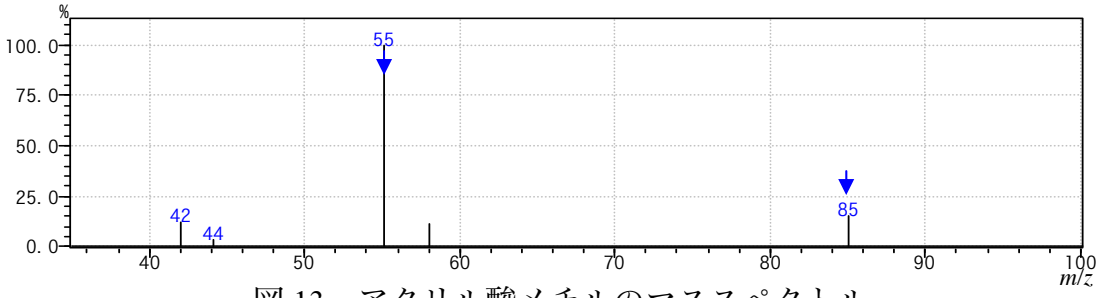


図 13　アクリル酸メチルのマススペクトル

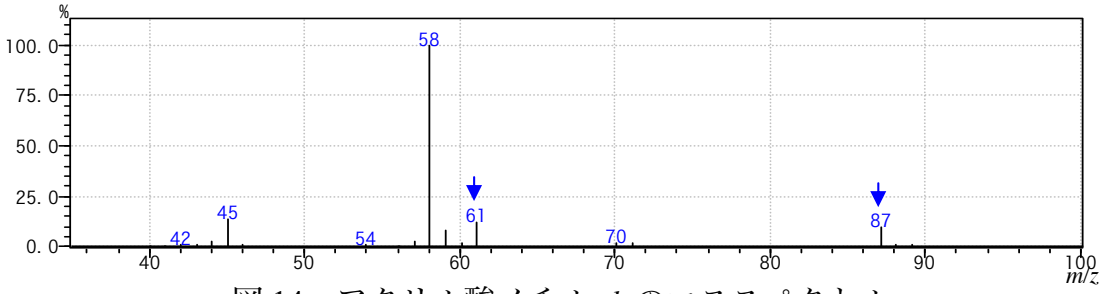


図 14　アクリル酸メチル-d_3 のマススペクトル

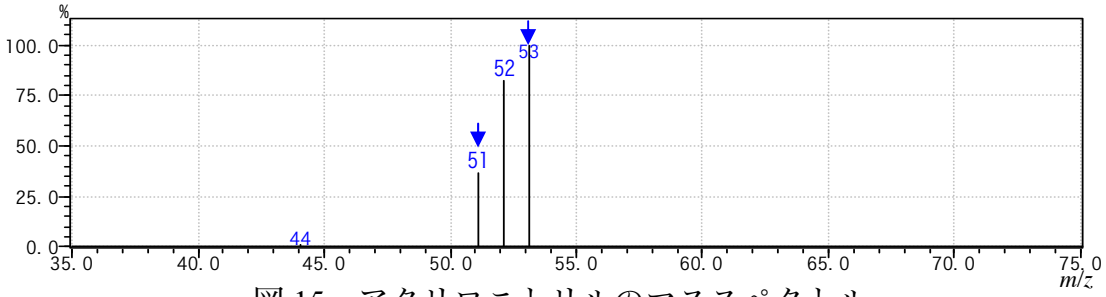


図 15　アクリロニトリルのマススペクトル

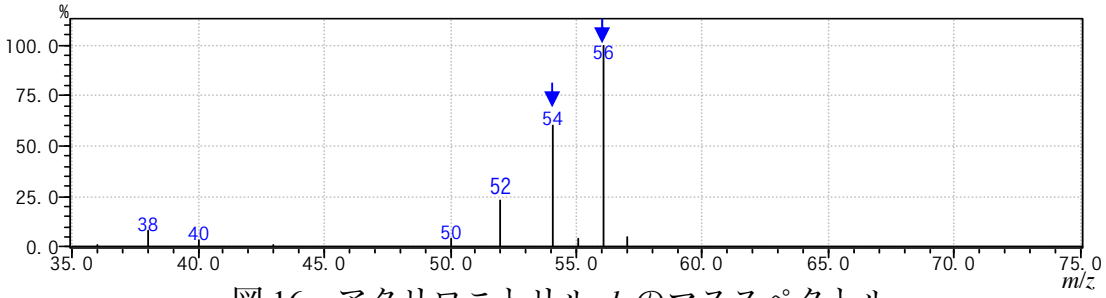


図 16　アクリロニトリル-d_3 のマススペクトル

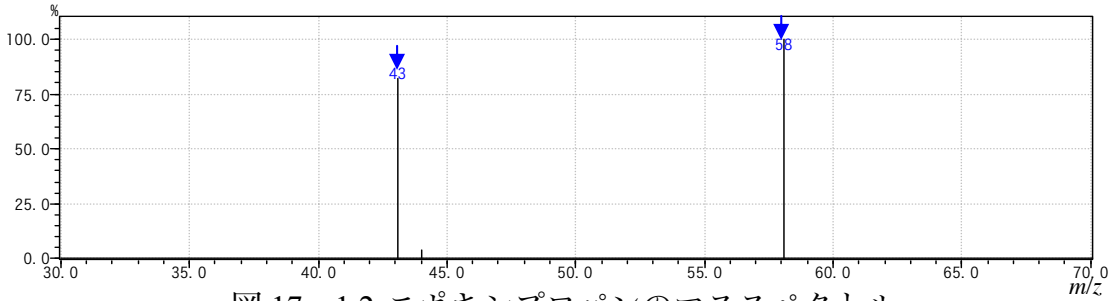


図 17　1,2-エポキシプロパンのマススペクトル

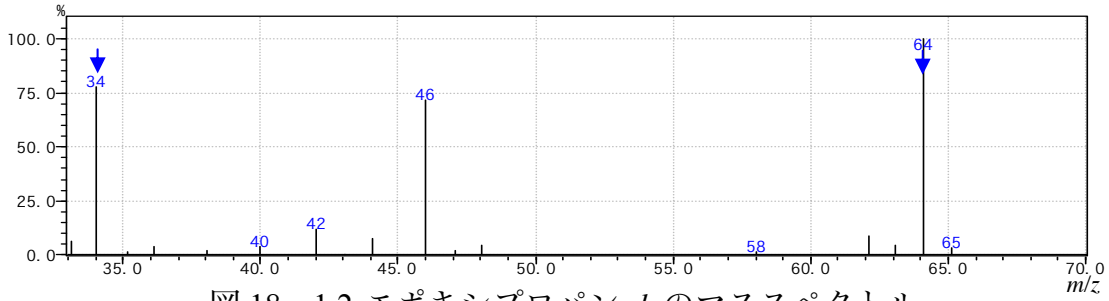


図 18　1,2-エポキシプロパン-d_6 のマススペクトル

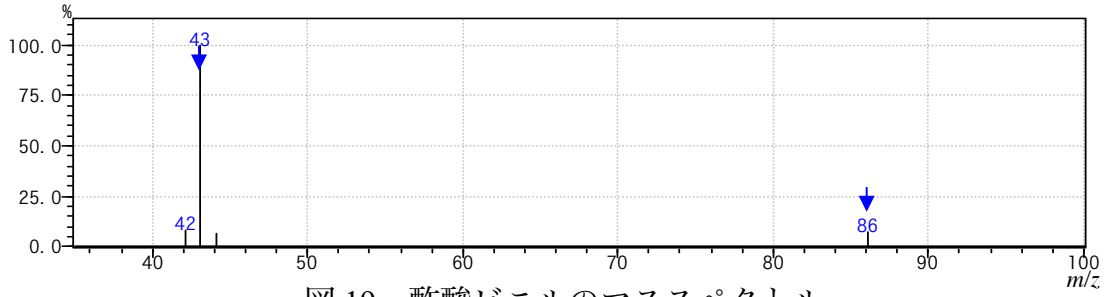


図 19　酢酸ビニルのマススペクトル

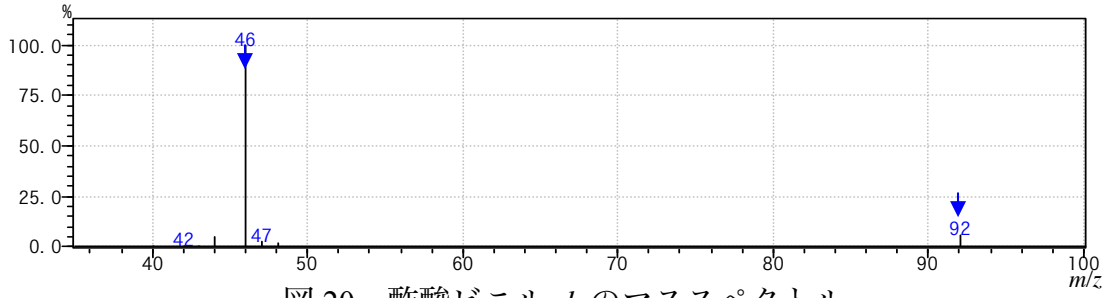


図 20　酢酸ビニル-d_6 のマススペクトル

〔操作ブランク〕

精製水 40 mL を使用して、**【試料の前処理及び試験液の調製】**の処理を行い操作ブランクの確認を行ったところ、ピークが検出されたがいずれも MDL 未満であった。操作ブランク試験時のクロマトグラムを図 21 に示す。

なお、高濃度試料導入後に MDL を超えたブランクが検出される場合があるため高濃度試料を分析した後には、サンプルループとパージ管の洗浄のため、数回精製水を用いて分析を行い、ブランクレベルが十分に低くなったことを確認する必要がある。また、酢酸ビニル、アクリロニトリルは、数日間連続して分析を行った場合、前述の高濃度試料の分析如何に関わらず高濃度のブランクが確認される場合もあるので、常にブランクに注意を払う必要がある。

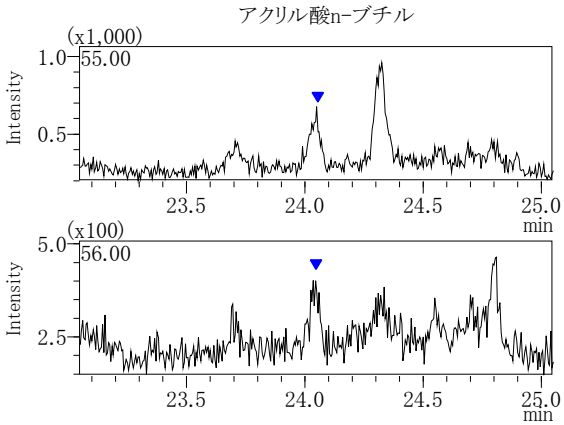


図 21-1　操作ブランクのクロマトグラム
（アクリル酸 *n*-ブチル）

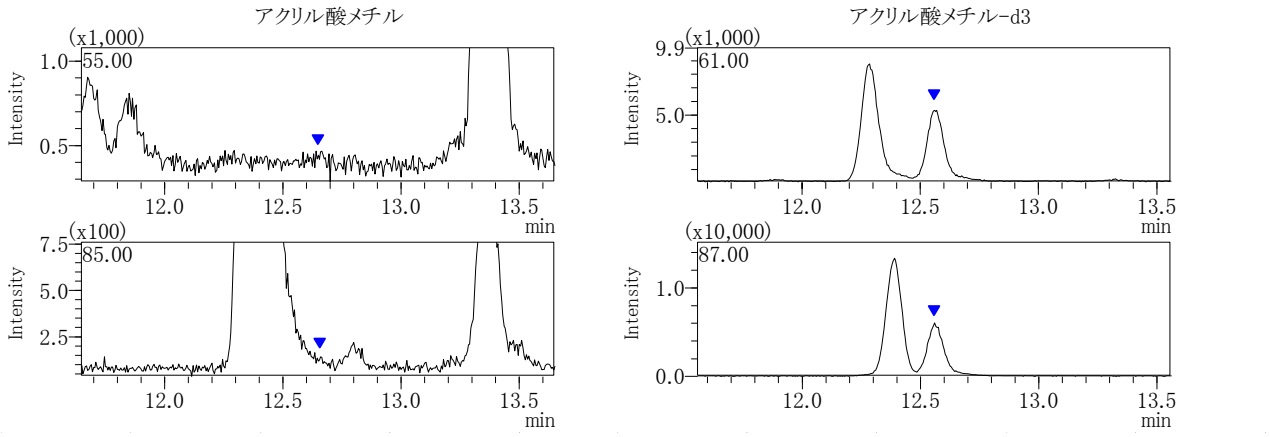


図 21-2　操作ブランクのクロマトグラム
（アクリル酸メチル、アクリル酸メチル-d_3）

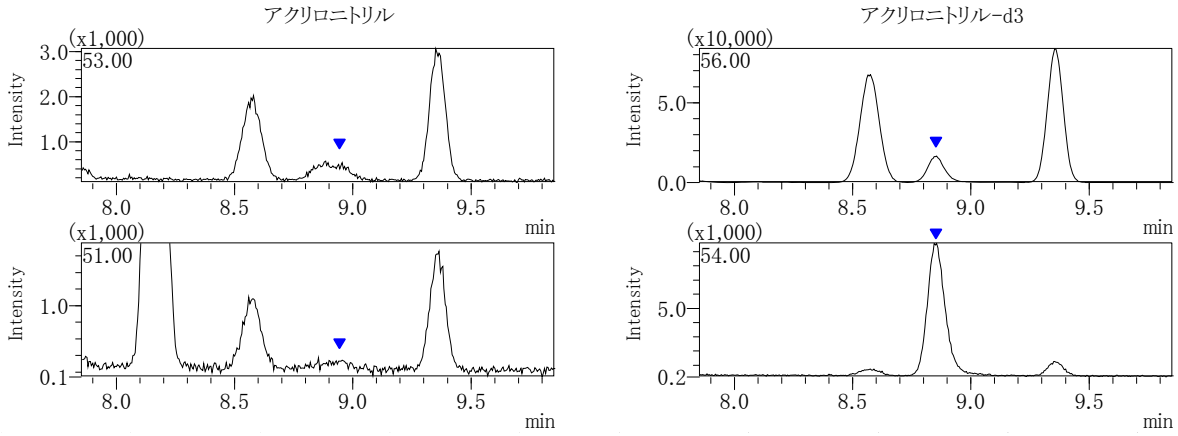


図 21-3　操作ブランクのクロマトグラム
（アクリロニトリル、アクリロニトリル-d_3）

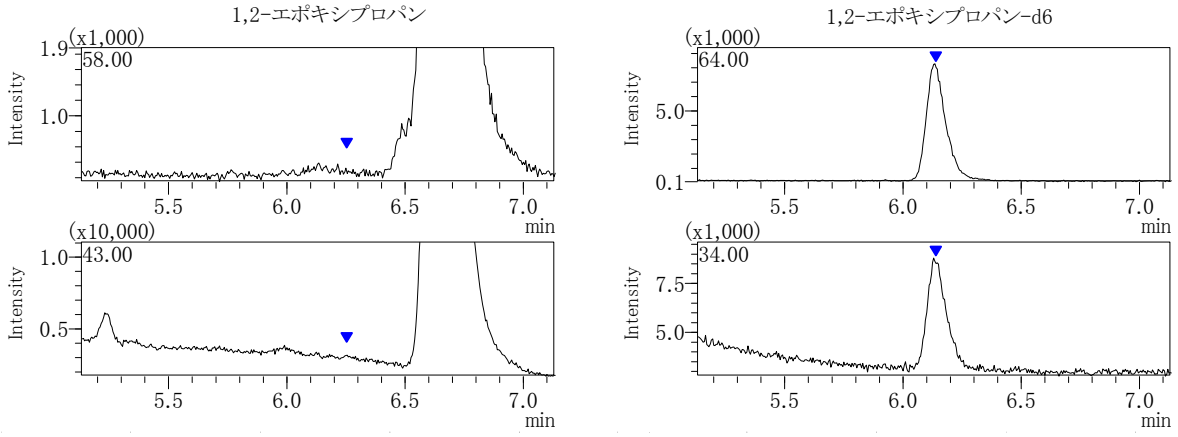


図 21-4　操作ブランクのクロマトグラム
（1,2-エポキシプロパン、1,2-エポキシプロパン-d_6）

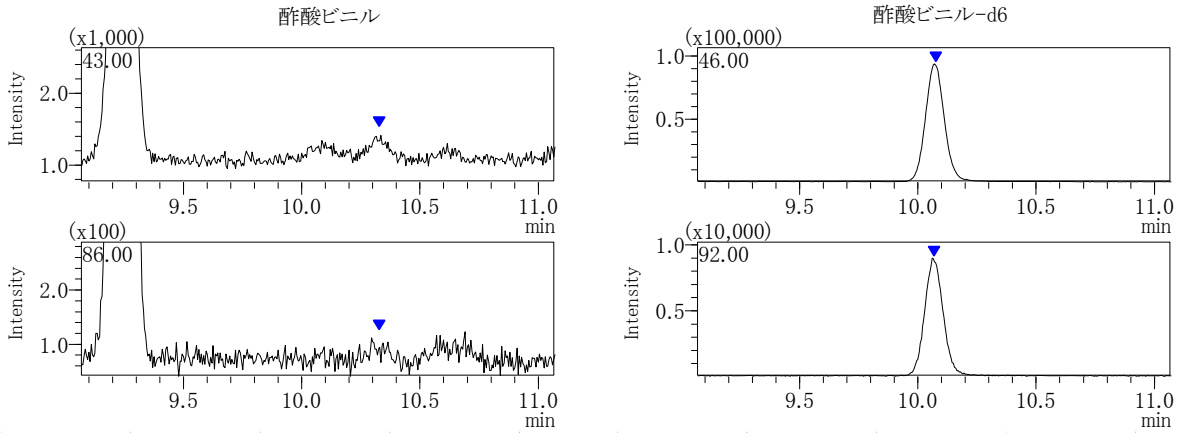


図 21-5　操作ブランクのクロマトグラム
（酢酸ビニル、酢酸ビニル-d_6）

〔添加回収試験〕

河川水（京都市天神川）と海水（京都府舞鶴湾）へ対象物質を添加して**【試料の前処理及び試験液の調製】**の操作を行い、無添加試料の結果を差し引いて回収率を算出した。添加回収試験結果を表 15 に、添加回収試験時のクロマトグラムを図 22 に示す。

表 15　添加回収試験結果

試料名	物質名	試料量 (L)	添加量 (μg)	試験数	検出濃度 (μg/L)	回収率 (%)	変動係数 (%)
河川水	アクリル酸*n*-ブチル	0.040	無添加	1	<0.0066	-	-
		0.040	0.0040	5	0.11	113	3.9
	アクリル酸メチル	0.040	無添加	1	<0.0079	-	-
		0.040	0.010	5	0.24	95	4.6
	アクリロニトリル	0.040	無添加	1	0.022	-	-
		0.040	0.010	5	0.24	89	5.6
	1,2-エポキシプロパン	0.040	無添加	1	<0.015	-	-
		0.040	0.010	5	0.28	112	5.2
	酢酸ビニル	0.040	無添加	1	<0.0074	-	-
		0.040	0.010	5	0.29	114	2.7
海水	アクリル酸*n*-ブチル	0.040	無添加	1	<0.0066	-	-
		0.040	0.0040	5	0.12	118	2.4
	アクリル酸メチル	0.040	無添加	1	<0.0079	-	-
		0.040	0.010	5	0.23	89	8.0
	アクリロニトリル	0.040	無添加	1	<0.019	-	-
		0.040	0.010	5	0.23	87	4.9
	1,2-エポキシプロパン	0.040	無添加	1	<0.015	-	-
		0.040	0.010	5	0.21	82	2.6
	酢酸ビニル	0.040	無添加	1	<0.0074	-	-
		0.040	0.010	5	0.25	97	6.0

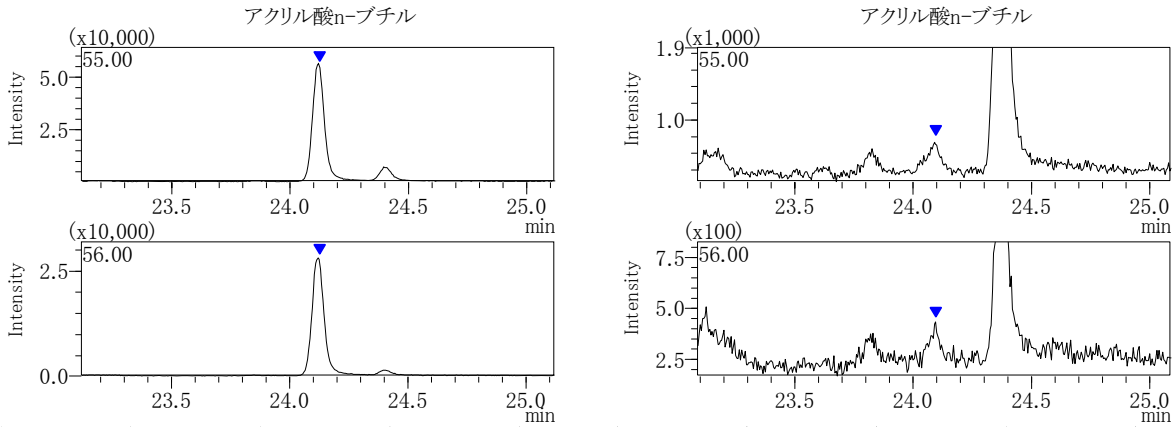


図 22-1　添加回収試験（河川水）のクロマトグラム（左：添加、右：無添加）
（アクリル酸 *n*-ブチル）

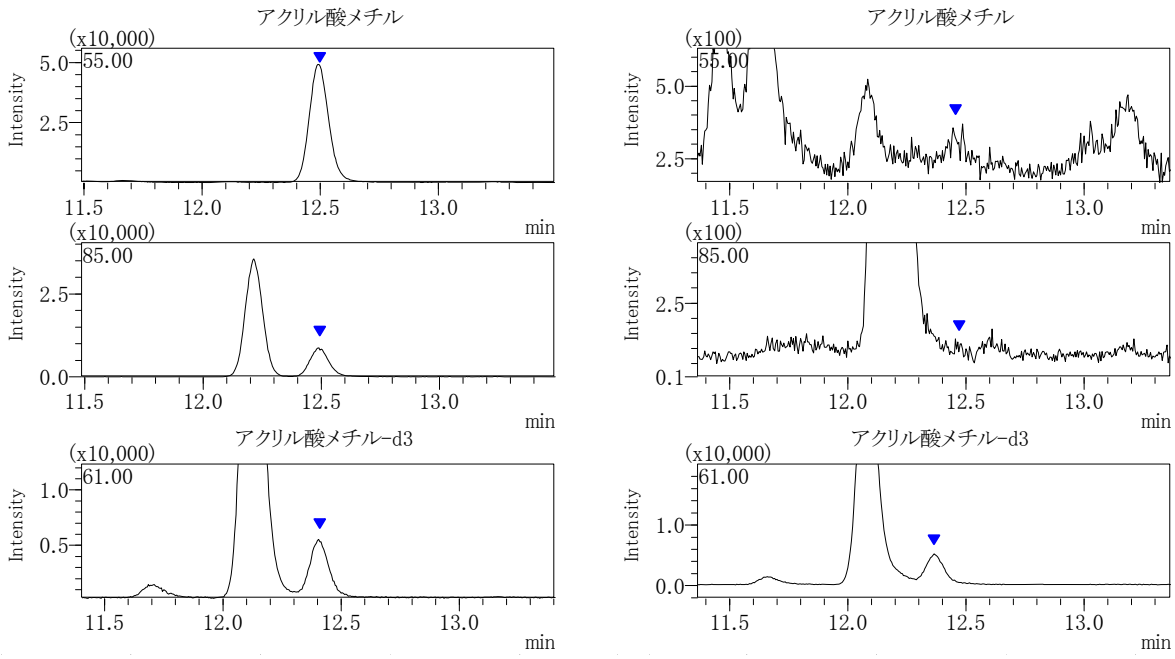


図 22-2　添加回収試験（河川水）のクロマトグラム（左：添加、右：無添加）
（アクリル酸メチル、アクリル酸メチル-d_3）

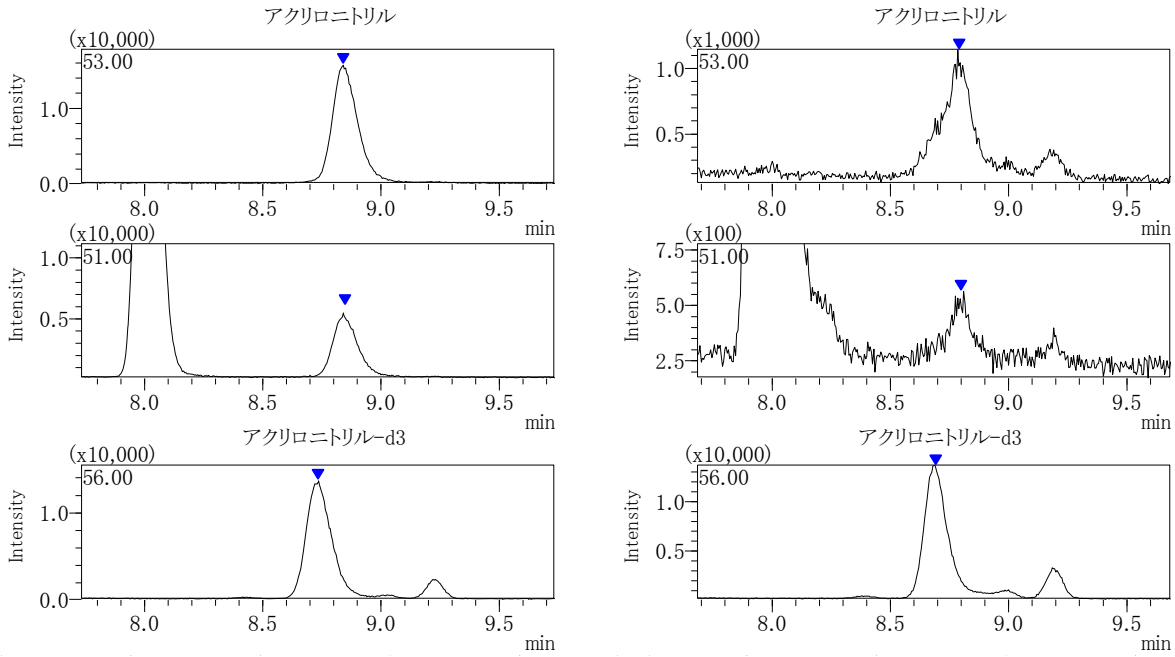


図 22-3　添加回収試験（河川水）のクロマトグラム（左：添加、右：無添加）
（アクリロニトリル、アクリロニトリル-d_3）

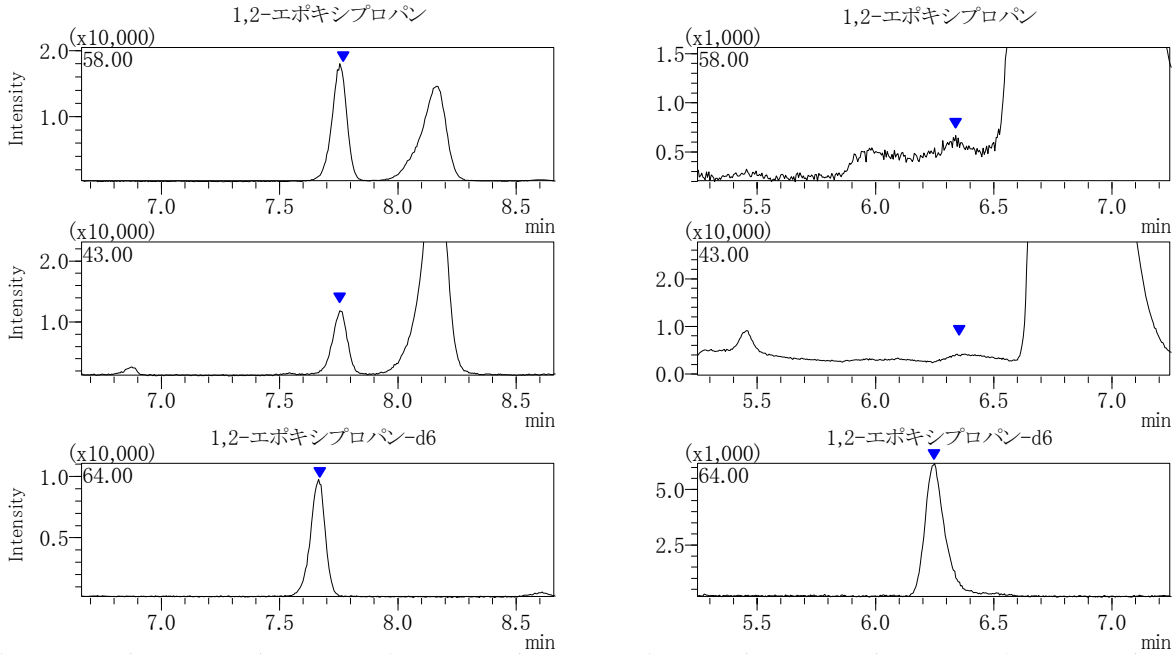


図 22-4　添加回収試験（河川水）のクロマトグラム（左：添加、右：無添加）
（1,2-エポキシプロパン、1,2-エポキシプロパン-d_6）

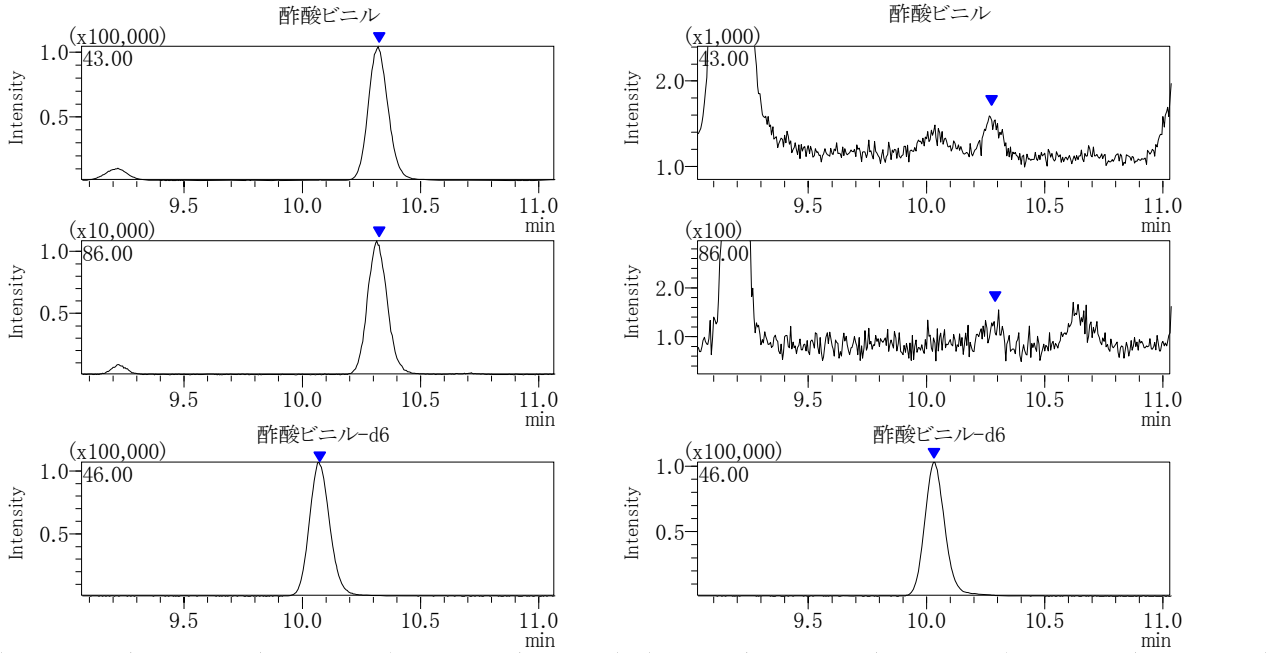


図 22-5　添加回収試験（河川水）のクロマトグラム（左：添加、右：無添加）
（酢酸ビニル、酢酸ビニル-d_6）

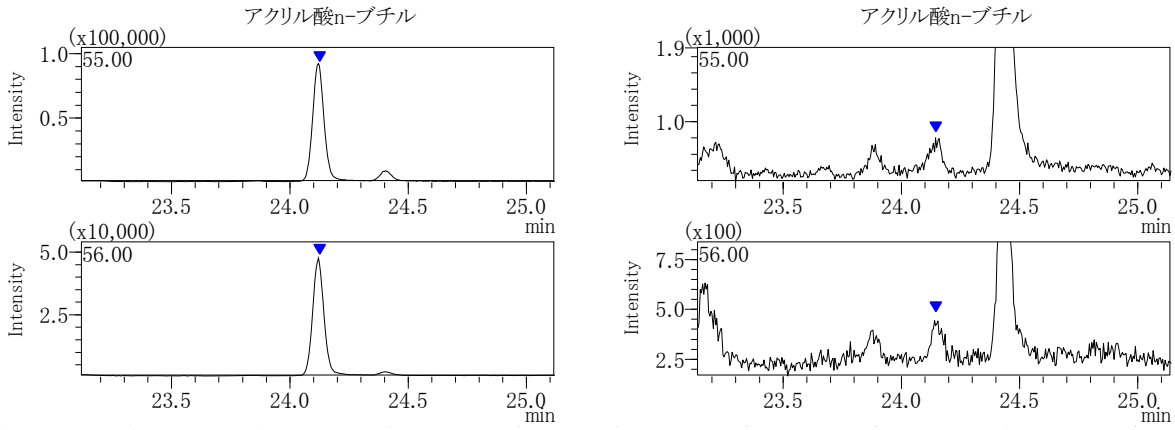


図 23-1　添加回収試験（海水）のクロマトグラム（左：添加、右：無添加）
（アクリル酸 *n*-ブチル）

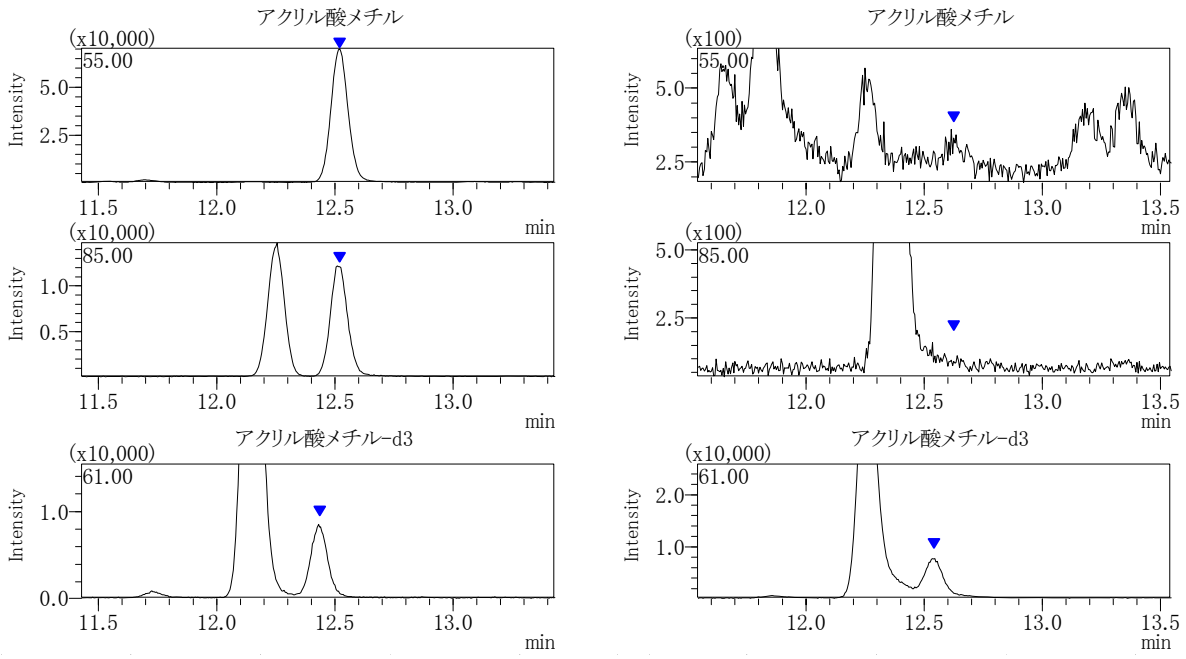


図 23-2　添加回収試験（海水）のクロマトグラム（左：添加、右：無添加）
（アクリル酸メチル、アクリル酸メチル-d_3）

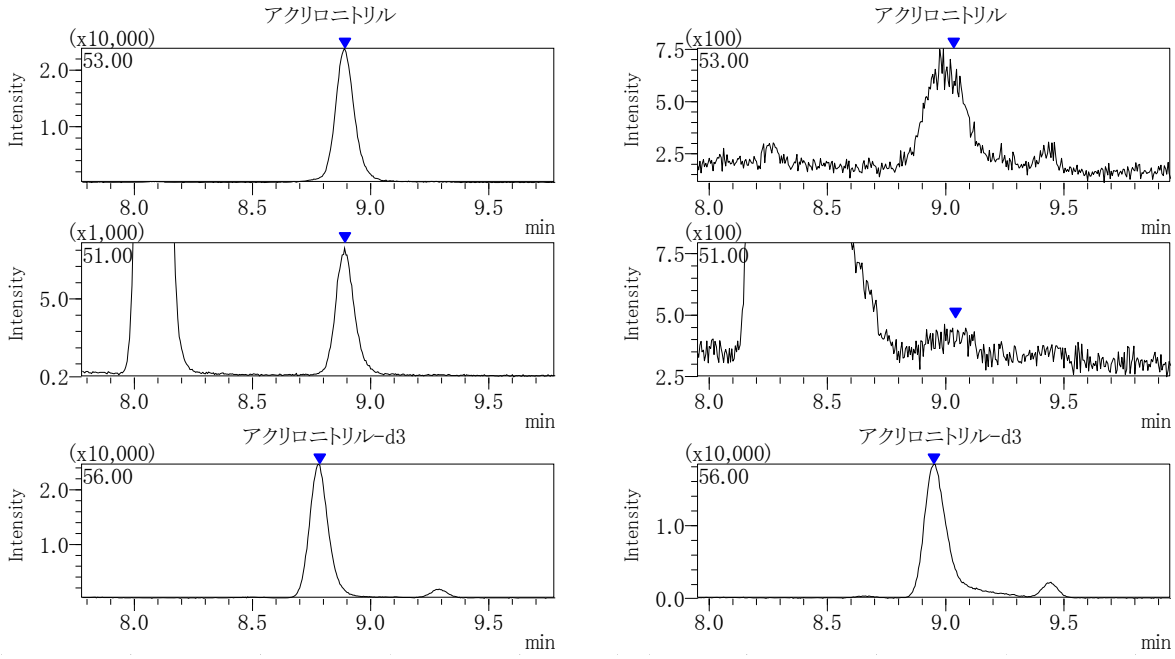


図 23-3　添加回収試験（海水）のクロマトグラム（左：添加、右：無添加）
（アクリロニトリル、アクリロニトリル-d_3）

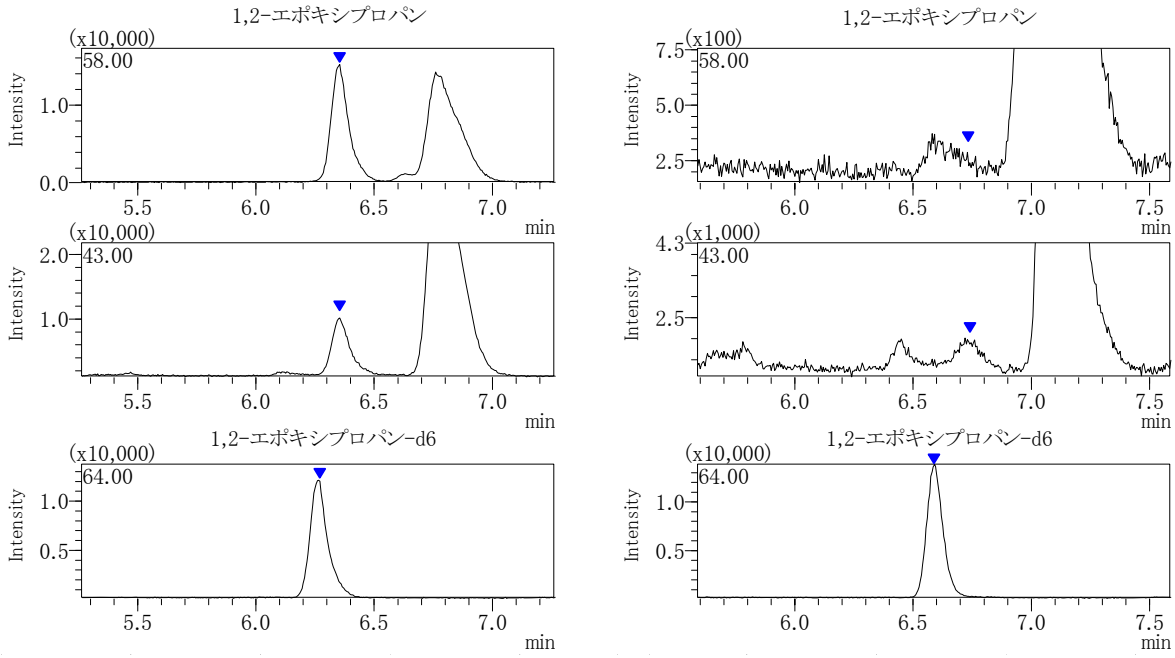


図 23-4　添加回収試験（海水）のクロマトグラム（左：添加、右：無添加）
（1,2-エポキシプロパン、1,2-エポキシプロパン-d_6）

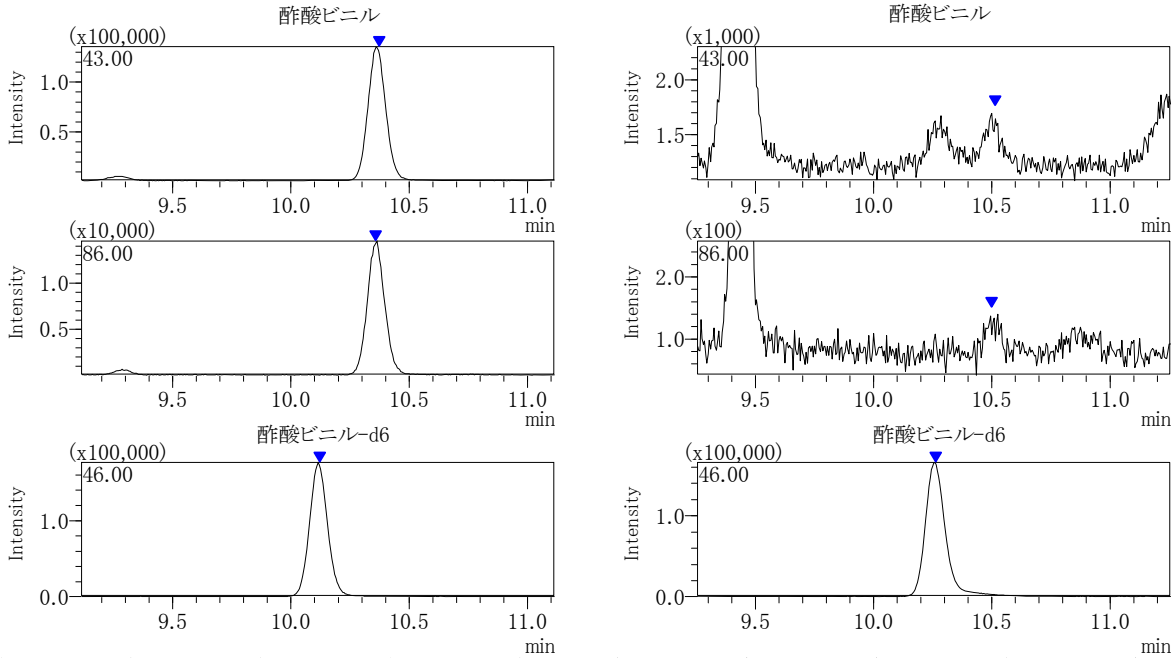


図 23-5　添加回収試験（海水）のクロマトグラム（左：添加、右：無添加）
（酢酸ビニル、酢酸ビニル-d_6）

〔分解性スクリーニング試験〕

精製水の pH を調整し、以下の濃度になるように標準物質を添加して、分解性スクリーニング試験を行った。表 16～20 に分解性スクリーニング試験結果を示す。

物質名	初期濃度 (μg/L)
アクリル酸 *n* -ブチル	0.050
アクリル酸メチル	0.125
アクリロニトリル	0.250
1,2-エポキシプロパン	0.125
酢酸ビニル	0.125

表 16　分解性スクリーニング試験結果（アクリル酸 *n*-ブチル）

pH	試験数	初期濃度 (μg/L)	1 時間後の残存率 (%)	3 日後の残存率 (%)	5 日後の残存率 (%)	7 日後の残存率 (%)	
						暗所	明所
5	2	0.05	115	95	50	66	-
7	2	0.05	112	88	54	59	60
9	2	0.05	98	94	54	57	-

表 17　分解性スクリーニング試験結果（アクリル酸メチル）

pH	試験数	初期濃度 (μg/L)	1 時間後の残存率 (%)	3 日後の残存率 (%)	5 日後の残存率 (%)	7 日後の残存率 (%)	
						暗所	明所
5	2	0.125	113	107	98	103	-
7	2	0.125	117	108	103	106	107
9	2	0.125	104	92	100	102	-

表 18　分解性スクリーニング試験結果（アクリロニトリル）

pH	試験数	初期濃度 (μg/L)	1 時間後の残存率 (%)	3 日後の残存率 (%)	5 日後の残存率 (%)	7 日後の残存率 (%)	
						暗所	明所
5	2	0.25	118	111	110	100	-
7	2	0.25	117	110	110	107	106
9	2	0.25	108	117	110	104	-

表 19　分解性スクリーニング試験結果（1,2-エポキシプロパン）

pH	試験数	初期濃度 (μg/L)	1 時間後の残存率 (%)	3 日後の残存率 (%)	5 日後の残存率 (%)	7 日後の残存率 (%)	
						暗所	明所
5	2	0.125	112	99	79	82	-
7	2	0.125	101	94	80	76	85
9	2	0.125	107	103	81	82	-

表 20　分解性スクリーニング試験結果（酢酸ビニル）

pH	試験数	初期濃度 (μg/L)	1 時間後の残存率 (%)	3 日後の残存率 (%)	5 日後の残存率 (%)	7 日後の残存率 (%)	
						暗所	明所
5	2	0.125	110	97	12	4	-
7	2	0.125	110	90	80	90	84
9	2	0.125	100	14	6	1	-

【保存性試験】

MDL 試験時に、酢酸ビニルの濃度が経時的に減少する現象が認められた。この原因として、酢酸ビニルの酸化の可能性を疑い、河川水にアスコルビン酸を 1 g/L の濃度となるように添加した。その結果、アスコルビン酸添加により酢酸ビニルの濃度減少は抑制されたが、一方で、1,2-エポキシプロパンの濃度が経時的に減少する現象が認められた。測定対象物質によりアスコルビン酸添加の有無で挙動が異なることから、アスコルビン酸添加・無添加の 2 条件で保存性を確認することとした。

河川水及び海水 40 mL に、以下の濃度になるように標準物質を添加した試験液を冷蔵保存し、当日～7 日後の濃度を測定した。なお各試料には、1.00 g/L になるようにアスコルビン酸を添加した試験液も調製し、同様に測定した。表 21～25 に保存性試験結果を示す。

対象物質名	初期濃度 (μg/L)
アクリル酸 *n*-ブチル	0.0250
アクリル酸メチル	0.0250
アクリロニトリル	0.050
1,2-エポキシプロパン	0.050
酢酸ビニル	0.050

表 21　保存性試験結果（アクリル酸 *n*-ブチル）[*1]

試料		ｱｽｺﾙﾋﾞﾝ酸添加	当日分析 (μg/L)	残存率 (%)[*2]				
				1 日後	2 日後	3 日後	5 日後	7 日後
冷蔵	河川水	無	0.023	95	84	90	79	84
冷蔵	河川水	有	0.020	105	97	93	86	92
冷蔵	海水	無	0.025	75	78	60	78	66
冷蔵	海水	有	0.027	82	78	83	79	94

*1：アクリル酸 *n*-ブチル添加濃度：0.025 μg/L

*2：当日分析値を 100%として算出している。

表 22　保存性試験結果（アクリル酸メチル）[*1]

試料		ｱｽｺﾙﾋﾞﾝ酸添加	当日分析 (μg/L)	残存率 (%)[*2]				
				1 日後	2 日後	3 日後	5 日後	7 日後
冷蔵	河川水	無	0.024	98	85	106	112	111
冷蔵	河川水	有	0.027	107	104	105	109	87
冷蔵	海水	無	0.025	95	93	102	96	89
冷蔵	海水	有	0.026	100	102	94	106	100

*1：アクリル酸メチル添加濃度：0.025 μg/L

*2：当日分析値を 100%として算出している。

表 23　保存性試験結果（アクリロニトリル）[*1]

試料		ｱｽｺﾙﾋﾞﾝ酸添加	当日分析 (μg/L)	残存率 (%)[*2]				
				1 日後	2 日後	3 日後	5 日後	7 日後
冷蔵	河川水	無	0.055	99	101	111	102	90
冷蔵	河川水	有	0.055	103	102	113	106	92
冷蔵	海水	無	0.053	98	96	87	95	110
冷蔵	海水	有	0.047	111	91	96	114	105

*1：アクリロニトリル添加濃度：0.0500 μg/L

*2：当日分析値を 100%として算出している。

表 24　保存性試験結果（1,2-エポキシプロパン）[*1]

試料		ｱｽｺﾙﾋﾞﾝ酸添加	当日分析 (μg/L)	残存率 (%)[*2]				
				1 日後	2 日後	3 日後	5 日後	7 日後
冷蔵	河川水	無	0.049	97	96	87	101	86
冷蔵	河川水	有	0.053	87	65	77	37	0
冷蔵	海水	無	0.051	84	89	99	92	68
冷蔵	海水	有	0.049	74	55	51	32	0

*1：1,2-エポキシプロパン添加濃度：0.0500 μg/L

*2：当日分析値を 100%として算出している。

表 25　保存性試験結果（酢酸ビニル）[*1]

試料		ｱｽｺﾙﾋﾞﾝ酸添加	当日分析 (μg/L)	残存率 (%)[*2]				
				1 日後	2 日後	3 日後	5 日後	7 日後
冷蔵	河川水	無	0.053	70	54	58	48	49
冷蔵	河川水	有	0.058	103	102	117	93	97
冷蔵	海水	無	0.057	69	33	28	33	25
冷蔵	海水	有	0.056	97	102	124	96	100

*1：酢酸ビニル添加濃度：0.0500 μg/L

*2：当日分析値を 100%として算出している。

【アクリル酸メチルのモニターイオンの設定】

アクリル酸メチル-d_3 のみを測定する場合、定量イオンは、ベースピークである *m/z* 58 を選択するのが一般的であると考えられる。しかし、*m/z* 58 は、対象物質にも存在しているため、対象物質とアクリル酸メチル-d_3 を区別する事が出来ない。このため、強度は *m/z* 58 の 10%程度ではあるが、対象物質に影響を与えない *m/z* 61 をアクリル酸メチル-d_3 の定量イオンに設定した。

【パージ時間およびドライパージ時間の検討】

PT-GC-MS の条件として重要なパージ時間およびドライパージ時間について検討した。パージ時間は 3 分、4 分、5 分、10 分の 4 条件、ドライパージ時間については 1 分、2 分、3 分の 3 条件を組み合わせ、合計 12 条件について検討を実施した。検討に際しては、0.125 μg/L の標準液を用いて各条件で測定を行い、面積値が最大となる条件を最適値とした。検討結果は、表 26 のとおりであった。

検討の結果、パージ時間 10 分、ドライパージ時間 3 分で 5 物質中 3 物質の面積値が最大となる事が明らかとなった。この検討の結果、本分析法ではパージ時間 10 分、ドライパージ時間 3 分を分析条件として設定した。

表 26　パージ時間およびドライパージ時間の検討結果

パージ時間（分）	ドライパージ時間（分）	面積値				
		アクリル酸 *n*-ブチル	アクリル酸メチル	アクリロニトリル	1,2-エポキシプロパン	酢酸ビニル
3	1	55,541	19,815	11,631	5,670	54,560
	2	57,604	22,950	11,335	6,194	61,552
	3	54,880	21,580	10,637	5,638	58,168
4	1	78,715	28,874	12,913	7,516	76,046
	2	78,302	26,264	11,930	6,520	72,249
	3	74,663	28,998	13,702	6,749	75,275
5	1	99,072	32,505	14,834	7,344	87,204
	2	98,644	33,282	15,635	8,010	88,506
	3	103,266	33,865	15,975	8,038	91,181
10	1	205,053	60,697	28,450	16,307	151,710
	2	199,759	64,320	30,044	17,035	158,790
	3	204,445	65,147	32,093	16,979	164,995
最大値		205,053	65,147	32,093	17,035	164,995

【妨害ピークに関する検討結果】

本試験の測定項目のうちアクリロニトリル等で妨害ピークの影響を受ける可能性が指摘された。妨害となるピークの有無を確認するため、実際の環境試料（海水）の SCAN 分析を行った。その結果、アセトンが確認された。これが目的物質のピークに比べて著しく大きなピークである場合、溶出時間から考えるとアクリロニトリル、酢酸ビニルが影響を受ける可能性が想定される（図 24）。環境試料で妨害が確認され測定項目の定量に影響がある場合は、タイムプログラムで妨害が溶出する時間帯のデータ採取を一時停止することにより測定項目への影響を回避する必要がある。

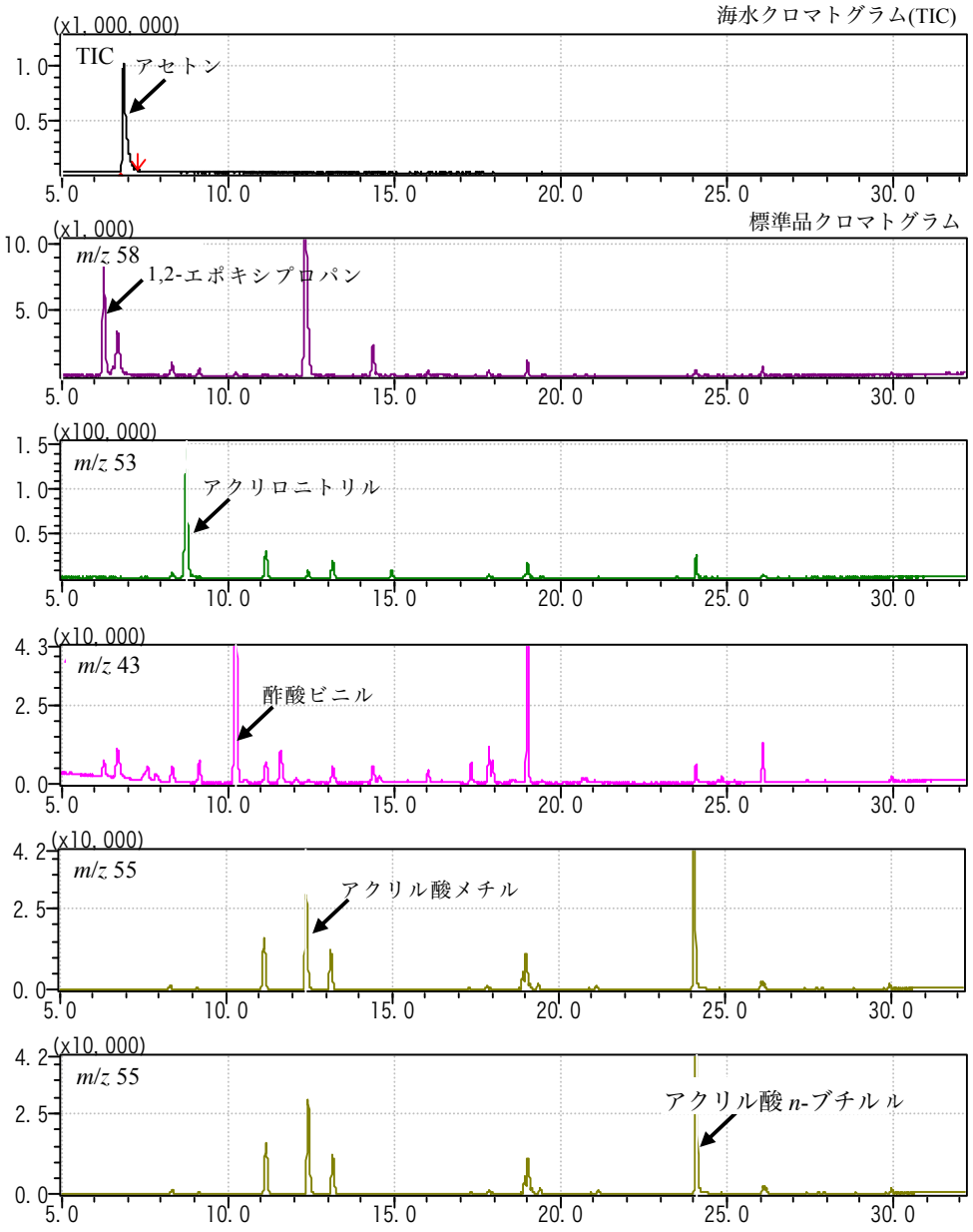


図 24　環境試料（海水）の TIC クロマトグラム及び標準品クロマトグラム

【環境試料の分析】

本法を用いて河川水試料および海水試料を測定した結果、河川水のアクリロニトリルで 0.022 μg/L を検出した他はすべて MDL 未満であった。

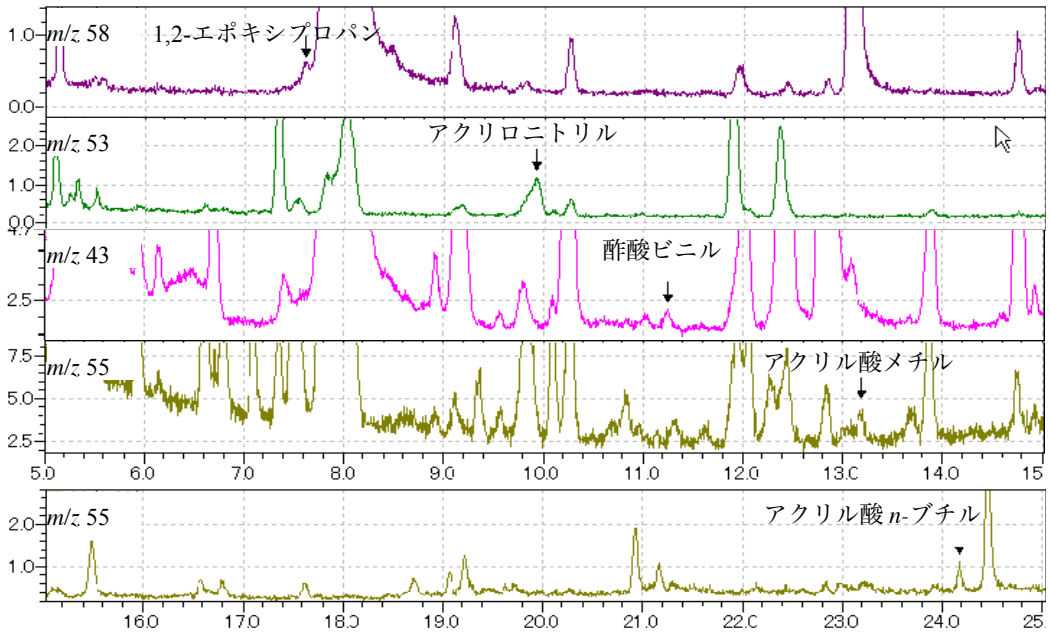


図 25-1　環境試料（河川水）のクロマトグラム

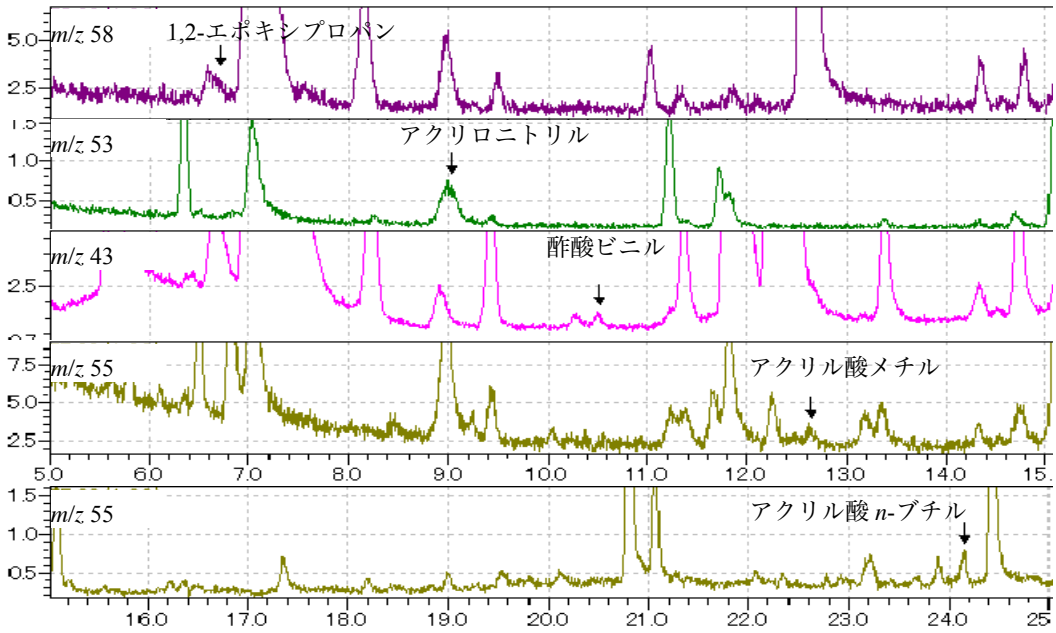


図 25-2　環境試料（海水）のクロマトグラム

【評価】

検量線は、0.005～2.5 μg/L（アクリル酸 *n*-ブチル）、0.0125～2.5 μg/L（アクリル酸メチル、酢酸ビニル）、0.025～2.5 μg/L （アクリロニトリル、1,2-エポキシプロパン）の範囲でいずれも良好な直線性(R^2>0.995)が確認された。IDL は試料換算値濃度で 0.0015 μg/L～0.0094 μg/L、MDL は 0.0066 μg/L～0.019 μg/L であった。河川水及び海水を用いた添加回収試験(n=5)の平均回収率は 89～114%及び 82～118%であった。本法により、アクリル酸 *n*-ブチルで 0.01 μg/L、アクリル酸メチルで 0.01 μg/L、アクリロニトリルで 0.05 μg/L、1,2-エポキシプロパンで 0.05 μg/L 及び酢酸ビニルで 0.01 μg/L の検出レベルで同時分析が可能である。

なお、試料採取は、アスコルビン酸添加、無添加の 2 通りで行うこととし、試料採取後 5 日以内に分析を実施する必要がある。また、すべての項目において操作ブランクが確認されるため、常にブランクに注意を払う必要がある。

【参考文献】

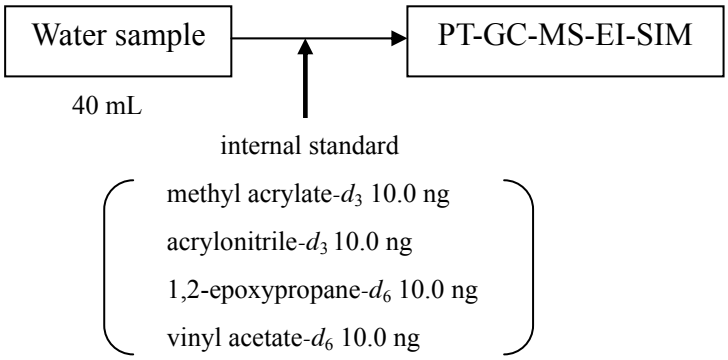
平成12年度 要調査項目等調査マニュアル

【担当者連絡先】

所属先名称　：株式会社島津テクノリサーチ
所属先住所　：〒604-8436　京都市中京区西ノ京下合町1番地
TEL：075-811-3181、FAX：075-821-7837
担当者名　　：伊吹 剛
E-mail　　：t_ibuki00@shimadzu-techno.co.jp

n-Butyl acrylate, Methyl acrylate, Acrylonitrile, 1,2-Epoxypropane and Vinyl acetate

An analytical method for *n*-butyl acrylate, methyl acrylate, acrylonitrile, 1,2-epoxypropane and vinyl acetate in water sample has been developed in this report. No pretreatment is needed in this method because the method is performed by GC-MS with purge and trap (PT-GC-MS). Ten nanograms of internal standards are added to 40 mL of water sample. All the objective compounds described calibration curves which have high correlation values (R^2>0.995). The instrument detection limits (IDLs) are in the range of 0.0015 to 0.0094 μg/L. Similarly, the method detection limits (MDLs) are in the range of 0.0066 to 0.019 μg/L. A recovery test was carried out using river water and sea water. As the results of the recovery test, 89 to 114% (river water) and 82 to 118% (sea water) of target substances were recovered in this method. Therefore, these chemicals can be measured by the reporting method. Since the stability of vinyl acetate is enhanced with the added ascorbic acid, it should be added to water sample when you take a sample. On the other hand, concentration of 1,2-epoxypropane was dramatically decreasing during five days under a condition of ascorbic acid added. Consequently, two different types of water sample, which are ascorbic acid added and not added, are need to be taken in this method. Besides that, measurement should be performed within five days after sampling.



物質名	分析法フローチャート	備考
[1]アクリル酸 *n*-ブチル IUPAC 名：Butyl acrylate 別名：アクリル酸ブチル、ブタン-1-イル=アクリラート [2]アクリル酸メチル 別名：メチル=アクリラート、2-プロペン酸メチル [3]アクリロニトリル 別名：2-プロペンニトリル、シアン化ビニル [4] 1,2-エポキシプロパン IUPAC 名：Methyloxirane 別名：酸化プロピレン [5] 酢酸ビニル 別名:ビニル=アセタート、酢酸ビニルモノマー	【水質】 水質試料 40 mL PT-GC-MS-EI-SIM 内標準添加 アクリル酸メチル-d_3 10 ng アクリロニトリル-d_3 10 ng 1,2-エポキシプロパン-d_6 10 ng 酢酸ビニル-d_6 10 ng	分析原理： PT-GC-MS-EI-SIM 検出下限値： 【水質】(μg/L) [1] 0.0066 [2] 0.0079 [3] 0.019 [4] 0.015 [5] 0.0074 分析条件： 機器 PT： Tekmer 400J GC-MS： 島津 GCMS-2010 カラム： AQUATIC 60 m × 0.25 mm, 1.0 μm

札幌市衛生研究所
［対象媒体：水質］

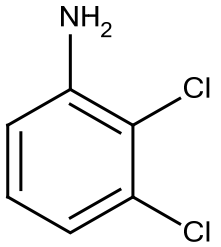
ジクロロアニリン類

Dichloroaniline

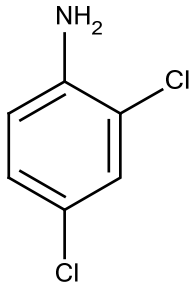
別名：ジクロロベンゼンアミン

Dichlorobenzenamin

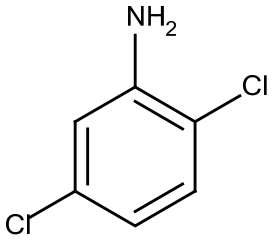
【対象物質の構造】



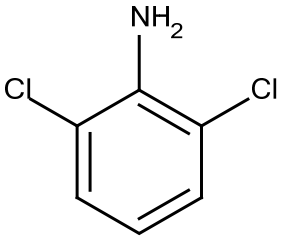
2,3-ジクロロアニリン
(2,3-DCA)
CAS 番号：608-27-5



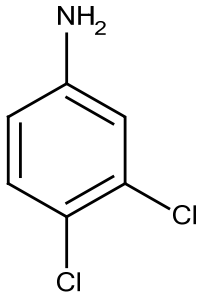
2,4-ジクロロアニリン
(2,4-DCA)
CAS 番号：554-00-7



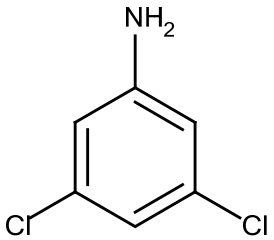
2,5-ジクロロアニリン
(2,5-DCA)
CAS 番号：95-82-9



2,6-ジクロロアニリン
(2,6-DCA)
CAS 番号：608-31-1



3,4-ジクロロアニリン
(3,4-DCA)
CAS 番号：95-76-1



3,5-ジクロロアニリン
(3,5-DCA)
CAS 番号：626-43-7

分子式：$C_6H_5Cl_2N$

【物理化学的性状】[1)]

物質名	2,3-DCA	2,4-DCA	2,5-DCA	2,6-DCA	3,4-DCA	3,5-DCA
分子量	162.02	162.02	162.02	162.02	162.02	162.02
モノアイソトピック質量	160.9799	160.9799	160.9799	160.9799	160.9799	160.9799
融点(°C)[4)]	24	63.5	50	-	71-72	52
沸点(°C)[4)]	252	245	251	-	272	261
比重[5)] (g/cm^3)	-	1.567	1.54	-	1.57	1.58
蒸気圧[5)] (mmHg)	-	0.0075 [0.010 hPa*]	0.0075 [0.010 hPa*]	-	20 hPa (145°C)	0.0212 [0.0282 hPa*]
水溶解度 (mg/L)	-	620	300	-	92 (20°C)	784
log P_{ow}[2)]	2.78	2.78	2.75	-	2.69	-

*：換算値（1 mmHg = 1.33 hPa による。）

【毒性、用途等】

〔毒性〕[6), 7)]

2,3-DCA：（急性毒性） 吸入 4 時間：LD_{50}：>8.047 mg/m^3（ラット）

2,4-DCA：（急性毒性） 経口：LD_{50}：1600 mg/kg（ラット）

2,5-DCA：（急性毒性） 経口：LD_{50}：1600 mg/kg（ラット）
静脈内注射：LD_{50}: 56 mg/kg（マウス）

2,6-DCA：（急性毒性） 経口：LD_{50}：3.167 mg/kg（ラット）

3,4-DCA：（急性毒性） 経口：LD_{50}：740 mg/kg（マウス）、237 mg/kg（トリ）、545 mg/kg（ラット）
経皮：LD_{50}：700 mg/kg（ネコ）
吸入：LC_{L0}：65 mg/m^3(4 hr)（ラット）

3,5-DCA：（急性毒性） 経口：LD_{50}：1035 mg/kg（マウス）
経皮：LD_{50}：1761 mg/kg（ラット）

〔用途〕

2,3-DCA：医薬、農薬、染料中間体

2,4-DCA：染料、顔料中間体

2,5-DCA：染料、顔料中間体

2,6-DCA：医薬、染料、顔料中間体

3,4-DCA：農薬、染料中間体、プロパニル代謝物、トリクロカルバン分解生成物

3,5-DCA：医薬・農薬・染料・顔料原料、ビンクロゾリン代謝物

出典

1) 独立行政法人製品評価技術基盤機構：化学物質総合情報提供システム (CHRIP)
2) IPCS, International Chemical Safety Cards (1989)
3) Verschueren, K., Handbook of EnvironmentaLData on Organic chemicals, 4th *ed*. (2001)
4) CRC Handbook of Chemistry and Physics 84th *ed*.
5) SRC, Syracuse Reseach Corporation(2009): SRC PhysProp Database,
6) TOXNET (http://toxnet.nlm.nih.gov)
7) SIGMA-ALDRICH　MSDS

§1 分　析　法

(1) 分析法の概要

水質試料にサロゲート物質を添加し、固相カートリッジに通水後、0.1 mol/L 水酸化ナトリウム水溶液／メタノール(1:1)で洗浄する。これをアセトンで溶出し、溶出液にアルカリ性塩化ナトリウム水溶液及びヘキサン溶液のシリンジスパイク内標準を加え振とう抽出し、ヘキサン層を分取して脱水後、GC/MS-SIM で定量する。

(2) 試薬・器具

【試薬】

2,3-DCA　：シグマ・アルドリッチ製　農薬代謝物標準品 (99.9%)
2,4-DCA　：シグマ・アルドリッチ製　農薬代謝物標準品 (99.9%)
2,5-DCA　：シグマ・アルドリッチ製　農薬代謝物標準品 (99.9%)
2,6-DCA　：シグマ・アルドリッチ製　農薬代謝物標準品 (99.9%)
3,4-DCA　：シグマ・アルドリッチ製　農薬代謝物標準品 (99.9%)
3,5-DCA　：シグマ・アルドリッチ製　農薬代謝物標準品 (99.9%)
$^{13}C_6$-3,4-ジクロロアニリン　：CIL 製　(99%)
アセナフテン-d_{10}　：和光純薬工業製　標準品 (100%)
アセトン　：和光純薬工業製　残留農薬試験用（5000

	濃縮）
ヘキサン	：関東化学製　残留農薬試験用（5000 倍濃縮）
無水硫酸ナトリウム（注 1）	：和光純薬薬工製　残留農薬試験用
塩化ナトリウム（注 1）	：残留農薬試験用
水酸化ナトリウム	：関東化学製　特級
精製水	：ミリ Q 水（JISK0557(1998) に規定される種別 A4 と同等以上の質のもの）
固相カートリッジ	：Waters 製　Sep-Pak Plus PS-2

【試薬の調製】

〔1 mol/L 水酸化ナトリウム水溶液〕

水酸化ナトリウム 4.0 g を精製水に溶かして 100 mL とする。これを分液ろうとに移し、ヘキサン 30 mL を加え 10 分間振とうし、静置し、水層を使用する。保存中に容器から妨害物質が溶出する可能性があるため用時調製とする。

〔0.1 mol/L 水酸化ナトリウム-10%塩化ナトリウム水溶液〕

1 mol/L 水酸化ナトリウム水溶液 50 mL と塩化ナトリウム 50 g に精製水を加えて 500 mL とする。

〔0.1 mol/L 水酸化ナトリウム水溶液／メタノール(1:1)（PS2 洗浄液）〕

1 mol/L 水酸化ナトリウム水溶液 5 mL に精製水を加えて 50 mL とし、メタノール 50 mL を混合する。

【標準液の調製】

〔標準原液〕

ジクロロアニリン類各異性体の標準品 10.0 mgを正確に量り取り、メタノールで10 mLとして 1.00 mg/mLの標準原液を調製する。

〔サロゲート標準液〕

$^{13}C_6$-3,4-ジクロロアニリンの標準品 1.00 mg をメタノール 10.0 mL として 100 μg/mL のサロゲート標準原液を調製する。サロゲート標準原液 をアセトンで適宜希釈して 100 ng/mL のサロゲート標準液を調製する。なお、サロゲートは回収率の確認用に使用し、定量には使用しない。サロゲート回収率は、50%～70%であったが、損失の主な理由はヘキサン抽出に由来した。他の異性体については 3,4-DCA より抽出効率が良いため、サロゲート回収率はすべての異性体の前処理操作全体の最低回収率の目安となる。

H25年度調査時、本法では、市販安定同位体のある 3,4-DCAはヘキサン抽出での回収率が50 ～70%程度と悪く、他物質は良好のため、サロゲート($^{13}C_6$-3,4-DCA)の回収率は最低回収率の目安としてのみ使用するとされていることに留意が必要。

★サロゲートは、検量線作成時はヘキサン抽出後に、試料等測定ではヘキサン抽出前に添加されている。

検量線作成時は 3,4-DCAがヘキサン抽出で減少した後にサロゲートが添加され、サロゲートはヘキサン抽出での3,4-DCA減少の影響を受けない(3,4-DCAは減るが、$^{13}C_6$-3,4-DCAは減らない)が、試料測定時は、試料にサロゲート添加した後にヘキサン抽出されているので、サロゲートはヘキサン抽出での3,4-DCA減少の影響を受ける(3,4-DCAも、$^{13}C_6$-3,4-DCAも共に減る)。
★ヘキサン抽出は、シリンジスパイク内標準液 1mL (ヘキサン溶液)が抽出溶媒である。(2014年度精査等検討会コメント)

〔シリンジスパイク内標準液〕

アセナフテン-d_{10} の標準品 10.0 mg を正確に量り取り、ヘキサンで 10 mL として 1.00 mg/mL のシリンジスパイク内標準原液を調製する。シリンジスパイク内標準原液をヘキサンで適宜希釈して 10.0 ng/mL のシリンジスパイク内標準液を調製する。

〔検量線用標準液〕

標準原液をアセトンで希釈し、各異性体の濃度が 1.00 μg/mL の混合標準液を調製する（混合標準液の保存期限は 2 か月とする）。この混合標準液をアセトンで希釈して 0.25～5.0 ng/mL の標準液を調製し、各標準液 2.0 mL を共栓目盛付遠沈管に分取する。これに 0.1 mol/L 水酸化ナトリウム-10% 塩化ナトリウム水溶液 8 mL、及びシリンジスパイク内標準液 1.0 mL を正確に加えた後 30 秒間激しく振り混ぜる。10 分以上静置した後、ヘキサン層 0.6 mL を無水硫酸ナトリウム約 0.3 g 入りのスピッツ管に移して攪拌する。そのうち 0.2 mL を正確に分取し、あらかじめサロゲート標準液 4.0 μL（0.4 ng 相当）を添加したインサート管付バイアル瓶に移し、検量線用標準液とする。

【器具】

メスシリンダー、ホールピペット(1 mL)、メスフラスコ、メスフラスコ、駒込ピペット、リザーバー(10 mL)、共栓目盛付遠沈管(10 mL)、スピッツ管（10 mL、NRK 製）（注 1）、マイクロシリンジ、インサート管（200 μL、脚なし）（注 2）

マイクロピペット　：ポリプロピレンチップ　エッペンドルフ製
Sep-Pak コンセントレーター　：Waters 製
バキュームマニホールド　：Waters 製

(3) 分析法

【試料の採取及び保存等】

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）の「試料の採取及び検体の調製等」に従って採取する。明所での濃度低下があり、また、ポリプロピレン容器から妨害物質が溶出するため、水質試料は褐色ガラス容器で保存する。生物による分解を受けることがあるため、遅くとも採水から 3 日以内に前処理を行う。

【試料の前処理及び試験液の調製】

水質試料 200 mL にサロゲート標準液(100 ng/mL) を 20 μL 添加し、あらかじ

めヘキサン 5 mL、アセトン 5 mL、メタノール 5 mL、精製水 20 mL でコンディショニングした固相カートリッジに 10 mL/min で通水し、容器を精製水 20 mL で洗いこみ、洗液も同様に通水する。通水終了後の固相カートリッジをバキュームマニホールドで 1～2 分間通気吸引して水を除いた後、0.1 mol/L 水酸化ナトリウム水溶液／メタノール(1:1) 2 mL を通液してカートリッジを洗浄する。再度 1～2 分間通気吸引して水を除いた後、共栓目盛付遠沈管の目盛りで 2 mL までアセトンで溶出する。溶出液に 0.1 mol/L 水酸化ナトリウム-10% 塩化ナトリウム水溶液 8 mL を添加し、シリンジスパイク内標準液(10.0 ng/mL) 1 mL を正確に加えた後 30 秒間激しく振り混ぜる。10 分以上静置した後（注 3)、ヘキサン層 0.6 mL をあらかじめ無水硫酸ナトリウム約 0.3 g を入れたスピッツ管にマイクロピペット等を用いて移し攪拌し、そのうち 0.2 mL をインサート管付バイアル瓶に移して試験液とする。

【空試験液の調製】

試料水と同量の精製水を用い、**【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。

【測定】

〔GC/MS 測定条件〕

GC/MS 機器	：GC；6890 (Agilent)、MS；5973 (Agilent)
カラム	：スペルコ製 SUPELCOWAX 10 15 m×0.25 mm, 0.25 μm
昇温条件	：50°C (1min) → 20°C /min → 100°C(0min) → 5°C /min → 200°C (0min) → 20°C /min → 270°C(1min)
注入法	：スプリットレス（パージ開始時間 1.5 min）
注入口温度	：230°C
キャリヤーガス	：He (1.9 mL/min) ｺﾝｽﾀﾝﾄﾌﾛｰ平均線速度 71 cm/sec
試料注入量	：2 μL
インターフェース温度	：270°C
イオン源温度	：200°C
四重極温度	：150°C
イオン化法	：EI
イオン化電圧	：70 eV
測定モード	：SIM
モニターイオン	：ジクロロアニリン各異性体 （定量）*m/z* 161 （確認）*m/z* 163

：アセナフテン-d_{10} （定量）*m/z* 164
：$^{13}C_6$-3,4-ジクロロアニリン（定量）*m/z* 167

〔検量線〕

検量線用標準液 2 μL を GC/MS に注入して分析する。対象物質とシリンジスパイク内物質の濃度比と得られた対象物質のピーク面積とシリンジスパイク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〕

試験液 2 μL を GC/MS に注入して分析する。得られた対象物質のピーク面積とシリンジスパイク内標準のピーク面積の比を検量線に照らして定量する。MDL 以上の対象物質を検出した時には、確認イオンにより対象物質かどうかの確認を行い、必要に応じて〔**検出される場合の確認方法**〕の GC/MS 条件で再度分析し確認を行う。もしくは、高分解能 GC/MS（*m/z* 160.9799 及び 162.9770）で分析を行い、確認を行う。

〔濃度の算出〕

試料水中濃度 *C* (ng/L) は次式により算出する。

$C = R \cdot Q/V$

R : 検量線から求めたシリンジスパイク内標準濃度に対する対象物質濃度の比

Q : 試料中に添加したシリンジスパイク内標準の量 (ng)
（= 添加するシリンジスパイク内標準の濃度 (ng/mL) × 添加するシリンジスパイク内標準の容量 (mL)）

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。

$Q = 10.0$ (ng)
（= 添加シリンジスパイク内標準の濃度 (10.0 ng/mL) × 添加シリンジスパイク内標準の容量 (1.00 mL)）

$V = 0.200$ (L)

即ち、

$C = R \times 50$ (ng/L)

である。

〔サロゲート回収率の算出〕

「検量線用標準液の $^{13}C_6$-3,4-ジクロロアニリン(2.00 ng/mL)のピーク面積」／「アセナフテン-d_{10}(10.0 ng/mL) のピーク面積」の比を 100 とし、「試験液の $^{13}C_6$-3,4-ジクロロアニリンのピーク面積」／「アセナフテン-d_{10} のピーク面積」の比からサロゲート回収率を算出する。

〔装置検出下限値(IDL)〕

本分析に用いた GC/MS の IDL を表 1 に示す（注 4）。

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)
2,6-DCA	0.055	0.20	1	0.27
2,4-DCA	0.064	0.20	1	0.32
2,5-DCA	0.054	0.20	1	0.27
2,3-DCA	0.083	0.20	1	0.42
3,5-DCA	0.094	0.20	1	0.47
3,4-DCA	0.20	0.20	1	0.98

〔測定方法の検出下限値(MDL) 及び定量下限値(MQL)〕

本測定方法における MDL 及び MQL を表 2 に示す（注 5）。

表 2　MDL 及び MQL の算出結果

物質名	試料	試料量 (L)	最終液量 (mL)	MDL (ng/L)	MQL (ng/L)
2,6-DCA	河川水	0.20	1	1.5	3.9
2,4-DCA	河川水	0.20	1	0.50	1.3
2,5-DCA	河川水	0.20	1	1.8	4.7
2,3-DCA	河川水	0.20	1	3.1	7.9
3,5-DCA	河川水	0.20	1	0.54	1.4
3,4-DCA	河川水	0.20	1	2.6	6.6

注　解

（注 1）ヘキサン洗浄したものを用いる。

（注 2）350°C で 1 時間以上加熱したものを用いる。

（注 3）エマルジョンが生成した場合は、2500 rpm で 5 分以上遠心分離する。

（注 4）IDL は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」（平成 21 年 3 月）従って表 3 のとおり算出した。クロマトグラムを図 1 に示す。

表 3　IDL の算出結果

物質名	2,6-DCA	2,4-DCA	2,5-DCA	2,3-DCA	3,5-DCA	3,4-DCA
試料量 (L)	0.200	0.200	0.200	0.200	0.200	0.200
最終液量 (mL)	1	1	1	1	1	1
注入液濃度 (ng/mL)	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500
注入量 (μL)	2	2	2	2	2	2
結果 1 (ng/mL)	0.523	0.509	0.488	0.461	0.452	0.509
結果 2 (ng/mL)	0.494	0.516	0.496	0.522	0.461	0.447
結果 3 (ng/mL)	0.502	0.515	0.512	0.510	0.505	0.555
結果 4 (ng/mL)	0.493	0.531	0.508	0.511	0.434	0.554
結果 5 (ng/mL)	0.514	0.481	0.485	0.513	0.459	0.490
結果 6 (ng/mL)	0.489	0.496	0.511	0.486	0.441	0.507
結果 7 (ng/mL)	0.485	0.498	0.477	0.487	0.480	0.421
平均値 (ng/mL)	0.5006	0.5072	0.4973	0.4991	0.4621	0.4980
標準偏差 (ng/mL)	0.0140	0.0164	0.0139	0.0214	0.0242	0.0505
IDL (ng/mL) *	0.055	0.064	0.054	0.083	0.094	0.20
IDL 試料換算値 (ng/L)	0.27	0.32	0.27	0.42	0.47	0.98
S/N 比	8.7	12	9.9	7.9	7.7	6.2
CV (%)	2.8	3.2	2.8	4.3	5.2	10.1

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

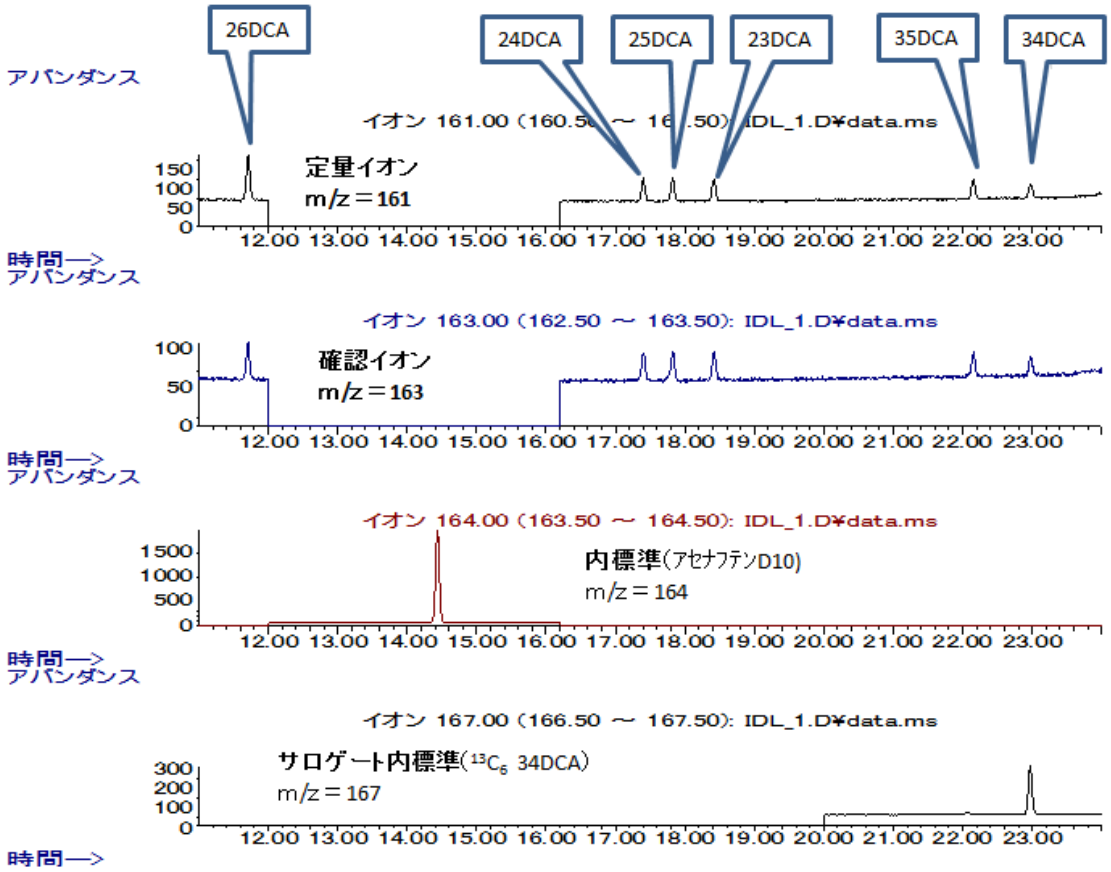


図 1　IDL 測定各異性体 0.5 ng/mL のクロマトグラム

（注 5）MDL は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」（平成 21 年 3 月）従って表 4 のとおり算出した。クロマトグラムを図 2 に示す。2,5-DCA は、試料由来の妨害ピークとベースラインで分離しないが、保持時間の差から識別可能である。2,6-DCA は検量線ブランク(0 ng/mL) にピークを検出した。

表 4　MDL 及び MQL の算出結果

物質名	2,6-DCA	2,4-DCA	2,5-DCA	2,3-DCA	3,5-DCA	3,4-DCA
試料	河川水	河川水	河川水	河川水	河川水	河川水
試料量(L)	0.200	0.200	0.200	0.200	0.200	0.200
標準添加量(ng)	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
試料換算濃度(ng/L)	10	10	10	10	10	10
最終液量 (mL)	1	1	1	1	1	1
注入液濃度 (ng/mL)	2	2	2	2	2	2
注入量 (μL)	2	2	2	2	2	2
操作ブランク平均 (ng/L) [*1]	ND	ND	ND	ND	ND	ND (70)
無添加試料(ng/L) [*2]	ND	ND	ND	ND	ND	ND (69)
結果 1 (ng/L)	9.72	9.91	10.4	9.05	9.16	11.0 (72)
結果 2 (ng/L)	9.20	10.2	10.8	8.26	9.38	11.3 (73)
結果 3 (ng/L)	8.89	10.1	11.1	8.82	9.54	11.4 (75)
結果 4 (ng/L)	9.08	10.0	10.6	9.04	9.28	11.4 (73)
結果 5 (ng/L)	9.88	10.2	9.94	8.33	9.47	11.5 (72)
結果 6 (ng/L)	9.83	10.3	10.6	10.62	9.27	11.0 (72)
結果 7 (ng/L)	9.33	10.2	11.4	9.38	9.49	12.9 (73)
平均値 (ng/L)	9.417	10.12	10.69	9.072	9.370	11.49(72.6)
標準偏差 (ng/L)	0.392	0.128	0.472	0.793	0.140	0.657
MDL (ng/L) [*3]	1.5	0.50	1.8	3.1	0.54	2.6
MQL (ng/L) [*4]	3.9	1.3	4.7	7.9	1.4	6.6
S/N 比	16	15	17	15	25	12
CV (%)	4.2	1.3	4.4	8.7	1.5	5.7

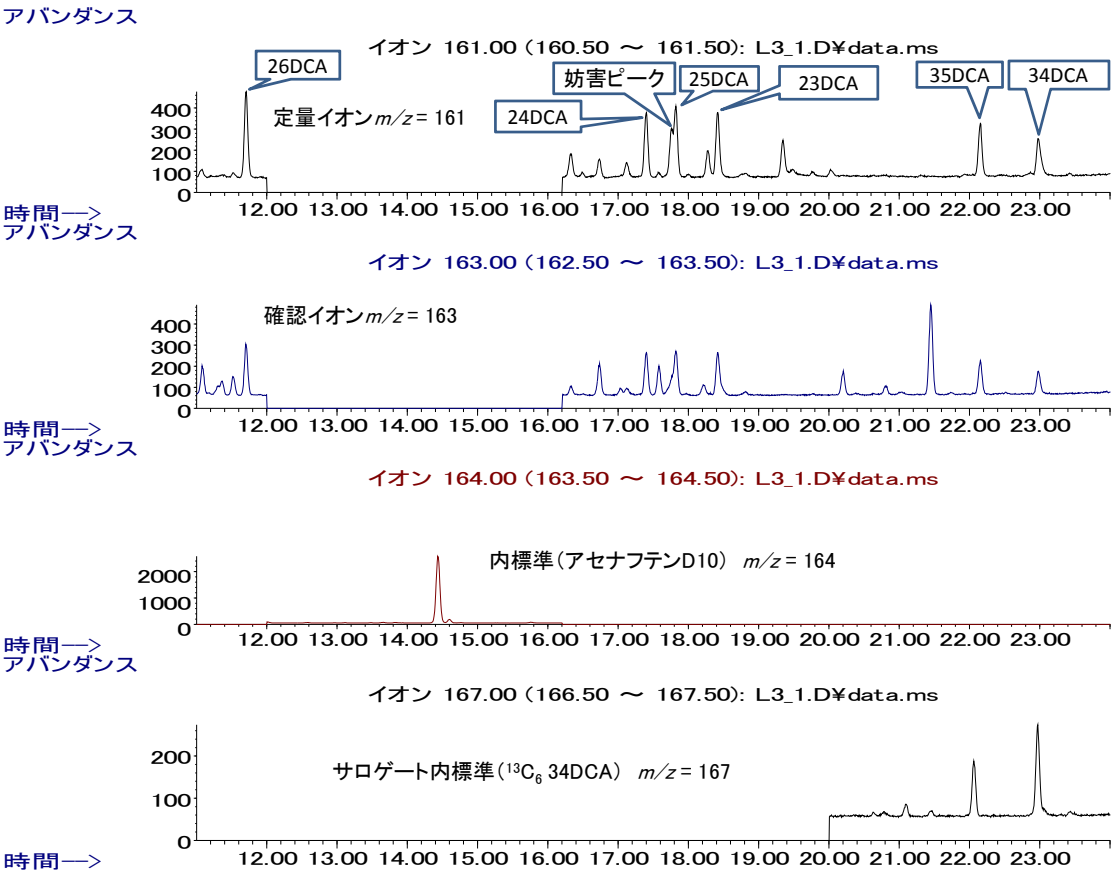
*1:試料マトリクスのみがない状態で他は同様の操作を行い測定した値の平均値　(n=4)

*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 (n =1)

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

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

*5:操作ﾌﾞﾗﾝｸ平均から平均値までの濃度の横の括弧内の数値はサロゲート回収率(%)を示す。



17～19 **分の拡大**

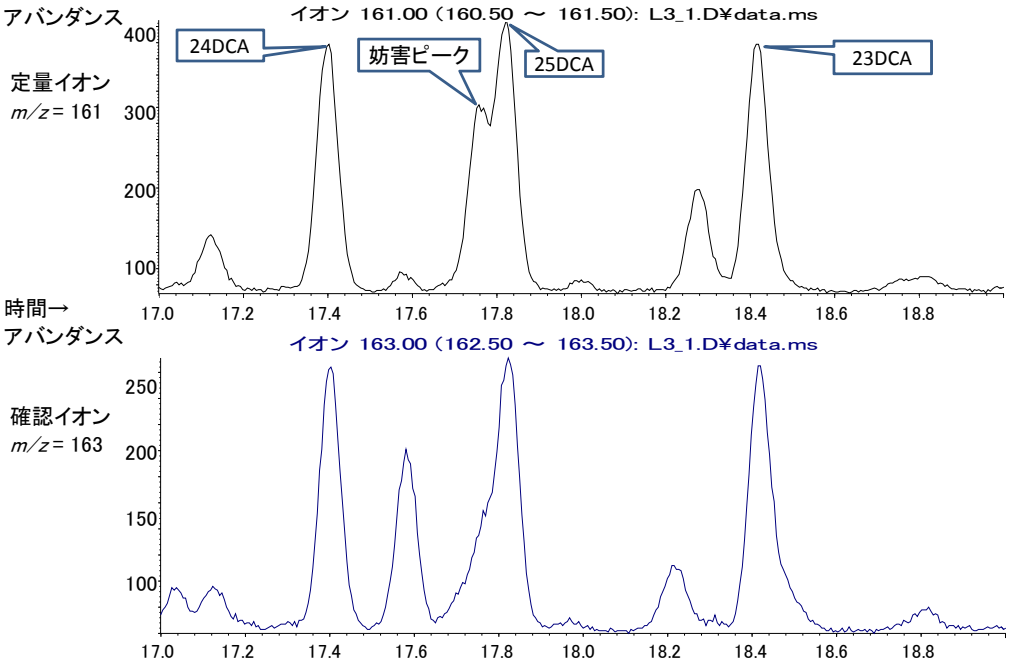


図 2　MDL 測定時のクロマトグラム

§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 3 に示す。

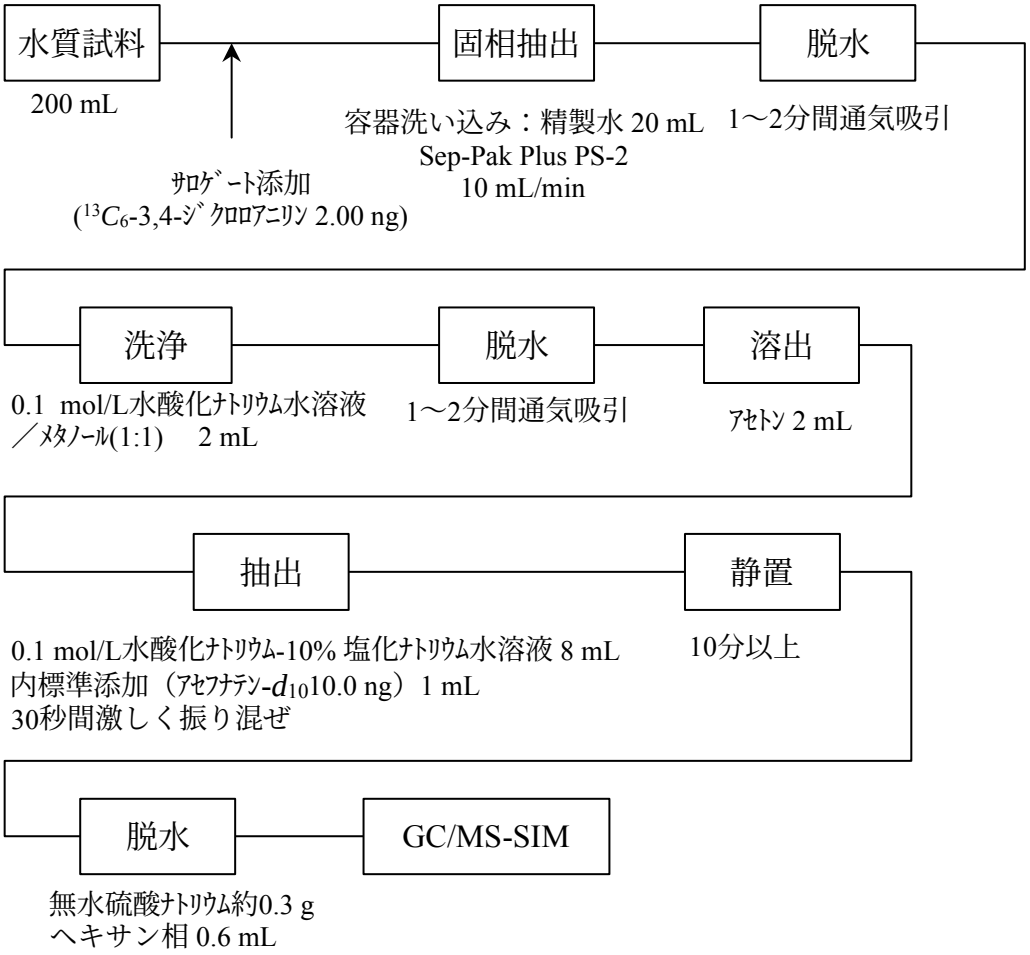


図 3　分析法のフローチャート

〔検量線〕

検量線用標準液の調製方法により作成した検量線データを表 5-1～5-6 に、グラフを図 4-1～4-12 に示す。

表 5-1　2,6－ジクロロアニリンの検量線データ

標準液濃度 (ng/mL) (C_s)	応答値		応答比 (A_s/A_{is})
	対象物質(A_s) (m/z 161)	ｼﾘﾝｼﾞｽﾊﾟｲｸ 内標準(A_{is}) ｱｾﾌﾀﾃﾝ-d_{10} (m/z 164)	
0	1644	82407	
0.50	4603	84030	0.0548
1.00	7540	78419	0.0962
2.00	13318	87023	0.1530
5.00	28234	76794	0.3677
10.0	56108	79571	0.7051
20.0	119601	84098	1.4222
50.0	278554	80769	3.4488
100	623264	85497	7.2899
200	1119147	77292	14.4795

*：シリンジスパイク内標準：10.0 ng/mL

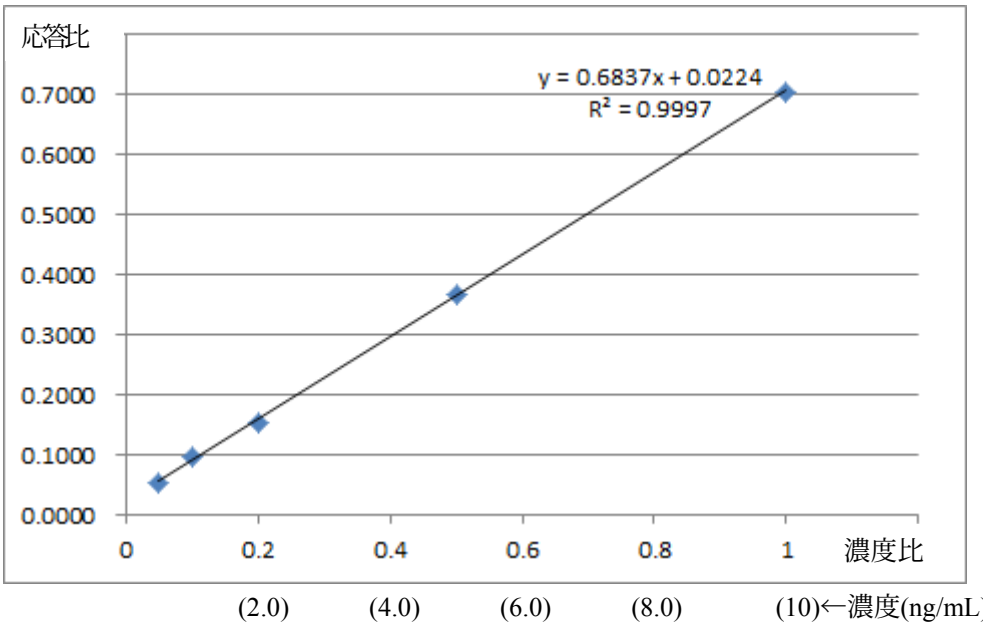


図 4-1　2,6-ジクロロアニリンの検量線
（対象物質濃度：0.5~10 ng/mL）

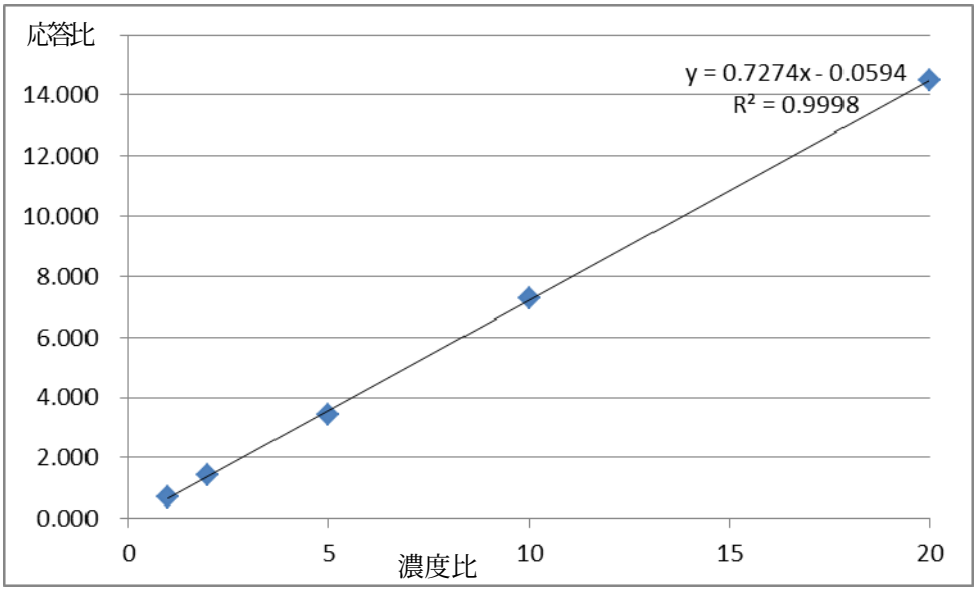


図 4-2　2,6-ジクロロアニリンの検量線
（対象物質濃度：10~200 ng/mL）

表 5-2　2,4－ジクロロアニリンの検量線データ

標準液濃度 (ng/mL) (C_s)	応答値		応答比 (A_s/A_{is})
	対象物質(A_s) (m/z 161)	ｼﾘﾝｼﾞｽﾊﾟｲｸ 内標準(A_{is}) ｱｾﾌﾀﾃﾝ-d_{10} (m/z 164)	
0		82407	
0.50	2319	84030	0.0276
1.00	4489	78419	0.0572
2.00	9636	87023	0.1107
5.00	21405	76794	0.2787
10.0	44334	79571	0.5572
20.0	96750	84098	1.1504
50.0	231980	80769	2.8721
100	526156	85497	6.1541
200	959227	77292	12.4104

*：シリンジスパイク内標準：10.0 ng/mL

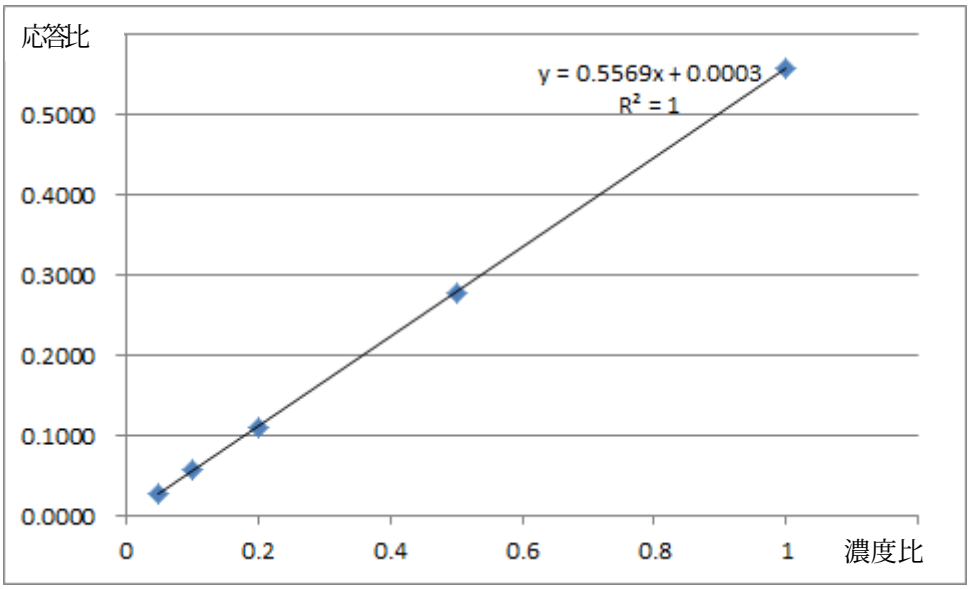


図 4-3　2,4-ジクロロアニリンの検量線
（対象物質濃度：0.5~10 ng/mL）

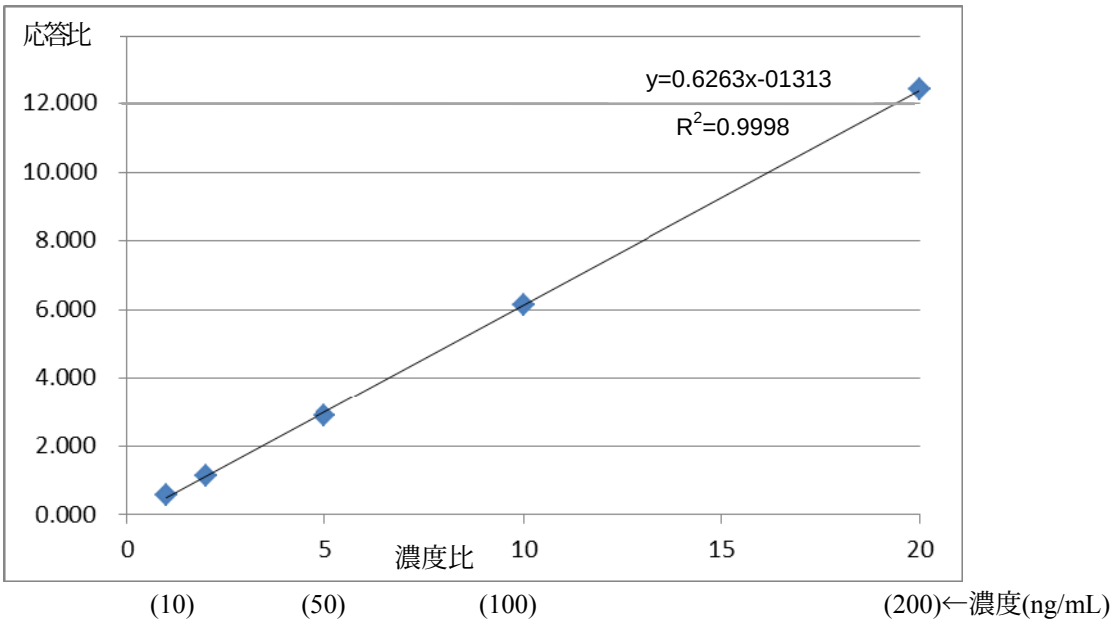


図 4-4　2,4-ジクロロアニリンの検量線
（対象物質濃度：10~200 ng/mL）

表 5-3　2,5－ジクロロアニリンの検量線データ

標準液濃度 (ng/mL) (C_s)	応答値		応答比 (A_s/A_{is})
	対象物質(A_s) (m/z 161)	ｼﾘﾝｼﾞｽﾊﾟｲｸ 内標準(A_{is}) ｱｾﾌﾀﾃﾝ-d_{10} (m/z 164)	
0		82407	
0.50	2439	84030	0.0290
1.00	4567	78419	0.0582
2.00	9609	87023	0.1104
5.00	21105	76794	0.2748
10.0	43880	79571	0.5515
20.0	95408	84098	1.1345
50.0	225974	80769	2.7978
100	526956	85497	6.1634
200	960347	77292	12.4249

*：シリンジスパイク内標準：10.0 ng/mL

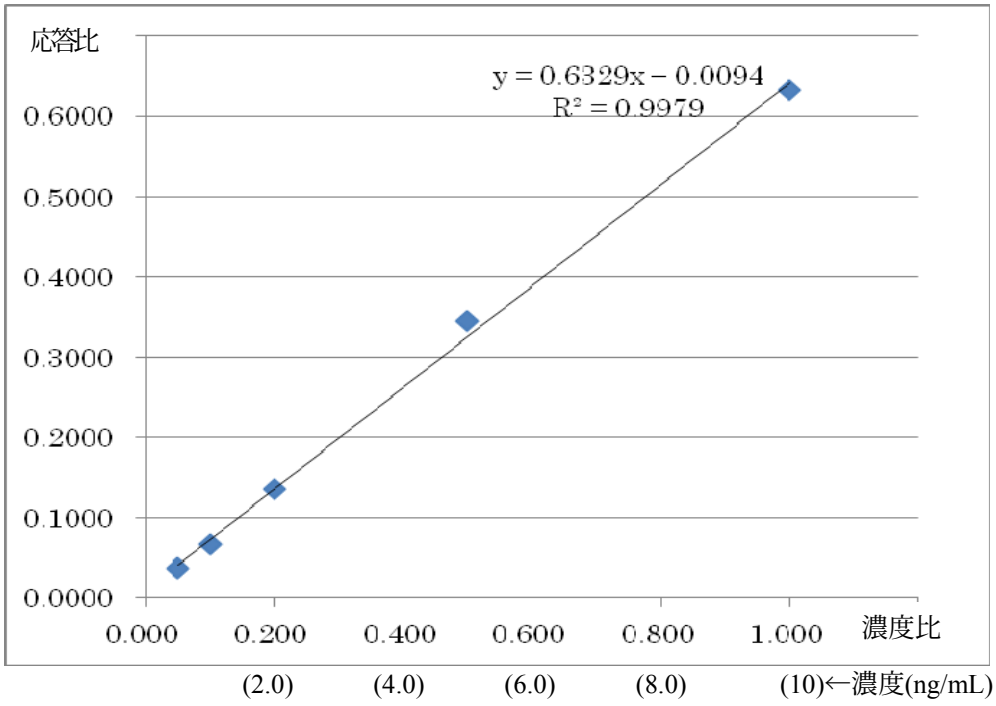


図 4-5　2,5-ジクロロアニリンの検量線
（対象物質濃度：0.5~10 ng/mL）

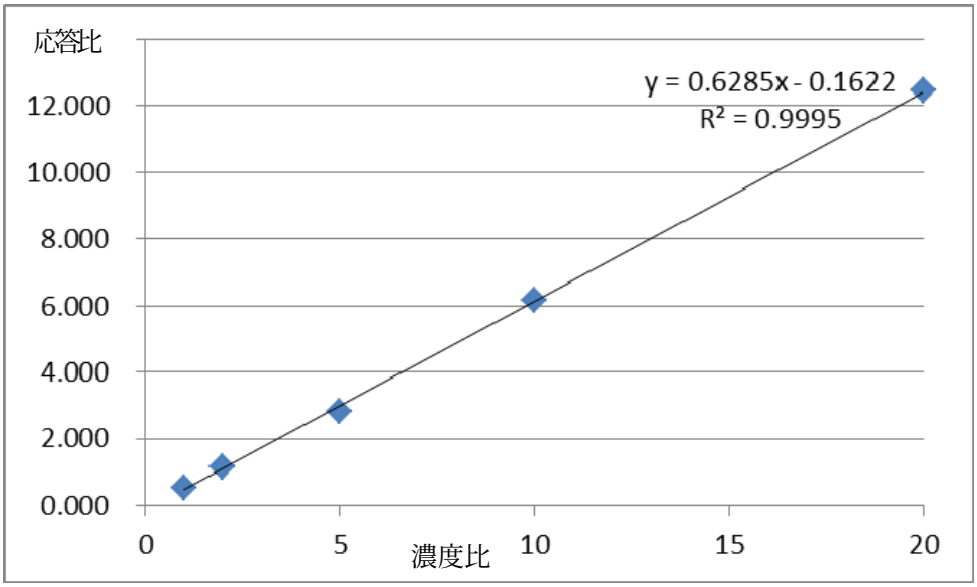


図 4-6　2,5-ジクロロアニリンの検量線
（対象物質濃度：10~200 ng/mL）

表 5-4　2,3－ジクロロアニリンの検量線データ

標準液濃度 (ng/mL) (C_s)	応答値		応答比 (A_s/A_{is})
	対象物質(A_s) (m/z 161)	ｼﾘﾝｼﾞｽﾊﾟｲｸ 内標準(A_{is}) ｱｾﾌﾀﾃﾝ-d_{10} (m/z 164)	
0		82407	
0.50	2498	84030	0.0297
1.00	4573	78419	0.0583
2.00	10078	87023	0.1158
5.00	22210	76794	0.2982
10.0	46114	79571	0.5795
20.0	100880	84098	1.1996
50.0	242986	80769	3.0084
100	549226	85497	6.4239
200	999007	77292	12.9251

*：シリンジスパイク内標準：10.0 ng/mL

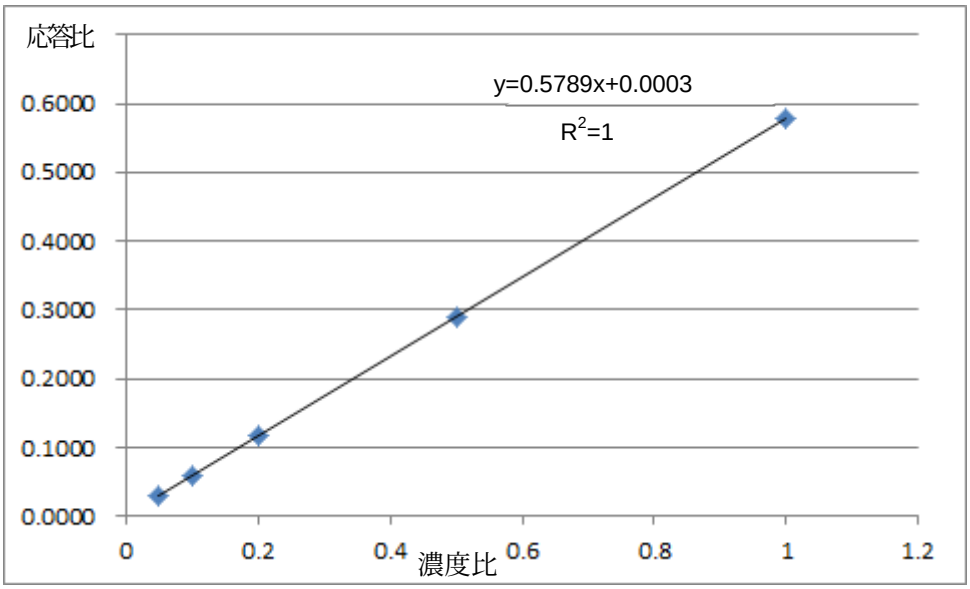


図 4-7　2,3-ジクロロアニリンの検量線
（対象物質濃度：0.5~10 ng/mL）

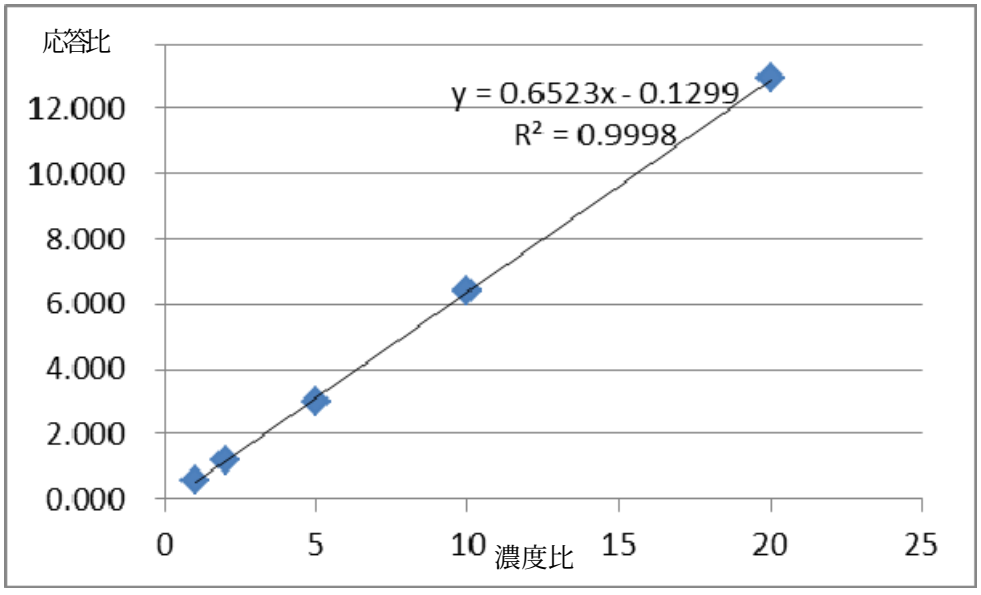


図 4-8　2,3-ジクロロアニリンの検量線
（対象物質濃度：10~200 ng/mL）

表 5-5　3,5－ジクロロアニリンの検量線データ

標準液濃度 (ng/mL) (C_s)	応答値		応答比 (A_s/A_{is})
	対象物質(A_s) (m/z 161)	ｼﾘﾝｼﾞｽﾊﾟｲｸ 内標準(A_{is}) ｱｾﾌﾀﾃﾝ-d_{10} (m/z 164)	
0		82407	
0.50	2967	84030	0.0353
1.00	3938	78419	0.0502
2.00	8193	87023	0.0941
5.00	18124	76794	0.2360
10.0	37765	79571	0.4746
20.0	82192	84098	0.9773
50.0	196389	80769	2.4315
100	441307	85497	5.1617
200	805176	77292	10.4173

*：シリンジスパイク内標準：10.0 ng/mL

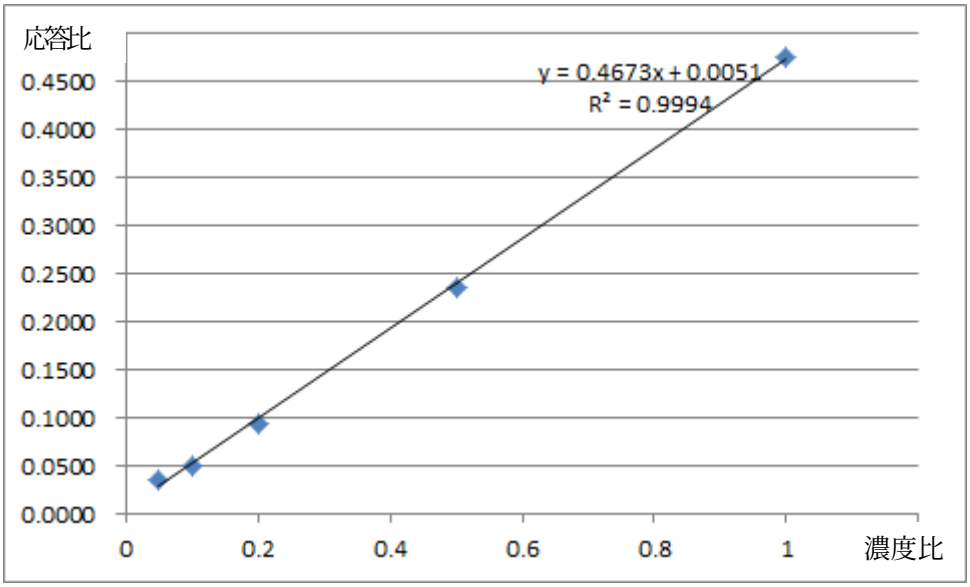


図 4-9　3,5-ジクロロアニリンの検量線
（対象物質濃度：0.5~10 ng/mL）

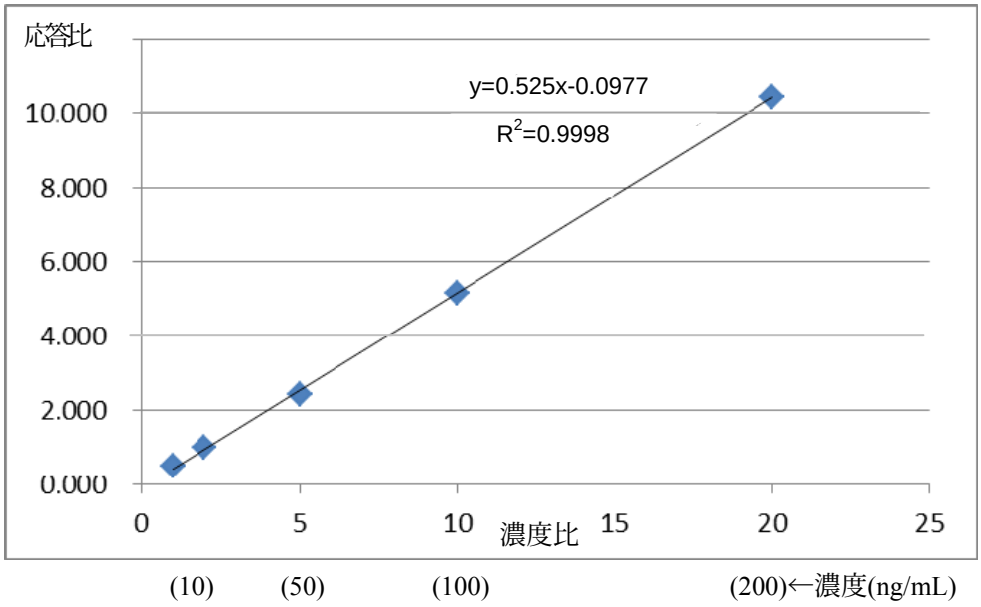


図 4-10　3,5-ジクロロアニリンの検量線
（対象物質濃度：10~200 ng/mL）

表 5-6　3,4－ジクロロアニリンの検量線データ

標準液濃度 (ng/mL) (C_s)	応答値			応答比 (A_s/A_{is})
	対象物質(A_s) (m/z 161)	ｼﾘﾝｼﾞｽﾊﾟｲｸ 内標準(A_{is}) ｱｾﾌﾀﾃﾝ-d_{10} (m/z 164)	ｻﾛｹﾞｰﾄ $^{13}C_6$-3,4-DCA (m/z 167)	
0		82407	10073	
0.50	1794	84030	10753	0.0213
1.00	2833	78419	9993	0.0361
2.00	5827	87023	10640	0.0670
5.00	13139	76794	9268	0.1711
10.0	26767	79571	9629	0.3364
20.0	58898	84098	9980	0.7003
50.0	141960	80769	9894	1.7576
100	313056	85497	10221	3.6616
200	579216	77292	9814	7.4551

*：シリンジスパイク内標準：10.0 ng/mL

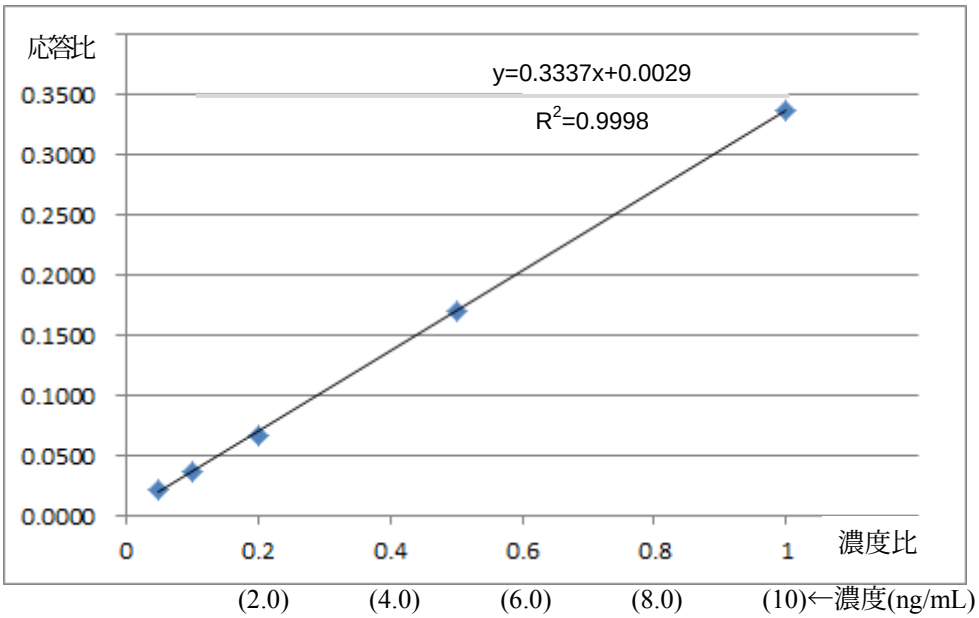


図 4-11　3,4-ジクロロアニリンの検量線
（対象物質濃度：0.5~10 ng/mL）

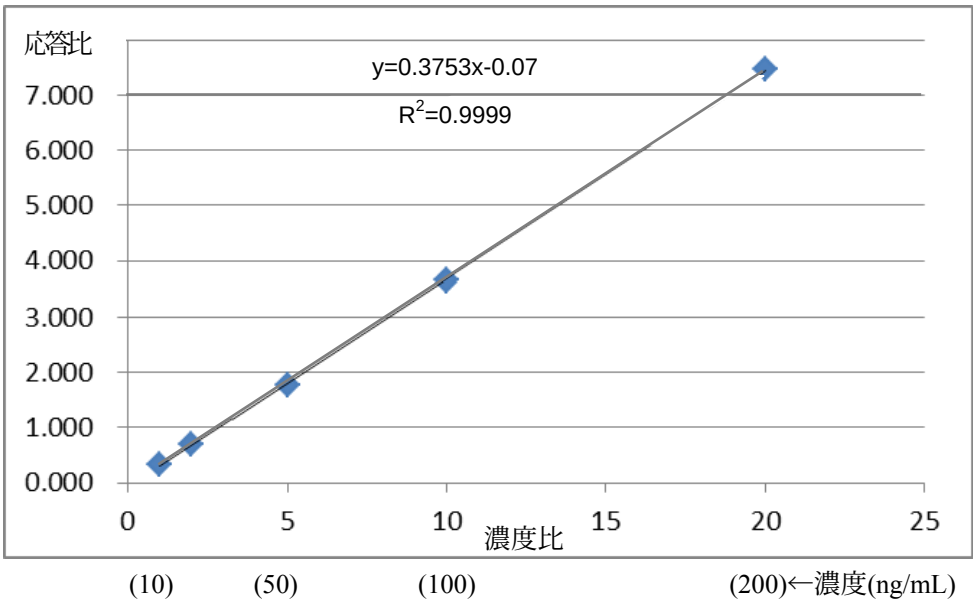


図 4-12　3,4-ジクロロアニリンの検量線
（対象物質濃度：10~200 ng/mL）

〔クロマトグラム〕

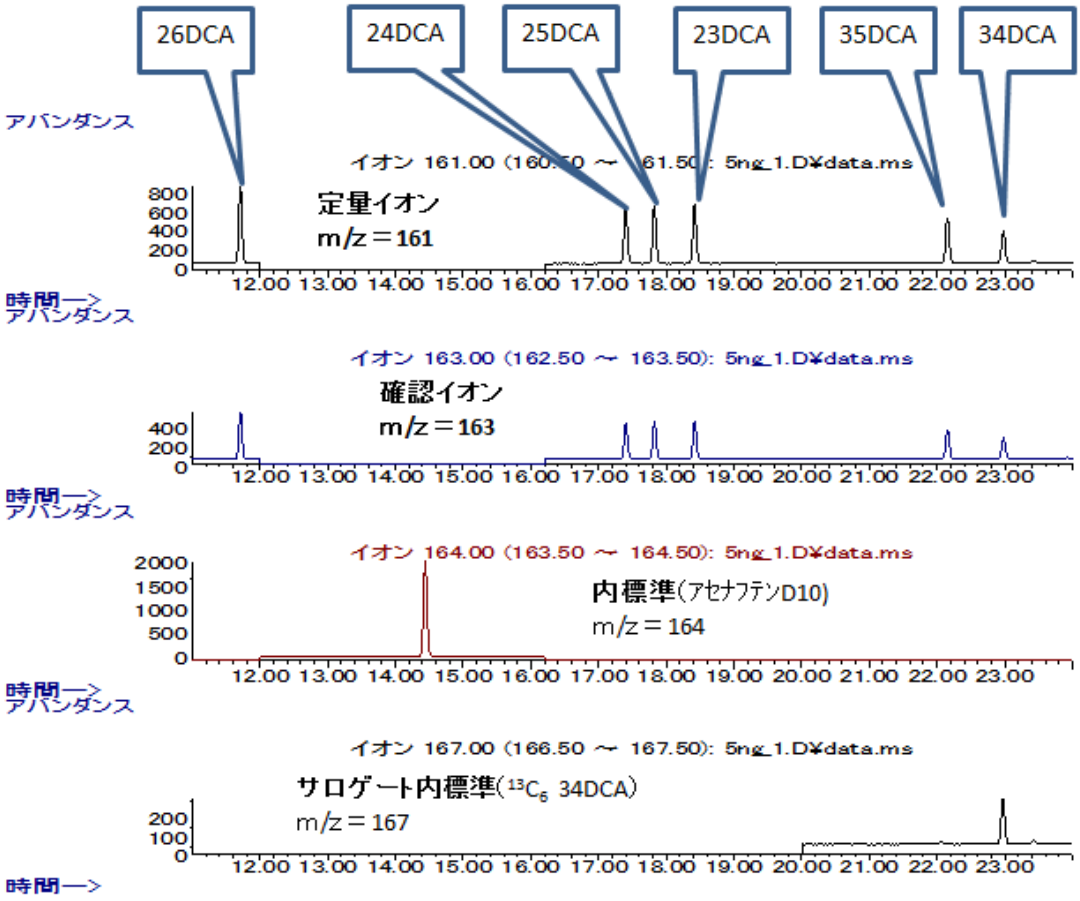


図 5　検量線中間濃度(5.00 ng/mL) のマスイオンクロマトグラム

〔マススペクトル〕

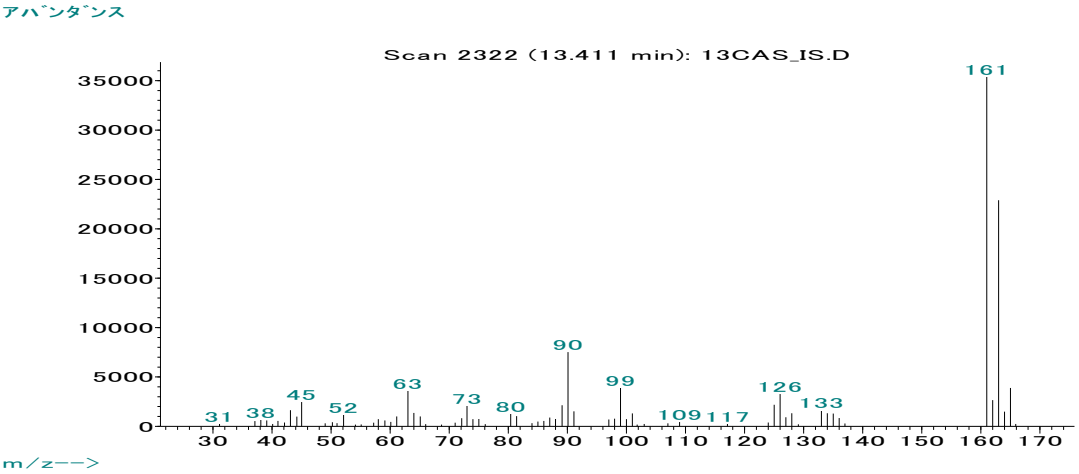


図 6　2,3-DCA のマススペクトル (2 μg/mL)

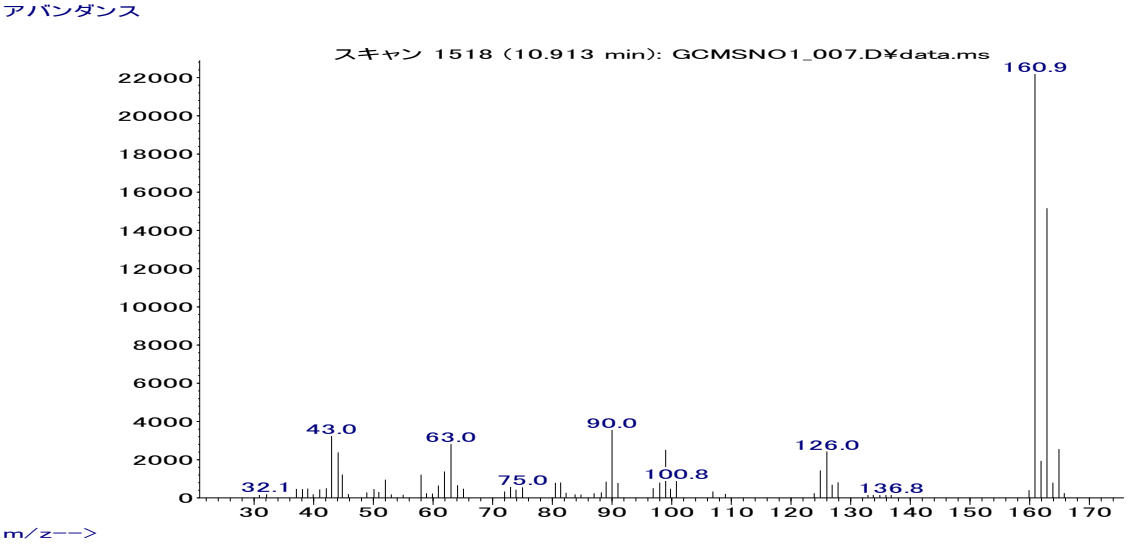


図 7　2,4-DCA のマススペクトル (2 μg/mL)

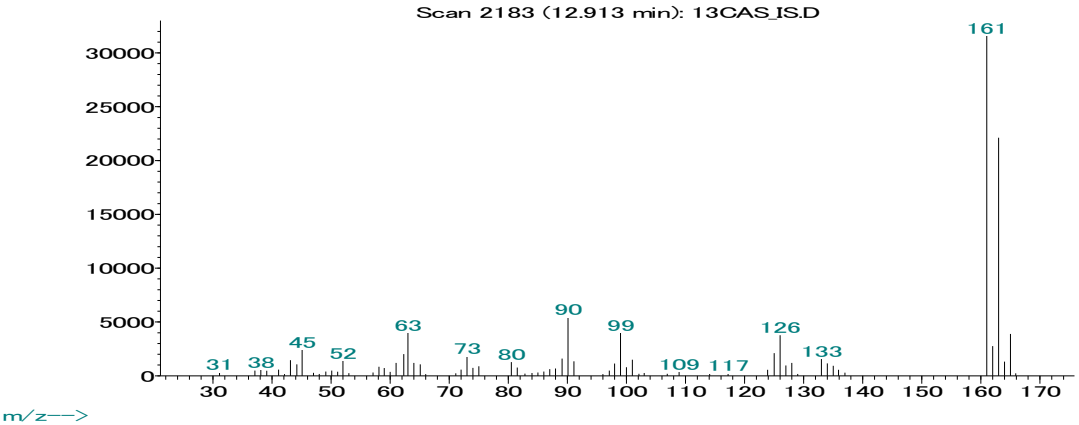


図 8　2,5-DCA のマススペクトル (2 μg/mL)

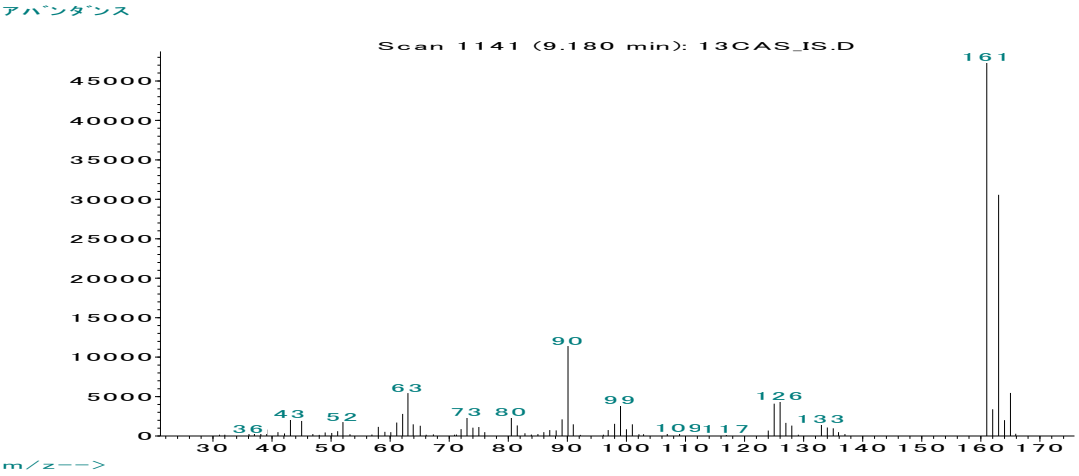


図 9　2,6-DCA のマススペクトル (2 μg/mL)

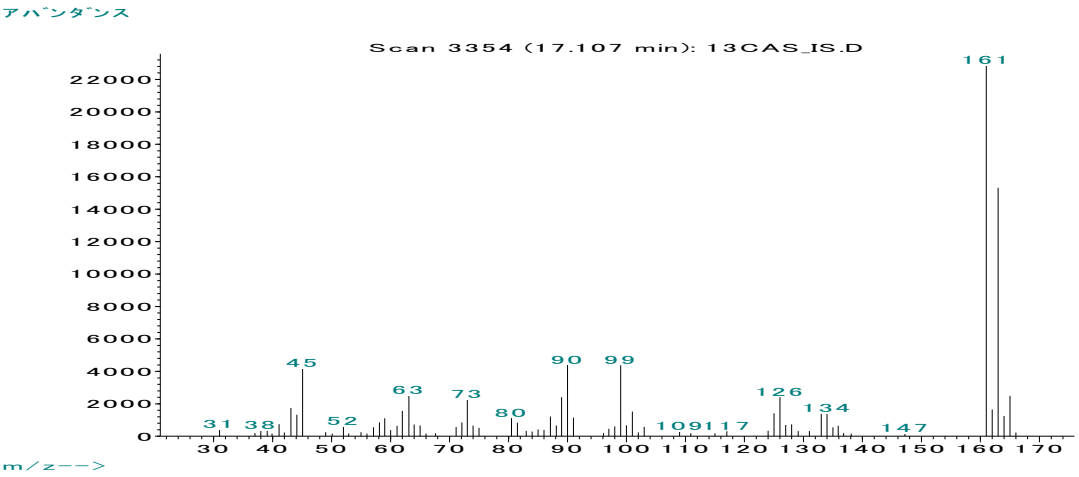


図 10　3,4-DCA のマススペクトル (2 μg/mL)

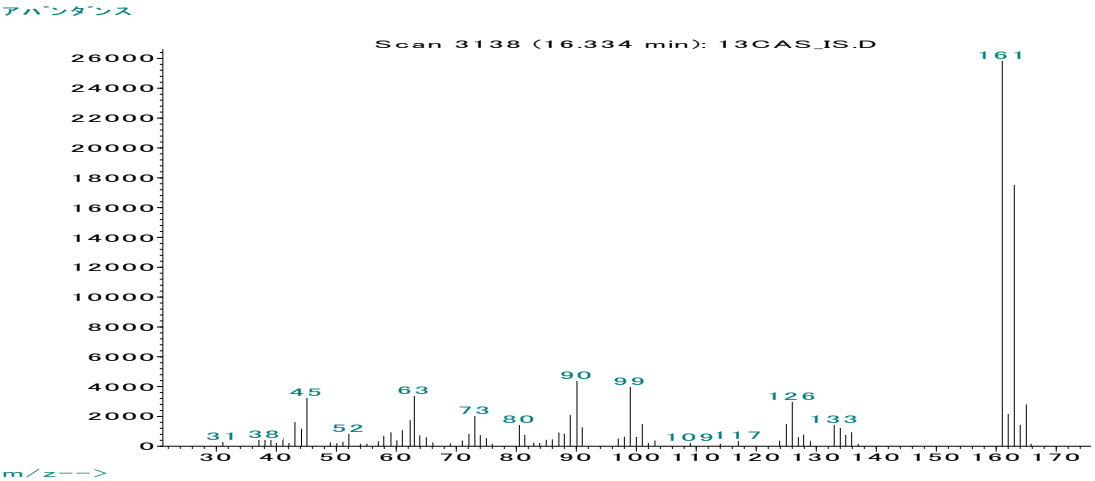


図 11　3,5-DCA のマススペクトル (2 μg/mL)

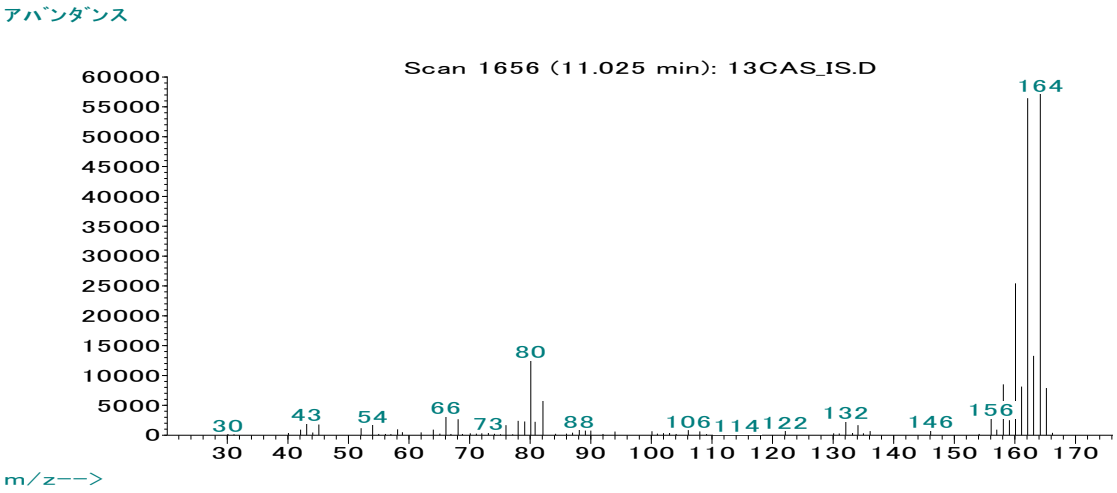


図 12　アセナフテン-d_{10} のマススペクトル (2 μg/mL)

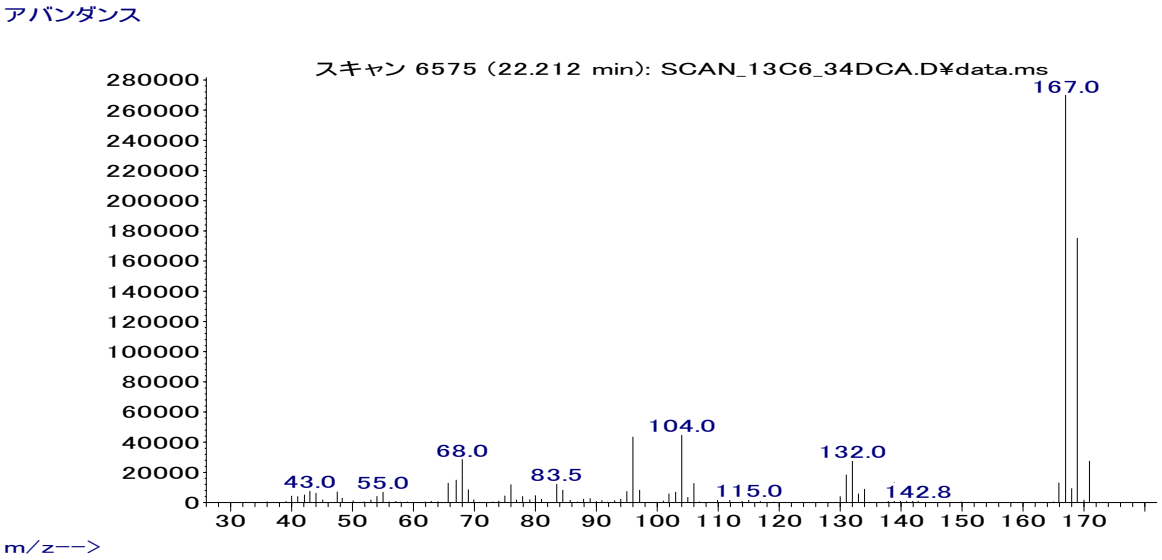
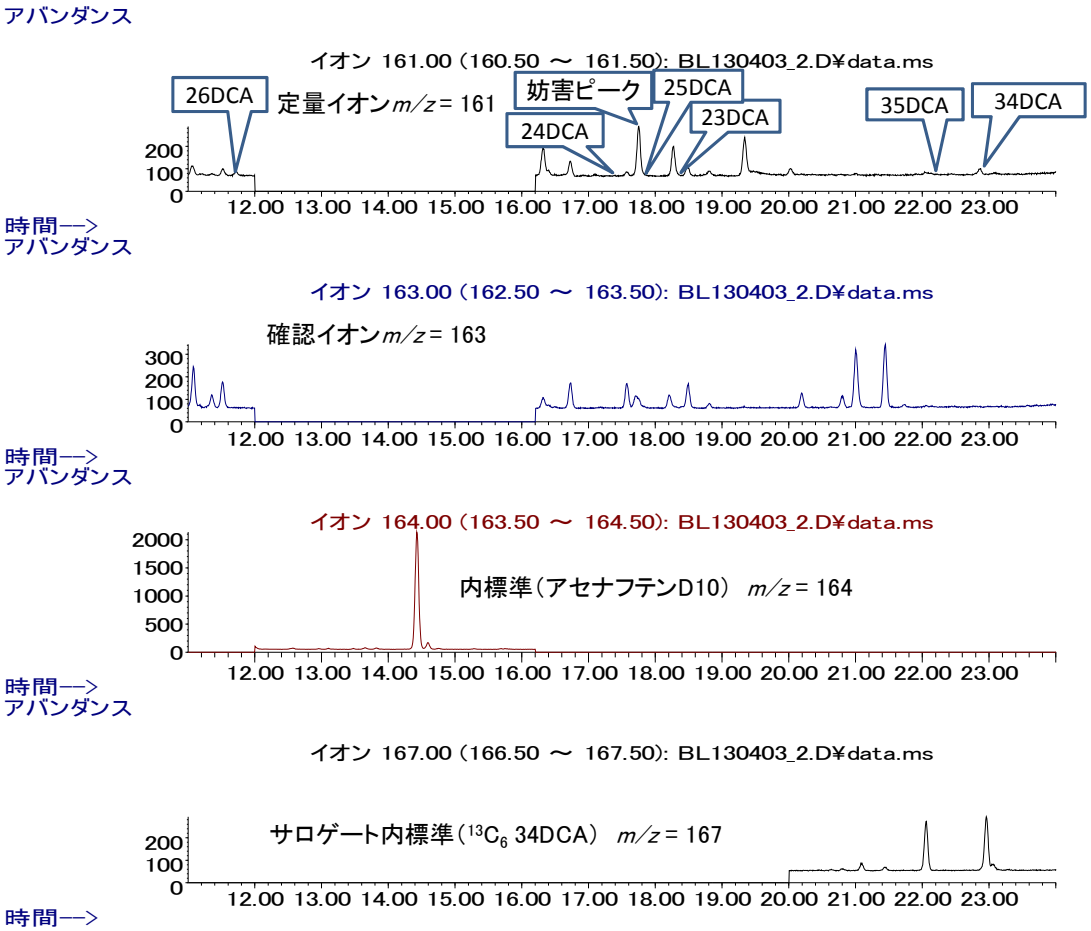


図 13　$^{13}C_6$-3,4-DCA のマススペクトル (2 μg/mL)

〔操作ブランク試験〕

操作ブランクのクロマトグラムを図 14 に示す。2,6-DCA、2,5-DCA の直前、2,3-DCA と同一保持時間に妨害ピークが出現するので、必要に応じてブランク値を引いて濃度を計算する。

H25年度調査時、2,6-ジクロロアニリン(以下「DCA」)の妨害ピークについて分析法に記載があるが、固相カートリッジのコンディショニング調整により抑制できたとの報告があった(指定のコンディショニングの前にジクロロメタン 5mLを追加)。(2014年度精査等検討会コメント)



17～19 分の拡大

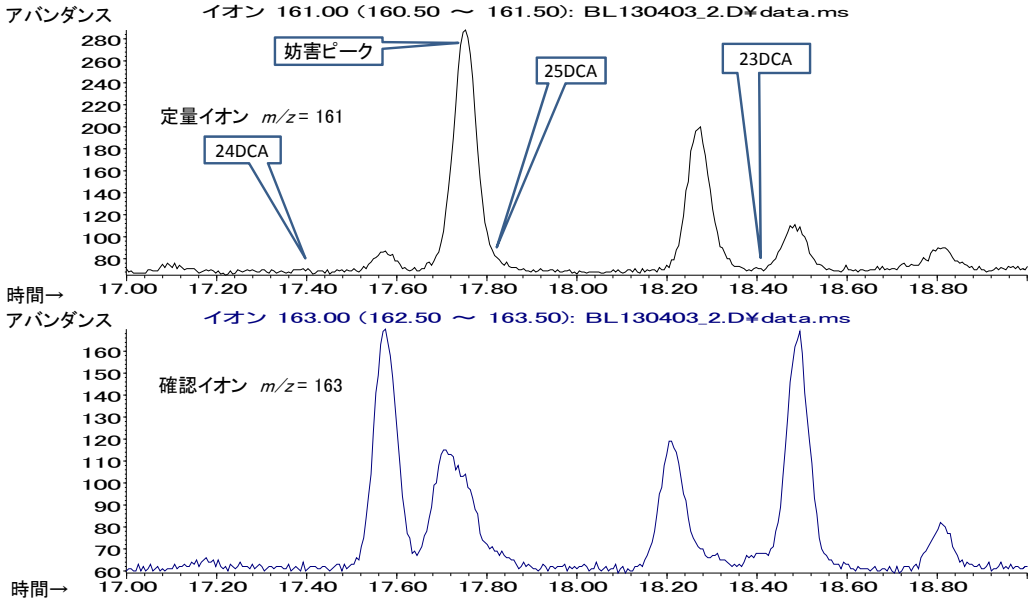


図 14　操作ブランクのクロマトグラム

〔添加回収試験〕

河川水 2 検体、海水 1 検体を用いて添加回収試験を行った。結果を表 6 に、クロマトグラムを図 15~17 に示す。前後の妨害ピークとの分離が悪く、100%を超えるものが多かった。

表 6-1　添加回収試験結果

物質名	試料	試料量 (mL)	添加量 (ng)	試験数	検出濃度 (ng/L)	回収率 (%)
2,6-DCA	河川水（豊平川東橋）	200	無添加	1	ND	-
		200	10	1	55.2	110
	河川水（茨戸川）	200	無添加	1	ND	-
		200	10	1	55.7	105
	海水（大浜）	200	無添加	1	ND	-
		200	10	1	52.5	105

表 6-2　添加回収試験結果

物質名	試料	試料量 (mL)	添加量 (ng)	試験数	検出濃度 (ng/L)	回収率 (%)
2,4-DCA	河川水（豊平川東橋）	200	無添加	1	ND	-
		200	10	1	55.0	110
	河川水（茨戸川）	200	無添加	1	ND	-
		200	10	1	53.0	106
	海水（大浜）	200	無添加	1	ND	-
		200	10	1	52.1	104

表 6-3　添加回収試験結果

物質名	試料	試料量 (mL)	添加量 (ng)	試験数	検出濃度 (ng/L)	回収率 (%)
2.5-DCA	河川水（豊平川東橋）	200	無添加	1	ND	-
		200	10	1	67.3	135
	河川水（茨戸川）	200	無添加	1	ND	-
		200	10	1	69.5	139
	海水（大浜）	200	無添加	1	ND	-
		200	10	1	69.2	138

表 6-4　添加回収試験結果

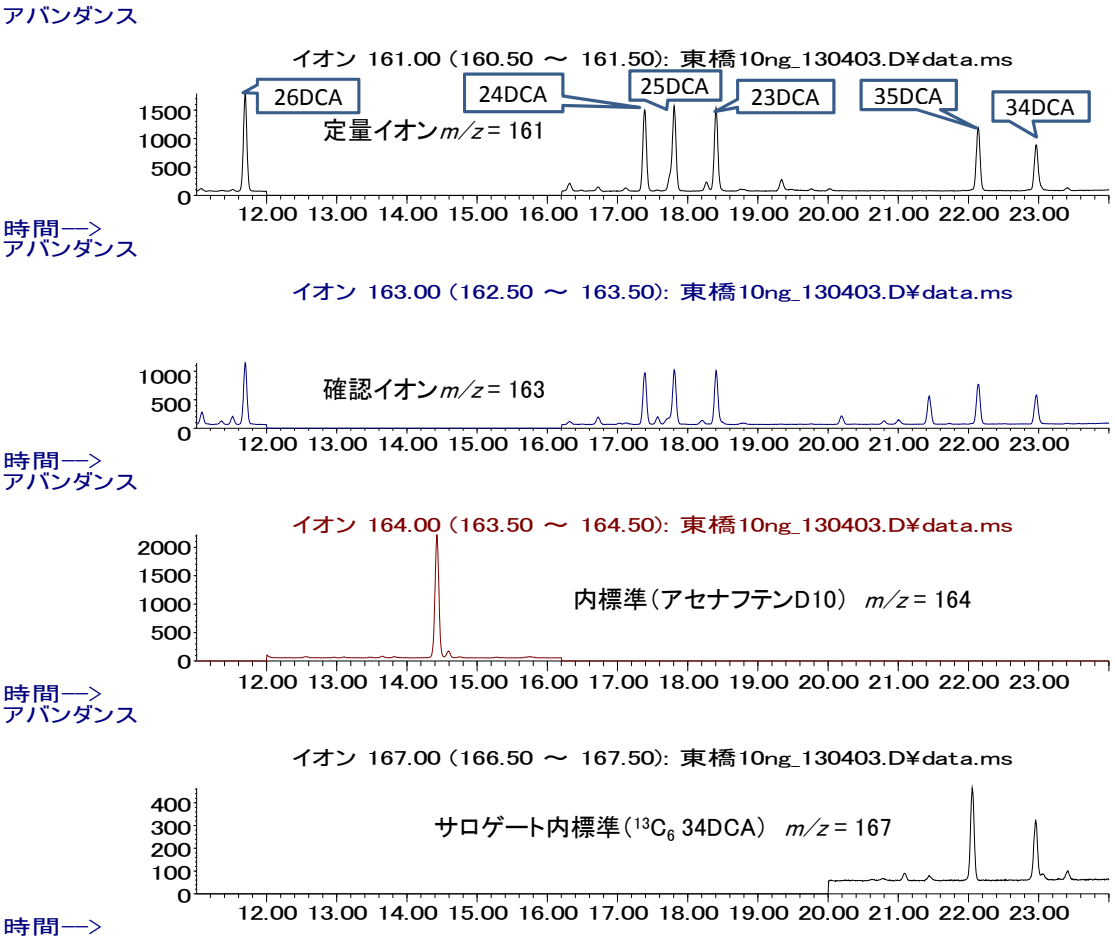
物質名	試料	試料量 (mL)	添加量 (ng)	試験数	検出濃度 (ng/L)	回収率 (%)
2,3-DCA	河川水	200	無添加	1	ND	-
	（豊平川東橋）	200	10	1	51.9	104
	河川水	200	無添加	1	ND	-
	（茨戸川）	200	10	1	49.9	99.8
	海水	200	無添加	1	ND	-
	（大浜）	200	10	1	47.7	95.4

表 6-5　添加回収試験結果

物質名	試料	試料量 (mL)	添加量 (ng)	試験数	検出濃度 (ng/L)	回収率 (%)
3,5-DCA	河川水	200	無添加	1	ND	-
	（豊平川東橋）	200	10	1	53.6	107
	河川水	200	無添加	1	ND	-
	（茨戸川）	200	10	1	51.1	102
	海水	200	無添加	1	ND	-
	（大浜）	200	10	1	49.8	99.6

表 6-6　添加回収試験結果

物質名	試料	試料量 (mL)	添加量 (ng)	試験数	試料濃度 (ng/L)	回収率 (%)	ｻﾛｹﾞｰﾄ回収率 (%)
3,4-DCA	河川水	200	無添加	1	ND	-	69
	（豊平川東橋）	200	10	1	56.7	112	73
	河川水	200	無添加	1	ND	-	72
	（茨戸川）	200	10	1	58.3	113	72
	海水	200	無添加	1	ND	-	73
	（大浜）	200	10	1	55.9	101	64



17 分～19 分の拡大

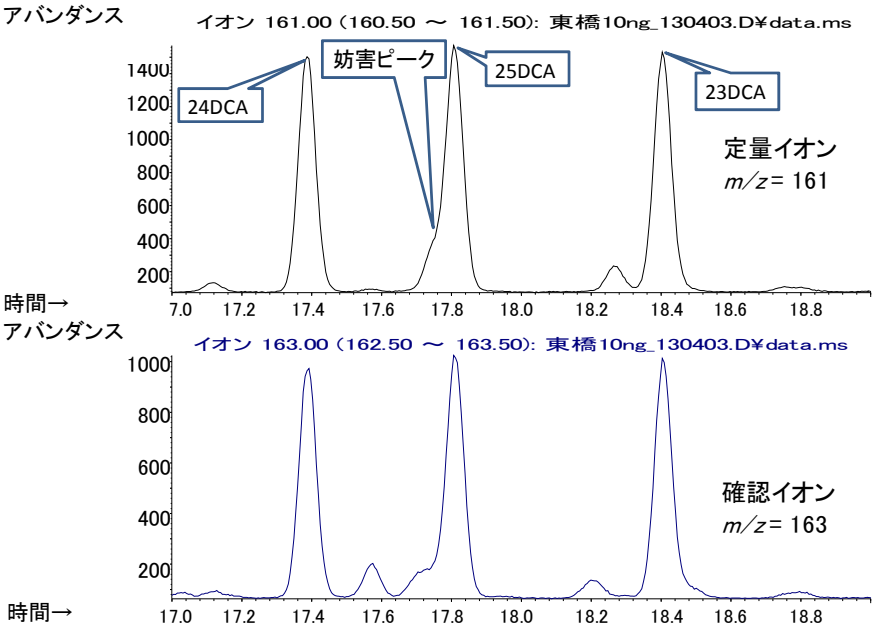
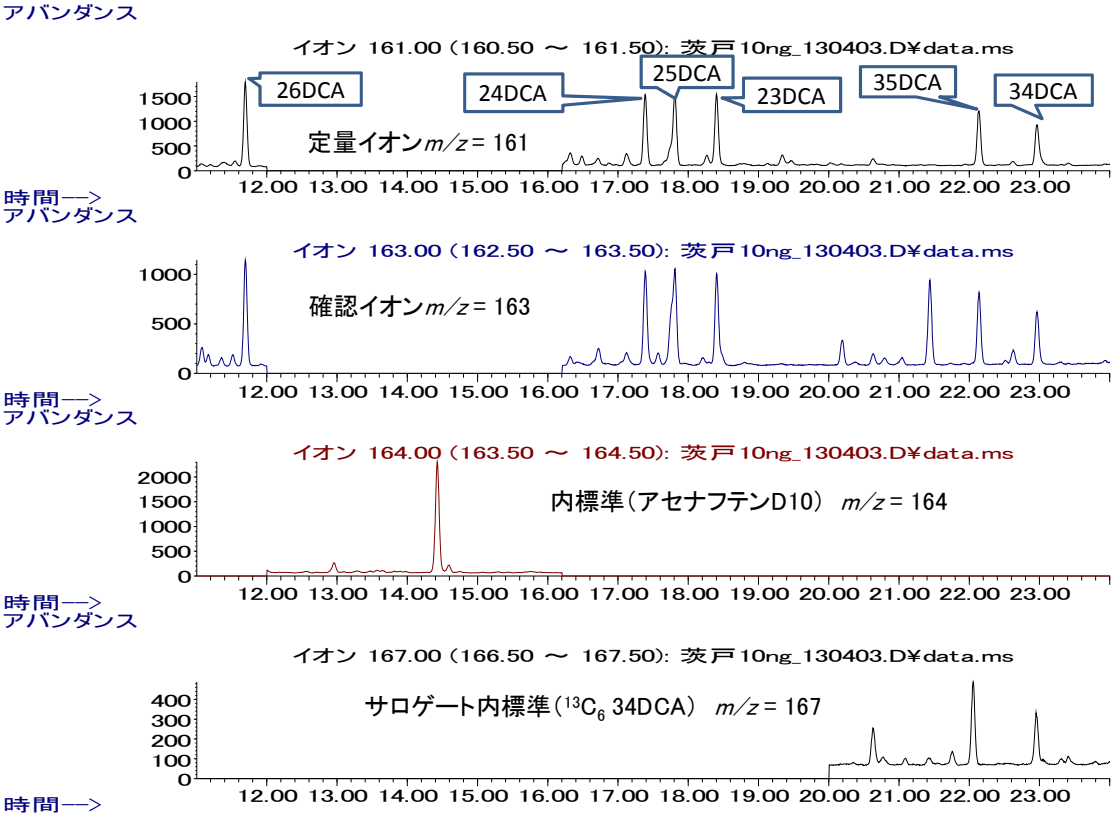


図 15　河川水（東橋）添加(10 ng) のクロマトグラム



17 分～19 分の拡大

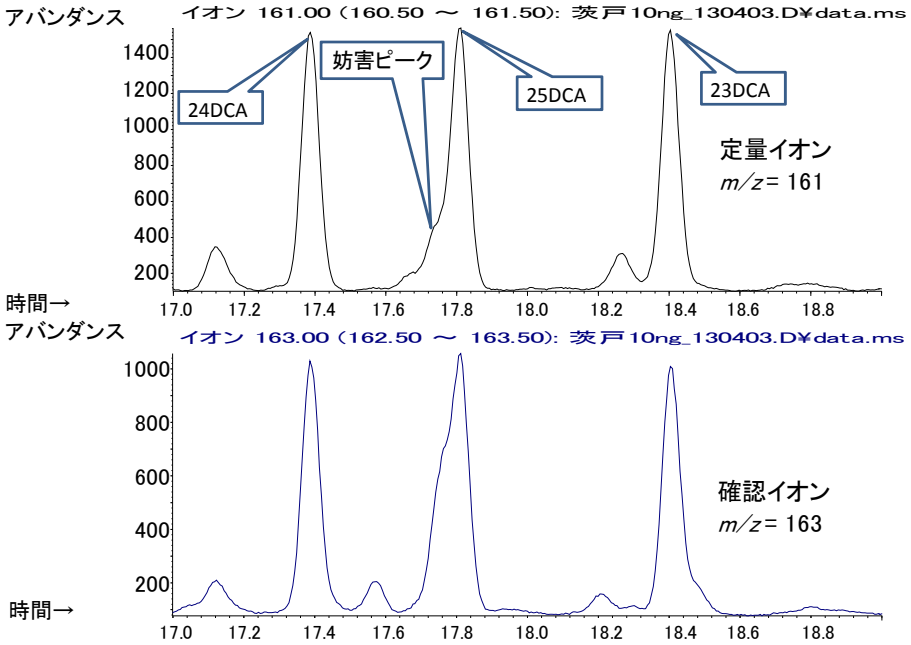
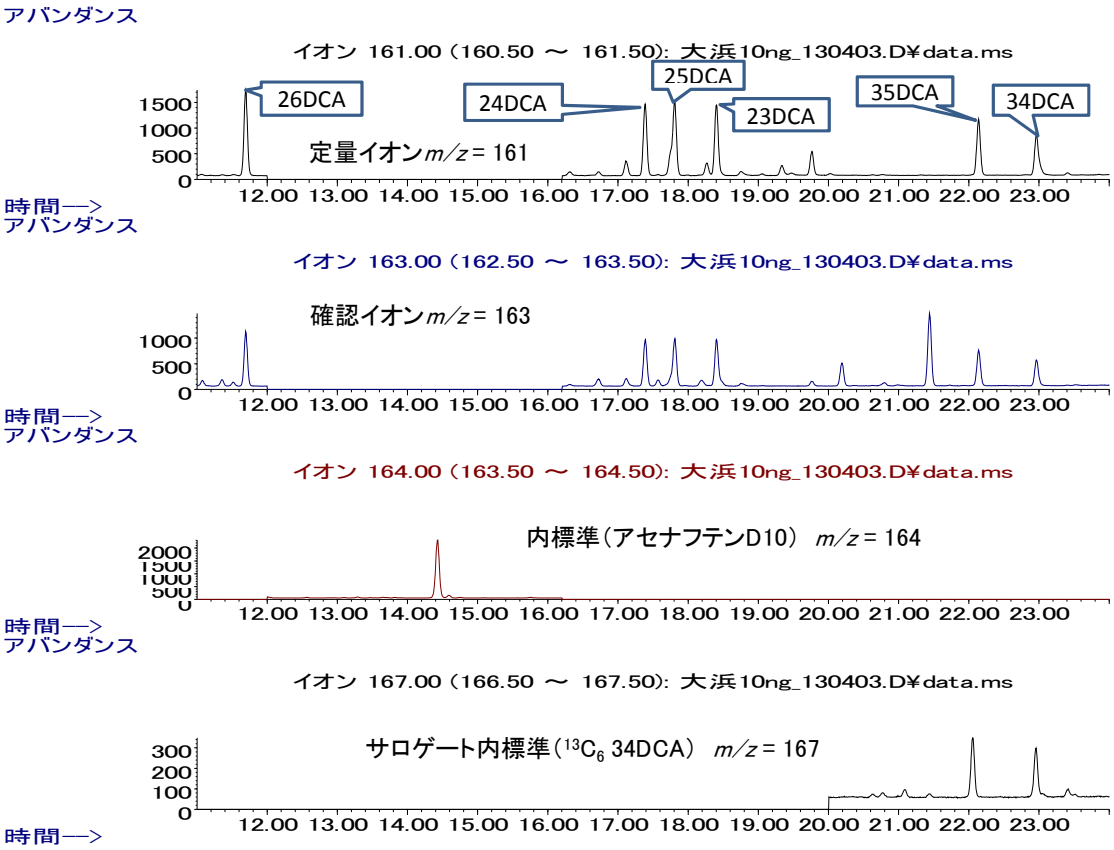


図 16　河川水（茨戸川）添加(10 ng)のクロマトグラム



17 分～19 分の拡大

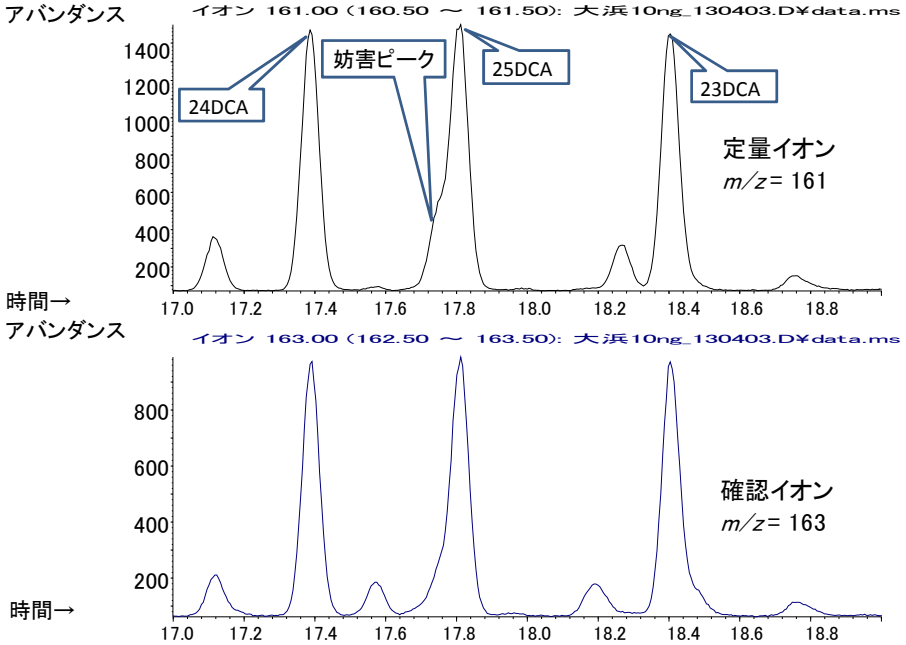


図 17　海水（大浜）添加(10 ng)のクロマトグラム

〔分解性スクリーニング試験〕

精製水、塩酸または水酸化ナトリウムで pH を調整した精製水 200 mL をそれぞれ 200 mL のガラス共栓付きメスシリンダーと 200 mL のねじ口ポリプロピレン容器に分取し、各々に混合標準液 10 μL(10 ng 相当）を添加し、2 時間後と 7 日後に試験液の調製を行い測定した。結果を表 7-1~7-2 に示す。ポリプロピレン容器に保存した場合は、2,3-DCA と同一保持時間の妨害物質が溶出した。また、明所での濃度低下が見られた。

表 7-1　分解性スクリーニング結果（ガラス容器に保存）

物質名	pH	試験数	初期濃度 (ng/L)	2 時間後の残存率(%)	7 日間後の残存率(%)	
					暗所	明所
2,6-DCA	5	1	50	112	97.3	-
	7	1	50	110	95.4	71.0
	9	1	50	107	85.2	-
2,4-DCA	5	1	50	109	97.4	-
	7	1	50	107	99.7	43.6
	9	1	50	103	96.1	-
2,5-DCA	5	1	50	120	97.4	-
	7	1	50	119	99.1	80.4
	9	1	50	112	96.8	-
2,3-DCA	5	1	50	99.7	100	-
	7	1	50	97.5	98.7	76.2
	9	1	50	91.2	97.2	-
3,5 -DCA	5	1	50	103	91.8	-
	7	1	50	97.9	93.7	73.5
	9	1	50	91.4	93.0	-
3,4 -DCA	5	1	50	105	100	-
	7	1	50	99.8	101	52.5
	9	1	50	96.9	104	-

表 7-2　分解性スクリーニング結果（ポリプロピレン容器に保存）

物質名	pH	試験数	初期濃度 (ng/L)	2 時間後の残存率(%)	7 日間放置後の残存率(%)	
					暗所	明所
2,6-DCA	5	1	50	100	61.9	39.7
	7	1	50	99.4	60.9	
	9	1	50	97.5	61.8	
2,4-DCA	5	1	50	110	96.6	118
	7	1	50	110	94.0	
	9	1	50	110	93.7	
2,5-DCA	5	1	50	112	82.1	63.1
	7	1	50	111	82.3	
	9	1	50	112	79.6	
2,3-DCA	5	1	50	193	233	723
	7	1	50	217	268	
	9	1	50	197	253	
3,5 -DCA	5	1	50	93.7	83.3	60.1
	7	1	50	96.3	81.4	
	9	1	50	94.7	82.0	
3,4 -DCA	5	1	50	100	93.0	76.1
	7	1	50	101	91.2	
	9	1	50	102	92.5	

〔保存性試験〕

河川水（豊平川東橋、茨戸川）、海水（大浜）および河川水（茨戸川）を 120°C で 15 分間高圧滅菌したものをそれぞれ 200 mL を共栓付きメスシリンダーに採取し、各異性体 10 ng 相当の混合標準液を添加し、冷暗所に 7 日と 14 日間保存後に試験液の調製を行い測定した。結果を表 8 に示す。茨戸川河川水については、特に 2,5-DCA について濃度低下が著しいが、滅菌したものでは濃度低下が見られないため、生物の影響が考えられる。固相抽出カートリッジからの溶出までの操作は、できれば採水当日、遅くとも採水から 3 日以内に行う必要がある。

表 8　保存性試験結果

物質名	試料	試験数	初期濃度 (ng/L)	残存率(%)		
				添加当日	7 日後	14 日後
2,6-DCA	河川水(豊平川東橋)	1	50	110	86.9	90.0
	河川水(茨戸川)	1	50	105	68.5	54.2
	河川水(茨戸川滅菌)	1	50	104	115	112
	海水(大浜)	1	50	105	87.2	99.6
2,4-DCA	河川水(豊平川東橋)	1	50	110	94.7	99.4
	河川水(茨戸川)	1	50	106	75.3	76.3
	河川水(茨戸川滅菌)	1	50	105	124	122
	海水(大浜)	1	50	104	93.5	97.3
2,5-DCA	河川水(豊平川東橋)	1	50	135	105	99.8
	河川水(茨戸川)	1	50	139	30.5	18.2
	河川水(茨戸川滅菌)	1	50	131	121	111
	海水(大浜)	1	50	138	109	114
2,3-DCA	河川水(豊平川東橋)	1	50	104	94.4	97.0
	河川水(茨戸川)	1	50	100	87.0	86.4
	河川水(茨戸川滅菌)	1	50	98.0	114	114
	海水(大浜)	1	50	95.4	89.4	91.7
3,5-CDA	河川水(豊平川東橋)	1	50	107	89.1	91.8
	河川水(茨戸川)	1	50	102	81.7	83.0
	河川水(茨戸川滅菌)	1	50	103	116	115
	海水(大浜)	1	50	99.6	87.7	89.8
3,4-DCA	河川水(豊平川東橋)	1	50	113	92.3	91.2
	河川水(茨戸川)	1	50	117	84.7	68.3
	河川水(茨戸川滅菌)	1	50	112	125	112
	海水(大浜)	1	50	112	110	94.2

〔検出される場合の確認方法〕

環境試料測定から対象物質が検出される場合の確認として、MDL レベルの対象物質の添加(10 ng/L)、あるいは【測定】の〔GC/MS 測定条件〕のうち、カラムと昇温条件を下記条件に変更して測定を行う。一例として、標準液及び 3,4-DCA が検出された環境試料のクロマトグラムを図 18～20 に示した。ただし、この条件では 2,4－DCA と 2,5-DCA が分離しなかった。

カラム　　：スペルコ製 PTA-5
　　30 m×0.25 mm, 0.5 µm
昇温条件　：50°C (1 min) → 20°C /min → 160°C(0 min) → 5°C /min
　　→ 220°C (0 min) → 20°C /min → 270°C(1 min)

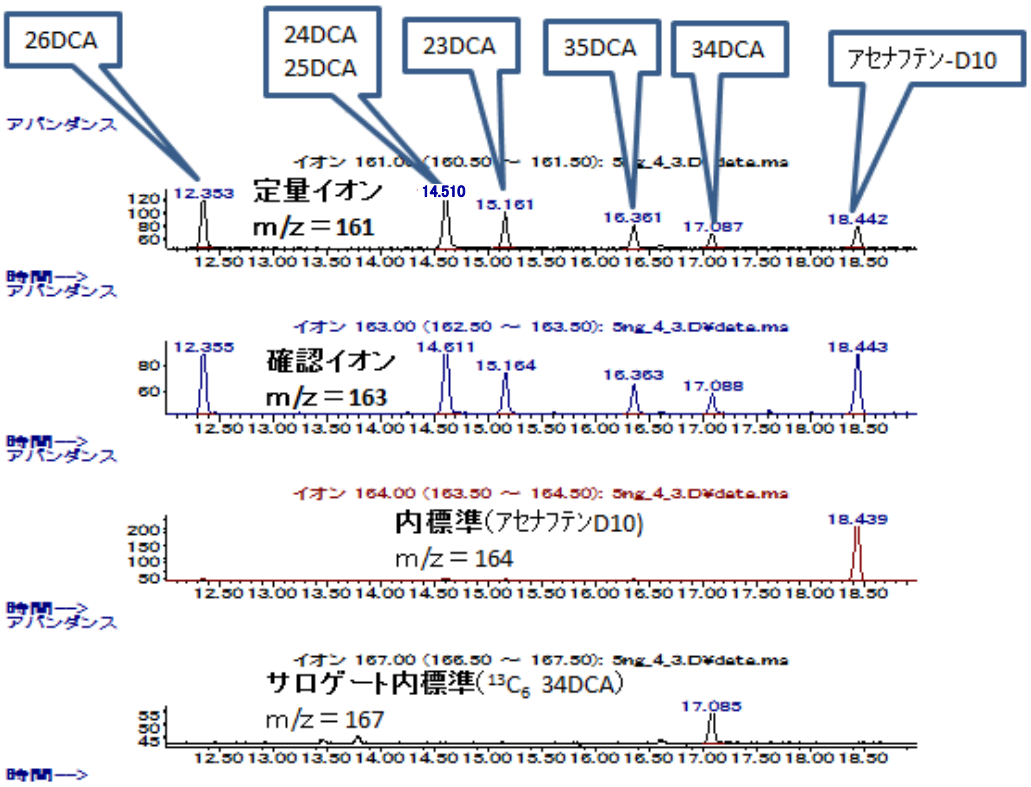


図 18　検量線中間濃度(5.00 ng/mL)のクロマトグラム
（カラム：スペルコ製 PTA-5、 30 m×0.25 mm, 0.5 µm）

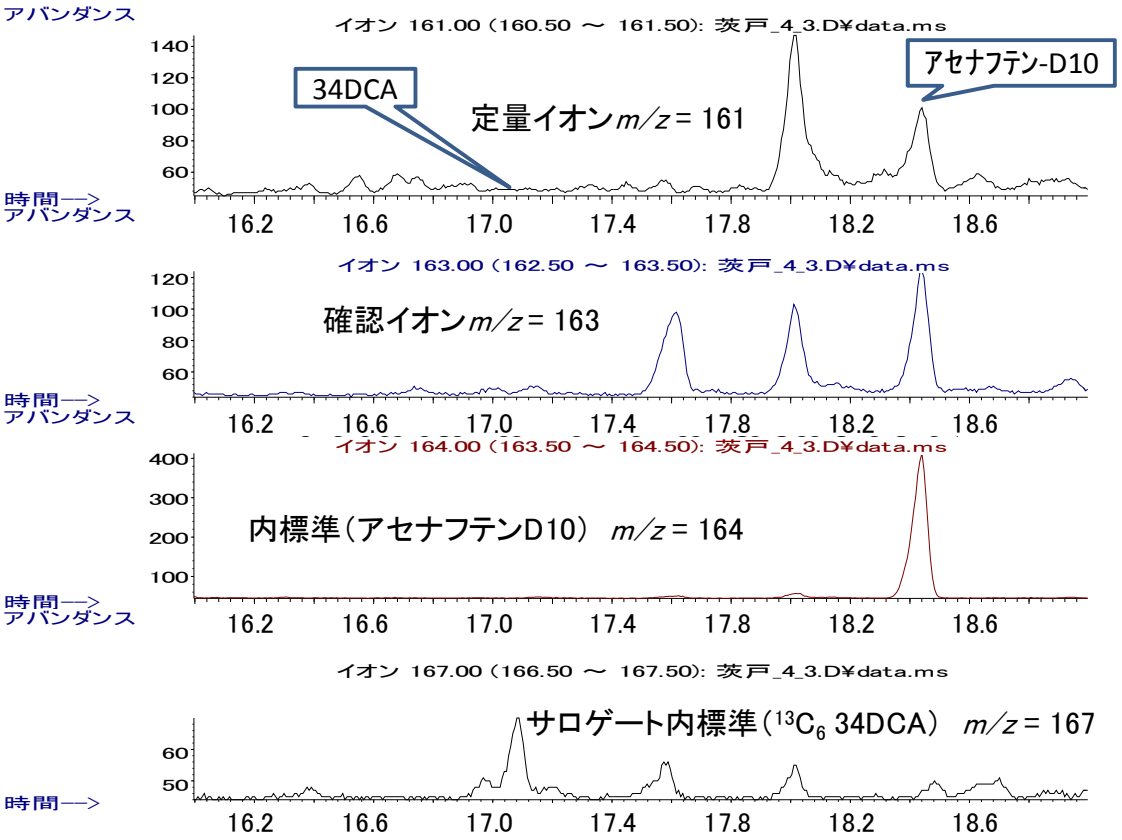


図 19　河川水（茨戸川）無添加のクロマトグラム（16 分~19 分の拡大）
（カラム：スペルコ製 PTA-5、 30 m×0.25 mm, 0.5 μm）

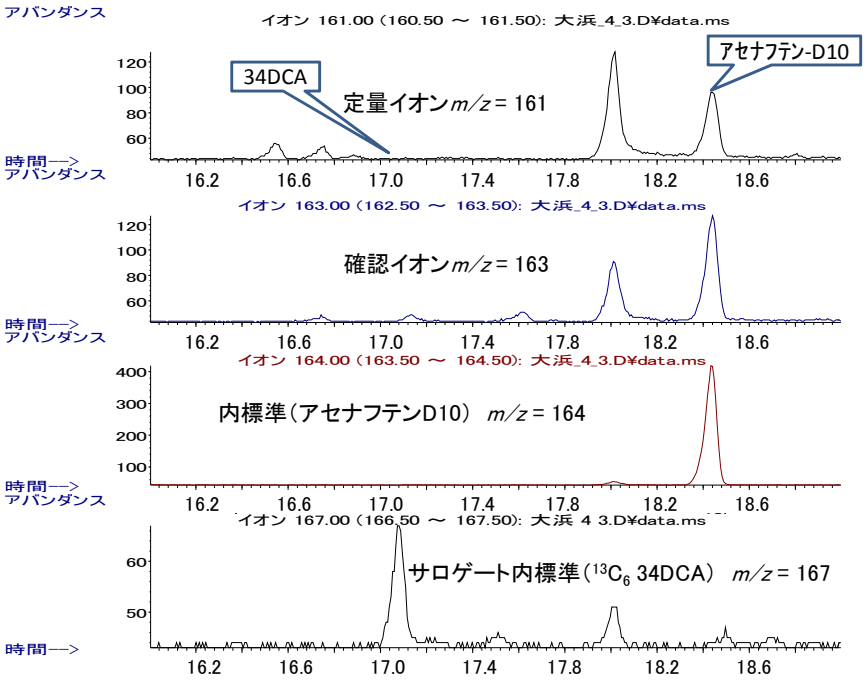


図 20 海水（大浜）無添加のクロマトグラム（16 分~19 分の拡大）
（カラム：スペルコ製 PTA-5、 30 m×0.25 mm, 0.5 μm）

〔窒素ガス吹き付けによる濃縮の検討〕

100 ng/mL の混合標準液 50 μL（5 ng 相当、アセトン溶液）に内標準を含むヘキサン溶液 1 mL を正確に加えて混合したもの（濃縮なし）と、同じく混合標準液 50 μL に溶媒（アセトンまたはヘキサン）5 mL を加え、窒素吹き付けで 0.2 mL 以下まで濃縮した後、内標準を含むヘキサン溶液 1 mL を正確に加えて混合したものを GC/MS に注入し、各標準物質と内標準とのピーク面積比を比較した。窒素吹き付けを行わない試料のピーク面積比を 100 とし、窒素吹き付けによる濃縮操作を加えたもののピーク面積比（残存率(%)）を表に示した。窒素吹き付けによる濃縮した試料において、5%～25%程度の損失があったため、濃縮して定容する方法ではなく、少量のヘキサンで 1 回抽出する方法を採用した。

表 9　窒素吹き付けによる濃縮時の残存率(%)

溶媒の種類（もしくは濃縮作業の有無） ＼ 物質名	試験数	2,6-DCA	2,4-DCA	2,5-DCA	2,3-DCA	3,5-DCA	3,4-DCA
濃縮なし	1	100	100	100	100	100	100
アセトン	1	88.8	94.2	94.1	94.5	94.5	94.7
ヘキサン	1	88.0	94.9	92.6	93.6	86.5	75.1

〔ヘキサン抽出時の抽出率の検討〕

【標準液の調製】の〔検量線用標準液〕の調製方法により調製した 100 ng/mL、10 ng/mL、1 ng/mL の検量線用標準液（表 10 中の“ 抽出試料 ”）と、シリンジスパイク内標準を含むヘキサン溶液で 1.00 μg/mL の混合標準液（アセトン溶液）を希釈して同様の濃度となるよう調製した検量線用標準液（表 10 中の“ 希釈試料 ”）の二通りを同じ条件で分析した。希釈試料のピーク面積比を 100 とした場合の抽出試料の面積比（抽出率(%)）を表 10 に示した。それぞれの異性体の抽出率は、71%～147%であった。微量のヘキサン抽出液を正確に定容することは困難であったこと、また、 1 回の抽出作業で回収率が低下する傾向にある異性体があったことから、内標準を含む標準液を試料同様の条件で抽出して検量線用標準液を作成することとした。

表 10　標準液のヘキサン抽出液とヘキサン希釈液の面積値の比較

検量線用標準液			2,6-DCA	2,4-DCA	2,5-DCA	2,3-DCA	3,5-DCA	3,4-DCA	内標準
100 ng/mL	希釈試料	Area	516473	476207	463974	516480	403132	339122	67038
		As/Ais	7.704	7.103	6.921	7.704	6.013	5.058	-
	抽出試料	Area	621823	524875	528060	548795	438585	311903	85864
		As/Ais	7.242	6.112	6.150	6.391	5.107	3.632	-
	抽出率(%)		94.0	86.1	88.9	83.0	84.9	71.8	-
10 ng/mL	希釈試料	Area	44768	41422	40379	45359	36254	31178	73110
		As/Ais	0.612	0.566	0.552	0.620	0.4959	0.426	-
	抽出試料	Area	56124	44580	45067	46587	37438	26622	80320
		As/Ais	0.698	0.555	0.561	0.580	0.466	0.331	-
	抽出率(%)		114.1	98.0	101.6	93.5	94.0	77.7	-
1 ng/mL	希釈試料	Area	4350	4079	4123	4520	3517	3195	66891
		As/Ais	0.065	0.061	0.061	0.067	0.052	0.047	-
	抽出試料	Area	7616	4407	4574	4677	4100	3057	79180
		As/Ais	0.096	0.055	0.057	0.059	0.051	0.038	-
	抽出率(%)		147.0	91.3	93.7	87.4	98.4	80.8	-

〔アセトン溶液中での保存性〕

1.00 μg/mL の混合標準液（アセトン溶液）を冷暗所で約 14 か月保存したものと新たに標準品から調製した混合標準液をヘキサンで希釈して同じ条件で分析し、比較した。新たに調製した混合標準液のピーク面積比を 100 とした場合の 14 カ月後の残存率(%)を表 11 に示した。それぞれの異性体の残存率は 72%～103%であった。アセトン溶液の保存期限は、安全を見て概ね 3 か月間とした。

表 11　アセトン溶液中での保存性試験結果

濃度 (ng/mL)	14 か月後の残存率(%)					
	2,6-DCA	2,4-DCA	2,5-DCA	2,3-DCA	3,5-DCA	3,4-DCA
100	96.3	94.9	87.7	100	92.6	84.7
10	98.1	105	89.8	101	95.7	79.0
1.0	115	91.2	85.5	102	103	72.4

〔環境試料の分析〕

河川水 2 検体、海水 1 検体を分析した。2,6-DCA と同一保持時間のピークは、操作ブランクとほぼ同程度であった。2,5-DCA の直前のピークは、MDL レベルの添加(10 ng/L)で分離し、確認イオン比も違うことから、妨害物質と思われる。3,4-DCA については、豊平川河川水からのピークは MDL 以下、茨戸川河川水と大浜海水からはそれぞれ 7.0 ng/L と 5.4 ng/L に相当するピークが検出されたが、確認試験の GC 条件で分析したところ、3,4-DCA の保持時間にピークは検出されず他の物質であることが確認された。

それぞれのクロマトグラムを図 21～23 に示した。

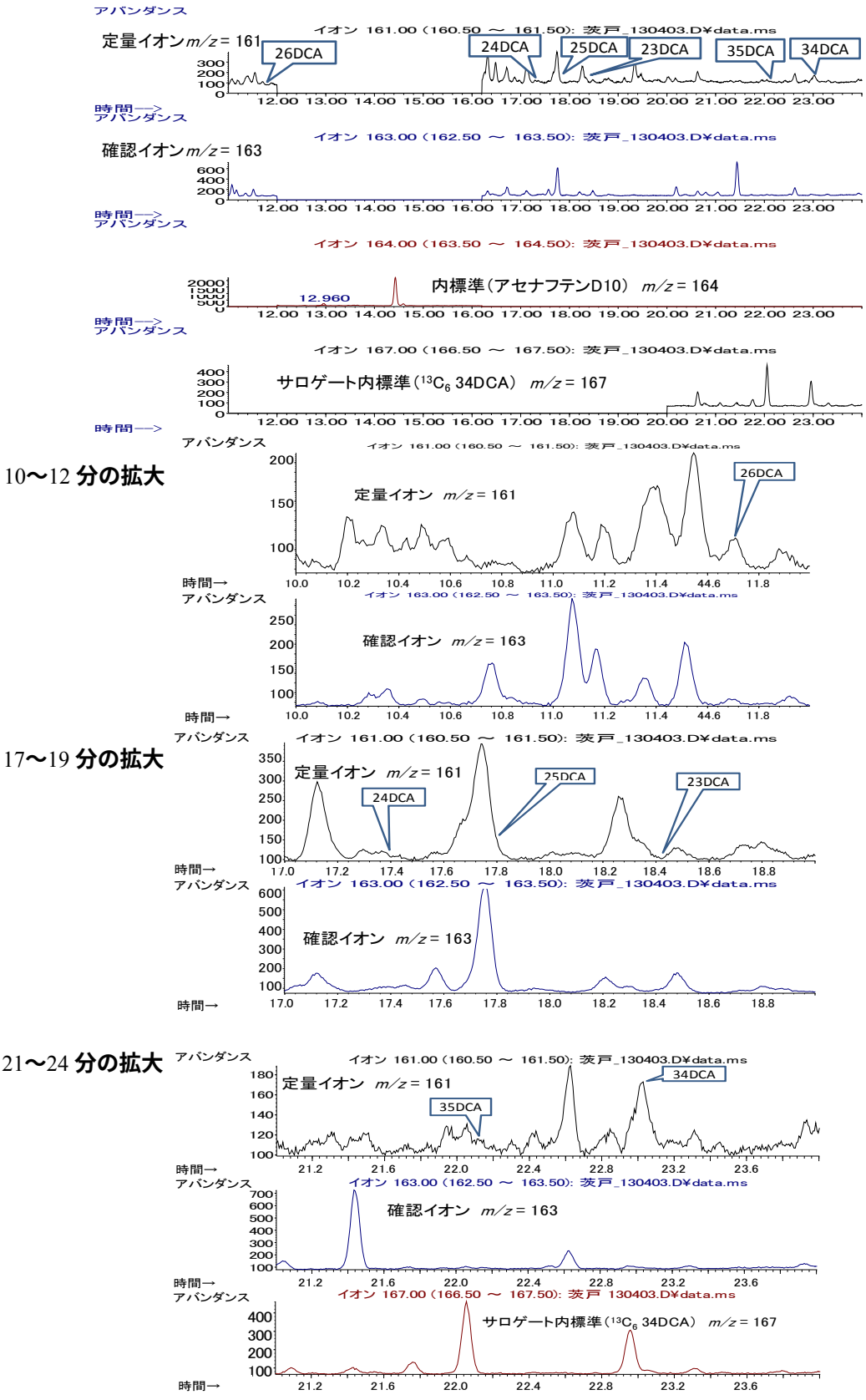
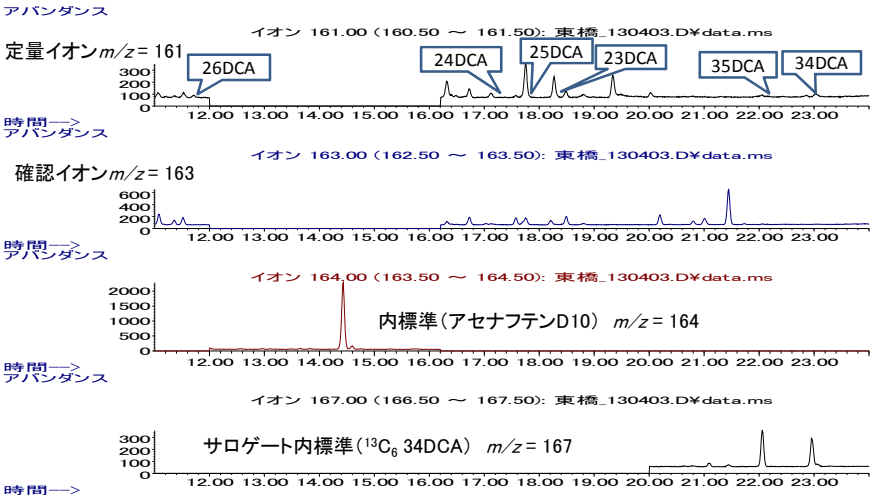
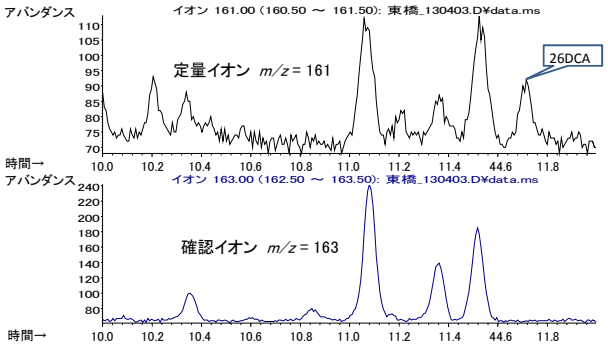


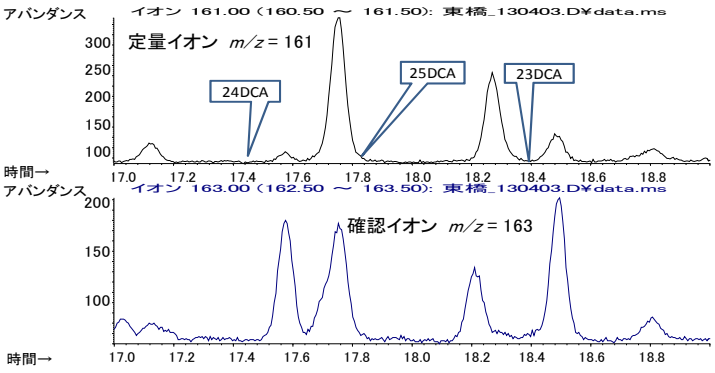
図 21　河川水（茨戸川）無添加のクロマトグラム



10～12 **分の拡大**



17～19 **分の拡大**



21～24 **分の拡大**

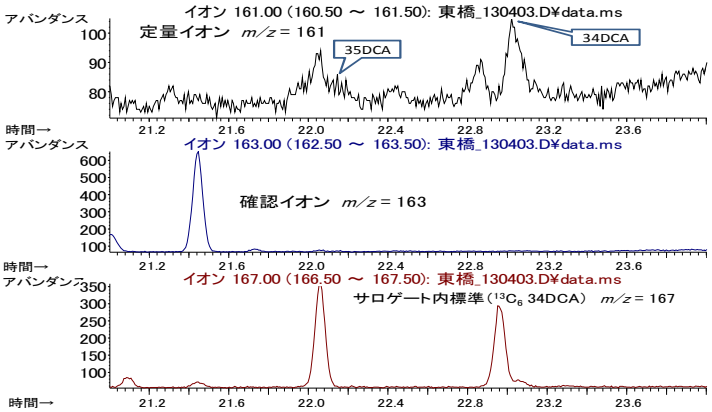


図 22 河川水（豊平川東橋）無添加のクロマトグラム

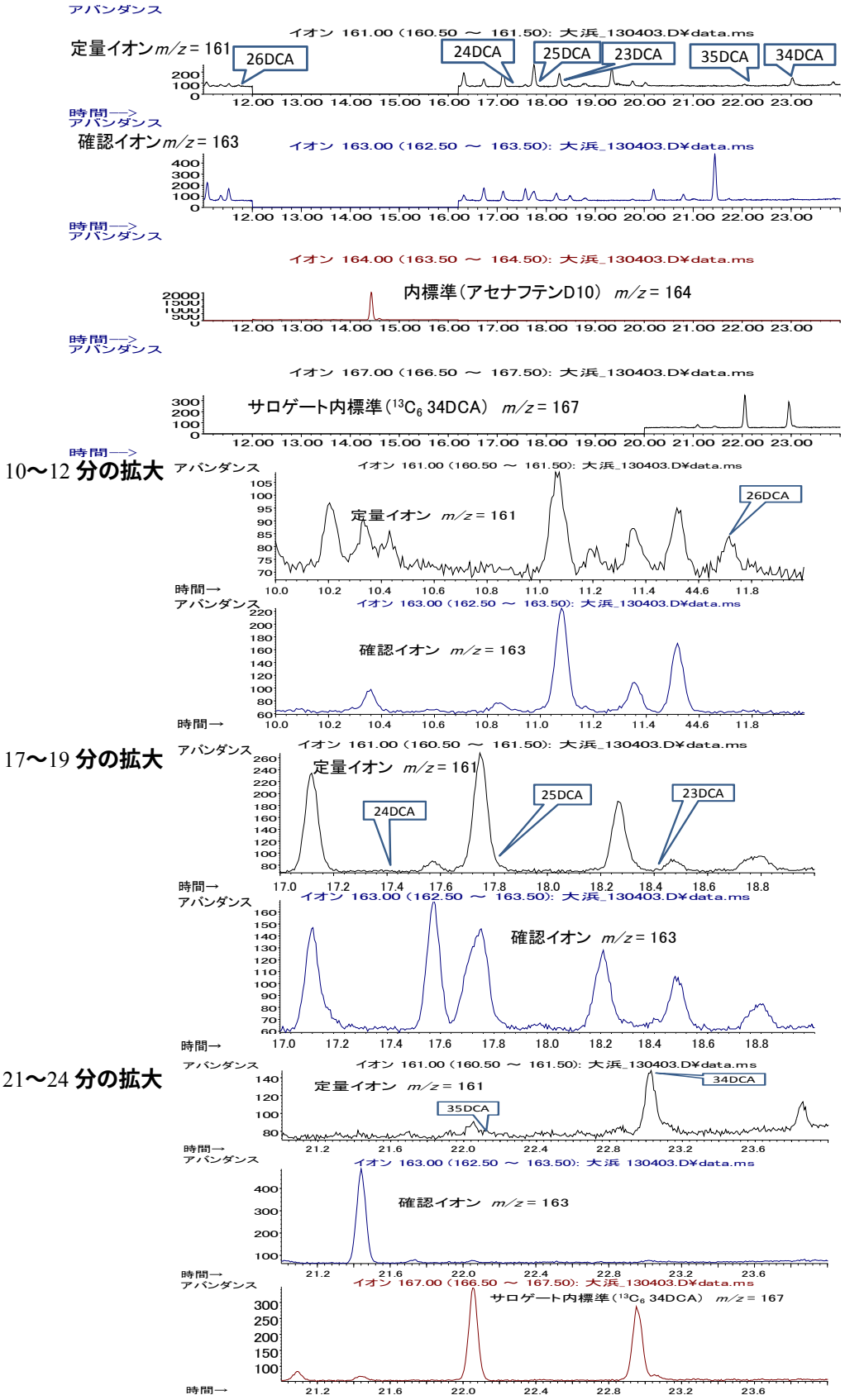


図 23 海水（大浜）無添加のクロマトグラム

〔評価〕

本法は水質試料中のジクロロアニリン類の定量が可能であり、MDL 及び MQL は 0.50~3.1 ng/L 及び 1.3~7.9 ng/L である。検量線は 0.500～10.0 ng/mL の濃度範囲で直線性が確認された。操作ブランクに、2,6-DCA と 3,4-DCA の同一保持時間にピークを検出するため、分析の都度、操作ブランク試験を実施する必要がある。また、環境試料の分析で MDL を超えるピークが検出された場合においては、性質の異なるカラム等を用いた確認試験を行う必要がある。

〔参考文献〕

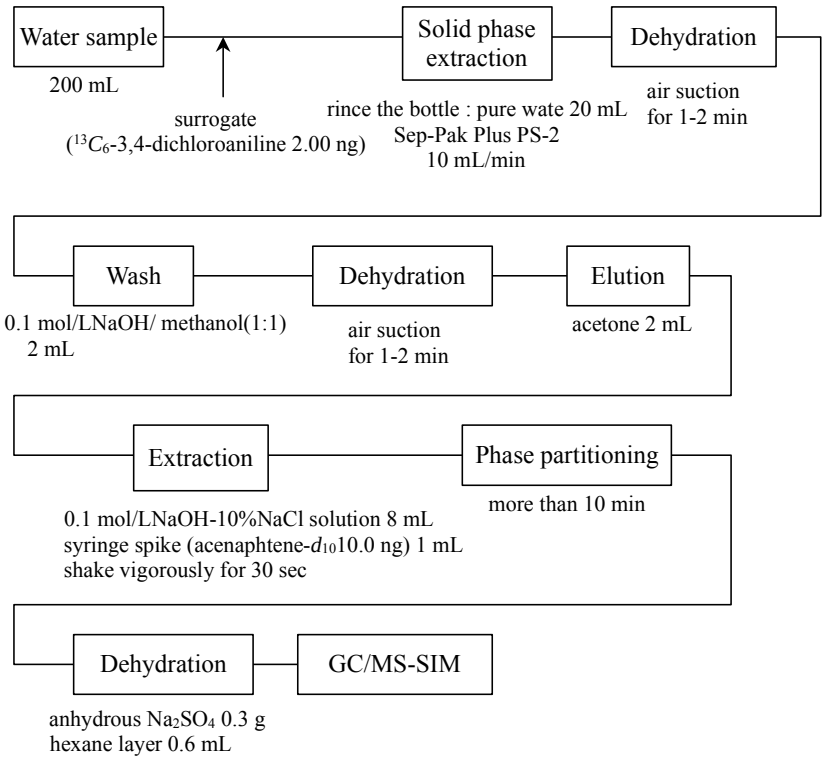
1) 愛知県公害調査センター：ジクロロアニリン類、pp101-105、「昭和 58 年度化学物質分析法開発調査報告書」
2) 大阪府公害監視センター：pp34-77、「平成 9 年度化学物質分析法開発調査報告書」環境庁環境保健部環境安全課（平成 10 年 7 月）
3) TODD R. MILLER, JOCHEN HEIDLER et.al “Fate of Triclosan and Evidence for Reductive Dechlorination of Triclocarban in Estuarine Sediments”：Environ. Sci. Technol. 2008

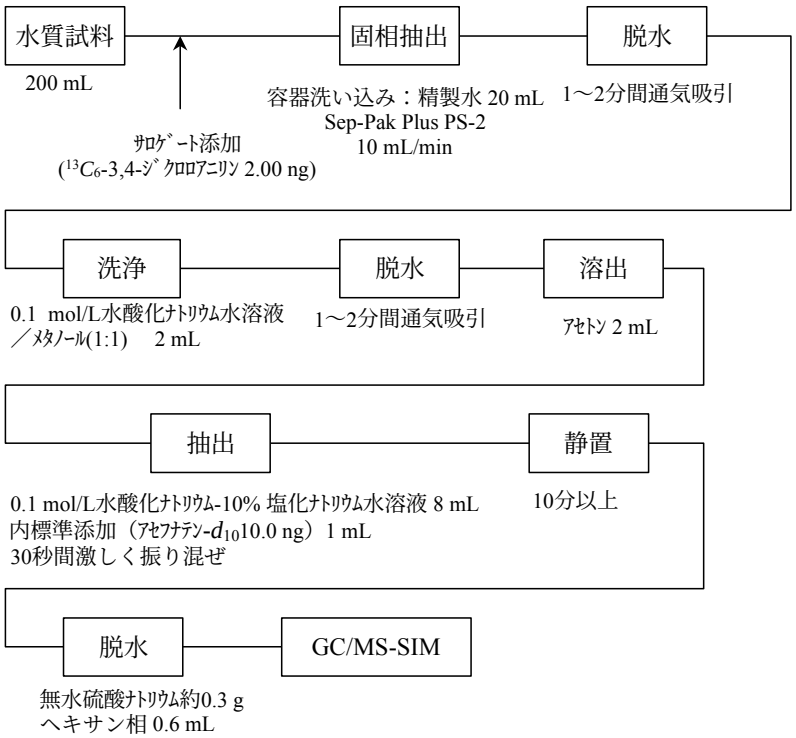
【担当者連絡先】

所属先名称　：札幌市衛生研究所
所属先住所　：〒003-8505 札幌市白石区菊水 9 条 1 丁目 5-22
TEL：011-841-9596　FAX：011-841-7073
担当者名　：阿部　敦子
E-mail　：atsuko.abe@city.sapporo.jp

Dichloroanilines

An analytical method for the determination of 6 isomers of dichloroaniline (DCA) in water samples has been developed by gas chromatography/mass spectrometry with selected ion monitoring. A 200 mL of water sample is spiked with 2 ng of $^{13}C_6$-3,4-DCA as a surrogate (internal standard). The sample is passed through a preconditioned solid-phase extraction cartridge (PS-2).The cartridge is washed with alkaline methanol solution(0.1 mol/L sodium hydroxide /methanol (1:1)), then DCAs are eluted with 2 mL of acetone. The eluate is diluted with alkaline sodium chloride solution, and DCAs are extracted with hexane containing acenaphtene-d_{10} as a syringe spike (internal standard). Calibration solutions are prepared by extracting alkaline sodium chloride solution containing 0.5-10 ng of DCAs with hexane (containing acenaphtene-d_{10}), and then adding $^{13}C_6$-3,4-DCA to the hexane extract (final concentration 2 ng/mL). MDL, MQL and surrogate recovery are 0.50-3.1 ng/L, 1.3-7.9 ng/L and 63-73%, respectively. The recoveries of DCAs spiked to river water and seawater were 99.8%-114% and 95.4%-125%, respectively. None of 6 isomers of DCA was detected in environmental samples.



物質名	分析法フローチャート	備考
ジクロロアニリン類 2,3-DCA, 2,4-DCA, 2,5-DCA, 2,6-DCA, 3,4-DCA, 3,5-DCA 別名：ジクロロベンゼンアミン	【水質】  	分析原理： GC/MS-SIM 検出下限値： 【水質】(ng/L) 2,3-DCA: 3.1 2,4-DCA: 0.50 2,5-DCA: 1.8 2,6-DCA: 1.5 3,4-DCA: 2.6 3,5-DCA: 0.54 分析条件： 機器 GC：6890 (Agilent) MS：5973 (Agilent) カラム： スペルコ製 SUPELCOWAX10 15 m×0.25 mm, 0.25 μm

三重県保健環境研究所
［対象媒体：水質、底質］

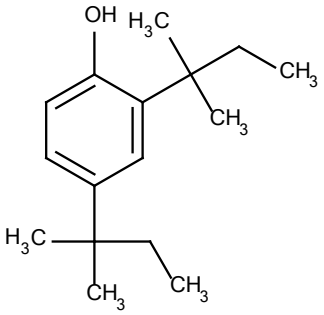
2,4-ジ-*tert*-ペンチルフェノール

2,4-Di-*tert*-pentylphenol

IUPAC Name: 2,4-Bis(2-methylbutan-2-yl)phenol.

別名：2,4-ジ-*tert*-アミルフェノール、
2,4-ビス（1,1-ジメチルプロピル）フェノール

【対象物質の構造】



分子式：$C_{16}H_{26}O$
CAS 番号：120-95-6

【物理化学的性状】

物質名	分子量	沸点 (°C)	比重 (20°C)	蒸気圧 (hPa) (25°C)	水溶解度 (mg/L) (25°C)	log P_{ow}
2,4-ジ-*tert*-ペンチルフェノール	234.37[1)]	169[2)]	0.93[3)]	-	-	-

【毒性、用途等】

〔毒性〕ラット（経口）LD_{50}：330 mg/kg[4)]
〔用途〕写真薬・紫外線吸収剤原料 [5)]

出典

1) Webkis-plus（化学物質データベース）
2) Lide, D.R,(ed), CRC Handbook of Chemistry and Physics 84th Edition
3) Sigma-Aldrich MSDS
4) Industrial Hygiene Foundation of America,Chemical and Toxicological Series,

Bulletin. Vol.6,Pg.1,1967
5) 独立行政法人製品評価技術基盤機構：化学物質総合情報提供システム (CHRIP)

§1 分 析 法

(1) 分析法の概要

［水質］

水質試料にピロガロールを添加後､固相カートリッジに通水捕集し､溶出、脱水、濃縮後、シリカカートリッジで精製し、シリンジスパイク内標準（以下、「内標準」という）を添加し GC/MS-SIM で定量する。

［底質］

湿泥をアセトンにより抽出した後､ヘキサンで再抽出する。その後､脱水、濃縮後、シリカカートリッジで精製し、内標準を添加し GC/MS-SIM で定量する。

(2) 試薬及び器具

【試薬】

2,4-ジ-*tert*-ペンチルフェノール：東京化成製 (> 98.0%)

ヘキサクロロベンゼン-$^{13}C_6$ (HCB-$^{13}C_6$)
: CAMBRIDGE ISOTOPE LABORATORIES 製(> 99%)

ジクロロメタン：和光純薬工業製　残留農薬・PCB 試験用 5000 倍濃縮

アセトン　：和光純薬工業製　残留農薬・PCB 試験用 5000 倍濃縮

ヘキサン　：和光純薬工業製　残留農薬・PCB 試験用 5000 倍濃縮

硫酸ナトリウム（無水）：和光純薬工業製　残留農薬・PCB 試験用

ピロガロール　：和光純薬工業製　特級

精製水　：蒸留水製造装置で製造された蒸留水をガラス製蒸留器を用いて 2 回蒸留したものを使用する。あるいは、Milli-Q 水又は蒸留水のブランクを確認して対象物質が検出されなければ使用しても良い。

1%ピロガロール-アセトン溶液
:ピロガロール 1 g をアセトンで溶かし 100 mL にする。

固相カートリッジ　：SUPELCO 製 Envi-18　(500 mg/6 mL) Glass Tube

シリカカートリッジ：SUPELCO 製 Supelclean LC-Si (500 mg/6 mL) Glass SPE Tube

【標準液の調製】

〔標準液〕

2,4-ジ-*tert*-ペンチルフェノールを正確に 20.0 mg 量り取り、アセトンで 20 mL として、1000 μg/mL の標準原液を調製する。

〔内標準液〕

ヘキサクロロベンゼン-$^{13}C_6$ を正確に 10.0 mg 量り取り、ヘキサン 20 mL として、500 μg/mL の内標準原液を調製する。これをヘキサンで希釈し、10.0 μg/mL の内標準液を調製する。

〔検量線用標準液〕

ヘキサンを用いて 2,4-ジ-*tert*-ペンチルフェノールの 1.00 μg/mL を調製し、さらにヘキサンで 0～1000 ng/mL になるように希釈した後 1 mL を正確に量り取り、1%ピロガロール-アセトン溶液 10 μL および内標準液を 5 μL 添加する。

【器具】

300 mL コニカルビーカー、200、50 mL メスシリンダー、10 mL 透明摺合遠心沈殿管（丸底、円錐）、20 mL 透明摺合メスフラスコ、50 mL 遠沈管（丸底・ネジ・キャップ付）、300 mL スキューブ型分液ロート、200mL ナス型フラスコ、マイクロシリンジ（注 1）、ホールピペット、パスツールピペット、駒込ピペット、ロート

：対象物質を含まない洗剤で洗浄後、精製水ですすぎ乾燥する。さらにアセトン、ヘキサンで洗浄し乾燥する。

Sep-Pak Concentrator Uni	：Waters 製
バキュームマニホールド	：Waters 製
超音波洗浄機	：BRANSON 製
遠心分離機	：KUBOTA 製
ロータリエバポレーター一式	：ビュッヒ製

(3) 分析法

【試料の採取及び保存等】

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。水質試料は、あらかじめピロガロール 0.4 g 入れた 200 mL のねじ口瓶に 200 mL 採取する（注 2）。試料採取後は冷暗所に保存し、速やかに試験操作を行う。

【試料の前処理及び試験液の調製】

［水質］

水質試料の全量を 300 mL のコニカルビーカーに入れ、試料容器の内壁をアセトン 10 mL で 2 回洗浄し混合する。ハウジングがガラス製の固相カートリッジに 10 mL/min で通水させる（注 3、4）。

通水終了後、固相カートリッジは精製水 10 mL を通して洗浄し、遠心分離器（3000 rpm、15 min）を用いて脱水する。次いで、ジクロロメタン 5 mL、ヘキサン 5 mL で溶出する。その後、無水硫酸ナトリウムを用いて脱水を行い、10 mL の目盛付試験管に採り、窒素気流下で緩やかに 1 mL まで濃縮したものを試料前処理液とする。

試料前処理液は、あらかじめヘキサン 10 mL で洗浄したシリカカートリッジ（注 5）に負荷する。1 mL 程度のヘキサンで目盛付試験管を洗浄しシリカカートリッジに負荷し、これを 2 回繰り返す。さらに洗浄液が 10 mL になるまでシリカカートリッジにヘキサンを通液する。次に、液面をカラムベッドまで下げてから、アセトン/ヘキサン(1:99) 14 mL を負荷し、初めの 4 mL は捨て、あとの 10 mL を分取し（注 6）、1%ピロガロール-アセトン溶液を 10 µL 添加し窒素気流下で緩やかに 1 mL まで濃縮する。その後、内標準液 (10.0 µg/mL) 5 µL を添加して、試験液とする。

［底質］

H25年度調査において、固相抽出では回収率が基準に達せず、液液抽出(ヘキサン50mLx2回)に変更した事例があった。(2014年度精査等検討会コメント)

底質試料湿重量 15 g（乾泥 5 g 相当）を遠沈管に採取後、ピロガロール 1 g、アセトン 30 mL を加え 20 分間振とうし、20 分間超音波処理後 3000 rpm で 15 分間遠心分離する。アセトン抽出液を分取後、残渣に再度アセトン 20 mL を加え、同様の抽出操作を行う。

5%塩化ナトリウム水溶液 200 mL を入れた 300 mL の分液ロートに合わせたアセトン抽出液を入れ、ヘキサン 50 mL を加え 10 分間振とう後静置する。ヘキサン層を分取後、再度ヘキサン 50 mL を加え、同様の抽出操作を行う。ヘキサン層を合わせた後、5%塩化ナトリウム水溶液 100 mL でヘキサン層を洗浄し、無水硫酸ナトリウムを用いて脱水し、200 mL のナス型フラスコに移し、ロータリーエバポレーター（水浴温度 30°C 以下）により 2 mL 程度にまで濃縮したものを試料前処理液とする。

試料前処理液は水質試料と同様に精製する。試料前処理液は、あらかじめヘキサン 10 mL で洗浄したシリカカートリッジ（注 5）に負荷する。1 mL 程度ヘキサンでナス型フラスコを洗いシリカカートリッジに負荷し、これを 2 回繰り返す。さらに洗浄液が 10 mL になるまでシリカカートリッジにヘキサンを通液する。次に、液面をカラムベッドまで下げてから、アセトン/ヘキサン (1:99) 14 mL を負荷し、初めの 4 mL は捨て、あとの 10 mL を分取し（注 6）、1%ピロガロール-アセトン溶液を 10 µL 添加し窒素気流下で緩やかに 1 mL まで濃縮する。その後、内標準液 (10.0 µg/mL) 5 µL を添加して、試験液とする。

【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整】**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】

〔GC/MS 条件〕

使用機種	: GC：Agilent7890A、MS：Agilent 5975C
カラム	: Equity-5 (30 m × 0.25 mm × 0.25 µm)
カラム温度	: 50°C (1.5 min) →30°C/min →150°C →10°C/min → 280°C (3 min)
注入口温度	: 250°C
試料注入法	: スプリットレス（パージ開始時間 1 min）
試料注入量	: 1 µL
カラム流量	: 1 mL/min
インターフェース温度	: 280°C
イオン源温度	: 230°C
検出モード	: SIM
モニターイオン	: 2,4-ジ-*tert*-ペンチルフェノール（注 7） *m/z* 205.2（定量用）、206.2、234.2（確認用） ヘキサクロロベンゼン-$^{13}C_6$ *m/z* 289.8

H25年度調査において、対象物質のピーク付近に妨害ピークが検出されるため昇温条件を変更してこれを回避した事例があった。
変更: 50℃(1.5分)→20℃/分→100℃→5℃/分→190℃→20℃/分→280℃(7分)
(2014年度精査等検討会コメント)

〔検量線〕

検量線用標準液の 1 µL を GC/MS に注入し、対象物質と内標準物質の濃度比及びピーク面積比から検量線を作成する。

〔定量〕

試験液の 1 μL を GC/MS に注入し、対象物質と内標準物質のピーク面積比より、2,4-ジ-*tert*-ペンチルフェノールの検出量を定量する。

〔濃度の算出〕

試料水中濃度 *C* (ng/L、ng/g-dry) は次式により算出する。

$C = R \cdot Q / V$

R：検量線から求めた内標準物質濃度に対する対象物質濃度の比
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：試料量 (L、ng/g-dry)

本分析法に従った場合、以下の数値を使用する。

$Q = 50.0$ (ng)

（= 添加する内標準の濃度 (10.0 ng/μL) × 添加する内標準の容量 (5.00 μL)）

V：0.200（L、水質）、5.00（g-dry、底質）

即ち、

$C = R \times 250$（ng/L、水質）

$C = R \times 1.00$（ng/g-dry、底質）

である。

〔装置検出下限値 (IDL)〕

本分析に使用した GC/MS の IDL を表 1 に示す（注 8）。

表 1　IDL の算出結果

〔水質〕

物質名	IDL (ng/mL)	試験量 (L)	最終液量 (mL)	IDL 試料換算値 (ng/L)
2,4-ジ-*tert*-ペンチルフェノール	0.063	0.20	1.0	0.32

〔底質〕

物質名	IDL (ng/mL)	試験量 (g-dry)	最終液量 (mL)	IDL 試料換算値 (ng/g-dry)
2,4-ジ-*tert*-ペンチルフェノール	0.063	5.0	1.0	0.013

〔測定方法の検出下限値 (MDL) 及び定量下限値 (MQL) 〕

本分析方法における MDL 及び MQL を表 2 に示す（注 9)。

表 2　MDL 及び MQL の算出結果

〔水質〕

物質名	試験量 (L)	最終液量 (mL)	MDL (ng/L)	MQL (ng/L)
2,4-ジ-*tert*-ペンチルフェノール	0.200	1.0	0.98	2.5

〔底質〕

物質名	試験量 (g-dry)	最終液量 (mL)	MDL (ng/g-dry)	MQL (ng/g-dry)
2,4-ジ-*tert*-ペンチルフェノール	5.00	1.0	0.13	0.32

注　解

（注 1）吐出誤差 2%以下であることをあらかじめ確認しておくことが望ましい。精度を保証するため、校正されたデジタルマイクロシリンジや検量証明書付きマイクロシリンジの使用が有効である。例として SGE 製があるが推奨するものではない。

（注 2）200 mL のねじ口瓶は、使用の前に重量を計っておき採水後の重量を計りその差から試料量(L) を算出する。

（注 3）固相カートリッジは、あらかじめジクロロメタン 10 mL、ヘキサン 5 mL、アセトン 5 mL 及び精製水 20 mL でコンディショニングしておく。

（注 4）固相カートリッジは、Sep-Pak Concentrator Uni 等の濃縮装置の先端に付け、濃縮を行う。

（注 5）シリカカートリッジは、あらかじめヘキサン 10 mL でコンディショニングしておく。

（注 6）あらかじめ Supelclean LC-Si 6 mL Glass SPE Tube 500 mg の溶出条件を確認しておく。

（注 7）モニターイオンについては、後述の〔モニターイオンの検討〕で妨害イオンについて検討を行った。

（注 8）IDL は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」（平成 21 年 3 月）に従って算出した。算出結果を表 3 に、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	2,4-ジ-*tert*-ペンチルフェノール	
試料媒体	水質	底質
試料量 (L, g-dry)	0.200	5.00
最終液量 (mL)	1.0	
注入液濃度 (ng/mL)	0.200	
装置注入量 (μL)	1.0	
結果 1 (ng/mL)	0.175	
結果 2 (ng/mL)	0.167	
結果 3 (ng/mL)	0.198	
結果 4 (ng/mL)	0.168	
結果 5 (ng/mL)	0.157	
結果 6 (ng/mL)	0.152	
結果 7 (ng/mL)	0.152	
平均値 (ng/mL)	0.1669	
標準偏差 (ng/mL)	0.0162	
IDL (ng/mL)*	0.063	
IDL 試料換算値 (ng/L, ng/g-dry)	0.32	0.013
S/N 比	10	
CV (%)	9.7	

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

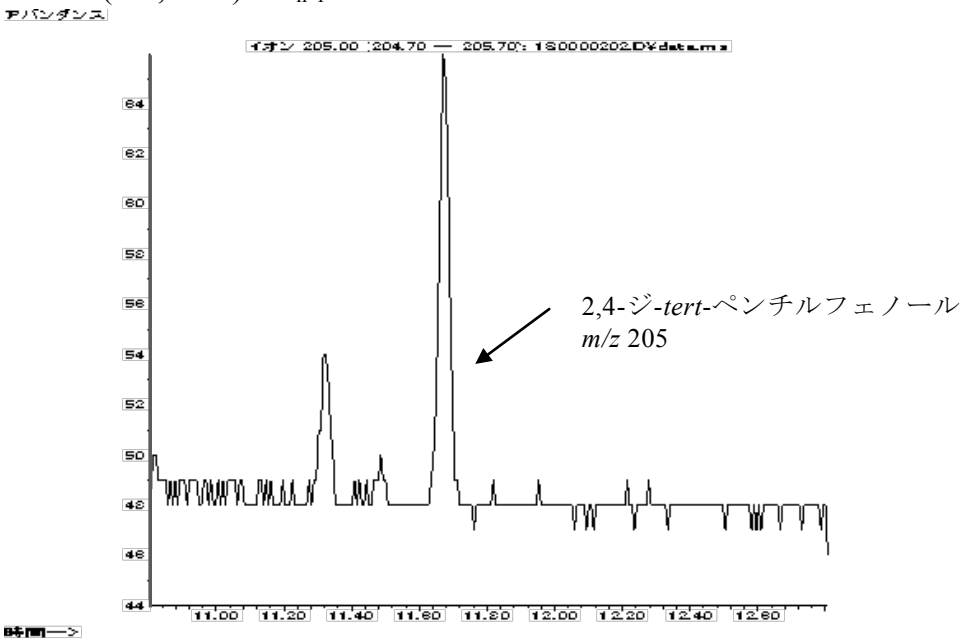


図 1　IDL 測定時のクロマトグラム

（注 9）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 に算出した。測定時のクロマトグラムを図 2 に示す。

表 4　MDL 及び MQL の算出結果

物質名	2,4-ジ-*tert*-ペンチルフェノール	
対象媒体	水質	底質
試料量 (L, ng/g-dry)	0.200	5.00
標準添加量 (ng)	0.300	1.00
試料換算濃度 (ng/L, ng/g-dry)	1.5	0.20
最終液量 (mL)	1.00	1.00
注入液濃度 (ng/mL)	0.300	1.00
装置注入量 (μL)	1.00	1.00
操作ブランク平均 (ng/L, ng/g-dry) [*1]	<0.98	<0.13
無添加平均 (ng/L, ng/g-dry)[*2]	<0.98	<0.13
結果 1 (ng/L, ng/g-dry)	1.99	0.188
結果 2 (ng/L, ng/g-dry)	1.62	0.194
結果 3 (ng/L, ng/g-dry)	1.67	0.213
結果 4 (ng/L, ng/g-dry)	1.92	0.281
結果 5 (ng/L, ng/g-dry)	1.43	0.209
結果 6 (ng/L, ng/g-dry)	1.51	0.236
結果 7 (ng/L, ng/g-dry)	1.31	0.212
平均値 (ng/L, ng/g-dry)	1.636	0.2190
標準偏差 (ng/L, ng/g-dry)	0.249	0.0314
MDL (ng/L, ng/g-dry)[*3]	0.98	0.13
MQL (ng/L, ng/g-dry)[*4]	2.5	0.32
S/N 比	20	60
CV(%)	15	14

*1: 試料ﾏﾄﾘｯｸｽのない状態で他は同様の操作を行い測定した値の平均値 (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 = 2)

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

*4：$MQL = \sigma_{n-1} \times 10$

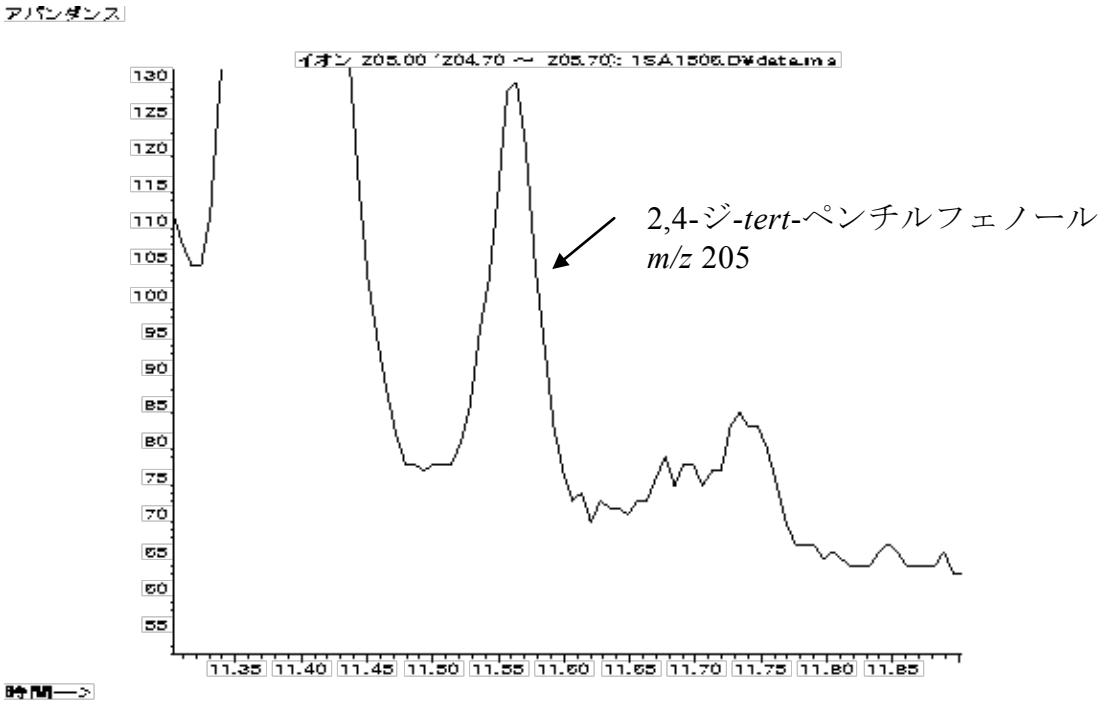


図 2-1　MDL 算出の代表的なクロマトグラム（水質試料）

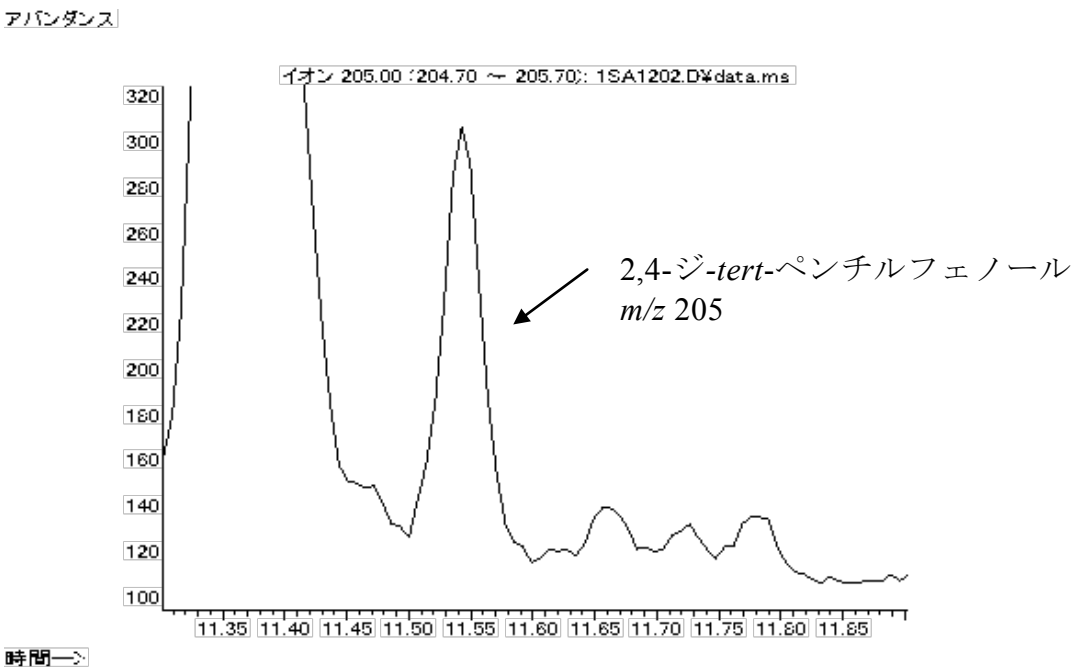


図 2-2　MDL 算出の代表的なクロマトグラム（底質試料）

§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 3 に示す。

〔水質〕

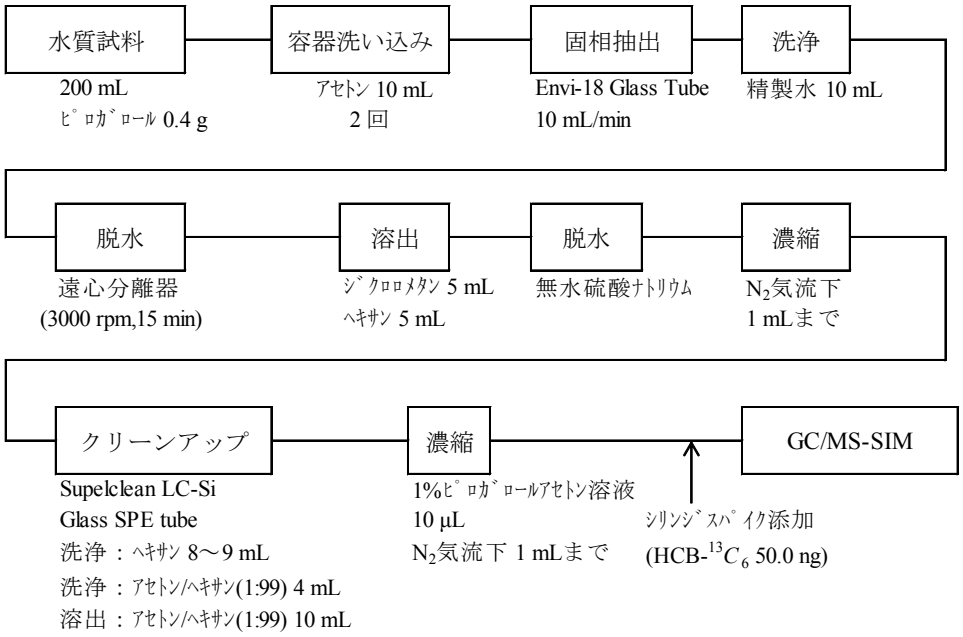


図 3-1 水質分析法のフローチャート

〔底質〕

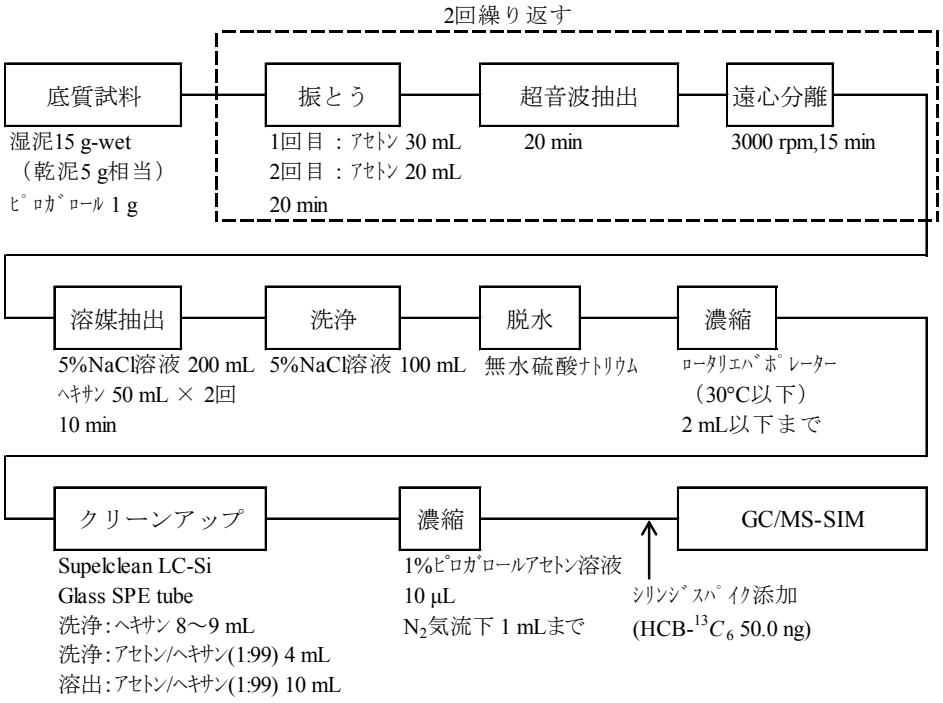


図 3-2 底質分析法のフローチャート

〔検量線〕

検量線を図 4 に、検量線作成用データを表 5 に示す。

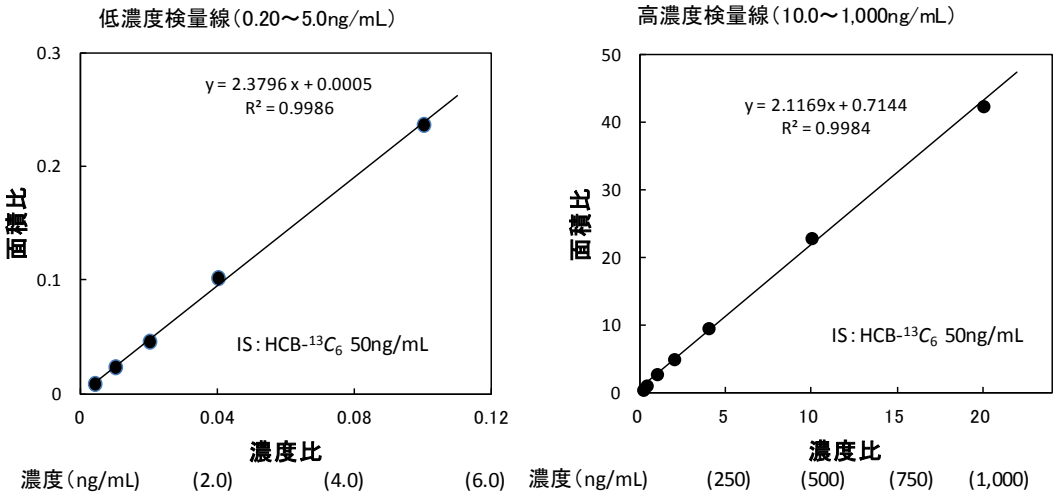


図 4　低濃度及び高濃度検量線

表 5 検量線作成用データ

標準試料濃度 (ng/mL) (C_s)	応答値		応答比 (A_s/A_{is})
	対象物質 (A_s) ［2,4-ｼﾞ-*tert*-ﾍﾟﾝﾁﾙﾌｪﾉｰﾙ］ (*m/z* 205.2)	内標準物質 (A_{is}) ［HCB-$^{13}C_6$］ (*m/z* 289.8)*	
0.200	41	4390	0.009
0.500	103	4388	0.023
1.00	207	4501	0.046
2.00	417	4094	0.102
5.00	1082	4573	0.237
10.0	2172	4109	0.529
20.0	4385	3785	1.16
50.0	10882	3829	2.84
100	21767	4307	5.05
200	42144	4374	9.94
500	101473	4423	22.9
1000	176994	4171	42.4

*：内標準物質濃度 50.0 ng/mL

〔標準物質のクロマトグラム〕

2,4-ジ-*tert*-ペンチルフェノール及びヘキサクロロベンゼン-$^{13}C_6$ のクロマトグラムを図 5 に示す。

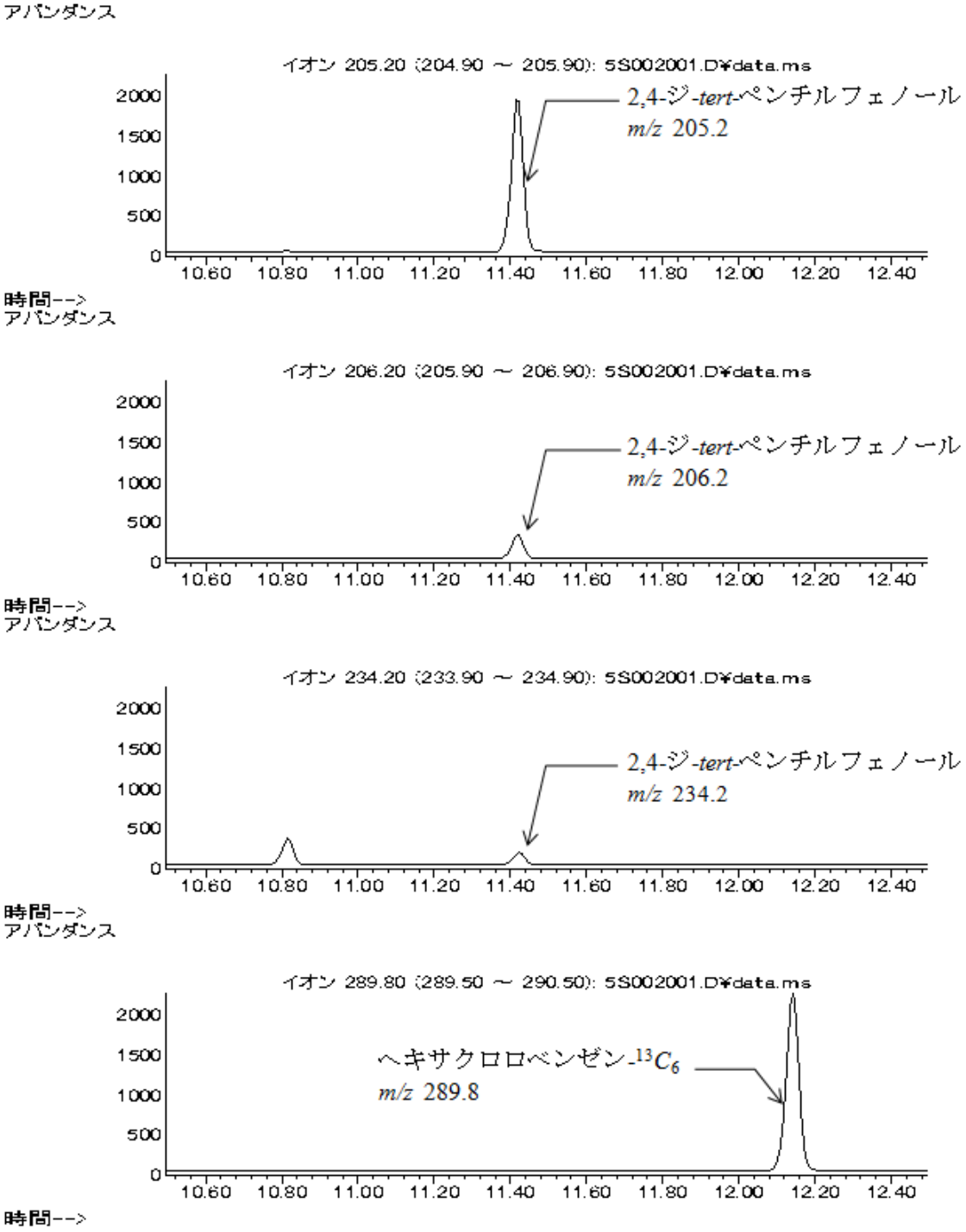


図 5　2,4-ジ-tert-ペンチルフェノールのクロマトグラム
（2,4-ジ-*tert*-ペンチルフェノール：20.0 ng/mL、
ヘキサクロロベンゼン-$^{13}C_6$：50.0 ng/mL）

〔マススペクトル〕

2,4-ジ-*tert*-ペンチルフェノール及びヘキサクロロベンゼン-$^{13}C_6$ のマススペクトルを図 6 に示す。

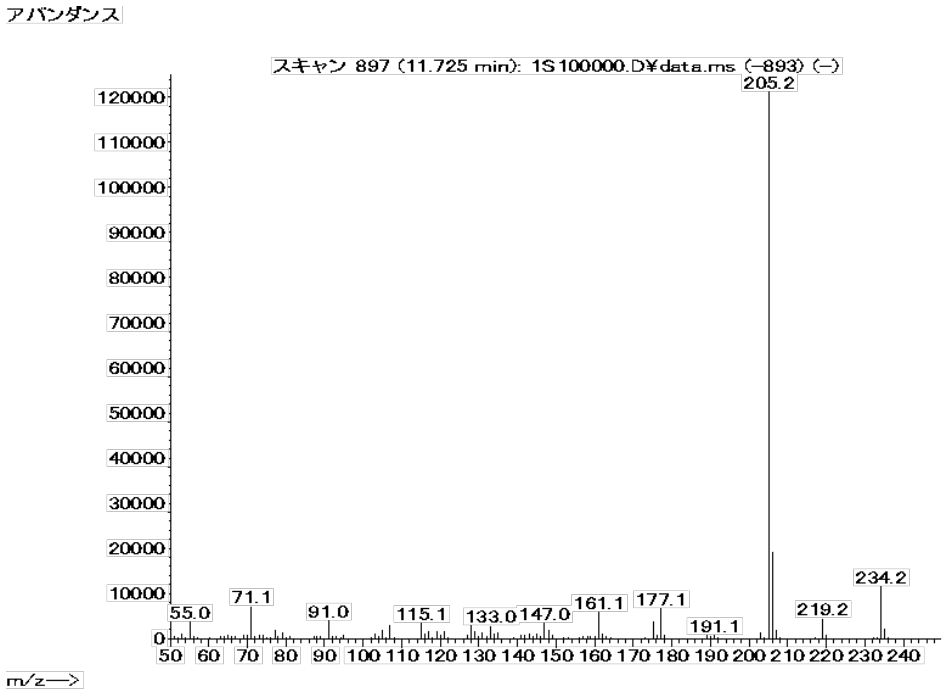


図 6-1　2,4-ジ-*tert*-ペンチルフェノールのマススペクトル

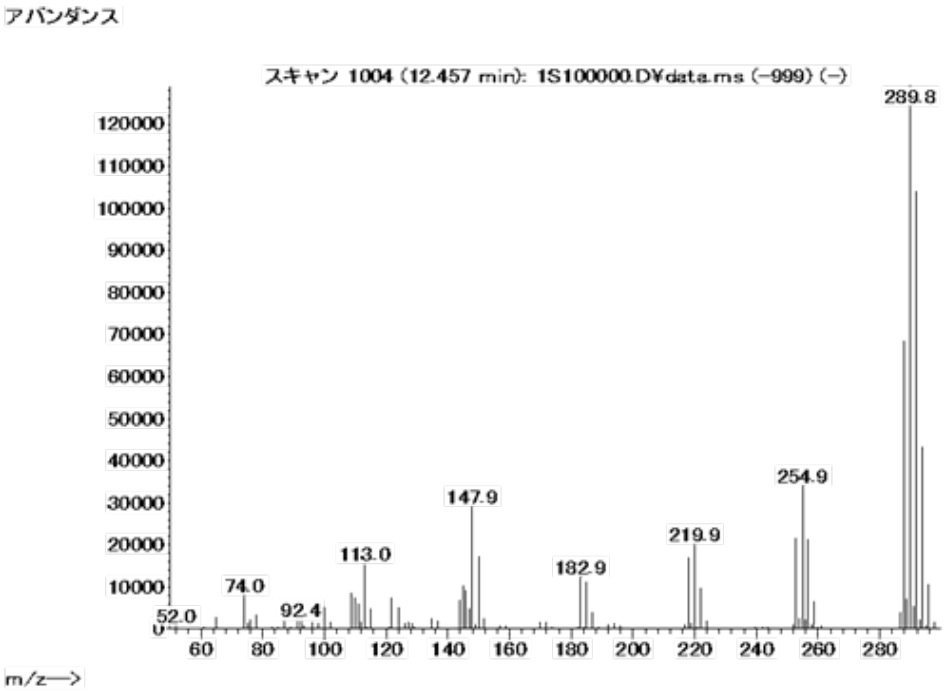


図 6-2　ヘキサクロロベンゼン-$^{13}C_6$ のマススペクトル

〔操作ブランク〕

操作ブランクは、水質試料、底質試料とも MDL 以下だったが近傍にピークが検出された。操作ブランクのクロマトグラムを図 7 に示す。

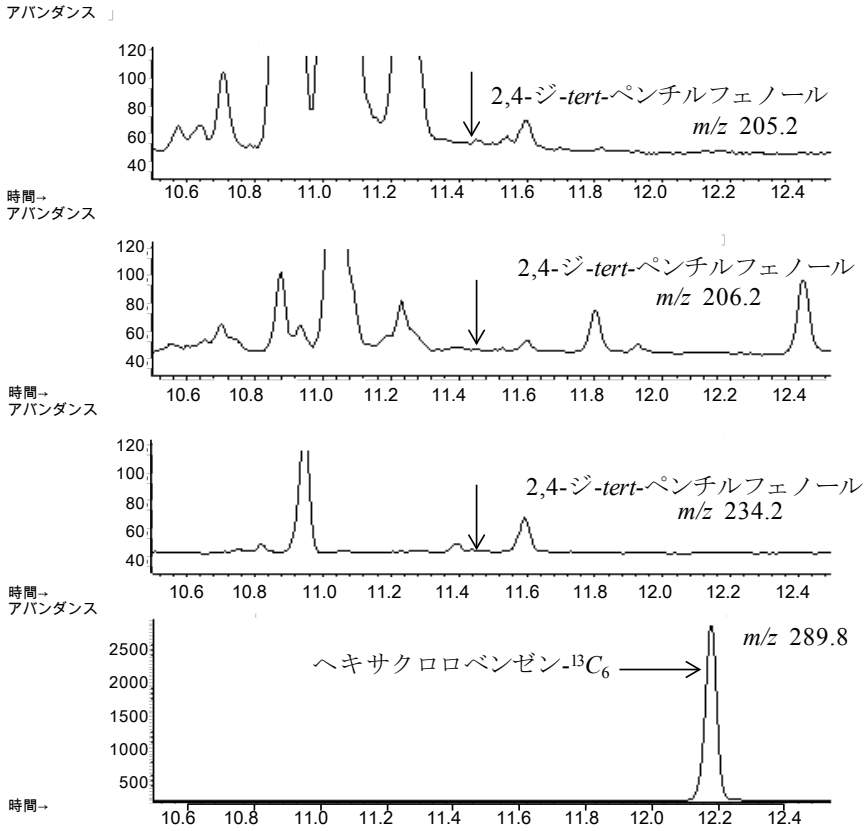


図 7-1　操作ブランク試験のクロマトグラム（水質試料）

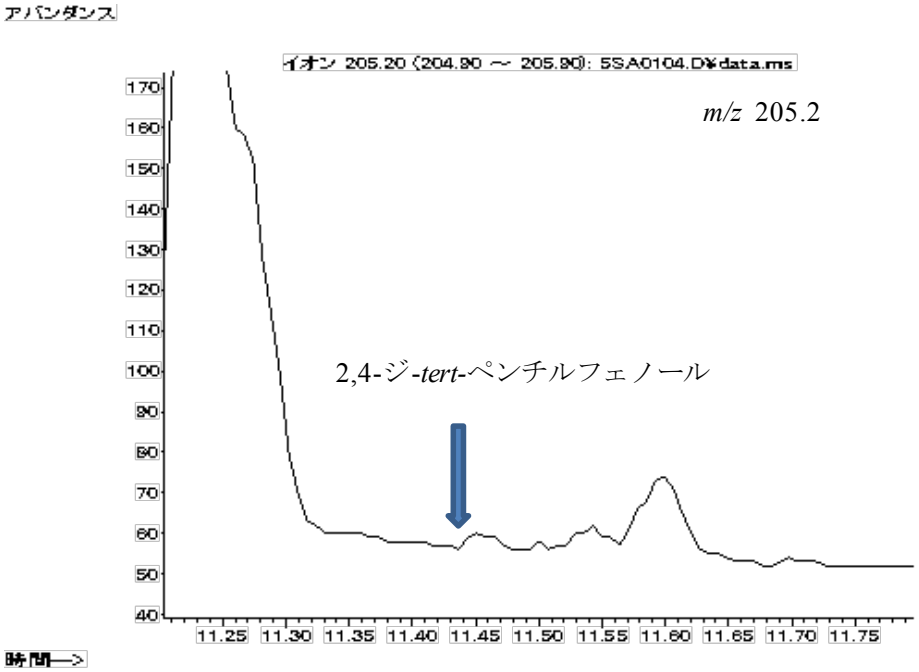


図 7-2　操作ブランク試験のクロマトグラム（水質試料）（図 7-1 の拡大）

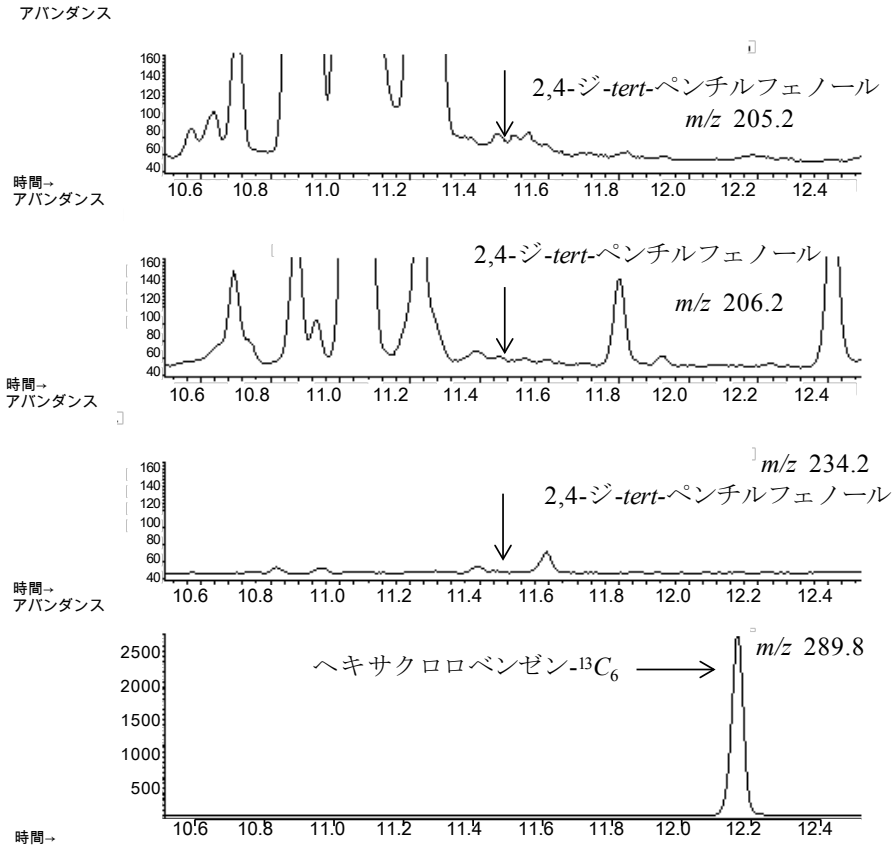


図 7-3　操作ブランク試験のクロマトグラム（底質試料）

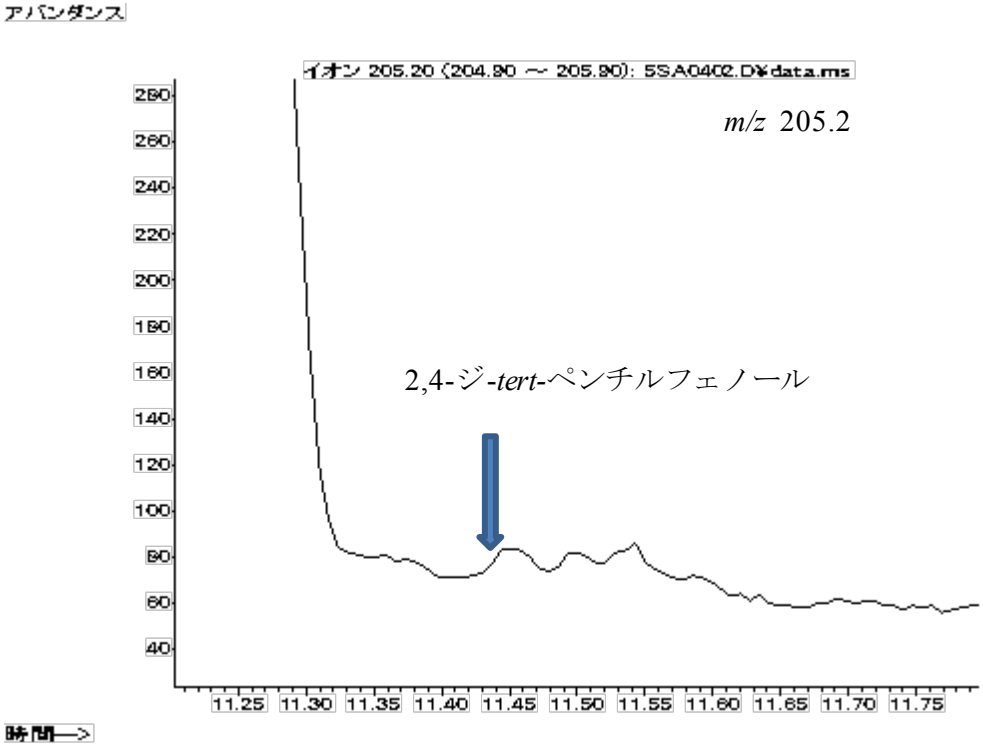


図 7-4　操作ブランク試験のクロマトグラム（底質試料）（図 7-3 の拡大）

〔添加回収試験〕

河川水（金沢川）及び海水・底質（四日市港）への添加回収試験結果を表6、添加回収試験時のクロマトグラムを図8に示す。

表6　添加回収試験結果

試料名	試料量 (L, g-dry)	添加量 (ng)	試験数	検出濃度 (ng/L, ng/g-dry)	回収率 (%)	変動係数 (%)
河川水	0.2	無添加	2	<0.98	-	-
	0.2	5.00	5	19	77	7.1
海水	0.2	無添加	2	<0.98	-	-
	0.2	5.00	5	20	81	12
底質	5.0	無添加	2	<0.13	-	-
	5.0	20.0	5	3.4	86	1.9

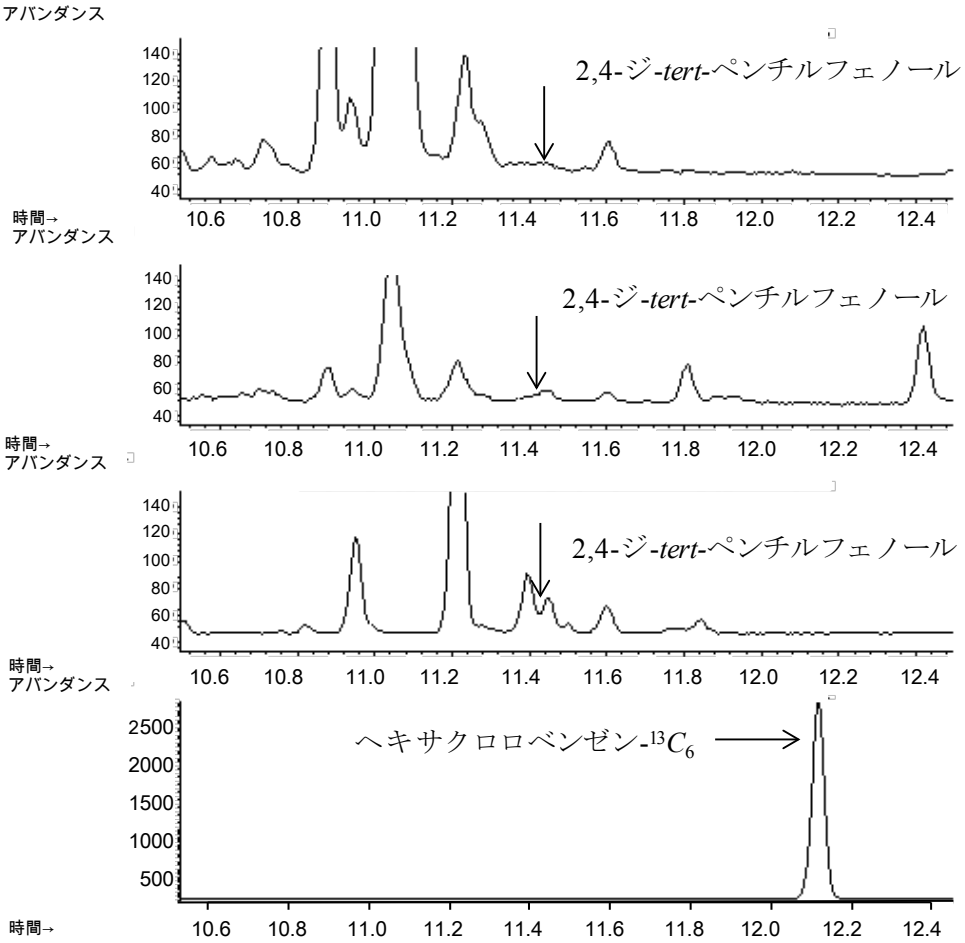


図8-1　河川水（金沢川）試料のクロマトグラム（無添加試料）

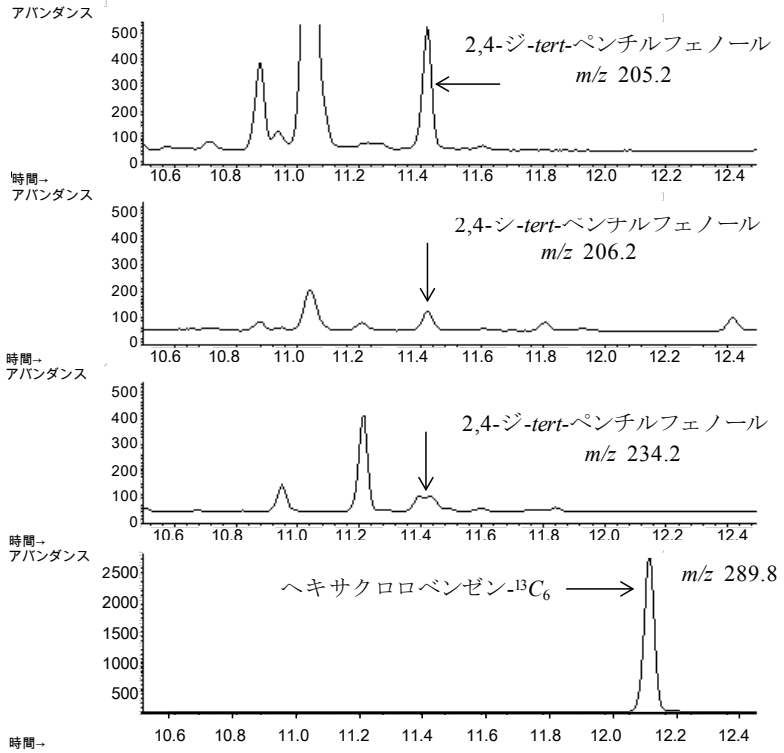


図 8-2　河川水（金沢川）添加試料のクロマトグラム（標準 5.00 ng 添加）

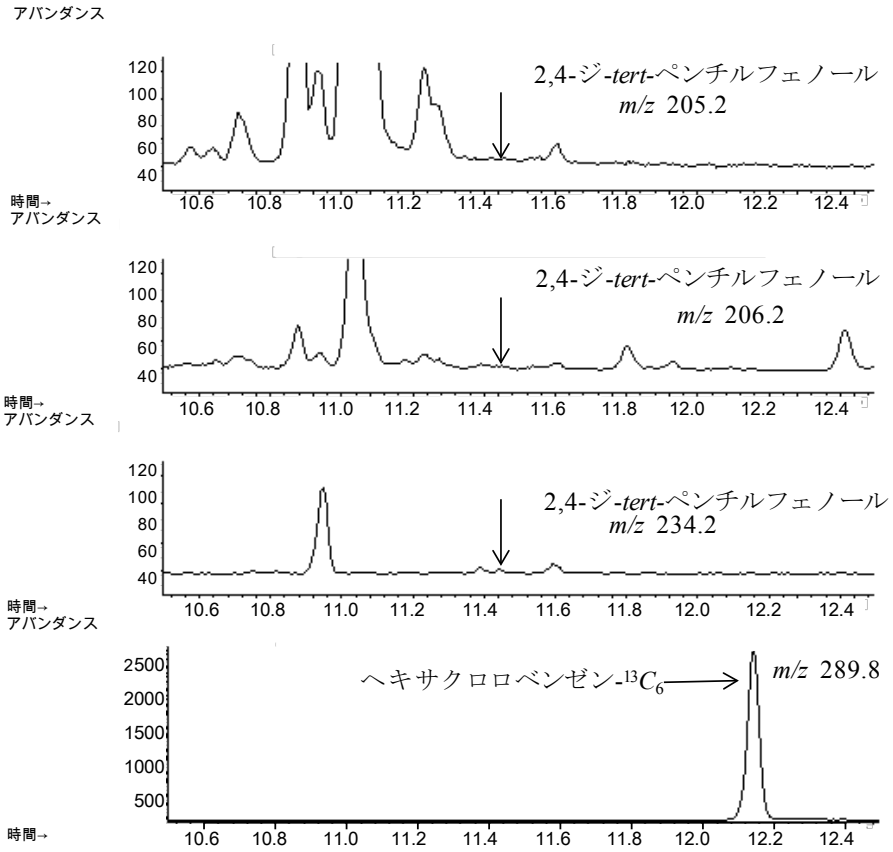


図 8-3　海水（四日市港）試料のクロマトグラム（無添加試料）

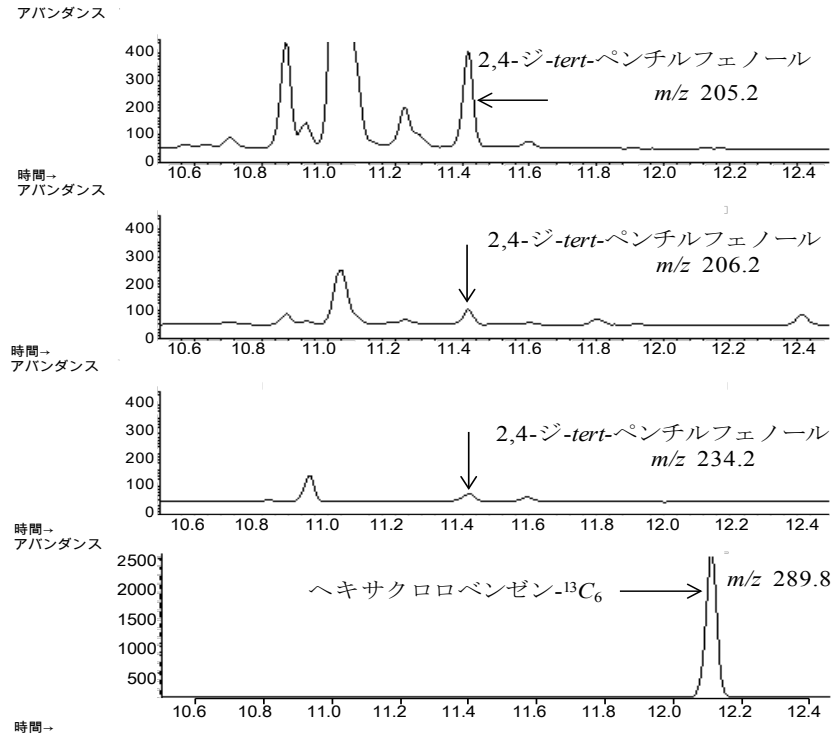


図 8-4　海水（四日市港）添加試料のクロマトグラム（標準 5.00 ng 添加）

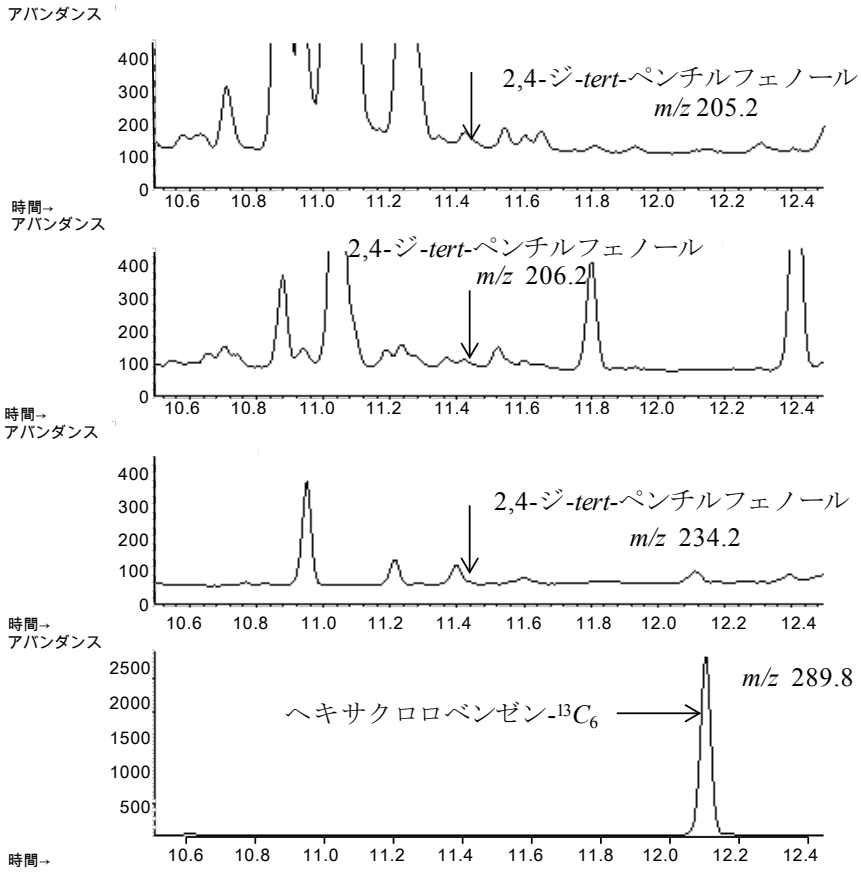


図 8-5　底質（四日市港）試料のクロマトグラム（無添加試料）

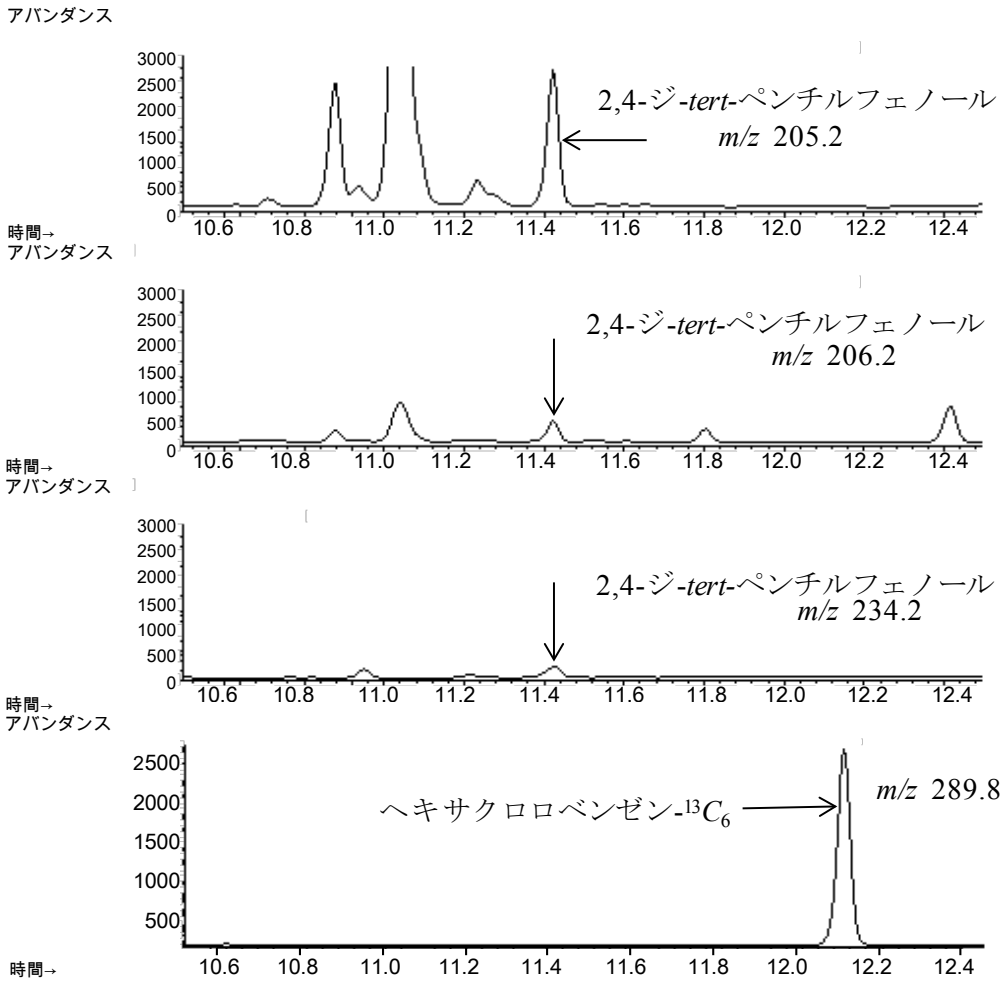


図 8-6 底質（四日市港）添加試料のクロマトグラム（標準 20.0 ng 添加）

〔分解性スクリーニング試験〕

分解性スクリーニング試験結果を表 7 に示す。

表 7　分解性スクリーニング試験結果

pH	試験数	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
5	2	125	80	71	-
7	2	125	71	54	62
9	2	125	75	77	-

〔保存性試験〕

保存性試験結果を表 8 に示す。

表 8　保存性試験結果

	試料名	初期濃度 (ng/L)	残存率 (%)		
			7 日間	14 日間	1 ヶ月
河川水	試料	10	59	-	-
海水	試料	10	77	-	-
	試料（ピロガロール添加）	10	82	-	-
	粗抽出液	1.0	-	104	-
底質	粗抽出液	200	-	100	-
標準溶液	MDL の 10 倍程度（水質）	2.0×10^3	-	-	103
	MDL の 10 倍程度（底質）	10×10^3	-	-	102
	検量線の最高濃度	10×10^5	-	-	105

〔環境試料の分析〕

本分析法により、河川水（金沢川）、海水、底質の（四日市港）の水質試料を測定した結果、環境試料から対象物質は検出されなかった。

〔検量線へのピロガロール添加について〕

1%ピロガロール-アセトン溶液を 2,4-ジ-*tert*-ペンチルフェノール 10ng/mL に 0～100 µL 添加した検出量の結果を図 9 に示す。その結果、1%ピロガロール-アセトン溶液を 5 µL 以上添加しても検出量は変化しなかった。

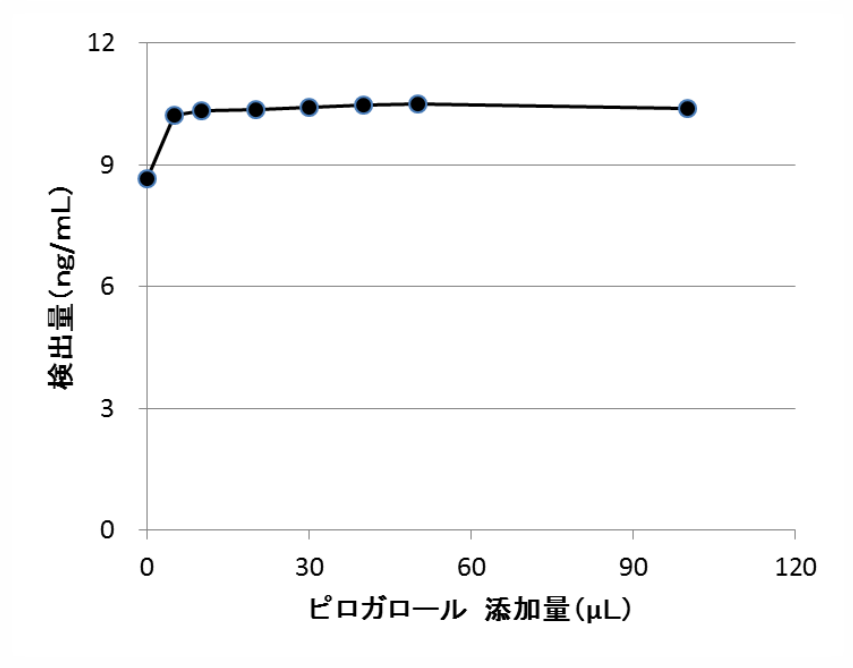


図 9　1%ピロガロール-アセトン溶液添加量と検出量の関係

〔クリーンアップの検討〕

クリーンアップ用カラムとして Supelclean LC-Florisil 6 mL Glass SPE (500 mg)を用いて検討を行ったが溶出率が安定しなかったので Supelclean LC-Si 6 mL Glass SPE(500 mg)に変えて検討を行った。その結果、標準液、水質試料及び底質試料において LC-Si カラムでの 2,4-ジ-*tert*-ペンチルフェノールの溶出パターンは図 10 の通りであった。

今回の溶出条件は、ヘキサン 10 mL、1%アセトン/ヘキサン 4 mL で洗浄を行い、1%アセトン/ヘキサン 10 mL で溶出とした。

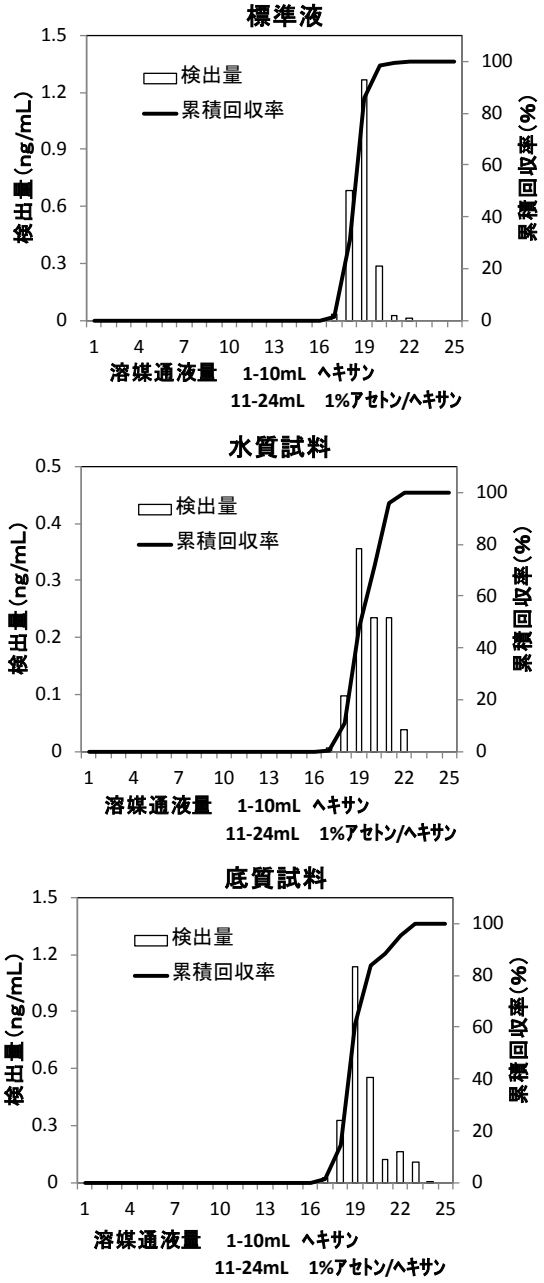


図 10　試料別 2,4-ジ-*tert*-ペンチルフェノールの溶出パターン
(Supelclean LC-Si 6 mL Glass SPE (500 mg))

〔モニターイオンの検討〕

m/z 205.2、206.2、219.2 及び 234.2 における妨害について検討を行った。図 11-1 に標準液 5.00 ng/mL の *m/z* 205.2、206.2、219.2 及び 234.2 のクロマトグラムを示す。図 11-2 に示す通り、金沢川の水質試料からは、*m/z* 205.2 以外のクロマトグラムに強度の差はあるものの妨害ピークが検出された。四日市港の水質試料からは、*m/z* 205.2、206.2、219.2 及び 234.2 のクロマトグラムに妨害ピークは検出されなかった。図 11-3 に示す通り、四日市港の底質試料からは、妨害ピークは検出されなかった。

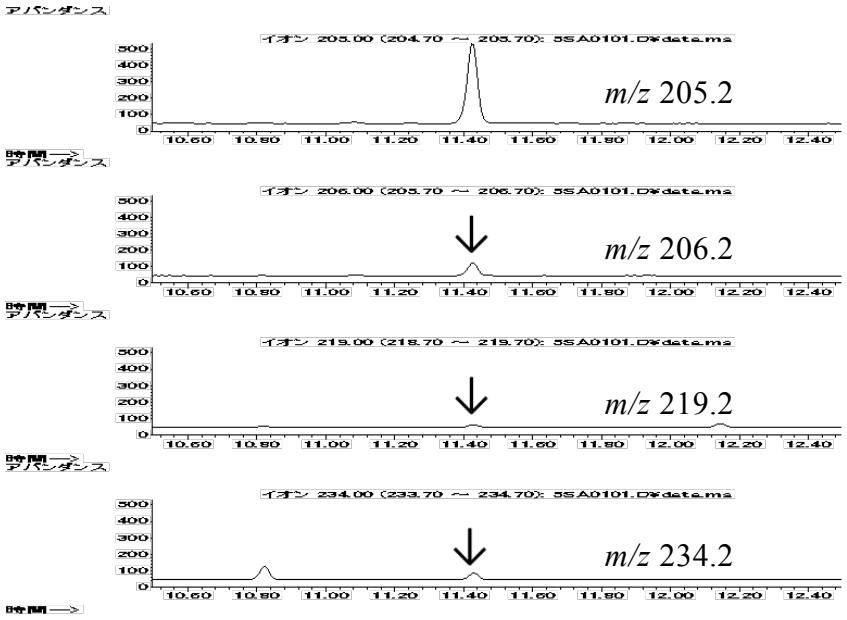


図 11-1　標準液 5.00 ng/mL のクロマトグラム

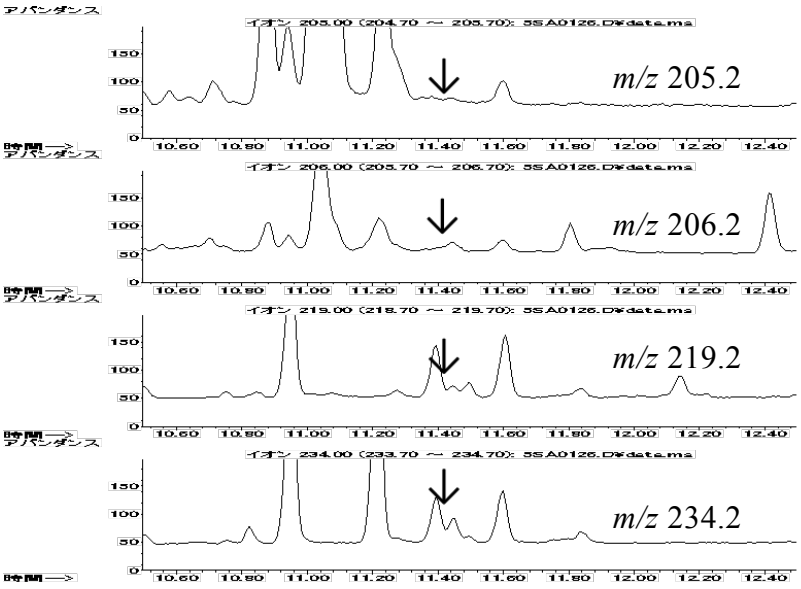


図 11-2　水質試料（金沢川）のクロマトグラム

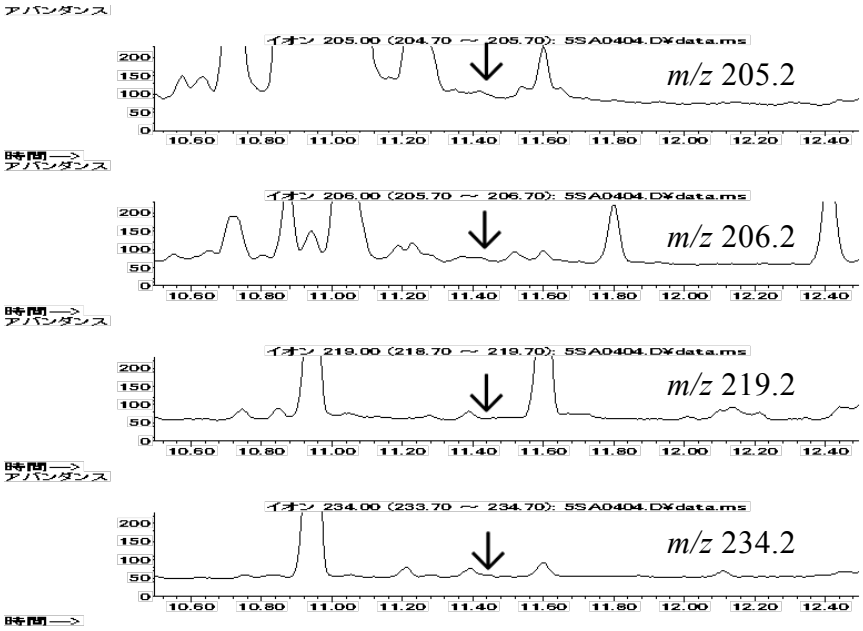


図 11-3　底質試料（四日市港）のクロマトグラム

〔妨害ピークの検討〕

金沢川について SCAN モードで測定を行い妨害物質の検討を行った結果を図 12 に示す。対象物質付近にピーク（①）が検出されたが同定は出来なかった。

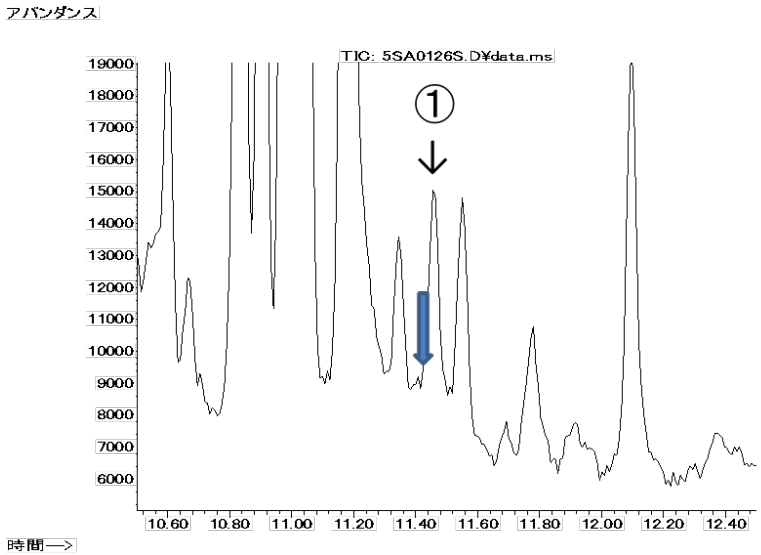


図 12-1　環境試料（金沢川）測定時の SCAN クロマトグラム
（①：対象物質付近の未知ピーク）

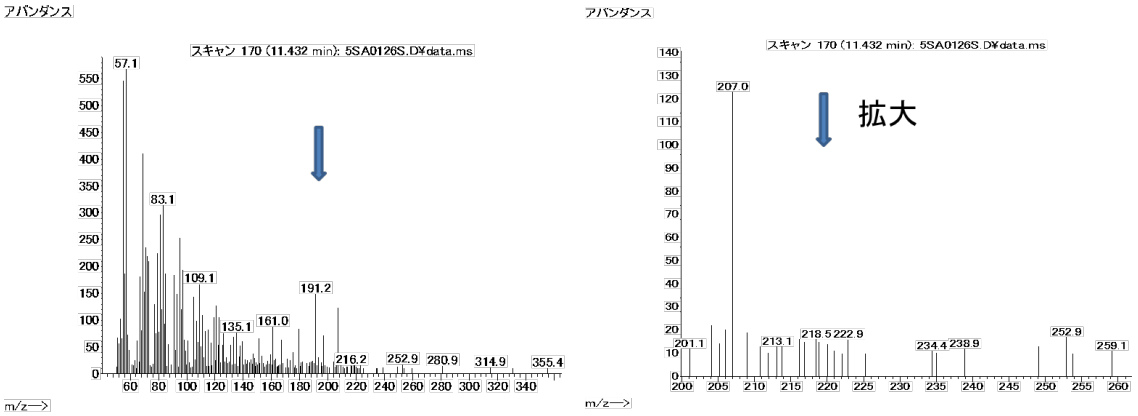


図 12-2　環境試料（金沢川）における対象物質検出時間のマススペクトル

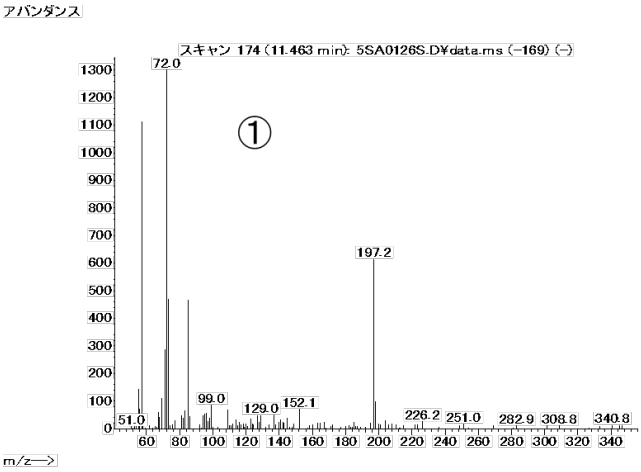


図 12-3　環境試料（金沢川）における対象物質付近の
未知ピーク（①）のマススペクトル

〔水質試料の通水量の検討〕

水質試料について、当初は 0.500 L 通水で検討を行っていたが、MDL 及び添加回収試験において回収率が 70%を越えなかったので通水量を 0.200 L にした。その結果、表 9 に示す通り、通水量を 0.200 L に減らすことにより回収率は向上した。

表 9 通水量の違いによる回収率の検討結果

通水量 (L)	添加量 (ng)	試験数	検出濃度 (ng/L)	回収率 (%)	変動係数 (%)
0.500	0.5	7	0.45	45	24
	25	5	34	68	8.4
0.200	0.3	7	1.6	110	15
	5.0	5	20	81	12

〔アセトン添加量の検討〕

ピロガロールを加えた水質試料にアセトンを添加することにより、固相への吸着の検討を行った。

精製水 0.200 L にアセトン 0～40 mL を加え、2,4-ジ-*tert*-ペンチルフェノールの標準液を添加 (0.500 ng) して抽出を行った。その結果を図 13-1 に示した。2,4-ジ-*tert*-ペンチルフェノールは、アセトン添加量が増えると回収率が少し上昇する傾向にあった。そのため、200 mL のねじ口瓶をアセトン 10 mL で 2 回洗浄し、水質試料に合わせても問題がないことがわかった。

また、Osais HLB glass についても、ピロガロールを加えた水質試料にアセトンを 0～20 mL を加え、2,4-ジ-*tert*-ペンチルフェノールの標準液を添加 (0.5 ng)して抽出を行った。その結果を図 13-2 に示した。2,4-ジ-*tert*-ペンチルフェノールはアセトン添加量が増えると回収率が少し減少する傾向にあった。

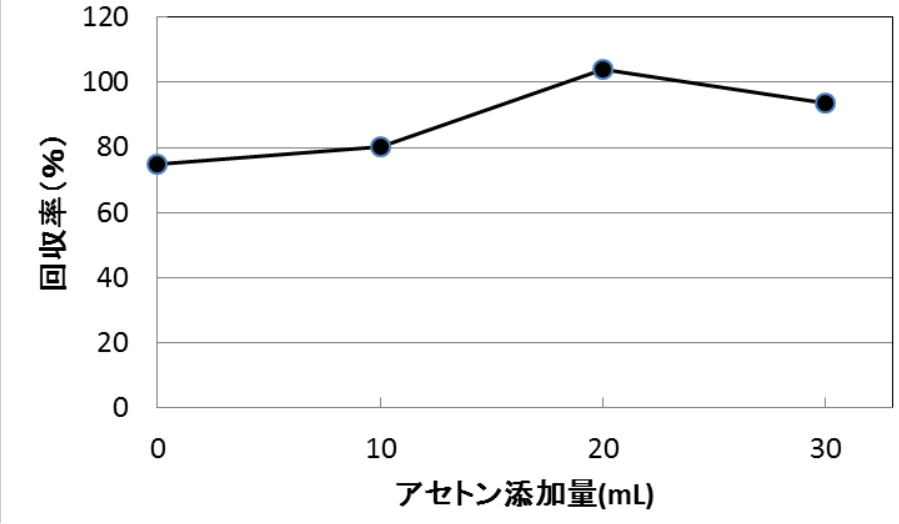


図 13-1　アセトン添加量と 2,4-ジ-*tert*-ペンチルフェノールの回収率の関係
（Supelclean LC-Si 6 mL Glass SPE (500 mg)使用時）

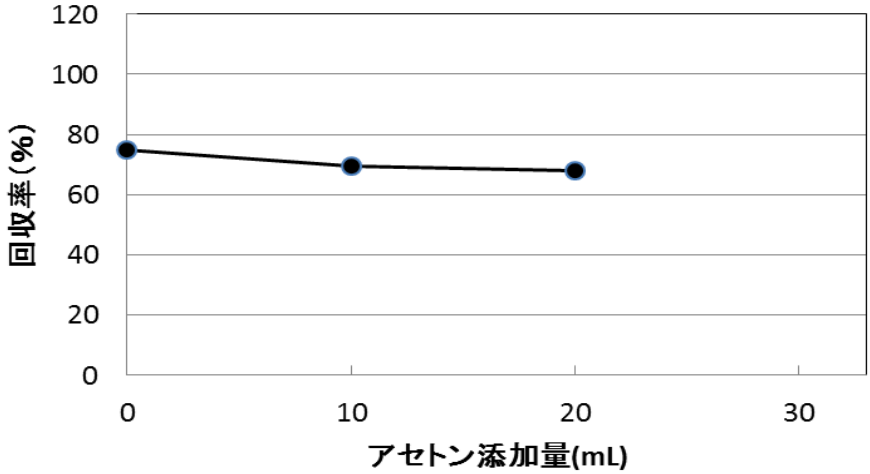


図 13-2　アセトン添加量と 2,4-ジ-*tert*-ペンチルフェノールの回収率の関係
（Osais HLB Glass 使用時）

〔ピロガロール添加の検討〕

0.200 L の精製水に 2,4-ジ-*tert*-ペンチルフェノールの標準液を添加し、ピロガロールを添加、無添加した場合の、2,4-ジ-*tert*-ペンチルフェノールの回収率について検討を行った。その結果を表 10 に示す。ピロガロールを添加することにより、2,4-ジ-*tert*-ペンチルフェノールの回収率は向上した。

表 10　ピロガロール添加による回収率の検討結果

ピロガロールの添加量 (g)	2,4-ｼﾞ-*tert*-ﾍﾟﾝﾁﾙﾌｪﾉｰﾙの添加量 (ng)	試験数	検出濃度 (ng/L)	回収率 (%)
無添加	0.5	1	0.34	67
	5	1	3.5	70
0.40	0.5	1	0.38	76
	5	1	4.2	84

【評価】

本法は水質および底質中の 2,4-ジ-*tert*-ペンチルフェノールの分析に適用でき、検出下限値はそれぞれ 0.98 ng/L、0.13 ng/g-dry であり、定量下限値はそれぞれ 2.5 ng/L、0.32 ng/g-dry であった。操作ブランクは検出されなかった。河川水、海水および底質の環境試料からは当該物質は検出されなかった。

【参考文献】

1) 吉田美方子，藤森一男，中野武：2,6-ジ-*t*-ブチルフェノール、2,6-ジ-*t*-ブチル-4-メチルフェノール、2,4,6-トリ-*t*-ブチルフェノール、2,6-ジ-*t*-ブチル-4-エチルフェノール，化学物質と環境 平成 15 年度化学物質分析法開発調査報告書， 96-111，環境省環境保健部環境安全課，平成 16 年 8 月 (2003)
2) 藤原康博，福嶋 実：2,6-ジ-*tert*-ブチル-4-*sec*-ブチルフェノール，化学物質と環境 平成 21 年度化学物質分析法開発調査報告書，155-174，環境省環境保健部環境安全課，平成 22 年 12 月 (2009)

【担当者連絡先】

所属先　　：三重県保健環境研究所
所属先住所：〒512-1211 三重県四日市市桜町 3684-11
TEL：059-329-2925　FAX：059-329-2924
担当者名　：佐来栄治
E-mail　　：saraie00@pref.mie.jp

2、4-Di-*tert*-pentylphenol

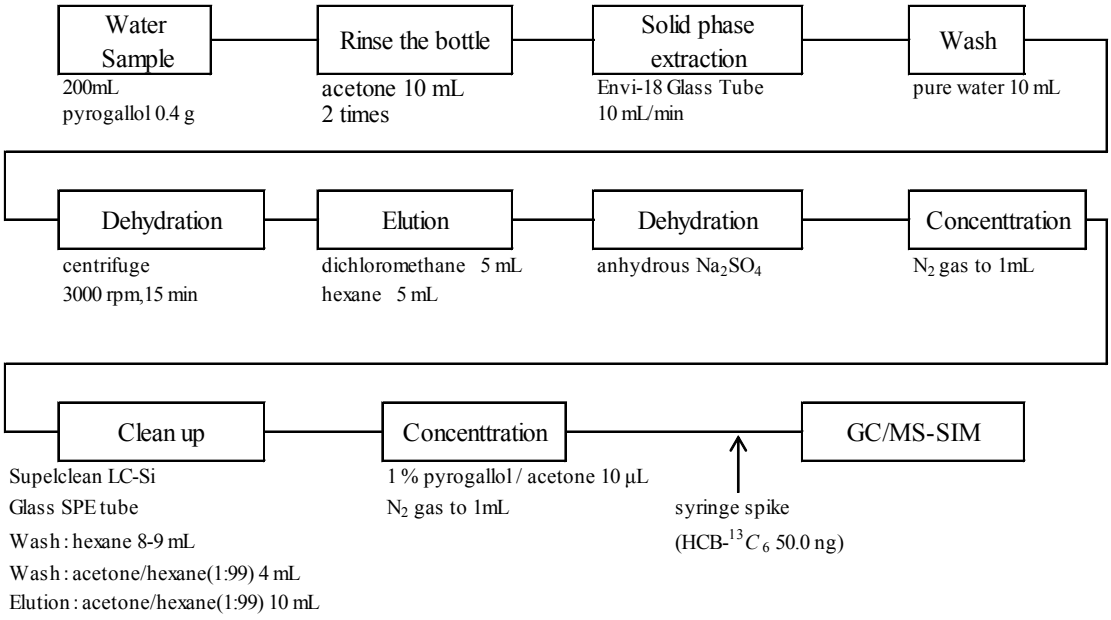
An analytical method has been developed for determination of 2,4-Di-*tert*-pentylphenol in water and sediment samples by gas chromatography/mass spectrometry with selected-ion monitoring (GC/MS-SIM).

Two hundred milliliters of sample water is collected in the glass bottle added with 0.4 g of pyrogallol. The bottle is washed twice with 10 mL of acetone. That is added to water sample, and passed through the solid-phase extraction cartridge conditioning (Envi-18 6 mL Glass Tube 500 mg) at the flow rate of 10 mL/min. After passing the water through a SPE column, the SPE column is dehydrated by Centrifugation. The extract is eluted with 5 mL of dichloromethane and 5 mL of hexane. The eluate is dehydrated with anhydrous sodium sulfate and is concentrated to 1 mL. The liquid is applied to LC-Si(Supelclean LC-Si 6mL Glass SPE Tube 500 mg) cartridge. Cartridge is washed with 4 mL of acetone/hexane (1:99) and eluted with 10 mL of aceton/hexane (1:99). The eluate is concentrated to 1 mL. After addition of a syringe spike (internal standard), the final extract is measured by GC/MS-SIM.

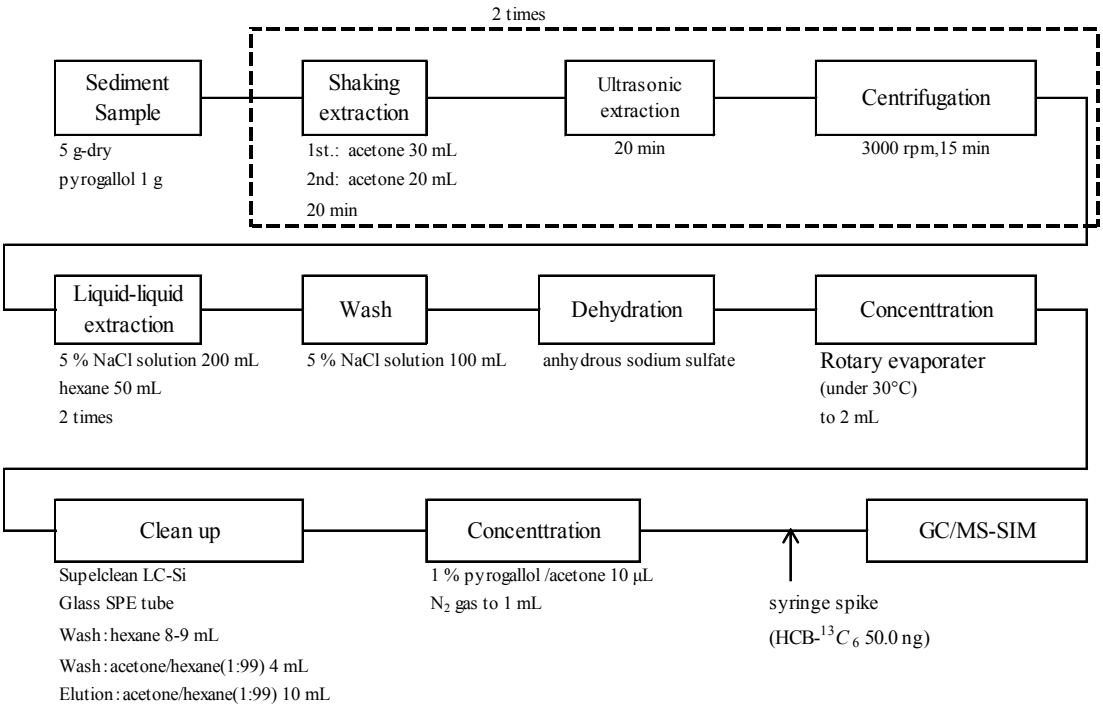
For a sediment sample, a 15 g-wet (5 g-dry) of wet sample with 1 g of pyrogallol added is extracted twice with acetone using a shaking machine and an ultrasonic bath. The acetone extract is centrifuged by centrifugal separation, and then 5% sodium chloride solution is added to the solution. The solution is extracted twice with hexane by shaking. The hexane extract is dehydrated with anhydrous sodium sulfate, concentrated to 2 mL by a rotary evaporator, and then it is cleaned up by the same operation for the water samples. The eluate is concentrated to 1 mL. After addition of a syringe spike (internal standard), the final extract is measured by GC/MS-SIM.

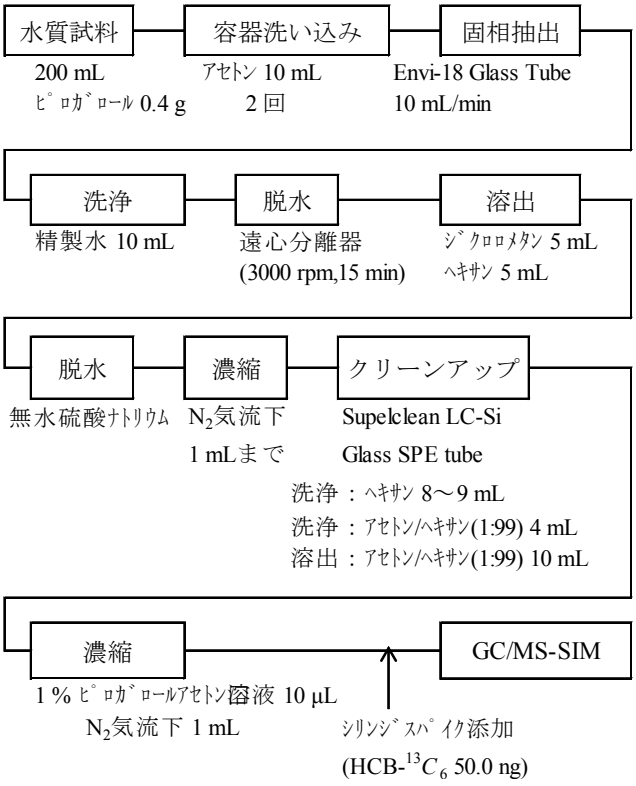
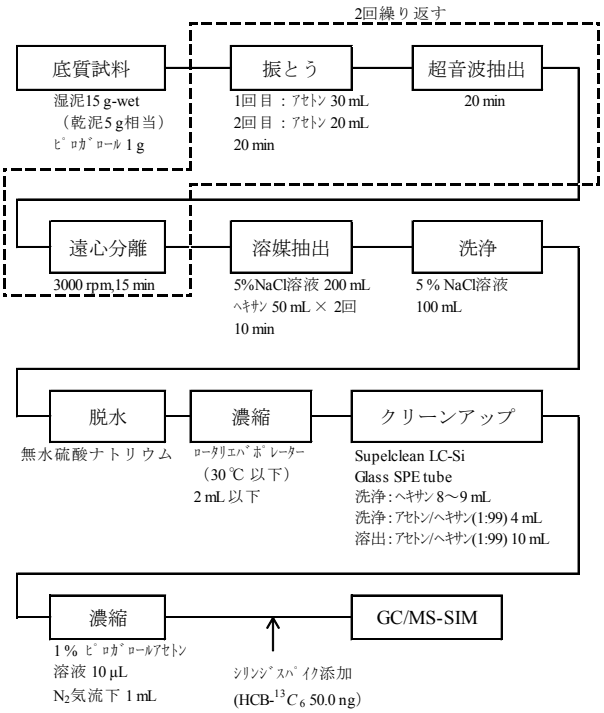
The method detection limit (MDL) of water sample and sediment sample are 0.98 ng/L and 0.13 ng/g-dry, respectively. The method quantification limit (MQL) of water sample and sediment sample are 2.5 ng/L and 0.32 ng/g-dry, respectively. The average recoveries (n=5) from a sea water and a sediment were 81% and 86%, and the relative standard deviation were 12 % and 1.9 %, respectively. Using this method, 2,4-Di-*tert*-pentylphenol was not detected in either of the water samples in river water and sea water and also not detected in the sediment.

〔Water Sample〕



〔Sediment Sample〕



物質名	分析法フローチャート	備　考
2,4-ジ-tert-ペンチルフェノール	【水質】  【底質】  	分析原理： GC/MS-SIM 検出下限値： 【水質】 (ng/L) 0.98 【底質】 (ng/g-dry) 0.13 分析条件： 機器 GC：HP6890、 MS：HP5975C カラム Equity-5 (SUPELCO) 30m × 0.25 mm, 0.25 µm

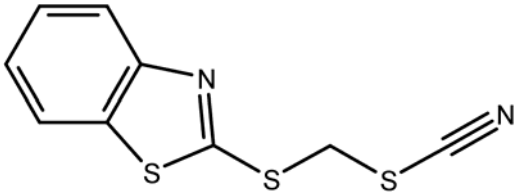
長野県環境保全研究所
［対象媒体：水質］

2-(チオシアナートメチルチオ)-1,3-ベンゾチアゾール

2-(Thiocyanatomethylthio)-1,3-benzothiazole

別名：TCMTB、ブサン
TCMTB, Busan

【対象物質の構造】



CAS 番号：21564-17-0
分子式：$C_9H_6N_2S_3$

【物理化学的性状】

項目	値	測定条件	出典
分子量	238.35	-	-
モノアイソトピック質量	237.9693	-	-
融点 (℃)	33	-	1
沸点 (℃)	191	-	2
水溶解度 (g/L)	0.033	-	3
蒸気圧 (hPa)	0.0698* (0.0525 mmHg)	-	3
log P_{ow}	3.3	-	3
密度 (g/cm^3)	1.4	-	3

*換算値（1 mmHg = 1.33 hPa による）

【毒性、用途等】

分解性 [1]		難分解性（標準法（試験期間 4 週間、被験物質 100 mg/L、活性汚泥 30 mg/L）：BOD (0%)、HPLC での測定 (20%)）
濃縮性 [4]	コイ	低濃縮性（コイ BCF：<14~20（0.002 mg/L、8 週間）、<153~268（0.0002 mg/L、8 週間））

環境影響[5]	無脊椎動物	急性：48 時間 LC_{50}：0.022 mg/L（オオミジンコ淡水 USEPA）、0.022 mg/L（ミッドシュリンプ海水 USEPA）
	魚類	急性：96 時間 LC_{50}：0.007 mg/L（ブルーギル 淡水 USEPA）、0.048 mg/L（シープスヘッドミノー 海水 USEPA） 慢性：NOEC：0.00034 mg/L・0.00056 mg/L（ニジマス負荷後の死亡及び成長 淡水 USEPA）
健康影響[5]	急性毒性	経口：LD_{50}：750-2665 mg/kg（ラット） 吸入：LC_{50}：約 0.1 mg/L（ラット） 経皮：LD_{50}：>2000 mg/kg（ラット）
	刺激性及び腐食性	皮膚：強度（ウサギ）、刺激性あり（モルモット）
	感作性	皮膚：強度（モルモット マキシマイゼーション法）
	反復投与毒性	経口：NOAEL：10 mg/kg/日（ラット 13 週間 混餌 胃の扁平上皮細胞過形成）
	生殖・発生毒性	NOAEL：400ppm（雄 38.4 mg/kg/日、雌 45.5 mg/kg/日）（ラット 混餌 すべての用量群の F1 および F0 に影響なし、400ppm 群の F2 児動物の哺育期間中にわずかな体重増加抑制）
用途[6]		殺菌剤（失効農薬）

出典

1) Daniels, C. R., Swan, E. P.: HPLC Assay of the Anti-Stain Chemical TCMTB Applied to Lumber Surface. *J.Chromatogr. Sci.*, **25**, 43-45 (1987)

2) USEPA: Reregistration Eligibility Decision for 2-(Thiocyanomethylthio)-benzothiazole (TCMTB) (http://www.epa.gov/oppsrrd1/REDs/tcmtb_red.pdf)

3) International Chemical Safety Cards ICSC1161

4) 通商産業省基礎産業局化学品安全課、既存化学物質安全性点検データ、通産省広報（平成 2 年 12 月 28 日）

5) 独立行政法人製品評価技術基盤機構：化学物質総合情報提供システム (CHRIP)

6) 化学工業日報社

§1 分 析 法

(1) 分析法の概要

水質試料をガラス繊維ろ紙でろ過し、ろ液を固相カートリッジに通水する（ろ過は必要に応じて実施する)。通気吸引及び窒素ガス通気により脱水し、ジクロロメタンで溶出する。無水硫酸ナトリウムで脱水後濃縮し、必要に応じてシリカカートリッジで精製し、シリンジスパイク内標準（以下、「内標準」という）及びPEG200を添加してGC/MS-SIMで分析する。

(2) 試薬・器具

【試薬】

TCMTB	：林純薬工業製（含量　98.3%）
p-ターフェニル-d_{14}	：和光純薬工業製（含量　98%）
10 mg/mL PEG200 溶液	：ポリエチレングリコール 200（和光純薬工業製　1 級）500 mg 量り取り、アセトンで 50 mL とする。
ヘキサン、アセトン、メタノール、ジクロロメタン	：関東化学製　残留農薬試験用（5000 倍濃縮）
1 mol/L 塩酸	：塩酸（関東化学製　精密分析用）を 12 倍希釈する。
固相カートリッジ	：GL サイエンス製 InertSep® Slim-J RP-1 for AQUA (230 mg)
シリカカートリッジ	：SUPELCO 製 Supelclean LC-Si (500 mg/6 mL) Glass SPE Tube
精製水	：Milli-Q 水
無水硫酸ナトリウム	：関東化学製　残留農薬試験　PCB 試験用（注 1）

【標準液の調製】

〔標準液〕

TCMTB10.0 mg を正確に量り取り、アセトンに溶解して 100 mL に定容し 100 μg/mL の標準原液とする。標準原液を 1 mL 分取し、ヘキサンで 100 mL に定容して 1.00 μg/mL の標準液を調製する。

〔内標準液〕

p-ターフェニル-d_{14} 5.00 mg を正確に量り取り、少量のアセトンで溶解しヘキサンを加えて 50 mL に定容し 100 μg/mL の内標準原液を調製する。これをヘキサンで希釈して 1.00 μg/mL の内標準液とする。

〔検量線用標準液〕

1.00 μg/mL の標準液をヘキサンで順次希釈し、0.200 ng/mL から 200 ng/mL の標準液を

調製する。各濃度の標準液を 1 mL 分取し、1.00 μg/mL の内標準液 10 μL と 10 mg/mL PEG200 溶液 10 μL を添加して検量線用標準液とする。

【器具】

加圧送液装置（Waters Sep-Pak Concentrator Plus 等）もしくは固相抽出用吸引マニホールド、アスピレーター、窒素濃縮装置、減圧容器、ガラス繊維ろ紙（Whatman GF/F (φ 4.7 cm)など）

減圧ろ過用フィルターホルダー、三角フラスコ(300 mL)、メスシリンダー(200 mL)、スピッツ型遠心管(10 mL)、全量フラスコ（クラス A）、全量ピペット（クラス A）：洗剤で洗浄後、精製水によるすすぎを行い、さらにアセトンで洗浄し乾燥させる。

(3) 分析法

【試料の採取及び保存等】

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）の「試料の採取及び検体の調製等」に従う。200 mL 褐色ビンに試料を採取し 1 mol/L 塩酸を 0.5 mL 添加してよく混合する（注 2）。

【試料の前処理及び試験液の調製】

水質試料 200 mL をガラス繊維ろ紙でろ過し、減圧ろ過用フィルターホルダー及びろ紙を精製水 20 mL で洗浄し、洗液をろ液に合わせる（懸濁物質が少なく固相抽出に支障がない場合はろ過を省略することが可能）（注 3）。あらかじめメタノール 5 mL、精製水 5 mL でコンディショニングした固相カートリッジにろ液を 10 mL/min で通水する。試料通水後、カートリッジを精製水 10 mL で洗浄し、30 分間の通気吸引および 15 分間の窒素ガス通気により脱水する。固相カートリッジからジクロロメタン 5 mL を用いてスピッツ型遠心管に溶出し、無水硫酸ナトリウムを添加して脱水後、別のスピッツ型遠心管に移す。元のスピッツ型遠心管はジクロロメタン 2 mL で 2 回洗浄し、上記の溶出液と合わせる。これを窒素気流下で 0.2 mL まで濃縮し、ヘキサンで 1 mL に定容する。

妨害等が認められた場合には、シリカカートリッジによりクリーンアップを行う。ジクロロメタン 5 mL で洗浄後、ジクロロメタン/ヘキサン(1:4) 5 mL でコンディショニングしたシリカカートリッジに上記粗抽出液を負荷する。スピッツ型遠心管をジクロロメタン/ヘキサン(1:4) 1 mL で 2 回洗浄し、同様に負荷する。シリカカートリッジをジクロロメタン/ヘキサン(1:4) 10 mL で洗浄した後にアセトン/ヘキサン(5:95) 8 mL で溶出し、窒素気流下で 1 mL まで濃縮する。

内標準として *p*-ターフェニル-d_{14} (1.0 μg/mL) 10 μL を加え、さらに 10 mg/mL PEG200 を 10 μL 添加して（注 4）試験液とする。

【空試験液の調製】

H25年度調査では、クリーンアップ操作において、分析法の アセトン/ヘキサン(5:95)では溶出が不十分で、(7:93)で良好となる事例があった。また、試験室内の空気等からの汚染が見られた事例があり、次の低減措置が報告された。1.ブランク水には、市販のエビアン水を使用した。2. 試験直前まで、使用する器具を150℃、樹脂系については105℃に加熱した。3. 固相カートリッジをコンディショニングの直前にジクロロメタンで洗浄した。(2014年度精査等検討会コメント)

試料水と同量の精製水に 1 mol/L 塩酸を 0.5 mL 添加してよく混合し、【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。

【測定】

〔GC/MS 条件〕

使用機種	: GC：ThermoFisher Scientific 製 TRACE GC ULTRA	
	MS：ThermoFisher Scientific 製 TSQ QUANTUM	
使用カラム	: DB-5ms　30 m × 0.25 mm, 0.25 μm	
カラム温度	: 80°C (2 min) → 20°C/min → 200°C → 10°C/min → 280°C (5 min)	
試料導入方法	: スプリットレス（パージ開始時間：1.0 min）	
	高圧注入法 (250 kPa, 1.0 min)（注 5）	
注入口温度	: 250°C	
キャリヤーガス	: He 1.0 mL/min	
試料注入量	: 3 μL（注 5）	
インターフェース温度	: 260°C	
イオン化法	: EI	
イオン源温度	: 230°C	
イオン化エネルギー	: 70 eV	
イオン化電流	: 50 μA	
検出モード	: SIM	
モニターイオン	: TCMTB	定量用　*m/z* 180.0
		確認用　*m/z* 136.0
	: *p*-ターフェニル-d_{14}	定量用　*m/z* 244.1

〔検量線〕

検量線用標準液 3 μL を GC/MS に注入し、得られた対象物質と内標準物質との濃度比、及び対象物質と内標準物質との面積比から検量線を作成する。

〔定量〕

試験液 3 μL を GC/MS に注入し、対象物質と内標準物質の面積比から検量線により定量する。

〔濃度の算出〕

試料水中濃度 C (ng/L) は次式により算出する。

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

R：検量線から求めた内標準物質濃度に対する対象物質濃度の比

Q：試料中に添加した内標準物質の量 (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 = 10.0 (ng)
（= 添加する内標準の濃度 (1.00 ng/μL) × 添加する内標準の容量 (10 μL)）
V：0.200 (L)
即ち、
$C = R \times 50.0$ (ng/L)
である。

〔装置検出下限値 (IDL)〕
本分析に用いた GC/MS の IDL を表 1 に示す（注 6）。

表 1　IDL の算出結果

物質名	IDL (ng/mL)	試料量 (mL)	最終液量 (mL)	IDL試料換算値 (ng/L)
TCMTB	0.091	200	1	0.45

〔測定方法の検出下限値 (MDL)及び定量下限値 (MQL)〕
本測定方法における MDL 及び MQL を表 2 に示す（注 7）。

表 2　MDL の算出結果

物質名	試料量 (mL)	最終液量 (mL)	MDL (ng/L)	MQL (ng/L)
TCMTB	200	1	0.82	2.1

注　解

（注 1）　無視できない汚染が認められる場合は、600℃ で 4 時間以上加熱後放冷する。
（注 2）　TCMTB は光や塩基により分解が促進されるため、酸性にして褐色ビンに保存する。
（注 3）　非常に SS 成分の多い海水などでは SS 成分への吸着が起こる可能性があるため、そのような試料での添加回収試験における回収率が悪い場合には、SS 成分からの抽出も行う。その方法は以下のとおりとする。
　水質試料 200 mL をガラス繊維ろ紙でろ過後、ろ紙とアセトン 5 mL を 100 mL ビーカーに入れ、10 分間の超音波抽出を 2 回行い、抽出液をろ液に添加

して固相抽出を行う。固相抽出以降の方法については【試料の前処理及び試験液の調製】と同様にする。

（注4） 感度および検量線の直線性が良好な場合は PEG200 の添加量を減らすか、無添加としてもよい。

（注5） 感度が良好な場合は通常のスプリットレス法で注入量を 1 μL もしくは 2 μL としても良い。その場合、カラムの初期温度を下げることも可能だが、ピークの形状が良好であることを確認すること。

（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、次のとおり算出した。

表 3　IDL の算出結果

対象物質名	TCMTB
試料量 (mL)	200
最終液量 (mL)	1.0
注入液濃度 (ng/mL)	0.500
装置注入量 (μL)	3.0
結果 1 (ng/mL)	0.547
結果 2 (ng/mL)	0.598
結果 3 (ng/mL)	0.531
結果 4 (ng/mL)	0.561
結果 5 (ng/mL)	0.528
結果 6 (ng/mL)	0.551
結果 7 (ng/mL)	0.552
平均値 (ng/mL)	0.5526
標準偏差 (ng/mL)	0.0233
IDL (ng/mL) *	0.091
IDL 試料換算値 (ng/L)	0.45
S/N 比	10
CV(%)	4.2

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

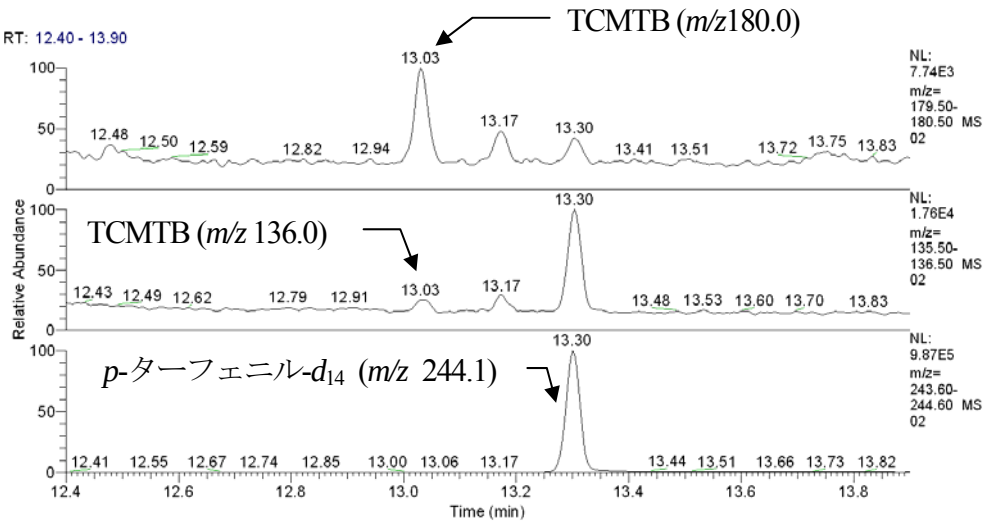


図 1　IDL 算出用試料のクロマトグラム

（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、次のとおり算出した。ただし、前処理においてろ過及びクリーンアップ操作を行った。

表 4　MDL 及び MQL の算出結果

対象物質名	TCMTB
試料	湖水
試料量 (mL)	200
標準添加量（ng）	1.00
試料換算濃度 (ng/L)	5.0
最終液量 (mL)	1.0
注入液濃度 (ng/mL)	1.00
装置注入量 (μL)	3.0
操作ブランク平均 (ng/L) *1	ND
無添加平均 (ng/L) *2	ND
結果 1 (ng/L)	4.19
結果 2 (ng/L)	3.87
結果 3 (ng/L)	4.37
結果 4 (ng/L)	4.51
結果 5 (ng/L)	4.37
結果 6 (ng/L)	4.26
結果 7 (ng/L)	4.45
平均値 (ng/L)	4.288
標準偏差 (ng/L)	0.211
MDL (ng/L) *3	0.82
MQL (ng/L) *4	2.1
S/N 比	10
CV(%)	4.9

*1：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 (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＝2)

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

*4：$MQL = \sigma_{n-1} \times 10$

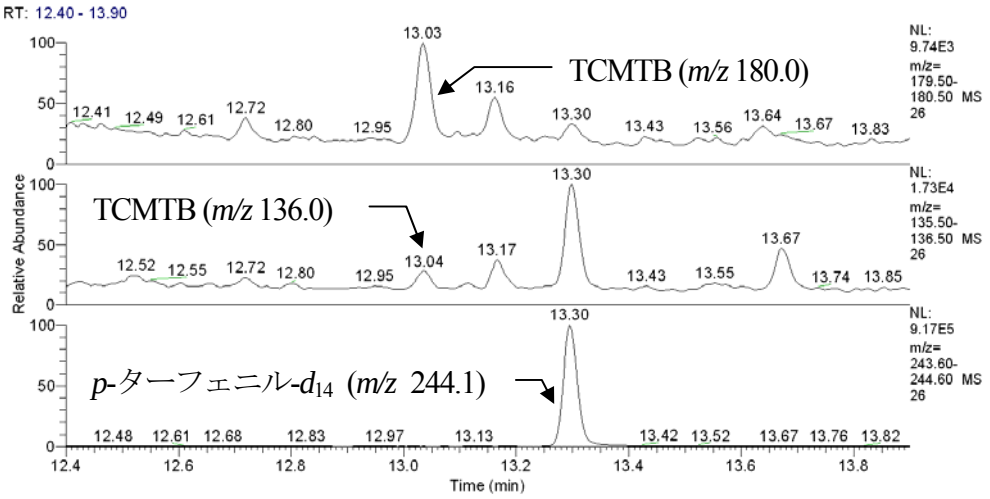


図2　MDL 算出用試料のクロマトグラム

§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 3 に示す。

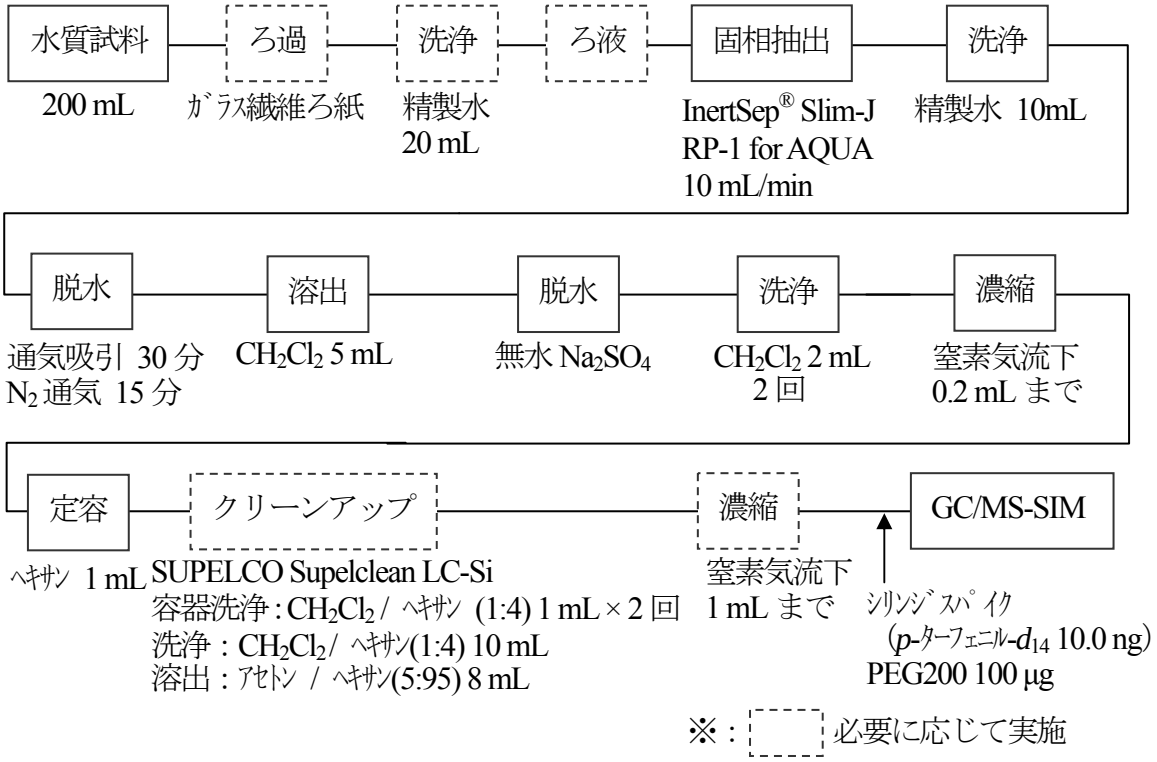


図3　分析法のフローチャート

〔検量線〕

検量線を図4に、検量線作成用データを表5に示す。

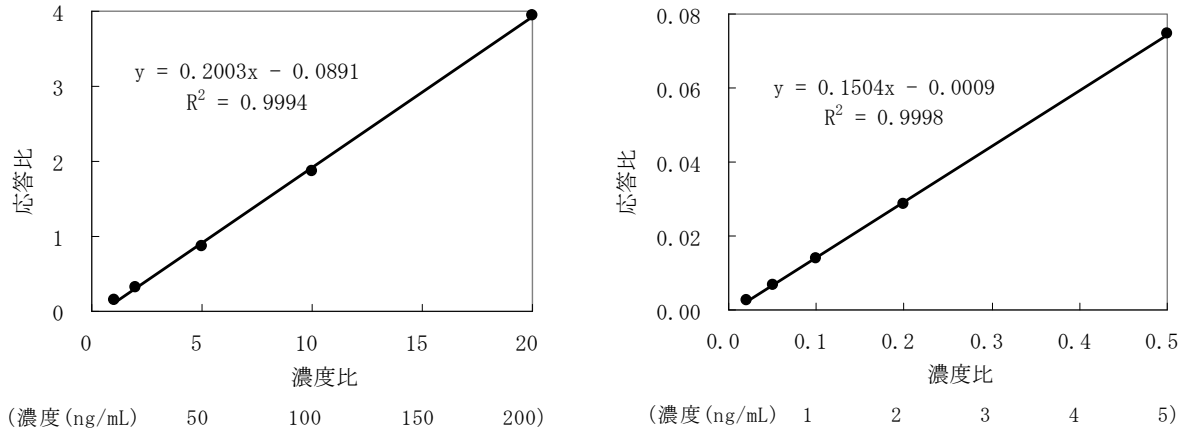


図4　TCMTB の検量線

（内標準物質：*p*-ターフェニル-d_{14} 10.0 ng/mL）

（対象物質濃度範囲：10.0～200 ng/mL（左図）、0.200～5.00 ng/mL（右図））

表5　検量線作成用データ一覧

（TCMTB、内標準物質：*p*-ターフェニル-d_{14}）

標準液濃度 (ng/mL) (C_s)	応答値		応答比 (A_s/A_{is})
	TCMTB (*m/z* 180.0) (A_s)	*p*-ターフェニル-d_{14} (*m/z* 244.1) (A_{is})*	
200	3256393	825627	3.944
100	1559025	832925	1.871
50.0	731106	835950	0.8746
20.0	259234	817132	0.3172
10.0	130496	827749	0.1577
5.00	61187	820764	0.07455
2.00	22943	800368	0.02867
1.00	11292	808430	0.01397
0.500	5446	817486	0.006662
0.200	2130	815578	0.002612

*：内標準物質濃度 10.0 ng/mL (C_{is})

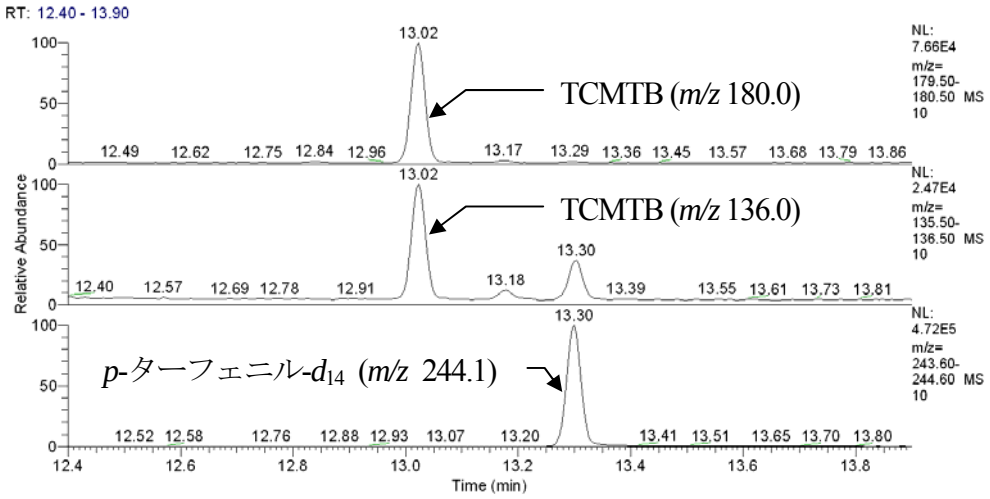


図 5　検量線用標準液 (10.0 ng/mL) のクロマトグラム

〔マススペクトル〕

TCMTB と *p*-ターフェニル-d_{14} のマススペクトルを図 6 に示す。

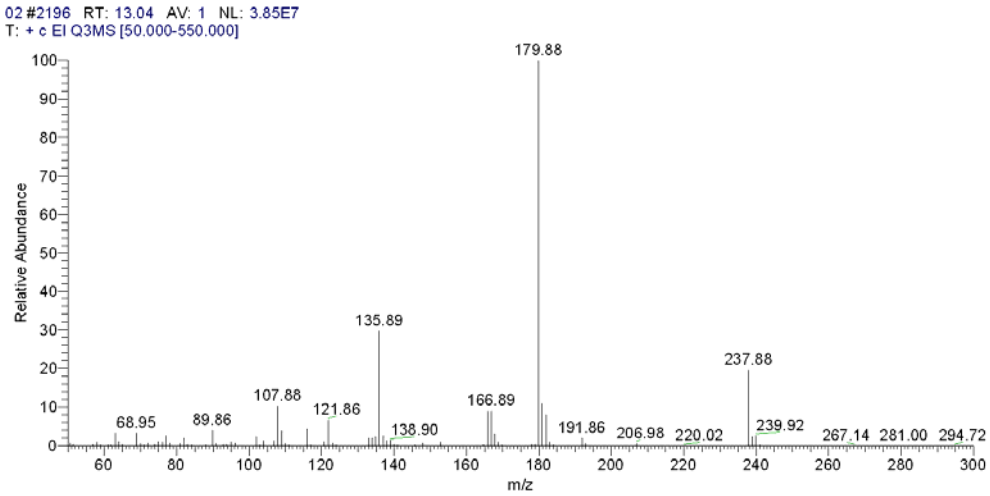


図 6-1　TCMTB のマススペクトル

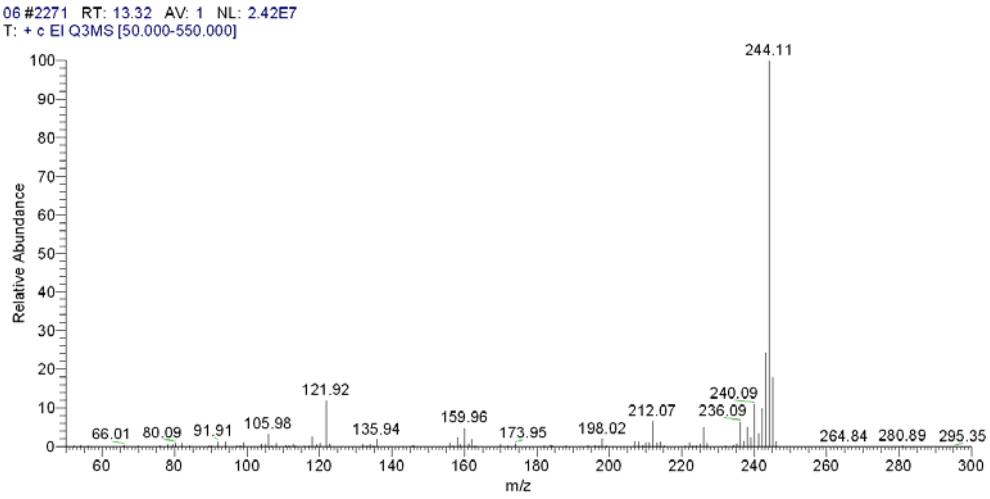


図 6-2　*p*-ターフェニル-d_{14} のマススペクトル

〔操作ブランク試験〕

操作ブランク試験の SIM クロマトグラムを図 7 に示す。操作ブランクは検出されなかった。

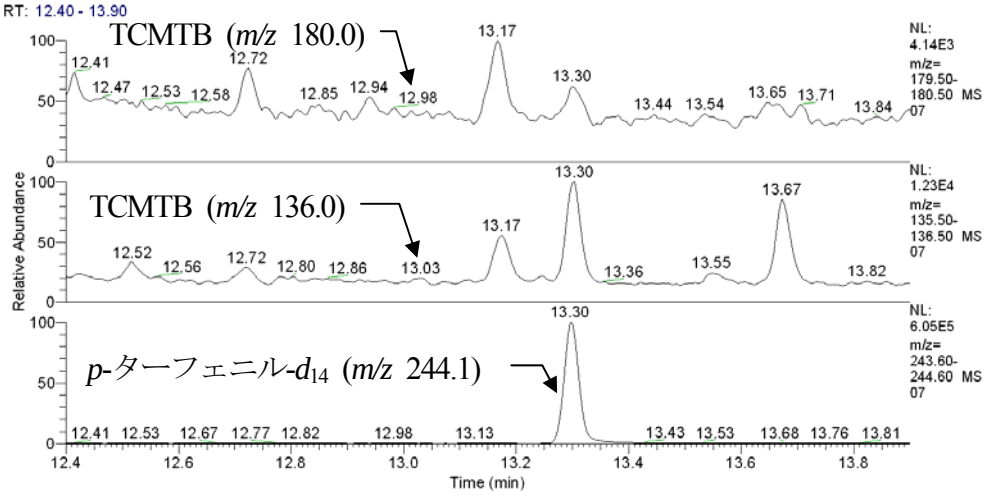


図 7　操作ブランクの SIM クロマトグラム

〔添加回収試験〕

添加回収試験の結果を表 6 に示す。また、クロマトグラムを図 8 に示す。湖水は諏訪湖湖心、海水は直江津港で採取したものを使用した。

表 6　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 (%)
湖水	200	無添加	1	ND	-	-
	200	1	7	4.29	86	4.9
海水	200	無添加	1	ND	-	-
	200	10	5	48.9	98	2.1

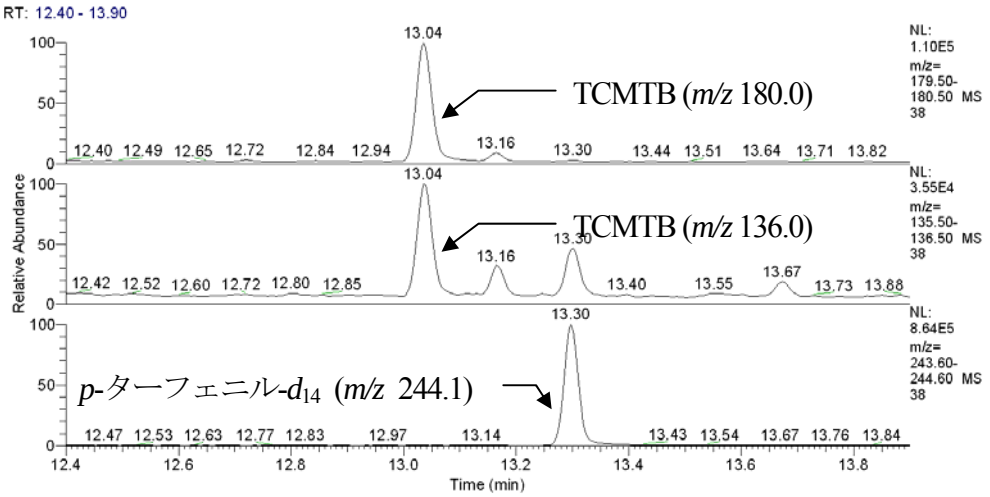


図 8　添加回収試験の SIM クロマトグラム（海水）（添加量：10.0 ng）

〔分解性スクリーニング試験〕

分解性スクリーニング試験結果を表 7 に示す。酸性条件下では安定でほとんど分解はなかったが、中性条件下では 2 割以上、塩基性条件下では半分以上が分解した。また、明所では暗所と比較して分解が促進された。文献においても光や塩基による分解の促進に関する記述があり、これと一致する結果となった。[2),3)]

表 7　分解性スクリーニング試験結果

pH	試験数	初期濃度 (μg/L)	1 時間後の残存率 (%)	7 日後の残存率 (%)	
				暗所	明所
5	2	0.05	112	98	-
7	2	0.05	101	77	50
9	2	0.05	105	45	-

〔保存性試験〕

保存性試験の結果を表 8 に示す。湖水は諏訪湖湖心のもの、海水は直江津港のものを用いた。分解性スクリーニングの結果を考慮し、それぞれ試料 200 mL あたり 0.5 mL の 1.0 mol/L 塩酸を添加し、褐色瓶中 5℃ で保存した。抽出液は 200 倍濃縮し、褐色バイアル中 5℃ で保存した。いずれもほぼ 100%の残存率となり、保存性は良好であった。

表 8　保存性試験結果

試料	試験数	試料名	pH	初期濃度 (μg/L)	残存率 (%)		
					7 日	15 日	1 ヶ月
湖水	3	試料	2.5	0.05	105	-	-
	3	粗抽出液	-	10	101	107	104
海水	3	試料	2.8	0.05	107	-	-
	3	粗抽出液	-	10	103	109	103
標準液	5	検量線用標準液	-	20～2	100	105	105

〔注入法の検討〕

TCMTB は熱に弱く、GC で検出が困難という報告もあるため[4),5)]、注入法の検討を行った。（昇温条件は 40℃ (2 min) → 20℃/min → 240℃ → 10℃/min→ 280℃ (5 min)）

新品のキャピラリーカラムを用い、PEG200 を添加せず、通常のスプリットレス注入で 1 μL 注入した。10 ng/mL 未満の定量は困難であったが、高圧注入を用いることで 2 ng/mL 程度の定量が可能となった。高圧注入法では高温の注入口に TCMTB が滞留する時間が短くなるため、感度が向上したと考えられる。

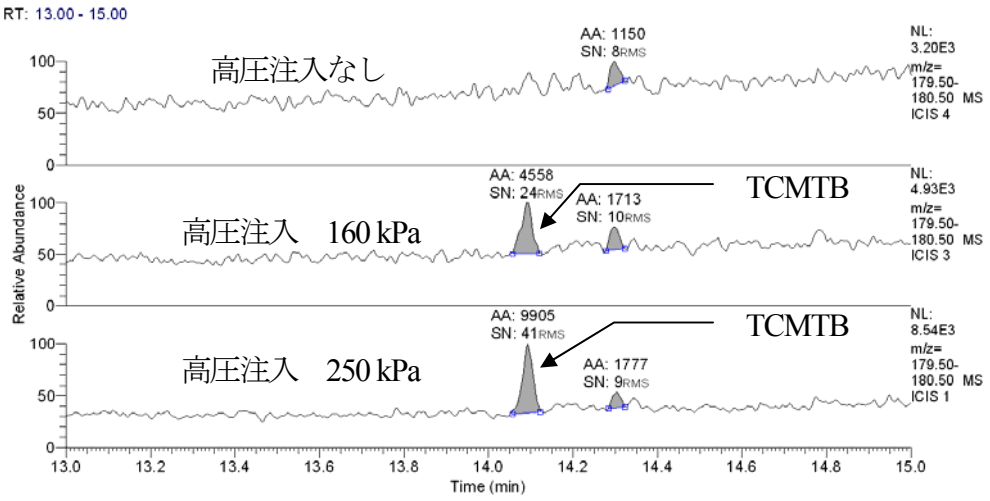


図 9　注入法ごとの標準液 (5 ng/mL) の SIM クロマトグラム (*m/z* 180.0)

〔カラムの初期温度の検討〕

注入量が 3 μL と多いため、リーディングが起きず、かつコールドトラップの効果を最大にできる条件を検討した。カラムの初期温度が 60℃（ヘキサンの沸点より 10℃ 程度低い）の場合は注入量 2 μL では問題なかったが、3 μL ではリーディングが見られた。80℃ ではリーディングが見られなかったため、初期温度は 80℃ とした。

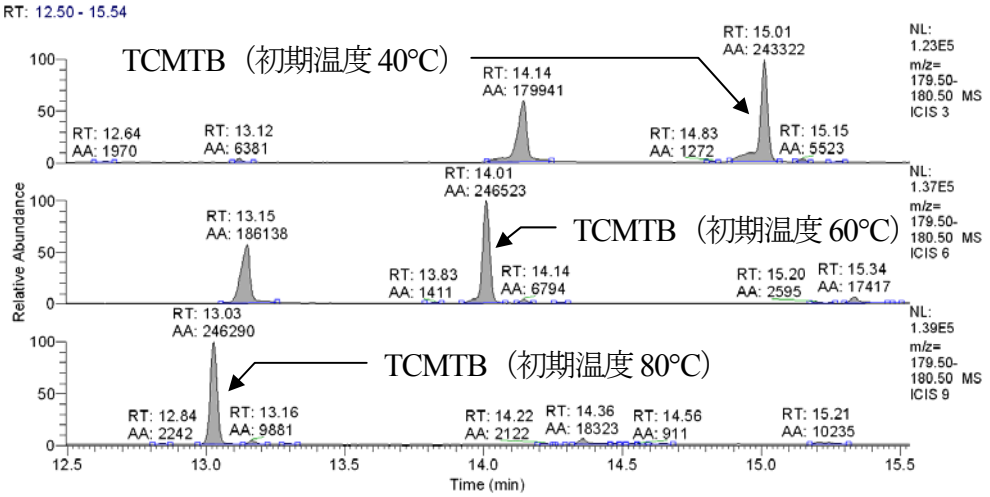


図 10　カラムの初期温度の違いによるピーク形状の変化 (TCMTB 10.0 ng/mL, *m/z* 180.0)

〔PEG 添加量の検討〕

PEG200 の添加量と感度の関係について検討した。キャピラリーカラムの劣化の度合いにもよるが、PEG200 の添加により感度が劇的に改善した。100 μg 以上添加しても感度はほとんど変わらないため、添加量は 100 μg とした。

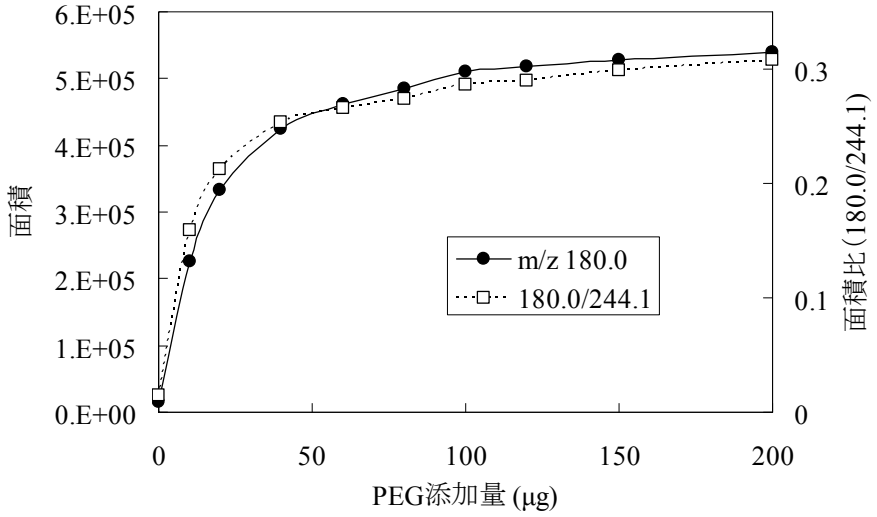


図 11　PEG 添加量に対する TCMTB の面積 (*m/z* 180.0) 及び面積比の変化（TCMTB 20.0 ng/mL、*p*-ターフェニル-d_{14} 10.0 ng/mL）

〔固相カートリッジの検討〕

固相抽出に用いるカートリッジの検討を行った。固相には以下のものを使用した。

表 9　使用した固相の種類とサイズ

固相カートリッジ	サイズ（充填量）
InertSep® Slim-J RP-1 for AQUA	230 mg
InertSep® mini RP-1	230 mg
Sep-Pak® Plus PS-2	265 mg
Sep-Pak® Plus C18	360 mg
Sep-Pak® Plus AC-2	400 mg
Oasis® HLB	500 mg

精製水からの添加回収試験では AC-2 以外ではいずれも 100%近い回収率が得られた。妨害物質は InertSep® Slim-J RP-1 for AQUA が最も少なかったため、これを用いることとした。

表 10　添加回収試験結果

固相	試料量 (mL)	添加量 (ng)	試験数	回収率 (%)
Slim-J RP-1	200	100	4	98
mini RP-1	200	100	2	107
PS-2	200	100	2	95
C18	200	100	2	98
AC-2	200	100	2	0
HLB	200	100	2	102

〔クリーンアップの検討〕

前捨ての溶媒として、アセトン/ヘキサン(1:99) 、ジクロロメタン/ヘキサン(1:1) 、ジクロロメタン/ヘキサン(1:4) を検討したところ、前二者では TCMTB が溶出してしまうため、ジクロロメタン/ヘキサン(1:4)を用いることにした。

シリカカートリッジに Sep-Pak®Plus Silica cartridge を用いた場合では妨害ピークはほとんどなかったが、ベースラインが高くなり MDL や S/N も悪くなった。一方、SUPELCO Supelclean LC-Si を用いた場合ではベースラインの高さは標準液と同程度まで低くなり、MDL や S/N の値も良好なため、LC-Si を用いることとした。

表 11　使用したシリカカートリッジごとの MDL の算出結果

シリカカートリッジ	試料量 (mL)	最終液量 (mL)	MDL (ng/L)	MQL (ng/L)	CV (%)
Sep-Pak®Plus Silica cartridge	200	1	2.8	7.2	16
SUPELCO Supelclean LC-Si	200	1	0.82	2.1	4.9

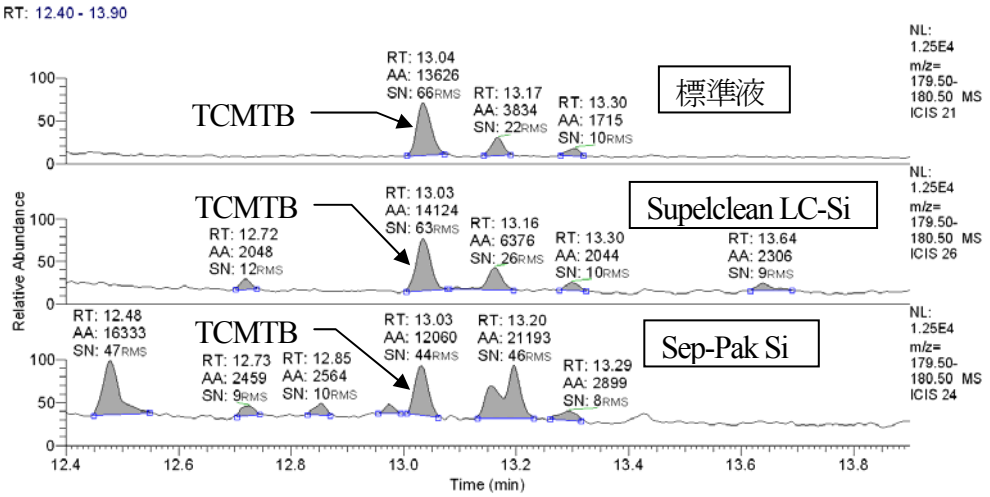


図 12　使用したシリカカートリッジごとの MDL 算出用試料のクロマトグラム（TCMTB 1.00 ng/mL, *m/z* 180.0, 諏訪湖試料に添加）

スピッツ型遠心管に取ったジクロロメタン/ヘキサン(1:4) 溶液 1 mL に TCMTB 50.0 ng を添加し、【試料の前処理及び試験液の調製】の項目のクリーンアップの部分と同様の操作を行った。溶出パターンを図 13 に示す。

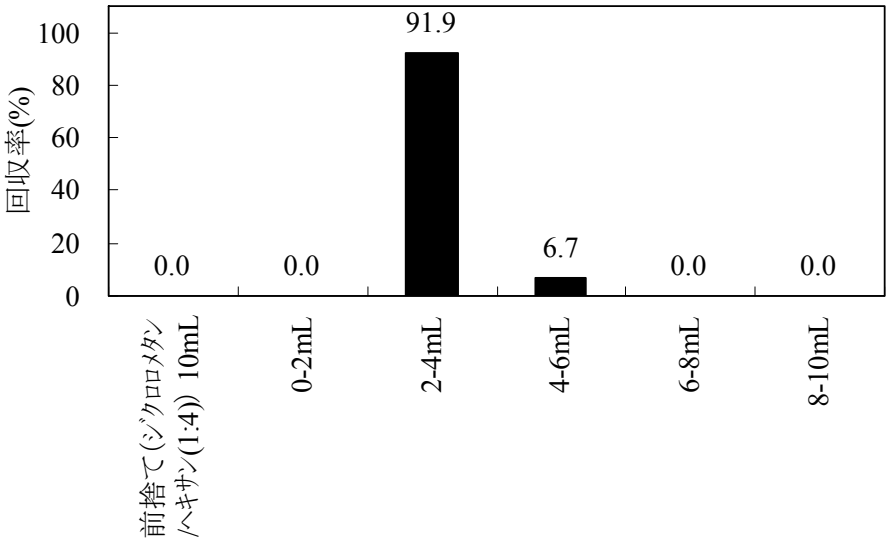


図 13　Supelclean LC-Si によるクリーンアップにおける溶出パターン（アセトン/ヘキサン(5:95)）

〔SS の処理に関する検討〕

SS の比較的多い試料（諏訪湖湖水、SS = 14 mg/L）を用いて TCMTB10.0 ng の添加回収試験を行った。SS からの抽出にアセトンを用いた場合は 5 mL で 10 分間の超音波抽出を 2 回行い、抽出液を精製水に添加してろ液と同様に固相抽出を行った（図 14-1）。一方、ジクロロメタンを抽出溶媒に用いた場合は 5 mL で 10 分間の超音波抽出を 2 回行い、抽出液を無水硫酸ナトリウムで脱水後濃縮して試験液とした（図 14-2）。表 12 のとおり SS からは不検出であり、SS には吸着されなかった。文献においても添加回収試験で沈殿物 (SS) からの検出がないことが示されており[2]、また、ガラス繊維ろ紙によるろ過後の試料を用いて調査を行っている例もあることから[6]、SS には吸着されないと推測される。

なお、精製水に TCMTB10.0 ng とアセトン 10 mL を添加した試料からは定量的に回収できた（回収率 106%）。

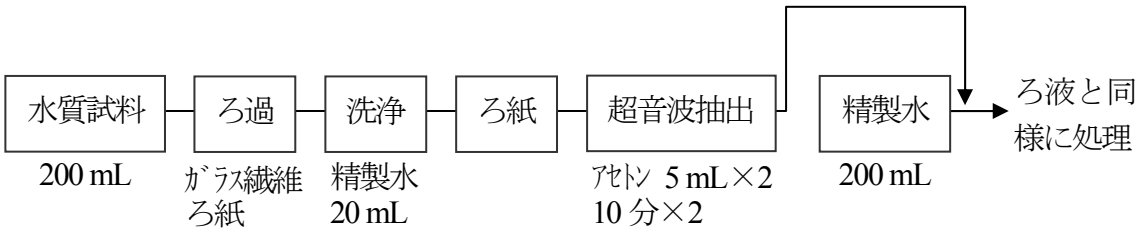


図 14-1　アセトンを用いた SS からの抽出のフローチャート

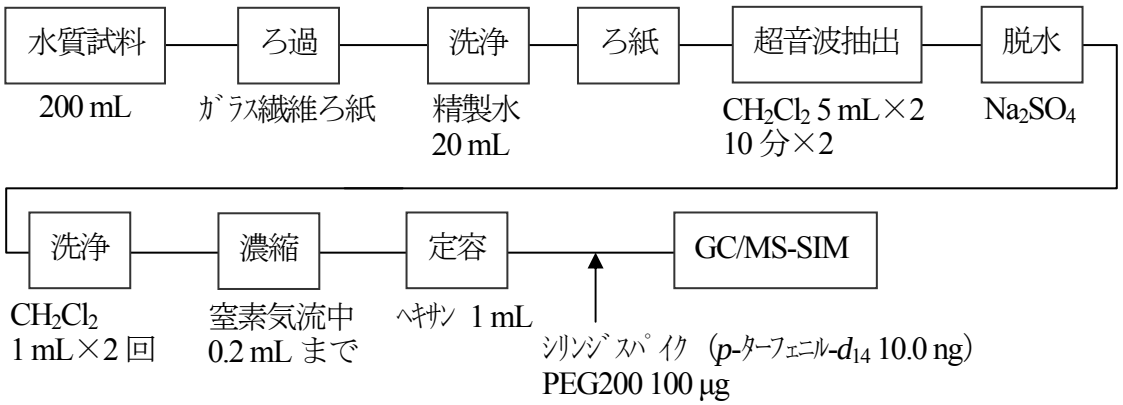


図 14-2　ジクロロメタンを用いた SS からの抽出のフローチャート

表 12　添加回収試験におけるろ液、SS 別の回収率

SS からの抽出溶媒	試験数	回収率(%)	
		ろ液	SS
アセトン	5	87～98	ND
ジクロロメタン	2	81、96	ND

次に、SS 成分を多量に含む海水試料を調製して添加回収試験を行った。海水は直江津港の試料を、SS 成分は降雨後の裾花川の試料 (SS = 620 mg/L, COD = 17 mg/L) を用いた。試験用の試料の調製は以下のように行った。SS 成分用試料 50 mL をガラス繊維ろ紙 (Whatman GF/F)でろ過し、ろ紙を海水試料 50 mL に浸して超音波照射により SS 成分を剥離させた。ろ紙を海水試料 50 mL で洗浄し、さらに海水試料 500 mL、TCMTB 30.0 ng、1 mol/L 塩酸 1.5 mL をそれぞれ添加して 30 分間撹拌した（設定値は SS = 52 mg/L、TCMTB: 50.0 ng/L）。調製した試料は【試料の前処理及び試験液の調製】に従って前処理を行った（ただし、クリーンアップは省略）。また、前処理で用いたろ紙はアセトン 5 mL で 10 分間の超音波抽出を 2 回行い、抽出液を精製水に添加してろ液と同様の操作を行った。

検討の結果、微量の TCMTB が SS 成分に吸着されたが、ろ液からの回収率が 70%以上であり、また、〔**添加回収試験**〕の変動係数と比較すると、SS 成分への吸着量は各試験のばらつきと同程度の微量であるため、ろ液の分析のみで十分と思われる。ただし、SS 成分の非常に多い海水試料等で回収率が悪い場合には、SS 成分の分析も必要になる可能性がある。

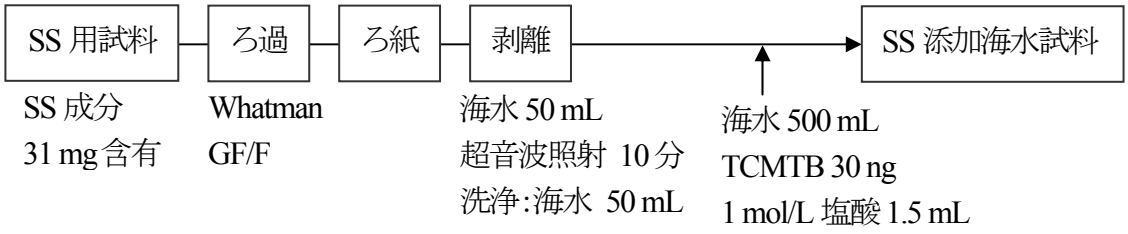


図 15　SS 添加海水試料調製のフローチャート

表 13　SS 添加海水試料を用いた添加回収試験におけるろ液、SS 別の回収率

添加の有無	試験数	回収率(%)	
		ろ液	SS
無添加	1	ND	ND
添加	2	104、105	5、4

〔**環境試料の分析例**〕

環境試料のクロマトグラムを図 16 に示す。湖水は諏訪湖湖心より、海水は直江津港より採取した試料を用いた。いずれも検出されなかった。

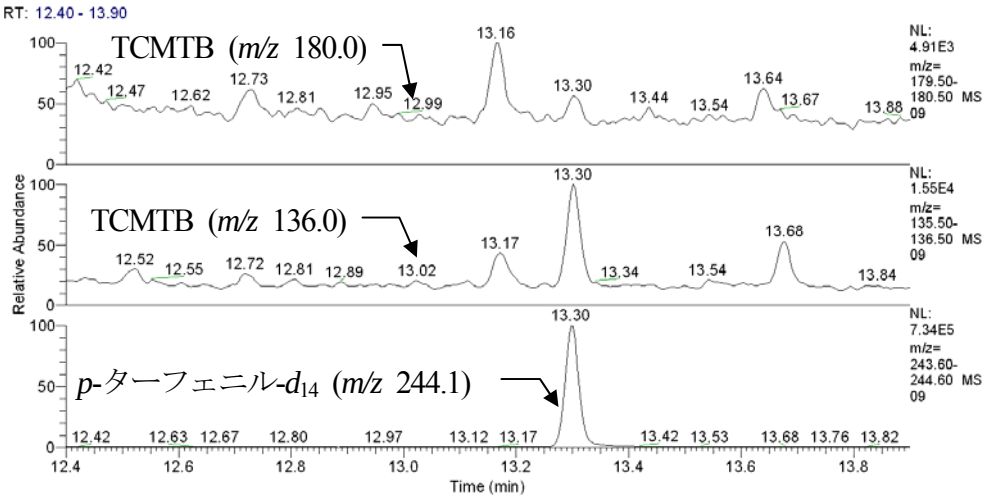


図 16-1　環境試料のクロマトグラム（湖水）

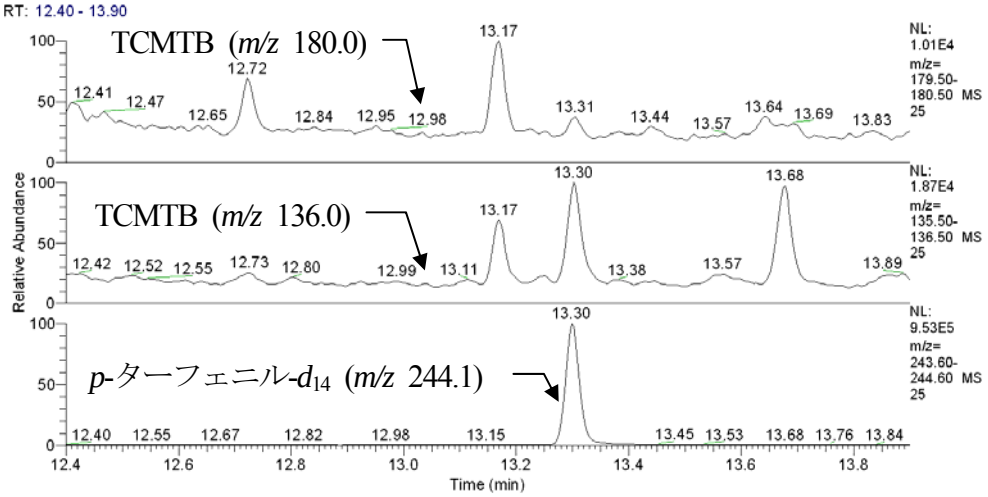


図 16-2　環境試料のクロマトグラム（海水）

【評価】

本法は水質試料中の TCMTB の定量が可能であり、MDL 及び MQL は 0.82 ng/L 及び 2.1 ng/L である。検量線は 0.200～200 ng/mL の濃度範囲で直線性が確認された。湖水及び海水を用いた添加回収試験の平均回収率はそれぞれ 86%、98%であった。また、環境試料から TCMTB は検出されなかった。

【参考文献】

1)　USEPA: The Determination of MBTS and TCMTB in Municipal and Industrial Wastewaters. EPA Method 637, 001R86102 (1986) http://water.epa.gov/scitech/methods/cwa/bioindicators/upload/2007_11_06_methods_method_637.pdf

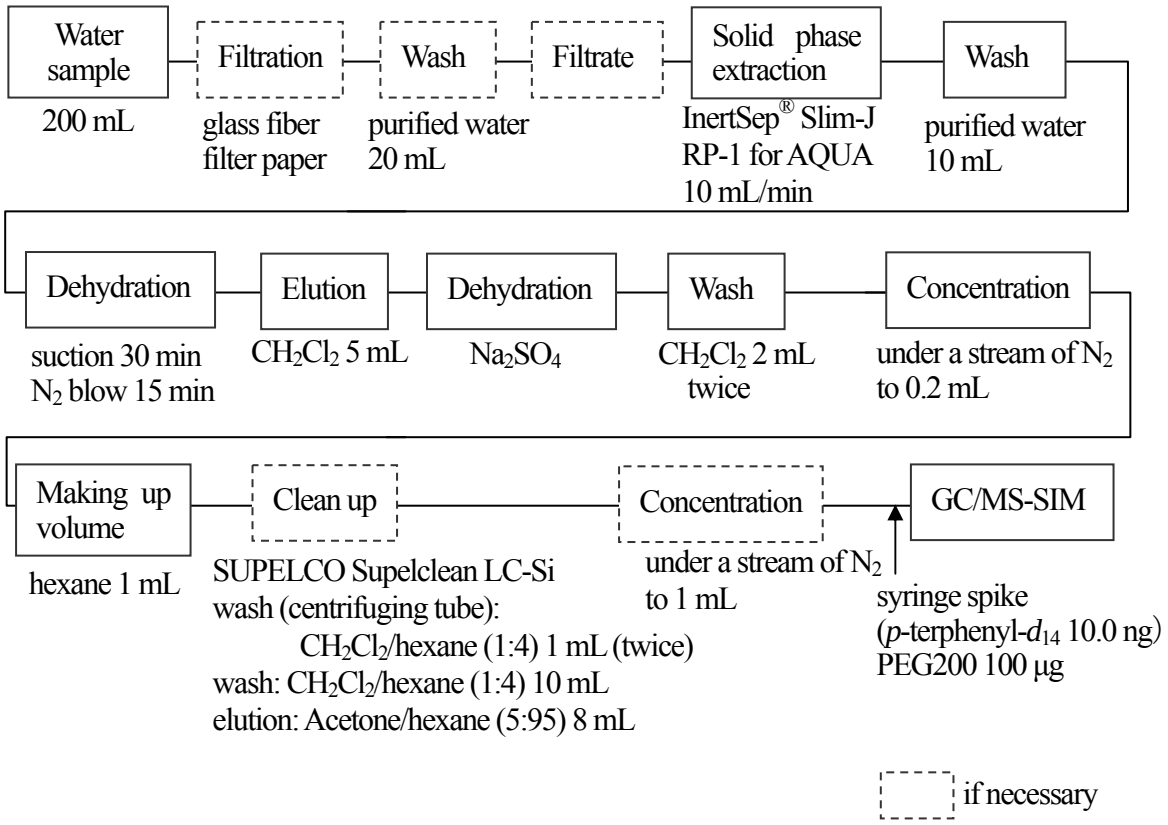
2) Brownlee, B. G., Carey, J. H., MacInnis, G. A., Pellizzari, I. T.: Aquatic Environmental Chemistry of 2-(Thiocyanomethylthio)benzothiazole and Related Benzothiazoles. *Environ. Toxicol. Chem.*, **11**, 1153-1168 (1992)
3) USEPA: Reregistration Eligibility Decision for 2-(Thiocyanomethylthio)-benzothiazole (TCMTB) (http://www.epa.gov/oppsrrd1/REDs/tcmtb_red.pdf)
4) Fiehn, O., Reemtsma, T., Jekel, M.: Extraction and analysis of various benzothiazoles from industrial wastewater. *Anal. Chim. Acta*, **295**, 297-305 (1994)
5) Daniels, C. R., Swan, E. P.: HPLC Assay of the Anti-Stain Chemical TCMTB Applied to Lumber Surfaces. *J. Chromatogr. Sci.*, **25**, 43-45 (1987)
6) Mezcua, M., Hernando, M. D., Piedra, L., Agüera, A., Fernández-Alba, A. R.: Chromatography-Mass Spectrometry and Toxicity Evaluation of Selected Contaminants in Seawater. *Chromatographia*, **56**, 199-206 (2002)

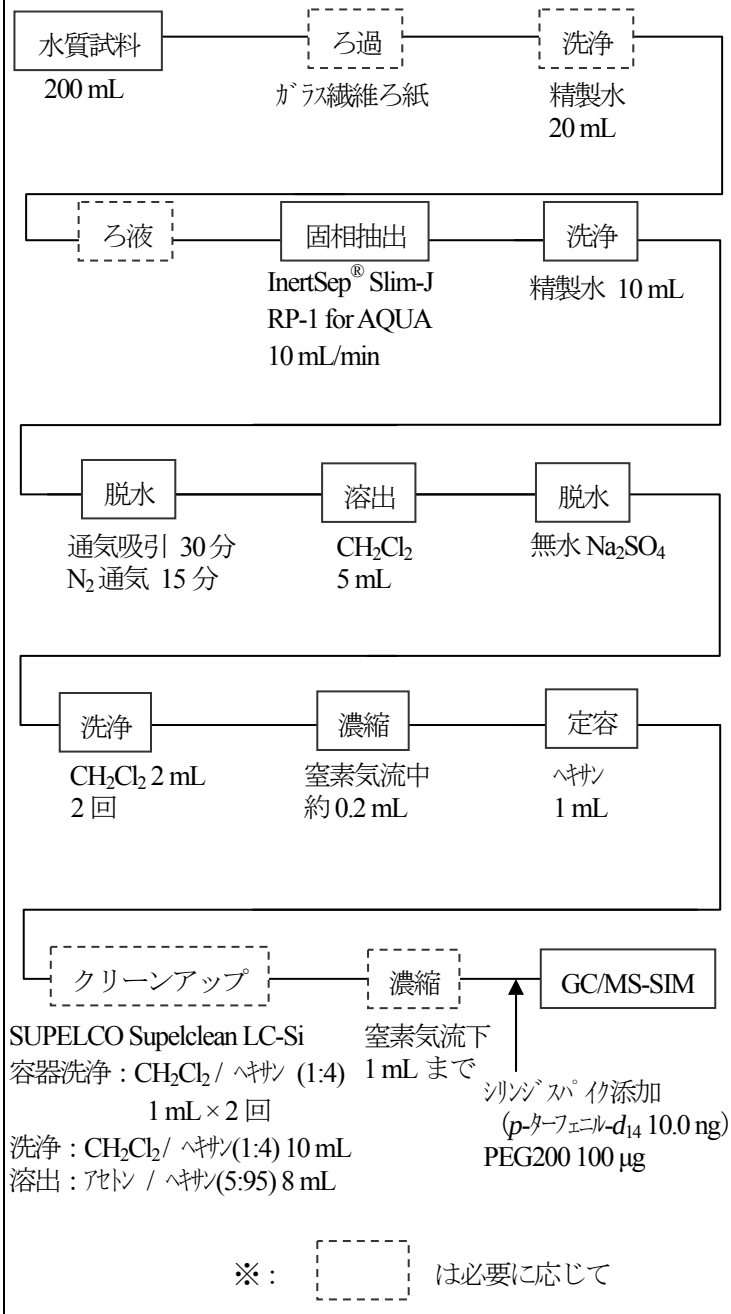
【担当者連絡先】

所属先名称　：長野県環境保全研究所
所属先住所　：〒380-0944　長野県長野市安茂里米村 1978
Tel：026-227-0354　　Fax：026-224-3415
担当者氏名　：宮坂真司、吉田富美雄、小澤秀明
E-mail　　：kanken-mizu@pref.nagano.lg.jp, miyasaka-shinji-r@pref.nagano.lg.jp
yoshida-fumio@pref.nagano.lg.jp, ozawa-hideaki@pref.nagano.lg.jp

2-(Thiocyanatomethylthio)-1,3-benzothiazole (TCMTB)

An analytical method has been developed for the determination of TCMTB in water samples by gas-chromatography/mass-spectrometry with selected ion monitoring (GC/MS-SIM). Hydrochloric acid (1 mol/L, 0.5 mL) is added to a 200 mL water sample and is shaken after adding. The sample is filtered with a glass fiber filter paper (Whatman GF/F (φ4.7 cm)), which is washed with 20 mL purified water (filtration can be skipped, if a water sample contains a small amount of suspended solids). The filtrate is passed through a solid-phase extraction cartridge (GL Science InertSep® Slim-J RP-1 for AQUA) at a flow rate of 10 mL/min. The cartridge is dried by suction (30 min) and N_2 gas blow (15 min). TCMTB is eluted with 5 mL dichloromethane, and then the eluate is dehydrated with anhydrous sodium sulfate. Then the eluate is concentrated to about 0.2 mL under a stream of N_2 gas and is made up to 1 mL with hexane. If necessary, the eluate is cleaned up with a silica-gel cartridge (SUPELCO Supelclean LC-Si). Then 10.0 ng of *p*-terphenyl-d_{14} is spiked into the eluate as a syringe spike (internal standard), and 100 μg of PEG200 is also added. The concentration of TCMTB is determined by GC/MS-SIM. The method detection limit (MDL) and the method quantification limit (MQL) of this method are 0.82 ng/L and 2.1 ng/L, respectively. The average recoveries of TCMTB added to lake water samples and seawater samples were 86% and 98%, respectively. Using this method, TCMTB was not detected from lake water and seawater.



物質名	分析法フローチャート	備考
2-(チオシアナートメチルチオ)-1,3-ベンゾチアゾール 別名：TCMTB	【水質】  	分析原理： GC/MS-SIM 検出下限値： 【水質】(ng/L) 0.82 分析条件： 機器 GC：Thermo Trace GC Ultra MS：Thermo TSQ Quantum カラム： DB-5ms 30 m × 0.25 mm, 0.25 µm

新潟県保健環境科学研究所
［対象媒体：水質］

o-テルフェニル

***o*-Terphenyl**

IUPAC 名：1,1':2',1"-テルフェニル、1,1':2',1"-Terphenyl
別名：*o*-ターフェニル、*o*-Terphenyl

m-テルフェニル

***m*-Terphenyl**

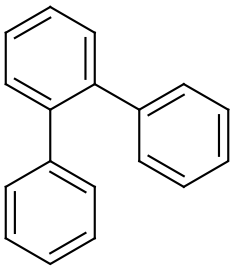
IUPAC 名：1,1':3',1"-テルフェニル、1,1':3',1"-Terphenyl
別名 *m*-ターフェニル、*m*-Terphenyl

p-テルフェニル

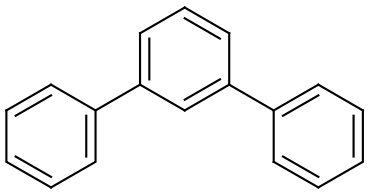
***p*-Terphenyl**

IUPAC 名：1,1':4',1"-テルフェニル、1,1':4',1"-Terphenyl
別名：*p*-ターフェニル、*p*-Terphenyl

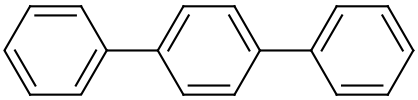
【対象物質の構造】



o-テルフェニル
CAS 番号：84-15-1
分子式：$C_{18}H_{14}$



m-テルフェニル
CAS 番号：92-06-8
分子式：$C_{18}H_{14}$



p-テルフェニル
CAS 番号：92-94-4
分子式：$C_{18}H_{14}$

【物理化学的性状】

項目	*o*-ﾃﾙﾌｪﾆﾙ	*m*-ﾃﾙﾌｪﾆﾙ	*p*-ﾃﾙﾌｪﾆﾙ	備考
分子量	230.30	230.30	230.30	
ﾓﾉｱｲｿﾄﾋﾟｯｸ質量	230.10955	230.10955	230.10955	
比重 (g/cm^3)	1.1[1)] (18°C / 4°C)	1.199[2)] (20°C)	1.234[12)] (20°C)	
沸点 (°C)	332[2)]	363[2)]	376[2)]	
融点 (°C)	56.20[2)]	87[2)]	213.9[2)]	
蒸気圧 (mmHg)	2.5×10^{-4} [3)] (3.3×10^{-4} hPa*) (25°C)	1.75×10^{-5} [3)] (2.33×10^{-5} hPa*) (25°C)	3.42×10^{-7} [3)] (4.55×10^{-7} hPa*)[3)] (25°C)	
水溶解度 (mg/L)	1.24[3)] (25°C)	1.51[3)] (25°C)	0.0179[3)] (25°C)	
分配係数(log P_{ow})	5.5[1)]	5.52[3)]	6.03[3)]	
ヘンリー定数 ($atm\text{-}m^3/mol$)	6.11×10^{-5} [4)] (25°C)	3.51×10^{-6} [4)] (25°C)	1.64×10^{-6} [13)] (25°C)	estimated
引火点 (°C)	163[5)]	191[11)]	207(405°F)[7)]	
発火点 (°C)	193[6)]		535[14)]	
燃焼範囲	0.5-3.4 vol%[7)]		0.5-3.4 vol%[7)]	estimated

*：換算値（1 mmHg = 1.33 hPa による。）

【毒性、用途等】

〔毒性〕*

環境影響	藻類に関する毒性[8)]	生長阻害試験（面積法）：EC_{50} : 4.7（72 時間）
		生長阻害試験（面積法）：NOEC : 1.8（72 時間）
		生長阻害試験（速度法）：EC_{50} : >8.3（72 時間）
		生長阻害試験（速度法）：NOEC : 1.4（72 時間）
	無脊椎動物に関する毒性[8)]	遊泳阻害試験：EC_{50} : 0.52（48 時間）
		繁殖阻害試験：EC_{50} : 0.054（21 日間）
		繁殖阻害試験：NOEC : 0.025（21 日間）
	魚類に関する毒性[8)]	急性毒性試験：LC_{50} : 0.12（96 時間）
		延長毒性試験：LC_{50} : 0.066（96 時間）
		延長毒性試験：LC_{50} : 0.025（96 時間）
		延長毒性試験：LC_{50} : 0.0048（96 時間）
		初期生活段階毒性試験：LOEC : 0.023
		初期生活段階毒性試験：NOEC : 0.011
健康影響	急性毒性[9)]	経口 :LD_{50} : 1900 mg/kg（ラット）

*：毒性は *o*-テルフェニルの情報、環境影響に関する数値の単位は mg/L

〔用途〕

o-テルフェニル：熱媒体、特殊溶剤 [10)]

出典

1) 国際化学物質安全性カード(ICSC)（ICSC 番号:1525）
2) CRC Handbook of Chemistry and Physics
3) Philip H. Howard, William M. Meylan, Handbook of Physical Properties of Organic Chemicals
4) Philip H. Howard, William M. Meylan, Handbook of Physical Properties of Organic Chemicals,The Syracuse Research Co.
5) International Chemical Safety Cards ICSC1525
6) 15509 の化学商品　化学工業日報社刊
7) Carl L. Yaws: Handbook of Chemical Compound Data for Process Safety, Gulf Publishing Company
8) Webkis-plus （化学物質データベース）
9) 神奈川県化学物質安全情報提供システム (kis-net)
10) 独立行政法人製品評価技術基盤機構
11) Fire Hazard Properties of Flammable Liquids, Gases, and Volatile Solids (1994 Edition); NFPA325
12) 関東化学　試薬カタログ
13) Data from SRC PhysProp Database
14) 東京化成工業 Web 試薬カタログ(MSDS)

§1 分　析　法

(1) 分析法の概要

水質試料に塩化ナトリウムとサロゲート内標準を添加してヘキサン抽出し、必要に応じてヘキサン層を硫酸処理する。ヘキサン層を脱水、濃縮後にシリンジスパイク内標準を添加して GC/MS-SIM で測定する。

(2) 試薬・器具

【試薬】

o-テルフェニル標準品　　：AccuStandard 製
m-テルフェニル標準品　　：AccuStandard 製

p-テルフェニル標準品　　：AccuStandard 製
o-テルフェニル-d_{14}　　：98 atm% D　C/D/N Isotopes 製
m-テルフェニル-d_{14}　　：98 atm% D　C/D/N Isotopes 製
p-テルフェニル-d_{14}　　：環境分析用　関東化学製
フルオランテン-d_{10}　　：98.5 atm% D　C/D/N Isotopes 製
ヘキサン、アセトン　　：残留農薬・PCB 試験用（5000 倍濃縮品）
　和光純薬工業製
塩化ナトリウム、無水硫酸ナトリウム（注 1）　　：残留農薬・PCB 試験用　関東化学製
硫酸　　：精密分析用　関東化学製
精製水　　：Milli-Q 水又はヘキサン洗浄水

【標準液の調製】

〔標準液〕

o-テルフェニル、*m*-テルフェニル及び *p*-テルフェニルの標準品を正確に 10.0 mg 量り取り、ヘキサンで 100 mL として 100 μg/mL の標準原液を調製する。

〔サロゲート内標準液〕

o-テルフェニル-d_{14}、*m*-テルフェニル-d_{14} 及び *p*-テルフェニル-d_{14} の標準品を正確に 20.0 mg 量り取り、アセトンで 20 mL として 1000 μg/mL のサロゲート内標準原液を調製する。これをアセトンで正確に希釈して、濃度 1.00 μg/mL のサロゲート内標準液を調製する。

〔シリンジスパイク内標準液〕

フルオランテン-d_{10} の標準品を正確に 100 mg 量り取り、ヘキサンで 100 mL として 1000 μg/mL のシリンジスパイク内標準原液を調製する。これをヘキサンで正確に希釈して、10.0 μg/mL のシリンジスパイク内標準液を調製する。

〔検量線用標準液〕

テルフェニル標準原液をヘキサンで適宜希釈して、0.200 ng/mL～100 ng/mL の標準液とする。これらの標準液を 1 mL を正確にとり、サロゲート内標準液及びシリンジスパイク内標準液をそれぞれマイクロシリンジ（注 2）で 10 μL ずつ加え、検量線用標準液とする。

【器具】

分液ロート、メスフラスコ、ホールピペット等
：洗浄後、水ですすぎ、アセトンで洗浄し乾燥して用いる。

ロータリーエバポレーター、振とう機、マイクロシリンジ（注 2）

(3) 分析法

【試料の採取及び保存等】

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。なお、採水容器にはあらかじめアセトンで洗浄した 200 mL 瓶（注 3）を用いる。

【試料の前処理及び試験液の調製】

試料水 200 mL を満たした採水瓶にサロゲート内標準液 10.0 μL を添加し、振り混ぜて完全に溶解させる。あらかじめ塩化ナトリウム 10 g を加えた（注 4）分液ロートに採水瓶より試料水全量（注 5）を注ぐ。採水瓶をヘキサン 10 mL で 2 回、5 mL で 1 回洗浄し、洗液を分液ロートに合わせる。分液ロートを 10 分間振とう抽出し、静置後、水層を除去する。

ヘキサン層に濃硫酸 2 mL を加え、穏やかに振り混ぜる（注 6）。静置後、硫酸層を除去し、精製水 10 mL を加えてヘキサン層を洗浄し、静置後水層を除去する。この洗浄操作を 3～4 回繰り返し、水層が中性になっていることを確認する。

ヘキサン層を無水硫酸ナトリウムで脱水した後、ナス型フラスコに入れる。分液ロートを少量のヘキサンで共洗いし、前述のヘキサン層と合わせて脱水する。脱水後、ロータリーエバポレーターを用いて約 1 mL まで濃縮し、目盛付試験管に移す。

窒素気流下で濃縮して 1 mL に定容し、シリンジスパイク内標準液 10.0 μL を添加して試験液とする。

【空試験液の調製】

試料水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。

【測定】

〔GC/MS 測定条件〕

使用機器	: GC；GC-2010 Plus (SHIMADZU)、MS；GCMS-QP2010 Ultra (SHIMADZU)
使用カラム	: J&W DB-5ms　30 m × 0.25 mm, 0.25 μm
カラム温度	: 60°C (1 min) → 20°C/min→ 200°C → 5°C/min → 250°C → 20°C/min→ 300°C (10 min)
試料注入法	: スプリットレス（パージ開始時間 1 min）
注入口温度	: 250°C

キャリヤーガス　　：He (1 mL/min)
試料注入量　　：2 μL
インターフェース温度　　：280°C
イオン化法　　：EI
測定モード　　：SIM
モニターイオン　　：*o*-テルフェニル
　　m/z 230.1（定量用）、215.1、229.1、231.1（確認用）
：*m*-テルフェニル、*p*-テルフェニル
　　m/z 230.1（定量用）、231.1（確認用）
：*o*-テルフェニル-d_{14}
　　m/z 244.2（定量用）、242.2（確認用）
：*m*-テルフェニル-d_{14}、*p*-テルフェニル-d_{14}
　　m/z 244.2（定量用）、245.2（確認用）
：フルオランテン-d_{10}
　　m/z 212.1

〔検量線〕

検量線用標準液 2 μL を GC/MS に注入し、対象物質の濃度とサロゲート内標準物質の濃度の比と得られた対象物質のピーク面積とサロゲート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〕

試験液 2 μL を GC/MS に注入し、対象物質とサロゲート内標準物質のピーク面積比から試験液中の対象物質の検出量を求める。また、フルオランテン-d_{10} はサロゲート内標準物質の回収率の計算に使用する。

〔濃度の算出〕

試料水中濃度 C (μg/L) は次式により算出する。

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

R：検量線から求めたサロゲート内標準物質濃度に対する対象物質濃度の比
Q：試料中に添加したサロゲート内標準物質の量 (μg)
　(= 添加するサロゲート内標準物質の濃度 (μg/μL) × 添加するサロゲート内標準物質の容量 (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。

$Q = 0.010$ μg

即ち、

$C = R \times 0.01 / V$ (μg/L)

〔装置検出下限値 (IDL)〕

本分析に用いた GC/MS の IDL を表 1 に示す（注 7）。

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)
o-テルフェニル	0.078	0.200	1.0	0.39
m-テルフェニル	0.086	0.200	1.0	0.43
p-テルフェニル	0.070	0.200	1.0	0.35

〔測定方法の検出下限値 (MDL) 及び定量下限値 (MQL)〕

本測定方法における MDL 及び MQL を表 2 に示す（注 8）。

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)
o-テルフェニル	0.200	1.0	0.46	1.2
m-テルフェニル	0.200	1.0	0.48	1.2
p-テルフェニル	0.200	1.0	0.40	1.0

注　解

（注 1）試薬から妨害ピークが検出される場合には、焼きだしや溶媒洗浄等の操作を行うこと。本分析では、塩化ナトリウムは 600°C で 5 時間加熱したもの、無水硫酸ナトリウムはヘキサンで洗浄したものを用いた。

（注 2）吐出誤差 2%以下であることをあらかじめ確認しておくことが望ましい。精度を保証するため、校正されたデジタルマイクロシリンジや検量証明書付きマイクロシリンジの使用が有効である。例として SGE 製があるが推奨するものではない。

（注 3）例えば、四フッ化エチレン樹脂でコーティングしたシリコンゴムセプタ

ム等で密封できるガラス製ねじ口瓶などを用いる。

（注 4）海水の場合、塩化ナトリウムの添加は不要である。

（注 5）試料の量は、試料を入れた容器の重量から空の容器の重量を差し引いて求めるか、又は試料を採取したときに試料容器の水面の位置に印を付けておき、測定終了時に印のところまで水を入れてその水の体積を試料の量とする。

（注 6）硫酸を駒込ピペットで静かに加え、きわめて穏やかに振り混ぜること。また、振とうの際は硫酸飛沫が飛び散らないよう、脚の中を精製水で洗い、キムワイプ等で拭き取る。なお、クリーンアップが不要な場合は硫酸処理を省略できる。

（注 7）IDL は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」（平成 21 年 3 月）に従って算出した。算出結果を表 3 に、IDL 測定時のクロマトグラムを図 1 に示す。

H25年度調査(測定対象: o-テルフェニル)時、次のコメントが寄せられた。
硫酸処理は、1回目に微褐色を呈したため、2回行うケースがあった。硫酸処理後の精製水での洗浄回数(3～4回)は不十分であることがある。塩化ナトリウム添加量(10g)はやや多く、7～8割程度で良いと思われる。シリンジスパイク量(100ng)は多く、10ng程度で十分である。(2014年度精査等検討会コメント)

表 3　IDL の算出結果

物質名	*o*-テルフェニル	*m*-テルフェニル	*p*-テルフェニル
試料量 (L)	0.200	0.200	0.200
最終液量 (mL)	1.0	1.0	1.0
注入液濃度 (ng/mL)	0.200	0.200	0.200
装置注入量 (μL)	2.0	2.0	2.0
結果 1 (ng/mL)	0.199	0.256	0.218
結果 2 (ng/mL)	0.187	0.229	0.212
結果 3 (ng/mL)	0.185	0.208	0.252
結果 4 (ng/mL)	0.243	0.208	0.215
結果 5 (ng/mL)	0.190	0.206	0.225
結果 6 (ng/mL)	0.197	0.192	0.208
結果 7 (ng/mL)	0.189	0.198	0.250
平均値 (ng/mL)	0.1987	0.2140	0.2257
標準偏差 (ng/mL)	0.0200	0.0220	0.0181
IDL (ng/mL)*	0.078	0.086	0.070
IDL 試料換算値 (ng/L)	0.39	0.43	0.35
S/N 比	10.5	8.7	9.0
CV (%)	10	10	8.0

*: IDL = t (n-1,0.05) × σ_{n-1} × 2

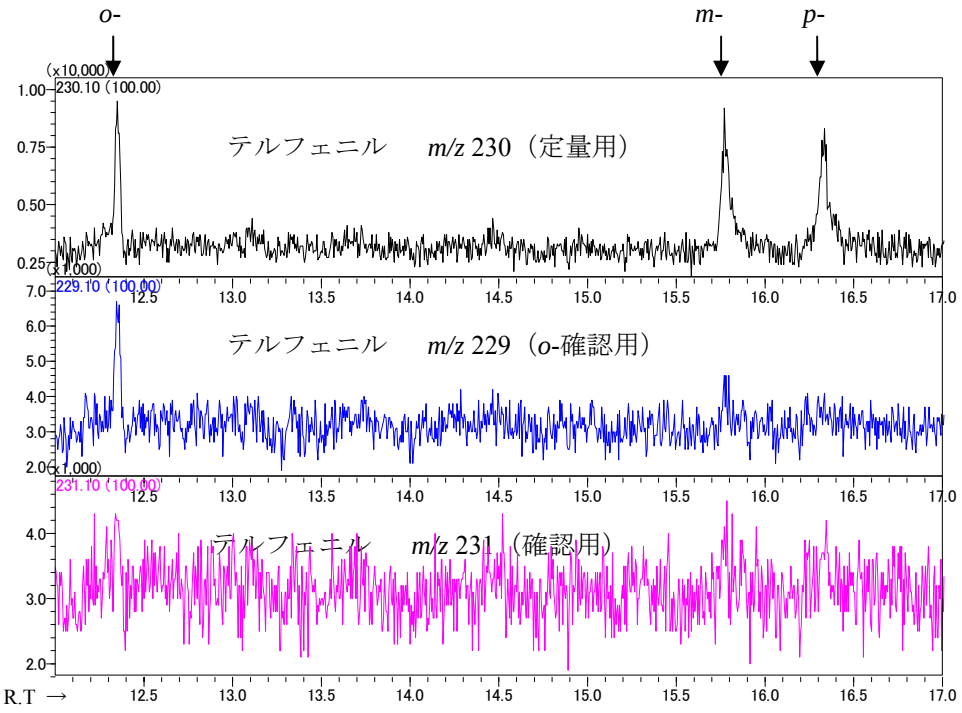


図 1　IDL 測定時のクロマトグラム (0.200 ng/mL)

（注 8）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）に従って算出した。算出結果を表 4 に、測定時のクロマトグラムを図 2 に示す。

表 4　MDL 及び MQL の算出結果

物質名	*o*-テルフェニル	*m*-テルフェニル	*p*-テルフェニル
試料	河川水	河川水	河川水
試料量 (L)	0.200	0.200	0.200
標準添加量 (ng)	0.200	0.200	0.200
試料換算濃度 (ng/L)	1.00	1.00	1.00
最終液量 (mL)	1.0	1.0	1.0
注入液濃度 (ng/mL)	0.200	0.200	0.200
装置注入量 (μL)	2.0	2.0	2.0
操作ﾌﾞﾗﾝｸ平均 (ng/L)[*1]	ND (98)	ND (97)	ND (98)
無添加試料 (ng/L) [*2]	ND (90)	ND (92)	ND (95)
結果 1 (ng/L)	1.08 (89)	1.05 (96)	1.17 (97)
結果 2 (ng/L)	0.882(91)	1.30 (92)	0.955 (93)
結果 3 (ng/L)	1.05 (87)	1.37 (89)	1.17 (91)
結果 4 (ng/L)	0.839 (86)	1.28 (91)	0.983 (89)
結果 5 (ng/L)	0.905 (86)	1.30 (89)	1.15 (92)
結果 6 (ng/L)	0.896 (88)	1.08 (91)	1.17 (93)
結果 7 (ng/L)	1.14 (85)	1.17 (89)	0.987 (88)
平均値 (ng/L)	0.9706 (87.4)	1.220 (90.9)	1.085 (91.9)
標準偏差 (ng/L)	0.117	0.123	0.103
MDL (ng/L)[*3]	0.46	0.48	0.40
MQL (ng/L)[*4]	1.2	1.2	1.0
S/N 比	18	19	16
CV (%)	12	10	9.5

*1:試料マトリ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 (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(n=1)

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

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

*5:操作ﾌﾞﾗﾝｸ平均から平均値までの濃度の横の括弧内の数値はサロゲート回収率 (%) を示す

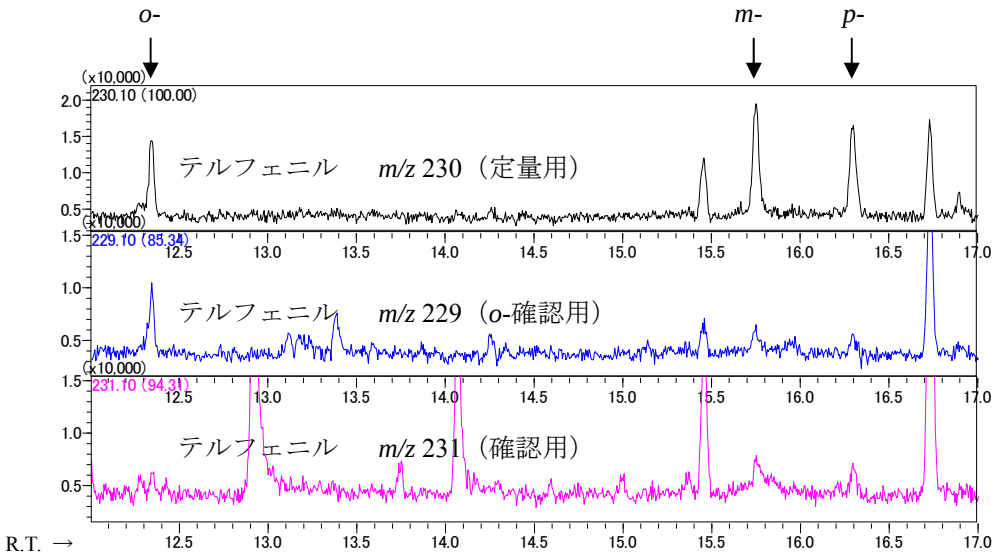


図 2　MDL 測定時のクロマトグラム

§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 3 に示す。

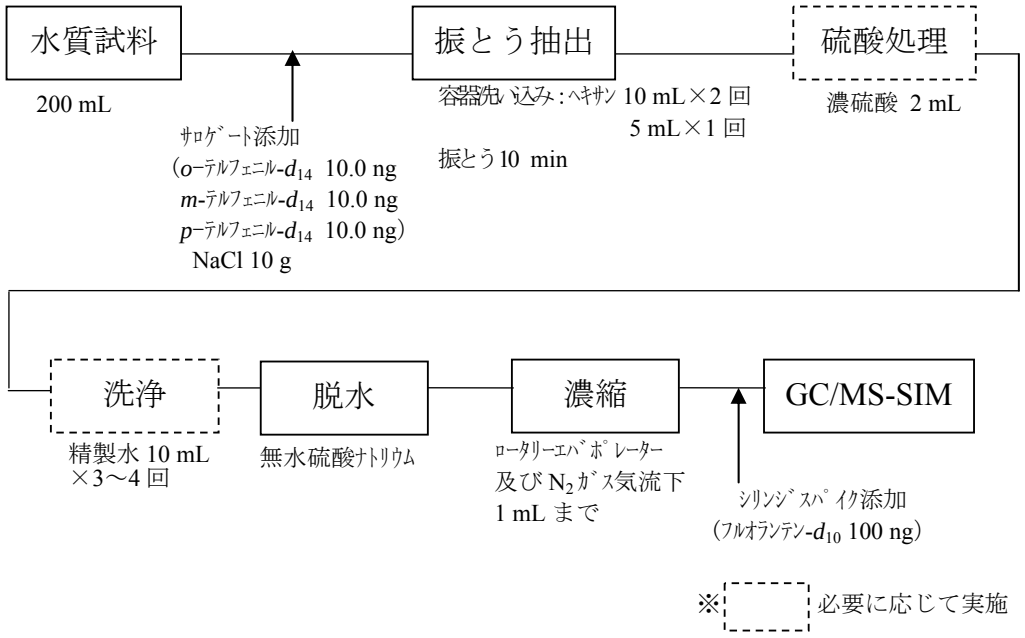


図 3　分析法のフローチャート

〔検量線〕

検量線を図 4 に、検量線作成用データを表 5-1～表 5-3 に示す。

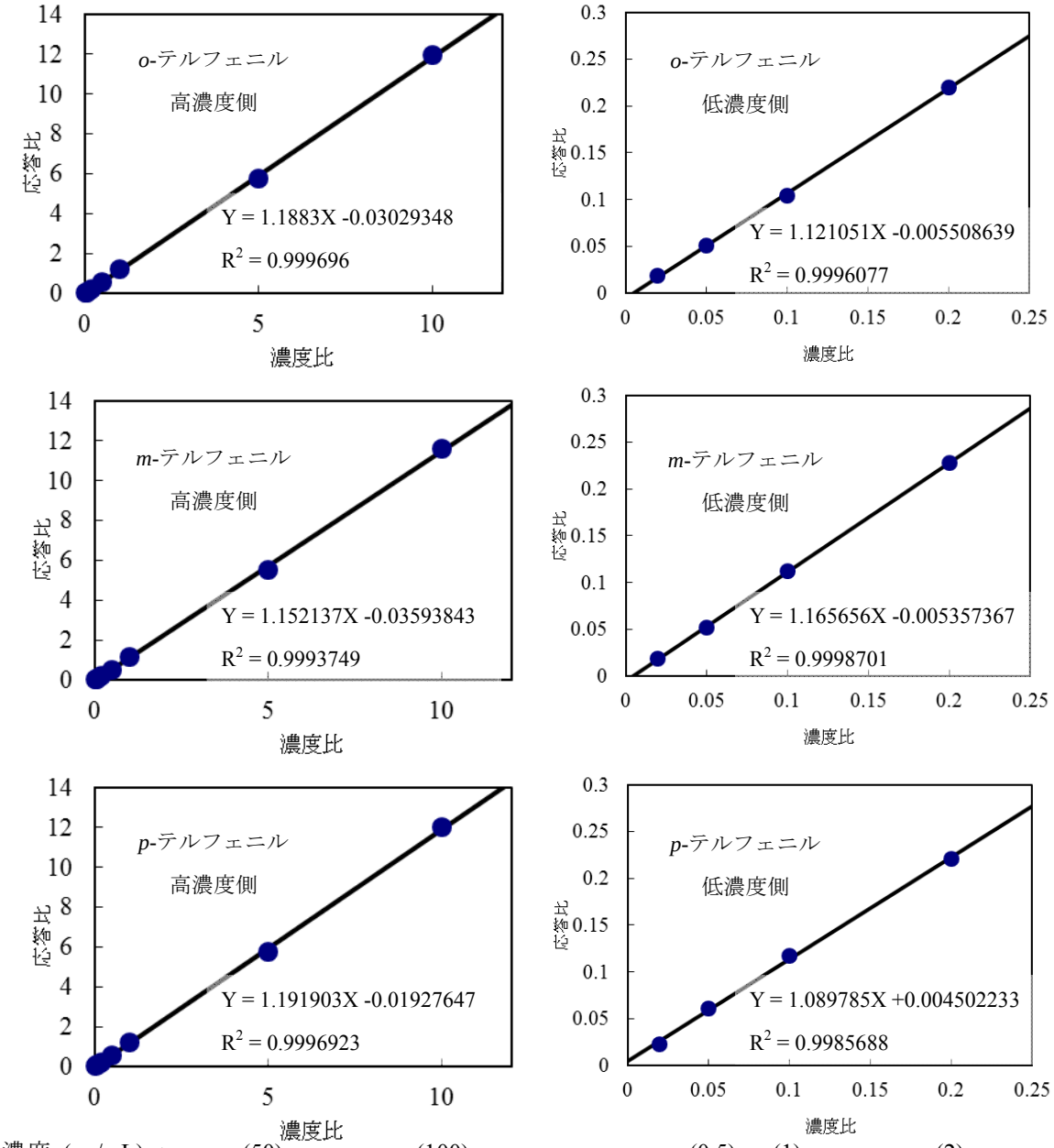


図 4　*o*-テルフェニル、*m*-テルフェニル、*p*-テルフェニルの検量線
（図左：高濃度領域 (2.00 ~ 100ng/mL)、図右：低濃度領域 (0.200 ~ 2.00ng/mL)）
（サロゲート内標準物質濃度：10.0 ng/mL）

表 5-1　検量線作成用データ　（*o*-テルフェニル）

標準液濃度 (ng/mL) (C_s)	応答値		応答比 (A_s/A_{is})
	o-ﾃﾙﾌｪﾆﾙ (A_s) (*m/z* 230.1)	*o*-ﾃﾙﾌｪﾆﾙ- d_{10} (A_{is}) (*m/z* 244.2)*	
0.200	84	4617	0.0181936
0.500	229	4518	0.0506861
1.00	531	5102	0.1040768
2.00	1108	5041	0.2197977
5.00	2882	5395	0.5341983
10.0	7283	6065	1.200824
50.0	40351	7026	5.743097
100	97305	8154	11.93340

*：サロゲート内標準物質濃度：10.0 ng/mL (C_{is})

表 5-2　検量線作成用データ　（*m*-テルフェニル）

標準液濃度 (ng/mL) (C_s)	応答値		応答比 (A_s/A_{is})
	m-ﾃﾙﾌｪﾆﾙ (A_s) (*m/z* 230.1)	*m*-ﾃﾙﾌｪﾆﾙ- d_{10} (A_{is}) (*m/z* 244.2)*	
0.200	115	6067	0.0189550
0.500	306	5946	0.0514632
1.00	731	6550	0.1116031
2.00	1455	6386	0.2278422
5.00	3455	6985	0.4946314
10.0	9170	7946	1.154039
50.0	47342	8622	5.490837
100	116078	10007	11.59968

*：サロゲート内標準物質濃度：10.0 ng/mL (C_{is})

表 5-3　検量線作成用データ　（*p*-テルフェニル）

標準液濃度 (ng/mL) (C_s)	応答値		応答比 (A_s/A_{is})
	p-ﾃﾙﾌｪﾆﾙ (A_s) (*m/z* 230.1)	*p*-ﾃﾙﾌｪﾆﾙ- d_{10} (A_{is}) (*m/z* 244.2)*	
0.200	142	6192	0.0229328
0.500	368	6083	0.0604965
1.00	809	6898	0.1172804
2.00	1511	6852	0.2205196
5.00	4104	7385	0.5557211
10.0	9824	8014	1.225854
50.0	53473	9267	5.770260
100	129038	10771	11.98013

*：サロゲート内標準物質濃度：10.0 ng/mL (C_{is})

〔クロマトグラム〕

テルフェニル、テルフェニル-d_{14} 及びフルオランテン-d_{10} のクロマトグラムを図 5 に示す。

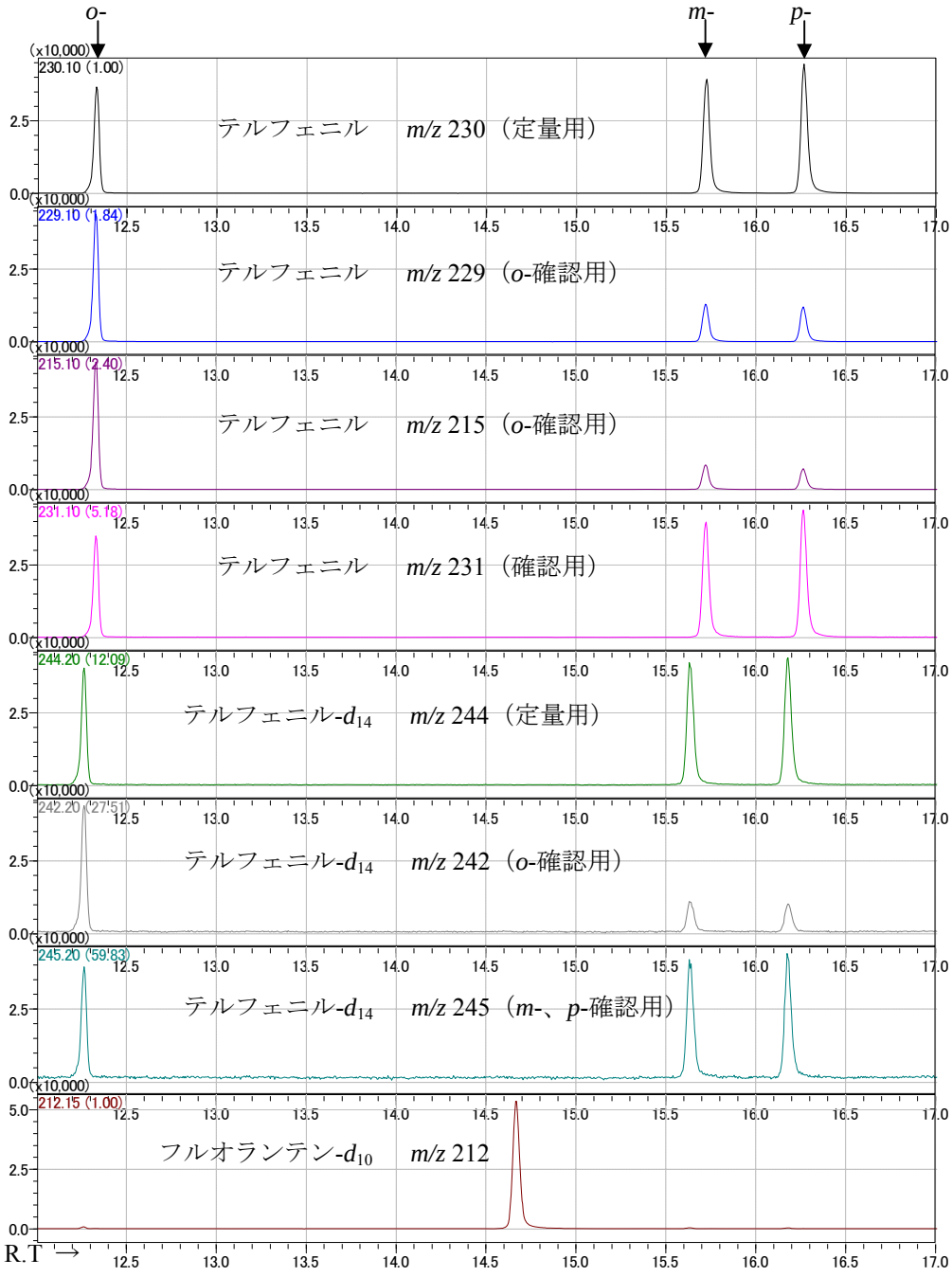


図 5　標準物質のクロマトグラム

（テルフェニル及びフルオランテン-d_{10} 100 ng/mL、テルフェニル-d_{14} 10 ng/mL）

〔マススペクトル〕

対象物質、サロゲート内標準物質及びシリンジスパイク内標準物質のマススペクトルを図 6-1、図 6-2 及び図 6-3 に示す。

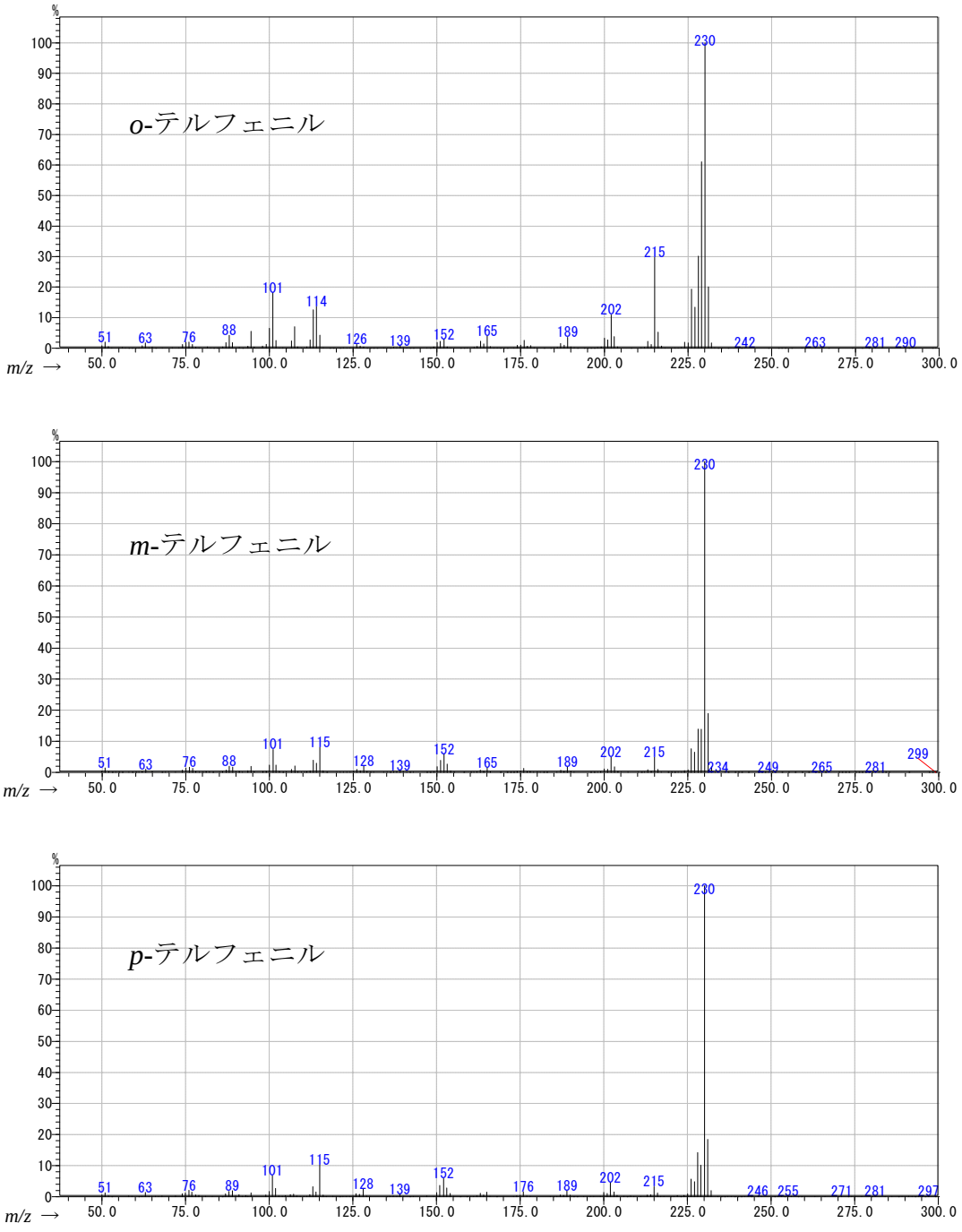


図 6-1　テルフェニルのマススペクトル

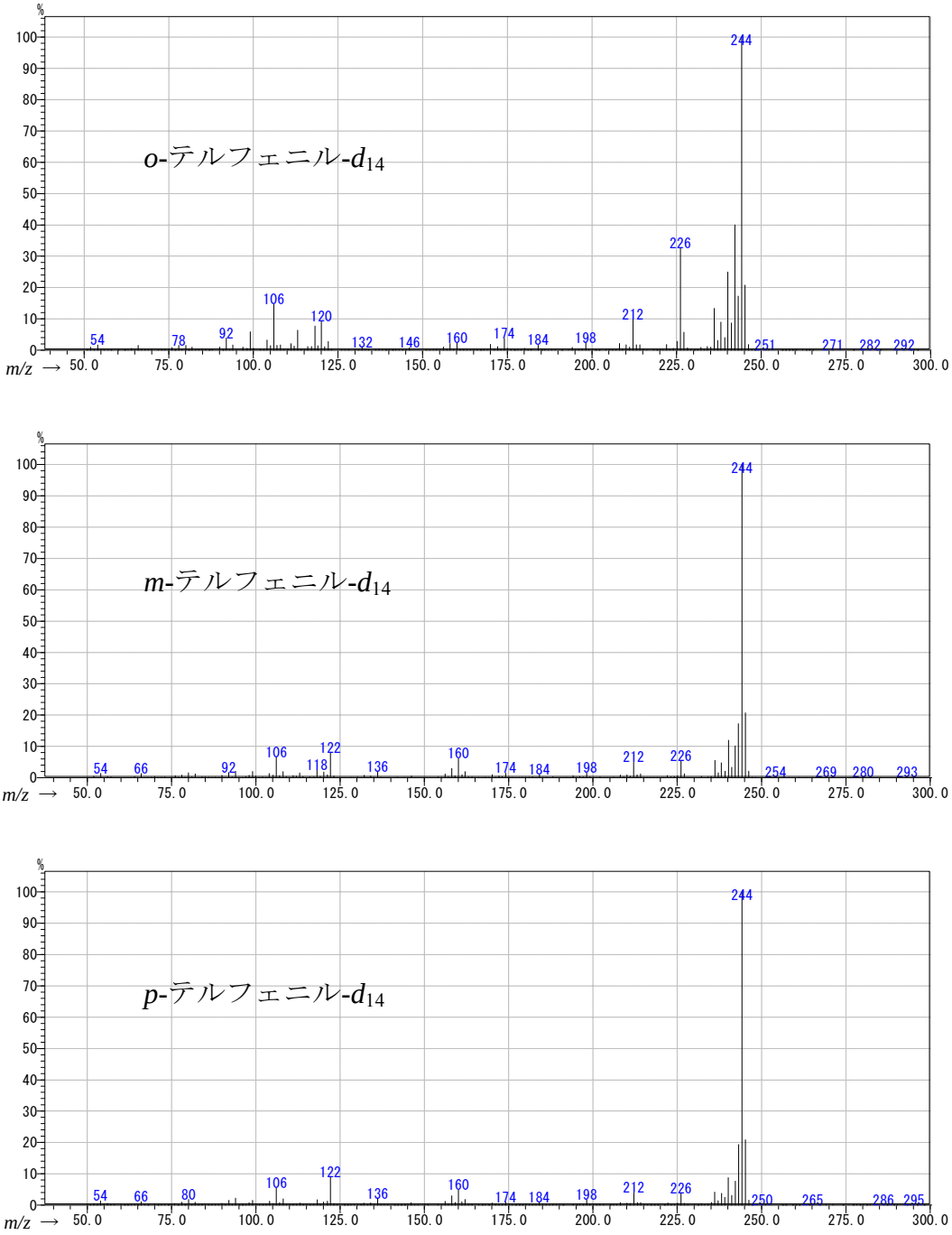


図 6-2　テルフェニル-d_{14} のマススペクトル

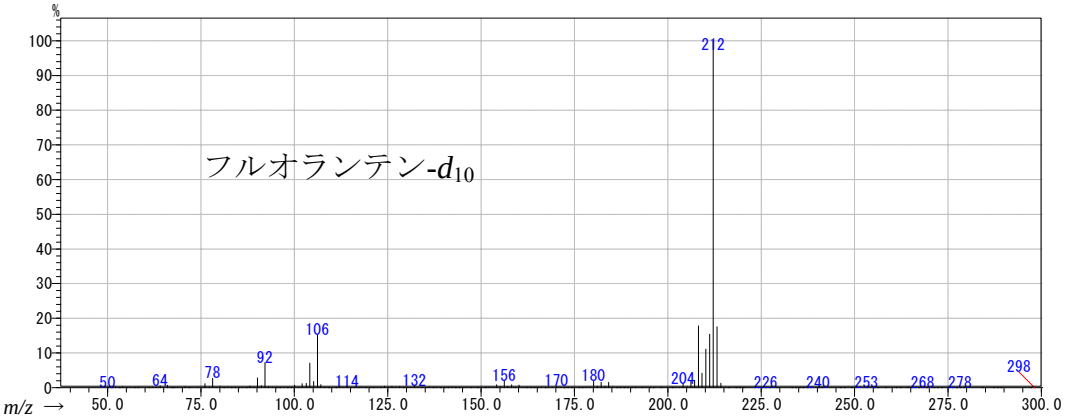


図 6-3　フルオランテン-d_{10} のマススペクトル

〔操作ブランク〕

操作ブランクのクロマトグラムを図 7 に示す。操作ブランクは検出されなかった。

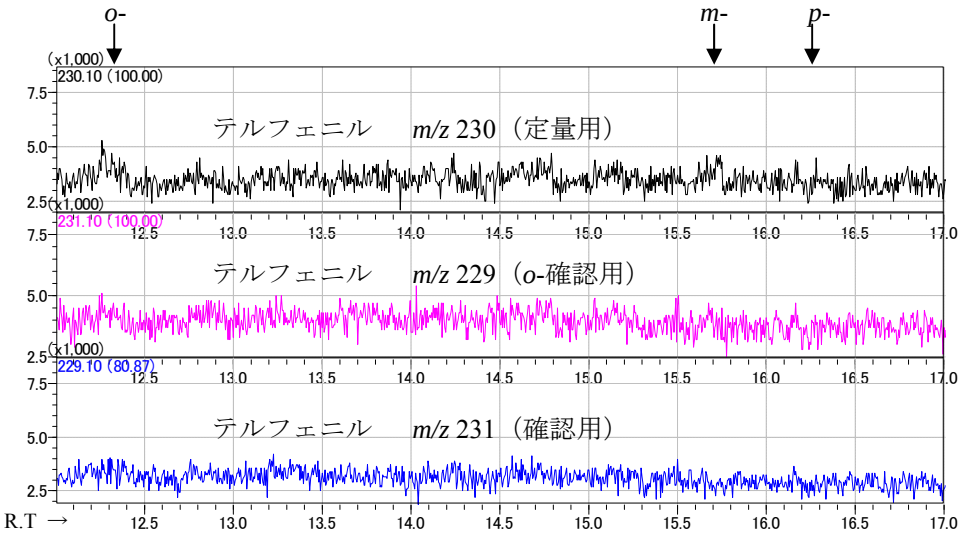


図 7　操作ブランクのクロマトグラム

〔添加回収試験〕

添加回収試験結果を表 6 に示す。

表 6　添加回収試験結果

試料名	物質名	試料量 (L)	添加量 (ng)	試験数	検出濃度 (ng/L)	回収率 (%)	変動係数 (%)	サロゲート回収率 (%)
河川水	*o*-テルフェニル	0.200	無添加	1	ND	-	-	99
		0.200	0.500	7	2.45	98	4.1	91
	m-テルフェニル	0.200	無添加	1	ND	-	-	101
		0.200	0.500	7	2.46	98	0.8	90
	p-テルフェニル	0.200	無添加	1	ND	-	-	98
		0.200	0.500	7	2.63	105	2.8	89
海水	*o*-テルフェニル	0.200	無添加	1	ND	-	-	91
		0.200	4.00	5	20.9	104	1.4	94
	m-テルフェニル	0.200	無添加	1	ND	-	-	93
		0.200	4.00	5	20.7	104	2.8	94
	p-テルフェニル	0.200	無添加	1	ND	-	-	93
		0.200	4.00	5	20.8	104	2.4	95

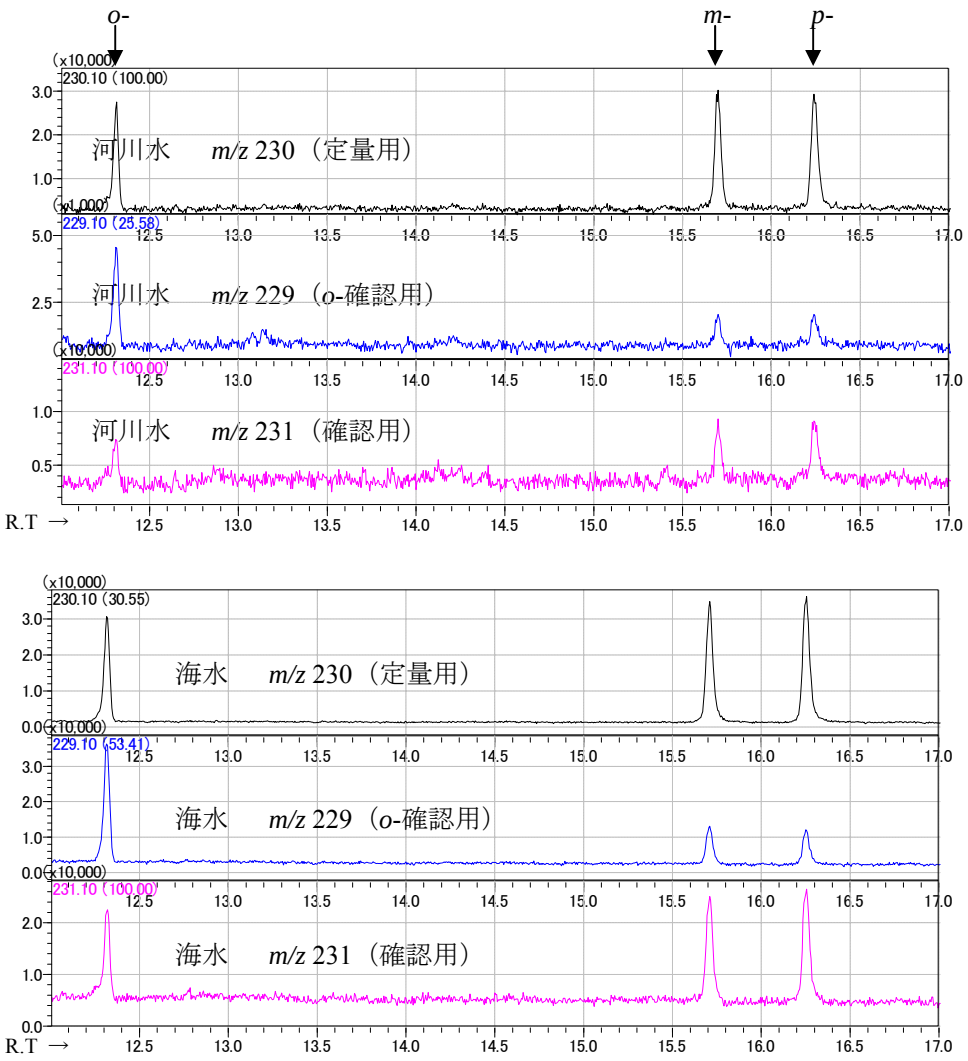


図 8　添加回収試験のクロマトグラム（添加試料）

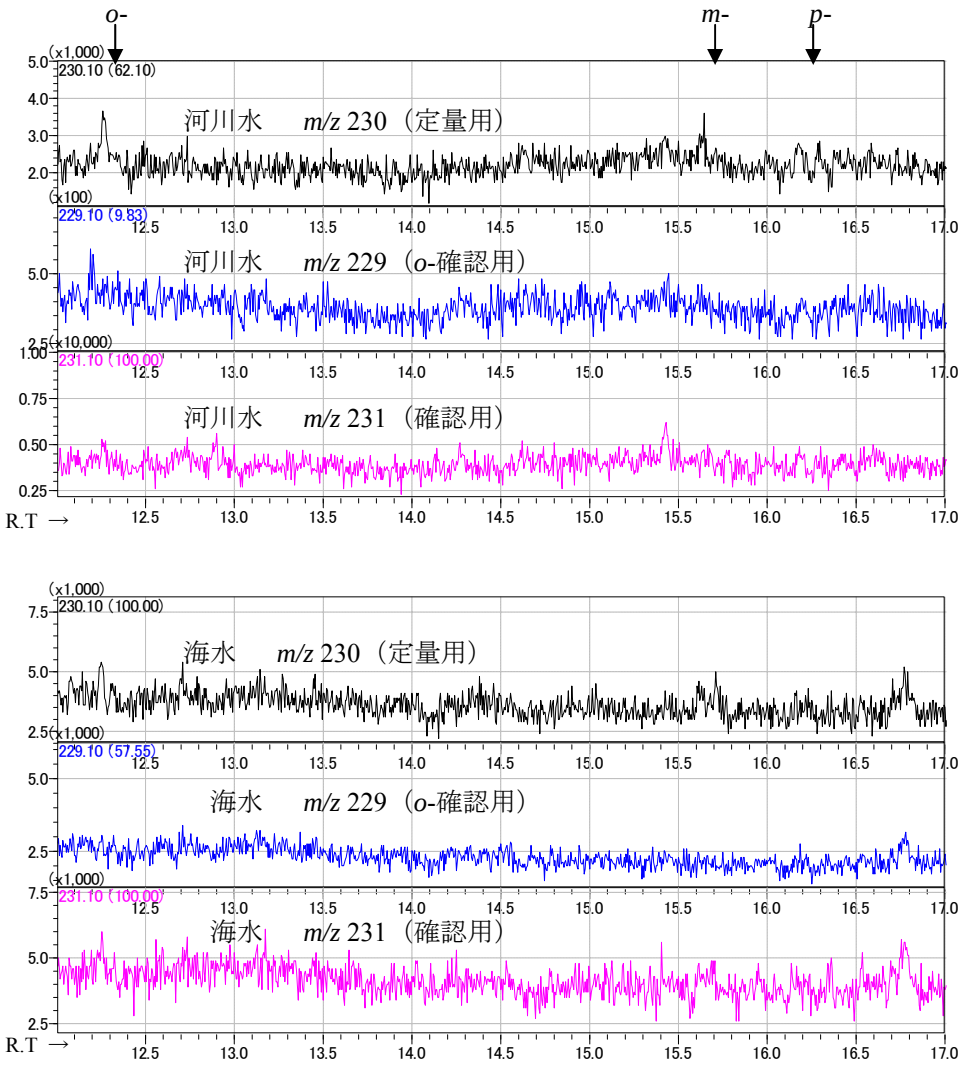


図 9　添加回収試験のクロマトグラム（無添加試料）

〔分解性スクリーニング試験〕

分解性スクリーニング試験結果を表 7 に示す。

光及び pH5～9 の条件による分解性は確認されなかった。

表 7　分解性スクリーニング試験結果

物質名	pH	試験数	初期濃度 (ng/L)	1 時間後の残存率 (%)	7 日間後の残存率 (%)	
					暗所	明所
o-テルフェニル	5	2	20.0	103	98	-
	7	2	20.0	101	102	102
	9	2	20.0	101	103	-
m-テルフェニル	5	2	20.0	103	99	-
	7	2	20.0	100	102	101
	9	2	20.0	101	102	-
p-テルフェニル	5	2	20.0	98	101	-
	7	2	20.0	101	98	100
	9	2	20.0	103	99	-

〔保存性試験〕

保存性試験結果を表 8 に示す。河川水及び海水 200 mL に標準物質 2.00 ng を添加して冷蔵保存し、7 日後にサロゲート内標準物質を添加して測定した。標準液はヘキサン 1 mL に規定量の標準物質を添加して冷蔵保存し、7 日後及び 1 ヶ月後にサロゲート内標準物質を添加して測定した。

結果、*o*-テルフェニルの保存性は良好であったが、*m*-テルフェニル及び *p*-テルフェニルには環境試料において若干の濃度低下が確認された。異性体の同時分析を行う場合は試料採取後、なるべく早めに前処理をした方が良いと考えられる。

表 8　保存性試験結果

試料名	物質名	初期濃度 (ng/L)*	残存率 (%)	
			7 日間	1 ヶ月
河川水	*o*-テルフェニル	10.0	105	-
	m-テルフェニル	10.0	98	-
	p-テルフェニル	10.0	82	-
海水	*o*-テルフェニル	10.0	100	-
	m-テルフェニル	10.0	71	-
	p-テルフェニル	10.0	75	-
標準液	*o*-テルフェニル	1.00×10^3	101	107
		1.00×10^5	100	98
	m-テルフェニル	1.00×10^3	103	102
		1.00×10^5	107	101
	p-テルフェニル	1.00×10^3	109	97
		1.00×10^5	101	102

*：標準液の上段は MDL の 10 倍程度、下段は検量線の最高濃度を示す。

〔内標準物質の検討〕

アントラセン-d_{10}とフルオランテン-d_{10}のクロマトグラムを図 10 に示す。異性体の同時分析を考慮し、シリンジスパイク内標準物質にはフルオランテン-d_{10}を用いることとした。

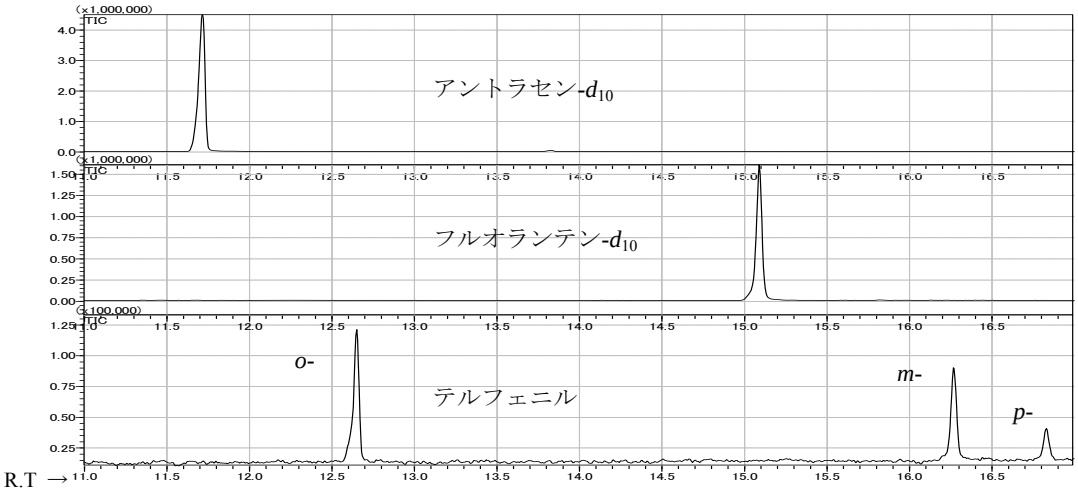


図 10　シリンジスパイク内標準物質のクロマトグラム

〔モニターイオンの検討〕

o-テルフェニル及び *o*-テルフェニル-d_{14} の確認用モニターイオン選定のため、*o*-テルフェニル 0.2 ng、サロゲート内標準物質 50 ng 及びシリンジスパイク内標準物質を 1 mL のヘキサンに添加して *m/z* 215、229 のクロマトグラムを確認した結果を図 11-1 に、*o*-テルフェニル及びサロゲート内標準物質の添加量を 100 ng に変更して *m/z* 226、242 のクロマトグラムを確認した結果を図 11-2 に示す。確認用モニターイオンにはフラグメントイオンピークの影響が少ない *m/z* 229、242 を用いることとし、必要な場合には *m/z* 215、231 も確認することとした。

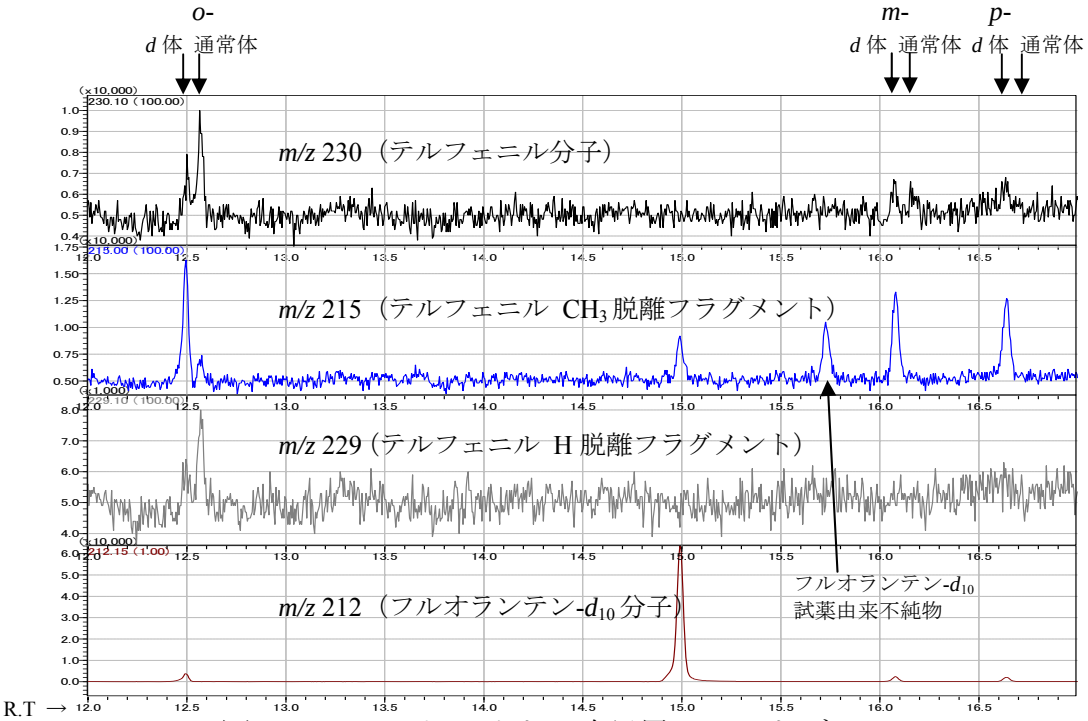


図 11-1　モニターイオン確認用クロマトグラム 1

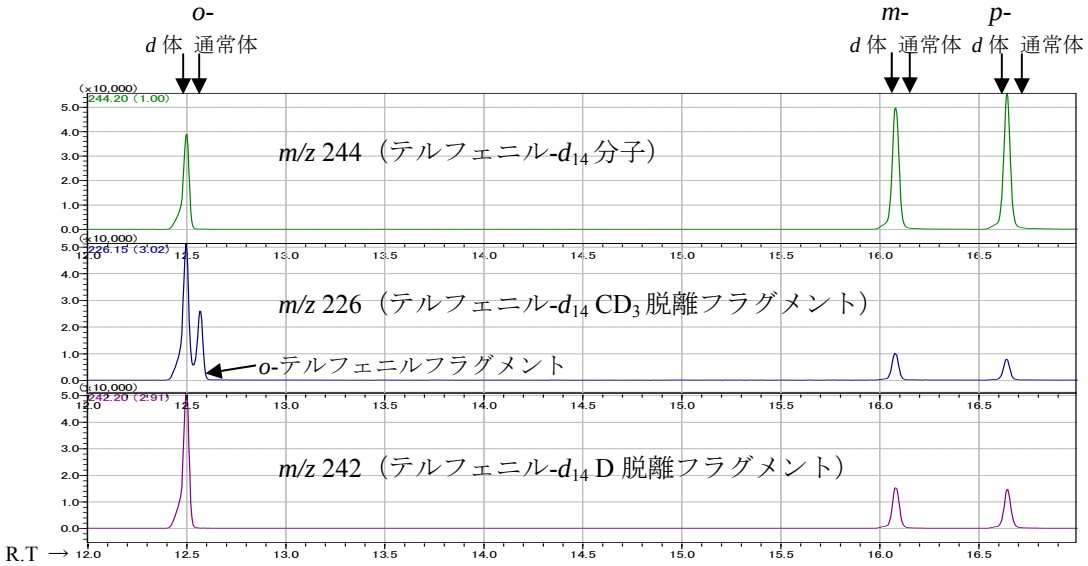


図 11-2　モニターイオン確認用クロマトグラム 2

〔抽出条件の検討〕

ヘキサン抽出操作における抽出効率の確認のため、精製水 200 mL に *o*-テルフェニル-d_{14}、*m*-テルフェニル-d_{14} 及び *p*-テルフェニル-d_{14} をそれぞれ 10 ng ずつ添加してヘキサン 20 mL による抽出操作を行い、1 回目のヘキサン抽出液、1 回目の抽出後の分液ロートをヘキサンで洗浄した洗液及び 2 回目のヘキサン抽出液の回収率を確認した結果を表 10 に示す。2 回目の抽出液からは検出されなかったことから、ヘキサンの抽出回数は 1 回とした。

表 10　ヘキサン抽出液のテルフェニル-d_{14} 回収率

物質名	抽出液回収率 (%)		
	ヘキサン抽出 1 回目	分液ロート洗液	分液ロート 2 回目
o-テルフェニル-d_{14} *	96	0.8	ND
	102	0.7	ND
m-テルフェニル-d_{14} *	93	0.8	ND
	99	0.6	ND
p-テルフェニル-d_{14} *	94	0.7	ND
	99	0.5	ND

*：n = 2 で操作

〔試薬由来妨害ピークの検討〕

試薬の不純物に由来する妨害ピークの有無を確認するため、次の①～③の試料をそれぞれ 1 mL に濃縮して測定した。

① ヘキサン（残留農薬・PCB 試験用）60 mL

② グラスウールを詰めた三角ロートに無水硫酸ナトリウム（残留農薬・PCB 試験用）100 g を取り、ヘキサン 60 mL を通液して得られた抽出液

③ 塩化ナトリウム 20 g（残留農薬・PCB 試験用）をビーカーに取り、40 mL のヘキサンを加えて 5 分間超音波で抽出した抽出液

結果を図12に示す。ヘキサンからは妨害となるピークは検出されなかったが、無水硫酸ナトリウム及び塩化ナトリウムからは妨害ピークが検出されことから、無水硫酸ナトリウム及び塩化ナトリウムは焼きだし又は溶媒洗浄をしてから用いることとした。

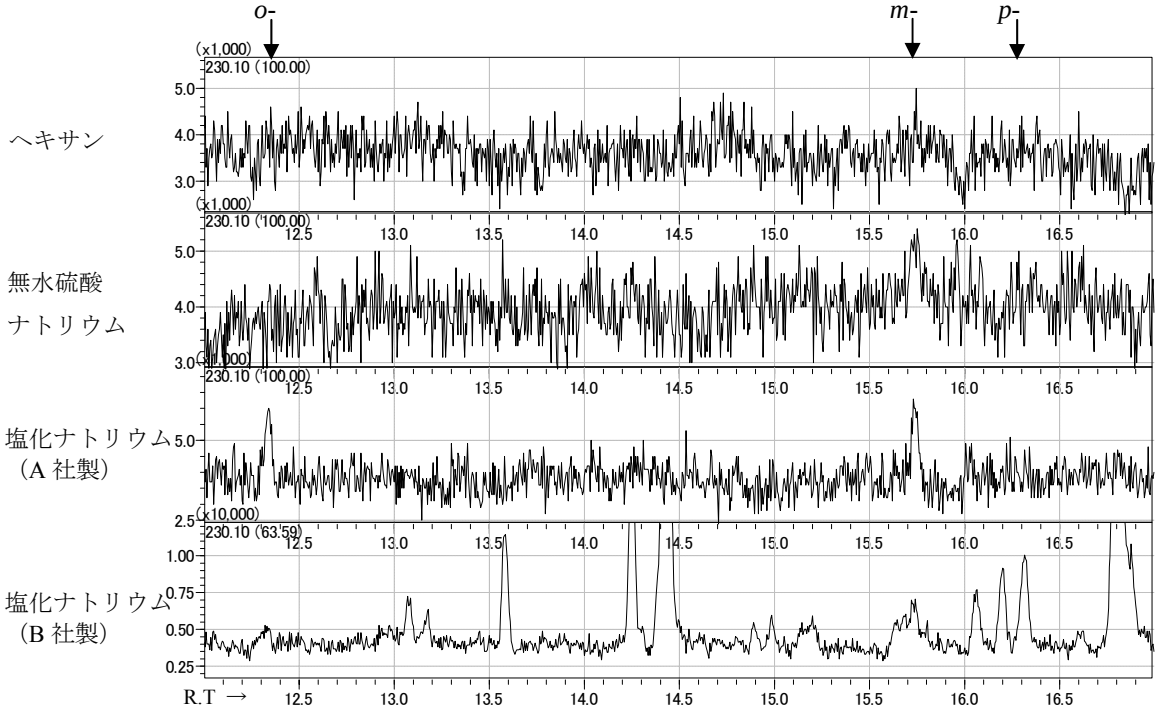


図 12　試薬類の *m/z* 230 におけるクロマトグラム
（上からヘキサン、無水硫酸ナトリウム、
塩化ナトリウム（A 社製）、塩化ナトリウム（B 社製））

〔シリカゲルカートリッジ由来妨害ピークの検討〕

クリーンアップに市販のシリカゲルカートリッジを使用できるか否かを確認するため、InertSep SI (500 mg/6 mL)、Supelclean LC-SI (500 mg/6 mL)からの妨害物質の溶出状況を確認した。開封直後のシリカゲルカートリッジにヘキサン 10 mL を通液してそれぞれの溶出液を測定した。結果を図 13-1 に示す。

いずれのカートリッジからも *m*-テルフェニルが検出された。ヘキサンで洗浄することにより一旦除去できることを確認できた（図 13-1）が、除去できたカートリッジを室内に 30 分放置してから再度ヘキサン 10 mL を通液したところ、溶出液から *m*-テルフェニルが検出された（図 13-2）ため、シリカゲルカートリッジでは *m*-テルフェニルの妨害を完全に除去するのが困難であることがわかった。

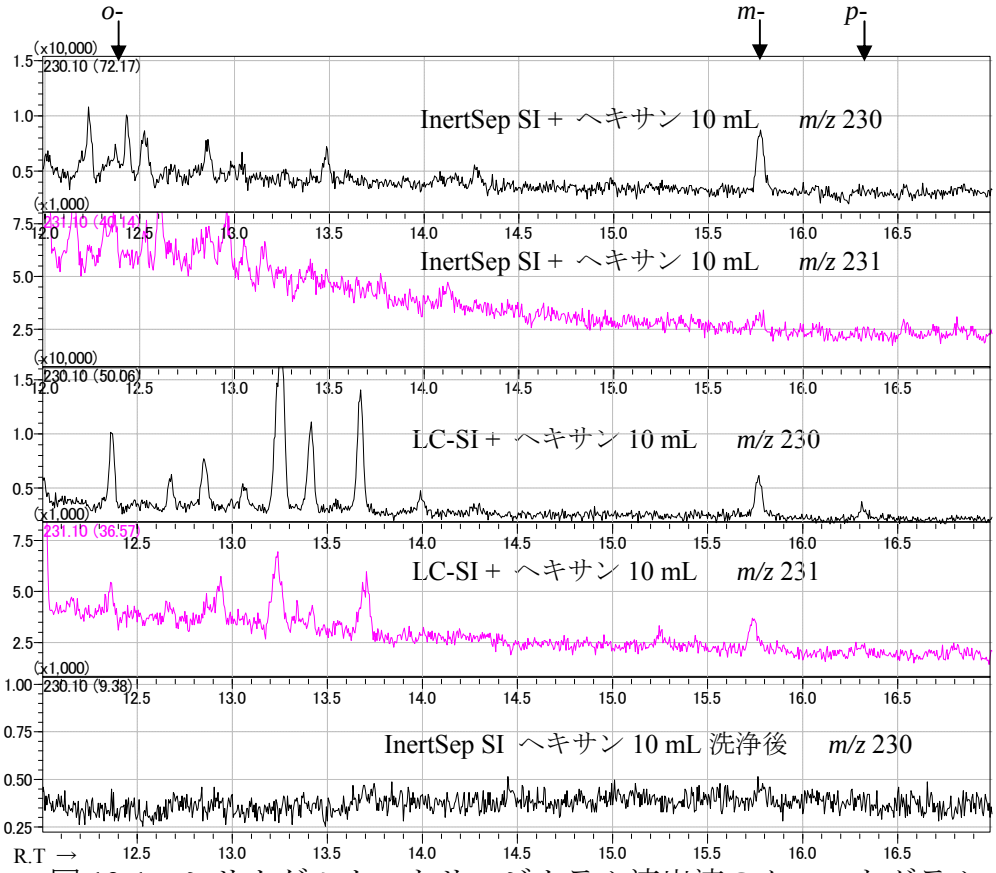


図 13-1　シリカゲルカートリッジカラム流出液のクロマトグラム

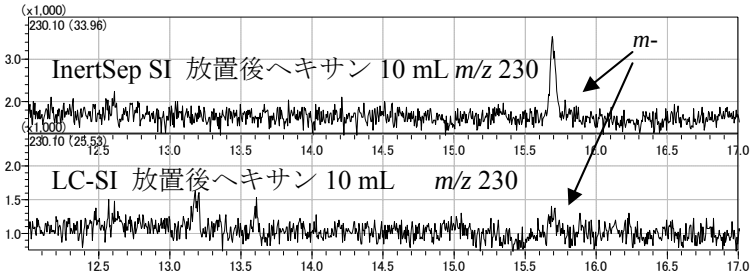


図 13-2　30 分放置後の溶出液のクロマトグラム

〔環境試料の分析〕

本分析法を用いて新潟県新潟市の信濃川、通船川の河川水及び新潟東港の海水を測定した結果を表 9 に、クロマトグラムを図 14-1 から図 14-3 に示す。図 14-3 は図 14-1 上段の信濃川河川水試料について、硫酸処理を省略した場合のクロマトグラムを示している。信濃川の河川水及び新潟東港の海水は不検出であったが、通船川の河川水からは MDL を超える *o*-テルフェニルが検出された。なお、通船川の河川水からは *m/z* 229 の *o*-テルフェニル確認イオン付近に保持時間が 0.015 分遅い妨害ピークが検出されたため、*m/z* 231 により *o*-テルフェニルの確認を行った。

表 9　環境試料の測定結果

試料名	*o*-テルフェニル (ng/L)	*m*-テルフェニル (ng/L)	*p*-テルフェニル (ng/L)
信濃川河川水	ND (99)	ND (101)	ND (98)
通船川河川水	0.51(82)	ND (85)	ND (87)
新潟東港海水	ND (94)	ND (94)	ND (95)

*: 括弧内の数値はサロゲート回収率 (%) を示す

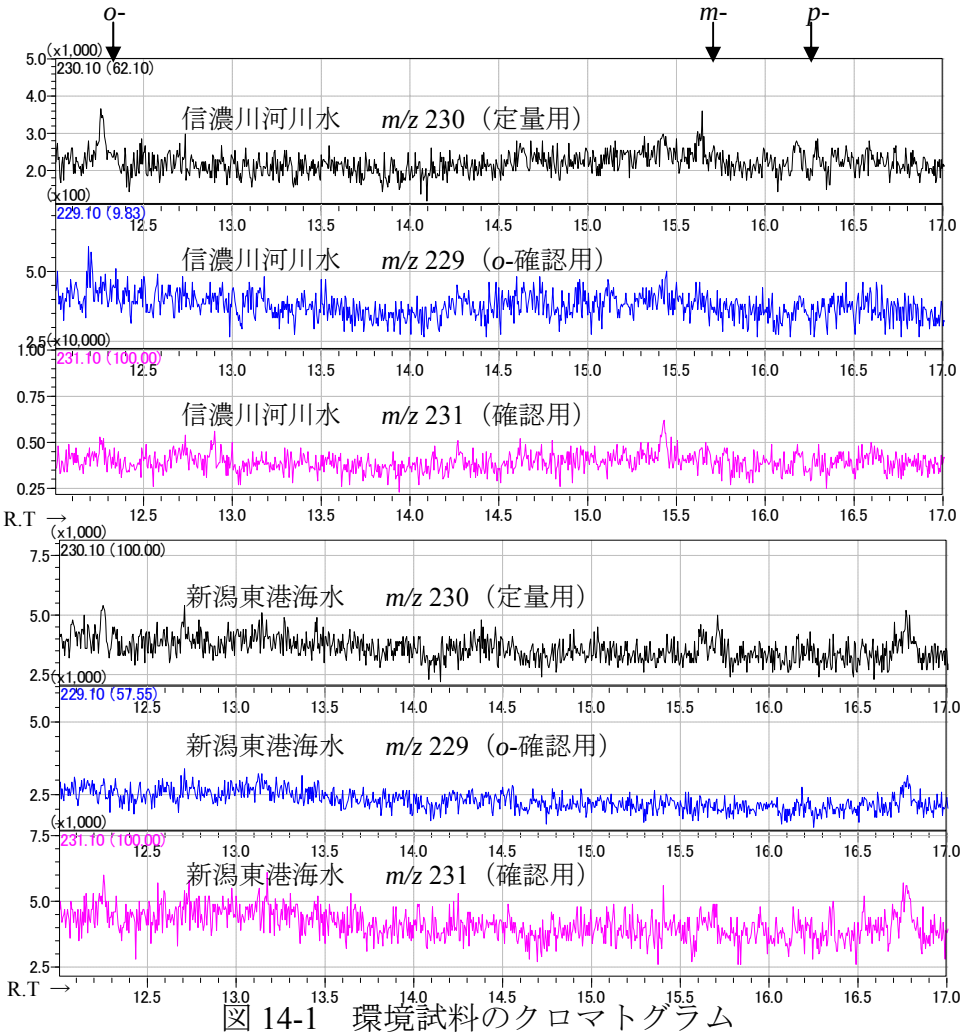


図 14-1　環境試料のクロマトグラム

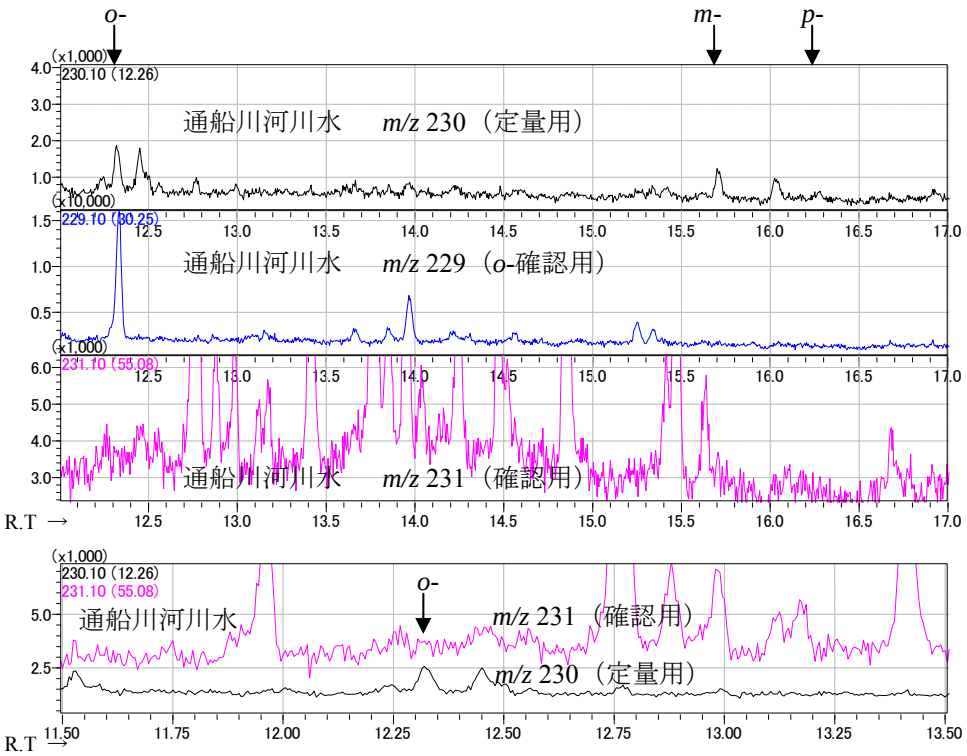


図 14-2　環境試料のクロマトグラム

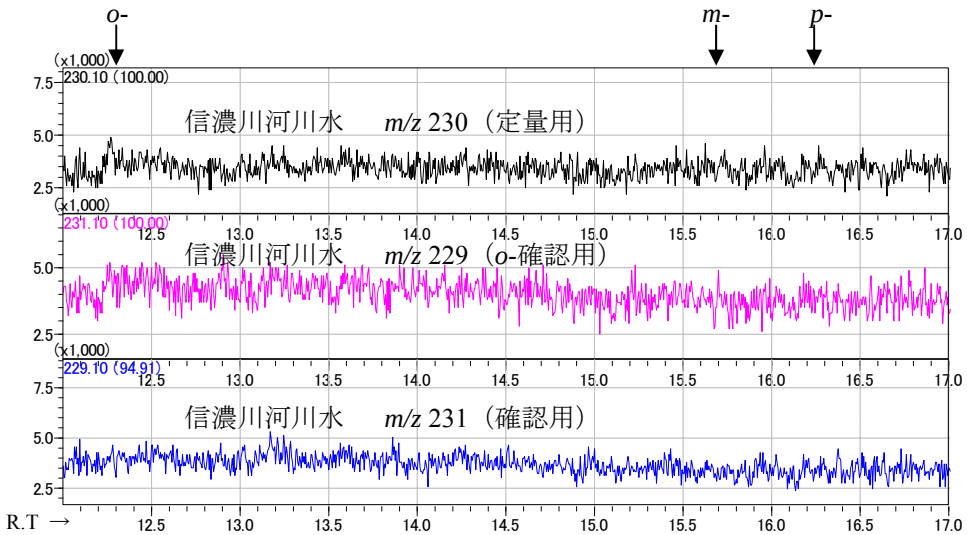


図 14-3　硫酸処理を省略した環境試料のクロマトグラム

【評価】

本法における分析対象物質の MDL は 0.00040～0.00048 μg/L、MQL は 0.0010～0.0012 μg/L であった。河川水及び海水を用いた添加回収試験の回収率は、それぞれ 98～105%（サロゲート回収率 89～91%、変動係数 0.8～4.1%）及び 104%（サロゲート回収率 94～95%、変動係数 1.4～2.8%）であった。

本法で環境試料を分析したところ、河川水から MDL を超える *o*-テルフェニルが検出された。

以上の結果から、本法は環境水中に含まれる 0.01 μg/L レベルの *o*-テルフェニル、*m*-テルフェニル及び *p*-テルフェニルの同時定量に適用可能であると判断される。

【参考文献】

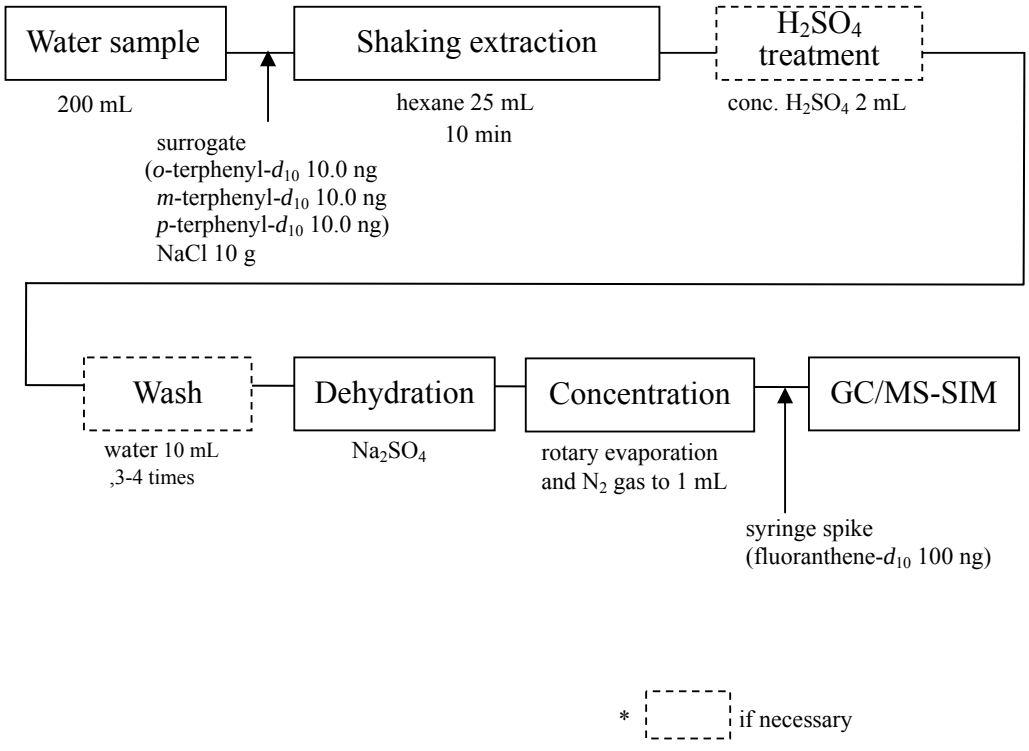
1) 吉岡敏行、藤原博一、山辺真一、浦山豊弘：有害化学物質の環境汚染実態の解明と分析技術の開発に関する研究、岡山県環境保健センター年報、**35**、35-42(2011)
2) 化学物質と環境 平成 22 年度化学物質分析法開発調査報告書、環境省(2011)
3) 要調査項目等調査マニュアル、環境省(2004)
4) 篠原亮太、堀悌二、古賀実：マスフラグメントグラフィーによる水、底質中の *o*-,*m*-,*p*-ターフェニルの定量、分析化学、**27**、400-405(1978)

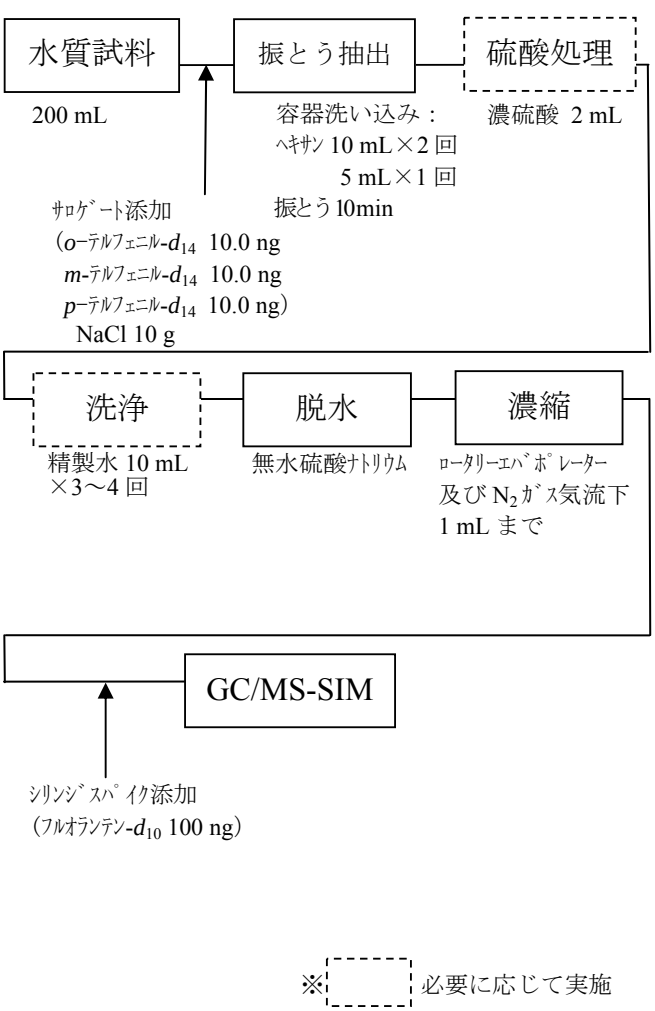
【担当者連絡先】

所属先名称　：新潟県保健環境科学研究所
所属先住所　：〒950-2144　新潟県新潟市西区曽和 314-1
TEL：025-263-9417　FAX：025-263-9410
担当者名　：小澤秋男、茨木剛、旗本尚樹
E-mail　：ozawa.akio2@pref.niigata.lg.jp
ibaraki.tsuyoshi@pref.niigata.lg.jp
hatamoto.naoki@pref.niigata.lg.jp

o-Terphenyl, *m*-Terphenyl, *p*-Terphenyl

This method provides procedures for the determination of *o*-, *m*- and *p*-terphenyl in environmental waters by gas chromatography/mass spectrometry with selected ion monitoring (GC/MS-SIM). A water sample (0.200 L) is spiked with *o*-terphenyl-d_{14}, *m*-terphenyl-d_{14}, and *p*-terphenyl-d_{14} (10 ng each) as surrogates (internal standards). Then the sample is poured into a separatory funnel and is added with 10 g of sodium chloride, and is extracted with 25 mL of hexane. If necessary, the extract is cleaned up with sulfuric acid and is washed with 10 mL of water three or four times. The extract is dehydrated with anhydrous Na_2SO_4 and is concentrated to 1 mL, and then it is added with 100 ng of fluoranthene-d_{10} as a syringe spike (internal standard). The targets are determined by GC/MS-SIM. The method detection limit (MDL) of *o*-terphenyl, *m*-terphenyl and *p*-terphenyl are 0.46 ng/L, 0.48 ng/L and 0.40 ng/L, respectively. The method quantification limit (MQL) of *o*-terphenyl, *m*-terphenyl and *p*-terphenyl are 1.2 ng/L, 1.2 ng/L, and 1.0 ng/L, respectively. The averages of recoveries (n = 7) of river water added with 0.500 ng were 98% - 105%, and their relative standard deviations were 0.8% - 4.1%. The average of recoveries (n = 5) of seawater added with 4.00 ng was 104%, and the relative standard deviations were 1.4% - 2.8%. These results suggest that the developed method is applicable for the simultaneous determination of *o*-, *m*-, and *p*- terphenyl at 0.01 μg/L level in environmental waters.



物質名	分析法フローチャート	備　考
[1] *o*-テルフェニル IUPAC 名： 1,1':2',1''-テルフェニル 別名： *o*-ターフェニル [2] *m*-テルフェニル IUPAC 名： 1,1':3',1''-テルフェニル 別名： *m*-ターフェニル [3] *p*-テルフェニル IUPAC 名： 1,1':4',1''-テルフェニル 別名： *p*-ターフェニル		分析原理： GC/MS-SIM 検出下限値： 【水質】(ng/L) [1] 0.46 [2] 0.48 [3] 0.40 分析条件： 機器 GC:SHIMADZU GC-2010 Plus MS:SHIMADZU GCMS-QP2010 Ultra カラム DB-5MS 30 m×0.25 mm, 0.25 μm

福岡県保健環境研究所
［対象媒体：水質］

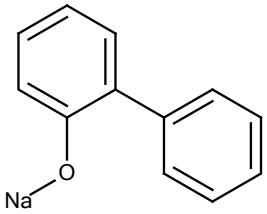
ナトリウム=1,1'-ビフェニル-2-オラート

Sodium-1,1'-biphenyl-2-olate

2-ヒドロキシビフェニルナトリウム塩

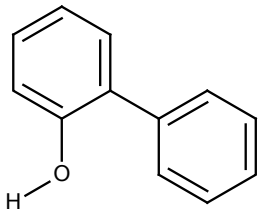
【対象物質の構造】

2-ヒドロキシビフェニルナトリウム塩



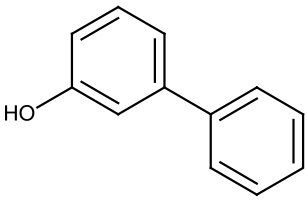
CAS 番号：132-27-4
分子式：$C_{12}H_9NaO$

2-ヒドロキシビフェニル



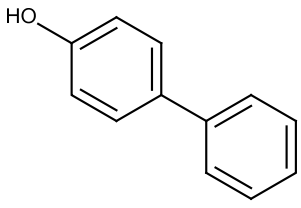
CAS 番号：90-43-7
分子式：$C_{12}H_{10}O$

3-ヒドロキシビフェニル



CAS 番号：580-51-8
分子式：$C_{12}H_{10}O$

4-ヒドロキシビフェニル



CAS 番号：92-69-3
分子式：$C_{12}H_{10}O$

【物理化学的性状】

物質名	分子量 (ﾓﾉｱｲｿﾄﾋﾟｯｸ質量)	融点 (°C)	水溶解度 (mg/L)	log P_{ow}
ナトリウム=1,1'-ビフェニル-2-オラート	192.19 (192.1890)	-	1×10^{6} [1)] (実験値)	0.59 [1)] (実験値)
2-ヒドロキシビフェニル	170.21 (170.2072)	59 [1)]	700 [1)] (実験値)	3.09 [1)] (実験値)
3-ヒドロキシビフェニル	170.21 (170.2072)	78 [1)]	407 [1)] (算出値)	3.23 [1)] (実験値)
4-ヒドロキシビフェニル	170.21 (170.2072)	166 [1)]	56.2 [1)] (実験値)	3.20 [1)] (実験値)

【毒性、用途等】

〔毒性〕

急性毒性 [2)] ラット（経口）LD_{50} : 656 mg/kg、マウス（経口）LD_{50} : 683 mg/kg

〔用途〕

合成樹脂原料、染色キャリヤー、殺菌剤、防腐剤 [3)]

出典

1) SRC PhysProp Database

2) 製品安全データシート、和光純薬工業

3) 16112 の化学商品(2012)　化学工業日報社刊

§1 分　析　法

(1) 分析法の概要

水質試料にサロゲート内標準を添加し、ジクロロメタン抽出を行う。脱水、濃縮後、必要に応じてシリカカートリッジにより精製し、溶出液を濃縮し、ヘキサンで定容した後、GC/MS–SIM で定量を行う。なお、ナトリウム=1,1'-ビフェニル-2-オラートは水質試料中で Na が解離するため、本分析法では 2-ヒドロキシビフェニルを測定対象とする（注 1)。また、3-、4-ヒドロキシビフェニルについても同時定量可能であり、シリンジスパイク内標準を添加して定量を行う。

(2) 試薬・器具

【試薬】

2-ヒドロキシビフェニル (2HB)　：和光純薬工業製　残留農薬試験用
2-ヒドロキシビフェニルナトリウム塩四水和物：和光純薬工業製　一級
3-ヒドロキシビフェニル(3HB)　：東京化成工業製　一級
4-ヒドロキシビフェニル(4HB)　：和光純薬工業製　残留農薬試験用
$^{13}C_6$-2-ヒドロキシビフェニル($^{13}C_6$-2HB)：CIL 製　ノナン溶液、100 μg/mL
アセナフテン-d_{10}　：和光純薬工業製　環境分析用
精製水　：超純水　和光純薬工業製　LC/MS 用
りん酸　：和光純薬工業製　特級
メタノール　：和光純薬工業製　LC/MS 用
無水硫酸ナトリウム　：和光純薬工業製　残留農薬試験用
ヘキサン、ジクロロメタン　：和光純薬工業製　ダイオキシン分析用
固相カートリッジ　：Waters 製　Sep-Pak Silica Plus

【標準液の調製】

〔標準液〕

2-ヒドロキシビフェニルの適量をメタノールで希釈して 1000 mg/L の標準原液を調製する。

〔サロゲート内標準液〕

$^{13}C_6$-2-ヒドロキシビフェニル（100 μg/mL、ノナン溶液）の適量をメタノールで希釈して 1.00 mg/L サロゲート内標準液を調製する。

〔シリンジスパイク内標準液〕

アセナフテン-d_{10} の適量をヘキサンで希釈して、1.00 mg/L のシリンジスパイク内標準液を調製する。

〔検量線用標準液〕

標準原液をヘキサンで順次希釈し、1.00 ng/mL から 50.0 ng/mL の範囲の検量線用標準液を調製する。各濃度の標準液にはサロゲート内標準（$^{13}C_6$-2-ヒドロキシビフェニル）を 20.0 ng/mL になるよう添加する。3HB 及び 4HB を定量する場合は、シリンジスパイク内標準（アセナフテン-d_{10}）を 20.0 ng/mL になるよう添加する。

【器具】

500 mL 分液ロート、100 mL なす型フラスコ、ロータリーエバポレーター、10

mL 共栓付遠心管

(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）における「試料の採取及び検体の調製等」に従う。

【試料の前処理及び試験液の調製】

水質試料 200 mL を 300 mL 分液ロートに取り、サロゲート内標準液（$^{13}C_6$-2-ヒドロキシビフェニル、1.00 mg/L）を 20 µL、りん酸 200 µL、ジクロロメタン 20 mL を加え、10 分間振とう抽出後、無水硫酸ナトリウムにて脱水し、100 mL なす型フラスコに移す。ロータリーエバポレーター及び窒素気流下で 0.2 mL まで濃縮する。

精製が不十分な試料では、濃縮液をジクロロメタン/ヘキサン(5:95) 4 mL に溶解し、Sep-Pak Silica Plus 固相カートリッジに負荷する。更にジクロロメタン/ヘキサン(5:95) 4 mL を通液し、これを捨てる。次に、ジクロロメタン/ヘキサン(3:1) 6 mL で対象物質を溶出し、窒素気流下で 0.2 mL まで濃縮する。

濃縮液にシリンジスパイク内標準液（アセナフテン-d_{10}、1.00 mg/L）を 20 µL 添加し、ヘキサンで 1 mL に定容したものを試験液とする。

【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。

【測定】

〔GC/MS 条件〕

GC/MS	: GC：日本電子 JMS-K9、MS : Agilent 6890N
GC カラム	: HP-5MS 30 m × 0.25 mm, 1.0 µm
昇温条件	: 60°C (1 min) → 20°C/min →280°C (8 min)
注入口温度	: 280°C
試料導入方法	: スプリットレス（パージ開始時間 1 min）
試料注入量	: 1 µL
キャリアーガス	: He (1.2 mL/min Const. flow)
インターフェース温度	: 280°C
イオン源温度	: 280°C

H25年度調査の対象物質はOPPのみであったため、複数の機関から カラムの膜厚を1→0.25μmに変更した事例が報告された。(2014年度精査等検討会コメント)

イオン化電圧　　：70 eV
検出モード　　：SIM
モニターイオン　　：ヒドロキシビフェニル
　　定量用 *m/z* 170、確認用 *m/z* 141, 169
$^{13}C_6$-2-ヒドロキシビフェニル
　　定量用 *m/z* 176、確認用 *m/z* 147
アセナフテン-d_{10}
　定量用 *m/z* 164

〔検量線〕
検量線用標準液 1 μL を GC/MS に注入し、対象物質とサロゲート内標準物質の濃度比及びピーク面積比から検量線を作成する。

〔定量〕
試験液 1 μL を GC/MS に注入し、対象物質とサロゲート物質のピーク面積比から検量線によりヒドロキシビフェニルの濃度を定量する。

〔濃度の算出〕
試料中濃度 *C* (ng/ L)は次式により算出する。

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

R : 検量線から求めたサロゲート内標準濃度に対する対象物質濃度の比
Q : 試料中に添加したサロゲート内標準の量 (ng)
（= 添加するサロゲート標準の濃度 (ng/mL) × 添加するサロゲート内標準液の容量 (mL)）
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 = 20.0 (ng)
（= 添加するサロゲート内標準の濃度 (1.00 ng/mL) × 添加するサロゲート内標準液の容量 (20 μL)）
V = 0.200 (L)
即ち、
$C = R \times 100$ (ng/ L)
である。

〔**装置検出下限値　(IDL)**〕

本分析法に用いた GC/MS の IDL を表 1 に示す（注 2)。

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)
2-ヒドロキシビフェニル	0.11	0.200	1.0	0.54
3-ヒドロキシビフェニル	0.21	0.200	1.0	1.1
4-ヒドロキシビフェニル	0.25	0.200	1.0	1.3

〔**測定方法の検出下限値 (MDL)及び定量下限値 (MQL)**〕

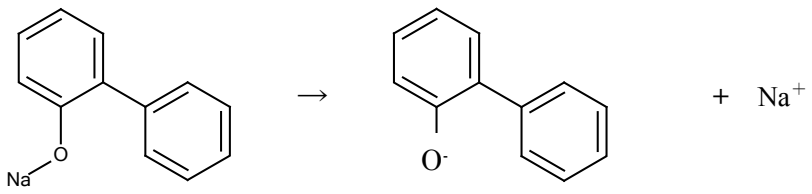
本分析法における MDL 及び MQL を表 2 に示す（注 3)。

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)
2-ヒドロキシビフェニル	0.200	1.0	0.91	2.4
3-ヒドロキシビフェニル	0.200	1.0	3.7	9.5
4-ヒドロキシビフェニル	0.200	1.0	4.9	13

注　解

（注 1）ナトリウム=1,1'-ビフェニル-2-オラートは、水に溶けて、2-フェニルフェノキシ　アニオンとなる。



	分子量	ピーク面積
2-ヒドロキシビフェニルナトリウム塩四水和物	264.25	25035
2-ヒドロキシビフェニル	170.21	40134
比	1.55	1.60

（注 2）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。測定時の代表的なクロマトグラムを図 1 に示す。

表 3　IDL の算出結果

対象物質名	ヒドロキシビフェニル		
	2HB	3HB	4HB
試料量 (L)	0.200	0.200	0.200
最終液量 (mL)	1	1	1
注入液濃度 (ng/mL)	1.00	1.00	1.00
装置注入量 (μL)	1	1	1
結果 1 (ng/mL)	1.01	1.04	0.951
結果 2 (ng/mL)	1.07	1.01	1.01
結果 3 (ng/mL)	1.07	0.993	0.943
結果 4 (ng/mL)	1.04	0.988	1.06
結果 5 (ng/mL)	1.03	1.04	1.03
結果 6 (ng/mL)	1.06	0.918	1.00
結果 7 (ng/mL)	1.01	0.909	0.874
平均値 (ng/mL)	1.042	0.9851	0.9809
標準偏差 (ng/mL)	0.0278	0.0528	0.0622
IDL (ng/mL)*	0.11	0.21	0.25
IDL 試料換算値 (ng/L)	0.54	1.1	1.3
S/N 比	14	11	11
CV (%)	2.7	5.4	6.3

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

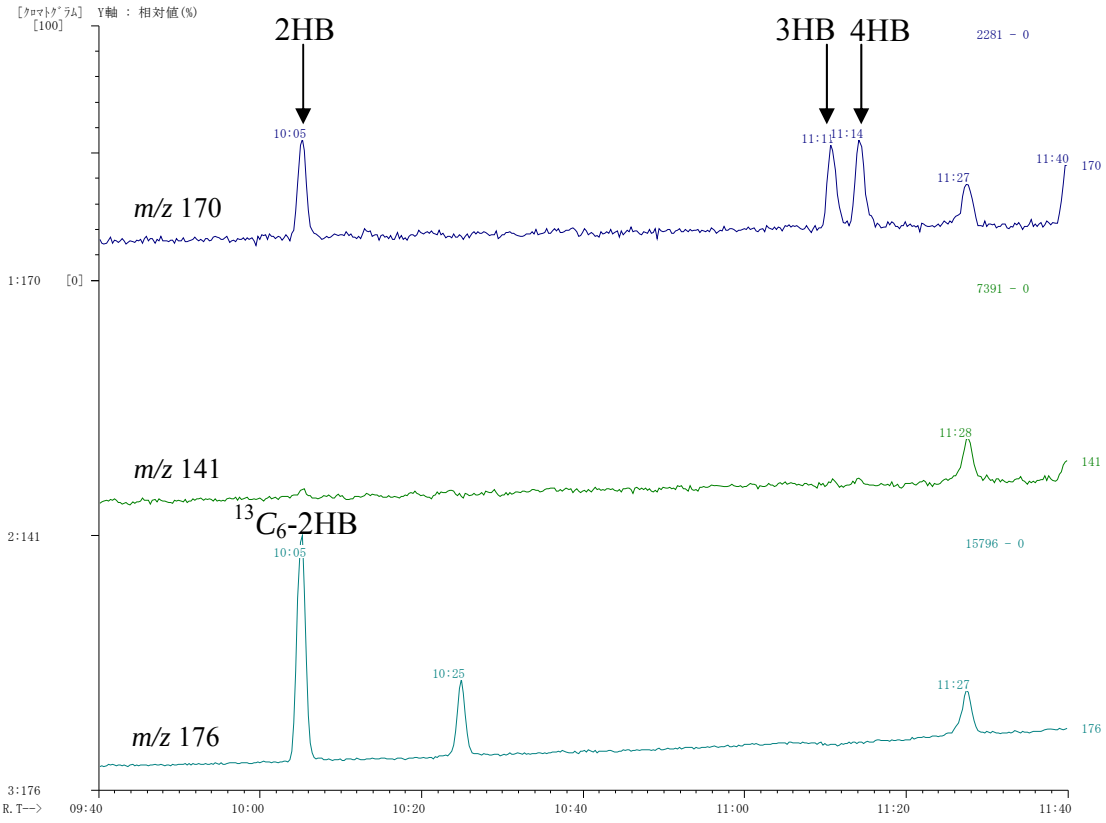


図 1　IDL 測定時の代表的なクロマトグラム

（注 3）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）により、表 4 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 2 に示す。

表 4　MDL 及び MQL 算出の結果

対象物質名	ヒドロキシビフェニル			サロゲート
	2HB	3HB	4HB	回収率 (%)
試料	水質	水質	水質	-
試料量 (L)	0.200	0.200	0.200	-
標準添加量 (ng)	2.00	2.00	2.00	-
試料換算濃度 (ng/L)	10	10	10	-
最終液量 (mL)	1	1	1	-
注入液濃度 (ng/mL)	2.00	2.00	2.00	-
装置注入量 (μL)	1	1	1	-
操作ブランク平均 (ng/L)*1	0	0	0	80
無添加平均 (ng/L) *2	1.77	0	0	79
結果 1 (ng/L)	9.48	8.98	7.50	63
結果 2 (ng/L)	9.03	8.22	6.07	74
結果 3 (ng/L)	9.18	7.40	5.36	71
結果 4 (ng/L)	9.28	9.77	8.10	90
結果 5 (ng/L)	9.34	9.25	7.24	79
結果 6 (ng/L)	9.75	10.1	8.66	80
結果 7 (ng/L)	9.46	9.42	8.47	77
平均値 (ng/L)	9.361	9.026	7.343	76.3
標準偏差 (ng/L)	0.232	0.941	1.24	
MDL (ng/L) *3	0.91	3.7	4.9	
MQL (ng/L) *4	2.4	9.5	13	
S/N 比	21	17	17	
CV (%)	2.5	10	17	

*1 : 試料マトリ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 (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 = 2)

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

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

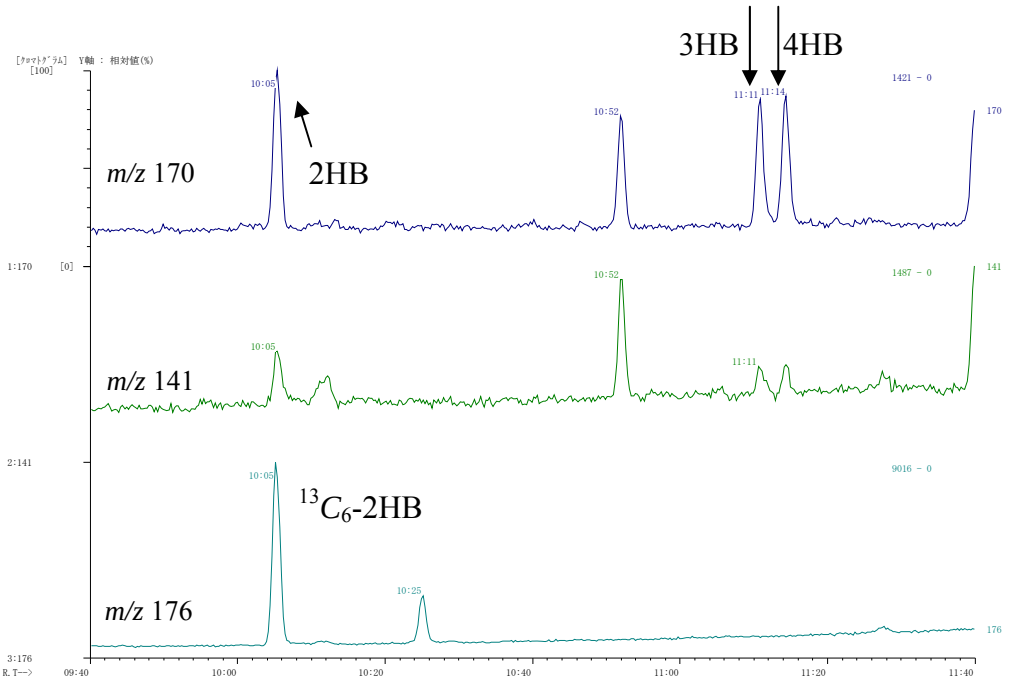


図 2　MDL 測定時のクロマトグラム

§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 3 に示す。

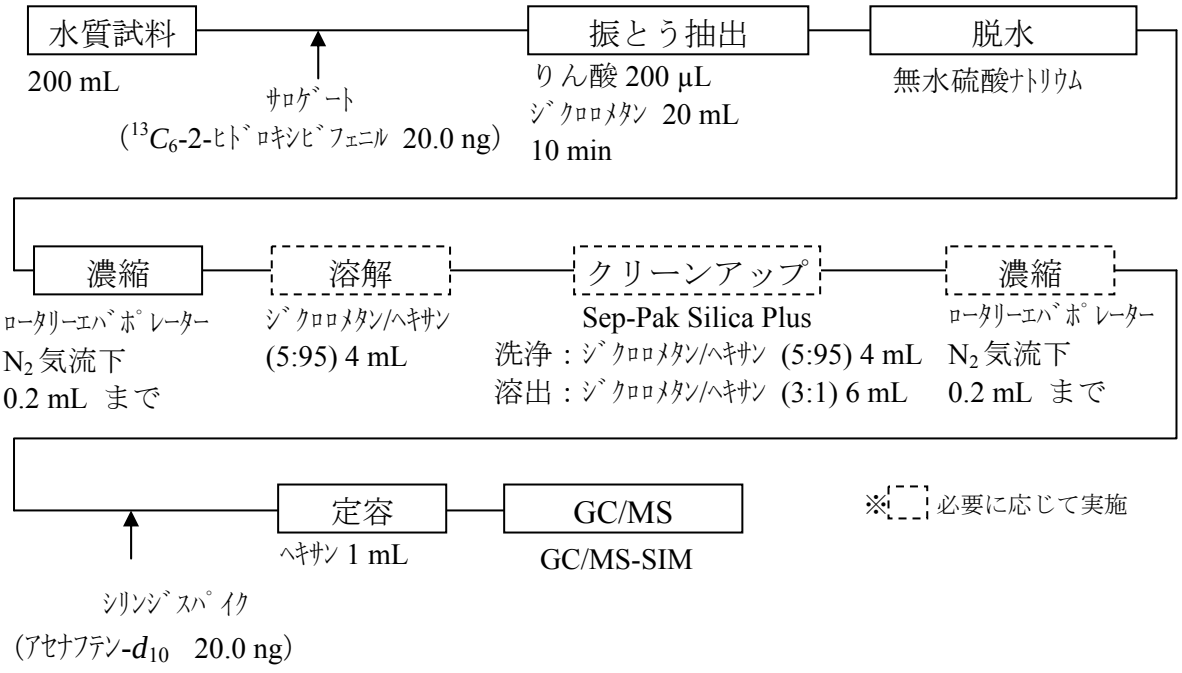


図 3　分析法のフローチャート

〔検量線〕

検量線を図 4 に、検量線作成用データを表 5 に示す。検量線用標準液測定時のクロマトグラムを図 5 に示す。

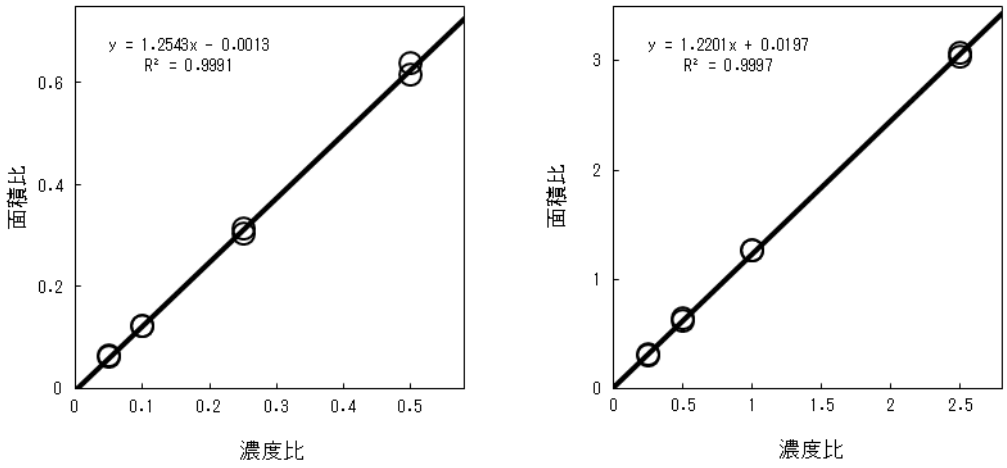


図 4-1　2-ヒドロキシビフェニルの検量線
（サロゲート内標準物質濃度：20.0 ng/mL）
（対象物質濃度範囲 1.00～10.0 ng/mL（左図）、5.00～50.0 ng/mL（右図））

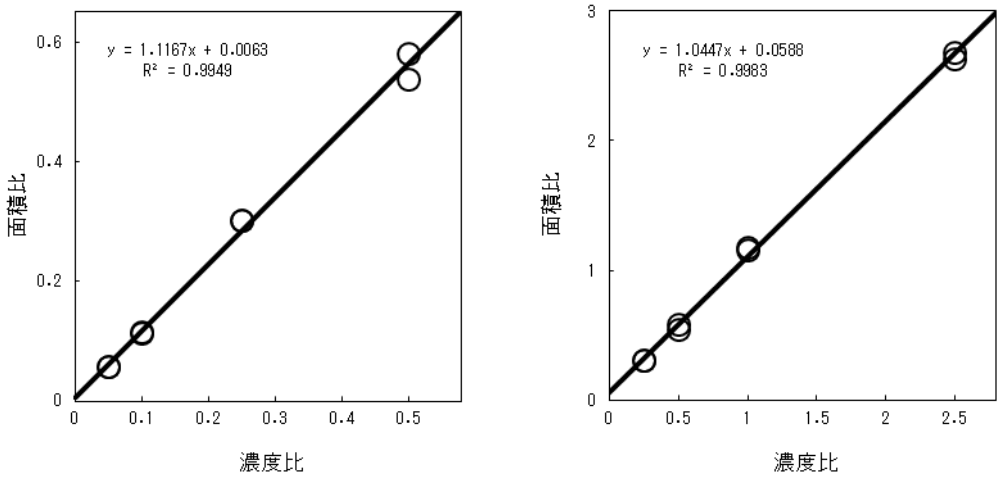


図 4-2　3-ヒドロキシビフェニルの検量線
（サロゲート内標準物質濃度：20.0 ng/mL）
（対象物質濃度範囲 1.00～10.0 ng/mL（左図）、5.00～50.0 ng/mL（右図））

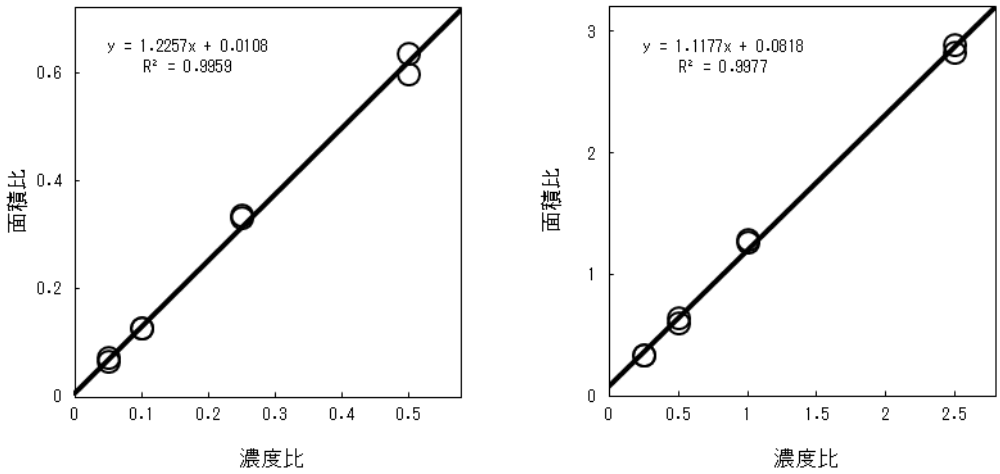


図 4-3　4-ヒドロキシビフェニルの検量線
（サロゲート内標準物質濃度：20.0 ng/mL）
（対象物質濃度範囲 1.00～10.0 ng/mL（左図）、5.00～50.0 ng/mL（右図））

表 5-1　2-ヒドロキシビフェニルの検量線作成用データ

濃度比	標準液濃度 (ng/mL) (C_s)	測定回数	応答値（平均値）		応答比 (A_s/A_{is})
			2-ヒドロキシビフェニル(A_s)	$^{13}C_6$-ヒドロキシビフェニル (A_{is})	
0.05	1.00	2	2170	34000	0.0638
0.1	2.00	2	4441	35980	0.1234
0.25	5.00	2	11047	35716	0.3094
0.5	10.0	2	22405	35717	0.6273
1.0	20.0	2	46596	36801	1.2662
2.5	50.0	2	98883	32298	3.0615

サロゲート内標準物質濃度：20.0 ng/mL (C_{is})

表 5-2　3-ヒドロキシビフェニルの検量線作成用データ

濃度比	標準液濃度 (ng/mL) (C_s)	測定回数	応答値（平均値）		応答比 (A_s/A_{is})
			3-ヒドロキシビフェニル(A_s)	$^{13}C_6$-ヒドロキシビフェニル (A_{is})	
0.05	1.00	2	1949	34000	0.0573
0.1	2.00	2	4091	35980	0.1137
0.25	5.00	2	10752	35716	0.3010
0.5	10.0	2	19937	35717	0.5582
1.0	20.0	2	42797	36801	1.1625
2.5	50.0	2	85705	32298	2.6534

表 5-3　4-ヒドロキシビフェニルの検量線作成用データ

濃度比	標準液濃度 (ng/mL) (C_s)	測定回数	応答値（平均値）		応答比 (A_s/A_{is})
			4-ヒドロキシビフェニル(A_s)	$^{13}C_6$-ヒドロキシビフェニル (A_{is})	
0.05	1.00	2	2320	34000	0.0682
0.1	2.00	2	4564	35980	0.1268
0.25	5.00	2	11949	35716	0.3345
0.5	10.0	2	22023	35717	0.6166
1.0	20.0	2	46814	36801	1.2718
2.5	50.0	2	92210	32298	2.8547

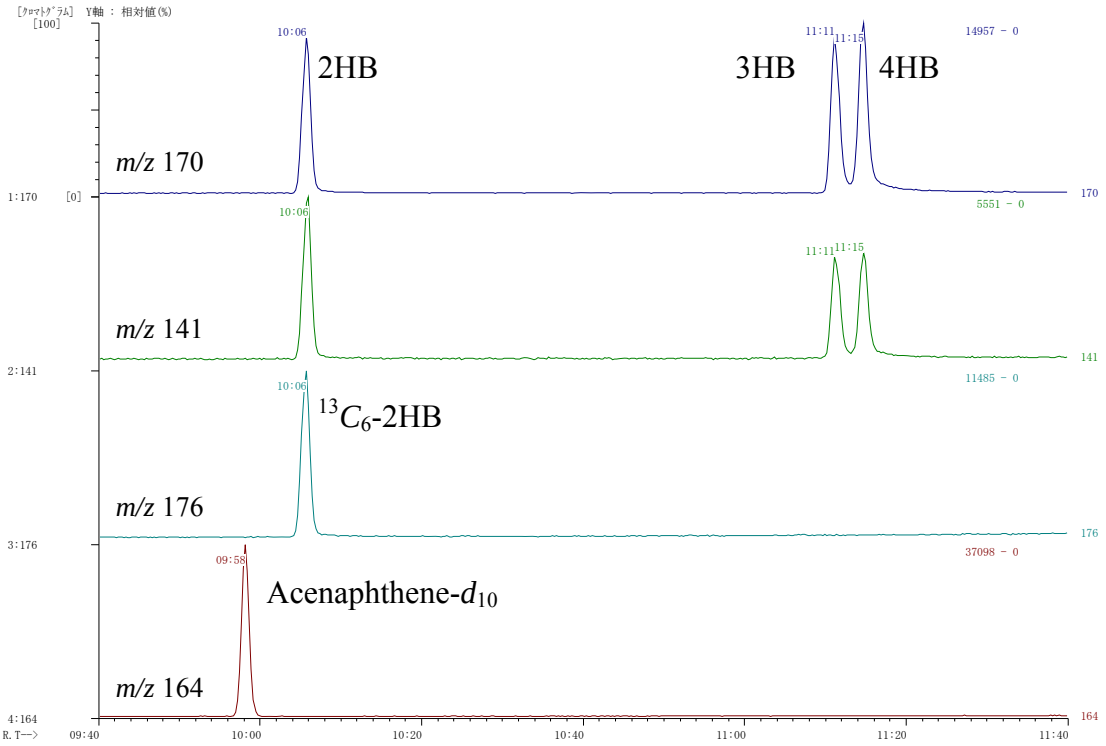


図 5　標準物質のクロマトグラム（ヒドロキシビフェニル：20.0 ng/mL）

〔マススペクトル〕

ヒドロキシビフェニル類及びサロゲート内標準のマススペクトルを図 6 に示す。

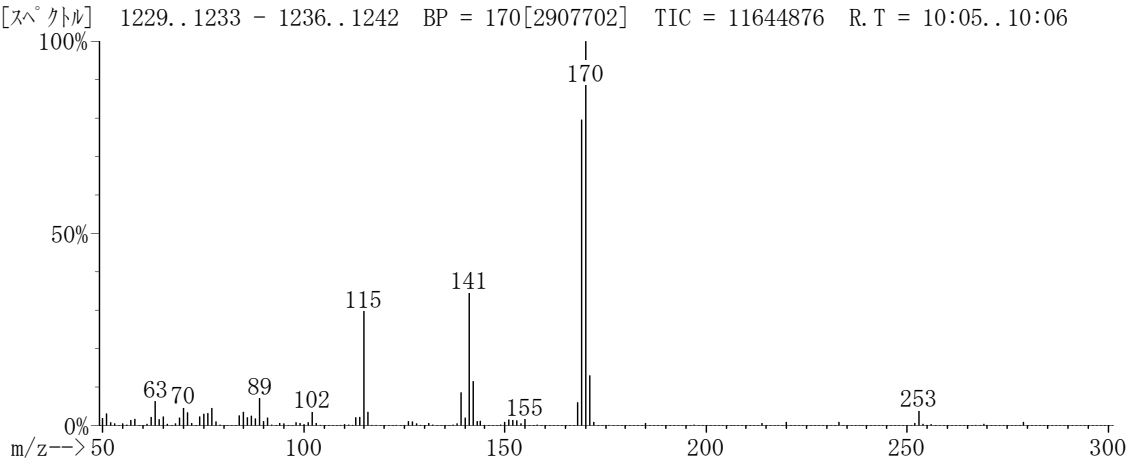


図 6-1　2-ヒドロキシビフェニルのマススペクトル

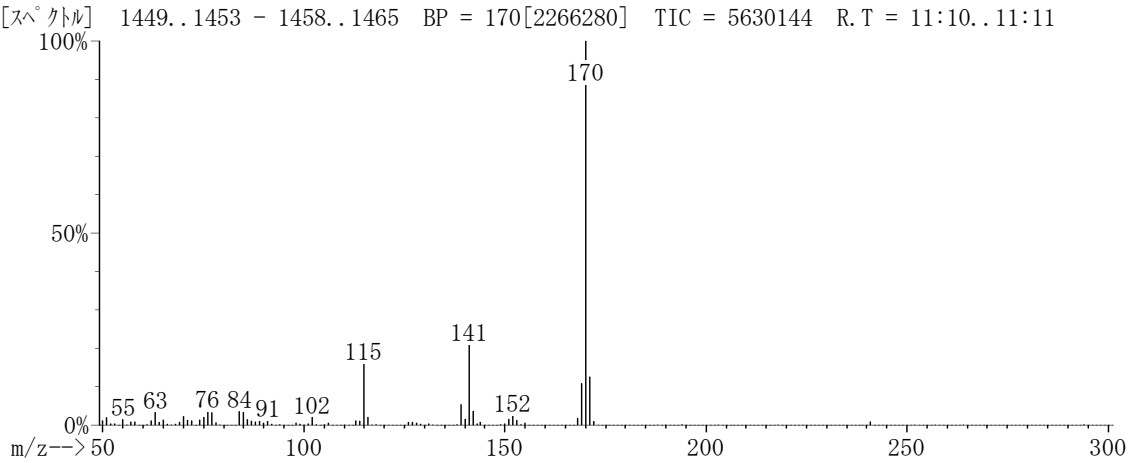


図 6-2　3-ヒドロキシビフェニルのマススペクトル

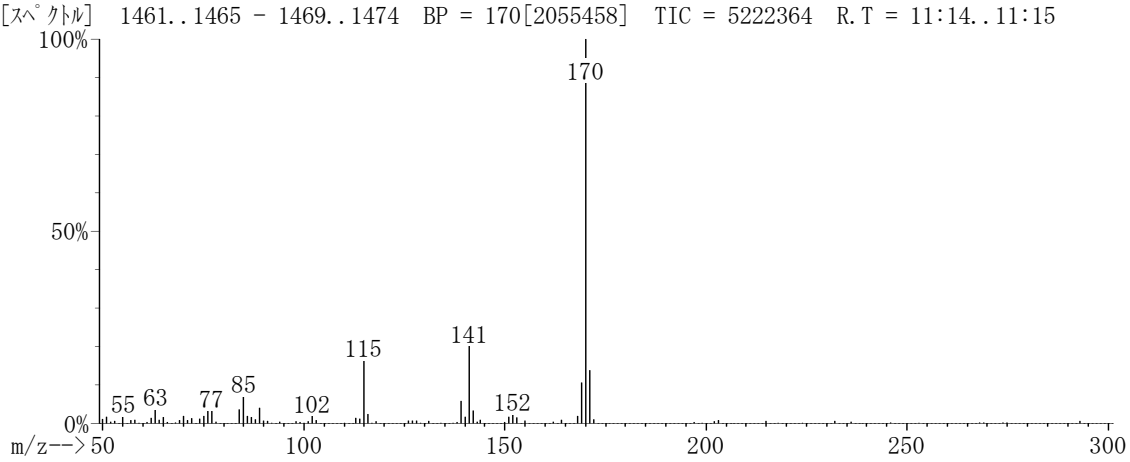


図 6-3　4-ヒドロキシビフェニルのマススペクトル

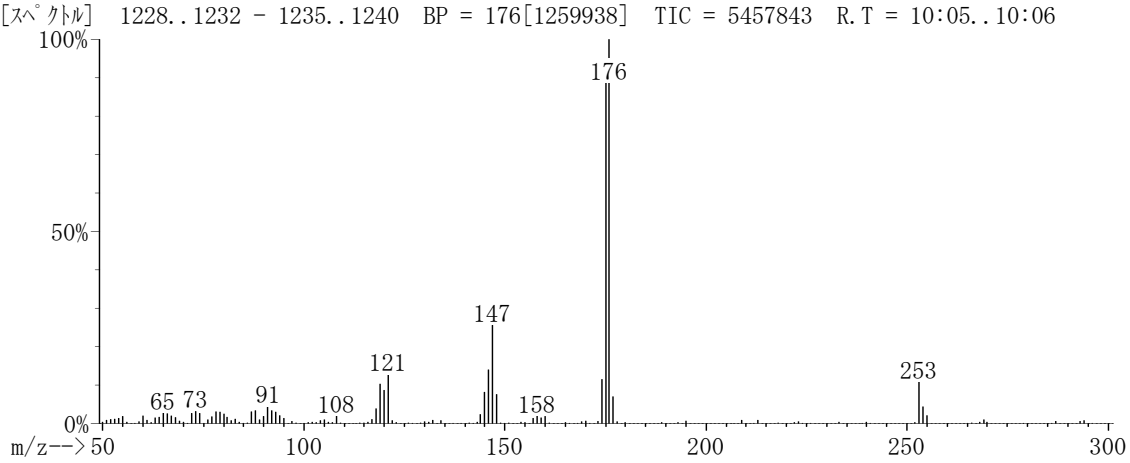


図 6-4　$^{13}C_6$-2-ヒドロキシビフェニルのマススペクトル

〔操作ブランク〕

精製水を用いて操作ブランクの検討を行った結果、対象物質は検出されず、妨害となるピーク等も観察されなかった。操作ブランク測定時のクロマトグラムを図 7 に示す。

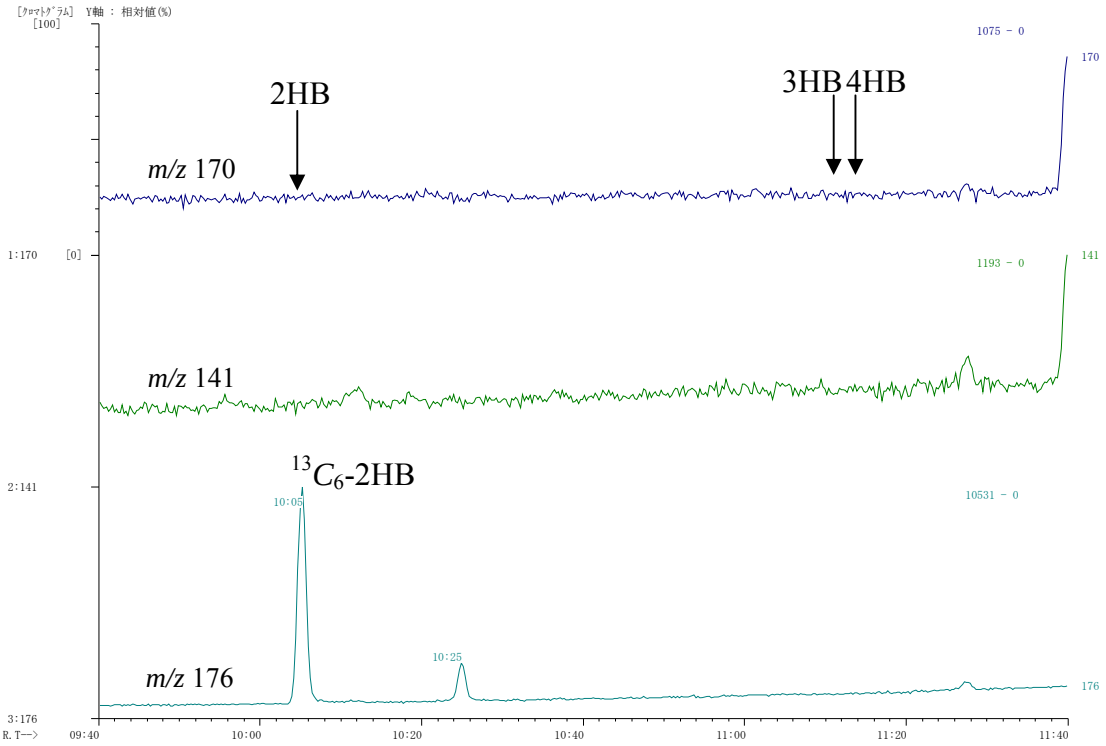


図 7　操作ブランクのクロマトグラム

〔添加回収試験〕

精製水、海水（大牟田沖）への添加回収試験結果を表 6 に示す。添加回収試験では、水質試料 (0.2 L) にヒドロキシビフェニル類を 2.00 ng 及び 20.0 ng 添加した。添加回収試験時のクロマトグラムを図 8～9 に示す。

表 6　添加回収試験結果

物質名	試料	試料量 (L)	試験数	添加量 (ng)	検出濃度 (ng/L)	回収率 (%)	変動係数 (%)	サロゲート回収率 (%)
2HB	精製水	0.2	2	無添加	ND	-	-	80
		0.2	2	2.00	8.7	87	-	69
	海水	0.2	1	無添加	1.8	-	-	79
		0.2	7	2.00	9.4	94	2.5	76
		0.2	1	20.0	100	100	-	92
3HB	海水	0.2	1	無添加	ND	-	-	79
		0.2	7	2.00	9.0	90	10	76
		0.2	1	20.0	120	120	-	92
4HB	海水	0.2	1	無添加	ND	-	-	79
		0.2	7	2.00	7.3	73	17	76
		0.2	1	20.0	99	99	-	92

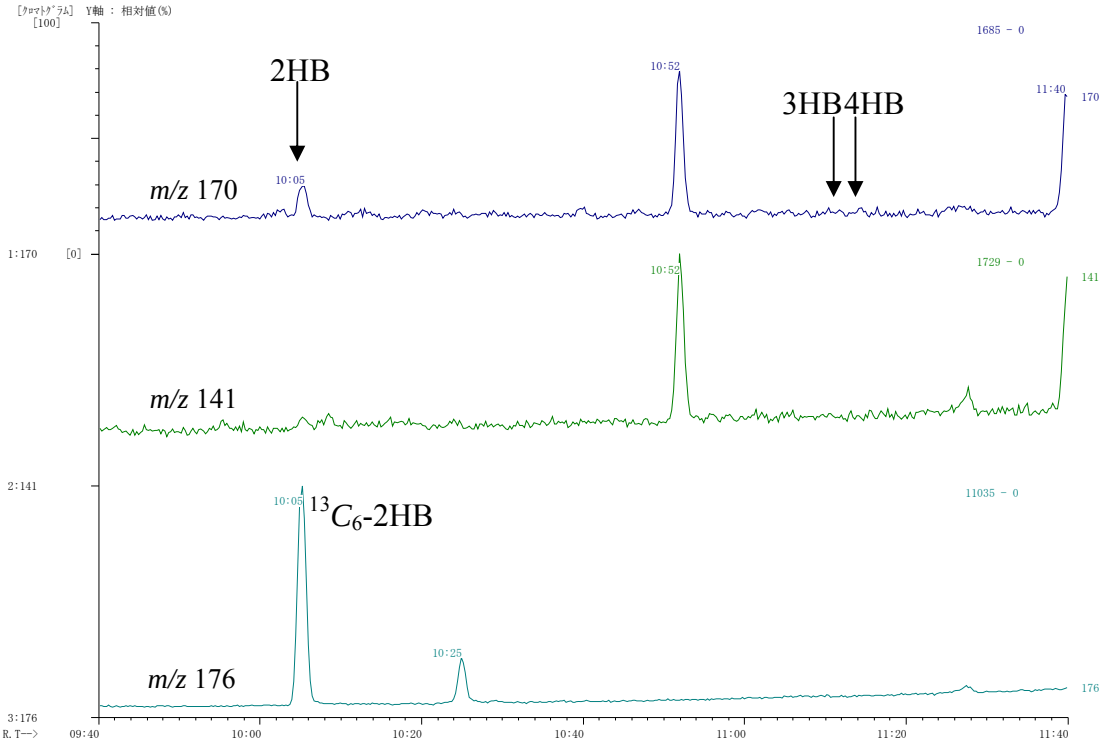


図 8　添加回収試験時のクロマトグラム（大牟田沖、無添加試料）

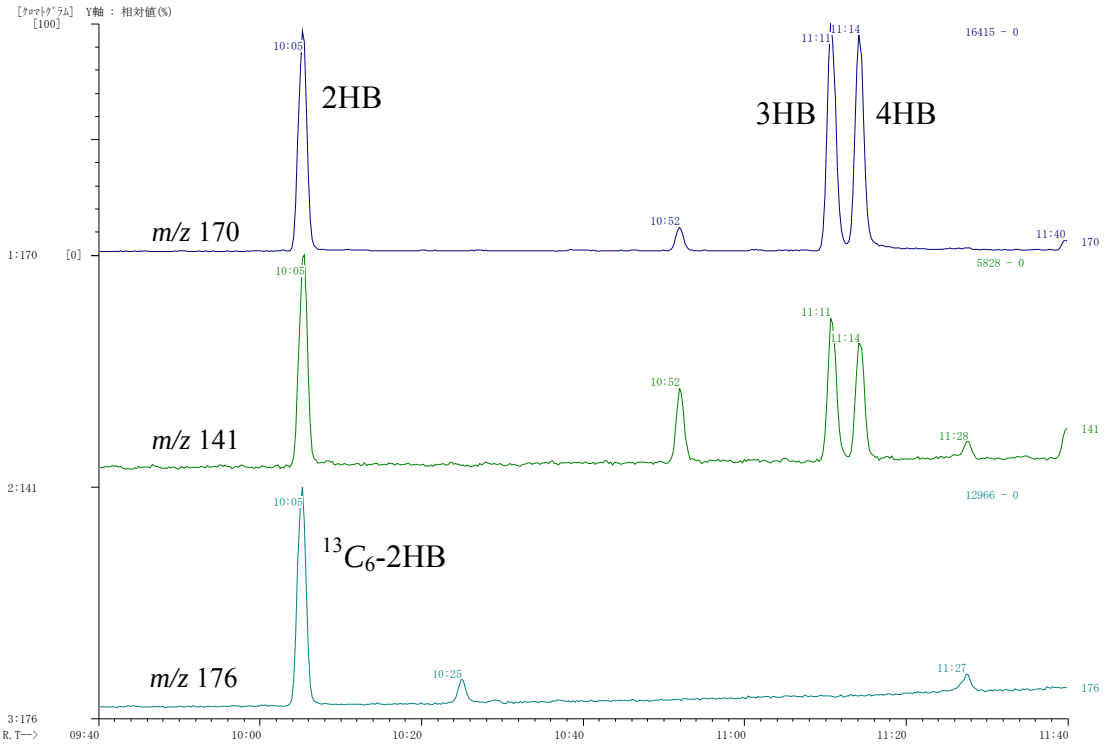


図 9　添加回収試験時のクロマトグラム（大牟田沖、添加試料 20.0 ng/mL）

〔分解性スクリーニング試験〕

表 7　分解性スクリーニング試験結果

物質名	pH	初期濃度 (ng/mL)	1 時間後の残存率 (%)	7 日後の残存率 (%)	
				暗所	明所
2-ヒドロキシビフェニル	5	50	106	96	-
	7	50	98	96	88
	9	50	107	97	-
3-ヒドロキシビフェニル	5	50	102	102	-
	7	50	93	98	90
	9	50	104	96	-
4-ヒドロキシビフェニル	5	50	110	110	-
	7	50	92	92	85
	9	50	99	99	-

〔保存性試験〕

表 8　保存性試験結果

試料	初期濃度 (ng/mL)	残存率(%)		
		6 日間	11 日間	1 か月
水質試料（海水）	0.1	107	100	-
標準液	5.0	-	-	102

〔振とう抽出条件の検討〕

ミネラルウォーター（エビアン）50 mL に 2-ヒドロキシビフェニル 250 ng を添加し、ジクロロメタン 5 mL で、2 回振とう抽出を行った。各条件で行った抽出液に対しサロゲート内標準 100 ng を添加して検出された量を回収率 (%)として表す。振とう抽出の検討結果を表 9 に示す。

表 9　振とう抽出の検討結果

試料	2-ヒドロキシビフェニル 回収率 (%)		
	抽出 1 回目	抽出 2 回目	合計 （1 + 2 回目）
ﾐﾈﾗﾙｳｫﾀｰ 50 mL ｼﾞｸﾛﾛﾒﾀﾝ抽出	81	9.5	90
ﾐﾈﾗﾙｳｫﾀｰ 50 mL + NaCl 5 g ｼﾞｸﾛﾛﾒﾀﾝ抽出	93	5.8	99
ﾐﾈﾗﾙｳｫﾀｰ 50 mL+ﾘﾝ酸 50 µL ｼﾞｸﾛﾛﾒﾀﾝ抽出	98	5.2	103
ﾐﾈﾗﾙｳｫﾀｰ 50 mL+ﾘﾝ酸 50 µL ﾄﾙｴﾝ抽出	96	3.8	100
ﾐﾈﾗﾙｳｫﾀｰ 50 mL+ﾘﾝ酸 50 µL ﾍｷｻﾝ抽出	80	15	95

〔シリカカートリッジからの溶出の検討〕

ジクロロメタン/ヘキサン (5:95) 4 mL にヒドロキシビフェニル類 20 ng を添加し、Sep-Pak Silica Plus に負荷して溶出液を Fr.1 とした。更に、ジクロロメタン/ヘキサン(5:95) 4 mL を通液して Fr.2 を採取し、第 3 フラクションは、ジクロロメタン/ヘキサン(1:3)、(1:1) 及び(3:1) の 3 種を各 6 mL で溶出し、検出された量から回収率(%)を算出した。シリカカートリッジからの各溶出液における回収率の検討結果を表 10 に示す。表 10 の結果から、ジクロロメタン/ヘキサン(5:95) 4 mL にて洗浄し、ジクロロメタン/ヘキサン(3:1) 6 mL で対象物質を溶出させることとした。

表 10　シリカカートリッジからの溶出液における回収率の検討結果

フラクション	溶出量 (mL)	溶媒種	回収率 (%)		
			2HB	3HB	4HB
Fr.1	4	ｼﾞｸﾛﾛﾒﾀﾝ/ﾍｷｻﾝ (5:95)	0	0	0
Fr.2	4	ｼﾞｸﾛﾛﾒﾀﾝ/ﾍｷｻﾝ (5:95)			
Fr.3	6	ｼﾞｸﾛﾛﾒﾀﾝ/ﾍｷｻﾝ (1:3)	28	0	0
	6	ｼﾞｸﾛﾛﾒﾀﾝ/ﾍｷｻﾝ (1:1)	95	38	31
	6	ｼﾞｸﾛﾛﾒﾀﾝ/ﾍｷｻﾝ (3:1)	100	119	116

〔GC カラムの検討〕

本分析法で用いた GC カラム以外のカラムについて、検討結果を図 10~11 に示す。GC/MS 条件は本分析法に準じたが、HP-INNOWAX カラムの昇温時の最高

温度を 260°C に設定した。カラムの種類、劣化度によっては、ピーク形状の悪化が観察された。

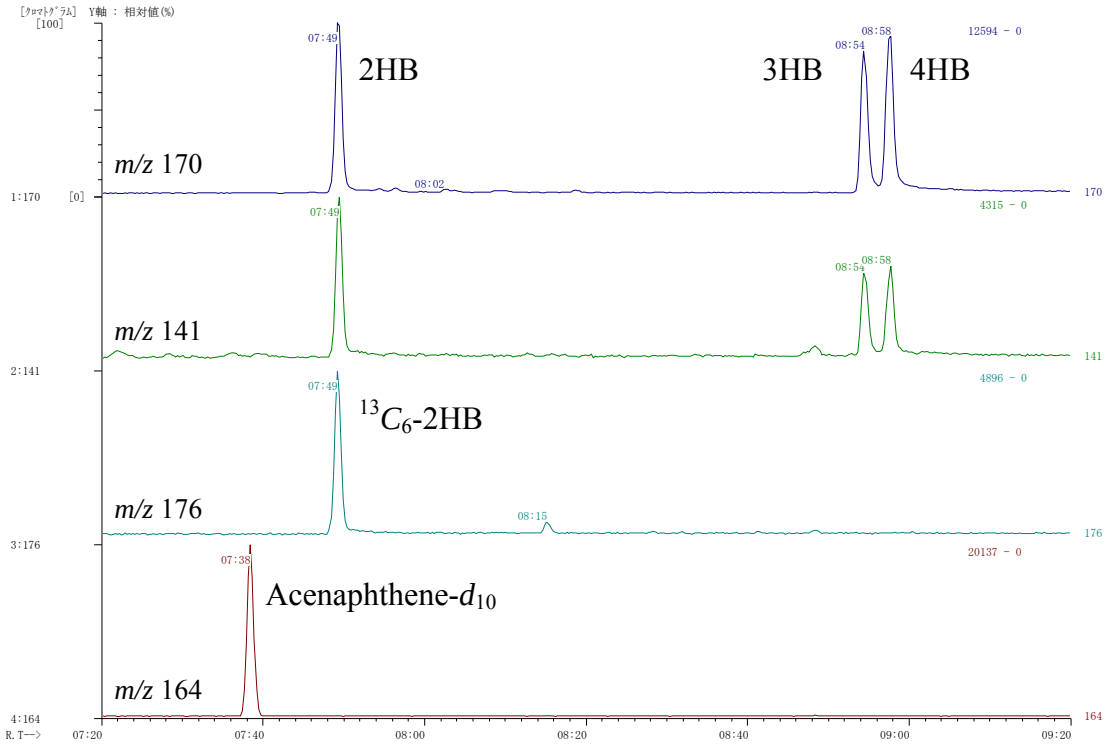


図 10　標準物質のクロマトグラム（ヒドロキシビフェニル：50.0 ng/mL）
(HP-5MS 30 m × 0.25 mm, 0.25 μm**)**

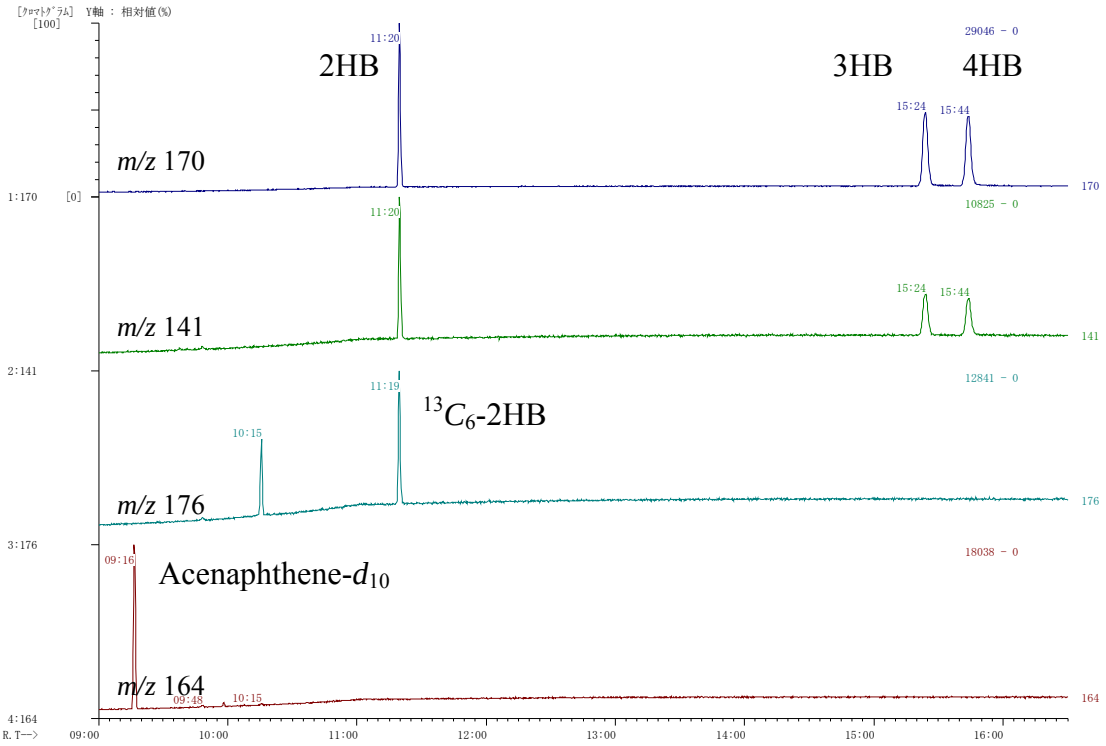


図 11　標準物質のクロマトグラム（ヒドロキシビフェニル：50.0 ng/mL）
(HP-INNOWAX 30 m × 0.25 mm, 0.25 μm**)**

〔LC/MS による測定〕

LC/MS によるヒドロキシビフェニル類の測定例を図 12 に示す。この場合、シリンジスパイク内標準液を加えず、メタノールで 1 mL に定容したものを試験液とする。2-ヒドロキシビフェニルについては個別定量が可能であるが、3-、4-ヒドロキシビフェニルについては、分別定量が困難であった。

〔LC 条件〕

使用機種	: Waters 製　Alliance 2695
カラム	: 化学物質評価研究機構製　Ascentis Express RP-Amide (2.1×100 mm, 2.7 μm)
移動相	: A: メタノール, B: 2 mmol/L 酢酸アンモニウム・精製水
	0 → 6 min　A: 30 → 50, B: 70 → 50　linear gradient
	6 → 7 min　A: 50 → 90, B: 50 → 10　linear gradient
	7 → 13 min　A:B = 90:10
	13 → 14 min　A: 90 → 30, B: 10 → 70　linear gradient
	14 → 20 min　A:B = 30:70
流量	: 0.3 mL/min

カラム温度　　：50°C
注入量　　：10 μL
〔MS 条件〕
機種　　：Waters 製　Quattro micro API
イオン化法　　：ESI-Negative
キャピラリー電圧　　：3.0 kV
コーンガス流量　　：50 L/hr
イオンソース温度　　：120°C
脱溶媒ガス流量　　：600 L/h

物質名	モニターイオン (*m/z*)	コーン電圧 (V)	コリジョンエネルギー (eV)
ヒドロキシビフェニル	169.1 > 141.0	50	25
$^{13}C_6$-2-ヒドロキシビフェニル	175.1 > 147.0	50	25

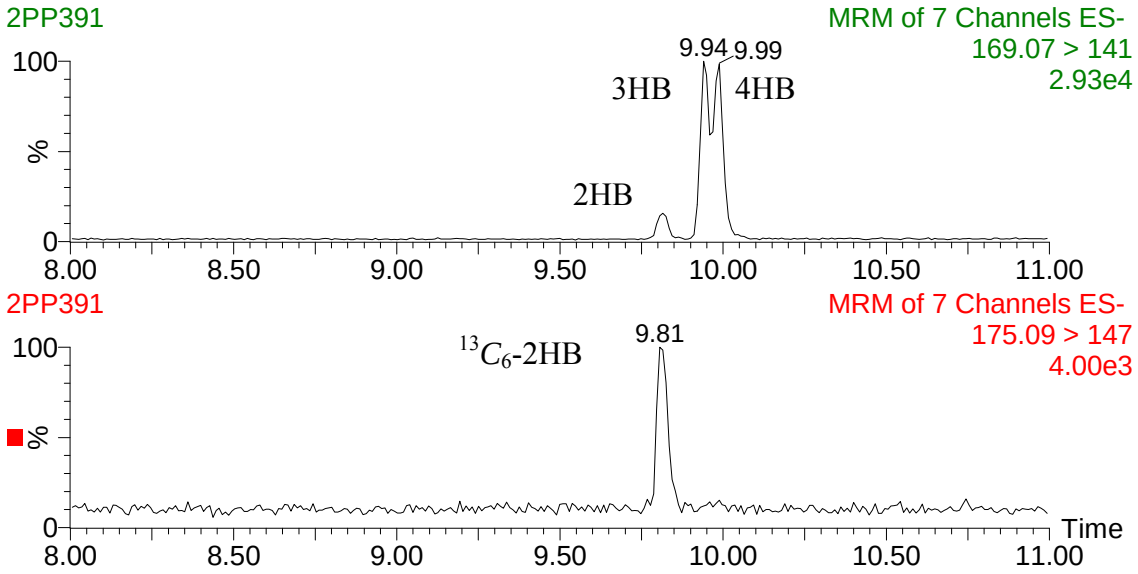


図 12　標準物質のクロマトグラム（ヒドロキシビフェニル：50.0 ng/mL）

〔環境試料の分析〕

大牟田沖海水より MDL から MQL レベルの 2-ヒドロキシビフェニルが検出された（図 8）。

【評価】

環境水中に含まれるナトリウム=1,1'-ビフェニル-2-オラートは、Na が脱離し、H 置換され、2-ヒドロキシビフェニルとなるため、環境水中の 2-ヒドロキシビフェニルとしての定量分析法を開発した。本法の MDL は 0.91 ng/L、MQL は 2.4 ng/L

であった。海水を用いた添加回収試験（添加量 2.0 ng）における回収率は、94%（サロゲート回収率 76%、変動係数 2.5 %）であった。以上の結果から、本法は環境水中に含まれる 0.9 ng/L オーダーの 2-ヒドロキシビフェニルの検出に適用可能であると判断される。また、3-、4-ヒドロキシビフェニルについても同時定量可能である。

【担当者連絡先】
所属先名称：福岡県保健環境研究所
所属先住所：〒818-0135 福岡県太宰府市向佐野 39
TEL：092-921-9943、FAX：092-928-1203
担当者名　：飛石和大、塚谷裕子
E-mail　　：tobiishi@fihes.pref.fukuoka.jp、tsukatani@fihes.pref.fukuoka.jp

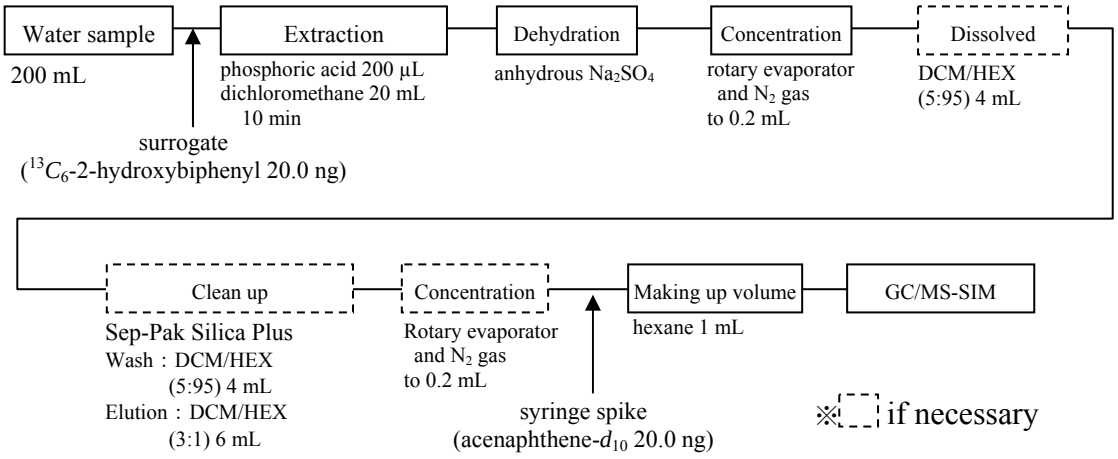
Sodium-1,1'-biphenyl-2-olate

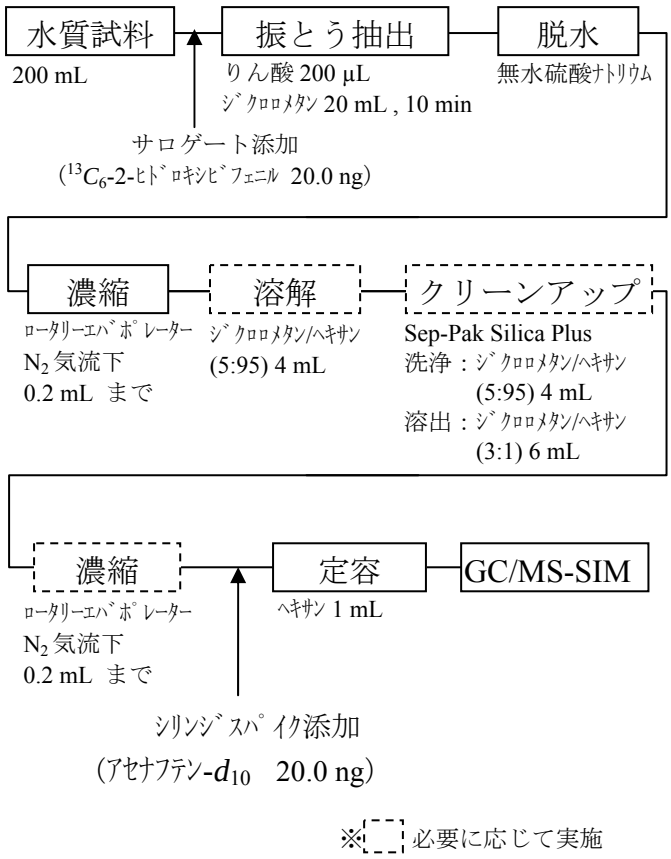
It is clear that sodium-1,1'-biphenyl-2-olate dissolved in water is transformed into 2-hydroxybiphenyl. Therefore, we developed a measurement method for 2-hydroxybiphenyl instead of sodium-1,1'-biphenyl-2-olate.

This method provides for the determination of 2-hydroxybiphenyl in water samples by gas chromatography/quadrupole mass spectrometry (GC/MS). Two hundred micro liters of phosphoric acid are added to a 200 mL of water sample spiked with 20.0 ng of $^{13}C_6$-2- hydroxybiphenyl as a surrogate (internal standards). The sample is extracted with 20 mL of dichloromethane using a separatory funnel. The dichloromethane layer is dehydrate with anhydrous sodium sulfate, and then concentrated to 0.2 mL.

If necessary, the sample is treated with a silica-gel column. The concentrate is diluted to 4 mL with dichloromethane/hexane (5:95). It is applied to a Sep-Pak Silica Plus cartridge, and washed with 4 mL of dichloromethane/hexane (5:95), and then eluted with 6 mL of dichloromethane/hexane (3:1). The eluate is concentrated to 0.2 mL with a nitrogen stream, and the sample solution is spiked with 20.0 ng of acenaphthene-d_{10} as a syringe spike (internal standard), and diluted to 1 mL with hexane.

The analytes are determined in the selected-ion-monitoring mode. The method detection limit (MDL) and the quantification limit (MQL) are 0.91 and 2.4 ng/L, respectively. The average recovery (n=7) from seawater samples spiked with 2.0 ng of 2-hydroxybiphenyl was 94%, and the relative standard deviation was 2.5 %. Using this method, 2-hydroxybiphenyl was detected at the level of MQL from MDL in seawater in Omuta City.



物質名	分析法フローチャート	備考
2-ヒドロキシビフェニル	【水質】  	分析原理： GC/MS-SIM 検出下限値： 【水質】(ng/L) [1] 2HB 0.91 [2] 3HB 3.7 [3] 4HB 4.9 分析条件： GC： Agilent 製 6890N カラム： HP-5MS 30 m × 0.25 mm × 1.0 μm MS： 日本電子製 JMS-K9

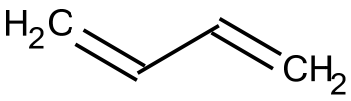
一般財団法人化学物質評価研究機構
［対象媒体：水質］

1,3-ブタジエン

1,3-Butadiene

IUPAC 名：Buta-1,3-diene
別名：ブタジエン、エリスレン、ジビニル、ビニルエチレン、ビビニル
Butadiene, Erythrene, Divinyl, Vinylethylene, Bivinyl

【対象物質の構造】



CAS 番号：106-99-0
分子式：C_4H_6

【物理化学的性状】

分子量[*2)] (ﾓﾉｱｲｿﾄﾋﾟｯｸ質量)	比重[*1)] (g/cm^3) (-6°C)	沸点[*1)] (°C)	融点[*1)] (°C)	蒸気圧[*2)] (hPa) (21°C)	水溶解度[*1)] (mg/L) (25°C)	log P_{ow}[*1)] （計算値）
54.1 (54.047)	0.65	-4.5	-109	2453	735	1.99

【毒性、用途】

〔毒性〕 [*1)]

環境中運命	生分解性	好気的生分解（化審法）：難分解性と判定 好気的生分解（その他）：馴化等の条件が整った場合、微生物処理により生分解されるとの報告がある。
	生物濃縮性	濃縮性がない又は低いと判定（化審法） 生物濃縮係数 BCF：6.1（計算値） オクタノール/水分配係数 log K_{ow}：1.93（実測値）

健康影響	急性毒性	吸入：LC_{50}: 122000ppm (270000 mg/m3)（マウス 2 時間）、129000ppm (285000 mg/m3)（ラット 2 時間）
	反復投与毒性	吸入：LOAEL: 6.25ppm (14.1 mg/m3)（マウス 2 年間生殖腺萎縮）
	生殖・発生毒性	生殖: 6.25ppm で卵巣毒性が認められる（マウス）
	遺伝毒性	代謝物が遺伝子突然変異または染色体異常を生じる
	発がん性	マウスでは強力な発がん物質 実験動物に対する発がん性試験報告あり

発がん性

評価機関	評価内容
IARC	1: ヒトに対して発がん性を示す
EPA	Carcinogenic to humans: ヒト発がん性物質
EU	1: ヒトに対して発がん性があると知られている物質。ある物質へのヒトばく露とがん発生との間の因果関係を証明する十分な証拠がある。
NTP	K: ヒト発がん性があることが知られている物質
ACGIH	A2: ヒトに対して発がん性が疑われる物質

〔用途〕*1)

スチレンブタジエンゴム、ブタジエンゴム、合成ゴムラテックス合成原料、スチレンブタジエンアクリロニトリル樹脂、スチレンブタジエンメタクリレート樹脂合成原料、化成品原料

出典

*1) 独立行政法人製品評価技術基盤機構：化学物質総合情報提出システム (CHRIP)

*2) 神奈川県化学物質安全情報提供システム (kis-net)

§1 分 析 法

(1) 分析法の概要

水質試料に内標準物質を添加し、パージ･トラップ-GC/MS-SIM 法で測定する。

(2) 試薬・器具

【試薬】（注 1）

1,3-ブタジエン標準液	: 林純薬工業製　1000 μg/mL　環境分析用
フルオロベンゼン標準液	: 関東化学製　1000 μg/mL　水質試験用
メタノール	: 和光純薬工業製　トリハロメタン測定用（注 2）
精製水	: ミネラルウォーター（ボルビック）（注 2）

【標準液の調製】

〔標準液〕

市販の 1,3-ブタジエン標準液（1000 μg/mL、メタノール溶液）を使用する。

〔内標準液〕

市販のフルオロベンゼン標準液（1000 μg/mL、メタノール溶液）をメタノールで希釈し、1.00 μg/mL内標準液を調製する。

〔検量線用標準液〕

1000 μg/mL 標準液をメタノールで順次希釈し、検量線用標準液を調製する。検量線用標準液の各濃度は、1.00 ～ 200 μg/mL とする。

【器具】

マイクロシリンジ	: 内標準の添加に用いる（注 3）。
バイアル	: VOC 測定用（内容量 40 mL）

(3) 分析法

【試料の採取及び保存等】

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）の「試料の採取及び検体の調製等」に従って採取する。特に、揮発性有機物質の分析試料の採取方法に従って、気泡が入らないように採取し、試料搬入後は速やかに分析する。

【試料の前処理及び試験液の調製】

水質試料を 50 mL メスフラスコに気泡が入らないように入れて標線に合わせ、内標準液(1.00 μg/mL) 5.00 μL 及びメタノール 5.00 μL を添加し、ゆるやかに混合する。これをバイアルに気泡が入らないように入れて満水にし、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。

【測定】

〔GC/MS 測定条件〕

GC/MS 機器	：GCMS-QP2010 Ultra（島津製作所製）	
カラム	：AQUATIC（GL サイエンス製） 60 m × 0.25 mm × 1.0 µm	
昇温条件	：35°C (10min) → 10°C /min → 125°C → 30°C /min → 200°C (5min)	
注入法	：ダイレクト	
キャリヤーガス	：2.5 mL/min（定流量）	
インターフェース温度	：230°C	
イオン源温度	：200°C	
イオン化法	：電子イオン化法 (EI)	
イオン化電圧	：70 eV	
検出モード	：Selected Ion Monitoring (SIM)	
モニターイオン	：1,3-ブタジエン	（定量）*m/z* 54
		（確認）*m/z* 39
	：フルオロベンゼン	（定量）*m/z* 96
		（確認）*m/z* 70

H25年度調査において、内標準をフルオロベンゼンから塩化ビニル-d 3に変更した事例があった(分析法での目的物質との保持時間差は約10分(目的物質:7分、内標準17分)。塩化ビニル-d 3とした機関での目的物質との保持時間差は約0.1分(目的物質:4.65分、内標準:4.55分))。(2014年度精査等検討会コメント)

〔パージ・トラップ条件〕

装置	：AQUA PT 5000J PLUS（GL サイエンス製）
クライオフォーカス	：なし
塩析	：なし
吸着管	：AQUA-TRAP1（GL サイエンス製）
キャリア圧力	：100 kpa
バルブ温度	：150°C
トランスファー温度	：150°C
マウント温度	：60°C
MSC 温度	：40°C
パージ温度	：加温なし
パージ時間	：6 min
パージ流量	：40 mL/min
ドライパージ時間	：3 min
ドライパージ温度	：20°C
ドライパージ流量	：40 mL/min
ディソーブ温度	：225°C
ディソーブ時間	：6 min
パージ試料量	：5 mL

〔検量線〕

50 mL メスフラスコに精製水を入れて標線に合わせ、検量線用標準液 5.0 μL 及び内標準液 (1.00 μg/mL) 5.0 μL を添加し、ゆるやかに混合する。これをバイアルに気泡が入らないように入れて満水にし、パージ・トラップ-GC/MS に導入し、対象物質と内標準物質の濃度比及び得られたピーク面積比から検量線を作成する。

〔定量〕

試験液をパージ・トラップ-GC/MS に導入し、得られた対象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に照らして定量する。

〔濃度の算出〕

試料水中濃度 C (ng/L) は次式により算出する。

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

R : 検量線から求めた内標準物質濃度に対する対象物質濃度の比
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 = 5.00 (ng)
(= 添加内標準の濃度 (1.00 ng/μL) × 添加内標準の容量 (5.0 μL))
V = 0.0500 (L)

即ち、

$C = R \times 100$ (ng/L)

である。

〔装置検出下限値(IDL)〕

本分析に用いたパージ・トラップ-GC/MS の IDL を表 1 に示す（注 4)。

表 1　IDL の算出結果

物質名	IDL (ng/mL)	試料量 (L)
1,3-ブタジエン	0.050	0.050

〔測定方法の検出下限値(MDL)及び定量下限値(MQL)〕

本測定方法における MDL 及び MQL を表 2 に示す（注 5)。

表 2　MDL 及び MQL の算出結果

物質名	試料	試料量 (L)	MDL (μg/L)	MQL (μg/L)
1,3-ブタジエン	河川水	0.050	0.048	0.13

注　解

（注 1）ここで示す製品は実際に使用した商品を掲げたが、これらを推奨するわけではなく、これらと同等以上の品質、性能のものを用いても問題ない。

（注 2）使用前に空試験を行い、ブランクが検出されないことを確認する。

（注 3）吐出誤差 2%以下であることをあらかじめ確認しておくことが望ましい。精度を保証するため、校正されたデジタルマイクロシリンジや検量証明書付きマイクロシリンジの使用が有効である。例として SGE 製があるが推奨するものではない。

（注 4）IDL は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」（平成 21 年 3 月）に準じて、以下の表 3 のとおり算出した。

表 3　IDL の算出結果

対象物質名	1,3−ブタジエン
試料量 (L)	0.0500
注入液濃度 (ng/mL)	0.100
結果 1 (ng/mL)	0.113
結果 2 (ng/mL)	0.0897
結果 3 (ng/mL)	0.113
結果 4 (ng/mL)	0.0912
結果 5 (ng/mL)	0.105
結果 6 (ng/mL)	0.106
結果 7 (ng/mL)	0.124
結果 8 (ng/mL)	0.0870
平均値 (ng/mL)	0.1036
標準偏差 (ng/mL)	0.0132
IDL (ng/mL)*	0.050
S/N 比	13
CV (%)	13

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

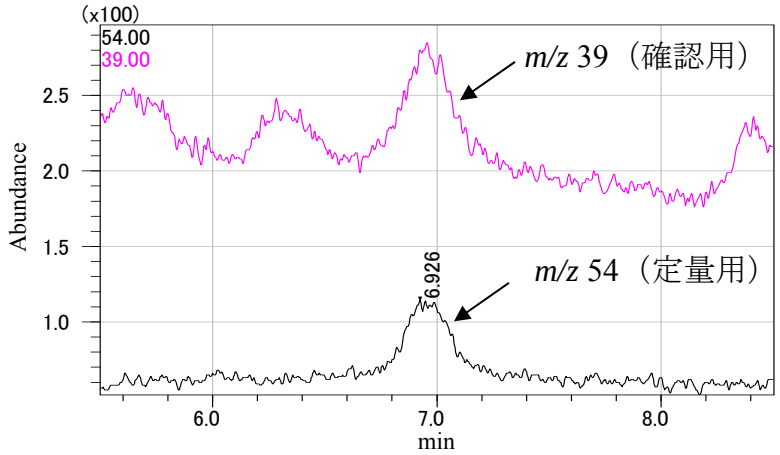


図 1-1　IDL 測定時 (0.100 ng/mL) 1,3-ブタジエンのクロマトグラム

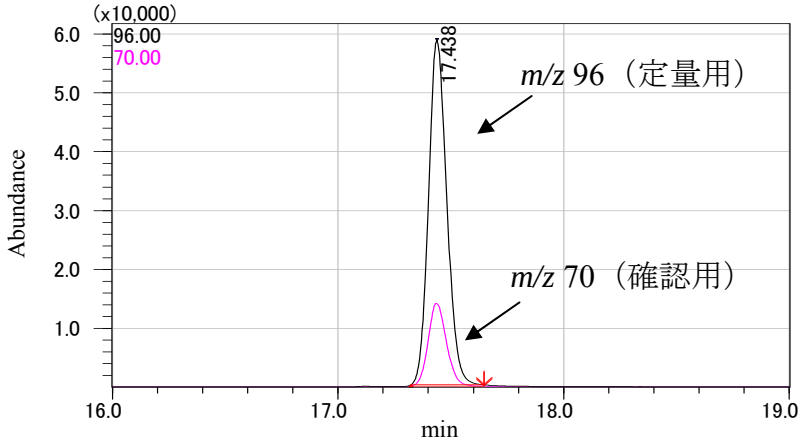


図 1-2　IDL 測定時フルオロベンゼン(0.100 ng/mL)のクロマトグラム

（注 5）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）に準じて、以下の表 4 のとおり算出した。

表 4　MDL 及び MQL の算出

対象物質名	1,3−ブタジエン	回収率 (%)
試料	河川水	-
試料量 (L)	0.0500	-
標準添加量 (ng)	5.00	-
試料換算濃度 (μg/L)	0.100	-
操作ブランク平均 (μg/L)*1	N.D.	-
無添加平均 (μg/L)*2	N.D.	-
結果 1　(μg/L)	0.117	117
結果 2　(μg/L)	0.119	119
結果 3　(μg/L)	0.116	116
結果 4　(μg/L)	0.101	101
結果 5　(μg/L)	0.118	118
結果 6　(μg/L)	0.115	115
結果 7　(μg/L)	0.130	130
結果 8　(μg/L)	0.140	140
結果 9　(μg/L)	0.119	119
結果 10　(μg/L)	0.0931	93.1
平均値 (μg/L)	0.1168	117
標準偏差 (μg/L)	0.0132	-
MDL (μg/L)*3	0.048	-
MQL (μg/L)*4	0.13	-
S/N 比	13	-
CV (%)	11	-

*1: 試料マトリ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 (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＝2)

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

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

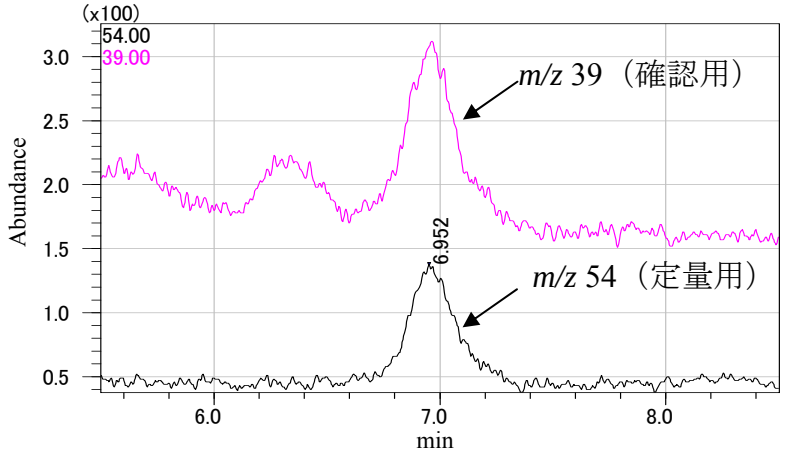


図 2-1　MDL 測定時 (0.100 µg/L) 1,3-ブタジエンのクロマトグラム

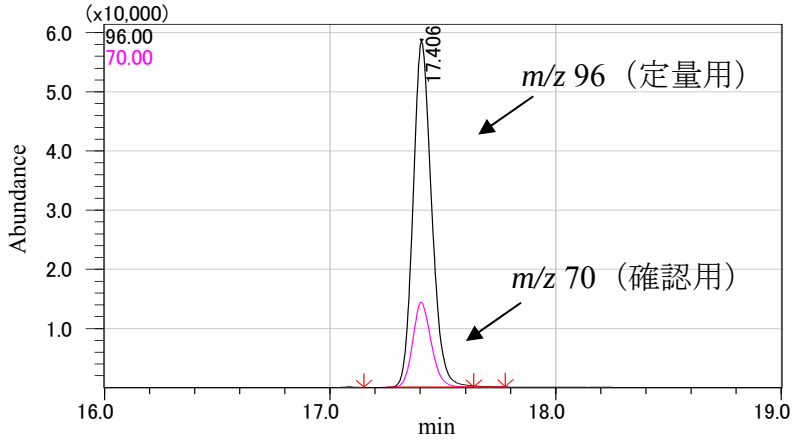


図 2-2　MDL 測定時フルオロベンゼン(0.100 ng/mL)のクロマトグラム

§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 3 に示す。

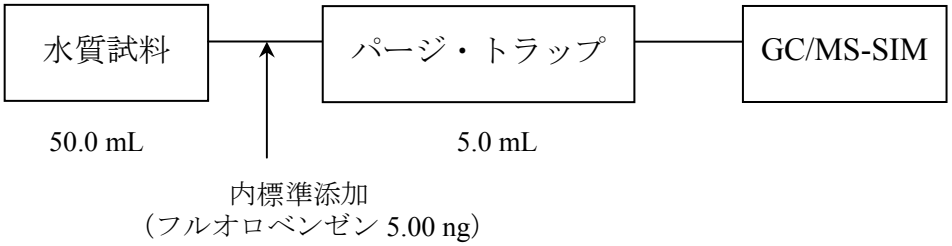


図 3　分析法のフローチャート

〔検量線〕

検量線を図 4-1 及び図 4-2 に、検量線作成用データを表 5-1 及び表 5-2 に示す。

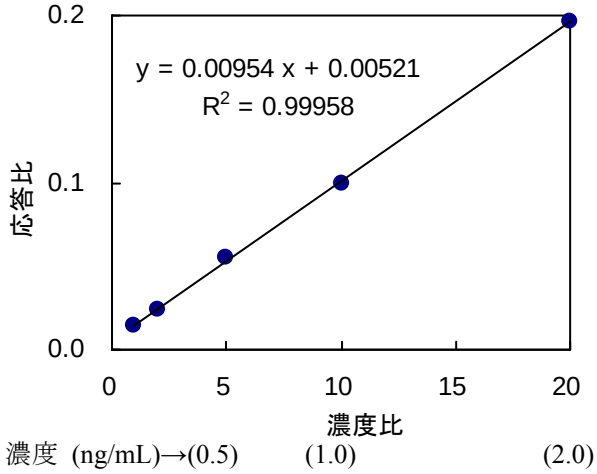


図4-1　低濃度領域の検量線 (0.100 ng/mL～2.00 ng/mL)

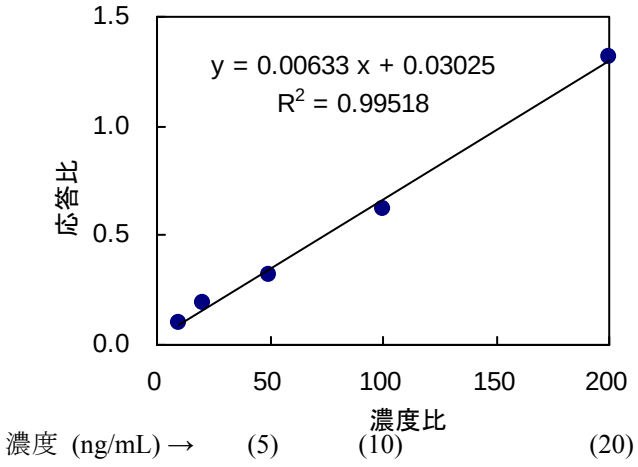


図4-2　高濃度領域の検量線 (1.00 ng/mL～20.0 ng/mL)

表5-1　低濃度領域の検量線作成用データ

濃度比	標準液濃度 (ng/mL) (C_s)	応答値 対象物質(A_s) [1,3-ブタジエン] (*m/z* 54)	応答値 内標準物質(A_{is}) [フルオロベンゼン] (*m/z* 96)*	応答比 (A_s/A_{is})
0	0	0	52185	0
1.00	0.100	766	53590	0.0143
2.00	0.200	1325	55918	0.0237
5.00	0.500	3036	54888	0.0553
10.0	1.00	5382	54409	0.0989
20.0	2.00	10576	53874	0.196

*: 内標準濃度: 100 ng/L (C_{is})

表5-2　高濃度領域の検量線作成用データ

濃度比	標準液濃度 (ng/mL) (C_s)	応答値 対象物質(A_s) [1,3-ブタジエン] (*m/z* 54)	応答値 内標準物質(A_{is}) [フルオロベンゼン] (*m/z* 96)*	応答比 (A_s/A_{is})
0	0	0	52185	0
10.0	1.00	5382	54409	0.0989
20.0	2.00	10576	53874	0.196
50.0	5.00	17182	53477	0.321
100	10.0	34442	55582	0.620
200	20.0	68181	51669	1.32

*: 内標準濃度: 100 ng/L (C_{is})

〔標準液のクロマトグラム〕

1,3-ブタジエン及びフルオロベンゼンのクロマトグラムを図 5-1 及び図 5-2 に示す。

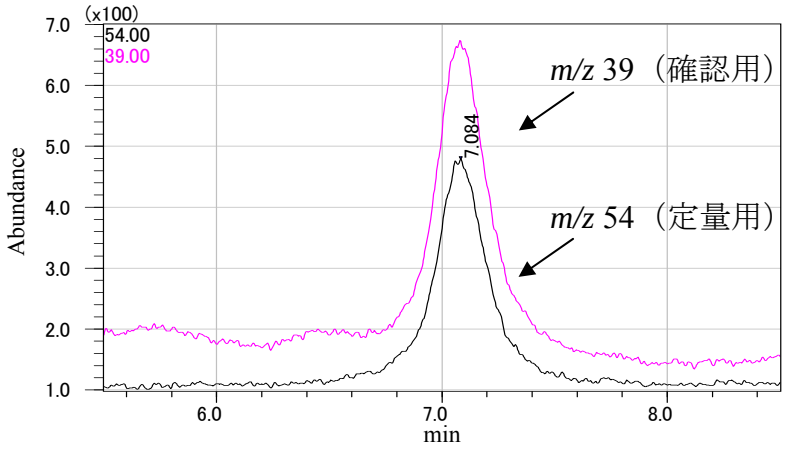


図 5-1　1,3-ブタジエン (1.00 ng/mL) のクロマトグラム

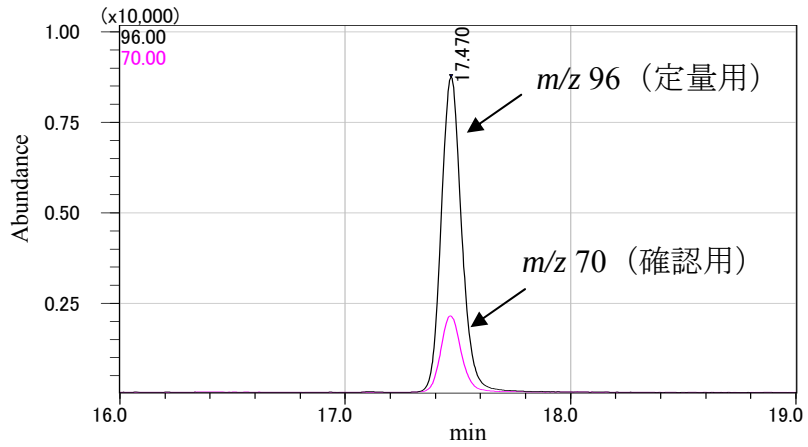


図 5-2　フルオロベンゼン (0.100 ng/mL) のクロマトグラム

〔マススペクトル〕

検量線用標準液のマススペクトルを図 6-1 及び図 6-2 に示す。

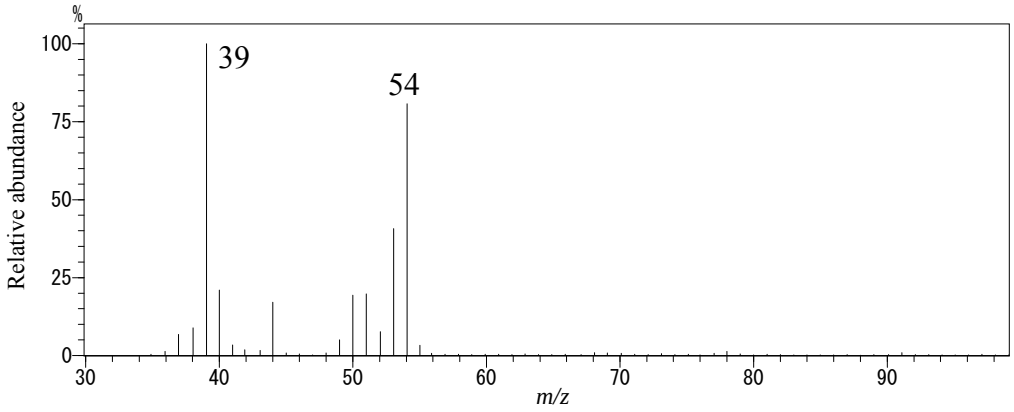


図 6-1　1,3-ブタジエンのマススペクトル

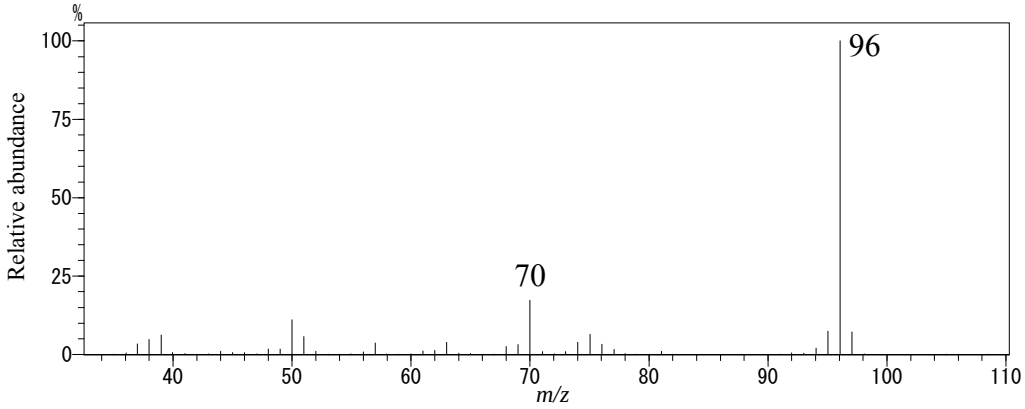


図 6-2　フルオロベンゼンのマススペクトル

〔操作ブランク試験〕

操作ブランクは検出されなかった（クロマトグラムは〔**添加回収試験**〕を参照）。

〔添加回収試験〕

河川水（渡良瀬川）、海水（福島県小名浜港）への標準物質添加回収試験結果を表 6 に示す。

表 6 添加回収試験結果

試料	試料量 (mL)	添加量 (ng)	試験数	検出濃度 (ng/L)	回収率 (%)	変動係数 (%)
河川水	50.0	無添加	2	不検出	—	—
	50.0	50.0	5	1050	105	3.6
海水	50.0	無添加	2	不検出	—	—
	50.0	50.0	5	895	89.5	5.5

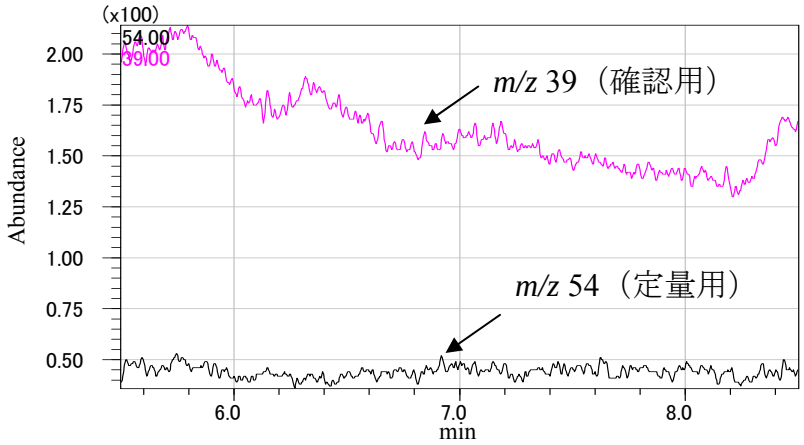


図 7-1　操作ブランクのクロマトグラム

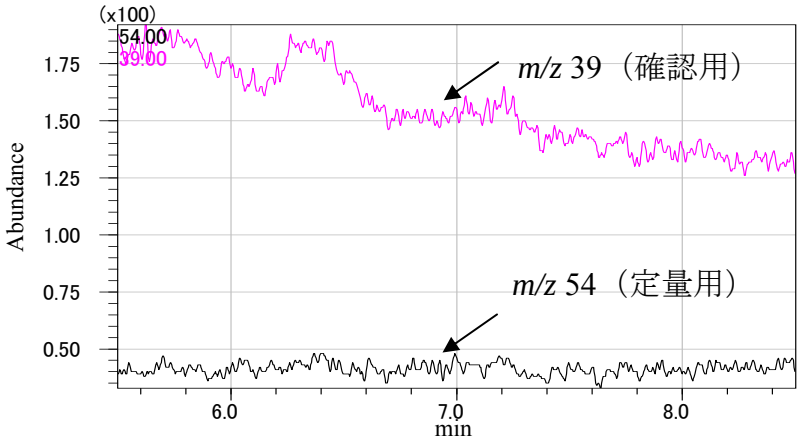


図 7-2　無添加試料（河川水）のクロマトグラム

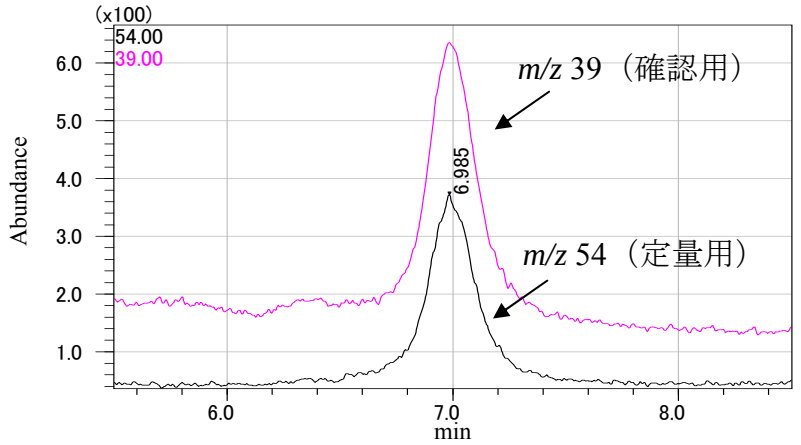


図 7-3　河川水添加回収試験のクロマトグラム

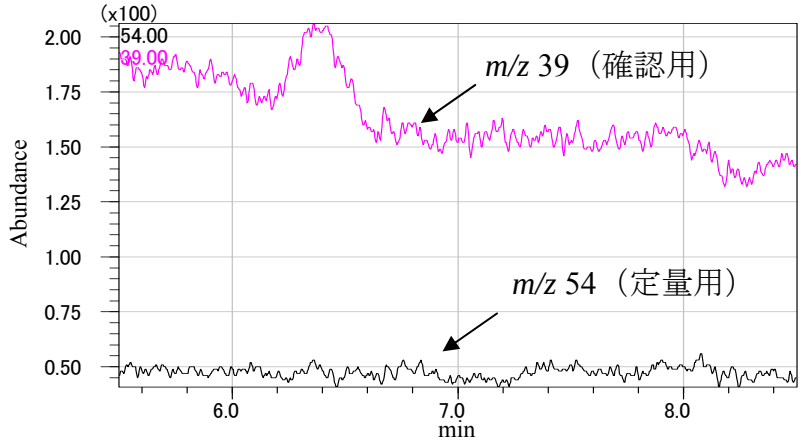


図 7-4　無添加試料（海水）のクロマトグラム

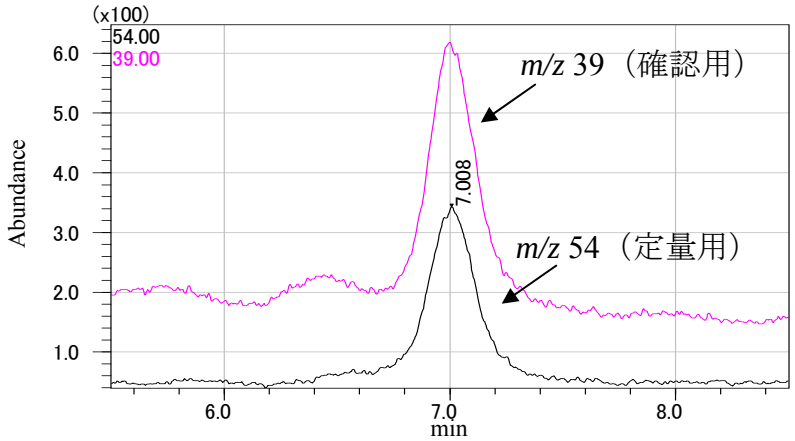


図 7-5　海水添加回収試験のクロマトグラム

〔分解性スクリーニング試験〕

分解性スクリーニング試験結果を表 7 示す。

表 7　分解性スクリーニング試験結果

pH	初期濃度 (ng/L)	試験数	1 時間後の残存率 (%)	3 日後の残存率(%)		7 日後の残存率(%)	
				暗所	明所	暗所	明所
5	1000	3	108	82.7	—	47.0	—
7	1000	3	97.6	90.1	75.6	62.2	54.4
9	1000	3	112	79.2	—	21.3	—

〔保存性試験〕

保存性試験結果を表 8 に示す。

初期濃度 500 ng/L に調製した河川水及び海水を冷暗所 (4°C) で 7 日間保存し、濃度を測定した。河川水、海水ともに 7 日後には濃度の低下が見られた。また、標準液は冷暗所保存で 1 ヶ月間安定であった。

表 8　保存性試験結果

試料	初期濃度 (ng/L)	試験数	残存率(%)		
			3 日間	7 日間	1 ヵ月
河川水	500	2	87.0	51.7	—
海水	500	2	103	32.4	—
標準液	5000000	2	—	—	104

〔環境試料の分析〕

渡良瀬川及び小名浜港の水質において、1,3-ブタジエンは不検出であった。（クロマトグラムは〔添加回収試験〕を参照）

【評価】

本分析法における 1,3-ブタジエンの MDL は 48 ng/L、MQL は 130 ng/L であった。河川水及び海水を用いた添加回収試験の回収率は、それぞれ 105%及び 89.5%であった。以上の結果から、本法は、環境水中に 50 ng/L レベルで存在する 1,3-ブタジエンの検出に適用可能であると判断される。ただし、1,3-ブタジエンは保存安定性が悪く、1 週間後には河川水で 51.7%、海水で 32.4%にまで濃度が低下した。したがって、分析は採水後できるだけ速やかに行うことが望ましい。

【参考文献】

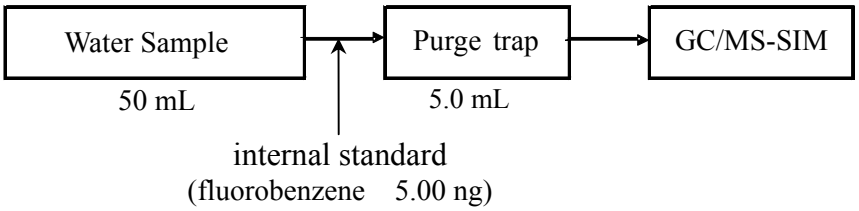
1) 要調査項目等調査マニュアル（平成 11 年　環境庁水質保全局水質管理課）

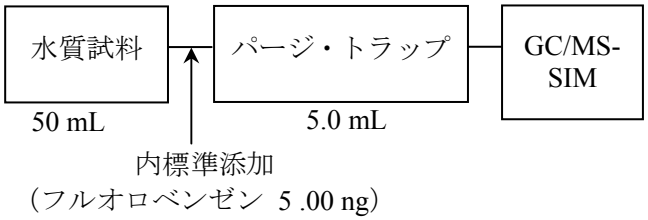
【担当者連絡先】

所属先名称　：一般財団法人　化学物質評価研究機構
所属先住所　：〒345-0043　埼玉県北葛飾郡杉戸町下高野 1600 番地
TEL：0480-37-2601　　FAX：0480-37-2521
担当者名　　：川勝　健伸、蒲池　祥子
E-mail　　：kawakatsu-takenobu@ceri.jp, kamachi-shoko@ceri.jp

1,3-Butadiene

This method provides procedures for the determination of 1,3-butadiene, in water by purge and trap coupled to gas chromatography/mass spectrometry with selected ion monitoring (purge and trap -GC/MS-SIM). Five nanograms of fluorobenzene as an internal standard are added to 50 mL of water sample. Then the vial is filled with the sample. Five milliliters of the solution are analyzed by purge trap -GC/MS-SIM. The instrument detection limit (IDL) of 1,3-butadiene is 50 ng/L. The method detection limit (MDL) and method quantification limit (MQL) of 1,3-butadiene are 48 ng/L and 130 ng/L. The average of recoveries (n=5) from 50 ng 1,3-butadiene added a river water samples was 105% and the relative standard deviation was 3.6%. The average of recoveries (n=5) from 50 ng 1,3-butadiene added a sea water samples was 89.5% and the relative standard deviation was 5.5%.



物質名	分析法フローシート	備考
1,3-ブタジエン IUPAC 名： Buta-1,3-diene 別名： ブタジエン、エリスレン、ジビニル、ビニルエチレン、ビビニル	【水質】  	分析原理： パージ・トラップ GC/MS-SIM 検出下限値： 【水質】 (ng/L) 48 分析条件： 機器 GC/MS： （島津製作所） GCMS-QP2010 Ultra パージ・トラップ：（GL サイエンス） AQUA PT 5000J PLUS カラム AQUATIC (GL サイエンス) 60 m×0.25 mm, 1.0 μm

岡山県環境保健センター
［対象媒体：水質］

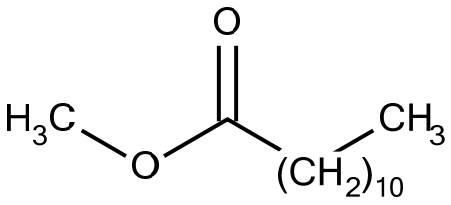
メチル=ドデカノアート

Methyl dodecanoate

別名：ドデカン酸メチル、ラウリン酸メチル

Methyl Laurate

【対象物質の構造】



CAS 番号：111-82-0

分子式：$C_{13}H_{26}O_2$

【物理化学的性状】

	値	測定条件	備考	出典
分子量	214.34			
分子量(ﾓﾉｱｲｿﾄﾋﾟｯｸ質量)	214.193			
融点	5.2°C	-	-	1
沸点	267°C	-	-	1
水溶解度	1.13 mg/L	25°C	推定値	2
蒸気圧	0.00411 mmHg (0.00547 hPa*)	25°C	-	3
log P_{ow}	5.28	-	推定値	2
比重又は密度	0.8702 g/m^3	20°C	-	1
ヘンリー定数	0.00298 atm-m^3/mol	25°C	推定値	4
引火点	125°C	-	-	5
燃焼範囲	0.6-4.9%	-	推定値	3

*：換算値（1 mmHg = 1.33 hPa による）

【毒性、用途】

〔毒性〕[6)]

藻類に関する毒性	生育阻害試験（面積法）	EC_{50}	0.18 mg/L（72 時間）
	生育阻害試験（面積法）	NOEC	0.040 mg/L（72 時間）
	生育阻害試験（速度法）	EC_{50}	0.32 mg/L（72 時間）
	生育阻害試験（速度法）	NOEC	0.040 mg/L（72 時間）
無脊椎動物に関する毒性	遊泳阻害試験	EC_{50}	0.23 mg/L（48 時間）
	繁殖阻害試験	EC_{50}	0.22 mg/L（21 日間）
	繁殖阻害試験	NOEC	0.081 mg/L（21 日間）
魚類に対する毒性	急性毒性試験	LC_{50}	>0.52 mg/L（96 時間）

〔用途〕[7),8)]

食品添加物、界面活性剤原料等

出典

1) Lide, D.R,(*ed*), CRC Handbook of Chemistry and Physics 84th Edition
2) Philip H. Howard, William M. Meylan, Handbook of Physical Properties of Organic Chemicals
3) Carl L.Yaws: Handbook of Chemical Compound Data for Process Safty, Gulf Publishing Company
4) SRC PhysProp Database
5) ランカスター試薬カタログ
6) Webkis-plus（化学物質データベース）
7) 独立行政法人製品評価技術基盤機構：化学物質総合情報提供システム (CHRIP)
8) 花王ケミカル HP

§1 分 析 法

(1) 分析法の概要

あらかじめアスコルビン酸及びヘキサンを添加したねじ口ガラス瓶に水質試料を採取し、現場で振とうする。運搬及び保管は冷蔵保存して行う。試料は全量使用し、容器をアセトンで洗いこみ、振とう抽出し、脱水、濃縮する。シリカカートリッジカラムでクリーンアップ後、シリンジスパイク内標準（以下、「内標準」という）を添加し、GC/MS-SIM 法で測定する。

対象物質以外にもデカン酸イソプロピル、オクタン酸イソペンチル、オクタン酸ペンチル、デカン酸プロピル、ウンデカン酸エチル等 13 物質を同時分析することができる（注 1）。

(2) 試薬・器具

【試薬】

ドデカン酸メチル	：和光純薬工業製　特級 (98.0%)
ナフタレン-d_8	：環境分析用　和光純薬工業製 (98.0%)
ポリエチレングリコール 200	：東京化成工業製
ヘキサン、アセトン	：残留農薬・PCB 試験用（5000 倍濃縮品）
無水硫酸ナトリウム	：残留農薬試験用
シリカカートリッジ	：SUPELCO 製　LC-Si (1 g/6 mL) Glass Tube w/PTFE Frits　(注 2)
ワコーゲル(R)C-200	：和光純薬工業製（注 3）
精製水	：Milli-Q Advantage　Millipore 製

【標準液の調製】

〔標準液〕

ドデカン酸メチルを 20.0 mg 精秤し、ヘキサンで正確に 20 mL とし、1000 mg/L の標準原液を調製する。標準原液を分取し、ヘキサンで希釈し 10.0 μg/mL の標準液を調製する。

〔内標準液〕

ナフタレン-d_8 を 10.0 mg 精秤し、ヘキサン 100 mL に溶解させ、100 mg/L の内標準原液を調製する。内標準原液を分取し、ヘキサンで 4.00 μg/mL の内標準液を調製する。

〔検量線用標準液の調製〕

標準液を適宜ヘキサンで希釈して2.00 ～ 500 ng/mLの検量線用標準液を調製する。各濃度の検量線用標準液には内標準液を20.0 ng/mL（注4）及びポリエチレングリコール200を50 μg/mL（注5）の濃度になるように添加する。

【器具】

ロータリーエバポレータ（恒温槽付き）：抽出液の濃縮に用いる。
振とう器　：分液ロートの振とうに用いる。
窒素濃縮装置　：溶媒の濃縮に用いる。
ねじ口ガラス瓶(1 L)（注6）、分液ロート (2 L) 、トールビーカー (200 mL) 、ナス型フラスコ (200 mL) 、メスシリンダー (2 L、100 mL) 、スピッツ型共栓付き試験管(10 mL) 、マイクロシリンジ（注7）、パスツールピペット、駒込ピペット

(3) 分析法

【試料の採取及び保存等】

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。ただし、ドデカン酸メチルは加水分解することから、あらかじめアスコルビン酸1 g及びヘキサン100 mLを添加したねじ口ガラス瓶に水質試料を約1 L採取し、現場で振とうする（注8）。運搬及び保管は冷蔵保存して行う。

【試料の前処理及び試験液の調製】

水質試料はメスシリンダーに移し、試料量を量る。試料水は、全量を2 L分液ロートに移し、ねじ口ガラス瓶とメスシリンダーはアセトン50 mL程度で洗浄し（注9）、分液ロートに加え、約10分間振とう抽出を行う。静置後、水層は採取容器に移し、ヘキサン層は200 mLトールビーカーに採取する。水層は、分液ロートに戻し、再度ヘキサン50 mLで約10分間振とう抽出を行う。抽出液を合わせた後、無水硫酸ナトリウムで脱水する。抽出液は、ヘキサンで200 mLナス型フラスコに洗いこみ、ロータリーエバポレータを用いて減圧濃縮し、約1 mLとする。

シリカカートリッジをヘキサン10 mLでコンディショニング（注10）し、溶出液の受器として10 mLスピッツ型試験管をセットする。試料抽出液をカラムに負荷し、液面をカラムベッドまで下げてから、ヘキサン10 mLで濃縮容器及びカラム壁面を洗いながら試料をカラムに負荷する。ヘキサン溶出液は廃棄し、

分析には供しない。別のスピッツ型試験管をセットし、アセトン/ヘキサン(1:9) 5 mL で溶出する。溶出液は、窒素気流下で 1 mL まで濃縮し、内標準液 (4.00 μg/mL) をマイクロシリンジで 5.0 μL 添加し、試験液とする。

【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】の項に従った操作をして得た試験液を空試験液とする。

【測定】

〔GC/MS 条件〕

使用機種	: GC:Agilent7890A、MS:JMS-Q1000GC Mk Ⅱ
使用カラム	: HP-INNOWAX　30 m×0.25 mm, 0.25 μm (Agilent)
カラム温度	: 50°C (2 min) → 20°C/min → 120°C (0 min) → 5°C/min　→ 260°C　(6 min)
注入方法	: スプリットレス（パージ開始時間　1.5 min）
注入口温度	: 240°C
試料注入量	: 1 μL
キャリアーガス	: ヘリウム(1.5 mL/min)
ｲﾝﾀｰﾌｪｰｽ温度	: 230°C
イオン源温度	: 210°C
イオン化電圧	: 70 eV
検出モード	: SIM
モニターイオン	: ドデカン酸メチル *m/z* 214（定量用） *m/z* 171（確認用）143（確認用） ナフタレン-d_8　*m/z* 136

〔検量線〕

検量線用標準液 1.00 μL を GC/MS に注入し、標準物質と内標準物質のピーク面積比及び濃度比から検量線を作成する。

〔定量〕

試験液 1.00 μL を GC/MS に注入し、標準物質と内標準物質の濃度比及びピーク面積比から検量線により検出量を求める。

〔濃度の算出〕

試料中の濃度 C (ng/L) は、次式により算出する。

$$C\ (\mathrm{ng/L}) = R \times Q / V$$

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物質の量 (ng)

V：試料量 (L)（注 11）

本分析法に従った場合、以下の数値を使用する。

Q = 20.0 ng

(= 添加内標準の濃度 (4.00 μg/mL) × 添加内標準の容量 (5.0 μL))

V = 1.0 (L)

即ち、

$$C = R \times 20\ (\mathrm{ng/L})$$

である。

〔装置検出下限値 (IDL)〕

本分析に用いた GC/MS の IDL を表 1 に示す（注 12)。

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)
ドデカン酸メチル	0.35	1.00	1	0.35

〔測定方法の検出下限値 (MDL) 及び定量下限値 (MQL) 〕

本測定方法による MDL 及び MQL を表 2 に示す（注 13)。

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)
ドデカン酸メチル	1.00	1	1.1	2.9

注　解

（注 1）同時分析可能な物質は次の 12 物質である。

デカン酸メチル($C_{11}H_{21}O_2$) 、デカン酸イソプロピル($C_{13}H_{26}O_2$) 、オクタン酸イソペンチル($C_{13}H_{26}O_2$) 、ウンデカン酸メチル($C_{12}H_{24}O_2$) 、オクタン酸ペンチル($C_{13}H_{26}O_2$) 、デカン酸プロピル($C_{13}H_{26}O_2$) 、ウンデカン酸エチル($C_{13}H_{26}O_2$) 、テトラデカン酸メチル($C_{15}H_{30}O_2$) 、パルミチン酸メチル($C_{17}H_{34}O_2$) 、ステアリン酸メチル($C_{19}H_{38}O_2$) 、イコサン酸メチル($C_{21}H_{42}O_2$) 、ドコサン酸メチル($C_{23}H_{46}O_2$)

（注 2）市販カートリッジカラムは、メーカーやロットにより対象物質が含まれていたり、妨害ピークが見られたりすることがある。あらかじめ、分析に支障が無いか確認する必要がある。なお、カートリッジカラムをアセトンで洗浄した後、ヘキサンに置換して使用すれば対象物質の分析にはほとんど支障ない場合もある。

（注 3）市販カートリッジカラムが使用できない場合は、自家調製した 5%含水シリカゲル(1 g) を使用する。ワコーゲル(R)C-200 を 130°C で一晩（約 14 時間程度）加熱した後、デシケーター中で放冷し、95 g を共栓三角フラスコに量り取り、精製水を 5 mL 添加し、振とう機で約 1 時間振とうする。調製後、デシケーター中で保存し、翌日以降に使用する。内径 10 mm のクロマト管にガラスウールと無水硫酸ナトリウム（約 0.5 cm 程度）を詰めヘキサンでシリカゲル 1 g を湿式充填し、気泡を取り除き、さらに無水硫酸ナトリウム（約 0.5 cm 程度）を詰める。

（注 4）内標準物質の添加量は、使用する GC/MS の感度等により適宜変更しても良い。

（注 5） マトリックス効果対策のためにポリエチレングリコール 200 を添加する。ポリエチレングリコール 200 をアセトンに溶解し、2000 μg/mL の溶液を調製し、各検量線用標準液に 25 μL(50 μg) ずつ添加する。

（注 6）キャップの内側のセプタムに脂肪酸メチル類が吸着しやすいので、使用前に溶媒等で十分洗浄し、対象物質が検出されないことを確認すること。

（注 7）吐出誤差 2%以下であることをあらかじめ確認しておくことが望ましい。精度を保証するため、校正されたデジタルマイクロシリンジや検量証明書付きマイクロシリンジの使用が有効である。例として SGE 製があるが推奨するものではない。

（注 8）対象物質は加水分解性があり、試料の保存ができないため試料採取時に現場でヘキサン抽出する。試料採取量はヘキサン振とうが出来るように上部に空隙を残し、振とうは、手で激しく 30 秒以上振り混ぜる。ヘキ

サンと試料水が共存した状態で 2 週間以上保存できるが、出来るだけ早く抽出操作を行うのが望ましい。

（注 9） 同時分析対象物質の一部は、ガラス壁面に吸着することから試料は全量を使用し、試料瓶等はアセトンで洗い込む。

（注 10） 妨害ピークや対象物質の操作ブランクが認められる場合は、アセトン 5 mL で 3 回程度洗浄後、ヘキサン 5 mL を 3〜5 回程度流し、ヘキサンに十分置換して使用する。それでも妨害ピーク等が除去できない場合は、自家調製した 5%含水シリカゲル(1 g)を使用すること。なお、溶出パターンは事前に確認すること。

（注 11）試料量は、あらかじめメスシリンダーで測定した値である。

（注 12）IDL は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」（平成 21 年 3 月）に従って算出した。算出結果を表 3 に、IDL 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	ドデカン酸メチル
試料量 (L)	1.00
最終液量 (mL)	1.00
注入液濃度 (ng/mL)	5.00
装置注入量 (μL)	1.00
結果 1 (ng/mL)	5.09
結果 2 (ng/mL)	5.08
結果 3 (ng/mL)	5.13
結果 4 (ng/mL)	5.24
結果 5 (ng/mL)	5.04
結果 6 (ng/mL)	5.05
結果 7 (ng/mL)	4.95
平均値 (ng/mL)	5.083
標準偏差 (ng/mL)	0.0890
IDL(ng/mL)	0.35
IDL 試料換算値 (ng/L)	0.35
S/N 比	11.5
CV(%)	1.8

*: IDL = t (n-1, 0.05) × σ_{n-1} × 2

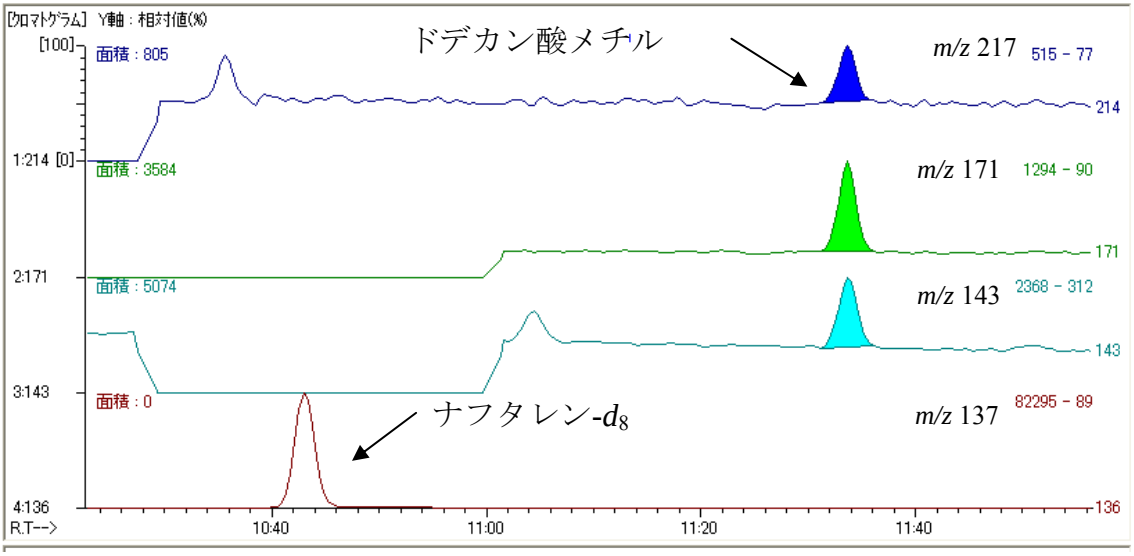


図 1　IDL 算出時のクロマトグラム

（注 12）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）に従って算出した。MDL 算出用試料は、河川水（用水）を希釈、調製した。算出結果を表 4 に、MDL 測定時のクロマトグラムを図 2 に示す。

表 4　MDL 及び MQL の算出結果

物質名	ドデカン酸メチル
試料	河川水
試料量（L)	1.00
標準添加量(ng)	5.00
試料換算濃度(ng/L)	2.00
最終液量(mL)	1.00
注入液濃度(ng/mL)	5.00
装置注入量(nL)	1.00
操作ブランク平均(ng/L)*1	<0.35
無添加平均(ng/L)*2	<0.35
結果　1 (ng/L)	4.64
結果　2 (ng/L)	4.23
結果　3 (ng/L)	4.24
結果　4 (ng/L)	5.02
結果　5 (ng/L)	4.52
結果　6 (ng/L)	4.79
結果　7 (ng/L)	4.70
平均値 (ng/L)	4.591
標準偏差 (ng/L)	0.290
MDL (ng/L)*3	1.1
MQL (ng/L)*4	2.9
CV (%)	6.3
S/N 比	18

*1：精製水 1.00 L を同様の操作を行い測定した値の平均値 (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 = 2)

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

*4：$MQL = \sigma_{n-1} \times 10$

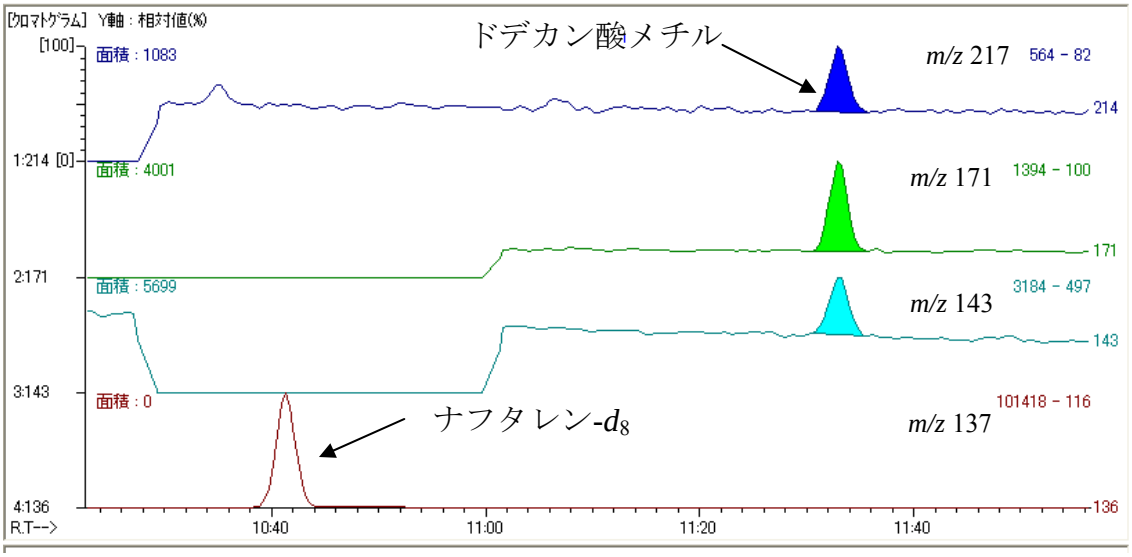


図 2　MDL 算出時のクロマトグラム

§2　解　説

【分析法】

〔フローチャート〕

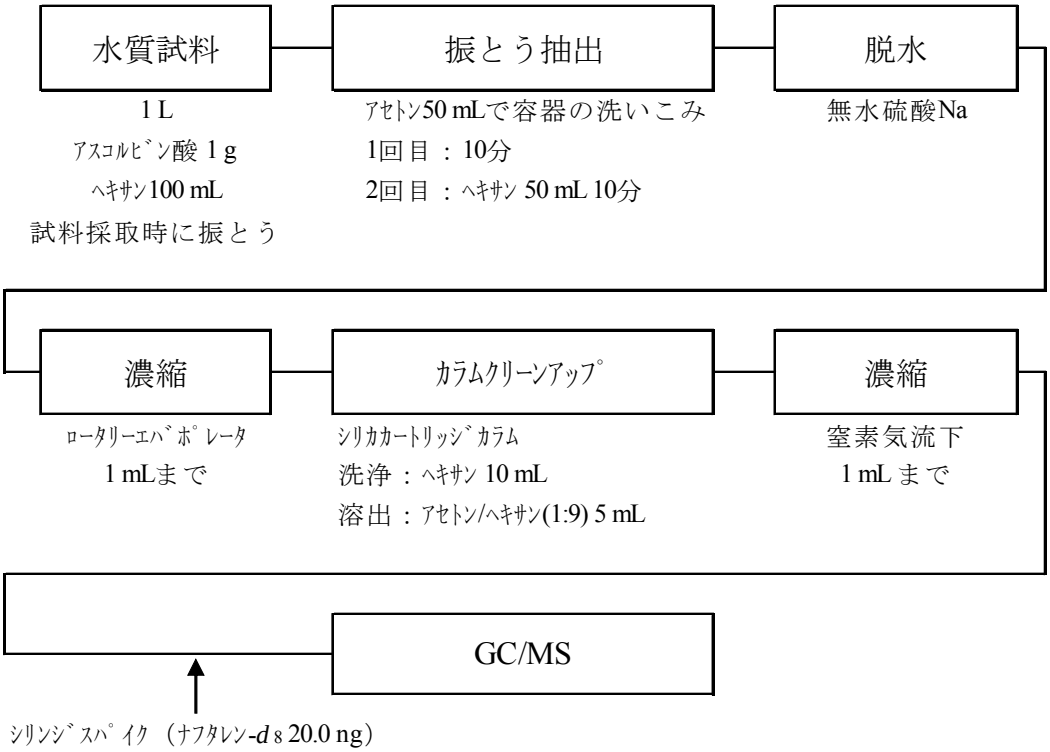
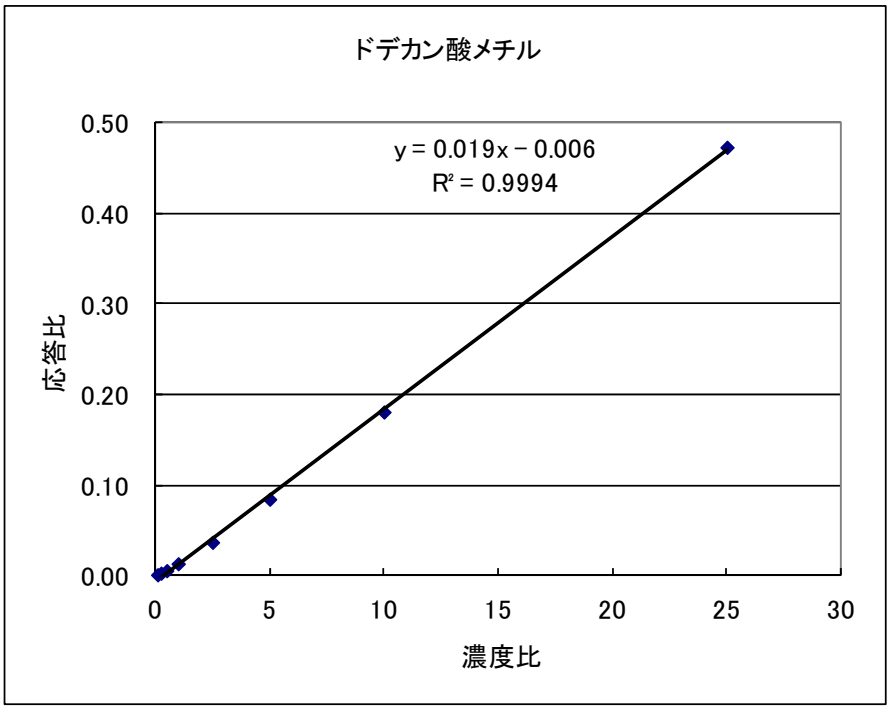


図 3　分析法のフローチャート

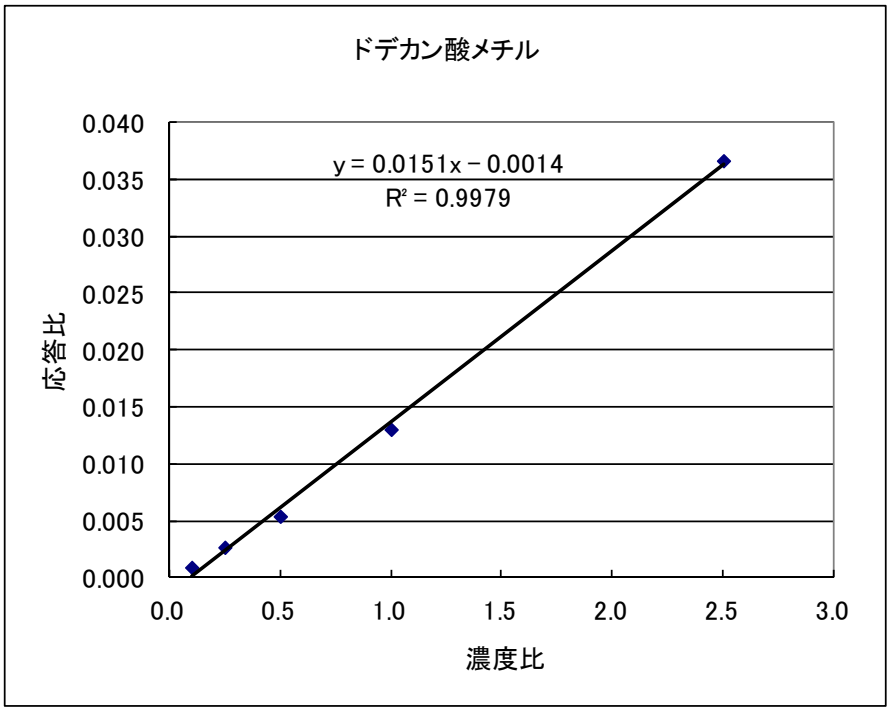
〔検量線〕



濃度(ng/mL)→　(50)　(100)　(200)　(500)

図 4-1　検量線：ドデカン酸メチル

（内標準物質 20.0 ng/mL　対象物質濃度範囲 2.00～500 ng/mL）



濃度(ng/mL)→　(2) (5)　(10)　(20)　(50)

図 4-2　検量線：ドデカン酸メチル

（内標準物質 20.0 ng/mL　対象物質濃度範囲 2.00～50.0 ng/mL）

表 5　検量線作成用データ

濃度比	標準液濃度 (ng/mL) (*Cs*)	応答値 ドデカン酸メチル (*As*) (*m/z* 214)	応答値 ナフタレン-d_8 (*Asi*) (*m/z* 136)	応答比 (*As*/*Ais*)
0.1	2.00	281	322959	0.00087
0.25	5.00	909	345265	0.00263
0.5	10.0	1724	321774	0.00536
1	20.0	4066	312864	0.01300
2.5	50.0	11595	316670	0.03662
5	100	27513	326573	0.08425
10	200	60223	333786	0.18042
25	500	156837	331924	0.47251

〔標準物質のクロマトグラム〕

標準物質のクロマトグラムを図5に示す。

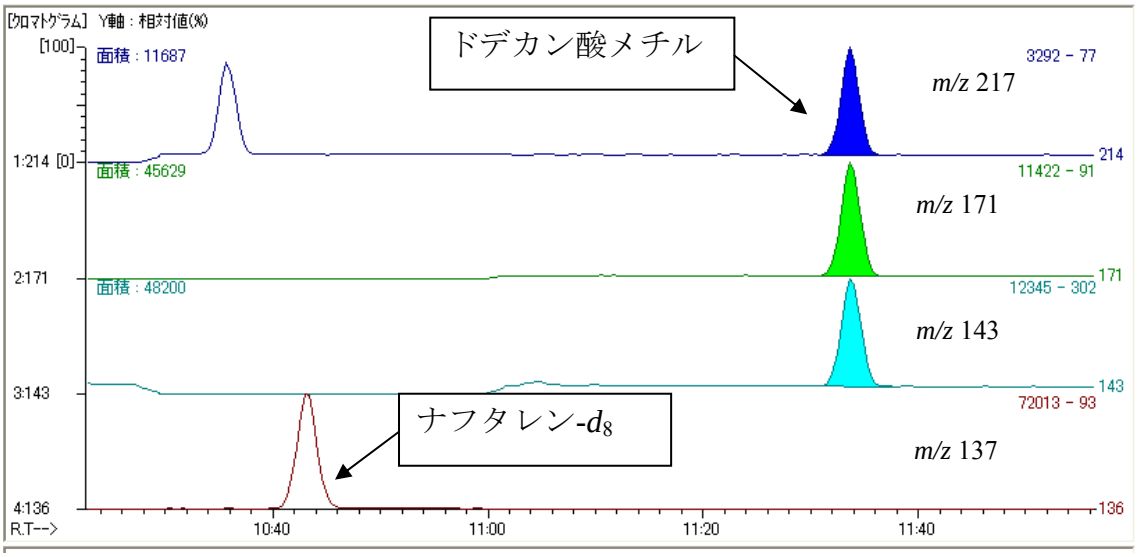


図 5　標準物質のクロマトグラム

〔標準物質のマススペクトル〕

標準物質と内標準物質のマススペクトルを図 6 に示す。

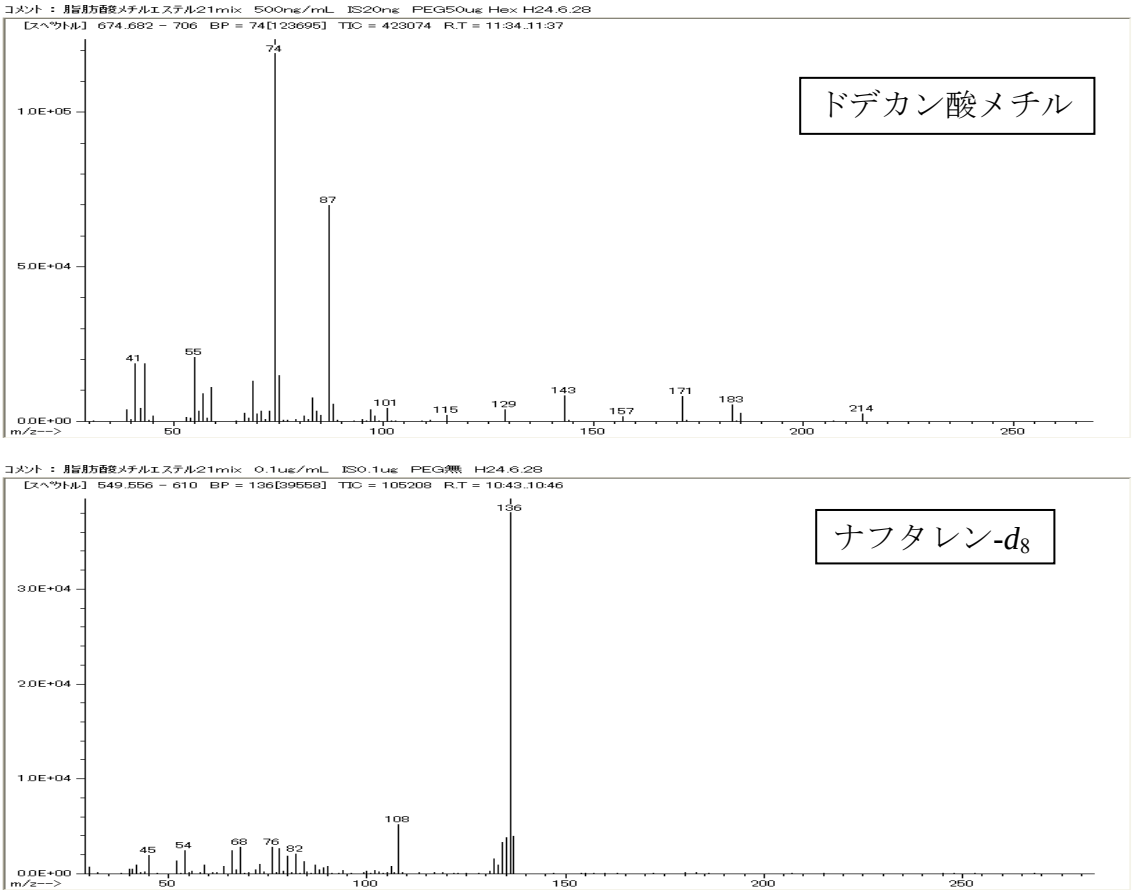


図 6 マススペクトル

〔操作ブランク〕

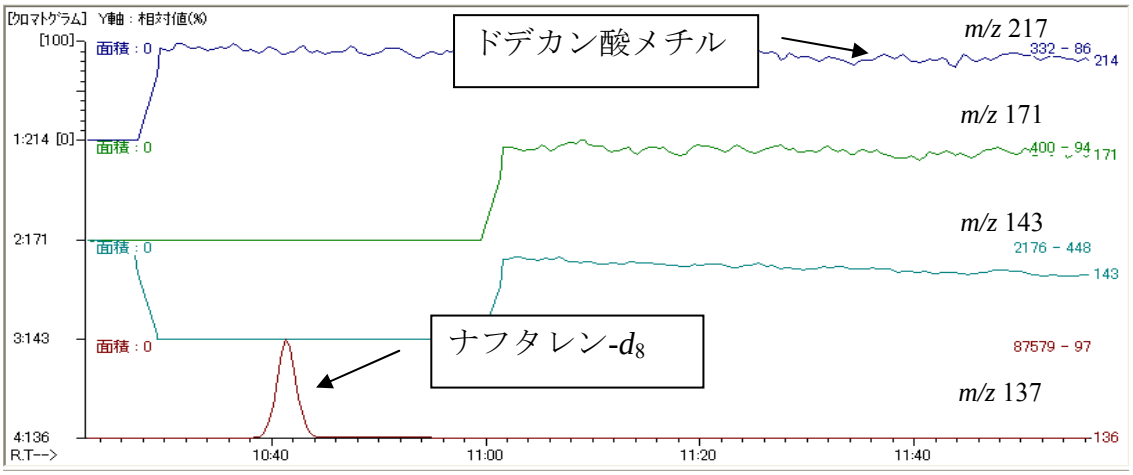


図 7　操作ブランクのクロマトグラム

〔添加回収試験〕

添加回収試験結果を表 6 と図 8 に示す。添加回収試験には、河川水は旭川乙井手堰、海水は岡山県水島沖の水質試料を使用した。

表 6-1　添加回収試験

物質名	試料	添加量 (ng)	試験数	検出濃度 (ng/L)	添加回収率 (%)	変動係数 (%)
ドデカン酸メチル	**河川水**	**無添加**	**2**	**<0.35**	**-**	**-**
		25.0	**6**	**26.1**	**104**	**6.3**
	海水	**無添加**	**2**	**<0.35**	**-**	**-**
		25.0	**6**	**21.9**	**88**	**4.9**
デカン酸イソプロピル	河川水	無添加	2	<0.34	-	-
		10.0	6	10.1	101	6.4
	海水	無添加	2	<0.34	-	-
		10.0	6	8.4	84	4.3
オクタン酸イソペンチル	河川水	無添加	2	<0.17	-	-
		5.0	6	4.7	95	1.4
	海水	無添加	2	<0.17	-	-
		5.0	6	4.5	89	6.4
オクタン酸ペンチル	河川水	無添加	2	<0.18	-	-
		5.0	6	5.0	100	5.1
	海水	無添加	2	<0.18	-	-
		5.0	6	4.2	84	4.2
デカン酸プロピル	河川水	無添加	2	<0.28	-	-
		5.0	6	5.1	102	7.0
	海水	無添加	2	<0.28	-	-
		5.0	6	4.1	82	4.9
ウンデカン酸エチル	河川水	無添加	2	<0.17	-	-
		10.0	6	10.3	103	6.2
	海水	無添加	2	<0.17	-	-
		10.0	6	8.3	83	5.5
デカン酸メチル	河川水	無添加	2	<0.13	-	-
		5.0	6	5.2	103	4.4
	海水	無添加	2	<0.13	-	-
		5.0	6	4.5	89	4.7
ウンデカン酸メチル	河川水	無添加	2	<0.28	-	-
		10.0	6	9.6	96	4.1
	海水	無添加	2	<0.28	-	-
		10.0	6	8.1	81	5.0

表 6-2　添加回収試験

物質名	試料	添加量 (ng)	試験数	検出濃度 (ng/L)	添加回収率 (%)	変動係数 (%)
テトラデカン酸メチル	河川水	無添加	2	<0.35	-	-
		25.0	6	27.0	108	6.3
	海水	無添加	2	<0.35	-	-
		25.0	6	20.5	82	10.4
パルミチン酸メチル	河川水	無添加	2	<0.67	-	-
		25.0	6	24.2	97	4.6
	海水	無添加	2	<0.67	-	-
		25.0	6	16.8	67	23.8
ステアリン酸メチル	河川水	無添加	2	<0.19	-	-
		5.0	6	5.2	104	3.2
	海水	無添加	2	<0.19	-	-
		5.0	6	3.6	72	19.7
イコサン酸メチル	河川水	無添加	2	<0.31	-	-
		25.0	6	26.2	105	4.1
	海水	無添加	2	<0.31	-	-
		25.0	6	18.1	72	8.9
ドコサン酸メチル	河川水	無添加	2	<0.58	-	-
		25.0	6	26.3	105	10.0
	海水	無添加	2	<0.58	-	-
		25.0	6	19.4	77	9.7
テトラコ酸メチル	河川水	無添加	2	<0.45	-	-
		10.0	6	10.6	106	12.1
	海水	無添加	2	<0.45	-	-
		10.0	6	7.8	78	12.0

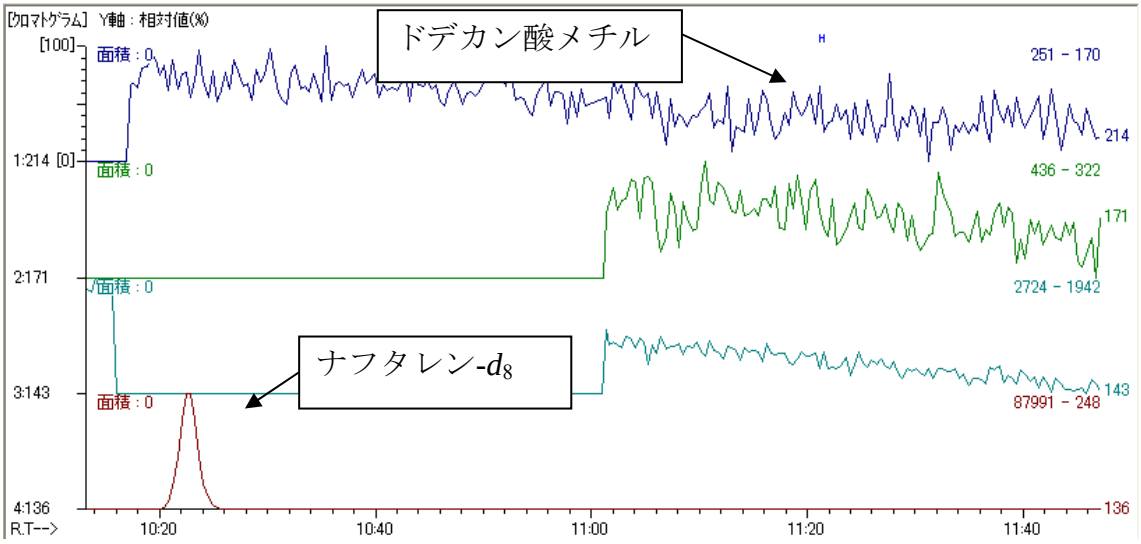


図 8-1　添加回収試験時のクロマトグラム（河川水無添加）

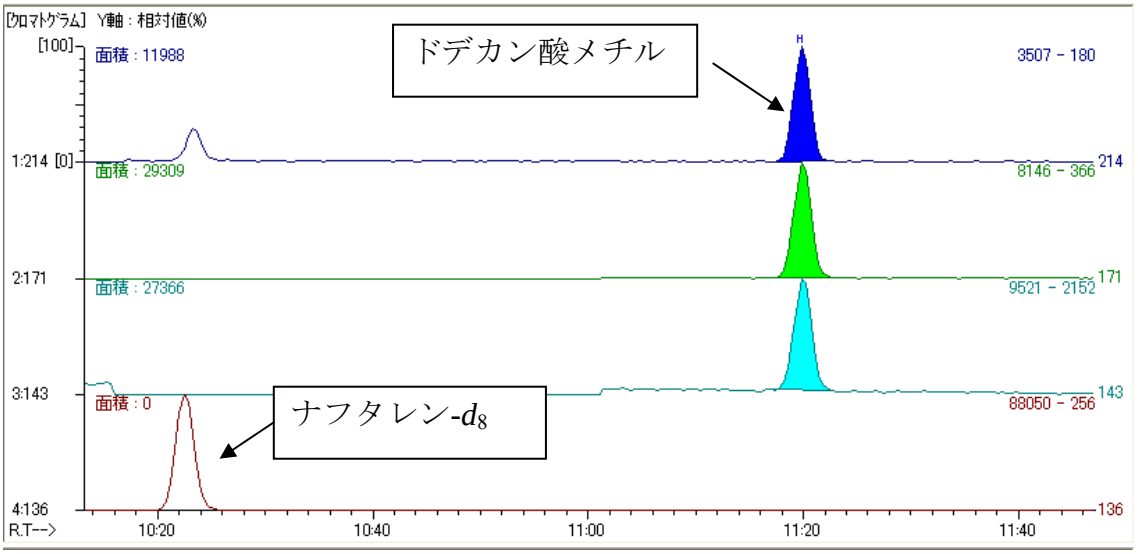


図 8-2　添加回収試験時のクロマトグラム（河川水 25 ng 添加）

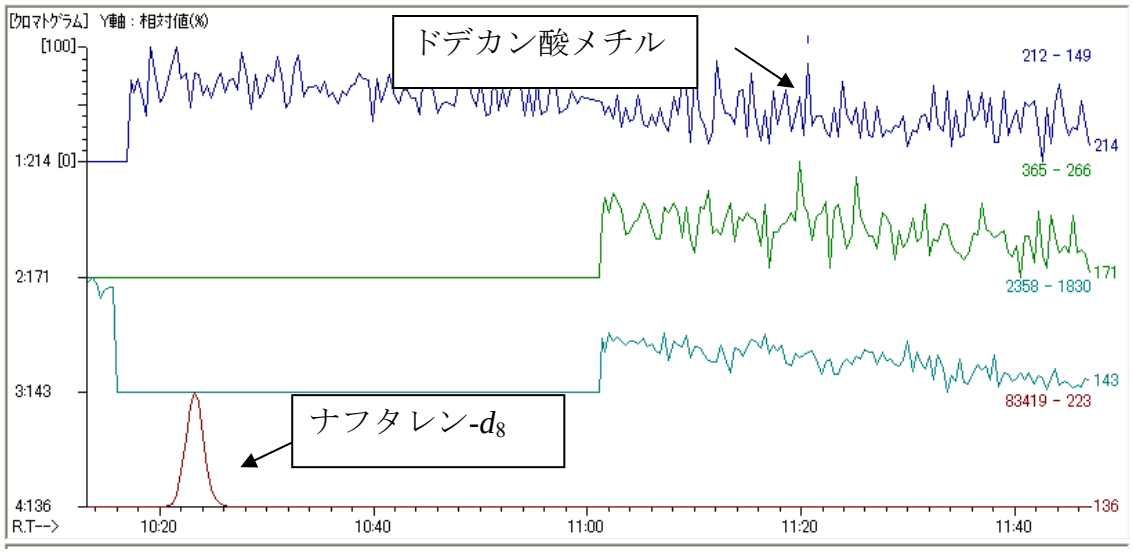


図 8-3　添加回収試験時のクロマトグラム（海川水無添加）

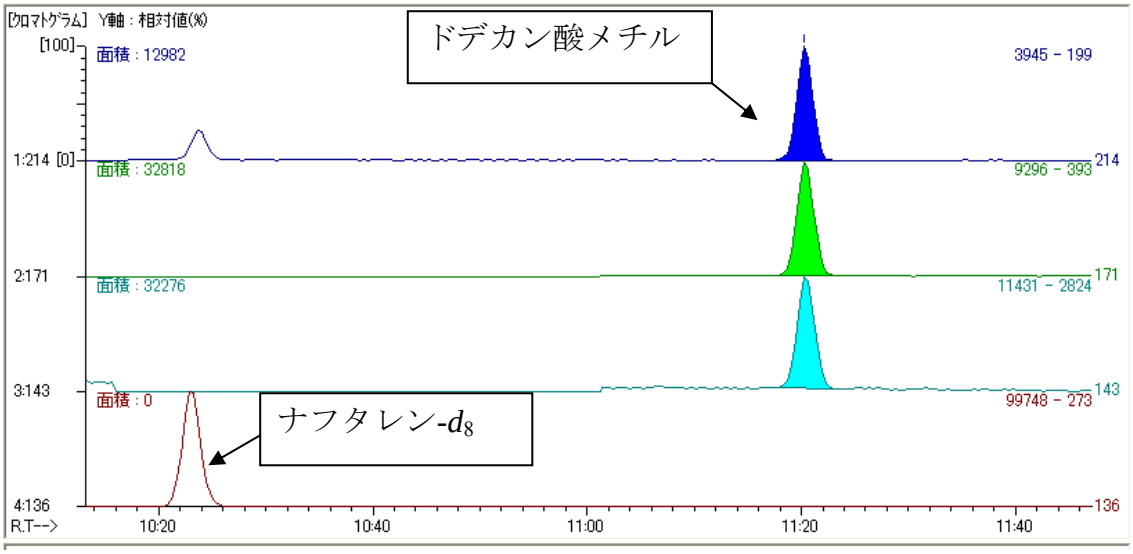


図 8-4　添加回収試験時のクロマトグラム（海水 25 ng 添加）

〔分解性試験〕

分解性スクリーニング試験結果を表 7 に示す。

表 7　分解性スクリーニング

物質名		1 時間後の残存率 (%)	7 日後の残存率 (%)	
			明所	暗所
ドデカン酸メチル	**pH5**	**81**	**29**	**31**
	pH7	**79**	**0**	**0**
	pH9	**73**	**0**	**0**
デカン酸イソプロピル	pH5	85	54	46
	pH7	79	0	0
	pH9	77	0	0
オクタン酸イソペンチル	pH5	85	52	45
	pH7	79	1	0
	pH9	77	10	21
オクタン酸ペンチル	pH5	88	31	34
	pH7	83	0	1
	pH9	80	2	5
デカン酸プロピル	pH5	86	29	31
	pH7	81	0	0
	pH9	79	0	0
ウンデカン酸エチル	pH5	87	30	33
	pH7	82	0	0
	pH9	81	0	0
デカン酸メチル	pH5	80	46	35
	pH7	74	0	0
	pH9	73	0	0
ウンデカン酸メチル	pH5	84	45	40
	pH7	75	0	0
	pH9	74	0	1
テトラデカン酸メチル	pH5	91	8	14
	pH7	91	1	0
	pH9	85	0	1
パルミチン酸メチル	pH5	98	10	22
	pH7	98	3	3
	pH9	95	4	3
ステアリン酸メチル	pH5	99	17	37
	pH7	97	2	3
	pH9	97	36	39
イコサン酸メチル	pH5	102	25	48
	pH7	102	7	15
	pH9	100	83	91
ドコサン酸メチル	pH5	97	24	59
	pH7	100	9	36
	pH9	96	117	143
テトラコ酸メチル	pH5	100	26	61
	pH7	100	10	52
	pH9	100	128	140

初期濃度 : 0.2 μg/L

〔保存性試験〕

分解性があることからいくつかの条件で保存性試験を実施した。河川水 1 L 当たりアルコルビン酸 1 g (pH 約 3)、硫酸 10 mL (pH 約 1)、10%硫酸銅 10 mL をそれぞれ添加し、保存性試験 (標準物質 100 ng 添加)を実施した。アルコルビン酸を添加したものは冷蔵保存、冷凍保存、ヘキサン添加、ヘキサン添加直後に振とう抽出したものを作成し、保存性試験を実施した。

最も保存性が良かった条件は、アスコルビン酸とヘキサンを添加した直後に振とう抽出したものであった。

表 8-1　保存性試験結果（残存率、%）

物質名	保存条件	1 時間後	1 日後	4 日後	7 日後
ドデカン酸メチル	**無添加**	**62**	**1**	**0**	**0**
	アスコルビン酸添加	**94**	**60**	**47**	**45**
	アスコルビン酸添加 (冷凍)	**-**	**65**	**66**	**67**
	アスコルビン酸・ヘキサン添加	**-**	**63**	**46**	**49**
	アスコルビン酸・ヘキサン添加⇒振とう抽出	**-**	**71**	**73**	**74**
	硫酸添加 (pH=1)	**101**	**49**	**18**	**9**
	硫酸銅添加	**121**	**58**	**24**	**8**
デカン酸イソプロピル	無添加	81	17	4	0
	アスコルビン酸添加	88	65	64	71
	アスコルビン酸添加 (冷凍)	-	64	64	62
	アスコルビン酸・ヘキサン添加	-	65	55	59
	アスコルビン酸・ヘキサン添加⇒振とう抽出	-	78	83	85
	硫酸添加 (pH=1)	94	47	22	13
	硫酸銅添加	114	65	54	26
オクタン酸イソペンチル	無添加	78	15	3	0
	アスコルビン酸添加	88	65	64	68
	アスコルビン酸添加 (冷凍)	-	64	65	63
	アスコルビン酸・ヘキサン添加	-	65	53	58
	アスコルビン酸・ヘキサン添加⇒振とう抽出	-	77	82	83
	硫酸添加 (pH=1)	93	45	16	9
	硫酸銅添加	114	66	56	29
オクタン酸ペンチル	無添加	74	7	1	0
	アスコルビン酸添加	91	68	64	68
	アスコルビン酸添加 (冷凍)	-	69	70	69
	アスコルビン酸・ヘキサン添加	-	69	57	59
	アスコルビン酸・ヘキサン添加⇒振とう抽出	-	75	81	81
	硫酸添加 (pH=1)	-	50	19	10
	硫酸銅添加	118	70	55	25

表 8-2　保存性試験結果（残存率、%）

物質名	保存条件	1 時間後	1 日後	4 日後	7 日後
デカン酸プロピル	無添加	69	5	1	0
	アスコルビン酸添加	91	67	61	61
	アスコルビン酸添加（冷凍）	-	68	70	68
	アスコルビン酸・ヘキサン添加	-	67	55	56
	アスコルビン酸・ヘキサン添加⇒振とう抽出	-	74	79	79
	硫酸添加 (pH=1)	97	49	19	9
	硫酸銅添加	117	67	47	19
ウンデカン酸エチル	無添加	60	5	1	0
	アスコルビン酸添加	83	68	62	62
	アスコルビン酸添加（冷凍）	-	69	71	69
	アスコルビン酸・ヘキサン添加	-	68	56	58
	アスコルビン酸・ヘキサン添加⇒振とう抽出	-	73	78	79
	硫酸添加 (pH=1)	72	50	20	10
	硫酸銅添加	84	66	43	17
デカン酸メチル	無添加	72	4	0	0
	アスコルビン酸添加	84	51	47	50
	アスコルビン酸添加（冷凍）	-	44	46	43
	アスコルビン酸・ヘキサン添加	-	44	36	38
	アスコルビン酸・ヘキサン添加⇒振とう抽出	-	72	79	80
	硫酸添加 (pH=1)	85	30	14	6
	硫酸銅添加	105	38	30	18
ウンデカン酸メチル	無添加	66	1	0	0
	アスコルビン酸添加	88	56	49	49
	アスコルビン酸添加（冷凍）	-	56	55	53
	アスコルビン酸・ヘキサン添加	-	55	42	43
	アスコルビン酸・ヘキサン添加⇒振とう抽出	-	70	75	76
	硫酸添加 (pH=1)	91	40	17	8
	硫酸銅添加	110	50	31	16
テトラデカン酸メチル	無添加	74	11	1	0
	アスコルビン酸添加	99	68	43	51
	アスコルビン酸添加（冷凍）	-	76	77	85
	アスコルビン酸・ヘキサン添加	-	72	51	63
	アスコルビン酸・ヘキサン添加⇒振とう抽出	-	78	79	80
	硫酸添加 (pH=1)	112	71	42	37
	硫酸銅添加	123	64	21	1
パルミチン酸メチル	無添加	78	34	7	1
	アスコルビン酸添加	132	85	61	62
	アスコルビン酸添加（冷凍）	-	81	82	89
	アスコルビン酸・ヘキサン添加	-	84	67	77
	アスコルビン酸・ヘキサン添加⇒振とう抽出	-	96	93	89
	硫酸添加 (pH=1)	99	89	72	73
	硫酸銅添加	93	83	42	16

表 8-3　保存性試験結果（残存率、%）

物質名	保存条件	1 時間後	1 日後	4 日後	7 日後
ステアリン酸メチル	無添加	83	73	36	25
	アスコルビン酸添加	135	98	92	97
	アスコルビン酸添加（冷凍）	-	88	89	91
	アスコルビン酸・ヘキサン添加	-	93	93	101
	アスコルビン酸・ヘキサン添加⇒振とう抽出	-	102	98	90
	硫酸添加 (pH=1)	100	99	89	91
	硫酸銅添加	90	91	62	46
イコサン酸メチル	無添加	82	88	57	45
	アスコルビン酸添加	137	99	98	108
	アスコルビン酸添加（冷凍）	-	88	93	94
	アスコルビン酸・ヘキサン添加	-	94	99	109
	アスコルビン酸・ヘキサン添加⇒振とう抽出	-	104	99	88
	硫酸添加 (pH=1)	101	101	95	99
	硫酸銅添加	90	90	69	52
ドコサン酸メチル	無添加	80	93	71	48
	アスコルビン酸添加	133	94	91	110
	アスコルビン酸添加（冷凍）	-	89	89	94
	アスコルビン酸・ヘキサン添加	-	92	93	107
	アスコルビン酸・ヘキサン添加⇒振とう抽出	-	104	95	85
	硫酸添加 (pH=1)	99	102	90	98
	硫酸銅添加	92	91	70	54
テトラコ酸メチル	無添加	84	102	87	62
	アスコルビン酸添加	135	95	97	115
	アスコルビン酸添加（冷凍）	-	95	95	96
	アスコルビン酸・ヘキサン添加	-	91	97	108
	アスコルビン酸・ヘキサン添加⇒振とう抽出	-	100	96	79
	硫酸添加 (pH=1)	98	100	93	95
	硫酸銅添加	89	92	77	60

次に、試料採取時に現場で抽出することを想定して、試料瓶（1 L メジューム瓶：IWAKI 製(テフロン®ライナーパッキン付キャップ)）に河川水 1 L、アスコルビン酸 1 g と標準物質 25 ng を添加し、十分混合した後、ヘキサン 100 mL を加えて 10 分間振とうし、保存性試験を実施した。一定時間経過後に、2 L 分液ロートに試料を移し、試料瓶はアセトン 50 mL で洗いこみ、振とう抽出を行ったところ、19 日経過後も 90%以上残存していた。

表 9　保存性試験結果（残存率、%）

物質名	1 日	2 日	5 日	7 日	19 日
ドデカン酸メチル	91	101	91	91	107
デカン酸イソプロピル	103	100	100	98	85
オクタン酸イソペンチル	104	102	106	100	84
オクタン酸ペンチル	100	98	104	95	89
デカン酸プロピル	105	103	107	92	89
ウンデカン酸エチル	102	98	104	92	89
デカン酸メチル	105	100	100	98	85
ウンデカン酸メチル	101	87	93	97	81
テトラデカン酸メチル	95	99	94	95	107
パルミチン酸メチル	110	138	109	115	148
ステアリン酸メチル	123	185	137	148	185
イコサン酸メチル	113	111	108	98	97
ドコサン酸メチル	109	109	101	101	104
テトラコ酸メチル	110	112	101	103	94

*：パルミチン酸メチルとステアリン酸メチルが 100%を超過しているのはシリカカートリッジカラムの洗浄不足か 1 L メジューム瓶のキャップの部分が汚染されていた可能性が考えられる。

〔環境試料の分析〕

環境試料のクロマトグラムを図 9 に示す。生活排水の影響を受ける笹ヶ瀬川（笹ヶ瀬橋）と吉野川（鷺湯橋）からドデカン酸メチルが MDL をわずかに超過して検出された。

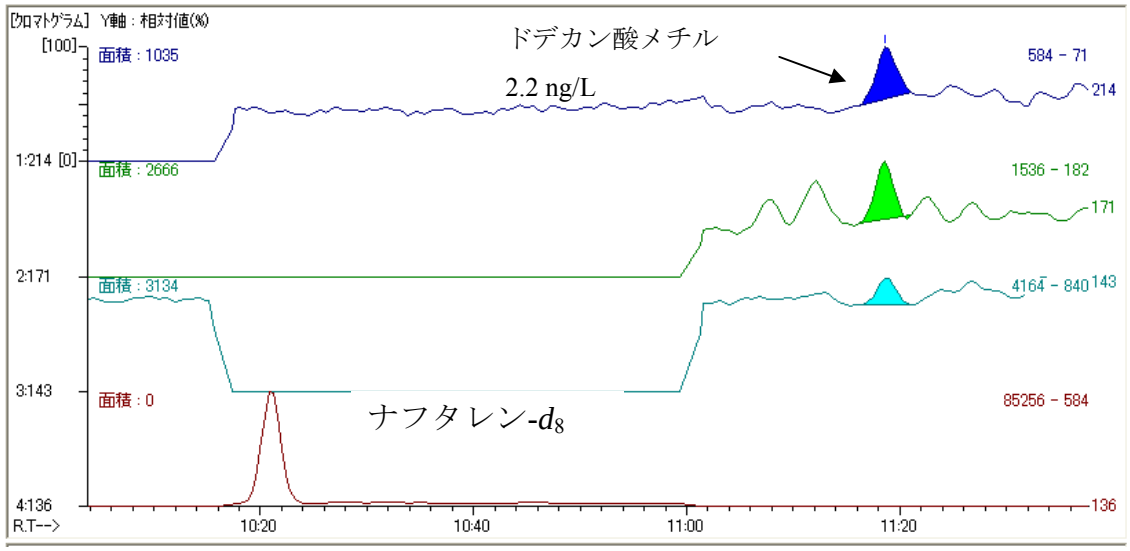


図 9-1　環境試料のクロマトグラム：笹ヶ瀬川（2 級河川下流部、笹ヶ瀬橋）

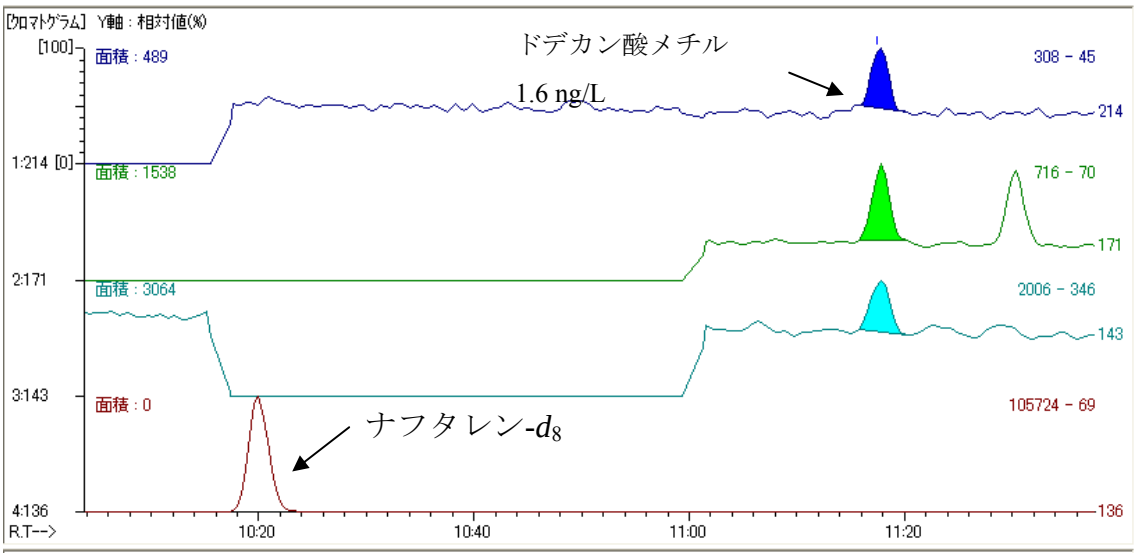


図 9-2　環境試料のクロマトグラム：吉野川（1 級河川支流、鷺湯橋）

〔マトリックス効果〕

ドデカン酸メチルはマトリックス効果が見られたため、その対策として PEG の添加を検討した。クロマトグラムを図 10 に、GC/MS の注入順の面積値の変動を図 11 に示す。河川抽出液に標準物質 5 ng を添加した試料は、標準物質 5 ng の面積値より約 1.6 倍程度大きくなった。標準物質に PEG200 を 0 μg、4 μg、10 μg、20 μg、50 μg 添加し、面積値を比較したところ、PEG200 を 20 μg~50 μg 添加した場合に面積値がほぼ一定となった。なお、PEG 添加標準液の後に PEG 無添加標準液を測定すると面積値はほぼ同じであったことから、注入順番によってもマトリックス効果を低減できる可能性がある。

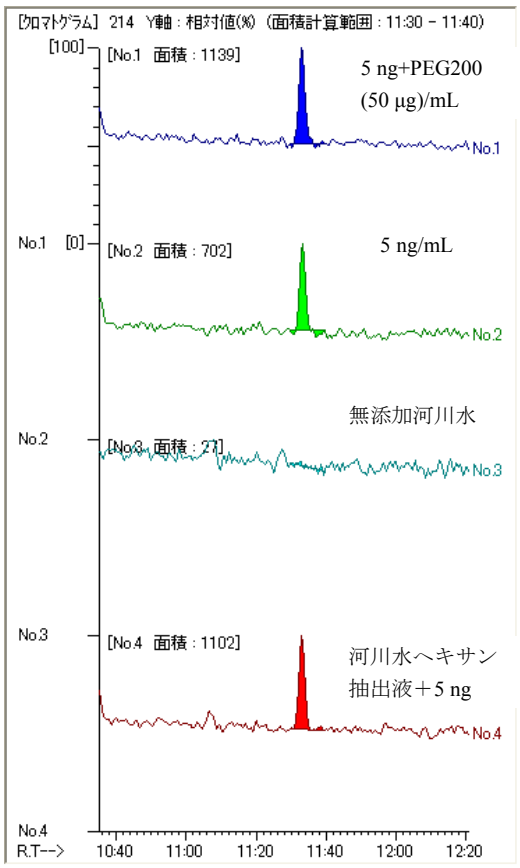


図 10　ドデカン酸メチルのマトリックス効果

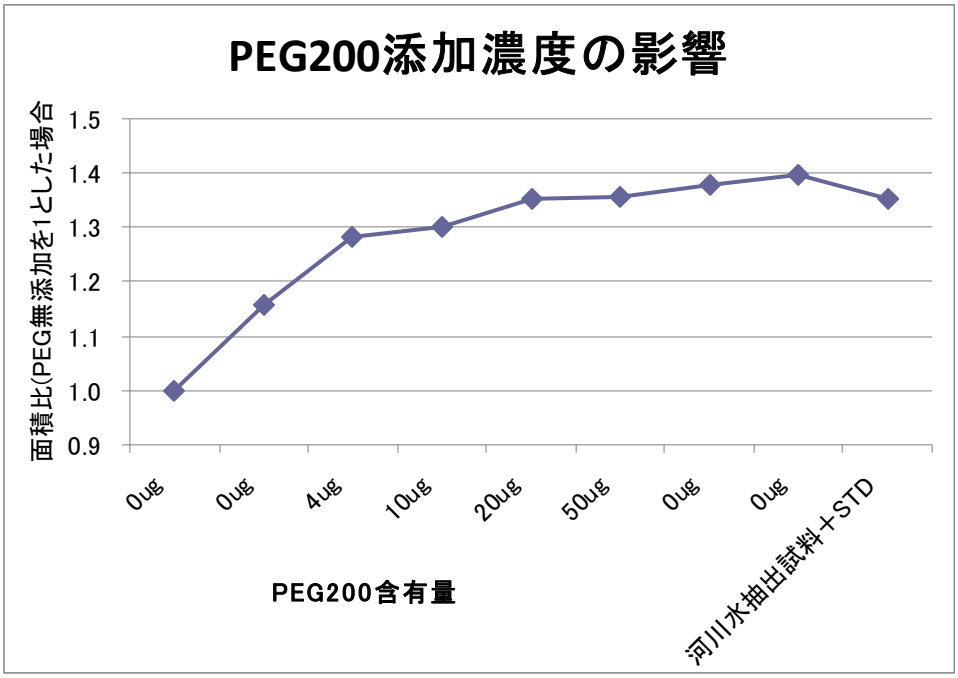


図 11　PEG 添加濃度の違いによる面積値の変動

〔抽出方法〕

精製水 1 L に標準物質 40 ng を添加し、アセトン 50 mL とアスコルビン酸 1 g の添加の有無の条件での、ヘキサン抽出法とジクロロメタン抽出法の抽出率を表 10 に示す。アセトンとアスコルビン酸を添加し、ヘキサン抽出した場合が最も安定した回収率が得られた。

表 10　液液抽出法の抽出率

物質名	ヘキサン抽出			ジクロロメタン抽出		
	アセトン添加		アセトン無添加	アセトン添加		アセトン無添加
	ｱｽｺﾙﾋﾞﾝ酸添加	ｱｽｺﾙﾋﾞﾝ酸無添加		ｱｽｺﾙﾋﾞﾝ酸添加	ｱｽｺﾙﾋﾞﾝ酸無添加	
ドデカン酸メチル	**99**	**101**	**100**	**98**	**90**	**86**
デカン酸イソプロピル	92	86	88	84	68	69
オクタン酸イソペンチル	90	92	86	80	66	68
オクタン酸ペンチル	99	96	88	92	82	69
デカン酸プロピル	94	89	88	88	68	70
ウンデカン酸エチル	92	87	89	86	70	73
デカン酸メチル	92	88	89	86	71	72
ウンデカン酸メチル	92	86	85	89	71	72
テトラデカン酸メチル	94	83	91	94	75	86
パルミチン酸メチル	99	90	94	98	88	94
ステアリン酸メチル	97	88	92	105	92	99
イコサン酸メチル	97	91	96	98	95	96
ドコサン酸メチル	99	97	96	104	102	102
テトラコ酸メチル	100	99	96	103	101	102

精製水 0.5 L にアスコルビン酸 0.5 g と標準物質 50 ng を添加し、ディスク型固相抽出法での抽出率を表 11 に示す。ガラス容器への吸着が見られることから、採取した試料は、全量を抽出する必要があると考えられた。

表 11　ディスク型固相抽出法の抽出率

物質名	SDB-XC			SDB-XD			C18FF		
	ヘキサン溶出	ガラス容器	ろ液	ヘキサン溶出	ガラス容器	ろ液	ヘキサン溶出	ガラス容器	ろ液
ドデカン酸メチル	**77**	**8**	**0**	**77**	**7**	**0**	**55**	**6**	**0**
デカン酸イソプロピル	56	17	0	60	18	0	48	20	0
オクタン酸イソペンチル	60	23	0	72	14	0	55	19	0
オクタン酸アミル	60	12	0	71	14	0	51	16	0
デカン酸プロピル	60	21	0	70	17	0	53	19	0
ウンデカン酸エチル	57	18	0	63	16	0	50	20	0
デカン酸メチル	63	21	1	69	19	2	52	22	2
ウンデカン酸メチル	49	13	0	57	10	0	42	12	0
テトラデカン酸メチル	43	16	0	54	13	0	40	15	0
パルミチン酸メチル	68	47	1	112	19	1	55	9	3
ステアリン酸メチル	117	172	0	204	76	6	76	12	19
イコサン酸メチル	76	5	0	88	2	0	62	0	11
ドコサン酸メチル	70	3	0	83	1	0	55	1	6
テトラコ酸メチル	69	6	0	91	3	1	52	2	6

試料採取瓶を手で振とうした際の抽出率を表 12 に示す。ねじ口ガラス瓶に河川水 1 L と標準物質 50 ng 及びアスコルビン酸 1 g を添加し、十分振とうしたのち、ヘキサン 100 mL を加え、所定の時間だけ手で激しく振り混ぜヘキサン層を分取し、脱水・濃縮した。ドデカン酸メチルは 30 秒間、ヘキサンと試料水を激しく振とうすれば抽出率が 80%以上であった。同時分析物質のなかには 2 分間では 60%程度の抽出率しか得られない物質もあった。

表 12　手で振とうした時の抽出率

物質名	ヘキサン抽出(1 回目)			ヘキサン抽出(2 回目)		
	30 秒	1 分	2 分	30 秒	1 分	2 分
ドデカン酸メチル	83	88	84	2	0	1
デカン酸イソプロピル	97	92	92	1	0	0
オクタン酸イソペンチル	89	95	92	0	0	0
オクタン酸ペンチル	89	95	92	0	0	0
デカン酸プロピル	85	87	88	3	0	0
ウンデカン酸エチル	92	95	93	6	5	4
デカン酸メチル	97	92	92	1	0	0
ウンデカン酸メチル	85	87	88	3	0	0
テトラデカン酸メチル	75	79	79	4	4	3
パルミチン酸メチル	72	78	88	7	7	6
ステアリン酸メチル	67	80	87	17	16	16
イコサン酸メチル	71	74	84	12	15	8
ドコサン酸メチル	57	63	73	7	7	5
テトラコ酸メチル	47	55	64	8	7	4

〔クリーンアップ〕

市販シリカカートリッジカラム(SUPELCO LC-Si, 1 g)と自作 5%含水シリカゲル (1 g) の溶出パターンを表 13 に示す。市販カートリッジカラムにはメーカーやロットによってドデカン酸メチルやパルミチン酸メチルやステアリン酸メチルが含まれている場合があるのでアセトン洗浄等で除去できるか事前に確認する必要がある。

表 13　シリカゲルカラムの溶出パターン

物質名	LC-Si (1g)				5%含水シリカゲル(1g)			
	Fr1	Fr2	Fr3	Fr4	Fr1	Fr2	Fr3	Fr4
	ヘキサン 6 mL	アセトン/ヘキサン (5:95) 5 mL	アセトン/ヘキサン (1:9) 5 mL	アセトン/ヘキサン (2:8) 5 mL	ヘキサン 6 mL	アセトン/ヘキサン (2:98) 5 mL	アセトン/ヘキサン (5:95) 5 mL	アセトン/ヘキサン (1:9) 5 mL
ドデカン酸メチル	**0**	**0**	**98**	**0**	**0**	**0**	**84**	**16**
デカン酸イソプロピル	0	0	98	0	0	0	90	16
オクタン酸イソペンチル	0	0	87	0	0	0	93	16
オクタン酸ペンチル	0	0	105	0	0	0	96	16
デカン酸プロピル	0	0	79	0	0	0	86	15
ウンデカン酸エチル	0	0	103	0	0	0	90	15
デカン酸メチル	0	0	100	0	0	0	86	12
ウンデカン酸メチル	0	0	114	0	0	0	91	12
テトラデカン酸メチル	0	0	107	0	0	0	88	10
パルミチン酸メチル	0	0	101	0	0	0	86	9
ステアリン酸メチル	0	0	96	0	0	0	93	14
イコサン酸メチル	0	0	80	0	0	0	77	11
ドコサン酸メチル	0	0	81	0	0	0	90	9
テトラコ酸メチル	0	0	113	0	0	0	87	9

Supelclean ENVI-Carb (250 mg/6 mL) の溶出パターンを表 14 に示す。ステアリン酸メチルは、ENVI-Carb をアセトンで十分洗浄しても操作ブランクが検出された。イコサン酸メチルより炭素数が多い物質は、トルエンを流さないと溶出しなかった。シリカゲルクリーンアップを実施しても着色があり、測定に支障がある場合には、表 14 のドデカン酸メチルからパルミチン酸メチルまでの 10 物質は、ENVI-Carb とシリカカートリッジカラムを連結して使用し、試料負荷、ヘキサン洗浄を行った後、ENVI-Carb は取り外し、シリカカートリッジカラムをアセトン/ヘキサン(1:9) 5 mL で溶出すれば着色成分は除去可能である。

表 14　ENVI-Carb の溶出パターン

物質名	Envicarb (0.25 g)		
	Fr1	Fr2	Fr3
	ヘキサン	アセトン	トルエン
	5 mL	5 mL	5 mL
ドデカン酸メチル	74	0	0
デカン酸イソプロピル	73	0	0
オクタン酸イソペンチル	63	0	0
オクタン酸ペンチル	73	0	0
デカン酸プロピル	71	0	0
ウンデカン酸エチル	69	0	0
デカン酸メチル	72	0	0
ウンデカン酸メチル	64	0	0
テトラデカン酸メチル	69	0	0
パルミチン酸メチル	96	2	2
ステアリン酸メチル	229	29	68
イコサン酸メチル	27	19	26
ドコサン酸メチル	0	0	68
テトラコ酸メチル	0	0	69

参　考　資　料

【同時分析可能な物質の検討結果】

〔**モニターイオン**〕

ドデカン酸メチルと同時分析を検討した物質群のモニターイオンを表 15 に示す。オクタン酸イソペンチルとオクタン酸ペンチルの確認イオンの *m/z* 127 にはカートリッジカラム由来の妨害ピークが多く、モニターイオンを再検討する必要がある。なお、自家調製した 5%含水シリカゲルの場合は、妨害ピークはほとんど検出されない。

表 15　モニターイオン

	保持時間	定量ｲｵﾝ(Q)	参照ｲｵﾝ (I)
Naphthalene-d_8	0:10:19	136	-
Acenaphthene-d_{10}	0:16:35	164	-
Phenanthrene-d_{10}	0:25:53	188	-
Fluoranthene-d_{10}	0:32:27	212	-
デカン酸メチル	0:08:22	143	74
デカン酸イソプロピル	0:08:49	173	155
オクタン酸イソペンチル	0:09:12	145	127
ウンデカン酸メチル	0:09:44	157	143
オクタン酸ペンチル	0:09:56	145	127
デカン酸プロピル	0:10:06	173	155
ウンデカン酸エチル	0:10:21	214	101
ドデカン酸メチル	**0:11:17**	**214**	**171**
テトラデカン酸メチル	0:14:45	242	199
パルミチン酸メチル	0:18:22	270	227
ステアリン酸メチル	0:21:52	298	143
イコサン酸メチル	0:25:11	326	283
ドコサン酸メチル	0:28:18	354	143
テトラコ酸メチル	0:31:13	382	143

〔標準物質のマススペクトル〕

標準物質のマススペクトルを図 12 に示す。

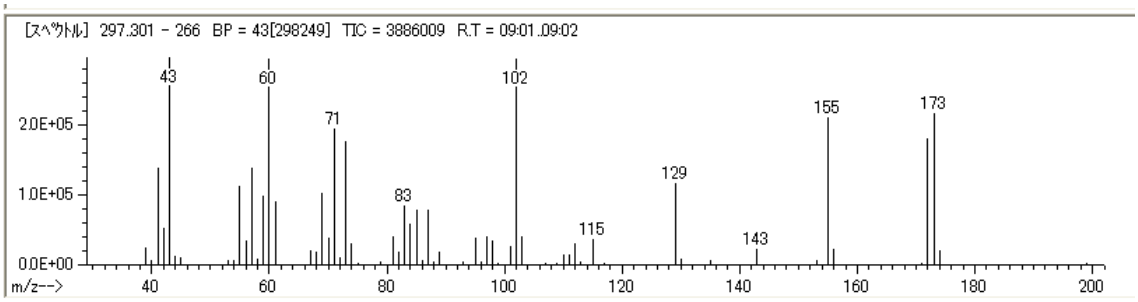


図 12-1　デカン酸イソプロピルのマススペクトル

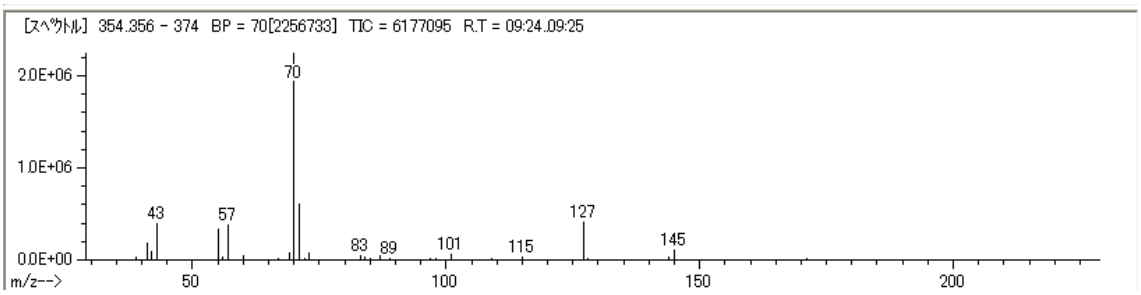


図 12-2　オクタン酸イソペンチルのマススペクトル

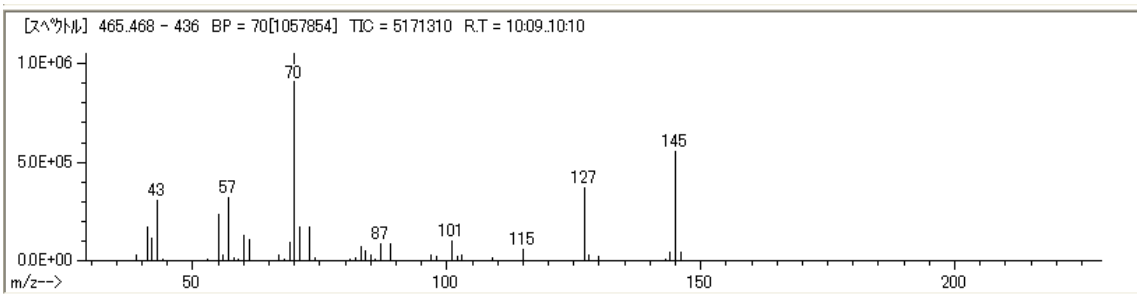


図 12-3　オクタン酸ペンチルのマススペクトル

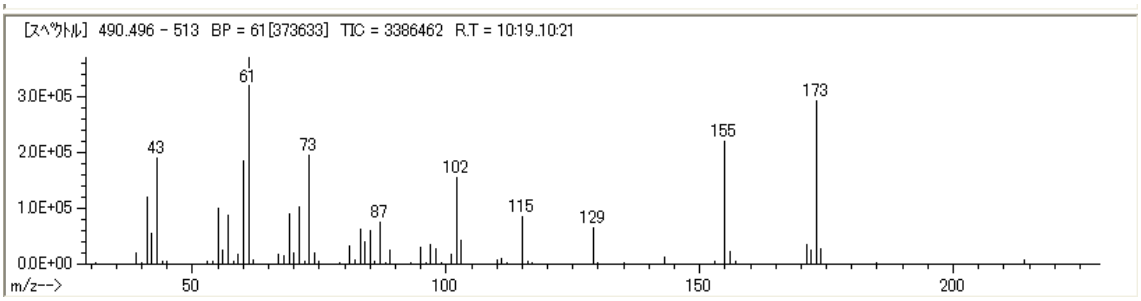


図 12-4　デカン酸プロピルのマススペクトル

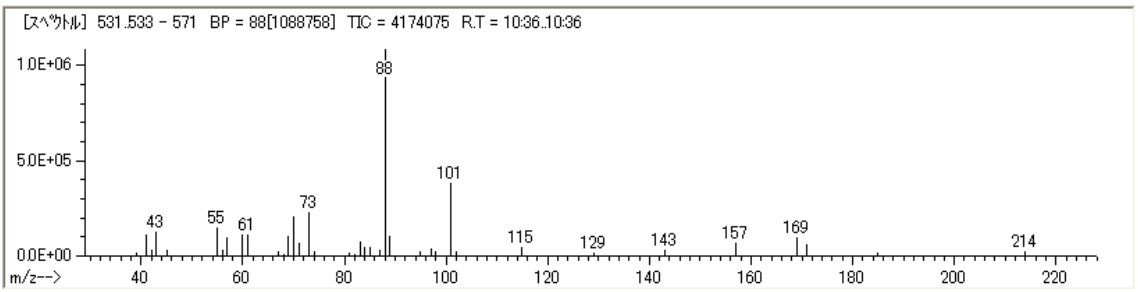


図 12-5　ウンデカン酸エチルのマススペクトル

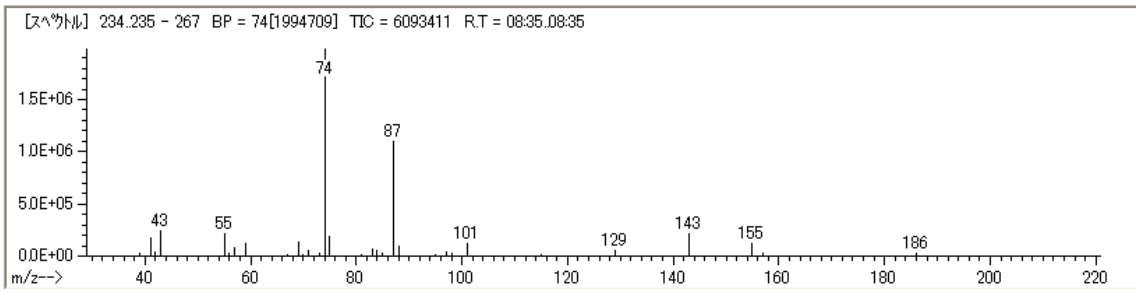


図 12-6　デカン酸メチルのマススペクトル

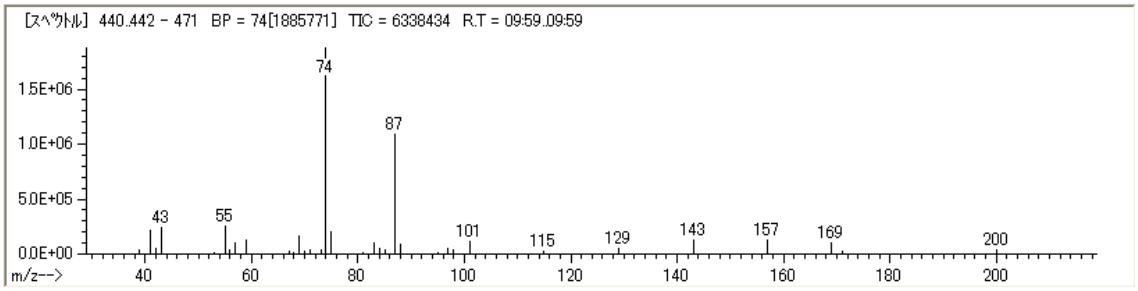


図 12-7　ウンデカン酸メチルのマススペクトル

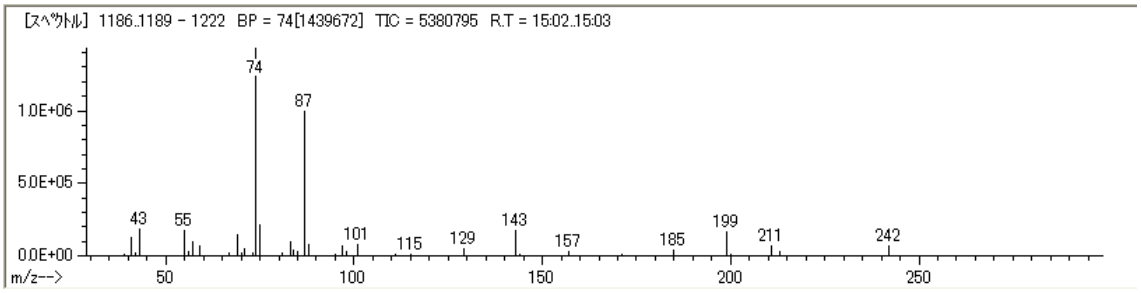


図 12-8　テトラデカン酸メチルのマススペクトル

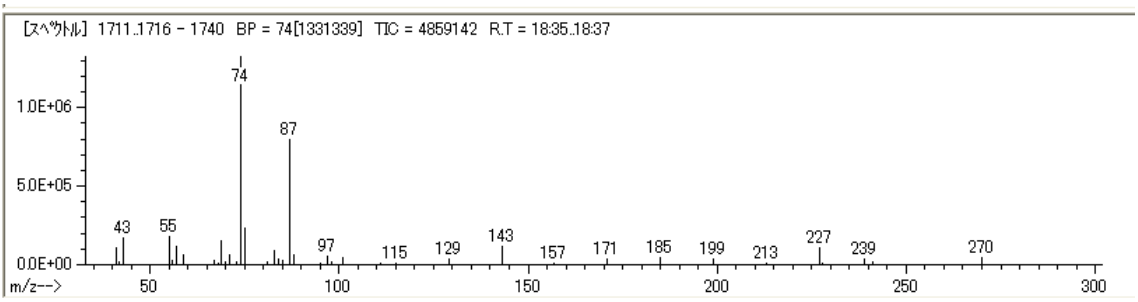


図 12-9　パルミチン酸メチルのマススペクトル

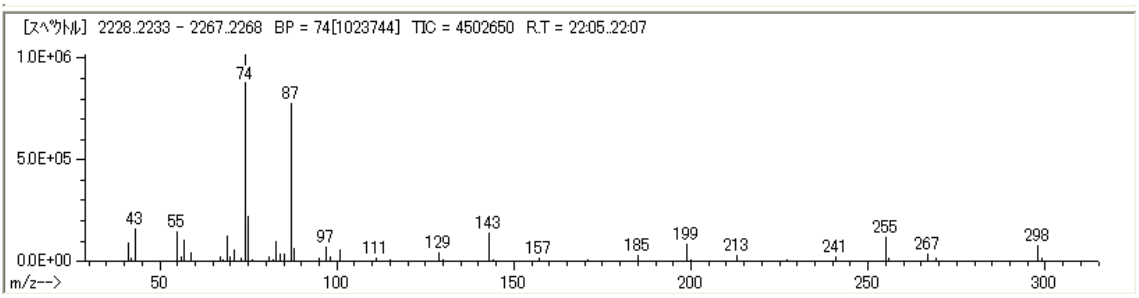


図 12-10　ステアリン酸メチルのマススペクトル

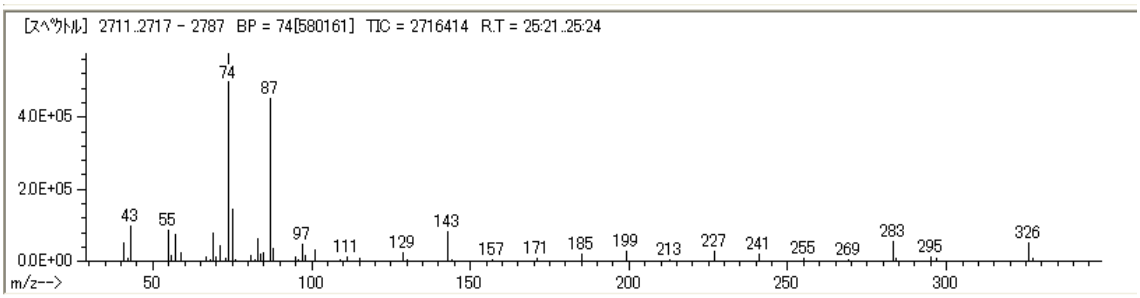


図 12-11　イコサン酸メチルのマススペクトル

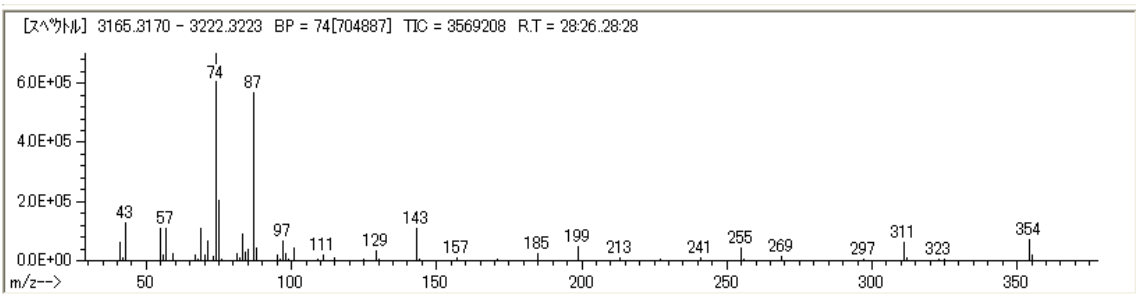


図 12-12　ドコサン酸メチルのマススペクトル

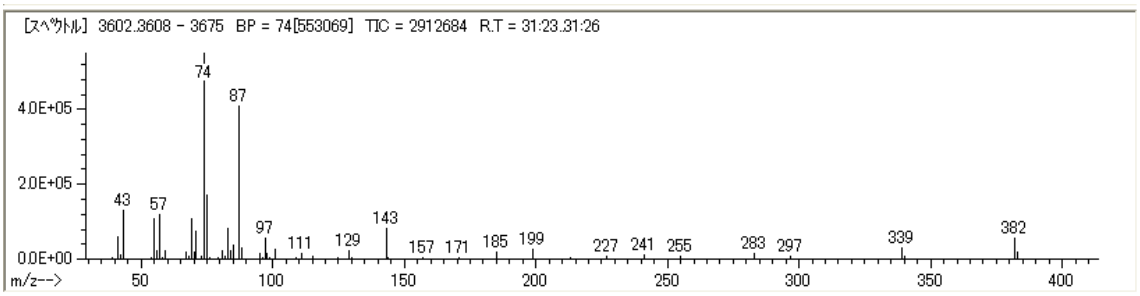
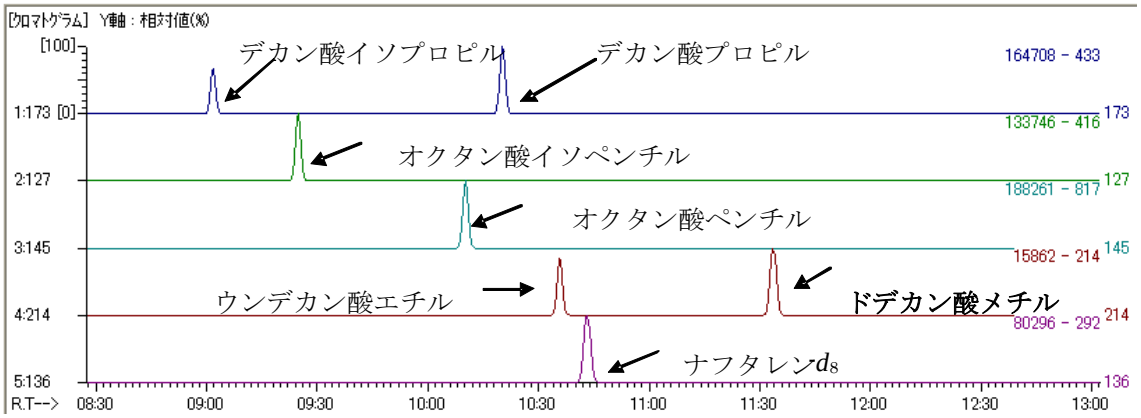


図 12-13　テトラコ酸メチルのマススペクトル

〔標準物質のクロマトグラム〕

標準物質のクロマトグラムを図13に示す。



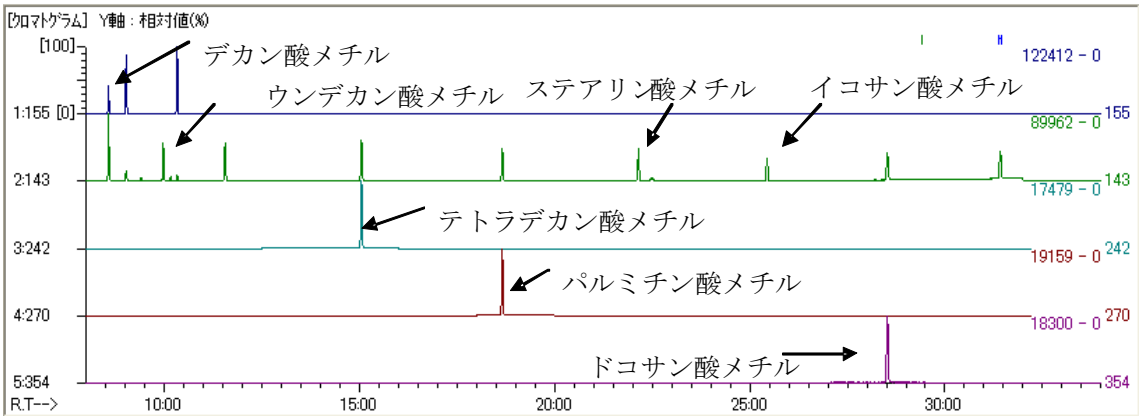
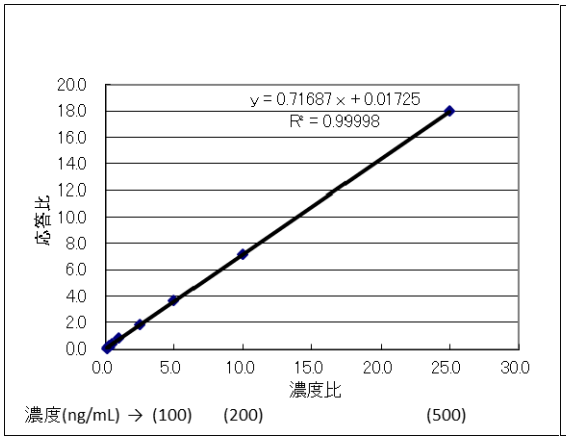


図 13　標準物質のクロマトグラム

〔検量線〕



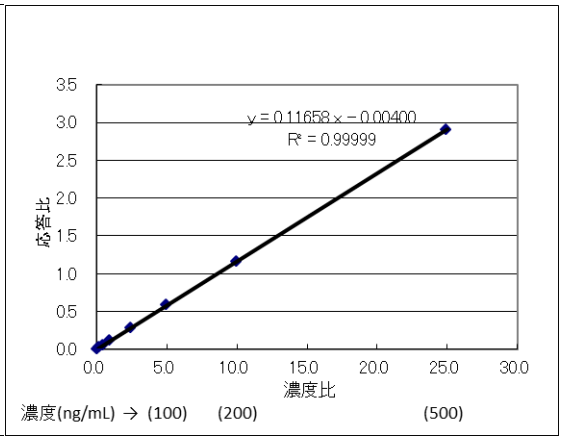
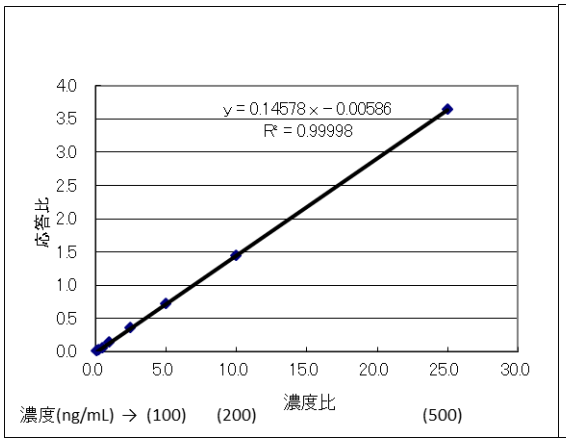


図 14-1　検量線：デカン酸メチル　図 14-2　検量線：デカン酸イソプロピル



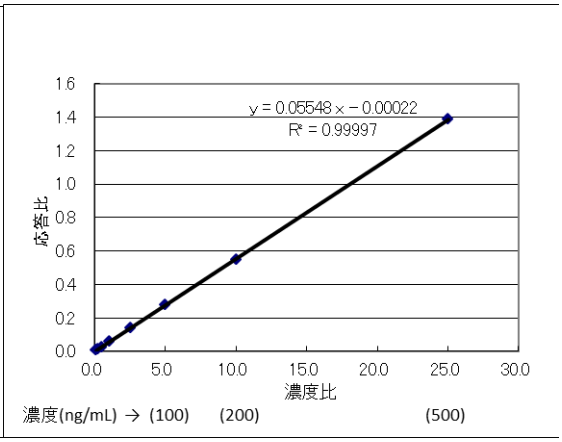
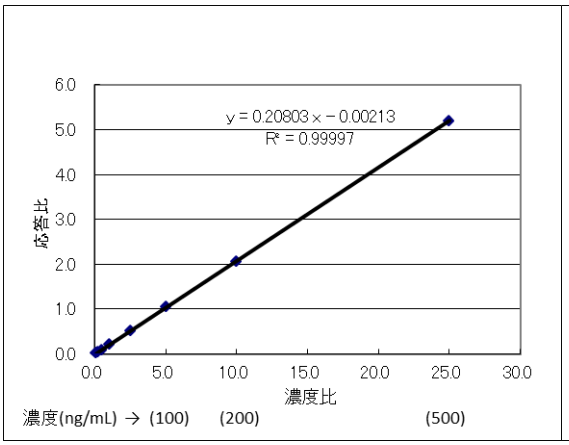


図 14-3　検量線：オクタン酸イソペンチル　図 14-4　検量線：ウンデカン酸メチル



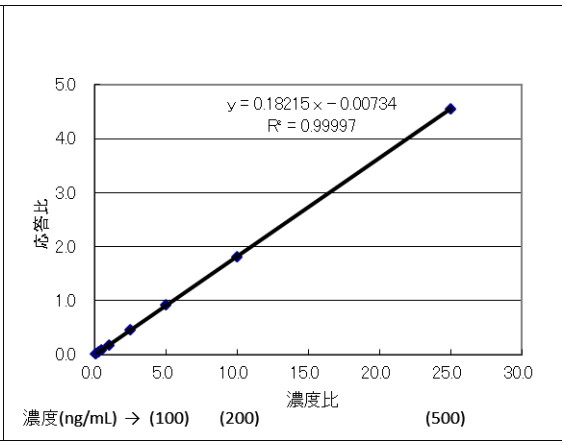


図 14-5　検量線：オクタン酸ペンチル　図 14-6　検量線：デカン酸プロピル

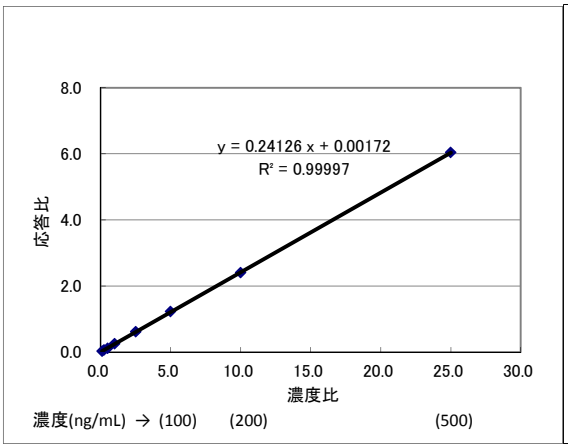


図 14-7　検量線：ウンデカン酸エチル

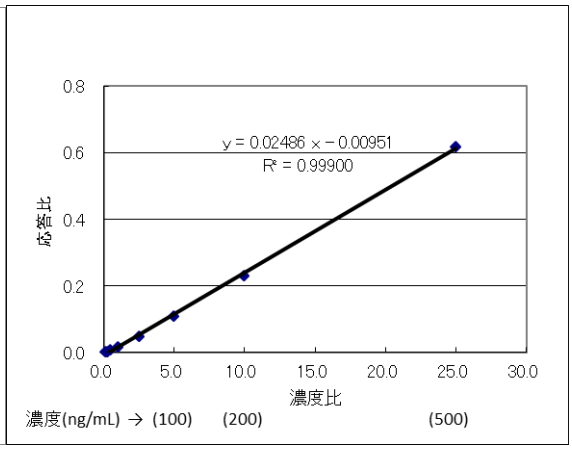


図 14-8　検量線：テトラデカン酸メチル

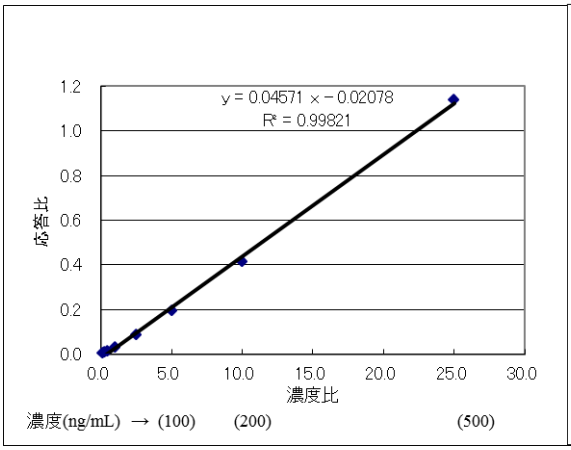


図 14-9　検量線：パルミチン酸メチル

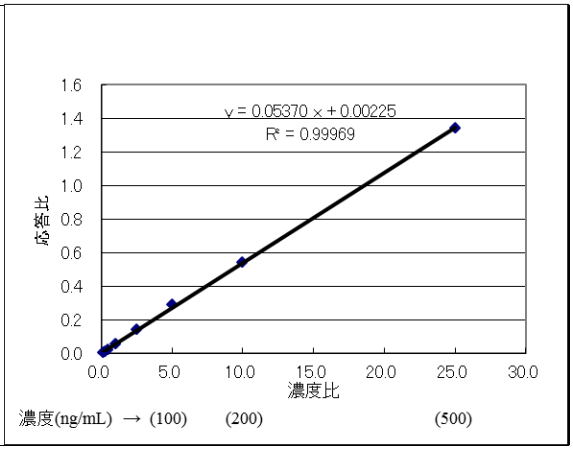


図 14-10　検量線：ステアリン酸メチル

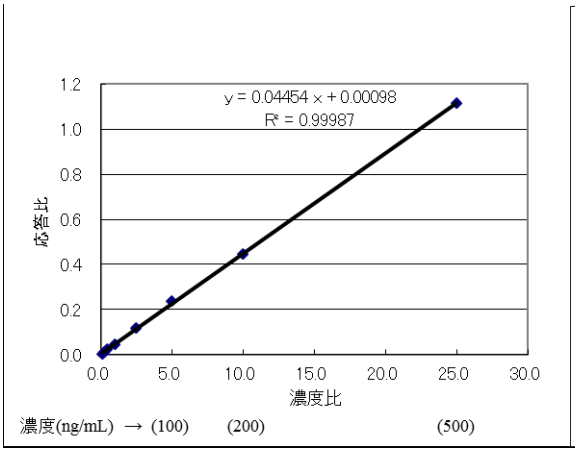


図 14-11　検量線：イコサン酸メチル

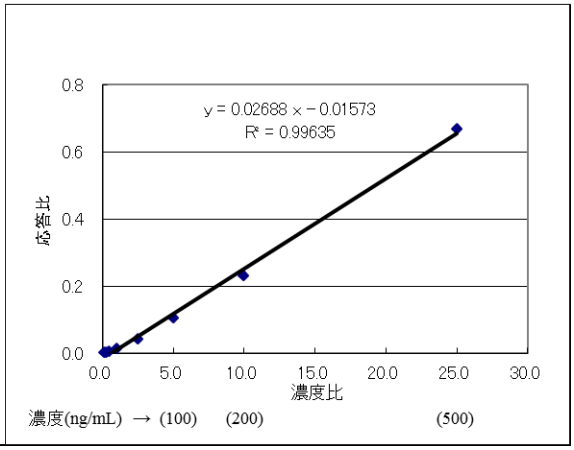


図 14-12　検量線：ドコサン酸メチル

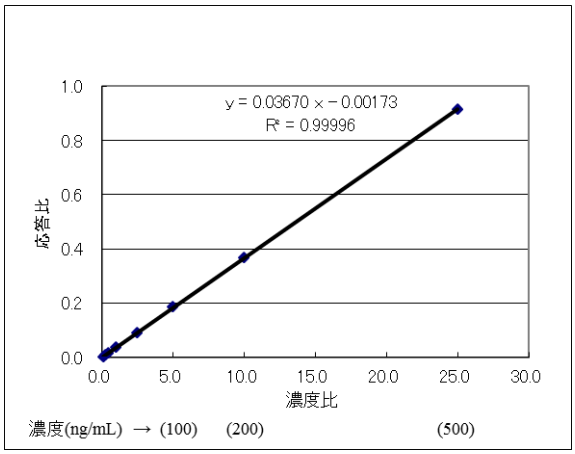


図 14-13　検量線：テトラコ酸メチル

〔操作ブランク〕

操作ブランクのクロマトグラムを図 15 に示す。操作ブランクが検出されたのは、テトラデカン酸メチルとパルミチン酸メチル、ステアリン酸メチルであった。テトラデカン酸メチルは 5%含水シリカゲルの使用により操作ブランクを低減することができるが、パルミチン酸メチルとステアリン酸メチルの操作ブランクはクリーンアップ工程以外からの検出が疑われるが、原因の特定には至っていない。特に、ステアリン酸メチルは、操作ブランクを一定にコントロールすることが比較的困難であり、更なる検討が必要と考えられる。

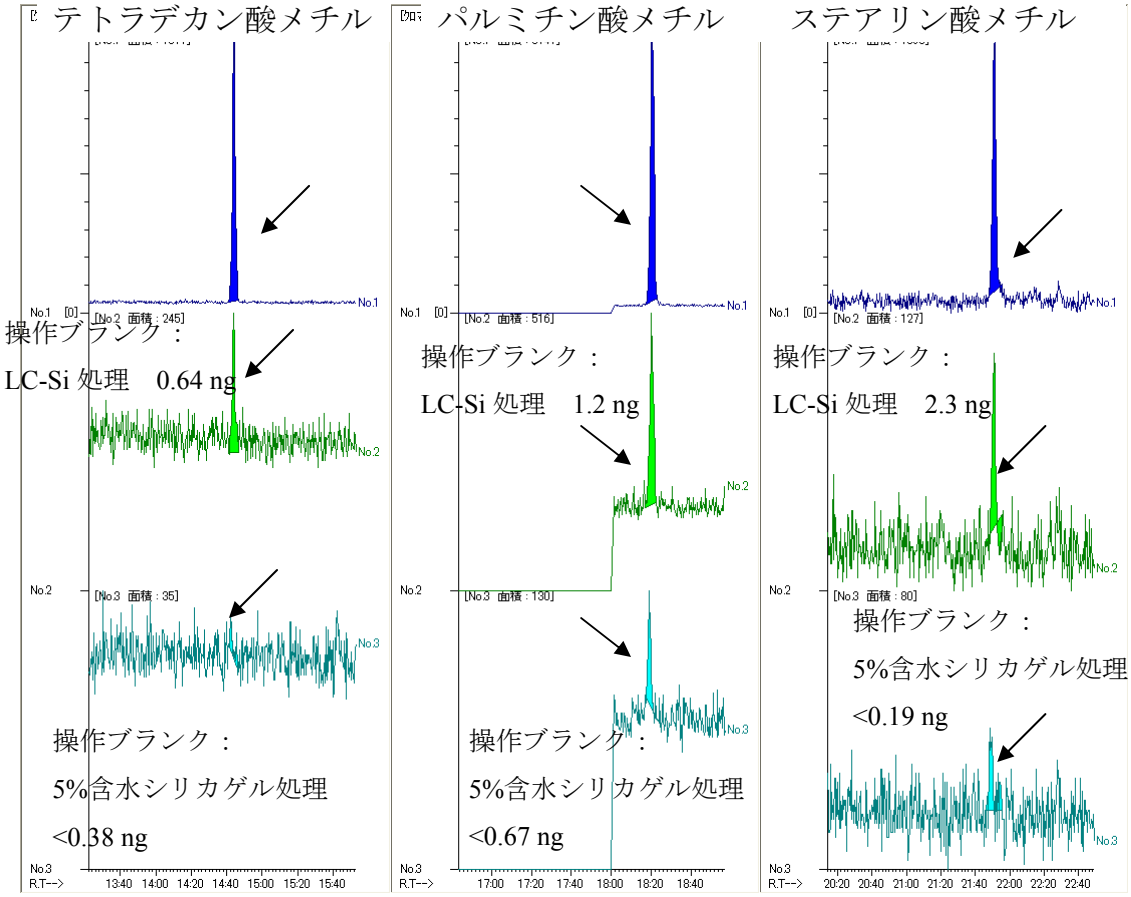


図 15　操作ブランクのクロマトグラム
（テトラデカン酸メチル、パルミチン酸メチル、ステアリン酸メチル）

〔**IDL、MDL 及び MQL**〕

IDL、MDL 及び MQL の算出結果を表 16、表 17 に示す。

表 16-1　IDL の算出結果

物質名	デカン酸メチル	デカン酸イソプロピル	オクタン酸イソペンチル	ウンデカン酸メチル	オクタン酸ペンチル	デカン酸プロピル	ウンデカン酸エチル
試料量(L)	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
最終液量 (mL)	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
注入液濃度 (ng/mL)	2.00	2.00	2.00	5.00	2.00	2.00	2.00
装置注入量(μL)	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
結果 1 (ng/mL)	1.74	2.16	2.06	5.14	2.17	2.03	1.96
結果 2 (ng/mL)	1.77	2.38	2.02	5.00	2.24	2.08	2.00
結果 3 (ng/mL)	1.79	2.21	2.15	5.01	2.15	2.20	2.05
結果 4 (ng/mL)	1.76	2.36	2.07	5.01	2.13	2.03	2.06
結果 5 (ng/mL)	1.81	2.22	2.06	5.06	2.09	2.05	2.02
結果 6 (ng/mL)	1.71	2.35	2.03	5.03	2.14	2.17	2.01
結果 7 (ng/mL)	1.76	2.32	2.04	5.18	2.13	2.15	1.94
平均値 (ng/mL)	1.763	2.286	2.060	5.061	2.150	2.100	2.004
標準偏差 (ng/mL)	0.0341	0.0885	0.0427	0.0717	0.0451	0.0731	0.0426
IDL(ng/mL) *	0.13	0.34	0.17	0.28	0.18	0.28	0.17
IDL 試料換算値 (ng/L)	0.13	0.34	0.17	0.28	0.18	0.28	0.17
S/N 比	77	21	46	17	30	31	23
CV(%)	1.9	3.9	2.1	1.4	2.1	3.5	2.1

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

表 16-2　IDL の算出結果

物質名	テトラデカン酸メチル	パルミチン酸メチル	ステアリン酸メチル	イコサン酸メチル	ドコサン酸メチル	テトラコ酸メチル
試料量(L)	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
最終液量 (mL)	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
注入液濃度 (ng/mL)	5.00	5.00	2.00	5.00	5.00	2.00
装置注入量(μL)	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
結果 1 (ng/mL)	5.09	4.91	2.19	5.11	4.91	2.04
結果 2 (ng/mL)	4.90	4.73	2.16	5.17	5.02	2.22
結果 3 (ng/mL)	5.05	5.09	2.06	5.17	5.18	1.91
結果 4 (ng/mL)	5.08	5.09	2.16	5.08	5.23	2.10
結果 5 (ng/mL)	5.07	4.90	2.13	5.16	5.27	2.15
結果 6 (ng/mL)	5.06	5.19	2.15	4.95	5.33	2.27
結果 7 (ng/mL)	5.23	5.19	2.08	5.08	5.24	2.10
平均値 (ng/mL)	5.069	5.012	2.131	5.102	5.168	2.112
標準偏差 (ng/mL)	0.0972	0.1717	0.0480	0.0792	0.1493	0.1164
IDL(ng/mL) *	0.38	0.67	0.19	0.31	0.58	0.45
IDL 試料換算値 (ng/L)	0.38	0.67	0.19	0.31	0.58	0.45
S/N 比	15	19	49	14	17	18
CV(%)	1.9	3.4	2.3	1.6	2.9	5.5

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

表 17-1　MDL 及び MQL の算出結果

物質名	デカン酸メチル	デカン酸イソプロピル	オクタン酸イソペンチル[*5]	ウンデカン酸メチル	オクタン酸ペンチル	デカン酸プロピル	ウンデカン酸エチル
試料	河川水	河川水	河川水	河川水	河川水	河川水	河川水
試料量 (L)	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
標準添加量 (ng)	1.00	2.00	1.00	2.00	1.00	2.00	2.00
試料換算濃度 (ng/L)	1.00	2.00	1.00	2.00	1.00	2.00	2.00
最終液量 (mL)	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
注入液濃度 (ng/mL)	1.00	2.00	1.00	2.00	1.00	2.00	2.00
装置注入量 (μL)	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
操作ﾌﾞﾗﾝｸ平均 (ng/L)[*1]	<0.13	<0.34	<0.17	<0.28	<0.18	<0.28	<0.17
無添加平均 (ng/L)[*2]	<0.13	<0.34	<0.17	<0.28	<0.18	<0.28	<0.17
結果 1 (ng/L)	0.950	1.73	0.865	1.18	0.824	1.50	1.84
結果 2 (ng/L)	0.698	1.95	1.00	1.22	0.692	1.36	1.82
結果 3 (ng/L)	0.954	1.87	0.805	1.26	0.757	1.49	2.02
結果 4 (ng/L)	1.03	1.92	0.782	1.38	0.838	1.66	1.87
結果 5 (ng/L)	0.988	1.87	0.806	1.33	0.699	1.38	1.74
結果 6 (ng/L)	1.03	1.63	0.838	1.42	0.751	1.49	1.81
結果 7 (ng/L)	1.00	1.83	0.849	1.60	0.852	1.53	1.98
平均値 (ng/L)	0.9496	1.828	0.8500	1.340	0.7731	1.487	1.870
標準偏差 (ng/L)	0.115	0.111	0.0739	0.142	0.0658	0.0986	0.0992
MDL (ng/L)[*3]	0.45	0.43	0.29	0.55	0.26	0.38	0.39
MQL (ng/L)[*4]	1.2	1.11	0.74	1.4	0.66	0.99	0.99
CV(%)	12.2	6.1	8.7	10.6	8.5	6.6	5.3
S/N 比	20	16	8.5	5.2	9.1	22	13

表 17-2　MDL 及び MQL の算出結果

物質名	テトラデカン酸メチル[*5]	パルミチン酸メチル[*5]	ステアリン酸メチル	イコサン酸メチル	ドコサン酸メチル	テトラコ酸メチル
試料	河川水	河川水	河川水	河川水	河川水	河川水
試料量 (L)	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
標準添加量 (ng)	5.00	5.00	1.00	5.00	5.00	2.00
試料換算濃度 (ng/L)	5.00	5.00	1.00	5.00	5.00	2.00
最終液量 (mL)	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
注入液濃度 (ng/mL)	5.00	5.00	1.00	5.00	5.00	2.00
装置注入量 (μL)	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
操作ﾌﾞﾗﾝｸ平均 (ng/L)[*1]	1.22	1.44	0.37	<0.31	<0.58	<0.45
無添加平均 (ng/L)[*2]	1.12	1.26	0.39	<0.31	<0.58	<0.45
結果 1 (ng/L)	4.50	5.52	1.19	3.72	3.41	1.89
結果 2 (ng/L)	5.08	6.92	0.91	3.12	2.60	1.28
結果 3 (ng/L)	4.43	5.67	0.96	3.65	2.69	1.58
結果 4 (ng/L)	4.45	5.88	1.19	3.70	3.97	2.13
結果 5 (ng/L)	4.93	5.84	0.95	3.66	3.17	1.67
結果 6 (ng/L)	4.09	5.43	1.12	3.93	3.17	1.81
結果 7 (ng/L)	4.67	5.85	1.06	3.74	3.49	1.74
平均値 (ng/L)	4.591	5.872	1.055	3.646	3.214	1.731
標準偏差 (ng/L)	0.333	0.493	0.117	0.250	0.474	0.264
MDL (ng/L)[*3]	1.3	1.9	0.46	1.0	1.8	1.0
MQL (ng/L)[*4]	3.3	4.9	1.2	2.5	4.7	2.6
CV(%)	7.3	8.4	11.1	6.9	14.7	15.2
S/N 比	25	38	6.5	11	27	54

*1：精製水 1 L を同様の操作を行い測定した値の平均値(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=2)

*3：$MDL=t(n-1,0.05)\times\sigma_{n-1}\times2$

*4：$MQL=\sigma_{n-1}\times10$

*5：LC-Si 処理によりモニターイオンに妨害ピークがあったため、LC-Si 処理をしなかった値である。

〔環境試料の分析〕

環境試料のクロマトグラムを図 16 に示す。テトラデカン酸メチルは倉敷川（下灘橋）から検出され、パルミチン酸メチルとステアリン酸メチルは笹ヶ瀬川（比丘尼橋）と倉敷川（下灘橋）から検出された。

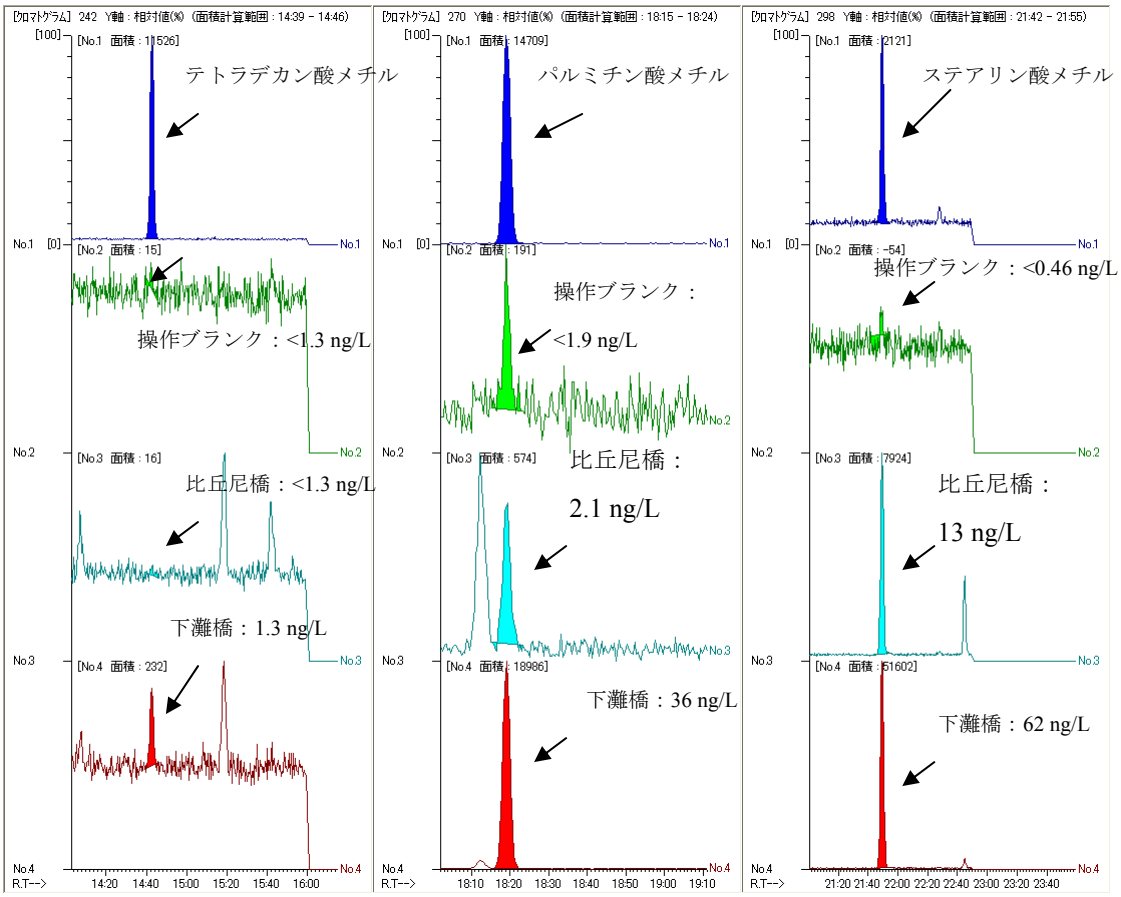


図 16　環境試料のクロマトグラム

【評価】

本法は水質中のドデカン酸メチルの分析に適用でき、2.00 ～ 500 ng/mL の濃度範囲で直線性 (r^2 > 0.9994) が確認され、MDL は 1.1 ng/L、MQL は 2.9 ng /L であった。河川水及び海水を用いた添加回収試験の回収率は、88 ～ 104%であった。

本法で環境試料を分析したところ、河川水から最大で 2.2 ng/L 検出された。

また、この分析法は対象物質を含む 14 種類の飽和カルボン酸エステルを同時分析することが可能である。

【参考文献】

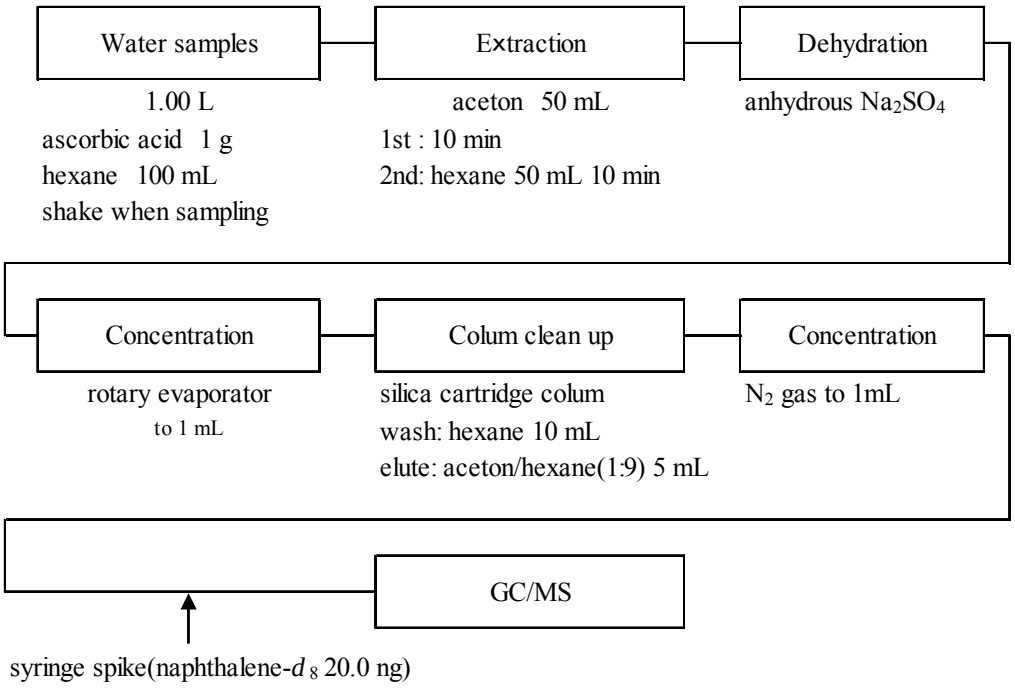
1) シグマアルドリッチジャパン：脂肪酸/FAMEs アプリケーションガイド
http://www.sigma-aldrich.co.jp/up_catalog/SAJ1357.pdf

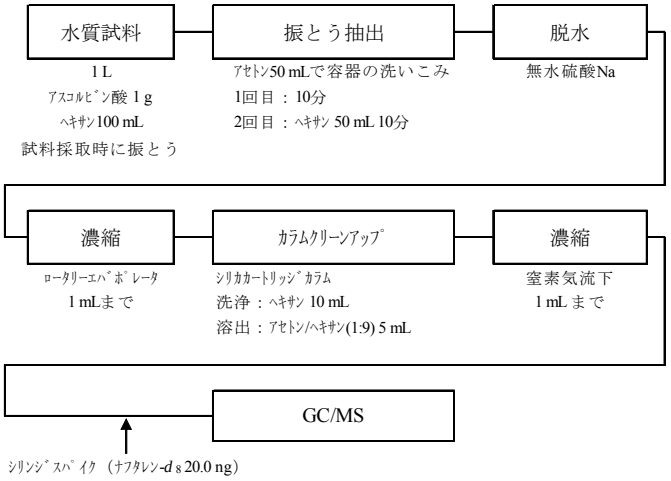
【担当者連絡先】

所属先名称 ：岡山県環境保健センター
所属先住所 ：〒701-0298 岡山市南区内尾 739-1
TEL：086-298-2681 FAX：086-298-2088
担当者名 ：吉岡敏行
E-mail ：toshiyuki_yoshioka@pref.okayama.lg.jp

Methyl dodecanoate

An analytical method is developed for the determination of methyl dodecanoate in water by gas-chromatography mass spectrometry (GC/MS). One liter of water sample is collected in the glass bottle added with 1 g of ascorbic acid and 100 mL of hexane, and shaken immediately at the time of sampling. Water sample is took to the laboratory and transferred to a separatory funnel. The glass bottle is washed with 50 mL of acetone, added to the water sample, and extracted with hexane. After separating hexane from the water sample, the water sample is extracted with 50 mL of hexane again. The extract is dehydrated with anhydrous sodium sulfate, and concentrated to about 1mL using a rotary evaporator. The extract is applied to silica cartridge column, and washed with 5 mL of hexane and eluted with 5 mL of acetone/hexane (10:90). The eluate is concentrated to 1 mL under gentle stream of ultra-pure grade nitrogen gas, and added 20 ng of naphthalene-d_8 as a syringe spike (internal standard). The analyte is determined by GC/MS-SIM. The instrument detection limit (IDL) of methyl dodecanoate is 0.35 ng/L.The method detection limit (MDL) of methyl dodecanoate is 1.1 ng/L. The method quantification (MQL) of methyl dodecanoate is 2.9 ng/L. The average of recoveries (n = 6) from 25 ng added river water was 104%. The average of recoveries (n = 6) from 25 ng added sea water was 88%. Using this method, methyl dodecanoate was detected in river water in Okayama prefecture.



物質名	分析法フローチャート	備　　考
メチル=ドデカノアート 別名：ドデカン酸メチル	【水質】  	分析原理： GC/MS-SIM-EI 検出下限値： 【水質】(ng/L) 1.1 分析条件： 機器 GC：Agilent 7890 MS：JEOL JMS-Q1000GC MKⅡ カラム HP-INNOWAX 30 m × 0.25 mm、 0.25 μm

一般財団法人化学物質評価研究機構
［対象媒体：水質］

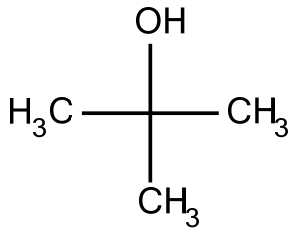
2-メチルプロパン-2-オール

2-Methylpropan-2-ol

別名：*t*-ブチルアルコール、ダイ 3 ブタノール、トリメチルカルビノール、ブタノール

t-Butyl alcohol, Dye-3-butanol, Trimethylcarbinol, Butanol

【対象物質の構造】



CAS 番号：75-65-0

分子式：$C_4H_{10}O$

【物理化学的性状】

分子量[*2)]（ﾓﾉｱｲｿﾄﾋﾟｯｸ質量）	比重[*1)] (g/cm^3) (20°C)	沸点[*1)] (°C)	融点[*1)] (°C)	蒸気圧[*1)] (hPa) (25°C)	水溶解度[*1)] (mg/L) (25°C)	log P_{ow}[*1)] (計算値)
74.12～74.14 (74.073)	0.78581	82.41	25.7	55.2	1000000	0.35

【毒性、用途等】

〔**毒性**〕[*1)]

環境中運命	生分解性	好気的生分解（化審法）：難分解性と判定 好気的生分解（その他）：条件によっては緩やかに生分解される 嫌気的生分解：条件によっては緩やかに生分解される
	生物濃縮性	濃縮性がない又は低いと判定（化審法） 生物濃縮係数 BCF：<0.5 (6ppm)、<5 (0.6ppm) (コイ) オクタノール/水分配係数 log K_{ow}: 0.37

環境影響	藻類に関する毒性	急性:72 時間 EC_{50}: >1000 mg/L (生長速度)、≧1000 mg/L(バイオマス) (セネデスムス 生長阻害 淡水 GLP) 慢性：72 時間 NOEC: ≧1000 mg/L(セネデスムス 生長阻害 バイオマス 淡水 GLP)
	無脊椎動物に関する毒性	急性：48 時間 EC_{50}: 933 mg/L(オオミジンコ 遊泳阻害 淡水)、24 時間 EC_{50}: 3800 mg/L(ブラインシュリンプ 遊泳阻害 海水)
	魚類に対する毒性	急性:24 時間 LC_0: 3000 mg/L、LC_{100}: 6000 mg/L(ウグイ類)、7 日間 LC_{50}: 3550 mg/L(グッピー)、96 時間 LC_{50}: 6410 mg/L(ファットヘッドミノー)、24 時間 LC_{50}: >5000 mg/L (キンギョ)
健康影響	急性毒性	経口：LD_{50}: 2200-3100 mg/kg(ラット)、3500-3600 mg/kg(ウサギ)、2600 mg/kg(マウス) 吸入：LC_{50}: >10000 ppm(ラット 4 時間) 経皮:LD_{50}: >2000 mg/kg（ウサギ)、>10 mL/kg (モルモット)
	刺激性及び腐食性	皮膚：軽度(ウサギ 500 μL 24 時間 GLP) 眼：中等度 (洗眼後 96 時間)、強度 (未洗眼 96 時間)、角膜損傷(34 日 2/6 匹) (ウサギ 100 μL GLP)
	反復投与毒性	経口：LOAEL: 1.25 mg/mL (90 mg/kg/日) (ラット 2 年間 飲水 雄の腎臓に対する作用) 吸入：NOAEL: 540 ppm(ラット 13 週間 雄の腎臓重量の増加及び雌の肝重量の増加) 備考：毒性影響は膀胱及び腎臓などの泌尿器系に対して多く報告されている
	生殖･発生毒性	経口: NOAEL: 400 mg/kg(ラット 強制経口 妊娠期間の延長、生存児数の減少、生存児低体重等 OECDTG421 GLP) 経口: LOAEL: 1556 mg/kg/日(マウス 妊娠 6-18 日目 強制経口 吸収胚の増加、生存児数の減少) 吸入: LOAEL: 2000ppm(1318 mg/kg/日) (ラット 妊娠 1-19 日目 吸入暴露 生存胎児体重低値)
	遺伝毒性	遺伝毒性を有する可能性は小さい *in vitro* 及び *in vivo* 試験報告あり

発がん性	(結論の記述なし) 実験動物に対する発がん性試験報告あり

発がん性

評価機関	評価内容
ACGIH	A4：ヒトに対して発がん性物質として分類できない物質 (100 ppm)

〔用途〕*1)

香料、溶剤、洗浄剤、合成中間体、浮遊選鉱剤、ガソリンのオクタン価を高める添加剤、エチルアルコール変性剤、ペイント除去剤

出典

*1) 独立行政法人製品評価技術基盤機構：化学物質総合情報提出システム (CHRIP)

*2) 神奈川県化学物質安全情報提供システム (kis-net)

§1 分 析 法

(1) 分析法の概要

水質試料に内標準物質を添加し、パージ・トラップ-GC/MS-SIM 法で測定する。

(2) 試薬・器具

【試薬】（注 1）

2-メチルプロパン-2-オール	：和光純薬工業製　和光特級 (99.0%)
2-メチルプロパン-2-オール-d_{10}	：SIGMA ALDRICH 製 (99%)
アセトン	：関東化学製 残留農薬試験・PCB 試験用 300 倍濃縮（注 2）
精製水	：ミネラルウォーター（ボルビック）（注 2）
塩化ナトリウム	：関東化学製　残留農薬試験・PCB 試験用 150°C で 2 時間乾燥させたものを使用する。

【標準液の調製】

〔標準液〕

2-メチルプロパン-2-オール 50.0 mg をあらかじめアセトンを約 40 mL 入れておいた 50 mL メスフラスコに量り取り、アセトンを加えて定容し、1000 μg/mL の標準原液とする。

〔内標準液〕

2-メチルプロパン-2-オール-d_{10} 50.0 mg をあらかじめアセトンを約 40 mL 入れておいた 50 mL メスフラスコに量り取り、アセトンを加えて定容し、1000 μg/mL の内標準原液とする。この内標準原液(1000 μg/mL)を精製水で順次希釈し、10.0 μg/mL の内標準液を調製する。

〔検量線用標準液〕

1000 μg/mL 標準原液を精製水で順次希釈し、検量線用標準液を調製する。検量線用標準液の各濃度は、1.00 ～ 500 μg/mL とする。

【器具】

マイクロシリンジ　：内標準の添加に用いる（注 3）。
バイアル　：VOC 測定用（内容量 40 mL）

(3) 分析法

【試料の採取及び保存等】

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）の「試料の採取及び検体の調製等」に従って採取する。特に、揮発性有機物質の分析試料の採取方法に従って、気泡が入らないように採取し、試料搬入後は速やかに分析する。

【試料の前処理及び試験液の調製】

50 mL メスフラスコに水質試料を気泡が入らないよう入れて標線に合わせ、内標準液(10.0 μg/mL) 5.00 μL を添加し、ゆるやかに混合する。これをあらかじめ塩化ナトリウム 8 g を入れたバイアルに気泡が入らないように入れて満水にし、塩化ナトリウムが溶解するまで転倒攪拌し、試験液とする。

【空試験液の調製】

試料水と同量の精製水を用い、**【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。

【測定】

〔GC/MS 測定条件〕

GC/MS 機器	：GCMS-QP2010 Ultra（島津製作所製）
カラム	：DB-624（Agillent 製） 60 m × 0.32 mm × 1.8 μm
昇温条件	：35°C (5 min) → 10°C/min → 125°C → 30°C/min → 230°C (5 min)
注入法	：ダイレクト
キャリヤーガス	：2.5 mL/min（定流量）
インターフェース温度	：230°C
イオン源温度	：200°C
イオン化電圧	：70 eV

イオン化法	：電子イオン化法 (EI)
検出モード	：Selected Ion Monitoring（SIM）
モニターイオン	：2-メチルプロパン-2-オール
	（定量）*m/z* 59
	（確認）*m/z* 31、41、57
	：2-メチルプロパン-2-オール-d_{10}
	（定量）*m/z* 65
	（確認）*m/z* 66

〔パージ・トラップ条件〕

装置	：AQUA PT 5000J PLUS（GL サイエンス製）
クライオフォーカス	：-100°C
塩析	：あり（注 4）
吸着管	：AQUA-TRAP1（GL サイエンス製）
キャリア圧力	：100 kpa
バルブ温度	：150°C
トランスファー温度	：150°C
マウント温度	：60°C
MSC 温度	：40°C
パージ温度	：60°C
パージ時間	：6 min
パージ流量	：40 mL/min
ドライパージ時間	：3 min
ドライパージ温度	：20°C
ドライパージ流量	：40 mL/min
ディソーブ温度	：225°C
ディソーブ時間	：6 min
パージ試料量	：5 mL

〔検量線〕

50 mL メスフラスコに精製水を入れて標線に合わせ、検量線用標準液 5.00 µL 及び内標準液(10.0 µg/mL）5.00 µL を添加し、ゆるやかに混合する。これをあらかじめ塩化ナトリウム 8 g を入れたバイアルに気泡が入らないように入れて満水にし、塩化ナトリウムが溶解するまで転倒攪拌した後、パージ・トラップ-GC/MS に導入し、対象物質と内標準物質の濃度比及び得られたピーク面積比から検量線を作成する。

〔定量〕

試験液をパージ・トラップ-GC/MS に導入し、得られた対象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に照らして定量する。

〔濃度の算出〕

試料水中濃度 C (ng/L) は次式により算出する。

$C = R \cdot Q/V$

R : 検量線から求めた内標準物質濃度に対する対象物質濃度の比

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 = 50.0 (ng)

（= 添加内標準の濃度 (10.0 ng/μL) × 添加内標準の容量 (5.00 μL)）

V = 0.0500 (L)

即ち、

$C = R \times 1000$ (ng/L)

である。

〔装置検出下限値(IDL)〕

本分析に用いたパージ・トラップ-GC/MS の IDL を表 1 に示す（注 5)。

表 1　IDL の算出結果

物質名	IDL (ng/mL)	試料量 (L)
2-メチルプロパン-2-オール	0.021	0.050

〔測定方法の検出下限値(MDL)及び定量下限値(MQL)〕

本測定方法における MDL 及び MQL を表 2 に示す（注 6)。

表 2　MDL 及び MQL の算出結果

物質名	媒体名	試料量 (L)	MDL (μg/L)	MQL (μg/L)
2-メチルプロパン-2-オール	水質	0.050	0.021	0.055

注　解

（注 1）ここで示す製品は実際に使用した商品を掲げたが、これらを推奨するわけではなく、これらと同等以上の品質、性能のものを用いても問題ない。
（注 2）使用前に空試験を行い、ブランクが検出されないことを確認する。
（注 3）吐出誤差 2%以下であることをあらかじめ確認しておくことが望ましい。精度を保証するため、校正されたデジタルマイクロシリンジや検量証明書付きマイクロシリンジの使用が有効である。例として SGE 製があるが推奨するものではない。
（注 4）塩析を行っているため、測定後は装置を十分に精製水で洗浄する。
（注 5）IDL は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」（平成 21 年 3 月）に準じて、以下の表 3 のとおり算出した。

表 3　IDL の算出結果

対象物質名	2-メチルプロパン-2-オール
試料量 (L)	0.0500
注入液濃度 (ng/mL)	0.103
結果 1 (ng/mL)	0.107
結果 2 (ng/mL)	0.0968
結果 3 (ng/mL)	0.109
結果 4 (ng/mL)	0.0994
結果 5 (ng/mL)	0.103
結果 6 (ng/mL)	0.104
結果 7 (ng/mL)	0.0949
平均値 (ng/mL)	0.1021
標準偏差 (ng/mL)	0.00533
IDL (ng/mL)*	0.021
S/N 比	22
CV (%)	5.2

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

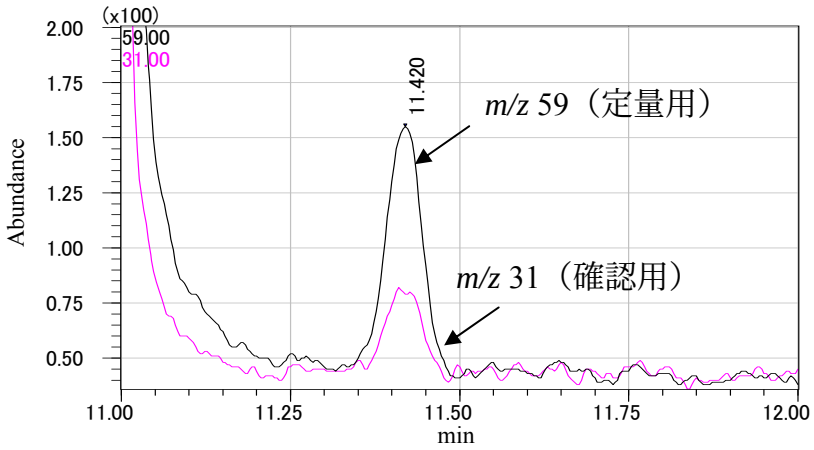


図 1-1　IDL 測定時 (0.103 ng/mL) 2-メチルプロパン-2-オール のクロマトグラム

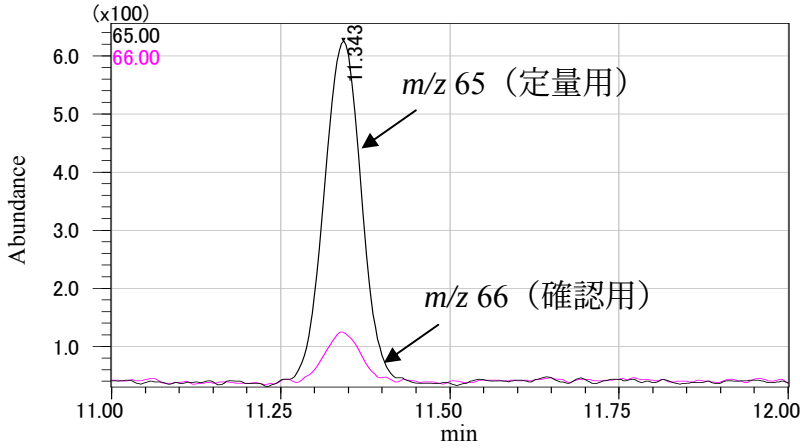


図 1-2　IDL 測定時 2-メチルプロパン-2-オール- d_{10} (1.00 ng/mL) のクロマトグラム

（注 6）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）に準じて、以下の表 4 のとおり算出した。

表 4　MDL 及び MQL の算出

対象物質名	2-メチルプロパン-2-オール
試料	河川水
試料量 (L)	0.0500
標準添加量 (ng)	0.00
最終液量 (L)	0.0500
操作ブランク平均 (μg/L)*1	< 0.021
無添加平均 (μg/L) *2	0.078
結果 1　(μg/L)	0.0732
結果 2　(μg/L)	0.0815
結果 3　(μg/L)	0.0711
結果 4　(μg/L)	0.0871
結果 5　(μg/L)	0.0743
結果 6　(μg/L)	0.0773
結果 7　(μg/L)	0.0787
平均値 (μg/L)	0.07761
標準偏差 (μg/L)	0.00547
MDL (μg/L)*3	0.021
MQL (μg/L)*4	0.055
S/N 比	22
CV (%)	7.0

*1: 試料マトリ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 (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＝7)

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

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

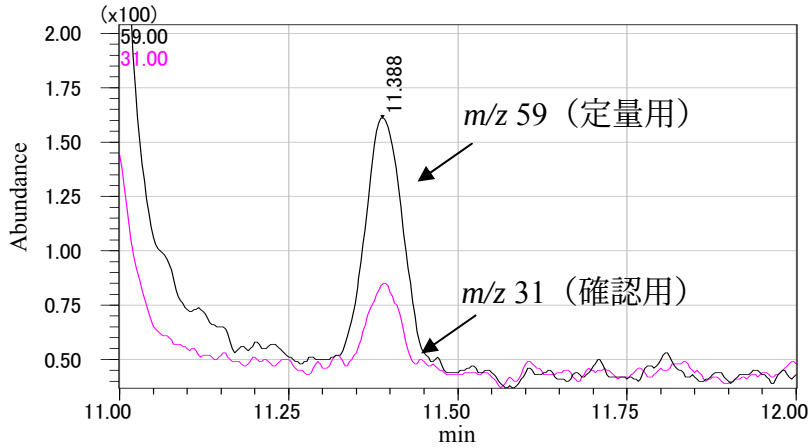


図 2-1　MDL 測定時 2-メチルプロパン-2-オール
のクロマトグラム

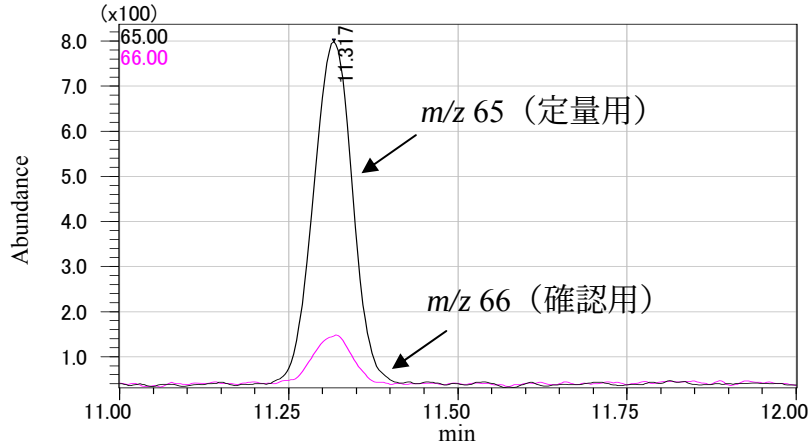


図 2-2　MDL 測定時 2-メチルプロパン-2-オール- d_{10}
(1.00 ng/mL)のクロマトグラム

§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 3 に示す。

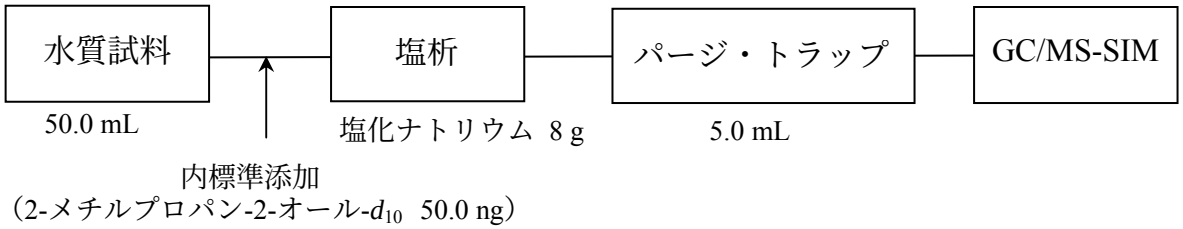


図 3　分析法のフローチャート

〔**検量線**〕

検量線を図 4-1 及び図 4-2 に、検量線作成用データを表 5-1 及び表 5-2 に示す。

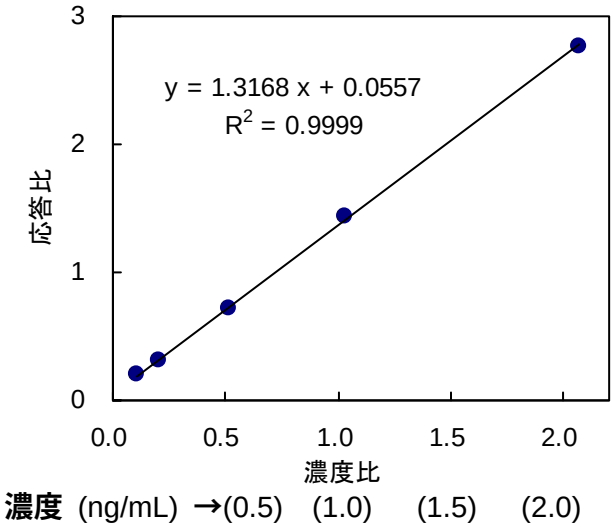


図4-1　低濃度領域の検量線 (0.103 ng/mL ～ 2.06 ng/mL)

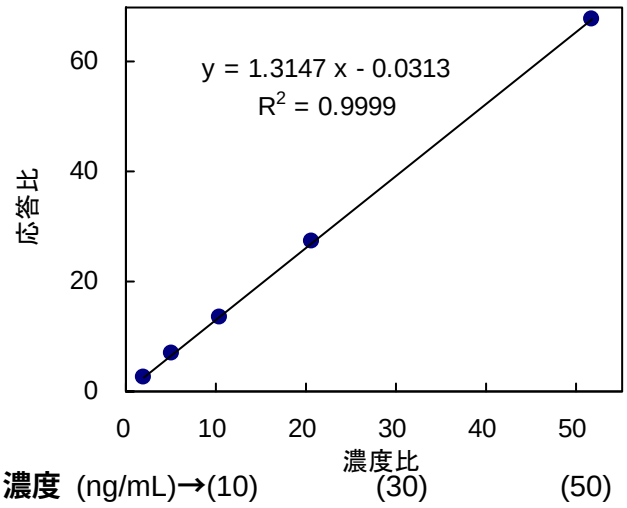


図4-2　高濃度領域の検量線 (2.06 ng/mL ～ 51.6 ng/mL)

表5-1　低濃度領域の検量線作成用データ

濃度比	標準液濃度 (ng/mL) (C_s)	応答値		応答比 (A_s/A_{is})
		対象対象物質 (A_s) [2-メチルプロパン-2-オール] (*m/z* 59)	内標準物質(A_{is}) [2-メチルプロパン-2-オール-d_{10}] (*m/z* 65) *[1]	
0	0	140	2669	0.0525
0.103	0.103	513	2584	0.199
0.206	0.206	786	2474	0.318
0.516	0.516	1897	2613	0.726
1.03	1.03	3691	2576	1.43
2.06	2.06	7112	2570	2.77

*1: 内標準濃度: 1.00 ng/mL (C_{is})

表5-2　高濃度領域の検量線作成用データ*[2]

濃度比	標準液濃度 (ng/mL) (C_s)	応答値		応答比 (A_s/A_{is})
		対象対象物質 (A_s) [2-メチルプロパン-2-オール] (*m/z* 59)	内標準物質(A_{is}) [2-メチルプロパン-2-オール-d_{10}] (*m/z* 65) *[3]	
0	0	182	4113	0.0442
2.06	2.06	13795	5245	2.63
5.16	5.16	33949	4981	6.82
10.3	10.3	66732	5012	13.3
20.6	20.6	122503	4473	27.4
51.6	51.6	326604	4822	67.7

*2: 高濃度領域は低濃度領域と異なる日に測定した。

*3: 内標準濃度: 1.00 ng/mL (C_{is})

〔標準液のクロマトグラム〕

2-メチルプロパン-2-オール及び 2-メチルプロパン-2-オール-d_{10} のクロマトグラムを図 5-1 及び図 5-2 に示す。

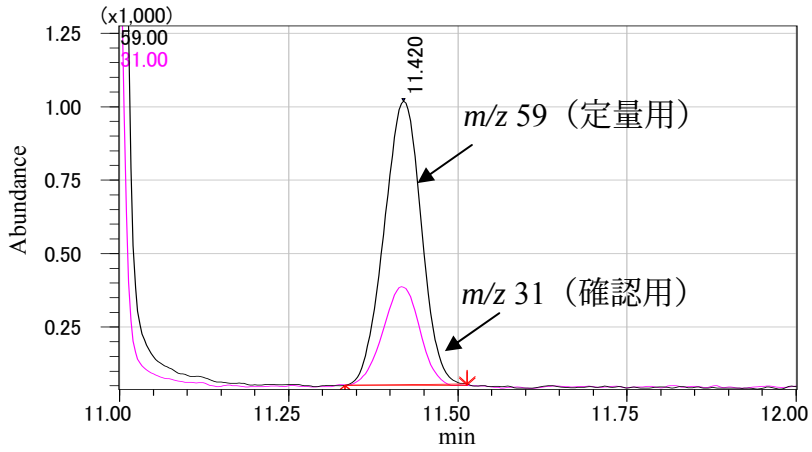


図 5-1　2-メチルプロパン-2-オール (1.03 ng/mL) のクロマトグラム

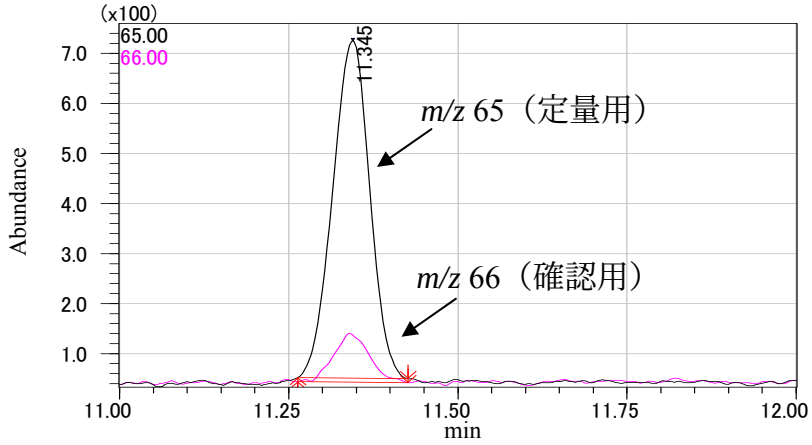


図 5-2　2-メチルプロパン-2-オール- d_{10} (1.00 ng/mL) のクロマトグラム

〔**マススペクトル**〕

検量線用標準液のマススペクトルを図 6-1 及び図 6-2 に示す。

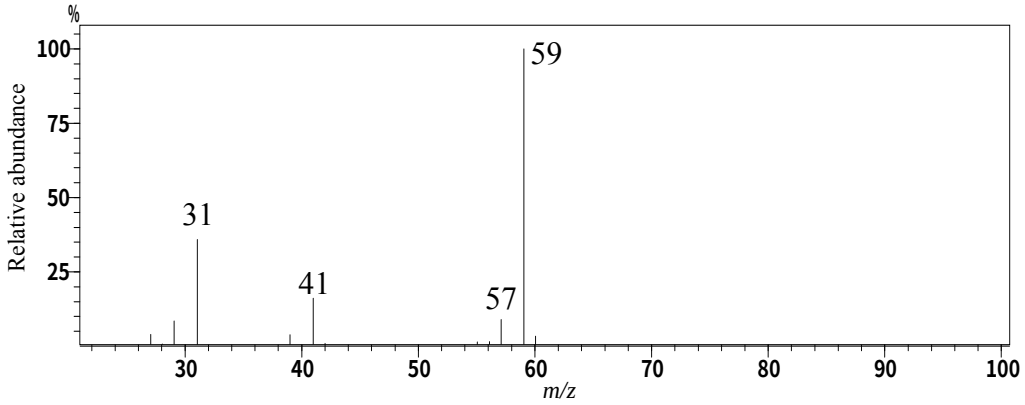


図 6-1　2-メチルプロパン-2-オールのマススペクトル

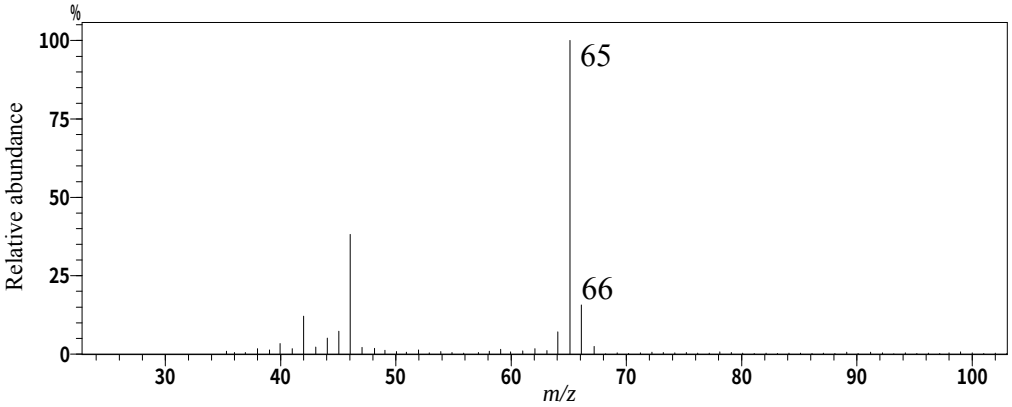


図 6-2　2-メチルプロパン-2-オール- d_{10} のマススペクトル

〔**操作ブランク試験**〕

操作ブランクは微量検出されたが、MDL (21 ng/L) 未満であった（クロマトグラムは〔**添加回収試験**〕を参照）。

〔添加回収試験〕

河川水（和歌山県紀ノ川）、海水（山口県荻沖）への標準物質添加回収試験結果を表 6 に示す。

表 6 添加回収試験結果

試料	試料量 (mL)	添加量 (ng)	試験数	検出濃度 (ng/L)	回収率 (%)	変動係数 (%)
河川水	50.0	無添加	2	75.5	—	—
	50.0	61.5	5	1345	103	0.85
海水	50.0	無添加	2	57.4	—	—
	50.0	61.5	5	1284	99.7	1.2

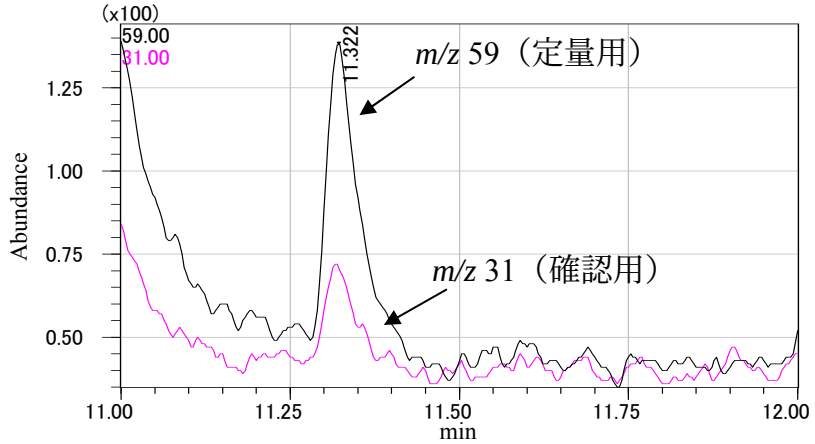


図 7-1　操作ブランクのクロマトグラム

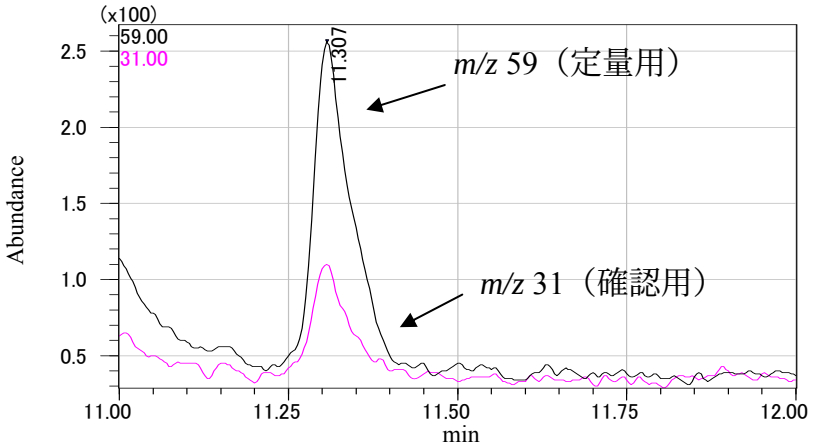


図 7-2　無添加試料（河川水）のクロマトグラム

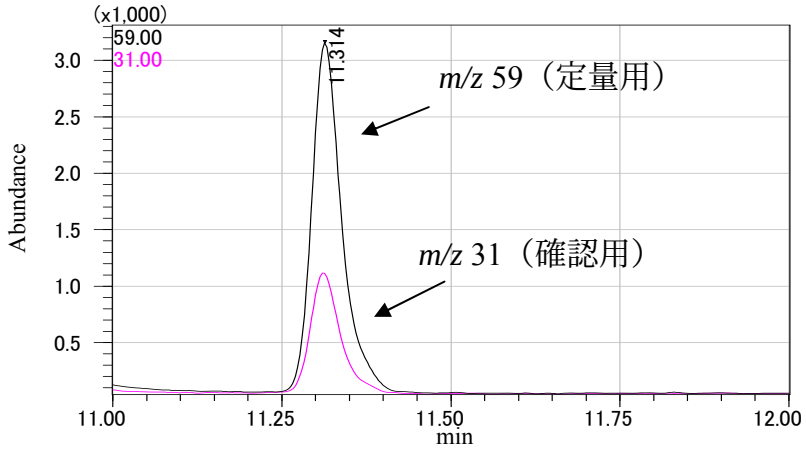


図 7-3　河川水添加回収試験のクロマトグラム

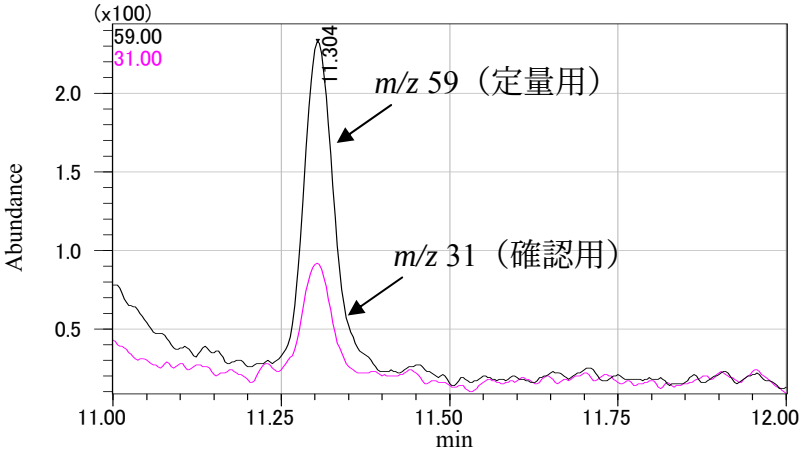


図 7-4　無添加試料（海水）のクロマトグラム

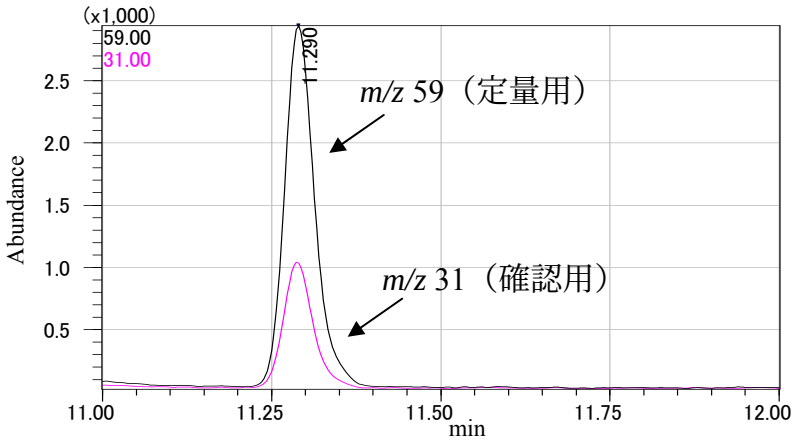


図 7-5　海水添加回収試験のクロマトグラム

〔分解性スクリーニング試験〕

分解性スクリーニング試験結果を表 7 示す。

表 7　分解性スクリーニング試験結果

pH	初期濃度 (ng/L)	試験数	1 時間後の残存率(%)	3 日後の残存率(%)		7 日後の残存率(%)	
				暗所	明所	暗所	明所
5	1032	2	102	106	―	104	―
7	1032	2	102	105	106	104	108
9	1032	2	102	107	―	105	―

〔保存性試験〕

保存性試験結果を表 8 に示す。

初期濃度 500 ng/L に調製した河川水及び海水を冷暗所 (4°C) で 7 日間保存し、濃度を測定した。河川水及び海水中の 2-メチルプロパン-2-オールは 7 日間安定であった。また、標準液も 1 ヶ月間安定であった。

表 8　保存性試験結果

試料	初期濃度 (ng/L)	試験数	残存率(%)		
			3 日間	7 日間	1 ヵ月
河川水	516	2	102	105	―
海水	516	2	110	108	―
標準液	10320000	2	―	―	102

〔パージ条件の検討〕

パージ温度と塩析について、下記①～③の各条件で、2-メチルプロパン-2-オールを測定した結果（スキャンモード *m/z* 35～350）、60°C に加温し、また、塩析を行うことで、検出感度が大きく向上した。クロマトグラムを図 8-1、図 8-2 及び図 8-3 に示す。なお、標準液の調製にはメタノールを用いた。

① 加温なし（室温）、塩析なし
② パージ温度 60°C、塩析なし
③ パージ温度 60°C、塩析あり(8 g/40 mL)

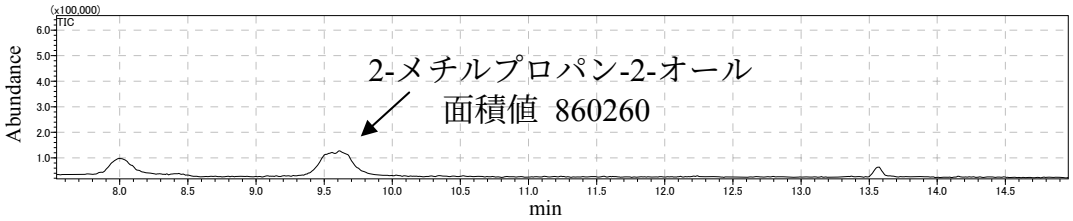


図 8-1　2-メチルプロパン-2-オール (100000 ng/L) のクロマトグラム
（パージ温度：室温、塩析：なし）

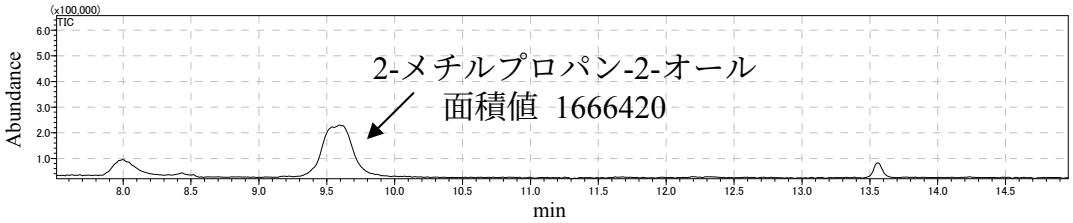


図 8-2　2-メチルプロパン-2-オール (100000 ng/L) のクロマトグラム
（パージ温度：60°C、塩析：なし）

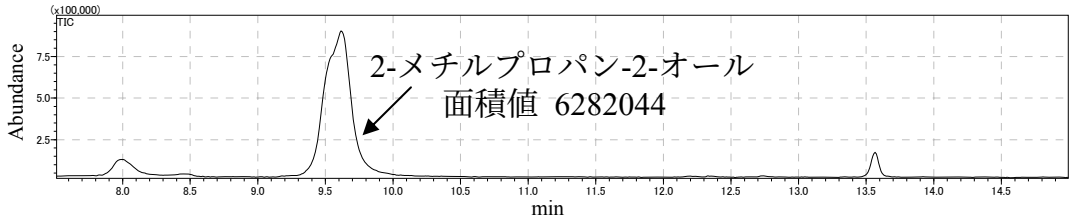


図 8-3　2-メチルプロパン-2-オール (100000 ng/L) のクロマトグラム
（パージ温度：60°C、塩析：あり）

〔クライオフォーカスの検討〕

クライオフォーカスについて検討するため、クライオフォーカスの有無で、2-メチルプロパン-2-オールを測定した。クロマトグラムを図 9-1 及び図 9-2 に示す。クライオフォーカスを用いることでピーク形状は改善した。なお、標準液の調製にはメタノールを用いた。

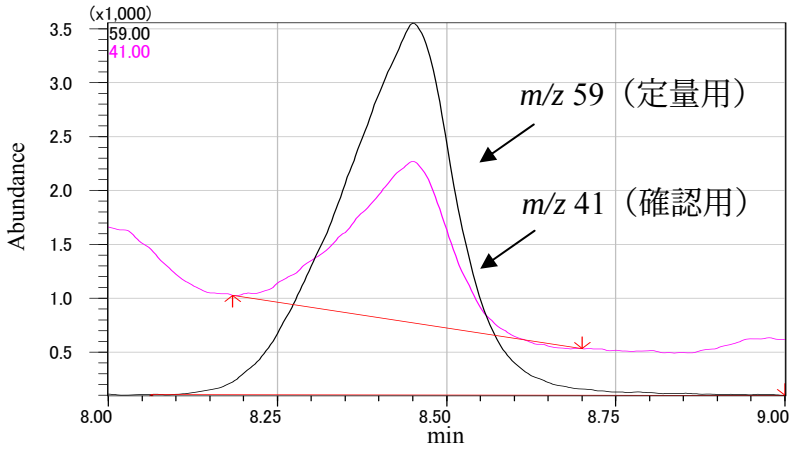


図 9-1　2-メチルプロパン-2-オール (200 ng/L) のクロマトグラム
（クライオフォーカスなし）

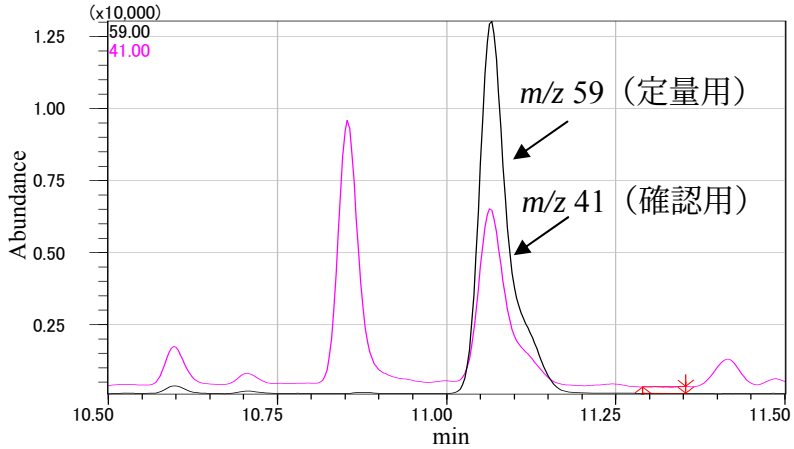


図 9-2　2-メチルプロパン-2-オール (200 ng/L) のクロマトグラム
（クライオフォーカスあり）

〔カラムの検討〕

カラムの選択にあたり、以下の 2 種類のカラムを用いて、2-メチルプロパン-2-オールを測定した。クロマトグラムを図 10-1 及び図 10-2 に示す。AQUATIC では 2-メチルプロパン-2-オールのピークが夾雑ピークと重なったため、DB-624 を用いることとした。なお、標準液の調製にはメタノールを用いた。

① DB-624 (Agillent 製、60 m × 0.32 mm × 1.8 µm)
② AQUATIC (GL サイエンス製、60 m × 0.25 mm × 1.0 µm)

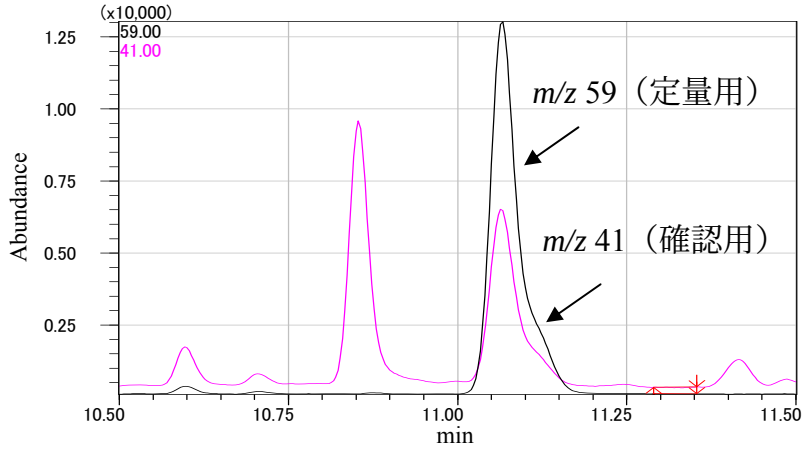


図 10-1　2-メチルプロパン-2-オール (200 ng/L) のクロマトグラム (DB-624)

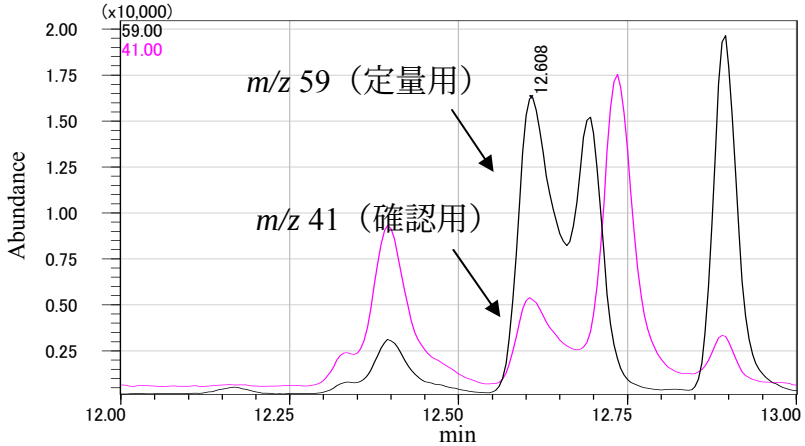


図 10-2　2-メチルプロパン-2-オール (200 ng/L) のクロマトグラム (AQUATIC)

〔溶媒の検討〕

標準液を調製する溶媒について、メタノールではピーク形状が悪かったため、標準原液の調製をアセトンで、それ以降の希釈を精製水で行ったものを用いて検討した。結果を図 11-1 及び図 11-2 に示す。アセトン及び精製水を溶媒とすることで、ピーク形状は改善した。

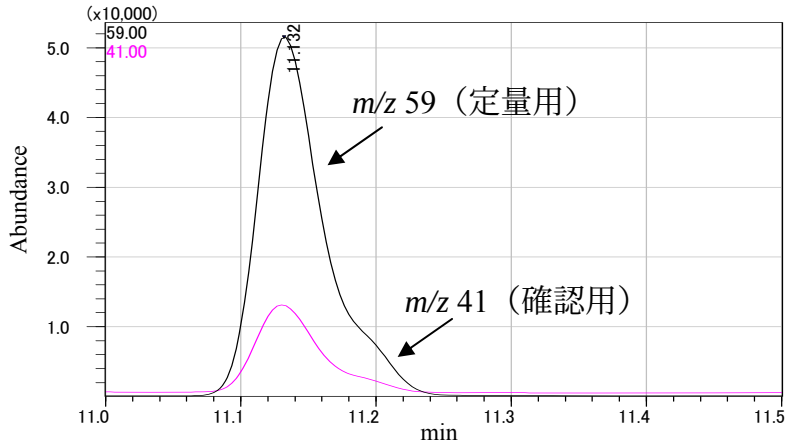


図 11-1　2-メチルプロパン-2-オール (5000 ng/L) のクロマトグラム（メタノール）

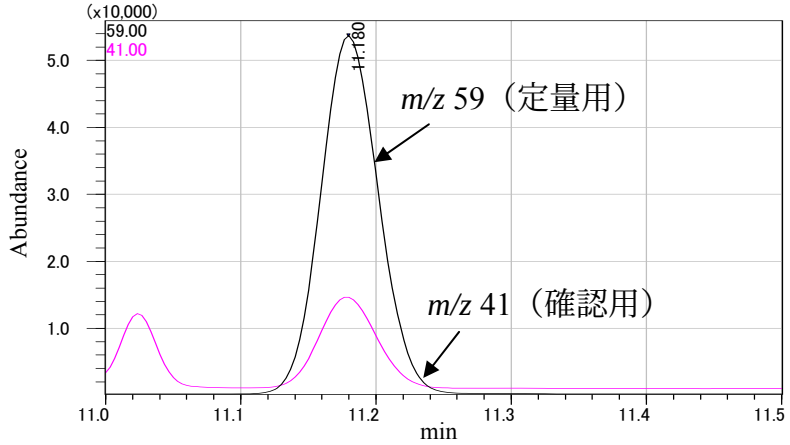


図 11-2　2-メチルプロパン-2-オール (5000 ng/L) のクロマトグラム（アセトン及び精製水）

〔**環境試料の分析**〕

本分析法を用いて、環境試料を分析した結果を表 9 に示す（和歌山県紀ノ川及び山口県萩沖のクロマトグラムは〔**添加回収試験**〕を参照）。

表 9　環境試料（水質）分析結果

地点	試験数	2-メチルプロパン-2-オール (ng/L)
和歌山県紀ノ川	2	76
山口県萩沖	2	57
東京都荒川	1	1700

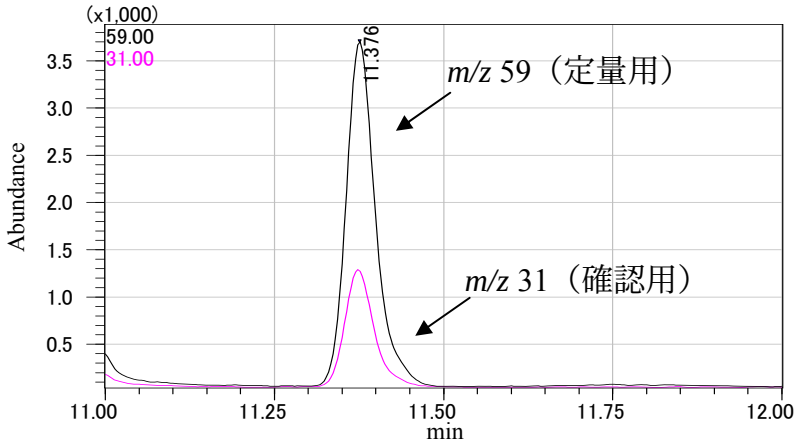


図 12　環境試料のクロマトグラム（東京都荒川）

【評価】

本分析法における 2-メチルプロパン-2-オールの MDL は 21 ng/L、MQL は 55 ng/L であった。河川水及び海水を用いた添加回収試験の回収率は、それぞれ 103%及び 99.7%であった。また、環境試料を分析したところ、MDL 以上の対象物質が検出された。

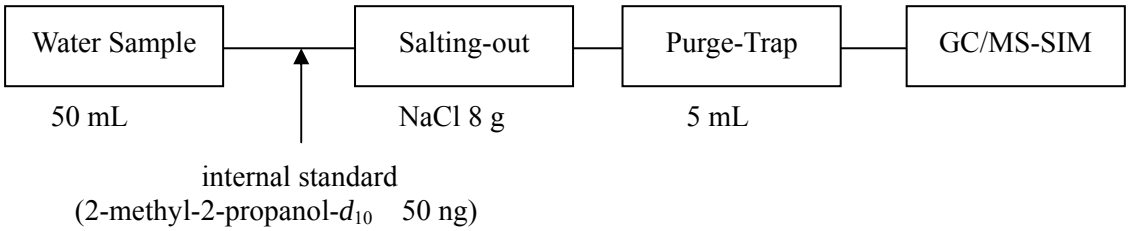
以上の結果から、本法は、環境水中に 20 ng/L レベルで存在する 2-メチルプロパン-2-オールの検出に適応可能であると判断される。ただし、精製水において、MDL 以下ではあるが、ブランクピークが検出された。用いる試薬類は、ブランクが検出されないことを十分に確認する必要がある。

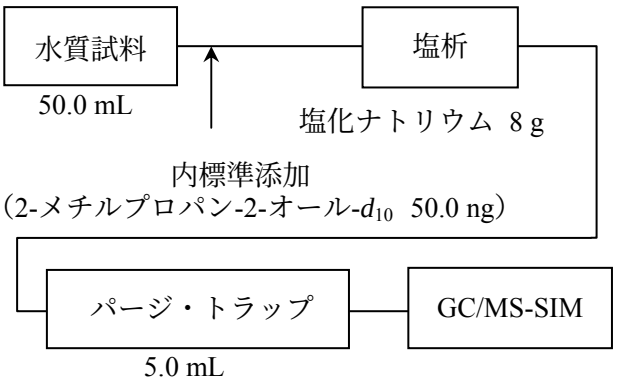
【担当者連絡先】

所属先名称　：一般財団法人　化学物質評価研究機構
所属先住所　：〒345-0043　埼玉県北葛飾郡杉戸町下高野 1600 番地
TEL：0480-37-2601　　FAX：0480-37-2521
担当者名　　：川勝　健伸、蒲池　祥子
E-mail　　：kawakatsu-takenobu@ceri.jp, kamachi-shoko@ceri.jp

2-Methyl-2-propanol

This method provides procedures for the determination of 2-methyl-2-propanol, in water by purge and trap coupled to gas chromatography/mass spectrometry with selected ion monitoring (purge trap -GC/MS-SIM). Fifty nanograms of 2-methyl-2-propanol-d_{10} as an internal standard is added to 50 mL of water sample. Then the vial containing 8 g of NaCl is filled with the sample. Five milliliter of the solution is analyzed by purge trap -GC/MS-SIM .
The instrument detection limit (IDL) of 2-methyl-2-propanpl is 21 ng/L. The method detection limit (MDL) and method quantification limit (MQL) of 2-methyl-2-propanol are 21 ng/L and 55 ng/L. The average of recoveries (n=5) from 61.5 ng 2-methyl-2-propanol added a river water samples was 103% and the relative standard deviation was 0.85%. The average of recoveries (n=5) from 61.5 ng 2-methyl-2-propanol added a sea water samples was 99.7% and the relative standard deviation was 1.2%.



物質名	分析法フローシート	備考
2-メチルプロパン-2-オール IUPAC 名： 2-Methyl-2-propanol 別名： *t*-ブチルアルコール、ダイ 3 ブタノール、トリメチルカルビノール、ブタノール	【水質】  	分析原理： パージ・トラップ GC/MS-SIM 検出下限値： 【水質】 (ng/L) 21 分析条件： 機器 GC/MS：（島津製作所） GCMS-QP2010 Ultra パージ・トラップ：（GL サイエンス） AQUA PT 5000J PLUS カラム：(Agillent) DB-624 (60 m × 0.32 mm , 1.8 μm)

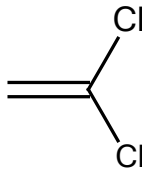
2．大気中の化学物質に関する分析法
（ＧＣ／ＭＳ）

札幌市衛生研究所
［対象媒体：大気］

1,1-ジクロロエチレン

1,1-Dichloroethylene
（別名：塩化ビニリデン、1,1-ジクロロエテン）

【対象物質の構造】



分子式：$C_2H_2Cl_2$
CAS 番号：75-35-4

【物理化学的性状】

分子量	沸点 (°C)	蒸気圧 (kPa)	水溶解度 (g/L)	log P_{ow}
96.94	31.7	80	3.1	2.13

【毒性】
経口：LD_{50}：200 mg/kg（ラット）

【用途】
合成原料［家庭用ラップ、包装用フイルム、その他加工品（人工芝、漁網等）、塩化ビニリデンラテックス、難燃性繊維］

§1 分 析 法

(1) 分析法の概要

内面を不活性化処理したステンレス製試料採取容器（Canister、内容積 6 L）に大気試料を一定流量で 24 時間連続採取した後、試験室に持ち帰り、超高純度窒素を用いて加圧する。内標準物質を添加し、自動試料濃縮装置を用いて低温濃縮・加熱脱離して GC/MS-SIM に導入し、分析する。

(2)　試薬・器具

【試薬】

有害大気汚染物質測定用標準ガス	：Linde 製　1ppm　窒素ベース　41 成分
トルエン-d_8 標準ガス	：Linde 製　1ppm　窒素ベース
純窒素	：純度 99.9995%以上
純ヘリウム	：純度 99.99995%以上
液体窒素	

【器具】

試料採取容器洗浄装置　（MODEL3100A Canister Cleaner：ENTECH 製）
標準ガス希釈装置（MODEL4600 Dynamic Diluter：ENTECH 製）
ステンレス製試料採取容器（Silico Canister：RESTEK 製）
（Silonite Canister：ENTECH 製）
パッシブキャニスターサンプラー（PCS-5400-3S：GL サイエンス製）
自動試料濃縮装置（MODEL7100A Preconcentrator：ENTECH 製）

(3)　分析法

【試料採取容器(Canister) の洗浄】

試料採取容器 (Canister) を 120°C に加熱したオーブンに入れ、試料採取容器洗浄装置（MODEL3100A Canister Cleaner：ENTECH 製）と接続し、Canister のバルブを開き、プログラムに従い減圧及び加湿した超高純度窒素による加圧を 5 回以上繰り返す。減圧状態で Canister のバルブを閉じた後、洗浄装置から取り外し、室温に戻す。

【試料の採取及び保存】　50 mTorr(≒0.007kPa) (←2012/8/8 訂正)

試料採取には、あらかじめ ~~50 psi~~ 以下に減圧した Canister 試料採取容器を用い、試料採取前に Canister 内の圧力を測定しておく（採取前圧力：*Pb*）。Canister に毎分 3.0 mL に調整したパッシブキャニスターサンプラー（PCS-5400-3S：GL サイエンス製）を接続して Canister のバルブを開き、24 時間大気試料を採取する。

試料を採取した Canister を試験室に持ち帰り、温度が均一になるまで放置した後、内圧を測定する（採取後圧力：*Pi*）。

超高純度窒素を用いて 15 psig まで希釈・加圧する。

加圧前後の圧力の比(15 psig/ (*Pi*-*Pb*))から希釈率(*D*) を求める。

【標準ガスの調製】

〔標準ガス〕

あらかじめ洗浄した Canister 及び有害大気汚染物質測定用標準ガスを標準ガス希釈装置（MODEL4600 Dynamic Diluter：ENTECH 製）に接続し、標準ガス及び加湿した超高純度窒素を標準ガス希釈装置のプログラムに従って定流量混合法により混合し、Canister 内に 10ppbv 濃度の希釈標準ガスを作製する。

〔検量線用標準ガス〕

この希釈標準ガスを圧希釈法により、段階的に 1000pptv、100pptv の希釈標準ガスを作製する。これらの希釈標準ガスを用いて、0.5pptv から 15pptv の検量線用希釈標準ガスを Canister に作製する（低濃度域検量線用）。

また、10pptv から 500pptv の検量線用希釈標準ガスを Canister に作成する（高濃度域検量線用）。

〔内標準ガス〕

内標準ガスも同様に標準ガス希釈装置を用いて同様の操作を行い、10ppbv 濃度の希釈内標準ガスを作製し、さらに圧希釈法で 1000pptv 濃度の希釈内標準ガスを作製する。

〔圧希釈法による希釈標準ガスの作製方法〕

圧希釈法による希釈標準ガスの作製方法は次のとおりである。

10ppbv の希釈標準ガスが入った Canister 及び洗浄し減圧状態の Canister を圧希釈装置に接続する。

減圧状態の Canister に圧力ゲージで 2 psig になるまで加湿した超高純度窒素を入れる。ここに 4 psig 相当量の 10ppbv 希釈標準ガスを入れる。さらに加湿した超高純度窒素で 25.3 psig になるまで超高純度窒素を入れることにより、Canister 内に 1000pptv 濃度の希釈標準ガスを作製する。

次に 1000pptv の希釈標準ガスが入った Canister 及び洗浄し減圧状態の Canister を圧希釈装置に接続する。

ここに 4 psig 相当量の 1000pptv 希釈標準ガスを入れる。さらに加湿した超高純度窒素で 25.3 psig になるまで超高純度窒素を入れることにより、Canister 内に 100pptv 濃度の希釈標準ガスを作製する。

【試料の導入方法】

大気試料を採取した Canister を 15 psig まで加圧し、自動試料濃縮装置（MODEL7100A Preconcentrator：ENTECH 製） に接続して試料の 500 mL を濃縮する。同時に調製した内標準ガス(1000pptv)の 100 mL も濃縮し、その後濃縮装置のプログラムに従い、加熱・脱離して測定対象成分を GC/MS へ導入する。

試料濃縮装置の条件は、次のとおりである。

モジュール 1：ガラスビーズ、-150°C (Trap　150 mL/min)→20°C（脱離）
モジュール 2：TENAX TA、-15°C (Trap　20 mL/min)→180°C（脱離）
モジュール 3：シリカキャピラリーカラム

【測定】

〔GC/MS 測定条件〕

GC/MS	：Agilent7890GC/5975CMSD
カラム	：HP-1 (60 m×0.32 mm×1.0 μm)　Agilent 製
昇温条件	：35°C (10 min)→5°C /min→100°C→15°C /min→220°C (7 min)

H25年度調査時、昇温条件を大きく変更し、良好なピーク形状を得たとの事例があった。
変更: -50℃(2分)-(20℃/分)→10℃-(7℃/分)→200℃(3分)　(2014年度精査等検討会コメント)

注入法	：全量注入	
注入口温度	：220°C	
キャリヤーガス	：ヘリウム、1 mL/min	
インターフェース温度	：200°C	
試料濃縮量	：500 mL	
イオン源温度	：230°C	
検出モード	：SIM	
モニターイオン(*m/z*)	：1,1-ジクロロエチレン	：定量用イオン：96 確認用イオン：61
	トルエン-d_8	：98、100

H25年度調査時、分析法ではトルエン-d 8を内標準としているが、複数の機関がペンタン-d 12を、保持時間が 1,1-ジクロロエチレンに近く、結果が安定しているとして変更した事例があった(保持時間は 1,1-ジクロロエチレン 7.5分、トルエン-d 8 21.2分、ペンタン-d 12 7分)。(2014年度精査等検討会コメント)

〔検量線〕

【標準ガスの調製】により調製した 2pptv から 15pptv の希釈標準ガス、10pptv から 500pptv の希釈標準ガスの各々500 mL を自動試料濃縮装置（MODEL7100A Preconcentrator：ENTECH 製）へトラップし、**〔GC/MS 測定条件〕**に従って測定を行った。対象物と内標準物質の濃度比及びピーク面積比から検量線を作成する。

〔定量〕

大気試料の 500 mL を自動試料濃縮装置（MODEL7100A Preconcentrator：ENTECH 製） へトラップし、**〔GC/MS 測定条件〕**に従って測定を行った。試料のピーク面積と内部準物質のピーク面積の比とから濃度を求める。

〔濃度の算出〕

濃縮体積中の 1,1-ジクロロエチレンの重量は次式から算出する。

$$W = \frac{(A-Ab)\times 96.94\times(V\times 10^{-3})\times 10^{-3}}{22.4}$$

W：濃縮体積中の 1,1-ジクロロエチレン重量(ng)
A：1,1-ジクロロエチレンの濃度(pptv)
Ab：ブランク試料中の 1,1-ジクロロエチレン濃度(pptv)
V：濃縮量(mL)

大気試料中の 1,1-ジクロロエチレン濃度 *C*(μg/m^3)は、次式から算出する。

$$C = \frac{n\times W\times(273+t)\times 101.3\times 10^{3}}{V\times 273\times P}$$

C：20°C における大気中の濃度 (μg/m^3)
n：希釈倍率

W：濃縮体積中の 1,1-ジクロロエチレン重量(ng)
V：分析に供した試料の濃縮量(mL)
t：試料分析時の平均気温 (°C)
P：試料分析時の平均気圧 (kPa)

〔装置検出下限(IDL)〕

本分析に用いた GC/MS の IDL を表 1 に示す。

表 1　IDL 算出の結果

物質	IDL ($\mu g/m^3$)	試料量 (mL)	IDL 試料換算値 ($\mu g/m^3$)
1,1-ジクロロエチレン	0.0028	500	0.0055

〔測定方法の検出下限(MDL)及び定量下限(MQL)〕

本測定方法における MDL 及び MQL を表 2 に示す

表 2　MDL 及び MQL 算出の結果

物質	試料濃縮量 (mL)	MDL ($\mu g/m^3$)	MQL ($\mu g/m^3$)
1,1-ジクロロエチレン	500	0.019	0.049

注　解

（注 1）IDL は、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）に従って、表 3 のとおり算出した。

表 3　IDL の算出結果

物質名	1,1-ジクロロエチレン
試料濃縮量 (mL)	500
希釈率	2.02
注入濃度 ($\mu g/m^3$)	0.0101
結果 1 ($\mu g/m^3$)	0.0106
結果 2 ($\mu g/m^3$)	0.0110
結果 3 ($\mu g/m^3$)	0.0098
結果 4 ($\mu g/m^3$)	0.0117
結果 5 ($\mu g/m^3$)	0.0104
結果 6 ($\mu g/m^3$)	0.0117
結果 7 ($\mu g/m^3$)	0.0113
平均値 ($\mu g/m^3$)	0.0109
標準偏差 ($\mu g/m^3$)	0.00071
IDL ($\mu g/m^3$) *1	0.0028
IDL 試料換算濃度 ($\mu g/m^3$)	0.0055
SN 比	30
CV (%)	6.5

*1：$IDL=t(n-1,0.05)\times\sigma_{n-1}\times2$

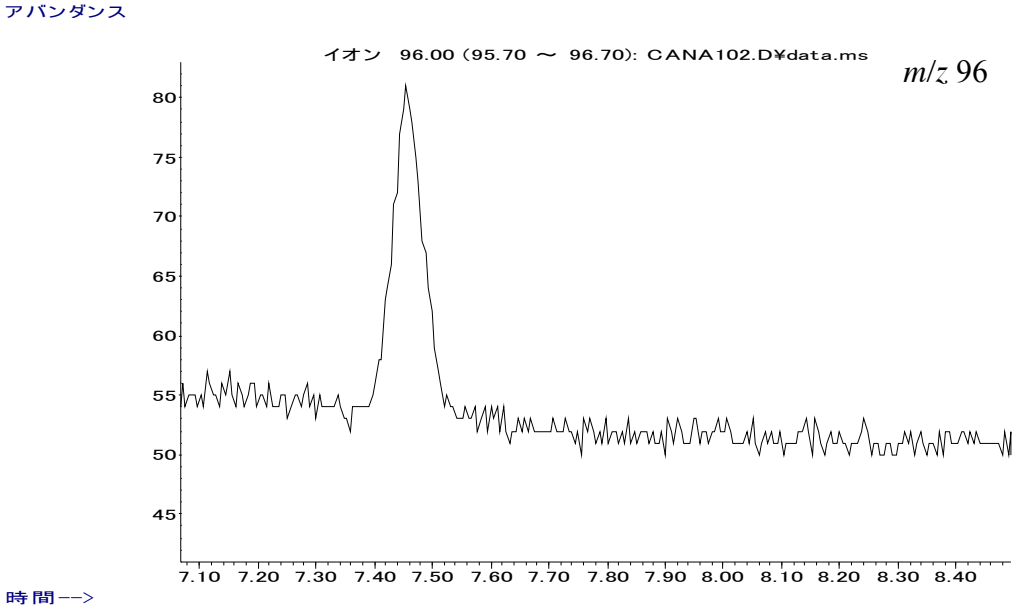


図 1　IDL 測定時のイオンクロマトグラム

（注 2）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。

表 4　MDL 及び MQL の算出結果

物質名	1,1-ジクロロエチレン
試料濃縮量 (mL)	500
試料換算濃度 ($\mu g/m^3$)	0.0505
操作ブランク平均 ($\mu g/m^3$)*1	ND
無添加平均 ($\mu g/m^3$)*2	ND
結果 1 ($\mu g/m^3$)	0.0563
結果 2 ($\mu g/m^3$)	0.0602
結果 3 ($\mu g/m^3$)	0.0611
結果 4 ($\mu g/m^3$)	0.0594
結果 5 ($\mu g/m^3$)	0.0677
結果 6 ($\mu g/m^3$)	0.0692
結果 7 ($\mu g/m^3$)	0.0670
平均値 ($\mu g/m^3$)	0.0630
標準偏差 ($\mu g/m^3$)	0.0049
MDL ($\mu g/m^3$)*3	0.0192
MQL ($\mu g/m^3$)*4	0.0493
SN 比	50
CV (%)	7.8

*1：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 (n = 5)

*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 = 5)

*3：$MDL=t(n-1,0.05)\times\sigma_{n-1}\times2$

*4：$MQL=\sigma_{n-1}\times10$

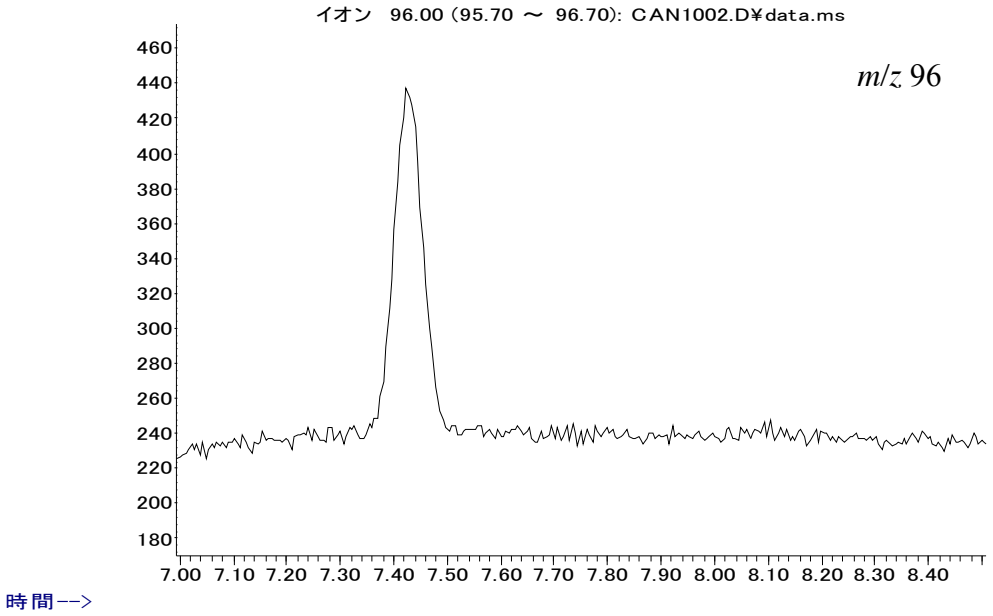


図 2　MDL、MQL 測定時のイオンクロマトグラム

§2　解　説

【分析法】

〔フローチャート〕

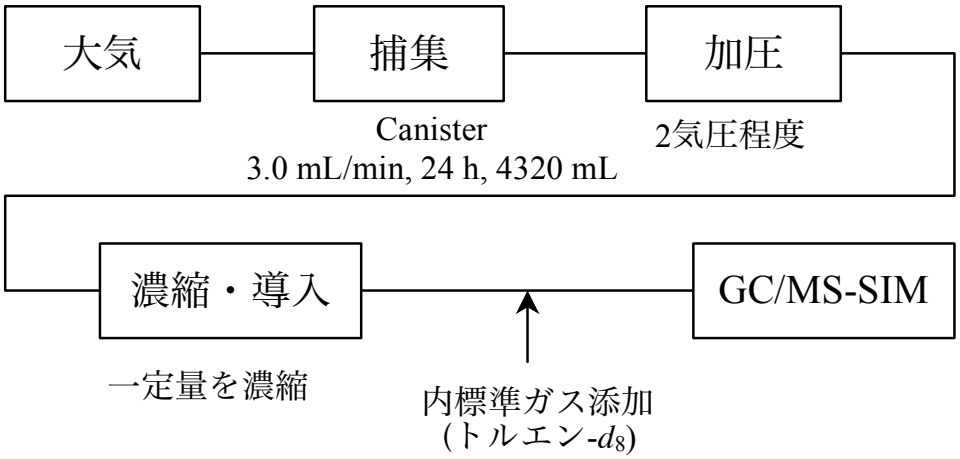


図 3　分析法のフローチャート

〔**検量線**〕

表 5　検量線作成用データ（低濃度領域）

標準ガス濃度(pptv) (*Cs*)	濃度比	応答値		応答比 (*As*/*Ais*)
		1,1-ジクロロエチレン (*As*) (*m*/*z* 96)	トルエン-d_8 (*Ais*) (*m*/*z* 98)	
0.5	0.0025	362.52	166374.57	0.0022
1.0	0.0050	618.45	180024.59	0.0034
2.0	0.0100	1262.17	159157.36	0.0079
5.0	0.0250	2618.77	150679.84	0.0174
10	0.0500	5327.98	148398.28	0.0359
15	0.0750	7646.17	142997.08	0.0535

*: 内標準物質濃度：200pptv (C_{is})

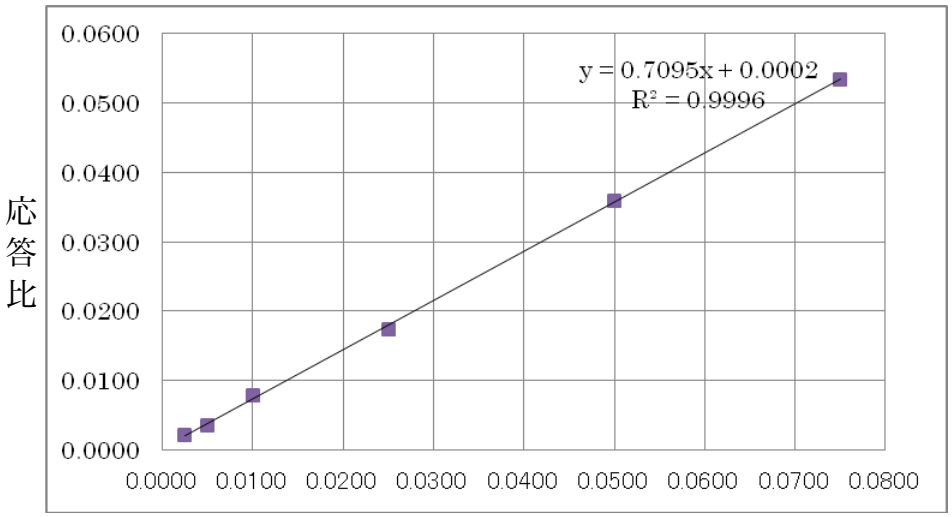


図 4　検量線（低濃度領域：0.5～15pptv）

表 6 検量線作成用データ（高濃度領域）

標準ガス濃度(pptv) (*Cs*)	濃度比	応答値		応答比 (*As*/*Ais*)
		1,1-ジクロロエチレン (*As*) (*m*/*z* 96)	トルエン-d_8 (*Ais*) (*m*/*z* 98)	
10	0.0500	2206.80	48353.49	0.0456
20	0.1000	3934.03	48330.96	0.0814
50	0.2500	9781.15	44810.45	0.2203
100	0.5000	19642.22	44133.01	0.4451
200	1.0000	40059.51	42142.67	0.9506
500	2.5000	99925.56	41514.83	2.4070

*: 内標準物質濃度：200pptv (C_{is})

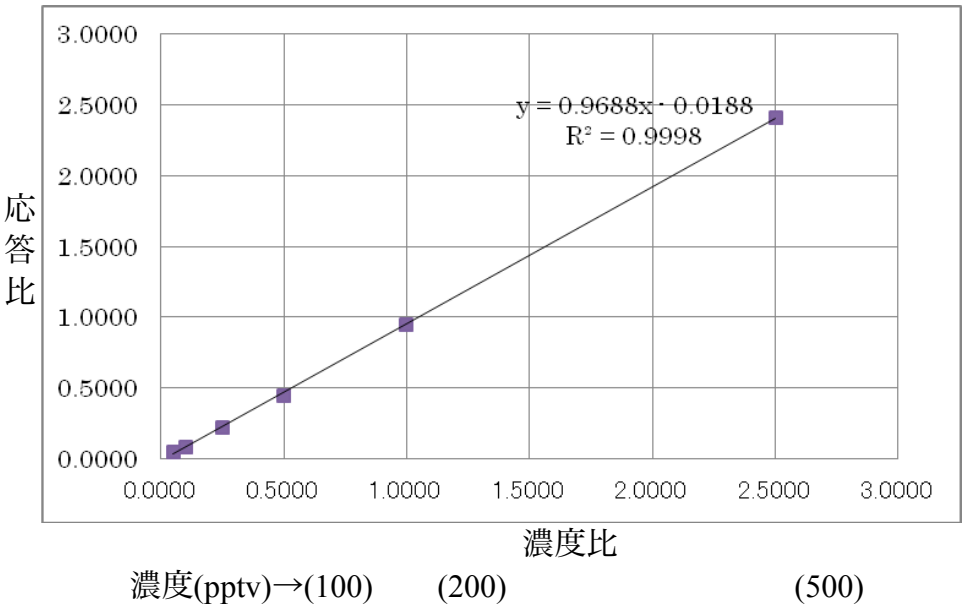


図 5　検量線（高濃度領域：10~500 pptv）

〔クロマトグラム〕

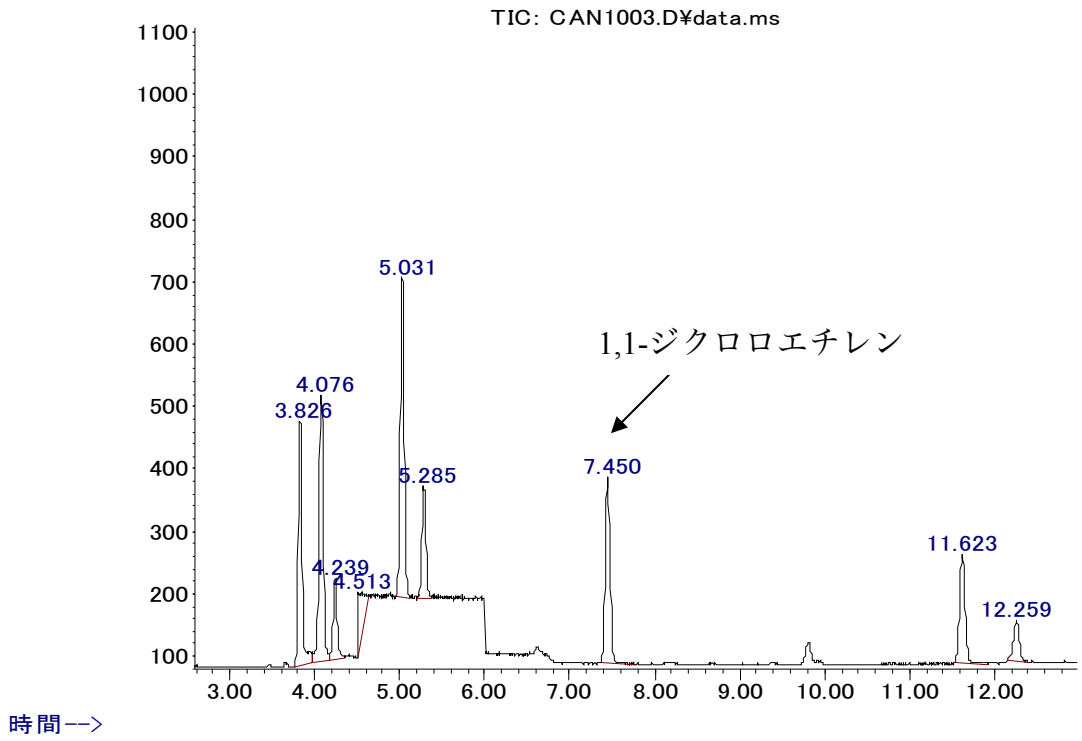


図 6-1　混合標準ガスの TIC クロマトグラム（100pptv、濃縮量 100 mL）

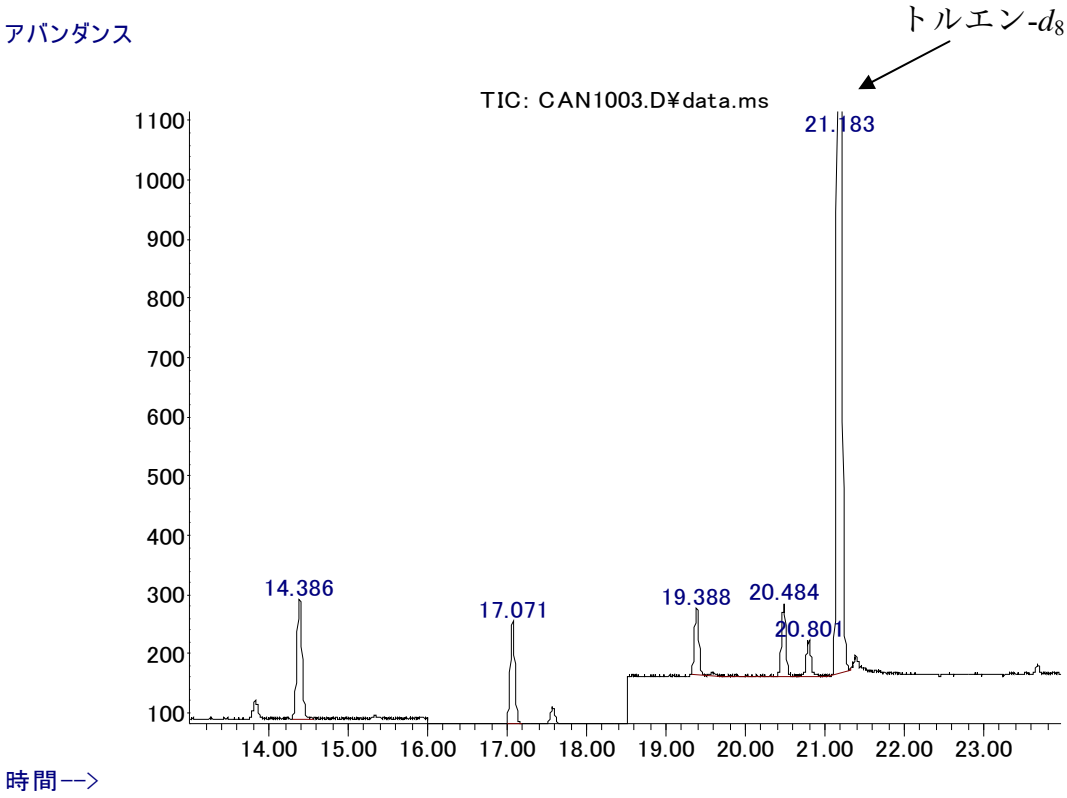


図 6-2　混合標準ガスの TIC クロマトグラム（100pptv、濃縮量 100 mL）

〔マススペクトル〕

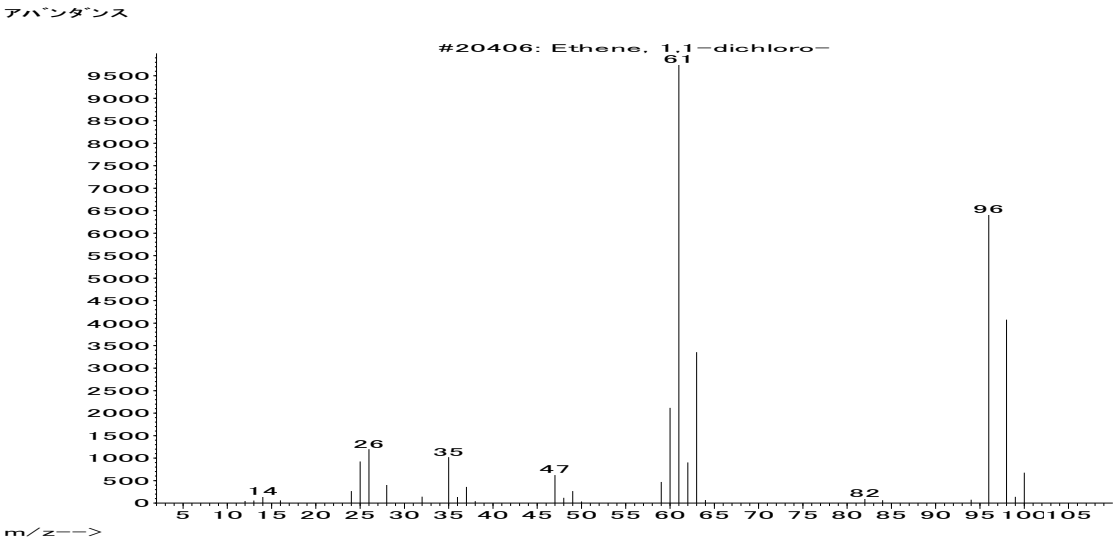


図 7-1　1,1-ジクロロエチレンのマススペクトル

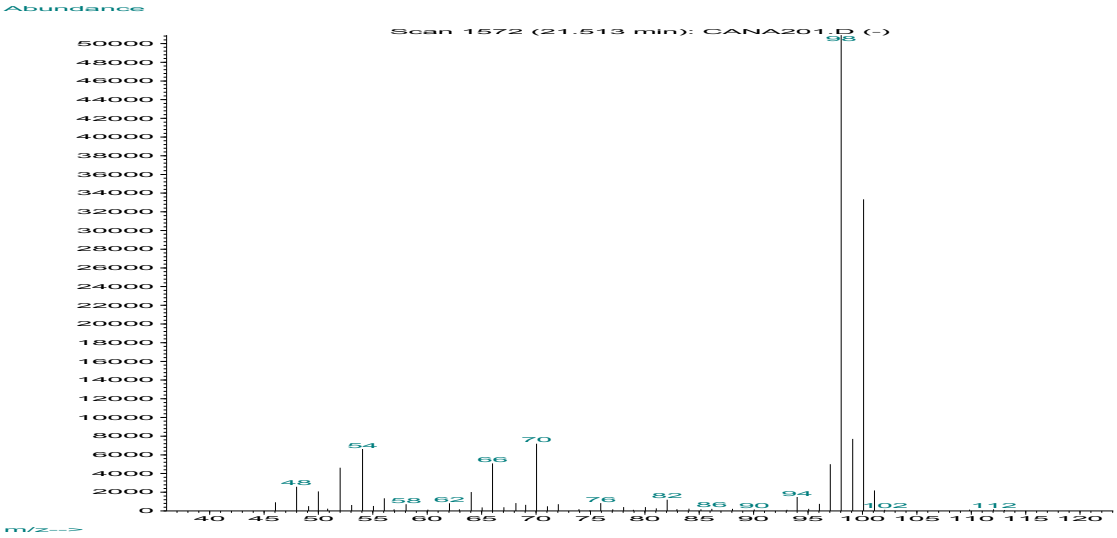


図 7-2　トルエン-d_8 のマススペクトル

〔添加回収試験〕

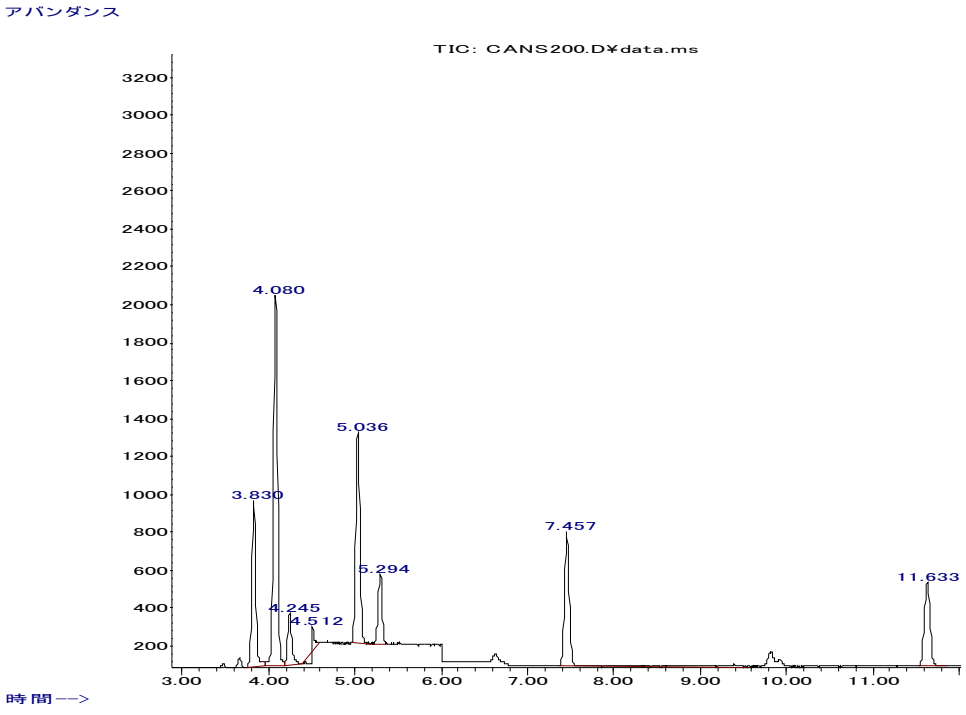
洗浄した Canister を用いて 3.0 mL/min で 24 時間大気試料を採取する。これに最終濃度で 80.7 ng/m^3 になるように希釈標準ガスを添加し、15 psig になるまで超高純度窒素を用いて加圧希釈を行う。

この試料を**（3）分析法**に従って分析し、回収率を算出した。

表 7　添加回収試験結果

（気温：25°C、湿度：25%）

物質	添加量 (ng/m^3)	検出量 (ng/m^3)	回収率 (%)
1,1-ジクロロエチレン	80.7	82.6	102
		83.9	104
		85.3	105
		88.0	109
		84.4	104
		平均	105
		変動係数(%)	2.5



溶出時間：R.T.：4.080　　クロロメタン

R.T.：5.036　　ブロモメタン

R.T.：5.294　　クロロエタン

R.T.：7.457　　1,1-ジクロロエチレン

図 8-1　添加回収試験のクロマトグラム

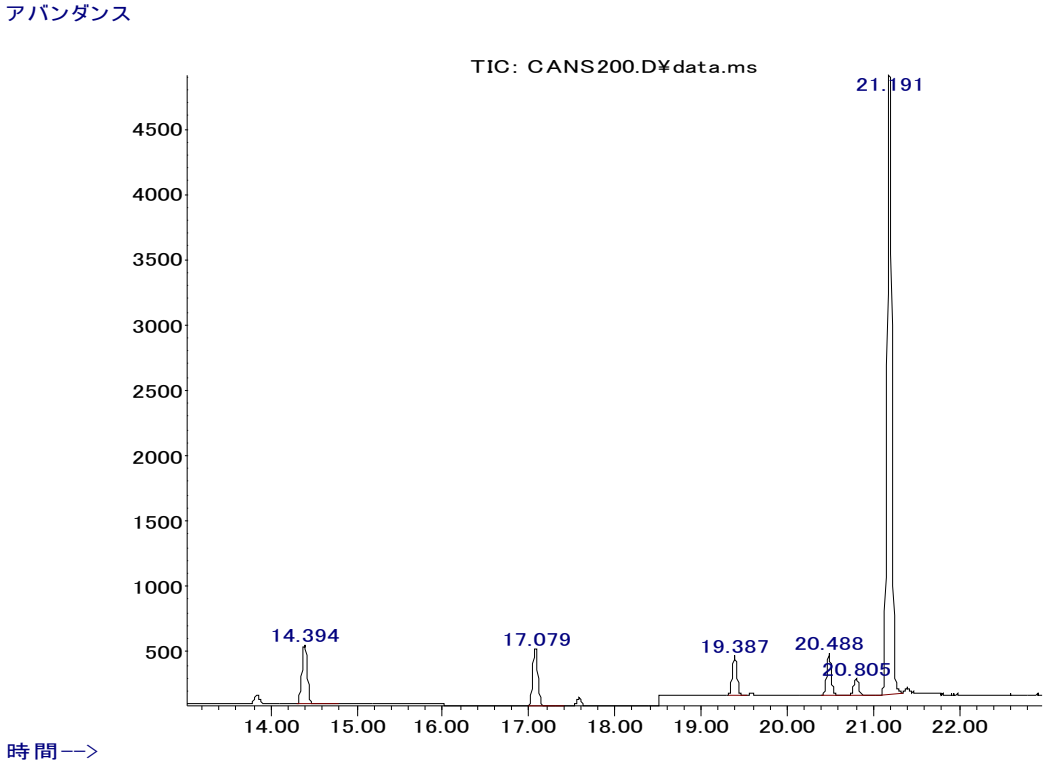


図 8-2　添加回収試験のクロマトグラム

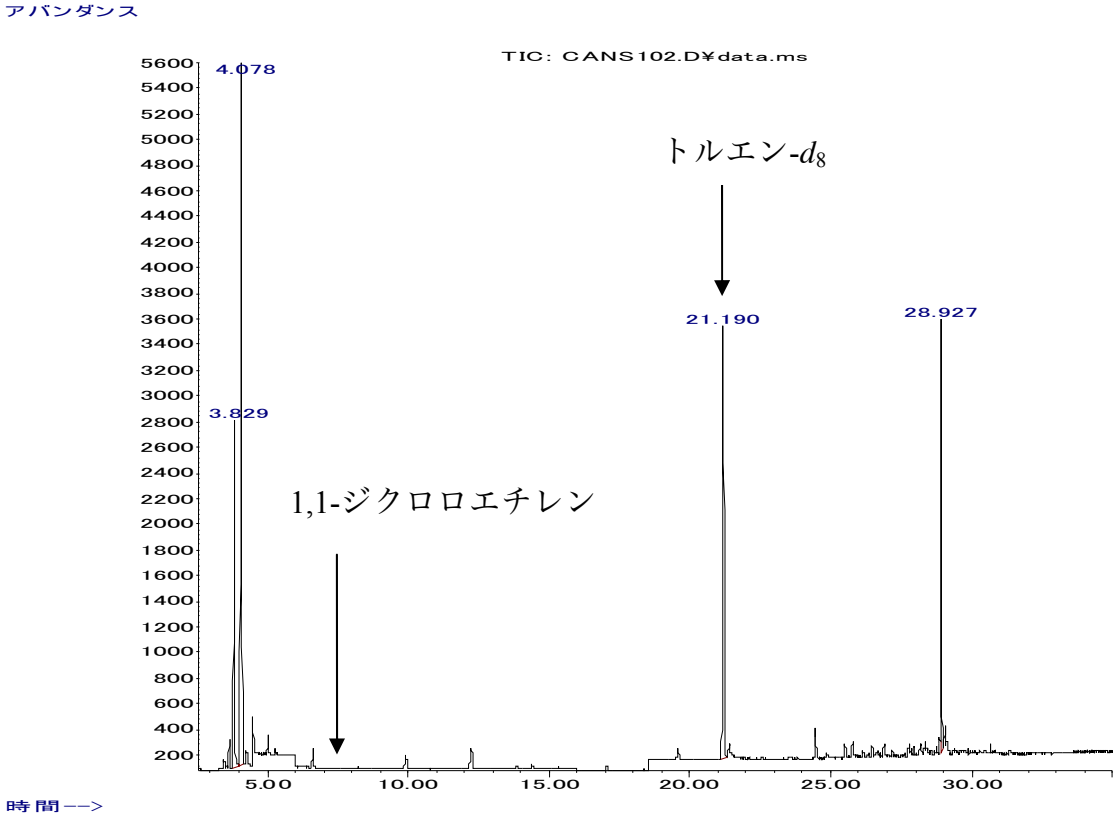


図 9　大気試料の TIC クロマトグラム

〔保存性試験〕

洗浄した Canister を用いて 3.0 mL/min で 24 時間大気試料を採取する。これに最終濃度で 80.7 ng/m^3 になるように希釈標準ガスを添加し、15 psig になるまで超高純度窒素を用いて加圧希釈を行う。

この試料を**（3）分析方法**に従って分析し、保存性試験を行い、時間に伴う回収率の変化を表に示した。

表 8　保存性試験の結果

	添加量(ng/m^3) (%)	残存率(%)*		
		1 日後	7 日後	14 日後
1,1-ジクロロエチレン	80.7 (100)	80.0 (99.1)	79.5 (98.5)	76.0 (94.2)

*：1 日目を 100%としたときの回収率

【同時分析可能な物質の検討結果】

〔モニターイオン〕

1,1-ジクロロエチレンと同時分析を検討した物質群のモニターイオンを表9に示す。

表9　モニターイオン

物質名	保持時間	定量イオン (*m/z*)
クロロメタン	4.085	50
ブロモメタン	5.038	94
クロロエタン	5.297	64
1,1-ジクロロエチレン	7.458	63
1,2-ジクロロプロパン	17.080	63
cis-1,3-ジクロロプロペン	19.395	75
trans-1,3-ジクロロプロペン	20.489	75
トルエン-d_8	21.192	98

〔標準物質のマススペクトル及び検量線〕

標準物質のマススペクトル及び検量線を図 10~27 に、検量線作成用データを表 10~21 に示す。

［クロロメタン］

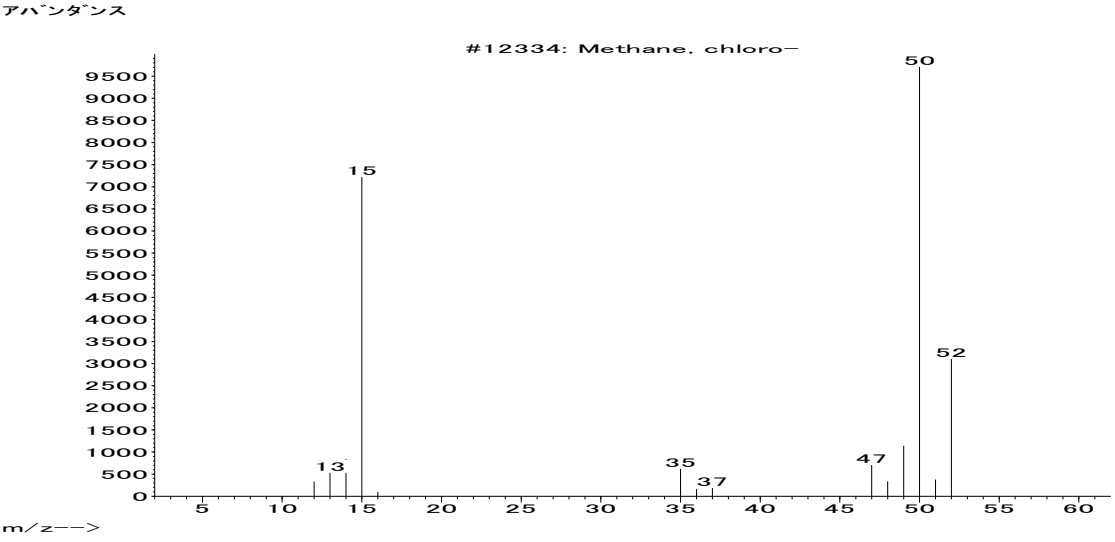


図 10　クロロメタンのマススペクトル

表 10　検量線作成用データ（低濃度領域）

標準ガス濃度(pptv) (*Cs*)	濃度比	応答値 クロロメタン (*As*) (*m/z* 50)	応答値 トルエン-d_8 (*Ais*) (*m/z* 98)	応答比 (*As*/*Ais*)
0.5	0.0025	808.93	166374.57	0.0049
1.0	0.0050	2412.77	180024.59	0.0134
2.0	0.0100	2349.00	159157.36	0.0148
5.0	0.0250	4280.11	150679.84	0.0284
10	0.0500	7726.20	148398.28	0.0521
15	0.0750	10778.06	142997.08	0.0754

*: 内標準物質濃度：200pptv (C_{is})

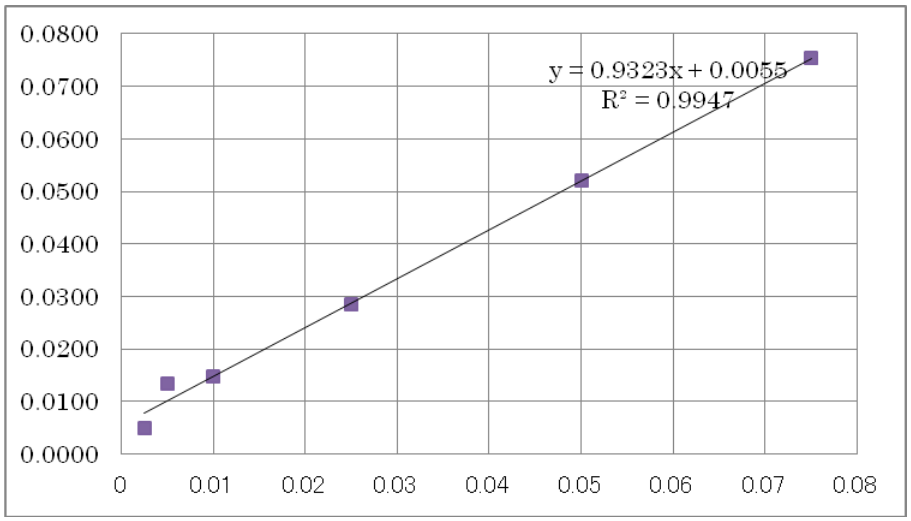
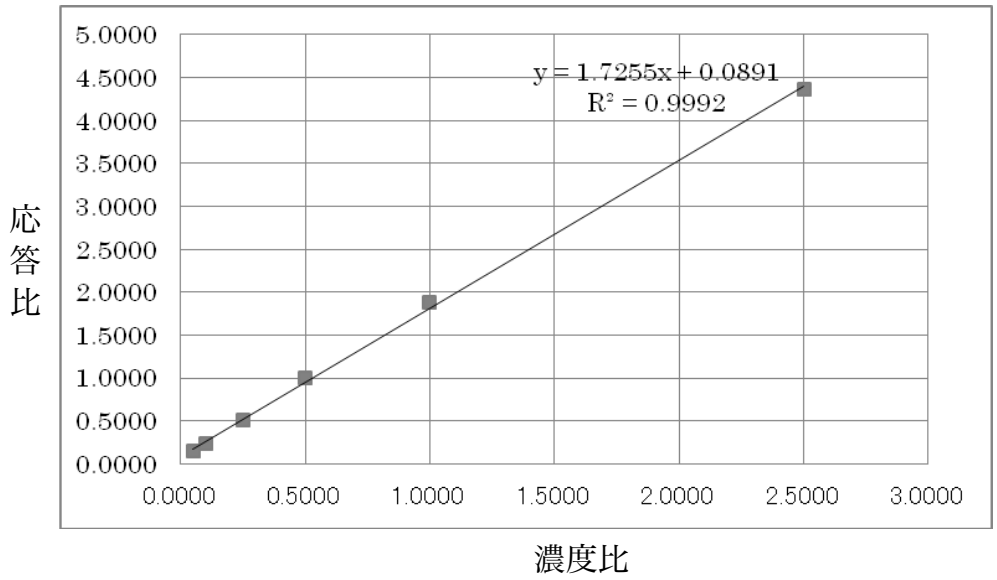


図 11　検量線（低濃度領域：0.5～15pptv）

表 11　検量線作成用データ（高濃度領域）

標準ガス濃度(pptv) (*Cs*)	濃度比	応答値 クロロメタン(*As*) (*m/z* 50)	応答値 トルエン-d_8 (*Ais*) (*m/z* 98)	応答比 (*As*/*Ais*)
10	0.0500	6977.96	48353.49	0.1443
20	0.1000	11130.05	48330.96	0.2303
50	0.2500	22535.28	44810.45	0.5029
100	0.5000	43861.47	44133.01	0.9938
200	1.0000	79476.18	42142.67	1.8859
500	2.5000	181397.24	41514.83	4.3695

*: 内標準物質濃度：200pptv (C_{is})



濃度(pptv)→(100)　(200)　(500)

図 12　検量線（高濃度領域：10～500pptv）

［ブロモメタン］

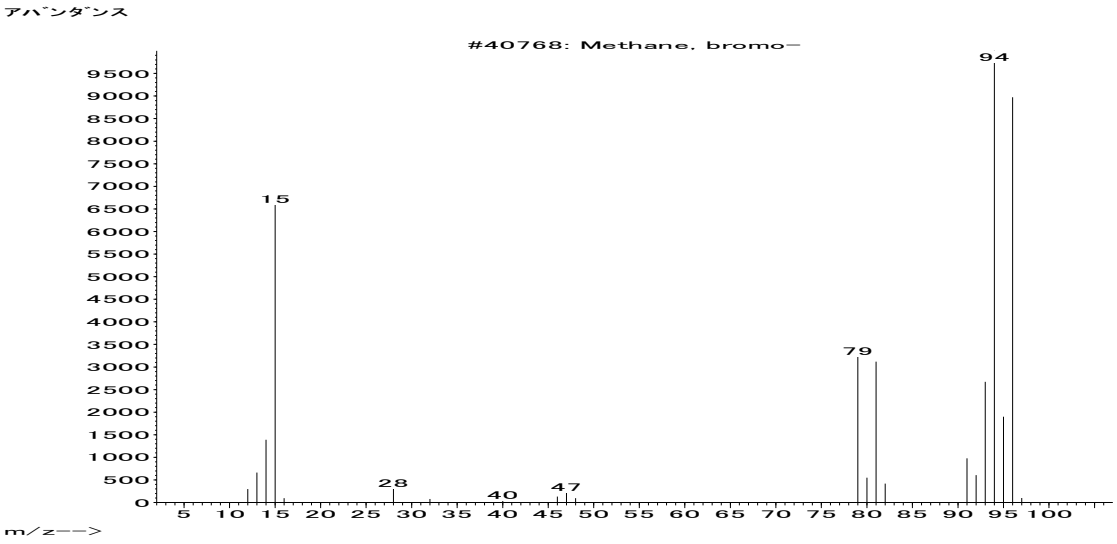


図 13　ブロモメタンのマススペクトル

表 12　検量線作成用データ（低濃度領域）

標準ガス濃度(pptv) (*Cs*)	濃度比	応答値 ブロモメタン (*As*) (*m/z* 94)	応答値 トルエン-d_8 (*Ais*) (*m/z* 98)	応答比 (*As*/*Ais*)
0.5	0.0025	517.75	166374.57	0.0031
1.0	0.0050	826.22	180024.59	0.0046
2.0	0.0100	1705.85	159157.36	0.0107
5.0	0.0250	3835.71	150679.84	0.0255
10	0.0500	7499.47	148398.28	0.0505
15	0.0750	11005.00	142997.08	0.0770

*: 内標準物質濃度：200pptv (C_{is})

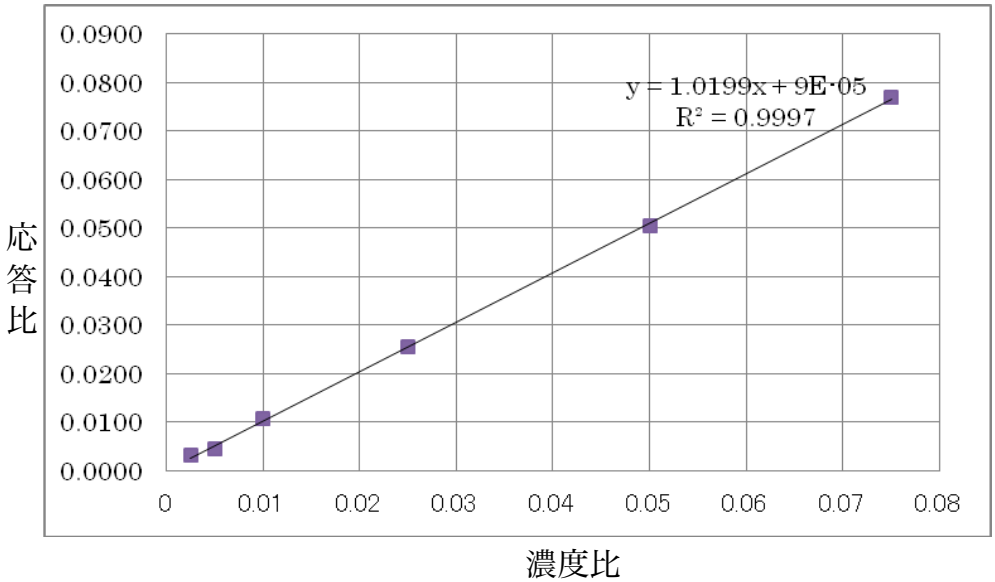


図 14　検量線（低濃度領域：0.5～15pptv）

表 13　検量線作成用データ（高濃度領域）

標準ガス濃度(pptv) (*Cs*)	濃度比	応答値 ブロモメタン (*As*) (*m/z* 94)	応答値 トルエン-d_8 (*Ais*) (*m/z* 98)	応答比 (*As*/*Ais*)
10	0.0500	4962.68	48353.49	0.1026
20	0.1000	8902.03	48330.96	0.1842
50	0.2500	22018.00	44810.45	0.4914
100	0.5000	43512.80	44133.01	0.9359
200	1.0000	89191.98	42142.67	2.1164
500	2.5000	215367.65	41514.83	5.1877

*: 内標準物質濃度：200pptv (C_{is})

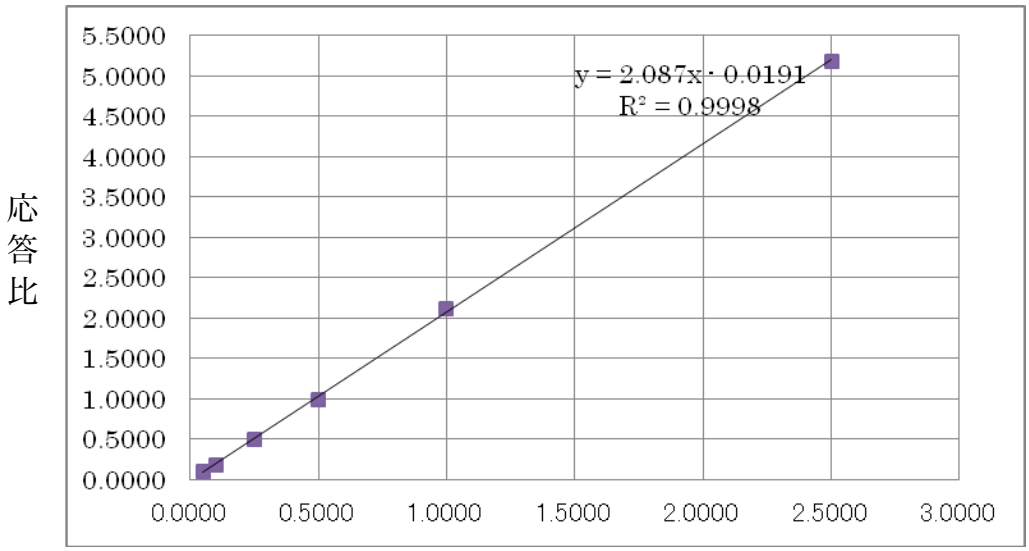


図 15　検量線（高濃度領域：10～500pptv）

［クロロエタン］

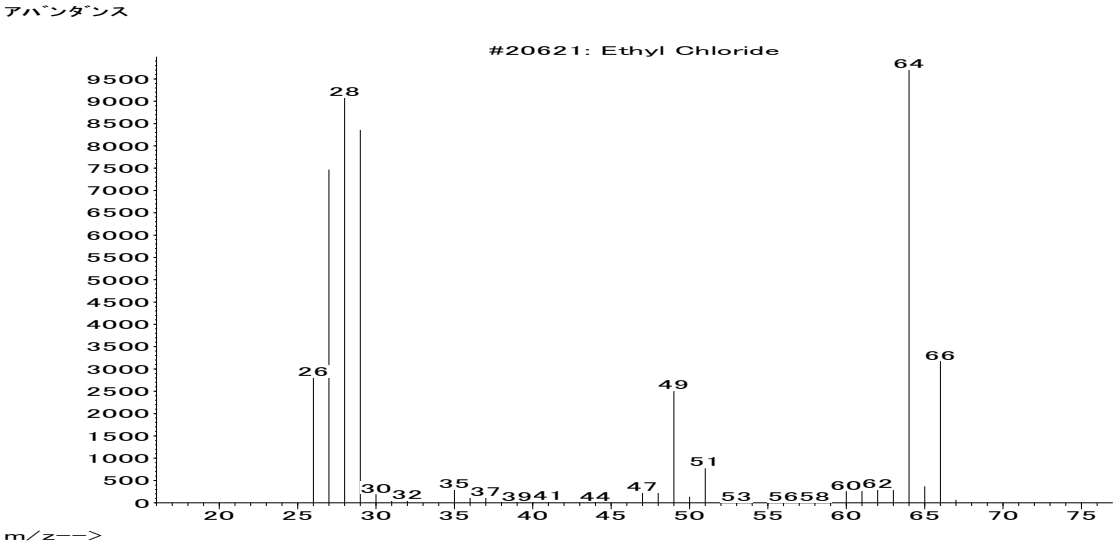
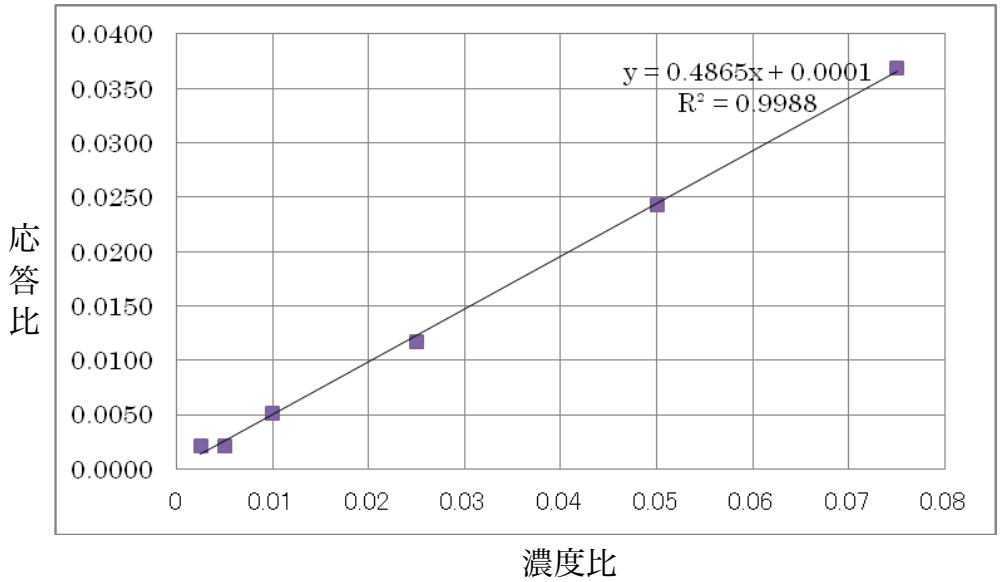


図 16　クロロエタンのマススペクトル

表 14　検量線作成用データ（低濃度領域）

標準ガス濃度(pptv) (*Cs*)	濃度比	応答値 クロロエタン (*As*) (*m/z* 64)	応答値 トルエン-d_8 (*Ais*) (*m/z* 98)	応答比 (*As*/*Ais*)
0.5	0.0025	344.44	166374.57	0.0021
1.0	0.0050	379.32	180024.59	0.0021
2.0	0.0100	820.77	159157.36	0.0052
5.0	0.0250	1757.72	150679.84	0.0117
10	0.0500	3611.12	148398.28	0.0243
15	0.0750	5271.50	142997.08	0.0369

*: 内標準物質濃度：200pptv (C_{is})



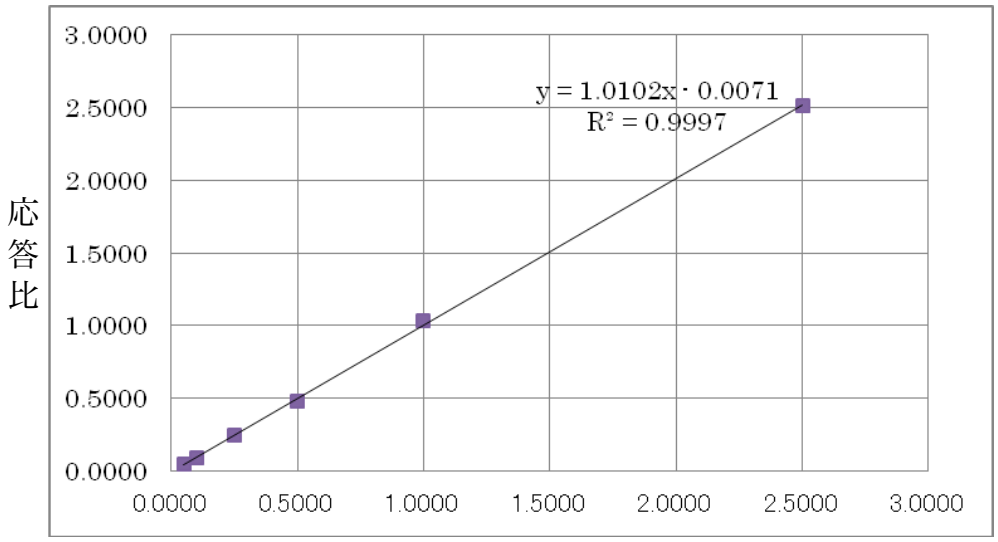
濃度(pptv)→ (2.0)　(5.0)　(10)　(15)

図 17　検量線（低濃度領域：0.5～15pptv）

表 15　検量線作成用データ（高濃度領域）

標準ガス濃度(pptv) (*Cs*)	濃度比	応答値 クロロエタン (*As*) (*m/z* 64)	応答値 トルエン-d_8 (*Ais*) (*m/z* 98)	応答比 (*As*/*Ais*)
10	0.0500	2355.08	48353.49	0.0487
20	0.1000	4312.72	48330.96	0.0892
50	0.2500	10840.05	44810.45	0.2419
100	0.5000	21226.75	44133.01	0.4810
200	1.0000	43420.51	42142.67	1.0303
500	2.5000	104265.04	41514.83	2.5115

*: 内標準物質濃度：200pptv (C_{is})



濃度(pptv)→(100)　　(200)　　(500)

図 18　検量線（高濃度領域：10～500pptv）

［**1,2-ジクロロプロパン**］

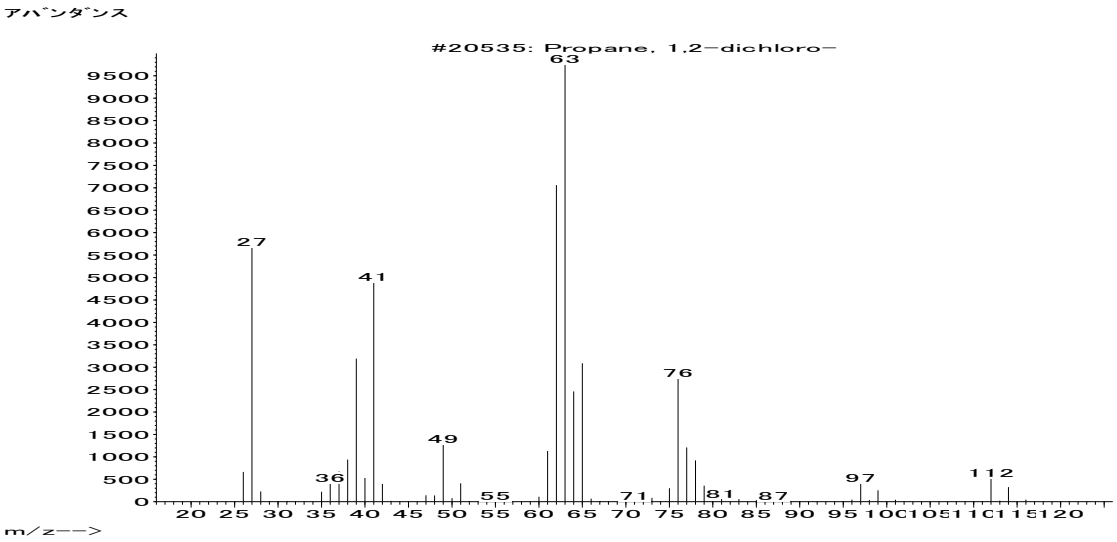


図 19　1,2-ジクロロプロパンのマススペクトル

表 16　検量線作成用データ（低濃度領域）

標準ガス濃度(pptv) (*Cs*)	濃度比	応答値		応答比 (*As*/*Ais*)
		1,2-ジクロロプロパン (*As*) (*m*/*z* 63)	トルエン-d_8 (*Ais*) (*m*/*z* 98)	
0.5	0.0025	297.92	166374.57	0.0018
1.0	0.0050	617.12	180024.59	0.0034
2.0	0.0100	1001.82	159157.36	0.0063
5.0	0.0250	2613.45	150679.84	0.0173
10	0.0500	5123.65	148398.28	0.0345
15	0.0750	7725.97	142997.08	0.0540

*: 内標準物質濃度：200pptv (C_{is})

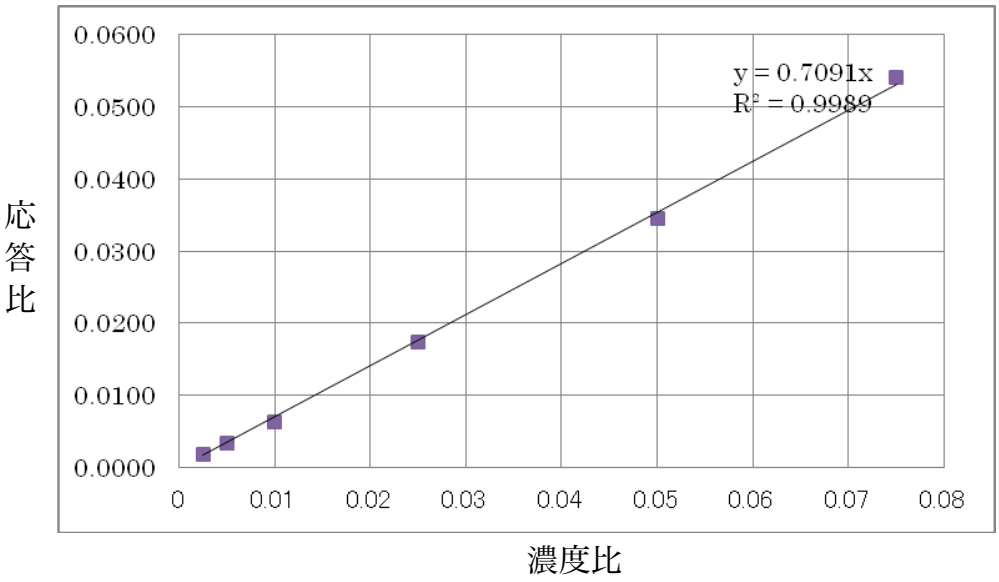
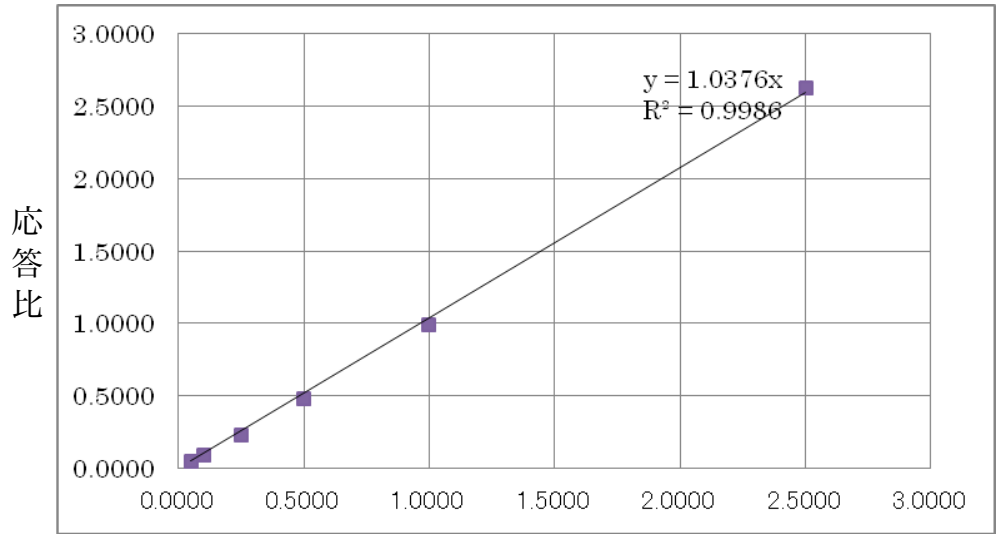


図 20　検量線（低濃度領域：0.5～15pptv）

表 17　検量線作成用データ（高濃度領域）

標準ガス濃度(pptv) (*Cs*)	濃度比	応答値		応答比 (*As*/*Ais*)
		1,2-ジクロロプロパン (*As*) (*m*/*z*63)	トルエン-d_8 (*Ais*) (*m*/*z* 98)	
10	0.0500	2208.02	48353.49	0.0457
20	0.1000	4122.89	48330.96	0.0853
50	0.2500	10125.29	44810.45	0.2260
100	0.5000	21154.98	44133.01	0.4793
200	1.0000	41582.23	42142.67	0.9867
500	2.5000	109032.74	41514.83	2.6264

*: 内標準物質濃度：200pptv (C_{is})



濃度(pptv)→(100)　(200)　(500)

図 21　検量線（高濃度領域：10～500pptv）

［*cis*-1,3-ジクロロプロペン］

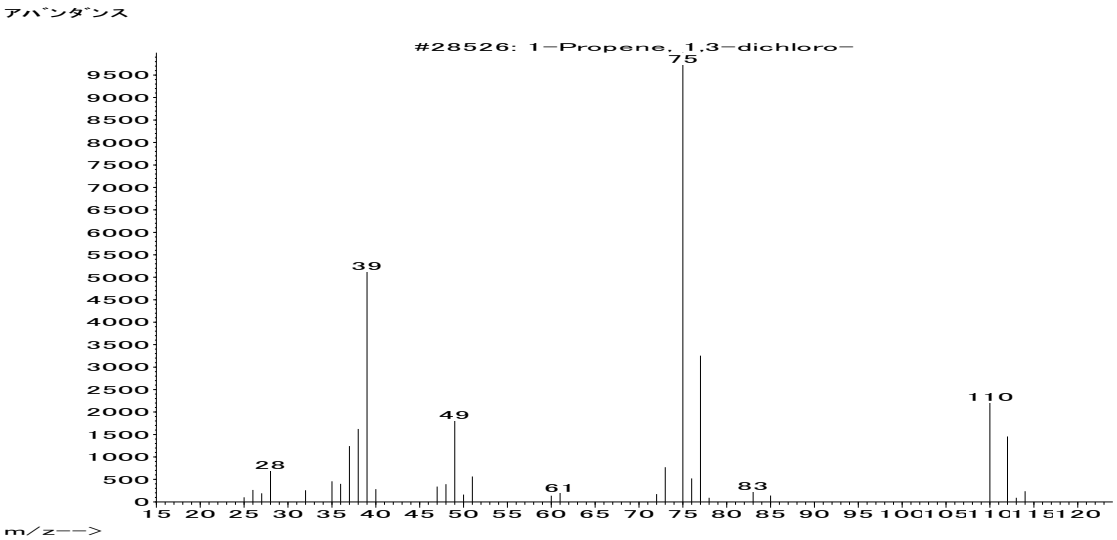


図 22　*cis*-1,3-ジクロロプロペンのマススペクトル

表 18　検量線作成用データ（低濃度領域）

標準ガス濃度(pptv) (*Cs*)	濃度比	応答値		応答比 (*As*/*Ais*)
		cis-1,3-ジクロロプロペン (*As*) (*m*/*z* 75)	トルエン-d_8 (*Ais*) (*m*/*z* 98)	
0.5	0.0025	265.42	166374.57	0.0016
1.0	0.0050	481.08	180024.59	0.0027
2.0	0.0100	893.80	159157.36	0.0056
5.0	0.0250	2049.20	150679.84	0.0136
10	0.0500	3954.25	148398.28	0.0266
15	0.0750	5887.64	142997.08	0.0412

*: 内標準物質濃度：200pptv (C_{is})

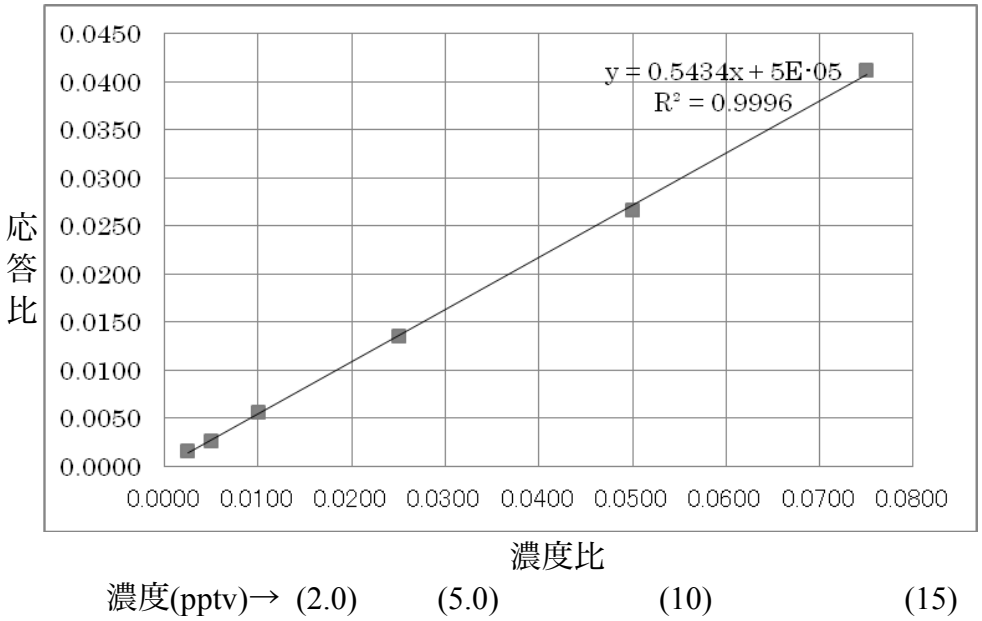
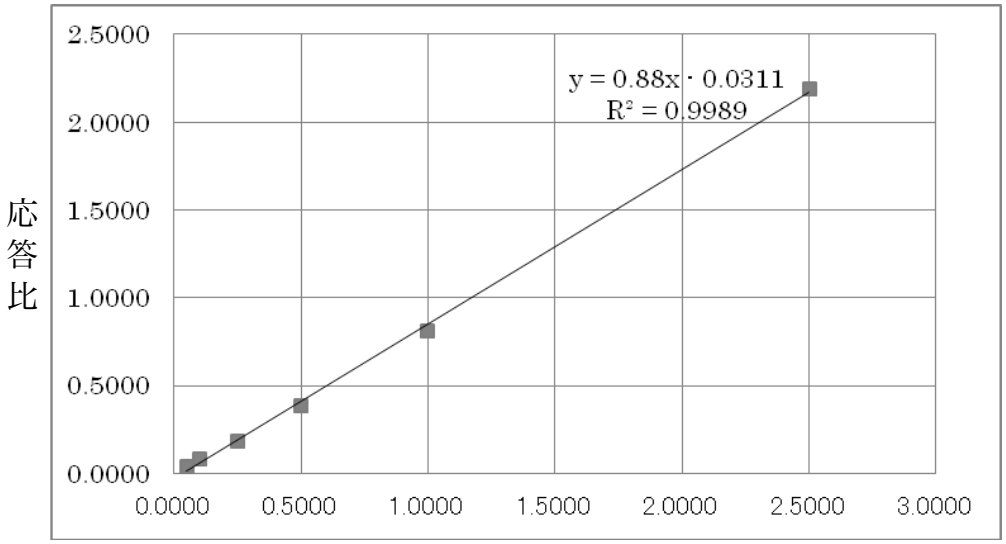


図 23　検量線（低濃度領域：0.5～15pptv）

表 19　検量線作成用データ（高濃度領域）

標準ガス濃度(pptv) (*Cs*)	濃度比	応答値		応答比 (*As*/*Ais*)
		cis-1,3-ジクロロプロペン (*As*) (*m*/*z* 75)	トルエン-d_8 (*Ais*) (*m*/*z* 98)	
10	0.0500	1788.15	48353.49	0.0370
20	0.1000	3289.17	48330.96	0.0825
50	0.2500	8168.69	44810.45	0.1823
100	0.5000	16978.20	44133.01	0.3847
200	1.0000	34170.18	42142.67	0.8108
500	2.5000	90839.51	41514.83	2.1881

*: 内標準物質濃度：200pptv (C_{is})



濃度(pptv)→(100)　　(200)　　(500)

図 24　検量線（高濃度領域：10～500pptv）

［***trans*-1,3-ジクロロプロペン**］

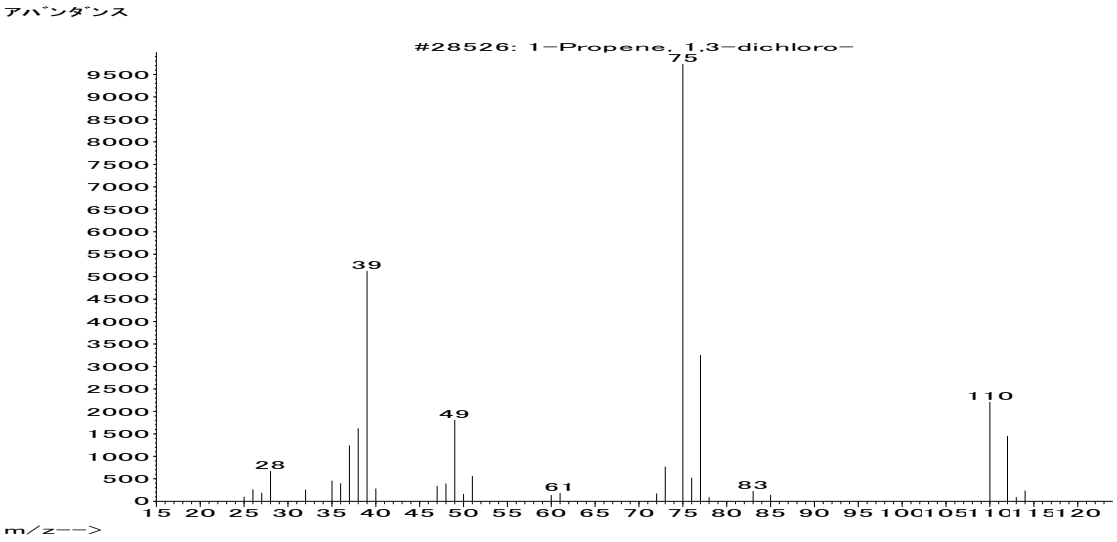
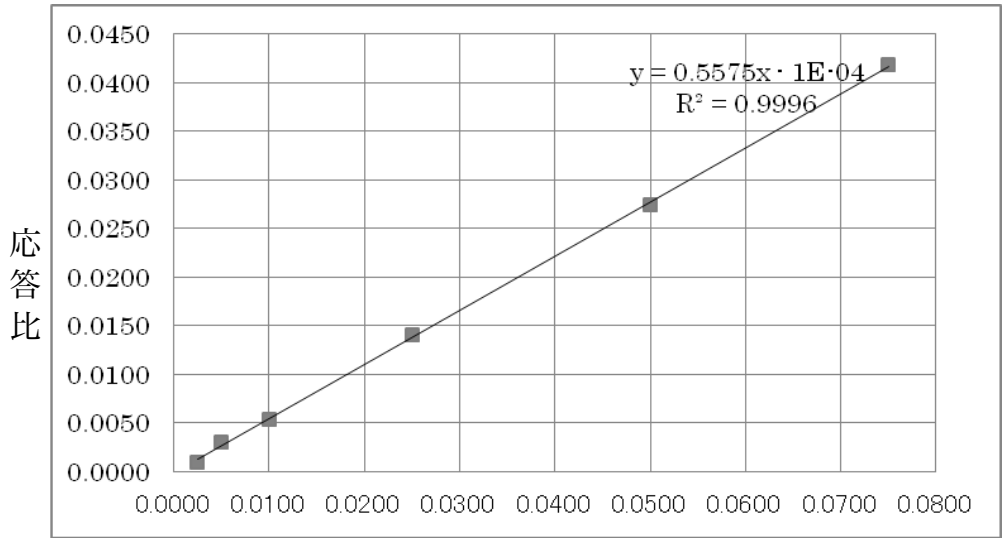


図 25　*trans*-1,3-ジクロロプロペンのマススペクトル

表 20　検量線作成用データ（低濃度領域）

標準ガス濃度(pptv) (*Cs*)	濃度比	応答値		応答比 (*As*/*Ais*)
		trans-1,3-ジクロロプロペン (*As*) (*m*/*z* 75)	トルエン-d_8 (*Ais*) (*m*/*z* 98)	
0.5	0.0025	162.25	166374.57	0.0010
1.0	0.0050	556.37	180024.59	0.0031
2.0	0.0100	845.84	159157.36	0.0053
5.0	0.0250	2128.23	150679.84	0.0141
10	0.0500	4069.26	148398.28	0.0274
15	0.0750	5986.28	142997.08	0.0419

*: 内標準物質濃度：200pptv (C_{is})



濃度(pptv)→ (2.0)　　(5.0)　　(10)　　(15)

図 26　検量線（低濃度領域：0.5～15pptv）

表 21　検量線作成用データ（高濃度領域）

標準ガス濃度(pptv) (*Cs*)	濃度比	応答値		応答比 (*As*/*Ais*)
		trans-1,3-ジクロロプロペン(*As*) (*m*/*z* 75)	トルエン-d_8 (*Ais*) (*m*/*z* 98)	
10	0.0500	1701.21	48353.49	0.0352
20	0.1000	3354.38	48330.96	0.0694
50	0.2500	8205.70	44810.45	0.1831
100	0.5000	17084.39	44133.01	0.3871
200	1.0000	33897.10	42142.67	0.8067
500	2.5000	92252.24	41514.83	2..2222

*: 内標準物質濃度：200pptv (C_{is})

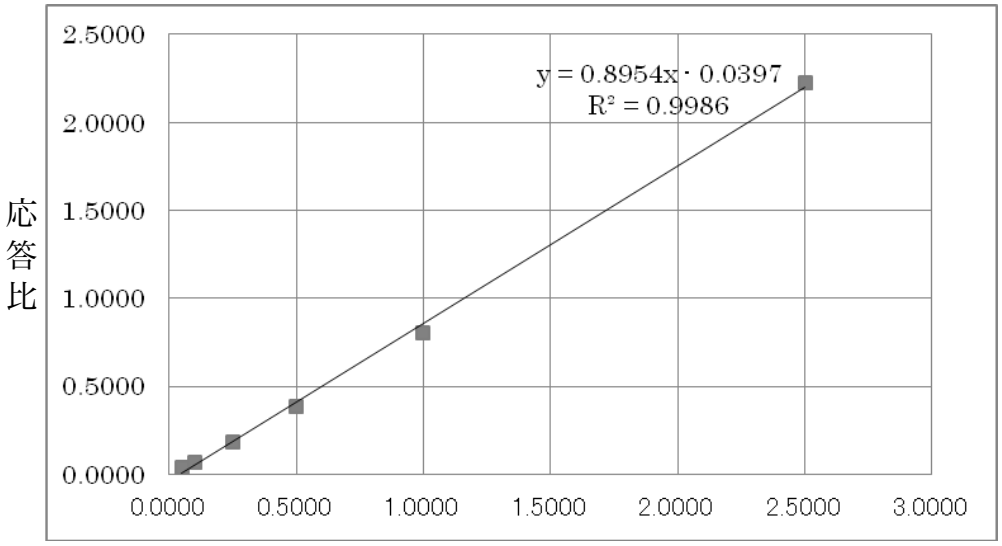


図 27　検量線（高濃度領域：10～500pptv）

〔環境試料の分析〕

札幌市白石区にある札幌市衛生研究所の屋上で採取した大気試料を分析した。

大気試料からは、1,1-ジクロロエチレンは検出されなかった。

また、本分析法においては大気中に存在し、1,1-ジクロロエチレンと溶出時間が近い揮発性有機化合物(VOC)の妨害は認められなかった。

【評価】

本分析法により、大気中の 1,1-ジクロロエチレンを定量下限 0.049 μg/m^3 で定量することが可能である。

また、本分析法はクロロメタン、ブロモメタン、クロロエタン、1,2-ジクロロプロパン、*cis*-1,3-ジクロロプロペン、*trans*-1,3-ジクロロプロペンについて同時分析が可能である。

【参考文献】

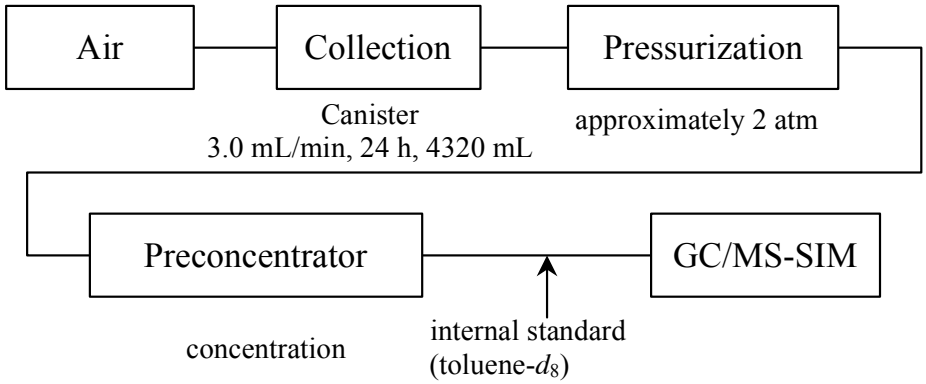
1) 環境省大気保全局大気規制課：有害大気汚染物質測定法マニュアル（平成 9 年 2 月）

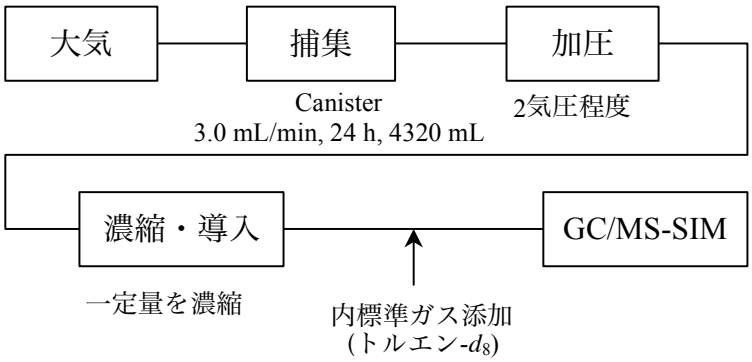
【担当者連絡先】

所属先名称：札幌市衛生研究所
所属先住所：〒003-8505　札幌市白石区菊水 9 条 1 丁目
TEL:011-841-9596　　FAX011-841-7073
担当者氏名：生活科学課　立野　英嗣
E-mail　　：hidetsugu.tateno@city.sapporo.jp

1,1-Dichloroethylene

This method provides a procedure for the determination of 1,1-dichloroethylene in ambient air sample by gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS). A whole air sample is drawn into a canister at a flow rate of 3.0 mL/min for 24 hours. After sample collection, the canister is pressurized by pure nitrogen gas at 2 atm. 1,1-Dichloroethylene is concentrated and eluted by pre-concentrator ENTECH7100A. Toluene-d_8, as an internal standard, is added to the eluted gas from the pre-concentrator. The target compounds are determined by GC/MS-SIM. The method detection limit (MDL) of 1,1-dichloroethylene is 0.019 μg/m^3, and the method quantification limit (MQL) of 1,1-dichloroethylene is 0.049 μg/m^3. The average of recoveries (n = 5) from 80.7 ng of 1,1-dichloroethylene added canister was 105%, and the relative standard deviation of 1,1-dichloroethylene was 2.5%. Using this method, 1,1-dichloroethylene was not detected at Sapporo.



物質名	分析法フローチャート	備考
1,1-ジクロロエチレン 別名:塩化ビニリデン、 1,1-ジクロロエテン	【大気】  	分析原理： GC/MS-SIM 検出下限値 【大気】 0.019 μg/m^3 分析条件： 機器 GC/MS-5975C カラム HP-1 60 m×0.32 mm, 1.0 μm

川崎市環境総合研究所
［対象媒体：大気］

2,4,6-トリクロロフェノール

2,4,6-Trichlorophenol

別名 ： Dowicide 2S、Omal

同時分析：ポリクロロフェノール類（1～5塩素体）

（***o*-クロロフェノール、*m*-クロロフェノール、*p*-クロロフェノール、**

2,3-ジクロロフェノール、2,4-ジクロロフェノール、

2,5-ジクロロフェノール、2,6-ジクロロフェノール、

3,4-ジクロロフェノール、3,5-ジクロロフェノール、

2,3,4-トリクロロフェノール、2,3,5-トリクロロフェノール、

2,3,6-トリクロロフェノール、2,4,5-トリクロロフェノール、

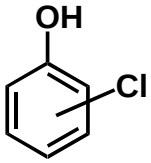
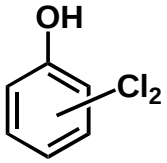
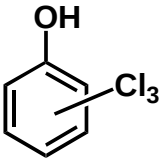
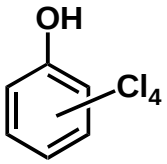
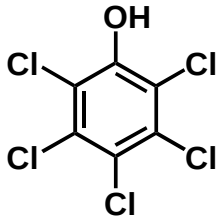
3,4,5-トリクロロフェノール、2,3,4,5-テトラクロロフェノール、

2,3,4,6-テトラクロロフェノール、2,3,5,6-テトラクロロフェノール、

ペンタクロロフェノール）

Polychlorophenols (1~5 substitution products)
(*o*-Chloropheno, *m*-Chlorophenol, *p*-Chlorophenol, 2,3-Dichlorophenol, 2,4-Dichlorophenol, 2,5-Dichlorophenol, 2,6-Dichlorophenol, 3,4-Dichlorophenol, 3,5-Dichlorophenol, 2,3,4-Trichlorophenol, 2,3,5-Trichlorophenol, 2,3,6-Trichlorophenol, 2,4,5-Trichlorophenol, 3,4,5-Trichlorophenol, 2,3,4,5-Tetrachlorophenol, 2,3,4,6-Tetrachlorophenol, 2,3,5,6-Tetrachlorophenol, Pentachlorophenol)

【対象物質の構造】

構造式 （表中等で使用する略号）	分子式 モノアイソトピック質量数等 （エチル誘導体化物モノアイソトピック質量数等）	異性体数	CAS番号
クロロフェノール  (MCP)	C_6H_5ClO 128.00 [M] 130.00 [M+2] (156.03 [M]) (158.03 [M+2])	3	*o* ; 95-57-8 *m* ; 108-43-0 *p* ; 106-48-9
ジクロロフェノール  (DCP)	$C_6H_4Cl_2O$ 161.96 [M] 163.96 [M+2] (190.00 [M]) (192.00 [M+2])	6	2,3 ; 576-24-9 2,4 ; 120-83-2 2,5 ; 583-78-8 2,6 ; 87-65-0 3,4 ; 95-77-2 3,5 ; 591-35-5
トリクロロフェノール  (TrCP)	$C_6H_3Cl_3O$ 195.92 [M] 197.92 [M+2] (223.96 [M]) (225.96 [M+2])	6	2,3,4 ; 15950-66-0 2,3,5 ; 933-78-8 2,3,6 ; 933-75-5 2,4,5 ; 95-95-4 2,4,6 ; 88-06-2 3,4,5 ; 609-19-8
テトラクロロフェノール  (TeCP)	$C_6H_2Cl_4O$ 229.89 [M] 231.89 [M+2] (257.92 [M]) (259.92 [M+2])	3	2,3,4,5 ; 4901-51-3 2,3,4,6 ; 58-90-2 2,3,5,6 ; 935-95-5
ペンタクロロフェノール  (PCP)	C_6HCl_5O 263.85 [M] 265.85 [M+2] (291.88 [M]) (293.88 [M+2])	1	87-86-5

【物理化学的性状】*

物質名	融点 (°C)	蒸気圧 (hPa)	水溶解度 (mg/L)	log P_{ow}
o-MCP	174.5（沸点）	1.33 (12.1°C)	微溶	2.15
m-MCP	32.5～33.5	1.33 (44.2°C)	可溶	2.47～2.52
p-MCP	43.5	1.33 (49.8°C)	微溶	2.39
2,3-DCP	57	-	-	2.84～3.15
2,4-DCP	45	1.33 (53°C)	-	3.06～3.15
2,5-DCP	59	-	-	3.06
2,6-DCP	64.5～65.5	-	-	2.64～2.98
3,4-DCP	68	-	-	3.21～3.33
3,5-DCP	68	10.7 (123°C)	-	3.43
2,4,5-TrCP	61～67	1.33～179 (20～72°C)	難溶	3.72～4.1
2,4,6-TrCP	68	1.33 (76.5°C)	可溶	3.69

【毒性、用途等】*

***o*-クロロフェノール**

〔毒性〕　急性毒性　マウス（経口）LD_{50}：345 mg/kg
ラット（経口）LD_{50}：670 mg/kg

〔用途〕　合成中間体

***m*-クロロフェノール**

〔毒性〕　急性毒性　マウス（経口）LD_{50}：521 mg/kg
ラット（経口）LD_{50}：570 mg/kg

***p*-クロロフェノール**

〔毒性〕　急性毒性　マウス（経口）LD_{50}：1373 mg/kg
ラット（経口）LD_{50}：261 mg/kg

〔用途〕　染料、殺菌剤、防かび剤、防汚剤、合成中間体

2,3-ジクロロフェノール

〔毒性〕　急性毒性　マウス（経口）LD_{50}：2376 mg/kg

2,4-ジクロロフェノール

〔毒性〕　急性毒性　マウス（経口）LD_{50}：1276 mg/kg
ラット（経口）LD_{50}：580 mg/kg

〔用途〕　合成中間体

2,5-ジクロロフェノール

〔毒性〕　急性毒性　マウス（経口）LD_{50}：946 mg/kg
ラット（経口）LD_{50}：580 mg/kg

2,6-ジクロロフェノール

〔毒性〕　急性毒性　マウス（経口）LD_{50}：2120 mg/kg
ラット（経口）LD_{50}：2940 mg/kg
〔用途〕　合成中間体

3,4-ジクロロフェノール

〔毒性〕　急性毒性　マウス（経口）LD_{50}：1685 mg/kg

3,5-ジクロロフェノール

〔毒性〕　急性毒性　マウス（経口）LD_{50}：2389 mg/kg

2,4,5-トリクロロフェノール

〔毒性〕　急性毒性　マウス（経口）LD_{50}：600 mg/kg
ラット（経口）LD_{50}：820 mg/kg
〔用途〕　殺菌剤、防かび剤、防汚剤

2,4,6-トリクロロフェノール

〔毒性〕　急性毒性　ラット（経口2年）TD：374 g/kg
ラット（経口2年）TD_{Lo}：441 g/kg
ラット（腹腔内注射）LD_{50}：276 mg/kg
ラット（経口）LD_{50}：820 mg/kg
マウス（経口2年）TD：882 g/kg
マウス（経口2年）TD_{Lo}：441 g/kg
トリ（経口）LD_{50}：454 mg/kg
トリ（経皮）LD_{50}：700 mg/kg
発ガン性　EPA発癌性評価：B2
［ヒトに対して発ガン性を証明するデータが不十分である物質］
〔用途〕　殺菌剤、防かび剤、防汚剤、防腐剤、合成中間体

2,3,4,6-テトラクロロフェノール

〔毒性〕　急性毒性　モルモット（経口）LD_{50}：250 mg/kg
ラット（経口）LD_{50}：140 mg/kg
〔用途〕　農薬全般（中間体を含む）、合成中間体

*：化学物質安全情報提供システム（kis-net、神奈川県環境科学センター）

§1 分 析 法（注1）

(1) 分析法の概要

酸化防止剤を含浸させた捕集管に、大気試料を通気してポリクロロフェノール類を捕集する。ジクロロメタンで抽出し、窒素気流下で濃縮しながらアセトンに転溶する。ジエチル硫酸でエチル化した後、シリンジスパイク内標準（以下、「内標準」という）を加えてからヘキサンで抽出し、GC/MS-SIM で分析する。

(2) 試薬・器具

【試薬】（注2）

o-クロロフェノール　：特級　東京化成工業製
m-クロロフェノール　：一級　東京化成工業製
p-クロロフェノール　：特級　東京化成工業製
2,3-ジクロロフェノール　：一級　東京化成工業製
2,4-ジクロロフェノール　：特級　東京化成工業製
2,5-ジクロロフェノール　：特級　東京化成工業製
2,6-ジクロロフェノール　：一級　東京化成工業製
3,4-ジクロロフェノール　：一級　東京化成工業製
3,5-ジクロロフェノール　：東京化成工業製
2,3,4-トリクロロフェノール標準品：環境分析用　Dr. Ehrenstorfer GmbH製
2,3,5-トリクロロフェノール標準品：環境分析用　Dr. Ehrenstorfer GmbH製
2,3,6-トリクロロフェノール　：東京化成工業製
2,4,5-トリクロロフェノール　：一級　和光純薬工業製
2,4,6-トリクロロフェノール標準品：残留農薬試験用　和光純薬工業製
3,4,5-トリクロロフェノール　：Cerilliant Corporation製
2,3,4,5-テトラクロロフェノール　：Cambridge Isotope Laboratories, Inc.製
2,3,4,6-テトラクロロフェノール　：Cambridge Isotope Laboratories, Inc.製
2,3,5,6-テトラクロロフェノール　：Cambridge Isotope Laboratories, Inc.製
ペンタクロロフェノール標準品　：残留農薬試験用　和光純薬工業製
フルオレン-d_{10}標準品（内標準物質(IS)）（注3）：環境分析用　関東化学製
ジクロロメタン：残留農薬試験用　5000倍濃縮　関東化学製
アセトン　：残留農薬試験用　5000倍濃縮　関東化学製
ヘキサン　：残留農薬試験用　5000倍濃縮　関東化学製
メタノール　：残留農薬試験用　5000倍濃縮　関東化学製
エタノール　：残留農薬試験用　5000倍濃縮　関東化学製
精製水　：蒸留水（ヘキサン洗浄品）　残留農薬試験用　関東化学製

H25年度調査時、次のコメントが寄せられた。
・エチル化剤の硫酸ジエチルは非常に危険な試薬であることを明記すべきである。
【参考】GHS分類結果(GHS関係省庁連絡会議(H18) GHS分類マニュアル(H18.2.10版)

ジエチル硫酸（硫酸ジエチル）：特級　関東化学製
水酸化カリウム　：特級　関東化学製
L-アスコルビン酸　：特級　関東化学製
硫酸ナトリウム（無水）　：残留農薬試験用：関東化学製
2,4,6-トリクロロフェノール-$^{13}C_6$（注4）：Cambridge Isotope Laboratories, Inc.製
捕集管　：OASIS HLB plus　Waters製

【試薬の調製】

アスコルビン酸溶液：*L*-アスコルビン酸1 gをメタノール100 mLに溶解する。
水酸化カリウム溶液：水酸化カリウム5.6 gを精製水5 mLに溶解する。そこへエタノール95 mLを加えて調製する。

【標準液の調製】

〔標準液〕

各ポリクロロフェノール類の標準品を正確に25.0 mg量り取り、アセトンで25.0 mLとして、それぞれ1.00 mg/mLの標準原液を調製する。

同時分析を行う場合は、それらを混合して10～20 μg/mL程度の標準混合液を調製する。

〔内標準液〕

フルオレン-d_{10}の標準品を正確に25.0 mg量り取り、アセトンで25 mLとして1.00 mg/mLの内標準原液を調製する。この内標準原液をアセトンで順次希釈し、1.00 μg/mLの内標準液を調製する。

〔検量線用標準液〕

標準原液または標準混合液をアセトンで順次希釈し、2.00～500 ng/mLの標準液を調製し、各1.00 mLを取り、後述の【試料の前処理及び試験液の調製】と同様に処理したものを検量線用標準液とする。

なお、この検量線用標準液は、測定日毎に調製すること（注5）。

【器具】

共栓付試験管(25 mL)、注射筒(10 mL)
試験管ミキサー

急性毒性(経口) 区分4【警告】(H302:飲み込むと有害)
急性毒性(経皮) 区分3【危険】(H311:皮膚に接触すると有害)
皮膚腐食性/刺激性 区分1A-1C【危険】(H314:重篤な皮膚の薬傷及び眼の損傷)
目に対する重篤な損傷性/眼刺激性 区分1【危険】(H318:重篤な眼の損傷)
生殖細胞変異原性 区分1B【危険】(H340:遺伝性疾患のおそれ)
発がん性 区分1B【危険】(H350:発がんのおそれ)
特定標的臓器毒性(単回暴露) 区分2(呼吸器)【警告】(H371:臓器の障害のおそれ(呼吸器)
水生環境有毒性(急性) 区分3(H402:水生生物に有害)) (2014年度精査等検討会コメント)

(3) 分析法

【捕集管の調製】

捕集管のOASIS HLB plusは、ジクロロメタン10 mLで洗浄する。洗浄したカートリッジに窒素ガスを通気し、溶媒を除去する（100 mL/minでは40分程度）。

次にアスコルビン酸溶液3 mLを捕集管に通液した後、窒素ガスを通気し、溶媒を除去する（100 mL/minで50分程度）。調製した捕集管は両端を密栓して捕集時まで遮光冷蔵保存する。1週間は使用可能である。

【試料の捕集方法及び保存】

前項のとおり調製した捕集管をアルミホイルなどで遮光してポンプに接続し、100 mL/minの流速で24時間大気試料を捕集する。

捕集後の捕集管は両端を密栓し、アルミ製の密封できる袋等に入れて実験室に持ち帰り、遮光冷蔵保存する。

【試料の前処理及び試験液の調製】

試料を捕集した捕集管を、ジクロロメタン10 mLで捕集時の通気方向と逆方向に25 mL共栓付試験管へ溶出（注6）し、その溶出液を窒素気流下で1 mL程度まで濃縮する。そこへアセトン5 mLを加え、再び窒素気流下で1 mL程度まで濃縮する。

その濃縮液に水酸化カリウム溶液0.5 mLとジエチル硫酸0.5 mLを加え、良く攪拌した後（この時点で固化する場合があるので、その場合は十分な攪拌が必要である）、30分間静置する。そこへ水酸化カリウム溶液4 mL及び精製水3 mLを加えてよく攪拌し、全て溶解させる。さらにヘキサン1 mLと内標準液30.0 μLを加えて再びよく攪拌し、30分間静置する。上部のヘキサン層をパスツールピペット等で分取し、少量の硫酸ナトリウムを入れたガスクロマトグラフ用のバイアルに移し、これを試験液とする。

【空試験液の調製】

【捕集管の調製】のとおり調製した捕集管を、大気試料を捕集せずに、試験液と同様に処理し、空試験液（操作ブランク）として分析する。

【測定】

〔装置条件〕

［GC条件］

使用機種　：6890（Agilent製）

使用カラム：Restek Rtx-5MS　30 m×0.25 mm×0.25 μm（Restek製）

カラム温度：40°C (1 min) → 5°C/min → 170°C → 20°C/min →290°C (2 min)

注入方法　：スプリットレス

注入口温度：250°C

試料注入量：1 μL

［MS条件］

使用機種　：GCmateII（日本電子製）

イオン化法：EI

インターフェース温度：230°C
イオン源温度　　：230°C

H25年度調査時、次のコメントが寄せられた。モニターイオンに、妨害成分の影響が少ない m/z 224 を確認イオンとして追加した。(2014年度精査等検討会コメント)

モニターイオン（各エチル誘導体化物）　：（注7）

o-, *m*-MCP	：*m/z* 128.0（定量用）、156.0（確認用）
p-MCP	：*m/z* 156.0（定量用）、128.0（確認用）
DCP類	：*m/z* 164.0（定量用）、190.0（確認用）
2,3,4-TrCP	：*m/z* 224.0（定量用）、195.9（確認用）
2,3,4-以外のTrCP類	：*m/z* 195.9（定量用）、224.0（確認用）
TeCP類	：*m/z* 231.9（定量用）、259.9（確認用）
PCP	：*m/z* 265.9（定量用）、293.9（確認用）
2,4,6-TrCP-$^{13}C_6$	：*m/z* 203.9（定量用）、232.0（確認用）（注8）
内標準（フルオレン-d_{10}）	：*m/z* 176.1

〔検量線〕

検量線用標準液1.0 μLをGC/MSに注入して分析する。対象物質と内標準物質の濃度比及び得られたピーク面積比から検量線を作成する。

〔定量〕

試験液1.0 μLをGC/MSに注入して分析する。得られた対象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に照らして定量する。

〔濃度の算出〕

大気試料中のポリクロロフェノール類のそれぞれの濃度C (ng/m^3)は、次式により算出する。

$$C = \{(R-Rb) \cdot Q\} \times v \times \{(273 + t) / (273 + 20.0)\} \times (101 / P) / V$$

R：試験液中の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
Rb：空試験液中の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)
（＝添加内標準の濃度 (ng/μL) × 添加内標準の容量 (μL)）
v：最終液量 (mL)
t：捕集時の平均気温 (°C)
P：捕集時の平均気圧 (kPa)
V：試料量 (m^3)

本分析法に従った場合、以下の数値を使用する。

Q = 30.0 (ng)
(= 添加内標準の濃度 (1.00 ng/μL) × 添加内標準の容量 (30.0 μL))
V = 0.144 (m^3)
v = 1.00 (mL)

即ち、

$C = (R\text{-}Rb) \times 208 \times \{(273 + t) / (273 + 20.0)\} \times (101 / P)$ (ng/m^3)

である。

〔装置検出下限値 (IDL) 〕

本分析に用いたGC/MSのIDLを表1に示す（注9）。

表1　IDLの算出結果　（赤字は2024/12/10訂正）

物質名	IDL (ng/mL)	試料量 (m^3)	最終液量 (mL)	IDL試料換算値 (ng/m^3)
o-MCP	0.43	0.144	1	3.0
m-MCP	0.40	0.144	1	2.8
p-MCP	~~0.64~~ 0.43	0.144	1	~~4.5~~ 3.0
2,3-DCP	1.0	0.144	1	7.2
2,4-DCP	~~1.5~~ 1.4	0.144	1	~~11~~ 10
2,5-DCP	0.33	0.144	1	2.3
2,6-DCP	0.52	0.144	1	3.6
3,4-DCP	0.43	0.144	1	3.0
3,5-DCP	0.66	0.144	1	4.6
2,3,4-TrCP	0.51	0.144	1	3.6
2,3,5-TrCP	~~0.51~~ 0.34	0.144	1	~~3.6~~ 2.3
2,3,6-TrCP	0.55	0.144	1	3.8
2,4,5-TrCP	0.38	0.144	1	2.7
2,4,6-TrCP	0.68	0.144	1	4.7
2,4,6-TrCP ($^{13}C_6$)	0.57	0.144	1	4.0
3,4,5-TrCP	~~0.76~~ 0.37	0.144	1	~~5.3~~ 2.6
2,3,4,5-TeCP	~~1.2~~ 0.84	0.144	1	~~8.0~~ 5.8
2,3,4,6-TeCP	0.45	0.144	1	3.1
2,3,5,6-TeCP	0.44	0.144	1	3.1
PCP	0.59	0.144	1	4.1

〔測定方法の検出下限値(MDL)及び定量下限値(MQL)〕

本測定方法におけるMDL及びMQLを表2に示す（注10）。

表2　MDL及びMQL算出の結果

物質名	試料量 (m^3)	最終液量 (mL)	MDL (ng/m^3)	MQL (ng/m^3)
o-MCP	0.144	1	11	28
m-MCP	0.144	1	11	30
p-MCP	0.144	1	15	41
2,3-DCP	0.144	1	14	36
2,4-DCP	0.144	1	16	41
2,5-DCP	0.144	1	13	35
2,6-DCP	0.144	1	11	29
3,4-DCP	0.144	1	13	35
3,5-DCP	0.144	1	12	32
2,3,4-TrCP	0.144	1	28	73
2,3,5-TrCP	0.144	1	13	35
2,3,6-TrCP	0.144	1	25	66
2,4,5-TrCP	0.144	1	15	38
2,4,6-TrCP	0.144	1	13	35
3,4,5-TrCP	0.144	1	11	30
2,3,4,5-TeCP	0.144	1	12	32
2,3,4,6-TeCP	0.144	1	11	28
2,3,5,6-TeCP	0.144	1	12	31
PCP	0.144	1	12	33

注　解

（注1）本分析法では、エチル誘導体化物を定量しているが、IDL、MDL等での濃度表示は全て、フェノール体としての濃度で表示している。（以下、§2解説以降も同様）

（注2）各試薬は、当研究所で入手しやすかったものであり、同等以上のもので

H25年度調査時、次のコメントが寄せられた。指定の内標準(フルオレン-d 10)ではピーク形状が次第に悪くなり、再現性が得られず、内標準をビフェニル-d 10に変更した。(分析法では、2,3-ジクロロフェノールのエチル誘導体化物と保持時間・モニターイオンが重なるのでビフェニル-d 10は使用できないとあるが、H25調査の対象物質は 2,4,6-トリクロロフェノールのみであり、ビフェニル-d 10の使用は差し支え無かった。)
(2014年度精査等検討会コメント)

あれば製造元は問わない。

（注3）内標準物質はフルオレン-d_{10}を使用する。平成22年度化学物質分析法開発調査報告書（生物、参考文献2）では、ビフェニル-d_{10}を使用しているが、本分析法のGC/MS条件では、2,3-ジクロロフェノールのエチル誘導体化物と保持時間及びモニターイオンが重なるため、使用できない。

（注4） 2,4,6-トリクロロフェノール($^{13}C_6$)は、分析法の開発段階で回収率の確認等に使用したもので、完成した分析法では使用しない。

（注5）検量線用標準液は、測定日毎に調製することが望ましい。後述の〔保存性試験〕での検量線用標準液の保存性の問題もあるが、時間が経つにつれ、定量イオンのクロマトグラムに分解物と考えられるピークが多く確認されてくる。特にポリクロロフェノール類を同時分析する時は、分解物のピークの影響が大きい物質がいくつかあり、低濃度の測定時には影響が出やすいので、注意が必要である。

（注6）この溶出の際、自然に滴下しない場合は、1秒に1～2滴程度の速さで溶出するように加圧する。

（注7）*p*-クロロフェノールはエチル化の反応副生成物と、また、2,3,4-トリクロロフェノールはジクロロナフタレン類（後述）とピークが重なるので、他の異性体と定量イオンが異なる。また、ジクロロフェノール類も基準ピークである*m/z* 162のクロマトグラムに反応副生成物と考えられるピークが多く見られることから、*m/z* 164を定量イオンとしている。

なお、クロロナフタレン類と2,3-ジクロロフェノールのピークも重なるが、*m/z* 190のクロマトグラムで2,3-ジクロロフェノールのピークの付近に反応副生成物と考えられるピークが多く見られ、低濃度の定量には適さないことから、定量イオンの変更はしなかった。

また今回の検討では、ここに示したイオンで定量を行っているが、大気中の妨害物質や、エチル化反応による副生成物等で多くのピークが観測されることから、各物質ともに、3～4種類程度のイオンを測定しておき、それらの中からより妨害の少ないイオンで定量することがよいと考えられる。

モニターイオンの例（各エチル誘導体化物、今回使用した以外のもの）

クロロフェノール類	: *m/z* 130.0、158.0
ジクロロフェノール類	: *m/z* 162.0、192.0
トリクロロフェノール類	: *m/z* 197.9、226.0
テトラクロロフェノール類	: *m/z* 229.9、233.9、257.9、261.9
ペンタクロロフェノール	: *m/z* 263.8、267.8、291.9、295.8

（注8）2,4,6-トリクロロフェノール ($^{13}C_6$) 体の基準ピークと分子イオンピーク

は、2,4,6-トリクロロフェノール（$^{12}C_6$）体のそれぞれのピーク+6のイオンに重なるため、定量には使用しない。

（注9）IDLは、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）に従って算出した（表3-1～5）。また、その時に得られたポリクロロフェノール類のクロマトグラムを図1-1～3に示す。

表3-1　IDLの算出結果（その1）

共通項目	
試料量(m^3)	0.144
最終液量(mL)	1
注入液濃度(ng/mL)	2.00
装置注入量(μL)	1.00

表3-2　IDLの算出結果（その2）

物質名	MCP		DCP		
	o	*m*	~~*P*~~ *p* (2024/12/10訂正)	2,3	2,4
結果1 (ng/mL)	2.08	2.12	1.99	2.30	2.76
結果2 (ng/mL)	2.10	2.13	1.93	2.18	1.78
結果3 (ng/mL)	2.28	2.33	1.92	1.93	2.18
結果4 (ng/mL)	1.99	2.13	1.72	1.71	1.64
結果5 (ng/mL)	2.03	2.33	1.86	1.52	2.00
結果6 (ng/mL)	1.95	2.09	1.83	2.00	2.25
結果7 (ng/mL)	2.15	2.12	1.69	2.03	2.31
平均値 (ng/mL)	2.083	2.178	1.849	1.951	2.131
標準偏差(ng/mL)	0.110	0.104	0.112	0.267	0.373
IDL (ng/mL) *	0.43	0.40	0.43	1.0	1.4
IDL試料換算値 (ng/m^3)	3.0	2.8	3.0	7.2	10
S/N比	14	9.0	5.0	7.5	10
CV (%)	5.3	4.8	6.1	14	17

表3-3　IDLの算出結果（その3）

物質名	DCP				TrCP
	2,5	2,6	3,4	3,5	2,3,4
結果1 (ng/mL)	2.04	1.83	2.08	2.15	2.24
結果2 (ng/mL)	2.03	1.68	2.11	1.99	2.04
結果3 (ng/mL)	1.94	1.95	2.21	1.94	1.96
結果4 (ng/mL)	1.87	1.79	2.03	1.61	2.01
結果5 (ng/mL)	1.97	1.75	1.86	2.05	1.89
結果6 (ng/mL)	1.81	1.73	1.96	1.87	2.24
結果7 (ng/mL)	1.89	2.05	2.04	2.01	2.08
平均値 (ng/mL)	1.934	1.825	2.041	1.946	2.064
標準偏差 (ng/mL)	0.0839	0.134	0.110	0.171	0.132
IDL (ng/mL) *	0.33	0.52	0.43	0.66	0.51
IDL試料換算値 (ng/m^3)	2.3	3.6	3.0	4.6	3.6
S/N比	10	7.9	7.5	8.9	7.2
CV (%)	4.3	7.3	5.4	8.8	6.4

表3-4　IDLの算出結果（その4）

物質名	TrCP				
	2,3,5	2,3,6	2,4,5	2,4,6	2,4,6($^{13}C_6$)
結果1 (ng/mL)	1.79	1.83	2.03	2.26	2.02
結果2 (ng/mL)	1.77	1.93	2.12	2.05	2.01
結果3 (ng/mL)	1.65	2.01	2.03	2.26	2.11
結果4 (ng/mL)	1.72	2.01	1.91	2.08	2.01
結果5 (ng/mL)	1.63	1.76	1.98	2.02	1.82
結果6 (ng/mL)	1.79	2.18	2.05	1.76	1.82
結果7 (ng/mL)	1.88	2.04	2.22	1.96	2.23
平均値 (ng/mL)	1.745	1.965	2.048	2.057	2.002
標準偏差 (ng/mL)	0.0870	0.141	0.0985	0.174	0.147
IDL (ng/mL) *	0.34	0.55	0.38	0.68	0.57
IDL試料換算値 (ng/m^3)	2.3	3.8	2.7	4.7	4.0
S/N比	10	10	10	10	10
CV (%)	5.0	7.2	4.8	8.5	7.4

表3-5　IDLの算出結果（その5）

物質名	TrCP	TeCP			PCP
	3,4,5	2,3,4,5	2,3,4,6	2,3,5,6	
結果1 (ng/mL)	1.80	2.20	1.99	2.07	2.16
結果2 (ng/mL)	1.85	1.99	2.07	2.04	1.76
結果3 (ng/mL)	1.87	2.26	1.84	1.85	1.97
結果4 (ng/mL)	1.89	1.83	2.01	1.82	2.00
結果5 (ng/mL)	1.61	1.97	2.16	2.03	2.14
結果6 (ng/mL)	1.80	1.62	1.84	2.11	1.84
結果7 (ng/mL)	1.86	1.99	2.01	2.04	1.89
平均値 (ng/mL)	1.811	1.978	1.988	1.996	1.965
標準偏差 (ng/mL)	0.0947	0.216	0.116	0.113	0.151
IDL (ng/mL) *	0.37	0.84	0.45	0.44	0.59
IDL試料換算値 (ng/m^3)	2.6	5.8	3.1	3.1	4.1
S/N比	10	9.1	10	10	8.6
CV (%)	5.2	11	5.8	5.7	7.7

*: IDL= t (n-1, 0.05)×σ_{n-1}×2

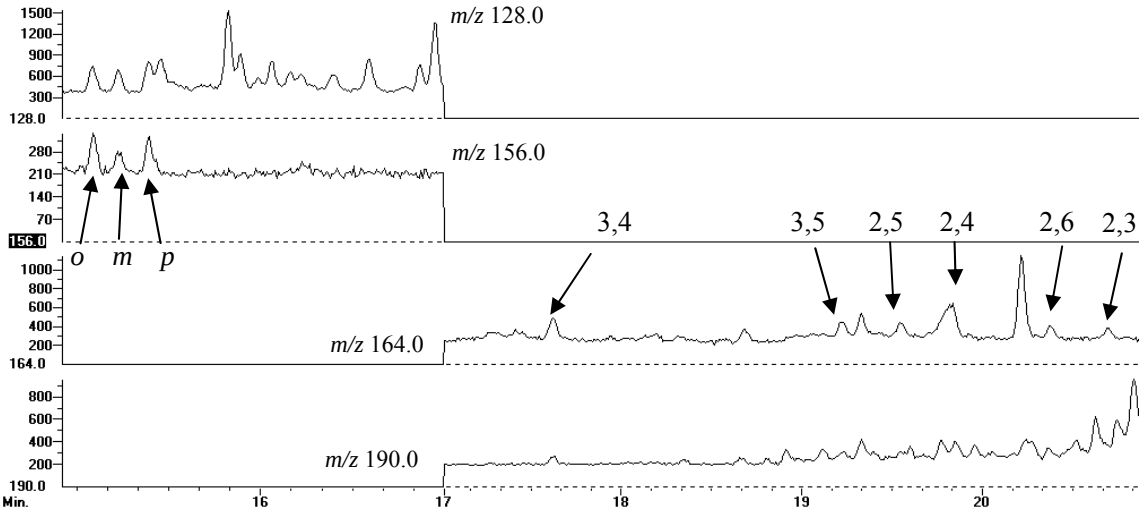


図1-1　IDL測定時 (2.00 ng/mL) のGC/MSクロマトグラム（MCP類、DCP類）

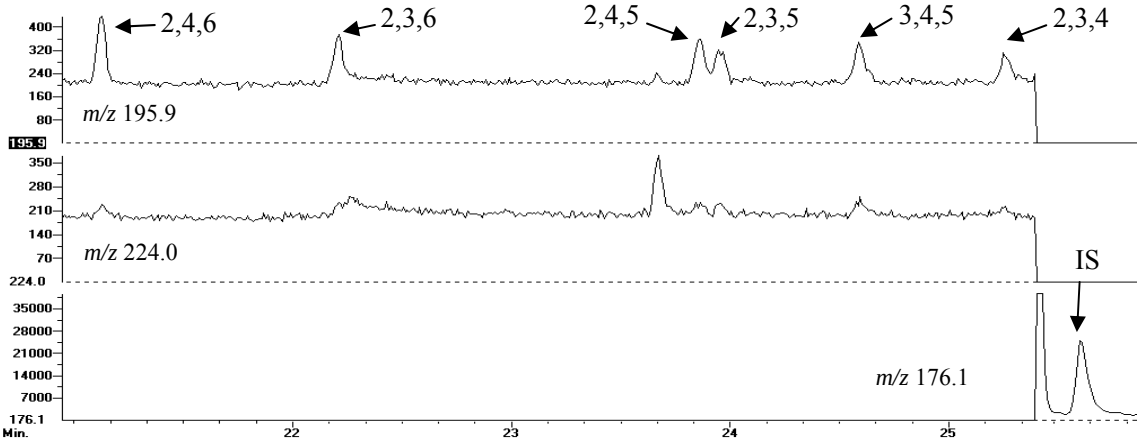


図1-2　IDL測定時 (2.00 ng/mL) のGC/MSクロマトグラム（TrCP類）

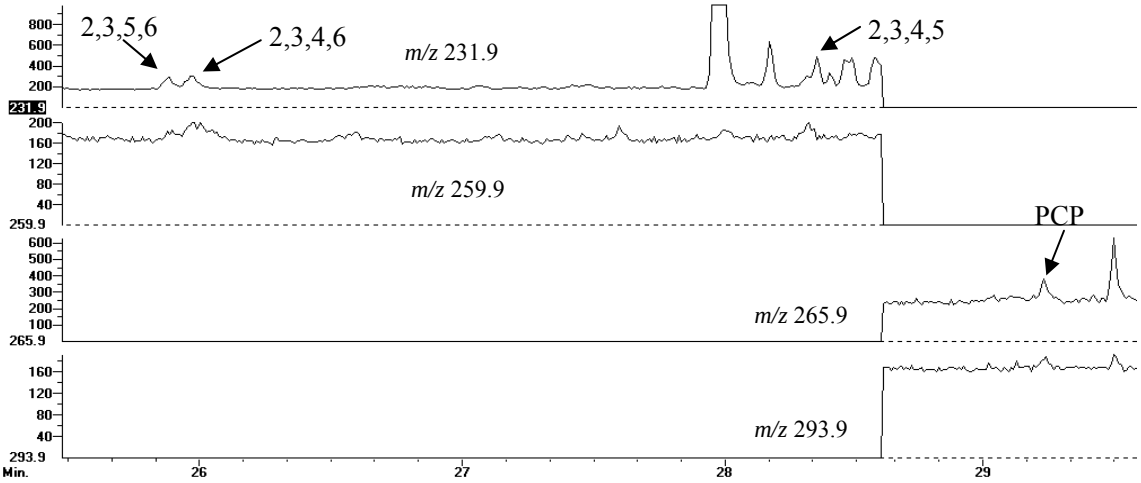


図1-3　IDL測定時 (2.00 ng/mL) のGC/MSクロマトグラム（TeCP類、PCP）

（注10）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）をもとに算出した（表4-1～5）。また、その時得られたクロマトグラムを図2-1～3に示す。

表4-1　MDL及びMQLの算出（その1）（共通項目）

試料	大気
試料量 (m^3)	0.144
標準添加量 (ng)	10.0
試料換算濃度 (ng/m^3)	69
最終液量 (mL)	1
注入液濃度 (ng/mL)	10.0
装置注入量 (μL)	1.00
操作ブランク平均 (ng/m^3)*1	N.D. (n = 2)
無添加試料 (ng/m^3)*2	N.D. (n = 1)

表4-2　MDL及びMQLの算出（その2）

物質名	MCP			DCP	
	o	*m*	~~*P*~~ *p* (2024/12/10訂正)	2,3	2,4
結果1 (ng/m^3)	60.1	61.4	58.5	66.3	57.9
結果2 (ng/m^3)	57.4	55.9	56.3	59.0	50.6
結果3 (ng/m^3)	57.8	56.5	52.5	57.5	51.4
結果4 (ng/m^3)	58.3	57.7	56.4	61.2	52.6
結果5 (ng/m^3)	63.6	61.8	64.8	66.1	61.9
結果6 (ng/m^3)	54.2	52.5	52.7	58.5	51.1
結果7 (ng/m^3)	56.0	56.3	54.1	57.6	50.6
結果8 (ng/m^3)	59.7	58.5	59.5	62.1	52.9
平均値 (ng/m^3)	58.39	57.57	56.83	61.06	53.62
標準偏差 (ng/m^3)	2.83	3.02	4.08	3.57	4.13
MDL (ng/m^3) *3	11	11	15	14	16
MQL (ng/m^3) *4	28	30	41	36	41
S/N比	20	20	15	20	20
CV (%)	4.9	5.3	7.2	5.8	7.7

表4-3　MDL及びMQLの算出（その3）

物質名	DCP				TrCP
	2,5	2,6	3,4	3,5	2,3,4
結果1 (ng/m^3)	58.0	62.5	54.6	56.4	80.3
結果2 (ng/m^3)	58.9	60.3	51.7	55.9	64.9
結果3 (ng/m^3)	56.4	58.8	53.2	56.9	63.6
結果4 (ng/m^3)	58.0	60.8	54.5	56.1	76.6
結果5 (ng/m^3)	66.4	66.7	62.8	63.4	77.3
結果6 (ng/m^3)	56.2	58.1	51.6	55.3	60.1
結果7 (ng/m^3)	55.3	58.0	53.8	53.5	72.1
結果8 (ng/m^3)	57.3	60.2	54.4	52.7	69.6
平均値 (ng/m^3)	58.32	60.66	54.59	56.26	70.55
標準偏差 (ng/m^3)	3.48	2.87	3.53	3.22	7.28
MDL (ng/m^3) *3	13	11	13	12	28
MQL (ng/m^3) *4	35	29	35	32	73
S/N比	30	30	30	15	10
CV (%)	6.0	4.7	6.5	5.7	10

表4-4　MDL及びMQLの算出（その4）

物質名	TrCP				
	2,3,5	2,3,6	2,4,5	2,4,6	3,4,5
結果1 (ng/m^3)	57.1	56.5	56.0	59.1	46.9
結果2 (ng/m^3)	55.9	49.5	54.9	55.0	47.7
結果3 (ng/m^3)	58.6	54.6	57.3	53.9	47.5
結果4 (ng/m^3)	57.8	59.0	58.6	56.8	49.4
結果5 (ng/m^3)	66.6	64.9	66.7	63.6	54.0
結果6 (ng/m^3)	59.4	54.2	58.5	53.7	48.9
結果7 (ng/m^3)	55.2	54.1	54.7	53.4	43.7
結果8 (ng/m^3)	57.4	69.9	59.3	54.6	50.6
平均値 (ng/m^3)	58.52	57.82	58.26	56.26	48.57
標準偏差 (ng/m^3)	3.52	6.63	3.84	3.53	3.00
MDL (ng/m^3) *3	13	25	15	13	11
MQL (ng/m^3) *4	35	66	38	35	30
S/N比	25	25	30	50	30
CV (%)	6.0	11	6.6	6.3	6.2

表4-5　MDL及びMQLの算出（その5）

物質名	TeCP			PCP
	2,3,4,5	2,3,4,6	2,3,5,6	
結果1 (ng/m^3)	52.3	55.8	55.4	45.5
結果2 (ng/m^3)	48.7	53.6	52.9	40.3
結果3 (ng/m^3)	53.2	55.7	57.9	45.5
結果4 (ng/m^3)	54.4	56.6	57.0	51.1
結果5 (ng/m^3)	58.6	62.8	63.0	48.2
結果6 (ng/m^3)	53.3	58.2	54.6	45.9
結果7 (ng/m^3)	48.6	55.2	55.1	42.5
結果8 (ng/m^3)	53.8	55.6	54.6	46.3
平均値 (ng/m^3)	52.88	56.68	56.32	45.66
標準偏差 (ng/m^3)	3.23	2.78	3.10	3.30
MDL (ng/m^3) *3	12	11	12	12
MQL (ng/m^3) *4	32	28	31	33
S/N比	30	30	25	40
CV (%)	6.1	4.9	5.5	7.2

*1 : 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 (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 (n=1)

*3：MDL= t (n-1, 0.05)×σ_{n-1}×2

*4：MQL=σ_{n-1}×10

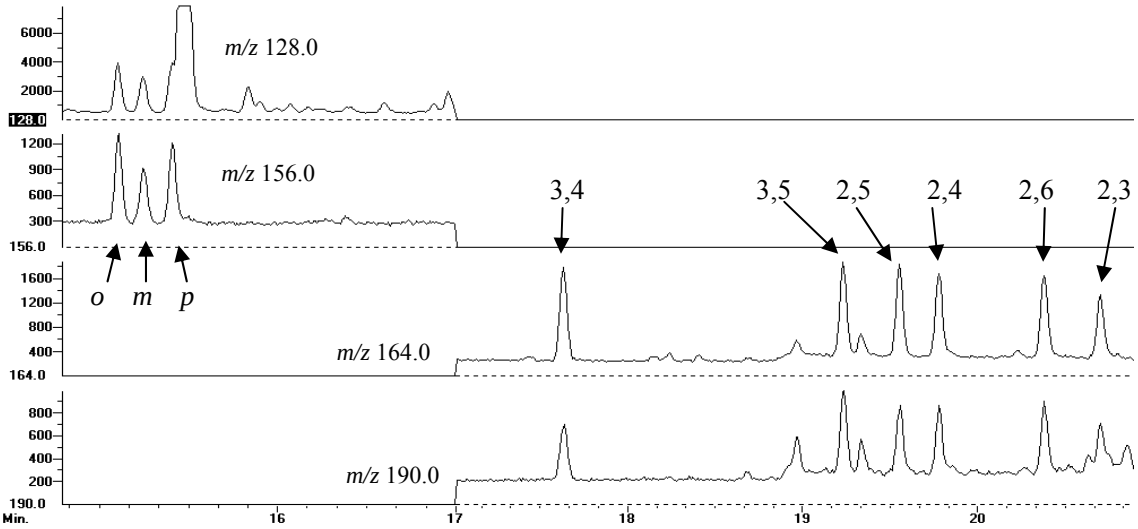


図2-1　MDL試験試料（大気）のGC/MSクロマトグラム（MCP類、DCP類）

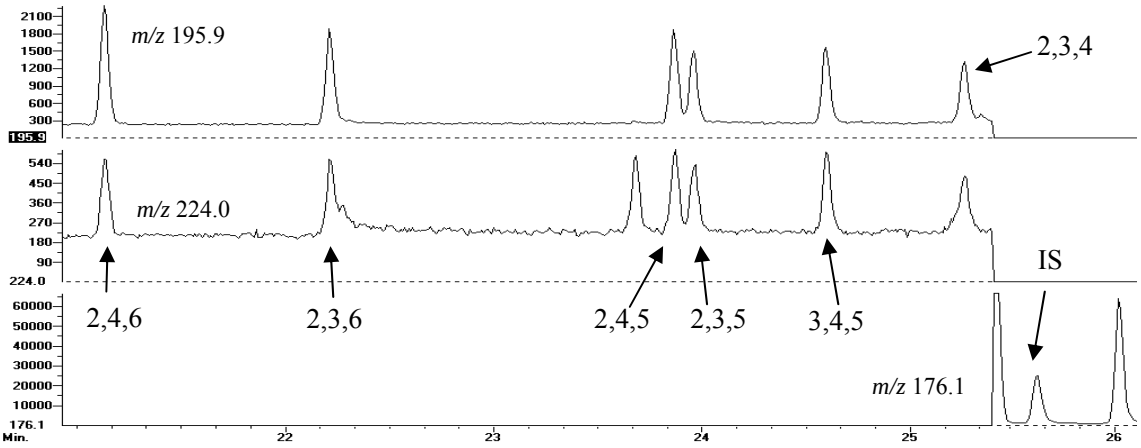


図2-2　MDL試験試料（大気）のGC/MSクロマトグラム（TrCP類）

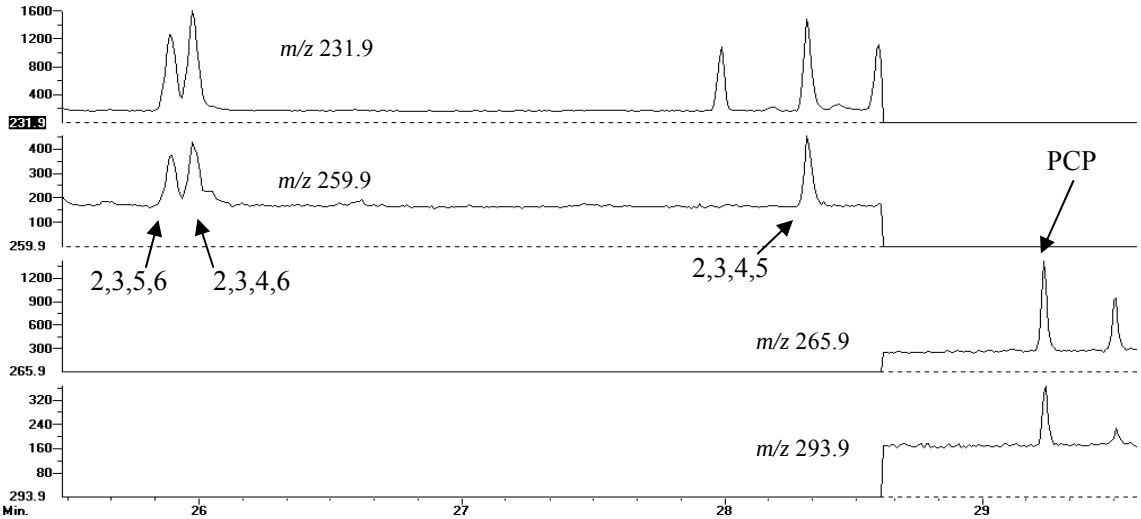


図2-3　MDL試験試料（大気）のGC/MSクロマトグラム（TeCP類、PCP）

§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3に示す。

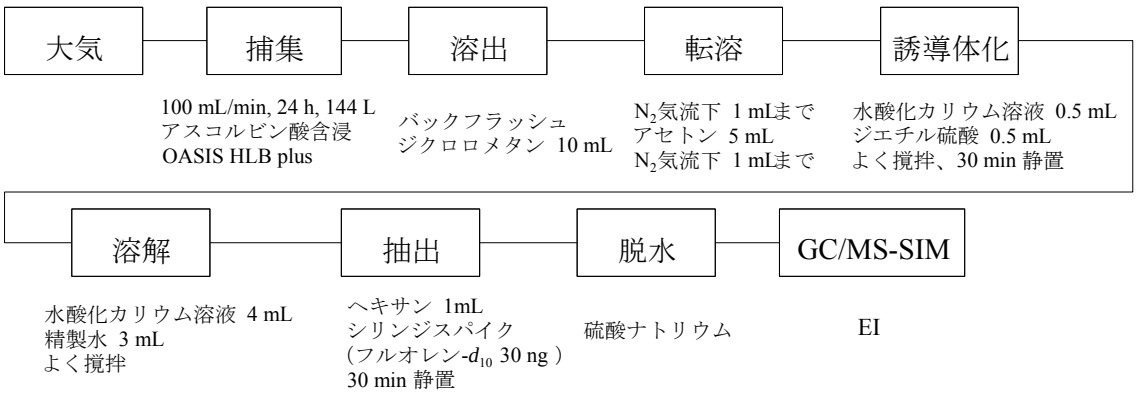


図3　分析法のフローチャート

〔検量線〕

検量線を図4-1～6に、検量線作成用データを表5-1～4に示す。

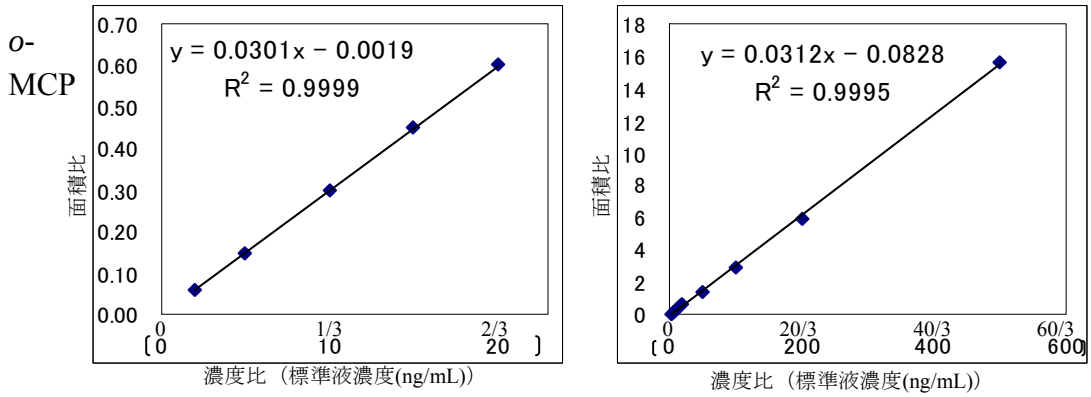


図4-1　ポリクロロフェノール類エチル誘導体化物の検量線（その1）
（左図：低濃度領域(2 - 20 ng/mL)、右図：全領域(2 - 500 ng/mL)）

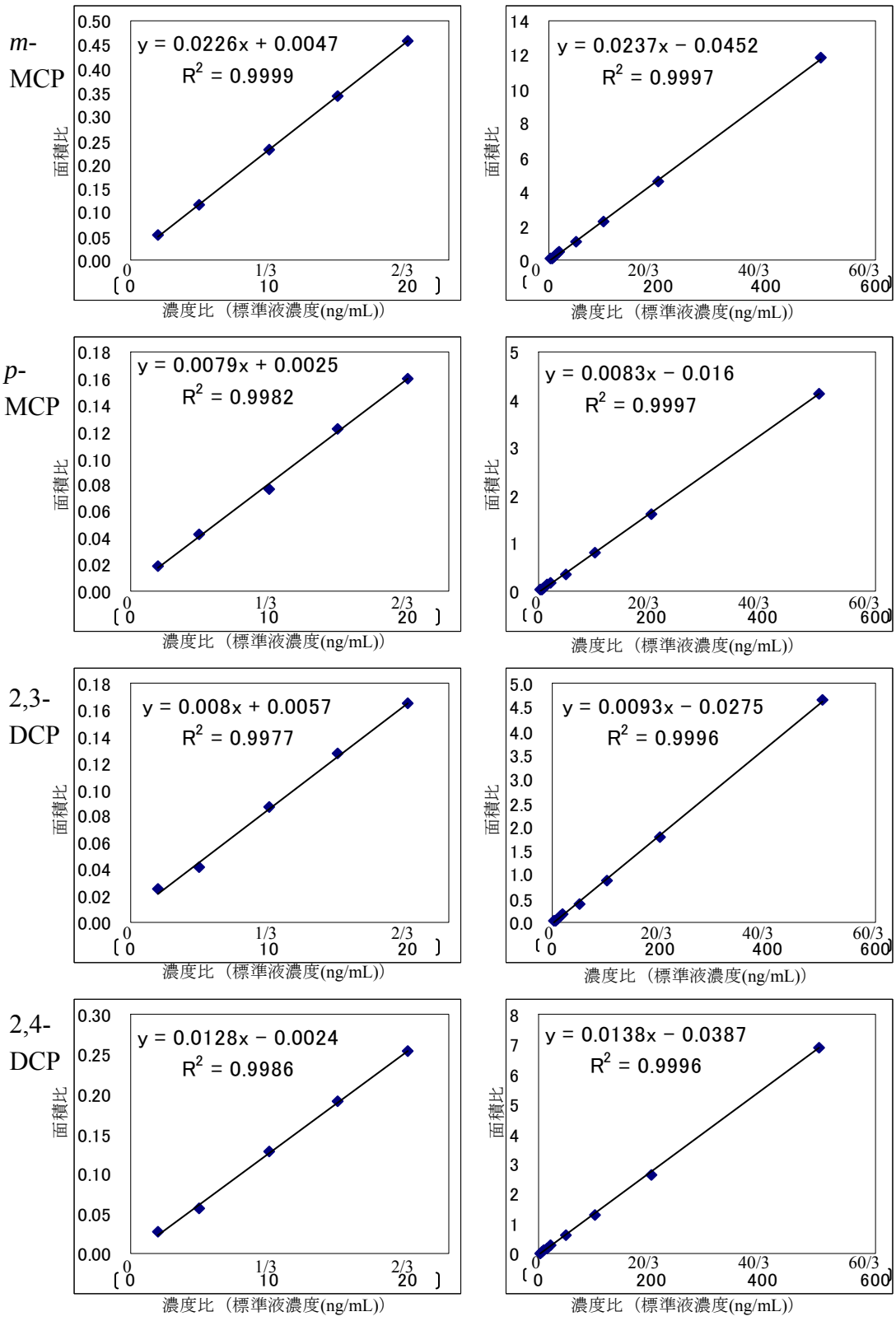


図4-2　ポリクロロフェノール類エチル誘導体化物の検量線（その2）
（左図：低濃度領域(2 - 20 ng/mL)、右図：全領域(2 - 500 ng/mL)）

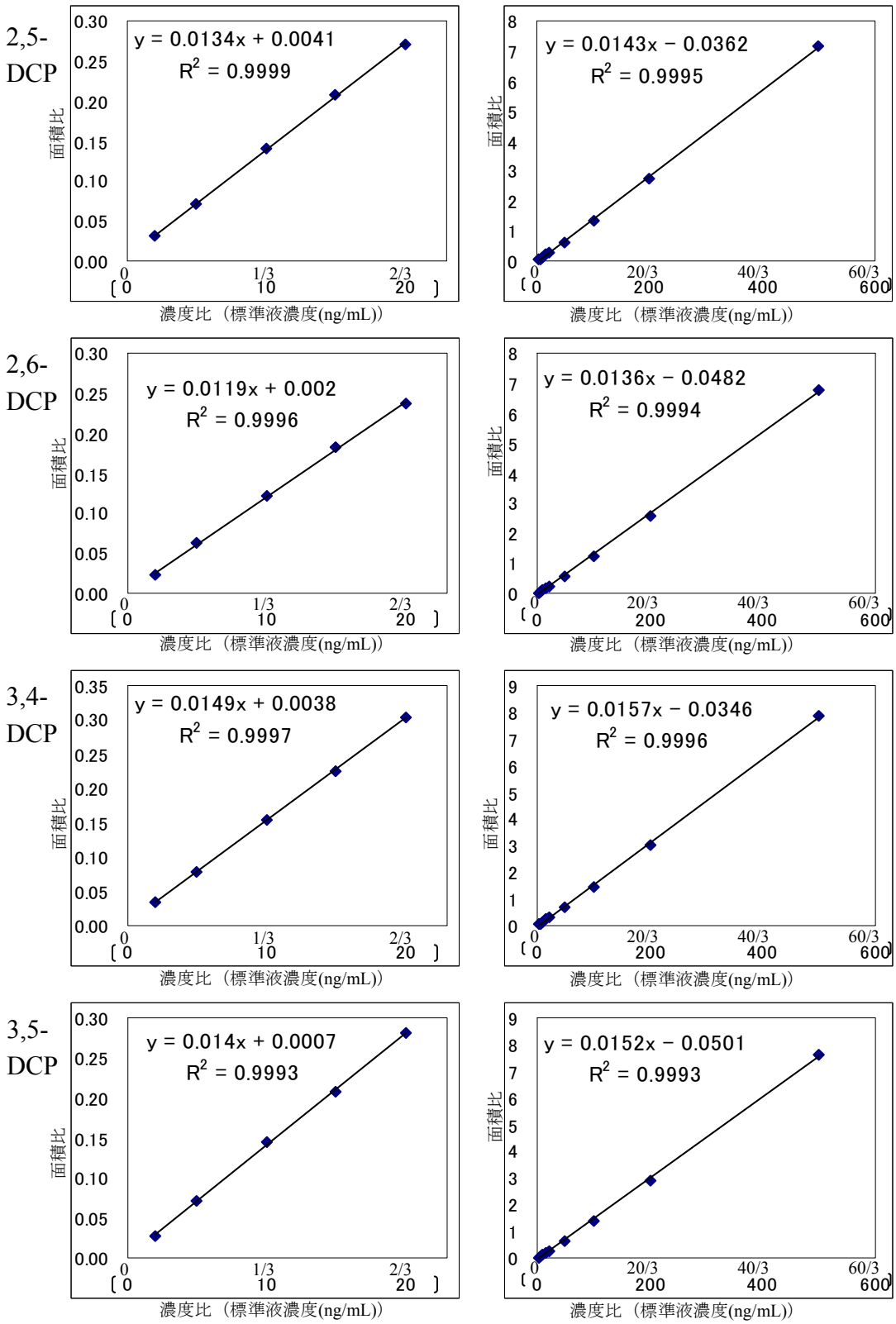


図4-3　ポリクロロフェノール類エチル誘導体化物の検量線（その3）
（左図：低濃度領域(2 - 20 ng/mL)、右図：全領域(2 - 500 ng/mL)）

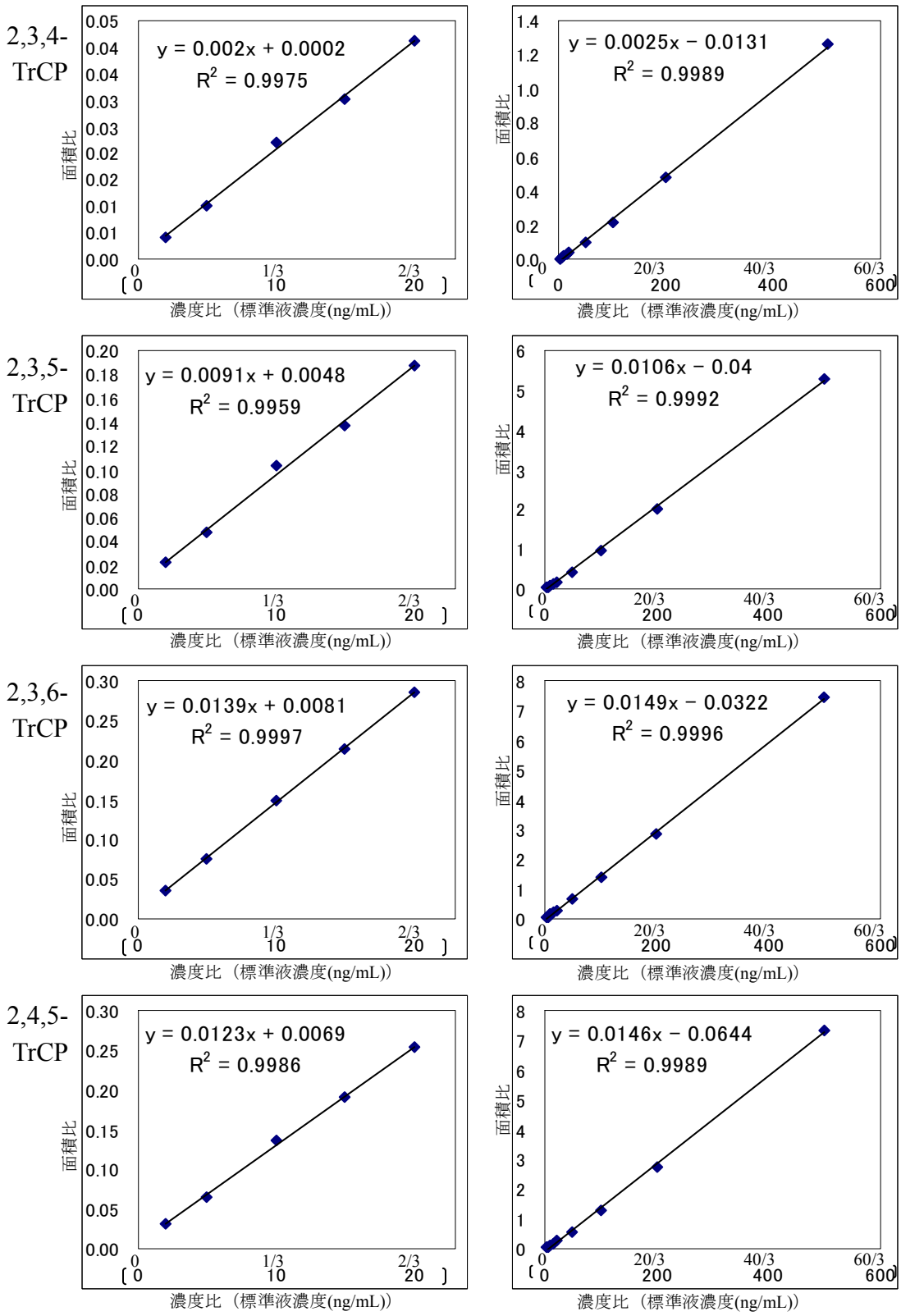


図4-4　ポリクロロフェノール類エチル誘導体化物の検量線（その4）
（左図：低濃度領域(2 - 20 ng/mL)、右図：全領域(2 - 500 ng/mL)）

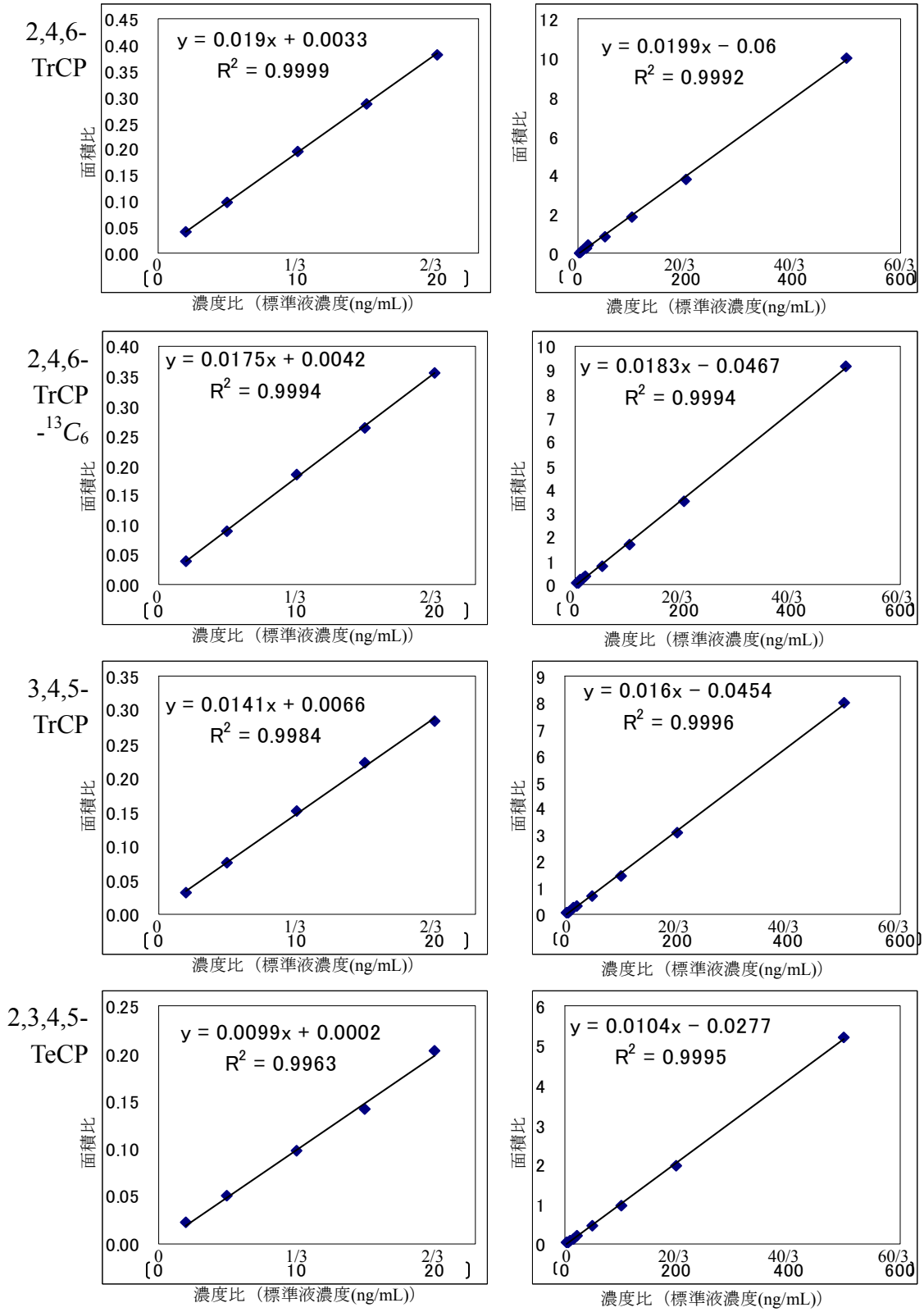


図4-5　ポリクロロフェノール類エチル誘導体化物の検量線（その5）
（左図：低濃度領域(2 - 20 ng/mL)、右図：全領域(2 - 500 ng/mL)）

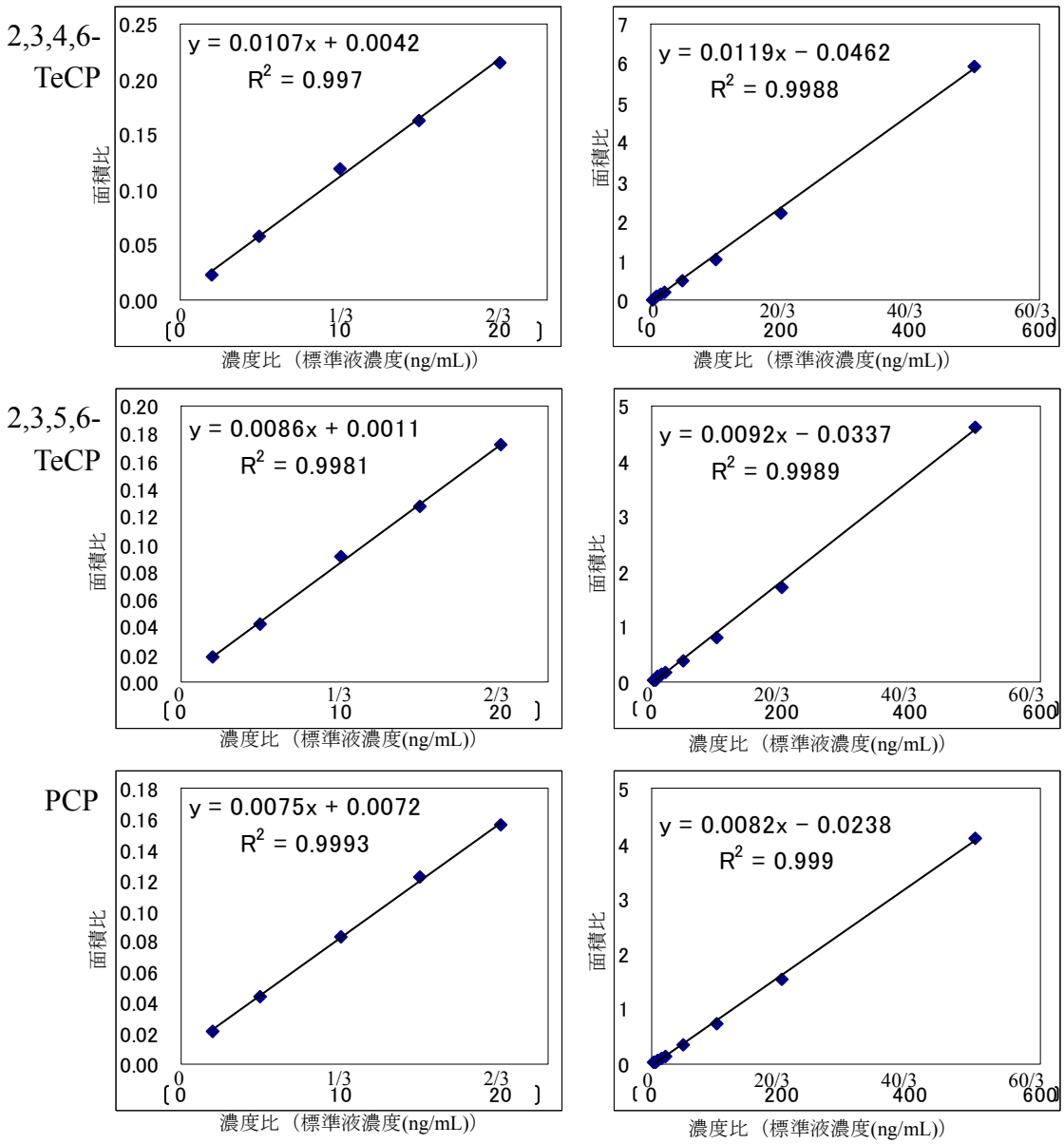


図4-6　ポリクロロフェノール類エチル誘導体化物の検量線（その5）
（左図：低濃度領域(2 - 20 ng/mL)、右図：全領域(2 - 500 ng/mL)）

表5-1　検量線作成用データ一覧（その1）

検量線用標準液濃度 (C_s) (ng/mL)	応答値 IS* (A_{is}) (*m/z* 176.1)	応答値 対象物質(A_s)			
		MCP			DCP
		o (*m/z* 128.0)	*m* (*m/z* 128.0)	*p* (*m/z* 156.0)	2,3 (*m/z* 164.0)
2.0	62678	3793	3250	1221	1545
5.0	72815	10596	8464	3072	3000
10	67164	20095	15460	5167	5808
15	69001	30916	23682	8452	8739
20	66583	39952	30499	10630	10988
50	65804	87812	68862	24112	25576
100	75628	222030	171159	59507	65612
200	71379	425122	327184	114002	127943
500	74290	1162011	880078	307387	345425

*: IS濃度：30 ng/mL(C_{is})

表5-2　検量線作成用データ一覧（その2）

検量線用標準液濃度 (ng/mL)	応答値　対象物質(A_s)				
	DCP				
	2,4 (*m/z* 164.0)	2,5 (*m/z* 164.0)	2,6 (*m/z* 164.0)	3,4 (*m/z* 164.0)	3,5 (*m/z* 164.0)
2.0	1675	1925	1507	2110	1684
5.0	4079	5124	4563	5699	5152
10	8525	9378	8124	10410	9766
15	13197	14280	12578	15514	14371
20	16850	18084	15847	20231	18693
50	39097	40248	36982	44752	41647
100	98538	100834	93906	111821	106090
200	189156	196290	184957	216083	206496
500	513036	531966	504111	583095	566189

表5-3　検量線作成用データ一覧（その3）

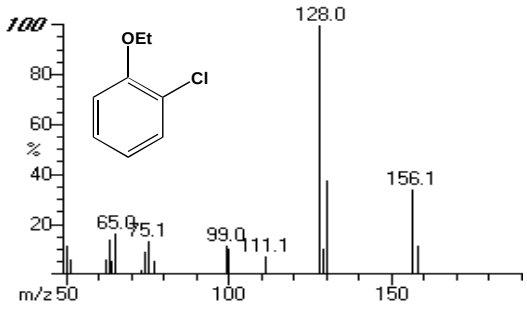
検量線用標準液濃度 (ng/mL)	応答値　対象物質(A_s)					
	TrCP					
	2,3,4 (*m/z* 224.0)	2,3,5 (*m/z* 195.9)	2,3,6 (*m/z* 195.9)	2,4,5 (*m/z* 195.9)	2,4,6 (*m/z* 195.9)	2,4,6($^{13}C_6$) (*m/z* 203.9)
2.0	264	1391	2227	1980	2543	2437
5.0	725	3487	5565	4766	7106	6536
10	1473	6913	10059	9138	13110	12381
15	2090	9479	14797	13130	19830	18221
20	2743	12450	19020	16858	25426	23597
50	6264	28197	43451	38495	56047	51881
100	16566	71864	105296	97789	137258	128133
200	33934	143988	204555	195029	268790	248626
500	93497	393148	554179	544047	741704	679916

表5-4　検量線作成用データ一覧（その4）

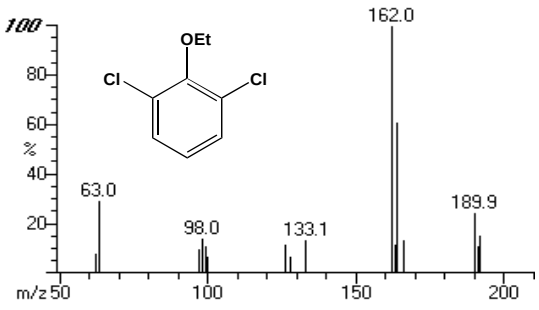
検量線用標準液濃度 (ng/mL)	応答値　対象物質(A_s)				
	TrCP	TeCP			PCP
	3,4,5 (*m/z* 195.9)	2,3,4,5 (*m/z* 231.9)	2,3,4,6 (*m/z* 231.9)	2,3,5,6 (*m/z* 231.9)	(*m/z* 265.9)
2.0	2016	1391	1389	1143	1328
5.0	5519	3655	4159	3037	3248
10	10257	6564	7953	6131	5613
15	15315	9800	11236	8787	8385
20	18927	13536	14354	11482	10377
50	45398	29129	32753	25547	22848
100	111441	72717	79077	61898	56120
200	220860	142155	157710	122923	110003
500	594227	385409	441720	342780	305012

〔マススペクトル〕

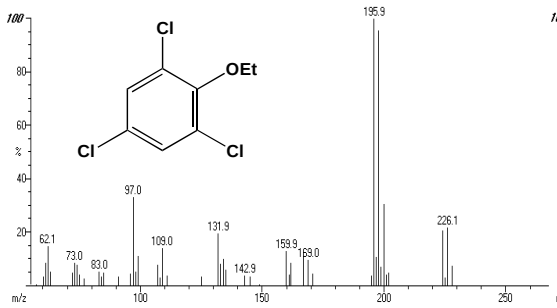
検量線用標準液のマススペクトルを図5に示す。なお、塩素数が同じ異性体はスペクトルが類似しているので、代表して1種類のみ掲載した。



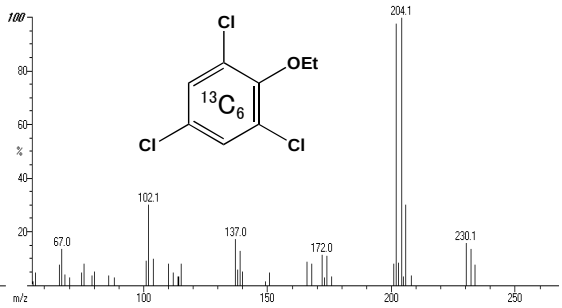
o-MCP（エチル誘導体化物）



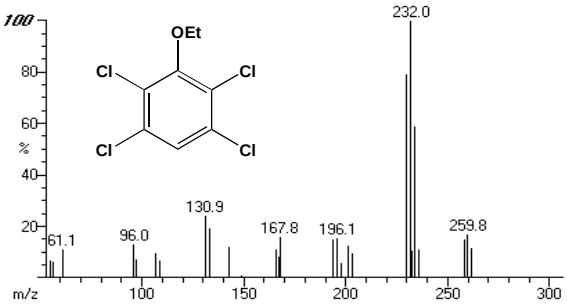
2,6-DCP（エチル誘導体化物）



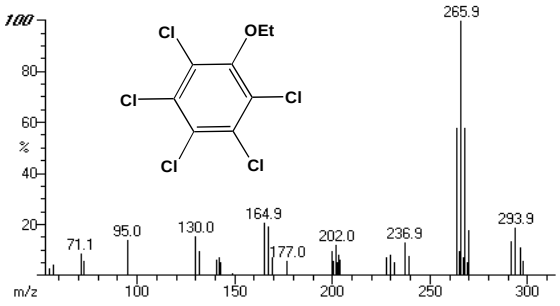
2,4,6-TrCP（エチル誘導体化物）



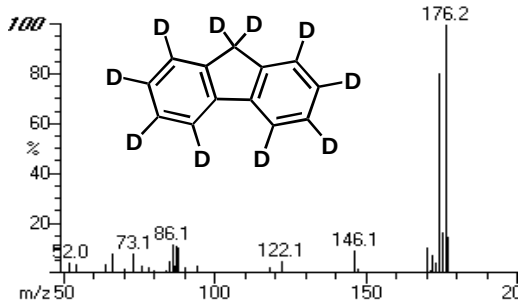
2,4,6-TrCP-$^{13}C_6$（エチル誘導体化物）



2,3,5,6-TeCP（エチル誘導体化物）



PCP（エチル誘導体化物）



フルオレン-d_{10}

図 5　各エチル誘導体化物と標識化合物のマススペクトル

〔操作ブランク試験〕

ペンタクロロフェノールでMDLレベルのピークが確認されることがあったが、定量値に影響を及ぼすピークは観測されなかった。

※平成22年度化学物質分析法開発調査報告書の2,4,6-トリクロロフェノールの分析法（生物）では、2,4,6-トリクロロフェノールの操作ブランクが検出されたと報告されていた。しかし、その汚染源についての言及はされていなかった。

今回操作ブランクは検出されなかったが、測定の際には確認が必要である。

〔捕集管と溶出溶媒の検討〕

各捕集管に、2,4,6-トリクロロフェノール100 ng（10 μg/mL標準液10 μL）を直接添加して、100 mL/minで30分間窒素ガスを通気した後、各溶媒でバックフラッシュにより溶出した。窒素気流下で濃縮し、ジクロロメタンはアセトンに転溶し、アセトン1 mLとした後、エチル化を行った。

回収率は、100 ng（10 μg/mL標準液10 μL）をアセトン1 mLに添加したものを100%とした時の値である（表6）。

多くの組み合わせで70～80%の回収率であったが、OASIS HLB plusを使用し、ジクロロメタンで抽出する組み合わせのものが、最も高い回収率であった。

表6　捕集管と溶出溶媒の違いによる回収率　（添加量 100 ng）

捕集管	溶出溶媒	溶出量 (mL)	平均回収率* (%)	試験数
なし	アセトン	5**	98.3 (94.1, 102.5)	2
Sep-pak PS-2 plus	アセトン	5	70.6 (61.8～ 84.4)	3
		10	77.4 (69.1～ 85.6)	3
	ジクロロメタン	10	65.4 (50.6～ 77.2)	3
Autoprep EDS-1	アセトン	5	79.5 (66.1 , 92.8)	2
	ジクロロメタン	5	78.3 (72.4 , 84.1)	2
Sep-pak C18 plus	アセトン	5	83.0 (58.5 , 107.5)	2
OASIS HLB plus	ジクロロメタン	5	94.4 (89.3～103.9)	3
	アセトン	5	77.9 (70.6～ 84.1)	3

*：平均回収率のカッコ内は、回収率の最低と最大の範囲。

**：捕集管なしは、初期溶液を100 ng/5 mLとして、濃縮以後の操作を行った。

〔酸化防止剤の検討〕

2,4,6-トリクロロフェノールが大気により酸化されるかどうかを確認したところ、回収率の低下が確認されたので、酸化防止剤の検討を行った（標準液は、捕集管の前段に石英繊維 (QW) をつめたチューブをつけ、そこにアセトン溶液で10 μL添加し、通気により気化したポリクロロフェノール類を捕集管で捕集す

るようにした）。

1)　酸化防止剤を使用しない場合

ジクロロメタンで洗浄した捕集管を用いて、添加量10 ng及び100 ngの添加回収試験を行った（表7）。添加量10 ngで55%程度、添加量100 ngで70%弱の回収率であった。

〔捕集管と抽出溶媒の検討〕では、短時間（100 mL/minで30分間）での窒素通気ではあるが、90%以上の回収率であったことを考えると、大気によって酸化されていると考えられた。

表7　酸化防止剤を使用しないときの回収率

添加量 (ng)	検出量平均 (ng)	回収率 (%)	試験数
無添加	0.15	-	2
10	5.70	55.5	2
100	68.3	68.1 (0～5 mL溶出分 67.1) (5～10 mL溶出分 1.1)	2

※100 ngの添加回収試験では、ジクロロメタン5～10 mLの溶出分で、ポリクロロフェノール類が0～5%程度の溶出が認められたため、10 mLで溶出することにした。また、石英繊維には最大で1%程度しか残っていないことも確認した。

2)　トコフェロール含浸ろ紙を使用した場合

酸化防止剤としてトコフェロールを用い、捕集管の前段にトコフェロールを含浸させたろ紙セットしたろ紙ホルダーをを接続して、添加回収試験を行った（試験①）。また、トコフェロール含浸ろ紙をポリクロロフェノール類が確実に通過することを確認するため、添加位置の石英繊維(QW)と捕集管の間にも同様に、トコフェロール含浸ろ紙入りのホルダーをを接続した試験も行った（試験②）。

試験①
　大気試料 →［含浸ろ紙・QW・カートリッジ］→ ミニポンプ
試験②
　大気試料 →［含浸ろ紙・QW・含浸ろ紙・カートリッジ］→ ミニポンプ

試験①、②ともに、標準液はアセトン溶液でQWに添加した。

それぞれの結果を表8に示す。

試験①では、添加量10 ngでの回収率が良好であるので、2,4,6-トリクロロフェノールが大気によって酸化されていたことが確認できた。また、試験②からは、

2,4,6-トリクロロフェノールが、トコフェロール含浸ろ紙をほとんど通過しないため、採取方法として有効でないことも確認できた。

表8　トコフェロール含浸ろ紙を使用した添加回収率

	添加量 (ng)	検出量平均 (ng)	回収率 (%)		試験数
			$^{12}C_6$体	$^{13}C_6$体	
-	無添加	1.80	-	-	1
試験①	10	14.10	123	99.2	2
試験②	10	1.97	16.7	0.7	2

3)　酸化防止剤を捕集管に直接含浸させた場合

酸化防止剤としてトコフェロールとアスコルビン酸を直接捕集管に含浸させ、添加回収試験を行った（表9）。どちらも良好な回収率であったが、ポリクロロフェノール類の回収率が、アスコルビン酸(85%, 108% (n=2))の方がトコフェロールの方(75%, 117% (n=2))よりもばらつきが少なかったので、アスコルビン酸含浸の捕集管を用いて大気捕集を行うことにした。

表9　酸化防止剤含浸の捕集管を使用した添加回収率

酸化防止剤	添加量 (ng)	検出量平均 (ng)	回収率 (%)	試験数
トコフェロール	無添加	N.D.	-	1
	10	11.2	112	2
アスコルビン酸	無添加	N.D.	-	1
	10	9.99	99.9	2

〔添加回収試験〕

標準物質を添加した捕集管と無添加の捕集管に同日同地点で環境大気等を採取して測定し、その定量値の差から添加回収率を求めた結果を表10～12に示す。

添加量80 ngでは、ペンタクロロフェノールの回収率がやや低めであったが、全ての物質で、回収率、変動係数ともに良好であった。添加回収試験時（添加量80 ng）のクロマトグラムを図6-1～3に示す。

また高温での添加回収試験は、インキュベーターを使用して36°Cの恒温にし、湿度85%で行った。やや回収率が下がる物質もあったが、常温での添加回収試験と同様の結果であった。

表10　ポリクロロフェノール類の添加回収試験結果
（大気試料1　（MDL測定時）：平均気温28°C、平均湿度71%）

物質名	試料量 (m^3)	試験数	添加量 (ng)	検出量 (ng)	回収率 (%)	変動係数 (%)
o-MCP	0.144	8	10	8.41	84	4.9
m-MCP	0.144	8	10	8.29	83	5.3
p-MCP	0.144	8	10	8.18	82	7.2
2,3-DCP	0.144	8	10	8.79	88	5.8
2,4-DCP	0.144	8	10	7.72	77	7.7
2,5-DCP	0.144	8	10	8.40	84	6.0
2,6-DCP	0.144	8	10	8.74	87	4.7
3,4-DCP	0.144	8	10	7.86	79	6.5
3,5-DCP	0.144	8	10	8.10	81	5.7
2,3,4-TrCP	0.144	8	10	10.2	102	10
2,3,5-TrCP	0.144	8	10	8.43	84	6.0
2,3,6-TrCP	0.144	8	10	8.33	83	11
2,4,5-TrCP	0.144	8	10	8.39	84	6.6
2,4,6-TrCP	0.144	8	10	8.10	81	6.3
2,4,6-TrCP ($^{13}C_6$)	0.144	8	10	8.02	80	6.3
3,4,5-TrCP	0.144	8	10	6.99	70	6.2
2,3,4,5-TeCP	0.144	8	10	7.62	76	6.1
2,3,4,6-TeCP	0.144	8	10	8.16	82	4.9
2,3,5,6-TeCP	0.144	8	10	8.11	81	5.5
PCP	0.144	8	10	6.58	66	7.2

*: 無添加(n=1) は、全ての物質でN.D.であった。

表11　ポリクロロフェノール類の添加回収試験結果
（大気試料2：平均気温22°C、平均湿度62%）

物質名	試料量 (m^3)	試験数	添加量 (ng)	検出量 (ng)	回収率 (%)	変動係数 (%)
o-MCP	0.144	7	80	77.7	97	6.0
m-MCP	0.144	7	80	74.1	93	6.8
p-MCP	0.144	7	80	77.7	97	6.8
2,3-DCP	0.144	7	80	72.0	90	4.8
2,4-DCP	0.144	7	80	71.6	89	6.9
2,5-DCP	0.144	7	80	69.3	87	5.6
2,6-DCP	0.144	7	80	80.7	101	5.8
3,4-DCP	0.144	7	80	60.7	76	8.0
3,5-DCP	0.144	7	80	70.3	88	7.7
2,3,4-TrCP	0.144	7	80	81.7	102	6.3
2,3,5-TrCP	0.144	7	80	76.7	96	5.8
2,3,6-TrCP	0.144	7	80	69.8	87	6.2
2,4,5-TrCP	0.144	7	80	78.8	98	6.4
2,4,6-TrCP	0.144	7	80	71.3	89	6.5
2,4,6-TrCP ($^{13}C_6$)	0.144	7	80	66.0	83	6.6
3,4,5-TrCP	0.144	7	80	63.0	79	5.1
2,3,4,5-TeCP	0.144	7	80	72.0	90	3.7
2,3,4,6-TeCP	0.144	7	80	78.2	98	5.5
2,3,5,6-TeCP	0.144	7	80	75.4	94	3.7
PCP	0.144	7	80	60.6	76	7.9

*: 無添加(n=1) は、3,5-DCPで濃度を算出できないほどのわずかなピークが観測された以外は、全ての物質でN.D.であった。

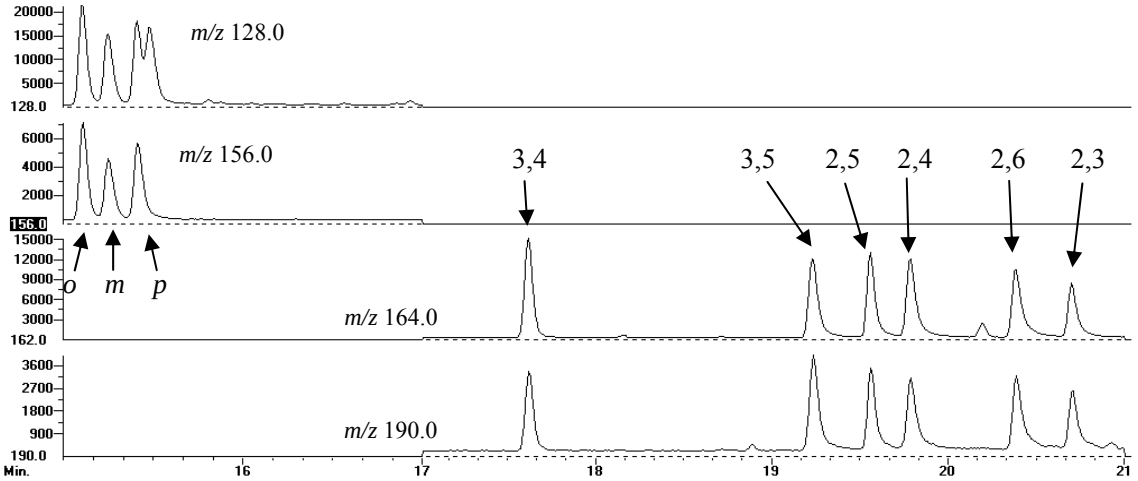


図6-1　添加回収時（大気試料2：添加量80 ng）のGC/MSクロマトグラム
（MCP類、DCP類）

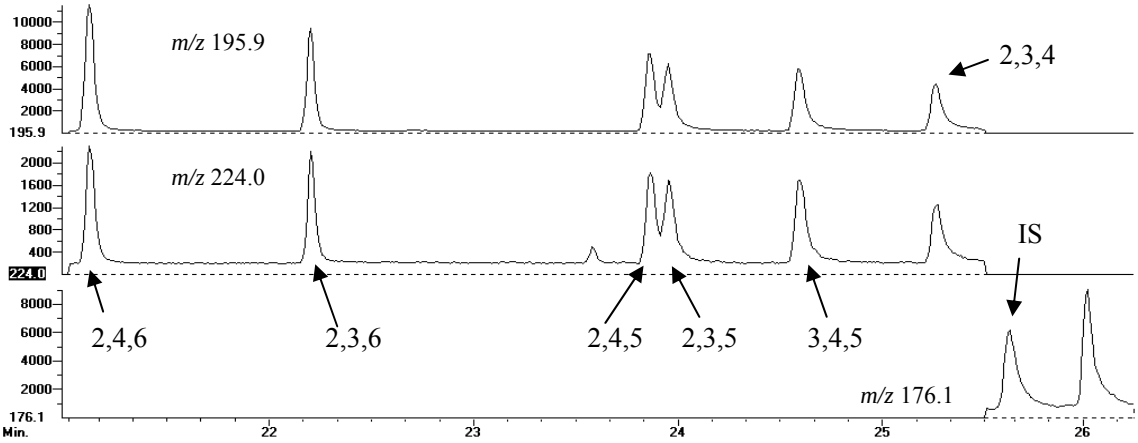


図6-2　添加回収時（大気試料2：添加量80 ng）のGC/MSクロマトグラム
（TrCP類）

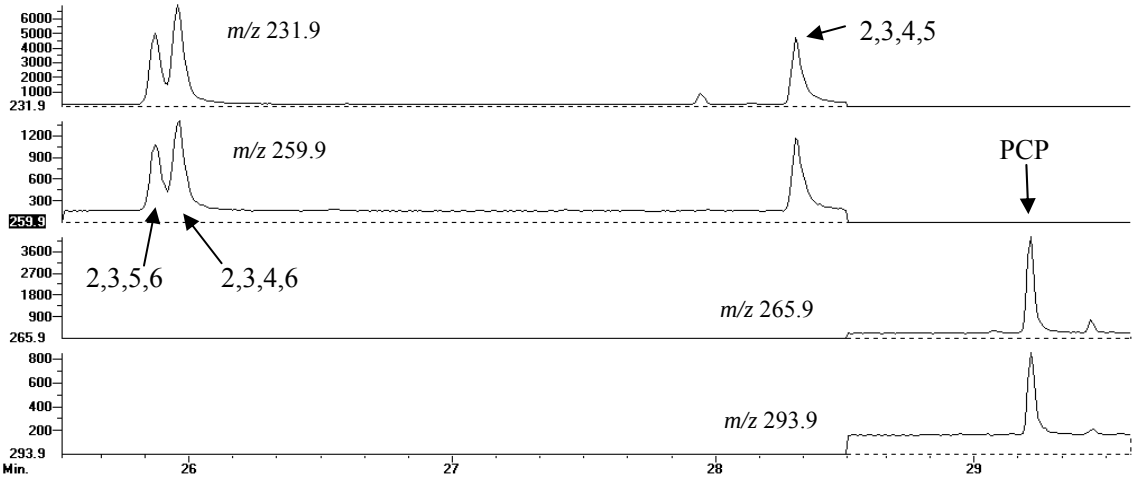


図6-3　添加回収時（大気試料2：添加量80 ng）のGC/MSクロマトグラム
（TeCP類、PCP）

表12　ポリクロロフェノール類の添加回収試験結果
（室内（インキュベーター内）：　温度36℃、湿度85%）

物質名	試料量 (m^3)	試験数	添加量 (ng)	検出量 (ng)	回収率 (%)	変動係数 (%)
o-MCP	0.144	3	80	71.1	89	5.5
m-MCP	0.144	3	80	72.4	90	5.5
p-MCP	0.144	3	80	68.8	86	7.0
2,3-DCP	0.144	3	80	71.1	89	7.3
2,4-DCP	0.144	3	80	74.0	92	6.4
2,5-DCP	0.144	3	80	67.6	85	7.7
2,6-DCP	0.144	3	80	72.2	90	5.6
3,4-DCP	0.144	3	80	66.7	83	6.4
3,5-DCP	0.144	3	80	68.7	86	7.6
2,3,4-TrCP	0.144	3	80	80.1	100	5.7
2,3,5-TrCP	0.144	3	80	74.4	93	9.3
2,3,6-TrCP	0.144	3	80	68.2	85	7.8
2,4,5-TrCP	0.144	3	80	76.7	96	8.2
2,4,6-TrCP	0.144	3	80	65.3	82	6.3
2,4,6-TrCP ($^{13}C_6$)	0.144	3	80	66.2	83	6.4
3,4,5-TrCP	0.144	3	80	70.8	89	7.0
2,3,4,5-TeCP	0.144	3	80	67.1	84	6.2
2,3,4,6-TeCP	0.144	3	80	71.8	90	7.5
2,3,5,6-TeCP	0.144	3	80	72.7	91	8.3
PCP	0.144	3	80	63.0	79	5.4

*: 無添加(n=1) は、全ての物質でN.D.であった。

H25年度調査時(2,4,6-ﾄﾘｸﾛﾛﾌｪﾉｰﾙのみ)、次のｺﾒﾝﾄが寄せられた。ｶｰﾄﾘｯｼﾞ捕集状態での試料保全性について、試料保存期間を延長しての保存性試験を実施した。
1週間: 92%、2週間: 84%、3週間: 約80%、4週間: 約70%　(2014年度精査等検討会ｺﾒﾝﾄ)

〔保存性試験〕

保存性試験結果を表13に示す。

捕集管にポリクロロフェノール類各20 ngを添加し、大気試料を24時間捕集した捕集管及び試験液を、それぞれ遮光し、冷蔵保存した。

捕集管での保存は、捕集当日の回収率を100%とした時の7日後の残存率が99～116%と良好であった。試験液は69～99%であり、塩素数が多くなるほど保存性が悪いという傾向が見られた。後述の検量線用標準液の保存性を考慮すると、試験液は調製後速やかに測定するのが望ましいと考えられる。

1週間後の検量線用標準液の残存率は、調製直後のものを100%とした時の残存率である。100 ng/mL以下のものの多くが80%台であり、保存性が非常に悪かった。物質によっては、反応副生成物あるいは分解物と考えられるピークの重なりが、翌日でも検出されてくるものもある（図7-1～2）。そのため、検量線用標準液を測定毎に調製する必要がある。

表13　ポリクロロフェノール類の保存性試験結果

試料	添加濃度	回収率（残存率）(%)	
		当日	7日
捕集管	20 ng	-	60～86 (99～116)[*1]
試験液	20 ng	59～81	41～80 (69～99)[*1]
検量線用標準液	2～100 ng/mL	-	(62～144)[*2]
	200～500 ng/mL	-	(92～111)[*2]

*1：捕集管及び試験液のカッコ内は当日の回収率を100%とした時の残存率
*2：検量線用標準液は、調製直後のものを100%とした時の残存率

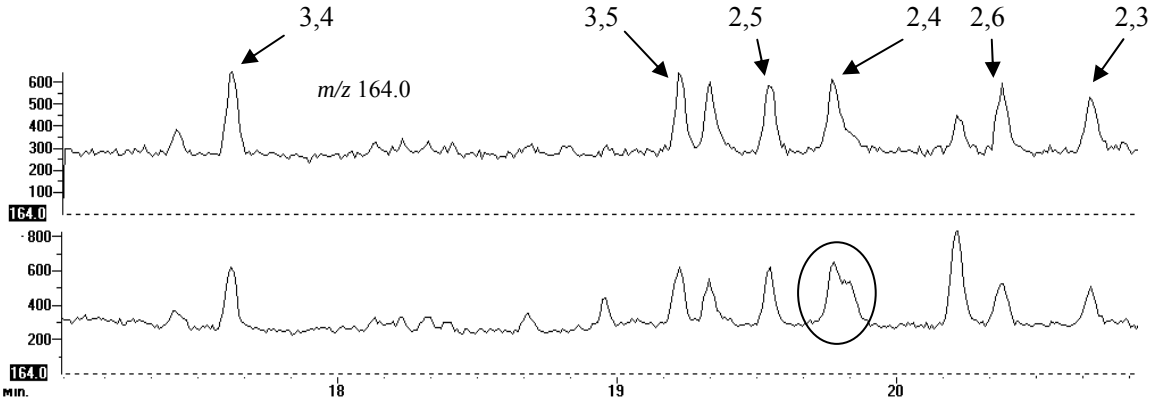


図7-1　検量線用標準液のGC/MSクロマトグラム（DCP類（エチル誘導体化物））
(*m/z* 164.0、2.0 ng/mL)　　（上段）調製当日、（下段）調製翌日

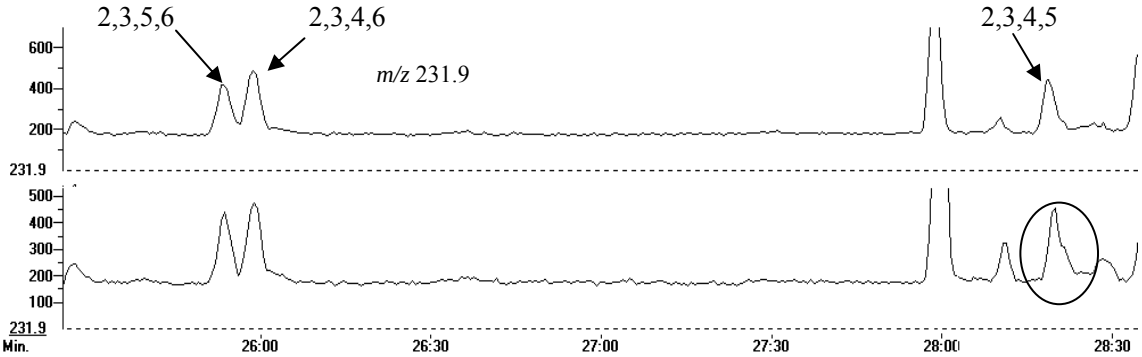


図7-2　検量線用標準液のGC/MSクロマトグラム（TeCP類（エチル誘導体化物））
(*m/z* 231.9、2.0 ng/mL)　　（上段）調製当日、（下段）調製翌日

〔破過試験〕

【捕集管の調製】のとおり調製した捕集管を2つ連結し、添加回収試験と同様に、500 ngまたは1000 ngを添加し、それぞれのカートリッジからの回収率を測定した。添加量1000 ngの試料は、誘導体化反応を行った溶液からヘキサン2 mLで抽出を行い、内標準液を60 μL加えて500 ng/mLの試験液として測定し、回収率を算出した。

それぞれ1段目からは70～100%回収されたが、2段目からの回収は1%未満であった。このことから、今回の検量線の範囲内（2～500 ng/mL、最終液量1 mL）での破過は無いと考えられる。

しかし、クロロフェノール類の回収率が100%前後だったのに対し、塩素数が増えるにつれて、ポリクロロフェノール類の回収率が低くなっていった（表14）。通常の添加回収試験では、各物質とも良好な回収率を得られていたことと、大気ではなく窒素を24時間通気した500 ng添加の添加回収でも同様の結果が得られたことから、それぞれの物質の安定性によるものであると考えられる。

表14　大量添加回収の回収率（破過試験実施時）

物質名	回収率 (%)	
	500 ng添加	1000 ng添加
MCP	89～109	91～109
DCP	83～109	82～106
TrCP	82～ 91	77～ 90
TeCP	85	78
PCP	76	67

〔クロロナフタレン類及びジクロロナフタレン類との分離確認〕

トリクロロフェノール類のエチル誘導体化物の基準ピークとなる質量数 *m/z* 196は、ジクロロナフタレン類の分子イオンピーク（基準ピーク）と同じである（図8）。また、同様にクロロナフタレン類とジクロロフェノール類のエチル誘導体化物の基準ピークとなる質量数も同じである。今回の測定法では、クロロナフタレン類やジクロロナフタレン類も捕集される可能性があるため、それぞれの保持時間を確認した。

ジクロロナフタレン類には10種の異性体があるが、そのうち入手可能であった5種類（1,2-; 1,4-; 1,5-; 1,8-; 2,7-）と、1-クロロナフタレン中に不純物として存在するジクロロナフタレン類について、保持時間を確認した（図9）。

2,3,4-トリクロロフェノールのエチル誘導体化物がジクロロナフタレン類と保持時間が重なる。そのため、2,3,4-トリクロロフェノールのみ、他のトリクロロフェノール類と定量イオン、確認イオンを逆にした。

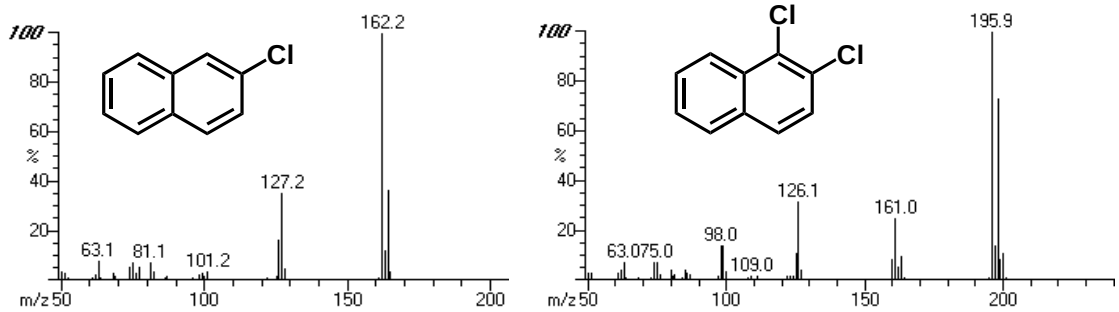


図8　2-クロロナフタレンと1,2-ジクロロナフタレンのマススペクトル
（他の異性体も類似のスペクトルを示すため、省略する。）

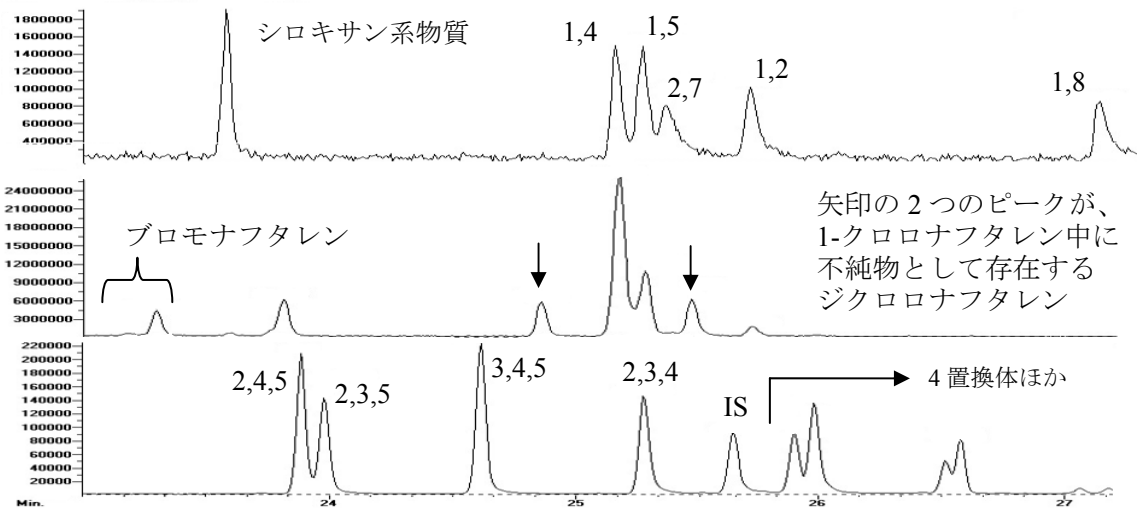


図9　（上段）ジクロロナフタレン類5種、（中段）1-クロロナフタレン中の不純物部分、（下段）ポリクロロフェノールエチル誘導体化物（一部）、それぞれのGC/MSクロマトグラム

同様にクロロナフタレン類についても、保持時間を確認した（図10）。

2,3-ジクロロフェノールのエチル誘導体化物がクロロナフタレン類と保持時間が重なった。しかし、2,3-ジクロロフェノールの*m/z* 190のクロマトグラム（図11）では、近くに反応副生成物と考えられるピークがいくつかあり、低濃度の定量には向かないと考えられたため、定量イオンの変更は行っていない。そのため、環境測定の際には、クロマトグラムのピーク形状に細心の注意を払い、ピーク形状が標準液と異なり肩があったり、ピーク幅が広く見えたりする時は、クロロナフタレン類の存在が考えられるため、参考値とすることが良いと考えられる。

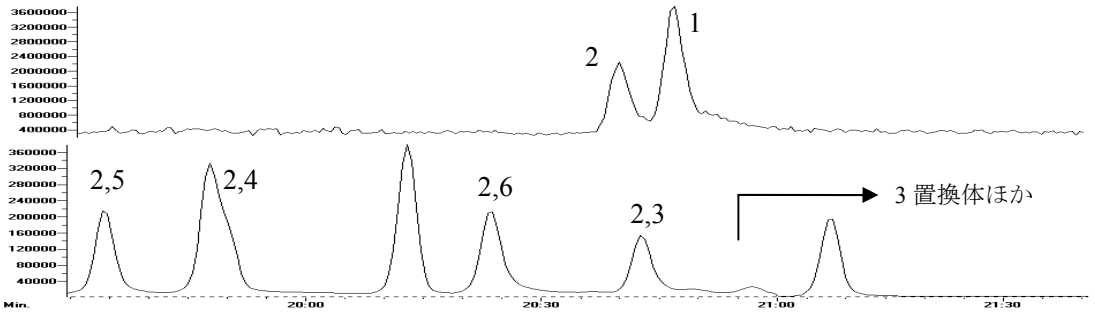


図10　（上段）クロロナフタレン類2種、（下段）ポリクロロフェノールエチル誘導体化物（一部）、それぞれのGC/MSクロマトグラム

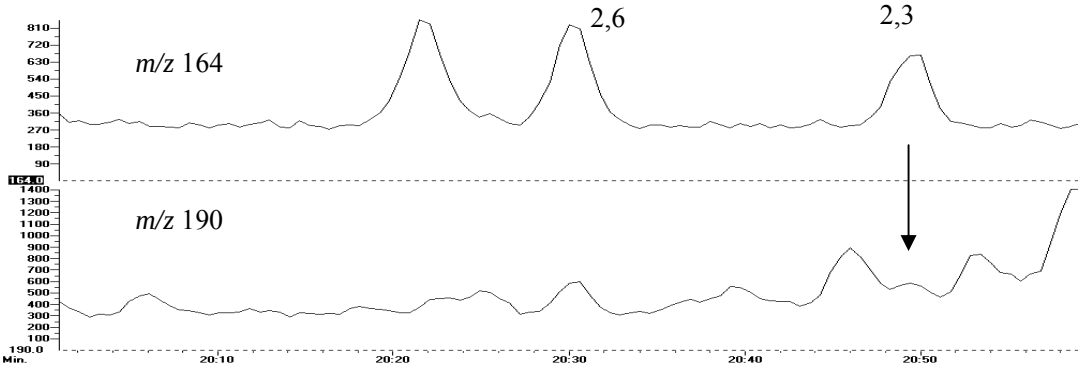


図11　2,3-DCPエチル誘導体化物のGC/MSクロマトグラム(5.00 ng/mL)

今回の分析法にのっとり、クロロナフタレン類及びジクロロナフタレン類の添加回収をそれぞれの混合物で行ったところ、クロロナフタレン類とジクロロナフタレン類ともに約5割以上の回収率であった（表15）。このことからも、2,3-ジクロロフェノールの測定には注意が必要であると考えられる。

表15　クロロナフタレン類の添加回収率

物質名	測定値 (ng)		回収率 (%)
	無添加 (n=1)	添加(20 ng) (n=3)	
2-クロロナフタレン	N.D.	12.9	64
1-クロロナフタレン	N.D.	14.1	71
1,4-ジクロロナフタレン	N.D.	13.4	67
1,5-ジクロロナフタレン	N.D.	14.4	72
2,7-ジクロロナフタレン	15.9	41.6	128
1,2-ジクロロナフタレン	N.D.	12.9	64
1,8-ジクロロナフタレン	N.D.	9.4	47

〔他の誘導体化物等のGC/MSでの異性体分離について〕

誘導体化法としては、エチル化の他にアセチル化、トリメチルシリル(TMS)化及びペンタフルオロベンジルブロミド(PFBBr)による誘導体化を検討した。さらに、誘導体化しないフェノール体も含め、GC/MSでの分離を検討した。ここでは、先に入手できたクロロフェノール類とジクロロフェノール類の分離を確認した後、使用カラムを限定してトリクロロフェノール類及びテトラクロロフェノール類について分離を確認した。なお、各カラムは30 m×0.25 mm×0.25 μmのものを使用して確認を行った。

表16に示したように、まず1～2置換体では、「DB-1msでのPFBBr誘導体化物」と「Rtx-5MSでのエチル誘導化体物」での全ての異性体の分離が確認できた。誘導体化の簡便性を考え、先にエチル誘導体化物について3～4置換体の分離を試したところ、「Rtx-5msでのエチル誘導体化物」は全異性体がほぼ分離できることが確認できたため、誘導体化をエチル化で行うことに決定した。

参考に、フェノール体及び各誘導体化物のRtx-5MSでの分離を示すGC/MSクロマトグラムと、2,4,6-トリクロロフェノール及び各誘導体化物のマススペクトルを図12～20に示す。各異性体の確認を行ったものについては、各図中に示した。

なお、各クロマトグラムは、フェノール体とエチル誘導体化物は40°C（1 min保持）から5°C/minで昇温したもので、アセチル、TMS及びPFBBrの各誘導体化物は、40°C（2 min保持）から10°C/minで昇温した時のクロマトグラムである。

表16　ポリクロロフェノールの異性体分離

使用カラム	DB-1ms		Rtx-5MS				Rtx-50	
	MCP	DCP	MCP	DCP	TrCP	TeCP	MCP	DCP
フェノール体	×	×	×	×	×	×	○	×
アセチル化	○	×	○	×	○	○	○	×
TMS化	○	×	○	×	○	○	×	×
PFBBr誘導体化	○	○	○	×	○	○	○	×
エチル化	×	○	○	○	○	○	○	×

○：全異性体がほぼ分離できる　　×：分離できない異性体がある

エチル誘導体化物は、トリクロロフェノール類とテトラクロロフェノール類でベースライン分離まではいかないものの、全ての誘導体化物でほぼ分離ができた。ただ他の誘導体化物にくらべて、全体的にそれぞれの異性体同士の保持時間の差が広がる傾向が見られ、同時分析をする際には、チャンネルの切り替え等注意が必要である。

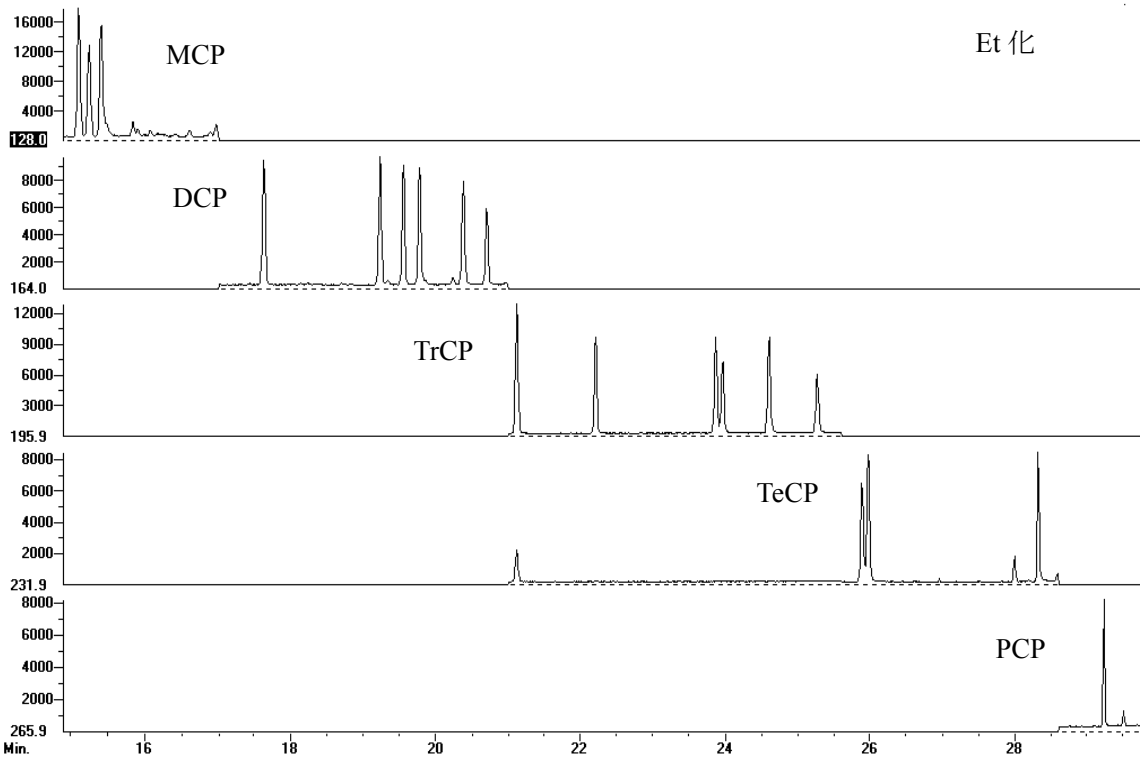


図12　エチル誘導体化物のRtx-5MSによる分離

未誘導体化のフェノール体は、基準ピークが*m/z*196 [M]であり、各置換数の異性体の分離もできず、さらに多くの物質でピークがテーリングしていた。

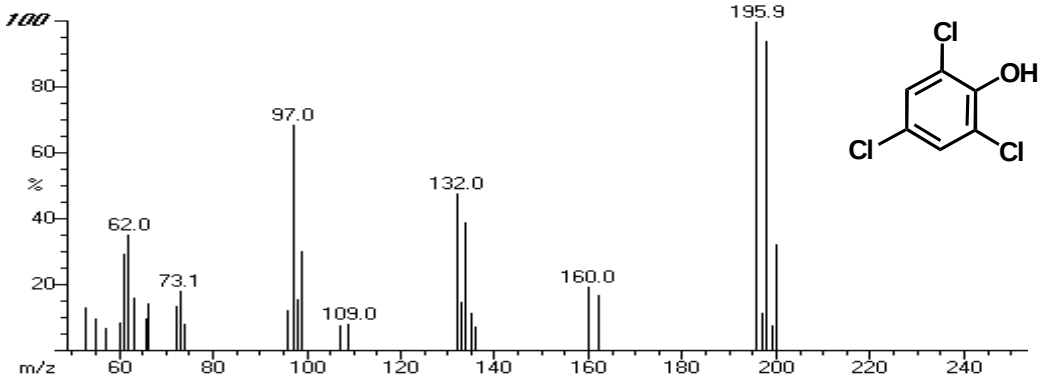


図13　2,4,6-TrCP（未誘導体化）のマススペクトル

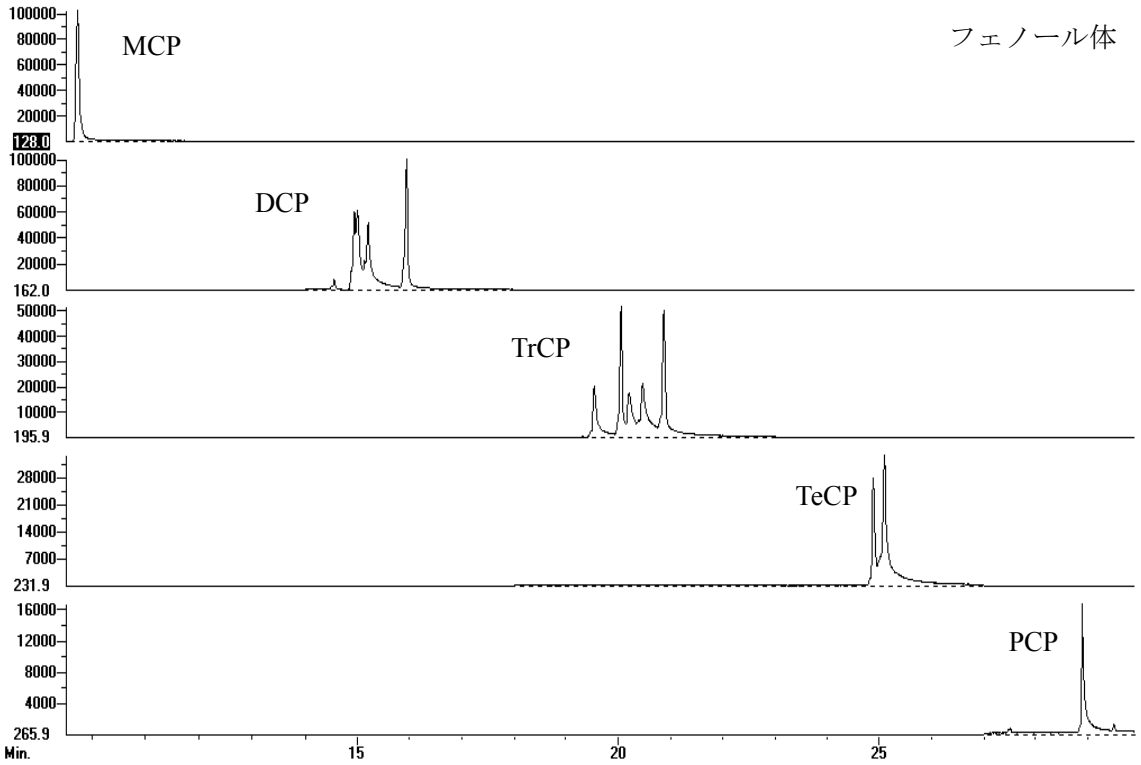


図14　フェノール体（未誘導体化）のRtx-5MSによる分離

アセチル誘導体化物の基準ピークはアセチルが脱離して水素になった*m/z* 196[フェノール体のM]であった。各異性体の分離は、2置換体の2,4-及び2,5-ジクロロフェノールが、今回検討した3種類のカラムでの分離はできなかった。

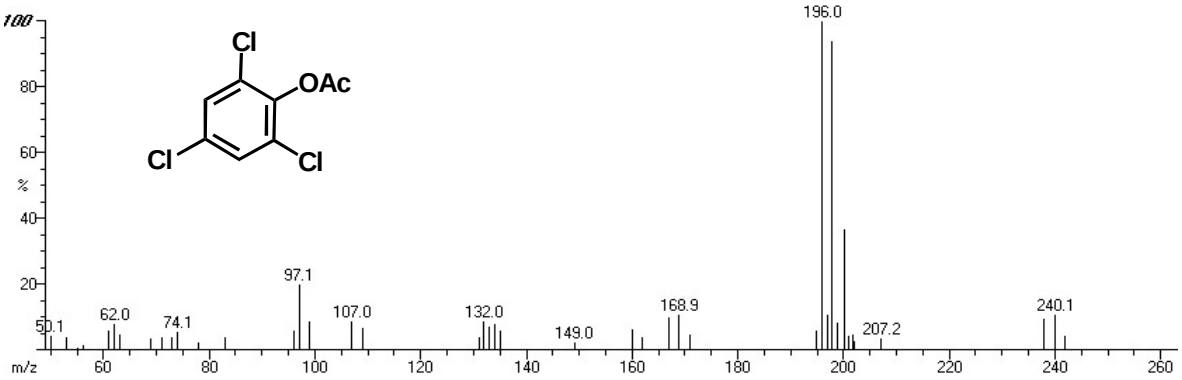


図15　2,4,6-TrCP（アセチル誘導体化物）のマススペクトル

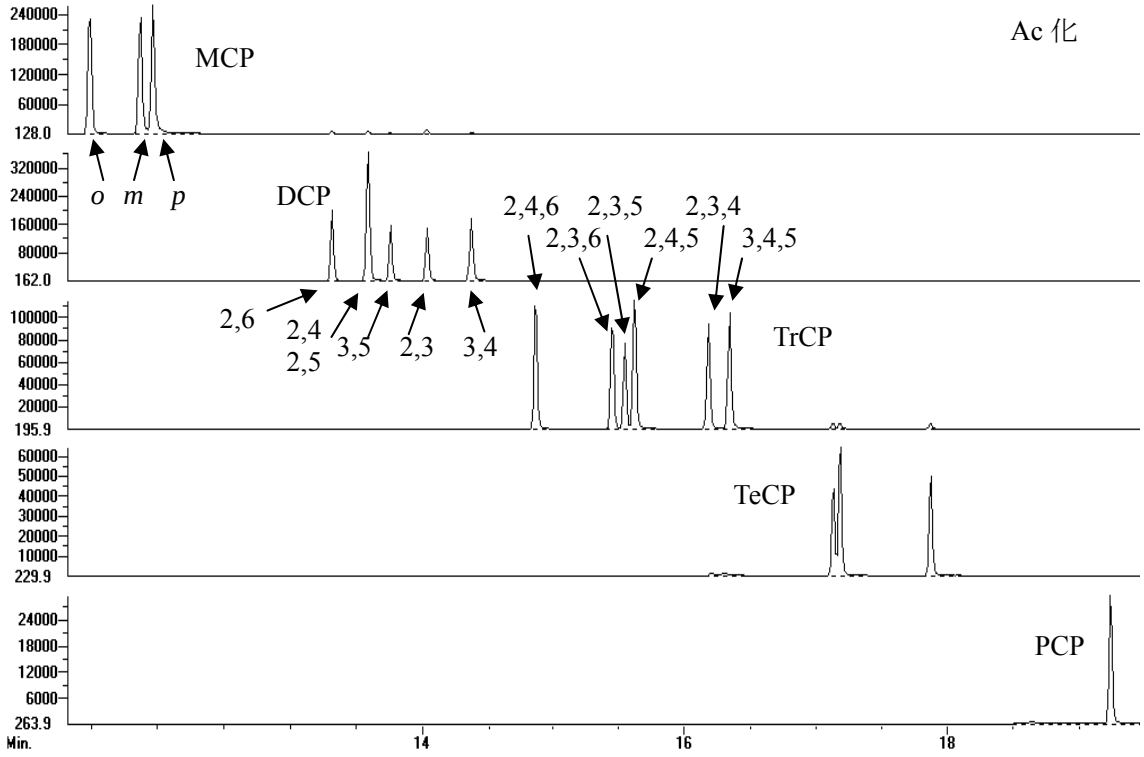


図16　アセチル誘導体化物のRtx-5MSによる分離

TMS誘導体化物の基準ピークは*m/z* 253[M-Me]であり、TMS基からメチル基が一つ脱離したものである。今回検討した誘導体化法における各異性体の分離は、1置換体及び3～4置換体については今回検討を行った3種類のカラムで全異性体をベースライン分離できたが、2置換体については、2,3-及び3,4-ジクロロフェノールは各カラムとも分離できたが、2,6-ジクロロフェノールはどのカラムでも分離することができなかった。

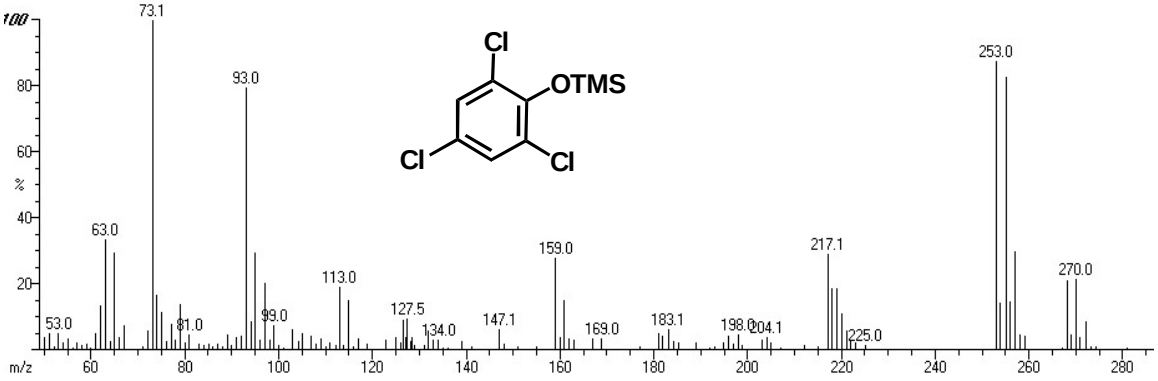


図17　2,4,6-TrCP（TMS誘導体化物）のマススペクトル

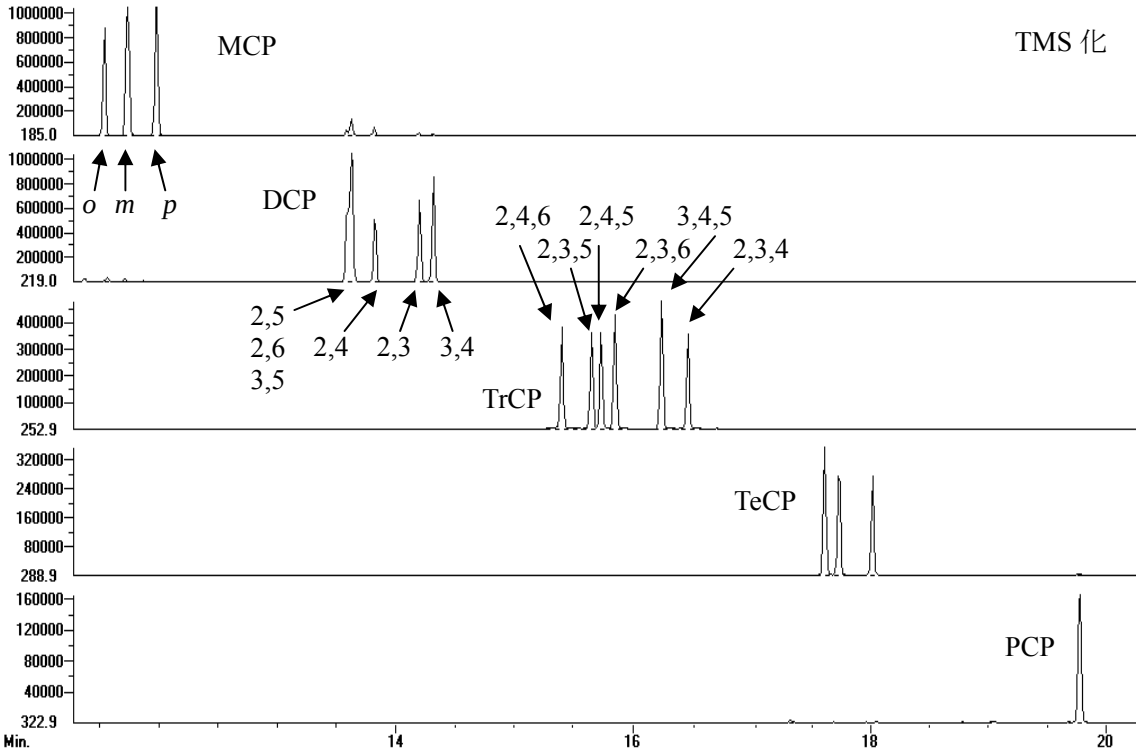


図18　TMS誘導体化物のRtx-5MSによる分離

PFBBr誘導体化物の基準ピークは、ペンタフルオロベンジル基の*m/z* 181であり、非常に強度があるが、反応副生成物も同様の*m/z*を示すので、分離確認等は分子イオンピークの*m/z* 378[M]で行った。各異性体の分離は、DB-1msカラムでは1置換、2置換体ともほぼ分離できていた。しかし、誘導体化がより簡便であるエチル誘導体化物が、3置換体及び4置換体でほぼ分離できることが確認できたため、追加の検討は行わなかった。参考に、Rtx-5MSで分離を確認したところ、2,4-と3,5-ジクロロフェノール及び2,3,4-と3,4,5-トリクロロフェノールの分離ができなかった。

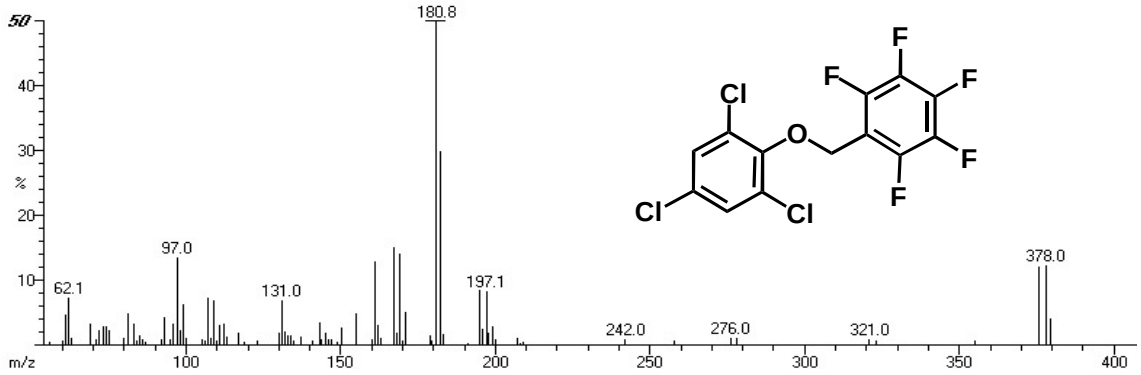


図19　2,4,6-TrCP（PFBBr誘導体化物）のマススペクトル
（基準ピーク(*m/z*181)が大きいため、縦軸を2倍に拡大）

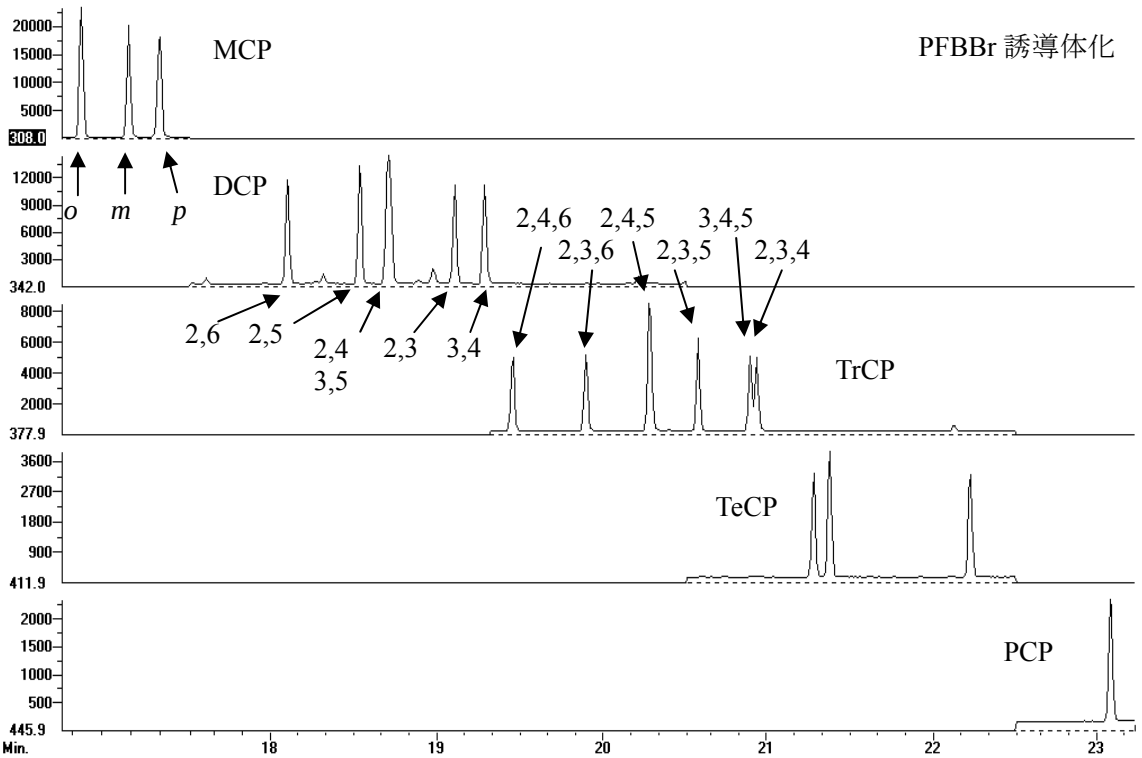


図20　PFBBr誘導体化物のRtx-5MSによる分離

〔環境試料の分析〕

本分析法により、川崎市公害研究所（旧研究所）で大気を測定した結果は、*m*-クロロフェノールで12 ng/m^{3}が観測された他、2,4-ジクロロフェノール、3,5-ジクロロフェノール、2,3,6-トリクロロフェノール及び2,4,6-トリクロロフェノールでピークが観測されたことがあったが、全てMDL未満であった。

環境試料測定時のクロマトグラム例を図21～22に示す。

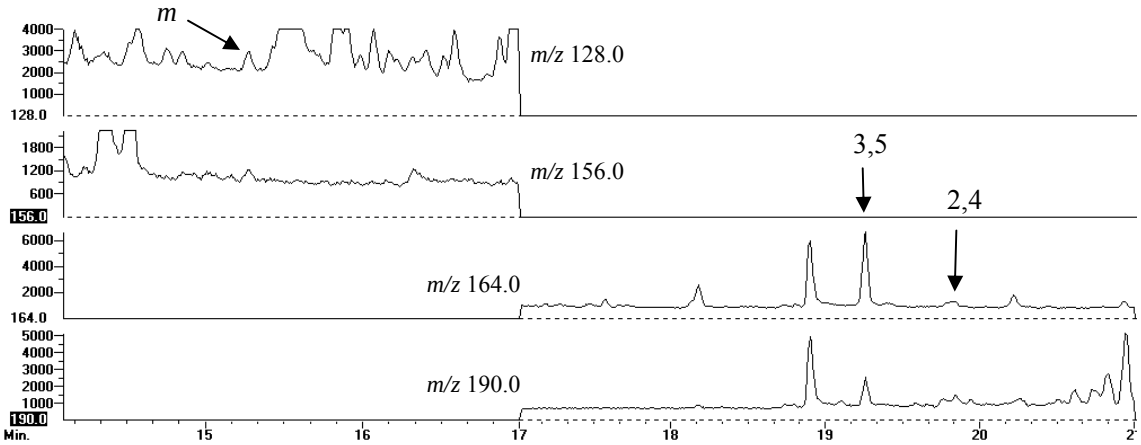


図21-1　環境試料のGC/MSクロマトグラム例1-1
（*m*-MCP、3,5-DCP、2,4-DCP及び2,3,6-TrCP観測時のMCP類、DCP類）

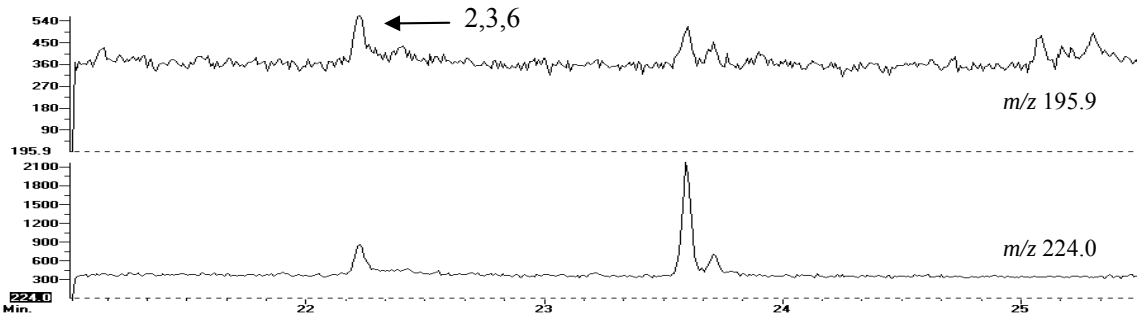


図21-2　環境試料のGC/MSクロマトグラム例1-2
（*m*-MCP、3,5-DCP、2,4-DCP及び2,3,6-TrCP観測時のTrCP類）

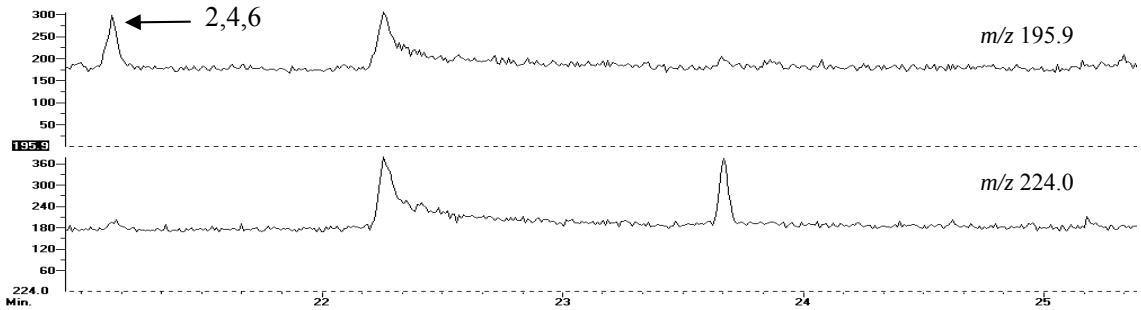


図22　環境試料のGC/MSクロマトグラム例2（2,4,6-TrCP観測時のTrCP類）

（参考）LC/MS/MSでの分析について

2,4,6-トリクロロフェノールは、LC/MS/MSでも定量下限値がGC/MSの数倍程度で、誘導体化せずに分析を行える。しかし、トリクロロフェノール類の異性体6種の分離は行えなかった。ここでは、2,4,6-トリクロロフェノールのみの分析について記述する。

§1 分 析 法

(1) 分析法の概要

GC/MS法でのジクロロメタン抽出液を、窒素気流下で濃縮しながらアセトニトリルに転溶する。アセトニトリルで定容した後、LC/MS/MS(ESI-negative, SRM)で分析する。

(2) 試薬・器具

【試薬】（LC/MS/MS法のみに必要なもの）（注2（GC/MS法参照））

アセトニトリル　：LC/MS用ハイパーグレード　メルク製
精製水　　：蒸留水　LC/MS用　関東化学製
酢酸アンモニウム：特級　和光純薬工業製

【標準液の調製】

〔標準液〕

GC/MS法の標準原液を使用する。

〔検量線用標準液〕

標準原液をアセトニトリルで順次希釈し、10～1000 ng/mLの検量線用標準液を調製する。

【器具】（LC/MS/MS法のみに必要なもの）

スピッツ管 (10 mL)

(3) 分析法

【捕集管の調製】【試料の捕集方法及び保存】

GC/MS法に準じて行う。

【試料の前処理及び試験液の調製】

試料を採取した捕集管を、ジクロロメタン10 mLで通気方向と逆方向に通液し、スピッツ管に溶出する。その溶出液を窒素気流下で0.5 mLまで濃縮した後、アセトニトリル1 mLを加える。再び窒素気流下で0.5 mLまで濃縮した後、アセトニトリルを加え、正確に1 mLとし、これを試験液とする。

【空試験液の調製】

【捕集管の調製】のとおり調製した捕集管を試験液と同様に処理し、空試験液（操作ブランク）として分析する。

【測定】

〔LC/MS条件〕

［LC条件］

使用機種　：Prominence20A　島津製作所製
カラム　　：Waters Atlantis T3　2.1×150 mm, 3 μm
溶離液　　：A：10 mmol/L酢酸アンモニウム水溶液　B：アセトニトリル
　　0 → 8 min　A:70 → 10　B:30 → 90　linear gradient
　　8 → 14 min　A:B = 10:90
　　14 → 15 min A:10 → 70　B:90 → 30　linear gradient
　　15 → 20 min A:B = 70:30
流量　　：0.2 mL/min
試料注入量　：10 μL
カラム温度　：40°C

［MS条件］（注11）

使用機種　　：API3200　AB SCIEX製
イオン化法　　：ESI(-)
定量イオン　　：194.8>123.0
カーテンガス (CUR)　：10.0 psi
イオンスプレー電圧 (IS)　：-4000 V
プローブ温度 (TEM)　：400 °C
コリジョンガス (CAD)　：6 psi
イオンソースガス 1　：80 psi
イオンソースガス2　：80 psi

〔検量線〕

検量線用標準液10 μLをLC/MS/MSに注入して分析する。各濃度に対して得られたピーク面積から検量線を作成する。

〔定量〕

試験液10 μLをLC/MS/MSに注入して分析する。得られた物質のピーク面積を検量線に照らして定量する。

〔濃度の算出〕

大気試料中の2,4,6-トリクロロフェノール濃度C(ng/m^3)は、次式により算出する。

$$C = (W-Wb)\times v\times(101/P)\times(273+t)/\{V\times(273+20)\}$$

C：大気試料中2,4,6-TrCPの濃度（ng/m^3）
W：検量線から求めた試験液中の2,4,6-TrCP濃度（ng/mL）
Wb：検量線から求めた空試験液中の2,4,6-TrCP濃度（ng/mL）
v：最終液量（mL）（この分析法の場合は、v =1）
t：捕集時の平均気温（°C）
V：試料量（m^3）
P：捕集時の平均気圧（kP）

本分析法に従った場合、以下の数値を使用する。

V = 0.144 (m^3)
v = 1.00 (mL)

即ち、

$$C = (W-Wb)\times(101/P)\times(273+t)/42.19$$

である。

〔装置検出下限値(IDL)〕

本分析法に用いたLC/MS/MSのIDLを表17に示す（注12）。

表17　IDLの算出結果

物質名	IDL (ng/mL)	試料量 (m^3)	最終液量 (mL)	IDL試料換算値 (ng/m^3)
2,4,6-TrCP	4.8	0.144	1	33

〔測定方法の検出下限値 (MDL) 及び定量下限値 (MQL)〕

本測定方法におけるMDL及びMQLを表18に示す（注13）。

表18　MDL及びMQL算出の結果

物質名	媒体名	試料量 (m^3)	最終液量 (mL)	MDL (ng/m^3)	MQL (ng/m^3)
2,4,6-TrCP	大気	0.144	1	64	170

注　解

（注11）MS条件は本測定に使用した、AB SCIEX製API3200特有のものである。また同機種でも、測定前に条件の最適化を行うこと。

（注12）IDLは、「化学物質環境実態調査実施の手引き」（平成21年3月）に従って算出した（表19）。また、その時得られたクロマトグラムを図23に示す。

表19　IDLの算出

物質名	2,4,6-トリクロロフェノール
試料量 (m^3)	0.144
最終液量 (mL)	1
注入液濃度 (ng/mL)	10.0
装置注入量 (μL)	10.0
結果 1 (ng/mL)	9.48
結果 2 (ng/mL)	10.7
結果 3 (ng/mL)	8.91
結果 4 (ng/mL)	12.2
結果 5 (ng/mL)	12.5
結果 6 (ng/mL)	10.4
結果 7 (ng/mL)	10.1
平均値 (ng/mL)	10.74
標準偏差 (ng/mL)	1.28
IDL (ng/mL) *	4.8
IDL 試料換算値 (ng/m^3)	33
S/N 比	11
CV (%)	12

*IDL= t (n-1, 0.05)×σ_{n-1}×2

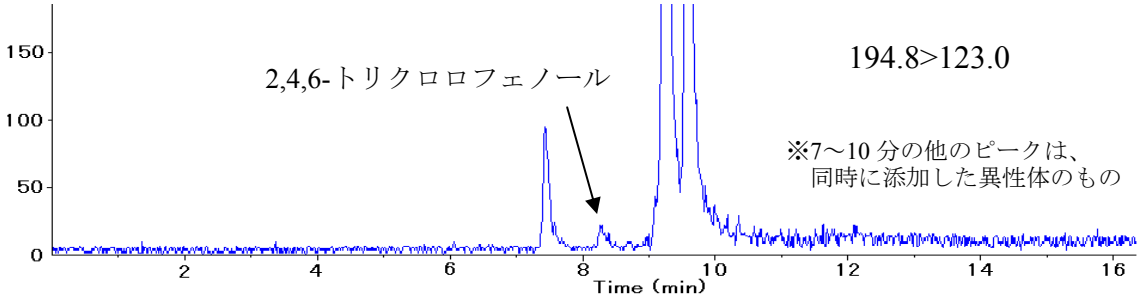


図23　IDL測定時 (10.0 ng/mL) のLC/MS/MSクロマトグラム

（注13）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）をもとに算出した（表20）。また、その時得られたクロマトグラムを図24に示す。

表 20　MDL 及び MQL の算出

物質名	2,4,6-トリクロロフェノール
試料	大気
試料量 (m^3)	0.144
標準添加量 (ng)	25.0
試料換算濃度 (ng/m^3)	174
最終液量 (mL)	1
注入液濃度 (ng/mL)	25.0
装置注入量 (μL)	10.0
操作ブランク平均 *1	N.D.
無添加平均 (ng/m^3) *2	N.D.
結果 1 (ng/m^3)	160
結果 2 (ng/m^3)	158
結果 3 (ng/m^3)	184
結果 4 (ng/m^3)	183
結果 5 (ng/m^3)	198
結果 6 (ng/m^3)	177
結果 7 (ng/m^3)	156
結果 8 (ng/m^3)	197
平均値 (ng/m^3)	176.6
標準偏差 (ng/m^3)	16.95
MDL (ng/m^3) *3	64
MQL (ng/m^3) *4	170
S/N 比	12
CV (%)	9.6

*1：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 (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 (n=1)

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

*4：MQL= $\sigma_{n-1} \times 10$

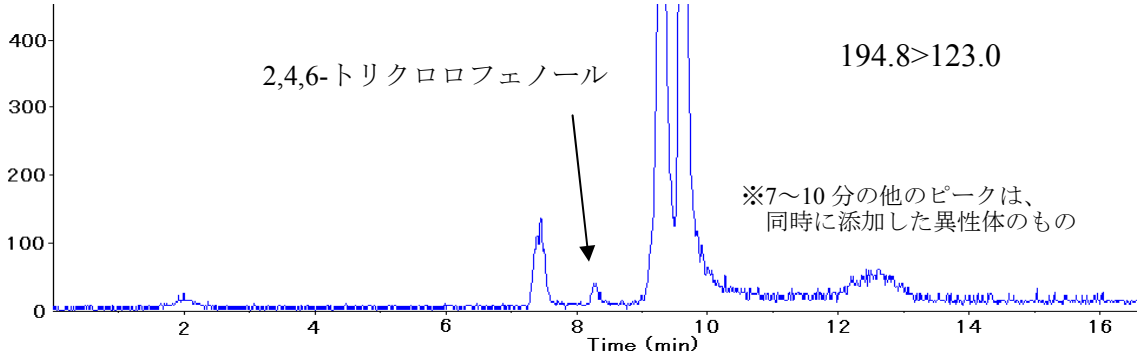


図24　MDL試験試料（大気）のLC/MS/MSクロマトグラム

§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25に示す。

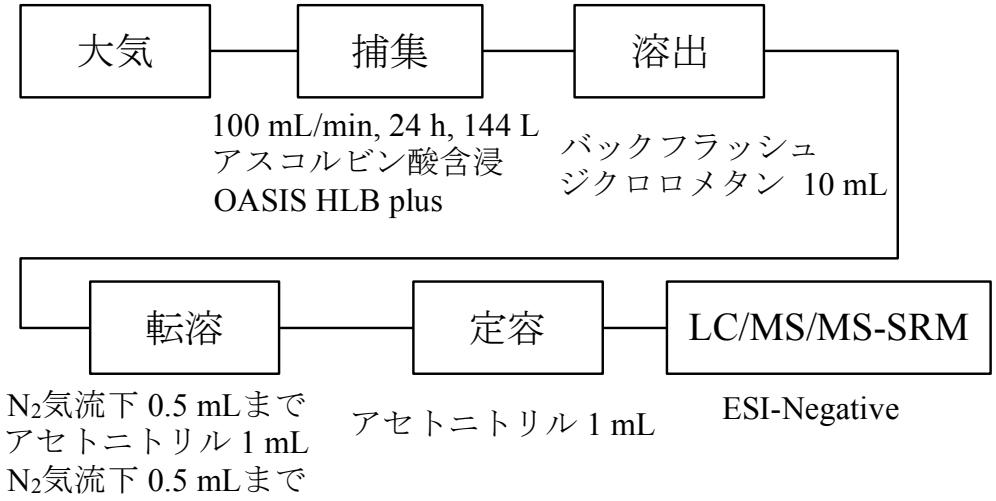


図25　分析法のフローチャート（上段はGC/MS法と同じ）

〔検量線〕

検量線を図26に、検量線作成用データを表21に示す。

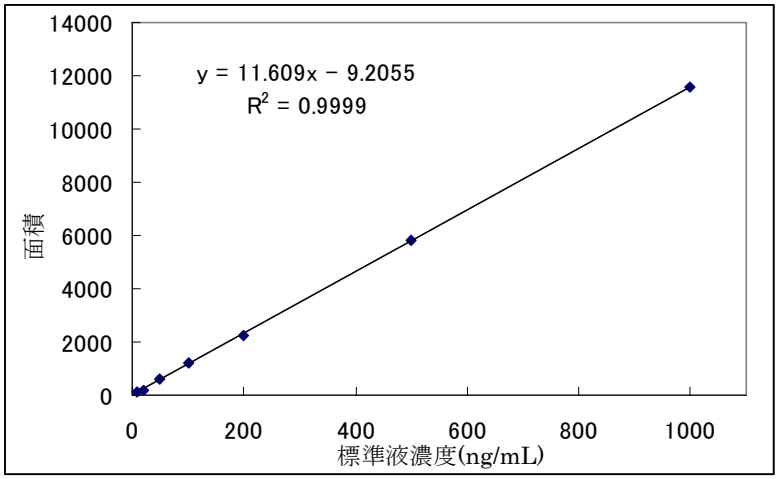


図26　検量線

表21　検量線作成用データ一覧

標準液濃度 (ng/mL)	応答値
10	130
20	209
50	582
100	1190
200	2230
500	5820
1000	11600

〔マススペクトル〕

検量線用標準液のマススペクトルを、図27-1～27-2に示す。

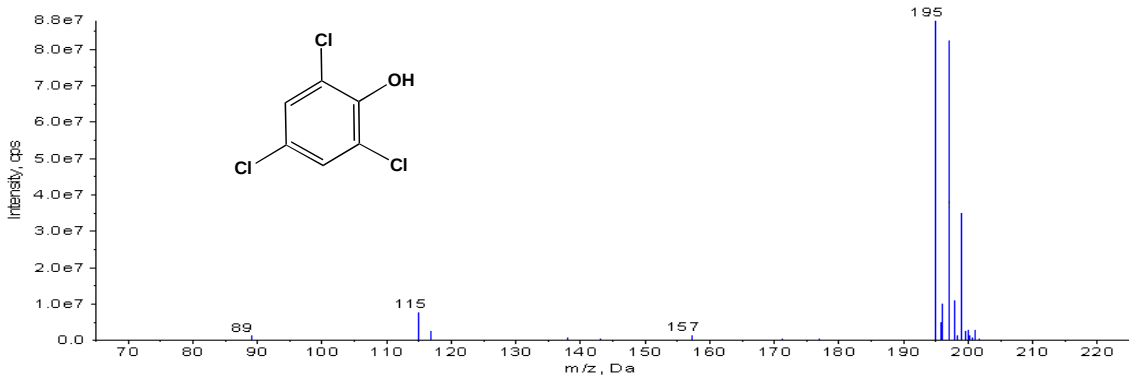


図27-1　2,4,6-トリクロロフェノールのLC/MSスペクトル

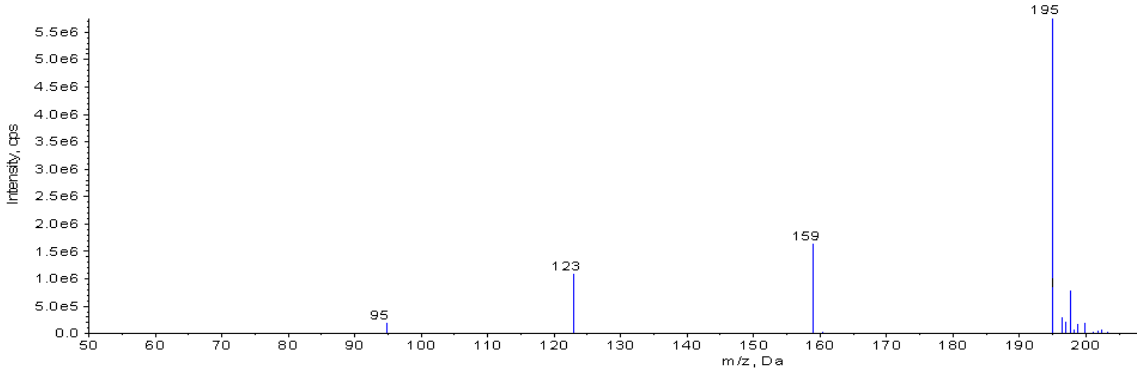


図27-2　2,4,6-トリクロロフェノールのLC/MS/MSスペクトル
（プレカーサーイオン　*m/z* 194.8）

〔トリクロロフェノール類の分離〕

トリクロロフェノールの6異性体についての分離を確認した（図28）。

2,3,6、2,4,6、3,4,5の各異性体は分離できたが、その他3異性体の分離はできなかった。また、各異性体で感度の違いが大きく、2,4,6-トリクロロフェノールは最も感度が悪かった。

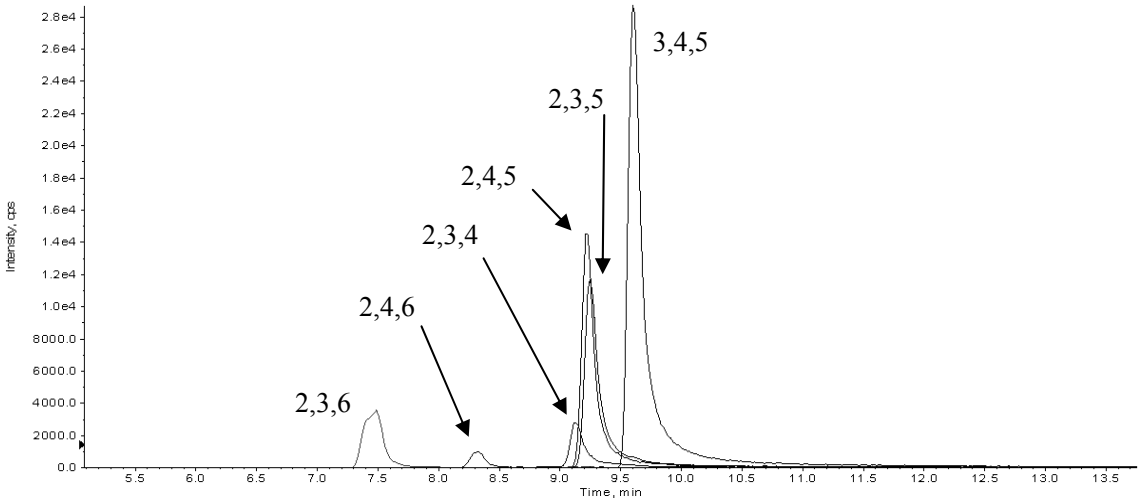


図28　トリクロロフェノール類の異性体分離（各1 μg/mL）

〔操作ブランク試験〕

操作ブランクは検出されなかった。

※平成22年度化学物質分析法開発調査報告書の2,4,6-トリクロロフェノールの分析法（生物）では、操作ブランクが検出されたと報告されていた。しかし、

その汚染源についての言及はされていなかった。
今回操作ブランクは検出されなかったが、測定の際には確認が必要である。

〔添加回収試験〕
標準物質を添加した捕集管と無添加の捕集管に同日同地点で環境大気等を採取して測定し、その定量値の差から添加回収率を求めた結果を表22に示す。
添加量25 ng（MDL測定時）及び添加量80 ng（GC/MS法の添加回収実施量）では、回収率、変動係数ともに良好であった。添加量80 ngの時のクロマトグラムを図29に示す。

表22　添加回収試験結果

試料 気温・湿度	添加量 (ng)	検体 数	検出量 (ng)	回収率 (%)	変動係数 (%)
大気試料1（MDL測定時）	無添加	1	0	-	-
15.6℃・62%	25	8	25.4	101	9.6
大気試料2	無添加	1	0	-	-
18.8℃・73%	80	7	80.8	101	4.8

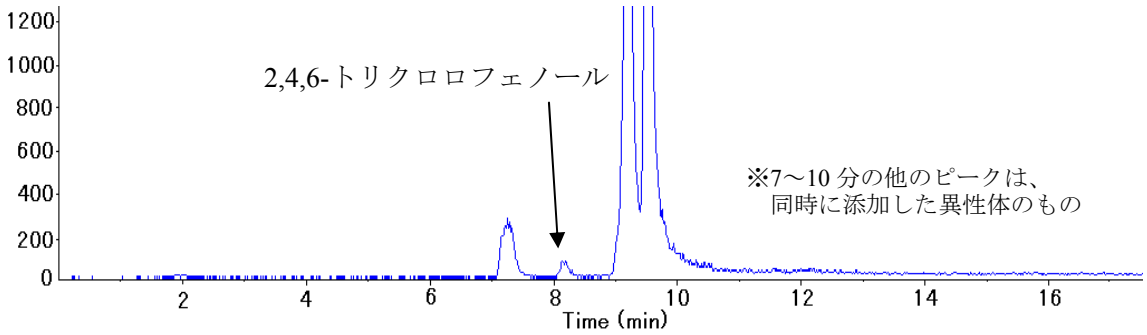


図29　添加回収試験（大気2、添加量80 ng）のLC/MS/MSクロマトグラム

〔保存性試験〕
保存性試験結果を表23に示す。
捕集管に 2,4,6-トリクロロフェノール 20 ng を添加し、大気試料を 24 時間捕集した捕集管及びその後処理した試験液を、それぞれ遮光し、冷蔵保存した。
捕集管での保存で、捕集当日の回収率を100%とした時の7日後の残存率が90%と良好であった。同様に試験液も80%と比較的良好ではあったが、後述の検量線用標準液の保存性を考慮すると、試験液は調製後速やかに測定するのが望ましいと考えられる。
検量線用標準液は、調製直後のものを100%とした時の残存率である。
1か月後の検量線用標準液の残存率は、高濃度のものが79～95%の範囲内の値

であったが、10～20 ng/mLのものは、1週間でもかなりの分解が確認された。そのため、測定毎に検量線用標準液を調製する必要がある。なお、IDL相当の濃度の5 ng/mLの標準液は、調製日にはピークが観測されるが、1週間以後は全くピークが観測されなかった。

表23　保存性試験結果

	初期濃度	回収率　（残存率）　(%)		
		当日	7日	1か月
捕集管	20 ng	-	86 (90)[*1]	-
試験液	20 ng/mL	96	77 (80)[*1]	-
検量線用標準液	10～20 ng/mL	-	(34～75)[*2]	(44～89)[*2]
	50～1000 ng/mL	-	(84～100)[*2]	(79～95)[*2]

*1：捕集管及び試験液のカッコ内は当日の回収率を100%とした時の残存率
*2：検量線用標準液は、調製直後のものを100%とした時の残存率

〔環境試料の分析〕

本分析法により、川崎市公害研究所で大気を測定した結果は、すべて不検出であった。環境試料測定時のクロマトグラム例を図30に示す。

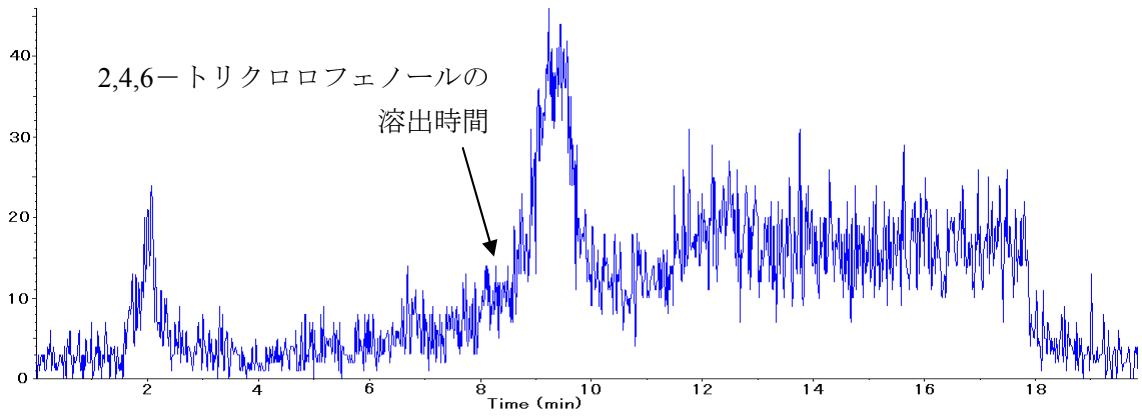


図30　環境試料のLC/MS/MSクロマトグラム例（MDL測定時）

【評価】

今回の操作ブランク試験では、2,4,6-トリクロロフェノールは検出されなかったが、平成22年度化学物質分析法開発調査報告書（参考文献2）では、操作ブランクがあると報告されているので、確認が必要である。またポリクロロフェノール類は、標準液でも誘導体化後の試験液の安定性が悪く、迅速な分析が必要であり、検量線用標準液も測定毎に調製することが望ましい。

これらのことを踏まえることにより、この方法で、検出下限11～28 ng/m^{3}及び定量下限28～73 ng/m^{3}とする、大気試料中のポリクロロフェノール類（1～5置換、全19異性体）の定量分析が可能である。

なおポリクロロフェノール類のうち、ペンタクロロフェノールのみを分析する場合は、LC/MS/MSを使用する分析法（参考文献6）が定量下限1.5 ng/m^{3}と、本分析法よりも高感度に分析できる。

【参考文献】

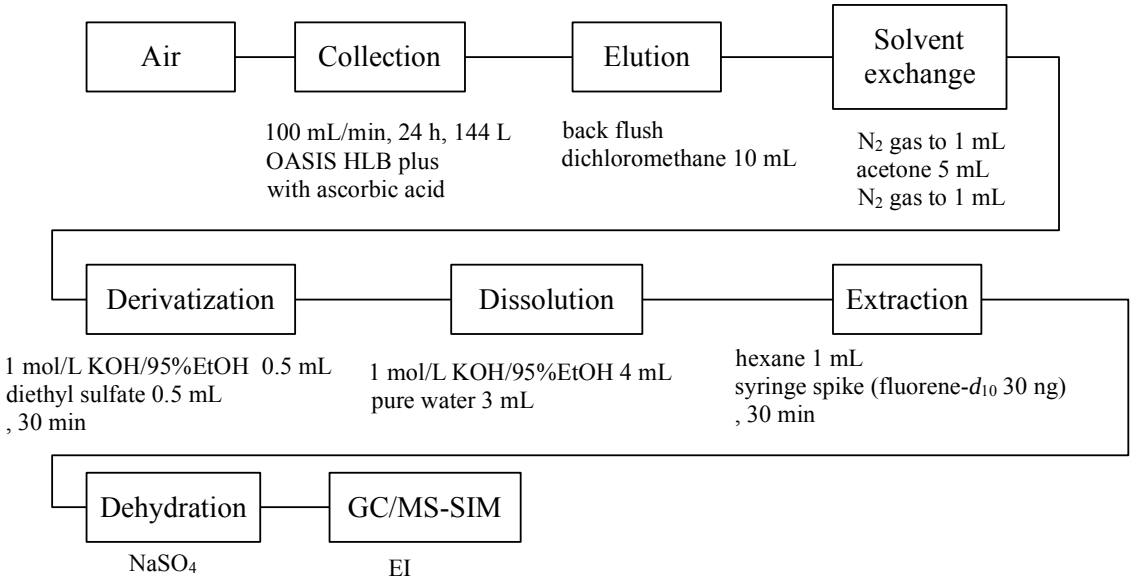
1) 環境省総合環境政策局環境保健部環境安全課：平成19年度化学物質分析法開発調査報告書（2,4,5-トリクロロフェノール（水質）；北九州市環境科学研究所），354－369 (2008)
2) 環境省総合環境政策局環境保健部環境安全課：平成22年度化学物質分析法開発調査報告書（2,4,6-トリクロロフェノール（生物）；日本環境衛生センター），111－147 (2011)
3) 環境省総合環境政策局環境保健部環境安全課：平成23年度化学物質分析法開発調査報告書（2,4,6-トリクロロフェノール（水質）；福岡県保健環境研究所），(2012)
4) 環境省総合環境政策局環境保健部環境安全課：平成7年度化学物質分析法開発調査報告書（ジクロロフェノール（6異性体）（大気）；北九州市環境科学研究所），240－250 (1996)
5) 環境省総合環境政策局環境保健部環境安全課：平成20年度化学物質分析法開発調査報告書（2,4-キシレノール（大気）；川崎市公害研究所），280－295 (2009)
6) 環境省総合環境政策局環境保健部環境安全課：平成14年度化学物質分析法開発調査報告書（アルキルフェノール類（大気）；川崎市公害研究所），321－327 (2003)
7) 第21回環境化学討論会（松山；2012年）：環境水中2,4-ジクロロフェノールのGC/MS及びLC/MS/MS法による比較検討（松本幸一郎ら；日本環境衛生センター）

【担当者連絡先】

所属先名称 ：川崎市環境局環境総合研究所環境リスク調査課
所属先住所 ：〒2100821　神奈川県川崎市川崎区殿町3-25-13
川崎生命科学・環境研究センター 3階
TEL：044-276-8649、FAX：044-288-3156
担当者名 ：江原　均
E-mail ：30sokan@city.kawasaki.jp

2,4,6-Trichlorophenol (Polychlorophenols) (in ambient air, GC/MS)

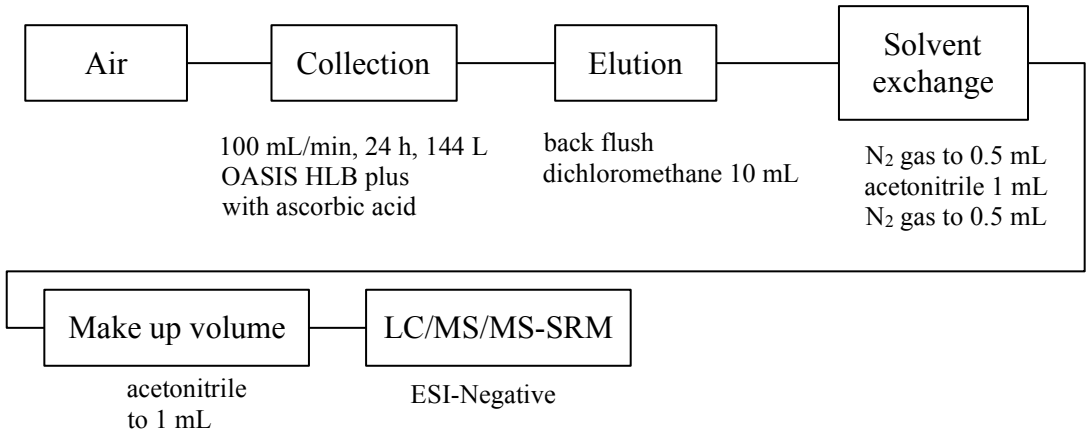
This method provides procedures for the determination of polychlorophenols in ambient air samples by gas chromatography / electroionization / mass spectrometry (GC/EI/MS). Polychlorophenols in ambient air are collected with OASIS HLB plus cartridge for 24 hours at constant rate of 100 mL/min. Prior to the air sampling, the cartridge is washed with 10 mL of dichloromethane, and dried with high purity nitrogen gas, and then ascorbic acid solution (1% in methanol) through this cartridge, and dried with high purity nitrogen gas. The collected air sample is eluted from the cartridge with 10 mL of dichloromethane to a graduated test tube. The eluate(a) is evaporated to reduce the volume to approximately 1 mL. Then 5 mL of acetone add and it is evaporated to reduce the volume to approximately 1 mL. After derivatization with diethyl sulfate, 30 μL of syringe spike solution is added. The ethyl derivatives are extracted with hexane. One μL of the hexane solution is injected into GC/MS and polychlorophenols are determined. The method detection limit (MDL) and the method quantification limit (MQL) of polychlorophenols are 11~28 ng/m^3 and 28~73 ng/m^3, respectively. The average of recoveries (n=5) from ambient air samples spiked 80 ng of polychlorophenols were 76～102% (22°C), and the relative standard deviations were 3.7～8.0%.

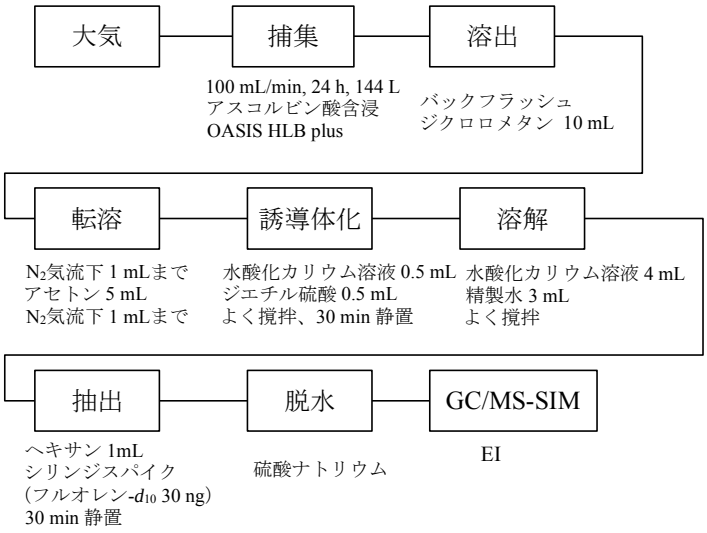
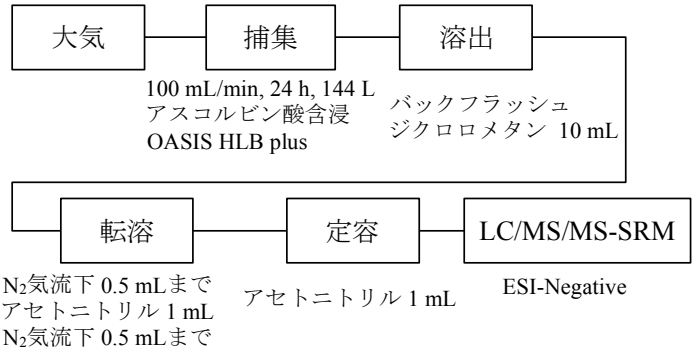


2,4,6-Trichlorophenol (in ambient air, LC/MS/MS)

This method provides procedures for the determination of 2,4,6-trichlorophenol in ambient air samples by liquid chromatography / electrospray / tandem mass spectrometry (LC/ESI/MS/MS) in negative mode.

The eluate of dichloromethane(a) is evaporated to reduce the volume to approximately 0.5 mL. Then 1 mL of acetonitrile into the eluate and it is evaporated to reduce the volume to approximately 0.5 mL, and it is made up to 1 mL with acetonitrile. Ten μL of the sample solution is injected into LC/MS/MS and 2,4,6-trichrolophenol is determined. The method detection limit (MDL) and the method quantification limit (MQL) are 64 ng/m^3 and 170 ng/m^3, respectively. The average of recoveries (n=5) from ambient air samples spiked 80 ng of 2,4,6-trichlorophenol was 101% (19°C), and the relative standard deviation was 4.8%.



物質名	分析法フローチャート	備考
2,4,6-トリクロロフェノール GC/MS同時分析： クロロフェノール類（3異性体）、 ジクロロフェノール類（6異性体）、 トリクロロフェノール類（他5異性体）、 テトラクロロフェノール類（3異性体）、 ペンタクロロフェノール	【大気】 GC/MS  LC/MS/MS  	GC/MS-SIM EI 検出下限値 【大気】(ng/m^3) 13 同時分析物質 11～28 分析条件： 機器 GC：Agilent社製 6890 MS：日本電子社製 GCmate Ⅱ カラム Restek Rtx-5MS 30 m×0.25 mm, 0.25 μm LC/MS/MS ESI-Negative 検出下限値(MDL) 【大気】(ng/m^3) 64 分析条件： 機器 LC：Shimadzu、Prominence20A MS：ABSciex API3200 カラム Waters Atlantis T3、 2.1×150 mm, 3 μm

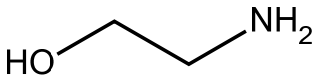
3．ＬＣ／ＭＳによる分析法

神奈川県環境科学センター
［対象媒体：大気］

2-アミノエタノール

2-Aminoethanol
別名：エタノールアミン　Ethanolamine

【対象物質の構造】



CAS 番号：141-43-5
分子式：C_2H_7ON

【物理化学的性状】

物質名	分子量(ﾓﾉｱｲｿﾄﾋﾟｯｸ質量)	融点 (°C)	沸点 (°C)	蒸気圧 (hPa)	水溶解度	Log P_{ow}
2-アミノエタノール	61.1 (61.05277)	10	171	8～8.93 (60～64.5°C)	易溶	-1.31

【毒性、用途等】

〔毒性〕ラット（経口）LD_{50}：1720 mg/kg

皮膚、粘膜を刺激する。はなはだしいときは麻酔作用、肺炎、肝腎障害を起こす。腹腔内投与により毒性を示す。他のいくつかの摂取、投与方法により中程度の毒性を示す。中程度の皮膚および激しい眼の刺激剤である。

ヒトを含む哺乳類では正常な代謝産物として体内に存在していて、非曝露者でも尿中に平均 0.162（男）ないし 0.492（女）mg/kg/日排泄している。

許容濃度　ACGIH TWA　3ppm　日本産業衛生学会最大許容濃度　3ppm

〔用途〕pH 調整剤（合成洗剤，化粧品）、防錆剤，溶剤，繊維柔軟剤、排ガス処理のためのスクラバー水に添加されて、有害な酸性ガスを除去するアルカリとして使われることもある。実験室で用いる理化学用洗剤には当物質を多量に含有するものがあるので注意する。

*【物理化学的性状】、【毒性、用途等】は、神奈川県化学物質安全情報提供システムによるデータベース、国際化学物質安全性カードなどを参考にした。

§1 分 析 法

(1)分析法の概要

大気試料はメンブレンフィルターに通気して捕集し、これをアンモニアを加えたアセトニトリルで抽出し、誘導体化試薬とシリンジスパイク内標準（以下「内標準」という）を添加して誘導体化したものを LC/MS/MS(ESI-negative)で測定する。

(2)試薬・器具

【試薬】

2-アミノエタノール	: 和光純薬製 特級
エタノール-1,1,2,2-d_4-アミン	: 大陽日酸（輸入）
ベンゼンスルホニルクロライド(BSC)	: 和光純薬製 一級
アンモニア水	: 和光純薬製 一級水溶液 (28%)
アセトニトリル	: 和光純薬工業製 LC/MS用
精製水	: 和光純薬工業製 超純水 PFOS､PFOA 測定用

【標準液の調製】

標準試薬をアセトニトリルに溶解し、1.00 mg/mLに調製したもの1 mLに1% BSCアセトニトリル溶液0.3 mLを添加してアセトニトリルを加えて5.00 mLとし、室温で一晩おいたものを標準原液とする。標準原液1 μL中のベンゼンスルホニル化物はアミノエタノールとして200 ngに相当する。標準原液及び内標準液をアセトニトリル／精製水(1:1)で適宜希釈したものを検量線作成用標準液とする。各濃度の標準液はアミノエタノールのベンゼンスルホニル化物を含み、アミノエタノールとして0.200～40.0 ng/mL、エタノール-1,1,2,2-d_4-アミンとして1.00 ng/mLに相当するようにする。

【内標準液の調製】

エタノール-1,1,2,2-d_4-アミンをアセトニトリルに溶解し、1.00 mg/mLに調製したもの1 mLに1% BSCアセトニトリル溶液0.3 mLを添加してアセトニトリルを加えて5 mLとし、室温で一晩おいたものを内標準原液とする。内標準原液をアセトニトリルで200分の1に希釈したものを内標準液とする。内標準液1 μL中のベンゼンスルホニル化物はエタノール-1,1,2,2-d_4-アミンとして1.00 ngに相当する。

【試薬の安全性・毒性】

高濃度では中毒の危険性もある。標準試薬を取り扱うときはドラフトの中で

行うなど室内を汚染させないよう注意する。

【器具】

メンブレンフィルター　　：Millipore 製 Durapore（孔径 0.45 μm、直径 47 mm 親水性）

大気採取用ろ紙ホルダー

10 mL ねじ口目盛り付き試験管

(3)分析法

【試料の捕集方法及び保存】

メンブレンフィルターをろ紙ホルダーにセットし、大気を 7 L/min の流速で、24 時間通気して採取する(約 10 m^3)。大気試料を採取したフィルターはアルミ箔に包んで密閉できる袋などに入れ、分析時まで冷蔵庫に保管する。

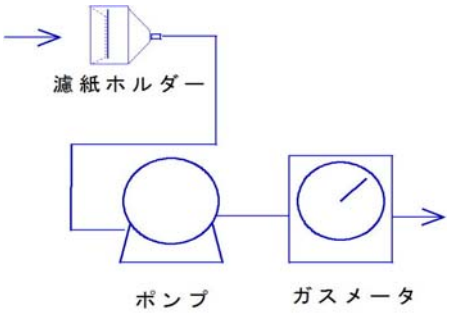


図 1　大気試料採取装置

【試料の送付方法】

試料を採取したフィルターをアルミ箔に包んで密栓できる容器に入れ、冷蔵して送付する。

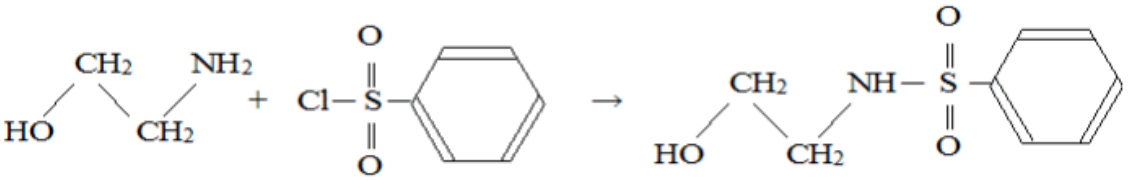
【試料の前処理及び試験液の調製】

試料を捕集したフィルターをねじ口目盛り付き試験管に入れ、0.005%アンモニア含有アセトニトリル溶液 4 mL（注 1）を加え、ふたを閉めてよく振り混ぜ、抽出する。抽出液にフィルターを入れたまま、1% BSC アセトニトリル溶液 0.1 mL を加えて一晩おく。内標準液 10 μL を添加して、精製水で 10 mL（注 2）としたものを試験液とし、LC/MS/MS-SRM (selected reaction monitoring)モードで測定し定量する。

【空試験液の調製】

試料を捕集する以外は、すべて試験液と同様に調製したものを空試験液とする。空試験液の測定結果が、操作ブランクである。

【誘導体化反応】



2-アミノエタノール　　BSC　　2-アミノエタノール-BS (EA-BS)

図 2　誘導体化反応

【測定】

〔LC/MS/MS 条件〕（注 3）

使用機種	: Waters Acquity-UPLC Micromass Quattro premier XE
使用カラム	: Acquity-UPLC HSS-C_{18}　SB (1.8 µm, 2.1×150 mm)
カラム温度	: 40 °C
移動相	: A:精製水　B:アセトニトリル
	0.0→3.0 min　A:90→10 B:10→90　linear gradient
	3.0→4.0 min　A:B＝10:90
	4.0→4.5 min　A:10→5 B:90→95　linear gradient
	4.5→5.5 min　A:B＝5:95
	5.5→5.6 min　A:5→90　B:95→10
	5.6→9.0 min　A:B＝90:10
カラム流量	: 0.2 mL/min
バルブ切り替え	: 2.5 min　測定時間 9 min（注 4）
試料注入量	: 5 µL
イオン化法	: ESI-negative
コーン電圧	: 30 V
キャピラリー電圧	: 3.0 kV
コリジョンエネルギー	: 20 eV
	: 120°C
ソース温度	: 450°C
脱溶媒温度	: 900 L/hr
脱溶媒ガス流量	: 50 L/hr
コーンガス流量	: 0.35 mL/min Ar
コリジョンガス	: 2-アミノエタノール(EA-BS) 200.0 >155.7
モニターイオン(*m/z*)	エタノール-d_4-アミン(EA-d_4-BS) 204.0 > 155.7

〔検量線〕

標準液 5 µL を LC/MS に注入して分析する。標準物質と内標準物質の濃度比及び得られたピーク面積の比から検量線を作成する。

〔定量〕

試験液 5 μL を LC/MS に注入して分析する。得られた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に照らして定量する。

〔濃度の算出〕

大気試料中の濃度 C (μg/m^3) は次式から算出する。

$$C = ((R_a - R_b) \cdot Q / V) \times ((273 + t) / (273 + 20.0)) \times (101 / P) / 1000$$

R_a : 検量線から求めた試料液中の内標準物質に対する対象物質の濃度比

R_b : 検量線から求めた空試験液中の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)
（＝添加内標準の濃度 (ng/μL) × 添加内標準の容量 (μL)）

V : 試料量 (m^3)

t : 捕集時の平均気温 (°C)

P : 捕集時の平均気圧 (kPa)

〔装置検出下限 (IDL)〕

本分析に用いた LC/MS の IDL を下記に示す。（注 5）

表 1　IDL 算出の結果

物質名	IDL (ng/mL)	大気採取量 (m^3)	最終液量 (mL)	IDL 試料換算値 (ng/m^3)
2-ｱﾐﾉｴﾀﾉｰﾙ	0.050	10	10	0.050

〔測定方法の検出下限 (MDL)及び定量下限(MQL)〕

本分析の MDL 及び MQL を下記に示す（注 6）。

表 2　MDL 及び MQL 算出の結果

物質名	大気採取量 (m^3)	最終液量 (mL)	MDL (ng/m^3)	MQL (ng/m^3)
2-ｱﾐﾉｴﾀﾉｰﾙ	10	10	0.13	0.33

注　解

（注 1）0.005%アンモニア含有アセトニトリル溶液は、25～30%アンモニア水をアセトニトリルで希釈して調製する。多少の誤差は回収率に影響しなかったので、検定などする必要はない。当所では、28～30%アンモニア水 50 μL をアセトニトリル 300 mL に添加して調製した。アンモニア臭が強いので、ドラフトを使用するなど取り扱いに注意する。抽出液量を 4 mL としたのは、ろ紙が無理なく浸る量だったからである。

（注 2）BSC 濃度は高くないと反応が定量的ではないが、高過ぎると LC/MS 測定を阻害するおそれがある。最終液量がやや多いのは、BSC 濃度を下げるためである。試料によっては数十分で定量値が安定するものもあったが、400 分を超えても上昇を続けるものもあり、安全を考えて抽出及び誘導体化反応時間が十分であるよう、放置時間は一晩とした。

（注3）LC/MS/MS の条件は、本測定に使用した機種 (Waters Quattro Premier XE) 特有のものである。HPLC 用のカラムでも使用可能である。〔**HPLC-MS での測定**〕の項参照。

（注 4）試験液中には未反応の誘導体化試薬が高濃度に存在し、およそ 2 分で溶出する。LC/MS のイオン源を保護するために、最初の 2.5 分はイオン源に流れ込まないようにした方がよい。また測定時間を長めにしてあるのは、試験液中に存在する様々な共存物質を追い出すためで、残留すると次回の測定を阻害するおそれがある。

（注 5）IDL は、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）に従って、下記のとおり算出した。

表 3　IDL の算出結果

物質名	2-ｱﾐﾉｴﾀﾉｰﾙ
試料量 (m^3)	10
最終液量 (mL)	10
注入液濃度 (ng/mL)	0.2
装置注入量 (μL)	5.0
結果 1 (ng/mL)	0.191
結果 2 (ng/mL)	0.198
結果 3 (ng/mL)	0.225
結果 4 (ng/mL)	0.221
結果 5 (ng/mL)	0.200
結果 6 (ng/mL)	0.217
結果 7 (ng/mL)	0.211
平均値 (ng/mL)	0.2090
標準偏差 (ng/mL)	0.0128
IDL (ng/mL)*	0.050
IDL 試料換算値 (ng/m^3)	0.050
S/N 比	12
CV(%)	6.1

*IDL＝$t(n-1,0.05)\times\sigma_{n-1}\times2$

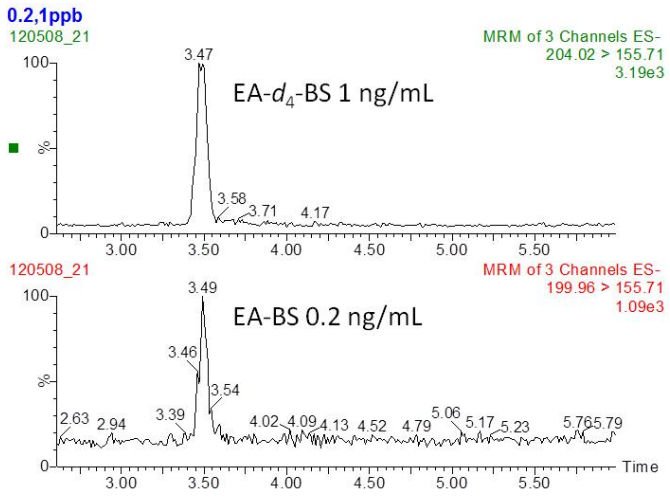


図 2　IDL 測定時のクロマトグラム (0.2 ng/mL)

（注 6）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）により、下記のとおり算出した。ただし、対象物質は高い確率で環境大気中に存在し、その濃度は IDL レベルの 100 倍以上になることがあったため、ろ紙を 2 段にして、添加は後段のろ紙に行った。よって無添加平均の値は、2 段目の分析値であって、大気中濃度を反映していない。

表4　MDL 及び MQL の算出結果

物質名	2-ｱﾐﾉｴﾀﾉｰﾙ
試料	環境大気
試料量(m^3)	10
標準添加量(ng)	5.0
試料換算濃度(ng/m^3)	0.5
最終液量(mL)	10
注入液濃度(ng/mL)	0.5
装置注入量(μL)	5.0
操作ブランク平均(ng/m^3)*1	<MDL
無添加平均(ng/m^3)*2	<MDL
結果 1(ng/m^3)	0.410
結果 2(ng/m^3)	0.364
結果 3(ng/m^3)	0.353
結果 4(ng/m^3)	0.368
結果 5(ng/m^3)	0.438
結果 6(ng/m^3)	0.355
結果 7(ng/m^3)	0.404
平均値(ng/m^3)	0.3847
標準偏差(ng/m^3)	0.0327
MDL(ng/m^3)*3	0.13
MQL(ng/m^3)*4	0.33
S/N	15
CV(%)	8.5

*1：試料マトリクスのない状態で他は同様の操作を行い測定した値の平均値(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=2)

*3：$MDL=t(n-1,0.05)\times\sigma_{n-1}\times2$

*4：$MQL=\sigma_{n-1}\times10$

操作ブランク、無添加試料にピークがあったが、いずれも MDL 換算値以下であった。

§2 解　説

【分析法】

〔フローチャート〕

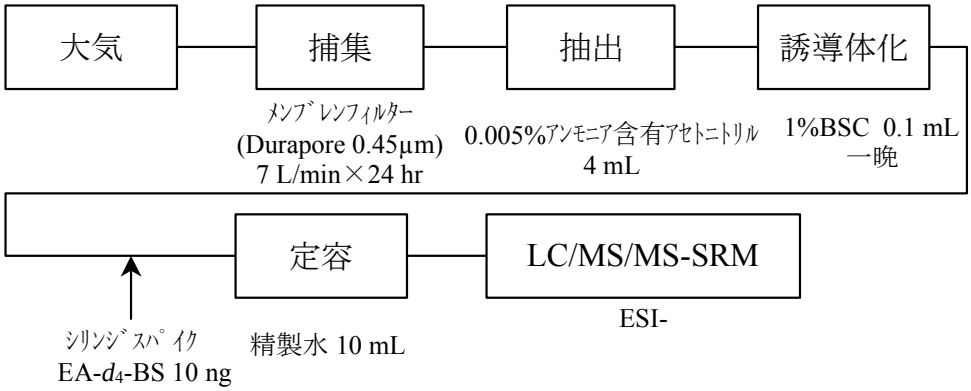


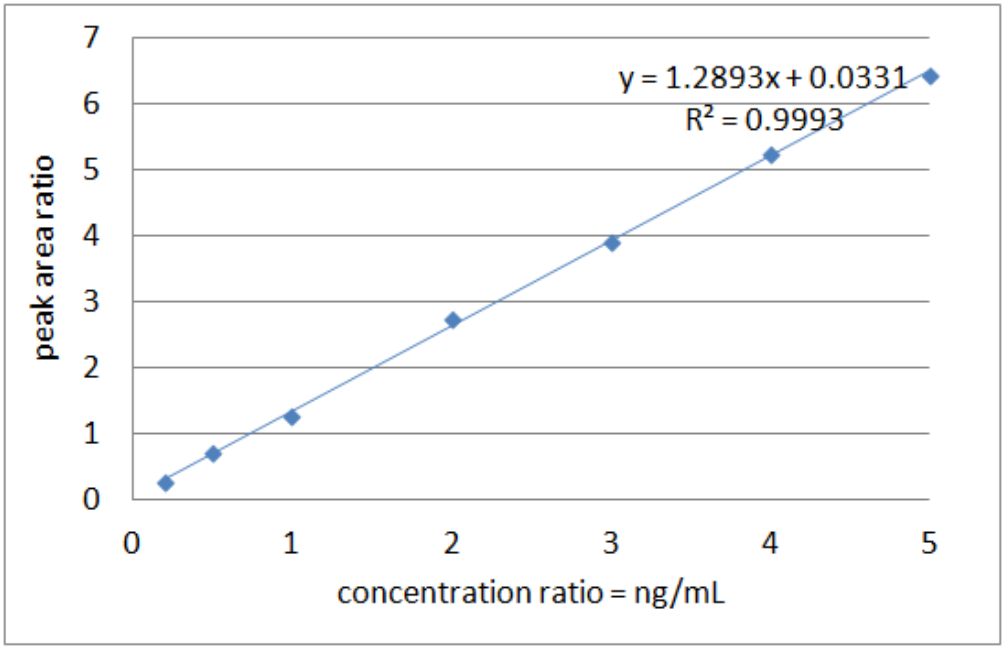
図 5　分析法のフローチャート

〔検量線〕

表 5　検量線作成用データ一覧

標準物質濃度 (ng/mL)	応答値		応答比 (As/Ars)
	標準物質(As) ｴﾀﾉｰﾙｱﾐﾝ (EA-BS) (*m/z* 200>156)	内標準物質(Ars) ｴﾀﾉｰﾙ-d_4-ｱﾐﾝ (EA-d_4-BS) (*m/z* 204>156)	
0.2	67.38	270.3	0.25
0.5	198.46	282.7	0.70
1.0	394.76	313.3	1.26
2.0	808.70	296.8	2.72
3.0	1112.79	286.2	3.89
4.0	1415.76	271.4	5.22
5.0	1795.53	279.1	6.43
10	4145.30	319.0	13.0
20	6975.62	300.6	23.2
40	13800.58	294.3	46.9

*内標準物質濃度：1.0 ng/mL



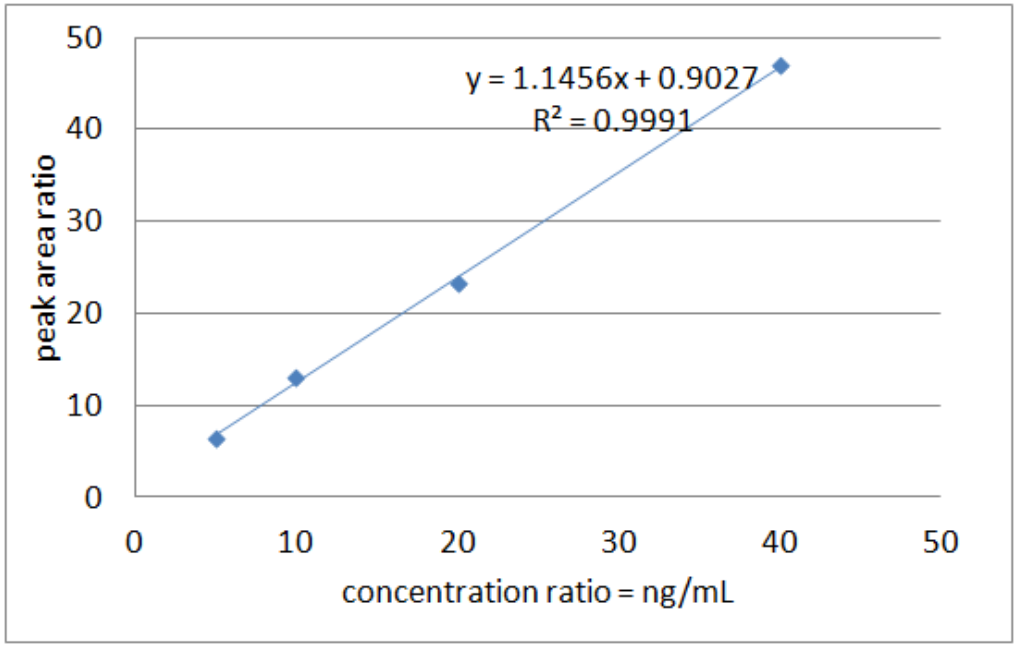
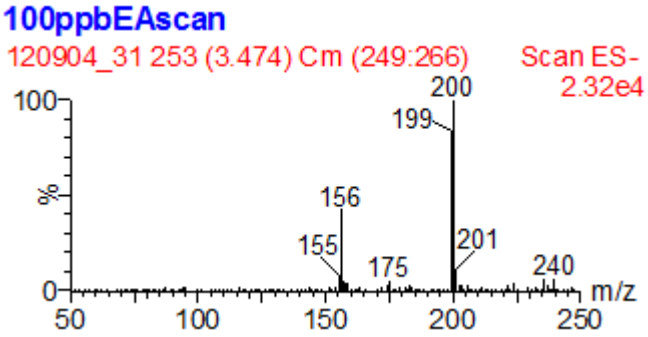


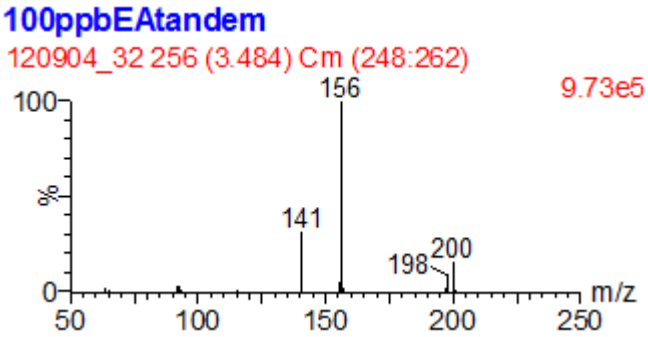
図 6　検量線

図上：0.200～5.00 ng/mL、図下：5.00～40.0 ng/mL

〔マススペクトル〕

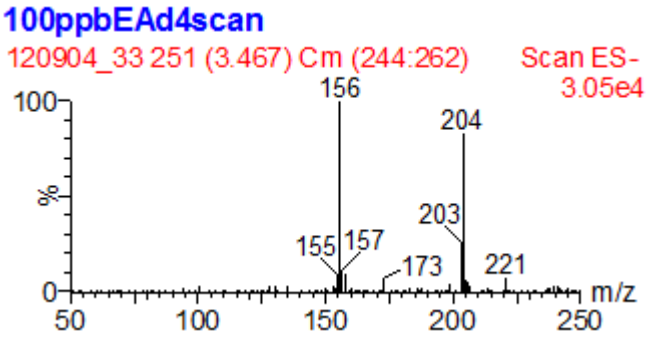


EA-BS のスキャンスペクトル

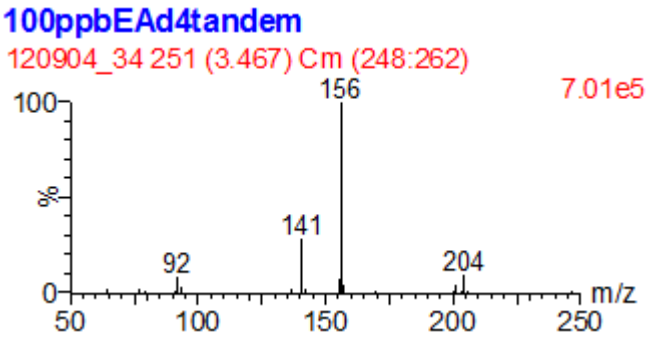


m/z 200 をプレカーサーイオンとした場合のプロダクトイオンスペクトル

図 7-1　マススペクトル（2-アミノエタノール(EA-BS)）



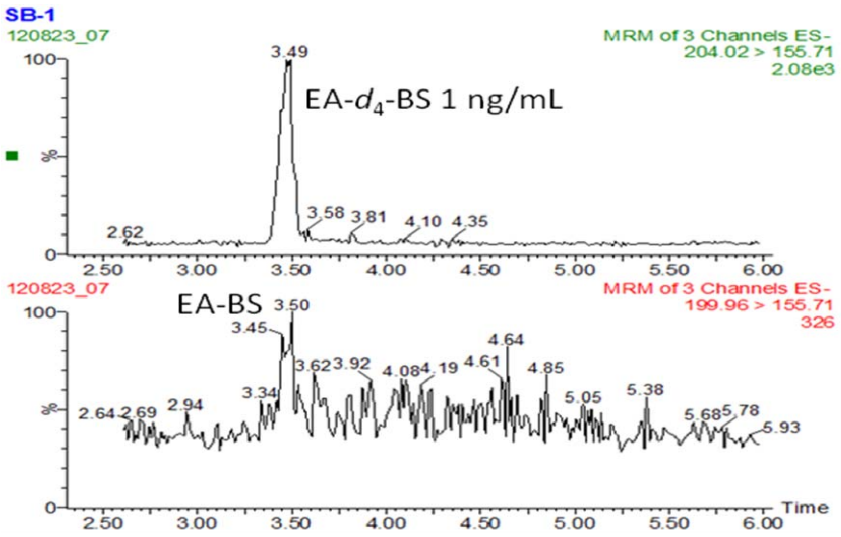
EA-d_4-BS のスキャンスペクトル



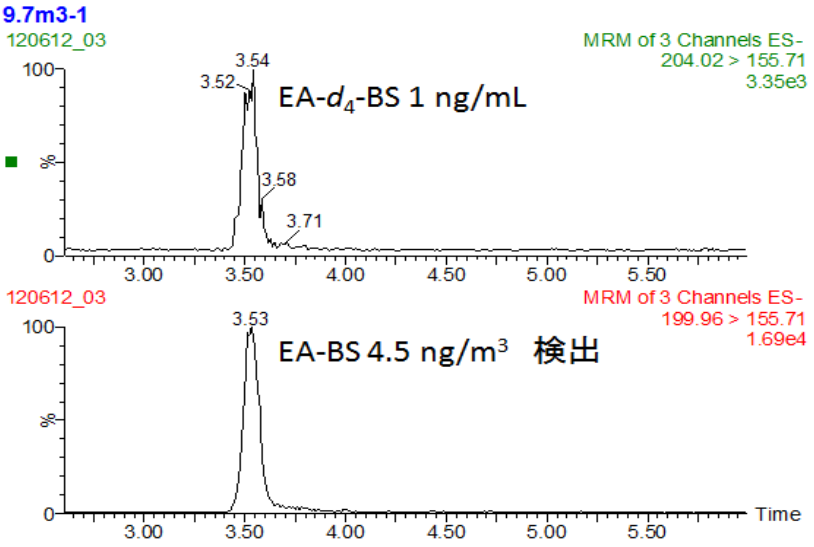
m/z 204 をプレカーサーイオンとした場合のプロダクトイオンスペクトル

図 7-2　マススペクトル（エタノール-d_4-アミン(EA-d_4-BS)）

〔クロマトグラム〕

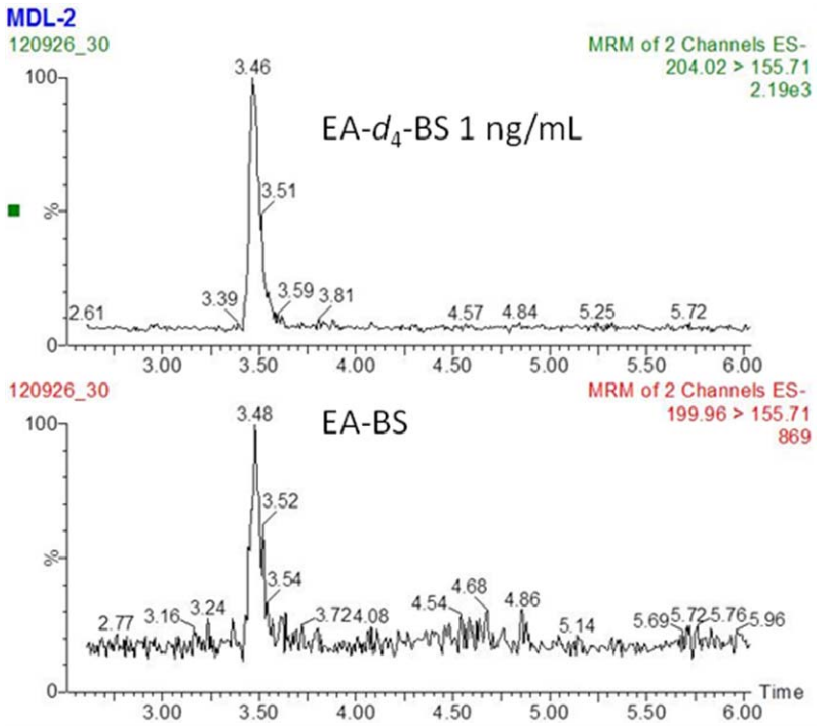


操作ブランク



環境大気　2012 年 6 月　平塚　9.7 m^3

図 8-1　クロマトグラム



MDL 試料：5.0 ng 添加（添加は 2 段目）

図 8-2　クロマトグラム

〔添加回収試験〕

標準物質を添加した（1 μg/mL を 100 μL または 5 μL）フィルターと無添加のフィルターに同日同地点で環境大気を採取して測定し、その定量値の差から添加回収率を求めた結果を下記に示す。ただし、対象物質は高い確率で環境大気中に存在し、その濃度は IDL レベルの 100 倍以上になることがあったため、ろ紙を 2 段にして、添加は後段のろ紙に行った。よって無添加平均の値は、2 段目の分析値であって、大気中濃度を反映していない。大気採取をした場合としない場合は、ほとんど回収率が変わらなかったので、採取中の損失はほとんどなく、回収率がやや低いのは、誘導体化率が低くなったことが原因ではないかと思われる。

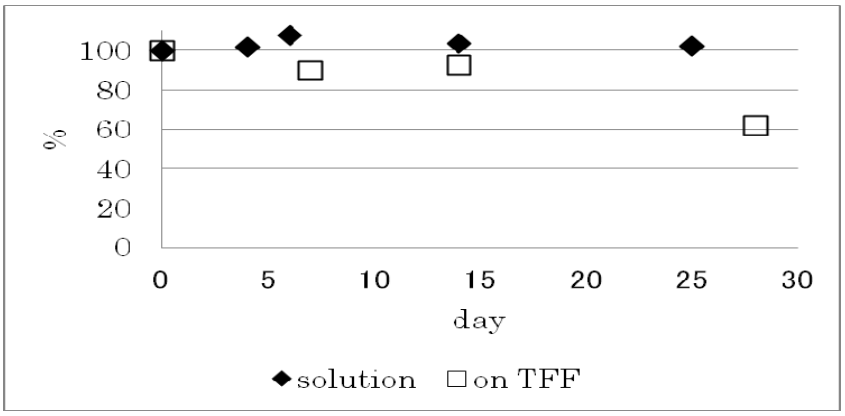
表 6　添加回収試験結果

物質名	気温 湿度	添加量 (ng)	試験数	検出量 (ng)	回収率 (%)	変動係数 (%)
2-ｱﾐﾉｴﾀﾉｰﾙ	25 ～ 33°C	0	2	<MDL(ng/m^3)	-	-
	62～88%	100	5	85.6～103	90.6	8.9
	20 ～24°C	0	2	<MDL(ng/m^3)	-	-
	70～82%	5	7	4.2～4.8	90.4	7.6

〔保存性試験〕

環境大気を採取したフィルターに標準物質を添加し（1 μg/mL を 100 μL）、アルミ箔に包み、アルミパックに入れて冷蔵庫内に保存し、保存期間と回収率の関係を求めた。初日の定量値を 100 とした場合の定量値を図に示した。このように、やや減少する傾向はあるが急激に回収率が低下することはなかった。抽出後の試験溶液の保存性は良好で 15°C に保たれたサンプルトレーや 25°C 程度の実験室内に 1 月近くおいても定量値はほとんど変わらなかった。ピークの強度が大きく下がることもなかった。ただしバイアルビンは気密がよくない場合があるので注意が必要である。

最高気温が 30°C を超える時期に、ホルダーにセットしたまま屋外に放置した場合、一週間で 60～70%の回収率に、二週間でほぼ半分になった。



◆：試験液(15°C)　□：ろ紙(5°C)

図 9　試料の保存性

〔**HPLC-MS での測定**〕

本法で用いた UPLC は、15000 psi 程度の高圧制御が可能な LC システムと、粒子が細かくて細いカラムによる測定を行うので、ピークがシャープで高感度分析が可能である。通常の HPLC 用カラムでは IDL が高くなることが予想される。しかし UPLC と同様に測定してみたところ、UPLC では 0.050 ng/mL であった IDL が、HPLC では 0.054 ng/mL、ピーク形状などもほとんど変わらなかったので、HPLC でも測定は可能と考えられる。HPLC 測定で用いた条件などは、分析カラムを化学物質評価研究機構 L- column HB 5 μm, 2.1×150 mm に変えたほかは、UPLC と同一である。

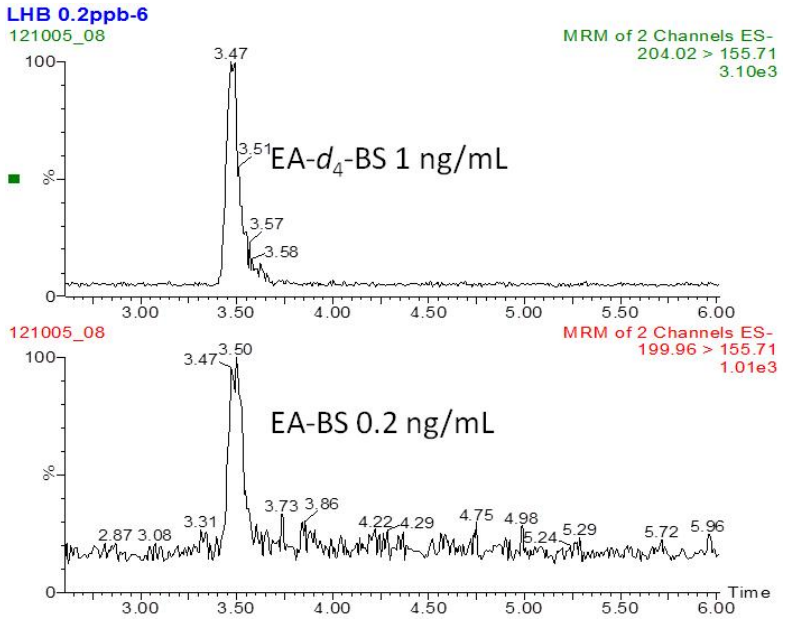


図 10　　HPLC (L-column HB　2.1×150 mm) で IDL 測定時のクロマトグラム

〔環境試料の測定例〕

本法を用いて神奈川県平塚市の大気を 15 回測定した結果、2-アミノエタノールに相当するピークが観察された。濃度は 0.57～6.1 ng/m^3、1～2 ng/m^3 であることが多かった。

〔分析上留意すべきこと〕

対象物質は、スクラバー水に添加されたり、洗剤や床磨きワックスに含まれたりして身の回りで広く使用されている。測定時はコンタミに注意する。また対象物質は正常な代謝で人体からも排出される。ろ紙に素手で触れてはならない。BSC 溶液はとくに汚染されやすいので注意する。

BSC 濃度が高いと測定対象物質のイオン化が阻害されたり、ベースラインが乱れて測定感度が下がることがある。アイソトープの内部標準物質を使用しており、直ちに定量精度が落ちるわけではないが、影響が過剰に現れるようなら、注入量を減らしたり、カラムを変えてみると効果がある場合がある。

【評価】

本法で大気中 2-アミノエタノール濃度を測定すると、すべての検体で MQL 以上検出された。環境大気を用いた添加回収率は 90%程度であった。よって実際の環境大気を用いた MDL 算出試験で得られた 0.3 ng/m^3 レベルで定量することが可能であると考えられる。これは要求感度 120 ng/m^3 よりはるかに低い。

【その他】

実際に捕集しているのは、エタノールアミン・塩酸塩など、きわめて破過しにくい粒子状物質ではないかと考えられる。採取に規定されているメンブレンフィルターは、抽出効率などが検討されていて調査に使えることを確認済みであるということであって、他のメンブレンフィルターを否定するものではない。

回収率を安定させるために、試験液を塩基性にする必要があった。LC/MS 測定の阻害になりにくく、かつ揮発性の塩基であるアンモニアを添加することにより、精度良い分析が可能となった。アンモニア濃度が多少ずれても、回収率に変化は見られなかった。

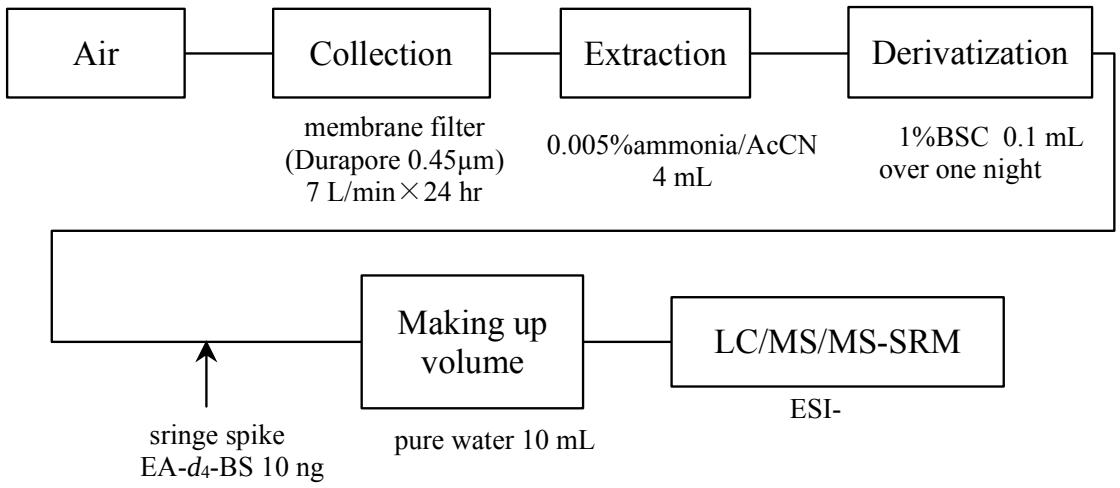
なお、本分析法は、化学物質分析法開発調査報告書（平成 20 年度）に記載されている同物質分析法の改訂版である。20 年度版で判明した問題点などを改良した。

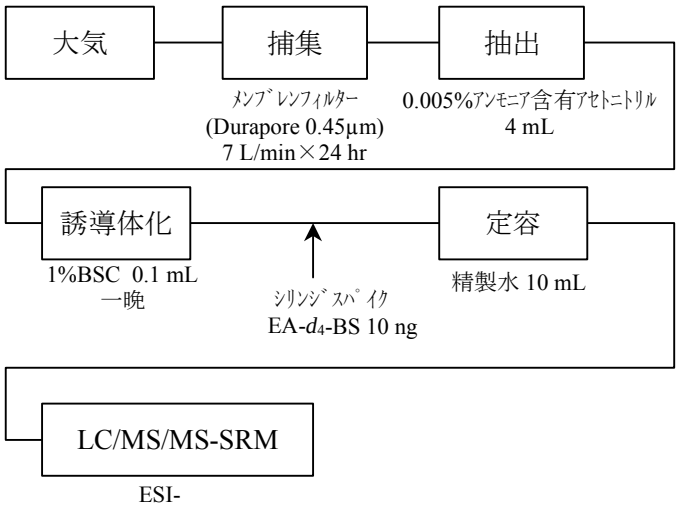
【担当者連絡先】

所属先　　：神奈川県環境科学センター
所属先住所　：〒254-0014　平塚市四之宮 1-3-39
TEL：0463-24-3311　FAX：0463-24-3300
担当者名　　：調査研究部 長谷川敦子
E-mail　　：hasegawa@k-erc.pref.kanagawa.jp

2-Aminoethanol

An analytical method has been developed for the determination of 2-aminoethanol in ambient air by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC/MS/MS) coupled with filter sampling, solvent desorption and derivatization with benzene sulfonyl chloride (BSC). Ionization mode is negative ESI (electrospray ionization). Precursor ion is [M-H]-, the deprotonated ion of the BSC derivative of 2-aminoethanol(EA-BS), the mass transitions of m/z 200/156 and 204/156 are used for detection of 2-aminoethanol-BS (EA-BS) and the syringe spike (internal standard) of ethanol-1,1,2,2- d_4-amine-BS (EA-d_4-BS), respectively. Sample air is drawn through a filter paper (Durapore 0.45μm, 47 mm I.D. hydrophilic property, Millipore) at 7 L/min in flow rate. After 2-aminoethanol collected on the filter is eluted with 4 mL of 0.005% ammonia/acetonitrile, BSC is added for the derivatization of EA, and subsequently the EA-d_4-BS is added to the solution, which is made up the volume to 10 mL with pure water for the LC/MS/MS-SRM analysis. The method recovery, relative standard deviation (RSD), the method detection limit (MDL) and the method quantification limit (MQL) were 90.6%, 8.9%, 0.13 ng/m^3 and 0.33 ng/m^3, respectively. Concentrations in air at Hiratsuka area were determined between 0.57 to 6.1 ng/m^3 by this method.



物質名	分析法フローチャート	備　考
2-ｱﾐﾉｴﾀﾉｰﾙ IUPAC名： 2-aminoethanol 別名：ｴﾀﾉｰﾙｱﾐﾝ	【大気】  	分析原理： LC/MS/MS-SRM ESI-Negative 検出下限値： 【大気】(ng/m^3) 0.13 分析条件： 機器 LC/MS： Waters Acquity-UPLC Micromass Quattro premier XE カラム Acquity-UPLC HSS-C_{18} SB (1.8 μm, 2.1×150 mm)

愛知県環境調査センター
［対象媒体：水質］

クロルマジノン

Chlormadinone

IUPAC 名：(9S,14S,17R)-17-acetyl-6-chloro-17-hydroxy-10,13-dimethyl-2,8,9,11,12,14,15,16-octahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-3-one

酢酸クロルマジノン

Chlormadinone acetate

IUPAC 名：(17-acetyl-6-chloro-10,13-dimethyl-3-oxo-2,8,9,11,12,14,15,16-octahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-17-yl) acetate

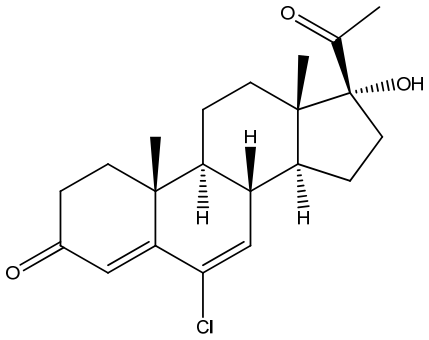
3-ヒドロキシエストラ-1,3,5(10),7-テトラエン-17-オン

3-Hydroxyestra-1,3,5(10),7-tetraen-17-one

IUPAC 名：3-hydroxy-13-methyl-9,11,12,14,15,16-hexahydro-6H-cyclopenta[a]phenanthren-17-one

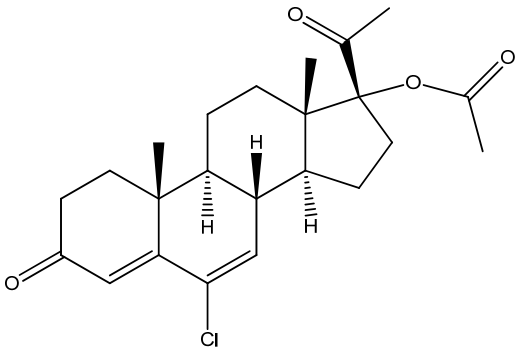
別名：エクイリン
Equilin

【対象物質の構造】



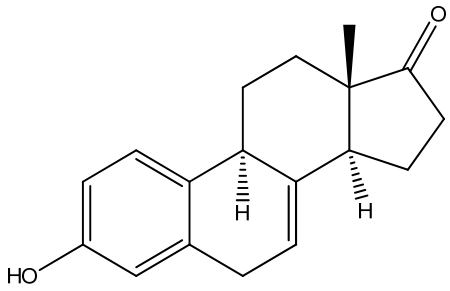
Chlormadinone

CAS 番号：1961-77-9
分子式：$C_{21}H_{27}ClO_3$



Chlormadinone acetate

CAS 番号：302-22-7
分子式：$C_{23}H_{29}ClO_4$



3-Hydroxyestra-1,3,5(10),7-tetraen-17-one (Equilin)

CAS 番号：474-86-2
分子式：$C_{18}H_{20}O_2$

【物理化学的性状】

物質名	分子量 (ﾓﾉｱｲｿﾄﾋﾟｯｸ質量)	融点 (°C)	沸点 (°C)	蒸気圧 (推定値) (mm Hg)	水溶解度 (推定値) (mg/L)	log P_{ow} (推定値)
クロルマジノン	362.89 (362.165)	—	—	2.17E-010[1)] (25°C)	22.7[1)] (25°C)	3.36[1)]
酢酸クロルマジノン	404.93 (404.175)	213	—	3.22E-009[1)] (25°C)	0.324[1)] (25°C)	3.95[1)]
エクイリン	268.35 (268.146)	238-240 [2)]	—	1.1E-008[1)] (25°C)	1.41[1)] (実測値) (25°C)	3.35[1)]

【毒性、用途】

物質名	毒　性	用　途
クロルマジノン	—	動物薬（ホルモン剤）[3)]
酢酸クロルマジノン	—	医薬（黄体ホルモン剤）[3)]
エクイリン	—	医薬品

出典：

1) SRC PhysProp Database
2) Budavari, S.,(*Ed*), The Merck Index Ver.12:2
3) 独立行政法人製品評価技術基盤機構ホームページ「化学物質総合情報提供

システム（CHRIP）」

§1 分 析 法

(1) 分析法の概要

水質試料にサロゲート内標準を添加し、固相カートリッジに通水した後、ジクロロメタン／メタノール(9:1, v/v)で溶出する。溶出液を脱水・濃縮し、シリカカートリッジにより精製した後、LC/MS/MS-SRM 法で定量する。

(2) 試薬・器具

【試薬】

クロルマジノン	: Toronto Research Chemicals 製（含量 98%）
酢酸クロルマジノン	: 和光純薬工業製 高速液体クロマトグラフ用（含量 99.6%）
エクイリン	: Fluka 製（含量 98.4%）
エクイリン-2,4,16,16- d_4	: シグマアルドリッチ製（含量 98%）
アセトニトリル	: 和光純薬工業製 LC/MS 用
メタノール	: 和光純薬工業製 LC/MS 用
ジクロロメタン	: 和光純薬工業製 残留農薬試験･PCB 分析用
L(+)-アスコルビン酸	: 和光純薬工業製　特級
無水硫酸ナトリウム	: 和光純薬工業製 PCB･フタル酸エステル試験用
ガラス繊維ろ紙	: Whatman 製　GF/B, 55mm ϕ
固相カートリッジ	: Waters 製 Oasis HLB Plus type, 充填量 225 mg
シリカカートリッジ	: SUPELCO 製 LC-Si SPE tube 6 mL, 充填量 1 g
精製水	: 超純水製造装置 MilliQ Integral（MILLIPORE 製）により精製

【標準液の調製】

〔標準原液〕

クロルマジノン、酢酸クロルマジノン及びエクイリンそれぞれ 10 mg を正確に量り取り、アセトニトリル 100 mL に溶解し、各 100 μg/mL の標準原液を調製する。

〔サロゲート内標準液〕（注 1）

エクイリン-2,4,16,16- d_4 (EQ- d_4)10 mg を正確に量り取り、アセトニトリル 100

mL に溶解し、100 μg/mL のサロゲート内標準原液を調製する。このサロゲート内標準原液をアセトニトリルで希釈し、200 ng/mL のサロゲート内標準液を調製する。

〔検量線用標準液〕

標準原液をアセトニトリル／精製水(1:1, v/v)で適宜希釈し、クロルマジノン及び酢酸クロルマジノンについては 0.020 ng/mL～10.0 ng/mL の検量線用標準液を、エクイリンについては 0.050 ng/mL～20.0 ng/mL の検量線用標準液を作成する。各濃度の検量線用標準液に、サロゲート内標準として EQ- d_4 を濃度が 2.00 ng/mL となるように添加する。

【器具】

メスシリンダー、メスフラスコ、ホールピペット、メスピペット、駒込ピペット、共栓付き三角フラスコ、パスツールピペット、目盛付受器（10 mL）

(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）における「試料の採取方法および検体の調製等」に従う。

なお、試料は採取後直ちに *L*(+)-アスコルビン酸を試料 200 mL あたり 0.2 g 添加する（注 2)。

【試料の前処理及び試験液の調製】

試料採取時に *L*(+)-アスコルビン酸が添加された水質試料 200 mL を共栓付き三角フラスコに取り、サロゲート内標準液 (EQ- d_4 200 ng/mL)（注 1）を 10 μL 添加し、よく振り混ぜる。ジクロロメタン 10 mL、メタノール 10 mL、精製水 10 mL で順次コンディショニングした固相カートリッジ(Oasis HLB)に 10～20 mL/min で試料水を通水する（注 3)。通水終了後、固相カートリッジを少量の精製水で洗浄し、そのままアスピレーターで 15 分間吸引し、間隙水を除去する。固相カートリッジをバックフラッシュ法により、ジクロロメタン／メタノール (9:1, v/v) 5 mL で溶出する。この溶出液を無水硫酸ナトリウムで脱水した後（注 4)、ロータリーエバポレーター（湯浴温度 35°C 以下）で乾固寸前まで濃縮し、窒素気流下で乾固する。乾固後、ただちにジクロロメタン 1 mL で溶解する（注 5)。

溶解液を、あらかじめアセトン 3 mL、ジクロロメタン 10 mL で順次コンディ

ショニングしたシリカカートリッジ(LC-Si SPE tube)に負荷する。ジクロロメタン 5 mL（展開液、洗液含む）で洗浄した後（注 6)、アセトニトリル／ジクロロメタン(2:98, v/v) 10 mL で溶出する。溶出液をロータリーエバポレーター（湯浴温度 35°C 以下）で乾固寸前まで濃縮した後、窒素気流下で乾固し（注 5)、ただちにアセトニトリル／精製水(1:1, v/v）1 mL で溶解し、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。

【測定】

〔LC/MS/MS 測定条件〕（注 7）

［LC 条件］

使用機種　：SHIMADZU 製 LC-20 Series
カラム　：SUPELCO 製 Ascentis Express C18 (2.1 mm×150 mm, 2.7 μm)
移動相　：A : 精製水、B : アセトニトリル
0→17 min　A：80→0、B：20→100 linear gradient
17→24 min　A：B=0：100
24→25 min　A：0→80、B：100→20 linear gradient
25→35 min　A：B=80：20
カラム流量　：0.2 mL/min
カラム温度　：40°C
試料注入量　：10 μL

［MS 条件］（注 8）

使用機種：AB Sciex 製 API3200

		クロルマジノン及び酢酸クロルマジノン	エクイリン及びエクイリン-2,4,16,16-d_4
イオン化法	:	ESI (+)	ESI (-)
ターボガス温度 (TEM)	:	700°C	700°C
カーテンガス (CUR)	:	10 psi	10 psi
イオンスプレー電圧 (IS)	:	5500 V	-4500 V
ネブライザーガス (GS1)	:	60 psi	60 psi
ターボガス (GS2)	:	80 psi	80 psi
コリジョンガス (CAD)	:	5	7

	モニターイオン (*m/z*)	ドリフト電圧 (DP)	コリジョン電圧 (CE)
クロルマジノン	363.3>309.2	46 V	21 V
酢酸クロルマジノン	405.3>309.1	56 V	21 V
エクイリン	267.3>264.7	-60 V	-32 V
エクイリン-2,4,16,16-d_4	271.4>268.9	-60 V	-34 V

〔検量線〕

検量線用標準液 10.0 μL を LC/MS/MS に注入し、クロルマジノン及び酢酸クロルマジノンについては、ピーク面積と標準液濃度を用いて検量線を作成し、エクイリンについては、対象物質とサロゲート内標準のピーク面積比及び濃度比を用いて検量線を作成する。

〔定量〕

試験液 10.0 μL を LC/MS/MS に注入し、クロルマジノン及び酢酸クロルマジノンについては、ピーク面積より試験液中の濃度を求め、エクイリンについては、対象物質とサロゲート内標準とのピーク面積比から、試料水中の濃度を求める。

〔濃度の算出〕

試料水中濃度 *C* (ng/L) は次式により算出する。

① クロルマジノン及び酢酸クロルマジノン

C (ng/L) = 検出濃度 (ng/mL) × 最終液量 (mL) ／ 試料量 (L)

② エクイリン

$C = R \cdot Q / V$

R: 検量線から求めたサロゲート内標準物質に対する対象物質の濃度比
Q: 試料中に添加したサロゲート内標準の量 (ng)
（= 添加するサロゲート内標準の濃度 (ng/μL) × 添加するサロゲート内標準の容量 (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 = 2.0 (ng)

（= 添加サロゲート内標準の濃度 (0.2 ng/μL) × 添加サロゲート内標準の容量 (10 μL)）

V = 0.200 (L)

即ち、

$C = R \times 10$ (ng/L)

である。

〔装置検出下限 (IDL) 〕

本分析に用いた LC/MS/MS (AB Sciex API3200) の IDL を表 1 に示す（注 9）。

表 1　IDL の算出結果

物質名	IDL (ng/mL)	注入量 (μL)	試料量 (L)	最終液量 (mL)	IDL 試料換算値 (ng/L)
クロルマジノン	0.0050	10	0.200	1.0	0.025
酢酸クロルマジノン	0.0060	10	0.200	1.0	0.030
エクイリン	0.011	10	0.200	1.0	0.055

〔測定方法の検出下限 (MDL) 及び定量下限 (MQL)〕

本測定方法における MDL 及び MQL を表 2 に示す（注 10）。

表 2　MDL 及び MQL 算出の結果

物質名	媒体名	試料量 (L)	最終液量 (mL)	MDL (ng/L)	MQL (ng/L)
クロルマジノン	水質	0.200	1.0	0.030	0.077
酢酸クロルマジノン	水質	0.200	1.0	0.032	0.083
エクイリン	水質	0.200	1.0	0.060	0.15

注　解

（注 1）サロゲート内標準は、エクイリンのみの定量に用い、クロルマジノン及び酢酸クロルマジノンは絶対検量線法により定量する。

（注 2）対象物質の分解を抑制するため、*L*(+)-アスコルビン酸を添加する。

（注 3）固相抽出の際、目詰まりするようであれば、固相抽出の前に、あらかじめメタノールで洗浄し乾燥させたガラス繊維ろ紙（Whatman GF/B）でろ過する。ろ過後のろ紙については、そのままアスピレーターで 1 分程度

吸引し、ある程度水分を除去した後、大気開放し、メタノール 5 mL を加える。1 分程度自然流下させた後、再度吸引し、ろ紙に残存するメタノール洗液を回収する。この操作を 3 回繰り返し、得られたメタノール洗液を、先程のろ過で得られたろ液に合わせ、よく混ぜ合わせた後、固相カートリッジに通水する。

（注 4）無水硫酸ナトリウムによる脱水は、固相カートリッジからの溶出液をそのままガラスロートに積層した無水硫酸ナトリウムに通し、少量のジクロロメタンで洗浄すると効率的である。

（注 5）乾固後、そのまま窒素吹き付けを行うと若干の損失が認められたため、乾固後はできるだけ速やかに窒素吹き付けを止め、所定の溶媒で溶解させる。

（注 6）ジクロロメタンの添加量は、展開液、洗液を含めて 5 mL までとする。それ以上添加するとエクイリン及び酢酸クロルマジノンが溶出する。

（注 7）LC/MS/MS の条件は、本測定に使用した機種固有のものである。
本機種では、ポジティブモードとネガティブモードでの同時測定は、切り替え待ち時間が長いため実質的に困難である。しかし、ポジティブモードとネガティブモードでの測定を、時間を区切って行うことにより、今回対象となっているすべての物質を一斉に分析することが可能である。この際、ガス圧、温度等のイオンソースの条件も変更できるが、ターボガス温度を変更すると、モード切替の際、すぐには設定温度とならないため、ターボガス温度は同じにする必要がある。

（注 8）標準液を直接 MS に注入し MS 条件を最適化する際、注入溶媒がアセトニトリル／精製水(1:1, v/v)で十分なピーク強度が得られない場合は、注入溶媒をアセトニトリル／1 mmol/L アンモニア水(1:1, v/v)にすると感度が上昇する。

H25年度調査時、クリーンアップ操作において、エクイリンは溶出されたがクロルマジノン類は検出できず溶出できなかったとする事例があった(原因は溶出用溶媒のジクロロメタンの試薬メーカーや規格が異なり、安定剤が違うためと予測されるとあったが、未検証。)
また、エクイリン-d 4についてネイティブの検出された機関があり、水素置換される可能性を他機関の抽出後保存試料及びd体保存試料で検証したところ、d体からのネイティブ生成は確認されなかった。(2014年度精査等検討会コメント)

（注 9）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。また、IDL 測定時の SRM クロマトグラムを図 1 に示した。

表 3　IDL の算出結果

物質名	クロルマジノン	酢酸クロルマジノン	エクイリン
試料量 (L)	0.200	0.200	0.200
最終液量 (mL)	1.00	1.00	1.00
注入液濃度 (ng/mL)	0.020	0.020	0.050
装置注入量 (μL)	10.0	10.0	10.0
結果 1 (ng/mL)	0.0194	0.0215	0.0491
結果 2 (ng/mL)	0.0210	0.0183	0.0459
結果 3 (ng/mL)	0.0191	0.0198	0.0501
結果 4 (ng/mL)	0.0178	0.0204	0.0495
結果 5 (ng/mL)	0.0202	0.0191	0.0547
結果 6 (ng/mL)	0.0213	0.0189	0.0523
結果 7 (ng/mL)	0.0185	0.0169	0.0495
平均値 (ng/mL)	0.01961	0.01927	0.05016
標準偏差 (ng/mL)	0.00129	0.00149	0.00275
IDL(ng/mL)*	0.0050	0.0060	0.011
IDL 試料換算値(ng/L)	0.025	0.030	0.055
S/N 比	14	14	11
CV(%)	6.6	7.7	5.5

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

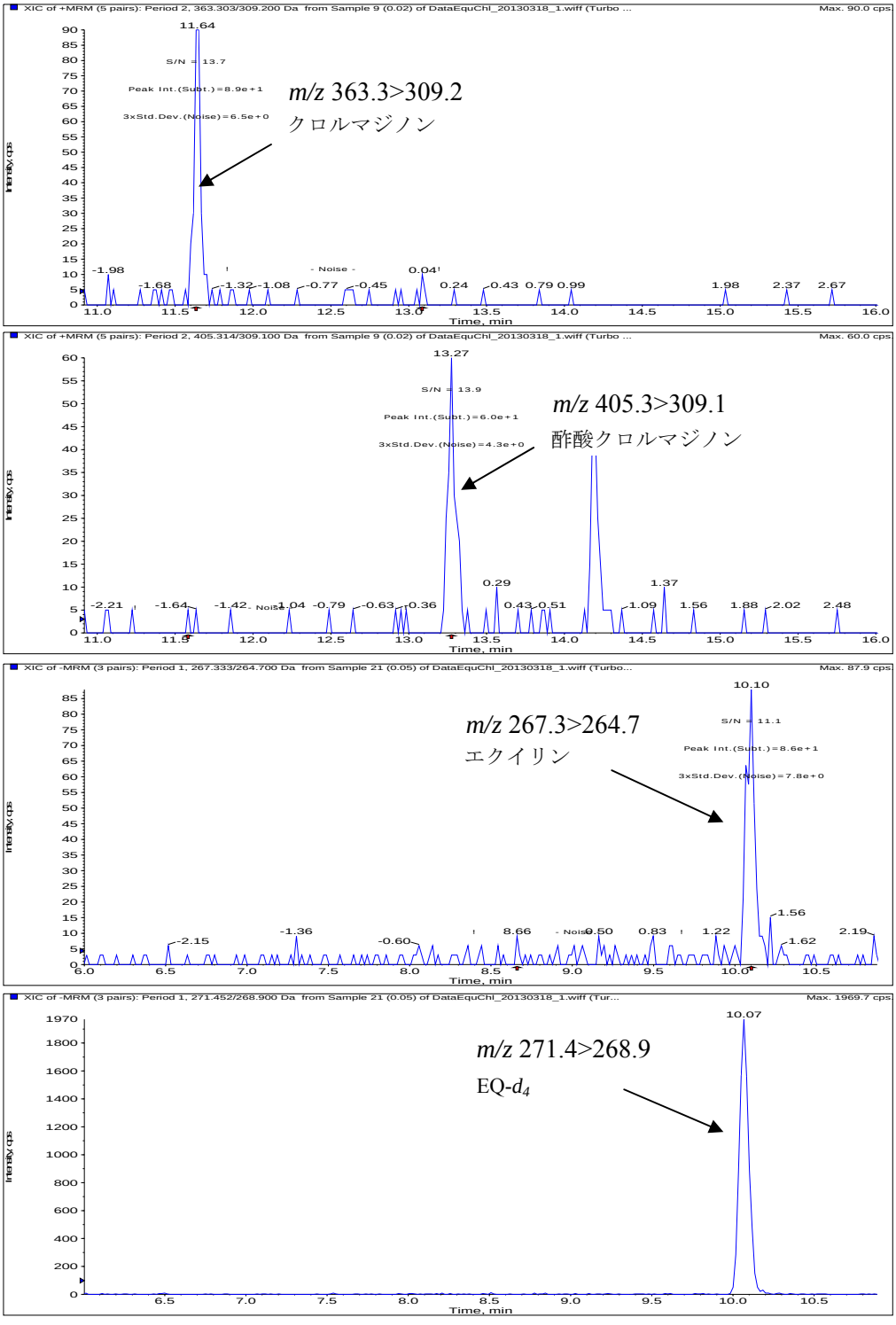


図 1　IDL 測定時の SRM クロマトグラム

（クロルマジノン、酢酸クロルマジノン：0.020 ng/mL）

（エクイリン：0.050 ng/mL, サロゲート内標準 EQ-d_4：2.0 ng/mL）

（注 10）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。 また、図 2 に MDL 測定時の SRM クロマトグラムを示した。

表 4　MDL 及び MQL の算出結果

物質名	クロルマジノン	酢酸クロルマジノン	エクイリン
試料	海水	海水	海水
試料量 (L)	0.200	0.200	0.200
標準添加量 (ng)	0.020	0.020	0.050
試料換算濃度 (ng/L)	0.10	0.10	0.25
最終液量 (mL)	1.0	1.0	1.0
注入液濃度 (ng/mL)	0.020	0.020	0.050
装置注入量 (μL)	10.0	10.0	10.0
操作ブランク平均 (ng/L)*1	< 0.030	< 0.032	< 0.060 (92)
無添加平均 (ng/L)*2	< 0.030	< 0.032	< 0.060 (92)
結果 1 (ng/L)	0.0940 (94)*5	0.1070 (107)	0.262 (90)
結果 2 (ng/L)	0.0950 (95)	0.0940 (94)	0.282 (100)
結果 3 (ng/L)	0.0940 (94)	0.0945 (95)	0.247 (93)
結果 4 (ng/L)	0.0775 (78)	0.1100 (110)	0.231 (100)
結果 5 (ng/L)	0.0840 (84)	0.0910 (91)	0.260 (104)
結果 6 (ng/L)	0.1000 (100)	0.0875 (88)	0.256 (104)
結果 7 (ng/L)	0.0935 (94)	0.0970 (97)	0.260 (106)
平均値 (ng/L)	0.09114 (91)	0.09729 (97)	0.2566 (100)
標準偏差 (ng/L)	0.00766	0.00827	0.0155
MDL (ng/L)*3	0.030	0.032	0.060
MQL (ng/L)*4	0.077	0.083	0.15
S/N	6.7	7.9	11
CV (%)	8.4	8.5	6.0

*1 : 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(n=3)

*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=2)

*3：MDL=$t(n-1,0.05)\times\sigma_{n-1}\times2$

*4：MQL=$\sigma_{n-1}\times10$

*5 : 括弧内の数値は回収率で、エクイリンについてはサロゲート回収率である。

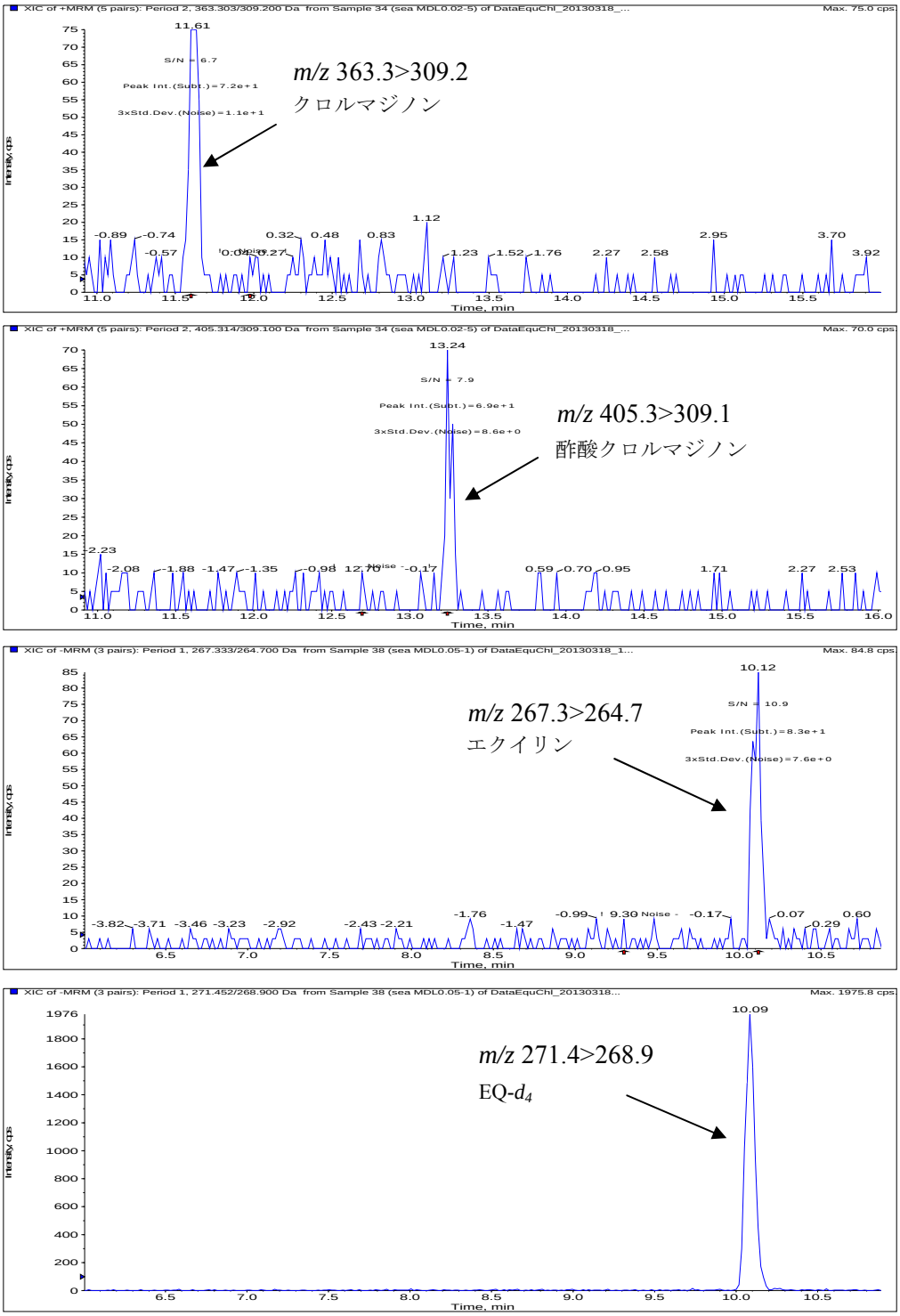


図 2　MDL 算出時の SRM クロマトグラム

§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 3 に示す。

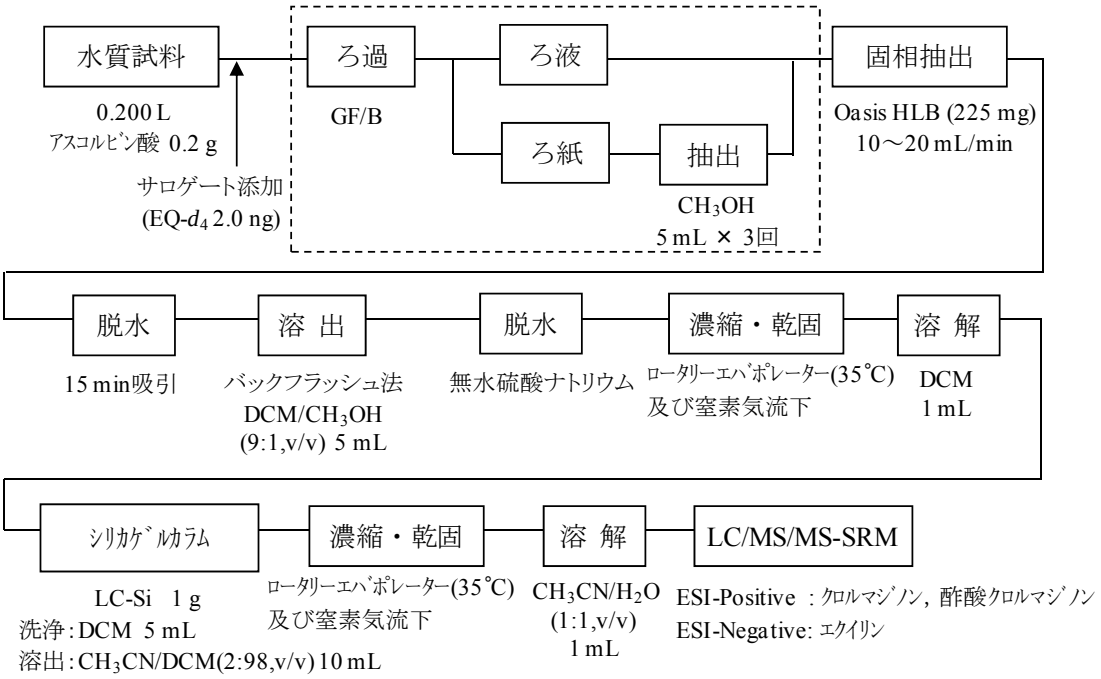


図 3　分析法のフローチャート

〔検量線〕

検量線を図 4～図 6 に、検量線作成用データを表 5 及び表 6 に示す。

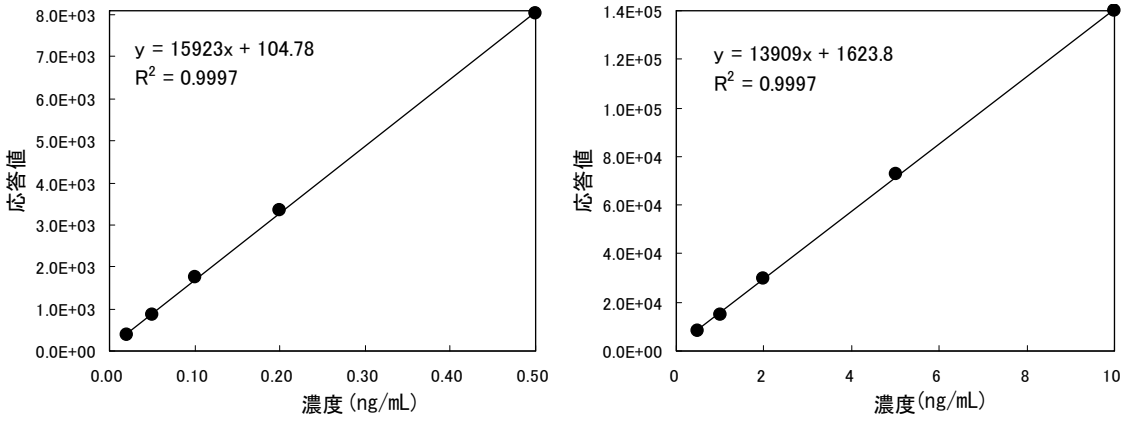


図 4　低濃度及び高濃度領域のクロルマジノンの検量線
（対象物質濃度範囲　0.020-0.50 ng/mL（左図）; 0.50-10 ng/mL（右図））

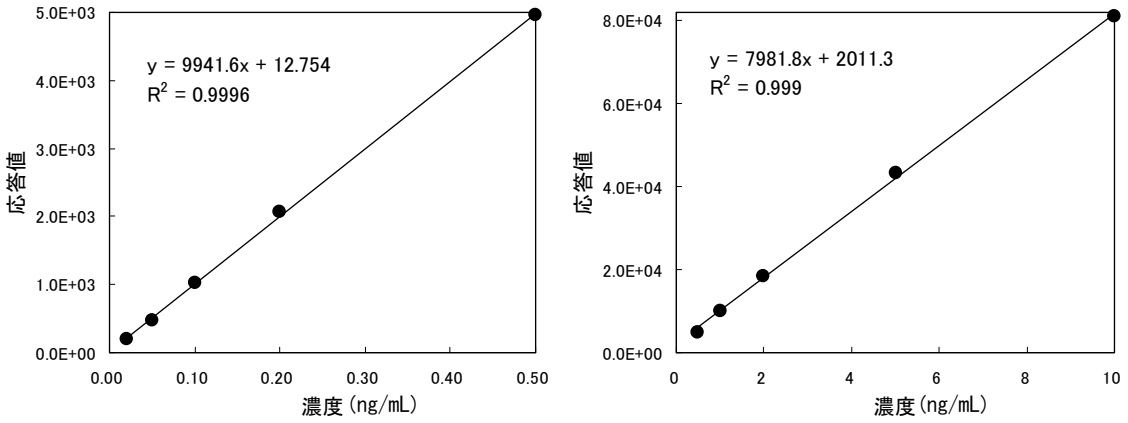


図 5　低濃度及び高濃度領域の酢酸クロルマジノンの検量線
（対象物質濃度範囲　0.020-0.50 ng/mL（左図）; 0.50-10 ng/mL（右図））

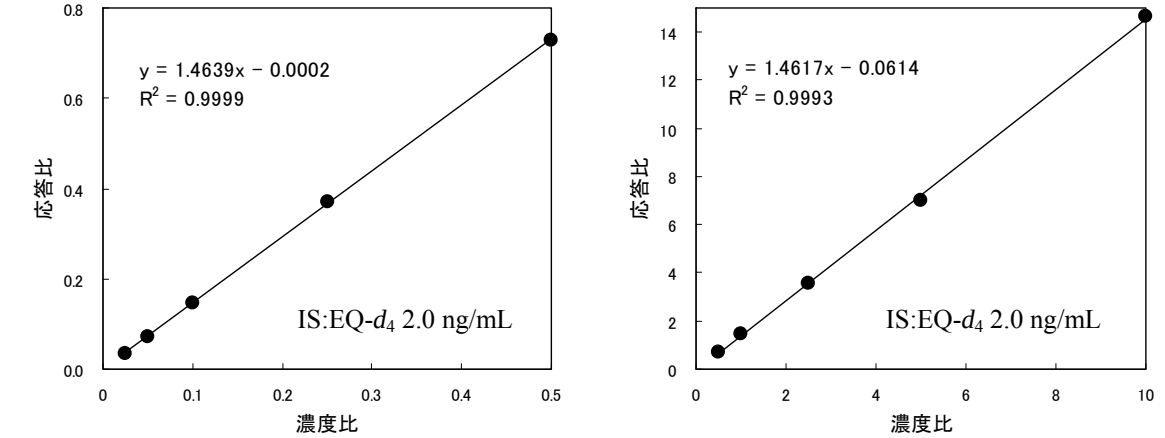


図 6　低濃度及び高濃度領域のエクイリンの検量線
（対象物質濃度範囲　0.050-1.00 ng/mL（左図）; 1.00-20.0 ng/mL（右図））

表 5　クロルマジノン及び酢酸クロルマジノンの検量線作成用データ

標準液濃度 (ng/mL) (*Cs*)	応答値	
	対象物質(*As*) ［ｸﾛﾙﾏｼﾞﾉﾝ］ (*m/z* 363>309)	対象物質(*As*) ［酢酸ｸﾛﾙﾏｼﾞﾉﾝ］ (*m/z* 405>309)
0.02	386	191
0.05	851	472
0.10	1760	1030
0.2	3340	2060
0.5	8040	4960
1.0	14900	9860
2.0	29900	18500
5.0	72600	43300
10.0	140000	81100

表 6　エクイリンの検量線作成用データ

標準液濃度 (ng/mL) (*Cs*)	応答値		応答比 (*As/Ais*)
	対象物質(*As*) ［Eq］ (*m/z* 267>265)	サロゲート内標準 (*Ais*) ［Eq-d_4］ (*m/z* 271>269)*	
0.05	202	5690	0.0355
0.10	377	5240	0.0719
0.20	792	5470	0.1448
0.50	2090	5620	0.3719
1.00	4120	5650	0.7292
2.00	8480	5720	1.4825
5.00	22000	6140	3.5831
10.00	43400	6200	7.0000
20.00	80100	5460	14.6703

*: サロゲート内標準濃度:2.0 ng/mL (*Cis*)

〔標準液のクロマトグラム〕

標準液の SRM クロマトグラムを図 7 に示す。

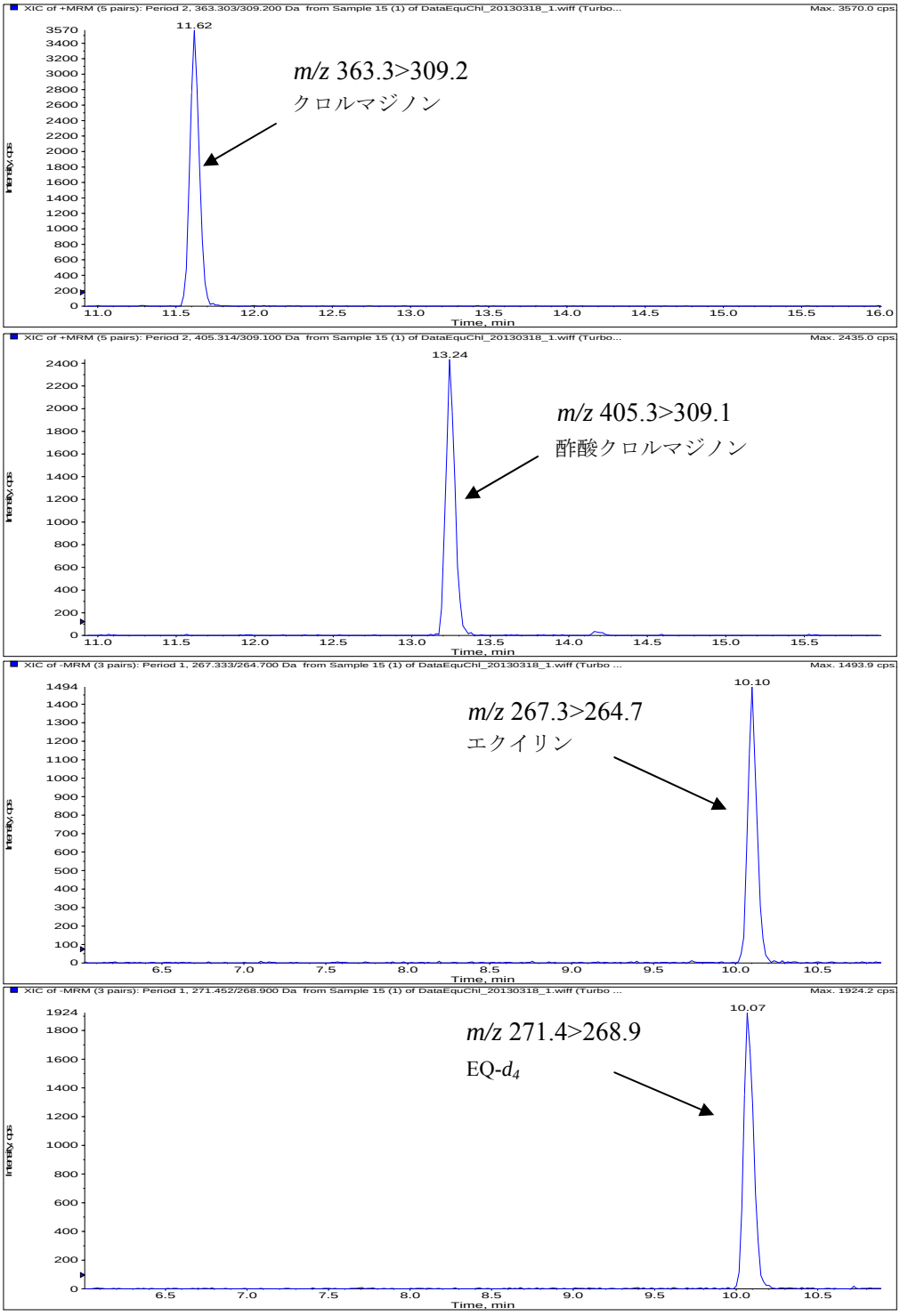


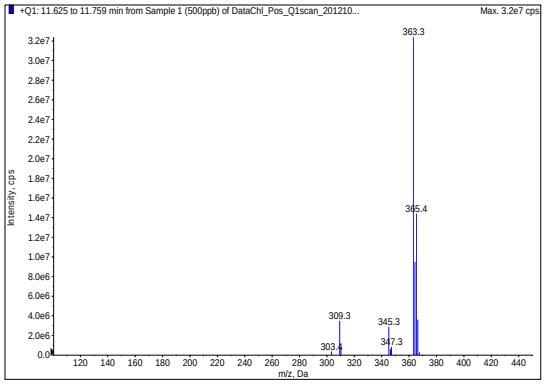
図 7　標準液の SRM クロマトグラム

（クロルマジノン：1.0 ng/mL、酢酸クロルマジノン：1.0 ng/mL）

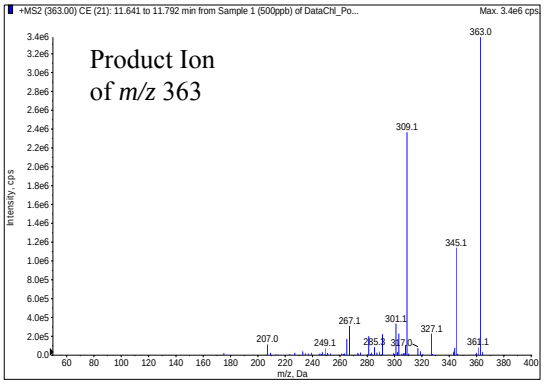
（エクイリン：1.0 ng/mL，サロゲート EQ-d_4：2.0 ng/mL）

〔マススペクトル〕

クロルマジノン、酢酸クロルマジノン、エクイリン及びエクイリン-2,4,16,16-d_4のマススペクトルを図 8～図 11 に示す。

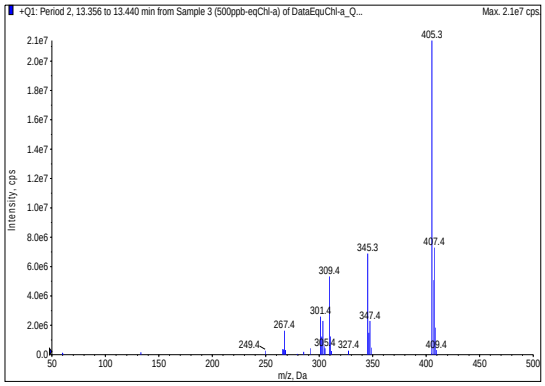


プレカーサーイオン (DP: 46 V)

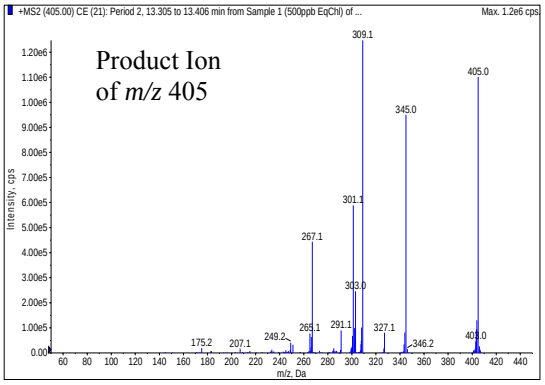


プロダクトイオン (CE: 21 V)

図 8　クロルマジノンのマススペクトル

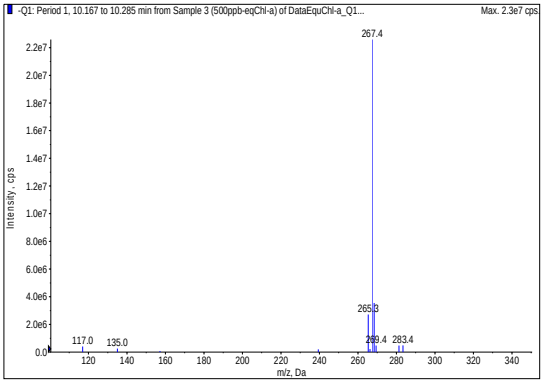


プレカーサーイオン (DP: 56 V)

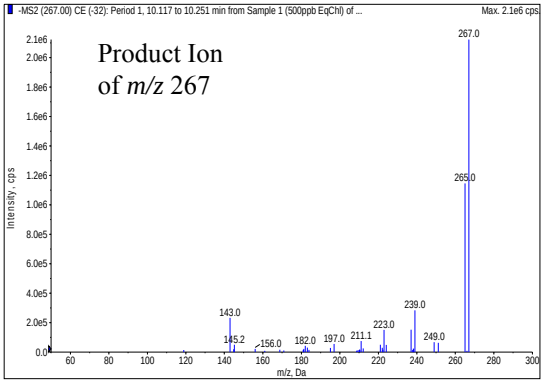


プロダクトイオン (CE: 21 V)

図 9　酢酸クロルマジノンのマススペクトル

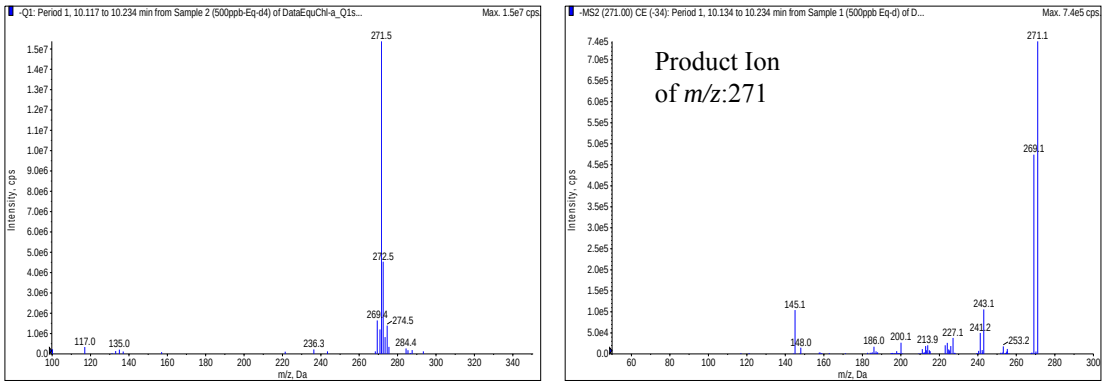


プレカーサーイオン (DP: -60 V)



プロダクトイオン (CE: -32 V)

図 10　エクイリンのマススペクトル



プレカーサーイオン (DP: -60 V)　　プロダクトイオン (CE: -34 V)

図 11　エクイリン-2,4,16,16-d_4 のマススペクトル

〔操作ブランク試験〕

操作ブランクの SRM クロマトグラムを図 12 に示したが、クロルマジノン、酢酸クロルマジノン及びエクイリンは検出されなかった。

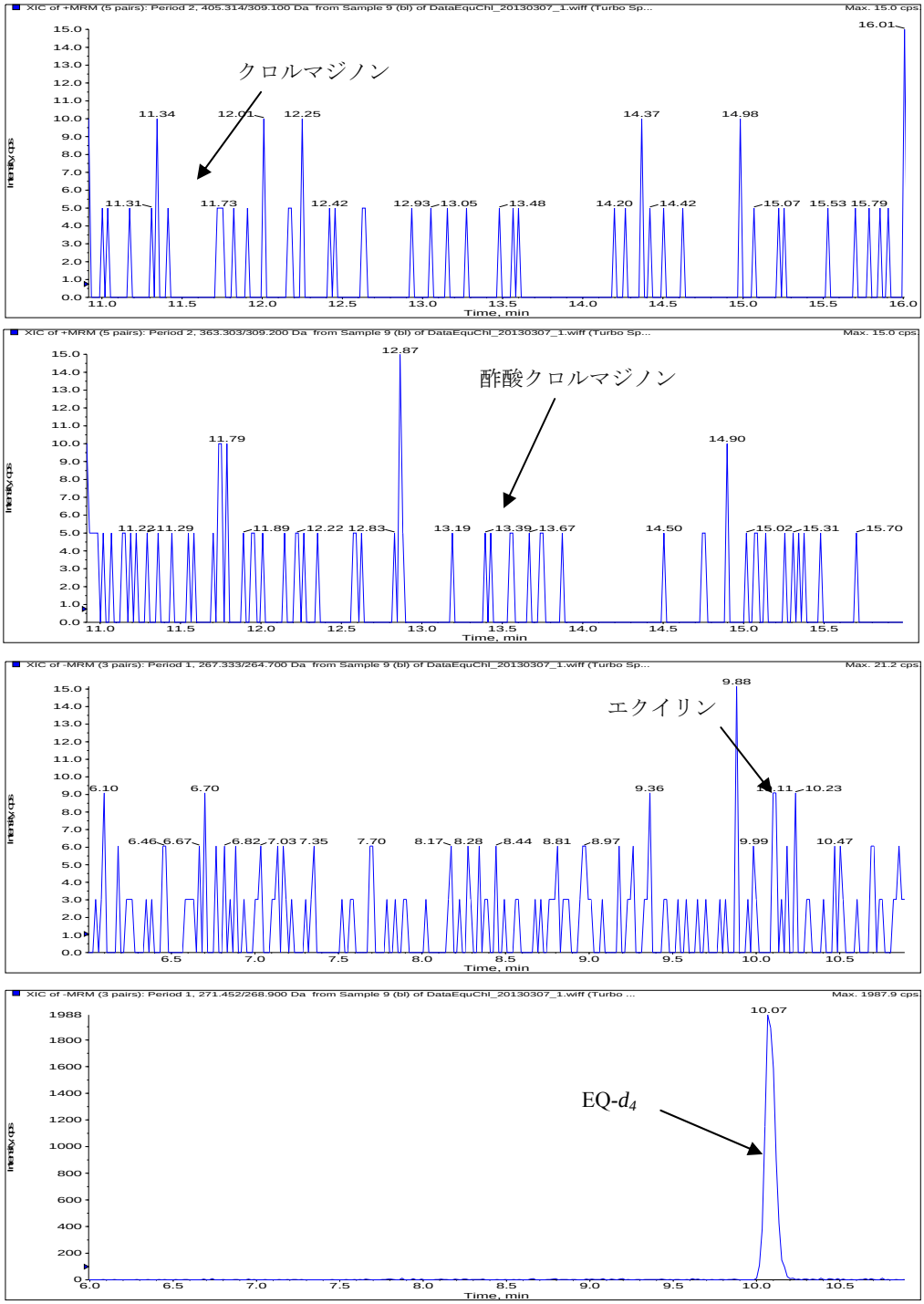


図 12　操作ブランクの SRM クロマトグラム

〔添加回収試験結果〕

精製水、河川水（朝鮮川）及び海水（名古屋港）への標準物質添加回収試験結果を表 7 に示す。

表 7　添加回収試験結果

試料名	物質名	試料量 (L)	試験数	添加量 (ng)	検出濃度 (ng/L)	回収率 (%)	変動係数(%)	サロゲート回収率 (%)
精製水	クロルマジノン	0.200	3	無添加	< 0.030	－	－	－
		0.200	5	1.0	4.9	97	2.5	－
	酢酸クロルマジノン	0.200	3	無添加	< 0.032	－	－	－
		0.200	5	1.0	4.8	97	2.8	－
	エクイリン	0.200	3	無添加	< 0.060	－	－	92
		0.200	5	1.0	5.2	104[a)]	2.2[b)]	92
河川水	クロルマジノン	0.200	3	無添加	< 0.030	－	－	－
		0.200	5	1.0	4.4	89	2.2	－
	酢酸クロルマジノン	0.200	3	無添加	< 0.032	－	－	－
		0.200	5	1.0	4.2	85	2.7	－
	エクイリン	0.200	3	無添加	< 0.060	－	－	90
		0.200	5	1.0	5.1	101[a)]	3.7[b)]	95
海水	クロルマジノン	0.200	3	無添加	< 0.030	－	－	－
		0.200	7	0.02	0.091	91	8.4	－
		0.200	5	1.0	4.5	91	2.1	－
	酢酸クロルマジノン	0.200	3	無添加	< 0.032	－	－	－
		0.200	7	0.02	0.097	97	8.5	－
		0.200	5	1.0	4.5	90	4.3	－
	エクイリン	0.200	3	無添加	< 0.060	－	－	92
		0.200	7	0.05	0.26	104[a)]	6.0[b)]	100
		0.200	5	1.0	4.9	99[a)]	2.1[b)]	94

a) エクイリンの回収率は、絶対回収率ではなく、サロゲートで補正したものである。

b) エクイリンの変動係数は、サロゲート補正した回収率の変動係数である。

〔分解性スクリーニング試験〕

分解性スクリーニング試験結果を表 8 に示す。

表 8　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
クロルマジノン	5	4.0	98	94	－
	7	4.0	102	98	88
	9	4.0	109	97	－
酢酸クロルマジノン	5	4.0	91	94	－
	7	4.0	93	98	93
	9	4.0	95	86	－
エクイリン	5	4.0	98	97	－
	7	4.0	100	97	100
	9	4.0	95	81	－

〔保存性試験〕

保存性試験結果（保存温度：10°C、保存容器：ガラス容器）を表 9 に示す。河川水、海水ともにクロルマジノン及びエクイリンの残存率が低いが、*L*(+)-アスコルビン酸を添加することにより、残存率が改善されたことから、試料採取後、試料 200 mL に対し *L*(+)-アスコルビン酸を 0.2 g 添加することとした。

表 9　保存性試験結果

物質名	試料名	添加剤	初期濃度 (ng/L)	残存率（%）				
				1 時間後	1 日後	3 日後	7 日後	14 日後
クロルマジノン	河川水	無添加	5.0	92	37	8	< 1	< 1
		AcA[a)]	5.0	98	97	94	87	78
	海水	無添加	5.0	96	54	14	< 1	< 1
		AcA[a)]	5.0	98	99	90	93	91
酢酸クロルマジノン	河川水	無添加	5.0	106	91	103	93	79
		AcA[a)]	5.0	92	96	91	86	80
	海水	無添加	5.0	102	98	86	81	36
		AcA[a)]	5.0	95	99	95	95	91
エクイリン	河川水	無添加	5.0	99	71	63	53	32
		AcA[a)]	5.0	96	90	81	82	65
	海水	無添加	5.0	95	31	11	< 1	< 1
		AcA[a)]	5.0	91	93	92	90	92

a) *L*(+)-アスコルビン酸(AcA) は試料 200 mL に対し 0.2 g 添加した。

〔溶媒中での安定性〕

エクイリンは、エストロゲンの一種であり、エストロゲンの分析法については、要調査項目等調査マニュアル（環境省環境管理局水環境部企画課（平成 15 年 3 月））の「エストラジオールおよびその代謝産物の分析法（LC/MS/MS 法）」に示されている。

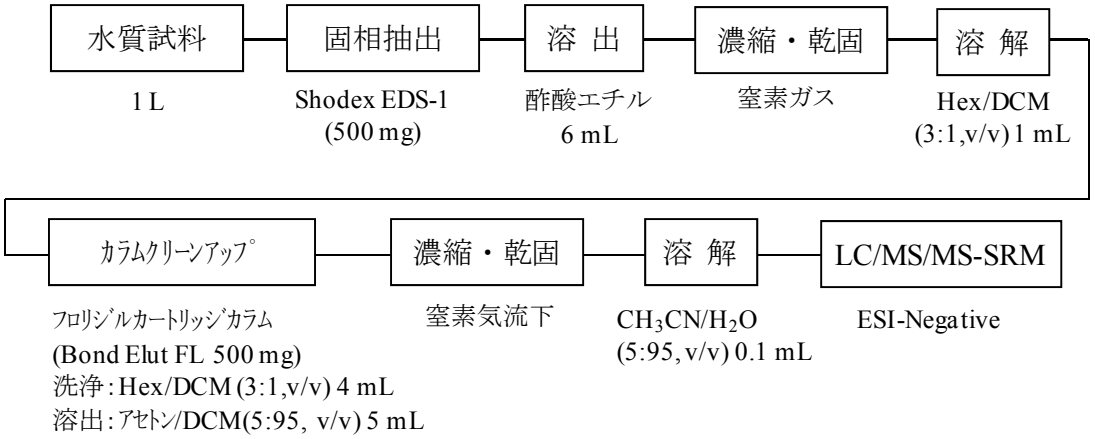


図 13　エストロゲン（エストロン、エストラジオール、エストリオール）の分析フロー（環境省マニュアル（平成 15 年 3 月））

今回、この環境省マニュアルに準拠して、分析法の開発を進めたが、エクイリンは、マニュアルに示されているエストロゲンと比べ分解しやすいため、まず、マニュアルに示されている溶媒中での安定性を確認した。その結果、表 10 のとおり、カラムクリーンアップの展開溶媒であるヘキサン／ジクロロメタン(3:1, v/v)や溶出溶媒であるアセトン／ジクロロメタン(5:95, v/v) 中で分解することが確認された。このため、順相カラムによるクリーンアップを行うための展開溶媒として 100%のジクロロメタンを使用することとした。

なお、今回対象となっているクロルマジノン、酢酸クロルマジノンについては、検討した溶媒中での分解は認められなかった。

表 10　溶媒中での安定性

保存溶媒	初期濃度 (ng/mL)	残存率　(%)					
		クロルマジノン		酢酸クロルマジノン		エクイリン	
		1 時間後	1 日後	1 時間後	1 日後	1 時間後	1 日後
メタノール	1.0	91	92	95	89	104	102
アセトニトリル	1.0	90	95	91	91	98	98
ジクロロメタン(DCM)	1.0	98	90	95	92	97	95
酢酸エチル	1.0	87	85	100	94	90	88
アセトン	1.0	103	92	103	108	72	59
ヘキサン	1.0	98	94	107	95	22	18
ヘキサン/DCM (3:1)	1.0	97	98	107	102	27	20
アセトン/DCM(5:95)	1.0	89	90	91	91	32	43

〔順相カートリッジカラムの溶出パターン〕

展開溶媒をジクロロメタンとして対象物質の順相カラムの溶出パターンを確認した。順相カートリッジカラムとして、マニュアルに示されているフロリジルのほか、シリカゲルについて検討し、それぞれの溶出パターンを図 14 及び図 15 に示した。カートリッジカラムは、フロリジルは SUPELCO 製の LC-Florisil (1 g/6 mL)、シリカゲルは LC-Si (1 g/6 mL)を使用した。

どちらのカラムも、エクイリンの保持が一番弱かったが、展開溶媒であるジクロロメタン 5 mL では溶出されなかった。シリカゲルの方が、保持の一番強いクロルマジノンにおいても、少量の比較的低極性の溶出溶媒で溶出させることが可能であったことから、今回はシリカゲルを使用することとした。

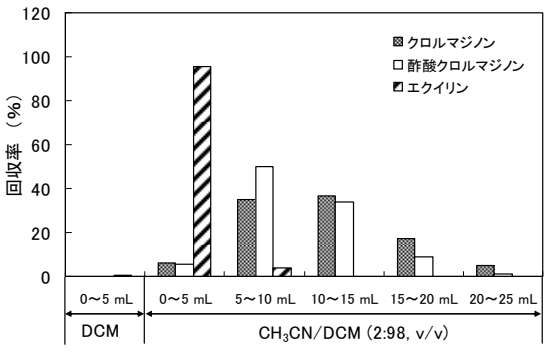


図 14　フロリジルカートリッジカラム (LC-Florisil, 1 g) の溶出パターン

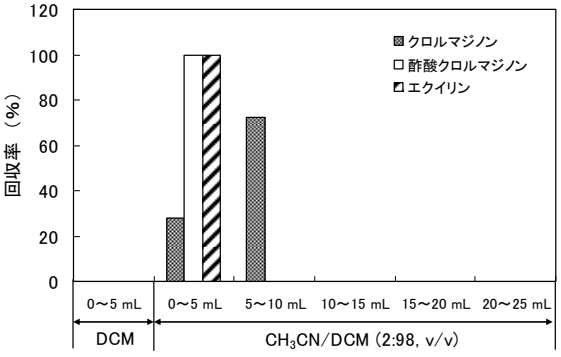


図 15　シリカカートリッジカラム (LC-Si, 1 g) の溶出パターン

〔ろ紙の洗浄〕

水質試料 200 mL をそのまま固相抽出すると試料によっては目詰まりする場合があり、この際はあらかじめろ過が必要となる。このため、ろ過後のろ紙中に残存する対象物質の状況を確認した。表 11 に示す水質試料を、今回は 1000 mL 用い、これに対象物質を各々1.0 ng 添加し、よく振り混ぜた後、ガラス繊維ろ紙(GF/B)でろ過した。少量の精製水でろ紙を洗浄した後、ろ紙をメタノールで 3 回超音波抽出し、抽出液を濃縮・精製して最終的に 1 mL に定容し、定量を行った。その結果、どの試料からも対象物質は検出されなかった。しかし、実際の環境水中では、対象物質の存在状態が今回の試験とは異なっていると考えられること、また、環境水の性状も様々であることから、今回は、ろ過後のろ紙はメタノールで洗浄することとした。洗浄方法は、操作性を考慮し、ろ過後のろ紙にメタノール 5 mL を加え、1 分間程度自然流下させた後、吸引してメタノール洗液を回収した。この操作を 3 回繰り返し、得られたメタノール洗液をろ液に合わせ、固相カートリッジに通水することとした。なお、精製水 200 mL にメタノール 15 mL を加えた溶液を固相抽出しても、通水の際、対象物質の固相カートリッジへの保持に問題はなかった。

表 11　水質試料の概要

試料	pH	SS (mg/L)
海水	8.0	5
河川水 1	6.8	2
河川水 2	7.0	6

〔窒素吹き付けによる損失〕

窒素吹き付けによる損失を確認するため、アセトニトリル／ジクロロメタン(2:98, v/v) 1 mL に対象物質を各々1.0 ng 添加し、窒素吹き付けを行い、乾固後そのまま窒素を吹き付け、残存状況を確認した。その結果、図 16 に示したとおり、クロルマジノン及び酢酸クロルマジノンについては、乾固後、10 分間窒素吹き付けを行っても、損失は認められなかったが、エクイリンについては、若干の損失が認められた。このため、乾固後はできるだけ速やかに窒素吹き付けを止め、所定の溶媒で溶解させる必要がある。

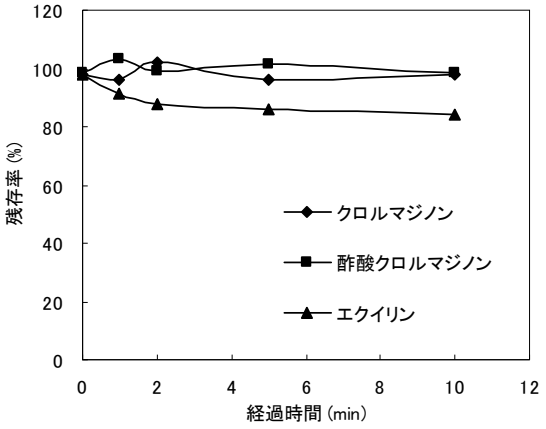


図 16　窒素吹き付けによる損失

〔測定時の夾雑物の影響〕

測定時における夾雑物の影響を確認した。精製水、海水及び河川水について、試料としてそれぞれ 200 mL と 1000 mL を用い、所定の前処理操作を行い、得られた試験液 1.0 mL に対象物質を各々1.0 ng 添加し、定量を行った。その結果を表 12 に示した。エクイリンについては、試料量を 1000 mL にしても、どの試料も夾雑物の影響を受けず、良好な定量結果となったが、クロルマジノン及び酢酸クロルマジノンについては､試料量を 1000 mL にするとイオン化抑制により、河川水、海水の定量値が低くなった。試料量 200 mL では、イオン化抑制が改善され、ほぼ良好な結果が得られたため、試料量は 200 mL とした。

エクイリンについては、試料量を 1000 mL にしても夾雑物の影響を受けなかったことから、試料を 1000 mL 用いることにより、検出下限値をさらに下げることが可能である。

なお、APCI 法で測定すると、試料量を 1000 mL としても 3 物質はイオン化抑制されず、良好な定量値を得られたが、3 物質とも感度が ESI 法と比較して 1/10 程度に低下したことから、APCI 法は採用しなかった。

表 12　最終試験液に対象物質を添加した試料の定量結果

試料	試料量 (L)	クロルマジノン (ng/mL)	酢酸クロルマジノン (ng/mL)	エクイリン (ng/mL)
精製水	0.200	1.0	1.0	0.99
	1.000	0.98	1.0	1.0
河川水	0.200	0.83	0.86	1.0
	1.000	0.48	0.55	1.0
海　水	0.200	0.90	1.0	1.0
	1.000	0.70	0.70	1.0

〔環境試料の分析〕

海水（名古屋港）、河川水（朝鮮川）の SRM クロマトグラムを図 17 及び図 18 に示す。海水（名古屋港）、河川水（朝鮮川）ともにクロルマジノン、酢酸クロルマジノン及びエクイリンは検出されなかった。

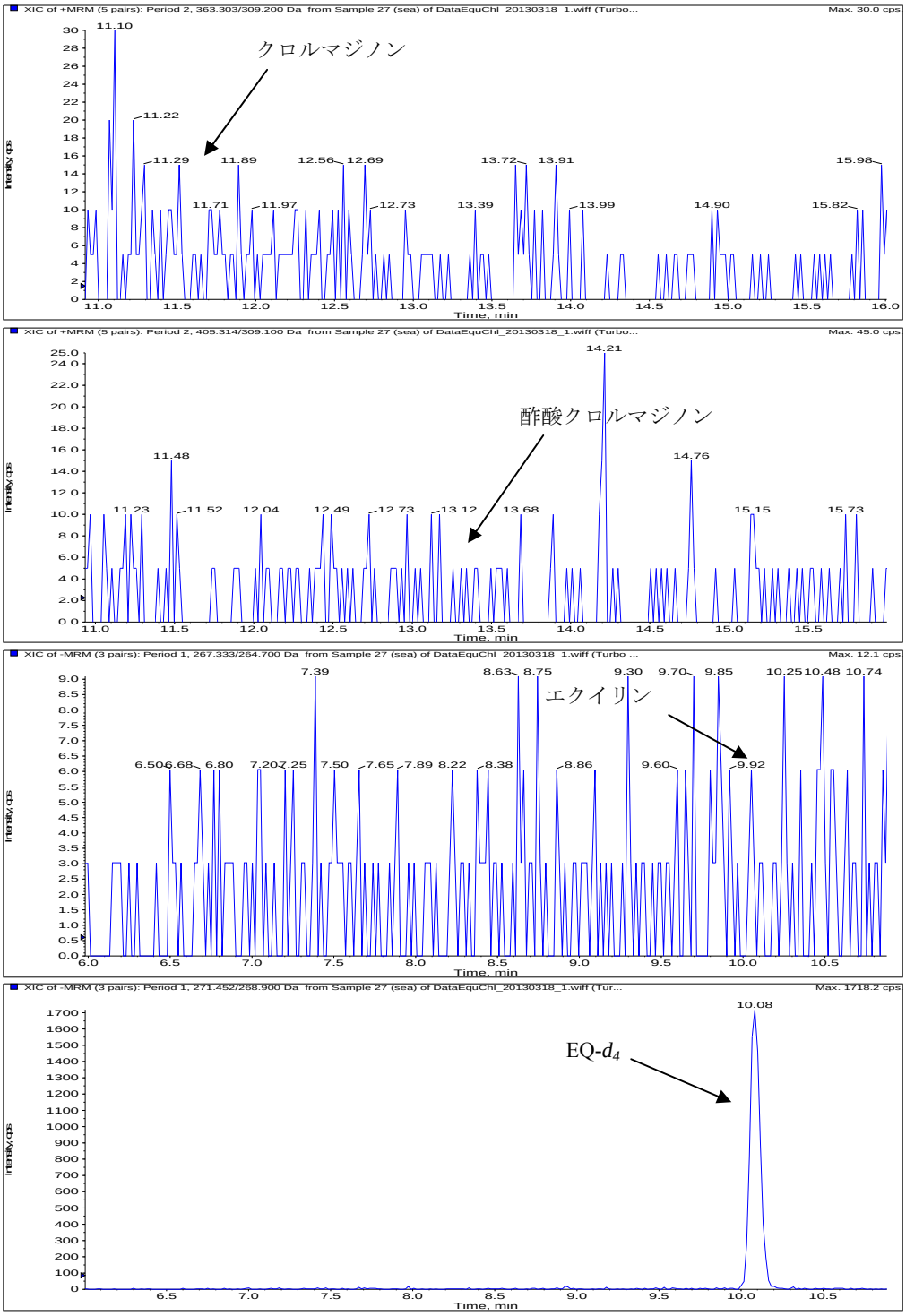


図 17-1 海水（名古屋港）の SRM クロマトグラム（無添加）

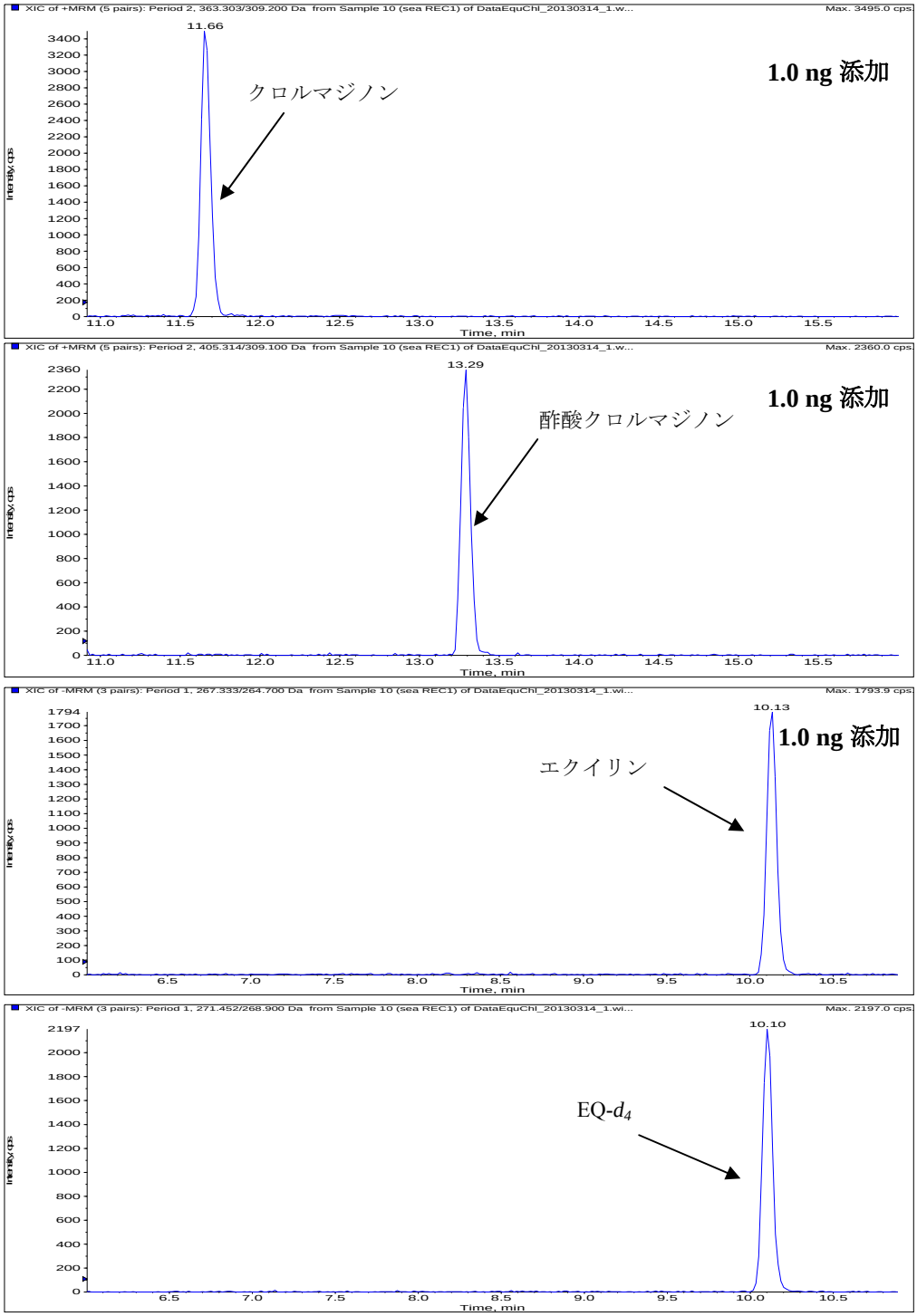


図 17-2 海水（名古屋港）の SRM クロマトグラム（添加）

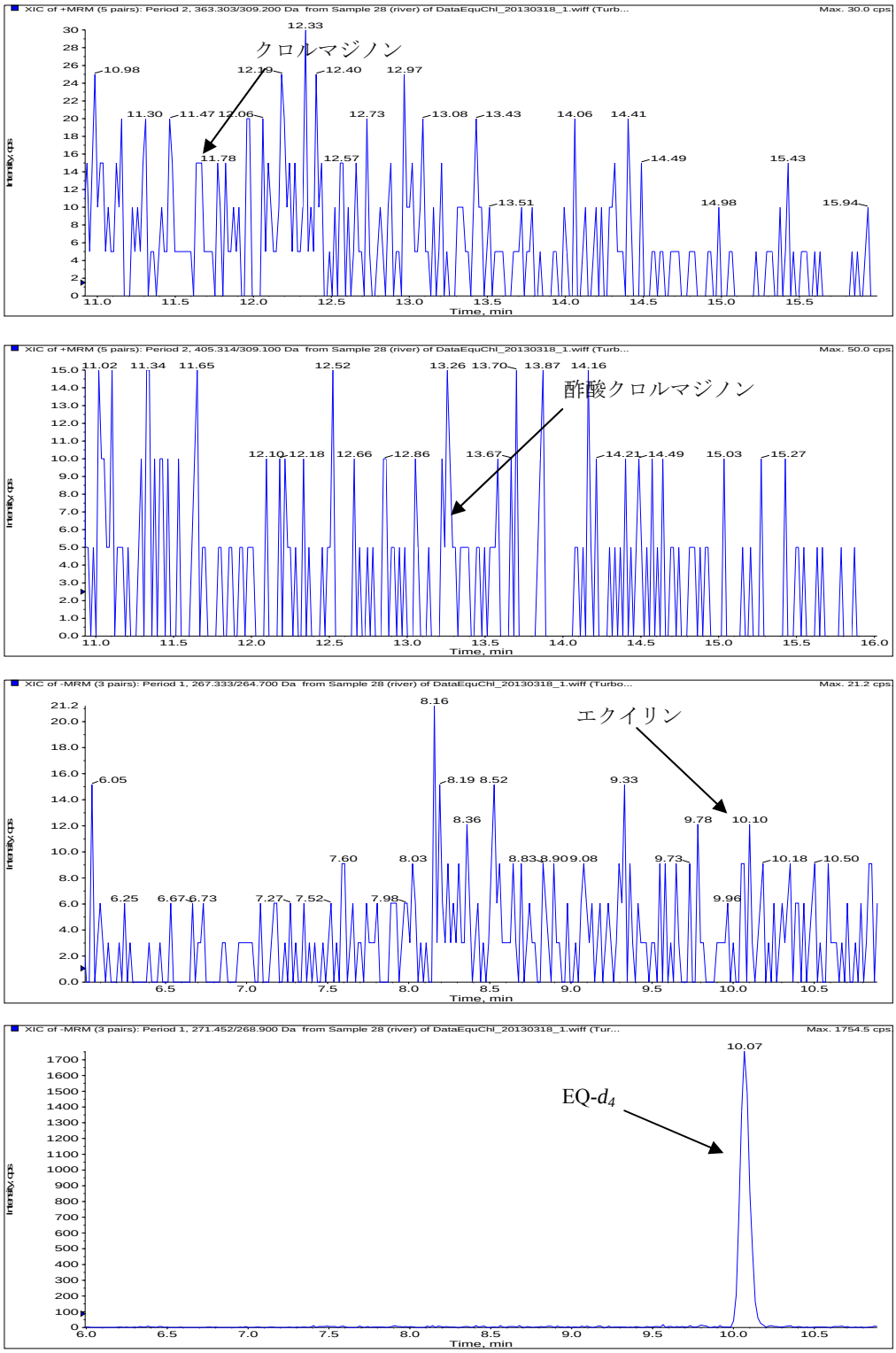


図 18-1 河川水（朝鮮川）の SRM クロマトグラム（無添加）

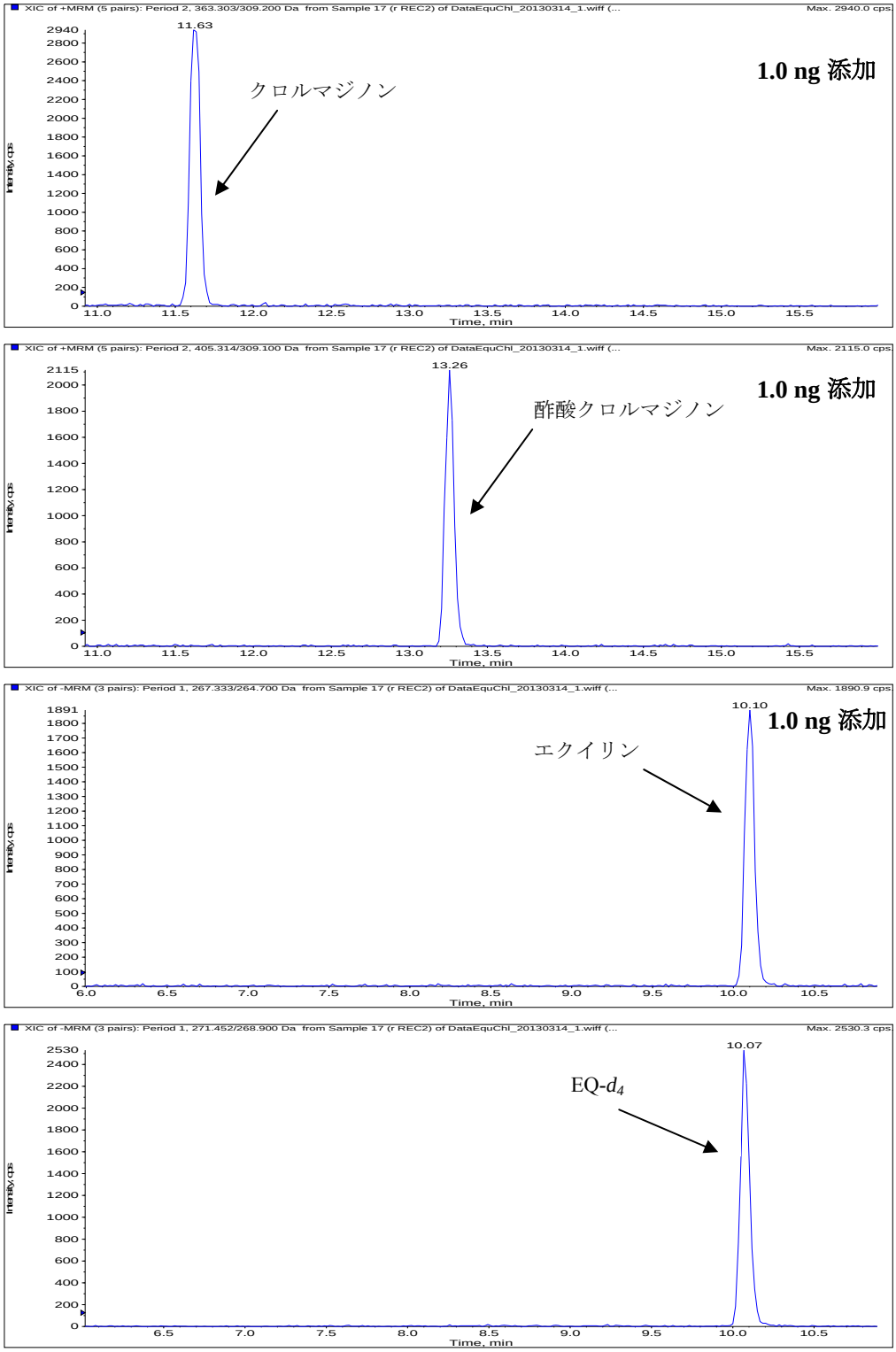


図 18-2 河川水（朝鮮川）の SRM クロマトグラム（添加）

【評価】

本法で用いた LC/MS/MS の IDL は、クロルマジノン 0.0050 ng/mL（試料換算濃度 0.025 ng/L）、酢酸クロルマジノン 0.0060 ng/mL（試料換算濃度 0.030 ng/L）、エクイリン 0.011 ng/mL（試料換算濃度 0.055 ng/L）であり、クロルマジノン及び酢酸クロルマジノン 0.02～10 ng/mL、エクイリン 0.05～20 ng/mL の濃度範囲で検量線の直線性($r^2 > 0.999$) が確認された。また、本法の MDL は、クロルマジノン 0.030 ng/L、酢酸クロルマジノン 0.032 ng/L、エクイリン 0.060 ng/L で、MQL は、クロルマジノン 0.077 ng/L、酢酸クロルマジノン 0.083 ng/L、エクイリン 0.15 ng/L であった。水質試料（精製水、河川水、海水（各 n = 5））200 mL に対象物質を各々1.0 ng 添加した際の回収率は、クロルマジノンで 89～97%（変動係数 2.1～2.5%）、酢酸クロルマジノンで 85～97%（変動係数 2.7～4.3%）、エクイリンで 99~104%（変動係数 2.1～3.7%）であった。以上の結果より、本法は環境水中に含まれるクロルマジノン及び酢酸クロルマジノンを 0.08 ng/L レベル、エクイリンを 0.15 ng/L レベルで定量が可能であると判断される。

【参考文献】

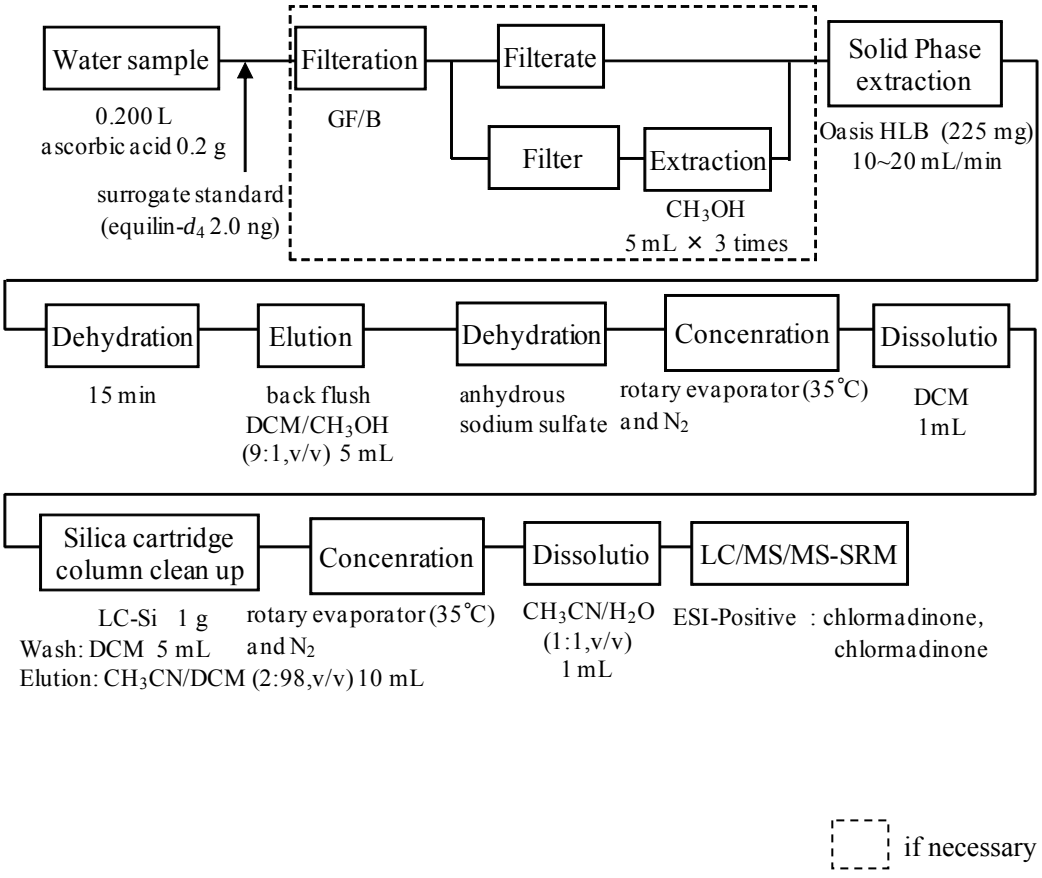
1) 要調査項目等調査マニュアル：「エストラジオールおよびその代謝産物の分析法（LC/MS/MS 法）」, 環境省環境管理局水環境部企画課（平成 15 年 3 月）

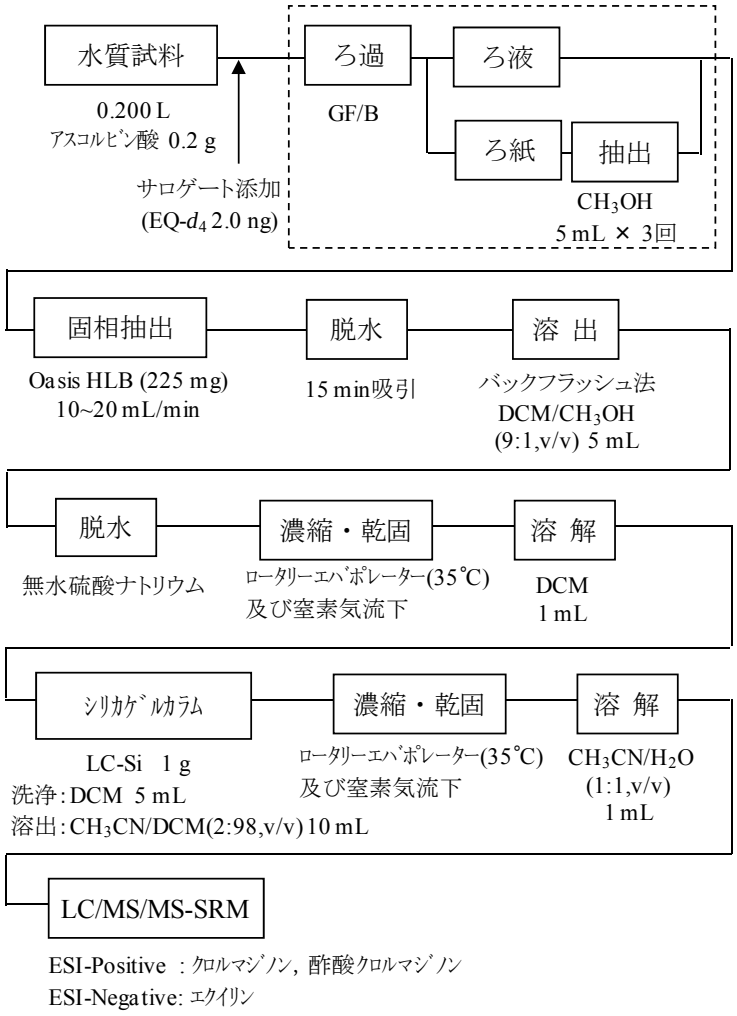
【担当者連絡先】

所属先名称：愛知県環境調査センター
所属先住所：〒462-0032　名古屋市北区辻町字流 7 番 6 号
TEL：052-910-5494　FAX：052-991-6241
担当者名　：内藤 宏孝
E-mail　：hirotaka_naitou@pref.aichi.lg.jp

Chlormadinone, Clormadinone acetate and
3-Hydroxyestra-1,3,5(10),7-tetraen-17-one

This method provides a procedure for the determination of chlormadinone, chlormadinone acetate, and 3-hydroxyestra-1,3,5(10),7-tetraen-17-one (equilin) in water samples by liquid chromatography/tandem mass spectrometry (LC/MS/MS). A water sample is stabilized with ascorbic acid to prevent the loss of the target analytes. Equilin-d_4 is added to 200 mL of the water sample as surrogate (internal standard), and then the analytes are extracted from the water sample by passing the sample through a hydrophilic-lipophilic balance cartridge (Oasis HLB) at the flow rate of 10 - 20 mL/min. The analytes are back-eluted from the cartridge with 5 mL of dichloromethane/methanol (9:1, v/v) solution, and then the eluate is dehydrated with anhydrous sodium sulfate. The eluate is concentrated to a volume of 1 mL or less with a rotary evaporator, and evaporated to dryness under a gentle stream of nitrogen gas. The residue is redissolved in 1 mL of dichloromethane prior to purification using a silica cartridge column (LC-Si). The column loaded with the redissolved solution is washed with 5 mL of dichloromethane, and then the analytes in the column are eluted with 10 mL of dichloromethane/acetonitrile (98:2, v/v) solution. The eluate is concentrated to a volume of 1 mL or less with the rotary evaporator, and evaporated to dryness under the gentle stream of nitrogen gas. The residue is redissolved in 1 mL of acetonitrile/water (1:1, v/v) solution, and the analytes are determined by LC/MS/MS. The method detection limits are 0.030 ng/L for chlormadinone, 0.032 ng/L for clormadinone acetate and 0.060 ng/L for equilin, respectively. The mean recoveries in water samples were ranged from 89 to 97% (relative standard deviation : 2.1 – 8.4%) for chlormadinone, from 85 to 97% (relative standard deviation : 2.7 - 8.5%) for chlormadinone acetate and from 99 to 104% (relative standard deviation : 2.1 - 6.0%) for equilin, respectively. The method was applied to some environmental waters. The concentrations of chlormadinone, chlormadinone acetate and equilin in Chosen River and Nagoya Port were below the detection limits.


Water sample
0.200 L
ascorbic acid 0.2 g
surrogate standard
(equilin-d_4 2.0 ng)
Filteration
GF/B
Filterate
Filter
Extraction
CH_3OH
5 mL × 3 times
Solid Phase extraction
Oasis HLB (225 mg)
10~20 mL/min
Dehydration
15 min
Elution
back flush
DCM/CH_3OH
(9:1,v/v) 5 mL
Dehydration
anhydrous
sodium sulfate
Concenration
rotary evaporator (35℃)
and N_2
Dissolutio
DCM
1mL
Silica cartridge column clean up
LC-Si 1 g
Wash: DCM 5 mL
Elution: CH_3CN/DCM (2:98,v/v) 10 mL
Concenration
rotary evaporator (35℃)
and N_2
Dissolutio
CH_3CN/H_2O
(1:1,v/v)
1 mL
LC/MS/MS-SRM
ESI-Positive : chlormadinone,
chlormadinone
if necessary

物質名	分析法フローチャート	備　考
クロルマジノン、酢酸クロルマジノン、エクイリン	【水質】  * : 必要に応じて実施	分析原理： LC/MS/MS-SRM ESI positive ESI negative 検出下限値： 【水質】(ng/L) クロルマジノン 0.030 酢酸クロルマジノン 0.032 エクイリン 0.060 分析条件： 機器 LC : SHIMADZU LC-20Series MS : API-3200 カラム Ascentis Express C18 150 mm × 2.1 mm, 2.7 μm

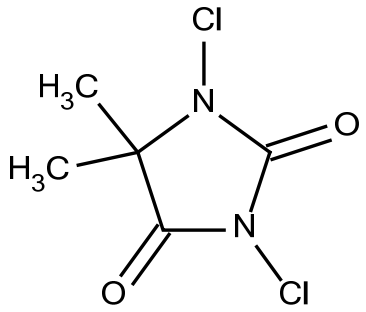
千葉県環境研究センター
［対象媒体：水質］

1,3-ジクロロ-5,5-ジメチルイミダゾリジン-2,4-ジオン

1,3-Dichloro-5,5-dimethylimidazolidine-2,4-dione

別名：1,3-ジクロロ-5,5-ジメチルヒダントイン
1,3-Dichloro-5,5-dimethylhydantoin

【対象物質の構造】



CAS 番号：118-52-5
分子式：$C_5H_6Cl_2N_2O_2$

【物理化学的性状】

項目	1,3-ジクロロ-5,5-ジメチル イミダゾリジン-2,4-ジオン
分子量	197.01
ﾓﾉｱｲｿﾄﾋﾟｯｸ質量	195.9806
融点 [1)]	132°C
比重 [1)]	1.5 (d_{20}^{20})*
対水溶解度 [1)]	0.21% (25°C)

*20°C における水の密度と 20°C における当該物質の密度との比

【毒性、用途等】

〔毒性〕 [2)]

急性毒性 ：経口：LD_{50}；1520 mg/kg (ウサギ) 、1350 mg/kg (モルモット)、542 mg/kg (ラット)
経気道：LCLo；20 g/m^3 (ラット)

〔用途〕

水処理用・家庭用品殺菌・殺藻剤、塩素化剤、重合触媒 [3)]
合成中間体 [2)]

出典：

1) Budavari, S.(*Ed*), The Merck Index Ver.12:2
2) 神奈川県化学物質安全情報提供システム(kis-net)
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

1,3-ジクロロ-5,5-ジメチルイミダゾリジン-2,4-ジオン（以下、1,3-ジクロロ-5,5-ジメチルヒダントイン：DCDMH と略す）は水溶液中で即時分解が認められ、分析法を確立できなかった。本報告では、DCDMH の分解生成物として確認された 5,5-ジメチルイミダゾリジン-2,4-ジオン（以下、5,5-ジメチルヒダントイン：DMH と略す）を分析する方法（注 1）について、これまでに得られた知見を示す。

水質試料に酢酸アンモニウムを添加し DCDMH の分解物である DMH を生成させ（注 2）、試料を固相カートリッジ（Sep-Pak PS2 と Sep-Pak AC2 を連結したもの）に通水する。PS2 を取り外し、AC2 を逆方向にしてアセトンを通液し、DMH を溶出する。窒素気流下で濃縮、定容後、LC/MS/MS-SRM(ESI-Positive)法で定量する。

(2) 試薬・器具

【試薬】

5,5-ジメチルヒダントイン：東京化成工業製　>98%
1,3-ジクロロ-5,5-ジメチルヒダントイン　：和光純薬製　>96%
メタノール　：関東化学製　LC/MS 用　>99.8%
アセトン　：残留農薬試験･PCB 試験用　300 倍濃縮
酢酸アンモニウム　：試薬特級
ギ酸　：試薬特級
精製水　：Milli-Q 水（JIS K 0557(1998) に規定される種別 A4 と同等以上の質のもの）
固相カートリッジ　：Sep-Pak PS2　265 mg　Waters 製
Sep-Pak AC2　400 mg　Waters 製

【標準液の調製】

〔標準原液〕

DMH500 mg を精秤し、メタノール 100 mL に溶解して 5.00 mg/mL の標準原液を調製する。

〔検量線用標準液〕
DMH 標準原液を 50%メタノール水溶液で順次希釈して、3.00～100 ng/mL の濃度範囲で検量線用標準液を調製する。また、高濃度検量線用標準液として、1000 ng/mL の範囲まで調製する。

〔**DCDMH 溶液**〕
DCDMH500 mg を精秤し、メタノール 100 mL に溶解して 5.00 mg/mL の標準液を調製する。標準原液を 50%メタノール水溶液で希釈して、各試験で使用する溶液を調製する。

【器具】
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、100 mL 比色管、ガラス製注射筒(10 mL)
GL-SPE 濃縮管 1.0 & 2.0 & 5.0 メス/6 mL　: GL サイエンス製
Sep-Pak コンセントレーター　: Waters 製

(3) 分析法

【試料の採取及び採取試料の前処理】
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。試料採取後に 100 mmol/L になるように酢酸アンモニウムを添加してから(注 2)、【試験液の調製】を行う。

【試験液の調製】(注 3)
水質試料 100 mL をあらかじめコンディショニングをした固相カートリッジ(Sep-Pak PS2 を上段、Sep-Pak AC2 を下段に連結したもの:注 4)に 10 mL/min の流速で通水する。試料の入っていた容器は、0.1%ギ酸水溶液 20 mL、次いで精製水 20 mL で洗浄し、洗液も通水する。通水後 PS2 は取り外し、AC2 に注射筒で空気を通気して間隙水を除去する。AC2 を逆方向にしてアセトン 6 mL で受け器の濃縮管に DMH を溶出し、窒素気流下で約 0.5 mL まで濃縮する。50%メタノール水溶液で 2 mL に定容して、これを試験液とする。

【空試験液の調製】
試料と同じ量の精製水を用い、酢酸アンモニウムを添加してから【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。

【測定】
〔**LC/MS 条件**〕
LC
使用機器　: Waters 製 Alliance 2695

カラム　　：　GL Sciences 製 Inertsil ODS (2.1 mm×250 mm, 3 μm)
移動相　　：　A：精製水　　B：メタノール
　　0 → 10.0 min　　A：B = 40：60
カラム流量　：　0.2 mL/min
カラム温度　：　30°C
試料注入量　：　10 μL

MS

使用機器　　：　Waters 製 Quattro micro API
キャピラリー電圧　：　4.0 kV
コーン電圧　　：　30 V
コリジョンエネルギー：　15 eV
ソース温度　　：　120°C
デゾルベーション温度：　450°C
コーンガス　　：　N_2　50 L/hr
デゾルベーションガス：　N_2　750 L/hr
イオン化法　　：　ESI(+)
測定モード　　：　SRM
モニターイオン(*m/z*)　：　129.0 > 58.0（定量用）
　　129.0 > 101.0（確認用）

〔検量線〕

5 種類以上の検量線用標準液 10 μL を LC/MS/MS に導入して分析する。50%メタノール水溶液の溶媒ブランク試験液からは対象物質のピークが検出されないことを確認する。対象物質の濃度と得られたピーク面積値から DMH の検量線を作成する。得られた対象物質のピーク面積値から検量線を作成する。寄与率が 0.995 以上であることを確認する。各測定点における計算濃度と、実際に添加した濃度との%偏差が±15%以下であることを確認する。

〔定量〕

試験液 10 μL を LC/MS/MS に導入して分析する。得られた対象物質のピーク面積値から検量線を基にして DMH 濃度を求める。

〔濃度の算出〕

試料水中の DMH 濃度 C_{DMH}(ng/L)は次式により算出する。

$$C_{DMH}\ (\mathrm{ng/L}) = (Cs - Cb) \times E / V$$

Cs　：検量線から求めた対象物質濃度 (ng/mL)
Cb：空試験液の対象物質濃度 (ng/mL)
E　：試験液量 (mL)

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。

E = 2.0 (mL)

V = 0.100 (L)

〔装置下限値(IDL)〕

本分析に用いた LC/MS/MS の DMH、及び分子量で換算した場合の DCDMH の IDL を次に示す（注 5)。

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)
DMH	0.71	0.100	2.0	14
DCDMH 換算値*	1.1	0.100	2.0	22

*：DCDMH の M.W. 197.01、DMH の M.W. 128.13 から当量換算した値

注　解

（注 1）分析値は、5,5-ジメチルヒダントインを分解物として生成する可能性がある 3-ブロモ-1-クロロ- 5,5-ジメチルヒダントイン、1,3-ジブロモ- 5,5-ジメチルヒダントイン等の類似化合物由来のもの、及び最初から存在する 5,5-ジメチルヒダントインの分析値を合計した値となる。

（注 2）残存している DCDMH の分解(イミダゾリジン骨格の 1 位と 3 位の 2 つの塩素を水素に置換)を促進するために、100 mmol/L になるように酢酸アンモニウムを試料水に添加する。保存性試験の結果から、添加後 4 時間で DMH まで分解することを確認している。

（注 3）分析法の検討が中止となったため、測定方法の検出下限値(MDL)や環境水での添加回収率等を求めていない。これまでに検討した範囲で、試験液の調製方法や分析法のフローチャート等を記載する。

（注 4）固相カートリッジは、それぞれアセトン 10 mL、精製水 20 mL でコンディショニングしたものを使用する。

（注 5）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 2 のとおり算出した。IDL 測定時のクロマトグラムを図 1 に示す。

表 2　IDL の算出結果

対象物質名	DMH
試料量 (L)	0.100
最終液量 (mL)	2.0
注入液濃度 (ng/mL)	3.00
装置注入量 (μL)	10
結果 1 (ng/mL)	3.12
結果 2 (ng/mL)	2.93
結果 3 (ng/mL)	3.06
結果 4 (ng/mL)	3.42
結果 5 (ng/mL)	3.14
結果 6 (ng/mL)	3.33
結果 7 (ng/mL)	3.37
平均値 (ng/mL)	3.195
標準偏差(ng/mL)	0.1822
IDL (ng/mL)*	0.71
IDL 試料換算値 (ng/L)	14
S/N 比	13
CV (%)	5.7

*IDL= t (n-1, 0.05)×σ_{n-1}×2

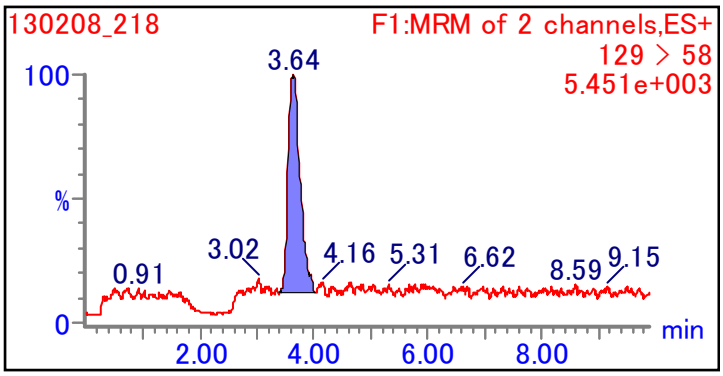


図 1　DMH の IDL 算出時のクロマトグラム(3.00 ng/mL 標準液)

§2　解　説

【DCDMH の分解性について】

DCDMH(図 2)の水溶液中のマススペクトルで、塩素の 1 つが水素に置換したと考えられる化合物(図 3：以下、モノクロロ体と略す)、塩素が 2 つとも水素に

置換したと考えられる DMH(図 4)のイオンが観測された。DCDMH 標準液調製直後でも、モノクロロ体のイオン強度はジクロロ体(DCDMH)の分子イオンよりも大きく、水溶液中での即時分解が予想された。

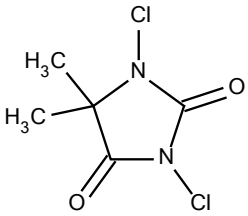


図 2　DCDMH (ジクロロ体)

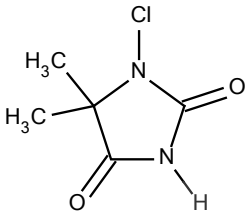
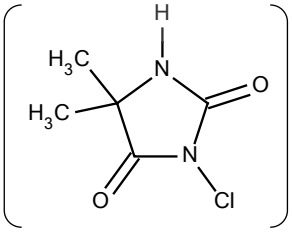


図 3　モノクロロ体



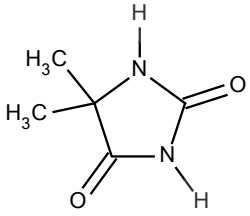


図 4　DMH

〔DCDMH 標準物質のマススペクトル〕

DCDMH 標準物質のマススペクトルを図 5 に、DCDMH 及び水溶液中で生成したと考えられるモノクロロ体、DMH をプレカーサーイオンとしたときのプロダクトイオンのマススペクトルを図 6～8 に示す。また、各化合物のモノアイソトピック質量を表 3 に示す。

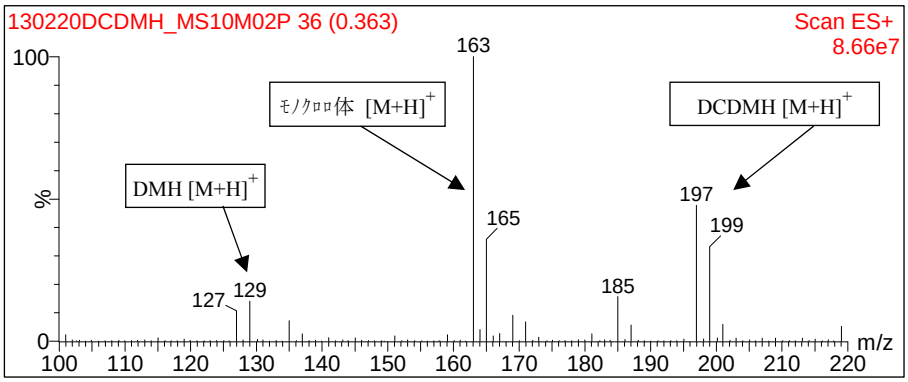


図 5　DCDMH 標準液のマススペクトル

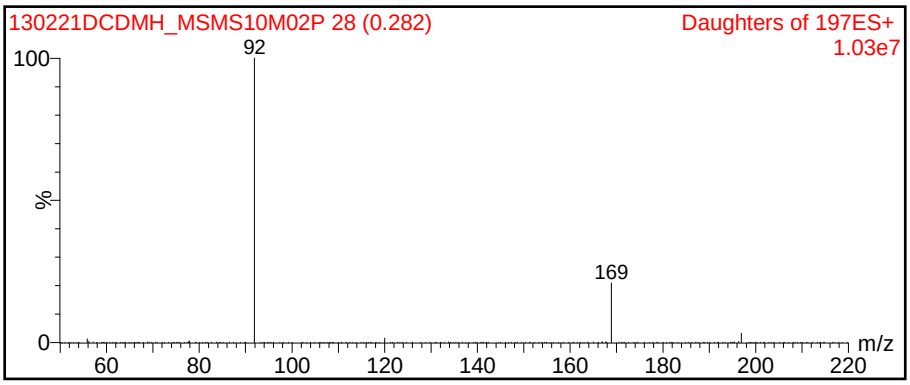


図 6　DCDMH 標準液中の分子イオン(ジクロロ体)をプレカーサーイオン(*m/z* 197.0)としたときのプロダクトイオンのマススペクトル

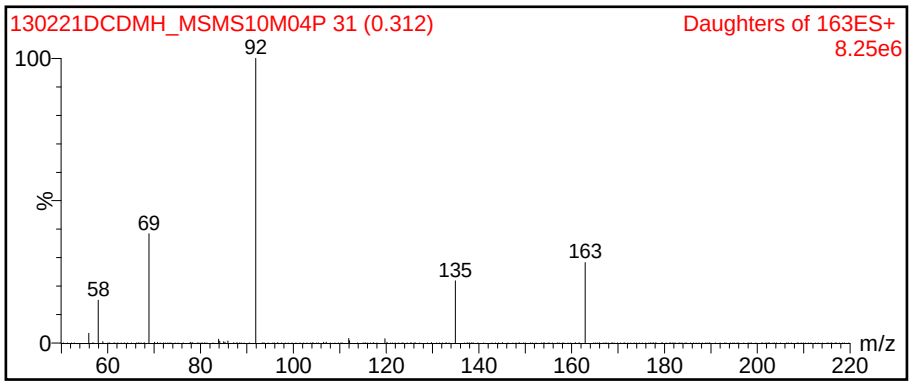


図 7　DCDMH 標準液中で生成したモノクロロ体をプレカーサーイオン(*m/z* 163.0)としたときのプロダクトイオンのマススペクトル

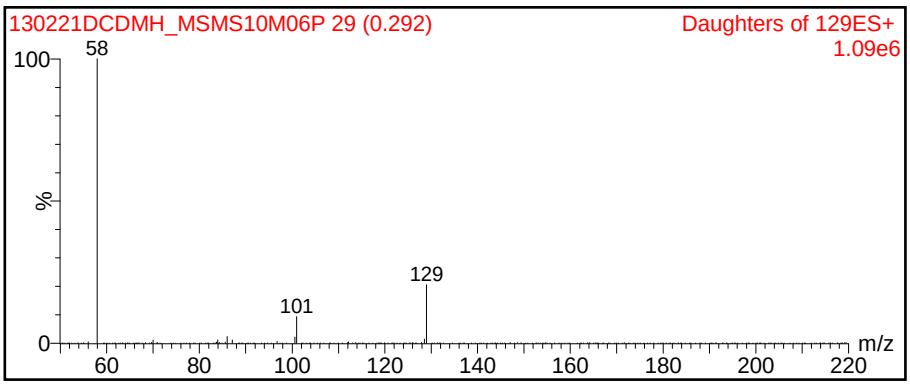


図 8　DCDMH 標準液中で生成した DMH をプレカーサーイオン(*m/z* 129.0) としたときのプロダクトイオンのマススペクトル

表 3　DCDMH、モノクロロ体、DMH のモノアイソトピック質量

物質名	モノアイソトピック質量
DCDMH（ジクロロ体）	195.9806
モノクロロ体	162.0196
DMH	128.0586

【分析法】

〔フローチャート〕

DCDMH を DMH として分析する場合の、分析法のフローチャートを図 9 に示す。

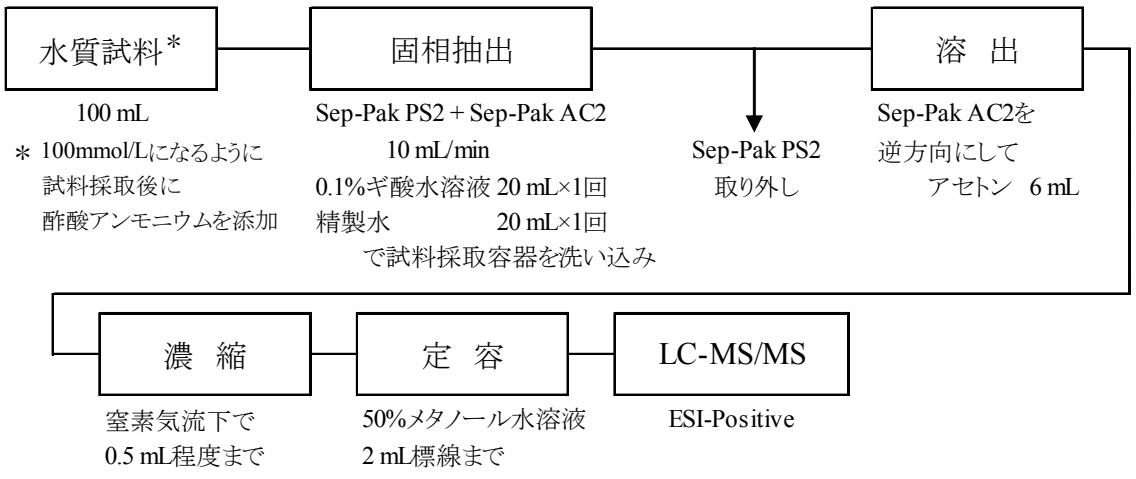
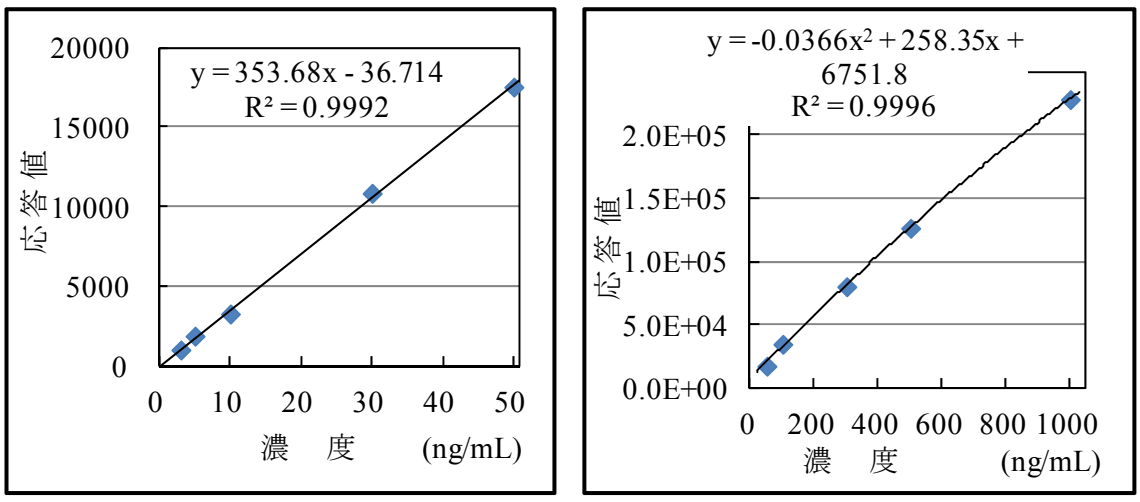


図 9　分析法のフローチャート(参考)

〔検量線〕

DMH の検量線を図 10 に示す。また、検量線データ一覧を表 4 に示す。



(3.00～50.0 ng/mL)　　(50.0～1000 ng/mL)

＊2 次式で近似

図 10　DMH の検量線

表 4　DMH の検量線データ一覧

標準液濃度 (*Cs*) (ng/mL)	応答値 DMH(*As*) (*m/z* 129.0 > 58.0)
3.00	993
5.00	1862
10.0	3256
30.0	10842
50.0	17523
100	34861
300	80451
500	126655
1000	228579

〔DMH 標準物質のマススペクトル〕

DMH 標準物質のマススペクトルを図 11 に、*m/z* 129.0 のプロダクトイオンのマススペクトルを図 12 に示す。

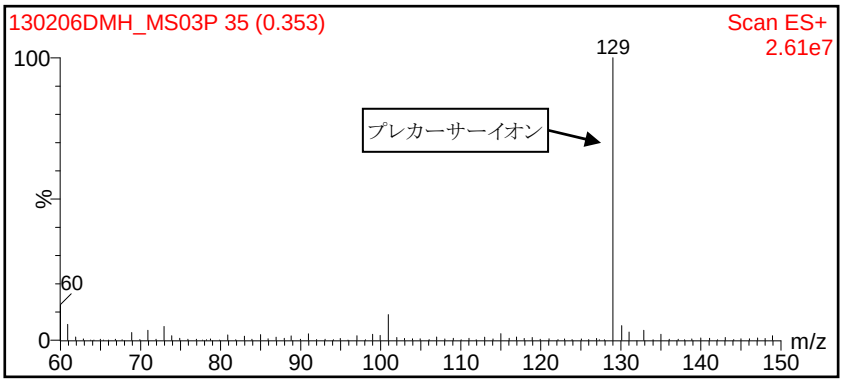


図 11　DMH 標準物質のマススペクトル

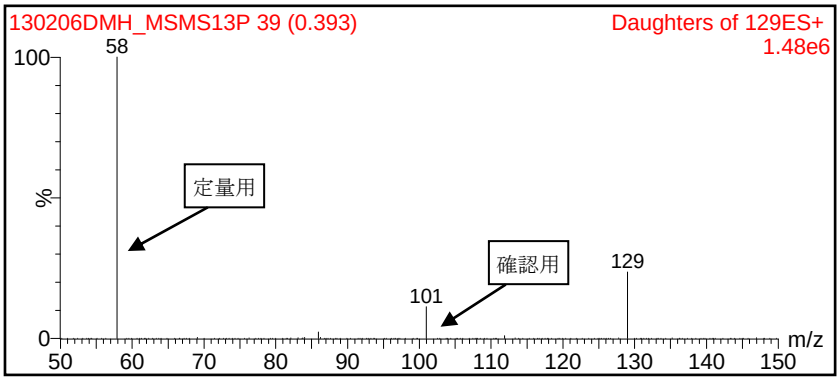


図 12　DMH(*m/z* 129.0)のプロダクトイオンのマススペクトル

〔操作ブランク試験〕

操作ブランク試験結果を表 5 に示す。DMH として IDL の 2 倍程度の操作ブランクが検出された。

表 5　操作ブランク試験結果

物質名	試験数	検出濃度(ng/L)
DMH	2	tr*，27

＊1 検体はクロマトグラム上でピークを検出

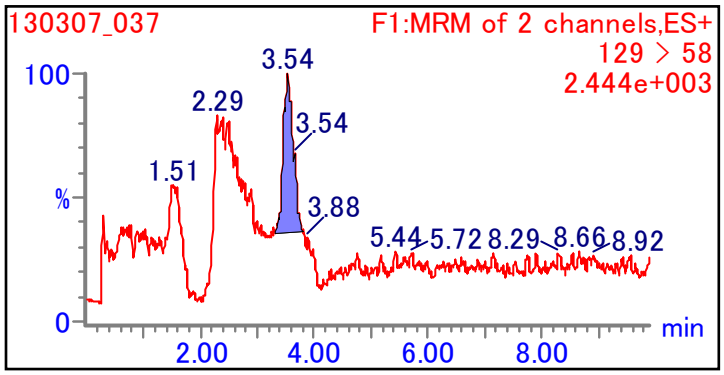


図 13　操作ブランクのクロマトグラム

〔添加回収試験〕

精製水への添加回収試験結果を表 6 に示す。DCDMH 標準物質を添加したときのクロマトグラムを図 14 に、DMH 標準物質を添加したときのクロマトグラムを図 15 に示す。

表 6　添加回収試験結果

試料名	物質名	試料量 (L)	添加量 (ng)	試験数	検出濃度 (ng/L)	DMH 回収率 (%)	変動係数 (%)
精製水	DCDMH	0.100	120 (DMH 換算量* 78)	3	722	93	3.5
	DMH	0.100	80	3	785	98	3.1

*:DCDMH の M.W. 197.01、DMH の M.W. 128.13 から当量換算した値

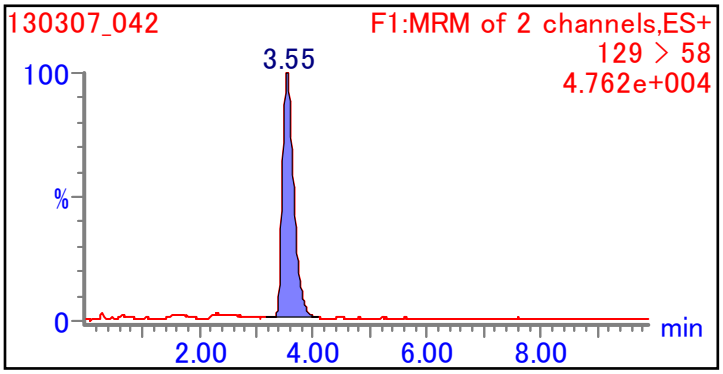


図 14　DCDMH 添加回収試験(精製水)のクロマトグラム

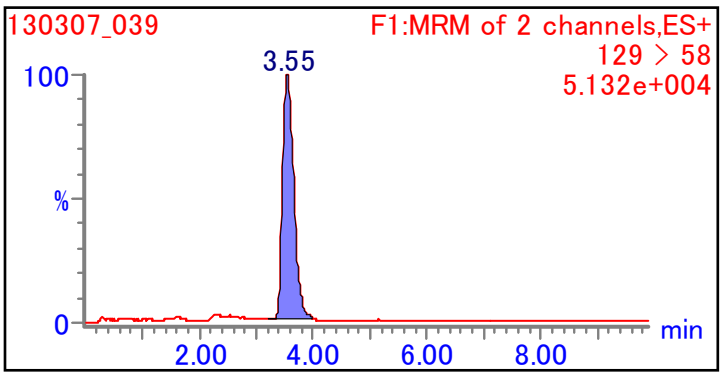


図 15　DMH 添加回収試験(精製水)のクロマトグラム

〔保存性試験〕

水溶液中での DCDMH の分解性を把握するために保存性試験を行い、河川水中で DCDMH が残存しないことを確認した。また、水溶液中で DCDMH またはモノクロロ体が残存している場合、これらの化合物の塩素がすべて水素に置換した DMH としてモニタリングができるように、アンモニア/ギ酸(NH_4/FoAc)、酢酸アンモニウム(AmAce)の添加を試した。

＜試験方法＞

【試薬・試験液の調製】

DCDMH をメタノールで溶解し、DCDMH 標準原液(5 mg/mL)を調製後、表 7 に示した 100 μg/mL 濃度の各試験液を調製した。

表 7　保存性試験を行った試験液

試験液標記	保管場所	調製方法	初期濃度 (μg/mL)
明所 1	24°C 蛍光灯下	DCDMH 原液を精製水で希釈	100
暗所 1	24°C 暗所	DCDMH 原液を精製水で希釈	100
暗所 2	24°C 暗所	DCDMH 原液を精製水で希釈	100
pH 5	24°C 暗所	pH 5 緩衝液 [1)]で希釈	100
pH 7	24°C 暗所	pH 7 緩衝液 [2)]で希釈	100
pH 9	24°C 暗所	pH 9 緩衝液 [3)]で希釈	100
NH4/FoAc	24°C 暗所	精製水で希釈時に NH_4、FoAc [4)] を添加	100
AmAce	24°C 暗所	精製水で希釈時に AmAce [5)] を添加	100
河川水 1	24°C 暗所	河川水 [6)] で希釈	100
河川水 2	24°C 暗所	河川水 [6)] で希釈	100
MeOH1 [7)]	24°C 暗所	MeOH で希釈	100
MeOH2 [7)]	24°C 暗所	MeOH で希釈	100
精製水ブランク [8)]	24°C 暗所	2% MeOH / H_2O	0
河川水ブランク [8)]	24°C 暗所	2% MeOH / H_2O	0

1), 2), 3) フタル酸塩 pH 標準液(pH 4.01)、中性りん酸塩 pH 標準液(pH6.86)、ほう酸塩 pH 標準液(pH 9.18)を 20 倍希釈後、塩酸または水酸化ナトリウムで pH をそれぞれ 5、7、9 に調製。
4) 試験液中の濃度がそれぞれ 0.5%になるように、アンモニア(NH_4)、ギ酸(FoAc)の順で添加。
5) 試験液中の酢酸アンモニウム(AmAce)濃度が 100 mmol/L になるように添加。
6) 試験当日に採水した河川水を 5 時間静置し、上清を分取して河川水試料(1, 2)とした。
7) 参考として、メタノール溶液を作成した。
8) 精製水、河川水でブランク溶液を調製した。（測定結果は、すべて不検出）

【保存条件】

各試験液を、24～25°C に保たれた室内に遮光して保管した。明所保存のものは、遮光しないで常時、実験室の蛍光灯下で保管した。

【測定・解析】

各試験液の一部を、調製直後（0 時間後）、4 時間後、1、3、7、14、28、42 日後に分取し、そのまま LC/MS で測定を行った。

各試験液中の DCDMH、モノクロロ体、DMH をモニタリングして、それぞれのピークの応答値（面積値）を求め、各化合物の残存性を確認した。

＜保存性試験時の LC/MS 条件＞

LC

使用機器　：Waters Alliance 2695
カラム　：XBridge Phenyl (2.1 mm×100 mm×3.5 μm)
移動相　：A：精製水　　B：メタノール

0 min	A：B = 65：35
0 → 6.0 min	B：40 → 90　linear gradient
6.0 → 12.0 min	A：B = 10：90

カラム流量　：0.2 mL/min
カラム温度　：30°C
試料注入量　：10 µL

MS

使用機器　：Waters Quattro micro API
キャピラリー電圧　：4.0 kV
コーン電圧　：30 V
ソース温度　：120°C
デゾルベーション温度：400°C
コーンガス　：N_2　50 L/hr
デゾルベーションガス：N_2　500 L/hr
コリジョンエネルギー：15 eV
イオン化法　：ESI(+)
測定モード　：SRM
モニターイオン(*m/z*)　：197.0 > 92.0 (DCDMH)
163.0 > 92.0（モノクロロ体）
129.0 > 58.0 (DMH)

＜結果＞

1.　DCDMH の測定結果（図 16）

①精製水中では、明所、暗所ともに調製直後の DCDMH の面積値は 500 前後であり、継時的に減少傾向を示したが、1～2 週間後でもピークが検出された（図 17）。

②河川水中への調製直後の試験液では DCDMH は検出されたが、4 時間後の測定では不検出になった（図 18）。

③pH 7 水溶液、及びアンモニア／ギ酸(NH4/FoAc)、酢酸アンモニウム(AmAce)の水溶液中では、調製直後から DCDMH は検出されなかった。また、pH 9 水溶液でも 4 時間後からは不検出であった。

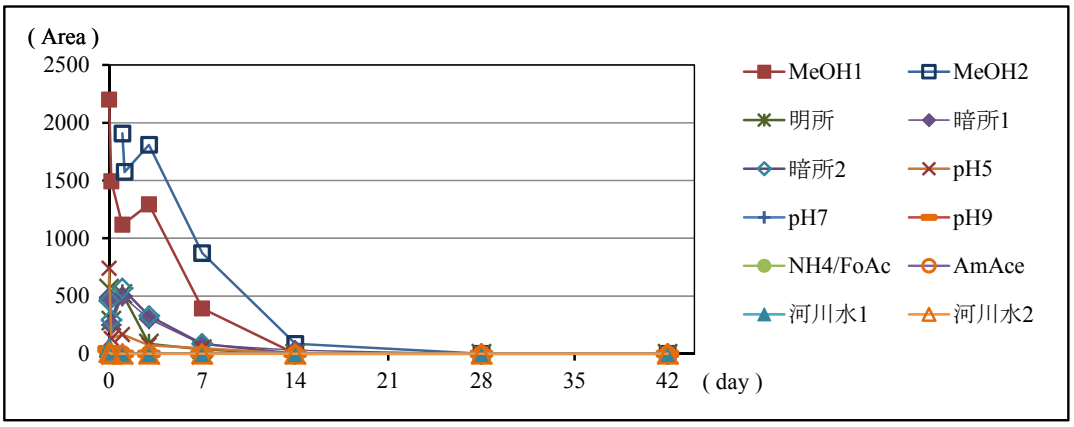
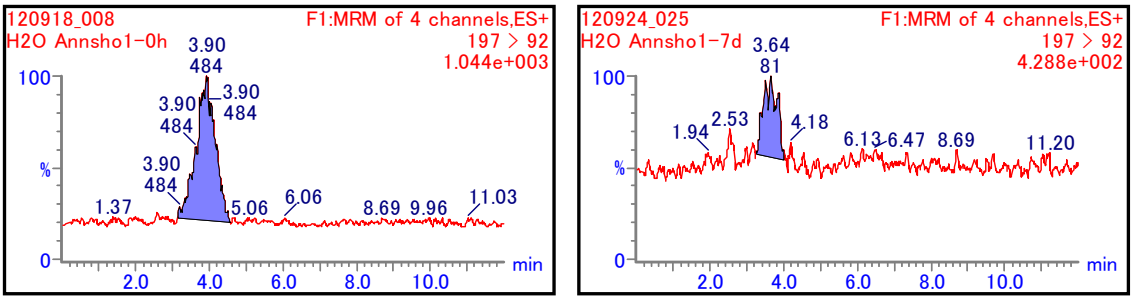
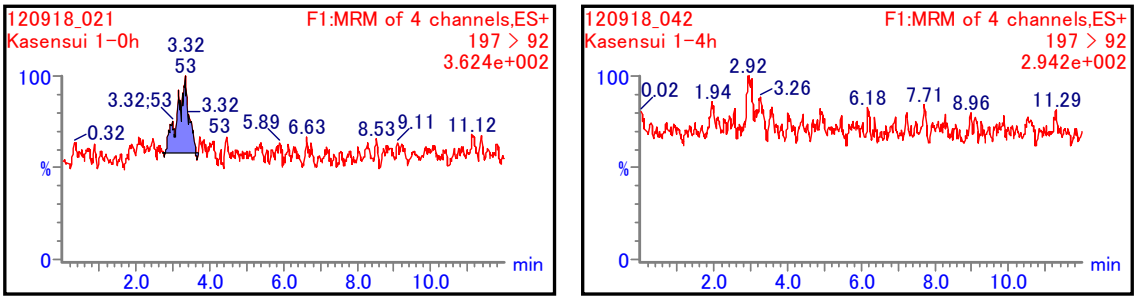


図 16　DCDMH（ジクロロ体）の応答値（面積値）の推移



調製直後：暗所 1　(0 hr)　　7 日後：暗所 1　(7 day)

図 17　DCDMH を精製水中で保存したときのクロマトグラム



調製直後：河川水 1　(0 hr)　　4 時間後：河川水 1　(4 hr)

図 18　DCDMH を河川水中で保存したときのクロマトグラム

2.　DCDMH から生成したモノクロロ体の測定結果（図 19）

①精製水中では 42 日後でも 16000～34000 程度のモノクロロ体の面積値が検出され、調製直後と比較しても同程度であった。河川水中では継時的に減少傾向を示し、42 日後の面積値は 70～80 程度となった（図 20）。

②酢酸アンモニウム(AmAce)水溶液中では 4 時間後からモノクロロ体は不検出となったが（図 21）、アンモニア／ギ酸 (NH_4/FoAc) 水溶液中では 14 日後まで検出された。また、pH 7 水溶液中でも分解が促進され、24 時間後からは不検出であった。

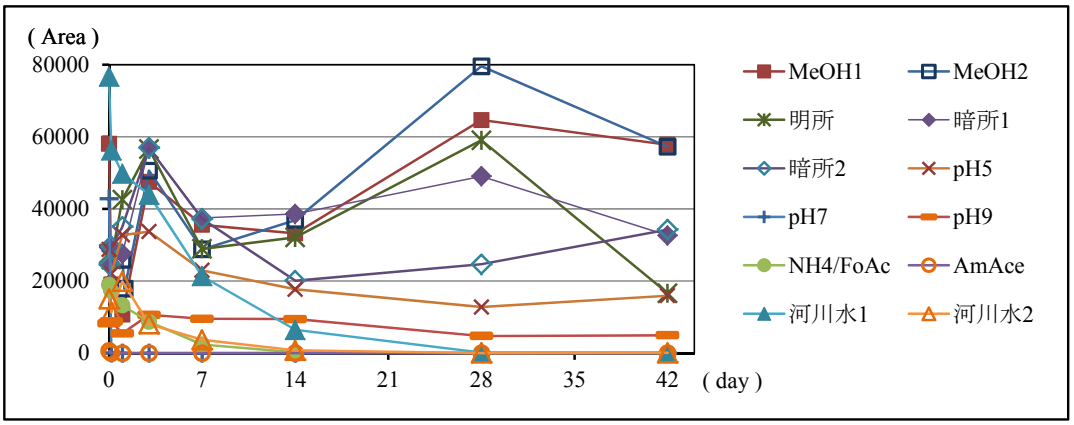
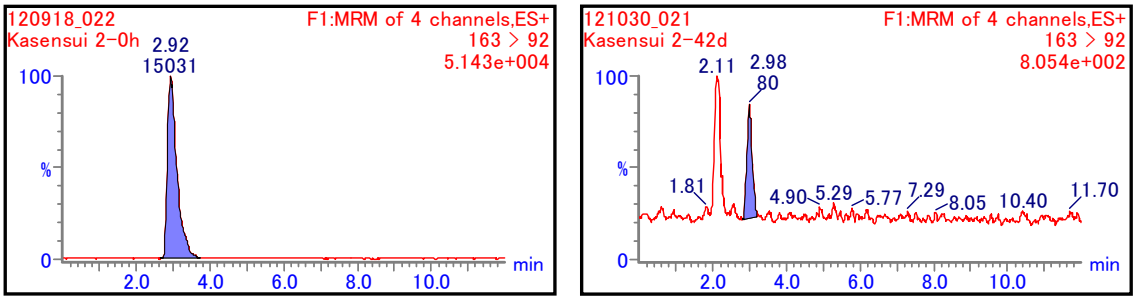
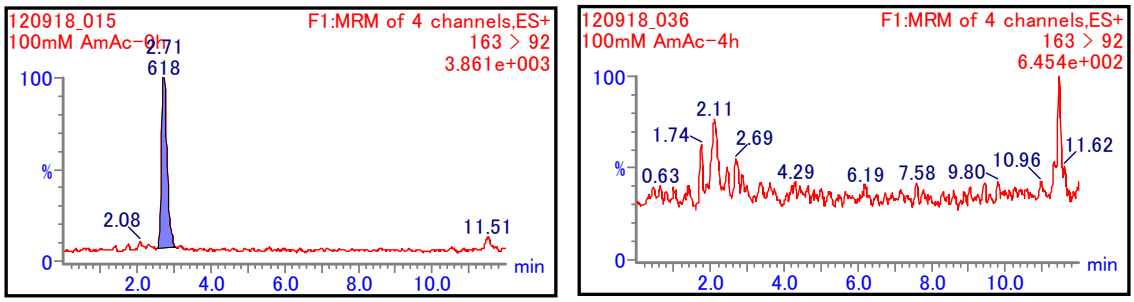


図 19　DCDMH から生成したと考えられるモノクロロ体の応答値(面積値)の推移



調製直後：河川水 2　(0 hr)　　42 日後：河川水 2　(42 day)

図 20　河川水中で DCDMH から生成したと考えられるモノクロロ体のクロマトグラム



調製直後：AmAce 水溶液　(0 hr)　　4 時間後：AmAce 水溶液　(4 hr)

図 21　DCDMH 水溶液に酢酸アンモニウムを添加して保存したときのモノクロロ体のクロマトグラム

3.　DCDMH から生成した DMH の測定結果

①精製水中では調製直後には約 20000 であった DMH の面積値が、42 日後の明所で 240000、暗所で 310000 程度まで増大した。河川水中の面積値は一定の傾向を示さず、河川水 1 と 2 の値の差も大きかった（図 22、図 24、図 25）。

②pH 5 水溶液の DMH の面積値は 28 日目まで上昇傾向を示したが、42 日後は減少していた。pH 7、pH 9、アンモニア／ギ酸 (NH_4/FoAc)各水溶液の 3 日目以降の測定値は、一定の水準で推移した（図 23）。

③酢酸アンモニウム(AmAce)水溶液では、調製直後から DMH の面積値が 150000 前後の一定の水準で推移した（図 23、図 26）。

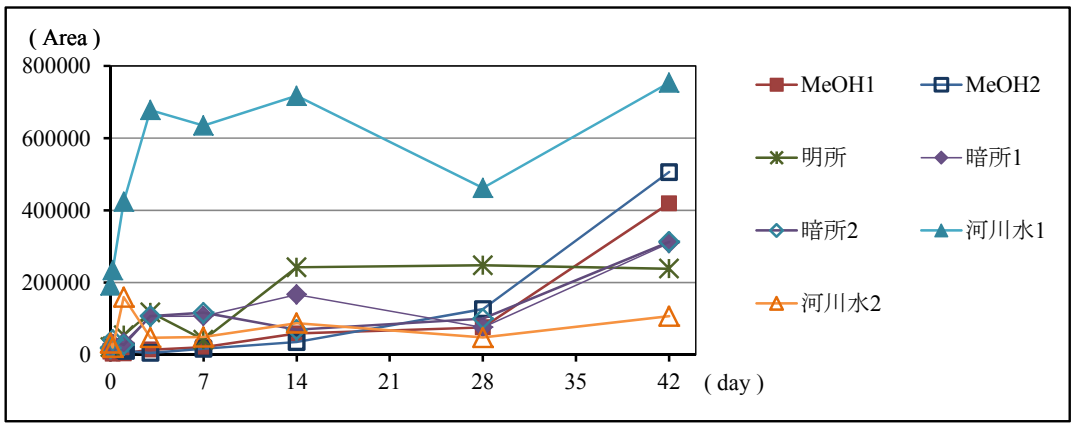


図 22　DCDMH から生成したと考えられる DMH の応答値（面積値）の推移
（精製水、河川水、メタノール溶液中）

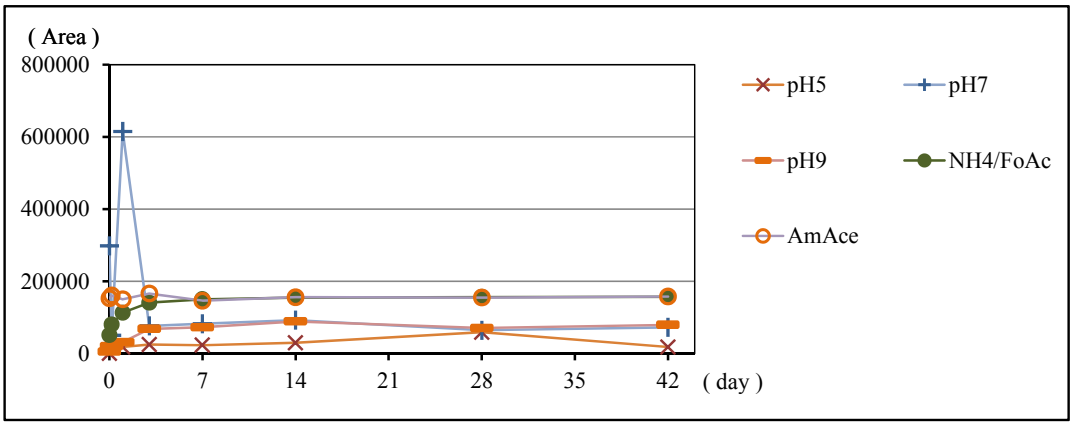
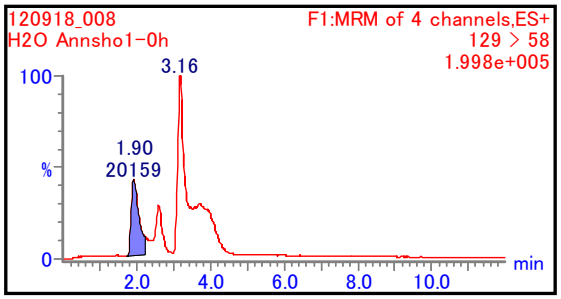
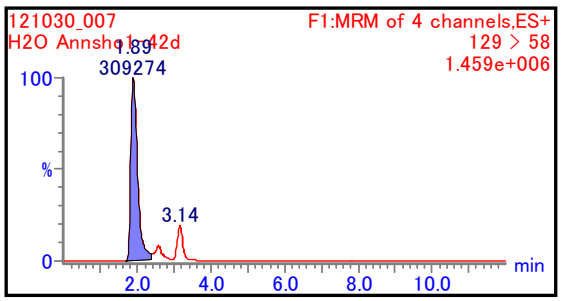


図 23　DCDMH から生成したと考えられる DMH の応答値(面積値)の推移
(pH を調製した水溶液、NH_4/FoAc、AmAce を添加した水溶液中)

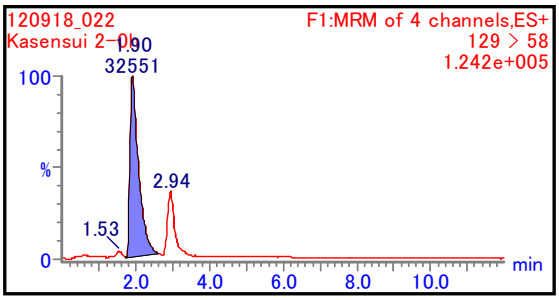


調製直後：暗所 1　(0 hr)

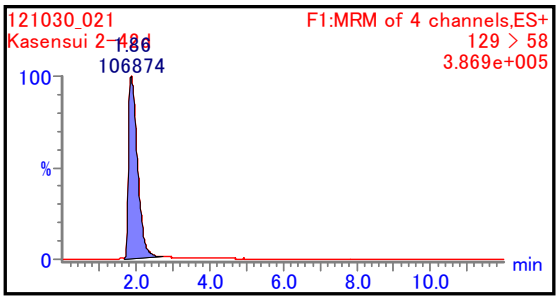


42 日後：暗所 1　(42 day)

図 24　精製水中で DCDMH から生成したと考えられる DMH のクロマトグラム

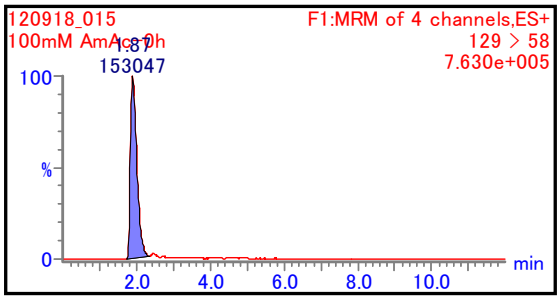


調製直後：河川水 2　(0 hr)

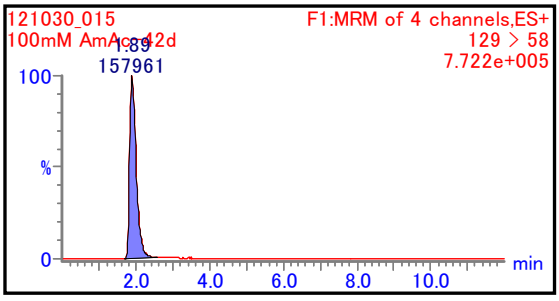


42 日後：河川水 2　(42 day)

図 25　河川水中で DCDMH から生成したと考えられる DMH のクロマトグラム



調製直後：AmAce　(0 hr)



42 日後：AmAce　(42 day)

図 26　DCDMH 水溶液に酢酸アンモニウムを添加して保存したときに生成した
DMH のクロマトグラム

＜まとめ＞

①保存性試験結果から水溶液(精製水、河川水)中の DCDMH(ジクロロ体)は、速やかにモノクロロ体まで分解することが確認された。しかし、モノクロロ体の面積値は精製水中で大きな変化がなく、河川水中でも一定期間の残存が認められた。これらのことから、水溶液中で DCDMH の 1 つ目の塩素は容易に脱離してモノクロロ体となるが、モノクロロ体の塩素はそれほど容易には脱離しないことが推測された。

②水溶液(環境水)中の DCDMH(ジクロロ体)を対象物質として分析することは、環境水で速やかに分解してしまうため不可能であると考えられた。モノクロロ体は水溶液中で比較的安定して残存するが標準試薬の入手が困難であるため、標準試薬を入手することのできる DMH を分析対象物質とした。

③水溶液(環境水)中のジクロロ体、モノクロロ体のすべての塩素を脱離して DMH として分析を行うために、酢酸アンモニウムなどの添加が必要であると考えられた。酢酸アンモニウムを添加した水溶液中では、DCDMH から生成したと考えられる DMH の応答値は試験液調製直後から安定していて、調製直後にはわずかに残存していたモノクロロ体も、調製 4 時間後には検出されなくなった。

【評価】

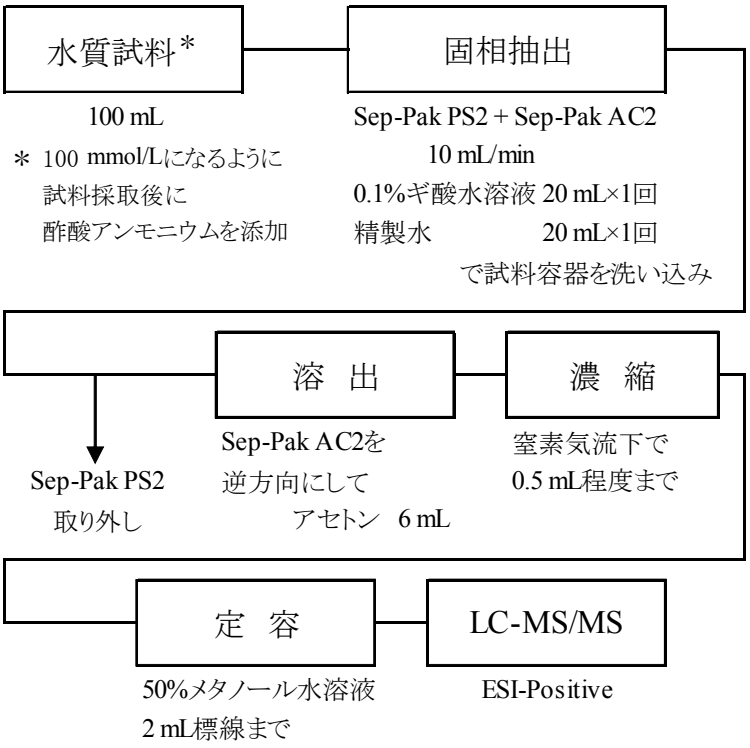
殺菌・殺藻剤等の用途として使用される DCDMH の作用や毒性等は、水溶液中で脱離した遊離塩素によると考えられる。その易分解性により分子イオンの状態でのモニタリングをすることができず、分析法の確立には至らなかった。

環境水中では DCDMH は速やかに分解し、モノクロロ体を経て DMH になると考えられ、DCDMH を DMH として分析する方法の検討を行った。水溶液に酢酸アンモニウムを添加することにより、DCDMH は 4 時間後には DMH まで分解したが、生成した DMH は 42 日後も安定していて、分析対象物質として適していると考えられた。

これまでに検討を行った範囲では、DMH の IDL 試料換算値を分子量で DCDMH に当量換算すると 22 ng/L であった。また、精製水に DCDMH 標準液を添加し、酢酸アンモニウムを加え、DMH として回収試験を行った結果、良好な回収率 (93%) が得られた。

【担当者連絡先】

所属先名称：千葉県環境研究センター
所属先住所：〒290-0046　千葉県市原市岩崎西 1-8-8
TEL：0436-23-7777、FAX：0436-23-2870
担当者名　：清水　明
E-mail　　：a.shmz5@pref.chiba.lg.jp

物質名	分析法フローチャート(参考)	備考
1,3-ジクロロ-5,5-ジメチルイミダゾリジン-2,4-ジオン 別名： 1,3-ジクロロ-5,5-ジメチルヒダントイン (DCDMH)	以下の分析フローに従い DCDMH の分解物である 5,5-ジメチルヒダントインを定量し、その測定値を当量換算して、DCDMH 値を求める。	
5,5-ジメチルイミダゾリジン-2,4-ジオン 別名： 5,5-ジメチルヒダントイン(DMH)	【水質】  	分析原理： LC/MS/MS -SRM ESI(+) 分析条件： 機器 Waters Alliance 2695 Quattro micro API カラム Inertsil ODS (250 mm× 2.1 mm, 3 μm)

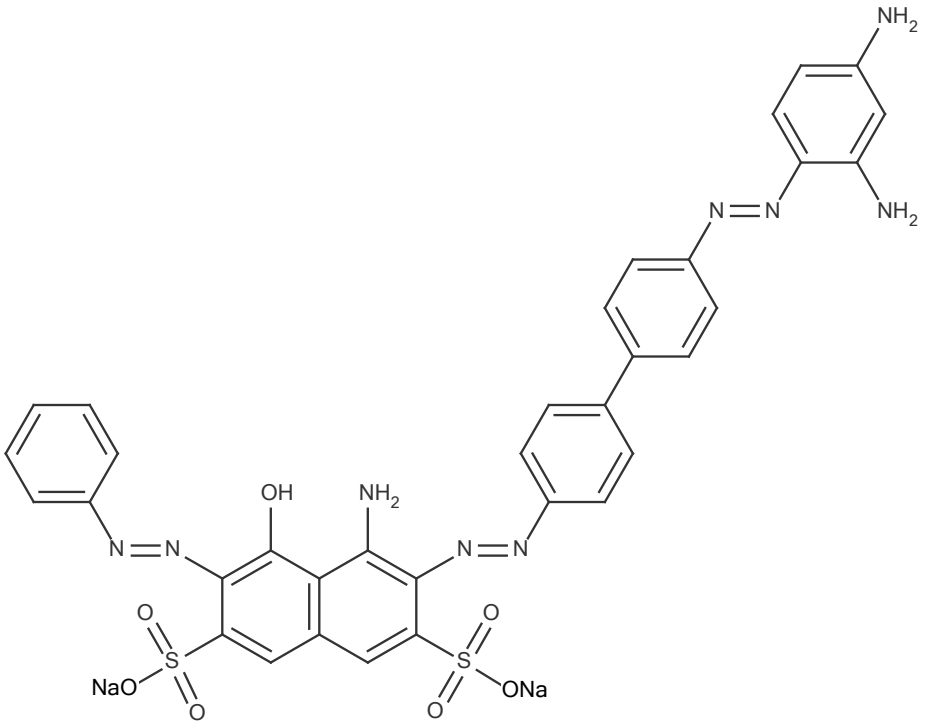
岩手県環境保健研究センター
［対象媒体：水質］

ジナトリウム=4-アミノ-3-［4'-（2,4-ジアミノフェニルアゾ）-1,1'-ビフェニル-4-イルアゾ］-5-ヒドロキシ-6-フェニルアゾ-2,7-ナフタレンジスルホナート

Disodium 4-amino-3-[[4'-[(2,4-diaminophenyl)azo][1,1'-biphenyl]-4-yl]azo]-5-hydroxy-6-(phenylazo)naphthalene-2,7-disulphonate

別名：ダイレクトブラック 38

【対象物質の構造】



CAS 番号：1937-37-7

分子式：$C_{34}H_{25}N_9Na_2O_7S_2$

【物理化学的性状】

［分子量］（平均質量） 781.7 （モノアイソトピック質量）781.2967
［蒸気圧］1.53E-36 mmHg（25°C 推定値 [1)]）
（2.03 hPa：換算値（1 mmHg = 1.33 hPa による））
［溶解性］水：3000 mg/L（25°C 推定値 [1)]）
［log P_{ow}］2.04（計算値 [1)]）

【毒性、用途等】

［実験動物に対する急性毒性情報］
マウス （経口） LD_{50}：700 mg/kg [2)]
モルモット（経口）LD_{50}：1180 mg/kg [2)]
ラット（経口） LD_{50}：1500 mg/kg [2)]
［用途］
染料 臨床試薬，循環血液量の測定 [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 5-1370 通し番号 813
化管法（PRTR 法）第二種、政令番号 2-39

出典：

1) Philip H. Howard, William M. Meylan, Handbook of Physical Properties of Organic Chemicals
2) U.S. National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH), Registry of Toxic Effects of Chemical Substances (RTECS) Database
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

採水時にメタノールを添加した水質試料を固相カートリッジに通水して対象物質を捕集し、これをメタノールで溶出・濃縮後 LC/MS/MS-SRM (ESI-Negative) 法で定量する。

この分析法で、ジナトリウム=2,2'-ビニレンビス[5-(4-モルホリノ-6-アニリノ-1,3,5-トリアジン-2-イルアミノ)ベンゼンスルホナート]（別名：フルオレスセント 260（注 1））及びナトリウム=3-(*N*-{4-[(4-{ジメチルアミノ}フェニル)(4-{*N*-エチル[(3-スルホナトフェニル)メチル]アミノ}フェニル)メチレン]-2,5-シクロヘキサジエン-1-イリデン}-*N*-エチルアンモニオ)ベンゼンスルホナート（別名：アシッドバイオレット- 49（注 2））も

同時測定可能である。

（２）試薬・器具

【試薬】

ダイレクトブラック 38	: Acros Organics 製 純度 100% （商品名：Chlorazol Black E, pure, certified）
フルオレスセント 260	: Ciba Specialty Chemicals 製 （商品名：TINOPAL AMS-GX）
アシッドバイオレット-49	: 和光純薬工業製 試薬特級 純度 99% （商品名：Acid Violet 6B）
アセトニトリル	: 和光純薬工業製 LC/MS 分析用
メタノール	: 和光純薬工業製 LC/MS 分析用
四ほう酸ナトリウム十水和物	: 和光純薬工業製 試薬特級
固相カートリッジ	: Waters 製 Sep-Pak Plus PS2
精製水	: Elix 純水製造装置（ミリポア製）で製造した逆浸透水を採水口に LC-Pak を接続した Milli-Q 超純水装置（ミリポア製）で処理したもの

【標準液の調製】

分析対象物質ダイレクトブラック 38 (DB38)、フルオレスセント 260 (F260)、アシッドバイオレット- 49(AV49)をそれぞれ正確に 100 mg 量り取り、メタノールで 100 mL に定容しそれぞれの標準原液(1000 μg/mL)とする。

【検量線用標準液】

標準原液をメタノールで順次希釈して、検量線用混合標準液を調製する。検量線用標準液の各濃度は、5.00～200 ng/mL とする。

【器具】

コンセントレーター	: Waters 製 Concentrator Plus
注射筒(5 mL)	: 固相カートリッジからの溶出に使用
ポリプロピレン製容器	: 採取容器用(250 mL)（注 3）

メスシリンダー、メスフラスコ

（３）分析法

【試料の採取及び保存等】

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。採取容器には、密栓できるポリプロピレン製の容器を用いて、予めメタノール 50 mL を入れ重量を秤量しておく。この採取容器に水質試料量約 100 mL を採取し、四ほう酸ナトリウム十水和物 0.39 g を添加し容器ごと秤量後速やかに試験操作を行う（注 3）。

【試料の前処理及び試験液の調製】

水質試料の全量（採取時添加したメタノールも含めて約150 mL）をコンディショニングした固相カートリッジ（注4）に10 mL/minで通水する（注5）。約10 mLの精製水で試料容器内を洗浄し、この洗浄水も試料を通した固相カートリッジに通す。固相カートリッジに精製水5 mLを通して洗浄後、注射筒で空気を10 mL通気して固相中の水分を除去する。その後、メタノール 2 mLで溶出し、溶出液は窒素気流下で濃縮した後、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】

水質試料と同量の精製水に50 mLのメタノール及び四ほう酸ナトリウム十水和物0.39 gを添加した試料を用いて、**【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。

【測定】

〔LC/MS/MS 測定条件〕（注 6）

[LC]

使用機器	：1200（Agilent 製）
カラム	：Eclips Plus C-18 (2.1 mm×100 mm, 1.8 µm)
移動相	：A：10 mmol/L CH_3COONH_4/H_2O　B：CH_3CN
	0→15 min　A：B = 70：30
	15→17 min　A = 70→5　B=30→95
	17→20 min　A：B = 5：95
	20→23 min　A = 5→70　B=95→30
	23→30 min　A：B = 70：30
カラム流量	：0.2 mL/min
カラム温度	：40°C
試料注入量	：5.0 µL

H25年度調査時、分析法の LC溶離条件では目的物質が溶出できず、大きな変更を要した事例があった。変更例: CH_3CN 0→2分30→60%、2→8分60% . (2014年度精査等検討会コメント)

[MS]

使用機器	：6410（Agilent 製）
ガス温度	：340°C
ガス流量	：5 L/min

脱溶媒温度　　：180°C
ネブライザーガス圧　：60 psi
イオン化法　　：ESI-Negative（イオンソースマルチモード）
キャピラリー電圧　：2500 V
測定モード　　：SRM

モニターイオン(*m/z*)と測定条件

		ﾌﾟﾚｶｰｻｰｲｵﾝ (*m/z*)*	ﾌﾟﾛﾀﾞｸﾄｲｵﾝ (*m/z*)	ﾌﾗｸﾞﾒﾝﾀｰ電圧 (V)	ｺﾘｼﾞｮﾝｴﾈﾙｷﾞｰ (V)**
DB38	定量	736.2	672.1	250	34
	確認		643.8		
	確認		631.3		
F260	定量	879.2	569.2	150	75
	確認		799.4		
	確認		648.9		
AV49	定量	710.2	630.1	280	36
	確認		540.4		
	確認		523.9		

*プレカーサーイオンの帰属：DB38 (781.30-2Na+H=736.33),
F260 (924.40-2Na+H=879.439), AV49 (733.41-Na =710.42)
**コリジョンエネルギーの欄に表示されている単位(V)は、機器モニターに表示される単位であり、一般的な電圧の単位(V)ではない。

〔検量線〕
検量線用標準液 5.00 μL 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標準物質の濃度から検量線を作成する。DB38 及び AV49 については、メインピークが 1 本観測されるだけであるが、F260 については、メインピークの前にピーク面積がメインピークの 4 割程度のピークが出現する。このため、F260 については、これら 2 本の面積の合算値を用いて検量線を作成する。

〔定量〕
試験液 5.00 μLをLC/MS/MSに注入する。検量線を用いて、得られたピーク面積より試験液中の濃度を測定する。

〔濃度の算出〕
水質試料中の濃度 (ng/L) は次式により算出する。

水質試料中の濃度(ng/L)＝検出濃度(ng/mL) × 最終液量(mL) / 試料量(L)

〔装置検出下限値(IDL)〕

本分析に用いた LC/MS/MS (Agilent LC/MS/MS 6410)の IDL を下表に示す（注 7)。

表 1　IDL 算出の結果

物質名	IDL (ng/mL)	試料量 (mL)	最終液量 (mL)	IDL 試料換算値 (ng/L)
DB38	1.9	100	1.00	19
F260	0.74	100	1.00	7.4
AV49	1.6	100	1.00	16

〔測定方法の検出下限(MDL)及び定量下限 (MQL)〕

本測定方法における MDL 及び MQL を次に示す（注 8)。

表 2　MDL 及び MQL 算出の結果

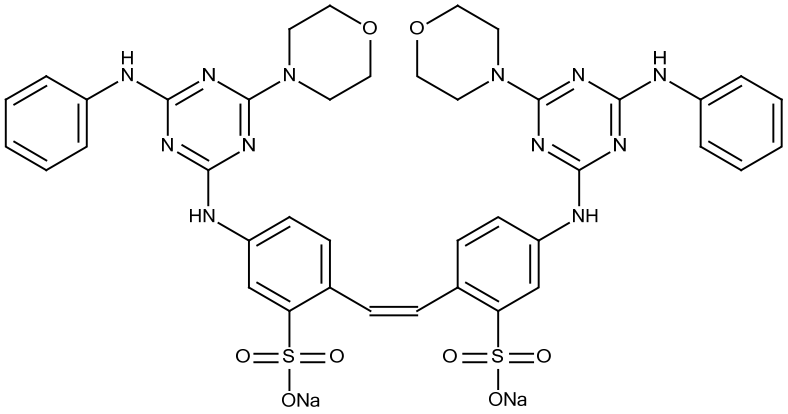
物質名	試料量 (mL)	最終液量 (mL)	MDL (ng/L)	MQL (ng/L)
DB38	100	1.00	27	70
F260	100	1.00	14	36
AV49	100	1.00	23	60

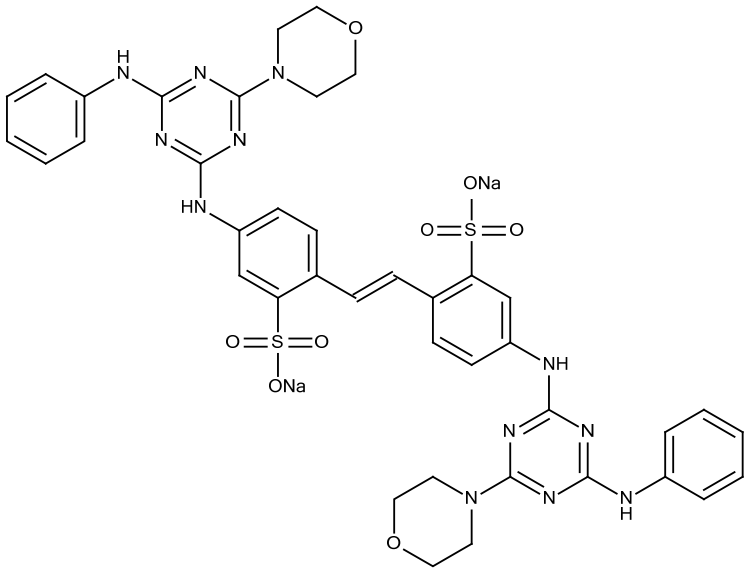
注　解

（注 1）フルオレスセント 260 の構造及び物理学的性状等を次に示す。

2,2'-(1,2-ethenediyl)bis[5-[[4-(4-morpholinyl)-6-(phenylamino)-1,3,5-triazin-2-yl]amino]- Benzenesulfonic acid], disodium salt

別名：　フルオレスセント 260





CAS 番号：16090-02-1

分子式　：　$C_{40}H_{38}N_{12}Na_2O_8S_2$

［分子量］（平均質量）924.93（モノアイソトピック質量）924.4023

［融点］　>270°C [1)]

［溶解性］<1.9 g/L [2)]

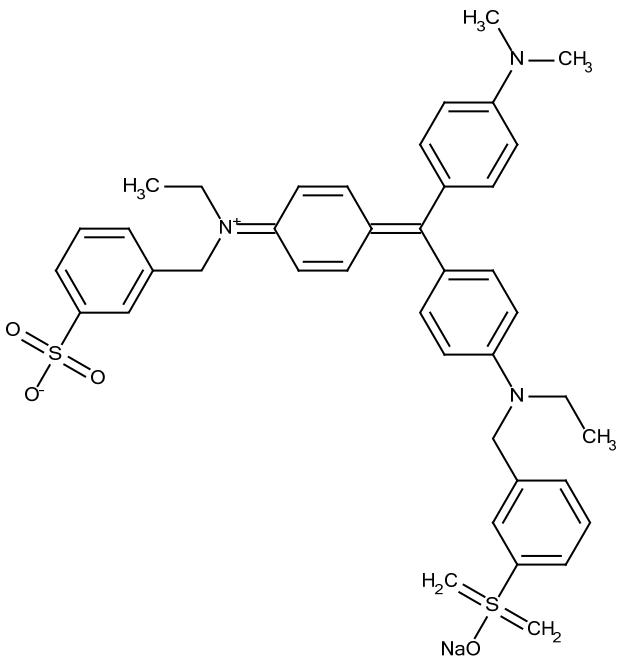
［log Pow］1.48 [3)]

【毒性】
発がん性 2　IARC　2B　日本産業衛生学会 2B　　EU 3[4)]
毒性 2　甲殻類オオミジンコ 21 日間暴露 NOEC 0.42 mg/L[5)]
【用途】染料、増白剤 [6)]
【適用法令】
化審法（平成 23 年 4 月 1 日から施行）既存、官報公示整理番号 5-2742
化管法（PRTR 法）（MSDS 制度対象）第一種、政令番号 1-199
出典：
1) International Uniform Chemical Information Database IUCLID Data Set
2) Data from SRC PhysProp Database
3) Oxford University MSDS (Material Safety Data Sheet) Information
4) 独立行政法人製品評価技術基盤機構(NITE)：化学物質管理分野化学物質総合情報提供システム(CHRIP)
5) 環境省「化学物質の生態影響試験 生態影響試験結果一覧」（平成 25 年 3 月版）
6) 独立行政法人製品評価技術基盤機構(NITE)調査

（注 2)アシッドバイオレット-49 の構造及び物理学的性状等を次に示す。

[4-[[4-(dimethylamino)phenyl][4-[ethyl(3-sulphonatobenzyl)amino]phenyl]methylene]cyclohexa-2,5-dien-1-ylidene](ethyl)(3-sulphonatobenzyl)ammonium,sodium salt

別名：アシッドバイオレット-49



CAS 番号：1694-09-3
分子式：$C_{39}H_{40}N_3NaO_6S_2$

［分子量］（平均分子量）734.9　（モノアイソトピック質量）733.4105
［融点］　245-250°C [1)]
【毒性】発がん性 2　IARC　2B　日本産業衛生学会 2B　EU 3[2)]
【用途】染料 [3)]
【適用法令】
化審法（平成 23 年 4 月 1 日から施行）既存 2 監相当、官報公示整理番号 5-1611、第二種監視化学物質相当通し番号 819、
化管法（PRTR 法）（MSDS 制度対象）第二種、政令番号 2-67
出典：
1) Oxford University MSDS (Material Safety Data Sheet) Information
2) 独立行政法人製品評価技術基盤機構(NITE)：化学物質管理分野化学物質総合情報提供システム(CHRIP)
3) 独立行政法人製品評価技術基盤機構(NITE)調査

（注 3）採水容器は、一般的なポリプロピレン製 250 mL で良い。
メタノールを添加しないと DB38 は、24 時間以内に河川水中で 90%、海水中で 50%消失する。また、DB38 は酸性の試料中でさらに消失しやすいため、試料採取時に四ほう酸ナトリウム十水和物を添加する（添加後 pH 9）。同時分析する F260 及び AV49 は、pH 9 に調整した環境試料中での分解は認められなかった（表 11）。
（注 4）メタノール 10 mL を通水した後、精製水 10 mL を通す。
（注 5）通水中に気泡が混入すると分析目的物質の回収率が 60%程度まで低下するので注意が必要である。空試験液（精製水 100 mL にメタノール 50 mL を加え、四ほう酸ナトリウム十水和物 0.39 g を添加して固相カートリッジに通水）を調製する際、試料流路接続部等において気泡が生じないことを確認すると良い。
（注 6）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 7）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。図 1 に IDL 測定時のクロマトグラムを示す。

表 3　IDL の算出結果

物質名	DB38	F260	AV49
試料量 (L)	0.100	0.100	0.100
最終液量(mL)	1.00	1.00	1.00
注入量濃度 (ng/mL)	10.0	5.0	5.0
装置注入量(μL)	5.0	5.0	5.0
結果 1 (ng/mL)	8.77	5.42	5.22
結果 2 (ng/mL)	8.25	5.32	4.52
結果 3 (ng/mL)	9.53	5.27	5.13
結果 4 (ng/mL)	9.40	5.23	4.22
結果 5 (ng/mL)	8.67	5.07	4.22
結果 6 (ng/mL)	9.53	4.84	4.57
結果 7 (ng/mL)	9.25	5.27	4.93
平均値 (ng/mL)	9.057	5.204	4.686
標準偏差 (ng/mL)	0.50	0.19	0.41
IDL (ng/mL)*	1.9	0.74	1.6
IDL 試料濃度換算 (ng/L)	19	7.4	16
S/N 比	8	29	9
CV (%)	5.5	3.7	8.8

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

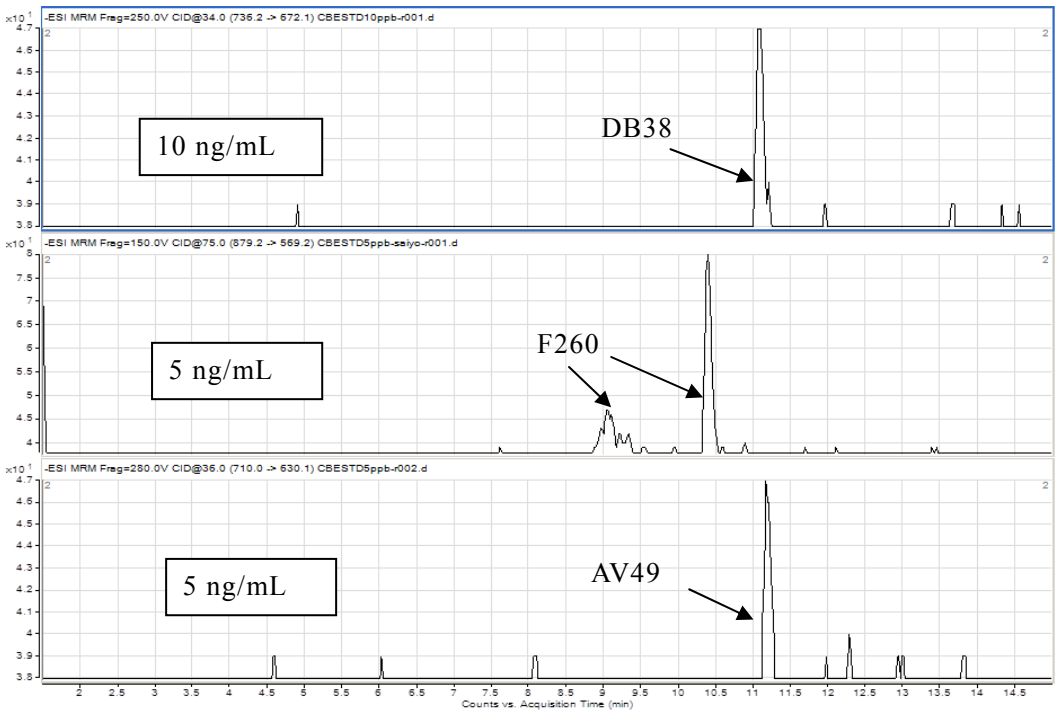


図 1　IDL 算出時のクロマトグラム

（注 8）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。図 2 に MDL 測定時のクロマトグラムを示す。

表 4　MDL 及び MQL の算出結果

物質名	DB38	F260	AV49
試料	三陸海岸大槌湾海水		
試料量 (L)	0.10	0.10	0.10
標準添加量(ng)	20.0	5.0	7.0
試料換算濃度(ng/L)	200	50.0	70.0
最終液量(mL)	1.00	1.00	1.00
注入量濃度(ng/mL)	20.0	5.00	7.00
装置注入量(μL)	5.0	5.0	5.0
操作ブランク平均(ng/L)	ND	ND	ND
無添加平均(ng/L)	ND	ND	ND
結果 1 (ng/L)	207	51.7	62.7
結果 2 (ng/L)	193	53.2	58.5
結果 3 (ng/L)	213	47.4	65.1
結果 4 (ng/L)	205	44.7	61.8
結果 5 (ng/L)	200	49.8	63.9
結果 6 (ng/L)	212	43.6	71.9
結果 7 (ng/L)	203	46.4	75.6
平均値 (ng/L)	204.7	48.10	65.64
標準偏差 (ng/L)	6.95	3.58	6.02
MDL (ng/L)	27	14	23
MQL (ng/L)	70	36	60
S/N 比	18	27	14
CV (%)	3.4	7.4	9.2

*1: 操作ブランク平均：試料マトリ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 (n = 3)

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

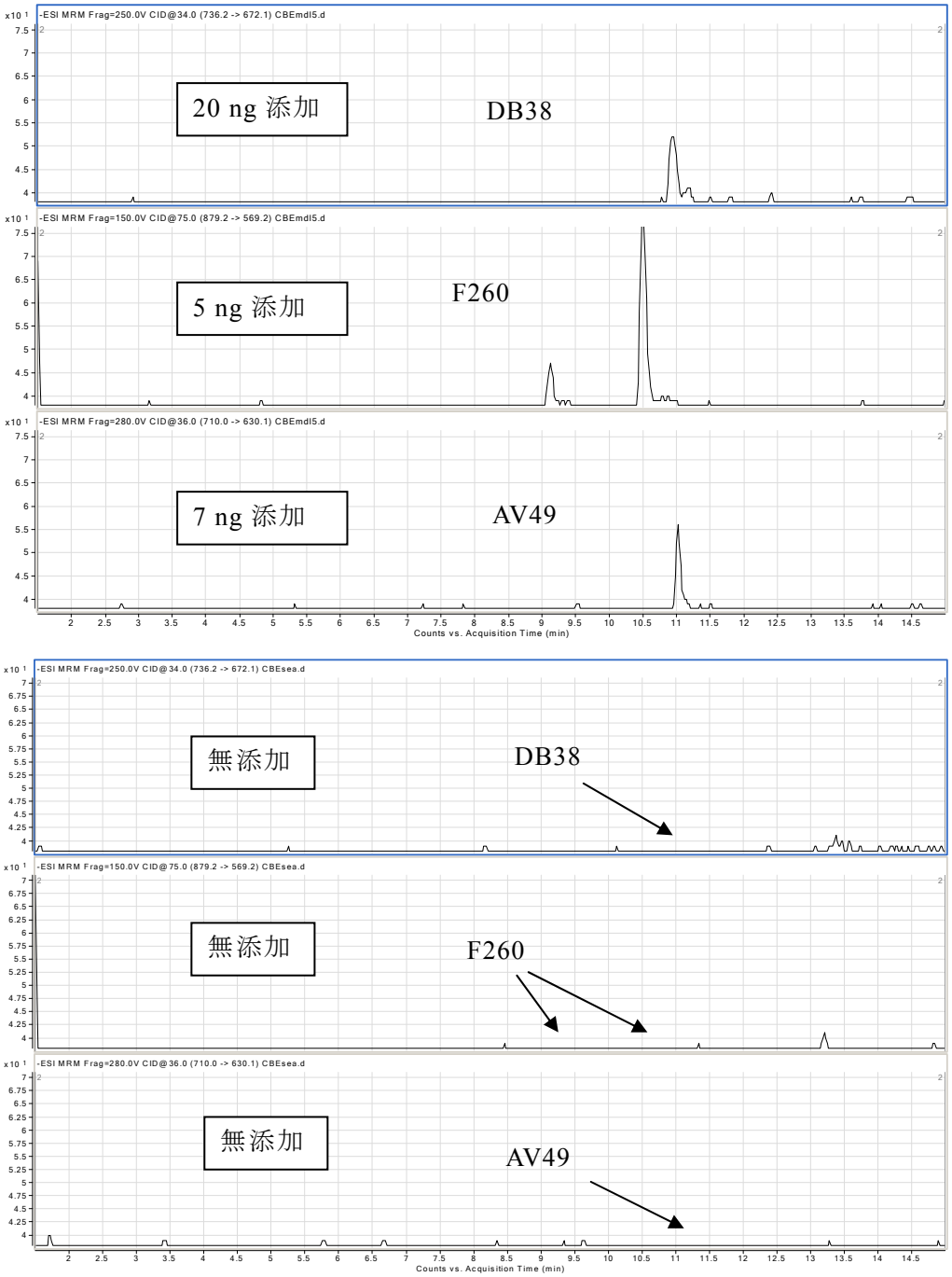


図 2　MDL 測定時のクロマトグラム

上 3 段：大槌湾海水 100 mL に DB38 を 20 ng、F260 を 5 ng、AV49 を 7 ng 添加したクロマトグラム
下 3 段：無添加大槌湾海水クロマトグラム

§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 3 に示す。

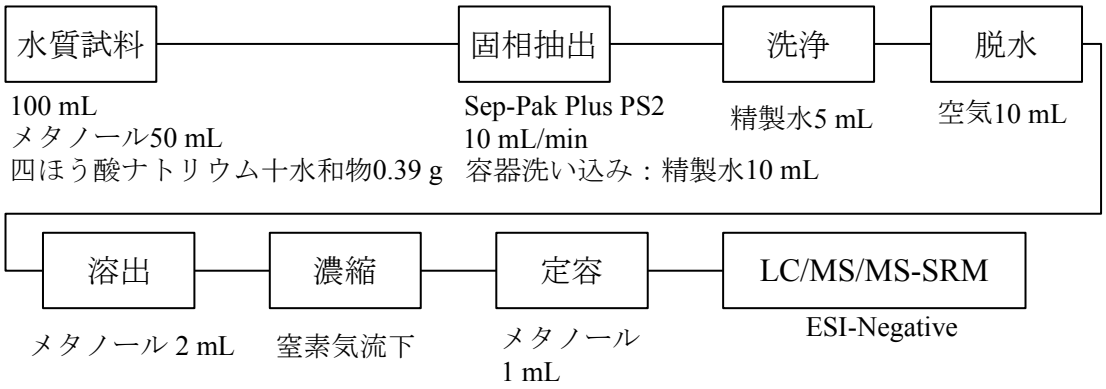
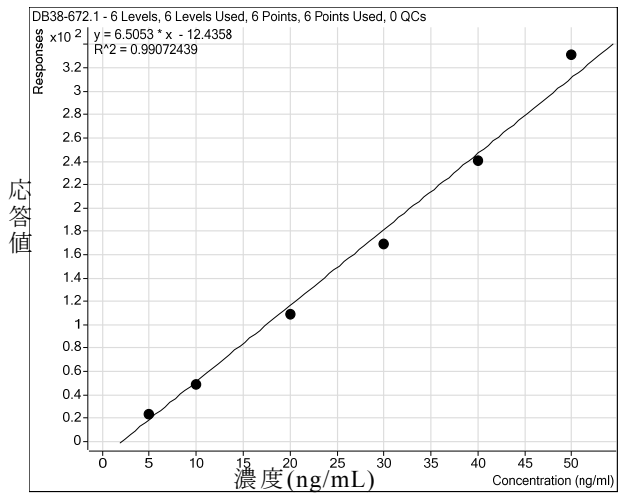


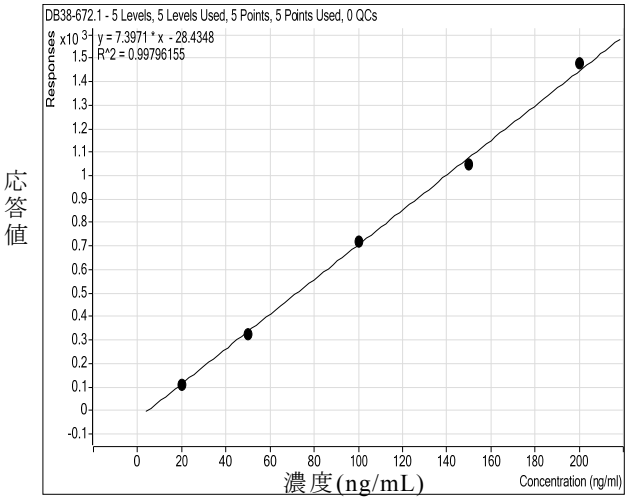
図 3　分析法のフローチャート

〔検量線〕

図 4 に DB38 の低濃度域（5～50 ng/mL）及び高濃度域（20～200 ng/mL）の検量線を示す。DB38 については、5 ng/mL 濃度を除いて検量線作成時の各濃度における確認イオンと定量イオンのピーク面積比率はほぼ一定であった（表 5）。



低濃度域 (5.00～50.0 ng/mL)



高濃度域 (20.0～200 ng/mL)

図 4　DB38(*m/z*736.2>672.1)の検量線（濃度範囲 5.00～200 ng/mL）

表 5　DB38 の検量線作成用データ

標準液濃度 (ng/mL)	DB38 ピーク面積 プロダクトイオン 定量イオン(A) (*m/z* 672.1)	確認イオン(B) (*m/z* 643.8)	確認イオン(C) (*m/z* 631.3)	面積比 B/A	C/A
5.00	23.61	9.94	2.49	0.42	0.11
10.0	49.71	16.16	14.91	0.33	0.30
20.0	109.36	34.80	32.31	0.32	0.30
30.0	169.70	63.38	59.65	0.35	0.37
40.0	238.15	84.51	81.47	0.35	0.34
50.0	331.83	113.09	113.09	0.34	0.34
100	714.73	236.75	256.56	0.33	0.36
150	1046.40	347.87	388.16	0.33	0.37
200	1478.03	456.95	508.78	0.31	0.34

*：プレカーサーイオン *m/z* 736.2

F260 は検量線作成時 2 本のピークが検出され、この面積の合算とメインピークの面積比は一定であった。F260 の定量には、2 本合算の面積を用いる（表 6）。F260 の検量線（ピーク 2 本合算）を図 5 に、参考として F260 メインピークのみの検量線を図 6 に示す。

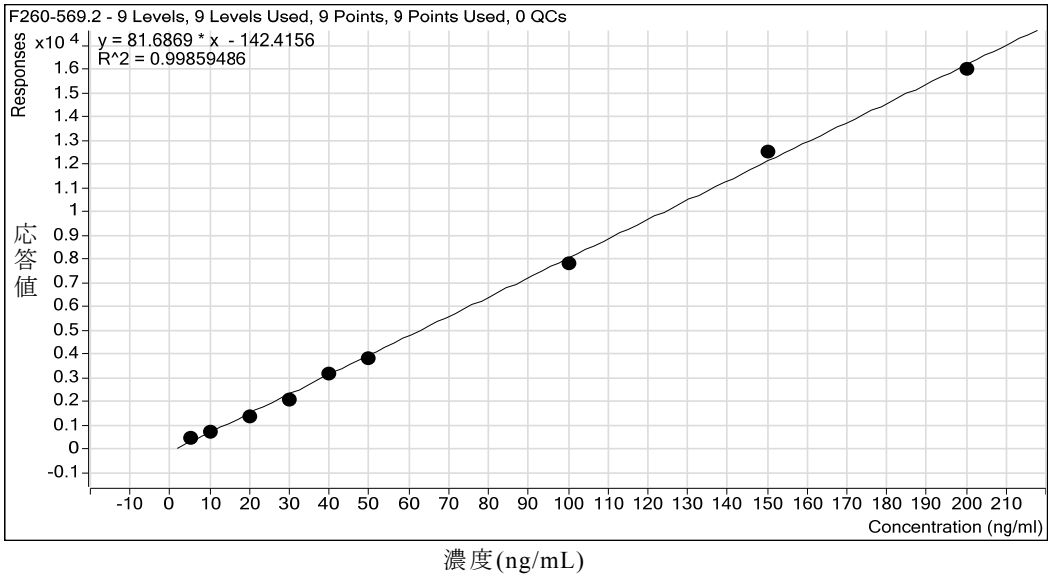


図 5　F260 (*m/z* 879.2>569.2) の検量線（2 本合算）
（対象物質濃度範囲 5.00～200 ng/mL）

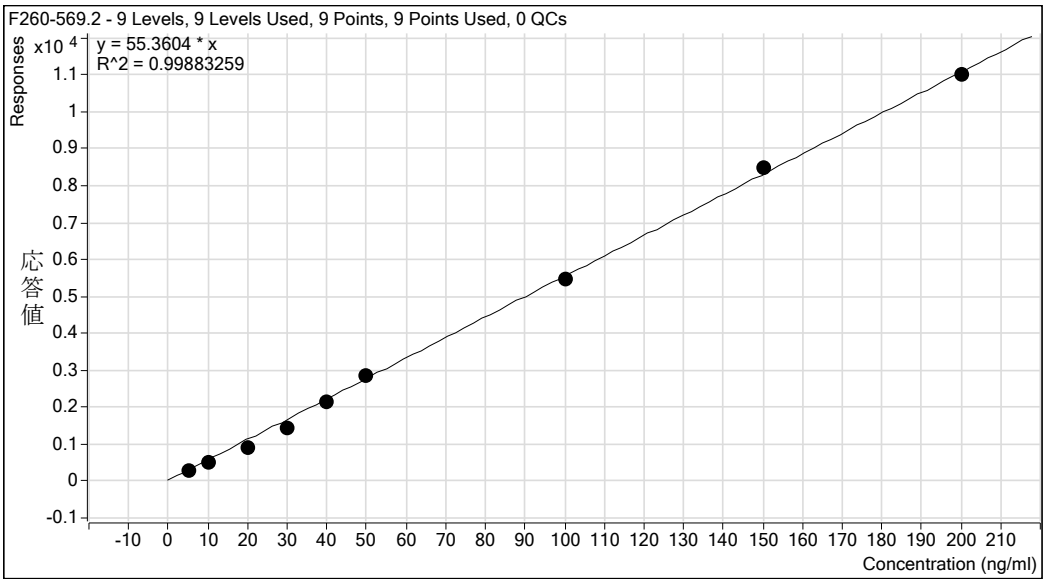


図 6　F260 (*m/z*879.2>569.2)メインピークでの検量線
（対象物質濃度範囲 5.00～200 ng/mL）

表 6　F260 の検量線作成用データ

標準液濃度 (ng/mL)	F260		
	ピーク面積 (*m/z*879.2>569.2)		面積比 B/A
	2 ピーク合算 (A)	メインピーク (B)	
5.00	442.4	284.0	0.64
10.0	708.4	502.1	0.71
20.0	1396	1019	0.73
30.0	2063	1431	0.69
40.0	3172	2158	0.68
50.0	3819	2714	0.71
100	7819	5472	0.70
150	12538	8472	0.68
200	16040	11027	0.69

AV49 の検量線を図 7 に示す。

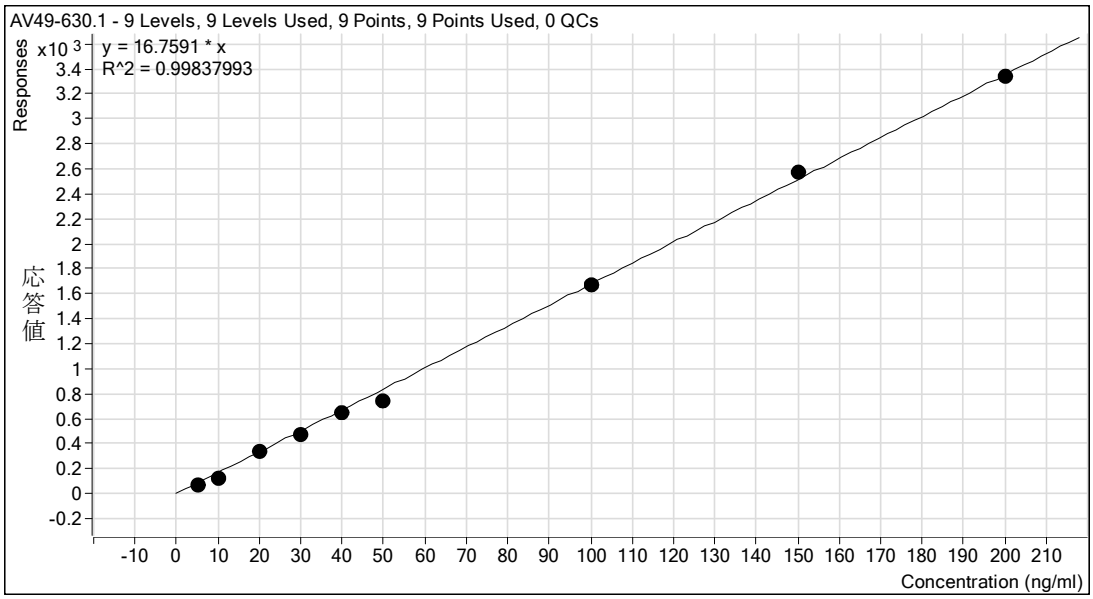


図 7　AV49 (*m/z*710.2>630.1)の検量線
（対象物質濃度範囲 5.00～200 ng/mL）

AV49 についても、検量線作成時の各濃度における確認のためのイオンと定量イオンのピーク面積比はほぼ一定であった（表 7）。

表 7　AV49 の検量線作成用データ

標準液濃度 (ng/mL)	AV49 ピーク面積 プロダクトイオン 定量イオン(A) (*m/z* 630.1)	AV49 ピーク面積 プロダクトイオン 確認イオン(B) (*m/z* 540.4)	AV49 面積比 B/A
5.00	67.1	64.6	0.96
10.0	129.3	113.1	0.87
20.0	343.0	261.0	0.76
30.0	474.1	391.5	0.83
40.0	648.7	544.3	0.84
50.0	787.4	659.3	0.84
100	1668.9	1304.6	0.78
150	2578.7	2068.6	0.80
200	3342.0	2704.3	0.81

*：プレカーサーイオン　*m/z* 710.2

〔標準液のクロマトグラム〕

標準液(100 ng/mL)のクロマトグラムを図 8 に示す。

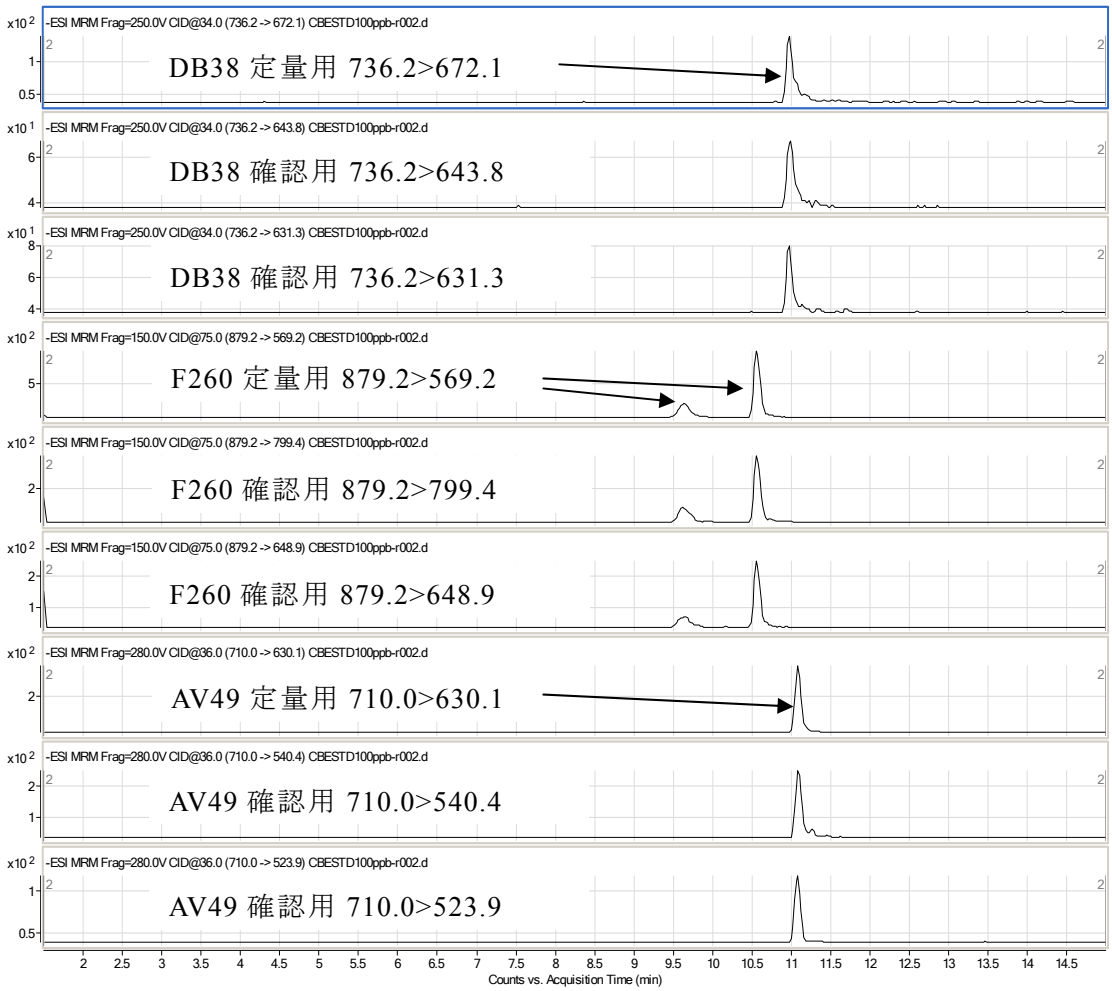


図 8　標準液(100 ng/mL)のクロマトグラム

〔マススペクトル〕

DB38 のマススペクトルを図 9～10 に示す。

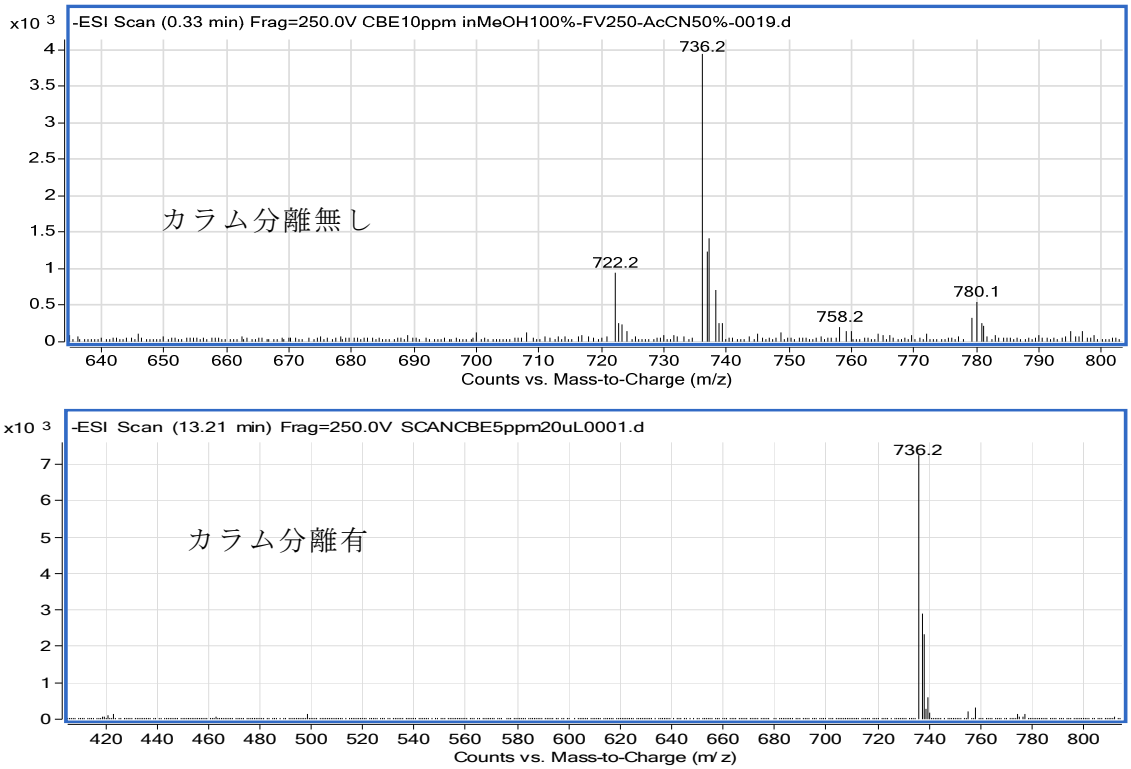


図 9　DB38 のプレカーサーイオンマススペクトル

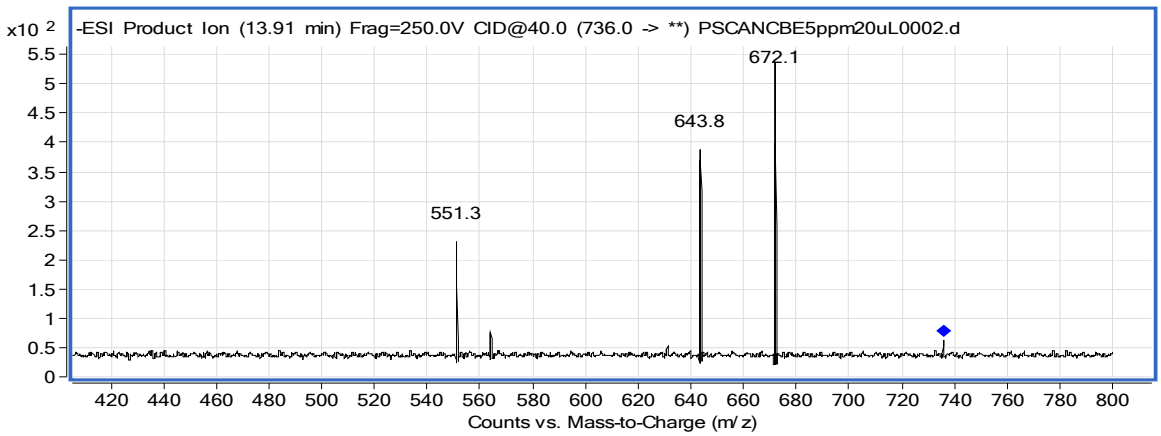


図 10　DB38 のプロダクトイオンマススペクトル
（プレカーサーイオン：*m/z* 736.2）

F260 のマススペクトル（カラム分離有）を図 11～12 に示す。

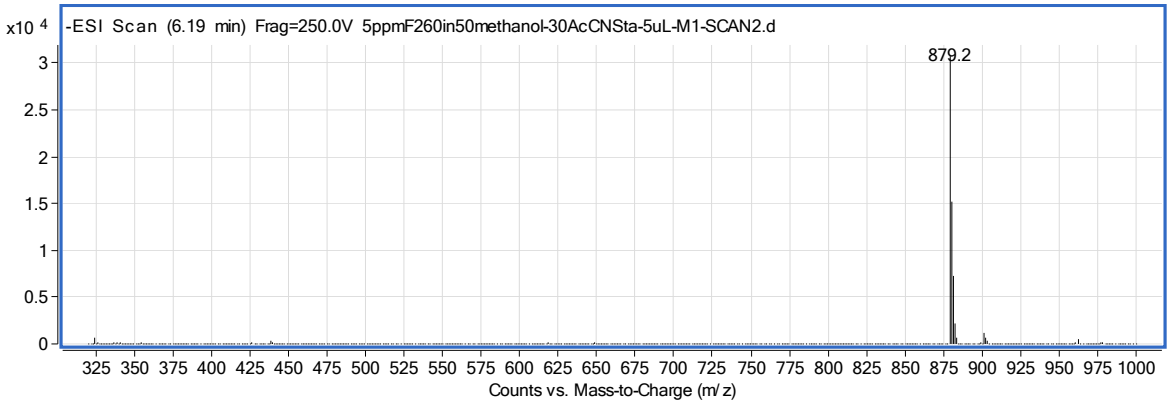


図 11　F260 のプレカーサーイオンマススペクトル

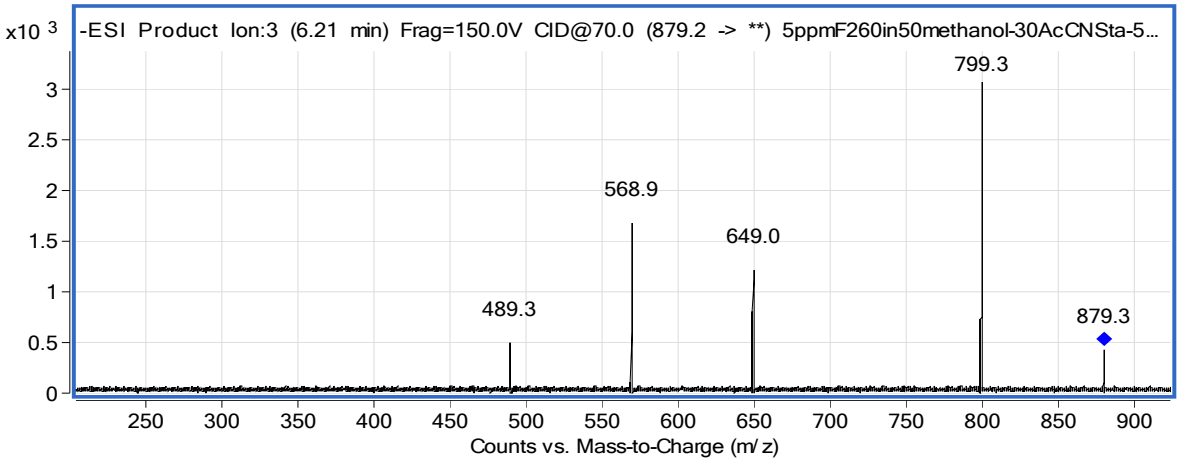


図 12　F260 のプロダクトイオンマススペクトル
（プレカーサーイオン：*m/z* 879.2）

次に AV49 のマススペクトル（カラム分離有）を図 13～14 に示す。

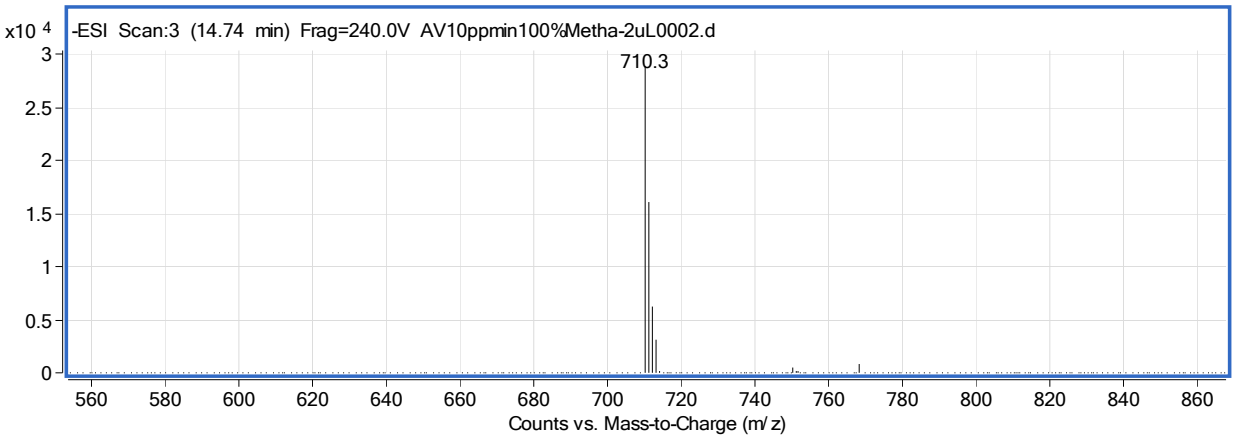


図 13　AV49 のプレカーサーイオンマススペクトル

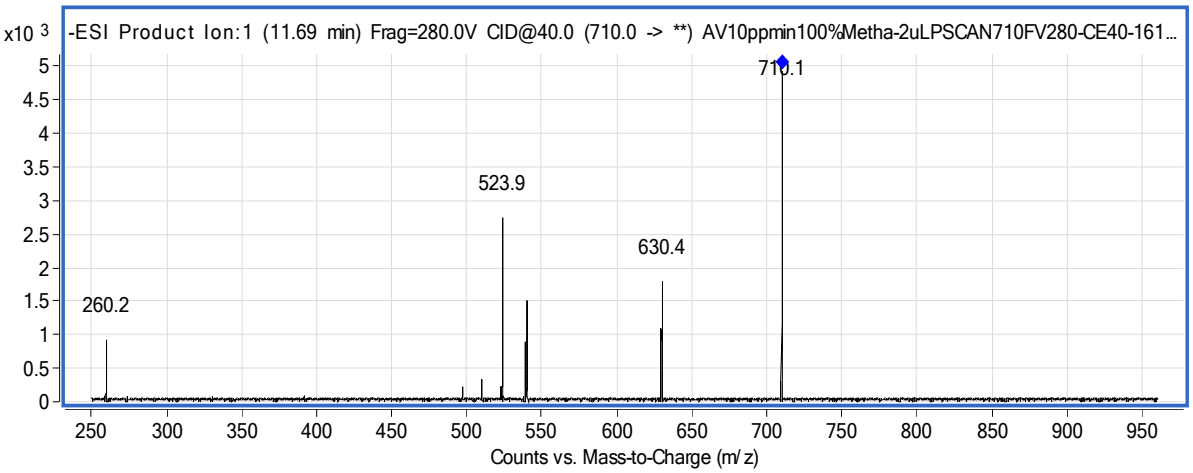


図 14　AV49 のプロダクトイオンマススペクトル
（プレカーサーイオン：*m/z* 710.2）

〔操作ブランク〕

操作ブランクのクロマトグラムを図 15 に示す。分析対象物質は、3 物質ともに操作ブランクは検出されなかった。



図 15　操作ブランクのクロマトグラム

〔添加回収試験〕

海水（三陸海岸大槌湾）及び河川水（盛岡市郊外見前川）への標準物質添加回収試験結果を表 8～10 に、河川水のクロマトグラムを図 16 に示す（海水の添加クロマトグラムは、図 2 MDL 測定時と共通）。

表 8　添加回収試験結果(DB38)

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 (%)
海水	100	無添加	3	ND	-	-
	100	20	7	205	102	3.4
	100	100	5	928	92.8	12.8
河川水	100	無添加	2	ND	-	-
	100	100	5	97.7	97.7	2.8

表 9　添加回収試験結果(F260)

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 (%)
海水	100	無添加	3	ND	-	-
	100	5	7	48.1	96.2	7.4
	100	50	5	416	83.2	8.3
河川水	100	無添加	3	325	-	4.4
	100	50	5	728	88.2	2.1

表 10　添加回収試験結果(AV49)

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 (%)
海水	100	無添加	3	ND	-	-
	100	7	7	65.6	93.8	8.2
	100	50	5	404	80.8	5.1
河川水	100	無添加	3	ND	-	-
	100	50	5	452	90.4	8.6

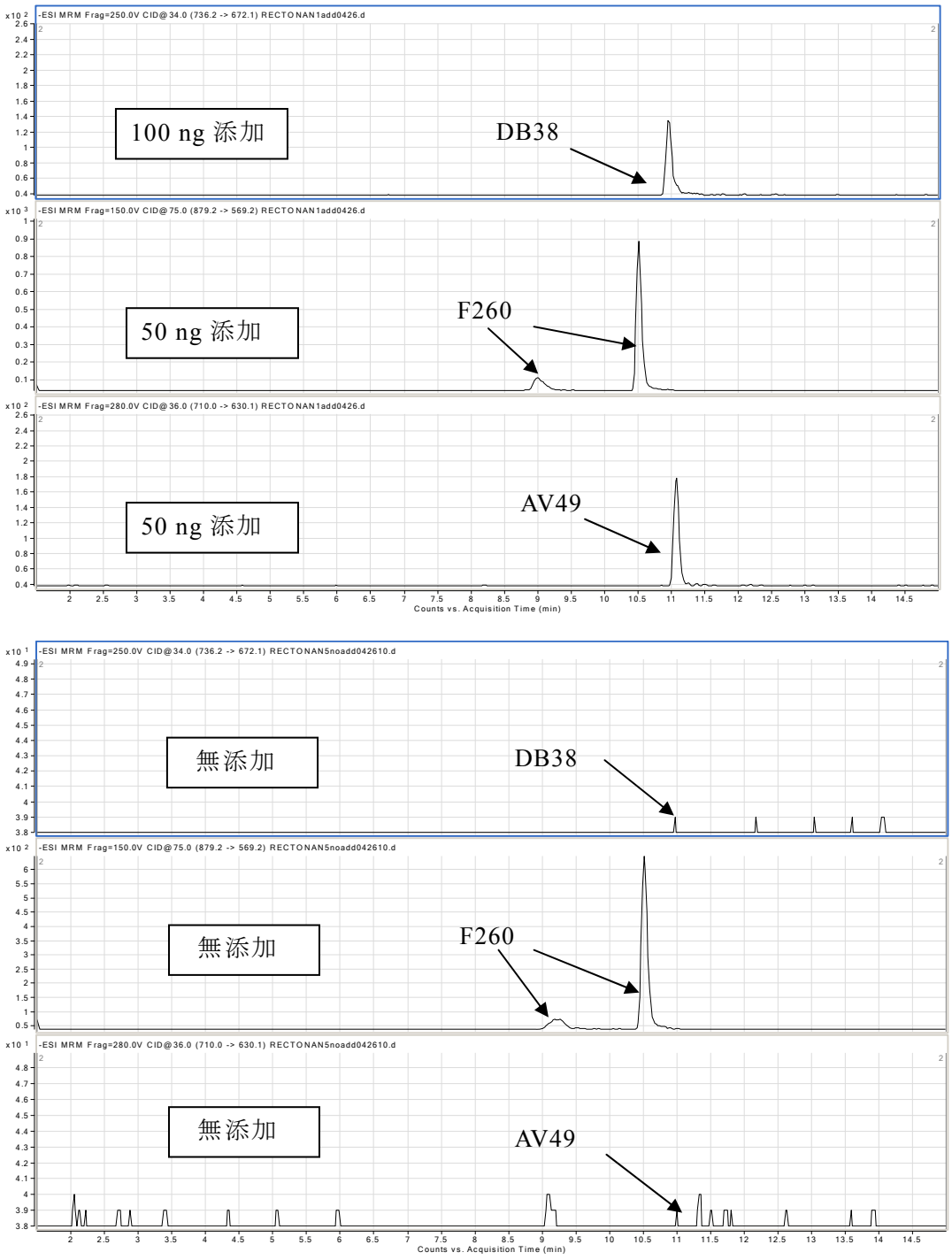


図 16　添加回収試験試料のクロマトグラム（河川水）

上 3 段：見前川河川水 100 mL に DB38 を 100 ng、F260 及び AV49 をそれぞれ 50 ng 添加したクロマトグラム
下 3 段：無添加の見前川河川水クロマトグラム
F260 が 0.33 μg/L 検出されている。

〔分解性スクリーニング試験〕

DB38 の分解性スクリーニング試験結果については、5 日後の残存率が暗所でも 20%以下となった。F260 については、明所では若干劣化が認められたが、暗所では分解性は認められなかった。AV49 については、暗所・明所ともに分解性は認められなかった（表 11）。

表 11　分解性スクリーニング試験結果

物質名	pH	初期濃度 (ng/mL)	1 時間後の残存率 (%)	5 日後の残存率(%)	
				暗所	明所
DB38	5	50	70	0	-
	7	50	90	10	0
	9	50	100	20	-
F260	5	50	100	100	-
	7	50	100	98	70
	9	50	100	100	-
AV49	5	50	100	97	-
	7	50	100	102	95
	9	50	100	98	-

〔保存性試験〕

環境水、試験液及び標準液における保存性試験結果を表 12 に示す。

本試験を実施するにあたって、D38 の濃度減衰を防ぐため、試料量に対してメタノール 50% 添加して冷暗所に一定時間保管した。また、DB38 は、分解性スクリーニング試験結果から酸性の試料中ではさらに消失しやすいことから、メタノールに加えて四ほう酸ナトリウム十水和物も各試料に対して 0.39 g 添加した（添加後 pH9）。なお、試験液は、100 mL の環境水に DB38 を 100 ng、 F260 及び AV49 を各 50 ng 添加し、本分析法により 1 mL に濃縮したものを試験に供した。

表 12　保存性試験結果

試料名			初期濃度	残存率(%)			
			(ng/mL)	1 日間	7 日間	14 日間	1 ヶ月
DB38	環境水	河川水	0.05	97	94	-	-
		海水	0.05	98	105	-	-
	試験液	河川水	100	100	98	-	94
		海水	100	-	-	-	98
	検量線	低濃度	10	-	95	90	-
	標準液	最高濃度	200	-	-	-	98
F260	環境水	河川水	0.05	100	95	-	-
		海水	0.05	100	98	-	-
	試験液	河川水	50	-	98	-	101
		海水	50	-	-	-	99
	検量線	低濃度	10	-	94	92	-
	標準液	最高濃度	200	-	-	-	99
AV49	環境水	河川水	0.05	-	96	-	-
		海水	0.05	-	100	-	-
	試験液	河川水	50	-	98	-	93
		海水	50	-	-	-	101
	検量線	低濃度	10	-	97	97	-
	標準液	最高濃度	200	-	-	-	101

〔DB38 の保存性改善の検討〕

1）2,6-ジ-*t*-ブチル-4-メチルフェノール(BHT：$C_{15}H_{24}O$)、3(2) -*t*-ブチル-4-ヒドロキシルアニソール(BHA：$C_{11}H_{16}O_2$)、6-エトキシ-2,2,4-トリメチル-1,2-ジヒドロキノリン(EMQ：$C_{14}H_{19}NO$)及びアスコルビン酸をそれぞれメタノール 20 mL に 0.1 g 溶解し、100 mL の試料（海水）に添加し効果を確認した。3 日間放置後の分析結果、BHT 及び EMQ については保存性が悪化し、アスコルビン酸及び BHA の添加でも DB38 の保存性を改善する効果は得られなかった。また、メタノール中に不純物として含まれと予想されるホルムアルデヒドを 1～数滴試料に添加したが保存性改善の効果は得られなかった。

2）メタノール添加による保存性の改善試験結果を図 17 に示す。分解性スクリーニング試験でアルカリ側の方が残存率は若干良好であったことから pH 9 に調整した海水を試験液として用いた。この試験液にメタノールを試料量に対して 10%から 50%添加してそれぞれ残存性を測定し

た。検討の結果、DB38 は、メタノール添加 40~50%で 5 日間保存が可能であった。

また、同時に検討した F260 及び AV49 については、メタノール無添加から 50%添加までのいずれの保存条件でも 90%以上残存しており保存性は良好であった。

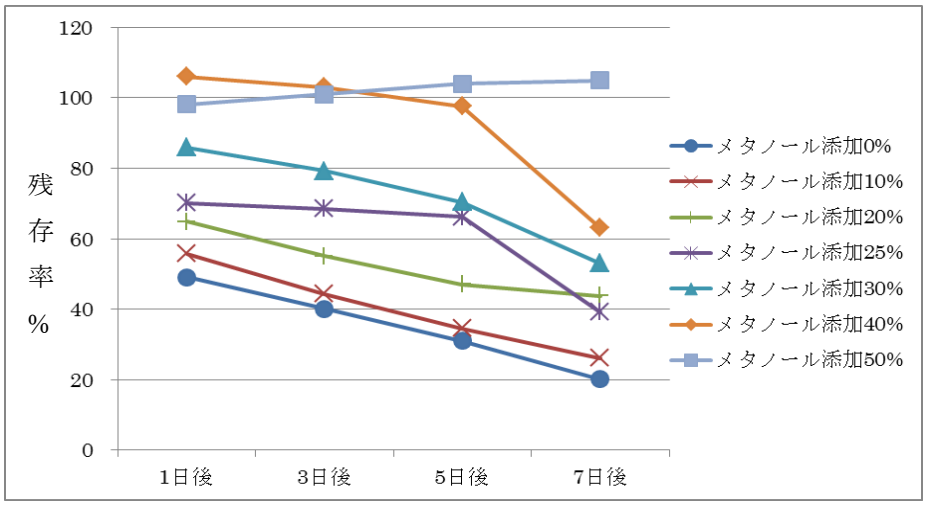


図 17　メタノール添加による DB38 保存性の改善効果

〔その他の検討結果〕

〔**DB38 の分解生成物の検討**〕

DB38 濃度 50 mg/L の水溶液を 1 か月放置後、SCAN モード（カラム分離条件は定量の条件に同じ）で分析した結果、保持時間 10.7 分の DB38 (*m/z* 736.2)のピークより大きなピークが 9.95 分(*m/z* 602.2)及び 11.9 分(*m/z* 722.3)に出現した。また、これら 2 つのピークより小さいが 15.8 分にも *m/z* 706.2 のピークが出現した。これらの物質の生成により DB38 の残存率が減少しているものと推定された。

〔固相抽出検討結果〕

1）固相カートリッジの検討

対象とした 3 物質の回収率は、C8 では 39~81%の範囲であったが、C18、PS2 及び HLB ではいずれも 70%以上の良好な回収率が得られた（表 13）。本分析法においては、環境水中の化学物質分析に多く使用されておりメタノールを添加しても回収率の良好であった PS2 を選択した。

表 13　固相カートリッジ選択検討結果(n=3)

固相	回収率(%)*		
カートリッジ	DB38	F260	AV49
C8	39.9	104	98.3
C18	72.6	98.1	96.0
PS2	79.6	100	97.0
HLB	80.7	96.6	97.6

*各物質 10 μg/L の標準液を 10 mL 添加して回収試験実施

2）固相からの溶出条件の検討

メタノールによる分析対象物質の固相からの溶出を検討した結果を次の表に示す（表 14)。メタノール 2 mL で 3 物質ともに 99%以上溶出された（目的物質の固相への吸着は表 13 と同じ)。

表 14　固相 PS2 からのメタノールによる溶出検討

溶出メタノール	回収率(%)		
	DB38	F260	AV49
0～1 mL	99.4	99.7	98.8
1～2 mL	0.6	0.3	1.2
2～3 mL	<0.1	<0.1	<0.1
3～4 mL	<0.1	<0.1	<0.1

〔検量線標準液組成及び容器検討結果〕

標準液 50 ng/mL の溶液を、メタノール 50、60、70、90 の水溶液、メタノール 100%で感度の比較を試みた。溶液の組成による感度の変化はなかった。

また、保存容器としてガラスバイヤル、プラスチックバイヤルを採用して、標準液を冷暗所に 2 週間放置したが容器の種類に起因する変化はなかった。

〔環境試料の分析〕

本法を用いて、盛岡市内の下水処理場（標準活性汚泥法）放流水の影響の強い河川水(盛岡市郊外見前川)及び東日本大震災津波被災地の海水(三陸海岸大槌湾）を測定した結果、DB38、AV49 は、いずれも MDL 未満であった。F260 については、見前川河川水から 0.33 μg/L 検出された(図 16)。

【評価】

本法における環境水質試料中のジナトリウム=4-アミノ-3-[4'-(2,4-ジアミノフェニルアゾ)-1,1'-ビフェニル-4-イルアゾ]-5-ヒドロキシ-6-フェニルアゾ-2,7-ナフタレンジスルホナート(DB38)の IDL は、1.9 ng/mL （試料換算濃度 0.019 μg/L）であり、検量線は 5.00～200 ng/mL の範囲で直線性 (r^2 > 0.99) が確認された。本分析法の MDL 及び MQL は、0.027 及び 0.070 μg/L であり操作ブランクは検出されなかった。海水 100 mL に対象物質を 0.100 μg 添加した時の回収率は、92.8%、変動係数は 12.8%であった。この結果から、本法は、環境水質試料中に含まれる DB38 の 0.1 μg/L オーダーの定量分析に適用が可能であると判断できる。また、DB38 は環境水質試料からは検出されなかった。

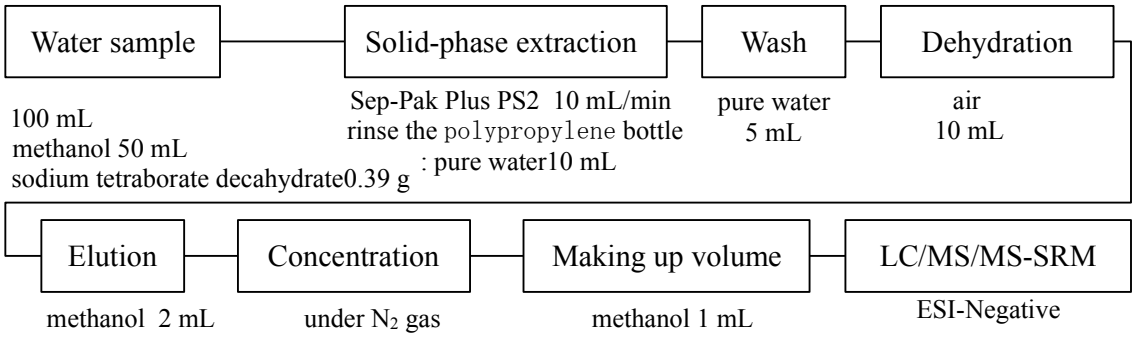
なお本法は、関連するジナトリウム=2,2'-ビニレンビス[5-(4-モルホリノ-6-アニリノ-1,3,5-トリアジン-2-イルアミノ)ベンゼンスルホナート] (F260) 及びナトリウム=3-(*N*-{4-[(4-{ジメチルアミノ}フェニル)(4-{*N*-エチル[(3-スルホナトフェニル)メチル]アミノ}フェニル)メチレン]-2,5-シクロヘキサジエン-1-イリデン}-*N*-エチルアンモニオ)ベンゼンスルホナート(AV49) を含めた同時分析が可能である。それぞれの定量下限は、F260 が 0.036 μg/L、AV49 が 0.060 μg/L であり操作ブランクは両物質ともに検出されなかった。

【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：〒020-0857 岩手県盛岡市北飯岡一丁目 11 番 16 号
TEL：019-656-5670　FAX:019-656-5671
担当者名　：佐々木和明
E-mail　：s-kazuaki@pref.iwate.jp

Disodium 4-amino-3-[[4'-[(2,4-diaminophenyl)azo][1,1'-biphenyl]-4 -yl]azo]-5-hydroxy-6-(phenylazo)naphthalene-2,7-disulphonate (DB38), 2'-(1,2-ethenediyl)bis[5-[[4-(4-morpholinyl)-6-(phenylamino)-1,3,5-triazin-2-yl]amino]-Benzenesulfonic acid], disodium salt (F260), [4-[[4-(dimethylamino)phenyl][4-[ethyl(3-sulphonatobenzyl) amino]phenyl]methylene]cyclohexa-2,5-dien-1-ylidene](Ethyl) (3-sulphonatobenzyl)ammonium,sodium salt (AV49)

This method provides procedures for determination of DB38, F260 and AV49 in surface water by liquid chromatography/tandem mass spectrometry (LC/MS/MS). Water sampling is performed using the polypropylene bottle that 50 mL of methanol and 0.39 g of sodium tetraborate decahydrate are added in beforehand. The sample is passed through a preconditioned solid phase extraction cartridge (Sep-Pak Plus PS2) at a flow rate of 10 mL/min. Then, the cartridge is washed with 5 mL of pure water. The adsorbed analytes in the cartridge are eluted with 2 mL of methanol. The eluate is concentrated under nitrogen flow, and adjusted to 1 mL with methanol. The sample solution is analyzed by LC/MS/MS-SRM (ESI negative).
The method detection limits (MDL) of DB38, F260 and AV49 are 0.027, 0.014 and 0.023 μg/L, respectively. The averages of recoveries of water samples ranged from 93 to 102% (relative standard deviation: 2.8 - 13%) for DB38, from 83 to 96% (relative standard deviation: 2.1– 8.3%) for F260 and from 81 to 94% (relative standard deviation: 5.1 – 8.6%) for AV49, respectively. Using this method, the concentration of F260 detected from river water was 0.33 μg/L.

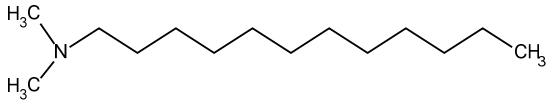


物質名	分析法フローチャート	備　　考
[1] ジナトリウム=4-アミノ-3-[4'-(2,4-ジアミノフェニルアゾ)-1,1'-ビフェニル-4-イルアゾ]-5-ヒドロキシ-6-フェニルアゾ-2,7-ナフタレンジスルホナート（別名：ダイレクトブラック 38） [2] ジナトリウム=2,2'-ビニレンビス[5-(4-モルホリノ-6-アニリノ-1,3,5-トリアジン-2-イルアミノ)ベンゼンスルホナート]（別名：フルオレスセント 260） [3] ナトリウム=3-(*N*-{4-[(4-{ジメチルアミノ}フェニル)(4-{*N*-エチル[(3-スルホナトフェニル)メチル]アミノ}フェニル)メチレン]-2,5-シクロヘキサジエン-1-イリデン}-*N*-エチルアンモニオ)ベンゼンスルホナート（別名：アシッドバイオレット- 49）	【水質】 水質試料 100 mL メタノール50 mL 四ほう酸ナトリウム十水和物0.39 g 固相抽出 Sep-Pak Plus PS2 10 mL/min 容器洗い込み：精製水10 mL 洗浄 精製水5 mL 脱水 空気10 mL 溶出 メタノール 2 mL 濃縮 窒素気流下 定容 メタノール 1 mL LC/MS/MS-SRM ESI-Negative	分析原理： LC/MS/MS-SRM (ESI-Negative) 検出下限値： 【水質】(ng/L) [1] 27 [2] 14 [3] 23 分析条件： 機器 LC：1200 (Agilent) MS：6410 (Agilent) カラム：Eclips Plus C-18 (2.1×100 mm, 1.8 μm)

福岡県保健環境研究所
［対象媒体：水質］

N,N-ジメチルドデカン-1-イルアミン
N,N-Dimethyldodecan-1-ylamine
N,N-ジメチル-*n*-オクタデシルアミン
N,N-Dimethyloctadecan-1-ylamine

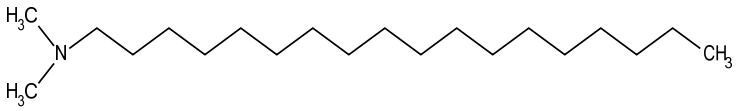
【対象物質の構造】



N,N-ジメチルドデカン-1-イルアミン(DMDA)

CAS 番号：112-18-5

分子式：$C_{14}H_{31}N$



N,N-ジメチル-*n*-オクタデシルアミン(DMOA)

CAS 番号：124-28-7

分子式：$C_{20}H_{43}N$

【物理化学的性状】

物質名	分子量	蒸気圧(mm Hg)[1)]	水溶解度(mg/L)[1)]	log P_{ow}[1)]
N,N-ジメチルドデカン-1-イルアミン	213.41	0.016 (0.021 hPa*)	8.6 (25°C)	5.44
N,N-ジメチル-*n*-オクタデシルアミン	297.57	0.000167 (0.00022 hPa*)	0.0104 (25°C)	8.39

*換算値（1 mmHg = 1.33 hPa による）

【毒性、用途】

***N,N*-ジメチルドデカン-1-イルアミン**

毒性情報　：　急性毒性 マウス（経口）LD_{50}：1450 mg/kg[2)]

用途　　：　界面活性剤、樹脂処理剤、消毒剤原料[2)]

***N,N*-ジメチル-*n*-オクタデシルアミン**

毒性情報　：　急性毒性　マウス（腹腔）LD_{50}：315 mg/kg[3)]
用途　　：　界面活性剤、樹脂処理剤、消毒剤、カチオン染料原料[4)]

出典：
1) SRC, PhysProp Database (2010)
2) 安全衛生情報センター
3) 和光純薬工業株式会社製品安全データシート
4) 独立行政法人製品評価技術基盤機構：化学物質総合情報提供システム (CHRIP)

§1 分 析 法

(1) 分析法概要

水質試料 500 mL を予めメタノール 50 mL、2 mol/L 塩酸 1mL を添加した試料採取瓶に採り、固相カートリッジに通液し、ギ酸/アセトン(1:99, v/v)で溶出した後、メタノールで 1 mL に定容し、LC/MS/MS-SRM(ESI-Positive)法で定量する。

(2) 試薬・器具

【試薬】

DMDA	：和光純薬工業製　純度97%
DMOA	：和光純薬工業製
メタノール	：和光純薬工業製　LC/MS用
アセトン	：和光純薬工業製　ダイオキシン類分析用
精製水	：超純水　和光純薬工業製　LC/MS用
ギ酸(約99%)	：和光純薬工業製　LC/MS用　約99%
2 mol/L塩酸	：和光純薬工業製　容量分析用
無水硫酸ナトリウム	：和光純薬工業製　PCB・フタル酸エステル試験用
固相カートリッジ	：Waters製　Oasis HLB Plus type 225 mg

【標準液の調製】

〔標準液〕

DMDA 20.0 mgを正確に量り取り、メタノール20 mLに溶解し、1000 mg/LのDMDA標準原液とする。同様にDMOA 20.0 mgを正確に量り取り、メタノール20 mLに溶解し、1000 mg/LのDMOA標準原液とする。

〔検量線用標準液〕

DMDA1000 mg/Lをメタノールで順次希釈し、1.00 ng/mLから100 ng/mLまでの標準液を作成する。また、DMOA1000 mg/Lをメタノールで順次希釈し、0.500 ng/mLから100 ng/mLまでの標準液を作成する（注1）。

【器具】

メスフラスコ(20 - 50 mL)、ホールピペット(0.5 - 5 mL)、マイクロピペット(10 - 100 μL)、共栓目盛付遠沈管(10 mL)、注射筒（ガラス製、10 mL, 50 mL）、固相抽出装置、ナスフラスコ(200 mL)

(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。水質試料採取瓶にメタノール50 mL及び2 mol/L塩酸1 mLを添加した後、水質試料500 mLを採取する（注2）。試料は採取後、速やかに試験操作を行う。速やかに行えない場合は、冷暗所に保存する。

【試料の前処理及び試験液の調製】（注3）

水質試料採取瓶の全量を、あらかじめコンディショニングをした固相カートリッジ（注4）に10 mL/minの流速で通液する。全量通液後、ギ酸/10%メタノール(1:99, v/v) 水溶液10 mLで瓶内を洗い、この洗浄液も固相に通液する。さらに固相にギ酸/10%メタノール(1:99, v/v) 水溶液10 mLを通して洗浄した後、注射器で空気を10 mL通気して固相カートリッジ中の水分を除去する。溶出溶媒としてギ酸/アセトン(1:99, v/v) 溶液約50 mLを用い、まず水試料が入っていた容器を洗い（約15 mLを3回程度に分けて洗う）、その洗液を固相に全量通液し、無水硫酸ナトリウムで脱水後ナスフラスコに受ける。エバポレーターで1 mL程度まで濃縮後、メタノール15 mLを添加し再度1 mL程度まで濃縮する。その後メタノールを用いて10 mLの共栓目盛付遠沈管に取り、窒素気流下で濃縮し、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】

試料水の代わりに精製水を用いて、**【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。

【測定】

〔LC/MS 測定条件〕

［LC 条件］

機種　　：Waters 製　Alliance 2695

カラム　　：Atlantis T3 (2.1×50 mm, 5μm)
移動相　　：A: ギ酸/メタノール(0.1:99.9),　B: ギ酸/精製水(0.1:99.9)
　　0→2 min　　A: 50→100,　B: 50→0　linear gradient
　　2→15 min　　A: B=100: 0
　　15→25 min　A: B=50: 50
流量　　：0.2 mL/min
カラム温度：40°C
試料注入量：10 μL
［MS 条件］
機種　　：Waters 製　Quattro micro API
イオン化法　　：ESI-Positive
キャピラリー電圧　　：2.0 kV
コーン電圧　　：35 V (DMDA)、45 V (DMOA)
ソース温度　　：120°C
デゾルベーション温度：450°C
コーンガス量　　：50 L/hr
デゾルベーション流量：650 L/hr
コリジョンエネルギー：20 eV (DMDA)、27 eV (DMOA)
モニターイオン　　：DMDA; *m/z* 214.3>46.0、DMOA; *m/z* 298.3>46.0（注 5）

〔検量線〕
検量線用標準液 10 μL を LC/MS に注入し、対象物質の濃度と得られたピーク面積から DMDA 及び DMOA の検量線を作成する。

〔定量〕
試験液 10 μL を LC/MS に注入し、対象物質のピーク面積から DMDA 及び DMOA の検出濃度を求める。

〔濃度の算出〕
試料水中濃度は次式により算出する。

水質試料中の濃度(ng/L) = 検出濃度(ng/mL) × 最終液量(mL) / 試料量(L)

〔装置検出下限(IDL)〕

本分析に用いた LC/MS（Waters 製 Alliance 2695/Quattro micro API）の IDL を表 1 に示す（注 6）。

表 1　IDL 算出結果

物質	IDL (ng/mL)	試料量 (L)	最終液量 (mL)	IDL 試料換算値 (ng/L)
DMDA	0.15	0.500	1.00	0.30
DMOA	0.079	0.500	1.00	0.16

〔測定方法における検出下限値(MDL)及び定量下限値(MQL)〕

本測定方法における MDL 及び MQL を表 2 に示す（注 7）。

表 2　MDL 算出結果

物質	試料名	試料量 (L)	最終液量 (mL)	MDL (μg/L)	MQL (μg/L)
DMDA	海水	0.500	1.00	0.0047	0.012
DMOA	海水	0.500	1.00	0.00080	0.0021

注　解

（注1）DMOAの試薬中に、不純物としてDMDAが微量に含まれているため、標準液は別々に作製する。

（注2）試料採取の際、試料瓶にあらかじめメタノール50 mL及び2 mol/L塩酸1 mLを添加し重量を量っておく。試料採取後、再び重量を量り、重量差から水試料の体積を求める（海水の体積は、重量を1.03で除して求める）。

（注3）ブランクが確認される場合は、ガラス器具を溶出溶媒（ギ酸/アセトン(1:99)、もしくは2 mol/L塩酸を添加したアセトン）に一晩浸した後使用する。

（注4）固相カートリッジは、使用直前にギ酸/アセトン(1:99, v/v) 20 mL、ギ酸/10%メタノール(1:99, v/v) 水溶液20 mLでコンディショニングする。

（注 5）プロダクトイオンを *m/z* 57.0 とすると妨害ピークが確認されたため、*m/z* 46.0 を選択した。

（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。また、図 1 に IDL 測定のためのクロマトグラムを示した。

H25年度調査では、いずれの分析機関も操作ブランクが見られた。分析法に記載された低減方法(注3)の他、前処理に用いている全自動固相抽出装置のシリンジを新しいものと交換し、溶出溶媒で洗浄したところ、操作ブランクが低減したとの報告があった。ただし、洗浄後の操作ブランクレベルが分析法開発機関と同程度となったもので、追加的な低減策ではない。(2014年度精査等検討会コメント)

表 3　IDL の算出結果（Waters　Alliance 2695/Quattro micro API）

物質名	DMDA	DMOA
試料量 (L)	0.500	0.500
最終液量 (mL)	1.00	1.00
注入液濃度 (ng/mL)	1.00	0.500
装置注入量 (μL)	10.0	10.0
結果 1 (ng/mL)	0.931	0.503
結果 2 (ng/mL)	0.953	0.530
結果 3 (ng/mL)	0.853	0.499
結果 4 (ng/mL)	0.869	0.494
結果 5 (ng/mL)	0.860	0.476
結果 6 (ng/mL)	0.876	0.532
結果 7 (ng/mL)	0.923	0.518
平均値 (ng/mL)	0.8950	0.5074
標準偏差 (ng/mL)	0.0397	0.0203
IDL (ng/mL)*	0.15	0.079
IDL 試料濃度換算値 (ng/L)	0.30	0.16
S/N 比	12	11
CV (%)	4.4	4.0

*IDL=t(n-1,0.05)×σ_{n-1}×2

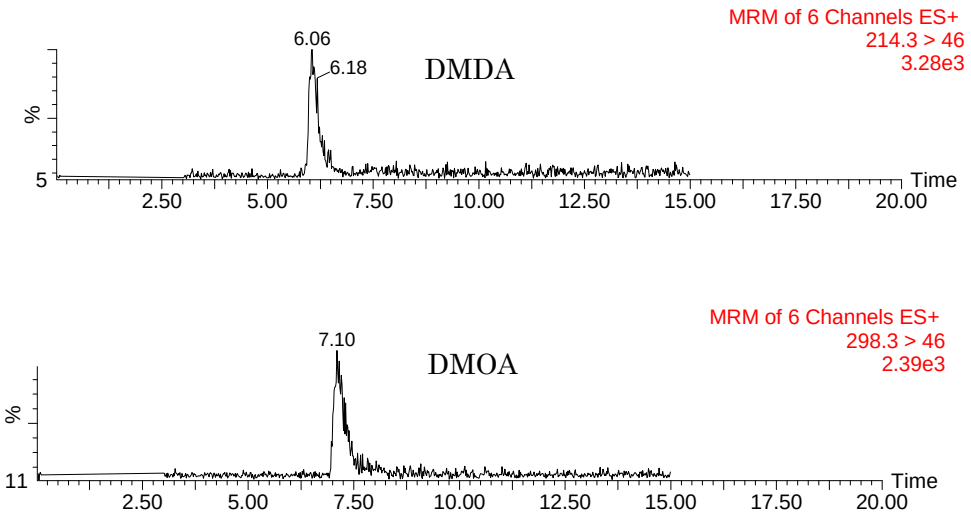


図1　IDL測定時のクロマトグラム(DMDA:1.00 ng/mL, DMOA:0.500 ng/mL)

（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のとおりに算出した。また、図2にMDL測定時のクロマトグラムを示した。

表 4　MDL 及び MQL の算出結果

物質名	DMDA	DMOA
試料	海水	海水
試料量 (L)	0.500	0.500
標準添加量(μg)	0.00500	0.00250
試料換算濃度(μg/L)	0.0100	0.00500
最終液量 (mL)	1.00	1.00
注入液濃度 (ng/mL)	5.00	2.50
装置注入量 (μL)	10.0	10.0
操作ﾌﾞﾗﾝｸ平均 (μg/L)[*1]	<0.0047	<0.00080
無添加平均 (μg/L)[*2]	<0.0047	<0.00080
結果 1 (μg/L)	0.0119	0.00452
結果 2 (μg/L)	0.0110	0.00396
結果 3 (μg/L)	0.0096	0.00392
結果 4 (μg/L)	0.0122	0.00420
結果 5 (μg/L)	0.0091	0.00400
結果 6 (μg/L)	0.0109	0.00405
結果 7 (μg/L)	0.0121	0.00407
平均値 (μg/L)	0.01096	0.004104
標準偏差 (μg/L)	0.00122	0.000206
MDL (μg/L)[*3]	0.0047	0.00080
MQL (μg/L)[*4]	0.012	0.0021
S/N 比	67	62
CV (%)	11	5.0

[*]1　操作ブランク平均：試料マトリ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(n=2)

[*]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(n=2)

[*]3　$MDL=t(n-1,0.05)\times\sigma_{n-1}\times2$

[*]4　$MQL=\sigma_{n-1}\times10$

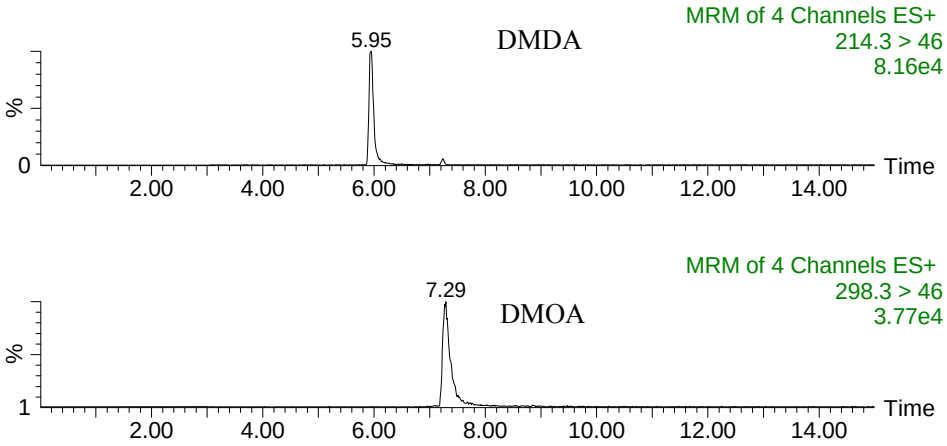


図2　MDL試験試料のクロマトグラム

§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3に示す。

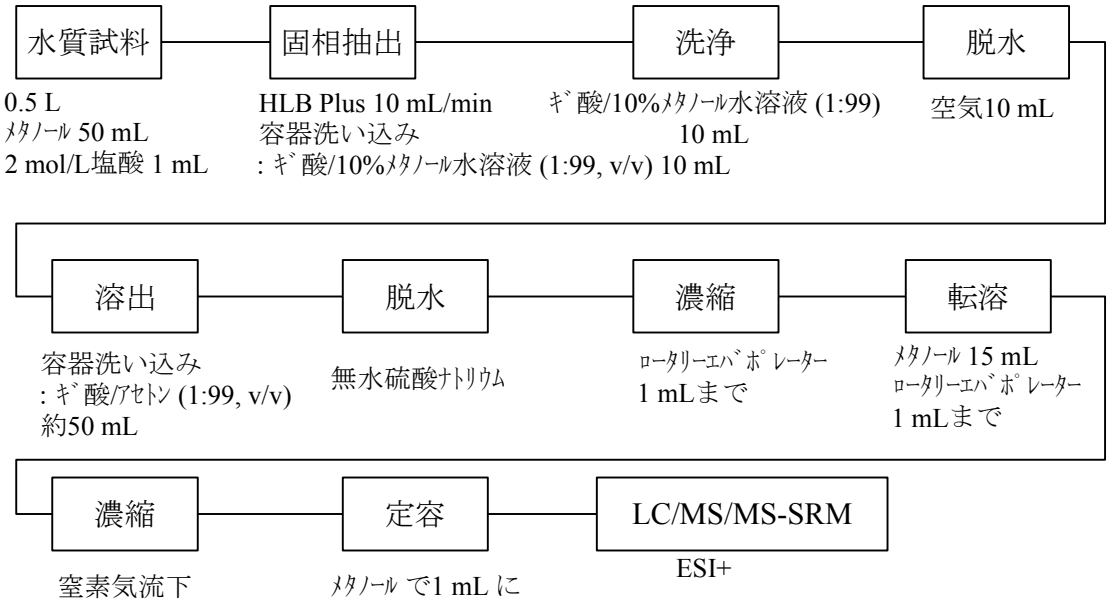


図3　分析法のフローチャート

〔検量線〕

検量線作成用データを表5に、検量線を図4-1、4-2に示す。検量線測定時のクロマトグラムを図5に示す。

表 5 検量線作成用データ

標準液濃度 (ng/mL)	応答値	
	DMDA *m/z* 214.3>46.0	DMOA *m/z* 298.3>46.0
0.500	-	1198
0.500	-	1264
1.00	1436	2373
1.00	1482	2399
5.00	7401	12287
5.00	7288	12339
10.0	14098	25739
10.0	13759	25282
25.0	33446	62103
25.0	33259	62262
50.0	67169	121786
50.0	67374	124027
100	125335	238930
100	126031	238645

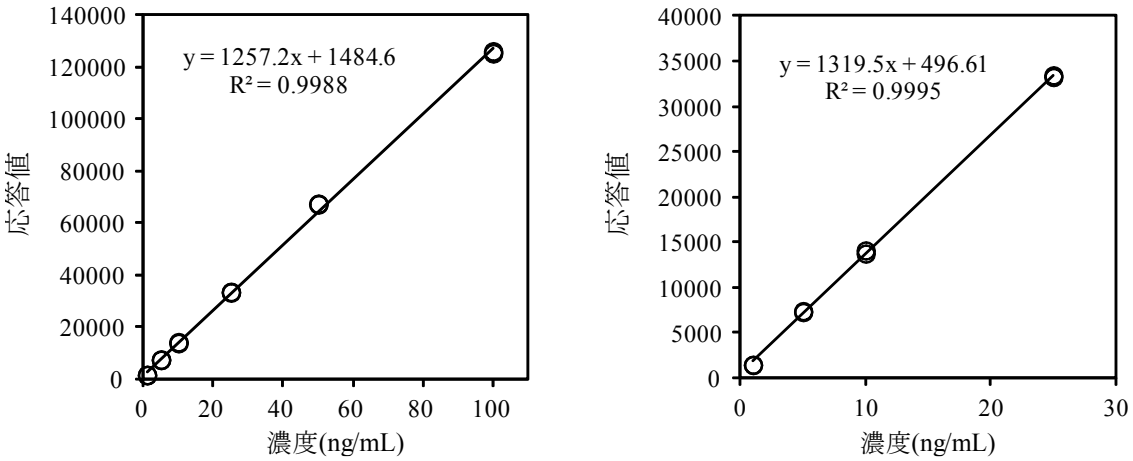


図4-1　DMDAの検量線

（対象物質濃度範囲：1.00~100 ng/mL（左図）；1.00~25.0 ng/mL（右図））

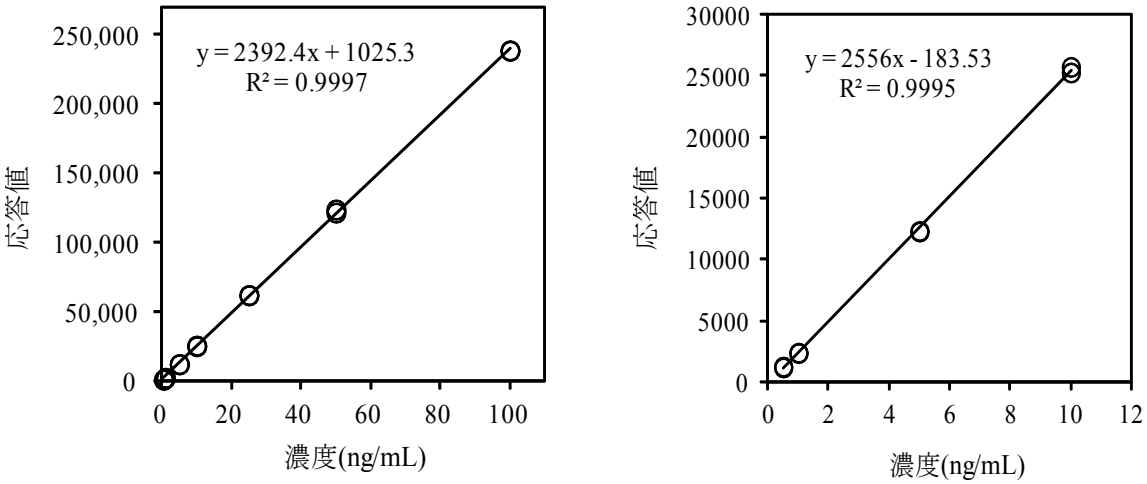


図4-2　DMOAの検量線

（対象物質濃度範囲：0.500-100 ng/mL（左図）；0.500-10.0 ng/mL（右図））

〔標準液のクロマトグラム〕

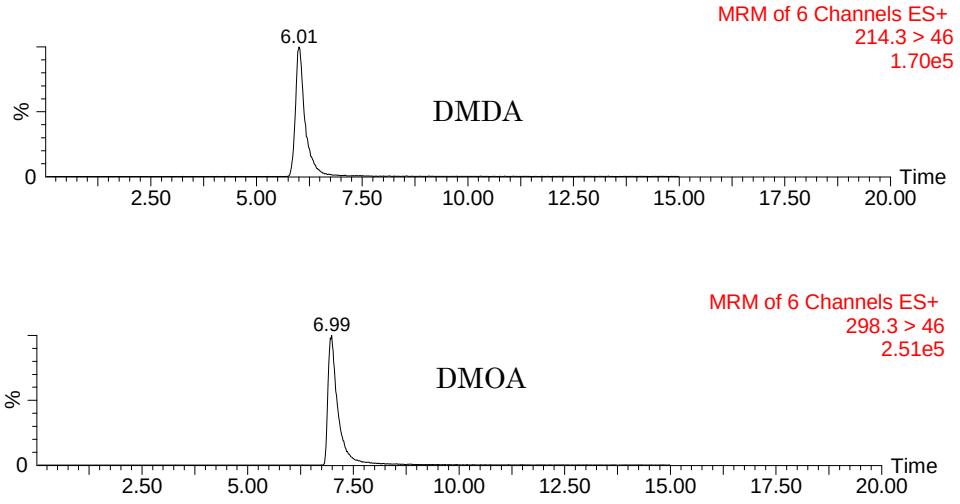


図 5　DMDA、DMOA （各 50.0 ng/mL）のクロマトグラム

〔マススペクトル〕

DMDA、DMOA のマススペクトルを図 6、図 7 に示す。

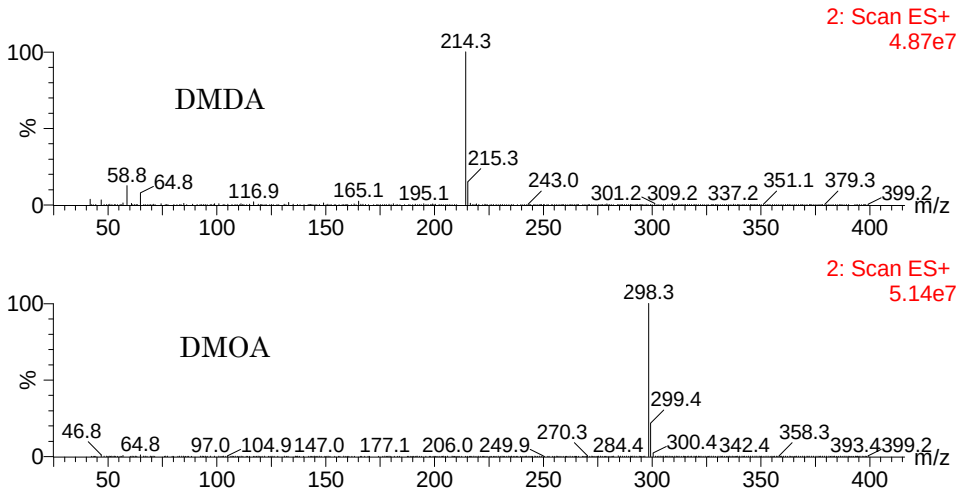


図 6　DMDA、DMOA のマススペクトル

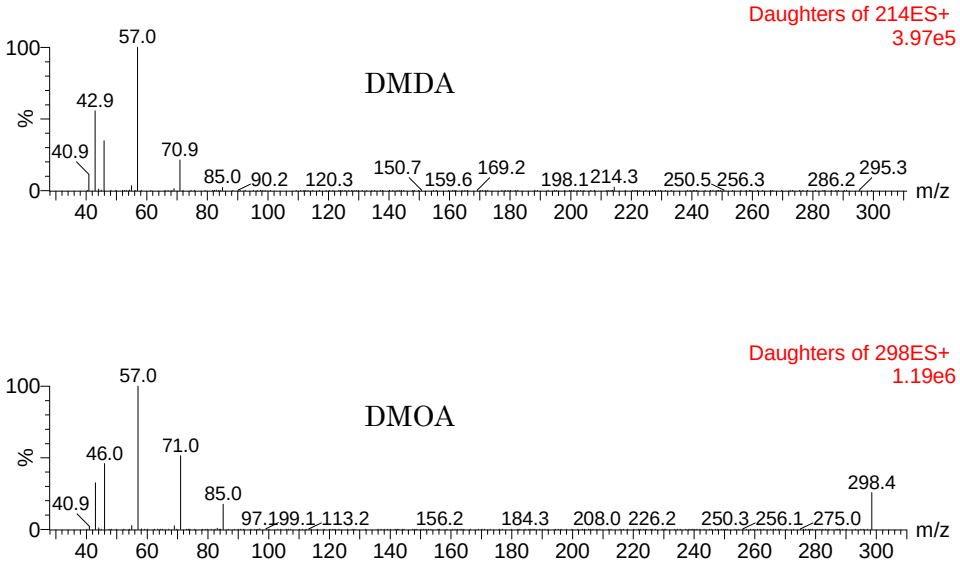


図 7　プレカーサーイオン DMDA：*m*/*z* 214、 DMOA：*m*/*z* 298 の
プロダクトイオンのマススペクトル

〔操作ブランク試験〕

操作ブランク試験結果を表 6 に、測定時のクロマトグラムを図 8 に示す。2 物質とも、MDL 未満であった。

表6　操作ブランク試験結果

物質名	試験数	検出濃度 (μg/L)
DMDA	2	<0.0047
DMOA	2	<0.00080

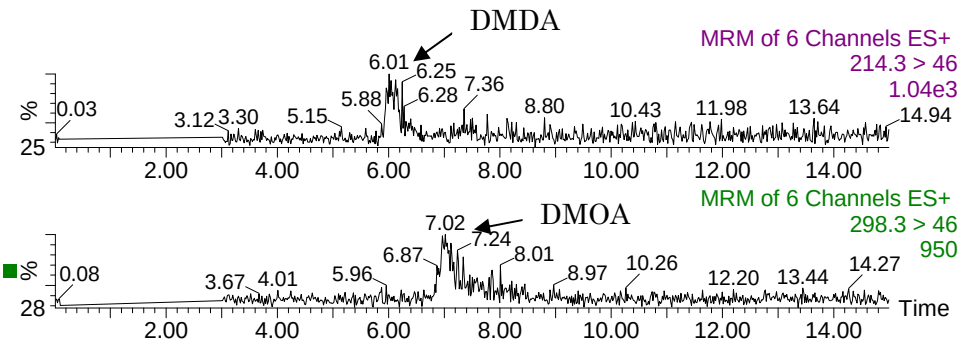


図8　操作ブランクのクロマトグラム

〔添加回収試験〕

河川水（雷山川）及び海水（大牟田沖）への標準物質添加回収試験結果を表7に、また測定時のクロマトグラムを図9～11に示す。回収率は86～102%で良好であった。

表7　添加回収試験結果

物質名	試料	試料量 (L)	添加量 (μg)	最終液量 (mL)	試験数	検出濃度 (μg/L)	回収率 (%)	変動係数 (%)
DMDA	河川水	0.45	無添加	1	2	<0.0047	-	-
		0.45	0.01	1	5	0.019	86	5.0
	海水	0.45	無添加	1	2	<0.0047	-	-
		0.45	0.01	1	5	0.022	98	3.1
DMOA	河川水	0.45	無添加	1	2	<0.00080	-	-
		0.45	0.005	1	5	0.0098	88	7.7
	海水	0.45	無添加	1	2	<0.00080	-	-
		0.45	0.005	1	5	0.011	102	7.0

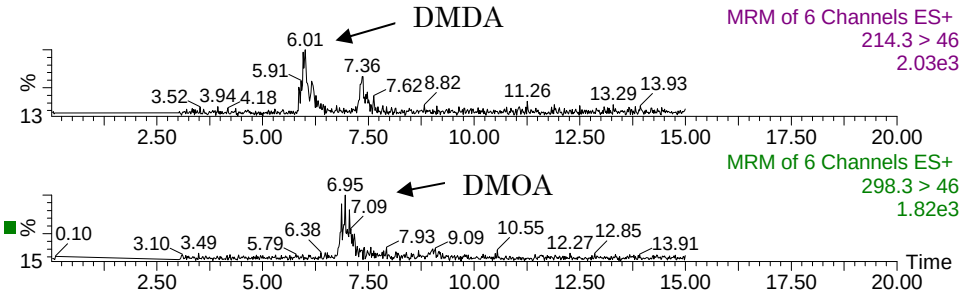


図9　添加回収試験（海水）のクロマトグラム（無添加）

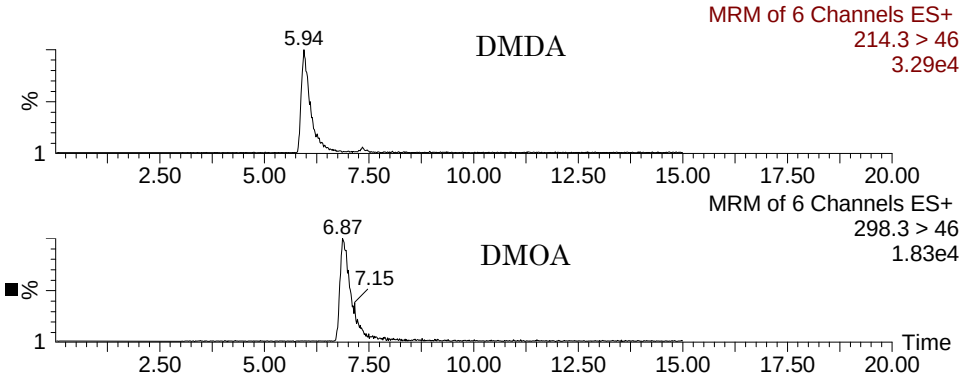


図10　添加回収試験（海水）のクロマトグラム（添加）

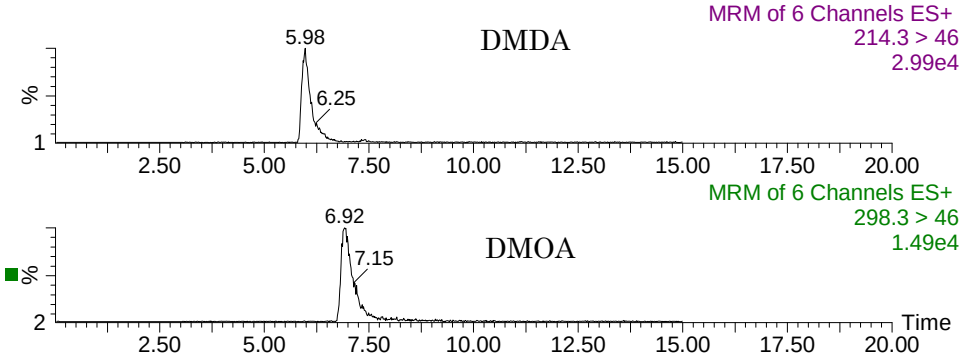


図11　添加回収試験（河川水）のクロマトグラム（添加）

〔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8に示す。2物質とも、大きな濃度低下は見られなかった。

表8　分解性スクリーニング試験結果

物質名	pH	初期濃度 (ng/mL)	1時間後の残存率 (%)	7日後の残存率 (%)	
				暗所	明所
DMDA	5	30	94	106	-
	7	30	98	93	92
	9	30	104	107	-
DMOA	5	30	98	99	-
	7	30	99	101	93
	9	30	98	118	-

〔保存性試験〕

環境水、標準液の保存性試験結果を表9に示した。

「環境水」については**【試料の採取及び保存】**に示したように、DMDA、DMOAを添加した水質試料を冷暗所保存した後、その濃度を測定した。

「標準液」については検量線用標準液を冷蔵保存し、2ヶ月後に測定した。海水、河川水ともに、2物質において大きな濃度低下は見られなかった。また、標準液は冷暗所保存で2ヶ月間安定であった。

表9　保存性試験結果

物質名	試料名		初期濃度 (ng/mL)	残存率 (%)	
				7日間	2ヶ月
DMDA	環境水	海水	0.100	92	−
		河川水	0.100	92	−
	標準液	検量線の最低濃度	1.00	−	98
		検量線の最高濃度	100	−	99
DMOA	環境水	海水	0.050	102	−
		河川水	0.050	81	−
	標準液	検量線の最低濃度	0.500	−	107
		検量線の最高濃度	100	−	110

〔抽出方法の検討〕

(1) 液液抽出（ジクロロメタン抽出）の検討

ギ酸とアンモニアを用いて、pH 3、5、7、9、11のときの回収率を検討した（NaCl添加無添加）。いずれの条件も回収率は70%未満であった。

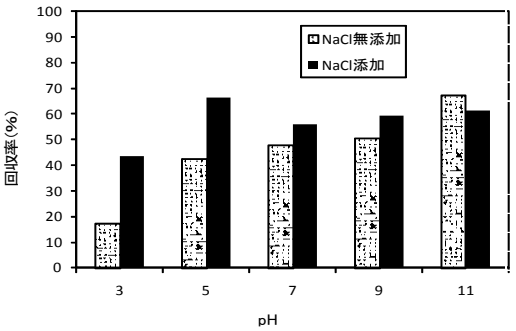


図12-1　DMDA

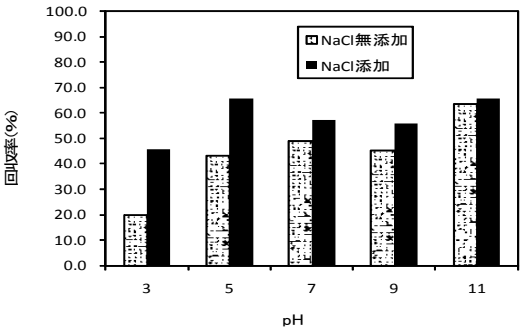


図12-2　DMOA

(2) ジクロロメタン/メタノール(4:1)混合溶媒による液液抽出の検討

精製水、河川水 (pH 7)、海水 (pH 8)について、ジクロロメタン/メタノール (4:1)混合溶媒による液液抽出を行った（精製水、河川水については、NaClを添加）。しかしながら、回収率は40～50%程度であった。

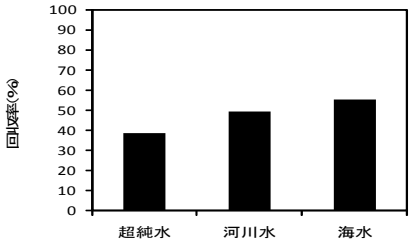


図13-1　DMDA

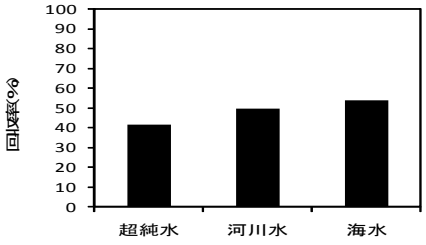


図13-2　DMOA

(3) 8種の固相カートリッジにおける検討

8種の固相(Oasis WCX, Oasis MCX, Oasis WAX, Oasis MAX, Oasis HLB, Sep-Pak Plus PS-2, Accell Plus CM, Sep-Pak Plus C8)を用いて、pH 7の標準試料を各固相に通水し、メタノールで溶出した (n=2)。DMOAで40%未満であった。

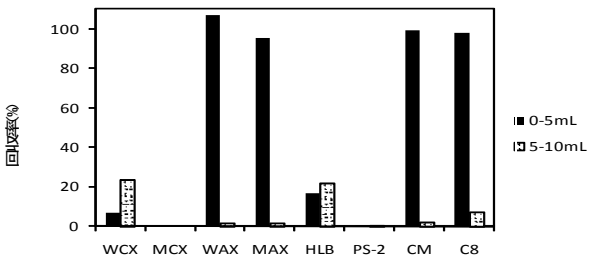


図14-1　DMDA

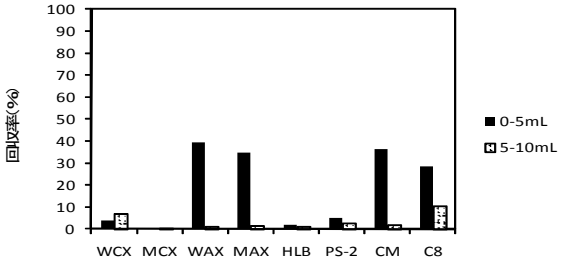


図14-2　DMOA

(4) 10%メタノール標準液を用い、溶出溶媒にアセトンを用いた5種固相検討

5種(Oasis WAX, Oasis MAX, Oasis HLB, Sep-Pak Plus C8, Accell Plus CM)の固相を用いて、10%メタノール水溶液で調製した標準液(50 mL)を通水し、溶出溶媒にアセトンを用いて回収率の検討を行った(n=2)（なお溶出溶媒には、10%メタノール標準液メスフラスコのアセトン洗液を用いた)。

Oasis HLB（0-5 mL溶出画分）において、DMDAが93%、DMOAが87%の回収率が得られた。

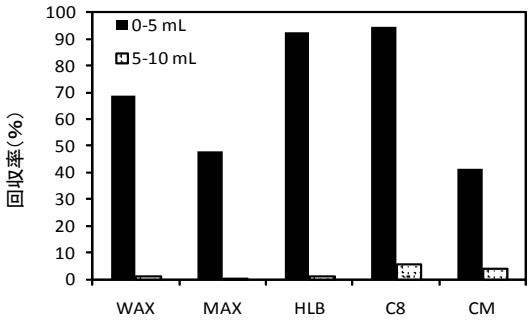


図15-1　DMDA

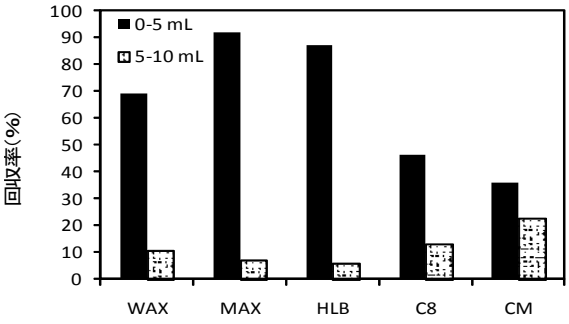


図15-2　DMOA

(5) 酸性条件下におけるOasis HLBによる固相抽出の検討

Oasis HLBによる固相抽出を行った結果、河川水、海水において通水量の増加に伴う回収率の低下が確認されたことから、SSへの吸着の可能性が考えられた。SSの影響を小さくする目的で、酸性条件下における固相抽出の検討を行った。

精製水、河川水及び海水各200 mLを10%メタノール溶液とし、2 mol/L HClをそれぞれの溶液に1 mL添加した(pH 2程度)。各溶液に標準液を添加した後、全量をOasis HLBに通液した。溶出溶媒にギ酸/アセトン(1:99, v/v) 溶液約10 mLを用いて、回収率の検討を行った(n=2)（装置注入液濃度20 ng/mL)。

DMDAでは精製水105%、河川水107%、海水112%の回収率が得られ、DMOAでは精製水98.8%、河川水81.4%、海水92.2%の回収率が得られた。

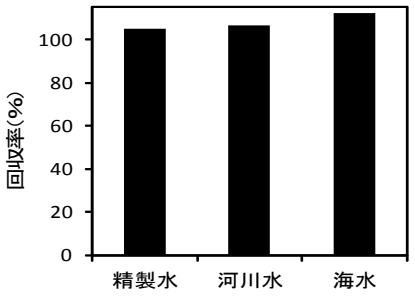


図16-1　DMDA

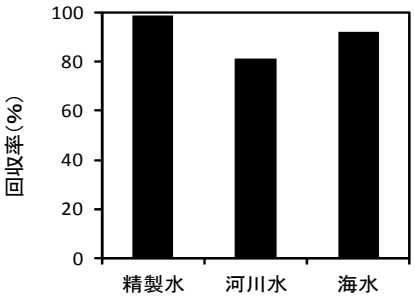


図16-2　DMOA

(6) テフロン分液ロートを用いた液液抽出（ジクロロメタン抽出）の検討

精製水、河川水(pH 7)及び海水(pH 8)をそれぞれ10%メタノール溶液とし、標準物質添加後、各溶液500 mLをジクロロメタンで抽出した（精製水、河川水については、NaClを添加）(n=2)。得られたジクロロメタン抽出液をエバポレーターで濃縮し、メタノールに転溶して回収率を求めた（装置注入液濃度20 ng/mL）。

DMDAでは精製水99.0%、河川水96.6%、海水92.3%の回収率が得られ、DMOAでは精製水95.7%、河川水96.7%、海水87.2%の回収率が得られた。

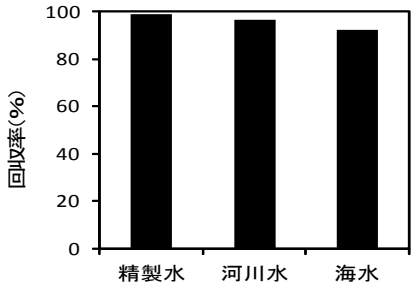


図17-1　DMDA

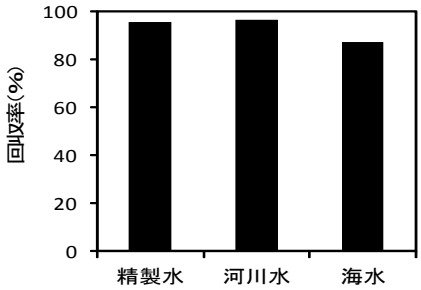


図17-2　DMOA

(7) テフロン分液ロート及びHLBを用いた添加回収率

MDL算出濃度を、装置注入液濃度としてDMDAでは5.00 ng/mL、DMOAでは2.50 ng/mLとなるようにして、液液抽出及び固相抽出により添加回収試験を行った。ほぼ良好な結果が得られた。

表10　MDL算出濃度における添加回収率 (n=2)

抽出器具　（試料）	回収率 (%)	
	DMDA	DMOA
テフロン分液ロート（海水試料）	87.2	83.4
HLB（精製水）	107	98.3

テフロン分液ロートを用いた場合でも良好な回収率は得られたが、多量の溶媒を必要とするため、本法では固相抽出法を選択した。

〔環境試料の分析〕

本法を用いて、福岡県内の河川水（雷山川）及び海水（大牟田沖）を測定した結果、DMDA、DMOAはいずれもMDL未満であった（図9、18）。

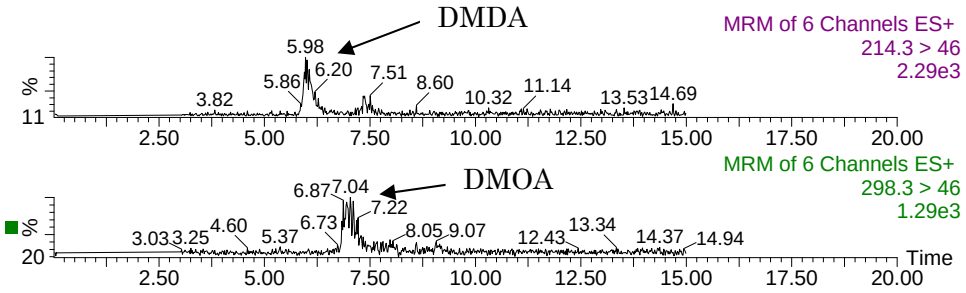


図18　環境試料（河川水）のクロマトグラム

【評価】

本分析法で用いたLC/MS/MSでのIDLは、DMDA、DMOAの順に0.15 ng/mL、0.079 ng/mL（試料換算濃度0.30 ng/L、0.16 ng/L）であり、DMDAの検量線では1.00～100 ng/mLの範囲で直線性(r^2>0.99)が、同様にDMOAでは0.500～100 ng/mLの範囲で直線性(r^2>0.99)が確認された。分析法のMDL及びMQLは、DMDAで0.0047 μg/L及び0.012 μg/L、DMOAで0.00080 μg/L及び0.0021 μg/Lであった。河川水及び海水各450 mLにDMDAを0.01 μg、DMOAを0.005 μg添加したときの回収率は、河川水で86%(DMDA)、88%(DMOA)、海水で98%(DMDA)、102%(DMOA)であった。本法で福岡県内河川水及び海水を測定したところ、DMDA、DMOAはいずれもMDL未満であった。

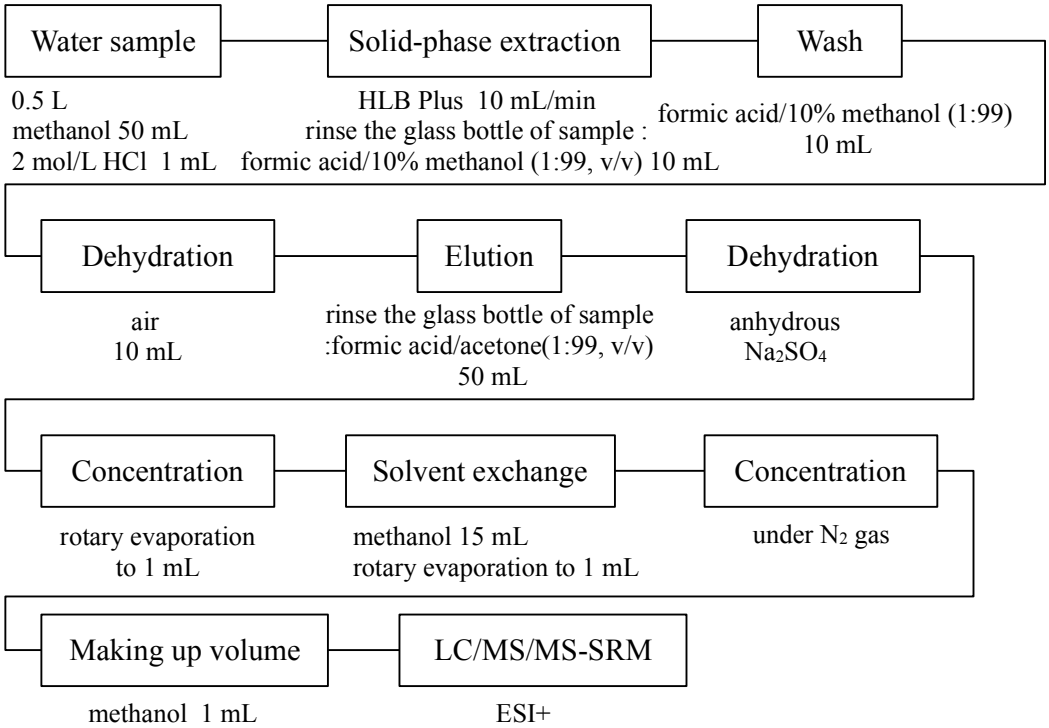
以上の結果から、水質試料中に含まれる0.001 μg/Lオーダーの DMDA、DMOAの定量分析法に適用できるものと判断される。

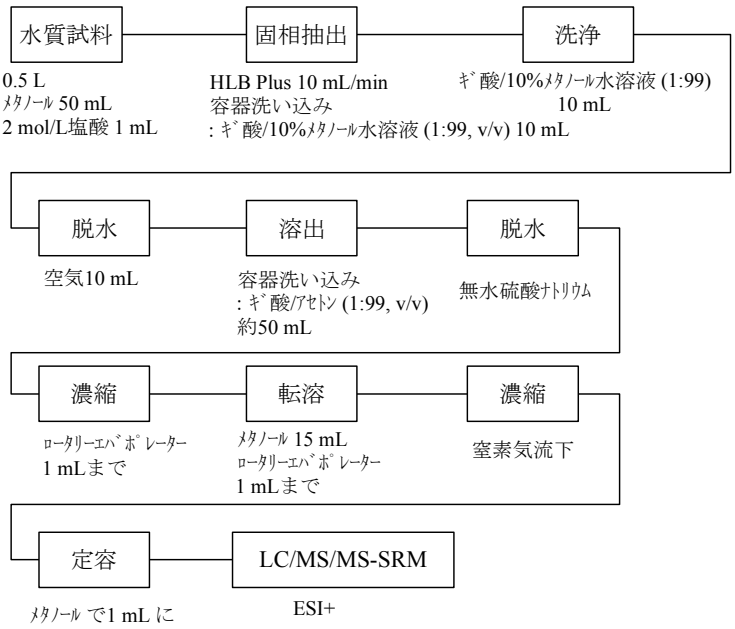
【担当者連絡先】

所属先名称：福岡県保健環境研究所
所属先住所：〒818-0135　福岡県太宰府市向佐野39
TEL: 092-921-9943、FAX: 092-928-1203
担当者名　：塚谷　裕子、飛石　和大
E-mail　：tsukatani@fihes.pref.fukuoka.jp
tobiishi@fihes.pref.fukuoka.jp

***N,N*-Dimethyldodecan-1-ylamine (DMDA)**
***N,N*-Dimethyloctadecan-1-ylamine (DMOA)**

This method is suitable for the determination of DMDA and DMOA in water samples by liquid chromatography with tandem mass spectrometry (LC/MS/MS).
DMDA and DMOA tend to adhere to glass, so 50 mL of methanol and 1 mL of 2 mol/L HCl are added to the glass water sampling bottles before sample collection. Each water sample is passed through a preconditioned solid phase extraction cartridge (Oasis HLB Plus) at a flow rate of 10 mL/min. The sample bottle is then rinsed with about 50 mL of formic acid/acetone (1:99) and this solution is used to elute the cartridge. The eluate is dried with anhydrous Na_2SO_4 and evaporated to about 1 mL, to which 15 mL of methanol is added, and the sample is evaporated again to about 1 mL. The solution is then transferred to another tube, concentrated under a flow of nitrogen, and adjusted to 1 mL with methanol for LC/MS/MS-SRM analysis.
The method detection limits (MDL) of DMDA and DMOA are 0.0047 and 0.00080 μg/L, respectively. The average recoveries of DMDA and DMOA from river water samples added with 10.0 ng each were 86% and 88%, and the relative standard deviations were 5.0% and 7.7%, respectively. The average recoveries of DMDA and DMOA from sea water samples added with 10.0 ng each were 98% and 102%, and the relative standard deviations were 3.1% and 7.0%, respectively.



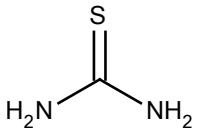
物質名	分析法フローチャート	備考
N,N-ジメチルドデカン-1-イルアミン (DMDA) *N,N*-ジメチル-*n*-オクタデシルアミン (DMOA)	【水質】  	分析原理： LC/MS/MS-SRM (ESI-Positive) 検出下限値： 【水質】(ng/L) DMDA　4.7 DMOA　0.80 分析条件： 機器 LC：Waters製 Alliance 2695 MS：Waters製 Quattro micro API カラム Atlantis T3 (2.1×50 mm, 5μm)

神戸市環境保健研究所
［対象媒体：水質］

チオ尿素

Thiourea

【対象物質の構造】



CAS 番号：62-56-6
分子式：CH_4N_2S

【物理化学的性状】

［分子量（平均分子量）］	76.12
［分子量（ﾓﾉｱｲｿﾄﾋﾟｯｸ質量）］	76.0095
［融点］	176～178°C[1)]
［密度］	1.405 g/cm^3 [1)]
［蒸気圧］	0.0028 mmHg (20°C) [2)]
［溶解性］	水：120 g/L (20°C) [3)]
［log P_{ow}］	－1.02（計算値）[1)]
［pKa］	2.03 [4)]

【毒性、用途】

［実験動物に対する急性毒性情報］
ラット（経口）LD_{50}：125 ～ 1830 mg/kg [5)]
マウス（経口）LD_{50}：1000 mg/kg [5)]
ウサギ（経口）LD_{50}：10000 mg/kg [5)]
［用途］ウレタン樹脂原料、有機合成触媒、医薬・写真薬原料 [5, 6)]

出典:

1) Maryadele J. O'Neil (*ed*), The Merck Index 14th Edition
2) Hazardous Substances Data Bank (HSDB)
3) Lide, D.R (*ed*), CRC Handbook of Chemistry and Physics 88th Edition
4) DEAN,JA (1987)
5) 新エネルギー・産業技術総合開発機構:有害性評価書 ver.1.1-No.49 チオ尿素
6) 化学工業日報社： 16112 の化学商品(2012)

§1 分 析 法

(1) 分析法の概要

水質試料をロータリーエバポレーターで減圧濃縮後、その一部をアセトニトリルで希釈した後、固相カラムを通過させることにより精製し、LC/MS-SIM (ESI+)で分析する。

(2) 試薬・器具

【試薬】

チオ尿素	: 和光純薬製　特級（純度 98.0%）
アセトニトリル	: 和光純薬工業製　LC/MS 用
固相カートリッジ	: Waters 製 Sep-Pak Silica Plus 690 mg
ぎ酸	: 和光純薬工業製　LC/MS 用
精製水	: Milli-Q 水

【試薬の調製】

0.1%ぎ酸：ぎ酸 1 mL に精製水を加え、1000 mL に定容する。

【標準液の調製】

〔標準液〕

チオ尿素 50.0 mg を正確に量り取り、アセトニトリル 50 mL に溶解し 1000 mg/L のチオ尿素標準原液とする。

〔検量線用標準液〕（注 1）

チオ尿素 1000 mg/L 標準原液をアセトニトリルで順次希釈し、チオ尿素として 0.0300 ng/mL から 100 ng/mL の標準液を作成し、検量線用標準液とする。

【器具】

ナス型フラスコ(200 mL)、メスフラスコ(20 mL、100 mL)、マイクロピペット(10 - 100 µL)、(100 - 1000 µL)、共栓目盛付遠沈管 (10 mL)、注射器 （ポリ製、10 mL）、LC オートサンプラー用バイアル瓶
ロータリーエバポレーター（バキュームコントローラー付）

(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。対象物質は特に低濃度で短時間に濃度が減少する傾向にあるので、試料は採取後、速やかに試験操作を行う。

【試料の前処理及び試験液の調製】（注 2)、（注 3）

水質試料 100 mL をロータリーエバポレーターで濃縮し（注 4)、20 mL に定容した後、その 0.200 mL を 10 mL 容遠沈管に分取し、アセトニトリルで 10 mL に定容する。攪拌後、遠心分離する（3000 rpm、15 分)。上澄み液 9 mL を、あらかじめコンディショニングをした固相カートリッジ Sep-Pak Silica Plus（注 5）に注射器（ポリ製）を用いて通液する。最初の 3 mL を捨てた後、その後の 5 mL を 10 mL 容試験管に分取し、試験液とする。

【空試験液の調製】

試料水の代わりに精製水を用いて、**【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。

【測定】

〔LC/MS 測定条件〕（注 6）

LC/MS 機器	: Waters 2695/ Quattro micro API
[LC]	
LC 機種	: Waters 2695
カラム	: Merck 製 ZIC pHILIC　150 mm × 2.1 mm, 5 μm
移動相	: A:0.1%ぎ酸、B:アセトニトリル
	0→12 min　A: 5%　B:95%
	12→13 min　A:5→100% B:95→0% linear gradient
	13→15 min　A:100%　B: 0%
	15→30 min　A: 5%　B:95%
流量	: 0.2 mL/min
カラム温度	: 40°C
試料注入量	: 10.0 μL
[MS]	
MS 機種	: Waters Quattro micro API
キャピラリー電圧	: 3.5 kV

ソース温度　　：120°C
デゾルベーション温度　：450°C
コーンガス量　　：50 L/hr
デゾルベーション流量　：900 L/hr
イオン化法　　：ESI-Positive
測定モード　　：（定量、確認 1）SIM、（確認 2）SRM（注 7）
モニターイオン　　:チオ尿素　：（定量）　*m/z* 77.0
　　：（確認 1）*m/z* 79.0
　　：（確認 2）*m/z* 77.0 > 60.0
コーン電圧　　：（定量、確認 1、確認 2）25 V
コリジョンエネルギー　：（確認 2）15 eV

〔検量線〕

検量線用標準液 10.0 μL を LC/MS に注入し、対象物質の濃度と得られたピーク面積からチオ尿素の検量線を作成する。

〔定量〕

試験液 10.0 μL を LC/MS に注入して、得られた対象物質の面積から、チオ尿素の検出量を求める。

〔濃度の算出〕

試料水中濃度は次式により算出する。

水質試料中の濃度(ng/L) =検出濃度(ng/mL)×希釈後の液量(mL) ／分取した濃縮液量(mL) ×濃縮後の液量(mL)／試料量(L)

（本分析法に従った場合、以下の数値を使用する。
　　希釈後の液量　　= 10 (mL)
　　濃縮後の液量　　= 20 (mL)
　　分取した濃縮液量= 0.2 (mL)
　　試料量　　= 0.1 (L)
即ち、
　　水質試料中の濃度(ng/L) =検出濃度(ng/mL) × 10000
である。）

なお、以後の表等では、{分取した濃縮液量(mL) ／濃縮後の液量(mL)} を「分

取割合」と表す。

〔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（注 8）。

表 1　IDL の算出結果

物質名	IDL (ng/mL)	試料量 (L)	分取割合	最終液量 (mL)	IDL 試料換算値 (μg/L)
チオ尿素	0.0088	0.100	1/100	10	0.088

〔測定方法における検出下限値 (MDL)及び定量下限値 (MQL)〕

本測定方法における MDL 及び MQL を表 2 に示す（注 9）。

表 2　MDL 及び MQL の算出結果

物質名	試料	試料量 (L)	分取割合	最終液量 (mL)	MDL (μg/L)	MQL (μg/L)
チオ尿素	海水	0.100	1/100	10	0.15	0.40

注　解

（注 1） チオ尿素標準液においてバイアル中で低濃度のものは減少が著しい傾向にあるので、特に 100 ng/mL 以下の低濃度標準液については用事作成する必要がある。

（注 2） 機種によっては LC/MS の感度が高く、ロータリーエバポレーターによる水質試料の濃縮を省略できる場合がある。その場合、試料の均一性を考慮する必要がある。チオ尿素は水溶性が高いため、ろ過により均一試料を作成できる。つまり一定量（例えば 100 mL）以上の試料水をガラス繊維ろ紙でろ過をするなど、均一の試料を作成した後、その溶液を 0.2 mL 分取してアセトニトリルで 10 mL に希釈し、以後の操作を行うことも可能である。

（注 3） 本法ではアセトニトリルに溶解したチオ尿素が窒素気流により、回収

率が低下する傾向が見られたので、窒素気流による濃縮操作は実施しないこととした。

（注 4） ロータリーエバポレーター（バキュームコントローラー付）を用いて、水浴温度 50°C、真空度 25 hPa、真空度制御幅 5 hPa の条件で水質試料 100 mL を 20 mL まで約 20 分で濃縮できる。通常海水の場合、100 mL を 20 mL までの濃縮では溶解度の関係で塩類の析出はわずかであるが、さらに濃縮を進めると大量の塩類が析出する。一度、大量の塩類を析出させると精製水を加えても溶解しにくい。従って、使用したのと同型のナス型フラスコに 20 mL の精製水を加えて、20 mL の容量がどれくらいであるか確認しながら濃縮するのが良い。

（注 5）固相カートリッジは、使用直前に精製水 10 mL、アセトニトリル/ 精製水(98:2, v/v) 10 mL でコンディショニングする。今回のようにシリカゲルに水または含水溶媒で展開させるのは親水性相互作用を利用したもので、逆々相カラムクロマトグラフィーとも呼ばれている。

（注 6）LC/MS の条件は、本測定に使用した機種（Waters 製 Quattro micro API）特有のものである。

（注 7） 確認イオン 1 の他にさらに確認が必要な場合は、確認イオン 2 を用いて、別途 LC/MS-SRM でデータを取得する。

（注 8）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。また、図 1 に IDL 測定のためのクロマトグラムを示す。

表 3　IDL の算出結果

物質名	チオ尿素
試料量 (L)	0.100
分取割合	1/100
最終液量 (mL)	10.0
注入液濃度 (ng/mL)	0.05
装置注入量 (μL)	10.0
結果 1 (ng/mL)	0.0508
結果 2 (ng/mL)	0.0520
結果 3 (ng/mL)	0.0468
結果 4 (ng/mL)	0.0484
結果 5 (ng/mL)	0.0491
結果 6 (ng/mL)	0.0453
結果 7 (ng/mL)	0.0487
平均値 (ng/mL)	0.04872
標準偏差 (ng/mL)	0.00227
IDL(ng/mL)*	0.0088
IDL 試料換算値（μg/L)	0.088
S/N 比	9.9
CV(%)	4.7

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

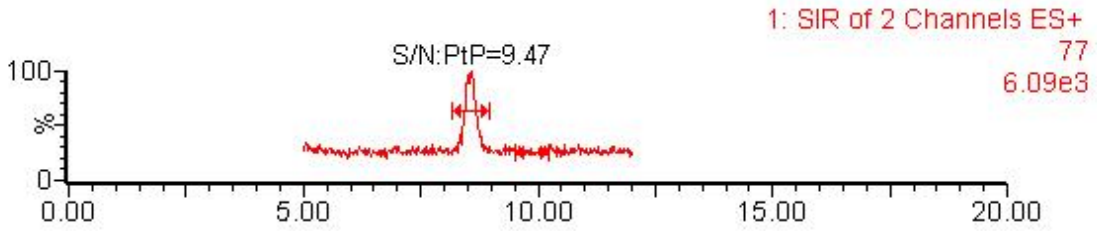


図 1　IDL 測定時のクロマトグラム（チオ尿素 0.05 ng/mL）

（注 9）MDL 及 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。また、図 2 に MDL 測定時のクロマトグラムを示す。

表 4　MDL 及び MQL の算出結果

物質名	チオ尿素
試料	海水
試料量 (L)	0.100
標準添加量 (μg)	0.100
試料換算濃度 (μg/L)	1.00
分取割合	1/100
最終液量 (mL)	10
注入液濃度 (ng/mL)	0.1
装置注入量 (μL)	10.0
操作ﾌﾞﾗﾝｸ平均 (μg/L)*1	0.15 >
無添加平均 (μg/L)*2	0.15 >
結果 1 (μg/L)	0.751
結果 2 (μg/L)	0.842
結果 3 (μg/L)	0.809
結果 4 (μg/L)	0.780
結果 5 (μg/L)	0.772
結果 6 (μg/L)	0.720
結果 7 (μg/L)	0.761
平均値 (μg/L)	0.7765
標準偏差 (μg/L)	0.0397
MDL(μg/L)*3	0.15
MQL(μg/L)*4	0.40
S/N 比	10
CV(%)	5.1

*1　操作ブランク平均：試料マトリ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（n = 2）

*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（n = 2）

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

*4　$MQL = \sigma_{n-1} \times 10$

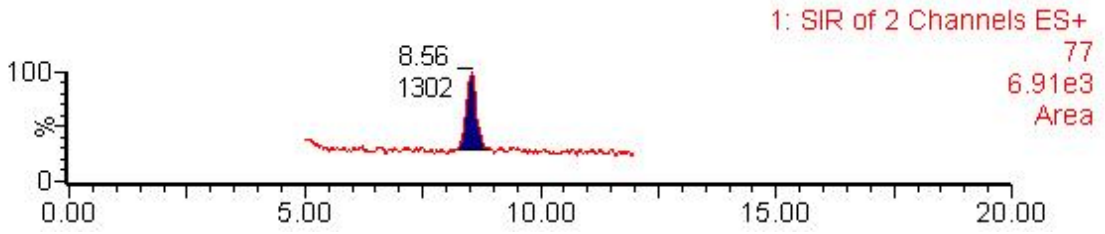


図 2　MDL 算出時のクロマトグラム
（試料換算濃度　チオ尿素 1.0 μg/L）

§2　解　説

【分析法】

〔フローチャート〕

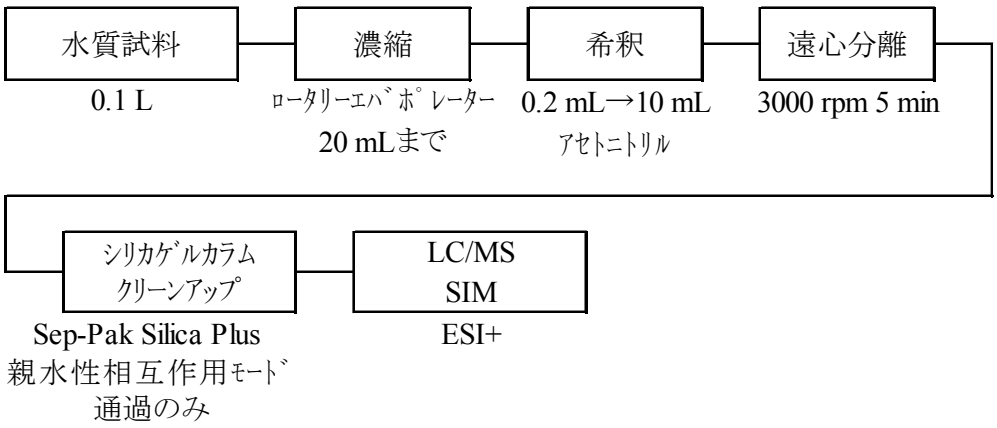


図 3　分析法のフローチャート

〔検量線〕

標準液をアセトニトリルで適宜希釈し、0.030 ng/mL～100 ng/mL の検量線用標準液を作成する。各検量線用標準液 10 μL を LC/MS に注入して分析する。対象物質の濃度及び得られたピーク面積から検量線を作成する。検量線作成用データを表 5 に、検量線を図 4 に示す。

表 5　検量線作成用データ（チオ尿素）

標準液濃度(*Cs*) (ng/mL)	応答値（面積） 対象物質(*As*) *m/z* 77.0
0.000	0
0.030	855
0.050	1400
0.070	1794
0.10	2895
0.20	6193
0.30	10210
0.50	17087
1.00	35629
3.00	120593
10.0	408699
30.0	1171447
100.0	3626922

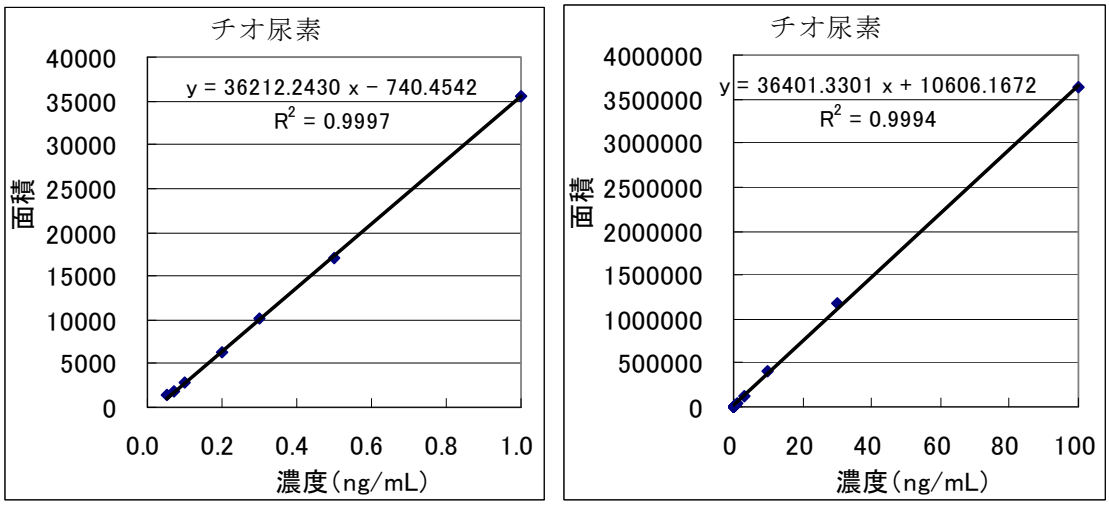


図 4　検量線

（対象物質濃度範囲 0.03～1.0 ng/mL（左図）、0.03～100 ng/mL（右図））

〔クロマトグラム〕

チオ尿素の標準液 1 ng/mL のクロマトグラムを図 5 に示す。

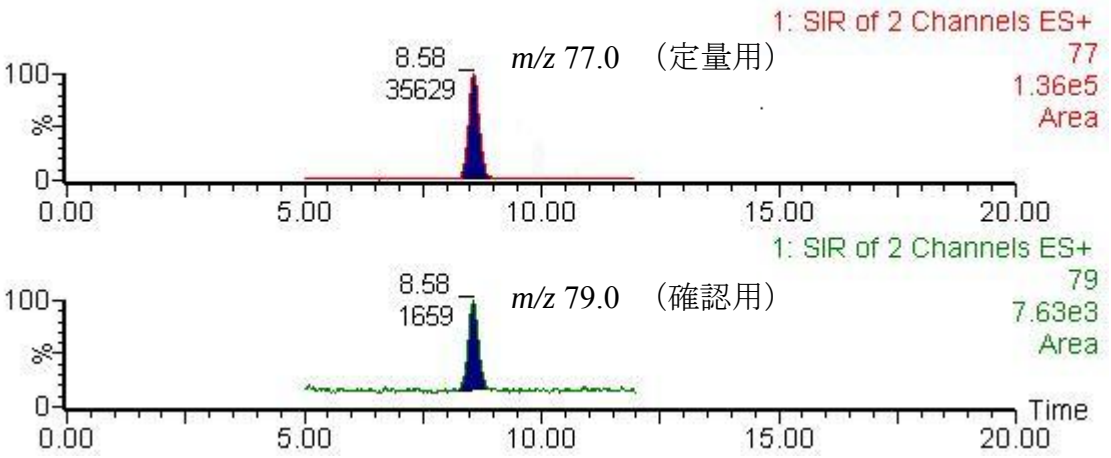


図 5　チオ尿素 (1 ng/mL) のクロマトグラム

〔マススペクトル〕

チオ尿素のマススペクトル及びプレカーサーイオン *m/z* 77 に対するプロダクトイオンをそれぞれ図 6 に示す。

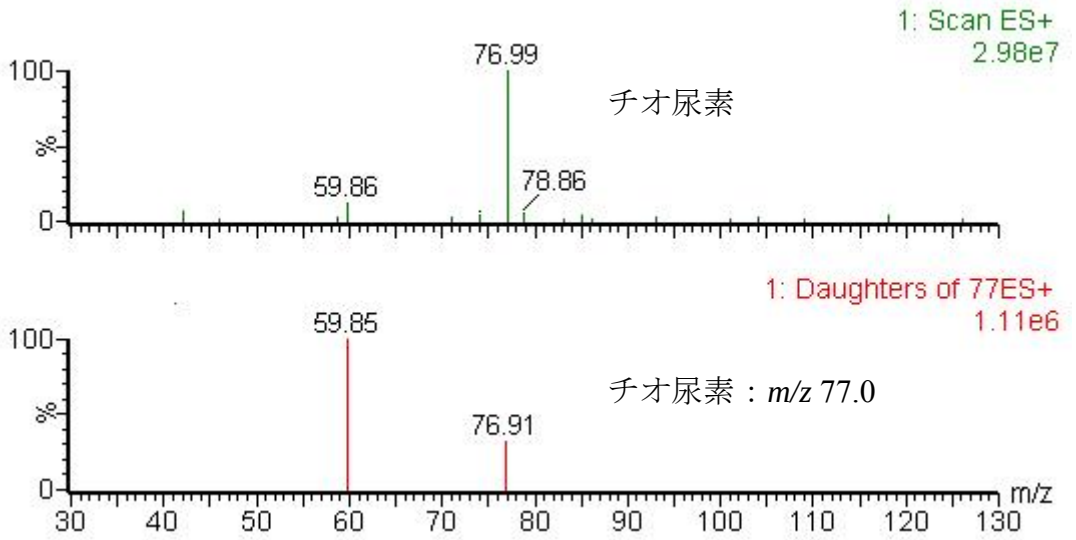


図 6　チオ尿素のマススペクトル（上図）及び
プレカーサーイオン *m/z* 77 に対するプロダクトイオン（下図）

〔操作ブランク試験〕

操作ブランク試験結果を表 6、クロマトグラムを図 7 に示す。

表 6　操作ブランク試験結果

物質名	試験数	検出濃度 (μg/L)
チオ尿素	3	0.15 未満

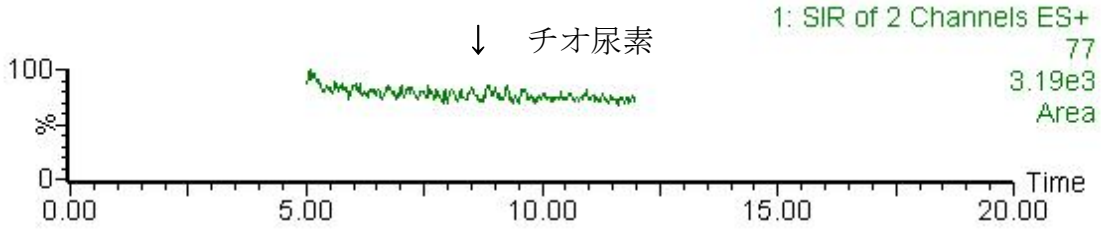


図 7　操作ブランクのクロマトグラム

〔添加回収試験〕

海水(神戸港中央)への標準物質添加回収試験結果を表 7、クロマトグラムを図 8 に示す。

表 7　添加回収試験結果

物質名	試料	試料量 (L)	添加量 (μg)	分取割合	最終液量 (mL)	試験数	検出濃度 (μg/L)	回収率 (%)	変動係数 (%)
チオ尿素	海水	0.100	無添加	1/100	10.0	3	0.15>	-	-
		0.100	0.100	1/100	10.0	7	0.777	78	5.1
		0.100	0.900	1/100	10.0	5	7.90	88	2.0
	河川水	0.100	無添加	1/100	10.0	3	0.15>	-	-
		0.100	0.900	1/100	10.0	5	8.95	99	1.5

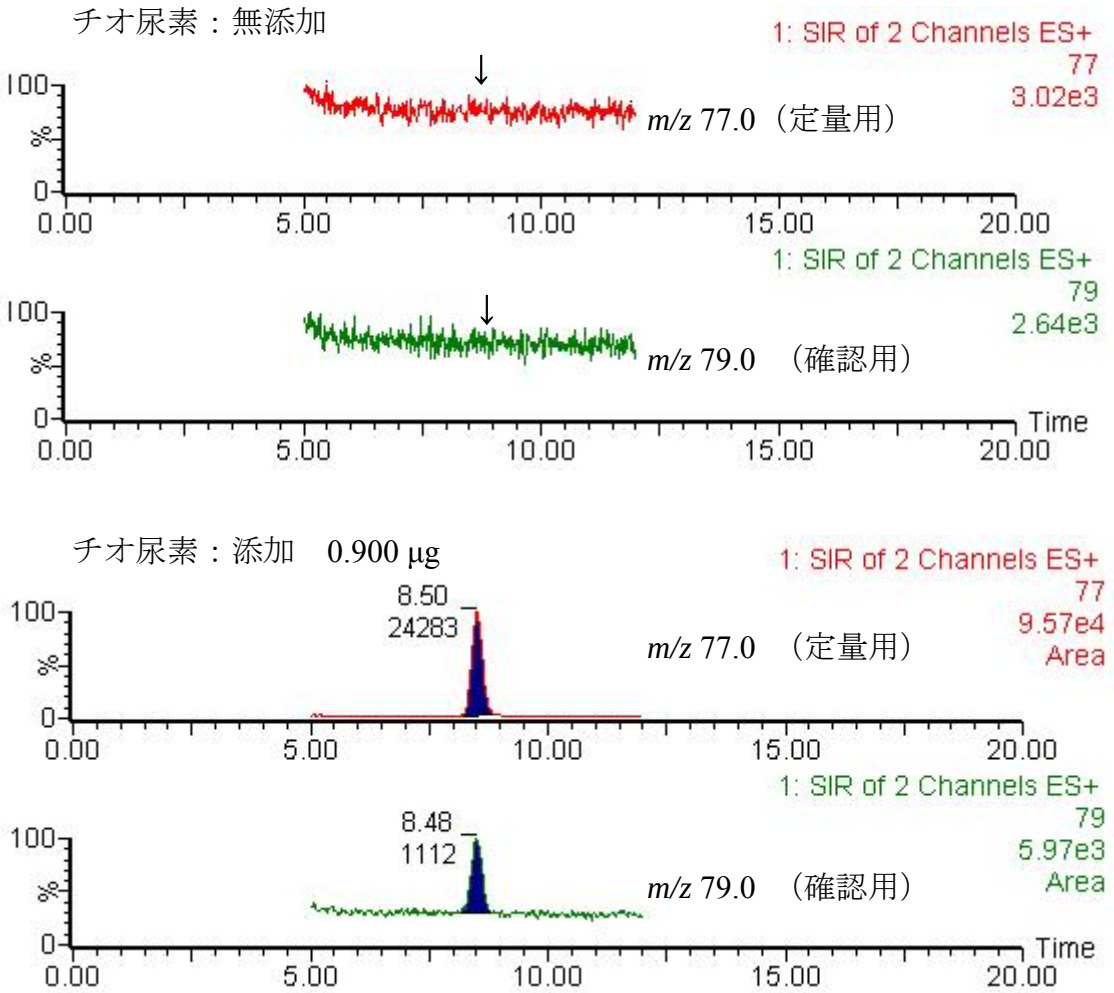


図 8　添加回収試験(海水)のクロマトグラム
（上 2 段：無添加、下 2 段：添加)

〔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 8 に示す。

表 8　分解性スクリーニング試験結果

物質名	pH	初期濃度 (ng/mL)	1 時間後の残存率 (%)	7 日後の残存率(%)	
				暗所	明所
チオ尿素	5	10.0	96	102	―
	7	10.0	99	97	95
	9	10.0	99	96	―

〔保存性試験〕

試料、濃縮液及び標準液の保存性試験結果を表 9 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、チオ尿素を添加した水質試料を、冷蔵保存した後、7 日後及び 14 日後の濃度を測定した。

濃縮液については、添加回収試験から得られた濃縮液を冷蔵保存し、7 日後及び 14 日後に測定した。

標準液については検量線用標準液をバイアル瓶に入れて冷蔵保存し、1、3、7、14 日後及び 1 ヶ月後に測定した。

なお、チオ尿素については、試料中での残存率が、海水で 73%、河川水で 88%であったことより、採水後、すみやかに測定する必要がある。また、低濃度の標準液はバイアル中でも著しく濃度が減少することから、100 ng/mL 以下の標準液は随時作成する必要がある。

表 9　保存性試験結果

物質名	試料名		初期濃度 (ng/mL)	残存率(%)				
				1 日後	3 日後	7 日後	14 日後	1 ヶ月後
チオ尿素	海水	試料	9.00	-	-	73	71	-
		濃縮液	45.0	-	-	75	66	-
	河川水	試料	9.00	-	-	88	61	-
		濃縮液	45.0	-	-	80	71	-
	標準液	MDL の 10 倍程度	0.100	81	56	0	0	0
		MDL の 100 倍程度	1.00	-	-	68	33	6
		MDL の 1000 倍程度	10.0	-	-	93	96	97
		検量線の最高濃度	100	-	-	103	104	105

〔その他の検討結果〕

〔カラムの選択〕

逆相カラム(Atlantis T3 150 mm × 2.1 mm, 5 µm, Waters)を検討したが、ほとんど保持されなかった（移動相 0.1%ぎ酸 (pH2.9)、チオ尿素の log P_{ow} -1.02、pKa 2.03）。

逆々相カラム (ZIC pHILIC 150 mm × 2.1 mm, 5 µm, Merck 、Atlantis HILIC Silica 150 mm × 2.1 mm, 3 µm, Waters、Ascentis RP Amide 150 mm × 2.1 mm, 5 µm, Supelco) について検討したところ、Silica では保持が小さく、ピークもブロードであり、Amide ではピーク形状はよかったが、ほとんど保持されなかったのに

対し、ZIC pHILIC では良好に保持され、ピーク形状も良好であった（移動相：0.1%ぎ酸:アセトニトリル (5:95) ）。

以上より、ZIC pHILIC 150 mm × 2.1 mm, 5 μm を用いることにした。

〔測定モード等による感度比較〕

測定モードによる感度比較を行い、表 10 に示した。その結果、S/N 比が良好で感度の良い SIM 法を採用することとし、定量イオンとして *m/z* 77.0、確認イオンとして *m/z* 79.0 を採用した。また検出時には SRM 法（*m/z* 77.0>59.8）による確認を行うこととした。

表 10　測定モードによる感度比較

測定モード			SIM ESI+ *m/z* 77.0	SIM ESI+ *m/z* 79.0	SRM ESI+ *m/z* 77.0>59.8
主なパラメータ	Capillary 電圧	kV	3.5	3.5	3.5
	Cone 電圧	V	25	25	25
	Collision 電圧	eV	-	-	15
LC/MS 分析での感度比（S/N 比）			1	0.04 (S の核種存在比)	0.2

〔アセトニトリル希釈及びシリカゲルカラムによる脱塩効果〕

精製水にチオ尿素及び塩化ナトリウムを添加した試料を用いてアセトニトリル希釈後、シリカゲルカラム（親水性相互作用）により脱塩が可能かどうかについて検討した。実験条件については**【試料の前処理及び試験液の調製】**に示した方法に準じておこなった。つまり、チオ尿素及び塩化ナトリウムを添加したアセトニトリル／精製水(98:2, v/v) とアセトニトリル／精製水(95:5, v/v) 各 50 mL を Sep-Pak Silica Plus に通水し、通過液を 5 mL 毎に分取し、LC/MS 及びイオンクロマトグラフを用いて、チオ尿素及び塩化物イオン濃度を調べた。表 11-1 及び 11-2 に結果を示した。比較したところ、尿素はどちらの条件でもシリカゲルカラムに保持されないこと、またアセトニトリル／精製水(98:2, v/v) の方が脱塩効果が大きいことがわかった。

アセトニトリルに溶解したチオ尿素を窒素吹き付けにより濃縮しようとすると大きくロスすることがわかったため、通過液については濃縮しないこととした。

次に海水にチオ尿素を添加した試料を**【試料の前処理及び試験液の調製】**に示した方法で得られた 98%アセトニトリル溶液 10 mL を Sep-Pak Silica Plus に通水し、1 mL ごとに分取し、表 11 での実験と同じくチオ尿素及び塩化物イオン濃

度を調べた。表 12 にその結果を示した。その結果より、最初の 3 mL を廃棄した後、その後の 5 mL を分取することにより、チオ尿素の回収率はほぼ 80%程度、妨害物質である塩化物イオン濃度は 0.1 mg/L 以下の濃度となり、良好に脱塩できることがわかった。なお、表 11、表 12 のデータより、試料濃縮液 0.2 mL をアセトニトリルで希釈して 98%アセトニトリル溶液とした後、シリカゲルカラムに供することにしたが、妨害や MS 本体への塩の蓄積が起こりにくい構造となっている LC/MS の場合には、塩化物イオン濃度が高くても、95%アセトニトリル液を装置に注入することも可能である。その場合は試料の実質注入量が多くなるので、検出下限がより低くなることが見込める。

表 11-1　アセトニトリル希釈割合と脱塩効果

	ｱｾﾄﾆﾄﾘﾙ/水(98:2)	ｱｾﾄﾆﾄﾘﾙ/水(95:5)	備考
ミリ Q 水の分取	2 mL	5 mL	
チオ尿素の添加量	20.0 µg	50.0 µg	
塩化ナトリウムの添加・溶解	200 mg	500 mg	
アセトニトリルの添加	98 mL	95 mL	塩の析出・有
遠心分離後の 塩化物イオン濃度 (mg/L)*	24	240	
脱塩効果 (%)	98.8	95.2	

*：上澄み 50 mL を供試

表 11-2　シリカゲルカラム（親水性相互作用）による
塩化ナトリウム添加試料の脱塩効果及びチオ尿素の溶出パターン

ｼﾘｶｹﾞﾙｶﾗﾑ	ｱｾﾄﾆﾄﾘﾙ/水(98:2)		ｱｾﾄﾆﾄﾘﾙ/水(95:5)	
分画画分[*1] (Sep-Pak ｼﾘｶ)	尿素[*2] (ng/mL)	塩化物イオン[*3] (mg/L)	尿素[*2] (ng/mL)	塩化物イオン[*3] (mg/L)
0 - 5 mL	125	0.4	335	2
5 - 10 mL	198	0.6	513	53
10 - 15 mL	205	1.3	529	177
15 - 20 mL	206	1.9	518	242
20 - 25 mL	205	3.6	515	251
25 - 30 mL	205	6.0	518	243
30 - 35 mL	197	9.4	509	252
35 - 40 mL	205	12.4	517	248
40 - 45 mL	206	17.2	523	248
45 - 50 mL	204	18.7	500	253

*1：表 11-1 で得られた上澄み 50 mL を供試

*2：得られた画分をアセトニトリルで 100 倍希釈して LC/MS で測定

*3：得られた画分を精製水で 10 倍希釈してイオンクロマトグラフで測定

表 12　アセトニトリル希釈試料のシリカゲルカラム（親水性相互作用）による脱塩効果及びチオ尿素の溶出パターン　【海水】

		チオ尿素 (ng/mL) *1	塩化物イオン (mg/L) *2	備考
海水（100 mL にチオ尿素を 0.900 μg 添加）		-	17000	
濃縮液（海水 100 mL→濃縮→20 mL 水）		-	83000	塩の析出・無
アセトニトリル希釈液 （濃縮液 0.2 mL→10 mL ｱｾﾄﾆﾄﾘﾙ）		-	40	塩の析出・有
シリカゲルカラム分画画分*1	1fr	0.02	0.06	
（上澄み 9 mL を供試）	2fr	0.53	0.10	
（1 mL ずつ分取）	3fr	0.76	0.04	
	4fr	0.75	0.09	分取する画分
	5fr	0.72	0.06	
	6fr	0.70	0.05	
	7fr	0.71	0.06	
	8fr	0.70	0.07	
	9fr	0.70	0.11	

*1：得られた画分をアセトニトリルで 100 倍希釈して LC/MS で測定

*2：得られた画分を精製水で 10 倍希釈してイオンクロマトグラフで測定

〔環境試料の分析〕

本法を用いて、神戸市内の河川水（伊川）及び海水（神戸港）を測定した結果、チオ尿素はいずれも MDL 未満であった（図 9、前述の図 8）。

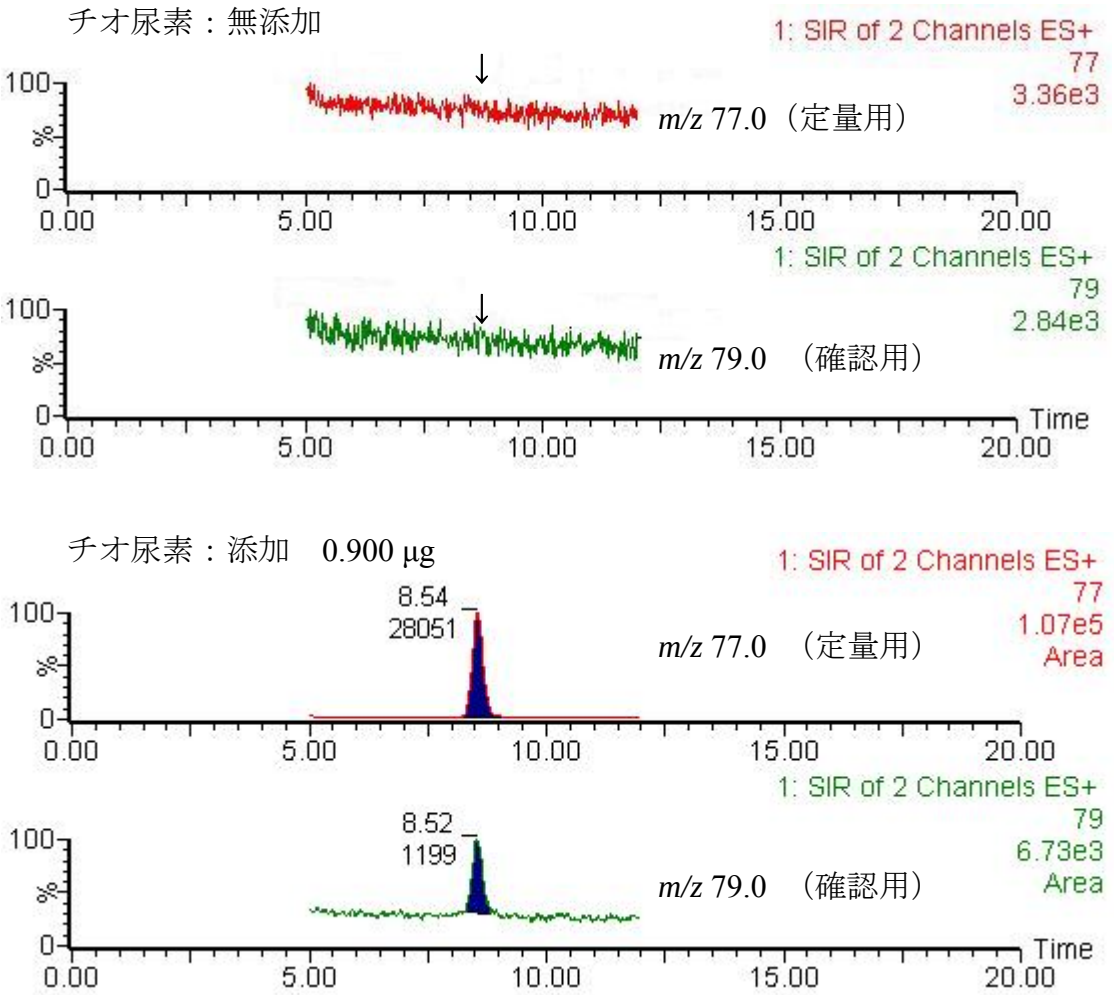


図 9　環境試料（河川水）のクロマトグラム
（上 2 段：無添加、下 2 段：添加)

【評価】

本分析法で用いた LC/MS でのチオ尿素の IDL は 0.0088 ng/mL（試料換算濃度 0.088 µg/L）であり、0.03～100 ng/mL の範囲で直線性 ($r^2 > 0.99$) が確認された。ロータリーエバポレーターによる濃縮及び固相カートリッジによる精製を用いる試験液の調製を行う本分析法の MDL 及び MQL は 0.15 及び 0.40 µg/L であった。海水 100 mL に対象物質を 0.900 µg 添加した時の回収率は、88%、変動係数は 2.0%であった。本法で神戸市内河川及び神戸沿岸海域の海水各 1 検体を測定したところ、チオ尿素はいずれも MDL 未満であった。以上の結果から、本法は

水質試料中に含まれる 0.1 μg/L オーダーのチオ尿素の定量分析法に適用できるものと判断される。

【参考文献】

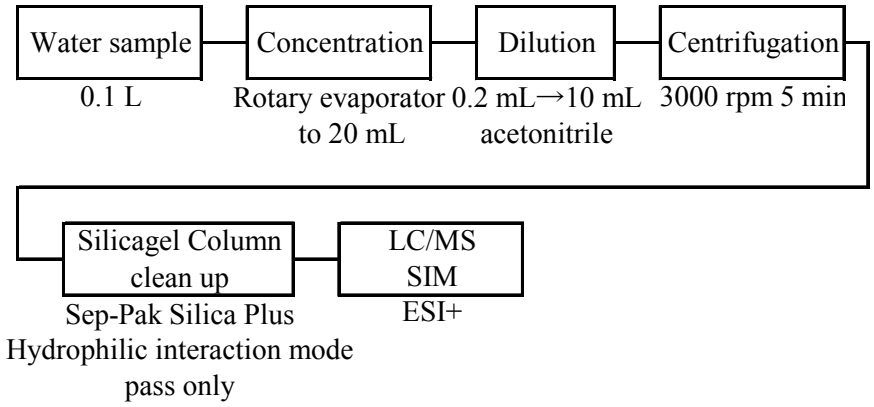
(1) 赤木浩一, 畑野和広：親水性相互作用クロマトグラフィーを用いた LC/MS/MS によるテトロドトキシンの分析, 福岡市保健環境研究所報, **32**, 98-100(2006)

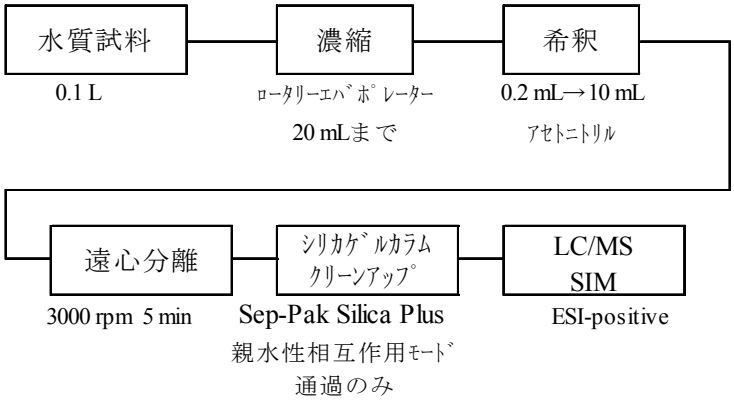
【担当者連絡先】

所属先名称　：神戸市環境保健研究所
所属先住所　：〒650-0046　神戸市中央区港島中町 4-6
TEL：078-302-6302、FAX：078-302-6291
担当者名　：八木　正博、山路　章
E-mail　：masahiro_yagi@office.city.kobe.lg.jp
akira_yamaji@office.city.kobe.lg.jp

Thiourea

This method provides a procedure for the determination of thiourea in water samples by liquid chromatography mass spectrometry (LC/MS). After 100 mL of water sample is concentrated to 20 mL by rotary evaporator, 0.2 mL of the concentrated sample is diluted to 10 mL with acetonitrile. After centrifugation, 9 mL of the supernatant is passed through a preconditioned solid phase extraction cartridge (Sep-Pak Silica Plus). After the first 3 mL fraction of the passed solution is discarded, the following 5 mL fraction is collected and analyzed by LC/MS-SIM (ESI positive). The method detection limit (MDL) of thiourea in water samples is 0.15 μg/L. The average percent recovery (and percent relative standard deviation) of thiourea in 0.1 L sea water added with 0.9 μg of thiourea was 88(2.0)%. Thiourea was not detected in river and sea water (Kobe) by this method.



物質名	分析法フローチャート	備考
チオ尿素	【水質】  	分析原理: LC/MS-SIM ESI+ 検出下限値: ［水質］(μg/L) 0.15 分析条件: 機器 LC: waters 2695 MS: waters Quattro micro API カラム ZIC-pHILIC 2.1 mm × 150 mm, 5 μm

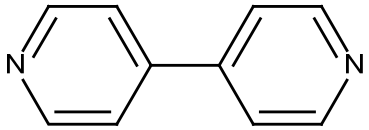
岩手県環境保健研究センター
［対象媒体：水質］

4,4'-ビピリジル

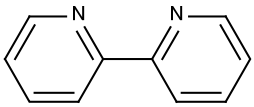
4,4'-Bipyridyl

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

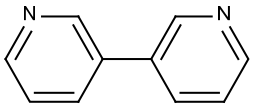
【対象物質の構造】



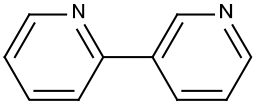
CAS 番号：553-26-4　分子式：$C_{10}H_8N_2$
（4,4’-ビピリジルを含め 6 種の異性体が存在する）



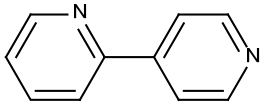
2,2'-Bipyridyl



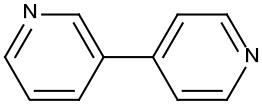
3,3'-Bipyridyl



2,3'-Bipyridyl



2,4'-Bipyridyl



3,4'-Bipyridyl

【物理化学的性状】

分子量 （ﾓﾉｱｲｿﾄﾋﾟｯｸ質量）	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-d_8(4,4'-bpy-d_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 μL 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 μm, 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 μL		
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（注 5）	: 4,4’、3,3’-ビピリジル：*m/z* 157>130（定量） *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 μL 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 (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 (L)

即ち、

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

である。

［**3,3'- 、2,4'- 、2,3'- 、2,2'- ビピリジル**］

C (ng/L) = 検出濃度 (ng/mL) × 最終液量 (mL) ／ 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ので、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) × σ_{n-1} × 2

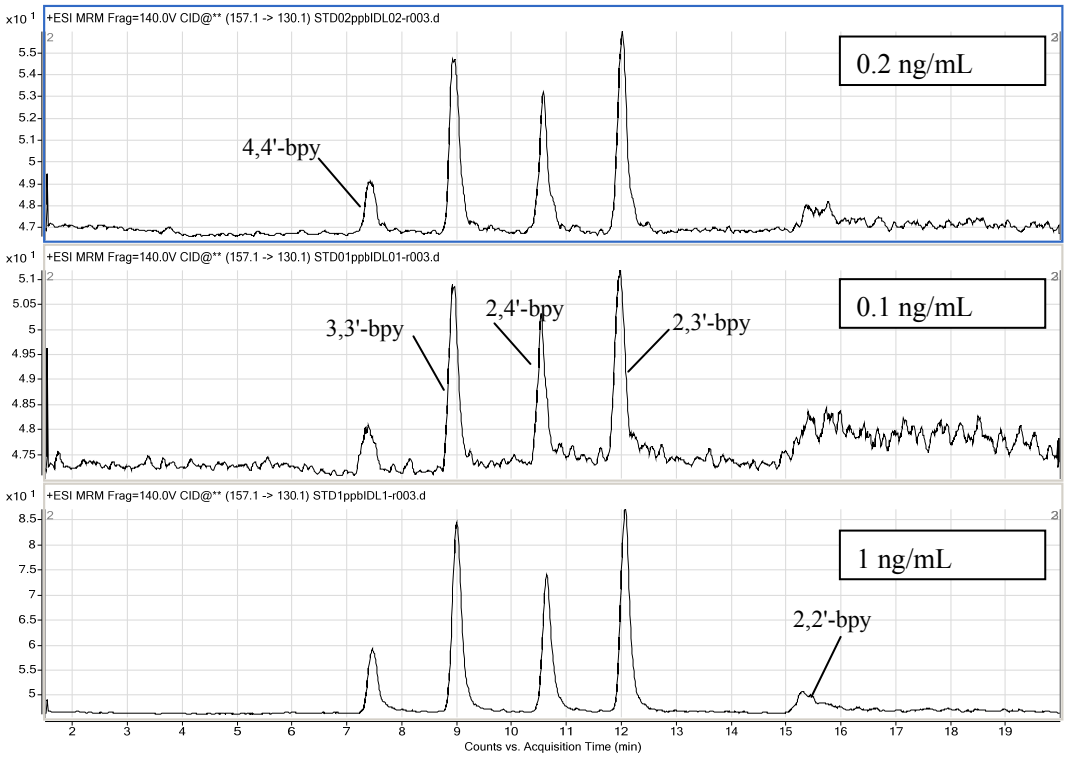


図 1 IDL 測定時のクロマトグラム

（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：　$MQL = \sigma_{n-1} \times 10$

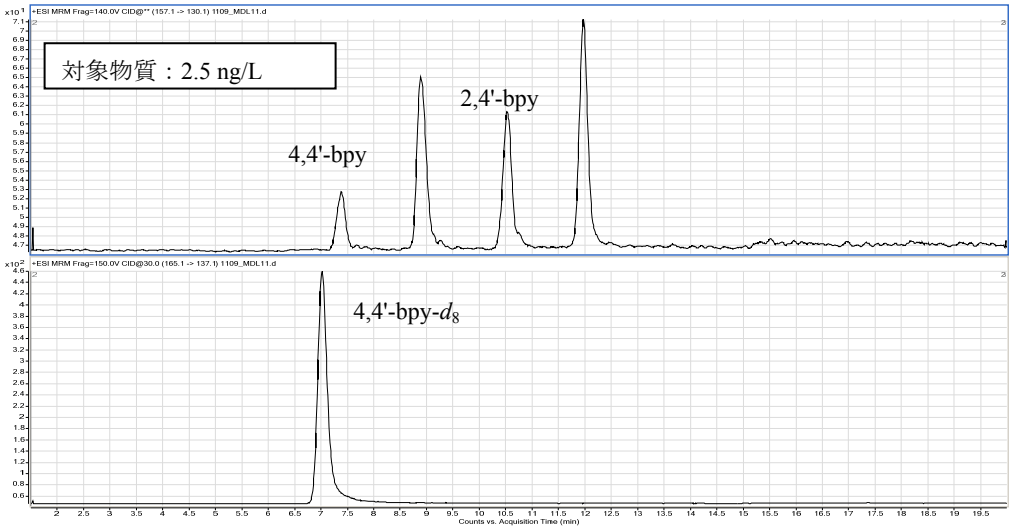


図 2　MDL 測定時のクロマトグラム（対象物質 2.5 ng/L）

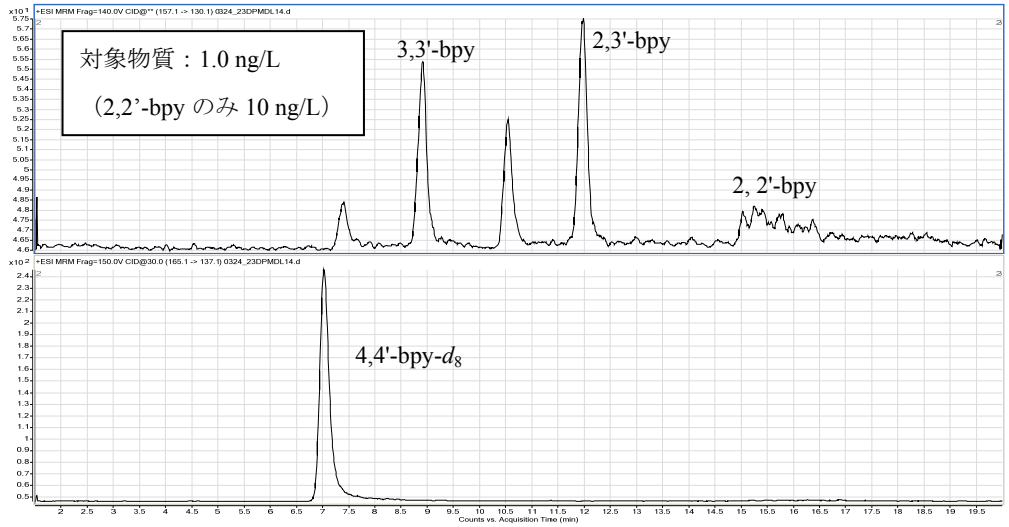


図 3　MDL 測定時のクロマトグラム（対象物質 1.0 ng/L）

§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。

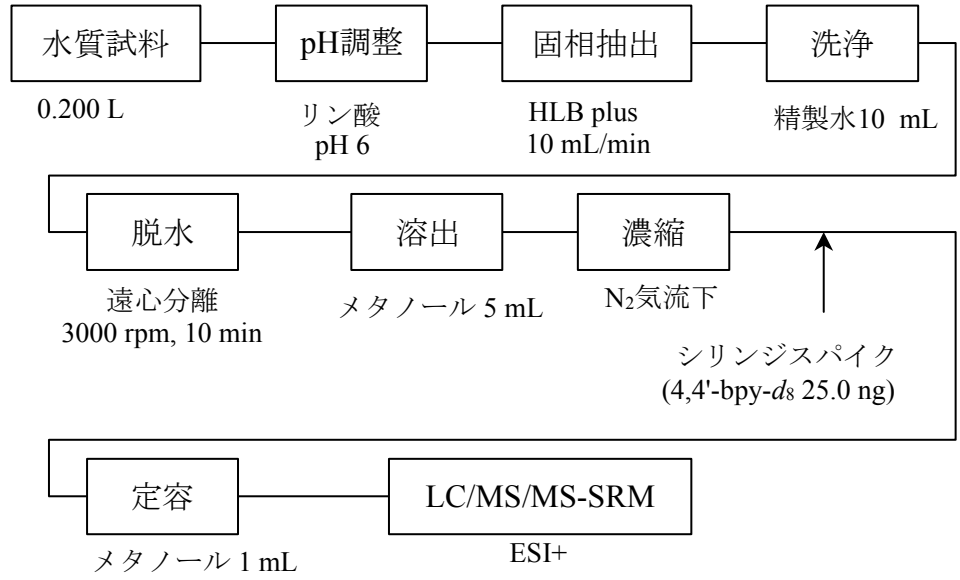


図 4 分析法のフローチャート

〔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。

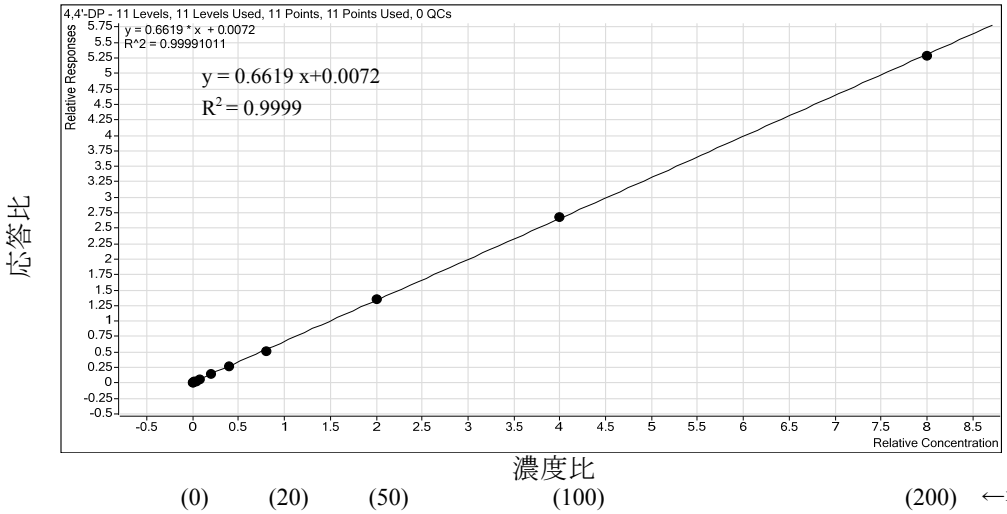


図 5　4,4’-ビピリジル検量線（対象物質濃度範囲 0.1～200 ng/mL）

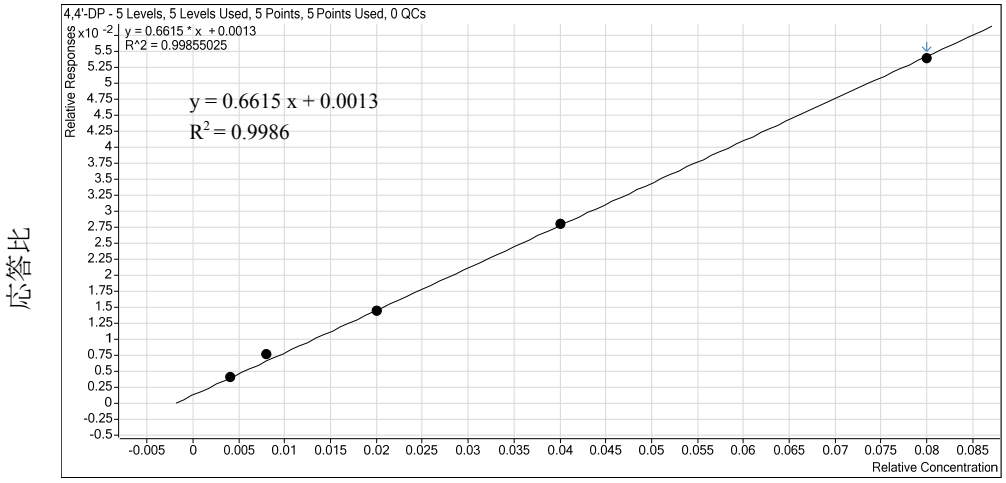
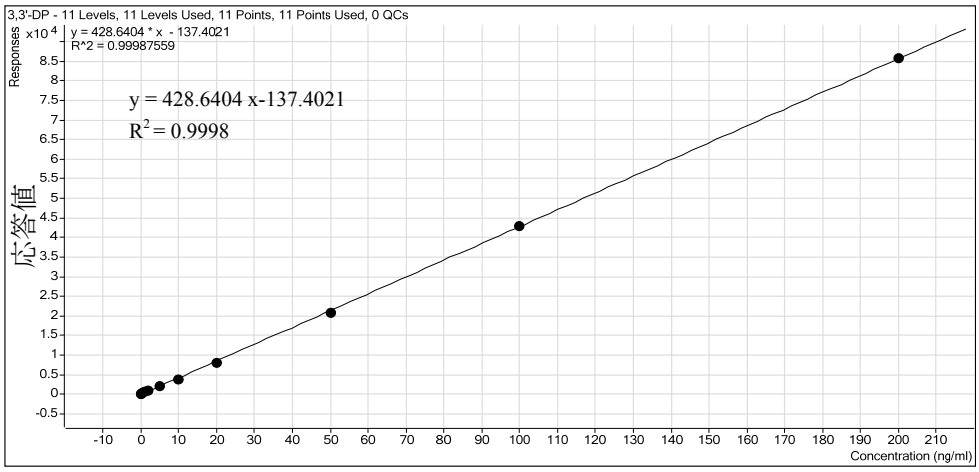


図 6　4,4'-ビピリジル検量線（対象物質濃度範囲 0.1～2 ng/mL）

表 5　検量線作成用データ（4,4'-ビピリジル）

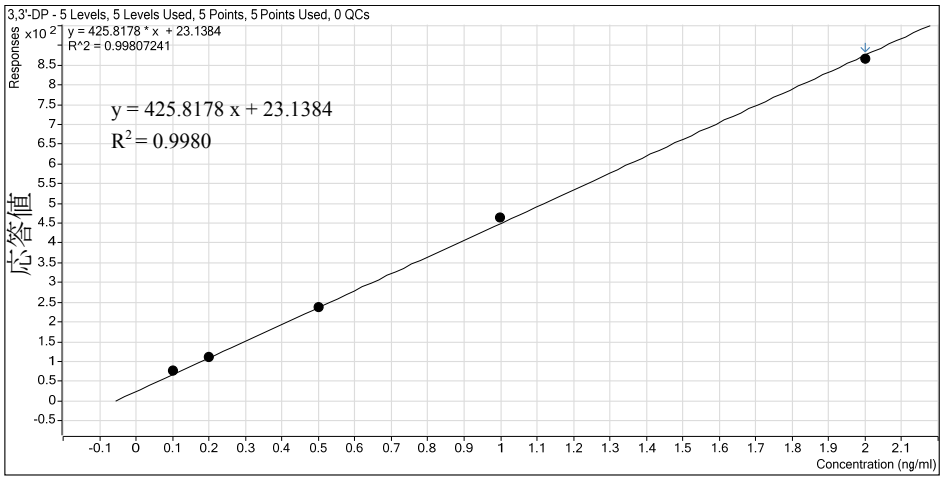
濃度比	標準液濃度 (*Cs*) (ng/ml)	応答値		応答比 (*As/Ais*)
		4,4'-bpy(*As*) (*m/z* 157>130)	内標準(*Ais*) (*m/z* 165>137)	
0.004	0.100	51	5421	0.009
0.008	0.200	62	5539	0.011
0.020	0.500	102	5528	0.018
0.040	1.00	179	5612	0.032
0.080	2.00	304	5675	0.053
0.200	5.00	791	5651	0.140
0.400	10.0	1379	5268	0.262
0.800	20.0	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



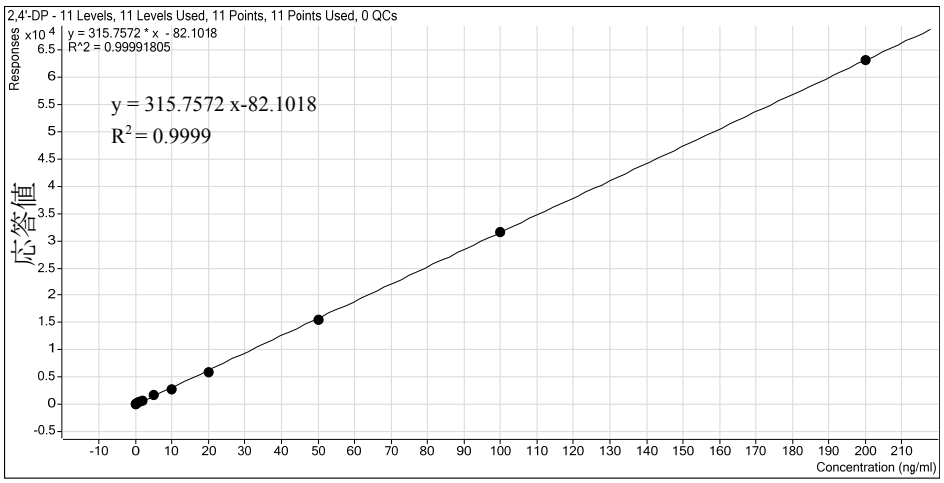
濃度 (ng/mL)

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）



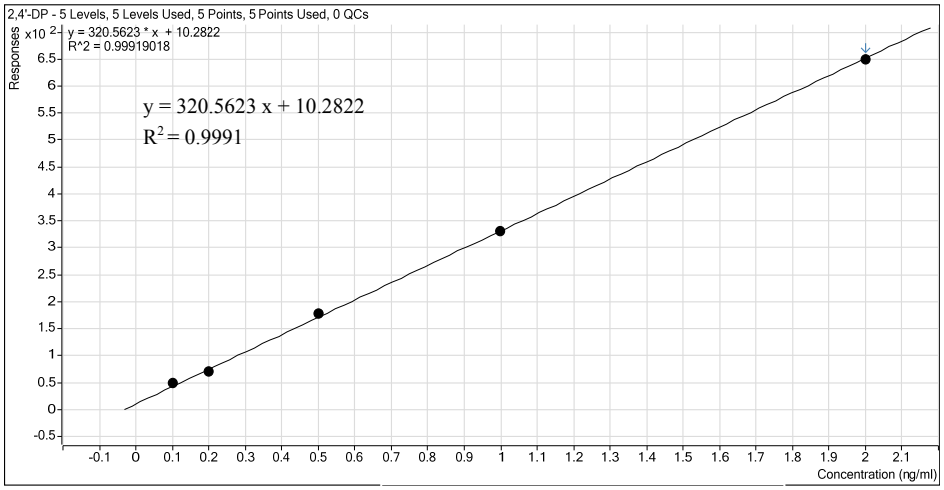
濃度 (ng/mL)

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）



濃度 (ng/mL)

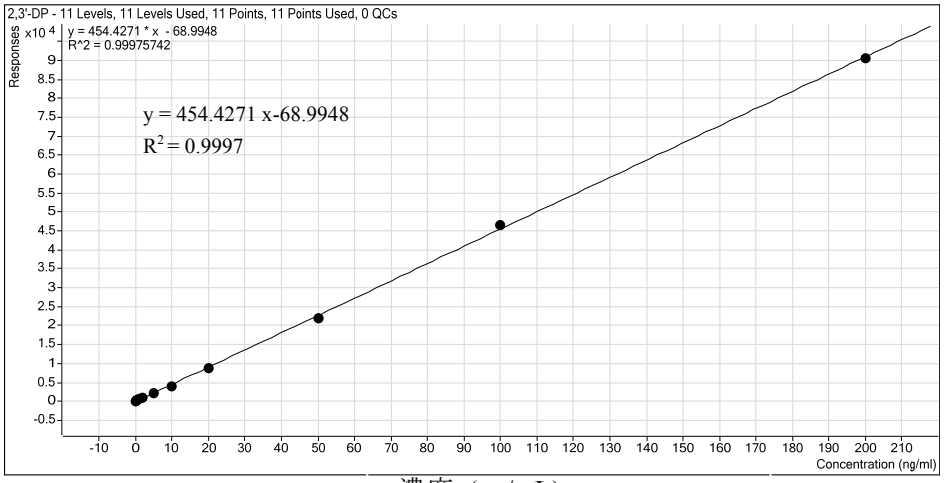
図 9　2,4'-ビピリジル検量線（対象物質濃度範囲 0.1～200 ng/mL）



応答値

濃度 (ng/mL)

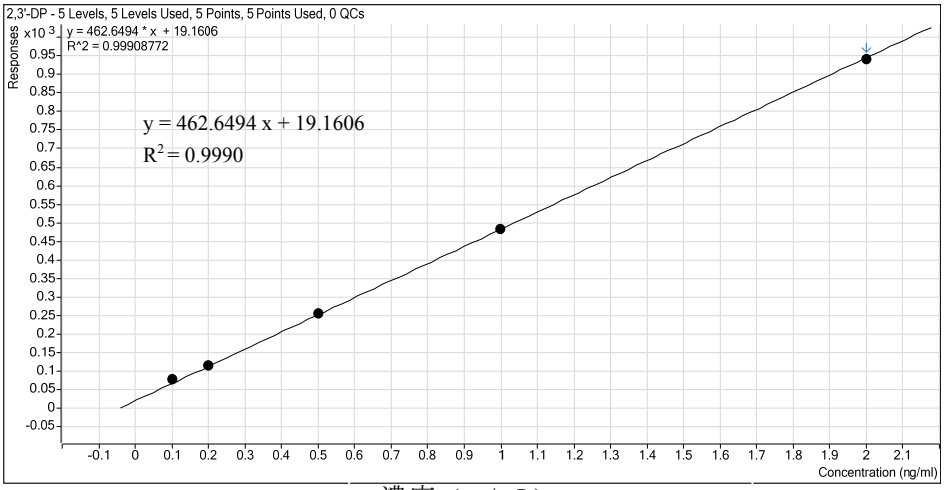
図 10　2,4'-ビピリジル検量線（対象物質濃度範囲 0.1～2 ng/mL）



応答値

濃度 (ng/mL)

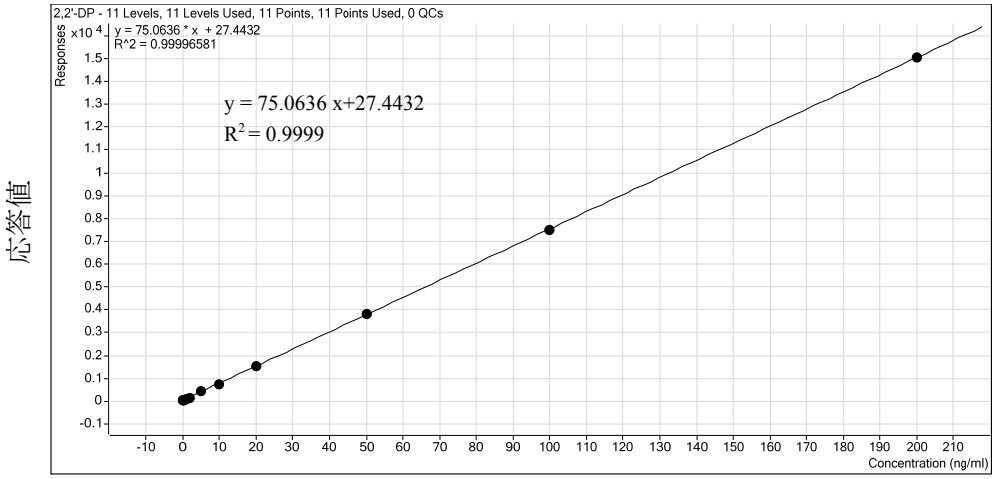
図 11　2,3'-ビピリジル検量線（対象物質濃度範囲 0.1～200 ng/mL）



応答値

濃度 (ng/mL)

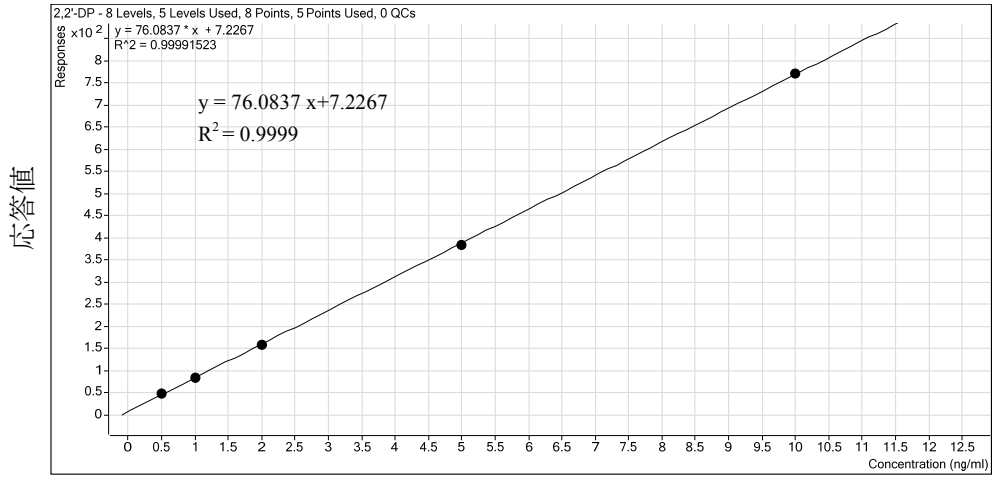
図 12　2,3'-ビピリジル検量線（対象物質濃度範囲 0.1～2 ng/mL）



応答値

濃度 (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）



応答値

濃度 (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	応答値			
(*Cs*) (ng/ml)	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。

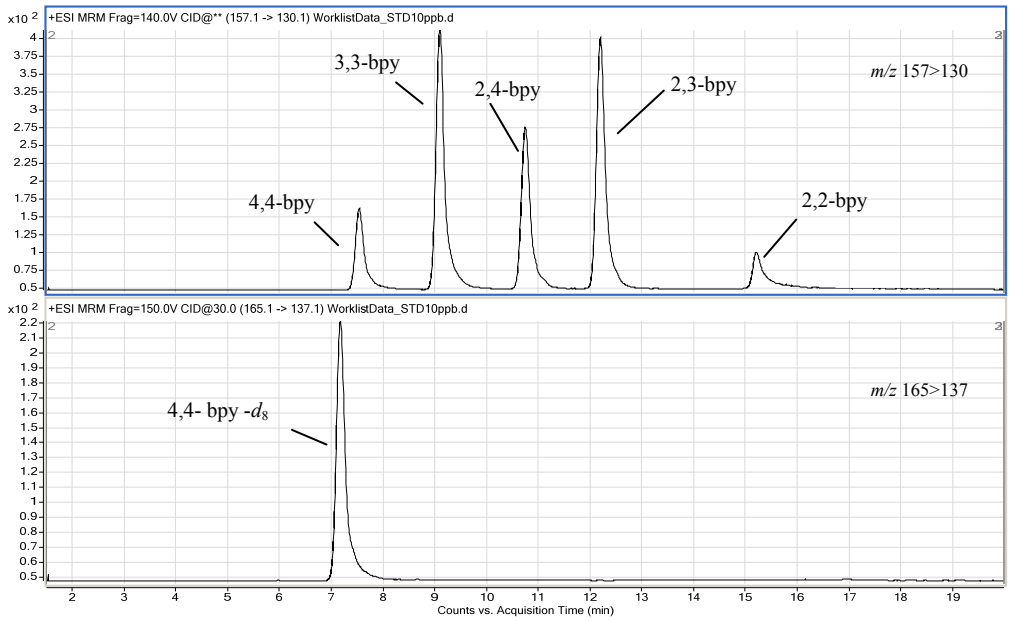


図 15　検量線用標準液 10 ng/mL のクロマトグラム

〔標準物質のマススペクトル〕

標準物質のマススペクトルを図 16～21 に示す。

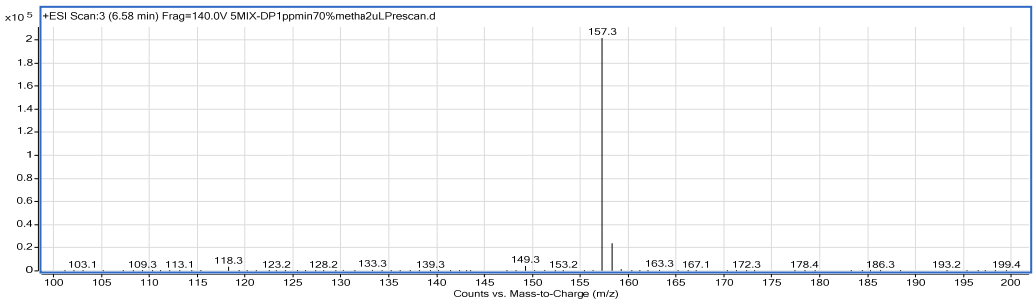


図 16-1　4,4’-ビピリジル (1 mg/L) のマススペクトル（MS スキャン）

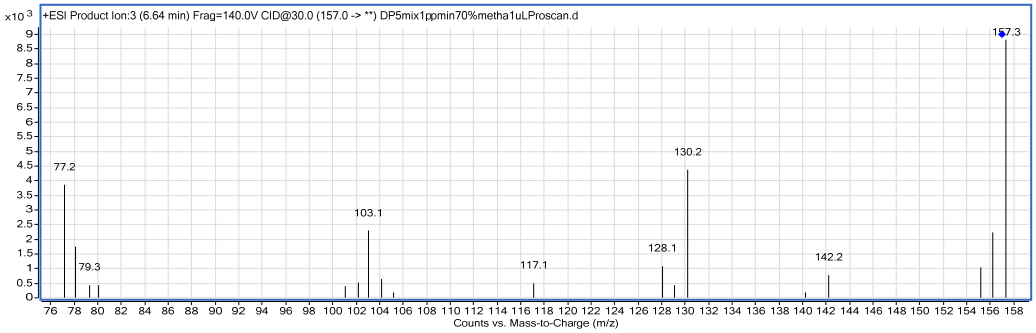


図 16-2　4,4’-ビピリジル (1 mg/L) のマススペクトル
（プレカーサーイオン *m/z* 157.3 としたプロダクトイオンスキャン）

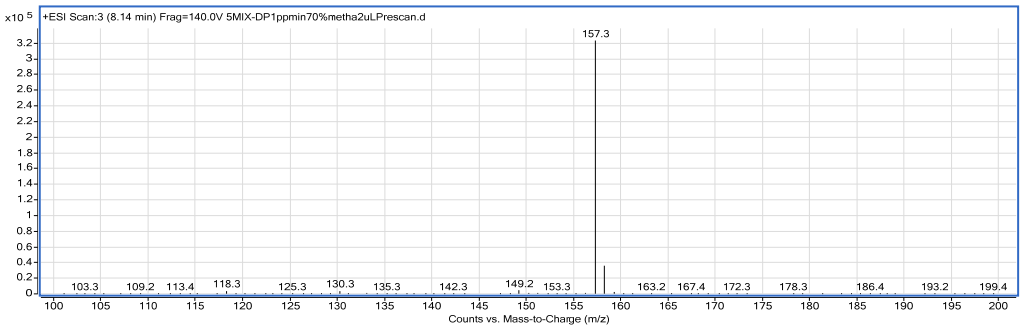


図 17-1　3,3’-ビピリジル (1 mg/L)のマススペクトル（MS スキャン）

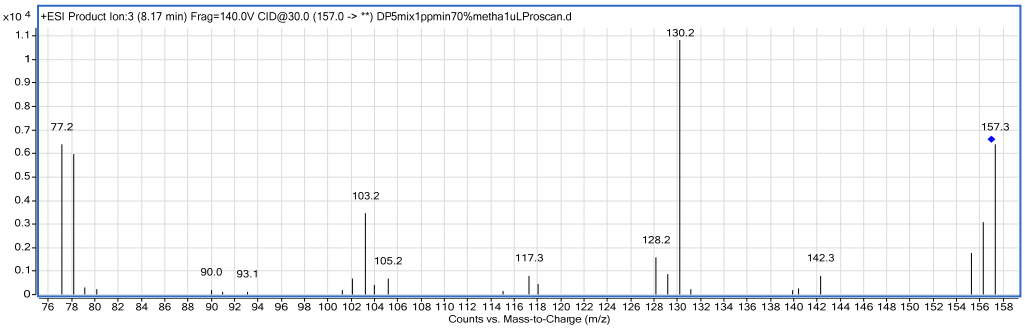


図 17-2　3,3’-ビピリジル (1 mg/L)のマススペクトル
（プレカーサーイオン *m/z* 157.3 としたプロダクトイオンスキャン）

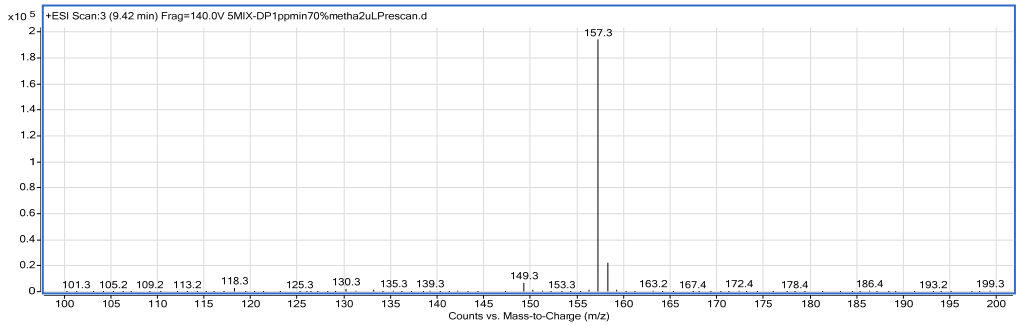


図 18-1　2,4’-ビピリジル (1 mg/L) のマススペクトル（MS スキャン）

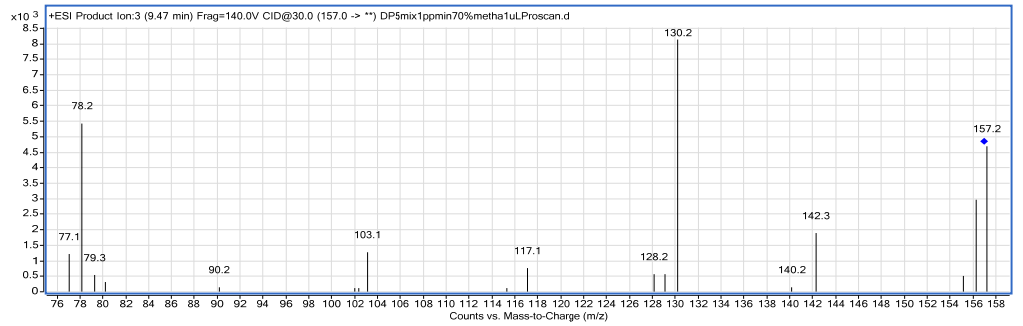


図 18-2　2,4’-ビピリジル (1 mg/L) のマススペクトル
（プレカーサーイオン *m/z* 157.3 としたプロダクトイオンスキャン）

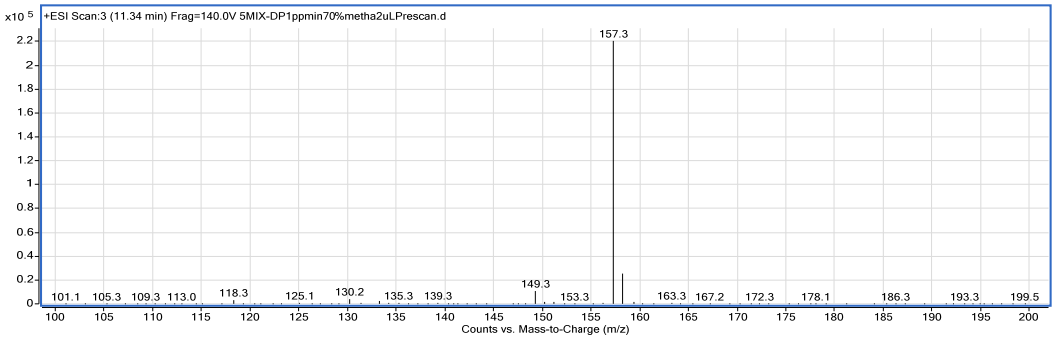


図 19-1　2,3’-ビピリジル (1 mg/L) のマススペクトル（MS スキャン）

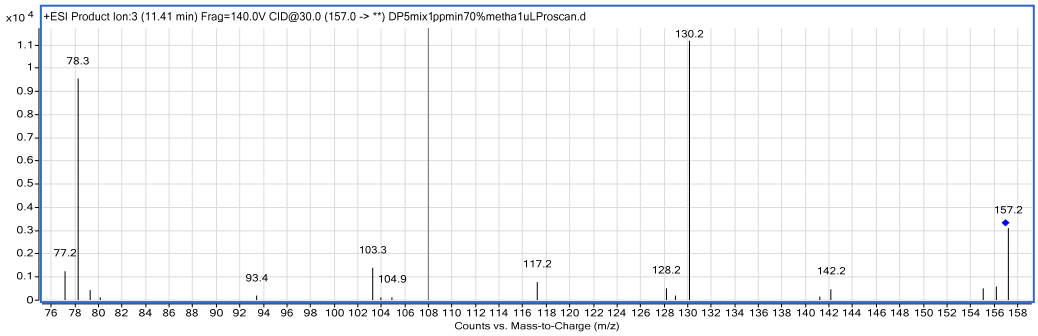


図 19-2　2,3’-ビピリジル (1 mg/L) のマススペクトル
（プレカーサーイオン *m/z* 157.2 としたプロダクトイオンスキャン）

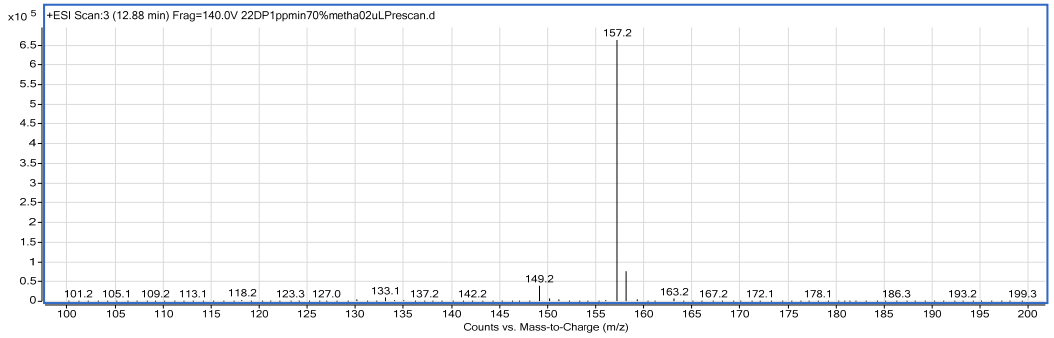


図 20-1　2,2’-ビピリジル（1 mg/L）のマススペクトル（MS スキャン）

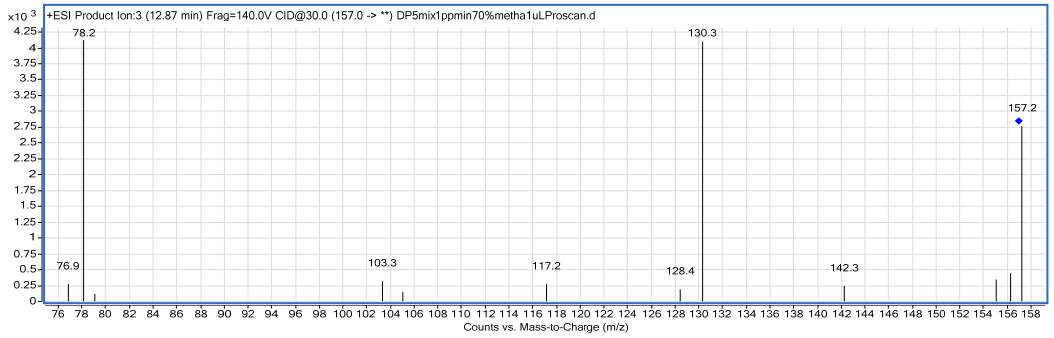


図 20-2　2,2’-ビピリジル(1 mg/L) のマススペクトル
（プレカーサーイオン *m/z* 157.2 としたプロダクトイオンスキャン）

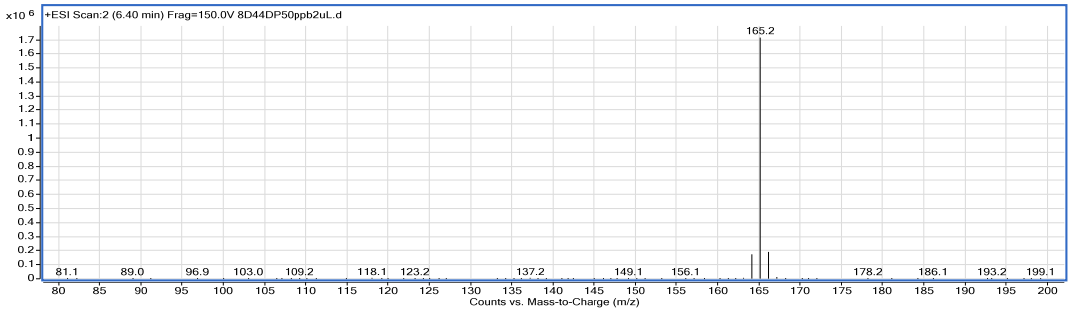


図 21-1　4,4’-ビピリジル-d_8 (1 mg/L) のマススペクトル（MS スキャン）

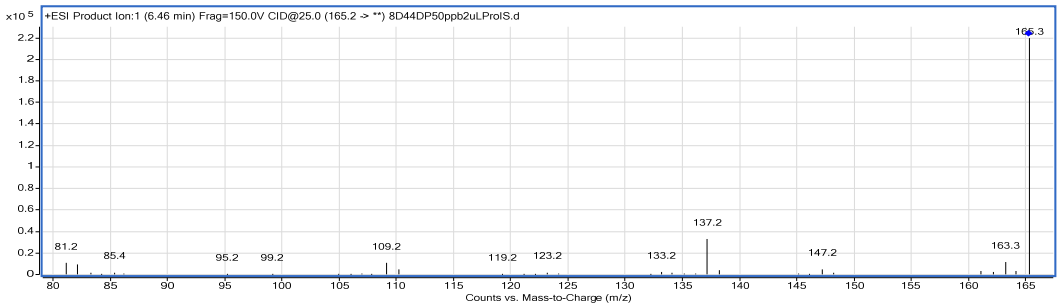


図 21-2　4,4’-ビピリジル-d_8 (1 mg/L) のマススペクトル
（*m/z* 165.3 のプロダクトイオンスキャン）

〔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。

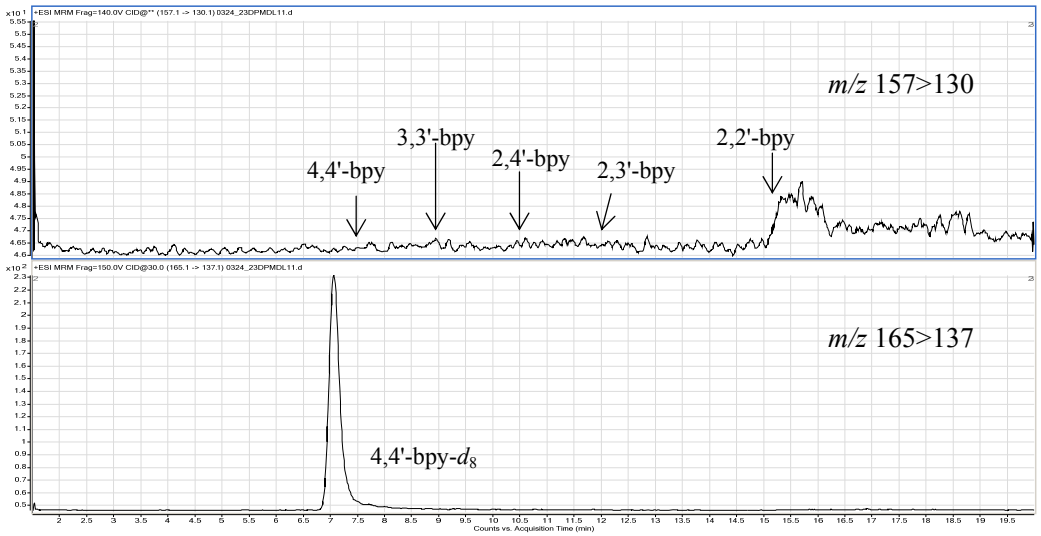


図 22　操作ブランクのクロマトグラム

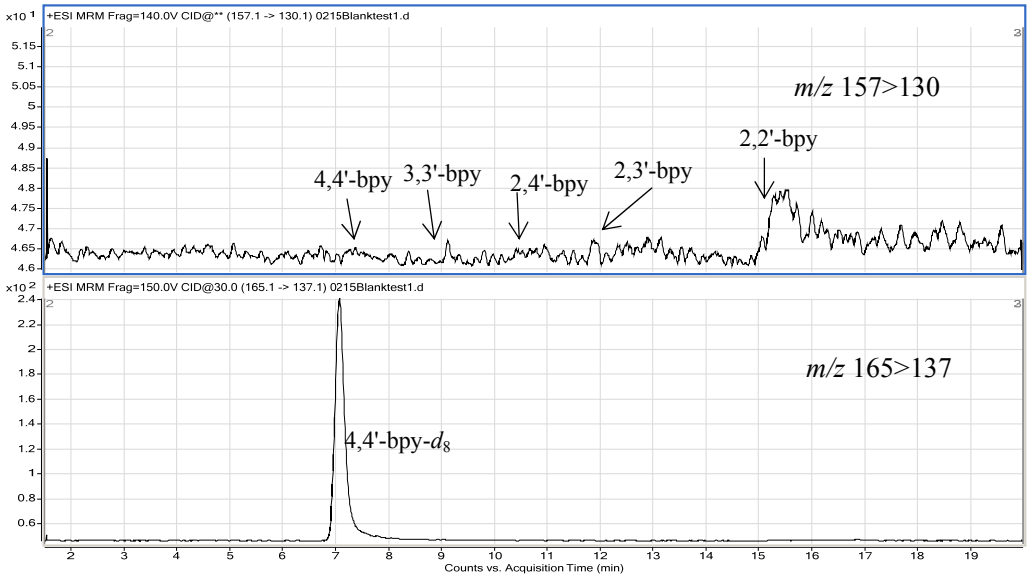


図 23　メタノール注入時のクロマトグラム

〔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

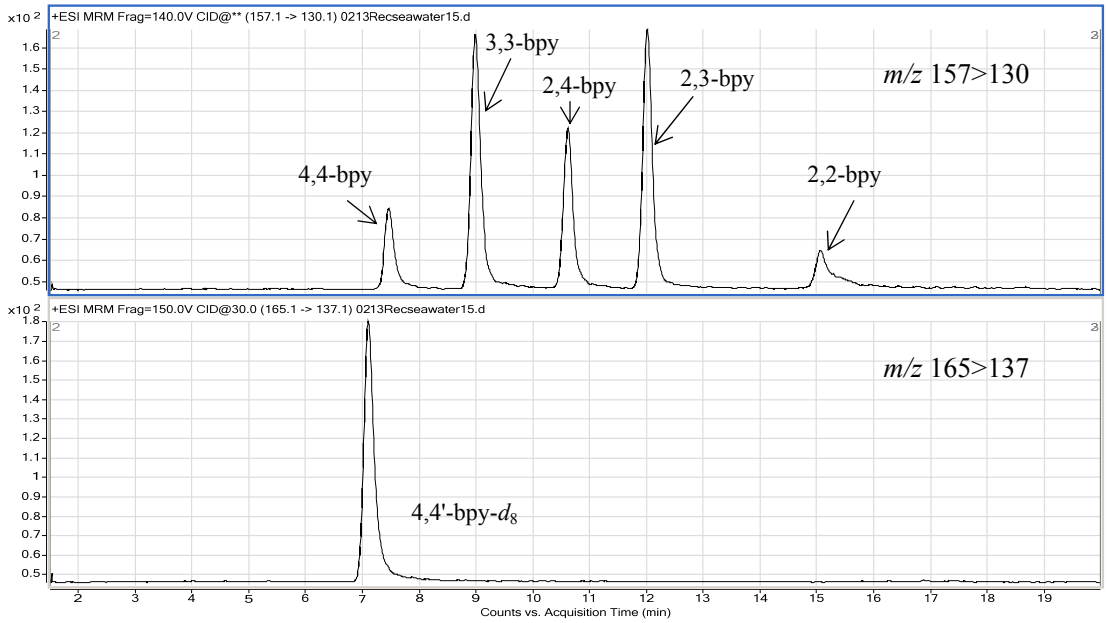


図 24　添加回収試験のクロマトグラム（40 ng 添加　海水：大船渡湾）

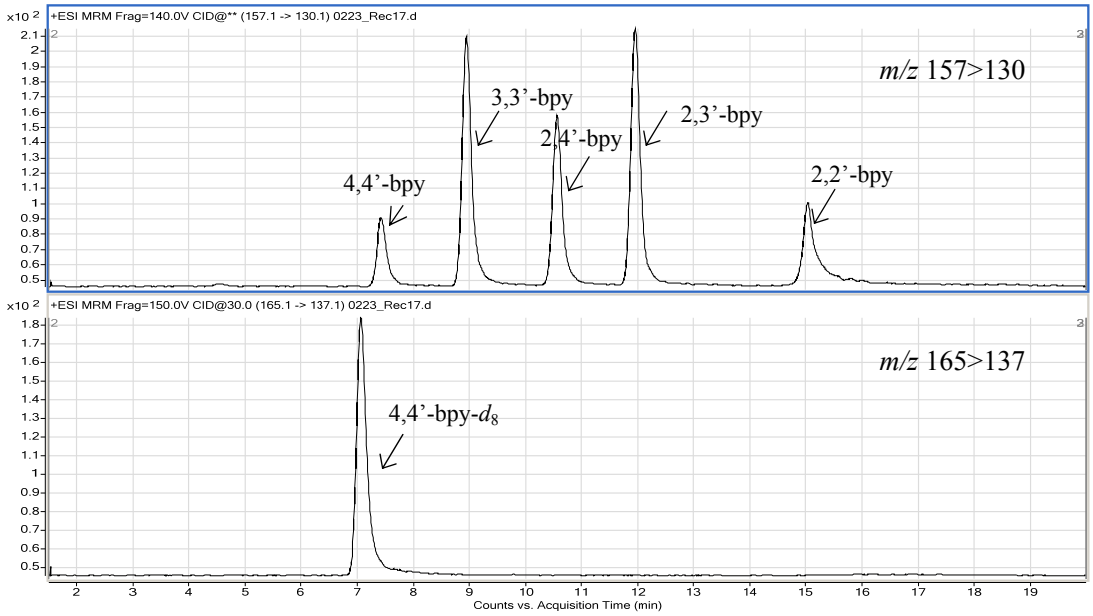


図 25　添加回収試験のクロマトグラム（40 ng 添加　河川水：諸葛川）

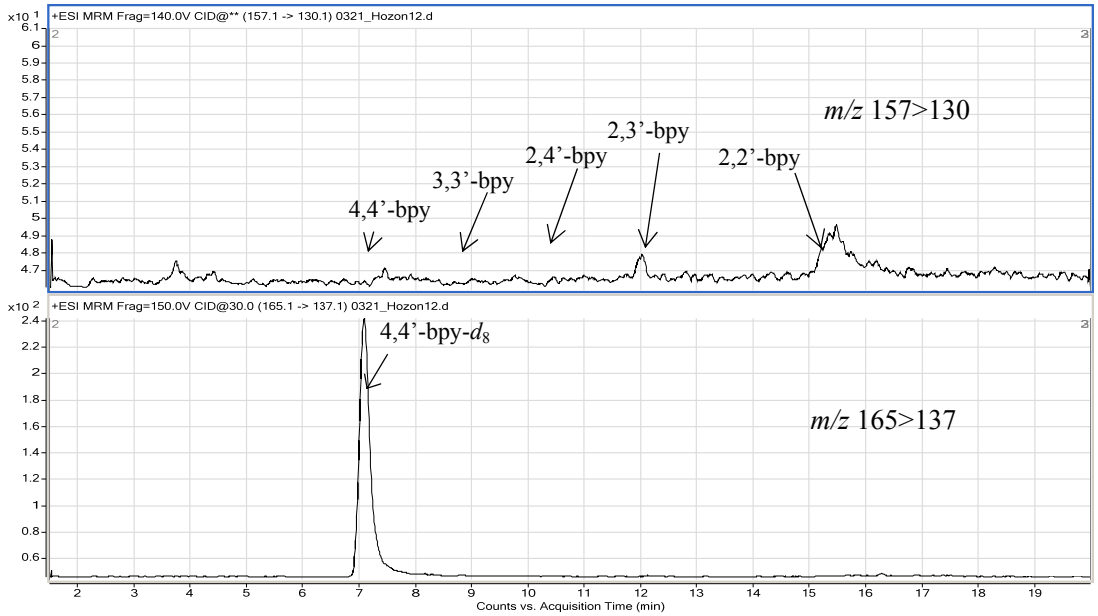


図 26　添加回収試験のクロマトグラム（大船渡湾海水　無添加）

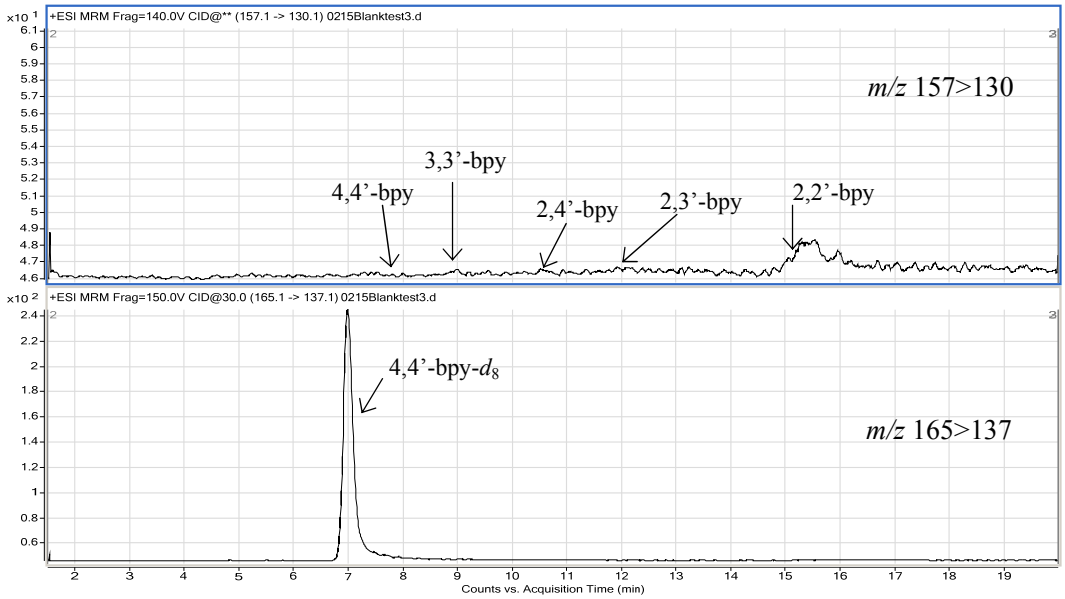


図 27　添加回収試験のクロマトグラム（諸葛川河川水　無添加）

〔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 (μg/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。

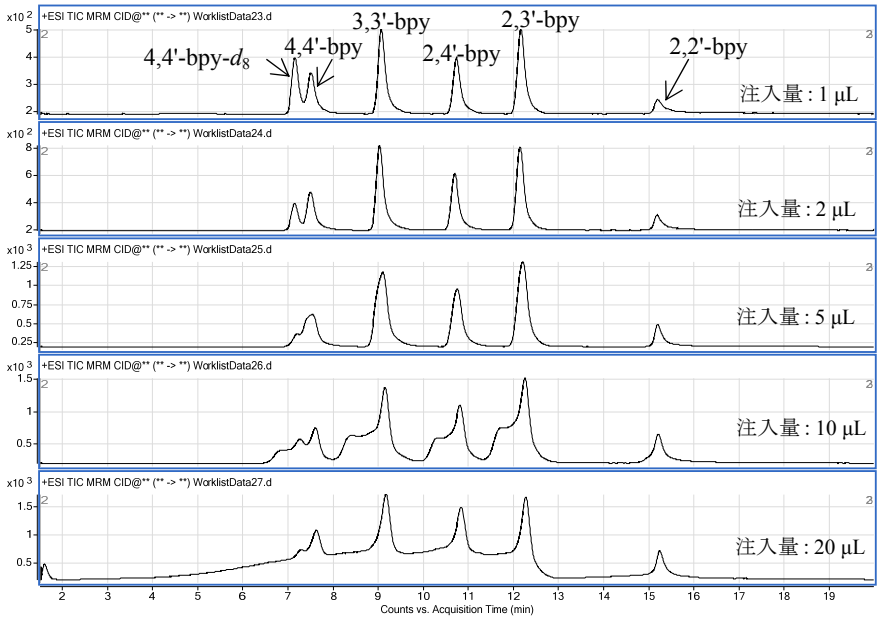


図 28　注入量によるピーク形状の変化（メタノール 100% 10 μg/L 標準液）

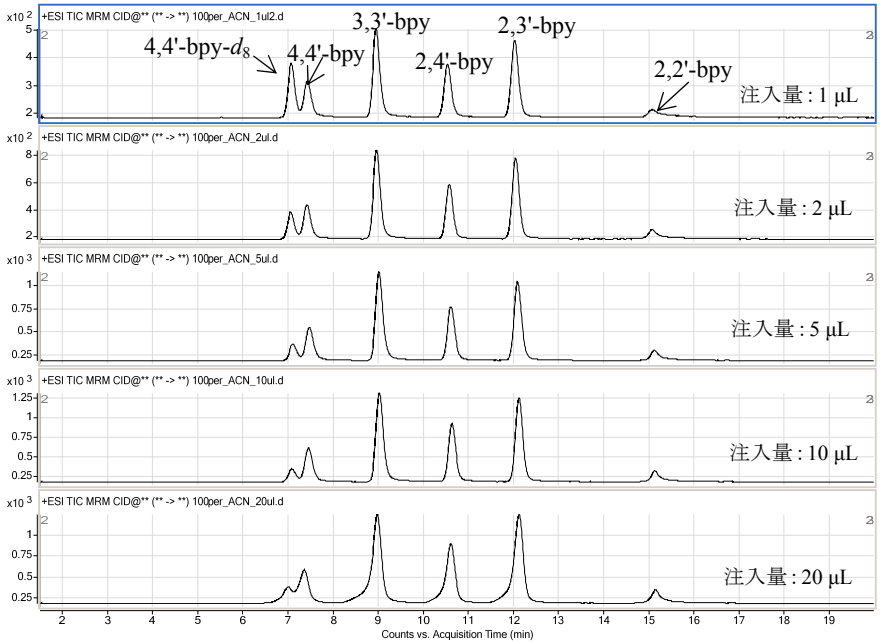


図 29　注入量によるピーク形状の変化（アセトニトリル 100% 10 μg/L 標準液）

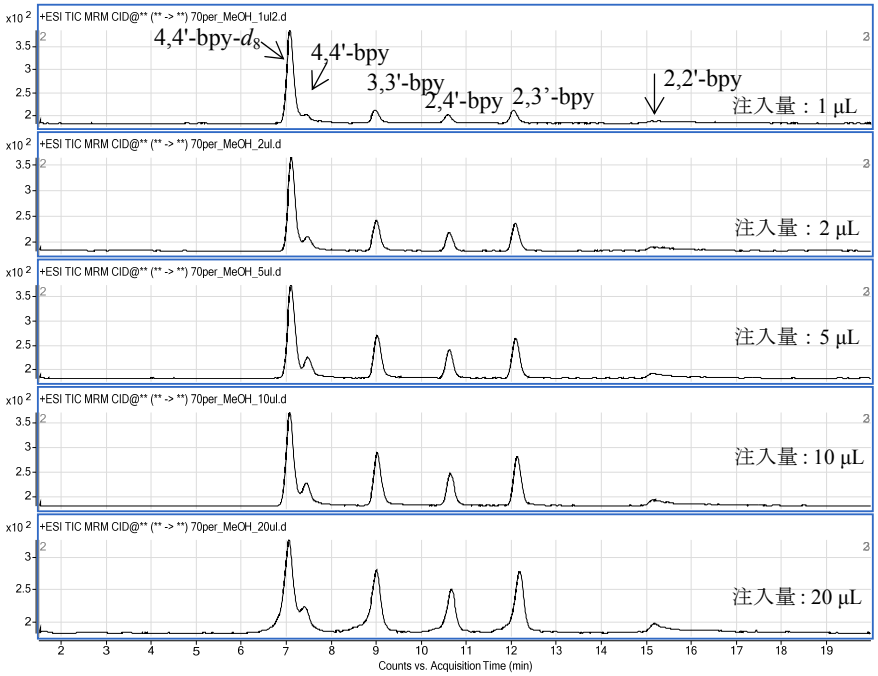


図 30　注入量によるピーク形状の変化（メタノール 70 % 1 μg/L 標準液）

〔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。

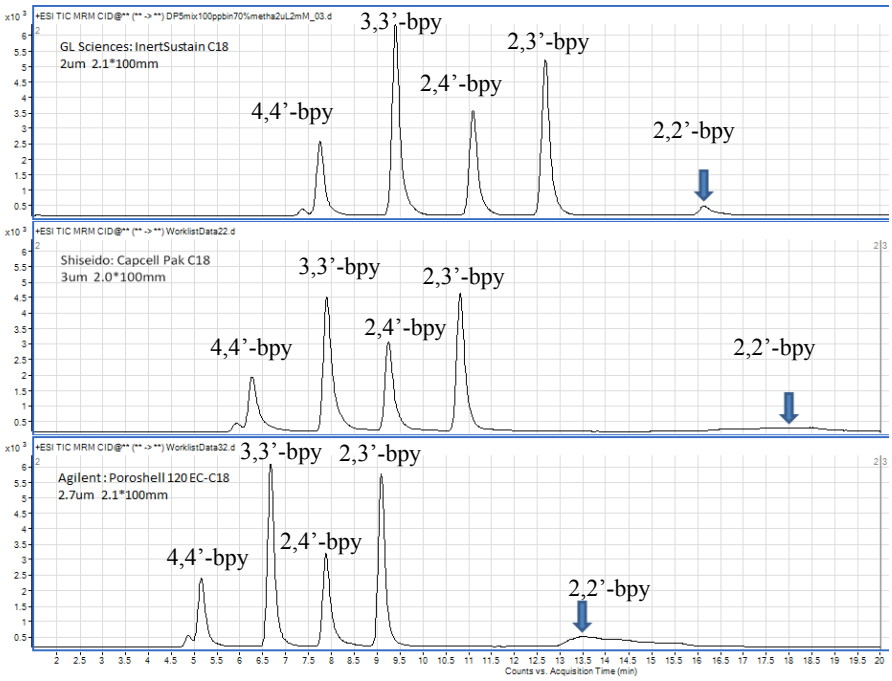


図 31　各社不活性 ODS カラムによるビピリジルの分離
（矢印のピークが 2,2’-bpy）

〔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。

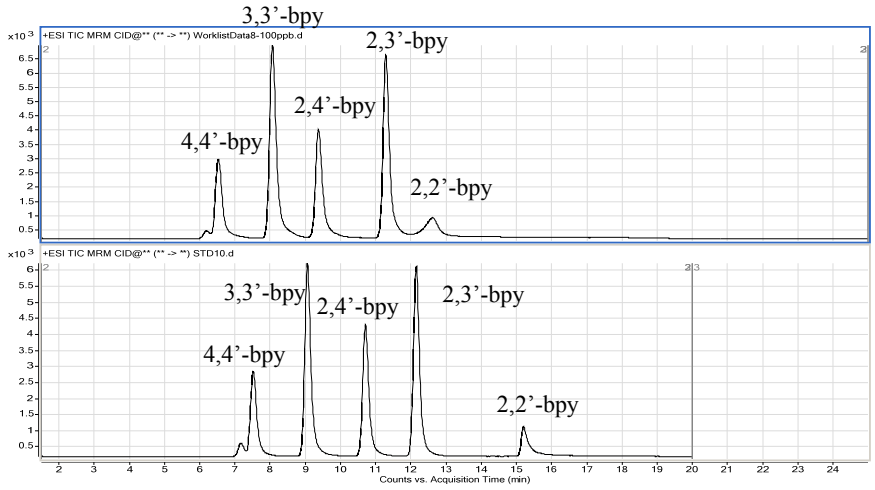


図 32　移動相の変更による分離比較
(上段：メタノール、下段：アセトニトリル)

〔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 μg/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。

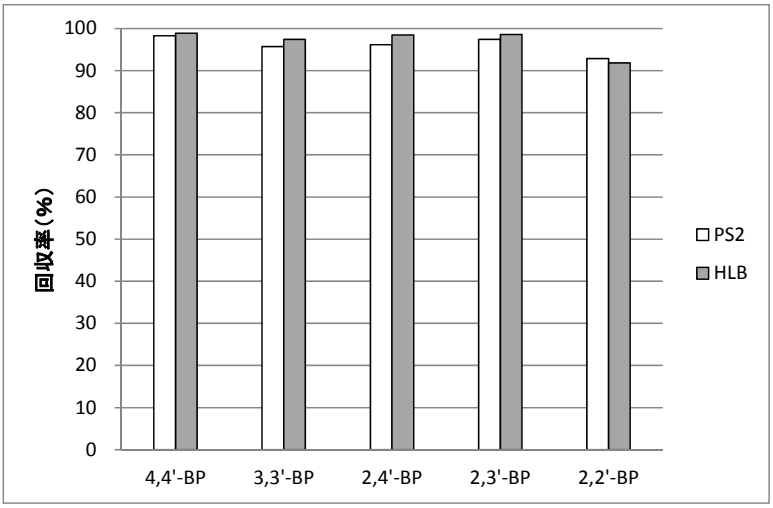


図 33　使用する固相の種類による回収率

〔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 μg/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ト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。

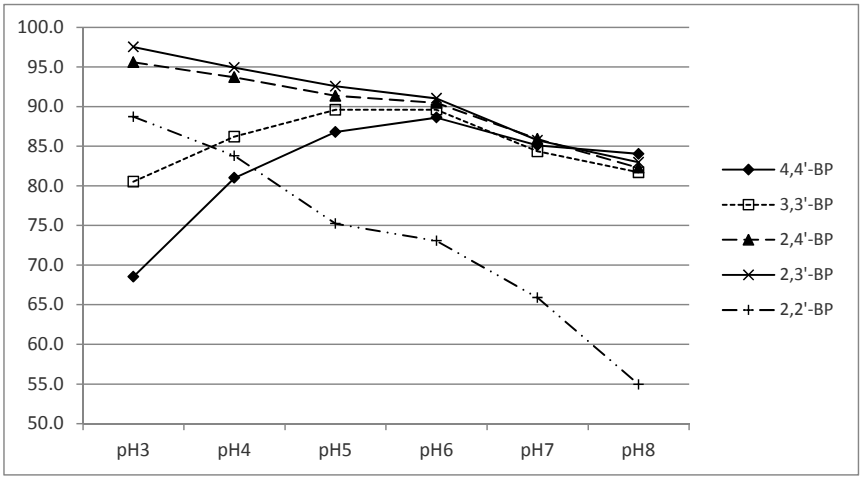


図 34　試料 pH による回収率の変化

〔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）。

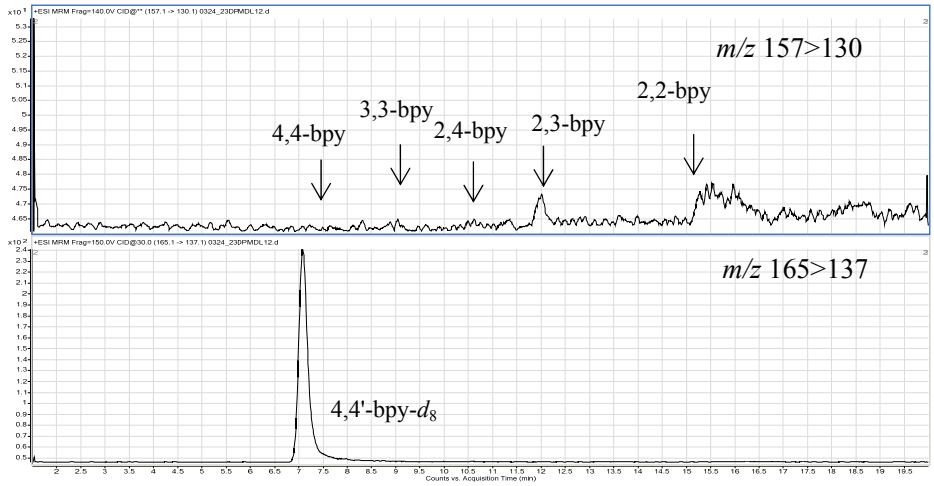


図 35　環境試料（河川水）のクロマトグラム

【評価】

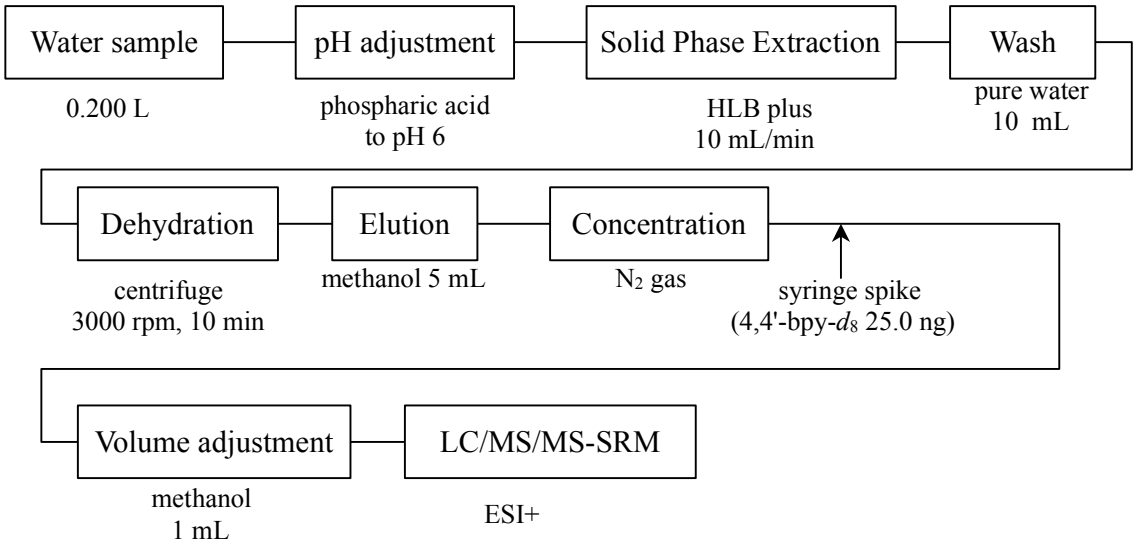
本法の IDL は、0.059 ng/mL であり、試料換算濃度値は 0.00030 μg/L である。検量線は、0.100～200 ng/mL の濃度範囲で r^2 ＞ 0.99 と良好な直線性が確認された。本法の MDL は、0.00055 μg/L であり、MQL は、0.0014 μg/L である。

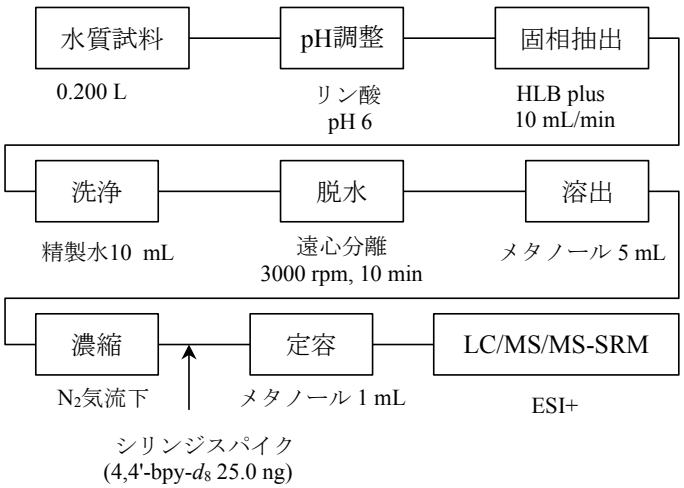
河川水及び海水に対する標準物質の添加回収試験結果は、90%以上であり変動係数は 10%以下であった。以上の結果から、本法により環境水中の 0.001 μg/L オーダの 4,4’-ビピリジルの検出が可能と判断される。

【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】  	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,2.1×100mm)

神奈川県環境科学センター
［対象媒体：大気］

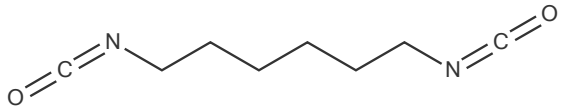
ヘキサメチレン=ジイソシアネート

Hexamethylene=diisocyanate ,

IUPAC 名: 1,6-Diisocyanatohexane

別名 ：HMDI, 1,6-HDI

【対象物質の構造】



CAS 番号：822-06-0

分子式：$C_8H_{12}N_2O_2$

【物理化学的性状】

分子量 (ﾓﾉｱｲｿﾄﾋﾟｯｸ質量)	融点 (°C)	沸点 (°C)	蒸気圧 (hPa)	水溶解度 (mg/L)	log P_{ow}
168.19[2)] (168.089876)	-67[2)]	255[1)]	700 (25°C) [1)]	反応する [1)]	1.08[1)]

【毒性、用途等】

〔毒性〕[3)]

ラット（経口）LD_{50}：105-960 mg/kg 、マウス（経口）LD_{50}：350-1979 mg/kg ラット（吸入、6 時間）LC_{50} : 385 mg/m^3、ラット（吸入、4 時間）LC_{50} : 124-350 mg/m^3、ラット（吸入、1 時間）LC_{50} : 290 mg/m^3、マウス（吸入、2 時間）LC_{50} : 30 mg/m^3、ウサギ（経皮）LC_{50}：570-599 mg/kg

IARC 、EPA、EU、NIP（発がん性評価：該当無し）

TWA （日本産業衛生学会）: 0.005 ppm (0.034 mg/m^3)

TWA (ACGIH (2010))：0.005 ppm

〔用途〕

ポリウレタン塗料原料、ポリウレタン樹脂原料、自動車・建材用塗料原料、レトルトパウチ、ラミネート材原料

出典：
1) 国際化学物質安全性カード
2) 神奈川県化学物質安全情報提供システムによるデータベース
3)（独）製品評価技術基盤機構：化学物質総合情報提供システム(CHRIP)

§1 分 析 法

(1)分析法の概要

大気試料は捕集用カセット（ORBO 80：ガラス繊維ろ紙に誘導体化試薬 1-(2-ピリジル)ピペラジン(12PP)を含浸させ専用カセットにセットしたもの）を用いて誘導体化捕集、溶媒抽出したものを LC/MS/MS(ESI-positive)で測定する。

(2)試薬・器具

【試薬】

HMDI（注1）	: 東京化成製 (>98%)
HMDIP（注2）	: 1000 μg/mL DMSO溶液　Sigma-Aldrich 製
酢酸アンモニウム水溶液	: 1 mol/L 和光純薬工業製 HPLC用
ぎ酸	: 和光純薬工業製 LC/MS用
メタノール	: 和光純薬工業製 LC/MS用
ヘキサン（注3）	: 和光純薬工業製 ダイオキシン用
精製水	: 超純水　和光純薬工業製 PFOS、PFOA測定用

【試薬の安全性・毒性】

高濃度では中毒の危険性もある。標準試薬を取り扱うときはドラフトの中で行うなど室内を汚染させないよう注意する。

【標準液の調製】

市販の HMDIP 標準液(1000 μg/mL) をメタノールで適宜希釈し、10.0 ng/mL の標準原液を調製する。標準原液をメタノール/ 超純水(4:1, v/v)で希釈して、HMDIP として 0.0200～0.500 ng/mL（HMDI として 0.0068～0.170 ng/mL）としたものを検量線用標準液とする。

回収率や MDL の算出などに使用する誘導体化前の HMDI 標準液は、HMDI を量り取り、ヘキサンで適宜希釈して標準液を調製する。

【器具】

捕集用カセット	：Sigma-Aldrich 製　ORBO 80（注 4）
抽出ビン	：ねじ口式ガラス遠沈管　内容量 10 mL、共栓付きは不可（注 5）アズワン製 NS-10 など
接続	：オス型ルアーフィッティング（注 6）
その他	：遠心分離器

(3)分析法

【捕集用カセットの構造】

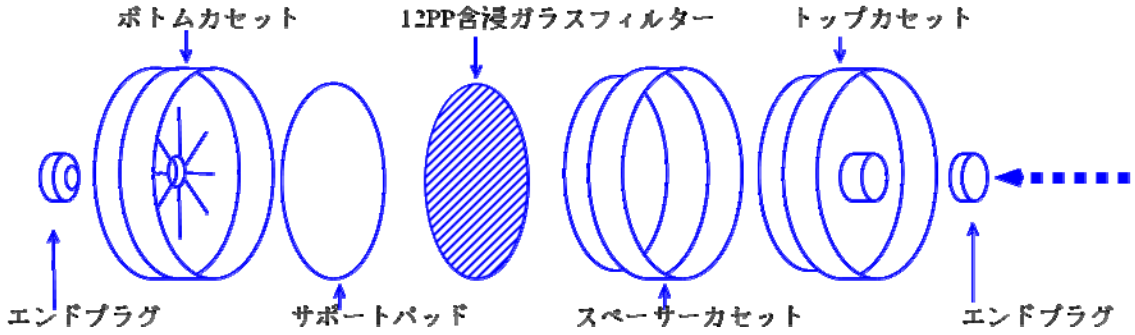


図 1　捕集用カセットの構造

【試料捕集法】

あらかじめ操作ブランクを測定し、ろ紙や器具などのコンタミが十分低いことを確認しておく。捕集用カセットは 12PP を含浸させたガラス繊維ろ紙をカセットで保持する構造をしている。試料採取まで汚染を受けないようアルミパックなどで密閉し冷蔵しておく。両端のプラグとトップカセット（注 7）を外してオス型ルアーフィッティングなどを用いてポンプと接続し、0.07 L/min の流速で大気を 24 時間通気して採取する。

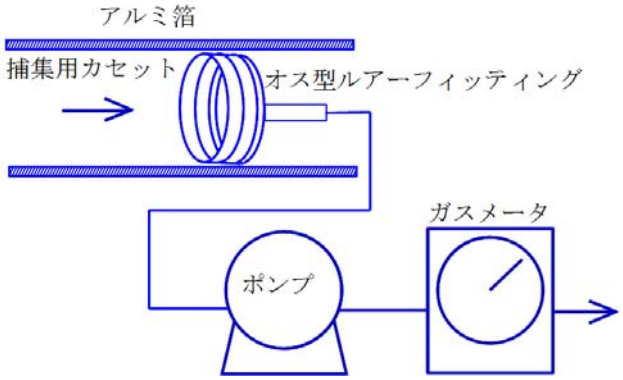


図 2　大気試料採取装置

【試料の送付方法】

試料を採取した捕集用カセットの両端にプラグをはめてアルミバックなどに入れ、冷蔵して送付する。

【試料の前処理及び試験液の調製】

試料を捕集したろ紙を抽出ビン（遠沈管、バイアルビンなど）に移し入れ、メタノール 4 mL を加えてキャップを閉めて、振り混ぜたものに精製水を加えて 5.00 mL としたものを試験液とする。試験液を 5 分間遠心分離して、その上澄みを LC/MS/MS-SRM で分析し定量する。

【空試験液の調製】

試料を捕集する以外は、すべて試験液と同様に調製したものを空試験液とする。

【誘導体化反応】

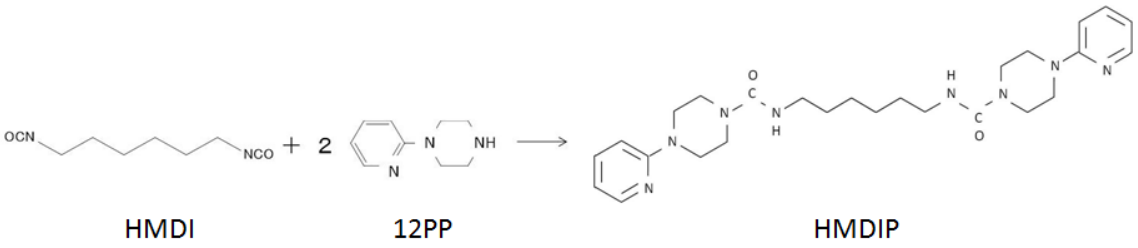


図 3　誘導体化反応

【測定】

〔LC/MS/MS 条件〕（注 8）

使用機種	: Waters 製 Acquity-UPLC Micromass Quattro premier XE
使用カラム	: Sigma-aldrich 製　Ascentis RP-Amide (3 μm, 2.1 mm×150 mm)
カラム温度	: 40°C
移動相	: A: 0.01%ぎ酸含有 5 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液 B:メタノール A: B = 40:60　0.2 mL/min　（アイソクラティック）
バルブ切り替え	: 3.5 min （注 9）、測定時間 6 min
イオン化法	: ESI positive
試料注入量	: 5.00 μL
コーン電圧	: 30 V
コリジョンエネルギー	: 30 eV

ソース温度　　：120°C
脱溶媒温度　　：500°C
脱溶媒ガス流量　　：900 L/hr
コーンガス流量　　：50 L/hr
コリジョンガス　　：0.35 mL/min Ar
モニターイオン　　：*m/z* 495.2>163.8

〔検量線〕

検量線用標準液 5 μL を LC/MS/MS に注入して分析する。対象物質の濃度と得られたピーク面積から検量線を作成する。

〔定量〕

試験液 5 μL を LC/MS/MS に注入して分析する。得られた対象物質のピーク面積を検量線に照らして定量する。

〔濃度の算出〕

大気試料中の濃度 C (ng/m^3) は次式から算出する。

$$C\,(\mathrm{ng/m^3}) = (A - Ab) \times E \times \frac{(273 + t)}{V \times (273 + 20)} \times \frac{101.3}{P}$$

A　：検量線から求めた対象物質濃度　(ng/mL)
Ab　：空試験液の対象物質濃度　(ng/mL)
E　：試験液量　(mL)：本法に従った場合は 5 mL
t　：試料採取時の平均気温　(°C)
V　：大気採取量　(m^3)　：本法に従った場合は 0.10 m^3
P　：試料採取時の平均気圧　(kPa)

〔装置検出下限 (IDL)〕

本分析に用いた LC/MS の IDL を下記に示す（注 10）。

表 1　IDL の算出結果

物質名	IDL (ng/mL)	大気採取量 (m^3)	最終液量 (mL)	IDL 試料換算値 (ng/m^3)
HMDI	0.0014	0.100	5.00	0.072

〔測定方法の検出下限 (MDL)及び定量下限(MQL)〕

本分析の MDL 及び MQL を下記に示す（注 11）。

表 2　MDL 及び MQL の算出結果

物質名	大気採取量 (m^3)	最終液量 (mL)	MDL (ng/m^3)	MQL (ng/m^3)
HMDI	0.100	5.00	0.14	0.37

注　解

（注 1）添加回収試験に用いた未反応の対象物質である。

（注 2）HMDIP　：*N*,*N*'-1,6-Hexanediylbis(4-(2-pyridinyl)-1-piperazine))
測定時の標準物質となる、誘導体化後の試薬である。

（注 3）回収率や MDL の算出時に、未反応の試薬を希釈するのに用いた。ジイソシアネート類は反応性が高く、アルコール類などで希釈すると、反応して濃度が変動するおそれがある。

（注 4）ORBO 80 の調製済みろ紙を用いない場合は、ガラス製ろ紙（37 mm 径 Type A/E（Pall corporation 製））をメタノールで洗浄し、乾燥させてから 0.5% 12PP メタノール溶液 0.2 mL をなるべく均一に塗布して乾燥させる。一連の操作はクリーンルームなど汚染のない環境で行い、できあがったろ紙は密閉できる容器で保存する。このろ紙 1 枚は、誘導体化試薬 12PP を 1 mg 含んでいる。

市販品の調製済みろ紙を用いる場合でも自分で調製する場合でも、事前に汚染レベルを確認しておく必要がある。

（注 5）密閉できて汚染しにくい構造である必要がある。共栓のすり合わせ部分は、特に二次汚染しやすい。使用はなるべく一回限りとしたほうが良い。

（注 6）使い古しの Sep-Pak など、固相抽出カートリッジでも代用できる。

（注 7）トップカセットまで取り外すのはろ紙部分を大気解放にしておくためである。ろ紙から拡散した誘導体化試薬と対象物質が反応すると、カセットの内側に残留してろ紙に到達しないおそれがある。

（注 8）LC/MS/MS の条件は、本測定に使用した機種 (Waters Quattro Premier XE) 特有のものである。

（注 9）試験液中には未反応の 12PP が高濃度に存在し、およそ 3 分で溶出する。LC/MS のイオン源を保護するために、最初の 3.5 分はイオン源に流入ないようにした方が良い。

H26精査等検討時に、ヘキサメチレン=ジイソシアネート(HMDI)の安定性について開発機関から次の情報を得たので報告する。「未反応のHMDI(誘導体化でHDMIPとなる前)は、希釈すると安定性が低く、添加前に濃度が低下して見かけの回収率が低下する、という現象が分析法開発段階でしばしば見られた。捕集用ろ紙には、誘導体化試薬が含浸されており、その反応は極めて速やか、破過は見られず、反応後は極めて安定であった。未反応HMDIの濃度の低下は、溶媒の種類、ガラス器具の質、そもそもの濃度レベル等で違い、分析法に記載したヘキサン溶液では安定だった。」(2014年度精査等検討会コメント)

（注 10）IDL は、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）に従って、下記のとおり算出した。

表 3　IDL の算出結果

物質名	HMDI
試料量 (m^3)	0.100
最終液量 (mL)	5.00
注入液濃度 (ng/mL)	0.0068
装置注入量 (μL)	5.00
結果 1 (ng/mL)	0.00679
結果 2 (ng/mL)	0.00708
結果 3 (ng/mL)	0.00612
結果 4 (ng/mL)	0.00708
結果 5 (ng/mL)	0.00630
結果 6 (ng/mL)	0.00647
結果 7 (ng/mL)	0.00658
平均値 (ng/mL)	0.006632
標準偏差 (ng/mL)	0.000371
IDL (ng/mL)*	0.0014
IDL試料換算値 (ng/m^3)	0.072
S/N比	10
CV (%)	5.6

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

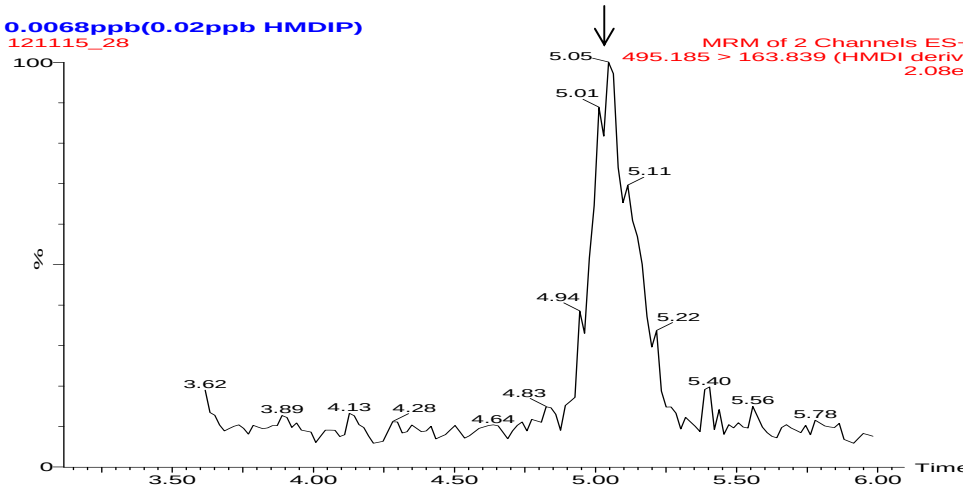


図 4　IDL 測定時のクロマトグラム

（0.02 ng/mL(HMDIP)　HMDI として 0.0068 ng/mL に相当する。）

（注 11）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）により、下記のとおり算出した。添加したのは未反応の標準物質ヘキサン溶液であるが、ガス状で標準物質を定量的に添加するのは事実上不可能だったので、添加はろ紙に直接行った。

表4　MDL及びMQLの算出結果

物質名	HMDI
試料	環境大気
試料量 (m^3)	0.100
標準添加量 (ng)	0.085
試料換算濃度 (ng/m^3)	0.85
最終液量 (mL)	5.00
注入液濃度 (ng/mL)	0.017
	（HMDIPとして0.05 ng/mL）
装置注入量 (μL)	5.00
操作ブランク平均 (ng/m^3)*1	ND
無添加平均 (ng/m^3)*2	ND
結果1 (ng/m^3)	0.798
結果2 (ng/m^3)	0.756
結果3 (ng/m^3)	0.700
結果4 (ng/m^3)	0.707
結果5 (ng/m^3)	0.736
結果6 (ng/m^3)	0.719
結果7 (ng/m^3)	0.692
平均値 (ng/m^3)	0.7296
標準偏差 (ng/m^3)	0.03702
MDL (ng/m^3)*3	0.14
MQL (ng/m^3)*4	0.37
S/N比	10
CV (%)	5.1

*1: 試料マトリ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 (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=2)

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

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

§2　解　説

【分析法】

〔フローチャート〕

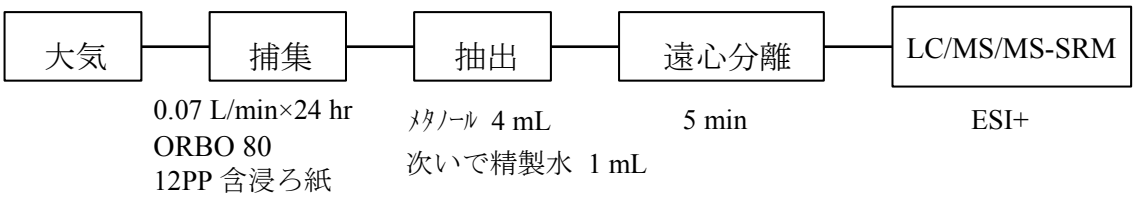


図 5　分析法のフローチャート

〔検量線〕

表 5　検量線作成用データ

標準液濃度 (ng/mL)		対象物質応答値
HMDIP	（HMDI として）	HMDIP (*m/z* 495>164)
0.020	(0.0068)	294.4
0.050	(0.0170)	742.4
0.100	(0.0340)	1440.9
0.200	(0.0680)	2905.3
0.300	(0.1020)	4422.5
0.400	(0.1360)	5794.9
0.500	(0.1700)	7040.9

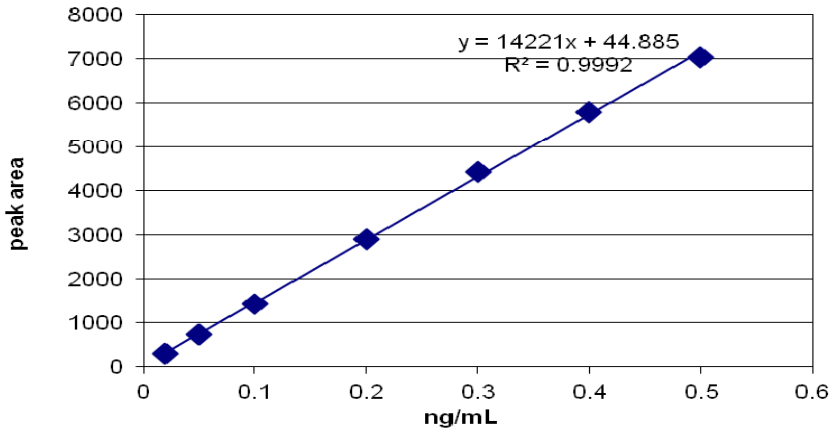
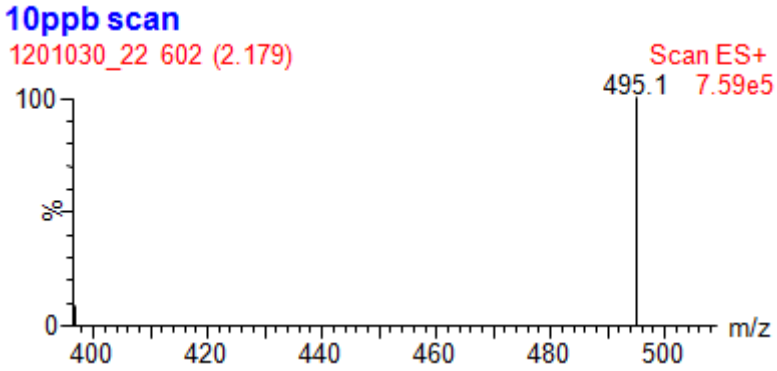
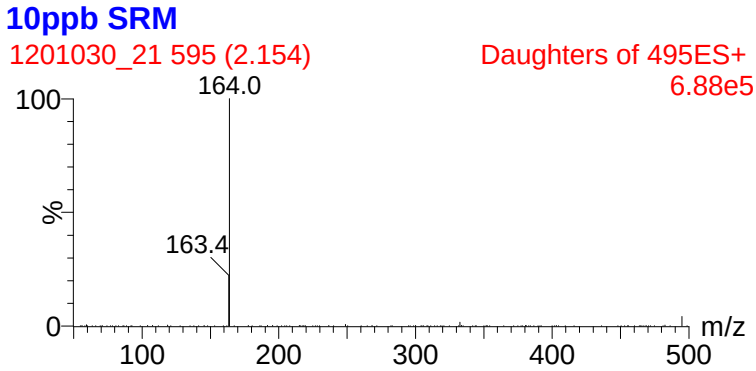


図 6　検量線（0.020～0.500 ng/mL（HMDIP として））

〔マススペクトル〕



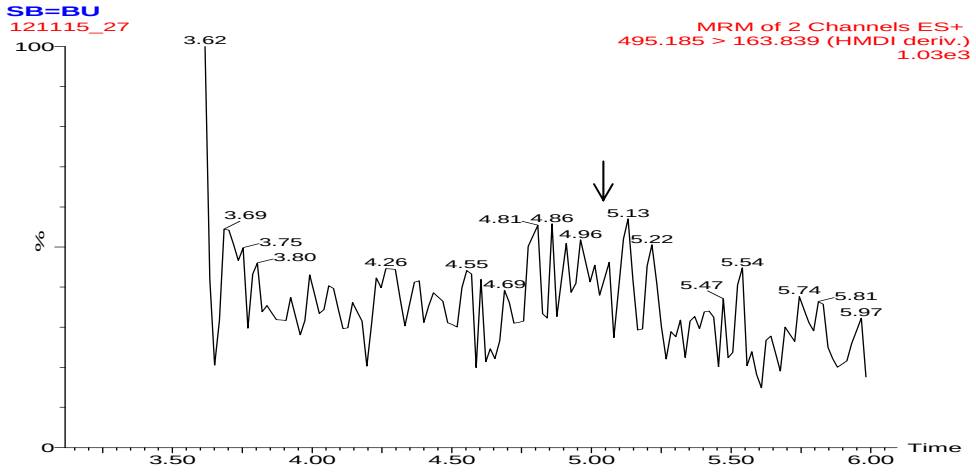
HMDIP のスキャンスペクトル



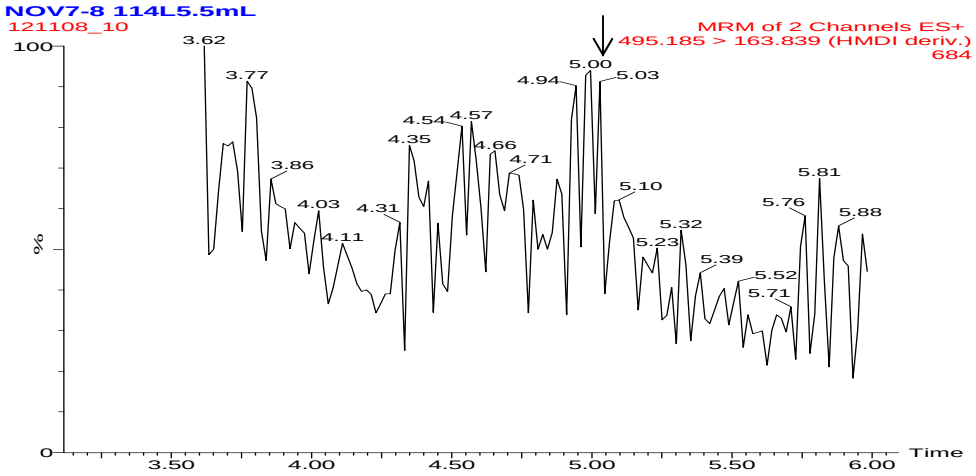
m/z 495 をプレカーサーイオンとした場合のプロダクトイオンスペクトル

図 7　マススペクトル

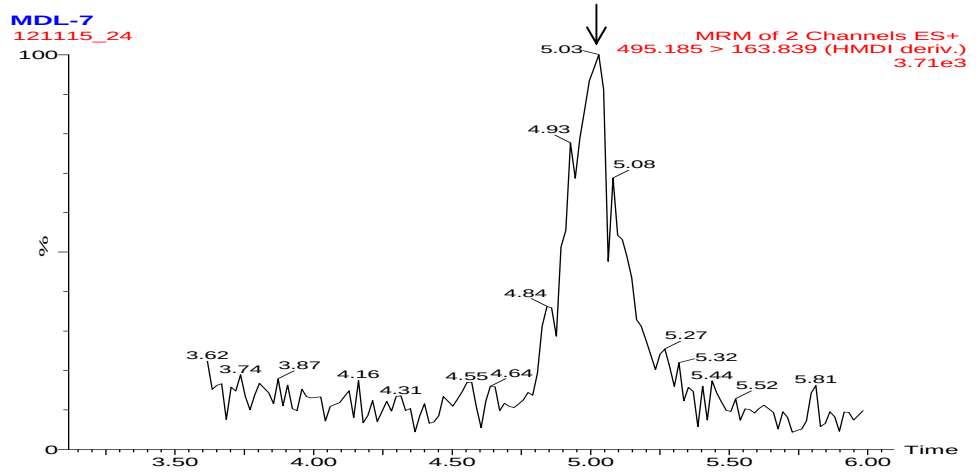
〔クロマトグラム〕



操作ブランク



環境大気　114 L



環境大気 102 L　0.085 ng 添加（MDL 測定時）

図 8　クロマトグラム

〔添加回収試験〕

未反応標準物質を添加した捕集カセットの添加回収率を求めた。添加はろ紙に直接行った。類似物質である TDIs を検討したところ（「化学物質分析法開発調査報告書（平成 22 年度）」）、通常の手順で標準液を上流の石英ウールなどに添加すると、気化した 12PP と反応して石英ウール上に残留してしまい、定量的にろ紙に添加することが困難であったため、HMDI でも同様の問題が起こる可能性が高かったためにろ紙に直接添加した。表 6 に示すように回収率、変動係数とも良好であった。またろ紙を 2 枚重ね、通気しながらガス体で添加した場合、およそ 80% が前段のろ紙から検出され、後段のろ紙は検出されなかった。よって対象物質はガス体であっても 1 枚のろ紙で捕集されていると考えられる。24 時間の通気後のろ紙を用いても、回収率が下がることはなかった。誘導体化試薬は 24 時間通気後も、十分残留していると考えられる。

表 6　添加回収実験結果

試料 温度・湿度	試験 数	添加量 (ng) (HMDIとして)	大気採取量 (m^3)	回収率 (%)	変動係数 (%)
大気試料 1　40°C・>80％	2	0.50	0.100	87.9	
大気試料 2　5-13°C・58-66％	7	0.085	0.100～0.114	95.0	6.2

〔保存性試験〕

同日同地点で環境大気を採取して、23 時間後にろ紙に標準液を添加した。採取後に捕集用カセットの両端にプラグをはめ、アルミパックに入れて冷蔵庫 (5°C) 内に保存し、保存期間と回収率の関係を求めた。結果を図 9 に示す。試験液を 15°C のサンプルトレイにおいたものと、抽出後ろ紙を入れたまま実験室 (20～25°C) に放置したものもあわせて検討した。このように、ろ紙のまま(◆：GFF　冷蔵庫保存)でも、抽出後の試験液（□：測定用バイアル　15°C のサンプルトレイ、▲：ろ紙を入れたまま実験室に放置）も、およそ一ヶ月間の回収率はほとんど変動しなかった。

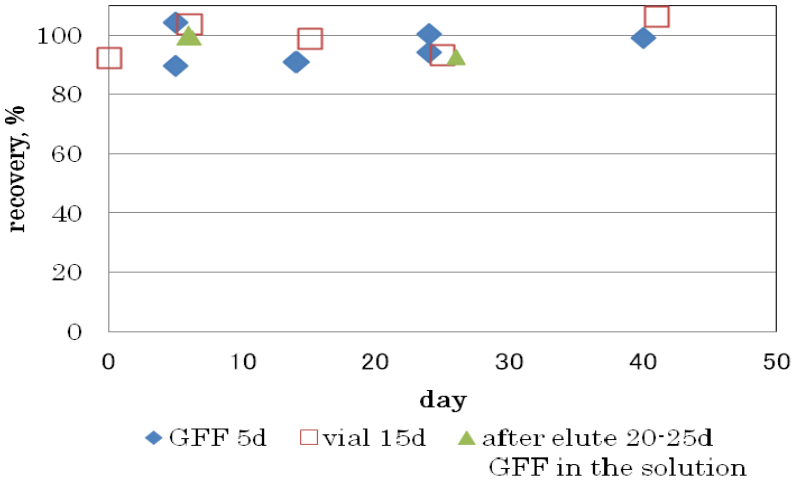


図 9　保存性試験結果

〔環境試料の測定〕

本法を用いて神奈川県平塚市の大気を測定した結果、本試験ではすべて不検出であった。

〔分析上留意すべきこと〕

実際に測定するのは対象物質の誘導体化物であるが、これは極めてコンタミしやすい物質であった。高濃度の標準に曝露されたものは、洗浄後もブランクが消えないことが多かった。シリンジなどは濃度毎に使い分け、ブランクを確認し、ガラス器具はなるべく一回限りのものを用いる必要がある。市販の含浸ろ紙（Sigma-Aldrich 製、ORBO-80）は、本法のような高感度測定を想定してつくられているものではないので、汚染がが十分小さいと保証されているものではない。事前に操作ブランクを確認しておく必要がある。

【評価】

本法で HMDI の大気環境試料を分析したところ、全ての試料で不検出であった。MDL 算出試験で実施した定量下限レベルの倍程度の添加実験で、良好な回収率(95%) が得られ、0.4 ng/m^3 のレベルで定量することは可能と思われる。

【その他】

平成 22 年度に開発した 2,6-TDI、2,4-TDI の大気中濃度測定法と、同じ手順で測定でき、同時分析が可能である。しかし TDIs の要求感度(0.4 ng/m^3) を満足する測定をする上で、一番問題になったのは、ろ紙に汚染があったことであった。本開発で購入したろ紙からは、2,6-TDI に相当するピークは現れず、2,4-TDI の

ピーク位置に現れるベースラインの盛り上がりは、最大に見積もっても要求感度以下ではあったので、ぎりぎりではあるが要求感度レベルの測定は可能であった。2,6-と 2,4-の間にピークを生じるろ紙もあった。

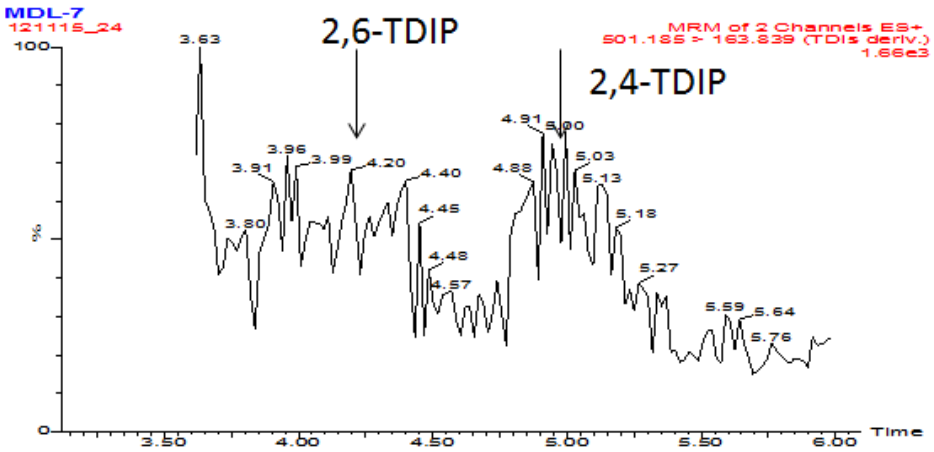


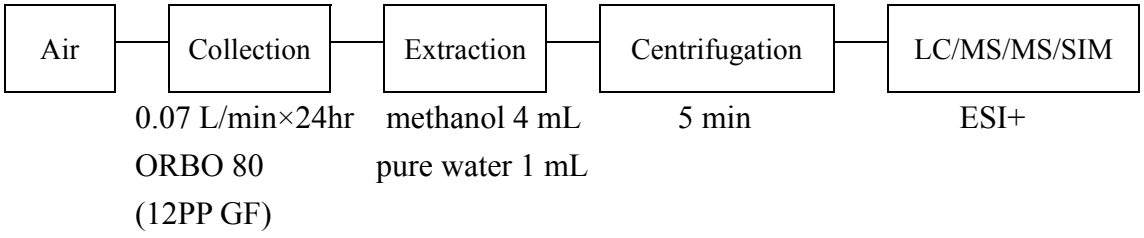
図 10　平成 24 年度購入の ORBO80 用ろ紙の TDIP のブランク測定結果

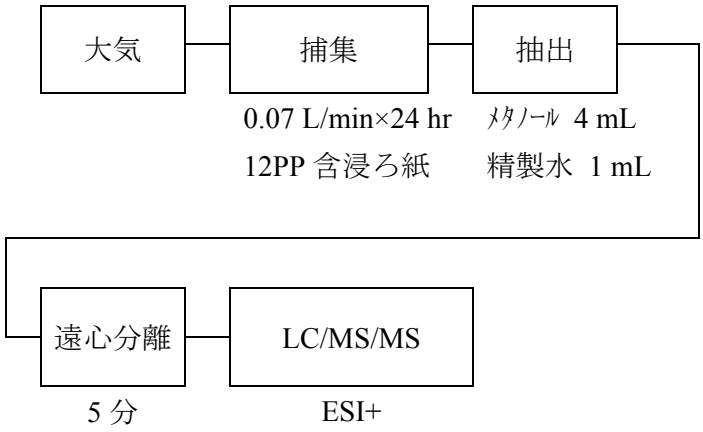
【担当者連絡先】

所属先名称　：神奈川県環境科学センター
所属先住所　：〒254-0014　平塚市四之宮 1-3-39
TEL：0463-24-3311　FAX：0463-24-3300
担当者名　：調査研究部 長谷川敦子
E-mail　：hasegawa@k-erc.pref.kanagawa.jp

Hexamethylene=diisocyanate (HMDI),

A simple method for the determination of HMDI in ambient air by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC/MS/MS) coupled with filter sampling with derivatization, solvent desorption has been developed. Sample air is drawn through an adsorption tube (ORBO 80 : adsorbent is glass fiber filter impregnated 1 mg of 1-(2-pyridyl) piperazine(12PP), good on the market or be made by ourselves) at 0.07 L/min in flow rate. After HMDI collected and derivated to HMDIP (N,N’-1,6-hexanediylbis(4-(2-pyridinyl)-1-piperazine)) on the filter is eluted with 4 mL of methanol, 1 mL of water is added. After centrifugation, the solution is determined by LC/MS/MS-SRM. Ionization mode is positive ESI (electrospray ionization). Precursor ion is [M+H]+, M is HMDIP, derivative of HMDI and 12PP. Precursor/product ion set is *m/z* 495/164. The recovery from air sample, relative standard deviation (RSD n=7), the method detection limit (MDL) and the method quantification limit (MQL) were 95.0%, 6.2%, 0.14 ng/m^3, 0.37 ng/m^3, respectively. Using this method, the concentration at Hiratsuka was determined. All results showed below MDL. Using this method, 2,6- and 2,4-TDI (tolylene=diisocyanate, ion set is *m/z* 501/164) could determined, too.



物質名	分析法フローチャート	備　考
ヘキサメチレン=ジイソシアネート 別名： HMDI、 1,6-HDI	【大気】  	分析原理： LC/MS/MS-SRM 検出下限値： 【大気】(ng/m^3) 0.14 機器 LC/MS： Waters製 Acquity-UPLC Micromass Quattro premier XE カラム Sigma-aldrich Ascentis RP-Amide (3 μm　2.1×150 mm)

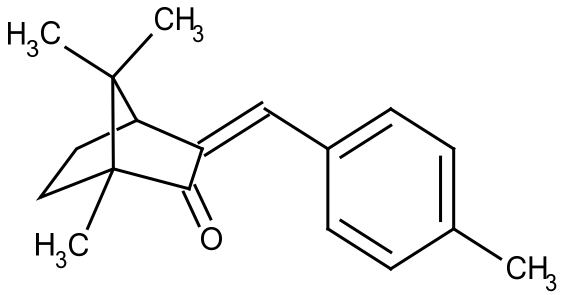
岡山県環境保健センター
［対象媒体：水質］

3-（4-メチルベンジリデン）-1,7,7-トリメチルビシクロ[2.2.1]ヘプタン-2-オン

3-(4-Methylbenzylidene)-1,7,7-trimethyl-bicyclo[2.2.1]heptan-2-one

IUPAC名：(3Z)-1,7,7-trimethyl-3-[(4-methylphenyl)methylidene]bicyclo[2.2.1]heptan-2-one
別名：4-メチルベンジリデンカンファー
4-Methylbenzylidene camphor

【対象物質の構造】



CAS 番号：36861-47-9
分子式：$C_{18}H_{22}O$

【物理化学的性状】

分子量 (ﾓﾉｱｲｿﾄﾋﾟｯｸ質量)	融点(°C) [1), 2),4)]	沸点(°C) [2)]	蒸気圧(Pa)	水溶解度 (mg/L)	log P_{ow} [4)]
254.37 (254.1671)	66-69	371.9	不明	<1000 [1)] 1.3 [4)]	5.14

【毒性、用途】

〔毒性〕LOAEL（ラット）　：7 mg/kg[3)]
NOAEL（ラット）　：0.7 mg/kg[3)]
LD_{50}（マウス、経口）：>10,000 mg/kg[4)]
LD_{50}（ラット、経口）：> 10,000 mg/kg[4)]
LD_{50}（犬、経口）　：> 5,000 mg/kg[4)]
LD_{50}（ラット、経皮）：> 10,000 mg/kg[4)]
LD_{50}（マウス、腹腔）：> 5,000 mg/kg[4)]

〔用途〕紫外線吸収剤

出典：
1) C/D/N ISOTOPES Inc., Material Safety Data Sheet (Ver.2012/8/2)(2012)
2) LookChem.com, Product basic information list of 3-(4-Methylbenzyliden)camphor (Ver.2012/8/15)(2012)
3) National Institute of Environmental Health Sciences, Environmental Health Perspectives, Estrogen Sensitivity of Target Genes and Expression of Nuclear Receptor Co-Regulators in Rat Prostate after Pre- and Postnatal Exposure to the Ultraviolet Filter 4-Methylbenzylidene Camphor (2007)
4) European Commission Health & Consumer Protection Directorate-General, Opinion on 4-Methylbenzylidene Camphor (2006)

§1 分 析 法

(1) 分析法の概要

水質試料にサロゲート内標準を添加した後、固相カートリッジ(HLB) に通水し捕集する。固相カートリッジを精製水、アルカリ、酸、50%アセトニトリル水溶液で洗浄し、窒素で乾燥後にアセトニトリルで溶出、定容して試験液とし、LC/MS/MS-SRM にて分析する。

(2) 試薬・器具

【試薬】

4-メチルベンジリデンカンファー	：AccuStandard 製（輸入元：和光純薬工業）
4-メチルベンジリデン-d_4 カンファー	：CDN Isotopes 製（輸入元：ｾﾝﾄﾗﾙ薬品）(98.9%D)
ベンザルカンファー	: MP Biomedicals 製（輸入元 : 和光純薬工業）
塩酸	：1 mol/Lに調整済みの市販品
水酸化ナトリウム	：1 mol/Lに調整済みの市販品
アセトニトリル、メタノール	：LC/MS用 和光純薬工業製
精製水	：ミリポア製 Milli-Q Gradientにより調製
固相カートリッジ	：Waters製 Oasis HLB Plus LP(225 mg)

【試薬の安定性・毒性】

水生生物に対するエストロゲン様作用の疑いがあり、環境への影響が懸念されるため、河川等へ排出されないよう取り扱いに注意する。

【標準液の調製】

〔標準原液〕

標準試薬10.0 mgを正確に量り取り、メタノール10.0 mLに溶解し、1000 mg/Lの標

準原液をそれぞれ作成する。

〔サロゲート内標準液〕

4-メチルベンジリデン-d_4カンファー10.0 mgを正確に量り取り、メタノール10.0 mLに溶解し、1000 mg/Lのサロゲート内標準原液を作成する。

1000 mg/Lのサロゲート内標準原液を正確に100 μL分取し、メタノールを加えて正確に10.0 mLとし、10.0 ng/μLのサロゲート内標準液を作成する。

〔検量線用標準液〕

標準原液をアセトニトリルで順次希釈（注1）し、3～200 ng/mLの検量線用混合標準液を作成する。各濃度の標準液にはサロゲート内標準として、4-メチルベンジリデン-d_4カンファー標準液を100 ng/mLの濃度になるように添加し、検量線用標準液とする。

【器具】

試料採取瓶（1 L･細口瓶）、スピッツ型共栓付試験管(10 mL)、メスシリンダー、三角フラスコ、パスツールピペット、コンセントレーター、ガラス注射器、0.45 μmフィルター（Millipore 製）等（使用するガラス器具はアセトンで洗浄し、乾燥して用いる。）を用いる。

光に対して分解性（異性体化）があるため、試料採取瓶はアルミホイル等で遮光する。また、使用する分析器具はなるべく褐色等の遮光性の高いものを用いることが望ましい。

(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。

【試料の前処理及び試料液の調製】（注2）

水質試料100 mLに10.0 ng/μLのサロゲート内標準液を100 μL添加（注3）し、混合する。これを固相カートリッジ(HLB) に10 mL/minの速さで通水し捕集する。固相カートリッジを精製水10 mL、アセトニトリル/ 0.01 mol/L水酸化ナトリウム(3:7) 溶液 5 mL、精製水5 mL、アセトニトリル/ 0.01 mol/L塩酸 (3:7) 溶液5 mL、精製水5 mL、50%アセトニトリル水溶液5 mLの順に洗浄し、乾燥窒素を5 分通気する。これをアセトニトリル5 mLで溶出し、アセトニトリルで10 mLに定容し、試験液とする。なお、懸濁物がある場合にはフィルターでろ過を行い、試験液とする。この試験液をLC/MS/MS-SRMにて分析する。

【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】の項に従った操作をして得た試験液を空試験液とする。

【測定】

〔LC/MS条件〕（注4）

［LC条件］

カラム　　：Atlantis T3　150 mm × 2.1 mm, 3 μm（Waters製）

移動相　　：A：5 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液　　B：アセトニトリル

0→0.1 min	A：B＝80：20	
0.1→9 min	A：80→2	B：20→98　linear gradient
9→20 min	A：B＝2：98	
20→20.5 min	A：2→80	B：98→20　linear gradient
20.5→33 min	A：B＝80：20	

カラム流量：0.2 mL/min

カラム温度：40°C

試料注入量：5.0 μL

［MS条件］

使用機種　　：Micromass Quattro micro API

キャピラリー電圧　　：3.0 kV

ソース温度　　：100°C

デゾルベーション温度　　：500°C

コーンガス流量　　：50 L/hr

デゾルベーションガス流量：600 L/hr

イオン化法　　：ESI Positive

コーン電圧　　：30 V

コリジョンエネルギー　　：10 eV（255.17>255.17のみ）、20 eV（それ以外）
（4-メチルベンジリデンカンファー）

：10 eV（259.19>259.19のみ）、20 eV（それ以外）
（4-メチルベンジリデン-d_4カンファー）

：10 eV（241.16>241.16のみ）、20 eV（それ以外）
（ベンザルカンファー）

モニターイオン(*m/z*)（注5）：

4-メチルベンジリデンカンファー；

（定量）255.17>97.10、（確認）255.17>255.17、255.17>237.16、255.17>227.18、255.17>212.12、255.17>195.12、255.17>185.13、255.17>171.12、255.17>157.10、255.17>145.07、255.17>119.09、255.17>111.12

4-メチルベンジリデン-d_4カンファー；

（定量）259.19>97.10、（確認）259.19>259.19、259.19>241.18、259.19>231.20、259.19>216.14、259.19>199.14、259.19>189.15、259.19>175.14、259.19>161.12、259.19>149.09、259.19>123.11、259.19>111.12

ベンザルカンファー；

（定量）241.16>97.10、（確認）241.16>241.16、241.16>223.15、241.16>213.16、241.16>198.10、241.16>181.10、241.16>171.12、241.16>157.10、241.16>143.09、241.16>131.05、241.16>111.12、241.16>105.07

〔検量線〕

検量線用標準液5.0 μLをLC/MSに注入し、得られた標準物質のピーク面積とサロゲート内標準の濃度比及びピーク面積比から検量線を作成する（注6）。

対象物質は光により構造異性体化し、ピークが二本に分裂するため、標準液はピークが一本であることを確認する。

なお、ピークが二本に分裂した場合の保持時間を確認するため、必要に応じて光照射を実施した標準液（注7）を合わせて測定することが望ましい。

〔定量〕

試験液5.0 μLをLC/MSに注入し、対象物質とサロゲート内標準のピーク面積比から検量線を用いて検出量を求める。

なお、試験液中の対象物質は光により構造異性体化し、ピークが二本に分裂している場合があるが、保持時間が標準物質と同一の、異性体化していない方のピークを用いて定量を行うようにする。また、その場合、両方のピークを足した面積もあわせて測定し、参考として定量値を算出する。

〔濃度の算出〕

試料水中濃度C (μg/L) は次式により算出する。

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

R : 検量線から求めたサロゲート内標準物質濃度に対する対象物質濃度の比

Q : 試料中に添加したサロゲート内標準の量 (ng)

（＝添加するサロゲート内標準液の濃度 (ng /μL) × 添加するサロゲート内標準液の容量 (μL)）

V : 試料水量 (mL)

本分析法に従った場合、以下の数値を使用する。

Q = 1000 (ng)

（＝添加サロゲート内標準液の濃度 (10.0 ng/μL) × サロゲート内標準添加液の容量 (100 μL)）

V = 100 (mL)

即ち、

$C = 10R$ (μg/L)

である。

〔装置検出下限(IDL)〕

本分析に用いたLC/MSのIDLを下表に示す（注8、注9、注10）。

表1　IDL算出の結果

物質名	IDL (ng/mL)	試料量 (mL)	最終液量 (mL)	IDL 試料換算値 (μg/L)
4-メチル ベンジリデンカンファー	2.7	100	10.0	0.27

〔測定方法の検出下限(MDL)及び定量下限(MQL)〕

本測定方法におけるMDL及びMQLを下表に示す（注8、注9、注11）。

表2　MDL及びMQLの算出結果

物質名	試料量 (mL)	最終液量 (mL)	MDL (μg/L)	MQL (μg/L)
4-メチル ベンジリデンカンファー	100	10.0	0.44	1.1

注　解

（注1）4-メチルベンジリデンカンファーとベンザルカンファーが等濃度となるよう混合・希釈した10 μg/ml程度の混合標準液を作成し、それを順次希釈して検量線用混合標準液を作成した。

　ベンザルカンファーは4-メチルベンジリデンカンファーからメチル基が外れた類似化合物であり、カラムの分離具合、操作中の光による異性化の程度、装置の状態の確認等のために合わせて分析している。入手が難しい場合も考えられ、その場合は合わせて分析する必要はない。

（注2）光に対して分解性(異性体化)があるため、操作はなるべく手早く暗めの部屋で行う。暗室を使用する必要はないが、ブラインドを下ろし直射日光を避ける、必要以上の蛍光灯は点灯しない等の配慮が必要である。目安として、照度500 lux未満で1～2時間程度の作業の場合、著しい分解は生じない。

（注3）試料採取後なるべく早く添加する。サロゲート内標準の量は、測定対象濃度や装置の感度やサロゲート内標準の重水素化純度等を考慮して変更することも可能である。ただし、濃度の算出式が変わるので注意する。

（注4）LC/MSの条件は、本測定に使用した機種 (Waters Alliance2695＋Quattro micro API) 固有のものである。

（注5）測定時にはこれら12個のイオンをすべてモニターする。検出、定量に使用するモニターイオンは検量線や繰り返し測定の結果から、感度や妨害ピークやバラつき等を考慮して選択する。ピークが検出された場合は、必要に応じて12個のモニターイオンで同程度の検出値となっていることを確認す

る。マトリックスによっては、標準とほぼ同じ保持時間に12個のモニターイオンのうち数個に妨害イオンが検出された例もあり、注意が必要である。

（注6）測定するイオンや機種によって、対象物質とサロゲート内標準で感度が異なることがあるので注意する。本分析においては、対象物質とサロゲート内標準は約3：1の感度となっている。

（注7）遮光性の低い透明のガラス容器に100 ng/mL程度の標準液を入れ、蛍光灯スタンドの下20 cm程度の距離で数時間程度放置することでピークが二本に分かれた標準液を作成することができる。なお、この標準液はピークの保持時間の確認等にのみ用い、定量には用いないようにする。

（注8）本測定に使用した機種(Waters Alliance2695＋Quattro micro API) の場合、マトリックスや移動相の影響で、対象物質の感度が変化することがあった。移動相を十分な時間（6時間程度）流す等により安定するが、時間がかかることがあるため、注意が必要である。

（注9）光に対して分解性（構造異性体化）があるため、溶液の取扱には注意が必要である。遮光を十分にしている場合、アセトニトリル中で数か月以上安定である。

（注10）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算出の結果

物質名	4-メチル ベンジリデンカンファー
試料量(mL)	100
最終液量(mL)	10.0
注入量濃度(ng/mL)	5.0
装置注入量(μL)	5.0
結果 1 (ng/mL)	4.73
結果 2 (ng/mL)	4.93
結果 3 (ng/mL)	3.69
結果 4 (ng/mL)	5.92
結果 5 (ng/mL)	4.22
結果 6 (ng/mL)	5.04
結果 7 (ng/mL)	4.47
平均値 (ng/mL)	4.714
標準偏差 (ng/mL)	0.701
IDL (ng/mL) *1	2.7
IDL 試料換算値 (μg/L)	0.27
S/N 比	11.0
CV(%)	14.9

*1：IDL= t (n-1, 0.05)×σ_{n-1}×2

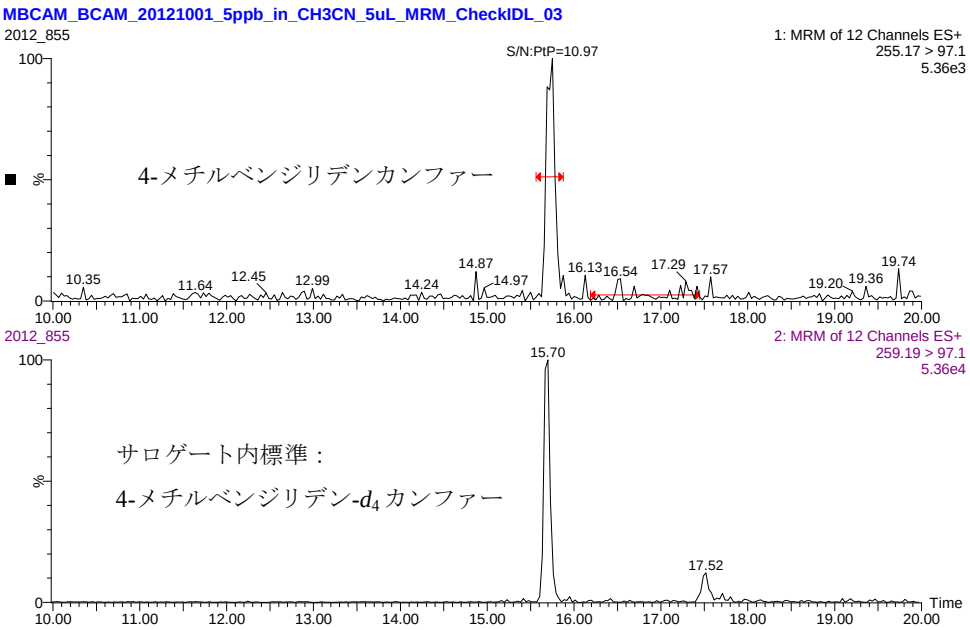


図1　IDL測定時のクロマトグラム

（注11）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）により、表4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2に示す。

表4　MDL及びMQLの算出結果

物質名	4-メチルベンジリデンカンファー	サロゲート回収率(%)
試料	河川水	-
試料量 (mL)	100	-
標準添加量 (ng)	100	-
試料換算濃度 (μg/L)	1.0	-
最終液量 (mL)	10.0	-
注入量濃度 (ng/mL)	10.0	-
装置注入量 (μL)	5.0	-
操作ブランク(μg/L)*1	ND	89.9
無添加平均 (μg/L)*2	ND	90.1
結果 1 (μg/L)	0.896	92.8
結果 2 (μg/L)	0.634	117
結果 3 (μg/L)	0.596	105
結果 4 (μg/L)	0.824	98.9
結果 5 (μg/L)	0.788	105
結果 6 (μg/L)	0.741	97.4
結果 7 (μg/L)	0.871	94.5
平均値 (μg/L)	0.7642	101
標準偏差 (μg/L)	0.114	
MDL (μg/L)*3	0.44	
MQL (μg/L)*4	1.1	
S/N 比	14.6	
CV(%)	15.0	8.17

*1　試料マトリクスのみがない状態で水質試料と同様の操作を行い測定した値 (n = 1)

*2　MDL 算出用試料に標準物質を添加しない状態で含まれる濃度の平均値 (n = 2)

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

*4　$MQL = \sigma_{n-1} \times 10$

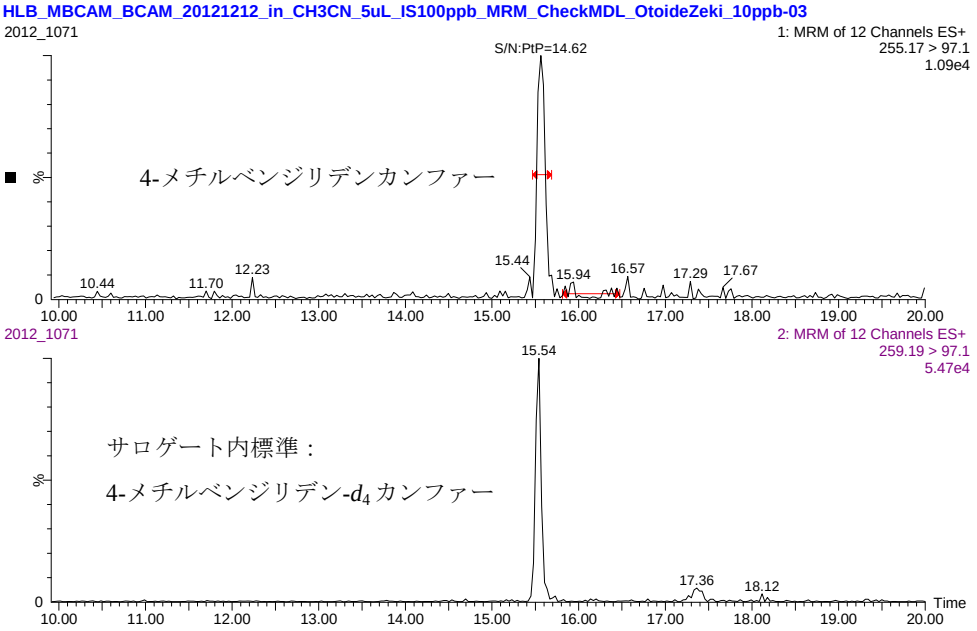


図2　MDL測定時の代表的なクロマトグラム

§2　解　説

【分析法】

〔フローチャート〕

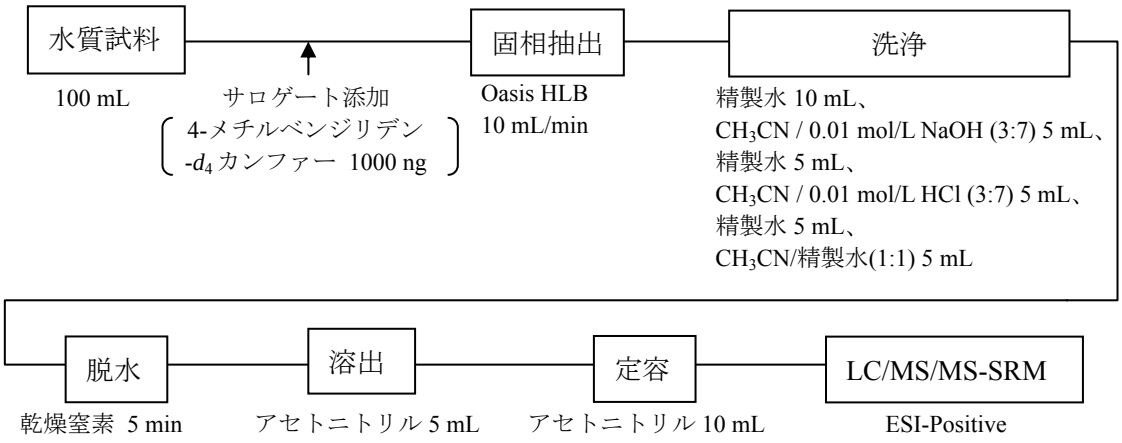
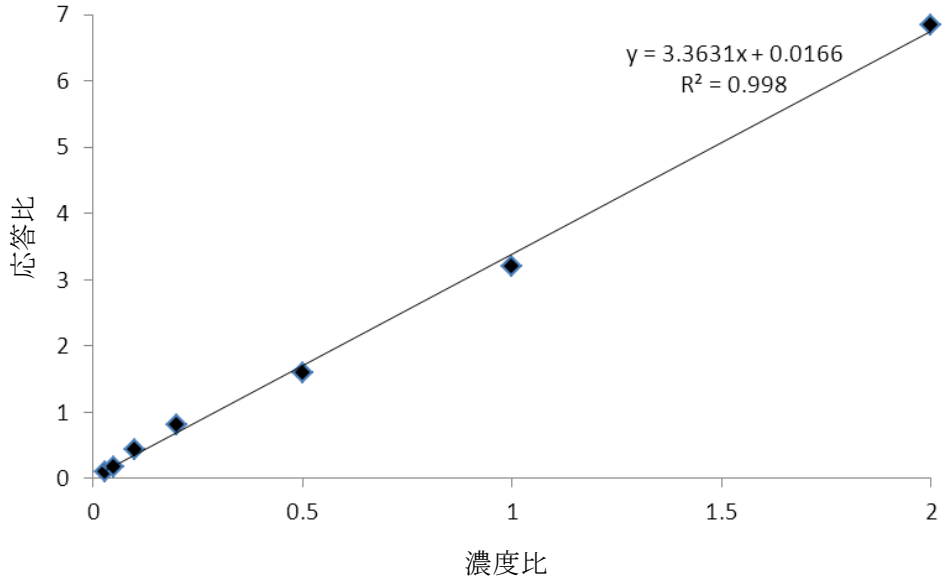


図3　分析法のフローチャート

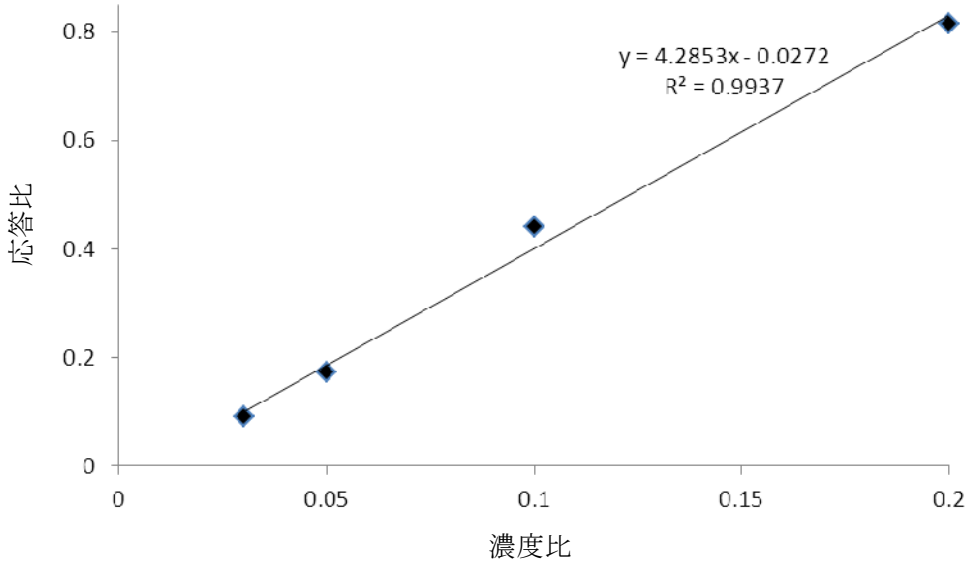
〔検量線〕

検量線を図 4、図 5 に示す。



(0) (50) (100) (200) ←濃度(ng/mL)

図4　4-メチルベンジリデンカンファーの検量線
（高濃度領域 3～200 ng/mL）



(0) (5) (10) (20) ←濃度(ng/mL)

図5　4-メチルベンジリデンカンファーの検量線
（低濃度領域 3～20 ng/mL）

表5　検量線作成用データ

標準液濃度(*Cs*) (ng/mL)	濃度比	応答値（面積） 対象物質【4-メチルベンジリデンカンファー】(*As*) (*m/z* 255.17>97.10)	応答値（面積） サロゲート内標準【4-メチルベンジリデン-d_4カンファー】(*Ais*) (*m/z* 259.19>97.10)	応答比 (*As*/*Ais*)
0.00[*2]	0.00	0	4178	0.0000
3.00	0.03	417	4586	0.0909
5.00	0.05	759	4383	0.1732
10.0	0.10	1550	3523	0.4400
20.0	0.20	3338	4093	0.8156
50.0	0.50	8483	5300	1.601
100	1.00	16762	5227	3.207
200	2.00	36207	5296	6.837

*1　サロゲート物質濃度：100 ng/mL(*Cis*)

*2　測定装置状況の確認等のため。ブランクが検出されなかったので、検量線作成用の測定値としては使用していない。

〔標準液のクロマトグラム〕

標準液のクロマトグラムを図6に示す。

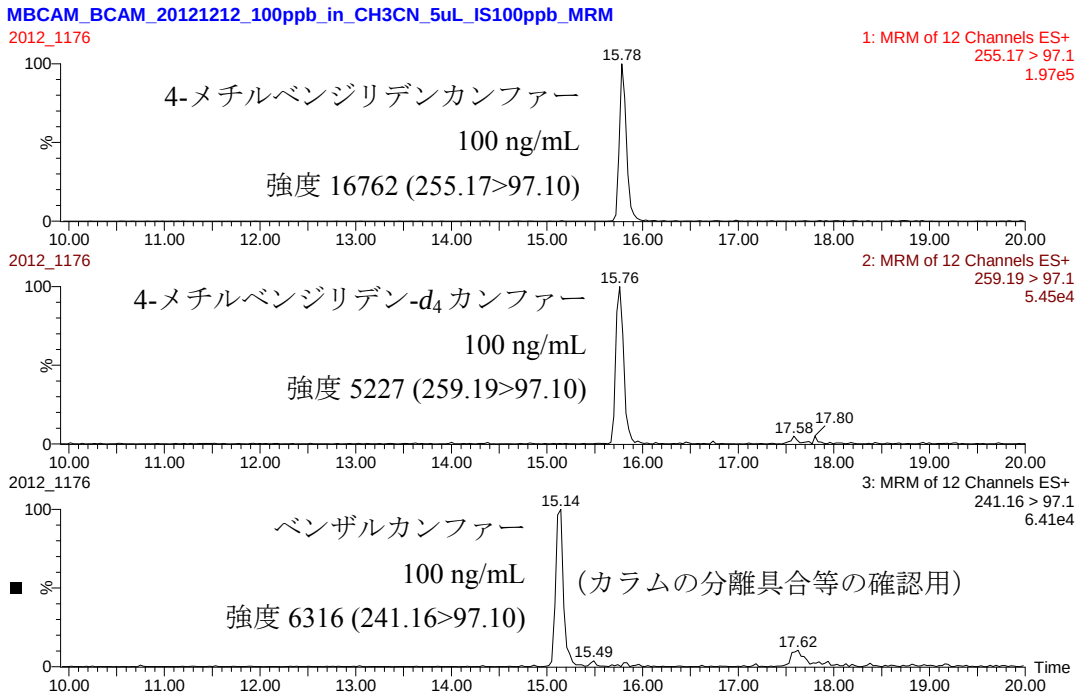


図 6　標準液のクロマトグラム

〔マススペクトル〕

マススペクトルを図7～図12に示す。プレカーサーイオンで高質量数側にあるピークはNa^+付加体である。

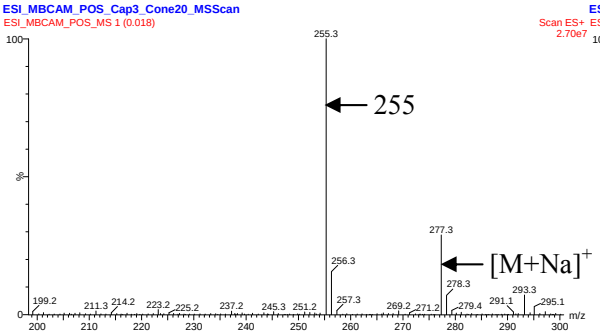


図 7　4-メチルベンジリデンカンファー（プレカーサーイオン）

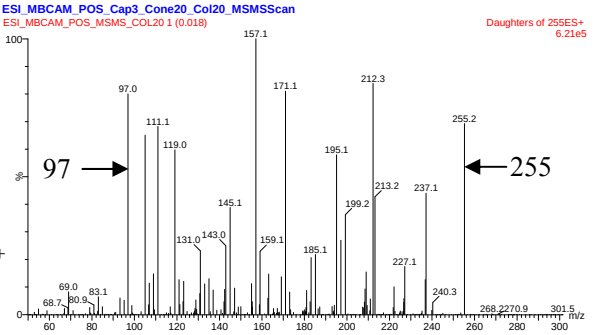


図 8　4-メチルベンジリデンカンファー（プレカーサーイオン *m/z* 255 に対するプロダクトイオン）

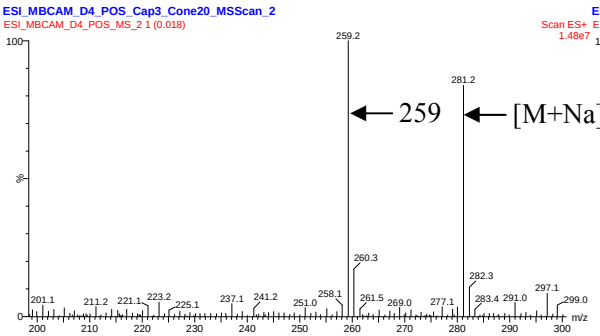


図 9　4-メチルベンジリデン-d_4 カンファー（プレカーサーイオン）

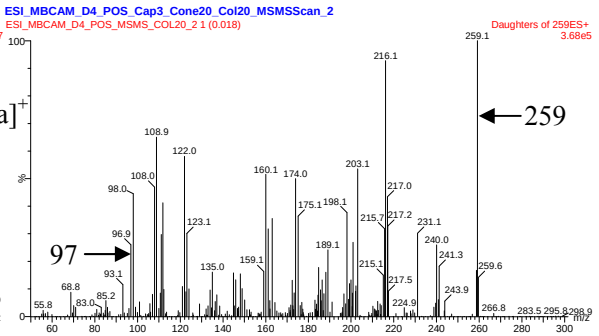


図 10　4-メチルベンジリデン-d_4 カンファー（プレカーサーイオン *m/z* 259 に対するプロダクトイオン）

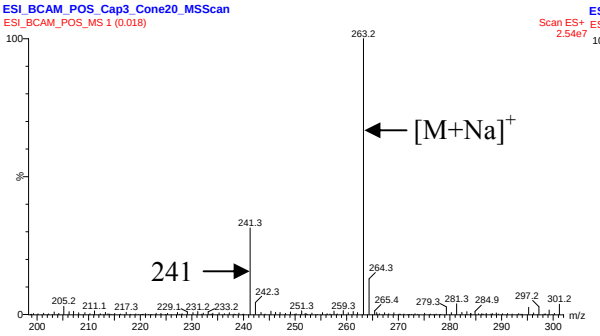


図 11　ベンザルカンファー（プレカーサーイオン）

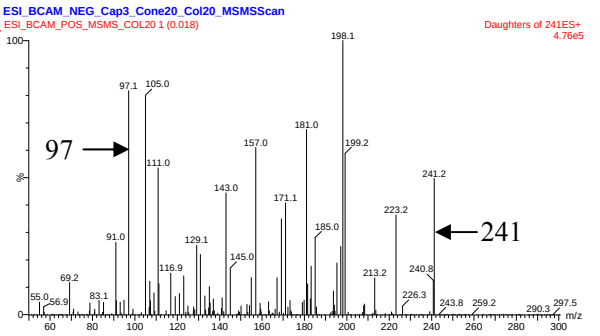


図 12　ベンザルカンファー（プレカーサーイオン *m/z* 241 に対するプロダクトイオン）

〔操作ブランク試験〕

操作ブランクのクロマトグラムを図13に示す。操作ブランクからピークは検出されなかった。

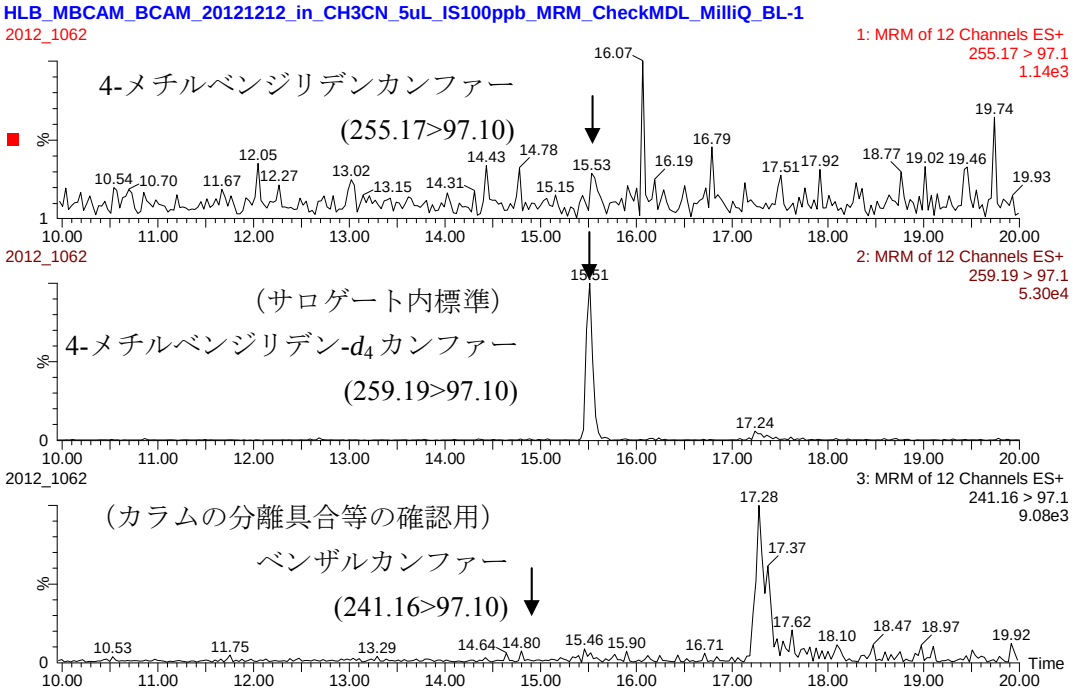


図 13　操作ブランクのクロマトグラム

〔添加回収試験〕

添加回収試験結果を表 6 に示す。添加回収試験に用いた試料は、河川水は旭川乙井手堰、海水は岡山県水島沖で採取した。

表6　添加回収試験結果

物質名	試料名	試料量 (mL)	添加量 (μg)	試験数	検出濃度 (μg/L)	回収率 (%)	変動係数 (%)	ｻﾛｹﾞｰﾄ回収率 (%)
4-ﾒﾁﾙﾍﾞﾝｼﾞﾘﾃﾞﾝｶﾝﾌｧｰ	河川水	100	無添加	1	ND	－	－	74.6
		100	1.00	5	9.23	92.3	6.8	81.7
	海水	100	無添加	1	ND	－	－	75.9
		100	1.00	5	9.31	93.1	7.3	81.3

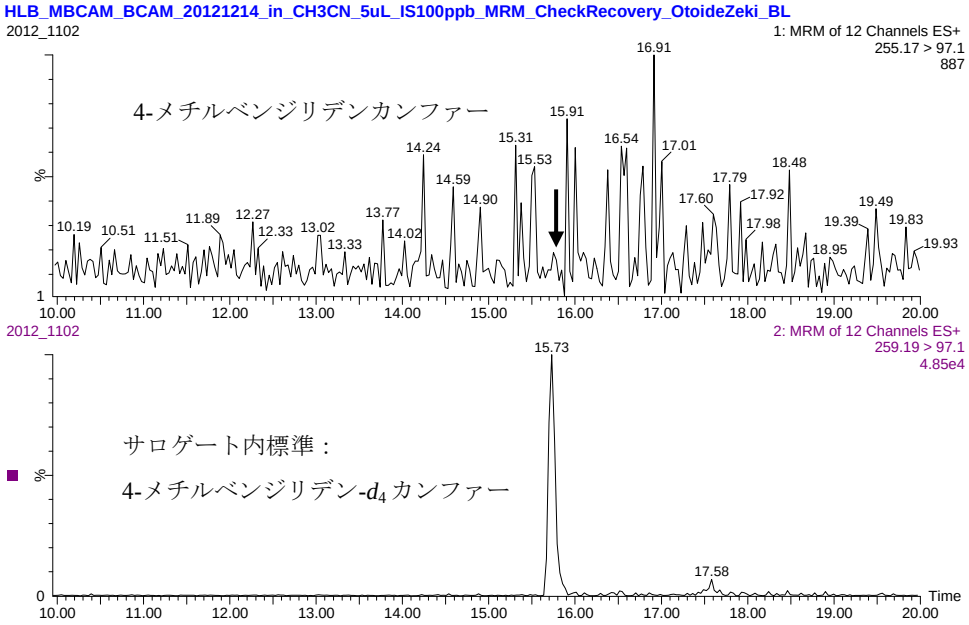


図 14　無添加試料（河川水）のクロマトグラム

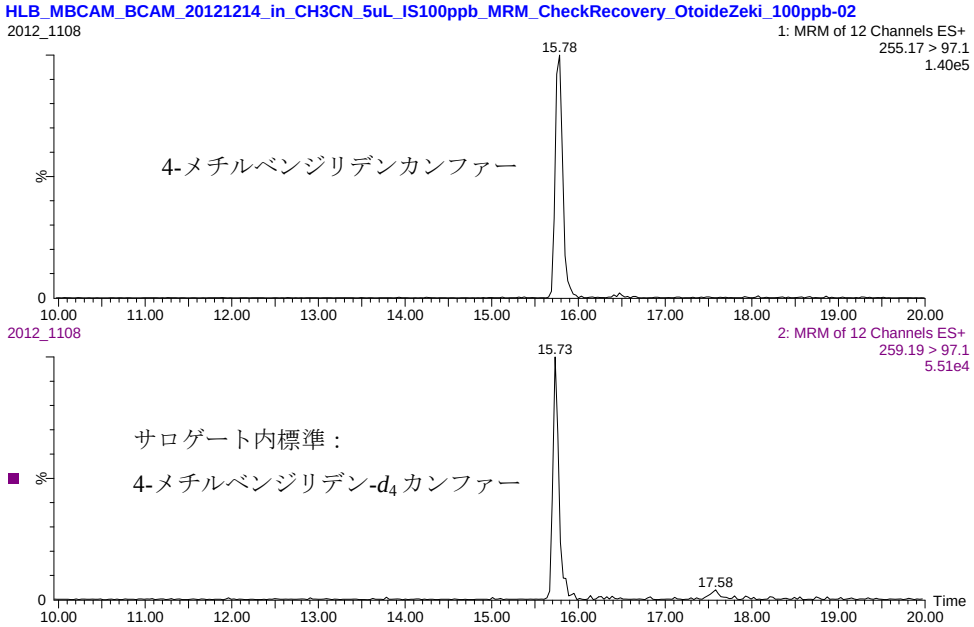


図 15　添加試料（河川水）のクロマトグラム

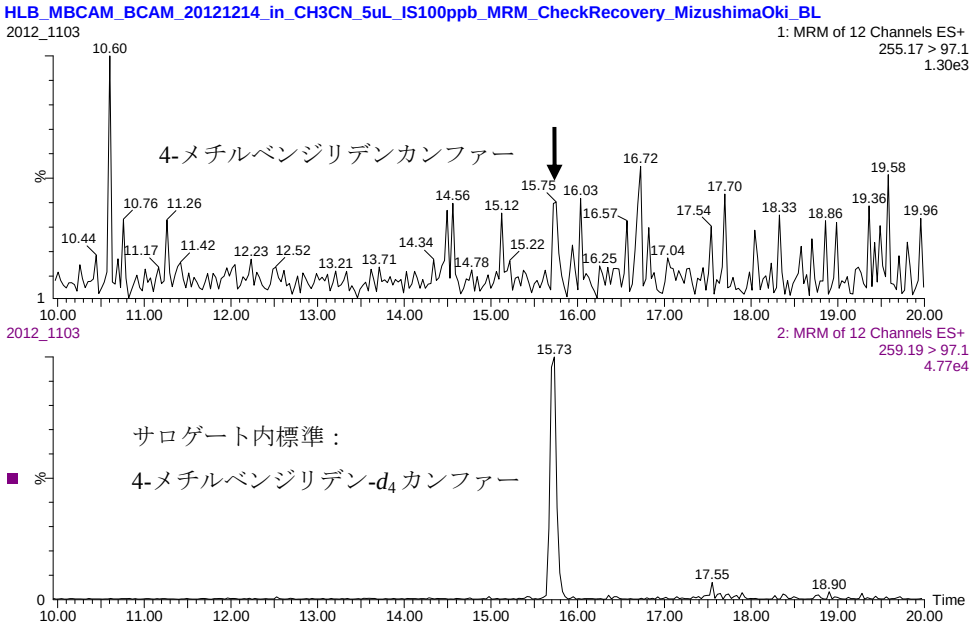


図 16　無添加試料（海水）のクロマトグラム

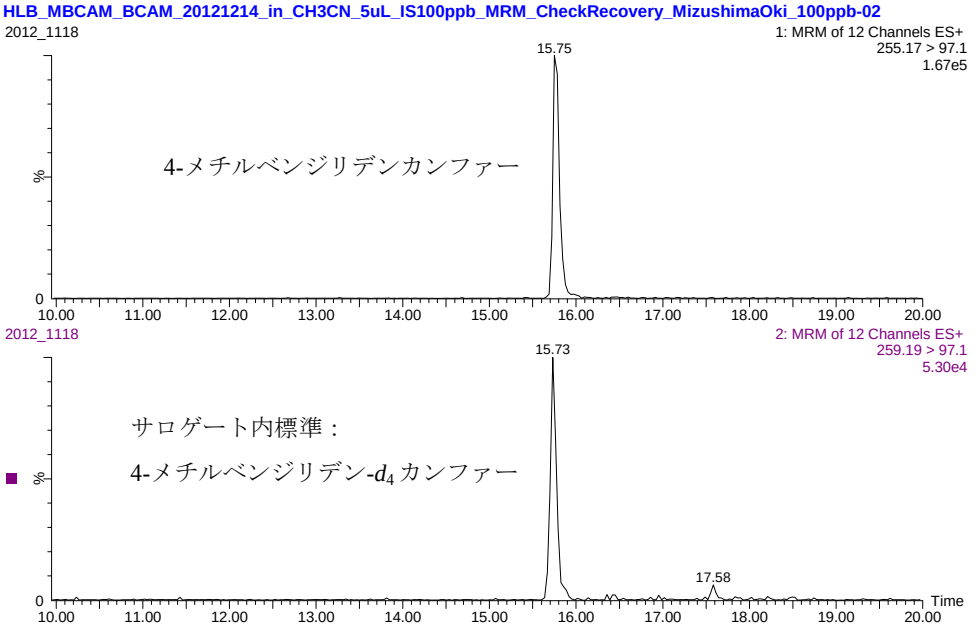


図 17　添加試料（海水）のクロマトグラム

〔分解性スクリーニング試験〕

分解性スクリーニング試験結果を表 7 に示す。pH に対しては安定性が高いが、光で構造異性体化する。元の物質と生成物のピークを合算すると、ほぼ 100%の残存率となった。

表 7　分解性スクリーニング試験結果

物質名	pH	試験数	初期濃度 (μg/L)	1 時間後の残存率(%)	7 日後の残存率(%)[*1]	
					暗所	明所
4-ﾒﾁﾙﾍﾞﾝｼﾞﾘﾃﾞﾝｶﾝﾌｧｰ	5	2	10	97	100	51
	7	2	10	90	110	52
	9	2	10	99	93	49
4-ﾒﾁﾙﾍﾞﾝｼﾞﾘﾃﾞﾝｶﾝﾌｧｰ(ﾋﾟｰｸ合算)	5	2	10	(97)[*2]	(100)	108
	7	2	10	(90)	(110)	110
	9	2	10	(99)	(93)	102

*1：7日後の残存率は、1時間後の残存量を100とした値である。

*2：カッコは生成物のピークがなかったため、合算しても変わらなかったもの。

分解性スクリーニング試験結果のクロマトグラム例を図 18、19 に示す。

暗所に保存したものは、残存率がほぼ 100%となるが、明所に保存したものはピークが二本に分かれ、それぞれ約 50%程度であった。両ピークを合算すると、ほぼ 100%の残存率となった。光により構造異性体化しているのではないかと考えられる。

なお、サロゲート内標準は保存後に添加しているため、ピークが分かれていないが、光を照射するとネイティブと同様の挙動を示すことが確認された。

光による構造異性体化に関する詳細なことは、後述する。

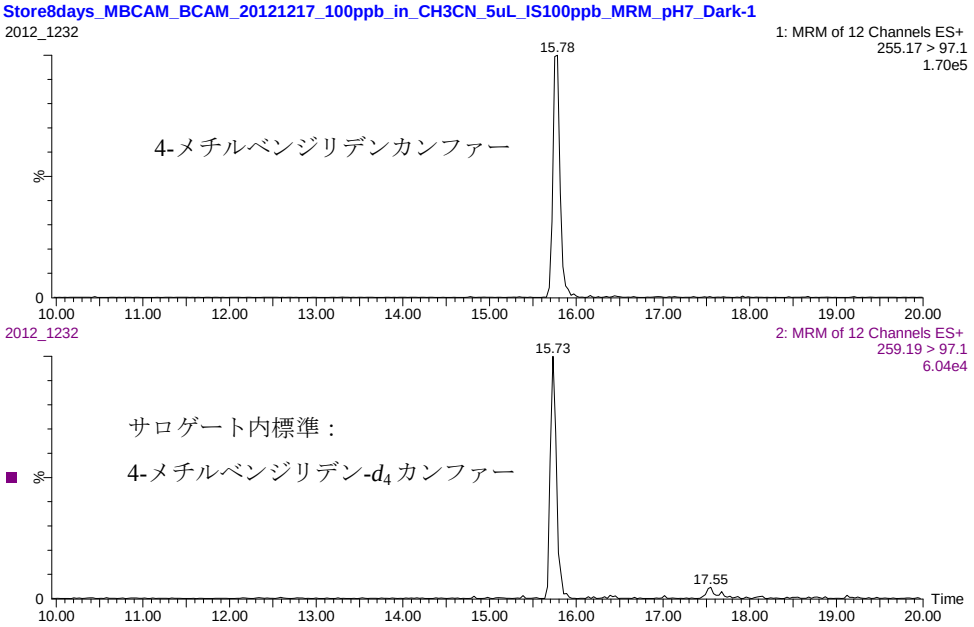


図 18　分解性試験試料のクロマトグラム（pH7、7 日後、暗所）

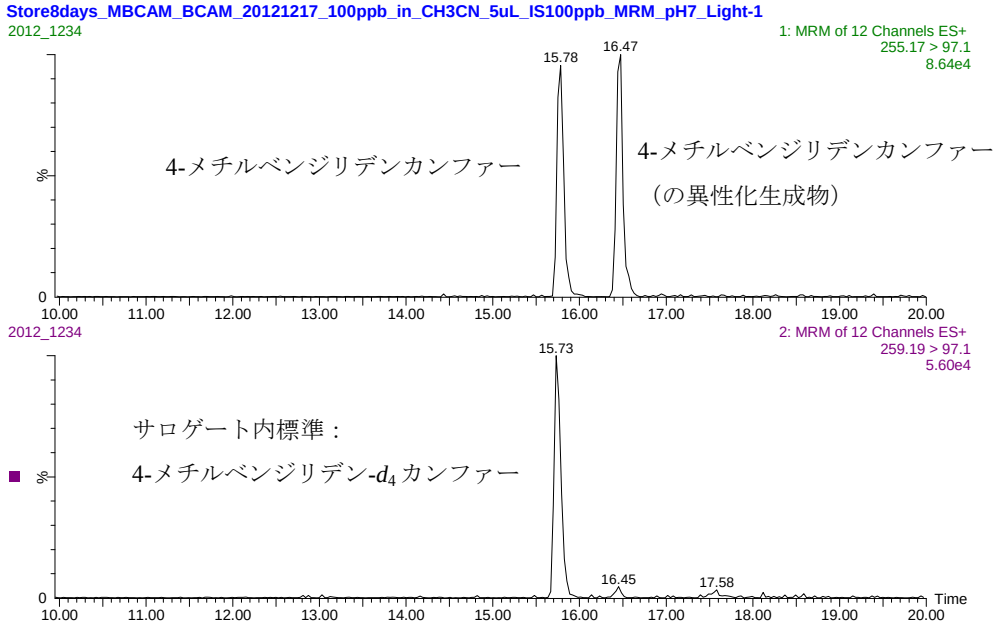


図 19　分解性試験試料のクロマトグラム（pH7、7 日後、明所）

〔保存性試験〕

保存性試験結果を表8に示す。保存性は良好であった。河川水試料については、酸化防止剤（アスコルビン酸）を1 g/L添加したものを合わせて検討したが効果は認められなかったので、添加しないこととした。

表8　保存性試験結果

物質名	試験対象	試料名	初期濃度 (ng/mL)	残存率(%) 9 日後	15 日後	84 日後
4-ﾒﾁﾙ ﾍﾞﾝｼﾞﾘﾃﾞﾝ ｶﾝﾌｧｰ	試料	河川水	5	99	—	—
		河川水(ｱｽｺﾙﾋﾞﾝ酸有)	5	93	—	—
		海水	5	88	—	—
	粗抽出液	河川水	5	—	94	—
		海水	5	—	97	—
	標準液	標準液(低)	10	—	—	98
		標準液(高)	100	—	—	101

〔質量分析条件の検討〕

質量分析条件の検討を行った。各種条件を変化させ、イオン化の強度を測定したところ、以下のデータが得られ、これをもとに最適な条件を設定した。なお、図には 4-メチルベンジリデンカンファーとベンザルカンファーの代表的なイオンをそれぞれ 3 つ示している。

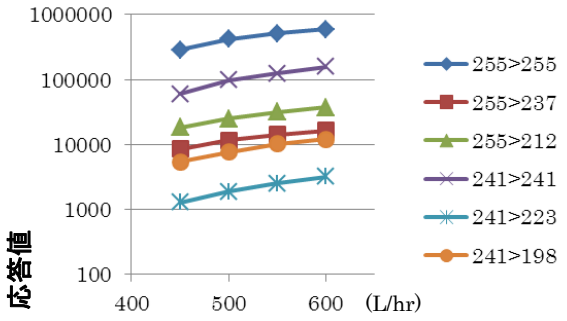


図 20　Desolvation Gas 量

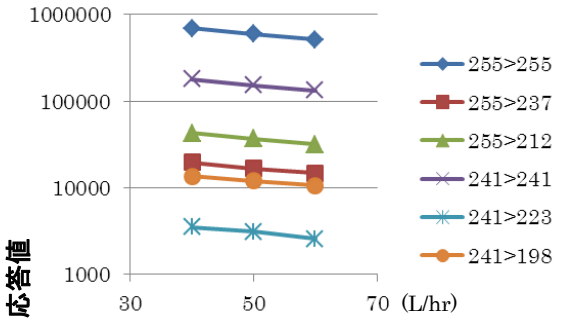


図 21　Cone Gas 量

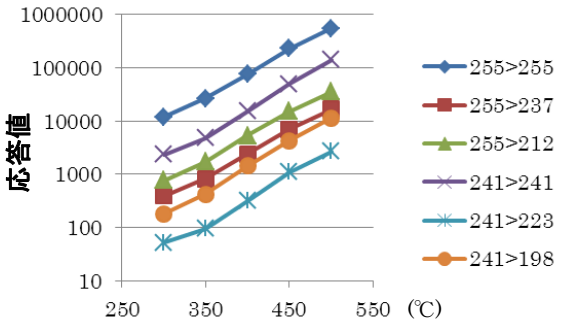


図 22　Desolvation temp

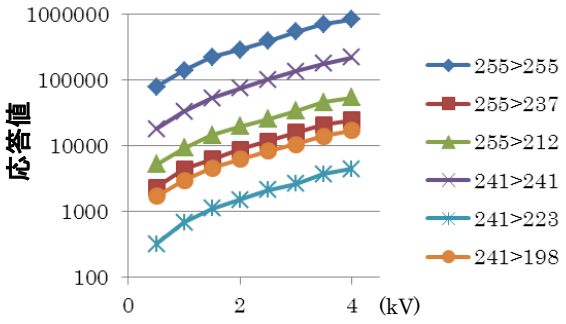


図 23　Capillary V

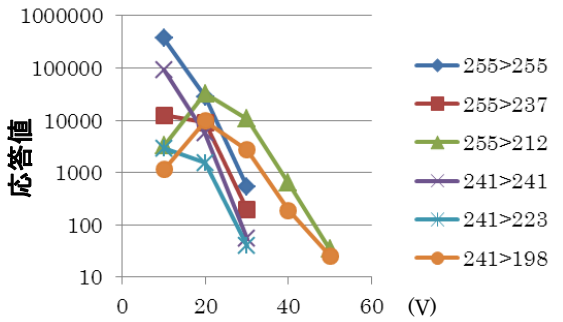


図 24　Collision V

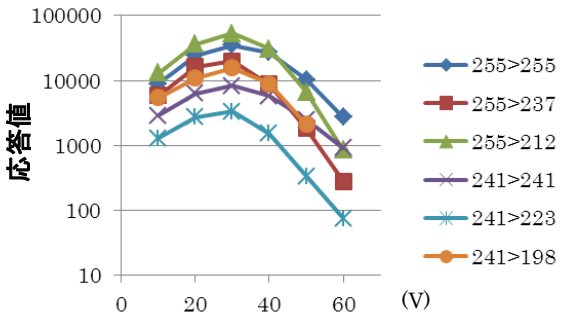


図 25　Cone V

〔移動相溶媒の検討〕

移動相溶媒の検討を行った。5 mmol/L程度の酢酸アンモニウムを入れたほうが、2.5倍程度感度がよく、また、装置安定性等が良くなったため、酢酸アンモニウムを入れた移動相を用いることとした。

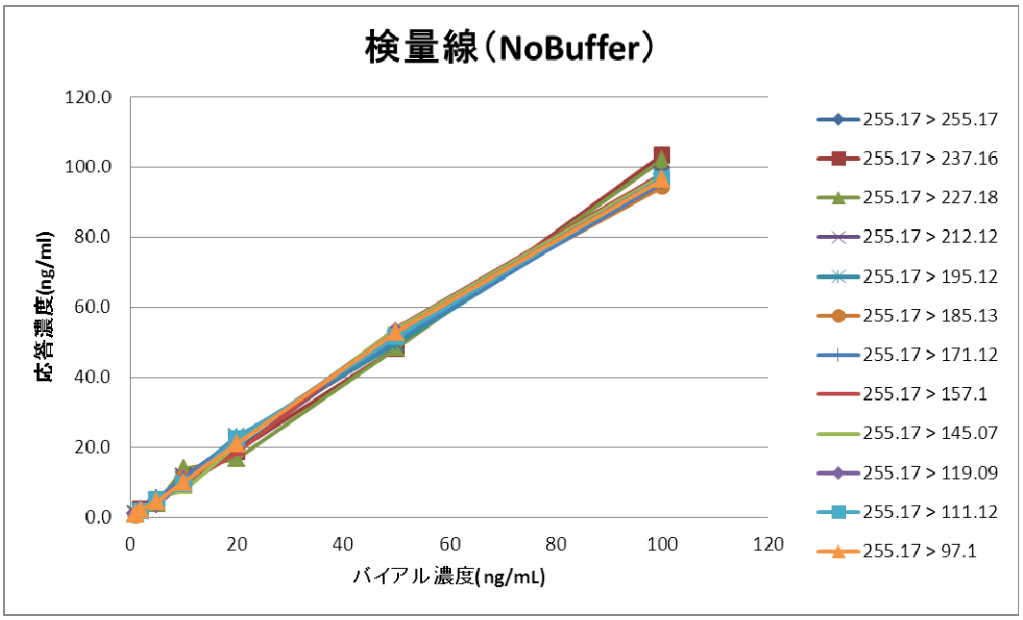


図 26　検量線（バッファーなし）

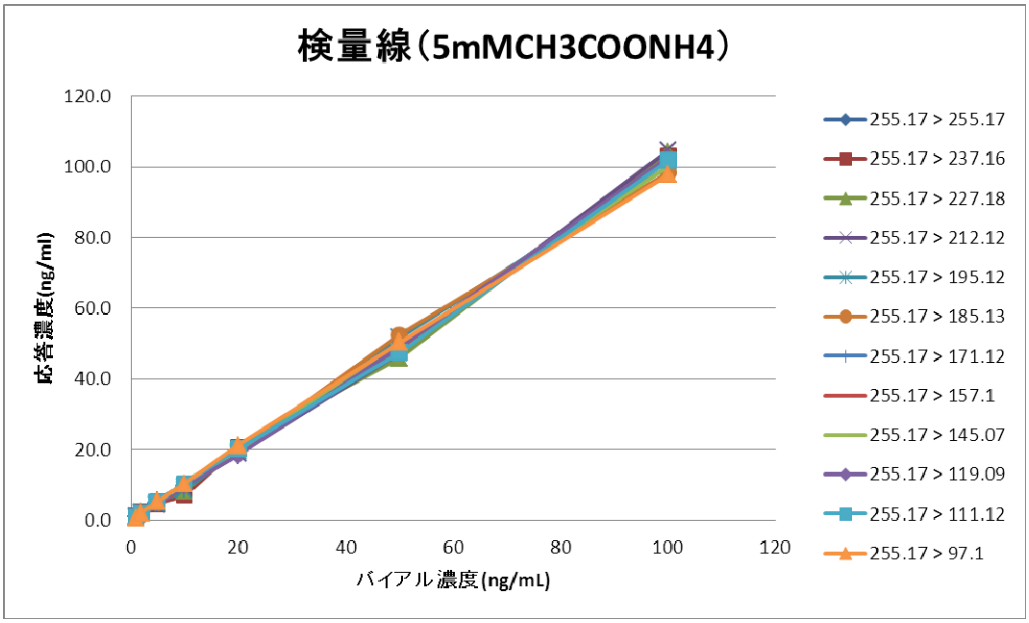


図 27　検量線（酢酸アンモニウム入り）

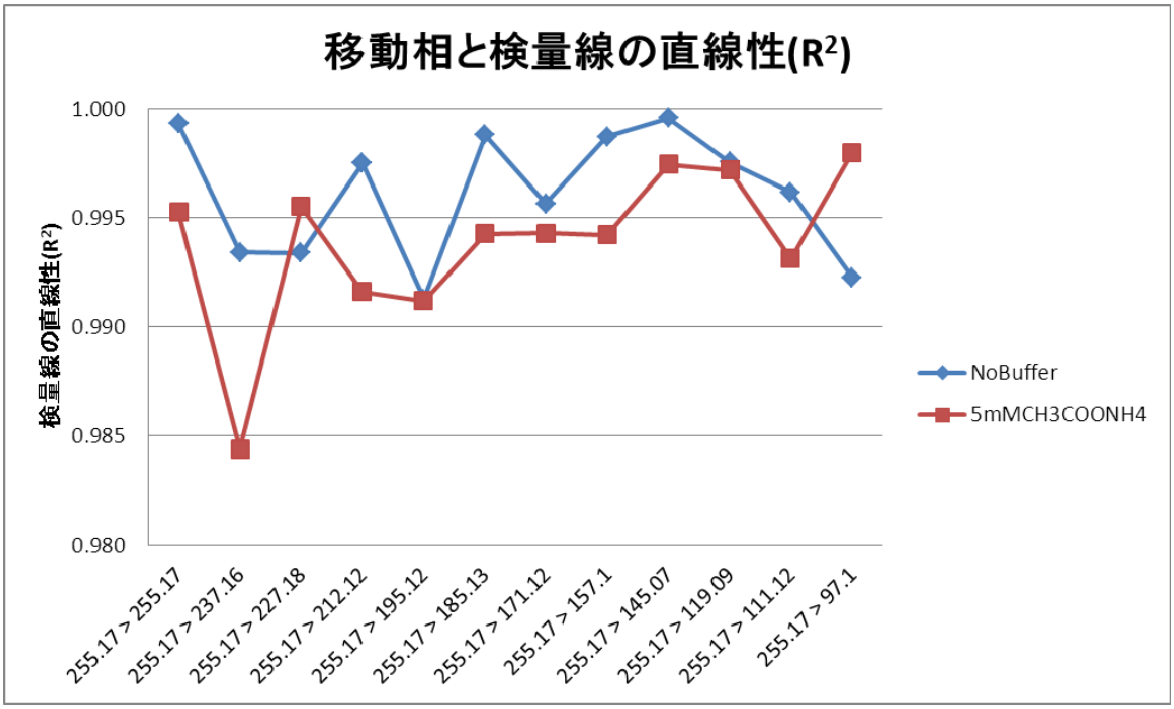


図 28　移動相と検量線の直線性(R^2)

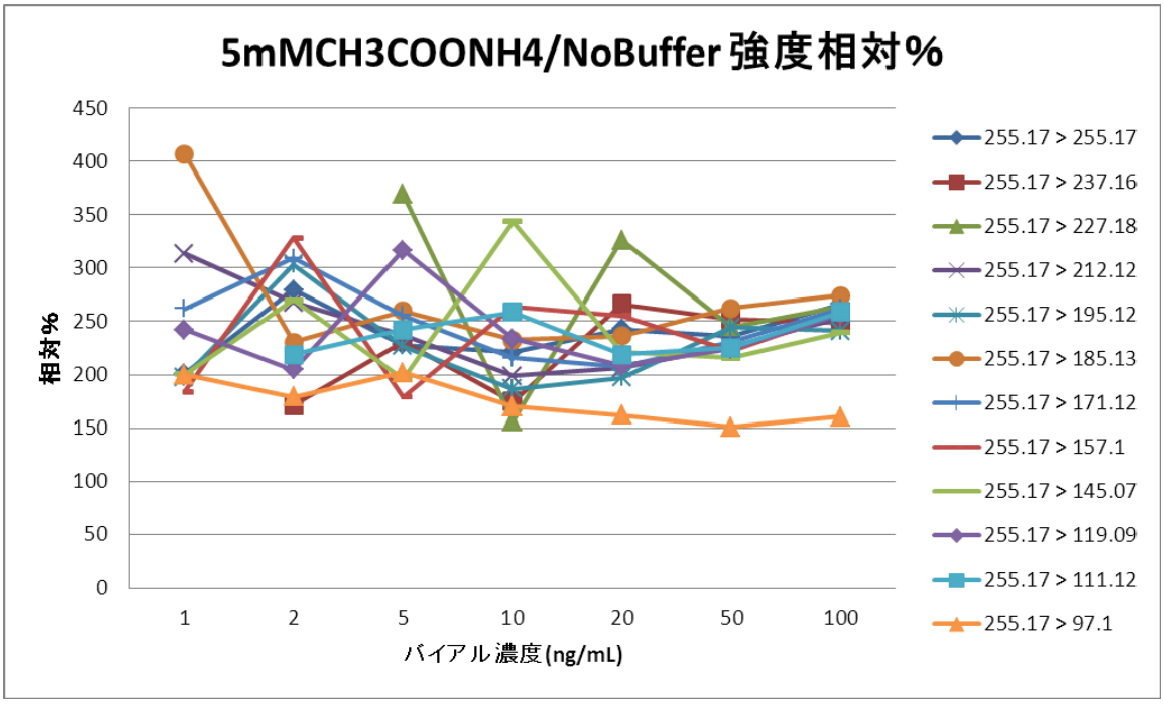


図 29　移動相による強度の違い

〔IDLの算出〕

IDLを算出するため、標準液の濃度を変更して評価を実施したところ、次のことがわかった。

①標準液の濃度が高いほどIDLは高くなる。

②標準液の濃度が高いほどCVは小さくなる。

本結果やS/N比等を考慮に入れ、IDLの算出を行うモニターイオンと標準液濃度を決定した。

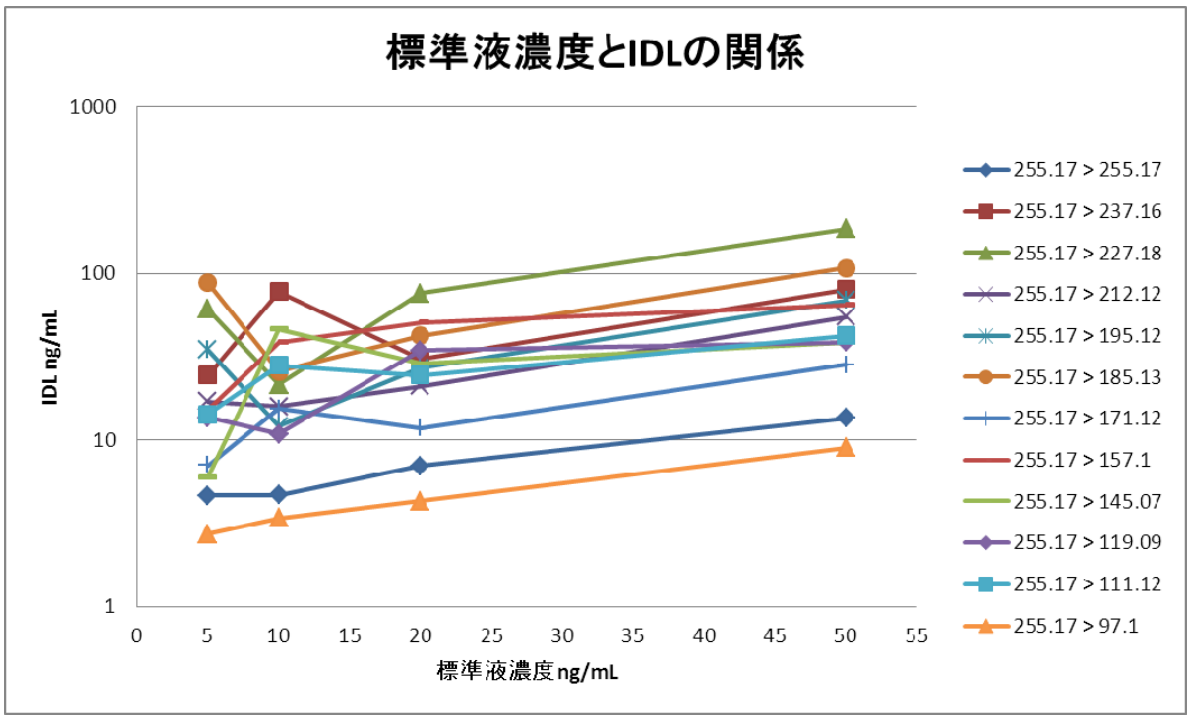


図 30　標準液濃度と IDL

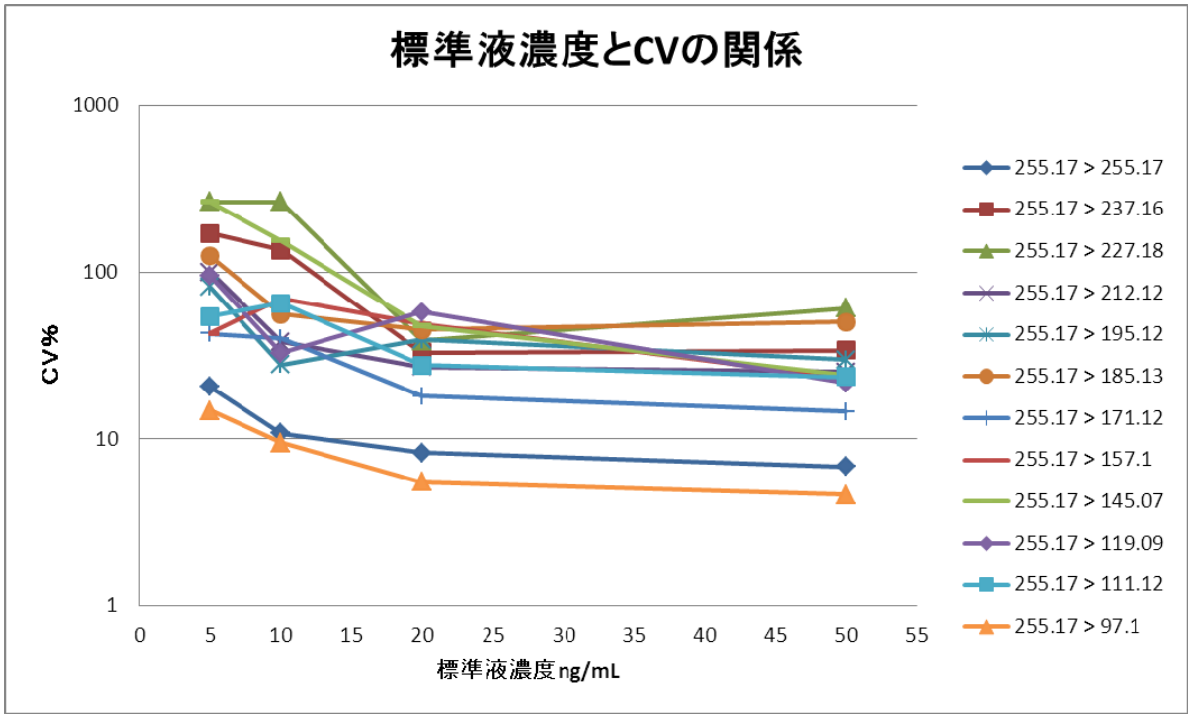


図 31　標準液濃度と IDL 算出時の CV(%)

〔前処理法の検討（固相カートリッジ）〕

前処理法の検討を行った。各種の評価を実施し、次のようなことがわかった。
①HLBとPLS-3ではHLBのほうが10%弱程度回収率良好だが、マトリックスも多め。
②回収率はpHにあまりよらず、酸やアルカリでの洗浄が可能。

③50%アセトニトリルまでは保持され、同溶媒による洗浄が可能。
　これらの結果をもとに、前処理法を決定した。

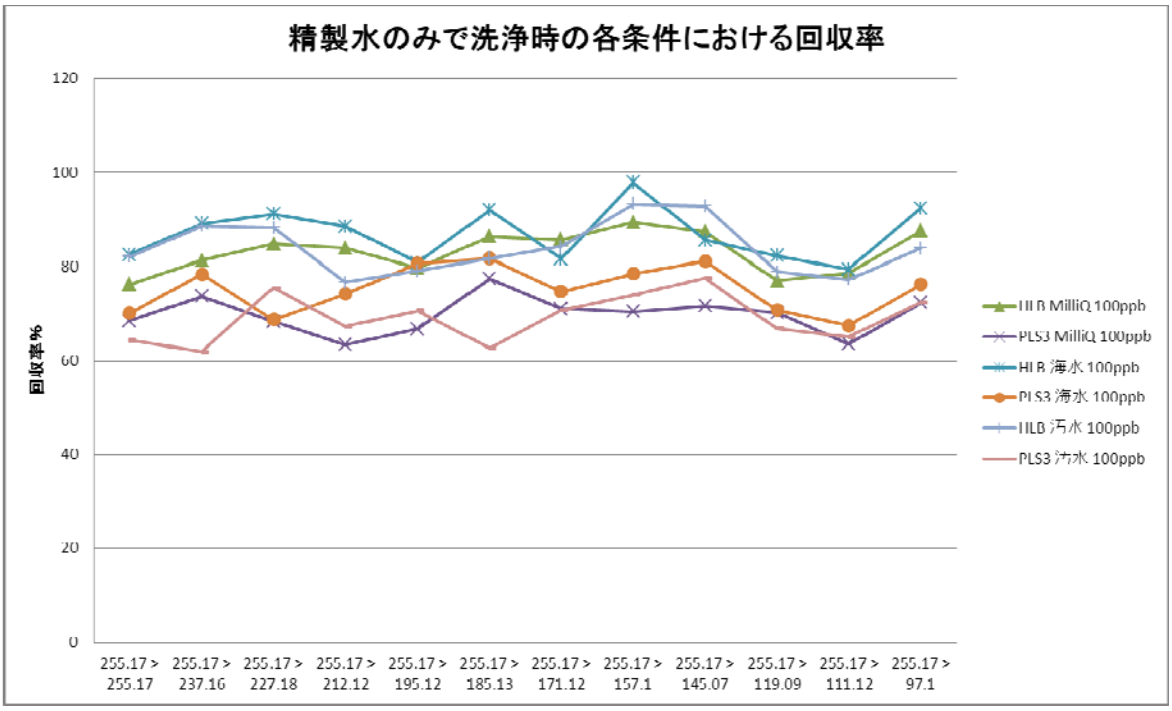


図 32　精製水のみで洗浄時の回収率

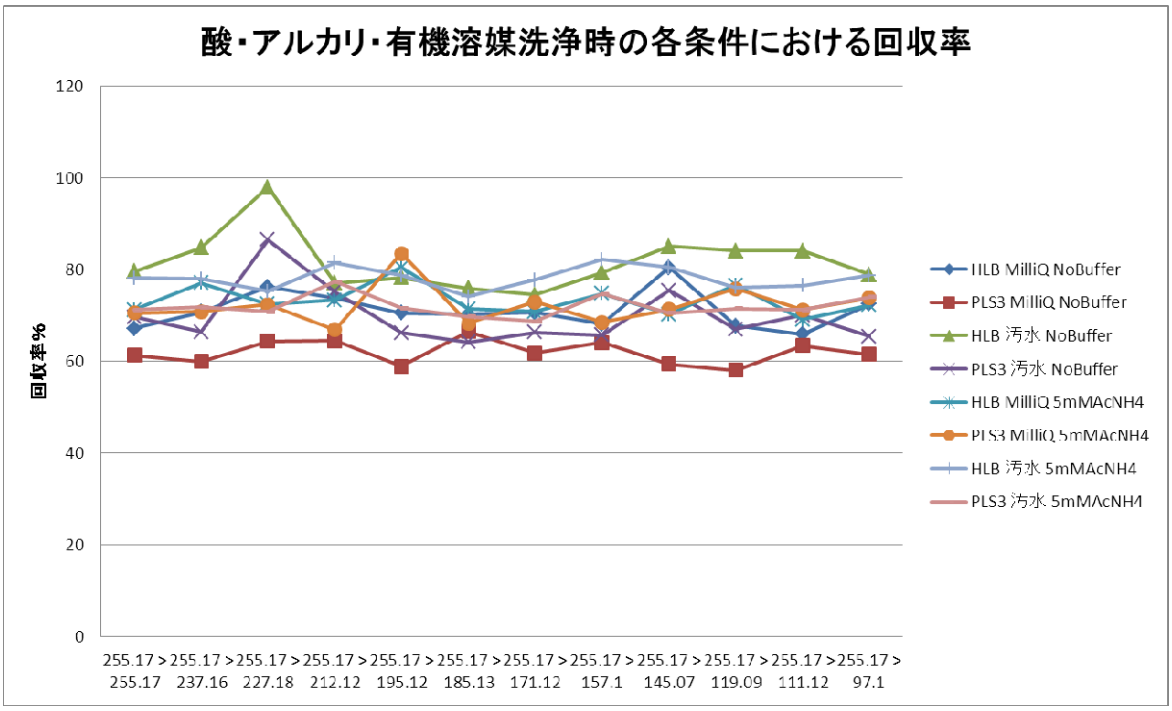


図 33　酸-アルカリ・有機溶媒洗浄時の回収率

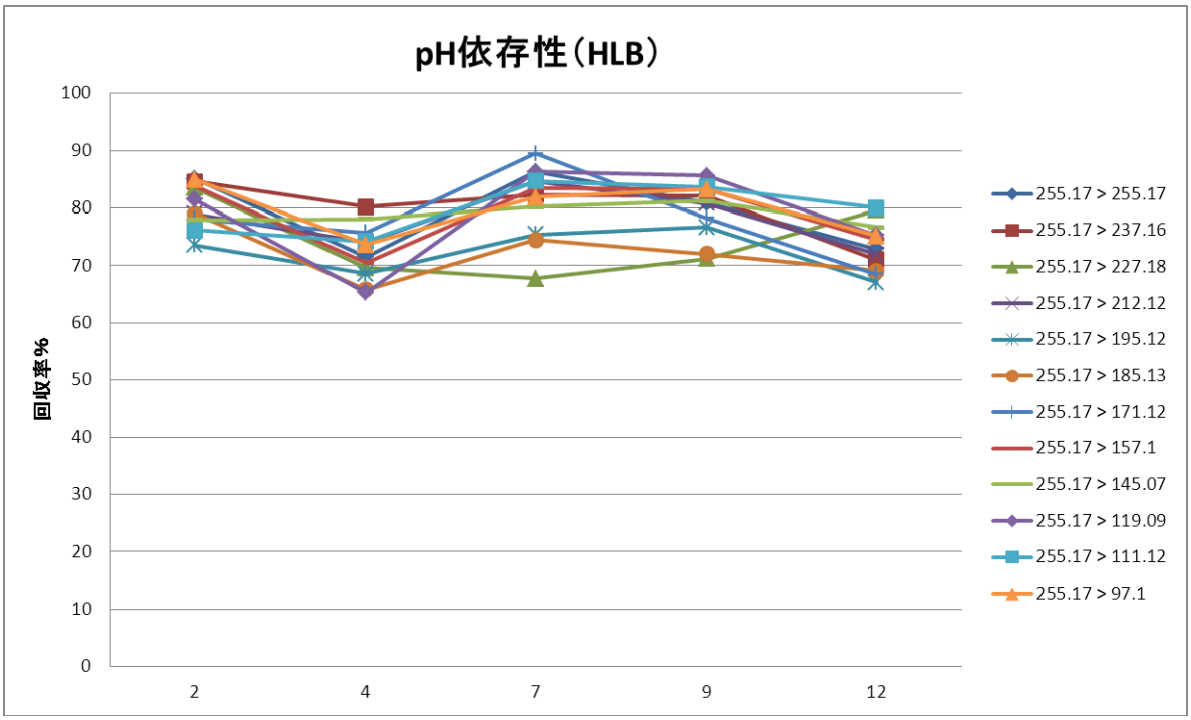


図 34　HLB 使用時の通液 pH 依存性（精製水に標準品を添加して通液）

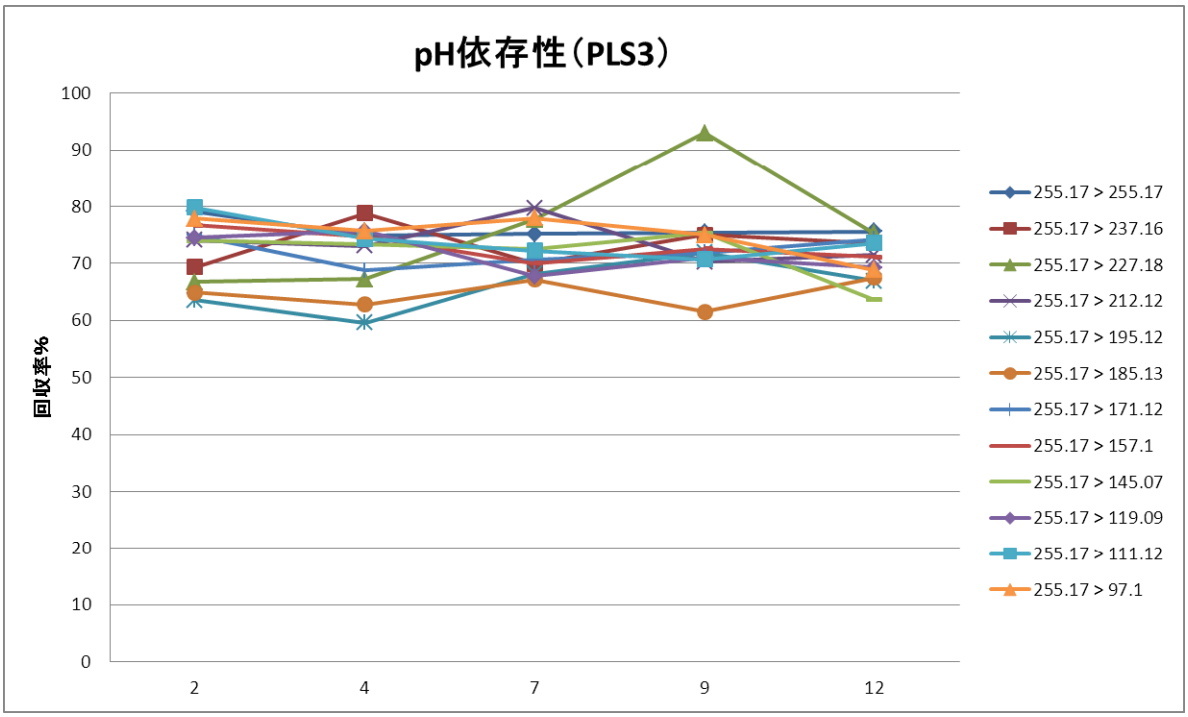


図 35　PLS-3 使用時の通液 pH 依存性（精製水に標準品を添加して通液）

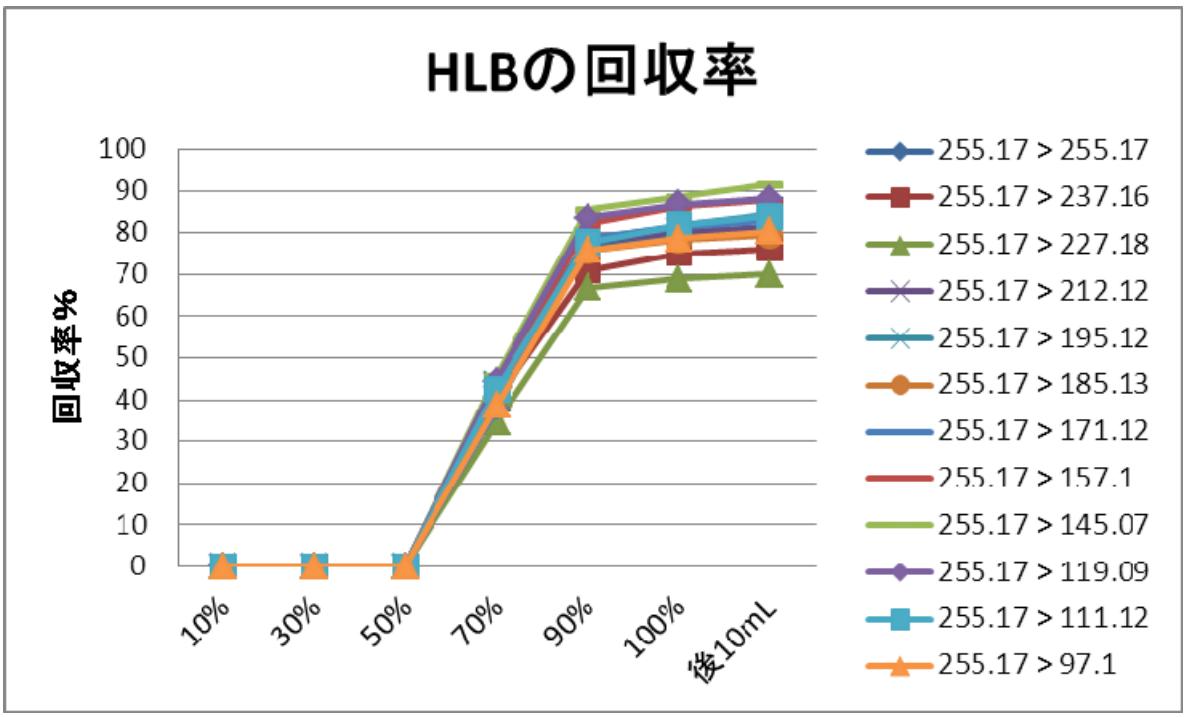


図 36　HLB 使用時の積み上げ回収率
（10~100%アセトニトリル各 5 mL の順で溶出を行い、更にアセトニトリル 10 mL で溶出を行った。）

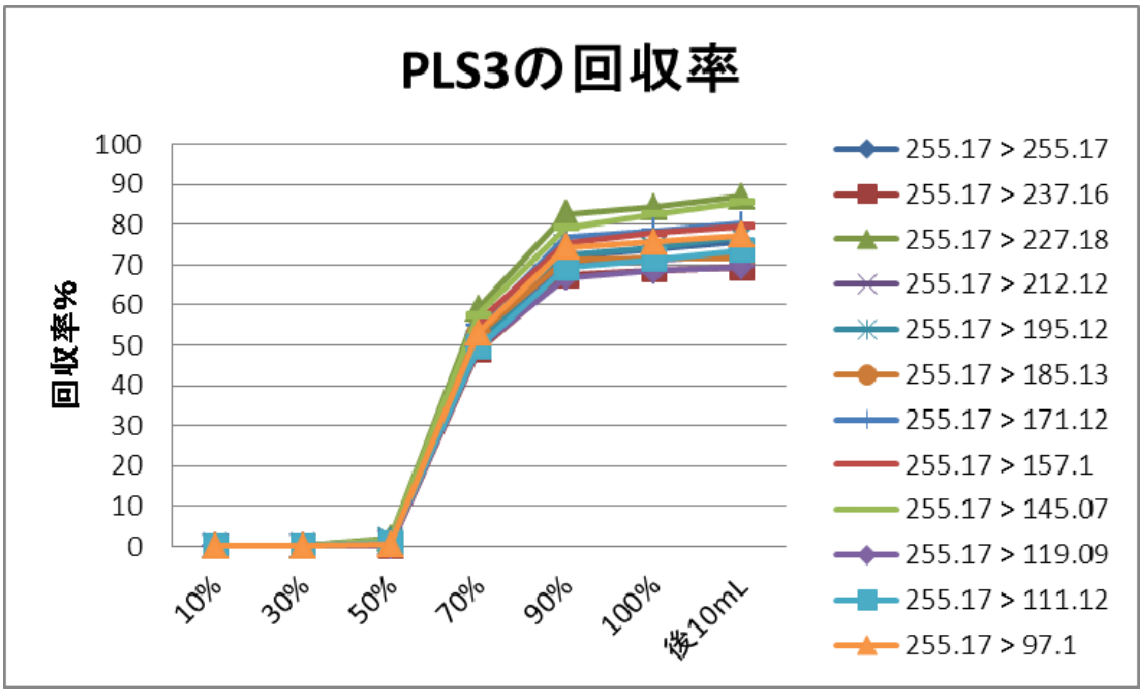


図 37　PLS-3 使用時の積み上げ回収率（同上）

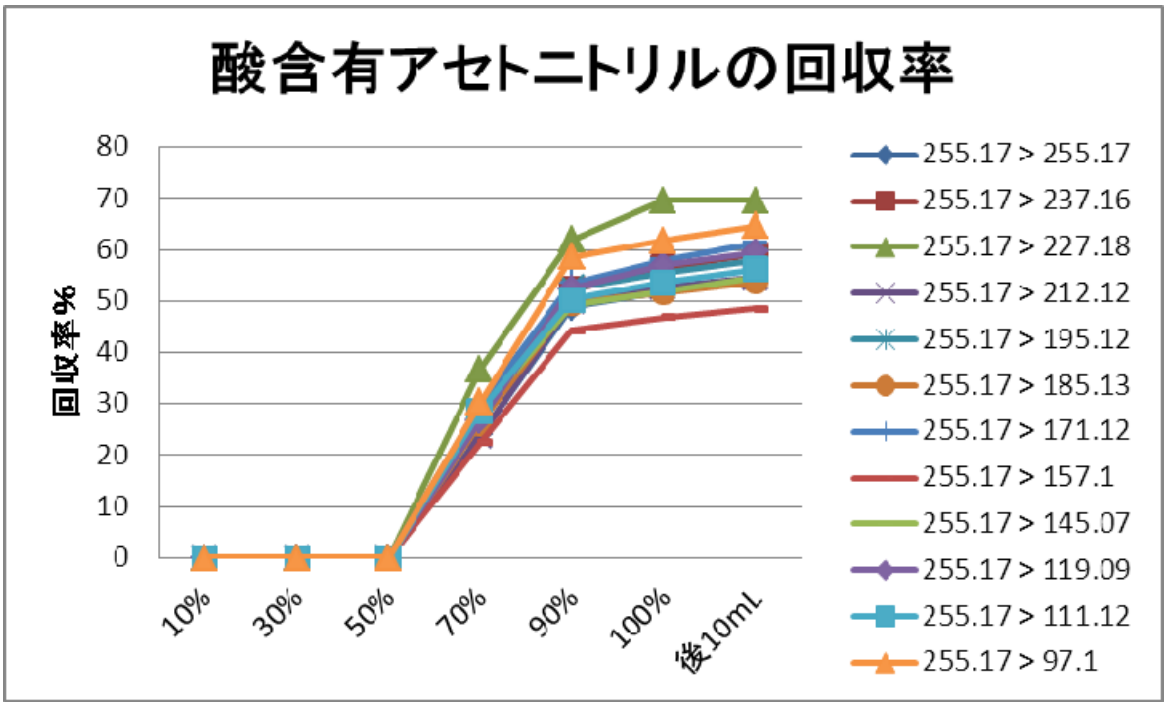


図 38　HLB 酸洗浄時の積み上げ回収率
（10~100%アセトニトリル（0.1 mol/L HCl 含有）各 5 mL の順で溶出を行い、更に 0.1 mol/L HCl 含有アセトニトリル 10 mL で溶出を行った。）

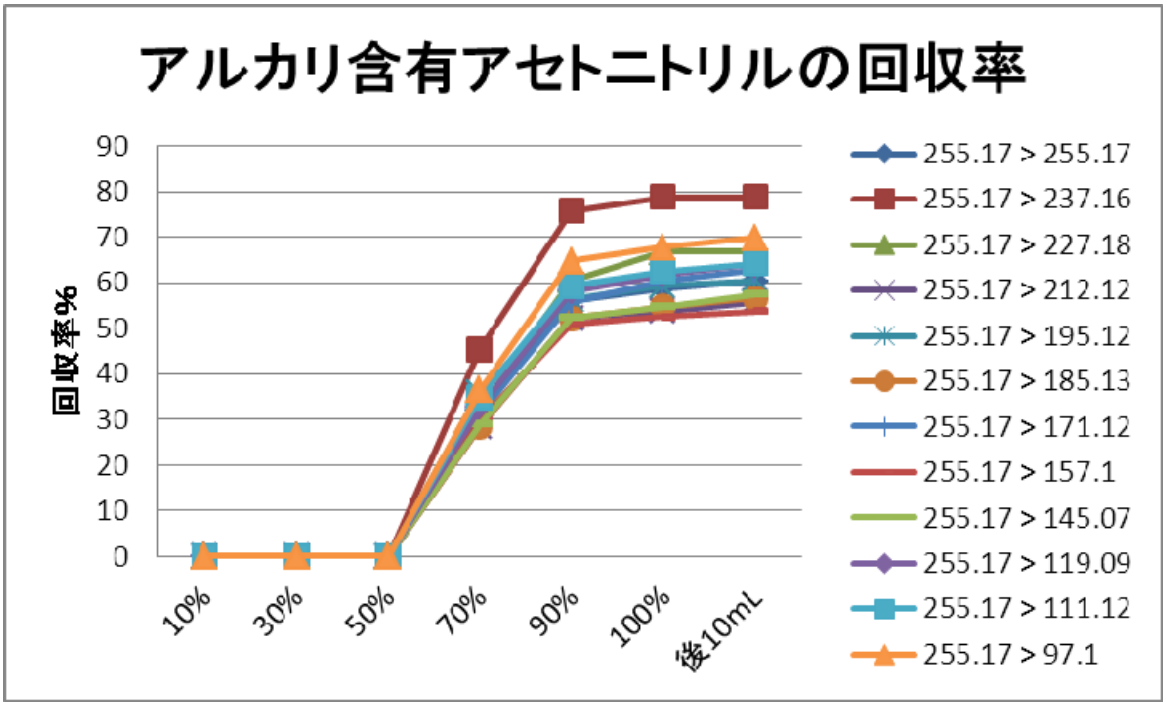


図 39　HLB アルカリ洗浄時の積み上げ回収率
（10~100%アセトニトリル（0.1 mol/L NaOH 含有）各 5 mL の順で溶出を行い、更に 0.1 mol/L NaOH 含有アセトニトリル 10 mL で溶出を行った。）

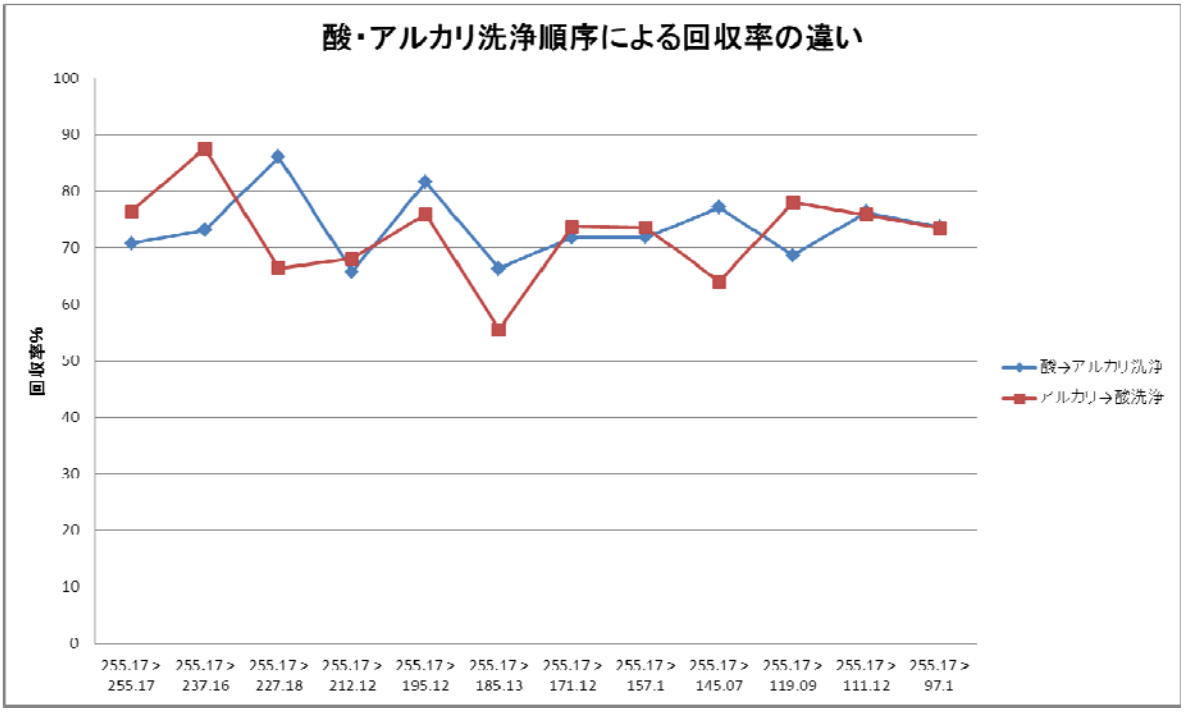


図 40　洗浄順序による回収率の違い

〔前処理法の検討（マトリックス効果）〕

汚水（河川水）を用いて、前処理法の検討を行った。各種の評価を実施し、次のようなことがわかった。

①HLBとPLS-3どちらにおいても、20倍濃縮以上で負のマトリックス効果が見られた。また、移動相にバッファーがあった方が、マトリックス効果が抑えられる。

②酸やアルカリや有機溶媒で洗浄することにより、マトリックスは除去されているものの、マトリックス効果の程度に大きな違いは見られなかった。

③酢酸アンモニウムのバッファーの有無で、マトリックス効果が著しく異なる場合がある。

④汚水によっては、いくつかのモニターイオンで、妨害ピークが出ることがある。

これらの結果をもとに、前処理法を決定した。

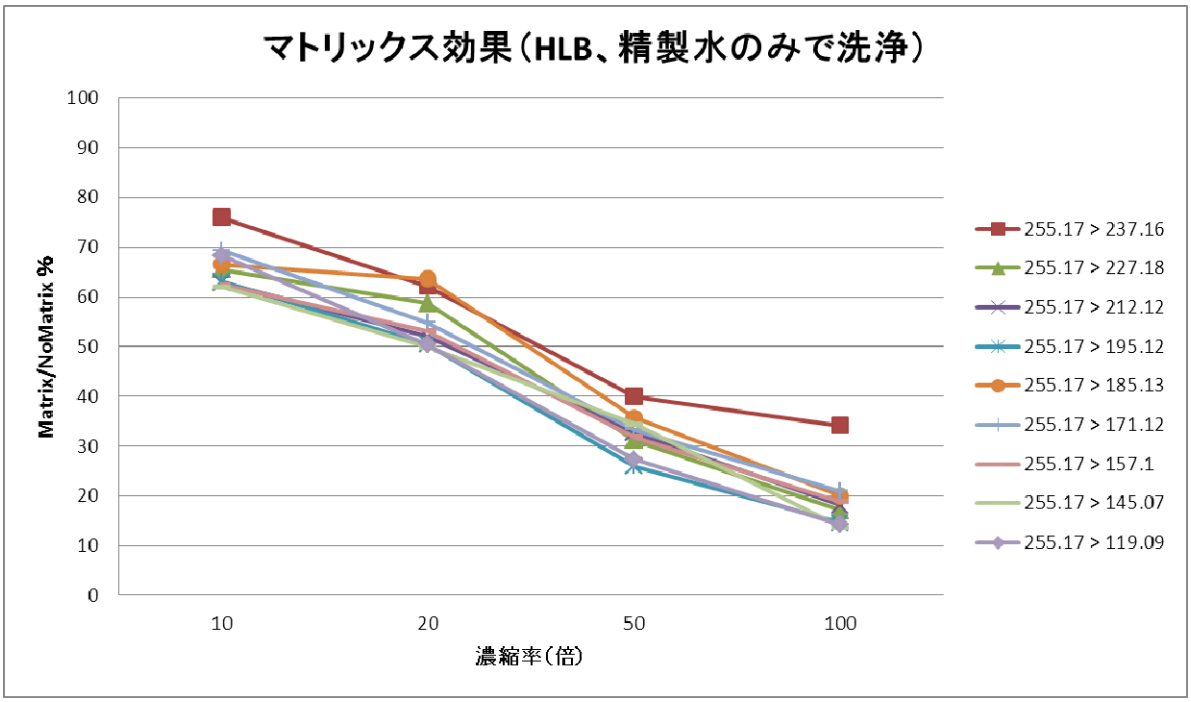


図 41　HLB 使用時のマトリックス効果
（移動相にバッファーなし、酸やアルカリや有機溶媒での洗浄なし。）
（妨害ピークが検出された 3 イオンを除く。）

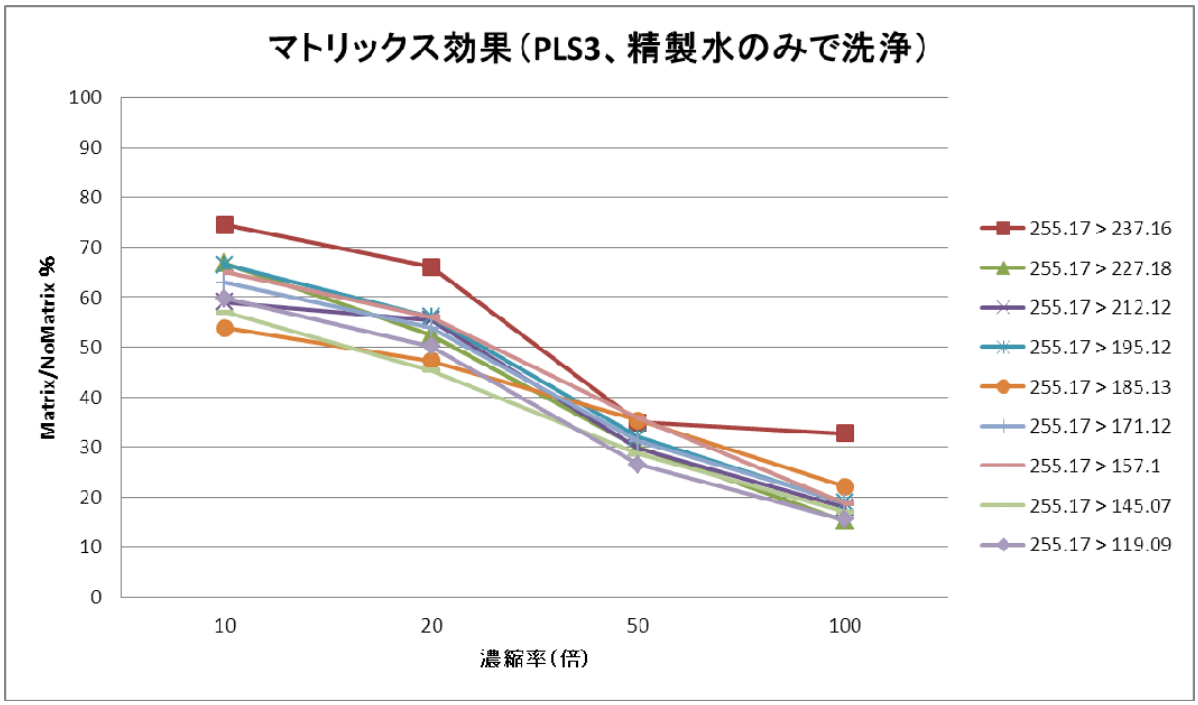


図 42　PLS-3 使用時のマトリックス効果
（移動相にバッファーなし、酸やアルカリや有機溶媒での洗浄なし。）
（妨害ピークが検出された 3 イオンを除く。）

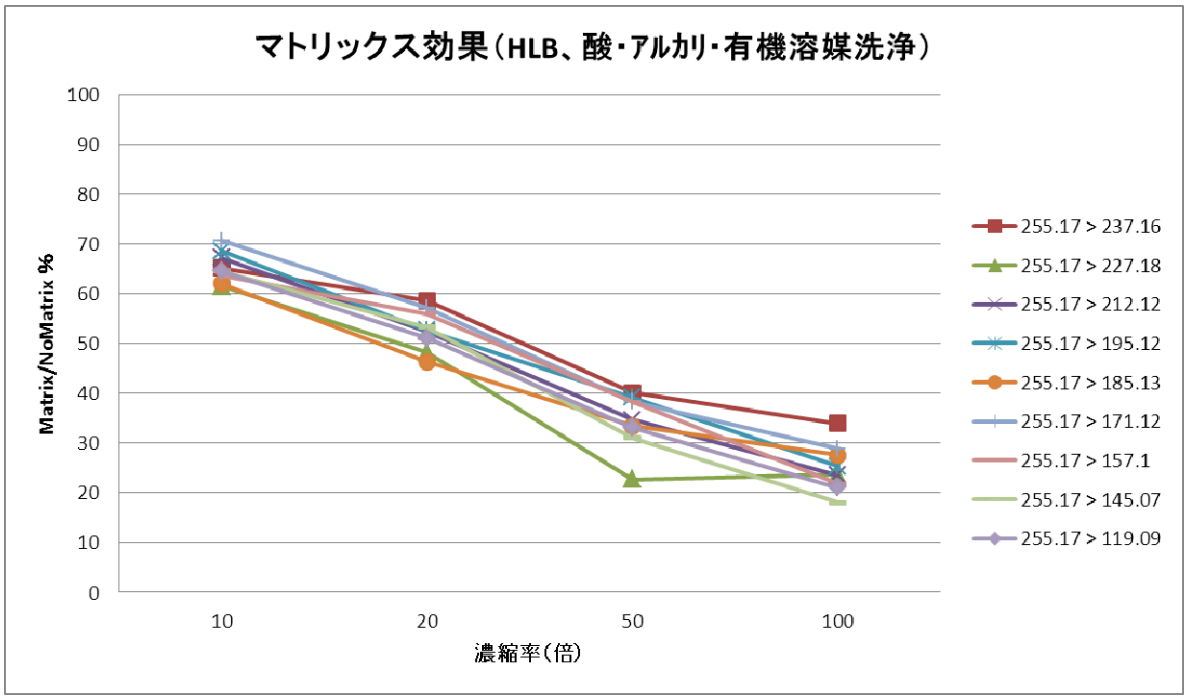


図 43　HLB 使用時のマトリックス効果
（移動相にバッファーなし、酸やアルカリや有機溶媒での洗浄あり。）
（妨害ピークが検出された 3 イオンを除く。）

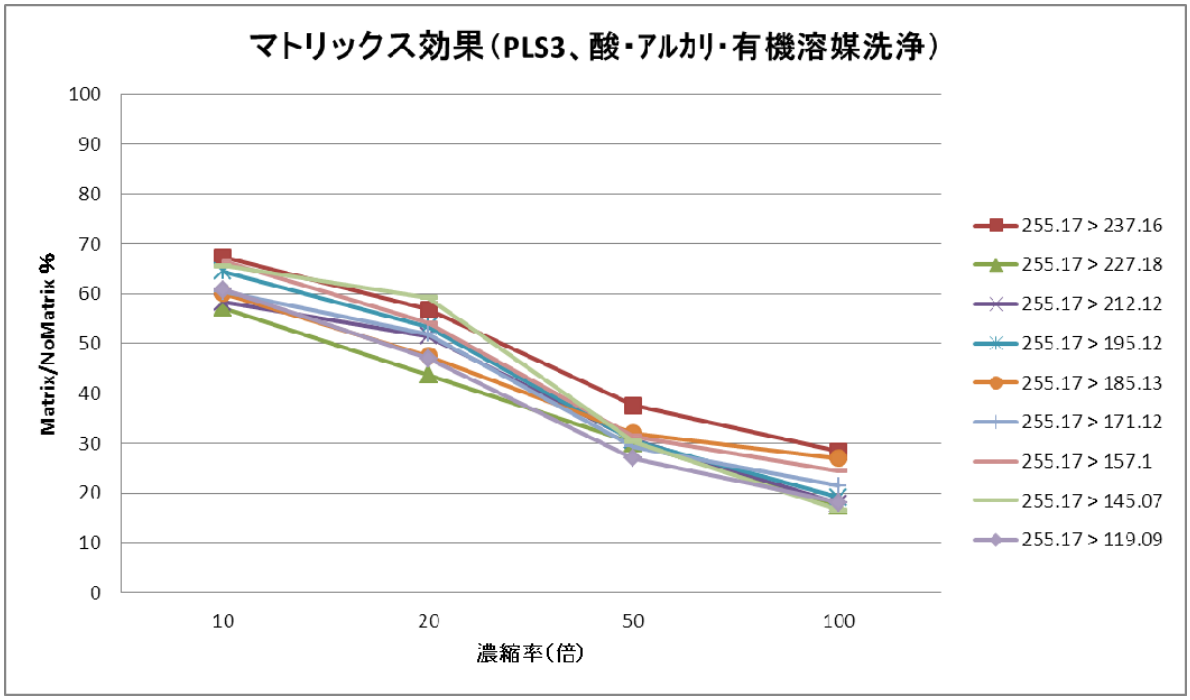


図 44　PLS-3 使用時のマトリックス効果
（移動相にバッファーなし、酸やアルカリや有機溶媒での洗浄あり。）
（妨害ピークが検出された 3 イオンを除く。）

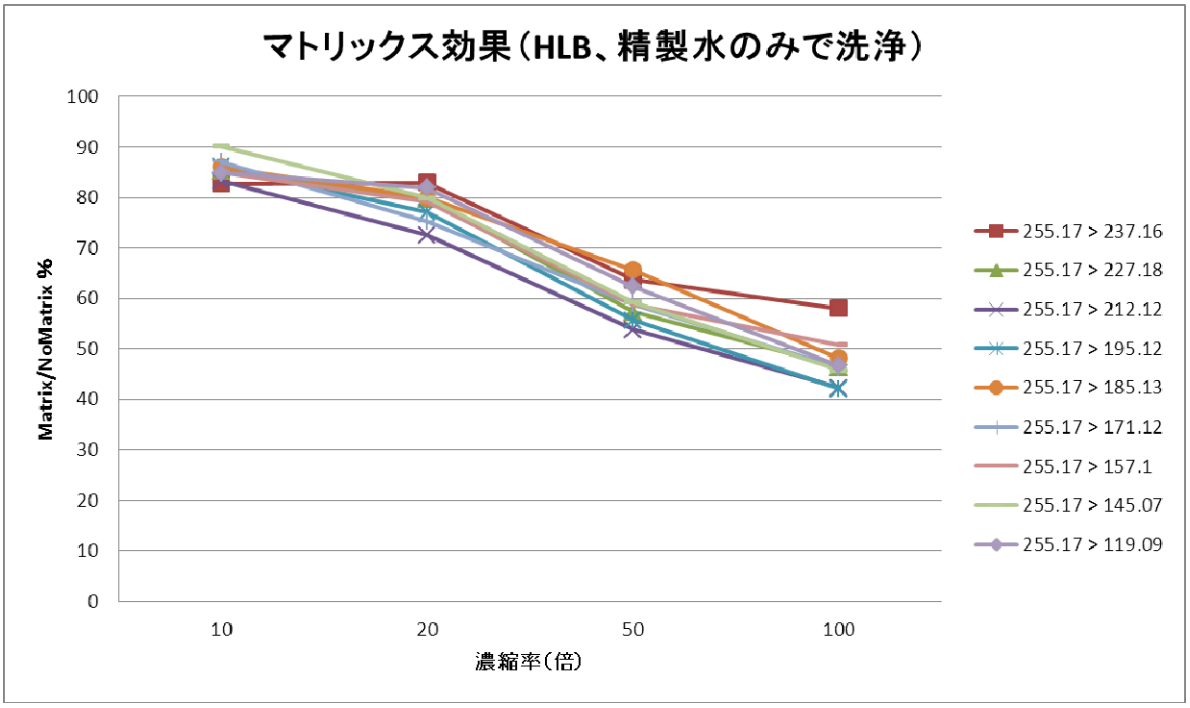


図 45　HLB 使用時のマトリックス効果
（移動相にバッファーあり、酸やアルカリや有機溶媒での洗浄なし。）
（妨害ピークが検出された 3 イオンを除く。）

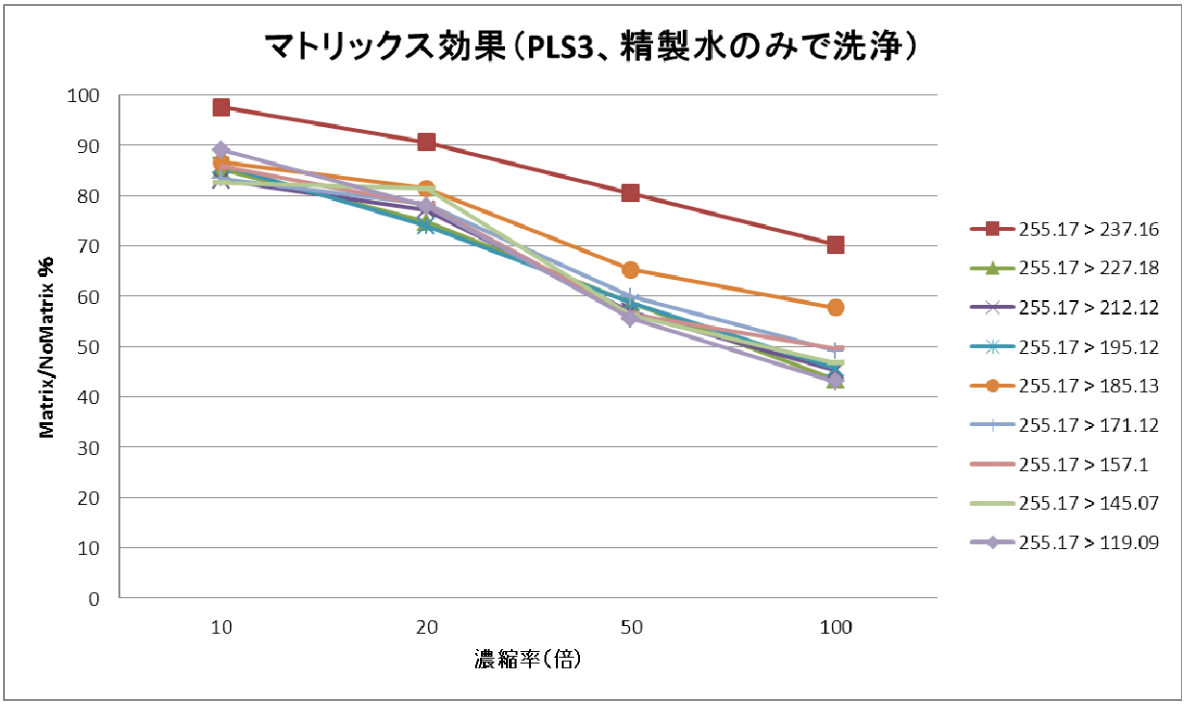


図 46　PLS-3 使用時のマトリックス効果
（移動相にバッファーあり、酸やアルカリや有機溶媒での洗浄なし。）
（妨害ピークが検出された 3 イオンを除く。）

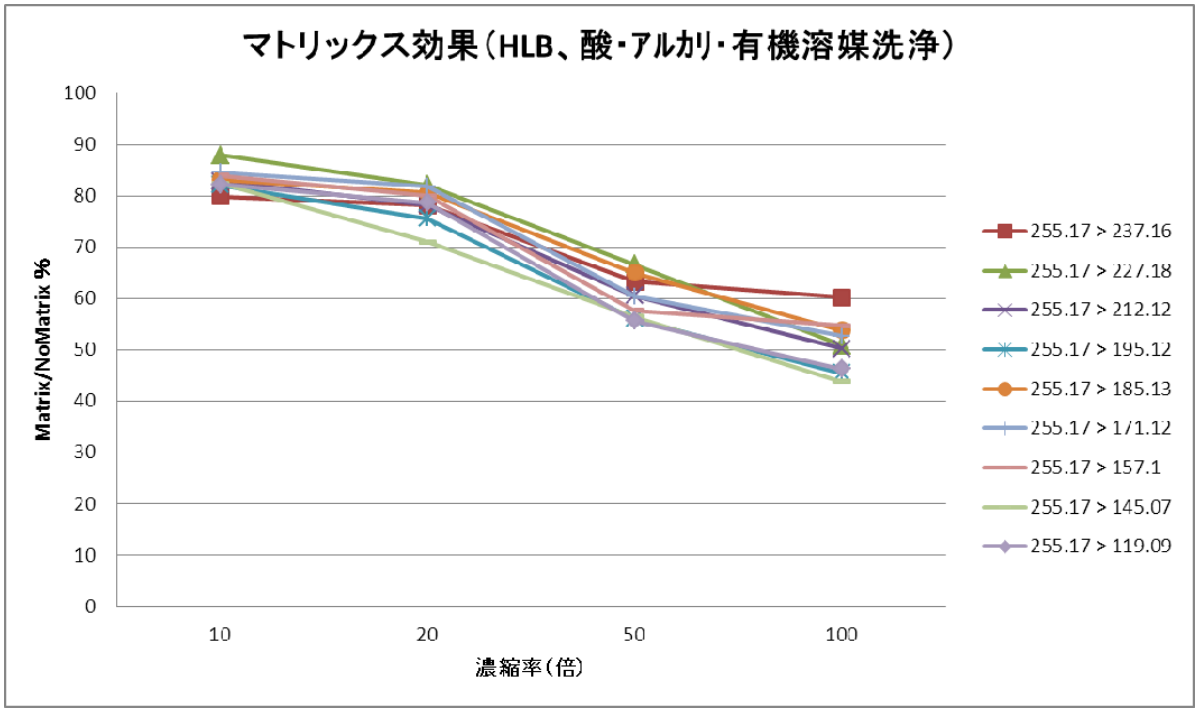


図 47　HLB 使用時のマトリックス効果
（移動相にバッファーあり、酸やアルカリや有機溶媒での洗浄あり。）
（妨害ピークが検出された 3 イオンを除く。）

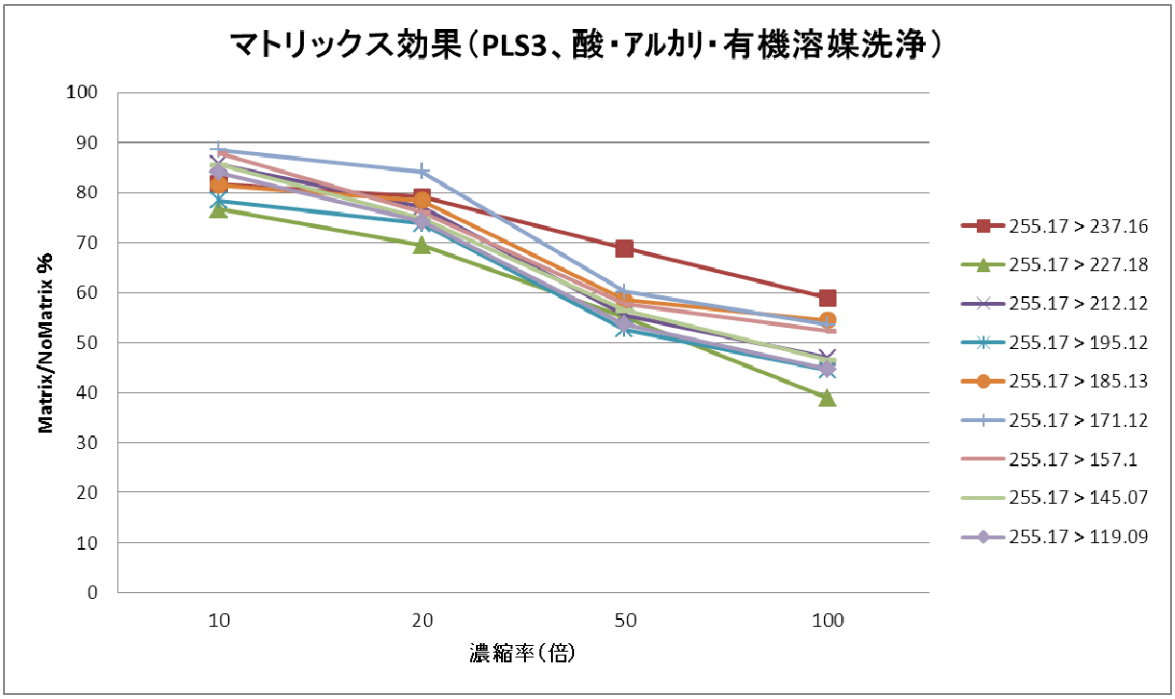


図 48　PLS-3 使用時のマトリックス効果
（移動相にバッファーあり、酸やアルカリや有機溶媒での洗浄あり。）
（妨害ピークが検出された 3 イオンを除く。）

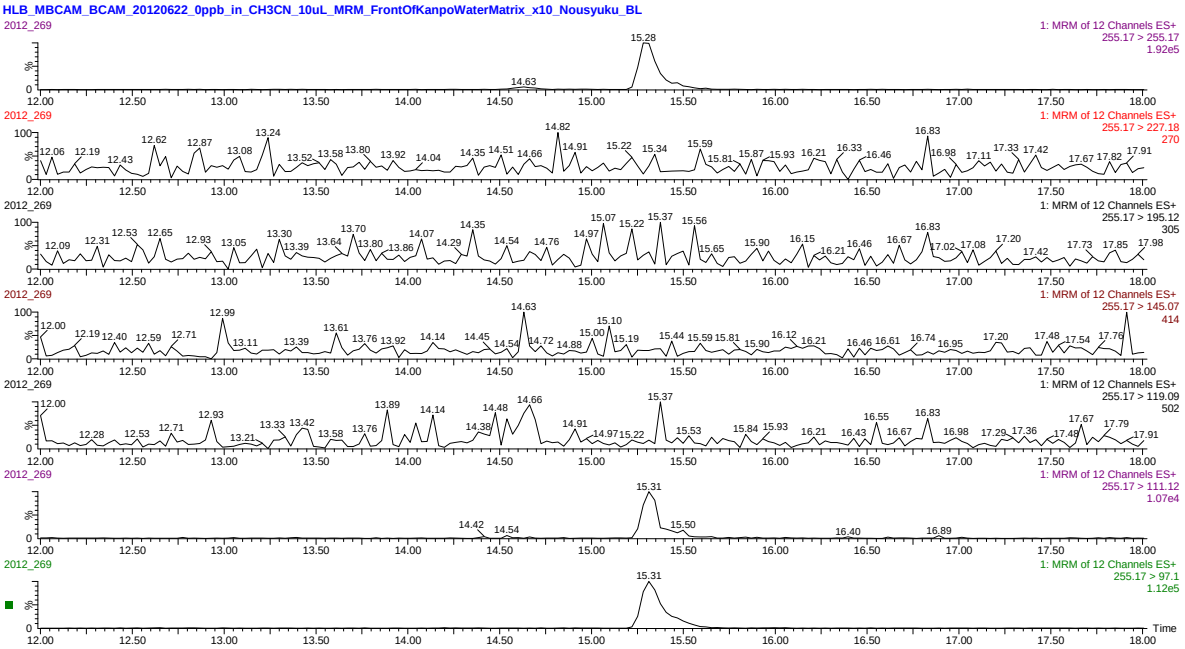


図 49　汚水（河川水）での妨害ピーク検出例

（12 のﾓﾆﾀｰｲｵﾝのうち、3 つに妨害ピークが検出された例。図は 7 イオンを抜粋。）

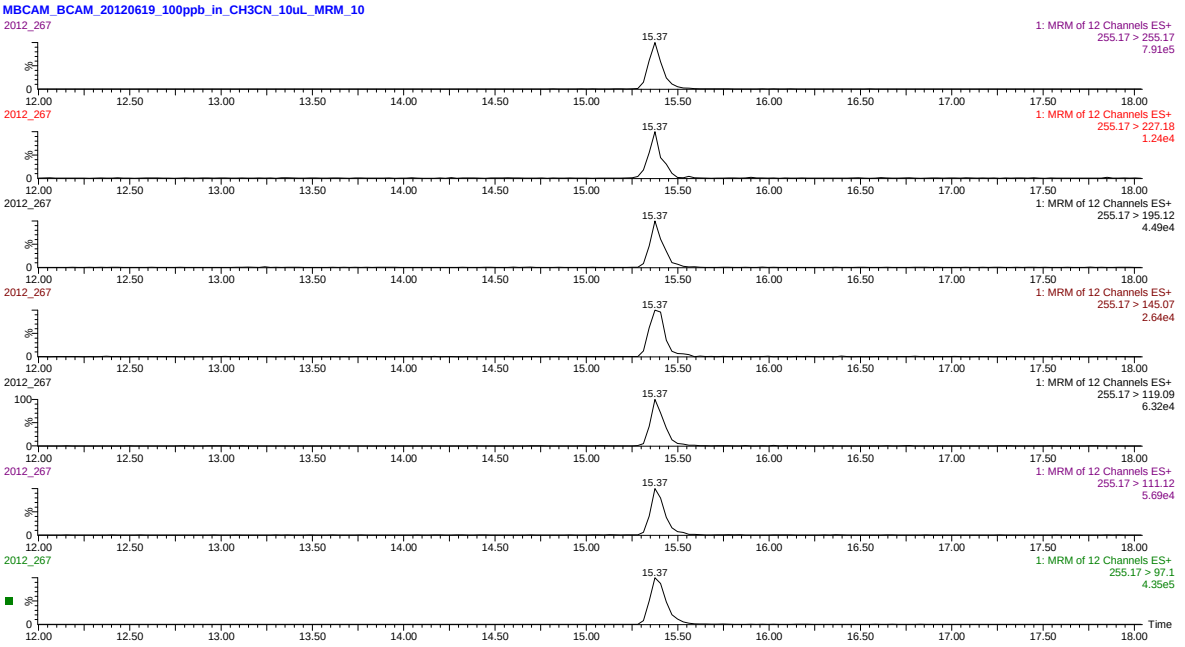


図 50　　標準液のクロマトグラム

（12 のﾓﾆﾀｰｲｵﾝのうち図 49 と同一の 7 イオンを抜粋。）

〔保存性と分解性（光による構造異性体化）の検討〕

保存性と分解性の検討を行った。各種の評価を実施し、次のようなことがわかった。

①暗所、冷蔵の有機溶媒中で1か月以上安定である。

②暗所、冷蔵の汚水中では1週間以上安定に保存される。酸化防止剤（アスコルビン酸）の有無で、著しい違いは見られない。

③光に対して分解性（構造異性体化）があり、数時間の光で異性体化する。異性体化はpHには依存しない。酸化防止剤（アスコルビン酸）の有無で、異性体化に著しい違いは見られない。元化合物と異性体化生成物を足し合わせると、元化合物の初期濃度とほぼ一致する。

④照射光の種類（蛍光灯、太陽光）では異性化の程度に著しい違いは見られない。

⑤十分に光を照射すると、異性体化前と異性体化後の比は、濃度に応じて一定の割合となった後に安定する。

⑥UV領域の300 nm付近に強い吸収があるが、可視領域には吸収はほぼない。光で異性体化しても吸収極大波長や吸収スペクトルの形に大きな変化は生じないが、異性化生成物はモル吸光係数が元の物質の2/3程度である。

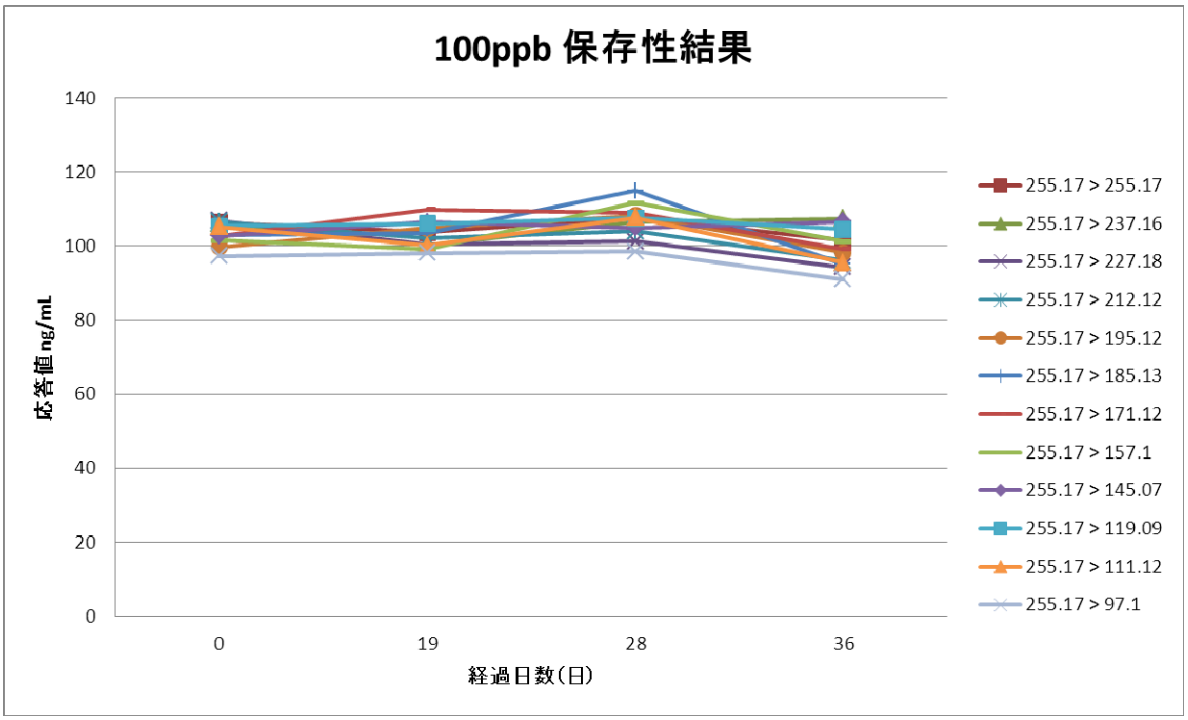


図 51　標準液の保存性

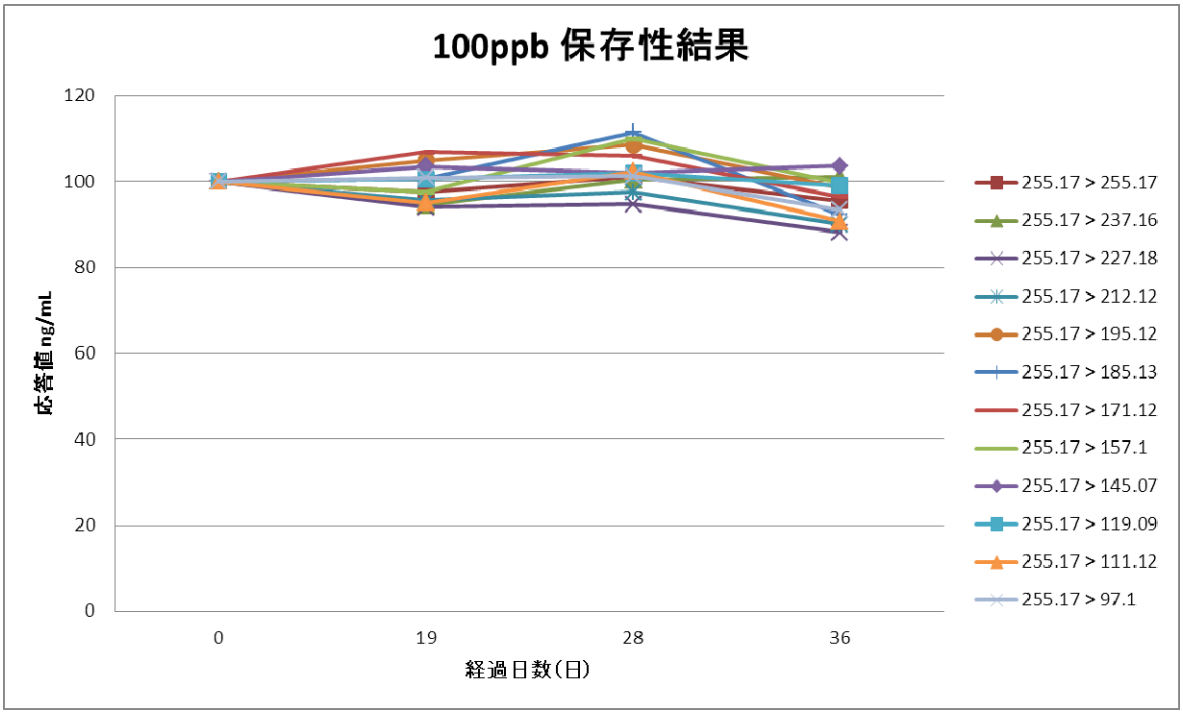


図 52　標準液の保存性（0 日を 100%とする）

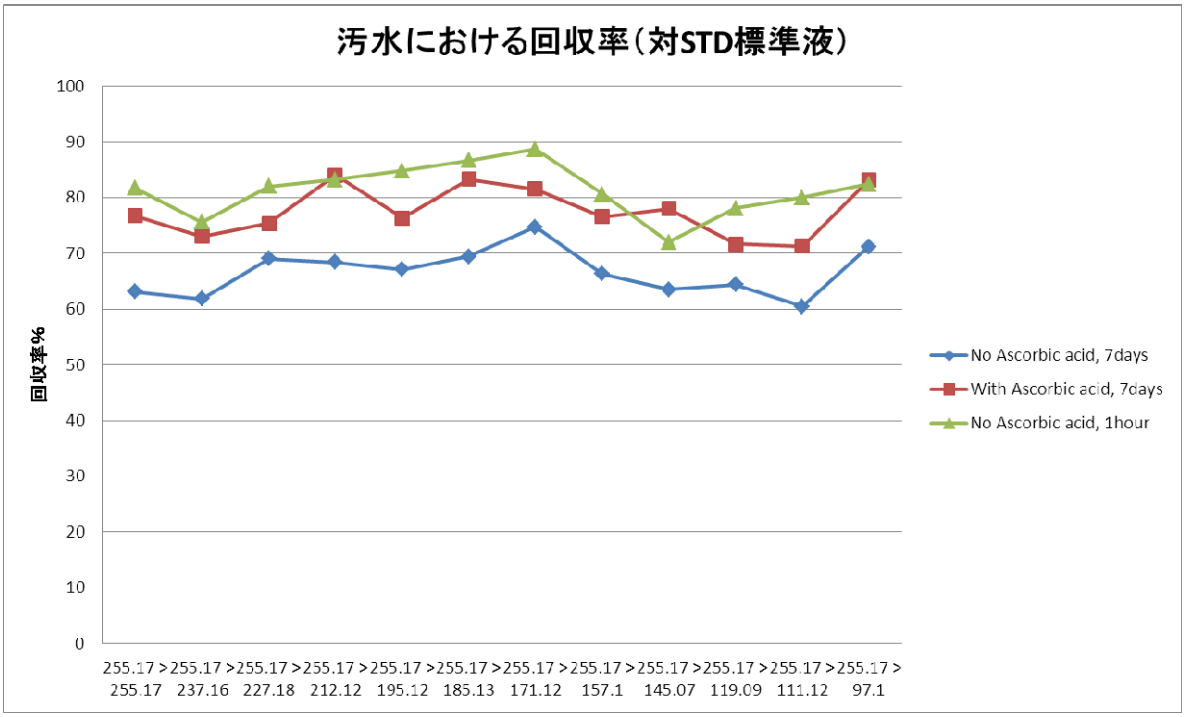


図 53　河川水（汚水）での保存性

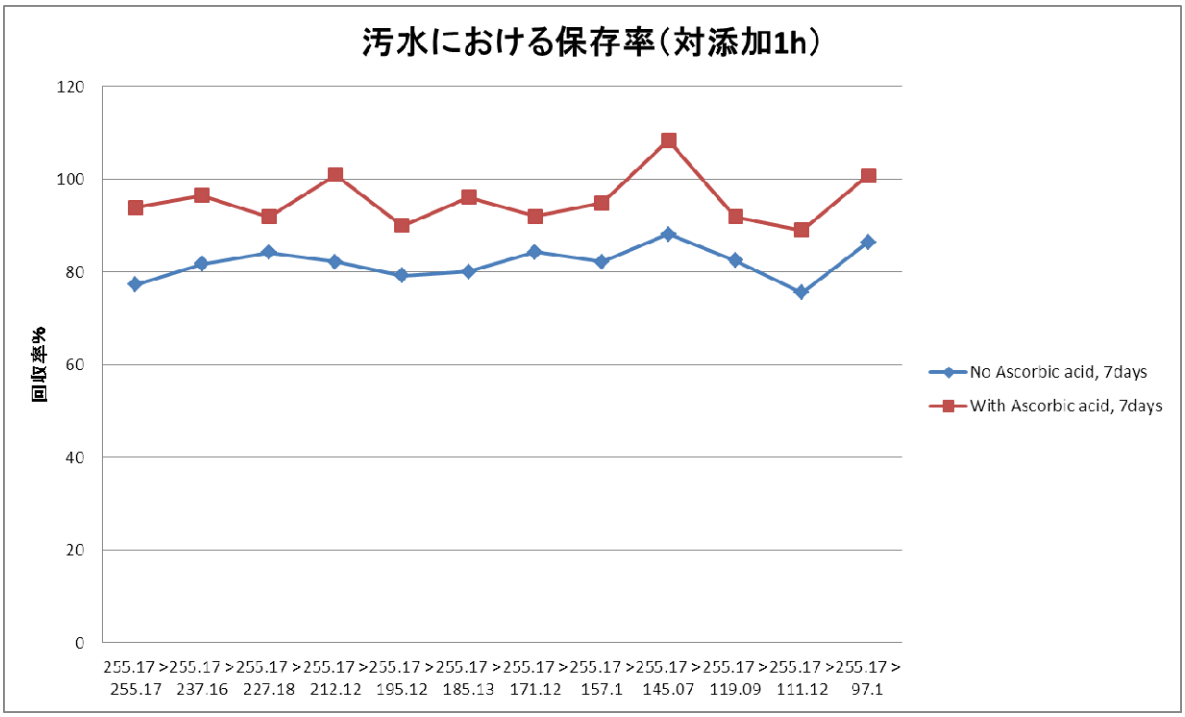


図 54　河川水（汚水）での保存性（添加 1 時間後の値を 100%とする）

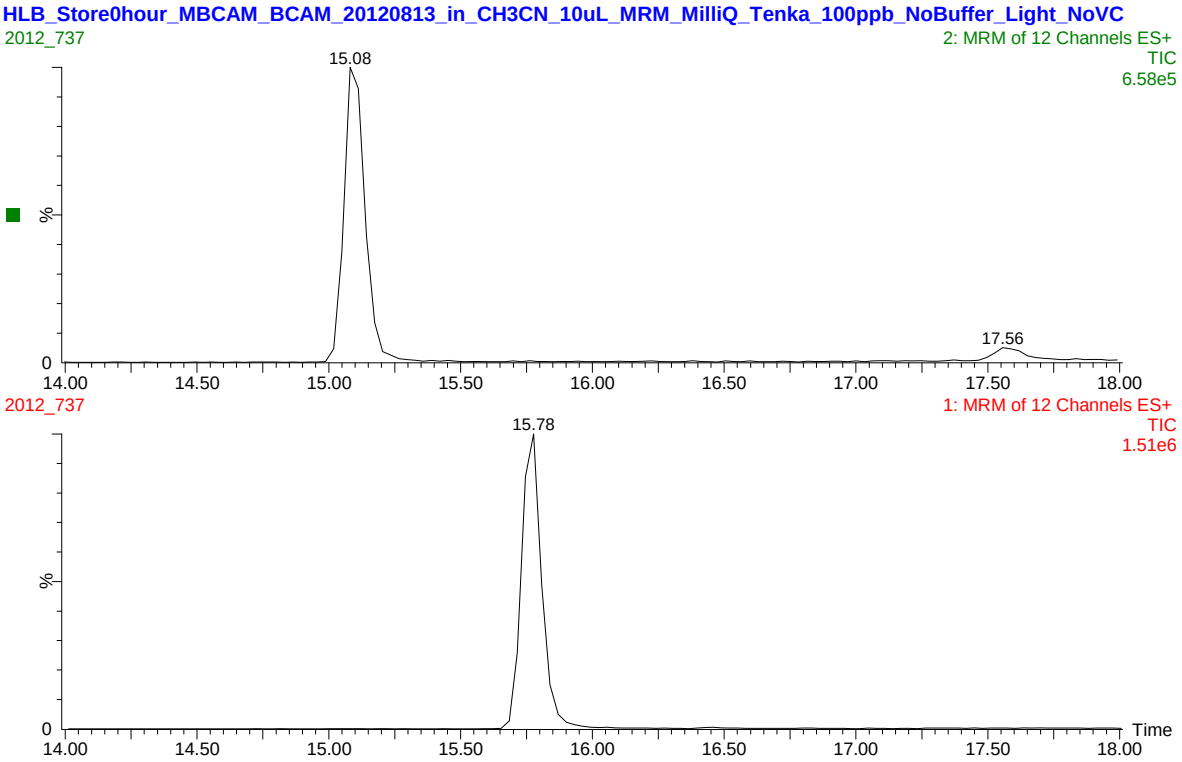


図 55　光照射前のクロマトグラム

（上段はベンザルカンファー、下段は 4-メチルベンジリデンカンファー）

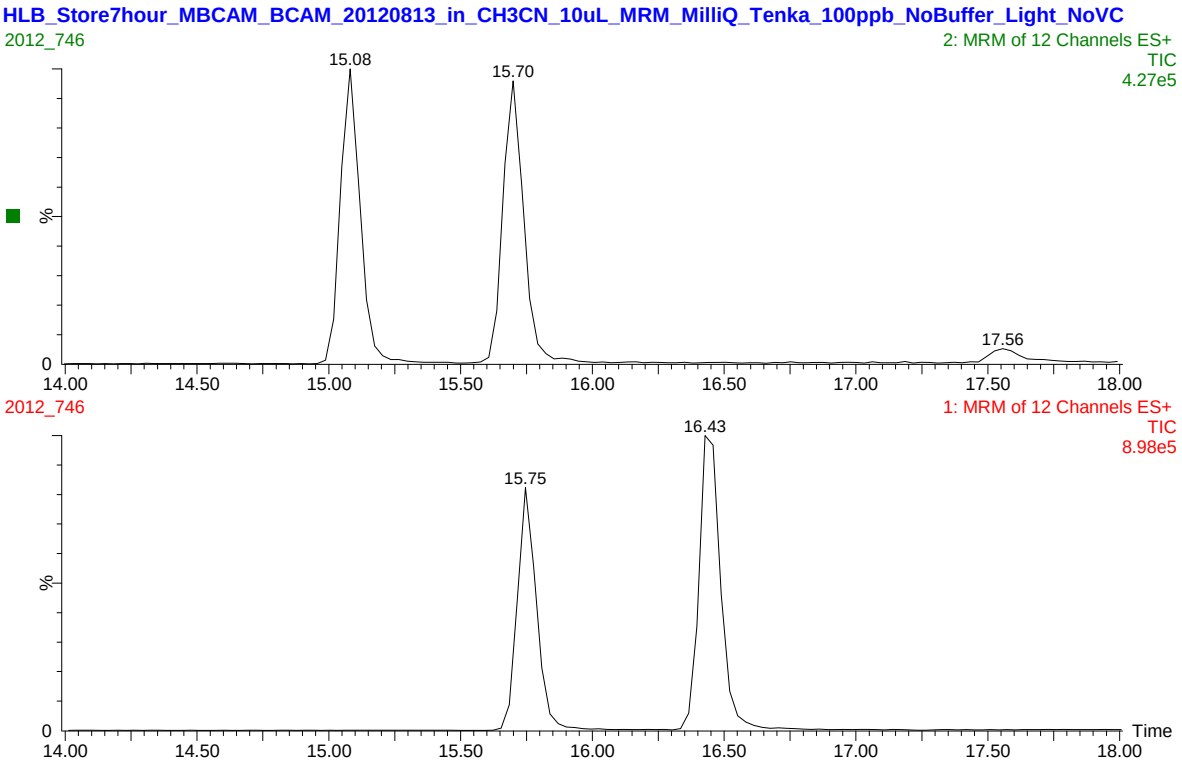


図 56　光照射（7 時間）後のクロマトグラム

（上段はベンザルカンファー、下段は 4-メチルベンジリデンカンファー）

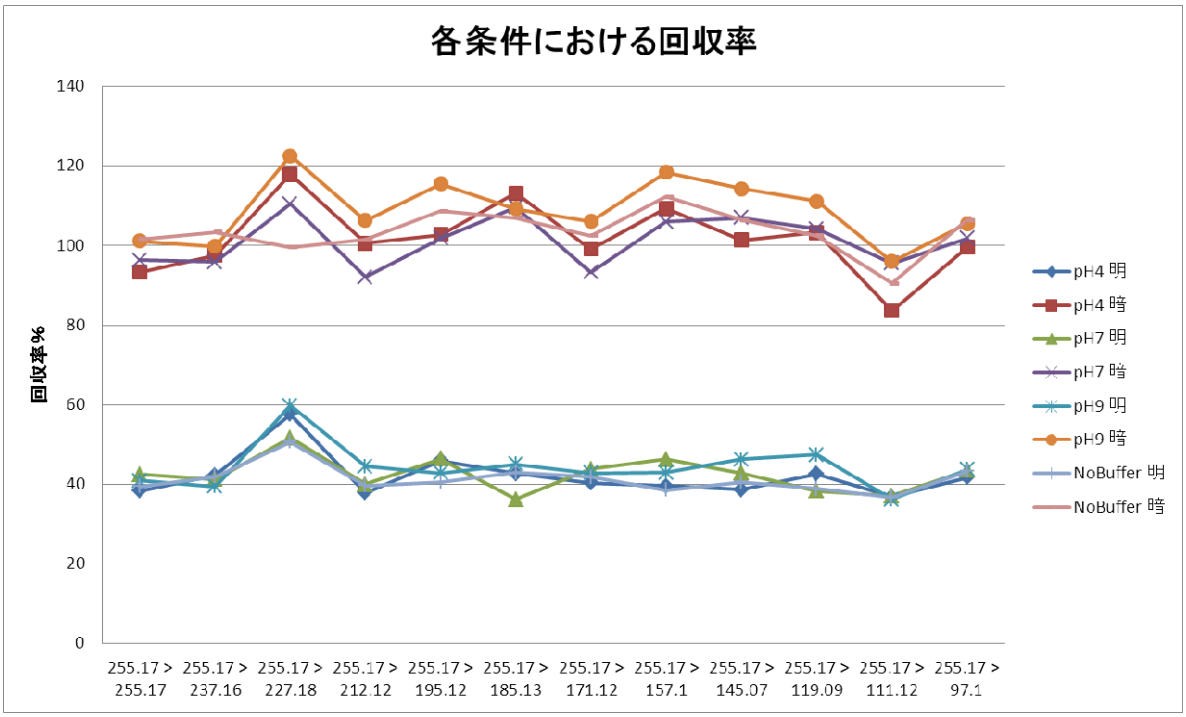


図 57　各 pH 条件での 7 日光照射

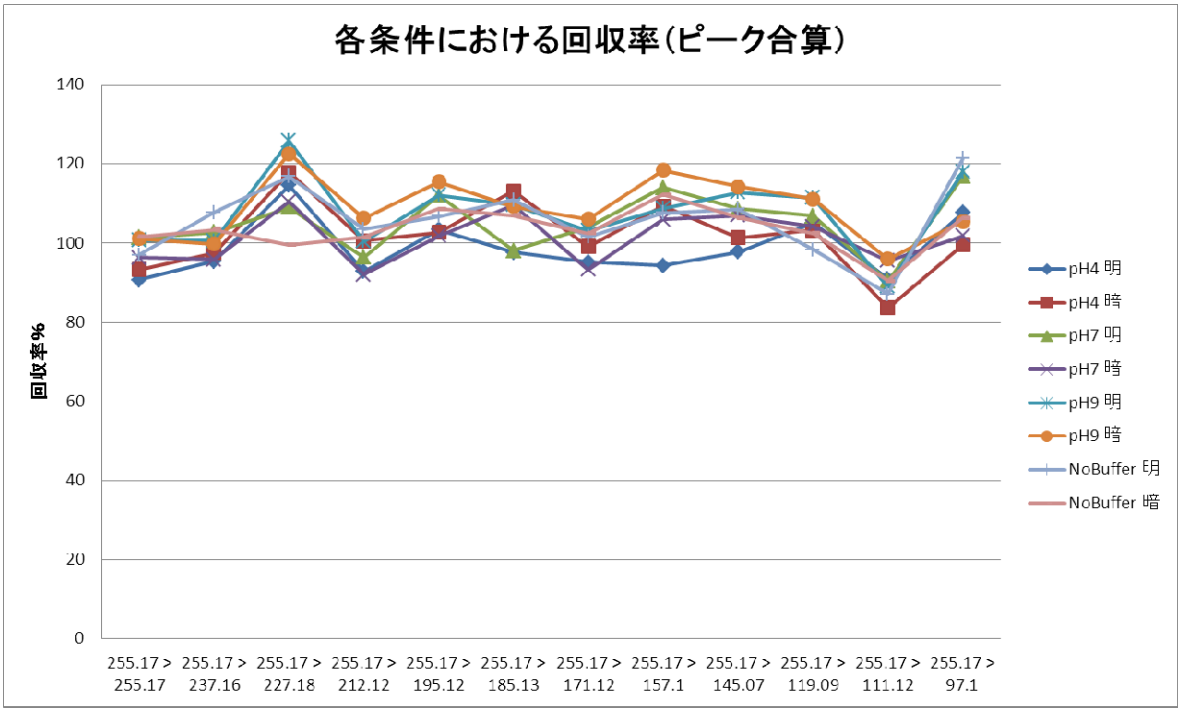


図 58　各 pH 条件での 7 日光照射（ピーク合算）

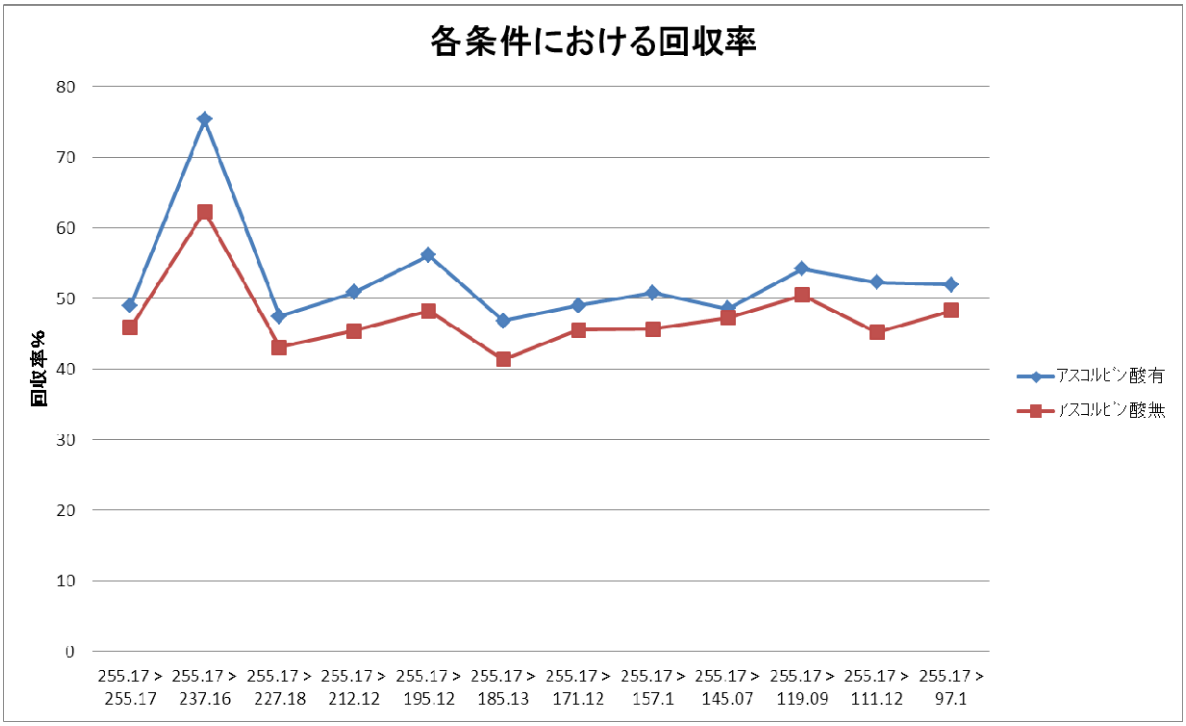


図 59　アスコルビン酸有無での 7 日光照射

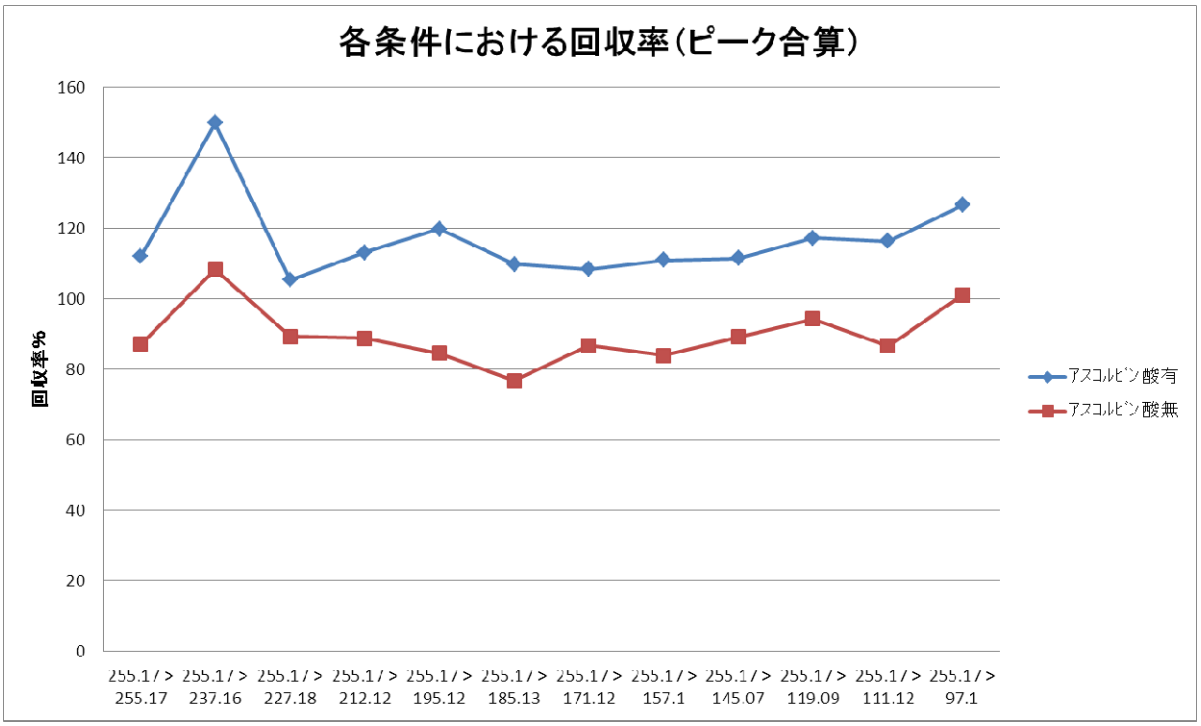


図 60　アスコルビン酸有無での 7 日光照射（合算）

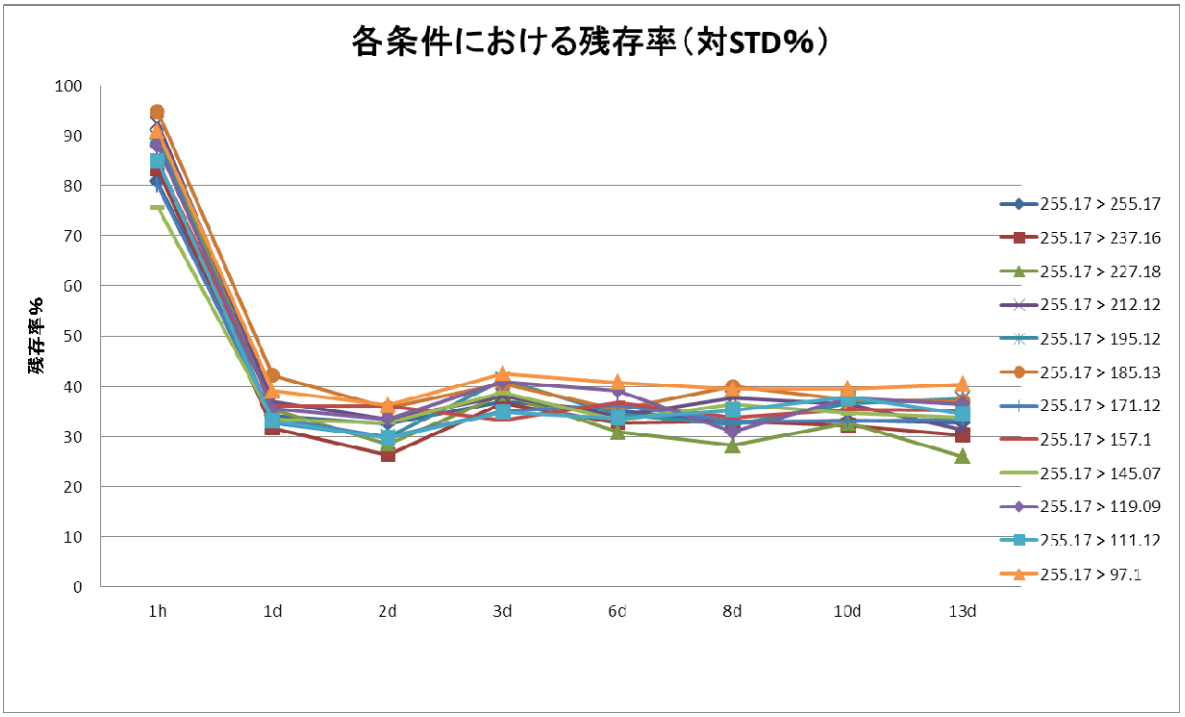


図 61　長期間光照射時の残存率

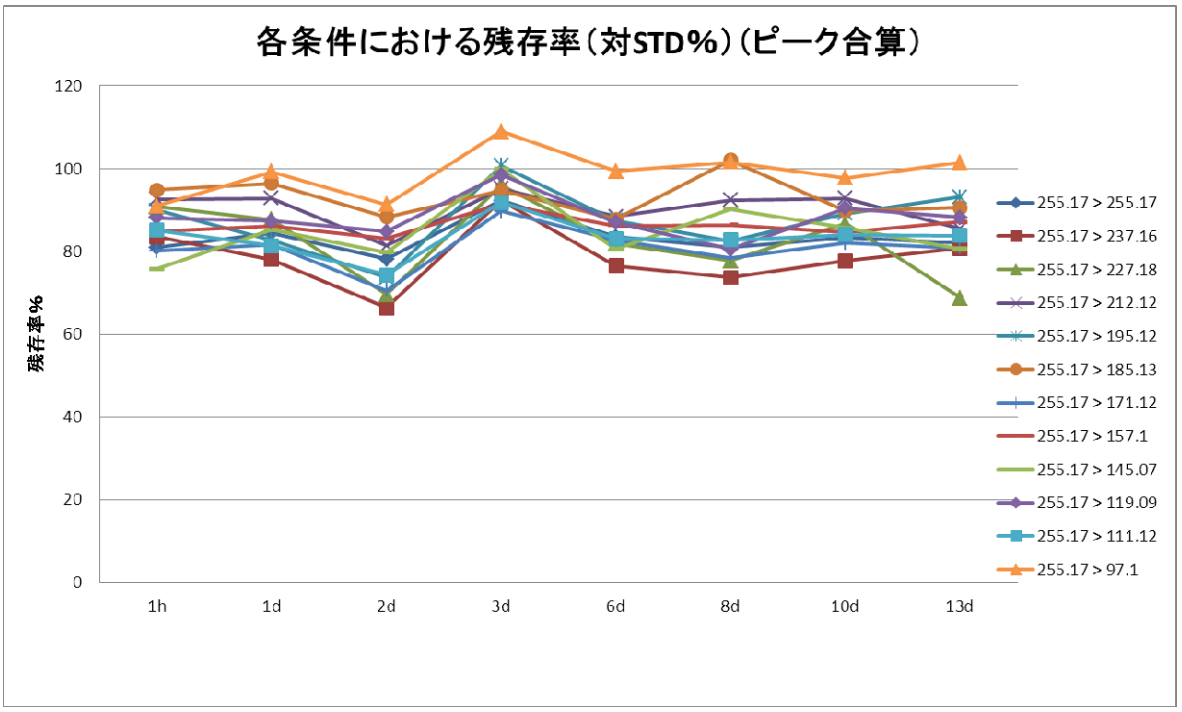


図 62　長期間光照射時の残存率（合算）

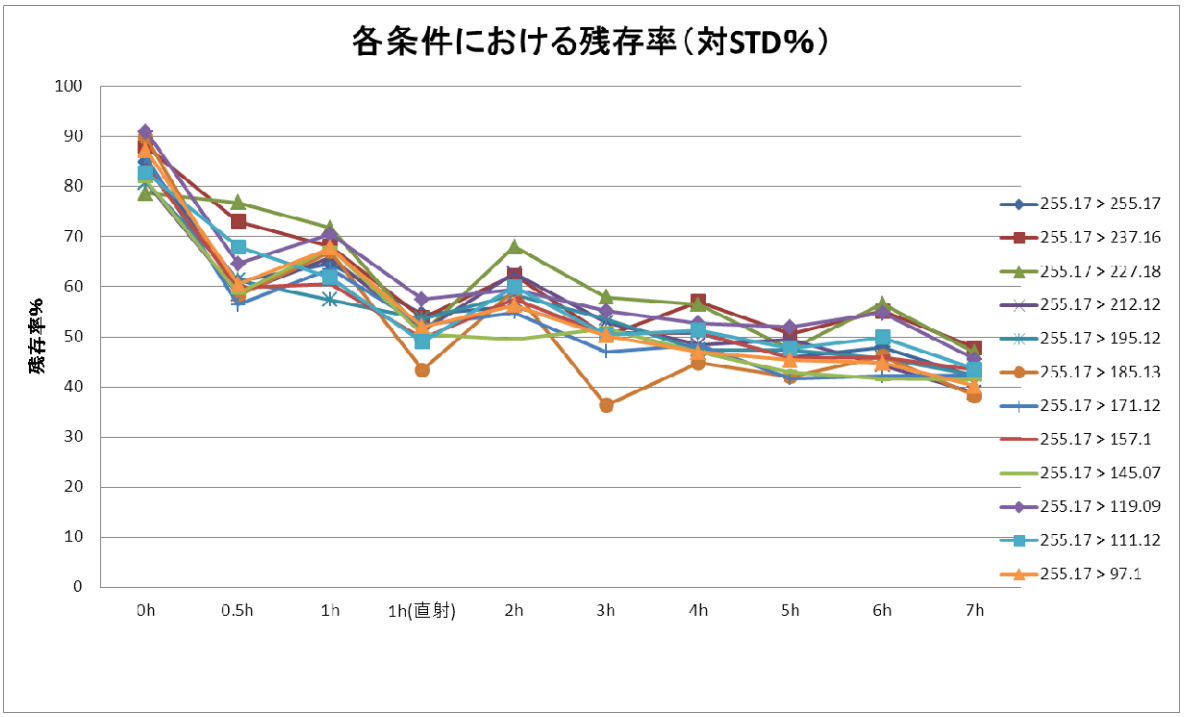


図 63　短期間光照射時の残存率

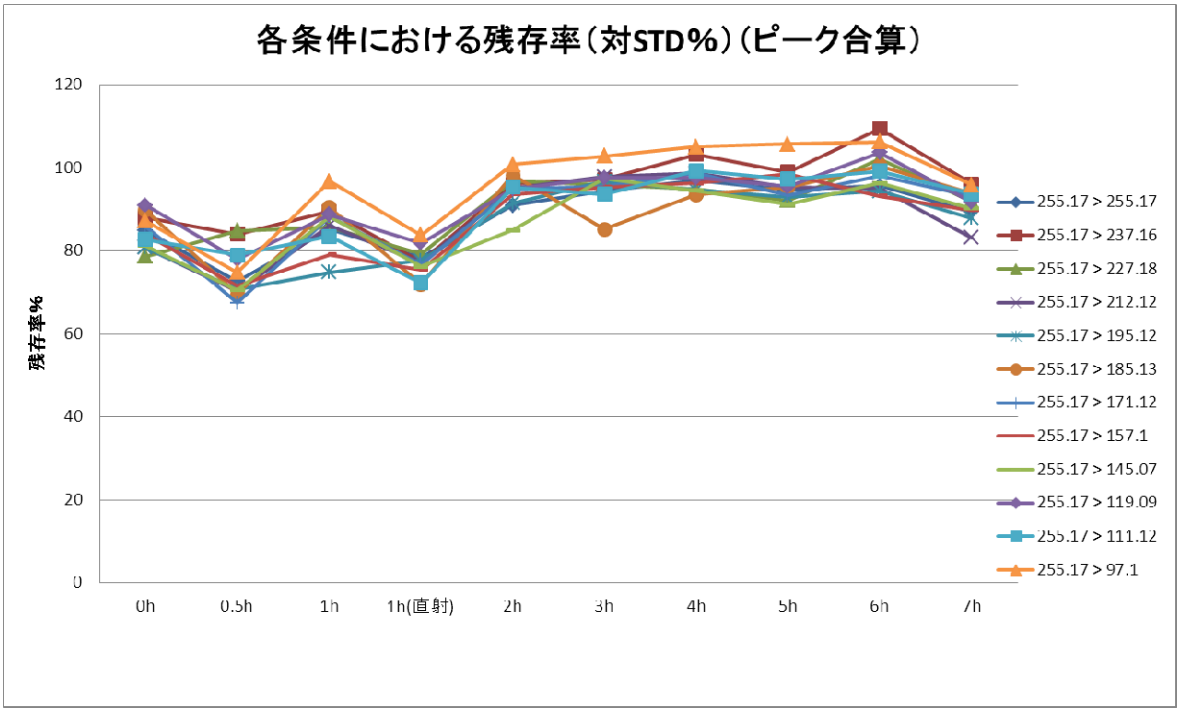


図 64　短期間光照射時の残存率（合算）

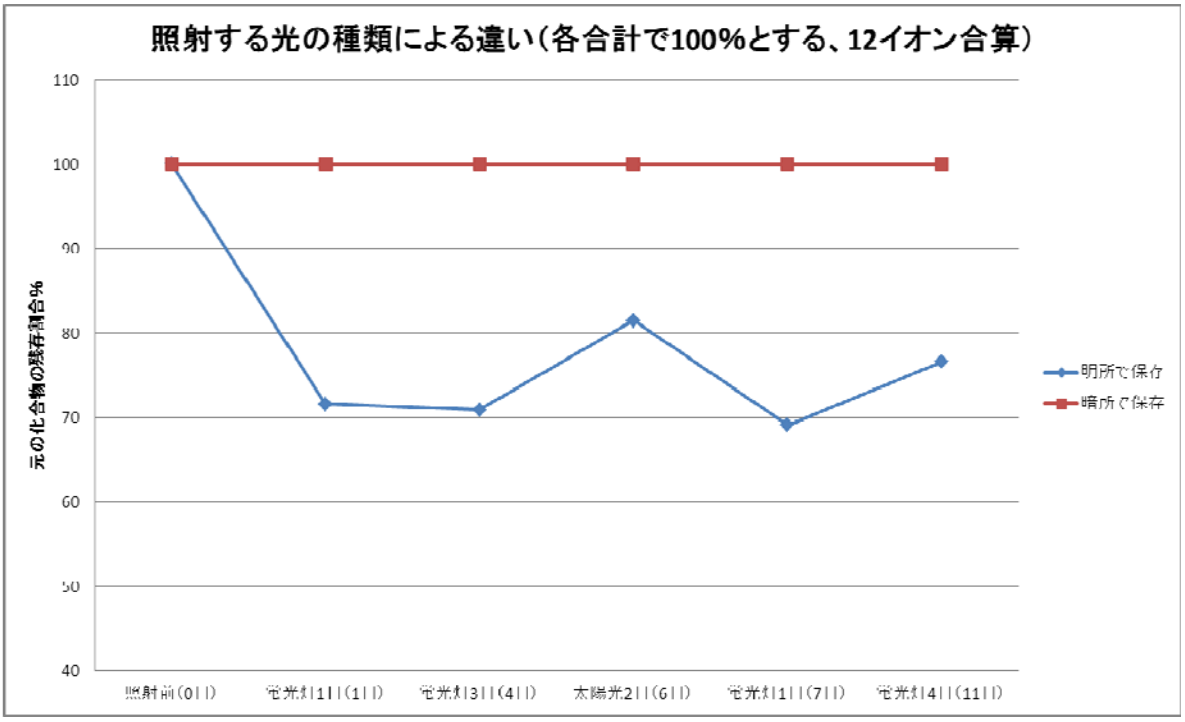


図 65　照射光と経過日数

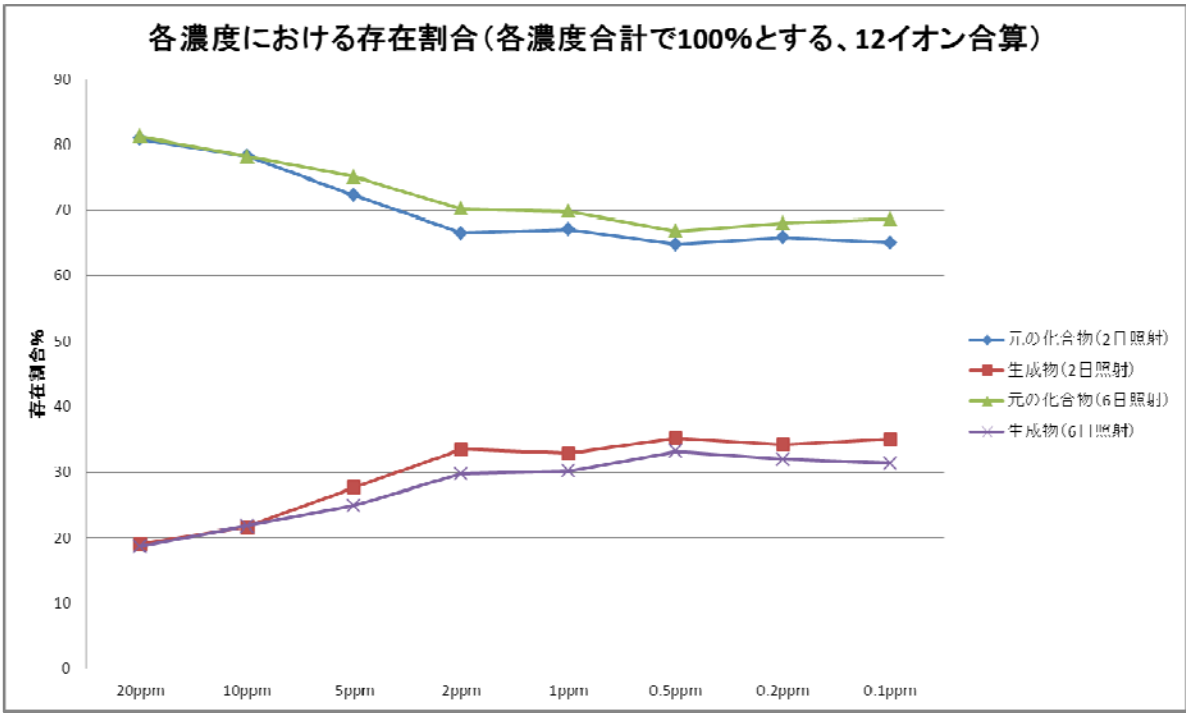


図 66　濃度と異性化の程度（CH_3CN 中）

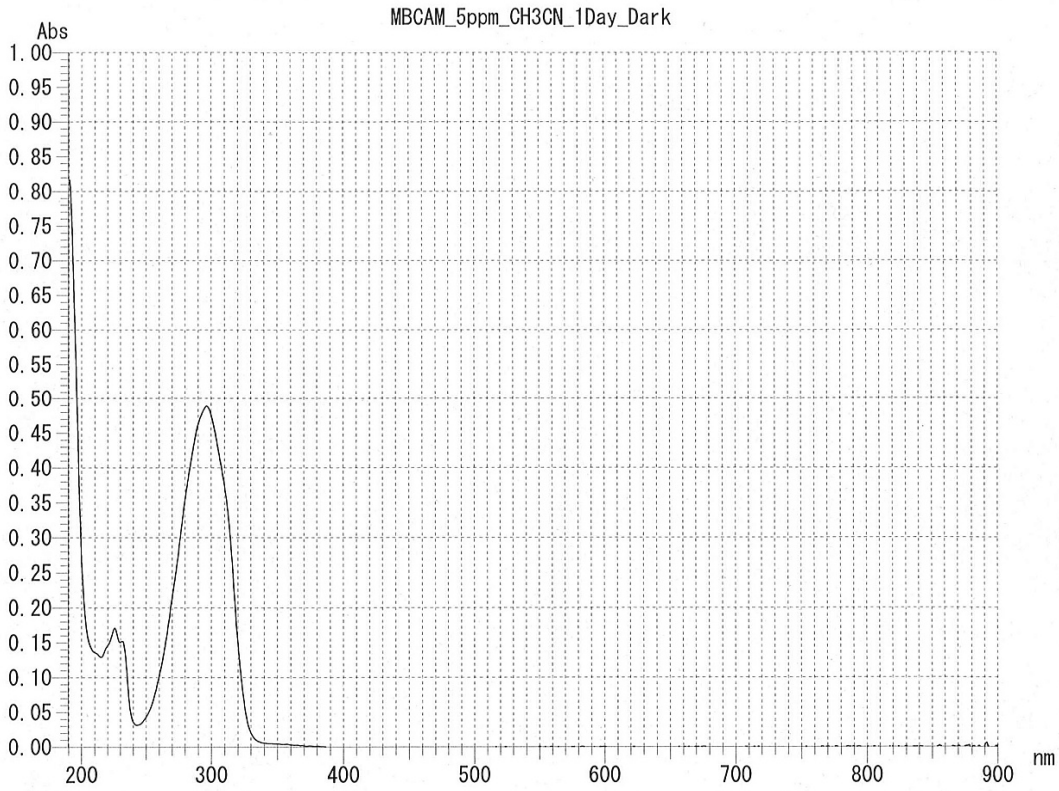


図 67　暗所 1 日経過の吸収スペクトル

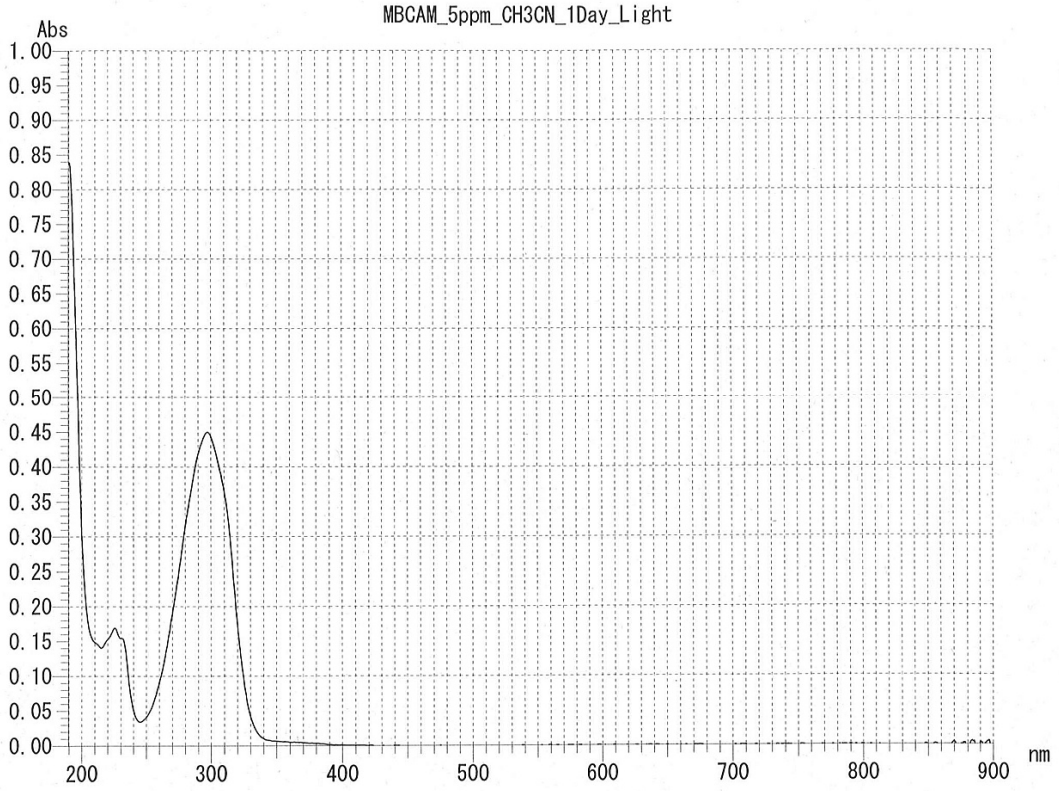


図 68　明所 1 日経過の吸収スペクトル

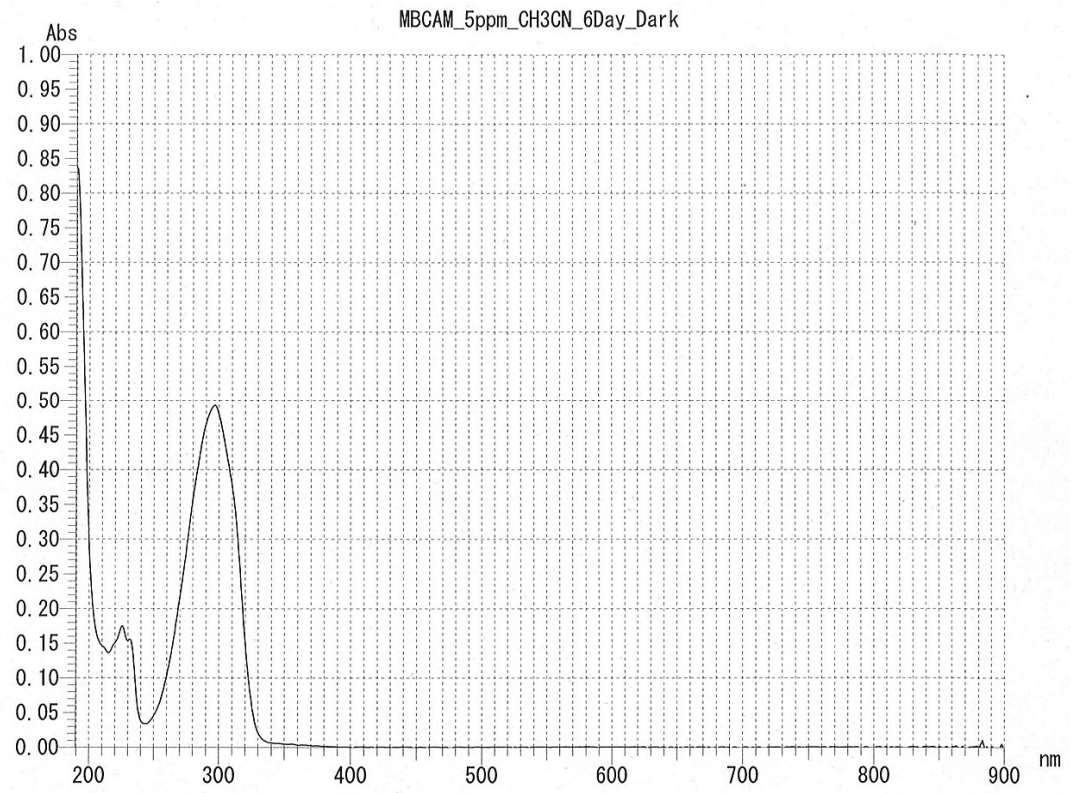


図 69　暗所 6 日経過の吸収スペクトル

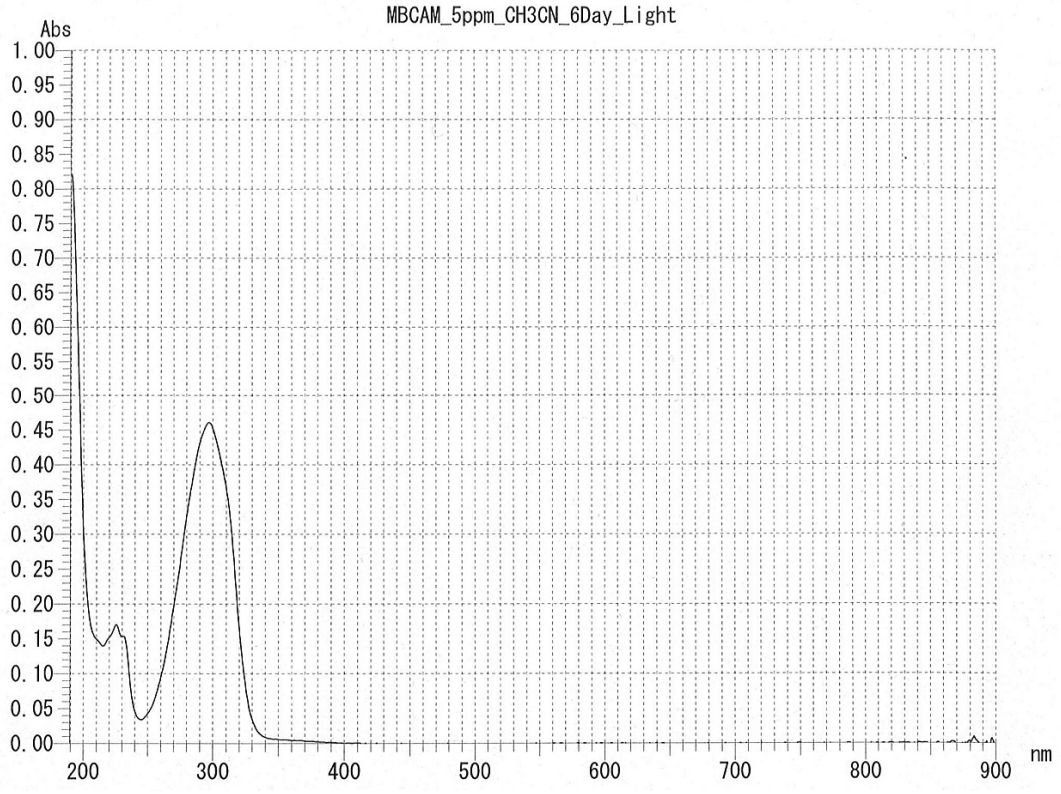


図 70　明所 6 日経過の吸収スペクトル

〔環境試料の分析〕

河川水（旭川乙井手堰）及び海水（水島沖）からは、対象物質は検出されなかった（図 14、16 の各上段、4-メチルベンジリデンカンファーのクロマトグラム参照）。

【評価】

本法は、水質試料中の4-メチルベンジリデンカンファーの分析に適用でき、MDLは0.44 μg/L、MQLは1.1 μg/Lであった。

なお、操作ブランクは不検出であり、河川水及び海水の環境試料から対象物質は検出されなかった。

また、河川水及び海水を用いた添加回収試験（10 μg/L添加）の回収率は、それぞれ92%（サロゲート回収率82%、変動係数6.8%）、93%（サロゲート回収率81%、変動係数7.3%）であった。

【参考資料】

1) 宮本道子，中村義昭，横山敏郎，伊藤弘一，寺島　潔，鈴木淳子，浜野朋子，荻野周三：医薬部外品および化粧品中の紫外線吸収剤の分析に関する研究（第2報）ビスエチルヘキシルオキシフェノールメトキシフェニルトリアジン、ホモサレートおよびメチルベンジリデンカンファを含む17成分同時分析法，東京都健康安全研究センター研究年報, 60, 97-102, 2009
2) 松本比佐志，足立伸一，鈴木定彦：紫外線吸収剤及びその関連化合物によるエストロゲン様作用，薬学雑誌, 125(8), 643-652, 2005
3) Agilent technologies, Inc. Application Note : Agilent 1290 Infinity LC with Agilent Poroshell columns for simultaneous determination of eight organic UV filters in under two minutes, Publication Number 5990-6861EN, 2010 December 1, 2010
4) 横山敏郎，森謙一郎，中村義昭，寺島　潔，大貫奈穂美，宮本道子，荻野周三，斉藤和夫：医薬部外品及び化粧品中の紫外線吸収剤同時分析法についての改良，東京都健康安全研究センター研究年報, 57, 145-150, 2006

【担当者連絡先】

所属先名称：岡山県環境保健センター

所属先住所：〒701-0298　岡山市南区内尾739-1

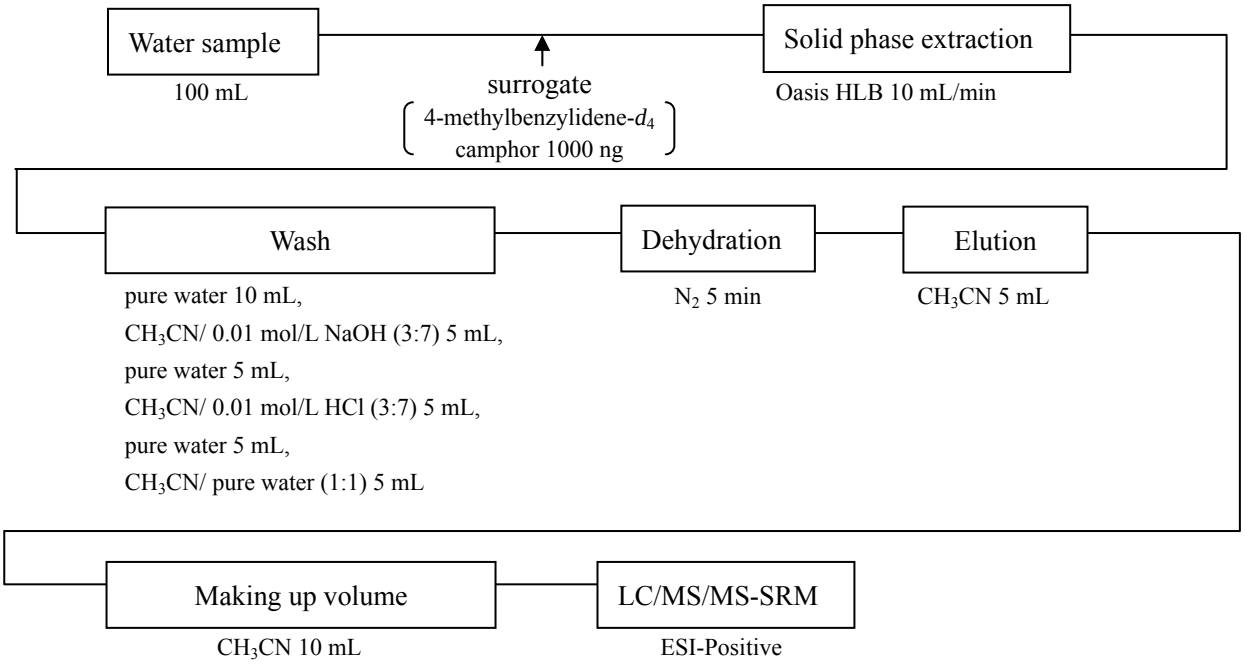
TEL：086-298-2681　FAX：086-298-2088

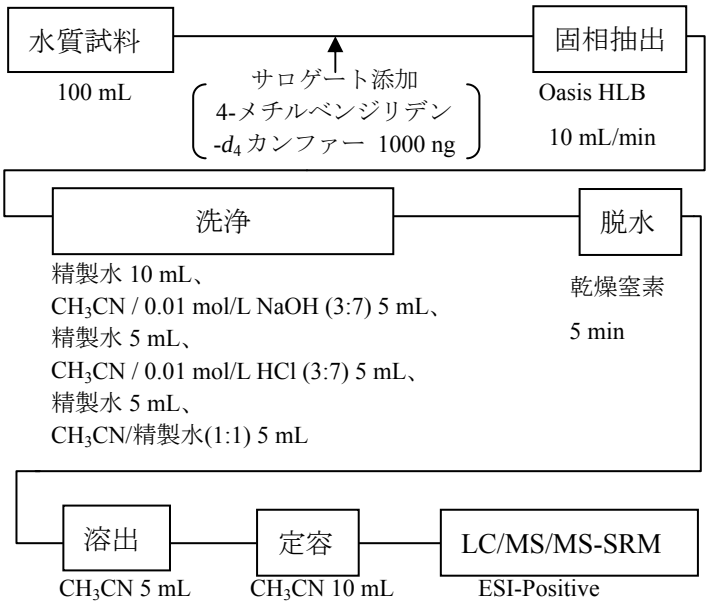
担当者名　：大月史彦

E-mail　：kanpo@pref.okayama.lg.jp

4-Methylbenzylidene camphor

This method is suitable for the determination of 4-methylbenzylidene camphor in water sample by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC/MS/MS). After 100 μL of 4-methylbenzylidene-d_4 camphor (surrogate, 10 ng/μL) is added to 100 mL of water sample, the sample is passed through a preconditioned solid phase extraction cartridge (Oasis HLB). After washed with various washing solvents, the extract is eluted with 5 mL acetonitrile. The sample solution is made up to 10 mL with acetonitrile, and analyzed by LC/MS/MS. The method detection limit (MDL) of 4-methylbenzylidene camphor is 0.44 μg/L . The recovery of 4-methylbenzylidene camphor in river surface water was 92%. That in sea surface water was 93%. Using this method, 4-methylbenzylidene camphor was not detected both in river surface water and sea surface water.



物質名	分析法フローチャート	備　　考
3-（4-メチルベンジリデン）-1,7,7-トリメチルビシクロ[2.2.1]ヘプタン-2-オン （別名：4-メチルベンジリデンカンファー）	【水質】  	分析原理： LC/MS/MS-SRM 4-メチルベンジリデンカンファー： ESI Positive カラム： Atlantis T3 150 mm×2.1 mm, 3 μm 検出下限値： 【水質】 4-メチルベンジリデンカンファー： 0.44 μg/L