名古屋市環境科学調査センター
［対象媒体：水質］

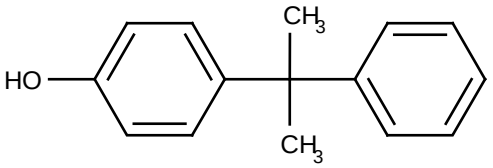
4-(2-フェニルプロパン-2-イル)フェノール

4-(2-phenylpropane-2-yl)phenol
別名：*p*-クミルフェノール、略称：*p*-CP

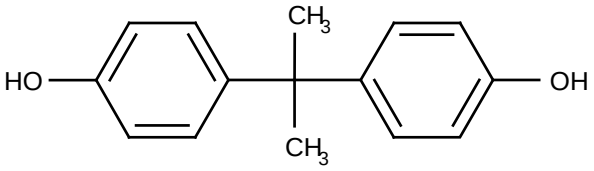
4,4'-(プロパン-2,2-ジイル)ジフェノール

4,4'-Propane-2,2-diyldiphenol
別名：ビスフェノール A、略称：BPA

【対象物質の構造】



4-(2-フェニルプロパン-2-イル)フェノール
CAS 番号：599-64-4
分子式：$C_{15}H_{16}O$



4,4'-(プロパン-2,2-ジイル)ジフェノール
CAS 番号：80-05-7
分子式：$C_{15}H_{16}O_2$

【物理化学的性状】

<u>4-(2-フェニルプロパン-2-イル）フェノール</u>

［分子量］	212.28[1)]
［ﾓﾉｱｲｿﾄﾋﾟｯｸ質量］	212.1201
［融点］	74.5°C [2)]
［沸点］	335 °C[2)]
［比重］	1.0163 (20°C /4°C)[3)]

<u>4,4'-(プロパン-2,2-ジイル)ジフェノール</u>

［分子量］	228.28[1)]
［ﾓﾉｱｲｿﾄﾋﾟｯｸ質量］	228.1150
［融点］	150-155°C [4)]

［沸点］　220°C [4)]
［比重］　1.195 (25°C /25°C)[5)]
［蒸気圧］　0.00000004 mmHg (25°C) [6)]
［溶解性］　水：120-300 mg/L [4)]
［log P_{ow}］　3.4[4)]

【毒性、用途】

4-(2-フェニルプロパン-2-イル）フェノール

［急性毒性情報］

毒性情報なし

［用途］

界面活性剤原料、樹脂改質剤・ゴム・潤滑油等の安定剤、防腐・防カビ剤 [7)]

4,4'-(プロパン-2,2-ジイル)ジフェノール

［急性毒性情報］

マウス（経口）LC_{50}：2500 mg/kg[8,9)]
マウス（腹腔内注射）LC_{50}：150 mg/kg [8,9)]

［用途］

ポリカーボネート樹脂・エポキシ樹脂合成原料、塩化ビニル樹脂添加剤、ポリエステル樹脂中間体、難燃剤・熱硬化剤添加剤、インキ樹脂用・塗料・接着剤用・窯業鋳型用バインダー添加剤 [10)]

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) Beilstein Handbook of Organic Chemistry
4) Maryadele J. O'Neil(Ed), The Merck Index 14th Edition
5) Lewis,R.J.,(Ed), Hawley's Condensed Chemical Dictionary 14th ed, John Wiley & Sons
6) PRTR 排出量等算出マニュアル 第 3 版
7) 化学工業日報社
8) 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) (http://www.safe.nite.go.jp/japan/db.html)
9) 神奈川県化学物質安全情報提供システム(kis-net) (http://www.k-erc.pref.kanagawa.jp/kisnet/)
10) NITE 初期リスク評価書

§1　分　析　法

(1)　分析法の概要

水質試料にギ酸及びサロゲート内標準を添加した後、固相カートリッジを用いて目的物質を抽出する。脱水後、メタノールで溶出、クリーンアップをする。窒素吹き付けで乾固直前まで濃縮して 50%メタノール水溶液で定容し、シリンジスパイク内標準を添加したものを試験液とし、LC/MS/MS (ESI-Negative)で測定する。

(2)　試薬・器具

【試薬】

ビスフェノール A (BPA)標準品	：和光純薬工業製　環境分析用
p-クミルフェノール(*p*-CP)	：和光純薬工業製　特級　>98.0%
ビスフェノール A- d_{14} (BPA-d_{14})標準品	：和光純薬工業製　環境分析用
ビスフェノール A-ring-$^{13}C_{12}$ (BPA-$^{13}C_{12}$)	：Cambridge Isotope Laboratories,Inc 製（販売者：和光純薬工業）100 μg/mL アセトニトリル溶液
ジクロロメタン、アセトン	：和光純薬製　残留農薬・PCB 分析用
メタノール、アセトニトリル	：関東化学製　LC/MS 用
ギ酸	：和光純薬製　LC/MS 用
精製水	：超純水：関東化学製　LC/MS 用
固相カートリッジ	：Inertsep CH (500 mg/ 6 mL)：GL science 製
固相カートリッジ	：Sep-Pak Carbon/NH_2 (500 mg/ 6 mL)：waters 製

【標準液の調製】

〔標準液〕

BPA 標準品および *p*-CP 標準品を正確に 10.0 mg 量り取り、アセトニトリル 100 mL で希釈して 100 mg/L の混合標準原液を調製する。この標準原液をアセトニトリルで適宜希釈し、1.00 mg/L　(= 1000 μg/L)の標準液を作成する。

〔サロゲート内標準液〕

市販の BPA -$^{13}C_{12}$ (100 μg/mL)を 0.5 mL 分取し、アセトニトリルで 50 mL に定容したものをサロゲート内標準液とする(1.00 mg/L = 1000 μg/L)。

〔シリンジスパイク内標準液〕

BPA -d_{14} 10.0 mg をアセトニトリルに溶解して 100 mL に定容したものを 100 mg/L のシリンジスパイク内標準原液とする。この標準原液をマイクロシリンジにより 20 μL 分取しアセトニトリルで 2 mL に定容したものをシリンジスパイク内標準液とする(1.00 mg/L = 1000 μg/L)。

〔検量線用標準液〕

1000 μg/L 標準液を 1000~10 μL 分取し、メタノール/ 精製水(1:3) の溶液を用いて 10 mL に希釈して 100~ 1.00 μg/L の検量線用標準液を調製する。検量線用標準液にはサロゲート内標準液(BPA-$^{13}C_{12}$: 1.00 mg/L) 及びシリンジスパイク内標準液(BPA-d_{14}: 1.00 mg/L) を各々10.0 μg/L の濃度になるように添加する。

【器具】

ビーカー、目盛付き試験管、メスフラスコ、標線ビン、コンセントレーター、窒素吹き付け装置、マイクロシリンジ、パスツールピペット　等

(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験液の調製】

水質試料 200 mL にギ酸 100 μL を添加した後（注 1)、サロゲートとして BPA-$^{13}C_{12}$ を 10.0 ng (1.00 ng/μL, 10 μL) 添加する。固相カートリッジ(Inertsep CH)はメタノール 10 mL 及び精製水 10 mL でコンディショニングした後（注 2)、試料を負荷し、約 20 mL/min の速度で通水する。10 mL の精製水で固相カートリッジを洗浄した後、固相カートリッジをコンセントレーターから取り外し、10 分程度、吸引乾燥させる。

Inertsep CH を上側に、メタノール 10 mL で洗浄した SepPak Carbon/NH_2（注 2）を下流側に、直列に連結し、最下部に目盛付き試験管をセットする。Inertsep CH の上端からメタノールを 10 mL 通し、続いて SepPak Carbon/NH_2 を通過したメタノールを試験管へ受ける。溶出液は 40 °C の水浴を備えた窒素吹き付け装置で乾

固直前まで濃縮し（注 3）、50%メタノール水溶液で 1 mL に定容する。超音波装置に 2 分間程度かけた後、シリンジスパイクとして BPA-d_{14} を 10.0 ng(1.00 mg/L, 10 μL) 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。なお、ブランク値の十分低い精製水を得ることができない場合には、使用する精製水の量をブランク値が分析に影響を及ぼさない量に縮小し、実試料と同じ方法で分析する。

【測定】

〔装置条件〕

〔LC 条件〕

機種　　：Waters 製　Alliance2695

カラム　：シグマアルドリッチ製 Ascentis Express C18 (10 cm × 2.1 mm , 2.7 μm)

移動相　：A　精製水、B　メタノール

0→1 min	A：80	B：20
1→10 min	A：80 → 5	B：20 → 95 linear gradient
10→14 min	A：5	B：95
14→14.5 min	A：5 → 0	B：95 → 100 linear gradient
14.5→20 min	A：0	B：100
20→21 min	A：0 → 80	B：100 → 20 linear gradient
21→29 min	A：80	B：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〕

機種　　：Waters 製　QuattroMicro API

キャピラリー電圧　　：3.50 kV

コーンガス流量　　：50 L/hr

デソルベーションガス流量：N_2 (700 L/hr)

ソース温度　　：120°C

デソルベーション温度　　：350°C

イオン化法　　：ESI(-)SRM

白本では定量イオン(Q)m/z 227 → 133と確認イオン(I)m/z 227 → 212の強度比はI/Q≒0.8であるが、H26年度調査時、MS/ MSのコーン電圧、コリジョンエネルギーの両者を個別に複数設定できる機器を用い、プロダクトイオンに対する最適化機能を用いることで、I/Q≒1.5となる事例があり、生物では明らかにS/Nに改善が見られたため、定量イオン変更を依頼し、測定した事例があった。(2015年度精査等検討会コメント)

物質名	コーン電圧 (V)	ｷｬﾋﾟﾗﾘｰ電圧 (eV)	定量イオン (*m/z*)	確認イオン (*m/z*)
BPA	25	25	227.0>133.0	227.0>212.0
p-CP	25	25	211.0>196.0	211.0>133.0
BPA-d_{14}	30	25	241.0>141.8	241.0>223.0
BPA-$^{13}C_{12}$	30	25	239.0>139.0	239.0>224.0

〔検量線〕

検量線用標準液 (1.00 μg/L～100 μg/L) 10 μL を LC/MS に注入して測定を行う。各々得られたクロマトグラムにおいて、対象物質のピーク面積をサロゲート内標準物質のピーク面積で除して得られる応答比を計算し、検量線の縦軸とする。対象物質の濃度をサロゲート内標準物質の濃度で除して得られる濃度比を計算し、横軸とする。最小二乗法により一次の検量線を作成し、関係式及び相関係数を計算する。

〔定量〕

試験液 10 μL を LC/MS に注入して測定を行う。得られたクロマトグラム上の対象物質のピーク面積をサロゲート内標準物質のピーク面積で除した応答比から検量線に照らして対象物質の濃度をサロゲート内標準物質の濃度で除した濃度比を算出する。得られた濃度比から、対象物質の試験液濃度(μg/L)を求める（注4）。

〔濃度の算出〕

試料水中濃度 *C* (ng/L)は次式により算出する。

$$C = (Ra - Rb) \times Q/V$$

Ra: 検量線から求めた被検物質濃度をサロゲート物質濃度で割った比

Rb: 検量線から求めた空試験の被検物質濃度をサロゲート物質濃度で割った比

Q : 試料中に添加したサロゲートの量 (ng)

（＝添加するサロゲートの濃度 (ng/μL) × 添加するサロゲートの容量(μL)）

V : 試料水量(L)

本分析法においては、*Q* : 10.0 (ng), *V* : 0.200 (L)である。

〔サロゲート内標準回収率〕

検量線作成用標準液中のシリンジスパイク内標準のサロゲート内標準に対する濃度（又は量）の比とピーク強度比を用いて相対感度係数 RRFss を算出し、この相対感度係数と試料中のシリンジスパイク内標準のピーク強度とサロゲート内標準のピーク強度の比を用いて以下の計算式によりサロゲート内標準の絶対回収率を求める。

サロゲート内標準回収率(%) = $(Ass / Ars) \times (Qrs / RRFss) \times (100 / Qss)$

Ass : 試料中のサロゲート内標準のピーク強度
Ars : 試料中のシリンジスパイク内標準のピーク強度
Qss : サロゲート内標準の試料への添加量
Qrs : シリンジスパイク内標準の試料への添加量
RRFss : シリンジスパイク内標準に対するサロゲート内標準の相対感度係数

$RRFss = Ci(rs) / Ci(ss) \times Ai(ss) / Ai(rs)$

Ai(ss) : 標準液中のサロゲート内標準のピーク強度
Ai(rs) : 標準液中のシリンジスパイク内標準のピーク強度
Ci(ss) : 標準液中のサロゲート内標準の濃度（または量）
Ci(rs) : 標準液中のシリンジスパイク内標準の濃度（または量）

〔装置検出下限 (IDL)〕

本分析に用いた LC/MS/MS の IDL を下表に示す（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 (μg/L)
BPA	0.27	0.200	1.0	0.0014
p-CP	0.33	0.200	1.0	0.0016

〔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 6）

表 2　MDL 及び MQL の算出結果

物質名	試料量 (L)	最終液量 (mL)	MDL (μg/L)		MQL (μg/L)	
			精製水	海水	精製水	海水
BPA	0.200	1.0	0.0015	0.0019	0.0040	0.0051
p-CP	0.200	1.0	0.0036	0.0021	0.0094	0.0055

注　解

（注 1）試料が中性付近では回収率が低下するため、ギ酸添加により pH 3 程度の酸性状態になっていることを確認する。

（注 2）抽出用固相およびクリーンアップ用固相から BPA が検出される可能性があるので、メタノール 10 mL 以上で十分洗浄してから使用する。

（注 3）完全に乾固すると回収率が低下する可能性があるので注意する。

（注 4）*p*-CP はラベル化試薬が入手できなかったので、BPA-$^{13}C_{12}$ を内標準物質として計算する。

（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 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。

（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）に従って、表 4, 5 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, 3 に示す。BPA は精製水からも検出されるため、精製水を用いた MDL 試験を行った。

表 3　IDL の算出結果

対象物質名	BPA	*p*-CP
試料量 (L)	0.200	0.200
最終液量 (mL)	1.0	1.0
注入液濃度 (ng/mL)	1.00	1.00
装置注入量 (μL)	10	10
結果 1 (ng/mL)	1.02	1.08
結果 2 (ng/mL)	0.888	1.06
結果 3 (ng/mL)	0.937	0.964
結果 4 (ng/mL)	1.09	0.901
結果 5 (ng/mL)	0.909	0.879
結果 6 (ng/mL)	0.920	0.887
結果 7 (ng/mL)	1.08	1.05
結果 8 (ng/mL)	0.943	1.08
結果 9 (ng/mL)	0.894	1.09
結果 10 (ng/mL)	1.01	1.08
平均値(ng/mL)	0.9681	1.007
標準偏差(ng/mL)	0.0739	0.0886
IDL (ng/mL)*	0.27	0.33
IDL 試料換算値(μg/L)	0.0014	0.0016
S/N 比	9.1	8.8
CV(%)	7.6	8.8

*：IDL = t (n-1, 0.05) × σ_{n-1} × 2

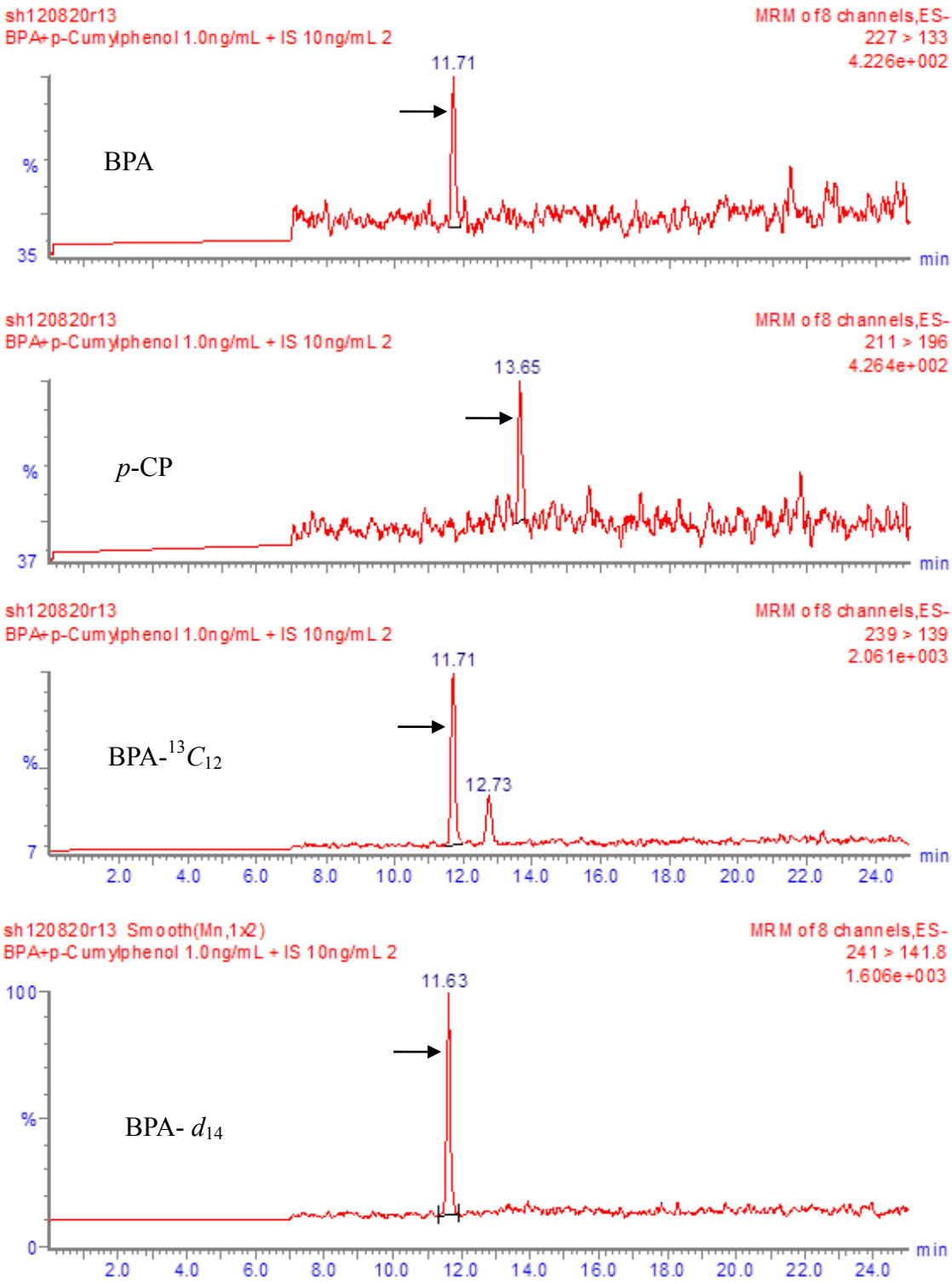


図 1　IDL 算出時のクロマトグラム

表 4　MDL 及び MQL の算出（精製水）

物質名	BPA[*5]	*p*-CP
試料	精製水	精製水
試料量 (L)	0.200	0.200
標準添加量 (ng)	-	5.00
試料換算濃度 (μg/L)	-	0.025
最終液量 (mL)	1.0	1.0
注入濃度 (ng/mL)	-	5.00
装置注入量 (μL)	10	10
操作ブランク平均 (μg/L)[*1]	0.0077 (105)	ND
無添加平均 (μg/L)[*2]	0.0077 (105)	ND
結果 1 (μg/L)	0.00790 (107)	0.0249
結果 2 (μg/L)	0.00782 (109)	0.0249
結果 3 (μg/L)	0.00772 (110)	0.0240
結果 4 (μg/L))	0.00789 (103)	0.0250
結果 5 (μg/L)	0.00748 (105)	0.0269
結果 6 (μg/L)	0.00815 (94)	0.0245
結果 7 (μg/L)	0.00790 (109)	0.0252
平均値 (μg/L)	0.007699 (105)	0.02498
標準偏差 (μg/L)	0.000396	0.000941
MDL (μg/L)[*3]	0.0015	0.0036
MQL (μg/L)[*4]	0.0040	0.0094
S/N 比	15	55
CV (%)	5.1	3.8

*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 (n=3)

*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=3)

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

*4　MQL = $\sigma_{n-1}\times 10$

*5　括弧内の数字はサロゲート回収率

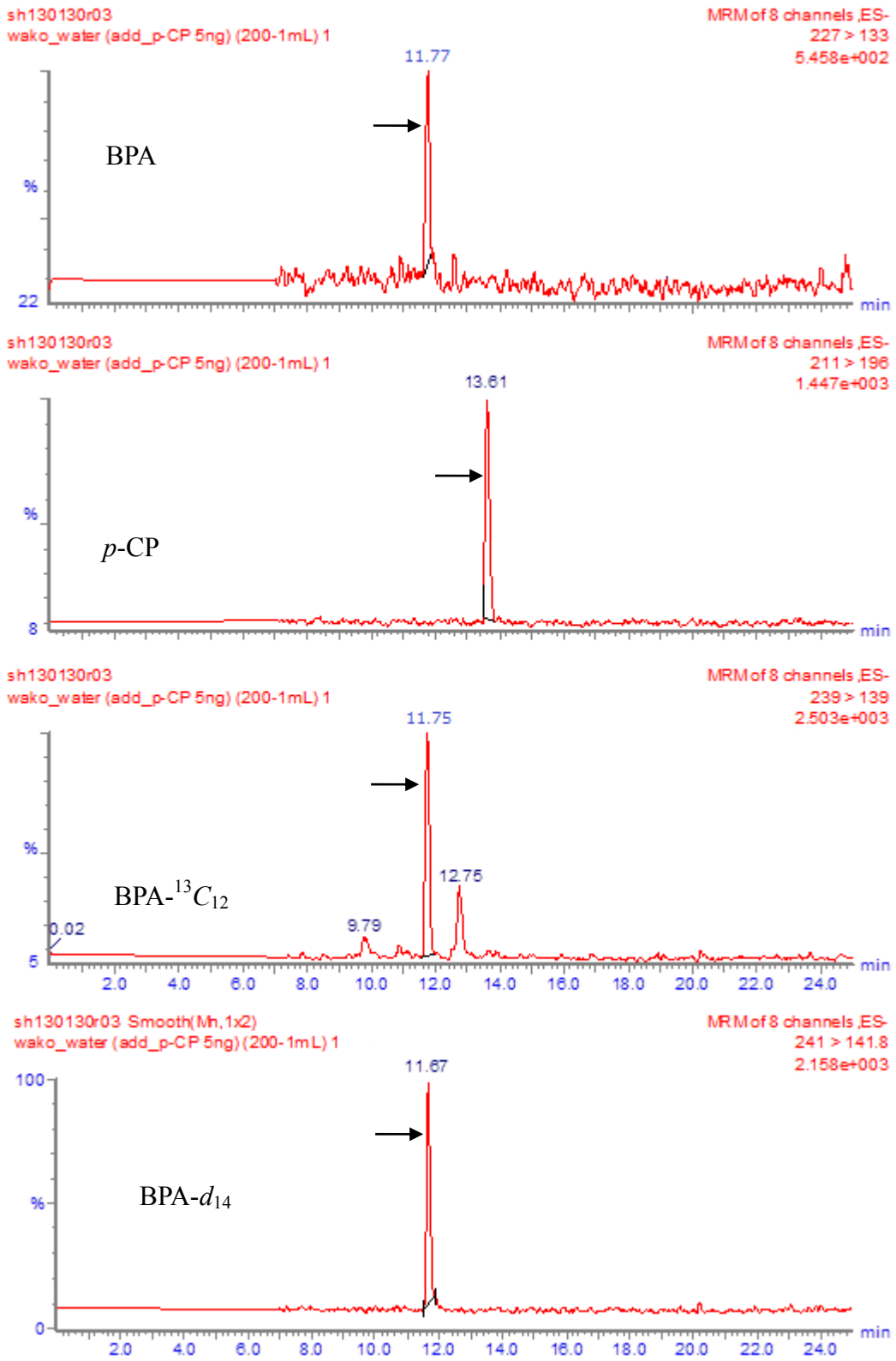


図 2　MDL 算出時（精製水）のクロマトグラム

表 5　MDL 及び MQL の算出（海水試料）

物質名	BPA[*5]	*p*-CP
試料	海水	海水
試料量 (L)	0.200	0.200
標準添加量 (ng)	-	-
試料換算濃度 (μg/L)	-	-
最終液量 (mL)	1.0	1.0
注入濃度 (ng/mL)	-	-
装置注入量 (μL)	10	10
操作ブランク平均 (μg/L)[*1]	0.0077 (105)	ND
無添加平均 (μg/L)[*2]	0.036 (92)	0.015
結果 1 (μg/L)	0.0360 (104)	0.0142
結果 2 (μg/L)	0.0347 (109)	0.0148
結果 3 (μg/L)	0.0360 (85)	0.0146
結果 4 (μg/L)	0.0359 (90)	0.0147
結果 5 (μg/L)	0.0353 (96)	0.0152
結果 6 (μg/L)	0.0354 (83)	0.0146
結果 7 (μg/L)	0.0360 (79)	0.0159
平均値 (μg/L)	0.03561 (92)	0.01486
標準偏差 (μg/L)	0.000506	0.000555
MDL (μg/L)[*3]	0.0019	0.0021
MQL (μg/L)[*4]	0.0051	0.0055
S/N 比	88	34
CV (%)	1.4	3.7

*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 (n=7)

*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=7)

*3　MDL = t(n-1、0.05) ×σ_{n-1}×2

*4　MQL = σ_{n-1}×10

*5　括弧内の数字はサロゲート回収率

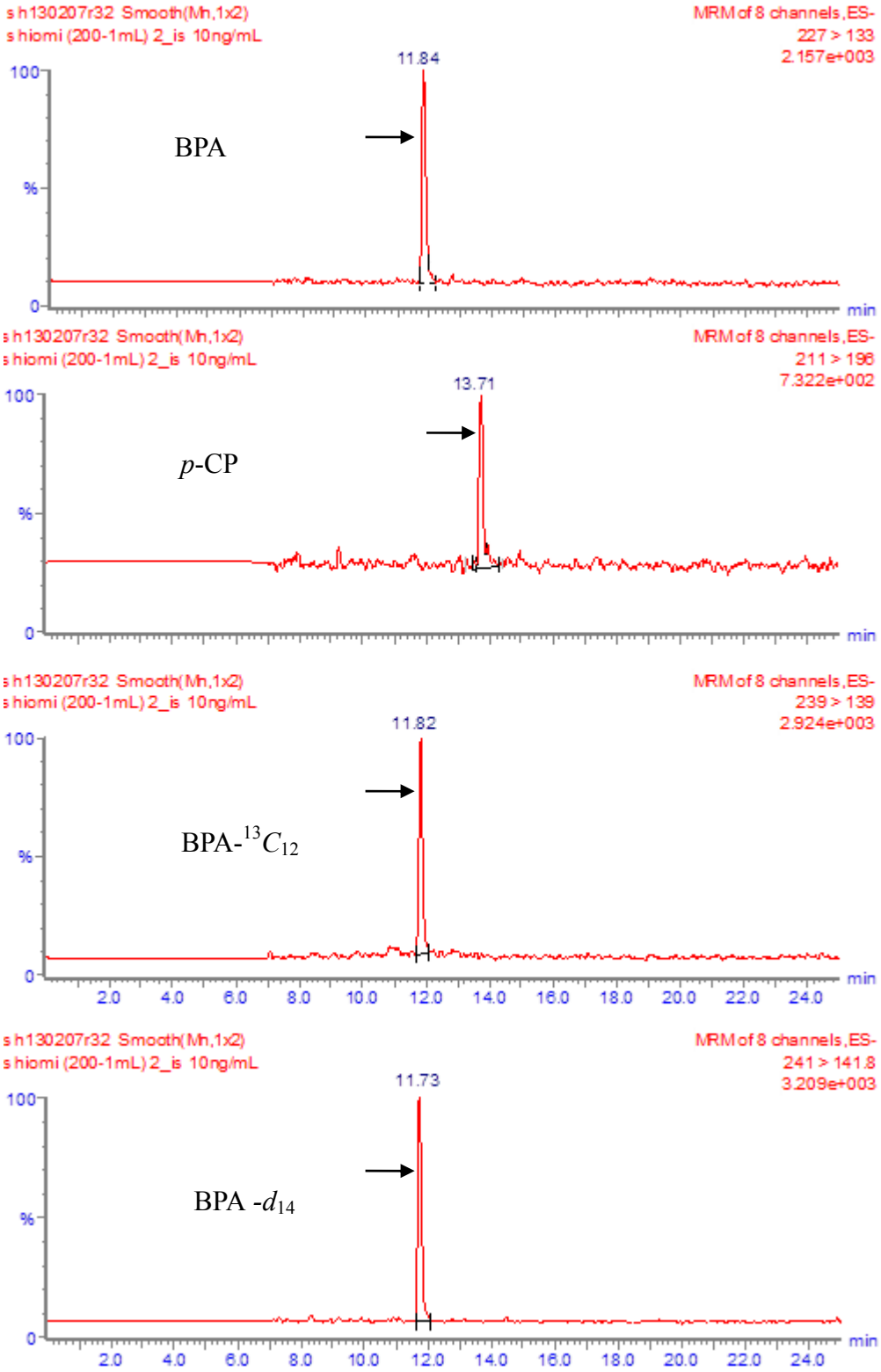


図 3　MDL 算出時（海水）のクロマトグラム

§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 4 に示す。

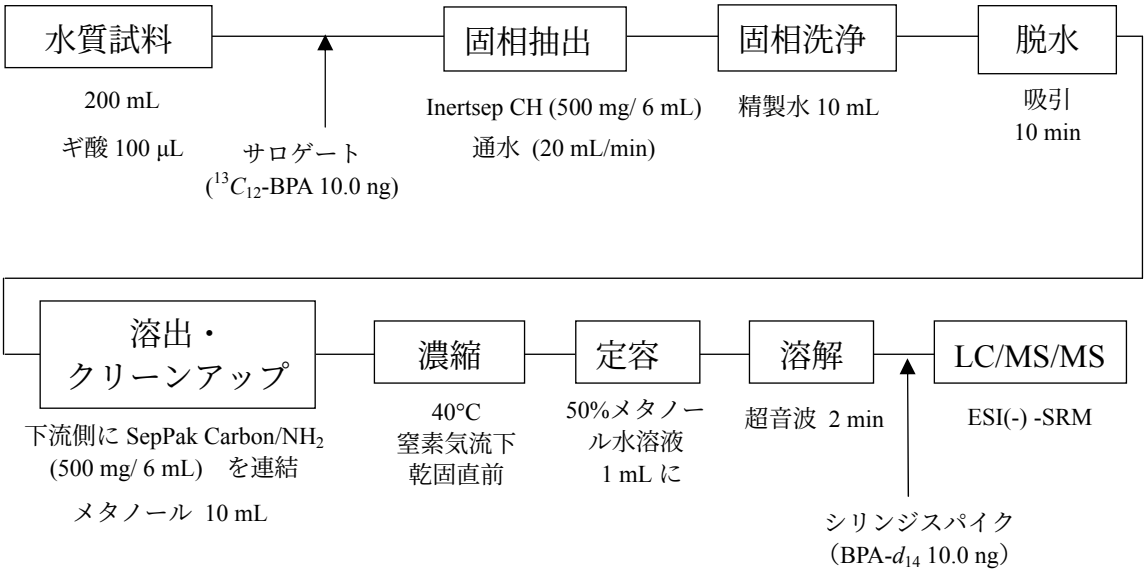


図 4　分析法のフローチャート

〔検量線〕

表 6-1　検量線作成時のデータ (BPA)

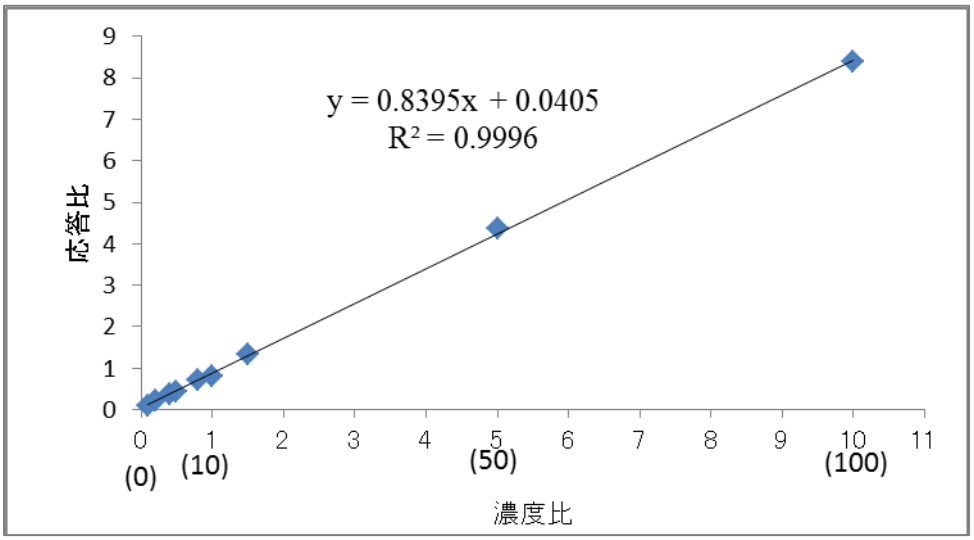
標準液濃度 (ng/mL)	応答値 対象物質(As) BPA (*m/z* 227>133)	応答値 サロゲート内標準物質* (Ass) BPA -$^{13}C_{12}$ (*m/z* 239 >139)	応答比 (As / Ass)
1.00	27.51	272.14	0.1011
2.00	65.98	291.04	0.2267
4.00	92.14	239.13	0.3853
5.00	127.39	293.90	0.4335
8.00	191.05	268.96	0.7103
10.0	237.90	293.57	0.8102
15.0	376.00	282.13	1.3328
50.0	1243.00	285.41	4.3551
100	2414.07	288.07	8.3802

*：サロゲート内標準濃度：10.0 ng/mL

表 6-2　検量線作成時のデータ (*p*-CP)

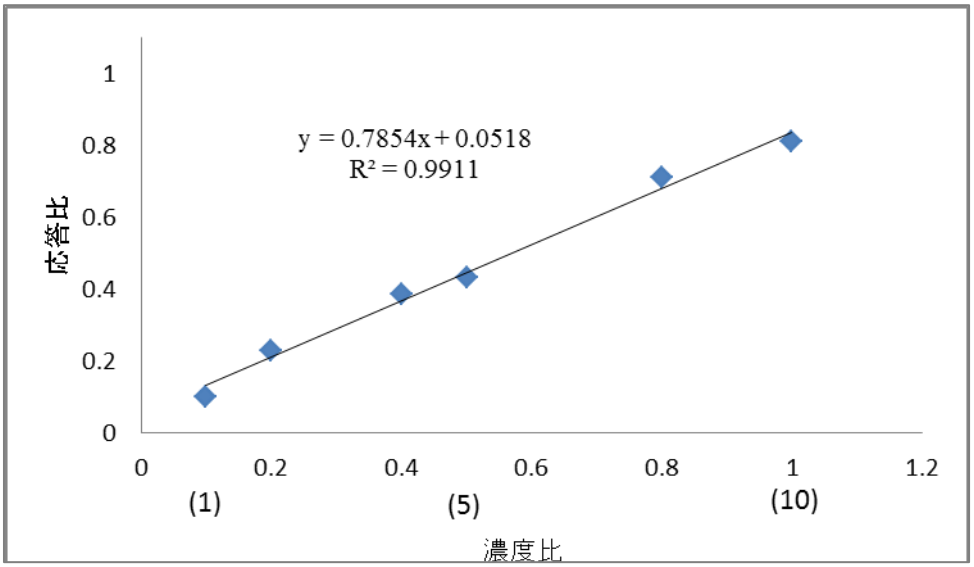
標準液濃度 (ng/mL)	応答値 対象物質(As) *p*-CP (*m/z* 211 >196)	応答値 サロゲート内標準物質* (Ass) BPA -$^{13}C_{12}$ (*m/z* 239 >139)	応答比 (As / Ass)
1.00	31.25	272.14	0.1148
2.00	66.63	291.04	0.2289
4.00	89.12	239.13	0.3727
5.00	133.21	293.90	0.4532
8.00	187.19	268.96	0.6960
10.0	238.20	293.57	0.8112
15.0	330.40	282.13	1.1709
50.0	1144.00	285.41	4.0084
100	2370.93	288.07	8.2304

*：サロゲート内標準濃度：10.0 ng/mL



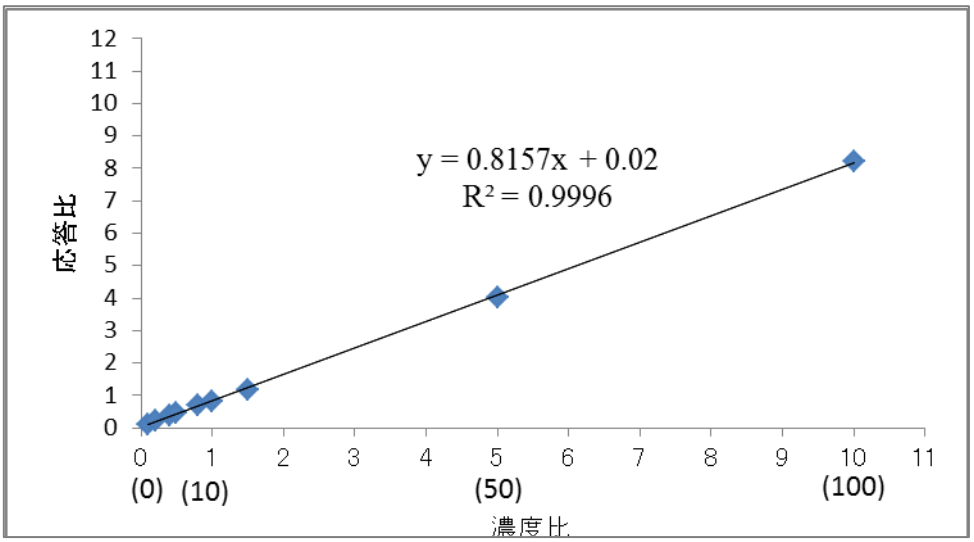
（括弧内の数値は標準液濃度。サロゲート内標準濃度=10 ng/mL）

図 5-1　BPA の検量線（高濃度 1.00~100 ng/mL）



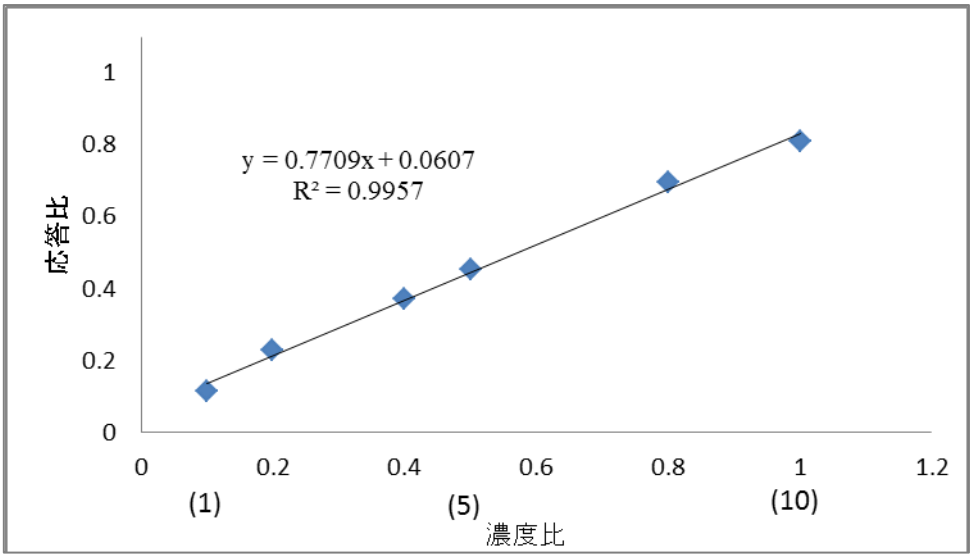
（括弧内の数値は標準液濃度。サロゲート内標準濃度=10 ng/mL）

図 5-2　BPA の検量線（低濃度 1.00~10.0 ng/mL）



（括弧内の数値は標準液濃度。サロゲート内標準濃度=10 ng/mL）

図 6-1　*p*-CP の検量線（高濃度 1.00~100 ng/mL）



（括弧内の数値は標準液濃度。サロゲート内標準濃度=10 ng/mL）

図 6-2　*p*-CP の検量線（低濃度 1.00~10.0 ng/mL）

〔標準物質のクロマトグラム〕

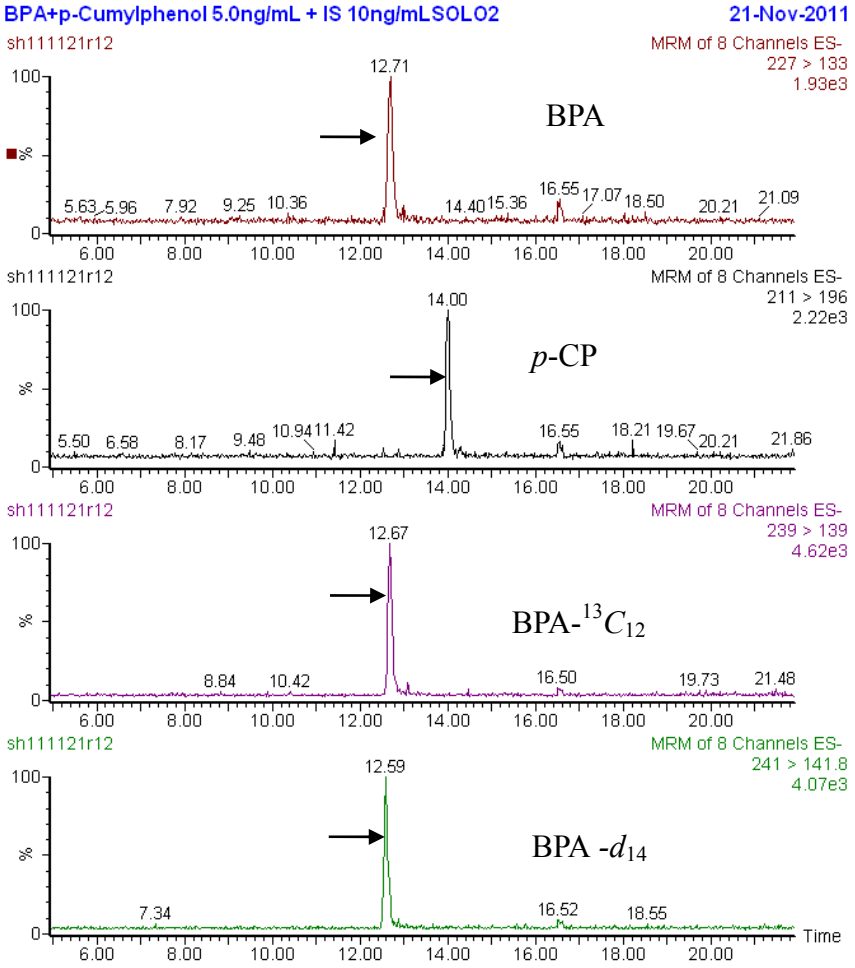


図 7　標準液(5 ng/mL) のクロマトグラム

〔マススペクトル〕

図 8　BPA のプレカーサーイオン（上段）と
m/z 227 のプロダクトイオン（下段）のマススペクトル

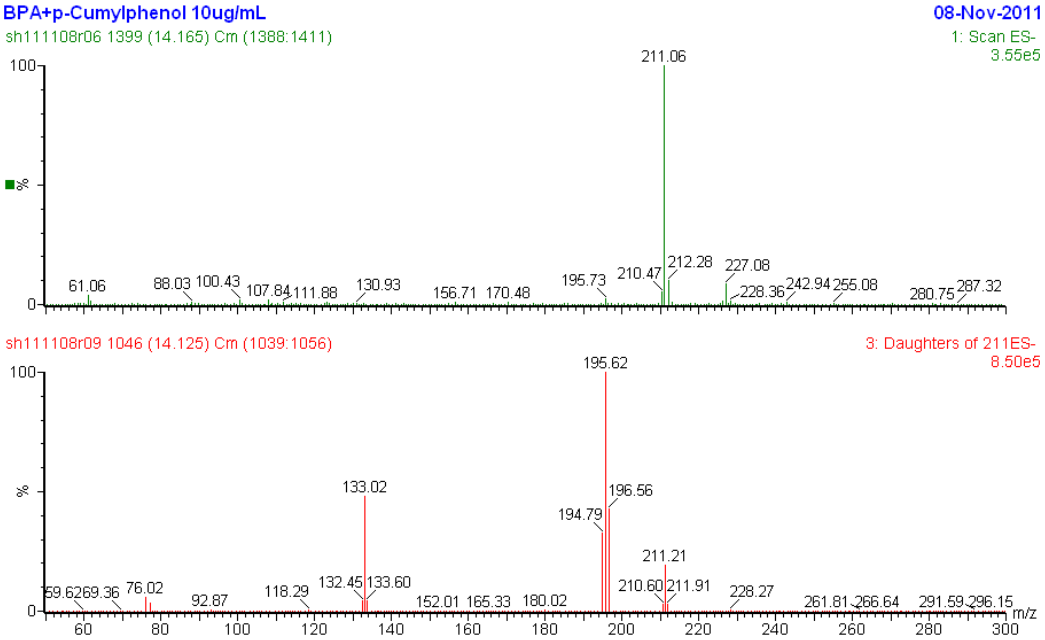


図 9　*p*-CP のプレカーサーイオン（上段）と
m/z 211 のプロダクトイオン（下段）のマススペクトル

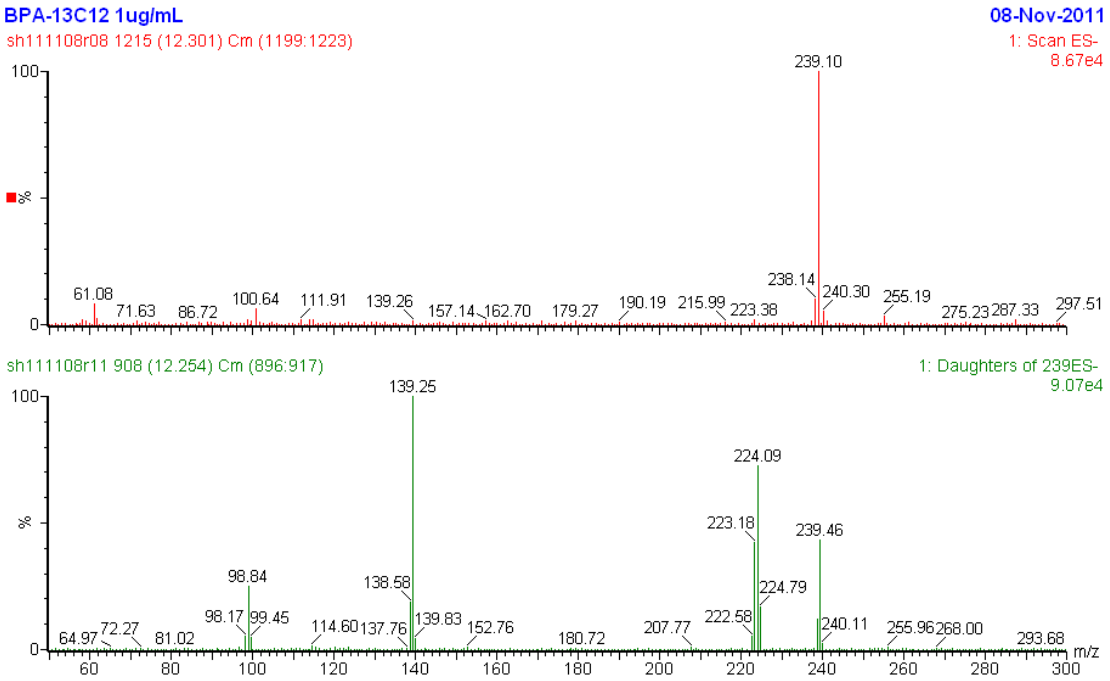


図 10　BPA-$^{13}C_{12}$ のプレカーサーイオン（上段）と
m/z 239 のプロダクトイオン（下段）のマススペクトル

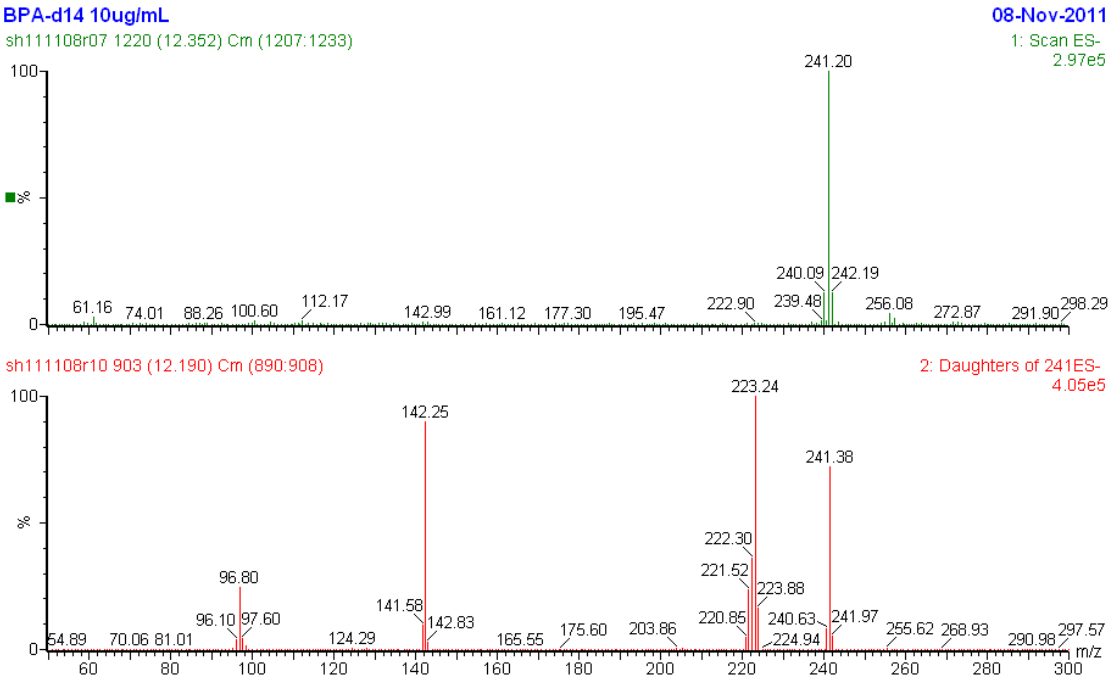


図 11　BPA- d_{14} のプレカーサーイオン（上段）と
m/z 241 のプロダクトイオン（下段）のマススペクトル

〔操作ブランク〕

p-CP の操作ブランクが不検出であったが、BPA は操作ブランクが検出された。精製水から作成した空試験液の繰り返し測定結果は MDL 試験結果として表 4 及び図 2 に示した。BPA は 0.008 μg/L 程度の操作ブランク値が検出され、IDL 試料換算値 0.0014 μg/L 以上の値であった。操作ブランクの繰り返しから求めた MDL は 0.0015 μg/L と算出され、環境試料を用いて算出された MDL 0.0019 μg/L より低い結果となった。しかし、IDL を超す高いブランク値であり、操作を行う際には、可能な限り操作ブランク値を低減化することが望ましい。

また、精製水の通液を行わないで、操作のみのブランク試験を行った際のクロマトグラムを図 12 に示す。測定回数 5 回で試験をしたが、いずれの場合においても BPA、 *p*-CP ともに IDL 以下で不検出であった。よって、精製水の取り扱いには十分注意を払い、使用前にあらかじめ BPA の含有量を把握しておくことが必要であると考えられる。

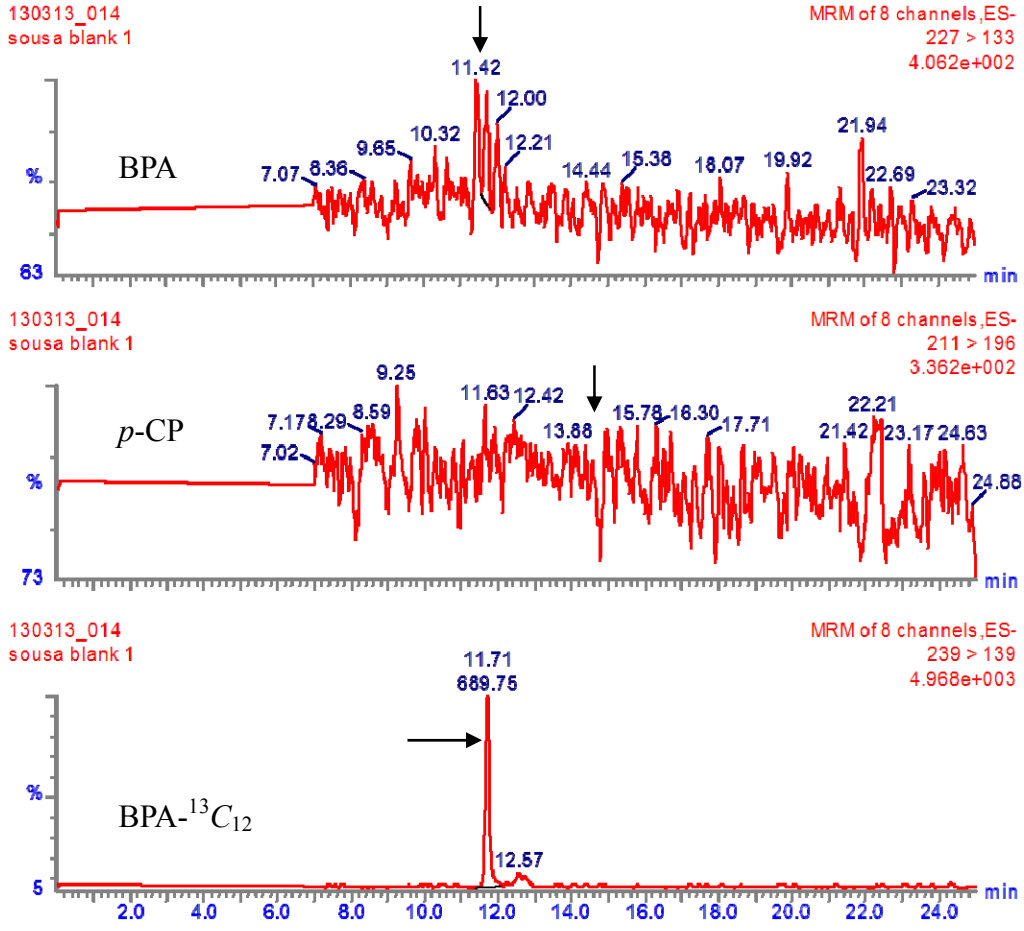


図 12　操作ブランク試験のクロマトグラム

〔添加回収試験〕

精製水、海水（潮見ふ頭）、河川水（大森橋）への標準物質添加回収結果を表7に示す。河川水、海水の添加回収試験試料のクロマトグラムを図13及び図14に示す。

表7　各試料の添加回収試験結果

試料	物質名	試料量 (L)	添加量 (ng)	試験数	検出濃度 (μg/L)	回収率 (%)	サロゲート回収率 (%)	CV (%)
超純水	BPA	0.200	0	5	0.017	-	90.4	6.3
		0.200	50	5	0.26	97	92.9	1.2
	p-CP	0.200	0	5	ND	-	-	-
		0.200	50	5	0.24	96	-	1.9
海水（潮見ふ頭）	BPA	0.200	0	7	0.036	-	90.8	1.4
		0.200	50	5	0.28	99	87.9	1.2
	p-CP	0.200	0	7	0.015	-	-	3.7
		0.200	50	5	0.27	100	-	1.7
河川水（大森橋）	BPA	0.200	0	7	0.059	-	86.7	1.5
		0.200	50	5	0.31	98	81.3	1.5
	p-CP	0.200	0	7	ND	-	-	-
		0.200	50	5	0.25	99	-	1.3

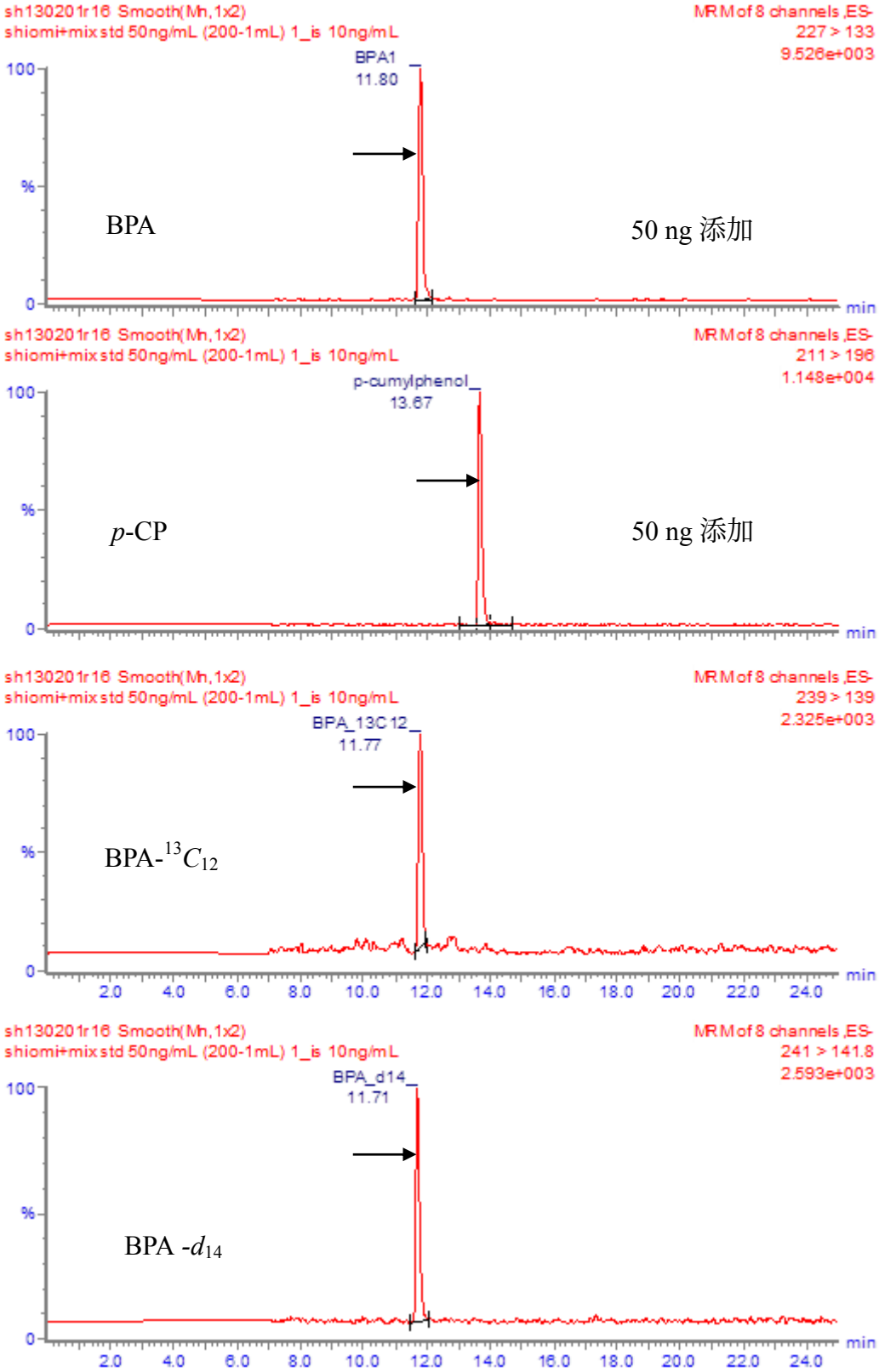


図 13-1　海水の添加回収試験試料のクロマトグラム（50 ng 添加）

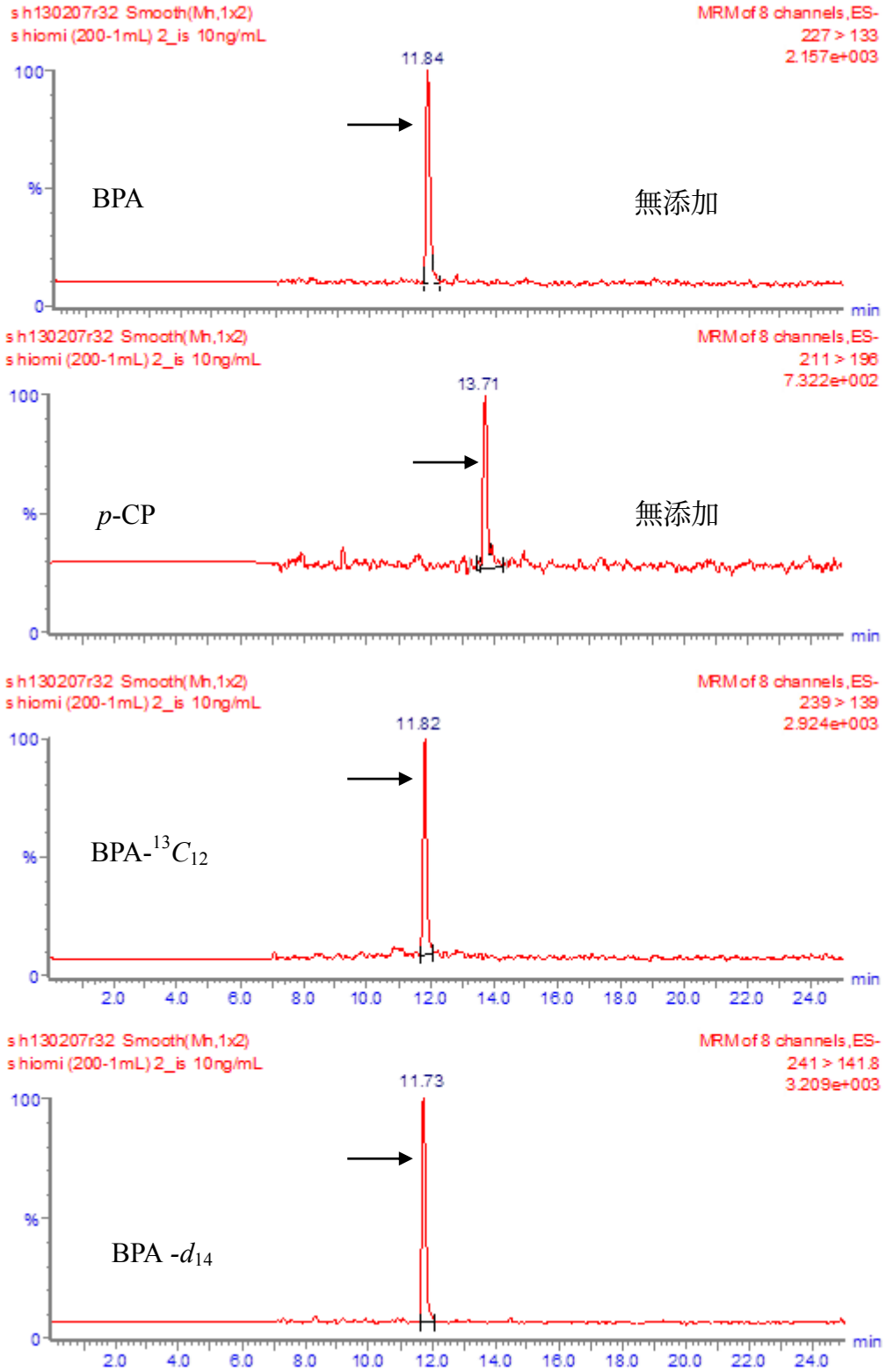


図 13-2　海水の添加回収試験試料のクロマトグラム（無添加）

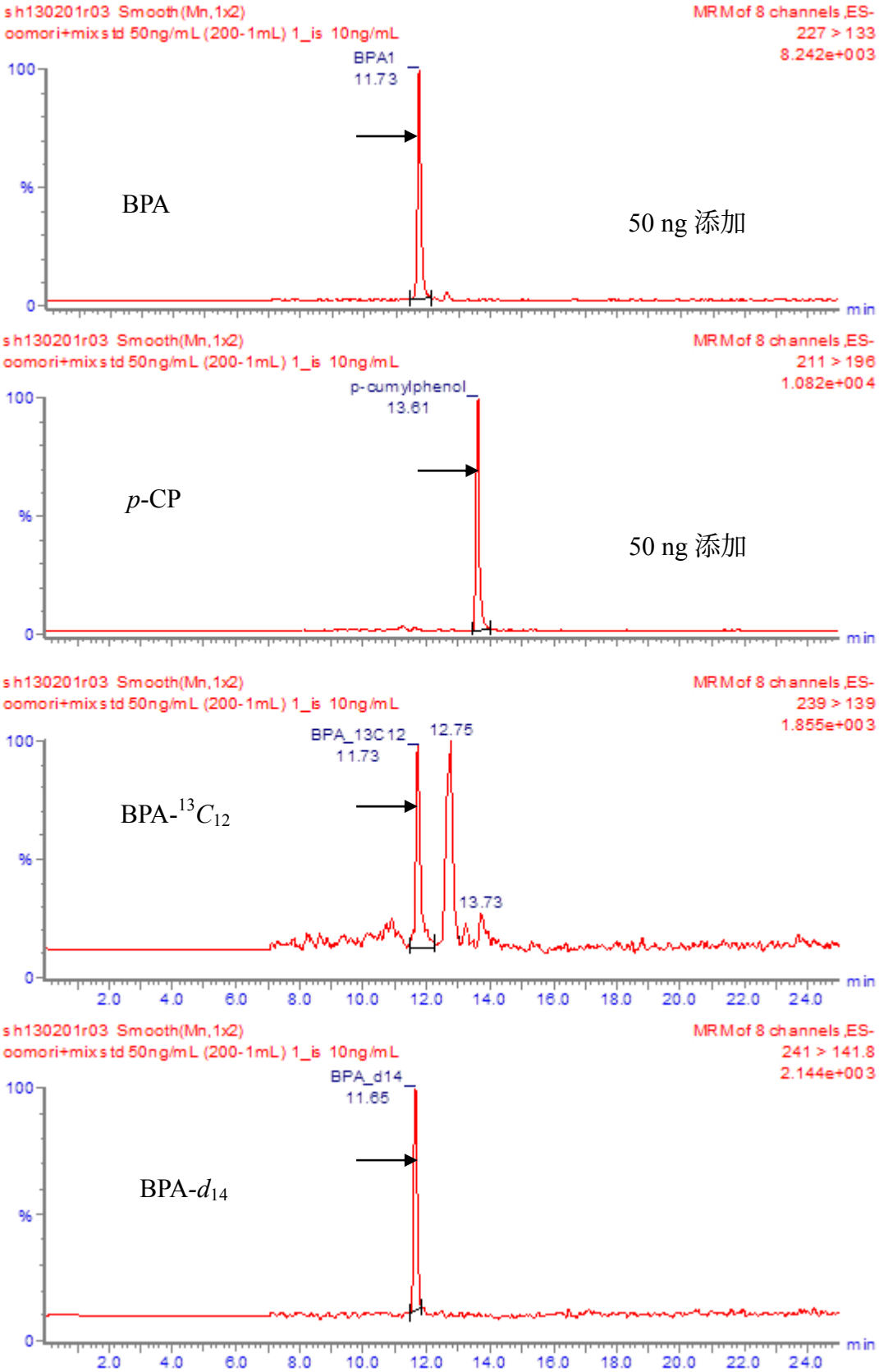


図 14-1　河川水の添加回収試験試料のクロマトグラム（50 ng 添加）

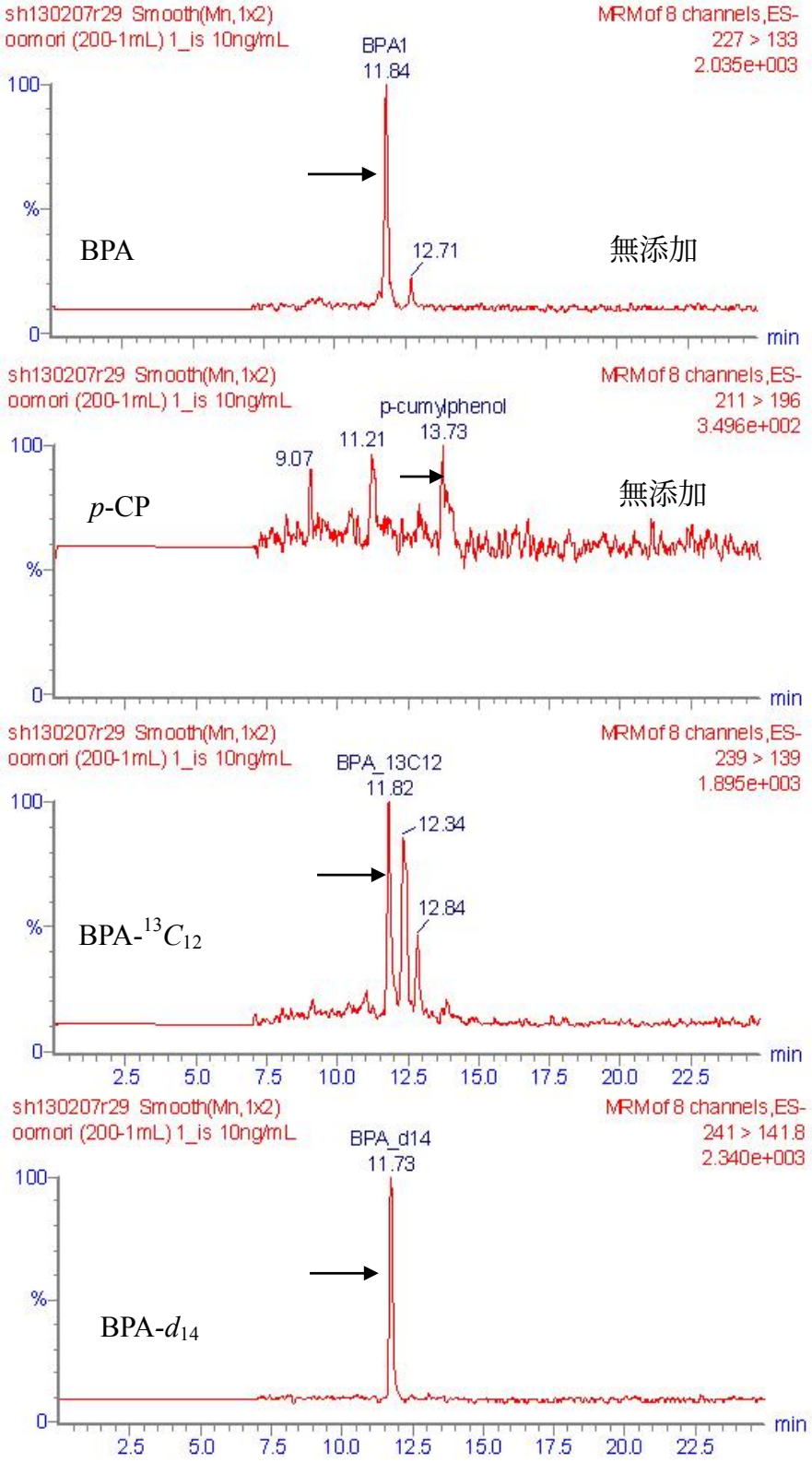


図 14-2　河川水の添加回収試験試料のクロマトグラム（無添加）

〔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 8 に示す。各試験とも試験数 2 で試験を行った。

表 8-1　分解性スクリーニング結果（ガラス容器で保存）

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	
		BPA	*p*-CP	BPA	*p*-CP	BPA	*p*-CP
5	50	96	94	97	94	-	-
7	50	98	96	94	95	92	85
9	50	96	97	92	94	-	-

表 8-2　分解性スクリーニング結果（テフロン製容器で保存）

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	
		BPA	*p*-CP	BPA	*p*-CP	BPA	*p*-CP
5	50	99	99	97	98	-	-
7	50	98	99	94	98	97	101
9	50	98	97	92	94	-	-

〔保存性試験〕

保存性試験の結果を表 9 に示す。

表 9　保存性試験結果

試料	初期濃度 (ng/mL)	残存率（%）					
		7 日間		14 日間		1 か月	
		BPA	*p*-CP	BPA	*p*-CP	BPA	*p*-CP
河川水 環境試料	0.25	92	98	-	-	-	-
海水 環境試料	0.25	99	99		-	-	-
海水 粗抽出液	50	-	-	93	90	-	-
標準液 検量線最低濃度	1	-	-	-	-	98	105
標準液 検量線最高濃度	100	-	-	-	-	92	99

〔抽出方法の検討〕

ミリ Q 水 200 mL に BPA 及び *p*-CP を各 10 ng 添加し、以下 8 種類の固相を用いて抽出した。抽出後、アセトン 5 mL で溶出して窒素気流下で乾固直前まで濃縮し、50%メタノール水溶液で 1 mL に定容し、50 μL を LC/MS へ注入した。

通液試料が中性の場合、いずれの固相を用いても、BPA および *p*-CP は固相を通り抜けてしまい、ほとんど回収されなかった。一方で、試料を pH3 程度に調整した後、固相抽出を行うと、HLB, RP1, CH においては BPA が 80%以上回収され、さらに、HLB, CH を使用した場合においては *p*-CP も 90%以上回収された。

以上の結果から、HLB 及び CH が候補として考えられたが、試料水中のマトリックスを出来るだけ試験液に持ち込まないようにする目的で、より選択性の高い CH を用いて、実試料の前処理をすることとした。また、溶出溶媒に関しては酢酸エチル、ジクロロメタン、メタノール、アセトンで検討した結果、最も溶出率の高かったメタノールを用いることとした。

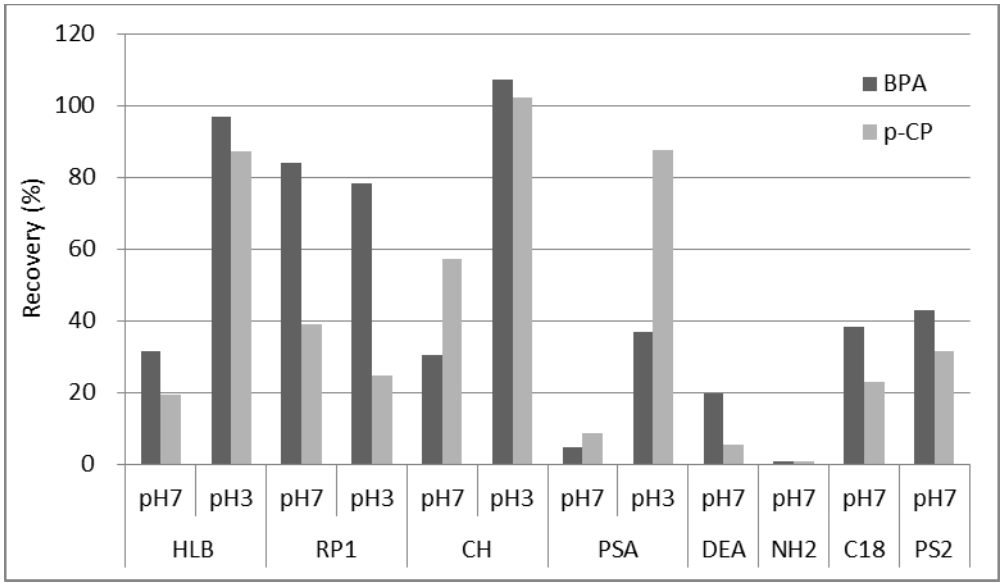


図 15　固相抽出の検討結果

〔クリーンアップ方法の検討〕

上記で前処理した試験液を、MF-1、MF-2、ENVI-Carb、Inertsep GC、Inertsep GC/PSA、Inertsep GC/SAX/PSA 及び Sep-Pak Carbon/NH2 を使用してクリーンアップ方法を検討した。

MF-1 及び MF-2 は試験液をそのまま固相に通過させるのみで測定し、残りの活性炭系固相はメタノール 20 mL で十分に洗浄し、ブランクが検出されないことを確認したうえで使用した。試験液を負荷し、10 mL のメタノールで溶出(F1)、さらに 5 mL のメタノールで溶出(F2) させた。その後、窒素気流下で乾固直前まで濃縮し、50%メタノール水溶液で 1 mL に定容した。

MF-1 を用いた場合、クロマトグラムのベースラインが MF-2 を使用した時ほどきれいにならなかった。また、BPA は 80%程度回収されたが、*p*-CP の回収率が 50%程度であった。MF-2 を用いてクリーンアップを行った結果を図 16 に示す。左側はクリーンアップ前の試験液、右側はその試験液を MF-2 に通過させた後に測定を行ったものである。

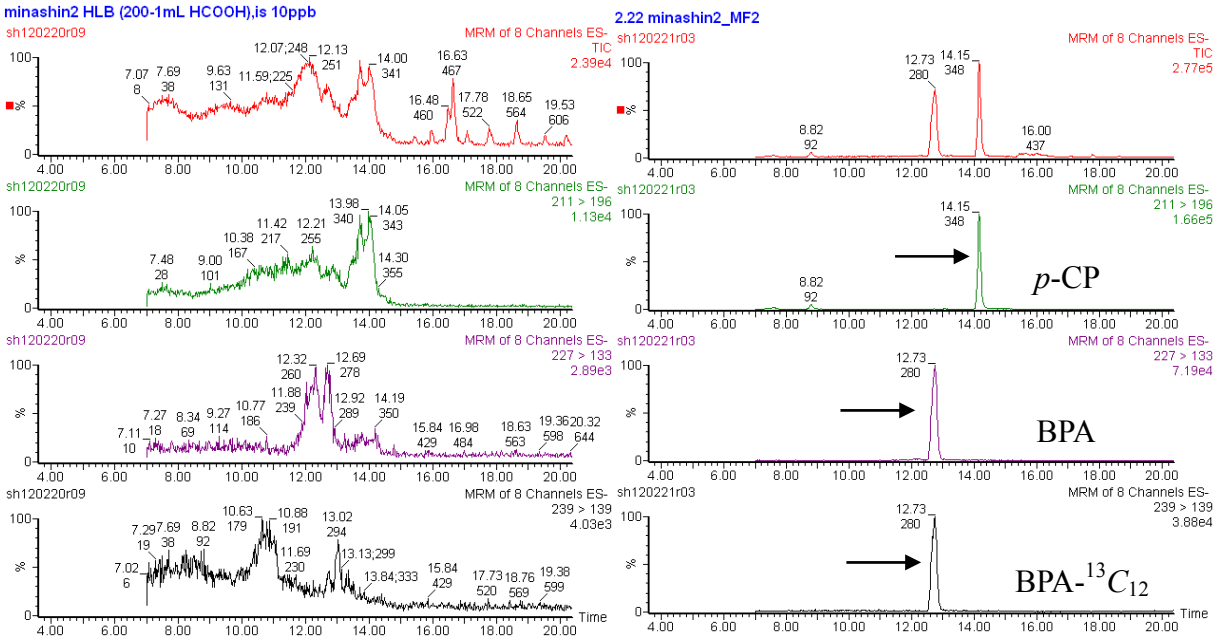


図 16　MF-2 を用いたクリーンアップの結果

（左側はクリーンアップ前の試験液、右側はその試験液を MF-2 に通過させた後）

MF-2 を通過させることにより、クロマトグラムは非常にきれいになるが、ピーク強度が 3~7 倍になるという問題が生じた。BPA、*p*-CP だけでなく、BPA-$^{13}C_{12}$ の強度も増加し、この強度増加は他の試料においても再現性良く現れた。また、ENVI-Carb、Inertsep GC ではクリーンアップが不十分でクロマトグラムのベースラインがきれいにならず（図 17）、Inertsep GC/PSA、Inertsep GC/SAX/PSA では *p*-CP の回収が不十分だった。

Sep-Pak Carbon/NH2 では、BPA、*p*-CP ともに F1 で 95%以上が回収され、F2 にはほとんど溶出されなかった。また、MF-2 のような現象も起きず、ベースラインもきれいになった（図 18）。よって、クリーンアップ固相は Sep-Pak Carbon/NH2 を用い、メタノール 10 mL で溶出することとした。

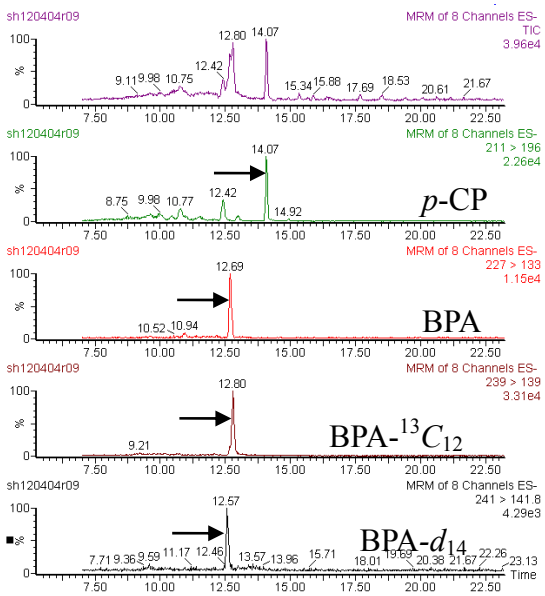


図 17　ENVI-Carb を用いたクリーンアップの結果

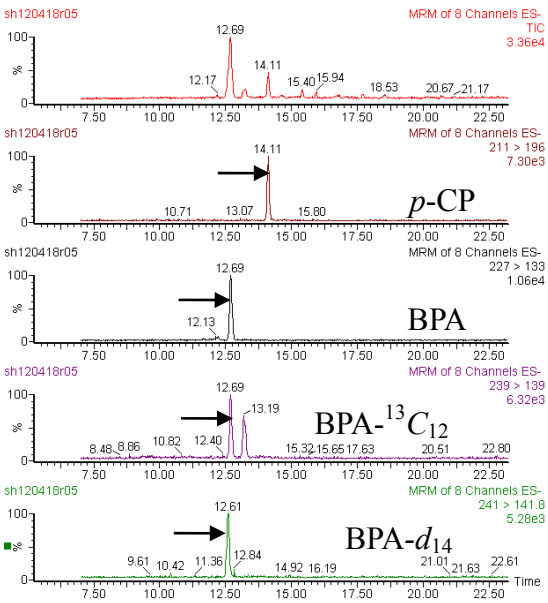


図 18　Carbon/NH_2 を用いたクリーンアップの結果

〔環境試料の分析〕

名古屋市内河川 11 地点および名古屋港海水を測定した結果、すべての試料から BPA が検出され、*p*-CP は 12 試料中、10 試料から検出された。それぞれの濃度範囲は、BPA が 33～290 ng/L、*p*-CP が ND～160 ng/L であった。一例として、図 19 に山崎川（道徳橋）で採水した試料のクロマトグラムを示す。

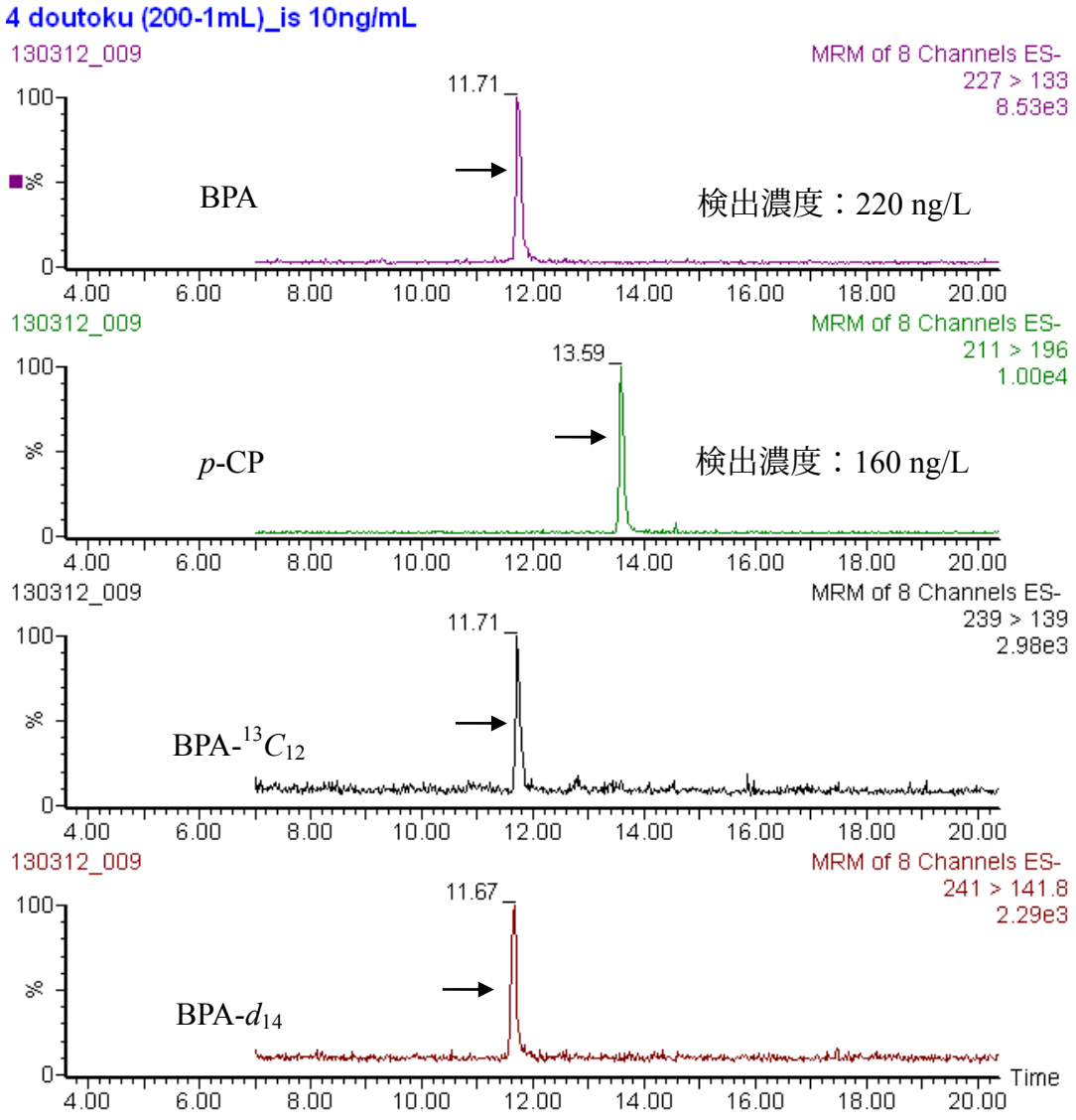


図 19　河川水(道徳橋)のクロマトグラム

【評価】

環境水中に含まれる BPA および *p*-CP の同時分析法を開発した。本法における精製水を用いた MDL は、BPA 0.0015 μg/L、 *p*-CP 0.0036 μg/L、海水を用いた MDL は、BPA 0.0019 μg/L、*p*-CP 0.0021 μg/L であった。よって、本法は環境水中に含まれる 0.002 ng/L オーダーの BPA および *p*-CP の検出に適用可能であると判断される。

ただし、BPA は IDL を超える操作ブランクが検出され、操作を行う際には十分に注意を払う必要がある。精製水を通液せずにブランク試験を行うと BPA、*p*-CP ともに不検出であることから、使用する精製水や試薬には特に注意を払うべきである。

【担当者氏名・連絡先】

所属先名称：名古屋市環境科学研究所
所属先住所：〒457-0841　名古屋市南区豊田 5-16-8
TEL：052-692-8481　FAX：052-692-8483
担当者名　：長谷川瞳　平生進吾
E-mail　　：hitomi@nagoyakankaken.net
hirao@nagoyakankaken.net

4-(*α,α*-Dimethylbenzyl)phenol

4,4'-Propane-2,2-diyldiphenol

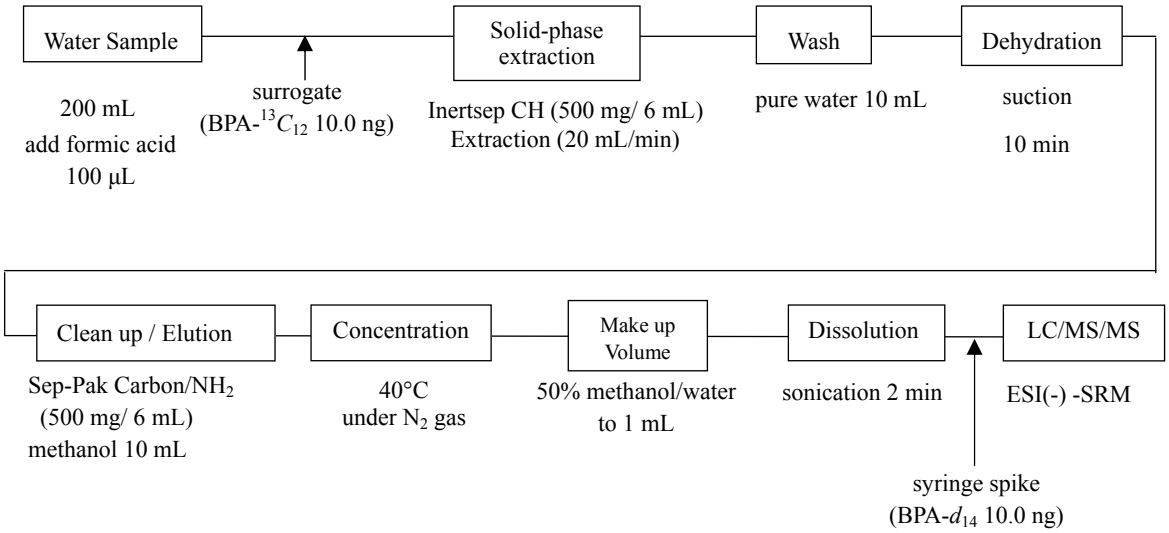
An analytical method has been developed for the determination of 4-(*α*,*α*-Dimethylbenzyl)phenol (*p*-CP), 4,4'-Propane-2,2-diyldiphenol (BPA) in water samples by liquid chromatography tandem-mass spectrometory (LC/MS/MS). Negative electrospray ionization (ESI- negative) is used to ionize *p*-CP, BPA and BPA-$^{13}C_{12}$, BPA-d_{14} as an internal standard. The determination is performed by the selected–reaction-monitoring (SRM) method using precursor/product ionsets of *m/z* 227.0/133.0 for BPA, *m/z* 211.0/196.0 for *p*-CP, *m/z* 239.0/139.0 for BPA-$^{13}C_{12}$, and *m/z* 241.0/141.8 for BPA-d_{14}.

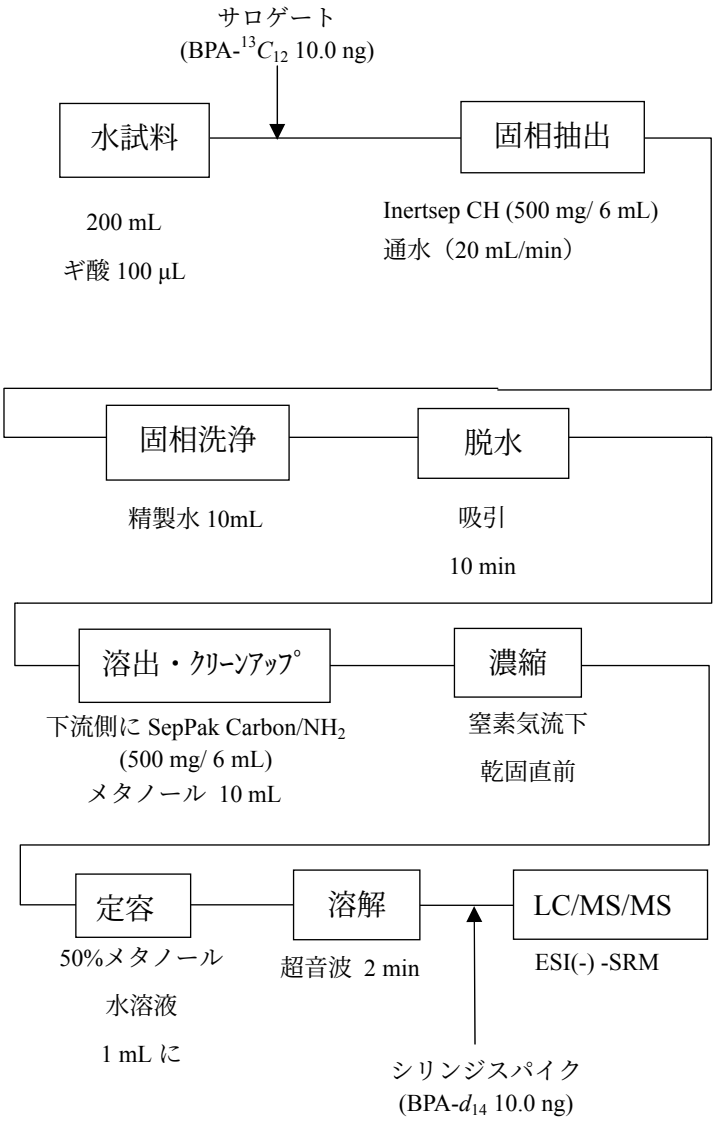
A 200 mL water sample is added with formic acid, and spiked with 10 ng of BPA-$^{13}C_{12}$ as a surrogate (internal standard). The sample is passed through a preconditioned solid phase extraction cartridge (Inertsep CH) at a flow rate of 20 mL/min. The cartridge is eluted with 10 mL of methanol, and subsequently the eluate is cleaned up by activated carbon cartridge (SepPak Carbon/NH2).

The eluate is dried up using a gentle flow nitrogen gas on a heated water bath at 40°C, and then made the volume to 1 mL with 50% methanol/water. The solution is spiked with 10 ng BPA-d_{14} as a syringe spike (internal standard), and analyzed by negative ion mode-ESI-LC/MS/MS-SRM.

The method detection limit (MDL) using with sea water for BPA and *p*-CP are 0.0019 μg/L and 0.0021 μg/L, respectively. The method quantification limit (MQL) for them are 0.0051μg/L and 0.0055 μg/L, respectively. The average recoveries (n=5) from 50 ng of BPA and *p*-CP added water sample of river water were 98, 99% respectively, and sea water were 99, 100%, respectively.

Using this method, the target compound in river water and sea water were detected 33-290 ng/L (BPA), <9.0-160 ng/L (*p*-CP), respectively.


Water Sample
200 mL
add formic acid
100 μL
surrogate
(BPA-$^{13}C_{12}$ 10.0 ng)
Solid-phase extraction
Inertsep CH (500 mg/ 6 mL)
Extraction (20 mL/min)
Wash
pure water 10 mL
Dehydration
suction
10 min
Clean up / Elution
Sep-Pak Carbon/NH_2
(500 mg/ 6 mL)
methanol 10 mL
Concentration
40°C
under N_2 gas
Make up Volume
50% methanol/water
to 1 mL
Dissolution
sonication 2 min
LC/MS/MS
ESI(-) -SRM
syringe spike
(BPA-d_{14} 10.0 ng)

物質名	分析法フローチャート	備考
4-(2-フェニルプロパン-2-イル)フェノール, 4,4'-(プロパン-2,2-ジイル)ジフェノール		分析原理 LC/MS/MS-SRM ESI-negative mode 検出下限値 [水質（海水）] BPA：0.0019 ng/L *p*-CP：0.0021 ng/L 分析条件 LC：Waters Alliance2695 MS：Waters Quattromicro API カラム：Ascentis Express C18 (10 cm × 2.1 mm , 2.7 μm) Sigma Aldrich