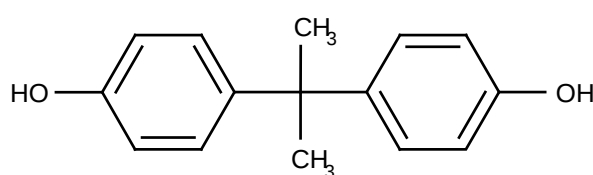


4,4'-(プロパン-2,2-ジイル)ジフェノール

4,4'-Propane-2,2-diylphenol

別名：ビスフェノール A、略称：BPA

【対象物質の構造】



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：C₁₅H₁₆O₂

【物理化学的性状】

分子量 ¹⁾ (モライトル質量)	沸点 (°C) ²⁾	蒸気圧 (mmHg) ²⁾	水溶解度 ²⁾ (mg/L)	log P _{ow} ²⁾
228.28 (228.11503)	220°C	0.00000004 (25°C)	120-300	3.4

【毒性、用途】

〔毒性〕^{1),3)}

急性毒性	マウス	(経口)	LD ₅₀	2500 mg/kg
	マウス	(腹腔内注射)	LD ₅₀	150 mg/kg
	ウサギ	(経口)	LD ₅₀	2230 mg/kg
	ウサギ	(経皮)	LD ₅₀	3000 mg/kg
	トリ	(経口)	LD ₅₀	6500 mg/kg
	ラット	(経口)	LD ₅₀	3250 mg/kg

刺激性及び腐食性

反復投与毒性試験で呼吸器の刺激性に関する報告がある。

〔用途〕⁴⁾ エポキシ樹脂，ポリカーボネート，可塑性ポリエステル原料

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供システム (CHRIIP) (<http://www.safe.nite.go.jp/japan/db.html>)
- 2) Webkis-plus (化学物質データベース) (<http://db-out.nies.go.jp/kis-plus/>)
- 3) 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

底質試料に、サロゲート内標準を添加してからアセトンで抽出を行い、抽出液を得る。抽出液をジクロロメタンで液 - 液抽出する。さらに、抽出液を脱水・濃縮・転溶して弱陰イオン交換カラム及び逆相系カラムでクリーンアップ処理を施す。処理後、シリンジスパイク内標準を添加して LC/MS/MS にて分析する。

(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(99.0%)
ビスフェノール A- d_{14} (BPA- d_{14})標準品	: 和光純薬工業製(98.0%)
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 μ g/mL アセトニトリル溶液
ジクロロメタン、アセトン、ヘキサン、 塩化ナトリウム、無水硫酸ナトリウム メタノール、アセトニトリル 精製水	: 和光純薬工業製 残留農薬・PCB 分析用 : 関東化学製 LC/MS 用 : 超純水 (BPA がいないことを確認する。) オルガノ PURELAB Ultra で精製したもの
固相カートリッジ	: Bond Elut PSA(500 mg / 3 mL) アジレント製
固相カートリッジ	: Bond Elut C18(200 mg / 3 mL) アジレント製

【標準液の調製】

〔標準液〕

BPA 10.0 mg をアセトニトリルに溶解し、100 mL に定容したものを 100 mg/L 標準原液とする。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 μ g/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 μ g/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)。

〔検量線作成用標準液〕

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 ng/mL 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 ng/mL 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ー、メスフラスコ、蓋付ガラス試験管、マイクロシリンジ、パストゥールピペット 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】

あらかじめサロゲート内標準液(1.00 mg/L)を 100 µL 添加した底質試料(湿重量 10 g)にアセトン 50 mL を加え、10 分間よく振とうする。さらに、10 分間超音波抽出を行ってから、2500 rpm で 10 分間遠心分離を行い、上層をメスフラスコに移して抽出液を得る。同様の操作をもう一度行う。得られた抽出液をロータリーエバポレーターにより濃縮し、アセトンで 20 mL に定容する。このうち、10 mL を分取し(注 1) 25%塩化ナトリウム水溶液 50 mL に加える。そこにジクロロメタン 50 mL を添加して、よく振とう(10 分間)して下層のジクロロメタンを得る。同様の操作をもう一度行う。このジクロロメタン層を合わせた後、無水硫酸ナトリウムで脱水する。ロータリーエバポレーターで濃縮を行い、試験管に移して窒素気流下で乾固してアセトン/ヘキサン(3:7) 3 mL に溶解させる(注 2)。これを、クリーンアップのため、PSA カラムカートリッジ(注 3)に負荷し、アセトン/ヘキサン(3:7) 5 mL で洗浄してからアセトン/ヘキサン(7:3) 15 mL で溶出させる。さらに窒素気流下で乾固してから 50%アセトニトリル水溶液 2 mL に溶解させる(注 2 及び 4)。C18 カラムカートリッジ(注 5)に負荷し、50%アセトニトリル水溶液 3 mL で溶出させる。シリンジスパイク内標準液(1.00

mg/L) 50.0 μ L を添加してから、50%アセトニトリル水溶液で 5 mL に定容して試験液とする。

【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。

【測定】

〔装置条件〕

LC 条件

装置	: Waters 製 Alliance2695		
カラム	: シグマアルドリッチ製 Ascentis Express C18 (10 cm $\times$ 2.1 mm , 2.7 μ m)		
移動相	: A 精製水	、 B メタノール	
	0 $\rightarrow$ 1 min	A : 80	B : 20
	1 $\rightarrow$ 10 min	A : 80 $\rightarrow$ 5	B : 20 $\rightarrow$ 95 linear gradient
	10 $\rightarrow$ 14 min	A : 5	B : 95
	14 $\rightarrow$ 14.5 min	A : 5 $\rightarrow$ 0	B : 95 $\rightarrow$ 100 linear gradient
	14.5 $\rightarrow$ 20 min	A : 0	B : 100
	20 $\rightarrow$ 21 min	A : 0 $\rightarrow$ 80	B : 100 $\rightarrow$ 20 linear gradient
	21 $\rightarrow$ 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 μ L

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
モニターイオン及び検出条件	

物質名	デュエル タイム (Sec)	コーン 電圧 (V)	キャピラリー 電圧(eV)	定量イオン (m/z)	確認イオン (m/z)
BPA	0.125	25	25	227.0>133.0	227.0>212.0
BPA- <i>d</i> ₁₄	0.125	30	25	241.0>141.8	241.0>223.0
BPA- ¹³ C ₁₂	0.125	30	25	239.0>139.0	239.0>224.0

白本では定量イオン(Q)m/z 227 $\rightarrow$ 133と確認イオン(I)m/z 227 $\rightarrow$ 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)

〔検量線〕

検量線用標準液 (1.00 ng/mL ~ 100 ng/mL) 10 μ L を LC/MS/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 μ L を LC/MS/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 (ng/mL) を求める。

〔濃度の算出〕

試料中の濃度は C (ng /g-dry) は、次式により算出する。

$$C = (Ra - Rb) \times (Q \times v / 20) / (V \times v / 20)$$

Ra : 試料中の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 : 空試験液中の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

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/ μ L) $\times$ 添加するサロゲートの容量(μ L))

v : 分取量 (mL)

20 : 抽出液の総量 (mL)

V : 試料量 (g-dry) (採取試料量より水分含量を減じたもの)

本分析法に従った場合、以下の数値を使用する。

$Q = 100$ (ng)

(= 添加サロゲートの濃度 (1.00 ng/ μ L) $\times$ 添加サロゲートの容量(100 μ L))

$v = 10$ (mL)

即ち、

$$\begin{aligned} C &= (Ra - Rb) \times (100 \times 10 / 20) / (V \times 10 / 20) \\ &= (Ra - Rb) / V \times 100 \end{aligned}$$

〔サロゲート内標準の回収率の算出〕

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サロゲート内標準の回収率を求める。また、分取量を変える場合、サロゲート内標準の添加量を最終試験液において10 ng/mLの濃度になるように調製することで分取による補正の必要がなくなる。

〔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 6）。

表 1 IDL の算出結果

物質名	IDL (ng/mL)	試料量		最終液量 (mL)	IDL 試料換算値 (μg/g-dry)
		(g-wet)	(g-dry)		
ビスフェノール A	0.27	5.00	3.57	5.00	0.00038

〔測定方法の検出下限値(MDL)及び定量下限値(MQL)〕

本分析における MDL を表 2 に示す（注 7）。底質試料は、岩手県小釜橋の底質を用いた。事前に BPA 濃度を測定したところ 0.00449 μg/g-dry であることがわかった。IDL 試料換算値は 0.000380 μg/g-dry であるので、5 倍程度の 0.00190 μg/g-dry にするために抽出試料から 4 分の 1 にあたる 5.0 mL を分取した。その際、サロゲートは通常の 100 μL ではなく 200 μL に増やして添加した。

表 2 MDL 及び MQL 算出の結果

物質名	試料量 (g-dry)	最終液量 (mL)	MDL (μg/g-dry)	MQL (μg/g-dry)
ビスフェノール A	1.83	5.00	0.0013	0.0032

注 解

- （注1） 夾雑物の量が多すぎると回収率が低下するため、BPA を再現性良く検出できる程度まで分取量を減じて良い。その際には、初めに添加するサロゲートの添加量を分取量に応じて増減させ、最終試験液において 10 ng/mL の濃度になるようにする。
- （注2） 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3) PSA カラムカートリッジは、初めアセトン 6 mL を通液させ、続いてヘキサン 6 mL で通液したものを使用する。
- (注4) 溶解が不十分な場合は、超音波槽でしばらく置き、溶解させるようにする。超音波処理後も、多少壁面に夾雑物が付着している場合もあるが、回収率に影響は少ない。
- (注5) C18 カラムカートリッジは、初めアセトニトリル 3 mL を通液させ、続いて 50%アセトニトリル水溶液 3 mL で通液したものを使用する。
- (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)に準じて以下の表 3 のとおり算出した。また、そのときのクロマトグラムを図 1 に示す。併せて内標準物質のクロマトグラムも示す。なお、乾燥試料 3.6575 g は、湿重量 5 g に相当する(試料は岩手県小釜橋の底質で水分含量は 26.85%、強熱減量は 4.9%であった)

表 3 IDL の算出結果

対象物質名	ビスフェノール A
試料量 (g-wet)	5.0000
試料量 (g-dry)	3.5675
最終液量 (mL)	5.0
注入液濃度 (μg/L)	1.0
装置注入量 (μL)	10
結果 1 (μg/L)	1.016
結果 2 (μg/L)	0.888
結果 3 (μg/L)	0.937
結果 4 (μg/L)	1.085
結果 5 (μg/L)	0.909
結果 6 (μg/L)	0.920
結果 7 (μg/L)	1.080
結果 8 (μg/L)	0.943
結果 9 (μg/L)	0.894
結果 10 (μg/L)	1.007
平均値(μg/L)	0.9681
標準偏差(μg/L)	0.0739
IDL (μg/L)*	0.271
IDL 試料換算値 (μg/g-dry)	0.0003800
S/N 比	9.1
CV(%)	7.6

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

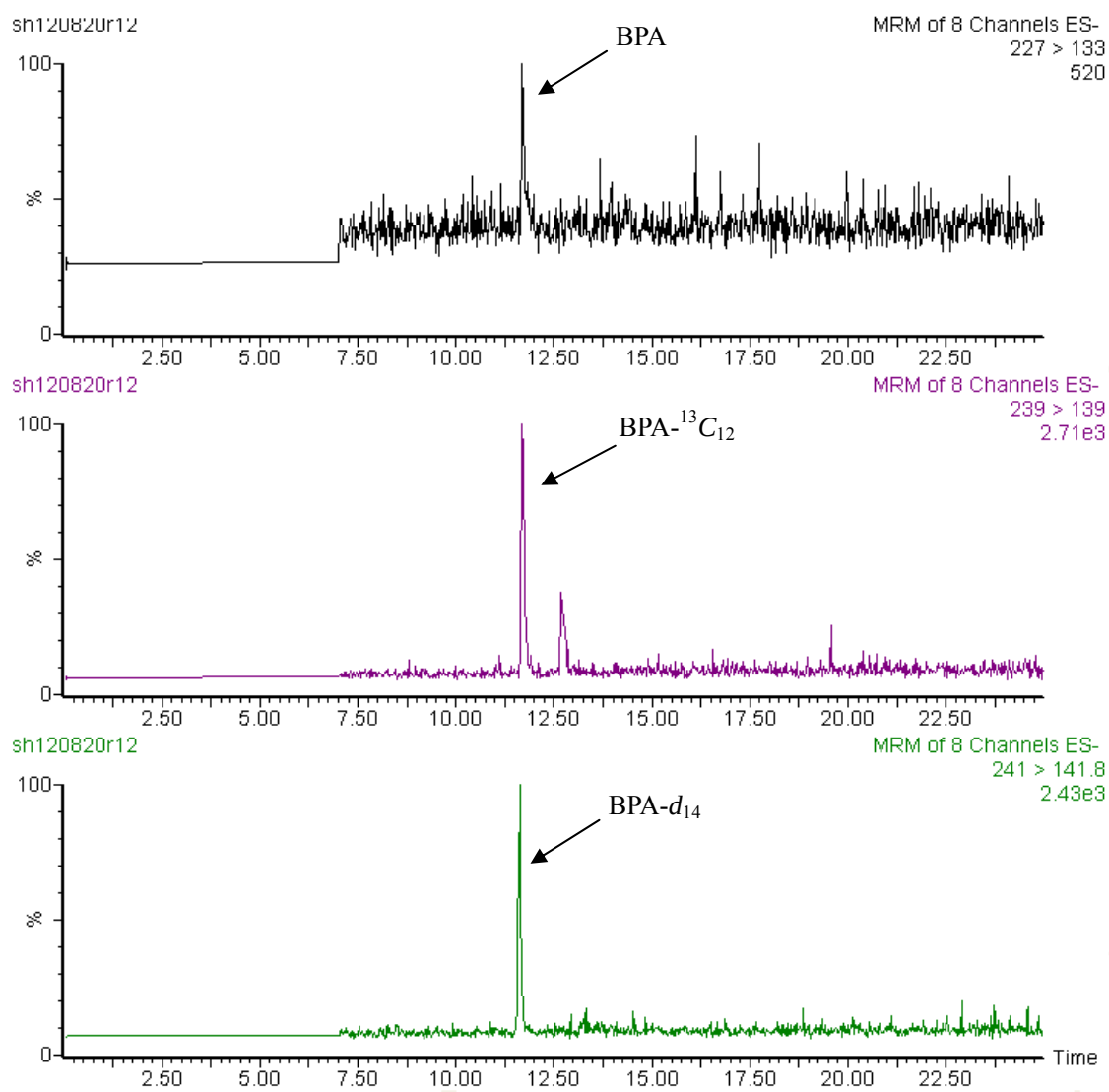


図1 標準物質 (IDL 測定) 及び内標準物質のクロマトグラム

(注7) MDL 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。また、そのときのクロマトグラムを図2に示す。

表4 MDLの算出結果

対象物質名	ビスフェノール A	サロゲート 回収率(%)
試料	岩手県小槌橋 底質	-
試料量 (g-dry)	1.83	-
標準添加量 (μg)	無添加	-
最終液量 (mL)	5.0	-
装置注入量 (μL)	10	-
操作ブランク(μg/g-dry) ^{*1}	ND	73
結果 1 (μg/g-dry)	0.00347	66
結果 2 (μg/g-dry)	0.00393	75
結果 3 (μg/g-dry)	0.00399	72
結果 4 (μg/g-dry)	0.00372	71
結果 5 (μg/g-dry)	0.00408	67
結果 6 (μg/g-dry)	0.00422	74
結果 7 (μg/g-dry)	0.00445	74
平均値(μg/g-dry)	0.003980	71.5
標準偏差(μg/g-dry)	0.000322	
MDL (μg/g-dry) ^{*2}	0.00125	
MQL (μg/g-dry) ^{*3}	0.00322	
S/N 比	11	
CV(%)	8.1	

*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 (n=3)

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

*3 $MQL = \sigma_{n-1} \times 10$

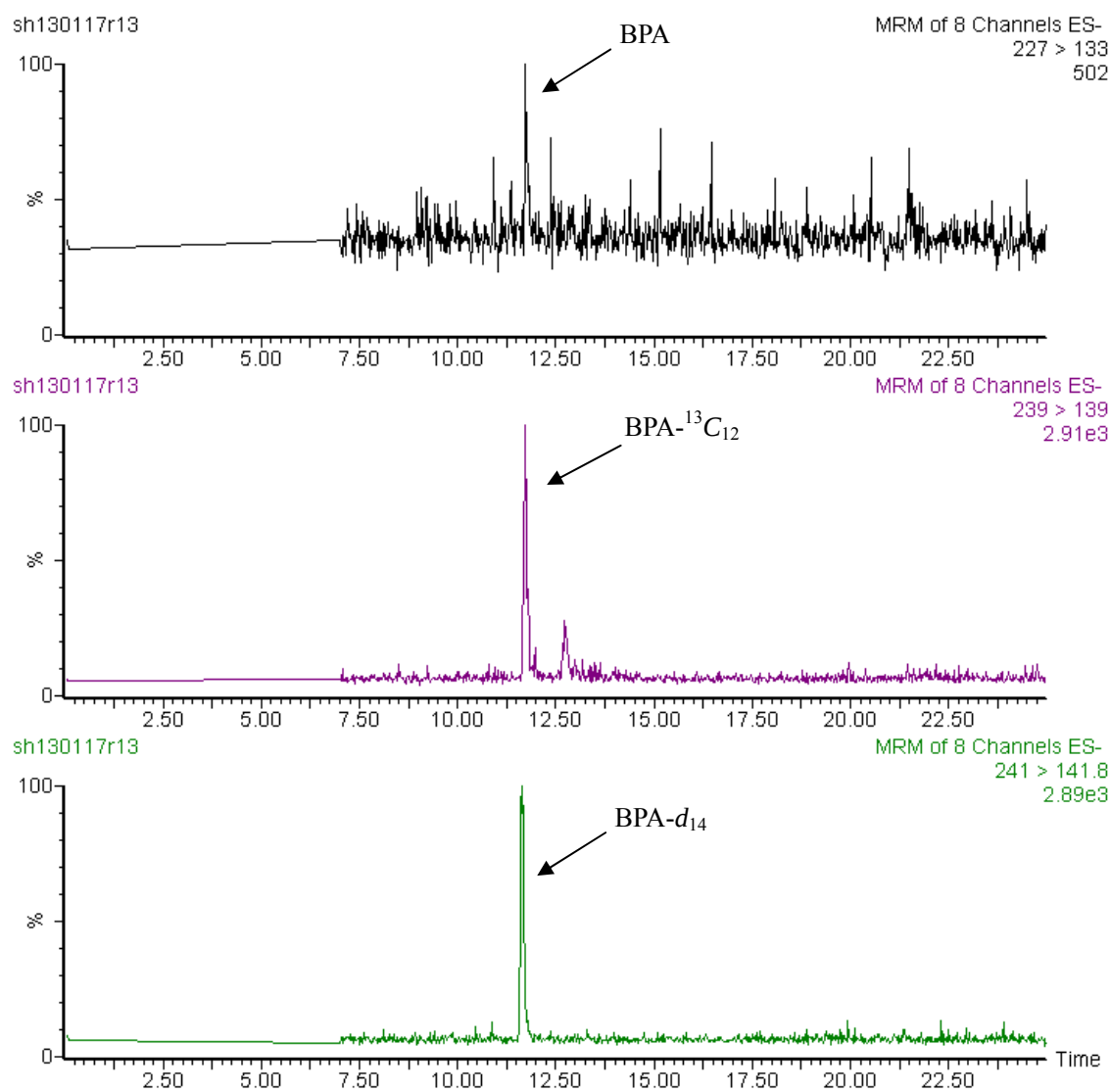


図2 MDL 測定試料のクロマトグラム

§2 解 説

【分析法】

〔フローチャート〕

底質試料の分析のフローチャートを図 3 に示す。

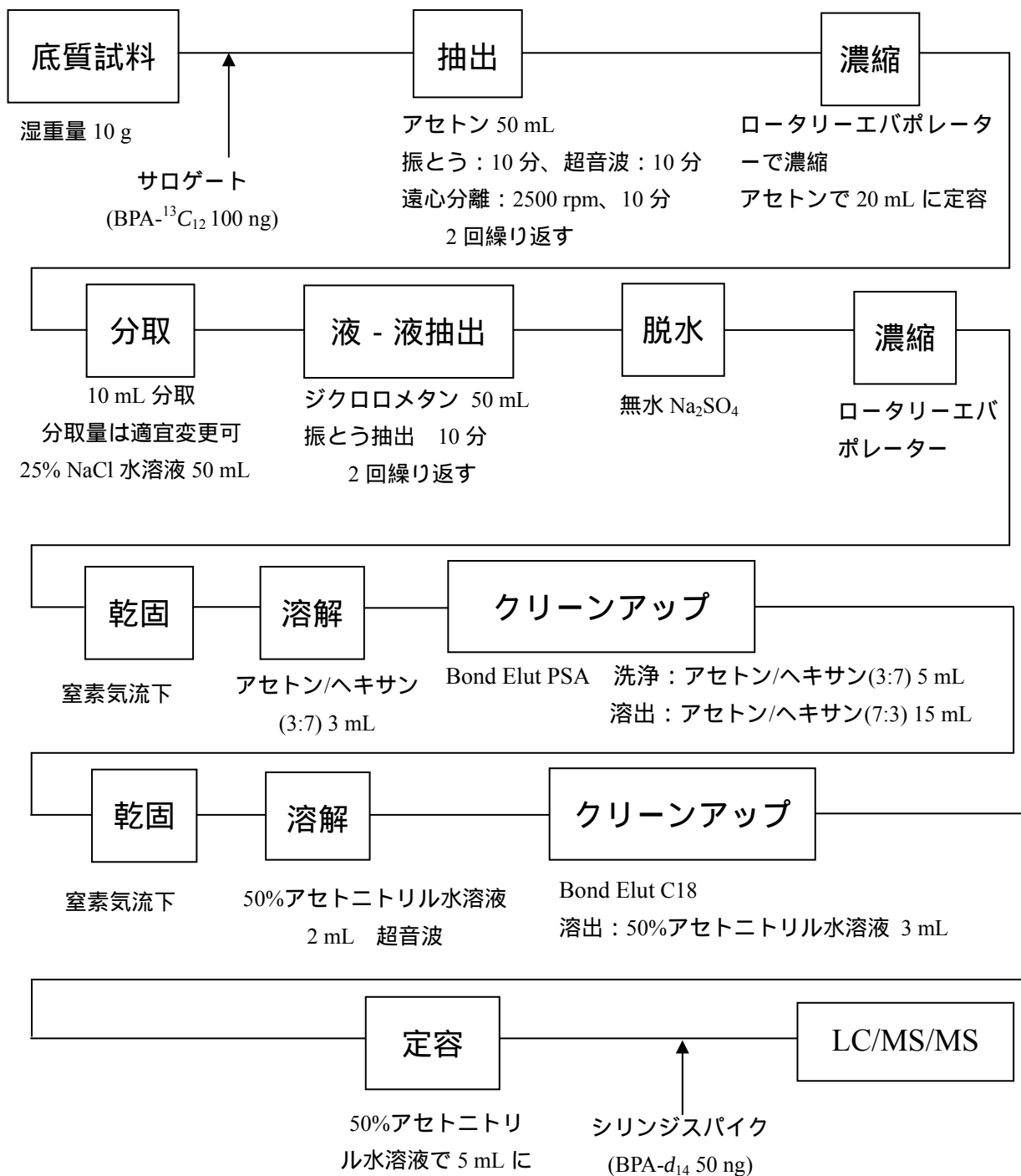


図 3 分析法のフローチャート

〔検量線〕

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

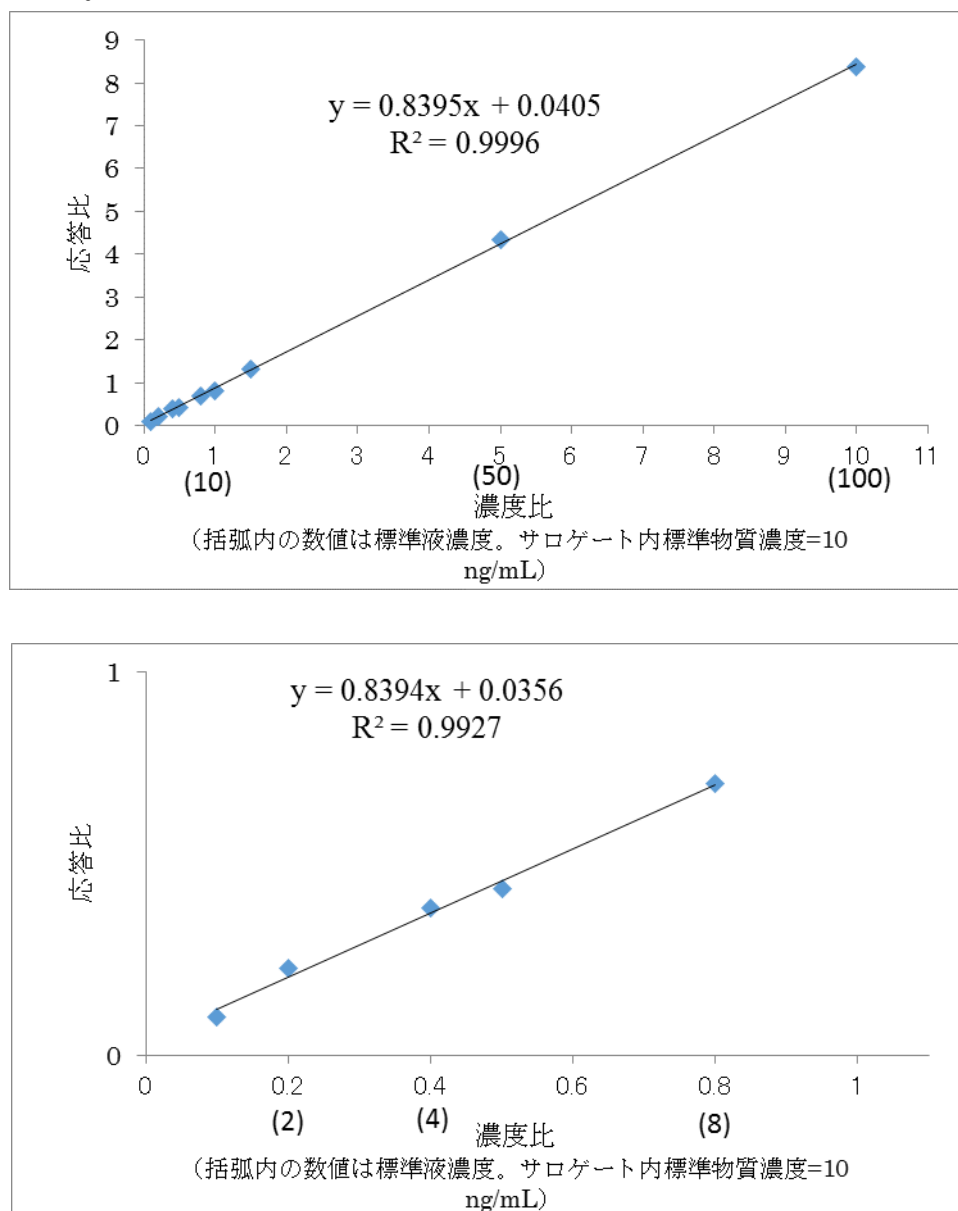


図 4 検量線

表 5 検量線作成用データ

標準試料 濃度 (ng/mL)	応答値		応答比 (As / Ass)
	調査物質(As) ビスフェノール A m/z 227.0 > 133.0	サロゲート内標準 物質*(Ass) ビスフェノール A- ¹³ C ₁₂ m/z 239.0 > 139.0	
1.0	27.51	272.14	0.1011
2.0	65.98	291.04	0.2267
4.0	92.14	239.13	0.3853
5.0	127.39	293.90	0.4335
8.0	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
100.0	2414.07	288.07	8.3802

*：サロゲート内標準濃度：10 ng/mL

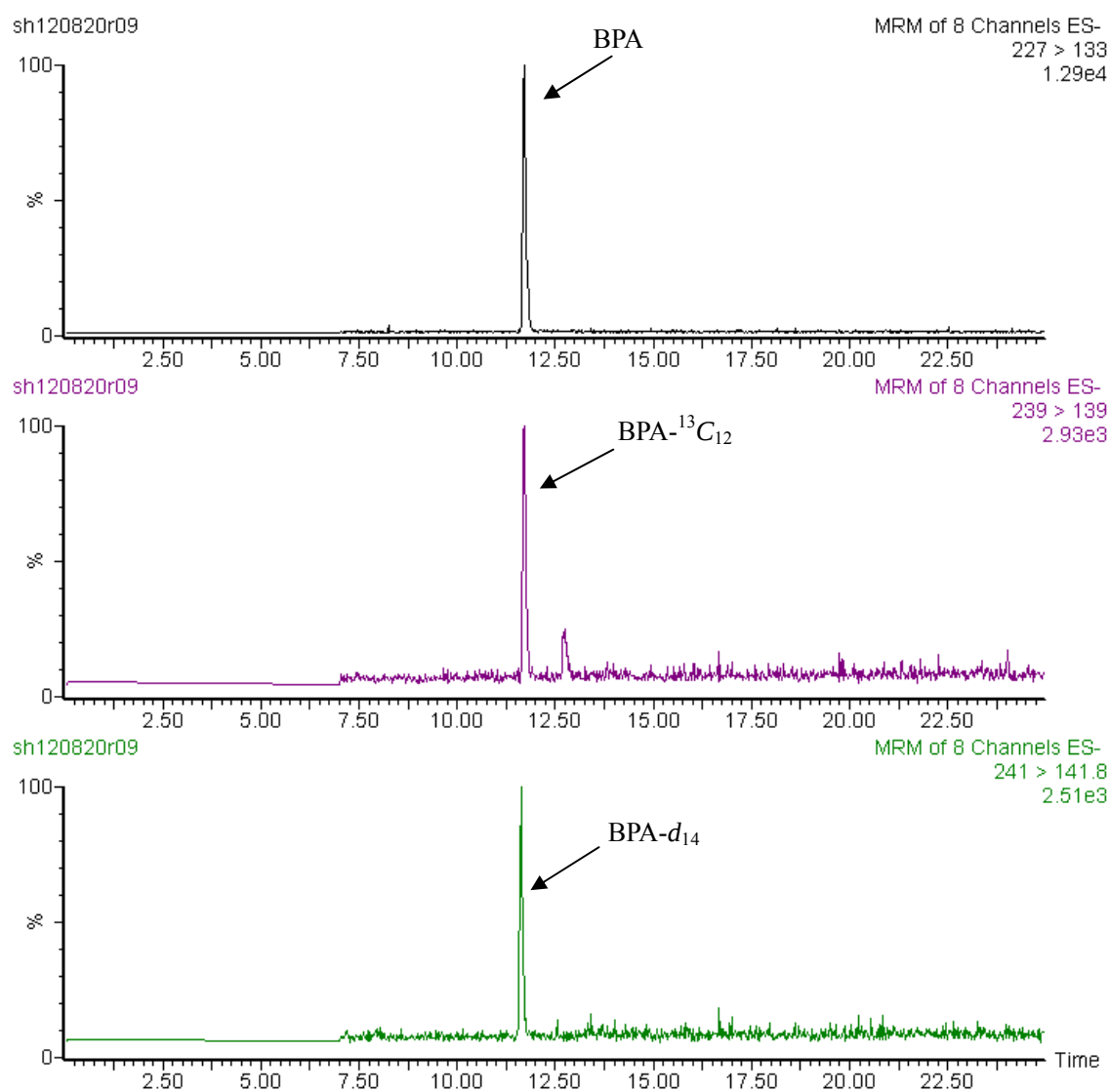


図5 標準液のクロマトグラム (BPA 濃度 : 50 ng/mL)

〔標準物質のマスペクトル〕

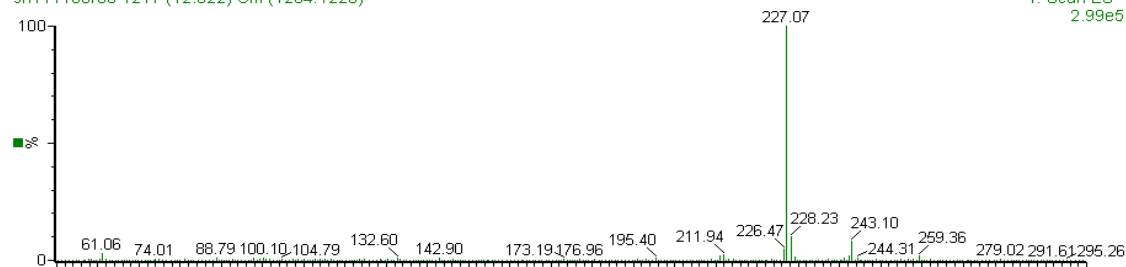
BPA、BPA- d_{14} 及び BPA- $^{13}C_{12}$ のマスペクトルを図 6、図 7 及び図 8 に示す。

BPA+p-Cumylphenol 10ug/mL

sh1111108r06 1217 (12.322) Cm (1204:1228)

08-Nov-2011

1: Scan ES-
2.99e5



sh1111108r09 907 (12.251) Cm (897:915)

4: Daughters of 227ES-
5.10e5

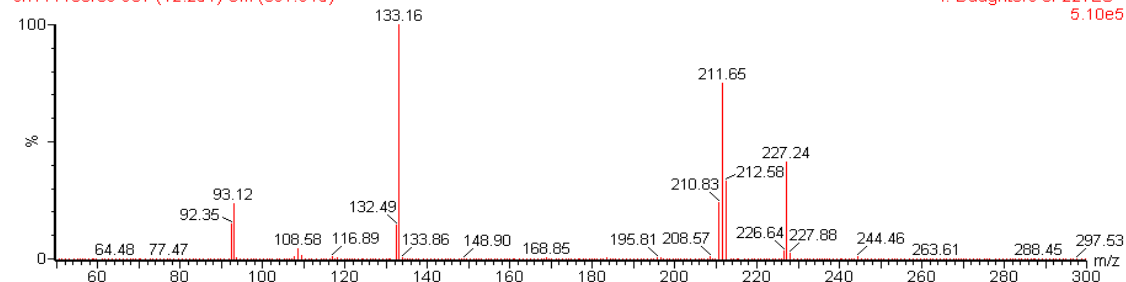


図 6 BPA のプレカーサーイオン（上段）と
 m/z 227.0 のプロダクトイオン（下段）のマスペクトル

BPA- d_{14} 10ug/mL

sh1111108r07 1220 (12.352) Cm (1207:1233)

08-Nov-2011

1: Scan ES-
2.97e5



sh1111108r10 903 (12.190) Cm (890:908)

2: Daughters of 241ES-
4.05e5

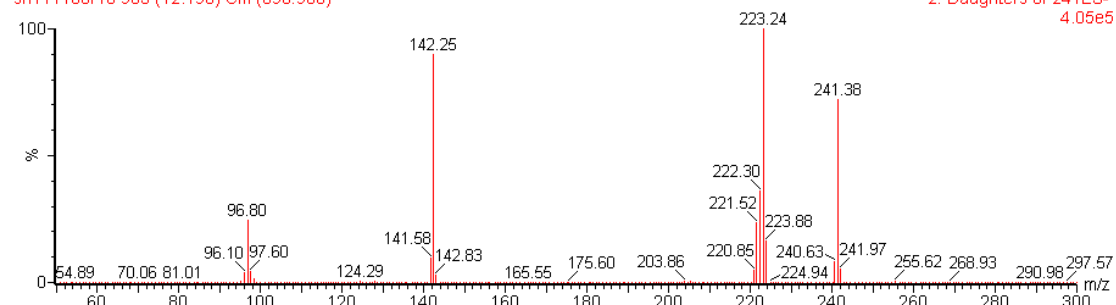


図 7 BPA- d_{14} のプレカーサーイオン（上段）と
 m/z 241.0 のプロダクトイオン（下段）のマスペクトル

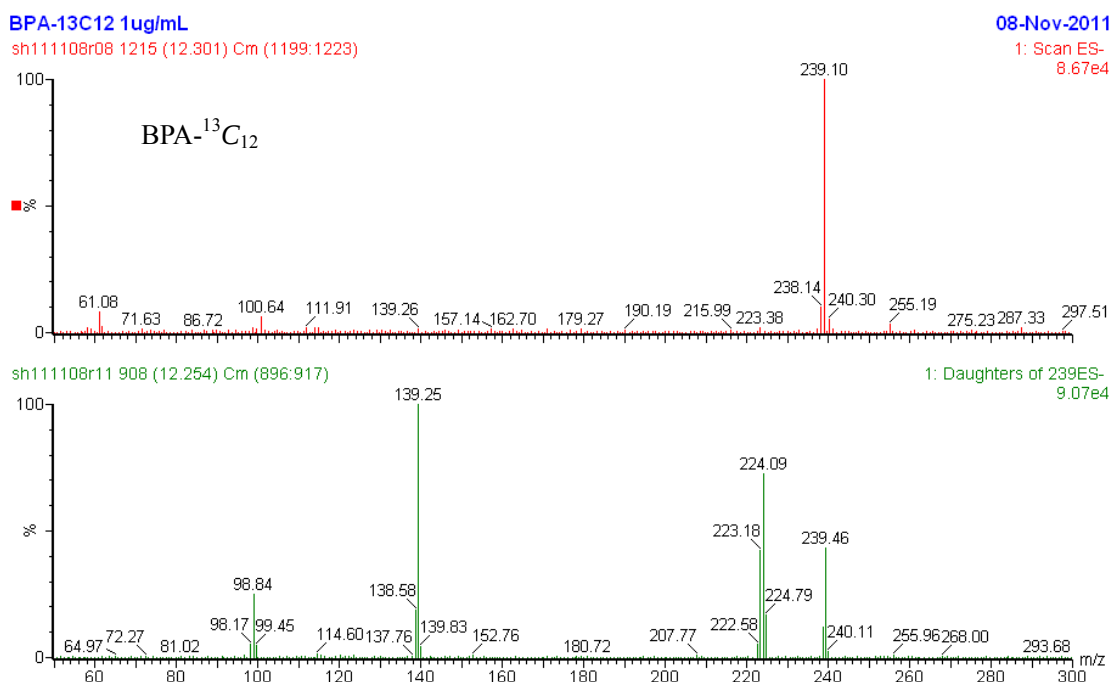


図 8 BPA- $^{13}\text{C}_{12}$ のプレカーサーイオン (上段) と
m/z 239.0 のプロダクトイオン (下段) のマススペクトル

【操作ブランク】

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なかった。

【添加回収試験】

名古屋市港新橋の底質を用いて添加回収試験を行った。その際、底質自体に含まれている濃度(0.16 $\mu\text{g/g-dry}$) の 5 ~ 10 倍程度になるように 2.8 μg 添加した。また、試料に用いた底質 (名古屋市 港新橋) の水分含量は、55.89%である。

表 6 添加回収試験

試料名	試料量 (g-dry)	添加量 (μg)	試験数	検出濃度 ($\mu\text{g/g-dry}$)	回収率 (%)	変動 係数 (%)	サロゲート 回収率(%)
底質*	2.86	無添加	2	0.159	-	-	99
	2.86	2.8	5	1.129	97	4.4	91

* : 名古屋市港新橋

【保存性試験】

名古屋市港新橋の底質からの粗抽出液を用いて保存性試験を行った。表 7 に示すように、粗抽出液の室温・明所保存では、保存性が無いことが確認された。

表 7 試料保存性試験

試料	残存率(%)		
	7 日	14 日	1 ヶ月
粗抽出液 1 (冷暗所)	86.0	86.3	-
粗抽出液 2 (室温・明所)	16.3	-	-
標準液(4 µg/L)	-	-	121.0
標準液(10 µg/L)	-	-	107.3

【固相カートリッジの溶出試験】

3 mL の 10.0 ng/mL BPA-¹³C₁₂ アセトン/ヘキサン(3:7) 溶液を、固相カートリッジ Bond Elut PSA に添加し、～ の順番で段階的に溶媒を加えて溶出した溶液のサロゲート回収率を表 8 に示す。

表 8 固相カートリッジ Bond Elut PSA の溶出試験

サロゲート回収率(%) (カラム：Bond Elut PSA)			
30%アセトン / ヘキ サン 0-5 mL	70%アセトン / ヘキ サン 0-5 mL	70%アセトン / ヘキ サン 5-10 mL	70%アセトン / ヘキ サン 10-15 mL
1.3	42.2	56.8	2.1

表 8 に示すように、アセトンとヘキサンの混合比率を順に変化させることで一段階目に目的成分をカラム内に保持しつつそれ以外の溶出する夾雑成分を除去して２段階目に目的成分を溶出することが可能であることがわかった。また、溶出量は、15 mL で十分であることが分かった。

また、固相カートリッジ Bond Elut PSA では、色素などは完全に取り除けない場合があるため、これらを除去する目的で最終検液直前に Bond Elut C18 で処理を行うこととした。

【実試料測定】

名古屋市の底質試料として港新橋で得られた底質の測定結果を示す。また、添加回収試験により得られた港新橋底質の添加試料のクロマトグラムも併せて示す。

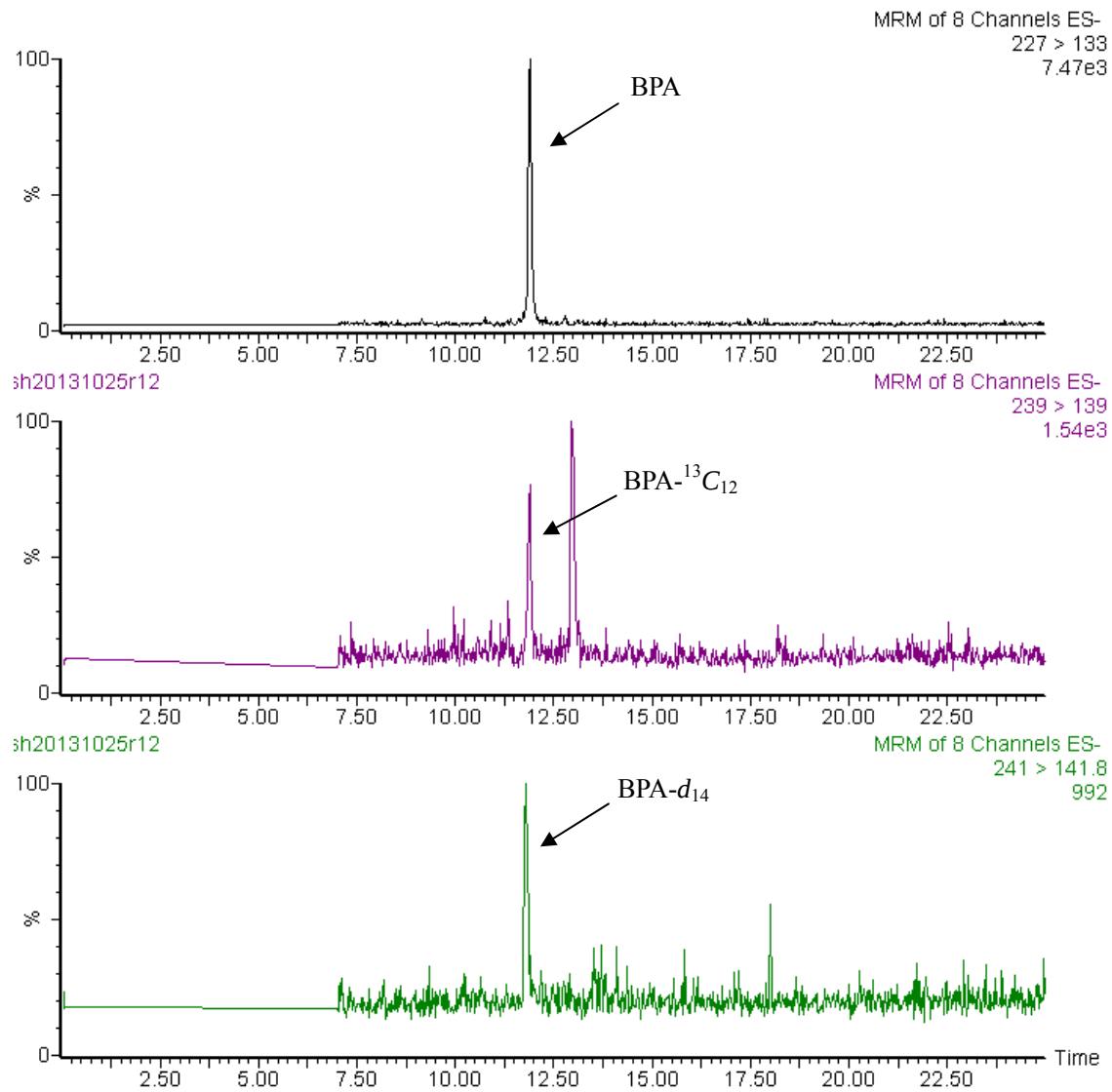


図9 港新橋底質中の BPA のクロマトグラム

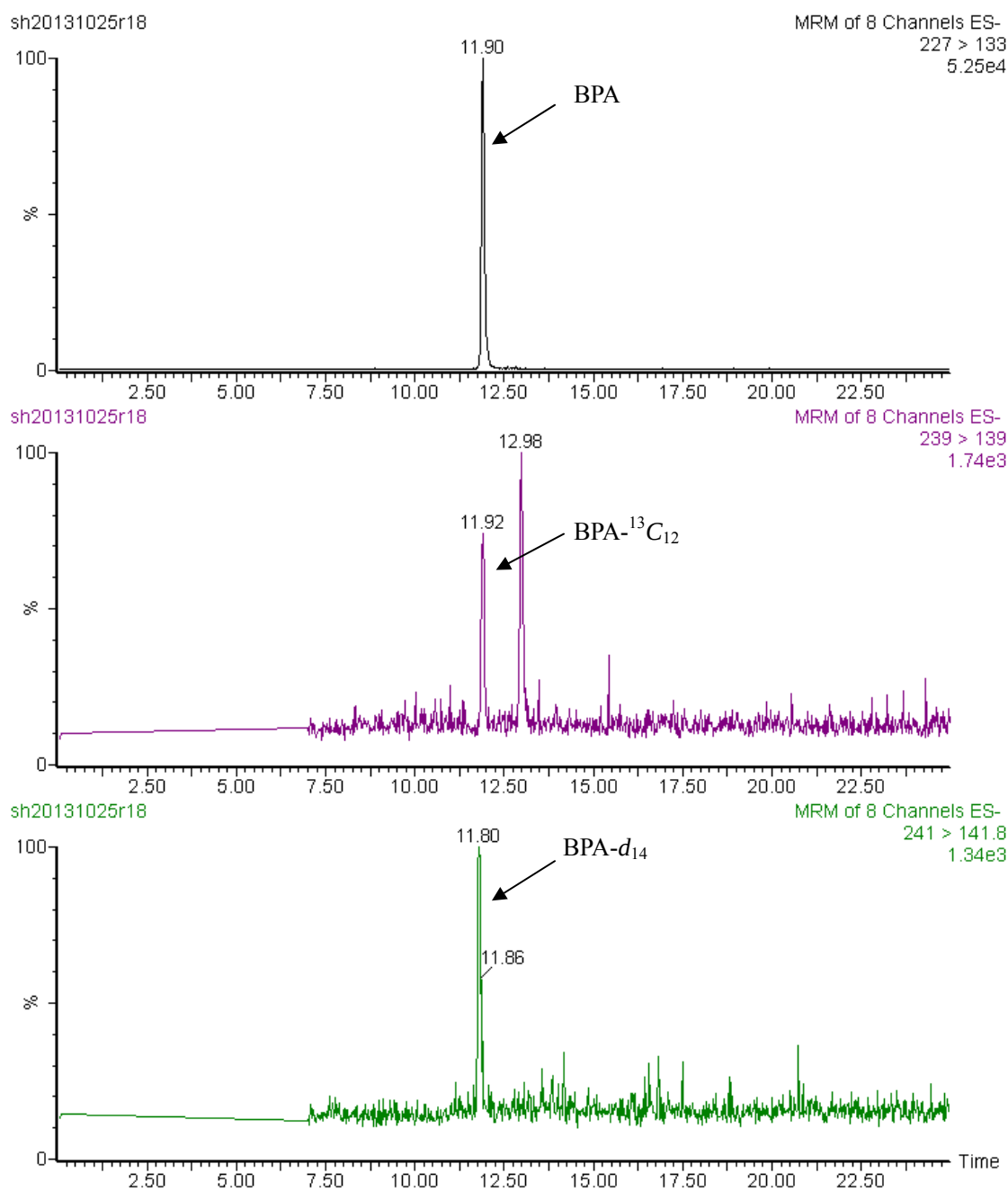


図 10 名古屋市港新橋で採取した底質の BPA 添加回収試験（添加試料）
のクロマトグラム（BPA 添加量：2.8 μg ）

表9 実試料測定（底質試料：名古屋市港新橋）

対象物質名	ビスフェノール A	サロゲート 回収率(%)
試料量 1 (g-dry)	2.825	-
試料量 2 (g-dry)	2.937	-
試料量 3 (g-dry)	2.853	-
試料量 4 (g-dry)	2.876	-
含水率 (%)	55.89	-
最終液量(mL)	5.0	-
装置注入量(μL)	10	-
結果 1 (μg/g-dry)	0.157	90.2
結果 2 (μg/g-dry)	0.170	87.3
結果 3 (μg/g-dry)	0.146	106.0
結果 4 (μg/g-dry)	0.182	91.9
平均値(μg/g-dry)	0.1636	93.9
標準偏差(μg/g-dry)	0.0154	8.32
CV(%)	9.4	8.9

【評価】

底質中に含まれる BPA の分析法を開発した。本法における MDL は 0.00125 μg/g-dry であり、添加回収率は、90%程度であった。本法を愛知県名古屋市港新橋及び岩手県盛岡市小釜橋の底質に適用したところ、いずれの試料についても検出された。以上の結果から、本法は底質中に含まれる 0.001 μg/g-dry オーダーの BPA の検出に適用可能であると判断される。

【参考文献】

- 1) 外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル(水質、底質、水生生物)(平成 10 年 10 月) 環境庁水質保全局水質管理課).ビスフェノール A とクロロフェノール類の分析法
- 2) 食品中のビスフェノール A の分析 福島県衛生研究所年報 21 2003 p45-50
- 3) GC/MS による各種食品中のビスフェノール A の分析 食品衛生学雑誌 42(2) 2001 p71-78
- 4) 固相抽出法及びGC/MSを用いた水産缶詰食品中のビスフェノールAの分析 日本食品科学工学会誌 48(6) 2001 p437～443

- 5) 缶コーティングから飲料へのビスフェノールAの移行 食品衛生学雑誌40(2)
1999 p158-165

【担当者連絡先】

所属先名称 : 名古屋市環境科学調査センター

所属先住所 : 名古屋市南区豊田 5-16-8

TEL : 052-692-8481 FAX : 052-692-8483

担当者名 : 平生進吾 長谷川瞳

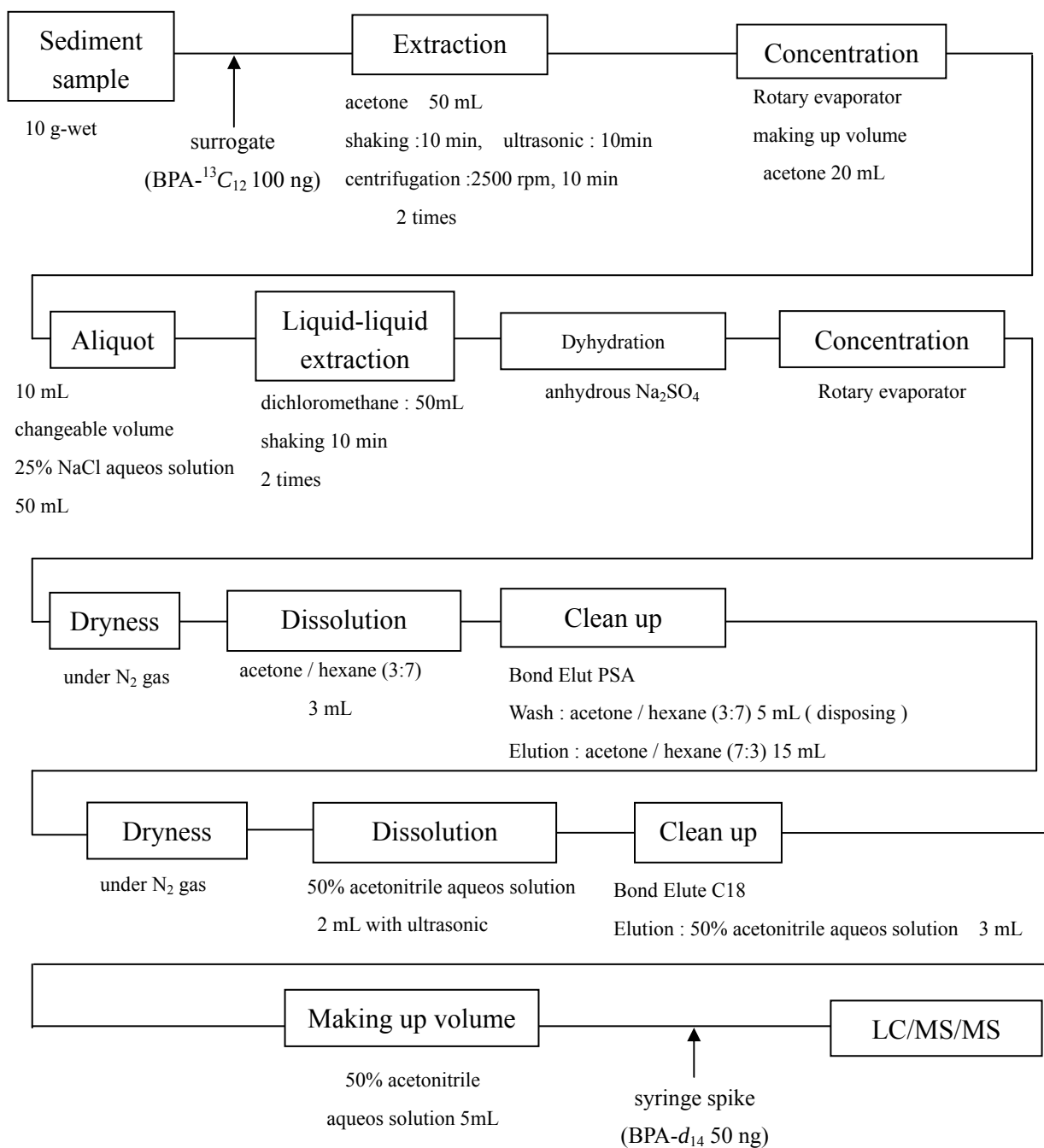
E-mail : hirao@nagoyakankaken.net hitomi@nagoyakankaken.net

4,4'-Propane-2,2-diylidiphenol

An analytical method has been developed for the determination of 4,4'-Propane-2,2-diylidiphenol (Bisphenol A : BPA) in sediment samples by liquid chromatography tandem-mass spectrometry (LC/MS/MS).

About ten grams of wet sediment sample is added with 100 ng of surrogate, followed by shaking and ultrasonic extraction with 50 mL of acetone. The extract is concentrated to 5 mL with rotary evaporator, made up to 20 mL with acetone. A half of the solution is added to 50 mL of 25% NaCl aqueous solution and 50 mL of dichloromethane, and extracted with dichloromethane. The extract is concentrated to 5 mL with rotary evaporator, completely dried under a nitrogen gas stream, and dissolved with 3 mL of acetone / hexane (3:7). The dissolved solution is loaded onto Bond Elut PSA, washed with 5 mL of acetone / hexane (3:7) and eluted with 15 mL of acetone / hexane (7:3). The eluate is completely dried under a nitrogen gas stream, dissolved with 2 mL of 50% acetonitrile aqueous solution, applied to a preconditioned Bond Elute C18, and eluted with 3 mL of 50% acetonitrile aqueous solution. The eluate is added with 50 ng of syringe spike, and made up to 5 mL with 50% acetonitrile aqueous solution.

Negative electrospray ionization (ESI- negative) is used to ionize BPA and BPA-¹³C₁₂, 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* 239.0/139.0 for BPA-¹³C₁₂, and *m/z* 241.0/141.8 for BPA- *d*₁₄. The method detection limit (MDL) of BPA in sediment samples is 0.0013 µg/g-dry. The average recovery of BPA from sediment samples added with 2.8 ng was 97%, and the relative standard deviation was 4.4%, respectively. Using this method, BPA was detected in sediment samples in Nagoya.



物質名	分析法フローチャート	備考
4,4'-(プロパン-2,2-ジイル)ジフェノール	【底質】 底質試料 湿重量 10 g 抽出 アセトン 50 mL 振とう：10 分、超音波：10 分 遠心分離：2500 rpm、10 分 2 回繰り返す サロゲート (BPA-¹³C₁₂ 100 ng) 濃縮 ロータリーエバポレーター アセトン 10 mL 分取 20 mL に定容 分取 分取量は適宜変更可 25% NaCl 水溶液 50 mL 液-液抽出 ジクロロメタン 50 mL 振とう抽出 10 分 2 回繰り返す 脱水 無水 Na₂SO₄ 濃縮 ロータリーエバポレーター 乾固 窒素気流下 溶解 アセトン/ヘキサン(3:7) 3 mL クリーンアップ Bond Elut PSA 洗浄：アセトン/ヘキサン(3:7) 5 mL 溶出：アセトン/ヘキサン(7:3) 15 mL 乾固 窒素気流下 溶解 50%アセトニトリル水溶液 2 mL 超音波 クリーンアップ Bond Elut C18 溶出：50%アセトニトリル水溶液 3 mL 定容 50%アセトニトリルで 5 mL に シリンジスパイク (BPA-^d₁₄ 50 ng) LC/MS/MS	分析原理 LC/MS/MS-SRM ESI-negative mode 検出下限値 0.0013 µg/g-dry 分析条件 LC：Waters Alliance2695 MS：Waters Quattro micro API カラム：Ascentis Express C18 (10 cm × 2.1 mm, 2.7 µm) Sigma-Aldrich