

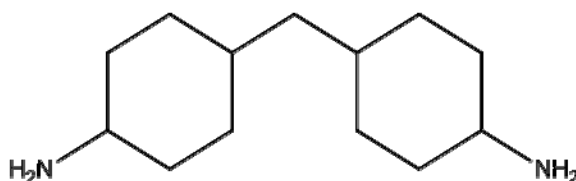
ビス(4-アミノシクロヘキシル)メタン

Bis(4-aminocyclohexyl)methane

別名：4,4'-ジアミノジシクロヘキシルメタン

4,4'-Diaminodicyclohexylmethane

【対象物質の構造】

Bis(4-aminocyclohexyl)methane
(BACHM)

CAS 番号：1761-71-3

分子式：C₁₃H₂₆N₂

【物理化学的性状】

項目	値	測定条件	出典
分子量	210.36		-
モル質量	210.2096		-
沸点	126°C	0.04 kPa	1)
融点	40°C (凝固点)		1)
水溶解度	不溶		1)
蒸気圧	< 13 Pa	38°C	1)
分配係数 log P _{ow}	3.26		1)

【毒性、用途】

〔毒性〕

急性毒性 吸入：LC₅₀：400 mg/m³/4H (マウス)¹⁾
 経口：LD_{Lo}：670 mg/kg (ラット)¹⁾

〔用途〕

エポキシ硬化剤²⁾

出典

- 1) 東京化成工業 安全データシート
- 2) 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

水質試料にメタノールを添加し、固相カートリッジに通水し、メタノールで洗浄した後、ギ酸/メタノール(2:98, v/v)で溶出して LC/MS/MS-SRM 法で定量する。

(2) 試薬・器具

【試薬】

4,4'-ジアミノジシクロヘキシルメタン (異性体混合物) (BACHM)	
	: 和光純薬工業製 和光一級 (含量 > 97%)
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
ギ酸	: 和光純薬工業製 LC/MS 用
ギ酸アンモニウム	: 和光純薬工業製 和光特級
精製水	: 超純水製造装置 MilliQ Integral(MERCK MILLIPORE 製) により精製
固相カートリッジ	: Waters 製 Oasis WCX Plus type 225 mg

【標準液の調製】

〔標準原液〕

BACHM 10.0 mg を正確に量り取り、メタノール 100 mL に溶解し、100 µg/mL の標準原液を調製する (注 1)。

〔検量線用標準液〕

標準原液をメタノール/0.1%ギ酸水溶液(1:9, v/v)で適宜希釈し、0.50 ~ 50.0 ng/mL の検量線用標準液を作成する (注 1)。

【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、パストゥールピペット、PP 製目盛付受器(10-15 mL)、ガラス繊維ろ紙(Whatman GF/B)

(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、メタノールを試料 100 mL あたり 10 mL 添加する(注 2)。

【試料の前処理及び試験液の調製】

あらかじめメタノール 10 mL を添加した水質試料 100 mL を、ギ酸/メタノール (2:98, v/v) 5 mL (注 3)、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 WCX)に 10 ~ 15 mL/min で通水する(注 4)。通水終了後、固相カートリッジを 10 mL 程度の精製水で洗浄し、そのままアスピレーターで 3 分間吸引し、間隙水を除去する。固相カートリッジをメタノール 5 mL で洗浄した後、逆向きにして、逆方向からギ酸/メタノール (2:98, v/v) 4 mL (注 3) で溶出する。この溶出液を窒素気流下で 1 mL まで濃縮し、0.1%ギ酸水溶液で 10 mL に定容して試験液とする。

【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】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 5)

〔LC 条件〕

使用機種	: SHIMADZU 製 LC-20 Series
カラム	: SUPELCO 製 Ascentis Express RP-Amide (2.1 mm×150 mm, 2.7 μm)
移動相	: A : 10 mmol/L ギ酸アンモニウム水溶液、B : アセトニトリル 0→10 min A : 98→60、B : 2→40 linear gradient 10→11 min A : 60→10、B : 40→90 linear gradient 11→16 min A : B=10 : 90

16→17 min A : 10→98、 B : 90→2 linear gradient

17→30 min A : B=98 : 2

カラム流量 : 0.2 mL/min

カラム温度 : 40°C

試料注入量 : 10.0 µL

[MS 条件]

使用機種 : AB Sciex 製 API3200

イオン化法 : ESI (+)

ターボガス温度 (TEM) : 600°C

カーテンガス (CUR) : 10 psi

イオンスプレー電圧 (IS) : 4500 V

ネブライザーガス (GS1) : 80 psi

ターボガス (GS2) : 80 psi

コリジョンガス (CAD) : 3

物質名	モニターイオン (<i>m/z</i>)	ドリフト電圧 (DP)	コリジョン電圧 (CE)
BACHM	211.4>81.2 (定量用)	36 V	31 V
	211.4>95.3 (確認用)	36 V	23 V

[検量線]

検量線用標準液 10.0 µL を LC/MS/MS に注入し、ピーク面積と標準液濃度を用いて検量線を作成する。なお、BACHM は、2 つのピークが検出されるため、2 つのピーク面積を合計し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、ピーク面積より試験液中の濃度を求める。なお、BACHM は、2 つのピークが検出されるため、2 つのピーク面積を合計して濃度を算出する。

[濃度の算出]

試料水中濃度 *C* (ng/L) は次式により算出する。

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

[装置検出下限 (IDL)]

本分析に用いた LC/MS/MS (AB Sciex API3200) 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 (L)	最終液量 (mL)	IDL 試料換算値 (ng/L)
BACHM	0.067	0.100	10	6.7

〔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 7)。

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)
BACHM	水質	0.100	10	11	29

注解

- (注 1) 標準原液についてはガラス製のスタンダードカプセルで保存可能であるが、対象物質はガラス壁に吸着しやすいため、より低濃度の検量線用標準液の調製はポリプロピレン製またはポリエチレン製の容器を使用する。
- (注 2) 対象物質は、ガラス壁に吸着しやすいため、採取容器はポリプロピレン製またはポリエチレン製の容器を使用する。
メタノールは、対象物質の酸化、分解等を抑制するために添加する。試料採取後、直ちに添加することが望ましいが、できなければ、その日のうちに添加する。
- (注 3) 調製後、数日経過したギ酸 / メタノール (2:98, v/v) を用いると、対象物質が溶出されない場合があるため、ギ酸 / メタノール (2:98, v/v) は使用事調製する。
- (注 4) 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)でろ過し、ろ液のみを固相抽出する。ろ過せず、そのまま目詰まりの状態で長時間固相抽出すると回収率が低下する場合がある。
- (注 5) 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。また、測定用バイアルは、ポリプロピレン製またはポリエチレン製のバイアルを使用する。

(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	BACHM
試料量(水質)(L)	0.100
最終液量(mL)	10.0
注入液濃度(ng/mL)	0.50
装置注入量(μL)	10.0
結果 1 (ng/mL)	0.515
結果 2 (ng/mL)	0.526
結果 3 (ng/mL)	0.528
結果 4 (ng/mL)	0.506
結果 5 (ng/mL)	0.492
結果 6 (ng/mL)	0.504
結果 7 (ng/mL)	0.481
平均値(ng/mL)	0.5074
標準偏差	0.0172
IDL(ng/mL)*	0.067
IDL 試料換算値(ng/L)	6.7
S/N	11.1
CV(%)	3.4

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

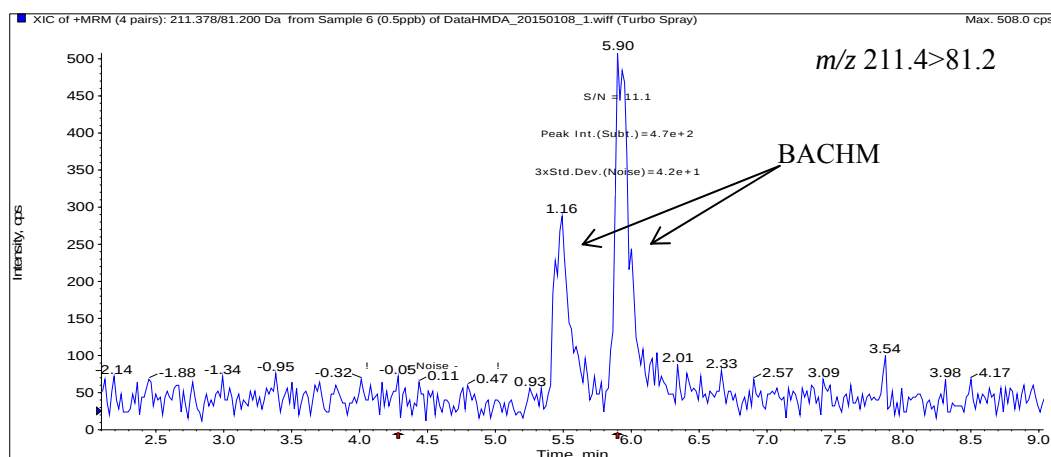


図1 IDL 測定時の SRM クロマトグラム (濃度 : 0.50 ng/mL)

(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	BACHM	回収率(%)
試料	海水	-
試料量 (L)	0.100	-
標準添加量 (ng)	5.00	-
試料換算濃度 (ng/L)	50.0	-
最終液量 (mL)	10.0	-
注入液濃度 (ng/mL)	0.500	-
装置注入量 (μL)	10.0	-
操作ブランク平均 (ng/L) ^{*1}	< 11	-
無添加平均 (ng/L) ^{*2}	< 11	-
結果 1 (ng/L)	47.0	94
結果 2 (ng/L)	48.0	96
結果 3 (ng/L)	42.8	86
結果 4 (ng/L)	42.0	84
結果 5 (ng/L)	44.2	88
結果 6 (ng/L)	42.6	85
結果 7 (ng/L)	49.2	98
平均値 (ng/L)	45.11	90.2
標準偏差	2.91	-
MDL(ng/L) ^{*3}	11	-
MQL(ng/L) ^{*4}	29	-
S/N	11.7	-
CV(%)	6.4	-

*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 算出用資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)×σ_{n-1}×2

*4：MQL=σ_{n-1}×10

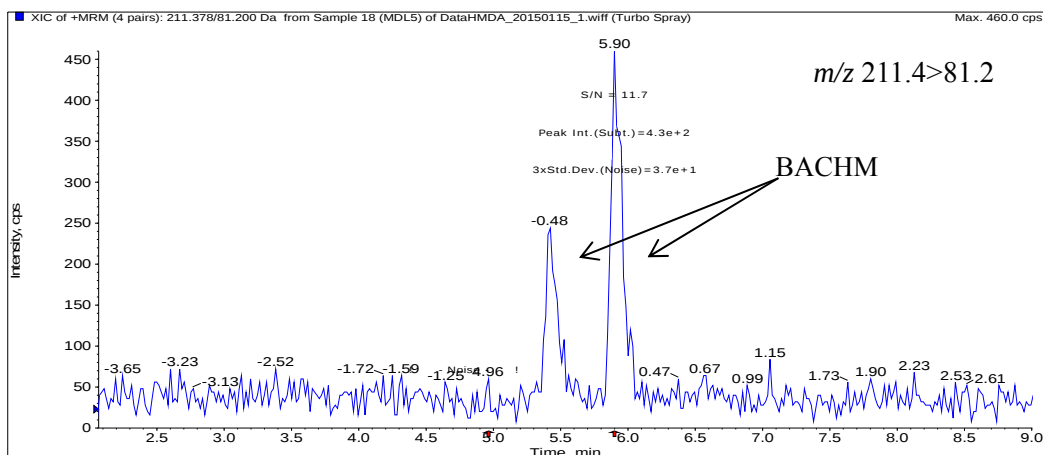


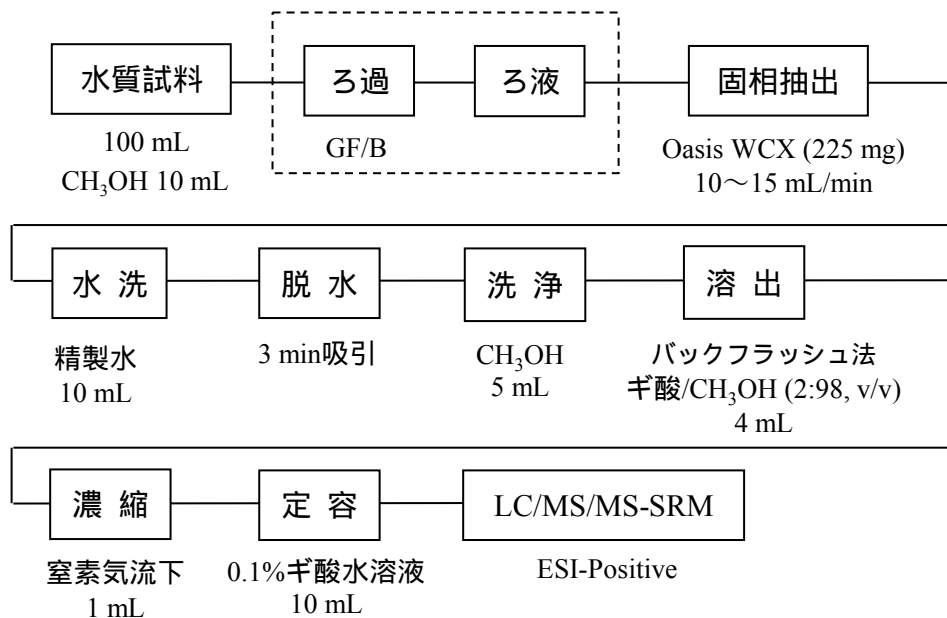
図2 MDL 算出時の SRM クロマトグラム

§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。



必要に応じて実施

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。なお、BACHM は、今回採用した測定方法では 2 つのピークが検出されるため、2 つのピーク面積を合計して検量線を作成した。

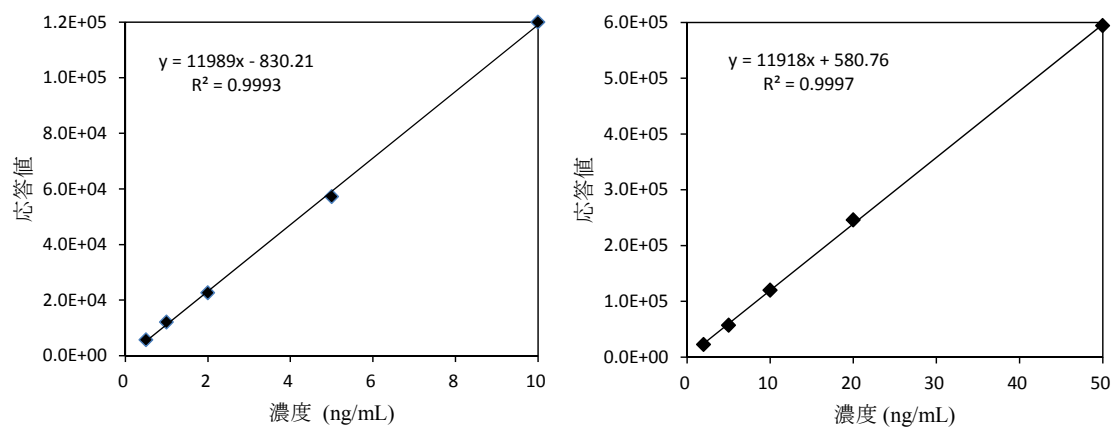


図 4 低濃度及び高濃度領域の BACHM の検量線
(対象物質濃度範囲 0.50-10.0 ng/mL (左図); 2.00-50.0 ng/mL (右図))

表 5 検量線作成用データ

標準液濃度 (ng/mL) (Cs)	応答値 (As)(m/z 211.4>81.2)
0.50	5740
1.00	12100
2.00	22600
5.00	57200
10.0	120000
20.0	246000
50.0	594000

〔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 5 に示す。

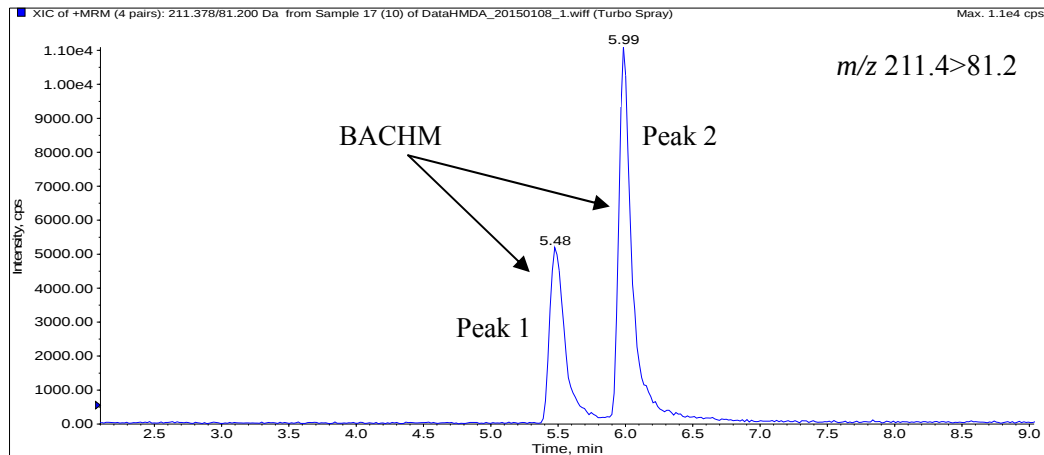


図 5 標準液の SRM クロマトグラム（濃度：10.0 ng/mL）

〔マスペクトル〕

BACHM のマスペクトルを図 6、7 に示す。

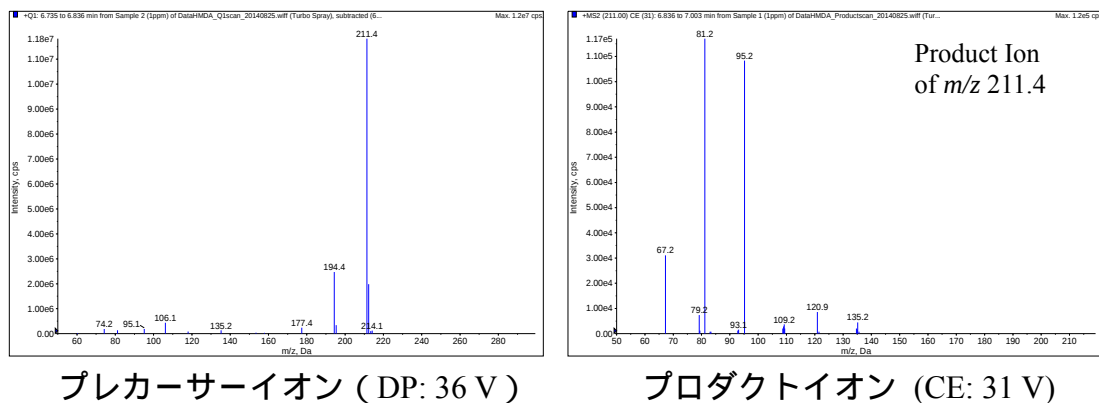


図 6 Peak 1 のマスペクトル

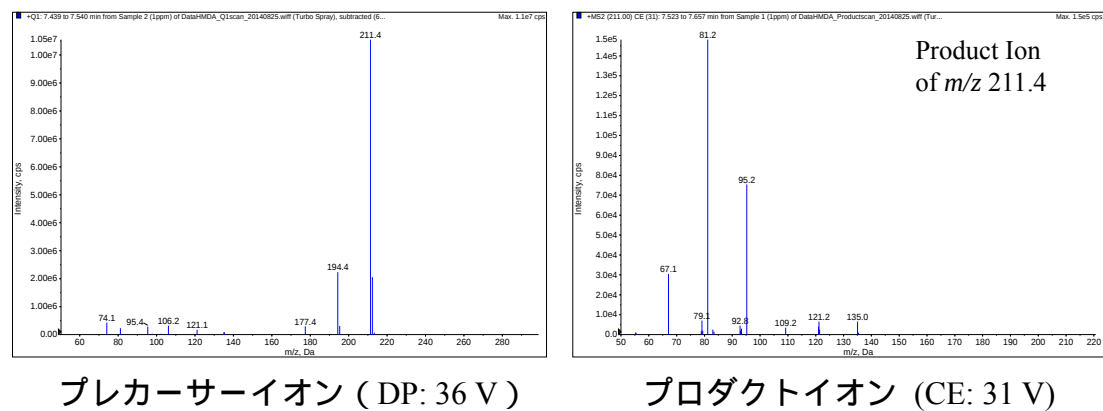


図 7 Peak 2 のマスペクトル

〔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 8 に示した。BACHM は検出下限未満であった。

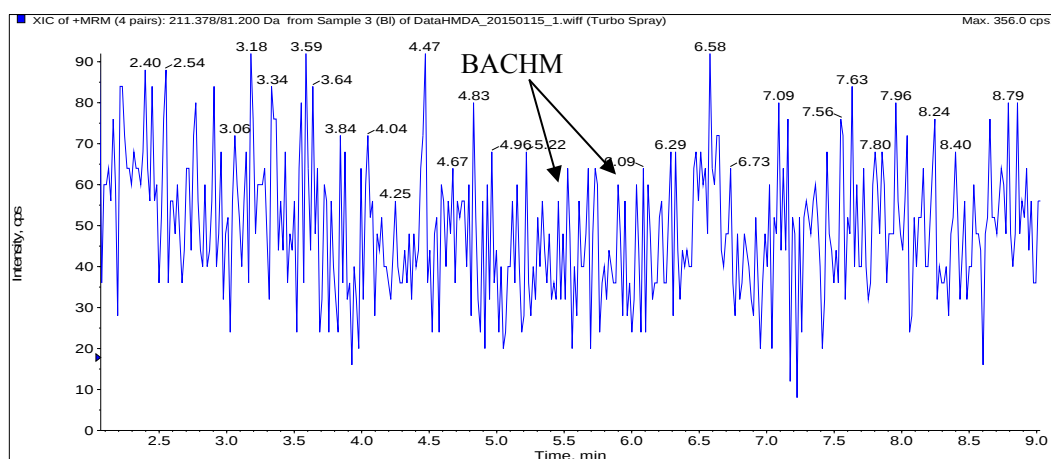


図 8 操作ブランクの SRM クロマトグラム

〔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 6 に、河川水（朝鮮川）及び海水（名古屋港）の SRM クロマトグラムを図 9、10 に示す。なお、試験に用いたすべての試料は、ガラス繊維ろ紙によるろ過操作を行わず、そのまま固相抽出した。

表 6 添加回収試験結果

物質名	試料名	試料量 (L)	試験数	添加量 (ng)	検出濃度 (ng/L)	回収率 (%)	変動係数 (%)
BACHM	精製水	0.100	3	無添加	< 11	-	-
		0.100	5	100	950	95	1.0
	河川水	0.100	3	無添加	< 11	-	-
		0.100	5	100	1020	102	2.4
	海水	0.100	3	無添加	< 11	-	-
		0.100	7	5.00	45	90	6.4
		0.100	5	100	940	94	2.0

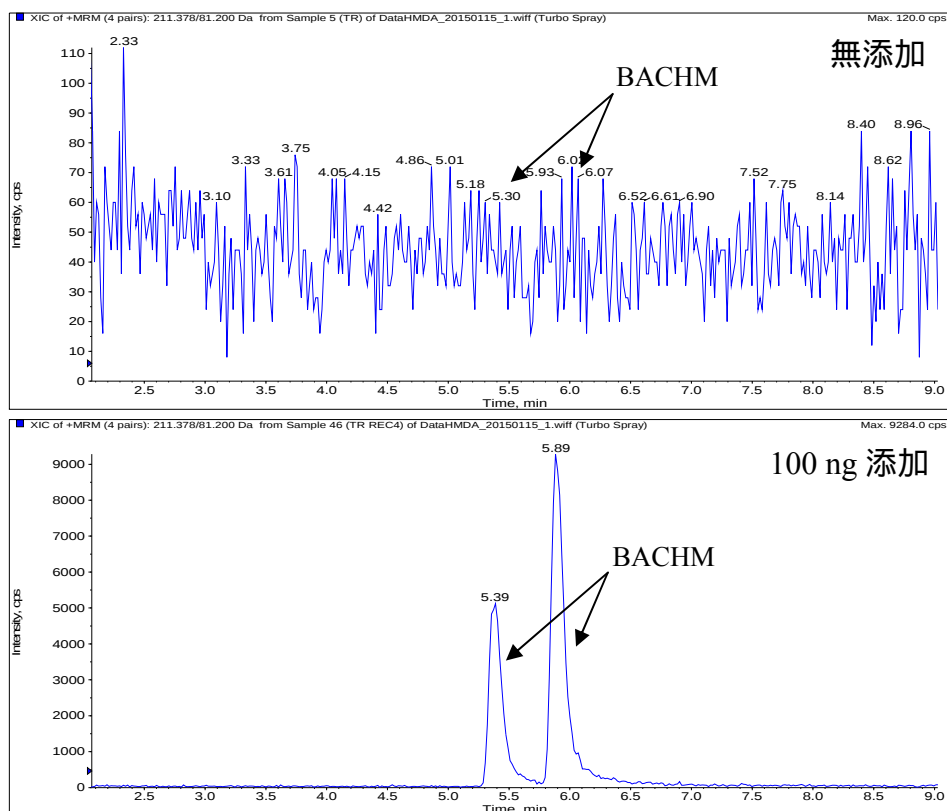


図9 河川水（朝鮮川）のSRMクロマトグラム

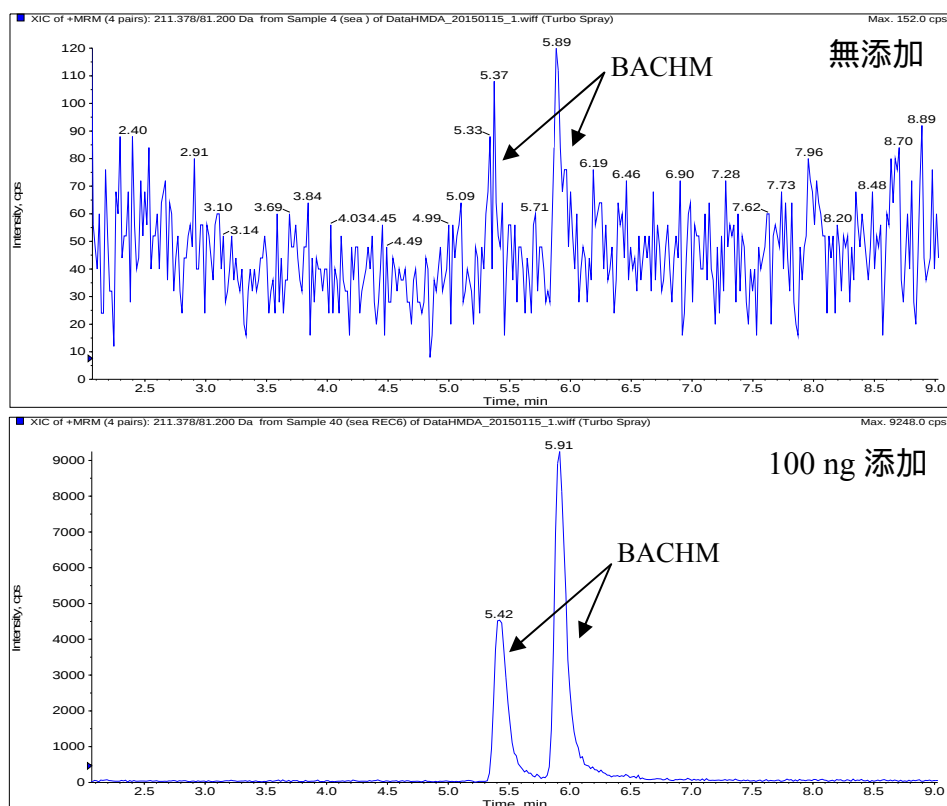


図10 海水（名古屋港）のSRMクロマトグラム

〔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。

表 7 分解性スクリーニング試験結果

物質名	pH	初期濃度 ($\mu\text{g/L}$)	1 時間後の 残存率(%)	7 日後の残存率(%)	
				暗所	明所
BACHM	5	1.0	99	99	—
	7	1.0	100	101	101
	9	1.0	93	91	—

〔保存性試験〕

保存性試験結果（保存温度：10°C、保存容器：PP 製容器）を表 8 に示す。精製水、海水については、14 日後の残存率はほぼ 100%となったが、河川水について、その残存率が 70%以下となった。メタノールを添加することにより、14 日後においても、100%残存していることが確認されたことから、試料採取後、試料 100 mL に対してメタノールを 10 mL 添加することにした。

表 8 保存性試験結果

物質名	試料名	添加剤	初期濃度 ($\mu\text{g/L}$)	残存率(%)				
				1 時間後	1 日後	3 日後	7 日後	14 日後
BACHM	精製水	無添加	1.0	106	96	101	94	94
		$\text{CH}_3\text{OH}^{1)}$	1.0	104	99	108	99	96
	河川水	無添加	1.0	104	110	106	100	65
		$\text{CH}_3\text{OH}^{1)}$	1.0	106	106	106	100	95
	海水	無添加	1.0	104	103	115	92	99
		$\text{CH}_3\text{OH}^{1)}$	1.0	104	106	105	97	94

1) CH_3OH は、試料 100 mL に対して 10 mL 添加した。

〔LC カラムの検討〕

BACHM は、図 11 に示したとおり、*trans, trans*-BACHM、*cis, trans*-BACHM、および *cis, cis*-BACHM の 3 種の異性体が存在するため、これらの異性体をできるだけ分離できるようにカラムの検討を行った。その結果、図 12 のとおり、3 種の異性体を分離できるカラムはないものの、Ascentis Express RP-Amide では、他のカラムと比べシャープなピーク形状を示し、2 つのピークに分離することが可能であった。このため、Ascentis Express RP-Amide を採用することとした。

なお、異性体混合物の組成は、生成条件によるが、一般的に *cis, cis*-BACHM の比率が低く、約 50%以上が *trans, trans*-BACHM であるといわれている。したがって、前のピークに *cis, trans*-BACHM が、後のピークに *trans, trans*-BACHM

が含まれ、*cis*, *cis*-BACHM はどちらかのピークに含まれるのではないかと推測された。

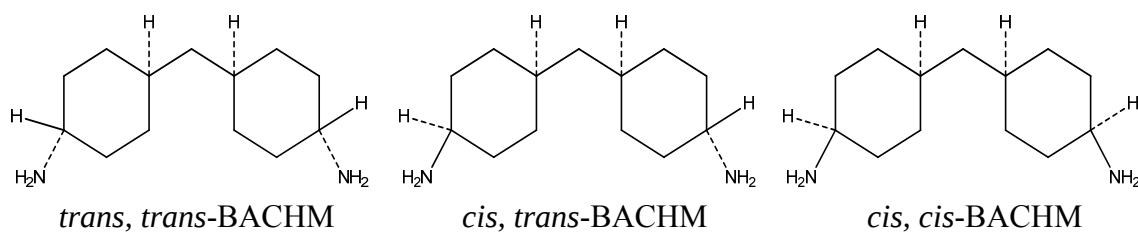
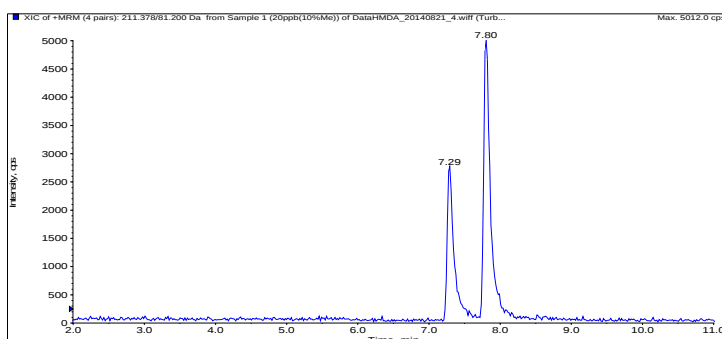
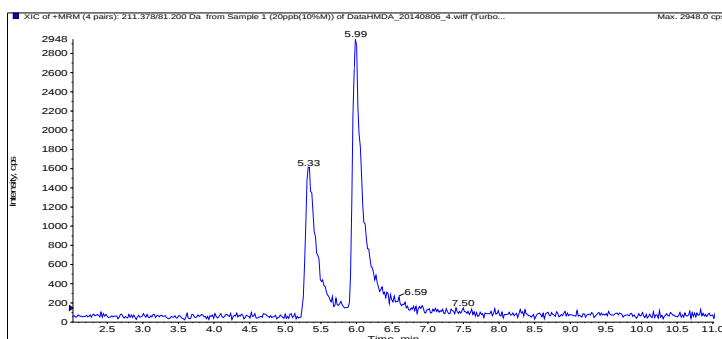


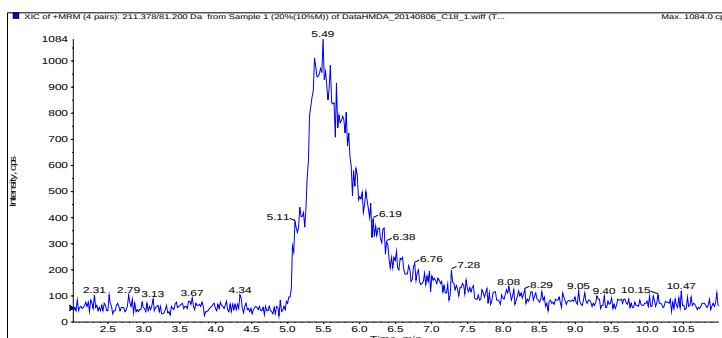
図 11 BACHM の構造



Ascentis Express RP-Amide
(2.1 × 150 mm, 2.7 μm)
A: 10 mmol/L HCOONH₄
B: CH₃CN
B: 2 → 30% (0 → 15 min)

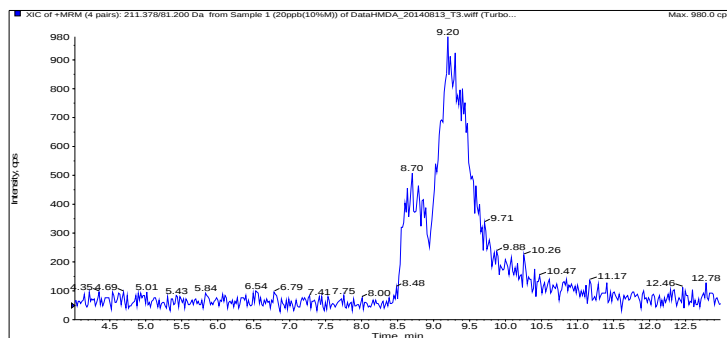


Ascentis Express RP-Amide
(2.1 × 100 mm, 2.7 μm)
A: 10 mmol/L HCOONH₄
B: CH₃CN
B: 2 → 20% (0 → 10 min)



Ascentis Express C18
(2.1 × 100 mm, 2.7 μm)
A: 10 mmol/L HCOONH₄
B: CH₃CN
B: 2 → 20% (0 → 10 min)

図 12-1 各 LC カラムの SRM クロマトグラム (濃度: 20.0 ng/mL)



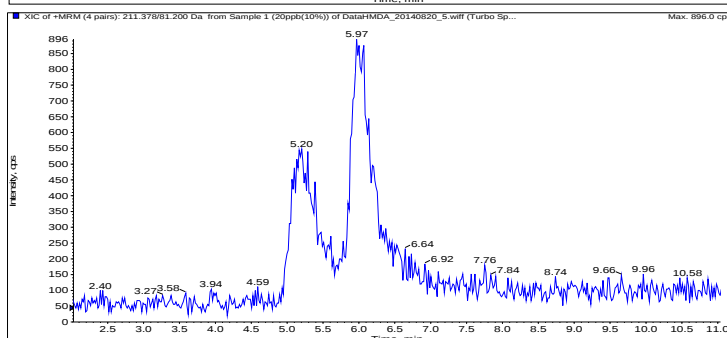
Atlantis T3

(2.1 × 150 mm, 3 μm)

A: 10 mmol/L HCOONH₄

B: CH₃CN

B: 2 → 30% (0 → 15 min)



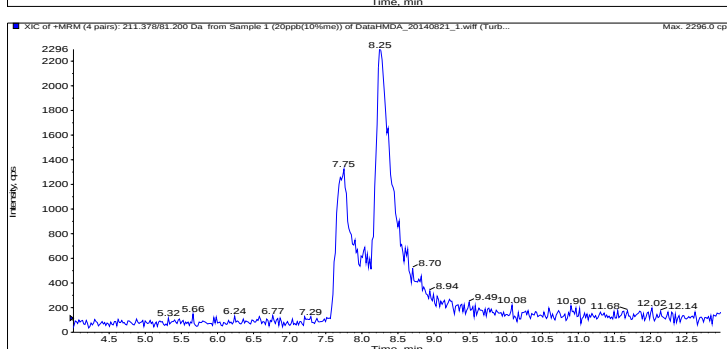
Inertsil ODS-EP

(2.1 × 150 mm, 5 μm)

A: 10 mmol/L HCOONH₄

B: CH₃OH

B: 2 → 45% (0 → 15 min)



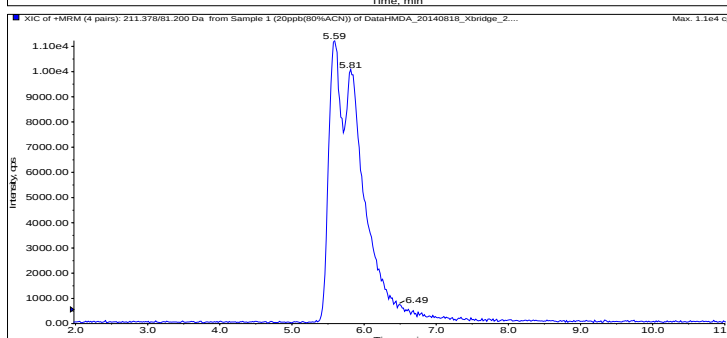
InertSuatain Phenyl

(2.1 × 150 mm, 3 μm)

A: 10 mmol/L HCOONH₄

B: CH₃OH

B: 2 → 45% (0 → 15 min)



XBridge-Amide

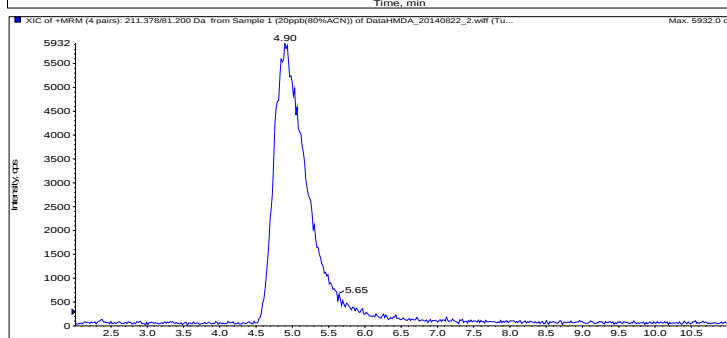
(2.1 × 150 mm, 3.5 μm)

A: 5 mmol/L HCOONH₄ (H₂O)

B: 5 mmol/L HCOONH₄

(CH₃CN:H₂O (9:1, v/v))

A:B = 20:80 (0-12 min)



Inertsil HILIC

(2.1 × 150 mm, 3 μm)

A: 5 mmol/L HCOONH₄ (H₂O)

B: 5 mmol/L HCOONH₄

(CH₃CN:H₂O (9:1, v/v))

A:B = 10:90 (0-12 min)

図 12-2 各 LC カラムの SRM クロマトグラム (濃度: 20.0 ng/mL)

〔標準液の保存性〕

標準液の保存性を確認するため、検量線作成用標準液の低濃度(2.0 ng/mL) と中間濃度(20 ng/mL)について保存性試験を行った。保存容器は、ガラス製の試験管とPP製の試験管で、10℃以下の冷暗所で保存した。その結果を表9に示した。ガラス容器については、残存率が低下したが、PP製容器は、低濃度においても7日後の残存率はほぼ100%であった。このため、検量線作成用標準液の調製はPP製の容器を使用する必要がある。

表9 標準液の保存性試験結果

濃度 (ng/mL)	保存容器	残存率(%)			
		0 日	1 日	3 日	7 日
2.0	ガラス	61	< 1	< 1	< 1
	PP	101	93	89	98
20	ガラス	58	30	33	34
	PP	104	104	107	105

注) 標準液の溶媒はメタノール/精製水 (1:9)

〔固相抽出の検討〕

1. 固相カートリッジの選定

対象物質は、塩基性物質であるため、逆相-陽イオン交換ミックスモード固相である Oasis MCX plus 及び Oasis WCX plus を検討した。試料 100 mL に対象物質を 200 ng 添加し、Oasis MCX plus (コンディショニング: 25%アンモニア水/メタノール(5:95) 5 mL、メタノール 10mL、精製水 10 mL) 又は Oasis WCX plus (コンディショニング: ギ酸/メタノール(2:98) 5 mL、メタノール 10mL、精製水 10 mL) に通水し、メタノール 5 mL で洗浄した後、Oasis MCX plus については、アンモニア水/メタノール(5:95)で、Oasis WCX については、ギ酸/メタノール(2:98)により、通水方向と逆向きから溶出した。その結果を表 10 に示した。Oasis MCX plus については、精製水でも全く回収されず、対象物質はかなりの強塩基性物質であると考えられた。Oasis WCX plus については、SS 分が多い河川試料においても 80%以上の回収率が得られ、Oasis WCX plus を用いることとした。

なお、当初、Oasis HLB plus で検討を行ったが、実試料において十分な回収が得られず、使用を断念した。その際の検討結果については、参考としてこの項の最後に示した。

表 10 Oasis MCX 及び Oasis WCX の添加回収試験結果

固相	試料量 (mL)	添加量 (ng)	回収率 (%)				
			Fr. ¹⁾	精製水	海水 ²⁾	河川水 ¹⁾	河川水 ²⁾
Oasis MCX	100	200	1	< 1	-	-	-
			2	< 1	-	-	-
			3	< 1	-	-	-
			計	< 1	-	-	-
Oasis WCX	100	200	1	< 1	< 1	< 1	< 1
			2	97	94	102	85
			3	< 1	< 1	< 1	< 1
			計	97	94	102	85

1) Oasis MCX の場合 Fr. 1 : CH₃OH 5 mL、Fr.2 : 25%アンモニア水/CH₃OH (5:95) 0~4 mL、
Fr.3 : 25%アンモニア水/CH₃OH (5:95) 4~8 mL

Oasis WCX の場合 Fr. 1 : CH₃OH 5 mL、Fr.2 : ギ酸/CH₃OH (2:98) 0~4 mL、
Fr.3 : ギ酸/CH₃OH (2:98) 4~8 mL

2) 海水 : SS 4 mg/L、pH 7.7

3) 河川水 1 : SS 1 mg/L、pH 7.0

4) 河川水 2 : SS 7 mg/L、pH 7.0

2. 固相抽出 (Oasis WCX) における pH の影響

Oasis WCX plus を用いた固相抽出における pH の影響を確認するため、pH 3~9 の水溶液を調製し、上述と同様に固相抽出を行い、メタノール 5 mL で洗浄した後、ギ酸/メタノール(2:98) 4 mL で通水方向と逆向きから溶出させた。その結果を図 13 に示した。この pH 範囲では問題なく抽出できることが確認された。

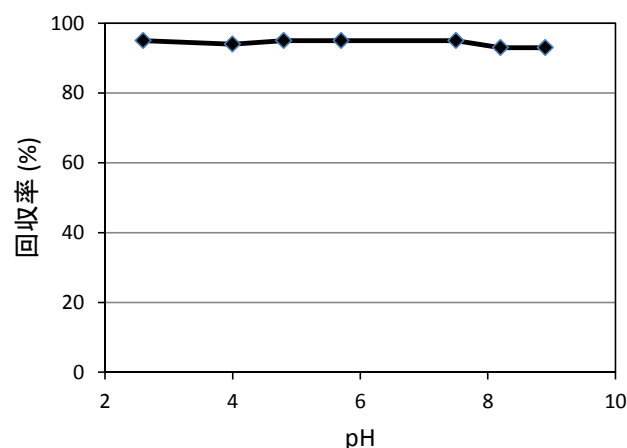


図 13 固相抽出 (Oasis WCX) における pH の影響

3. 固相抽出 (Oasis WCX) におけるメタノールの影響

保存性試験結果により、試料 100 mL に対し、メタノール 10 mL 添加する必要があるため、Oasis WCX plus を用いた固相抽出におけるメタノールの影響を確認した。精製水 100 mL にメタノールを 0, 10, 20, 40 mL 添加した試料を調製し、上述と同様に固相抽出を行い、メタノール 5 mL で洗浄した後、ギ酸 / メタノール(2:98) 4 mL で通水方向と逆向きから溶出させた。その結果を図 14 に示した。メタノール 40 mL 添加しても問題なく抽出できることが確認された。

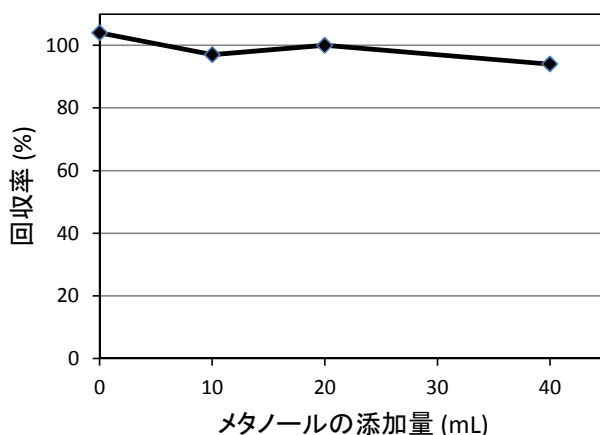


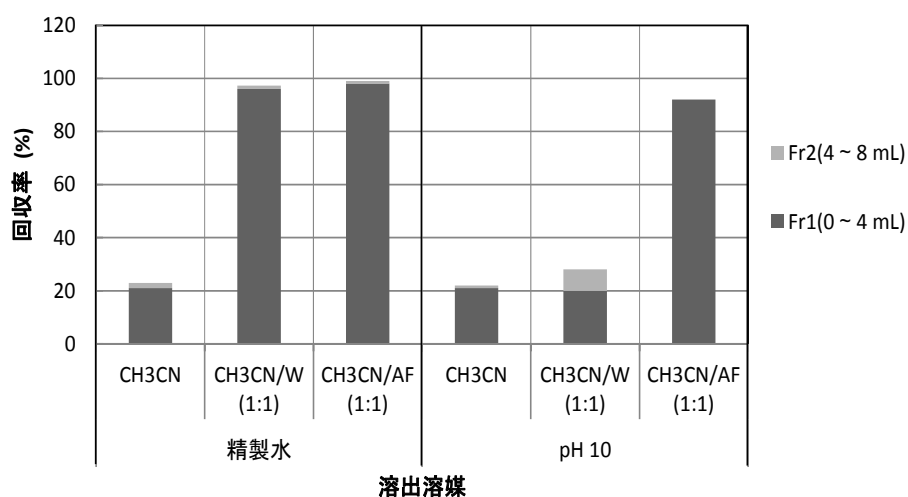
図 14 固相抽出 (Oasis WCX) におけるメタノールの影響

【参考】

Oasis HLB の検討結果

溶出溶媒

Oasis HLB plus (充填量 225 mg) を用い、固相抽出の検討を行った。精製水 100 mL 及び pH 10 に調整した水溶液 100 mL に対象物質を 200 ng 添加し、Oasis HLB plus (コンディショニング : CH₃CN 10mL, 精製水 10 mL) に通水し、溶出溶媒により、通水方向と逆向きから溶出させた。その結果を図 15 に示した。精製水においては、アセトニトリルでは、20%程度の回収率しか得られなかったが、アセトニトリル / 水 (1:1) ではほぼ 100%回収された。ただし、pH 10 の水溶液では、十分な回収が得られなかった。溶出溶媒をアセトニトリル / 10 mmol/L ギ酸アンモニウム水溶液 (1:1) にすることにより、pH 10 の水溶液においても、十分な回収が得られた。



CH₃CN/W (1:1) : アセトニトリル / 精製水 (1:1)

CH₃CN/AF (1:1) : アセトニトリル / 10 mmol/L ギ酸アンモニウム水溶液 (1:1)

図 15 Oasis HLB の溶出パターン

pH の影響

Oasis HLB plus を用いた固相抽出における pH の影響を確認するため、pH 4~9 の水溶液を調製し、上述と同様に固相抽出を行った。溶出は、アセトニトリル / 10 mmol/L ギ酸アンモニウム水溶液 (1:1) 4 mL で通水方向と逆向きから溶出させた。その結果を図 16 に示した。pH 6 以下の酸性下では固相に補足されないことが確認された。

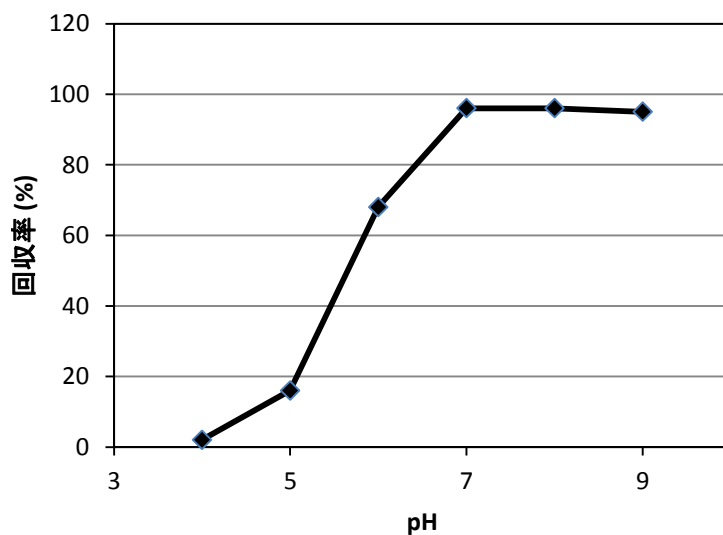


図 16 pH の影響

添加回収試験

海水、河川水を用いて添加回収試験を行った。試料 100 mL に対象物質を 200 ng 添加し、Oasis HLB plus(コンディショニング:CH₃CN 10 mL, 精製水 10 mL)に通水し、アセトニトリル / 10 mmol/L ギ酸アンモニウム水溶液 (1:1) により、通水方向と逆向きから溶出させた。その結果を表 11 に示した。どちらの試料も回収率は 40~60%であり、良好な結果が得られなかった。溶出溶媒について、酸性度をさらに高め、アセトニトリル / 0.1% ギ酸水溶液 (1:1)を用いても、回収率の改善は認められなかった。また、充填量が少ない Oasis HLB (60 mg)を用いても、回収率の改善は認められなかったため、Oasis HLB の使用を断念した。

表 11 Oasis HLB の添加回収試験結果

固相	試料量 (mL)	添加量 (ng)	溶出溶媒	回収率 (%)	
				海水 ⁴⁾	河川水 ⁵⁾
Oasis HLB plus (225 mg)	100	200	CH ₃ CN/AF-BF ¹⁾	54	36
Oasis HLB plus (225 mg)	100	200	CH ₃ CN/FA-BF ²⁾	45	28
Oasis HLB (60 mg)	100	200	CH ₃ CN/AF-NF ³⁾	25	—

1) CH₃CN/10 mmol/L ギ酸アンモニウム水溶液 (1:1) 4 mL をバックフラッシュにより溶出

2) CH₃CN/0.1%ギ酸水溶液 (1:1) 4 mL をバックフラッシュにより溶出

3) CH₃CN/10 mmol/L ギ酸アンモニウム水溶液 (1:1) 5 mL を通常方向より溶出

4) 海水：SS 4 mg/L、pH 7.7

5) 河川水：SS 7 mg/L、pH 7.0

〔試料採取容器の検討〕

対象物質は、標準液の保存性で示したとおり、ガラス壁に吸着しやすいため、試料採取容器は、プラスチック製の容器を使用する必要があった。このため、プラスチック製の容器として、ポリプロピレン(PP)製、低密度ポリエチレン(LPE)製、高密度ポリエチレン(HPE)製容器を用い、保存性の確認を行った。精製水に、対象物質を濃度が 1.0 µg/L になるように添加し、10℃ 以下の冷暗所に保管し、7 日後の残存率を確認した。また、精製水 100 mL あたりメタノールを 10 mL 添加した試料も調製し同様の試験を行った。その結果を表 12 に示した。どの容器も、残存率の低下は認められず、試料採取容器として使用できることが確認された。

表 12 試料採取容器の保存性

容器	添加剤	初期濃度 ($\mu\text{g/L}$)	残存率(%)	
			1 時間後	7 日後
PP ¹⁾	無添加	1.0	106	94
	CH ₃ OH ⁴⁾	1.0	104	99
LPE ²⁾	無添加	1.0	94	95
	CH ₃ OH ⁴⁾	1.0	94	93
HPE ³⁾	無添加	1.0	90	91
	CH ₃ OH ⁴⁾	1.0	92	93

1) PP: ポリプロピレン製容器

2) LPE: 低密度ポリエチレン製容器

3) HPE: 高密度ポリエチレン製容器

4) CH₃OH は、試料 100 mL に対し 10 mL 添加した。

〔SS 分の多い試料に対するろ過処理の検討〕

SS 分の多い試料については、固相抽出の際、目詰まりする場合があります、あらかじめろ過が必要となる。このため、SS 分の多い河川水 (SS: 24 mg/L) を用いて、ろ過後のろ紙中に残存する対象物質の状況を確認した。試料に対象物質を濃度が 2.0 $\mu\text{g/L}$ となるように添加し、10°C 以下の冷暗所で保管し、経過時間ごとに 100 mL 分取し、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 / 0.1%ギ酸水溶液 (1:1, v/v)で 3 回超音波抽出し、ろ液と抽出液を別々に定量した。また、試料 100 mL あたりメタノール 10 mL 添加したものも同様の試験を行った。その結果を表 13 に示した。メタノールを添加していない試料については、時間の経過に伴い、ろ液の回収率は徐々に低下し、SS 分に対象物質が吸着した可能性が考えられたが、ろ紙からは、いずれの試料からも対象物質は検出下限未満であった。このことから、対象物質は、環境水中ではほとんどが溶存態で存在するのでないかと考えられた。なお、今回は、保存性試験で示したとおり、試料にメタノールを添加することにしており、メタノールを添加した試料については、14 日後においてもろ液の回収率は低下せず、ろ紙からの対象物質の検出もなかった。したがって、SS 分の多い試料については、ガラス繊維ろ紙(GF/B)でろ過し、ろ液のみを固相抽出することにした。

表 13 河川水中の BACHM の存在形態

試料	添加剤	初期濃度 ($\mu\text{g/L}$)	形態	回収率(%)			
				1 時間後	1 日後	7 日後	14 日後
河川水 ¹⁾	無添加	2.0	ろ液	83	73	65	—
			ろ紙	< 1	< 1	< 1	—
	CH_3OH ²⁾	2.0	ろ液	82	—	—	79
			ろ紙	< 1	—	—	< 1

1) 河川水：SS 24 mg/L、pH 7.0

2) CH_3OH は、試料 100 mL あたり 10 mL 添加した。

〔溶出液の濃縮〕

本分析法では、固相抽出後の溶出液を 1 mL まで濃縮し、0.1%ギ酸水溶液を加え、最終的に 10 mL に定容して測定用試験液としているが、分析機関によっては、MDL を確保するために最終試験液をできるだけ少量にする場合も考えられた。このため、最終試験液を 1 mL にすることが可能かどうかを確認した。溶出液であるギ酸 / メタノール (2:98, v/v) 4 mL に BACHM 10 ng 添加し、窒素気流下で乾固寸前まで濃縮し、メタノール / 0.1%ギ酸水溶液(1:9, v/v)で 1 mL に定容し、回収率を確認した。その結果、回収率は 105%となり、濃縮による損失は認められなかった。実試料においては、夾雑物による定量値への影響を確認する必要はあるが、最終試験液を 1 mL にすることが可能ではないかと考えられた。

〔環境試料の分析〕

河川水（朝鮮川）、海水（名古屋港）の SRM クロマトグラムを図 17、18 に示す。河川水（朝鮮川）、海水（名古屋港）ともに BACHM は検出下限未満であった。

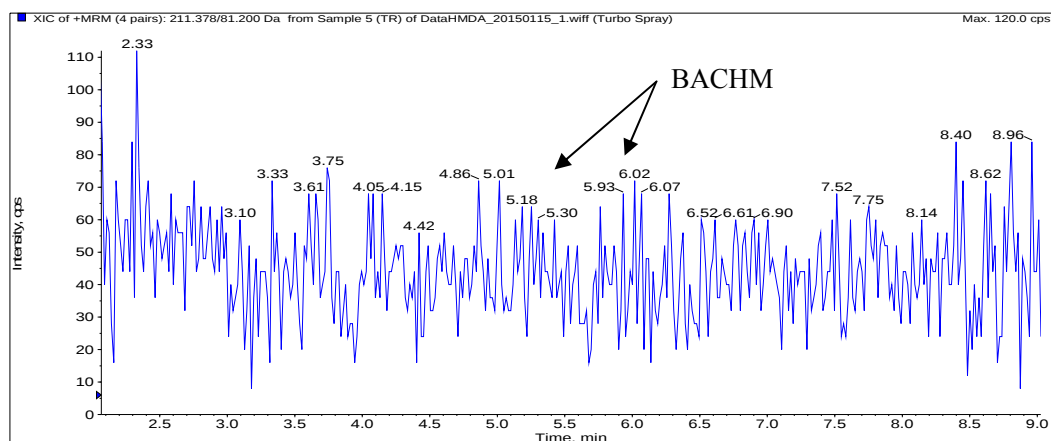


図 17 河川水（朝鮮川）の SRM クロマトグラム

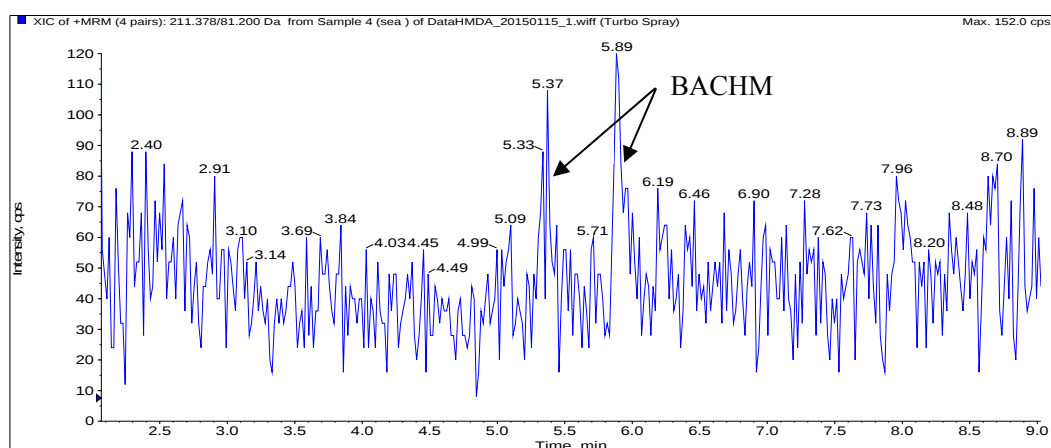


図 18 海水（名古屋港）の SRM クロマトグラム

【評価】

本法で用いた LC/MS/MS の IDL は、0.067 ng/mL (試料換算濃度 6.7 ng/L) であり、0.50 ~ 50.0 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。本法の MDL は 11 ng/L で、MQL は 29 ng/L であり、水質試料 (精製水、河川水、海水 (各 $n = 5$)) 100 mL に対象物質を 100 ng 添加した際の回収率は、94 ~ 102% (変動係数 1.0 ~ 2.4%) であった。また、定量下限値付近の濃度として、海水 100 mL に対象物質を 5.0 ng 添加して、回収試験 ($n=7$) を行ったところ、回収率は 90% で、変動係数は 6.4% であった。以上の結果より、本法は環境水中に含まれる BACHM を 30 ng/L レベルで定量が可能であると判断される。

【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

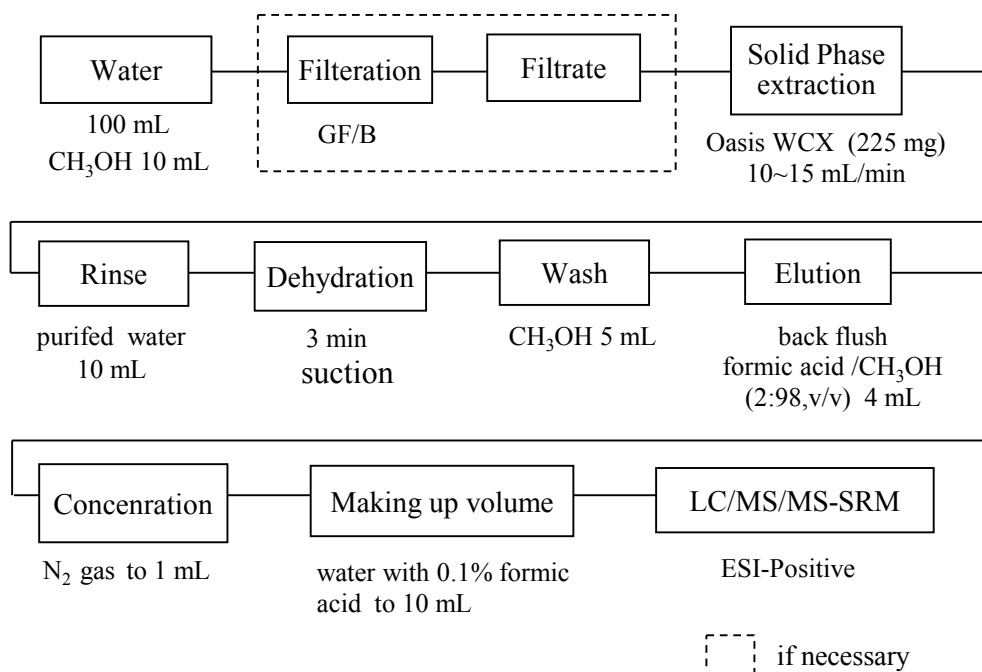
TEL：052-910-5494 FAX：052-991-6241

担当者名：内藤 宏孝

E-mail：hirotaka_naitou@pref.aichi.lg.jp

Bis(4-aminocyclohexyl)methane

This method provides a procedure for the determination of bis(4-aminocyclohexyl)methane (BACHM) in water samples by liquid chromatography/tandem mass spectrometry (LC/MS/MS). A water sample is stabilized with methanol to prevent the loss of the target analyte. The analyte is extracted from the water sample by passing the sample through the Oasis WCX plus cartridge, which contains a polymeric reversed-phase, weak cation-exchange mixed-mode sorbent, at the flow rate of 10 - 15 mL/min. After extraction, the cartridge is washed with 5 mL of methanol. The analyte is back-eluted from the cartridge with 4 mL of formic acid/methanol (2:98, v/v) solution. The eluate is concentrated to a volume of 1 mL under a gentle stream of nitrogen gas. The final volume is made up to 10 mL with water with 0.1% formic acid, and the analyte is determined by LC/MS/MS. The method detection limit is 11 ng/L and the mean recoveries in water samples ranged from 90 to 102% (relative standard deviation: 1.0 – 6.4%) for BACHM. The analyte in the river water and the sea water sampled at each one site in Aichi prefecture was determined using this method. BACHM was not detected either.



物質名	分析法フローチャート	備 考
ビス（4-アミノシクロヘキシル）メタン 別 名： 4,4'-ジアミノジシクロヘキシルメタン	【水質】 <pre> graph LR A["水質試料 100 mL CH₃OH 10 mL"] --> B["ろ過 GF/B"] B --> C["ろ液"] C --> D["固相抽出 Oasis WCX (225 mg) 10~15 mL/min"] D --> E["水洗 精製水 10 mL"] E --> F["脱水 3 min吸引"] F --> G["洗浄 CH₃OH 5 mL"] G --> H["溶出 バックフラッシュ法 ギ酸/CH₃OH (2:98, v/v) 4 mL"] H --> I["濃縮 窒素気流下 1 mL"] I --> J["定容 0.1%ギ酸水溶液 10 mL"] J --> K["LC/MS/MS-SRM ESI-Positive"] </pre> *: 必要に応じて実施	分析原理： LC/MS/MS-SRM ESI positive 検出下限値： 【水質】(ng/L) 11 分析条件： 機器 LC: SHIMADZU LC-20Series MS: API-3200 カラム Ascentis Express RP-Amide 150 mm × 2.1 mm, 2.7 μm