

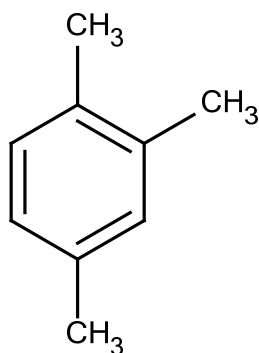
1,2,4-トリメチルベンゼン

1,2,4-Trimethylbenzene

別名：トリメチルベンゼン、プソイドキュメン、プソイドクメン、
プソイドクモール、シュードキュメン

Trimethylbenzene, Pseudocumene,
Pseudocumol

【対象物質の構造】



CAS 番号：95-63-6

分子式：C₉H₁₂

【物理化学的性状】

項目	値	測定条件	備考	出典
分子量	120.19	-	-	-
モアイソトピック質量	120	-	-	-
融点	-43.78°C	-	-	1
沸点	169-171°C	-	-	1
水溶解度	57 mg/L	25°C	-	2
蒸気圧	2.262 mmHg	25°C	-	3
分配係数 log P _{ow}	3.63	-	-	3
比重又は密度	0.8761	20/4°C	-	1
ヘンリー定数	0.569 Pa·m ³ /mol	-	-	4
引火点	44°C	closed cup	-	5
発火点	500°C	-	-	5
燃焼範囲	0.9-6.4 vol%	-	-	6

【毒性、用途等】

〔毒性〕⁷⁾

	動物種	投与経路	試験時間	毒性数値種類	毒性数値
健康影響	急性毒性 ラット	腹腔内注射	-	LD _{Lo}	1752 mg/kg
	ラット	経気道	4 時間	LC ₅₀	18 g/m ³
	モルモット	腹腔内注射	-	LD _{Lo}	1788 mg/kg
	ラット	経口	-	LD ₅₀	5000 mg/kg
毒性症状	経口摂取、腹腔内、皮フ接触により中程度の毒性。中枢神経系の機能低下、貧血、気管支炎を起こし得る。				

〔発がん性〕⁷⁾

評価機関	評価内容
ACGIH	TWA(ppm): 25

〔用途〕

トリメリット酸・ピロメリット酸・ビタミン E 原料、医薬・染料・顔料中間体⁸⁾、医薬、医薬中間体、合成中間体⁷⁾

〔関係法令〕⁷⁾

大気汚染防止法	: 有害大気汚染物質
労働安全衛生法	: 名称等を通知すべき有害物
消防法	: 危険物第 4 類
海洋汚染防止法	: A 類物質等
化学物質管理促進法	: 第一種指定化学物質
化学物質審査規制法	: 優先評価化学物質

出典

- 1) Budavari, S.,(Ed), The Merck Index Ver.12:2
- 2) Lide, D.R,(ed), CRC Handbook of Chemistry and Physics 84th Edition
- 3) Carl L..Yaws: Handbook of Chemical Compound Data for Process Safty, Gulf Publishing Company
- 4) Lide, D.R,(ed), CRC Handbook of Chemistry and Physics 88th Edition
- 5) International Chemical Safety Cards ICSC1433
- 6) Hazardous Substances Data Bank, National Library of Medicine

1~6) は、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)より引用

- 7) 神奈川県化学物質安全情報提供システム(kis-net)
- 8) 化学工業日報社

§1 分析法

(1) 分析法の概要

〔底質〕

底質試料にサロゲート内標準物質を添加し、メタノールで超音波抽出後、抽出液の一部を精製水に添加し、ページ・トラップ-GC/MS-SIM 法で測定する。

〔生物〕

生物試料にサロゲート内標準物質を添加し、メタノールでホモジナイズ抽出後、抽出液の一部を精製水に添加し、ページ・トラップ-GC/MS-SIM 法で測定する。

(2) 試薬・器具

【試薬】（注 1）

1,2,4-トリメチルベンゼン	: 東京化成工業製、1 mg/mL 水質分析用
1,2,4-トリメチルベンゼン- d_{12}	: C/D/N ISOTOPES 製、純度 98.0%
メタノール	: 和光純薬工業製、トリハロメタン測定用
精製水	: Milli-Q 水（注 2）
固相カートリッジ	: Waters 製、Sep-Pak AC2 Plus Short Cartridge 400 mg

【標準液の調製】

〔標準液〕

市販の 1,2,4-トリメチルベンゼン標準液（1000 $\mu\text{g/mL}$ 、メタノール溶液）を標準原液とする。標準原液を 1 mL 分取し、10 mL メスフラスコに加え、メタノールで 10 mL に定容し、100 $\mu\text{g/mL}$ の標準液を調製する。

〔サロゲート内標準液〕

1,2,4-トリメチルベンゼン- d_{12} を正確に 50.0 mg 量り取り、メタノールで 50 mL として 1000 $\mu\text{g/mL}$ のサロゲート内標準原液を調製する。サロゲート内標準原液をメタノールで正確に希釈して 100 $\mu\text{g/mL}$ 、2.50 $\mu\text{g/mL}$ 及び 0.200 $\mu\text{g/mL}$ のサロゲート内標準液を調製する。

〔検量線用標準液〕

100 µg/mL の標準原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。0.000400 ng/mL～0.400 ng/mL の検量線を作成するために 0.00400 ～ 4.00 µg/mL の検量線用標準液を調製する。

【器具】

ホモジナイザー	: エスエムテール（型式：PB95）
遠心分離機	: クボタ（型式：6200）
超音波洗浄装置	: アズワン（型式：USK-2）
超純水製造装置	: Gradient A10
ページ・トラップ用バイアル瓶	: I-Chem 製 44 mL
メスフラスコ	: ガラス製 50 mL、10 mL
ホールピペット	: ガラス製 2 mL、1 mL、0.5 mL
マイクロシリンジ	: ガラス製 250 µL、25 µL
遠心管	: ガラス製 50 mL

(3) 分析法

【試料採取及び保存等】

「化学物質環境実態調査実施の手引き」（平成 28 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。採取した底質試料は試料搬入後、底質試料は蓋を下にして冷蔵保存する。生物試料は冷凍庫で保存する。底質試料は遠心分離して水を取り除いた後のものを量り取り使用する。

【試料の前処理及び試験液の調製】

〔底質〕

底質試料 20 g-wet（10 g-dry 相当）を遠心管に量り、サロゲート内標準液(2.50 µg/mL)を 25 µL 添加し、メタノール 10 mL を加え、10 分間超音波抽出を行う。3000 rpm で 10 分間遠心分離し、液層をメスフラスコに採る。残渣にメタノール 10 mL を加え、10 分間超音波抽出を行う。3000 rpm で 10 分間遠心分離し、液層をメスフラスコに加え合わせ、メタノールで 25 mL に定容し（注 3）、試料液とする。50 mL メスフラスコに精製水を約 40 mL 入れ、試料液 400 µL を添加後、精製水で 50 mL に定容し、ゆるやかに混合したものを試験液とする。

〔生物〕

生物試料 10 g-wet を遠心管に量り、サロゲート内標準液(100 µg/mL)を 20 µL

添加し、メタノール 20 mL を加え、3 分間ホモジナイズする。3000 rpm で 10 分間遠心分離し、液層をメスフラスコに採る。残渣にメタノール 20 mL を加え、10 分間超音波抽出を行う。3000 rpm で 10 分間遠心分離し、液層をメスフラスコに加え合わせ、メタノールで 50 mL に定容し、試料液とする。50 mL メスフラスコに精製水を約 40 mL 入れ、試料液 25 μ L を添加後精製水で 50 mL に定容し、50 mL に定容し、ゆるやかに混合したものを試験液とする。

【測定】

〔GC/MS 条件〕

使用機種	: GCMS-QP2010 Ultra (島津製作所製)
使用カラム	: InertCap AQUATIC-2 (GL サイエンス製) 60 m $\times$ 0.25 mm , 1.40 μ m
カラム温度	: 35°C (5 min) $\rightarrow$ 20°C/min $\rightarrow$ 210°C $\rightarrow$ 3°C/min $\rightarrow$ 230°C (5 min)
試料導入方法	: ダイレクト
キャリアーガス	: He、2.5 mL/min (定流量)
インターフェース温度	: 240°C
イオン源温度	: 220°C
イオン化電圧	: 70 eV
検出モード	: SIM
モニターイオン	: 1,2,4-トリメチルベンゼン m/z 120 (定量用)、105 (確認用) 1,2,4-トリメチルベンゼン- d_{12} m/z 132 (定量用)、114 (確認用)

〔ページ・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
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	: 35°C
ページ時間	: 6 min
ページ温度	: 加温なし
ページ流量	: 40 mL/min
トラップ管	: AQUA-TRAP1 (GL サイエンス製)
ドライページ時間	: 3 min

ドライパージ温度	: 40 °C
ドライパージ流量	: 40 mL/min
デソープ時間	: 6 min
デソープ温度	: 230°C
試料管	: 5 mL
キャリアー圧力	: 120 kPa

〔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 及びサロゲート内標準液(0.200 µg/mL)5.00 µL を添加後ゆるやかに混合する。バイアルに気泡が入らないように入れて満水にし、転倒攪拌した後、パージ・トラップ-GC/MS に導入し、対象物質とサロゲート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サロゲート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〕

<底質>

試料中の濃度 C (µg/g-dry) は次式により算出する。

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

R_a : 検量線から求めた試料液中の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 (µg)

(= 添加するサロゲート内標準の濃度 (µg/µL) × 添加するサロゲート内標準の容量 (µL))

V : 試料量 (g-dry)

本分析法に従った場合、以下の数値を使用する。

$$Q = 0.0625 \text{ (µg)}$$

(= 添加サロゲート内標準の濃度 (0.00250 µg/µL) × 添加サロゲート内標準の容量 (25.0 µL))

即ち、

$$C = R_a \times 0.0625 / V \text{ (µg/g-dry)}$$

である。

<生物>

試料中濃度 C ($\mu\text{g/g-wet}$) は次式により算出する。

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

R_a : 検量線から求めた試料液中の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 (μg)
(= 添加するサロゲート内標準の濃度 ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$) $\times$ 添加するサロゲート内標準の容量 (μL))

V : 試料量 (g- wet)

本分析法に従った場合、以下の数値を使用する。

$$Q = 2.00 \text{ } (\mu\text{g})$$

(= 添加サロゲート内標準の濃度 ($0.100 \mu\text{g}/\mu\text{L}$) $\times$ 添加サロゲート内標準の容量 ($20.0 \mu\text{L}$))

即ち、

$$C = R_a \times 2.00 / V (\mu\text{g/g- wet})$$

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及び表2に示す(注4)。

表1 IDL の算出結果

物質名	IDL (ng/mL)	媒体名	試料 量* ¹	定容量 (mL)	分取 (mL)	最終液量 (mL)	IDL 試料 換算値* ²
1,2,4-トリメチル ベンゼン	0.00012	底質	10	25	0.40	50	0.037* ³
		生物	10	50	0.025	50	1.2

*1: 底質は g-dry、生物は g-wet

*2: 底質は ng/g-dry、生物は ng/g-wet

*3: 含水率 50%とした際の値

〔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 算出の結果

物質名	媒体名	試料量* ¹	定容量 (mL)	分取 (mL)	最終液量 (mL)	MDL* ²	MQL* ²
1,2,4-トリメチル ベンゼン	底質	10	25	0.40	50	0.066* ³	0.17* ³
	生物	10	50	0.025	50	3.0	7.8

*1: 底質は g-dry、生物は g-wet

*2: 底質は ng/g-dry、生物は ng/g-wet

*3: 含水率 50%の計算値（含水率 85%の場合、MDL : 0.22 ng/g-dry、MQL : 0.57 ng/g-dry）

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、ブランクの検出が極力少ないことを確認する。ブランクが検出される場合、Sep-Pak AC2 Plus Short Cartridge をメタノール 10 mL で洗浄し装置採水口に取り付けることでブランクを低減できる。AC2 は採水毎に新しいものを使用する。
- (注 3) 試料液量が 25 mL を超過した場合、超過した分を測定して正確な定容量を求める。
- (注 4) IDL は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」（平成 28 年 3 月）に準じて、以下の表 3 のとおり算出した。また図 1 及び図 2 に IDL 測定時のクロマトグラムを示した。

表 3 IDL の算出結果

対象物質名	1,2,4-TMB
試料量 (g-dry) ^{*1}	10.0
試料量 (g-wet) ^{*2}	10.0
注入液濃度 (ng/mL)	0.000400
結果 1 (ng/mL)	0.000373
結果 2 (ng/mL)	0.000404
結果 3 (ng/mL)	0.000410
結果 4 (ng/mL)	0.000426
結果 5 (ng/mL)	0.000392
結果 6 (ng/mL)	0.000359
結果 7 (ng/mL)	0.000342
平均値 (ng/mL)	0.0003868
標準偏差 (ng/mL)	0.0000301
IDL (ng/mL) ^{*3}	0.00012
IDL 試料換算値 (ng/g-dry) ^{*1}	0.037
IDL 試料換算値 (ng/g-wet) ^{*2}	1.2
S/N 比	11
CV (%)	7.8

*1：底質試料の試料量と IDL 試料換算値（含水率 50%の計算値）

*2：生物試料の試料量と IDL 試料換算値

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

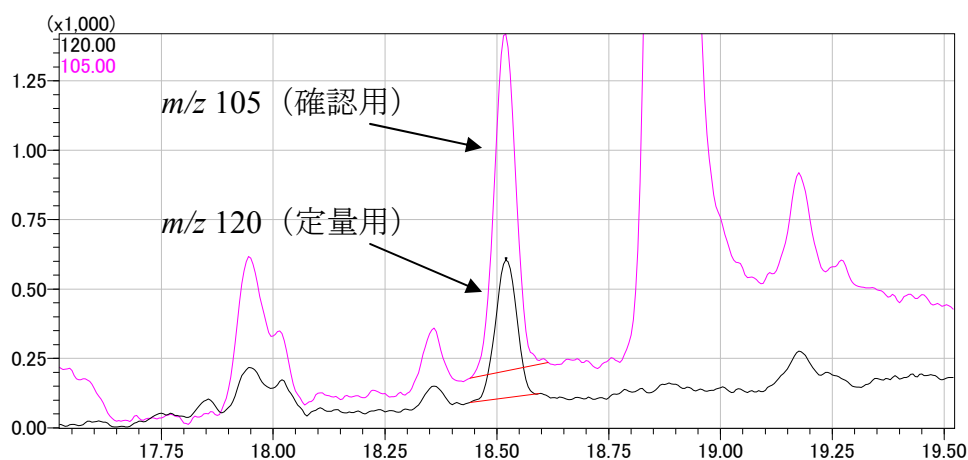


図1 1,2,4-トリメチルベンゼン IDL 測定時(0.000400 ng/mL)のクロマトグラム

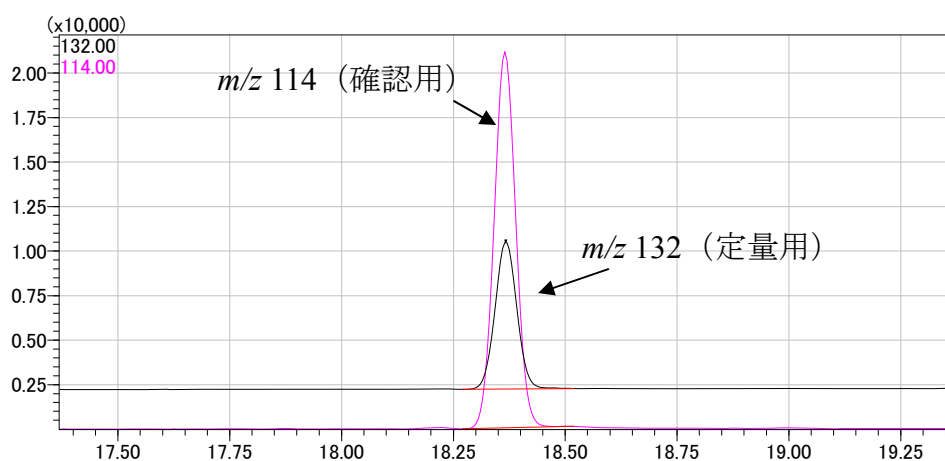


図2 1,2,4-トリメチルベンゼン- d_{12} IDL 測定時(0.0200 ng/mL)のクロマトグラム

(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28年3月)に従って、表4及び表5のとおり算出した。また図3及び図4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 (底質)

対象物質名	1,2,4-TMB	サロゲート 回収率 (%)
試料	海底泥	-
試料量 (g-dry)	10.0	-
標準添加量 (ng)	3	-
試料換算濃度 (ng/g-dry)	0.30	-
最終液量 (mL)	50	-
注入液濃度 (ng/mL)	0.00096	-
操作ブランク平均 (ng/g-dry)* ¹	<0.066	95
無添加平均 (ng/g-dry)* ²	0.18	76
結果 1 (ng/g-dry)	0.478	81
結果 2 (ng/g-dry)	0.443	91
結果 3 (ng/g-dry)	0.480	84
結果 4 (ng/g-dry)	0.461	88
結果 5 (ng/g-dry)	0.435	94
結果 6 (ng/g-dry)	0.468	79
結果 7 (ng/g-dry)	0.458	80
平均値 (ng/g-dry)	0.4605	85.3
標準偏差 (ng/g-dry)	0.0170	
MDL (ng/g-dry)* ³	0.066	
MQL (ng/g-dry)* ⁴	0.17	
S/N 比	16	
CV (%)	3.7	

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

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

表 5 MDL 及び MQL の算出結果 (生物)

対象物質名	1,2,4-TMB	サロゲート 回収率 (%)
試料	アイナメ	-
試料量 (g-wet)	10.0	-
標準添加量 (ng)	100	-
試料換算濃度 (ng/g-wet)	10	-
最終液量 (mL)	50	-
注入液濃度(ng/mL)	0.0010	-
操作ブランク平均 (ng/g-wet)* ¹	<3.0	110
無添加平均 (ng/g-wet)* ²	<3.0	110
結果 1 (ng/g-wet)	10.9	99
結果 2 (ng/g-wet)	11.6	99
結果 3 (ng/g-wet)	10.0	97
結果 4 (ng/g-wet)	11.4	95
結果 5 (ng/g-wet)	12.2	94
結果 6 (ng/g-wet)	10.8	93
結果 7 (ng/g-wet)	12.1	110
平均値 (ng/g-wet)	11.29	98.1
標準偏差 (ng/g-wet)	0.781	
MDL (ng/g-wet)* ³	3.0	
MQL (ng/g-wet)* ⁴	7.8	
S/N 比	12	
CV (%)	6.9	

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

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

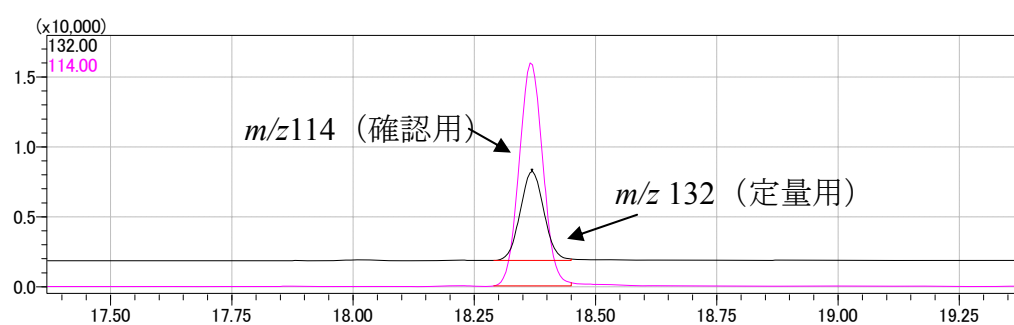
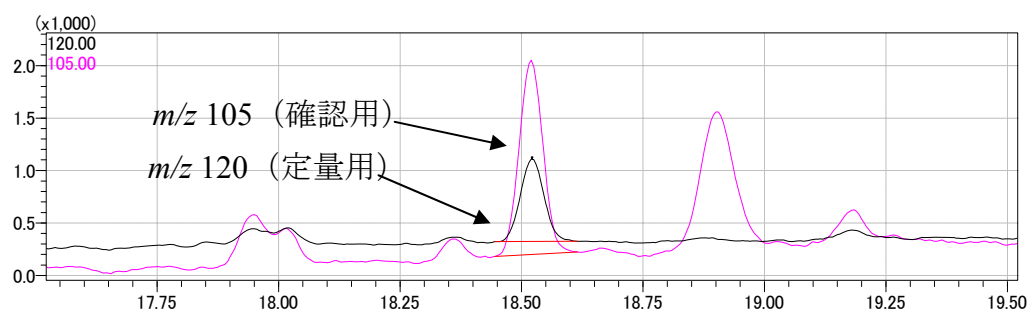


図3 MDL 試験試料（底質）のクロマトグラム

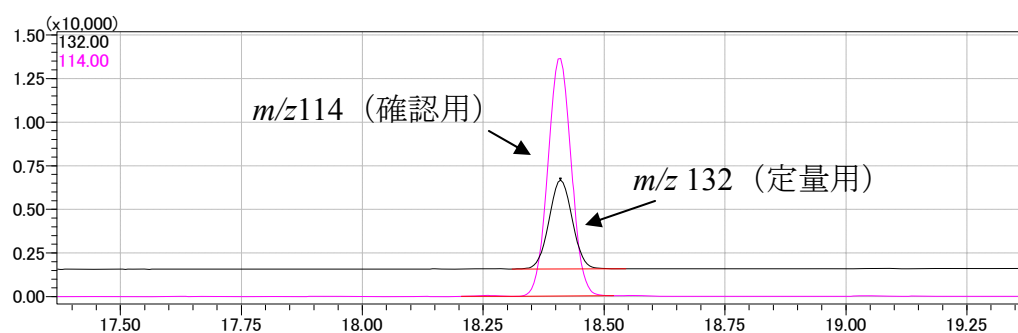
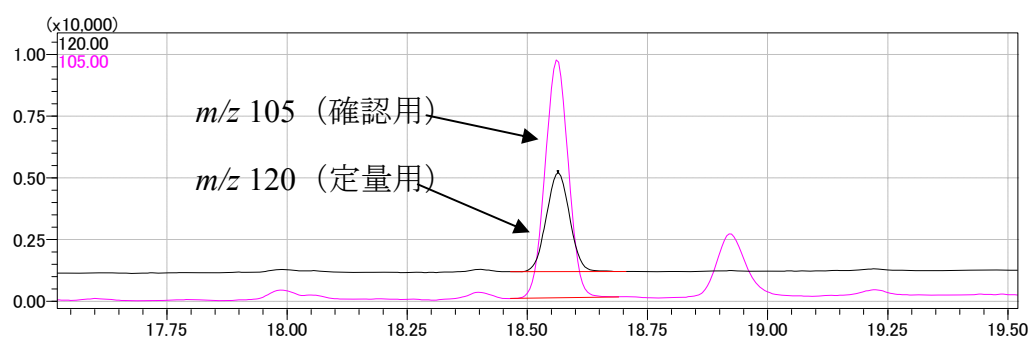


図4 MDL 試験試料（生物）のクロマトグラム

§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 5 及び図 6 に示す。

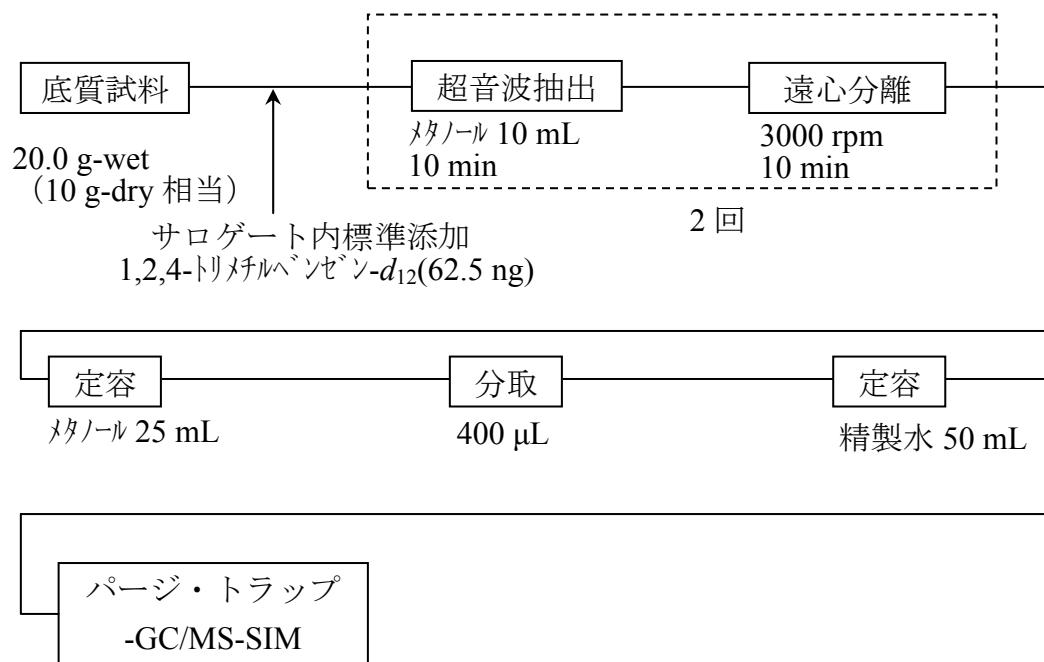


図 5 分析法のフローチャート (底質試料)

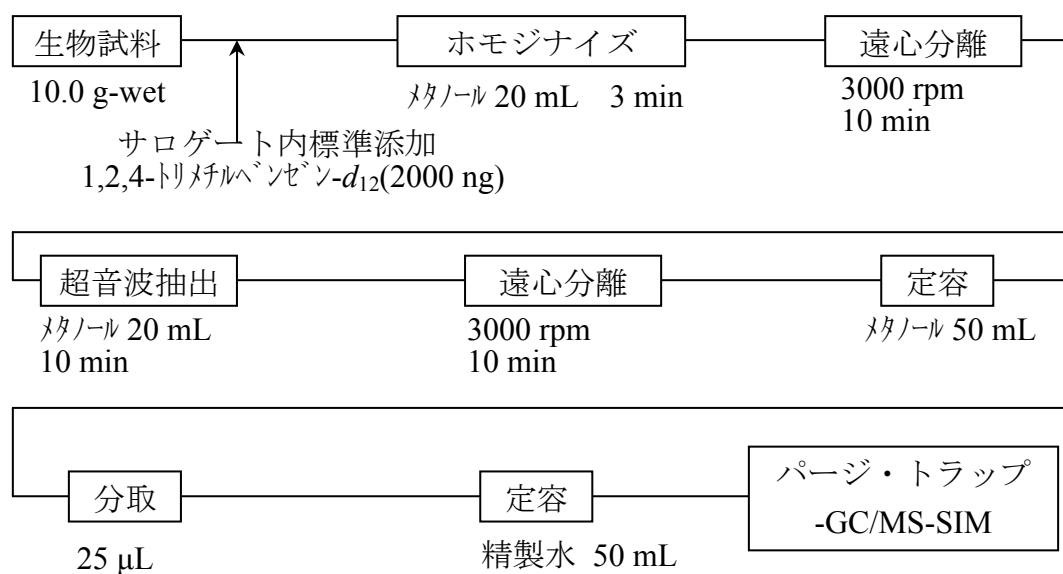


図 6 分析法のフローチャート (生物試料)

[検量線]

検量線を図 7 及び図 8 に、検量線作成用データを表 6 及び表 7 に示す。

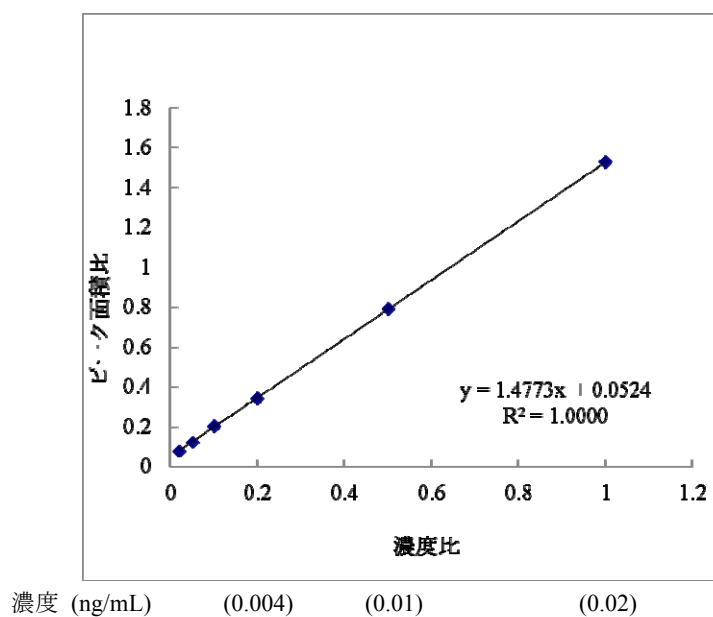


図 7 1,2,4-トリメチルベンゼンの検量線
(低濃度領域 0.000400 ng/mL～0.0200 ng/mL)

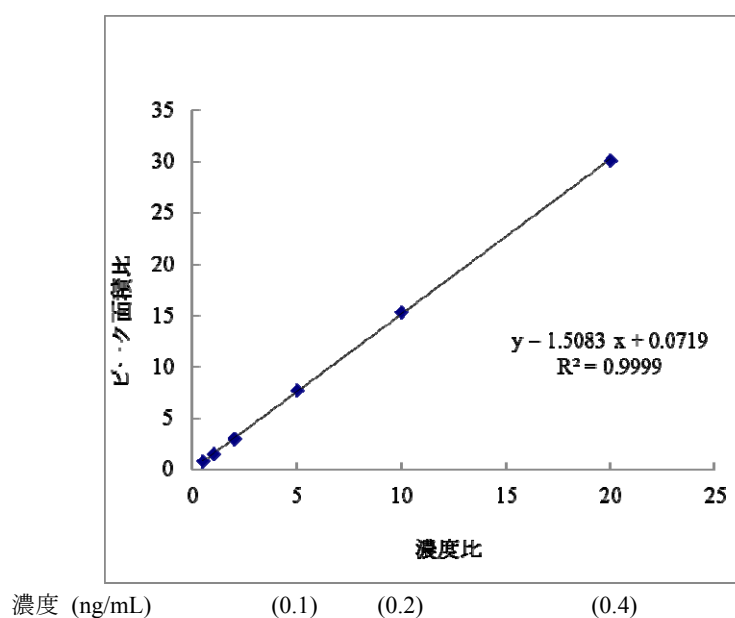


図 8 1,2,4-トリメチルベンゼンの検量線
(高濃度領域 0.0100 ng/mL～0.400 ng/mL)

表6 低濃度領域の検量線作成用データ

濃度 (C _s) ng/mL	応答値		応答比 (A _s /A _{is})
	対象物質(A _s) [1,2,4-トリメチルベンゼン] (m/z 120)	サロゲート	
		内標準物質(A _{is}) [1,2,4-トリメチルベンゼン -d ₁₂] (m/z 132)*	
0	714	19550	-
0.000400	1534	19194	0.0799
0.00100	2279	18299	0.125
0.00200	3772	18360	0.205
0.00400	6750	19562	0.345
0.0100	13528	17049	0.793
0.0200	28175	18431	1.53

*: サロゲート内標準濃度: 0.0200 ng/mL (C_{is})

表7 高濃度領域の検量線作成用データ

濃度 (C _s) ng/mL	応答値		応答比 (A _s /A _{is})
	対象物質(A _s) [1,2,4-トリメチルベンゼン] (m/z 120)	サロゲート	
		内標準物質(A _{is}) [1,2,4-トリメチルベンゼン -d ₁₂] (m/z 132)*	
0	714	19550	-
0.0100	13528	17049	0.793
0.0200	28175	18431	1.53
0.0400	59072	19656	3.01
0.100	150414	19534	7.70
0.200	305794	19939	15.3
0.400	621505	20622	30.1

*: サロゲート内標準濃度: 0.0200 ng/mL (C_{is})

<参考>

0.000400 ng/mL 以下を含む濃度域の検量線を図 9 に、検量線作成用データを表 6 に示す。0.000400 ng/mL 以下の濃度域でも S/N 比は 10 程度あるが、ブランクピークの影響により面積値が安定しないため、0.000400 ng/mL を検量線の最低濃度に設定した。

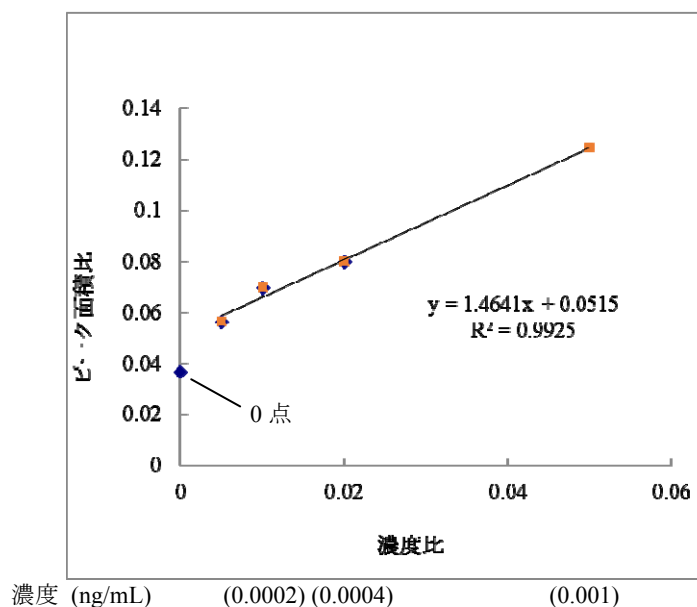


図9 1,2,4-トリメチルベンゼンの検量線
(低濃度領域 0.000100 ng/mL～0.00100 ng/mL)

表8 低濃度（0.000400 ng/mL以下含む）領域の検量線作成用データ
応答値

濃度 (C_s) ng/mL	対象物質(A_s) [1,2,4-トリメチルベンゼン] (m/z 120)	サロゲート 内標準物質(A_{is}) [1,2,4-トリメチルベンゼン- d_{12}] (m/z 132)*	応答比 (A_s/A_{is})
0	714	19550	-
0.000100	1032	18363	0.0562
0.000200	1270	18246	0.0696
0.000400	1534	19194	0.0799
0.00100	2279	18299	0.125

*: サロゲート内標準濃度: 0.0200 ng/mL (C_{is})

〔標準液のクロマトグラム〕

1,2,4-トリメチルベンゼン及び1,2,4-トリメチルベンゼン- d_{12} のクロマトグラムを図10に示す。

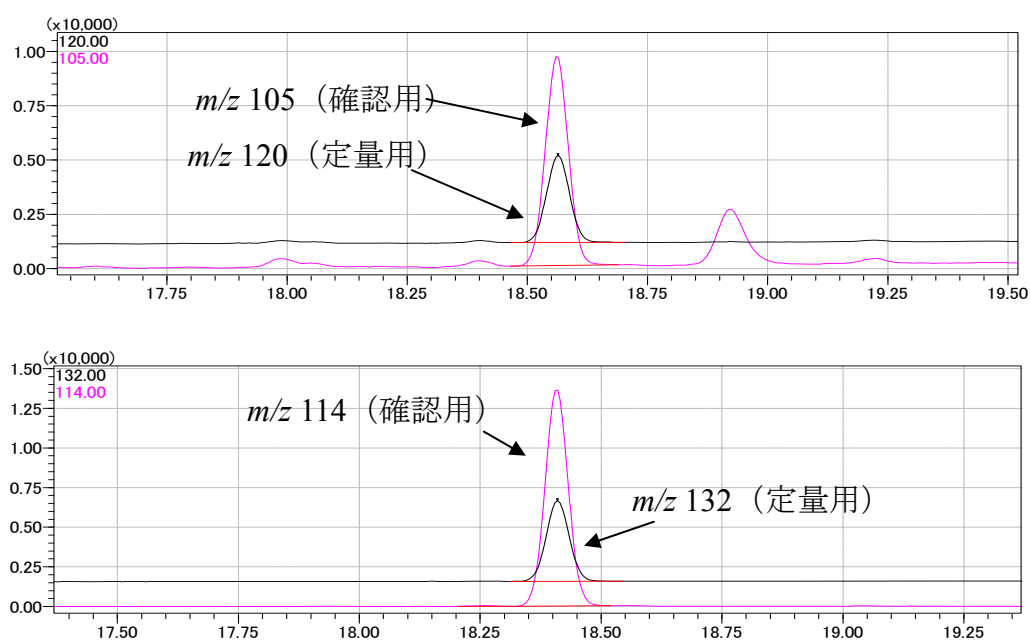


図 10 1,2,4-トリメチルベンゼン（上段：0.01 ng/mL）及び 1,2,4-トリメチルベンゼン- d_{12} （下段：0.0200 ng/mL）のクロマトグラム

〔マススペクトル〕

標準物質のマススペクトルを図 11 及び 12 に示す。

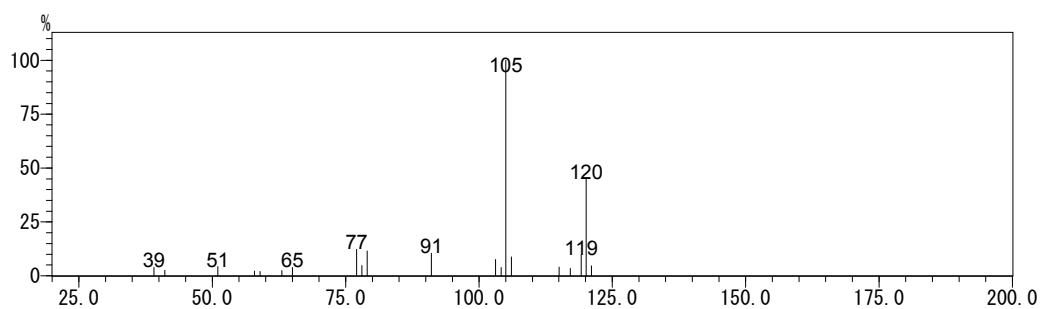


図 11 1,2,4-トリメチルベンゼンのマススペクトル

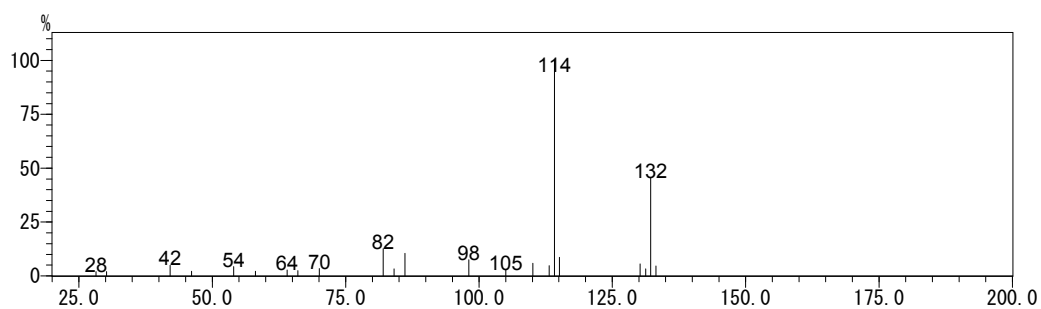


図 12 1,2,4-トリメチルベンゼン- d_{12} のマススペクトル

2016(H28)調査において、Milli-Q水のブランク低減の検討を行ったところ、白本使用のAC-2カートリッジより活性炭カートリッジ(EDS-pak)の方がブランク値を低減できることが確認したとの報告があった。(2017(H29)精査等検討会コメント)

〔操作ブランク〕

操作ブランクのクロマトグラムを図 13 及び 14 に示す。操作ブランクは S/N 比 3～5 のピークが検出されるが、MDL 以下であった。

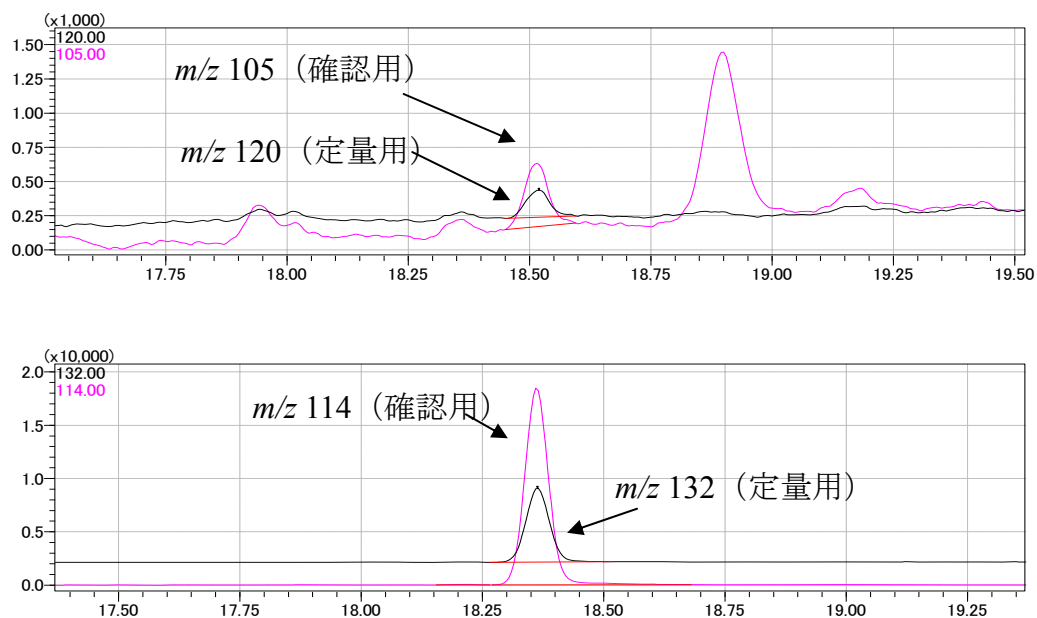


図 13 底質の操作ブランク（上段：1,2,4-トリメチルベンゼン、下段：1,2,4-トリメチルベンゼン- d_{12} ）のクロマトグラム

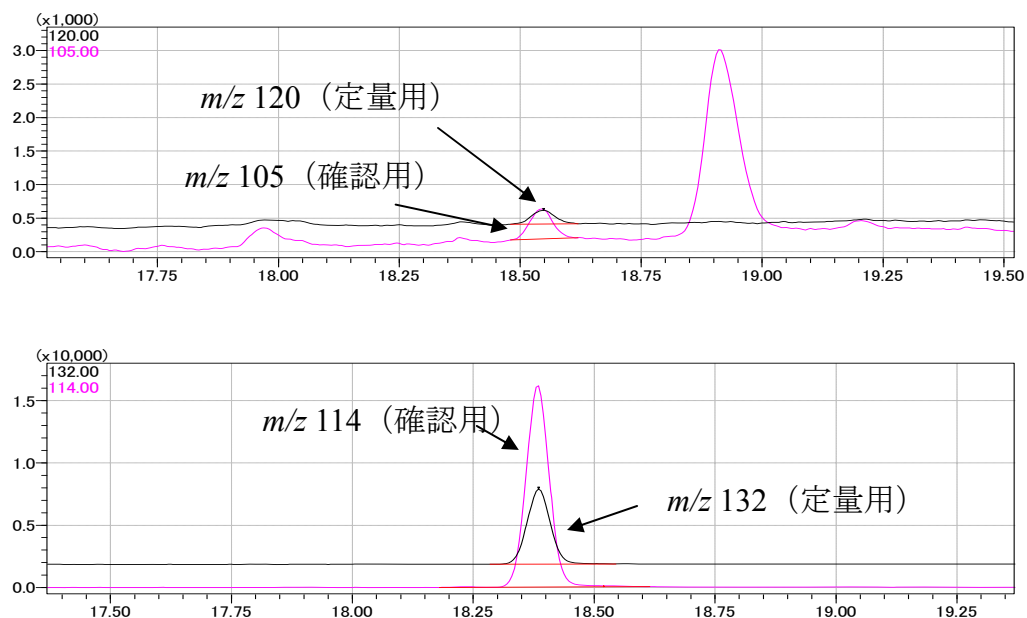


図 14 生物の操作ブランク（上段：1,2,4-トリメチルベンゼン、下段：1,2,4-トリメチルベンゼン- d_{12} ）のクロマトグラム

〔添加回収試験〕

底質の標準物質添加回収試験結果を表 9 に、図 15 から図 18 に添加回収試験のクロマトグラムを示す。

表 9 添加回収試験結果（底質）

試料名	試料量 (g-dry)	添加量 (ng)	試験 数	検出濃度 (ng/g-dry)	回収率 (%)	変動 係数 (%)	サロゲー ト回収率 (%)
横浜港	10.0	無添加	2	0.18	-	-	76
	10.0	20	3	2.2	100	4.3	78
諏訪湖 湖心	3.0	無添加	1	0.32	-	-	93
	3.0	10	5	3.7	100	7.2	87

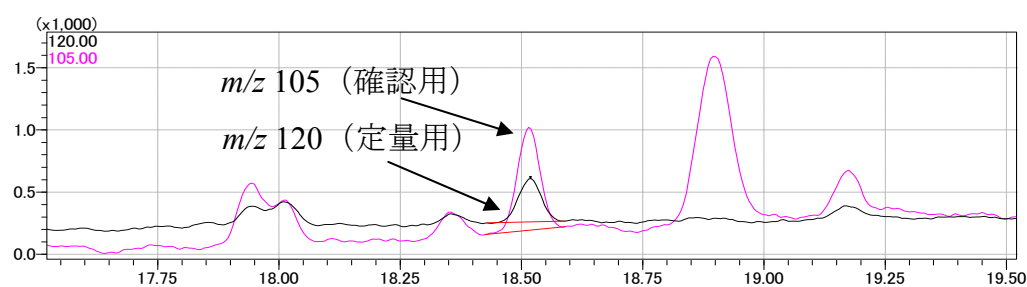


図 15 横浜港（底質）の無添加試料のクロマトグラム

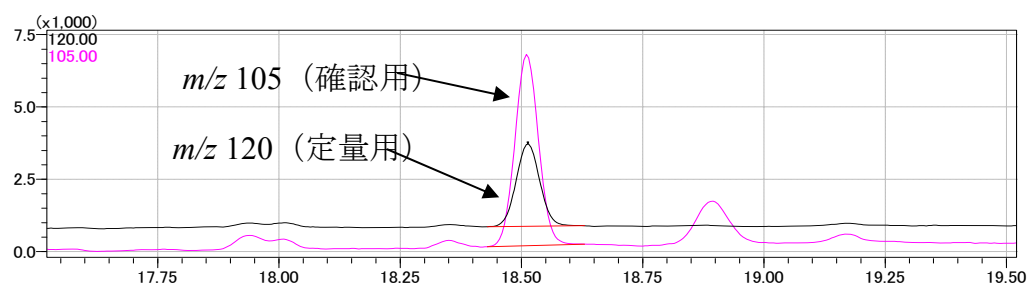


図 16 横浜港（底質）の添加試料のクロマトグラム

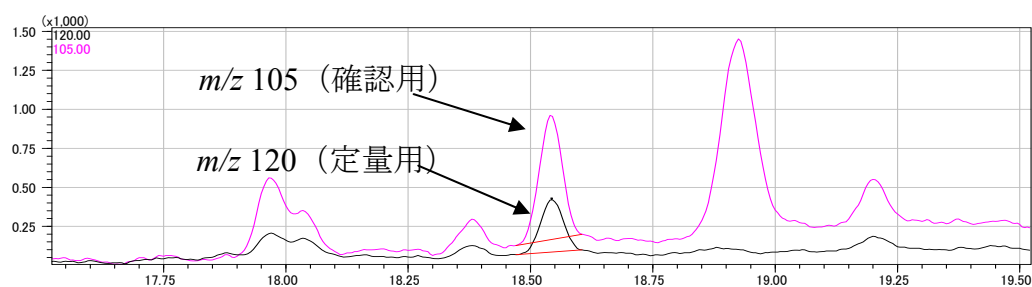


図 17 諏訪湖湖心（底質）の無添加試料のクロマトグラム

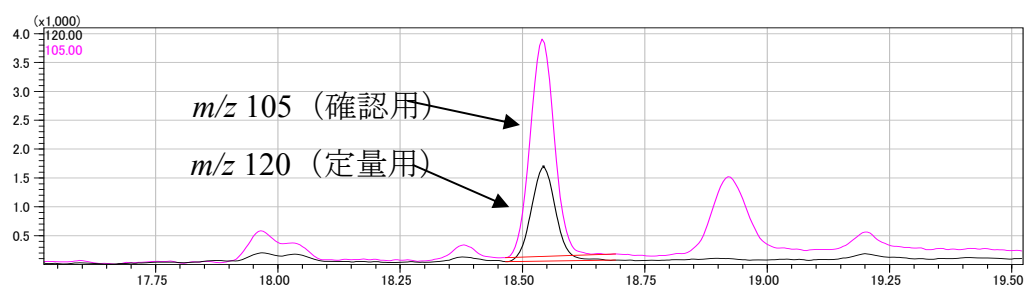


図 18 諏訪湖湖心（底質）の添加試料のクロマトグラム

生物の標準物質添加回収試験結果を表 10 に、図 19 から図 24 に添加回収試験のクロマトグラムを示す。

表 10 添加回収試験結果（生物）

試料名	試料量 (g-wet)	添加量 (ng)	試験 数	検出濃度 (ng/g-wet)	回収率 (%)	変動 係数 (%)	サロゲー ト回収率 (%)
ムラサキイガイ	10.0	無添加	2	<3.0	-	-	105
山田湾	10.0	500	5	48.7	97	1.7	97
コイ	10.0	無添加	2	<3.0	-	-	98
信濃川下流	10.0	500	5	50.7	102	1.2	107
スズキ	10.0	無添加	2	<3.0	-	-	97
東京湾	10.0	500	5	50.5	101	3.3	100

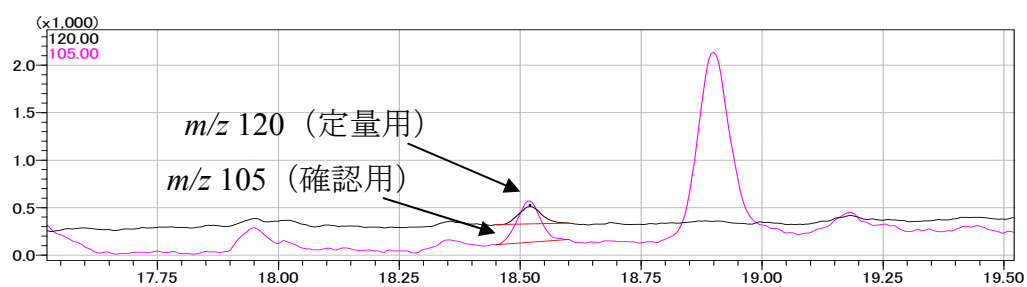


図 19 ムラサキガイの無添加試料のクロマトグラム

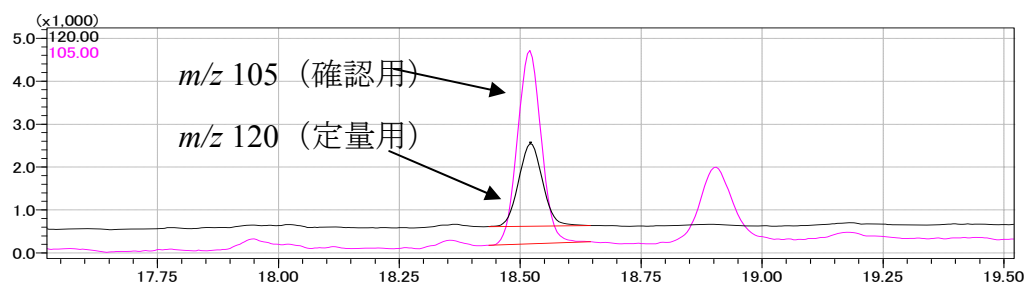


図 20 ムラサキガイの添加試料のクロマトグラム

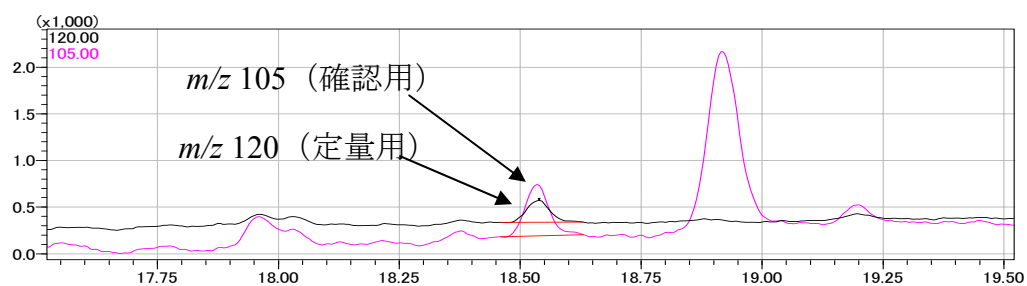


図 21 コイの無添加試料のクロマトグラム

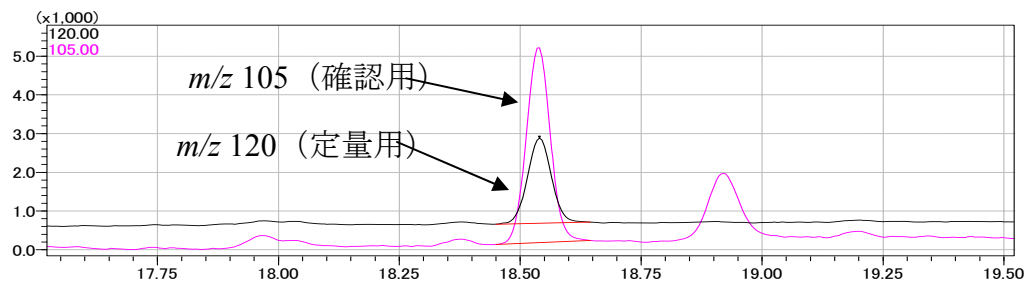


図 22 コイの添加試料のクロマトグラム

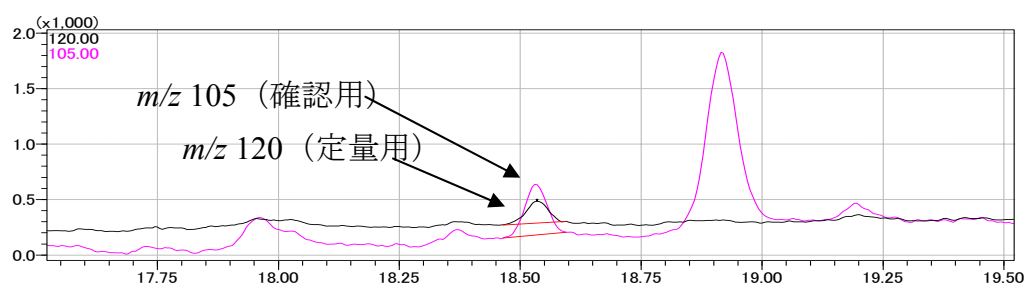


図 23 スズキの無添加試料のクロマトグラム

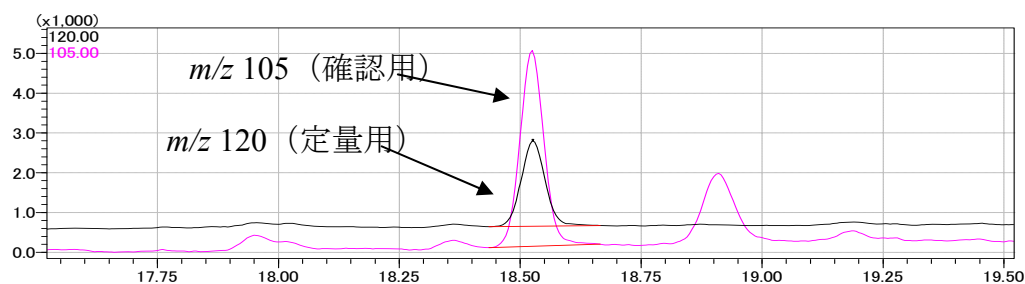


図 24 スズキの添加試料のクロマトグラム

〔保存性試験〕

粗抽出液の保存性試験結果を表 11 に示す。

底質試料（海底泥 20.0 g-wet）に 1,2,4-トリメチルベンゼンを 20 ng、生物試料（スズキ 10.0 g-wet）は 500 ng 添加し、各々抽出液を作製した。密栓した後、冷凍庫（-20℃）で保存し、作製直後及び 7 日目に測定した。抽出液中の 1,2,4-トリメチルベンゼン及び標準液は 1 ヶ月間安定であった。

表 11 粗抽出液の保存性試験結果

試料	設定濃度	残存率(%)* (検出濃度(ng/g))		
		0 日間	7 日間	1 ヶ月間
海底泥	2.0 ng/g	112 (2.2)*	111 (2.2)*	113 (2.3)*
スズキ	50 ng/g	101 (51)*	105 (52)*	99.8 (50)*
標準液	0.01 ng/mL	—	—	96.4

*：調製濃度に対する検出濃度の割合

〔異性体物質の分離検討〕

1,2,4-トリメチルベンゼンの異性体を同条件で測定し、1,2,4-トリメチルベンゼンと他の各異性体ピークが分離していることを確認した。図 25 に異性体測定時のクロマトグラムを示す。

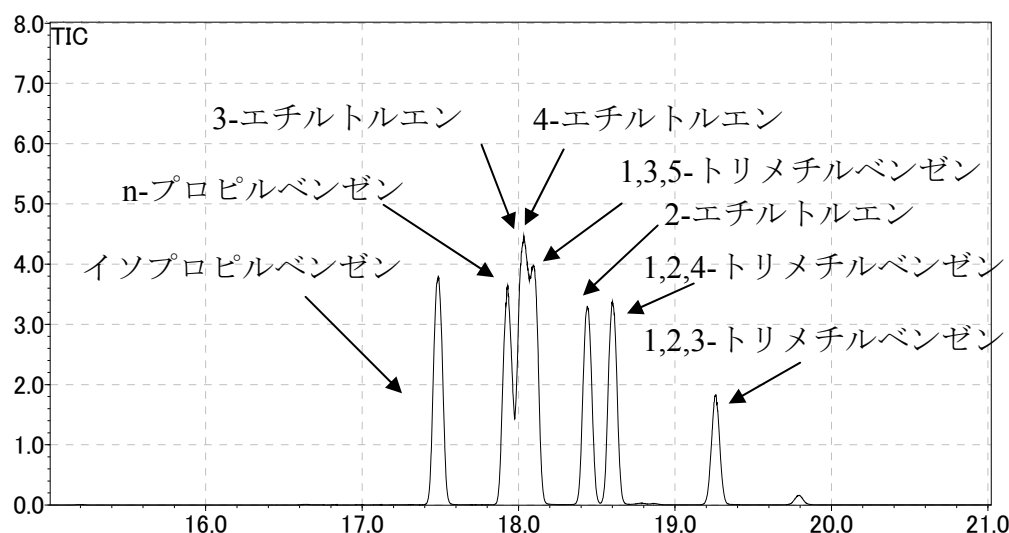


図 25 1,2,4-トリメチルベンゼンの異性体測定

〔精製水の検討〕

当初は精製水としてボルビックを使用していたがブランクが高く、他のミネラルウォーターも検討したが、これらはボルビックよりもブランクが高かった。そこで Milli-Q 水を検討したところ比較的ブランクが低かったため、精製水には Milli-Q 水を使用した。また、ボルビックを冷蔵庫内で保存したものは、約 1 カ月で 1,2,4-トリメチルベンゼンのピーク面積値が 2 倍に増加した。ミネラルウォーターは保管している間にトリメチルベンゼンに汚染されやすいが、Milli-Q 水は製造機からバイアルに直接汲み取ってすぐに使用したため、比較的ブランクが低くなったものと考えられる。

表 12 にボルビックと Milli-Q 水の 1,2,4-トリメチルベンゼンの面積値を、図 26 から図 28 に Milli-Q 水とボルビックのクロマトグラムを示す。

表 12 精製水の種類による 1,2,4-TMB の面積値

精製水	面積値 (n=2)	平均
Milli-Q 水	724	815
	905	
ミネラルウォーター (ボルビック)	1726	2233
	2739	
ミネラルウォーター (ボルビック) (冷蔵庫内保存)	5555	5663
	5770	
ミネラルウォーター (エビアン)	2751	2672
	2592	
ミネラルウォーター (いろはす)	4021	4070
	4118	

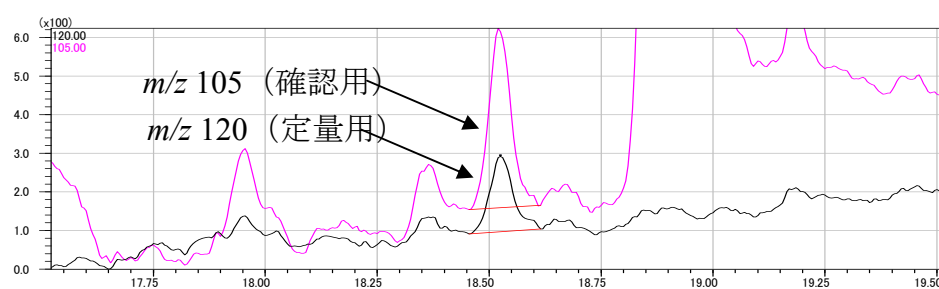


図 26 Milli-Q 水のクロマトグラム

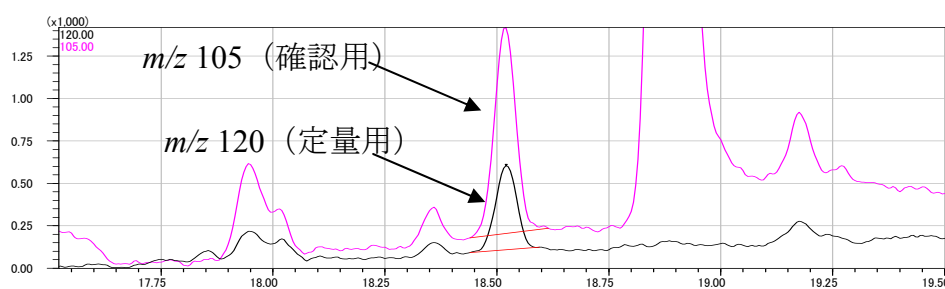


図 27 ボルビックのクロマトグラム

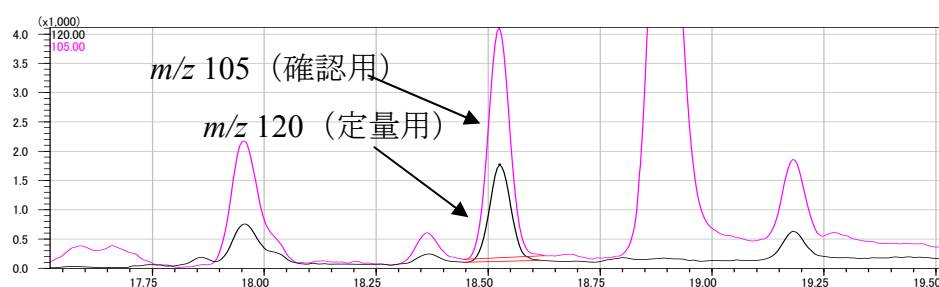


図 28 ボルビック（冷蔵庫内保存）のクロマトグラム

〔精製水のブランク低減の検討〕

精製水として使用した Milli-Q 水中の 1,2,4-トリメチルベンゼンの低減について検討した。Milli-Q 水製造装置の採水口に直接 AC2 カートリッジを取り付け、採取した精製水について測定を行った。検討結果を表 13 に示す。

AC2 カートリッジ経由で採水した精製水は、1,2,4-トリメチルベンゼンの面積値は直接採取した場合の約半分となった。また、AC2 を 2 個連結しても 1 個使用した場合と面積値は変わらなかった。以上の結果から、AC2 使用により Milli-Q 水中のブランク値を低減できることが確認されたが、完全に除去することはできなかった。

表 13 Milli-Q 水中 1,2,4-トリメチルベンゼンの AC2 カートリッジによる影響

精製水	処理	試験数	1,2,4-TMB 面積値平均
Milli-Q 水	無処理	5	1076
	AC2 1 個	5	568
	AC2 2 個	5	611

〔抽出液添加量の検討〕

精製水への底質試料抽出液の添加量を 500 μL にして測定したところ、操作ブランクの面積値が高く、サロゲート内標準物質の回収率も 130%以上となった。高濃度のメタノールによるマトリックスの影響が考えられたため、精製水へのメタノール抽出液添加量の適量を検討した。精製水に 10 μL から 500 μL のメタノールを添加し、検出される 1,2,4-トリメチルベンゼンの面積値を算出した。図 29 にメタノール添加量による 1,2,4-トリメチルベンゼンの面積値のグラフを示す。メタノール添加量 400 μL までは 1,2,4-トリメチルベンゼンの面積値は 500～600 前後となっているが、500 μL で面積値が約 2 倍に増加する傾向が観察された。操作ブランクを抑制するため、底質試料への抽出液添加量は 400 μL とした。

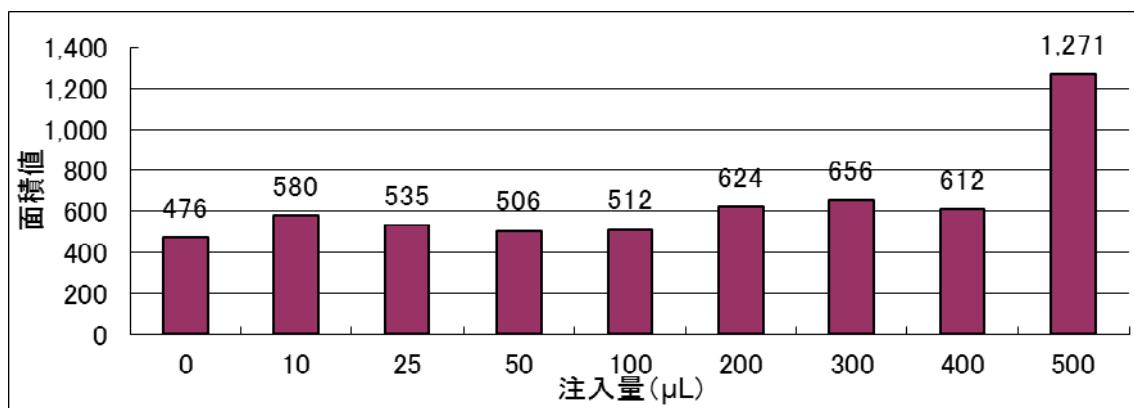


図 29 精製水へのメタノール添加量と 1,2,4-トリメチルベンゼンの面積値

〔環境試料の分析〕

底質の環境試料として、東京都東京湾（含水率 50%）、北海道苫小牧湾（含水率 50%）及び仙台市広瀬川広瀬大橋（含水率 20%）を測定した結果、それぞれ 0.32 ng/g-dry、0.25 ng/g-dry 及び 0.062 ng/g-dry（トレースレベル）の 1,2,4-トリメチルベンゼンが検出された。生物試料のボラ（徳山湾）及びムラサキイガイ（横浜港）からは、1,2,4-トリメチルベンゼンは検出されなかった。図 30 から図 34 に各クロマトグラムを示す。

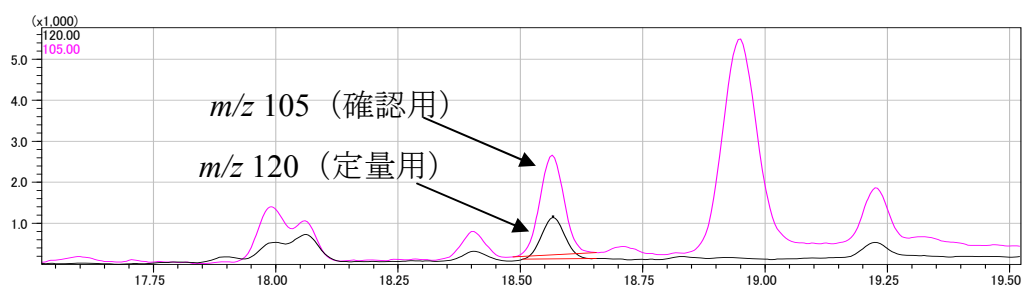


図 30 東京湾（底質）のクロマトグラム

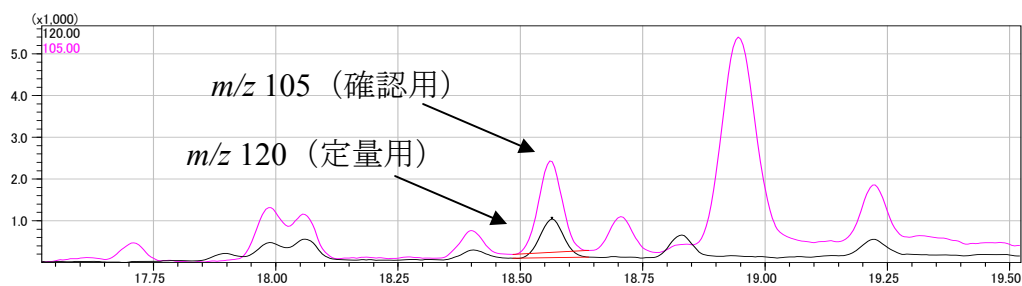


図 31 苫小牧湾（底質）のクロマトグラム

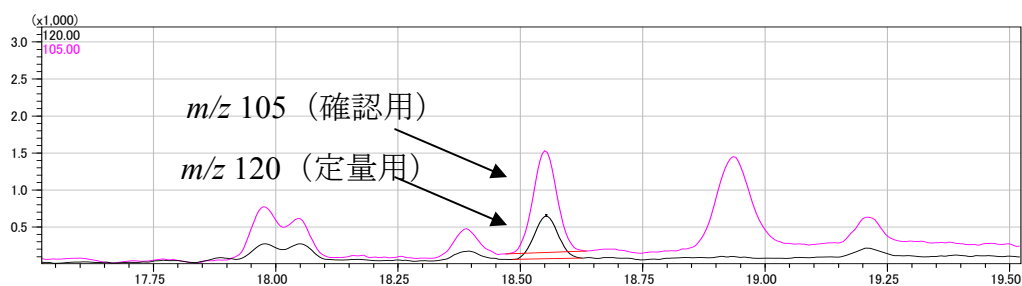


図 32 広瀬川広瀬大橋（底質）のクロマトグラム

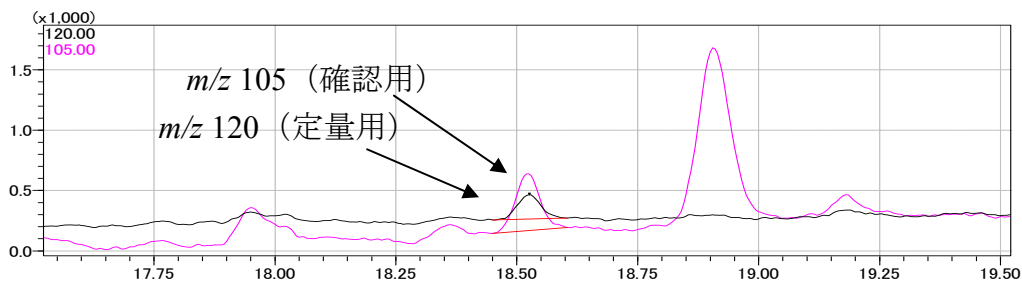


図 33 ボラ（徳山湾）のクロマトグラム

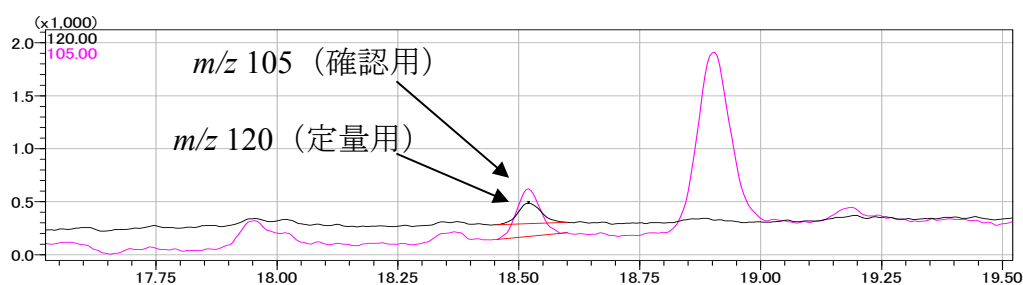


図 34 ムラサキイガイ（横浜港）のクロマトグラム

【評価】

底質及び生物試料中に含まれる 1,2,4-トリメチルベンゼンの GC/MS による分析法を開発した。本法の IDL は 0.00012 ng/mL であり、試料換算値は底質（含水率 50%）が 0.037 ng/g-dry、生物は 1.2 ng/g-wet であった。底質（含水率 50%）の MDL 及び MQL は 0.066 ng/g-dry 及び 0.17 ng/g-dry、生物の MDL 及び MQL は 3.0 ng/g-wet 及び 7.8 ng/g-wet であった。海底泥及び湖泥を用いた添加回収試験の回収率は各々 100%（サロゲート回収率 78%；変動係数 4.3%）及び 100%（サロゲート回収率 87%；変動係数 7.2%）、ムラサキイガイ、コイ及びスズキを用いた添加回収試験の回収率は、それぞれ 97%（サロゲート回収率 97%；変動係数 1.7%）、102%（サロゲート回収率 107%；変動係数 1.2%）及び 101%（サロゲート回収率 100%；変動係数 3.3%）であった。以上の結果から、本法は底質中 0.33 ng/g-dry、生物中 12 ng/g-wet レベル（分析法開発目標値）で存在する 1,2,4-トリメチルベンゼンの検出に適応可能であると判断される。本法を底質の環境試料に適用したところ 0.062～0.32 ng/g-dry の 1,2,4-トリメチルベンゼンが検出され、生物試料ではいずれも 1,2,4-トリメチルベンゼンは不検出となった。

【参考文献】

- 1) 環境省 水・大気環境局：底質調査法，平成 24 年 8 月

【担当者連絡先】

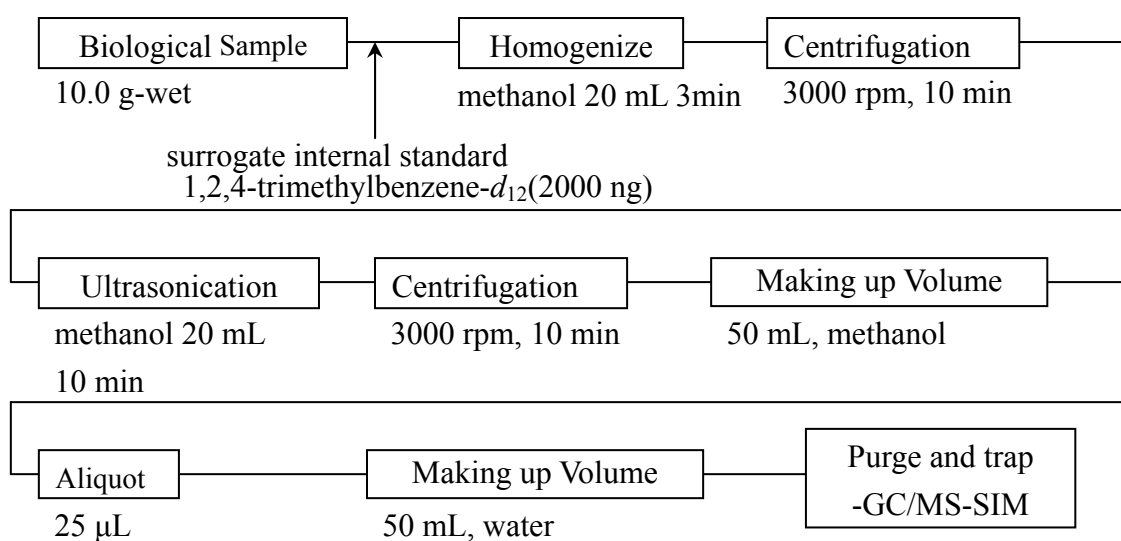
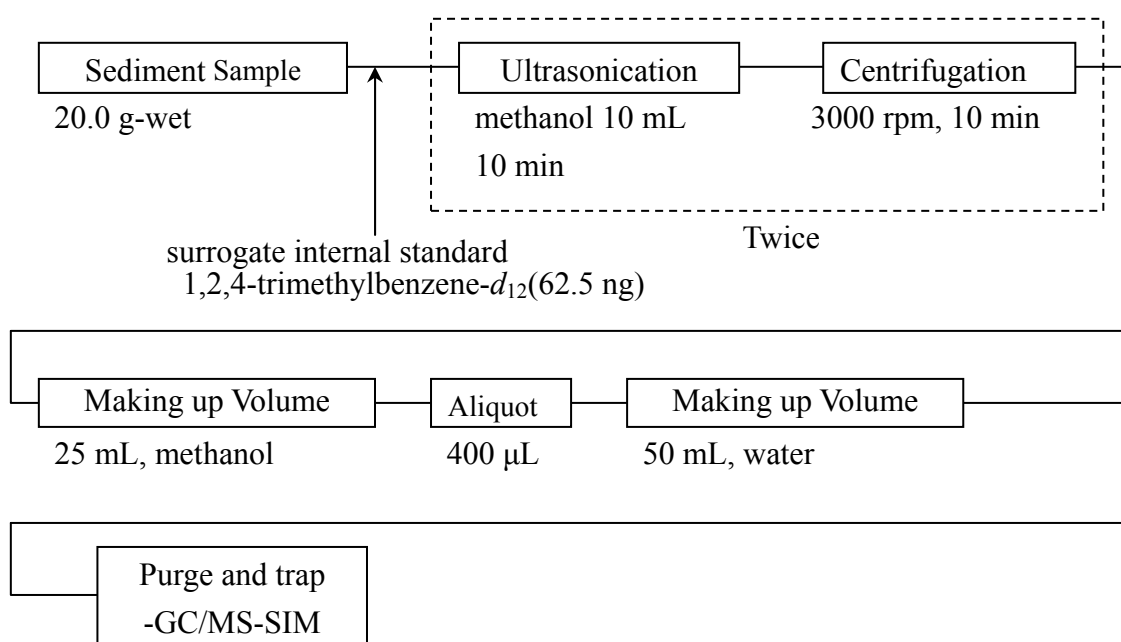
所属先名称：一般財団法人 化学物質評価研究機構
 所属先住所：〒345-0043 埼玉県北葛飾郡杉戸町下高野 1600 番地
 TEL：0480-37-2601 FAX：0480-37-2521
 担当者名：長澤英子、栗原勇、和田丈晴
 E-mail：nagasawa-eiko@ceri.jp
 kuribara-isamu@ceri.jp
 wada-takeharu@ceri.jp

1,2,4-Trimethylbenzene

This method provides procedures for the determination of 1,2,4-trimethylbenzene in sediment and biological samples by purge and trap coupled to gas chromatography/mass spectrometry with selected ion monitoring (purge trap -GC/MS-SIM).

A sediment sample (20 g-wet) spiked with 62.5 ng of 1,2,4-trimethylbenzene - d_{12} as a surrogate internal standard is extracted with methanol (10 mL) by ultrasonication for 10 min, and supernatant is collected after centrifuge at 3000 rpm for 10 min. Similarly, the residue is extracted with methanol (10 mL), then two extracts are combined and made up the volume to 25 mL with methanol. A 400 μ L aliquot of methanol extract is fixed at 50 mL of water. Five milliliter of the solution is analyzed by purge trap -GC/MS-SIM. The method detection limit (MDL) and method quantification limit (MQL) for a sediment sample (water content 50%) are 0.066 ng/g-dry and 0.17 ng/g-dry. The average of recoveries ($n=3$ and $n=5$) from 20 ng 1,2,4-trimethylbenzene added samples, which were from Tokyo-bay and Lake Swa, were 100% and 99.9%, and the relative standard deviation were 4.3% and 7.2%.

A biological sample (10 g-wet) spiked with 2000 ng of 1,2,4- trimethylbenzene - d_{12} as a surrogate internal standard is extracted by homogenizing for 10 min with methanol (20 mL), and centrifuged at 3000 rpm for 10min. The residue is extracted with methanol (20 mL) by ultrasonication for 10 min, and supernatant is collected after centrifuge at 3000 rpm for 10 min. The combined extract is made up the volume to 50 mL with methanol. A 25 μ L aliquot of methanol extract is fixed at 50 mL of water. Five milliliter of the solution is analyzed by purge trap -GC/MS-SIM. The MDL and MQL for a biological sample are 3.0 ng/g-wet and 7.8 ng/g-wet. The average of recoveries ($n=5$) from 500 ng 1,2,4-trimethylbenzene added samples, which were mussel, carp and bass, were 97.4%, 102% and 101%, and the relative standard deviation of each were 1.7%, 1.2% and 3.3%.



物質名	分析法フローチャート	備考
1,2,4-トリメチルベンゼン	【底質】 【生物】	分析原理： ページ・トラップ GC/MS-SIM 検出下限値： 【底質】(ng/g-dry) 0.066 【生物】(ng/g-wet) 3.0 分析条件： 機器 GC/MS： GCMS-QP2010 Ultra (島津製作所) ページ・トラップ： AQUA PT 5000J PLUS (GL サイエ ンス) カラム： AQUATIC -2 60 m × 0.25 mm , 1.4 μm (GL サイエ ンス)