

シアン化水素およびシアン化物

Hydrogen cyanide and cyanides

【対象物質の構造】

HCN

CAS 番号：74-90-8

分子式：HCN

【物理化学的性状】

[分子量 (平均分子量)]	27.03
[分子量 (モノアイソトピック質量)]	27.0109
[融点]	-13.4°C ¹⁾
[沸点]	25.6°C ¹⁾
[密度]	0.687 g/cm ³ ¹⁾
[蒸気圧]	620 mmHg (20°C) ²⁾
[溶解性]	水：1000 g/L (25°C) ¹⁾
[log P _{ow}]	-0.25 (実測値) ¹⁾
[pK _a]	9.22(25°C) ¹⁾

【毒性、用途等】

[毒性]

[実験動物に対する急性毒性情報]

ラット (経口) LD₅₀：3.0-4.1 mgCN/kg ³⁾

マウス (経口) LD₅₀：6.3 mgCN/kg ³⁾

ウサギ (経口) LD₅₀：2.3-2.7 mgCN/kg ³⁾

ラット (吸入) LC₅₀：3378 mg/m³ (10 秒)、158 mg/m³ (60 分) ³⁾

マウス (吸入) LC₅₀：172 mg/m³ (30 分・雄)、335 mg/m³ (5 分) ³⁾

ウサギ (吸入) LC₅₀：2432 mg/m³ (45 秒)、208 mg/m³ (35 分) ³⁾

[生態毒性情報]

72h-LOEC = 0.010 mgCN/L (ニッチア 生長阻害 海水) ³⁾

83d-NOEC = 0.016 mgCN/L (ヨコエビ科の一種 繁殖 成長 淡水) ³⁾

256d-NOEC = 0.0129 mgCN/L (ファットヘッドミノー 繁殖 淡水) ³⁾

[用途] ⁴⁾

染料、殺虫剤、防虫剤、農薬全般 (中間体を含む)、衛生材料・農薬、その他

出典

- 1) Hazardous Substances Data Bank (HSDB)
- 2) The Canadian Centre for Occupational Health and Safety (CCOHS) CCINFO
- 3) 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)
- 4) 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

大気を吸収瓶内のアルカリ吸収液に通気して捕集する。捕集後の吸収液を定容後、一定量を分析用バイアルに分取する。内標準物質及び誘導体化試薬を添加して、ベンゾ[f]イソインドール誘導体化を行い、LC/MS/MS-SRM (ESI-negative) 法で定量する。本分析法による定量結果は、シアン化水素に加え、水酸化ナトリウム水溶液中でシアン化物イオンになるものの含量値である。

(2) 試薬・器具

【試薬】

シアン化カリウム	: 和光純薬工業製 (98.0%以上)
シアン化カリウム- ¹³ C ¹⁵ N	: Sigma-Aldrich 製 (¹³ C 化率 99%以上, ¹⁵ N 化率 98%以上)
2,3-ナフタレンジカルボキシアルデヒド (2,3-NDA)	: 東京化成工業製 (99.0%以上)
タウリン (2-アミノエタンスルホン酸)	: 東京化成工業製 (98.0%以上)
ホウ酸	: 和光純薬工業製 (99.5%以上)
水酸化ナトリウム	: 和光純薬工業製 (97.0%以上)
メタノール	: 和光純薬工業製 (残留農薬・PCB 試験用)
酢酸アンモニウム	: 和光純薬工業製 (97.0%以上)
酢酸	: 和光純薬工業製 (99.9%以上)

精製水

: 和光純薬工業製 LC/MS 用
超純水

【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 40 g を精製水 1 L に溶解する。調製した溶液はポリプロピレン製容器で保存する。

〔0.1 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 1 L に溶解する。調製した溶液はポリプロピレン製容器で保存する。

〔1.8 mg/mL 2,3-NDA メタノール溶液〕

2,3-NDA 180 mg を量り取り、メタノールで 100 mL とする（注 1）（注 2）。

〔6.2 mg/mL タウリン水溶液〕

タウリン（2-アミノエタンスルホン酸）310 mg を量り取り、精製水で 50 mL とする（注 2）。

〔20 mg/mL ほう酸水溶液〕

ほう酸 1.00 g を量り取り、精製水で 50 mL とする（注 2）。

〔誘導体化試薬〕

1.8 mg/mL 2,3-NDA メタノール溶液、6.2 mg/mL タウリン水溶液、20 mg/mL ほう酸水溶液を 1:1:20 の割合で混合する。混合後の誘導体化試薬の組成は、0.082 mg/mL 2,3-NDA、0.28 mg/mL タウリン、18 mg/mL ほう酸となる（注 2）。

〔2 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液 (pH 3)〕

酢酸アンモニウム 154 mg を精製水 1 L に溶解し、酢酸で pH3 に調整する。

【標準液の調製】

〔標準原液〕

シアン化カリウムを正確に 12.5 mg 量り取り、1 mol/L 水酸化ナトリウム水溶液で 50 mL として、100 µg/mL 標準原液を調製する（注 3）。

〔内標準液〕

シアン化カリウム- $^{13}\text{C}^{15}\text{N}$ を正確に 12.0 mg を量り取り、1 mol/L 水酸化ナトリウム水溶液で 50 mL として、100 $\mu\text{g/mL}$ 内標準原液を調製する（注 3）。内標準原液を 1 mol/L 水酸化ナトリウム水溶液で正確に希釈して、500 ng/mL 内標準液を調製する。

〔検量線用標準液〕

標準原液を 1 mol/L 水酸化ナトリウム水溶液で順次希釈し、1.00 ng/mL から 100 ng/mL の範囲の標準液を調製する。各標準液について、【試験液の調製】に従って誘導体化を行い、検量線用標準液とする。誘導体化操作により標準液は 10 倍に希釈されるため、検量線用標準液の濃度は 0.100 から 10.0 ng/mL、内標準液の濃度は 5.00 ng/mL となる（注 4）（注 5）。

【試薬の安全性・毒性】

シアン化カリウムは毒性が高く、吸入、経口摂取又は皮膚・粘膜に付くと、シアン中毒を引き起こすことがある。また、酸と接触すると有害なシアン化水素ガスを発生する。換気、防護具の着用等により取り扱いに十分注意する

【器具】

吸収瓶（容量 50 mL）、メスフラスコ（25 mL）、パスツールピペット、ポリプロピレン製目盛付試験管（15 mL）、マイクロピペット

(3) 分析法

【試料の捕集】

吸収瓶を 2 本直列にシリコンチューブでつなぎ、それぞれ吸収液として 1 mol/L 水酸化ナトリウム水溶液を 20 mL ずつ入れる。大気試料採取用ポンプに吸収瓶を接続し、0.35 L/min の流量で 24 時間、大気を捕集する。捕集時には、吸収液が揮発して空にならないように、必要に応じて吸収瓶を発泡スチロール製の箱に入れ、保冷剤等を用いて冷却する。また、吸収瓶とポンプの間には、ポンプ保護のための青色粒状シリカゲルを充填した筒あるいは空の吸収瓶等を接続する（図 1 参照）。

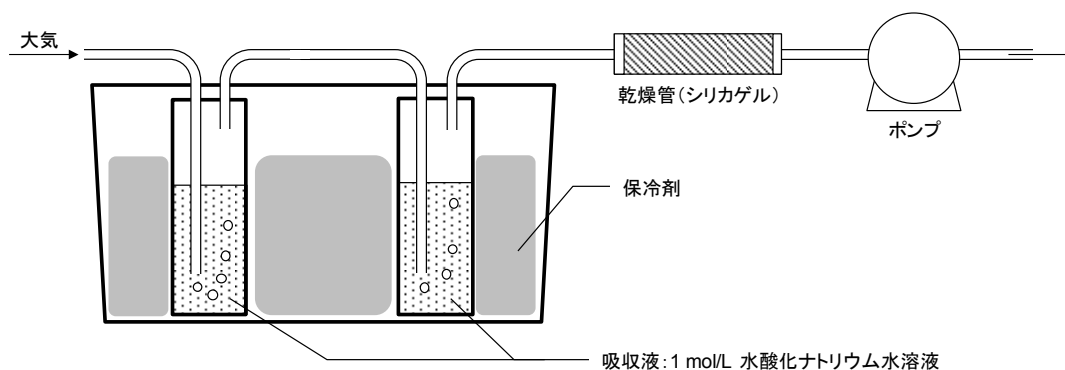


図1 吸収瓶法による大気試料捕集の概略図

【吸収液の輸送及び保存】

試料採取後の吸収瓶は、汚染防止のため出入口を密閉し、転倒しないように運搬する。分析には大気側の第一吸収瓶中の溶液のみを用いる（注6）。持ち帰り後は速やかに、第一吸収瓶内の吸収液を25 mLのメスフラスコに移すとともに、吸収瓶内を少量の0.1 mol/L水酸化ナトリウム水溶液で洗浄し、洗浄液を含めて25 mLに定容する。定容後の試料液は分析時まで冷暗所にて保管する。

【試験液の調製】

定容した試料液をLC/MS/MS分析用バイアルに100 µL分取し、そこに500 ng/mL内標準液10 µL及び誘導体化試薬890 µLを添加し、ベンゾ[*f*]イソインドール誘導体化を行い、試験液とする（注7）。

【空試験液の調製】

試料捕集を行っていない吸収液について、【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〕

使用機種	: Agilent1200SL
カラム	: Mightysil RP-18GP（関東化学製）150 mm × 2.0 mm, 3 µm
移動相	: A: 2 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液(pH3) B: メタノール A : B = 40 : 60（アイソクラティック）
カラム流量	: 0.3 mL/min
カラム温度	: 40°C

試料注入量 : 2 μ L
 [MS 条件]
 使用機種 : Agilent 6460
 キャピラリー電圧 : 4500 V
 シースガス流量 : 12 L/min
 シースガス温度 : 300°C
 乾燥ガス流量 : 10 L/min
 乾燥ガス温度 : 280°C
 イオン化法 : ESI-negative
 MS 温度 : 100°C
 測定モード : SRM

物質名	モニターイオン (m/z)	フラグメント 電圧 (V)	コリジョン 電圧 (V)
シアン化物 (CN ⁻) のベンゾ[f]	299 > 191	135	15
イソインドール誘導体化物 (CBI)			
¹³ C ¹⁵ N のベンゾ[f]イソインドール 誘導体化物 (CBI- ¹³ C ¹⁵ N)	301 > 193	135	15

[検量線]

検量線用標準液 2 μ L を LC/MC/MS に注入し、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 2 μ L を LC/MS/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]

大気中の対象物質の濃度 $C(\text{ng}/\text{m}^3)$ は次式により算出する。なお、式中の $Q(\text{ng})$ 及び R はシアン化物イオンとしての値、 $C(\text{ng}/\text{m}^3)$ はシアン化水素に換算した値である。

$$C = (R \cdot Q \cdot W / D / V) \times ((273 + t) / (273 + 20.0)) \times (101 / P)$$

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 (ng)

(= 添加した内標準の濃度 (ng/μL) × 添加した内標準の容量 (μL))
 W : シアン化物イオンに対するシアン化水素の式量の比
 D : 定容した吸収液からの分取率
 (= 誘導体化工程への供試量 (mL) / 吸収液の定容量 (mL))
 V : 試料量 (m³)
 t : 捕集時の平均気温 (°C)
 P : 捕集時の平均気圧 (kPa)

本分析法に従った場合、以下の数値を使用する。

$Q = 5 \text{ ng}$
 (= 添加した内標準の濃度 (500 ng/mL) × 添加した内標準の容量 (0.010 mL))
 $W = 1.04$ (= 27.03 / 26.02)
 $D = 4.00 \times 10^{-3}$
 (= 誘導体化工程における分取量 (0.1 mL) / 吸収液の定容量 (25 mL))
 $V = 0.504 \text{ (m}^3\text{)}$

即ち、

$$C = R \times 2.58 \times 10^3 \times ((273 + t) / (273 + 20.0)) \times (101 / P) \text{ (ng/m}^3\text{)}$$

である。

〔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 4) (注 8) (注 9)。

表 1 IDL の算出結果

物質名	IDL (ng/mL)	試料量 (m ³)	採取液量 (mL)	分取量 (mL)	最終液量 (mL)	IDL 試料換算値 (ng/m ³)
シアン化水素	0.030	0.504	25.0	0.100	1.0	15

〔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) (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)
シアン化水素	0.504	1.0	43	110

注 解

- (注 1) アセトニトリルには不純物として微量のシアン化物が含まれているため、2,3-NDA 溶液の調製にはメタノールを用いる。
- (注 2) 混合する前の個々の溶液及び 3 物質の混合溶液ともに冷蔵庫 (4°C) で 1 ヶ月は安定である。
- (注 3) シアン化物イオンとしての濃度である。以下、§2 解説も含めて溶液中の濃度はすべてシアン化物イオンとしての濃度である。
- (注 4) 本分析法では、シアン化物イオンのベンゾ[f]イソインドール誘導体化物 (CBI) を定量しているが、IDL、MDL 等での溶液中の濃度表示は全てシアン化物イオンとしての濃度で表示している。
- (注 5) 本分析法では、誘導体化の操作により試料は 10 倍希釈される。検量線用標準液の濃度をはじめとする試験液中の濃度は全て希釈後の濃度で示している。
- (注 6) 大気捕集後の第一吸収瓶及び第二吸収瓶中の吸収液の pH を pH 試験紙等で測定する。第一吸収瓶中の吸収液の pH が 12 未満にまで低下している場合、大気中に存在する酸性ガスの影響で捕集率が低下している可能性がある。その際には、第二吸収瓶についても同様の前処理を行い、シアン化物イオン濃度を測定し、第一吸収瓶から算出した濃度と合計する。第二吸収液中の pH が 12 未満にまで低下している場合には、吸収液の量を増やすあるいは採取時間を短くする等の対策が必要である。
- また、大気中の水分により大気捕集後における第一吸収瓶の液量が 25 mL を超過した場合は、定容量を 50 mL 等に増やして対応する。
- (注 7) 本誘導体化反応は極めて迅速に進行し、試薬添加後、5 分以内に反応は完了する。
- (注 8) IDL 試料換算値、MDL 等の大気中における濃度表示は全てシアン化水素に換算した濃度である。(以下、§2 解説も含め同様)
- (注 9) 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 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

物質名	シアン化水素
試料量 (m ³)	0.504
採取液量 (mL)	25.0
分取量 (mL)	0.100
最終液量 (mL)	1
注入液濃度 (ng/mL)	0.100
装置注入量(μL)	2.0
結果 1 (ng/mL)	0.0939
結果 2 (ng/mL)	0.110
結果 3 (ng/mL)	0.0977
結果 4 (ng/mL)	0.109
結果 5 (ng/mL)	0.113
結果 6 (ng/mL)	0.0995
結果 7 (ng/mL)	0.0964
平均値 (ng/mL)	0.1028
標準偏差 (ng/mL)	0.00769
IDL (ng/mL) ^{*1}	0.030
IDL 試料換算値 ^{*2} (ng/m ³)	15
S/N 比	45
CV (%)	7.5

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

*2 シアン化水素換算濃度 (注 8)

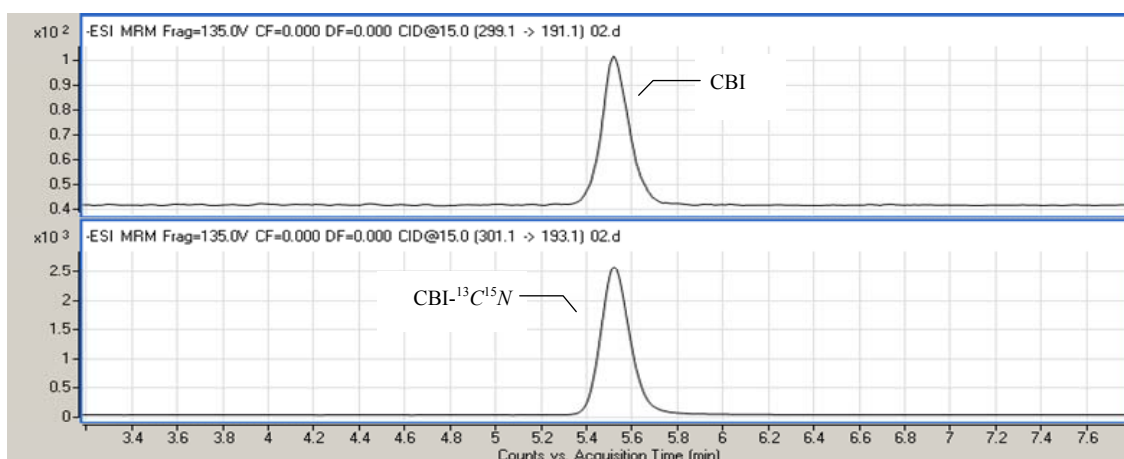


図 2 IDL 測定時のクロマトグラム
(0.100 ng/mL、内標準物質：5.00 ng/mL)

(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 28 年 3 月)に従って、以下の表 4 のとおり算出した。また図 3 に MDL 測定時のクロマトグラムを示した。なお、シアン化水素は大気試料から IDL の 5 倍以上の濃度で検出されるため、試験用の吸収瓶の前段に同吸収液を入れた吸収瓶を連結し、大気中のシアン化水素を除去した。

表 4 MDL 及び MQL の算出結果

物質名	シアン化水素
試料量 (m ³)	0.504
標準添加量 (ng) ^{*1}	150
最終液量 (mL)	1.0
試料換算濃度 (ng/m ³) ^{*2}	309
注入液濃度 (ng/mL)	0.60
装置注入量 (μL)	2.0
操作ブランク平均 (ng/m ³) ^{*3}	< MDL
無添加平均 (ng/m ³) ^{*4}	< MDL
結果 1 (ng/m ³)	294
結果 2 (ng/m ³)	272
結果 3 (ng/m ³)	300
結果 4 (ng/m ³)	276
結果 5 (ng/m ³)	285
結果 6 (ng/m ³)	295
結果 7 (ng/m ³)	276
平均値 (ng/m ³) ^{*2}	285.3
標準偏差 (ng/m ³) ^{*2}	11.0
MDL (ng/m ³) ^{*2, *5}	43
MQL (ng/m ³) ^{*2, *6}	110
S/N 比	88
CV (%)	3.9

*1 シアン化物イオンとしての量

*2 シアン化水素換算濃度 (注 8)

*3 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値の平均値 (n=2)

*4 無添加試料: 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の平均値 (n=2)

*5 $MDL = t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$

*6 $MQL = \sigma_{n-1} \times 10$

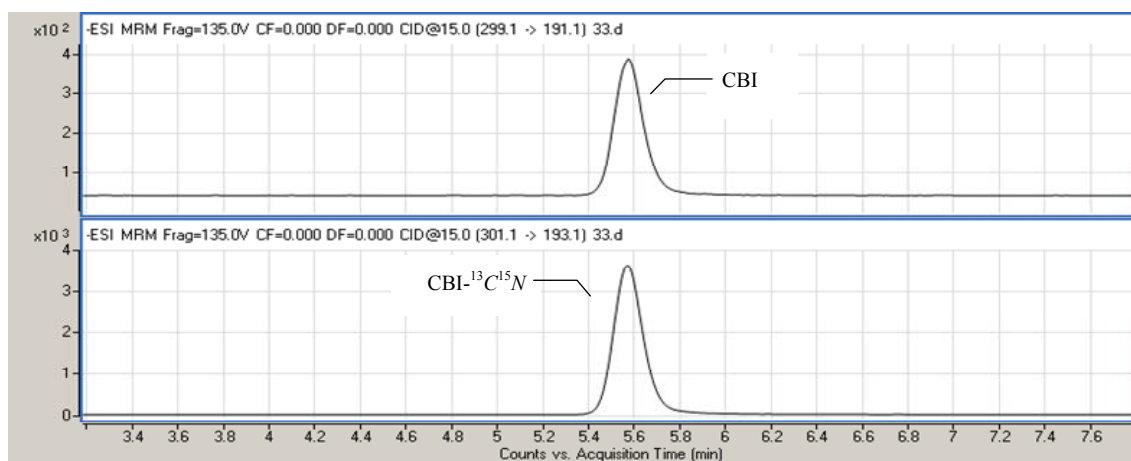


図3 MDL 測定時のクロマトグラム
(注入液濃度 : 0.600 ng/mL、内標準物質 : 5.00 ng/mL)

§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。

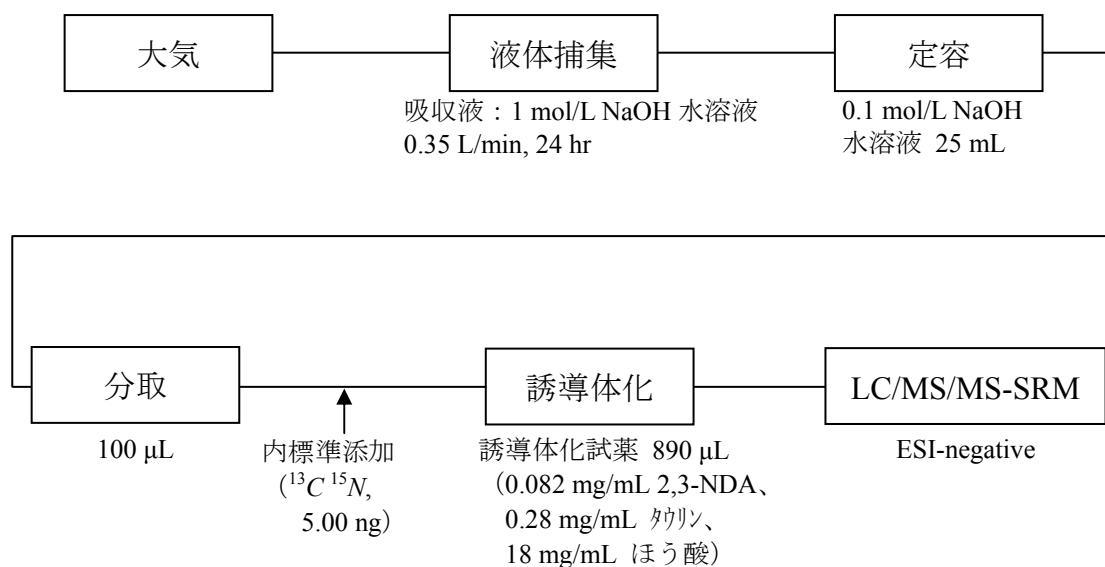


図4 分析法のフローチャート

〔誘導体化反応〕

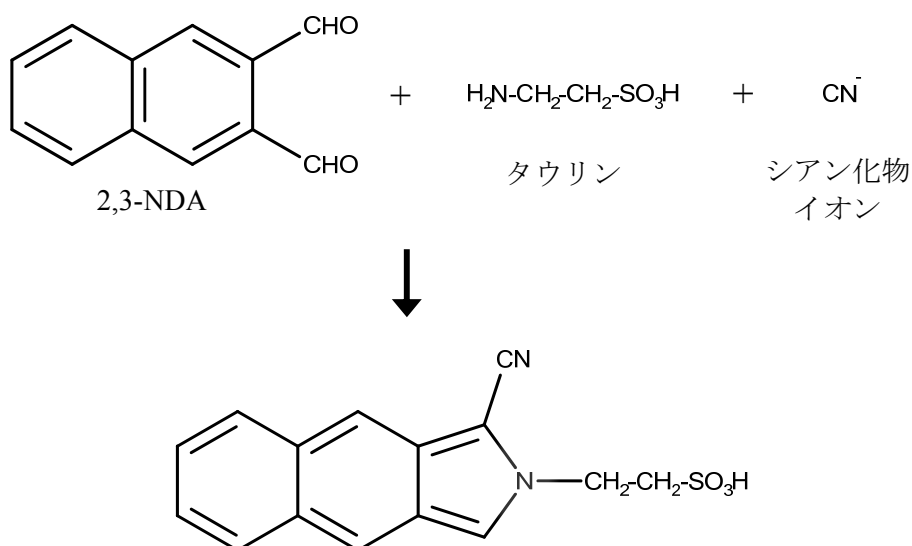


図5 シアン化物イオンのベンゾ[*f*]イソインドール誘導体化反応

〔検量線〕

CBI の低濃度領域及び高濃度領域の検量線を図 6 に、検量線作成用データを表 5 に示す（注 3）。

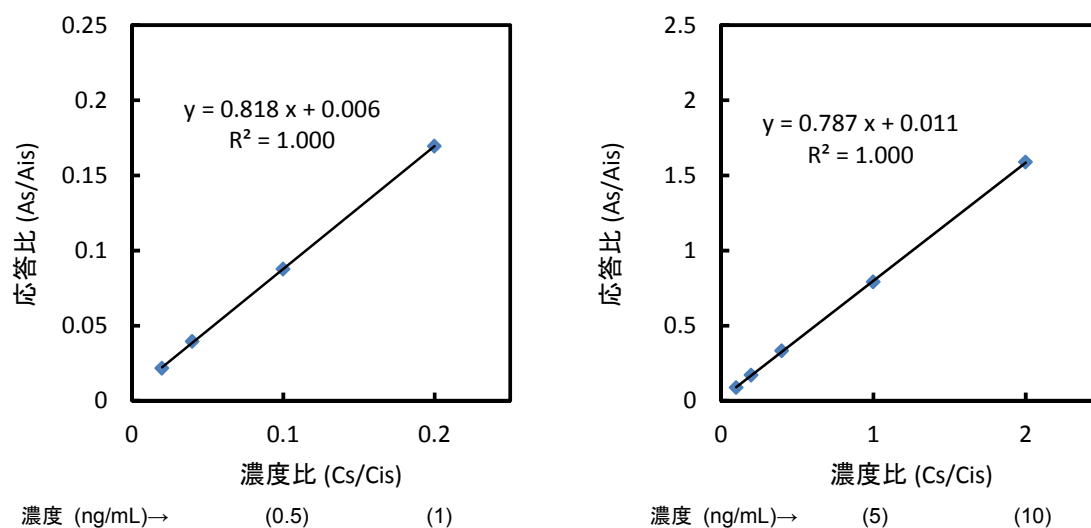


図 6 低濃度及び高濃度領域の検量線

（低濃度領域: 0.100~1.00 ng/mL（図左）、高濃度領域: 0.500~10.0 ng/mL（図右））

表5 検量線作成用データ

標準液濃度 (ng/mL) (Cs)	応答値		濃度比 (Cs/Cis)	応答比 (As/Ais)
	対象物質 (As) [CBI]	内標準物質 (Ais) [CBI- ¹³ C ¹⁵ N]		
0	126	19729	0	0.0064
0.100	499	23151	0.020	0.0216
0.200	996	25214	0.040	0.0395
0.500	2373	27108	0.100	0.0875
1.00	4707	27789	0.200	0.169
2.00	9143	27511	0.400	0.332
5.00	22725	28761	1.00	0.790
10.0	42380	26695	2.00	1.59

* 内標準物質濃度: 5.00 ng/mL (Cis)

〔クロマトグラム〕

CBI 及び内標準物質である CBI- $^{13}\text{C}^{15}\text{N}$ の標準液のクロマトグラムを図 7 に示す。

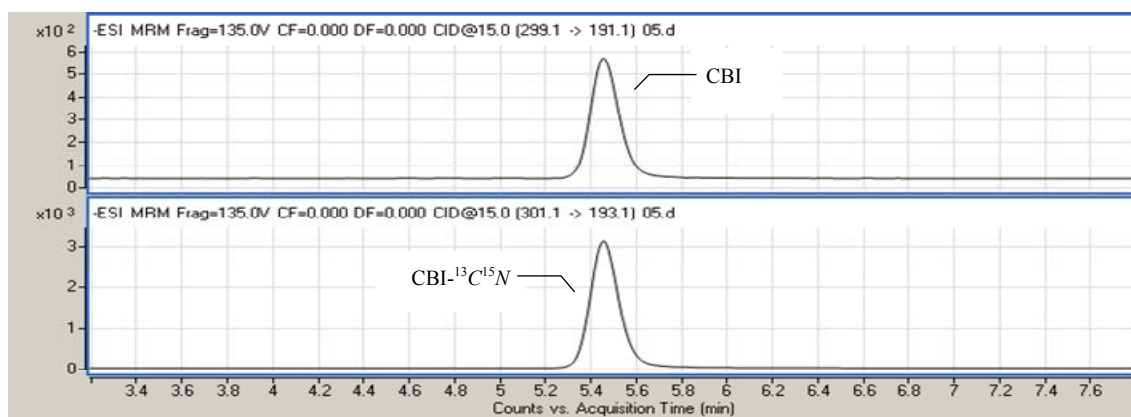


図 7 標準液のクロマトグラム
(1.00 ng/mL、内標準物質 : 5.00 ng/mL)

[マスペクトル]

CBI のマスペクトルを図 8 に、内標準物質である CBI- $^{13}\text{C}^{15}\text{N}$ のマスペクトルを図 9 に示す。

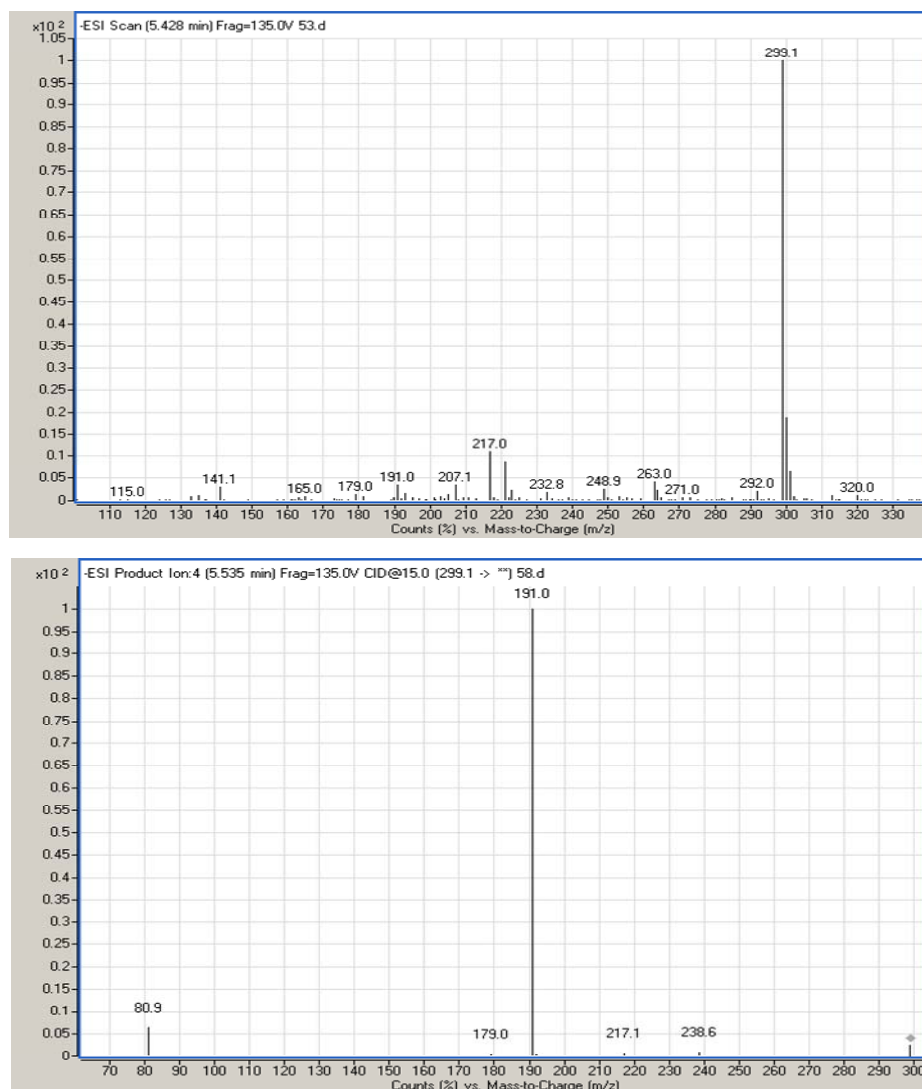


図 8 CBI のマスペクトル

(上図) スキャンイオンスペクトル、(下図) m/z 299 をプレカーサーイオンとしたときのプロダクトイオンスペクトル

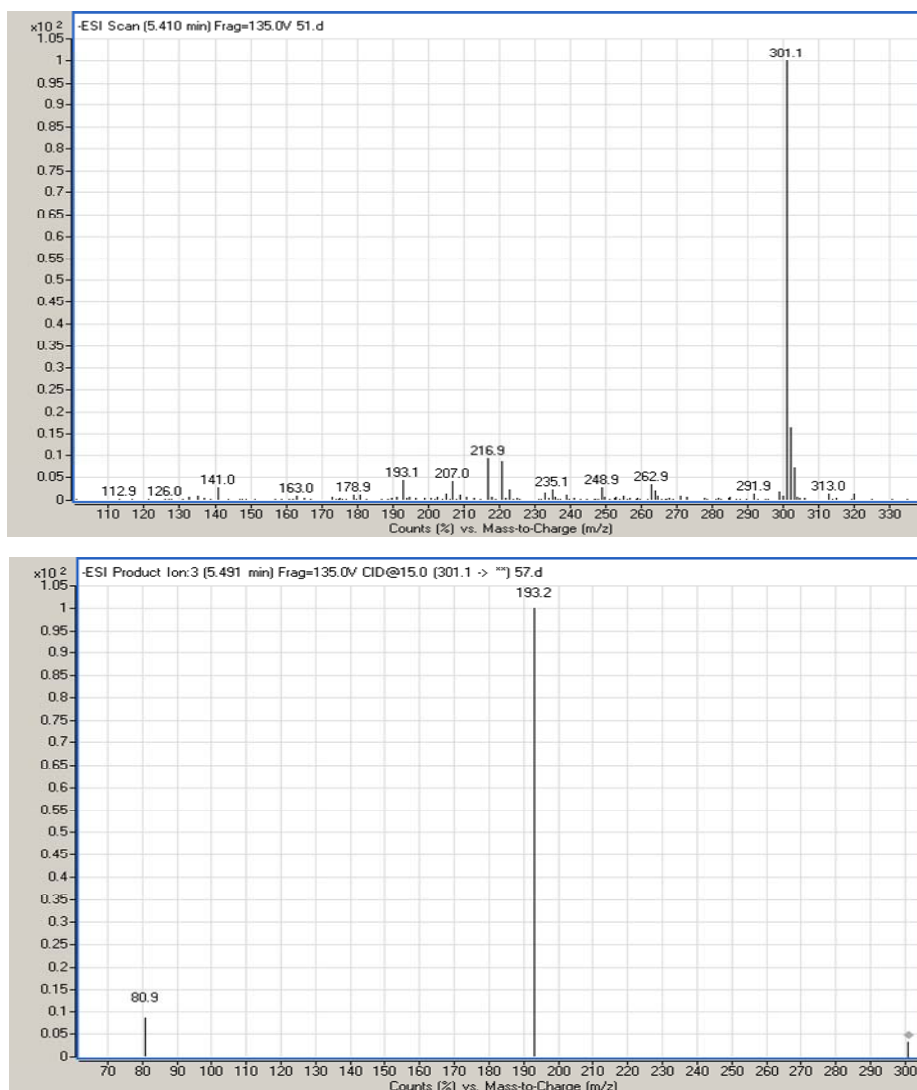


図9 CBI- $^{13}\text{C}^{15}\text{N}$ のマスペクトル

(上図) スキャンイオンスペクトル、(下図) m/z 301 をプレカーサーイオンとしたときのプロダクトイオンスペクトル

〔操作ブランク試験〕

大気を捕集していない吸収液を用いて操作ブランクの検討を行った。操作ブランク試料のクロマトグラムを図10に示す。操作ブランク試料のクロマトグラムには、わずかではあるがCBIのピークが認められた。本ピークは誘導体化試薬あるいはその調製溶媒に起因していると思われる。ただし、操作ブランクレベルはMDL未満であり、分析には問題ないと判断された。なお、誘導体化試薬の調製溶媒による操作ブランクレベルの違いについては〔誘導体化試薬の調製溶媒の検討〕の項に記載した。

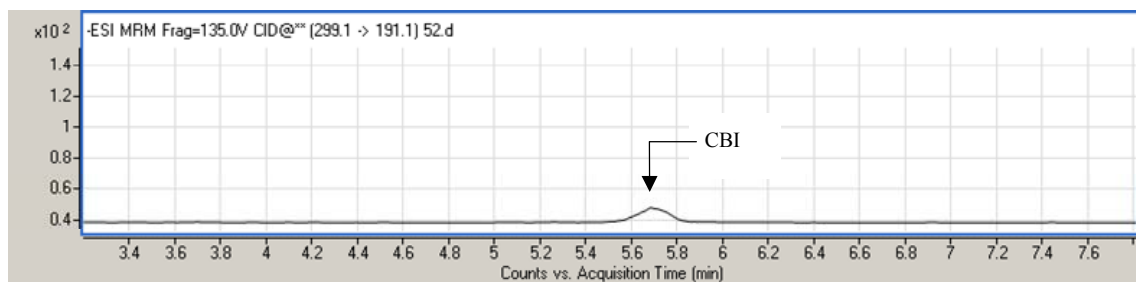


図 10 操作ブランク試料のクロマトグラム

〔添加回収試験〕

2 本連結した吸収瓶に 1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液を 20 mL ずつ入れ、第一吸収瓶に添加回収試験用標準液 (10.0 µg/mL) を 100 µL 添加した。以後、【試料の捕集】から【試験液の調製】に従って試験液を調製し、LC/MS/MS にてシアニ化物イオンの濃度を測定した。無添加の吸収瓶についても同様の操作を行い、その定量値の差から回収率を求めた。添加回収試験の結果を表 6 に、添加回収試験時の添加試料及び無添加試料のクロマトグラムを図 11 に示す。結果は表 6 に示すように、回収率、変動係数ともに良好であった。

なお、捕集後の第二吸収瓶の吸収液についても確認のためにシアニ化物イオンを測定したが、すべて MDL 未満であり、測定は第一吸収液のみで良いことを確認した。

表 6 添加回収試験の結果（標準添加量：1000 ng、気温：18°C、湿度：20%）

	試料量 (m ³)	添加量 (ng)	検出濃度 (ng/m ³)	回収率 (%)
無添加	0.504	0	173	-
結果 1	0.504	1000	2062	92
結果 2	0.504	1000	2096	93
結果 3	0.504	1000	2015	89
結果 4	0.504	1000	2089	93
結果 5	0.504	1000	2125	95
結果 6	0.504	1000	1866	82
結果 7	0.504	1000	2020	90
平均回収率				91
変動係数 (%)				4.6

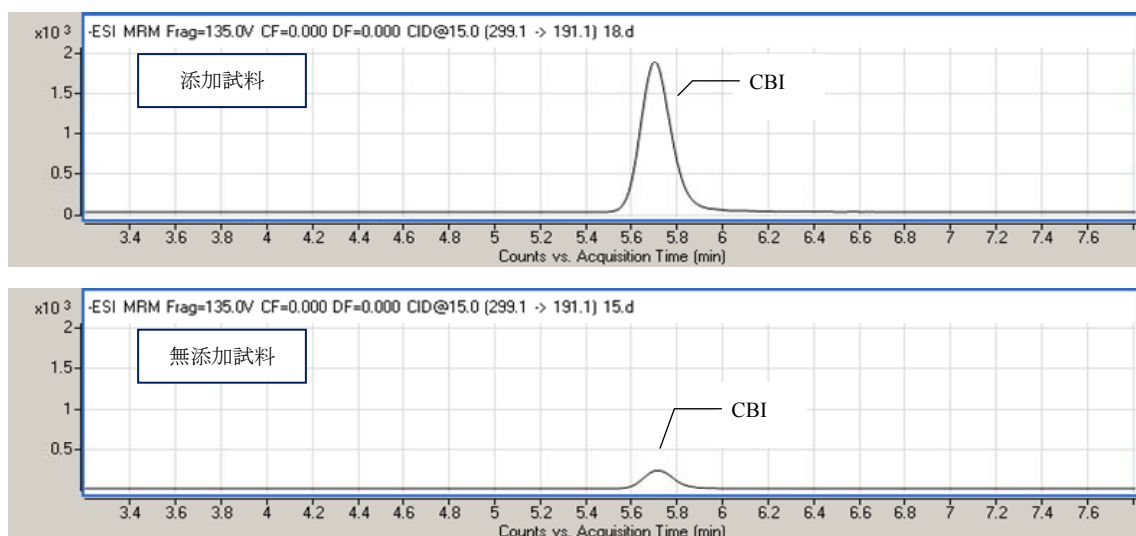


図 11 添加回収試験時のクロマトグラム（上図：添加試料、下図：無添加試料）

〔高温高湿度条件の添加回収試験〕

高温高湿度条件下（温度 35℃、湿度 70%以上：恒温槽内にて捕集部前段に純水を入れたガス洗浄瓶を取り付け加湿）で添加回収試験を実施した。結果は表 7 に示すように、回収率、変動係数ともに良好であった。

表 7 高温高湿度条件での添加回収試験の結果（気温：35℃、湿度：70%以上）

	試料量 (m ³)	添加量 (ng)	検出濃度 (ng/m ³)	回収率 (%)
無添加	0.504	0	232	-
結果 1	0.504	1000	2230	97
結果 2	0.504	1000	2238	97
結果 3	0.504	1000	2208	96
平均回収率				97
変動係数 (%)				0.8

〔誘導体化前の試料液の保存性試験〕

〔添加回収試験〕と同様の操作により得られた誘導体化前の試料液（大気捕集後の吸収液を定容したもの）について、密栓し冷蔵保存(4℃)した。当日、7日間冷蔵保存後及び14日間冷蔵保存後に【試験液の調製】に従って誘導体化及び測定を行い、残存率を評価した。結果は表 8 に示すように、冷蔵条件におい

て少なくとも 14 日間は誘導体化前の試料液の保存性が良好であることを確認した。

表8 誘導体化前の試料液の保存性試験の結果 (n = 5)

試料量 (m ³)	添加量 (ng)	残存率 (範囲) (%) *		
		当日分析	7 日後分析	14 日後分析
0.504	1000	101 (98~103)	102 (98~107)	99 (97~102)

*1 残存率は、添加量 (1000 ng) を 100%として算出した。

〔誘導体化後の試験液の保存性試験〕

第一吸収瓶に標準液(1.00 µg/mL)を 150 µL 添加し、【試料の捕集】から【試験液の調製】に従い試験液を調製した。得られた誘導体化後の試験液について、密栓し冷蔵保存 (4°C) した。当日及び 7 日間冷蔵保存後に分析を行い、残存率を算出した結果を表 9 に示す。7 日間冷蔵保存後の試験液中における対象物質の残存率は 86% (当日分析値に対しては 91%) と良好であった。ただし、誘導体化前の試料液の保存性は表 8 に示したようにより良好であるため、試料の保存は誘導体化前の状態で行う。

表9 誘導体化後の試験液の保存性試験の結果 (n = 5)

試料量 (m ³)	添加量 (ng)	残存率 (範囲) (%) *	
		当日分析	7 日後分析
0.504	150	94 (92~98)	86 (85~88)

*1 残存率は、添加量 (150 ng) を 100%として算出した。

〔誘導体化反応に必要な時間の検討〕

シアン化物イオンのベンゾ[f]イソインドール誘導体化反応に要する時間の検討を行った。分析用バイアルに 200 ng/mL 標準液を 100 µL 分取し、そこに 500 ng/mL 内標準液 10 µL 及び誘導体化試薬 890 µL を添加し、誘導体化を行った。誘導体化試薬を添加してから 5 分後、30 分後、1 時間後に LC/MS/MS で測定を行い、誘導体化物である CBI の応答値を比較することにより反応に要する時間を確認した。結果を図 12 に示す。

CBI の応答値は、5 分後、30 分後、1 時間後ではほぼ一致しており、シアン化物イオンのベンゾ[f]イソインドール誘導体化反応は 5 分以内に速やかに完了すると考えられた。

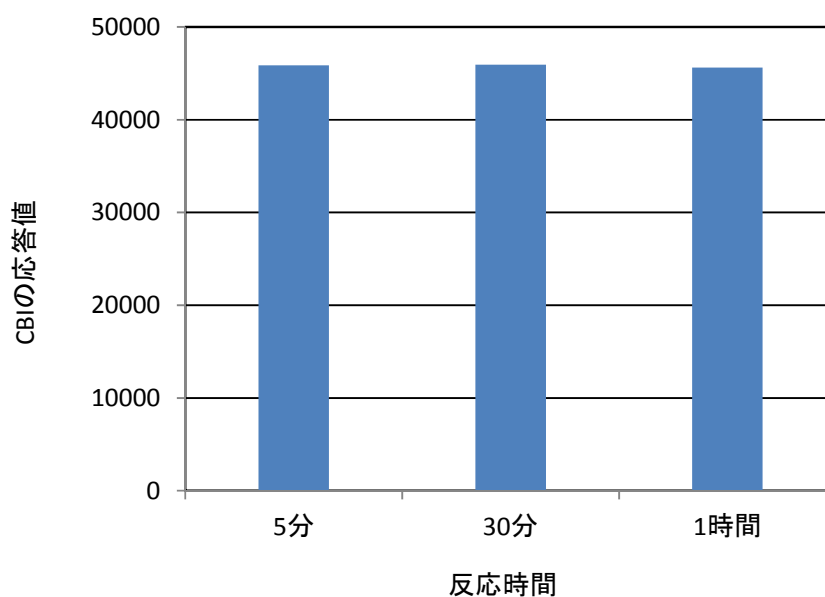


図 12 誘導体化反応時間と CBI の応答値

〔誘導体化試薬の調製溶媒の検討〕

ベンゾ[f]イソインドール誘導体化に用いる NDA を調製する溶媒としてアセトニトリルを用いた場合、操作ブランクが高い値を示した。アセトニトリルには不純物として微量のシアン化物が含まれていることが指摘されており、この不純物がブランク値を引き上げたものを推測される。そこで、NDA の調製溶媒としてメタノールの使用を検討した。結果を図 13 に示す。NDA の調製溶媒にメタノールを使用した際の操作ブランク値は、アセトニトリルを使用した際のそれと比べて 10 分の 1 程度にまで低減された。したがって、NDA の調製溶媒にはメタノールを用いることとした。

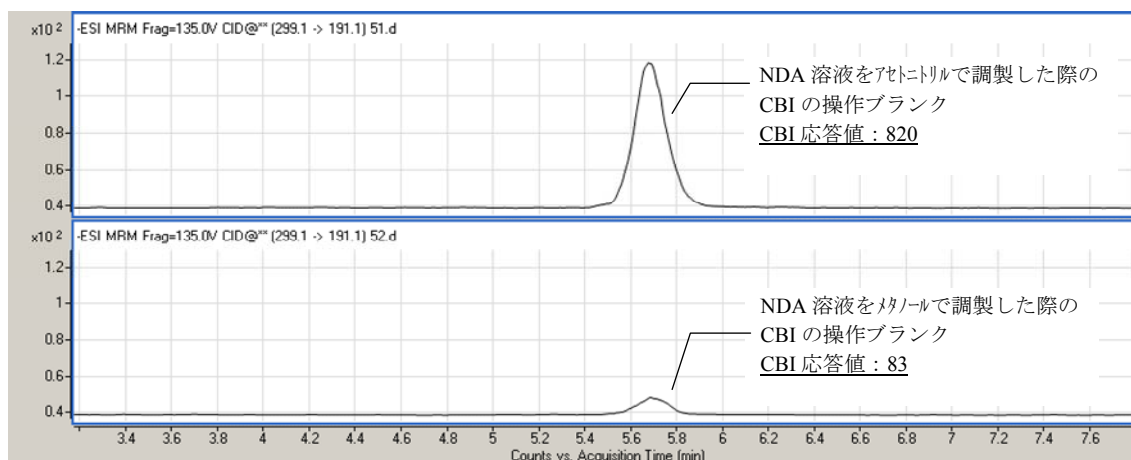


図 13 誘導体化試薬の調製溶媒の違いによる操作ブランクの比較

〔誘導体化試薬の保存性〕

本分析では、誘導体化試薬として 2,3-NDA メタノール溶液、タウリン水溶液及びほう酸水溶液の 3 溶液を混合して用いている。これら個々の溶液の保存安定性及び誘導体化に用いる状態である 3 溶液の混合液の保存安定性を確認した。

混合前の溶液および混合後の溶液をそれぞれ冷蔵保存 (4°C) し、30 日間冷蔵保存した溶液を用いて誘導体化した標準液 (5 ng/mL) の感度が、当日調製した誘導体化試薬による標準液の感度と比べて低下しているかの確認を行った。結果は表 10 に示すように、混合の有無にかかわらず 30 日間冷蔵保存した溶液を用いて誘導体化した標準液についても感度の低下は認められず、誘導体化試薬は冷蔵条件で少なくとも 30 日間は安定であることを確認した。

表 10 誘導体化試薬の保存性 (n=3)

保存条件	個々の溶液 の調製	3 溶液の混合	相対感度 (範囲) *1 (%)
保存なし (分析当日調製)	分析当日	分析当日	100
混合前の状態で冷蔵保存	分析 30 日前	分析当日	102 (101~102)
混合後の状態で冷蔵保存	分析 30 日前	分析 30 日前	103 (101~104)

*1 相対感度は、分析当日に調製した誘導体化試薬による標準液の応答値を 100%として算出した。

〔環境試料の分析〕

本分析法により、東京都八王子市で環境大気試料の測定を行った。測定結果を表 11 に、クロマトグラムを図 14 に示す。環境試料中から 206 ng/m³ のシアン化物 (シアン化水素濃度として算出) が検出された。

表11 環境試料の測定結果 (試料採取：平成28年2月9日～10日)

物質名	平均気温 (°C)	平均湿度 (%)	検出濃度 (ng/m ³)
シアン化水素およびシアン化物	3.9	51	206

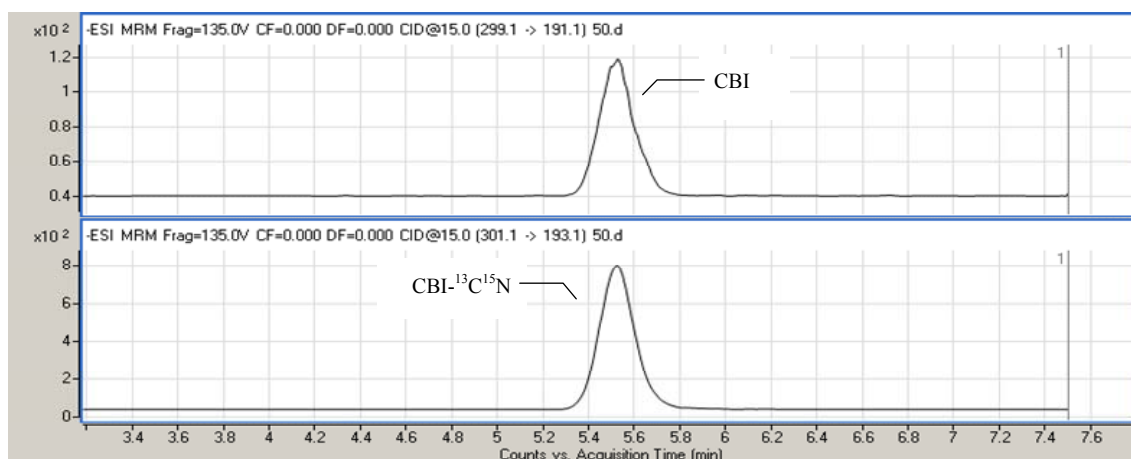


図 14 大気試料のクロマトグラム

(八王子市、平成 28 年 2 月 9 日～10 日、平均気温：3.9℃、平均湿度：51%)

【評価】

本法で用いた LC/MS/MS によるシアン化物イオンの IDL は 0.030 ng/mL (試料換算濃度濃度 15 ng/m³ (液中濃度はシアン化物イオンとしての濃度、気中濃度はシアン化水素換算濃度、以下同様) であり、0.100 ～ 10.0 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 43 ng/m³、MQL は 110 ng/m³ であり、要求感度である 500 ng/m³ を大きく下回っていた。大気試料に対する添加回収試験の結果、回収率は 91% (変動係数 4.6%) であった。また、温度 35℃、湿度 70%以上の条件下での添加回収試験においても回収率は 97% (変動係数 0.8%) であり、高温高湿条件下でも捕集が可能であることを確認した。本法を用いて東京都八王子市で環境大気を測定した結果、シアン化水素及びシアン化物の含量濃度は 206 ng/m³ であった。

以上の結果から、本法は環境大気中に含まれる 100 ng/m³ レベルのシアン化水素及びシアン化物の定量に適用可能であると判断される。

【参考文献】

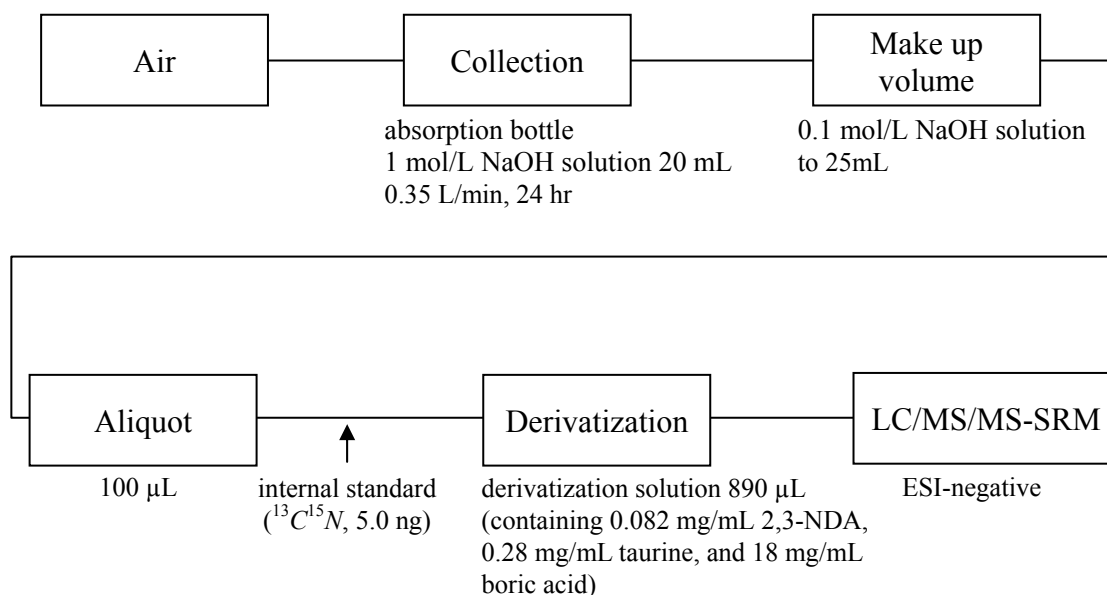
- 1) Mottier, N., Jeanneret, F. and Rotach, M.: Determination of Hydrogen Cyanide in Cigarette Mainstream Smoke by LC/MS/MS. *J. AOAC. Int.*, 93, 1032-1038 (2010)
- 2) Lacroix, C., Sausseureau, E., Boulanger, F. and Goulle, J.P.: Online Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Cyanide Determination in Blood. *J. Anal.Toxicol.*, 35, 143-147 (2011)
- 3) 原 登, 本間克典: 大気中シアン化合物の生成条件と捕集方法の研究, 産業医学, 15, 245-249 (1973)

【担当者連絡先】

所属先名称 : 株式会社 環境管理センター
所属先住所 : 〒192-0154 東京都八王子市下恩方町 323-1
TEL : 042-650-7200 FAX : 042-652-0800
担当者名 : 川中洋平、今井志保
E-mail : ykawanaka@kankyo-kanri.co.jp, simai@kankyo-kanri.co.jp

Hydrogen cyanide and Cyanides

An analytical method has been developed for the determination of hydrogen cyanide and cyanides in ambient air by liquid chromatography/tandem mass spectrometry (LC/MS/MS). An ambient air sample is collected by sampling pump connected with absorption bottles containing 20 mL of 1 mol/L sodium hydroxide aqueous solution at a flow rate of 0.35 L/min for 24 hours (total volume is 0.504 m³). After the sample collection is completed, the absorption solution is transferred to volumetric bottle and adjusted to 25 mL with 0.1 mol/L sodium hydroxide solution. Then, 100 µL of the solution is transferred to analytical vial, and added 5.00 ng of isotopic CN⁻ (¹³C¹⁵N) as an internal standard and 890 µL of derivatization solution. Cyanide is derivatized with naphthalene-2,3-dicarboxaldehyde and taurine to form a benzo[*f*]isoindole derivative. The analyte is determined by LC/MS/MS. The instrument detection limit (IDL) is 0.030 ng/mL. The method detection limit (MDL) and the method quantification limit (MQL) is 43 ng/m³ and 110 ng/m³, respectively. The average of recoveries from seven ambient air samples prepared at 2060 ng/m³ of cyanide was 91% with the relative standard deviation of 4.6%.



物質名	分析法フローチャート	備考
シアン化水素 およびシアン 化物	<pre> graph TD A[大気] --> B[液体捕集 吸収液：1 mol/L NaOH 水溶液 0.35 L/min, 24 h] B --> C[定容 0.1 mol/L NaOH 水溶液 25 mL] C --> D[分取 100 µL] E[内標準添加 (¹³C ¹⁵N, 5.00 ng)] --> F[誘導体化 誘導体化試薬 890 µL (0.082 mg/mL 2,3-NDA、 0.28 mg/mL クリン、 18 mg/mL ほう酸)] D --> F F --> G[LC/MS/MS ESI-negative] </pre>	分析原理： LC/MS/MS-SRM ESI-negative 検出下限値： 【大気】(ng/m³) 43 分析条件： 機器 LC ; Agilent 1200SL MS ; Agilent 6460 カラム； Mightysil RP-18GP (150 mm × 2.0 mm, 3 µm)