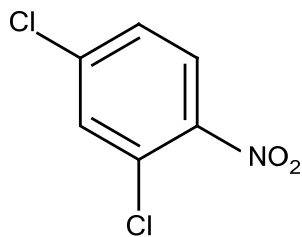


**2,4-ジクロロ-1-ニトロベンゼン**  
**2,4-Dichloro-1-nitrobenzene**

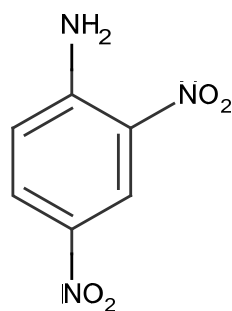
**2,4-ジニトロアニリン**  
**2,4-Dinitroaniline**

同時分析：2,6-ジニトロアニリン、3,5-ジニトロアニリン  
2,6-Dinitroaniline、3,5-Dinitroaniline

**【対象物質の構造】**



2,4-ジクロロ-1-ニトロベンゼン  
CAS 番号：611-06-3  
分子式：C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>Cl<sub>2</sub>NO<sub>2</sub>



2,4-ジニトロアニリン  
CAS 番号：97-02-9  
分子式：C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>

### 【物理化学的性状】

対象物質	分子量 (モノアイトビック 質量)	融点 沸点 (°C)	蒸気圧 (mmHg)	水溶解度 (mg/L)	log P <sub>ow</sub>
2,4-DCNB	192.00 <sup>1)</sup> (190.9541)	30 <sup>1)</sup> 258.5 <sup>1)</sup>	0.0143 <sup>5)</sup> (25°C) (推測値)	68.9 <sup>5)</sup> (25°C) (推測値)	3.07 <sup>5)</sup>
2,4-DNA	183.12 <sup>2)</sup> (183.0280)	176-178 <sup>2)</sup> 333.6 <sup>3)</sup>	2.68 × 10 <sup>-5 3)</sup> (25°C) (推定値)	1,440 <sup>3)</sup> (25°C) (推定値)	1.84 <sup>3)</sup> (概算値)
2,6-DNA	183.12 (183.0280)	-	-	-	-
3,5-DNA	183.12 (183.0280)	-	-	-	-

### 【毒性、用途等】

#### 〔毒性〕

2,4-ジクロロ-1-ニトロベンゼン マウス（経口） LD<sub>50</sub> : 790 mg/kg<sup>1)</sup>  
 2,4-ジニトロアニリン ラット（経口） LD<sub>50</sub> : 285 mg/kg<sup>2)</sup>

#### 〔用途〕

2,4-ジクロロ-1-ニトロベンゼン 医薬・農薬・染料・顔料中間体<sup>6)</sup>  
 2,4-ジニトロアニリン 医薬・染料中間体<sup>6)</sup>

#### 出典

- 1) 化学物質安全性（ハザード）評価シート
- 2) Sigma Aldrich SDS
- 3) Philip H. Howard, William M. Meylan, Handbook of Physical Properties of Organic Chemicals
- 4) International Chemical Safety Cards ICSC1107
- 5) web sites, Data from SRC PhysProp Database
- 6) 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)

## §1 分析法

### (1) 分析法の概要

水質試料を固相抽出カラムに通水し、メタノール/精製水(6:4)で洗浄する。固相抽出カラムを窒素通気により乾燥させた後、アセトンで溶出し、シリンジスパイク内標準物質（以下、「内標準」という）を添加してGC/MS-SIMで測定する。

### (2) 試薬・器具

#### 【試薬】

2,4-ジクロロニトロベンゼン (2,4-DCNB)	: 和光純薬工業製	98.0+%
2,4-ジニトロアニリン (2,4-DNA)	: 東京化成工業製	>99.0%
2,6-ジニトロアニリン (2,6-DNA)	: ワコーケミカル製	>97.0%
3,5-ジニトロアニリン (3,5-DNA)	: ワコーケミカル製	>97.0%
2,3-ジクロロニトロベンゼン (2,3-DCNB)	: 東京化成工業製	>99.0%
1,4-ジクロロ-2-ニトロベンゼン (2,5-DCNB)	: 東京化成工業製	>99.0%
1,3-ジクロロ-2-ニトロベンゼン (2,6-DCNB)	: 東京化成工業製	>98.0%
3,4-ジクロロニトロベンゼン (3,4-DCNB)	: 東京化成工業製	>97.0%
3,5-ジクロロニトロベンゼン (3,5-DCNB)	: ワコーケミカル製	>97.0%
アセナフテン- $d_{10}$	: Cambridge Isotope Laboratories 製	99%
<i>p</i> -テルフェニル- $d_{14}$	: Cambridge Isotope Laboratories 製	98%
アセトン	: 和光純薬工業製 残留農薬・PCB 試験用 (5000倍濃縮)	
メタノール	: 和光純薬工業製	LC/MS 用
固相カートリッジ	: Waters 製 Oasis HLB plus	

#### 【試薬の調製】

### 〔メタノール/精製水(6:4)〕

メタノール 60 mL、精製水 40 mL を混合する。

### 【標準液の調製】

#### 〔標準液〕

2,4-DCNB、2,4-DNA、2,6-DNA 及び 3,5-DNA をそれぞれ 10 mg 量り取り、アセトンで 10 mL として各 1000 µg/mL の標準原液を調製する。

標準原液を各々 1 mL 分取し、各々アセトンで 100 mL として各 10 µg/mL の標準液を調製する。

2,4-DCNB 及び 2,6-DNA の 10 µg/mL 標準液をそれぞれ 6 mL、2,4-DNA 及び 3,5-DNA の標準液をそれぞれ 10 mL 分取し、アセトンで 100 mL として、混合標準液 (2,4-DCNB 0.60 µg/mL、2,4-DNA 1.0 µg/mL、2,6-DNA 0.60 µg/mL、3,5-DNA 1.0 µg/mL) を調製する。

#### 〔内標準液〕

アセナフテン-*d*<sub>10</sub> 及び *p*-テルフェニル-*d*<sub>14</sub> をそれぞれ 10 mg 量り取り、ヘキサンで 10 mL として 1000 µg/mL の内標準原液を調製する。

内標準原液を各々 1 mL 分取し、ヘキサンで各々 100 mL として各 10 µg/mL の内標準液を調製する。

10 µg/mL 内標準液をそれぞれ 1 mL 分取し、ヘキサンで 100 mL として、混合内標準液 (アセナフテン-*d*<sub>10</sub> 0.10 µg/mL、*p*-テルフェニル-*d*<sub>14</sub> 0.10 µg/mL) を調製する。

#### 〔検量線用混合標準液〕

混合標準液をアセトンで適宜希釈し、2,4-DCNB 0.75～15 ng/mL、2,4-DNA 1.25～25 ng/mL、2,6-DNA 0.75～15 ng/mL、3,5-DNA 1.25～25 ng/mL に調製し、そこから 1 mL を分取したものに、0.10 µg/mL の混合内標準液を 10 µL 加えて、検量線用混合標準液とする。

### 【器具】

桐山ロート	: φ 40 m/m
三角フラスコ (共栓付)	: 300 mL
マニホールド	: 固相カートリッジのコンディショニングに使用
コンセントレータ	: 固相抽出に使用 (吸引通水)
リザーバ	: 固相抽出に使用
注射筒	: 10 mL
メスフラスコ	: 100, 10, 5 mL (溶出液の受け)
マイクロシリンジ	: 内標準の添加に用いる (注 1)
ろ紙	: 5 種 A、φ 40 m/m (注 2)

### (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 28 年 3 月）における「試料の採取方法及び検体の調製等」に従う。

採取容器にはガラス製ねじロビン（PTFE 張りセプタム付き蓋）を用い、水質試料を採取する。試料は採取後、冷暗所に保管し、速やかに試験操作を行う。速やかに行えない場合は、冷暗所に保存する。

#### 【試料の前処理及び試験液の調製】

水質試料 200 mL（注 2）をあらかじめコンディショニングした固相抽出カートリッジ（注 3）に 10 mL/min の流量で通水する。固相抽出カートリッジを精製水 10 mL（注 4）、メタノール/精製水(6:4)15 mL の順で洗浄した後、注射筒で約 20 mL の空気を送り、さらに窒素ガス(0.5 L/min)を約 60 分間通気(注 5) する。次いでアセトン 5 mL で溶出、溶出液を 5 mL メスフラスコに回収し、アセトンで 5 mL に定容する。そこから 1 mL 分取したものに 0.10 µg/mL の混合内標準液（注 6）を 10 µL 加えて、GC/MS-SIM で分析する。

#### 【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】

##### 〔GC/MS 条件〕

使用機種	: GC 7890B (Agilent Technologies 製) MS 5977A (Agilent Technologies 製)
使用カラム	: DB-17MS 30 m×0.25 mm, 0.25 µm (Agilent Technologies 製)
カラム温度	: 40°C(2 min)→20°C/min→150°C→10°C/min→280°C
注入口温度	: 200°C
試料導入方法	: パルスドスプリットレス法 (15.4 psi(2 min))
試料注入量	: 1 µL
キャリアーガス	: ヘリウム (定流量 1 mL/min)
インターフェース温度	: 280°C
イオン源温度	: 230°C
イオン化電圧	: 70 eV
検出モード	: SIM
モニターイオン	

2,4-DCNB	: $m/z$ 190.9 (定量用)	$m/z$ 145.0 (確認用)
2,4-DNA	: $m/z$ 183.0 (定量用)	$m/z$ 153.0 (確認用)
2,6-DNA	: $m/z$ 183.0 (定量用)	$m/z$ 153.0 (確認用)
3,5-DNA	: $m/z$ 183.0 (定量用)	$m/z$ 137.0 (確認用)
アセナフテン- $d_{10}$	: $m/z$ 164.1 (定量用)	
$p$ -テルフェニル- $d_{14}$	: $m/z$ 244.2 (定量用)	

#### 〔検量線〕

検量線用標準液 1  $\mu\text{L}$  を GC/MS に注入し、対象物質と内標準物質との濃度比及び得られた面積比から検量線を作成する。

#### 〔定量〕

試験液 1  $\mu\text{L}$  を GC/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〕

試料中の濃度  $C$  (ng/L) は次式により算出する。

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

$R$  : 検量線から求めた試験液中の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物質の量(ng)  
(= 添加する内標準液の濃度(ng/ $\mu\text{L}$ ) $\times$ 添加する内標準液の容量( $\mu\text{L}$ ))

$V$  : 試料量(L)

本分析法に従った場合、以下の数値を使用する。

$$Q = 1.0 \text{ (ng)}$$

$$V = 0.20 \text{ (L)}$$

即ち、

$$C = R \times 5.0 \text{ (ng/L)}$$

である。

#### 〔装置検出下限値(IDL)〕

本分析に用いた GC/MS の IDL を表 1 に示す (注 7)。

表 1 IDL の算出結果

物質名	IDL (pg)	試料量 (L)	最終液量 (mL)	IDL 試料換算値 (µg/L)
2,4-DCNB	0.19	0.20	5	0.0047
2,4-DNA	0.15	0.20	5	0.0038
2,6-DNA	0.19	0.20	5	0.0048
3,5-DNA	0.33	0.20	5	0.0082

[分析方法の検出下限値(MDL)及び定量下限値(MQL)]

本分析方法における MDL 及び MQL を表 2 に示す (注 8)。

表 2 MDL 及び MQL 算出の結果

物質名	試料量 (L)	最終液量 (mL)	MDL (µg/L)	MQL (µg/L)
2,4-DCNB	0.20	5	0.0058	0.015
2,4-DNA	0.20	5	0.0072	0.019
2,6-DNA	0.20	5	0.0052	0.013
3,5-DNA	0.20	5	0.0098	0.025

## 注解

- (注 1) マイクロシリンジを使用する場合には精度管理ないしはバリデーションされたものを用いることを基本とし、測定誤差 2%以下となることを担保しておくのが望ましい。
- (注 2) 懸濁物質が多く固相抽出に支障がある場合は、ろ過を行い、ろ液を用いる。ろ紙は 5 種 A を使い、あらかじめ精製水 500 mL を通水したのものを用いる。
- (注 3) 固相抽出カートリッジには Waters 製 Oasis HLB plus を使い、重量を秤量した後、アセトン 10 mL、精製水 10 mL でコンディショニングする。
- (注 4) 脱塩を目的とするものであり、河川水の場合、省略してよい。
- (注 5) ジニトロアニリン類は酸化のおそれがあるため、空気を用いない。本検討では高純度窒素 (純度 99.9995%以上) を用いた。また後述のとおり、固相抽出カートリッジに水分が残存したまま次の溶出操作を行うと、正しく定量できないおそれがあるため、十分に通気して乾燥させる。通気は 60 分を目安とし、通気後の固相抽出カートリッ

ジの重量を 0.01 g 単位まで量り、重量に変化がなくなるまで継続する。

(注 6) 2,4-DCNB はアセナフテン- $d_{10}$ 、2,4-DNA、2,6-DNA 及び 3,5-DNA は *p*-テルフェニル- $d_{14}$  をそれぞれ内標準物質とする。

(注 7) IDL は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 28 年 3 月) に準じて算出した。算出結果を表 3 に示す。また図 1-1, 1-2 に IDL 測定時のクロマトグラムを示す。

表 3 IDL の算出結果

対象物質名	2,4-DCNB	2,4-DNA	2,6-DNA	3,5-DNA
試料量 (L)	0.20	0.20	0.20	0.20
最終液量 (mL)	5.0	5.0	5.0	5.0
注入液濃度 (ng/mL)	0.75	1.25	0.75	1.25
注入量 (pg)	0.75	1.25	0.75	1.25
装置注入液量 ( $\mu$ L)	1.0	1.0	1.0	1.0
結果 1 (pg)	0.661	1.50	0.785	1.44
結果 2 (pg)	0.746	1.45	0.712	1.59
結果 3 (pg)	0.696	1.45	0.776	1.50
結果 4 (pg)	0.674	1.52	0.683	1.42
結果 5 (pg)	0.674	1.51	0.832	1.64
結果 6 (pg)	0.613	1.47	0.770	1.57
結果 7 (pg)	0.604	1.41	0.763	1.44
平均値 (pg)	0.6669	1.472	0.7602	1.514
標準偏差 (pg)	0.0487	0.0391	0.0492	0.0847
IDL (pg)*	0.19	0.15	0.19	0.33
IDL 試料換算値 ( $\mu$ g/L)	0.0047	0.0038	0.0048	0.0082
S/N 比	11	16	19	13
CV (%)	7.3	2.7	6.5	5.6

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

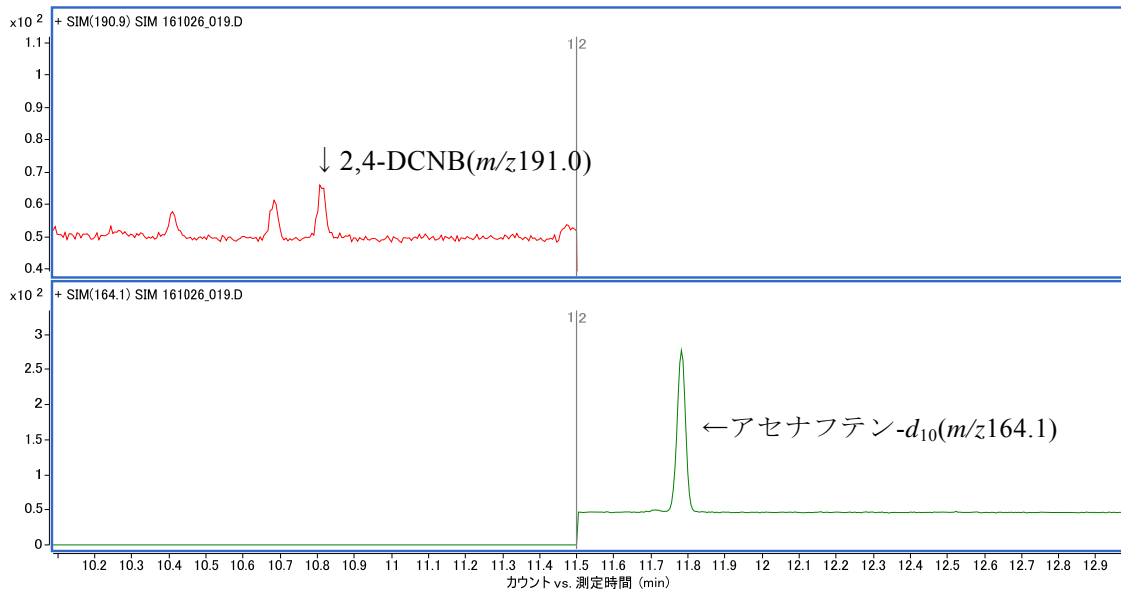


図 1-1 IDL 測定時のクロマトグラム  
(2,4-DCNB 0.75 ng/mL、アセナフテン- $d_{10}$  1.0 ng/mL)

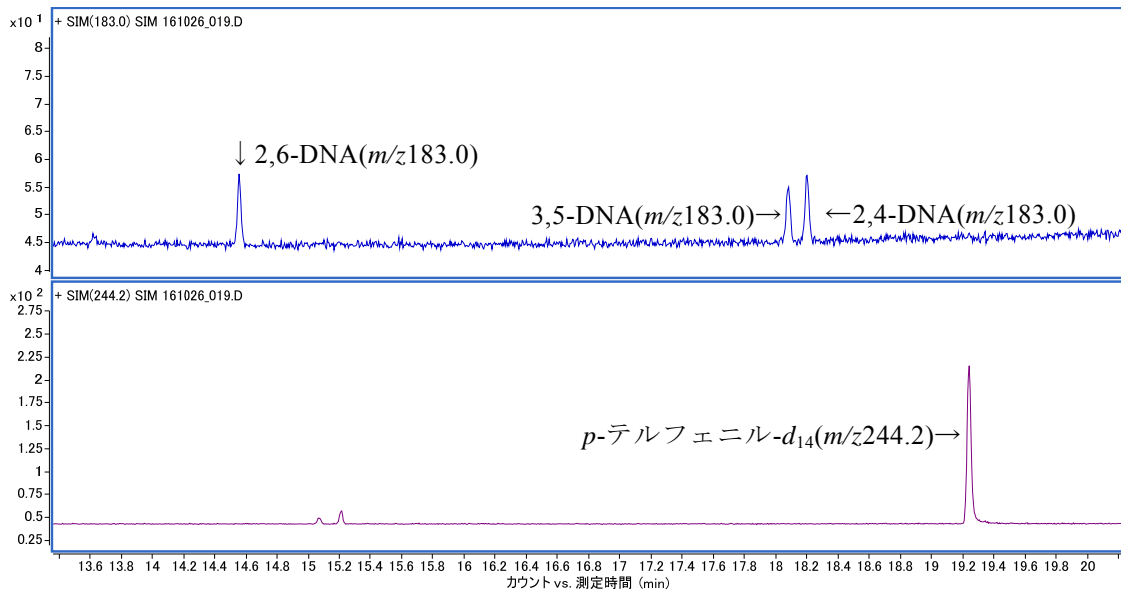


図 1-2 IDL 測定時のクロマトグラム  
(2,4-DNA 1.25 ng/mL、2,6-DNA 0.75 ng/mL、3,5-DNA 1.25 ng/mL、 $p$ -テルフェニル- $d_{14}$  1.0 ng/mL)

(注 8) 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)に準じて算出した。算出結果を表 4-1, 4-2 に示す。また図 2-1、2-2 に MDL 測定時のクロマトグラムを示す。

表 4-1 MDL の算出結果(2,4-DCNB, 2,4-DNA)

対象物質名	2,4-DCNB	回収率	2,4-DNA	回収率
試料	河川水		河川水	
試料量 (L)	0.20	-	0.20	-
標準添加量(ng)	4.8	-	8.0	-
試料換算濃度(μg/L)	0.024	-	0.040	-
最終液量 (mL)	5.0	-	5.0	-
注入液濃度 (ng/mL)	0.96	-	1.6	-
装置注入液量 (μL)	1.0	-	1.0	-
操作ブランク平均(μg/L) <sup>*1</sup>	< 0.0058	-	< 0.0072	-
無添加平均(μg/L) <sup>*2</sup>	< 0.0058	-	< 0.0072	-
結果 1 (μg/L)	0.0206	86	0.0369	92
結果 2 (μg/L)	0.0207	86	0.0395	99
結果 3 (μg/L)	0.0202	84	0.0402	101
結果 4 (μg/L)	0.0212	88	0.0390	98
結果 5 (μg/L)	0.0176	73	0.0395	99
結果 6 (μg/L)	0.0178	74	0.0404	101
結果 7 (μg/L)	0.0186	77	0.0431	108
平均値 (μg/L)	0.01951	81.3	0.03981	99.5
標準偏差 (μg/L)	0.00150		0.00186	
MDL (μg/L) <sup>*3</sup>	0.0058		0.0072	
MQL (μg/L) <sup>*4</sup>	0.015		0.019	
S/N 比	12		18	
CV (%)	7.7		4.7	

\*1 : 空試験液を測定した値の平均値 (n=2)

\*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 4-2 MDL の算出結果(2,6-DCNB, 3,5-DNA)

対象物質名	2,6-DNA	回収率	3,5-DNA	回収率
試料	河川水		河川水	
試料量 (L)	0.20	-	0.20	-
標準添加量(ng)	4.8	-	8.0	-
試料換算濃度(μg/L)	0.024	-	0.040	-
最終液量 (mL)	5.0	-	5.0	-
注入液濃度 (ng/mL)	0.96	-	1.6	-
装置注入液量 (μL)	1.0	-	1.0	-
操作ブランク平均(μg/L) <sup>*1</sup>	< 0.0052	-	< 0.0098	-
無添加平均(μg/L) <sup>*2</sup>	< 0.0052	-	< 0.0098	-
結果 1 (μg/L)	0.0195	81	0.0323	81
結果 2 (μg/L)	0.0201	84	0.0374	94
結果 3 (μg/L)	0.0210	87	0.0363	91
結果 4 (μg/L)	0.0228	95	0.0393	98
結果 5 (μg/L)	0.0225	94	0.0398	99
結果 6 (μg/L)	0.0200	84	0.0356	89
結果 7 (μg/L)	0.0223	93	0.0367	92
平均値 (μg/L)	0.02116	88.2	0.03677	91.9
標準偏差 (μg/L)	0.00134		0.00252	
MDL (μg/L) <sup>*3</sup>	0.0052		0.0098	
MQL (μg/L) <sup>*4</sup>	0.013		0.025	
S/N 比	15		15	
CV (%)	6.4		6.9	

\*1 : 空試験液を測定した値の平均値 (n=2)

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

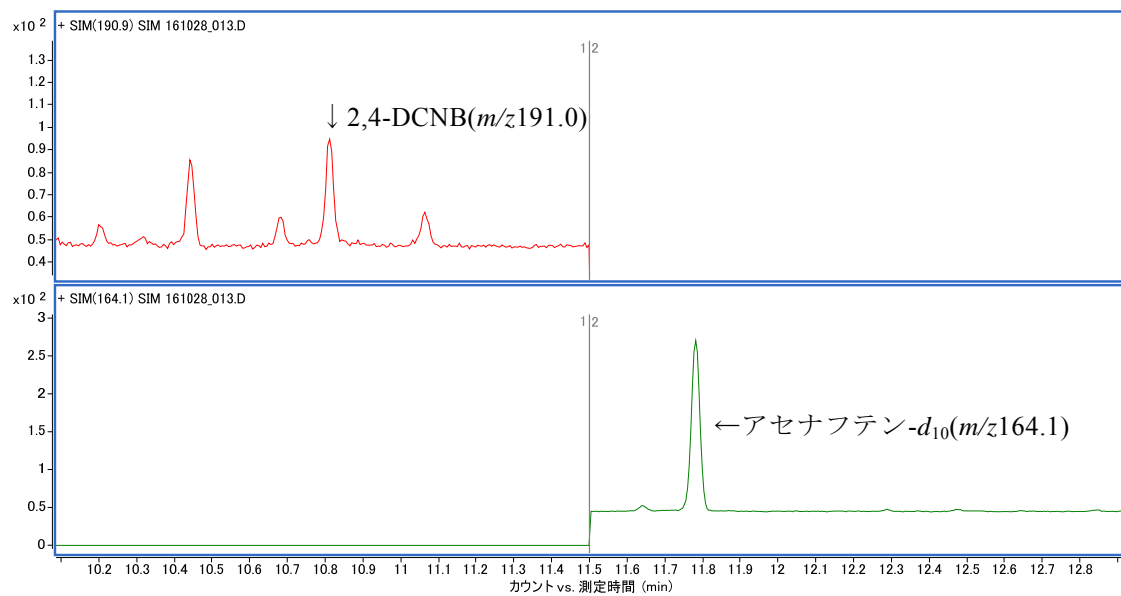


図 2-1 MDL 測定時のクロマトグラム (アセナフテン-d<sub>10</sub> 1.0 ng/mL)

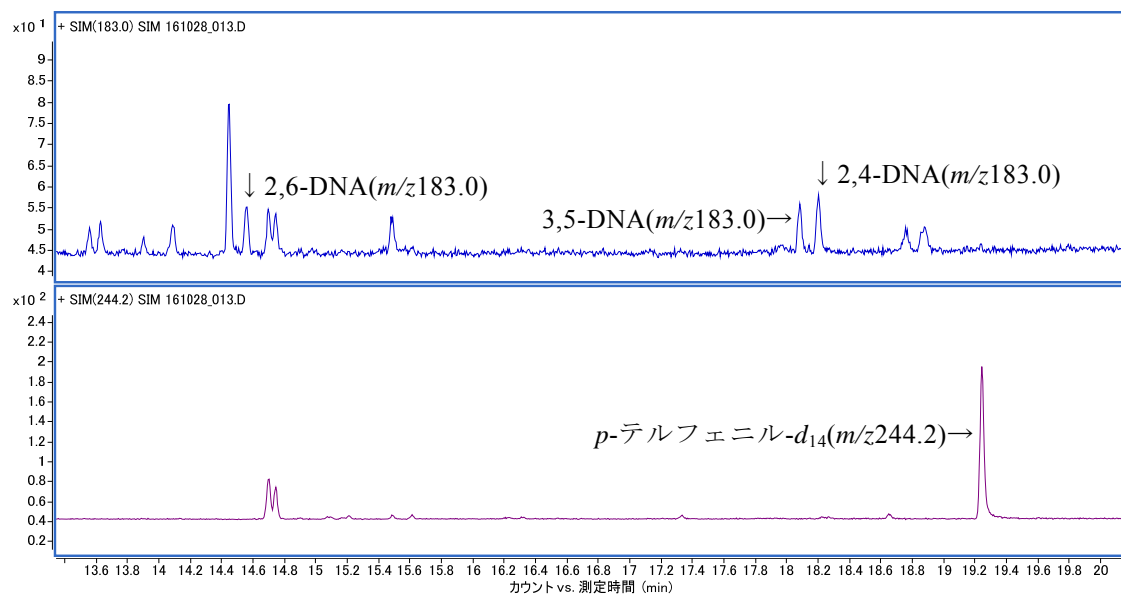
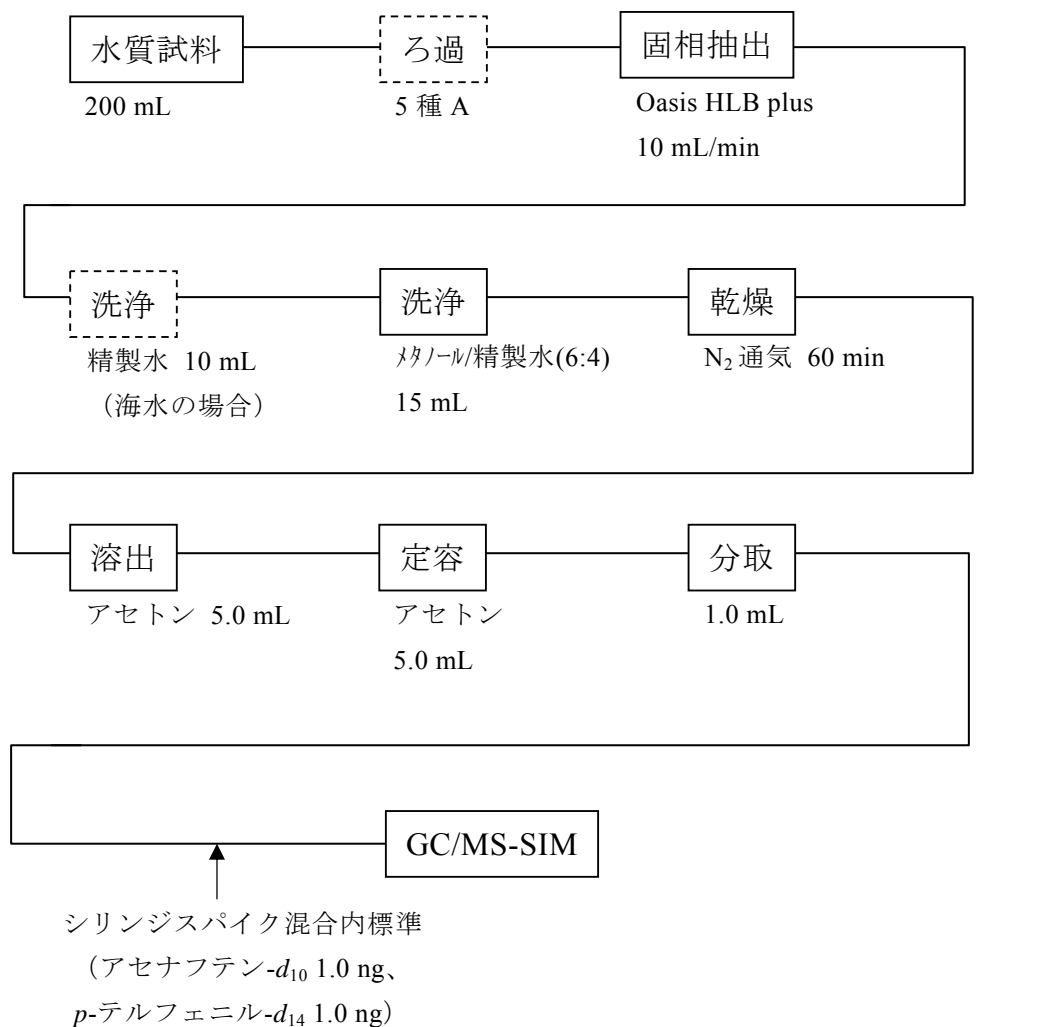


図 2-2 MDL 測定時のクロマトグラム (p-テルフェニル-d<sub>14</sub> 1.0 ng/mL)

## §2 解説

### 【分析法】

〔フローチャート〕



※   必要に応じて実施

〔検量線〕

検量線を図 3-1～3-4 に、検量線作成データを表 5-1～5-4 に示す。

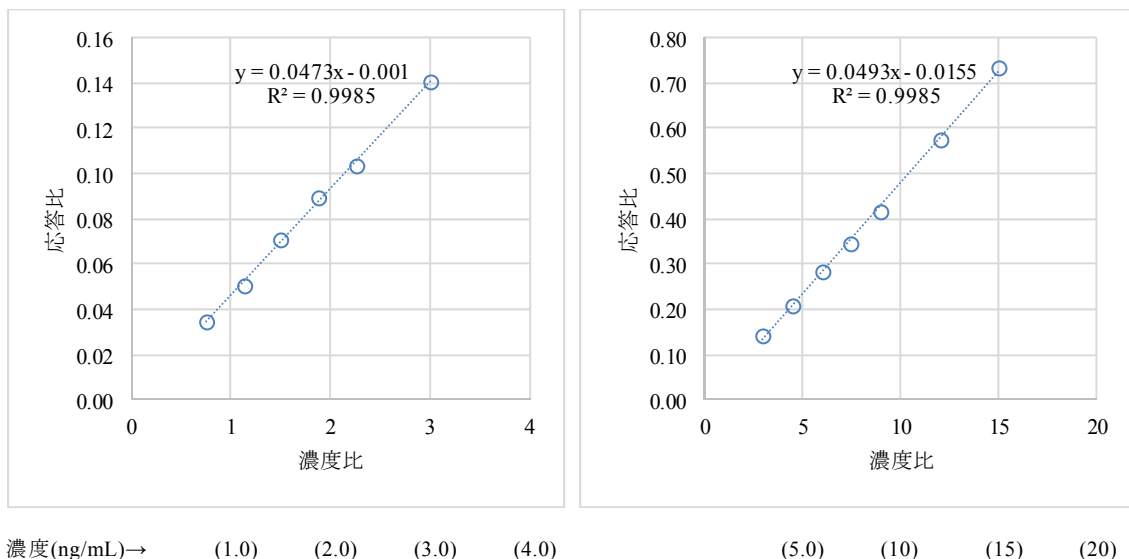


図 3-1 2,4-DCNB の検量線

(対象物質濃度：0.75～15 ng/mL、アセナフテン-*d*<sub>10</sub>：1.0 ng/mL)

表 5-1 2,4-DCNB 検量線作成用データ

標準液濃度 (ng/mL) (C <sub>s</sub> )	応答値		応答比 (A <sub>s</sub> /A <sub>is</sub> )
	対象物質(A <sub>s</sub> ) 【2,4-DCNB】 ( <i>m/z</i> 190.9)	内標準物質(A <sub>is</sub> ) <sup>*</sup> 【アセナフテン- <i>d</i> <sub>10</sub> 】 ( <i>m/z</i> 164.1)	
0.75	13	373	0.0347
1.13	19	381	0.0505
1.5	27	379	0.0710
1.88	33	373	0.0897
2.25	39	373	0.104
3.0	53	373	0.141
4.5	78	372	0.209
6.0	105	371	0.282
7.5	126	366	0.345
9.0	151	361	0.417
12	210	365	0.575
15	257	350	0.734

\*内標準物質濃度：1.0 ng/mL

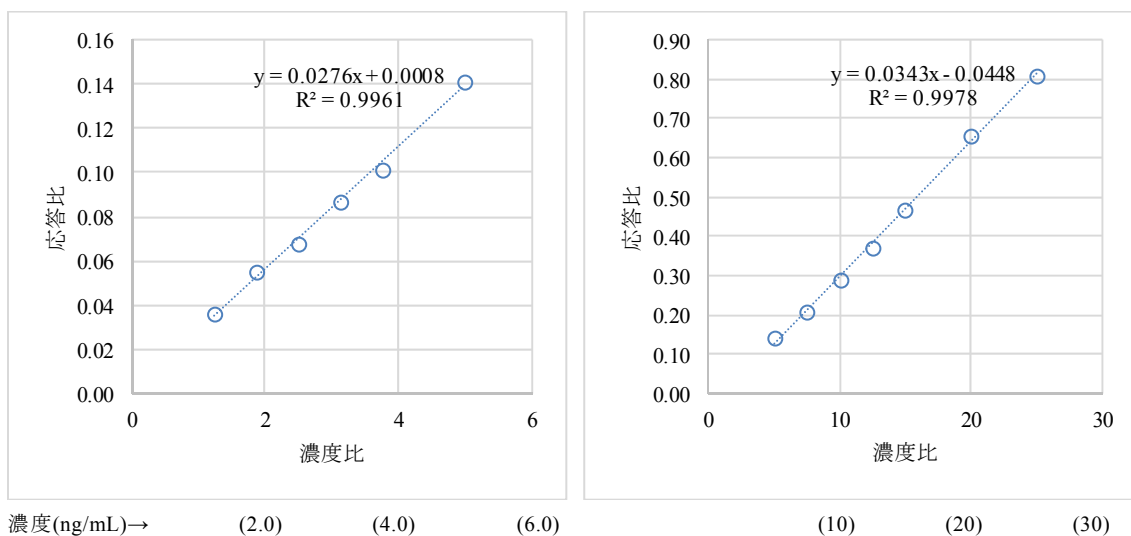


図 3-2 2,4-DNA の検量線

(対象物質濃度 : 1.25~25 ng/mL、*p*-テルフェニル-*d*<sub>14</sub> : 1.0 ng/mL)

表 5-2 2,4-DNA 検量線作成用データ

標準液濃度 (ng/mL) (C <sub>s</sub> )	応答値		応答比 (A <sub>s</sub> /A <sub>is</sub> )
	対象物質(A <sub>s</sub> ) 【2,4-DNA】 ( <i>m/z</i> 183.0)	内標準物質(A <sub>is</sub> )* 【 <i>p</i> -テルフェニル- <i>d</i> <sub>14</sub> 】 ( <i>m/z</i> 244.2)	
1.25	12	322	0.0364
1.88	18	333	0.0547
2.5	22	320	0.0674
3.13	27	316	0.0867
3.75	32	318	0.102
5.0	44	311	0.142
7.5	66	314	0.210
10	89	311	0.287
12.5	112	302	0.369
15	137	292	0.469
20	194	296	0.656
25	233	288	0.809

\*内標準物質濃度 : 1.0 ng/mL

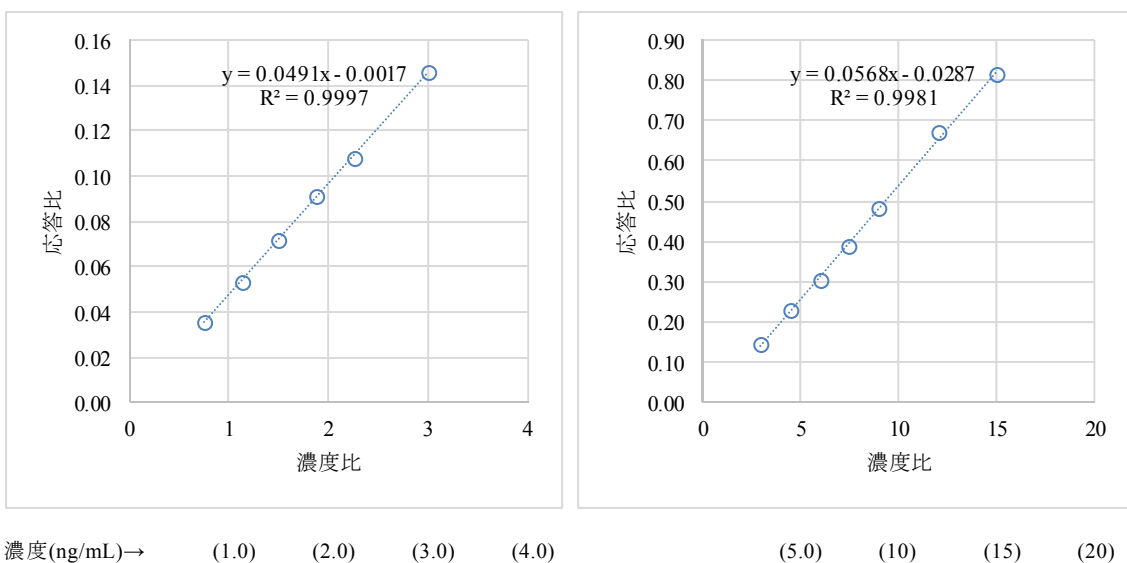


図 3-3 2,6-DNA の検量線

(対象物質濃度 : 0.75~15 ng/mL、*p*-テルフェニル-*d*<sub>14</sub> : 1.0 ng/mL)

表 5-3 2,6-DNA 検量線作成用データ

標準液濃度 (ng/mL) (C <sub>s</sub> )	応答値		応答比 (A <sub>s</sub> /A <sub>is</sub> )
	対象物質(A <sub>s</sub> ) 【2,6-DNA】 ( <i>m/z</i> 183.0)	内標準物質(A <sub>is</sub> ) <sup>*</sup> 【 <i>p</i> -テルフェニル- <i>d</i> <sub>14</sub> 】 ( <i>m/z</i> 244.2)	
0.75	12	322	0.0359
1.13	18	333	0.0530
1.5	23	320	0.0718
1.88	29	316	0.0910
2.25	34	318	0.108
3.0	45	311	0.146
4.5	72	314	0.231
6.0	94	311	0.302
7.5	117	302	0.388
9.0	141	292	0.484
12	199	296	0.672
15	235	288	0.815

\*内標準物質濃度 : 1.0 ng/mL

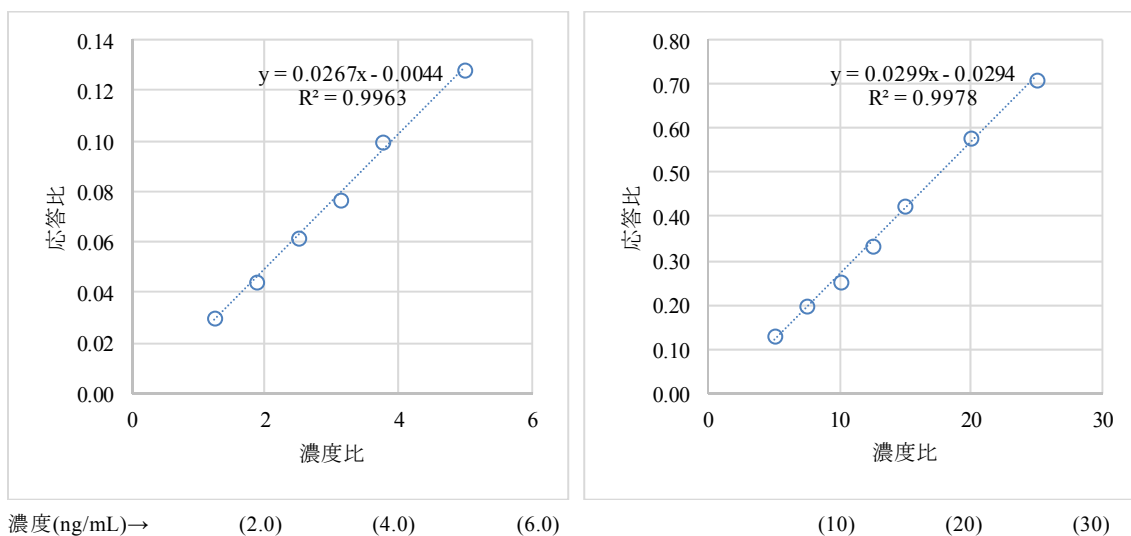


図 3-4 3,5-DNA の検量線  
(対象物質濃度 : 1.25~25 ng/mL、*p*-テルフェニル-*d*<sub>14</sub> : 1.0 ng/mL)

表 5-4 3,5-DNA 検量線作成用データ

標準液濃度 (ng/mL) (C <sub>s</sub> )	応答値		応答比 (A <sub>s</sub> /A <sub>is</sub> )
	対象物質(A <sub>s</sub> ) 【3,5-DNA】 ( <i>m/z</i> 183.0)	内標準物質(A <sub>is</sub> ) <sup>*</sup> 【 <i>p</i> -テルフェニル- <i>d</i> <sub>14</sub> 】 ( <i>m/z</i> 244.2)	
1.25	10	322	0.0304
1.88	15	333	0.0446
2.5	20	320	0.0621
3.13	24	316	0.0765
3.75	32	318	0.0995
5.0	40	311	0.129
7.5	62	314	0.197
10	79	311	0.254
12.5	102	302	0.336
15	124	292	0.424
20	172	296	0.581
25	205	288	0.712

\*内標準物質濃度 : 1.0 ng/mL

[クロマトグラム]

標準物質及び内標準物質のクロマトグラムを図 4-1, 4-2 に示す。

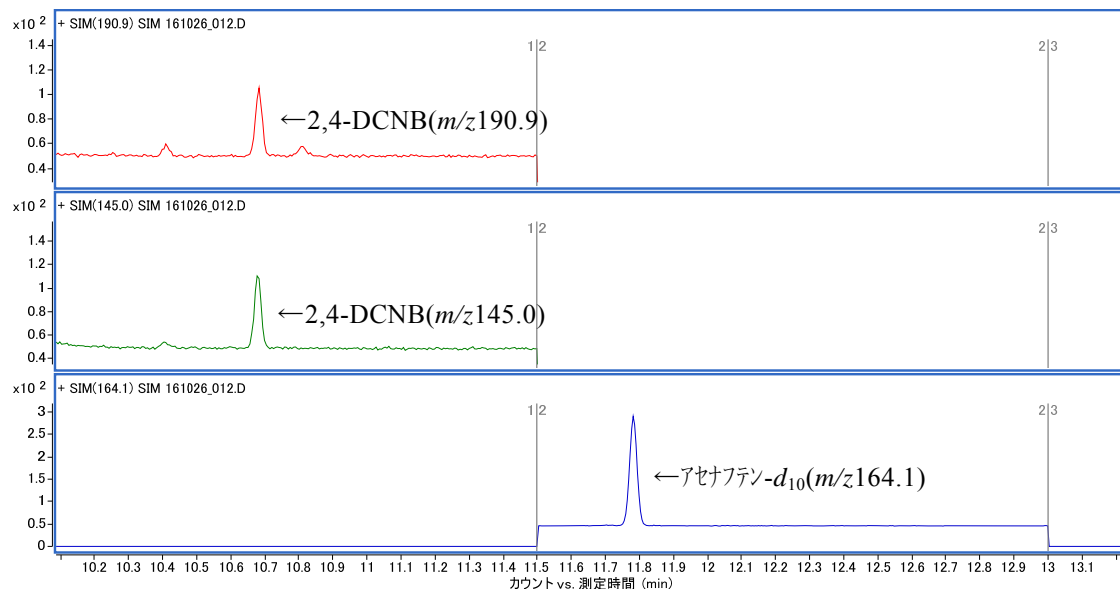


図 4-1 2,4-DCNB 及びアセナフテン- $d_{10}$  のクロマトグラム  
(2,4-DCNB 3.0 ng/mL、アセナフテン- $d_{10}$  1.0 ng/mL)

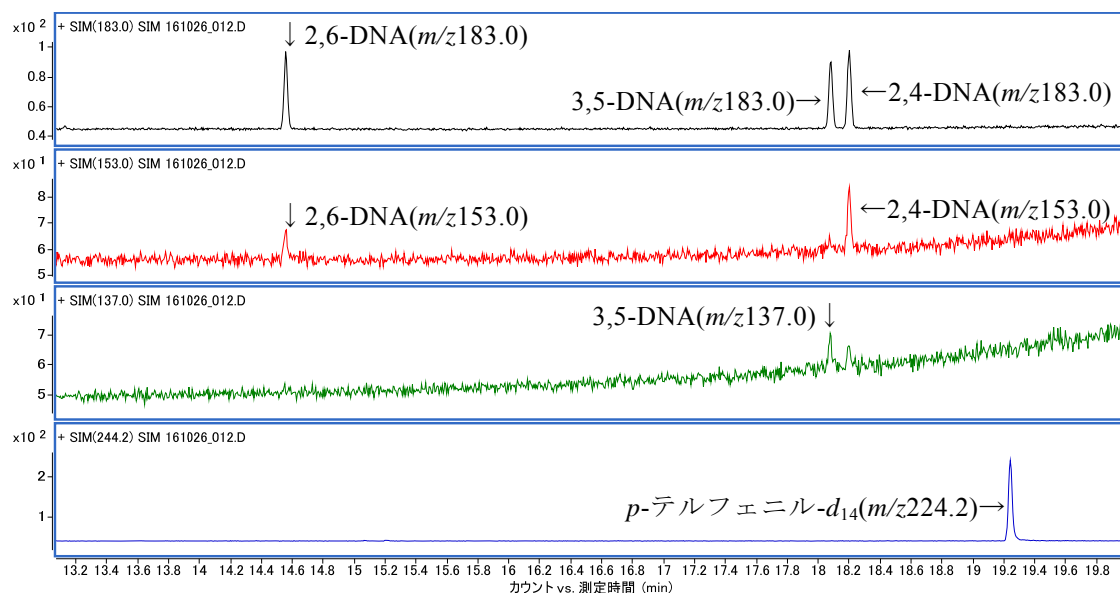


図 4-2 2,4-DNA、2,6-DNA、3,5-DNA 及び  
 $p$ -テルフェニル- $d_{14}$  のクロマトグラム  
(2,4-DNA 5.0 ng/mL、2,6-DNA 3.0 ng/mL、3,5-DNA 5.0 ng/mL、  
 $p$ -テルフェニル- $d_{14}$  1.0 ng/mL)

### [マススペクトル]

標準物質及び内標準物質のマススペクトルを図 5-1～5-6 に示す。

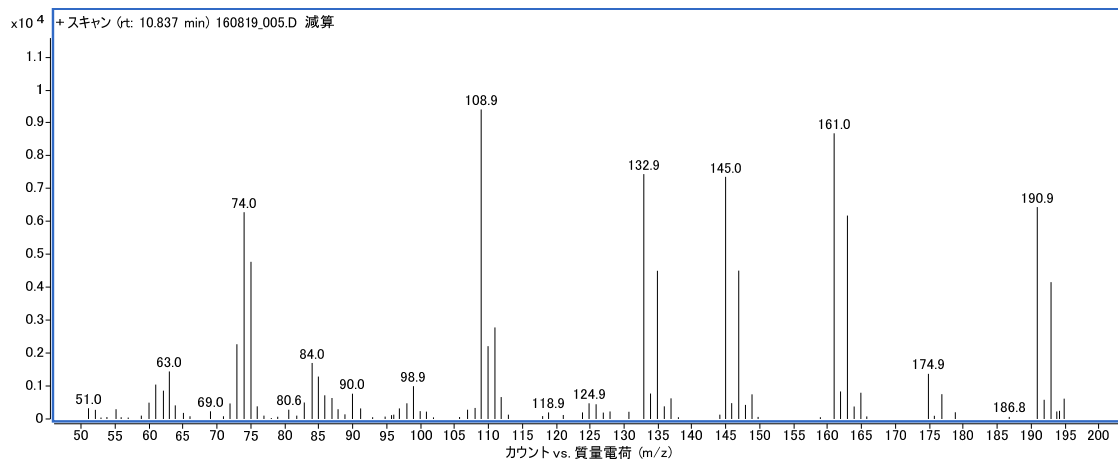


図 5-1 2,4-DCNB のマススペクトル

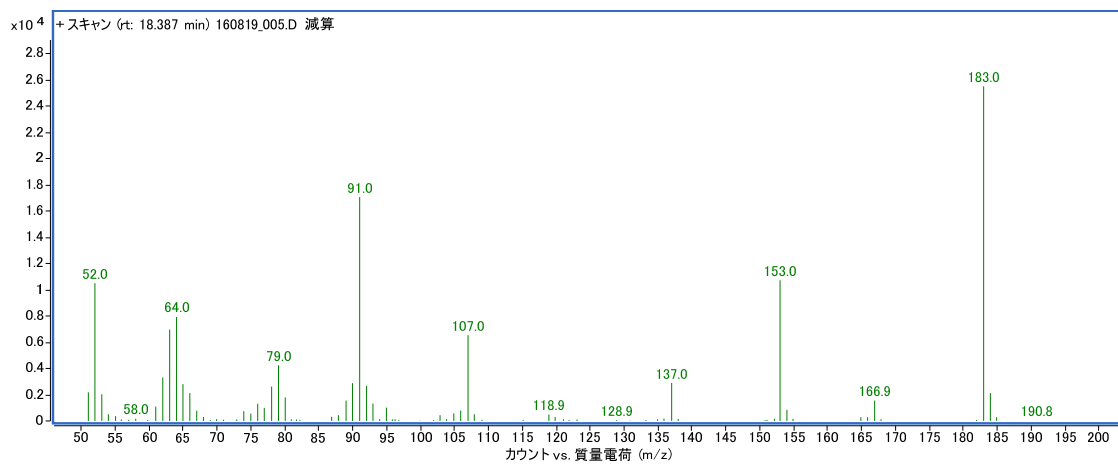


図 5-2 2,4-DNA のマススペクトル

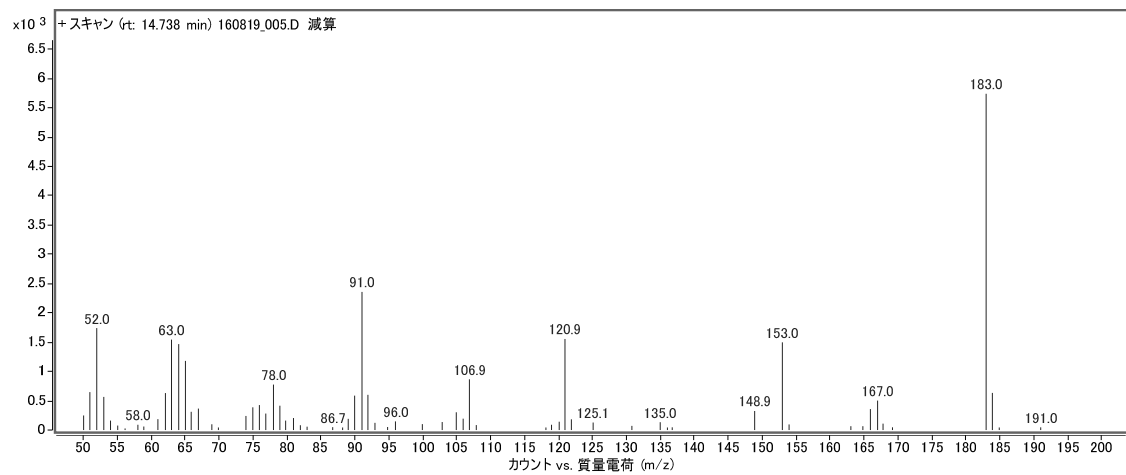


図 5-3 2,6-DNA のマススペクトル

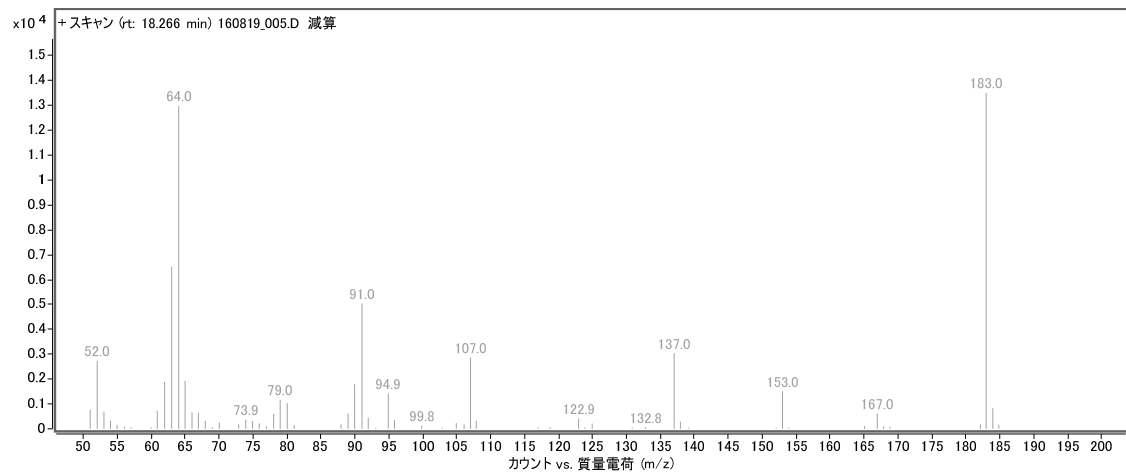


図 5-4 3,5-DNA のマススペクトル

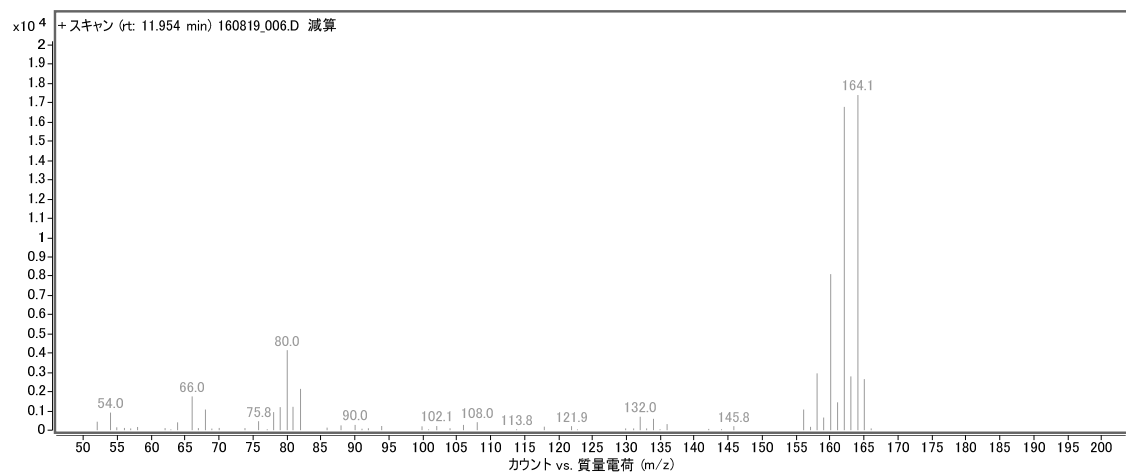


図 5-5 アセナフテン-*d*<sub>10</sub> のマススペクトル

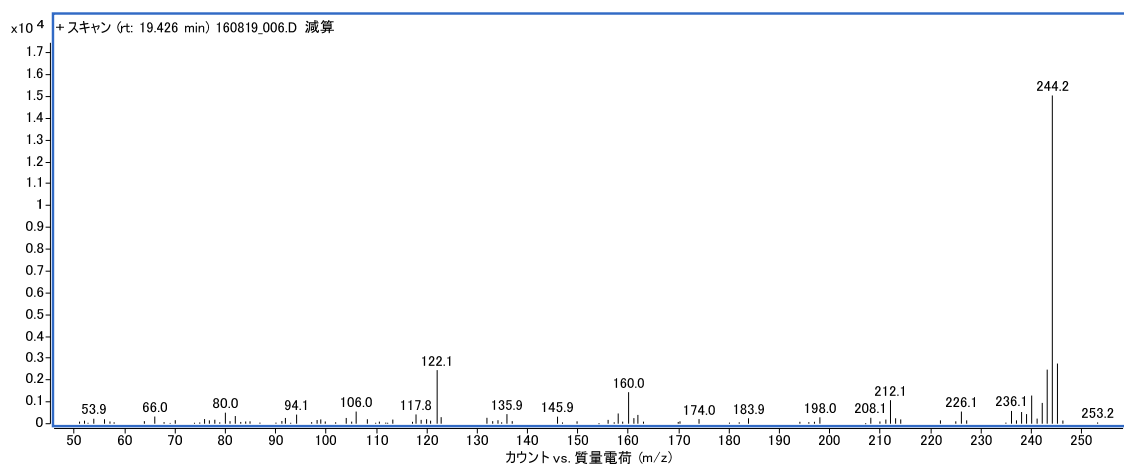


図 5-6 *p*-テルフェニル-*d*<sub>14</sub> のマススペクトル

〔操作ブランク試験〕

操作ブランク試験の結果はいずれも不検出であった。操作ブランクのクロマトグラムを図 6-1, 6-2 に示す。

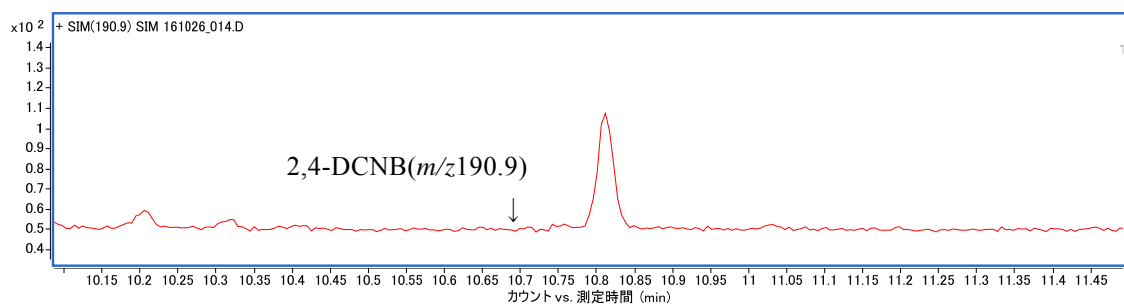


図 6-1 操作ブランクのクロマトグラム(2,4-DCNB)

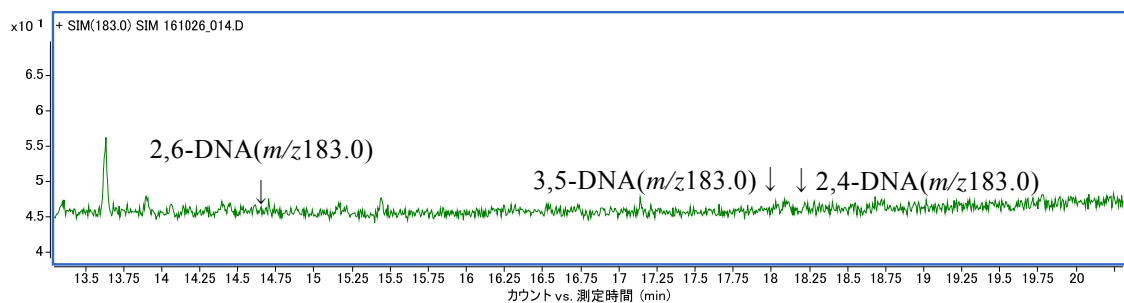


図 6-2 操作ブランクのクロマトグラム(2,4-DNA、2,6-DNA、3,5-DNA)

〔添加回収試験〕

河川水（日方川）及び海水（和歌山下津港）への標準物質添加回収試験結果を表 6-1, 6-2 に、また測定時のクロマトグラムを図 7-1～7-4 に示す。

表 6-1 添加回収試験結果（河川水）

試料	試験数	添加量(ng)	試料量(L)	検出濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	回収率 (%)	CV (%)
2,4-DCNB	2	-	0.20	<0.0058	-	-
	7	4.8	0.20	0.0195	81	7.7
2,4-DNA	2	-	0.20	<0.0072	-	-
	7	8.0	0.20	0.0398	100	4.7
2,6-DNA	2	-	0.20	<0.0052	-	-
	7	4.8	0.20	0.0212	88	6.4
3,5-DNA	2	-	0.20	<0.0098	-	-
	7	8.0	0.20	0.0368	92	6.9

表 6-2 添加回収試験結果（海水）

試料	試験数	添加量(ng)	試料量(L)	検出濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	回収率 (%)	CV (%)
2,4-DCNB	2	-	0.20	<0.0058	-	-
	5	12	0.20	0.0520	87	4.2
2,4-DNA	2	-	0.20	<0.0072	-	-
	5	20	0.20	0.0935	94	0.92
2,6-DNA	2	-	0.20	<0.0052	-	-
	5	12	0.20	0.0535	89	3.3
3,5-DNA	2	-	0.20	<0.0098	-	-
	5	20	0.20	0.0930	93	4.6

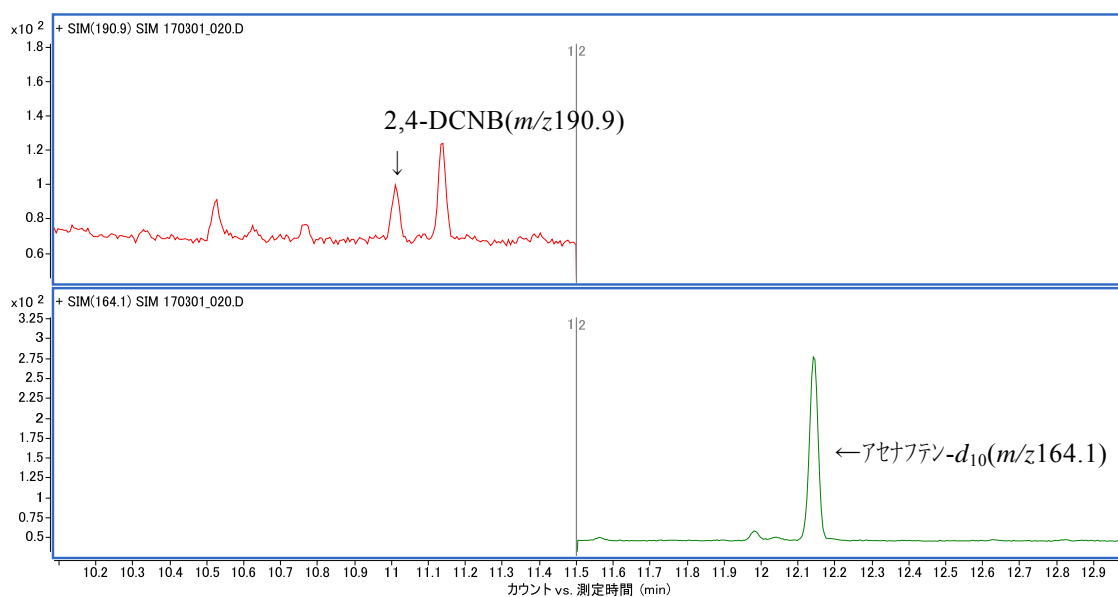


図 7-1 添加回収試験のクロマトグラム (海水) (2,4-DCNB)  
 (添加試料) (アセナフテン- $d_{10}$  1.0 ng/mL)

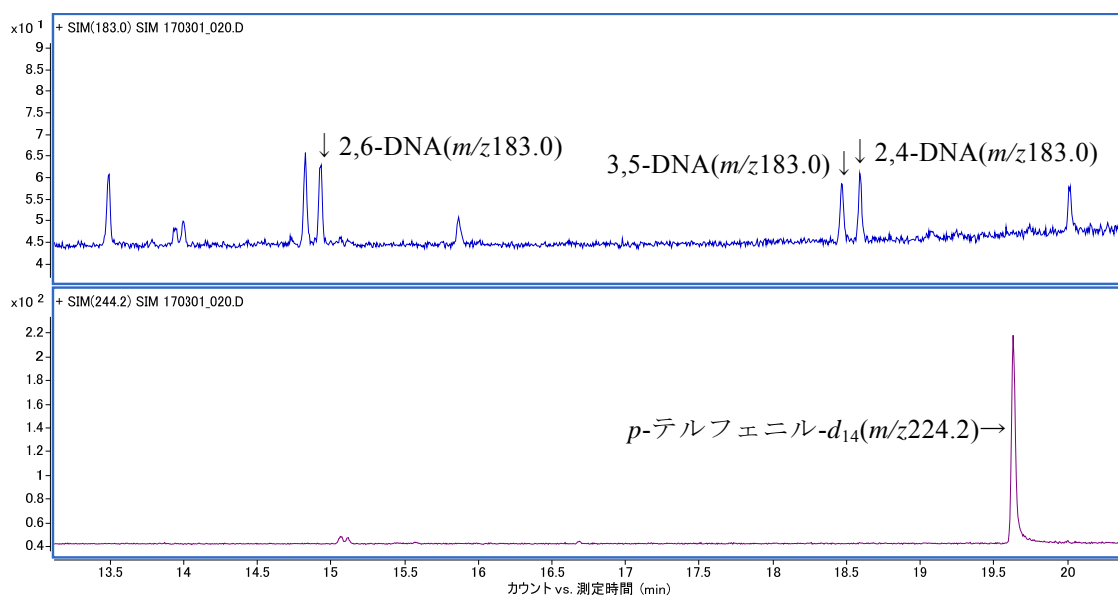


図 7-2 添加回収試験のクロマトグラム (海水) (2,4-DNA、2,6-DNA、3,5-DNA)  
 (添加試料) ( $p$ -テルフェニル- $d_{14}$  1.0 ng/mL)

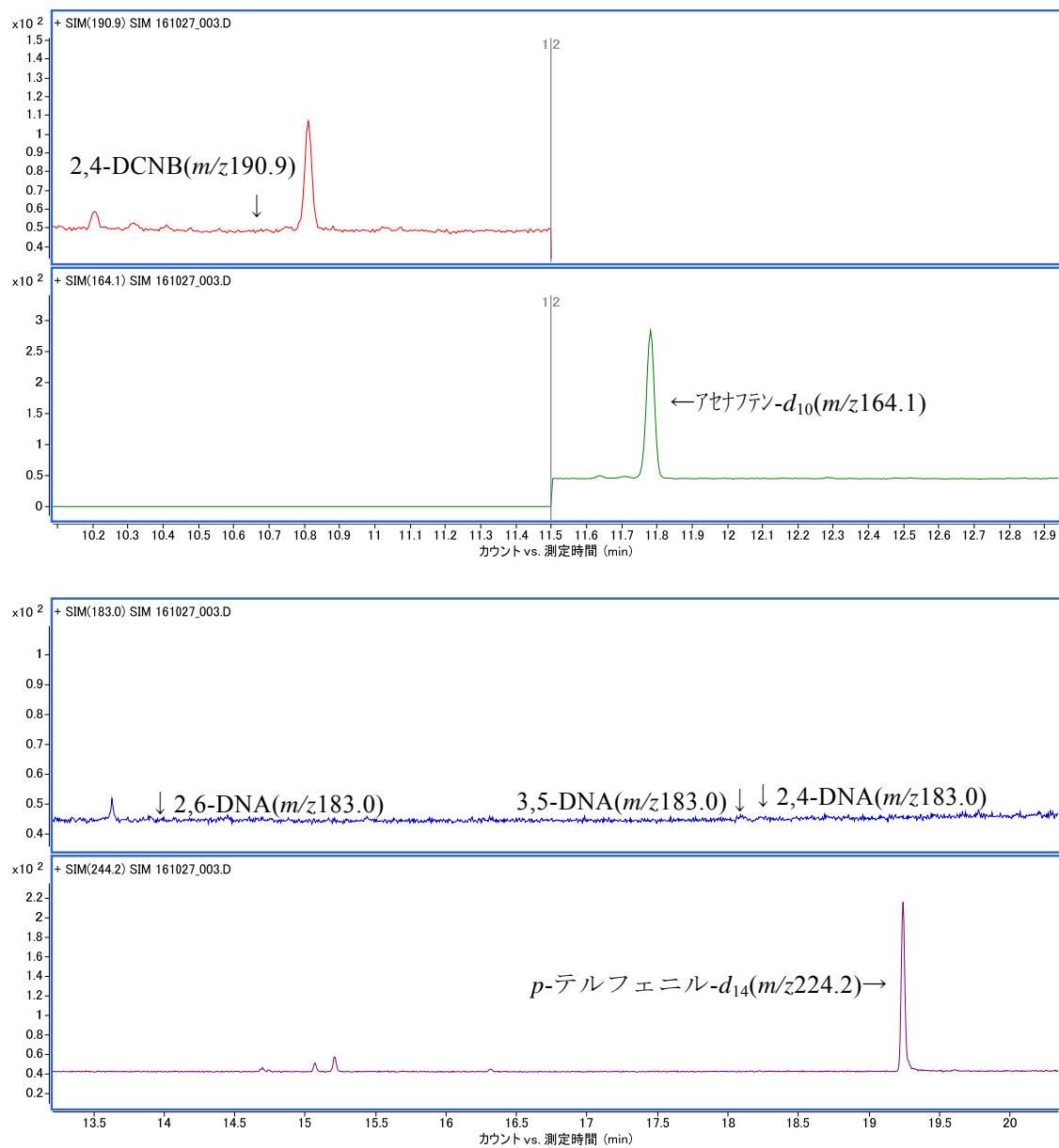


図 7-3 添加回収試験のクロマトグラム（河川水（日方川））（無添加試料）

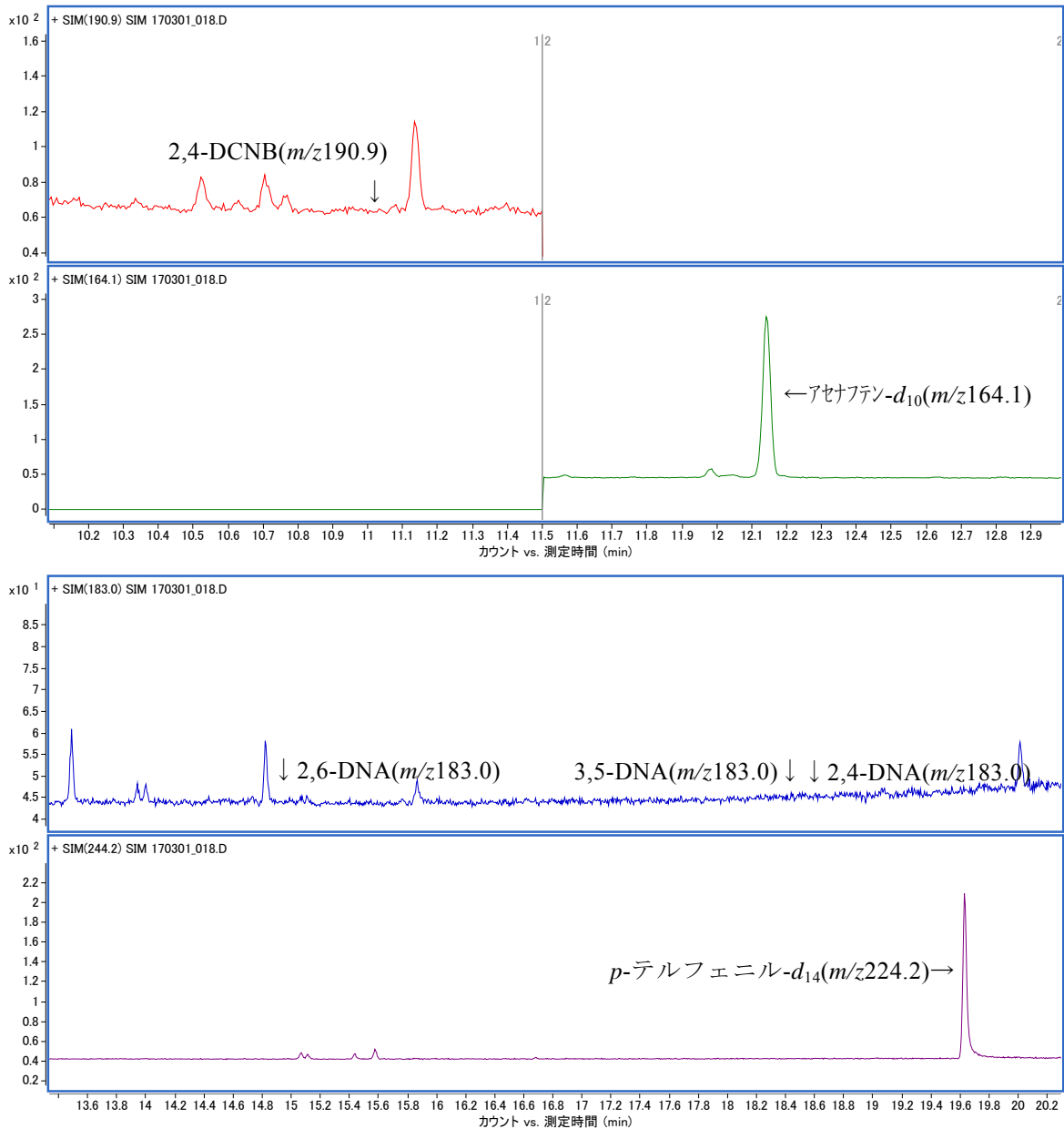


図 7-4 添加回収試験のクロマトグラム（海水（和歌山下津港））  
（無添加試料）

〔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 7 に示す。

表 7 分解性スクリーニング試験結果

物質名	pH	試験数	調製濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	検出濃度 $\mu\text{g/L}$ (残存率(%))*		
				1 時間 放置後	7 日間放置後	
					暗所	明所
2,4-DCNB	5	2	0.060	0.0505(84)	0.0534(89)	-
	7	2	0.060	0.0493(82)	0.0544(91)	0.0525(87)
	9	2	0.060	0.0483(80)	0.0524(87)	-
2,4-DNA	5	2	0.10	0.0695(69)	0.101(102)	-
	7	2	0.10	0.0703(70)	0.104(100)	0.0993(99)
	9	2	0.10	0.0710(71)	0.103(103)	-
2,6-DNA	5	2	0.060	0.0466(78)	0.0584(77)	-
	7	2	0.060	0.0471(79)	0.0616(82)	0.0559(77)
	9	2	0.060	0.0453(75)	0.0643(87)	-
3,5-DNA	5	2	0.10	0.0688(69)	0.107(107)	-
	7	2	0.10	0.0724(72)	0.113(113)	0.0985(99)
	9	2	0.10	0.0673(67)	0.108(108)	-

\*残存率(%): 調製濃度に対する検出濃度の割合

〔保存性試験〕

環境水、抽出液及び標準液における保存性試験結果を表 8 に示す。

環境水については【試料の採取及び保存】に示したように、標準物質を添加した水質試料を冷暗所保存した後、【試料の前処理及び試験液の調製】に従って前処理を行い、その濃度を測定した。

粗抽出液の保存性試験は、保存性試験の試料(海水 200 mL に 2,4-DCNB 7.5 ng、2,4-DNA 12.5 ng、2,6-DNA 7.5 ng、3,5-DNA 12.5 ng を添加した試料の固相抽出液)を冷蔵保存し、14 日後に測定した。

表 8 保存性試験結果

試料名	調製濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	検出濃度( $\mu\text{g/L}$ ) (残存率(%))*			
		7 日間	14 日間	1 月間	
河川水	2,4-DCNB	0.0375	0.0279(74)	-	-
	2,4-DNA	0.0625	0.0581(93)	-	-
	2,6-DNA	0.0375	0.0301(80)	-	-
	3,5-DNA	0.0625	0.0456(73)	-	-
海水	2,4-DCNB	0.0375	0.0308(82)	-	-
	2,4-DNA	0.0625	0.0571(91)	-	-
	2,6-DNA	0.0375	0.0341(91)	-	-
	3,5-DNA	0.0625	0.0745(119)	-	-
抽出液	2,4-DCNB	1.50	-	1.23(82)	-
	2,4-DNA	2.50	-	2.20(88)	-
	2,6-DNA	1.50	-	1.38(92)	-
	3,5-DNA	2.50	-	2.28(91)	-
標準液	2,4-DCNB	1.13	-	-	1.10(97)
		3.00	-	-	3.32(111)
	2,4-DNA	1.88	-	-	1.96(105)
		5.00	-	-	5.45(109)
	2,6-DNA	1.13	-	-	1.13(100)
		3.00	-	-	3.20(107)
	3,5-DNA	1.88	-	-	1.94(103)
		5.00	-	-	5.69(114)

\*残存率(%): 調製濃度に対する検出濃度の割合

〔異性体の分離〕

DCNB の構造異性体のクロマトグラムを図 8 に示す。結果、2,4-DCNB は、他の異性体と分離することを確認した。

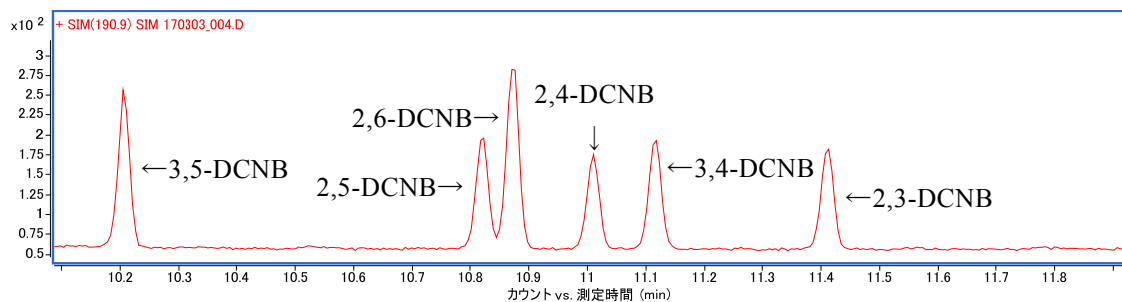


図 8 DCNB の構造異性体のクロマトグラム

〔窒素気流下による濃縮〕

試験管に標準物質（2,4-DCNB 6.0 ng、2,4-DNA 20 ng）を加えたヘキサン溶液を調製し、窒素気流下、1 mL まで濃縮後、内標準 10 μL を加え、GC/MS 分析を行い、回収率を求めた。その結果を表 9 に示す。

結果、2,4-DNA については回収率が低下したため、濃縮方法として窒素気流下による濃縮を選択しなかった。

表 9 窒素気流下による濃縮結果

ヘキサン溶液の液量 (mL)	回収率(%)	
	2,4-DCNB	2,4-DNA
5	108	63
10	106	58

〔クリーンアップの検討〕

クリーンアップとして、固相抽出後にメタノール/精製水の混合液による洗浄を採用し、メタノールと精製水の割合、使用量について検討した。

検討は、精製水 200 mL に標準物質（2,4-DCNB 15 ng、2,4-DNA 50 ng、2,6-DNA 15 ng、3,5-DNA 50 ng）を加えた試料を調製し、【試料の前処理及び試験液の調製】の手順に従って前処理し、回収率を求めることで行った。その結果を表 10 に示す。

結果、2,4-DNA の回収率が低下するおそれがなく、且つより効果が得られる条件として、メタノール/精製水(6:4)、使用量 15 mL を選択した。

表 10 クリーンアップの検討結果

メタノール/精製水	使用量(mL)	回収率(%)	
		2,4-DCNB	2,4-DNA
2:8	5	93	99
3:7	5	99	95
4:6	5	105	95
5:5	5	102	104
6:4	5	90	95
8:2	5	93	82
10:0	5	20	12
6:4	10	98	93
6:4	15	94	92
6:4	20	95	92

〔ろ過の検討〕

海水（和歌山下津港）1000 mL に混合標準（2,4-DCNB 60 ng、2,4-DNA 100 ng、2,6-DNA 60 ng、3,5-DNA 100 ng）を添加し、1 時間静置した後にろ過を行った。ろ液およびろ紙についてはメタノール 5 mL で 2 回抽出し精製水 90 mL を加えたものについて、それぞれ【試料の前処理及び試験液の調製】に従い試験液を調製し、測定した結果を表 11 に示す。

結果、ろ紙からの抽出液に対象物質は検出されなかった。

表 11 ろ過の検討結果

物質名	調整濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	検出濃度( $\mu\text{g/L}$ ) (回収率(%))*	
		ろ液	ろ紙
2,4-DCNB	0.0600	0.0485 (81)	<0.0058
2,4-DNA	0.100	0.102 (102)	<0.0072
2,6-DNA	0.0600	0.0528 (88)	<0.0052
3,5-DNA	0.100	0.0926 (93)	<0.0098

\*回収率(%): 調製濃度に対する検出濃度の割合

〔乾燥条件〕

1) 標準液への水の添加

標準液に水を加え、これを GC/MS-SIM で測定した結果を表 12-1、12-2 に示す。

その結果、水が含まれるとシリンジスパイク混合内標準物質の応答値が高くなり、対象物質の濃度がみかけ上低下した。固相抽出カートリッジに水分が残ったまま次の溶出操作を行うと正しく定量できないおそれがあるため、十分に通気し乾燥させる必要がある。

表 12-1 標準液への水の添加(2,4-DCNB)

標準液 濃度 (ng/mL)	水分量 (%)	応答値		検出濃度(ng/mL) (検出率*2(%))
		対象物質 【2,4-DCNB】 ( $m/z$ 191.0)	内標準物質*1 【アセナフテン - $d_{10}(m/z$ 164.1)】	
1.5	0	36	431	1.48(98)
1.5	2.5	36	435	1.47(98)
1.5	10	35	471	1.31(87)

\*1 内標準物質: 1.0 ng/mL

\*2 検出率: 標準液濃度に対する検出濃度の割合

表 12-2 標準液への水の添加(2,4-DNA)

標準液 濃度 (ng/mL)	水分量 (%)	応答値		検出濃度(ng/mL) (検出率* <sup>2</sup> (%))
		対象物質 【2,4-DNA】 ( <i>m/z</i> 183.0)	内標準物質* <sup>1</sup> 【 <i>p</i> -テルフェニ ル- <i>d</i> <sub>14</sub> ( <i>m/z</i> 244.2)】	
2.5	0	22	525	2.45(98)
2.5	2.5	20	537	2.26(90)
2.5	10	20	660	1.76(70)

\*1 内標準物質：1.0 ng/mL

\*2 検出率：標準液濃度に対する検出濃度の割合

## 2) 固相抽出カートリッジへの通気時間

窒素ガス(0.5 L/min)の通気時間と検出濃度について評価した結果を表 13 に示す。

その結果、固相抽出カートリッジの乾燥後、さらに窒素ガスの通気を継続しても検出濃度は低下せず、対象物質は損失しなかった。このことから、通気は 60 分を目安とし、通気後の固相抽出カートリッジの重量を 0.01 g 単位まで量り、重量に変化がなくなるまで継続することとした。

表 13 通気時間と固相抽出カートリッジへの水分の付着量及び検出濃度

物質名	調製濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	通気時間 (h)	水分量* <sup>1</sup> (g)	検出濃度( $\mu\text{g/L}$ ) (検出率* <sup>2</sup> (%))
2,4-DCNB	0.0600	1	0.05	0.0581(97)
	0.0600	2	0.00	0.0496(83)
	0.0600	3	0.00	0.0527(88)
2,4-DNA	0.100	1	0.05	0.0973(97)
	0.100	2	0.00	0.106(106)
	0.100	3	0.00	0.100(100)

\*1 水分量：通気後の固相抽出カートリッジの重量からあらかじめ秤量しておいた使用前重量を差し引いた値

\*2 検出率：標準液濃度に対する検出濃度の割合

### 〔環境試料の分析〕

本法を用いて、和歌山県内の河川水（日方川）及び海水（和歌山下津港）を測定した結果、2,4-DCNB、2,4-DNA、2,6-DNA、3,5-DNA はいずれも検出されなかった。環境試料のクロマトグラムを図 7-3、7-4 に示す。

### 【評価】

環境水中に含まれる 2,4-ジクロロ-1-ニトロベンゼン及び 2,4-ジニトロアニリンの定量分析法を開発した。本法の MDL は 2,4-ジクロロ-1-ニトロベンゼン、2,4-ジニトロアニリンの順にそれぞれ 0.0058 µg/L、0.0072 µg/L であり、検量線は 0.75～15 ng/mL、1.25～25 ng/mL の範囲で直線性が確認された。河川水及び海水を用いた添加回収試験の回収率は、2,4-ジクロロ-1-ニトロベンゼンでそれぞれ 81、87%（変動係数はそれぞれ 7.7%、4.2%）、同様に 2,4-ジニトロアニリンでそれぞれ 100、94%（変動係数はそれぞれ 4.7%、0.92%）であった。以上の結果から、本法は検量線最低濃度から換算して 2,4-ジクロロ-1-ニトロベンゼンについては 0.02 µg/L レベルの、2,4-ジニトロアニリンについては 0.03 µg/L レベルの環境試料の定量に適用可能であると判断される。

### 【参考文献】

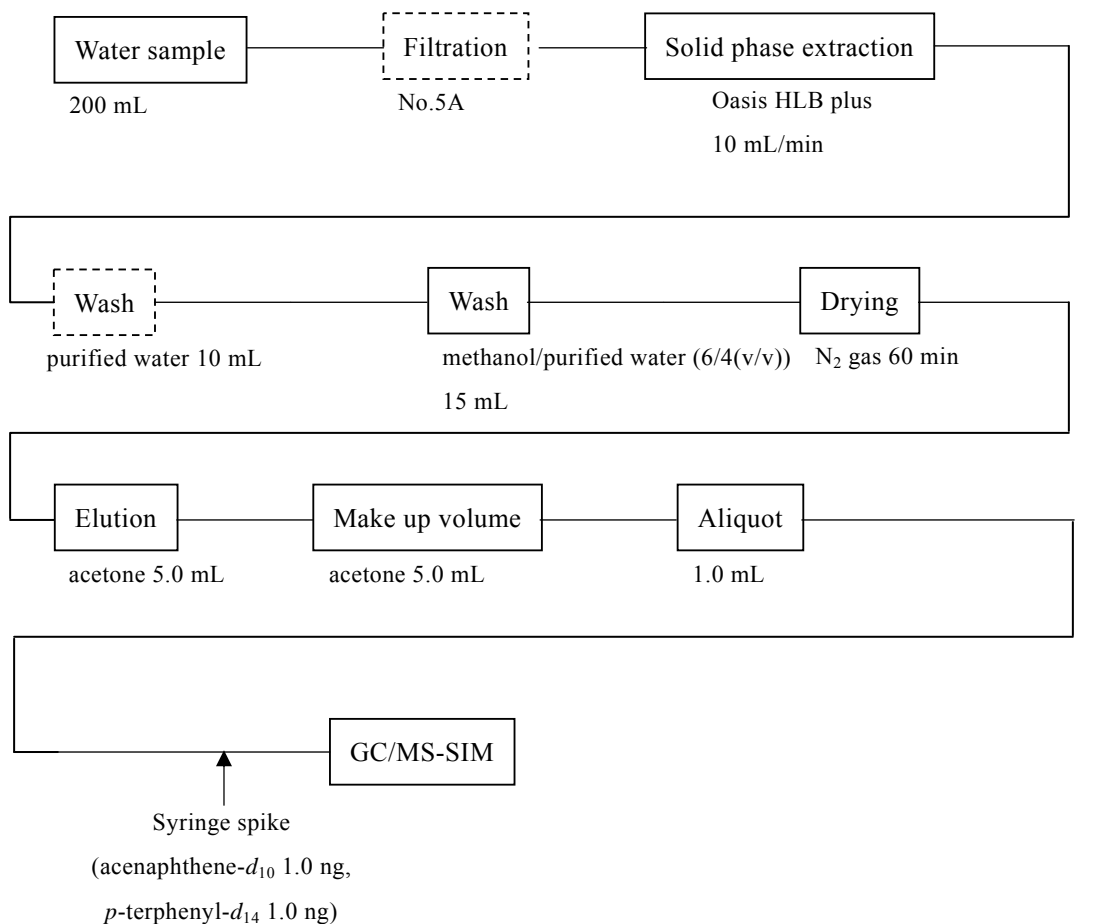
- 1) 化学物質と環境 平成 25 年度化学物質分析法開発調査報告書、環境省 (2014)

### 【担当者連絡先】

所属先名称 : 和歌山県環境衛生研究センター  
所属先住所 : 〒640-8272 和歌山県和歌山市砂山南 3 丁目 3-45  
TEL:073-423-9570、FAX:073-423-8798  
担当者名 : 山本 道方  
E-mail : yamamoto\_m0096@pref.wakayama.lg.jp

## 2,4-Dichloro-1-nitrobenzene and 2,4-Dinitroaniline

This method provides procedures for the determination of 2,4-dichloro-1-nitrobenzene and 2,4-dinitroaniline in environmental waters by gas chromatography/mass spectrometry with selected ion monitoring (GC/MS-SIM). A water sample (200 mL) is filtered, if necessary. The filtrate is extracted by passing through a solid-phase extraction cartridge (Oasis HLB plus). The cartridge is washed with 15 mL of methanol/purified water (6/4(v/v)) and dried with N<sub>2</sub> gas for 1 h. Then the analytes are eluted with 5 mL of acetone. The eluate is adjusted to 5 mL with acetone, and then an aliquot (1 mL) of the eluate is spiked with 1.0 ng of acenaphthene-*d*<sub>10</sub> and *p*-terphenyl-*d*<sub>14</sub> as internal standards. The analytes are determined by GC/MS-SIM. The method detection limits (MDL) of 2,4-dichloro-1-nitrobenzene and 2,4-dinitroaniline are 0.0058 µg/L and 0.0072 µg/L, respectively. The average recoveries of 2,4-dichloro-1-nitrobenzene in river water and seawater were 81% and 87%, respectively. The average recoveries of 2,4-dinitroaniline in river water and seawater were 100% and 94%, respectively.



※   if necessary

物質名	分析法フローチャート	備考
<p>[1] 2,4-ジクロ ロ-1-ニト ロベンゼン</p> <p>[2] 2,4-ジニト ロアニリン</p>	<p><b>【水質】</b></p> <p>水質試料 200 mL</p> <p>ろ過 5種 A</p> <p>固相抽出 Oasis HLB plus 10 mL/min</p> <p>洗浄 精製水 10 mL (海水の場合)</p> <p>洗浄 メタノール/精製水(6:4) 15 mL</p> <p>乾燥 N<sub>2</sub> 通気 60 min</p> <p>溶出 アセトン 5.0 mL</p> <p>定容 アセトン 5.0 mL</p> <p>分取 1.0 mL</p> <p>GC/MS-SIM</p> <p>シリンジスパイク混合内標準 (アセナフテン-<i>d</i><sub>10</sub> 1.0 ng、<i>p</i>-テルフェニル-<i>d</i><sub>14</sub> 1.0 ng)</p> <p>※ <span style="border: 1px dashed black; padding: 2px;">ろ過</span> 必要に応じて実施</p>	<p>分析原理: GC/MS-SIM</p> <p>検出下限値: <b>【水質】</b> μg/L [1] 0.0058 [2] 0.0072</p> <p>分析条件: 機器 GC: Agilent 製 7890B MS: Agilent 製 5977A カラム (Agilent 製) DB-17 ms 30 m × 0.25 mm, 0.25 μm</p>