

ピリジン

Pyridine

別名：アジン、アザベンゼン
Azine、Azabenzene

2-ビニルピリジン

2-Vinylpyridine

別名：2-エテニルピリジン
2- Ethenylpyridine

3-メチルピリジン

3-Methylpyridine

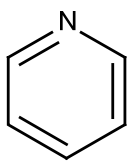
別名：3-ピコリン、 β -ピコリン
3- Picoline、 β - Picoline

同時分析：3-ビニルピリジン、4-ビニルピリジン、

2-メチルピリジン、4-メチルピリジン

3-Vinylpyridine、4-Vinylpyridine、2-Methylpyridine、4-Methylpyridine

【対象物質の構造】

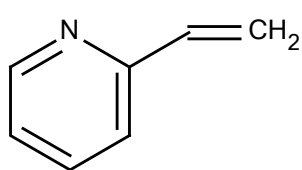


ピリジン(Py)

Pyridine

CAS 番号：110-86-1

分子式：C₅H₅N



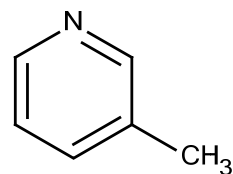
2-ビニルピリジン

(2-ViPy)

2-Vinylpyridine

CAS 番号：100-69-6

分子式：C₇H₇N



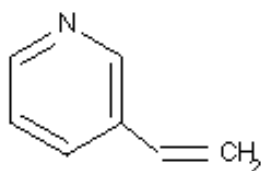
3-メチルピリジン

(3-MePy)

3-Methylpyridine

CAS 番号：108-99-6

分子式：C₆H₇N



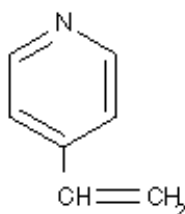
3-ビニルピリジン

(3-ViPy)

3-Vinylpyridine

CAS 番号：1121-55-7

分子式：C₇H₇N



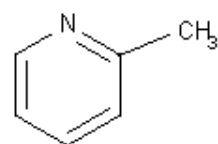
4-ビニルピリジン

(4-ViPy)

4-Vinylpyridine

CAS 番号：100-43-6

分子式：C₇H₇N



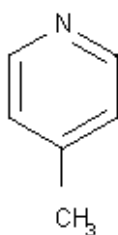
2-メチルピリジン

(2-MePy)

2-Methylpyridine

CAS 番号：109-06-8

分子式：C₆H₇N



4-メチルピリジン

(4-MePy)

4-Methylpyridine

CAS 番号：108-89-4

分子式：C₆H₇N

【物理化学的性状】

物質名	ピリジン	ビニルピリジン		
	Py	2-ViPy	3-ViPy	4-ViPy
分子量	79.10 ¹⁾	105.14 ¹⁾	105.14	105.14 ⁸⁾
モライツトビツク質量	79.0422	105.0578	105.0578	105.0578
融点(°C)	-41.6 ²⁾	-50 ⁶⁾	—	—
沸点(°C)	115～116 ¹⁾	159～160 ⁷⁾	82 ⁹⁾	65 ⁸⁾
比重(g/cm ³)	0.98272 ²⁾ (20/4°C)	0.9983(20°C) ⁴⁾	0.98 ⁹⁾	0.99 ⁹⁾
蒸気圧(hPa)	27.6(25°C) ³⁾	13.33(44.5°C) ⁵⁾	—	2(25°C) ⁹⁾
水溶解度(mg/L)	1000000 (25°C) ⁴⁾	25000(20°C) ⁵⁾	—	29000(20°C) ⁸⁾
log P _{ow}	0.65 ³⁾	1.39 ⁵⁾	—	1.9 ⁹⁾

物質名	メチルピリジン		
	2-MePy	3-MePy	4-MePy
分子量	93.12 ⁸⁾	93.13 ¹⁾	93.13～93.14 ⁸⁾
モライツトビツク質量	93.0578	93.0578	93.0578
融点(°C)	-70～-64 ⁸⁾	-18.14 ³⁾	3.7～4.3 ⁸⁾
沸点(°C)	129～129.4 ⁸⁾	143～144 ²⁾	143.1～145.4 ⁸⁾
比重(g/cm ³)	0.95(20°C) ⁸⁾	0.9613(15/4°C)	0.95(15～17°C) ⁸⁾
蒸気圧(hPa)	10(24.4°C) ⁸⁾	7.95(25°C) ³⁾	—
水溶解度(mg/L)	—	1000000(25°C) ⁵⁾	—
log P _{ow}	1.11 ⁸⁾	1.2 ³⁾	1.22 ⁸⁾

【毒性、用途】

〔毒性情報〕¹⁾

Py ¹⁾	：	(急性毒性)	経口	LD ₅₀ ：	1500 mg/m ³ (マウス)
			経口	LD ₅₀ ：	891 mg/kg (ラット)
2-ViPy ¹⁾	：	(急性毒性)	経口	LD ₅₀ ：	100 mg/kg (ラット)
4-ViPy ⁹⁾	：	(急性毒性)	経口	LD ₅₀ ：	100 mg/kg (ラット)
2-MePy ⁹⁾	：	(急性毒性)	経気道 4 時間	LCL ₀ ：	400 mg/ m ³ (ラット)
			経皮	LD ₅₀ ：	410 mg/kg (ウサギ)
			経口	LD ₅₀ ：	790 mg/kg (ラット)
3-MePy ¹⁾	：	(急性毒性)	経口	LD ₅₀ ：	400 mg/kg (ラット)

4-MePy⁹⁾ : (急性毒性) 経口 LD₅₀ : 440 mg/kg (ラット)

〔用途〕

- Py¹⁰⁾ : 医薬反応溶媒、無水金属塩の溶剤、界面活性剤原料、有機合成原料
- 2-ViPy¹⁰⁾ : 自動車タイヤコード接着剤用樹脂・医薬・界面活性剤用合成原料
- 4-ViPy¹⁾ : 界面活性剤、接着剤、イオン交換樹脂、繊維改質剤、ゴム改質剤
- 2-MePy¹⁾ : 染料、溶剤、洗浄剤、界面活性剤、殺虫剤、防虫剤、農薬全般（中間体を含む）合成中間体、溶媒
- 3-MePy¹⁰⁾ : 医薬・農薬・有機ゴム薬品原料
- 4-MePy¹⁾ : 溶剤、洗浄剤、界面活性剤、医薬、医薬中間体、合成中間体溶媒

〔適用法令〕

- | | | |
|--------|-----------|---------------|
| Py | : 大気汚染防止法 | 特定物質、有害大気汚染物質 |
| | 水質汚濁防止法 | 要調査項目に係る物質 |
| | 消防法 | 危険物第4類 |
| 2-ViPy | : 大気汚染防止法 | 有害大気汚染物質 |
| 2-MePy | : 水質汚濁防止法 | 要調査項目に係る物質 |
| | 消防法 | 危険物第4類 |
| 3-MePy | : 水質汚濁防止法 | 要調査項目に係る物質 |
| | 消防法 | 危険物第4類 |
| 4-MePy | : 水質汚濁防止法 | 要調査項目に係る物質 |
| | 消防法 | 危険物第4類 |

出典 :

- 1) 環境省 化学物質の環境リスク初期評価書
- 2) Maryadele J.O'Neil (ed), The Merck Index 14th Edition
- 3) Lide, D.R, (ed), CRC Handbook of Chemistry and Physics 88th Edition
- 4) Philip H. Howard, William M. Meylan, Handbook of Physical Properties of Organic Chemicals, The Syracuse Research Co.
- 5) PRTR 排出量等算出マニュアル 第3版 平成16年1月
- 6) メルク試薬 MSDS
- 7) International Chemical Safety Cards ICSC1232
- 8) 国立環境研究所 Webkis-plus (化学物質データベース)

- 9) 東京化成株式会社 安全データシート
10) 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)

§ 1 分析法

(1) 分析法の概要

水質試料にサロゲート内標準を添加し、固相カートリッジに通水し、アセトンで溶出する。窒素気流下で濃縮後、シリンジスパイク内標準を添加した後、定容し、GC/MS で測定する。なお、本法はピリジン、3-メチルピリジン、2-ビニルピリジンの他、3-ビニルピリジン、4-ビニルピリジン、2-メチルピリジン、4-メチルピリジンの同時分析に適用可能である。

(2) 試薬・器具 (注 1)

【試薬】

ピリジン (Py)	: 和光純薬製、試薬特級、純度 99.5%
2-メチルピリジン (2-MePy)	: 和光純薬製、試薬特級、純度 98.0%
3-メチルピリジン (3-MePy)	: 和光純薬製、和光特級、純度 99.0%
4-メチルピリジン (4-MePy)	: 和光純薬製、和光特級、純度 98.0%
2-ビニルピリジン (2-ViPy)	: 和光純薬製、純度 97.0%
3-ビニルピリジン (3-ViPy)	: 東京化成工業製、純度 96.0%
4-ビニルピリジン (4-ViPy)	: 和光純薬製、純度 90.0%
ピリジン- d_5	: Dr.Ehrenstorfer 製、純度 99.0%
2-メチルピリジン- d_7	: CDN isotopes 製、純度 99.4%
3-メチルピリジン- d_7	: CDN isotopes 製、純度 99.1%
4-メチルピリジン- d_7	: CDN isotopes 製、純度 98.3%
2-ビニルピリジン- d_7	: SIGMA-ALDRICH 製、純度 98.7%
4-ブロモフルオロベンゼン	: 関東化学製、水質試験用 (1 mg/mL メタノール溶液)
固相カートリッジ	: GL サイエンス製 InertSep mini RP-1 230 mg
アセトン	: 関東化学製 残留農薬・PCB 試験用 (5000 倍濃縮)
メタノール	: 関東化学製 残留農薬・PCB 試験用

(5000 倍濃縮)

精製水

: JIS K0557 (1998)に規定される種別 A4 と同等以上の質の水

【標準液の調製】

〔標準原液〕(注 2)

ピリジン、メチルピリジンの各異性体、ビニルピリジンの各異性体の標準品 100 mg を精秤し、3-ビニルピリジンはメタノール (注 3) で、その他はアセトンで 10 mL として 10.0 mg/mL の標準原液を調製する。

〔サロゲート内標準液〕

ピリジン、メチルピリジン、ビニルピリジンの各異性体の重水素化体標準品 10.0 mg を精秤し、アセトンで 10 mL として 1.0 mg/mL のサロゲート標準原液を調製する。サロゲート標準原液をそれぞれ 100 μ L 分取し、アセトンで 10 mL とし、10 μ g/mL のサロゲート混合標準液を調製する。10 μ g/mL のサロゲート混合内標準液を 2 mL 分取し、アセトンで 20 mL として 1.0 μ g/mL サロゲート混合内標準液を調製する。

〔シリンジスパイク内標準液〕

市販の 4-ブロモフルオロベンゼンの標準品 (1 mg/mL、メタノール溶液) をアセトンで希釈し、1.0 μ g/mL のシリンジスパイク内標準液を調製する。

〔検量線用標準液〕

標準原液を順次アセトンで希釈し、ピリジン及びメチルピリジン各異性体の濃度が 0.10 μ g/mL、1.0 μ g/mL、10.0 μ g/mL、ビニルピリジン各異性体の濃度が 0.20 μ g/mL、2.0 μ g/mL、20.0 μ g/mL の混合標準液を調製する。この混合標準液を適宜分取し (最低濃度を 20 μ L ~ 最高濃度を 50 μ L)、これらに 1.0 μ g/mL サロゲート混合内標準液 50 μ L 及び 1.0 μ g/mL シリンジスパイク内標準液 50 μ L を添加し、アセトンで 1 mL に定容してピリジン及びメチルピリジン各異性体については 2.0 ~ 500 ng/mL、ビニルピリジン各異性体については、4.0 ~ 1000 ng/mL の検量線用標準液とする。

【器具】(注 4)

コンセントレーター	: Waters 製
バキュームマニホールド	: SUPELCO 製
メスフラスコ	: 10 mL、20 mL

マイクロシリンジ	: 50 μ L、100 μ L、250 μ L
メスシリンダー	: 100 mL
ホールピペット	: 2 mL
注射筒 (10 mL)	: PP 製
共栓目盛付遠沈管 (10 mL)	: ガラス製
コニカルビーカー	: 200 mL
バイアル	: Agilent 製 1.5 mL バイアル
パスツールピペット	: 硼珪酸ガラス

(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）に従う。試料採取後、できるだけ速やかに分析を行う。

【試料の前処理及び試験液の調製】

水質試料 100 mL にサロゲート内標準液 (1.0 μ g/mL、アセトン溶液) を 50 μ L 添加し、十分に混和する。あらかじめアセトン 10 mL 及び精製水 10 mL でコンディショニングした固相カートリッジ(InertSep mini RP-1) に試料を 10 mL/min で通水する。試料通水後、固相カートリッジは精製水 10 mL で洗浄し、窒素ガスを 1 時間程度通して脱水する(注 5)。溶出は、通水と逆方向にアセトンを 2 mL 流して行う。得られた溶出液は、窒素気流下で 1mL 以下に濃縮し、シリンジスパイク内標準液として 4-ブロモフルオロベンゼン (1.0 mg/L、アセトン溶液) を 50 μ L 添加し、アセトンで 1 mL に定容し、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 (注 6)。

【測定】

〔GC/MS 測定条件〕

使用機種	: GC : Agilent 製 7890B MS : Agilent 製 5977B
使用カラム	: Agilent 製 DB-WAX UI (60 m $\times$ 0.25 mm, 0.25 μ m)
カラム温度	: 40°C (3 min) $\rightarrow$ 10°C /min $\rightarrow$ 70°C (3 min) $\rightarrow$ 5°C /min $\rightarrow$ 100°C (1 min) $\rightarrow$ 15°C /min $\rightarrow$ 220°C (3 min)

試料導入方法	: スプリットレス (パージ開始時間: 1.0 min)		
注入口温度	: 200°C		
キャリアガス	: He 1.0 mL/min (定流量)		
試料注入量	: 1 µL		
インターフェース温度	: 200°C		
イオン化法	: EI		
イオン源温度	: 200°C		
イオン化エネルギー	: 70 eV		
イオン化電流	: 25 µA		
検出モード	: SIM		
モニターイオン (注 7)	: Py	定量用 m/z 79.0	確認用 m/z 78.0
	: 2-MePy	定量用 m/z 93.0	確認用 m/z 92.0
	: 3-MePy	定量用 m/z 93.0	確認用 m/z 92.0
	: 4-MePy	定量用 m/z 93.0	確認用 m/z 92.0
	: 2-ViPy	定量用 m/z 105.0	確認用 m/z 104.0
	: 3-ViPy	定量用 m/z 105.0	確認用 m/z 104.0
	: 4-ViPy	定量用 m/z 105.0	確認用 m/z 104.0
	: Py- d_5	定量用 m/z 84.0	確認用 m/z 56.0
	: 2-MePy- d_7	定量用 m/z 100.0	確認用 m/z 72.0
	: 3-MePy- d_7	定量用 m/z 100.0	確認用 m/z 72.0
	: 4-MePy- d_7	定量用 m/z 100.0	確認用 m/z 72.0
	: 2-ViPy- d_7	定量用 m/z 112.0	確認用 m/z 84.0
	: 4-ブロモフルオロベンゼン		
		定量用 m/z 175.9	確認用 m/z 173.9

〔検量線〕

検量線用標準液 1 µL を GC/MS に注入し、対象物質とサロゲート内標準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 1 µL を GC/MS に注入し、対象物質とサロゲート内標準物質のピーク面積比から検量線により検出量を求める。また、4-ブロモフルオロベンゼンはサロゲート内標準の回収率の計算に使用する。

〔濃度の算出〕

試料水中濃度 C (ng/L) は次式により算出する。

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

R : 検量線から求めたサロゲート内標準濃度に対する対象物質濃度の比

Q : 試料中に添加したサロゲート内標準の量 (ng)

V : 試料水量 (L)

本分析法に従った場合、以下の数値を使用する。

$$Q = 50 \text{ (ng)}$$

(= 添加サロゲート内標準の濃度 (1.0 µg/mL) × 添加サロゲート内標準の容量 (50 µL))

$$V = 0.100 \text{ (L)}$$

即ち、

$$C = R \times 500 \text{ (ng/L)}$$

である。

〔サロゲート回収率の算出〕

「検量線用標準液の各サロゲート内標準のピーク面積／4-ブロモフルオロベンゼンのピーク面積」の比を 100 とし、「試験液の各サロゲート内標準のピーク面積／4-ブロモフルオロベンゼンのピーク面積」の比からサロゲート回収率を算出する。

〔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 8)。

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)
Py	0.24	0.10	1.0	0.0024
2-MePy	0.11	0.10	1.0	0.0011
3-MePy	0.20	0.10	1.0	0.0020
4-MePy	0.12	0.10	1.0	0.0012
2-ViPy	0.42	0.10	1.0	0.0042
3-ViPy	0.35	0.10	1.0	0.0035
4-ViPy	0.33	0.10	1.0	0.0033

〔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 9)。

表 2 MDL 及び MQL の算出結果

物質名	試料量 (L)	最終液量 (mL)	MDL ($\mu\text{g/L}$)	MQL ($\mu\text{g/L}$)
Py	0.10	1.0	0.0053	0.014
2-MePy	0.10	1.0	0.0043	0.011
3-MePy	0.10	1.0	0.0091	0.023
4-MePy	0.10	1.0	0.0057	0.015
2-ViPy	0.10	1.0	0.0061	0.016
3-ViPy	0.10	1.0	0.0036	0.0093
4-ViPy	0.10	1.0	0.0058	0.015

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) ピリジン、メチルピリジン、ビニルピリジンの標準品は液体であり、少量の精秤が難しいため濃い標準原液を調製した。少量で精秤が可能である場合は 1 mg/mL 程度のものを調製してもよい。
- (注 3) 3-ビニルピリジンの 10 mg/mL 溶液はアセトンで調製すると白濁する。
- (注 4) JIS R 3505 に記載のクラス A のガラス器具を使用する。マイクロシリンジ等を使用する場合は、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 5) ピリジンは大気中に多く存在するため、吸引乾燥ではなく、窒素ガスの通気乾燥が望ましい。吸引乾燥を行う場合には、活性炭カートリッジを吸引側の先端につける等、環境中のピリジンによる汚染に注意すること。また、後述のとおり、最終溶液に水分が残留していると GC/MS による測定時にピーク形状が悪くなる、また、リテンションタイムがずれる等、定量に支障をきたす可能性があることから、十分に通気し、乾燥する。通気時間については 1 時間程度を目安とし、通気後の固相カートリッジの重量とあらかじめ秤量しておいた使用前の固相カートリッジの重量がほぼ等しくなることをもって終点と判定すればよい。SS 分が

多く、重量への影響が考えられる場合には、重量の変化がなくなった時点を終点とすればよい。

(注 6) 空試験値が十分低いことを確認すること。

(注 7) ピリジンの確認イオンについて、 m/z 52.0 の強度が 2 番目に強いが、ピリジン- d_5 のフラグメントが被ってしまうため、 m/z 78.0 を選択した。同様にメチルピリジンの各異性体については m/z 66.0 ではなく m/z 92.0 を選択した。

(注 8) IDL は、「化学物質環境実態調査の手引き」（平成 28 年 3 月）に従って算出した。算出結果を表 3 に、測定時のクロマトグラムを図 1-1～1-3 に示す。

表3 IDLの算出結果

物質名	ピリジン	メチルピリジン			ビニルピリジン		
	Py	2-MePy	3-MePy	4-MePy	2-ViPy	3-ViPy	4-ViPy
試料量(L)	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
最終液量(mL)	1	1	1	1	1	1	1
注入液濃度(ng/mL)	2	2	2	2	4	4	4
注入量(pg)	2	2	2	2	4	4	4
装置注入液量(μL)	1	1	1	1	1	1	1
結果 1 (pg)	2.23	2.24	2.54	2.25	4.69	3.89	3.70
結果 2 (pg)	2.22	2.29	2.50	2.25	4.50	3.80	3.74
結果 3 (pg)	2.12	2.26	2.47	2.20	4.64	3.81	3.83
結果 4 (pg)	2.16	2.25	2.52	2.22	4.50	3.70	3.88
結果 5 (pg)	2.11	2.22	2.41	2.23	4.72	3.86	3.74
結果 6 (pg)	2.26	2.23	2.44	2.30	4.74	3.99	3.79
結果 7 (pg)	2.25	2.29	2.55	2.25	4.75	3.81	3.62
平均値(pg)	2.193	2.254	2.490	2.243	4.649	3.837	4.42
標準偏差(pg)	0.062	0.0276	0.052	0.0315	0.108	0.0898	0.0858
IDL(pg)	0.24	0.11	0.20	0.12	0.42	0.35	0.33
IDL 試料換算値 (ng/L)	2.4	1.1	2.0	1.2	4.2	3.5	3.3
S/N 比	10	13	11	10	15	15	8
CV (%)	2.8	1.2	2.1	1.4	2.3	2.3	2.3

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

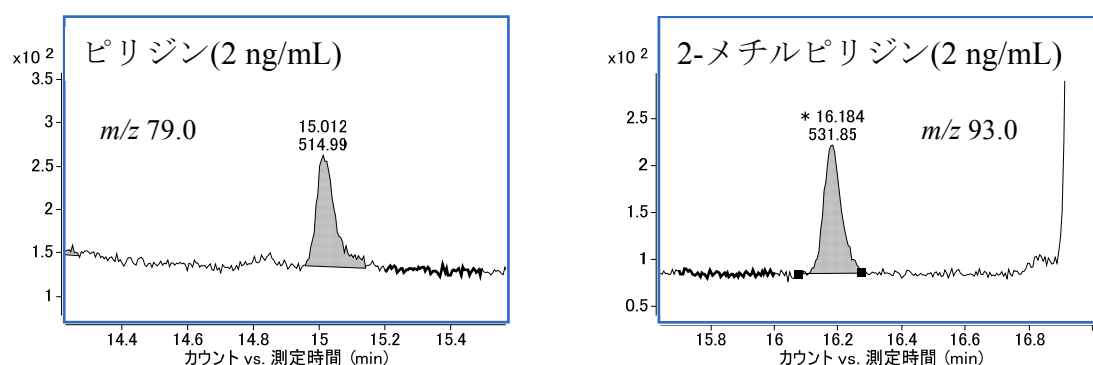


図 1-1 IDL 算出時のクロマトグラム (ピリジン、2-メチルピリジン)

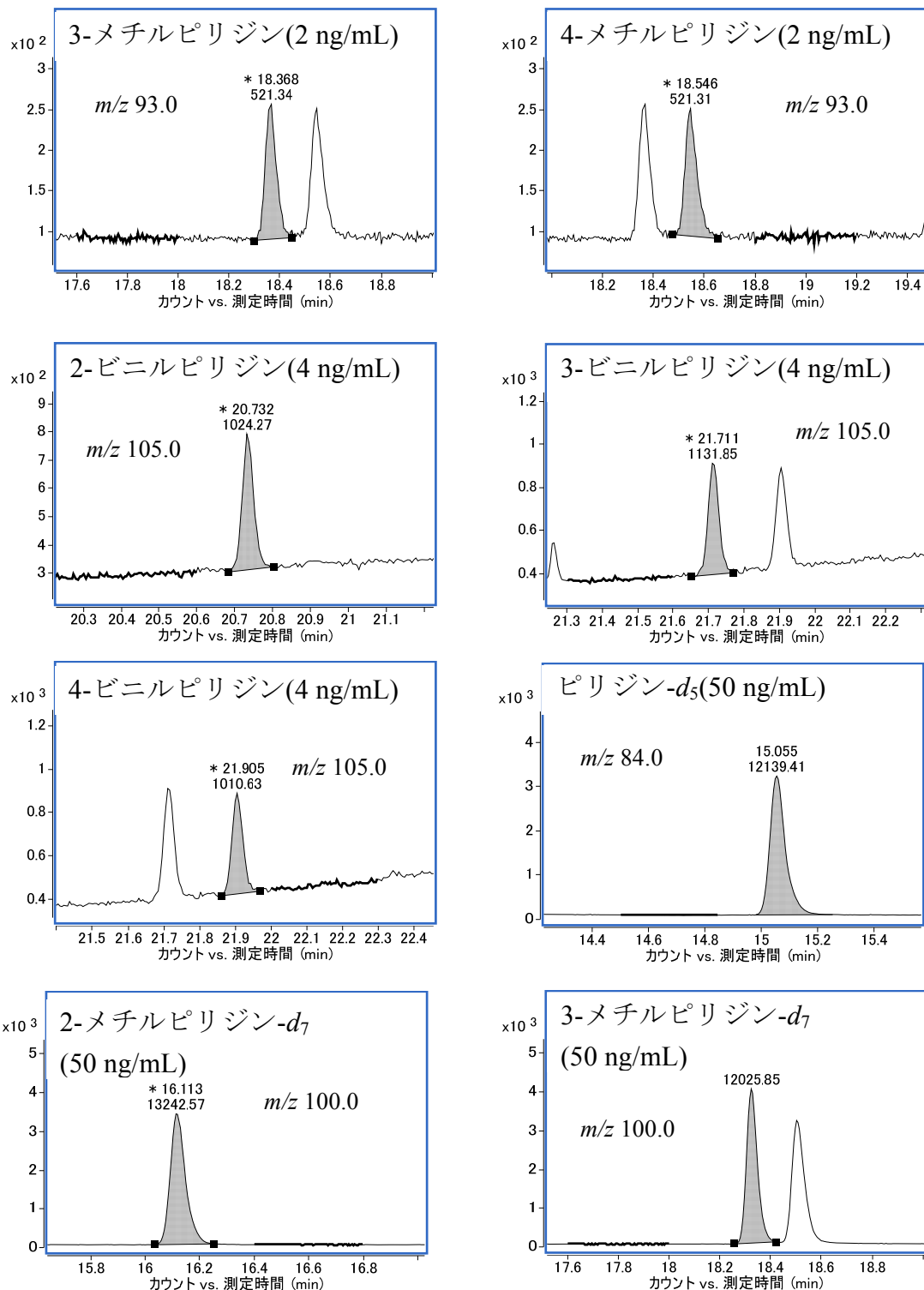


図 1-2 IDL 算出時のクロマトグラム (3-メチルピリジン、4-メチルピリジン、2-ビニルピリジン、3-ビニルピリジン、4-ビニルピリジン、ピリジン- d_5 、2-メチルピリジン- d_7 、3-メチルピリジン- d_7)

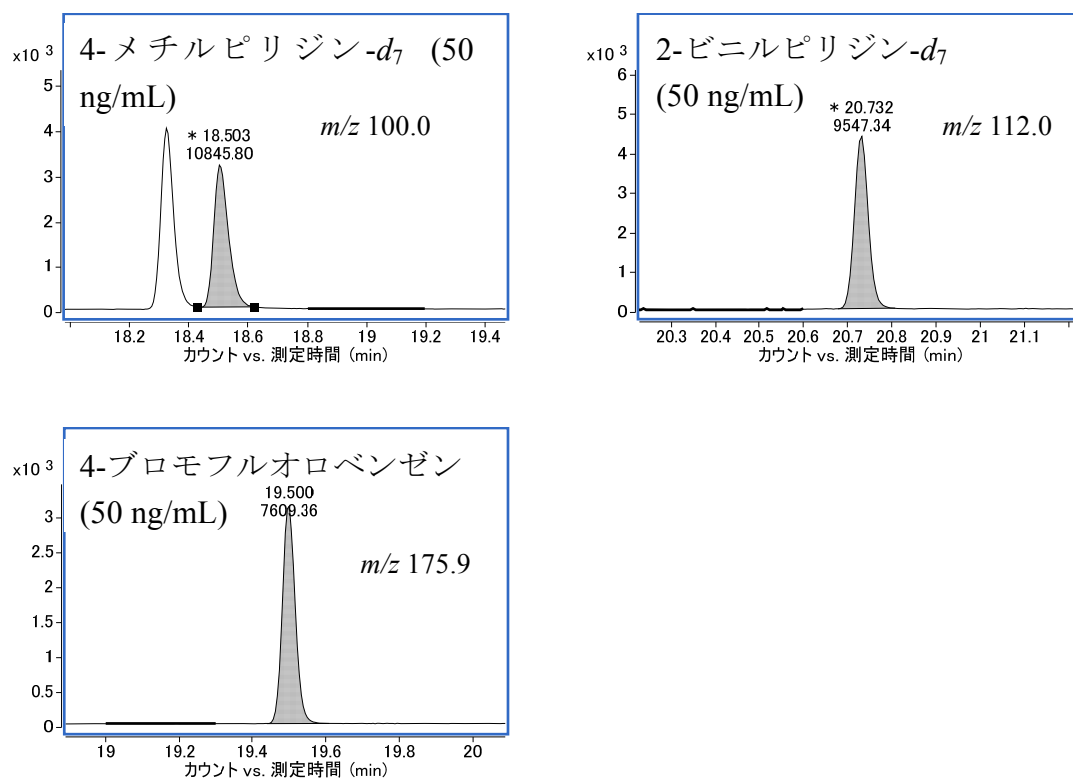


図 1-3 IDL 算出時のクロマトグラム (4-メチルピリジン-*d*₇、2-ビニルピリジン-*d*₇、4-ブロモフルオロベンゼン 4-ブロモフルオロベンゼン)

(注 9) MDL 及び MQL は、「化学物質環境実態調査の手引き」(平成 28 年 3 月)に従って表 4-1 及び表 4-2 のとおり算出した。また、MDL 測定時のクロマトグラムを図 2 に示す。

表 4-1 ピリジン及びメチルピリジンの MDL 及び MQL の算出結果

物質名	ピリジン		メチルピリジン	
	Py	2-MePy	3-MePy	4-MePy
試料	河川水			
試料量(L)	0.100	0.100	0.100	0.100
標準添加量(ng)	2.0	2.0	2.0	2.0
試料換算濃度(ng/L)	20	20	20	20
最終液量(mL)	1	1	1	1
注入液濃度(ng/mL)	2.0	2.0	2.0	2.0
装置注入液量(μL)	1	1	1	1
操作ブランク平均(ng/L) ^{*1}	< 5.3 (51)	< 4.3 (88)	< 9.1 (78)	< 5.7 (69)
無添加平均(ng/L) ^{*2}	11.7 (65)	< 4.3 (98)	9.5 (83)	9.9 (75)
結果 1 (ng/L)	26.6 (78)	21.4 (110)	32.1 (98)	30.8 (89)
結果 2 (ng/L)	28.2 (68)	21.6 (98)	33.3 (86)	31.4 (79)
結果 3 (ng/L)	29.6 (69)	24.1 (94)	30.4 (82)	30.8 (75)
結果 4 (ng/L)	26.6 (70)	21.2 (95)	33.6 (84)	33.2 (77)
結果 5 (ng/L)	25.5 (69)	21.1 (91)	27.9 (80)	29.0 (73)
結果 6 (ng/L)	26.6 (73)	22.9 (97)	28.1 (87)	30.7 (76)
結果 7 (ng/L)	28.0 (72)	21.7 (96)	29.8 (86)	29.0 (77)
平均値(ng/L)	27.31 (71)	22.02 (97)	30.72 (86)	30.70 (78)
標準偏差(ng/L)	1.37	1.10	2.33	1.45
MDL(ng/L) ^{*3}	5.3	4.3	9.1	5.7
MQL(ng/L) ^{*4}	14	11	23	15
SN 比	9.9	11	18	12
CV (%)	5.0	5.0	7.6	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 : $MQL = \sigma_{n-1} \times 10$

*5 : 結果の濃度はサロゲート補正後の値

*6 : () 内の値はサロゲート物質の回収率(%)

表 4-2 ビニルピリジンの MDL 及び MQL の算出結果

物質名	ビニルピリジン		
	2-ViPy	3-ViPy	4-ViPy
試料	河川水		
試料量(L)	0.100	0.100	0.100
標準添加量(ng)	4.0	4.0	4.0
試料換算濃度(ng/L)	40	40	40
最終液量(mL)	1	1	1
注入液濃度(ng/mL)	4.0	4.0	4.0
装置注入液量(μL)	1	1	1
操作ブランク平均(ng/L) ^{*1}	<6.1 (63)	<3.6 (63)	<5.8 (69)
無添加平均(ng/L) ^{*2}	<6.1 (67)	<3.6 (67)	<5.8 (71)
結果 1 (ng/L)	34.4 (73)	39.8 (73)	41.0 (73)
結果 2 (ng/L)	36.1 (65)	41.3 (65)	43.2 (65)
結果 3 (ng/L)	39.1 (64)	42.4 (64)	44.9 (64)
結果 4 (ng/L)	37.5 (66)	41.4 (66)	43.8 (66)
結果 5 (ng/L)	35.3 (62)	39.7 (62)	43.0 (62)
結果 6 (ng/L)	36.7 (66)	40.8 (66)	45.0 (66)
結果 7 (ng/L)	37.7 (66)	41.0 (66)	41.8 (66)
平均値(ng/L)	36.70	40.93	43.23
標準偏差(ng/L)	1.57	0.93	1.49
MDL(ng/L) ^{*3}	6.1	3.6	5.8
MQL(ng/L) ^{*4}	16	9.3	15
SN 比	22	14	13
CV (%)	4.3	2.3	3.4

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

*5 : 結果の濃度はサロゲート補正後の値

*6 : () 内の値はサロゲート物質の回収率(%)

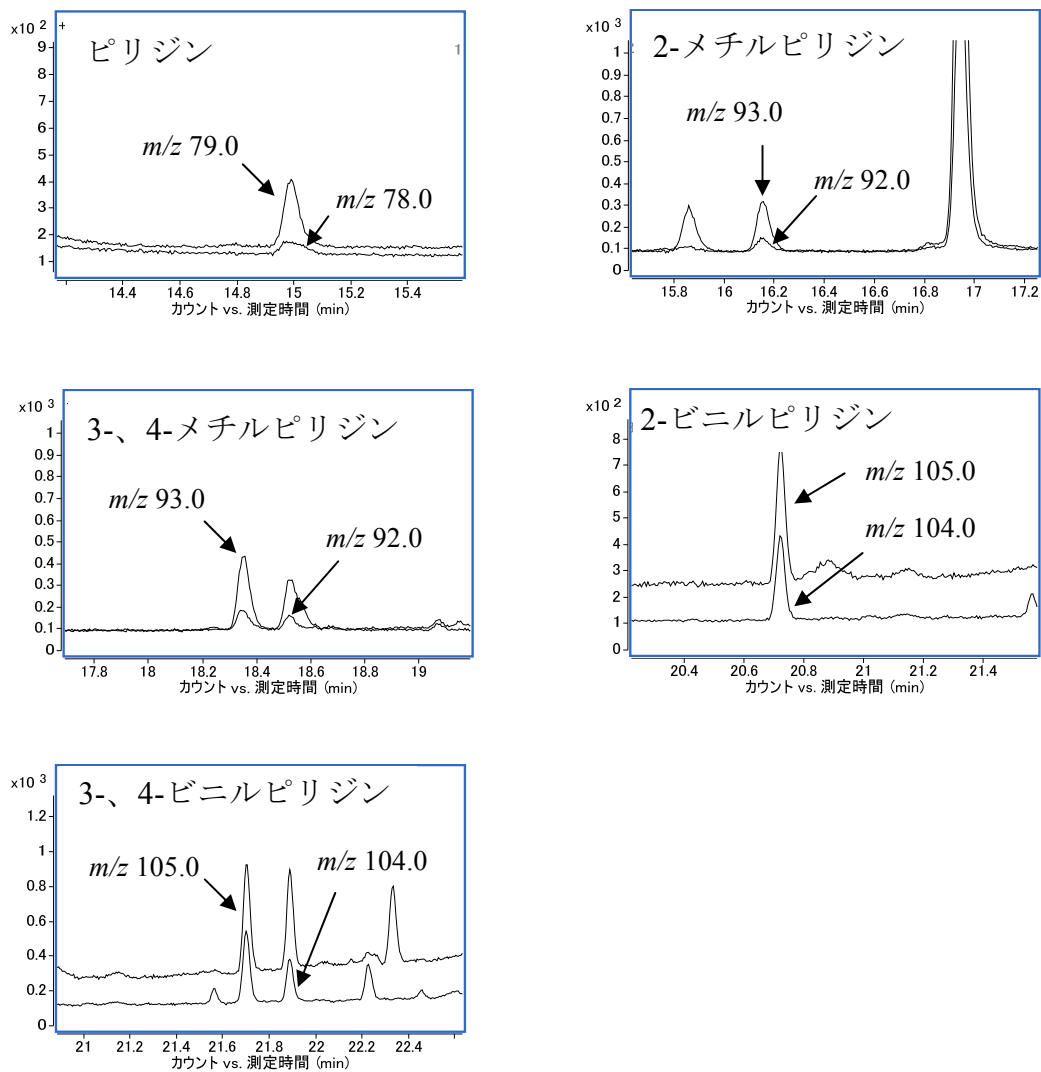


図2 MDL 算出時のクロマトグラム

§ 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 3 に示す。

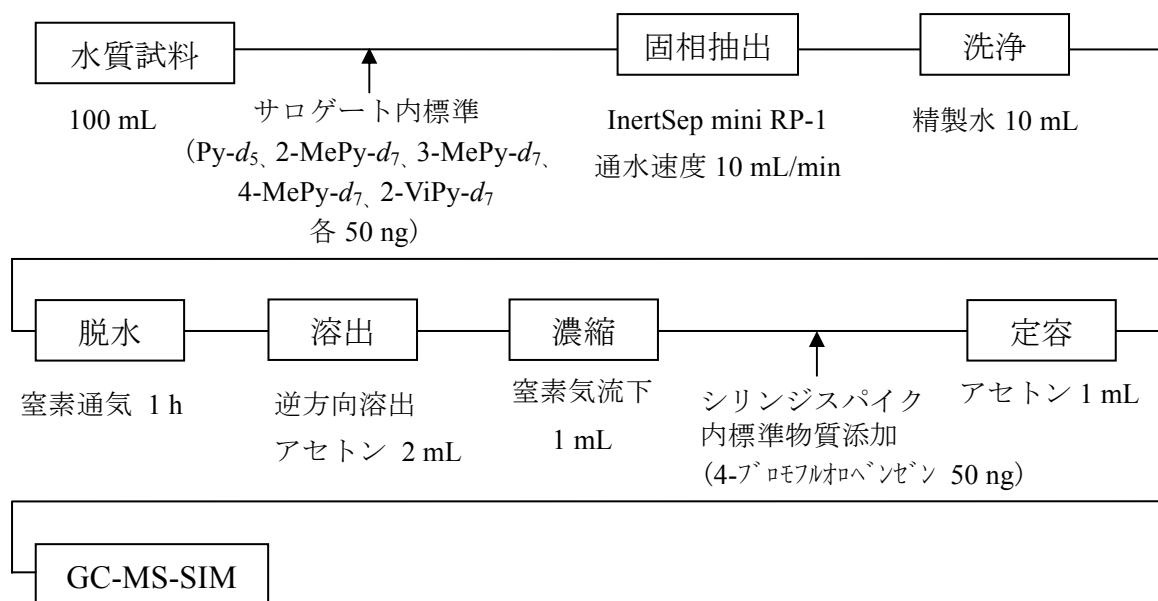


図 3 分析法のフローチャート

〔検量線〕

検量線図を図 4-1～4-7 に、検量線作成用データを表 5-1～5-7 に示す。

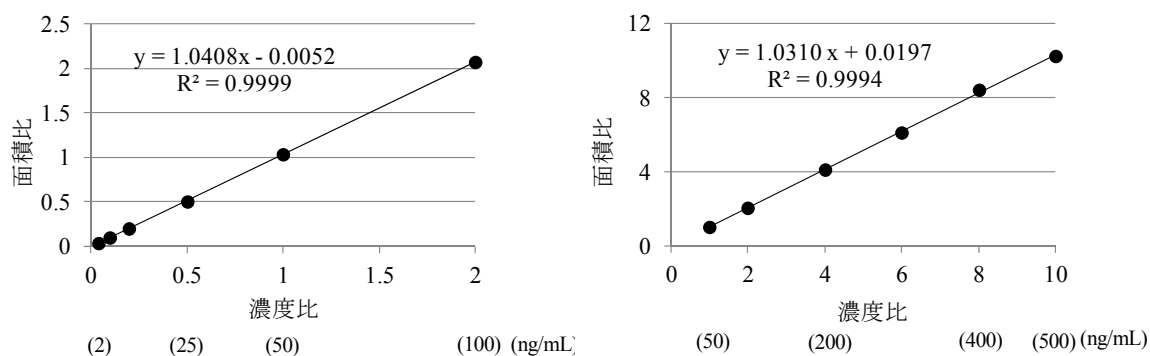


図 4-1 ピリジンの検量線 (サロゲート内標準濃度 : 50 ng/mL)
(対象物質濃度範囲 2.0～100 ng/mL (左図)、50～500 ng/mL (右図))

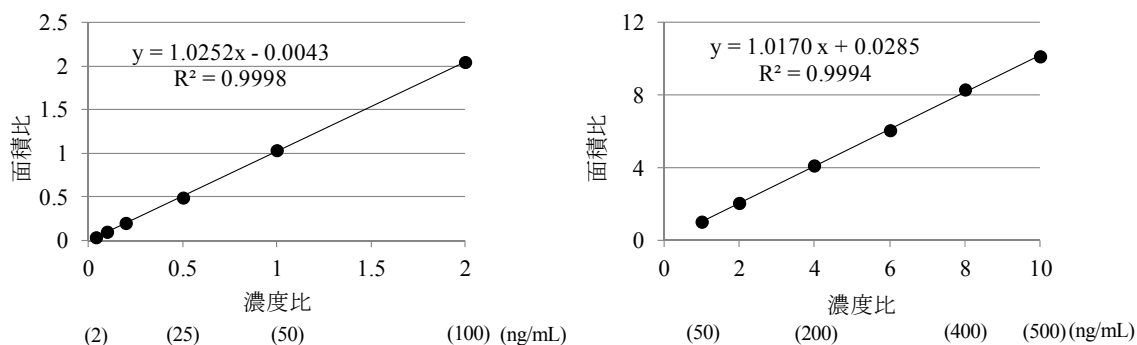


図 4-2 2-メチルピリジンの検量線（サロゲート内標準濃度：50 ng/mL）
（対象物質濃度範囲 2.0～100 ng/mL（左図）、50～500 ng/mL（右図））

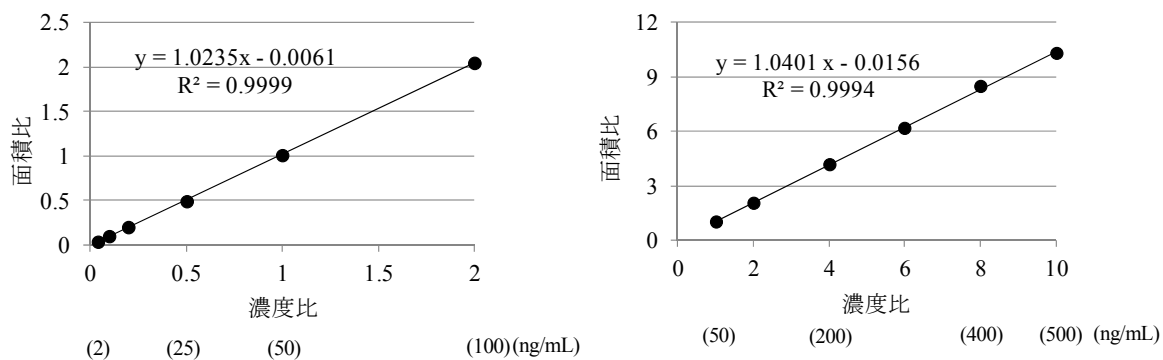


図 4-3 3-メチルピリジンの検量線（サロゲート内標準濃度：50 ng/mL）
（対象物質濃度範囲 2.0～100 ng/mL（左図）、50～500 ng/mL（右図））

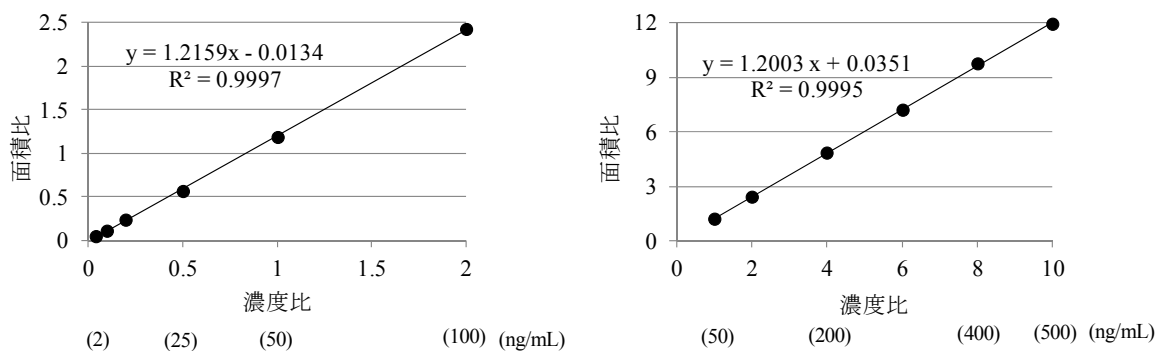


図 4-4 4-メチルピリジンの検量線（サロゲート内標準濃度：50 ng/mL）
（対象物質濃度範囲 2.0～100 ng/mL（左図）、50～500 ng/mL（右図））

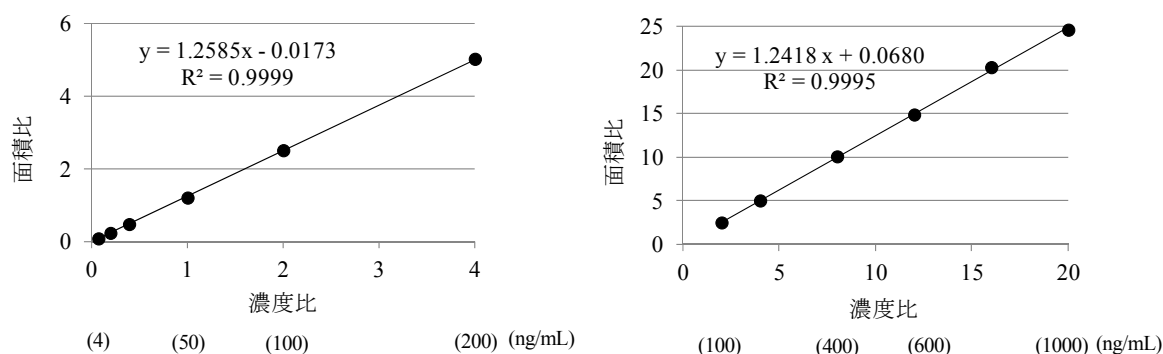


図 4-5 2-ビニルピリジンの検量線 (サロゲート内標準濃度 : 50 ng/mL)
(対象物質濃度範囲 4.0~200 ng/mL (左図)、100~1000 ng/mL (右図))

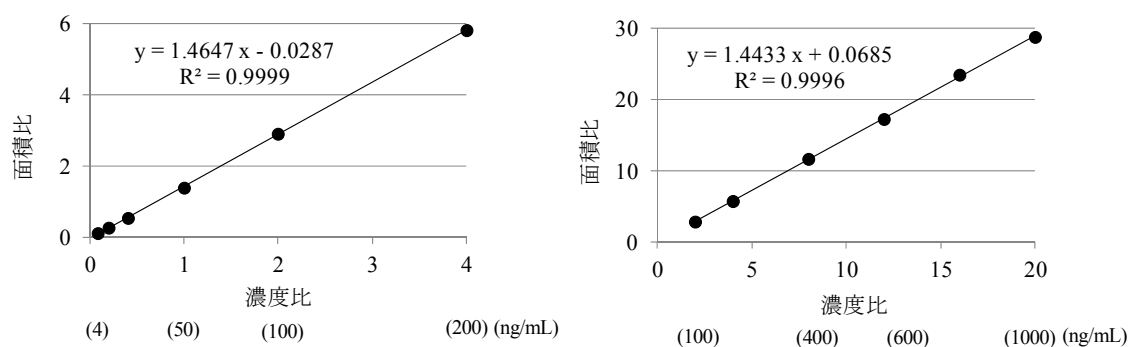


図 4-6 3-ビニルピリジンの検量線 (サロゲート内標準濃度 : 50 ng/mL)
(対象物質濃度範囲 4.0~200 ng/mL (左図)、100~1000 ng/mL (右図))

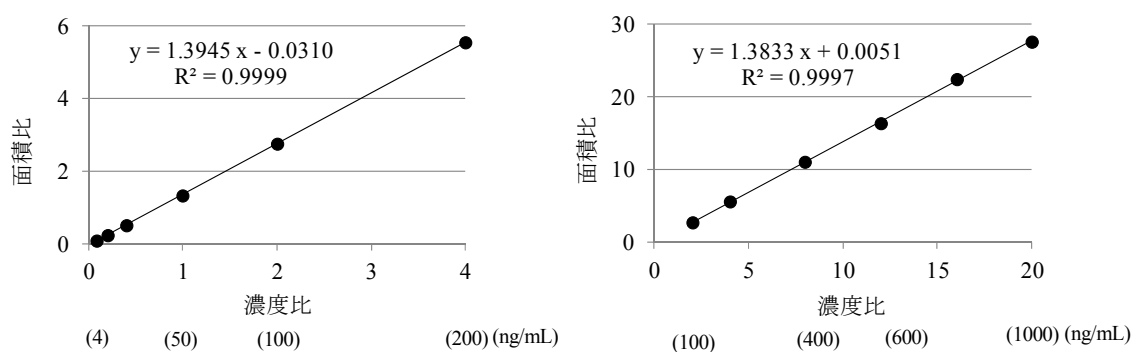


図 4-7 4-ビニルピリジンの検量線 (サロゲート内標準濃度 : 50 ng/mL)
(対象物質濃度範囲 4.0~200 ng/mL (左図)、100~1000 ng/mL (右図))

表 5-1 検量線作成用データ一覧 (ピリジン)

濃度比	標準液濃度 (ng/mL) (C _s)	応答値		応答比 (A _s /A _{is})
		ピリジン	ピリジン- <i>d</i> ₅	
		(A _s) (<i>m/z</i> 79.0)	(A _{is}) (<i>m/z</i> 84.0)	
0.04	2.0	495	12230	0.0405
0.1	5.0	1213	12156	0.0998
0.2	10	2543	12353	0.206
0.5	25	6129	12190	0.503
1	50	12680	12203	1.04
2	100	24686	11884	2.08
4	200	48931	11785	4.15
6	300	73798	12001	6.15
8	400	100305	11905	8.43
10	500	124606	12173	10.2

サロゲート内標準濃度：50 ng/mL

表 5-2 検量線作成用データ一覧 (2-メチルピリジン)

濃度比	標準液濃度 (ng/mL) (C _s)	応答値		応答比 (A _s /A _{is})
		2-メチルピリジン	2-メチルピリジン- <i>d</i> ₇	
		(A _s) (<i>m/z</i> 93.0)	(A _{is}) (<i>m/z</i> 100.0)	
0.04	2.0	543	13433	0.0405
0.1	5.0	1360	13461	0.101
0.2	10	2757	13646	0.202
0.5	25	6650	13619	0.488
1	50	13989	13499	1.04
2	100	27187	13306	2.04
4	200	53894	13079	4.12
6	300	81089	13342	6.08
8	400	110477	13286	8.32
10	500	137815	13639	10.1

サロゲート内標準濃度：50 ng/mL

表 5-3 検量線作成用データ一覧 (3-メチルピリジン)

濃度比	標準液濃度 (ng/mL) (C _s)	応答値		応答比 (A _s /A _{is})
		3-メチルピリジン	3-メチルピリジン-d ₇	
		(A _s) (m/z 93.0)	(A _{is}) (m/z 100.0)	
0.04	2.0	508	12102	0.0420
0.1	5.0	1220	12168	0.100
0.2	10	2471	12387	0.200
0.5	25	6088	12352	0.493
1	50	12670	12500	1.01
2	100	24939	12192	2.05
4	200	49932	11981	4.17
6	300	75639	12246	6.18
8	400	103506	12233	8.46
10	500	129298	12570	10.3

サロゲート内標準濃度：50 ng/mL

表 5-4 検量線作成用データ一覧 (4-メチルピリジン)

濃度比	標準液濃度 (ng/mL) (C _s)	応答値		応答比 (A _s /A _{is})
		4-メチルピリジン	4-メチルピリジン-d ₇	
		(A _s) (m/z 93.0)	(A _{is}) (m/z 100.0)	
0.04	2.0	510	10915	0.0467
0.1	5.0	1279	10870	0.118
0.2	10	2640	11173	0.236
0.5	25	6369	11198	0.569
1	50	13250	11143	1.19
2	100	26723	10996	2.43
4	200	53339	10938	4.88
6	300	80507	11156	7.22
8	400	109733	11214	9.79
10	500	136963	11489	11.9

サロゲート内標準濃度：50 ng/mL

表 5-5 検量線作成用データ一覧 (2-ビニルピリジン)

濃度比	標準液濃度 (ng/mL) (C _s)	応答値		応答比 (A _s /A _{is})
		2-ビニルピリジン	2-ビニルピリジン- <i>d</i> ₇	
		(A _s) (<i>m/z</i> 105.0)	(A _{is}) (<i>m/z</i> 112.0)	
0.08	4.0	964	9691	0.0994
0.2	10	2322	9702	0.239
0.4	20	4808	9899	0.486
1	50	11861	9818	1.21
2	100	24741	9861	2.51
4	200	48445	9651	5.02
8	400	96641	9620	10.0
12	600	146589	9870	14.9
16	800	199689	9841	20.3
20	1000	249594	10113	24.7

サロゲート内標準濃度：50 ng/mL

表 5-6 検量線作成用データ一覧 (3-ビニルピリジン)

濃度比	標準液濃度 (ng/mL) (C _s)	応答値		応答比 (A _s /A _{is})
		3-ビニルピリジン	2-ビニルピリジン- <i>d</i> ₇	
		(A _s) (<i>m/z</i> 105.0)	(A _{is}) (<i>m/z</i> 112.0)	
0.08	4.0	1065	9691	0.110
0.2	10	2668	9702	0.275
0.4	20	5483	9899	0.554
1	50	13625	9818	1.39
2	100	28758	9861	2.92
4	200	56299	9651	5.83
8	400	112403	9620	11.7
12	600	169873	9870	17.2
16	800	231401	9841	23.5
20	1000	290628	10113	28.7

サロゲート内標準濃度：50 ng/mL

表 5-7 検量線作成用データ一覧 (4-ビニルピリジン)

濃度比	標準液濃度 (ng/mL) (C _s)	応答値		応答比 (A _s /A _{is})
		4-ビニルピリジン	2-ビニルピリジン- <i>d</i> ₇	
		(A _s) (<i>m/z</i> 105.0)	(A _{is}) (<i>m/z</i> 112.0)	
0.08	4.0	953	9691	0.0983
0.2	10	2492	9702	0.257
0.4	20	5121	9899	0.517
1	50	13055	9818	1.33
2	100	27356	9861	2.77
4	200	53537	9651	5.55
8	400	106664	9620	11.1
12	600	161848	9870	16.4
16	800	220937	9841	22.5
20	1000	278472	10113	27.5

サロゲート内標準濃度：50 ng/mL

〔クロマトグラム〕

標準液のクロマトグラムを図5に示す。

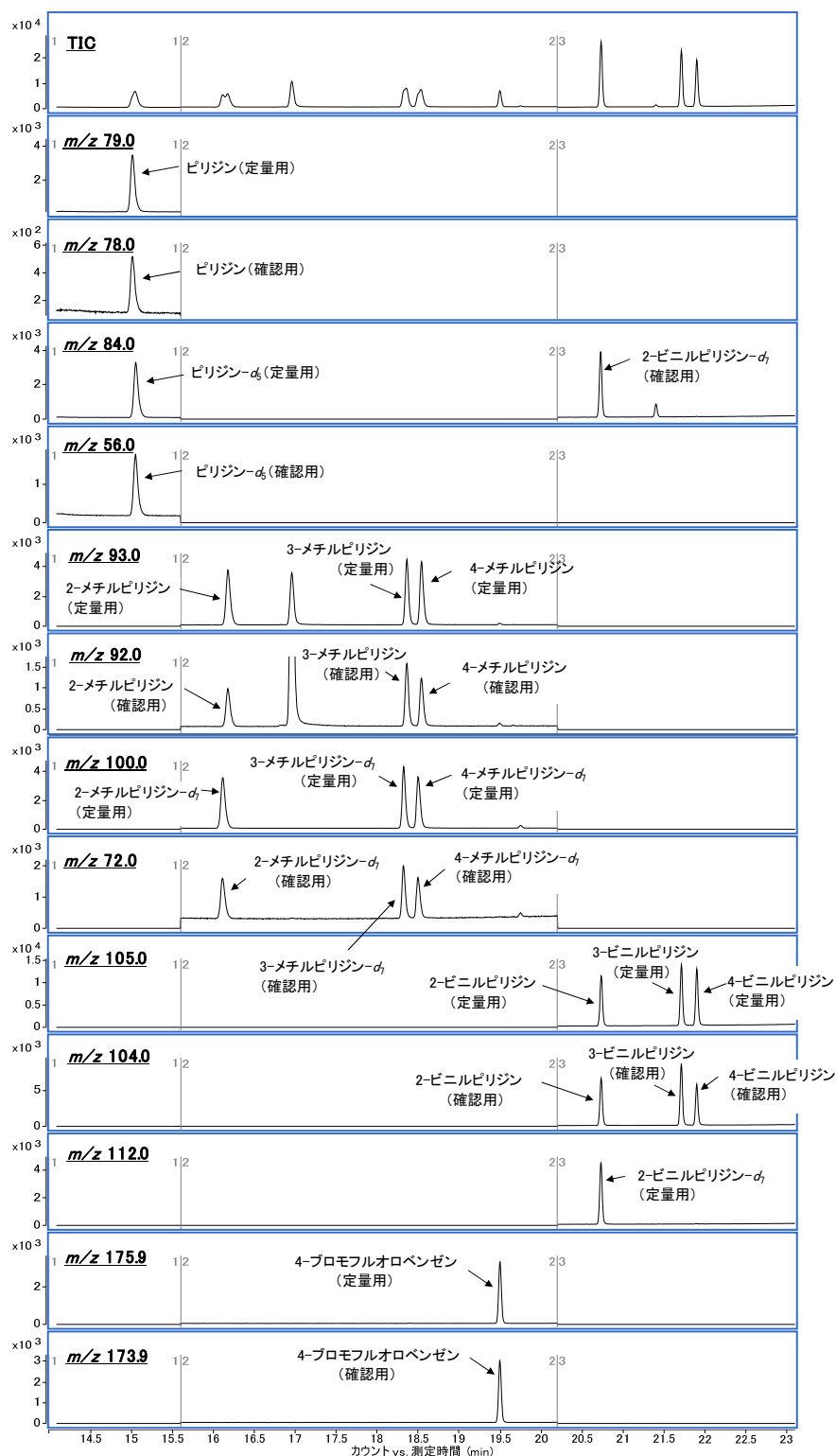


図5 標準液のクロマトグラム(ピリジン、メチルピリジン各異性体:50 ng/mL、
ビニルピリジン各異性体:100 ng/mL)

〔マススペクトル〕

対象物質およびサロゲート内標準、シリンジスパイク内標準のマススペクトルをそれぞれ図 6-1～6-2 に示す。

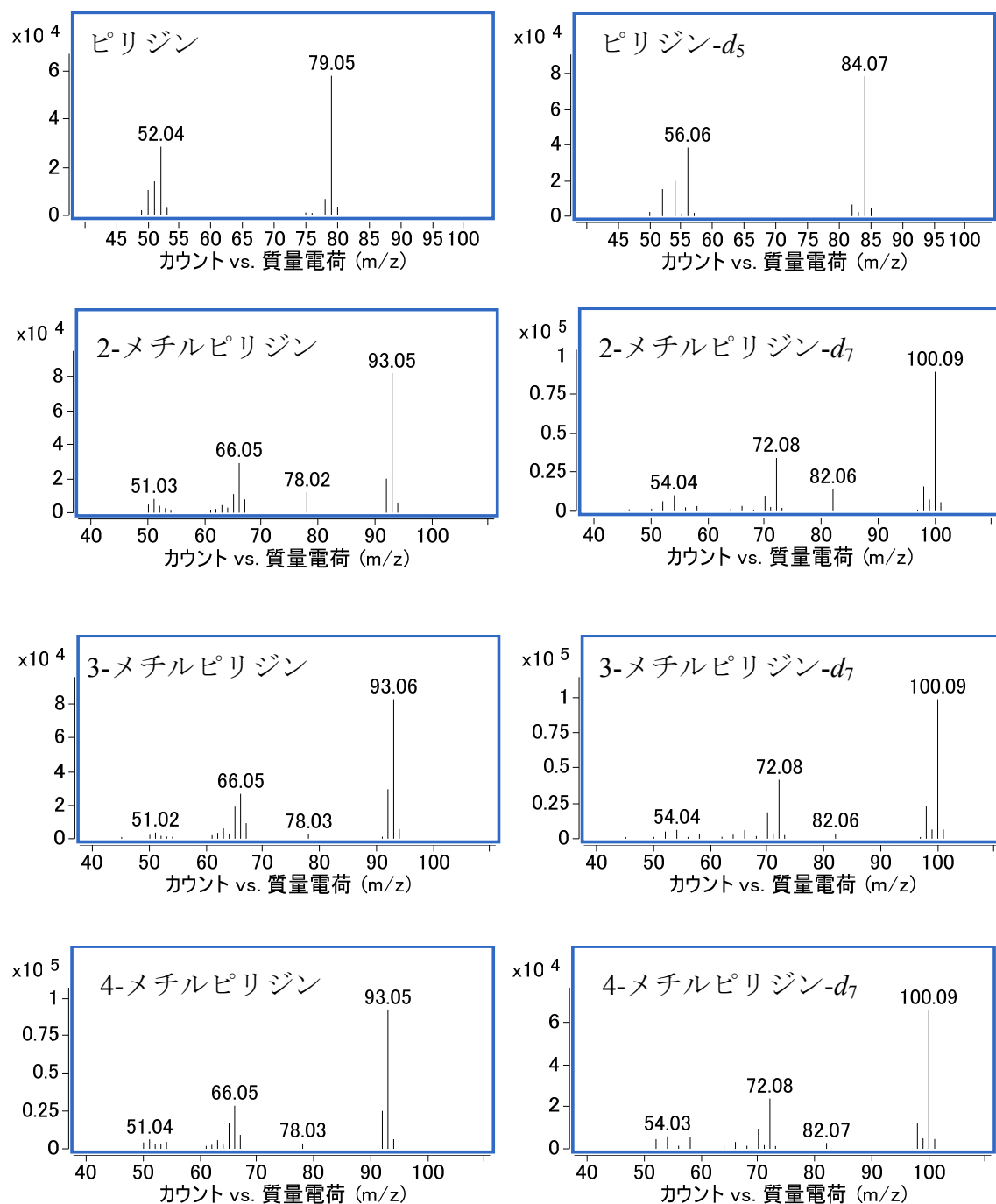


図 6-1 マススペクトル (ピリジン、2-メチルピリジン、3-メチルピリジン、ピリジン- d_5 、2-メチルピリジン- d_7 、3-メチルピリジン- d_7)

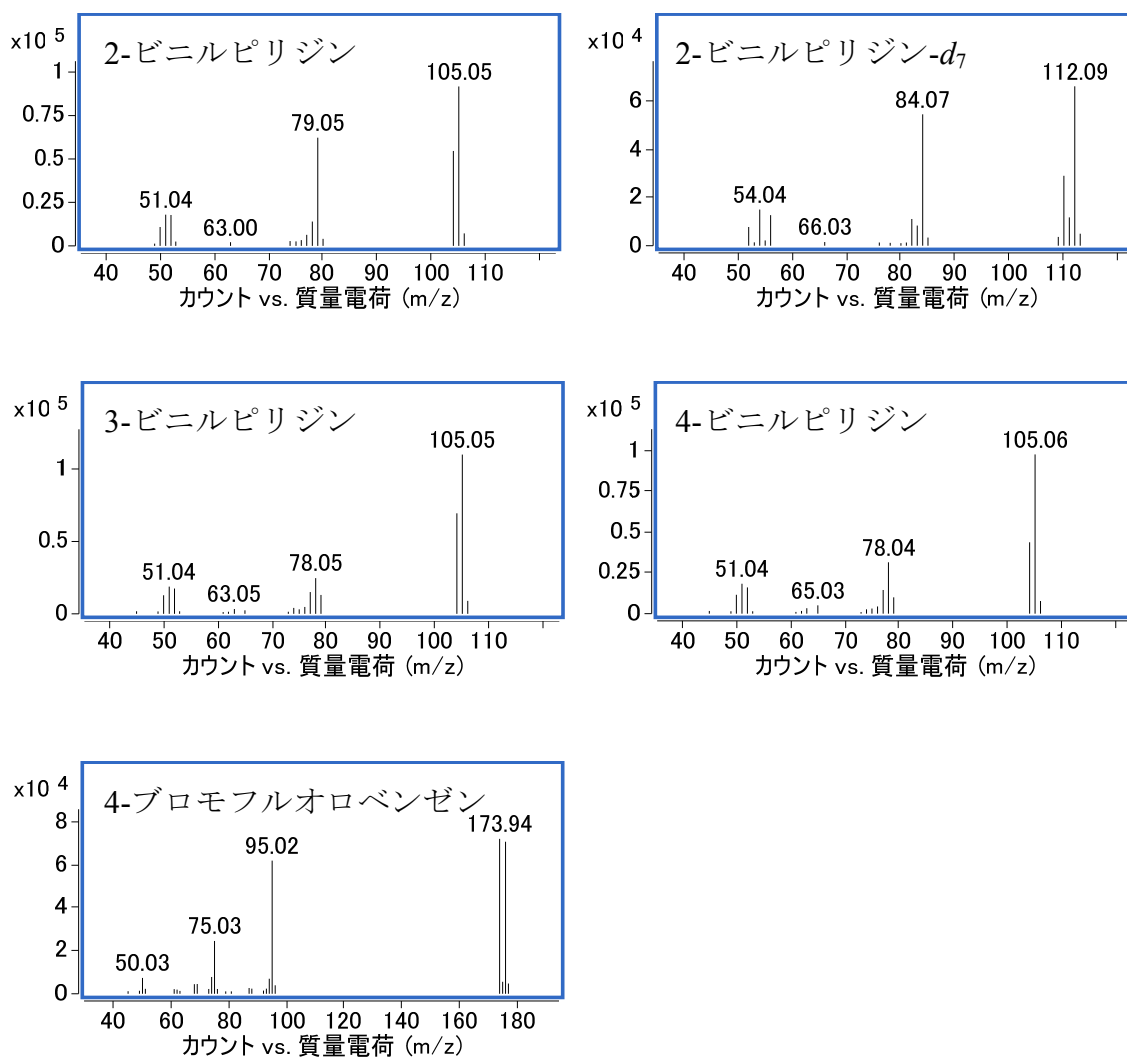


図 6-2 マススペクトル (2-ビニルピリジン、3-ビニルピリジン、4-ビニルピリジン、2-ビニルピリジン- d_7 、4-ブロモフルオロベンゼン)

〔操作ブランク〕

操作ブランクのクロマトグラムを図 7 に示す。ピリジン、3-メチルピリジン、4-メチルピリジンは若干ピークが検出されたが、MDL 未満であった。

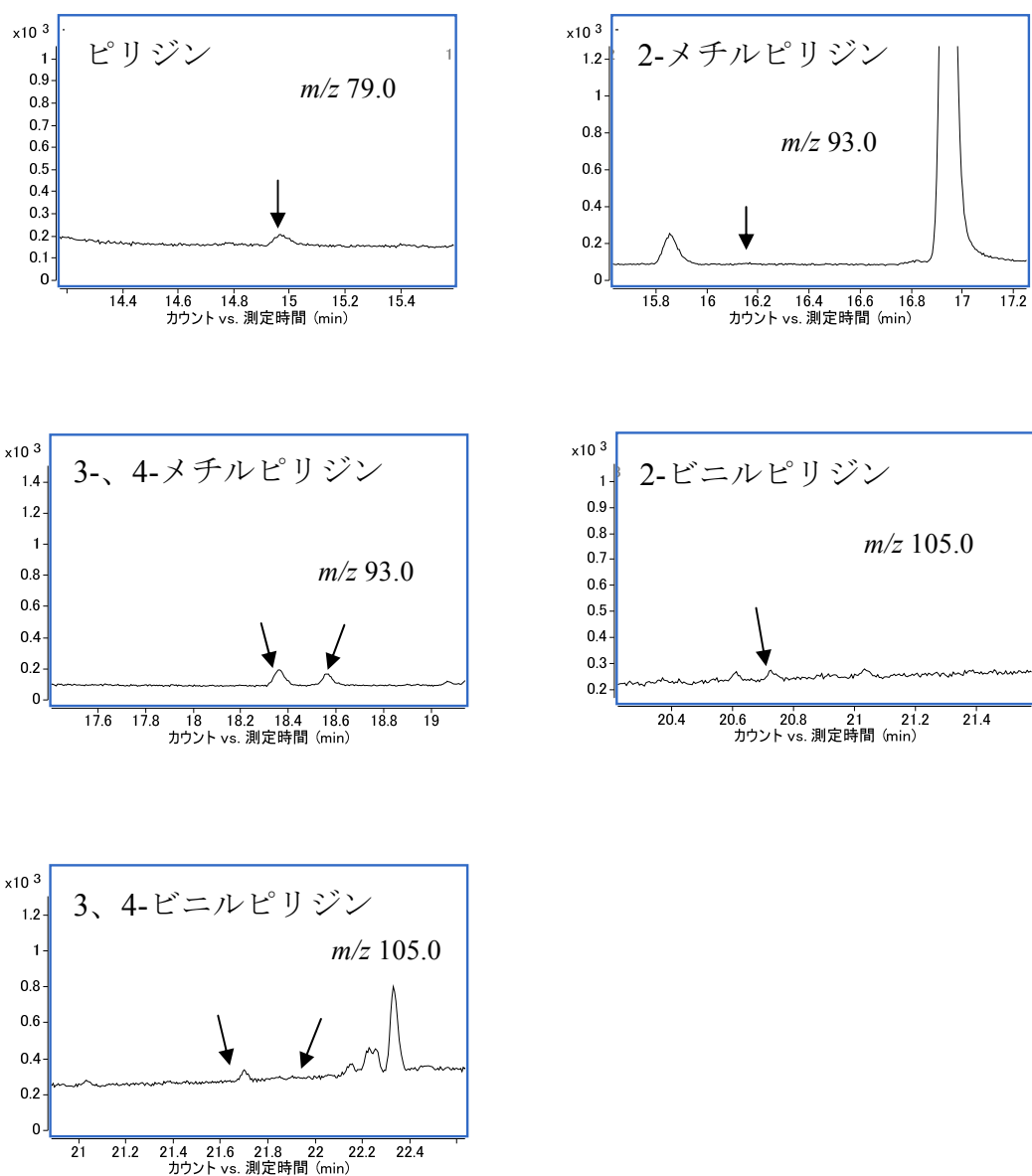


図 7 操作ブランクのクロマトグラム

〔添加回収試験〕

河川水（綾瀬川、堰橋）及び海水（東京湾、城南島海浜公園）への標準物質添加回収試験結果を表 6 に、添加回収試験時のクロマトグラムを図 8-1～8-10 に示す。

表 6 添加回収試験結果

物質名	試料名	試料量 (L)	添加量 (ng)	試験 数	検出濃度* (μg/L)	回収率* (%)	変動 係数 (%)	サロゲート 回収率 (%)
ピリジン	河川水	0.100	0	2	0.010	—	0.019	68
		0.100	10.0	6	0.100	90	7.3	65
	海水	0.100	0	1	0.092	—	—	62
		0.100	30.0	6	0.420	109	3.3	58
2-メチル ピリジン	河川水	0.100	0	2	<0.0043	—	—	96
		0.100	10.0	6	0.104	104	2.2	94
	海水	0.100	0	1	0.012	—	—	104
		0.100	30.0	6	0.306	98	0.69	100
3-メチル ピリジン	河川水	0.100	0	2	0.013	—	2.0	81
		0.100	10.0	6	0.115	102	2.8	85
	海水	0.100	0	1	0.063	—	—	91
		0.100	30.0	6	0.359	99	1.4	91
4-メチル ピリジン	河川水	0.100	0	2	0.013	—	6.0	74
		0.100	10.0	6	0.113	100	2.0	78
	海水	0.100	0	1	0.016	—	—	83
		0.100	30.0	6	0.306	97	1.3	84
2-ビニル ピリジン	河川水	0.100	0	2	<0.0061	—	—	63
		0.100	20.0	6	0.210	105	2.7	66
	海水	0.100	0	1	<0.0061	—	—	70
		0.100	60.0	6	0.630	105	1.1	70
3-ビニル ピリジン	河川水	0.100	0	2	<0.0036	—	—	63
		0.100	20.0	6	0.227	114	2.6	66
	海水	0.100	0	1	<0.0036	—	—	70
		0.100	60.0	6	0.680	113	1.1	70
4-ビニル ピリジン	河川水	0.100	0	2	<0.0058	—	—	63
		0.100	20.0	6	0.233	116	2.6	66
	海水	0.100	0	1	<0.0058	—	—	70
		0.100	60.0	6	0.687	115	1.3	70

*：検出濃度及び回収率はサロゲート補正後の値

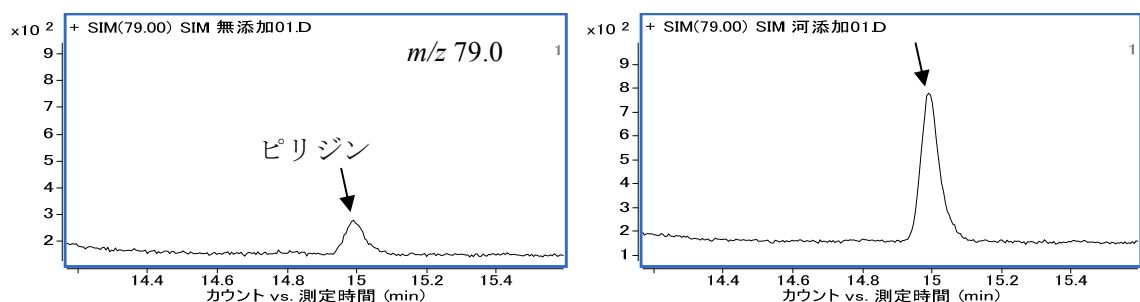


図 8-1 添加回収試験（河川水、ピリジン）のクロマトグラム
（左図：無添加、右図：10 ng 添加）

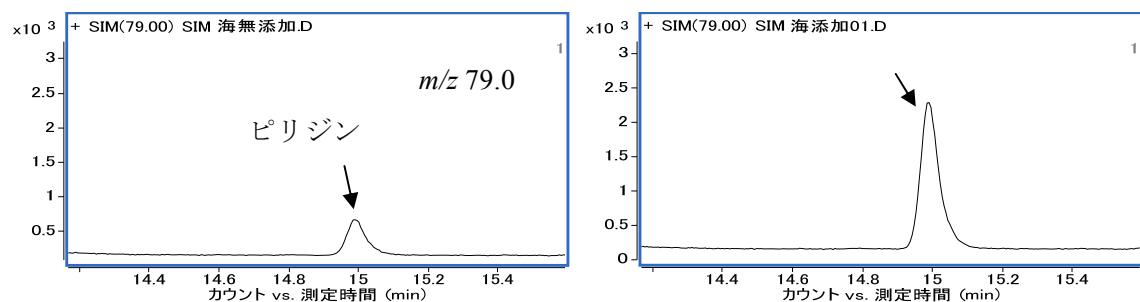


図 8-2 添加回収試験（海水、ピリジン）のクロマトグラム
（左図：無添加、右図：30 ng 添加）

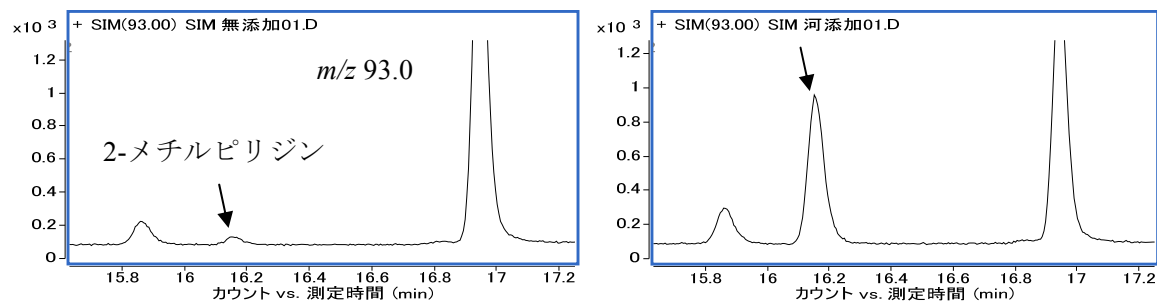


図 8-3 添加回収試験（河川水、2-メチルピリジン）のクロマトグラム
（左図：無添加、右図：10 ng 添加）

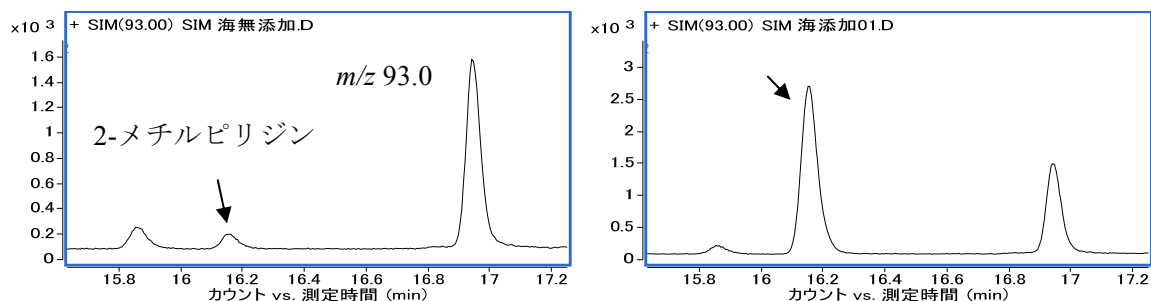


図 8-4 添加回収試験（海水、2-メチルピリジン）のクロマトグラム
（左図：無添加、右図：30 ng 添加）

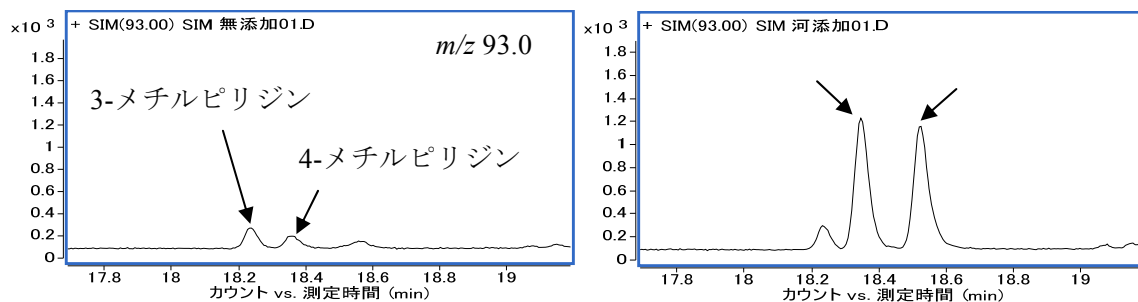


図 8-5 添加回収試験（河川水、3-、4-メチルピリジン）のクロマトグラム
（左図：無添加、右図：10 ng 添加）

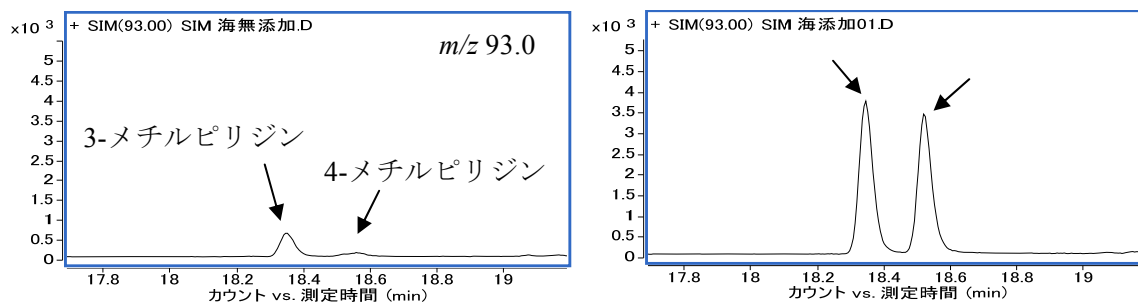


図 8-6 添加回収試験（海水、3-、4-メチルピリジン）のクロマトグラム
（左図：無添加、右図：30 ng 添加）

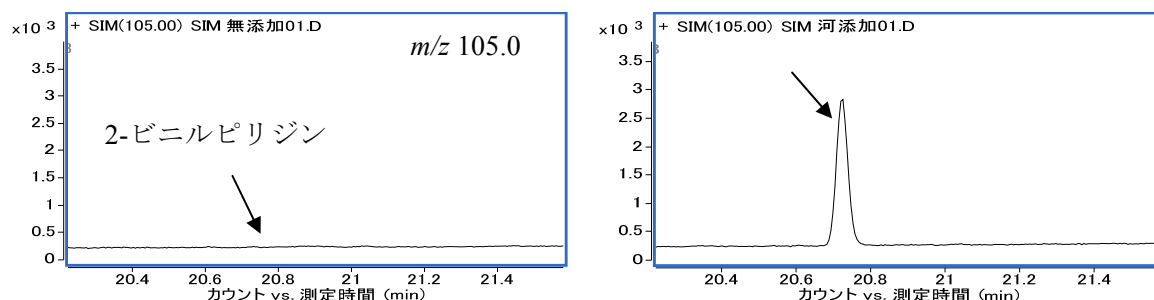


図 8-7 添加回収試験（河川水、2-ビニルピリジン）のクロマトグラム
（左図：無添加、右図：20 ng 添加）

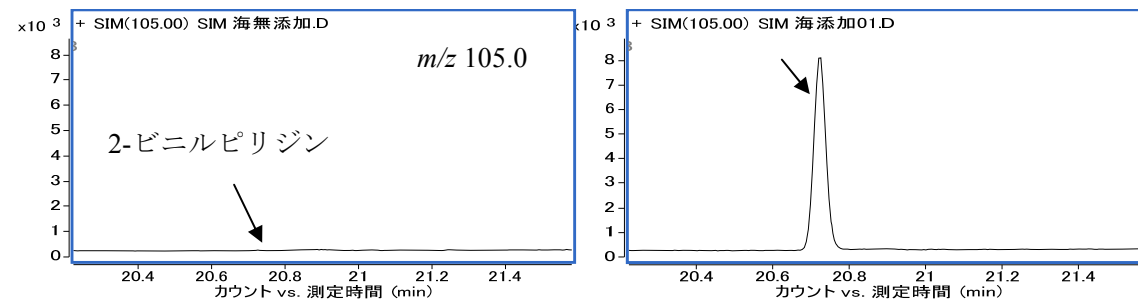


図 8-8 添加回収試験（海水、2-ビニルピリジン）のクロマトグラム
（左図：無添加、右図：60 ng 添加）

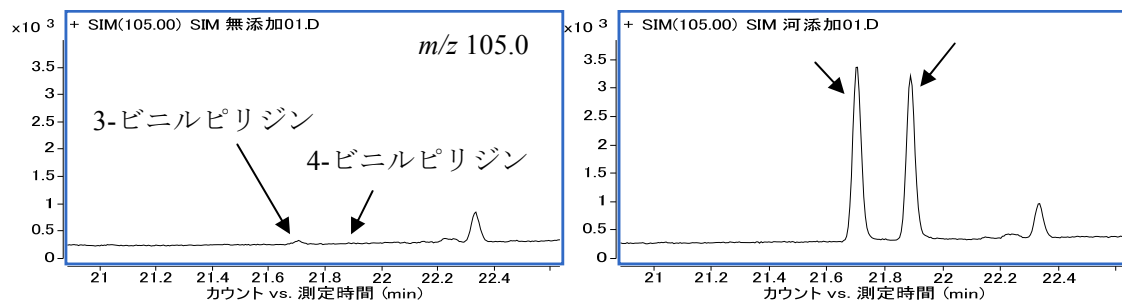


図 8-9 添加回収試験（河川水、3-、4-ビニルピリジン）のクロマトグラム
（左図：無添加、右図：20 ng 添加）

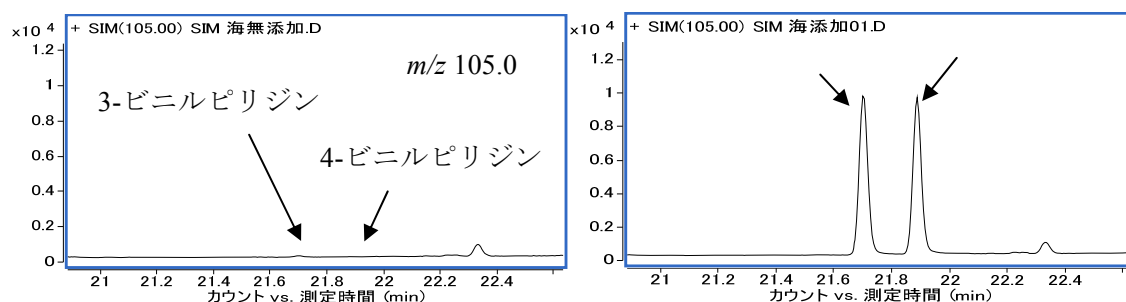


図 8-10 添加回収試験（海水、3-、4-ビニルピリジン）のクロマトグラム
（左図：無添加、右図：60 ng 添加）

〔分解性スクリーニング試験〕

5 mmol/L ギ酸アンモニウム緩衝液に 1%ギ酸及び 10%アンモニア水を用いて pH 調整した精製水に標準物質を添加し、分解性スクリーニング試験を行った。結果を表 7 に示す。

pH9 の 7 日後残存率が若干低い結果となったが、大幅な濃度の低下はなく、深刻な分解は認められなかった。

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 (ng/mL)	検出濃度(ng/mL) (残存率(%))*			
				1 時間		7 日間放置後	
				放置後		暗所	明所
ピリジン	5	3	0.50	0.61	(120)	0.59 (118)	—
	7	3	0.50	0.54	(108)	0.57 (114)	0.59 (118)
	9	3	0.50	0.56	(112)	0.41 (82)	—
2-メチル ピリジン	5	3	0.50	0.55	(110)	0.49 (98)	—
	7	3	0.50	0.47	(95)	0.47 (94)	0.49 (98)
	9	3	0.50	0.47	(94)	0.43 (87)	—
3-メチル ピリジン	5	3	0.50	0.51	(101)	0.52 (104)	—
	7	3	0.50	0.51	(101)	0.51 (101)	0.53 (105)
	9	3	0.50	0.49	(99)	0.46 (92)	—
4-メチル ピリジン	5	3	0.50	0.53	(106)	0.49 (99)	—
	7	3	0.50	0.50	(100)	0.48 (96)	0.51 (102)
	9	3	0.50	0.48	(96)	0.45 (90)	—
2-ビニル ピリジン	5	3	1.0	0.97	(71)	1.0 (103)	—
	7	3	1.0	0.99	(71)	0.99 (99)	1.0 (104)
	9	3	1.0	0.97	(76)	0.92 (92)	—
3-ビニル ピリジン	5	3	1.0	1.0	(100)	1.1 (110)	—
	7	3	1.0	1.0	(102)	1.1 (110)	1.1 (110)
	9	3	1.0	1.0	(101)	0.97 (97)	—
4-ビニル ピリジン	5	3	1.0	0.99	(99)	1.1 (110)	—
	7	3	1.0	1.0	(102)	1.1 (106)	1.1 (110)
	9	3	1.0	1.0	(102)	0.97 (97)	—

* 残存率(%)：調製濃度に対する検出濃度の割合

〔保存性試験〕

保存性試験結果を表 8-1 及び表 8-2 に示す。

河川水（鴨川、中土手橋）及び海水（東京湾、城南島海浜公園）の保存性試験は、各試料 100 mL に対し、ピリジン及びメチルピリジンの各異性体を 10.0 ng、ビニルピリジンの各異性体を 20.0 ng 添加し、冷暗所(4°C)で 7 日間保存した。調製した試料を当日（1 時間後）及び 7 日後に分析し、定量した。

標準液については、検量線用標準液 0.1 mg/L 及び 1 mg/L（ビニルピリジンの各異性体については 0.2 mg/L 及び 2 mg/L）のアセトン溶液について冷暗所(4°C)で 1 ヶ月間保存した後、定量した。濃度は、検量線の最低濃度である 2 ng/mL、検量線の間程度程度の濃度である 50 ng/mL、及び検量線の最高濃度である 500 ng/mL とした（ビニルピリジンの各異性体については、それぞれ 4 ng/mL、100 ng/mL、1000 ng/mL）。

粗抽出液については、保存性試験を実施した際に得られた試験液を冷暗所(4°C)で 7 日間及び 14 日間保存した後、定量した。

試験の結果、河川水、海水中のピリジン、メチルピリジン及びビニルピリジンの各異性体は 7 日間安定であり、アセトンに溶解した標準液については 1 ヶ月間、河川水及び海水の粗抽出液については 14 日間安定であった。

表 8-1 河川水、海水、標準液の保存性試験結果

物質名	試料名	調製濃度 ^{*1} (ng/mL)	検出濃度(ng/mL) (残存率(%)) ^{*2}		
			調製当日	7 日後	1 ヶ月後
ピリジン	河川水	0.16	0.16 (100)	0.16 (100)	—
	海水	0.20	0.20 (100)	0.23(114)	—
	標準液 ^{*3}	2	—	—	2.0 (100)
		50	—	—	50 (99)
		500	—	—	518 (104)
2-メチル ピリジン	河川水	0.10	0.12 (120)	0.12 (120)	—
	海水	0.10	0.11(110)	0.12 (120)	—
	標準液 ^{*3}	2	—	—	2.2 (108)
		50	—	—	53 (106)
		500	—	—	549 (110)
3-メチル ピリジン	河川水	0.14	0.14 (100)	0.13 (96)	—
	海水	0.17	0.17(100)	0.17 (100)	—
	標準液 ^{*3}	2	—	—	2.5 (130)
		50	—	—	50 (100)
		500	—	—	520 (104)
4-メチル ピリジン	河川水	0.12	0.12 (100)	0.12 (97)	—
	海水	0.12	0.12(100)	0.11 (98)	—
	標準液 ^{*3}	2	—	—	2.0 (100)
		50	—	—	53 (106)
		500	—	—	545 (109)
2-ビニル ピリジン	河川水	0.20	0.19 (96)	0.19 (95)	—
	海水	0.20	0.20 (100)	0.21 (103)	—
	標準液 ^{*3}	4	—	—	4.3 (107)
		100	—	—	100 (102)
		1000	—	—	1050 (105)
3-ビニル ピリジン	河川水	0.20	0.21 (105)	0.24 (120)	—
	海水	0.20	0.21(105)	0.22 (110)	—
	標準液 ^{*3}	4	—	—	4.2 (105)
		100	—	—	99 (99)
		1000	—	—	1020 (102)
4-ビニル ピリジン	河川水	0.20	0.20 (101)	0.20 (103)	—
	海水	0.20	0.21(107)	0.22 (113)	—
	標準液 ^{*3}	4	—	—	4.9 (124)
		100	—	—	94 (94)
		1000	—	—	981 (98)

*1：試料中に対象物質が含まれている場合は、無添加試料中濃度と添加濃度を足し合わせたものを調製濃度とした。

*2：残存率(%)は調製濃度に対する検出濃度の割合

*3：標準液の上段は検量線の最低濃度、中段は検量線の間濃度、下段は検量線の最高濃度を示す。

表 8-2 抽出液の保存性試験結果*¹

物質名	試料名	検出濃度(ng/mL) (残存率(%)* ²)		
		当日	7 日後	14 日後
ピリジン	河川水抽出液	16	16 (100)	17 (105)
	海水抽出液	20	21 (105)	21 (105)
2-メチル ピリジン	河川水抽出液	12	13 (107)	12 (100)
	海水抽出液	11	11 (105)	11 (105)
3-メチル ピリジン	河川水抽出液	14	14 (102)	15 (104)
	海水抽出液	17	18 (105)	17 (99)
4-メチル ピリジン	河川水抽出液	12	12 (100)	12 (100)
	海水抽出液	12	11 (97)	12 (97)
2-ビニル ピリジン	河川水抽出液	19	20 (103)	19 (102)
	海水抽出液	20	20 (103)	19 (101)
3-ビニル ピリジン	河川水抽出液	21	23 (109)	21 (102)
	海水抽出液	21	23 (108)	21 (99)
4-ビニル ピリジン	河川水抽出液	20	21 (105)	20 (100)
	海水抽出液	21	21 (101)	20 (97)

*1：保存性試験（表 8-1）で得られた試験液を測定した結果

*2：残存率(%)は調製濃度に対する検出濃度の割合

〔固相カートリッジの選定〕

既報¹⁻³⁾では、ピリジンの抽出には活性炭カラムを使用し、通水方向とは逆方向から溶媒を流して固相から溶出させている。しかし、サロゲート物質の回収率は45%²⁾と低い。また、ピリジンはシラノールに吸着することが知られているため、シリカゲルベースの固相は好ましくないと考えられる。そこで、ポリマーベースの固相5種（Waters 製 PS2、Oasis HLB、GL サイエンス製 InertSep Pharma FF、InertSep PLS3、InertSep miniRP-1）について、回収率の検討を行った。固相はあらかじめアセトン 10 mL 及び精製水 10 mL でコンディショニングしたものを使用した。河川水 100 mL に標準物質を 10 ng 添加し、本法に従って分析した時のサロゲート物質の回収率を表 9 に示す。

表 9 サロゲート物質の回収率(%)の比較

固相	Py- <i>d</i> ₅	2MePy- <i>d</i> ₇	3MePy- <i>d</i> ₇	4MePy- <i>d</i> ₇	2ViPy- <i>d</i> ₇
PS2	62.2	71.8	76.6	77.2	77.7
HLB	68.6	74.1	78.7	79.4	83.2
Pharma	65.5	77.9	82.6	84.9	85.5
PLS3	64.5	77.9	83.9	85.0	86.8
RP-1	67.2	79.3	84.2	84.2	86.0

サロゲート物質の回収率は、どの固相も差はなく、良好な結果であった。

固相により、固相由来と思われる夾雑ピークが検出されるものがあつた、定量イオン及び確認イオンと同じ質量数で検出された夾雑ピークの比較を図 9-1～9-3 に示す。対象物質とかぶってしまうピークはないが、隣接して検出されるものもあり、クロマトグラムの比較では、InertSep mini RP-1 又は InertSep Pharma FF が候補と考えられた。

本法では固相からの溶出をアセトンで行っている。アセトンは無水硫酸ナトリウムによる脱水が不可能であるため、固相の乾燥が重要となる。そのため、乾燥のしやすさも考慮し、InertSep mini RP-1 を選択した。

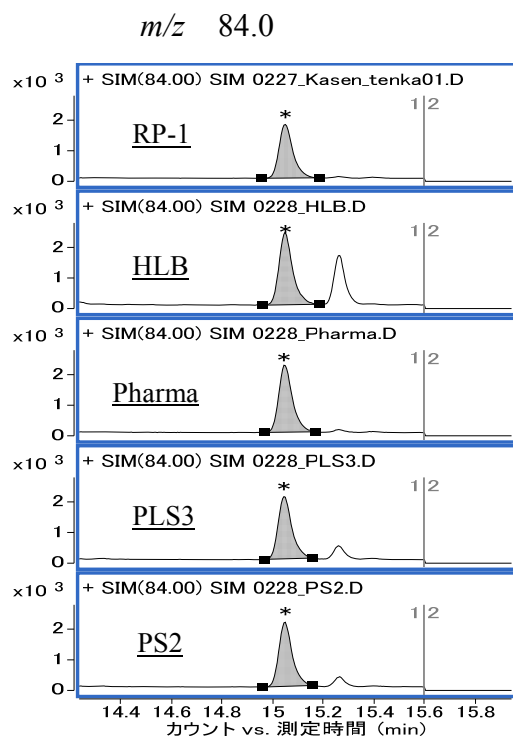


図 9-1 ピリジン- d_5 の検出付近

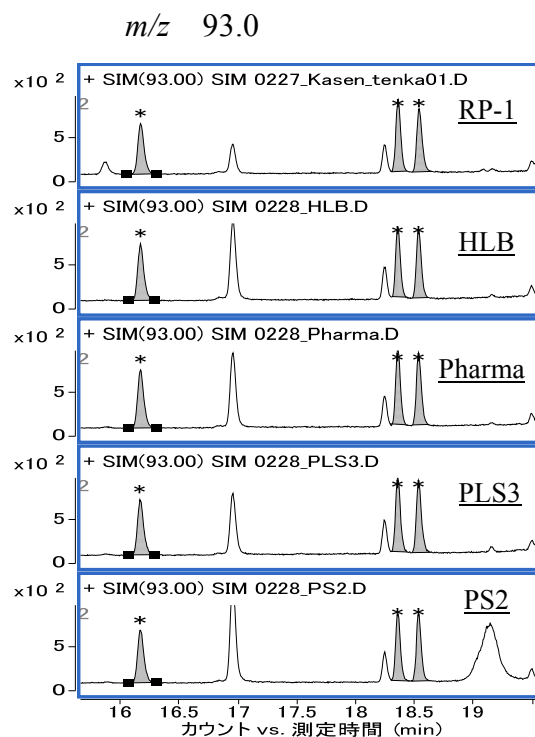


図 9-2 メチルピリジンの検出付近

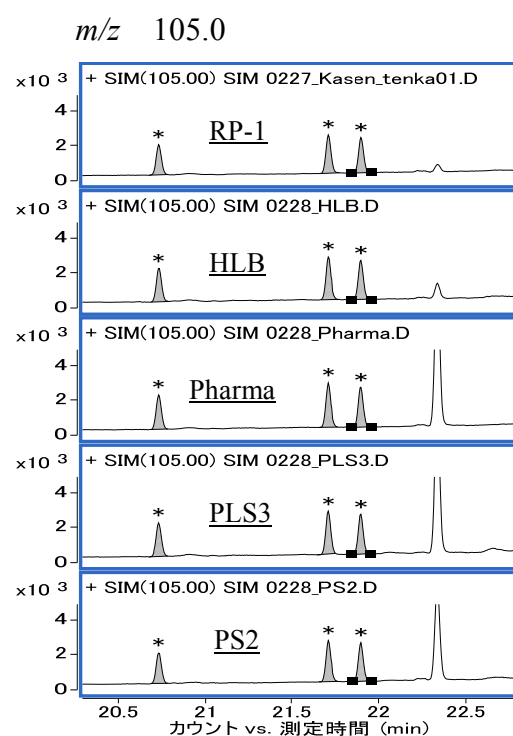


図 9-3 ビニルピリジンの検出付近

選定した固相カートリッジを使用し、アセトンで順方向に通常溶出したところ、精製水に添加したピリジン- d_5 の回収率が低い傾向が見られた。精製水に添加した場合の回収率が 50%にとどかなかったため、次に示すいくつかの検討を行った。

〔固相カートリッジからの破過試験〕

ピリジンの回収率が低い原因として、カートリッジからの破過を考え、InertSep mini RP-1 を 2 連にし、2 段目に検出されるか試験を行った。

精製水 100 mL に標準物質を 200 ng 添加し、2 連にした固相カートリッジに通液した。通液後の固相カートリッジを分割し、それぞれ乾燥した後、アセトンで溶出を行い、GC/MS で測定した。メチルピリジン及びビニルピリジンの各異性体は、後段の固相カートリッジからの検出はなかった。ピリジンについては、後段から 2.6%、ピリジン- d_5 は 2.5%の検出が確認された。この結果から、若干の破過は起こっているようであるが、回収率の大幅な改善にはつながらないと考えられた。

〔活性炭カラム併用の検討〕

既報¹⁻³⁾では、活性炭カラムで捕集し、アセトンやジクロロメタンで溶出する方法が採用されている。そこで、活性炭カラムを RP-1 の下に接続し、試験を行った。連結して通液した後、固相を別々に乾燥し、RP-1 は順方向で溶出、活性炭カラムはバックフラッシュで溶出して抽出液を合わせたあと、窒素気流下で濃縮し、シリンジスパイク内標準を添加して 1 mL に定容し、測定した。図 10-1 に活性炭カラムの有無の TIC クロマトグラムを、図 10-2 及び 10-3 にピリジン及びピリジン- d_5 のマスキロマトグラムを示す。

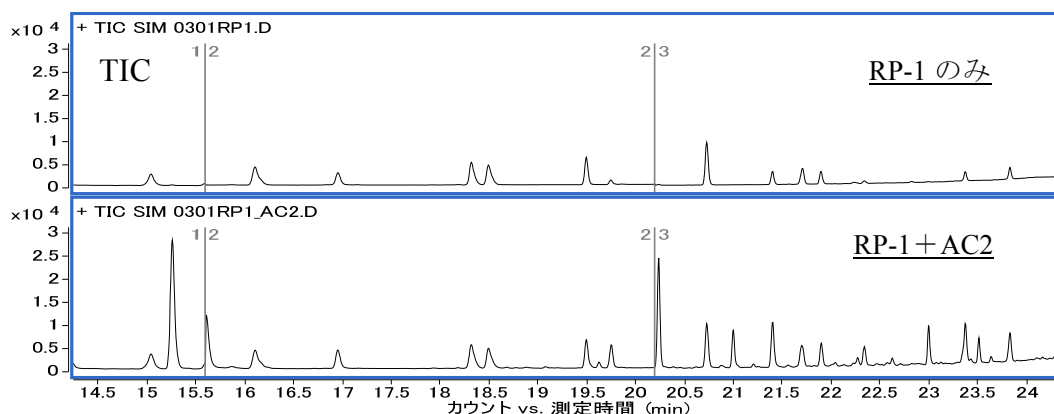


図 10-1 RP-1 のみと RP-1、AC2 タンデムのクロマトグラム

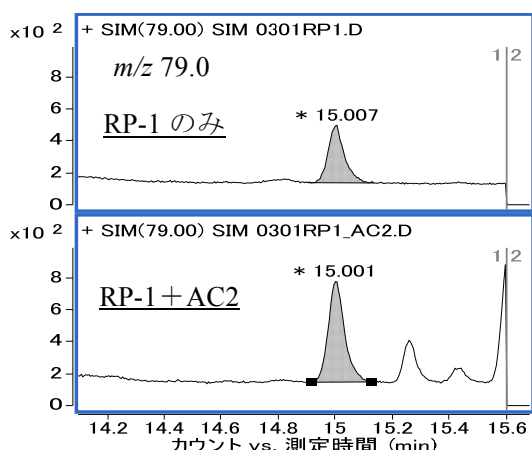


図 10-2 ピリジンのマスククロマトグラム

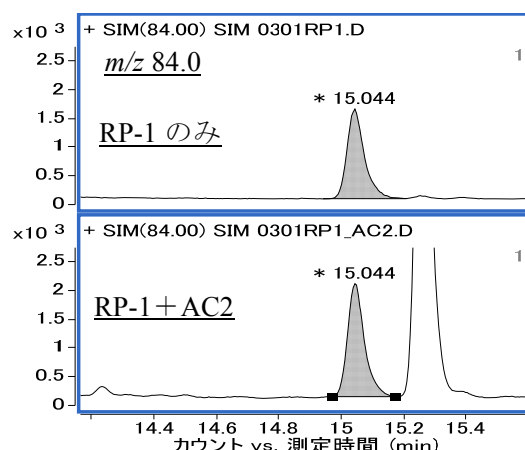


図 10-3 ピリジン- d_5 マスククロマトグラム

ピリジン及びピリジン- d_5 のピークは活性炭カラムを接続したものの方が大きくなった。ピリジン- d_5 の回収率は、54%から65%と10%程度向上した。しかし、サロゲート補正後のピリジンの回収率は、RP-1のみが115%であったのに対し、AC2を接続したものは162%と大きくなってしまった。この試験の際には操作ブランク試験を行っていなかったが、RP-1のみでもブランクが検出されていることから、AC2からブランクまたはピリジンに影響を与える夾雑物が溶出されている可能性が考えられた。

この結果から、本法では活性炭カラムは使用しないこととした。

〔酸性溶媒での溶出試験〕

ピリジンの低回収率の主原因が破過ではないことから、固相からの溶出が不十分な可能性が考えられた。ピリジンは塩基性であるため、アセトンにギ酸を添加し、酸性溶媒での溶出試験を行った。

河川水に標準物質を100 ng 添加し、InertSep mini RP-1に通液し、乾燥した後、アセトンのみで溶出、アセトンに0.1%、0.01%のギ酸を添加した溶媒で溶出した場合の回収率及びクロマトグラムの比較を行った。

アセトンのみでの回収率は79%、0.01%ギ酸アセトンは59%、0.1%ギ酸アセトンは61%となり、ギ酸を加えない方が回収率はよかった。また、ギ酸濃度が高くなるほど、ビニルピリジン各異性体のピーク形状が悪くなり、定量に支障をきたした。図 11-1 にトータルイオンクロマトグラムを、図 11-2 にビニルピリジンの定量イオンである m/z 105.0 のマスククロマトグラムを示す。

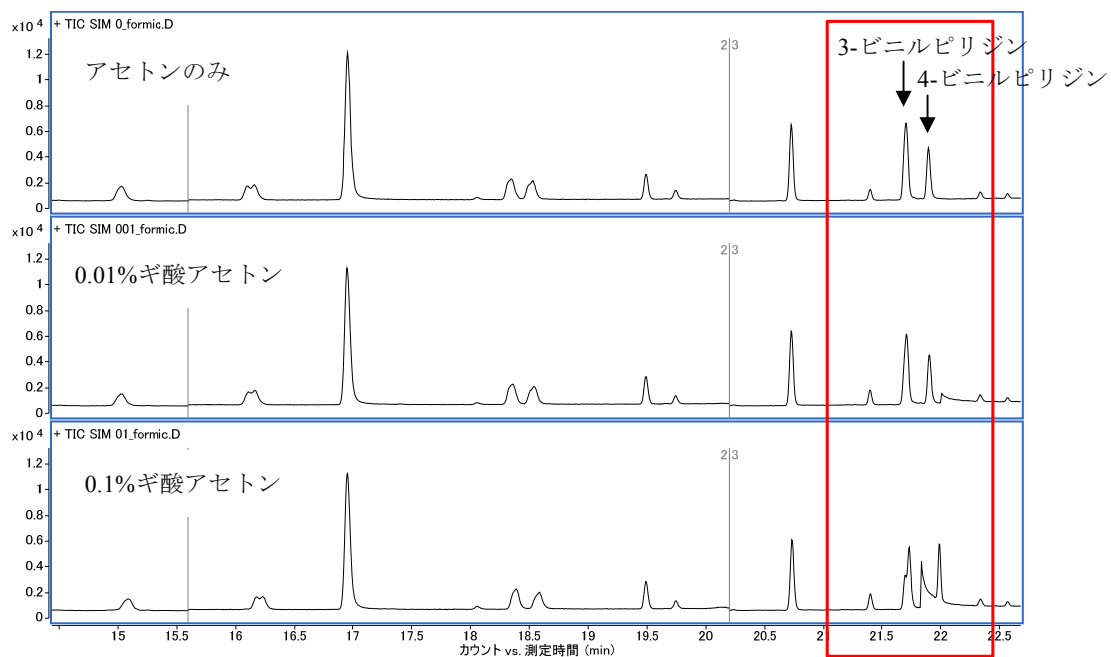


図 11-1 ギ酸添加アセトンで溶出した試料のトータルイオンクロマトグラム

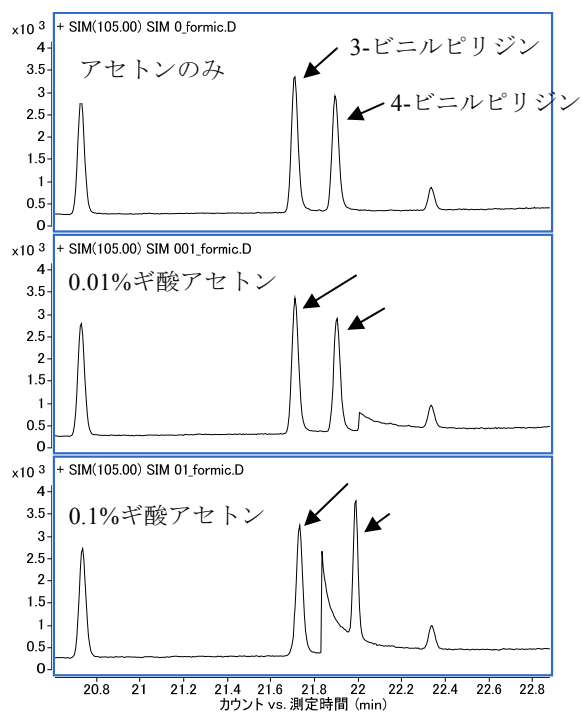


図 11-2 ギ酸添加アセトンで溶出した試料の m/z 105.0 のマスクロマトグラム

〔精製水への塩の添加〕

河川水及び海水についてはピリジン- d_5 の回収率は 50%以上を確保できるが、精製水のみ回収率が悪いので、精製水 100 mL に対して塩化ナトリウムを 3 g 添加し、試験を行った。クロマトグラムに変化は見られなかったが、ピリジン- d_5 の回収率は 22%と塩化ナトリウム無添加試料の半分程度になった。

〔逆方向溶出の検討〕

ピリジンの固相カートリッジからの溶出不足が低回収率の主原因であると考え、逆方向からの溶出を試みた。河川水に標準物質を 10 ng 添加し、順方向の溶出と逆方向からの溶出を行い、クロマトグラムを比較した。選択性の低いポリマー系カートリッジの逆方向溶出は夾雑物質の影響が懸念されたが、トータルイオンクロマトグラムも対象物質のマスキロマトグラムにも夾雑物質の影響はなく、回収率も 50%以上を確保できた。そこで本法では逆方向からの溶出を採用することとした。図 12-1 に通常溶出及び逆方向溶出のトータルイオンクロマトグラムを、図 12-2 及び 12-3 に各対象物質のマスキロマトグラムを示す。

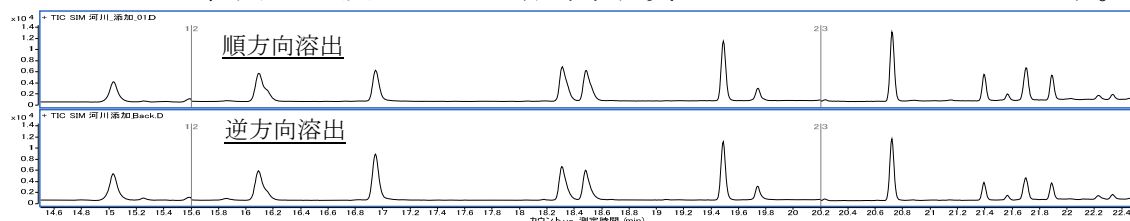


図 12-1 順方向溶出及び逆方向溶出のトータルイオンクロマトグラム

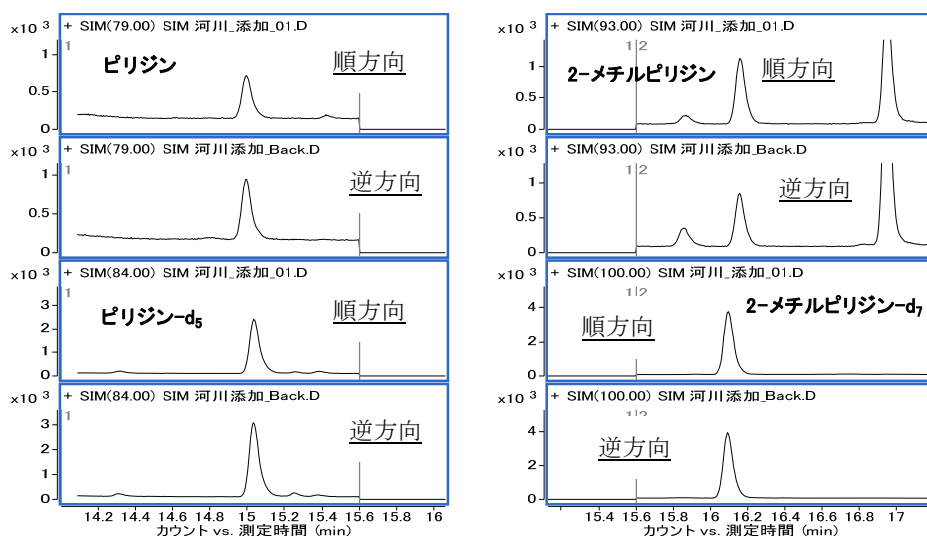


図 12-2 順方向溶出及び逆方向溶出のピリジン、2-メチルピリジン及びサロゲート内標準のクロマトグラム

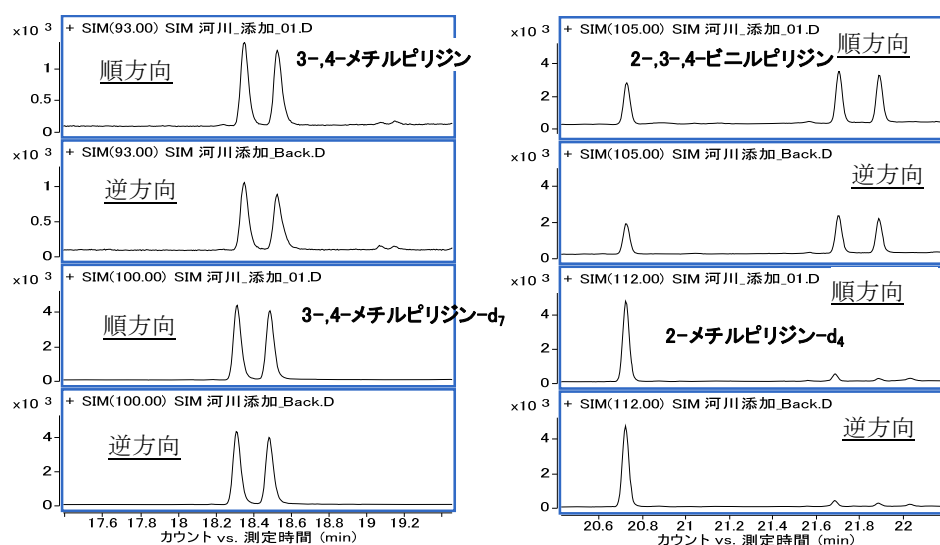


図 12-3 順方向溶出及び逆方向溶出の 3-, 4-メチルピリジン、2-, 3-, 4-ビニルピリジン及びサロゲート内標準のクロマトグラム

〔含水量によるクロマトグラムの比較〕

固相からの溶出はアセトンを用いるため、無水硫酸ナトリウムによる脱水ができない。そこで、最終溶媒の含水量を 0、10、15、20% としてクロマトグラムの比較を行った。結果を図 13 に示す。

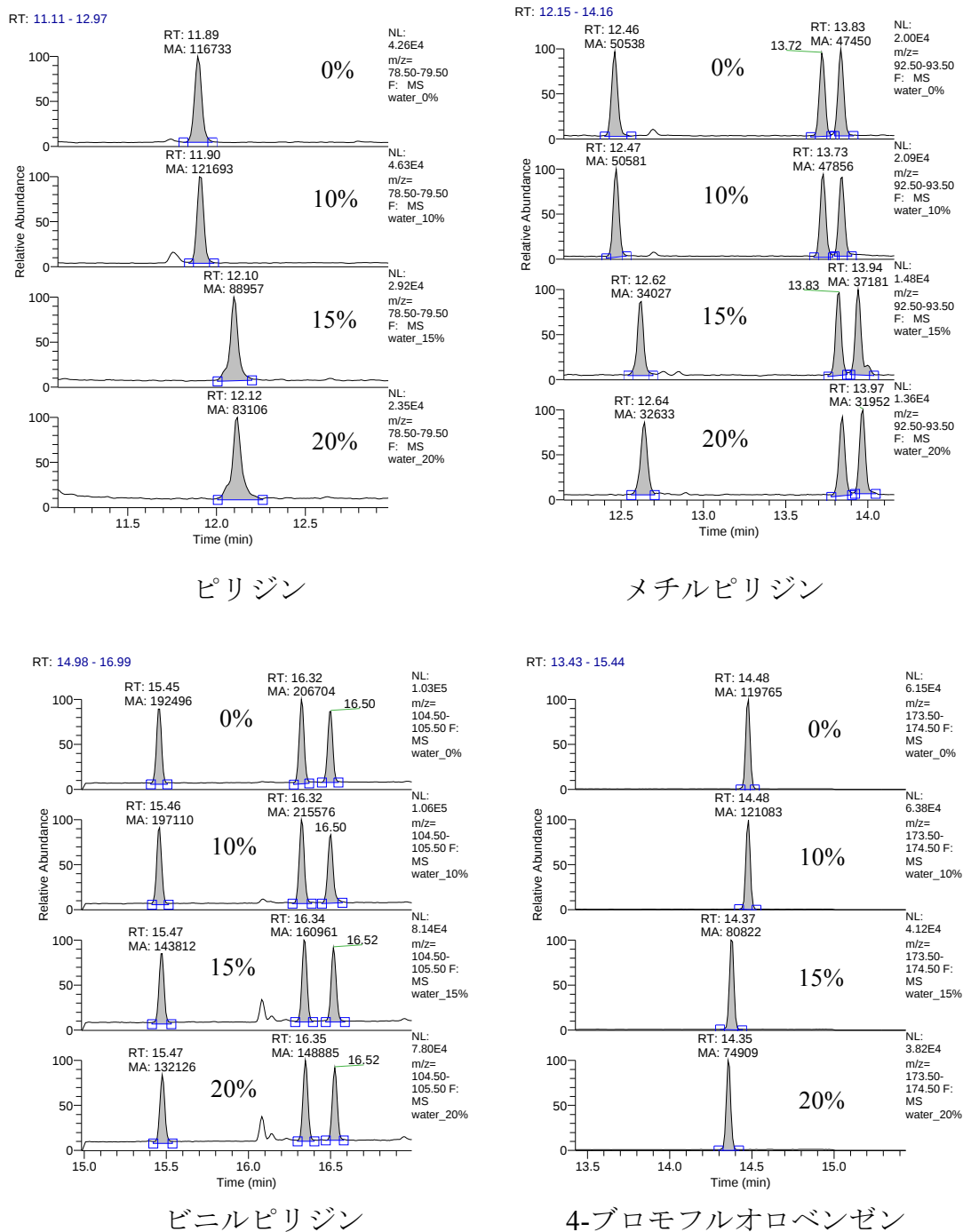


図 13 最終溶媒の含水量によるクロマトグラムの比較

15%以上水分が含有すると保持時間が短いピリジンについてはピーク形状が悪くなり、保持時間もずれることが確認された。メチルピリジンは、ピーク形状はあまり変わらなかったが、保持時間がずれ、面積値は小さくなった。ビニ

ルピリジンは、ピーク形状、保持時間については変化がなかったが、面積値は小さくなった。4-ブロモフルオロベンゼンは対象物質とは逆に、保持時間が短くなった。面積値は、対象物質と同様小さくなった。

これらの結果から、固相の脱水は十分に行い、水分量は 10%以下（1 mL 定容なので、100 μ L 以下）に抑えなければならないことがわかった。

〔固相カートリッジの乾燥時間による比較〕

ピリジンについて、精製水に標準液を添加した際のサロゲート回収率が低い傾向が見られた。ピリジンは比較的揮発性が高いため、窒素通気による固相カートリッジの乾燥の際に揮散している可能性が考えられた。そこで、固相カートリッジの乾燥時間を長くすることにより、ピリジン- d_5 の回収率が低下するか試験を行った。

試料は、精製水に標準液を添加したものとした。固相カートリッジは通水前に重量を測定しておき、通水後 30 分間乾燥した後に再度重量を測定した。30 分間の通気では通水前の重量に戻らなかったため、さらに 5 分間通気乾燥したところ、ほぼ通水前重量と同じ重量となった。そこで 35 分通気したものを基準とし、45 分、55 分、65 分と 10 分ずつ通気時間を長くし、ピリジン- d_5 の回収率の比較を行った結果を図 14 に示した。

乾燥のしすぎによるピリジン- d_5 の顕著な揮散は見られなかった。

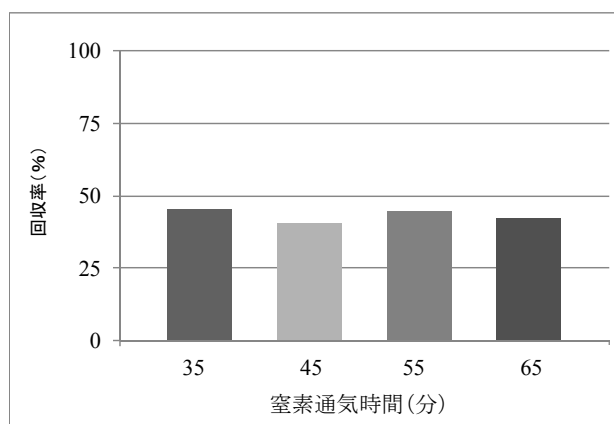


図 14 窒素通気乾燥時間によるピリジン- d_5 の回収率の比較

〔環境試料の分析〕

本法を用いて河川水試料を測定した結果、ピリジンが 0.010 ng/mL、3-メチルピリジンが 0.013 ng/mL、4-メチルピリジンが 0.013 ng/mL 検出された。ビニルピリジンについては、各異性体すべてが不検出であった（クロマトグラムは図 8 添加回収試験 無添加試料を参照）。

海水試料については、ピリジンが 0.092 ng/mL、2-メチルピリジンが 0.012

ng/mL、3-メチルピリジンが 0.063 ng/mL、4-メチルピリジンが 0.016 ng/mL 検出された（クロマトグラムは図 8 添加回収試験 無添加試料を参照）。

【評価】

環境水中に含まれるピリジン、メチルピリジンの各異性体（2-、3-、4-メチルピリジン）及びビニルピリジンの各異性体（2-、3-、4-ビニルピリジン）の一斉分析法を開発した。本法における、ピリジン、3-メチルピリジン、2-ビニルピリジンの MDL はそれぞれ 5.3 ng/L、9.1 ng/L、6.1 ng/L、MQL は 14 ng/L、23 ng/L、16 ng/L であった。検量線はピリジン及び3-メチルピリジンでは2.0～500 ng/mL、2-ビニルピリジンでは 4.0～1000 ng/mL の範囲で直線性が確認された。河川水を用いた添加回収試験について、ピリジンの回収率は 90%（サロゲート回収率 65%、変動係数 7.3%）、3-メチルピリジンの回収率は 102%（サロゲート回収率 85%、変動係数 2.8%）、2-ビニルピリジンの回収率は 105%（サロゲート回収率 66%、変動係数 2.7%）であった。海水を用いた添加回収試験について、ピリジンの回収率は 109%（サロゲート回収率 58%、変動係数 3.3%）、3-メチルピリジンの回収率は 99%（サロゲート回収率 91%、変動係数 1.4%）、2-ビニルピリジンの回収率は 105%（サロゲート回収率 70%、変動係数 1.1%）であった。本分析法では、操作ブランクから MDL 未満ではあるがピリジン、3-メチルピリジン、4-メチルピリジンのピークが検出された。特にピリジンについては大気中に存在することから、分析作業中の汚染に十分注意する必要がある。

本法により、さいたま市内の河川及び東京湾の海水を測定したところ、ピリジンは河川水で 10 ng/L、海水で 92 ng/L、3-メチルピリジンは河川水で 13 ng/L、海水で 63 ng/L 検出された。2-ビニルピリジンについては河川水、海水ともに不検出であった。

以上の結果から本法は、3-メチルピリジンについては MQL より 20 ng/L レベル、ピリジン及び2-ビニルピリジンについては検量線最低濃度から換算して、それぞれ 20 ng/L レベル、及び 40 ng/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) 環境省水・大気環境局水環境課：要調査項目等調査マニュアル；2-8（平成 24 年 2 月）
- 2) 環境省水・大気環境局水環境課：要調査項目等調査マニュアル（水質、底質、水生生物）；71-80（平成 13 年 3 月）
- 3) 環境省環境保健部環境安全課：ピリジン（長野県衛生公害研究所），平成 9 年度化学物質分析法開発調査報告書【修正追記版】，99-114（1998）

【担当者連絡先】

所属先名称：：さいたま市健康科学研究センター

所属先住所：〒338-0013 埼玉県さいたま市中央区鈴谷 7-5-12

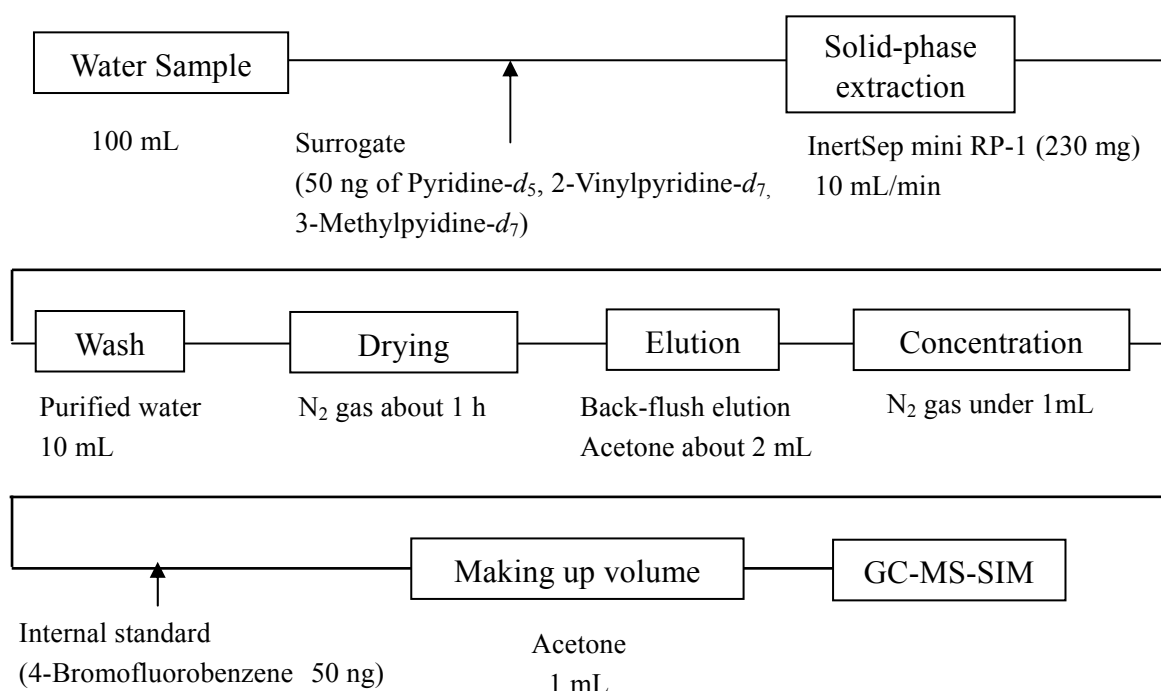
TEL：048-840-2266、FAX：048-840-2267

担当者名：木村 久美子

E-mail：aea47-u1u1@city.saitama.lg.jp

Pyridine,2-Vinylpyridine,3-Methylpyridine

This method provides procedures for the determination of pyridine, 2-vinylpyridine and 3-methylpyridine in water samples by gas-chromatography/mass-spectrometry with selected ion monitoring (GC/MS-SIM). A water sample (0.100 L) is spiked with 50 ng of surrogates (pyridine-*d*₅, 2-vinylpyridine-*d*₇, and 3-methylpyridine-*d*₇). The sample is then extracted through a solid-phase extraction cartridge (InertSep mini RP-1) at a flow rate of 10 mL/min. After sample loading, the cartridge is dried by nitrogen gas flow about 1 h. The cartridge is backflush-eluted with 2 mL of acetone. The eluate is concentrated to about 1 mL under a nitrogen gas stream, and then 50 ng of 4-bromofluorobenzene is spiked into the extract as an internal standard. The analytes are determined by GC/MS-SIM. The instrument detection limit (IDL) of pyridine, 2-vinylpyridine, and 3-methylpyridine are 0.24 pg, 0.42 pg and 0.20 pg, respectively. The method detection limit (MDL) are 5.3 ng/L, 6.1 ng/L, and 9.1 ng/L, respectively. The method quantification limit (MQL) are 14 ng/L, 16 ng/L, and 23 ng/L, respectively. The averages of recoveries (n=6) from 10 ng of pyridine and 3-methylpyridine added to river water were 90% (CV=7.3%), 102% (CV=2.8%), respectively. The averages of recoveries (n=6) from 20 ng of 2-vinylpyridine added to river water was 105% (CV=2.7%). The averages of recoveries (n=6) from 30 ng of pyridine and 3-methylpyridine added to seawater were 109% (CV=3.3%), 99% (CV=1.4%), respectively. The average of recoveries (n=6) from 60 ng of 2-vinylpyridine added to seawater was 105% (CV=1.1%). By the developed method, pyridine, 2-vinylpyridine, and 3-methylpyridine in water samples can be simultaneously determined. By this method, pyridine and 3-methylpyridine were detected in a river sample and a seawater sample. In contrast, 2-vinylpyridine was not detected in any samples. The concentrations of pyridine and 3-methylpyridine in the river water sample were 10 ng/L and 13 ng/L, respectively. The concentrations in the seawater sample were 92 ng/L and 63 ng/L, respectively.



物質名	分析法フローチャート	備考
[1] ピリジン 別名： アジン、アザ ベンゼン [2] 2-ビニルピリ ジン 別名： 2-エテニルピ リジン [3] 3-メチルピリ ジン 別名：3-ピコ リン、β-ピコ リン	【水質】 水質試料 100 mL サロゲート添加 (ピリジン-d_5、2-エチニルピリジン-d_7、 3-メチルピリジン-d_7、各 50 ng) 固相抽出 InertSep mini RP-1 (230mg) 10 mL/min 洗浄 精製水 10 mL 乾燥 N₂ 通気 約 1 h 溶出 逆方向溶出 アセトン 2 mL 濃縮 N₂ 気流下 1 mL 以下 シリンジスパイク添加 (4-ブロモフルオロ ベンゼン 50 ng) 定容 アセトン 1 mL GC-MS-SIM	分析原理： GC/MS-SIM 検出下限【水質】 [1] 5.3 ng/L [2] 6.1 ng/L [3] 9.1 ng/L 分析条件： 機器 GC：Agilent 7890B MS：Agilent 5977B カラム： DB-WAX UI 60 m×0.25 mm, 0.25 μm