

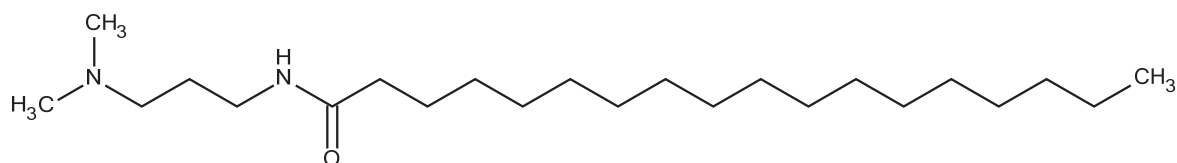
N-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミド

N-[3-(Dimethylamino)propyl]stearamide

別名：*N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]オクタデカンアミド

N-[3-(Dimethylamino)propyl]octadecanamide

【対象物質の構造】



N-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミド

CAS 番号：7651-02-7

分子式：C₂₃H₄₈N₂O

【物理化学的性状】

物質名	<i>N</i> -[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミド
分子量	368.65
(モノアイソトピック質量)	368.3767
比重 (g/cm ³)	—
沸点 (°C)	—
融点 (°C)	196.17 ¹⁾
蒸気圧(mmHg)	1.67×10 ⁻⁹ ¹⁾
水溶解度(mg/L)	0.002525 ¹⁾
log P _{ow}	7.35 ¹⁾
溶解性	水に溶けない ²⁾

【毒性、用途】^{2),3)}

〔毒性〕

物質名	<i>N</i> -[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミド
環境影響	水生環境有害性(急性) データなし ²⁾
	分類根
	水生環境有害性(慢性) データなし ²⁾
	分類根拠
健康影響	急性毒性(経口)分類根 データなし ²⁾
	拠

〔用途〕

医薬部外品添加物（薬用石けん、化粧品等）³⁾

出典：

- 1) U.S.EPA, Estimation Programs Interface(EPI) Suite V4.1
<https://www.epa.gov/tsca-screening-tools/epi-suite-estimation-program-interface>
- 2) 富士フイルム和光純薬株式会社 安全データシート *N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミド
<https://labchem-wako.fujifilm.com/sds/W01W0232-3506JGHEJP.pdf>
- 3) 化学物質総合情報提供システム (CHRIP)

§1 分 析 法

(1) 分析法の概要

水質試料については、水質試料を固相カートリッジに通水後、メタノールで溶出・定容し、LC/MS/MS-SRM で定量する。

底質試料については、底質試料にメタノールを加えて固液振とう抽出を行い、遠心分離後、抽出液を濃縮して精製水に転溶する。転溶後、固相カートリッジに通水し、メタノールで溶出・定容して、LC/MS/MS-SRM で定量する。

(2) 試薬・器具

【試薬】（注1）

N-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミド : Sigma-Aldrich 製（純度 99 %）

メタノール（注2） : 関東化学製 残留農薬試験用

10%塩酸	: 富士フィルム和光純薬製
1%(v/v)塩酸	: 10%塩酸を精製水で 10 倍希釈したもの
固相カートリッジ (注 3)	: GL サイエンス製 InertSep C18 (200 mg/3 mL) (注 4)
アセトニトリル	: 関東化学製 LC/MS 用
ギ酸	: 関東化学製 高速液体クロマトグラフィー用 (純度 98%)
酢酸アンモニウム	: 富士フィルム和光純薬製 特級
精製水	: 超純水製造装置(Milli-Q)により精製された水

【標準液の調製】

〔標準液〕

N-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミドを正確に 10.0 mg 量り取り、メタノールで 100 mL として 100 mg/L の *N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミド標準原液を調製する。これをメタノールで正確に段階的に希釈し、10 µg/L、1000 µg/L 及び 10000 µg/L の *N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミド標準液を調製する。

〔検量線用標準液の調製〕

10 µg/L、1000 µg/L あるいは 10000 µg/L 標準液の適切な量(50~2000 µL)を 10 mL メスフラスコに量り取り、メタノールを加えて定容して検量線用標準液を調製する。検量線用標準液の各濃度は 0.10~50 ng/mL とする。

【器具】 (注 5)

ホールピペット	: 標準液の調製、抽出液の分取に用いる。
メスフラスコ	: 標準液の調製、抽出液の定容に用いる。
遠沈管	: 50 mL の PP 製遠沈管。
スピッツ管	: ガラス製を使用。
マイクロピペット (注 6)	: 標準液の調製に用いる。
バイアル	: LC/MS/MS 測定用のガラスバイアル

(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)の「試料の採取及び検体の調製等」に従って採取する。

なお、水質試料は 100 mL を専用ガラス製容器に採取し、分析にはその全量を供する（注 7）。また、試料容器には、予め 1%(v/v)塩酸を 1 mL 添加しておくこと（注 8）。

【試料の前処理及び試験液の調製】（注 5）（注 9）

〔水質〕

水質試料 100 mL の全量を、予めメタノール 20 mL、精製水 10 mL で順次コンディショニングした固相カートリッジに 5 mL/min で通水する。通水後、試料容器表面を精製水 10 mL で洗いこみ（注 10）、その精製水を固相カートリッジに通液して洗浄し、吸引で 10 分、窒素通気で 20 分間乾燥する。乾燥後、試料容器表面をメタノール 10 mL で洗いこみ（注 11）、その洗い込んだメタノールを固相カートリッジに通液してスピッツ管に溶出する。溶出後、窒素気流下で 1 mL に濃縮し、バイアルに移したものを試験液とする。

〔底質〕

底質試料 5.0 g-wet (2.5 g-dry 相当) を遠沈管に量り取り、メタノール 30 mL を加えて 20 分間、固液振とう抽出を行う。抽出後、3000 rpm で 20 分間遠心分離を行い、メタノール層を 100 mL のメスフラスコに採取する。この抽出操作を計 3 回行う。3 回抽出したメタノール層を合わせ、メタノールで 100 mL に定容したものを抽出液とする。

次に、抽出液から 5 mL をスピッツ管に分取し、窒素気流下で乾固させ、精製水 5 mL に溶解して転溶後、予めメタノール 20 mL、精製水 10 mL で順次コンディショニングした固相カートリッジに 5 mL/min で、全量を直接通液する。

通液後、スピッツ管を精製水 10 mL で洗いこみ（注 9）、その精製水を固相カートリッジに通液して洗浄し、吸引で 10 分、窒素通気で 20 分間乾燥する。乾燥後、抽出液の転溶に使用したスピッツ管表面をメタノール 10 mL で洗いこみ（注 11）、その洗い込んだメタノールを固相カートリッジに通液して新たなスピッツ管に溶出する。溶出後、窒素気流下で 1 mL に濃縮し、バイアルに移したものを試験液とする。

【空試験液の調製】（注 12）

水質試料については、試料と同量の精製水を用いて、また、底質試料については、実試料が含有すると推定される量の精製水を用いて、【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】

〔LC/MS/MS 測定条件〕（注 12）（注 13）

〔LC 条件〕

使用機種	: Agilent 製 1260 Infinity II
カラム	: GL サイエンス InertSustain C18 150 mm × 2.1 mm , 3 μm
移動相	: A: 0.1 %ギ酸含有 0.5 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液 B: アセトニトリル 0 → 20 min A : B = 40 : 60 (Isocratic)
カラム温度	: 40 °C
流量	: 0.2 mL / min
試料注入量	: 1.0 μL

〔MS/MS 条件〕

使用機種	: SCIEX 製 QTRAP5500
イオン化法	: ESI-Positive
ヒーター温度 (TEM)	: 300 °C
ネブライザーガス (GS1)	: 50 psi
ターボガス (GS2)	: 80 psi
イオンスプレー電圧 (IS)	: 5500 V
コリジョンガス (CUR)	: 9 psi
コリジョン電圧 (CE)	: 23 V (定量用)、75 V (確認用)
検出モード	: SRM
モニターイオン	: m/z 369.5 > 324.3 (定量用) m/z 369.5 > 57.0 (確認用)

〔検量線〕

各検量線用試験液 1 μL を LC/MS/MS に注入し、対象物質の濃度と得られたピーク面積から検量線を作成する。

〔定量〕

試験液 1 μL を LC/MS/MS に注入し、対象物質のピーク面積を検量線に照らして定量する。

〔濃度の算出〕

水質試料中の濃度(ng/L) = 検出濃度(ng/mL) × 最終液量(mL) / 試料量(L)

$$\text{底質試料中の濃度(ng/g-dry)} = \text{検出濃度(ng/mL)} \times \text{最終液量(mL)} \\ \times 100 / 5 / \text{試料量(g-dry)}$$

〔装置検出下限値(IDL)〕

本分析装置における IDL を表 1-1 及び表 1-2 に示す (注 14)。

表 1-1 IDL の算出結果 (水質)

物質名	IDL (pg)	試料量 (mL)	最終液量 (mL)	IDL 試料換算値 (ng/L)
N-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアラルアミド	0.017	100	1.0	0.17

表 1-2 IDL の算出結果 (底質)

物質名	IDL (pg)	試料量 (g-dry)	分取率	最終液量 (mL)	IDL 試料換算値 (ng/g-dry)
N-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアラルアミド	0.017	2.5	1/20	1.0	0.14

〔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 2-1 及び 2-2 に示す (注 15) (注 16)。

表 2-1 MDL 及び MQL の算出結果 (水質)

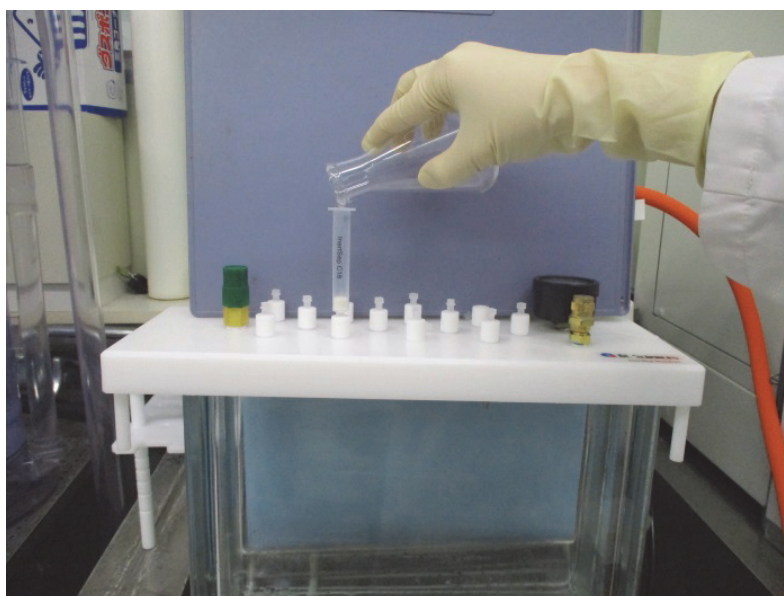
物質名	試料	試料量 (mL)	最終液量 (mL)	MDL (µg/L)	MQL (µg/L)
N-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアラルアミド	海水	100	1.0	0.0040	0.010

表 2-2 MDL 及び MQL の算出結果 (底質)

物質名	試料	試料量 (g-dry)	分取率	最終液量 (mL)	MDL (µg/g-dry)	MQL (µg/g-dry)
N-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアラルアミド	底質	2.98	1/20	1.0	0.0032	0.0081

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) あらかじめ測定対象物質が検出されないことを確認しておくこと。
- (注 3) 固相カートリッジから *N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミドを検出するので注意が必要である。このため、使用前に、使用予定の全ての固相カートリッジをメタノール 20 mL で洗浄し、メタノール 10 mL で溶出、1 mL に濃縮して LC/MS/MS 測定し、BL 値が低い固相カートリッジであることを確認すること。
- (注 4) 測定対象物質が通水中にチューブや配管等に吸着するのを極力防ぐため、固相カートリッジは、下図に示した通りシリンジタイプを使用すること。



固相抽出のイメージ図

- (注 5) *N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミドは、ガラス及びポリ容器表面との吸着性が非常に強い。使用する器具は、使用前に、①温水、②精製水、③メタノールの順で洗浄を行い、対象物質が低減していることを事前に確認しておくこと。また、洗浄後、メタノールでスピッツ管の表面を洗い、その洗浄メタノール液を LC/MS/MS 測定で測定して確認すること。特に、スピッツ管は、購入したばかりの新品でも *N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミドが検出するので注意が必要である。
- (注 6) マイクロピペット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 7) 水試料中の *N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミドは、ガラス器具へ吸着性が非常に強い。このため、試料採取に使用したガラス器具の壁面をメタノールで洗浄して固相カートリッジの溶出液に使用する必要があるため、試料の全量を分析に供する必要がある。なお、試料量は、試料採取前と採取後の試料容器重量から換算する。
- (注 8) 試料を pH 調整しない場合、試料保存性試験において、測定対象物質は 7 日間で 47.8%まで減少した。一方、試料を pH 3 付近に調整した場合、測定対象物質は 7 日間安定であった。
- (注 9) 手指には測定対象物質等が付着している可能性があることから、コンタミ防止のため必ず対象物質の汚染が少ない手袋等を装着すること。なお、クアラテック手袋（アズワン製：1-8448-01）及びニトリル手袋（アズワン製：1-8450-21）については、測定対象物質の汚染は少ないことを確認している。
- (注 10) 試料容器やスピッツ管表面に試料由来の塩類が残っていると、メタノールで洗浄する時に塩類が含まれてしまうため、LC/MS/MS 測定に影響する可能性がある（イオンサプレッション）。このため、メタノール洗浄をする前に、精製水で洗浄しておくことが必要である。
- (注 11) 水溶液中の *N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミドは、ガラス容器表面との吸着性が強いため、水質試料の採取容器やスピッツ管表面に吸着している可能性が高い（精製水の回収試験では、水溶液に溶存する量：壁面に吸着する量=84:16 である）。このため、試験を行う場合、容器から試料を全量採取後、容器表面やスピッツ管をメタノールで 3 回に分けて洗浄して対象物質を回収し、その溶媒で固相カートリッジ抽出の溶出を行うこと。
- (注 12) 測定対象物質は、LC 装置部の 6 方バルブ等に吸着して汚染しやすい。使用前に装置ブランクを必ず確認すること。
- (注 13) LC/MS/MS の測定条件は、本測定に使用した機種特有のものである。

(注 14) 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。測定時のクロマトグラムを図 1 に示す。

表 3 IDL の算出結果

物質名	<i>N</i> -[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアールアミド
試料量 (mL) (水質)	100
試料量 (g-dry) ^{*1} (底質)	2.5
最終液量 (mL)	1.0
注入液濃度 (ng/mL)	0.10
注入量 (pg)	0.10
装置注入液量 (μL)	1.0
結果 1 (pg)	0.0988
結果 2 (pg)	0.101
結果 3 (pg)	0.0983
結果 4 (pg)	0.0928
結果 5 (pg)	0.0923
結果 6 (pg)	0.0917
結果 7 (pg)	0.0900
平均値 (pg)	0.09499
標準偏差 (pg)	0.00427
IDL (pg) ^{*2}	0.017
IDL 試料換算値 (ng/L) (水質)	0.17
IDL 試料換算値 (ng/g-dry) (底質)	0.14
S/N 比	12
CV (%)	4.5

*1:底質は 1/20 分取

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

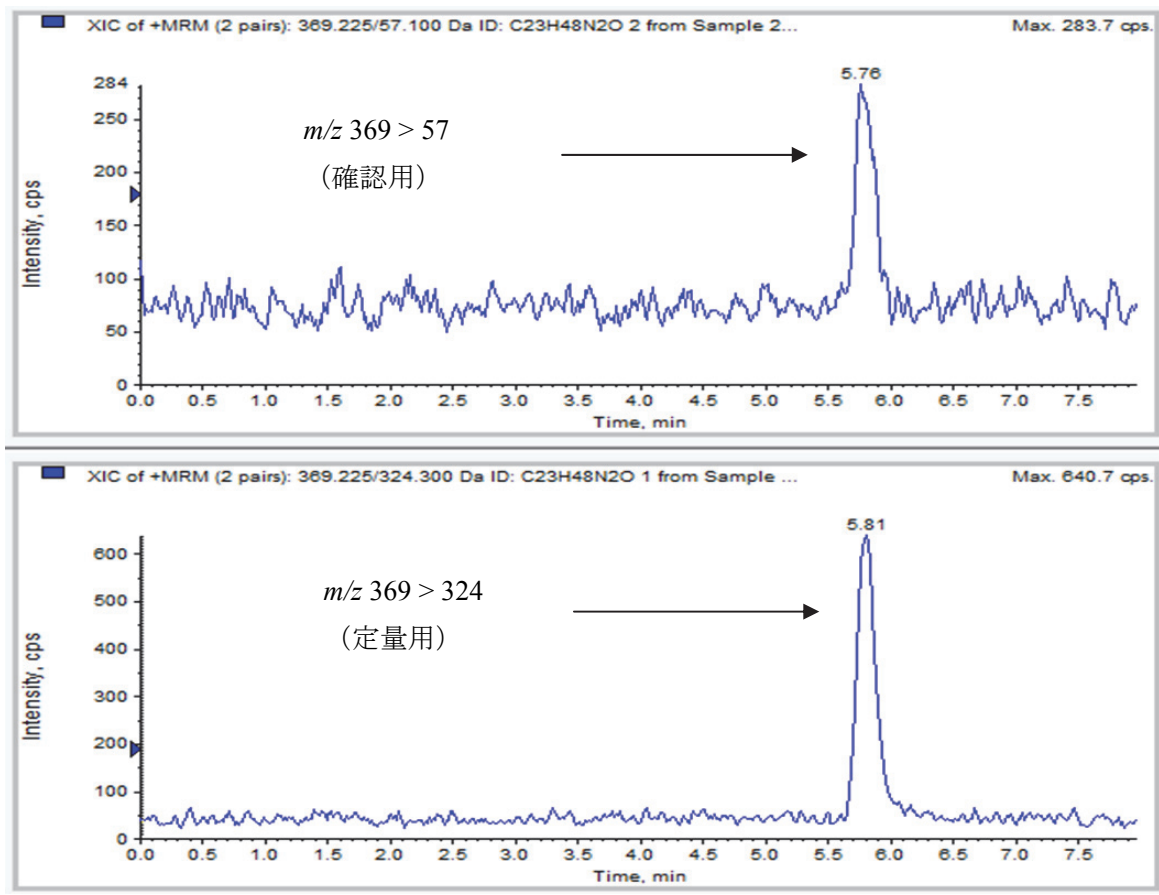


図1 IDL 測定時の *N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミド標準液 (0.10 ng/mL)の SRM クロマトグラム

(注 15) 水質試料における 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、以下の表 4 のとおり算出した。測定時のクロマトグラムを図 2-1、図 2-2 に示す。操作ブランクが検出されたため、操作ブランクの繰り返し測定(n=7) による標準偏差と海水の標準偏差を比較した結果、海水のほうが大きな値であったため、海水の MDL を採用した。

表 4 MDL 及び MQL の算出結果 (水質)

対象物質名	N-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアラルアミド		回収率(%)
	操作ブランク	海水 (伊勢湾)	
試料			—
試料量 (mL)	100	100	—
標準添加量 (ng)	—	0.50	—
試料換算濃度 (ng/L)	—	5.0	—
最終液量 (mL)	1.0	1.0	—
装置注入液量 (μL)	1.0	1.0	—
操作ブランク平均 (ng/L) ^{*1}	—	<4.0	—
無添加平均 (ng/L) ^{*2}	—	<4.0	—
結果 1 (ng/L)	1.96	6.71	96
結果 2 (ng/L)	1.81	6.23	86
結果 3 (ng/L)	1.04	7.04	103
結果 4 (ng/L)	1.04	6.68	95
結果 5 (ng/L)	1.37	8.36	129
結果 6 (ng/L)	1.38	5.22	66
結果 7 (ng/L)	1.52	7.87	119
平均値 (ng/L)	1.446	6.873	99
標準偏差 (ng/L)	0.352	1.04	
MDL (ng/L) ^{*3}	1.4	4.0	
MQL (ng/L) ^{*4}	3.5	10	
S/N 比	37	96	
CV (%)	24	15	

*1:空試験液を測定した値の平均値 (n=7)

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

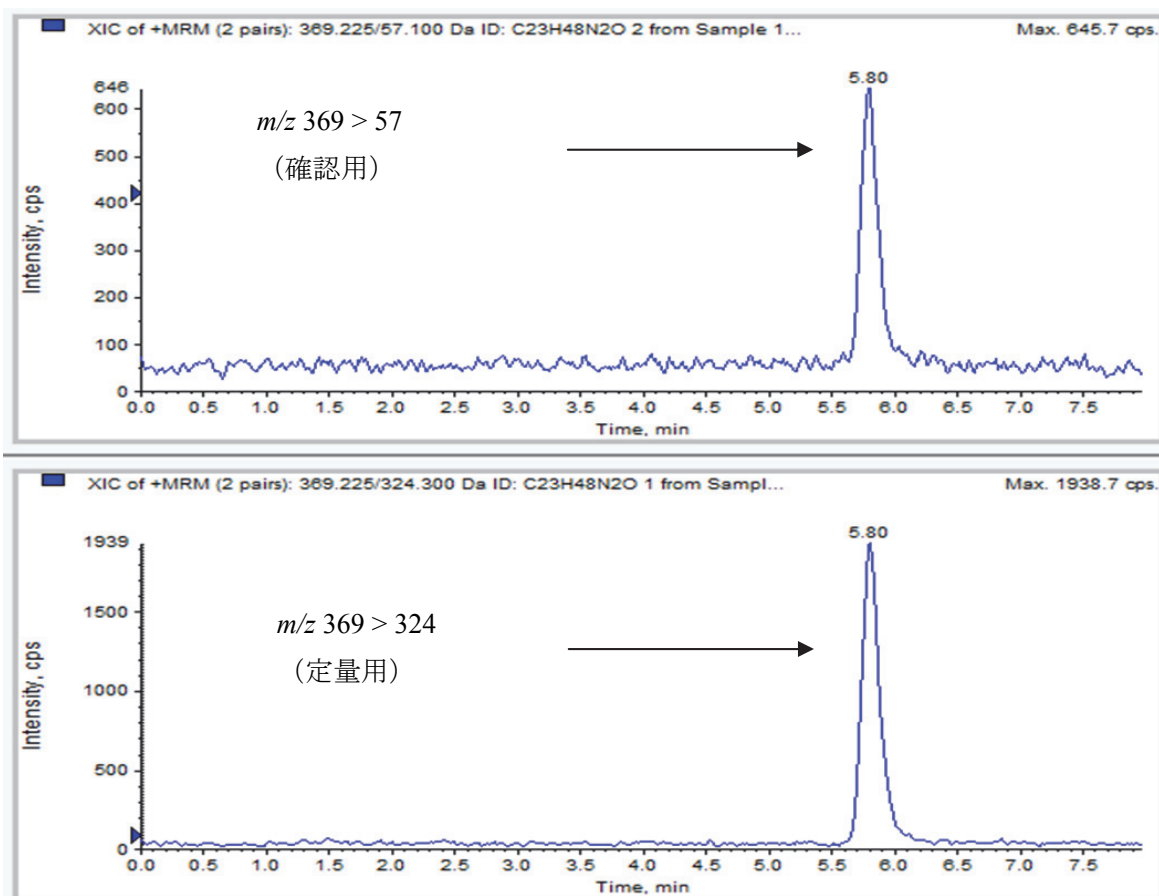


図 2-1 MDL 測定時の *N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミドの SRM クロマトグラム (操作ブランク : 水質試料)

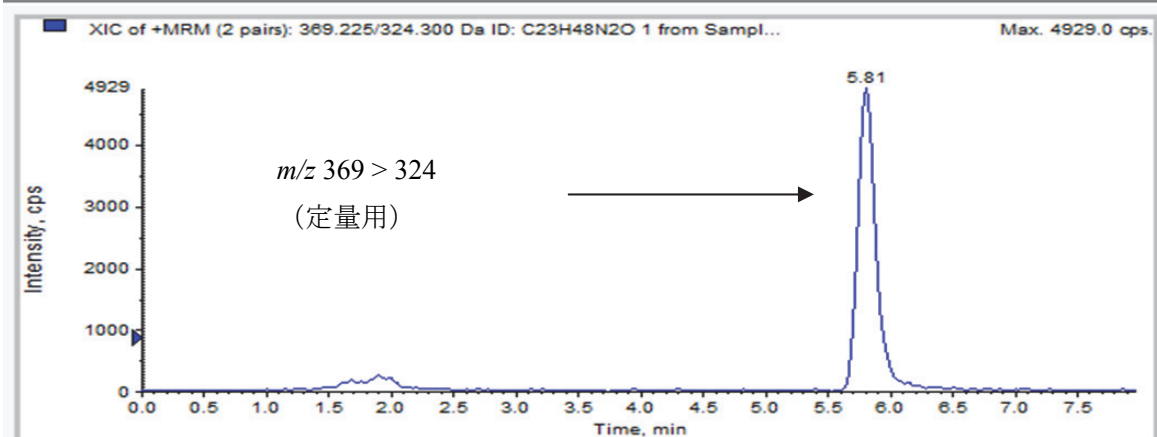
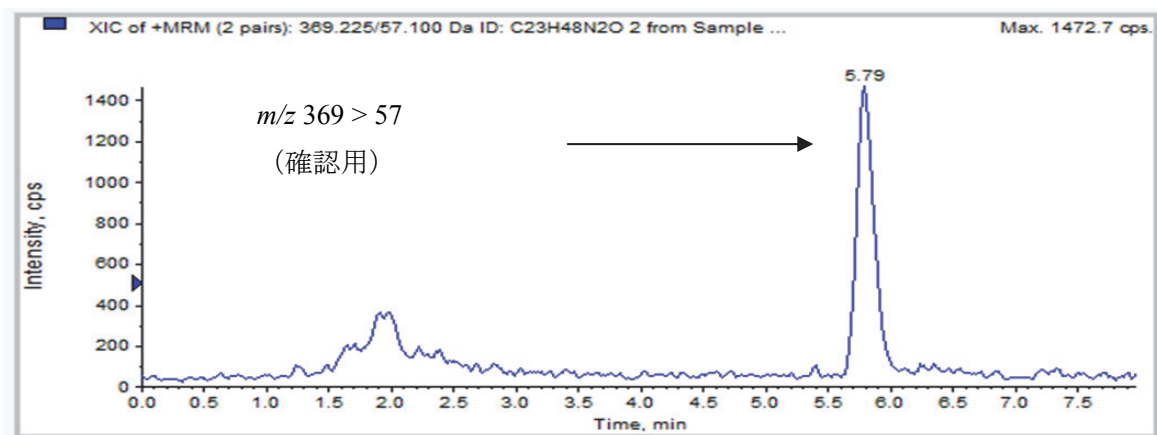


図 2-2 MDL 測定時の *N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミドの SRM クロマトグラム (海水 : 添加量 0.5 ng)

(注 16) 底質試料における 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、以下の表 5 のとおり算出した。測定時のクロマトグラムを図 3-1、3-2 に示す。操作ブランクが検出されたため、操作ブランクの繰り返し測定(n=7) による標準偏差と底質の標準偏差を比較した結果、底質のほうが大きな値であったため、底質の MDL を採用した。

表 5 MDL 及び MQL の算出結果 (底質)

対象物質名	N-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアラルアミド		回収率(%)
	操作ブランク	底質 (伊勢湾)	
試料			—
試料量 (g-dry)	2.98	2.98	—
分取率	1/20	1/20	—
標準添加量 (ng)	—	20	—
試料換算濃度 (ng/g-dry)	—	6.71	—
最終液量 (mL)	1.0	1.0	—
装置注入液量 (μL)	1.0	1.0	—
操作ブランク平均 (ng/g) ^{*1}	—	<3.2(1.77) ^{*3}	—
無添加平均 (ng/g-dry) ^{*2}	—	<3.2(2.74) ^{*3}	—
結果 1 (ng/g-dry)	1.44	8.39	84
結果 2 (ng/g-dry)	2.26	7.45	70
結果 3 (ng/g-dry)	2.24	6.91	62
結果 4 (ng/g-dry)	1.60	9.40	99
結果 5 (ng/g-dry)	2.20	8.46	85
結果 6 (ng/g-dry)	1.22	8.26	82
結果 7 (ng/g-dry)	1.43	7.65	73
平均値 (ng/g-dry)	1.770	8.074	79
標準偏差 (ng/g-dry)	0.448	0.813	
MDL (ng/g-dry) ^{*4}	1.7	3.2	
MQL (ng/g-dry) ^{*5}	4.5	8.1	
S/N 比	78	140	
CV (%)	25	10	

*1:空試験液を測定した値の平均値 (n=7)

*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:括弧内の値は、算出された MDL を下回るが検出されたピークを定量した値

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

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

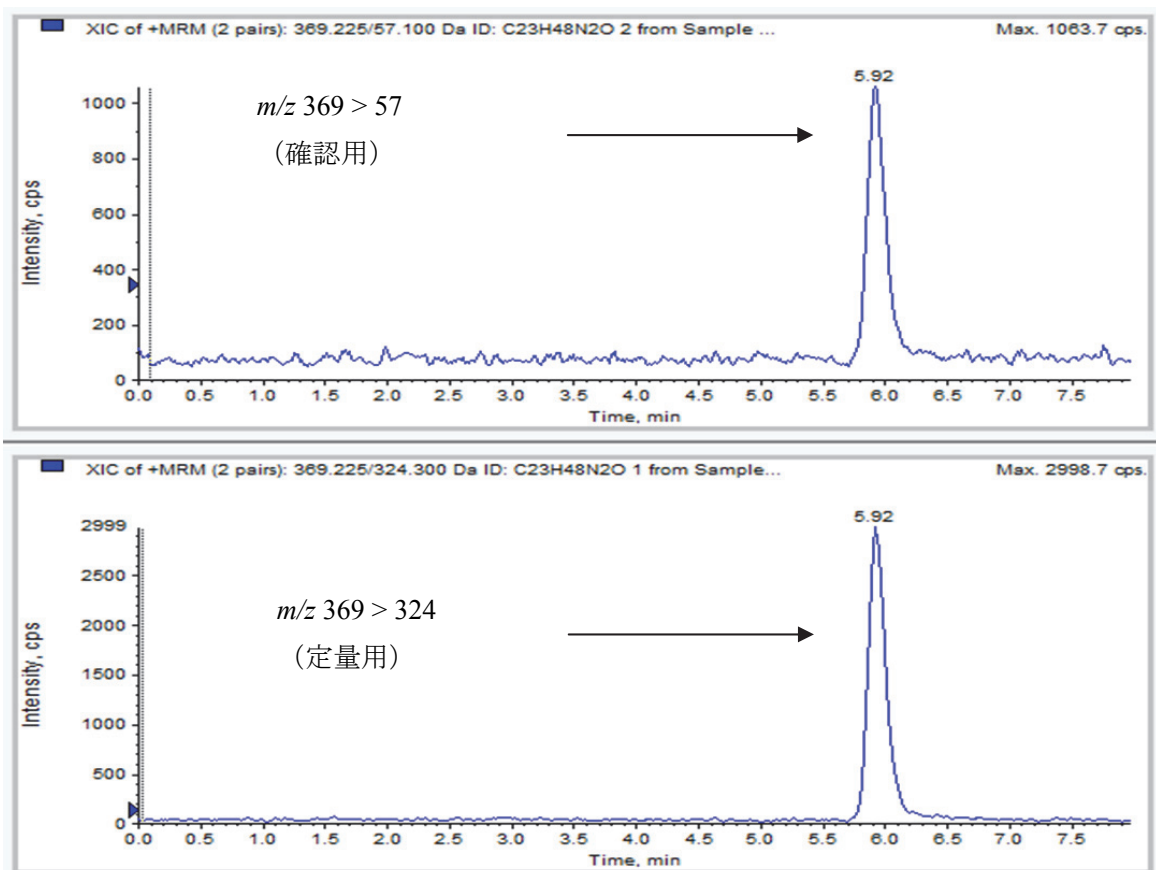


図 3-1 MDL 測定時の *N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミドの SRM クロマトグラム (操作ブランク：底質試料)

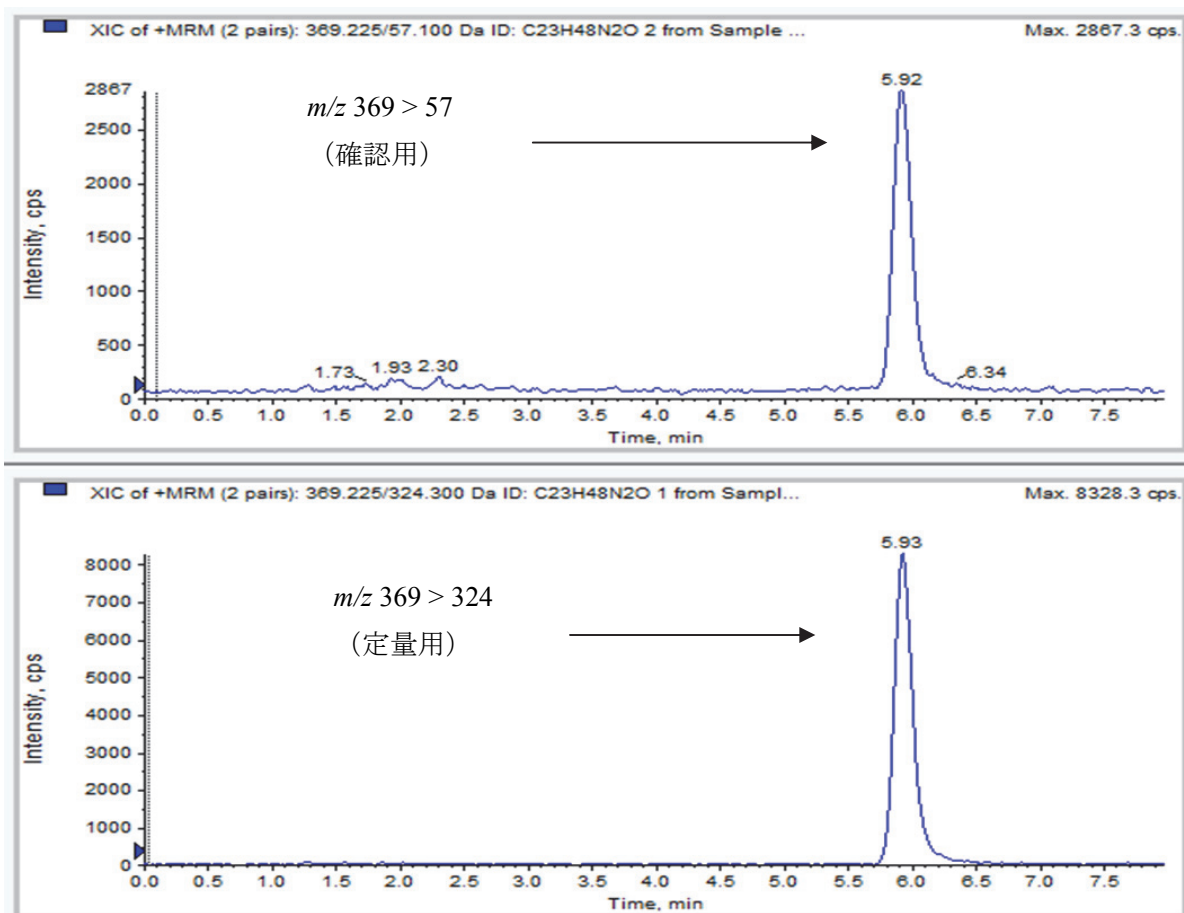


図 3-2 MDL 測定時の *N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミドの SRM クロマトグラム (底質 : 添加量 20 ng)

§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 4-1 及び図 4-2 に示す。

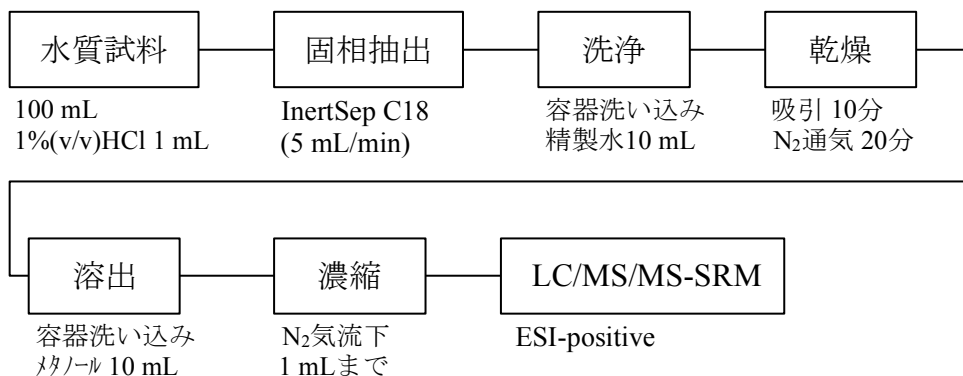


図 4-1 分析法のフローチャート (水質)

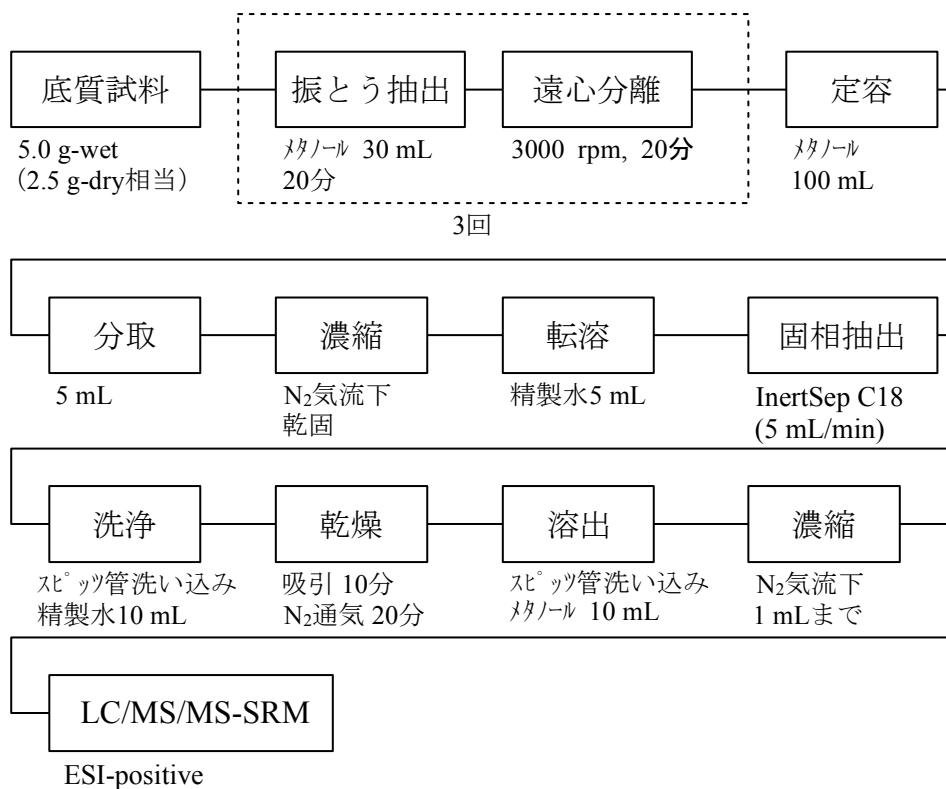


図 4-2 分析法のフローチャート (底質)

〔検量線〕

検量線を図 5-1 及び図 5-2 に、検量線作成用データを表 6-1 及び表 6-2 に示す。

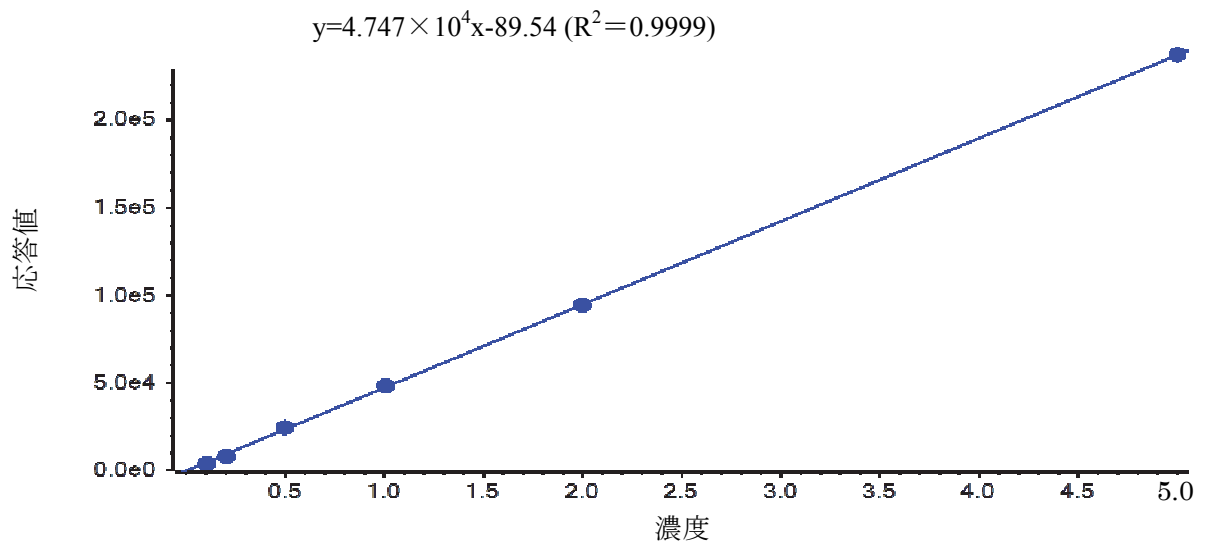


図 5-1 *N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミドの検量線
(低濃度域 0.10 ng/mL~5.0 ng/mL)

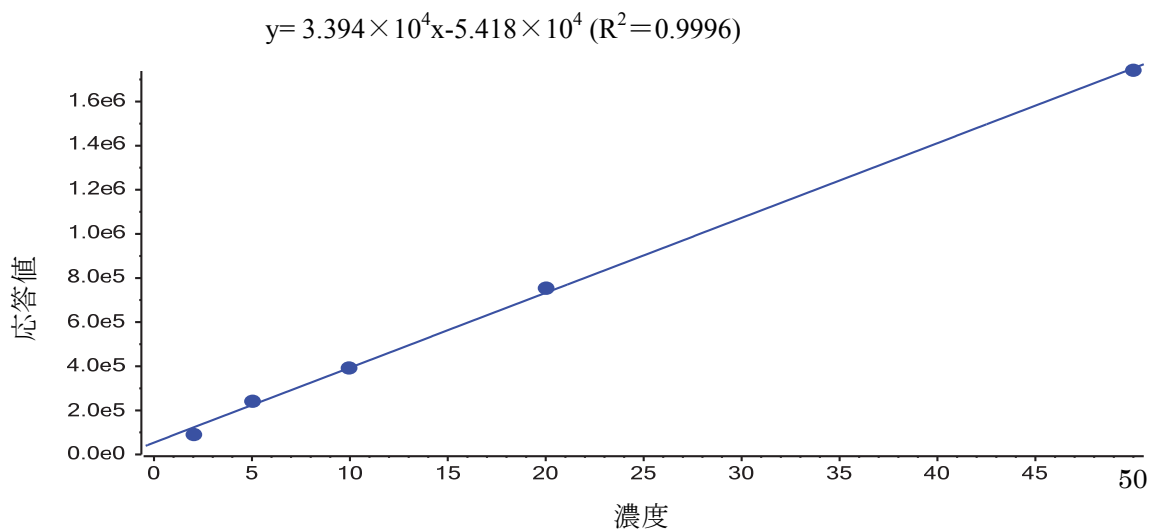


図 5-2 *N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミドの検量線
(高濃度域 2.0 ng/mL~50 ng/mL)

表6-1 低濃度域の検量線作成用データ

標準液濃度 (ng/mL) (C _s)	応答値
	対象物質(A _s) N-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミド (m/z 369 > 324)
0.10	4206
0.20	8687
0.50	25013
1.0	47871
2.0	94051
5.0	237412

表6-2 高濃度域の検量線作成用データ

標準液濃度 (ng/mL) (C _s)	応答値
	対象物質(A _s) N-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミド (m/z 369 > 324)
2.0	94051
5.0	237412
10	394984
20	754563
50	1741683

[クロマトグラム]

N-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミド標準液(1.0 ng/mL)のクロマトグラムを図6に示す。

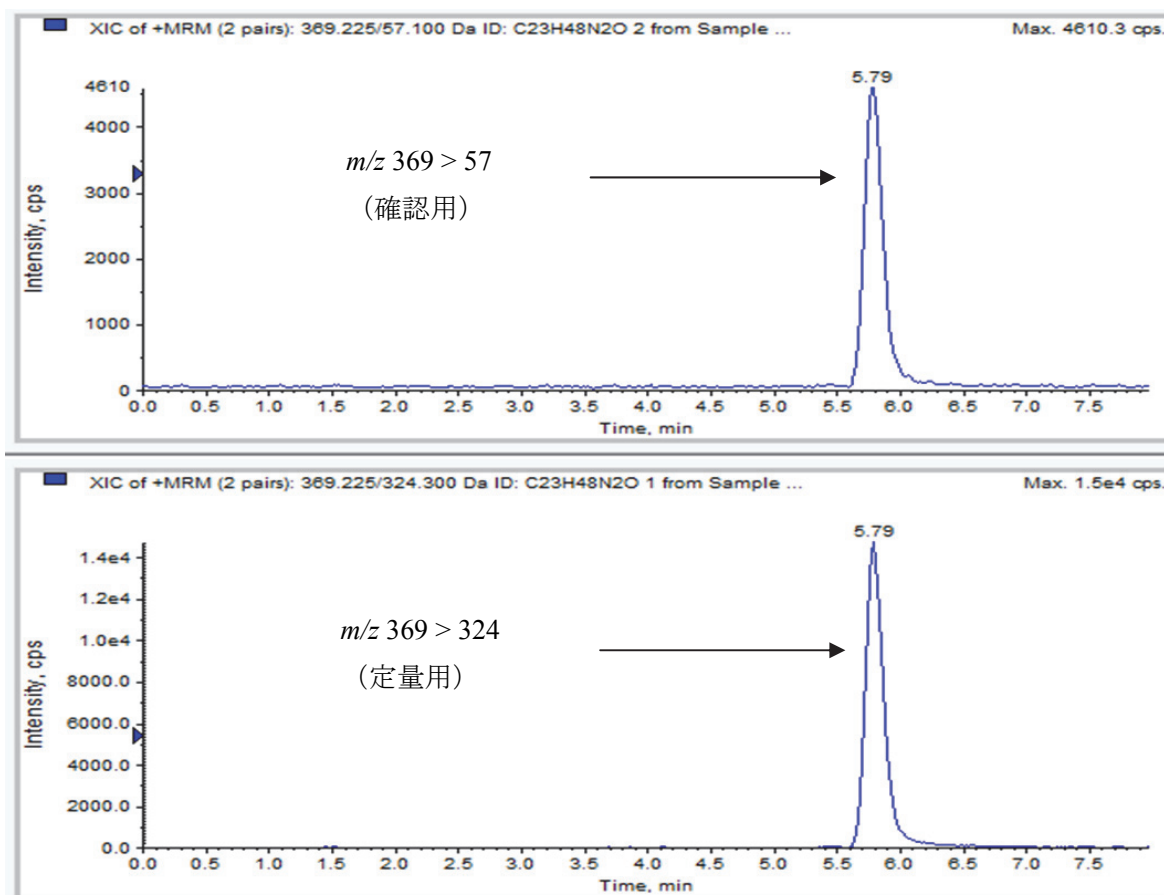


図6 *N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミド(1.0 ng/mL)のSRM クロマトグラム

[プレカーサーイオンのマススペクトル]

N-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミド標準液 (100 µg/L、メタノール溶液)のSCAN測定によるプレカーサーイオンのマススペクトルを図7に示す。

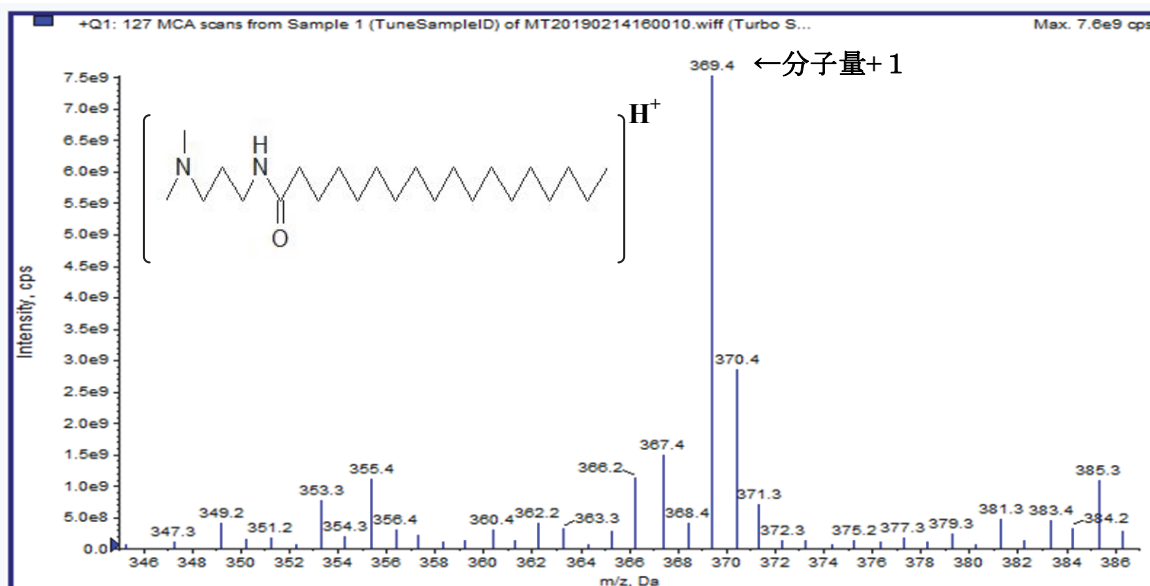


図7 SCAN測定による *N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミドのマススペクトル(ESI-Positive)

〔プロダクトイオンスペクトルのマススペクトル〕

N-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミド標準液 (100 µg/L、メタノール溶液) のプロダクトイオンのマススペクトル(MS1 : m/z 369.5)を図 8 に示す。

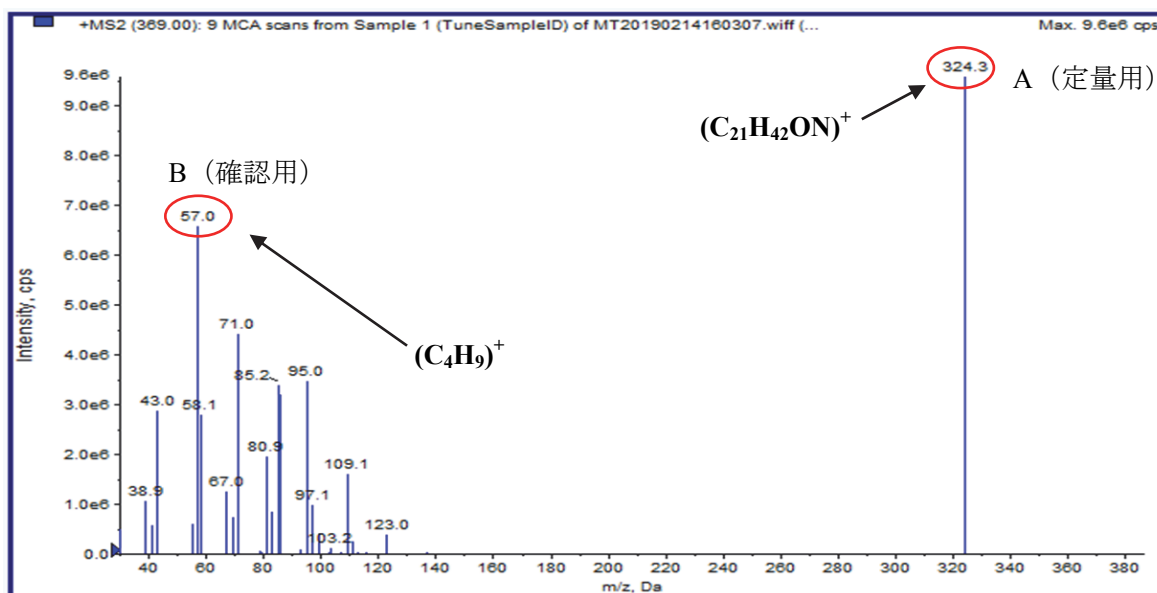


図 8 *N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミド
のプロダクトイオンのマススペクトル
(プレカーサイオン : コリジョン電圧 75 V)

〔操作ブランク試験〕

精製水を用いた空試験の測定結果のクロマトグラムは図 2-1 及び図 3-1 を参照。

N-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミドは、吸着性が強く、ガラス器具の洗浄・管理等が非常に重要である。特に固相カートリッジ中に、*N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミドが存在しており、操作ブランク値として検出されるので注意が必要である。

空試験の検討の結果、水質試料の分析フローでは 1.5 ng/L (n=7)、底質試料の分析フローでは 1.8 ng/g (n=7)、検出した。

〔添加回収試験〕

標準物質の添加回収試験結果を表 7-1 及び 7-2 に、クロマトグラムを図 9-1～9-6 に示す。

検討の結果、河川水では回収率が 87.0%、海水では回収率が 99.2%、底質では回収率が 79.4%と良好な結果が得られた。

なお、河川水の無添加試料から *N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミドは、36.5 ng/L 検出された。操作ブランク試験では、水質試料の分析フローで 1.5 ng/L 検出されており、河川水中には測定対象物が 35.0 ng/L 検出されたと判断した。

一方、海水及び底質の無添加試料から *N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミドがそれぞれ、1.9 ng/L、2.7 ng/g-dry 検出されたが、いずれも MDL 未満（水試料：3.7 ng/L、底質試料 2.9 ng/g-dry）であった。

表 7-1 添加回収試験結果（水質）

試料名	試料量 (mL)	添加量 (ng)	試験数	検出濃度* (ng/L)	回収率 (%)	変動 係数 (%)
河川水 (鈴鹿市中ノ川)	100	0	2	36.5	-	-
	100	5.0	5	80.0	87.0	11
海水 (伊勢湾)	100	0	2	<3.7 (1.91)	-	-
	100	0.5	7	6.87	99.2	14

*：括弧内の数値は、無添加試料の濃度。

表 7-2 添加回収試験結果（底質）

試料名	試料量 (g-dry)	添加量 (ng)	分取 率	試験 数	検出濃度* (ng/g-dry)	回収率 (%)	変動係 数(%)
底質 (伊勢湾)	2.98	0	1/20	2	<2.9 (2.74)	-	-
	2.98	20	1/20	7	8.07	79.4	10

*：括弧内の数値は、無添加試料の濃度。

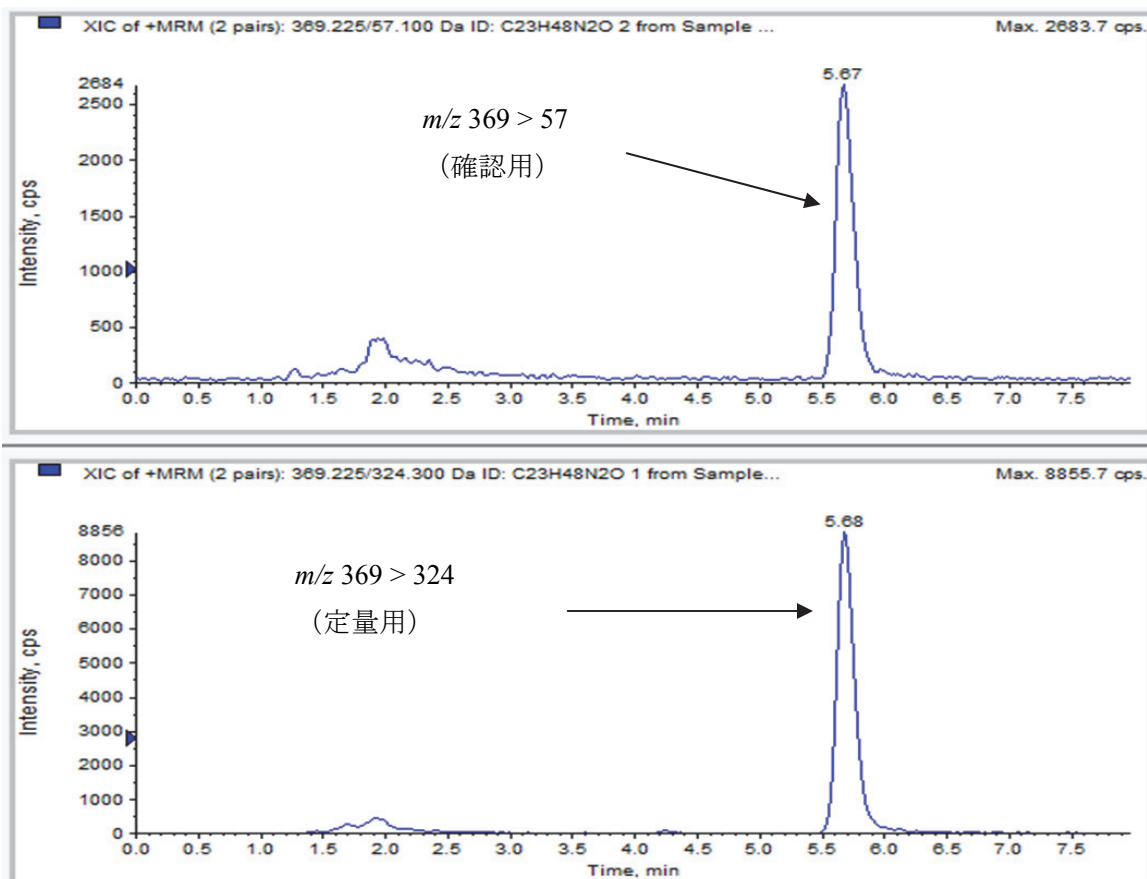


図 9-1 無添加試料 (河川水) の SRM クロマトグラム

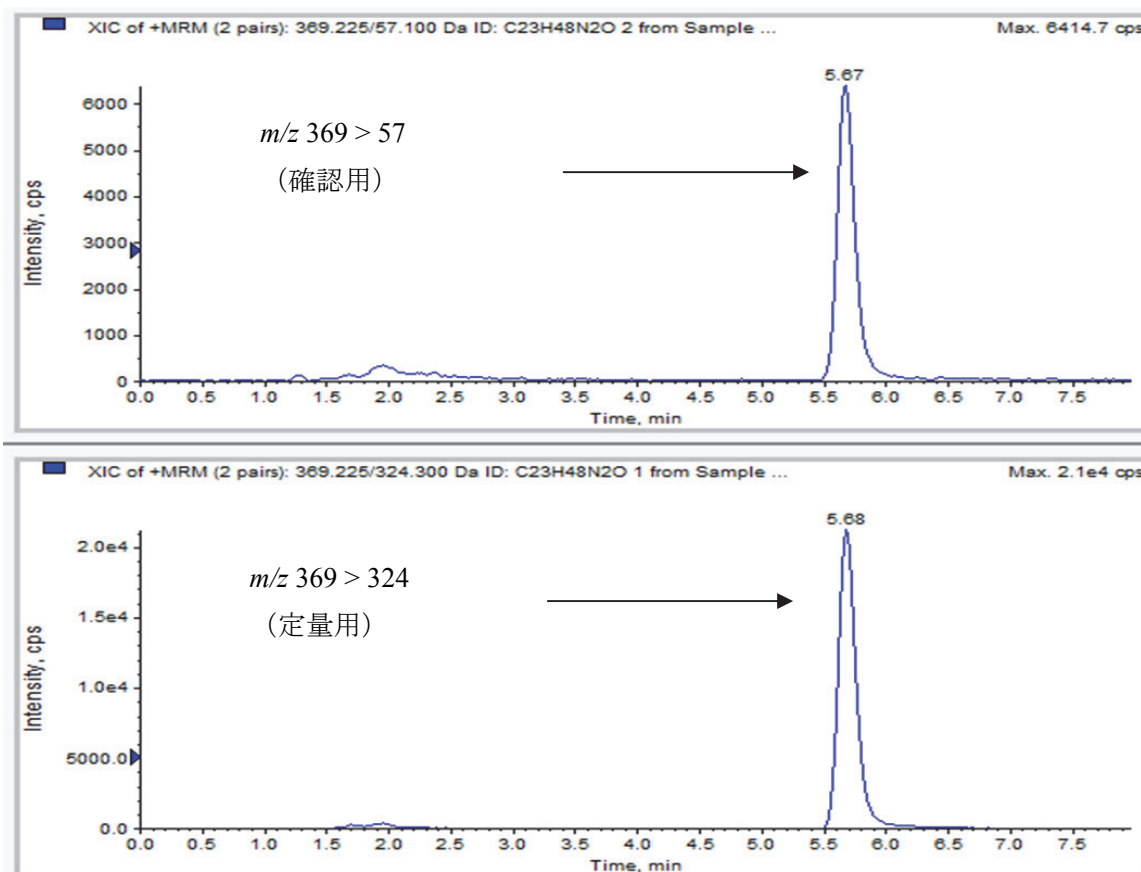


図 9-2 添加回収試験（河川水）の SRM クロマトグラム

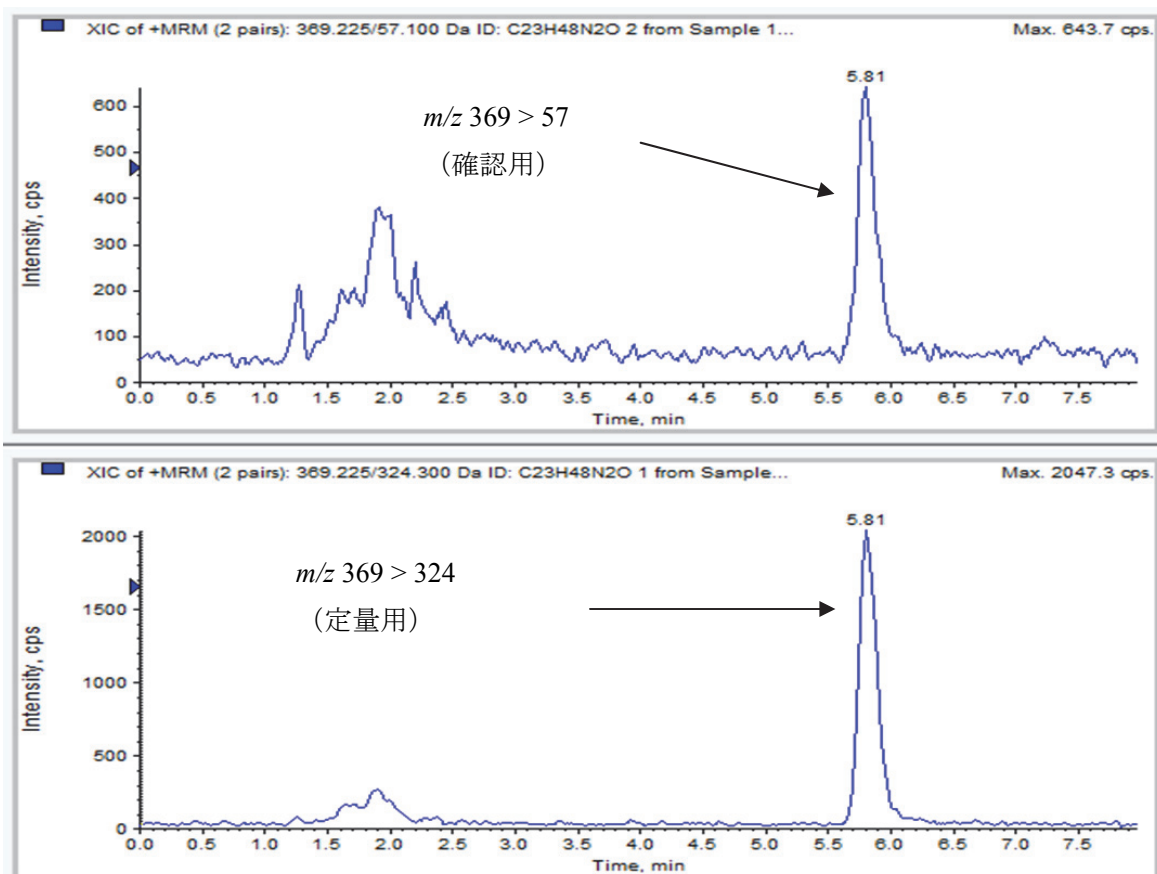


図 9-3 無添加試料（海水）の SRM クロマトグラム

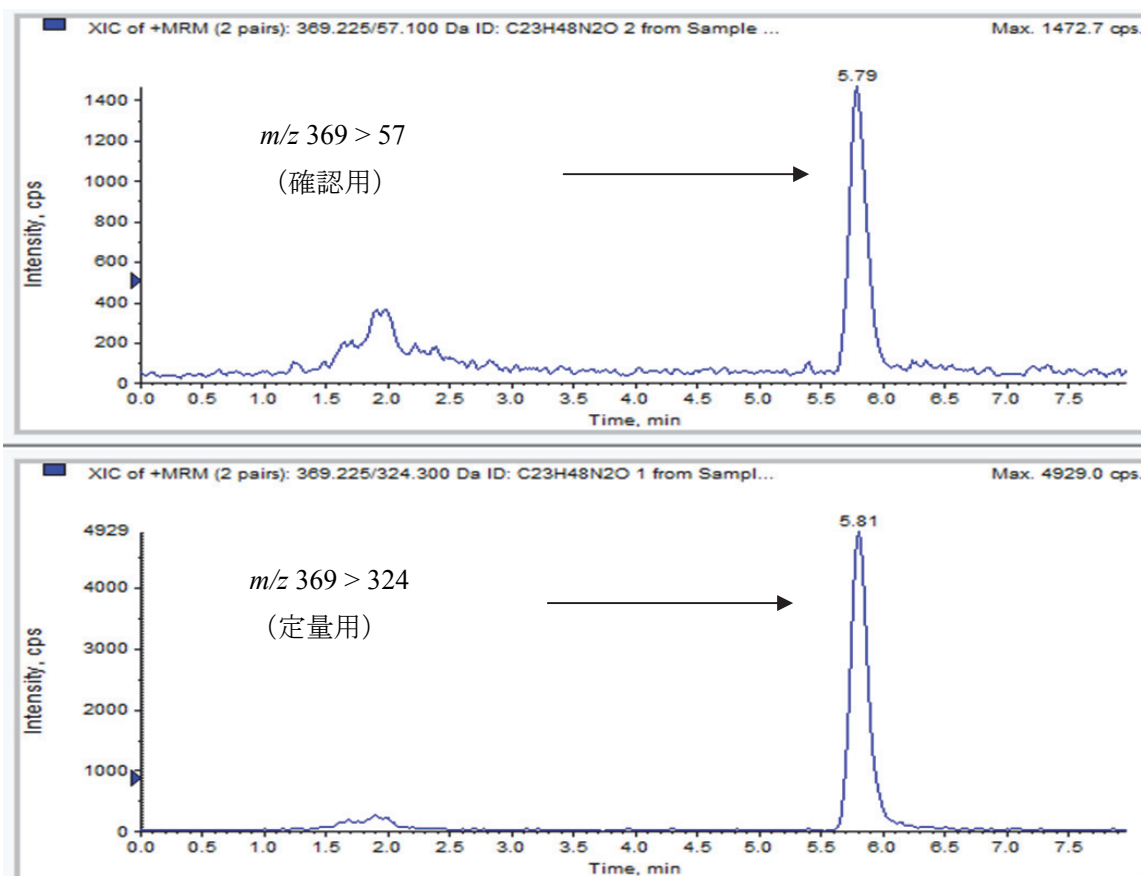


図 9-4 添加回収試験（海水）の SRM クロマトグラム

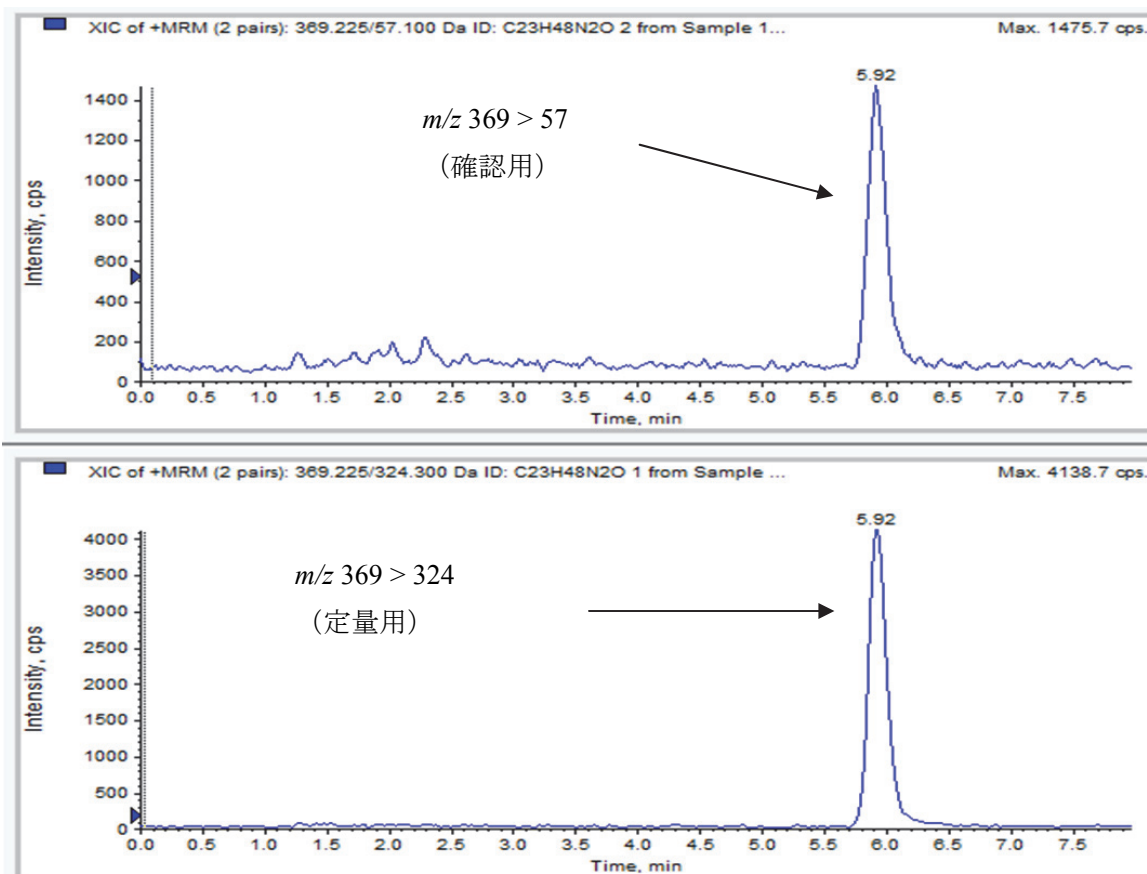


図 9-5 無添加試料（底質）の SRM クロマトグラム

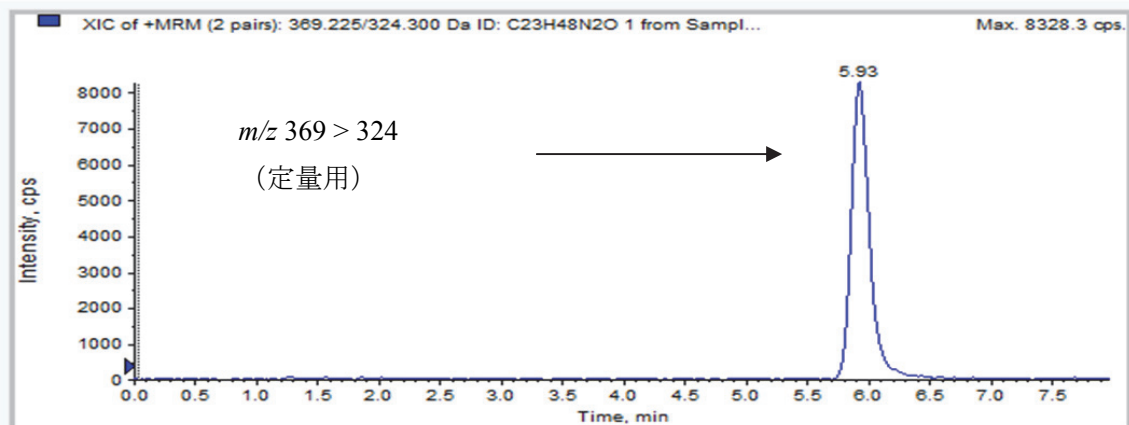
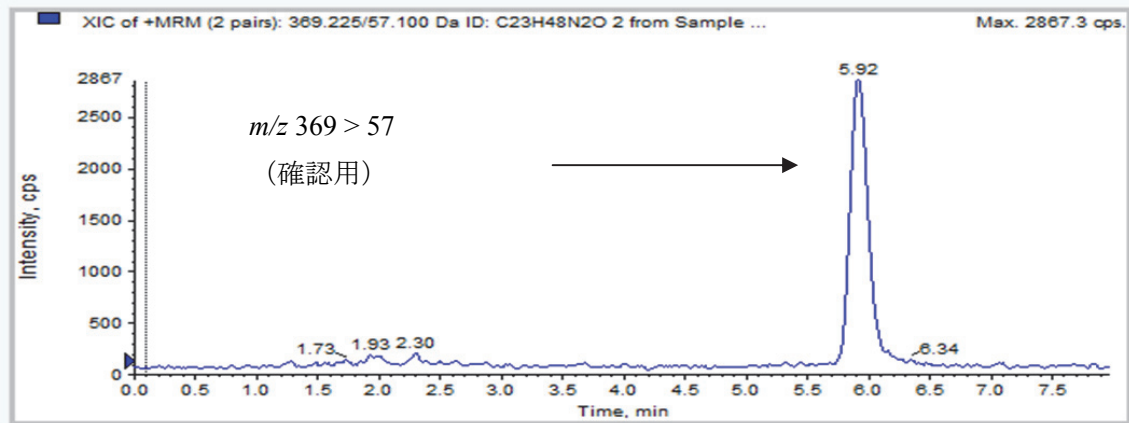


図 9-6 添加回収試験 (底質) の SRM クロマトグラム

〔分解性スクリーニング試験〕

N-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミドの分解性スクリーニング試験結果を表 8 に示す。精製水の pH は 3、5、7、9 に調整した。

なお、分解性スクリーニング試験では、固相抽出を行った。精製水中の *N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミドは、ガラス器具へ吸着性が強いため、試験試料を固相カートリッジに通水した後は、試験に使用したガラス器具の壁面をメタノールで洗い込んで、固相カートリッジの溶出液に使用した。

pH 5、pH 7、pH 9 に調整した試料については、7 日後に 55.1~70.5 %まで減少していた。一方、pH 3 に調整した試料については、7 日間安定であった。

表 8 分解性スクリーニング試験結果

物質名	試験数	pH	調製濃度 ($\mu\text{g/L}$)	検出濃度($\mu\text{g/L}$) (残存率(%))*		
				1 時間後	7 日間後	
					暗所	明所
<i>N</i> -[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミド	2	3	1.0	0.978 (97.8)	0.956 (95.6)	—
	2	5	1.0	0.959 (95.9)	0.561 (56.1)	—
	2	7	1.0	0.980 (98.0)	0.571 (57.1)	0.705 (70.5)
	2	9	1.0	0.932 (93.2)	0.551 (55.1)	—

*: 残存率(%): 調製濃度に対する検出濃度の割合

〔保存性試験〕

海水、粗抽出液及び標準液の保存性試験結果を表 9 に示す。

環境水の保存性試験は、pH 調整なしの試料と塩酸を用いて pH3 付近に調整した試料の 2 種類で実施した。pH 調整なしの試料は、海水 (伊勢湾) 100 mL をガラス容器に入れた後に *N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミドを 1000 ng 添加して調製した。調製後、冷暗所(4°C)で保存し、調製直後及び 7 日目に測定した。pH 調整なしの試料中の *N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミドは、7 日間で 47.8 %まで減少した。

一方、塩酸を用いて pH3 付近に調整した試料は、海水 (伊勢湾) 100 mL をガラス容器に入れた後に 1%(v/v)塩酸 1 mL と *N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミドを 150 ng 添加して調製した。調製後、冷暗所(4°C)で保存し、調製直後及び 7 日目に測定した。pH3 付近に調整した試料中の *N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミドは、7 日間安定であった。

なお、水質試料中の *N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミドは、ガラス器具へ吸着性が強い。このため、試験試料を固相カートリッジに通水した後は、試料保存に使用したガラス器具の壁面をメタノールで洗い込んで、固相カートリッジの溶出液に使用した。

粗抽出液は、底質試料の抽出液 50 mL (メタノール) をガラス容器に入れた後に *N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミドを 100 ng 添加して調製した。調製後、冷暗所(4°C)で保存し、調製直後と 7 日目に粗抽出液 5 mL を採取し前処理及び測定を行った。粗抽出液は 7 日間安定であった。

標準液 1 は、ガラス製の全量フラスコを用いて、メタノール 100 mL に *N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミドを 1000 ng 添加して調製した。

標準液 2 は、ガラス製の全量フラスコを用いて、メタノール 100 mL に *N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミドを 5000 ng 添加して調製した。標準液 1 及び 2 を調製して密栓した後、冷暗所(4°C)で保存し、調製直後、14 日目及び 1 ヶ月目に測定した。標準液は 1 ヶ月間安定であった。

表 9 海水、粗抽出液及び標準液の保存性試験結果

試料	調製濃度 (ng/mL)	試験数	検出濃度(ng/mL) (残存率(%)*)				
			当日	7 日間	14 日間	1 ヶ月間	
海水	試料 (pH 調整なし)	10	2	10.7 (107)	4.78 (47.8)	—	—
	試料 (pH3 に調整)	1.5	2	1.58 (105)	1.53 (102)	—	—
底質	粗抽出液	2.0	2	1.92 (96.0)	1.96 (98.0)	—	—
標準液	標準液 1	10	2	10.9 (109)	—	10.2 (102)	9.99 (99.9)
	標準液 2	50	2	49.3 (98.6)	—	48.9 (97.9)	52.5 (105)

* : 残存率 (%) : 調製濃度に対する検出濃度の割合

〔固相カートリッジの検討〕

環境試料からの対象物質の抽出に用いる固相カートリッジの選定のため、精製水を用いた添加回収試験を行った。なお、以下の方法で検討を行った。

最初に、固相カートリッジのリザーバに精製水 5 mL を負荷し、その精製水に *N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミド 10 ng を添加した。その後、固相カートリッジを吸引してリザーバ内の精製水を固相カートリッジ内に通水し、精製水 10 mL で固相カートリッジを洗浄した。洗浄後、固相カートリッジを吸引

で 10 分、窒素通気で 20 分間乾燥した。乾燥後、固相カートリッジをメタノール 10 mL で溶出し、溶出液を 1 mL まで濃縮して LC/MS/MS 測定を行った。

検討の結果、表 10 に示した通り、充填量が少ない InertSep C18 (200 mg/3 mL) が *N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミドの抽出に適していた。

表 10 固相カートリッジの検討結果

固相カートリッジの種類	添加量 (ng)	カラム溶出量 (mL)	回収率 (%)
GL サイエンス製 InertSep C18 (500 mg/6 mL)	10	10	4.4
GL サイエンス製 InertSep C18 (200 mg/3 mL)	10	10	84.0

〔固相カートリッジの分画試験〕

固相カートリッジ (InertSep C18 (200 mg/3 mL)) の溶出に関する分画試験を行った。なお、以下の方法で検討を行った。

最初に、固相カートリッジのリザーバに精製水 5 mL を負荷し、その精製水に *N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミド 10 ng を添加した。その後、固相カートリッジを吸引してリザーバ内の精製水を固相カートリッジ内に通水し、精製水 10 mL で固相カートリッジを洗浄した。洗浄後、固相カートリッジを吸引で 10 分、窒素通気で 20 分間乾燥した。乾燥後、固相カートリッジをメタノールで①0~3 mL、②3~6 mL、③6~9 mL、④9~12 mL に分けて溶出し、それぞれを 1 mL まで濃縮して LC/MS/MS 測定を行った。

検討の結果、図 10 に示す通り、最初の 3 mL で全体の 66.0%、6 mL まで溶出することで全体の 79.0%を溶出していることが確認できた。実際の試料では、試料容器を洗い込んだメタノールを使用することから、洗い込んだメタノール中にも、*N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミドが存在することが予想される。このため、固相カートリッジからのメタノール溶出量は 10 mL とした。

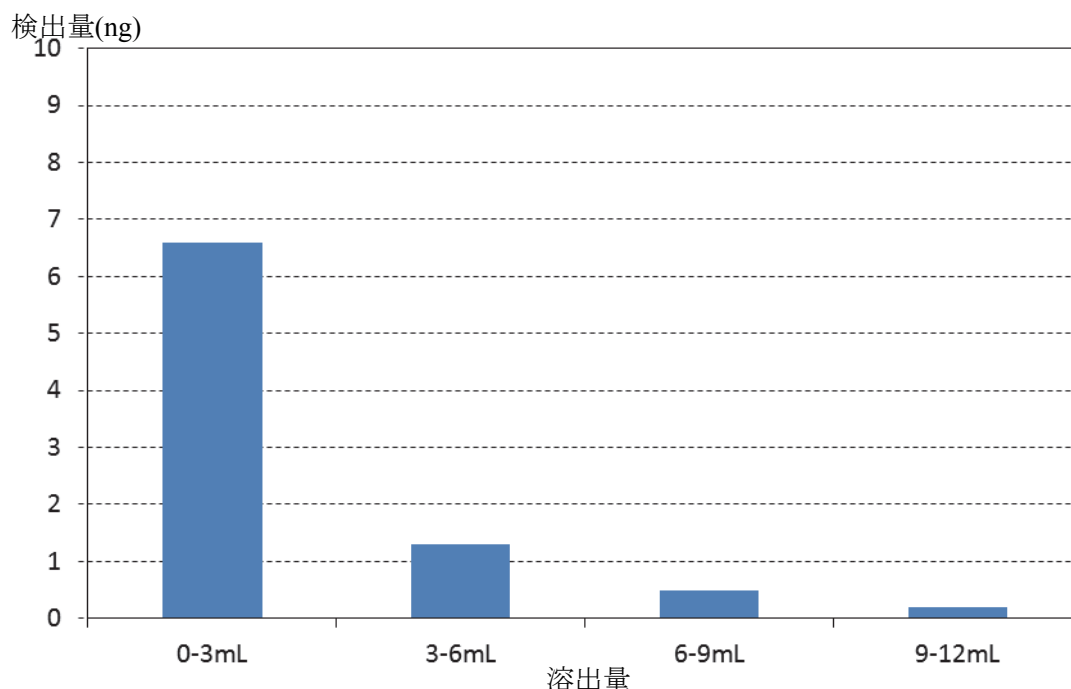


図 10 固相カートリッジの分画試験 (溶出液：メタノール)

[*N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミドの吸着特性]

N-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミドの吸着特性を確認するため、以下の検討を行った。

ガラス製及びポリ製バイアルに、含水率が0～100%になるように調製したメタノールを1 mL採取し、各バイアルに100 ng/mLの*N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミド標準液を10 μL添加し、LC/MS/MS測定を行った。

測定の結果、図 11 に示した通り、ガラス製及びポリ製バイアル共に、含水率が20%超えると、*N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミドがバイアルに吸着していることが確認できた。また、含水率が100%の場合、*N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミドは、ガラス製及びポリ製バイアル共に、ほぼ100%吸着していることが確認できた。

なお、本試験用に調製した標準液は、全て同時に調製し、調製後すぐにメタノール含有量の低い標準液から順次測定した。

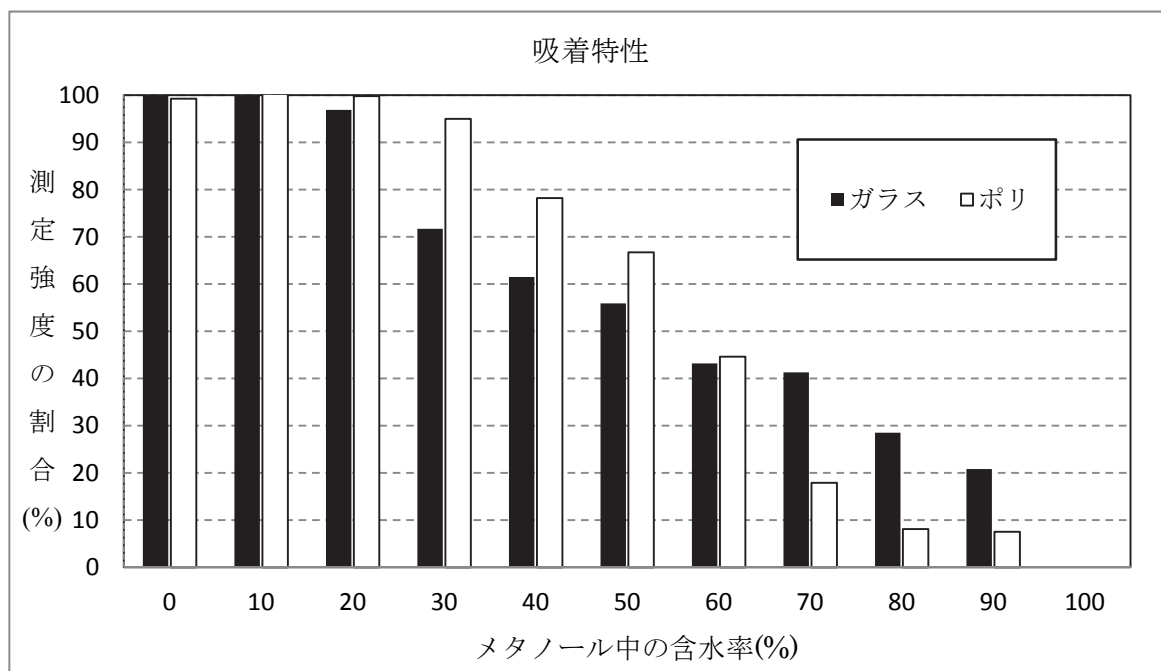


図 11 *N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミドの吸着特性
(ガラス容器・含水率 0%の測定強度を 100 とする)

〔試料容器内における *N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミドの吸着]

水試料容器内における *N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミドの吸着状況を確認するため、以下の検討を行った。

最初に、ガラス製容器に精製水 100 mL を加え、そこに *N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミドを 200 ng 添加した。添加後、直ぐに、ガラス製容器から水試料を直接、固相カートリッジに通水し、乾燥後、メタノール 10 mL でスピッツ管に溶出した。溶出後は、1 mL まで濃縮し、LC/MS/MS 測定で得られた結果を「水溶液中の溶存量」とした。

一方、ガラス壁面への吸着量について、水試料を通水後、容器表面をメタノール 10 mL で 3 回に分けて洗浄してスピッツ管に集めた。その後、1 mL まで濃縮し、LC/MS/MS 測定で得られた結果を「壁面への吸着量」とした。

検討の結果、図 12 に示した通り、水試料容器内における *N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミドの 84% が壁面に吸着していることを確認した。

以上のことから、水溶液中の *N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミドの固相抽出を行う場合、溶出液は、試料容器表面を洗い込んだメタノールを用いることが重要である。

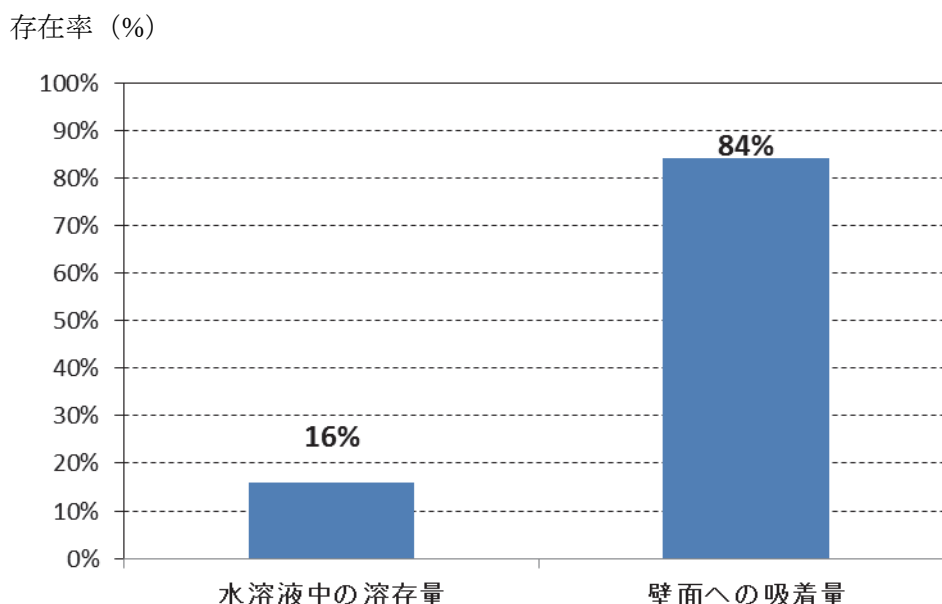


図 12 水質試料容器内における *N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミドの吸着状況

〔ガラス器具の洗浄方法及びその効果〕

N-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミドは、非常に吸着性が強く、使用するガラス器具の洗浄・管理が重要である。

洗浄方法としては、①温水洗浄（水温 46°C）、②精製水洗浄、③メタノール洗浄で行う方法が有効である。図 13 は、新品のスピッツ管を(I)メタノール洗浄のみ、(II)①温水洗浄、②精製水洗浄、③メタノール洗浄を実施した後、スピッツ管にメタノール 1 mL を入れて、LC/MS/MS 測定して得られた SRM クロマトグラムである。

この図から、(II)①温水洗浄、②精製水洗浄、③メタノール洗浄を実施することで、(I)メタノール洗浄のみよりも、*N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミドの検出量を半減することが確認できた。

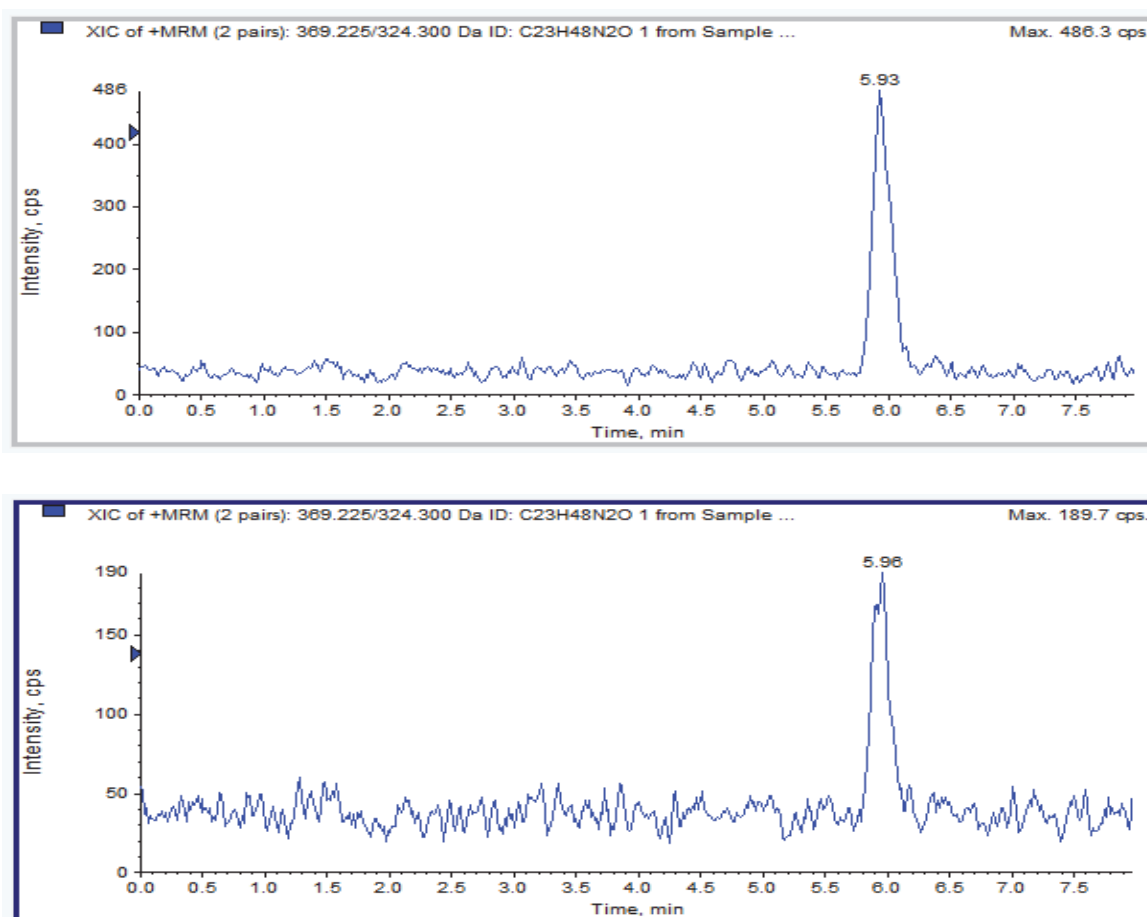


図 13 洗浄方法の違いによる SRM クロマトグラム
(上段：メタノール洗浄のみ)
(下段：①温水洗浄、②精製水洗浄、③メタノール洗浄)

〔環境試料の分析〕

河川水（鈴鹿市中ノ川）において、*N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアールアミドは 0.037 µg/L 検出された。水質試料の操作ブランク試験で、0.002 µg/L 程度検出されたことから、河川水中には測定対象物質が 0.035 µg/L 検出されたと判断した。一方、海水及び底質において、*N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアールアミドは MDL 未満であった（クロマトグラムは〔添加回収試験〕を参照）。

【評価】

本分析法における水質試料中の *N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアールアミドの MDL は 0.0040 µg/L、MQL は 0.010 µg/L であった。また、河川水及び海水を用いた添加回収試験の回収率は、それぞれ 87.0 % 及び 99.2 % であった。

以上の結果から、本法は、水質試料中に 0.004 µg/L レベルで存在する *N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアールアミドの検出に適応可能であると判断される。なお、河川水から *N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアールアミドは 0.037 µg/L 検出され、水質試料の操作ブランク試験で、0.002 µg/L 程度検出されたことから、河川水中には測定対象物質が 0.035 µg/L 検出されたと判断した。海水は MDL 未満であった。

一方、本分析法における底質試料中の *N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアールアミドの MDL は 0.0032 µg/g-dry、MQL は 0.0081 µg/g-dry であった。また、底質を用いた添加回収試験の回収率は、79.4 % であった。なお、底質から *N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアールアミドは MDL 未満であった。

以上の結果から、本法は、底質試料中に 0.003 µg/g-dry レベルで存在する *N*-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアールアミドの検出に適応可能であると判断される。

【担当者連絡先】

所属先名称：一般財団法人 三重県環境保全事業団

所属先住所：〒510-0304 三重県津市河芸町上野 3258 番地

TEL：059-245-7508 FAX：059-245-7516

担当者名：古川 浩司、橋本 真、大谷 美怜

E-mail：furukawa1@mec.or.jp, hashimoto1@mec.or.jp, m-otani@mec.or.jp

***N*-[3-(Dimethylamino) propyl] stearamide**

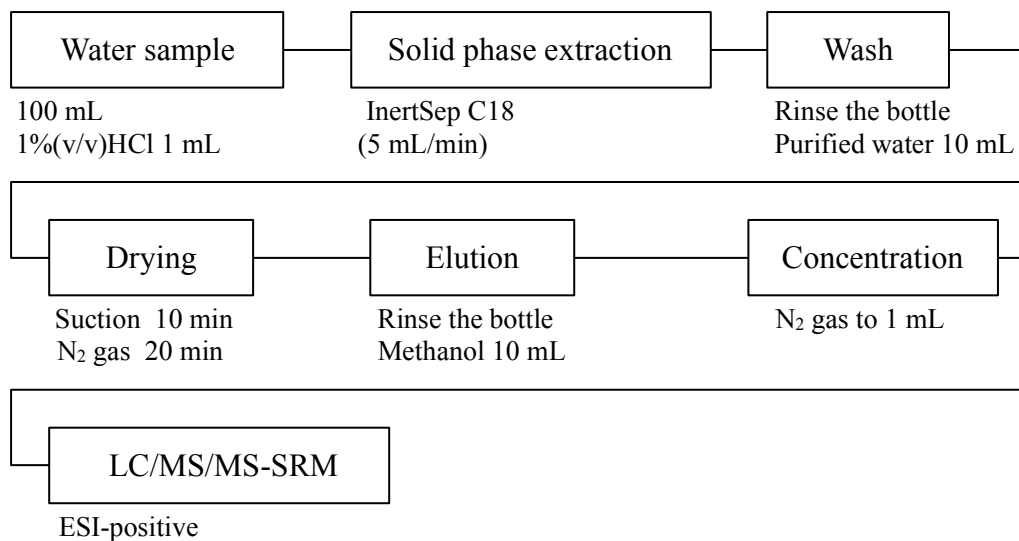
The method has been developed for the determination of *N*-[3-(dimethylamino) propyl] stearamide in water and sediment samples using liquid chromatography/tandem mass spectrometry with selected reaction monitoring (LC/MS/MS-SRM).

In the case of a water sample, total amount of sample (100 mL) is extracted by a solid-phase extraction cartridge (InertSep C18 : 200 mg/3 mL) pre-conditioned with 20 mL of methanol and 10 mL of purified water. The cartridge is washed with 10 mL of purified water, dried by aspirating for 10 minutes and blowing nitrogen gas for 20 minutes. The analyte is eluted in spitz tube with 10 mL of methanol cleaned on the surface of the sample container. After elution, the eluate is concentrated under nitrogen gas to 1 mL . The final solution is analyzed by LC/MS/MS-SRM.

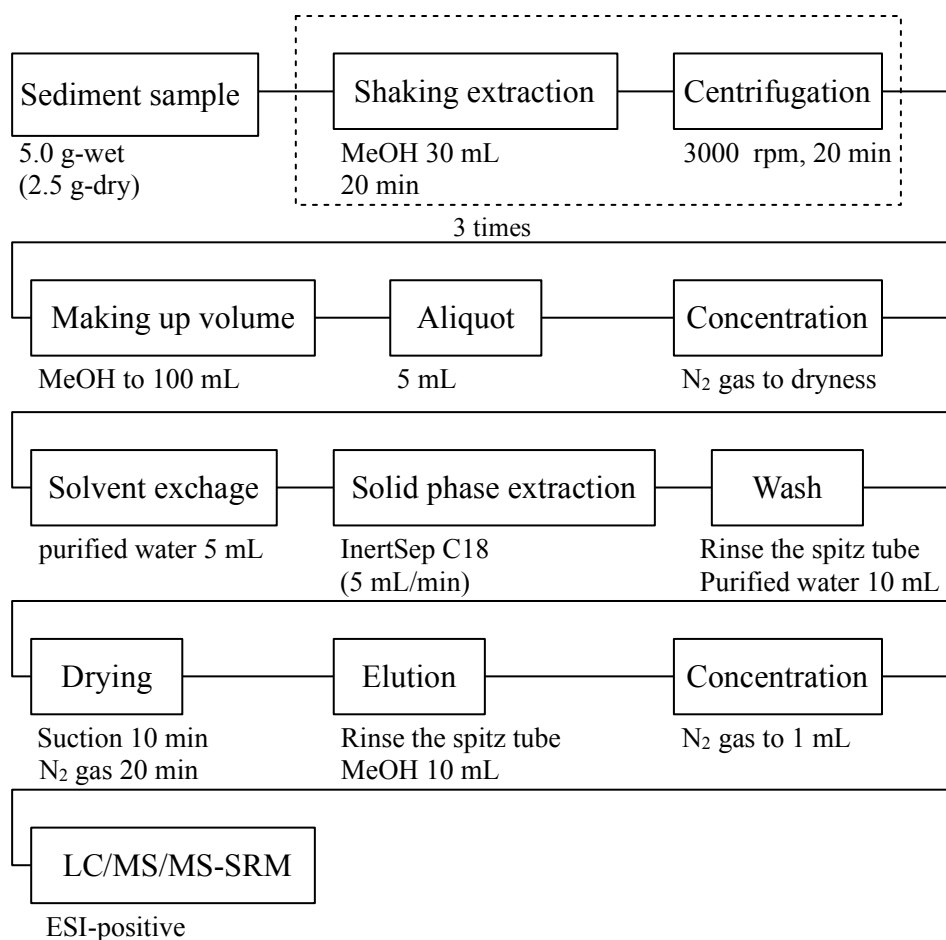
In the case of sediment samples, a sample (5 g-wet) is put in a centrifuge tube and then 30 mL of methanol are added in the sample. After shaking of the sample for 20 minutes, the sample is centrifuged for 20 min at 3000 rpm. The supernatant of sample extract is removed into a 100 mL volumetric flask. This extraction operation is performed a total of three times. Then, all extracts are combined and fixed to 100 mL with methanol. An aliquot (5 mL) of the extracts is added to a spitz tube and blown with nitrogen gas to concentrate and dry, and dilute to 5 mL with purified water. Next, total amount of the collected extract is extracted by a solid-phase extraction cartridge (InertSep C18 : 200 mg/3 mL) pre-conditioned with 20 mL of methanol and 10 mL of purified water. The cartridge is washed with 10 mL of purified water, dried by aspirating for 10 minutes and blowing nitrogen gas for 20 minutes. The analyte is eluted in spitz tube with 10 mL of methanol cleaned on the surface of the sample container. After elution, the eluate is concentrated under nitrogen gas to 1 mL . The final solution is analyzed by LC/MS/MS-SRM.

The instrument detection limit (IDL) is 0.017 pg. The method detection limit (MDL) and the method quantification limit (MQL) of *N*-[3-(dimethylamino) propyl] stearamide in water samples and sediment samples are 4.0 ng/L, 10 ng/L and 3.2 ng/g-dry, 8.1 ng/g-dry, respectively. The recoveries of *N*-[3-(dimethylamino) propyl] stearamide spiked to river water, seawater and sea sediment were 87.0%, 99.2% and 79.5%, respectively.

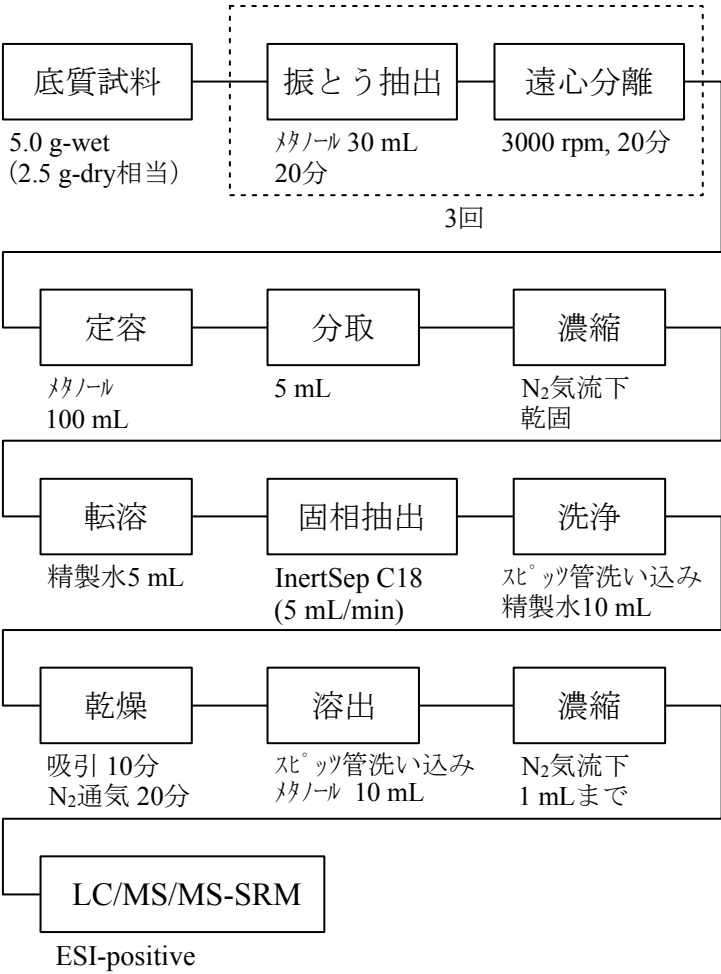
In the case of a water sample



In the case of sediment samples



物質名	分析法フローシート	備考
<p><i>N</i>-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアラミド</p> <p>別名： <i>N</i>-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]オクタデカンアミド</p>	<p>【水質】</p> <p>水質試料 → 固相抽出 → 洗浄</p> <p>100 mL 1%(v/v)HCl 1 mL InertSep C18 (5 mL/min) 容器洗い込み 精製水10 mL</p> <p>乾燥 → 溶出 → 濃縮</p> <p>吸引 10分 N₂通気 20分 容器洗い込み メタノール 10 mL N₂気流下 1 mLまで</p> <p>LC/MS/MS-SRM</p> <p>ESI-positive</p>	<p>分析原理： LC/MS/MS-SRM</p> <p>検出下限値： 【水質】 4.0 ng/L</p> <p>分析条件： 機器 LC： 1260 Infinity II (Agilent 製) MS/MS： QTRAP5500 (SCIEX 製)</p> <p>カラム InertSustain C18 150 mm × 2.1 mm, 3 μm (GL サイエンス 製)</p>

物質名	分析法フローシート	備考
<p><i>N</i>-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]ステアルアミド</p> <p>別名： <i>N</i>-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]オクタデカンアミド</p>	<p>【底質】</p>  <p>底質試料 5.0 g-wet (2.5 g-dry相当)</p> <p>振とう抽出 メタノール 30 mL 20分</p> <p>遠心分離 3000 rpm, 20分</p> <p>3回</p> <p>定容 メタノール 100 mL</p> <p>分取 5 mL</p> <p>濃縮 N₂気流下 乾固</p> <p>転溶 精製水 5 mL</p> <p>固相抽出 InertSep C18 (5 mL/min)</p> <p>洗浄 スピッツ管洗い込み 精製水 10 mL</p> <p>乾燥 吸引 10分 N₂通気 20分</p> <p>溶出 スピッツ管洗い込み メタノール 10 mL</p> <p>濃縮 N₂気流下 1 mLまで</p> <p>LC/MS/MS-SRM ESI-positive</p>	<p>分析原理： LC/MS/MS-SRM (ESI-positive)</p> <p>検出下限値： 【底質】 3.2 ng/g-dry</p> <p>分析条件： 機器 LC： 1260 Infinity II (Agilent 製) MS/MS： QTRAP5500 (SCIEX 製)</p> <p>カラム InertSustain C18 mm150 mm × 2.1 mm, 3 μm (GL サイエンス 製)</p>