

化学物質と環境

令和2年度 化学物質分析法開発調査報告書

令和4年2月

環境省大臣官房
環境保健部環境安全課

本報告書は、化学物質環境実態調査において、地方公共団体等に委託した化学物質分析法開発調査の報告書等について、令和2年度化学物質環境実態調査分析法開発検討会議において検討した上で、とりまとめたものである。

なお、初期環境調査及び詳細環境調査の試料採取要領については、環境省「化学物質環境実態調査実施の手引き（最新版）」を参照されたい。

（注）

1. 目次中の○印は、環境中の微量化学物質の分析法の開発がなされた媒体を示す。
2. 各分析法の冒頭、最後尾等に分析法開発担当者のコメント等が付されている場合があるので特に留意されたい。
3. 本報告書において用いられている分析関係語句のうち、商品名を示すものについては、適当な一般名が見当たらなかったためやむをえず使用しているものであり、環境省環境安全課においてその商品名の使用を推薦することを意味するものではない。
4. 本報告書に記載する分析法は、環境省環境安全課が関係地方公共団体等の協力を得て実施している化学物質環境実態調査に使用するため開発されたものであるため、個々の化学物質について当該分析法が最良ではない場合もあり得ることを了解されたい。

令和2年度化学物質環境実態調査分析法開発検討会議（第一部会）

	今村 清	公立大学法人大阪府立大学 客員研究員
	門上 希和夫	公立大学法人北九州市立大学 名誉教授
	木村 久美子	環境省環境調査研修所 教官
座長	劔持 堅志	一般社団法人岡山環境検査センター 技術参与
	先山 孝則	大阪市立環境科学研究センター 研究主幹
	鈴木 茂	学校法人中部大学 客員教授
	中島 大介	国立研究開発法人国立環境研究所 室長
	橋本 俊次	国立研究開発法人国立環境研究所 室長
	松村 千里	兵庫県環境研究センター 研究主幹

令和2年度化学物質環境実態調査分析法開発検討会議（第二部会）

	岩村 幸美	環境省環境調査研修所 教官
	四ノ宮 美保	公立大学法人埼玉県立大学 准教授
	白石 寛明	国立研究開発法人国立環境研究所 名誉研究員
	高澤 嘉一	国立研究開発法人国立環境研究所 主幹研究員
	竹峰 秀祐	埼玉県環境科学国際センター 主任
	中野 武	国立大学法人大阪大学 環境安全研究管理センター 招へい教授
	長谷川 敦子	神奈川県環境科学センター 主任研究員
座長	福嶋 実	特定非営利活動法人環境測定品質管理センター 副理事長
	八木 正博	神戸市健康科学研究所 生活科学部 副部長

（敬称略、五十音順）

目 次

対象物質名	開発担当	対象媒体			分析法 記載頁
		水質	底質	大気	
アクリル酸 <i>n</i> -デシル	長野県	○			1
アミオダロン	岩手県	○			21
イベルメクチン	兵庫県				53
イベルメクチン B1a		○			
イベルメクチン B1b		○			
1,3-ジオキサラン	福岡県	○			88
<i>N,N</i> -ジメチルアルカン-1-アミン=オキシド (アルキル基の炭素数が 10、12、14、16 又は 18 で、直鎖型のもの)	和歌山県		○		108
ジメチルスルホニオプロピオナート	川崎市	○			158
<i>N</i> -(2,3-ジメチルフェニル)アントラニル酸	奈良県	○			183
ストレプトマイシン	福岡市	○			215
テトラメチルアンモニウム=ヒドロキシド	神奈川県	○			252
トリオクチルアミン	新潟県	○			270
トリメチル(オクタデシル)アンモニウム及びその塩	名古屋市	○			295
6-ニトロクリセン	神奈川県	○			320
6-ニトロクリセン	日本環境衛生センター		○		340
6-ニトロクリセン	神奈川県			○	372
α -(ノニルフェニル)- ω -ヒドロキシポリ(オキシエチレン)	北海道		○		391
フラン	日鉄テクノロジー			○	511
2-ベンジリデンオクタナール	神戸市	○			540
2-ベンジリデンオクタナール	名古屋市		○		579
ベンゾフェノン-3	大阪府	○			611
<i>p</i> -メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル		○			
ベンゾ[<i>g, h, i</i>]ペリレン	日鉄テクノロジー		○		656
クリセン			○		
ピレン			○		
メチルアミン	和歌山県			○	712

アクリル酸 *n*-デシル

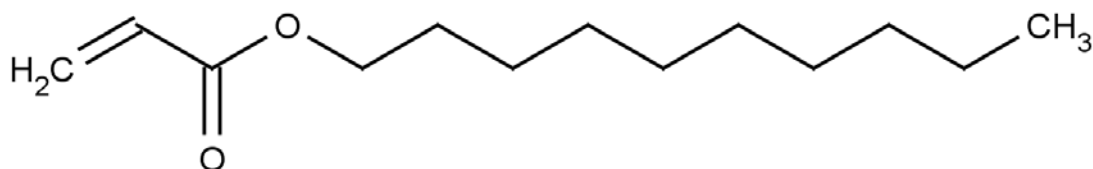
Decyl acrylate

IUPAC 名：Decyl prop-2-enoate

別名：デシル＝アクリラート、プロペン酸デシル

Acrylic acid, Decyl ester

【対象物質の構造】



アクリル酸 *n*-デシル

CAS 番号：2156-96-9

分子式：C₁₃H₂₄O₂

【物理化学的性状】

[分子量]	212.33
[分子量 (モノアイソトピック質量)]	212.1776
[沸点]	158°C ¹⁾
[融点]	-69°C ¹⁾
[比重]	0.8781 g/cm ³ ¹⁾
[溶解度]	1.4258 mg/L ²⁾
[log P _{ow}]	5.15 ²⁾

【毒性、用途】

[毒性]³⁾

急性毒性 マウス（経口）LD₅₀ 6460 mg/kg

[用途]⁴⁾

樹脂原料

出典

- 1) https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_JP_CB5307586.htm
- 2) U.S.EPA, Estimation Programs Interface (EPI) Suite v4.11
(<http://www.epa.gov/oppt/exposure/pubs/episuitdl.htm>)
- 3) U.S. National Center for Biotechnology Information's PubChem system
- 4) NITE Chemical Risk Information Platform (NITE 化学物質総合情報提供システム)

§ 1 分析法

(1) 分析法の概要

水質試料を塩化ナトリウムの入ったバイアル瓶に採取し、内標準を添加してヘッドスペース GC/MS -SIM で測定する。

(2) 試薬・器具

【試薬】(注 1)

アクリル酸 <i>n</i> -デシル	: APOLLO SCIENTIFIC 製 (99%)
ナフタレン- <i>d</i> ₈	: 富士フイルム和光純薬製 環境分析用 (98%)
メタノール	: 関東化学製 LC/MS 用
<i>L</i> (+) - アスコルビン酸	: 富士フイルム和光純薬製 特級
塩化ナトリウム	: 富士フイルム和光純薬製 水質試験用
精製水 (注 2)	: 市販のミネラルウォーター (南アルプスの天然水)

【標準液の調製】

〔標準原液〕

アクリル酸 *n*-デシル 20.0 mg を正確に量り取り、メタノール 100 mL に溶解し、200 µg/mL の標準原液を調製する。

〔内標準液〕

ナフタレン-*d*₈ 20.0 mg を正確に量り取り、メタノール 100 mL に溶解し、200 µg/mL の内標準原液を調製する。内標準原液をメタノールで希釈し、2.0 µg/mL の内標準液を調製する。

〔検量線用標準液〕

標準原液をメタノールで適宜希釈し、0.050 µg/mL～0.50 µg/mL の検量線用標

準液を調製する。

【器具】

ヘッドスペース用 20 mL バイアル瓶、シリコン/PTFE セプタム付キャップ、メスフラスコ、ホールピペット、マイクロシリンジ（注3）

(3) 分析法

【試料の採取及び保存等】

試料の採取及び保存は、環境省「化学物質環境実態調査実施の手引き」（最新版）に従う。

容量 100 mL 程度の密栓できるガラス製容器に気泡が入らず、満水となるように採取する。直ちに分析できない場合は、試料水 100 mL に対してアスコルビン酸 0.1 g を添加し、冷暗所に保管する。

ガラス製容器（容量 100 mL 程度）は、事前に乾燥機で 200°C、2 時間乾燥しておく。

【試料の前処理及び試験液の調製】

ヘッドスペース用 20 mL バイアル瓶に塩化ナトリウム 3 g（海水は 2.7 g）を入れ、乾燥機で 200°C、2 時間乾燥する。

乾燥後常温に戻したバイアル瓶に、ホールピペットを用いて水質試料 10 mL を泡立てないように分取し、内標準液(2.0 µg/mL) をマイクロシリンジで 10 µL 添加して密栓する。塩化ナトリウムが完全に溶解するまで混合し、試験液とする。

【空試験液の調製】

水質試料と同様に精製水を用いて、【試料の前処理及び試験液の調製】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：島津製作所製 GC2010 Plus MS：島津製作所製 GCMS-QP2010 Ultra
使用カラム	: GL Science 製 InertCap 5MS/Sil 30 m × 0.25 mm, 0.50 µm
カラム温度	: 60°C (1 min) → 20°C/min → 120°C (0 min) → 5°C/min

→220 (0 min)→20°C/min →300°C (3 min)

試料導入方法 : 全量注入

キャリアーガス : He 51.6 cm/s (2.0 mL/min)

インターフェース温度 : 230°C

イオン化法 : EI

イオン源温度 : 230°C

イオン化エネルギー : 70 eV

イオン化電流 : 50 μ A

検出モード : SIM

モニターイオン : アクリル酸 *n*-デシル m/z 55 (定量用)
 m/z 70 (確認用)
 ナフタレン- d_8 m/z 136 (定量用)

〔ヘッドスペースオートサンプラー条件〕

使用機種 : 島津製作所製 HS-20

モード : 1 mL ループ

オーブン温度 : 70°C

サンプルライン温度 : 200°C

トランスファーライン温度 : 200°C

バイアル加圧用ガス圧力 : 80 kPa

バイアル保温時間 : 30 分

バイアル加圧時間 : 2 分

注入時間 : 1 分

ニードルフラッシュ時間 : 5 分

〔検量線〕

ヘッドスペース用 20 mL バイアル瓶に塩化ナトリウム 3 g を入れ、乾燥機で 200°C、2 時間乾燥する。

乾燥後常温に戻したバイアル瓶に、ホールピペットを用いて精製水 10 mL を泡立てないように分取し、内標準液 (2.0 μ g/mL) 及び検量線用標準液 (0.050 μ g/mL～0.50 μ g/mL) をマイクロシリンジでそれぞれ 10 μ L 添加し、密栓する。塩化ナトリウムが完全に溶解するまで混合し、0.050 ～0.50 ng/mL の範囲の検量線試験液とする。

この試験液をヘッドスペース-GC/MS-SIM に導入して分析する。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 10 mL をヘッドスペース-GC/MS で分析し、対象物質と内標準物質のピーク面積比を検量線に照らして定量する。

〔濃度の算出〕

試料中濃度 C (ng/L) は次式により算出する。

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

R : 検量線から求めた内標準物質濃度に対する対象物質濃度の比

Q : 試料中に添加した内標準物質の量 (ng)

(= 添加した内標準液の濃度 (ng/μL) × 添加した内標準液の液量 (μL))

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。

$$Q = 20 \text{ (ng)}$$

(= 添加した内標準液の濃度 (2.0 ng/μL) × 添加した内標準液の液量 (10 μL))

$$V = 0.010 \text{ (L)}$$

即ち、

$$C = R \times 2000 \text{ (ng/L)} = R \times 2 \text{ (μg/L)}$$

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 4)。

表 1 IDL の算出結果		
物質名	試料量 (L)	IDL (μg/L)
アクリル酸 <i>n</i> -デシル	0.010	0.011

〔分析方法の検出下限 (MDL) 及び定量下限 (MQL) 〕

本分析の MDL 及び MQL を表 2 に示す (注 5)。

表 2 MDL 及び MQL の算出結果

物質名	試料	試料量 (L)	MDL ($\mu\text{g/L}$)	MQL ($\mu\text{g/L}$)
アクリル酸 <i>n</i> -デシル	湖水	0.010	0.017	0.044

注解

- (注 1) ここに示す製品は実際に使用した商品を掲げているが、これらを推奨するわけではなく、これらと同等以上の品質、性能のものを用いても問題ない。
- (注 2) 使用する精製水は、あらかじめブランクがないことを確認しておく。
- (注 3) 試験に使用するマイクロシリンジは、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ことが望ましい。

(注 4) IDL は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」（平成 28 年 3 月）に従って、表 3 のとおり算出した。また、図 1 に IDL 測定時の対象物質のクロマトグラム、図 2 に内標準物質のクロマトグラムを示す。

表 3 IDL の算出結果

物質名	アクリル酸 <i>n</i> -デシル
試料量 (L)	0.010
試料濃度 (ng/mL)	0.050
結果 1 (ng/mL)	0.0541
結果 2 (ng/mL)	0.0596
結果 3 (ng/mL)	0.0566
結果 4 (ng/mL)	0.0521
結果 5 (ng/mL)	0.0587
結果 6 (ng/mL)	0.0533
結果 7 (ng/mL)	0.0570
平均値 (ng/mL)	0.05591
標準偏差 (σ_{n-1}) (ng/mL)	0.00282
IDL (ng/mL) *	0.011
S/N 比	13
CV (%)	5.0

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

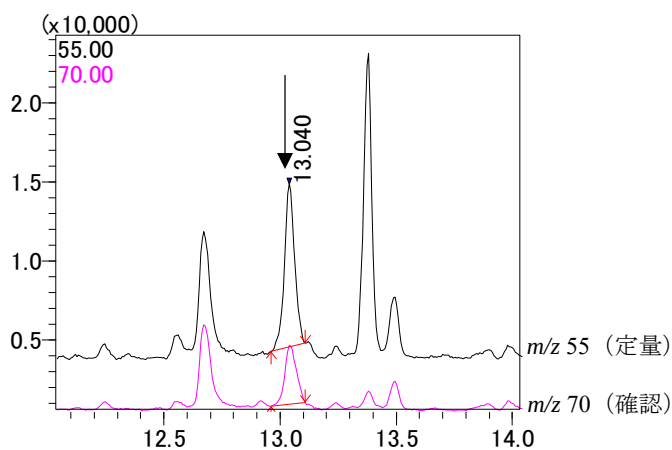


図 1 IDL 測定時(0.050 ng/mL)の対象物質のクロマトグラム

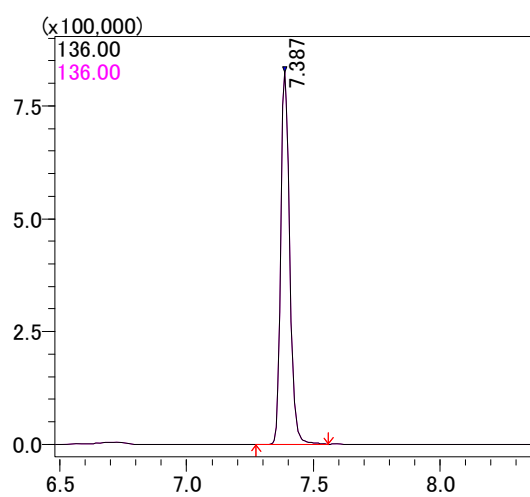


図 2 IDL 測定時(0.050 ng/mL)の内標準物質のクロマトグラム

(注 5) MDL 及び MQL は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 28 年 3 月)に従って、表 4 のとおり算出した。また、図 3 に MDL 測定時の対象物質のクロマトグラム、図 4 に内標準物質のクロマトグラムを示す。

表 4 MDL 及び MQL の算出結果

物質名	アクリル酸 <i>n</i> -デシル
試料	湖水
試料量 (L)	0.010
標準添加量 (ng)	0.50
試料換算濃度 (μg/L)	0.050
操作ブランク平均 (μg/L) ^{*1}	< 0.017
無添加平均 (μg/L) ^{*2}	< 0.017
結果 1 (μg/L)	0.0522
結果 2 (μg/L)	0.0531
結果 3 (μg/L)	0.0398
結果 4 (μg/L)	0.0500
結果 5 (μg/L)	0.0498
結果 6 (μg/L)	0.0494
結果 7 (μg/L)	0.0478
平均値 (μg/L)	0.04887
標準偏差(σ _{n-1}) (μg/L)	0.00436
MDL (μg/L) ^{*3}	0.017
MQL (μg/L) ^{*4}	0.044
S/N 比	14
CV (%)	8.9

*1 : 空試験液を測定した値の平均値(n = 3)

*2 : MDL 算出用試料に標準を添加していない状態で含まれる濃度の平均値

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

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

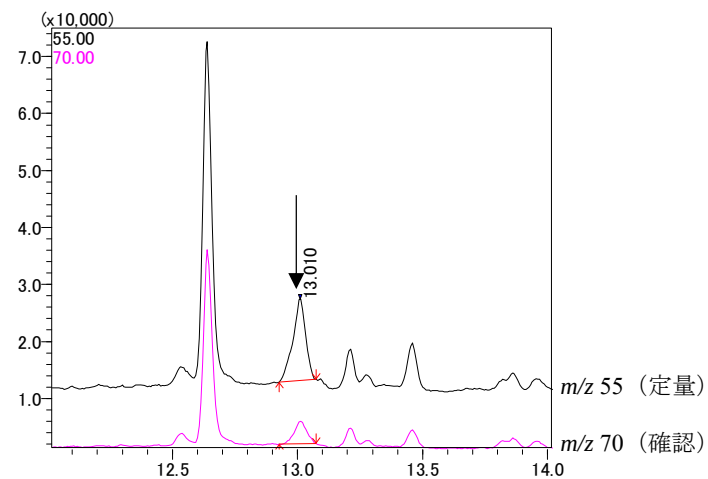


図3 MDL測定時（湖水 0.50 ng 添加）の対象物質のクロマトグラム

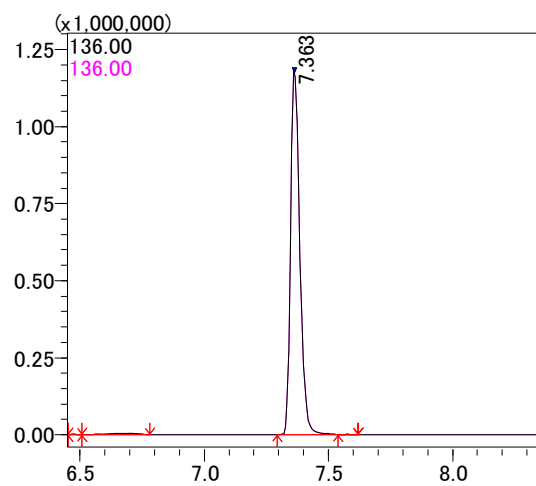


図4 MDL測定時（湖水 0.50 ng 添加）の内標準物質のクロマトグラム

§ 2 解説

【分析法】

〔フローチャート〕

分析法のフローチャートを図 5 に示す。

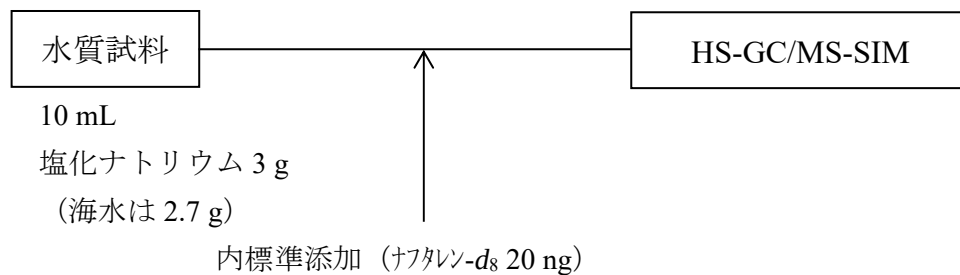


図 5 分析法のフローチャート

〔検量線〕

検量線を図 6 に、検量線作成データを表 5 に示す。

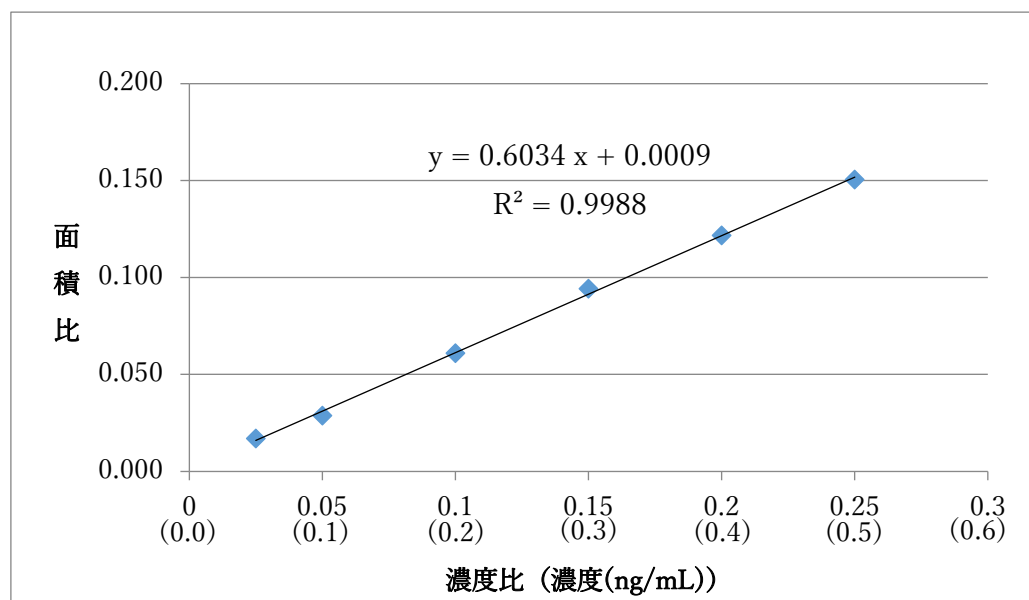


図 6 アクリル酸 *n*-デシルの検量線
(0.050~0.50 ng/mL 内標準物質: 2.0 ng/mL)

表 5 検量線作成用データ

標準液 濃度 (ng/mL) (Cs)	濃度比 (Cs/Cis*)	応答値		
		対象物質 (As) 【アクリル酸 <i>n</i> -デシル】 (<i>m/z</i> 55)	内標準物質 (Ais) 【ナフタレン- <i>d</i> ₈ 】 (<i>m/z</i> 136)	応答比 (As/Ais)
0.050	0.025	43023	2539807	0.0169
0.10	0.050	84195	2928533	0.0287
0.20	0.10	161962	2657707	0.0609
0.30	0.15	269208	2857015	0.0942
0.40	0.20	383993	3156044	0.122
0.50	0.25	471826	3135931	0.150

Cis* : 内標準物質濃度 2.0 ng/mL

〔クロマトグラム〕

標準液測定時のアクリル酸 *n*-デシルのクロマトグラムを図 7、ナフタレン-*d*₈のクロマトグラムを図 8、アクリル酸エステル類の混合標準液のクロマトグラムを図 9 に示す。

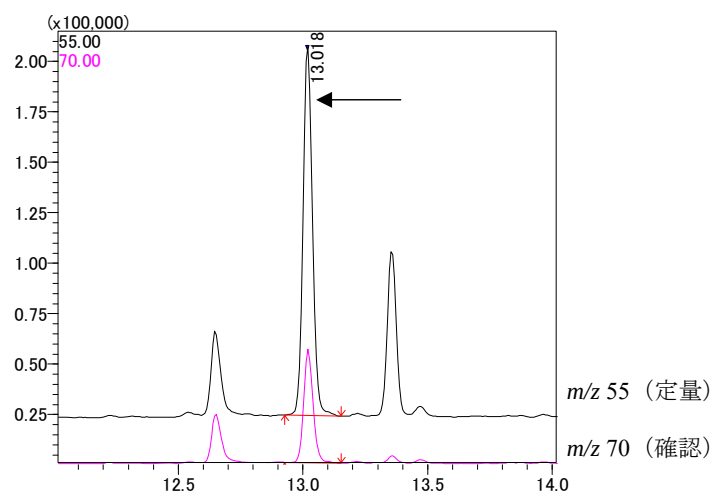


図 7 アクリル酸 *n*-デシル(0.50 ng/mL) のクロマトグラム

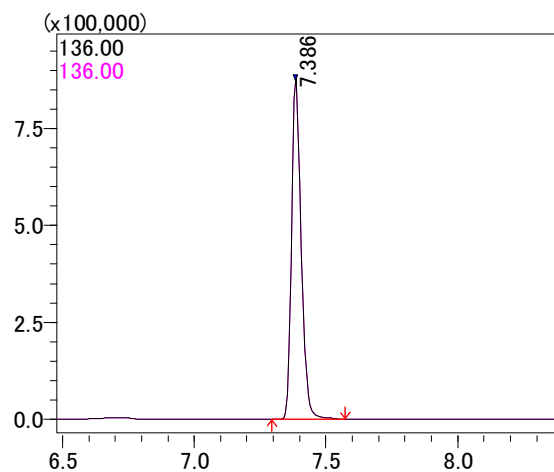


図 8 ナフタレン- d_8 のクロマトグラム

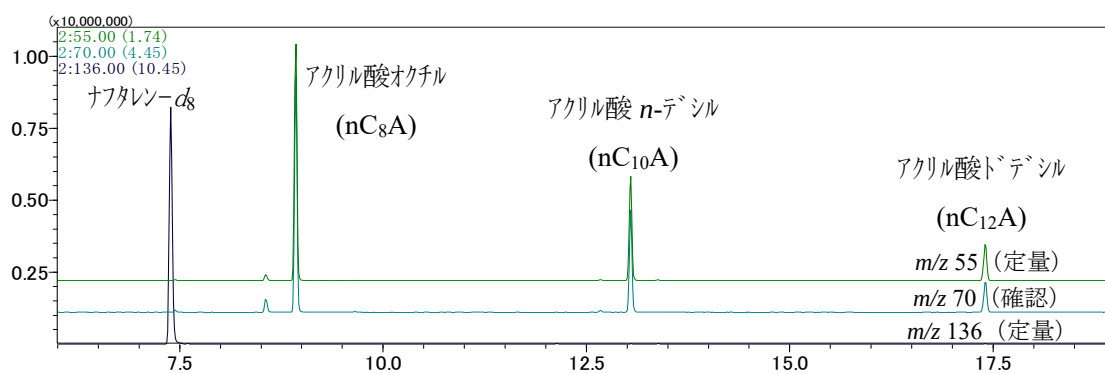


図 9 アクリル酸エステル類（アクリル酸オクチル、アクリル酸 n -デシル、アクリル酸ドデシル各 0.50 mg/L）標準液のスキャン測定時のクロマトグラム（内標準物質 10 ng/mL）

〔マススペクトル〕

対象物質のマススペクトルを図 10、内標準物質のマススペクトルを図 11 に示す。

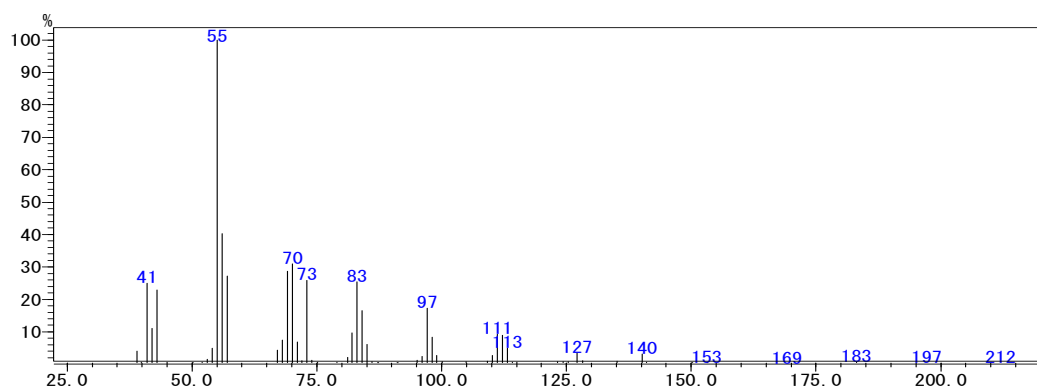


図 10 アクリル酸 n -デシルのマススペクトル

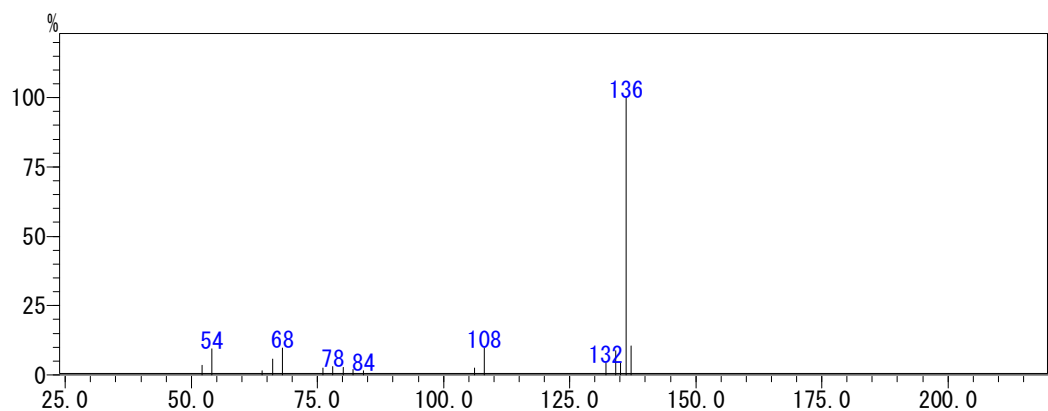


図 11 ナフタレン- d_8 のマススペクトル

〔操作ブランク〕

操作ブランク試験の結果は MDL 以下($< 0.017 \mu\text{g/L}$)であった (表 6)。操作ブランクのクロマトグラムを図 12 に示す。

表 6 操作ブランク試験結果

物質名	試験数	検出濃度 ($\mu\text{g/L}$)
アクリル酸 <i>n</i> -デシル	3	< 0.017

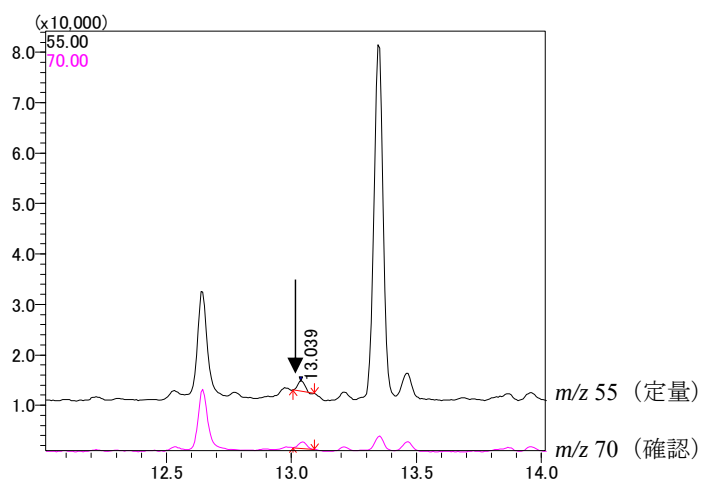


図 12 操作ブランク試験 (南アルプスの天然水) のクロマトグラム

〔添加回収試験〕

海水、湖水、河川水への標準物質添加回収試験結果を表 7 に、無添加及び 0.50 ng 添加のクロマトグラムを図 13-1～図 13-6 に示す。

表 7 添加回収試験結果

物質名	試料	試料量 (mL)	添加量 (ng)	試験数	試料濃度 ($\mu\text{g/L}$)	回収率 (%)	変動係数 (%)
アクリル酸 <i>n</i> -デシル	海水	10	0	2	< 0.017	—	—
		10	0.50	7	0.055	109	6.7
	湖水	10	0	2	< 0.017	—	—
		10	0.50	7	0.049	98	8.9
	河川水	10	0	2	< 0.017	—	—
		10	0.50	7	0.052	104	7.2

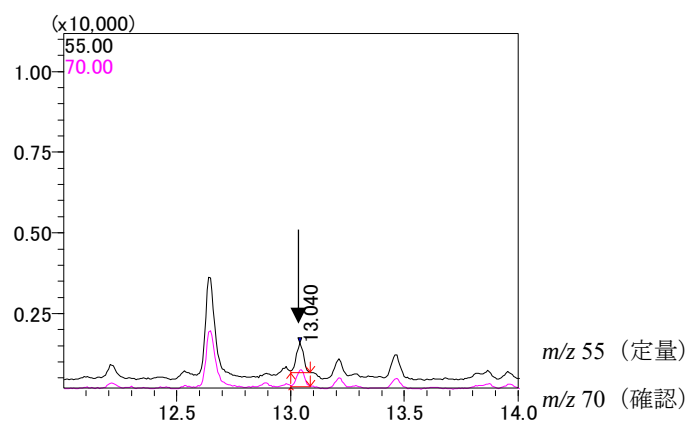


図 13-1 添加回収試験（海水、無添加）のクロマトグラム

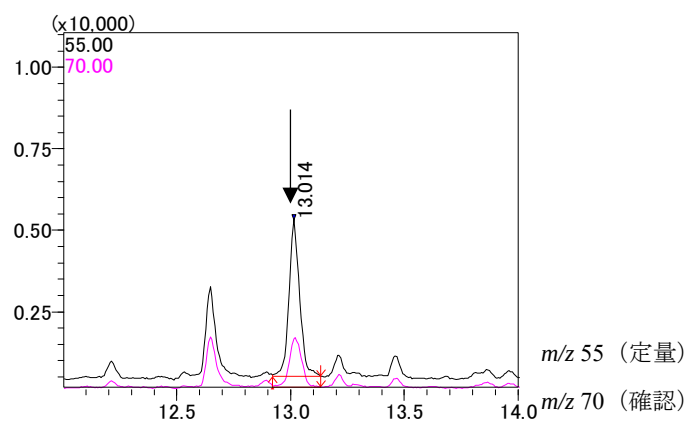


図 13-2 添加回収試験（海水、0.50 ng 添加）のクロマトグラム

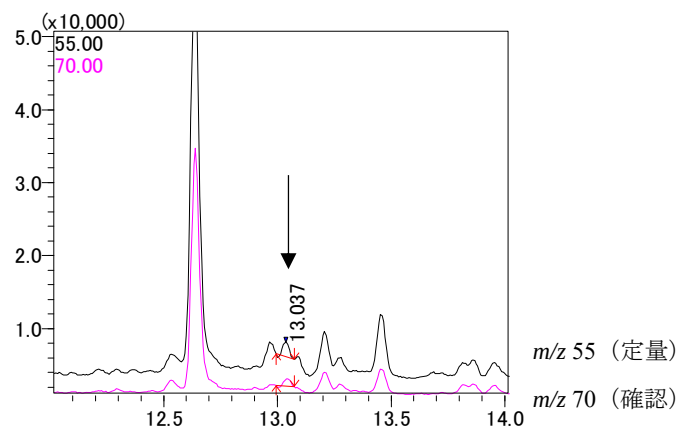


図 13-3 添加回収試験（湖水、無添加）のクロマトグラム

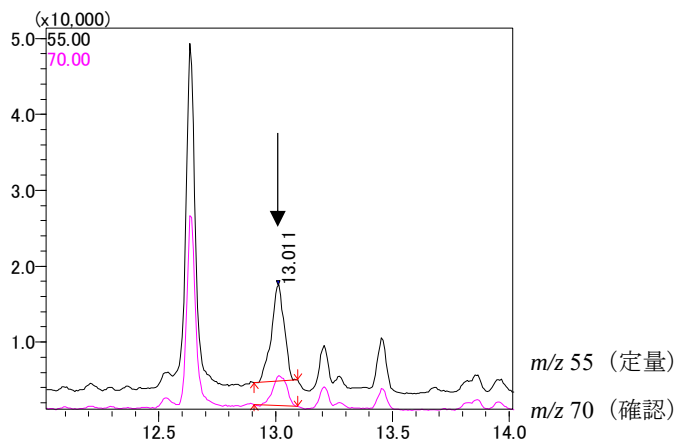


図 13-4 添加回収試験（湖水、0.50 ng 添加）のクロマトグラム

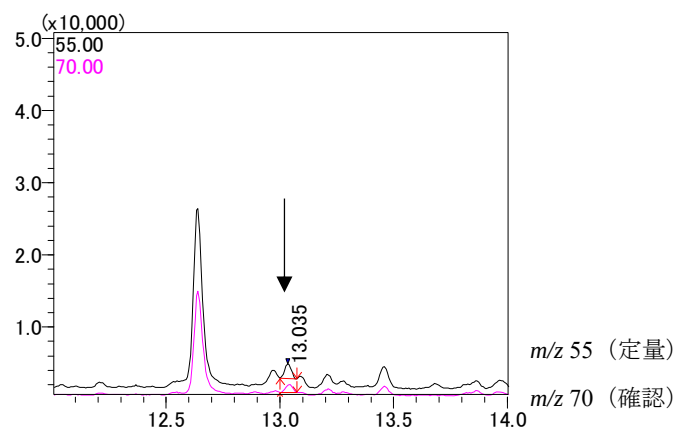


図 13-5 添加回収試験（河川水、無添加）のクロマトグラム

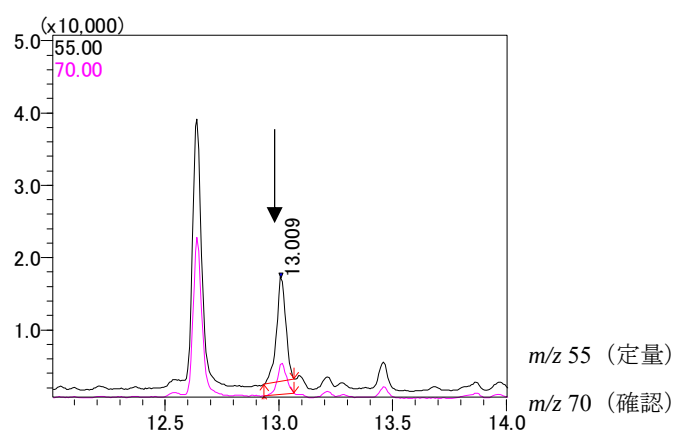


図 13-6 添加回収試験（河川水、0.50 ng 添加）のクロマトグラム

〔分解性スクリーニング試験〕

分解性スクリーニング試験結果を表 8 に示す。pH 5 及び pH7 の暗所では、1 時間放置後及び 7 日間放置後に安定であった。一方、pH 7 の明所及び pH 9 の暗所では、7 日間放置後の残存率は 70%を下回った。

表 8 分解性スクリーニング試験結果

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
5	2	0.20	0.19 (93)	0.15 (77)	—
7	2	0.20	0.17 (86)	0.17 (87)	0.11 (53)
9	2	0.20	0.16 (78)	0.12 (59)	—

* 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 9 に示す。海水、湖水及び河川水の保存性試験は、アクリル酸 *n*-デシルを添加した各試料を 100 mL ふらん瓶に気泡が入らないように密栓し、冷暗所に保存した。保存性を高める目的で、1.0 g/L 相当のアスコルビン酸を添加して測定した。

表 9 保存性試験結果

試料	アスコルビン酸添加	調製濃度 ($\mu\text{g/L}$)	検出濃度 ($\mu\text{g/L}$) (残存率 (%) ^{*1})		
			当日	7 日後	31 日後
海水	無	0.20	0.16 (82)	0.01 (7)	—
	有	0.20	0.17 (87)	0.23 (115)	—
湖水	無	0.20	0.15 (73)	0.01 (6)	—
	有	0.20	0.20 (101)	0.15 (75)	—
標準液 ^{*2}	—	0.20	0.20 (101)	—	0.19 (96)

*1：残存率 (%)：調製濃度に対する検出濃度の割合

*2：メタノール溶液

〔環境試料の分析〕

海水、湖水及び河川水の環境試料からは、対象物質は検出されなかった（クロマトグラムは図 13-1、図 13-3 及び図 13-5 参照）。

【評価】

環境水中のアクリル *n*-酸デシルの定量分析法を開発した。本分析法で用いたヘッドスペース-GC/MS による分析対象物質の IDL は、0.011 ng/mL であり、0.05～0.5 ng/mL の濃度範囲で直線性($r^2>0.999$)が確認された。また、本法の MDL 及び MQL は 0.017 $\mu\text{g/L}$ 及び 0.044 $\mu\text{g/L}$ であり、操作ブランクは不検出である。

また、海水、湖水及び河川水を用いた添加回収試験（添加量 0.50 ng）における回収率は、それぞれ 109%、98%及び 104%であった（変動係数は 6.7%、8.9%及び 7.2%）。

以上の結果から本法は、0.05 $\mu\text{g/L}$ レベルの環境水中に含まれるアクリル酸 *n*-デシルの定量分析に適用可能であると判断される。なお、環境試料（海水、湖水及び河川水）から当該物質は検出されなかった。

【担当者連絡先】

所属先名称：長野県環境保全研究所 循環型社会部
 所属先住所：〒380-0944 長野県長野市安茂里米村 1978
 TEL：026-227-0391 FAX：026-224-3415
 担当者名：中山 隆、清水 健志
 E-mail：kanken-junkan@pref.nagano.lg.jp

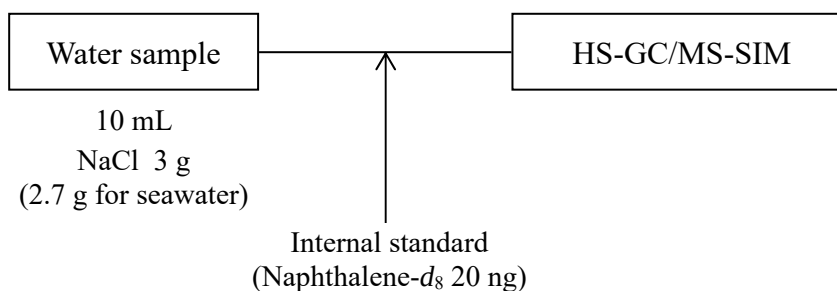
Decyl acrylate

This method provides procedures for the determination of decyl acrylate in water samples by gas chromatography/mass spectrometry equipped with a head-space auto sampler (HS-GC/MS).

Put 3 g of sodium chloride (2.7 g for seawater) in a vial and heat at 200°C for 2 hours. After 20 ng of naphthalene-*d*₈ as an internal standard are spiked into 10 mL of a water sample in a vial cooled to room temperature, the solution is analyzed by HS-GC/MS (SIM).

The analytes are determined in the selected-ion-monitoring mode. The method detection limit (MDL) and the quantification limit (MQL) are 0.017 µg/L and 0.044 µg/L, respectively. The average recovery (n=7) from sea, lake and river water samples spiked with 0.50 ng of standard was 109%, 98% and 104%, and the relative standard deviation was 6.7%, 8.9% and 7.2%, respectively.

Using this method, decyl acrylate was not detected in seawater (Naoetsu Port), lake water (Suwa Lake) and river water (Achi River).



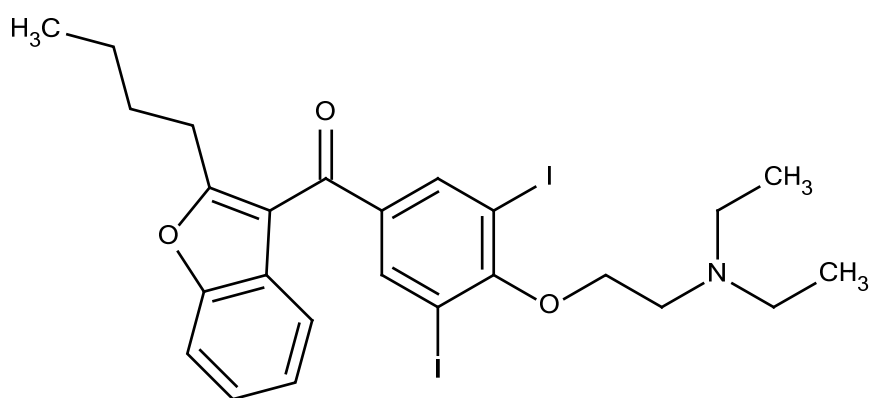
物質名	分析法フローチャート	備 考
アクリル <i>n</i> -酸デシル	<pre> graph LR A["水質試料 10 mL 塩化ナトリウム 3 g (海水は 2.7 g)"] -- "内標準添加 (ナフタリン-d8 20 ng)" --> B["HS-GC/MS-SIM"] </pre>	分析原理： ヘッドスペース- GC/MS-SIM 検出下限値： 【水質】 (μg/L) 0.017 分析条件： 機器 GC: 島津製作所製 GC2010 Plus MS: 島津製作所製 GCMS-QP2010 Ultra カラム GL Science Inc.製 InertCap 5MS/Sil (30 m × 0.25 mm, 0.50 μm)

アミオダロン

Amiodarone

IUPAC 名：(2-Butyl-1-benzofuran-3-yl){4-[2-(diethylamino)ethoxy]-3,5 - diiodophenyl}methanone

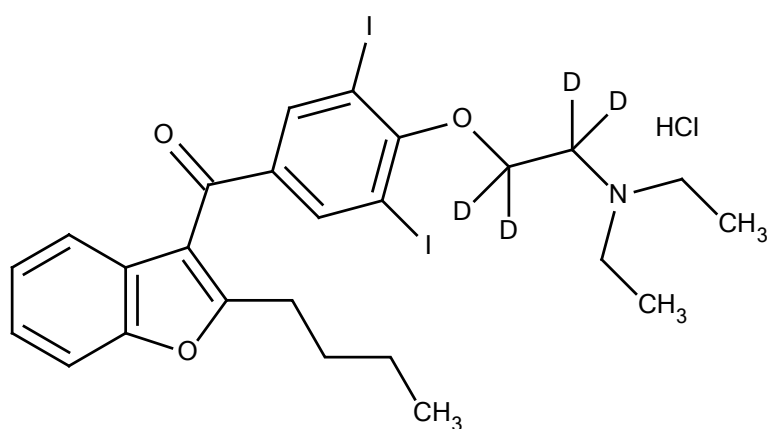
【対象物質の構造】



アミオダロン

CAS 番号：1951-25-3

分子式：C₂₅H₂₉I₂NO₃



アミオダロン-d₄ 塩酸塩

分子式：C₂₅H₂₆D₄ClI₂NO₃

【物理化学的性状】

分子量 (モノアイソト ピック質量)	融点 (°C)	沸点 (°C)	比重 (g/cm ³)	蒸気圧 (mmHg)	水溶解度 (mg/L)	log P _{ow}
645.312 (645.024)	161 (分解) ¹⁾	635.1 ±55.0 (推計値) ²⁾	1.6 ±0.1 (推計値) ²⁾	0.0±1.9 (25°C) ²⁾	4.8 ³⁾	8.89 (推計値) ²⁾

【毒性、用途等】

〔毒性〕⁵⁾

環境中運命	分解性 生物濃縮性	難分解性 低濃縮性
健康影響	急性毒性	経口 LD ₅₀ : > 3000 mg/kg (マウス) LD ₅₀ : > 3000 mg/kg (ラット) LD ₅₀ : > 3000 mg/kg (イヌ) 腹腔内 LD ₅₀ : 450 mg/kg (マウス) LD ₅₀ : 610 mg/kg (ラット) 静脈内 LD ₅₀ : 170 mg/kg (マウス雄) LD ₅₀ : 175 mg/kg (マウス雌) LD ₅₀ : 約 100 mg/kg (イヌ)

〔用途〕

医薬品（不整脈、心室細動、心室性頻拍、心不全（低心機能）又は肥大型心筋症に伴う心房細動）⁶⁾

出典：

- 1) Chemicals Inspection and Testing Institute. Japan Chemical Industry Ecology - Toxicology and Information Center. ISBN 4-89074-101-1 (1992)
- 2) Royal Society of Chemistry, ChemSpider. (online) 〈<http://www.chemspider.com>〉
- 3) Chemicals Inspection and Testing Institute. Japan Chemical Industry Ecology - Toxicology and Information Center. ISBN 4-89074-101-1 (1992)US EPA; Estimation Program Interface (EPI) Suite. Ver.3.11. June 10, 2003. Available from, as of April 27, 2004
- 4) US EPA; Estimation Program Interface (EPI) Suite. Ver.3.11. June 10, 2003. Available from, as of April 27, 2004
- 5) 医薬品インタビューフォーム：日本薬局方 アミオダロン塩酸塩錠
- 6) 独立行政法人医薬品医療機器総合機構ホームページ「医療用医薬品の添付文書情報(Pmda)」

§1 分析法

(1) 分析法の概要

水質試料にギ酸及びサロゲート内標準を添加した後、試料水の全量を固相カートリッジに通水して対象物質を捕集する。更に、試料容器の洗浄液（精製水、メタノール/精製水混合液）を固相カートリッジに通水して捕集する。1%ギ酸メタノールで溶出した後、定容してLC/MS/MS-SRM(ESI-Positive)で測定する。

なお、本分析法では、LC/MS/MS-SRM(ESI-Positive)によりアミオダロン $[M+H]^+$ が検出されるが、アミオダロン塩酸塩としての値で環境濃度を評価する。

(2) 試薬・器具

【試薬】（注1）

アミオダロン塩酸塩	: Toronto Research Chemicals 製（純度 99%）
アミオダロン- d_4 塩酸塩	: Toronto Research Chemicals 製（純度 99%）
メタノール	: 富士フイルム和光純薬製 LC/MS 用
ギ酸	: 富士フイルム和光純薬製 LC/MS 用
ギ酸アンモニウム	: 富士フイルム和光純薬製 高速液体クロマトグラフ用
精製水	: Milli-Q + LC-Pak（メルクミリポア製）（注2）
固相カートリッジ	: Waters 製 Sep-Pak tC2

【標準液の調製】

〔標準原液〕

アミオダロン塩酸塩 10.0 mg を正確に量り取り、メタノールで 10 mL として 1.0 mg/mL（塩酸塩として）の標準原液を調製する。

〔サロゲート内標準液〕

アミオダロン- d_4 塩酸塩 1.00 mg を正確に量り取り、メタノールで 10 mL として 100 $\mu\text{g/mL}$ （塩酸塩として）のサロゲート内標準液原液を調製する。これをメタノールで正確に希釈し、0.10 $\mu\text{g/mL}$ （塩酸塩として）のサロゲート内標準液を調製する。

〔検量線用標準液〕

標準原液をメタノールで順次希釈し、塩酸塩として 0.050～10 ng/mL の検量線用標準液を調製する。各濃度の検量線用標準液には、サロゲート内標準の濃度が 1.0 ng/mL（塩酸塩として）となるように添加する。

【器具】（注 3）、（注 4）

メスフラスコ（10 mL、20 mL、100 mL）、ビーカー（200 mL）、プラスチック遠心管（15 mL）、注射筒（10 mL）、マイクロシリンジ、LC オートサンプラー用バイアル瓶

(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」（最新版）に従う。試料はメタノールで洗浄した 100 mL ガラス容器に採取後、ギ酸 20 μ L を添加して試験操作を行う。試料水を保存する場合は、水質試料 100 mL につきギ酸 20 μ L を添加して冷暗所に保存する。採取した試料水全量を前処理に供する。試料量(mL)は試料採取容器の採取前後の重量差と比重（河川水は 1.00 g/mL、塩化ナトリウムを添加した河川水(3.4% NaCl) 及び海水は 1.03 g/mL とする）から求める。

【試料の前処理及び試験液の調製】

水質試料 100 mL にギ酸 20 μ L（試料保存時に添加している場合は、ギ酸を添加しない）及び 0.10 μ g/mL サロゲート内標準液 100 μ L を添加し、混和後、予めコンディショニングした（注 5）固相カートリッジ(Sep-Pak tC2)に 10 mL/min の流速で試料水の全量を通水する。試料容器を精製水 10 mL で洗浄し、固相カートリッジに通水する。さらに試料容器をメタノール 10 mL で洗浄し、このメタノール洗液に精製水 10 mL を加えた後、固相カートリッジに通水して、対象物質を捕集する（注 6）。注射筒を用いて固相カートリッジに空気を 10 mL 通気して、固相カートリッジの溶媒を除去した後、1%ギ酸メタノール溶液 10 mL で溶出し、定容して試験液とする。

【空試験液の調製】

試料水と同量の精製水を用い、**【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】（注 7）

〔LC/MS測定条件（Agilent製Agilent 1200/Agilent 6460）〕

〔LC 条件〕

LC 機種 : Agilent 1200
 カラム : Agilent 製 ZORBAX Eclipse Plus C18
 100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm
 移動相 : A : 2 mmol/L ギ酸アンモニウム 0.1%ギ酸水溶液
 B : 2 mmol/L ギ酸アンモニウム 0.1%ギ酸メタノール
 0 → 5 min A:B = 30:70
 5 → 6 min A: 30→20 B: 70→80 linear gradient
 6 → 9 min A:B = 20:80
 9 → 10 min A: 20→5 B: 80→95 linear gradient
 10 → 13 min A:B = 5:95
 13 → 14 min A: 5→30 B: 95→70 linear gradient
 14 → 18 min A:B = 30:70
 流量 : 0.2 mL/min
 カラム温度 : 40℃
 注入量 : 2 μL

[MS 条件]

MS 機種	: Agilent 6490 Jet Stream		
ガス温度	: 300°C		
ガス流量	: 10 L/min		
ネブライザーガス圧力	: 60 psi		
シースガス温度	: 350°C		
シースガス流量	: 12 L/min		
キャピラリー電圧	: 3500 V		
イオン化法	: ESI-Positive (イオンソース Agilent Jet Stream)		
フラグメンター電圧	: 120 V		
コリジョン電圧	: 20 V		
測定モード	: SRM		
モニターイオン	: アミオダロン	m/z 646.0 > 58.2	(定量用)
		m/z 646.0 > 100.2	(確認用)
	: アミオダロン- d_4	m/z 650.1 > 58.2	(定量用)
		m/z 650.1 > 104.2	(確認用)

[LC/MS 測定条件 (AB Sciex 製 ExionLC /X500R QTOF)]

[LC 条件]

LC 機種 : AB Sciex ExionLC
カラム : Agilent 製 ZORBAX Eclipse Plus C18
100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm

移動相 : A : 2 mmol/L ギ酸アンモニウム 0.1%ギ酸水溶液
B : 2 mmol/L ギ酸アンモニウム 0.1%ギ酸メタノール
0 → 7 min A:B = 40:60
7 → 8 min A: 40 → 5 B: 60 → 95 linear gradient
8 → 11 min A:B = 5:95
11 → 12 min A: 5 → 40 B: 95 → 60 linear gradient
12 → 15 min A:B = 40:60

流量 : 0.2 mL/min

カラム温度 : 40°C

注入量 : 10 µL

シール洗浄液 : メタノール

シリンジ洗浄液 : メタノール

「MS 条件」

MS 機種	: AB Sciex X500R QTOF
イオン化法	: ESI-Positive
ガス温度(TEM)	: 500°C
カーテンガス(CUR)	: 25 psi
イオンスプレー電圧 (IS)	: 5500 V
ネブライザーガス (GS1)	: 60 psi
ターボガス (GS2)	: 50 psi
シースガス流量	: 12 L/min
コリジョンガス (CAD)	: 7
測定モード	: SRM
ドリフト電圧 (DP)	: 120 V
コリジョン電圧 (CE)	: 60 V
モニターイオン	: アミオダロン m/z 646.0 > 58.2 (定量用)
	m/z 646.0 > 100.2 (確認用)
	: アミオダロン- d_4 m/z 650.1 > 58.2 (定量用)
	m/z 650.1 > 104.2 (確認用)

〔検量線〕 (注 8)

検量線用標準液 2 μ L を LC/MS/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〕 (注8)

試験液 2 μ L を LC/MS/MS に注入し、対象物質とサロゲート内標準のピーク面

積の比を検量線に照らして定量する。

[濃度の算出]

試料中のアミオダロン塩酸塩濃度 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に対する対象物質の濃度比

Q : 試料中に添加したサロゲート内標準の量 (ng)

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

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。

$$Q = 10 \text{ (ng)}$$

(= 添加するサロゲート内標準の濃度 (0.10 ng/μL) × 添加したサロゲート内標準の容量 (100 μL))

$$V = 0.10 \text{ (L)}$$

即ち、

$$C = R \times 100 \text{ (ng/L)}$$

である。

なお、アミオダロン濃度 C' (ng/L) を求める場合は、次式により算出する。

$$C' = C \times M_A/M_B$$

M_A : アミオダロンの分子量 (645.3)

M_B : アミオダロン塩酸塩の分子量 (681.8)

〔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 9)。

表 1 IDL の算出結果				
物質名	IDL (pg)	試料量 (mL)	最終液量 (mL)	IDL 試料換算値 ($\mu\text{g/L}$)
アミオダロン (Agilent 6460)	0.019	100	10	0.00097
アミオダロン (AB Sciex X500R QTOF)	0.52	100	10	0.0052

〔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 10)。

表 2 MDL 及び MQL の算出結果					
物質名	試料	試料量 (mL)	最終液量 (mL)	MDL ($\mu\text{g/L}$)	MQL ($\mu\text{g/L}$)
アミオダロン (AB Sciex X500R QTOF)	河川水	100	10	0.0035	0.0091

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、これを推奨するわけではなく、これと同等以上の品質、性能のものを用いても問題ない。
- (注2) LC-Pak (メルクミリポア製) には、C18逆相シリカゲルが充填されており、MilliQ水を更に精製し、有機不純物を除去することを目的として使用した。
- (注3) JIS R 3505に記載のクラスAのガラス器具を使用する。
- (注4) マイクロシリンジ及び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5) 固相カートリッジは、使用直前にメタノール5 mL、精製水5 mLの順でコンディショニングする。
- (注6) 精製水10 mLによる固相洗浄は固相から塩を取り除く目的で、メタノール10 mLによる容器洗浄は採取容器に吸着したアミオダロンを回収する目的で行う。ただし、メタノール100%のまま固相に通水すると、対象物質が一部溶出してしまうので、精製水でメタノール50%に希釈してから通水することとした。
- (注7) LC/MS/MSの条件は、本測定に使用した機種 (Agilent製Agilent 1200/Agilent 6460及びAB Sciex製 ExionLC /X500R QTOF) 固有のものである。検討当初Agilent製装置を使用した が、AB Sciex製装置に変更したため、検量線、操作ブランク、マススペクトル及びクロマトグラムはAgilent製Agilent 1200/Agilent 6460で測定したデータを記載した。その他のデータについてはAB Sciex製 ExionLC /X500R QTOFで測定した。
- (注8) 本分析法では、LC/MS/MS-SRM(ESI-Positive)によりアミオダロン $[M+H]^+$ が検出されるが、一般にアミオダロン塩酸塩が医薬品として流通していることや、毒性試験の結果がアミオダロン塩酸塩としての質量換算値によるものであることなどを踏まえ、アミオダロン塩酸塩の重量に応じて調製した標準液により検量線を作成し、アミオダロン塩酸塩での環境濃度を測定する。

(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)に従って、表3 (Agilent 6460による) 及び表4 (AB Sciex X500R QTOFによる) のとおり算出した。また、図1及び図2にIDL測定時のクロマトグラムを示す。

表3 IDLの算出結果*¹ (Agilent 6460) (詳細)

物質名	アミオダロン
試料量 (mL)	100
最終液量 (mL)	10
注入液濃度 (ng/mL)	0.050
注入量 (pg)	0.10
装置注入量 (μL)	2.0
結果 1 (pg)	0.104
結果 2 (pg)	0.0980
結果 3 (pg)	0.0950
結果 4 (pg)	0.0976
結果 5 (pg)	0.0993
結果 6 (pg)	0.110
結果 7 (pg)	0.0993
平均値 (pg)	0.1017
標準偏差 (σ _{n-1}) (pg)	0.00500
IDL (pg)* ²	0.019
IDL 試料換算値 (μg/L)	0.00097
S/N 比	8.8
CV (%)	5.0

*1 : 算出結果は塩酸塩としての値

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

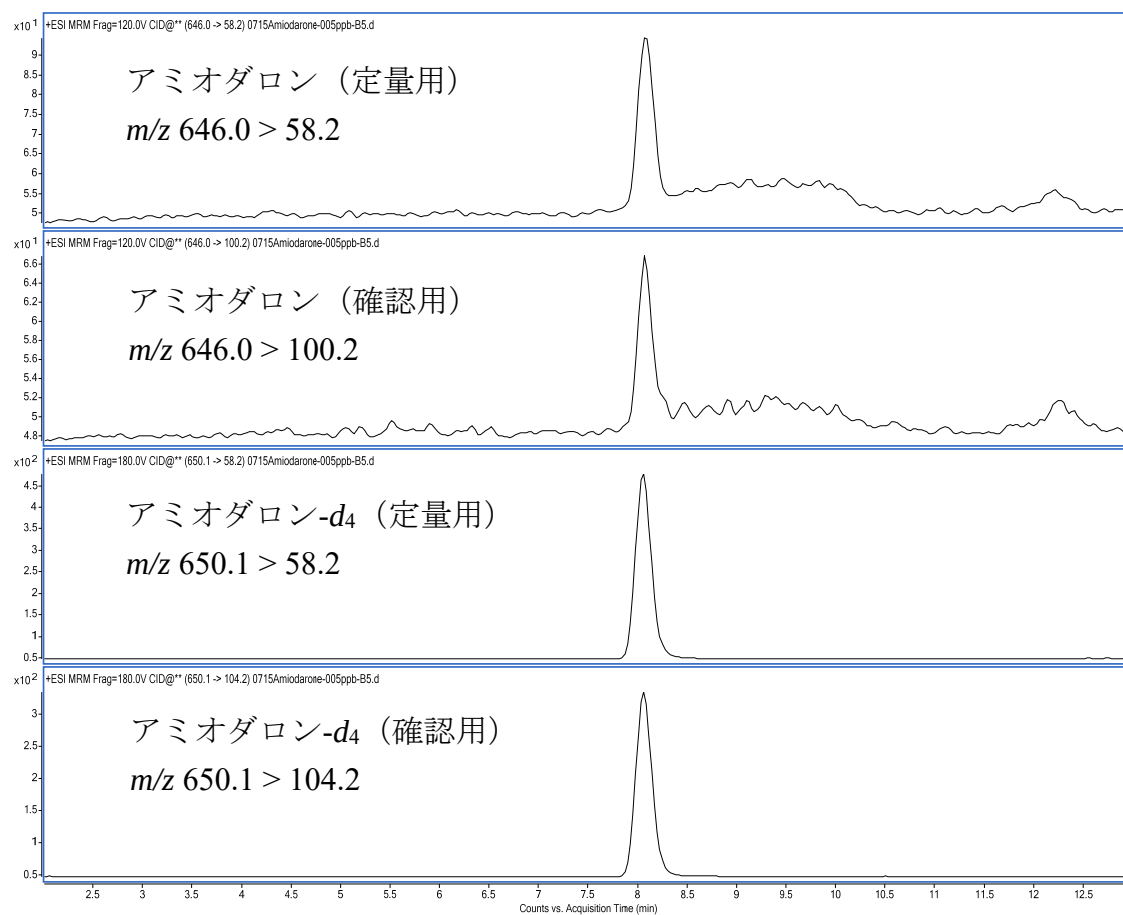


図1 IDL 測定時のクロマトグラム(Agilent 6460)
(アミオダロン塩酸塩：0.050 ng/mL、アミオダロン塩酸塩- d_4 ：1.0 ng/mL)

表 4 IDL の算出結果*¹ (AB Sciex X500R QTOF) (詳細)

物質名	アミオダロン
試料量 (mL)	100
最終液量 (mL)	10
注入液濃度 (ng/mL)	0.10
注入量 (pg)	1.0
装置注入量 (μL)	10
結果 1 (pg)	0.973
結果 2 (pg)	1.016
結果 3 (pg)	0.929
結果 4 (pg)	0.968
結果 5 (pg)	1.121
結果 6 (pg)	1.059
結果 7 (pg)	1.323
平均値 (pg)	1.056
標準偏差 (σ _{n-1}) (pg)	0.134
IDL (pg)* ²	0.52
IDL 試料換算値 (μg/L)	0.0052
S/N 比	22
CV (%)	12.7

*1 : 算出結果は塩酸塩としての値

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

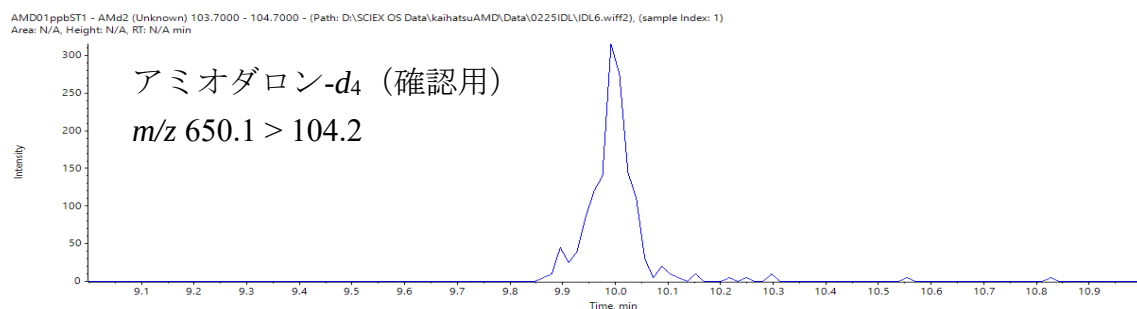
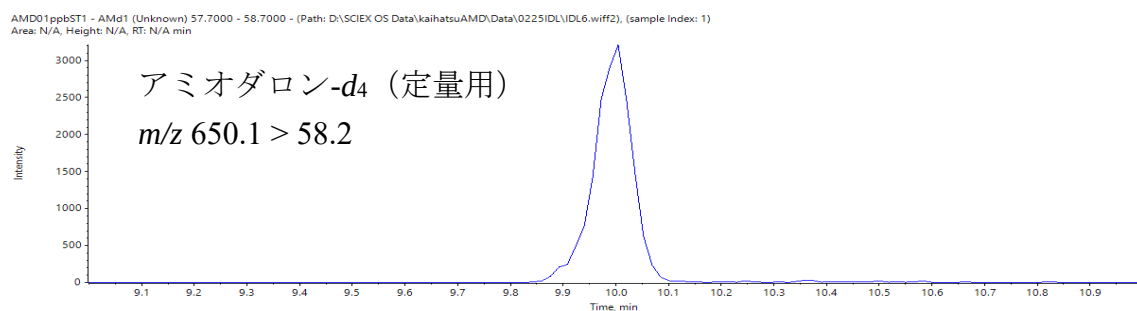
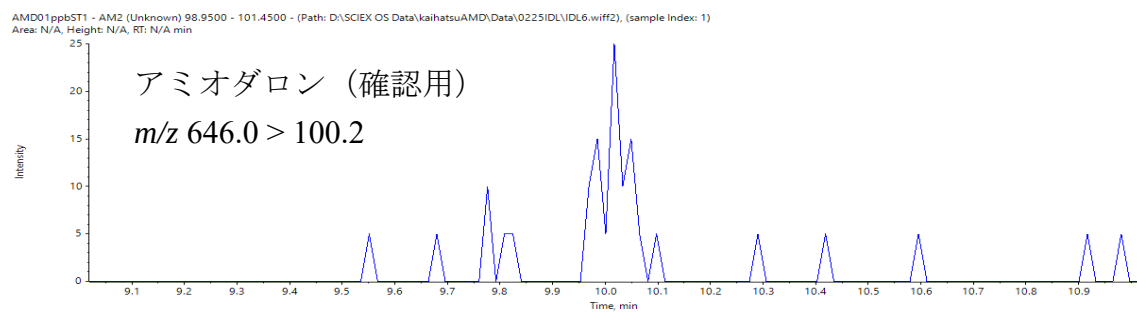
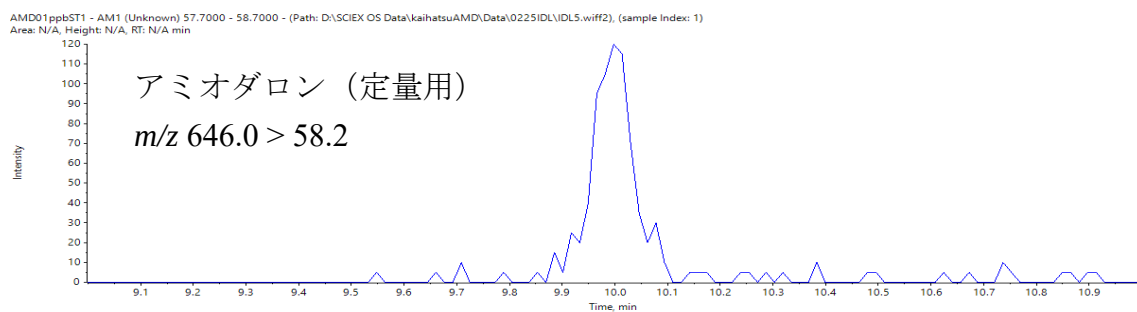


図2 IDL 測定時のクロマトグラム(AB Sciex X500R QTOF)
(アミオダロン塩酸塩：0.050 ng/mL、アミオダロン塩酸塩- d_4 ：2.0 ng/mL)

(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、表 5 のとおり算出した。また、図 2 に MDL 測定時のクロマトグラムを示す。

表 5 アミオダロンの MDL 及び MQL の算出結果 (河川水)
(AB Sciex X500R QTOF) (詳細) *1

対象物質名	アミオダロン	補正後 回収率(%)	サロゲート 回収率(%)
試料	河川水 (豊沢川)	-	-
試料量 (L)	0.10	-	-
標準添加量 (ng)	2.0	-	-
試料換算濃度 (ng/L)	20	-	-
最終液量 (mL)	10	-	-
注入液濃度 (ng/mL)	0.20	-	-
注入量 (μL)	2.0	-	-
操作ブランク平均 (ng/L) *2	< 3.5	-	94
無添加平均 (ng/L) *3	< 3.5	-	76
結果 1 (ng/L)	19.3	96	68
結果 2 (ng/L)	20.3	102	82
結果 3 (ng/L)	19.3	96	85
結果 4 (ng/L)	19.6	98	86
結果 5 (ng/L)	20.9	104	86
結果 6 (ng/L)	18.7	93	91
結果 7 (ng/L)	18.2	91	85
平均値 (ng/L)	19.50	97	83.3
標準偏差 (ng/L)	0.914		
MDL (ng/L) *4	3.5		
MQL (ng/L) *5	9.1		
S/N	402		
CV (%)	4.7		

*1 : 定量結果の濃度はサロゲート補正後の値、また塩酸塩としての値

*2 : 空試験液を測定した値の平均値 (n=2)

*3 : 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)

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

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

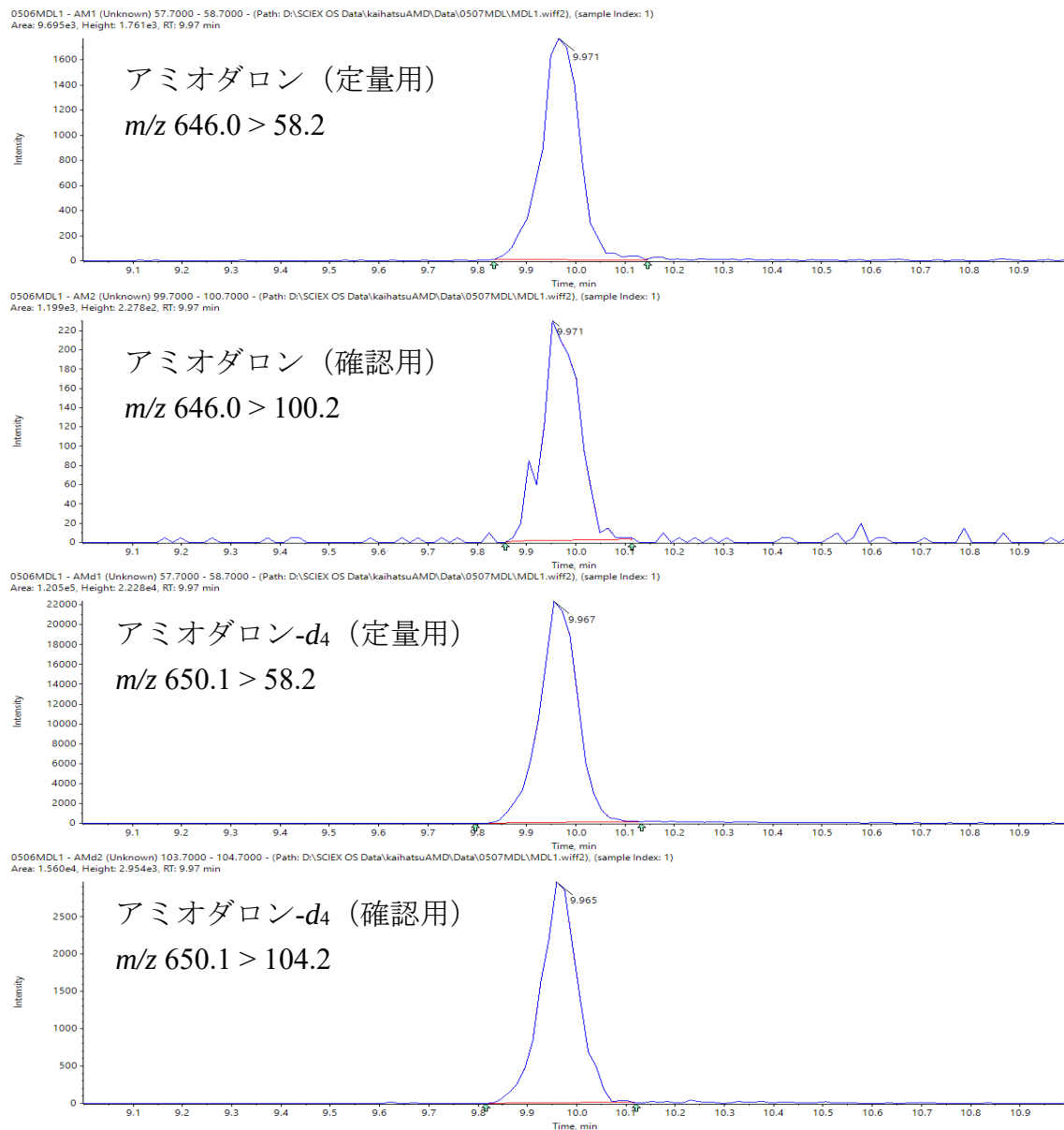


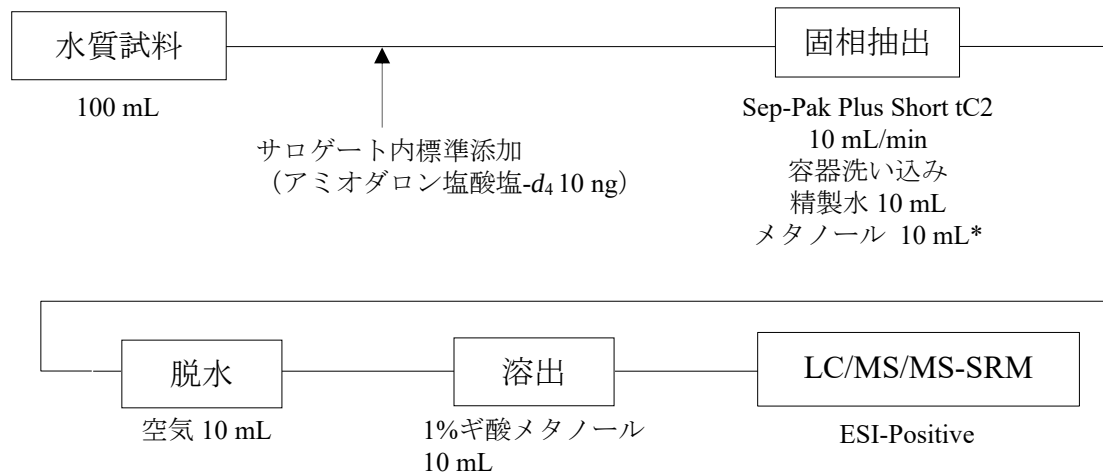
図3 MDL 測定時のクロマトグラム
(アミオダロン塩酸塩 : 0.20 ng/mL、アミオダロン塩酸塩- d_4 : 1.0 ng/mL)

§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。



*：洗い込みに使用したメタノールは精製水 10 mL で希釈し、固相に通水する。

図4 分析法のフローチャート

〔検量線〕

検量線を図5-1～図5-2に、検量線作成用データを表6に示す。

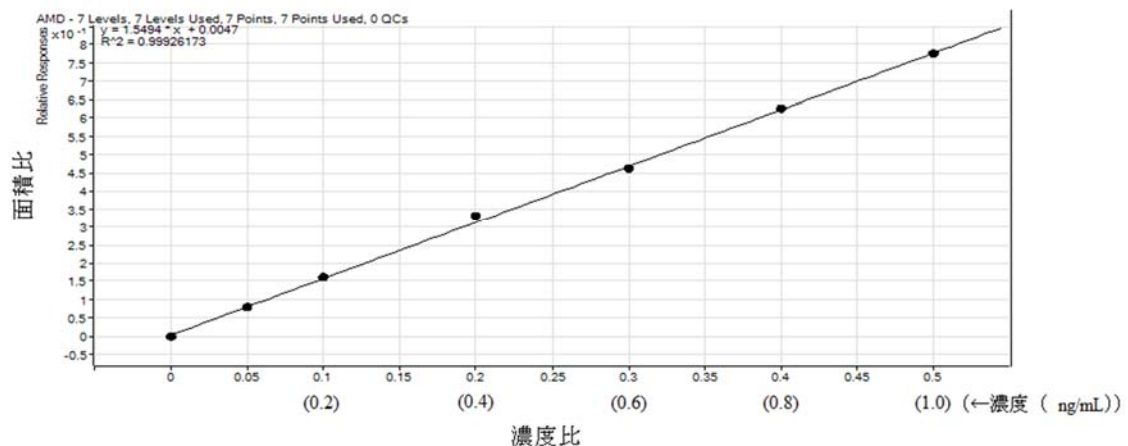


図5-1 アミオダロン塩酸塩の低濃度検量線
(0.10～1.0 ng/mL、サロゲート内標準：1.0 ng/mL (塩酸塩として))

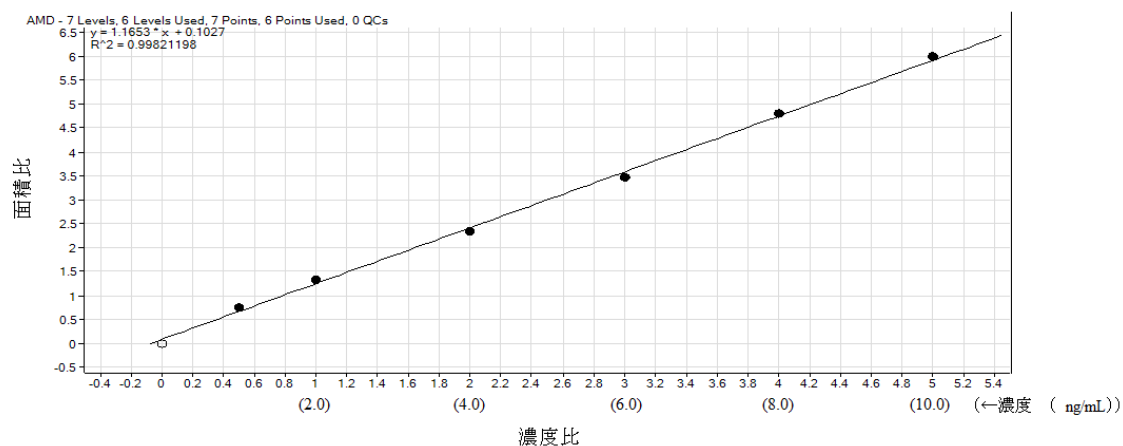


図 5-2 アミオダロン塩酸塩の高濃度検量線
 (1.0～10 ng/mL、サロゲート内標準：1.0 ng/mL (塩酸塩として))

表 6 アミオダロン塩酸塩の検量線作成用データ

標準液 濃度 (ng/mL)	濃度比 (C_s/C_{is}^*)	応答値		応答比 (A_s/A_{is})
		アミオダロン塩酸塩 (A_s) m/z 646.0 > 58.2	アミオダロン塩酸塩- d_4 (A_{is}) m/z 650.1 > 58.2	
0.10	0.10	354	4551	0.0778
0.20	0.20	709	4419	0.160
0.40	0.40	1451	4388	0.331
0.60	0.60	2151	4640	0.464
0.80	0.80	2824	4504	0.627
1.0	1.0	3671	4929	0.745
2.0	2.0	6460	4874	1.32
4.0	4.0	11906	5092	2.34
6.0	6.0	17468	5027	3.47
8.0	8.0	23008	4791	4.80
10	10	29172	4866	6.00

* : サロゲート内標準：1.0 ng/mL (塩酸塩として)

〔クロマトグラム〕

アミオダロン塩酸塩及びアミオダロン塩酸塩- d_4 の標準液のクロマトグラムを図 6 に示す。

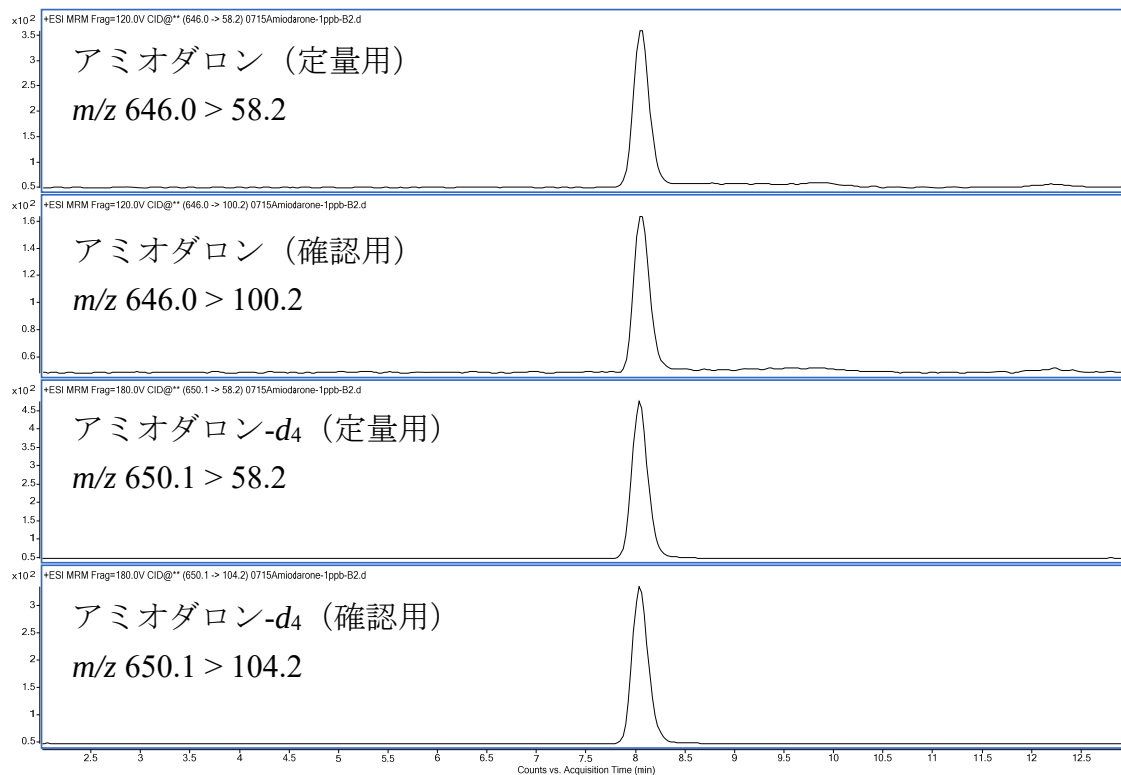


図 6 検量線用標準液のクロマトグラム
(アミオダロン塩酸塩 1.0 $\mu\text{g/mL}$ 、アミオダロン塩酸塩- d_4 1.0 $\mu\text{g/mL}$)

〔マススペクトル〕

アミオダロン塩酸塩及びアミオダロン- d_4 塩酸塩のマススペクトル及びプレカーサーイオンに対するプロダクトイオンをそれぞれ図 7-1～図 7-2 に示す。

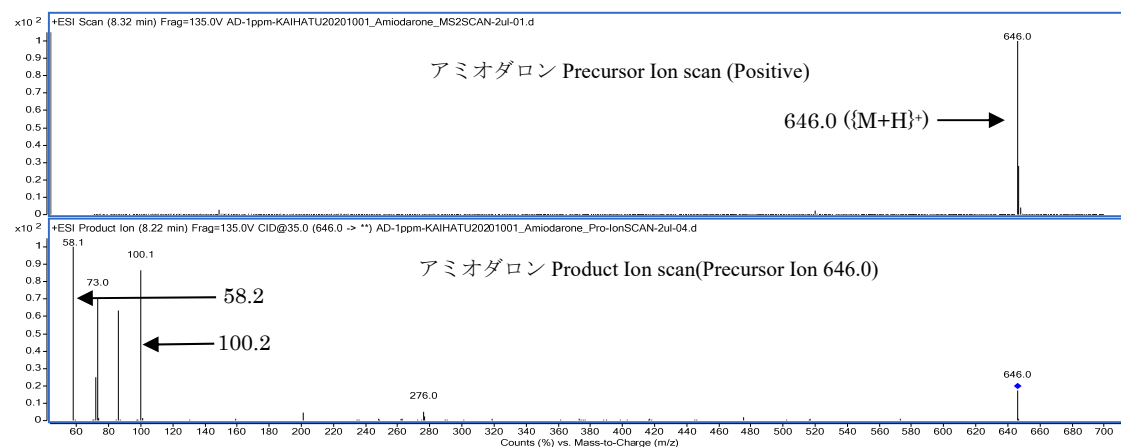


図 7-1 アミオダロン塩酸塩マススペクトル（上図）及びプレカーサーイオン (m/z 646.0) に対するプロダクトイオン（下図）

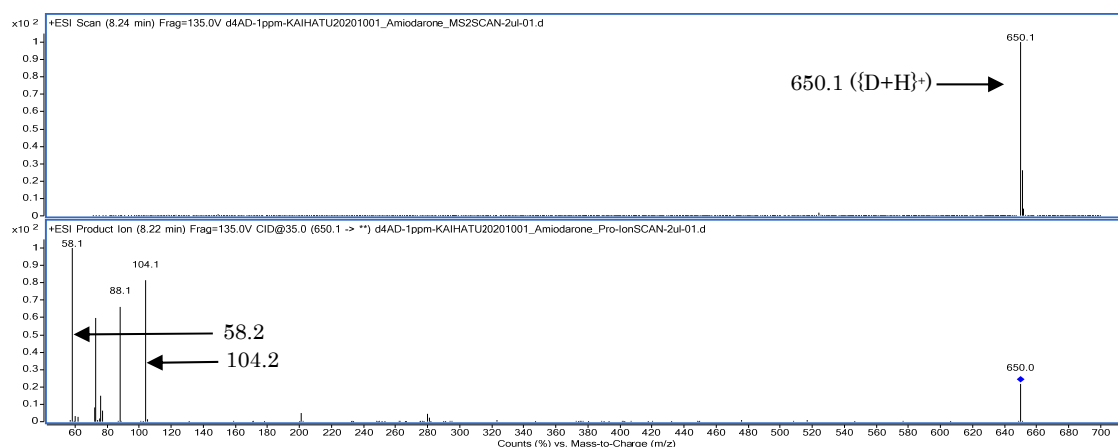


図 7-2 アミオダロン- d_4 塩酸塩マススペクトル（上図）及びプレカーサーイオン(m/z 650.1)に対するプロダクトイオン（下図）

〔操作ブランク試験〕

操作ブランク測定時のクロマトグラムを図 8 に示す。操作ブランクにもアミオダロンのピークみられたが MDL 未満であった。

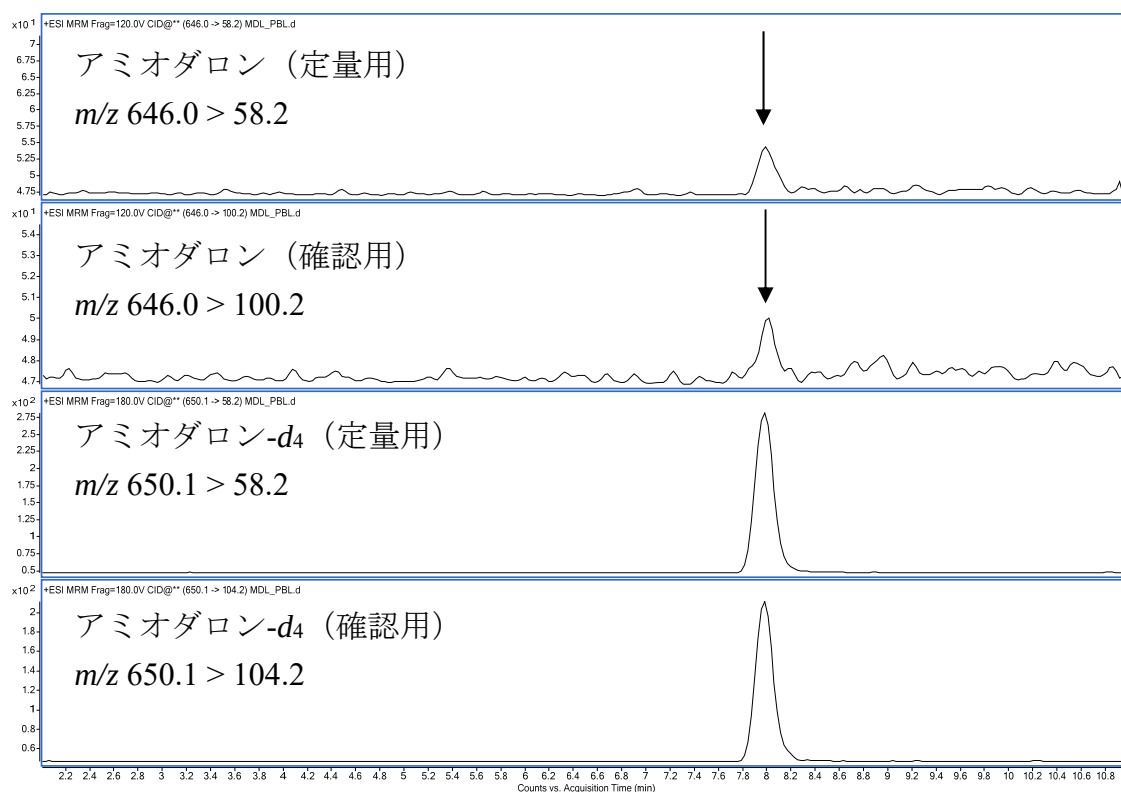


図 8 操作ブランクのクロマトグラム

〔添加回収試験〕

精製水、河川水（豊沢川）及び海水（釜石湾）への添加回収試験結果を表7、クロマトグラムを図9～図12に示す。

表7 添加回収試験結果

物質名	試料名	試料量 (L)	添加量 (ng)	最終液量 (mL)	試験数	検出濃度* (ng/L)	回収率* (%)	変動係数 (%)	サロゲート 回収率 (%)
アミオ ダロン	精製水	0.10	0	10	2	<3.5	-	-	85
		0.10	2.0	10	5	19.6	98	1.9	75
	河川水	0.10	0	10	2	<3.5	-	-	89
		0.10	2.0	10	5	20.0	99	8.1	87
	海水	0.10	0	10	2	<3.5	-	-	77
		0.10	2.0	10	5	19.1	96	15	72

*：検出濃度及び回収率はサロゲート法により補正した値、また塩酸塩としての値

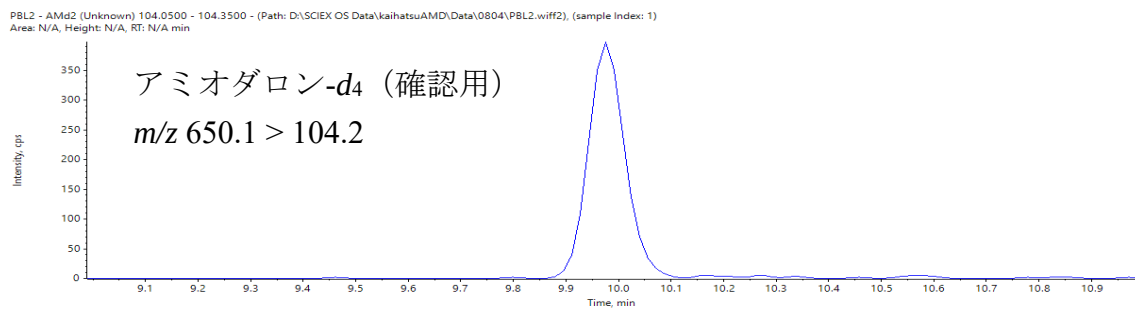
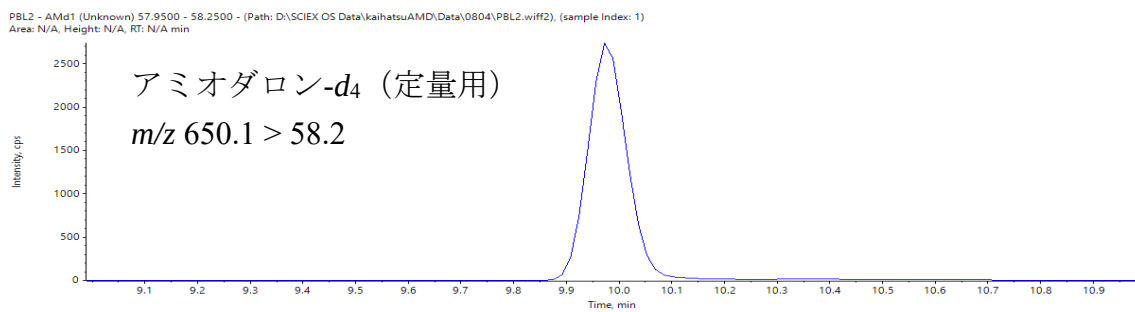
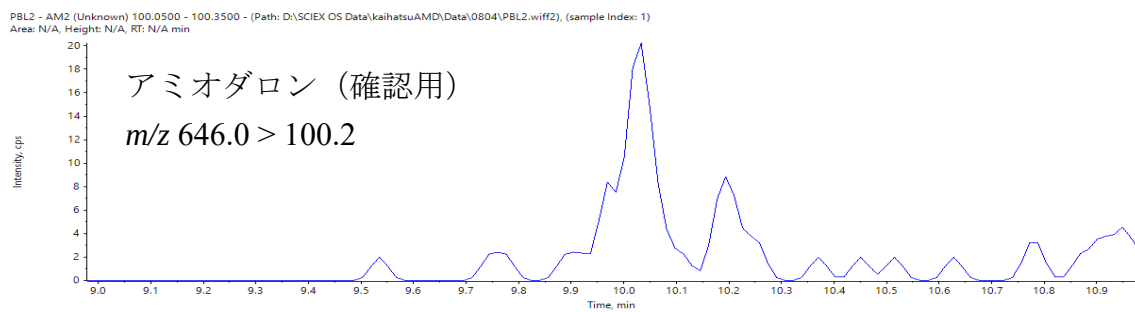
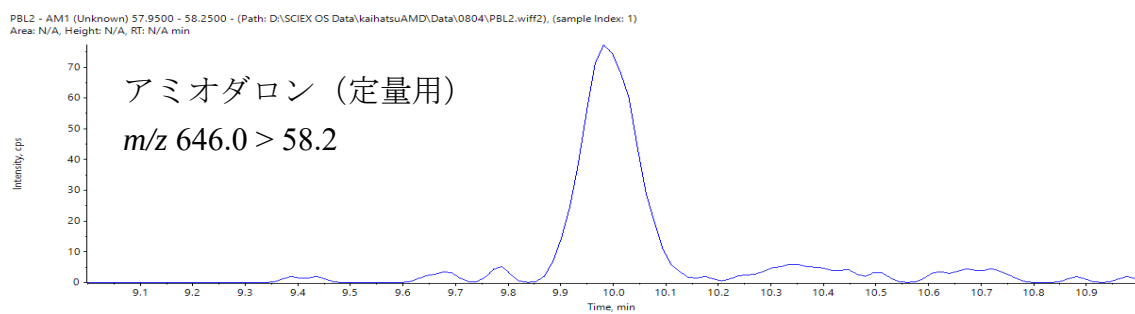


図9 河川水（無添加）の添加回収試験のクロマトグラム

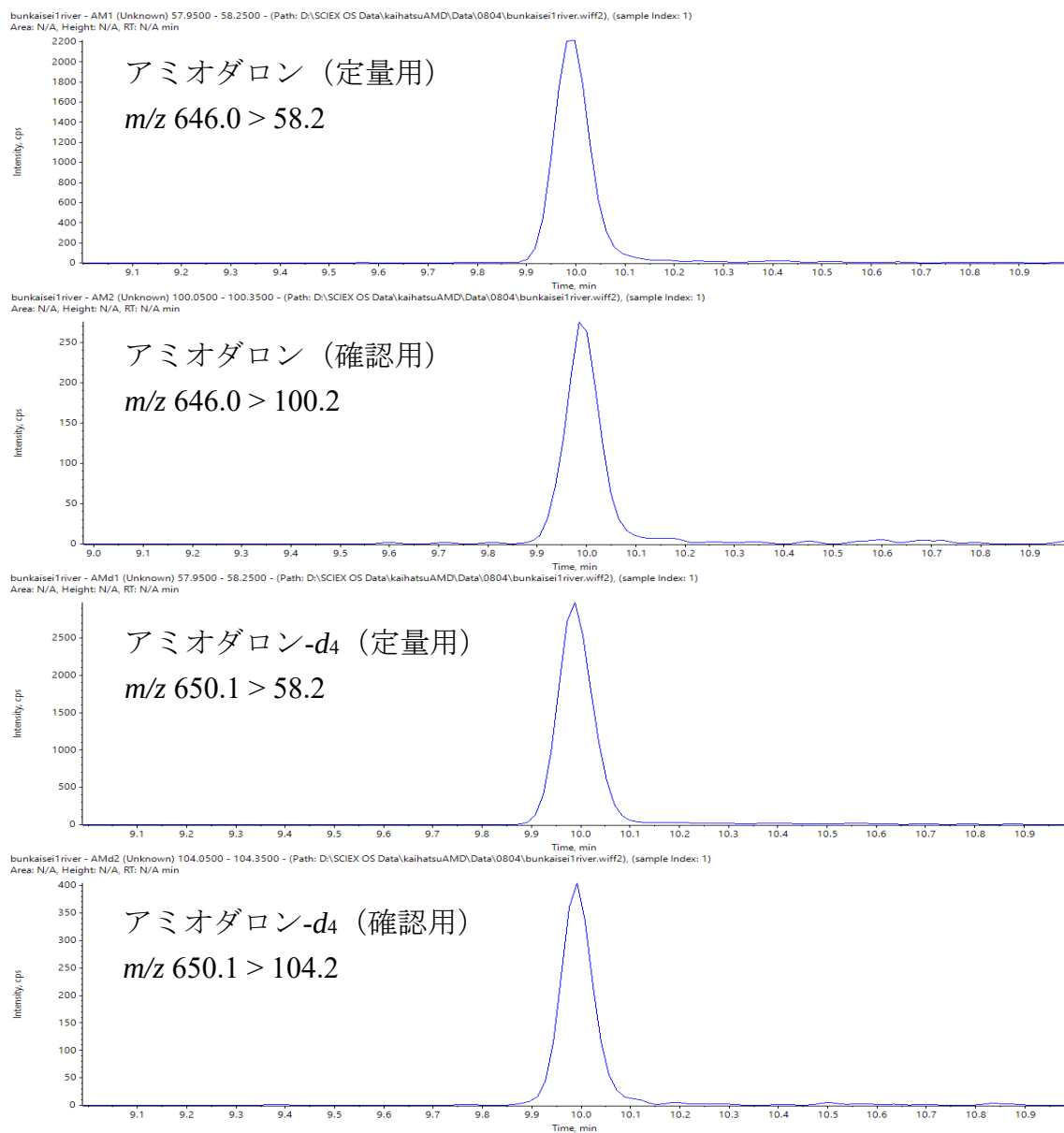


図 10 河川水の添加回収試験のクロマトグラム

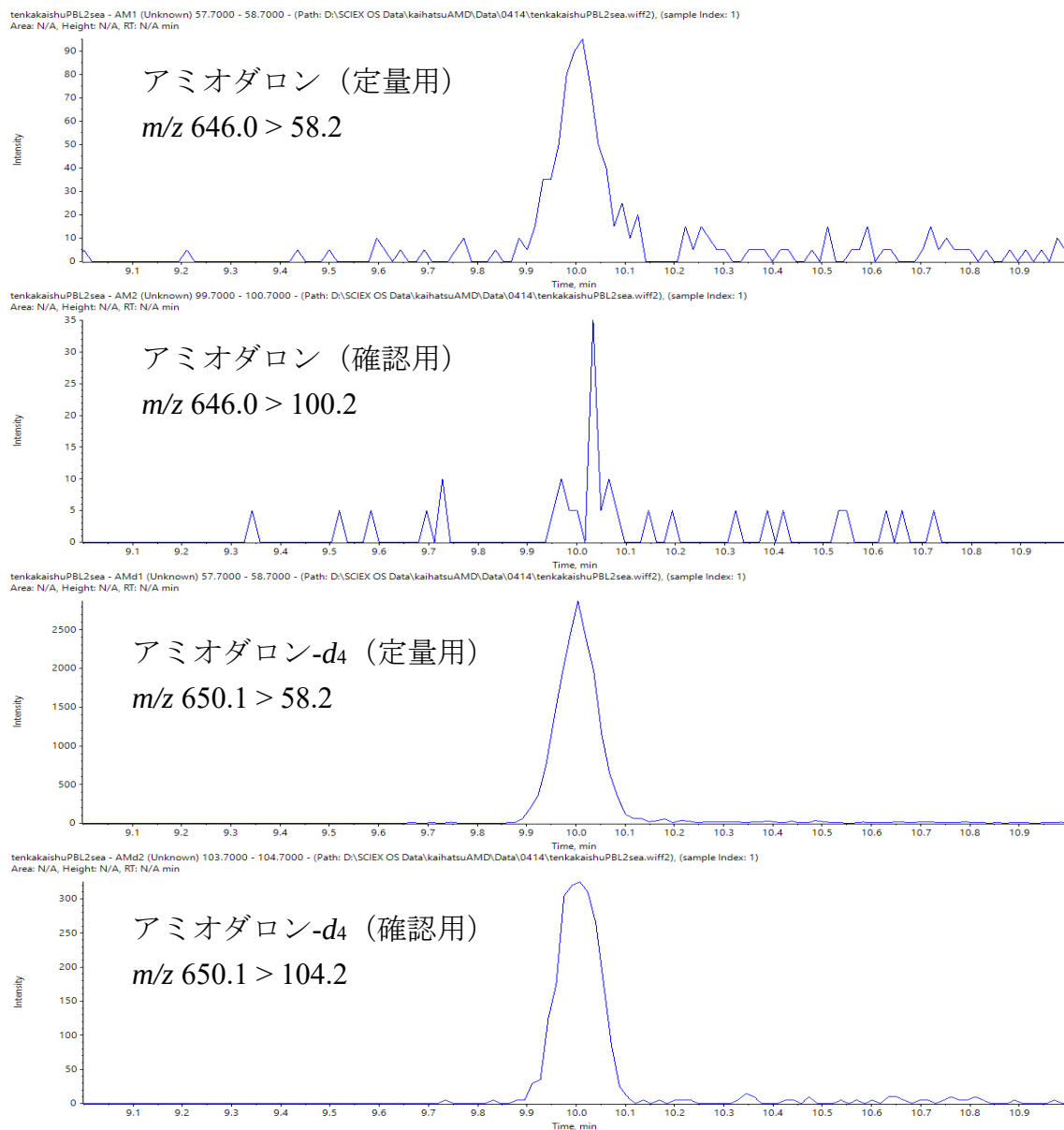


図 11 海水（無添加）の添加回収試験のクロマトグラム

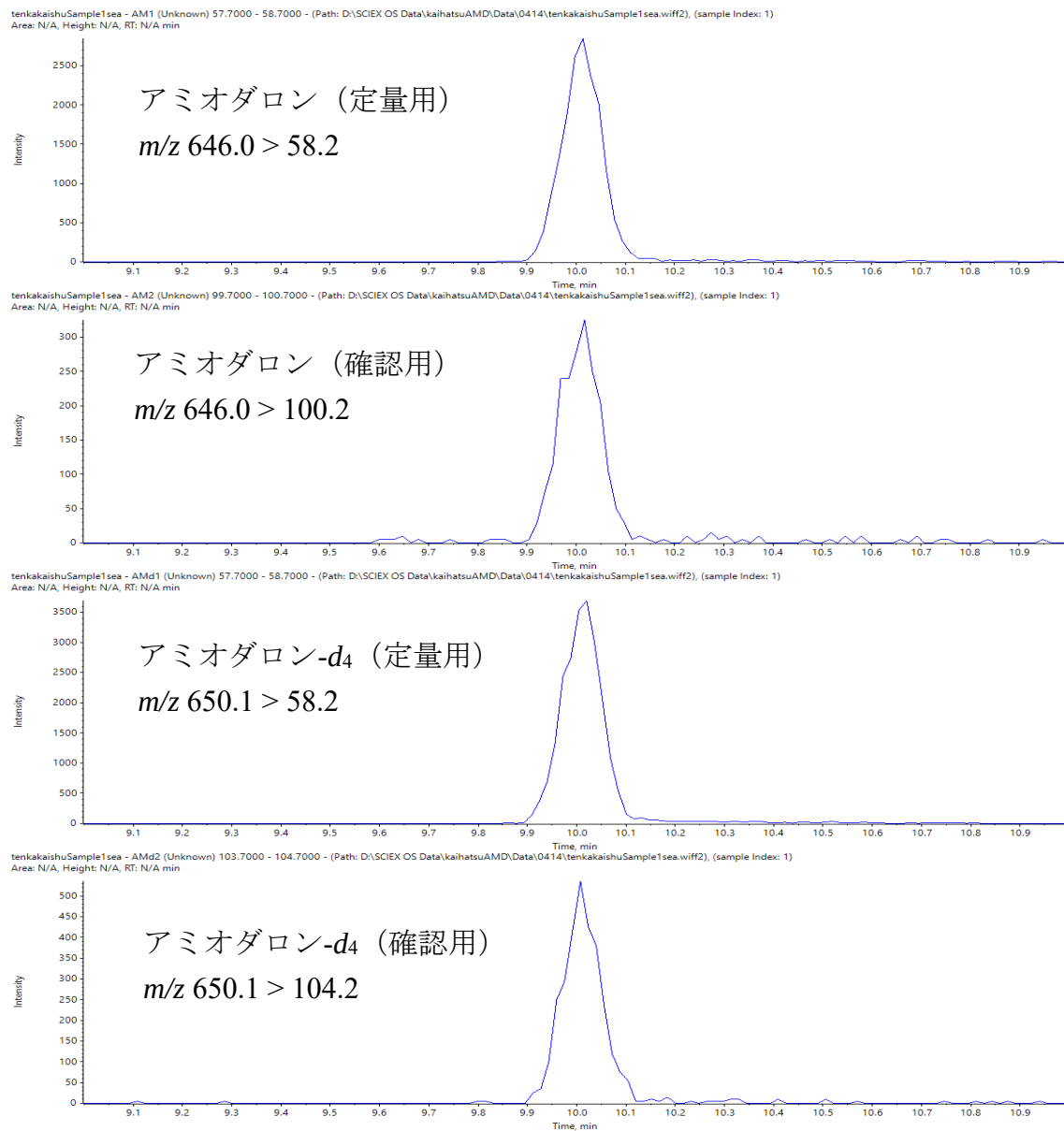


図 12 海水の添加回収試験のクロマトグラム

〔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 8 に示す。

各 pH で保存した溶液をギ酸により pH5 に調製してから測定を行った。時間経過による減少傾向が見られたが、前処理（抽出操作及び洗い込み）を行っていない測定のため、減少分には容器への吸着も含まれていると思われる。

表 8 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* ¹ (ng/mL) (残存率(%)* ²)		
				1 時間放置後	7 日間放置後	
					暗所	明所
アミオ ダロン	5	2	0.20	0.160 (80)	0.137 (69)	-
	7	2	0.20	0.181 (91)	0.162 (81)	0.124 (62)
	9	2	0.20	0.175 (87)	0.159 (79)	-

*1：検出濃度はサロゲート法により補正した値、また塩酸塩としての値

*2：残存率(%)は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 9 に示す。環境試料の保存性試験は、水質試料 0.1 L（保存容器：ガラス製）にギ酸 20 μ L 及び標準物質を 2.0 ng 添加し冷暗所保存した後、7 日後にサロゲート内標準を添加して【試料の前処理及び試験液の調製】に従って処理し測定した。

試験液については、保存性試験で得られた抽出液をバイアル容器に入れた状態で冷蔵保存し、14 日後に測定した。標準液については、検量線用標準液を冷蔵保存し、1 ヶ月後に測定した。河川水、海水、標準液について、保存性は良好であった。

表 9 保存性試験結果

物質名	試料名	試験数 (n)	調製濃度 (ng/mL)	検出濃度(ng/mL)* ¹ (残存率(%))* ²			
				当日	7 日間	14 日間	1 ヶ月
アミオダロン	河川水	試料	2	0.020	0.0199 (99)	0.0194 (97)	-
		試験液	2	0.20	-	-	0.188 (94)
	海水	試料	2	0.020	0.0202 (101)	0.0162 (81)	-
		試験液	2	0.20	-	-	0.200 (100)
	標準液	低濃度	2	0.20	-	-	-
		高濃度	2	10	-	-	-
							0.190 (95)
							9.34 (93)

*1：検出濃度はサロゲート法により補正した値、また塩酸塩としての値

*2：残存率(%)は調製濃度に対する検出濃度の割合

〔その他の検討事項〕

〔固相カートリッジの選定〕

固相カートリッジ 5 種（Waters 製 Sep-pak PS-2、C8、tC2、Oasis HLB 及び昭和電工製 Autoprep PS@Liq）について、回収率の検討を行った。各固相カートリッジは予めアセトニトリル 5 mL、精製水 5 mL でコンディショニングの後、標準物質を精製水に 1.0 ng/mL となるように調製した試料水 10 mL を通水した。その後、メタノール 10 mL、続いて 1%ギ酸メタノール 10 mL で溶出し、それぞれの回収率を求めた。表 10 に回収率の結果を示す。

一般にアミオダロンは水溶液中ではイオンの吸着及び疎水的吸着が強いことが知られており、PS-2、HLB、tC2 及び Autoprep についてはメタノールでもほとんど溶出されないことが分かった。また、予備実験において酸性条件下で溶出しやすくなることが分かっていたためメタノールにギ酸を添加した 1%ギ酸メタノール溶液での溶出を試みた。固相 C8 ではメタノール画分に溶出が見られたが、他の 4 つの固相では主に 1%ギ酸メタノール 画分に回収された。中でも、tC2 はメタノール画分には殆ど溶出されず(2.6%)、1%ギ酸メタノール 画分に 90%が回収されることが分かったので、捕集材としては tC2 を使用することとした。C8 については保持が弱くメタノールで既に破過していることが示唆された。

表 10 各固相カートリッジの回収率の比較(n=2)

固相 カートリッジ	回収率(%)*		
	メタノール 10 mL	1%ギ酸メタノール 10 mL	合計
PS-2	4.5	50.7	55.2
HLB	10.6	44.8	55.4
Autoprep PS@Liq	1.7	67.5	69.2
C8	52.7	1.1	53.9
tC2	2.6	88.7	91.4

*：サロゲート補正を行わずに求めた回収率

〔保存容器の洗い込みについて〕

水質中のアミオダロンは、採取容器の器壁に吸着しやすく、捕集後数時間保存しただけで回収率が低下する。このため、試料採取容器の洗いこみについて検討した。予めメタノール 5 mL、精製水 5 mL でコンディショニングした固相(Sep-Pak tC2)に採取した水質試料の全量を通水して対象物質を濃縮する。試料容器を精製水で洗浄し、洗液を固相に通水する。更に、試料容器にメタノール 10 mL を加えて洗浄し、器壁に吸着した対象物質をメタノールに溶解する。容器に等量の精製水を加えて 50%メタノール水とした後、先の固相に通液させ、器壁に吸着

したアミオダロンを固相に濃縮する。なお、洗浄液メタノール(100%)を固相に通液すると、濃縮したアミオダロンの一部が溶出する(2.6%)ためメタノール濃度を精製水で 50%に希釈してから固相に通液することとした。

〔固相カートリッジに通水する際の pH の影響について〕

固相カートリッジ tC2 について、試料水の pH を 3～9 の範囲に調整してアミオダロンの回収率を比較した。表 11 に各回収率を示す。固相カートリッジは予めメタノール 5 mL、精製水 5 mL でコンディショニングの後、ギ酸及びアンモニア水で pH3、pH5、pH7、pH9 の精製水 100 mL に標準物質を 0.2 ng/mL となるように添加した試料水を通水し、1%ギ酸メタノール 10 mL で溶出した溶出液の回収率を求めた。

以上の結果から、pH3 の酸性側の方で回収率が良いことが分かった。また pH9 のアルカリ性側では回収率が悪かった。

表 11 固相カートリッジに通水する際の液性によるの回収率の比較(n=2)

pH	試験数	調製濃度 (ng/mL)	検出濃度(ng/mL) (回収率(%))*
3	2	0.20	0.164 (82)
5	2	0.20	0.159 (80)
7	2	0.20	0.150 (75)
9	2	0.20	0.082 (41)

*：サロゲート補正を行わずに求めた回収率

〔保存性試験について（参考資料）〕

ギ酸アンモニウムを用いた場合の保存性試験結果を表 12 に示す。環境試料の保存性試験は、河川水試料 0.1 L（保存容器：ガラス製）にギ酸アンモニウム 120 mg 及び標準物質を 2.0 ng 添加して冷暗所保存した後、7 日後にサロゲート内標準を添加して測定した。表 13 にギ酸アンモニウム、ギ酸添加による各試料水の pH 変化を示す。ギ酸アンモニウムを添加した場合、pH は 7 に保たれ、回収率は 90%以上であった。海水にギ酸アンモニウム添加した場合、塩が析出し、固相が詰まる現象が生じたため、海水には使用できないことが分かった。ギ酸を添加した場合、試料水の pH は 3 に低下するが、回収率は 80%程度であった。この場合、塩の析出による固相の目詰まりは生じなかった。

表 12 保存性試験結果（1 週間、ギ酸アンモニウム 120 mg 添加）

試料名	条件	試験数	検出濃度(ng/mL) ^{*1} (残存率(%) ^{*2})	サロゲート 回収率(%)
河川水 (豊沢川)	ギ酸アンモニウム 120 mg 添加	3	1. 0.196 (98)	91
			2. 0.178 (89)	81
			3. 0.184 (92)	95
海水 (宮古湾)	ギ酸アンモニウム 120 mg 添加	3	いずれも固相が詰まって抽出不可	
海水 (宮古湾)	ギ酸 20 µL 添加	2	1. 0.162 (81)	74
			2. 0.162 (81)	76

*1：検出濃度はサロゲート法により補正した値、また塩酸塩としての値

*2：残存率(%)は調製濃度に対する検出濃度の割合

表 13 ギ酸アンモニウム、ギ酸添加による各試料水の pH 変化

試料名	ギ酸アンモニウム添加 (120mg)		ギ酸添加 (20 µL)	
	pH (添加前)	pH (添加後)	pH (添加前)	pH (添加後)
精製水	7.1	6.8	7.1	3.1
河川水（岩崎川）	7.3	6.8	7.3	3.1
海水（大船渡湾）	8.1	7.5	8.1	3.4

〔環境試料の分析〕

本分析法を用いて岩手県の河川水（豊沢川）及び海水（大船渡湾）を測定した結果、アミオダロン塩酸塩はどちらも MDL 未満(< 3.5 ng/L)であった。クロマトグラムを図 9 及び図 11 に示す。

【評価】

環境水中に含まれるアミオダロンの分析法を開発した。結果はアミオダロン塩酸塩の濃度として評価した。本法で使用したLC/MS/MSのIDLはAgilent製 Agilent 6460で0.019 pg、AB Sciex製 X500R QTOFで0.52 pgであった。検量線は0.10～1.0 ng/mLの濃度範囲($r^2 = 0.9992$)、及び1.0～10 ng/mLの濃度範囲 ($r^2 = 0.9982$) でそれぞれ直線性が確認された。また、本法における分析対象物質のMDLは3.5 ng/L、MQLは9.1 ng/Lであった。環境試料を用いた添加回収試験結果は、河川水では、回収率86%（変動係数6.9%）、海水では、回収率96%（変動係数15%）であった。

本法を用いて岩手県内の河川を測定したところ、河川水（豊沢川）及び海水（大船渡湾）においてアミオダロンは検出されなかった（<9.1 ng/L（塩酸塩として））。以上の結果から、本法は環境水中の4 ng/L オーダーのアミオダロンの検出に適用できると判断される。

【参考文献】

- 1) Agilent Technologies ASMS 2010 : Evaluation of LC/MS/MS for the Determination of Amiodarone and its Metabolite Extracted From Dried Blood Spot Samples
- 2) 医薬品インタビューフォーム：日本薬局方 アミオダロン塩酸塩錠
- 3) 株式会社島津製作所：LCtalk97 号 TEC 恐ろしい…試料の容器吸着（後編）

【担当者連絡先】

所属先名称：岩手県環境保健研究センター

所属先住所：〒020-0857 岩手県盛岡市北飯岡 1-11-16

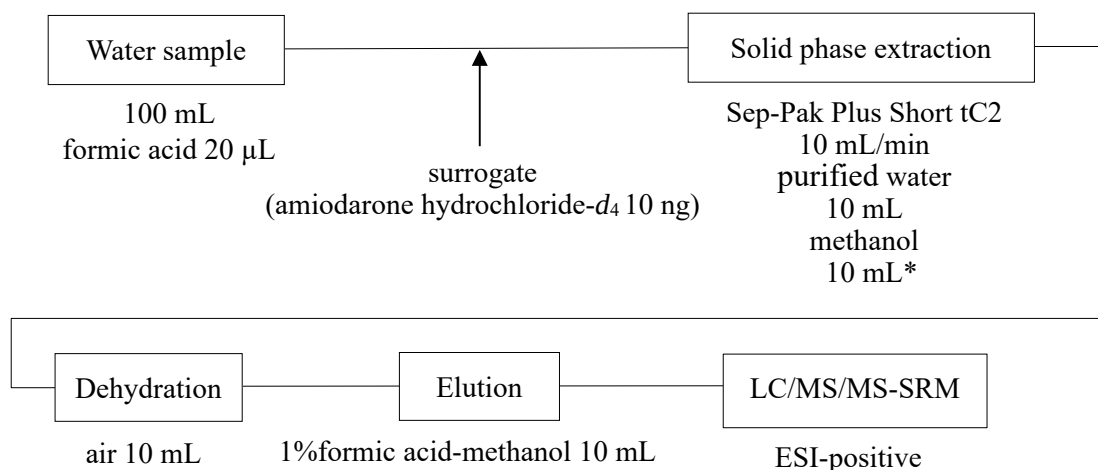
TEL：019-656-5666 FAX：019-656-5667

担当者名：高橋律久

E-mail：nori-t@pref.iwate.jp

Amiodarone

This method provides a procedure for the determination of amiodarone in water samples by liquid chromatography-tandem mass spectrometry with selected reaction monitoring (LC/MS/MS-SRM). A hundred milliliters of water is sampled by adding 20 μL of formic acid and 100 μL of amiodarone- d_4 (as a surrogate, 0.10 $\text{ng}/\mu\text{L}$) in a glass bottle. The whole quantity of the water sample is passed through a solid phase extraction cartridge (Sep-Pak tC2) preconditioned by passing through 5 mL of methanol and 5 mL of pure water in that order at a flow rate of 10 mL/min. The sample bottle is rinsed with 10 mL of pure water and the same volume of methanol, the latter of which is diluted with 10 mL of pure water afterwards. The sampled cartridge is passed with the water and the diluted methanol both used for the rinsing. The aqueous solution remaining in the cartridge is removed by passing air with a syringe. The target compound is eluted with 10 mL of 1% formic acid-methanol solution, and the eluate is measured by LC/MS/MS-SRM (ESI positive) analysis. The method detection limits (MDL) of amiodarone is 3.5 ng/L . Mean recovery rates for 20 ng/L amiodarone in river water and seawater samples were 86% with the coefficient of variation (CV) of 6.9 % and 96% with the CV of 15%, respectively. The method was applied to river water and seawater measurements in Iwate prefecture. The concentrations of amiodarone in river water and seawater samples were all below the MDL value.



* : The methanol is diluted with 10 mL of purified water before passed through the cartridge.

物質名	分析法フローチャート	備 考
アミオダ ロン	【水質】 <pre> graph TD A["水質試料 100 mL ギ酸 20 µL"] -- "サロゲート内標準添加 (アミオダロン塩酸塩-d4 10 ng)" --> B["固相抽出 Sep-Pak Plus Short tC2 10 mL/min 容器洗い込み 精製水 10 mL メタノール 10 mL*"] B --> C["脱水 空気 10 mL"] C --> D["溶出 1%ギ酸 メタノール 10 mL"] D --> E["LC/MS/MS-SRM ESI-Positive"] </pre> *：洗い込みに使用したメタノールは精製水 10 mL で希釈し、固相に通水する。	分析原理： LC/MS/MS-SRM ESI-Positive 検出下限値： 【水質】(ng/L) 0.0035 分析条件： 機器 LC：AB Sciex ExionLC MS：AB Sciex X500R QTOF カラム Agilent 製 ZORBAX Eclipse Plus C18 100 mm × 2.1 mm, 1.8 µm

イベルメクチン

Ivermectin

別名：

イベルメクチン B1a：5-O-デメチル-22,23-ジヒドロアベルメクチン A1a、
5-O-Demethyl-22,23-dihydroavermectin A1a

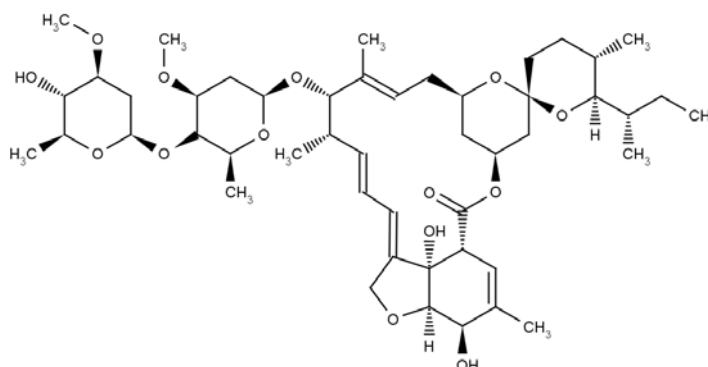
イベルメクチン B1b：5-O デメチル-25 デ(1-メチルプロピル)-22,23-ジヒドロ-
25-(1-メチルエチル) アベルメクチン A1a 、5-O-Demethyl-25-de(1-
methylpropyl)-22,23-dihydro-25-(1-methyleethyl) avermectin A1a

【対象物質の構造】

イベルメクチン B1a

CAS 番号：71827-03-7

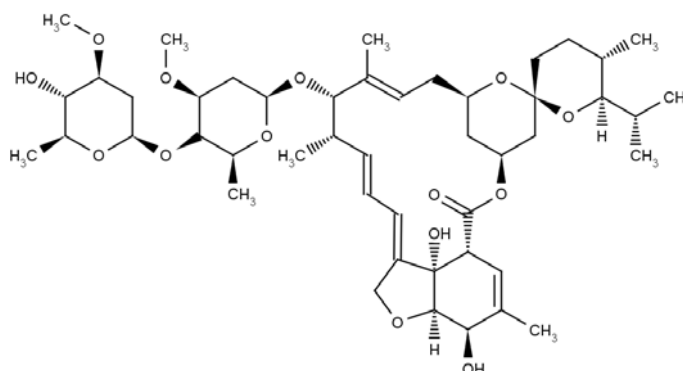
分子式：C₄₈H₇₄O₁₄



イベルメクチン B1b

CAS 番号：70209-81-3

分子式：C₄₇H₇₂O₁₄



【物理化学的性状】¹⁾

物質名	分子量 (モアレットビッ 質量)	比重 (g/cm ³)	融点 (°C)	沸点 (°C)	蒸気圧 (hPa)	水溶解度 (mg/L)	ヘンリー定数 (atm·m ³ /mol)	log P _{ow}
イベルメク チン B1a	875.09 (874.5058)	-	349.84	943.48	1.60×10 ⁻³⁰	0.0002715	1.56×10 ⁻²⁷	4.61
イベルメク チン B1b	861.07 (860.4902)	-	349.84	931.88	4.24×10 ⁻³⁰	0.0008877	1.18×10 ⁻²⁷	4.11

【毒性、用途】

[実験動物に対する急性毒性情報]

LD₅₀ : 2 mg/kg (ラット)²⁾、42.8 mg/kg (ラット雄)³⁾

[用途]

糞線虫駆虫剤^{4), 5)}、疥癬の治療薬⁵⁾

出典

- 1) U.S.EPA, Estimation Programs Interface (EPI) Suite v4.1
- 2) 富士フイルム和光純薬 安全データシート
- 3) 林純薬工業
- 4) 独立行政法人製品評価技術基盤機構 HP「化学物質総合情報提供システム (CHRIP)」
- 5) ストロメクトール錠 3 mg 添付文書

§ 1 分 析 法

(1) 分析法の概要

水質試料に塩化ナトリウムを加え、液液抽出後に抽出液を脱水・濃縮する。濃縮液を固相カートリッジにより精製した後、乾固・定容し、LC/MS/MS-SRM(ESI-positive)で測定する。

(2) 試薬・器具

【試薬】

イベルメクチン B1a 標準品 : Cayman Chemical 製 純度 >95%
イベルメクチン B1b 標準品 : Bioaustralis fine chemicals 製 純度 >95%

メタノール	: 関東化学製 (LC/MS 用)
ジクロロメタン	: 富士フイルム和光純薬製 (ダイオキシン類分析用)
アセトン	: 富士フイルム和光純薬製 (ダイオキシン類分析用)
ヘキサン	: 関東化学製 (ダイオキシン類分析用)
ギ酸	: 富士フイルム和光純薬製 (試薬特級)
1 mol/L ギ酸アンモニウム溶液	: 富士フイルム和光純薬製 (高速液体クロマトグラフ用)
1 mol/L 酢酸アンモニウム溶液	: 富士フイルム和光純薬製 (高速液体クロマトグラフ用)
無水硫酸ナトリウム	: 富士フイルム和光純薬製 (残留農薬・PCB 分析用)
塩化ナトリウム	: 富士フイルム和光純薬製 (残留農薬・PCB 分析用)
固相カートリッジ	: Sigma-Aldrich 製、スペルクリン ENVI-Carb 500 mg/6 mL
精製水	: 超純水製造装置 Milli-Q Reference (MERCK MILLIPORE 製) により精製

【試薬の調製】

〔10 mmol/L 酢酸アンモニウム含有 50%メタノール溶液〕

1 mol/L 酢酸アンモニウム溶液を精製水で希釈して 20 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液を調製し、これをメタノールと 1:1(v/v)の割合で混合する。

【標準液の調製】

〔標準原液〕

イベルメクチン B1a 及びイベルメクチン B1b 標準品 5.0 mg をそれぞれ正確に量りとり、アセトン 50 mL に溶解して 100 µg/mL の標準原液を調製する。

〔検量線用標準液〕

標準原液を 10 mmol/L 酢酸アンモニウム含有 50 %メタノール溶液で順次希釈し、0.10～100 ng /mL の検量線用標準液を作製する。

【器具】 (注 1)

メスフラスコ、分液ロート、遠沈管、コニカルビーカー、ナシ型フラスコ、

パスツールピペット、ロート、ディスポーザブルチューブ、遠心分離機（日立工機製）、ロータリーエバポレーター（EYELA 製）、イナートセップ吸引マニホールド（GL サイエンス製）、ターボバップ（Biotage 製）、ボルテックスミキサー、不活性化処理済スクリーバイアル（Agilent Technologies 製）

【試料の採取及び保存】

環境省「化学物質環境実態調査の手引き」（最新版）の「試料の採取及び検体の調製等」に従って採取する。試料はアセトンで洗浄した 1 L 褐色ガラス製の容器に採取し、速やかに試験操作を行う。試料量(mL)は試料採取前後の採水容器の重量差と比重（河川水 1.00、塩化ナトリウム添加河川水および海水 1.03 g/mL とする）から算出し、試料の全量を分析に用いる。

【試料の前処理及び試験液の調製】

水質試料 1.0 L の全量を分液ロートに移し、塩化ナトリウム 50 g を加える。完全に溶解させ、ジクロロメタン 60 mL で液液抽出を 2 回行う。対象物質が採取容器の壁面に吸着する可能性を考え、1 度目の液液抽出に使用するジクロロメタンで採取容器の壁面をよく洗いこむ。分離が悪い場合は遠心分離（2500 rpm で 10 分間）を行い、ジクロロメタン層をコニカルビーカーに回収する。抽出液にヘキサン 20 mL を加え（注 2）、無水硫酸ナトリウムで脱水し、ナシ型フラスコへ移す。移す際には、対象物質が脱水を行ったコニカルビーカーの壁面等に吸着する可能性を考え、壁面をジクロロメタンで洗いこみ、ナシ型フラスコへ移す。ロータリーエバポレーターで 2～3 mL 程度まで濃縮し、固相カートリッジ（注 3）に負荷する。ジクロロメタン 10 mL で溶出し、溶出液をディスポーザブルチューブに受ける。溶出液を窒素気流下 40℃で乾固させ、ディスポーザブルチューブの壁面を 10 mmol/L 酢酸アンモニウム含有 50%メタノール溶液 1.0 mL で洗いこみ、ボルテックスミキサーでよく攪拌し、これを試験液とする。

【空試験液の調製】

試料水と同量の精製水を用い【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】

〔測定条件〕（注 4）

〔LC 条件〕

使用機種 : Waters 製 ACQUITY UPLC

カラム : GL サイエンス製 Inertsil ODS-SP HP (2.1mm×150 mm, 3 μm)

移動相 : A : 0.1 mmol/L ギ酸アンモニウム含有 0.1%ギ酸水溶液
 B : 0.1 mmol/L ギ酸アンモニウム含有 0.1%ギ酸メタノール
 0→15 min A:50→5 B:50→95
 15→20 min A: 5 B: 95
 20→22 min A: 5→2 B: 95→98
 22→27 min A: 2→50 B: 98→50
 27→30 min A: 50 B: 50

カラム流量 : 0.2 mL/min
 カラム温度 : 40°C
 注入量 : 10 µL

[MS 条件]

使用機種 : Waters 製 XEVO TQ
 キャピラリー電圧 : 3.0 kV
 ソース温度 : 130 °C
 デゾルベーション温度 : 400 °C
 デゾルベーション流量 : 900 L/Hr
 コーンガス量 : 50 L/Hr
 イオン化法 : ESI-Positive
 測定モード : SRM

[モニターイオン]

物質名	保持時間 (min)	コーン電圧 (確認用)	モニターイオン (コリジョンエネルギー)	
			定量用 (m/z)	確認用 (m/z)
イベルメクチン B1a	17.2	18 (18 V)	892.5>307.2 (26 eV)	892.5>551.3 (26 eV)
イベルメクチン B1b	16.8	18 (18 V)	878.5>293.2 (25 eV)	878.5>537.3 (25 eV)

[検量線]

検量線標準液 10 µL を LC/MS/MS に注入し、対象物質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 10 µL を LC/MS/MS に注入し、対象物質のピーク面積から検量線を基に試験液中の対象物質濃度を求める。

〔濃度の算出〕

試料中の濃度 C ($\mu\text{g/L}$) は、以下の式により算出する。

$$C = Ca \times v/V$$

Ca : 検量線から求めた試験液中の対象物質濃度 (ng/mL)

v : 最終試験液量 (mL)

V : 試料量 (mL)

本分析法に従った場合、以下の数値を使用する。

$v = 1.0$ (mL)、 $V : 1000$ (mL) 即ち、

$C = Ca \times 0.0010$ ($\mu\text{g/L}$) である。

〔装置検出下限 (IDL)〕

本分析に用いた LC/MS/MS の IDL を表 1 に示す (注 5)。

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 ($\mu\text{g/L}$)
イベルメクチン B1a	0.27	1.0	1.0	0.000027
イベルメクチン B1b	0.22	1.0	1.0	0.000022

〔分析方法の検出下限値(MDL)及び定量下限値(MQL)〕

本分析法における MDL 及び MQL を表 2 に示す (注 6)。

表 2 MDL 及び MQL の算出結果

物質名	試料	試料量 (L)	最終液量 (mL)	MDL ($\mu\text{g/L}$)	MQL ($\mu\text{g/L}$)
イベルメクチン B1a	海水	1.0	1.0	0.000082	0.00021
	河川水	1.0	1.0	0.000092	0.00024
イベルメクチン B1b	海水	1.0	1.0	0.000097	0.00025
	河川水	1.0	1.0	0.00012	0.00031

注 解

- (注1) ガラス器具及びイナートセップ吸引マニホールドなど試料に接する器具はアセトンで洗浄後、乾燥させて使用する。ガラス器具は JIS R 3505 に記載のクラス A のものを使用する。マイクロシリンジ及びマイクロピペットを使用する場合には精度管理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) 脱水を促進する目的でヘキサンを添加している。無水硫酸ナトリウムは添加後直ちに攪拌し、固化を防止する。抽出液が透明になり、無水硫酸ナトリウムが固化しなくなると脱水は完了している。
- (注3) あらかじめ、硫酸ナトリウムを 5 mm 程度積層した ENVI-Carb 500 mg/6 mL をジクロロメタン 10 mL で洗浄したものを使用する。
- (注4) 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。この条件を参考に、使用する装置ごとに分析目的に適した LC/MS/MS の測定条件を検討する。

(注5) IDL は「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 28 年 3 月)に従って表 3 のとおり算出した。IDL 測定時の SRM クロマトグラムを図 1-1、図 1-2 にそれぞれ示す。

表 3 IDL の算出結果 (詳細)

物質名	イベルメクチン B1a	イベルメクチン B1b
試料量 (L)	1.0	1.0
最終液量 (mL)	1.0	1.0
注入液濃度 (ng/mL)	0.10	0.10
注入量 (pg)	1.0	1.0
装置注入液量 (μL)	10	10
結果 1 (pg)	1.17	0.928
結果 2 (pg)	1.29	0.911
結果 3 (pg)	1.22	0.915
結果 4 (pg)	1.15	1.07
結果 5 (pg)	1.35	1.00
結果 6 (pg)	1.27	0.953
結果 7 (pg)	1.26	0.957
平均値 (pg)	1.242	0.9627
標準偏差 (pg)	0.0699	0.0575
IDL (pg)*	0.27	0.22
IDL 試料換算値 (μg/L)	0.000027	0.000022
S/N 比	27	11
CV (%)	5.6	6.0

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

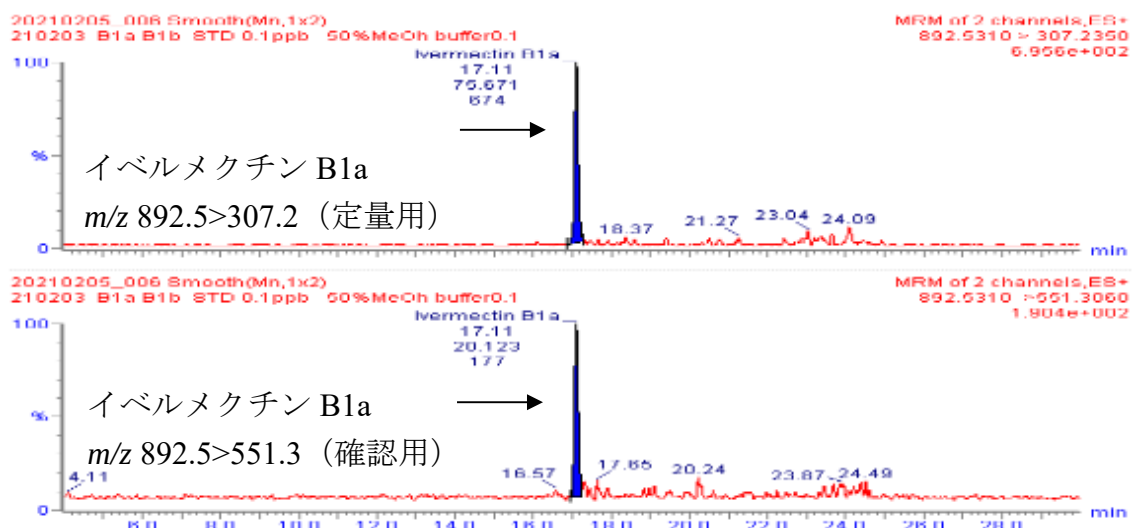


図 1-1 IDL 測定時のクロマトグラム (イベルメクチン B1a : 0.10 ng/mL)

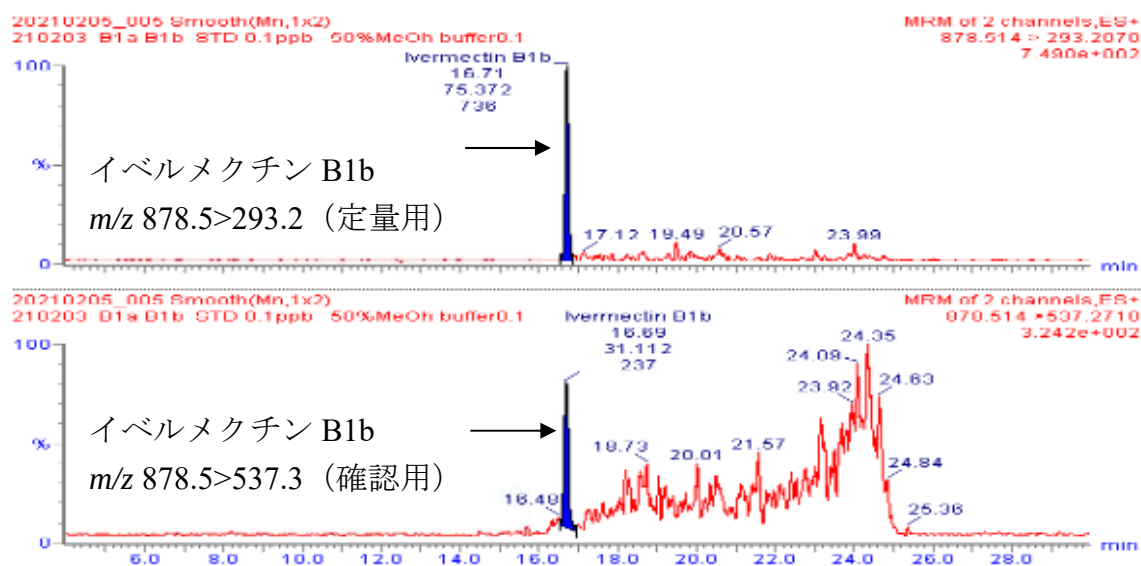


図 1-2 IDL 測定時のクロマトグラム (イベルメクチン B1b : 0.10 ng/mL)

(注6) MDL 及び MQL は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 28 年 3 月)に従って表 4-1、表 4-2 のとおり算出した。また、MDL 及び MQL 測定時の SRM クロマトグラムを図 2-1～図 2-4 に示した。

表 4-1 MDL 及び MQL の算出結果 (海水) (詳細)

物質名	イベルメクチン			
	B1a	回収率(%)	B1b	回収率(%)
試料	海水	-	海水	-
試料量(L)	1.0	-	1.0	-
標準添加量(ng)	0.50	-	0.50	-
試料換算濃度(μg/L)	0.00050	-	0.00050	-
最終液量(mL)	1.0	-	1.0	-
注入液濃度(ng/mL)	0.50	-	0.50	-
装置注入液量(μL)	10	-	10	-
操作ブランク平均値 (μg/L) *1	<0.000082	-	<0.000097	-
無添加平均値 (μg/L) *2	<0.000082	-	<0.000097	-
結果 1 (μg/L)	0.000401	80	0.000437	87
結果 2 (μg/L)	0.000445	89	0.000444	89
結果 3 (μg/L)	0.000459	92	0.000388	78
結果 4 (μg/L)	0.000442	88	0.000434	87
結果 5 (μg/L)	0.000466	93	0.000419	84
結果 6 (μg/L)	0.000445	89	0.000461	92
結果 7 (μg/L)	0.000432	86	0.000456	91
平均値 (μg/L)	0.0004414	88.3	0.0004344	86.9
標準偏差 (μg/L)	0.0000211		0.0000248	
MDL (μg/L) *3	0.000082		0.000097	
MQL (μg/L) *4	0.00021		0.00025	
S/N 比	70		89	
CV 値(%)	4.8		5.7	

*1 空試験液を測定した値 (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 (n=2)

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

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

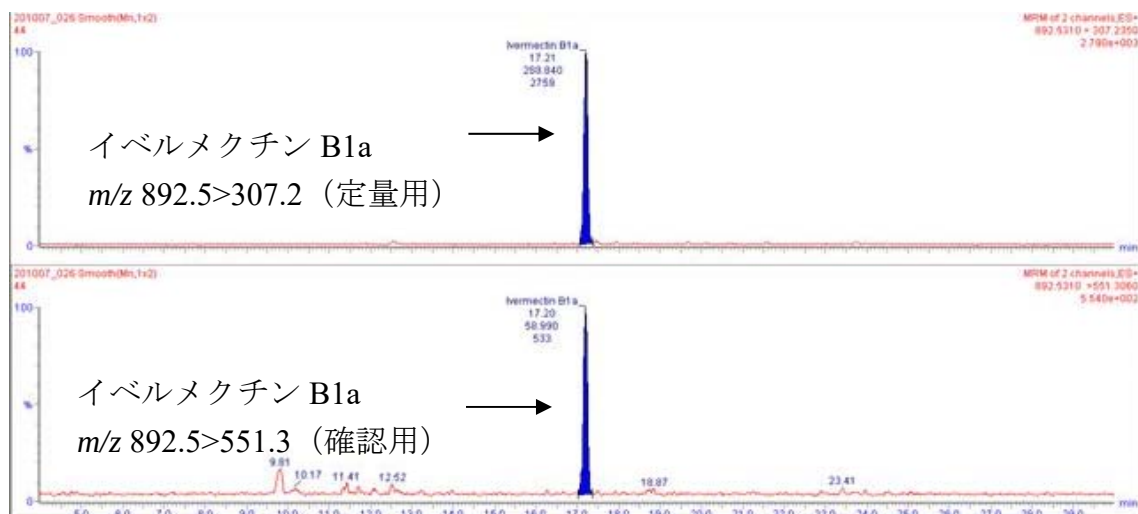


図 2-1 MDL 測定時のイベルメクチン B1a のクロマトグラム
(海水、試料換算濃度 : 0.00050 $\mu\text{g/L}$)

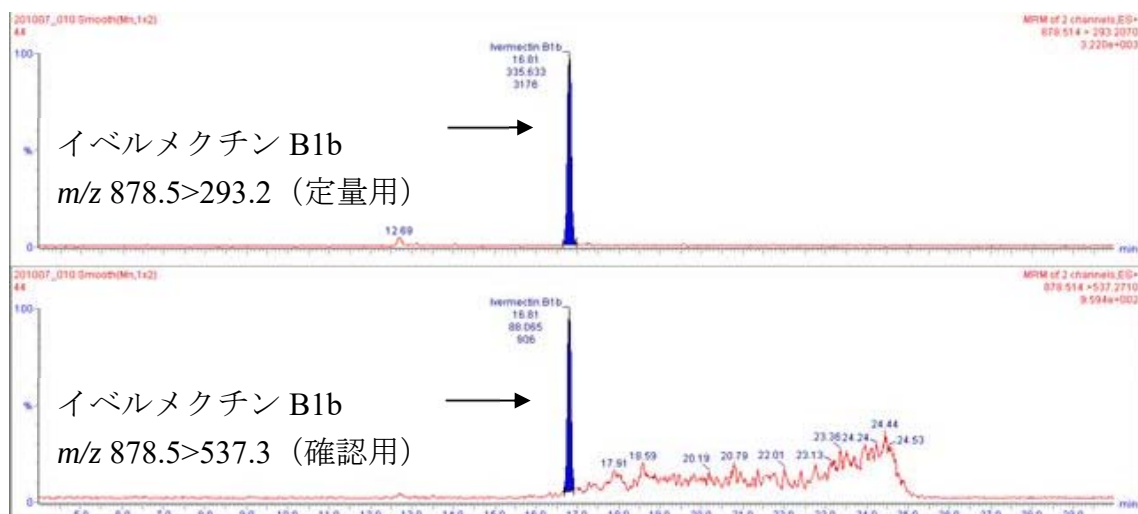


図 2-2 MDL 測定時のイベルメクチン B1b のクロマトグラム
(海水、試料換算濃度 : 0.00050 $\mu\text{g/L}$)

表 4-2 MDL 及び MQL の算出結果（河川水）（詳細）

対象物質名	イベルメクチン			
	B1a	回収率(%)	B1b	回収率(%)
試料	河川水	-	河川水	-
試料量(L)	1.0	-	1.0	-
標準添加量(ng)	0.50	-	0.50	-
試料換算濃度(μg/L)	0.00050	-	0.00050	-
最終液量(mL)	1.0	-	1.0	-
注入液濃度(ng/mL)	0.50	-	0.50	-
装置注入量(μL)	10	-	10	-
操作ブランク平均値 (μg/L) * ¹	<0.000092	-	<0.00012	-
無添加平均値(μg/L)* ²	<0.000092	-	<0.00012	-
結果 1(μg/L)	0.000364	73	0.000367	73
結果 2(μg/L)	0.000406	81	0.000394	79
結果 3(μg/L)	0.000405	81	0.000411	82
結果 4(μg/L)	0.000409	82	0.000439	88
結果 5(μg/L)	0.000365	73	0.000459	92
結果 6(μg/L)	0.000351	70	0.000422	84
結果 7(μg/L)	0.000385	77	0.000437	87
平均値(μg/L)	0.0003836	76.7	0.0004185	83.7
標準偏差(μg/L)	0.000024		0.000031	
MDL (μg/L)* ³	0.000092		0.00012	
MQL (μg/L)* ⁴	0.00024		0.00031	
S/N 比	56		120	
CV 値(%)	6.1		7.4	

*1 空試験液を測定した値 (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 (n=2)

*3 $MDL = t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$ *4 $MQL = \sigma_{n-1} \times 10$

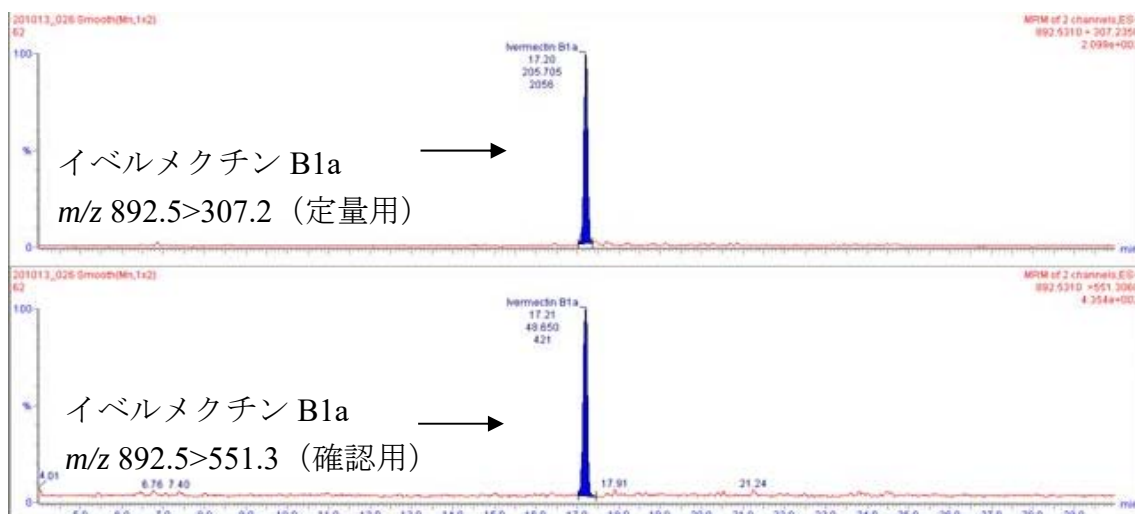


図 2-3 MDL 測定時のイベルメクチン B1a のクロマトグラム
(河川水、試料換算濃度 : 0.00050 $\mu\text{g/L}$)

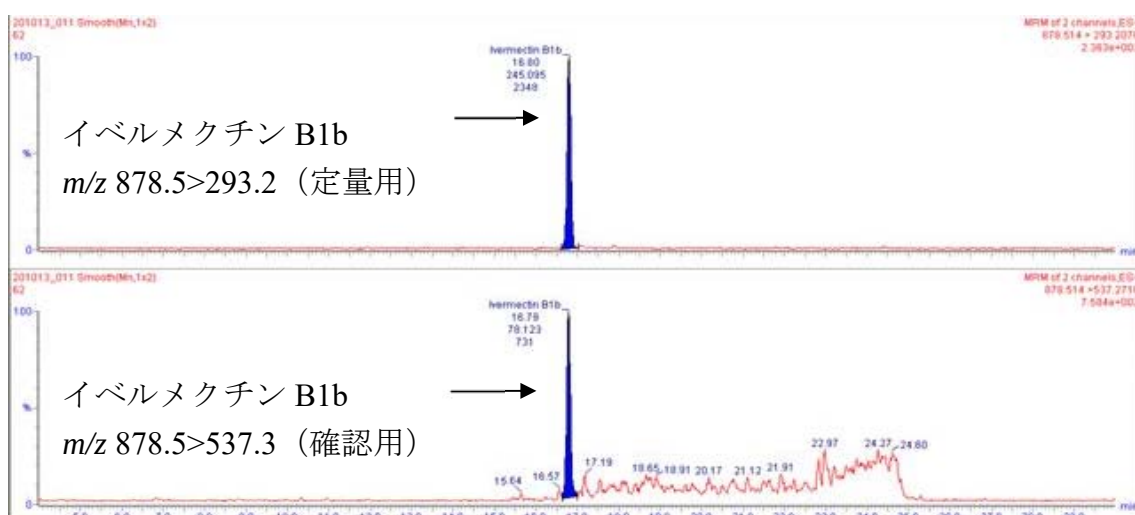


図 2-4 MDL 測定時のイベルメクチン B1b のクロマトグラム
(河川水、試料換算濃度 : 0.00050 $\mu\text{g/L}$)

§ 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。

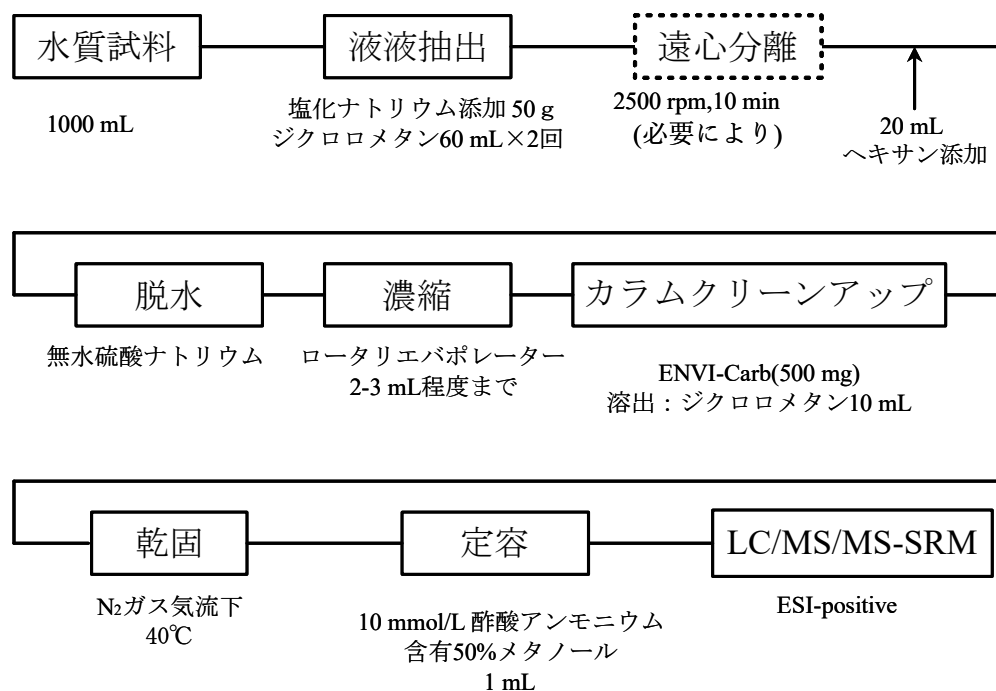


図3 分析法のフローチャート

〔検量線〕

検量線を図4-1、図4-2に、検量線作成データを表5にそれぞれ示す。

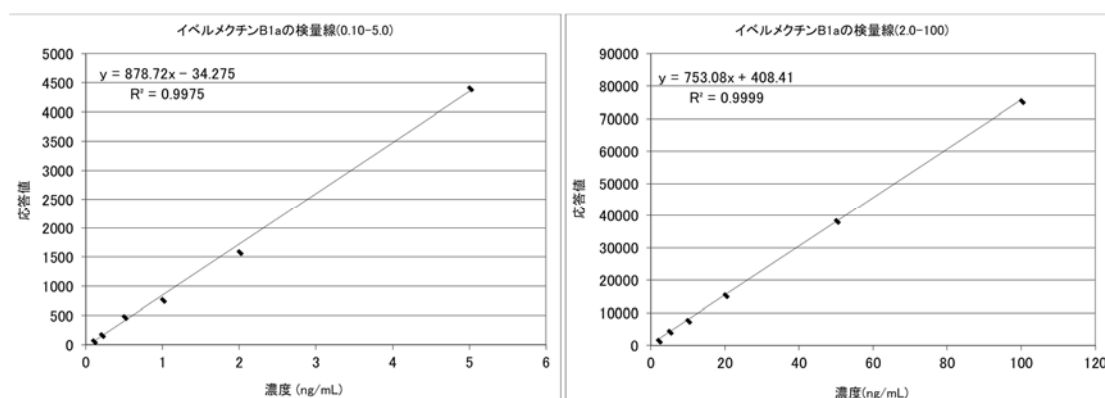


図4-1 イブプロフェン B1a の検量線

左図: 低濃度域検量線(0.10~5.0 ng/mL) 、右図: 高濃度域検量線(2.0~100 ng/mL)

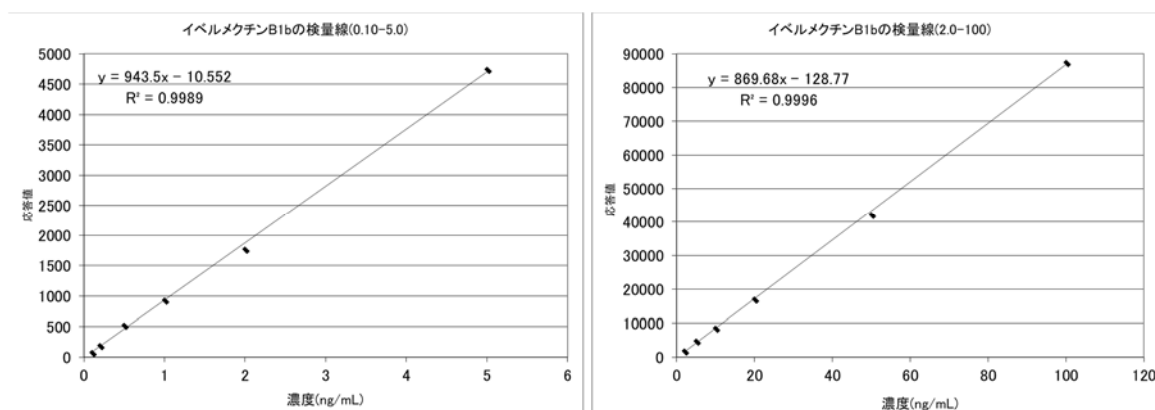


図 4-2 イブプロフェン B1b の検量線

左図：低濃度域検量線(0.10～5.0 ng/mL)、右図：高濃度域検量線(2.0～100 ng/mL)

表 5 イブプロフェン B1a 及び B1b の検量線作成用データ

標準液濃度 (ng/mL)	応答値	
	イブプロフェン B1a	イブプロフェン B1b
	(m/z 892.5>307.2)	(m/z 878.5>293.2)
0.10	76	75
0.20	182	192
0.50	487	526
1.0	772	933
2.0	1596	1771
5.0	4414	4742
10	7784	8620
20	15503	17116
50	38456	42193
100	75523	87415

〔クロマトグラム〕

標準液の SRM クロマトグラムを図 5-1、図 5-2 に示す。

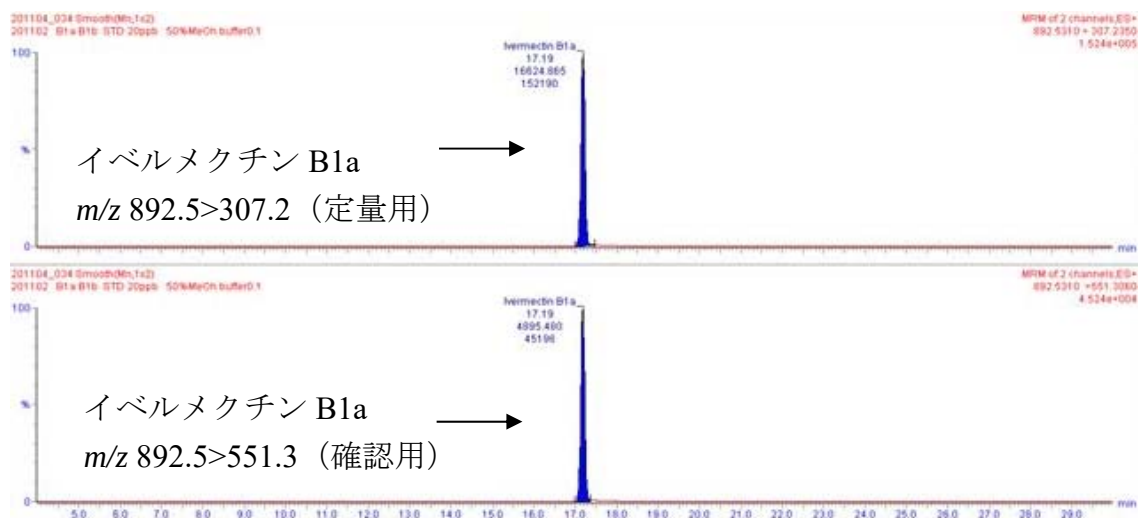


図 5-1 標準液のクロマトグラム (イベルメクチン B1a : 20 ng/mL)

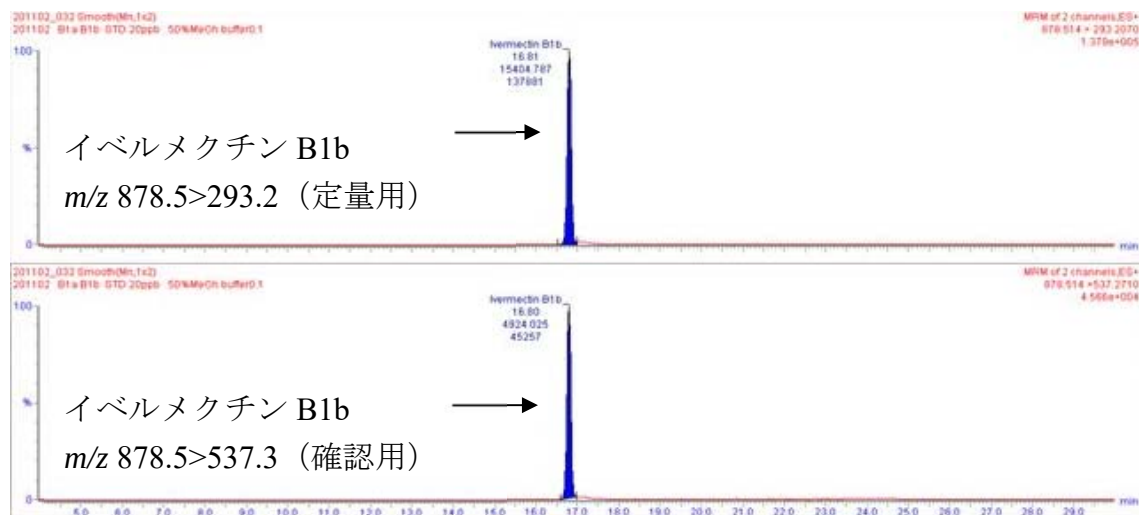


図 5-2 標準液のクロマトグラム (イベルメクチン B1b : 20 ng/mL)

〔マススペクトル〕

イベルメクチン B1a、及びイベルメクチン B1b のマススペクトル並びに、プレカーサーイオン m/z 892.5、 m/z 878.5 に対するプロダクトイオンをそれぞれ図 6-1、図 6-2 に示す。

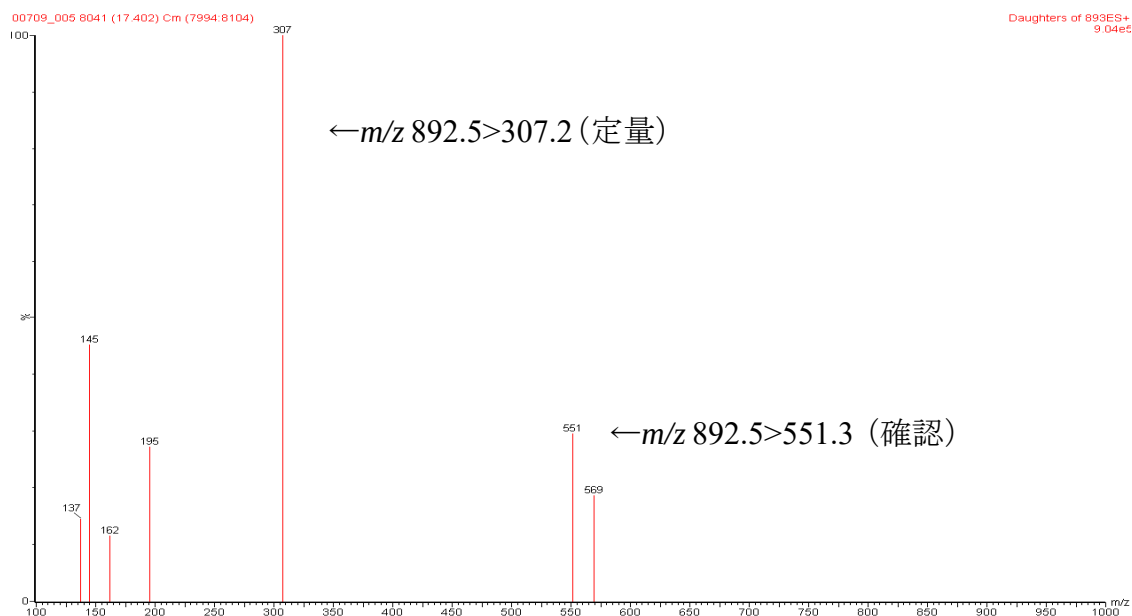
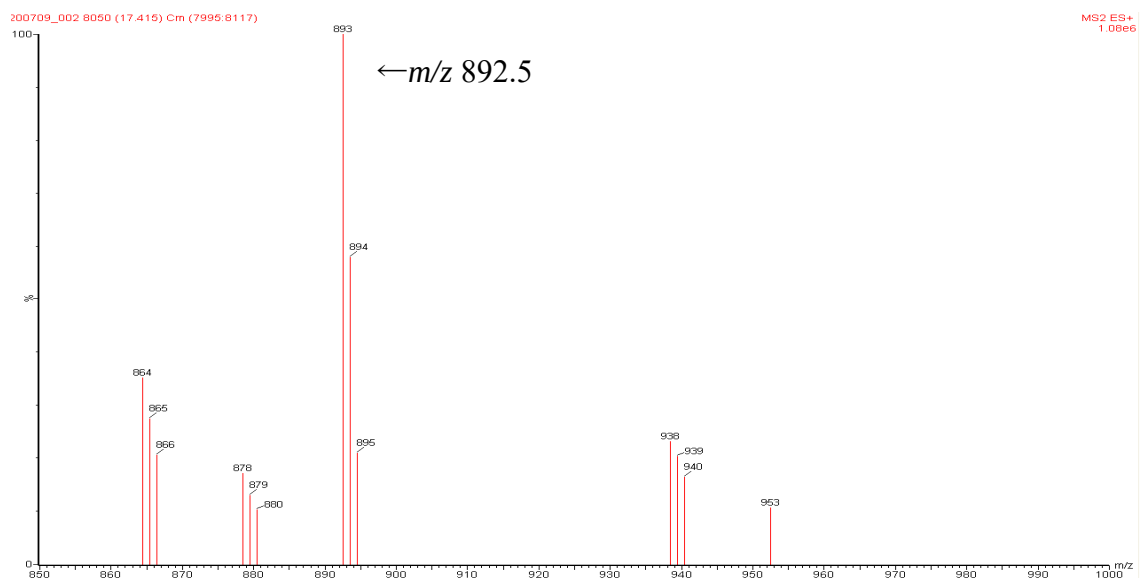


図 6-1 イベルメクチン B1a のマススペクトル (上図) 及びプレカーサーイオン m/z 892.5 に対するプロダクトイオン (下図)

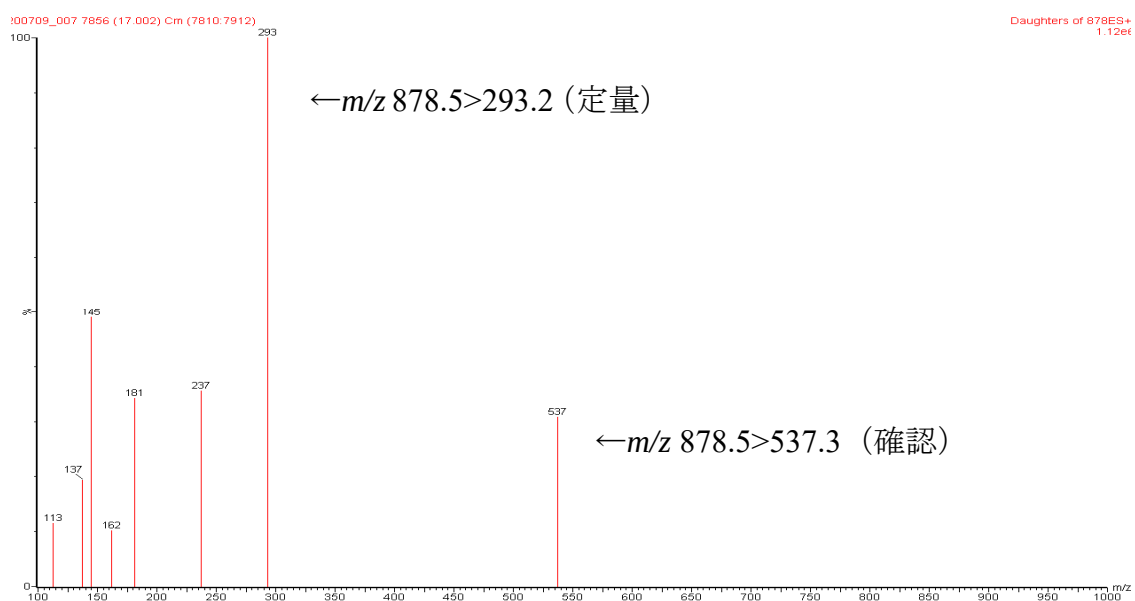
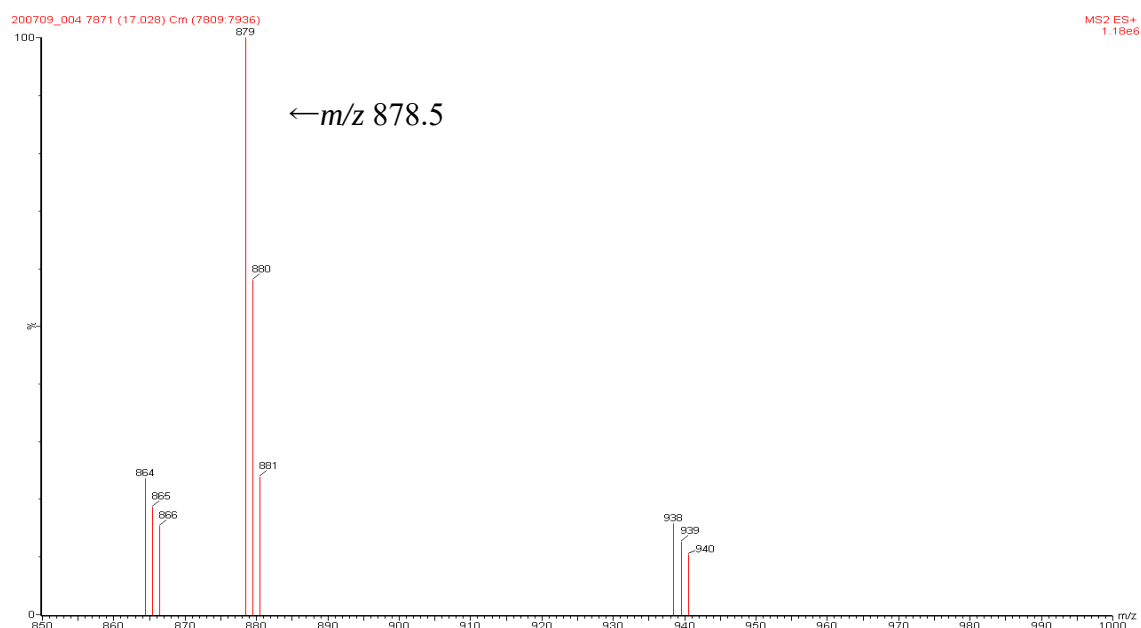


図 6-2 イベルメクチン B1b のマススペクトル (上図) 及びプリカーサーイオン m/z 878.5 に対するプロダクトイオン (下図)

〔操作ブランク試験〕

精製水 1 L を使用して操作ブランクを測定した。操作ブランク試験のクロマトグラムを図 7-1・7-2 に示す。MDL 以上のピークは検出されなかった。

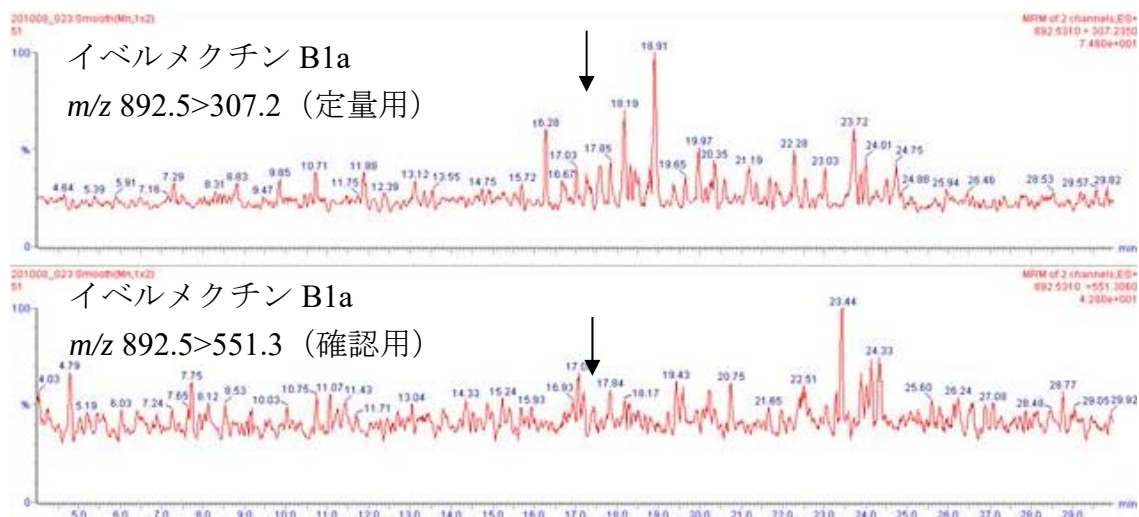


図 7-1 操作ブランクのクロマトグラム (イブプロフェン B1a)

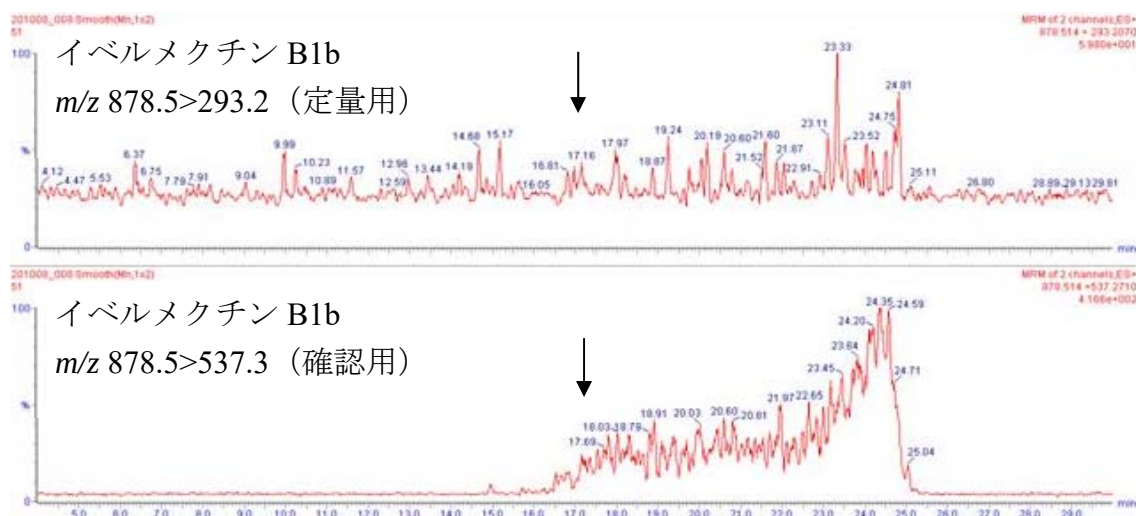


図 7-2 操作ブランクのクロマトグラム (イブプロフェン B1b)

〔添加回収試験〕

添加回収試験に用いた試料は、大阪湾（海水：神戸市須磨区）及び妙法寺川（河川水：神戸市須磨区）で採取した。添加回収試験結果を表 6 に、標準無添加試料及び標準添加試料クロマトグラムを図 8-1～8-8 に示す。

表 6 添加回収試験結果

対象物質	試料名	試料量 (L)	添加量 (ng)	試験数	検出濃度 ($\mu\text{g/L}$)	回収率 (%)	変動係数 (%)
イベルメクチン B1a	海水	1.0	0	2	<0.000082	-	-
			3.0	5	0.0025	85	4.2
	河川水	1.0	0	2	<0.000092	-	-
			3.0	5	0.0027	90	1.9
イベルメクチン B1b	海水	1.0	0	2	<0.000097	-	-
			3.0	5	0.0027	89	4.8
	河川水	1.0	0	2	<0.00012	-	-
			3.0	5	0.0023	76	6.0

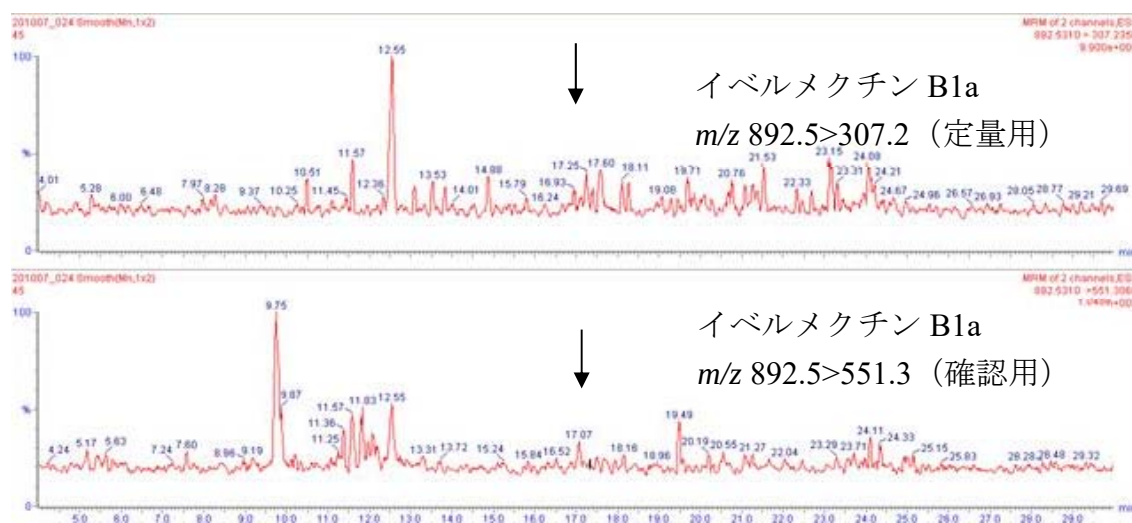


図 8-1 イベルメクチン B1a 標準無添加のクロマトグラム（海水）

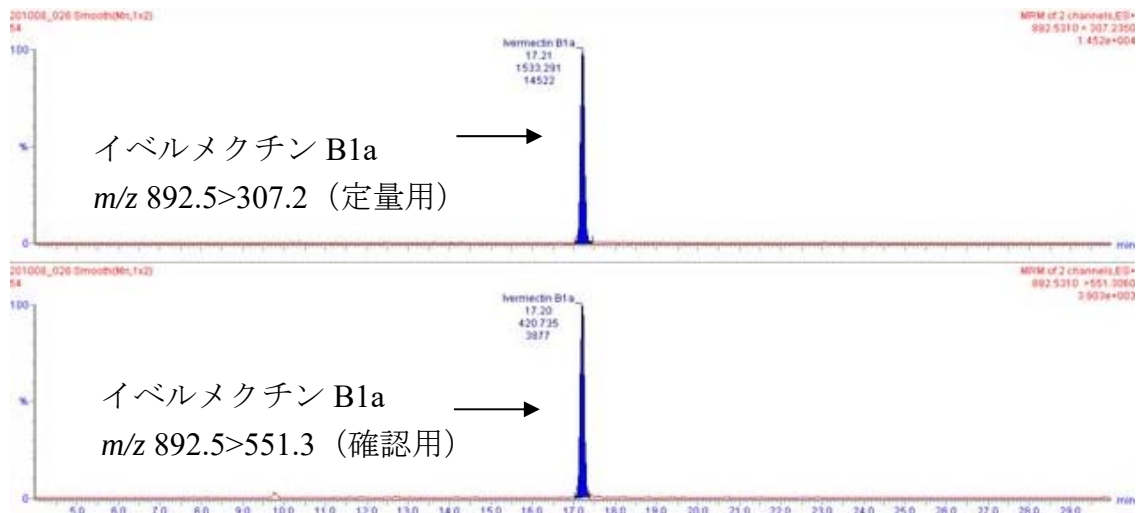


図 8-2 イベルメクチン B1a 標準添加試料のクロマトグラム
(3.0 ng 添加、海水)

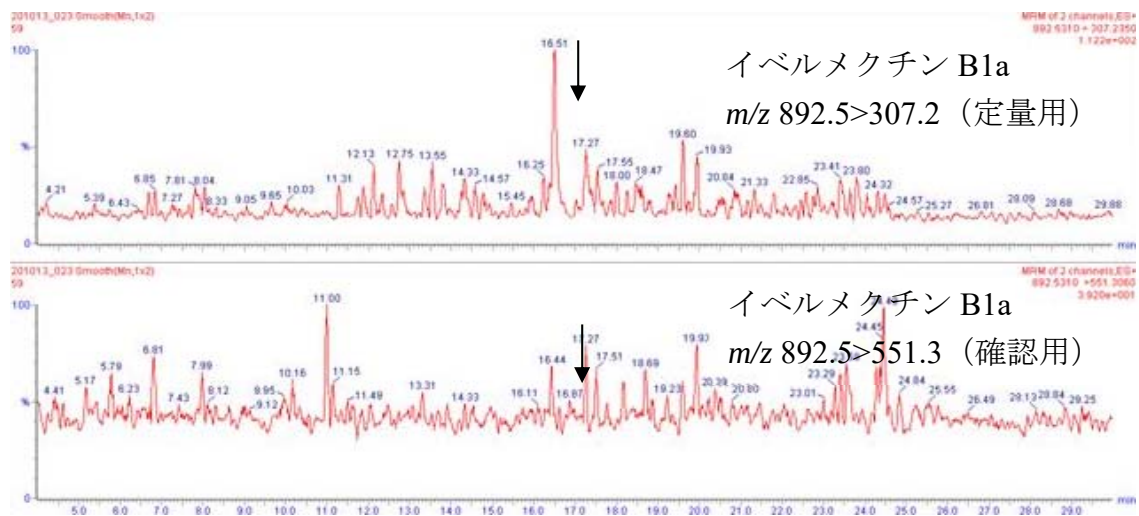


図 8-3 イベルメクチン B1a 標準無添加のクロマトグラム (河川水)

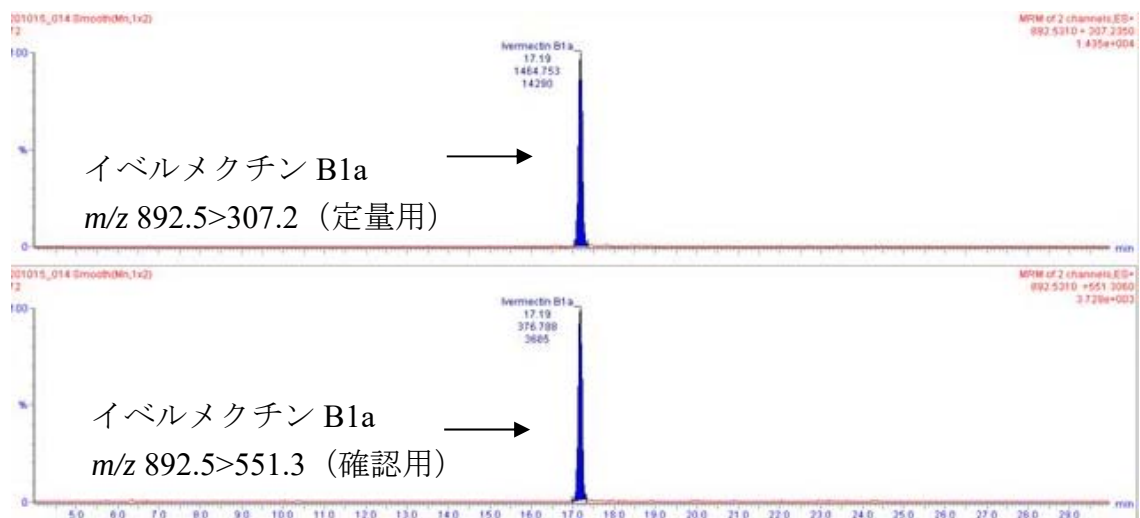


図 8-4 イベルメクチン B1a 標準添加試料のクロマトグラム
(3.0 ng 添加、河川水)

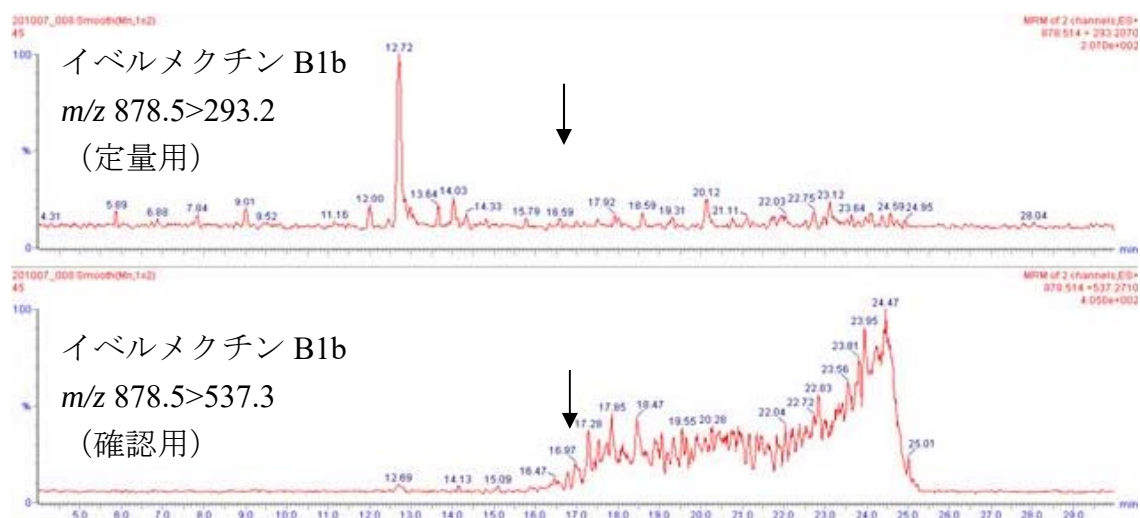


図 8-5 イベルメクチン B1b 標準無添加のクロマトグラム (海水)

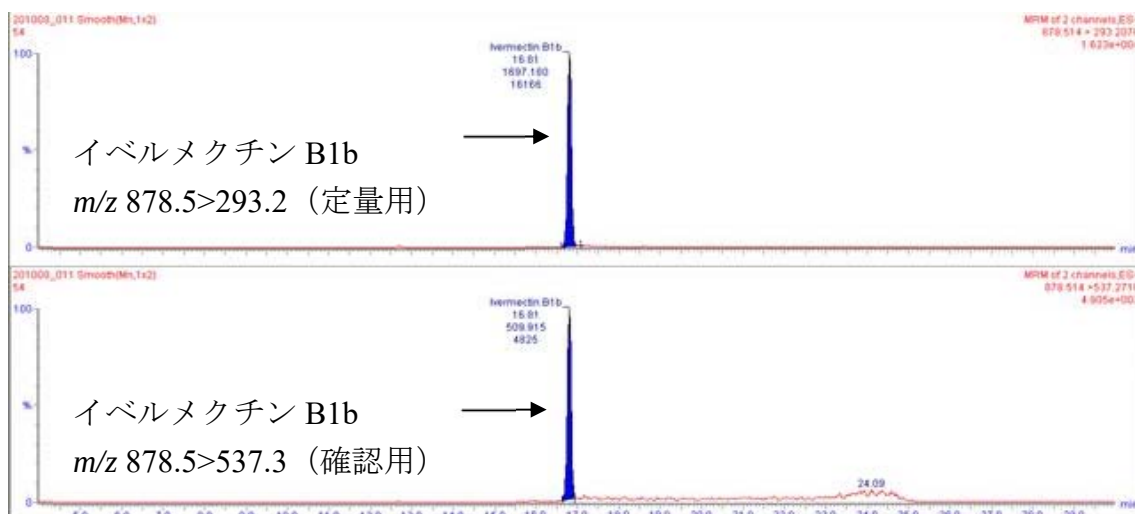


図 8-6 イベルメクチン B1b 添加試料のクロマトグラム
(3.0 ng 添加、海水)

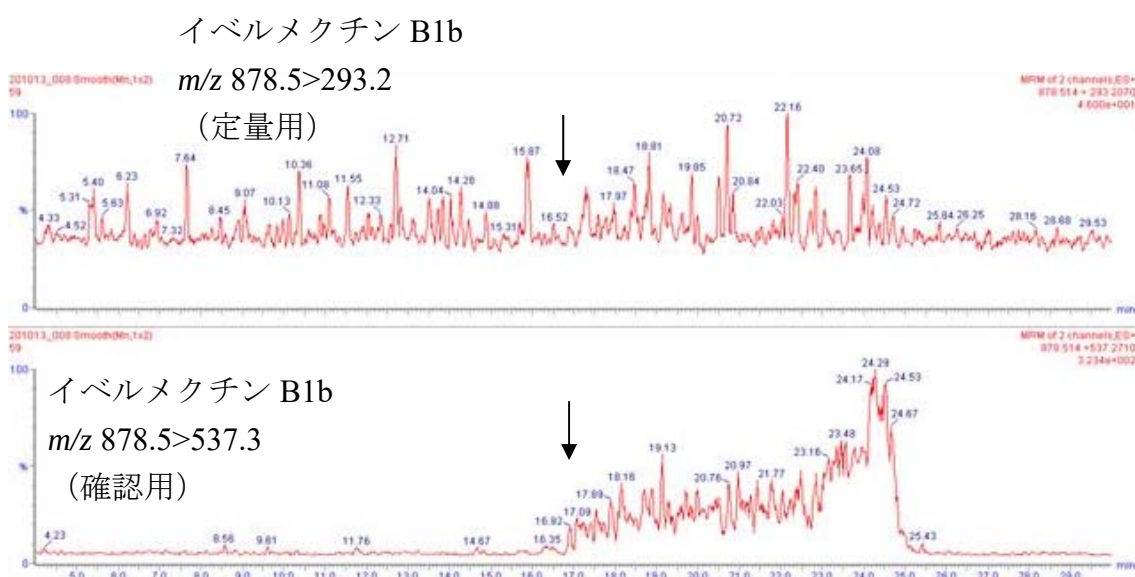


図 8-7 イベルメクチン B1b 標準無添加のクロマトグラム (河川水)

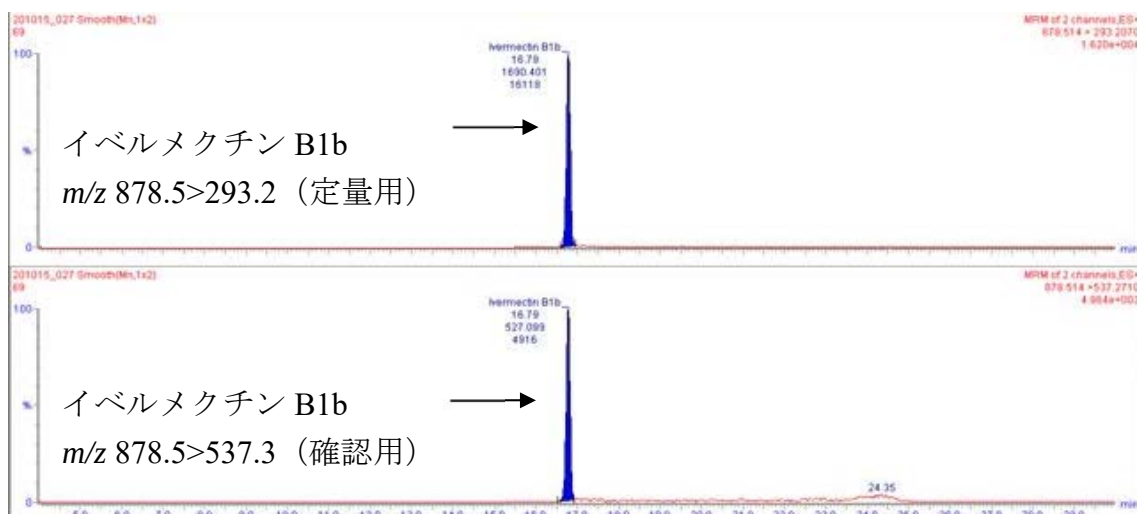


図 8-8 イベルメクチン B1b 添加試料のクロマトグラム
(3.0 ng 添加、河川水)

〔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。イベルメクチン B1a、B1b 共に明所 7 日間の保管で濃度の低下が確認された。また、イベルメクチン B1b は pH 7、9 でやや濃度の低下が確認された。

表 7 分解性スクリーニング結果

物質名	pH	試験数	初期濃度 ($\mu\text{g/L}$)	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
イベルメクチン B1a	5	2	2.0	1.5 (75)	1.5 (73)	-
	7	2	2.0	1.5 (74)	1.4 (69)	1.2 (60)
	9	2	2.0	1.5 (77)	1.5 (75)	-
イベルメクチン B1b	5	2	2.0	1.5 (75)	1.4 (70)	-
	7	2	2.0	1.5 (75)	1.3 (66)	1.1 (56)
	9	2	2.0	1.5 (77)	1.3 (66)	-

* 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 に示す。大阪湾（神戸市須磨区）で採取した海水試料及び妙法寺川（神戸市須磨区）で採取した河川水試料 1.0 L（保存容器褐色ガラスビン）に標準物質をそれぞれ 1.0 ng 添加し、7 日間冷蔵保存後、前処理を行い、濃度測定を行った。

試験液については前処理を行った試料を不活性化処理済スクリーバイアルにいった状態で冷蔵保存し、2 週間後に測定した。

標準液についても検量線用標準液をそれぞれ不活性化処理済スクリーバイアルに入れた状態で冷蔵保存し、1 か月後に測定した。

イベルメクチン B1a に関しては良好な保存性を示したがイベルメクチン B1b に関しては海水、河川水共に濃度の低下が見られた。

表 8 保存性試験結果

物質名	試料	試験 数	調製濃度 ($\mu\text{g/L}$)	検出濃度 ($\mu\text{g/L}$) (残存率 (%)* ¹)		
				7 日間	14 日間	1 か月
イベルメクチン B1a	海水 試料	6	1.0* ²	0.84 (84)	-	-
	試験液	3	1.0	-	0.86 (86)	-
	河川水 試料	6	1.0* ²	0.85 (85)	-	-
	試験液	3	1.0	-	0.89 (89)	-
	標準液 MDL の 10 倍程度	2	1.0	-	-	0.95 (95)
	検量線最高濃度	2	100	-	-	96 (96)
イベルメクチン B1b	海水 試料	6	1.0* ²	0.66 (66)	-	-
	試験液	3	1.0	-	0.56 (56)	-
	河川水 試料	6	1.0* ²	0.59 (59)	-	-
	試験液	3	1.0	-	0.60 (60)	-
	標準液 MDL の 10 倍程度	2	1.0	-	-	1.0 (100)
	検量線最高濃度	2	100	-	-	99 (99)

*1：調製濃度に対する検出濃度の割合。

*2：いずれの環境試料からも無添加試料からは検出されなかった。

〔保存法の検討〕

酸化による分解の可能性を考え、アスコルビン酸を加えて保存性の向上が見られるか確認を行った。検討結果を表 9 に示す。アスコルビン酸を添加した場合でも残存率は無添加と同等か低い結果となったため、試料の保存には添加物を加えないこととした。

表 9 アスコルビン酸を添加した保存性試験結果

物質名	試料 ^{*1, *2}	試験数	調製濃度 ($\mu\text{g/L}$)	検出濃度 ($\mu\text{g/L}$) (残存率 (%)) ^{*3}	
				7 日間	
イベルメク チン B1a	海水	無添加	3	1.0 ^{*4}	0.96 (96)
		アスコルビン酸 0.1%添加	2	1.0	0.72 (72)
	河川水	無添加	3	1.0 ^{*4}	0.90 (90)
		アスコルビン酸 0.1%添加	2	1.0	0.89 (89)
イベルメク チン B1b	海水	無添加	3	1.0 ^{*4}	0.68 (68)
		アスコルビン酸 0.1%添加	2	1.0	0.48 (48)
	河川水	無添加	3	1.0 ^{*4}	0.71 (71)
		アスコルビン酸 0.1%添加	2	1.0	0.70 (70)

*1：無添加：同時に試験したアスコルビン酸添加の試料。海水もしくは河川水試料 1.0 L に標準物質をそれぞれ 1.0 ng 添加。7 日間冷蔵保存後前処し測定。

*2：アスコルビン酸 0.1 % 添加：水試料 1.0 L に標準物質をそれぞれ 1.0 ng 及びアスコルビン酸 1.0 g を添加。7 日間冷蔵保存後前処し測定。

*3：残存率(%)：調製濃度に対する検出濃度の割合。

*4：いずれの環境試料からも無添加試料からは検出されなかった。

〔試料の違いによる回収率の確認〕

分解性スクリーニング試験の結果、1 時間放置後の試料の残存率は 75%程度と低く、環境試料よりも回収率が低い可能性が示唆された。そこで精製水、河川水及び海水における添加回収率を比較した。その結果、精製水を用いた場合に回収率が低下する傾向が見られた。夾雑物の非常に少ない試料を分析する場合には回収率が低下する可能性があると考えられる。

表 10 精製水を使用した添加回収試験の結果及び環境水との比較

物質名	試料	試料量 (L)	添加量 (ng)	試験数	検出濃度 ($\mu\text{g/L}$)	回収率 (%)	変動係数 (%)
イベルメクチン B1a	精製水	1.0	0	2	<0.000082	-	-
			3	5	0.0022	73	3.5
	海水	1.0	0	2	<0.000082	-	-
			3	5	0.0025	85	4.2
	河川水	1.0	0	2	<0.000092	-	-
			3	5	0.0027	90	1.9
イベルメクチン B1b	精製水	1.0	0	2	<0.00012	-	-
			3	5	0.0020	68	4.0
	海水	1.0	0	2	<0.000097	-	-
			3	5	0.0027	89	4.8
	河川水	1.0	0	2	<0.00012	-	-
			3	5	0.0023	76	6.0

〔前処理方法（液液抽出）の検討〕

精製水 500 mL に標準物質 50 ng を添加し、各種溶媒 60 mL で 2 回液液抽出を行い、回収率を求めた。

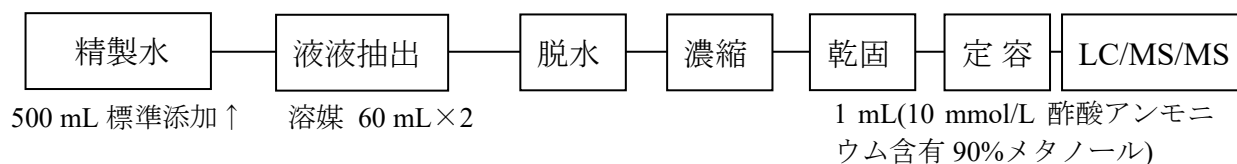


図 9 液液抽出検討の検討フロー

表 11 液液抽出の検討結果

使用した溶媒	回収率(%)
ヘキサン	0
ジクロロメタン	90
ジクロロメタン（塩化ナトリウム 5 % 添加）	95

〔固相抽出（Supelco 製リクロルート EN 200 mg）の検討〕

精製水 500 mL に標準物質 50 ng を添加後 pH 4 に調整した 1 mol/L 酢酸アンモニウム溶液 25 mL を添加した。通水後窒素で固相カートリッジを乾燥させ、酢酸エチルで溶出し、ロータリーエバポレーターで濃縮・窒素吹付により乾固させ酢酸アンモニウム含有 90 % メタノール溶液で定容して回収率を求めた。また、通水後の水は液液抽出し、固相への吸着漏れを確認した。

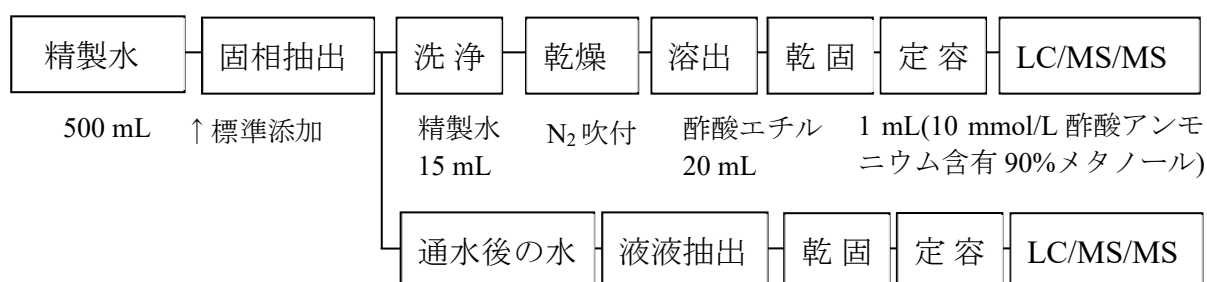


図 10 固相抽出（リクロルート EN）の検討フロー

表 12 固相抽出（リクロレート EN）の検討結果

通水試料	回収率(%)				計
	0-5 mL	5-10 mL	10-15 mL	通水後 の水	
1 mol/L 酢酸アンモニウム溶液(pH 4) 25 mL 添加	39	4	2	0	45
pH 無調整の酢酸アンモニウム溶液 25 mL 添加	25	3	1	5	34
酢酸アンモニウム無添加	26	3	1	-	30

〔固相抽出(Waters 製 Oasis HLB 225 mg)の検討〕

精製水 500 mL に標準物質 50 ng を添加し、通水後窒素で乾燥させた。バックフラッシュにてメタノール 6 mL、アセトン 3 mL で溶出し、窒素吹付により乾固、酢酸アンモニウム含有 90%メタノール溶液で定容し回収率を求めた。また、通水後の水は液液抽出し、固相への吸着漏れを確認した。

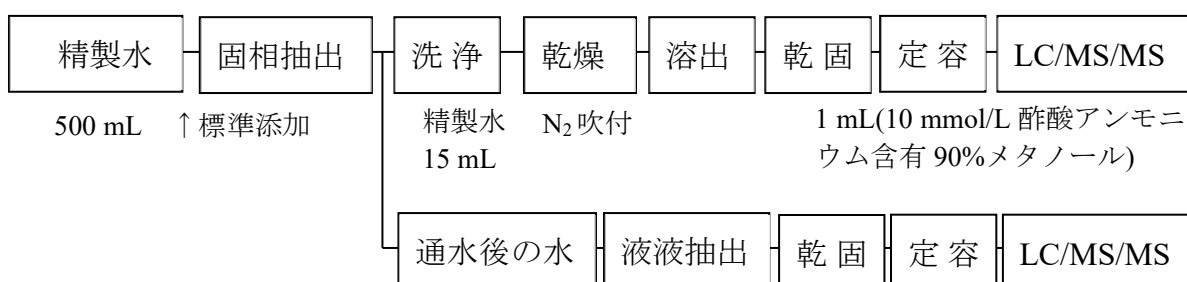


図 11 固相抽出(Oasis HLB)の検討フロー

表 13 固相抽出(Oasis HLB)の検討結果

通水試料	回収率(%)				計
	メタノール 0-3 mL	メタノール 3-6 mL	アセトン 0-3 mL	通水後の水	
pH 等調整なし	33	0	0	0	33

固相抽出やヘキサンを用いた液液抽出では良好な結果が得られなかったため、ジクロロメタンを使用した液液抽出を採用した。

〔カラムクリーンアップ(Supelco 製 LC-Si 500 mg)①〕

各種溶出溶媒 10 mL でコンデショニングしたシリカゲルカラムに標準物質 50 ng を添加したジクロロメタン 1 mL を負荷し、回収率を求めた。

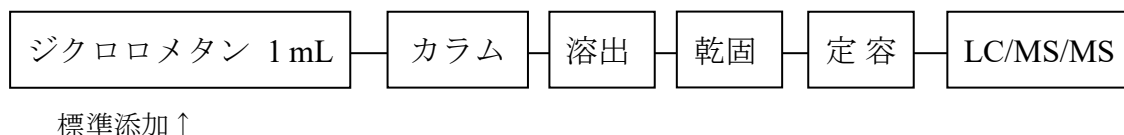


図 12 カラムクリーンアップ(LC-Si 500 mg)の検討フロー

表 14 カラムクリーンアップ(LC-Si 500 mg)の検討結果①

溶出溶媒	回収率(%)				計
	0-5 mL	5-10 mL	10-15 mL	15-20 mL	
酢酸エチル/ヘキサン(8:2)	28	18	3	1	50
酢酸エチル	61	18	3	1	83
ジクロロメタン/ヘキサ(1:1)	0	0	0	0	0
ジクロロメタン	0	0	0	0	0

〔カラムクリーンアップ(Supelco 製 LC-Si 500 mg)②〕

表 14 の結果を受けてジクロロメタンでの前捨てを行い、酢酸エチルで溶出できるか確認を行った。

表 15 カラムクリーンアップ(LC-Si 500 mg)の検討結果②

溶出溶媒	回収率(%)					計
	Fr 1	Fr 2	Fr 3	Fr 4	Fr 5	
ジクロロメタン 0-5 mL	45	-	-	-	-	
ジクロロメタン 5-10 mL	-	0	-	-	-	
酢酸エチル 0-5 mL	-	-	37	-	-	84
酢酸エチル 5-10 mL	-	-	-	2	-	
酢酸エチル 10-15 mL	-	-	-	-	0	

〔カラムクリーンアップ(Supelco 製 ENVI-Carb 500 mg)〕

文献を参考に Supelco LC-Si 500mg の検討を行ったが、溶出の挙動が安定しなかったため使用を断念し、Supelco ENVI-Carb 500 mg を検討した。

Supelco ENVI-Carb 500 mg に関しても前捨てを予定していたヘキサン画分での溶出が確認されたため、分画せずジクロロメタンで溶出することとした。

条件①

ヘキサン 10 mL でコンデショニングし、ヘキサン 1mL に標準物質を添加したものを負荷後溶出。

条件②

ジクロロメタン 10 mL でコンデショニングし、ジクロロメタン 1 mL に標準物質を添加したものを負荷後溶出。

条件③

ジクロロメタン 10 mL でコンデショニングし、ジクロロメタン 1 mL に標準物質を添加したものを負荷後溶出。

表 16 カラムクリーンアップ(ENVI-Carb 500 mg)の検討結果

溶出溶媒		回収率(%)					計
		Fr 1	Fr 2	Fr 3	Fr 4	Fr 5	
		0-5 mL	5-10 mL	10- 15 mL	15- 20 mL	20- 25 mL	
条件①	ヘキサン	14	3	-	-	-	97
	30%ジクロロメタン/ヘキサン	-	-	21	36	-	
	ジクロロメタン	-	-	-	-	23	
条件②	ヘキサン	68	1	-	-	-	90
	30%ジクロロメタン/ヘキサン	-	-	6	11	-	
	ジクロロメタン	-	-	-	-	4	
条件③	ジクロロメタン	112	3	-	-	-	115
	酢酸エチル	-	-	0	0	-	
	アセトン	-	-	-	-	0	

〔環境試料の分析〕

2020 年 10 月、11 月、2021 年 1 月に妙法寺川（神戸市須磨区）で採取した河川水試料及び 2020 年 11 月、2021 年 1 月に大阪湾（神戸市須磨区）で採取した海水試料を分析した結果、イベルメクチン B1a、B1b 共に MDL 未満であった。

【評価】

本分析法におけるイベルメクチン B1a 及びイベルメクチン B1b の検量線は、0.10～5.0 ng/mL の濃度範囲でそれぞれ $r^2 > 0.997$ 、 $r^2 > 0.998$ 、2.0～100 ng/mL の濃度範囲でそれぞれ $r^2 > 0.999$ 、 $r^2 > 0.999$ であり良好な直線性が得られた。河川水の MDL はイベルメクチン B1a では 0.000092 µg/L、イベルメクチン B1b では 0.00012 µg/L。MQL はイベルメクチン B1a では 0.00024 µg/L、イベルメクチン B1b では 0.00031 µg/L であった。また、海水の MDL はイベルメクチン B1a では 0.000082 µg/L、イベルメクチン B1b では 0.000097 µg/L。MQL はイベルメクチン B1a では 0.00021 µg/L、イベルメクチン B1b では 0.00025 µg/L であった。

操作ブランクは不検出であり、測定した海水、河川水のどちらからも検出されなかった。

海水及び河川水を用いた添加回収試験（添加量 3.0 ng）は、イベルメクチン B1a でそれぞれ 85 %（変動係数 4.2 %）、90 %（変動係数 1.9 %）、イベルメクチン B1b でそれぞれ 89 %（変動係数 4.8 %）、76 %（変動係数 6.0 %）であった。

以上の結果から本分析法は、環境水試料中のイベルメクチンについて 0.0002 µg/L レベルで検出可能であると判断される。

【参考文献】

- 1) 坂本美穂，竹葉和江，笹本剛生，草野友子，林洋，金井節子，神田真軌，永山敏廣，森健一郎：LC-FL 及び LC-MS/MS による食肉中のイベルメクチン，エプリノメクチン，ドラメクチン及びモキシデクチンの分析，東京都健康安全研究センター研究年報 第 60 号 139-145（2009）
- 2) 井之上浩一，吉見幸子，日野知証，岡尚男：LC/ESI-MS/MS による畜水産物中の大環状ラクトン寄生虫駆除剤の一斉分析法，食品衛生学会誌 51 巻 1 号 1-9（2010）
- 3) Urs Duthaler, Claudia Suenderhauf, Stefan Gaugler, Beatrice Vetter, Stephan Krähenbühl, Felix Hammann : Development and validation of an LC-MS/MS method for the analysis of ivermectin in plasma, whole blood, and dried blood spots using a fully automatic extraction system、Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 172 18-25 (2019)
- 4) 環境省安全課：平成 16 年度化学物質分析法開発調査報告書 p.204-245 (2005)

(短鎖塩素化パラフィン、岡山県環境保健センター)

【担当者連絡先】

所属先名称 : (公財) ひょうご環境創造協会 兵庫県環境研究センター

所属先住所 : 〒654-0037 神戸市須磨区行平町 3-1-18

TEL : 078-735-6913 、 FAX : 078-735-7817

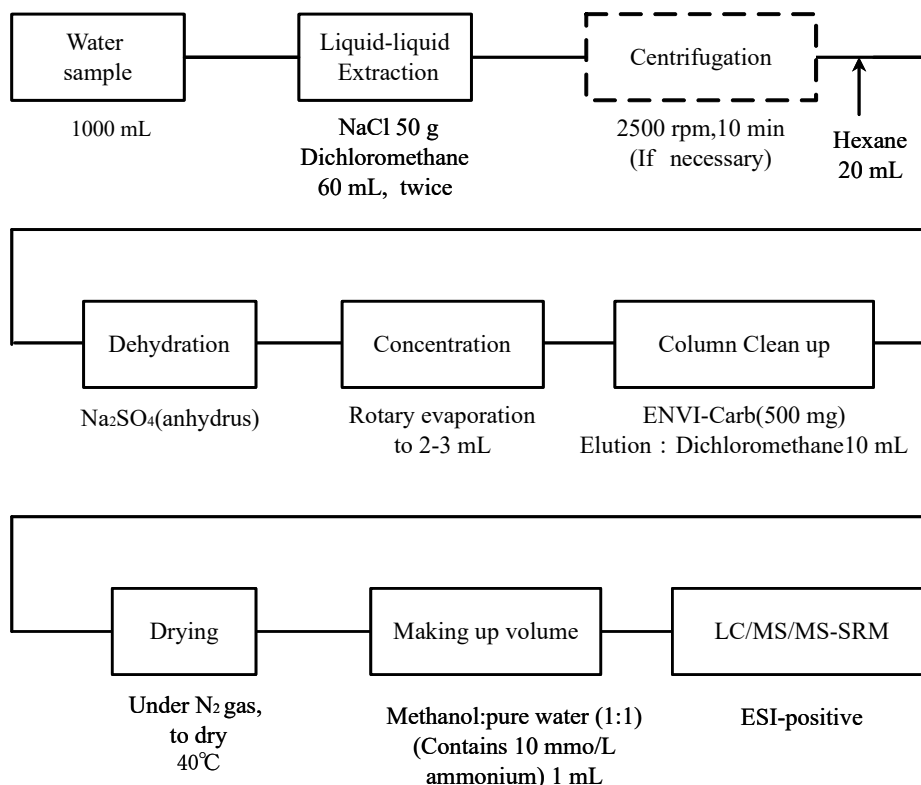
担当者名 : 梶 拓也

E-mail : kakoi-t@hies-hyogo.jp

Ivermectin

This method has been developed for the determination of ivermectin B1a and B1b in water by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC/MS/MS). After adding 50 g of sodium chloride to water sample (1 L), liquid-liquid extraction with 60 mL of dichloromethane is performed twice. The dichloromethane layer is separated, added with 20 mL of hexane, dehydrated with anhydrous sodium sulfate and then concentrated to 2-3 mL with a rotary evaporator. The concentrate is loaded to a solid phase cartridge (ENVI-Carb 500 mg/6 mL) filled with anhydrous sodium sulfate in 5 mm space on the top. After the cartridge is washed with 10 mL of dichloromethane, the analytes are eluted with additional 10 mL of dichloromethane. The eluate is dried with gentle stream of ultra-pure grade nitrogen gas at 40 deg C and then the residue is made up to 1 mL with methanol/10 mmol/L ammonium acetate solution (1:1). The analytes are determined by LC/MS/MS. The method detection limit (MDL) of ivermectin B1a and ivermectin B1b are 0.000092 µg/L and 0.00012 µg/L, respectively. The average recovery rates of ivermectin B1a and ivermectin B1b from sea water samples were 85% and 89%, and those from river water samples were 90% and 76%, respectively.

Seawater and river water samples in Hyogo Prefecture were measured by the method, and the analytes were below the MDLs in all the samples.

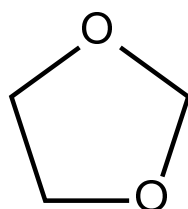


物質名	分析法フローチャート	備 考
[1]イベルメクチン B1a [2]イベルメクチン B1b	【水質】 <pre> graph LR A[水質試料 1000 mL] --> B[液液抽出 塩化ナトリウム添加 50 g ジクロロメタン 60 mL × 2回] B --> C[遠心分離 2500 rpm, 10 min (必要により)] D[20 mL ヘキサン添加] --> C C --> E[脱水 無水硫酸ナトリウム] E --> F[濃縮 ロータリエボレーター 2-3 mL程度まで] F --> G[カラムクリーンアップ ENV1-Carb(500 mg) 溶出: ジクロロメタン 10 mL] G --> H[乾固 N₂ガス気流下 40℃] H --> I[定容 10 mmol/L 酢酸アンモニウム 含有50%メタノール 1 mL] I --> J[LC/MS/MS-SRM ESI-positive] </pre>	分析原理： LC/MS/MS-SRM ESI-Positive 検出下限値： 【水質】(μg/L) [1] 0.000092 [2] 0.00012 分析条件： 機器 LC: Waters 製 ACQUITY UPLC MS: Waters 製 XEVO TQ カラム GL サイエンス製 Inertsil ODS-SP HP 150 mm×2.1 mm, 3 μm

1,3-ジオキソラン

1,3-Dioxolane

【対象物質の構造】



CAS 番号：646-06-0、分子式：C₃H₆O₂

【物理化学的性状】¹⁾

分子量 (モノアイソトピック質量)	比重 (g/cm ³)	沸点 (°C)	融点 (°C)	蒸気圧 (mmHg, 20°C)	水溶解度 (25°C)	log P _{ow}
74.08 (74.0367)	1.06	78	- 95	7.9×10 (105.07 hPa*)	自由混和	- 0.37

*：換算値（1 mmHg=1.33 hPa による。）

【毒性、用途】

〔毒性〕¹⁾

[実験動物に対する急性毒性情報]

マウス（経口）LD₅₀：3200 mg/kg

ラット（経口）LD₅₀：3000 mg/kg

〔用途〕²⁾

リチウム電池・コンデンサー溶媒、エンジニアリングプラスチック原料

出典

- 1) 環境省環境保健部環境リスク評価室：化学物質の環境リスク評価 第9巻
- 2) 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

塩化ナトリウムを入れたバイアル瓶に水質試料を取り、内標準を添加してヘッドスペース-GC/MS-SIM で定量する。

(2) 試薬・器具

【試薬】

- | | |
|------------------|---|
| 1,3-ジオキソラン | : 富士フイルム和光純薬製 特級 (>99.0%) |
| 1,4-ジオキサン- d_8 | : 富士フイルム和光純薬製 水質試験用 1 mg/mL メタノール溶液 (0.97~1.03 mg/mL) |
| メタノール | : 富士フイルム和光純薬製 LC/MS 用 |
| 塩化ナトリウム | : 富士フイルム和光純薬製 水質試験用 |
| 精製水 (注 1) | : エビアン 伊藤園・伊藤忠ミネラルウォーターズ |

【標準液の調製】

〔標準原液〕

標準品 20.0 mg を正確に量り取り、メタノール 20 mL に溶解し、1000 $\mu\text{g/mL}$ の標準原液を調製する。

〔内標準液〕

市販の 1,4-ジオキサン- d_8 標準液 (1 mg/mL、メタノール溶液) を内標準原液とする。内標準原液をメタノールで希釈し、100 $\mu\text{g/mL}$ の内標準液を調製する。

〔検量線用混合標準液〕

標準原液をメタノールで希釈し、50 $\mu\text{g/mL}$ の検量線用標準液を調製する。

【器具】

バイアル瓶 (ヘッドスペース測定用(20 mL))、シリコン/PTFE セプタム付きキャップ、メスフラスコ、ホールピペット、マイクロシリンジ (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「試料の採取及び検体の調製等」に従う。試料は、容量 100 mL 程度のふらん瓶またはシリコン/PTFE セプタム付きねじ口瓶に、気泡が入らないように採取する。

分析は試料採取後直ちに行うことが原則であるが、行えない場合は、汚染のない冷暗所（10℃ 以下）にて凍結しないように保存する。

【試料の前処理及び試験液の調製】

水質試料 10 mL を泡立てないように、あらかじめ塩化ナトリウム 3.0 g を入れたヘッドスペース測定用バイアル瓶に分取する。直ちに、100 µg/mL の内標準液 10 µL を添加して密栓する。塩化ナトリウムが完全に溶解するまで混合したものを試験液とする。

【空試験液の調製】

試料と同量の精製水を用い、【試料の前処理及び試験液の調製】に従って調製したものを空試験液とする。

【測定】

【GC/MS 測定条件】

【GC/MS 条件】（注 3）

使用機種	: 島津製作所製 GCMS-TQ8030
カラム	: Restek 製 Rtx-624 (60 m × 0.25 mm, 1.4 µm)
カラム温度	: 40°C (2.5 min) → 30°C/min → 200°C (18 min)
試料導入方法	: スプリット（スプリット比 30:1）
キャリアガス	: He (30.0 cm/s)
インターフェイス温度	: 210°C
イオン源温度	: 220°C
イオン化電流	: 60 µA
イオン化電圧	: 70 V
測定モード	: SIM

【ヘッドスペース条件】

使用機種	: 島津製作所製 HS-20 Trap
平衡条件	: 80°C, 30 min
試料導入方式	: ループ注入 (1 mL)
トランスファー温度	: 150°C

物質名	モニターイオン (m/z)	
	定量	確認
1,3-ジオキソラン	73.0	45.0 (43.0、44.0)
1,4-ジオキサシ- d_8	96.1	64.1

〔検量線〕

精製水 10 mL を泡立てないように、あらかじめ塩化ナトリウム 3.0 g を入れたヘッドスペース測定用バイアル瓶に分取する。50 $\mu\text{g/mL}$ の検量線用標準液 2.0～40 μL 及び 100 $\mu\text{g/mL}$ の内標準液 10 μL を添加し、直ちに密栓して 10～2000 ng/mL の範囲の検量線とする。塩化ナトリウムが完全に溶解するまで混合した後、ヘッドスペース-GC/MS-SIM で分析する。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を用いて検量線を作成する。

〔定量〕

試験液 10 mL をヘッドスペース-GC/MS を用いて測定し、得られた対象物質と内標準物質のピーク面積比から検量線を用いて対象物質濃度を求める。

〔濃度の算出〕

試料水中濃度 C ($\mu\text{g/L}$) 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 (μg)

(添加する内標準液の濃度 ($\mu\text{g/mL}$) $\times$ 添加する内標準液の容量 (mL))

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。

$$Q = 1.0 (\mu\text{g})$$

(添加内標準液の濃度 (100 $\mu\text{g/mL}$) $\times$ 添加内標準液の容量 (10 μL))

$$V = 0.010 (\text{L})$$

即ち、

$$C = R \times 100 (\mu\text{g/L})$$

である。

〔装置検出下限値 (IDL) 〕

本分析法に用いたヘッドスペース-GC/MS の IDL を表 1 に示す (注 4)。

表 1 IDL の算出結果

物質名	試料量 (L)	IDL (ng/mL)
1,3-ジオキソラン	0.010	2.4

〔分析方法の検出下限値 (MDL)及び定量下限値(MQL)〕

本分析法の MDL 及び MQL を表 2 に示す (注 5)。

表 2 MDL 及び MQL の算出結果

物質名	試料	試料量 (L)	MDL ($\mu\text{g/L}$)	MQL ($\mu\text{g/L}$)
1,3-ジオキソラン	河川水	0.010	2.4	6.1

注 解

- (注1) 使用する精製水は、あらかじめブランクが無いことを確認しておく。精製水に起因するブランクを差し引くことはできない。なお、精製水にはエビアン、超純水（富士フイルム和光純薬製、LCMS 分析用）が使用可能であった。
- (注2) 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。また、ガラス器具は JIS R 3505 に記載のクラス A のものを使用する。
- (注3) ヘッドスペース-GC/MS の条件は、本測定に使用した機種（島津製作所製 HS-20 Trap + GCMS-TQ8030）特有のものである。機種によって最適条件が異なる。

(注4) 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 に示す。

表 3 IDL の算出結果 (詳細)

対象物質名	1,3-ジオキソラン
試料量 (L)	0.010
試料濃度 (ng/mL)	10
結果 1 (ng/mL)	9.81
結果 2 (ng/mL)	9.02
結果 3 (ng/mL)	9.99
結果 4 (ng/mL)	9.88
結果 5 (ng/mL)	10.2
結果 6 (ng/mL)	8.67
結果 7 (ng/mL)	8.79
平均値 (ng/mL)	9.471
標準偏差(σ_{n-1}) (ng/mL)	0.622
IDL (ng/mL)*	2.4
S/N	7.1
CV (%)	6.6

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

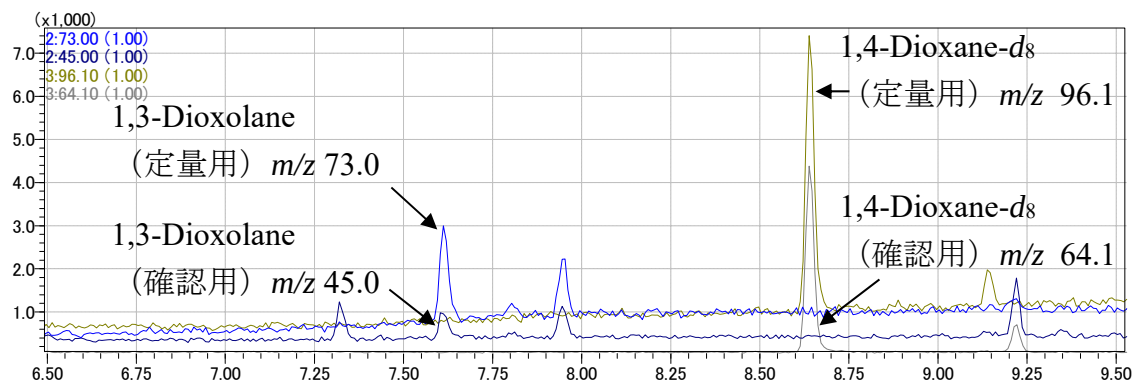


図 1 IDL 測定時のクロマトグラム

(注5) MDL 及び MQL は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 28 年 3 月)に従って、表 4 のとおり算出した。また、図 2 に MDL 測定時のクロマトグラムを示す。

表 4 MDL 及び MQL の算出結果 (詳細)

対象物質名	1,3-ジオキソラン
試料	河川水
試料量 (L)	0.010
標準添加量 (μg)	0.10
試料換算濃度 (μg/L)	10
操作ブランク平均 (μg/L)* ¹	< 2.4
無添加平均 (μg/L)* ²	< 2.4
結果 1 (μg/L)	9.26 (93)
結果 2 (μg/L)	11.1 (111)
結果 3 (μg/L)	10.3 (103)
結果 4 (μg/L)	9.57 (96)
結果 5 (μg/L)	9.86 (99)
結果 6 (μg/L)	9.87 (99)
結果 7 (μg/L)	10.4 (104)
平均値 (μg/L)	10.06 (101)
標準偏差(σ _{n-1}) (μg/L)	0.611
MDL (μg/L)* ³	2.4
MQL (μg/L)* ⁴	6.1
S/N	6.8
CV (%)	6.1

*1: 空試験液を測定した値の平均値 (n = 3)

*2: MDL 算出用試料に標準を添加していない状態で含まれる濃度の平均値 (n = 3)

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

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

*5: 括弧内の値は回収率

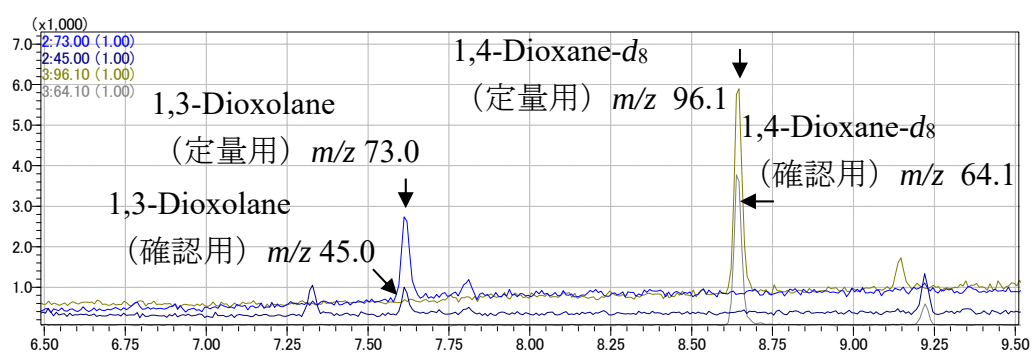


図2 MDL 測定時のクロマトグラム

§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。

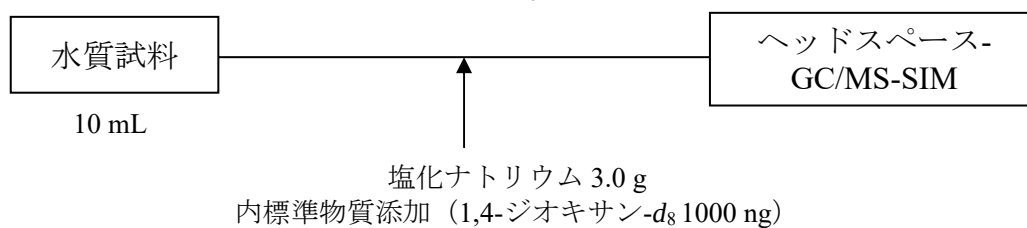


図3 分析法のフローチャート

〔検量線〕

検量線を図4に、検量線作成用データを表5-1、表5-2に示す。なお、検量線は直線性が認められる範囲で作成した。

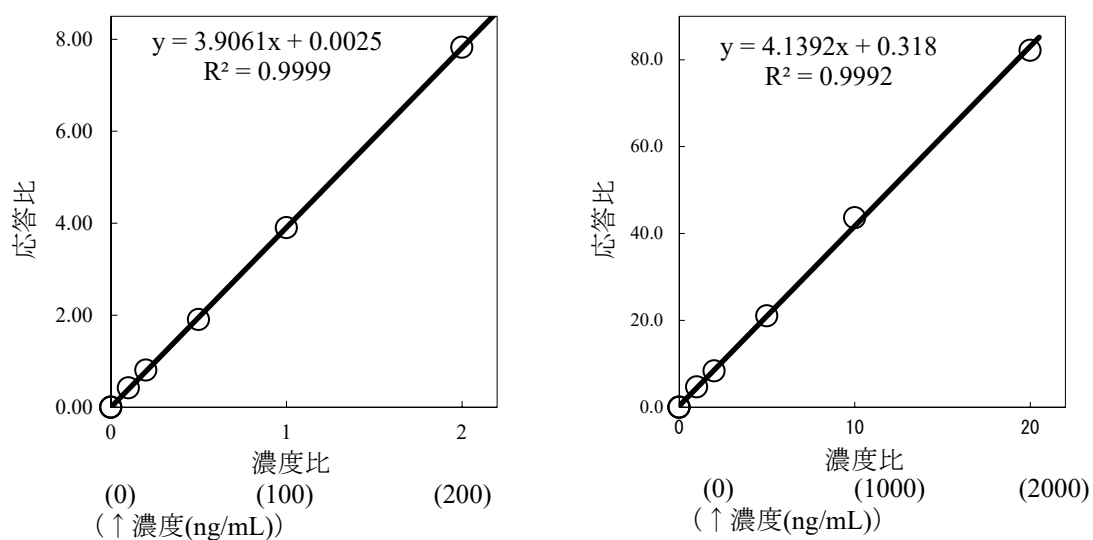


図4 1,3-ジオキソランの検量線
(左図：低濃度域 10～200 ng/mL、右図：高濃度域 100～2000 ng/mL、
内標準濃度：100 ng/mL)

表 5-1 低濃度域の検量線作成用データ

標準液濃度 (ng/mL) (C _s)	濃度比 (C _s /C _{is} [*])	応答値		応答比 (A _s /A _{is})
		対象物質(A _s)	内標準(A _{is})	
		【1,3-ジオキソラン】 (m/z 73.0)	【1,4-ジオキサン-d ₈ 】 (m/z 96.4)	
10	0.10	3717	8828	0.421
20	0.20	7229	8957	0.807
50	0.50	18001	9443	1.91
100	1.0	36301	9302	3.90
200	2.0	75406	9635	7.83

C_{is}^{*}：内標準物質濃度 100 ng/mL

表 5-2 高濃度域の検量線作成用データ

標準液濃度 (ng/mL) (C _s)	濃度比 (C _s /C _{is} [*])	応答値		応答比 (A _s /A _{is})
		対象物質(A _s)	内標準(A _{is})	
		【1,3-ジオキソラン】 (m/z 73.0)	【1,4-ジオキサン-d ₈ 】 (m/z 96.4)	
100	1.0	53464	11428	4.68
200	2.0	103055	12344	8.35
500	5.0	256651	12202	21.0
1000	10	500961	11486	43.6
2000	20	942771	11475	82.2

C_{is}^{*} : 内標準物質濃度 100 ng/mL

〔クロマトグラム〕

標準液の SIM クロマトグラムを図 5 に示す。

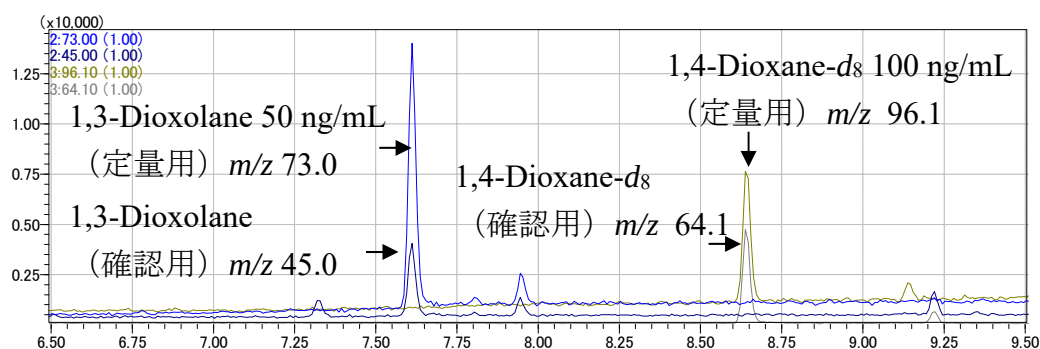


図 5 標準液の SIM クロマトグラム

〔マススペクトル〕

各標準物質のマススペクトルを図 6-1、図 6-2 に示す。

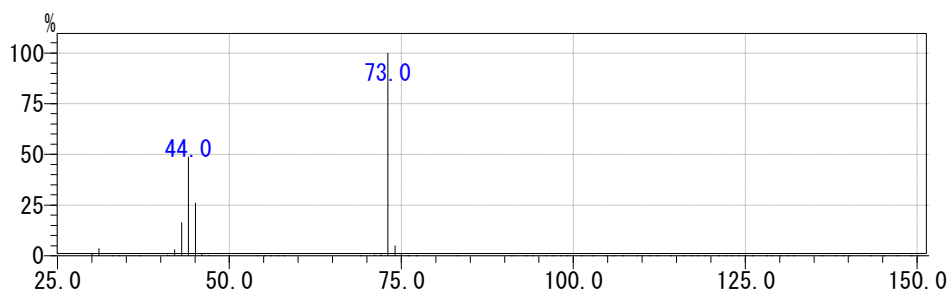


図 6-1 1,3-ジオキソランのマススペクトル

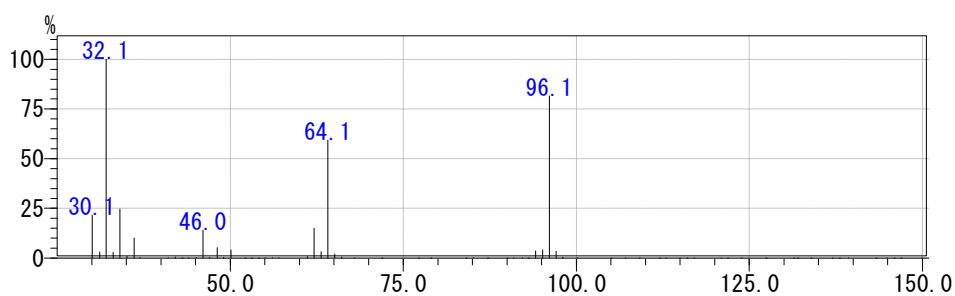


図 6-2 1,4-ジオキサン- d_8 のマススペクトル

〔操作ブランク〕

操作ブランク試験の結果はいずれも MDL 以下であった（表 6）。操作ブランクのクロマトグラフを図 7 に示す。

表 6 操作ブランク試験結果

物質名	試験数	検出濃度 ($\mu\text{g/L}$)
1,3-ジオキソラン	2	< 2.4

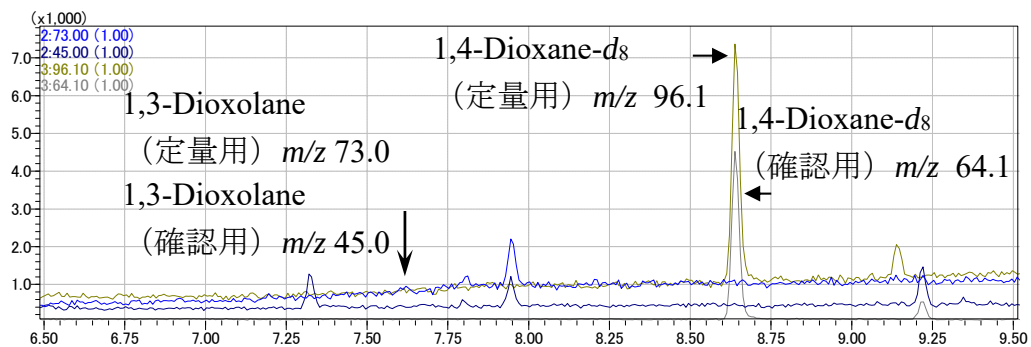


図 7 操作ブランクの SIM クロマトグラム(1,4-Dioxane- d_8 100 ng/mL)

〔添加回収試験〕

河川水、海水への添加回収試験結果を表 7 に、クロマトグラムを図 8-1～図 8-4 に示す。

表 7 添加回収試験結果

物質名	試料	試料量 (L)	調製 濃度 ($\mu\text{g/L}$)	試 験 数	検出 濃度 ($\mu\text{g/L}$)	回収 率 (%)	変動 係数 (%)
1,3-ジオキソラン	河川水	0.010	0	2	< 2.4	-	-
		0.010	10	7	10.1	101	6.1
	海水	0.010	0	2	< 2.4	-	-
		0.010	100	5	100	100	3.4

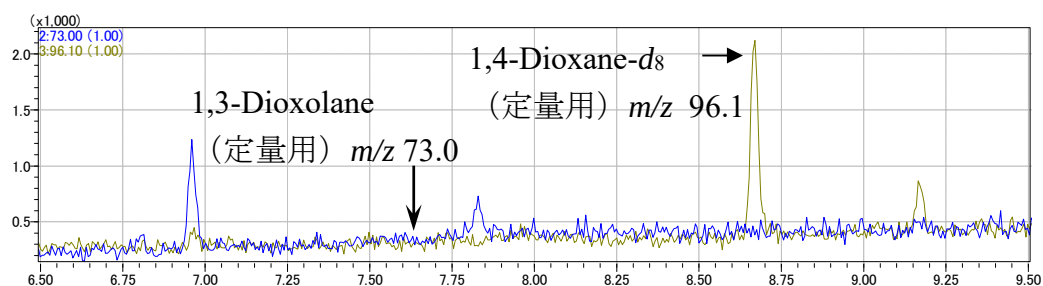


図 8-1 添加回収試験のクロマトグラム（河川水、無添加試料）

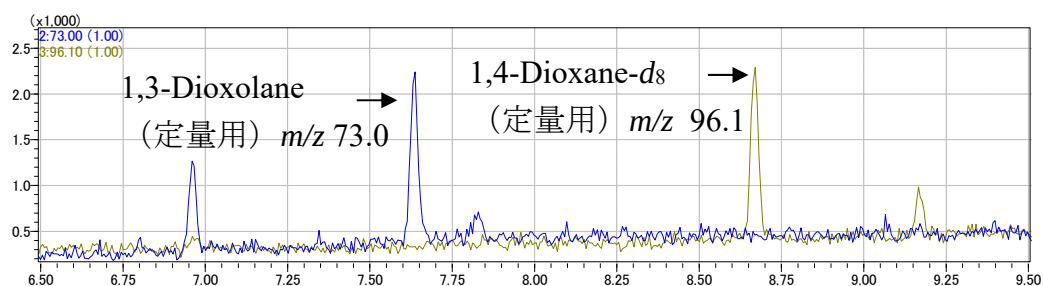


図 8-2 添加回収試験のクロマトグラム（河川水、添加試料 10 ng/mL）

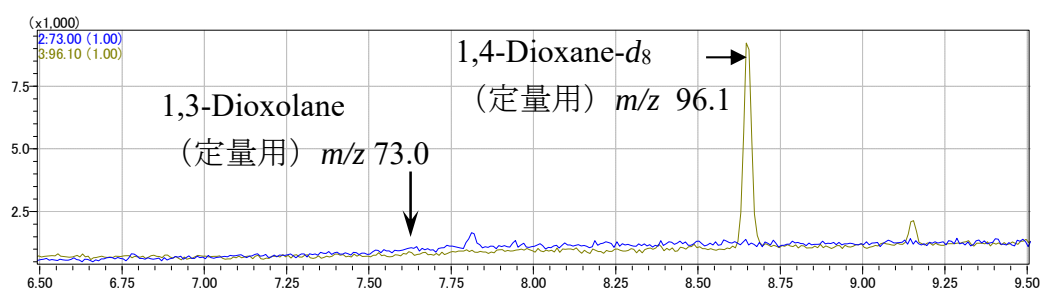


図 8-3 添加回収試験のクロマトグラム（海水、無添加試料）

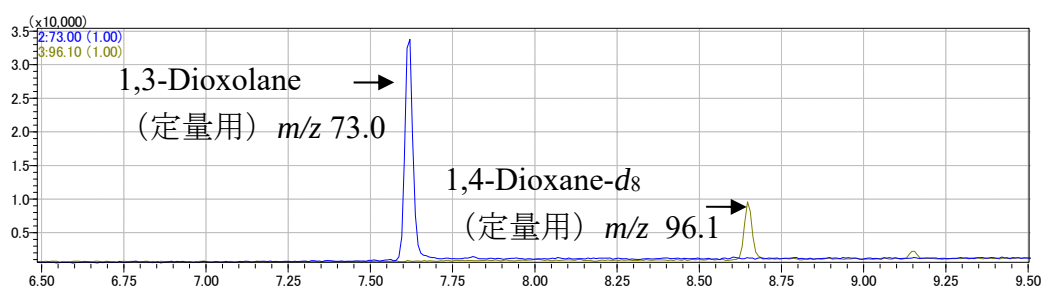


図 8-4 添加回収試験のクロマトグラム（海水、添加試料 100 ng/mL）

〔分解性スクリーニング試験〕

1,3-ジオキソランの分解性スクリーニング試験結果を表 8 に示す。

表 8 分解性スクリーニング試験結果

pH	試験数	調製濃度 ($\mu\text{g/L}$)	検出濃度(ng/mL) (残存率(%)*)		
			1 時間放置後	7 日間放置後	
				暗所	明所
5	2	100	103 (103)	100 (100)	-
7	2	100	99.6 (100)	99.4 (99)	97.0 (97)
9	2	100	101 (101)	97.7 (98)	-

* 残存率(%): 調製濃度に対する検出濃度の割合

〔保存性試験〕

河川水、海水における 1,3-ジオキソランの保存性について、表 9 に示す。【試料の採取及び保存】に従って保存した試料の保存性は良好な結果であった。同時にアスコルビン酸を添加した試料についても保存性を確認したが、無添加の試料に対して優位性は認められなかった。

表 9 1,3-ジオキソランの保存性試験結果

試料	アスコルビン酸 添加	調製 濃度 ($\mu\text{g/L}$)	検出濃度($\mu\text{g/L}$) (残存率(%)) *			
			当日	3 日間	7 日間	2 ヶ月
河川水	無	100	103 (103)	102 (102)	101 (101)	-
	有		-	-	88.2 (88)	-
海水	無	100	107 (107)	96.8 (97)	97.3 (97)	-
	有		-	-	105 (105)	-
標準液	-	50000	-	-	-	50400 (101)

*残存率(%)：調製濃度に対する検出濃度の割合

〔内標準物質の検討〕

対象物質である 1,3-ジオキソランと 1,4-ジオキサン- d_8 は、両者で物質的性状が異なるため、内標準物質としての有効性を評価するため、その使用の有無による IDL 及び MDL を算出して比較した。結果を表 10-1～表 10-2 に示す。

内標準物質を使用しない絶対検量線法に対して、内標準物質 (1,4-ジオキサン- d_8) を使用した内標準法の方が、平均値が設定値に近く、IDL が良好な結果であった。MDL に両者の違いは無かった。この結果から、ヘッドスペースからのサンプリングや MS の感度変動を補正するために有効であると考えられた。

表 10-1 定量法の違いによる IDL 算出結果の比較

定量法	内標準法	絶対検量線法
試料量 (L)	0.010	0.010
試料濃度 (ng/mL)	10	10
結果 1 (ng/mL)	9.81	12.4
結果 2 (ng/mL)	9.02	12.2
結果 3 (ng/mL)	9.99	12.9
結果 4 (ng/mL)	9.88	12.4
結果 5 (ng/mL)	10.2	12.1
結果 6 (ng/mL)	8.67	10.9
結果 7 (ng/mL)	8.79	10.7
平均値 (ng/mL)	9.471	11.94
標準偏差(σ_{n-1}) (ng/mL)	0.622	0.822
IDL (ng/mL)	2.4	3.2
CV (%)	6.6	6.9

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

表 10-2 定量法の違いによる MDL 算出結果の比較

定量法	内標準法	絶対検量線法
試料量 (L)	0.010	0.010
試料換算濃度 ($\mu\text{g/L}$)	10	10
結果 1 ($\mu\text{g/L}$)	9.26	10.5
結果 2 ($\mu\text{g/L}$)	11.1	12.1
結果 3 ($\mu\text{g/L}$)	10.3	10.7
結果 4 ($\mu\text{g/L}$)	9.57	10.5
結果 5 ($\mu\text{g/L}$)	9.86	10.5
結果 6 ($\mu\text{g/L}$)	9.87	10.3
結果 7 ($\mu\text{g/L}$)	10.4	10.4
平均値 ($\mu\text{g/L}$)	10.06	10.71
標準偏差(σ_{n-1}) ($\mu\text{g/L}$)	0.611	0.623
MDL ($\mu\text{g/L}$)	2.4	2.4
CV (%)	6.1	5.8

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

〔MS/MS 条件の検討〕

〔GC/MS 測定条件〕において、測定モードを SRM、その他の条件は同一として、MS/MS 条件の検討を行った。

標準物質のプロダクトイオンをそれぞれ図 9-1～図 9-2 に、モニターイオンを表 11 に示す。また、標準液の SRM クロマトグラムを図 10 に示す。この条件においては、対象物質のピーク強度が小さくなったため検量線最低濃度が 50 ng/mL と GC/MS-SIM より 5 倍高くなった。実試料における妨害対策としては有効と考えられるが、汎用性も考慮し、本分析法では採用しないこととした。

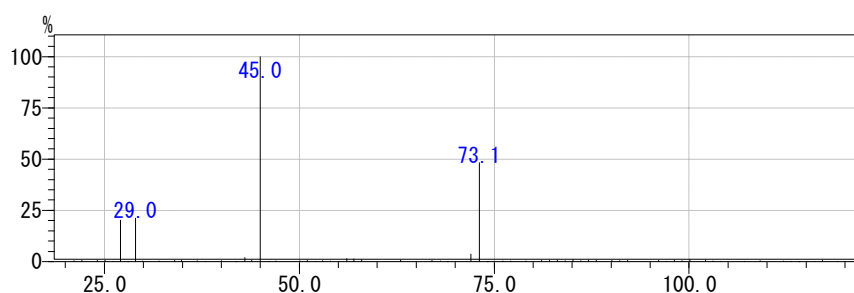


図 9-1 1,3-ジオキソランのプレカーサーイオン m/z 73 に対するプロダクトイオン

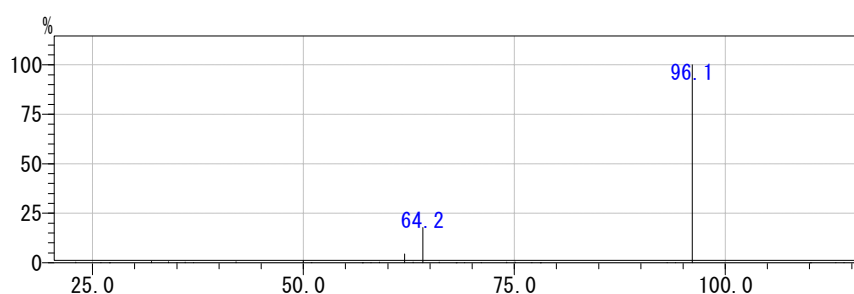


図 9-2 1,4-ジオキサン- d_8 のプレカーサーイオン m/z 96 に対するプロダクトイオン

表 11 モニターイオン

物質名	モニター		コリジョン エネルギー (eV)
		イオン (m/z)	
1,3-ジオキソラン	定量用	73 > 45	10
	確認用	73 > 29	30
1,4-ジオキサン- d_8	定量用	96 > 64	8
	確認用	64 > 32	6

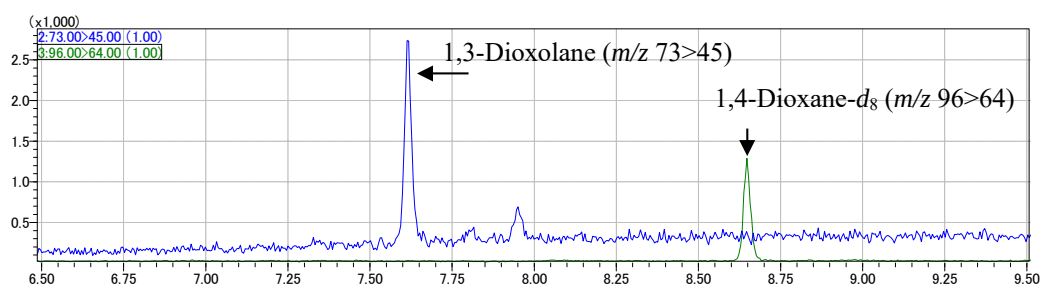


図 10 標準液の GC/MS/MS-SRM クロマトグラム
(1,3-ジオキソラン : 50 ng/mL、1,4-ジオキサン- d_8 : 100 ng/mL)

〔平衡温度の検討〕

ヘッドスペース条件における平衡温度の検討を行った。平衡化時間は 30 分とし、平衡温度を 60～80℃ に変化させたときのピーク面積値の変化を図 11 に示す。その結果、平衡温度はピーク面積値が大きくなる 80℃ とした。

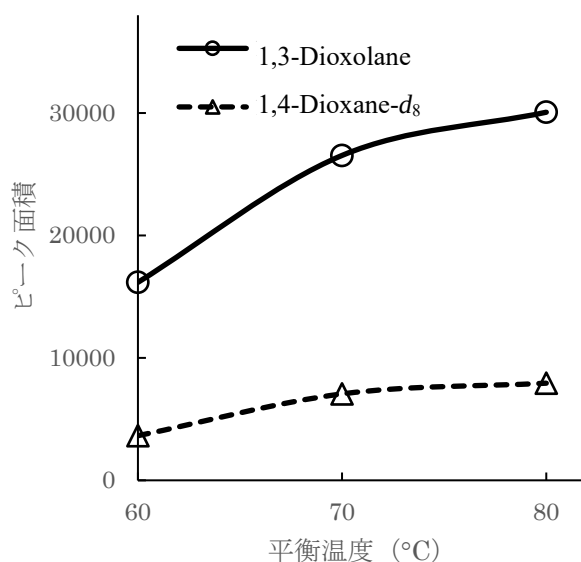


図 11 平衡温度とピーク面積の関係

〔環境試料の分析〕

本法により、福岡県内の河川水及び海水の分析を行った結果、1,3-ジオキソランは検出されなかった。クロマトグラムを図 8-1 及び図 8-3 に示す。

【評価】

環境水中の 1,3-ジオキソランの定量分析法を開発した。本法の MDL は 2.4 µg/L、MQL は 6.1 µg/L であり、操作ブランクは不検出であった。

河川水を用いた添加回収試験（添加量 100 ng）における回収率は、101%（変動係数 6.1%）であった。また、海水を用いた添加回収試験（添加量 1000 ng）における回収率は、100%（変動係数 3.4%）であった。

本法により、福岡県内の河川水及び海水を測定したところ、1,3-ジオキソランは検出されなかった。

以上の結果から、本法は環境水中に含まれる 2 µg/L オーダーの 1,3-ジオキソランの検出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 30 年度化学物質分析法開発調査報告書（アクリル酸メチル他 [水質]）、環境省(2020)
- 2) 化学物質と環境 平成 30 年度化学物質分析法開発調査報告書（1,3-ジオキソラン [大気]）、環境省(2020)

【担当者連絡先】

所属先名称：福岡県保健環境研究所

所属先住所：〒818-0135 福岡県太宰府市向佐野 39

TEL：092-921-9946、FAX：092-928-1203

担当者名：飛石和大

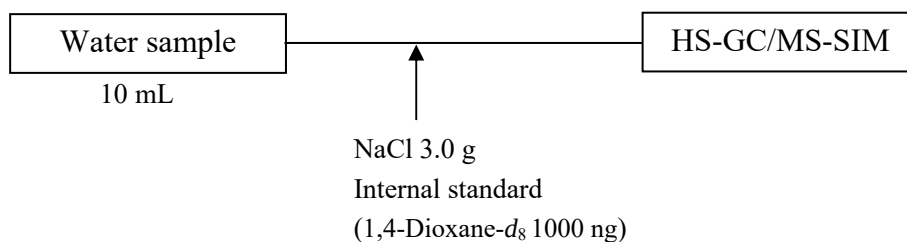
E-mail：tobiishi@fihes.pref.fukuoka.jp

1,3-Dioxolane

This method provides procedures for the determination of 1,3-dioxolane in water samples by head space gas chromatography/mass spectrometry in selected ion monitoring mode (HS-GC/MS-SIM).

Ten milliliters of water sample, so as not to cause bubbles, is gently introduced into a headspace vial containing 3.0 g of sodium chloride. After adding 10 μL of 100 ng/ μL of 1,4-dioxane- d_8 in methanol as the internal standard to the vial, it is subsequently sealed with an airtight. The analytes in the vial are determined by HS-GC/MS-SIM. The method detection limit (MDL) and the method quantification limit (MQL) are 2.4 $\mu\text{g/L}$ and 6.1 $\mu\text{g/L}$, respectively. The average recovery from river water samples spiked with 100 ng of standards was 101% with the relative standard deviation of 6.1% ($n=7$) and that from seawater samples spiked with 1000 ng was 100% with the relative standard deviation of 3.4% ($n=5$).

Seawater and river water samples in Fukuoka Prefecture were measured by the method, and 1,3-dioxolane was not detected in all the samples.



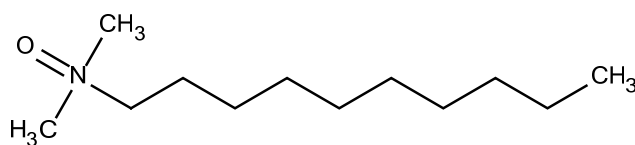
物質名	分析法フローチャート	備考
1,3-ジオキソラン	【水質】 <pre> graph LR A[水質試料 10 mL] -- "塩化ナトリウム 3.0 g 内標準物質添加 (1,4-ジオキサン-d8 1000 ng)" --> B[ヘッドスペース- GC/MS-SIM] </pre>	分析原理： ヘッドスペース GC/MS-SIM 検出下限値： 【水質】 (µg/L) 2.4 分析条件： 機器 ヘッドスペース サンプラー： 島津製作所製 HS-20 Trap GC/MS： 島津製作所製 GCMS-TQ8030 カラム： Restek 製 Rtx-624 60 m × 0.25 mm, 1.4 µm

***N,N*-ジメチルアルカン-1-アミン=オキシド（アルキル基の炭素数が 10、12、14、16 又は 18 で、直鎖型のもの）**

別名：アルキルアミンオキシド

Alkylamineoxide

【対象物質の構造】



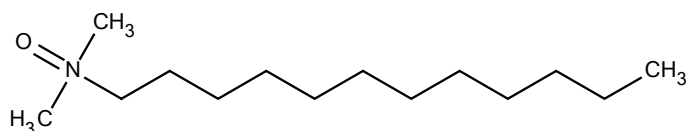
N,N-ジメチルデカン-1-アミン=オキシド

N,N-Dimethyldecan-1-amine oxide

CAS 番号：2605-79-0

分子式：C₁₂H₂₇NO

（以下「AOC₁₀」と表記する。）



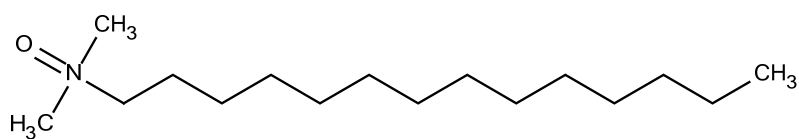
N,N-ジメチルドデカン-1-アミン=オキシド

N,N-Dimethyldodecan-1-amine oxide

CAS 番号：1643-20-5

分子式：C₁₄H₃₁NO

（以下「AOC₁₂」と表記する。）



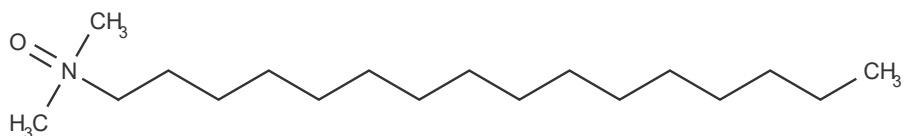
N,N-ジメチルテトラデカン-1-アミン=オキシド

N,N-Dimethyltetradecan-1-amine oxide

CAS 番号：3332-27-2

分子式：C₁₆H₃₅NO

(以下「AOC₁₄」と表記する。)



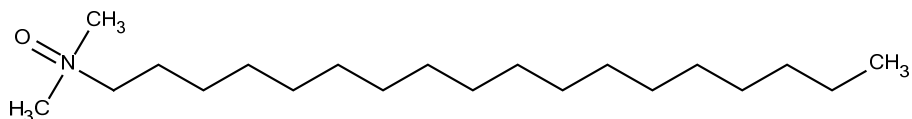
N,N-ジメチルヘキサデカン-1-アミン=オキシド

N,N-Dimethylhexadecan-1-amine oxide

CAS 番号：7128-91-8

分子式：C₁₈H₃₉NO

(以下「AOC₁₆」と表記する。)



N,N-ジメチルオクタデカン-1-アミン=オキシド

N,N-Dimethyloctadecan-1-amine oxide

CAS 番号：2571-88-2

分子式：C₂₀H₄₃NO

(以下「AOC₁₈」と表記する。)

【物理化学的性状】

物質名	分子量	モノアイソトピック質量
AOC ₁₀	201.35	201.2093
AOC ₁₂	229.40	229.2406
AOC ₁₄	257.46	257.2719
AOC ₁₆	285.51	285.3032
AOC ₁₈	313.56	313.3345

その他 AOC₁₂ の例を示す。

項目	値	測定条件	備考	出典
融点	132～133 °C	-	-	1)
沸点	426.62 °C	-	推定値	2)
蒸気圧	8.30×10 ⁻⁶ Pa	25 °C	-	1)
log P _{ow}	4.67	-	推定値	3)
水溶解度	190 g/L	25 °C		4)
解離定数 (pKa)	4.1		AOC ₁₀₋₁₆	5)

【毒性、用途等】

〔毒性〕

AOC₁₂ の例を示す。

環境中運命	生分解性	好氣的分解（分解性が良好と判断される物質） ⁶⁾ 分解率：BOD 63%, TOC 68%, LC/MS 100%（試験 期間：4 週間、被験物質濃度：100 mg/L、活性汚 泥濃度：30 mg/L） ⁷⁾
生態毒性	藻類	急性：3 日 EC ₅₀ ：100 µg/L (<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> GRO(RATE)) ⁸⁾ 慢性：3 日 NOEC：4 µg/L (<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> GRO(RATE)) ⁸⁾
	甲殻類	急性：2 日 EC ₅₀ ：2,230 µg/L (<i>Daphnia magna</i> IMM)) ⁸⁾ 慢性：21 日 NOEC：360 µg/L (<i>Daphnia magna</i> REP) ⁸⁾
	魚類	急性：4 日 LC ₅₀ ：29,900 µg/L (<i>Oryzias latipes</i> MOR) ⁸⁾

〔用途〕

シャンプー・台所用洗剤・両性界面活性剤配合原料⁹⁾

出典

- 1) HOWARD, P.H. and MEYLAN, W.M., ed. (1997) *Handbook of Physical Properties of Organic Chemicals*, Boca Raton, New York, London, Tokyo, CRC Lewis Publishers, p.596.
- 2) U.S. Environmental Protection Agency, MPBPWINTM v1.41
- 3) U.S. Environmental Protection Agency, KOWWINTM v1.67
- 4) U.S. Environmental Protection Agency, WSKOWWINTM v1.41

- 5) The Procter & Gamble Company, 2002B. Determination of the Dissociation Constant in Water of TSIN GTS02902 (Titration method).
- 6) 通産省公報(1995.12.28)
- 7) 製品評価技術基盤機構、既存化学物質安全性点検データ、1180
- 8) 環境庁(1999)：平成 10 年度 生態影響試験実施事業報告
- 9) 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

底質試料にアンモニア/メタノール溶液を加えて振とう抽出を行う。抽出液をイオン交換系及び逆相系の固相カートリッジでクリーンアップした後、メタノールで溶出・定容し、LC/MS/MS-SRM(ESI-positive)で定量する。

(2) 試薬・器具

【試薬】(注 1)

AOC ₁₀ 、AOC ₁₂ 、AOC ₁₄	: Anatrace 製 純度 99.7%以上
AOC ₁₈	: 日油製 ユニセーフ A-SM 有効成分 35%
AOC ₁₆	: 東邦化学製 カチナール AOC (AOC ₁₆ を含む同族体を含有、主成分配合量 30%)
4-メチルモルホリン N-オキシド	: 富士フイルムワコーケミカル製 >96% (MDL 試験及び添加回収試験に使用した。)
メタノール	: 富士フイルム和光純薬製 LC/MS 用
アセトニトリル	: 富士フイルム和光純薬製 LC/MS 用
28%アンモニア水	: 富士フイルム和光純薬製 試薬特級
ギ酸	: 富士フイルム和光純薬製 LC/MS 用
精製水	: 比抵抗値 16MΩ・cm 以上の水
固相カートリッジ	: Waters 製 Sep-Pak PS2 Plus Short Cartridge 300 mg 80 μm
固相カートリッジ	: Waters 製 Oasis MCX Plus Short Cartridge 225 mg 60 μm

【試薬の調製】

〔28%アンモニア水/メタノール (5:100) 〕

28%アンモニア水 5 mL とメタノール 100 mL を混合する。

〔ギ酸/精製水 (2:98) 〕

ギ酸 2 mL と精製水 98 mL を混合する。

【標準液の調製】

〔標準液〕

AOC₁₀、AOC₁₂ 及び AOC₁₄ の各標準物質を正確に 10.0 mg、AOC₁₈ を含有するユニセーフ A-SM は 28.57 mg 量り取り、それぞれメタノールで 10 mL とし、1000 µg/mL の標準原液を調製する。各標準原液を混合し、適宜メタノールで希釈して 10 µg/mL、100 ng/mL の混合標準液を調製する。

カチナール AOC を正確に 33.3 mg 量り取り、メタノールで 10 mL とし、AOC₁₆ 濃度として 0.103 mg/mL の標準原液を調製する*。AOC₁₆ 標準原液を適宜メタノールで希釈して 10.3 ng/mL の AOC₁₆ 標準液を調製する。

*：カチナール AOC 中の AOC₁₆ 含有率を 3.1% として AOC₁₆ 濃度を計算した。

〔検量線用標準液〕

100 ng/mL の混合標準液をメタノールで適宜希釈し、0.10～1.0 ng/mL の検量線用混合標準液とする。

10.3 ng/mL の AOC₁₆ 標準液をメタノールで適宜希釈し、0.103～1.03 ng/mL の AOC₁₆ 検量線用標準液とする。AOC₁₆ 検量線用標準液中の AOC₁₆ 濃度を表 1 に示す。

表 1 検量線用標準液中の AOC₁₆ 濃度

AOC ₁₆ 濃度 (ng/mL)
1.03
0.309
0.257
0.206
0.154
0.103

【器具】（注 2）（注 3）（注 4）（注 5）

ガラス製リザーバ：ジーエルサイエンス製ガラス SPE カートリッジ用リザーバ（容量 50 mL、10 mL）

ガラス SPE PTFE 接続アダプター：ジーエルサイエンス製（10 mL 用）

注射筒：10 mL（固相抽出カートリッジのコンデューション等を使用）、100 mL（PTFE

	接続アダプターにより 10 mL ガラス製 リザーバに接続、加圧方式による溶出に 使用)
遠沈管 (プラグシールキャップ付き)	: Labcon 製 (本体/PP、蓋/PE、容量 50 mL, 15 mL)
ラテックスグローブ	: エブノ製 No.455 パウダーフリー
ホットプレート	: 55°C に設定できるもの
パスツールピペット	
ピペット	: GILSON 製 (チップ/PP)
マイクロシリンジ	: 10 µL
バイアル	: Agilent 製 (本体/ガラス製、不活性処理 済み、セプタム/PTFE/RS)
透明摺りメスフラスコ	: 100 mL, 10 mL
ホールピペット	: 10 mL、5 mL、3 mL、2.5 mL、2 mL、1.5 mL、1 mL
遠心分離機	: 3000 rpm に設定できるもの
水平振とう機	
コンセントレータ	: Waters 製 Sep-Pak コンセントレータ Plus

(3) 分析法

【試料の採取及び保存等】

環境省「化学物質環境実態調査実施の手引き」(最新版)に従う。

試料容器には 50 mL 遠沈管 (プラグシールキャップ付き) を用い、底質試料約 40 mL を採取した後、速やかに冷蔵で輸送し、遅くとも 1 週間以内に試験操作を行う。試験操作までの間は冷暗所に保管する。

【試料の前処理及び試験液の調製】

底質試料 10 g-dry 相当を 50 mL 遠沈管に分取し、28%アンモニア水/メタノール(5:100) 30 mL を加え、遠沈管の蓋を閉め、スラリー状になるよう振り混ぜた後、水平振とう (15 分) する。遠心分離 (3000 rpm、15 分) を行い、上澄み液を 100 mL メスフラスコに分取する。同様の抽出操作をさらに 2 回繰り返す、上澄み液を 100 mL メスフラスコに合わせ、メタノールで 100 mL に定容する。あらかじめ 28%アンモニア水/メタノール(5:100) 20 mL、メタノール 10 mL、精製水 5 mL の順でコンディショニングした固相抽出カートリッジ (Oasis MCX) に 10 mL リザーバ (注 6) を接続する。抽出液 2 mL を 10 mL リザーバに分取し、精製水 3 mL を加え、軽く振り交ぜた後、固相抽出カートリッジに 2 mL/min の流量で通液する。通液後、固相抽出カートリッジを精製水 2 mL、ギ酸/精製水(2:98) 5 mL、メタノール 10 mL で洗浄し、28%アンモニア

水/メタノール (5:100) 10 mL で溶出し、15 mL 遠沈管に受ける。次に、あらかじめメタノール 20 mL 及び精製水 5 mL でコンディショニングした固相抽出カートリッジ(Sep-Pak PS2) に 50 mL リザーバ (注 6) を接続する。溶出液の全量をリザーバに加え、さらにメタノール 5 mL で 15 mL 遠沈管を洗い込み、精製水 22.5 mL を加え、軽く振り交ぜた後、固相抽出カートリッジに 2 mL/min の流量で通液する。通液後、固相抽出カートリッジに 10 mL 注射筒を接続して精製水 5 mL で洗浄し、約 20 mL の空気を送ることで脱水し、メタノール 10 mL で溶出する。溶出液をメタノールで 10 mL に定容し、試験液とする。

【空試験液の調製】

試料が含有すると想定される精製水を用いて【試料の前処理及び試験液の調製】に従って操作して得られた試験液を空試験液とする。

【測定】

〔LC 条件〕

使用機種	: Agilent 製 1100 series
使用カラム	: GL Sciences 製 UHPLC PEEK Column InertSustain C18 (3 µm 2.1×100 mm)
リテンショニング ヤップ用カラム	: 化学物質評価研究機構製 L-column2 ODS (100 mm × 2.1 mm, 3 µm)
移動相	: A : 0.1%ギ酸水溶液 B : アセトニトリル : 0→15 min A:90→5 B:10→95 linear gradient 15→25 min A:B = 5:95 25→25.1 min A:5→90 B:95→10 linear gradient 25.1→40 min A:B = 90:10
流量	: 0.2 mL/min
カラム温度	: 40°C
注入量	: 2 µL

〔MS 条件〕

使用機種	: AB サイエックス製 API3200
イオン化法	: ESI (Positive)
測定モード	: SRM (Selected Reaction Monitoring)
イオンソース	: Curtain Gas : 35 psi Collision Gas : 3 Ion Source Gas 1 : 70 psi Ion Source Gas 2 : 60 psi Ion Spray Voltage : 4500 V Temperature : 600°C

モニターイオン、ドリフト電圧(DP)、コリジョン電圧(CE)

AOC ₁₀	: m/z 202.2>58.0, DP:56 V, CE:31 V
AOC ₁₂	: m/z 230.2>58.0, DP:56 V, CE:33 V
AOC ₁₄	: m/z 258.2>58.1, DP:61 V, CE:37 V
AOC ₁₆	: m/z 286.4>58.1, DP:76 V, CE:45 V
AOC ₁₈	: m/z 314.2>58.3, DP:76 V, CE:51 V

〔検量線〕

検量線用標準液 2 μ L を LC/MS/MS に注入し、対象物質濃度及び得られたピーク面積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、対象物質のピーク面積を検量線に照らして定量する。

〔濃度の算出〕

試料中の濃度は次式により算出する。

底質試料中の濃度 (ng/g-dry) = 検出濃度 (ng/mL) $\times$ 最終液量 (mL) $\times 50$ / 試料量 (g-dry)

本分析法に従った場合、最終液量=10 mL を採用する。

即ち、

底質試料中の濃度 (ng/g-dry) = 検出濃度 (ng/mL) / 試料量 (g-dry) $\times 500$ 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 2 に示す (注 7)。

表 2 IDL の算出結果 (底質)

物質名	IDL (pg)	試料量 (g-dry)	分取*	最終液量 (mL)	IDL 試料換算値 (μ g/g-dry)
AOC ₁₀	0.061	10	1/50	10	0.0015
AOC ₁₂	0.034	10	1/50	10	0.00086
AOC ₁₄	0.040	10	1/50	10	0.0010
AOC ₁₈	0.054	10	1/50	10	0.0013
AOC ₁₆	0.068	10	1/50	10	0.0017

* : 2/100 分取

〔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 3 に示す (注 1) (注 8)。

表 3 MDL 及び MQL 算出の結果 (底質)

物質名	試料量 (g-dry)	分取*	最終液量 (mL)	MDL (µg/g-dry)	MQL (µg/g-dry)
AOC ₁₀	10	1/50	10	0.0016	0.0041
AOC ₁₂	10	1/50	10	0.0020	0.0051
AOC ₁₄	10	1/50	10	0.0016	0.0040
AOC ₁₈	10	1/50	10	0.0035	0.0091

* : 2/100 分取

注解

- (注 1) AOC₁₆ については標準品が市販されていないため、工業製品を値付けし、標準物質として使用した。本検討では AOC₁₆ の MDL を評価せず、AOC₁₆ の MDL 値は AOC₁₀、AOC₁₂、AOC₁₄、AOC₁₈ における最大値(3.5 ng/g-dry)を準用した。
- (注 2) ここで示す製品は実際に使用した商品を掲げたが、これらを推奨するものではなく、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 3) マイクロシリンジ及び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 4) ガラス製品からは器具ブランクが検出されるため、使用前に 55℃ 程度に加温したメタノールで十分洗浄し、ブランクコントロールされていることを確認すること。加温しないメタノールでは、十分にブランクが低減しなかった。一方、プラスチック製品は、ブランクコントロールに優れており、器具ブランクが検出されなかったため、洗浄せず使用した。また、素手からもブランクが検出されるため、すべての操作はラテックス製手袋を着用して行う。なお、メタノールの加温、ガラス器具洗浄の実施例については、「化学物質と環境 令和元年度化学物質分析法開発調査報告書、環境省」(令和 3 年 2 月) 202 頁の方法を参照すること。
- (注 5) JIS R 3505 に記載のクラス A のガラス器具を使用する。
- (注 6) ブランクコントロールのため擦り付きの注射筒は使用しない。

(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 4-1～表 4-3 に示す。また図 1-1、図 1-2 に IDL 測定時のクロマトグラムを示す。

表 4-1 IDL の算出結果 (詳細) (底質)

物質名	AOC ₁₀	AOC ₁₂
試料量 (g-dry)	10	10
分取 ^{*1}	1/50	1/50
最終液量 (mL)	10	10
注入液濃度 (ng/mL)	0.10	0.10
注入量 (pg)	0.20	0.20
装置注入液量 (μL)	2.0	2.0
結果 1 (pg)	0.179	0.173
結果 2 (pg)	0.170	0.169
結果 3 (pg)	0.184	0.190
結果 4 (pg)	0.188	0.181
結果 5 (pg)	0.179	0.187
結果 6 (pg)	0.175	0.186
結果 7 (pg)	0.218	0.193
平均値 (pg)	0.1847	0.1825
標準偏差 (σ _{n-1}) (pg)	0.0158	0.00885
IDL (pg) ^{*2}	0.061	0.034
IDL 試料換算値 (ng/g-dry)	1.5	0.86
S/N 比	46	75
CV (%)	8.5	4.8

*1 : 2/100 分取

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

表 4-2 IDL の算出結果（詳細）（底質）

物質名	AOC ₁₄	AOC ₁₈
試料量 (g-dry)	10	10
分取 ^{*1}	1/50	1/50
最終液量 (mL)	10	10
注入液濃度 (ng/mL)	0.10	0.10
注入量 (pg)	0.20	0.20
装置注入液量 (μL)	2.0	2.0
結果 1 (pg)	0.197	0.185
結果 2 (pg)	0.196	0.184
結果 3 (pg)	0.173	0.212
結果 4 (pg)	0.186	0.194
結果 5 (pg)	0.184	0.206
結果 6 (pg)	0.200	0.220
結果 7 (pg)	0.200	0.208
平均値 (pg)	0.1908	0.2013
標準偏差 (σ _{n-1}) (pg)	0.0103	0.0138
IDL (pg) ^{*2}	0.040	0.054
IDL 試料換算値 (ng/g-dry)	1.0	1.3
S/N 比	94	47
CV (%)	5.4	6.9

*1 : 2/100 分取

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

表 4-3 IDL の算出結果（詳細）（底質）

物質名	AOC ₁₆
試料量 (g-dry)	10
分取 ^{*1}	1/50
最終液量 (mL)	10
注入液濃度 (ng/mL)	0.11
注入量 (pg)	0.22
装置注入液量 (μL)	2.0
結果 1 (pg)	0.231
結果 2 (pg)	0.203
結果 3 (pg)	0.218
結果 4 (pg)	0.185
結果 5 (pg)	0.226
結果 6 (pg)	0.202
結果 7 (pg)	0.190
平均値 (pg)	0.2079
標準偏差 (σ_{n-1}) (pg)	0.0174
IDL (pg) ^{*2}	0.068
IDL 試料換算値 (ng/g-dry)	1.7
S/N 比	57
CV (%)	8.4

*1 : 2/100 分取

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

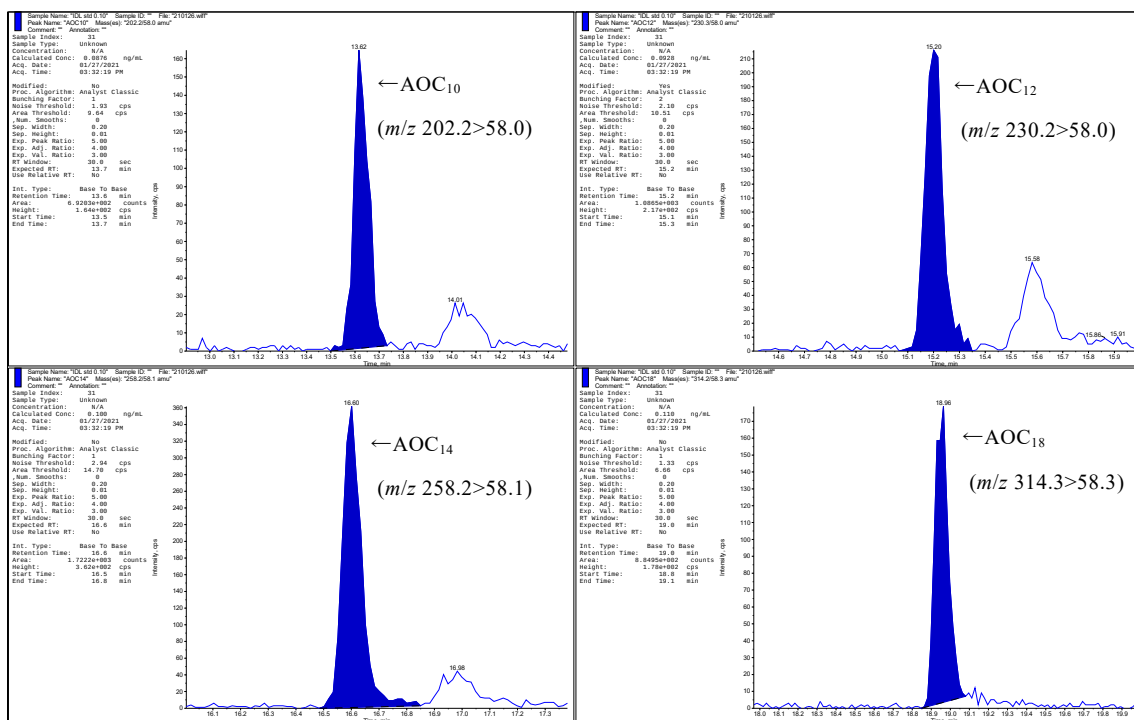


図 1-1 IDL 測定時のクロマトグラム (検量線用標準液 0.10 ng/mL)
(AOC₁₀ (左上)、 AOC₁₂ (右上)、 AOC₁₄ (左下)、 AOC₁₈ (右下))

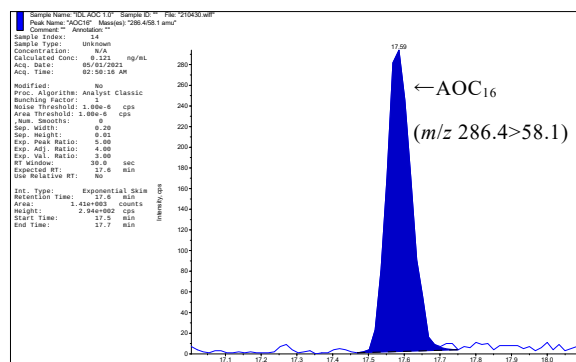


図 1-2 IDL 測定時のクロマトグラム (検量線用標準液 0.103 ng/mL)
(AOC₁₆)

(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。MDL 試験は、底質試料を酸化剤(4-メチルモルホリン *N*-オキシド 3 g、28%アンモニア水 1 mL を精製水 3 mL に溶解させたもの) による処理した後、標準物質を添加して 12 時間以上静置後、【試料の前処理及び試験液の調製】に従って操作する方法により評価した。これは底質が嫌気状態の場合、アミンオキシドが還元されることを避けるためであり、詳細は〔添加回収試験〕を参照すること。算出結果を表 5-1、表 5-2 に示す。また図 2 に MDL 測定時のクロマトグラムを示す。

表 5-1 MDL 及び MQL の算出結果（詳細）（底質）

物質名	AOC ₁₀	回収率 (%)	AOC ₁₂	回収率 (%)
試料	底質	—	底質	—
試料量 (g-dry)	10	—	10	—
分取	1/50	—	1/50	—
標準添加量 (ng)	100	—	100	—
試料換算濃度 (ng/g-dry)	10	—	10	—
最終液量 (mL)	10	—	10	—
注入液濃度 (ng/mL)	0.200	—	0.200	—
装置注入液量 (μL)	2.0	—	2.0	—
操作ブランク平均(ng/g-dry) ^{*1, *2}	<1.6	—	<2.0 (0.132)	—
無添加平均(ng/g-dry) ^{*2, *3}	<1.6 (0.177)	—	<2.0 (1.12)	—
結果 1 (ng/g-dry)	9.65	97	10.5	105
結果 2 (ng/g-dry)	9.35	94	11.3	113
結果 3 (ng/g-dry)	10.1	101	10.8	108
結果 4 (ng/g-dry)	9.80	98	11.5	115
結果 5 (ng/g-dry)	8.75	88	10.0	100
結果 6 (ng/g-dry)	9.60	96	10.5	105
結果 7 (ng/g-dry)	9.50	95	10.8	108
平均値 (ng/g-dry)	9.529	95.3	10.76	108
標準偏差 (σ _{n-1}) (ng/g-dry)	0.409		0.505	
MDL (ng/g-dry) ^{*4}	1.6		2.0	
MQL (ng/g-dry) ^{*5}	4.1		5.1	
S/N 比	330		1100	
CV (%)	4.3		4.7	

*1：空試験液を測定した値の平均値 (n=2)

*2：括弧内の値は、MDL 未満で検出された濃度

*3：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 (n = 2)

*4：MDL = $t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$ *5：MQL = $\sigma_{n-1} \times 10$

表 5-2 MDL 及び MQL の算出結果（詳細）（底質）

物質名	AOC ₁₄	回収率 (%)	AOC ₁₈	回収率 (%)
試料	底質	—	底質	—
試料量 (g-dry)	10	—	10	—
分取	1/50	—	1/50	—
標準添加量 (ng)	100	—	100	—
試料換算濃度 (ng/g-dry)	10	—	10	—
最終液量 (mL)	10	—	10	—
注入液濃度 (ng/mL)	0.200	—	0.200	—
装置注入液量 (μL)	2.0	—	2.0	—
操作ブランク平均(ng/g-dry) ^{*1, *2}	<1.6	—	<3.5 (0.490)	—
無添加平均(ng/g-dry) ^{*2, *3}	<1.6 (0.0765)	—	<3.5 (0.563)	—
結果 1 (ng/g-dry)	9.50	95	9.75	98
結果 2 (ng/g-dry)	10.3	103	9.30	93
結果 3 (ng/g-dry)	10.7	107	8.50	85
結果 4 (ng/g-dry)	10.6	106	10.5	105
結果 5 (ng/g-dry)	10.1	101	7.70	77
結果 6 (ng/g-dry)	10.5	105	8.95	90
結果 7 (ng/g-dry)	10.2	102	8.45	85
平均値 (ng/g-dry)	10.27	103	9.014	90.1
標準偏差(σ _{n-1}) (ng/g-dry)	0.403		0.913	
MDL (ng/g-dry) ^{*4}	1.6		3.5	
MQL (ng/g-dry) ^{*5}	4.0		9.1	
S/N 比	65		130	
CV (%)	3.9		10	

*1：空試験液を測定した値の平均値 (n=2)

*2：括弧内の値は、MDL 未満で検出された濃度

*3：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 (n = 2)

*4：MDL = t (n-1, 0.05) × σ_{n-1} × 2*5：MQL = σ_{n-1} × 10

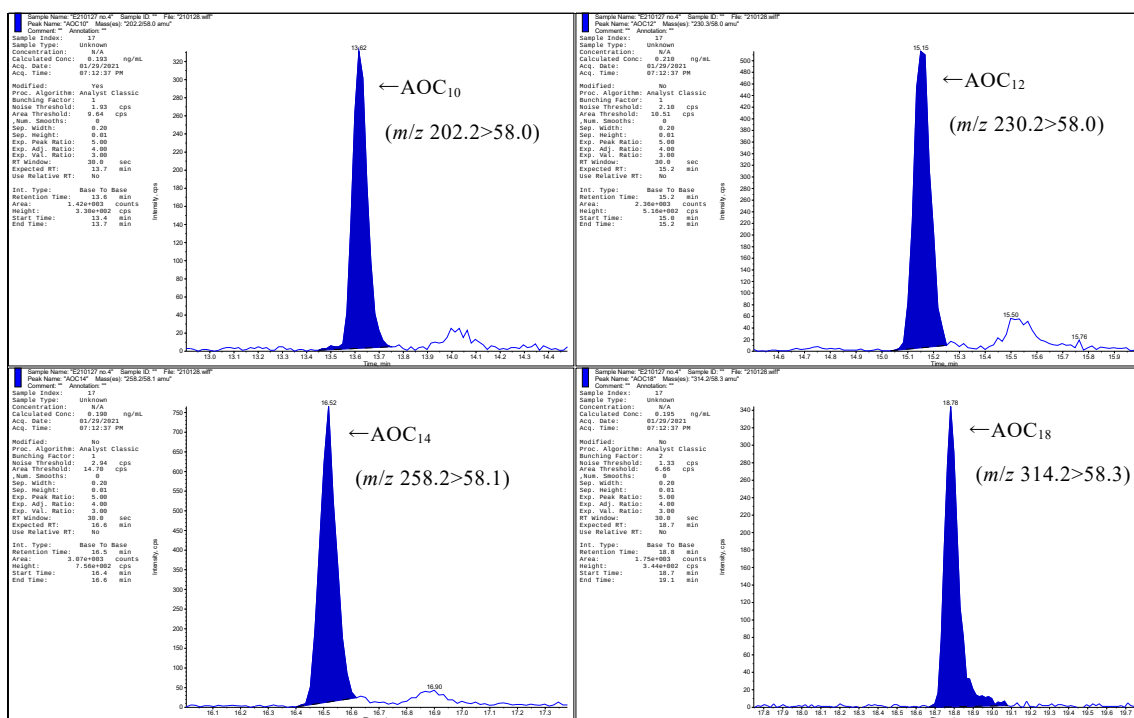


図2 MDL測定時のクロマトグラム（底質）
 （AOC₁₀（左上）、 AOC₁₂（右上）、 AOC₁₄（左下）、 AOC₁₈（右下））
 （底質、試料換算濃度 10 ng/g-dry）

§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。

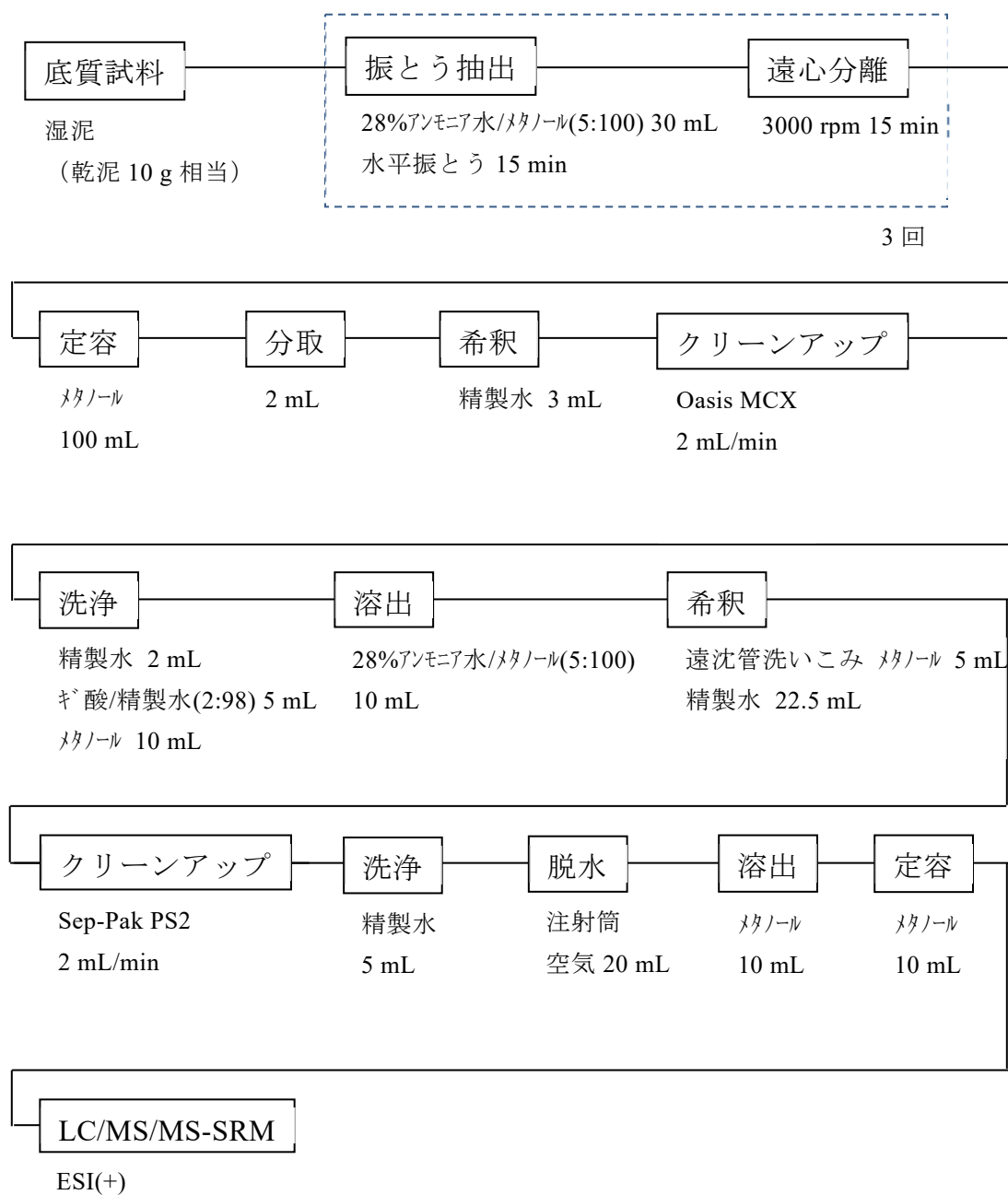


図 3 分析法のフローチャート（底質）

〔検量線〕

検量線を図 4-1～図 4-3 に、検量線作成用データを表 6-1～表 6-3 に示す。

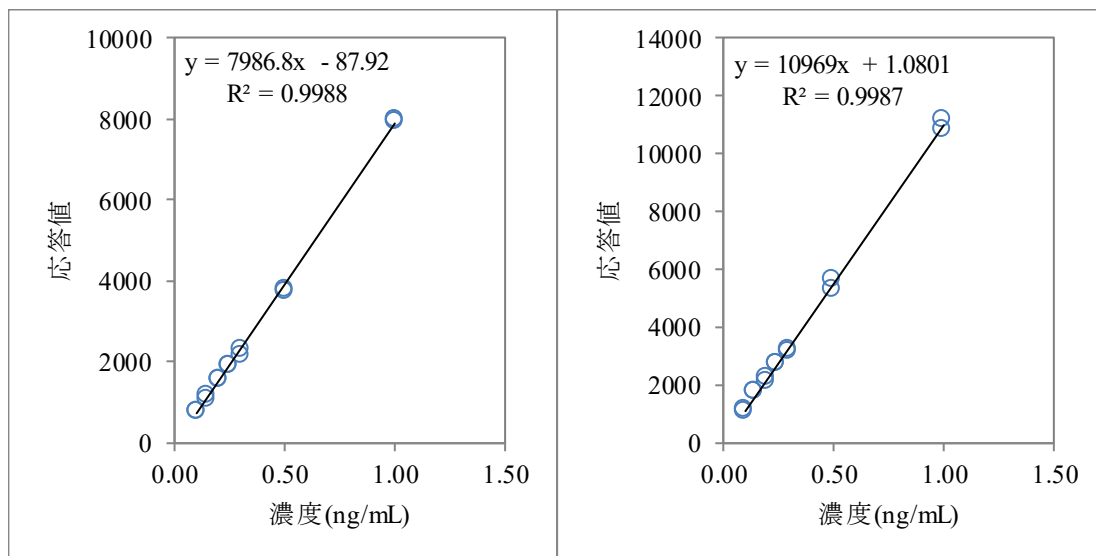


図 4-1 検量線

(AOC₁₀ 0.10～1.0 ng/mL (左図)、 AOC₁₂ 0.10～1.0 ng/mL (右図))

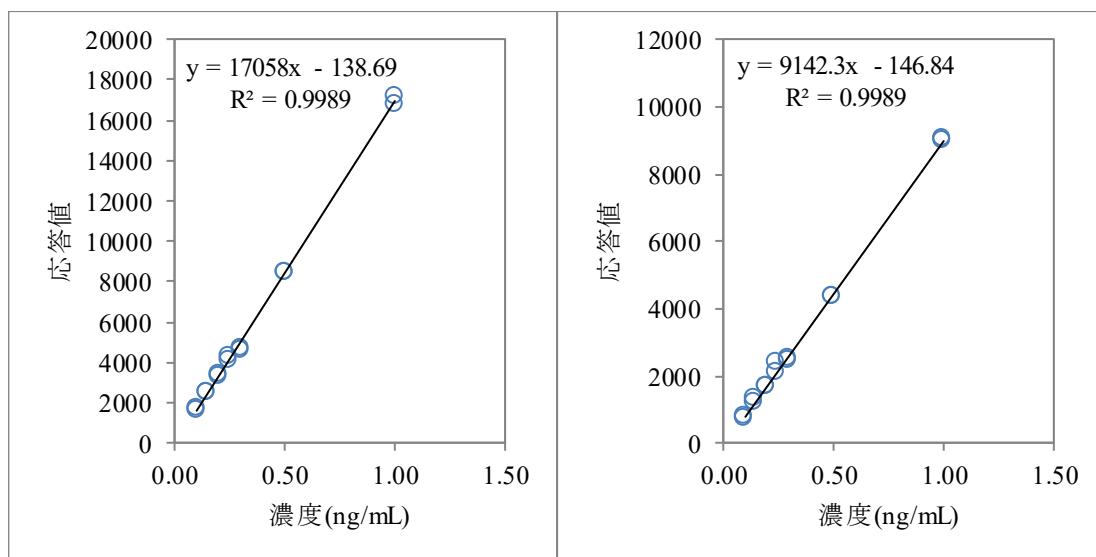


図 4-2 検量線

(AOC₁₄ 0.10～1.0 ng/mL (左図)、 AOC₁₈ 0.10～1.0 ng/mL (右図))

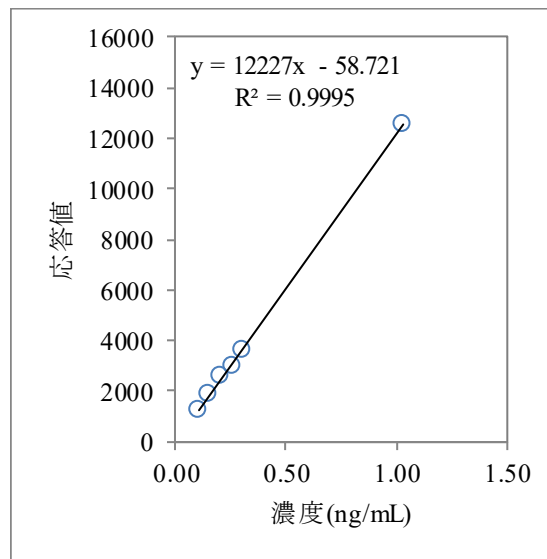


図 4-3 検量線
(AOC₁₆ 0.10~1.0 ng/mL)

表 6-1 検量線作成用データ(AOC₁₀、AOC₁₂)

標準液濃度 (ng/mL)	AOC ₁₀ 応答値 (<i>m/z</i> 202.0 > 58.1)	標準液濃度 (ng/mL)	AOC ₁₂ 応答値 (<i>m/z</i> 230.3 > 58.1)
0.10	769	0.10	1118
0.10	767	0.10	1089
0.15	1183	0.15	1754
0.15	1093	0.15	1774
0.20	1571	0.20	2225
0.20	1582	0.20	2105
0.25	1900	0.25	2711
0.25	1897	0.25	2750
0.30	2303	0.30	3173
0.30	2169	0.30	3224
0.50	3745	0.50	5652
0.50	3785	0.50	5296
1.0	7942	1.0	11172
1.0	7998	1.0	10817

表 6-2 AO 検量線作成用データ(AOC₁₄、AOC₁₈)

標準液濃度 (ng/mL)	AOC ₁₄ 応答値 (<i>m/z</i> 258.3 > 58.2)	標準液濃度 (ng/mL)	AOC ₁₈ 応答値 (<i>m/z</i> 314.3 > 58.1)
0.10	1678	0.10	761
0.10	1608	0.10	743
0.15	2461	0.15	1212
0.15	2543	0.15	1311
0.20	3277	0.20	1694
0.20	3355	0.20	1704
0.25	4117	0.25	2123
0.25	4252	0.25	2379
0.30	4667	0.30	2472
0.30	4616	0.30	2498
0.50	8441	0.50	4366
0.50	8421	0.50	4335
1.0	16763	1.0	9069
1.0	17152	1.0	8992

表 6-3 検量線作成用データ(AOC₁₆)

標準液濃度 (ng/mL)	AOC ₁₆ 応答値 (<i>m/z</i> 286.4 > 58.1)
0.103	1213
0.154	1903
0.206	2553
0.257	3009
0.309	3582
1.03	12563

〔クロマトグラム〕

標準液のクロマトグラムを図 5-1、図 5-2 に示す。

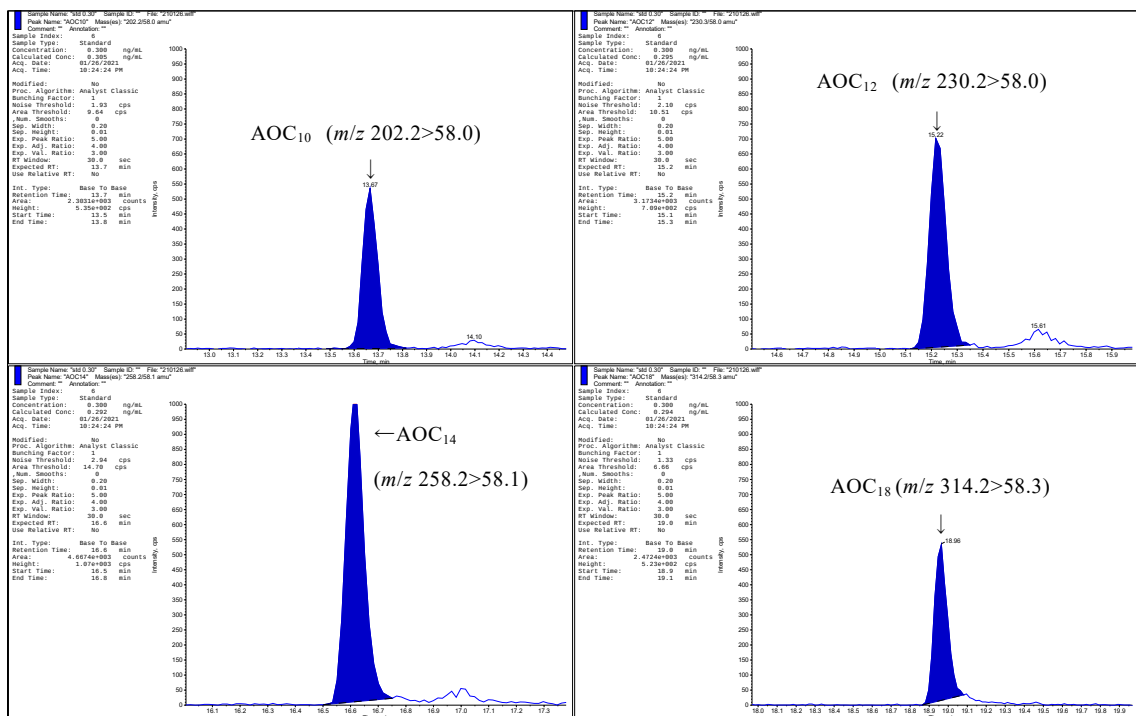


図 5-1 検量線用標準液 (0.30 ng/mL) のクロマトグラム
(AOC₁₀ (左上)、 AOC₁₂ (右上)、 AOC₁₄ (左下)、 AOC₁₈ (右下))

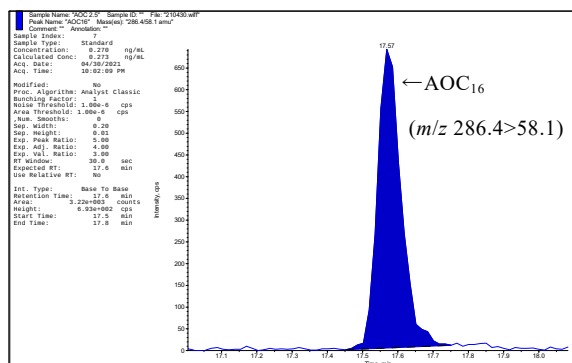


図 5-2 検量線用標準液 (0.26 ng/mL) のクロマトグラム
(AOC₁₆)

〔マススペクトル〕

標準物質のマススペクトルを図 6-1～図 6-5 に示す。

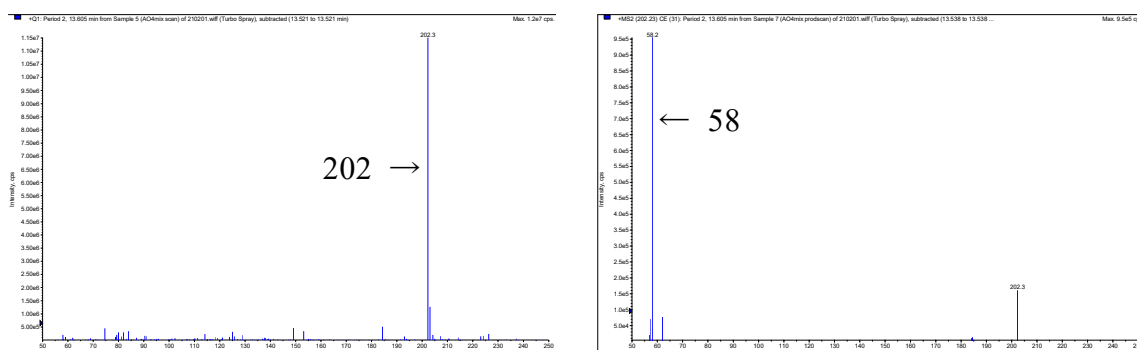


図 6-1 AOC₁₀ のマススペクトル
(プレカーサーイオン (左図)、プレカーサーイオン m/z 202 に対する
プロダクトイオン (CE 31 V) (右図))

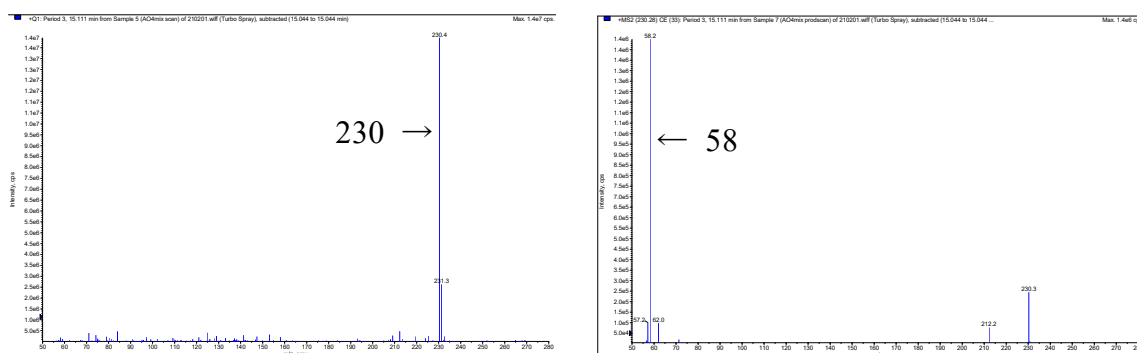


図 6-2 AOC₁₂ のマススペクトル
(プレカーサーイオン (左図)、プレカーサーイオン m/z 230 に対する
プロダクトイオン (CE 33 V) (右図))

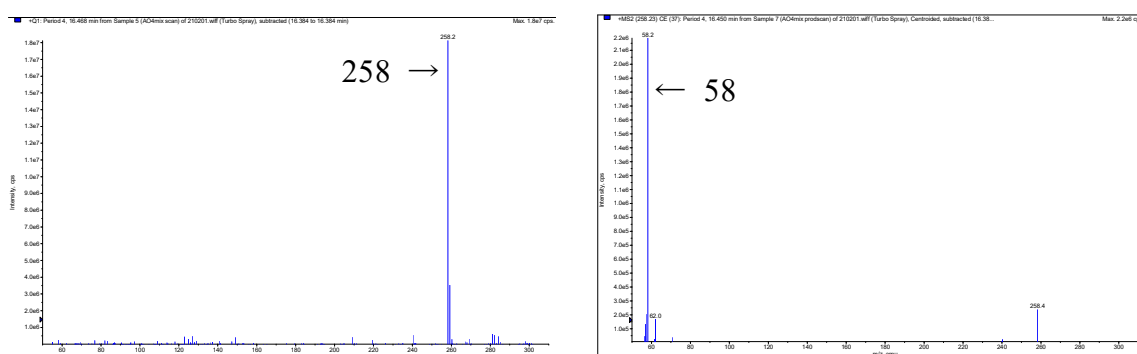


図 6-3 AOC₁₄ のマススペクトル
(プレカーサーイオン (左図)、プレカーサーイオン m/z 258 に対する
プロダクトイオン (CE 37 V) (右図))

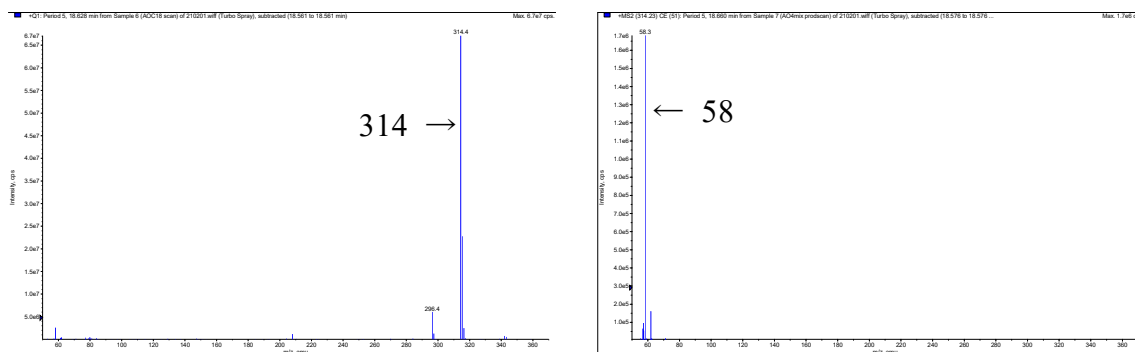


図 6-4 AOC₁₈ のマススペクトル
(プレカーサーイオン (左図)、プレカーサーイオン m/z 314 に対する
プロダクトイオン (CE 51V) (右図))

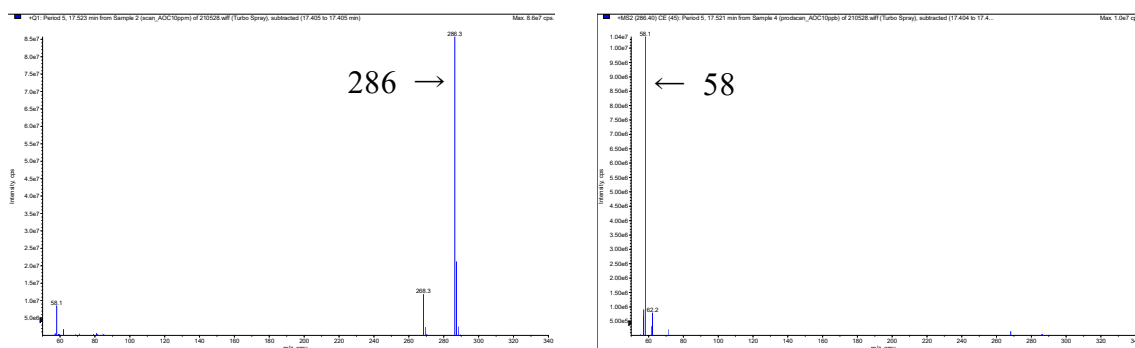


図 6-5 AOC₁₆ のマススペクトル
(プレカーサーイオン (左図)、プレカーサーイオン m/z 286 に対する
プロダクトイオン (CE 45V) (右図))

〔操作ブランク試験〕

操作ブランク試験のクロマトグラムを図 7-1、図 7-2 に示す。検討当初、装置ブランクが検出されたが、LC/MS/MS 測定においてリテンションギャップ法を採用したところ、装置ブランク値は全ての同族体において MDL 未満となった。

また、ガラス器具からは器具ブランクが検出され、この低減には 55℃ 程度に加温したメタノールによる洗浄が効果的であった。メスフラスコについては、口元についても入念にメタノール洗浄した。アルキルアミノオキシドは日用製品として使用されており、素手からも汚染されるため、前処理操作の際はラテックスグローブ等を着用した。上記対策の実施により、操作ブランク値は MDL 未満となった。

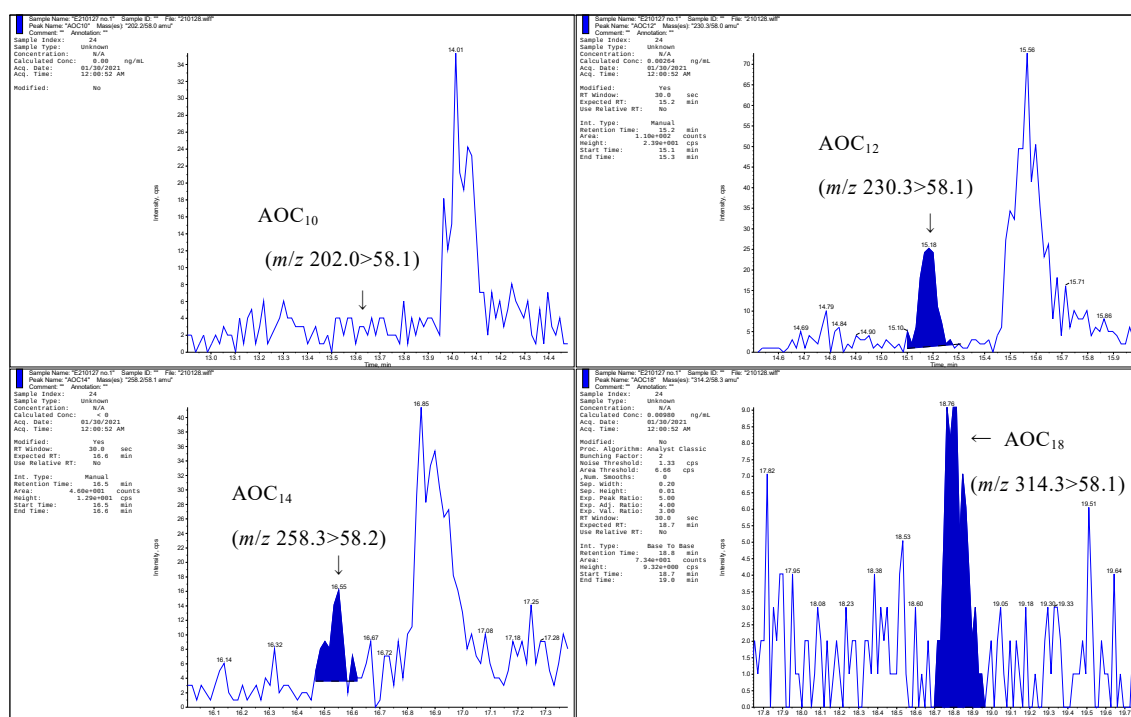


図 7-1 操作ブランク試験のクロマトグラム
(AOC₁₀ (左上)、 AOC₁₂ (右上)、 AOC₁₄ (左下)、 AOC₁₈ (右下))

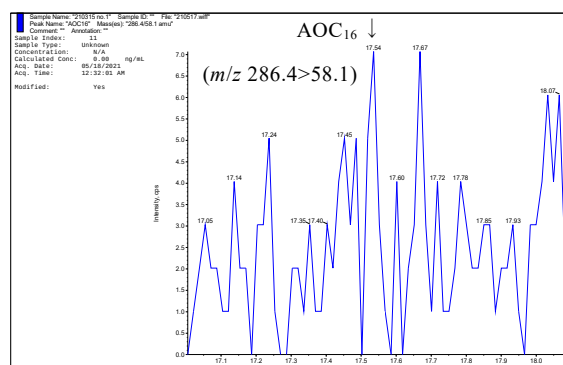


図 7-2 操作ブランク試験のクロマトグラム
(AOC₁₆)

〔添加回収試験〕

底質（紀の川河口）への添加回収試験の結果を表 7-1～表 7-4 に、また測定時のクロマトグラムを図 8-1～図 8-5 に示す。「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、底質試料に標準液(10 µg/mL × 10 µL) を添加し、12 時間以上静置すると、AOC₁₀ について 50%程度の回収率しか得られなかった。一方、底質試料に酸化剤（4-メチルモルホリン *N*-オキシド 3 g、28%アンモニア水 1 mL を精製水 3 mL に溶解させたもの）、標準液の順に添加することで、90%以上の回収率が得られた。これは底質が嫌気状態の場合にアミンオキシドが容易に還元されるためであり、回収率への影響を回避するためには、条件を調整する必要がある。

以上の結果をふまえ、本分析法の添加回収試験は、酸化剤による処理後に標準液を添加し、12 時間以上静置する方法により評価した。

ただし、酸化剤による処理は、アミンオキシドが副生するおそれがあるため、環境試料の測定には行わない。添加回収試験に限り酸化剤を使用するが、必ず同条件で無添加試料を評価すること。また、全体が嫌気状態の底質は酸化剤によって十分に調整できないため避けることが好ましい。

表 7-1 添加回収試験結果(AOC₁₀)^{*1}

試料	酸化処理 ^{*3}	試験数	添加量 (ng)	試料量 (g-dry)	検出濃度 (ng/g-dry)	回収率 (%)	CV (%)
底質	有	2	0.0	10	< 1.6	-	-
	無	2	100	10	5.25	53	-
	有	7	100	10	9.53	95	4.3
底質 ^{*2}	有	1	0.0	10	< 1.6	-	-
	有	2	100	10	5.4	54	-

*1：底質試料に標準液を添加後、冷暗所(4℃)で1日静置後、処理、回収率を評価

*2：全体が嫌気状態の底質

*3：酸化剤（4-メチルモルホリン *N*-オキシド 3 g、28%アンモニア水 1 mL を精製水 3 mL に溶解させたもの）を添加した底質を使用

表 7-2 添加回収試験結果(AOC₁₂)^{*1}

試料	酸化処理 ^{*3}	試験数	添加量 (ng)	試料量 (g-dry)	検出濃度 (ng/g-dry)	回収率 (%)	CV (%)
底質	有	2	0.0	10	< 2.0	-	-
	無	2	100	10	11.4	114	-
	有	7	100	10	10.8	108	4.7
底質 ^{*2}	有	1	0.0	10	2.54	-	-
	有	2	100	10	6.95	44	-

*1：底質試料に標準液を添加後、冷暗所(4℃)で1日静置後、処理、回収率を評価

*2：全体が嫌気状態の底質を使用

*3：酸化剤（4-メチルモルホリン *N*-オキシド 3 g、28%アンモニア水 1 mL を精製水 3 mL に溶解させたもの）を添加した底質を使用

表 7-3 添加回収試験結果(AOC₁₄)^{*1}

試料	酸化処理 ^{*3}	試験数	添加量 (ng)	試料量 (g-dry)	検出濃度 (ng/g-dry)	回収率 (%)	CV (%)
底質	有	2	0.0	10	< 1.6	-	-
	無	2	100	10	9.93	99	-
	有	7	100	10	10.3	103	3.9
底質 ^{*2}	有	1	0.0	10	< 1.6	-	-
	有	2	100	10	5.01	50	-

*1：底質試料に標準液を添加後、冷暗所(4℃)で1日静置後、処理、回収率を評価

*2：全体が嫌気状態の底質を使用

*3：酸化剤（4-メチルモルホリン *N*-オキシド 3 g、28%アンモニア水 1 mL を精製水 3 mL に溶解させたもの）を添加した底質を使用

表 7-4 添加回収試験結果(AOC₁₈)^{*1}

試料	酸化処理 ^{*3}	試験数	添加量 (ng)	試料量 (g-dry)	検出濃度 (ng/g-dry)	回収率 (%)	CV (%)
底質	有	2	0.0	10	< 3.5	-	-
	無	2	100	10	9.30	93	-
	有	7	100	10	9.01	90	10
底質 ^{*2}	有	1	0.0	10	< 3.5	-	-
	有	2	100	10	4.91	49	-

*1：底質試料に標準液を添加後、冷暗所(4℃)で1日静置後、処理、回収率を評価

*2：全体が嫌気状態の底質を使用

*3：酸化剤（4-メチルモルホリン *N*-オキシド 3 g、28%アンモニア水 1 mL を精製水 3 mL に溶解させたもの）を添加した底質を使用

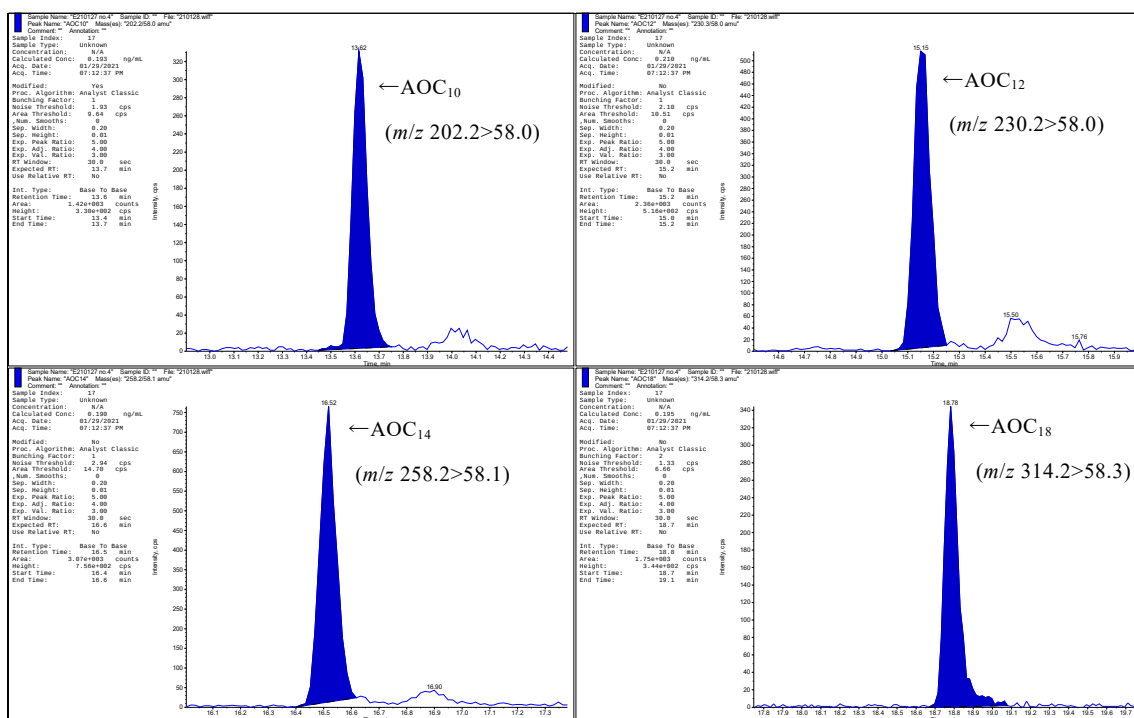


図 8-1 添加回収試験のクロマトグラム（酸化処理あり・添加試料）
（AOC₁₀（左上）、AOC₁₂（右上）、AOC₁₄（左下）、AOC₁₈（右下））

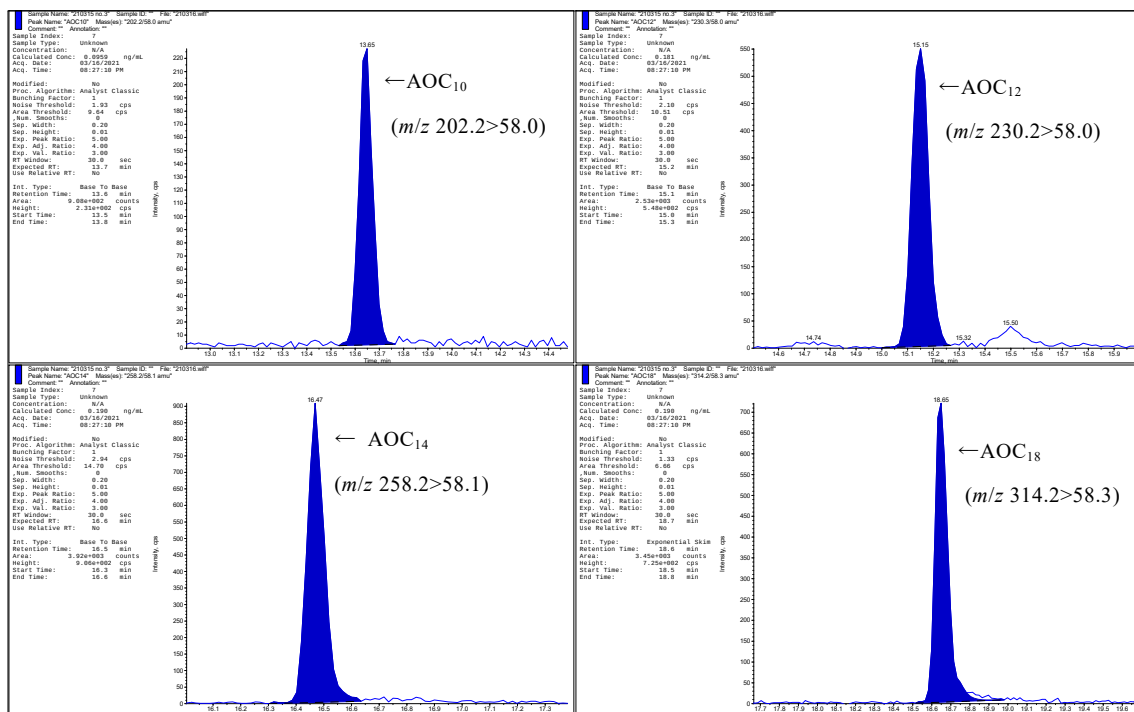


図 8-2 添加回収試験のクロマトグラム（酸化処理なし・添加試料）
（AOC₁₀（左上）、AOC₁₂（右上）、AOC₁₄（左下）、AOC₁₈（右下））

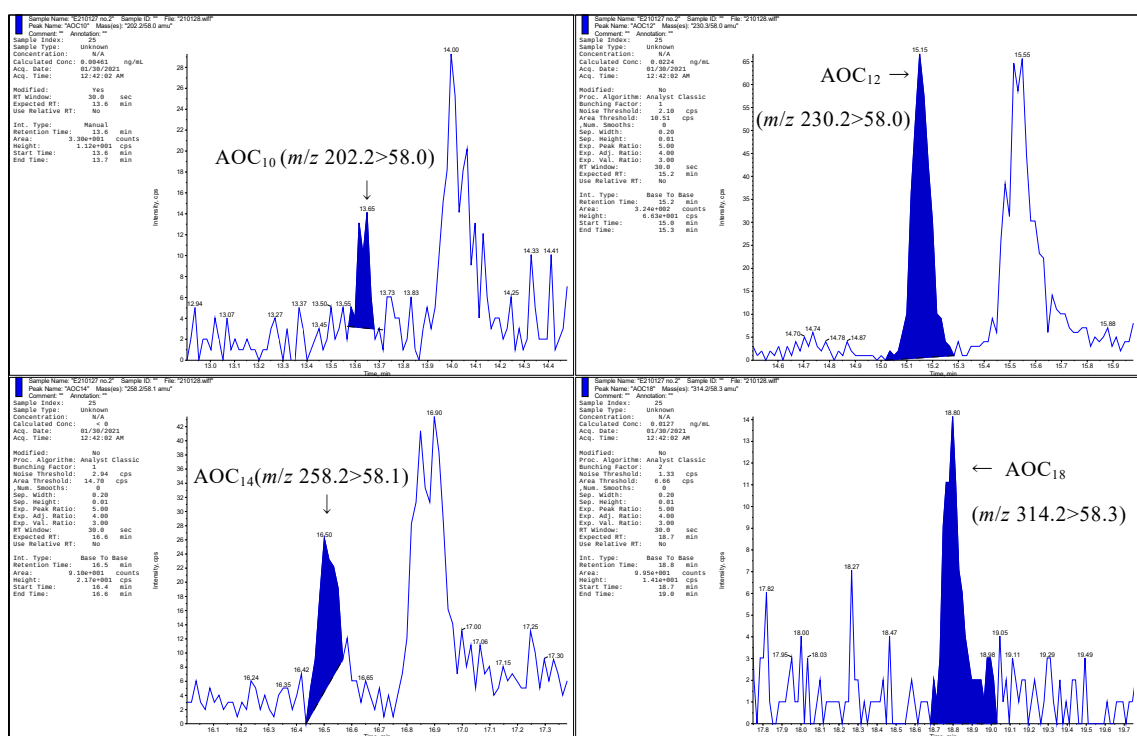


図 8-3 添加回収試験のクロマトグラム（酸化処理あり・無添加試料）
（AOC₁₀（左上）、AOC₁₂（右上）、AOC₁₄（左下）、AOC₁₈（右下））

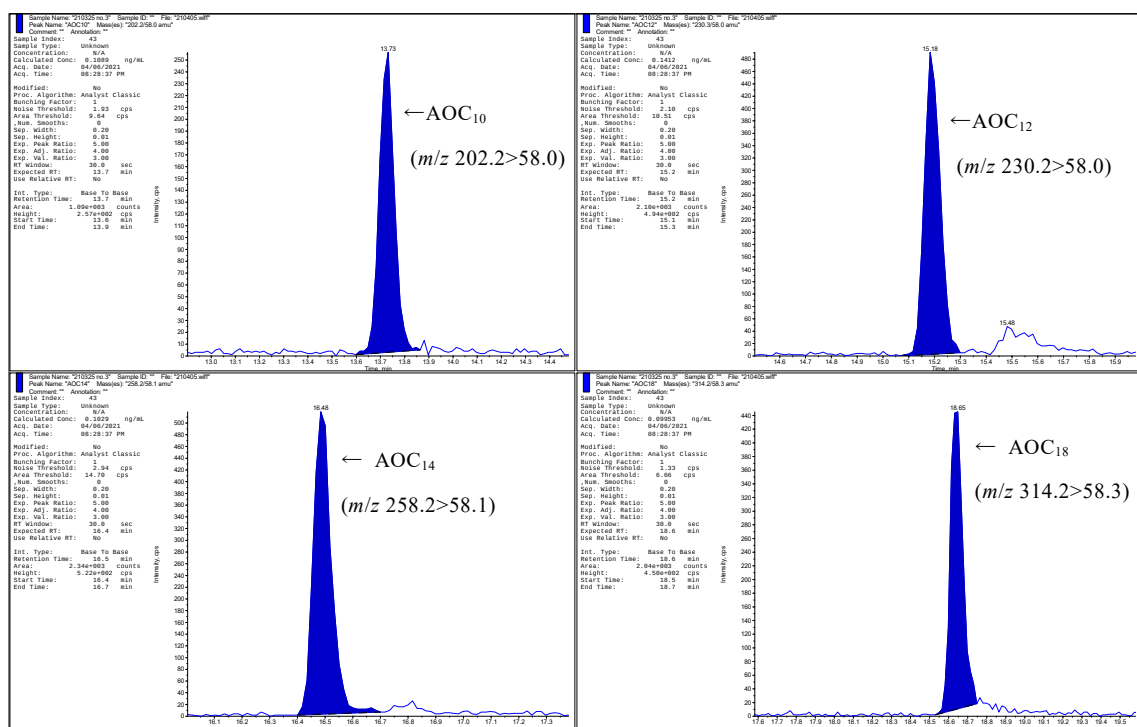


図 8-4 添加回収試験のクロマトグラム（酸化処理あり・添加試料・嫌気状態の底質）
（AOC₁₀（左上）、AOC₁₂（右上）、AOC₁₄（左下）、AOC₁₈（右下））

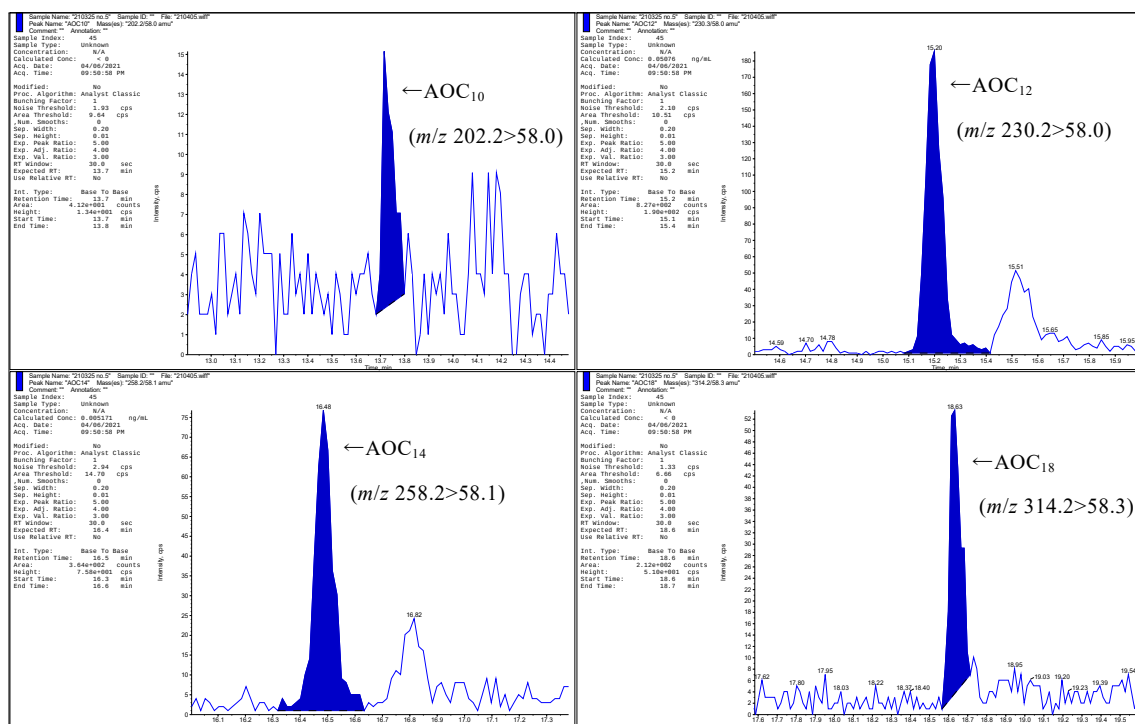


図 8-5 添加回収試験のクロマトグラム（酸化処理あり・無添加試料・嫌気状態の底質）（AOC₁₀（左上）、AOC₁₂（右上）、AOC₁₄（左下）、AOC₁₈（右下））

【保存性試験】

環境試料における保存性試験結果を表 8-1、標準液、粗抽出液および試験液における保存性試験結果を表 8-2 に示す。底質については酸化剤で処理せず、標準物質の添加試料を 4 日間及び 1 週間冷暗所保存後、【試料の前処理及び試験液の調製】に従って前処理を行い、濃度を測定した。その結果、アルキル鎖長の短いものほど残存率が低下し易い傾向であった。底質の保存期間を残存率 70%を目安として判定すると、AOC₁₀ については 1 日で 70%を下回り、AOC₁₂ については 1 週間程度の保存が可能である。アミノオキシドは AOC₁₂ が主成分であることから、採取後、1 週間以内に処理することが望ましい。一方、全体が嫌気状態の底質の場合、1 日で残存率が大きく低下した。このことから嫌気状態の底質からアミノオキシドが検出されないものと予測される。

標準液、粗抽出液、試験液については 1 月間、それぞれ冷暗所保存後、濃度を測定した。

表 8-1 保存性試験結果（環境試料）

試料名	物質名	調製濃度 (ng/g-dry)	試験 数	検出濃度(ng/g-dry)（残存率(%) ^{*1} ）		
				1 日間	4 日間	1 週間
底質	AOC ₁₀	10	2	5.3 (53)	3.4(34)	3.0(30)
	AOC ₁₂	10	2	11 (114)	7.0(70)	6.6(66)
	AOC ₁₄	10	2	9.9 (99)	7.8(78)	7.7(77)
	AOC ₁₈	10	2	9.3 (93)	8.2(82)	8.1(81)
底質 ^{*2}	AOC ₁₀	10	2	-	-	-
	AOC ₁₂	10	2	3.3(33)	3.2(32)	3.8(38)
	AOC ₁₄	10	2	2.0(20)	1.8(18)	1.6(16)
	AOC ₁₈	10	2	-	-	-

*1：残存率(%)：調製濃度に対する保存後の検出濃度の割合

*2：全体が嫌気状態の底質を使用

表 8-2 保存性試験結果（検量線用標準液及び粗抽出液）

試料名	物質名	調製濃度 (ng/mL)	試験 数	検出濃度(ng/mL) (残存率(%)) [*]
				1 月間
検量線用標準液	AOC ₁₀	0.50	2	0.48(95)
	AOC ₁₂	0.50	2	0.49(98)
	AOC ₁₄	0.50	2	0.49(98)
	AOC ₁₈	0.50	2	0.48(96)
粗抽出液（クリーンアップ前）	AOC ₁₀	0.058	2	0.69(118)
	AOC ₁₂	0.14	2	0.13(90)
	AOC ₁₄	0.17	2	0.16(95)
	AOC ₁₈	0.18	2	0.15(81)
試験液	AOC ₁₀	0.058	2	0.092(159)
	AOC ₁₂	0.14	2	0.15(103)
	AOC ₁₄	0.17	2	0.18(104)
	AOC ₁₈	0.18	2	0.19(104)

*：残存率(%)：調製濃度に対する保存後の検出濃度の割合

〔工業製品の値付け〕

AOC₁₆ 及び AOC₁₈ については標準品が市販されていないため、工業製品を値付けし、標準物質として使用することとした。

工業製品として入手した日油製ユニセーフ A-SM(ジメチルステアリルアミノオキシド水溶液、有効成分 35%) は、GC-FID 測定により同族体比を確認して AOC₁₈ 同族体比が 99%以上であったことから、AOC₁₈ の標準物質として使用した。東邦化学製カチナール AOC (ヤシ油アルキルジメチルアミノオキシド液) は、GC-FID 測定によるアルキル分布と、LC-MS/MS 測定により求めた AOC₁₄ から AOC₁₆ を値付けし、AOC₁₆ の標準物質として使用した。

なお、LC-Q/TOF 測定の結果 (図 9-1～図 9-3)、カチナール AOC では不飽和アルキル基を有するアミノオキシドに相当する m/z 312.326 及び 310.310 の抽出イオンクロマトグラムにピークは検出されなかったため、本検討では測定対象としなかった。

〔LC-Q/TOF 測定条件〕

1) 測定試料

東邦化学製カチナール AOC 100 ng/mL

2) 測定条件

〔MS 条件〕

使用機種	: AB サイエックス製 X500R
イオン化法	: ESI(Positive)
測定範囲	: m/z 50～1000
イオンソース	: Temperature : 350 °C
Ionspray voltage	: 5500 V
ドリフト電圧(DP)	: 80 V
コリジョン電圧(CE)	: 5 V

〔LC 条件〕

使用機種	: AB サイエックス製 Exion A
使用カラム	: 化学物質評価研究機構製 L-column3 C18, 150 mm× 2.0 mm, 3 µm METAL FREE
移動相	: A : 5 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液 B : アセトニトリル

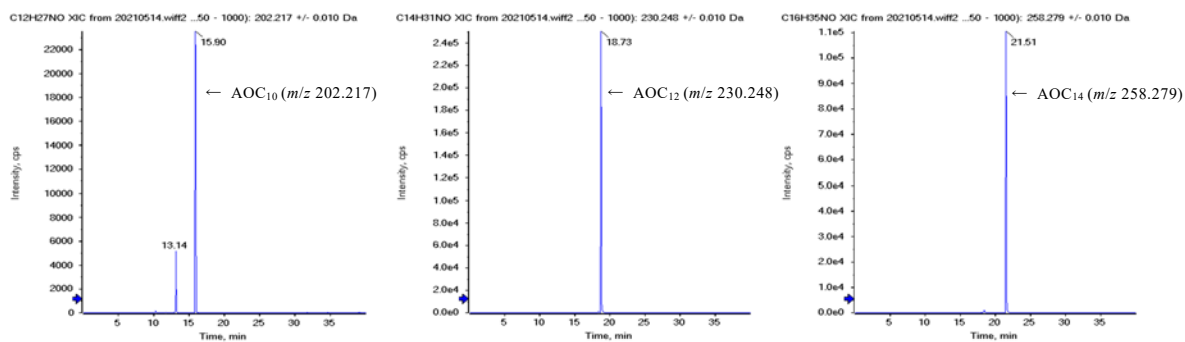


図 9-1 LC-Q/TOF 抽出イオンクロマトグラム (カチナール AOC)
(左図 : m/z 202.217、中図 : m/z 230.248、右図 : m/z 258.279)

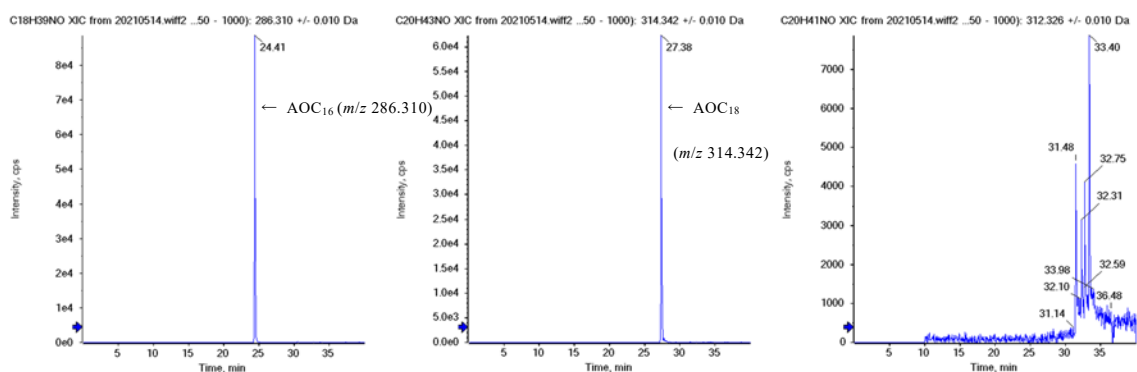


図 9-2 LC-Q/TOF 抽出イオンクロマトグラム (カチナール AOC)
(左図 : m/z 286.310、中図 : m/z 314.342、右図 : m/z 312.326)

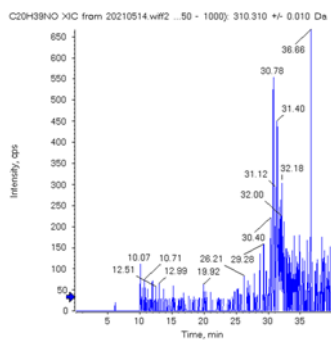


図 9-3 LC-Q/TOF 抽出イオンクロマトグラム (カチナール AOC)
(m/z 310.310)

〔検討1:GC-FID 測定によるユニセーフ A-SM 及びカチナール AOC のアルキル分布の把握〕

カチナール AOC 及びユニセーフ A-SM の GC-FID 測定によるクロマトグラムを図 10-1 及び図 10-2 に示す。カチナール AOC では AOC₁₆を含む AOC₁₀～AOC₁₈ に起因する熱分解物のシグナルが検出され、それぞれの積分比から算出したアルキル分布を表 9 に示す。一方、ユニセーフ A-SM のアルキル分布は C₁₈ が 99%以上であり、本検討ではこれを根拠としてユニセーフ A-SM を AOC₁₈ の標準物質として使用した。

〔GC-FID 測定条件〕

1) 測定試料

- ・カチナール AOC 0.67 mg、水酸化カリウム 0.15 g をエタノール 4.65 g に溶解させたもの*¹
- ・ユニセーフ A-SM 0.5 g、水酸化カリウム 0.15 g をエタノール 4.65 g に溶解させたもの*¹

2) 測定条件

装置	: GC-2014
カラム	: HP-ULTRA1 25 m × 0.200 mm, 0.11 μm
カラム温度	: 50°C→10°C/min→250°C
注入口温度	: 170°C
試料導入方法	: スプリット（スプリット比 10:1）ウールあり
注入量	: 1 μL

*1：界面活性剤評価・試験法編集委員会：界面活性剤評価-試験法，製法・物性・応用・分析・環境-第二版，公益社団法人日本油化学会（平成 28 年 3 月 1 日）

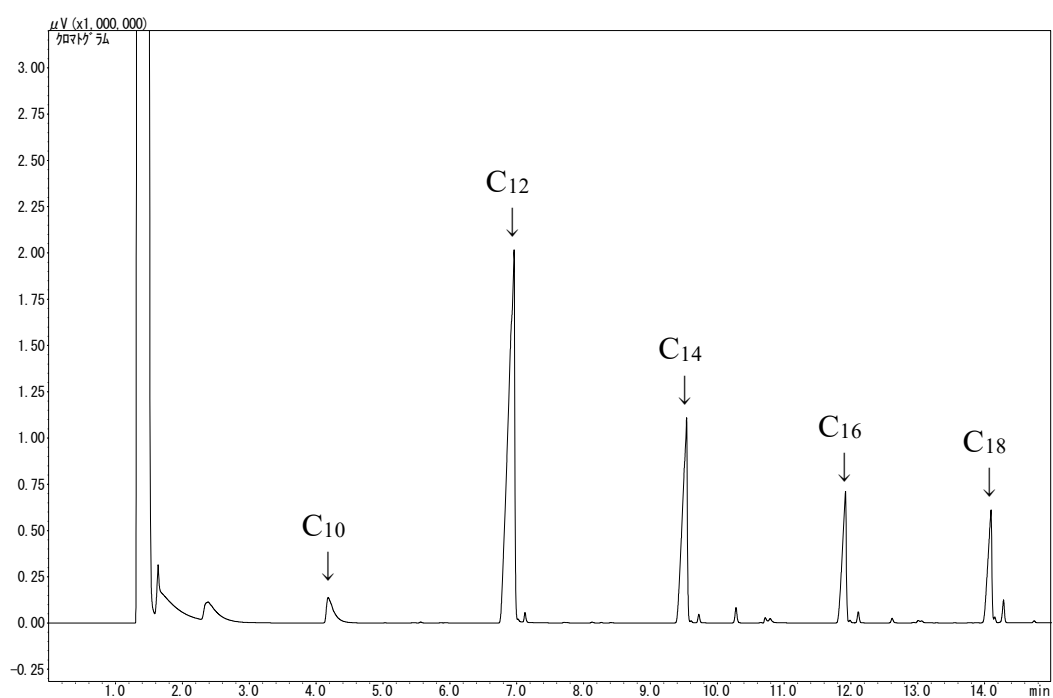


図 10-1 FID クロマトグラム (カチナール AOC)

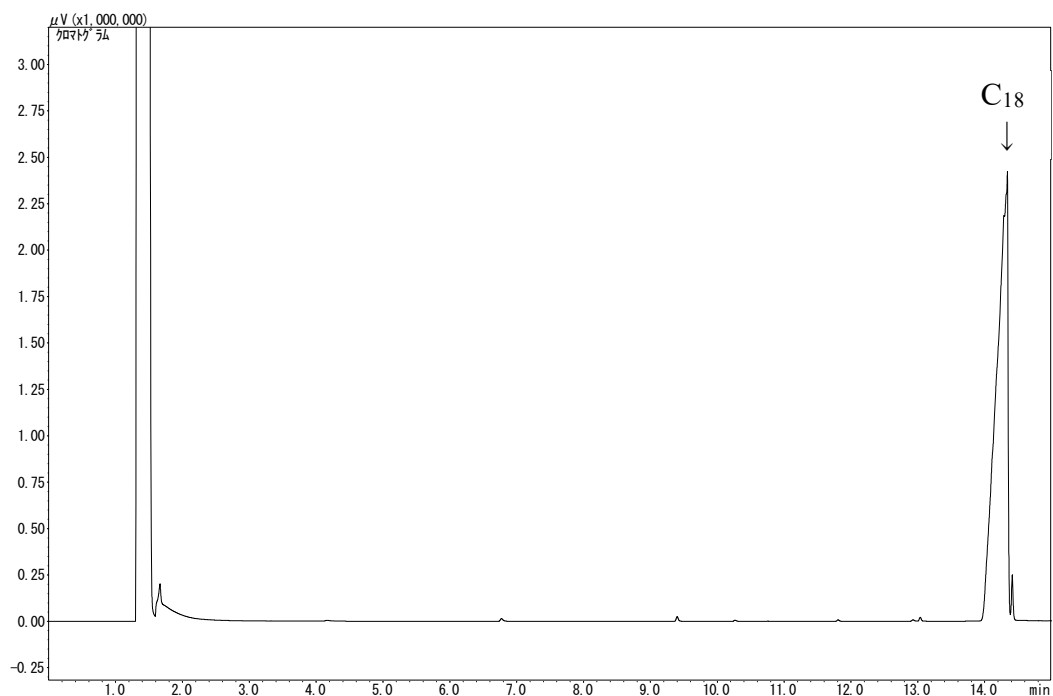


図 10-2 FID クロマトグラム (ユニセーフ A-SM)

表 9 GC-FID 測定により算出したアルキル(C₁₀~C₁₈)分布*

試料	C ₁₀	C ₁₂	C ₁₄	C ₁₆	C ₁₈
カチナール AOC	4.2%	53%	22%	11%	9.8%
ユニセーフ A-SM	0.089%	0.17%	0.20%	0.062%	99.5%

*：試験数 3 回（平均値）

〔検討 2：カチナール AOC 中の AOC₁₆ の含有量の決定〕

カチナール AOC の LC/MS/MS 測定による MRM クロマトグラムを図 11 に示す。Anatrace 製の標準物質を用いて定量した結果、カチナール AOC 中の AOC₁₄ の含有割合は 5.9%と値付けされた（表 10）。次に、AOC₁₄ の含有量を基準として、GC-FID 測定により求めたアルキル分布からカチナール AOC 中の AOC₁₆ の含有量を求めた結果、3.1%と値付けされた。

〔LC/MS/MS 測定条件〕

1) 測定試料

カチナール AOC として 3.3 ng/mL の濃度にメタノールで希釈調製したもの

2) 測定条件

LC/MS/MS を用いて測定、測定条件は【測定】〔LC/MS/MS 条件〕のとおり

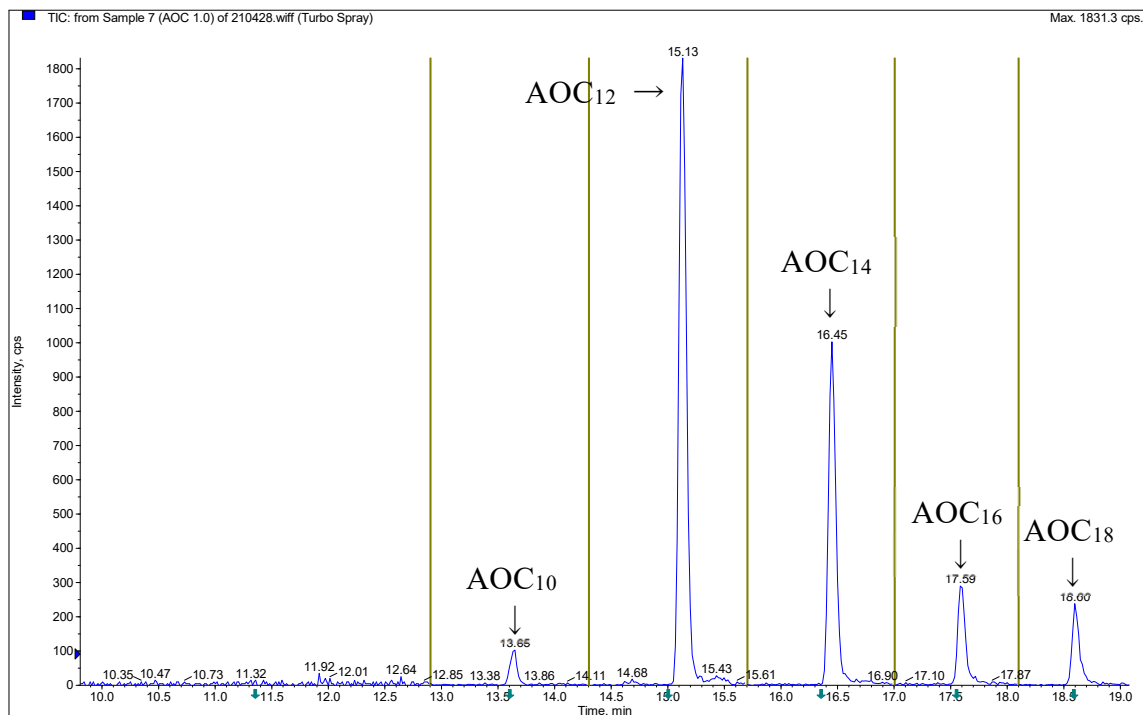


図 11 MRM クロマトグラム（カチナール AOC）

表 10 カチナール AOC 中の各同族体の値付け結果*

物質名	アルキル分布 (%)	含有割合 (%)
AOC ₁₀	4.19	1.46
AOC ₁₂	53.0	15.8
AOC ₁₄	21.6	5.86
AOC ₁₆	11.4	<u>3.09</u>
AOC ₁₈	9.79	2.74

*: AOC₁₀、AOC₁₂、AOC₁₄、AOC₁₈ は標準物質を用いて含有割合を求めた。AOC₁₆ については AOC₁₄ の含有割合を基準として、GC-FID 測定により求めたアルキル分布から含有割合を求めた（下線部）。含有割合の合計値は製品記載の主成分配合量である 30%に近似する 29.0%であり、妥当な値付けの結果となった。

〔検討 3：熱分解物の同定〕

GC/MS によるスキャン測定により GC-FID 測定で検出された熱分解物を同定した。熱分解物のマススペクトルを図 12 に示す。

C₁₂ については m/z 168 が検出され、アルキルアミンオキシドのホフマン分解で開裂して生成した α -オレフィンと同定した。

他の同族体についても、 α -オレフィンに対応する m/z が検出されることから、熱分解物は全て α -オレフィンであり、由来が共通する。

GC-FID における熱分解率について、各同族体間で差がないものと仮定すると、アルキル分布をアルキルアミンオキシドの分布に対応するとみなすことができ、このことを裏付けとして、値付けを行った。

〔GC/MS スキャン測定条件〕

1) 測定試料

カチナール AOC 0.67 mg、水酸化カリウム 0.15 g をエタノール 4.65 g に溶解させたもの*1

2) 測定条件

装置	: GC:Agilent 7890B, MS:Agilent 5977A
カラム	: HP-ULTRA1 25 m × 0.200 mm, 0.11 μ m
カラム温度	: 50°C→10°C/min→250°C
注入口温度	: 170°C
試料導入方法	: スプリット（スプリット比 10:1）ウールあり
注入量	: 1 μ L

*1：界面活性剤評価・試験法編集委員会：界面活性剤評価-試験法，製法・物性・応用・分析・環境-第二版，公益社団法人日本油化学会（平成 28 年 3 月 1 日）

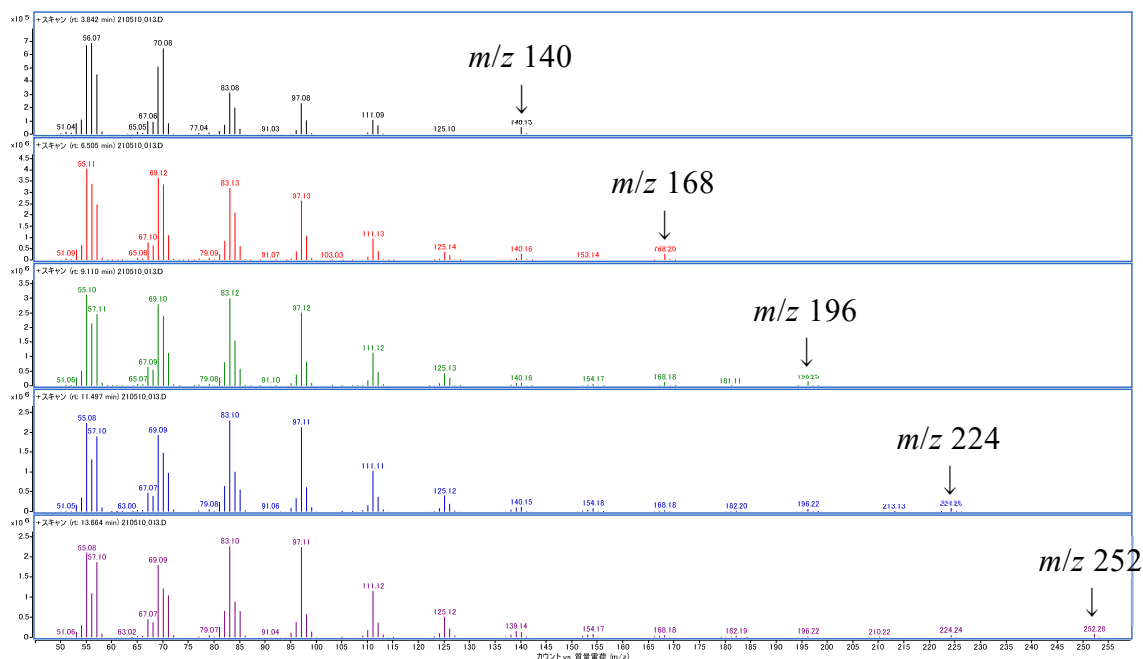


図 12 GC-FID 測定で検出された熱分解物に対応するマススペクトル（カチナル AOC）（GC/MS-SCAN 測定）

〔保存条件の検討 1：アミノオキシド分解生成物の特定〕

アミノオキシドの保存安定性の向上を目的として、底質試料におけるアミノオキシドの分解生成物の特定を試みた。

底質試料に AOC₁₂(10000 ng)を添加後、分析フロー（図 13）に従って前処理を行い、試験液を得た。比較のため無添加試料についても、同様に前処理を行った。それぞれの試験液の抽出イオンクロマトグラムを図 14-1 に示す。AOC₁₂ の添加試料には、AOC₁₂ だけでなく、未知成分のピークが検出された。これは無添加試料の抽出イオンクロマトグラムには検出されないことから、AOC₁₂ の分解生成物と考えられた。さらに精密質量(m/z 214.2529)から組成式を特定した結果、未知成分は C₁₄H₃₁N に絞り込まれ、これは AOC₁₂(C₁₄H₃₁NO)から酸素一原子が脱離したものに相当する。そこで未知成分は *N,N*-ジメチルドデシルアミンと予測し、その標準物質と未知成分の抽出イオンクロマトグラム及びマススペクトルを比較した結果を図 14-2～14-3 に示す。その結果、リテンションタイム及びマススペクトルが一致したことから AOC₁₂ の分解生成物は *N,N*-ジメチルドデシルアミンであると特定された。

以上の結果から、保存安定性試験におけるアミノオキシドの残存率の低下は、アミノオキシドの還元反応によるものであり、これを抑制するためには底質の酸化処理が有効であることが示唆された。

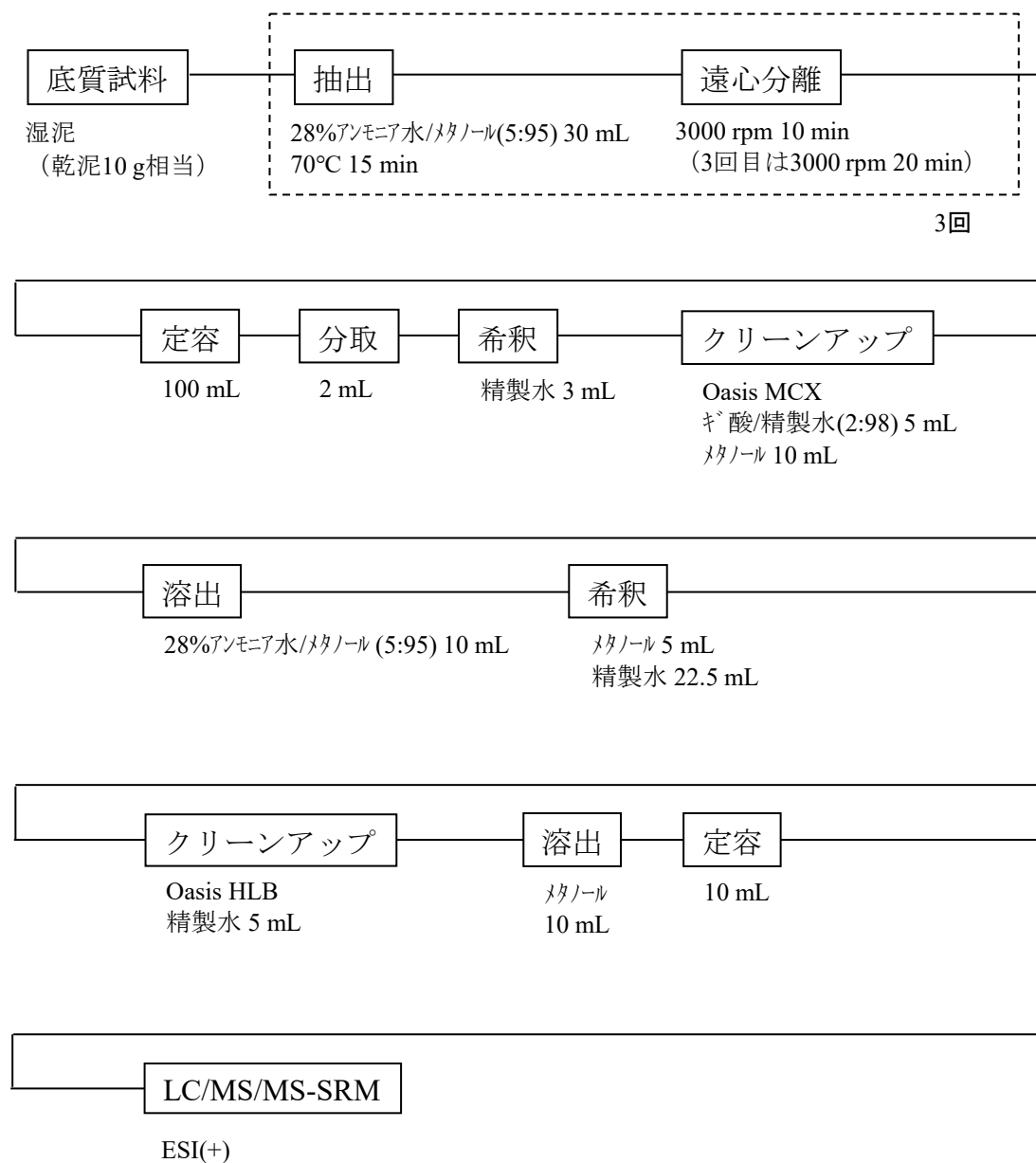


図 13 AO 分解生成物検出用の分析フロー

分析フローについて

- ・ 抽出条件は、より分解し易い、湯浴(70°C)による抽出とした。
- ・ クリーンアップ工程 (2 回目) における固相抽出カートリッジは **Oasis HLB** とした。**Sep-Pak PS2** は分解物 (*N,N*-ジメチルドデシルアミン) が溶出しない (参考文献: 平成 24 年度化学物質分析法開発調査報告書 p.490-509 (福岡県))。
- ・ 事前に検討した添加回収試験(n=1)の結果、クリーンアップ工程における *N,N*-ジメチルドデシルアミンの回収率は 36%と低いだが、同定には十分と判断した。

- ・ 本検討(n=1)における試験液中の *N,N*-ジメチルドデシルアミンの検出濃度は 9.0 ng/mL であった。ここで抽出工程を含む前処理全体の回収率を 36% と仮定すると、AOC₁₂ の *N,N*-ジメチルドデシルアミンに分解した割合は 27% と想定される。一方、本検討における試験液中の AOC₁₂ の残存率は 56% であり、減少した 44% の内の 27% が *N,N*-ジメチルドデシルアミンに分解したものと予測される。

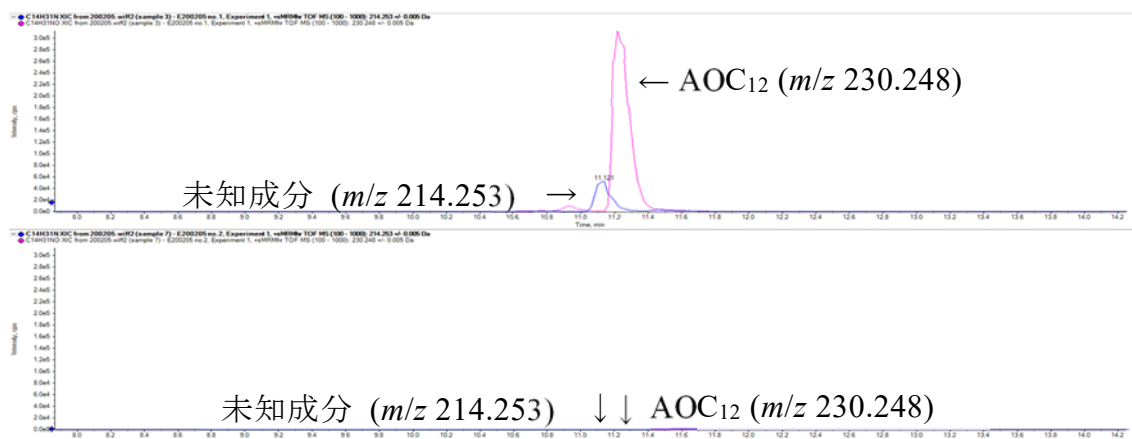


図 14-1 抽出イオンクロマトグラム (m/z 214.253 及び m/z 230.248 の重ね書き) (上図：AOC₁₂ 添加試料、下図：無添加試料)

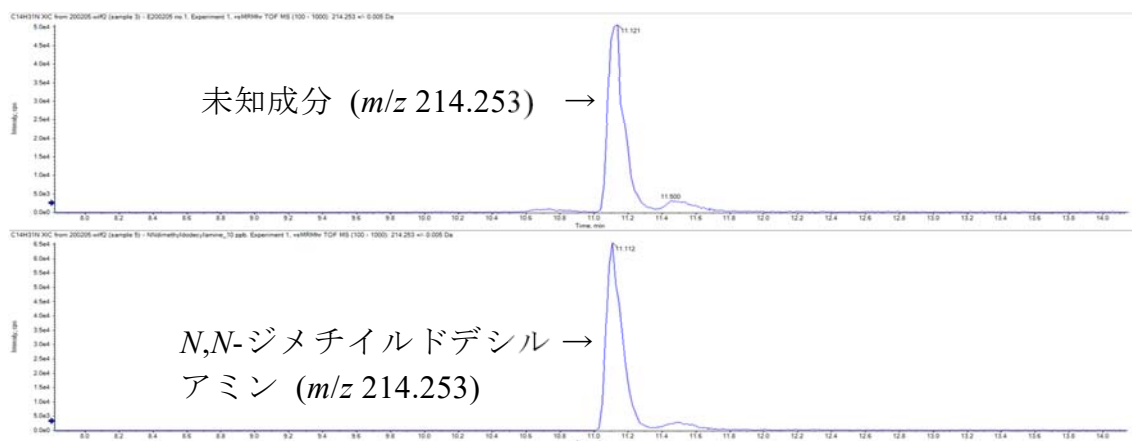


図 14-2 抽出イオンクロマトグラムによる溶出時間の比較(m/z 214.253) (上図：AOC₁₂ 添加試料、下図：*N,N*-ジメチルドデシルアミン)

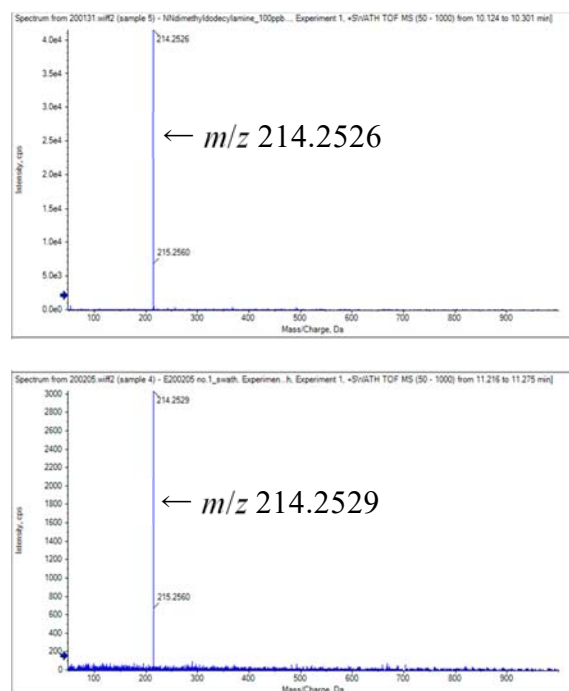


図 14-3 抽出イオンクロマトグラムで検出されたピークのマススペクトルの比較（上図：AOC₁₂ 添加試料、下図：N,N-ジメチルドデシルアミン）

〔保存条件の検討 2：保存安定性の改善（過酸化水素）〕

過酸化水素の添加による保存安定性の改善を試みた。底質 15 g-wet（10 g-dry 相当）に標準物質（各同族体 50 ng）、過酸化水素 2 mL の順に添加し、所定の期間冷蔵保存した後、前処理して濃度を測定、検出濃度及び残存率を求めた。また、併せて無添加試験（当日処理）も行い、検出濃度を求めた。結果を表 11 に示す。

その結果、AOC₁₀、AOC₁₂、AOC₁₄ については、残存率は低下せず、過酸化水素の添加により 7 日間の保存が可能であった。しかし、AOC₁₈ については、1 日目において残存率が 100%を超過する等、高い値となった。無添加試験においても AOC₁₈ が検出されることから、過酸化水素によって底質に含まれるアミンからアミノオキシドが副生しているものと考えた。このため、過酸化水素は使用できないものと判断した。

表 11 保存性試験検討結果（過酸化水素の添加効果）

物質名	調製濃度 (ng/g-dry)	試験数	検出濃度(ng/g-dry)（残存率%*）		
			当日	1 日間	7 日間
AOC ₁₀	50	1	-	37 (73)	33 (65)
	0	1	1.0	-	-
AOC ₁₂	50	1	-	41 (81)	38 (76)
	0	1	4.3	-	-
AOC ₁₄	50	1	-	37 (74)	37 (76)
	0	1	1.7	-	-
AOC ₁₈	50	1	-	65 (130)	49 (97)
	0	1	44	-	-

* 残存率(%)：調製濃度に対する保存後の検出濃度の割合

〔保存条件の検討 3：保存安定性の改善（4-メチルモルホリン *N*-オキシド）〕

過酸化水素に代わるより穏やかな酸化剤として、対象物質と同じアミンオキシド構造を有する 4-メチルモルホリン *N*-オキシド（図 15）（以下「NMO」とする。）に着目し、これによる保存安定性の改善を試みた。

底質 15 g-wet（10 g-dry 相当）に標準物質（各同族体 50 ng）、酸化剤（NMO 3 g 及び 28%アンモニア水 1 mL を精製水 3 mL に溶解させたもの）の順に添加し、所定の期間冷蔵保存した後、前処理して濃度を測定、検出濃度及び残存率を求めた。結果を表 12 に示す。

その結果、全ての同族体について、残存率は低下せず、11 日間の保存が可能であった。また AOC₁₈ について濃度増加する傾向も認められなかった。

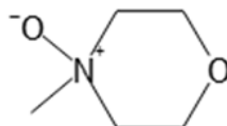
図 15 4-メチルモルホリン *N*-オキシドの構造式

表 12 保存性試験検討結果（NMO の添加効果）

物質名	調製濃度 (ng/g-dry)	試験数	検出濃度(ng/g-dry)（残存率%*）		
			当日	4 日間	11 日間
AOC ₁₀	50	1	-	34 (68)	34 (67)
AOC ₁₂	50	1	-	36 (71)	34 (68)
AOC ₁₄	50	1	-	40 (79)	37 (73)
AOC ₁₈	50	1	-	35 (69)	36 (72)

* 残存率(%)：調製濃度に対する保存後の検出濃度の割合

添加する酸化剤としては、NMO+28%アンモニア水の組み合わせが必須であり、その根拠となる検討結果を表 13 に示す。

底質 15 g-wet (10 g-dry 相当) に標準物質 (各同族 50 ng)、酸化剤 (NMO+28%アンモニア水、またはその一方のみ) を添加し、1~4 日間冷蔵保存した後、前処理して濃度を測定、検出濃度及び回収率を求めた。結果を表 13 に示す。

その結果、NMO 及び 28%アンモニア水の組み合わせにおいて、良好な回収率が得られた(#1)。NMO のみ(#3)、あるいは 28%アンモニア水のみ(#4)では十分な回収率が得られなかった。精製水 30 mL(#2)とすると、あらかじめ精製水を遠心分離により除去する工程を要し、これにより AOC₁₀ の回収率が低下した。精製水 3 mL(#1)とし、全量を前処理に供すると、AOC₁₀ についても回収率は改善した。

表 13 酸化剤の組み合わせについて (n=1)

#	酸化剤			回収率(%)				
	NMO	28% アンモニア水	精製水	C ₁₀	C ₁₂	C ₁₄	C ₁₆	C ₁₈
1	3 g	1 mL	3 mL	68	71	79	-	69
2	3 g	1 mL	30 mL	40	71	78	-	72
3	3 g	-	30 mL	44	60	61	-	61
4	-	1 mL	30 mL	27	38	45	-	54

NMO によってアミノキシドの分解物からアミノキシドの副生の有無について検証した。N,N-ジメチルドデシルアミン (1000 ng) に 28%アンモニア水/メタノール (5:100) 30 mL を加え、室温で 15 分間振とう後、1 日間冷蔵保存し、前処理して AOC₁₂ の濃度を求めた。SRM クロマトグラムを図 16 に示す。

その結果、AOC₁₂ 0.0969 ng/mL を検出した。これは底質試料換算値(10 g-dry) で 4.8 ng/g-dry であり、MDL を超過した。以上の結果から、底質試料中に多量のアミノキシド分解物が存在する場合、NMO によりアミノキシドが副生し、測定結果に影響するおそれがあるため、本検討では NMO による保存安定は採用しないこととした。

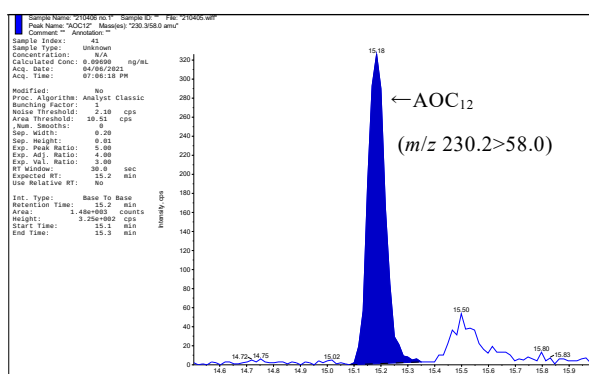


図 16 NMO により *N,N*-ジメチルドデシルアミンから副生した AOC₁₂ (SRM クロマトグラム)

〔環境試料の分析〕

本分析法により紀の川の底質を分析した結果、アルキルアミンオキシドはいずれも MDL 未満であった (図 17-1、図 17-2)。

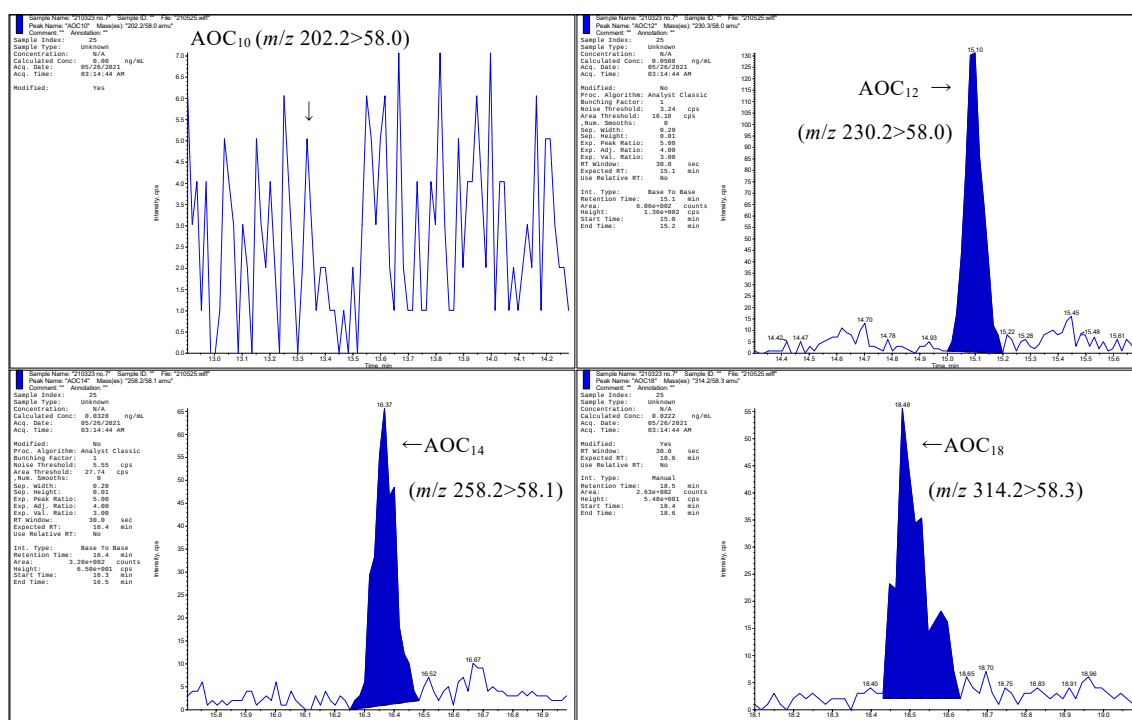


図 17-1 底質 (紀の川) 試料のクロマトグラム
 (AOC₁₀ (左上)、AOC₁₂ (右上)、AOC₁₄ (左下)、AOC₁₈ (右下))

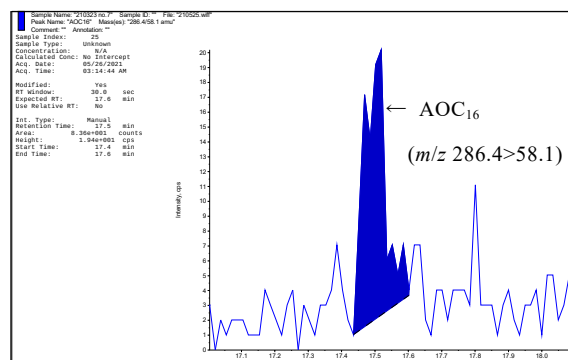


図 17-2 底質（紀の川）試料のクロマトグラム
(AOC₁₆)

【注意事項】

本検討では、環境試料の分析、並びに添加回収試験及び MDL 試験で底質の取り扱いに違いがあり、注意すること。環境試料の分析では底質を酸化剤で処理せず処理するのに対し、添加回収試験及び MDL 試験では予め酸化剤によって嫌気状態を調整した後に処理する。これは底質が嫌気状態の場合、アミノオキシドが還元され、回収率の低下やばらつきに影響することを避けるためである。一方、酸化剤によって調整すると、アミノオキシドが副生するおそれがあるため、環境試料の分析には適用できない。このため環境試料の分析は採取後速やかに行う必要がある。底質の保存期間については、主成分である AOC₁₂ を正しく評価するため、少なくとも 1 週間以内に処理すること。

【評価】

底質中に含まれるアルキルアミノオキシド (AOC₁₀、AOC₁₂、AOC₁₄、AOC₁₆ 及び AOC₁₈) の分析法を開発した。AOC₁₆ については、標準品が市販されていないため工業製品を値付けし、標準物質として用いた。アミノオキシドは嫌気状態の底質で容易に還元されるため、還元抑制のため酸化剤による安定化を検討し、添加回収試験及び MDL 試験に適用した。しかし、アミノオキシドが副生する問題があり、環境測定への適用については断念した。本法における AOC₁₀、AOC₁₂、AOC₁₄ 及び AOC₁₈ の MDL は 1.6~3.5 ng/g-dry、MQL は 4.0~9.1 ng/g-dry であった。AOC₁₆ については本検討では MDL を評価せず、AOC₁₀ から AOC₁₈ の最大値を準用した。添加回収試験の回収率は 89~107% であった。底質の環境試料（和歌山県紀の川）を測定したところアルキルアミノオキシドは MDL 未満であった。

以上の結果から、本法は底質中に含まれる 10 ng/g-dry レベルのアルキルアミノオキシドの検出に適用可能であると判断される。

【参考文献】

- 1) 平成 29 年度化学物質分析法開発調査報告書（平成 30 年 12 月）名古屋市
- 2) 平成 17 年度化学物質分析法開発調査報告書（平成 18 年 7 月）兵庫県

【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

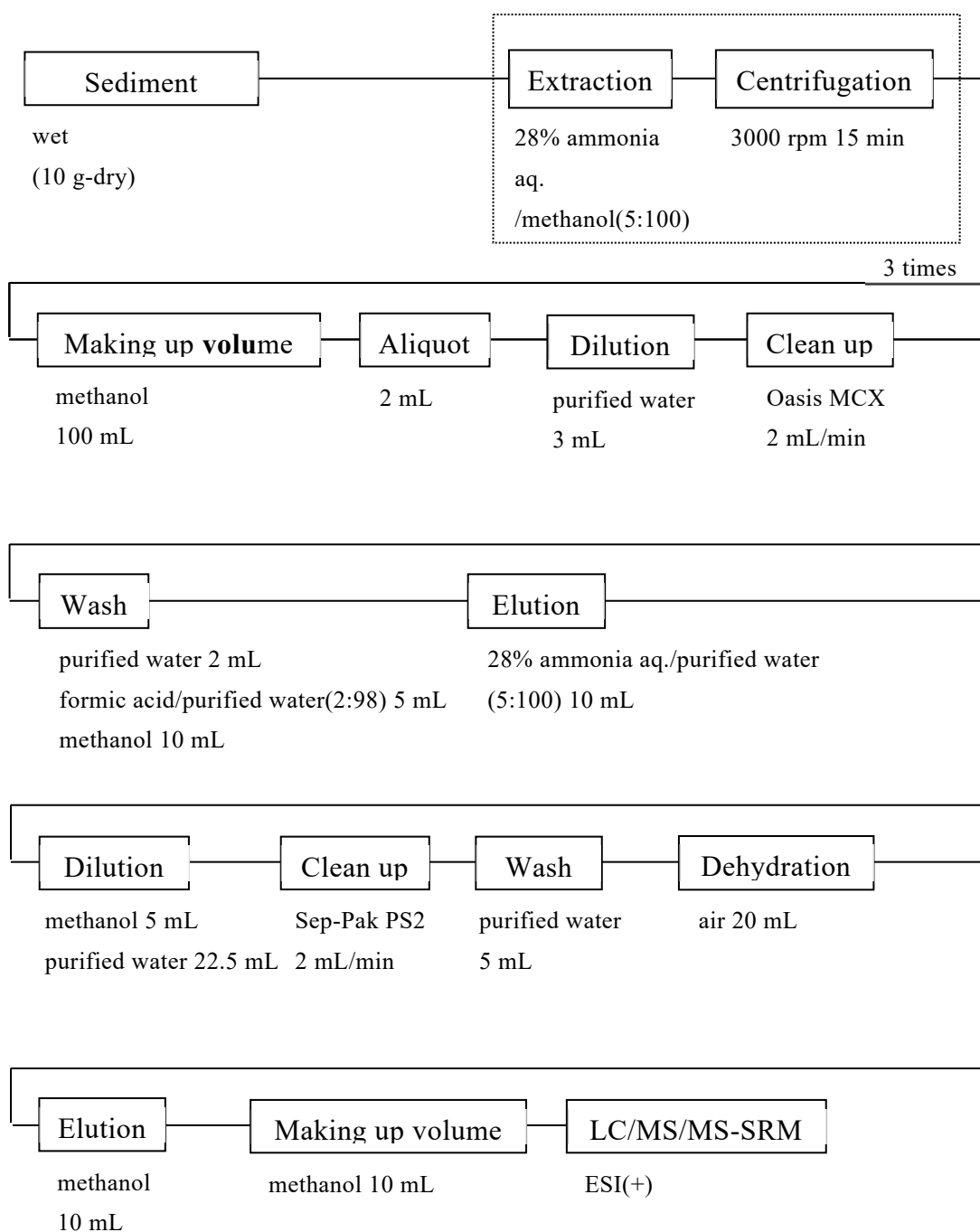
担当者名：山本道方

E-mail：yamamoto_m0096@pref.wakayama.lg.jp

Alkylamineoxide (AOs: AOC₁₀, AOC₁₂, AOC₁₄, AOC₁₆, AOC₁₈)

This method provides a procedure for the determination of alkylamineoxide (AOs: AOC₁₀, AOC₁₂, AOC₁₄, AOC₁₆ and AOC₁₈) in sediment samples by liquid chromatography mass spectrometry (LC/MS/MS).

A sediment sample (10 g-dry) is extracted by with 30 mL of 28% ammonia aq./methanol (5:100), three times and centrifuged at 3000 rpm for 15 minutes after each extraction. The combined extracts are made up to 100 mL with methanol. An aliquot (2 mL) of the extracts is diluted with 3 mL of purified water, and then the solution is loaded to a solid phase extraction cartridge (Oasis MCX). The cartridge is washed with 2 mL of purified water, 5 mL of formic acid/purified water (2:98), and 10 mL of methanol, subsequently. Then analytes are eluted with 10 mL of 28% ammonia aq./methanol (5:100). The elute is diluted with 5 mL of methanol and 22.5 mL of purified water, and then the solution is loaded to a solid phase extraction cartridge (Sep-Pak PS2). The cartridge is washed with 5 mL of purified water, and then analytes are eluted with 10 mL of methanol. The elute is made up to 10 mL with methanol. The analyte is determined by LC/MS/MS-SRM (ESI positive). The method detection limits (MDL) of AOs are 1.6 - 3.5 ng/g-dry. The average recoveries of AOs in sediment sample were 89-107%. Using this method, AOs were not detected in the sediment sample collected in Kinokawa river.



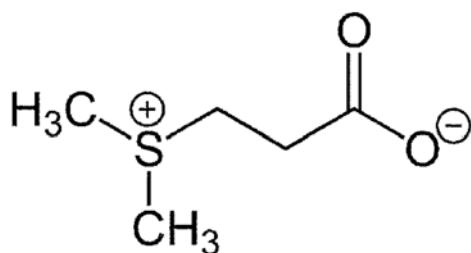
物質名	分析法フローチャート	備考
[1] AOC ₁₀ [2] AOC ₁₂ [3] AOC ₁₄ [4] AOC ₁₆ [5] AOC ₁₈	【底質】 底質試料 湿泥 (乾泥10 g相当) 振とう抽出 28%アモニア水/メタノール(5:100) 30 mL 水平振とう 15 min 遠心分離 3000 rpm 15 min 3回 定容 メタノール 100 mL 分取 2 mL 希釈 精製水 3 mL クリーンアップ Oasis MCX 2 mL/min 洗浄 精製水 2 mL 酢酸/精製水(2:98) 5 mL メタノール 10 mL 溶出 28%アモニア水/メタノール (5:100) 10 mL 希釈 遠沈管洗いこみ メタノール 5 mL 精製水 22.5 mL クリーンアップ Sep-Pak PS2 2 mL/min 洗浄 精製水 脱水 注射筒 空気20 mL 溶出 メタノール 10 mL 定容 メタノール 10 mL LC/MS/MS-SRM ESI(+)	分析原理： LC/MS/MS-SRM 検出下限値： 【底質】(ng/g-dry) [1] 1.6 [2] 2.0 [3] 1.6 [4] 未評価 [5] 3.5 分析条件： 機器 LC: Agilent 製 1100 series MS: AB サイエ ックス製 API3200 カラム GL Sciences 製 UHPLC PEEK Column InertSustain C18 (3 μm 2.1×100 mm)

ジメチルスルホニオプロピオナート

Dimethylsulfoniopropionate

別名：DMSP

【対象物質の構造】



ジメチルスルホニオプロピオナート
(DMSP)

CAS番号：7314-30-9

分子式：C₅H₁₀O₂S

【物理化学的性状】¹⁾

物質名	DMSP
分子量	134.20
モノアイソトピック質量	134.0401
融点	116-119°C
沸点	-
log P _{ow}	0.578
比重 (g/cm ³)	-
水溶解度 (mg/L)	-

【毒性、用途】²⁾

毒性及び用途については報告なし

植物プランクトン等が生成する。

分解するとジメチルスルヒドやアクリル酸を生成する。

出典

1) Dimethylsulfoniopropionate, Chemispider, (<http://www.chemispider.com>)

2) 細菌のアクリル酸代謝、麻生祐司、生物工学会誌、Vol.92、No.3、pp.115 (2014)

§ 1 分析法

(1) 分析法の概要

水質試料をろ過後にアセトニトリルを添加し、固相抽出を行う。アンモニア水/メタノール(5:95)溶液で溶出し、窒素気流下で濃縮後、メタノール/精製水(4:1)溶液を加えて、LC/Q-TOFMS (ESI-positive) (注1) で測定する。

なお、この分析法は海水の直接的な混入のない河川水に適用するものである。

(2) 試薬・器具

【試薬】

(2-カルボキシエチル) ジメチル スルホニウムクロリド ^{*1}	: 東京化成工業製 >98.0%
アセトニトリル	: 関東化学製 (残留農薬・PCB試験用 5000倍濃縮)
アセトニトリル ^{*2}	: 関東化学製 アセトニトリル-Plus- (LC/MS用)
メタノール	: 関東化学製 (残留農薬・PCB試験用 5000倍濃縮)
ギ酸	: 富士フイルム和光純薬製 (特級)
アンモニア水	: 関東化学製 (Ultrapur) 28.0%~30.0%
精製水	: 関東化学製 蒸留水 (ヘキサン洗浄品) (残留農薬試験用)
精製水 ^{*2}	: 関東化学製 蒸留水-Plus- (LC/MS用)
1 mol/L酢酸アンモニウム水溶液	: 関東化学製 (高速液体クロマトグラフ 用)
固相カートリッジ	: Waters製Oasis MCX plus short

*1 : 対象物質であるDMSPも市販されているが、水溶液として含有量が80%程度であるため、より扱いやすく固体である塩化物を標準物質として使用した。

*2 : LC/MS移動相に用いた。

【LC/MS 移動相の調製】

移動相 A : ギ酸 1.0 mL にアセトニトリル/精製水(95:5)を加え、1.0 L にする。

移動相 B : 1 mol/L 酢酸アンモニウム水溶液を精製水で 1000 倍希釈した後、同量のアセトニトリルと混合する。酢酸アンモニウムは吸湿性のため、固体から計量すると微妙な濃度の違いが出て、保持時間のずれが生じるため、このように、溶液から調製することが望ましい。

【標準液の調製】

〔標準原液〕

(2-カルボキシエチル)ジメチルスルホニウムクロリドを正確に 25.4 mg 量り取り、メタノール/精製水(4:1)で溶解して 20 mL とし、DMSP として 1000 µg/mL の標準原液を調製する。

〔検量線用標準液〕

標準原液をメタノール/精製水(4:1)で順次希釈し、濃度範囲が 1.0～500 ng/mL となる検量線用標準液を調製する。なお、検量線用標準液及びメタノール/精製水(4:1)は測定の都度調製し、後述の【試料の前処理及び試験液の調製】の際も同一のメタノール/精製水(4:1)を用いること。

【器具】(注2)

25 mL試験管、ホールピペット、パスツールピペット、ガラスシリンジ、メスシリンダーなどは、通常使用されているガラス製のものを使用する。

グラスファイバーフィルター : Acrodisc, Syringe Filter, Glass Filter, 25 mm, 1.0 µm、Waters製と同等のもの

濃縮・定容用のスピッツ管等 : 1.0 mLに定容できるものか、1.0 mLの正確な目印をつけたスピッツ管等を使用する。

(3) 分析法

【試料の採取及び保存等】

水質試料を 50～100 mL 程度の容器に採取し、保冷・遮光して持ち帰る。採取時にグラスファイバーフィルターでろ過しておくことが望ましい(注 3)。採取時にろ過できない時は、試料を持ち帰り、出来るだけ速やかにグラスファイバーフィルターでろ過をする。ろ過後は、速やかに【試料の前処理及び試験液の調製】を行う。試料採取から分析まで数日を要する場合は、採取直後にろ過し、ろ過試料にアセトニトリルを加えて十分に混和する操作までを行い、採取から 3 日以内に分析を行うこと。採取から 7 日間程度機器測定が行えない場合は、固相カートリッジに負荷して乾燥させる操作まで行うこと。

その他は、環境省「化学物質環境実態調査実施の手引き」（最新版）に従う。

【試料の前処理及び試験液の調製】

事前にろ過した試料水10 mLを25 mL試験管に量り取り、アセトニトリル10 mLを加え、十分に混和する。あらかじめ精製水20 mL、アセトニトリル5 mLの順に通液してコンディショニングしてから窒素通気により乾燥させた固相カートリッジ(Oasis MCX plus short)に、混和した溶液を、カートリッジの先端から1秒あたり2滴程度出る速度で負荷する。アセトニトリル/精製水 (1:1) 5 mLで数回に分けて試験管を洗浄し、洗浄液も固相カートリッジに負荷する。固相カートリッジをアセトニトリル5 mLで洗浄し、窒素を通気して乾燥させる。乾燥した固相カートリッジに、順方向にアンモニア水/メタノール(5:95)溶液を通液し、スピッツ管等に3 mL程度溶出させる。この溶出液を、窒素気流下で乾固寸前まで濃縮し、メタノール/精製水 (4:1)を加えて混合し、正確に1.0 mLとして試験液とする。

【空試験液の調製】

試料水と同量の精製水を用い、【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】（注4）

〔LC/Q-TOFMS測定条件〕

〔LC 条件〕

使用機種	: Waters 製 Acquity UPLC
カラム	: Merck 製 SeQuant ZIC-HILIC (150 mm × 2.1 mm, 3.5 μm)
移動相（注5）	: A : 0.1vol%ギ酸含有 95%アセトニトリル水溶液 B : アセトニトリル/1 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液 (50:50) 0→ 2 min A : B = 100 : 0 2→ 8 min A : 100 → 0 , B: 0 → 100 linear gradient 8→12 min A : B = 0 : 100 12→25 min A : B = 100 : 0
カラム流量	: 0.3 mL/min
カラム温度	: 40°C
注入量	: 10 μL
サンプル室温度	: 10°C

〔MS 条件〕

使用機種	: Waters 製 Xevo G2-XS QTof
キャピラリー電圧	: 3.0 kV
イオン源温度	: 120°C
脱溶媒温度	: 120°C
コーンガス流量	: 25 L/h
脱溶媒ガス流量	: 1200 L/h
イオン化法	: ESI-positive
測定モード	: SRM
モニターイオン	: m/z 135.05 > 73.03 (定量用) m/z 135.05 > 63.03 (確認用)
コーン電圧	: 24 V
コリジョン電圧	: 12 V

〔検量線〕

検量線用標準液10 μ LをLC/Q-TOFMSに注入し、対象物質の濃度と得られた面積値から検量線を作成する。

〔定量〕

試験液10 μ LをLC/Q-TOFMSに注入し、対象物質の面積値から検量線を基に試験液の濃度を求める。

〔濃度の算出〕

水質試料中の濃度 (μ g/L) は次式により算出する。

水質試料中の濃度 (μ g/L)

$$= \text{検出濃度 (ng/mL)} \times \text{最終液量 (mL)} / \text{試料量 (L)} / 1000$$

本分析法に従った場合、以下の数値を使用する。

最終液量 = 1.0 (mL)

試料量 = 0.010 (L)

即ち、

$$\begin{aligned} \text{水質試料中の濃度}(\mu\text{g/L}) &= \text{検出濃度 (ng/mL)} \times 1.0 / 0.010 / 1000 \\ &= \text{検出濃度 (ng/mL)} \times 0.10 \end{aligned}$$

である。

〔装置検出下限値(IDL)〕

本分析に用いた LC/Q-TOFMS の IDL を表 1 に示す（注 6）。

表 1 IDL の算出結果

物質名	媒体名	IDL (pg)	試料量 (mL)	最終液量 (mL)	IDL 試料換算値 (µg/L)
DMSP	水質	3.6	10	1.0	0.036

〔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 7）。

表 2 MDL 及び MQL の算出結果

物質名	媒体名	試料量 (mL)	最終液量 (mL)	MDL (µg/L)	MQL (µg/L)
DMSP	河川水	10	1.0	0.11	0.28

注 解

- (注 1) 当研究所の機器の都合上、LC/Q-TOFMS を使用したが、通常の LC/MS/MS でも測定は可能である。
IDL、MDL、検量線、操作ブランク、添加回収試験、分解性スクリーニング試験及び河川水の保存性試験においては、イオンの取り込み幅を 1.0 Da に設定して解析したものである。
- (注 2) マイクロシリンジ及び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 3) DMSP は藻類に含まれているため、藻類からの影響を少なくするため、採取後できるだけ速やかにろ過しておくことが望ましい。
- (注 4) ここに示した機器条件は当研究所の機器に関するものであり、測定前に必ず最適化を行うこと。
- (注 5) HILIC 系カラムでのグラジェント分析の場合に、初期状態に戻した後の安定化に時間がかかる場合があるので、本測定に入る前に、LC/MS クロマトグラム等でベースラインが安定する時間を確認し、安定化時間を設定すること。モニターイオンのクロマトグラムやカラム圧力では、判断できない場合がある。

(注 6) 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 に示す。

表 3 IDL の算出結果 (詳細)

物質名	DMSP
試料量 (mL)	10
最終液量 (mL)	1.0
注入液濃度 (ng/mL)	1.0
注入量 (pg)	10
装置注入量 (μL)	10
結果 1 (pg)	11.9
結果 2 (pg)	10.9
結果 3 (pg)	10.4
結果 4 (pg)	9.9
結果 5 (pg)	9.0
結果 6 (pg)	9.8
結果 7 (pg)	11.6
結果 8 (pg)	10.2
平均値 (pg)	10.47
標準偏差(σ_{n-1}) (pg)	0.9631
IDL (pg) *	3.6
IDL 試料換算値 (μg/L)	0.0365
S/N	6.0
CV (%)	9.2

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

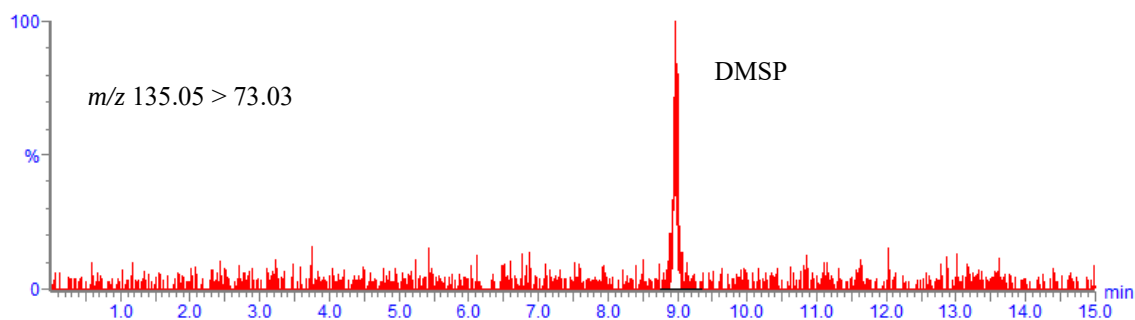


図 1 IDL 測定時 (DMSP 1.0 ng/mL) のクロマトグラム

(注 7) 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)をもとに算出した。算出結果を表 4 に、測定時のクロマトグラムを図 2 に示す。

表 4 MDL 及び MQL の算出結果 (詳細)

物質名	DMSP	回収率(%)
試料	河川水 (麻生川)	-
試料量 (mL)	10	-
標準添加量 (ng)	3.0	-
試料換算濃度 (μg/L)	0.30	-
最終液量 (mL)	1.0	-
注入液濃度 (ng/mL)	3.0	-
注入量 (μL)	10	-
操作ブランク平均 (μg/L) *1	< 0.11	-
無添加平均 (μg/L) *2	< 0.11	-
結果 1 (μg/L)	0.248	83
結果 2 (μg/L)	0.215	72
結果 3 (μg/L)	0.216	72
結果 4 (μg/L)	0.280	93
結果 5 (μg/L)	0.233	78
結果 6 (μg/L)	0.269	90
結果 7 (μg/L)	0.201	67
結果 8 (μg/L)	0.215	72
平均値 (μg/L)	0.2347	78
標準偏差(σ _{n-1}) (μg/L)	0.0283	
MDL(μg/L) *3	0.11	
MQL(μg/L) *4	0.28	
S/N	5.0	
CV (%)	12	

*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 (n = 2)

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

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

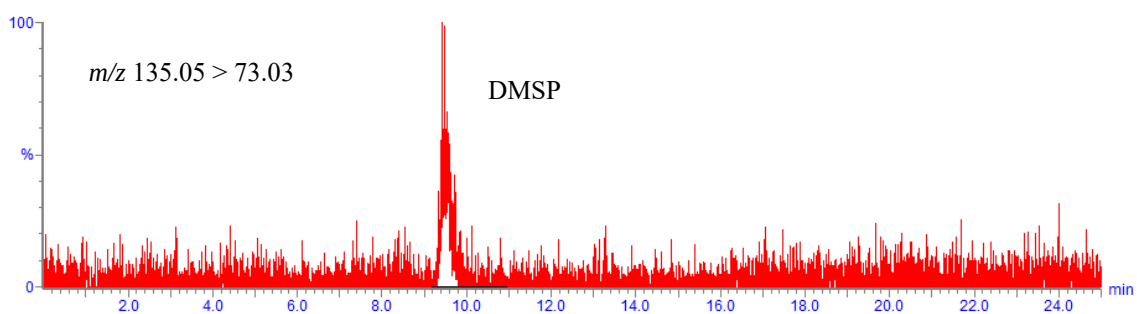


図2 MDL 算出時のクロマトグラム

§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。

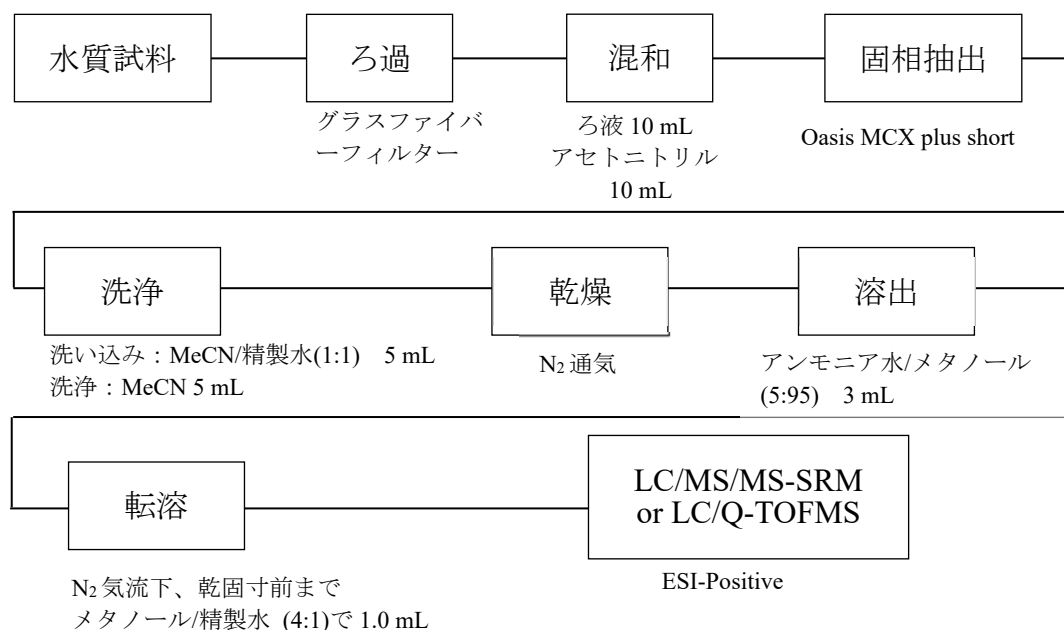


図3 分析法のフローチャート

〔検量線〕

検量線を図4に、検量線作成用データを表5に示す。

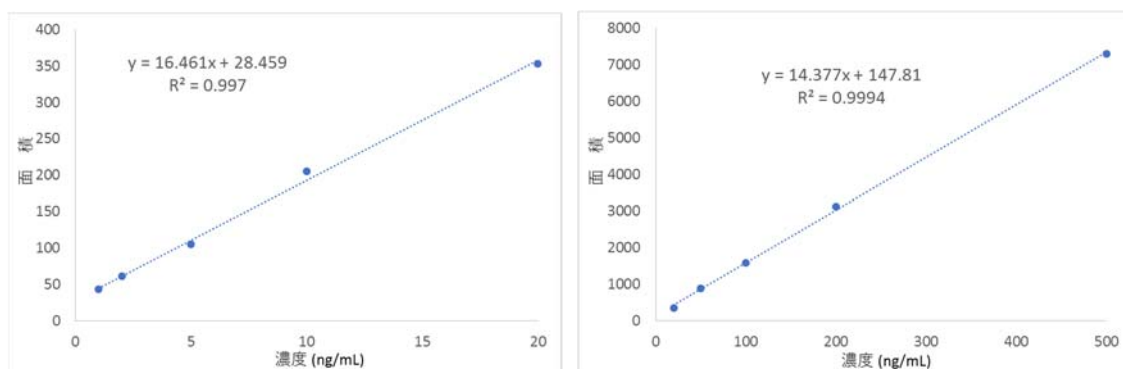


図4 DMSP の検量線

(左図：低濃度域1.0～20 ng/mL、右図：高濃度域20～500 ng/mL)

表5 検量線作成用データ

濃度(ng/mL)	応答値
1.0	43.2
2.0	61.2
5.0	105.2
10	205.0
20	353.2
50	887.7
100	1589.1
200	3118.5
500	7298.9

[クロマトグラム]

標準液(5.0 ng/mL)のクロマトグラムを図5に示す。

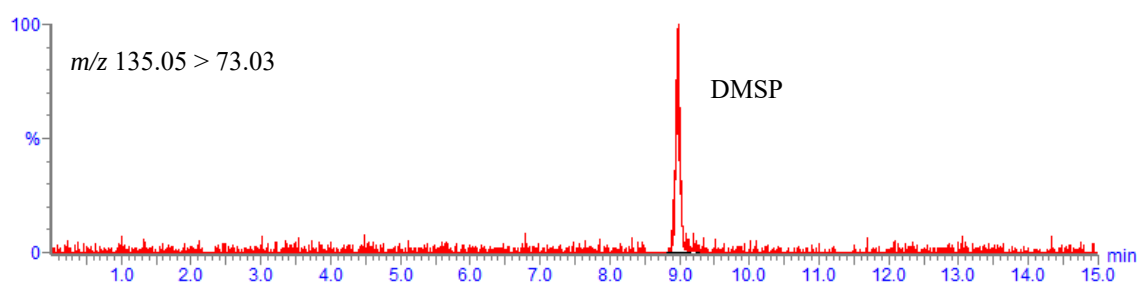


図5 標準液(5.0 ng/mL) のクロマトグラム

〔マススペクトル〕

DMSP の LC/TOFMS スペクトルと、 m/z 135.05 をプレカーサーイオンとする LC/Q-TOFMS スペクトルを図 6 に示す。

どちらも同じスペクトルに見えるが、LC/Q-TOFMS クロマトグラムを見ると、ベースラインが下がり、感度が上昇している。

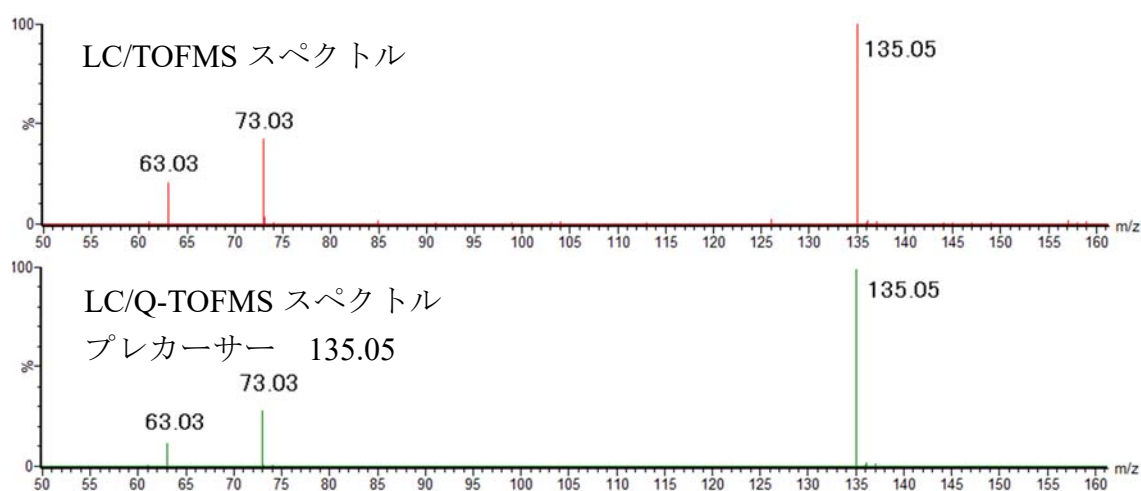


図6 DMSPのLC/TOFMSスペクトル（上図）及び m/z 135.05をプレカーサーイオンとするLC/Q-TOFMSスペクトル（下図）

〔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。DMSP は検出されなかった。

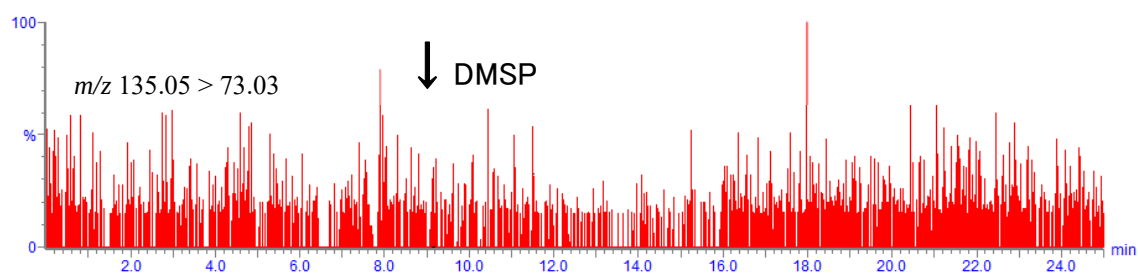


図 7 操作ブランク測定時の LC/ Q-TOFMS クロマトグラム

〔添加回収試験〕

添加回収試験結果を表 6 に示す。若干低い回収率であった。添加回収時のクロマトグラムを図 8 に示す。

この添加回収率の低下は、手引きに従って行っているが、河川水の状態により、分解が早く進む場合があるので、迅速な前処理が必要である。

表6 添加回収試験結果

物質名	試料	試料量 (mL)	試験数	添加量 (ng)	検出濃度 ($\mu\text{g/L}$)	回収率 (%)	変動係数 (%)
DMSP	河川水	10	2	0	< 0.11	-	-
			6	60	4.3	71	6.6

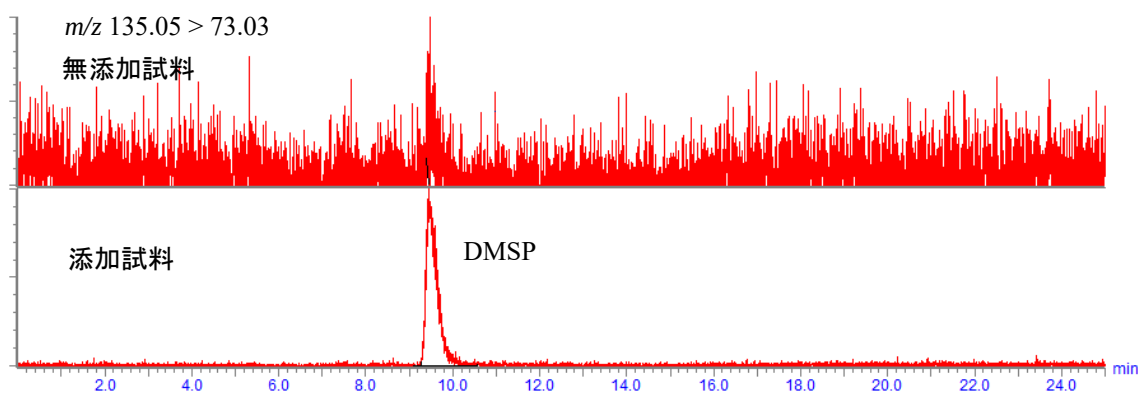


図 8 添加回収試験時のクロマトグラム

〔分解性スクリーニング試験〕

分解性スクリーニング試験結果を表 7 に示す。pH の違いや光による分解等は見られなかった。

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*1 (ng/mL)	検出濃度 (ng/mL) (残存率*2 (%))		
				1 時間後	7 日後	
					暗所	明所
DMSP	5	2	20	18 (92)	20 (102)	-
	7	2	20	20 (98)	22 (108)	20 (101)
	9	2	20	20 (99)	22 (110)	-

*1：測定時の濃度としての値

*2：残存率(%)：調製濃度に対する検出濃度の割合

〔保存性試験〕

保存性試験の結果を表8に示す。河川水を事前にろ過した試料100 mLにDMSP 240 ng（メタノール/精製水(4:1)溶液）を添加し、(1)ろ過した後の試料（ろ液）、(2)ろ液に同量のアセトニトリルを加えたもの、(3)(2)の試料を固相カートリッジに通液し、固相の乾燥まで行ったもの、(4)固相カートリッジから抽出した粗抽出液、(5)測定機器にかける試験液、の各段階の試料を用意し、冷暗所に7日間保存後に測定した。(1)の試料水ではDMSPは検出されなかったが、他の(2)～(5)では、比較的70%以上の残存率を得られた。

試料採取後、すぐに固相抽出まで行えない場合を考え、更に(2)について、3日間保存について確認を行った。(2)の3日間については高い残存率であった。

DMSPは試料水中の微生物等により分解される可能性があり、試料水そのまゝの状態では、すぐに回収率が低下する場合があった。試料採取後すぐに測定まで行えない場合は、(2)試料をろ過後、同量のアセトニトリルを加えて冷暗所に保存し、数日以内に以後の処理と測定を行うか、(3)固相カートリッジに負荷して、洗浄、乾燥までを行ったカートリッジを冷暗所で保存し、7日間以内に以後の処理と測定を行うことが望ましい。

表8 DMSPの保存性試験結果

試料名	調製濃度		検出濃度（残存率(%) ^{*1} ）		
	試料濃度 (μg/L)	試験液濃度 (ng/mL)	3日間 (μg/L)	7日間 (μg/L)	1か月
河川水 (1)試料（ろ過後）	2.4	-	-	<0.11 (0)	-
(2)試料+MeCN	2.4	-	-	1.6 (69)	-
(3)カートリッジ	2.4	-	-	2.3 (94)	-
(4)粗抽出液	2.4	-	-	2.2 (90)	-
(5)試験液	2.4	-	-	1.8 (77)	-
河川水 (再試験) (2)試料+MeCN	2.4	-	2.6 (107)	-	-
標準原液（希釈して測定）	-	100	-	-	95
検量線用標準液 ^{*2}	-	1.0～500	-	-	-

*1：残存率(%)：調製濃度に対する検出濃度の割合

*2：検量線用標準液は、測定時に調製すること。（次項参照）

〔検量線用標準液の調製溶媒のメタノール濃度〕

検量線用標準液の調製溶媒のメタノール濃度による検出濃度の違いを表 9 に示す。50 ng/mL の溶液を調製して測定したところ、精製水／メタノールの比率が 20／80 の時の検出量が最も高かった。また、この検出濃度の傾向も一定ではなく、LC/MS の移動相の微妙な濃度の違いなどもかかわってきていると考えられることから、検量線用標準液及びメタノール/精製水(4:1)は、測定の都度調製し、試料試験液を調製する際に使用するメタノール/精製水(4:1)と同一のものを使用すること。

表9 精製水とメタノールの比率の違いによる検出量の違い (50 ng/mL溶液)

精製水／メタノール比率	検出濃度(ng/mL)
100／ 0	43.4
80／ 20	38.8
60／ 40	38.0
40／ 60	44.6
20／ 80	49.8
0／100	48.8

〔検量線用標準液の調製溶媒のブランク〕

検量線用標準液の調製溶媒のブランクのクロマトグラムを図 9 に示す。精製水に MilliQ 水を使用するとブランクが検出されることがあった。市販の蒸留水（関東化学製蒸留水（ヘキサン洗浄品）（残留農薬試験用）、または、関東化学製蒸留水-Plus-（LC/MS 用））に変更したところ、ブランクは消失した。

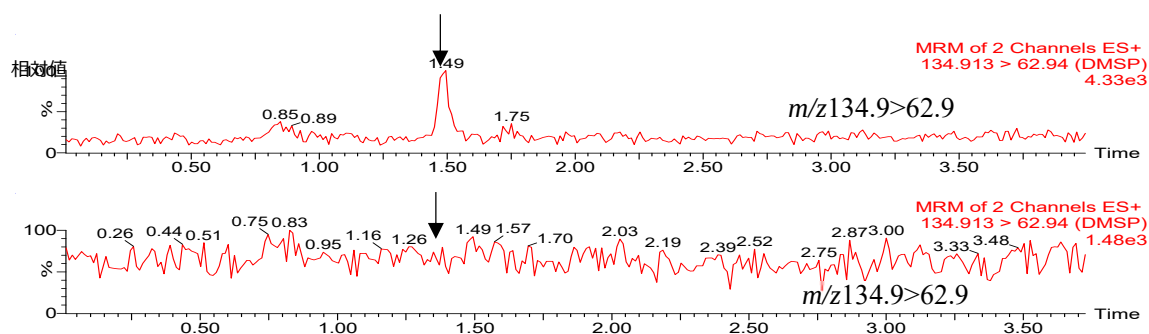


図 9 検量線用標準液調製溶媒のクロマトグラム
(上段：MilliQ 水、下段：蒸留水-Plus-)

〔測定カラムの検討〕

各種測定カラムについて検討を行ったが、保持が弱く、溶出時間が早かった。

ZIC-HILICを試したところ、保持されるようになったが、アイソクラティックでの分析では、保持される分、ピークが幅広くなったので、グラジエント分析に変更した。

(参考) ZIC-HILIC の他に検討したカラム

XBridge BEH Amide XP Column (2.1 mm × 100 mm, 2.5 μm)

XBridge HILIC Column (3.0 mm × 50 mm, 2.5 μm)

Atlantis HILIC Silica (2.1 mm × 150 mm, 3 μm) (ブランクピークが観測された。)

〔固相カートリッジの検討〕

①直接添加(Oasis HLB)

アクリル酸の分析法²⁾と同様のOasis HLBを試した。Oasis HLBにDMSPを500 ng (10 μg/mLを50 μL (アセトニトリル溶液)) 添加し、30分間静置した後に溶媒で溶出した。各溶媒4 mLで溶出し、精製水を1 mL加えて最終溶液の溶媒が溶媒／精製水(8:2)となるようにした。結果を表10に示す。メタノールで回収率が良好で溶出溶媒量が最小となった。

表10 DMSPの直接添加(Oasis HLB)の回収率

溶出溶媒	溶出方向	回収率(%)	
		0-4 mL	4-8 mL
アセトニトリル	通水方向	86	11
	逆方向	0	116
メタノール	通水方向	100	0
	逆方向	22	11

②精製水に添加(Oasis HLB)

精製水 (MilliQ水) 20 mLにDMSPを500 ng添加し、pHを調整後、10 mL/minで固相カートリッジに通水し、20 mLガラスシリンジで空気を圧送して間隙水を除去した後、溶媒で溶出した。溶媒には、①で回収率が良好で溶出溶媒量が少量であるメタノールを使用し、通水方向から溶出した。結果を表11に示す。いずれの条件でもピークは検出されなかった。

表11 精製水への添加回収率(Oasis HLB)

pH	回収率(%)	
	0-4 mL	4-8 mL
1	0	0
7	0	0
11	0	0

③直接添加(Sep-Pak AC2)

固相カートリッジ(Sep-Pak AC2)にDMSPを500 ng添加し、30分間静置した後に溶媒で溶出した。溶媒4 mLで溶出し、精製水を1 mL加えて最終溶液の溶媒が溶媒／精製水(8:2)となるようにした。結果を表12に示す。逆方向でメタノール、アセトニトリルで70%以上の回収率が得られた。

表12 DMSPの直接添加(Sep-Pak AC2)の回収率

溶出溶媒	溶出方向	回収率(%)	
		0-4 mL	4-8 mL
メタノール	通水方向	48	0
	逆方向	75	0
アセトニトリル	逆方向	77	0
アセトン	逆方向	58	0

④精製水に添加(Sep-Pak AC2)

精製水 (MilliQ水) 20 mLにDMSPを500 ng添加し、10 mL/minで固相カートリッジ(Sep-Pak AC2)に通水後、20 mLガラスシリンジで空気を圧送して間隙水を除去し、溶媒で溶出した。結果を表13に示す。いずれも条件でもピークは検出されなかった。

表13 精製水への添加回収率(Sep-Pak AC2)

溶出溶媒	回収率(%)	
	0-4 mL	4-8 mL
アセトニトリル	0	0
メタノール	0	0

〔Oasis MAX の検討〕

Oasis MAX 3 cc (Waters 製) を用いて検討した。検討結果を表 7 に示す。いずれの条件においても、DMSP は検出されなかった。なお、試料水は、精製水 (MilliQ

水) 20 mL に DMSP を 500 ng 添加して pH 調整したものを使用した。分析操作は、①コンディショニング→②通水→③洗浄→④乾燥→⑤溶出→⑥定容→⑦ LC/MS/MS 測定という手順とした。

- ①コンディショニング方法：表 14 に示すとおり
- ②通水速度：10 mL/min
- ③の洗浄は、いずれも濃アンモニウム水 (28%アンモニア水) / MilliQ 水(5:95) を使用した。
- ④の乾燥は、20 mL ガラスシリンジで空気を圧送して間隙水を除去する方法とした。
- ⑤の溶出は、2%ギ酸/メタノール 4 mL で溶出した。
- ⑥の定容は、蒸留水 1 mL を加えて 5 mL とした。

表 14 Oasis MAX の検討結果

コンディショニング方法	試料水の pH	DMSP
メタノール 2 mL→Milli-Q 水 5 mL	7	不検出
メタノール 2 mL→Milli-Q 水 5 mL	11	不検出
メタノール 2 mL→Milli-Q 水 5 mL→5.6%アンモニア水 1 mL	7	不検出
メタノール 2 mL→Milli-Q 水 5 mL→5.6%アンモニア水 1 mL	11	不検出

Oasis HLB、Sep-Pak AC2等での検討を行ったが、固相に直接添加では、Oasis HLBがバックフラッシュで溶出してくるため、保持が期待されたが、蒸留水への標準添加での試験では、固相には全く保持されなかった。また、Oasis MAXについても、固相に保持されていないようであった。

〔その他固相カートリッジの検討〕

以下の各種固相カートリッジに 5 ng/mL に調製した蒸留水を 20 mL 通水し、アセトニトリルで溶出 (バックフラッシュ) した。蒸留水の pH を大きく振ってみても (pH 1、7、14)、多少の保持があるカートリッジもあったが、ほとんど通過していた。ENVI-Carb plus が一番保持されているようであったが、通過した溶液に残存している量の方が多かった。

〔検討したカートリッジ〕

- Oasis 系 (plus タイプ) : HLB、MCX、WCX、MAX、MCX
- Sep-Pak 系 : AC-2、Diol plus、Accell Plus QMA、Accell Plus CM、Silica
- ENVI-Carb、ENVI-Carb plus

〔試料水にアセトニトリルを加えての固相カートリッジの検討〕

測定カラムの検討では、ZIC-HILIC で有機溶媒が多い条件でカラムに保持されていたため、似た条件で固相カートリッジに保持できるかを確認した。

〔検討したカートリッジ〕

- ・ Oasis 系 (plus タイプ) : HLB、MCX、WCX、MAX、MCX
- ・ Sep-Pak 系 : AC-2、Diol plus、PS-2、Accell Plus CM、Silica

LC/MS での溶出や、前述のカートリッジ検討から、有機溶媒が多い条件で捕集し、水の多い条件で溶出すると考えた。LC/MS がアセトニトリル 95%から 50%へのグラジエント分析のため、5 ng/mL に調製した蒸留水 10 mL に、酢酸アンモニウム緩衝液(pH 4.7) 1 mL (検討当初、試料を酸性にして負荷する予定だったため)、アセトニトリル 19 mL を加えて、それぞれの固相カートリッジに負荷した後、蒸留水で溶出した。

MCX のみ、通過した溶液に残存している DMSP が確認できなかった。また、溶出した溶液 (バックフラッシュ) には、DMSP が検出された (図 10)。

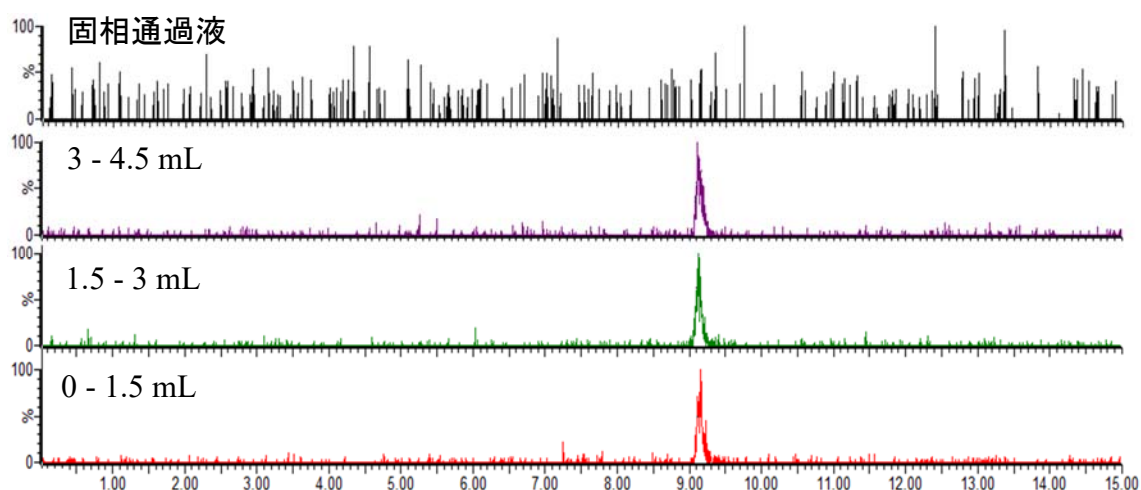


図10 Oasis MCX plusに負荷後、通過した溶液と、固相から蒸留水で溶出した溶液のクロマトグラム(m/z 135.05 > 73.03)

当初、アセトニトリルを溶液 10 mL に対して 2 倍量(20 mL)加えていたが、その後の検討で、試料水と等量の添加でもカートリッジに捕集されることを確認した。

〔Oasis MCX plus からの溶出溶媒の検討〕

蒸留水での溶出は、図 10 のとおり、バックフラッシュでも 4.5 mL 以上は必要であるので、5 ng/mL に調製した蒸留水 10 mL にアセトニトリルを加えた試料を Oasis MCX plus に負荷して乾燥したものについて、他の溶出溶媒を検討した（表 15）。水系溶媒 10 mL で溶出した場合、濃縮せずに（試料量と同じ量）測定することを考えたが、IDL 試料換算値から調査要求下限値を上回っていたので、水系で溶出溶媒量を減らすか、有機溶媒系で濃縮するかの必要があった。

表 15 各種溶出溶媒でのバックフラッシュでの溶出（○：採用可能性あり）

溶出溶媒	結果	備考
蒸留水	×	だらだらと溶出してくる
酢酸アンモニウム緩衝液(pH 4.7)	×	溶出開始が遅い その後だらだらと溶出
メタノール	×	溶出せず
アセトニトリル	×	溶出せず
5%ギ酸（水溶液、メタノール溶液、アセトニトリル溶液）	×	3 種類とも、溶出せず
5%酢酸（水溶液、メタノール溶液、アセトニトリル溶液）	×	3 種類とも、溶出せず
5%濃アンモニア水／蒸留水	○	4 mL までには溶出した
5%濃アンモニア水／メタノール	○	4 mL までには溶出した
5%濃アンモニア水／アセトニトリル	×	溶出開始が遅い

濃縮することを考え、5%濃アンモニア水のメタノール溶液で、詳細な検討を行った。

順方向での溶出では、2 mL ごとに分析を行った結果、0 - 2 mL でほぼ溶出し、2 - 4 mL では、微量の溶出が見られた。そのため、3 mL 程度の溶出とした。（図 11）

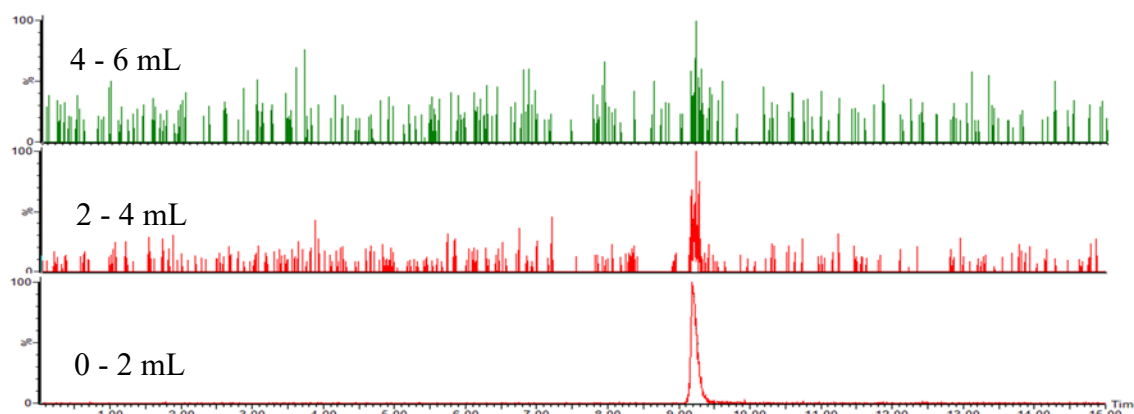


図11 Oasis MCX plus shortで捕集後、5%濃アンモニア水／メタノールで順方向での溶出(m/z 135.05 > 73.03)

〔溶出後の濃縮方法の検討〕

窒素吹付での濃縮を検討した。誘導体化している文献¹⁾では、アルカリ性で分解することだったので、溶出液そのまま(3 mL)と、酢酸アンモニウム緩衝液(pH 4.7) (溶出液 3 mL に対して 0.5 mL) を加えた溶液の濃縮を検討した。

5 ng/mL の水溶液 10 mL にアセトニトリルを等量加えた試料を固相カートリッジに負荷し、5%濃アンモニア水のメタノール溶液で溶出した後、緩衝液 0.5 mL を加えたものと無添加のものを 1 mL まで濃縮して測定を行った (表 16)。

回収率が良好なため、緩衝液を添加せずに、そのまま濃縮することとした。

表 16 窒素濃縮後の回収率

緩衝液の添加	濃度(ng/mL)	回収率(%)
あり	52.08	104
なし	50.17	100

〔塩濃度の上昇による回収率の低下〕

汽水域の河川水や海水等で回収試験を検討したところ、添加直後にもかかわらず、全く回収されなかった。内陸部の河川水では、前述のとおり、MDL 試験等は実施できているので、固相カートリッジや LC カラムが、高濃度の塩に対応できていないためと考え、蒸留水に塩化ナトリウムを加え、回収率を確認した。

まず、汽水域～海域の塩濃度での添加回収率を確認した。10 mL の各濃度の塩化ナトリウム水溶液(0.0～3.5%)に、DMSP 200 ng を添加して【試料の前処理及び試験液の調製】に従って、前処理を行い測定した。

塩化ナトリウム無添加の試料は、定量的に回収されたが、塩化ナトリウムを添加した試料は、0.5%のものでも 14%程度の回収率であった。クロマトグラムを

図 12 に示す。

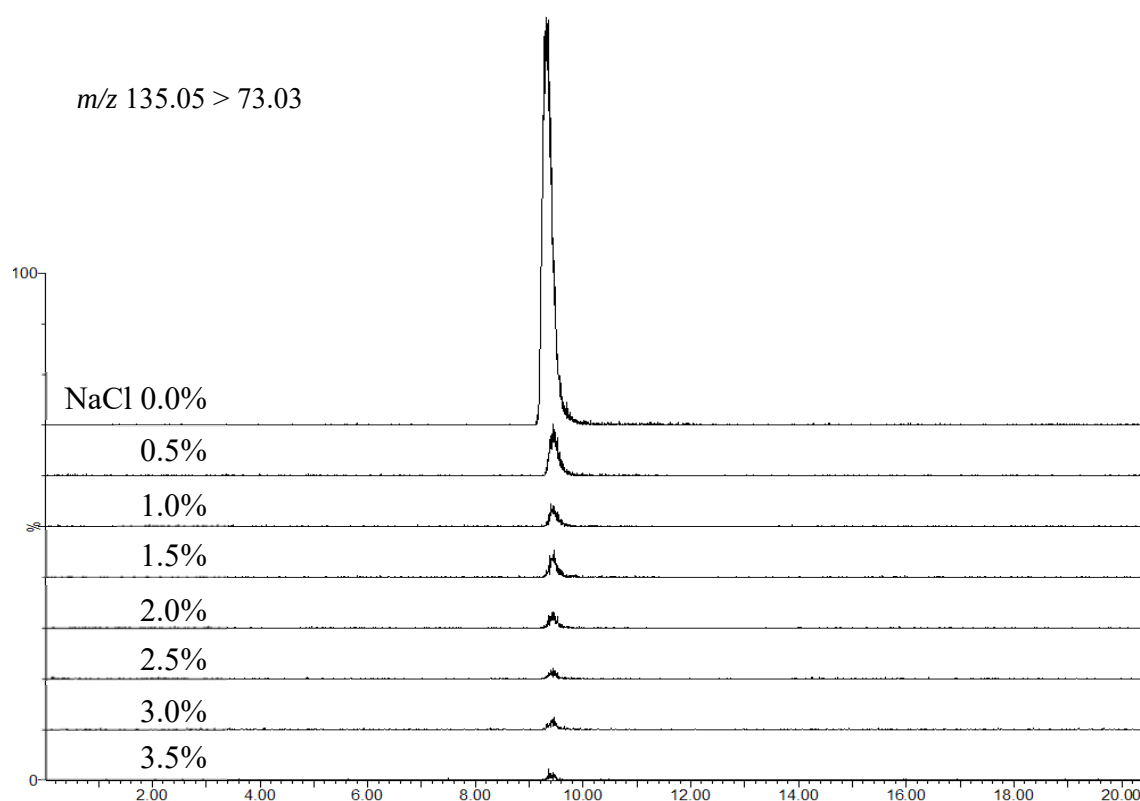


図12 塩化ナトリウム水溶液（高濃度）への添加回収時のクロマトグラム

次に、塩濃度を更に低くしての添加回収率を確認した。塩化ナトリウム水溶液 (0.00～0.10%) で、同様の試験を行った。

塩化ナトリウム濃度 0.02%以下では、ほぼ定量的に回収されたが、0.05%で回収率の若干の低下、0.10%では、明らかな低下がみられた。添加回収率を表 17 に、クロマトグラムを図 13 に示す。

表 17 塩化ナトリウム水溶液（低濃度）への添加回収率

塩化ナトリウム濃度(%)	検出濃度(ng/mL)	回収率(%)
0.00	195	97
0.01	191	95
0.02	197	99
0.05	180	90
0.10	145	73

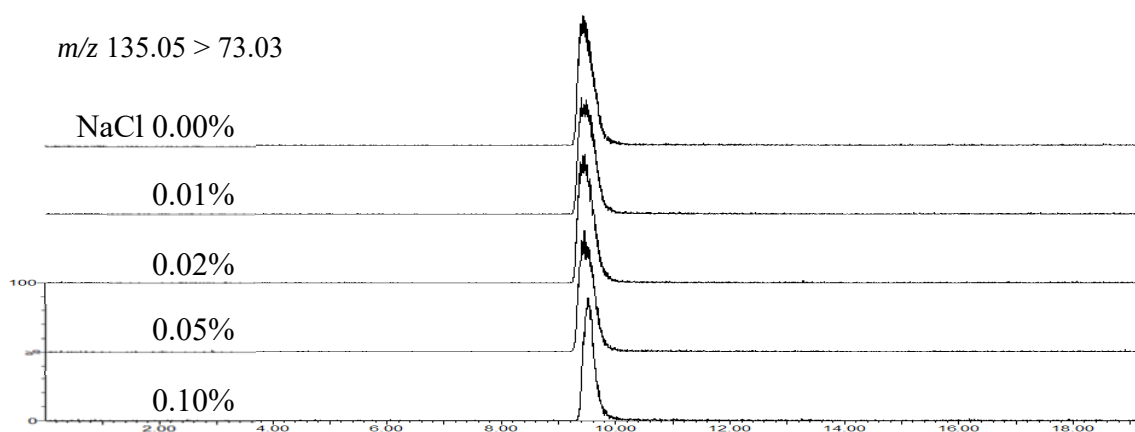


図13 塩化ナトリウム水溶液（低濃度）への添加回収時のクロマトグラム

〔環境試料の分析例〕

本分析法により川崎市内の環境試料の分析を行った。河川水（早野川）のクロマトグラムを図14に示す。DMSPはMDL以上の濃度では検出されなかった。

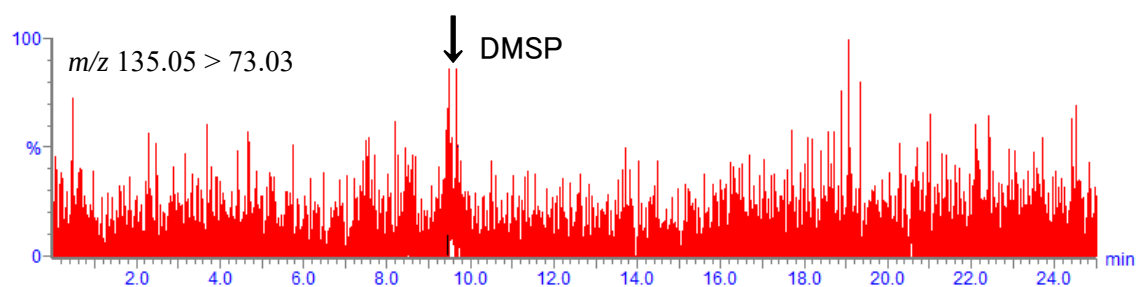


図14 環境試料のクロマトグラム

【評価】

本分析法におけるMDLは0.11 µg/Lであった。検量線は、1.0～500 ng/mLの範囲で直線性が確認された。本分析法により、川崎市内の河川水を測定したところ、DMSPは検出されなかった。

またDMSPは、河川中の微生物等によって分解される可能性があり、迅速に前処理を行わないと、回収率がかなり低下する場合があるので、注意が必要である。

本分析に使用する固相抽出用カートリッジは、イオン交換性のカートリッジのため、この方法での分析には、汽水域や海域のように、塩分濃度が高い水質試料には適用できない。

また、検量線用標準液及び試験液を調製するメタノール/精製水(4:1)は、測定の都度調製し、試料の前処理及び試験液の調製と同一のものを使用すること。

このことを守ることによって、海水の直接的な混入のない河川の環境水に対しては、0.11 µg/L レベルの検出に適用可能であると判断される。

【参考文献】

- 1) 低pHキャピラリー電気泳動法による海藻中のジメチルスルホニオプロピオン酸塩の定量、分析化学、Vol.50、No.12、pp.819-824 (2001)
- 2) 環境省、平成30年度化学物質分析法開発調査報告書（アクリル酸）、川崎市環境総合研究所、(2018)

【担当者連絡先】

所属先名称 : 川崎市環境局環境総合研究所

所属先住所 : 〒210-0821 神奈川県川崎市川崎区殿町 3-25-13

川崎生命科学・環境研究センター 3 階

TEL : 044-276-8649

FAX : 044-288-3156

担当者名 : 江原 均、福永 顕規

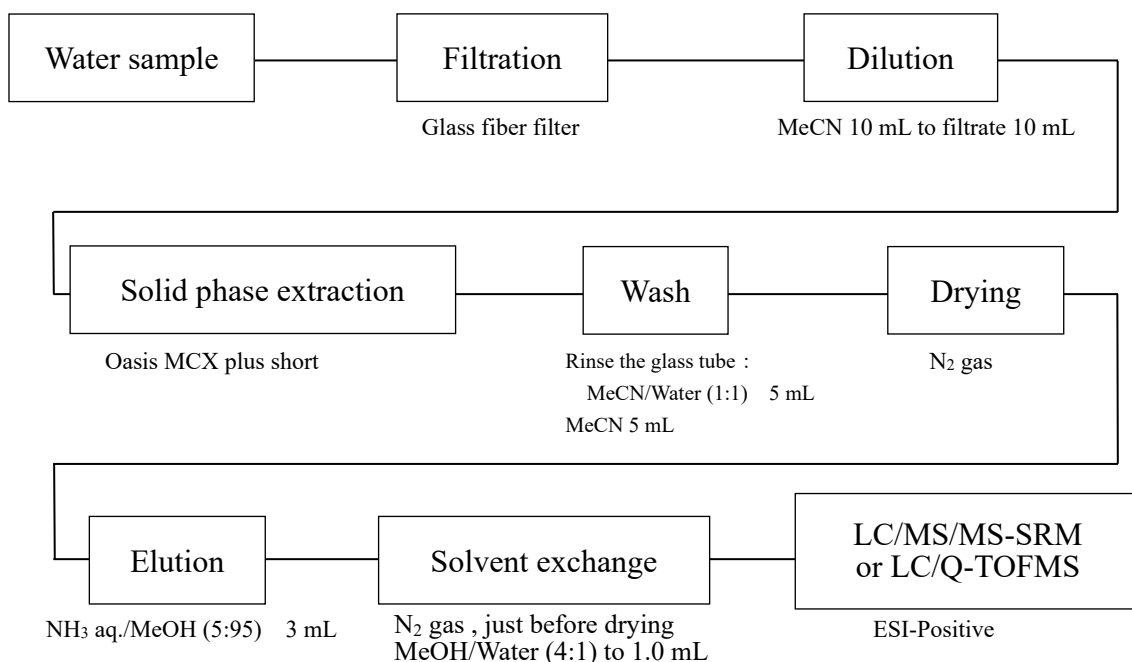
E-mail : 30sokan@city.kawasaki.jp

Dimethylsulfoniopropionate (DMSP)

This method has been developed for the determination of dimethylsulfoniopropionate (DMSP) in water samples by liquid-chromatography/Q-TOF mass spectrometry with selected reaction monitoring (LC/Q-TOFMS-SRM).

A sample is taken in a bottle. Then, the sample is filtered through glass fiber filter. This filtrate (10 mL) diluted by 10 mL of acetonitrile. This diluted sample through an Oasis MCX plus short cartridge. This cartridge is washed with 5 mL of acetonitrile:water (1:1), and 5 mL of acetonitrile and dried by nitrogen gas. The analyte is eluted from the cartridge with 3 mL of conc. ammonia water:methanol(5:95). Elution is concentrated under nitrogen gas until just before drying, and added with MeOH:water(4:1) until 1.0 mL, and the mixture is stirred well. This solution is analyzed by LC/Q-TOFMS-SRM (ESI-positive).

The instrument detection limit (IDL) is 3.6 pg. The method detection limit (MDL) is 0.11 µg/L. The method quantification limit (MQL) is 0.28 µg/L. The average of recoveries (n = 5) from 60 ng of DMSP added to water samples were 71% (CV = 6.6%). By the developed method, DMSP were not detected in river water, respectively.



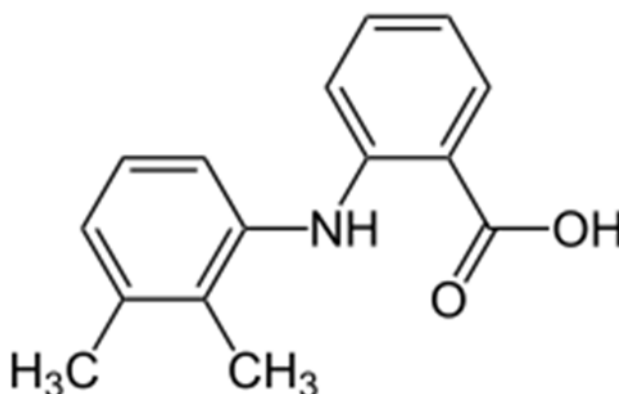
物質名	分析法フローチャート	備 考
ジメチルスルホニオプロピオナート	【水質】 <pre> graph TD A[水質試料] --> B[ろ過 グラスファイバー フィルター] B --> C[混和 ろ液 10 mL アセトニトリル 10 mL] C --> D[固相抽出 Oasis MCX plus short] D --> E[洗浄 洗い込み : MeCN/精製水(1:1) 5 mL 洗浄 : MeCN 5 mL] E --> F[乾燥 N₂ 通気] F --> G[溶出 アンモニア水/メタノール(5:95) 3 mL] G --> H[転溶 N₂ 気流下、乾固寸前まで メタノール/精製水 (4:1)で 1.0 mL] H --> I[LC/MS/MS-SRM or LC/Q-TOFMS ESI-Positive] </pre>	分析原理 : LC/MS/MS-SRM 検出下限値 : 【水質】 (μg/L) 0.11 分析条件 機器 LC : Waters Acquity UPLC MS : Waters Xevo G2-XS QToF カラム SeQuant ZIC-HILIC Column 2.1 mm × 150 mm, 3.5 μm

N-(2,3-ジメチルフェニル)アントラニル酸

2-(2,3-Dimethylphenyl)aminobenzoic acid

別名：メフェナム酸、Mefenamic acid

【対象物質の構造】



CAS 番号：61-68-7

分子式：C₁₅H₁₅NO₂

【物理化学的性状】

項目	メフェナム酸
分子量	241.29 ¹⁾
モノアイソトピック質量	241.110279 ²⁾
沸点	397.98°C (推定値) ²⁾
融点	230～231°C ¹⁾
水溶解度	20 mg/L (30°C) ¹⁾
蒸気圧	5.83 × 10 ⁻⁸ mmHg (7.75 × 10 ⁻⁸ hPa *) (25°C) ¹⁾
log P _{ow}	5.12 ¹⁾
pKa	4.2 ²⁾

*：換算値（1 mmHg＝1.33 hPa による。）

【毒性、用途】

〔実験動物に対する急性毒性情報〕²⁾

経口 LD₅₀ : 740 mg/kg (ラット)

〔用途〕²⁾

医薬 (解熱・消炎・鎮痛剤)

出典

- 1) U.S.EPA, Estimation Programs Interface (EPI) Suite v4.1
- 2) Pub Chem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4044>)

§ 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後、精製水で洗浄する。窒素ガス吹き付けにより水分を除去した後、メタノールで溶出し、濃縮・定容後、LC/MS/MS-SRM (ESI-positive) で測定する。

(2) 試薬・器具

【試薬】 (注 1)

メフェナム酸標準品	: 東京化製工業製 (98%以上)
メフェナム酸- ¹³ C ₆ 標準品	: Honeywell 製 (99%以上)
メタノール ^{*1}	: 富士フイルム和光純薬製 (LC/MS 用)
メタノール ^{*2}	: 富士フイルム和光純薬製 (残留農薬、PCB 試験用)
ギ酸	: 富士フイルム和光純薬製 (LC/MS 用)
精製水	: 富士フイルム和光純薬製 超純水 (LC/MS 用)
固相カートリッジ	: GL サイエンス製 InertSep PLS-2 (270 mg/6 mL)

*1 : 【標準液の調製】及び【試料の前処理及び試験液の調製】で使用した。

*2 : LC 移動相で使用した。

【標準液の調製】

〔標準原液〕

メフェナム酸標準品 10.0 mg を正確に量り取り、メタノールで 10 mL に定容

し、1000 µg/mL の標準原液を調製する。

〔サロゲート内標準液〕

メフェナム酸- $^{13}\text{C}_6$ 標準品 10.0 mg を正確に量り取り、メタノールで 10 mL に定容し、1000 µg/mL のサロゲート内標準原液を調製する。サロゲート内標準原液をメタノールで希釈して 0.10 µg/mL のサロゲート内標準液を調製する。

〔検量線用混合標準液〕

標準原液をメタノールで適宜希釈し、0.040 ng/mL～20 ng/mL の検量線用混合標準液を調製する。各濃度の検量線用標準液には、サロゲート内標準としてメフェナム酸- $^{13}\text{C}_6$ をそれぞれ 2.0 ng/mL になるように添加する。

【器具】（注 2）（注 3）

メスフラスコ、メスピペット、マイクロピペット、10 mL 共栓目盛付きスピッツ管、200 mL ビーカー、固相抽出器（FURUE Science 製 ローラーポンプ）、窒素吹付装置、LC 用バイアル

(3) 分析法

【試料の採取及び保存等】

環境省「化学物質環境実態調査実施の手引き」（最新版）の「試料の採取及び検体の調製等」に従って採取する。採水容器（プラスチック製、ガラス製いずれでも可）に満水になるよう採取し、速やかに試験操作を行う。直ちに分析できない場合は、冷蔵保存し、7 日以内に分析を行う。

【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（0.10 µg/mL、メタノール溶液）を 40 µL 添加し、十分に混和した後、固相カートリッジ（注 4）に 10 mL/min 程度の流速で通水する。通水後、固相カートリッジを精製水 10 mL で洗浄し、窒素ガスを 30 分間程度通気し、固相中の水分を除去する。その後、メタノール 6 mL を用いて溶出する。溶出液は 40°C 以下の窒素ガス気流下で 2 mL 以下に濃縮し、メタノールで 2 mL に定容したものを試験液とする。

【空試験液の調製】

試料水と同量の精製水を用い、【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】

【LC/MS/MS 測定条件】（注 5）

【LC 条件】

使用機種 : Waters 製 ACQUITY UPLC
 カラム : Waters 製 ACQUITY UPLC BEH C18 (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm)
 移動相 : A : 0.1% ギ酸水溶液
 B : 0.1% ギ酸メタノール
 0 → 1 min A: B = 60: 40
 1 → 6 min A:60 → 5, B: 40 → 95 linear gradient
 6 → 15 min A: B = 5: 95
 15 → 16 min A: 5 → 60, B: 95 → 40 linear gradient
 16 → 20 min A: B = 60: 40
 カラム流量 : 0.25 mL/min
 カラム温度 : 40°C
 試料注入液量 : 5.0 μL

【MS 条件】

使用機種 : Waters 製 Xevo TQ MS
 イオン化法 : ESI-Positive
 測定モード : SRM
 キャピラリー電圧 : 2.50 kV
 脱溶媒温度 : 650°C
 ソース温度 : 150°C
 脱溶媒ガス流量 : 600 L/h

【モニターイオン】（注 6）

物質名		プリカーサー イオン (<i>m/z</i>)	プロダクト イオン (<i>m/z</i>)	コリジョン エネルギー (eV)
メフェナム酸	(定量用)	242.10	224.00	15
	(確認用)	242.10	209.00	26
メフェナム酸 - ¹³ C ₆	(定量用)	248.10	230.00	15
	(確認用)	248.10	215.00	26

【検量線】（注 7）

検量線用混合標準液 5.0 μL を LC/MS/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 5.0 μL を LC/MS/MS に注入し、対象物質とサロゲート物質のピーク面積比を検量線に照らして定量する。

〔濃度の算出〕

試料中の濃度 C (ng/L) は、次式により算出する。

$$C(\text{ng/L}) = R \cdot Q/V$$

R : 検量線から求めたサロゲート内標準物質に対する対象物質の濃度比

Q : 試料中に添加したサロゲート内標準物質の量 (ng)

(添加したサロゲート内標準液の濃度 ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$) $\times$ 添加したサロゲート内標準液の容量 (μL) $\times 1000$)

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。

$$Q = 4.0 \text{ (ng)}$$

(添加したサロゲート内標準液の濃度 ($0.00010 \mu\text{g}/\mu\text{L}$) $\times$ 添加したサロゲート内標準液の容量 ($40 \mu\text{L}$) $\times 1000$)

$$V = 0.1 \text{ (L)}$$

即ち、

$$C = R \times 40 \text{ (ng/L)}$$

である。

〔サロゲート回収率の算出〕

「検量線のサロゲート内標準のピーク強度」に対する「試料中のサロゲート内標準のピーク強度」の比から回収率を算出する。サロゲート回収率は「化学物質環境実態調査実施の手引き」(最新版)に従って 50～120%の範囲を目安とする。

〔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 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 ($\mu\text{g/L}$)
メフェナム酸	0.037	0.10	2.0	0.00015

〔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 算出結果

物質名	試料	試料量 (L)	最終液量 (mL)	MDL ($\mu\text{g/L}$)	MQL ($\mu\text{g/L}$)
メフェナム酸	河川水	0.10	2.0	0.00016	0.00041

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) 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3) 器具類は、予め十分洗浄し汚染が無いことを確認してから使用する。ブランクが検出される場合は、メタノールに浸漬し、超音波洗浄を行う。
- (注4) 固相カートリッジは、メタノール 6 mL と精製水 6 mL でコンディショニングしたものを使用する。
- (注5) 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6) 同濃度で比較した場合、 m/z 242.1 > 209.0 の方が S/N は高いが、環境試料で妨害ピークが確認されたため、 m/z 242.1 > 224.0 を定量イオンとしている。妨害ピークが認められない場合は、定量イオンと確認イオンを必要に応じて入れ替えてもよい。
- (注7) 高濃度溶液（検量線の最高濃度等）を測定した後はその影響が残るため、ブランク溶媒を数回注入すると良い。

(注 8) IDL は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 28 年 3 月)に従って、表 3 のとおり算出した。また、IDL 測定時の SRM クロマトグラムを図 1 に示した。

表 3 IDL の算出結果 (詳細)

物質名	メフェナム酸
試料量 (L)	0.10
最終液量 (mL)	2.0
注入液濃度 (ng/mL)	0.040
注入量 (pg)	0.20
装置注入液量 (μL)	5.0
結果 1 (pg)	0.211
結果 2 (pg)	0.191
結果 3 (pg)	0.199
結果 4 (pg)	0.211
結果 5 (pg)	0.215
結果 6 (pg)	0.212
結果 7 (pg)	0.217
平均値 (pg)	0.2081
標準偏差(σ_{n-1}) (pg)	0.00949
IDL (pg) *	0.037
IDL 試料換算値 (ng/L)	0.15
S/N	9.5
CV (%)	4.6

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

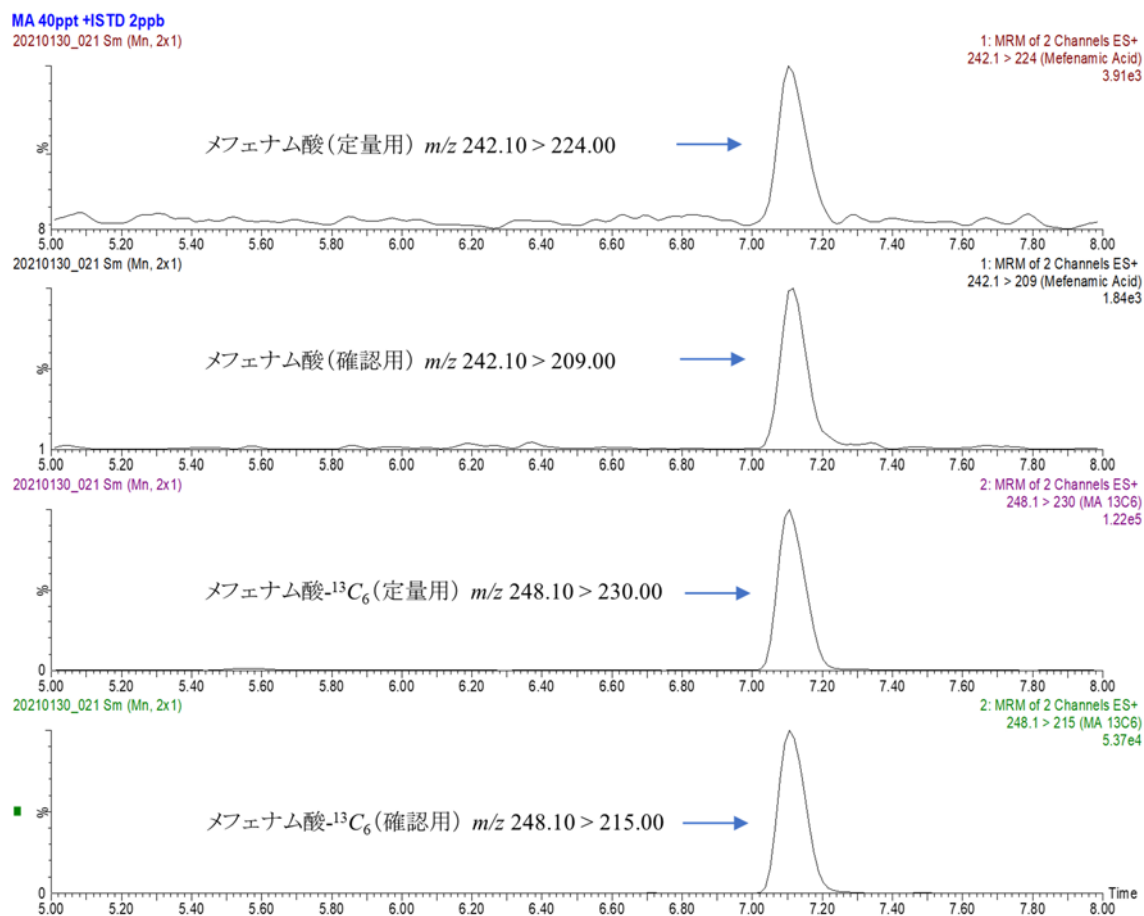


図1 IDL 測定時のクロマトグラム
(上：メフェナム酸 0.040 ng/mL、下：メフェナム酸- $^{13}\text{C}_6$: 2.0 ng/mL)

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

表 4 メフェナム酸の MDL 及び MQL の算出結果 (詳細) *1

対象物質名	メフェナム酸	補正後 回収率 (%)	サロゲート 回収率 (%)
試料	河川水	-	-
試料量 (L)	0.10	-	-
標準添加量 (μg)	0.000080	-	-
試料換算濃度 (μg/L)	0.00080	-	-
最終液量 (mL)	2.0	-	-
注入液濃度 (ng/mL)	0.040	-	-
装置注入液量 (μL)	5.0	-	-
操作ブランク平均 (μg/L)*2	<0.00015	-	101
無添加平均 (μg/L)*3	<0.00015	-	86
結果 1 (μg/L)	0.000924	116	96
結果 2 (μg/L)	0.000879	110	93
結果 3 (μg/L)	0.000890	111	99
結果 4 (μg/L)	0.000962	120	98
結果 5 (μg/L)	0.000962	120	92
結果 6 (μg/L)	0.000865	108	95
結果 7 (μg/L)	0.000948	119	93
平均値 (μg/L)	0.0009186	115	95.5
標準偏差 (σ _{n-1}) (μg/L)	0.0000407		
MDL (μg/L)*4	0.00016		
MQL (μg/L)*5	0.00041		
S/N 比	11		
CV (%)	4.4		

*1 : 定量結果は、サロゲート法により補正した値。

*2 : 空試験液を測定した値の平均値 (n=2)

*3 : 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)

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

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

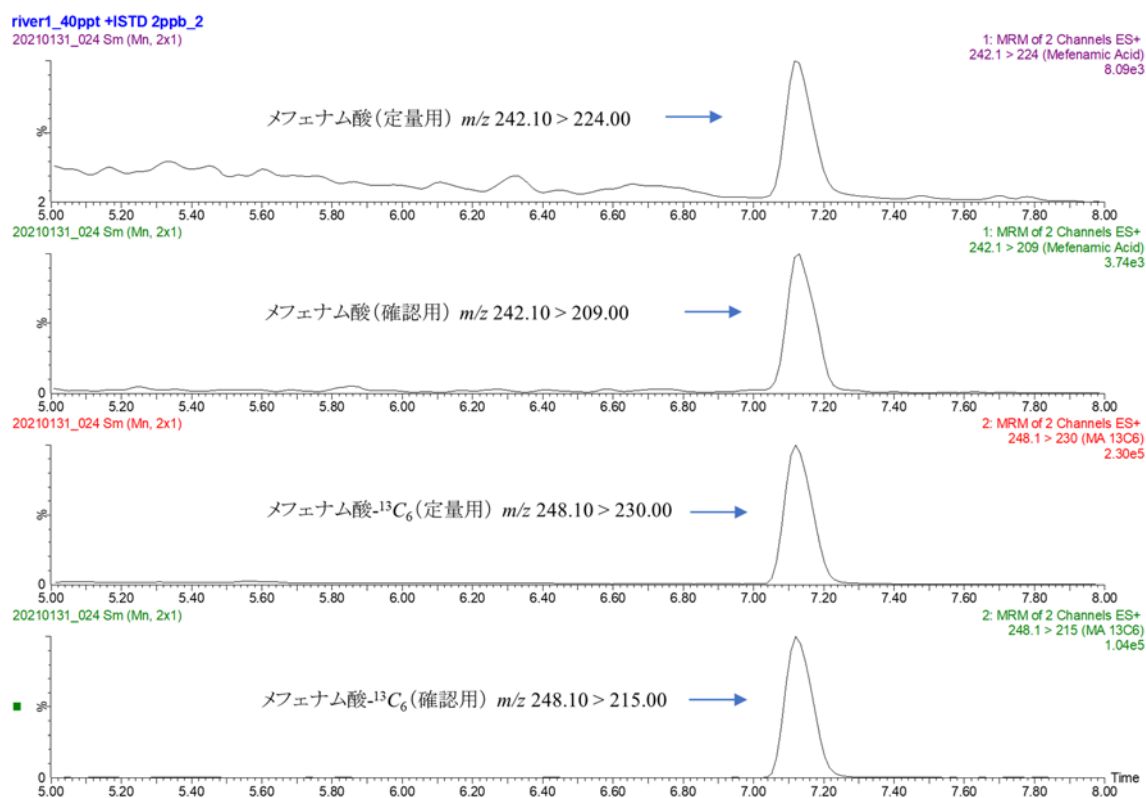


図2 MDL 測定時のメフェナム酸のクロマトグラム
(河川水、試料換算濃度：0.00080 ng/mL)

§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3に示す。

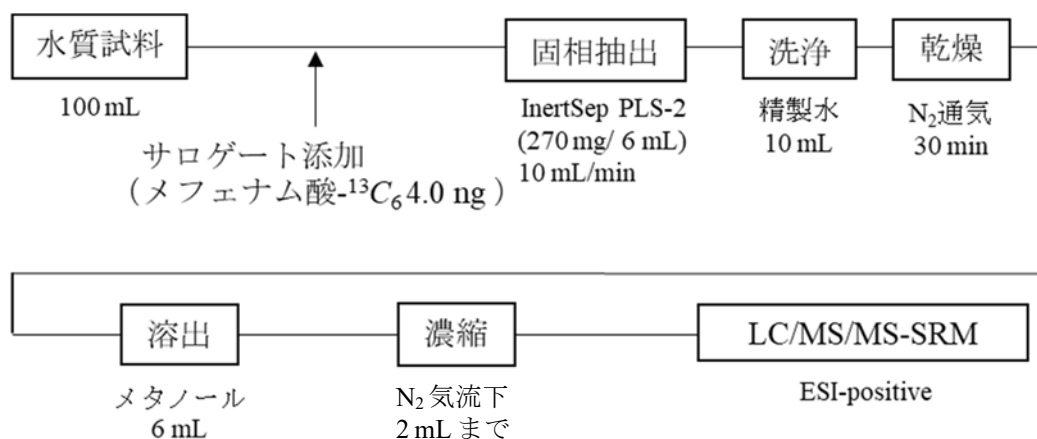


図3 分析法のフローチャート

〔検量線〕

検量線を図4に、検量線作成データを表5に示す。メフェナム酸はサロゲート内標準法で定量した。

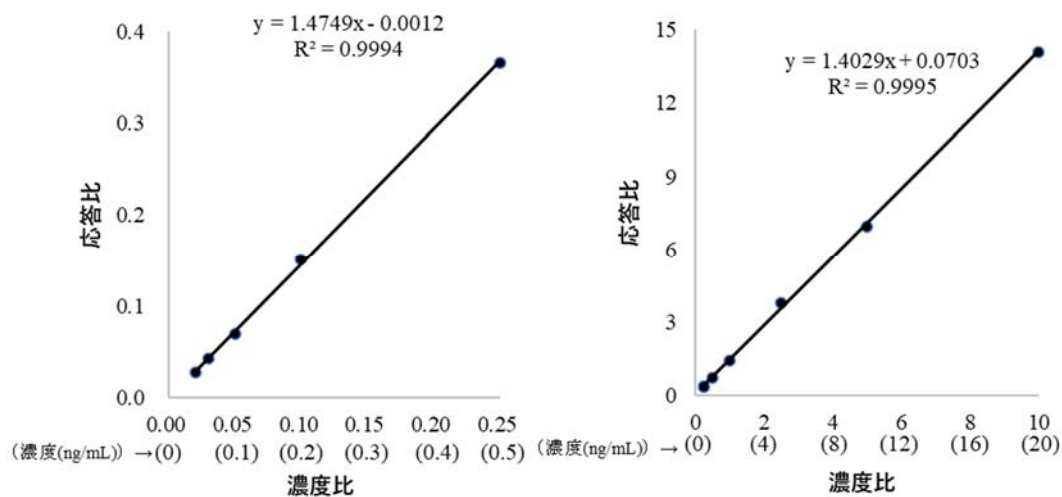


図4 検量線

左図：低濃度域検量線（0.040～0.50 ng/mL、サロゲート内標準 2.0 ng/mL）

右図：高濃度域検量線（0.50～20 ng/mL、サロゲート内標準 2.0 ng/mL）

表 5 検量線作成用データ

標準液濃度 (ng/mL) (C _s)	濃度比 (C _s /C _{is} *)	応答値		応答比 (A _s /A _{is})
		対象物質(A _s)	内標準物質(A _{is})	
		【メフェナム酸】 (m/z 242.10 > 209.03)	【メフェナム酸- ¹³ C ₆ 】 (m/z 248.13 > 215.06)	
0.040	0.020	283	10257	0.0276
0.060	0.030	453	10561	0.0429
0.10	0.050	724	10440	0.0693
0.20	0.10	1625	10676	0.152
0.50	0.25	3843	10504	0.366
1.0	0.50	7542	10322	0.731
2.0	1.0	15579	10843	1.44
5.0	2.5	37994	9974	3.81
10	5.0	74863	10729	6.98
20	10	152931	10822	14.1

C_{is}* : 内標準物質濃度 2.0 ng/mL

〔クロマトグラム〕

標準液の SRM クロマトグラムを図 5 に示す。

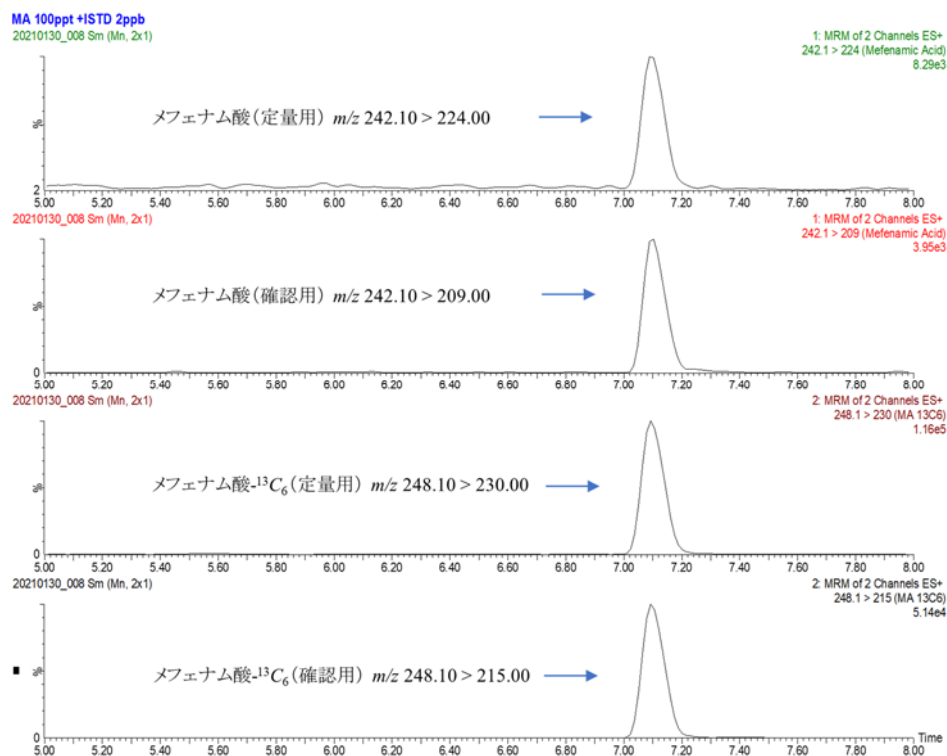


図 5 標準液のクロマトグラム

(上図：メフェナム酸 0.10 ng/mL、下図：メフェナム酸-¹³C₆ : 2.0 ng/mL)

[マススペクトル]

各物質のマススペクトル及びプリカーサーイオンに対するプロダクトイオンを図 6-1、図 6-2 に示す。

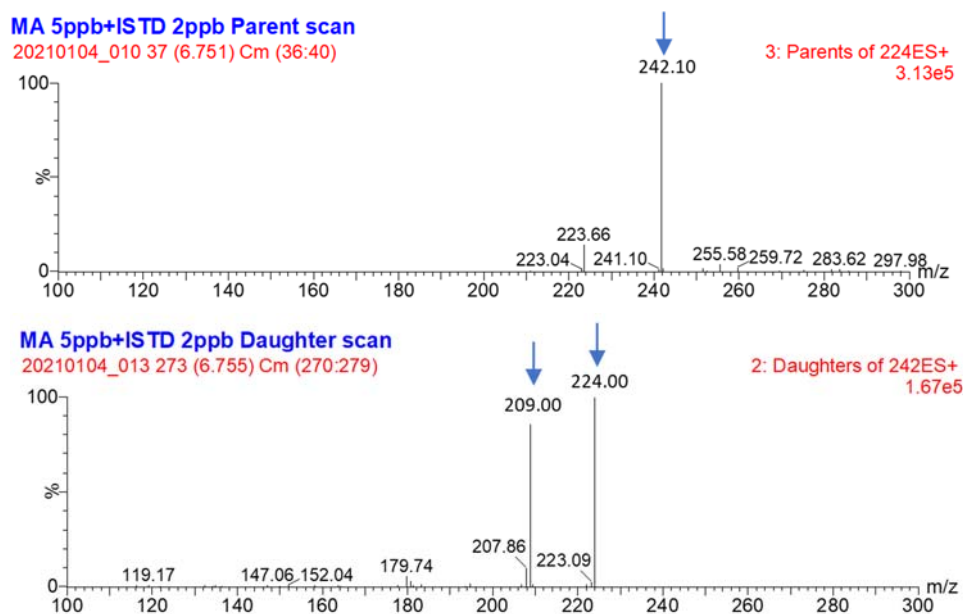


図 6-1 メフェナム酸のマススペクトル（上図）及びプリカーサーイオン m/z 242.10 に対するプロダクトイオン（下図、ESI(+), Collision Energy 26 eV)

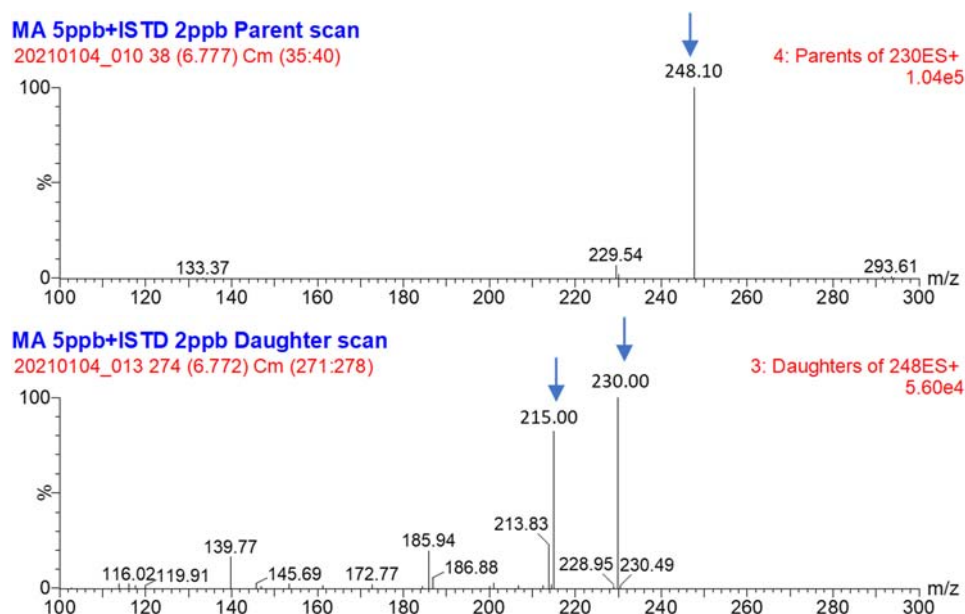


図 6-2 メフェナム酸- $^{13}\text{C}_6$ のマススペクトル（上図）及びプリカーサーイオン m/z 248.10 に対するプロダクトイオン（下図、ESI(+), Collision Energy : 26 eV)

〔操作ブランク試験〕

操作ブランク試験のクロマトグラムを図7に示す。MDL以上のピークは確認されなかった。

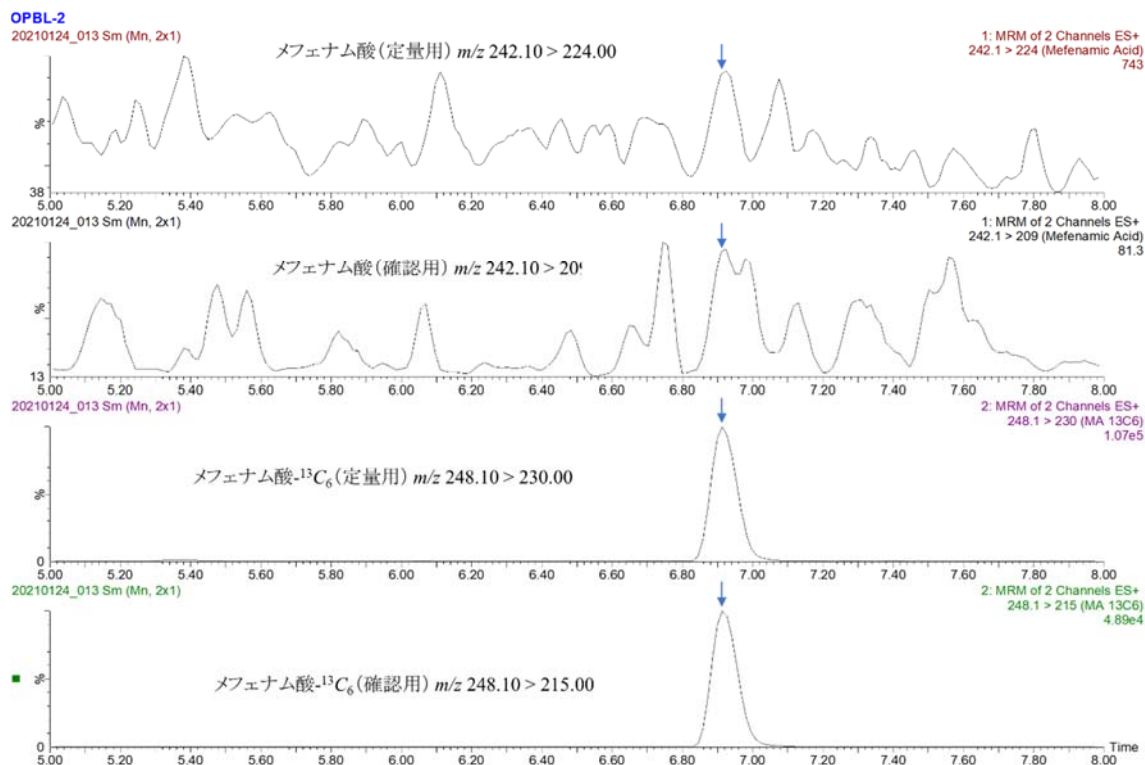


図7 操作ブランクのクロマトグラム

〔添加回収試験〕

河川水及び海水を用いた標準物質の添加回収試験結果を表6に、クロマトグラムを図8-1～図8-2に示す。回収率、変動係数ともに良好であった。

表6 メフェナム酸の添加回収試験結果

物質名	試料	試料量 (L)	添加量 (μg)	最終 液量 (mL)	試験 数	検出 濃度* (μg/L)	回収 率* (%)	変動 係数 (%)	サロゲート 回収率 (%)
メフェ ナム酸	河川 水	0.10	0	2.0	2	<0.00016	-	-	86
		0.10	0.000080	2.0	7	0.00092	115	4.4	96
	海水	0.10	0	2.0	2	<0.00016	-	-	91
		0.10	0.00040	2.0	7	0.0038	95	1.7	95

*：検出濃度及び回収率はサロゲート補正後の値

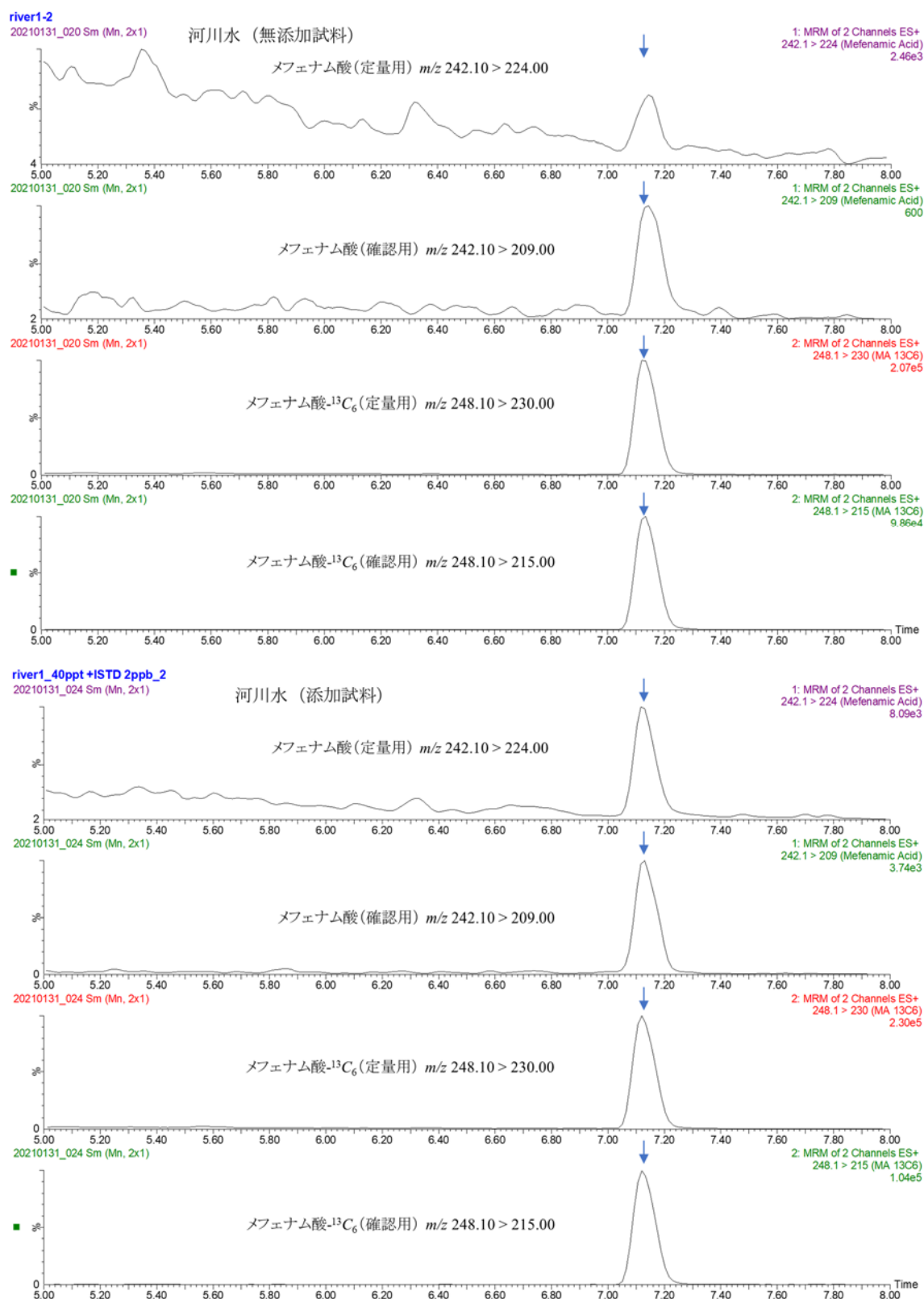


図 8-1 メフェナム酸の添加回収試験（河川水）のクロマトグラム
（上図：無添加試料、下図：添加試料）

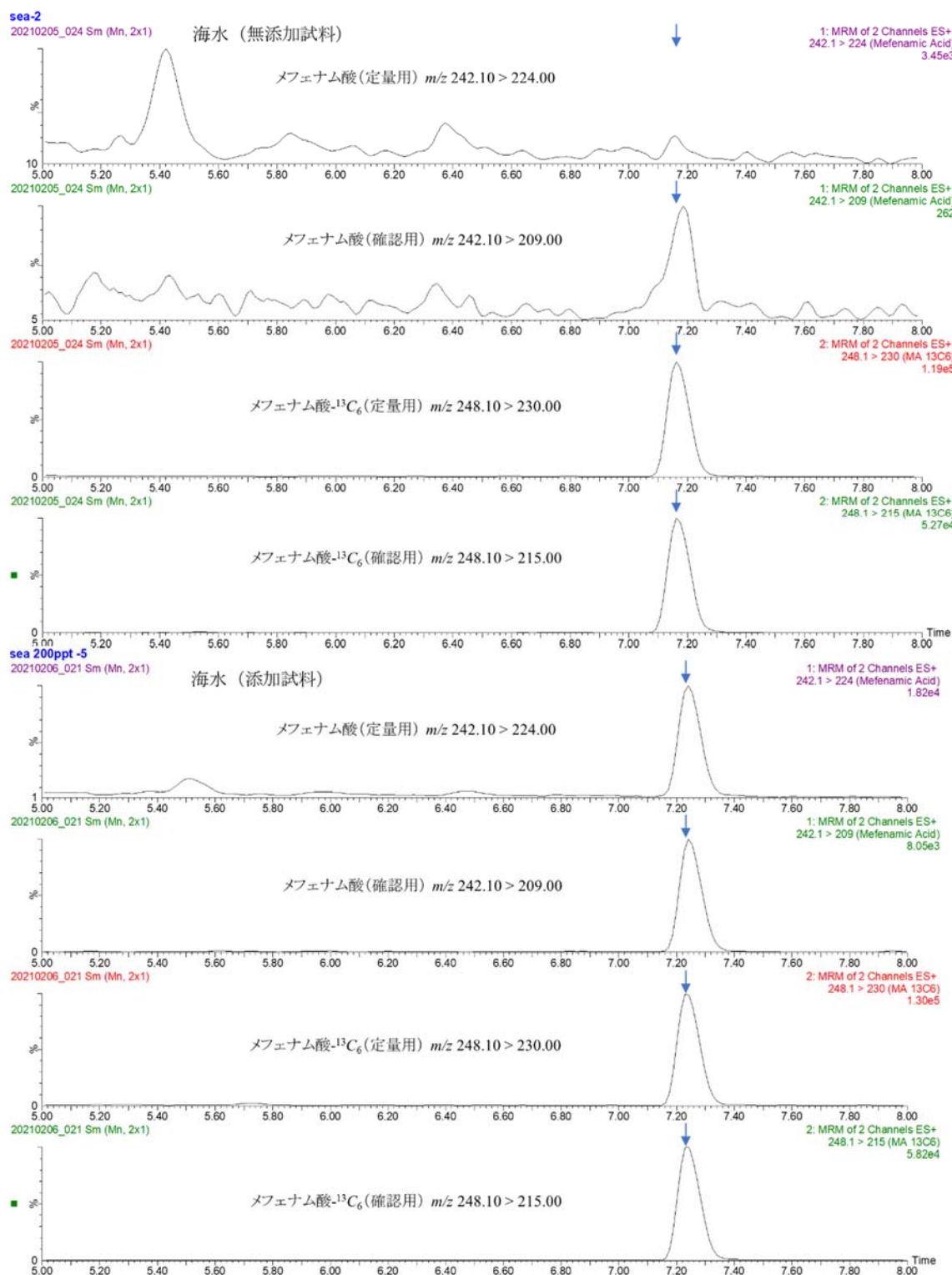


図 8-2 メフェナム酸の添加回収試験（海水）のクロマトグラム
（上図：無添加試料、下図：添加試料）

〔分解性スクリーニング試験〕

ギ酸及びアンモニア水を用いて pH 調整した精製水に対象物質を添加し、分解性スクリーニング試験を行った。結果を表 7 に示す。

全ての条件で 90%以上残存し、安定であった。

表 7 分解性スクリーニング試験結果

pH	試験数	調製濃度 (ng/mL)	検出濃度(ng/mL) (残存率(%)*)		
			1 時間放置後	7 日間放置後	
				暗所	明所
5	2	0.50	0.460 (92)	0.467 (93)	-
7	2	0.50	0.512 (102)	0.458 (92)	0.463 (93)
9	2	0.50	0.487 (97)	0.455 (91)	-

*残存率(%)：調製濃度に対する検出濃度の割合

〔保存性試験〕

河川水、海水及び標準液を用いた保存性試験結果を表 8 に示す。

河川水試料 100 mL に、メフェナム酸を 0.20 ng 添加し、7 日間冷蔵保存し、固相抽出等の前処理を行った後、濃度を測定した。海水についても、河川水と同様、試料 100 mL にメフェナム酸を 0.20 ng 添加し、7 日間冷蔵保存して試験を行った。試験液については、添加回収試験（河川水及び海水）の抽出液（メタノール溶液）を LC/MS/MS 用の 2 mL バイアル容器に入れた状態で冷蔵保存し、2 週間後に再測定し、残存率を求めた。

標準液については、検量線用標準液を 2 mL バイアル容器に入れた状態で冷蔵保存し、1 か月後に測定した。

河川水、海水、標準液について、全ての対象物質について保存性は良好であった。

表 8 保存性試験結果

試料名		試験 数	調製 濃度 (ng/mL)	検出濃度(ng/mL) (残存率(%)*)			
				当日	7 日後	14 日後	1 ヶ月後
河川 水	試料	2	0.10	0.112	0.119 (106)	-	-
	試験液	2	0.10		-	0.115 (102)	-
海水	試料	2	0.10	0.109	0.115 (106)	-	-
	試験液	2	0.10		-	0.110 (101)	-
標準 液	MDL の 10 倍程度	2	0.10	0.100	-	-	0.0960 (96)
	検量線最高濃度	2	20	20.0	-	-	19.5 (97)

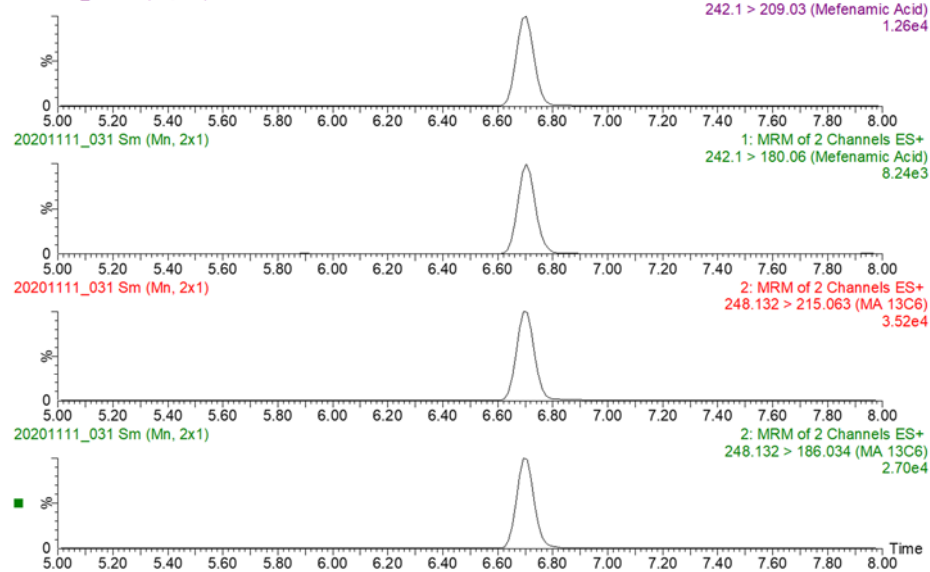
* 残存率(%)：保存性試験開始当日の検出濃度に対する保存後の検出濃度の割合

〔LC 用カラムの検討〕

LC 用カラムは、Waters 製 ACQUITY UPLC BEH C18 (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm)、GL Sciences 製 InertSustain C18 (2.1 mm×100 mm, 2 μm) の 2 種類を用いて分離状況を検討した。対象物質の濃度は 0.50 ng/mL とした。それぞれの SRM クロマトグラムを図 9 に示す。対象物質全てにおいて InertSustain C18 を用いた場合ピーク形状のテーリングが認められたため、LC 用分離カラムは ACQUITY UPLC BEH C18 を用いることとした。なお、掲載データ（図 9）は分析法検討途中のものであり、モニターイオン及び分析条件は、分析法に記載のものと異なる。

MA 500ppt +ISTD 2ppb in MeOH 11/10

20201111_031 Sm (Mn, 2x1)



MA 500ppt +ISTD 2ppb in MeOH 11/10

20201113_002 Sm (Mn, 2x1)

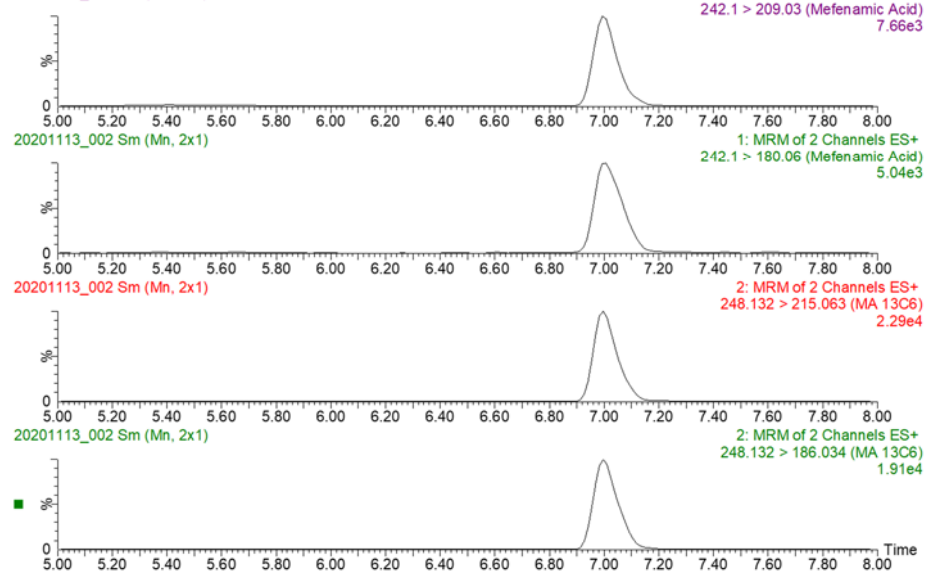


図 9 対象物質のクロマトグラム
(上 4 段 ACQUITY UPLC BEH C18、下 4 段 InertSustain C18)

[移動相条件の検討]

移動相条件として、水系に 0.1%ギ酸水溶液を、有機溶媒系に 0.1%ギ酸メタノールもしくは 0.1%ギ酸アセトニトリルを用いた条件を比較したところ、メタノールを用いる条件の方がピーク形状が良好で、応答値が高かったため、有機溶媒系にメタノールを用いる条件を選択した（図 10-1～図 10-2）。なお、掲載データ（図 10-1～図 10-2）は分析法検討途中のものであり、モニターイオン及び分析条件は、分析法に記載のものと異なる。

[移動相条件の検討時の LC 条件]

カラム : Waters 製 ACQUITY UPLC BEH C18 (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm)
移動相 : A : 0.1% ギ酸水溶液
B : 0.1% ギ酸メタノール、または 0.1% ギ酸アセトニトリル
0 → 1 min A: B = 60: 40
1 → 6 min A:60 → 5, B: 40 → 95 linear gradient
6 →15 min A: B = 5: 95
15 →16 min A: 5 → 60, B: 95 → 40 linear gradient
16 →20 min A: B = 60: 40
カラム流量 : 0.25 mL/min
カラム温度 : 40°C
試料注入液量 : 5.0 μL
注入溶媒 : メタノール
注入濃度 : 0.5 ng/mL

[移動相条件の検討時の MS 条件]

使用機種 : Waters 製 Xevo TQ MS
イオン化法 : ESI-Positive
測定モード : SRM
キャピラリー電圧 : 3.00 kV
脱溶媒温度 : 650°C
ソース温度 : 150°C
脱溶媒ガス流量 : 600 L/h

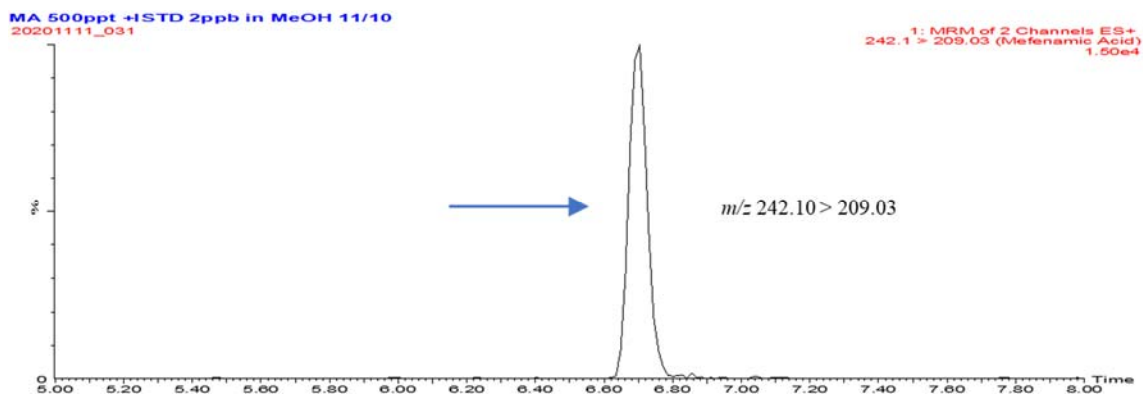


図 10-1 有機溶媒系に 0.1% ギ酸メタノールを用いた時のメフェナム酸の SRM クロマトグラム (メフェナム酸 : 0.5 ng/mL)

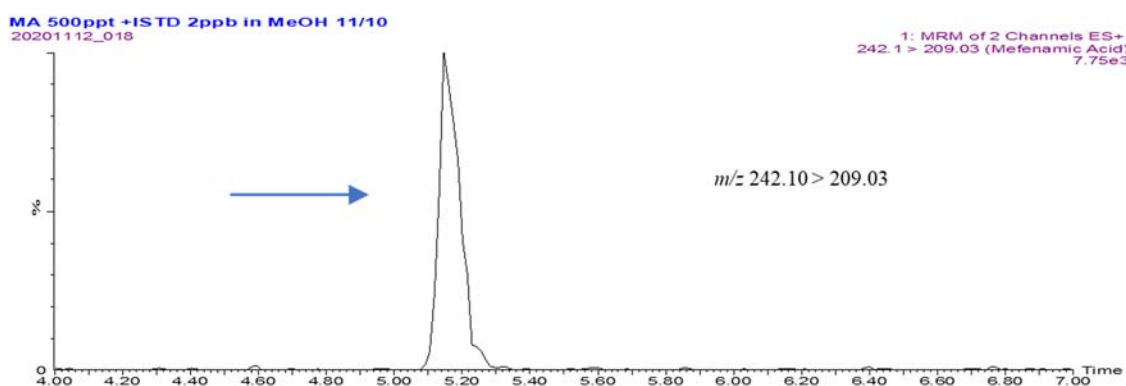


図 10-2 有機溶媒系を 0.1% ギ酸アセトニトリルとした時のメフェナム酸の SRM クロマトグラム (メフェナム酸 : 0.5 ng/mL)

〔試験液の溶媒の検討〕

試験液の溶媒について、100%メタノール及び 50%メタノールの 2 種類を比較検討した。対象物質の濃度は 0.5 ng/mL とした。他条件は【試料の前処理及び試験液の調製】に従った。

それぞれの SRM クロマトグラムを図 11 に示す。100%メタノールと 50%メタノールでピーク形状に大きな差が認められなかったため、試験液溶媒は 100%メタノールを用いることとした。なお、掲載データ (図 11) は分析法検討途中のものであり、モニターイオン及び分析条件は、分析法に記載のものと異なる。

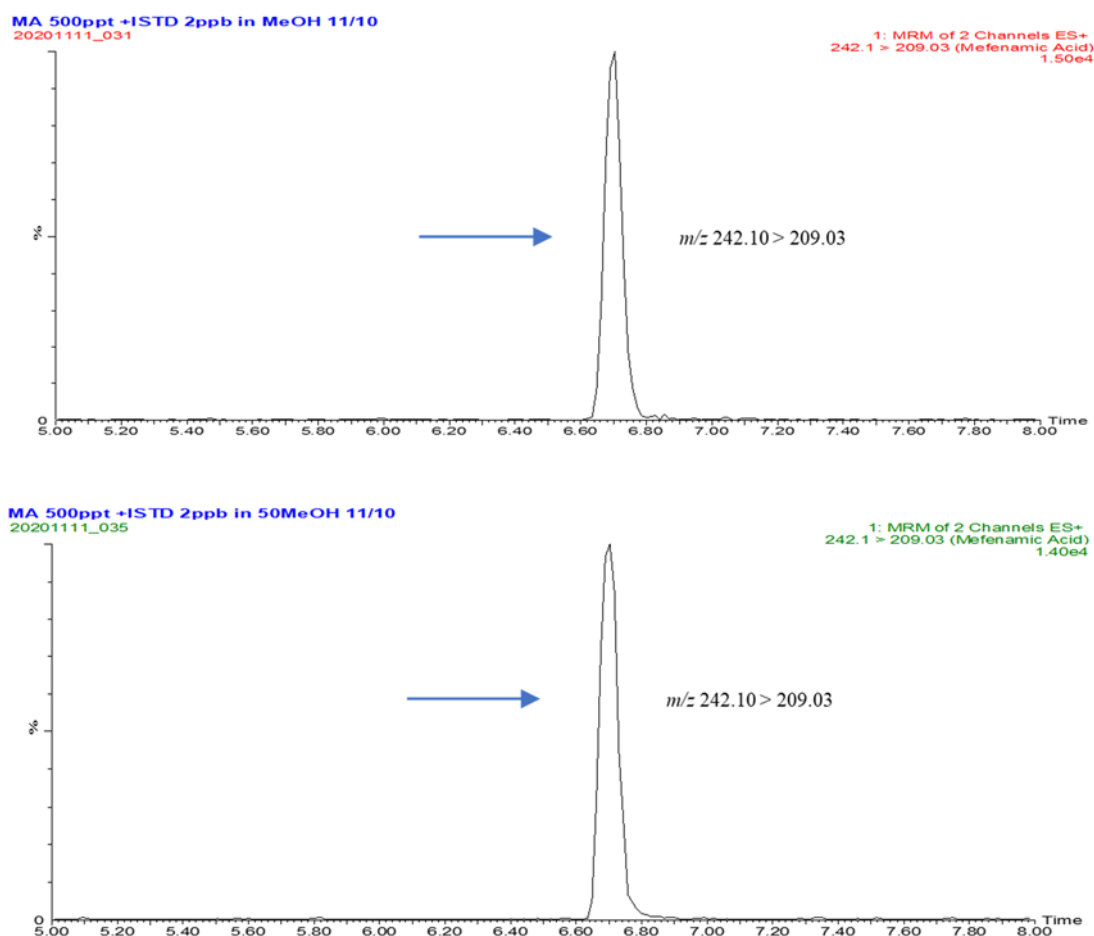


図 11 試験液溶媒を 100%メタノール（上図）または 50%メタノール（下図）とした時のメフェナム酸の SRM クロマトグラム（メフェナム酸：0.5 ng/mL）

〔固相カートリッジの検討（分画試験）〕

精製水に標準物質を添加した試料について、ポリマー充填剤 2 種（GL Science 製 InertSep PLS-2 (270 mg/6 mL)、Waters 製 Oasis HLB (200 mg/6 mL)）を用いて検討を行った。溶出溶媒はメタノールとアセトニトリルの 2 種類で検討した。分画試験は、各溶出溶媒とも 10 mL まで 1 mL ずつ分画、溶出させた。ただし、Oasis HLB はアセトニトリル 10 mL ではメフェナム酸の溶出が確認できなかったため、固相カートリッジ内に吸着しているかを確認するため、さらにメタノール 5 mL で溶出させた。装置注入量は 5 μ L とした。結果を表 9 に示す。

溶出溶媒がメタノールの場合、両固相カートリッジとも 5～6 mL の溶出で添加量の 80%以上が回収できたことから、対象物質が両固相カートリッジ内に適切に保持されることを確認した。一方、アセトニトリルで溶出させた場合、固相カートリッジの充填剤によって対象物質の溶出挙動が大きく異なった。InertSep PLS-2 では 6 mL 程度の溶出で対象物質の添加量の 80%以上が回収されたが、

OASIS HLB では 10 mL の分画においても対象物質の溶出が確認できなかった。これらの結果から、溶出溶媒にメタノールを使用した場合には、どちらの固相カートリッジも使用可能だと判断できた。

表 9 メフェナム酸の固相カートリッジ別溶出試験結果

固相カートリッジ	溶出溶媒	溶出量 (mL)							計
		0-1	1-2	2-3	3-4	4-5	5-6	6-7	
PLS-2	メタノール	5%	31%	35%	21%	14%	8%	3%	117%
	アセトニトリル	41%	21%	7%	4%	3%	3%	1%	81%
Oasis	メタノール	4%	29%	36%	18%	9%	5%	2%	103%
HLB	アセトニトリル	1.5%	1.5%	1.5%	0.7%	0.5%	1.2%	1.2%	8%*

*：アセトニトリル 10 mL で溶出させてもメフェナム酸の溶出は確認できなかった。さらにメタノール 5 mL で溶出させたところ全量回収を確認できた。

〔固相カートリッジの検討（環境試料の添加回収試験）〕

次に、各固相カートリッジの精製効率を比較するため、マトリックスを多く含む環境試料（類型C相当の河川水）を用いた添加回収試験を実施した。試料120 mLにサロゲート内標準液（0.1 µg/mL、メタノール溶液）を120 µL添加し、十分に混和した後、固相カートリッジに10 mL/min程度で通水後、固相カートリッジを精製水10 mLで洗浄し、窒素ガス通気により固相中の水分を除去した後、溶出溶媒6 mLを用いて溶出したものを試験液とした。固相カートリッジはポリマー充填剤2種（InertSep PLS-2、Oasis HLB）を用い、溶出溶媒はメタノールとアセトニトリルとした。結果を表10に示す。

溶出溶媒別に結果を比較すると、いずれの固相カートリッジでもアセトニトリルではメフェナム酸を回収できなかった。また InertSep PLS-2の方が安定した回収率を示した。

表 10 河川水を用いた固相カートリッジへの添加回収試験結果

固相カートリッジ	溶出溶媒	メフェナム酸回収率(%)		CV(%)	
		サロゲート補正前	補正後	サロゲート補正前	補正後
PLS-2	メタノール (n=5)	105	102	6.0	7.3
	アセトニトリル (n=2)	0	0	-	-
Oasis HLB	メタノール (n=5)	101	120	7.4	13
	アセトニトリル (n=2)	0	0	-	-

以上の結果より、本分析法では、固相カートリッジを InertSep PLS-2、溶出溶媒をメタノール、溶出量を 6 mL と決定した。

〔マトリックスによる影響確認〕

マトリックスを多く含む環境試料 100 mL を用いて、サロゲート内標準液を添加せずに【試料の前処理及び試験液の調製】に従って前処理操作を行い、測定直前に標準液及びサロゲート内標準液を添加し、同濃度の標準液と検出濃度に差がないか確認を行った。結果を表 11 に示す。

環境試料抽出液に標準液を添加した試料と標準液では検出濃度に大きな差は認められなかった。

表 11 マトリックスによる影響確認結果

調製濃度 (ng/mL)	検出濃度(ng/mL) (回収率(%))*	
	標準液	環境試料抽出液
0.10	0.0985	0.0956 (97.0)
0.20	0.195	0.188 (96.2)

* 回収率(%)：標準液の検出濃度に対する環境試料抽出液の検出濃度の割合

〔ブランク低減の検討〕

添加回収試験の際、操作ブランク試料において、応答値は小さいが保持時間付近にピークが確認された（図 12）。超純水（超純水製造装置により生成）及び実験室由来の汚染が想定されたため、まず、超純水由来の汚染の有無について確認した。超純水製造装置から分取した超純水を移動相として使用したところ、試料の注入量を 0 μ L に設定した場合でもメフェナム酸の保持時間付近にピークが認められた。超純水を市販品に変更したところ、メフェナム酸の保持時間付近にピークは認められなくなったため、以降の検討では市販品の超純水を用いることとした。

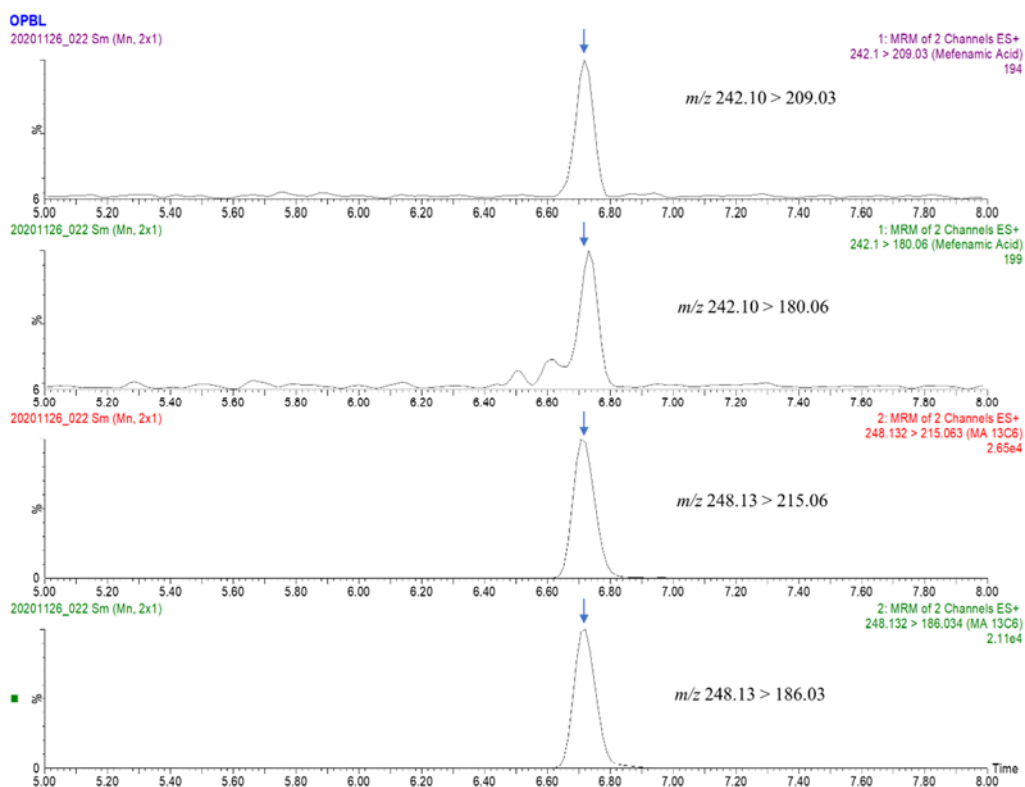


図 12 保持時間付近にピークが確認された操作ブランク試料のクロマトグラム
(分析法検討途中のものであり、モニターイオンおよび分析条件は、分析法
に記載のものと異なる。)

次いで、使用前の器具類について汚染を確認したところ、各器具からメフェナム酸が検出された（表 12）。特に、試料水や固相カートリッジ内側に直接接触する固相抽出ポンプチューブ及び窒素パージのジョイントについては、メフェナム酸を高濃度で検出した。

表 12 器具類からのメフェナム酸の検出値	
場所	最高検出値(ng)
固相抽出ポンプチューブ	1.7
遠心機	0.16
固相乾燥用窒素パージのジョイント	4.7
濃縮用窒素パージのニードル	0.56

そのため、汚染が確認された器具類について、メタノールで事前に数回超音波抽出することで、器具類からの汚染の低減を図った。

器具をメタノールで5分間超音波抽出を行う操作を、抽出液からメフェナム酸が検出されなくなるまで繰り返した。超音波抽出によるメフェナム酸の検出濃度の推移を表13に示す。

固相乾燥用窒素パージのジョイント及び濃縮用窒素パージのニードルでは、ジョイントは6回、ニードルは5回の超音波抽出でピークが確認できなくなった。器具類が汚染された際は十分な洗浄が必要であることが分かった。以上の検討により、器具の汚染が疑われた際に、メタノールを用いた超音波抽出による繰り返し洗浄を行うことで、操作ブランク試料におけるメフェナム酸の保持時間付近のピークがS/N=5以下まで低減できた。

表13 超音波抽出によるメフェナム酸の検出濃度の推移

超音波抽出した部分	検出値(ng)					
	1回目	2回目	3回目	4回目	5回目	6回目
固相乾燥用窒素パージのジョイント	0.35	0.011	0.0087	0.019	0.011	不検出
窒素パージニードル (濃縮用)	0.56	0.21	0.50	0.019	不検出	—

〔モニターイオンの検討〕

定量イオン及び確認イオンを選定するため、モニターイオン(m/z 242.1 > 224.0、 m/z 242.1 > 209.0)毎のMDL及びMQLを算出し、比較した。結果を表14及び表15に示す。同濃度で算出した結果を比較すると、回収率は同等であるが、 m/z 242.1 > 209.0の無添加試料の濃度（応答値からの推定値）が m/z 242.1 > 224.0より高くなっていたことから、 m/z 242.1 > 209.0では妨害ピークの影響がより大きいと考えられた。 m/z 242.1 > 209.0の方がS/Nは高いが、 m/z 242.1 > 224.0の方がMDLは良好な結果が得られ、環境試料での妨害ピークの影響も小さいと考えられたため、 m/z 242.1 > 224.0を定量イオンとし、 m/z 242.1 > 209.0を確認イオンとした。

表 14 m/z 224.0 を定量イオンとした時の MDL 及び MQL の算出結果*¹

対象物質名	メフェナム酸	補正後 回収率 (%)	サロゲート 回収率 (%)
試料	河川水	-	-
試料量 (L)	0.10	-	-
標準添加量 (μg)	0.000080	-	-
試料換算濃度 (μg/L)	0.00080	-	-
最終液量 (mL)	2.0	-	-
注入液濃度 (ng/mL)	0.040	-	-
装置注入液量 (μL)	5.0	-	-
操作ブランク平均 (μg/L)* ²	<0.00015	-	100
無添加平均 (μg/L)* ³	<0.00015 (0.000108) * ⁴	-	86
結果 1 (μg/L)	0.000924	116	96
結果 2 (μg/L)	0.000879	110	93
結果 3 (μg/L)	0.000890	111	99
結果 4 (μg/L)	0.000962	120	98
結果 5 (μg/L)	0.000962	120	92
結果 6 (μg/L)	0.000865	108	95
結果 7 (μg/L)	0.000948	119	93
平均値 (μg/L)	0.0009186	115	95.5
標準偏差 (σ_{n-1}) (μg/L)	0.0000407		
MDL (μg/L)* ⁵	0.00016		
MQL (μg/L)* ⁶	0.00041		
S/N 比	11		
CV (%)	4.4		

*1：定量結果は、サロゲート法により補正した値。

*2：空試験液を測定した値の平均値 (n=2)

*3：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)

*4：定量下限値以下ではあるが確認されたピークの応答値から推定した濃度

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

*6：MQL = $\sigma_{n-1} \times 10$

表 15 m/z 209.0 を定量イオンとした時の MDL 及び MQL の算出結果*1

対象物質名	メフェナム酸	補正後 回収率 (%)	サロゲート 回収率 (%)
試料	河川水	-	-
試料量 (L)	0.10	-	-
標準添加量 (μg)	0.000080	-	-
試料換算濃度 (μg/L)	0.00080	-	-
最終液量 (mL)	2.0	-	-
注入液濃度 (ng/mL)	0.040	-	-
装置注入液量 (μL)	5.0	-	-
操作ブランク平均 (μg/L)*2	<0.00022	-	100
無添加平均 (μg/L)*3	<0.00022 (0.000148) *4	-	86
結果 1 (μg/L)	0.000950	119	96
結果 2 (μg/L)	0.000899	112	93
結果 3 (μg/L)	0.000849	106	99
結果 4 (μg/L)	0.000961	120	98
結果 5 (μg/L)	0.000949	119	92
結果 6 (μg/L)	0.001034	129	95
結果 7 (μg/L)	0.001000	125	93
平均値 (μg/L)	0.0009489	119	95.5
標準偏差(σ _{n-1}) (μg/L)	0.0000612		
MDL (μg/L)*4	0.00024		
MQL (μg/L)*5	0.00061		
S/N 比	26		
CV (%)	6.4		

*1：定量結果は、サロゲート法により補正した値。

*2：空試験液を測定した値の平均値 (n=2)

*3：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)

*4：定量下限値以下ではあるが確認されたピークの応答値から推定した濃度

*5：MDL = $t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$ *6：MQL = $\sigma_{n-1} \times 10$

〔環境試料の分析〕

本法を用いて、奈良県内河川 9 地点のメフェナム酸の残留実態を調査した。その結果、全ての地点で MDL 以上の濃度(0.00061~0.048 µg/L)が検出された。

このうち、1 地点の SRM クロマトグラムを図 13 に示す。

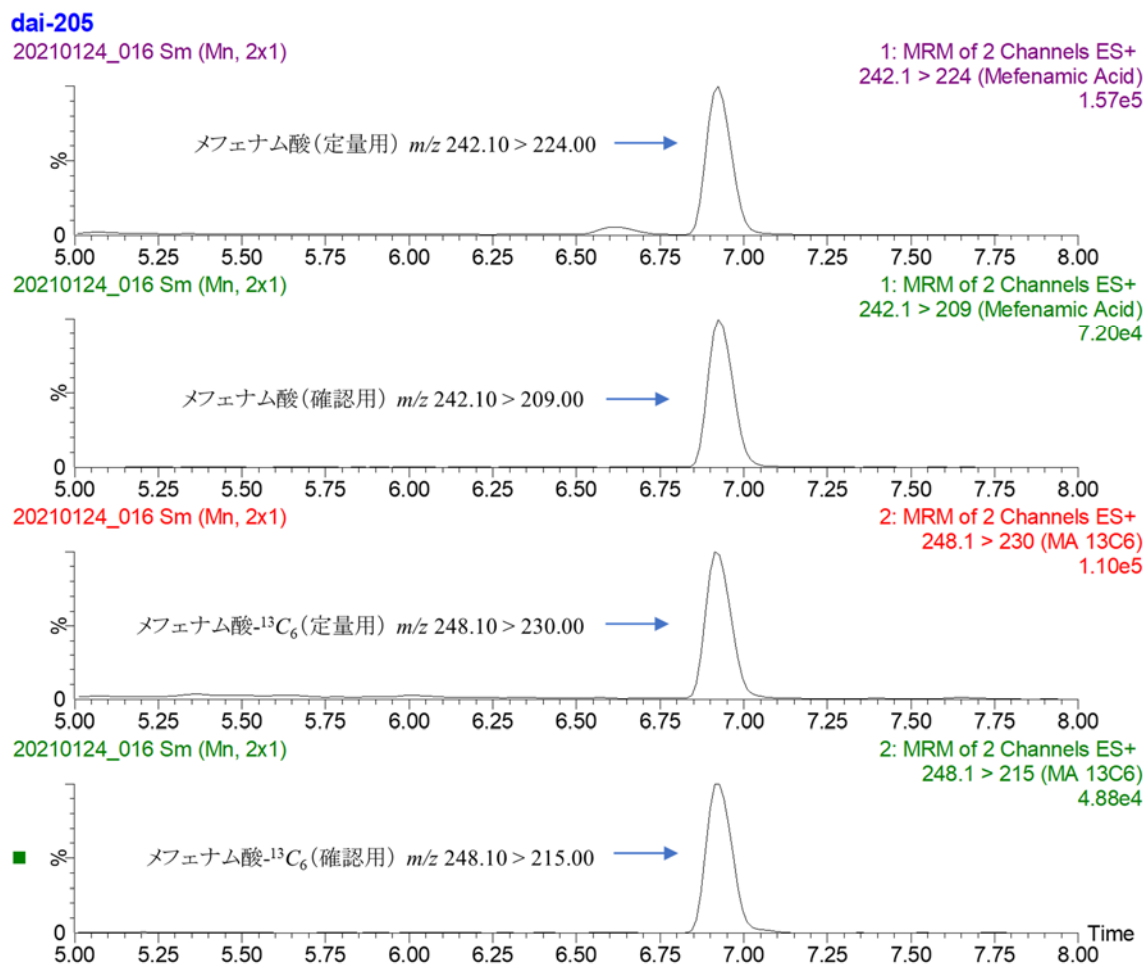


図 13 環境試料の SRM クロマトグラム (試料換算濃度 0.048 µg/L)

【評価】

環境水中に含まれるメフェナム酸の分析法を開発した。本法における、メフェナム酸の MDL は 0.00016 µg/L、MQL は 0.00041 µg/L であった。検量線は 0.040~20 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では、メフェナム酸の回収率は 115% (サロゲート回収率 96%、変動係数 4.4%) であった。海水を用いた添加回収試験では、メフェナム酸の回収率は 95% (サロゲート回収率 95%、変動係数 1.7%) であった。本分析法では、操作ブランクから MDL 以上のピークは確認されなかった。

本法により、奈良県内河川 9 地点についてメフェナム酸の残留実態を調査したところ、全ての地点でメフェナム酸が、MDL 以上の濃度で検出された。

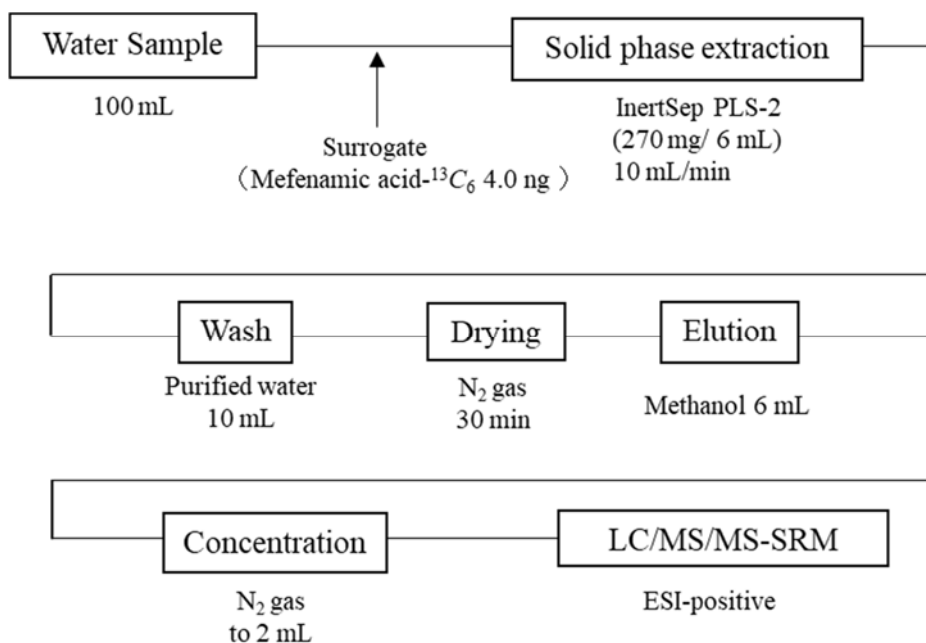
以上の結果から、本法は環境試料中の 0.0005 µg/L レベルのメフェナム酸の定量に適用可能であると判断される。

【担当者連絡先】

所属先名称 : 奈良県景観・環境総合センター
所属先住所 : 〒633-0062 奈良県桜井市栗殿 1000
TEL : 0744-47-3173 、 FAX : 0744-43-3416
担当者名 : 辻本 真弓
E-mail : m.tsujimoto@ihe.pref.nara.jp

2-(2,3-Dimethylphenyl)aminobenzoic acid: Mefenamic acid

An analytical method using liquid-chromatography/tandem quadrupole mass spectrometry (LC-MS/MS) has been developed for the determination of mefenamic acid in environmental waters. After adding the surrogate standard (4.0 ng of mefenamic acid- $^{13}\text{C}_6$) to 100 mL of a water sample, the water sample is passed through an InertSep PLS-2 cartridge at a flow rate of 10 mL/min. The cartridge passed with the water sample is washed with 10 mL of purified water and dehydrated by passing nitrogen gas through it for 30 min. The analyte collected in the cartridge is eluted with 6 mL of methanol. The eluate is concentrated to 2 mL under a gentle flow nitrogen gas at 40 deg C or lower. The final concentrate is analyzed by LC/MS/MS-SRM. The method detection limit (MDL) and the method quantification limit (MQL) are 0.00016 $\mu\text{g/L}$ and 0.00041 $\mu\text{g/L}$, respectively. The averages of recoveries of mefenamic acid added to water samples (river water and seawater) were 115% and 95%, respectively. Mefenamic acid was detected in 9 river water in Nara prefecture.



物質名	分析法フローチャート	備 考
N-(2,3-ジメチルフェニル)アントラニル酸(別名:メフェナム酸)	【水質】 <pre> graph TD A[水質試料 100 mL] -- "サロゲート添加 (メフェナム酸-¹³C₆ 4.0 ng)" --> B[固相抽出 InertSep PLS-2 (270 mg/6 mL) 10 mL/min] B --> C[洗浄 精製水 10 mL] C --> D[乾燥 N₂ 通気 30 min] D --> E[溶出 メタノール 6 mL] E --> F[濃縮 N₂ 気流下 2 mL まで] F --> G[LC/MS/MS-SRM ESI-positive] </pre>	分析原理： LC/MS/MS-SRM ESI-positive 検出下限値： 【水質】(μg/L) 0.00016 分析条件： 機器 LC：Waters ACQUITY UPLC MS：Waters Xevo TQ MS カラム Waters ACQUITY UPLC BEH C18 100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm

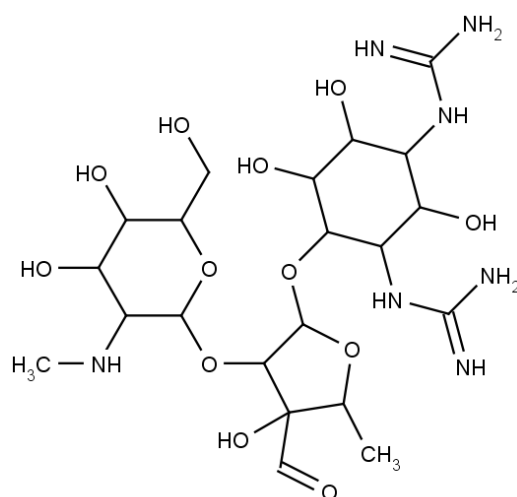
ストレプトマイシン

Streptomycin

4-*O*-[2-*O*-[2-(メチルアミノ)-2-デオキシ- α -*L*-グルコピラノシル]-5-デオキシ-3-ホルミル- α -*L*-リキソフラノシル]-*N,N'*-ビス(アミノイミノメチル)-*D*-ストレプトタミン

[2-[(1*R*,2*R*,3*S*,4*R*,5*R*,6*S*)-3-(Diaminomethylideneamino)-4-[(2*R*,3*R*,4*R*,5*S*)-3-[(2*S*,3*S*,4*S*,5*R*,6*S*)-4,5-dihydroxy-6-(hydroxymethyl)-3-(methylamino)oxan-2-yl]oxy-4-formyl-4-hydroxy-5-methyloxolan-2-yl]oxy-2,5,6-trihydroxycyclohexyl]guanidine]

【対象物質の構造】



CAS 番号：57-92-1

分子式：C₂₁H₃₉N₇O₁₂

【物理化学的性状】

分子量 ¹⁾ (モノアイソトピック 質量)	比重 (g/cm ³)	沸点 (°C)	融点 (°C)	蒸気圧 ²⁾ (mmHg)	水溶解度 ²⁾ (mg/L)	log P _{ow} ²⁾
581.57 (581.2657)	-	-	-	5.82 × 10 ⁻²⁸ (7.74 × 10 ⁻²⁸ hPa*) (25°C 推定値)	1.0 × 10 ⁶ (25°C 推定値)	-7.53 (推定値)

*：換算値（1 mmHg = 1.33 hPa による。）

【毒性、用途等】

〔毒性〕³⁾

急性毒性 : マウス（静脈）：LD₅₀：200 mg/kg
 : マウス（皮下）：LD₅₀：900 mg/kg
 : マウス（経口）：LD₅₀：9000 mg/kg
慢性毒性 : 第八脳神経に対する神経毒作用

〔用途〕³⁾

一般細菌感染症（特に結核）の治療

出典

- 1) Webkis-plus（化学物質データベース）
- 2) U.S.EPA, Estimation Programs Interface (EPI) Suite v4.1
- 3) 化学大辞典 5 縮刷版

§1 分析法

(1) 分析法の概要

水質試料をろ過し、ろ紙上捕集物の抽出液をろ液に混合した後、活性炭固相カートリッジに通液する。固相カートリッジを洗浄、脱水後、アセトニトリル/精製水/ギ酸(90:10:2)でバックフラッシュ溶出した後、LC/MS/MS(ESI+)で分析する。

(2) 試薬・器具

【試薬】（注 1）

ストレプトマイシン硫酸塩	: 東京化成工業製	タンパク質研究用、 純度 >95.0%
アセトニトリル	: 富士フイルム和光純薬製	LC/MS 用
メタノール	: 富士フイルム和光純薬製	LC/MS 用
ギ酸 ^{*1}	: 富士フイルム和光純薬製	特級
ギ酸 ^{*2}	: 富士フイルム和光純薬製	LC/MS 用
1 mol/L ギ酸アンモニウム 溶液	: 富士フイルム和光純薬製	高速液体クロマトグラフ用
硫酸マグネシウム	: 富士フイルム和光純薬製	特級

水酸化ナトリウム	: 富士フイルム和光純薬製 特級
リン酸水素二カリウム	: 富士フイルム和光純薬製 特級
2NA (EDTA・2Na)	: 同仁化学研究所 試験研究用
トリクロロ酢酸	: 富士フイルム和光純薬製 生化学用
硝酸	: 富士フイルム和光純薬製 有害金属測定用
精製水	: 超純水製造装置（東洋製作所製 RFU665DA）で製造した超純水
固相カートリッジ	: Water 製 Sep-Pak Plus AC-2 Cartridges
*1: 試薬の調製に用いた。	
*2: LC 移動相に用いた。	

【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。

〔4 mmol/L EDTA 及び 2% トリクロロ酢酸含有 10 mmol/L リン酸二カリウム溶液 (pH4.0)〕

リン酸水素二カリウム 174 mg、2NA(EDTA・2Na)149 mg、トリクロロ酢酸 2 g を精製水 100 mL に溶解させた後、1 mol/L 水酸化ナトリウム水溶液で pH4.0 に調整する。

〔1%(v/v)硝酸〕

精製水に硝酸 10 mL を加え混合し、精製水で 1 L とする。

〔アセトニトリル/精製水/ギ酸(90:10:2)溶液〕

アセトニトリル、精製水、ギ酸を体積比 90:10:2 で混和する。

【標準液の調製】

〔標準液〕

ストレプトマイシン硫酸塩 125 mg を正確に量り取り、精製水 100 mL に溶解し、ストレプトマイシンとして 1000 µg/mL の標準原液を調製する。標準原液を精製水で順次希釈し、100 ng/mL の標準液を調製する。

〔検量線用標準液〕

100 ng/mL の標準液をアセトニトリル/精製水/ギ酸(90:10:2)で順次希釈し、検量線用標準液を調製する。なお、検量線用標準液の各濃度は 0.010

～ 0.50 ng/mL とし、用時調製する。

【器具】

ストレプトマイシンはガラスや金属類に吸着するため、合成樹脂製のものを用いる。また、固相加圧送液装置を使用する際は、ガラスシリンジポンプよりも上流側に固相カートリッジ(Sep-Pak Plus AC-2)を装着する。

固相加圧送液装置	： ジーエルサイエンス製	アクアローダーIII
吸引マニホールド	： シーエルサイエンス製	
超音波洗浄機	： 柴田科学製	SU-9TH
ガラス繊維ろ紙	： Whatman GF/C	
フィルターホルダー	： アドバンテック東洋製	PP-47
メンブレンフィルター	： アドバンテック東洋製	DISMIC25CS 0.80 μm
マイクロピペット(注2)	： 標準液の調製に用いる。	

(3) 分析法

【試料の採取及び保存等】

環境省「化学物質環境実態調査実施の手引き」(最新版)の「試料の採取及び検体の調製等」に従って採取する。

【試料の前処理及び試験液の調製】

水質試料 200 mL に硫酸マグネシウム 2 g を添加し(海水試料は除く)、吸引マニホールド及びポリ製フィルターホルダーを用いてガラス繊維ろ紙でろ過する。ガラス繊維ろ紙をビーカーに移して、0.4 mmol/L EDTA 及び 2% トリクロロ酢酸含有 10 mmol/L リン酸二カリウム溶液(pH4.0) 5 mL で 5 分間超音波抽出を行い、抽出液は試験管に移す。この操作を再度繰り返し、合わせた抽出液に 1 mol/L 水酸化ナトリウム水溶液 0.1 mL を添加して混和した後、メンブレンフィルターでろ過しながら、ろ液に合わせる。これを予めコンディショニングした固相カートリッジ(注3)に 5 mL/min 程度で通液した後、固相カートリッジを精製水 30 mL で洗浄する。固相カートリッジを 5 分間吸引脱水した後、アセトニトリル/精製水/ギ酸(90:10:2)溶液 40 mL でバックフラッシュ溶出し、アセトニトリル/精製水/ギ酸(90:10:2)溶液で 40 mL に定容して試験液とする。

【空試験液の調製】

試料水と同量の精製水を用い、【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】（注 4）

〔LC 条件〕

使用機種 : 島津製作所製 LC-20 Series
カラム : GL Sciences 製 InertSustain Amide
(UHPLC PEEK 2.1 mm×100 mm, 3 μm)
移動相 : A : 0.1%ギ酸含有 10 mmol/L ギ酸アンモニウム溶液
B : 0.1%ギ酸含有アセトニトリル
0→8 min A:35→50, B:65→50 linear gradient
8→17 min A:B = 50:50
17→19 min A:B = 90:10
19→35 min A:B = 35:65
カラム流量 : 0.2 mL/min
カラム温度 : 40°C
試料注入量 : 50 μL

〔MS 条件〕

使用機種 : AB SCIEX 製 QTRAP 4500
イオン化法 : ESI-Positive
カーテングス (CUR) : 30 psi
コリジョンガス (CAD) : 8
イオンスプレー電圧 (IS) : 5500 V
ネブライザーガス (GS1) : 80 psi
ターボガス (GS2) : 60 psi
ターボガス温度 (TEM) : 300°C
測定モード : SRM

物質名	モニターイオン (<i>m/z</i>)	ドリフト 電圧(DP)(V)	コリジョン 電圧(CE)(V)
ストレプトマイ	(定量用) 582.2>263.1	296	43
シン	(確認用) 582.2>246.1	296	49

〔検量線〕

検量線用標準液 50 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 50 μ L 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を検量線に照らして定量する。

〔濃度の算出〕

試料水中の濃度は次式により算出する。

試料水中の濃度 (ng/L) = 検出濃度 (ng/mL) $\times$ 最終液量 (mL) / 試料量 (L)

本分析法に従った場合、以下の数値を使用する。

最終液量 = 40 (mL)

試料量 = 0.20 (L)

即ち、

試料水中濃度 (ng/L) = 検出濃度 (ng/mL) $\times$ 200 (mL/L)
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 5)。

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 (μ g/L)
ストレプトマイシン	0.11	0.20	40	0.00044

〔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 6)。

表 2 MDL 及び MQL の算出結果					
物質名	試料	試料量 (L)	最終液量 (mL)	MDL (μ g/L)	MQL (μ g/L)
ストレプトマイシン	海水	0.20	40	0.0013	0.0033

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) 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 3) 固相カートリッジは使用直前にメタノール 10 mL、1%(v/v)硝酸
10 mL、精製水 10 mL でコンディショニングする。
- (注 4) LC/MS/MS の条件は、本測定に使用した機種に特有のものであ
る。

(注 5) IDL は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 28 年 3 月)に従って、表 3 のとおり算出した。また、IDL 測定時の SRM クロマトグラムを図 1 に示す。

表 3 IDL の算出結果 (詳細)

物質名	ストレプトマイシン
試料量 (L)	0.20
最終液量 (mL)	40
注入液濃度 (ng/mL)	0.010
注入量 (pg)	0.50
装置注入量 (μL)	50
結果 1 (pg)	0.565
結果 2 (pg)	0.565
結果 3 (pg)	0.590
結果 4 (pg)	0.500
結果 5 (pg)	0.550
結果 6 (pg)	0.575
結果 7 (pg)	0.550
平均値 (pg)	0.5564
標準偏差 (σ_{n-1}) (pg)	0.0285
IDL (pg)	0.11
IDL 試料換算値(μg/L)	0.00044
S/N	22
CV(%)	5.1

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

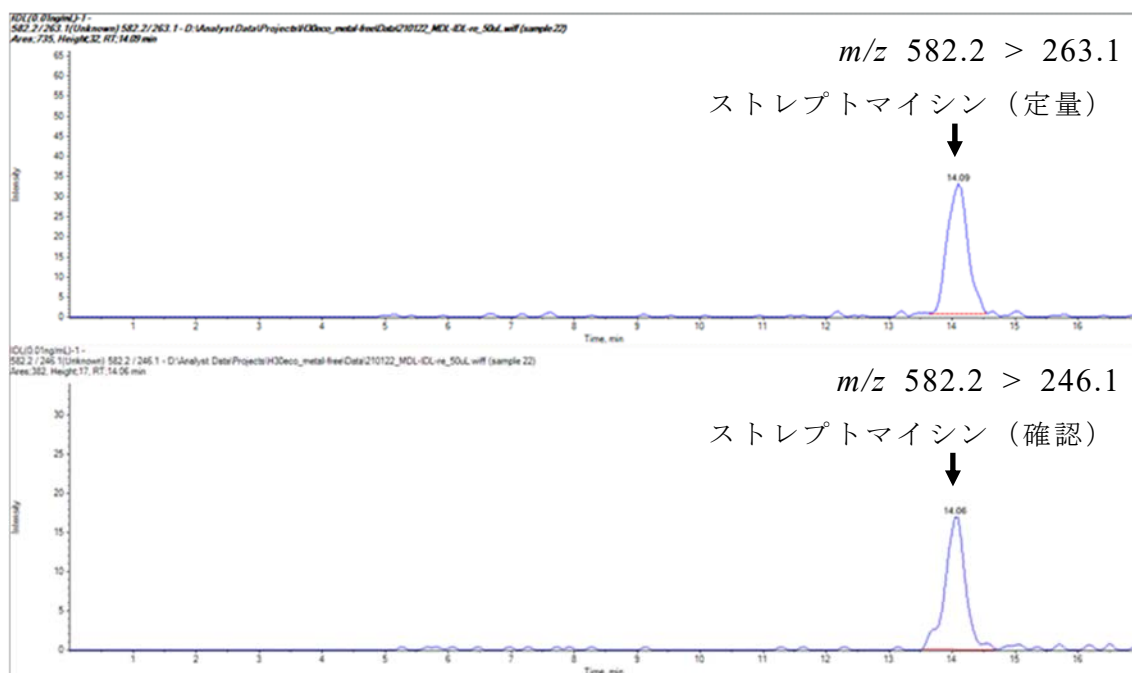


図 1 IDL 測定時の SRM クロマトグラム

(注 6) MDL 及び MQL は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 28 年 3 月)に従って、表 4 のとおり算出した。また、MDL 及び MQL 測定時の SRM クロマトグラムを図 2 に示す。なお、異なるロットの LC カラムを用いたため、対象物質の保持時間が他のクロマトグラムと異なる。

表 4 MDL 及び MQL の算出結果 (詳細)

対象物質名	ストレプトマイシン	回収率(%)
試料	海水	-
試料量 (L)	0.20	-
標準添加量 (ng)	0.80	-
試料換算濃度 (µg/L)	0.0040	-
最終液量 (mL)	40	-
注入液濃度 (ng/mL)	0.020	-
装置注入量 (µL)	50	-
操作ブランク平均 (µg/L)* ¹	<0.0013	-
無添加平均 (µg/L)* ²	<0.0013	-
結果 1 (µg/L)	0.00342	86
結果 2 (µg/L)	0.00374	94
結果 3 (µg/L)	0.00410	103
結果 4 (µg/L)	0.00388	97
結果 5 (µg/L)	0.00340	85
結果 6 (µg/L)	0.00312	78
結果 7 (µg/L)	0.00374	94
平均値 (µg/L)	0.003629	90.7
標準偏差 (σ _{n-1})	0.000333	
MDL (µg/L)* ³	0.0013	
MQL (µg/L)* ⁴	0.0033	
S/N	41.2	
CV(%)	9.2	

*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 (n=2)

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

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

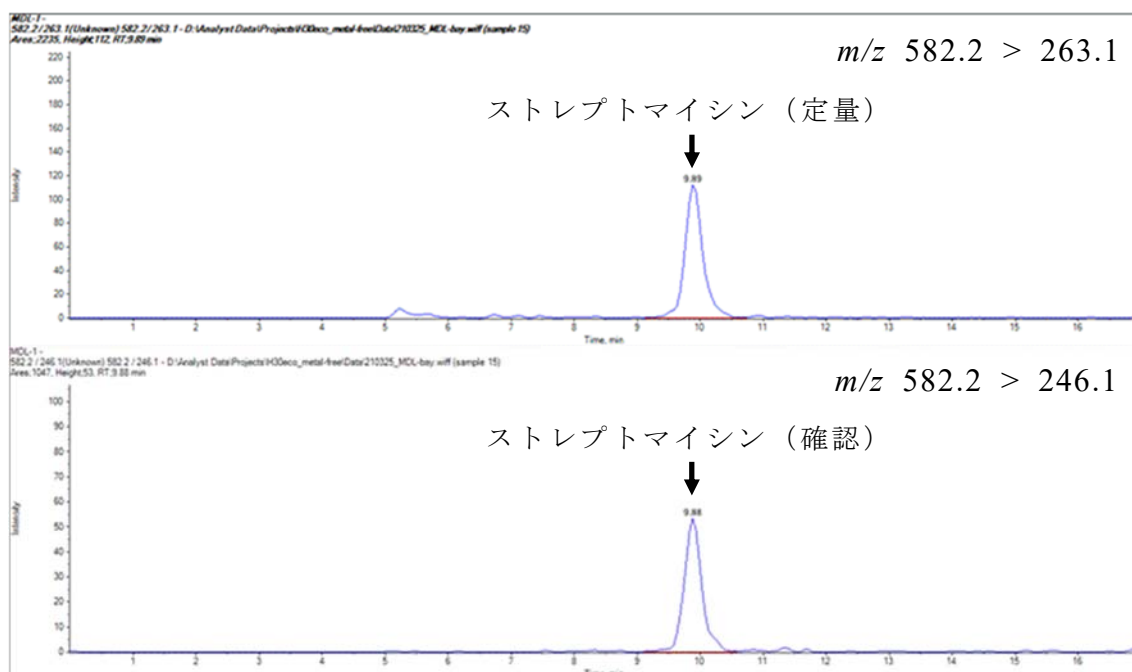


図 2 MDL 測定時のクロマトグラム (海水)

§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。

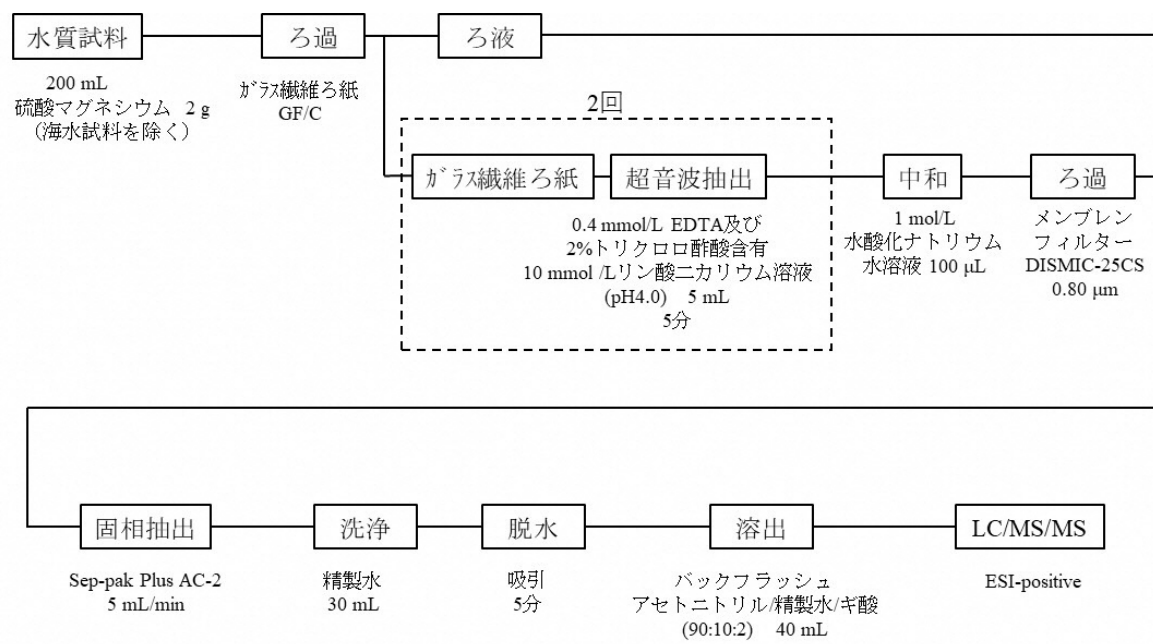


図 3 分析法のフローチャート

〔検量線〕

検量線作成用データを表 5 に、検量線を図 4-1、図 4-2 に示す。

表 5 検量線作成用データ

標準液濃度 (ng/mL)	応答値 (m/z 582.2 > 263.1)
0.010	793
0.020	1607
0.050	3950
0.10	7293
0.20	16460
0.50	40726

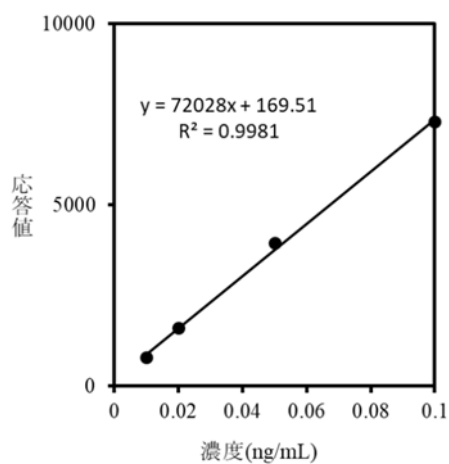


図 4-1 低濃度域検量線
(0.010～0.10 ng/mL)

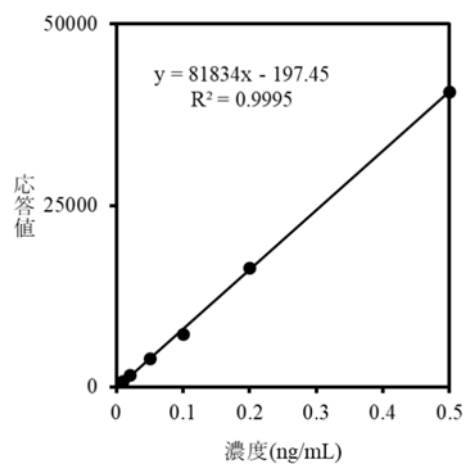


図 4-2 高濃度域検量線
(0.010～0.50 ng/mL)

〔クロマトグラム〕

標準液の SRM クロマトグラムを図 5 に示す。

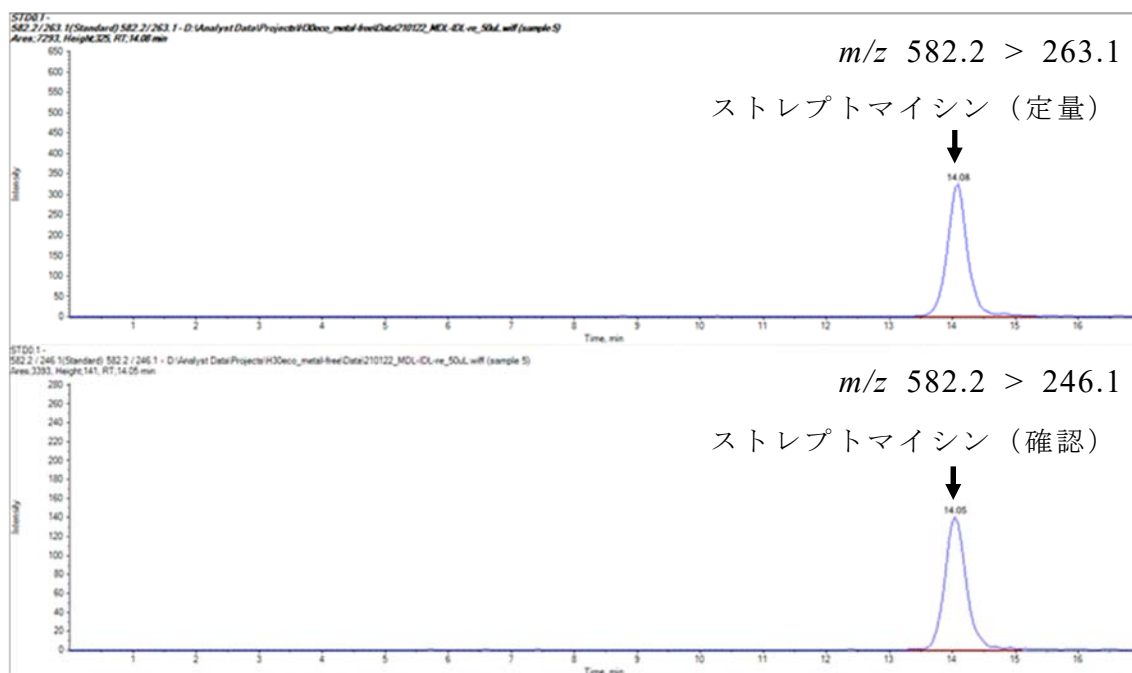


図 5 標準液の SRM クロマトグラム
(ストレプトマイシン : 0.10 ng/mL)

[マスペクトル]

ストレプトマイシンのマスペクトル及びプリカーサーイオン m/z 582.2 に対するプロダクトイオンを図 6-1、図 6-2 に示す。

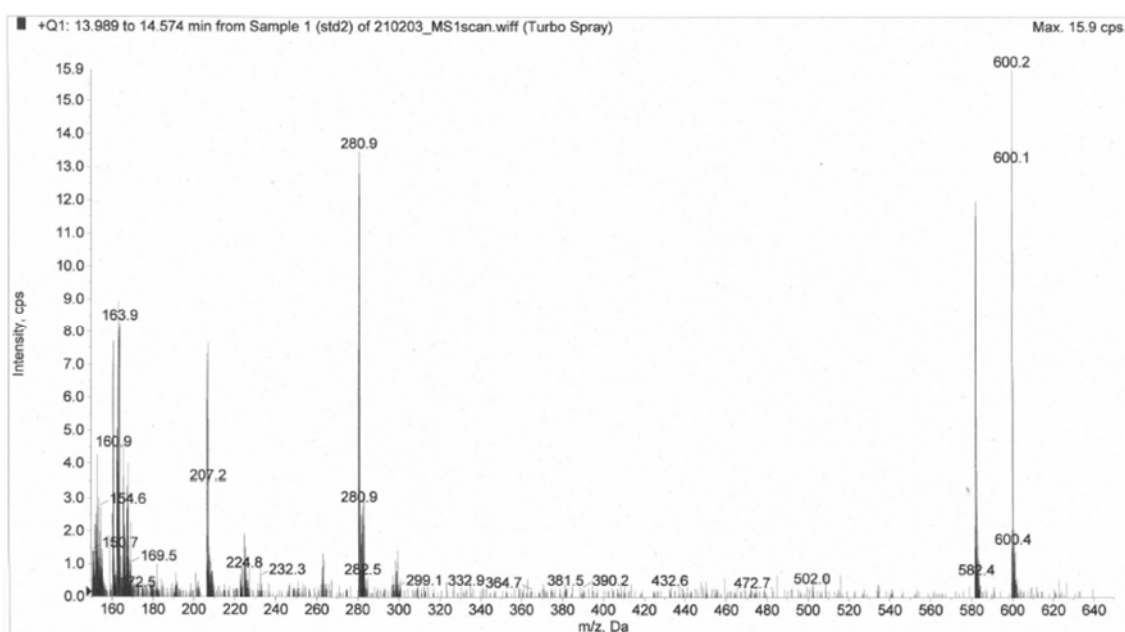


図 6-1 ストレプトマイシンのマスペクトル

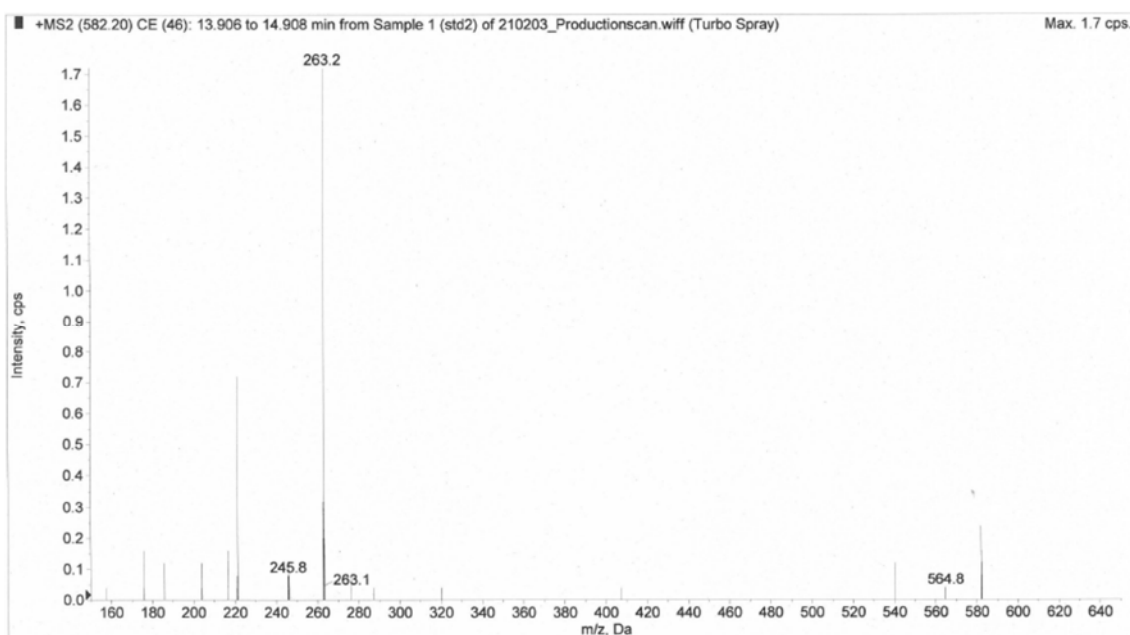


図 6-2 プリカーサーイオン m/z 582.2 に対するプロダクトイオン

〔操作ブランク〕

操作ブランク測定時の SRM クロマトグラムを図 7 に示す。操作ブランクからストレプトマイシンのピークは検出されなかった。

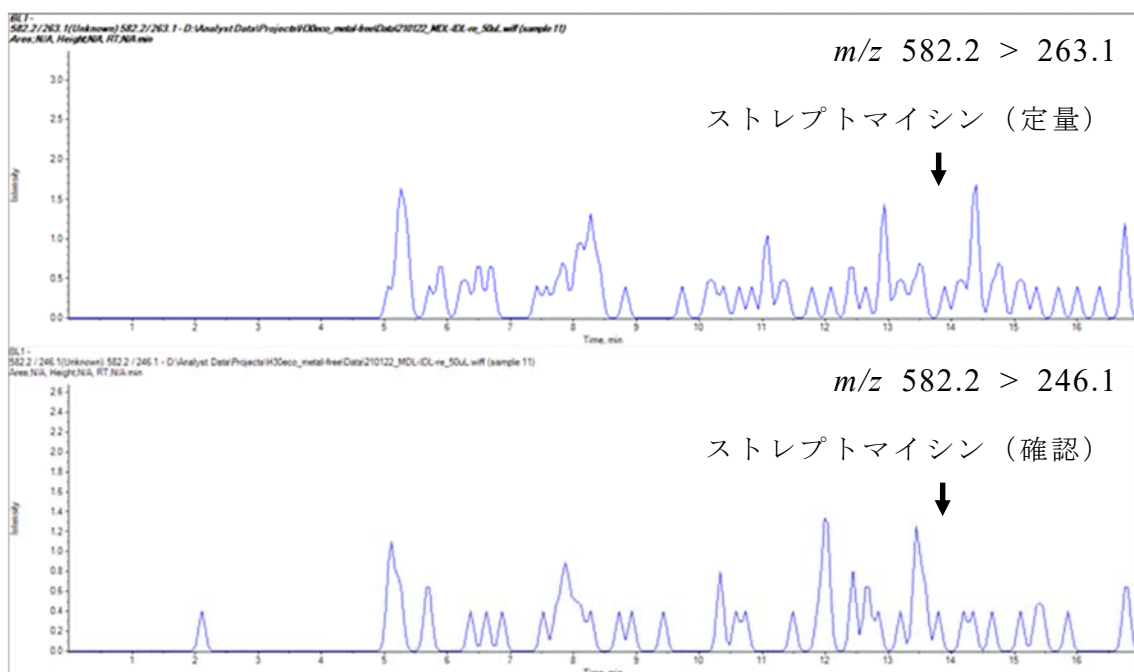


図 7 操作ブランク（精製水 200 mL）の SRM クロマトグラム

〔添加回収試験〕

海水（博多湾）及び河川水（那珂川）を用いて添加回収試験を行った。結果を表 6、クロマトグラムを図 8-1～図 8-4 に示す。なお、海水の添加回収試験は異なるロットの LC カラムを用いたため、対象物質の保持時間が他のクロマトグラムと異なる。

表 6 添加回収試験

試料名	試料量 (mL)	添加量 (ng)	試験 数	検出濃度 ($\mu\text{g/L}$)	回収率 (%)	変動係数 (%)
海水	200	0	2	<0.0013	-	-
	200	0.80	7	0.0036	90	9.2
河川水	200	0	2	<0.0013	-	-
	200	8.0	5	0.038	95	2.1

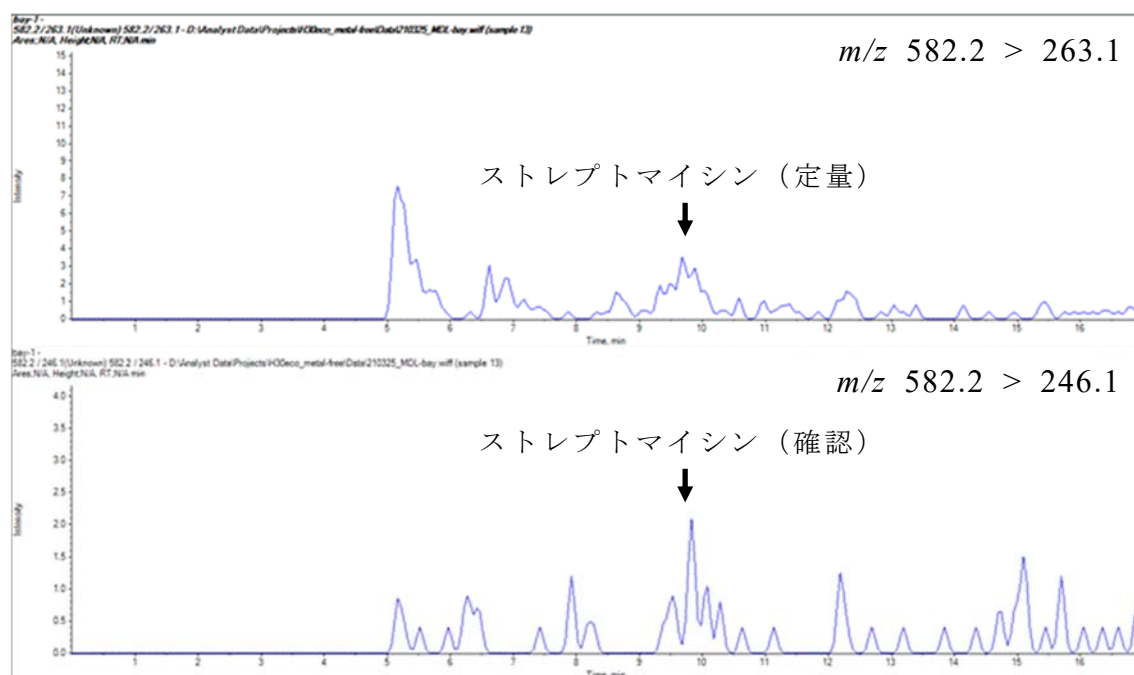


図 8-1 海水の添加回収試験のクロマトグラム（博多湾：無添加）

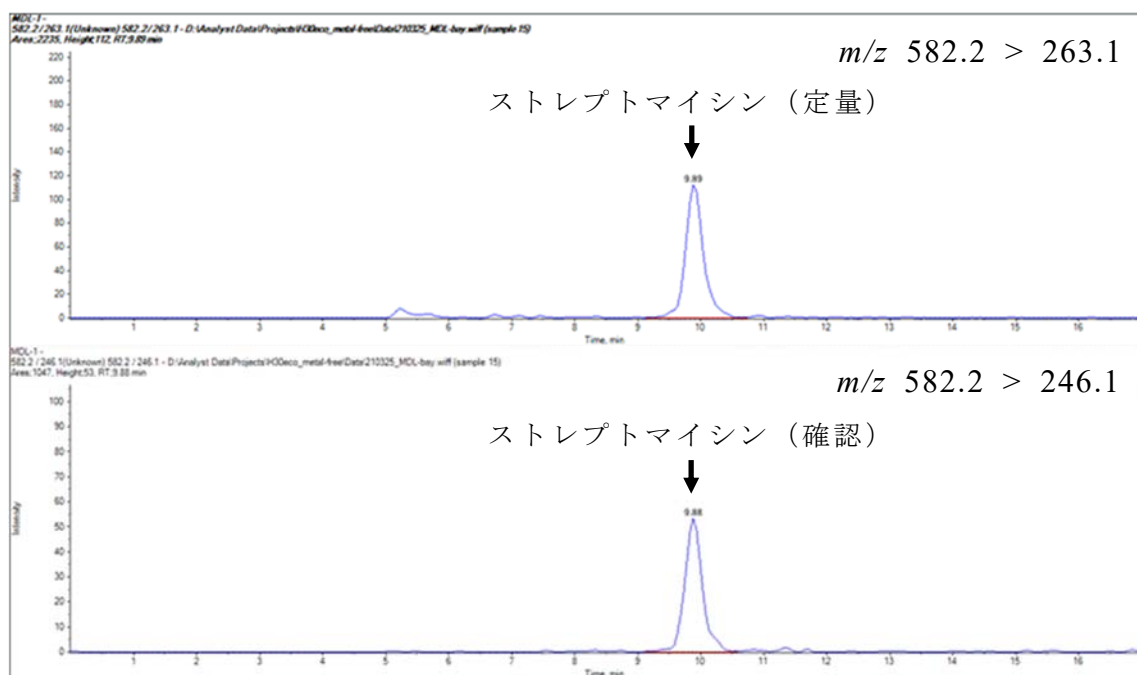


図 8-2 海水の添加回収試験のクロマトグラム（博多湾：添加）

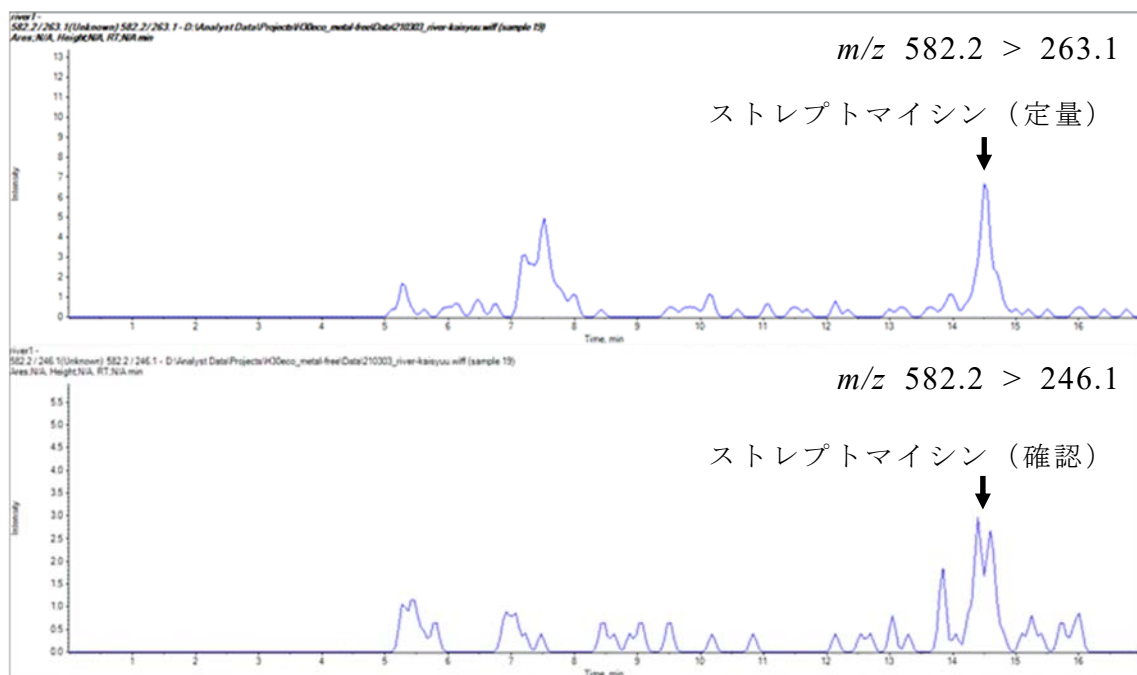


図 8-3 河川水の添加回収試験のクロマトグラム（那珂川：無添加）

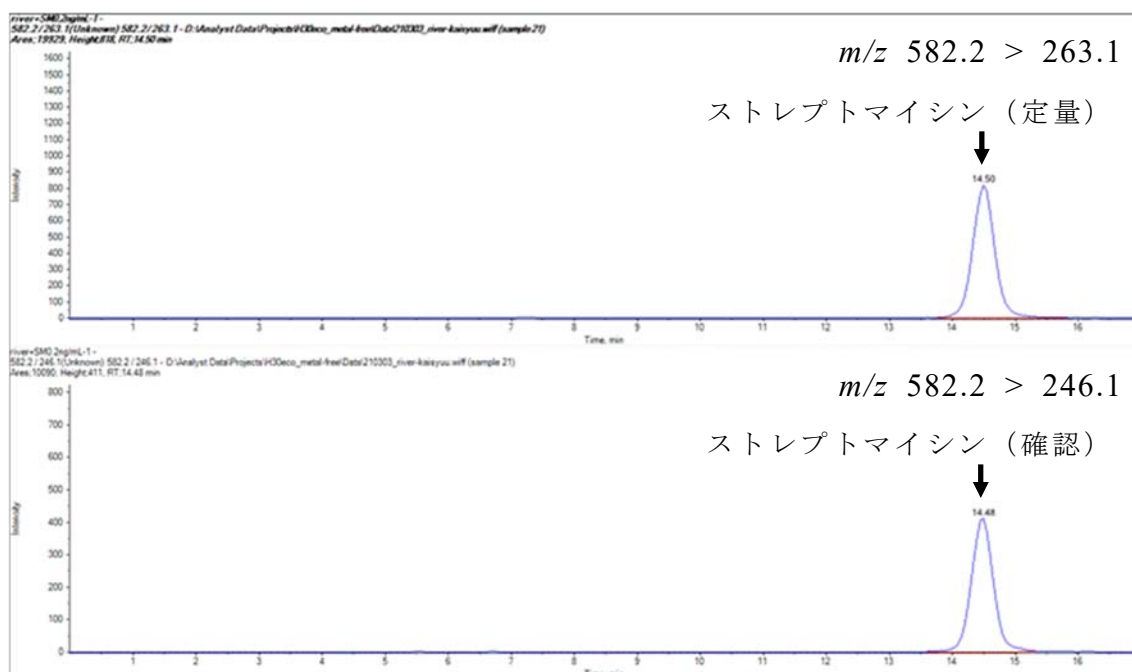


図 8-4 河川水の添加回収試験のクロマトグラム（那珂川：添加）

〔分解性スクリーニング試験〕

精製水をギ酸及び水酸化ナトリウムを用いて pH を 5、7、9 に調整して分解性スクリーニングを行った結果を表 7 に示す。残存率はいずれも 87%以上と良好であった。

表 7 分解性スクリーニング試験の結果

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
5	2	0.20	0.209(105)	0.189(95)	-
7	2	0.20	0.206(103)	0.206(103)	0.184(92)
9	2	0.20	0.202(101)	0.174(87)	-

*残存率(%)：調製濃度に対する検出濃度の割合

〔保存性試験〕

保存性試験の結果を表 8 に示す。

海水、河川水の保存性試験は水質試料 200 mL に 8.0 ng のストレプトマイシンを添加し、7 日後に測定した。なお、海水試料の保存性試験については、メンブレンフィルターによるろ過操作は実施していない。

試験液の保存性試験は、添加回収試験の試料（200 mL に 8.0 ng 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。

検量線用標準液の保存性試験は、調製した検量線標準液を冷蔵保存し、1 日後、7 日後、14 日後、1 ヶ月後に測定した。1 日後には濃度の減少が認められたことから、検量線用標準液は用時調製することとした。

表 8 保存性試験

試料名		試験 数	調製濃度 (μg/L)	検出濃度(μg/L) (残存率(%)*)				
				当 日	1 日 間	7 日 間	14 日 間	1 ヶ 月
海 水	試 料	2	0.040	0.0394 (98)	-	0.0383 (96)	-	-
	試 験 液	2	0.20	0.197 (98)	-	-	0.207 (104)	-
河 川 水	試 料	3	0.040	0.038 (95)	-	0.015 (75)	-	-
	試 験 液	3	0.20	0.156 (78)	-	-	0.160 (80)	-
検 量 線 用 標 準 液	MDL の 30 倍 程 度	2	0.20	0.208 (104)	0.161 (81)	0.148 (74)	0.154 (77)	0.131 (66)

*残存率(%)：調製濃度に対する検出濃度の割合

〔装置条件の検討〕

注入口バルブからカラムまでの配管にステンレス製又は PEEK 製の配管を用いて、フローインジェクション分析した時のクロマトグラムを図 9 に示す。

結果から、ストレプトマイシンはステンレス製の配管に吸着することが示唆されたため、LC 内部の配管等は可能な限り PEEK 製等の非金属材料のものに変更する必要があると考えられた。

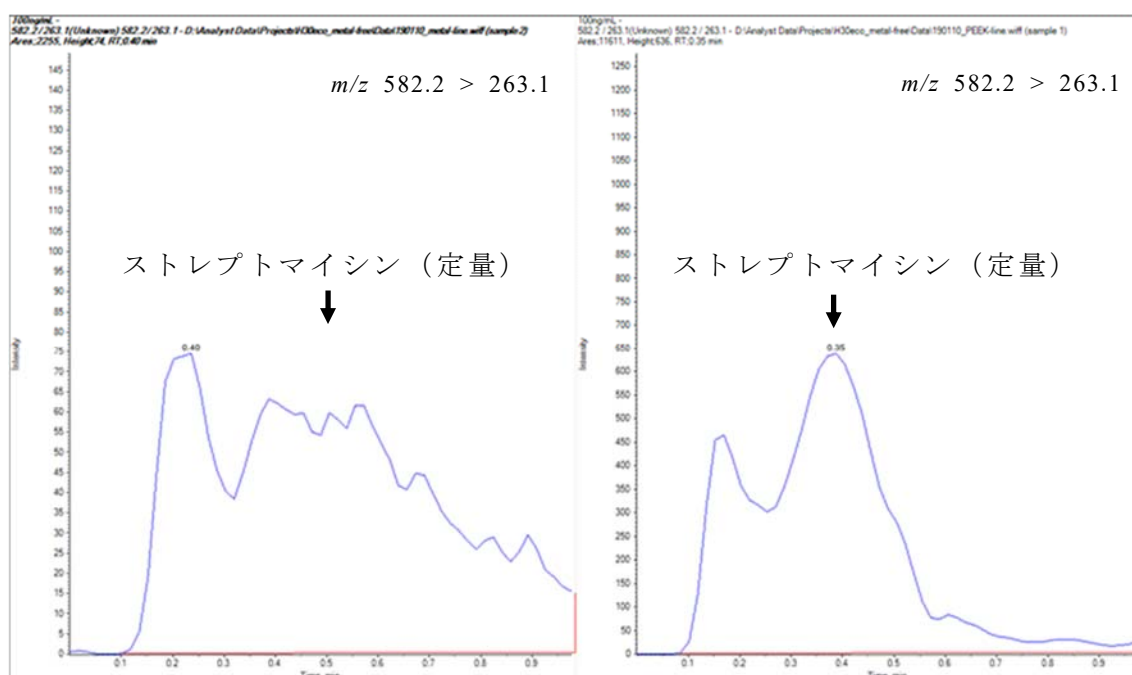


図 9 フローインジェクション分析時の SRM クロマトグラム
(左図：ステンレス製配管、右図：PEEK 製配管)

〔逆相固相カートリッジへの保持の確認〕

農産物中のストレプトマイシンの分析に用いられている逆相固相カートリッジで抽出する方法¹⁾について検討した。まず、イオンペア試薬として1-ヘプタンスルホン酸ナトリウムを添加した水質試料を用い、図10に示すフローチャートに従って通液し、流出液の各画分を測定することで固相カートリッジへの保持を確認した。

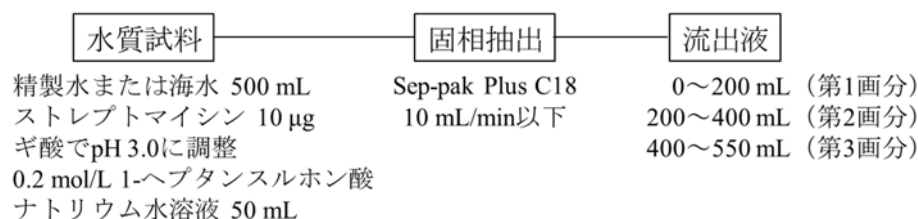


図10 逆相固相カートリッジへの保持の確認のフローチャート

結果を表9に示す。精製水を用いた場合は、ストレプトマイシンは、全ての流出液の画分から全く検出されず、固相カートリッジに保持されていることが確認できた。一方で海水を用いた場合は、水質試料のほぼ全量のストレプトマイシンが流出液から検出され、固相カートリッジには保持されていないことが確認できた。これは海水に含まれる多量の塩分によりストレプトマイシンとイオンペア試薬の結合が阻害されたためと考えられる。この結果から、逆相固相カートリッジは海水におけるストレプトマイシンの分析には適さないと考えられた。

表9 逆相固相カートリッジによるストレプトマイシンの保持

試料	画分		
	0-200 mL	200-400 mL	400-550 mL
精製水	保持	保持	保持
海水	保持せず	保持せず	保持せず

〔活性炭固相カートリッジへの保持の確認〕

水溶性が高い有機物の抽出に使われる活性炭固相カートリッジについて、海水を用い、ストレプトマイシンの保持を確認した。図11に示すフローに従い、流出液の各画分を測定した。その結果(表10)、全画分からストレプトマイシンは検出されず、固相カートリッジに保持されていることが確認できた。

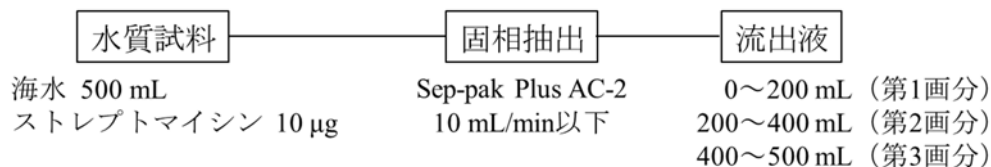


図 11 活性炭固相カートリッジへの保持の確認のフローチャート

表 10 活性炭固相カートリッジによるストレプトマイシンの保持

試料	画分		
	0-200 mL	200-400 mL	400-500 mL
海水	保持	保持	保持

〔活性炭固相カートリッジの洗浄液量の検討〕

LC/MS/MS での測定に影響を与える塩の除去に必要な洗浄水（精製水）の量を検討した。検討は図 12 に示すフローチャートに従い、洗浄液を 10 mL ごとに分取し、ナトリウム、マグネシウム及びカルシウムの濃度をイオンクロマトグラフで測定した。測定結果を表 11 に示す。

検討の結果から、精製水を 30 mL 用いることで、塩が除去できることがわかった。また、この条件ではストレプトマイシンはカラムから流出しないことも確認した。そこで、水質試料を活性炭固相カートリッジに通液した後の洗浄液量は 30 mL とした。

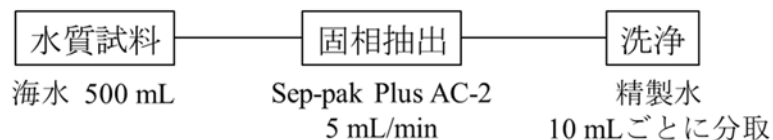


図 12 活性炭固相カートリッジの洗浄液量検討のフローチャート

表 11 洗浄液に含まれるナトリウム，マグネシウム及びカルシウムの濃度（試験数 n = 2）

洗浄液量 (mL)	ナトリウム 濃度(mg/L)	マグネシウム 濃度(mg/L)	カルシウム 濃度(mg/L)
0-10	>50	47	15
10-20	5	3	2
20-30	<1	2	1
30-40	<1	<1	<1
40-50	<1	<1	<1

〔活性炭固相カートリッジからの酸性水溶液による溶出条件の検討〕

活性炭固相カートリッジに保持されたストレプトマイシンの溶出について、図 13 に示すフローチャートに従い、脱水の影響及び溶出液の酸の種類と濃度を検討した。

まず、脱水の影響の検討として、水質試料を通液後、①固相カートリッジに空気が入らないように操作したもの、②5 分間吸引脱水したもの、③5 分間吸引脱水した後メタノール 1 mL で浸潤したものの 3 種類の固相カートリッジについて酢酸(5+100)で溶出を行った。表 12 に示すとおり、活性炭固相カートリッジを脱水すると回収率が下がり、メタノールで浸潤しても回収率は上がらないことから、固相抽出の操作では乾燥させないように注意する必要があることがわかった。

次に、溶出に用いる酸の種類及び濃度の検討について、酸は酢酸とギ酸を用い、濃度は(0.5+100) ～ (20+100)で行った。その結果（表 13-1、表 13-2）、ギ酸及び酢酸とも(5+100)または(10+100)で最も回収率が高くなることがわかった。

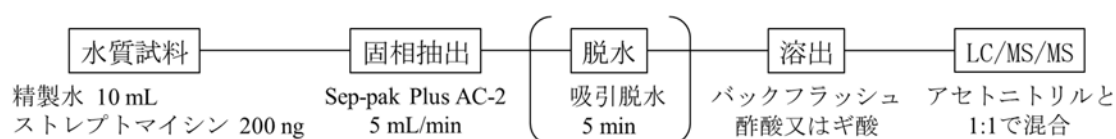


図 13 活性炭固相カートリッジからの酸性水溶液による溶出条件検討のフローチャート

表 12 溶出前の活性炭固相カートリッジの脱水の影響（試験数 n = 2）

抽出 溶媒	画分	回収率(%)					
		①固相カートリッジ に空気が入らないよ う操作したもの		②5 分間吸引脱水し たもの		③5 分間吸引脱水 後、メタノール 1mL で浸潤したもの	
		No.1	No.2	No.1	No.2	No.1	No.2
酢酸 (5+100)	0-10 mL	115	110	70	80	65	75
	10-20 mL	4	3	5	4	5	4
	計	119	113	75	84	70	79

表 13-1 溶出に用いる酸の種類及び濃度（試験数 n = 2）

酸	画分	回収率(%)					
		① 0.5+100		② 1+100		③ 5+100	
		No.1	No.2	No.1	No.2	No.1	No.2
酢酸	0-10 mL	70	65	105	100	115	110
	10-20 mL	10	18	7	8	4	3
	計	80	83	112	108	119	113
ギ酸	0-10 mL	85	80	90	85	115	100
	10-20 mL	10	8	8	6	7	8
	計	95	88	98	91	122	108

表 13-2 溶出に用いる酸の種類及び濃度（続き）（試験数 n = 2）

酸	画分	回収率(%)					
		④ 10+100		⑤ 15+100		⑥ 20+100	
		No.1	No.2	No.1	No.2	No.1	No.2
酢酸	0-10 mL	125	105	85	100	85	85
	10-20 mL	3	3	4	3	3	4
	計	128	108	89	103	88	89
ギ酸	0-10 mL	115	115	80	80	90	85
	10-20 mL	4	4	3	4	3	3
	計	119	119	83	84	93	88

一方、表 13-1、表 13-2 の回収率は 100%を超えており、この原因としては、酸の影響により感度変動し、正確な定量ができていないことが考えられた。そこで、精製水のみで調製した標準液と表 13-1、表 13-2 と同じ酸を用いて調製した標準液を比較し、酸の種類と濃度による感度変動を確認した。

その結果（図 14）、精製水のみで調製した標準液のピーク面積を 100%とした場合、酸を含む標準液のピーク面積は 120 ～ 135%程度であった。酸の種類や濃度に関わらずほぼ一定であったことから、液中に酸が存在することによって、オートサンプラーの金属製シリンジやサンプルループでのストレプトマイシンの吸着が抑制されたものと考えられる。したがって、検量線用標準液についても酸を添加する必要があると考えられた。

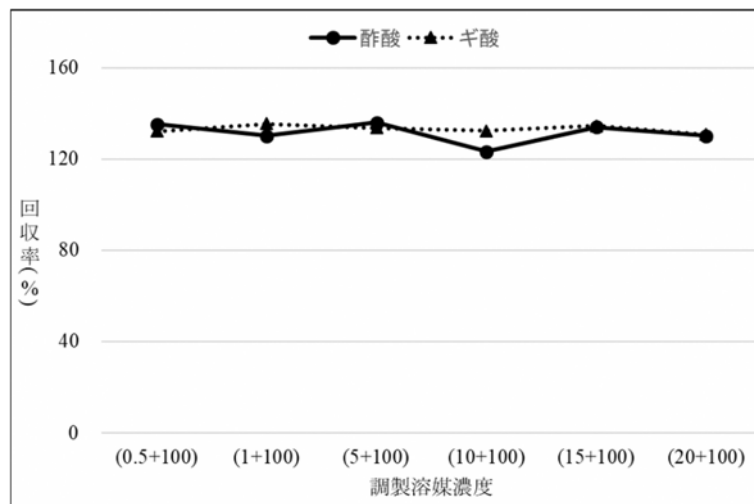


図 14 検量線用標準液の調製溶媒（酸の種類及び濃度）による感度変動

〔注入量による測定感度の検討〕

注入量の増加により感度の向上が可能か検討を行った。LC/MS/MS 装置注入量を 10 μL または 50 μL とし、酢酸を含む標準液を分析したクロマトグラムを図 15 に、ギ酸を含む標準液を分析したクロマトグラムを図 16 に示す。図 15 から酢酸は 50 μL 注入で濃度を高くしてもピーク形状に影響は無かったが、図 16 からギ酸は 50 μL 注入では酸の濃度が高くなるとピーク形状が悪くなったため、注入量を増やすことは困難であると考えられた。

以上の結果から、活性炭固相カートリッジからの溶出溶媒には酢酸 (5+100) を用いることとし、装置注入量は 50 μL とした。

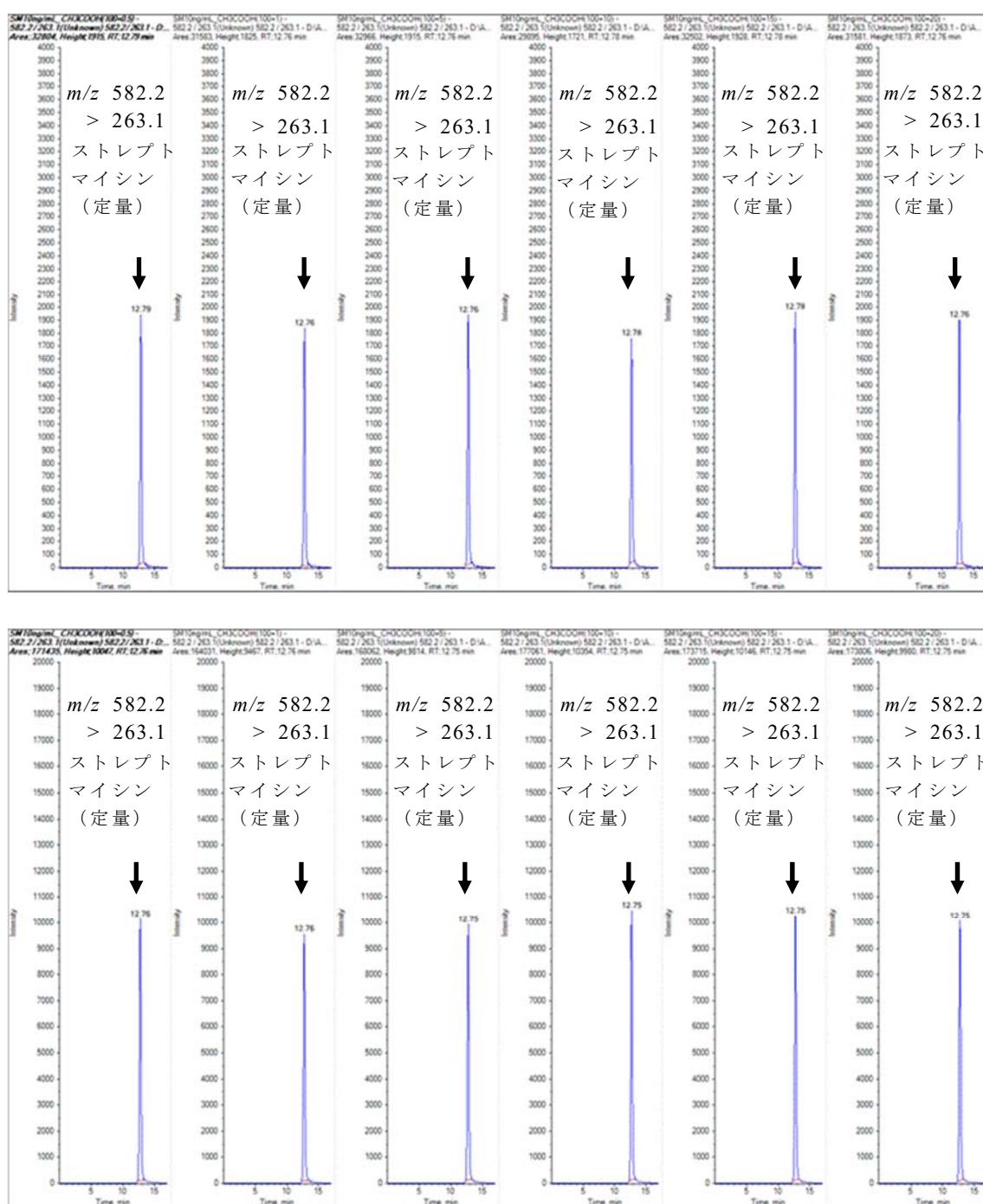


図 15 酢酸を含む標準液のクロマトグラム（モニターイオン m/z 582.2> 263.1、上段は 10 μ L 注入、下段は 50 μ L 注入。それぞれ左から酸の濃度が(0.5+100)、(1+100)、(5+100)、(10+100)、(15+100)、(20+100)）

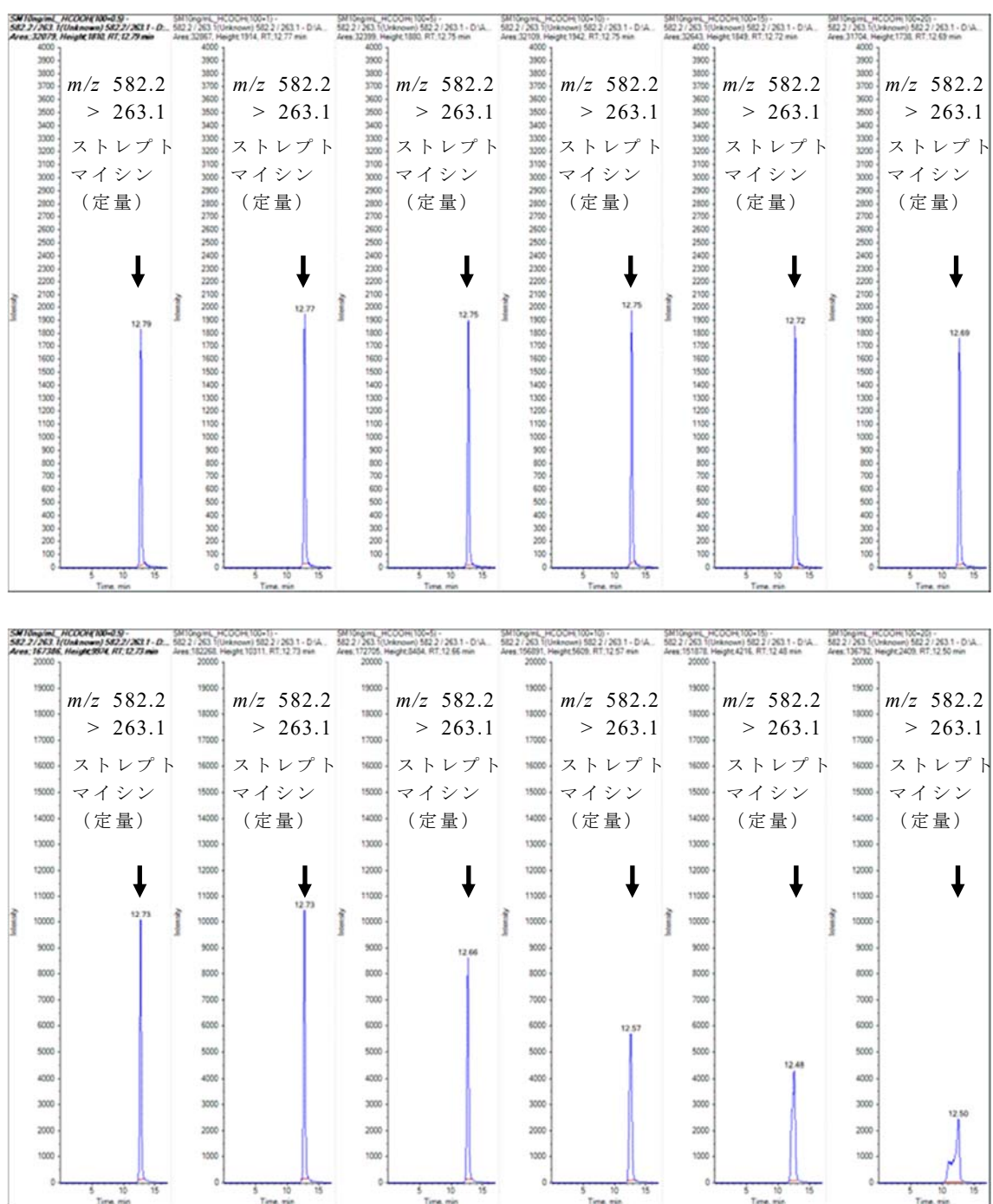


図 16 ギ酸を含む標準液のクロマトグラム（モニターイオン m/z 582.2> 263.1、上段は 10 μ L 注入、下段は 50 μ L 注入。それぞれ左から酸の濃度が(0.5+100)、(1+100)、(5+100)、(10+100)、(15+100)、(20+100))

〔海水試料での溶出の検討〕

これまでの検討結果を踏まえ、図 17 に示すフローチャートに従い、海水試料 500 mL を用いて活性炭固相カートリッジからの溶出を検討した結果を図 18 に示す。ストレプトマイシンの回収率は、溶出溶媒量 30 mL で約 80%、50 mL で約 90%、70 mL で約 100%であった。溶出溶媒量から計算した IDL 試料換算値はそれぞれ 0.0013 $\mu\text{g/L}$ 、0.0022 $\mu\text{g/L}$ 、0.0031 $\mu\text{g/L}$ であり、調査要求下限値(0.0014 $\mu\text{g/L}$)を満たすのは溶出溶媒量 30 mL のみであった。溶出溶媒は精製水であり、減圧濃縮することが難しいため、下限値を満たすためには、固相抽出等による濃縮方法の検討等が必要と考えられた。

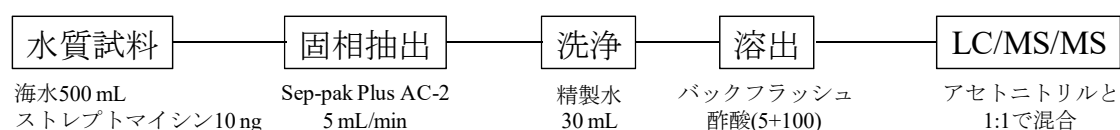


図 17 海水試料での溶出検討のフローチャート

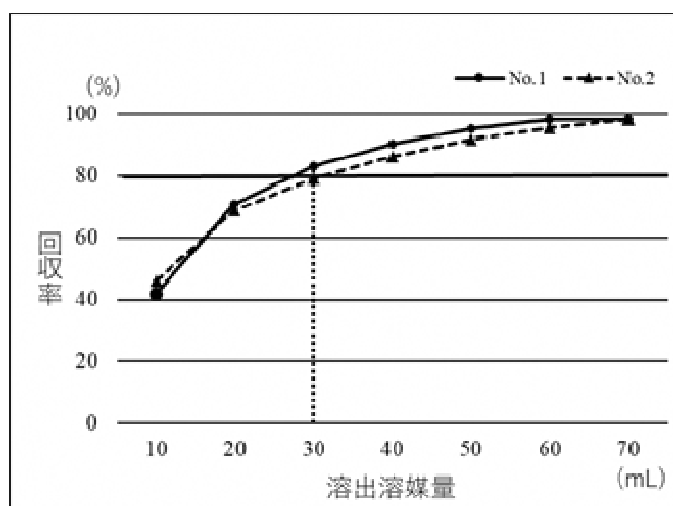


図 18 海水試料における溶出溶媒量ごとの回収率

〔有機溶媒（メタノール）による溶出の検討〕

酸性水溶液による溶出は溶媒量が多くなり、減圧濃縮も難しいため、溶媒の濃縮が容易であるメタノールによる溶出について、図 19 に示すフローチャートに従い、メタノール/ギ酸(100:0～5)を検討した。結果を図 20 に示す。検討したギ酸濃度ではピーク形状に問題は無く、メタノール/ギ酸(100:0)では、溶出溶媒量 30 mL で精製水は 5%、海水は 15%程度の回収率であったが、メタノールにギ酸を加えると溶出溶媒量 30 mL で 40～60%と回収率が大きく向上した。しかし、基準である回収率 70%に

は届かなかった。また、いずれの溶出溶媒でも、水質試料が精製水よりも海水の方が回収率は高く、試料に含まれる塩が影響しているものと思われた。なお、メタノール/酢酸(100:2)についても検討したが、溶出溶媒量 30 mL で精製水、海水とも 35%程度の回収率であり、ギ酸よりも回収率が低かった。以上の結果から、有機溶媒にはギ酸を加えることとした。

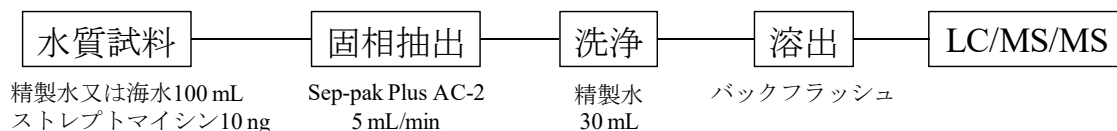


図 19 メタノールによる溶出検討のフローチャート

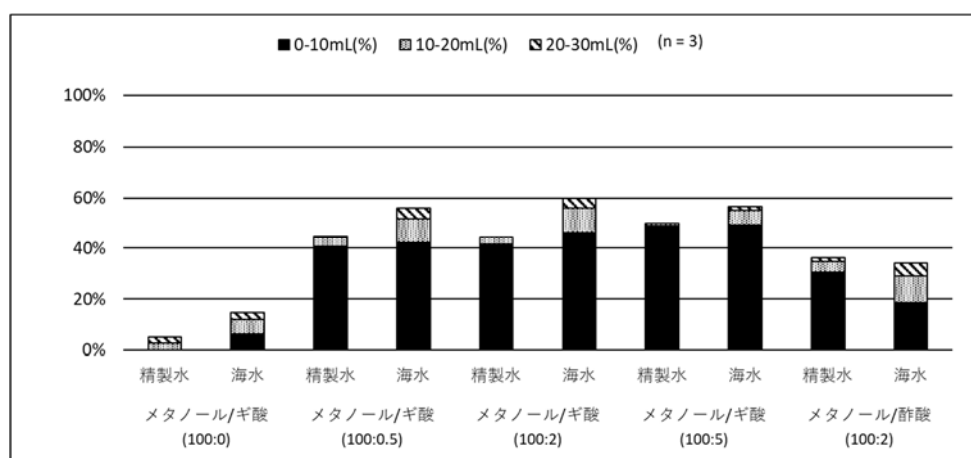


図 20 メタノール/ギ酸及びメタノール/酢酸による溶出（試験数 n=3）

〔有機溶媒による溶出の検討（メタノールとアセトニトリルの比較）〕

次に、メタノールまたはアセトニトリルと精製水及びギ酸を混合した溶媒による溶出を検討した。図 19 のフローチャートに従い、溶出溶媒は有機溶媒と精製水とギ酸の割合を 90:10:2 または 80:20:2 で検討した。検討結果を図 21 に示す。アセトニトリルを用いた場合、溶出溶媒量 30 mL で海水では 70%程度の回収率があり、溶出にはメタノールよりもアセトニトリルが適していると考えられた。そこで、溶出にはアセトニトリルを用い、濃縮がより容易となるようアセトニトリル/精製水/ギ酸が 90:10:2 を採用することとした。

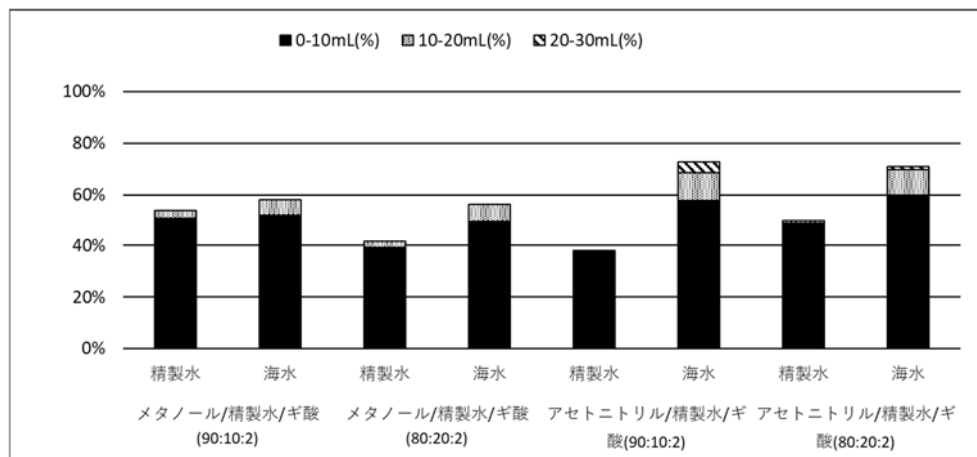


図 21 メタノールまたはアセトニトリルと精製水及びギ酸による溶出 (試験数 n=3)

〔試料量の検討〕

濃縮倍率を考慮し、図 19 のフローチャートにおけるろ過海水の試料量を 200 mL に増やし、溶出溶媒にはアセトニトリル/精製水/ギ酸 (90:10:2)を用いて溶出の検討を行った。検討結果を表 14 に示す。溶出溶媒量 30 mL で回収率は 78%であり、試料量 100 mL よりもわずかに回収率が向上した。表 14 では 30～40 mL 以降の回収率は 0%であるが、回収率の変動を考慮して溶出溶媒量は 40 mL とした。

表 14 試料量 200 mL での添加回収試験 (試験数 n=3)

抽出溶媒	画分	回収率(%)		
		No.1	No.2	No.3
アセトニトリル/精製水/ ギ酸(90:10:2)	0-10 mL	64	71	64
	10-20 mL	10	9	9
	20-30 mL	2	3	2
	30-40 mL	0	0	0
	40-50 mL	0	0	0
	計	76	83	75
平均回収率		78		

* : 定量下限は 0.20 ng (0.020 ng/mL)

〔脱水の検討〕

表 12 に示すとおり、酢酸(5+100)で溶出させた場合には、固相カートリッジの脱水により回収率の低下が確認された。しかし、溶出溶媒に用

いることとしたアセトニトリル/精製水/ギ酸(90:10:2)は有機溶媒の割合が高いため、脱水した方が浸潤しやすくなり溶出効率は上がると考えられた。そこで、固相カートリッジの洗浄後に 5 分間吸引脱水を行い、その影響を検討した。検討結果を表 15 に示す。回収率は 82%であり、表 14 の結果と比較してわずかではあるが向上した。従って、今後は固相カートリッジの洗浄後に脱水を行うこととした。

表 15 アセトニトリル/精製水/ギ酸(90:10:2)溶出前の脱水の影響（試験数 n=3、添加量 10 ng）

試料 No.	No.1	No.2	No.3
回収率(%)	86	80	80
平均回収率(%)	82		

*：溶出溶媒量は 40 mL

〔試料のろ過及びろ紙からの抽出の検討〕

前項までの検討では、SS の影響を受けないよう、ろ過海水にストレプトマイシンを添加して検討を行い、固相抽出以降の工程を図 22 のとおり決定した。

これに従って、通常的环境試料を想定し、未ろ過の海水にストレプトマイシンを添加して前処理を行い、回収率を確認した。その結果(表 16)、ろ過せずに固相カートリッジに通液すると回収率が 50%程度しか得られず、海水中の SS の影響を受けることを確認した。

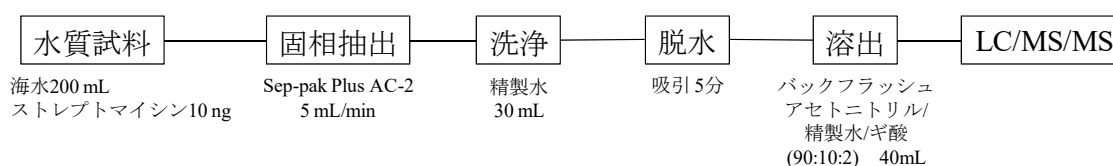


図 22 ろ過海水により決定したフローチャート

表 16 ろ過をしていない海水での回収率（試験数 n=3、添加量 10 ng）

試料 No.	No.1	No.2	No.3
回収率(%)	52	46	54
平均回収率(%)	51		

そこで、ろ紙捕集物からストレプトマイシンを抽出する検討を行った。

ろ過の操作は図 23 に示すフローチャートに従い、抽出溶媒には①アセトニトリル/精製水/ギ酸(90:10:2)、②酢酸(5+100)、③0.4 mmol/L EDTA 及び 2%トリクロロ酢酸含有 10 mmol/L リン酸二カリウム(pH 4.0)を用い、抽出液はろ液と合わせ、固相抽出を行った。検討結果を表 17 に示す。抽出溶媒①を用いた場合は、回収率が 13%と著しく減少しており、アセトニトリルを含むため、固相カートリッジに保持できていない可能性がある。②は回収率が 67%と改善が見られたが、表 15 の 80%には届かなかった。これはストレプトマイシンが抽出された後、SS に再吸着した可能性が考えられる。③は 88%と高い回収率が得られたが、これは EDTA 等が SS への再吸着を防いだ可能性が考えられる。以上の結果から、水質試料はろ過するとともに、ろ紙は 0.4 mmol/L EDTA 及び 2%トリクロロ酢酸含有 10 mmol/L リン酸二カリウムで超音波抽出することとした。

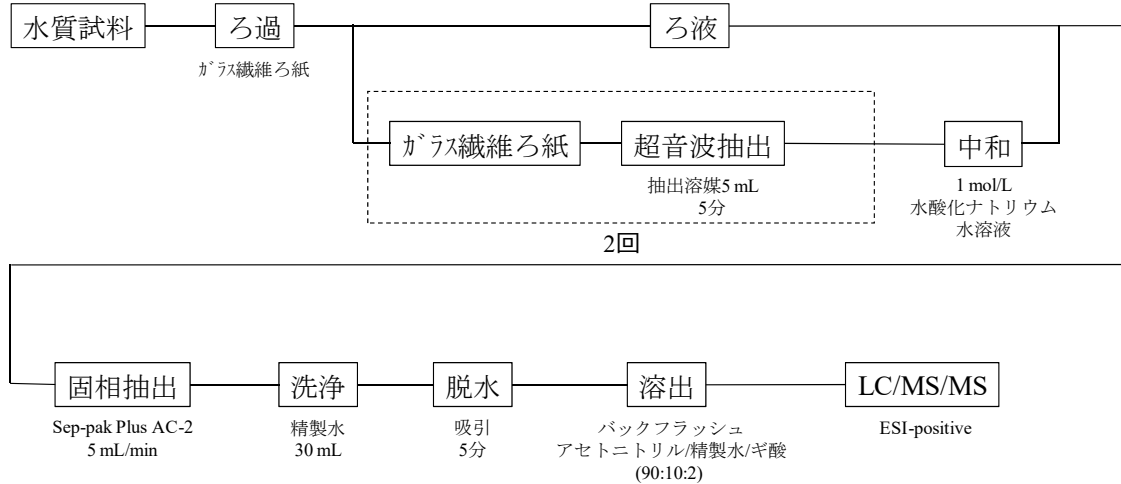


図 23 ろ紙捕集物からの抽出溶媒の検討のフローチャート

表 17 ろ紙に捕集した SS からの抽出の検討（試験数 n=3、添加量 10 ng）

試料 No.	①アセトニトリル/ 精製水/ギ酸(90:10:2)			②酢酸(5+100)			③0.4 mmol/L EDTA 及 び 2%トリクロロ酢酸含 有 10 mmol/L リン酸二 カリウム(pH 4.0)		
	No.1	No.2	No.3	No.1	No.2	No.3	No.1	No.2	No.3
回収率(%)	16	11	12	66	67	68	87	87	91
平均回収率(%)	13			67			88		

〔精製水からの抽出の検討〕

精製水は、海水に比べて回収率が低かったが（図 21）、前項までの検討は主に海水で行ったため、精製水を用いた検討を行った。水質試料としてストレプトマイシン 10 ng を添加した精製水 200 mL を用い、①塩化ナトリウム 6 g を添加、②硫酸マグネシウム 2 g を添加、また、③硫酸マグネシウムを添加した水質試料について、固相カートリッジ内の金属の除去の目的でコンディショニングに 1%(v/v)硝酸を追加（メタノール 10 mL、1%(v/v)硝酸 10 mL、精製水 10 mL の順でコンディショニング）の 3 つの場合について、図 24 のフローに従って分析した。その結果を表 18 に示す。①の塩化ナトリウムの添加では回収率が 41%と図 21 の結果とほぼ同等であったが、②の硫酸マグネシウムの添加では 72%となった。さらに、③1%(v/v)硝酸によるコンディショニングを加えることにより回収率は 90%まで向上した。これはマグネシウムとの錯体形成、さらに 1%(v/v)硝酸による金属の除去により、ストレプトマイシンが溶出しやすくなり、回収率が向上したものと考えられる。そこで、活性炭固相カートリッジのコンディショニングはメタノール 10 mL、1%(v/v)硝酸 10 mL、精製水 10 mL の順で行い、海水試料を除く水質試料には硫酸マグネシウムを添加することとした。

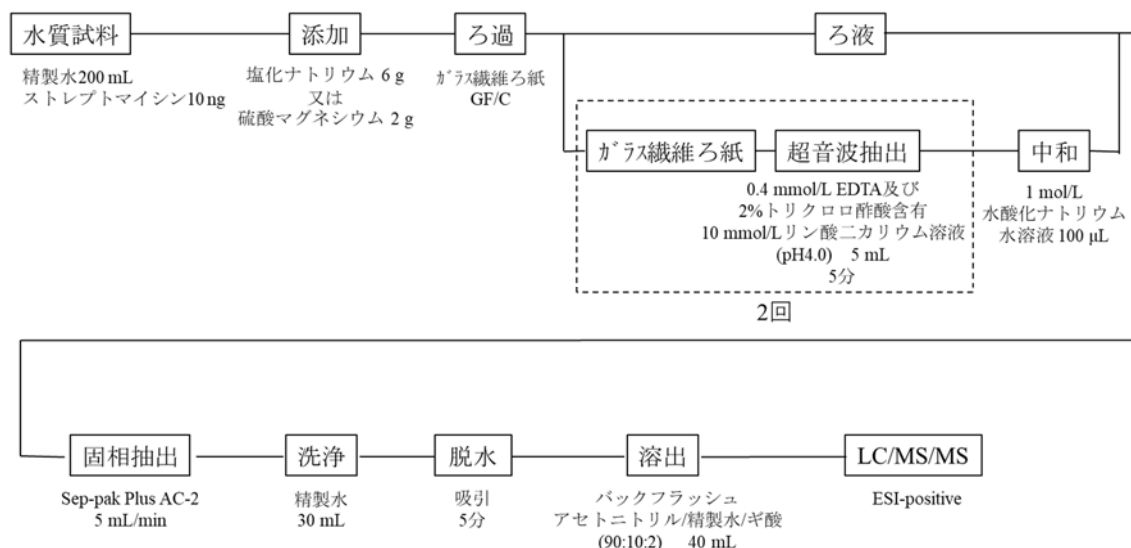


図 24 精製水からの抽出溶媒の検討のフローチャート

表 18 精製水からの抽出の検討結果（試験数 n=2、添加量 10 ng）

試験 No.	①塩化ナトリウム		②硫酸マグネシウム		③硫酸マグネシウム (1%(v/v)硝酸コンデ イショニング)	
	No.1	No.2	No.1	No.2	No.1	No.2
回収率(%)	41	41	70	74	95	84
平均回収率(%)	41		72		90	

〔河川水からの抽出の検討〕

河川水については、超音波抽出の際、ろ紙捕集物がろ紙から剥離する現象が確認されたため、抽出液をろ液と混合する際にメンブレンフィルターによるろ過を検討した。その結果を表 19 に示す。抽出液をろ過しなかった場合の回収率は 56%であったのに対し、ろ過した場合は 83%であった。これは、表 16 の結果と同様、超音波抽出で剥離したろ過捕集物にストレプトマイシンが吸着し、活性炭固相カートリッジからの溶出に影響するものと考えられた。そこで、ろ紙捕集物を超音波抽出した際の抽出液は、ろ液と混合する前にメンブレンフィルターによりろ過することとした。

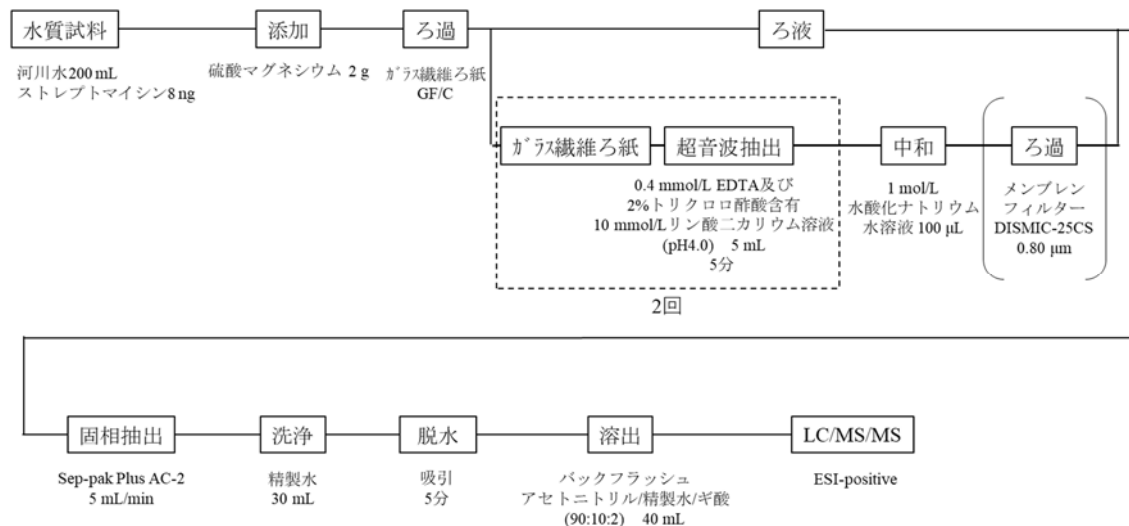


図 25 河川水からの抽出の検討のフローチャート

表 19 河川水からの抽出の検討（試験数 n=2、添加量 8 ng）

試料	超音波抽出液のメンブレンフィルター によるろ過			
	無し		有り	
	No.1	No.2	No.1	No.2
回収率(%)	44	69	85	81
平均回収率(%)	56		83	

〔環境試料の分析例〕

海水（博多湾）、河川水（那珂川）について測定した結果、いずれも MDL 未満（<0.0013 µg/L）であった。クロマトグラムを図 8-1、図 8-3 に示す。

【評価】

環境水中に含まれるストレプトマイシンの分析法を開発した。本法における MDL は 0.0013 µg/L、MQL は 0.0033 µg/L であった。検量線は 0.010～0.50 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、回収率は 95%（変動係数 2.1%）であった。海水を用いた添加回収試験について、回収率は 90%（変動係数 9.2%）であった。本分析法では、操作ブランクのピークは検出されなかった。

本法により、福岡市内の河川水及び博多湾の海水を測定したところ、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、MQL より 0.003 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】

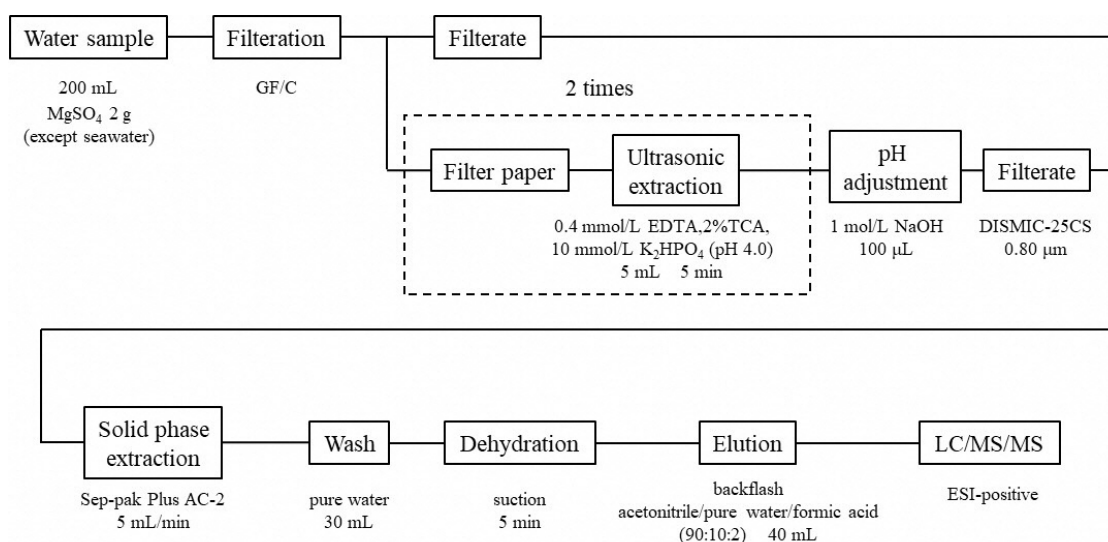
- 1) 厚生労働省：ジヒドロストレプトマイシン及びストレプトマイシン試験法（農産物），2006

【担当者連絡先】

所属先名称：福岡市保健環境研究所
 所属先住所：〒810-0065 福岡県福岡市中央区地行浜 2-1-34
 TEL：092-831-0697 FAX：092-831-0726
 担当者名：高村 範亮
 E-mail：takamura.n02@city.fukuoka.lg.jp

[2-[(1*R*,2*R*,3*S*,4*R*,5*R*,6*S*)-3-(Diaminomethylideneamino)-4-[(2*R*,3*R*,4*R*,5*S*)-3-[(2*S*,3*S*,4*S*,5*R*,6*S*)-4,5-dihydroxy-6-(hydroxymethyl)-3-(methylamino)oxan-2-yl]oxy-4-formyl-4-hydroxy-5-methyloxolan-2-yl]oxy-2,5,6-trihydroxycyclohexyl]guanidine] (Streptomycin)

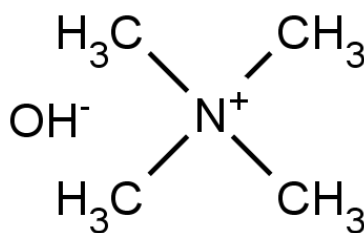
This method provides procedures for the determination of streptomycin in water samples by liquid chromatography/tandem mass spectrometry (LC/MS/MS). A water sample (200 mL) is passed through a preconditioned solid-phase extraction cartridge (Sep-Pak AC-2) and eluted with 40 mL of acetonitrile/purified water/formic acid (90:10:2). The eluate is made the volume to 40 mL with acetonitrile/purified water/formic acid (90:10:2), and take 1 mL to a vial for LC/MS/MS-SRM analysis. The instrument detection limit (IDL) is 0.11 pg. The method detection limit (MDL) is 0.0013 µg/L, and the method quantification limit (MQL) is 0.0033 µg/L. The average of recovery rates (*n* = 5) from river water samples added with 8.0 ng was 95%, and the relative standard deviation was 2.1%. The average of recovery rates (*n* = 7) from seawater samples added with 0.80 ng was 90%, and the relative standard deviations were 9.2%. Using this method, the concentrations of streptomycin in Naka River and the Hakata Bay were below the quantification limit.



物質名	分析法フローチャート	備 考
ストレプトマイシン	【水質】 <pre> graph TD A["水質試料 200 mL 硫酸マグネシウム 2 g (海水試料を除く)"] --> B["ろ過 ガラス繊維ろ紙 GF/C"] B --> C["ろ液"] C --> D["ガラス繊維ろ紙"] D -- "2回" --> E["超音波抽出 0.4 mmol/L EDTA 及び 2%トリクロロ酢酸含有 10 mmol/L リン酸二カリウム 溶液 (pH4.0) 5 mL 5分"] E --> F["中和 1 mol/L 水酸化ナトリウム水溶液 100 µL"] F --> G["ろ過 メンブレンフィルター DISMIC-25CS 0.80 µm"] G --> H["固相抽出 Sep-pak Plus AC-2 5 mL/min"] H --> I["洗浄 精製水 30 mL"] I --> J["脱水 吸引 5分"] J --> K["溶出 バックフラッシュ アセトニトリル/精製水/ギ酸 (90:10:2) 40 mL"] K --> L["LC/MS/MS-MRM ESI-positive"] </pre>	分析原理： LC/MS/MS-MRM ESI positive 検出下限値： 【水質】(µg/L) 0.0013 分析条件： 機器 LC：SHIMADZU LC-20 Series MS：AB Sciex QTrap 4500 カラム： InertSustain Amide (GL Sciences) 2.1 mm×100 mm, 3 µm

Tetramethylammonium hydroxide

【対象物質の構造】



分子式：C₄H₁₃NO

物質名	TMAH
分子量（平均分子量）	91.15
分子量（モノアイソトピック質量）	91.09971
密度（g/cm ³ ）	1.0
沸点（°C）	135-140°C で分解
融点（°C）	63（水和物）
蒸気圧（hPa）	1.55×10^{-6} （25°C、計算値）
水溶解度（mg/L）	1,000（25°C、計算値）
ヘンリー定数（atm·m ³ /mol）	4.35×10^{-16} （25°C、計算値）
log P _{ow}	-2.47（計算値）
pKa	-

〔毒性〕 2)

252

強アルカリ性の腐食性物質、毒物に該当

〔用途〕³⁾

相間移動触媒、ポジレジスト現像液、エッチング剤、洗浄剤

出典：

- 1) OECD-SIDS (<https://hpvchemicals.oecd.org/ui/Search.aspx>)
- 2) 国立医薬品食品衛生研究所「毒物劇物指定のための有害性情報の収集・評価平成 23 年度報告」より引用
- 3) 独立行政法人製品評価技術基盤機構ホームページ「化学物質総合情報提供システム(CHRIP)」より引用

§ 1 分析法

(1) 分析法の概要

水質試料のろ過と有機物除去のため、固相カートリッジに通水するが、必要なのはろ液の方である。ろ液の一部を分取して、希釈し、LC/MS/MS-SRM(ESI+)で定量する。器具類は、ガラス製を避ける。

(2) 試薬・器具

【試薬】

テトラメチルアンモニウム＝ヒドロキシド 5 水和物	：富士フイルムワコーケミカル製 > 97%
アセトニトリル	：富士フイルム和光純薬製 LC/MS 用
1 mol/L ギ酸アンモニウム水溶液	：富士フイルム和光純薬製 高速液体クロマトグラフ用
精製水	：富士フイルム和光純薬製 超純水 PFOS、PFOA 測定用
固相カートリッジ	：ジールサイエンス製 InertSep SlimJ RP-1 for AQUA

【標準液の調製】

〔標準原液〕

テトラメチルアンモニウムヒドロキシド 5 水和物の標準物質を量り取り、精

製水で溶解、希釈して、テトラメチルアンモニウムヒドロキシドとして 1.0 µg/mL の標準原液を調製する。保存容器はガラス製を避け、プラスチック製品を用いる。テトラメチルアンモニウムヒドロキシド 5 水和物 1.99 mg/mL が、テトラメチルアンモニウムヒドロキシドとして 1.00 mg/mL に相当する。

〔検量線用標準液〕

1.0 µg/mL の標準液を精製水/アセトニトリル(1:9)で適宜希釈したものを検量線用標準液とする。各濃度の検量線用標準液は、テトラメチルアンモニウムヒドロキシドとして 0.050～5.0 ng/mL に相当するように調製する。

【器具】（注 1）

ポリエチレン(PE) またはポリプロピレン(PP) 器具（測定バイアル、定量器具、保存容器、試料採取容器など）、固相抽出カートリッジ用吸引装置

【試薬の安全性・毒性】

高濃度では中毒の危険性があるので、標準試薬などを取り扱うときはドラフトの中で行うなど室内を汚染しないよう十分留意する。

(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」（最新版）に従う。試料はプラスチック製容器（ガラス製不可）に採取して、分析まで冷暗所に保存する。

【試料の前処理及び試験液の調製】

固相カートリッジに水質試料 100 mL を通液し、ろ液をよく混合して 1.0 mL を分取する（注 2）。分取した試料液にアセトニトリルを加えて 10 mL に定容したものを試験液とする（注 3）。試験液を LC/MS/MS-SRM (selected reaction monitoring) で測定し定量する。

【空試験液の調製】

精製水 100 mL 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 条件〕（注 4）

使用機種	: 島津製作所製 LCMS-8050
使用カラム	: Waters 製 Acquity UPLC CSH Fluoro-Phenyl (50 mm × 2.1 mm , 1.7 μm)
カラム温度	: 40°C
移動相	: A : 50 mmol/L ギ酸アンモニウム水溶液 B : アセトニトリル A:B=10:90 アイソクラティック
カラム流量	0.2 mL/min
注入液量	: 5.0 μL
イオン化法	: ESI-positive
インターフェイス電圧	: 4.0 kV
コリジョンエネルギー	: 24 eV (定量イオン) 21 eV (確認イオン)
インターフェイス温度	: 300°C
脱溶媒ライン温度	: 250°C
ヒートブロック温度	: 400°C
ネブライザーガス流量	: 3.0 L/min
乾燥ガス流量	: 10 L/min
加熱ガス流量	: 10 L/min
コリジョンガス	: Ar (270 psi)
測定モード	: SRM (Selected Reaction Monitoring)
モニターイオン	M=(CH ₃) ₄ N+OH : m/z 74.15 [M-OH] ⁺ > 58.15 [M-OH-CH ₄] (定量用) m/z 74.15 > 59.15 [M-OH-CH ₃] (確認用)

〔検量線〕

標準液 5.0 μL を LC/MS/MS に注入して分析する。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 5.0 μL を LC/MS/MS に注入して分析する。得られた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 C (μg/L) は次式から算出する。

$$C = Q \times E / e$$

Q : 検量線から求めた試料液中の対象物質の濃度 (ng/mL)

e : 分取液量 (mL)

E : 試験液量 (mL)

本分析法に従った場合、以下の数値を使用する。

$$e = 1.0 \text{ (mL)}$$

$$E = 10 \text{ (mL)}$$

即ち、

$$C = Q \times 10 \text{ (}\mu\text{g/L)}$$

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 5)。

表 1 IDL の算出結果

物質名	IDL (pg)	試料量 (L)	分取量 (mL)	最終液量 (mL)	IDL 試料換算値 ($\mu\text{g/L}$)
TMAH	0.047	0.10	1.0	10	0.094

〔分析方法の検出下限値 (MDL)及び定量下限値(MQL)〕

本分析方法の MDL 及び MQL を表 2 に示す (注 6)。

表 2 MDL 及び MQL の算出結果

物質名	試料	試料量 (L)	分取量 (mL)	最終液量 (mL)	MDL ($\mu\text{g/L}$)	MQL ($\mu\text{g/L}$)
TMAH	河川水	0.10	1.0	10	0.12	0.31

注 解

- (注1) ガラス器具に触れると、水溶液中の対象物質の濃度は低下するが、定量器具など短時間であれば使用することができる。その場合は、JIS R 3505に記載のクラスAのガラス器具を使用する。マイクロシリンジ及びマイクロピペットを使用する場合には精度管理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。プラスチック製の使い捨て試験管には、ブランクを生じるものがあるので、注意する。対象物質は、もっとも単純な構造の第四級アミンである。分子構造のなかに第四級アミンを持つものが分解すれば、汚染の原因になりうる。
- (注2) 対象物質は、固相カートリッジをほとんど素通りする。この操作は、試料水のろ過と農薬等一部有機物の除去、試料水の代表性の担保を目的としている。試料水とろ液の対象物質濃度は同じと判断した。
- (注3) 海水試料では、塩分が析出し、白濁する。その場合は、必要に応じて遠心分離して、上澄みを測定に供する。
- (注4) LC/MS/MSの条件は、本測定に使用した機種(島津製作所製LC/MS 8050)の例である。ガラス製測定バイアルを用いると、ピークが定量的にならない可能性がある。海水を用いた場合の試験液には、塩化ナトリウム等の塩が含まれるので、LC/MSではカラムスイッチング等により、LCからの溶出液がMSに導入される時間を短くすることが望ましい。塩類が溶出する時間がわかれば、その前後にMS側から廃棄側のラインに切り替えることが望ましい。また、MSのコーン等に塩が析出し易いので、頻繁にコーン等から塩等の析出物を拭い去ることが望ましい。

(注5) IDLは、「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成28年3月)に従って、下記表3のとおり算出した。

表3 IDL の算出結果 (詳細)

対象物質名	TMAH
試料量 (L)	0.10
分取液量 (mL)	1.0
最終液量 (mL)	10
注入液濃度 (ng/mL)	0.050
注入量 (pg)	0.25
装置注入液量 (μL)	5.0
結果 1 (pg)	0.268
結果 2 (pg)	0.260
結果 3 (pg)	0.233
結果 4 (pg)	0.255
結果 5 (pg)	0.241
結果 6 (pg)	0.259
結果 7 (pg)	0.258
平均値 (pg)	0.2535
標準偏差(σ_{n-1}) (pg)	0.0121
IDL (pg)*	0.047
IDL 試料換算値 (μg /L)	0.094
S/N 比	12
CV(%)	4.8

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

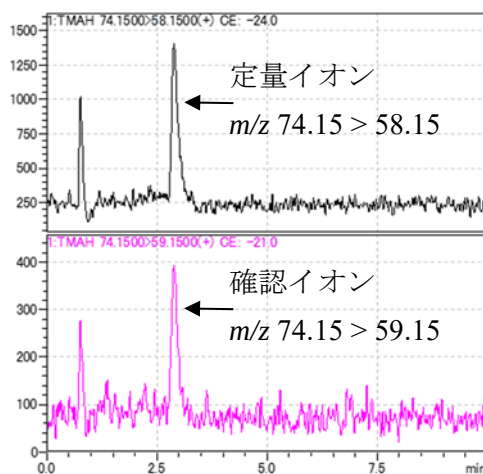


図1 IDL 測定時のクロマトグラム (対象物質濃度 : 0.050 ng/mL)

(注 6) MDL 及び MQL は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 28 年 3 月)に従って、表 4 のとおり算出した。MDL 測定時のクロマトグラムを図 2 に示す。

表 4 MDL 及び MQL の算出結果 (詳細)

物質名	TMAH	回収率(%)
試料	河川水	-
試料量 (L)	0.10	-
標準添加量 (ng)	50	-
試料換算濃度 (µg/L)	0.50	-
分取液量 (mL)	1.0	-
最終液量 (mL)	10	-
注入液濃度 (ng/mL)	0.050	-
装置注入液量 (µL)	5.0	-
操作ブランク平均 (µg/L) ^{*1}	< 0.12	-
無添加平均 (µg/L) ^{*2}	< 0.12	-
結果 1 (µg/L)	0.509	102
結果 2 (µg/L)	0.482	96
結果 3 (µg/L)	0.461	92
結果 4 (µg /L)	0.517	103
結果 5 (µg/L)	0.493	99
結果 6 (µg/L)	0.546	109
結果 7 (µg/L)	0.540	108
平均値 (µg/L)	0.5068	101
標準偏差(σ _{n-1}) (µg/L)	0.0309	
MDL (µg/L) ^{*3}	0.12	
MQL (µg/L) ^{*4}	0.31	
S/N 比	12	
CV (%)	6.1	

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

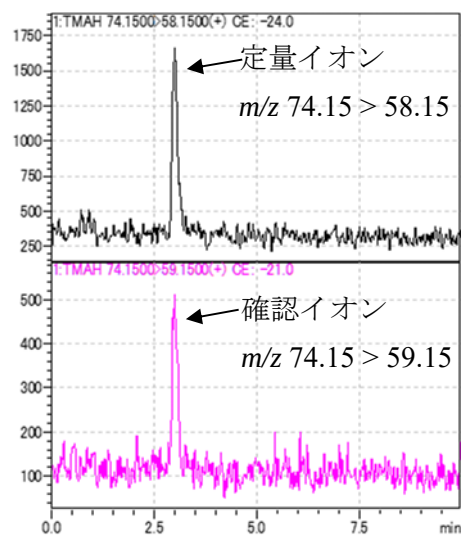


図2 MDL 測定時のクロマトグラム（注入液濃度：0.050 ng/mL）

§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3に示す。

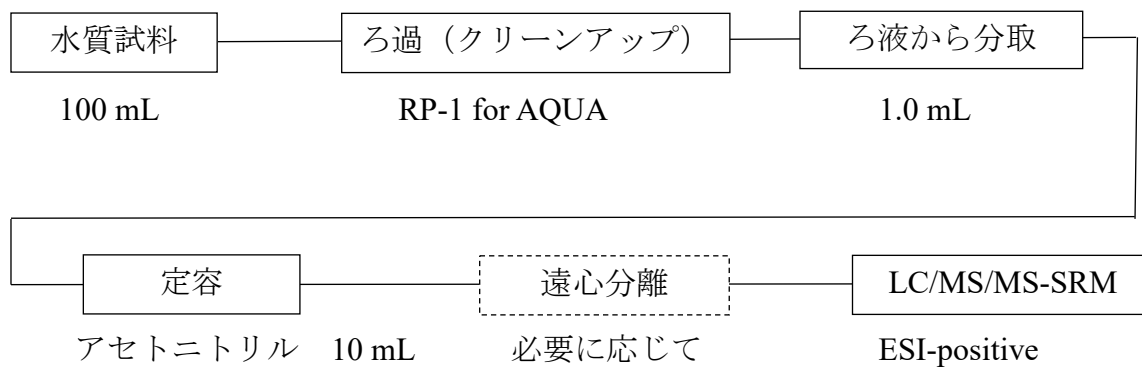


図3 分析法のフローチャート

[検量線]

検量線を図 4 に、検量線作成用データを表 5 に示す。

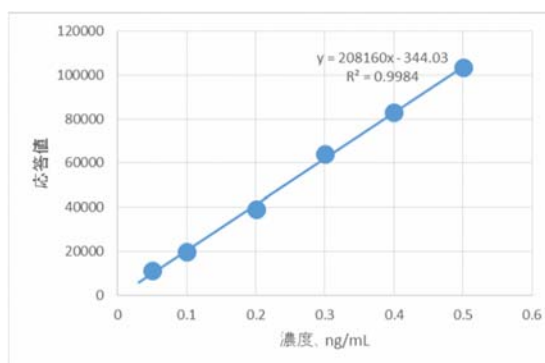


図4-1 低濃度域検量線
(TMAH : 0.050～ 0.50ng/mL)

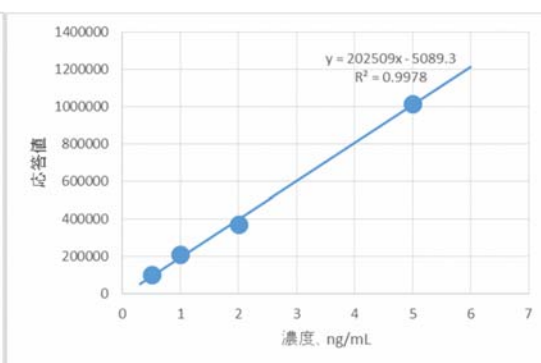


図4-2 高濃度域検量線
(TMAH : 0.50～ 5.0ng/mL)

表 5 TMAH の検量線作成用データ

標準液濃度 (ng/mL)	応答値 (m/z 74.15 > 58.15)
0.050	11267
0.10	19737
0.20	39139
0.30	64036
0.40	83030
0.50	103375
1.0	210629
2.0	371500
5.0	1015462

〔クロマトグラム〕

標準液のクロマトグラムを図 5 に示す。

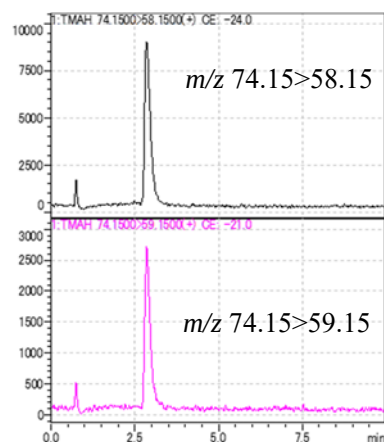


図 5 標準液のクロマトグラム（対象物質濃度：0.50 ng/mL）

〔マスペクトル〕

対象物質のマスペクトルを図 6 に示す。

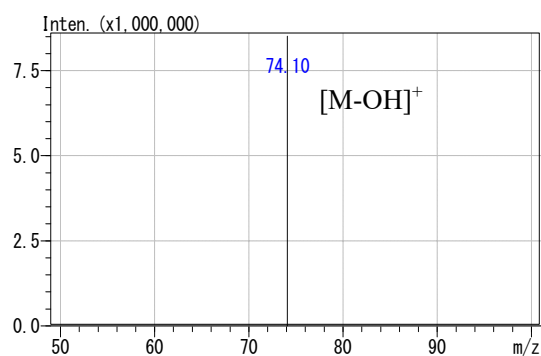


図 6-1 標準物質のマスペクトル(ESI- positive)

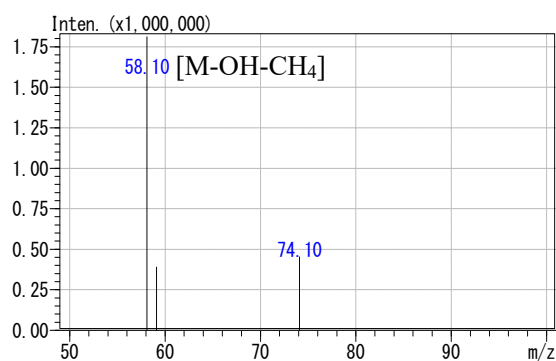


図 6-2 m/z 74 をプレカーサーイオンとしたときの
プロダクトイオンスペクトル

〔操作ブランク〕

操作ブランクのクロマトグラムを図7に示す。対象物質は不検出であった。

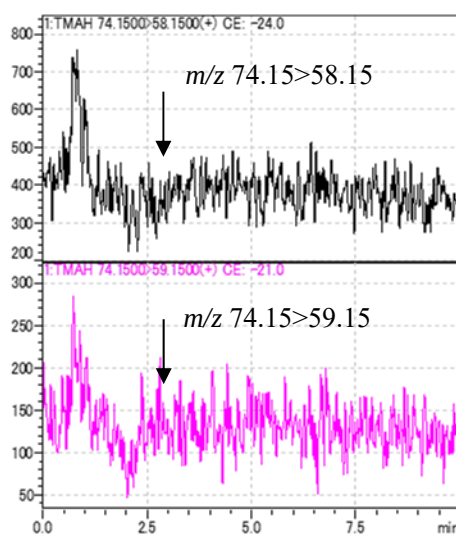


図7 操作ブランクのクロマトグラム

〔添加回収試験〕

河川水（境川）及び海水（東京湾）への添加回収試験の結果を表6及び図8-1～図8-4に示す。

表6 添加回収試験の結果

試料	試料量 (mL)	添加量 (ng)	分取量 (mL)	最終液量 (mL)	試験 数	検出濃度 (μg/L)	回収率 (%)	CV (%)
河川水	100	0	1.0	10	2	<0.12	-	-
	100	50	1.0	10	7	0.507	101	6.1
海水	100	0	1.0	10	1	<0.12	-	-
	100	200	1.0	10	2	1.92	95.9	-

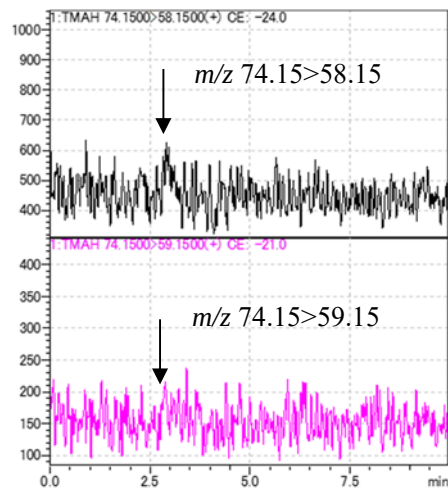


図 8-1 添加回収試験のクロマトグラム（河川水、無添加、境川）

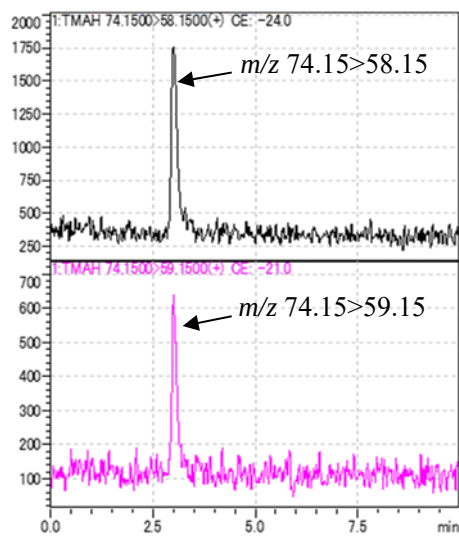


図 8-2 添加回収試験のクロマトグラム（河川水、50 ng 添加、境川）

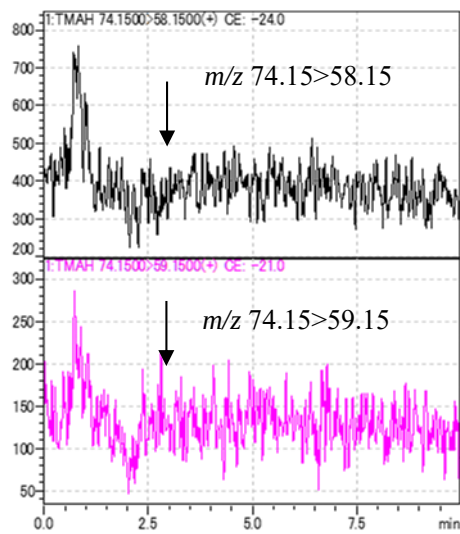


図 8-3 添加回収試験のクロマトグラム（海水、無添加、東京湾）

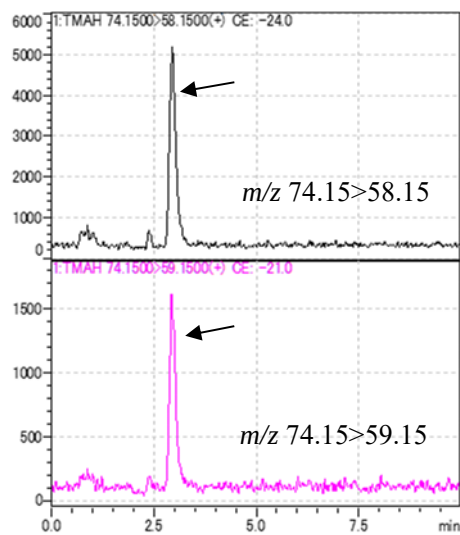


図 8-4 添加回収試験のクロマトグラム（海水、200 ng 添加、東京湾）

〔分解性スクリーニング〕

分解性スクリーニングの結果を表 7 に示す。容器は PFA 製である。ガラス製容器では、容器自体の影響が出る恐れがあった。このように、微酸性～中性ではほとんど変化はないが、塩基性で濃度低下が大きいようだった。

表 7 分解性スクリーニングの結果

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 時間後	7 日後	
					暗所	明所
TMAH	5	2	1.0	1.00 (100)	1.00 (100)	-
	7	2	1.0	1.00 (100)	1.02 (102)	1.01 (101)
	9	2	1.0	0.94 (94)	0.39 (39)	-

* 残存率(%)：調製濃度に対する検出濃度の割合

〔保存性試験〕

保存性試験の結果を表 8 に示す。このように、試料水、試験液、標準液とも、一週間程度の保存性は良好であった。分解性スクリーニングの試験結果から、対象物質は塩基性で、濃度低下が見られる。微塩基性である海水の試料は、対象物質の濃度が徐々に低下する傾向が見られたので、早めに処理するほうがよい。前処理後の試験液では、海水試料も濃度低下は見られなかった。

表 8 保存性試験結果

試料名		調製濃度 (ng/mL)	検出濃度(ng/mL) (残存率(%)*)		
			7 日間	14 日間	1 か月
河川水	試料水	0.50	0.53 (107)	0.51 (101)	-
	試験液	0.050	0.049 (98)	0.049 (98)	0.049 (99)
海水	試料水	2.0	1.8 (89)	1.5 (77)	-
	試験液	0.20	0.20 (102)	0.20 (98)	0.20 (98)
標準液	検量線最低濃度	0.050	0.051 (102)	0.052 (104)	0.050 (100)
	検量線最高濃度	5.0	4.8 (97)	5.3 (105)	5.3 (106)

* 残存率(%)：調製濃度に対する検出濃度の割合

〔イオンペア剤の利用可能性の検討〕

検討当初、試料水にイオンペア剤を添加して、対象物質を固相抽出する分析法を検討した。しかし、イオンペア剤としてオクタンスルホン酸ナトリウムを使うと回収率が得られず、ノナフルオロペンタン酸を使うと回収はされるが、かなり高濃度で添加する必要があることがわかった。それ自体が環境汚染物質である有機フッ素化合物の一種を大量に使用する分析法は望ましくないため、イオンペア剤を添加する方法は、採用しないこととした。

〔環境試料の分析例〕

本法を用いて河川水（境川、図 8-1）及び海水（東京湾、図 8-3）を測定した。いずれも対象物質は不検出であった。

【評価】

本分析法で用いた LC/MS/MS でのテトラメチルアンモニウム=ヒドロキシドの IDL は 0.047 pg（試料換算濃度は 0.094 $\mu\text{g/L}$ ）であり、0.050～5.0 ng/mL の範囲で検量線の直線性が確認された。MDL は 0.12 $\mu\text{g/L}$ 、MQL は 0.31 $\mu\text{g/L}$ であった。河川水にテトラメチルアンモニウム=ヒドロキシドの濃度が 0.50 $\mu\text{g/L}$ となるよう添加した際の回収率は、101%（変動係数 6.1%）となった。本法で環境試料を分析した結果、神奈川県内の河川水（境川）及び海水（東京湾）からは、不検出であった。以上の結果から、本法は水質試料中に含まれる 0.12 $\mu\text{g/L}$ 程度の対象物質の検出に適用できると考えられる。

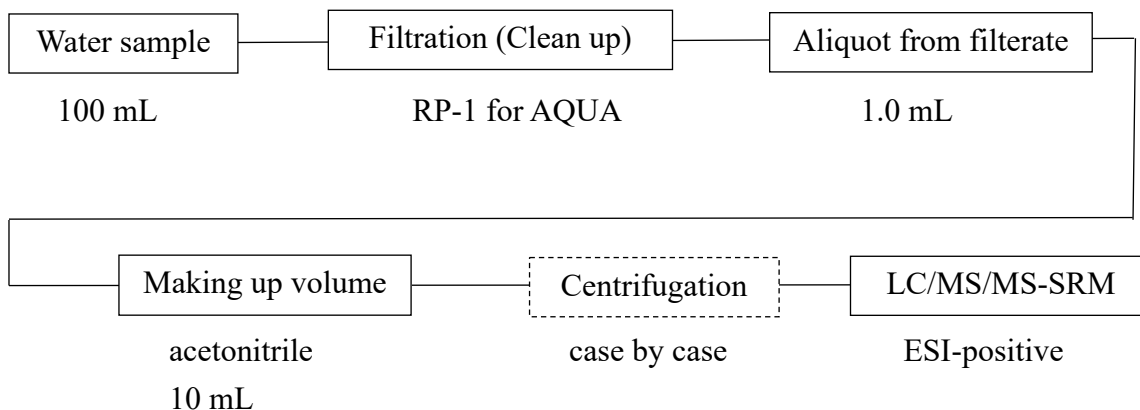
【担当者連絡先】

所属先 : 神奈川県環境科学センター
所属先住所 : 〒254-0014 平塚市四之宮 1-3-39
TEL : 0463-24-3311 FAX : 0463-24-3300
担当者名 : 調査研究部 長谷川敦子
E-mail : hasegawa.j3i@pref.kanagawa.jp

Tetramethylammonium hydroxide

An analytical method has been developed for the determination of tetramethyl ammonium hydroxide in environmental water samples by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC/MS/MS) in ESI (electrospray ionization) positive mode. Precursor ion $[M-OH]^+$ -selected reaction monitoring (SRM) is conducted for quantification; the mass transitions of m/z 74.15 > 58.15 and m/z 74.15 > 59.15 are used for detection of Tetramethylammonium hydroxide, respectively.

A hundred mL of sample water is treated with solid phase extraction cartridge (GL science InertSep SlimJ RP-1 for AQUA), taken aliquot (1 mL) from filtrate, not cartridge, and made up volume to 10 mL with acetonitrile and determined by LC/MS/MS-SRM analysis. The method detection limit (MDL) and the method quantification limit (MQL) are 0.12 $\mu\text{g/L}$ and 0.31 $\mu\text{g/L}$, respectively. The recovery of target from river water was 101% (CV 6.1%). The concentrations of target in river and sea waters at Kanagawa area were less than MDL.



物質名	分析法フローチャート	備 考
テトラメチルアンモニウム=ヒドロキシド 別名：水酸化テトラメチルアンモニウム、TMAH	【水質】 <pre> graph LR A[水質試料 100 mL] --> B[ろ過 (クリーンアップ) RP-1 for AQUA] B --> C[ろ液から分取 1.0 mL] C --> D[定容 アセトリルで 10 mL] D --> E[遠心分離 必要に応じて] E --> F[LC/MS/MS-SRM ESI-positive] </pre>	分析原理： LC/MS/MS-SRM ESI-Positive 検出下限値： 【水質】(μg/L) 0.12 分析条件： 機器 LC/MS： Shimadzu製 LCMS-8050 カラム Waters 製 Acquity UPLC CSH Fluoro-Phenyl 50 mm × 2.1 mm , 1.7 μm

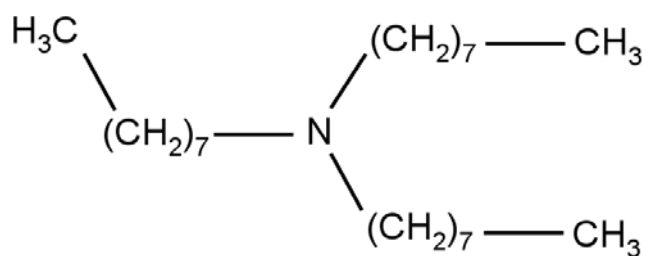
トリオクチルアミン

Trioctylamine

IUPAC 名：Trioctan-1-ylamine

別名：トリ-*n*-オクチルアミンTri-*n*-octylamine

【対象物質の構造】



CAS 番号：1116-76-3

分子式：C₂₄H₅₁N

【物理化学的性状】

項目	値	出典
分子量	353.67 ～353.76	1
モライイトビック質量	353.4022	-
比重	0.809 g/mL (25°C)	2
沸点	365 ～367 °C	1
融点	-34 °C	1
蒸気圧	0.93 ～4 hPa (168 ～184 °C)	1
水溶解度	8.659×10 ⁻⁵ g/L(25°C)	3
log P _{ow}	6.3	1
引火点	196 °C	1

【毒性、用途等】

〔毒性〕

環境中運命 ⁴⁾	分解性	難分解性
	生物濃縮性	低濃縮性
健康影響 ¹⁾	急性毒性	腹腔内注射：LD ₅₀ ：1 g/kg（ラット） LC _{Lo} ：63 mg/kg（マウス）

〔用途〕

非鉄金属の抽出溶剤、有機酸の回収、廃水処理⁵⁾

出典

- 1) 神奈川県化学物質安全情報提供システム(kis-net)
- 2) Sigma-Aldrich MSDS
- 3) U.S.EPA, Estimation Programs Interface (EPI) Suite v4.1
(<http://www.epa.gov/oppt/exposure/pubs/episuitedi.htm>)
- 4) 国立環境研究所 Webkis-plus（化学物質データベース）
- 5) 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

サロゲート内標準を添加した水質試料をろ過し、ろ紙を超音波抽出した抽出液をろ液に合わせてジクロロメタンで液液抽出する。脱水、濃縮後、シリンジスパイク内標準を添加し、GC/MS-SIM で分析する。

(2) 試薬・器具

【試薬】（注 1）

トリオクチルアミン	：富士フイルム和光純薬製 >97.0%
トリオクチルアミン- <i>d</i> ₆ （トリ（オクチル-1,1- <i>d</i> ₂ ）アミン）	：CDN Isotopes 製 99.4%- <i>d</i> ₆
9-ブromoアントラセン	：Sigma-Aldrich 製 94%
ジクロロメタン、アセトン、 ヘキサン	：関東化学製 残留農薬試験・PCB 試験用 （5000 倍濃縮）

メタノール	: 富士フイルム和光純薬製 残留農薬・PCB 試験用 (5000 倍濃縮)
リン酸	: 関東化学製 特級
無水硫酸ナトリウム	: 関東化学製 残留農薬試験・PCB 試験用
塩化ナトリウム	: 富士フイルム和光純薬製 残留農薬・PCB 試験用
精製水	: Milli-Q 水

【標準液の調製】

〔標準液〕

トリオクチルアミン 20.0 mg を正確に量り取り、アセトンで 100 mL として 200 µg/mL の標準原液を調製する。これをアセトンで希釈し、0.20 µg/mL の標準液を調製する。

〔サロゲート内標準液〕

サロゲート内標準物質（トリオクチルアミン-*d*₆）10.0 mg を正確に量り取り、アセトンで 100 mL として 100 µg/mL のサロゲート内標準原液を調製する。これをアセトンで希釈し、5.0 µg/mL のサロゲート内標準液を調製する。

〔シリンジスパイク内標準液〕

シリンジスパイク内標準物質（9-ブロモアントラセン）100 mg を正確に量り取り、ヘキサンで 100 mL として 1000 µg/mL のシリンジスパイク内標準原液を調製する。これをヘキサンで希釈し、5.0 µg/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〕

標準液をアセトンで順次希釈し、0.20～40 ng/mL の検量線用標準液を調製する。各濃度の検量線用標準液には、サロゲート内標準液及びシリンジスパイク内標準液をそれぞれ 10 ng/mL となるよう添加する。

【器具】（注 2）、（注 3）、（注 4）

ガラス繊維ろ紙 : ADVANTEC 製 GA-100 47 mm (400 °C で 3 時間焼成)
 テフロン製容器 : 細口 1000 mL (密栓できるもの)
 吸引ろ過装置、超音波洗浄器、振とう機、ロータリーエバポレーター、窒素濃縮装置、分液ロート、メスシリンダー、メスフラスコ、ホールピペット、マイクロシリンジ

(3) 分析法

【試料の採取及び保存等】

環境省「化学物質環境実態調査実施の手引き」(最新版)に従う。

密栓できるテフロン製容器にあらかじめメタノール 50 mL を入れておき、水質試料 500 mL を採取する(注 5)。採取した試料に塩化ナトリウム 15 g (海水では不要) 及びリン酸 1 mL を添加し、冷暗所に保存する。なお、分析には試料の全量を供することとし、試料量は、採取前後の試料容器の重量差と比重(河川水 1.00、塩化ナトリウム添加河川水および海水 1.03 g/mL とする) から算出する。

【試料の前処理及び試験液の調製】

水質試料にサロゲート内標準液(5.0 µg/mL) 2 µL を添加した後、ガラス繊維ろ紙で吸引ろ過を行う。ろ紙をアセトン 10 mL に浸して 10 分間超音波抽出を行い、アセトン抽出液を予めろ液を移し入れた分液ロートに入れる。再度、ろ紙にジクロロメタン 10 mL を加えて同様の操作を繰り返し、ジクロロメタン抽出液を先の分液ロートに合わせる。また、試料容器及びろ過に使用した器具の壁面を少量のアセトン及びジクロロメタンで洗い込み、洗液も分液ロートへ入れる。

分液ロートに塩化ナトリウム 25 g を加え、ジクロロメタン 50 mL で 2 回液液抽出を行う。ジクロロメタン層を無水硫酸ナトリウムで脱水し、ロータリーエバポレーター及び窒素気流下で乾固直前まで濃縮し、アセトンで 1 mL に定容する。その後、シリンジスパイク内標準液(5.0 µg/mL) 2 µL を添加して試験液とする。

【空試験液の調製】

試料水と同量の精製水を用い、【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	: 島津製作所製 GCMS-QP2010 Ultra
使用カラム	: Agilent 製 DB-5MS (30 m × 0.25 mm, 0.25 µm)
カラム温度	: 50 °C (1 min) → 20 °C/min → 300 °C (5 min)
注入口温度	: 300 °C
試料導入方法	: スプリットレス (パージ開始時間 : 1.0 min) 高圧注入法 (300 kPa)
試料注入量	: 2 µL

キャリアーガス	: He (33.7 cm/s)	
インターフェース温度	: 300 °C	
イオン源温度	: 250 °C	
イオン化電圧	: 70 eV	
検出モード	: SIM	
モニターイオン	: トリオクチルアミン	: m/z 254.0 (定量用)
		m/z 156.0 (確認用)
	: トリオクチルアミン- <i>d</i> ₆	: m/z 260.0 (定量用)
		m/z 162.0 (確認用)
	: 9-ブロモアントラセン	: m/z 258.0 (定量用)

〔検量線〕

検量線用標準液2 μLをGC/MSに注入し、対象物質とサロゲート内標準物質の濃度比及び得られたピーク面積比から検量線を作成する。

〔定量〕

試験液 2 μL を GC/MS に注入し、得られた対象物質とサロゲート内標準物質のピーク面積の比を検量線に照らして定量する。

〔濃度の算出〕

水質試料中の濃度 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サロゲート内標準物質に対する対象物質の濃度比

Q : 試料中に添加したサロゲート内標準物質の量 (ng)
(添加したサロゲート内標準液の濃度 (μg/mL) × 添加したサロゲート内標準液の量 (μL))

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。

$Q = 10$ (ng)

(添加したサロゲート内標準液の濃度 (5.0 ng/μL) × 添加したサロゲート内標準液の量 (2.0 μL))

$V = 0.50$ (L)

即ち、

$$C = R \times 20 \text{ (ng/L)}$$

である。

〔サロゲート回収率の算出〕

「検量線用標準液のサロゲート内標準物質のピーク面積／シリンジスパイク内標準物質のピーク面積」の平均を 100 とし、「試験液のサロゲート内標準物質のピーク面積／シリンジスパイク内標準物質のピーク面積」からサロゲート回収率を算出する。サロゲート回収率は「化学物質環境実態調査実施の手引き」（最新版）に従って 50～120%の範囲を目安とする。

〔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 6）。

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)
トリオクチルアミン	0.12	0.50	1.0	0.00012

〔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 7）。

表 2 MDL 及び MQL 算出の結果

物質名	試料	試料量 (L)	最終液量 (mL)	MDL (μg/L)	MQL (μg/L)
トリオクチルアミン	河川水	0.50	1.0	0.00014	0.00036

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）計量器具については JIS R 3505 に記載のクラス A のガラス器具を使用

する。

- (注 3) 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 4) テフロン製容器及びガラス器具は、洗剤で洗浄、精製水ですすぎ乾燥後、さらにアセトンで洗浄し乾燥させる。
- (注 5) トリオクチルアミンは壁面等への吸着性が非常に強いため、試料容器にはテフロン製容器を用い、メタノールを添加する。

(注 6) IDL は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 28 年 3 月)に従い、表 3 のとおり算出した。測定時のクロマトグラムを図 1-1～図 1-3 に示す。

表 3 IDL の算出結果 (詳細)

物質名	トリオクチルアミン
試料量 (L)	0.50
最終液量 (mL)	1.0
注入液濃度 (ng/mL)	0.20
注入量 (pg)	0.40
装置注入液量 (μL)	2.0
結果 1 (pg)	0.408
結果 2 (pg)	0.353
結果 3 (pg)	0.383
結果 4 (pg)	0.420
結果 5 (pg)	0.449
結果 6 (pg)	0.411
結果 7 (pg)	0.432
平均値 (pg)	0.4079
標準偏差(σ_{n-1}) (pg)	0.0319
IDL (pg)*	0.12
IDL 試料換算値 (ng/L)	0.12
S/N 比	10
CV (%)	7.8

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

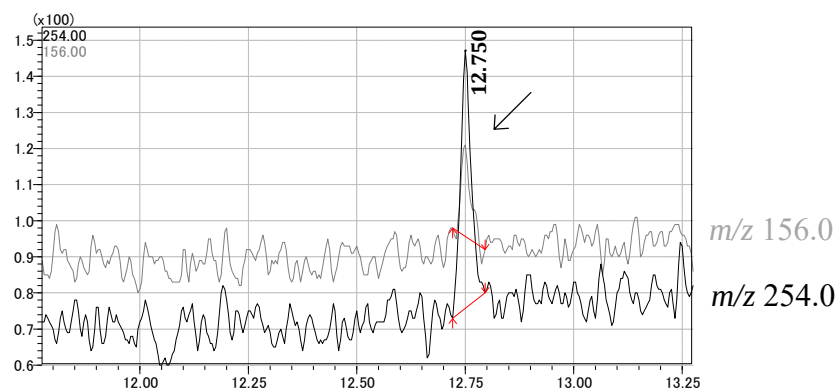


図 1-1 IDL 測定時のクロマトグラム (トリオクチルアミン (0.20 ng/mL))

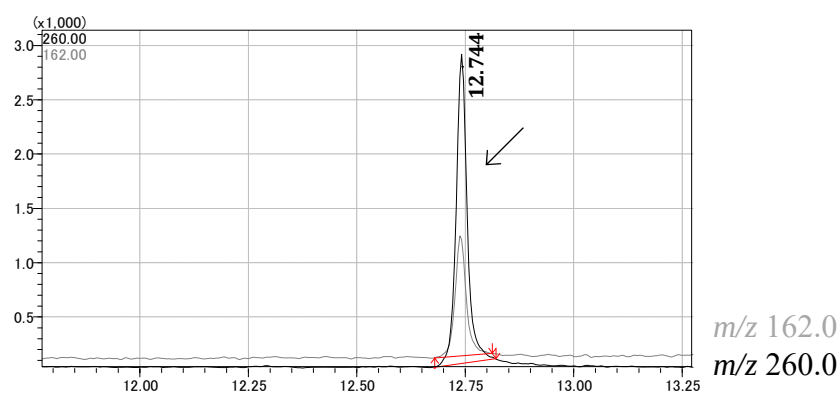


図 1-2 IDL 測定時のクロマトグラム (トリオクチルアミン- d_6 (10 ng/mL))

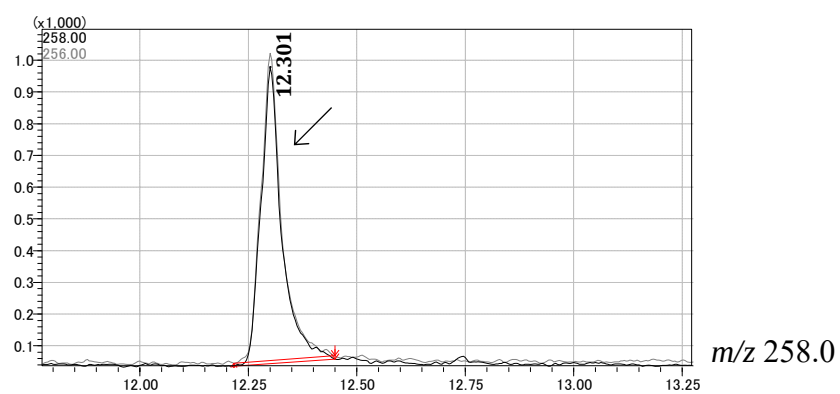


図 1-3 IDL 測定時のクロマトグラム (9-ブロモアントラセン (10 ng/mL))

(注 7) 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)に従い、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 2-3 に示す。

表 4 MDL 及び MQL の算出結果 (詳細) *1

物質名	トリオクチル アミン	補正後 回収率(%)	サロゲート 回収率(%)
試料	河川水	-	-
試料量 (L)	0.50	-	-
標準添加量 (ng)	0.40	-	-
試料換算濃度 (ng/L)	0.80	-	-
最終液量 (mL)	1.0	-	-
注入液濃度(ng/mL)	0.40	-	-
装置注入液量 (μL)	2.0	-	-
操作ブランク 平均値 (ng/L)*2	< 0.14	-	94
無添加試料 (ng/L)*3	< 0.14	-	96
結果 1 (ng/L)	0.727	91	92
結果 2 (ng/L)	0.748	94	91
結果 3 (ng/L)	0.673	84	89
結果 4 (ng/L)	0.754	94	90
結果 5 (ng/L)	0.756	94	94
結果 6 (ng/L)	0.672	84	94
結果 7 (ng/L)	0.721	90	96
平均値 (ng/L)	0.7216	90.2	92.2
標準偏差(σ _{n-1}) (ng/L)	0.0362		
MDL (ng/L)*4	0.14		
MQL (ng/L)*5	0.36		
S/N 比	14		
CV (%)	5.0		

*1:定量結果は、サロゲート法により補正した値である。

*2: 空試験液を測定した値の平均値 (n=2)

*3: 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 (n=1)

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

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

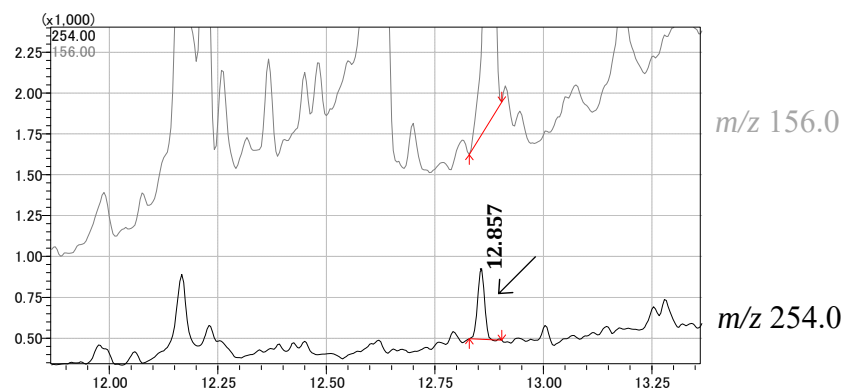


図 2-1 MDL 測定時のクロマトグラム (トリオクチルアミン)
(河川水、試料換算濃度 0.00080 $\mu\text{g/L}$)

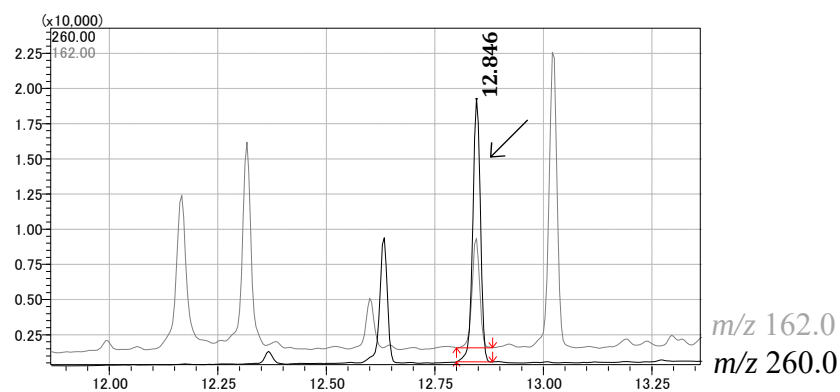


図 2-2 MDL 測定時のクロマトグラム (トリオクチルアミン- d_6 (10 ng/mL))

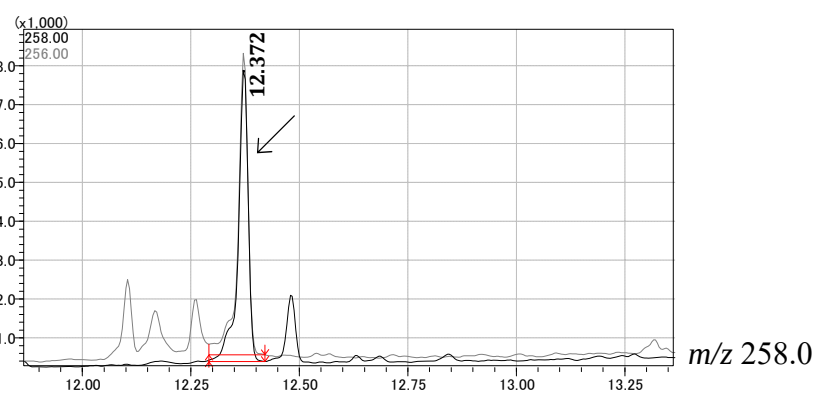


図 2-3 MDL 測定時のクロマトグラム (9-ブロモアントラセン(10 ng/mL))

§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3に示す。

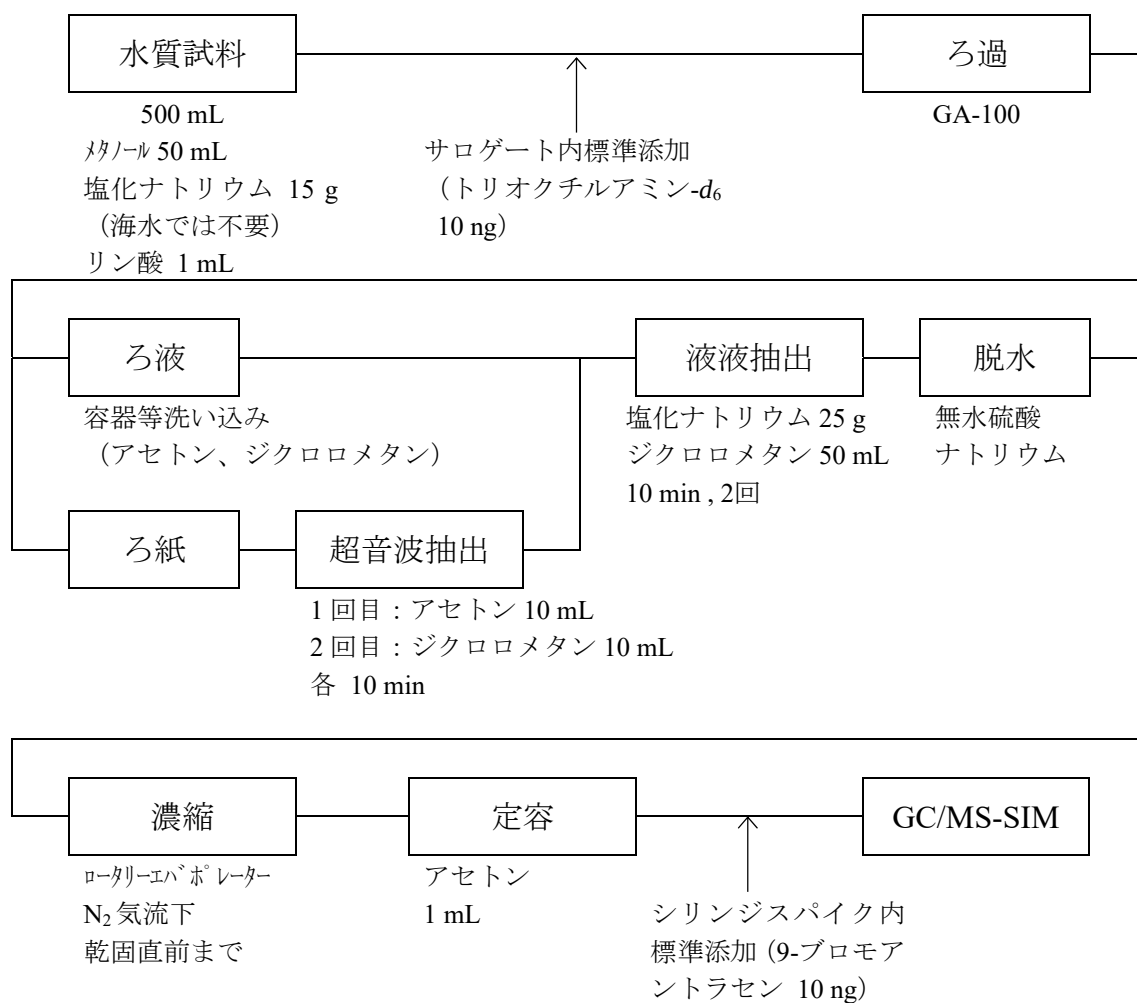


図3 分析法のフローチャート

[検量線]

検量線を図 4-1 及び図 4-2 に、検量線作成用データを表 5 に示す。

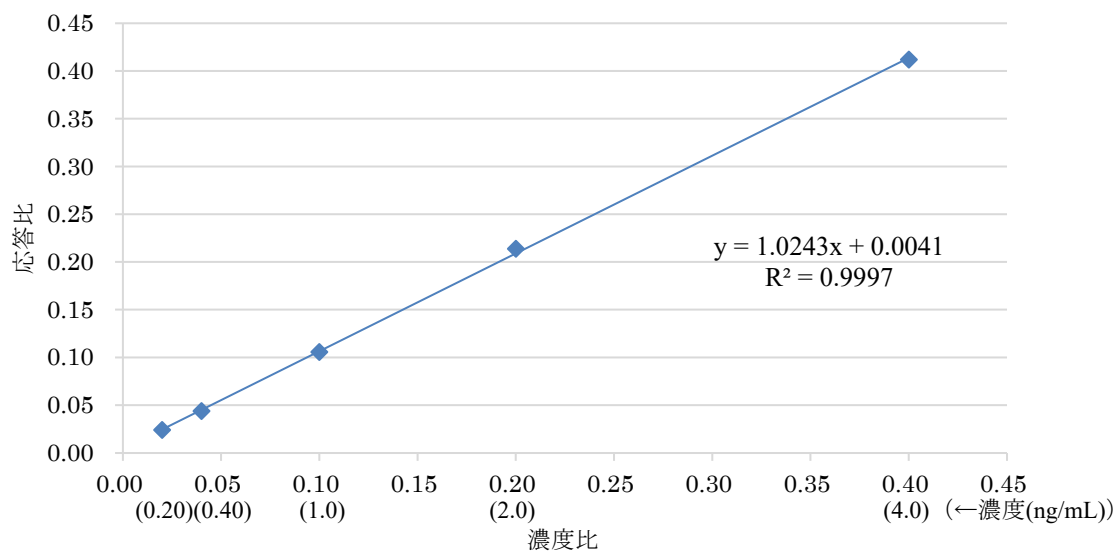


図 4-1 低濃度検量線
(0.20～4.0 ng/mL サロゲート内標準物質：10 ng/mL)

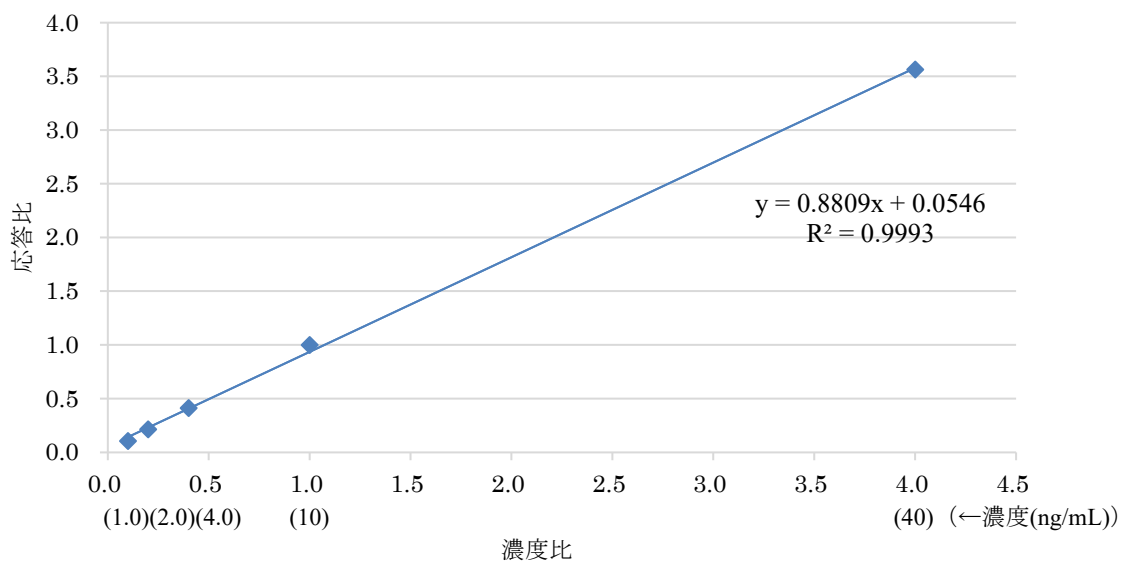


図 4-2 高濃度検量線
(1.0～40 ng/mL サロゲート内標準物質：10 ng/mL)

表 5 検量線作成用データ

標準液濃度 (ng/mL) (C _s)	濃度比 (C _s /Cis*)	応答値		応答比 (As/Ais)
		対象物質(As)	内標準物質(Ais)	
		【トリオクチル アミン】 (m/z 254.0)	【トリオクチル アミン-d ₆ 】 (m/z 260.0)	
0.20	0.020	369	15373	0.0240
0.40	0.040	650	14867	0.0437
1.0	0.10	1582	14975	0.106
2.0	0.20	3004	14057	0.214
4.0	0.40	6317	15340	0.412
10	1.0	14407	14416	0.999
40	4.0	65656	18424	3.56

Cis* : サロゲート内標準物質濃度 10 ng/mL

[クロマトグラム]

検量線用標準液のクロマトグラムを図5に示す。

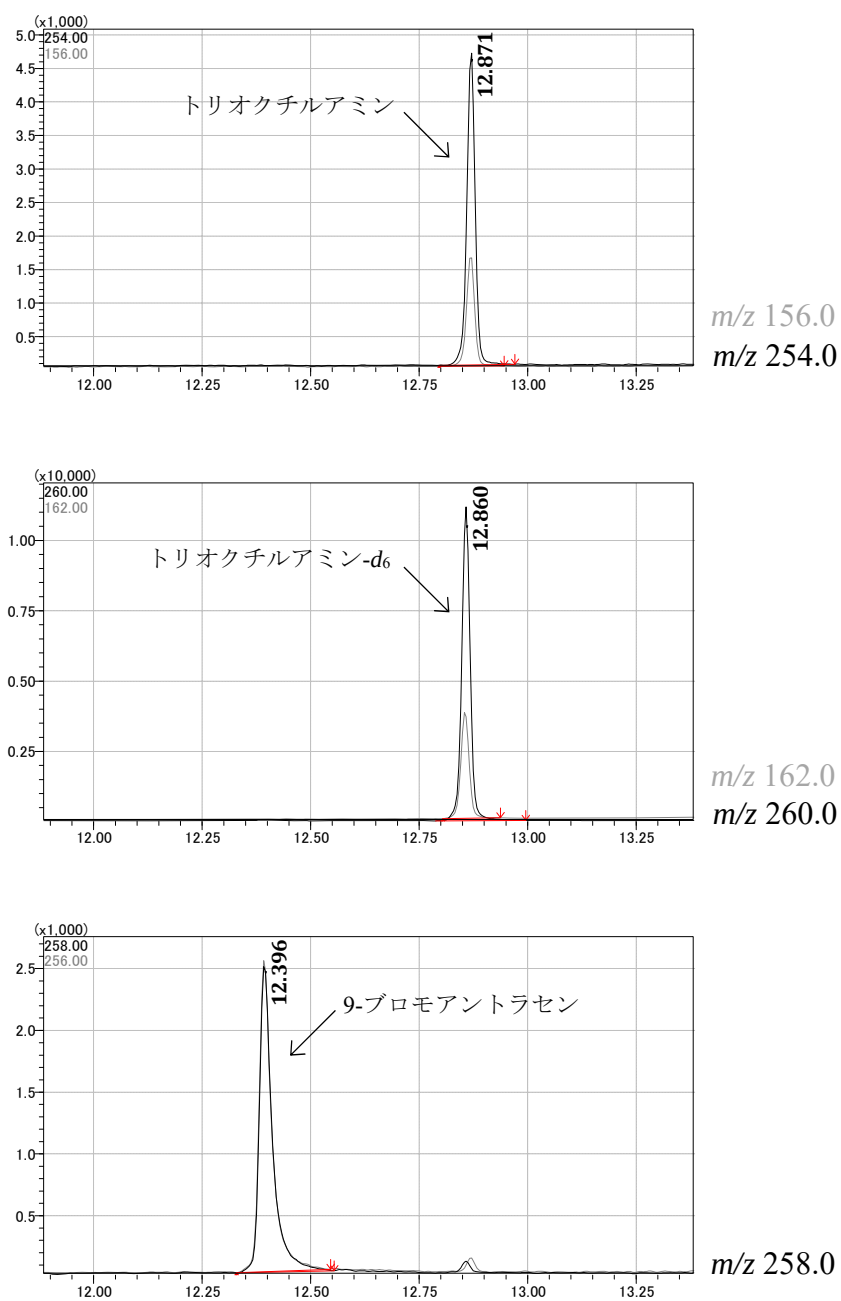


図5 標準液のクロマトグラム
(対象物質：4.0 ng/mL、サロゲート内標準物質：10 ng/mL)

[マススペクトル]

検量線用標準液のマススペクトルを図 6-1～図 6-3 に示す。

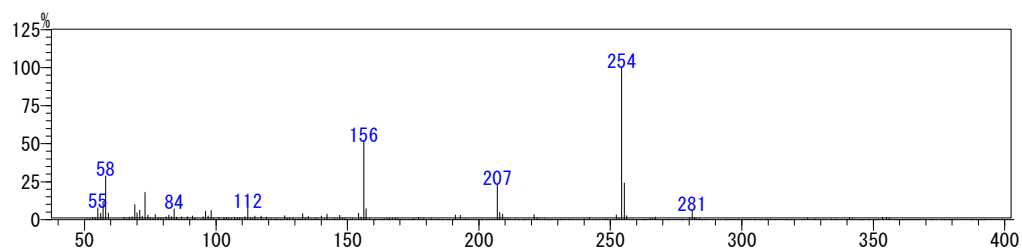


図 6-1 トリオクチルアミンのマススペクトル

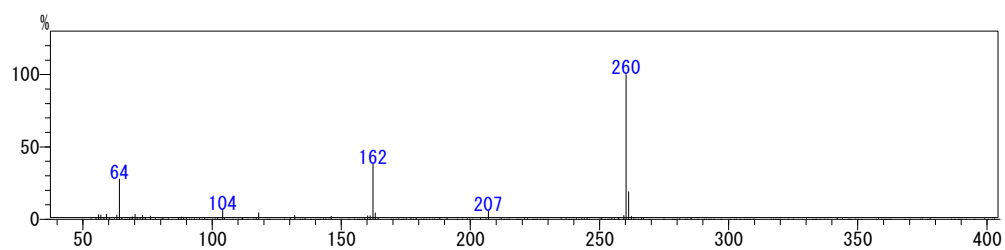


図 6-2 トリオクチルアミン- d_6 のマススペクトル

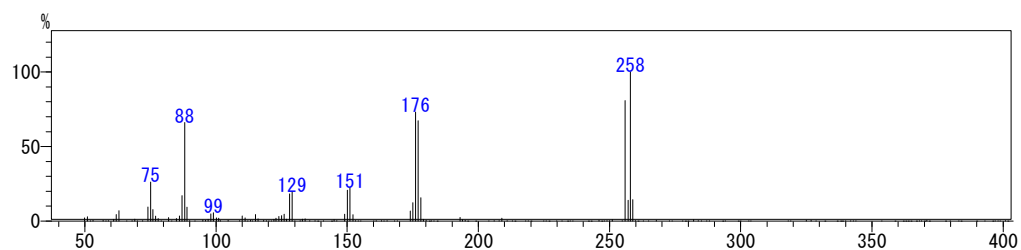


図 6-3 9-ブロモアントラセンのマススペクトル

〔操作ブランク〕

操作ブランク試験の結果を図 7 に示す。対象物質は MDL 未満(<0.00014 μ g/L)であった。

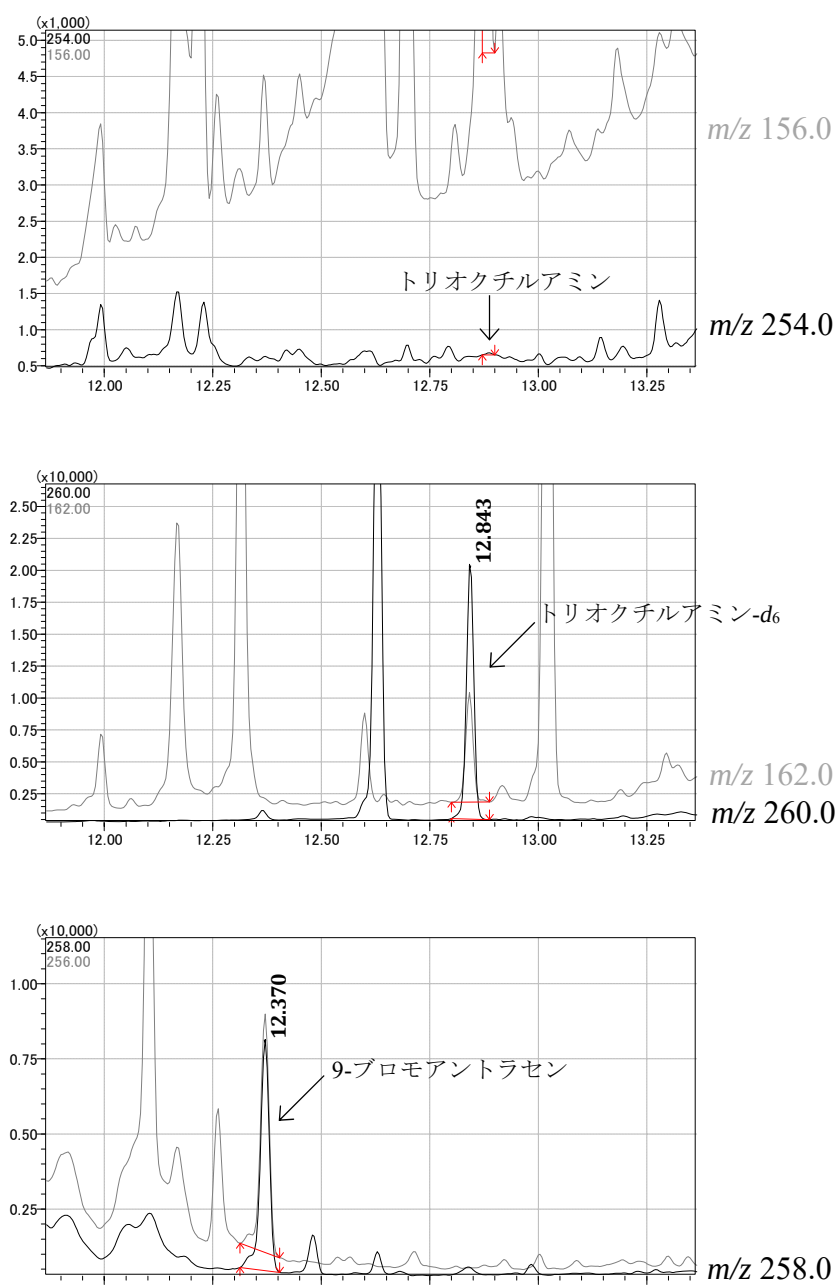


図 7 操作ブランク試験試料のクロマトグラム

〔添加回収試験〕

河川水（信濃川）及び海水（巻漁港）への添加回収試験結果を表 6 に、クロマトグラムを図 8-1～図 8-4 に示す。

表 6 添加回収試験結果

試料	試料量 (L)	添加量 (ng)	試験数	検出濃度* (ng/L)	回収率* (%)	変動係数 (%)	サロゲート 回収率(%)
河川水	0.50	0	1	< 0.14	-	-	96
（信濃川）	0.50	0.40	7	0.72	90	5.0	92
海水	0.50	0	1	< 0.14	-	-	104
（巻漁港）	0.50	3.0	5	5.19	86	2.1	99

*：検出濃度及び回収率はサロゲート補正後の値

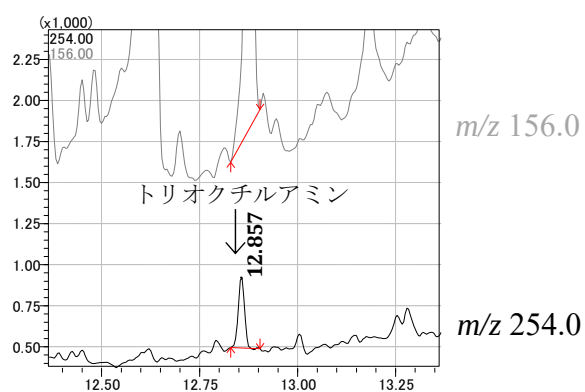


図 8-1 添加回収試験試料のクロマトグラム（河川水、添加）

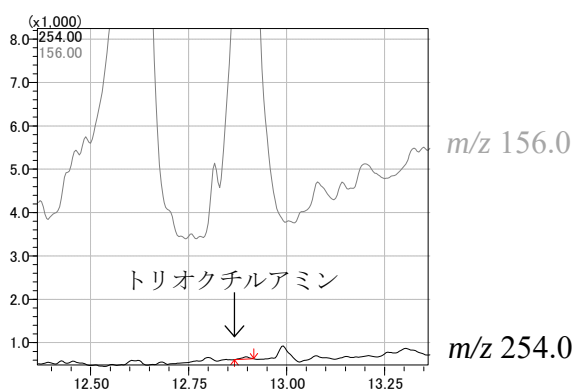


図 8-2 添加回収試験試料のクロマトグラム（河川水、無添加）

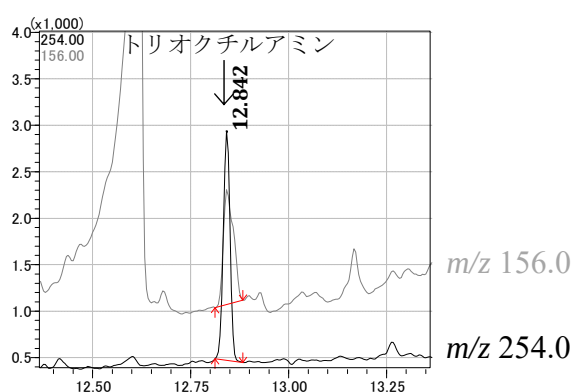


図 8-3 添加回収試験試料のクロマトグラム（海水、添加）

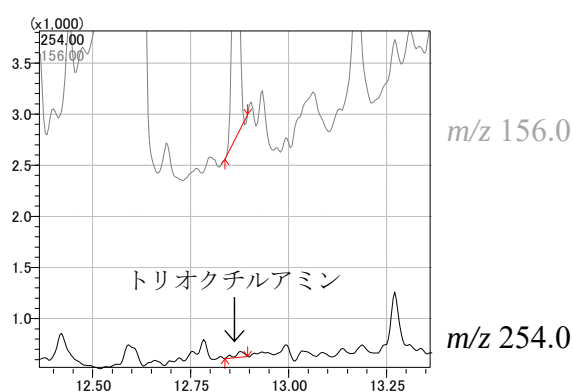


図 8-4 添加回収試験試料のクロマトグラム（海水、無添加）

〔分解性スクリーニング試験〕

分解性スクリーニング試験結果を表 7 に示す。

pH5 及び pH7 では 7 日後の残存率は良好であった。pH9 ではわずかに残存率の低下が認められ、7 日後の残存率は 79%となった。

表 7 分解性スクリーニング試験結果

pH	試験数	調製濃度 (ng/mL)	検出濃度*1 (ng/mL) (残存率*2 (%))		
			1 時間放置後	7 日間放置後	
				暗所	明所
5	2	3.0	3.01 (100)	2.94 (98)	-
7	2	3.0	3.09 (103)	3.01 (100)	2.95 (98)
9	2	3.0	3.00 (100)	2.38 (79)	-

*1：検出濃度はサロゲート補正後の値

*2：残存率は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 に示す。

河川水、海水の保存性試験は各試料 0.50 L に 3.0 ng のトリオクチルアミンを添加し、7 日後にサロゲート内標準を添加して測定した。また、試料保存時に塩化ナトリウム（河川水のみ）及びリン酸を添加した場合と添加しない場合を比較した。粗抽出液の保存性試験は、河川水 0.50 L に標準物質 3.0 ng とサロゲート内標準を添加した試料の抽出液を冷蔵保存し、14 日後に測定した。

保存性試験の結果、リン酸無添加の海水で 7 日後の残存率が 70%以下になったが、リン酸を添加した試料の保存性は河川水、海水ともに 7 日後の残存率が 90%以上となり良好であった。

なお、粗抽出液（14 日後）及び標準液（1 ヶ月後）の残存率はいずれも良好であった。

表 8 保存性試験結果

試料名		試験 数	調製濃度 (ng/mL)	検出濃度 ^{*1} (ng/mL) (残存率 ^{*2} (%))		
				7 日間	14 日間	1 ヶ月
河川水 pH 7.3 SS 11 mg/L	無添加	2	3.0	2.45 (82)	-	-
	NaCl、リン酸添加 pH 2.0	2	3.0	2.82 (94)	-	-
海水 pH 8.1 SS 2 mg/L	無添加	2	3.0	2.06 (69)	-	-
	リン酸添加 pH 1.9	2	3.0	2.96 (99)	-	-
粗抽出液		2	3.0	-	2.88 (96)	-
標準液		2	3.0	-	-	3.00 (100)

*1：検出濃度はサロゲート補正後の値

*2：残存率は調製濃度に対する検出濃度の割合

2021(R3)調査において、MDL試験用の河川水粗抽出液を65日間保存してから測定したところ、トリオクチルアミンの残存率(%)は 97%で安定であると報告された。(2022(R4)精査等検討会コメント)

〔抽出方法の検討〕

検討当初はろ過工程のない液液抽出のみの方法で検討を行っていたが、試料性状によってサロゲート回収率がばらつき、50%に満たない場合もあった（表 9）。

表 9 液液抽出のみ（ろ過工程なし）の添加回収試験結果

試料	試料量 (L)	添加量 (ng)	試験数	検出濃度* (ng/mL)	回収率* (%)	サロゲート 回収率(%)
河川水 pH 7.3 SS 31 mg/L	0.50	3.0	2	2.68	89	76
海水 pH 8.0 SS 33 mg/L	0.50	3.0	2	3.78	126	16
海水 pH 8.0 SS 8 mg/L	0.50	3.0	2	2.49	83	34
河川水 pH 6.9 SS 6 mg/L	0.50	3.0	1	3.11	104	83

*：検出濃度及び回収率はサロゲート補正後の値

サロゲート回収率が低い原因として浮遊物質(SS)への吸着が疑われたため、ろ過を行って分離した SS に対して超音波抽出を行う工程の追加を検討した。結果を表 10 に示す。

海水 0.50 L にトリオクチルアミン 3.0 ng 及びサロゲート内標準を添加し、抽出方法による比較を行ったところ、ろ過操作をせず液液抽出したときのサロゲート回収率が 56%に対し、ろ紙の超音波抽出液をろ液に合わせて液液抽出する方法では 92～110%となった。また、ろ紙分とろ液分のそれぞれのサロゲート回収率を確認したところ、ろ紙分で 68%、ろ液分で 40%であった。

この結果から、試料水のろ過を行い、ろ紙を超音波抽出した抽出液をろ液と合わせて液液抽出する方法とした。

表 10 抽出方法の検討

試料		添加量 (ng)	試験 数	検出濃度* (ng/mL)	回収率* (%)	サロゲート 回収率(%)
海水 pH 8.0 SS 6 mg/L	液液抽出のみ	3.0	1	3.54	118	56
	ろ紙超音波抽出 →液液抽出	3.0	3	3.08	103	92
				3.05	102	110
				3.05	102	110
	ろ紙分	3.0	1	2.60	87	68
	ろ液分			3.84	128	40

*：検出濃度及び回収率はサロゲート補正後の値

〔環境試料の分析〕

本法により、新潟市内の河川水及び海水を分析した。河川水と海水のいずれからトリオクチルアミンは検出されなかった。

【評価】

本法における、トリオクチルアミンの MDL は 0.00014 µg/L、MQL は 0.00036 µg/L であり、添加回収試験での回収率は河川水で 90% (サロゲート回収率 92%、変動係数 5.0%)、海水で 86% (サロゲート回収率 99%、変動係数 2.1%) であった。なお、新潟市内の河川水及び海水を測定したところ、いずれも MDL 未満であった。

以上の結果から、本分析法は環境水中のトリオクチルアミンについて 0.0004 µg/L レベルの定量に適用可能であると判断される。

【担当者連絡先】

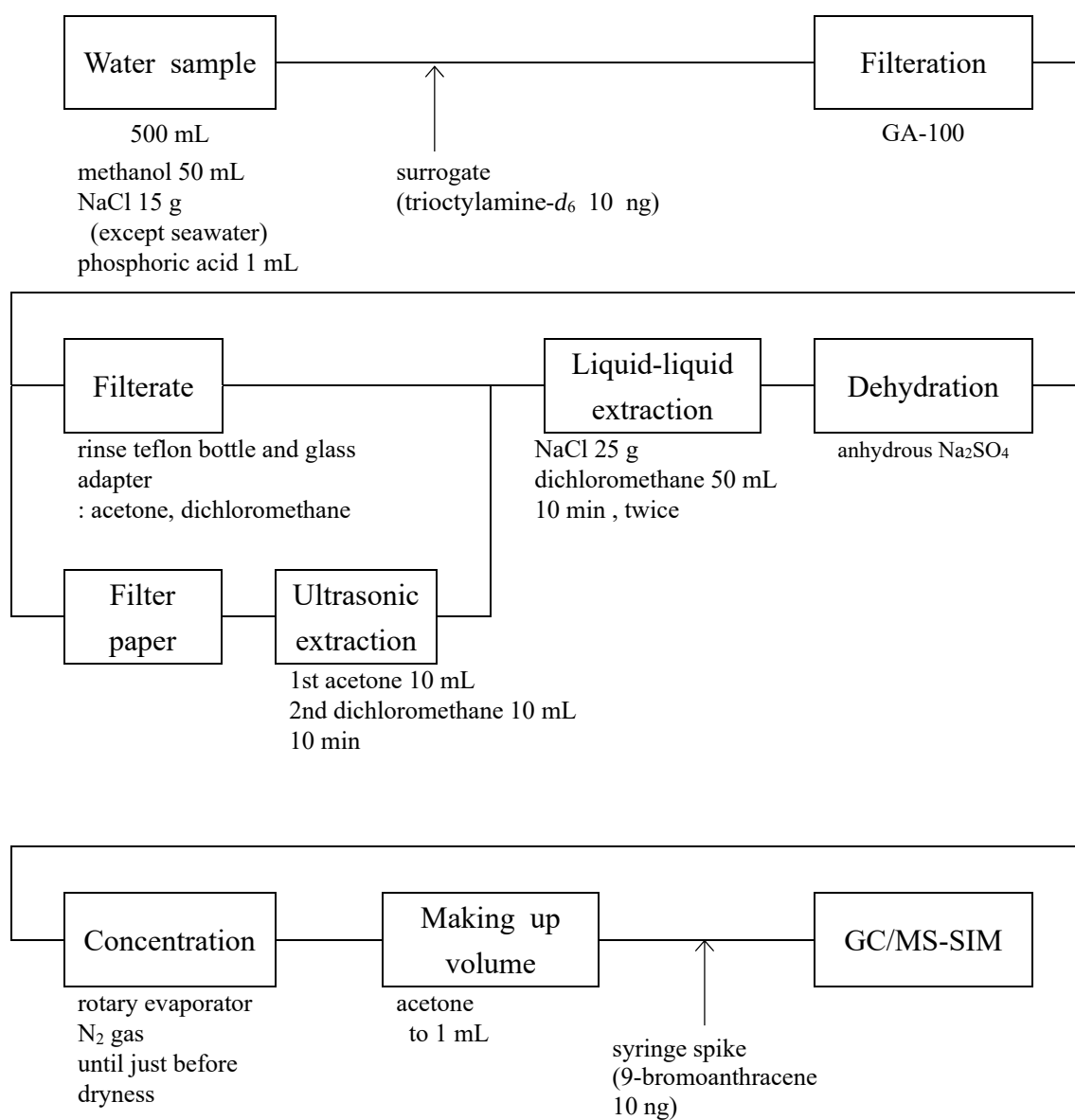
所属先名称 : 新潟県保健環境科学研究所 調査研究室 水質科学科
 所属先住所 : 〒950-2144 新潟県新潟市西区曾和 314-1
 TEL : 025-263-9417 FAX : 025-263-9410
 担当者名 : 岩田 聡美
 E-mail : iwata.satomi@pref.niigata.lg.jp

Trioctylamine

This method provides procedures for the determination of trioctylamine in water samples by gas chromatography/mass spectrometry with selected-ion monitoring (GC/MS-SIM). After sampling, 50 mL of methanol, 15 g NaCl (except seawater) and 1 mL of phosphoric acid are added to a water sample (500 mL). The sample solution is spiked with 10 ng of trioctylamine-*d*₆ as a surrogate standard and filtered with a glass fiber filter paper. The filter paper is extracted by ultrasonication with acetone (10 mL) and dichloromethane (10 mL), and then two extracts are added to the filtrate containing 25 g of NaCl. The sample is extracted with 50 mL of dichloromethane, twice. The extract is dehydrated with anhydrous sodium sulfate and concentrated with a rotary evaporator and a nitrogen stream until just before dryness. Then the concentrate is made up volume to 1 mL with acetone and spiked with 9-bromoanthracene (10 ng) as a syringe spike. The final solution is measured by GC/MS-SIM.

The instrument detection limit (IDL) is 0.12 pg. The method detection limit (MDL) and the method quantification limit (MQL) are 0.00014 µg/L and 0.00036 µg/L, respectively. The average of recovery (*n* = 7) from 0.40 ng added to river water was 90%, and the relative standard deviation was 5.0%. The average of recovery (*n* = 5) from 3.0 ng added to seawater was 86%, and the relative standard deviation was 2.1%.

Using this method, trioctylamine was not detected in river water and seawater in Niigata City.

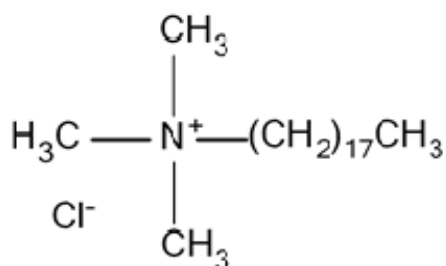


物質名	分析法フローチャート	備 考
トリオクチルアミン 別名： トリ- <i>n</i> -オクチルアミン	【水質】 <pre> graph TD A[水質試料 500 mL メタノール 50 mL 塩化ナトリウム 15 g (海水では不要) リン酸 1 mL] --> B[ろ過 GA-100] B --> C[ろ液 容器等洗い込み (アセトン、ジクロロメタン)] C --> D[ろ紙] D --> E[超音波抽出 1回目：アセトン 10 mL 2回目：ジクロロメタン 10 mL 各 10 min] E --> F[液液抽出 塩化ナトリウム 25 g ジクロロメタン 50 mL 10 min, 2回] F --> G[脱水 無水硫酸ナトリウム] G --> H[濃縮 ロータリーエバポレーター N₂気流下 乾固直前まで] H --> I[定容 アセトン 1 mL] I --> J[GC/MS-SIM] K[シリンジスパイク 内標準添加 (9-ブロモアントラセン 10 ng)] --> J L[シリンジスパイク 内標準添加 (トリオクチルアミン-d₆ 10 ng)] --> B </pre> 500 mL メタノール 50 mL 塩化ナトリウム 15 g (海水では不要) リン酸 1 mL ろ過 GA-100 ろ液 容器等洗い込み (アセトン、ジクロロメタン) ろ紙 超音波抽出 1回目：アセトン 10 mL 2回目：ジクロロメタン 10 mL 各 10 min 液液抽出 塩化ナトリウム 25 g ジクロロメタン 50 mL 10 min, 2回 脱水 無水硫酸ナトリウム 濃縮 ロータリーエバポレーター N₂気流下 乾固直前まで 定容 アセトン 1 mL GC/MS-SIM シリンジスパイク 内標準添加 (9-ブロモアントラセン 10 ng) シリンジスパイク 内標準添加 (トリオクチルアミン-d₆ 10 ng)	分析原理： GC/MS-SIM 検出下限値： 【水質】 (μg/L) 0.00014 分析条件： 機器 GC/MS： GCMS-QP2010 Ultra カラム： DB-5MS 30 m×0.25 mm, 0.25 μm

トリメチル(オクタデシル)アンモニウム及びその塩

Trimethyl(octadecyl)ammonium chloride and its salts

【対象物質の構造】



CAS 番号：112-03-8

分子式：C₂₁H₄₆ClN

(塩化物として)

【物理化学的性状】(塩化物として)

分子量	モライトビツク 質量	形状 ¹⁾	色 ¹⁾	水溶解度 ²⁾ (g/L)	比重	沸点 ³⁾ (°C)	融点 ³⁾ (°C)	蒸気圧 ⁴⁾ (mmHG)	log P _{ow} ⁴⁾
348.05	347.33	粉末	白色～ 微褐色	348 (20°C)	-	249	104	5.35×10 ⁻¹¹ (25°C)	4.17

【毒性、用途】

[毒性]

急性毒性情報⁵⁾：マウス（経口） LD₅₀ = 536 mg/kgラット（経皮） LD₅₀ = 1,600 mg/kg[用途]⁶⁾

コンデショニング剤原料、帯電防止剤

出典：

- 1) SDS 富士フイルム和光純薬工業(2019)：80%トリメチルステアリンアンモニウム＝クロリド（2-プロパノール含有）
- 2) SDS Merck (Sigma-Aldrich) (2021)：Trimethyloctadecylammonium chloride、コロイド溶液の値
- 3) GESTIS Substance Database (2016)
- 4) Syracuse Research Corporation (SRC) (2016)

5) ChemID (Access on January 2017)

6) 独立行政法人製品評価技術基盤機構ホームページ「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 6 mol/L 塩酸を添加し、固相カートリッジに通水後、バックフラッシュによりメタノールで溶出させる。メタノールを用いて定容し、LC/MS/MS で定量を行う。

(2) 試薬・器具

【試薬】

トリメチルオクタデシル	: Merck 製 (Sigma-Aldrich 製)、> 95.0%
アンモニウムクロリド	
アセトン	: 富士フイルム和光純薬製、 残留農薬・PCB 分析用 300 倍濃縮
メタノール	: 関東化学製 LC/MS 用
精製水	: Milli-Q Q-POD により精製した水 (対象物質が含まれていないことを確認する)。
ギ酸 (約 99%)	: 富士フイルム和光純薬製、LC/MS 用
6 mol/L 塩酸	: 富士フイルム和光純薬製、容量分析用
固相カートリッジ	: Waters 製 Oasis HLB Plus

【標準液の調製】

〔標準原液〕

トリメチルオクタデシルアンモニウムクロリド 10.0 mg を正確に量り取り、メタノールで 100 mL に溶解し、塩化物として 100 µg/mL 標準原液とする。

〔標準液〕

トリメチルオクタデシルアンモニウムクロリドの 100 µg/mL 標準原液を 1.0 mL 取り、メタノールで 100 mL に希釈して、1.0 µg/mL の標準液を調製する。この溶液は一ヶ月に一度程度の頻度で調製をする。

〔検量線用標準液〕

トリメチルオクタデシルアンモニウムクロリドの 1.0 µg/mL 標準液を 1 mL 分取し、メタノールで 10 mL に希釈して 100 ng/mL を調製する。メタノールで順次希釈し、0.10～100 ng/mL の検量線用標準液を調製する。この溶液は用時調製とする。

【器具】（注 1）（注 2）

自動固相抽出装置 (GL サイエンス製アクアトレース ASPE799 もしくはウォーターズ製 Sep-Pak コンセントレーター)、遠心分離機、遠沈管、200～300 mL ガラス製容器、メスフラスコ、蓋付ガラス試験管、マイクロシリンジ、パステールピペット、マイクロピペット及びガラス製先端チップ 等
ガラス器具は、精製水ですすぎ乾燥後、アセトンで洗浄し乾燥させる。

(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」（最新版）に従う。容量 200～300 mL の密栓できるガラス製容器に水質試料 100 mL を採取する。試料容器は、事前にアセトンで洗浄してから試料採取に用いる。試料に対して、6 mol/L 塩酸を 1 mL 添加して酸性にする。適宜、pH 試験紙等で pH を確認して、酸性でなければ 6 mol/L 塩酸を追加してから冷暗所で保存する。なお、塩酸の添加は、採水現場で行っても良い。

【試料の前処理及び試験液の調製】

水質試料 100 mL を 20 mL/min で固相カートリッジ（注 3）に通水後、試料容器を 20 mL の精製水で洗いこみ、この溶液も固相カートリッジに通水する。固相に窒素ガスを 5 分間通気して乾燥し、バックフラッシュによりメタノール 8 mL で溶出させる。メタノールで 10 mL に定容し、試験液とする。

【空試験液の調製】

試料と同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 条件〕（注 4）

使用機種 : Waters 製 Alliance2695

カラム : 化学物質評価研究機構製 L-column ODS (150 mm × 2.1 mm, 5.0 μm)

リテンションギャップカラム (注 5)
: GL サイエンス製 Delay column for PFAS (30 mm × 3 mm)

移動相 : A : 0.1% ギ酸水溶液、B : メタノール

0 → 0.5 min A : 25 B : 75

0.5 → 5 min A : 25 → 0 B : 75 → 100 linear gradient

5 → 17 min A : 0 B : 100

17 → 18 min A : 0 → 25 B : 100 → 75 linear gradient

17.5 → 30 min A : 25 B : 75

カラム流量 : 0.2 mL/min

カラム温度 : 40℃

試料注入量 : 10 μL

使用機種	: Waters 製 Micromass Quattro micro API
コーンガス流量	: 50 L/hr
デソルベーションガス流量	: N ₂ (700 L/hr)
ソース温度	: 100°C
デソルベーション温度	: 500°C
イオン化法	: ESI-Positive

デュエル タイム (Sec)	コーン 電圧 (V)	キャピラリ ー電圧 (kV)	モニター イオン (<i>m/z</i>)	確認 イオン (<i>m/z</i>)	コリジョン エネルギー (eV)
0.125	60	2.80	312 > 60	312 > 43 312 > 57	28

検量線用標準液 10 μ L を LC/MS/MS に注入して測定を行う。対象物質のピーク面積を検量線の縦軸、対象物質の濃度を横軸とし、最小二乗法により一次式の検量線を作成し、決定係数を計算する。なお、検量線及び検出濃度はすべて塩化物換算値で示す。

試験液 10 μ L を LC/MS/MS に注入して測定を行う。得られたクロマトグラム

上の対象物質のピーク面積を検量線に照らして、対象物質の試験液濃度(ng/mL)を求める。

〔濃度の算出〕

以下の式により、得られた試験液濃度から塩化物としての水質試料中の濃度を算出する。

水質試料中の濃度 (μg/L) = 検出濃度 (ng/mL) × 最終液量 (mL) / 1000 / 試料量 (L)

〔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 6)。

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)
トリメチル(オクタデシル)アン モニウムクロリド及びその塩	0.15	0.10	10	0.0015

〔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 7)。

表 2 MDL 及び MQL の算出結果

物質名	試料	試料量 (mL)	最終液量 (mL)	MDL (μg/L)	MQL (μg/L)
トリメチル(オクタデシル) アンモニウム及びその塩	河川水	100	10	0.0022	0.0061

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) 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 3) 固相カートリッジは予めメタノール 10 mL 及び精製水 10 mL で洗浄してから使用する。

(注4) LC/MS の条件は、本測定に使用した機種 (Waters 製 Alliance2695+Quattro micro API) 特有のものである。

(注5) リテンションギャップカラムは、試料注入口の手前 (装置フロー：ポンプ→インラインフィルター→リテンションギャップカラム→注入口→カラム) に装着する。

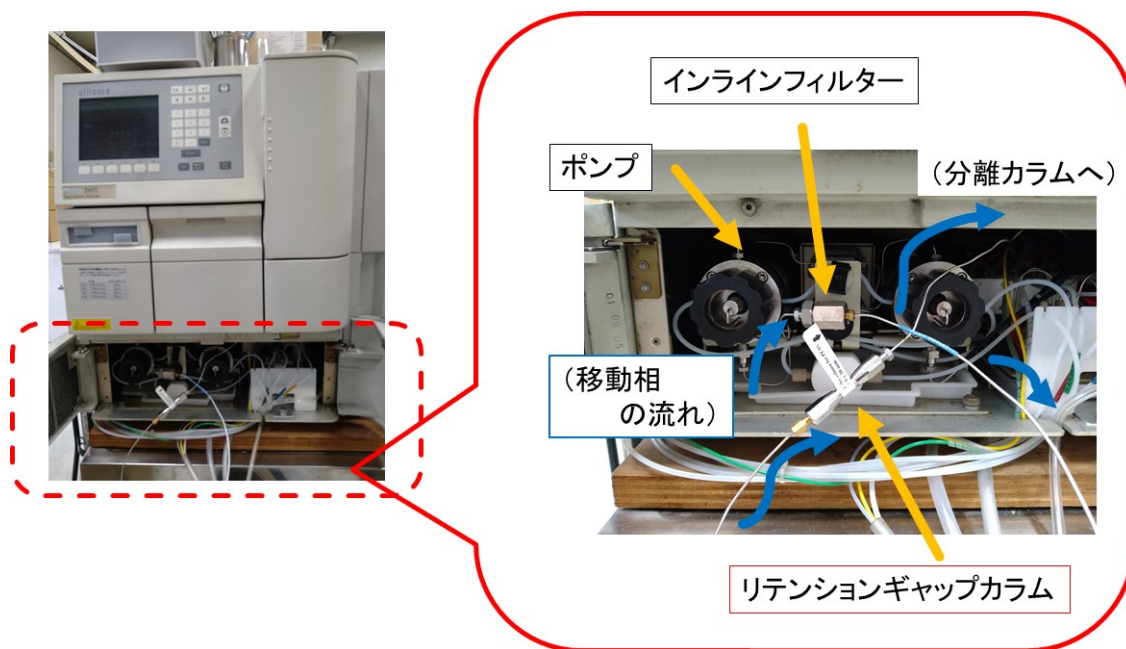


図1 リテンションギャップカラム装着箇所

(注 6) IDL は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 28 年 3 月)に従って、表 3 のとおり算出した。また、IDL 測定時のクロマトグラムを図 2 に示す。

表 3 IDL の算出結果 (詳細)

対象物質名	トリメチル(オクタデシル)アン モニウムクロリド及びその塩
試料量 (mL)	100
最終液量 (mL)	10
注入液濃度 (ng/mL)	0.10
注入量 (pg)	1.0
装置注入液量 (μL)	10
結果 1 (pg)	1.04
結果 2 (pg)	1.05
結果 3 (pg)	1.05
結果 4 (pg)	0.958
結果 5 (pg)	1.06
結果 6 (pg)	1.10
結果 7 (pg)	1.01
結果 8 (pg)	1.07
結果 9 (pg)	1.06
結果 10 (pg)	1.00
平均値 (pg)	1.039
標準偏差(σ_{n-1}) (pg)	0.0403
IDL (pg)*	0.15
IDL 試料換算値 (μg/L)	0.0015
S/N 比	17
CV (%)	3.9

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

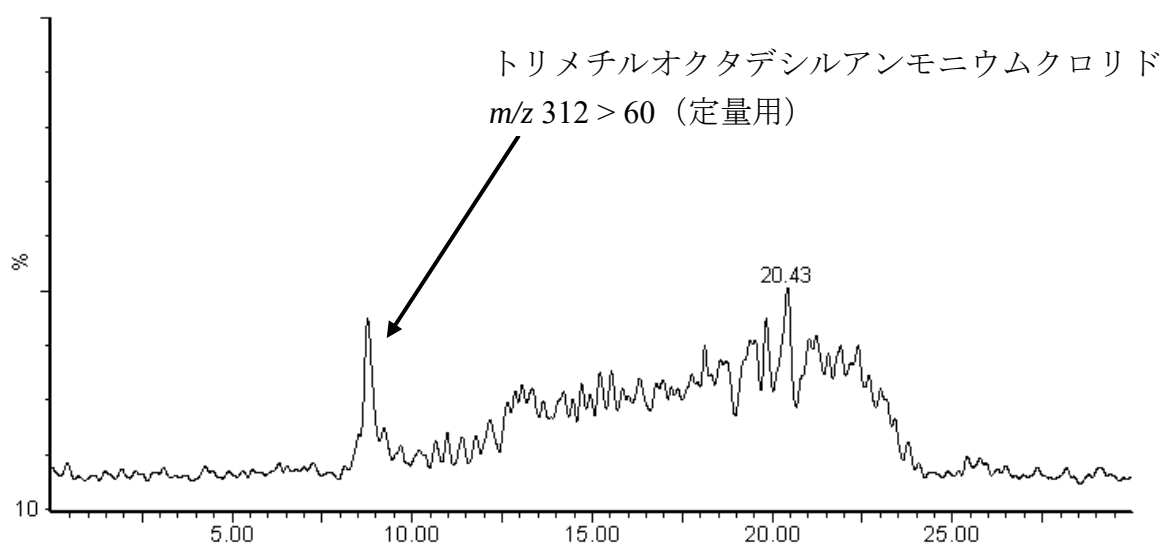


図2 IDL 測定時のクロマトグラム

(注 7) MDL 及び MQL は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 28 年 3 月)に従って、表 4 のとおり算出した。また、MDL 測定時のクロマトグラムを図 3 に示す。なお、試料水からトリメチルオクタデシルアンモニウムクロリドが検出されたため、試料水への標準添加は行っていない。

表 4 MDL 及び MQL の算出結果 (詳細)

対象物質名	トリメチル(オクタデシル)アンモニウム及びその塩
試料	河川水 (名古屋市 荒子川)
試料量 (mL)	100
標準添加量 (ng)	0
最終液量 (mL)	10
装置注入量 (μL)	10
操作ブランク平均 (μg/L) ^{*1}	<0.0022
結果 1 (μg/L)	0.0159
結果 2 (μg/L)	0.0148
結果 3 (μg/L)	0.0151
結果 4 (μg/L)	0.0147
結果 5 (μg/L)	0.0155
結果 6 (μg/L)	0.0166
結果 7 (μg/L)	0.0158
結果 8 (μg/L)	0.0149
結果 9 (μg/L)	0.0158
結果 10 (μg/L)	0.0151
平均値 (μg/L)	0.01543
標準偏差 (σ _{n-1}) (μg/L)	0.000611
MDL (μg/L) ^{*2}	0.0022
MQL (μg/L) ^{*3}	0.0061
S/N 比	54
CV (%)	4.0

*1 操作ブランク平均：空試験液を測定した値 (n=2)

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

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

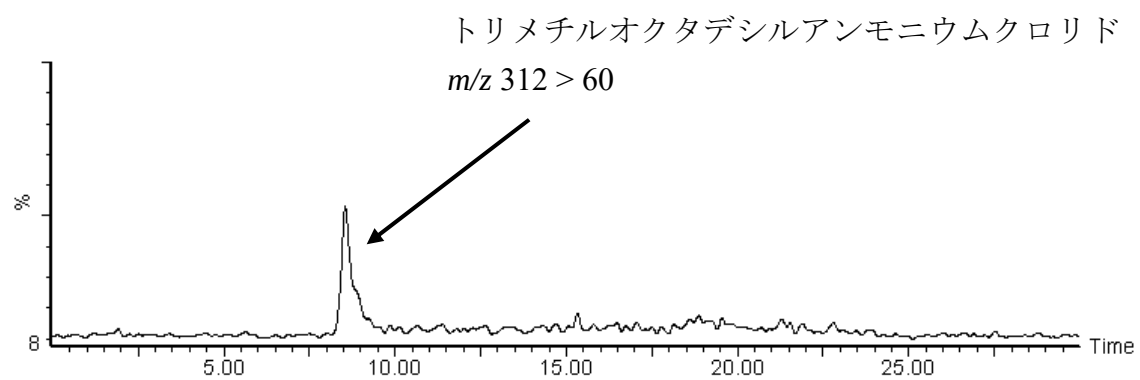


図3 MDL 測定時のクロマトグラム

§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4に示す。

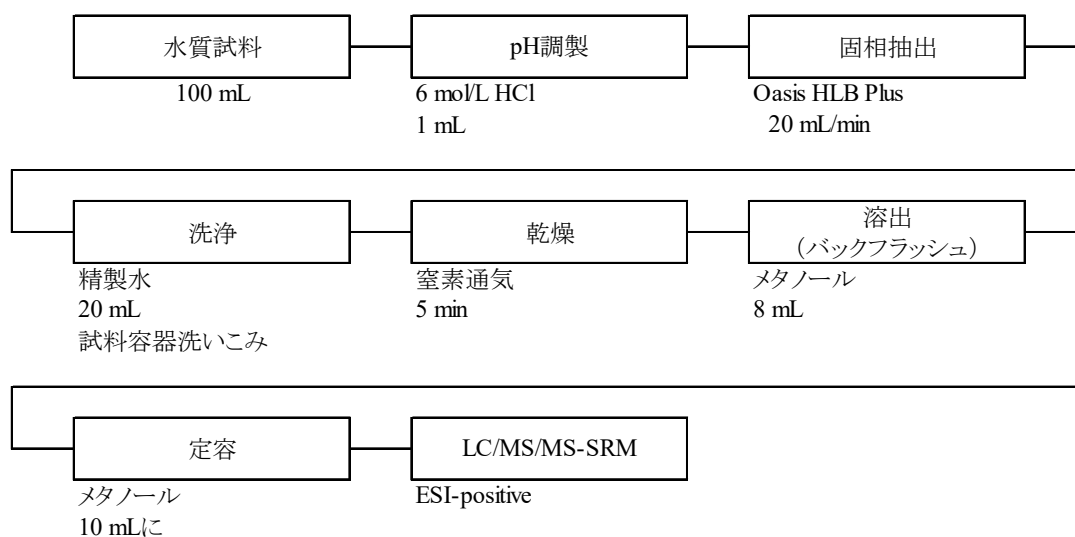


図4 分析法のフローチャート

〔検量線〕

トリメチルオクタデシルアンモニウムクロリドの検量線を図5、検量線作成用データを表5に示す。

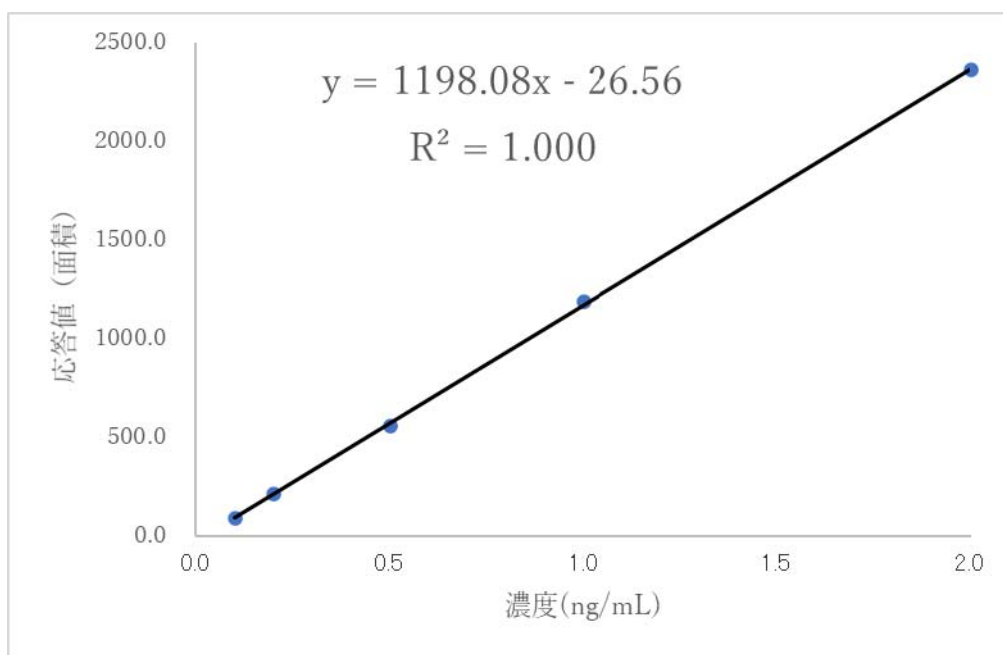
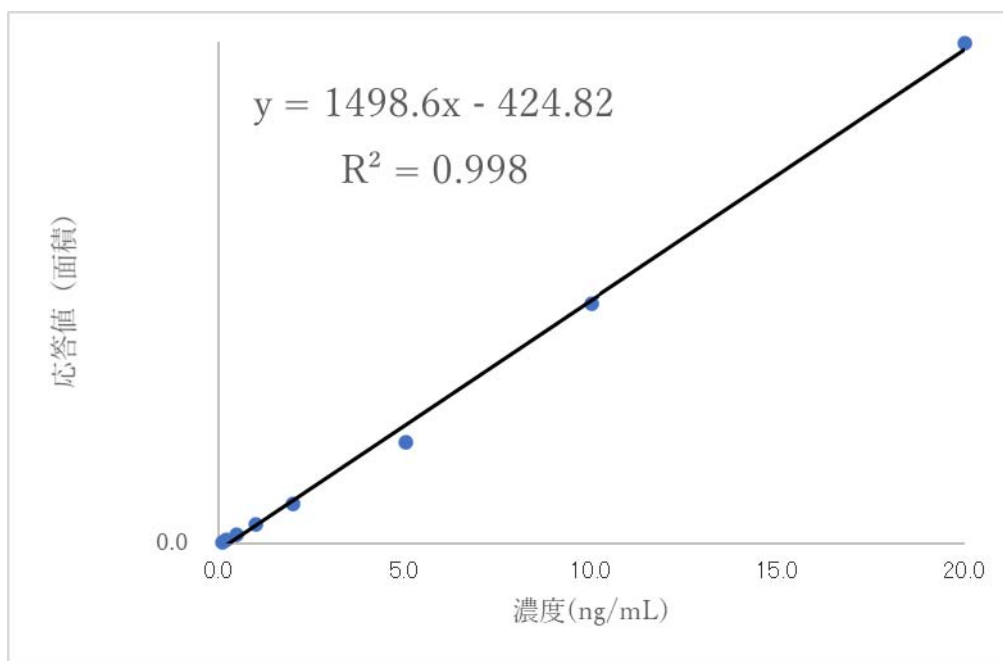


図5 トリメチルオクタデシルアンモニウムクロリドの検量線
 上図：広濃度域検量線(0.10 ng/mL～20 ng/mL)
 下図：低濃度域検量線(0.10 ng/mL～2.0 ng/mL)

表 5 トリメチルオクタデシルアンモニウムクロリドの検量線用データ

標準液濃度 (ng/mL)	応答値 対象物質(As) m/z 312>60
0.10	91.8
0.20	216.1
0.50	557.7
1.0	1191.1
2.0	2363.3
5.0	6058.5
10	14369.0
20	29899.5

〔クロマトグラム〕

トリメチルオクタデシルアンモニウムクロリド標準液のクロマトグラムを図 6 に示す。

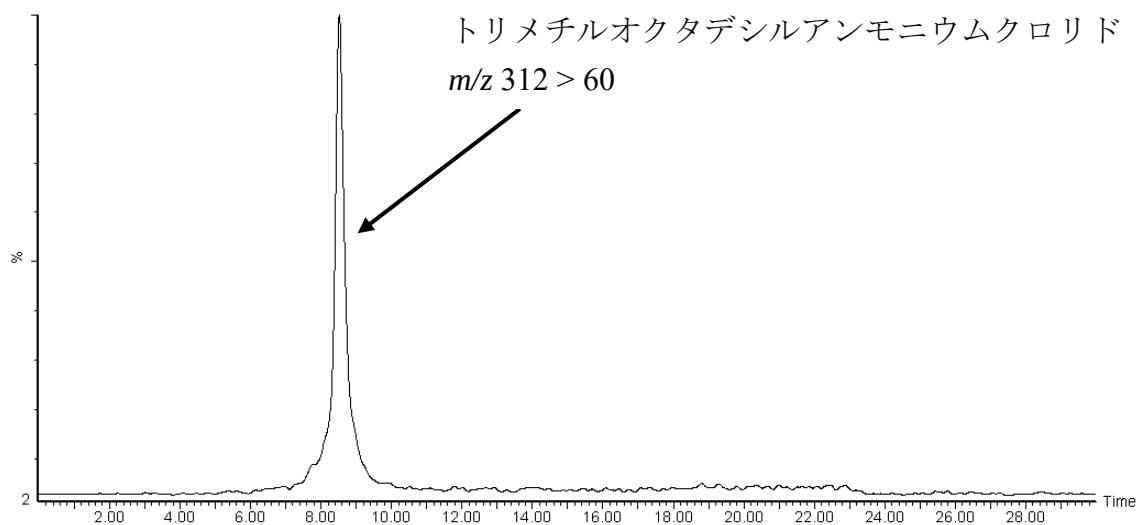


図 6 トリメチルオクタデシルアンモニウムクロリド標準液のクロマトグラム
(2.0 ng/mL)

〔マススペクトル〕

トリメチルオクタデシルアンモニウムクロリドのマススペクトルを図 7 に示す。

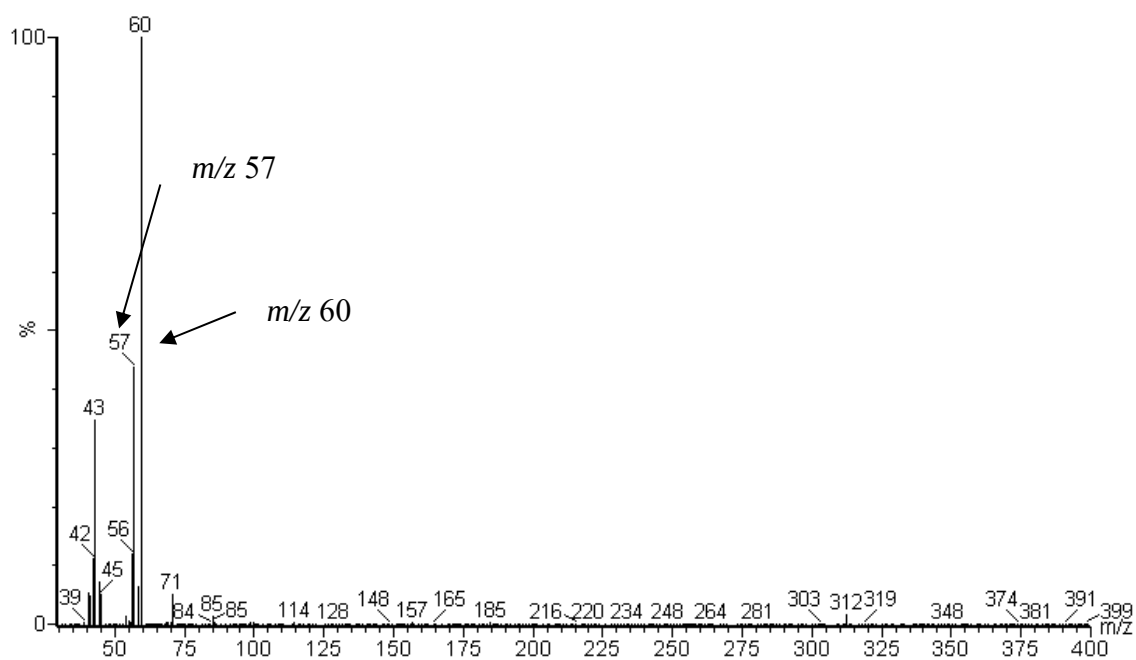
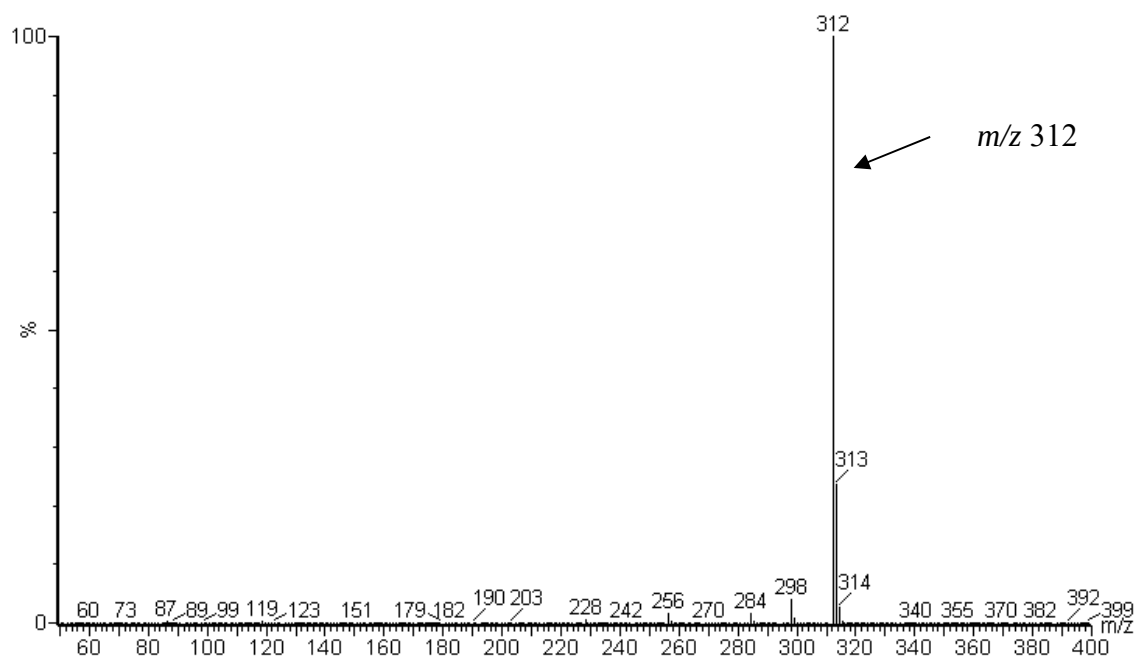


図7 トリメチルオクタデシルアンモニウムクロリドのマススペクトル及びブ
レカーサー m/z 312 に対するプロダクトイオン(ESI(+))

〔操作ブランク試験〕

トリメチルオクタデシルアンモニウムクロリドの操作ブランクはMDL 未満 (<0.0022) であった。クロマトグラムを図8に示す。

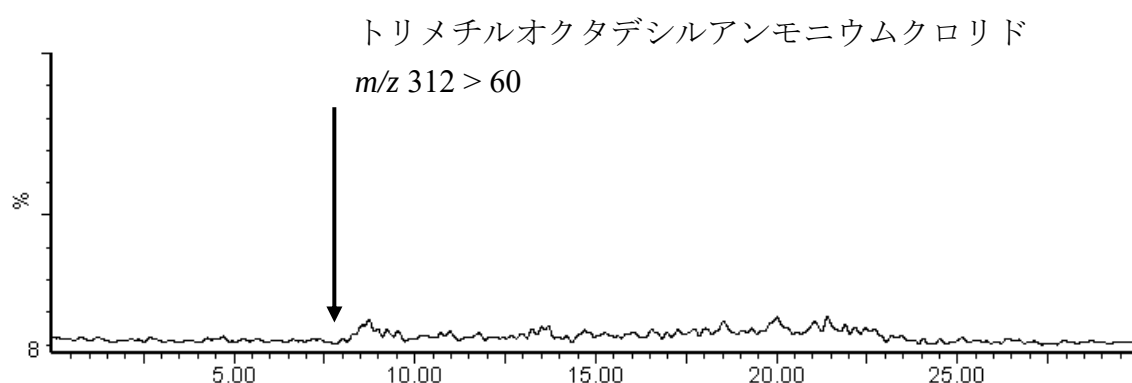


図 8 トリメチルオクタデシルアンモニウムクロリドの操作ブランクのクロマトグラム

〔添加回収試験〕

水質試料へのトリメチルオクタデシルアンモニウムクロリドの添加回収試験結果を表 6 に示す。また、その際に得られたクロマトグラムを図 9 及び図 10 に示す。添加回収率は、河川水においては 93%、海水においては 82%であった。

表 6 河川水及び海水への添加回収試験結果（水質）

試料名	試料量 (mL)	添加量 (ng)	最終 液量 (mL)	試験数	検出濃度 (ng/mL)	回収率* (%)	変動係数 (%)
河川水 (荒子川 ポンプ所)	100	0	10	10	0.015	-	4.0
	100	10	10	5	0.108	93	2.7
海水 (藤前干 潟)	100	0	10	2	0.0038	-	-
	100	10	10	5	0.0861	82	3.4

*回収率(%)：調製濃度に対する、検出濃度から既に含まれている濃度を除算した濃度との割合

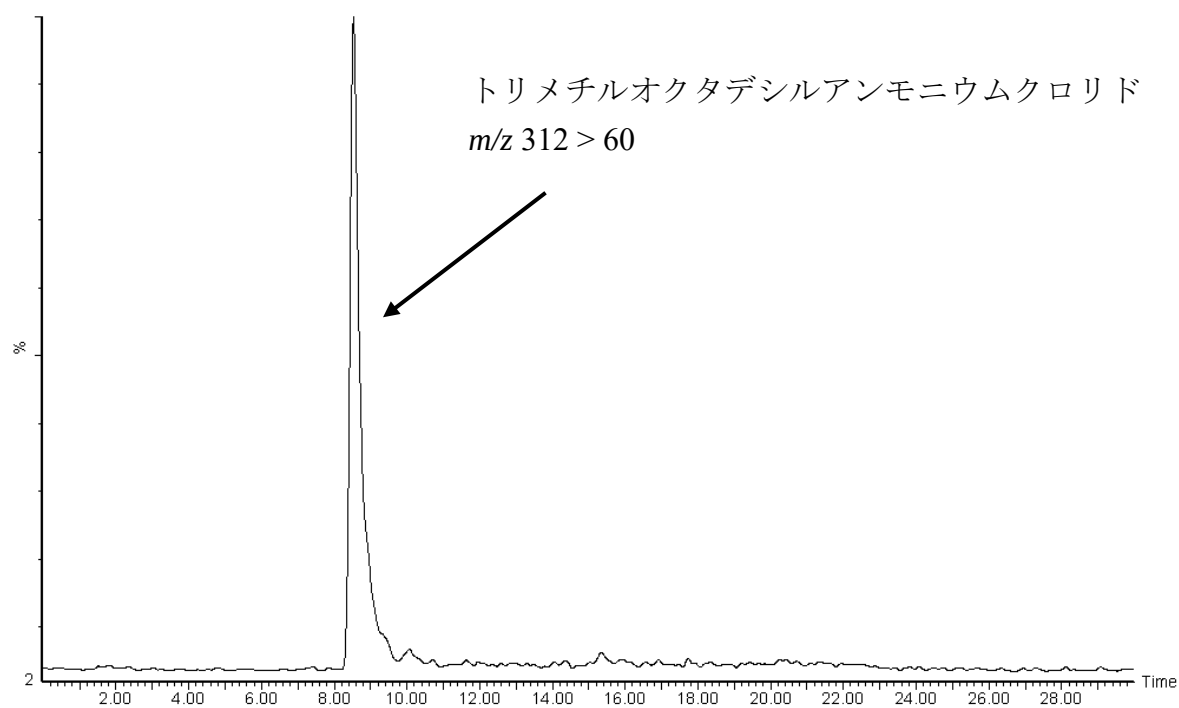
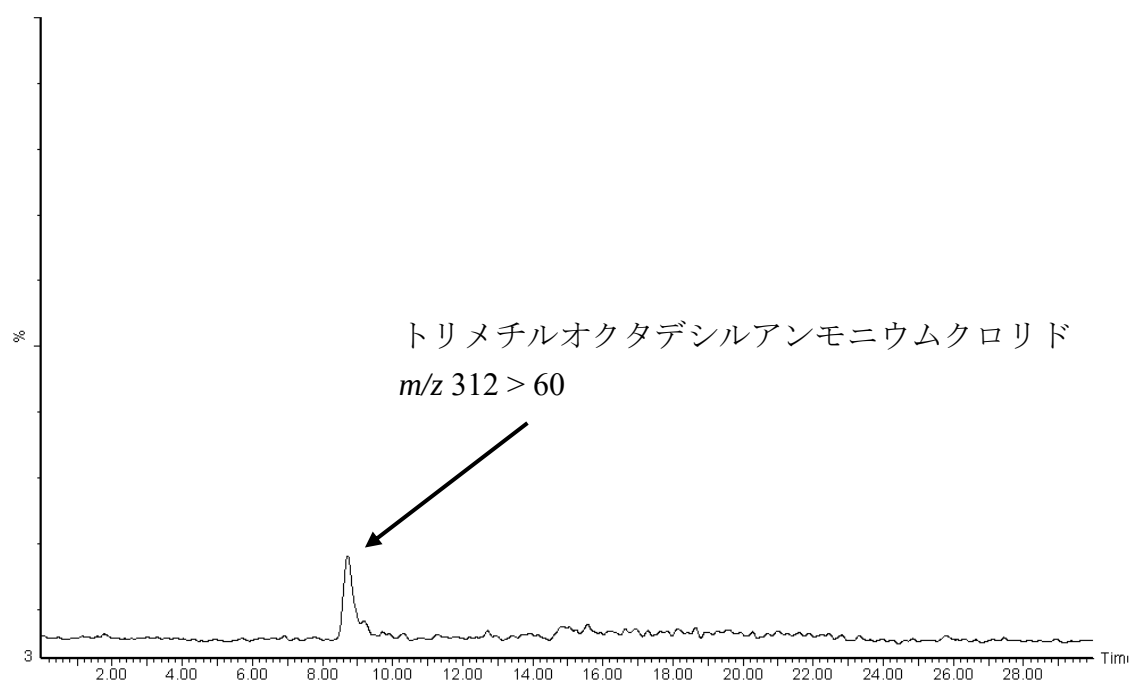


図 9 添加回収試験（河川水）のクロマトグラム
 （上図）無添加河川水（荒子川ポンプ所）
 （下図）添加河川水

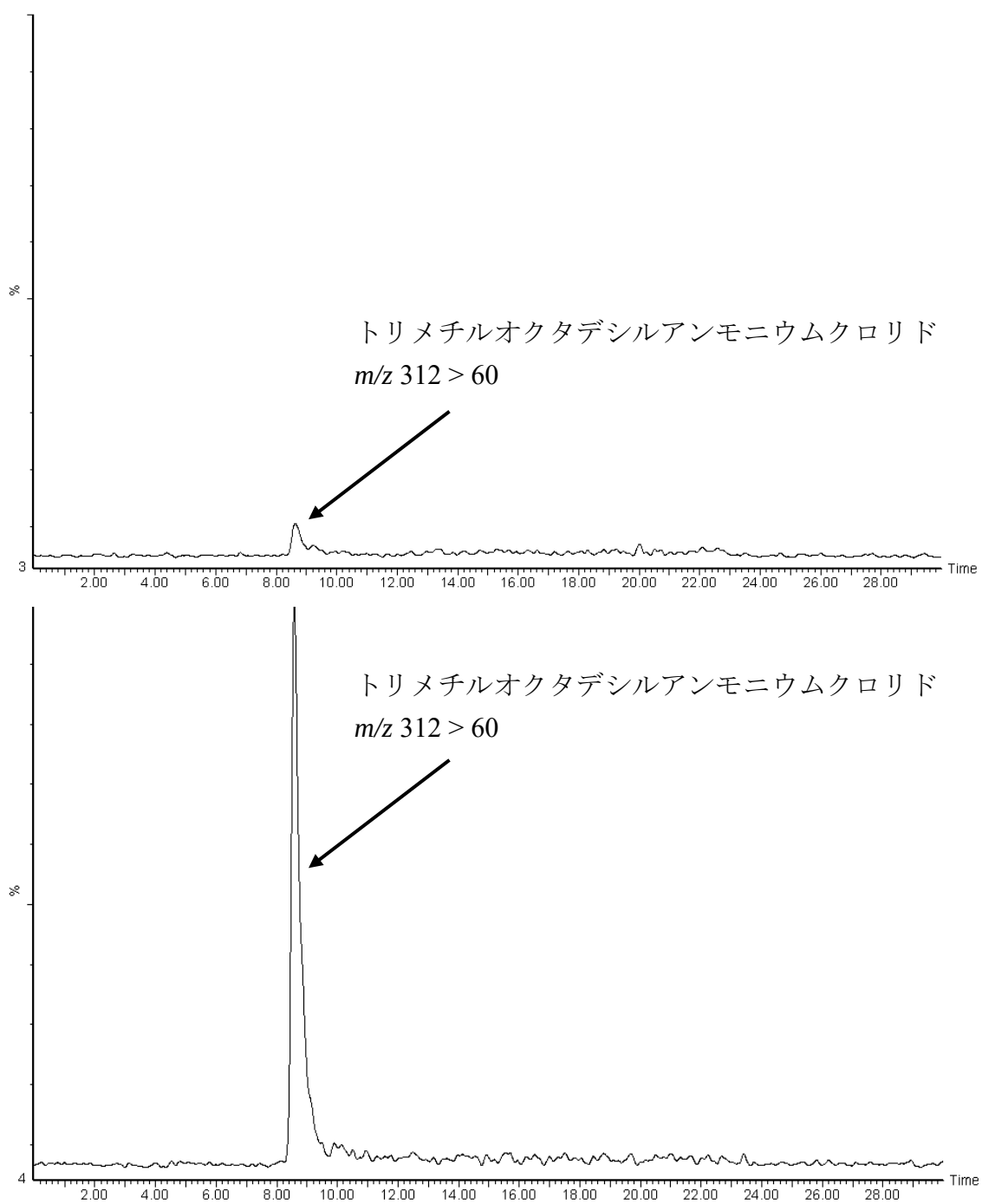


図 10 添加回収試験（海水）のクロマトグラム
（上図）無添加海水（藤前干潟）
（下図）添加海水

〔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。試験液は、5 mmol/L ギ酸アンモニウム溶液を作成して、0.1%ギ酸水溶液もしくは 1%アンモニア水溶液を用いて調製した。また、保存温度は、約 20℃とした。

表 7 トリメチルオクタデシルアンモニウムクロリドの分解性スクリーニング試験結果

pH	試験数	調製濃度 (ng/mL)	検出濃度(ng/mL) (残存率(%)*)		
			1 時間 放置後	7 日間放置後	
				暗所	明所
5	2	0.10	0.0891 (89)	0.0531 (53)	-
7	2	0.10	0.100 (100)	0.0590 (59)	0.0569 (57)
9	2	0.10	0.0820 (82)	0.0716 (72)	-

*残存率(%)：調製濃度に対する検出濃度の割合

〔保存性試験〕

河川水及び海水にトリメチルオクタデシルアンモニウムクロリド標準液を添加して、【試料の採取及び保存】に従って前処理を行った上で保存性試験を行った（保存容器はガラス瓶、4℃ の冷暗所で保存）。その結果を表 8 に示す。

表 8 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(%)* ¹)						
			当日	1 日間	2 日間	3 日間	7 日間	14 日間	1 ヶ月
河川水	0	2	0.0272	-	-	0.0214	0.0240	-	-
	0.127 * ²	2	0.122	-	-	0.125	0.131	-	-
			(95)	-	-	(104)	(107)	-	-
	試験液	0.0110 * ³	2	0.0110	0.0109	0.0102	0.0100	0.0106	0.0093
海水	環境水	2	(100)	(99)	(93)	(91)	(96)	(84)	-
			-	-	-	-	-	-	-
	0.372 * ⁴	2	0.072	-	-	-	-	-	-
			0.366	-	-	0.363	0.327	-	-
標準液	0.100	2	(98)	-	-	(98)	(88)	-	-
			0.0950	0.105	-	-	0.0863	0.0884	0.0729
	1.00	2	(95)	(105)	-	-	(86)	(88)	(73)
			1.01	1.010	-	-	0.974	1.05	1.03
			(101)	(101)	-	-	(97)	(105)	(103)

*1：残存率(%)：調製濃度に対する検出濃度の割合

*2：（試料換算濃度として）試料含有濃度(0.027 ng/mL)+添加濃度(0.10 ng/mL)

*3：（試料換算濃度として）試料含有濃度(標準無添加)

*4：（試料換算濃度として）試料含有濃度(0.072 ng/mL)+添加濃度(0.30 ng/mL)

〔その他の検討事項：リテンションギャップの効果〕

移動相を以下の条件でメタノールを注入して測定を行った。

【検討条件】

移動相	A : 0.1% ギ酸水溶液、B : メタノール	
0 → 0.1 min	A : 80	B : 20
0.1 → 5 min	A : 80 → 0	B : 20 → 100 linear gradient
5 → 17 min	A : 0	B : 100
17 → 17.5 min	A : 0 → 80	B : 100 → 20 linear gradient
17.5 → 30 min	A : 80	B : 20

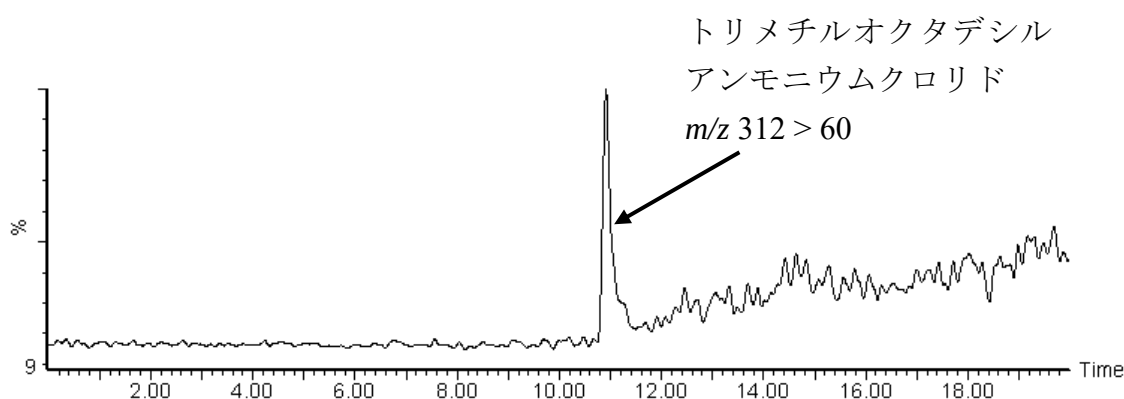


図 11 メタノール注入のクロマトグラム

図 11 では、メタノール注入にもかかわらず、トリメチルオクタデシルアンモニウムクロリドが検出された。種々の確認試験を行った結果、該当物質が LC の配管等の材質に含有しており、メタノールが送液されることで常時溶出してくると思われた。そこで、配管等からの溶出してくる該当物質と試験液中の該当物質を分離することを目的として、リテンションギャップカラムを使用することとした。リテンションギャップカラムとして、GL サイエンス製 Delay column for PFAS (30 mm × 3 mm) を使用した。また、同時に移動相の検討も行っており、【測定】で示した移動相条件を決定した。その結果、図 7 に示すように操作ブランク試料であっても該当物質が検出されることはなくなった。

〔固相カートリッジの検討〕

使用する固相カートリッジとして Oasis HLB、Sep-Pak PS-2、Sep-Pak C18 及び Sep-Pak AC2 について、検討を行った。

表 9 固相カートリッジの検討（水質）

試料名	固相	試料量 (mL)	添加量 (ng)	最終液量 (mL)	試験 数	検出濃度 (ng/mL)	回収率* (%)
河川水 (港新橋)	Oasis HLB	100	0	10	2	0.0026	-
		100	5	10	5	0.042	78
河川水 (東海橋)	Sep-Pak PS-2	100	5	10	2	0.053	81
	Sep-Pak C18	100	5	10	2	0.044	62
	Sep-Pak AC2	100	5	10	2	0	0

*: 回収率(%): 調製濃度に対する、検出濃度から既に含まれている濃度を除算した濃度との割合

表 9 から、Oasis HLB 及び Sep-Pak PS-2 が最も回収率が高くなった。そこで、固相カートリッジとして、Oasis HLB を使用することとした。

〔pH 調整の検討〕

6 mol/L 塩酸や 2% 水酸化ナトリウム水溶液を使って水質試料の pH 調整を行ってから固相抽出を試みた。なお、今回検討に用いた東海橋の pH は、およそ 7 付近であった。また、固相カートリッジは、Oasis HLB を使用した。

表 10 pH 調整の検討（水質）（Oasis HLB を使用）

試料名	pH	試料量 (mL)	添加量 (ng)	最終液量 (mL)	試験 数	検出濃度 (ng/mL)	回収率* (%)
河川水 (東海橋)	2	100	0	10	2	0.013	-
		100	5	10	2	0.060	94
	4	100	5	10	2	0.061	96
		100	0	10	2	0.011	-
	7	100	5	10	2	0.051	81
		100	5	10	2	0.051	81

*: 回収率(%): 調製濃度に対する、検出濃度から既に含まれている濃度を除算した濃度との割合

表 10 から、試料水の pH を塩酸酸性にすることで回収率を向上させることができた。また、pH 2 と pH 4 で、回収率に差異はなさそうなので、塩酸がある程度共存していることで十分な回収率が得られていると思われる。実際の環境水では、ある程度塩基性に傾いている試料があることが予想できるが、6 mol/L 塩酸を 1 mL 添加すれば十分塩酸酸性にすることができると考えられる。

〔環境試料の測定例〕

冬季に名古屋市内の河川水及び海水の測定を行ったところ、すべての試料からトリメチルオクタデシルアンモニウムクロリドが検出された。その含有濃度は、およそ 0.010~0.10 ng/mL であった。クロマトグラムを図 9（上図）及び図 10（上図）に示す。

【評価】

本法におけるトリメチル(オクタデシル)アンモニウム及びその塩の MDL 及び MQL は、0.0022 µg/L および 0.0061 µg/L であり、0.10~20 ng/mL の濃度範囲で検量線の直線性が確認された。また、河川水及び海水からトリメチル(オクタデシル)アンモニウム及びその塩は検出された。河川水及び海水にトリメチルオクタデシルアンモニウムクロリドを 10 ng 添加した際の回収率は、概ね 80%以上であった。

以上の結果から、本法は環境水中の 0.002 µg/L オーダーのトリメチル(オクタデシル)アンモニウム及びその塩の検出に適用できるものと判断される。

【参考文献】

- 1) 平成 19 年度化学物質分析法開発調査：n-ヘキサデシル(トリメチル)アンモニウム=ブロミド，1380-1398，環境省環境保健部環境安全課（平成 18 年 7 月）(2008)
- 2) 劔持堅志，浦山豊弘，吉岡敏行，中桐基晴，藤原博一：環境中超微量有害化学物質の分析，検索技術の開発に関する研究－LC/MS/MS を用いた陽イオン界面活性剤の分析法－，岡山県環境保健センター年報，32，35-46 (2008)
- 3) 吉田寧子，村上雅志，坂本保子，村上高行，富嶋公明，竹田菊男，鈴木茂，堀雅宏：環境試料中塩化アルキルジメチルベンジルアンモニウムの定量法，水環境学会誌，31(4)，203-208 (2008)
- 4) Xiaolin Li and Bruce J. Brownawell.: Analysis of Quaternary Ammonium Compounds in Estuarine Sediments by LC-ToF-MS: Very High Positive Mass Defects of Alkylamine Ions as Powerful Diagnostic Tools for Identification and Structural Elucidation, *Anal. Chem.*, 81, 7926–7935 (2009)
- 5) Xiaolin Li and Bruce J. Brownawell.: Quaternary Ammonium Compounds in Urban Estuarine Sediment Environments - A Class of Contaminants in Need of Increased Attention ?, *Environ. Sci. Technol.* 44, 7561–7568 (2010)
- 6) 阿部敦子，南部佳弘，和泉千尋，佐々木泰子：製品中の陽イオン界面活性剤について，札幌市衛生研究所年報，39，63-67(2012)

【担当者連絡先】

所属先名称：名古屋市環境科学調査センター

所属先住所：名古屋市南区豊田 5-16-8

TEL：052-692-8481、FAX：052-692-8483

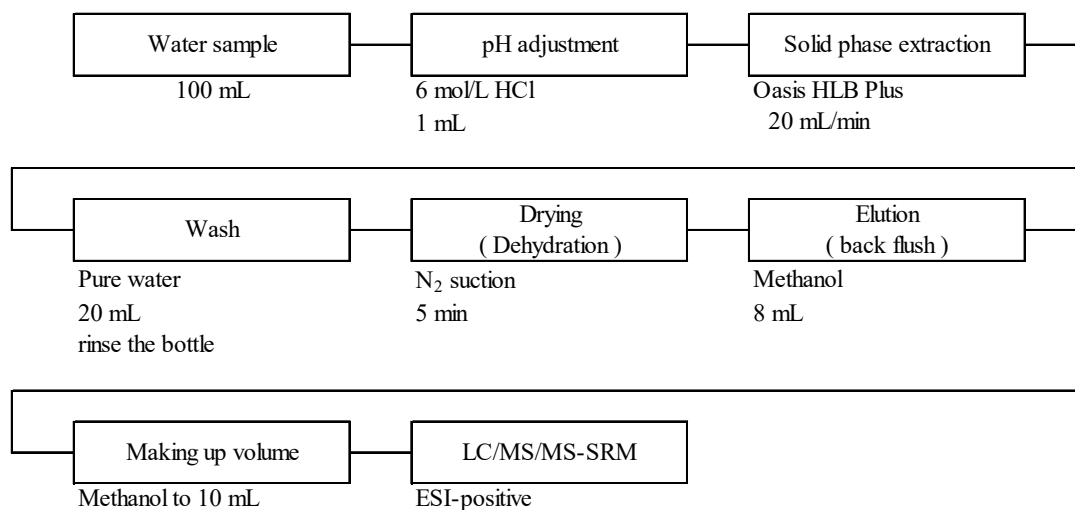
担当者名：平生進吾、長谷川瞳

E-mail：hirao@ncies.net、hitomi@ncies.net

Trimethyl (octadecyl) ammonium chloride and it's salts

This method provides a procedure for the determination of trimethyl (octadecyl) ammonium chloride and it's salts in water samples by liquid chromatography/tandem mass spectrometry (LC/MS/MS). One hundred mL of water sample adding 1 mL of 6 mol/L HCL is extracted by passing the sample through Oasis HLB plus cartridge at the flow rate of 20 mL/min. After extraction, the cartridge is washed by 20 mL of ultra-pure water. After the cartridge is dehydrated for 5 minutes with N₂ purge or suction, the analytes are back-eluted from the cartridge with 8 mL of methanol. The final volume is made up to 10 mL with methanol, and the solution are analyzed by LC/MS/MS.

The method detection limit was 0.0022 µg/L for trimethyl (octadecyl) ammonium chloride and its salts. The mean recoveries of ammonium chloride and its salts were 93% for a river water sample, and 82% for a sea water sample. This analytes in the river and sea water sampled at Nagoya city were detected.

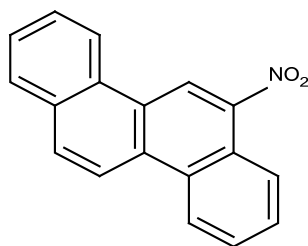


物質名	分析法フローチャート	備考
トリメチル (オクタデシル)アン モニウム及びその塩	【水質】 <pre> graph LR A["水質試料 100 mL"] --> B["pH調製 6 mol/L HCl 1 mL"] B --> C["固相抽出 Oasis HLB Plus 20 mL/min"] C --> D["洗浄 精製水 20 mL 試料容器洗いこみ"] D --> E["乾燥 窒素通気 5 min"] E --> F["溶出 (バックフラッシュ) メタノール 8 mL"] F --> G["定容 メタノール 10 mLに"] G --> H["LC/MS/MS-SRM ESI-positive"] </pre>	分析原理 LC/MS/MS-SRM ESI-positive 検出下限値 【水質】(µg/L) 0.0022 µg/L 分析条件： 機器 LC：Waters 製 Alliance2695 MS：Waters 製 Quattromicro API LC カラム CERI 製 L-column ODS (150 mm × 2.1 mm, 5.0 µm)

6-ニトロクリセン

6-Nitrochrysene

【対象物質の構造】



CAS 番号：7496-02-8

分子式：C₁₈H₁₁NO₂【物理化学的性状】^{1), 2)}

物質名	6-ニトロクリセン
分子量（平均分子量）	273.29
分子量（モノアイソトピック質量）	273.07898
密度 (g/cm ³)	-
沸点 (°C)	昇華
融点 (°C)	約 215°C で分解
蒸気圧	7.61 × 10 ⁻⁹ mmHg (1.01 × 10 ⁻⁸ hPa*) (25°C)
水溶解度 (mg/L)	1.53 × 10 ⁻² mg/L (25°C)
ヘンリー定数 (atm·m ³ /mol)	-
log P _{ow}	5.34
pKa	-

*：換算値（1 mmHg = 1.33 hPa による。）

【毒性、用途】

〔毒性〕

発がん性分類：第2類 A³⁾

〔用途〕

発光素子原料³⁾、非意図的生成物

出典：

- 1) 厚生労働省 職場の安全サイト, GHS モデル SDS 情報, 6 ニトロクリセン(https://anzeninfo.mhlw.go.jp/anzen/gmsds_label/lab7496-02-8.html) から引用
- 2) PubChem from EPA
- 3) 出典：独立行政法人製品評価技術基盤機構ホームページ「化学物質総合情報提供システム(CHRIP)」より引用

§1 分析法

(1) 分析法の概要

採取した水質試料に、採取容器を洗い込んだメタノールを加え、エムポアディスクカートリッジに通水する。エムポアディスクカートリッジを洗浄後溶出し、濃縮・転溶して LC/MS/MS-SRM(APCI-negative)で定量する

(2) 試薬・器具

【試薬】

6-ニトロクリセン	: AccuStandard 製 (100 µg/mL、トルエン溶液)
メタノール	: 富士フイルム和光純薬製 LC/MS 用
アセトニトリル	: 富士フイルム和光純薬製 LC/MS 用
アセトン	: 富士フイルム和光純薬製 高速液体クロマトグラフ用
精製水	: 富士フイルム和光純薬製 超純水 PFOS、PFOA 測定用
固相カートリッジ	: 3M または CDS 製 エムポアディスクカートリッジ C18 SD オクタデシル 10 mm/6 mL

【標準液の調製】

〔標準液〕

市販の 6-ニトロクリセン溶液 (100 µg/mL、トルエン溶液) を標準原液とし、メタノールで希釈して、0.10 µg/mL の標準液を調製する。

〔検量線用標準液の調製〕

0.10 µg/mL の標準液をメタノールで適宜希釈したものを検量線用標準液とす

る。各濃度の検量線用標準液は、6-ニトロクリセンとして 0.50～50 ng/mL に相当するように調製する。

【器具】（注 1）

濃縮管(10 mL)、固相抽出カートリッジ用吸引装置、容量 120 mL 以上入るリザーバー、アダプターなど固相抽出用品、メスフラスコなどの定量器具

【試薬の安全性・毒性】

高濃度では中毒の危険性があるので、標準試薬などを取り扱うときはドラフトの中で行うなど室内を汚染しないよう十分留意する。

(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」（最新版）に従う。試料は 100 mL 容器にはほぼ 100 mL 採取して、分析まで冷暗所に保存する。すぐに前処理できない場合は、河川水試料には試料水 100 mL あたり、塩化ナトリウム 3.4 g を添加する。海水試料には塩化ナトリウムを添加しない。採取した試料水全量と容器内壁の洗浄液を前処理に供するので、採取量はなるべく 100 mL に近づける（注 2）。

【試料の前処理及び試験液の調製】

固相カートリッジをアセトン 5 mL、メタノール／精製水(1:5) 5 mL の順でコンディショニングする。試料重量（試料採取容器＋試料水）を予め測定しておく。水質試料（約 100 mL）全量をカートリッジにセットしたリザーバーに移す。試料採取容器をメタノール 10 mL（2 回行う。計 20 mL）で洗い込み、リザーバーの水質試料と混合し、コンディショニングした固相カートリッジに通水する。固相カートリッジをメタノール／精製水(1:5) 10 mL で洗浄し、さらに空気を通じて間隙水を除く（注 3）。対象物質を固相カートリッジから、アセトン 5 mL で溶出し、高純度窒素ガスの気流下で乾固寸前（注 3）まで濃縮し、メタノールで 1.0 mL に定容したものを試験液とする。試料採取容器（風袋）を測定し、重量差と比重（河川水 1.00、塩化ナトリウム添加河川水および海水 1.03 g/mL とする）から、試料量 (mL) を求める。

【空試験液の調製】

精製水 100 mL 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。

〔LC/MS/MS 条件〕 (注 4)

使用機種	: 島津製作所製 LCMS-8050
使用カラム	: Waters 製 Cortecs C8 (30 mm × 2.1 mm , 1.6 μm)
カラム温度	: 40°C
移動相	: A : 精製水 B : アセトニトリル 0.0 → 3.5 min A:60 → 5 , B:40 → 95 linear gradient 3.5 → 4.0 min A:B = 5:95 4.0 → 4.1 min A:5 → 60 , B:95 → 40 linear gradient 4.1 → 10 min A:B = 60:40
カラム流量	: 0.2 mL/min
注入液量	: 5.0 μL
イオン化法	: APCI (Air Pressure Chemical Ionization)-negative
インターフェイス電圧	: 3.5 kV
コリジョンエネルギー	: 36 eV (定量イオン) 13 eV (確認イオン)
インターフェイス温度	: 350°C
脱溶媒ライン温度	: 200°C
ヒートブロック温度	: 200°C
ネブライザーガス流量	: 3.0 L/min
乾燥ガス流量	: 5.0 L/min
コリジョンガス	: Ar (270 psi)
測定モード	: SRM (Selected Reaction Monitoring)
モニターイオン	: m/z 273.15 > 46.15 (m/z 273.15 = [M]、定量用) m/z 273.15 > 243.25 (確認用)

〔検量線〕

標準液 5.0 μL を LC/MS/MS に注入して分析する。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 5.0 μL を LC/MS/MS に注入して分析する。得られた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 C (μg/L) は次式から算出する。

$$C = Q \cdot E / V / 1000$$

Q ：検量線から求めた試料液中の対象物質の濃度 (ng/mL)

E ：試験液量 (mL)

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。

$V = 0.10$ (L)

$E = 1.0$ (mL)

即ち、

$$C = Q \times 0.010 \text{ (}\mu\text{g/L)}$$

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 5)。

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 ($\mu\text{g/L}$)
6-ニトロクリセン	0.25	0.10	1.0	0.00049

〔分析方法の検出下限値 (MDL)及び定量下限値(MQL)〕

本分析方法の MDL 及び MQL を表 2 に示す (注 6)。

表 2 MDL 及び MQL の算出結果

物質名	試料	試料量 (L)	最終液量 (mL)	MDL ($\mu\text{g/L}$)	MQL ($\mu\text{g/L}$)
6-ニトロクリセン	河川水	0.10	1.0	0.0010	0.0026

注 解

- (注1) JIS R 3505に記載のクラスAのガラス器具を使用する。マイクロシリンジ及びマイクロピペットを使用する場合には精度管理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) 対象物質は、採取容器内壁に吸着しやすいため、正確な環境濃度の評価のためには、採取試料全量及び内壁をメタノールで洗いこんだものを混合して分析する必要がある。
- (注3) 乾燥させる必要はない。水気を切る程度でよい。また完全に乾固させると回収率が下がるので、0.1 mL以下になればよい。
- (注4) LC/MS/MSの条件は、本測定に使用した機種（島津製作所製LC/MS 8050）の例である。

(注5) IDLは、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)に従って、表3のとおり算出した。

表3 IDL の算出結果 (詳細)

対象物質名	6-ニトロクリセン
試料量 (L)	0.10
最終液量 (mL)	1.0
注入液濃度 (ng/mL)	0.50
注入量 (pg)	2.5
装置注入液量 (μL)	5.0
結果 1 (pg)	2.48
結果 2 (pg)	2.53
結果 3 (pg)	2.58
結果 4 (pg)	2.42
結果 5 (pg)	2.47
結果 6 (pg)	2.41
結果 7 (pg)	2.55
平均値 (pg)	2.490
標準偏差(σ_{n-1}) (pg)	0.0633
IDL (pg)*	0.25
IDL 試料換算値 (μg/L)	0.00049
S/N 比	14
CV(%)	2.5

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

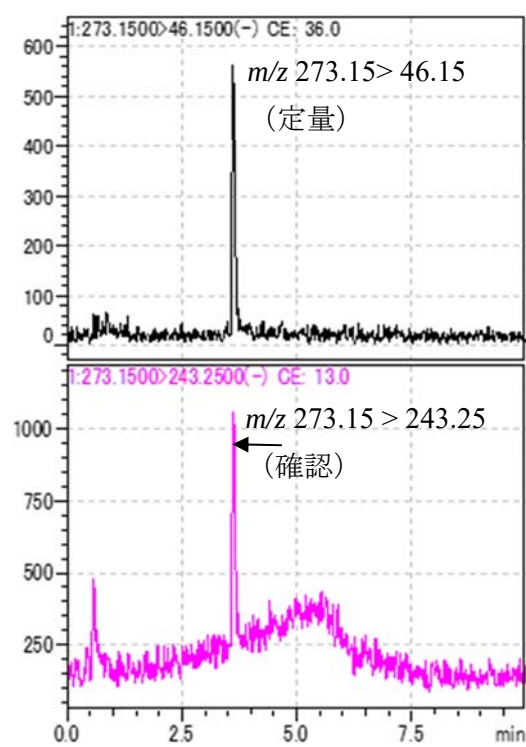


図1 IDL 測定時のクロマトグラム (対象物質濃度 : 0.50 ng/mL)

(注 6) MDL 及び MQL は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 28 年 3 月)に従って、表 4 のとおり算出した。MDL 測定時のクロマトグラムを図 2 に示す。

表 4 MDL 及び MQL の算出結果 (詳細)

物質名	6-ニトロクリセン	回収率(%)
試料	河川水	-
試料量 (L)	0.10	-
標準添加量 (ng)	0.50	-
試料換算濃度 (μg/L)	0.0050	-
最終液量 (mL)	1.0	-
注入液濃度 (ng/mL)	0.50	-
装置注入液量 (μL)	5.0	-
操作ブランク平均 (μg/L) ^{*1}	< 0.0010	-
無添加平均 (μg/L) ^{*2}	< 0.0010	-
結果 1 (μg/L)	0.00488	98
結果 2 (μg/L)	0.00462	92
結果 3 (μg/L)	0.00437	87
結果 4 (μg/L)	0.00484	97
結果 5 (μg/L)	0.00418	84
結果 6 (μg/L)	0.00448	90
結果 7 (μg/L)	0.00478	96
平均値 (μg/L)	0.004593	91.9
標準偏差(σ _{n-1}) (μg/L)	0.000263	-
MDL (μg/L) ^{*3}	0.0010	-
MQL (μg/L) ^{*4}	0.0026	-
S/N 比	9.6	-
CV (%)	5.7	-

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

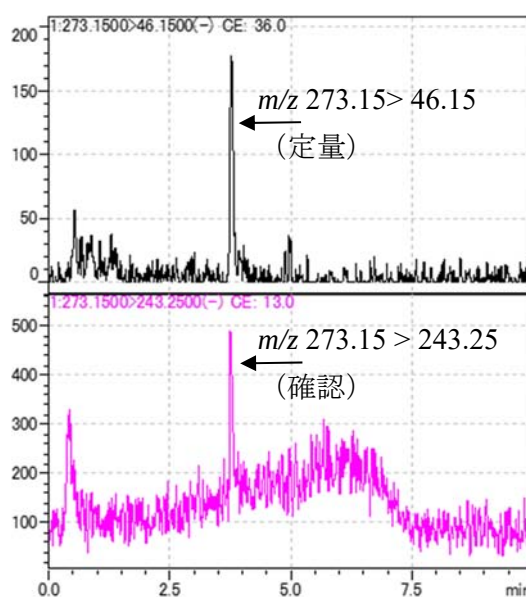


図2 MDL測定時のクロマトグラム（注入液濃度：0.50 ng/mL）

§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3に示す。

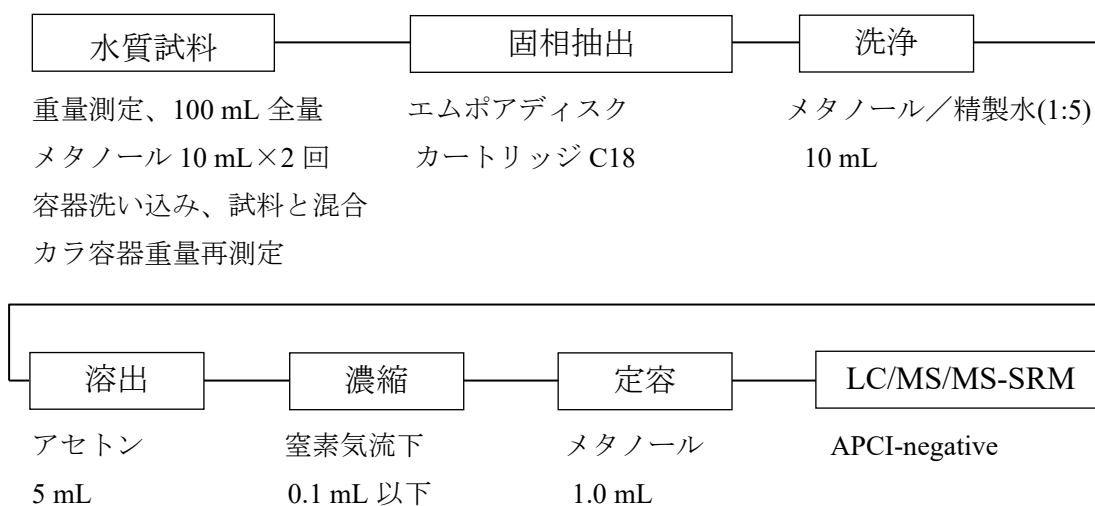


図3 分析法のフローチャート

[検量線]

検量線を図 4 に、検量線作成用データを表 5 に示す。

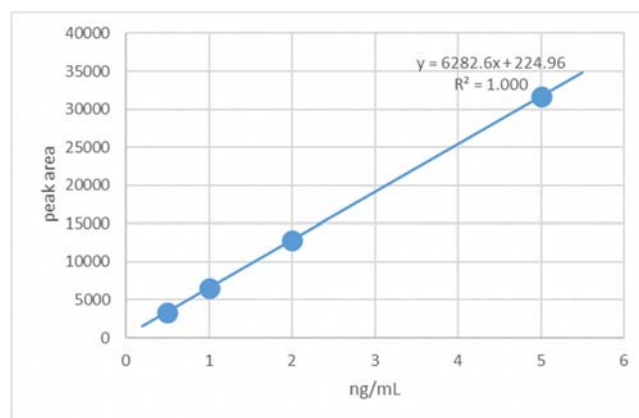


図4-1 低濃度域検量線 (6-ニトロクリセン : 0.50～5.0 ng/mL)

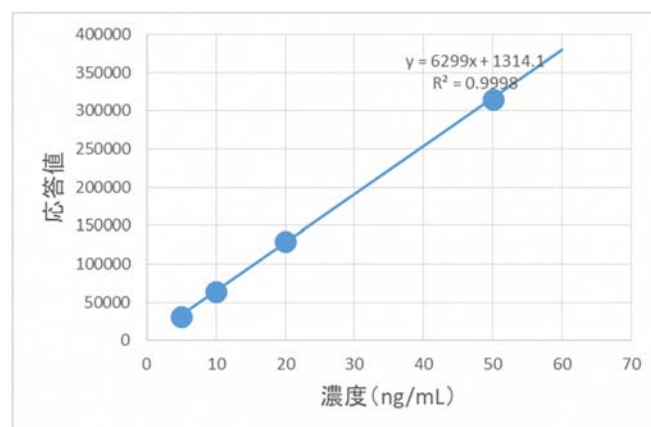


図4-2 高濃度域検量線 (6-ニトロクリセン : 5.0～50 ng/mL)

表5 6-ニトロクリセンの検量線作成用データ

標準液濃度 (ng/mL)	応答値 (m/z 273.15 > 46.15)
0.50	3352
1.0	6538
2.0	12771
5.0	31641
10	63595
20	129991
50	315443

[クロマトグラム]

標準液のクロマトグラムを図5に示す。

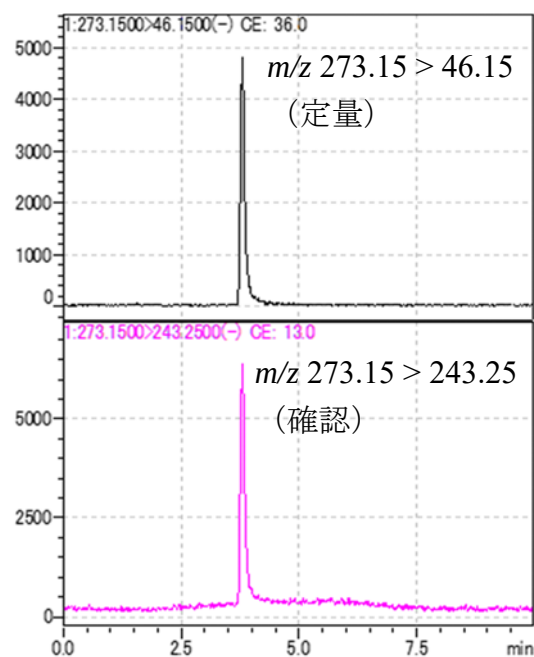


図5 標準液のクロマトグラム（対象物質濃度：5.0 ng/mL）

[マスペクトル]

対象物質のマスペクトルを図6に示す。

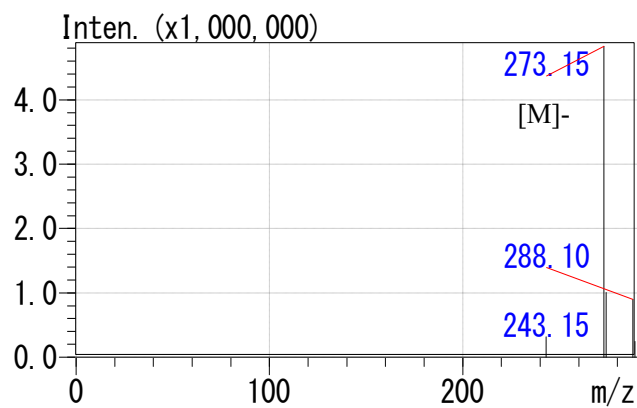


図 6-1 6-ニトロクリセンのマスペクトル(APCI-negative)

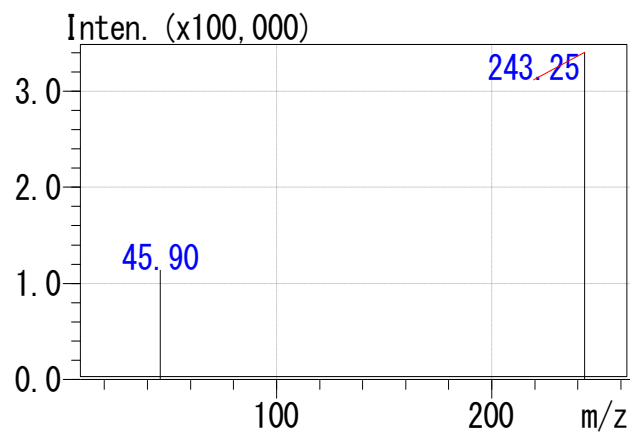


図 6-2 m/z 273.15 をプレカーサーイオンとしたときの
プロダクトイオンスペクトル

〔操作ブランク〕

操作ブランクのクロマトグラムを図 7 に示す。対象物質は不検出であった。

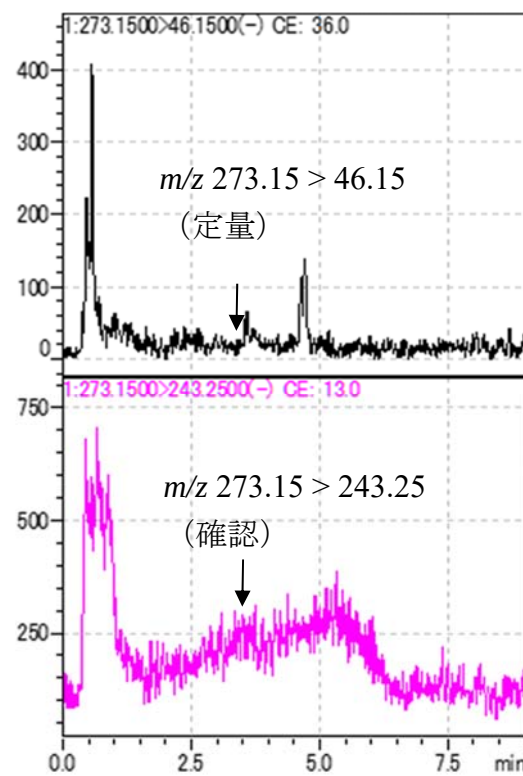


図 7 操作ブランクのクロマトグラム

〔添加回収試験〕

精製水、河川水（境川）及び海水（東京湾）への添加回収試験の結果を表 6 及び図 8-1～図 8-4 に示す。

表 6 添加回収試験の結果

試料	試料量 (mL)	添加量 (ng)	最終液量 (mL)	試験 数	検出濃度 ($\mu\text{g/L}$)	回収率 (%)	変動係数 (%)
精製水	100	0	1.0	1	<0.0010	-	-
	100	5.0	1.0	3	0.0429	85.8	2.9
河川水	100	0	1.0	2	<0.0010	-	-
	100	0.50	1.0	7	0.00459	91.9	5.7
海水	100	0	1.0	1	<0.0010	-	-
	100	0.50	1.0	2	0.00513	103	-

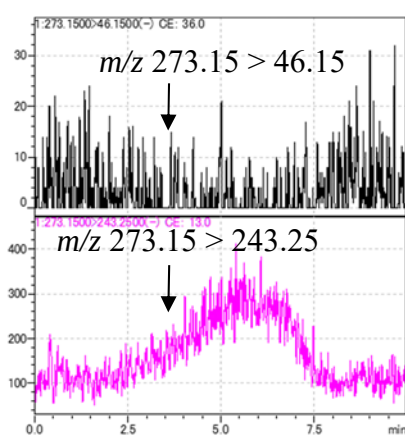


図 8-1 添加回収試験のクロマトグラム（河川水、無添加、境川）

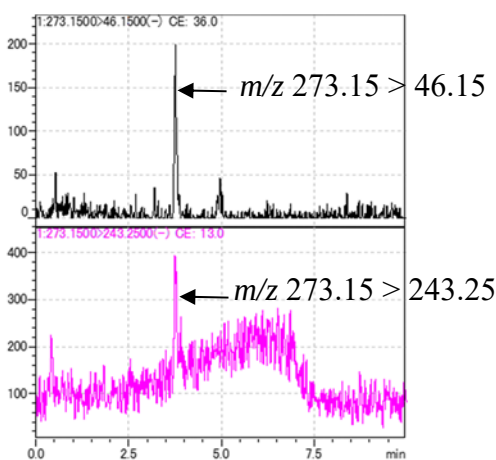


図 8-2 添加回収試験のクロマトグラム（河川水、0.50 ng 添加、境川）

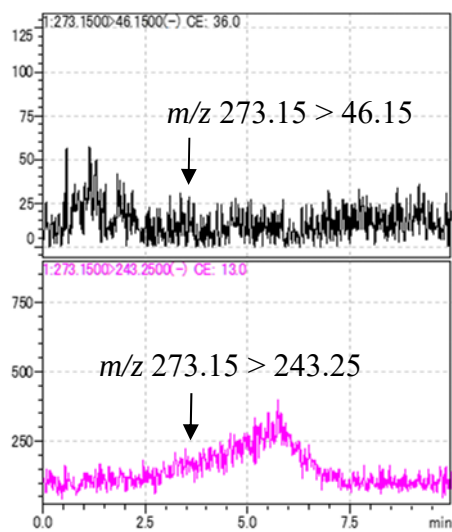


図 8-3 添加回収試験のクロマトグラム（海水、無添加、東京湾）

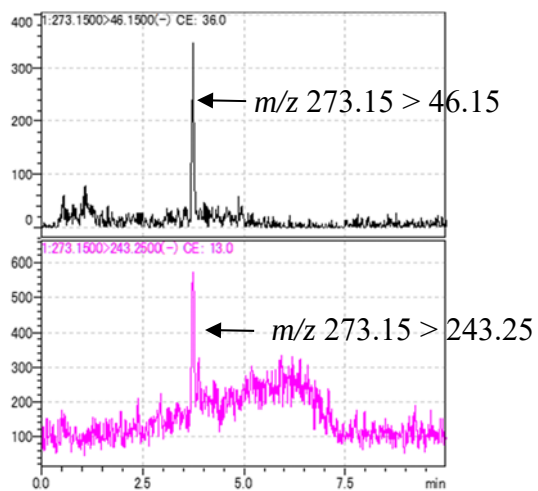


図 8-4 添加回収試験のクロマトグラム（海水、0.50 ng 添加、東京湾）

〔分解性スクリーニング〕

表 7-1 及び表 7-2 は、メタノールによる容器洗い込み液を含まない結果である。明所では低下が見られた。なお、調製から 7 日後、容器内の水溶液を捨て、カラになった容器にメタノールを入れて振り、測定したところ、暗所に置いた容器からは、ほぼ添加量に見合う対象物質が検出された。このことから、分解性スクリーニング試験の本来の目的である、水中における濃度低下が pH や光分解によるものかは評価できなかった。濃度低下が、単に内壁吸着によるものか、光分解によるものか、その両方か、不明であるからである。なお、添加回収試験や保存性の検討結果から、環境調査は可能と判断した。

表 7-1 分解性スクリーニングの結果（ガラス容器）

物質名	pH	試験数	調製濃度 (μg/L)	検出濃度(μg/L) (残存率 (%))*		
				1 時間後	7 日後 暗所	明所
6-ニトロクリセン	5	1	2.0	1.7 (86)	1.0 (49)	-
	7	1	2.0	1.8 (90)	0.86 (43)	1.2 (59)
	9	1	2.0	1.7 (85)	1.4 (70)	-

* 残存率(%)：調製濃度に対する検出濃度の割合

表 7-2 分解性スクリーニングの結果（PFA 容器*1）

物質名	pH	試験数	調製濃度 (μg/L)	検出濃度(μg/L) (残存率 (%))*2		
				1 時間後	7 日後 暗所	明所
6-ニトロクリセン	5	1	2.0	1.6 (78)	0.94 (47)	-
	7	1	2.0	1.9 (97)	1.4 (72)	1.2 (58)
	9	1	2.0	1.9 (97)	0.86 (43)	-

*1：PFA 容器は、有機フッ素樹脂製で、きわめて不活性と考えられる。

*2：残存率(%)：調製濃度に対する検出濃度の割合

〔保存性試験〕

保存性試験の結果を表 8 に示す。河川水に標準液を添加して調製した試料水中の対象物質は、1 週間で 64%に減少した。NaCl を添加した試料水ではほとんど減少は認められなかった(98%)。NaCl を試料水に添加することで、1 週間程度の保存が可能であることが分かった。海水試料の場合は、3%程度の NaCl が含まれていて、回収率の低下が見られなかった。この結果から、保存時は河川水試料に塩化ナトリウム 3.4 g を添加することとした。添加回収試験や分解性スクリーニングなどの検討結果から、対象物質は徐々に試料容器内壁に吸着するが、メタノールで洗浄することにより回収できると考えられる。試料水容器の洗い込みは必須である。

表 8 保存性試験結果

試料名		調製濃度 (ng/mL)	検出濃度(ng/mL) (残存率(%)*)		
			7 日間	14 日間	22 日間
河川水	試料水 (NaCl 添加)	0.050	0.049 (98)	-	-
	試料水 (NaCl 無添加)	0.050	0.032 (64)	-	-
海水	試料水	0.050	0.053 (105)	-	-
	試験液	0.50	0.48 (96)	0.49 (97)	0.44 (89)
標準液	検量線最低濃度	0.50	0.48 (97)	0.45 (90)	0.45 (90)
	検量線最高濃度	50	51 (101)	51 (101)	41 (83)

* 残存率(%): 調製濃度に対する検出濃度の割合

〔溶出液量の検討〕

固相カートリッジに対象物質を添加し、アセトンで溶出させたときの各画分の回収率の例を図 9 に示す。最初の 1 mL で対象物質の 9 割が、あとは少しずつ溶出することがわかった。よって溶出液量は安全を見て 5 mL とした。

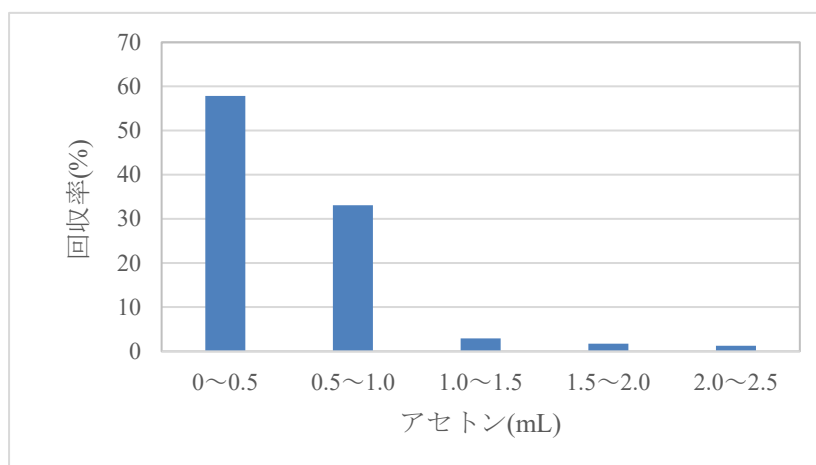


図 9 溶出液量と回収率の関係

〔環境試料の分析例〕

本法を用いて河川水（境川、図 8-1）及び海水（東京湾、図 8-3）を測定した。いずれも対象物質は不検出であった。

【評価】

本分析法で用いた LC/MS/MS での 6-ニトロクリセンの IDL は 0.25 pg（試料換算濃度は 0.00049 $\mu\text{g/L}$ ）であり、0.50～50 ng/mL の範囲で検量線の直線性が確認された。MDL は 0.0010 $\mu\text{g/L}$ 、MQL は 0.0026 $\mu\text{g/L}$ であった。河川水に 6-ニトロクリセンの濃度が 0.0050 $\mu\text{g/L}$ となるよう添加した際の回収率は、91.9%（変動係数 5.7%）となった。本法で環境試料を分析した結果、神奈川県内の河川水（境川）および海水（東京湾）からは、不検出であった。以上の結果から、本法は水質試料中に含まれる 0.001 $\mu\text{g/L}$ 程度の対象物質の検出に適用できる。

【参考文献】

岩手県環境保健研究センター，1-ニトロピレン [対象媒体：水質]，化学物質と環境「平成 28 年度化学物質分析法開発調査報告書 白本」p.622-p.654

【担当者連絡先】

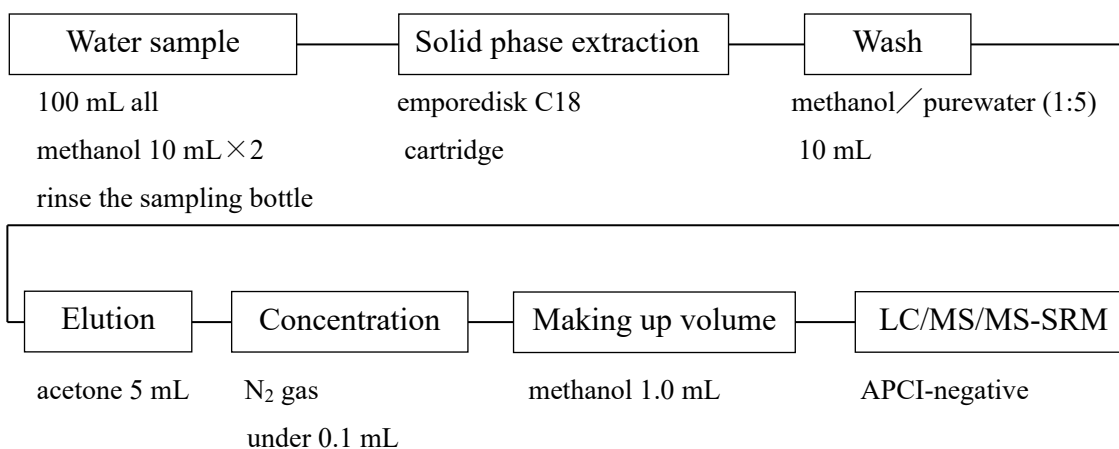
所属先 : 神奈川県環境科学センター
 所属先住所 : 〒254-0014 平塚市四之宮 1-3-39
 TEL : 0463-24-3311 FAX : 0463-24-3300
 担当者名 : 調査研究部 長谷川敦子
 E-mail : hasegawa.j3i@pref.kanagawa.lg.jp

6-Nitrochrysene

An analytical method has been developed for the determination of 6-nitrochrysene in environmental water samples by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC/MS/MS) in APCI (Air Pressure Chemical Ionization) negative mode. Precursor ion $[M]^-$ -selected reaction monitoring (SRM) is conducted for quantification; the mass transitions of m/z 273.15 > 46.15 and m/z 273.15 > 243.25 are used for detection of 6-nitrochrysene, respectively.

A hundred mL of sample water in a sampling bottle and around 20 mL of methanol solution used for cleaning an inner surface of the bottle are mixed together. The solution obtained, is passed through a solid phase extraction cartridge (3M or CDS, EmporeTM SPE cartridge C18 SD 10 mm/6 mL). The target (6-nitrochrysene) is eluted with 5 mL of acetone, concentrated under N₂ gas and made up volume to 1.0 mL with methanol. The sample solution is determined by LC/MS/MS-SRM analysis.

The method detection limit (MDL) and the method quantification limit (MQL) are 0.0010 µg/L and 0.0026 µg/L, respectively. The recovery of target from river water was 91.9% (CV 5.7%). The concentrations of target in river and sea waters at Kanagawa area were less than MDL.

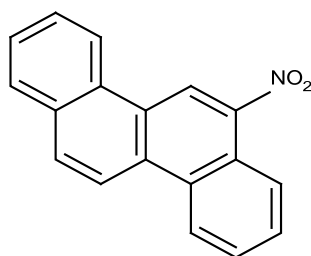


物質名	分析法フローチャート	備 考
6-ニトロクリ セン	【水質】 <pre> graph LR A[水質試料] --> B[固相抽出] B --> C[洗浄] C --> D[溶出] D --> E[濃縮] E --> F[定容] F --> G[LC/MS/MS-SRM] </pre> 水質試料 重量測定、100 mL 全量 メタノール 10 mL×2 回 洗い込み、試料と混合 カラ容器重量再測定 固相抽出 エムポアディスク カートリッジ C18 洗浄 メタノール / 精製水 (1:5) 10 mL 溶出 アセトン 5 mL 濃縮 窒素気流下 0.1 mL 以下 定容 メタノール 1.0 mL LC/MS/MS-SRM APCI-negative	分析原理： LC/MS/MS- SRM APCI-Negative 検出下限値： 【水質】(μg/L) 0.0010 分析条件： 機器 LC/MS： Shimadzu製 LCMS-8050 カラム Waters 製 Cortecs C8 30 mm × 2.1 mm , 1.6 μm

6-ニトロクリセン

6-Nitrochrysene

【対象物質の構造】



CAS 番号：7496-02-8

分子式：C₁₈H₁₁NO₂

【物理化学的性状】^{1), 2)}

物質名	6-ニトロクリセン
分子量（平均分子量）	273.29
分子量（モノアイソトピック質量）	273.07898
密度 (g/cm ³)	-
沸点 (°C)	昇華
融点 (°C)	約 215°C で分解
蒸気圧	7.61 × 10 ⁻⁹ mmHg (1.01 × 10 ⁻⁸ hPa*) (25°C)
水溶解度 (mg/L)	1.53 × 10 ⁻² mg/L (25°C)
ヘンリー定数 (atm·m ³ /mol)	-
log P _{ow}	5.34
pKa	-

*：換算値（1 mmHg = 1.33 hPa による。）

【毒性、用途】

〔毒性〕³⁾

発がん性分類：第2類 A

〔用途〕³⁾

発光素子原料

出典：

- 1) 厚生労働省 職場の安全サイト, GHS モデル SDS 情報, 6-ニトロクリセン (https://anzeninfo.mhlw.go.jp/anzen/gmsds_label/lab7496-02-8.html) から引用
- 2) PubChem from EPA
- 3) 出典：独立行政法人製品評価技術基盤機構ホームページ「化学物質総合情報提供システム(CHRIP)」より引用

§1 分析法

(1) 分析法の概要

底質試料にサロゲート内標準を添加し、アセトニトリルで超音波・振とう抽出後、遠心分離する。抽出液を 3%塩化ナトリウム水溶液で希釈し、ヘキサンで抽出する。抽出液を脱水し、シリカゲルカートリッジに通液した後、1%ジエチルエーテル含有ヘキサンで溶出する。溶出液を濃縮、定容し、シリンジスパイク内標準を添加して GC/MS-SIM で定量する。

(2) 試薬・器具

【試薬】

6-ニトロクリセン	： AccuStandard 製 (100 µg/mL、トルエン溶液)
6-ニトロクリセン- <i>d</i> ₁₁	： Cambridge Isotope Laboratories 製 (50 µg/mL、純度 98%、トルエン溶液)
<i>p</i> -テルフェニル- <i>d</i> ₁₄	： AccuStandard 製 (500 µg/mL、純度 98%、ジクロロメタン溶液)
アセトニトリル	： 富士フイルム和光純薬製 LC/MS 用
ヘキサン	： 富士フイルム和光純薬製 残留農薬用
トルエン	： 富士フイルム和光純薬製 残留農薬用
塩化ナトリウム	： 関東化学製 残留農薬試験・PCB 試験用
ジエチルエーテル	： 関東化学製 残留農薬試験・PCB 試験用
硫酸ナトリウム（無水）	： 関東化学製 残留農薬試験・PCB 試験用
精製水	： Milli-Q IQ 7000 で精製した MilliQ 水
固相カートリッジ	： Waters 製 Sep-Pak Silica 6 cc Vac (1 g)

【試薬の調製】

〔1%ジエチルエーテル含有ヘキサン〕

ジエチルエーテル 1.0 mL をヘキサンで 100 mL にする。本溶液は用事調製とする。

〔3%塩化ナトリウム水溶液〕

塩化ナトリウム 60 g を精製水に溶解し、2.0 L に定容する。

【標準液の調製】

〔標準液〕

市販品の 6-ニトロクリセン (100 µg/mL、トルエン溶液) を標準原液とする。標準原液をトルエンで希釈して 1.0 µg/mL の標準液を調製する。

〔サロゲート内標準液〕

市販品の 6-ニトロクリセン-*d*₁₁ (50 µg/mL、トルエン溶液) をサロゲート内標準原液とする。サロゲート内標準原液をトルエンで希釈して、1.0 µg/mL のサロゲート内標準液を調製する。

〔シリンジスパイク内標準液〕

市販品の *p*-テルフェニル-*d*₁₄ (500 µg/mL ジクロロメタン溶液) をシリンジスパイク内標準原液とする。シリンジスパイク内標準原液をトルエンで希釈して、500 ng/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〕

100 µg/mL の標準原液及び 1.0 µg/mL の標準液をトルエンで適宜希釈して 10～1000 ng/mL の検量線用標準液を調製する。各濃度の検量線用標準液には、6-ニトロクリセン-*d*₁₁ を 50 ng/mL、*p*-テルフェニル-*d*₁₄ を 20 ng/mL になるようサロゲート内標準液及びシリンジスパイク内標準液を添加する。

【器具】 (注 1)

50 mL 共栓付き遠沈管、10 mL 共栓付き試験管、1 L 分液ロート、100 mL メスフラスコ、マイクロシリンジ、ビーカー、メスシリンダー、ホールピペット、メスピペット、ガラス製注射筒、薬さじ、パスツールピペット

(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」（最新版）に従う。

【試料の前処理及び試験液の調製】

底質試料 10 g-wet (5.0 g-dry 相当) を 50 mL の遠沈管に量り取り、サロゲート内標準原液(50 µg/mL) 20 µL を添加して混合後、アセトニトリル 35 mL を加え、超音波抽出 10 分間、振とう抽出 10 分間、遠心分離 (3000 rpm、10 分間) を行い、上澄み液を予め 3%塩化ナトリウム水溶液 500 mL を入れた分液ロートに移す。再度、遠沈管にアセトニトリル 35 mL を加えて同様に操作した後、上澄み液を分液ロートに移し、ヘキサンを 50 mL 加えて 20 分振とう抽出を行う。静置後、分離したヘキサン層を無水硫酸ナトリウムで脱水し、100 mL メスフラスコに移してヘキサンで 100 mL に定容したものを粗抽出液とする。粗抽出液 5 mL (1/20 分取) (注 2) を試験管に移し、窒素気流下で 0.5 mL 以下に濃縮後、予め 1%ジエチルエーテル含有ヘキサン 10 mL、ヘキサン 10 mL の順に洗浄した固相カートリッジ(Sep-Pak Silica 6 cc Vac (1 g)) に負荷する。粗抽出液の入っていた試験管をヘキサン 2 mL で固相カートリッジに洗い込み、ヘキサン 10 mL で固相カートリッジを洗浄して洗浄液は廃棄する。1%ジエチルエーテル含有ヘキサン 15 mL (注 3) で溶出し、溶出液を窒素気流下で 0.5 mL 以下に濃縮し、トルエン 2 mL を添加する。溶出液を 1 mL まで濃縮してトルエンに転溶し、シリンジスパイク内標準液(500 ng/mL) 40 µL を添加して試験液とする。

【空試験液の調製】

実試料が含有すると推定される量の精製水を用い、【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 : Agilent 製 7890A MS : 日本電子製 JMS-Q1000GC Mk II
使用カラム	: Agilent 製 DB-17ms (30 m × 0.25 mm, 0.15 µm)
カラム温度	: 100°C (1 min) → 20°C/min → 300°C (5 min) → 45°C/min → 320°C (10 min)
注入口温度	: 250°C
試料導入方法	: スプリットレス (パージ開始時間 1.5 min)
試料注入量	: 1.0 µL
キャリアーガス	: 1 mL/min (定流量)
インターフェース温度	: 300°C

イオン源温度	: 260°C
イオン化電圧	: 70 eV
検出モード	: SIM
モニターイオン	: 6-ニトロクリセン m/z 273.0 (定量用)、 m/z 215.0 (確認用) 6-ニトロクリセン- d_{11} m/z 236.0 (定量用)、 m/z 284.0 (確認用) p -テルフェニル- d_{14} m/z 244.0 (定量用)

〔検量線〕

検量線用標準液 1.0 μ L 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 1.0 μ L を GC/MS に注入し、対象物質とサロゲート内標準のピーク面積の比を検量線に照らして定量する。

〔濃度の算出〕

試料中の濃度 C (ng/g-dry) 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料液中のサロゲート内標準に対する対象物質の濃度比

Q : 試料中に添加したサロゲート内標準の量 (ng)
 (= 添加したサロゲート内標準の濃度 (ng/ μ L) $\times$ 添加したサロゲート内標準の容量 (μ L))

V : 試料量 (g-dry)

本分析法に従った場合、以下の数値を使用する。

$$Q = 1000 \text{ (ng)}$$

(= 添加したサロゲート内標準の濃度 (50 ng/ μ L) $\times$ 添加したサロゲート内標準の容量 (20 μ L))

$$V = 5.0 \text{ (g-dry)}$$

即ち、

$$C = R \times 200 \text{ (ng/g-dry)}$$

である。

〔サロゲート回収率の算出〕

「検量線用標準液のサロゲート内標準のピーク面積／シリンジスパイク内標準のピーク面積」の平均を 100 とし、「試験液のサロゲート内標準のピーク面積／シリンジスパイク内標準のピーク面積」からサロゲート回収率を算出する。サロゲート回収率は「化学物質環境実態調査実施の手引き」（最新版）に従って 50 ～120%の範囲を目安とする。

〔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 4）。

表 1 IDL の算出結果

物質名	IDL (pg)	試料量 (g-dry)	分取	最終液量 (mL)	IDL 試料換算値 ($\mu\text{g/g-dry}$)
6-ニトロクリセン	3.2	5.0	1/20	1.0	0.013

〔分析方法の検出下限値 (MDL)及び定量下限値(MQL)〕

本分析方法の MDL 及び MQL を表 2 に示す（注 5）。

表 2 MDL 及び MQL 算出の結果

物質名	試料	試料量* (g-dry)	分取	最終液量 (mL)	MDL ($\mu\text{g/g-dry}$)	MQL ($\mu\text{g/g-dry}$)
6-ニトロクリセン	底質	7.2	1/20	1.0	0.0095	0.024

*：湿泥 10 g-wet（水分量 28.3%）

注 解

- (注1) JIS R 3505に記載のクラスAのガラス器具を使用する。マイクロシリンジ及びマイクロピペットを使用する場合には精度管理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) 本検討で使用した底質試料は夾雑物が多かったため、使用している固相カートリッジの充填量に合わせて底質5 g-dryのうち1/20分取したが、夾雑物の含有量により分取量を変更してもよい。
- (注3) 固相カートリッジからの溶出溶媒量は、ロットにより異なる可能性があるため、ロットが変わった場合は分画試験を行って確認する。

(注4) IDLは、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に示す。

表3 IDLの算出結果(詳細) *1

対象物質名	6-ニトロクリセン
試料量 (g-dry)	5.0
分取	1/20
最終液量 (mL)	1.0
注入液濃度 (ng/mL)	10
注入量 (pg)	10
装置注入量 (μL)	1.0
結果 1 (pg)	12.4
結果 2 (pg)	11.4
結果 3 (pg)	10.3
結果 4 (pg)	10.0
結果 5 (pg)	11.8
結果 6 (pg)	10.9
結果 7 (pg)	11.1
平均値 (pg)	11.14
標準偏差(σ_{n-1}) (pg)	0.821
IDL (pg)*2	3.2
IDL 試料換算値 (ng/g-dry)	13
S/N 比	7.9
CV (%)	7.4

*1 : 定量結果は、サロゲート法により補正した値である。

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

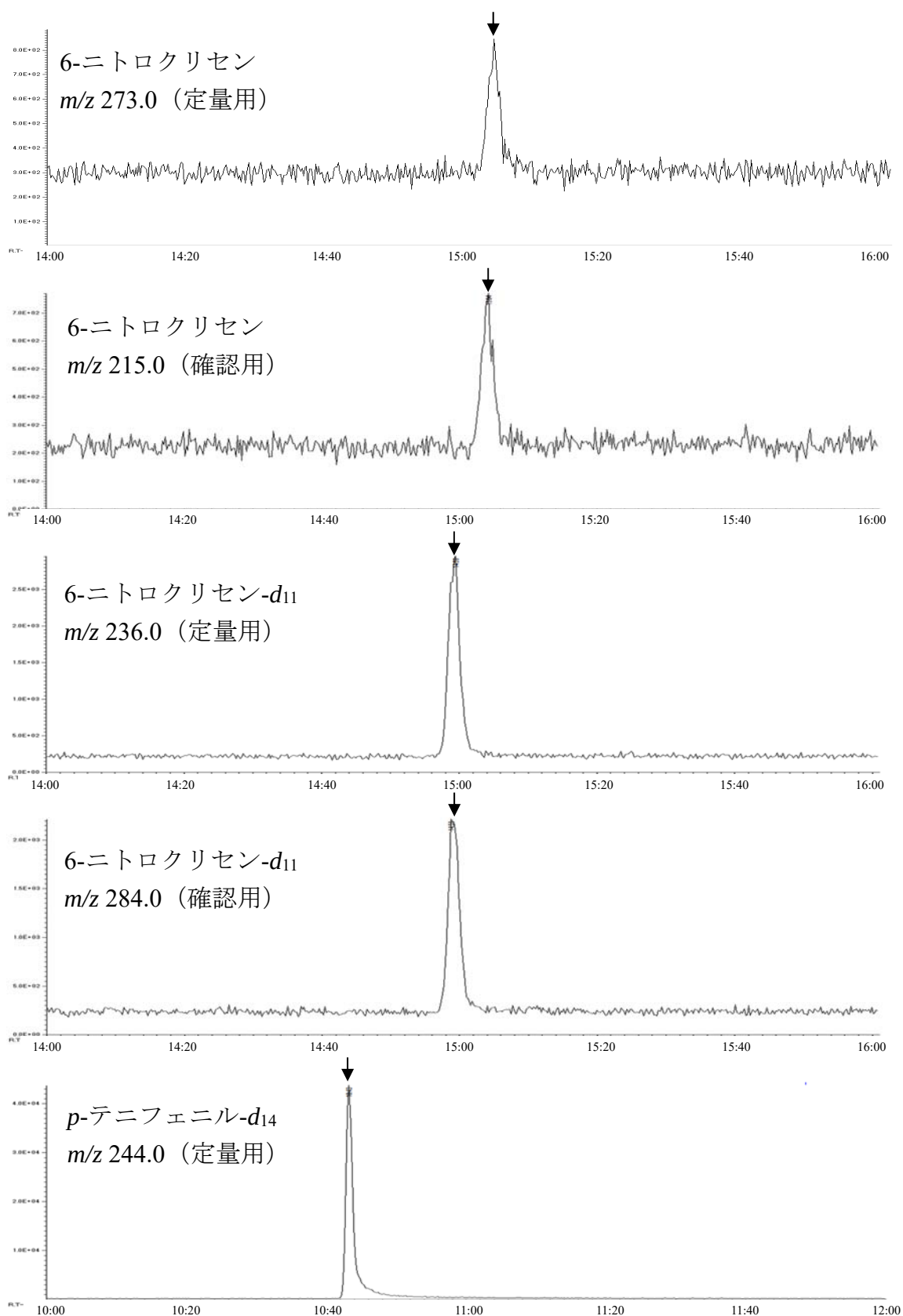


図1 IDL 測定時のクロマトグラム (6-ニトロクリセン : 10 ng/mL、
6-ニトロクリセン- d_{11} : 50 ng/mL、 p -テルフェニル- d_{14} : 20 ng/mL)

(注5) MDL 及び MQL は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 28 年 3 月)に従って、表 4 のとおり算出した。MDL 測定時のクロマトグラムを図 2 に示す。

表4 MDL 及びMQL の算出結果 (詳細) *1

物質名	6-ニトロクリセン	補正後 回収率(%)	サロゲート 回収率(%)
試料	底質	-	-
試料量 (g-dry)*2	7.2	-	-
分取	1/20	-	-
標準添加量 (ng)	1000	-	-
試料換算濃度 (ng/g-dry)	139	-	-
最終液量 (mL)	1.0	-	-
注入液濃度 (ng/mL)	50	-	-
装置注入液量 (μL)	1.0	-	-
操作ブランク平均 (ng/g-dry) *3	< 9.5	-	74
無添加平均 (ng/g-dry) *4	< 9.5	-	73
結果 1 (ng/g-dry)	124	89	84
結果 2 (ng/g-dry)	123	88	87
結果 3 (ng/g-dry)	130	94	81
結果 4 (ng/g-dry)	126	90	89
結果 5 (ng/g-dry)	127	91	82
結果 6 (ng/g-dry)	126	91	83
結果 7 (ng/g-dry)	125	90	87
平均値 (ng/g-dry)	125.9	90.4	84.3
標準偏差(σ_{n-1}) (ng/g-dry)	2.43	-	-
MDL (ng/g-dry) *5	9.5	-	-
MQL (ng/g-dry) *6	24	-	-
S/N 比	10	-	-
CV (%)	1.9	-	-

*1：定量結果は、サロゲート法により補正した値である。

*2：湿泥 10 g-wet (水分量 28.3%)

*3：空試験液を測定した値の平均値(n = 2)

*4：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)

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

*6：MQL = $\sigma_{n-1} \times 10$

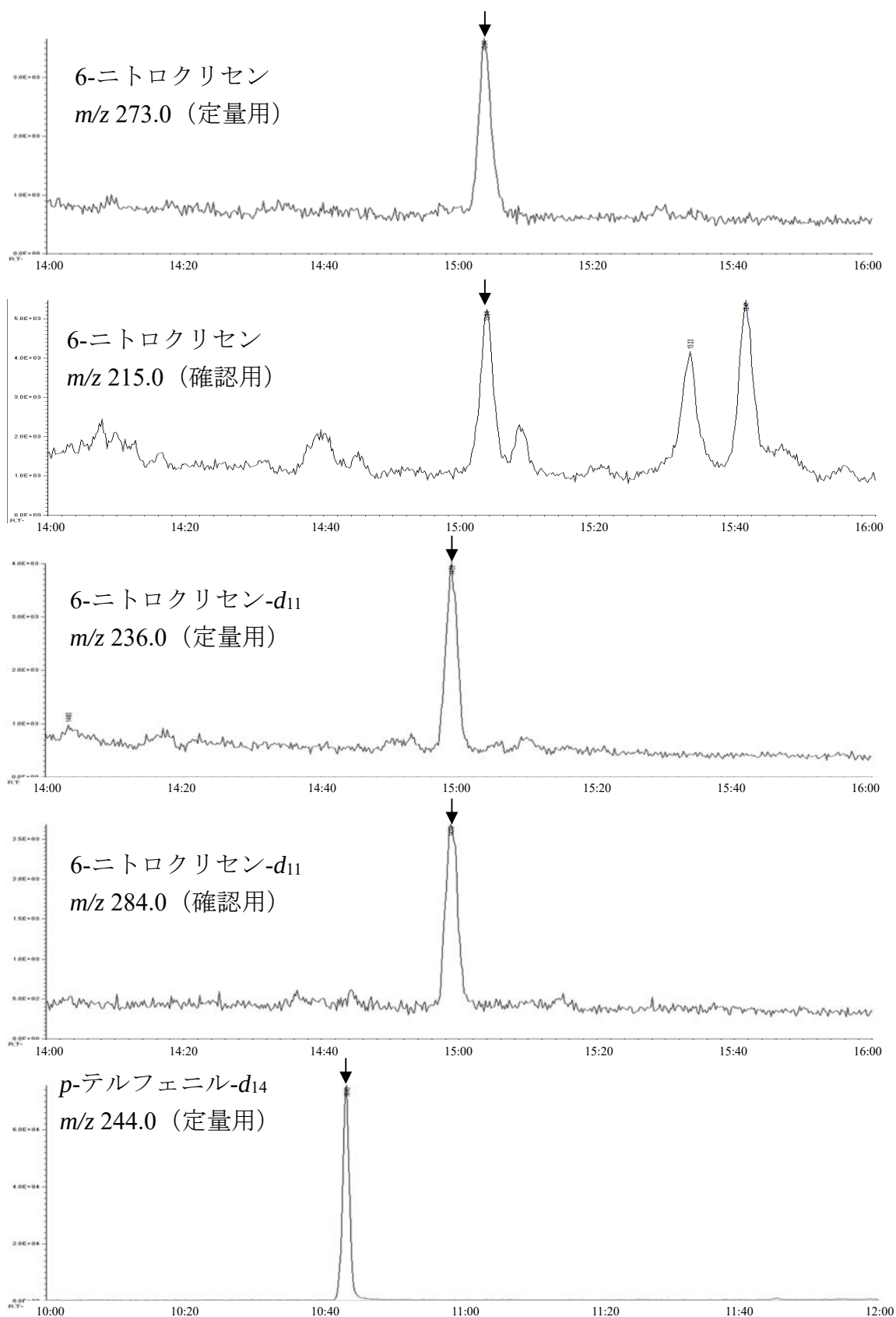


図2 MDL 測定時のクロマトグラム (6-ニトロクリセン : 1000 ng、
6-ニトロクリセン- d_{11} 、 p -テルフェニル- d_{14} : 20 ng/mL)

§ 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 3 に示す。

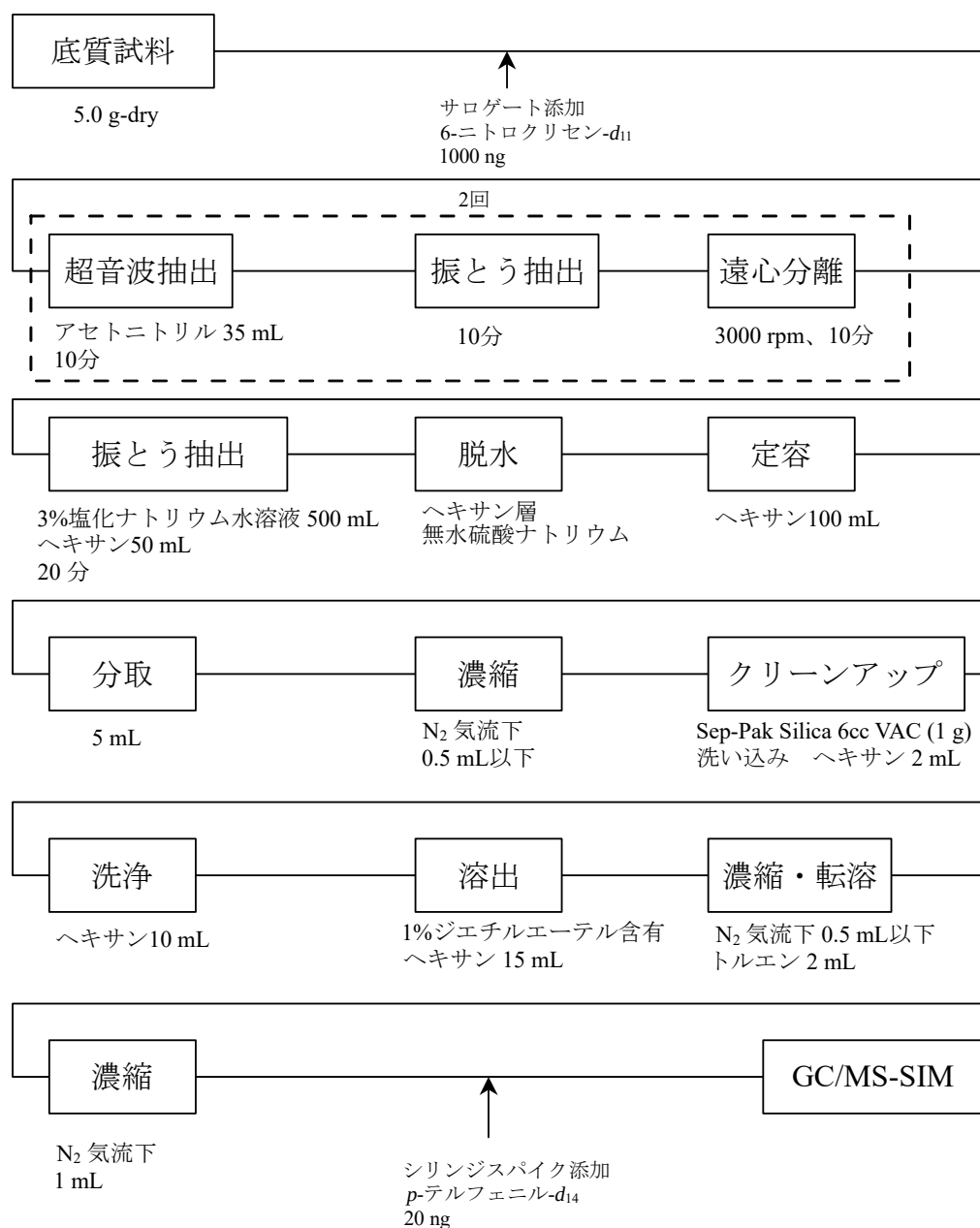


図 3 分析法のフローチャート

[検量線]

検量線を図 4-1、図 4-2 に、検量線作成用データを表 5 に示す。

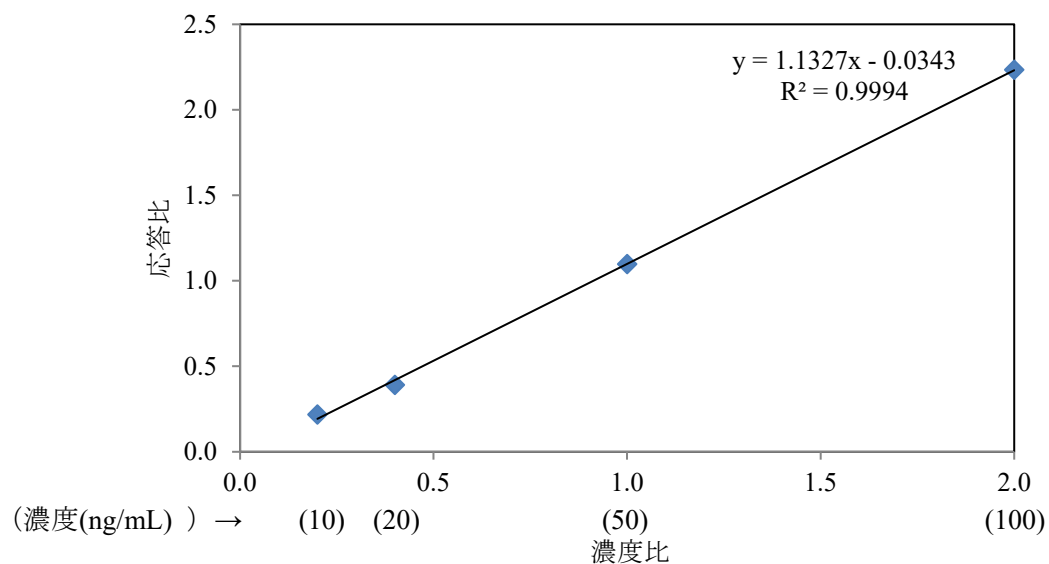


図 4-1 低濃度域検量線
(10～100 ng/mL、サロゲート内標準：50 ng/mL)

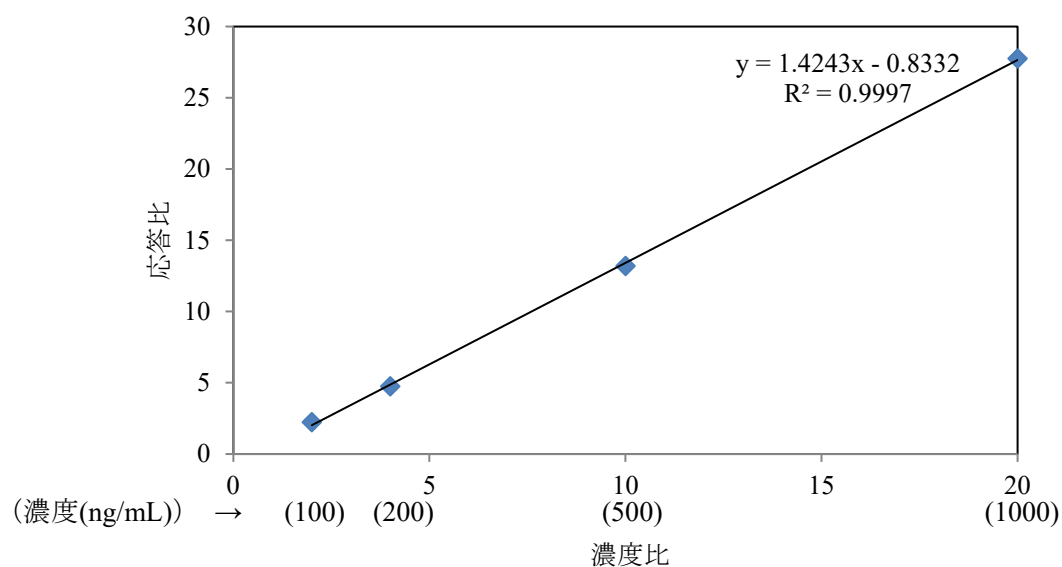


図 4-2 高濃度域検量線
(100～1000 ng/mL、サロゲート内標準：50 ng/mL)

表5 検量線作成用データ

標準液濃度 (ng/mL) (C _s)	濃度比 (C _s /C _{is} *)	応答値		応答比 (As/Ais)
		対象物質(As) 【6-ニトロクリセン】	サロゲート内標準(Ais)* 【6-ニトロクリセン- <i>d</i> ₁₁ 】	
10	0.20	2213	10158	0.218
20	0.40	3911	10013	0.391
50	1.0	10847	9882	1.10
100	2.0	24791	11094	2.23
200	4.0	52214	10997	4.75
500	10	156692	11871	13.2
1000	20	340564	12269	27.8

*：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。

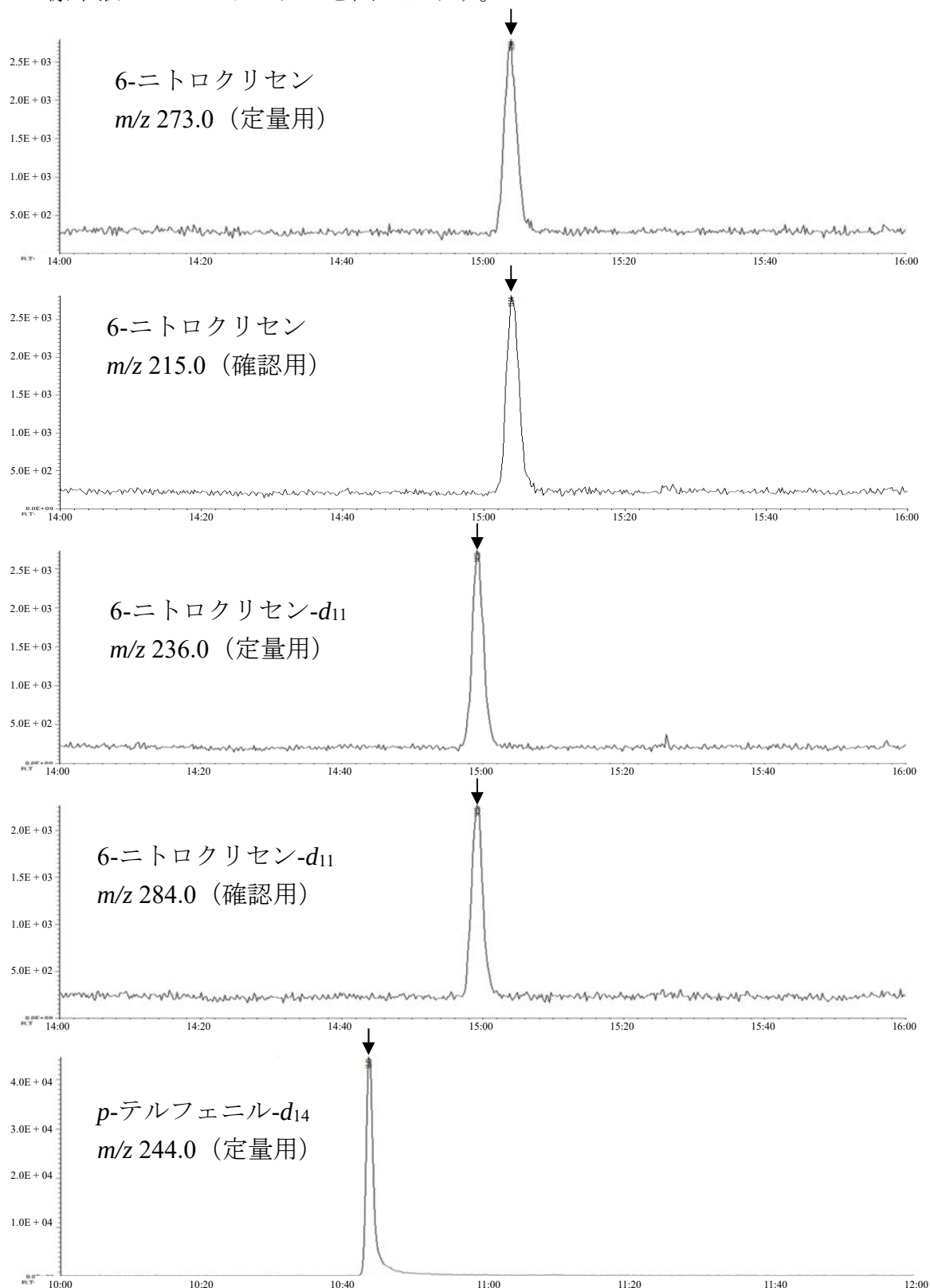


図5 標準液のクロマトグラム (6-ニトロクリセン：50 ng/mL、
6-ニトロクリセン- d_{11} ：50 ng/mL、 p -テルフェニル- d_{14} ：20 ng/mL)

[マススペクトル]

対象物質のマススペクトルを図 6-1～図 6-3 に示す。

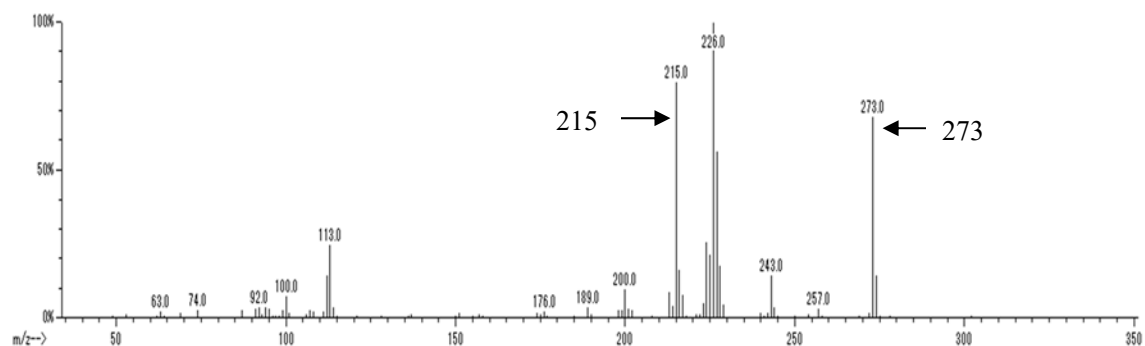


図 6-1 6-ニトロクリセンのマススペクトル

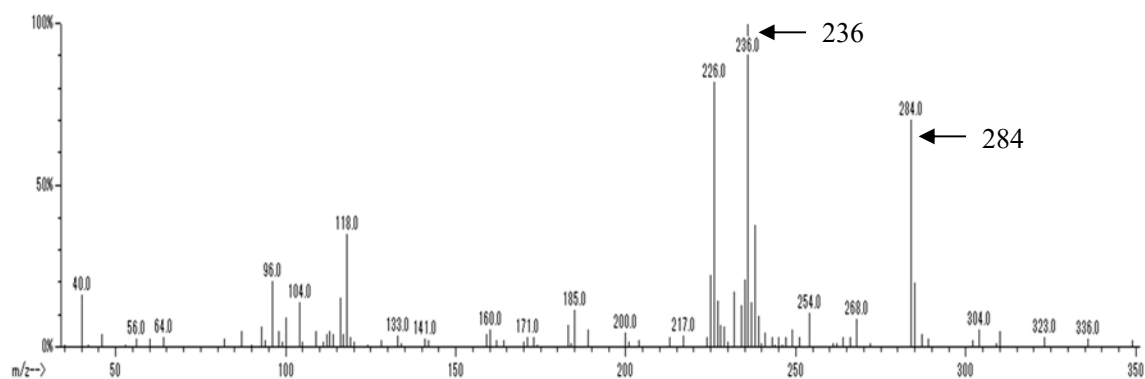


図 6-2 6-ニトロクリセン-d₁₁ のマススペクトル

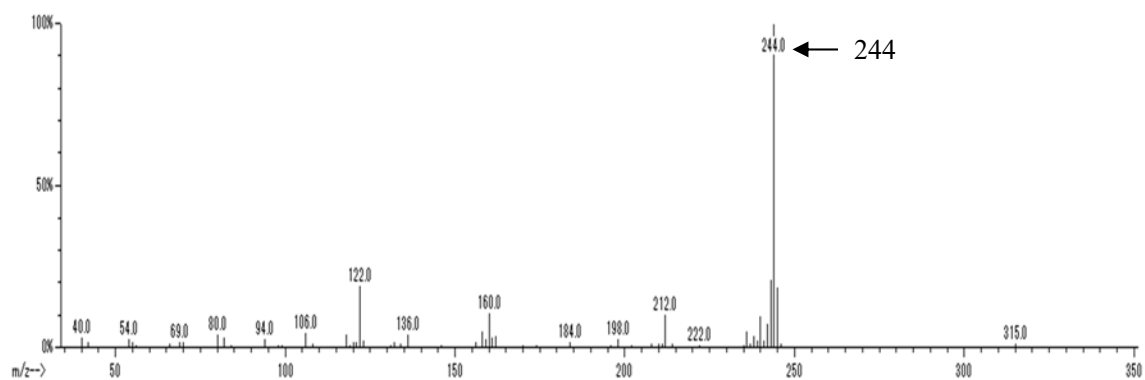


図 6-3 p-テルフェニル-d₁₄ のマススペクトル

〔操作ブランク試験〕

操作ブランク試験結果のクロマトグラムを図 7 に示す。対象物質については MDL 未満(< 9.5 ng/g-dry)であった。

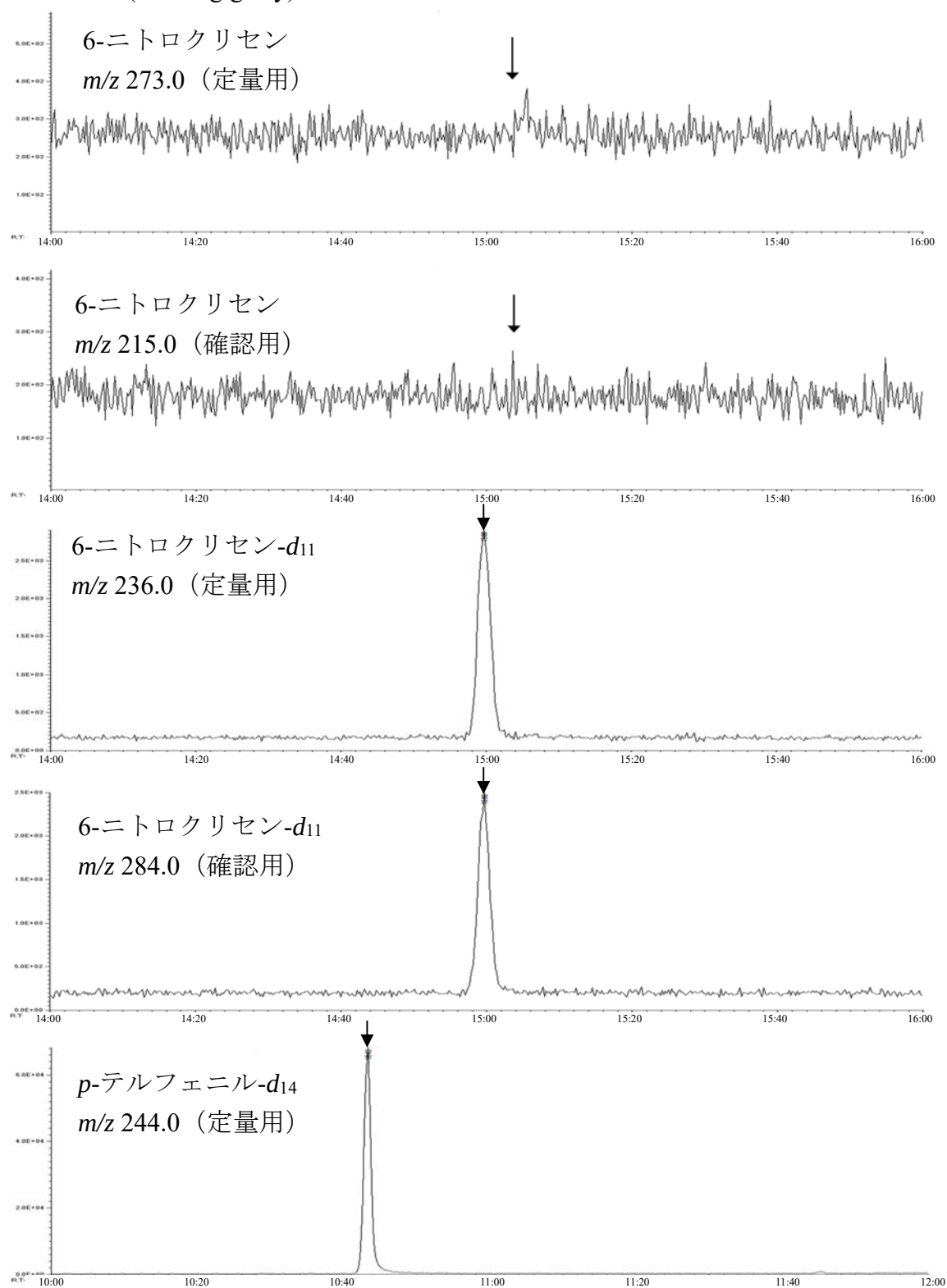


図 7 操作ブランクのクロマトグラム
(6-ニトロクリセン- d_{11} 50 ng/mL、 p -テルフェニル- d_{14} 20 ng/mL)

〔添加回収試験〕

底質への 6-ニトロクリセンの添加回収試験結果を表 6 に、クロマトグラムを図 2（添加試料）及び図 8（無添加試料）に示す。

底質試料に対象物質の標準液を添加し、一晚静置後に【試料の前処理及び試験液の調製】に従って前処理を行って測定した結果、回収率は 90%であった。

表 6 添加回収試験結果

試料	試料量* ¹ (g-dry)	試験 数	添加量 (ng)	検出 濃度* ² (ng/g-dry)	回収 率* ² (%)	変動 係数 (%)	サロゲート 回収率 (%)
底質	7.2	2	0	< 9.5	-	-	73
	7.2	7	1000	126	90	1.9	84

*1：湿泥 10 g-wet（水分量 28.3%）

*2：検出濃度及び回収率はサロゲート法により補正した値

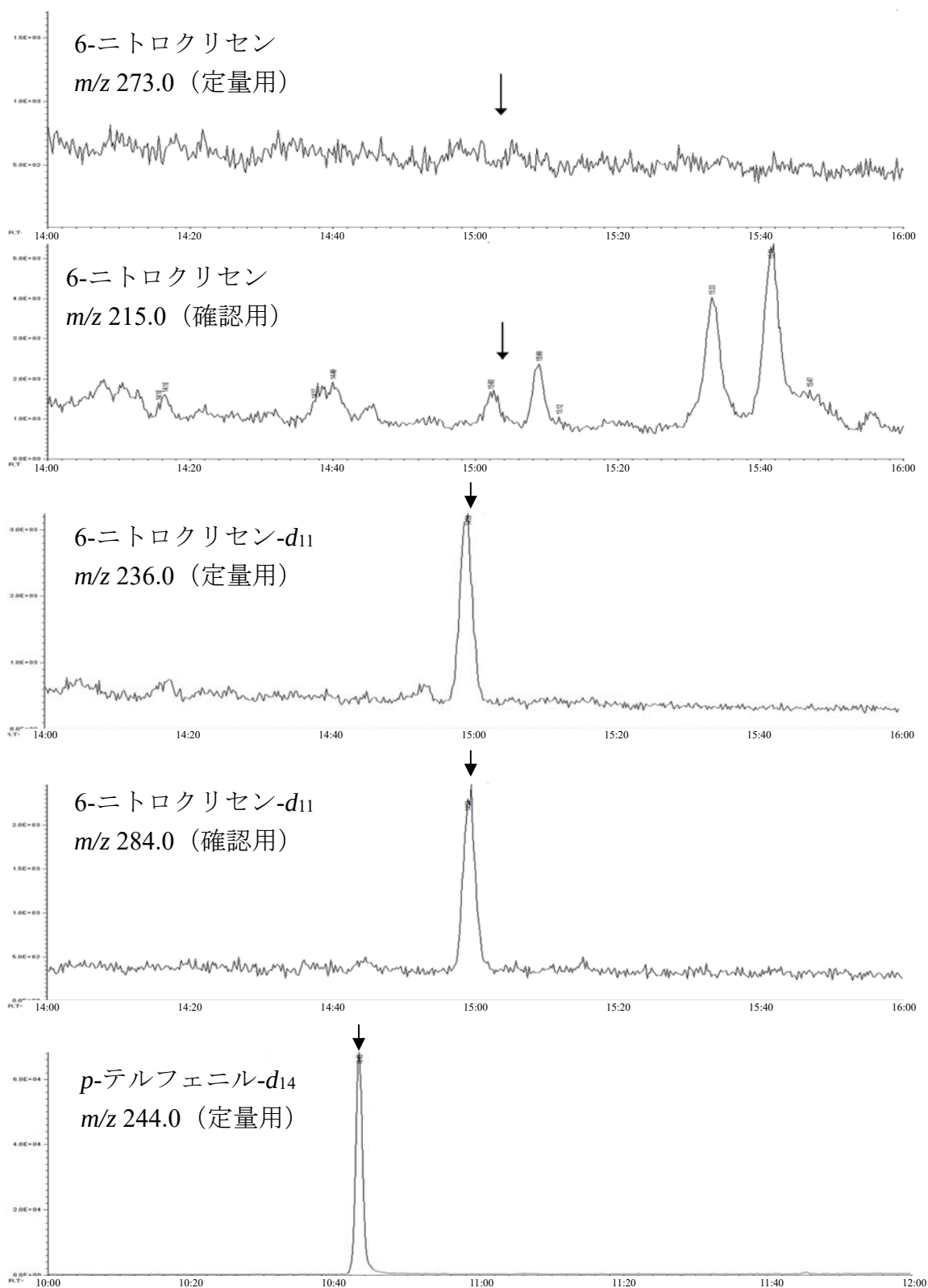


図 8 添加回収試験時のクロマトグラム (無添加試料)
(6-ニトロクリセン- d_{11} 50 ng/mL、 p -テルフェニル- d_{14} 20 ng/mL)

〔保存性試験〕

試験液及び標準液の保存性試験結果を表 7 に示す。試験液の保存性は、底質試料に対象物質の標準液を添加し、一晚静置後に【試料の前処理及び試験液の調製】に従って前処理を行って試験液を調製した。調製した試料は褐色バイアル瓶に入れ、冷暗所に保存した。なお保存性試験結果は、対象物質とシリンジスパイク内標準の面積比から検量線を作成し、内標準法により定量して評価した。その結果、底質の試験液は 2 週間程度の保存可能であることが分かった。また標準液の残存率は調製から 1 週間で低下傾向がみられるため、調製後速やかに測定をした方がよいと考えられる。

表 7 保存性試験結果

試料	調製濃度 (ng/g-dry) ^{*1}	検出濃度 ^{*2} (ng/g-dry) (残存率(%) ^{*3}) [残存率(%)] ^{*4}			
		当日	7 日間	14 日間	21 日間
底質 試験液	143	108 (77) [100]	104 (74) [96]	105 (76) [97]	-
MDL の 10 倍	500	500	437	431	378
標準液 程度		(100)	(87)	(86)	(76)
検量線最高濃度	1000	1000	919	905	788
		(100)	(92)	(91)	(79)

*1：標準液の単位は ng/mL

*2：検出濃度のうち底質試験液については内標準法により補正した値

*3：()内の残存率(%)は調製濃度に対する検出濃度の割合(n=2)

*4：[]内の残存率(%)は当日の検出濃度に対する保存後の検出濃度の割合(n=2)

〔クリーンアップ固相の選定〕

クリーンアップ固相として Sep-Pak Silica 6 cc Vac (1g)、Sep -Pak Florisil 6cc Vac (1g)について検討を行った。

① コンディショニング条件

条件 1) アセトン 20 mL、ヘキサン 20 mL

条件 2) 1%ジエチルエーテル含有ヘキサン 10 mL、ヘキサン 10 mL

条件 3) 10%ジエチルエーテル含有ヘキサン 10 mL、ヘキサン 10 mL

② 溶出条件

①の各条件で洗浄した後、6-ニトロクリセン標準原液（100 µg/mL、トルエン溶液）10 µL 及び 6 ニトロクリセン-*d*₁₁ 標準液（10 µg/mL、トルエン溶液）10 µL を固相カートリッジに添加し、ヘキサン 30 mL、1%ジエチルエーテル含有

ヘキサン 50 mL の順で 10 mL/min の流速で溶出し、10 mL ずつ分画し、各画分を 1 mL に濃縮して溶出成分を測定した。結果を表 8-1～表 8-3 に示す。表中 S/N = 3 以上のピークを検出した場合は○、不検出の場合は×で表示した。

表 8-1～表 8-3 の結果から、クリーンアップ固相として Sep-Pak Silica 6cc Vac (1g) を使用し、ヘキサン画分に溶出する無極性成分を分離できる 2) のコンディショニング条件を採用した。

表 8-1 1) のコンディショニング条件の場合

溶出溶媒	画分(mL)	溶出(S)	溶出(F)
ヘキサン	0-10	○	×
	10-20	○	×
	20-30	○	×
1%ジエチルエーテル含有ヘキサン	0-10	×	×
	10-20	×	×
	20-30	×	×
	30-40	×	×
	40-50	×	×

S : Sep-Pak Silica、F : Sep-Pak Florisil

表 8-2 2) のコンディショニング条件の場合

溶出溶媒	画分(mL)	溶出(S)	溶出(F)
ヘキサン	0-10	×	×
	10-20	×	×
	20-30	×	×
1%ジエチルエーテル含有ヘキサン	0-10	○	×
	10-20	○	×
	20-30	×	×
	30-40	×	×
	40-50	×	×

S : Sep-Pak Silica、F : Sep-Pak Florisil

表 8-3 3)のコンディショニング条件の場合

溶出溶媒	画分(mL)	溶出(S)	溶出(F)
ヘキサン	0-10	○	×
	10-20	○	×
	20-30	○	×
1%ジエチルエーテル含有ヘキサン	0-10	○	×
	10-20	×	×
	20-30	×	×
	30-40	×	×
	40-50	×	×

S : Sep-pak Silica、F : Sep-pak Florisil

〔Sep-Pak Silica の分画試験〕

Sep-Pak Silica 6 cc Vac (1g)を使用し、1%ジエチルエーテル含有ヘキサン 10 mL、ヘキサン 10 mL で順次コンディショニング後、6-ニトロクリセン標準原液 (100 µg/mL、トルエン溶液) を 10 µL、6-ニトロクリセン- d_{11} 標準液 (10 µg/mL、トルエン溶液) を 10 µL 固相カートリッジに負荷し、ヘキサン 10 mL、1%ジエチルエーテル含有ヘキサン 20 mL の順で溶出し、5 mL ずつ分画し、窒素気流下で 1 mL に濃縮して測定した。分画試験の結果 (絶対検量線法で定量) を図 9 に示す。1%ジエチルエーテル 5~10 mL 及び 1%ジエチルエーテル 10~15 mL 画分に対象物質が溶出されたことから、1%ジエチルエーテル含有ヘキサン画分(0~15 mL)を分析対象とすることとした。

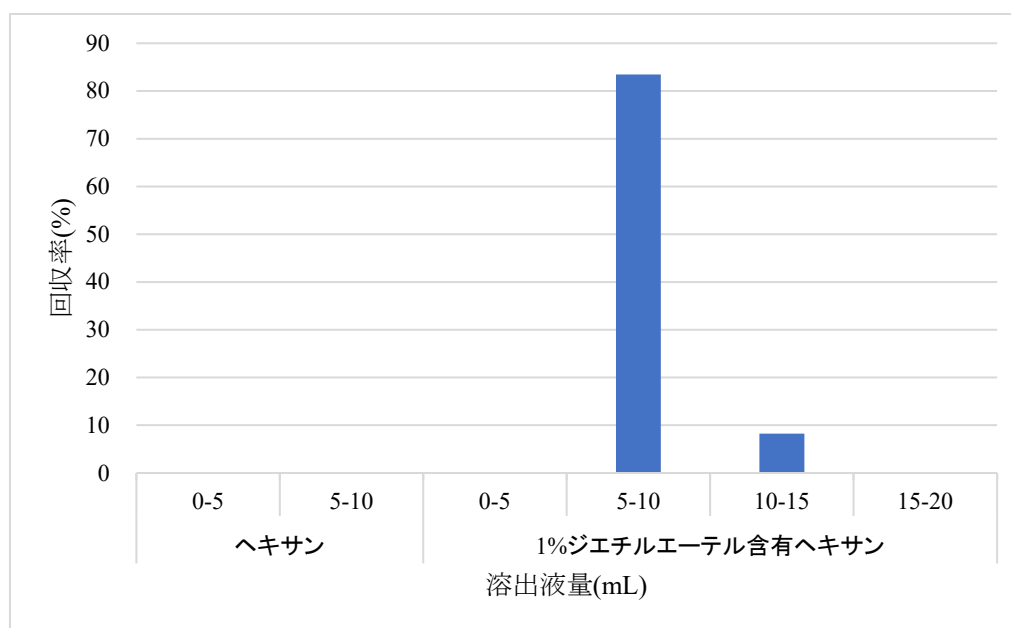


図 9 Sep-Pak Silica 6 cc Vac (1g)を使用した分画試験

〔GC カラムの焼きだしの検討〕

標準液を GC 測定した際、GC カラムに導入された夾雑物等によるベースラインの上昇が対象物質の検出時間付近で見られたため、以下の検討を行い、ベースラインの低減を図った。また夾雑物は不定期に異なる保持時間で現れた。

まず、GC カラムに導入された夾雑物の除去を図るため GC カラム昇温条件を高温(320℃)で 10 分間保持する条件で繰り返し測定を行った。検討した昇温条件は、以下のように設定し、検量線標準液(100 ng/mL)を 5 回繰り返し測定した。クロマトグラムの例を図 10 に示す。その結果、ベースラインは若干低減されたが、改善には至らなかった。なお、対象物質の面積値の CV 値(coefficient of variation)は 7.0% (n = 5)であった。

〔昇温条件〕

100℃ (1 min) → 45℃/min → 200℃ (0 min) → 10℃/min → 300℃ (5 min)

→ 45℃/min → 320℃ (10 min)

パージ時間 : 0.75 min

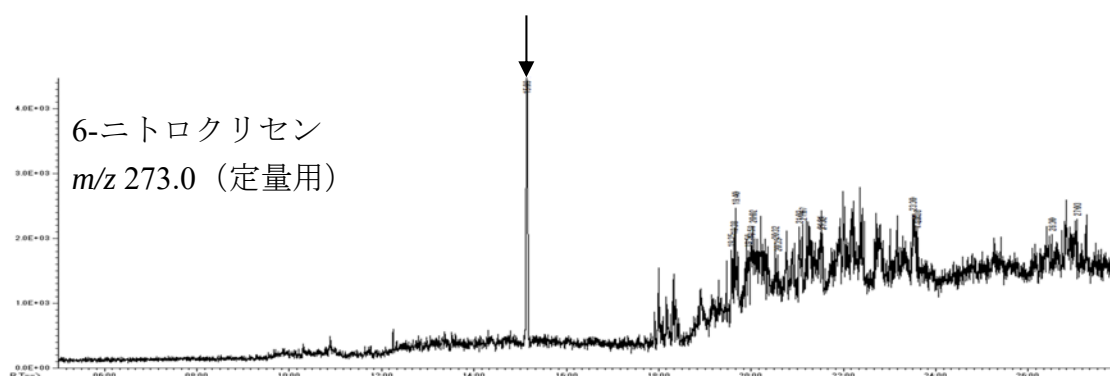


図 10 GC カラムの焼きだし検討時のクロマトグラム

〔昇温条件の検討〕

昇温条件により夾雑ピークを回避することを目的として、下記の 3 つの昇温条件を設定し（対象物質が検出する付近の昇温速度を 10～30°C/min に変動）、それぞれ検量線標準液(100 ng/mL)を 5 回繰り返し測定した。

〔昇温条件〕

条件①100°C (2 min) → 45°C/min → 200°C (0 min) → 10°C/min →

300°C (5 min) → 45°C/min → 320°C (10 min)

条件②100°C(2min) → 45°C/min → 200°C (0 min) → 20°C/min →

300°C (5 min) → 45°C/min → 320°C (10 min)

条件③100°C (2 min) → 45°C/min → 200°C (0 min) → 30°C/min →

300°C (5 min) → 45°C/min → 320°C (10 min)

ページ時間：1.5 min

得られた対象物質の面積値の CV 値を表 9、クロマトグラムを図 11-1～図 11-3 に示す。昇温条件①と②では夾雑ピークの大きさにあまり差がなく、対象物質検出付近でベースラインが大きく上昇したが、昇温条件③ではベースラインを低く抑えることができた。しかし、昇温条件③でベースラインが低減できたと考え、さらに 20 ng/mL の標準液を連続で 20 回測定したところベースラインが再び上昇したため、注入口の洗浄による夾雑物の低減化を検討することとした。

表 9 昇温条件検討時の面積値 CV(%)

昇温条件	試験数	CV(%)
①	5	4.2
②	5	2.7
③	5	4.0

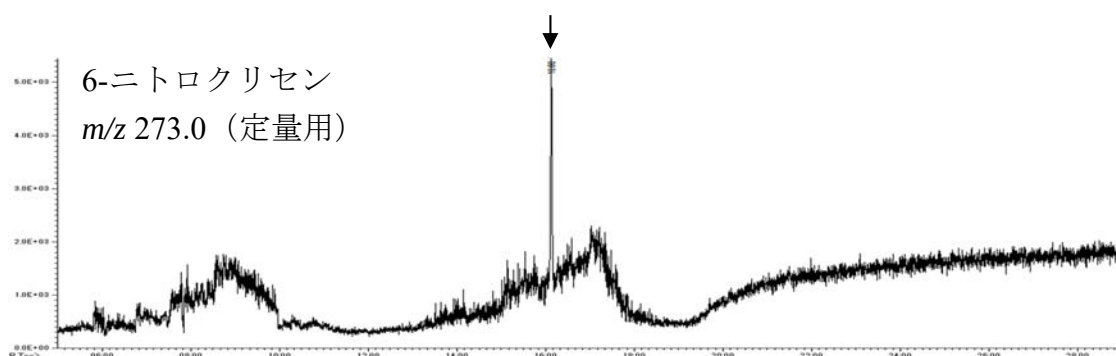


図 11-1 昇温条件①のクロマトグラム

(100°C (2 min) → 45°C/min → 200°C (0 min) → 10°C/min → 300°C (5 min) → 45°C/min → 320°C (10 min))

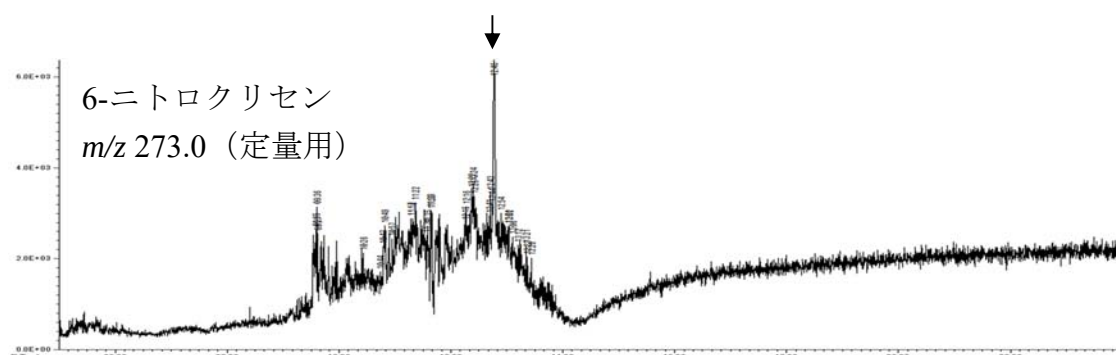


図 11-2 昇温条件②のクロマトグラム

(100°C(2min) → 45°C/min → 200°C (0 min) → 20°C/min → 300°C (5 min) → 45°C/min → 320°C (10 min))

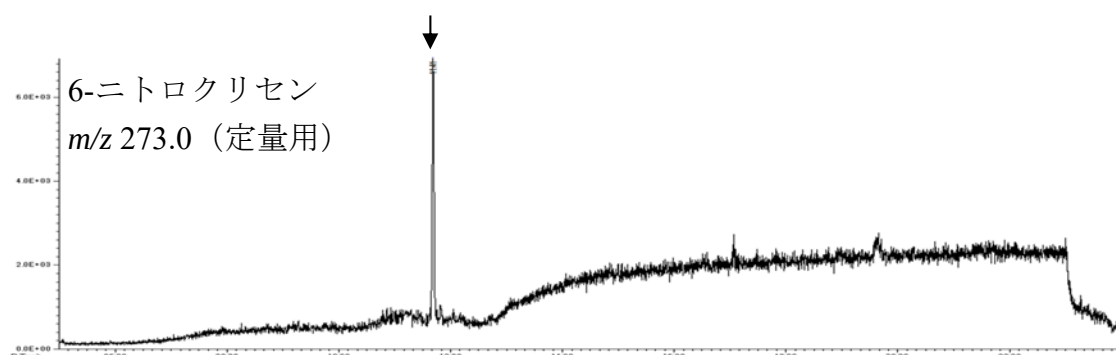


図 11-3 昇温条件③のクロマトグラム

(100°C (2 min) → 45°C/min → 200°C (0 min) → 30°C/min → 300°C (5 min) → 45°C/min → 320°C (10 min))

〔注入口の洗浄〕

GC カラム焼きだしや昇温条件検討によるベースライン上昇の回避が難しかったため、注入口に残留した夾雑物による妨害を考え、注入口部分の洗浄を行った。注入口のレデュースングナットを外してアセトンで超音波洗浄、注入口ゴールドシール及びワッシャーは新品に交換、取り外せない部分はキムワイプにアセトンを含ませて拭きとった。注入口を洗浄後、昇温条件①～⑥で標準液（①～④は 100 ng/mL、⑤、⑥は 200 ng/mL）の測定を行った。なお、対象物質が検出するカラム温度付近は下線「 」を示した。

〔昇温条件〕

条件①～③は〔昇温条件の検討〕での条件と同じ

条件④100°C (2 min) → 45°C/min → 200°C (0 min) → 3°C/min →
300°C (5 min) → 45°C/min → 320°C (10 min)

条件⑤100°C (2 min) → 10°C/min → 300°C (5 min) → 45°C/min →
320°C (10 min)

条件⑥100°C (2 min) → 20°C/min → 300°C (5 min) → 45°C/min →
320°C (10 min)

得られた対象物質の面積値の CV 値を表 10、クロマトグラムを図 12-1～図 12-8 に示す。洗浄前のクロマトグラム（昇温条件①：図 11-1、昇温条件②：図 11-2 及び昇温条件③：図 11-3）と洗浄後のクロマトグラム図 12-1～図 12-6 を比較すると、昇温条件④（図 12-1）ではややベースライン上昇が見られたが、殆どの昇温条件（①、②、③、⑤、⑥）では夾雑物によるピーク並びにベースライン上昇が抑えられていることが分かった。以上の検討の結果より、ベースライン上昇及び夾雑物によるピークの上昇は、装置の注入口部分の汚染によるものと考えられ、注入口の洗浄と昇温条件の検討により低減、妨害ピークの回避を図ることができた。

本法における分析条件としては、環境試料測定時に対象物質と夾雑物によるピークを分離できるよう比較的昇温が緩やかな条件⑤、⑥のうち、低濃度の標準物質を測定したクロマトグラム（図 12-7、図 12-8）で S/N 比の良かった昇温条件⑥を採用することとした。

表 10 GC 装置注入口洗浄後の昇温条件の検討結果

昇温条件	試験数	CV(%)
④	20	7.1
①	20	2.5
②	20	2.2
③	20	3.7
⑤	20	2.5
⑥	15	2.3

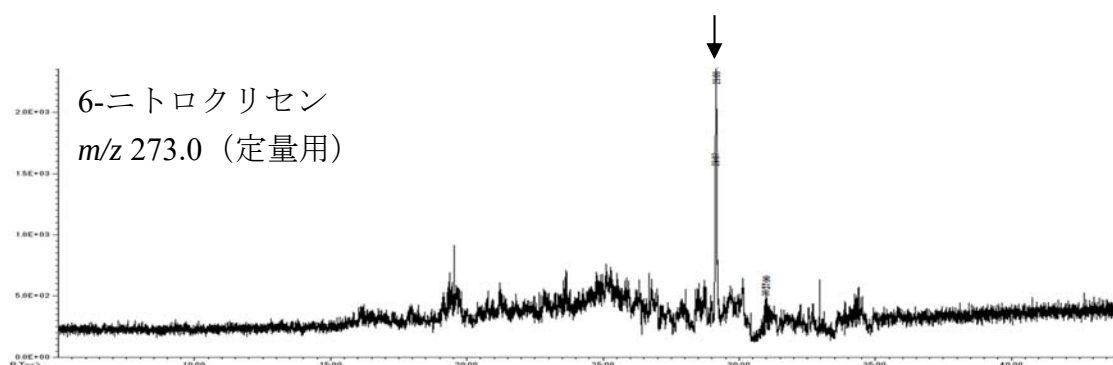


図 12-1 昇温条件④のクロマトグラム

(注入口洗浄後、対象物質濃度：100 ng/mL)

(100°C (2 min) → 45°C/min → 200°C (0 min) → 3°C/min → 300°C (5 min) → 45°C/min → 320°C (10 min))

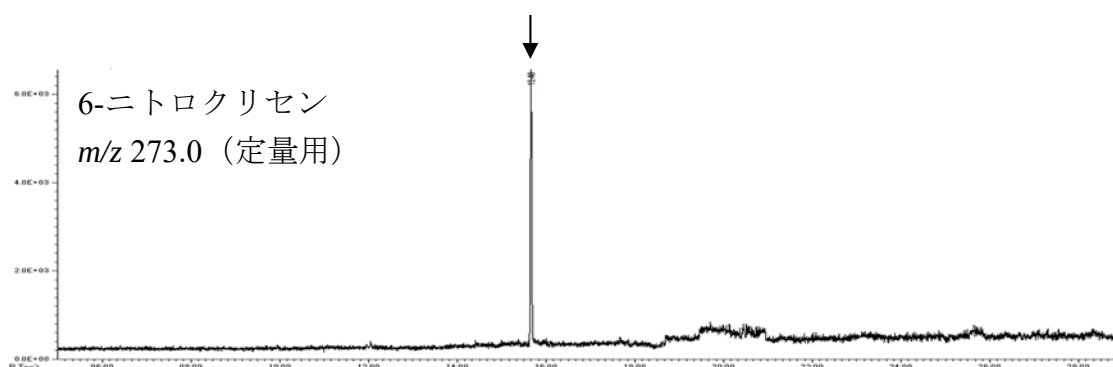


図 12-2 昇温条件①のクロマトグラム

(注入口洗浄後、対象物質濃度：100 ng/mL)

(100°C (2min) → 45°C/min → 200°C (0 min) → 10°C/min → 300°C (5 min) → 45°C/min → 320°C (10 min))

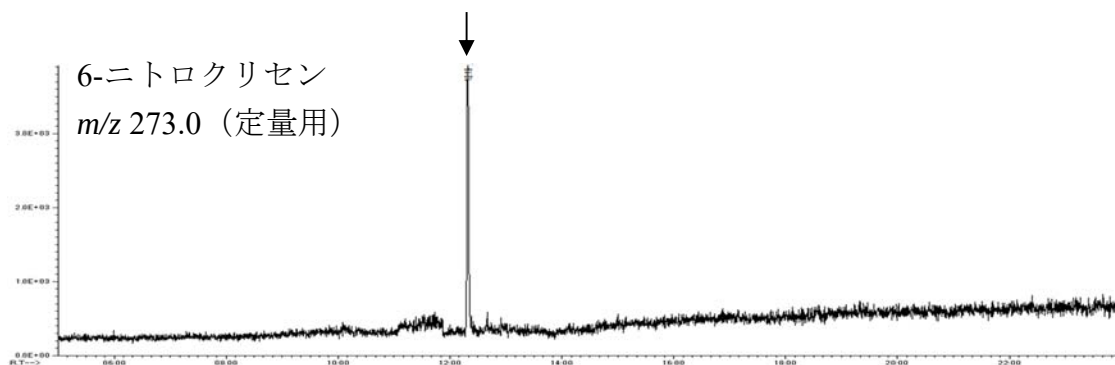


図 12-3 昇温条件②のクロマトグラム

(注入口洗浄後、対象物質濃度：100 ng/mL)

(100°C (2 min) → 45°C/min → 200°C (0 min) → 20°C/min → 300°C (5 min) → 45°C/min → 320°C (10 min))

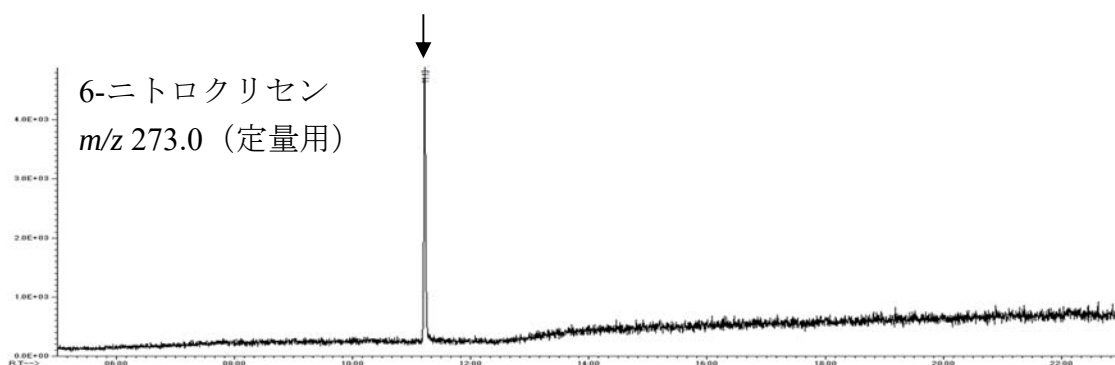


図 12-4 昇温条件③のクロマトグラム

(注入口洗浄後、対象物質濃度：100 ng/mL)

(100°C (2 min) → 45°C/min → 200°C (0 min) → 30°C/min → 300°C (5 min) → 45°C/min → 320°C (10 min))

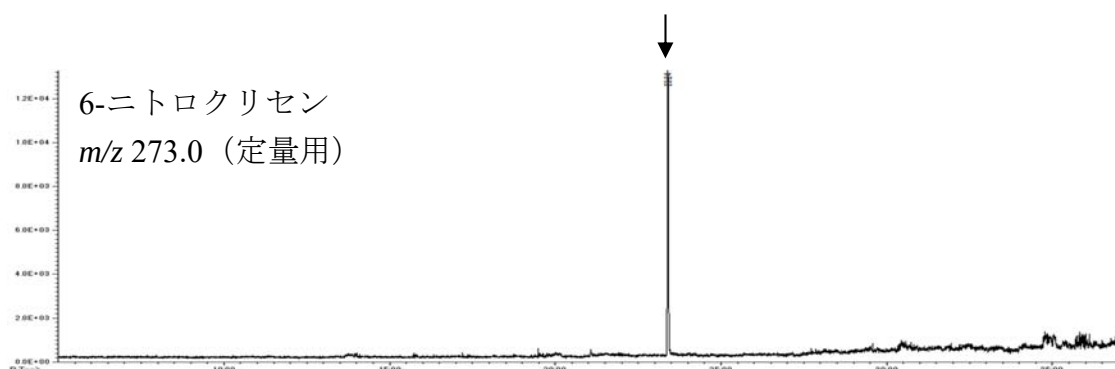


図 12-5 昇温条件⑤のクロマトグラム

(注入口洗浄後、対象物質濃度：200 ng/mL)

(100°C (2 min) → 10°C/min → 300°C (5 min) → 45°C/min → 320°C (10 min))

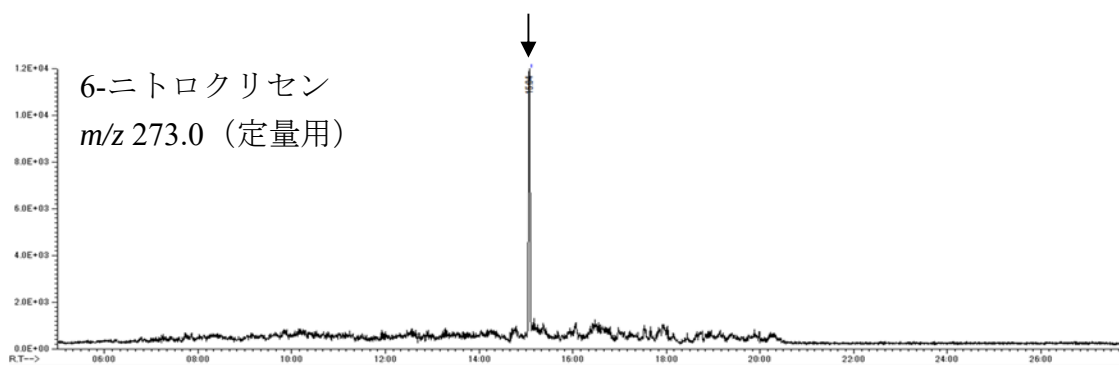


図 12-6 昇温条件⑥のクロマトグラム
(注入口洗浄後、対象物質濃度：200 ng/mL)
(100°C (2 min) → 20°C/min → 300°C (5 min) → 45°C/min → 320°C (10 min))

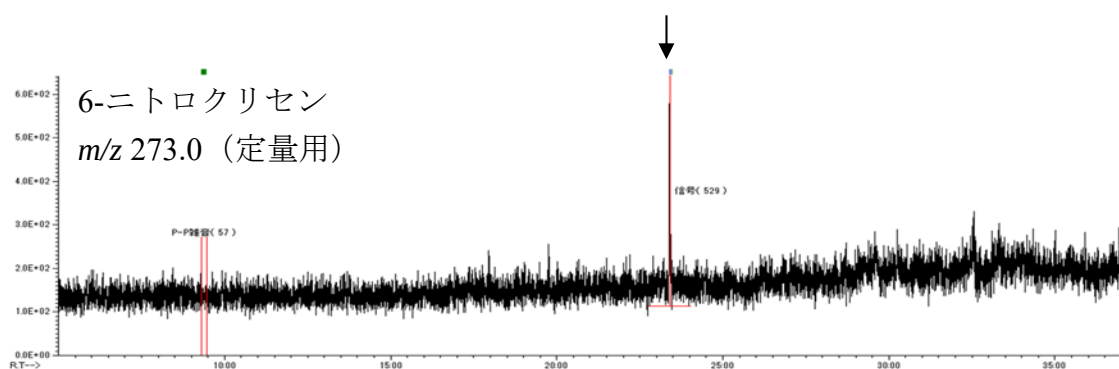


図 12-7 昇温条件⑤のクロマトグラム
(注入口洗浄後、対象物質濃度：10 ng/mL)
(100°C (2 min) → 10°C/min → 300°C (5 min) → 45°C/min → 320°C (10 min))

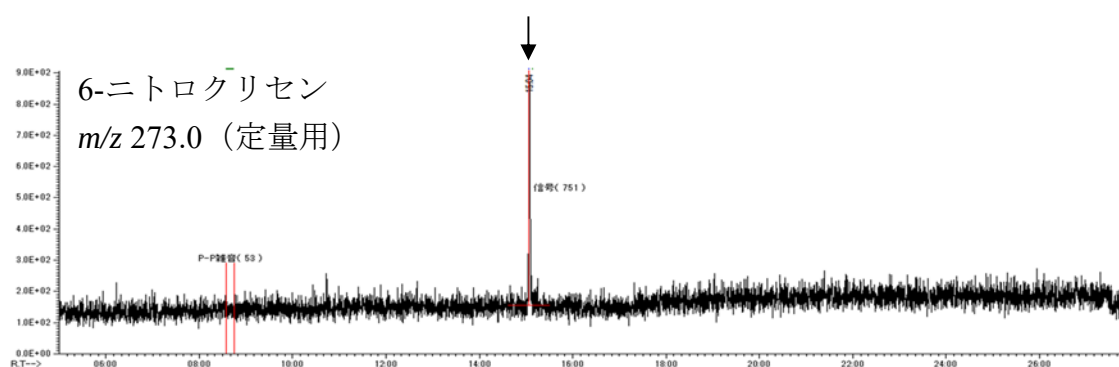


図 12-8 昇温条件⑥のクロマトグラム
(注入口洗浄後、対象物質濃度：10 ng/mL)
(100°C (2 min) → 20°C/min → 300°C (5 min) → 45°C/min → 320°C (10 min))

〔環境試料の分析例〕

本法を用いて千鳥運河（川崎市）の底質を測定した結果、6-ニトロクリセンはMDL 以下(< 9.5 ng/g-dry)であった。クロマトグラムを図 8 に示す。

【評価】

本法における 6-ニトロクリセンの IDL は 3.2 pg (IDL 試料換算値 0.013 µg/g-dry) であり、10~1000 ng/mL の範囲で検量線の直線性が確認された($R^2>0.9994$)。MDL は 0.0095 µg/g-dry、MQL は 0.024 µg/g-dry であった。

底質に 6-ニトロクリセンの濃度が 0.143 µg/g-dry となるよう添加したときの回収率は 90 % (変動係数 1.9%) であった。本法により環境試料を分析した結果、千鳥運河（川崎市）では MDL 以下(< 9.5 ng/g-dry)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、底質試料中に含まれる 0.03 µg/g-dry レベルの対象物質の定量に適用できる。

【参考文献】

- 1) 福岡県衛生公害センター，1-ニトロピレン [対象媒体：水質、底質、生物]，「化学物質と環境 平成元年度化学物質分析法開発調査報告書」
- 2) 金沢大学，早川和一，有害性ニトロ多環芳香族炭化水素類を対象とする分析法の開発と環境動態分析，分析化学総説 vol 56, No.11, pp.905-920 (2007)
- 3) 環境管理センター，川中洋平，Negative CI-MS/MS によるニトロアレーン類の分析
- 4) 神奈川県環境科学センター，6-ニトロクリセン [対象媒体：水質、大気]，「化学物質と環境 平成 2 年度化学物質分析法開発調査報告書」

【担当者連絡先】

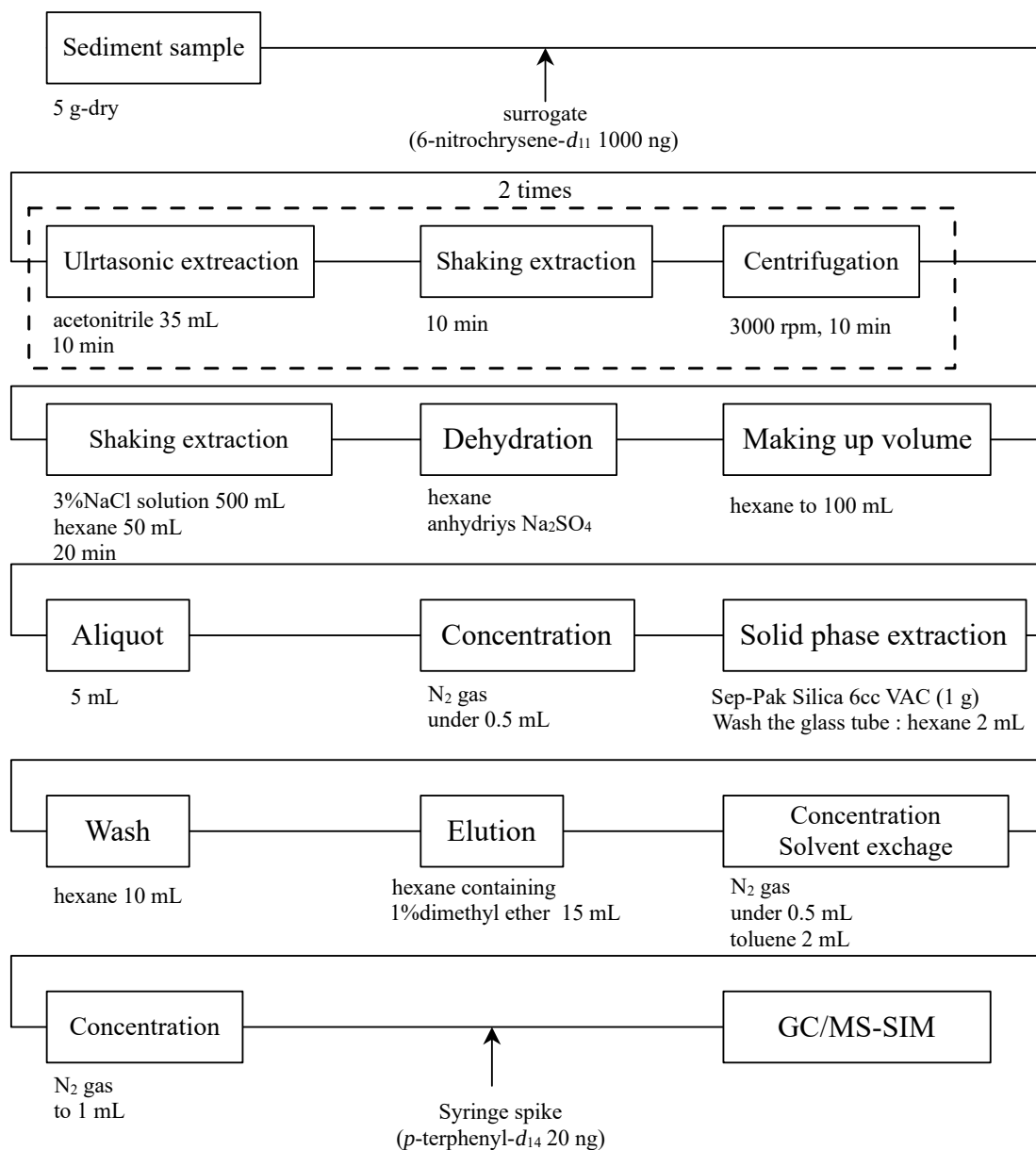
所属先 : 一般財団法人 日本環境衛生センター
所属先住所 : 〒210-0828 神奈川県川崎市川崎区四谷上町 10-6
TEL : 044-288-4905 FAX : 044-288-5232
担当者名 : 市川 喜美
E-mail : yoshimi_ichikawa@jesc.or.jp

6-Nitrochrysene

An analytical method has been developed for the determination of 6-nitrochrysene in environmental sediment samples using gas chromatography/mass spectrometry with selected ion monitoring (GC/MS-SIM).

A 10 g-wet (5.0 g-dry) of sediment sample added with 6-nitrochrysene-*d*₁₁ as a surrogate is extracted with 35 mL of acetonitrile by ultrasonic extraction for 10 min, then by shaking for 10 min. The extract is centrifuged at 3000 rpm for 10 min and the upper acetonitrile layer is put into a separatory funnel in which 3% sodium chloride aqueous solution (500 mL) is previously added. The extraction is repeated two times, and the acetonitrile layer is combined in the separatory funnel. After addition of 50 mL of hexane, the target compound is extracted by shaking for 20 min. The hexane extract is dehydrated with anhydrous sodium sulfate and made up to 100 mL of its volume with hexane. A 5 mL aliquot of the hexane extract is concentrated under N₂ gas stream. The concentrate is cleaned-up using Sep-Pak Silica 6cc Vac (1 g) cartridge as follows; eluted with 10 mL of hexane and then with 20 mL of 1% dimethyl ether/hexane. The cartridge is previously washed with 10 mL of 1% dimethyl ether/hexane and then 10 mL of hexane, The second fraction is concentrated to less than 0.5 mL and diluted with toluene to 1 mL. One μ L of the sample solution is analyzed by GC/MS-SIM.

The instrument detection limits (IDL) and the method detection limits (MDL) of 6-nitrochrysene in sediment sample is 3.2 pg and 0.0095 μ g/g-dry, respectively. The recoveries of 6-nitrochrysene was 90.4%. Using this method, the concentration of 6-nitrochrysene in sediment of Tidori Canal in Kawasaki City was less than MDL.

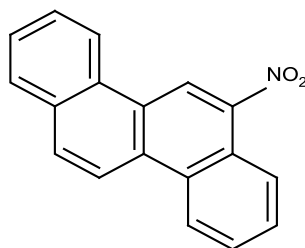


物質名	分析法フローチャート	備考
6-ニトロクリセン	【底質】 <pre> graph TD A[底質試料 5.0 g-dry] -- サロゲート添加 6-ニトロクリセン-d11 1000 ng --> B[2回] subgraph B [2回] B1[超音波抽出 アセトニトリル 35 mL 10分] --> B2[振とう抽出 10分] B2 --> B3[遠心分離 3000 rpm、10分] end B3 --> C[振とう抽出 3%塩化ナトリウム水溶液 500 mL ヘキサン50 mL 20分] C --> D[脱水 ヘキサン層 無水硫酸ナトリウム] D --> E[定容 ヘキサン100 mL] E --> F[分取 5 mL] F --> G[濃縮 N2 気流下 0.5 mL以下] G --> H[クリーンアップ Sep-Pak Silica 6cc VAC (1 g) 洗い込み ヘキサン 2 mL] H --> I[洗浄 ヘキサン10 mL] I --> J[溶出 1%ジエチルエーテル含有 ヘキサン 15 mL] J --> K[濃縮・転溶 N2 気流下 0.5 mL以下 トルエン 2 mL] K --> L[濃縮 N2 気流下 1 mL] L -- シリンジスバイク添加 p-テルフェニル-d14 20 ng --> M[GC/MS-SIM] </pre>	分析原理 GC/MS-SIM 検出下限値 【底質】 9.5 ng/g-dry 分析条件： 機器 GC: Agilent 製 7890A MS: 日本電子製 JMS-Q1000GC Mk II GC カラム Agilent 製 DB-17ms 30 m × 0.25 mm, 0.15 μm

6-ニトロクリセン

6-Nitrochrysene

【対象物質の構造】



CAS 番号：7496-02-8

分子式：C₁₈H₁₁NO₂

【物理化学的性状】^{1,2)}

物質名	6-ニトロクリセン
分子量（平均分子量）	273.29
分子量（モノアイソトピック質量）	273.07898
密度（g/cm ³ ）	-
沸点（°C）	昇華
融点（°C）	約 215°C で分解
蒸気圧	7.61×10 ⁻⁹ mmHg (1.01×10 ⁻⁸ hPa [*]) (25°C)
水溶解度（mg/L）	1.53×10 ⁻² mg/L (25°C)
ヘンリー定数（atm·m ³ /mol）	-
log P _{ow}	5.34
pKa	-

*：換算値（1 mmHg=1.33 hPa による。）

【毒性、用途】

〔毒性〕

発がん性分類：第2類 A³⁾

〔用途〕

発光素子原料³⁾、非意図的生成物

出典：

- 1) 厚生労働省 職場の安全サイト, GHS モデル SDS 情報, 6 ニトロクリセン (https://anzeninfo.mhlw.go.jp/anzen/gmsds_label/lab7496-02-8.html) から引用
- 2) PubChem from EPA
- 3) 出典：独立行政法人製品評価技術基盤機構ホームページ「化学物質総合情報提供システム(CHRIP)」より引用

§1 分析法

(1) 分析法の概要

大気試料を固相ディスクに通気する。アセトンで固相ディスクから溶出し、濃縮・転溶して LC/MS/MS-SRM(APCI negative mode) で定量する。

(2) 試薬・器具

【試薬】

6-ニトロクリセン	: AccuStandard 製 (100 µg/mL トルエン溶液)
メタノール	: 富士フイルム和光純薬製 LC/MS 用
アセトニトリル	: 富士フイルム和光純薬製 LC/MS 用
アセトン	: 富士フイルム和光純薬製 高速液体クロマトグラフ用
精製水	: 富士フイルム和光純薬製 超純水 PFOS、PFOA 測定用
捕集用固相ディスク	: 3M または CDS 製 エムポアディスク C18 47 mm 径

【標準液の調製】

〔標準液〕

市販の 6-ニトロクリセン溶液 (100 µg/mL、トルエン溶液) を標準原液とし、メタノールで希釈して、0.10 µg/mL の標準液を調製する。

〔検量線用標準液の調製〕

0.10 µg/mL の標準液をメタノールで適宜希釈したものを検量線用標準液とする。各濃度の検量線用標準液は、6-ニトロクリセンとして 0.50～50 ng/mL に相当するように調製する。

【器具】（注 1）

ろ紙ホルダー（ジーエルサイエンス EMI-47 など）、濃縮管(10 mL)、固相ディスク用吸引ろ過装置、メスフラスコなどの定量器具、測定バイアル

【試薬の安全性・毒性】

高濃度では中毒の危険性があるので、標準試薬などを取り扱うときはドラフトの中で行うなど室内を汚染しないよう十分留意する。

(3) 分析法

【捕集管】

固相ディスク（C18、直径47 mm）を捕集用ろ紙とする。捕集用ろ紙をホルダーにセットして使用する。事前にセットする場合は、アルミパックなどに密封し、試料採取まで汚染を受けないように保存する。

【試料の採取及び保存】

固相ディスクをろ紙ホルダーにセットし、ポンプと接続してアルミ箔などで遮光する。7.0 L/min の流速で大気を 24 時間通気して採取する。大気試料を採取した固相ディスクは、ホルダーに入れたまま、分析時までアルミパックなどで密閉し冷蔵する。固相ディスクに光が当たる構造のろ紙ホルダーを使用する場合は、特に遮光に努める。

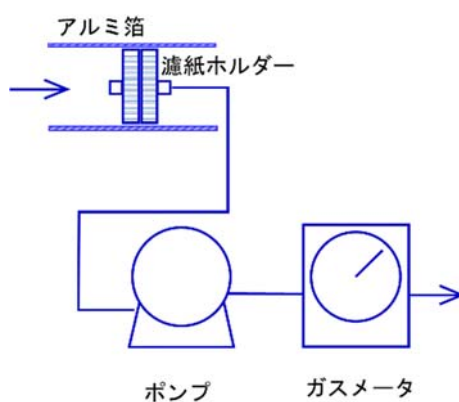


図 1 試料採取装置

【試料の前処理及び試験液の調製】

試料を捕集した固相ディスクを固相ディスク用吸引ろ過装置にセットし、アセトン 5 mL で溶出して、溶出液を濃縮管に受ける。溶出液を窒素気流下で乾固寸前（注 2）まで濃縮し、メタノールで 0.50 mL に定容したものを測定用バイアルに移し、試験液とする。

【空試験液の調製】

大気試料を捕集していない固相ディスクを用い、【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。

〔LC/MS/MS 条件〕（注 3）

使用機種	: 島津製作所製 LCMS-8050
使用カラム	: Waters 製 Cortecs C8 (30 mm × 2.1 mm , 1.6 μm)
カラム温度	: 40°C
移動相	: A : 精製水 B : アセトニトリル 0.0 → 3.5 min A:60 → 5 , B:40 → 95 linear gradient 3.5 → 4.0 min A:B = 5:95 4.0 → 4.1 min A:5 → 60 , B:95 → 40 linear gradient 4.1 → 10 min A:B = 60:40
カラム流量	: 0.2 mL/min
注入液量	: 5.0 μL
イオン化法	: APCI(Atmospheric Pressure Chemical Ionization)-negative mode
インターフェイス電圧	: 3.5 kV
コリジョンエネルギー	: 36 eV (定量イオン) 13 eV (確認イオン)
インターフェイス温度	: 350°C
脱溶媒ライン温度	: 200°C
ヒートブロック温度	: 200°C
ネブライザーガス流量	: 3.0 L/min
乾燥ガス流量	: 5.0 L/min
コリジョンガス	: Ar (270 psi)
測定モード	: SRM (Selected Reaction Monitoring)
モニターイオン	: m/z 273.15 > 46.15 (m/z 273.15 = [M]、定量用) m/z 273.15 > 243.25 (確認用)

〔検量線〕

標準液 5.0 μL を LC/MS/MS に注入して分析する。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 5.0 μL を LC/MS/MS に注入して分析する。得られた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〕

大気試料中の濃度 C (ng/m³) は次式から算出する。

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

Q : 検量線から求めた試料液中の対象物質の濃度 (ng/mL)

E : 試験液量 (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。

$$E = 0.50 \text{ (mL)}$$

$$V = 10 \text{ (m}^3\text{)}$$

即ち、

$$C = Q \times 0.05 \times (273 + t) / (273 + 20.0) \times (101 / P) \text{ (ng/m}^3\text{)}$$

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)。

表 1 IDL の算出結果

物質名	IDL (pg)	大気試料量 (m ³)	最終液量 (mL)	IDL 試料換算値 (ng/m ³)
6-ニトロクリセン	0.25	10	0.50	0.0025

〔分析方法の検出下限値 (MDL)及び定量下限値(MQL)〕

本分析方法の MDL 及び MQL を表 2 に示す（注 5）。

表 2 MDL 及び MQL の算出結果

物質名	試料	試料量 (m ³)	最終液量 (mL)	MDL (ng/m ³)	MQL (ng/m ³)
6-ニトロクリセン	環境大気	10	0.50	0.0036	0.0094

注 解

- (注1) JIS R 3505に記載のクラスAのガラス器具を使用する。マイクロシリンジ及びマイクロピペットを使用する場合には精度管理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。また、エムポアディスク用の吸引ろ過装置がなければ、桐山ロータなどで代用できる。ここでは実際の検討に用いた製品の商品名を挙げたが、これを推奨するものではない。同等以上の性能があれば他製品を用いてもよい。特にろ紙ホルダーの材質は問わない。
- (注2) 桐山ロータなどを使用する場合は、目皿に置いたエムポアディスクを数mLのアセトンで浸潤させ、受器の位置に濃縮管を置いて吸引する。これを3回繰り返す。また、完全に乾固させると回収率が低下するので、0.1 mL以下まで濃縮する。
- (注3) LC/MS/MSの条件は、本測定に使用した機種（島津製作所製LC/MS 8050）の例である。

(注4) IDLは、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)に従って、下記表3のとおり算出した。

表3 IDL の算出結果 (詳細)

対象物質名	6-ニトロクリセン
試料量 (m ³)	10
最終液量 (mL)	0.50
注入液濃度 (ng/mL)	0.50
注入量 (pg)	2.5
装置注入液量 (μL)	5.0
結果 1 (pg)	2.48
結果 2 (pg)	2.53
結果 3 (pg)	2.58
結果 4 (pg)	2.42
結果 5 (pg)	2.47
結果 6 (pg)	2.41
結果 7 (pg)	2.55
平均値 (pg)	2.490
標準偏差(σ _{n-1}) (pg)	0.0633
IDL (pg)*	0.25
IDL 試料換算値 (ng/m ³)	0.0025
S/N 比	14
CV(%)	2.5

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

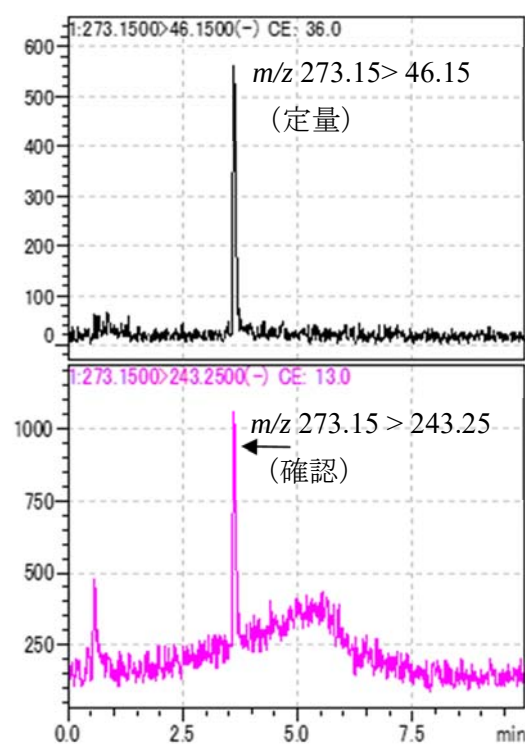


図2 IDL 測定時のクロマトグラム
(対象物質濃度：0.50 ng/mL)

(注 5) MDL 及び MQL は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 28 年 3 月)に従って、表 4 のとおり算出した。MDL 測定時のクロマトグラムを図 3 に示す。

表 4 MDL 及び MQL の算出結果 (詳細)

物質名	6-ニトロクリセン	回収率(%)
試料	環境大気	-
試料量 (m ³)	10	-
標準添加量 (ng)	0.25	-
試料換算濃度 (ng/m ³)	0.025	-
最終液量 (mL)	0.50	-
注入液濃度 (ng/mL)	0.50	-
装置注入液量 (μL)	5.0	-
操作ブランク平均 (ng/m ³) * ¹	< 0.0036	-
無添加平均 (ng/m ³) * ²	< 0.0036	-
結果 1 (ng/m ³)	0.0241	96
結果 2 (ng/m ³)	0.0235	94
結果 3 (ng/m ³)	0.0234	94
結果 4 (ng/m ³)	0.0237	95
結果 5 (ng/m ³)	0.0233	93
結果 6 (ng/m ³)	0.0231	92
結果 7 (ng/m ³)	0.0258	103
平均値 (ng/m ³)	0.02385	95.4
標準偏差(σ _{n-1}) (ng/m ³)	0.000936	-
MDL (ng/m ³) * ³	0.0036	-
MQL (ng/m ³) * ⁴	0.0094	-
S/N 比	11	-
CV (%)	3.9	-

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

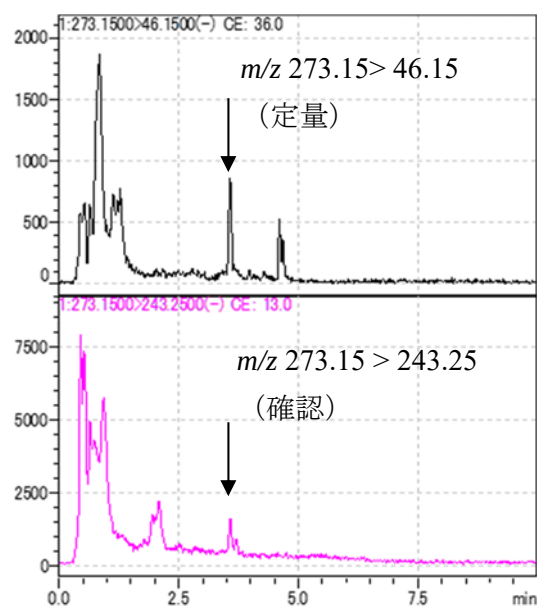


図3 MDL測定時のクロマトグラム（注入液濃度：0.50 ng/mL）

§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。

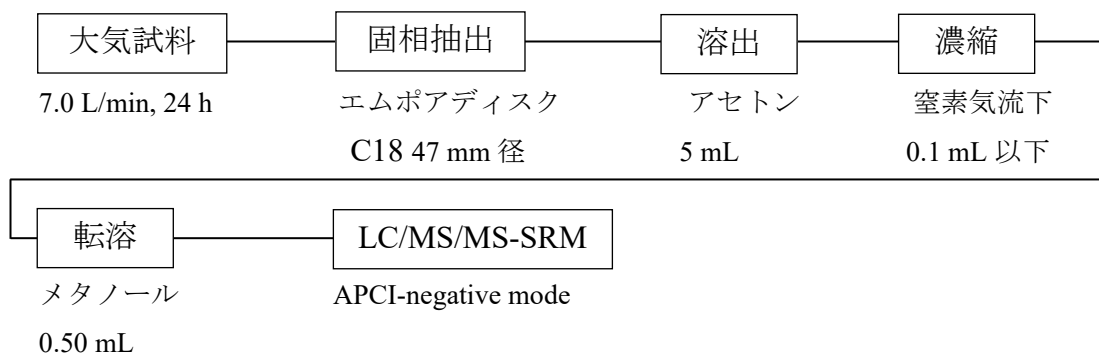


図4 分析法のフローチャート

[検量線]

検量線を図 5 に、検量線作成用データを表 5 に示す。

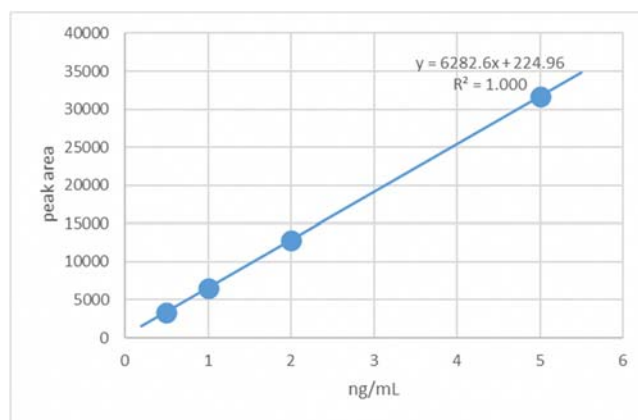


図 5-1 低濃度域検量線 (6-ニトロクリセン : 0.50～ 5.0 ng/mL)

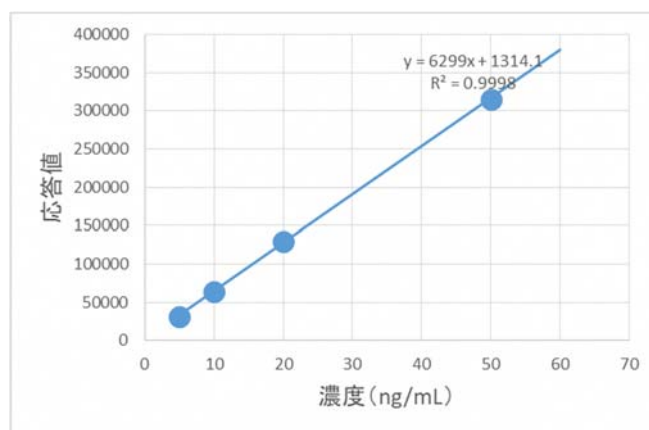


図 5-2 高濃度域検量線 (6-ニトロクリセン : 5.0～ 50 ng/mL)

表 5 6-ニトロクリセンの検量線作成用データ

標準液濃度 (ng/mL)	応答値 (m/z 273.15 > 46.15)
0.50	3352
1.0	6538
2.0	12771
5.0	31641
10	63595
20	129991
50	315443

[クロマトグラム]

標準液のクロマトグラムを図6に示す。

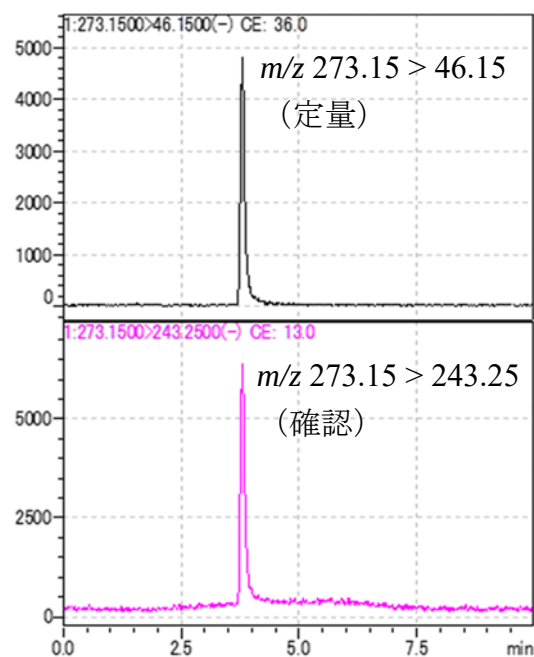


図6 標準液のクロマトグラム（対象物質濃度：5.0 ng/mL）

[マススペクトル]

対象物質のマススペクトルを図7に示す。

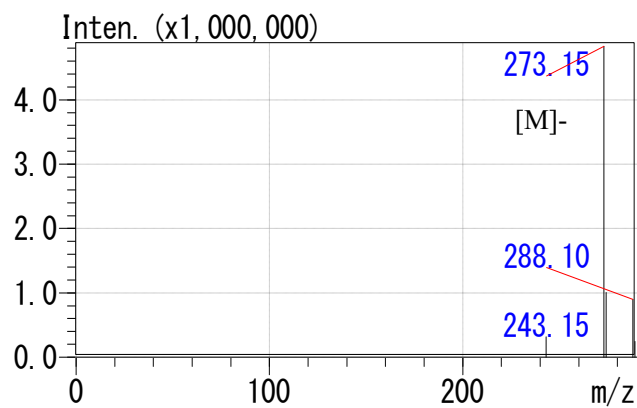


図7-1 6-ニトロクリセンのマススペクトル(APCI-negative)

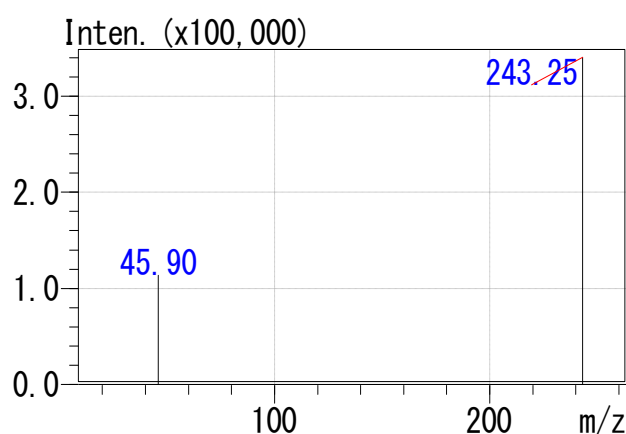


図 7-2 m/z 273.15 をプレカーサーイオンとしたときの
プロダクトイオンスペクトル

〔操作ブランク〕

操作ブランクのクロマトグラムを図 8 に示す。対象物質は不検出であった。

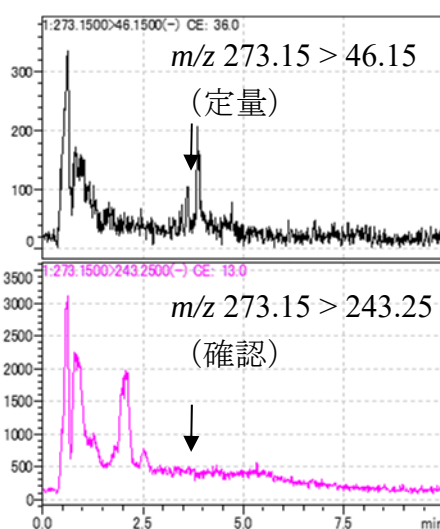


図 8 操作ブランクのクロマトグラム

〔添加回収試験〕

固相ディスク（直径 47 mm）の通気時上流になる面に標準液を添加し、乾燥させてろ紙ホルダーにセットし、添加回収試験を実施した。表 6 に結果を、図 9 に添加回収試験の際のクロマトグラムを示す。高温高湿度条件下での回収試験では、マントルヒーターに精製水を入れたインピンジャーを設置して加温・加湿した。また、【試料の採取及び保存】に従って、7 L/min 24 時間稼働に対応できる加湿・加温装置を用意できなかったため、直径 47 mm の固相ディスクに代えて、

固相ディスクカートリッジ（エムポアディスクカートリッジ、直径 10 mm）を用いて面速度を同程度に設定し、全体の流速を落として添加回収試験を実施した。

なお、吸着力のある樹脂を含まないろ紙（Merck 製ミリポア JHWP 0.45 μm 47 mm 親水性 PTFE 製）を用いて、常温で添加回収試験を実施したところ、バックアップの 3 枚目にも破過が見られたが、最上流のろ紙からの回収率は、7 ～8 割であった。

表 6 添加回収実験結果

気温 (°C)	湿度 (%)	添加量 (ng)	試料量 (m ³)	試験 数	検出量 (ng)	検出濃度 (ng/m ³)	回収率 (%)	変動係数 (%)
25	60	0.0	10	2	ND	<0.0036	-	-
		0.25	10	7	0.24	0.024	95.4	3.9
		7.9	10	2	7.9 ^{*1}	0.79	100	-
32 <	80 <	0.0	0.46	2	ND ^{*2}	<0.0036	-	-
		10	0.46	2	8.6 ^{*2}	19	85.6	-

*1：最終液量 1.0 mL

*2：エムポアディスクカートリッジ（直径 10 mm）使用

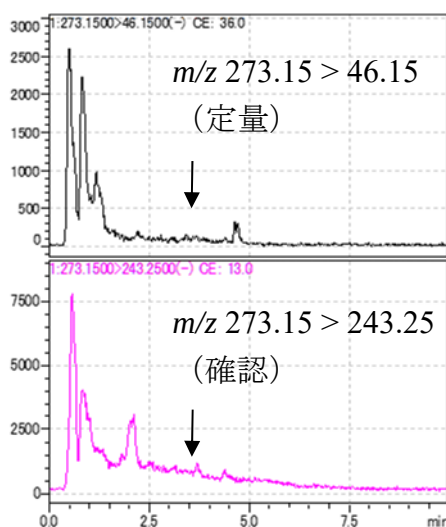


図 9-1 添加回収試験のクロマトグラム
(環境大気、無添加、2020 年 10 月 神奈川県平塚市)

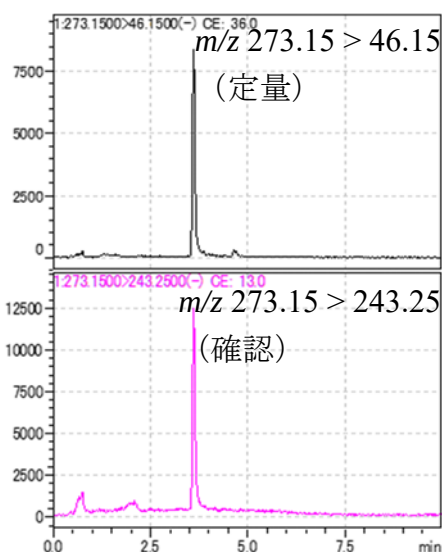


図 9-2 添加回収試験のクロマトグラム
(環境大気、添加 7.9 ng、最終液量 1.0 mL、2020 年 10 月 神奈川県平塚市)

〔保存性試験〕

保存性試験の結果を表 7 に示す。表に示すように、22 日後の残存率は高かったが、速やかに処理をすることが望ましい。試料を採取した固相ディスクや前処理後の試験液は、一週間程度においても測定は可能と考えられる。表の標準液、試験液は LC のサンプルトレイ（冷暗所）に放置した場合の結果である。

表 7 保存性試験結果

試料	調製濃度 (ng/mL)	検出濃度(ng/mL) (残存率(%)*1)		
		7 日間	14 日間	22 日後
環境 固相ディスク	7.9	8.0*2(101)	-	-
大気 試験液	0.50	0.52(104)	0.42(84)	0.41(81)
標準 MDL の 7 倍程度	0.50	0.48(97)	0.45(90)	0.45(90)
液 検量線最高濃度	50	48(95)	51(101)	41(83)

*1：残存率(%)：調製濃度に対する検出濃度の割合

*2：最終液量 1.0 mL

〔溶出液量の検討〕

エムポアディスク（直径 47 mm）に対象物質を添加し、乾燥させた後、吸引ろ過装置にセットして、アセトンで溶出させたときの各画分の回収率を図 10 に示す。最初の 2 mL で対象物質の 9 割が、あとは少しずつ溶出することがわ

かった。よって溶出液量は安全を見て 5 mL とした。

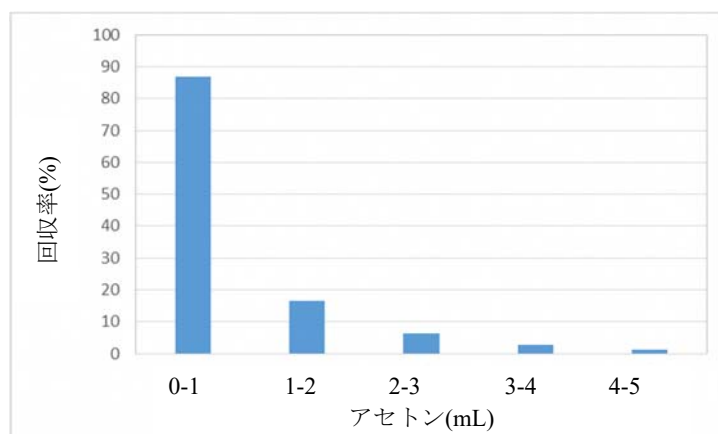


図 10 溶出液量と回収率の関係

〔環境試料の分析例〕

図 9-1 に環境大気のカロマトグラム例を示す。神奈川県平塚市では、検出されなかった。

【評価】

本分析法で用いた LC/MS/MS での 6-ニトロクリセンの IDL は 0.25 pg (試料換算濃度は 0.0025 ng/m³) であり、0.50～50 ng/mL の範囲で検量線の直線性 ($R^2>0.999$) が確認された。MDL は 0.0036 ng/m³、MQL は 0.0094 ng/m³ であった。捕集管に 6-ニトロクリセンを 0.25 ng 添加し (換算濃度が 0.025 ng/m³、要求感度は 0.012 ng/m³)、環境大気を 24 時間通気させた場合の回収率は、95.4% (n=7、変動係数 3.9%) であった。本法で環境試料を分析した結果、神奈川県平塚市の大気からは、全試料で MDL 未満(<0.0036 ng/m³) であった。以上の結果から、本法は大気試料中に含まれる 0.004 ng/m³ 程度の対象物質の検出に適用できる。

【参考文献】

川崎市環境創造研究所, 1-ニトロピレン [対象媒体: 大気], 化学物質と環境
「平成 28 年度化学物質分析法開発調査報告書 白本」 p.406-p.430

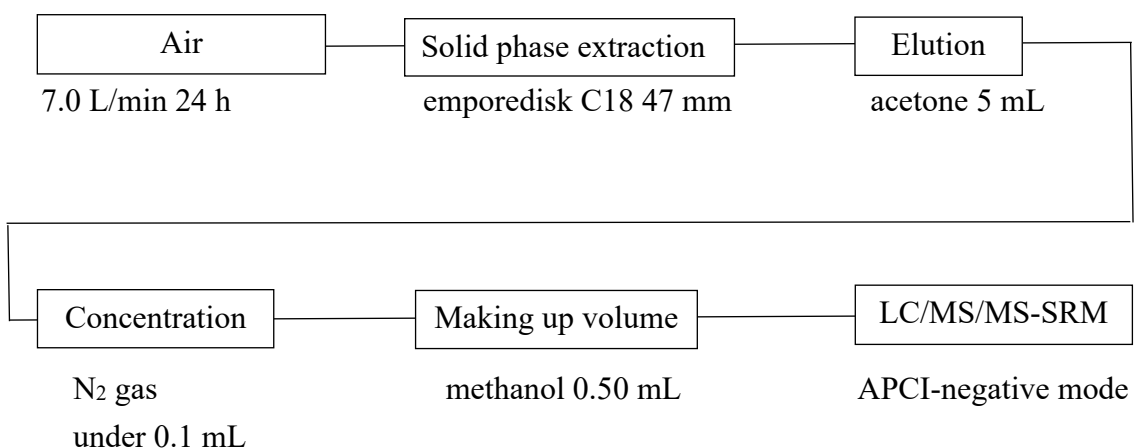
【担当者連絡先】

所属先 : 神奈川県環境科学センター
所属先住所 : 〒254-0014 平塚市四之宮 1-3-39
TEL : 0463-24-3311 FAX : 0463-24-3300
担当者名 : 調査研究部 長谷川敦子
E-mail : hasegawa.j3i@pref.kanagawa.lg.jp

6-Nitrochrysene

An analytical method has been developed for the determination of 6-nitrochrysene in ambient air samples by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC/MS/MS) in APCI (Atmospheric Pressure Chemical Ionization) negative mode. Precursor ion - selected reaction monitoring (SRM) is conducted for quantification; the masses of m/z 273.15 $>$ 46.15 and m/z 273.15 $>$ 243.25 are monitored for determination of 6-nitrochrysene.

Sample air is drawn through a solid phase extraction disk of Empore C18 (3M or CDS, 47 mm) at a flow rate of 7 L/min for 24 h. The target (6-nitrochrysene) is eluted with 5 mL of acetone and the eluate is concentrated under N₂ to around 0.1 mL and diluted to 0.50 mL with methanol. The sample solution is determined by LC/MS/MS-SRM analysis. The method detection limit (MDL) and the method quantification limit (MQL) are 0.0036 ng/m³ and 0.0094 ng/m³, respectively. The recovery of target from ambient air was 95.4% (CV 3.9%). The concentrations of target compound in ambient air of Kanagawa area were less than MDL.



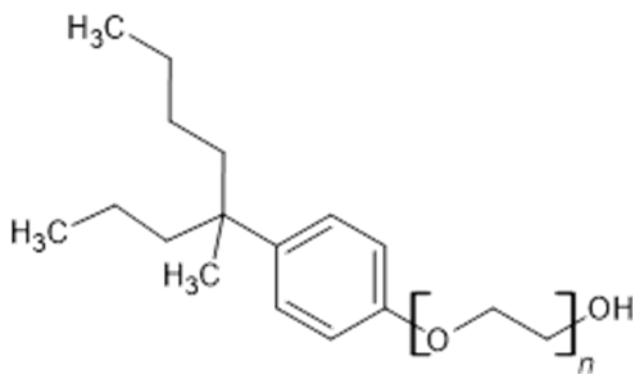
物質名	分析法フローチャート	備考
6-ニトロクリ セン	【水質】 <pre> graph LR A[大気試料 7.0 L/min 24 h] --> B[固相抽出 エムポアディスク C18 47 mm] B --> C[溶出 アセトン 5 mL] C --> D[濃縮 窒素気流下 0.1 mL 以下] D --> E[定容 メタノール 0.50 mL] E --> F[LC/MS/MS-SRM APCI-negative mode] </pre>	分析原理： LC/MS/MS- SRM APCI-Negative 検出下限値： 【大気】(ng/m³) 0.0036 分析条件： 機器 LC/MS： Shimadzu製 LCMS-8050 カラム Waters 製 Cortecs C8 30 mm × 2.1 mm , 1.6 μm

α -(ノニルフェニル)- ω -ヒドロキシポリ
(オキシエチレン)

Poly(oxyethylene)nonylphenyl ether

別名：ポリ(オキシエチレン)=ノニルフェニルエーテル、
ノニルフェノールエトキシレート、
ポリエチレングリコールノニルフェニルエーテル
Nonylphenolethoxylate,
Polyethyleneglycol nonylphenyl ether

【対象物質の構造】



CAS 番号：9016-45-9

分子式： $(C_2H_4O)_n C_{15}H_{24}O$

※対象物質はノニル基の構造が異なる混合物であり、ノニル基が分枝型でかつノニル基とオキシエチレン基は *p* 位の関係にあるものが主要である。構造の一例として 4-(1-メチル-1-プロピルペンチル)フェノールにポリオキシエチレンが付加したものを示した。

【物理化学的性状】

[分子量及びモノアイソトピック質量]

対象物質の 略記	エチレンの付 加モル数	分子式	分子量	モノアイソトピック 質量
NPE3	3	C ₂₁ H ₃₆ O ₄	352.5081	352.2614
NPE4	4	C ₂₃ H ₄₀ O ₅	396.5607	396.2875
NPE5	5	C ₂₅ H ₄₄ O ₆	440.6133	440.3138
NPE6	6	C ₂₇ H ₄₈ O ₇	484.6658	484.3400
NPE7	7	C ₂₉ H ₅₂ O ₈	528.7184	528.3662
NPE8	8	C ₃₁ H ₅₆ O ₉	572.7709	572.3924
NPE9	9	C ₃₃ H ₆₀ O ₁₀	616.8235	616.4186
NPE10	10	C ₃₅ H ₆₄ O ₁₁	660.8761	660.4449
NPE11	11	C ₃₇ H ₆₈ O ₁₂	704.9283	704.4711
NPE12	12	C ₃₉ H ₇₂ O ₁₃	748.9812	748.4973
NPE13	13	C ₄₁ H ₇₆ O ₁₄	793.6337	792.5235
NPE14	14	C ₄₃ H ₈₀ O ₁₅	837.0863	836.5497
NPE15	15	C ₄₅ H ₈₄ O ₁₆	881.1389	880.5759

[比重] 1.06 (NPE9.5、25°C) ¹⁾

[沸点] データ無

[融点] -20°C (NPE9.5、凝固点) ¹⁾

[蒸気圧] 3.2×10^{-8} Pa (NPE6、25°C、推定値) ¹⁾

[水溶解度] 可溶 (NPE9.5)

エチレンオキシドの付加モル数の増加により
水溶解性は増加し、付加モル数が 7 以上で水に
可溶、また、アルキル鎖の分岐により水溶解性は
増加 ¹⁾

[log P_{ow}] 3.2²⁾

[土壌吸着係数] K_{oc} = 6.1 (NPE6、推定値) ¹⁾

[ヘンリー定数] 4.2×10^{-7} Pa・m³/mol

= 4.1×10^{-12} atm・m³/mol (NPE6、推定値) ¹⁾

分子量、モノアイソトピック質量は Molecular Mass Calculator by Christoph Gohlke (<https://www.lfd.uci.edu/~gohlke/molmass/>) で計算 2018 年 9 月 20 日

【毒性、用途】

[実験動物に対する急性毒性情報] ¹⁾

(LD ₅₀ , mg/kg)				
	マウス	ラット	ウサギ	モルモット
経口	4290 (NPE9)	1300 ~ 7400 (NPE2 ~ NPE15) 15900 以上 (NPE20)	620 ~ 4400 (NPE9)	2000 (NPE4) 840 ~ 5000 (NPE9)
経皮	—	—	1800 ~ 10000 超 (NPE4 ~ NPE40)	—
腹腔内	210 (NPE9)	—	—	—
静脈内	44 (NPE9)	—	—	—
皮下	1000 (NPE9)	—	—	—

—：データなし

【用途】¹⁾

業務用洗浄剤、分散剤、切削剤、乳化剤、展着剤等用途に配合原料として使用されており、そのほとんどが業務用に使用されているが、医薬品用、化粧品用としても使用されている。

出典

- 1) 新エネルギー・産業技術総合開発機構、委託先 財団法人 化学物質評価研究機構、委託先 独立行政法人 製品評価技術基盤機構：「化学物質の初期リスク評価書 Ver. 1.0 No.96 ポリ(オキシエチレン)ノニルフェニルエーテル」(2005年7月)
- 2) 平成 29 年度第 10 回薬事・食品衛生審議会薬事分科会化学物質安全対策部会化学物質調査会 平成 29 年度化学物質審議会第 5 回安全対策部会 第 182 回中央環境審議会環境保健部会化学物質審査小委員会【第 1 部】資料 2

§ 1 分析法

(1) 分析法の概要

風乾した底質試料を水酸化カリウム-メタノール溶液で超音波抽出及び攪拌抽

出する。抽出したメタノール溶液をヘキサンで洗浄後、りん酸二水素ナトリウム水溶液とジクロロメタンを加え、液液抽出する。このジクロロメタン層を濃縮・定容して粗抽出液とする。分取した粗抽出液の一部を濃縮し、精製水/メタノール(1:1 (v/v)) に転溶し、ポリマーベースの逆相カートリッジとカーボン系カートリッジの 2 つの固相抽出カートリッジを用いて精製する。精製後の試験液を濃縮し、精製水とメタノール混合溶媒で定容した試験液を LC/MS/MS-SRM (ESI-positive) で定量する。

(2) 試薬・器具

【試薬】

NPE MIX-XV	: 林純薬工業製 (エトキシ基数=1~15、各 100 µg/mL、メタノール溶液)
メタノール ^{*1}	: 富士フイルム和光純薬製、QTofMS 用
メタノール ^{*2}	: 富士フイルム和光純薬製、LC/MS 用
超純水	: 富士フイルム和光純薬製、QTofMS 用
ヘキサン	: 富士フイルム和光純薬製、 残留農薬・PCB 試験用 (5000 倍濃縮)
ジクロロメタン	: 富士フイルム和光純薬製、 残留農薬・PCB 試験用 (5000 倍濃縮)
酢酸アンモニウム	: 富士フイルム和光純薬製、 特級 (質量分率 97.0%以上)
水酸化カリウム	: 富士フイルム和光純薬製、 特級 (質量分率 85.0%以上)
りん酸二水素ナトリウム 二水和物	: 富士フイルム和光純薬製、 特級 (質量分率 99.0 ~ 102.0%以上)
Autoprep EDS-1 250-6	: 昭和電工製、充填量 250 mg、粒子径 50 µm
Supelclean Envi-Carb	: Merck 製、充填量 500 mg、120/400 mesh、 100 m ² /g、ノンポーラス
Alconox® Powder Detergent	: アルコノックス製
精製水	: Milli-Q 水

*1: 標準液の調製、試料の前処理、試験液の調製及び機器分析の移動相に使用する。

*2: 器具洗浄に使用する。

【試薬の調製】

〔10 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液〕

酢酸アンモニウム 770 mg を超純水に溶解し、1.0 L に定容する。

〔1 mol/L 水酸化カリウム-メタノール溶液〕

水酸化カリウム 66.0 g をメタノールに溶解し、1.0 L に定容する（純度を 85% と仮定）。

〔1 mol/L リン酸二水素ナトリウム水溶液〕

リン酸二水素ナトリウム二水和物 156 g を精製水に溶解し、1.0 L に定容する。

【標準液の調製】

〔標準液〕

NPE MIX-XV（各 100 µg/mL、メタノール溶液）を標準原液とする。標準原液 1 mL をメタノールで 50 mL に希釈して各同族体 2.0 µg/mL の標準液を調製する。

〔検量線用標準液〕

2.0 µg/mL の標準液を超純水/メタノール(1:1 (v/v)) で順次希釈し、各同族体の濃度が 5.0～1000 ng/mL の検量線用標準液を調製する。

【器具】（注 1）

ガラス製ホールピペット、ガラス製メスフラスコ、マイクロシリンジ、フッ素樹脂製遠沈管（250 mL 程度）、分液ろうと（300 mL、1.0 L） マニホールド（吸引式のもの）、ガラス製注射筒（10 mL）、ジーエルサイエンス製ガラス製濃縮管(10 mL)、スピッツ型共栓付試験管（10 mL）、ガラス製メスシリンダー、駒込ピペット等

【試料の採取及び保存等】

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。採取後の底質試料は冷暗所で保管する。

【試料の前処理及び試験液の調製】

底質試料を室温で風乾し、乳鉢で粉碎する。底質試料 10 g-dry を 250 mL 遠心管に取り、1 mol/L 水酸化カリウム-メタノール溶液 80 mL を加えて超音波抽出を 10 分間行う。次いでスターラーを用いて 1 時間から 2 時間攪拌抽出し、さらに超音波抽出を 10 分間行う。抽出後、遠心分離（2000 rpm、10 分間）で固液分

離させ、上澄みのメタノール抽出液を 300 mL 容分液ろうとに移す（注 2）。

次いで、分液ろうとにヘキサン 20 mL を加え、10 分間振とうする。静置後、メタノール層を 1 L 容分液ろうとに移す。これに 1 mol/L リン酸二水素ナトリウム水溶液 80 mL、ジクロロメタン 80 mL、精製水 440 mL を加え、10 分間振とうして静置する。ジクロロメタン層を 300 mL ナスフラスコに移し、分液ろうと内の水層に再度ジクロロメタンを 80 mL 加え、10 分間振とうする。ジクロロメタン層を合わせてロータリーエバポレーターで濃縮し、20 mL メスフラスコを用いてジクロロメタンで定容し、これを粗抽出液とする。

粗抽出液から 1 mL を分取し（注 3）、窒素気流下で濃縮しながら（注 4）、精製水/メタノール(1:1 (v/v)) 混合溶媒に転溶媒し、6 mL にする。この試験液をあらかじめコンディショニングした固相カートリッジ Autoprep EDS-1（注 5）に負荷する。試料負荷後、精製水/メタノール(1:1 (v/v)) 混合溶媒 2 mL で試料容器内壁を洗浄し、この洗浄液を EDS-1 に通した後、EDS-1 を精製水 10 mL で洗浄する。EDS-1 を遠心脱水（3000 rpm, 10 分）し、EDS-1 の下にあらかじめコンディショニングした固相カートリッジ Supelclean Envi-Carb（注 6）を接続し、EDS-1 にメタノール 10 mL、次いでメタノール/ジクロロメタン混合溶媒 (3:7 (v/v)) 10 mL を流し、Envi-Carb で精製しながら対象物質を溶出する。Envi-Carb からの溶出液を窒素気流下で 0.25 mL 以下まで濃縮し、メタノール 2 mL を添加して再度窒素気流下で 0.25 mL まで濃縮したのち、精製水/メタノール (1:1 (v/v)) 混合溶媒で 1 mL に定容する。この試験液を LC/MS/MS-SRM (ESI-Positive) で定量する。

【空試験液の調製】

試料を使用せず、【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 条件〕

〔LC 条件〕

使用機種	: Agilent 製 1200
カラム	: ジーエルサイエンス製 Inertsil Ph-3 HP (2.1 mm × 150 mm, 3 μm)
移動相（注 7）	: A : 10 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液、B : メタノール 0 → 20 min A : 35 → 15、B : 65 → 85 linear gradient 20 → 21 min A : 15 → 0、B : 85 → 100 linear gradient 21 → 26 min A : B=0 : 100

	26 → 27 min	A : 0 → 35、B : 100 → 65	linear gradient
	27 → 40 min	A : B=35 : 65	
カラム流量	:	0 → 20 min	0.2 mL/min
		20 → 37 min	0.3 mL/min
		38 → 40 min	0.2 mL/min
バルブ切り替え (注 8)	:	6 min (バルブの位置はカラムと検出器の間)	
カラム温度	:	40°C	
注入量	:	1.0 µL	
[MS 条件]			
使用機種	:	Agilent 製 6410 Triple Quad	
イオン化法	:	ESI (+)	
ガス流量	:	10 L/min	
温度	:	350°C	
キャピラリー電圧	:	4000 V	
ネブライザー	:	50 psi	

モニターイオン

LC/MS/MS 分析におけるプロダクトイオンには、特定の構造を持つノニル基に由来するものがあるため、ノニル基に由来するプロダクトイオンをモニターすると、異性体の一部が定量されない可能性がある。そのため、ノニル基に由来しないプロダクトイオンをモニターしており、定量に用いるプロダクトイオンは必ずしも最も感度の高いイオン種ではないことがある（図 1-1 ～ 図 1-13 及び図 6-1-1 ～ 図 6-1-13 参照）（注 9）。なお、表中「推定イオン種」に記載した「P」はプロダクトイオンを表す。

物質名	プレカーサー イオン [M+NH ₄] ⁺ (m/z)	プロダクト イオン (m/z)	フラグメン ト電圧 (V)	CE	推定イオン種 ¹⁾
NPE3	370.3	227.1 (定量)	100	4	[P-NH ₃ -nonyl+H] ⁺
		165.0 (確認)		12	[P-NH ₃ -nonyl-C ₂ H ₆ O ₂ +H] ⁺
NPE4	414.3	397.3 (定量)	100	4	[M+H] ⁺
		271.1 (確認)		8	[P-NH ₃ -nonyl+H] ⁺
NPE5	458.3	441.2 (定量)	100	8	[M+H] ⁺
		315.1 (確認)		12	[P-NH ₃ -nonyl+H] ⁺
NPE6	502.3	485.3 (定量)	100	8	[M+H] ⁺
		359.2 (確認)		12	[P-NH ₃ -nonyl+H] ⁺
NPE7	546.4	529.3 (定量)	150	12	[M+H] ⁺
		133.1 (確認)		20	[H ₂ C=CH(OCH ₂ CH ₂) ₂ OH+H] ⁺
NPE8	590.4	573.4 (定量)	150	12	[M+H] ⁺
		133.0 (確認)		20	[H ₂ C=CH(OCH ₂ CH ₂) ₂ OH+H] ⁺
NPE9	634.4	133.0 (定量)	150	24	[H ₂ C=CH(OCH ₂ CH ₂) ₂ OH+H] ⁺
		89.0 (確認)		28	[H ₂ C=CH(OCH ₂ CH ₂)OH+H] ⁺
NPE10	678.5	133.0 (定量)	150	24	[H ₂ C=CH(OCH ₂ CH ₂) ₂ OH+H] ⁺
		89.1 (確認)		32	[C ₄ H ₉ O ₂] ⁺
NPE11	722.5	133.1 (定量)	150	24	[H ₂ C=CH(OCH ₂ CH ₂) ₂ OH+H] ⁺
		89.0 (確認)		36	[H ₂ C=CH(OCH ₂ CH ₂)OH+H] ⁺
NPE12	766.5	133.1 (定量)	150	28	[H ₂ C=CH(OCH ₂ CH ₂) ₂ OH+H] ⁺
		89.0 (確認)		32	[H ₂ C=CH(OCH ₂ CH ₂)OH+H] ⁺
NPE13	810.5	133.0 (定量)	200	30	[H ₂ C=CH(OCH ₂ CH ₂) ₂ OH+H] ⁺
		89.0 (確認)		50	[H ₂ C=CH(OCH ₂ CH ₂)OH+H] ⁺

NPE14	854.6	133.0 (定量)	200	32	$[\text{H}_2\text{C}=\text{CH}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_2\text{OH}+\text{H}]^+$
		89.0 (確認)		44	$[\text{H}_2\text{C}=\text{CH}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)\text{OH}+\text{H}]^+$
NPE15	898.6	133.0 (定量)	200	32	$[\text{H}_2\text{C}=\text{CH}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_2\text{OH}+\text{H}]^+$
		89.0 (確認)		40	$[\text{H}_2\text{C}=\text{CH}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)\text{OH}+\text{H}]^+$

これらの条件は本測定に使用した機種(Agilent 6400 Triple Quad) 特有のものである。定量イオンには上段のプロダクトイオンを用いる。

〔検量線〕

検量線用標準液1.0 μLをLC/MS/MSに注入し、得られたピーク面積から検量線を作成する。

〔定量〕

試験液 1.0 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〕

底質試料中の総 NPE 濃度 C (ng/g-dry)は次式により算出する。

$$C = \sum C_n$$

C_n : 各同族体の濃度 (ng/g-dry)

各同族体の濃度 C_n (ng/g-dry) は次のとおり算出する。

$$C_n = C_{an} \times v / (1/20) / V$$

C_{an} : 検量線から求めた対象物質の濃度(ng/mL)

v : 最終液量(mL)

1/20 : 精製に供した抽出液の分取率

V : 試料量 (g-dry)

〔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 10)。

表 1 IDL の算出結果

物質名	IDL (pg)	試料量 (g-dry)	最終液量 (mL)	IDL 試料換算値 (ng/g-dry)
NPE3	1.5	10	20	3.0
NPE4	9.1	10	20	18
NPE5	2.7	10	20	5.4
NPE6	5.4	10	20	11
NPE7	5.1	10	20	10
NPE8	6.3	10	20	13
NPE9	14	10	20	28
NPE10	6.8	10	20	14
NPE11	10	10	20	20
NPE12	11	10	20	22
NPE13	6.5	10	20	13
NPE14	6.1	10	20	12
NPE15	9.9	10	20	20

〔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 11）。

表2 MDL と MQL の算出結果

物質名	試料量 (g-dry)	最終液量 (mL)	MDL (ng/g-dry)	MQL (ng/g-dry)
NPE3	10	20	8.2	21
NPE4	10	20	16	41
NPE5	10	20	13	33
NPE6	10	20	11	28
NPE7	10	20	9.5	25
NPE8	10	20	13	33
NPE9	10	20	12	30
NPE10	10	20	7.3	19
NPE11	10	20	9.8	25
NPE12	10	20	8.9	23
NPE13	10	20	11	29
NPE14	10	20	7.6	20
NPE15	10	20	12	31

注 解

- (注1) ガラス器具はJIS R 3505に記載のクラスAのものを使用する。
ガラス器具は、洗剤で洗浄、水道水ですすぎ、(1 + 1) 硝酸に一晩漬ける。その後水道水、次いで精製水ですすぎ乾燥させる。使用前にメタノールで洗浄して乾燥させてから用いる。(1 + 1) 硝酸による洗浄に向かない器具については、水道水に一晩漬ける。
- (注2) エマルジョンの生成と対象物質の吸着を防ぐため、試料の微粒子が分液ろうとに入らないようにする。微粒子が多いときはグラスウール等に通しながら分液ろうとに移すと微粒子の混入を防ぐことができる。
- (注3) 分取量は試料の性状、分析装置の性能、対象物質の濃度により変更する。
- (注4) 乾固させないようにする。
- (注5) ジクロロメタン、メタノール、精製水の順にそれぞれ10 mLを通液してコンディショニングを行う。
- (注6) ジクロロメタン、メタノール、精製水の順にそれぞれ10 mLを通液してコンディショニングを行い、遠心分離（3000 rpm、10分）で脱水する。
- (注7) 対象物質の保持時間は7～23 分の間であり、23～40 分はカラムの洗浄及び平衡化の時間である。
- (注8) 夾雑物による検出器の汚染を低減させるため、LCからMSに試料を導入する時間を可能な限り短くする。ここでは、LCカラムから検出器の間にあるバルブの切り替えにより、測定機器に注入された試料は測定開始時から6分間はMSには導入されずに廃液ラインに入るようにした。同様にカラム洗浄及び平衡化の時間はLCカラムを通った移動相は廃液ラインに入るようにした。
- (注9) 各対象物質は、ノニル基の構造が異なる異性体の混合物である。本法において、環境中の対象物質と標準液中の対象物質では同族体の組成が同じであると仮定した。この仮定は、後述の【**LC/MS での測定モードの定量値への影響**】に記載した検討結果から妥当であると考えられる。
- (注10) IDLは、「化学物質環境実態調査実施の手引き」（平成28年3月）に従って、算出した。算出結果を表3-1～表3-5、IDL測定時のクロマトグラムを図1-1～図1-13に示す。

表 3-1 IDL 算出結果（詳細）

対象物質名	NPE3	NPE4	NPE5
試料量 (g-dry)	10	10	10
最終液量 (mL)	20	20	20
注入液濃度 (ng/mL)	10	50	20
注入量 (pg)	10	50	20
装置注入液量 (μL)	1.0	1.0	1.0
結果 1 (pg)	9.90	49.8	20.5
結果 2 (pg)	9.79	53.6	19.3
結果 3 (pg)	10.5	49.2	19.7
結果 4 (pg)	9.95	53.8	19.3
結果 5 (pg)	9.36	50.7	20.3
結果 6 (pg)	9.34	54.0	19.5
結果 7 (pg)	9.66	55.1	21.1
平均値 (pg)	9.786	52.31	19.96
標準偏差 (σ_{n-1}) (pg)	0.397	2.35	0.690
IDL (pg)*	1.5	9.1	2.7
IDL 試料換算値 (ng/g-dry)	3.0	18	5.4
S/N 比	11	8.8	11
CV (%)	4.1	4.5	3.5

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

表 3-2 IDL 算出結果（詳細）

対象物質名	NPE6	NPE7	NPE8
試料量 (g-dry)	10	10	10
最終液量 (mL)	20	20	20
注入液濃度 (ng/mL)	20	20	20
注入量 (pg)	20	20	20
装置注入液量 (μL)	1.0	1.0	1.0
結果 1 (pg)	21.3	19.6	20.2
結果 2 (pg)	18.8	20.3	17.3
結果 3 (pg)	21.1	18.4	19.0
結果 4 (pg)	18.6	21.8	19.2
結果 5 (pg)	20.8	19.9	20.1
結果 6 (pg)	20.8	21.5	21.2
結果 7 (pg)	18.0	21.9	22.3
平均値 (pg)	19.91	20.49	19.90
標準偏差 (σ_{n-1}) (pg)	1.39	1.31	1.61
IDL (pg)*	5.4	5.1	6.3
IDL 試料換算値 (ng/g-dry)	11	10	13
S/N 比	11	11	11
CV (%)	7.0	6.4	8.1

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

表 3-3 IDL 算出結果（詳細）

対象物質名	NPE9	NPE10	NPE11
試料量 (g-dry)	10	10	10
最終液量 (mL)	20	20	20
注入液濃度 (ng/mL)	50	20	50
注入量 (pg)	50	20	50
装置注入液量 (μL)	1.0	1.0	1.0
結果 1 (pg)	57.1	19.0	49.0
結果 2 (pg)	51.1	20.1	50.8
結果 3 (pg)	55.5	21.0	51.1
結果 4 (pg)	58.2	19.8	46.8
結果 5 (pg)	55.8	20.1	54.0
結果 6 (pg)	60.7	20.5	47.9
結果 7 (pg)	50.8	24.4	52.8
平均値 (pg)	55.6	20.70	50.34
標準偏差 (σ_{n-1}) (pg)	3.61	1.74	2.60
IDL (pg)*	14	6.8	10
IDL 試料換算値 (ng/g-dry)	28	14	20
S/N 比	7.5	8.7	14
CV (%)	6.5	8.4	5.2

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

表 3-4 IDL 算出結果 (詳細)

対象物質名	NPE12	NPE13	NPE14
試料量 (g-dry)	10	10	10
最終液量 (mL)	20	20	20
注入液濃度 (ng/mL)	50	20	20
注入量 (pg)	50	20	20
装置注入液量 (μL)	1.0	1.0	1.0
結果 1 (pg)	54.2	21.3	21.7
結果 2 (pg)	55.1	19.8	19.2
結果 3 (pg)	53.9	21.6	19.6
結果 4 (pg)	59.1	20.1	20.9
結果 5 (pg)	58.4	23.3	17.9
結果 6 (pg)	58.5	21.9	22.5
結果 7 (pg)	51.5	18.2	19.6
平均値 (pg)	55.81	20.89	20.20
標準偏差 (σ_{n-1}) (pg)	2.89	1.66	1.58
IDL (pg)*	11	6.5	6.1
IDL 試料換算値 (ng/g-dry)	22	13	12
S/N 比	14	9.5	7.7
CV (%)	5.2	7.9	7.8

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

表 3-5 IDL 算出結果 (詳細)

対象物質名	NPE15
試料量 (g-dry)	10
最終液量 (mL)	20
注入液濃度 (ng/mL)	20
注入量 (pg)	20
装置注入液量 (μL)	1.0
結果 1 (pg)	17.1
結果 2 (pg)	16.8
結果 3 (pg)	23.1
結果 4 (pg)	22.2
結果 5 (pg)	20.9
結果 6 (pg)	21.7
結果 7 (pg)	18.5
平均値 (pg)	20.04
標準偏差 (σ_{n-1}) (pg)	2.55
IDL (pg)*	9.9
IDL 試料換算値 (ng/g-dry)	20
S/N 比	7.3
CV (%)	13

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

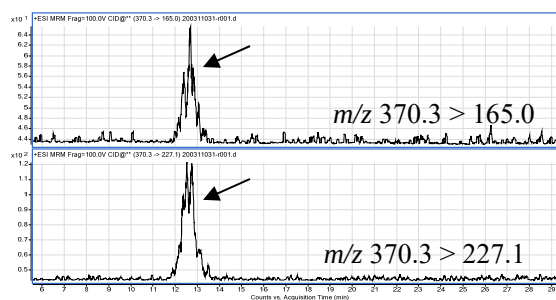


図 1-1 NPE3 の IDL 測定時のクロマトグラム (10 ng/mL)

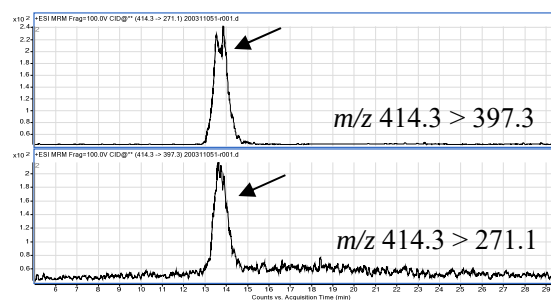


図 1-2 NPE4 の IDL 測定時のクロマトグラム (50 ng/mL)

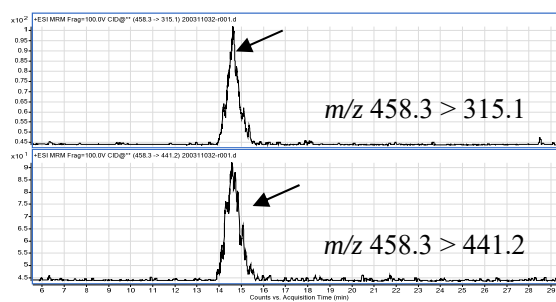


図 1-3 NPE5 の IDL 測定時のクロマトグラム (20 ng/mL)

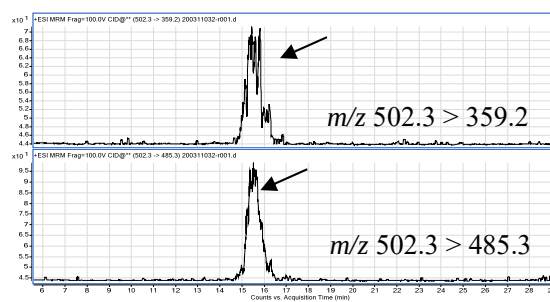


図 1-4 NPE6 の IDL 測定時のクロマトグラム (20 ng/mL)

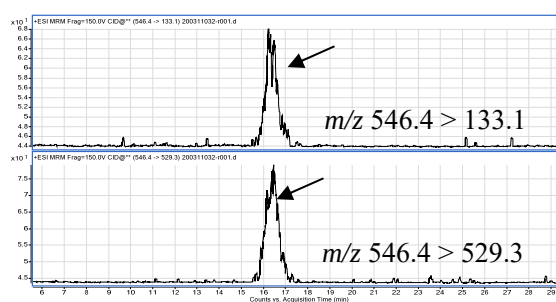


図 1-5 NPE7 の IDL 測定時のクロマトグラム (20 ng/mL)

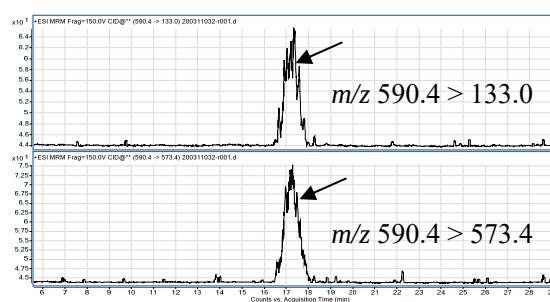


図 1-6 NPE8 の IDL 測定時のクロマトグラム (20 ng/mL)

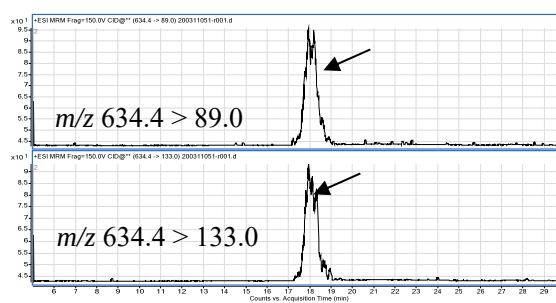


図 1-7 NPE9 の IDL 測定時のクロマトグラム (50 ng/mL)

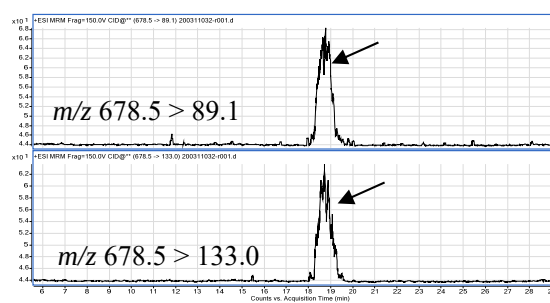


図 1-8 NPE10 の IDL 測定時のクロマトグラム (20 ng/mL)

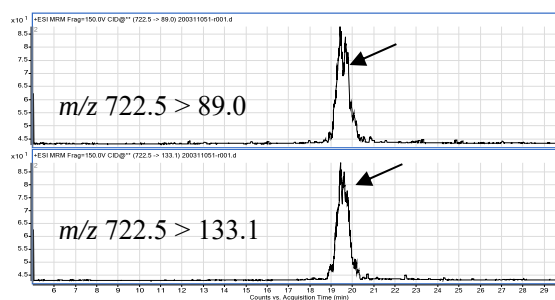


図 1-9 NPE11 の IDL 測定時のクロマトグラム (50 ng/mL)

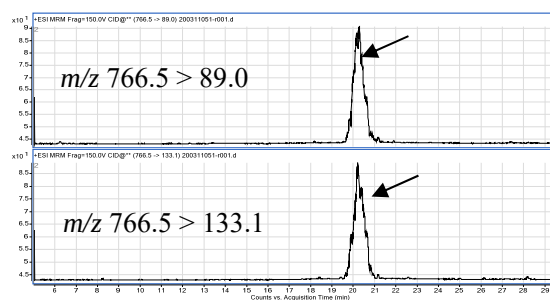


図 1-10 NPE12 の IDL 測定時のクロマトグラム (50 ng/mL)

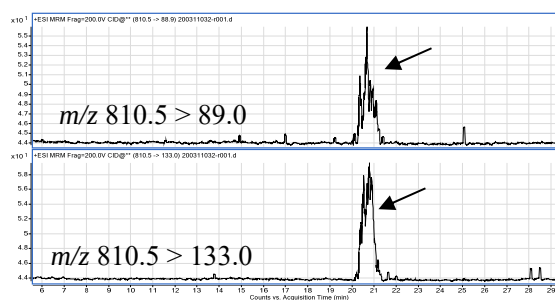


図 1-11 NPE13 の IDL 測定時のクロマトグラム (20 ng/mL)

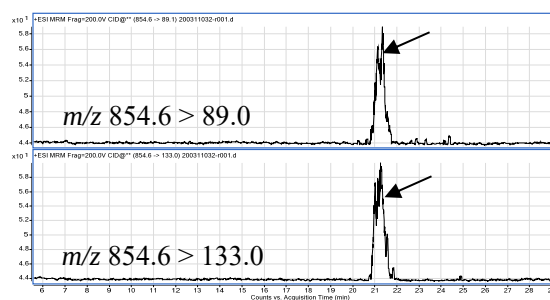


図 1-12 NPE14 の IDL 測定時のクロマトグラム (20 ng/mL)

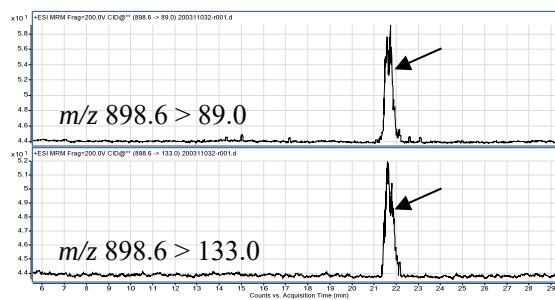


図 1-13 NPE15 の IDL 測定時のクロマトグラム (20 ng/mL)

(注 11) MDL 及び MQL は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 28 年 3 月)に従って、表 4-1～表 4-13 のとおり算出した。また、図 2-1～図 2-13 に MDL 測定時のクロマトグラムを示す。

表 4-1 NPE3 の MDL 及び MQL の算出結果 (詳細)

対象物質名	NPE3	回収率(%)
試料	乾燥底質	-
試料量 (g)	10	-
標準添加量 (ng)	600	-
試料換算濃度 (ng/g-dry)	60	-
最終液量 (mL)	20	-
注入液濃度 (ng/mL)	30	-
装置注入液量 (μL)	1.0	-
操作ブランク平均 (ng/g-dry)* ¹	< 8.2	-
無添加平均 (ng/g-dry)* ²	< 8.2	-
結果 1 (ng/g-dry)	57.6	96
結果 2 (ng/g-dry)	62.7	100
結果 3 (ng/g-dry)	61.8	100
結果 4 (ng/g-dry)	60.6	100
結果 5 (ng/g-dry)	63.1	110
結果 6 (ng/g-dry)	64.1	110
結果 7 (ng/g-dry)	61.9	100
平均値 (ng/g-dry)	61.69	102
標準偏差 (σ_{n-1}) (ng/g-dry)	2.11	
MDL (ng/g-dry)* ³	8.2	
MQL (ng/g-dry)* ⁴	21	
S/N 比	32	
CV (%)	3.4	

*1 : 空試験液を測定した値の平均値 (n=3)

*2 : MDL 算出用試料に標準を添加していない状態で含まれる濃度の平均値 (n=2)

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

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

表 4-2 NPE4 の MDL 及び MQL の算出結果 (詳細)

対象物質名	NPE4	回収率(%)
試料	乾燥底質	-
試料量 (g)	10	-
標準添加量 (ng)	600	-
試料換算濃度 (ng/g-dry)	60	-
最終液量 (mL)	20	-
注入液濃度 (ng/mL)	30	-
装置注入液量 (μL)	1.0	-
操作ブランク平均 (ng/g-dry)* ¹	< 16	-
無添加平均 (ng/g-dry)* ²	< 16	-
結果 1 (ng/g-dry)	52.6	88
結果 2 (ng/g-dry)	58.9	98
結果 3 (ng/g-dry)	60.1	100
結果 4 (ng/g-dry)	50.7	85
結果 5 (ng/g-dry)	58.0	97
結果 6 (ng/g-dry)	55.6	93
結果 7 (ng/g-dry)	62.2	100
平均値 (ng/g-dry)	56.87	94.4
標準偏差 (σ_{n-1}) (ng/g-dry)	4.13	
MDL (ng/g-dry)* ³	16	
MQL (ng/g-dry)* ⁴	41	
S/N 比	6.1	
CV (%)	7.3	

*1 : 空試験液を測定した値の平均値 (n=3)

*2 : MDL 算出用試料に標準を添加していない状態で含まれる濃度の平均値 (n=2)

*3 : $MDL = t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$ *4 : $MQL = \sigma_{n-1} \times 10$

表 4-3 NPE5 の MDL 及び MQL の算出結果（詳細）

対象物質名	NPE5	回収率(%)
試料	乾燥底質	-
試料量 (g)	10	-
標準添加量 (ng)	600	-
試料換算濃度 (ng/g-dry)	60	-
最終液量 (mL)	20	-
注入液濃度 (ng/mL)	30	-
装置注入液量 (μL)	1.0	-
操作ブランク平均 (ng/g-dry)* ¹	< 13	-
無添加平均 (ng/g-dry)* ²	< 13	-
結果 1 (ng/g-dry)	51.8	86
結果 2 (ng/g-dry)	59.8	100
結果 3 (ng/g-dry)	56.6	94
結果 4 (ng/g-dry)	57.4	96
結果 5 (ng/g-dry)	61.5	100
結果 6 (ng/g-dry)	57.8	96
結果 7 (ng/g-dry)	60.8	100
平均値 (ng/g-dry)	57.96	96.0
標準偏差 (σ_{n-1}) (ng/g-dry)	3.27	
MDL (ng/g-dry)* ³	13	
MQL (ng/g-dry)* ⁴	33	
S/N 比	11	
CV (%)	5.6	

*1：空試験液を測定した値の平均値 (n=3)

*2：MDL 算出用試料に標準を添加していない状態で含まれる濃度の平均値 (n=2)

*3：MDL = $t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$ *4：MQL = $\sigma_{n-1} \times 10$

表 4-4 NPE6 の MDL 及び MQL の算出結果 (詳細)

対象物質名	NPE6	回収率(%)
試料	乾燥底質	-
試料量 (g)	10	-
標準添加量 (ng)	600	-
試料換算濃度 (ng/g-dry)	60	-
最終液量 (mL)	20	-
注入液濃度 (ng/mL)	30	-
装置注入液量 (μL)	1.0	-
操作ブランク平均 (ng/g-dry)* ¹	< 11	-
無添加平均 (ng/g-dry)* ²	< 11	-
結果 1 (ng/g-dry)	52.4	87
結果 2 (ng/g-dry)	58.8	98
結果 3 (ng/g-dry)	56.2	94
結果 4 (ng/g-dry)	58.0	97
結果 5 (ng/g-dry)	58.6	98
結果 6 (ng/g-dry)	55.2	92
結果 7 (ng/g-dry)	60.7	100
平均値 (ng/g-dry)	57.13	95.1
標準偏差 (σ_{n-1}) (ng/g-dry)	2.75	
MDL (ng/g-dry)* ³	11	
MQL (ng/g-dry)* ⁴	28	
S/N 比	17	
CV (%)	4.8	

*1 : 空試験液を測定した値の平均値 (n=3)

*2 : MDL 算出用試料に標準を添加していない状態で含まれる濃度の平均値 (n=2)

*3 : $MDL = t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$ *4 : $MQL = \sigma_{n-1} \times 10$

表 4-5 NPE7 の MDL 及び MQL の算出結果 (詳細)

対象物質名	NPE7	回収率(%)
試料	乾燥底質	-
試料量 (g)	10	-
標準添加量 (ng)	600	-
試料換算濃度 (ng/g-dry)	60	-
最終液量 (mL)	20	-
注入液濃度 (ng/mL)	30	-
装置注入液量 (μL)	1.0	-
操作ブランク平均 (ng/g-dry)* ¹	< 9.5	-
無添加平均 (ng/g-dry)* ²	< 9.5	-
結果 1 (ng/g-dry)	52.0	87
結果 2 (ng/g-dry)	51.9	87
結果 3 (ng/g-dry)	55.1	92
結果 4 (ng/g-dry)	55.5	93
結果 5 (ng/g-dry)	57.6	96
結果 6 (ng/g-dry)	52.9	88
結果 7 (ng/g-dry)	57.6	96
平均値 (ng/g-dry)	54.66	91.3
標準偏差 (σ_{n-1}) (ng/g-dry)	2.45	
MDL (ng/g-dry)* ³	9.5	
MQL (ng/g-dry)* ⁴	25	
S/N 比	15	
CV (%)	4.5	

*1 : 空試験液を測定した値の平均値 (n=3)

*2 : MDL 算出用試料に標準を添加していない状態で含まれる濃度の平均値 (n=2)

*3 : $MDL = t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$ *4 : $MQL = \sigma_{n-1} \times 10$

表 4-6 NPE8 の MDL 及び MQL の算出結果 (詳細)

対象物質名	NPE8	回収率(%)
試料	乾燥底質	-
試料量 (g)	10	-
標準添加量 (ng)	600	-
試料換算濃度 (ng/g-dry)	60	-
最終液量 (mL)	20	-
注入液濃度 (ng/mL)	30	-
装置注入液量 (μL)	1.0	-
操作ブランク平均 (ng/g-dry)* ¹	< 13	-
無添加平均 (ng/g-dry)* ²	< 13	-
結果 1 (ng/g-dry)	48.6	81
結果 2 (ng/g-dry)	58.5	98
結果 3 (ng/g-dry)	51.0	85
結果 4 (ng/g-dry)	55.0	92
結果 5 (ng/g-dry)	54.6	91
結果 6 (ng/g-dry)	55.2	92
結果 7 (ng/g-dry)	56.2	94
平均値 (ng/g-dry)	54.16	90.4
標準偏差 (σ_{n-1}) (ng/g-dry)	3.31	
MDL (ng/g-dry)* ³	13	
MQL (ng/g-dry)* ⁴	33	
S/N 比	11	
CV (%)	6.1	

*1 : 空試験液を測定した値の平均値 (n=3)

*2 : MDL 算出用試料に標準を添加していない状態で含まれる濃度の平均値 (n=2)

*3 : $MDL = t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$ *4 : $MQL = \sigma_{n-1} \times 10$

表 4-7 NPE9 の MDL 及び MQL の算出結果 (詳細)

対象物質名	NPE9	回収率(%)
試料	乾燥底質	-
試料量 (g)	10	-
標準添加量 (ng)	600	-
試料換算濃度 (ng/g-dry)	60	-
最終液量 (mL)	20	-
注入液濃度 (ng/mL)	30	-
装置注入液量 (μL)	1.0	-
操作ブランク平均 (ng/g-dry)* ¹	< 12	-
無添加平均 (ng/g-dry)* ²	< 12	-
結果 1 (ng/g-dry)	50.8	85
結果 2 (ng/g-dry)	59.6	99
結果 3 (ng/g-dry)	53.2	89
結果 4 (ng/g-dry)	52.9	88
結果 5 (ng/g-dry)	56.8	95
結果 6 (ng/g-dry)	55.0	92
結果 7 (ng/g-dry)	52.1	87
平均値 (ng/g-dry)	54.34	90.7
標準偏差 (σ_{n-1}) (ng/g-dry)	3.03	
MDL (ng/g-dry)* ³	12	
MQL (ng/g-dry)* ⁴	30	
S/N 比	12	
CV (%)	5.6	

*1 : 空試験液を測定した値の平均値 (n=3)

*2 : MDL 算出用試料に標準を添加していない状態で含まれる濃度の平均値 (n=2)

*3 : $MDL = t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$ *4 : $MQL = \sigma_{n-1} \times 10$

表 4-8 NPE10 の MDL 及び MQL の算出結果 (詳細)

対象物質名	NPE10	回収率(%)
試料	乾燥底質	-
試料量 (g)	10	-
標準添加量 (ng)	600	-
試料換算濃度 (ng/g-dry)	60	-
最終液量 (mL)	20	-
注入液濃度 (ng/mL)	30	-
装置注入液量 (μL)	1.0	-
操作ブランク平均 (ng/g-dry)* ¹	< 7.3	-
無添加平均 (ng/g-dry)* ²	< 7.3	-
結果 1 (ng/g-dry)	46.5	78
結果 2 (ng/g-dry)	51.9	87
結果 3 (ng/g-dry)	50.9	85
結果 4 (ng/g-dry)	49.6	83
結果 5 (ng/g-dry)	48.4	81
結果 6 (ng/g-dry)	48.6	81
結果 7 (ng/g-dry)	47.6	79
平均値 (ng/g-dry)	49.07	82.0
標準偏差 (σ_{n-1}) (ng/g-dry)	1.87	
MDL (ng/g-dry)* ³	7.3	
MQL (ng/g-dry)* ⁴	19	
S/N 比	14	
CV (%)	3.8	

*1 : 空試験液を測定した値の平均値 (n=3)

*2 : MDL 算出用試料に標準を添加していない状態で含まれる濃度の平均値 (n=2)

*3 : $MDL = t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$ *4 : $MQL = \sigma_{n-1} \times 10$

表 4-9 NPE11 の MDL 及び MQL の算出結果 (詳細)

対象物質名	NPE11	回収率(%)
試料	乾燥底質	-
試料量 (g)	10	-
標準添加量 (ng)	600	-
試料換算濃度 (ng/g-dry)	60	-
最終液量 (mL)	20	-
注入液濃度 (ng/mL)	30	-
装置注入液量 (μL)	1.0	-
操作ブランク平均 (ng/g-dry)* ¹	< 9.8	-
無添加平均 (ng/g-dry)* ²	< 9.8	-
結果 1 (ng/g-dry)	46.9	78
結果 2 (ng/g-dry)	47.0	78
結果 3 (ng/g-dry)	44.4	74
結果 4 (ng/g-dry)	49.7	83
結果 5 (ng/g-dry)	42.4	71
結果 6 (ng/g-dry)	43.4	72
結果 7 (ng/g-dry)	44.3	74
平均値 (ng/g-dry)	45.44	75.7
標準偏差 (σ _{n-1}) (ng/g-dry)	2.53	
MDL (ng/g-dry)* ³	9.8	
MQL (ng/g-dry)* ⁴	25	
S/N 比	12	
CV (%)	5.6	

*1 : 空試験液を測定した値の平均値 (n=3)

*2 : MDL 算出用試料に標準を添加していない状態で含まれる濃度の平均値 (n=2)

*3 : $MDL = t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$ *4 : $MQL = \sigma_{n-1} \times 10$

表 4-10 NPE12 の MDL 及び MQL の算出結果 (詳細)

対象物質名	NPE12	回収率(%)
試料	乾燥底質	-
試料量 (g)	10	-
標準添加量 (ng)	600	-
試料換算濃度 (ng/g-dry)	60	-
最終液量 (mL)	20	-
注入液濃度 (ng/mL)	30	-
装置注入液量 (μL)	1.0	-
操作ブランク平均 (ng/g-dry)* ¹	< 8.9	-
無添加平均 (ng/g-dry)* ²	< 8.9	-
結果 1 (ng/g-dry)	41.6	69
結果 2 (ng/g-dry)	41.3	69
結果 3 (ng/g-dry)	41.3	69
結果 4 (ng/g-dry)	41.9	70
結果 5 (ng/g-dry)	44.4	74
結果 6 (ng/g-dry)	38.8	65
結果 7 (ng/g-dry)	45.8	76
平均値 (ng/g-dry)	42.16	70.3
標準偏差 (σ_{n-1}) (ng/g-dry)	2.29	
MDL (ng/g-dry)* ³	8.9	
MQL (ng/g-dry)* ⁴	23	
S/N 比	9.4	
CV (%)	5.4	

*1 : 空試験液を測定した値の平均値 (n=3)

*2 : MDL 算出用試料に標準を添加していない状態で含まれる濃度の平均値 (n=2)

*3 : $MDL = t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$ *4 : $MQL = \sigma_{n-1} \times 10$

表 4-11 NPE13 の MDL 及び MQL の算出結果 (詳細)

対象物質名	NPE13	回収率(%)
試料	乾燥底質	-
試料量 (g)	10	-
標準添加量 (ng)	600	-
試料換算濃度 (ng/g-dry)	60	-
最終液量 (mL)	20	-
注入液濃度 (ng/mL)	30	-
装置注入液量 (μL)	1.0	-
操作ブランク平均 (ng/g-dry)* ¹	< 11	-
無添加平均 (ng/g-dry)* ²	< 11	-
結果 1 (ng/g-dry)	35.3	59
結果 2 (ng/g-dry)	36.1	60
結果 3 (ng/g-dry)	35.1	59
結果 4 (ng/g-dry)	37.1	62
結果 5 (ng/g-dry)	40.9	68
結果 6 (ng/g-dry)	38.7	65
結果 7 (ng/g-dry)	31.7	53
平均値 (ng/g-dry)	36.41	60.9
標準偏差 (σ _{n-1}) (ng/g-dry)	2.92	
MDL (ng/g-dry)* ³	11	
MQL (ng/g-dry)* ⁴	29	
S/N 比	13	
CV (%)	8	

*1 : 空試験液を測定した値の平均値 (n=3)

*2 : MDL 算出用試料に標準を添加していない状態で含まれる濃度の平均値 (n=2)

*3 : $MDL = t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$ *4 : $MQL = \sigma_{n-1} \times 10$

表 4-12 NPE14 の MDL 及び MQL の算出結果 (詳細)

対象物質名	NPE14	回収率(%)
試料	乾燥底質	-
試料量 (g)	10	-
標準添加量 (ng)	600	-
試料換算濃度 (ng/g-dry)	60	-
最終液量 (mL)	20	-
注入液濃度 (ng/mL)	30	-
装置注入液量 (μL)	1.0	-
操作ブランク平均 (ng/g-dry)* ¹	< 7.6	-
無添加平均 (ng/g-dry)* ²	< 7.6	-
結果 1 (ng/g-dry)	30.7	51
結果 2 (ng/g-dry)	32.1	54
結果 3 (ng/g-dry)	32.3	54
結果 4 (ng/g-dry)	30.3	51
結果 5 (ng/g-dry)	33.4	56
結果 6 (ng/g-dry)	35.1	59
結果 7 (ng/g-dry)	29.4	49
平均値 (ng/g-dry)	31.90	53.4
標準偏差 (σ_{n-1}) (ng/g-dry)	1.96	
MDL (ng/g-dry)* ³	7.6	
MQL (ng/g-dry)* ⁴	20	
S/N 比	13	
CV (%)	6.1	

*1 : 空試験液を測定した値の平均値 (n=3)

*2 : MDL 算出用試料に標準を添加していない状態で含まれる濃度の平均値 (n=2)

*3 : $MDL = t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$ *4 : $MQL = \sigma_{n-1} \times 10$

表 4-13 NPE15 の MDL 及び MQL の算出結果 (詳細)

対象物質名	NPE15	回収率(%)
試料	乾燥底質	-
試料量 (g)	10	-
標準添加量 (ng)	600	-
試料換算濃度 (ng/g-dry)	60	-
最終液量 (mL)	20	-
注入液濃度 (ng/mL)	30	-
装置注入液量 (μL)	1.0	-
操作ブランク平均 (ng/g-dry)* ¹	< 12	-
無添加平均 (ng/g-dry)* ²	< 12	-
結果 1 (ng/g-dry)	31.7	53
結果 2 (ng/g-dry)	33.0	55
結果 3 (ng/g-dry)	26.3	44
結果 4 (ng/g-dry)	28.5	48
結果 5 (ng/g-dry)	31.6	53
結果 6 (ng/g-dry)	31.3	52
結果 7 (ng/g-dry)	24.8	41
平均値 (ng/g-dry)	29.60	49.4
標準偏差 (σ _{n-1}) (ng/g-dry)	3.11	
MDL (ng/g-dry)* ³	12	
MQL (ng/g-dry)* ⁴	31	
S/N 比	11	
CV (%)	11	

*1 : 空試験液を測定した値の平均値 (n=3)

*2 : MDL 算出用試料に標準を添加していない状態で含まれる濃度の平均値 (n=2)

*3 : $MDL = t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$ *4 : $MQL = \sigma_{n-1} \times 10$

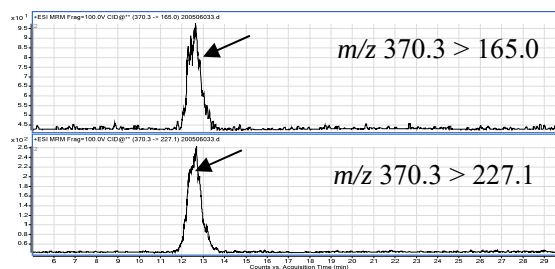


図 2-1 NPE3 の MDL 測定時のクロマトグラム

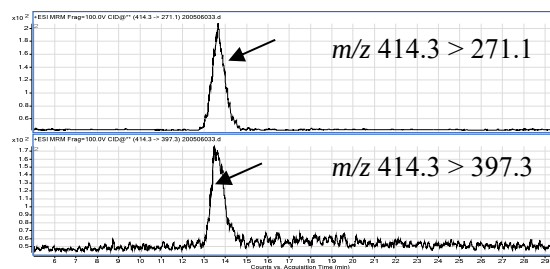


図 2-2 NPE4 の MDL 測定時のクロマトグラム

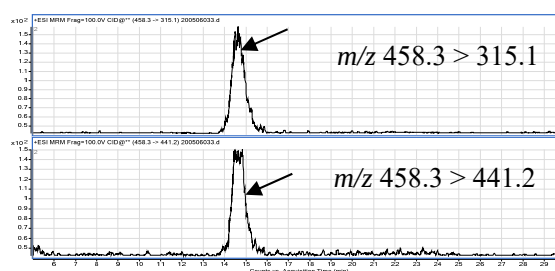


図 2-3 NPE5 の MDL 測定時のクロマトグラム

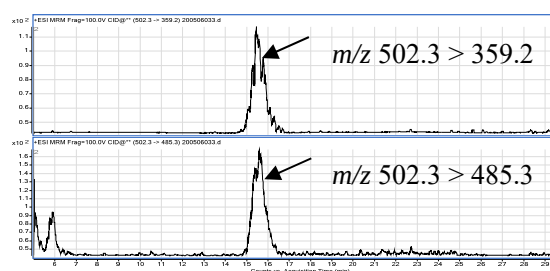


図 2-4 NPE6 の MDL 測定時のクロマトグラム

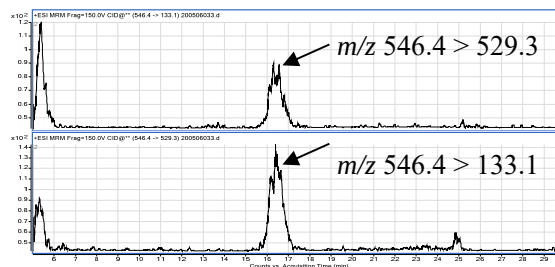


図 2-5 NPE7 の MDL 測定時のクロマトグラム

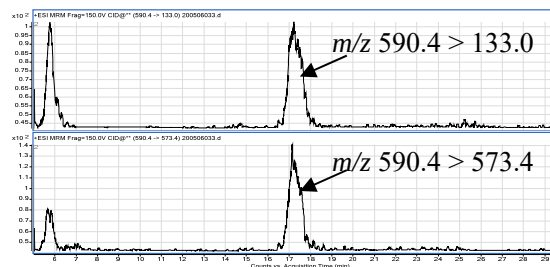


図 2-6 NPE8 の MDL 測定時のクロマトグラム

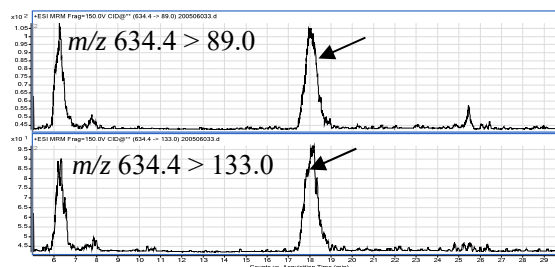


図 2-7 NPE9 の MDL 測定時のクロマトグラム

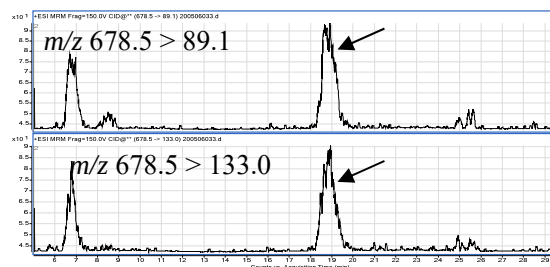


図 2-8 NPE10 の MDL 測定時のクロマトグラム

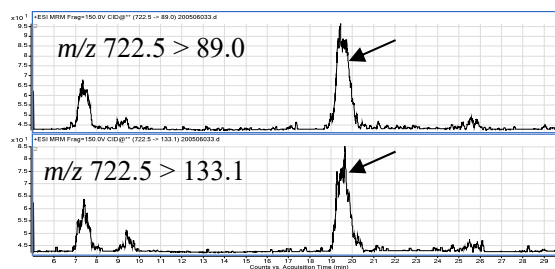


図 2-9 NPE11 の MDL 測定時のクロマトグラム

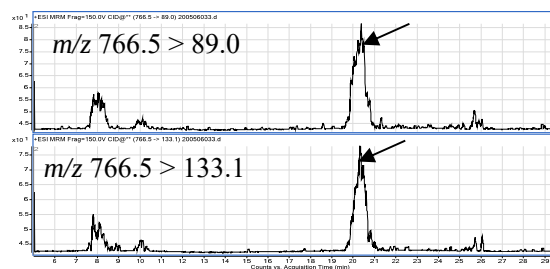


図 2-10 NPE12 の MDL 測定時のクロマトグラム

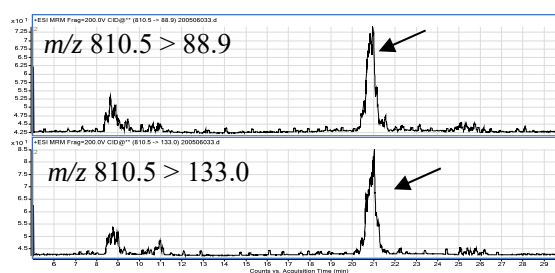


図 2-11 NPE13 の MDL 測定時のクロマトグラム

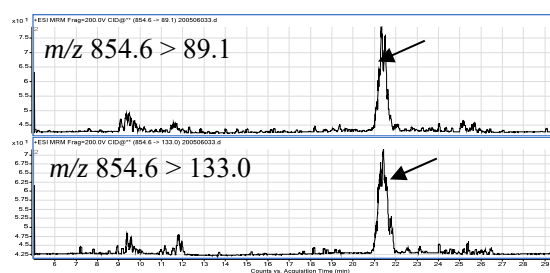


図 2-12 NPE14 の MDL 測定時のクロマトグラム

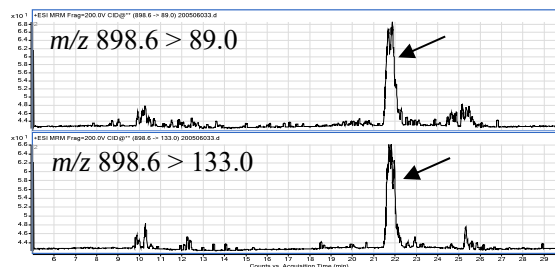


図 2-13 NPE15 の MDL 測定時のクロマトグラム

§ 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。

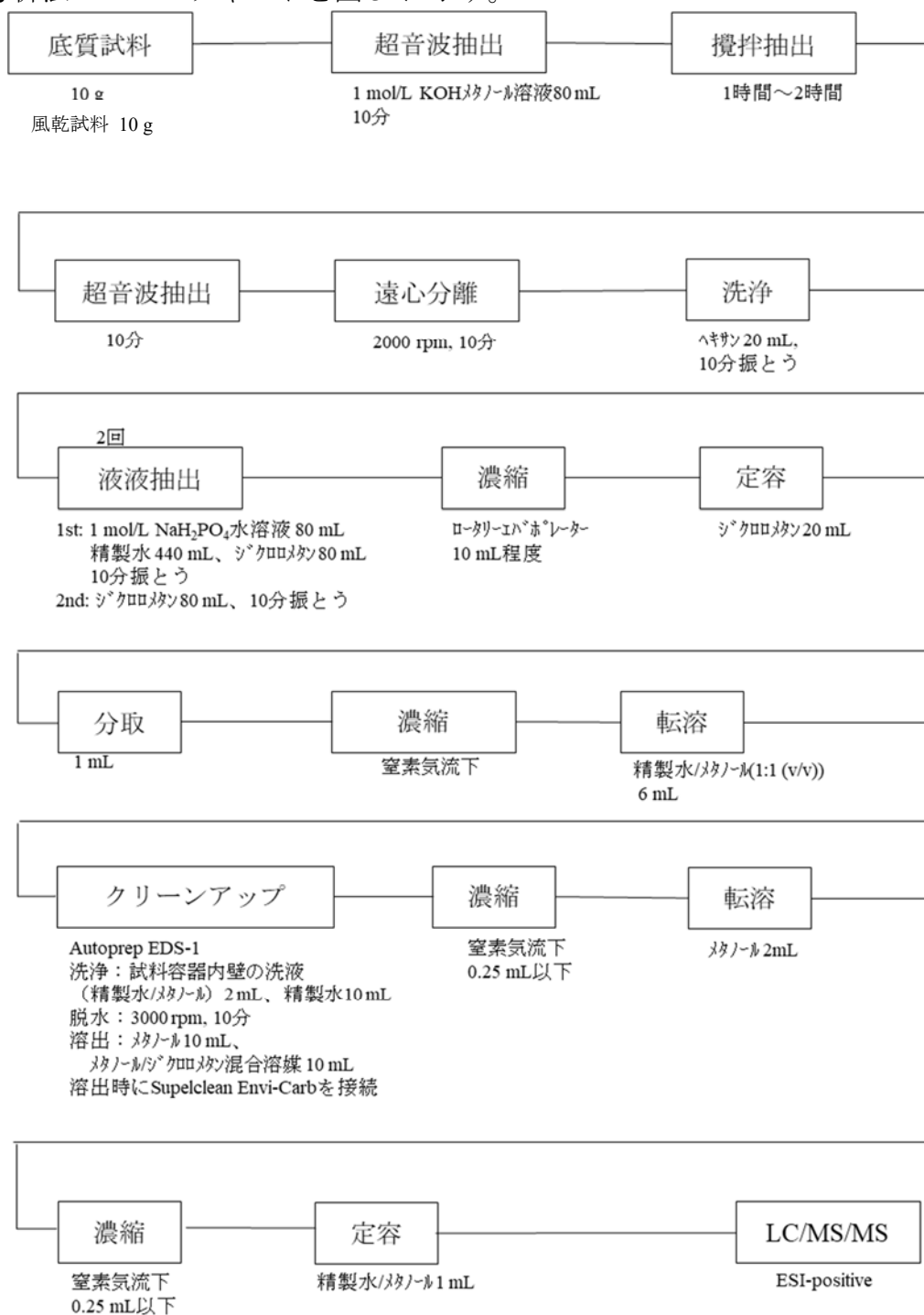


図 3 分析法のフローチャート

〔検量線〕

検量線を図 4-1-1 から図 4-13-2 に、検量線作成用データを表 5-1 から表 5-5 に、各同族体の濃度が 1000 ng/mL の標準液を測定した際の、各対象物質の定量イオンのマスクロマトグラムを重ねたものを図 5 に示す。本法の LC 条件ではエチレンオキシドの付加モル数が小さいものから溶出する。なお、表 5-1 から表 5-5 の検量線作成用データでは、S/N が 3 未満だった濃度の応答値は記載していない。また、図 5 には同時分析を目指した NPE1、NPE2 及びそれらのサロゲート物質として検討した NPE1- $^{13}\text{C}_2$ 、NPE2- $^{13}\text{C}_2$ も合わせて示した。

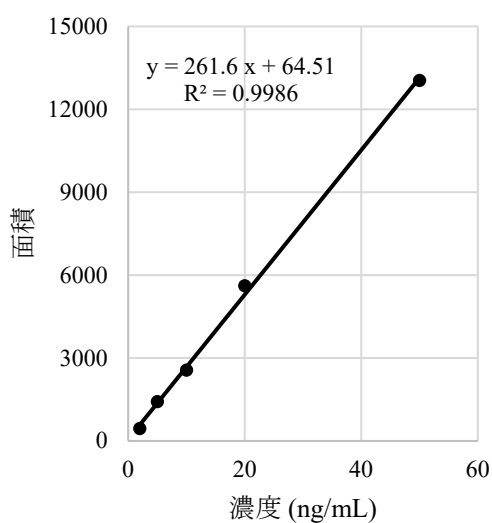


図 4-1-1 NPE3 の低濃度検量線
(2.0~50 ng/mL)

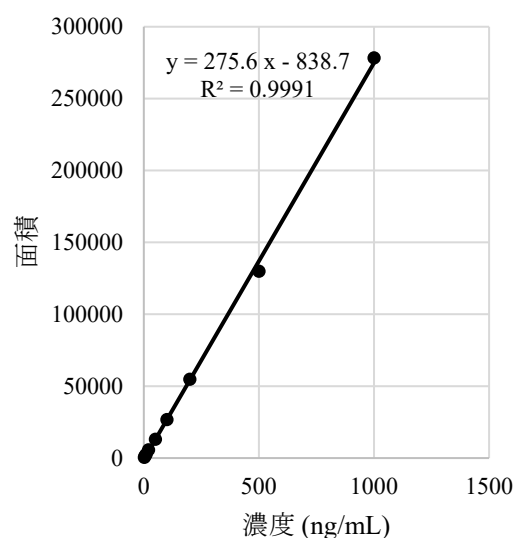


図 4-1-2 NPE3 の高濃度検量線
(2.0~1000 ng/mL)

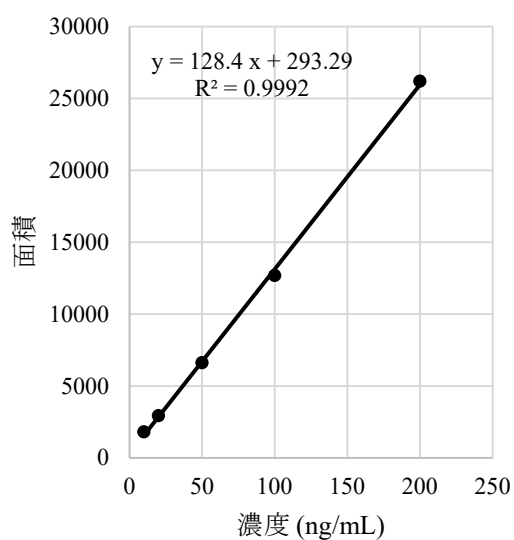


図 4-2-1 NPE4 の低濃度検量線
(10～50 ng/mL)

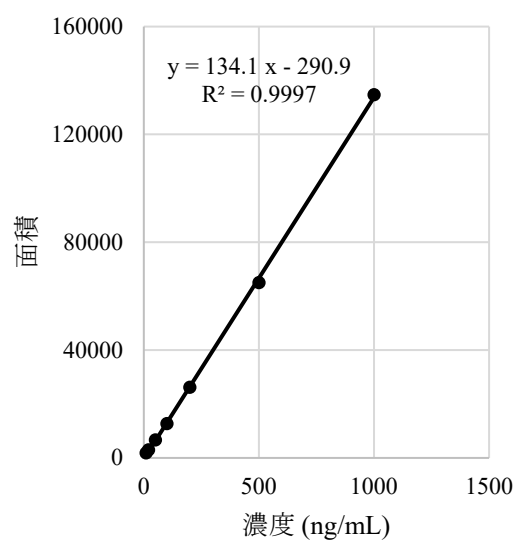


図 4-2-2 NPE4 の高濃度検量線
(10～1000 ng/mL)

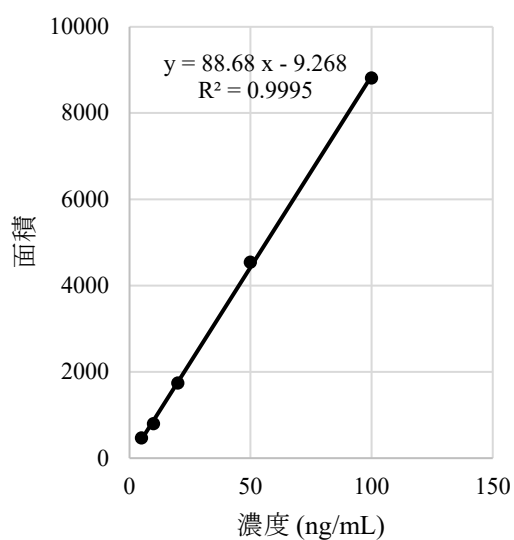


図 4-3-1 NPE5 の低濃度検量線
(5.0～100 ng/mL)

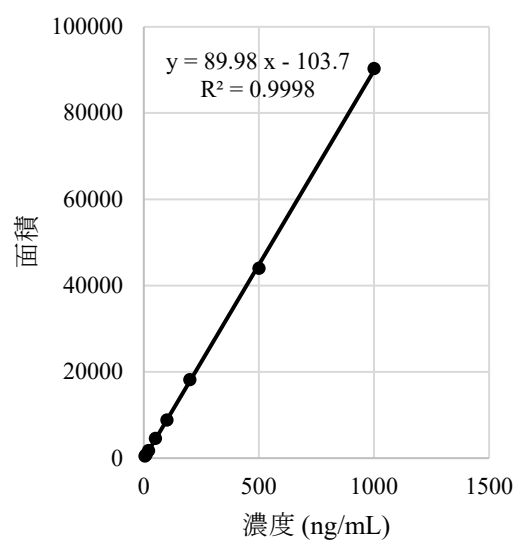


図 4-3-2 NPE5 の高濃度検量線
(5.0～1000 ng/mL)

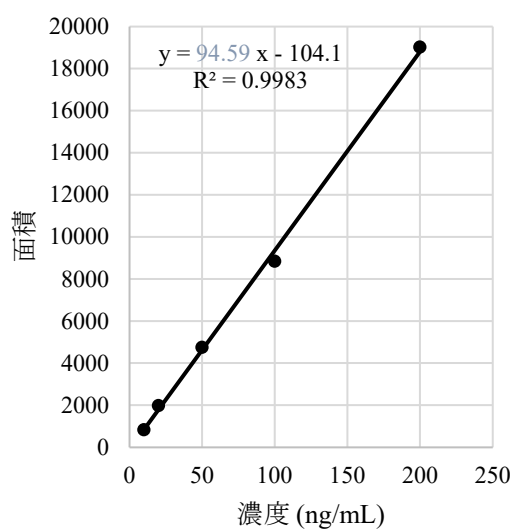


図 4-4-1 NPE6 の低濃度検量線
(10~200 ng/mL)

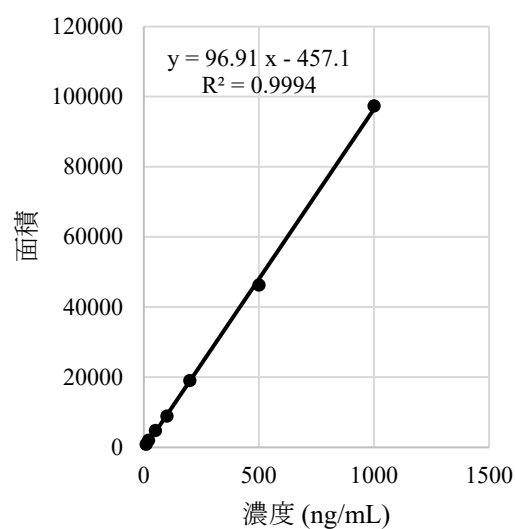


図 4-4-2 NPE6 の高濃度検量線
(10~1000 ng/mL)

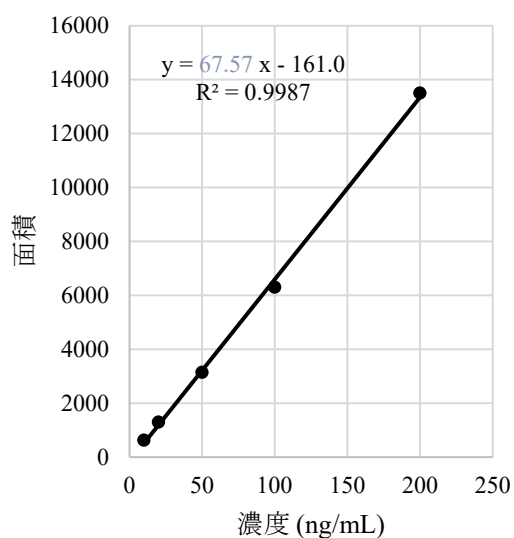


図 4-5-1 NPE7 の低濃度検量線
(10~200 ng/mL)

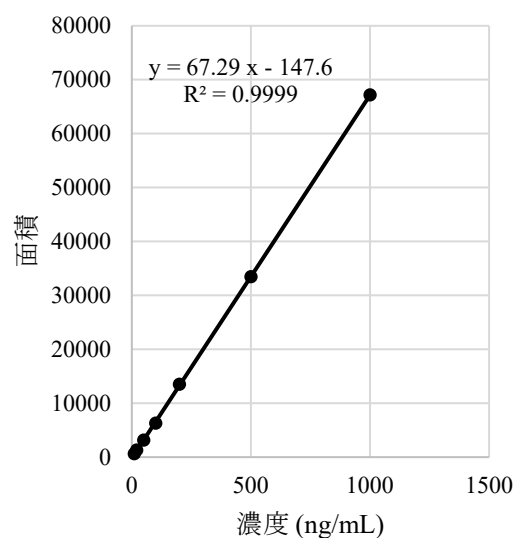


図 4-5-2 NPE7 の高濃度検量線
(10~1000 ng/mL)

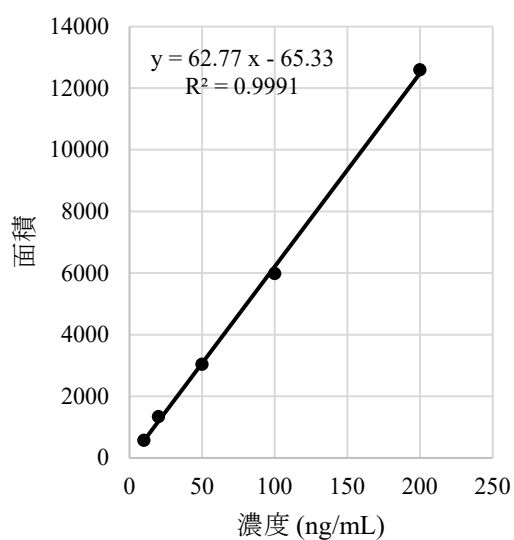


図 4-6-1 NPE8 の低濃度検量線
(10~200 ng/mL)

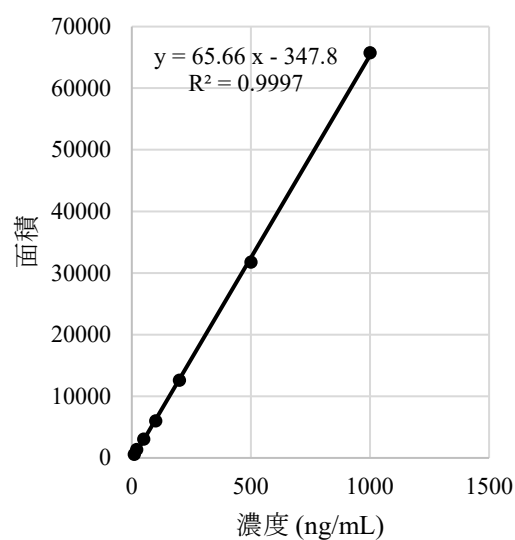


図 4-6-2 NPE8 の高濃度検量線
(10~1000 ng/mL)

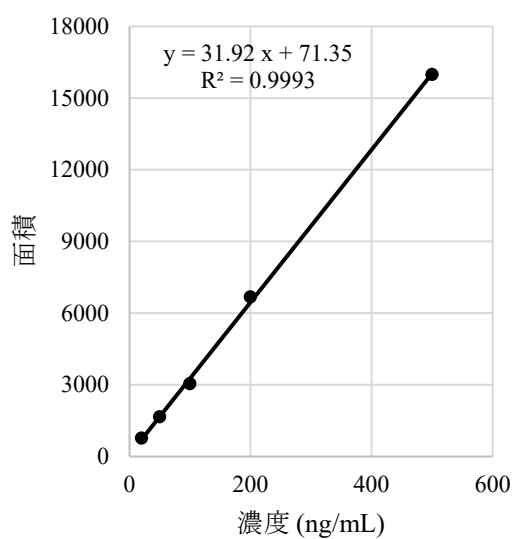


図 4-7-1 NPE9 の低濃度検量線
(20~500 ng/mL)

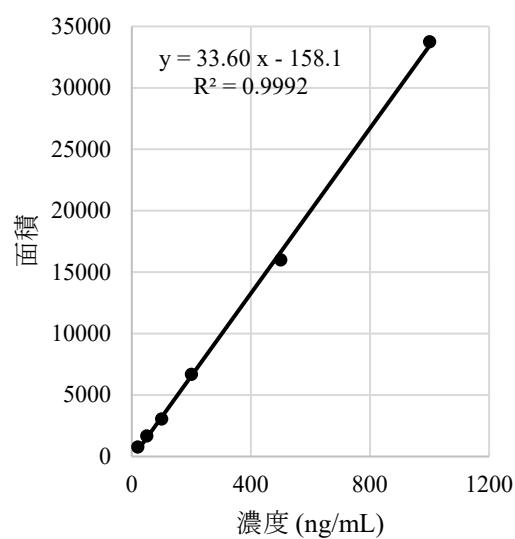


図 4-7-2 NPE9 の高濃度検量線
(20~1000 ng/mL)

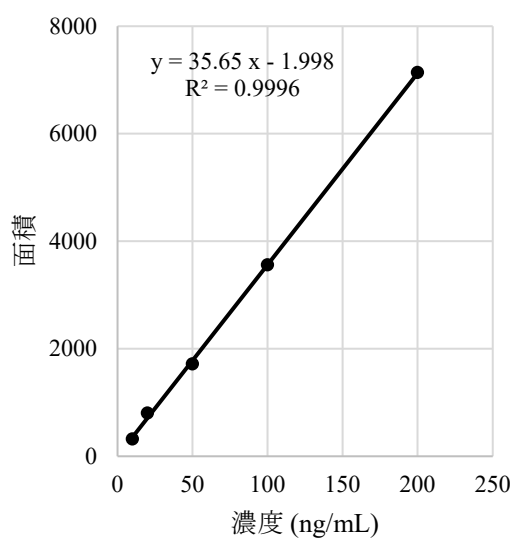


図 4-8-1 NPE10 の低濃度検量線
(10~200 ng/mL)

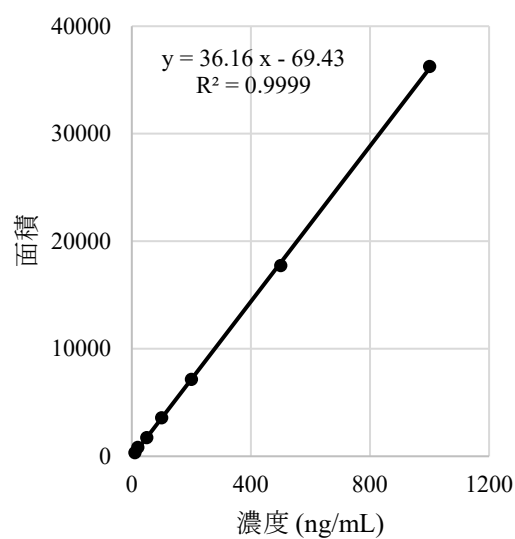


図 4-8-2 NPE10 の高濃度検量線
(10~1000 ng/mL)

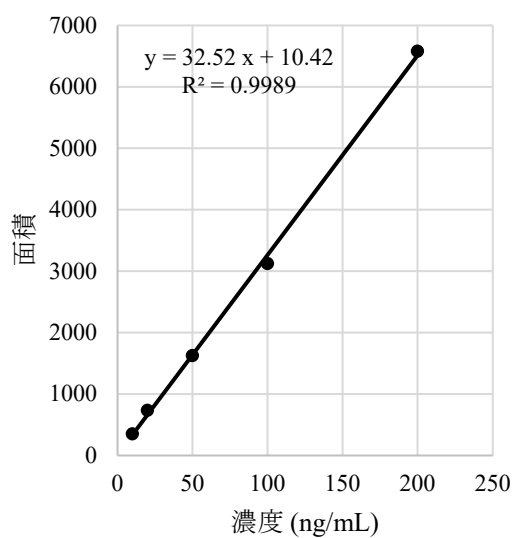


図 4-9-1 NPE11 の低濃度検量線
(10~200 ng/mL)

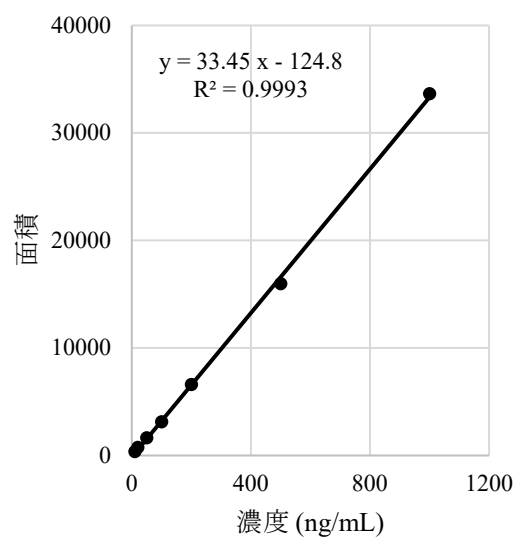


図 4-9-2 NPE11 の高濃度検量線
(10~1000 ng/mL)

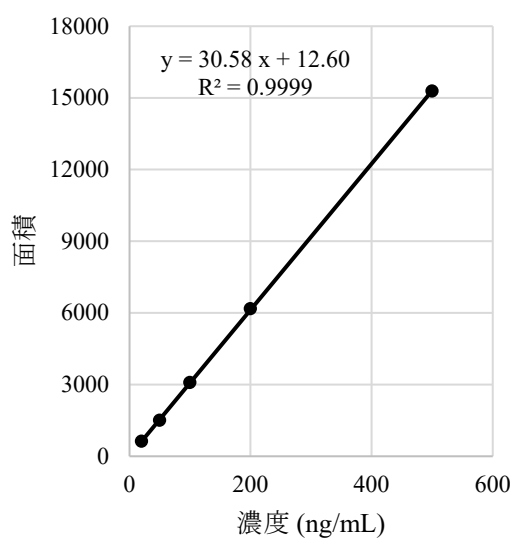


図 4-10-1 NPE12 の低濃度検量線
(20～500 ng/mL)

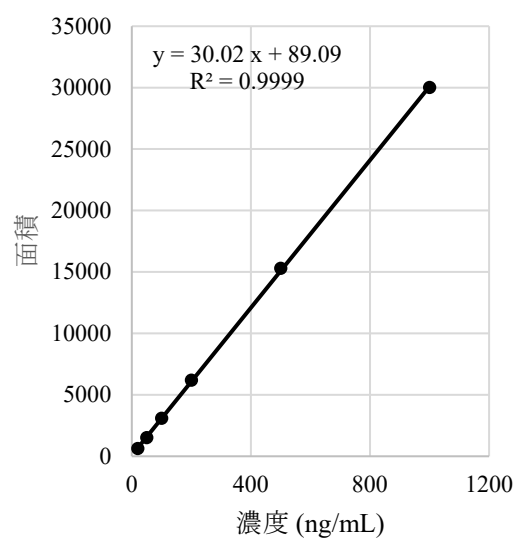


図 4-10-2 NPE12 の高濃度検量線
(50～1000 ng/mL)

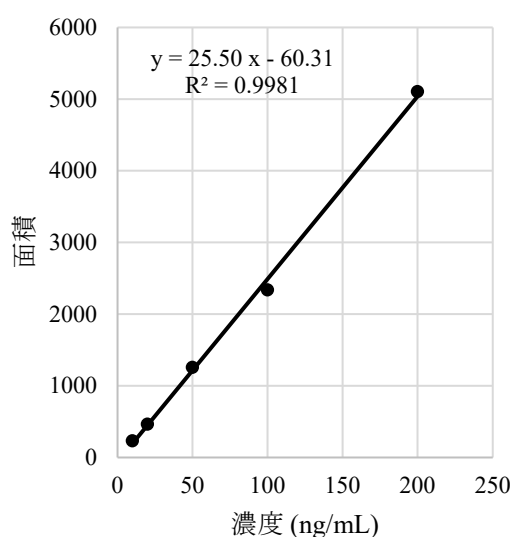


図 4-11-1 NPE13 の低濃度検量線
(10～200 ng/mL)

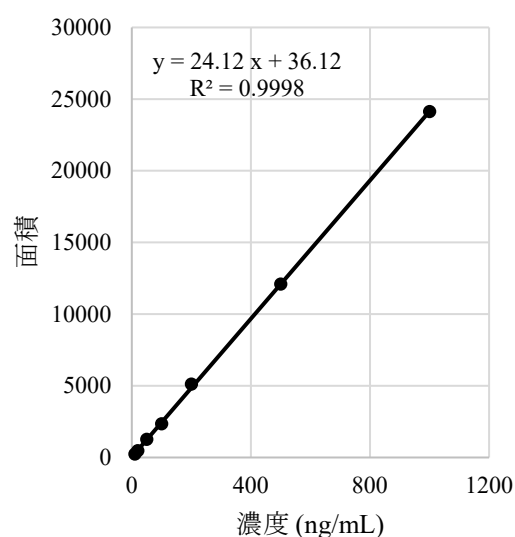


図 4-11-2 NPE13 の高濃度検量線
(10～1000 ng/mL)

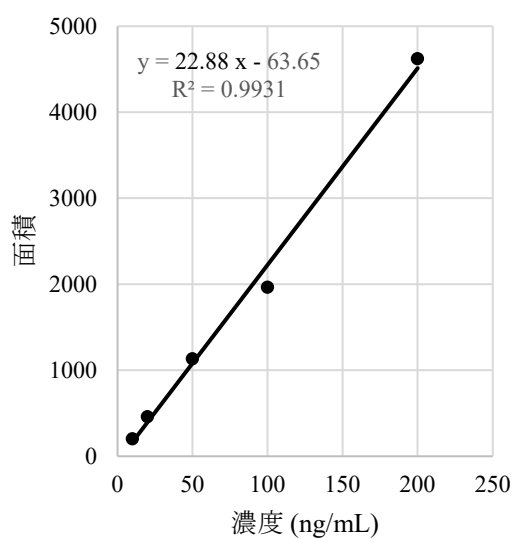


図 4-12-1 NPE14 の低濃度検量線
(10~200 ng/mL)

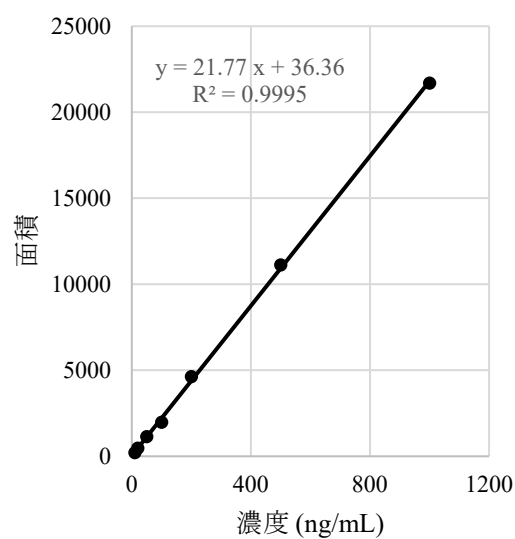


図 4-12-2 NPE14 の高濃度検量線
(10~1000 ng/mL)

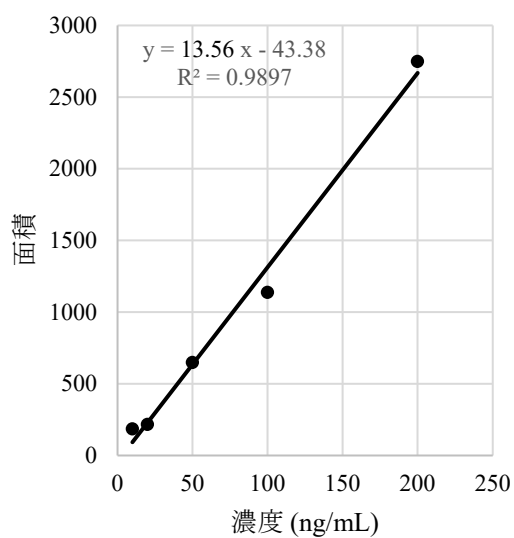


図 4-13-1 NPE15 の低濃度検量線
(10~200 ng/mL)

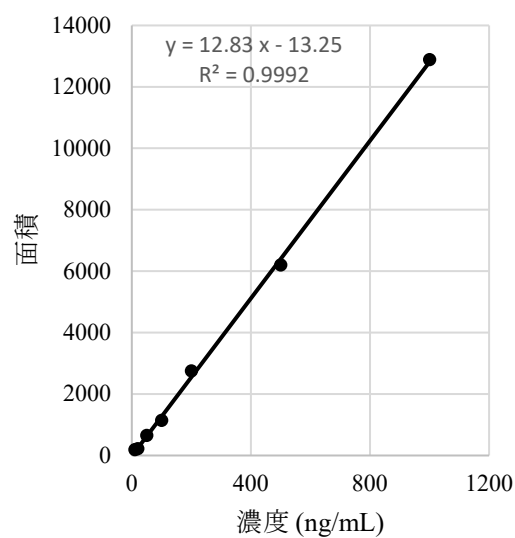


図 4-13-2 NPE15 の高濃度検量線
(10~1000 ng/mL)

表 5-1 NPE3 ~ NPE5 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(As3)	対象物質(As4)	対象物質(As5)
	【NPE3】	【NPE4】	【NPE5】
	(m/z 370.3 > 227.1)	(m/z 414.3 > 397.3)	(m/z 458.3 > 315.2)
2.0	444	-	-
5.0	1421	-	468
10	2560	1810	799
20	5613	2935	1739
50	13041	6623	4542
100	26649	12690	8811
200	54715	26194	18176
500	129917	65002	43975
1000	278210	134658	90279

表 5-2 NPE6 ~ NPE8 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(As6)	対象物質(As7)	対象物質(As8)
	【NPE6】	【NPE7】	【NPE8】
	(m/z 502.3 > 359.2)	(m/z 546.6 > 529.3)	(m/z 590.4 > 573.4)
10	830	628	569
20	1983	1297	1340
50	4747	3143	3036
100	8843	6301	5985
200	19020	13503	12596
500	46260	33433	31767
1000	97317	67160	65721

表 5-3 NPE9～NPE11 の検量線作成用データ

標準液 濃度 (ng/mL) (Cs)	応答値		
	対象物質(As9)	対象物質(As10)	対象物質(As11)
	【NPE9】	【NPE10】	【NPE11】
	(m/z 634.4 > 133.0)	(m/z 678.5 > 133.0)	(m/z 722.5 > 133.1)
10	-	321	351
20	764	802	732
50	1658	1716	1625
100	3044	3559	3123
200	6677	7138	6580
500	15988	17726	15959
1000	33744	36238	33646

表 5-4 NPE12～NPE14 の検量線作成用データ

標準液 濃度 (ng/mL) (Cs)	応答値		
	対象物質(As12)	対象物質(As13)	対象物質(As14)
	【NPE12】	【NPE13】	【NPE14】
	(m/z 766.5 > 133.1)	(m/z 810.5 > 133.0)	(m/z 854.6 > 133.0)
10	-	230	201
20	622	463	458
50	1501	1256	1132
100	3085	2337	1964
200	6173	5103	4622
500	15285	12084	11118
1000	30008	24126	21687

表 5-5 NPE15 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(As15)
	【NPE15】 (m/z 898.6 > 133.0)
10	185
20	216
50	648
100	1137
200	2749
500	6199
1000	12885

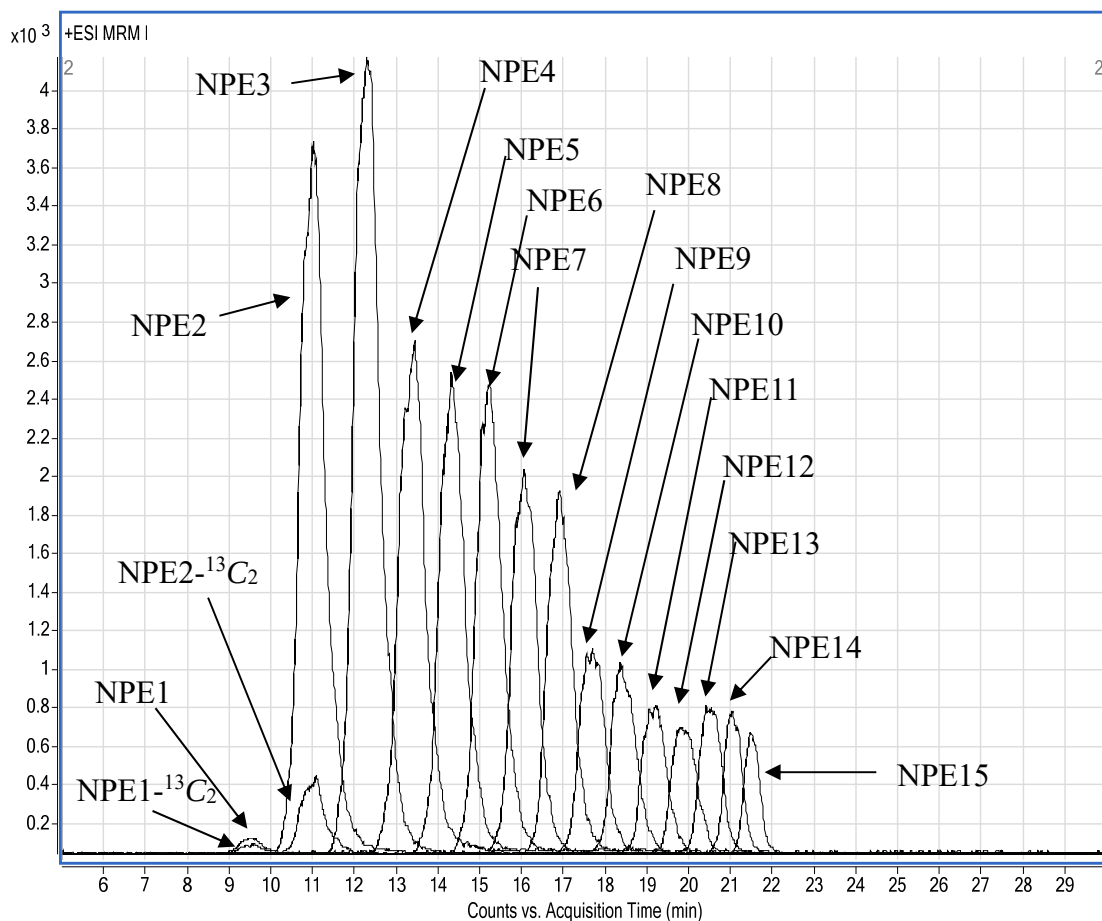


図 5 NPE1～NPE15 標準液中の対象物質の定量イオンのマスクロマトグラム
(1000 ng/mL、ただし NPE2-¹³C₂ は 50 ng/mL)
測定条件は【測定】に記載。

〔マススペクトル〕

各対象物質のリテンションタイムの時間帯のマススペクトルを図 6-1-1 から図 6-13-2 に示す。また、測定時のフラグメンター電圧及び CE を各図に示す。

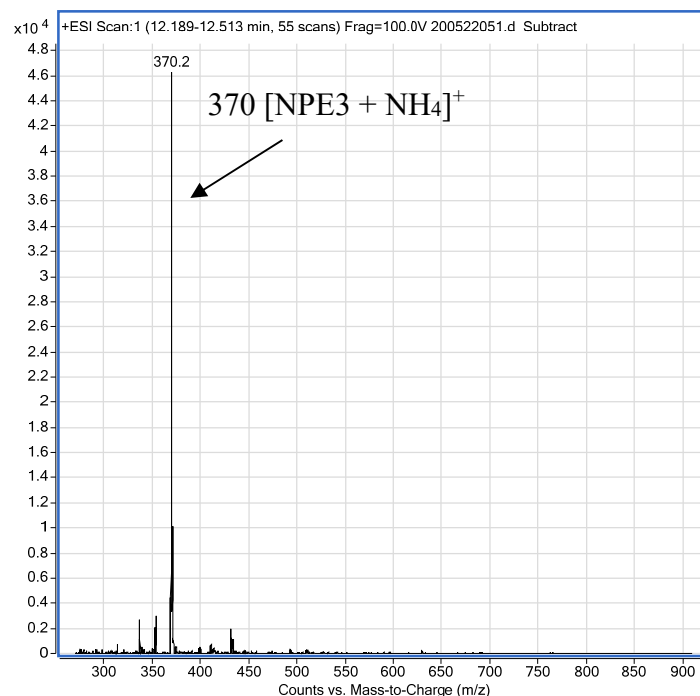


図 6-1-1 NPE3 のマススペクトル (フラグメンター電圧は 100 V)

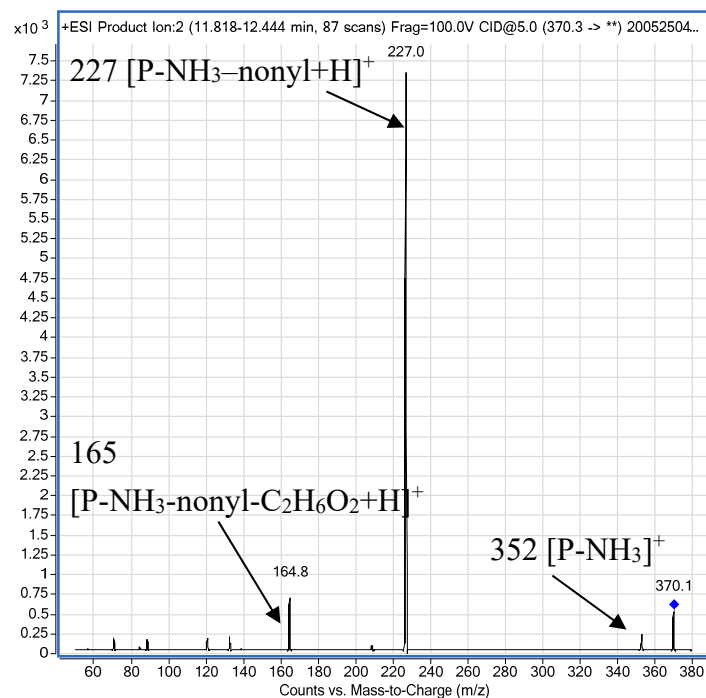


図 6-1-2 NPE3 の m/z 370.3 をプレカーサーイオンとしたプロダクトイオン (フラグメンター電圧は 100 V、CE は 5)

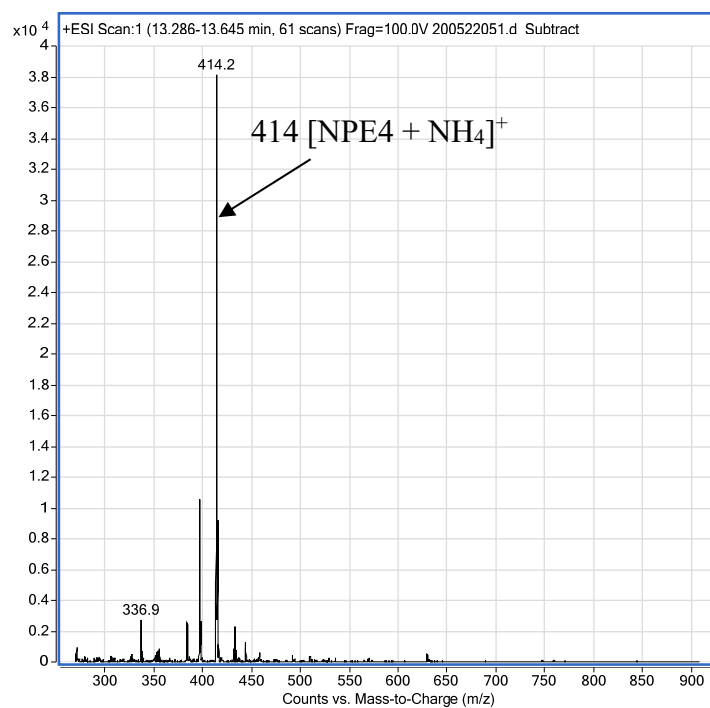


図 6-2-1 NPE4 のマスペクトル
(フラグメンター電圧は 100 V)

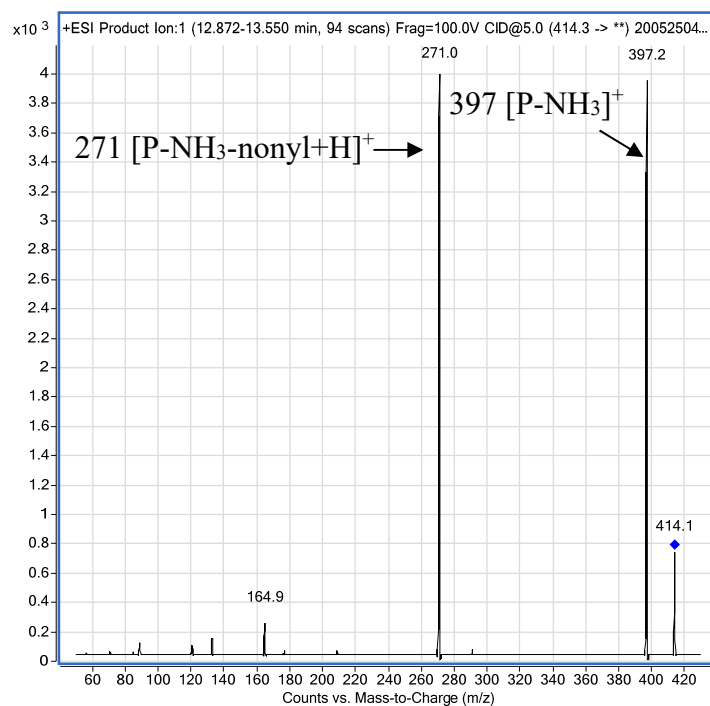


図 6-2-2 NPE4 の m/z 414.3 をプレカーサーイオンとしたプロダクトイオン
(フラグメンター電圧は 100 V、CE は 5)

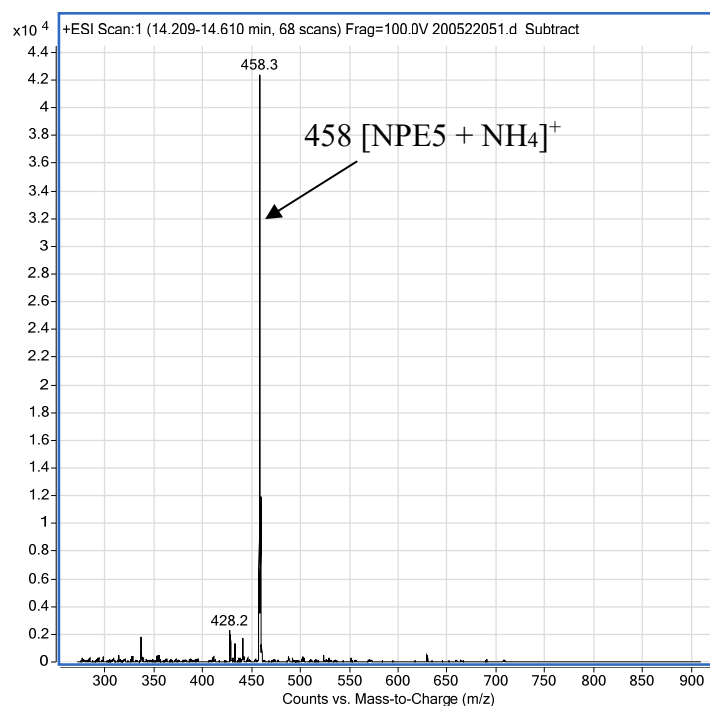


図 6-3-1 NPE5 のマススペクトル
(フラグメンター電圧は 100 V)

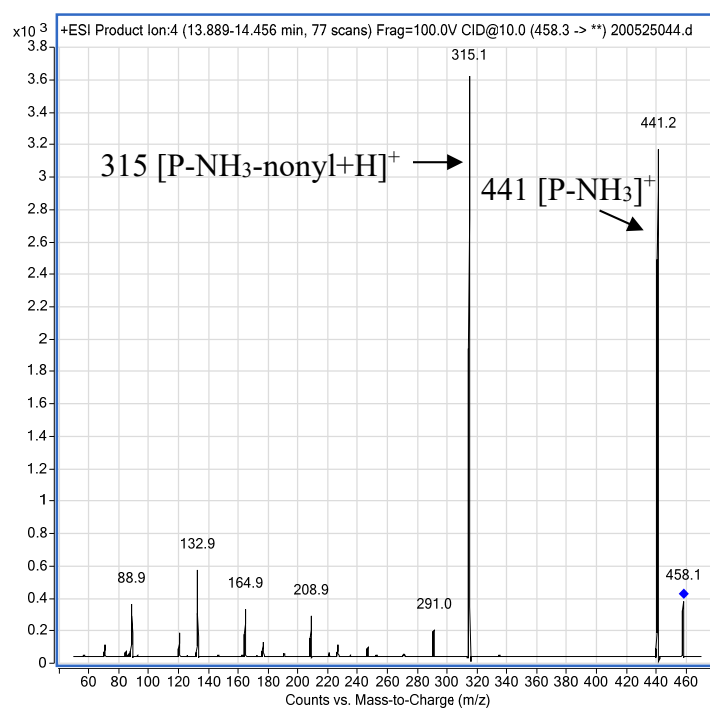


図 6-3-2 NPE5 の m/z 458.3 をプレカーサーイオンとしたプロダクトイオン
(フラグメンター電圧は 100 V、CE は 10)

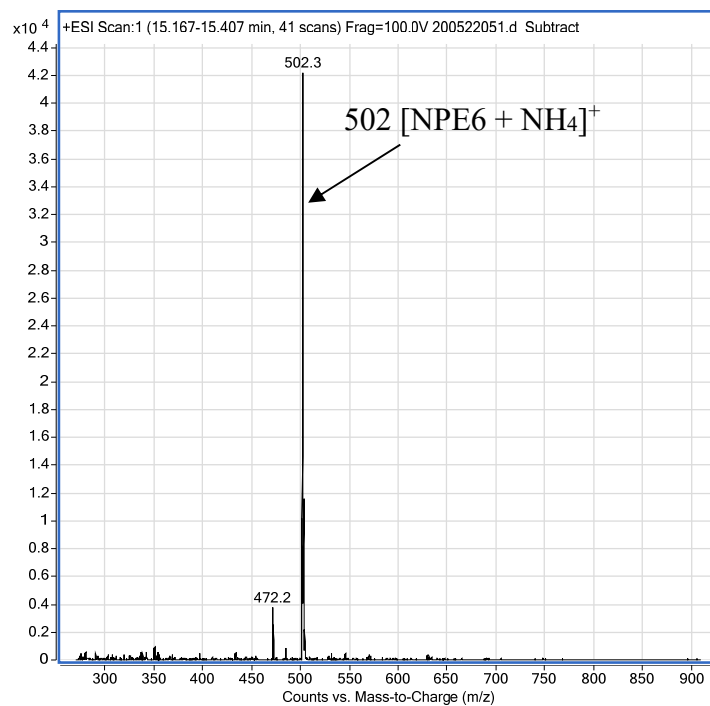


図 6-4-1 NPE6 のマススペクトル
(フラグメンター電圧は 100 V)

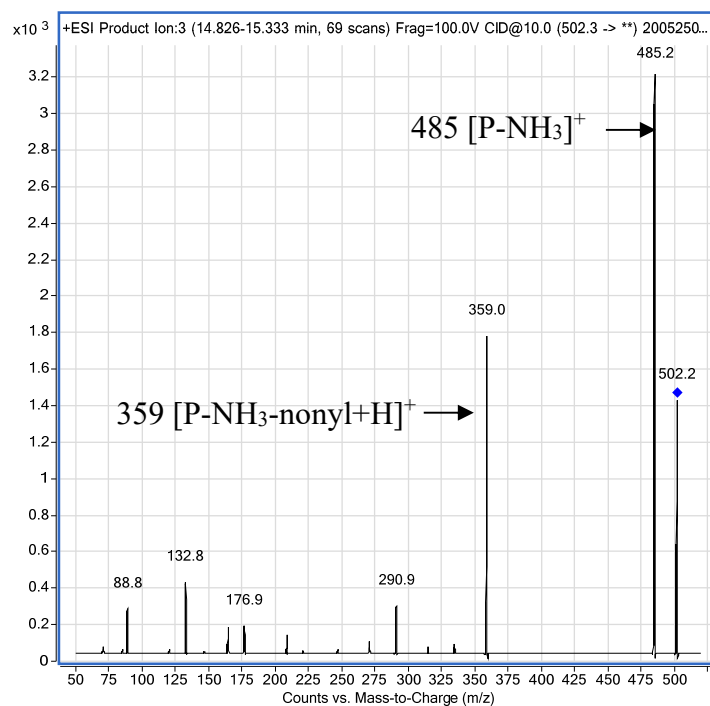


図 6-4-2 NPE6 の m/z 502.3 をプレカーサーイオンとしたプロダクトイオン
(フラグメンター電圧は 100 V、CE は 10)

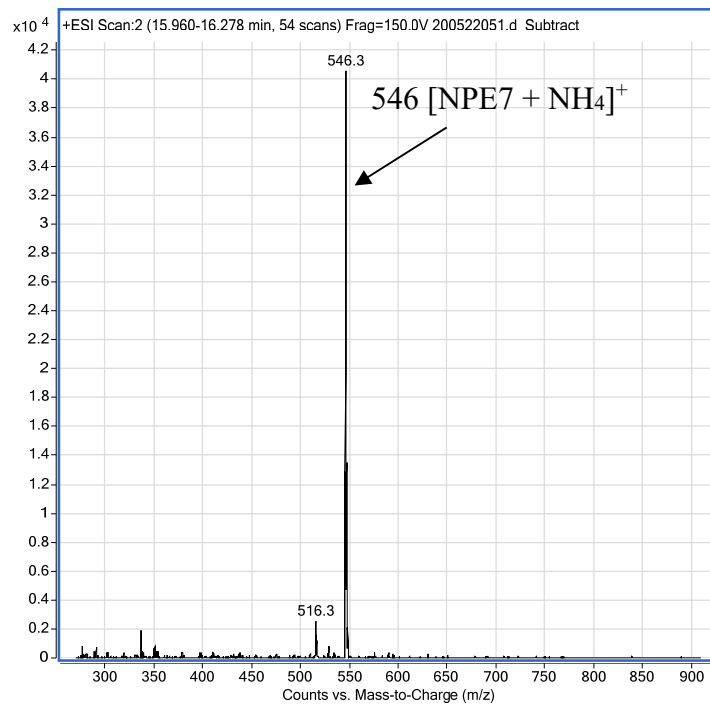


図 6-5-1 NPE7 のマススペクトル
(フラグメンター電圧は 150 V)

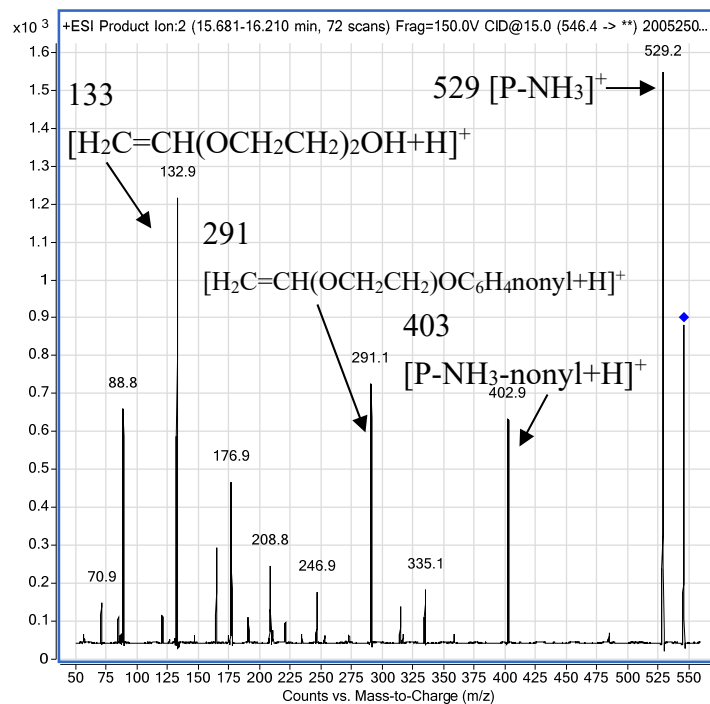


図 6-5-2 NPE7 の m/z 546.4 をプレカーサーイオンとしたプロダクトイオン
(フラグメンター電圧は 150 V、CE は 15)

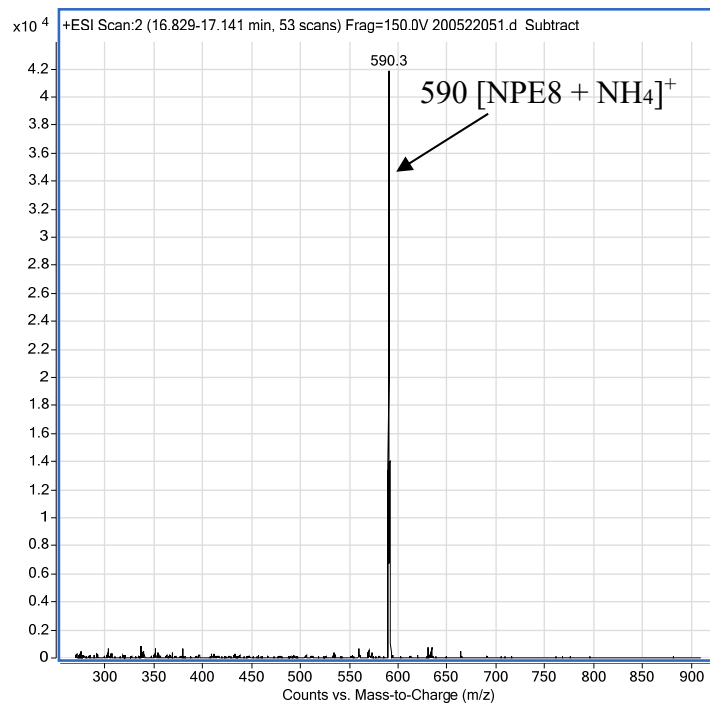


図 6-6-1 NPE8 のマススペクトル
(フラグメンター電圧は 150 V)

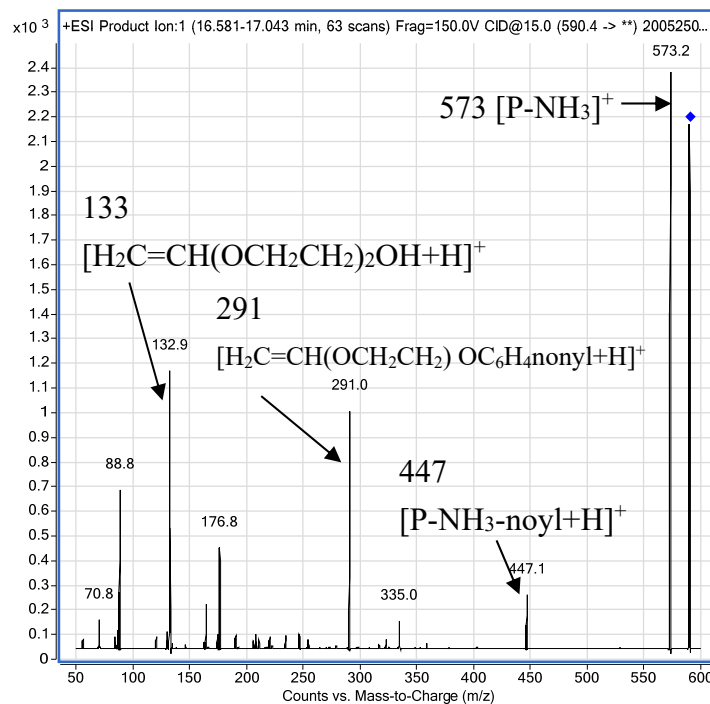


図 6-6-2 NPE8 の m/z 590.4 をプレカーサーイオンとしたプロダクトイオン
(フラグメンター電圧は 150 V、CE は 15)

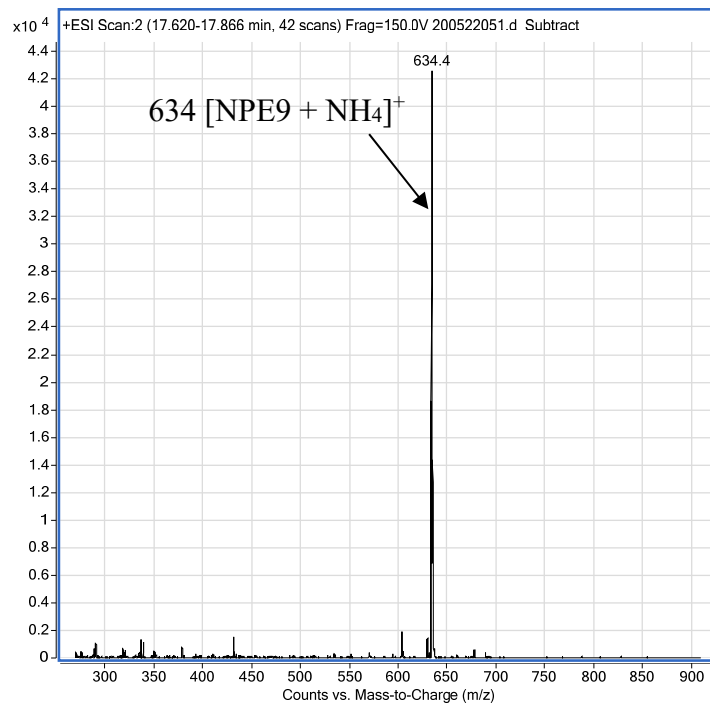


図 6-7-1 NPE9 のマススペクトル
(フラグメンター電圧は 150 V)

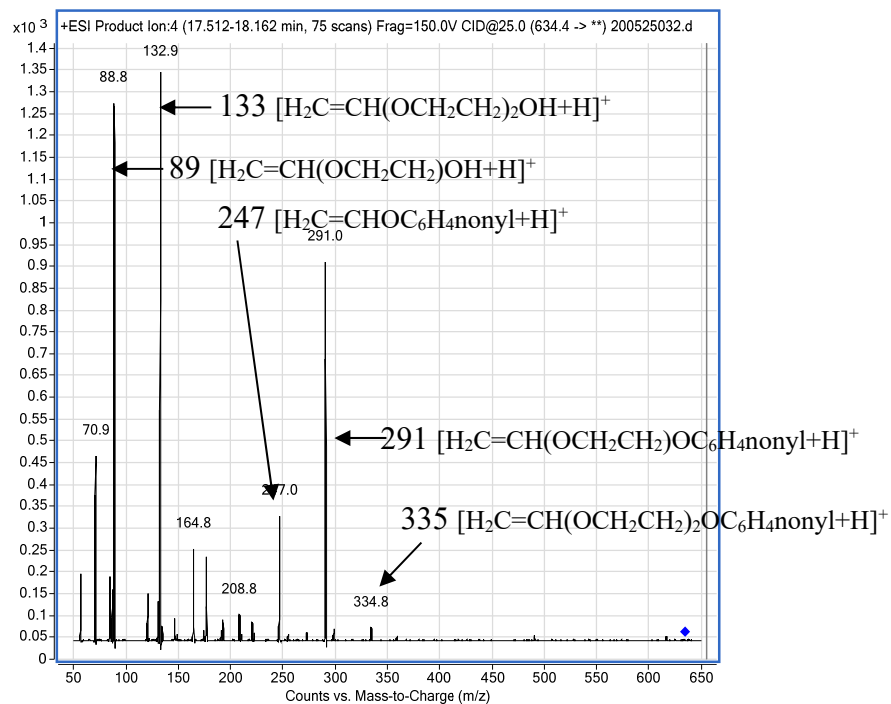


図 6-7-2 NPE9 の m/z 634.4 をプレカーサーイオンとしたプロダクトイオン
(フラグメンター電圧は 150 V、CE は 25)

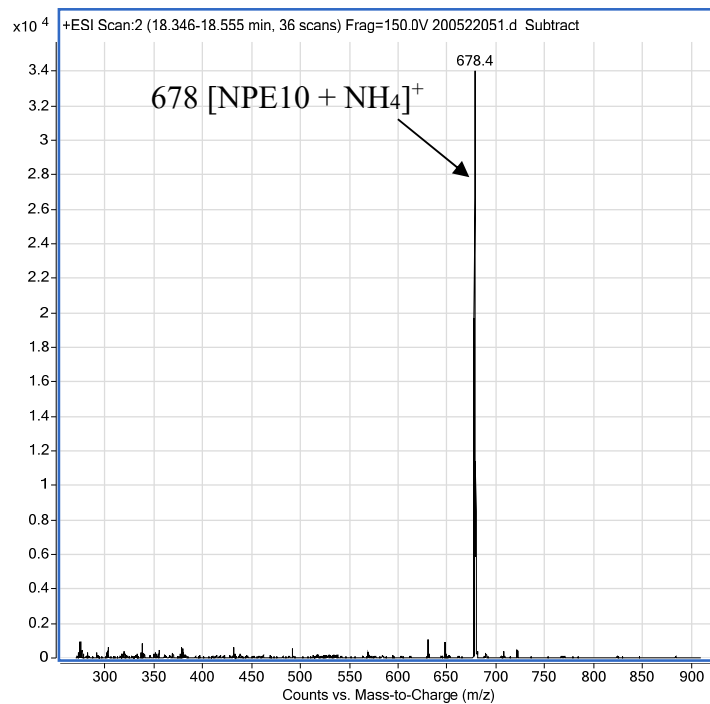


図 6-8-1 NPE10 のマススペクトル
(フラグメンター電圧は 150 V)

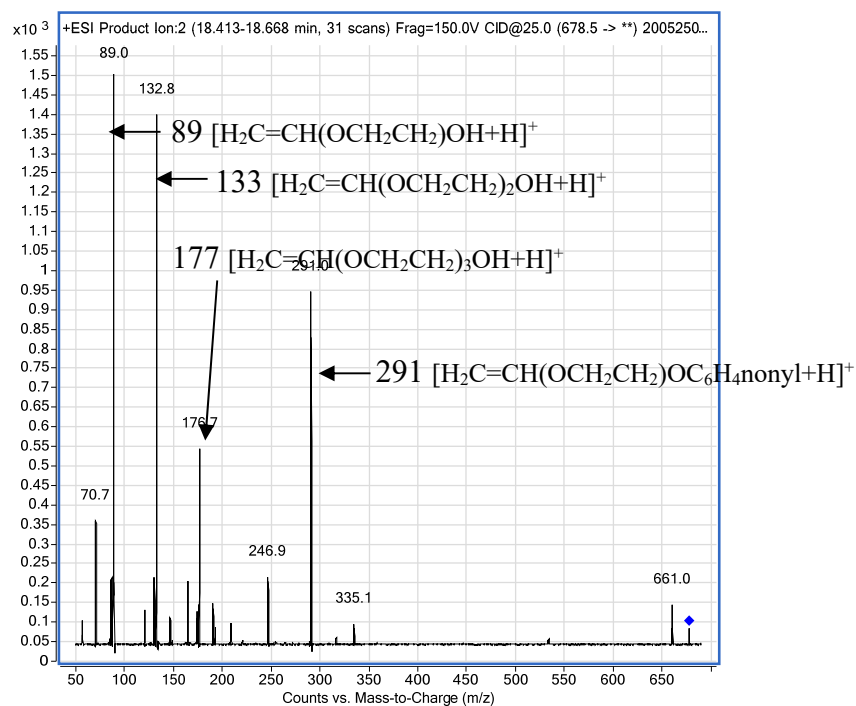


図 6-8-2 NPE10 の m/z 678.5 をプレカーサーイオンとしたプロダクトイオン
(フラグメンター電圧は 150 V、CE は 25)

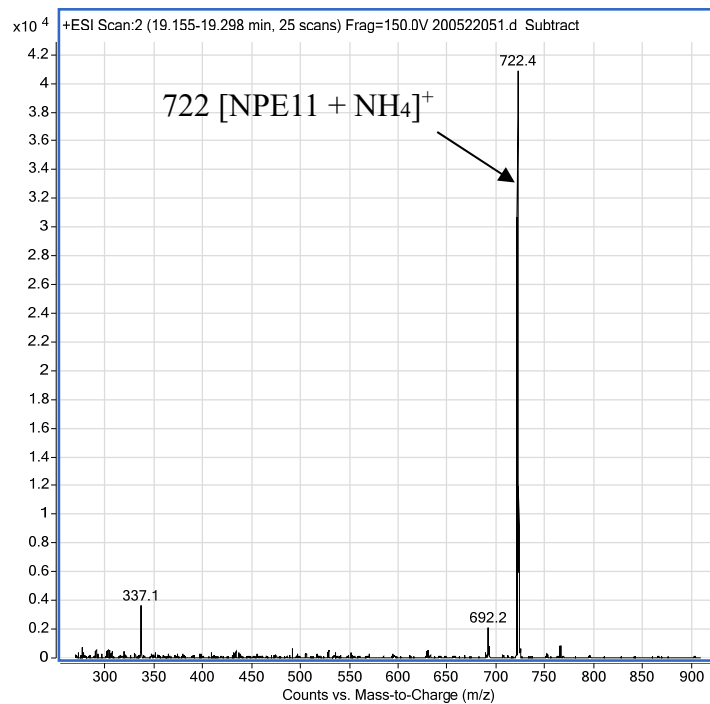


図 6-9-1 NPE11 のマススペクトル
(フラグメンター電圧は 150 V)

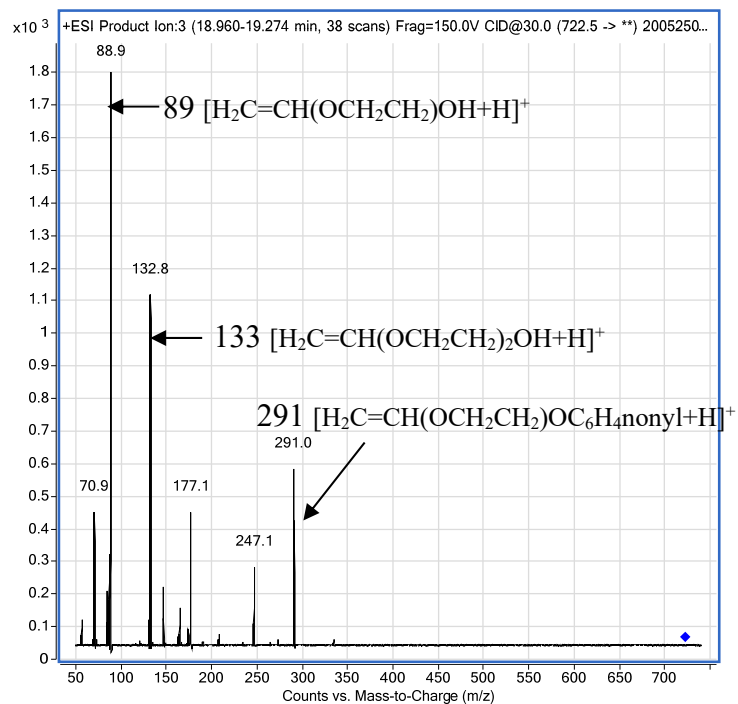


図 6-9-2 NPE11 の m/z 722.5 をプレカーサーイオンとしたプロダクトイオン
(フラグメンター電圧は 150 V、CE は 30)

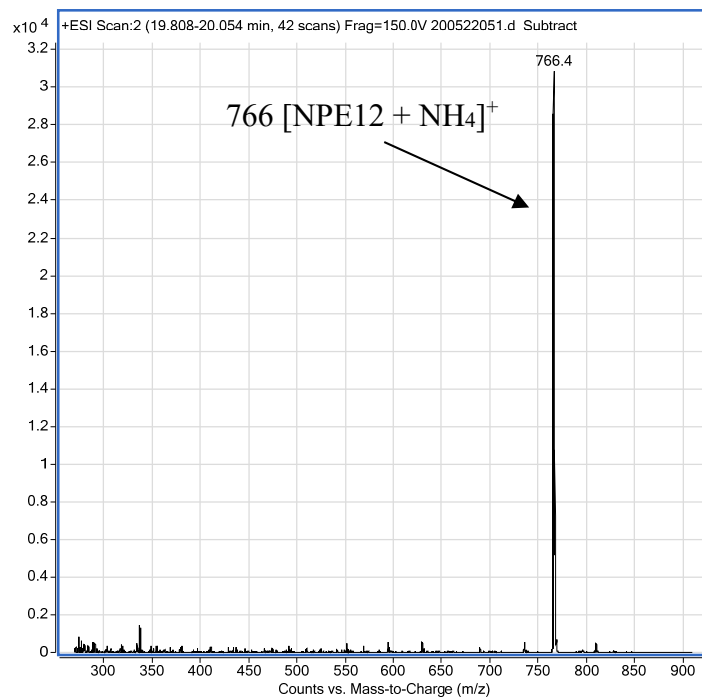


図 6-10-1 NPE12 のマススペクトル
(フラグメンター電圧は 150 V)

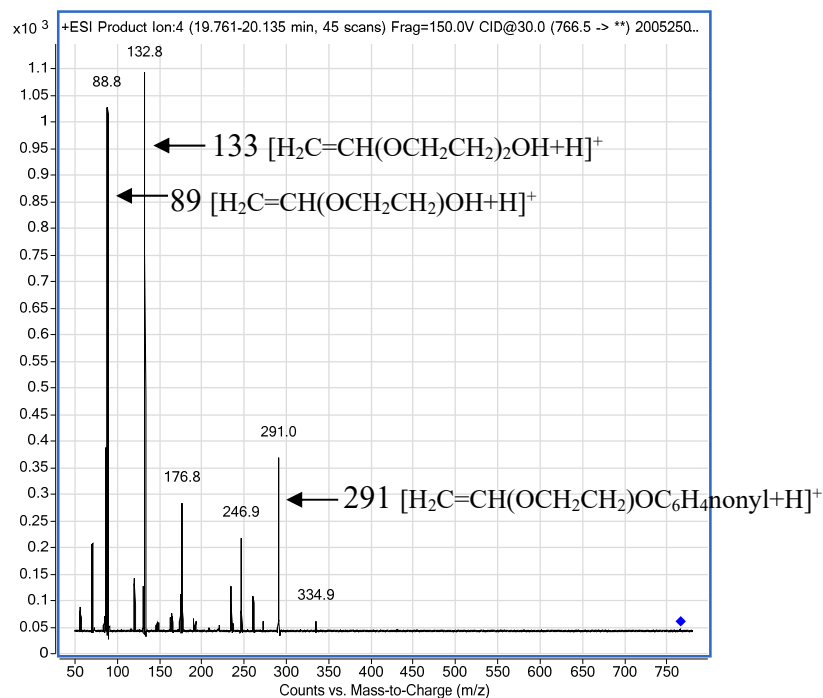


図 6-10-2 NPE12 の m/z 766.5 をプレカーサーイオンとしたプロダクトイオン
(フラグメンター電圧は 150 V、CE は 30)

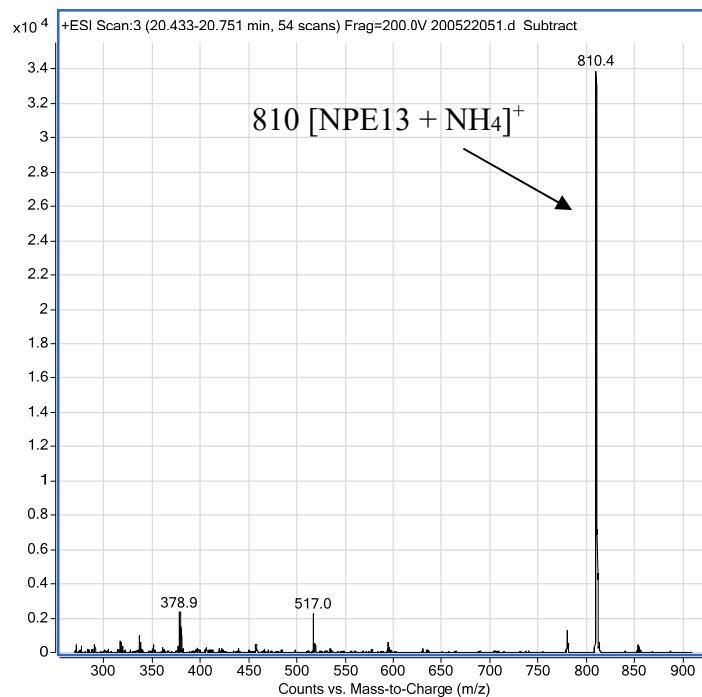


図 6-11-1 NPE13 のマススペクトル
(フラグメンター電圧は 200 V)

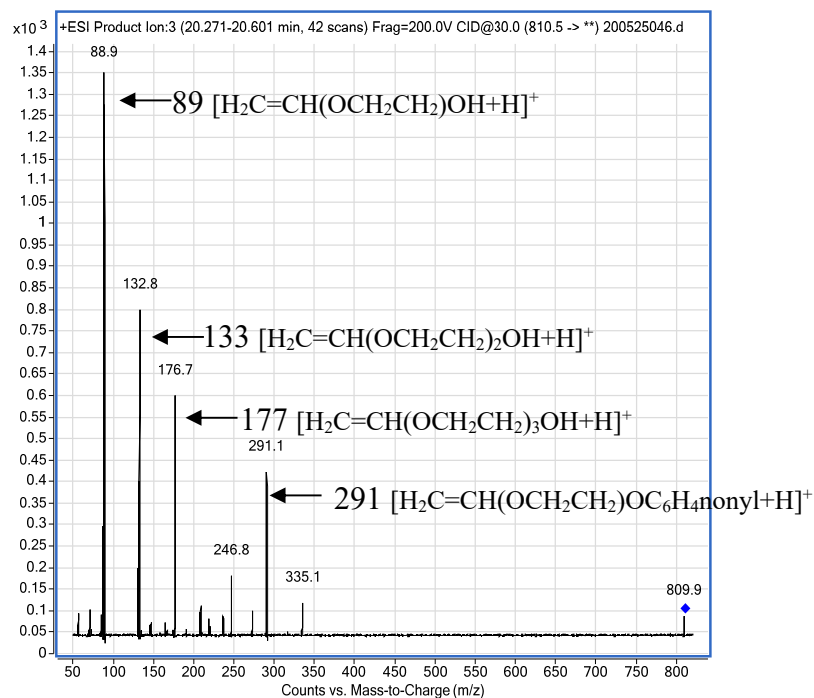


図 6-11-2 NPE13 の m/z 810.5 をプレカーサーイオンとしたプロダクトイオン
(フラグメンター電圧は 200 V、CE は 30)

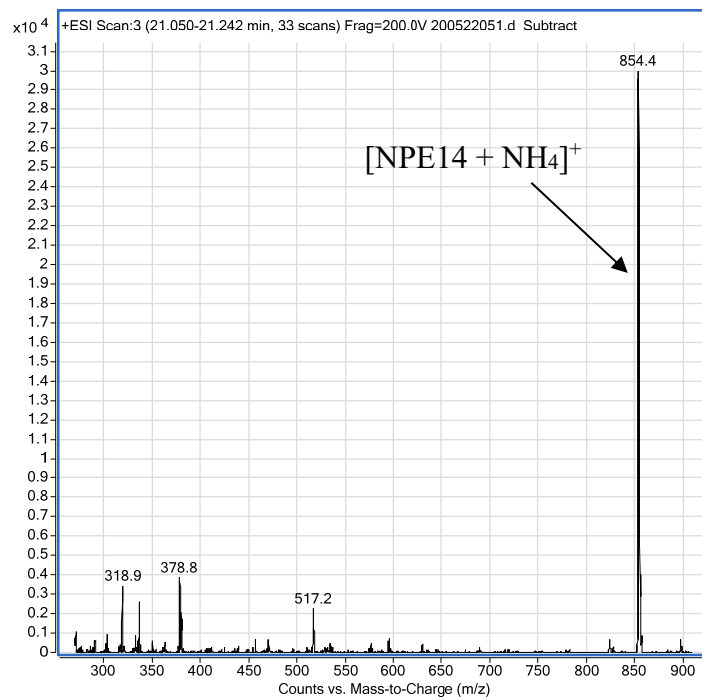


図 6-12-1 NPE14 のマススペクトル
(フラグメンター電圧は 200 V)

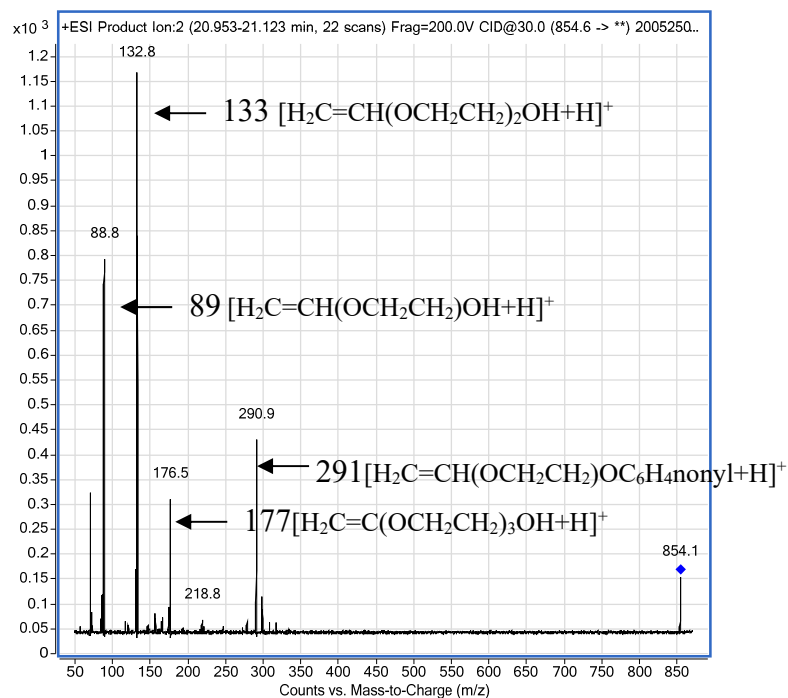


図 6-12-2 NPE14 の m/z 854.6 をプレカーサーイオンとしたプロダクトイオン
(フラグメンター電圧は 200 V、CE は 30)

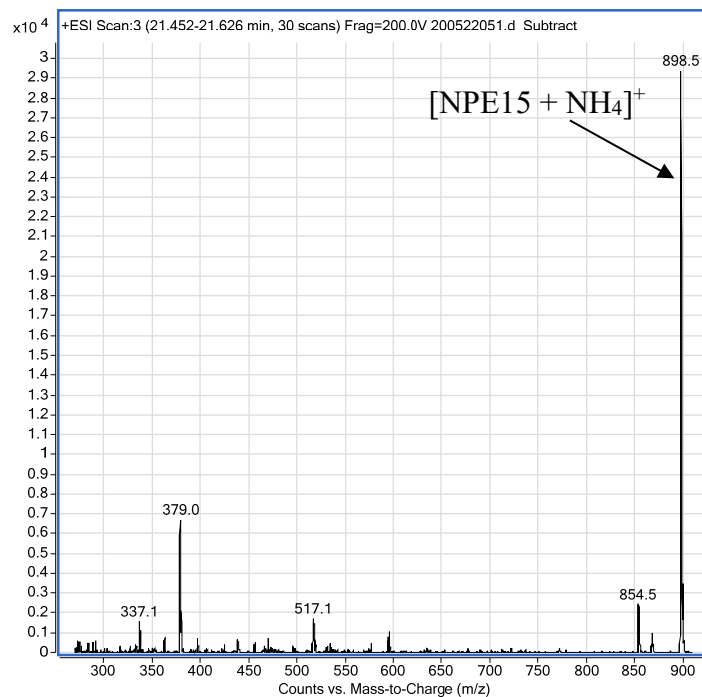


図 6-13-1 NPE15 のマススペクトル
(フラグメンター電圧は 200 V)

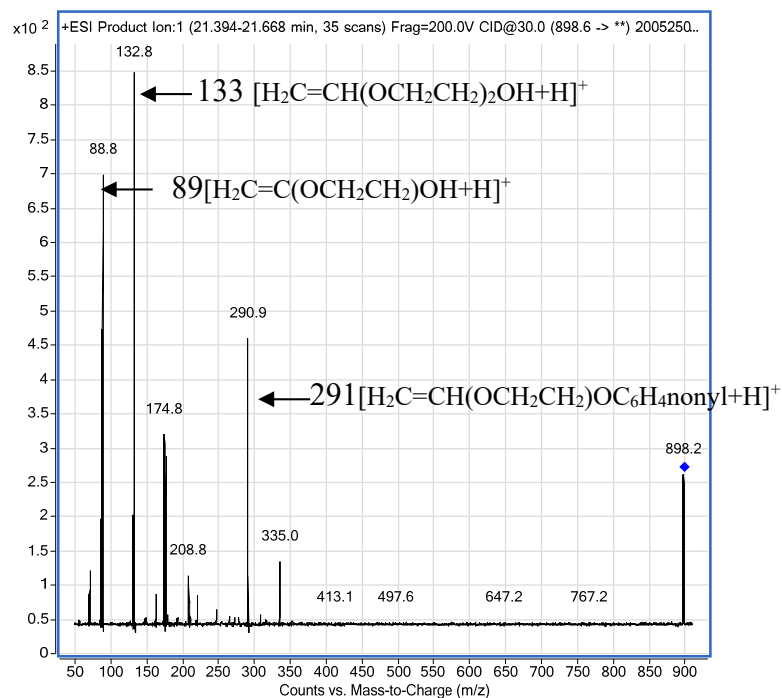


図 6-13-2 NPE15 の m/z 898.6 をプレカーサーイオンとしたプロダクトイオン
(フラグメンター電圧は 200 V、CE は 30)

〔操作ブランク〕

【空試験液の調製】で調製した空試験液(n=2)からは、対象物質は検出されなかった。この試験液のクロマトグラムを図7-1から図7-13に示す。

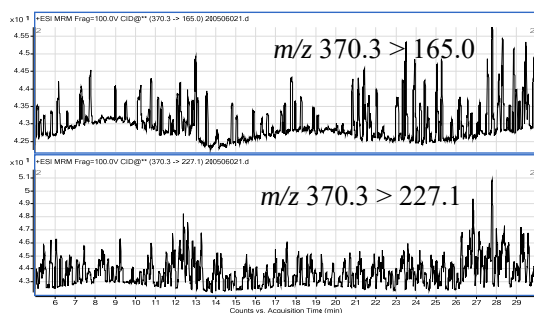


図7-1 空試験試料のクロマトグラム (NPE3)

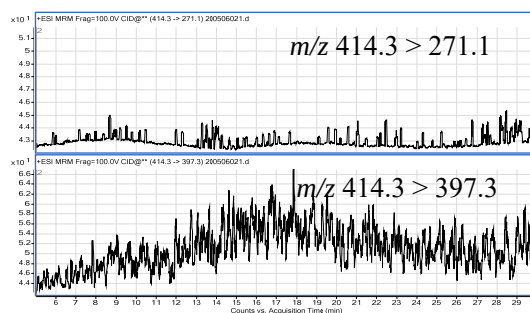


図7-2 空試験試料のクロマトグラム (NPE4)

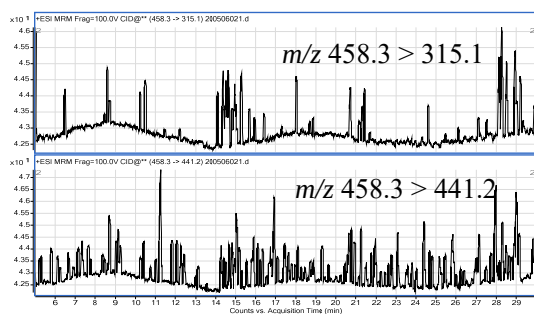


図7-3 空試験試料のクロマトグラム (NPE5)

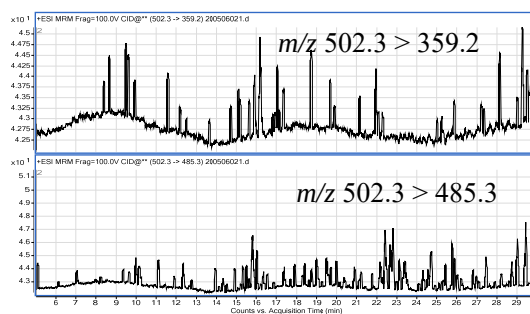


図7-4 空試験試料のクロマトグラム (NPE6)

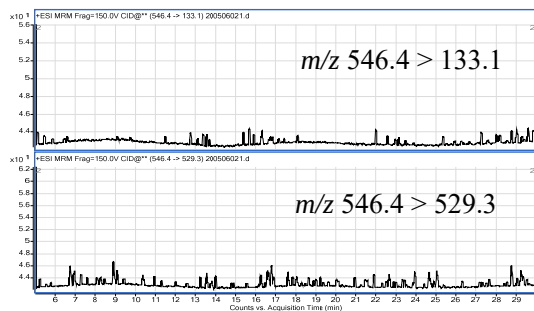


図7-5 空試験試料のクロマトグラム (NPE7)

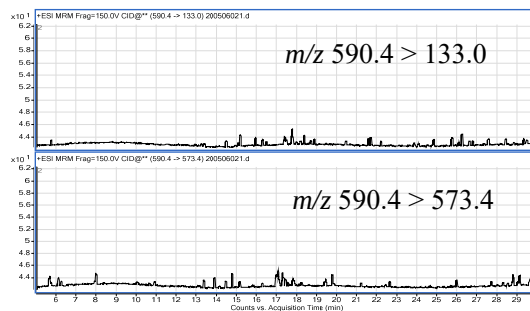


図7-6 空試験試料のクロマトグラム (NPE8)

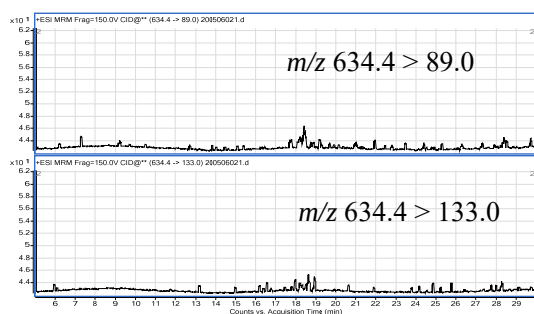


図7-7 空試験試料のクロマトグラム
(NPE9)

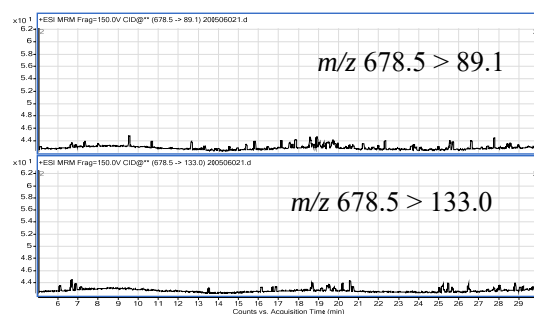


図7-8 空試験試料のクロマトグラム
(NPE10)

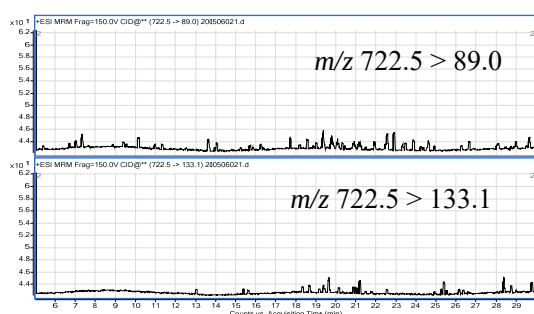


図7-9 空試験試料のクロマトグラム
(NPE11)

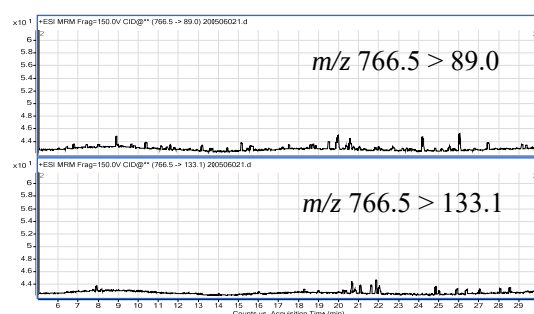


図7-10 空試験試料のクロマトグラム
(NPE12)

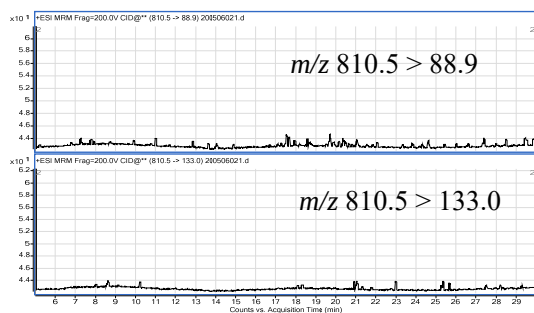


図7-11 空試験試料のクロマトグラム
(NPE13)

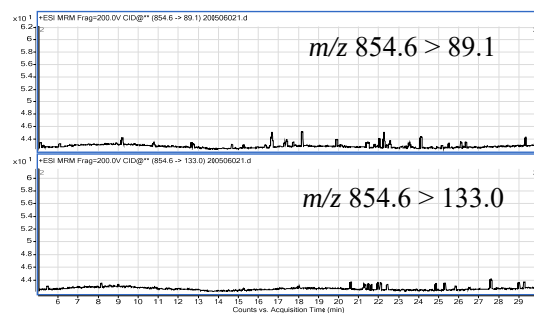


図7-12 空試験試料のクロマトグラム
(NPE14)

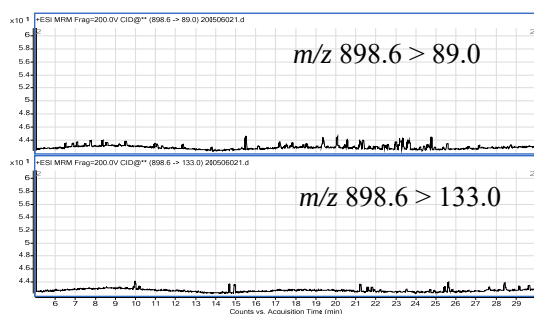


図7-13 空試験試料のクロマトグラム
(NPE15)

〔添加回収試験〕

苫小牧港で採取した底質試料を用いた添加回収試験結果を表6-1、表6-2に、クロマトグラムを図8-1-1から図8-2-13に示す。EOの付加モル数が多い物質では十分な回収率は得られなかった。後述の〔その他の検討事項〕の〔回収率の確認〕において考察しているとおり、底質試料への強い吸着によるものによると考えられる。

表 6-1 添加回收試験結果(NPE3～NPE12)

物質名	試料	試料量 (g)	添加量 (ng)	試験数	検出濃度 (ng/g-dry)	回収率 (%)	変動係数 (%)
NPE3	底質	10.0	0	3	< 8.2	-	-
		10.0	600	7	61.7	102	3.4
		10.0	4000	7	366	91	8.5
NPE4	底質	10.0	0	3	< 16	-	-
		10.0	600	7	56.9	94	7.3
		10.0	4000	7	363	91	7.2
NPE5	底質	10.0	0	3	< 13	-	-
		10.0	600	7	58.0	96	5.6
		10.0	4000	7	363	91	6.4
NPE6	底質	10.0	0	3	< 11	-	-
		10.0	600	7	57.1	95	4.8
		10.0	4000	7	366	91	5.3
NPE7	底質	10.0	0	3	< 9.7	-	-
		10.0	600	7	56.4	91	4.5
		10.0	4000	7	350	87	4.8
NPE8	底質	10.0	0	3	< 13	-	-
		10.0	600	7	54.2	90	6.1
		10.0	4000	7	340	85	5.3
NPE9	底質	10.0	0	3	< 12	-	-
		10.0	600	7	54.3	91	5.6
		10.0	4000	7	319	80	5.0
NPE10	底質	10.0	0	3	9.8	-	-
		10.0	600	7	49.1	82	3.8
		10.0	4000	7	301	75	5.4
NPE11	底質	10.0	0	3	12	-	-
		10.0	600	7	45.4	76	5.6
		10.0	4000	7	270	68	6.4
NPE12	底質	10.0	0	3	12	-	-
		10.0	600	7	42.2	70	5.4
		10.0	4000	7	254	64	5.9

表 6-2 添加回収試験結果(NPE13～NPE15)

物質名	試料	試料量 (g)	添加量 (ng)	試験数	検出濃度 (ng/g-dry)	回収率 (%)	変動係数 (%)
NPE13	底質	10	0	3	< 11	-	-
		10	600	7	36.4	61	8.0
		10	4000	7	228	57	6.5
NPE14	底質	10	0	3	13	-	-
		10	600	7	31.9	53	6.1
		10	4000	7	203	51	6.7
NPE15	底質	10	0	3	< 12	-	-
		10	600	7	29.6	49	11
		10	4000	7	177	44	6.4

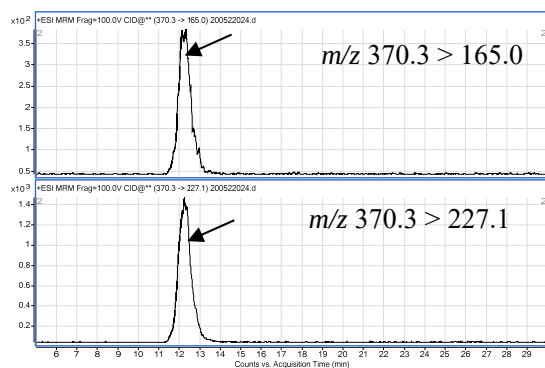


図8-1-1 添加回収試験試料のクロマトグラム(NPE3)

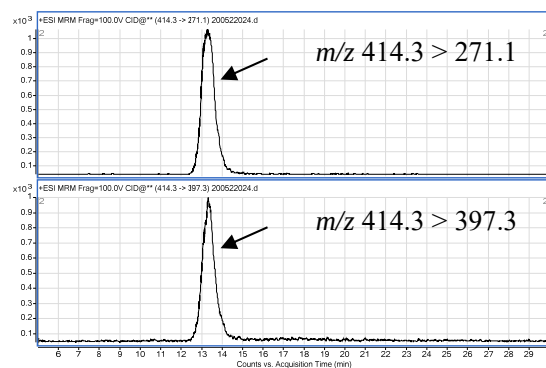


図8-1-2 添加回収試験試料のクロマトグラム(NPE4)

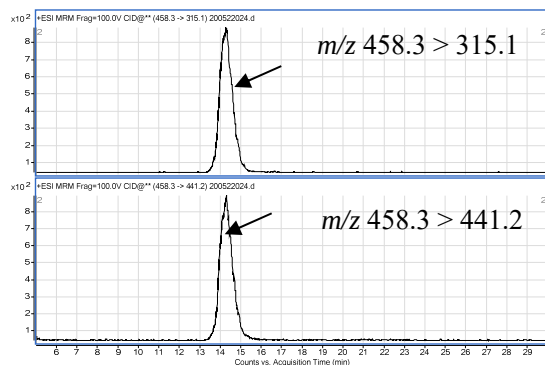


図8-1-3 添加回収試験試料のクロマトグラム(NPE5)

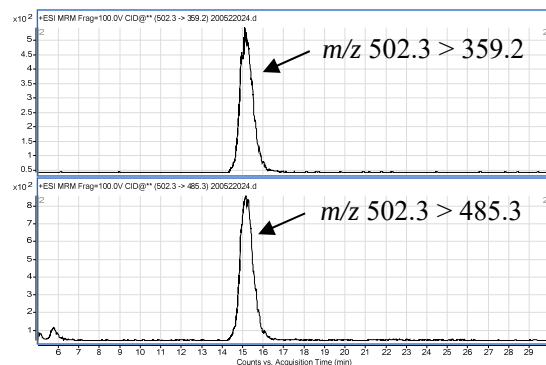


図8-1-4 添加回収試験試料のクロマトグラム(NPE6)

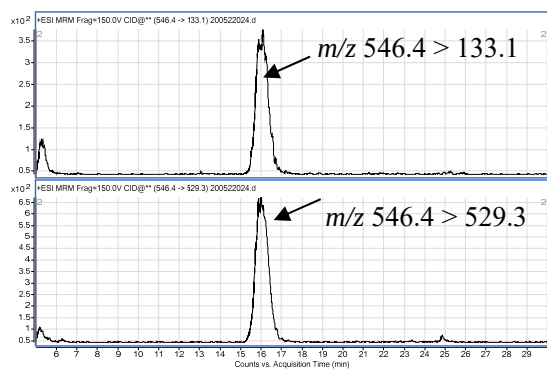


図8-1-5 添加回収試験試料のクロマトグラム(NPE7)

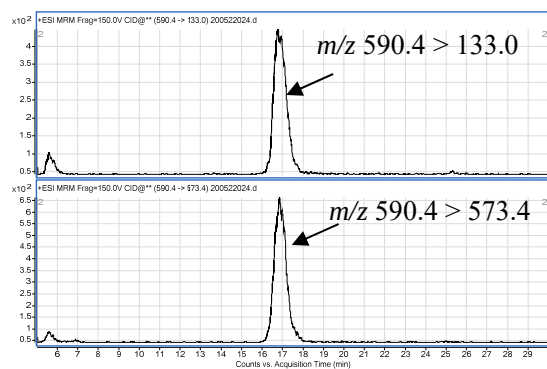


図8-1-6 添加回収試験試料のクロマトグラム(NPE8)

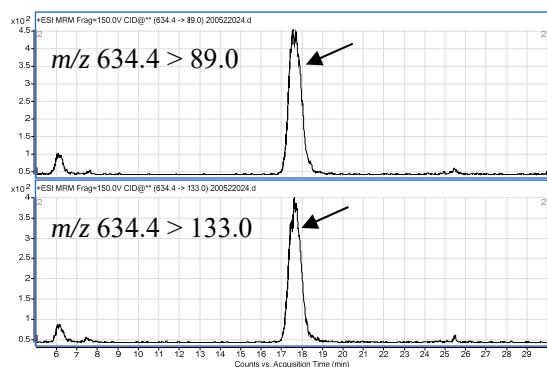


図8-1-7 添加回収試験試料のクロマトグラム(NPE9)

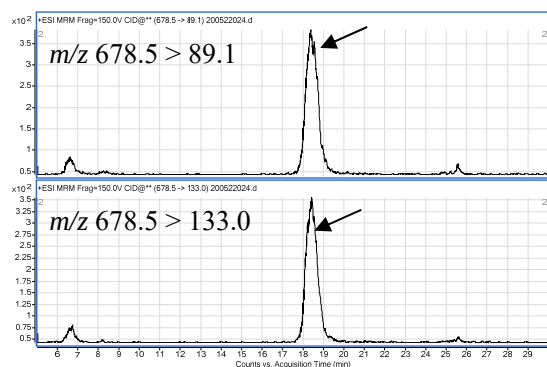


図8-1-8 添加回収試験試料のクロマトグラム(NPE10)

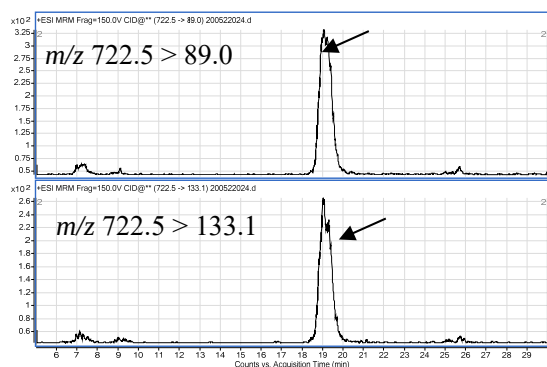


図8-1-9 添加回収試験試料のクロマトグラム(NPE11)

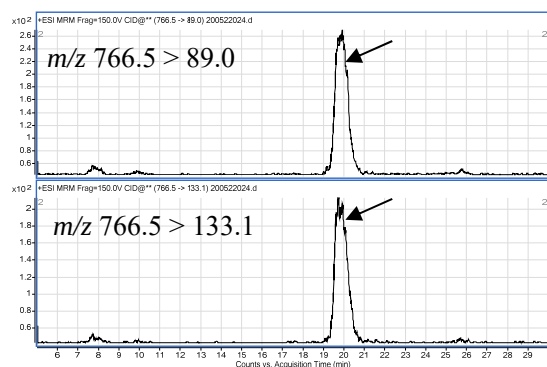


図8-1-10 添加回収試験試料のクロマトグラム(NPE12)

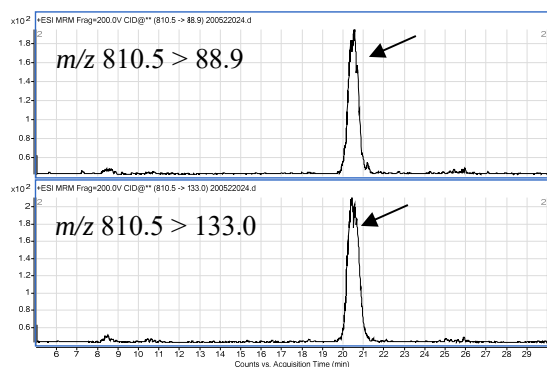


図8-1-11 添加回収試験試料のクロマトグラム(NPE13)

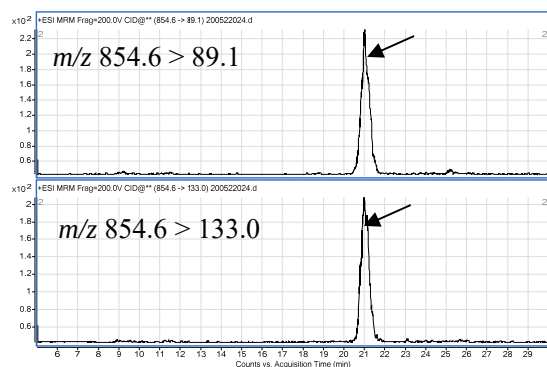


図8-1-12 添加回収試験試料のクロマトグラム(NPE14)

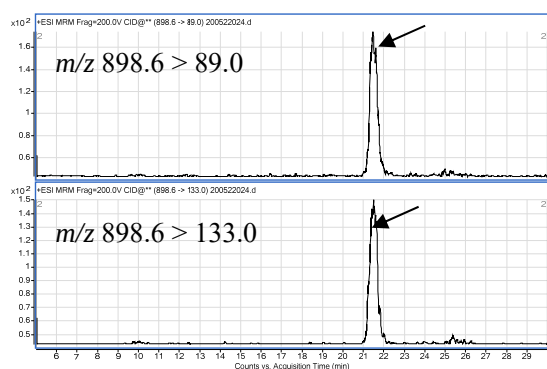


図8-1-13 添加回収試験試料のクロマトグラム(NPE15)

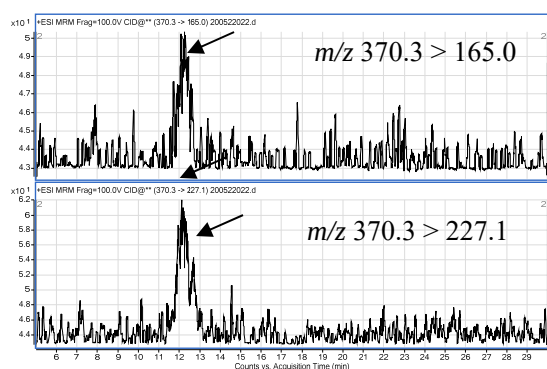


図8-2-1 無添加試料のクロマトグラム(NPE3)
NPE3は検出下限未満

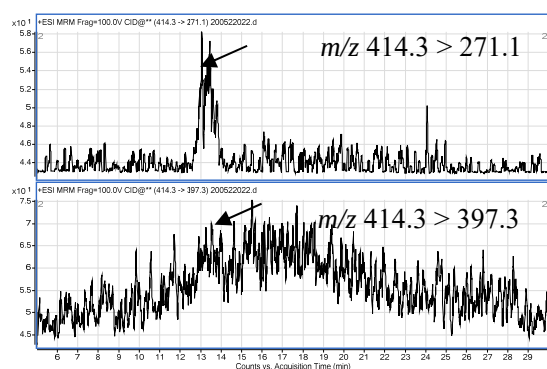


図8-2-2 無添加試料のクロマトグラム(NPE3)
NPE4は検出下限未満

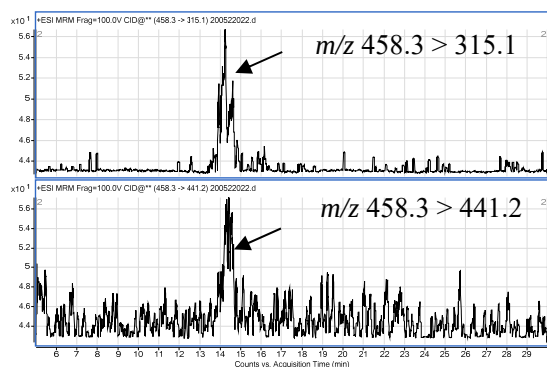


図8-2-3 無添加試料のクロマトグラム(NPE5)
NPE5は検出下限未満

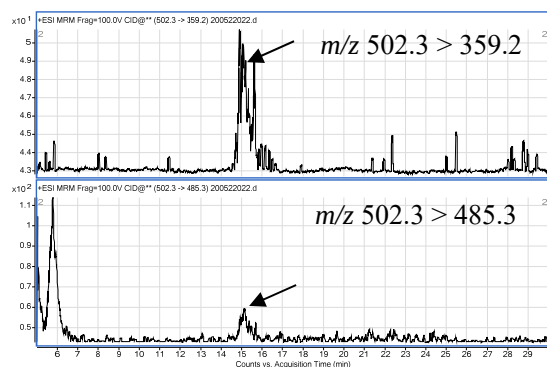


図8-2-4 無添加試料のクロマトグラム(NPE6)
NPE6は検出下限未満

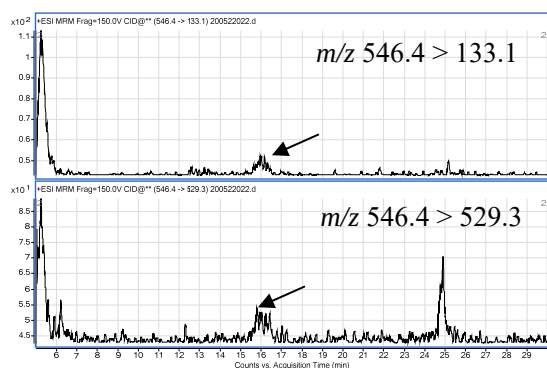


図8-2-5 無添加試料のクロマトグラム(NPE7)
NPE7は検出下限未満

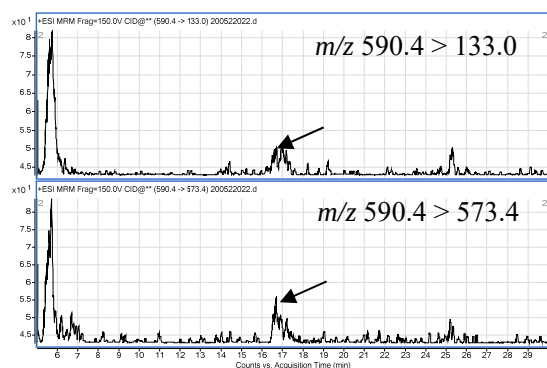


図8-2-6 無添加試料のクロマトグラム(NPE8)
NPE8は検出下限未満

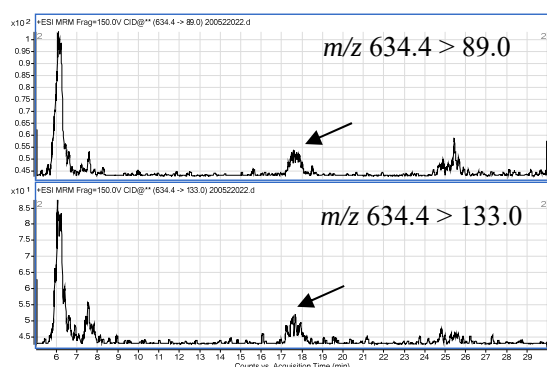


図8-2-7 無添加試料のクロマトグラム(NPE9)
NPE9は検出下限未満

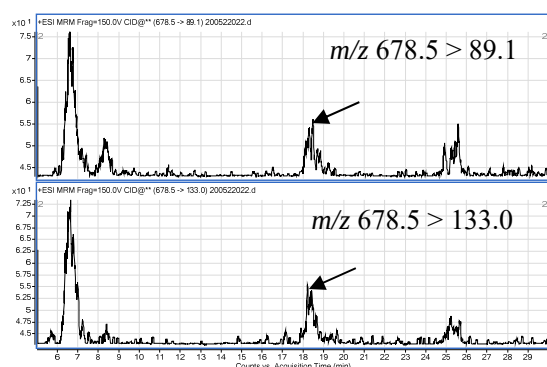


図8-2-8 無添加試料のクロマトグラム(NPE10)
NPE10は痕跡量

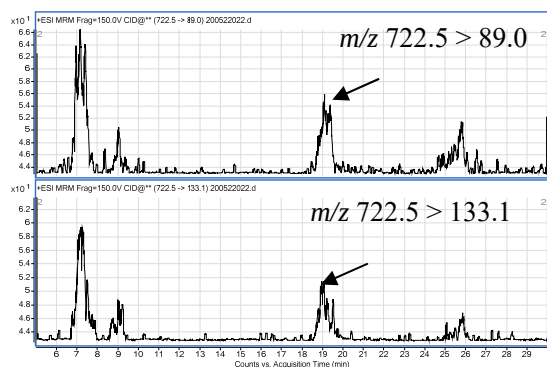


図8-2-9 無添加試料のクロマトグラム(NPE11)
NPE11は痕跡量

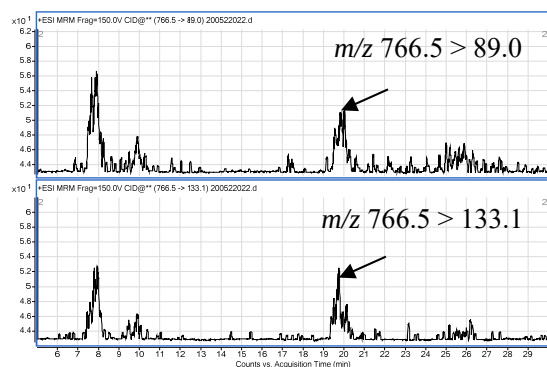


図8-2-10 無添加試料のクロマトグラム(NPE12)
NPE12は痕跡量

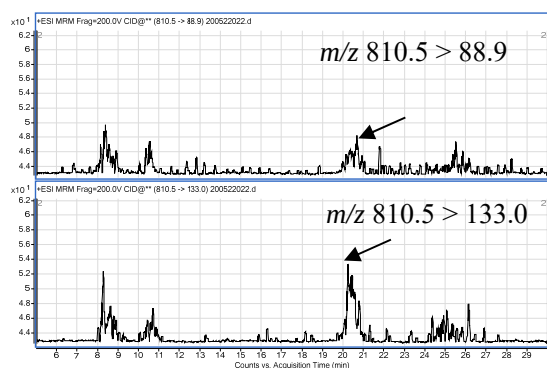


図8-2-11 無添加試料のクロマトグラム(NPE13)
NPE13は検出下限未満

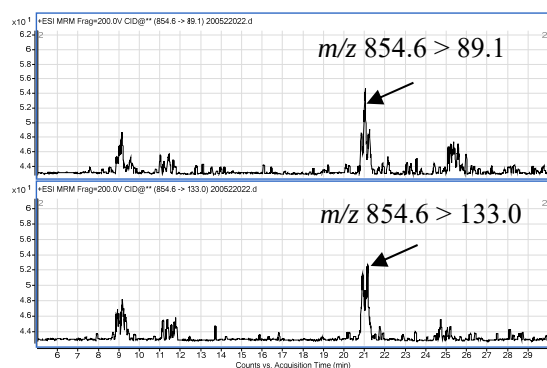


図8-2-12 無添加試料のクロマトグラム(NPE14)
NPE14は痕跡量

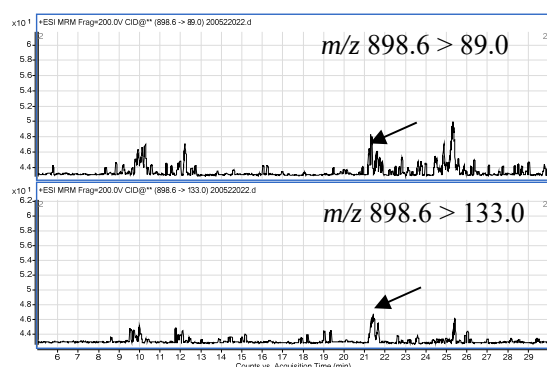


図8-2-13 無添加試料のクロマトグラム(NPE15)
NPE15は検出下限未満

〔保存性試験〕

苫小牧港で採取した底質試料の抽出液と標準液の保存性試験結果を表 7-1、表 7-2 に示す。また図 9 には 4 段階の濃度の標準液の 75 日間保存性試験の結果を示す。図 9 には同時分析の検討を行った NPE1 及び NPE2 の結果も合わせて示す。

底質試料粗抽出液については、〔添加回収試験〕における調製試料を用いた。すなわち、底質試料 10 g-dry に各同族体を 4 µg ずつ添加した後に【試料の前処理及び試験液の調製】に従ってジクロロメタンに抽出後、濃縮・定容した粗抽出液の保存性を確認した。粗抽出液の残存率は保存前の検出濃度に対する 14 日間保存後の検出濃度の比である。

この結果から、底質試料粗抽出液、標準液どちらも良好な保存性を確認した。

表 7-1 保存性試験結果（底質粗抽出液）

試料名	調製濃度* ¹ (ng/g-dry)	検出濃度(ng/g-dry)（残存率(%) ^{*2} ）	
		保存前(%) ^{*3}	14 日後
NPE3	400	360(90)	330 (92)
NPE4	400	360(90)	330 (92)
NPE5	400	360(90)	330 (92)
NPE6	400	360(90)	330 (92)
NPE7	400	340(85)	310 (91)
NPE8	400	330(83)	300 (91)
NPE9	400	310(78)	280 (90)
NPE10	400	300(75)	270 (90)
NPE11	400	270(68)	240 (89)
NPE12	400	250(63)	230 (92)
NPE13	400	230(58)	200 (87)
NPE14	400	200(50)	180 (90)
NPE15	400	180(45)	150 (83)

*1：底質試料への添加濃度。

*2：保存前の検出濃度に対する保存後の検出濃度の割合。

*3：調製濃度に対する検出濃度。

表 7-2 保存性試験結果（標準液）

試料名	調製濃度* ¹ (ng/mL)	検出濃度(ng/mL)（残存率(%) ^{*2} ）
		75 日間
NPE3	200	180 (90)
NPE4	200	180 (90)
NPE5	200	180 (90)
NPE6	200	180 (90)
NPE7	200	180 (90)
NPE8	200	180 (90)
NPE9	200	190 (95)
NPE10	200	180 (90)
NPE11	200	180 (90)
NPE12	200	180 (90)
NPE13	200	180 (90)
NPE14	200	180 (90)
NPE15	200	180 (90)
NPE3	1000	900 (90)
NPE4	1000	900 (90)
NPE5	1000	860 (86)
NPE6	1000	860 (86)
NPE7	1000	890 (89)
NPE8	1000	890 (89)
NPE9	1000	920 (92)
NPE10	1000	870 (87)
NPE11	1000	880 (88)
NPE12	1000	870 (87)
NPE13	1000	870 (87)
NPE14	1000	890 (89)
NPE15	1000	880 (88)

*1: 標準液の調製濃度。

*2: 調製濃度に対する保存後の検出濃度の割合。

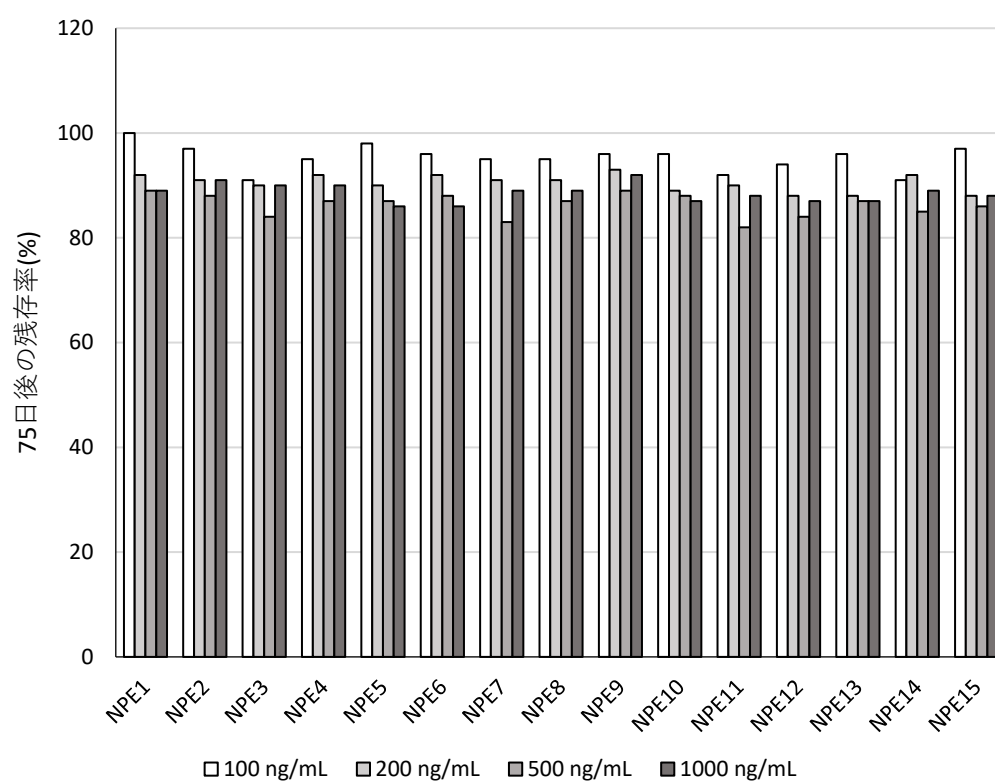


図9 標準液の保存性試験結果
(標準液の濃度は100、200、500及び1000 ng/mL、保存期間は75日)

〔その他の検討事項〕

〔LC/MS での測定モードの定量値への影響〕

NPE の LC/MS/MS 分析におけるプロダクトイオンには、特定の構造を持つノニル基に由来するものがある¹⁾。そのため、本法ではノニル基に由来しないプロダクトイオンをモニターしているが、異性体の混合比によりプロダクトイオンの生成比が異なる可能性があり、その場合、LC/MS/MS-SRM による定量では精確な定量値を得ることができない。一方、アンモニウムイオン付加体をモニターする LC/MS-SIM 分析は、構造異性体の存在比の違いの影響を受けないと考えられるが、LC/MS/MS-SRM 分析と比較すると選択性と感度が乏しい。そこで、LC/MS-SIM と LC/MS/MS-SRM 分析でテクニカルグレードの NPE を測定し、それぞれの定量値を比較して、本法で選択した LC/MS/MS-SRM 分析のモニターイオンの適用性を確認した(n=3)。

東京化成製 NPE_n≈2, NPE_n≈5, NPE_n≈10 をそれぞれ希釈して調製した 500 ng/mL の溶液を NPE の標準液である NPE MIX-XV を用いて SIM、SRM (CE=0)、SRM (CE≠0) で測定した定量値を表 8-1 から表 8-3 に示す。ここでの SRM (CE=0) とは SRM での測定であるが、コリジョンエネルギーをゼロにしてプロダクトイオンの生成を可能な限り抑制し、プレカーサーイオンをモニターする測定条件であり、SIM よりも高い選択性を期待できる。

表 8-1 から表 8-3 に示すとおり、SIM と SRM (CE=0) ではほぼ同じ定量値であったが、SRM (CE≠0) では他の測定よりも定量値が大きくなる傾向が見られ、特に検出モードにより定量値に違いがみられ、EO の付加モル数が大きいもので顕著であった。この原因を特定するのは難しいが、ノニル基の構造の違いによるイオン化効率、衝突解離反応の違いも含まれていると考えられた。SRM (CE≠0) での定量値は、SIM の定量値に対して約 1 ～1.7 倍であった。本分析法では要求感度を考慮し、SRM (CE≠0) で定量することにした。

表 8-1 東京化成製 NPE_n≈2 メタノール溶液(500 ng/mL)中の同族体の定量結果

物質名	SIM		SRM (CE=0)			SRM (CE≠0)		
	濃度 ^{*1}	CV ^{*2}	濃度 ^{*1}	CV ^{*2}	比 ^{*3}	濃度 ^{*1}	CV ^{*2}	比 ^{*3}
NPE1**	120	4.7	120	4.9	1	140	4.0	1.2
NPE2**	170	5.9	170	3.3	1	190	3.0	1.1
NPE3	91	2.8	88	3.0	0.97	94	2.1	1.0
NPE4	29	4.0	28	2.1	0.97	34	3.4	1.2

*1：濃度の単位は ng/mL

*2：CV の単位は%

*3：比率 SIM による定量値を 1 とした時の値

**：NPE1 及び NPE2 の定量法は後述の【参考資料】〔NPE1 及び NPE2 も含めた一斉分析法の検討〕を参照

***：装置への注入量は 10 µL

表 8-2 東京化成製 NPE_n≈5 メタノール溶液(500 ng/mL)中の同族体の定量結果

物質名	SIM		SRM (CE=0)			SRM (CE≠0)		
	濃度 ^{*1}	CV ^{*2}	濃度 ^{*1}	CV ^{*2}	比 ^{*3}	濃度 ^{*1}	CV ^{*2}	比 ^{*3}
NPE2**	22	4.5	23	6.5	1.0	28	0	1.3
NPE3	58	1.7	59	5.2	1.0	64	5.4	1.1
NPE4	71	2.2	71	1.6	1.0	95	3.6	1.3
NPE5	64	2.4	65	1.5	1.0	86	9.1	1.3
NPE6	51	3	54	4.7	1.1	66	8.7	1.3
NPE7	41	2.4	43	1.3	1.0	46	11	1.1
NPE8	25	2.3	26	2.2	1.0	29	8.6	1.2
NPE9	17	3.5	18	0	1.1	21	15	1.2
NPE10	11	0	11	5.1	1.0	12	31	1.1

*1：濃度の単位は ng/mL

*2：CV の単位は%

*3：比率 SIM による定量値を 1 とした時の値

**：NPE2 の定量法は後述の【参考資料】〔NPE1 及び NPE2 も含めた一斉分析法の検討〕を参照

***：装置への注入量は 10 µL

表 8-3 東京化成製 NPE $\approx$ 10 メタノール溶液(500 ng/mL)中の同族体の定量結果

物質名	SIM		SRM (CE=0)			SRM (CE $\neq$ 0)		
	濃度 ^{*1}	CV ^{*2}	濃度 ^{*1}	CV ^{*2}	比 ^{*3}	濃度 ^{*1}	CV ^{*2}	比 ^{*3}
NPE4	10	7.4	10	5.9	1.0	13	0	1.3
NPE5	17	3.3	19	3.1	1.1	26	4.4	1.5
NPE6	25	2.3	27	2.1	1.1	40	2.9	1.6
NPE7	35	1.7	38	1.5	1.1	53	3.3	1.5
NPE8	36	1.6	39	5.9	1.1	57	2.7	1.6
NPE9	44	2.3	48	2.4	1.1	75	10	1.7
NPE10	49	2.3	54	4.9	1.1	77	11	1.6
NPE11	43	2.7	47	3.2	1.1	66	6.3	1.5
NPE12	37	1.6	41	6.2	1.1	55	5.2	1.5
NPE13	27	2.1	31	1.9	1.1	42	5.5	1.6
NPE14	21	0	22	6.8	1.0	31	8.0	1.5
NPE15	16	0	17	8.8	1.1	23	2.5	1.4

*1：濃度の単位は ng/mL

*2：CV の単位は%

*3：比率 SIM による定量値を 1 とした時の値

**：装置への注入量は 10 μ L

〔前処理方法確立のための検討〕

〔アルカリ溶液による攪拌抽出の添加回収試験〕

底質試料には多量の硫黄成分を含むものがあるため、硫黄成分を除くことを目的として、試料からの抽出には強いアルカリ溶液を用いることとし、抽出溶液には 1 mol/L 水酸化カリウム-メタノール溶液を選択した²⁾。このアルカリ溶液による抽出処理とメタノールで抽出処理した添加回収試験との比較より、対象物質の分解が起きないか確認した。

1 mol/L 水酸化カリウム-メタノール溶液 20 mL に各 NPE を 20 ng または 40 ng ずつ添加し、【試料の前処理及び試験液の調製】に準じて試験液の調製を行った（繰り返し回数 3）。調製時の【試料の前処理及び試験液の調製】との相違点を次に示す。

- ・ 1 mol/L 水酸化カリウム-メタノール溶液の量：20 mL
- ・ ヘキサンとの液液抽出：行わなかった
- ・ 液液抽出時に加えた精製水の量：160 mL
- ・ 液液抽出に使用したジクロロメタンの量：20 mL
- ・ ジクロロメタンを使用した液液抽出の回数：1 回
- ・ 固相抽出法によるクリーンアップに供する量：全量

対照として 1 mol/L 水酸化カリウム-メタノール溶液の代わりにメタノールで抽出したものを調製(n = 1)した。それぞれの回収率を図 10-1 及び図 10-2 に示す。

両者とも NPE1～NPE3 の回収率が低く、特に添加量が 20 ng の試料の回収率が低かったが、ばらつき内であり回収率に差はあるとは認められなかった。対照試験液の回収率との比較から、1 mol/L 水酸化カリウム-メタノール溶液による攪拌抽出では、対象物質の分解は起きないと判断した。

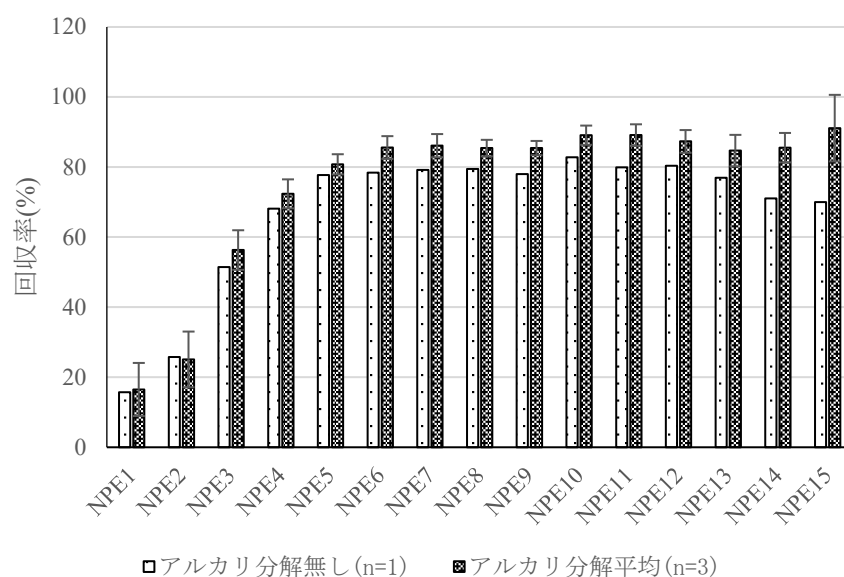


図 10-1 アルカリ溶液を用いた攪拌抽出の添加回収率
(標準物質添加量はそれぞれ 20 ng)

(NPE1 及び NPE2 の定量法は後述の【参考資料】〔NPE1 及び NPE2 も含めた一斉分析法の検討〕を参照)

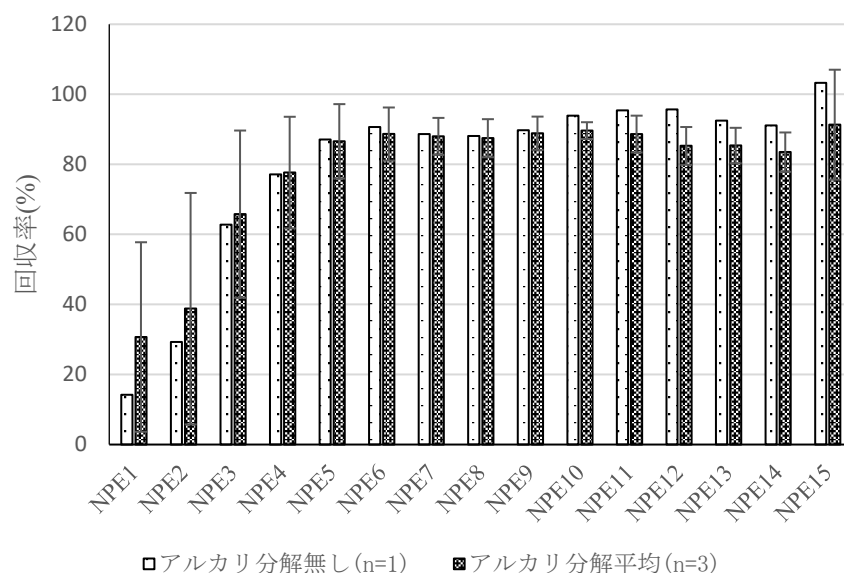


図 10-2 アルカリ溶液を用いた攪拌抽出の添加回収率
(標準物質添加量はそれぞれ 40 ng)

(NPE1 及び NPE2 の定量法は【参考資料】〔NPE1 及び NPE2 も含めた一斉分析法の検討〕を参照)

なお、アルカリ抽出液からの NPE1 及び NPE2 の回収率を改善するため、抽出液からの NPE の回収にポリマーベースの逆相カートリッジによる固相抽出法の適用性を確認した。固相抽出カラムには 250 mg EDS-1 と 230 mg RP-C18 を使用した。1 mol/L 水酸化カリウム-メタノール溶液 10 mL、1 mol/L リン酸二水素ナトリウム水溶液 10 mL、各 NPE を 40 ng ずつを混合し、精製水で 100 mL に希釈したものを予めコンディショニングした固相抽出カラムに通水した。通水後の固相抽出カラムを遠心脱水し、溶出したものを濃縮、定容して分析した。コンディショニングは、EDS-1 に対してはジクロロメタン、メタノール、精製水各 10 mL を順に通液し、RP-C18 についてはメタノール 20 mL、次いで精製水 10 mL を通液した。溶出前の固相抽出カラムは 3000 rpm で 10 分間遠心脱水した。溶出は、EDS-1 についてはメタノール、次いでジクロロメタン各 10 mL、RP-C18 については、メタノール 10 mL を 4 回通液（10 mL の分画×4）した。濃縮後の溶出液は【試料の前処理及び試験液の調製】と同様に転溶媒、定容した。いずれの固相抽出カラムを用いた場合でも NPE1 と NPE2 の回収率は 10%未満、他の同族体の回収率は 60%程度であり、回収率は改善されなかった。

〔ヘキサン洗浄の適用性の確認〕

底質試料の中には、高濃度の鉱物油を含むものがある可能性があるため、鉱物油由来の低極性物質を除くことを目的に、メタノール/ヘキサン分配³⁾の適用性を検討した。

1 mol/L 水酸化カリウム-メタノール溶液 20 mL に各 NPE を 20 ng ずつ添加し、ヘキサン 10 mL を加えて液液抽出した（繰り返し回数 3）。その後の処理は【試料の前処理及び試験液の調製】に準じて試験液の調製を行った。調製時の【試料の前処理及び試験液の調製】との相違点を次に示す。

- ・ 1 mol/L 水酸化カリウム-メタノール溶液の量：20 mL （80 mL）
- ・ 洗浄に使用したヘキサンの量：10 mL （20 mL）
- ・ 液液抽出時に加えた精製水の量：160 mL （440 mL）
- ・ 液液抽出に使用したジクロロメタンの量：20 mL （80 mL）
- ・ 固相抽出法によるクリーンアップに供する量：全量 （1 mL/20 mL を分取）

それぞれの添加回収率を図 11 に示す。この結果から、アルカリ抽出液とヘキサンとの液液抽出は、対象物質の回収率に影響しないと判断した。

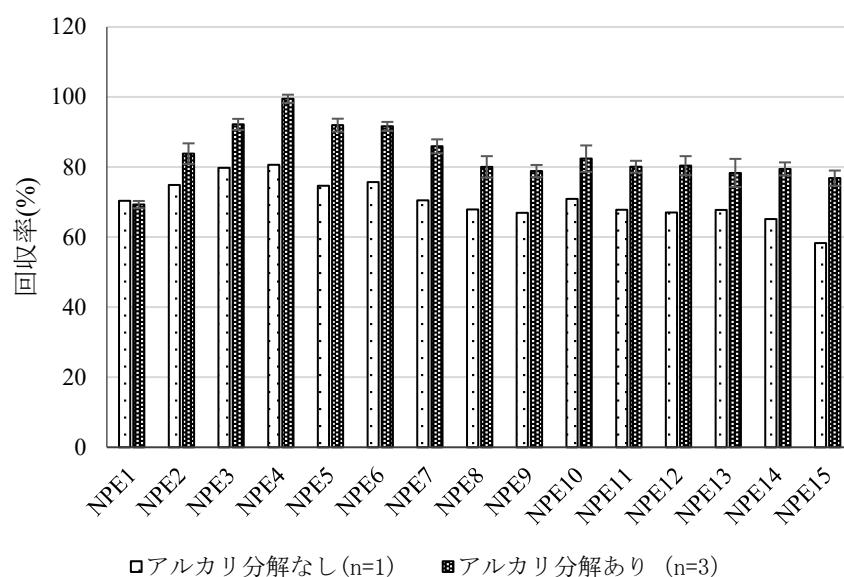


図 11 ヘキサン洗浄を実施したときの添加回収率
(NPE1 及び NPE2 の定量法は【参考資料】〔NPE1 及び NPE2 も含めた一斉分析法の検討〕を参照)

〔粗抽出液の精製法確立のための検討〕

NPE 抽出液からの夾雑物の除去を目的に、固相抽出カラムの適用が報告されている。ここでは既報を参考に、粗抽出液の精製への固相抽出カラムの適用性を検討した。

〔GCB カラムを使った精製〕

GCB カラムは底質試料中の非イオン界面活性剤などの分析に適用されている^{4), 5), 6)}。既報では GCB カラムからの溶出にジクロロメタンを使用しているが、ジクロロメタンはヒトの健康への有害性が懸念されているため、代替溶媒として酢酸エチルを加えて、NPE の溶出挙動を確認した。

底質試料 10 g-dry 程度からの粗抽出液の全量を付加することを前提に、GCB カラムにはジーエルサイエンス製 Inertsep GC (充填量 1 g) を選んだ。

酢酸エチル、メタノール、精製水それぞれ 20 mL でコンディショニングを行ったこのカラムに、NPE 各 5 ng を精製水/メタノール(1:1 (v/v))または精製水/アセトン(1:1 (v/v)) 10 mL 溶液としてカラムに負荷し、参考文献に従い、10 mL 精製水/メタノール(1:1 (v/v))×2 回 (容器洗浄を含む)、メタノール 2 mL で洗浄した。

溶出には次の溶媒を使用し、いずれも 10 mL を用いた。

分画① メタノール/酢酸エチル(20:80 (v/v))

分画② メタノール/酢酸エチル(10:90 (v/v))

分画③ 酢酸エチル

分画④ メタノール/ジクロロメタン(20:80 (v/v))⁷⁾

NPEの溶出挙動を図12-1及び図12-2に示す。

負荷試料の溶媒組成に関わらず、試料負荷後のメタノール洗浄ではNPEは溶出しなかった。また、EOの付加モル数が多いNPEは酢酸エチルでは溶出せず、メタノール/ジクロロメタン(20:80)により溶出した。この結果から、GCBカラムからの溶出には既報の通りジクロロメタンを使用することにした。

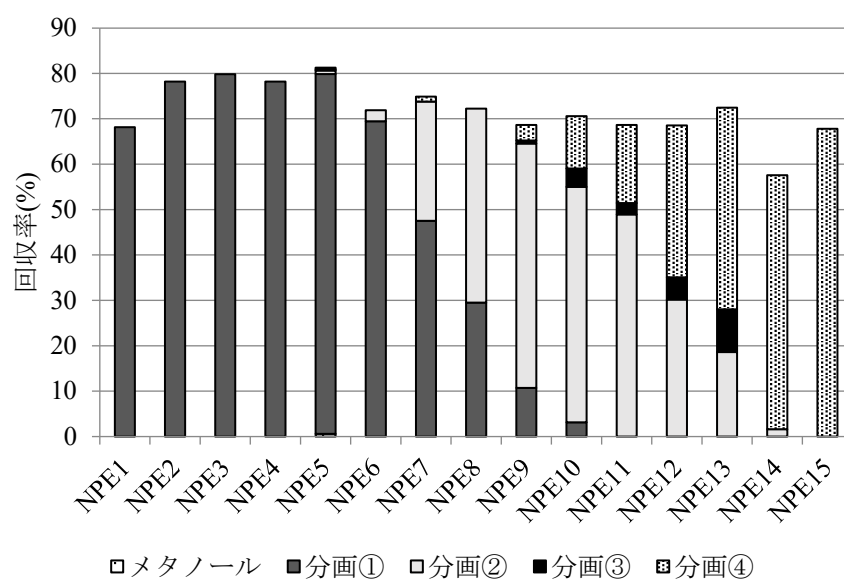


図 12-1 NPE の GCB からの溶出挙動 (負荷試料は精製水/メタノール溶液)
(NPE1 及び NPE2 の定量法は【参考資料】〔NPE1 及び NPE2 も含めた一斉分
析法の検討〕を参照)

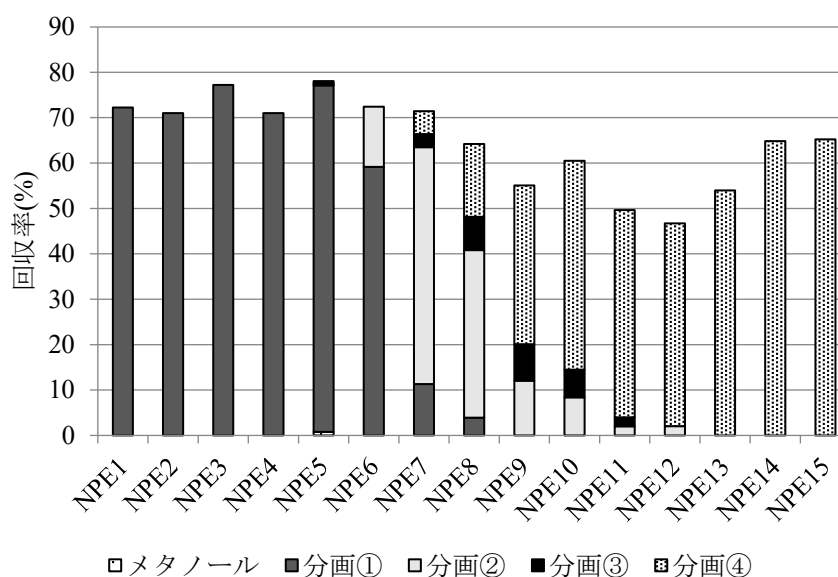


図 12-2 NPE の GCB からの溶出挙動（負荷試料は精製水/アセトン溶液）
 （NPE1 及び NPE2 の定量法は【参考資料】〔NPE1 及び NPE2 も含めた一斉
 分析法の検討〕を参照）

〔シリカゲルカラムを使った精製〕

底質試料抽出液の精製に広く使われているシリカゲルカラム⁸⁾のクリーンアップへの適用性を検討するために、NPEのシリカゲルカラムからの溶出挙動を確認した。

使用したカラムはAgilent製BondElut Si (5 g/ 20 mL)で、アセトン40 mL、次いでヘキサン100 mLを通液してコンディショニングを行った。負荷試料はNPE各50 ngのジクロロメタン1 mL溶液である。負荷後にNPEのジクロロメタン溶液が入っていた容器を2 mLジクロロメタンで洗浄し、この洗浄液もカラムに負荷した。溶出はヘキサンとアセトンの混合溶媒を用いることにし、夾雑物の溶出を抑制させるためその混合比は1:1までとした。溶出に用いた溶媒の混合比と通液量を次に示す。

分画① ヘキサン 0 – 50 mL

分画② ヘキサン 50 – 100 mL

分画③ アセトン/ヘキサン混合溶媒(5:95 (v/v)) 0 – 10 mL

分画④ アセトン/ヘキサン混合溶媒(5:95 (v/v)) 10 – 20 mL

分画⑤ アセトン/ヘキサン混合溶媒(10:90 (v/v)) 0 – 10 mL

分画⑥ アセトン/ヘキサン混合溶媒(10:90 (v/v)) 10 – 20 mL

分画⑦ アセトン/ヘキサン混合溶媒(20:80 (v/v)) 0 – 10 mL

分画⑧ アセトン/ヘキサン混合溶媒(20:80 (v/v)) 10 – 20 mL

分画⑨ アセトン/ヘキサン混合溶媒(1:1 (v/v)) 0 – 20 mL

シリカゲルカラムからのNPEの溶出挙動を図13に示す。9つの分画を行ったところ、分画③から⑧まではNPEは検出されず、また、分画①から⑨のどの分画でもカラムから全く溶出しない同族体もあった。シリカ表面にある-OH基とNPEのEO鎖が相互作用し、EOの付加モル数が多い同族体の溶出が起きにくいと考えられる。

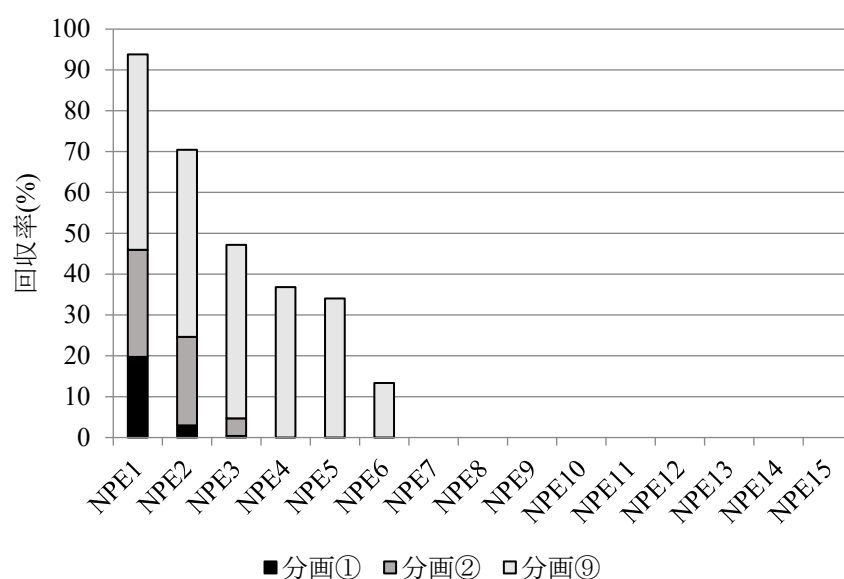


図13 シリカゲルカラムからのNPEの回収率

(NPE1及びNPE2の定量法は【参考資料】〔NPE1及びNPE2も含めた一斉分析法の検討〕を参照)

〔多層カラムを用いた精製〕

底質試料中の NPE の分析には、GCB カラムによる精製が報告されている他、アミノプロピルカラムによる精製が報告されている¹⁾。そこで、多層カラムによる精製の適用性を検討するために NPE の多層カラムからの溶出挙動を確認した。確認した。

使用したカラムは Aldrich（現在は Merck）製 SUPELCLEAN 3 BED TUBE で、充填剤は上流側から Envi-Carb 500 mg、LC-NH₂ 400 mg、LC-Si 600 mg である。コンディショニングはアセトン 40 mL、次いでヘキサン 100 mL を通液して行い、NPE 各 5 µg をジクロロメタン 1 mL で負荷し、その後ジクロロメタン 2 mL で容器を洗浄してその溶液も負荷した。溶出については、ここで使用した多層カラムには GCB である Envi-Carb が 500 mg 充填されており、〔GCB カラムを使った精製〕の検討結果から、このカラムからの NPE の溶出にはジクロロメタンが必要であると予想し、次に示すとおりに通液、溶出した。

分画① ヘキサン 0 – 50 mL

分画② ヘキサン 50 – 100 mL

分画③ ジクロロメタン 0 – 20 mL

分画④ ジクロロメタン 20 – 40 mL

分画⑤ ジクロロメタン 40 – 60 mL

分画⑥ ジクロロメタン 60 – 80 mL

分画⑦ ジクロロメタン 80 – 100 mL

多層カラムからの溶出挙動を図14に示す。ジクロロメタン100 mLを通液してもEOの付加モル数が多い同族体は溶出しなかった。〔シリカゲルカラムを使った精製〕での検討結果によれば、EOの付加モル数が多い同族体はLC-Si（シリカゲル層）から溶出しなかったと思われる。

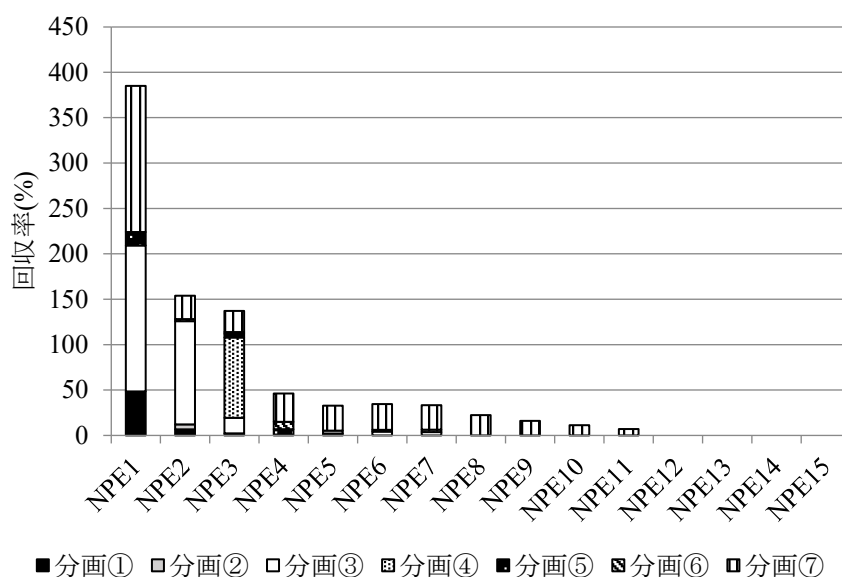


図14 多層カラムからのNPEの回収率
(NPE1及びNPE2の定量法は【参考資料】〔NPE1及びNPE2も含めた一斉分析法の検討〕を参照)

〔EDS-1 と Envi-Carb を用いた精製〕

底質試料中の非イオン界面活性剤の分析では、試料の精製にイオン交換カラムが接続された C18 カラムが使用されている²⁾が、この方法で使用されているカラムはいずれもシリカベースであり、シリカ表面にある-OH 基の影響が懸念されたため、シリカベースではない充填剤を使用した固相抽出カラムによる精製を検討した。

ポリマーベースの逆相系カラムである Autoprep EDS-1 は水質試料からの NPE の抽出に適用できることが分かっている⁹⁾。この固相抽出カラムには高分子を除去するために小さなポアサイズの充填材が使用されており、粗抽出液中の夾雑物の除去が期待できる¹⁰⁾。ただし、充填量が 250 mg であり多量の底質試料抽出液の精製への適用は期待できない。そこで、精製する底質試料抽出液を少量にすることにし、それに合わせて GCB カラムを充填量 500 mg の Envi-Carb に変更した。精製水で希釈した粗抽出液を EDS-1 に負荷し、溶出時に EDS-1 の先端に Envi-Carb を接続して溶出することで精製することを想定し、まず、標準液を用いた添加回収試験を行いその適用性を評価した。

1) Envi-Carb からの NPE の溶出挙動の確認

EDS-1 からの NPE の溶出はメタノールと酢酸エチルの混合溶媒で行うことが

できるため、GCB カラムからの溶出溶媒であるジクロロメタンでも十分に溶出することができるかと期待できる。そこで、NPE の GCB カラムからの溶出に必要な溶媒条件の確認を行った（繰り返し回数 3）。

充填量 500 mg Envi-Carb カラムをジクロロメタン、メタノール、精製水の順に各 10 mL でコンディショニングし、NPE 各 20 ng（メタノール溶液 10 μ L）を負荷した。試料負荷後のカートリッジはメタノール/精製水(1:1 (v/v)) 10 mL で洗浄したのち、3000 rpm で 10 分間遠心脱水した。その後既報を参考に^{4),5)}、メタノール 10 mL 次いでジクロロメタン/メタノール(7:3 (v/v)) 10 mL を通液し、各 NPE の回収率を求めた。結果を図 15 に示す。2 つの溶媒を用いる溶出条件で Envi-Carb から十分な回収率を得たと判断し、この条件を NPE の EDS-1 からの溶出条件にした。

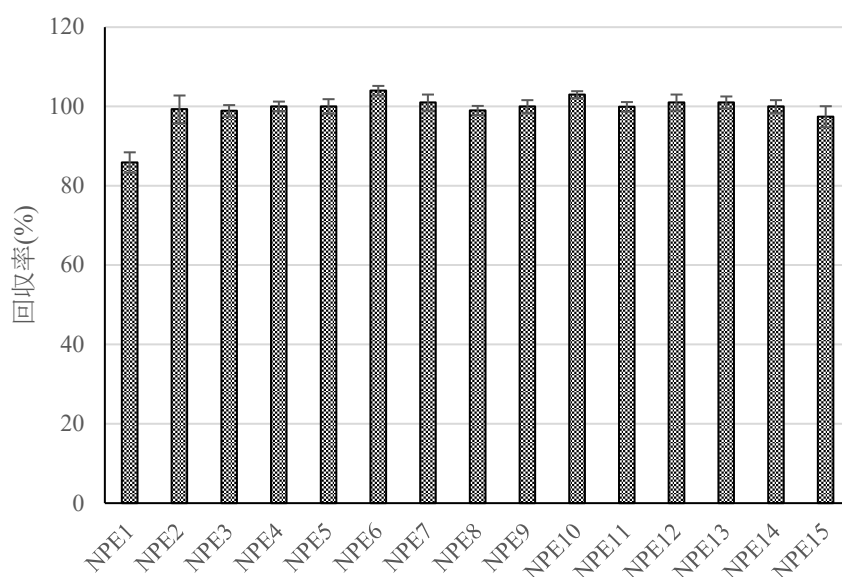


図 15 Envi-Carb からのメタノールとジクロロメタン/メタノール(7:3)による NPE の回収率

（NPE1及びNPE2の定量法は【参考資料】〔NPE1及びNPE2も含めた一斉分析法の検討〕を参照）

2) EDS-1 と Envi-Carb を用いた精製

1)で確認した溶出条件をもとに、EDS-1 と Envi-Carb を組み合わせた精製法を検討し、試料は EDS-1 に負荷し、EDS-1 を十分に洗浄、脱水したのちに、Envi-Carb を下流に接続して溶出溶媒を通液する方法を、標準液を使った添加回収試験（繰り返し回数 3）により評価した。

2 種のカラムはそれぞれジクロロメタン、メタノール、精製水の順に各 10

mL でコンディショニングした。EDS-1 に NPE 各 20 ng (メタノール溶液 10 μ L) を負荷し、カラムをメタノール/精製水(1:1 (v/v)) 10 mL で洗浄後 3000 rpm で 10 分間遠心脱水を行った。その後 EDS-1 の下流に Envi-Carb を接続し、メタノール 10 mL 次いでジクロロメタン/メタノール(7:3 (v/v)) 10 mL を通液し、合わせて「Fr. 1」とした。次に Envi-Carb に NPE が残っていないか確認するために、EDS-1 を外し、Envi-Carb にさらにジクロロメタン/メタノール(7:3 (v/v)) 10 mL を通液して「Fr. 2」とした。それぞれの分画の NPE の回収率を求めた。結果を図 16 に示す。NPE1 と NPE2 のばらつきが大きい、NPE3 以上の同族体は Fr.1 だけでおおむね良好な回収率を得たため、粗抽出液の精製には EDS-1 と Envi-Carb を用いることにした。

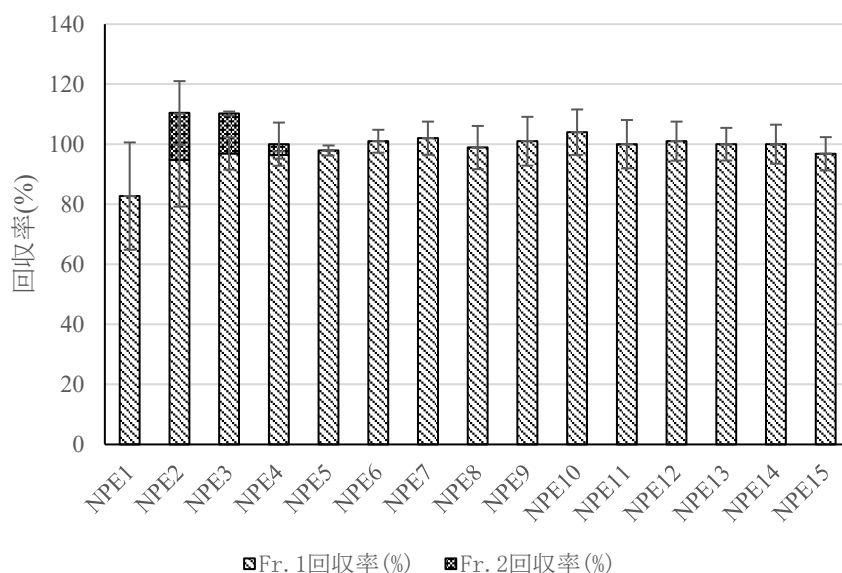


図 16 EDS-1 と Envi-Carb を用いた固相抽出法の回収率
(NPE1及びNPE2の定量法は【参考資料】〔NPE1及びNPE2も含めた一斉分析法の検討〕を参照)

〔機器分析前の試験液からの沈殿物の濾過〕

EDS-1 及び Envi-Carb を用いて精製した試験液を濃縮すると、白色の沈殿が生成することがあった。沈殿はシリンジフィルターで除くことができるが、沈殿が疎水性の物質である可能性を考慮し、この沈殿の除去に、土壌や河川水などのチウラムのクリーンアップ用に開発された多機能カートリッジである昭和電工製 MF-1 (Autoprep MF-1、充填量 100 mg) を適用できるか検討し、合わせて同カートリッジからのブランクを確認した。適用性は標準品を用いた繰り返

し回数 3 の添加回収試験による回収率で評価した。

NPE 各 20 ng を含むメタノール/精製水(1:1 (v/v)) 1 mL をコンディショニングしていない MF-1 に負荷し、通過してきた試験液を機器分析に供した。この試験液の回収率を図 17 に示す。最終試験液中の NPE は MF-1 に捕集されないと判断できるため、必要に応じて機器分析前の試験液の濾過に使用できる。

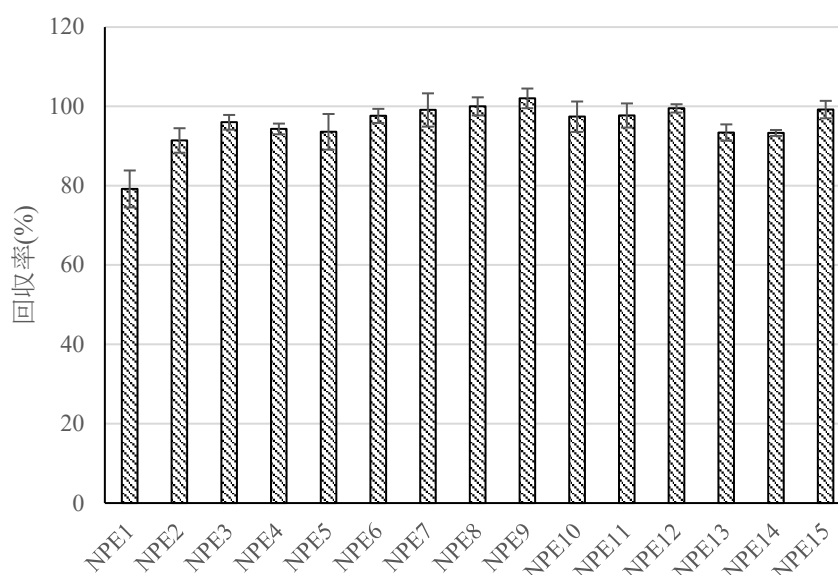


図 17 NPE の MF-1 に対する通過性

(NPE1及びNPE2の定量法は【参考資料】〔NPE1及びNPE2も含めた一斉分析法の検討〕を参照)

〔実試料への適用性－試料量の検討〕

〔試料量 5 g-dry、粗抽出液全量を精製〕

粗抽出液の精製に用いる EDS-1 カラムの充填量は 250 mg であるため、負荷できる試料量は多くないと予想される。そこで、EDS-1 カラムへの底質試料負荷量を確認するため、NPE を含有することが既知である乾燥底質試料 5 g に NPE1- $^{13}\text{C}_2$ と NPE2- $^{13}\text{C}_2$ をそれぞれ 40 ng 添加し、【試料の前処理及び試験液の調製】に準じて添加回収試験を行った。ここでは粗抽出液の調製に使用する溶媒量を半分にしたほか、粗抽出液の全量を 2 つ連結した EDS-1 に負荷し、2 つ目の EDS-1 に保持されているか確認した。この時、分析機器への注入量は 10 μL とした。

試験液のクロマトグラムを図 18-1 から図 18-3 に示す。添加した NPE1- $^{13}\text{C}_2$ 、NPE2- $^{13}\text{C}_2$ 及び底質試料に含まれていた NPE は上段の EDS-1 からの溶出液から

は検出されたが、下段のカラムからの溶出液からは検出されなかった。この結果から、乾燥底質試料 5 g の粗抽出液に含まれる NPE の保持には EDS-1 1 つで十分であることが分かった。

NPE1- $^{13}\text{C}_2$ と NPE2- $^{13}\text{C}_2$ 添加回収率を図 19 に示す。NPE1- $^{13}\text{C}_2$ は良好な回収率を得たが、図 18-2 に示すように、標準液のリテンションタイムとずれが生じており、また、付近にピークが検出されていることから、夾雑物の影響により過大な回収率となっている可能性が考えられた。一方、NPE2- $^{13}\text{C}_2$ の回収率は 20% と非常に低いが、夾雑物によるイオン化抑制の影響の可能性が考えられた。

これらの結果から、EDS-1 カラムは 5 g-dry の試料に対し、NPE の保持は可能であるが、夾雑物は十分に除去できず追加の精製が必要であると判断した。

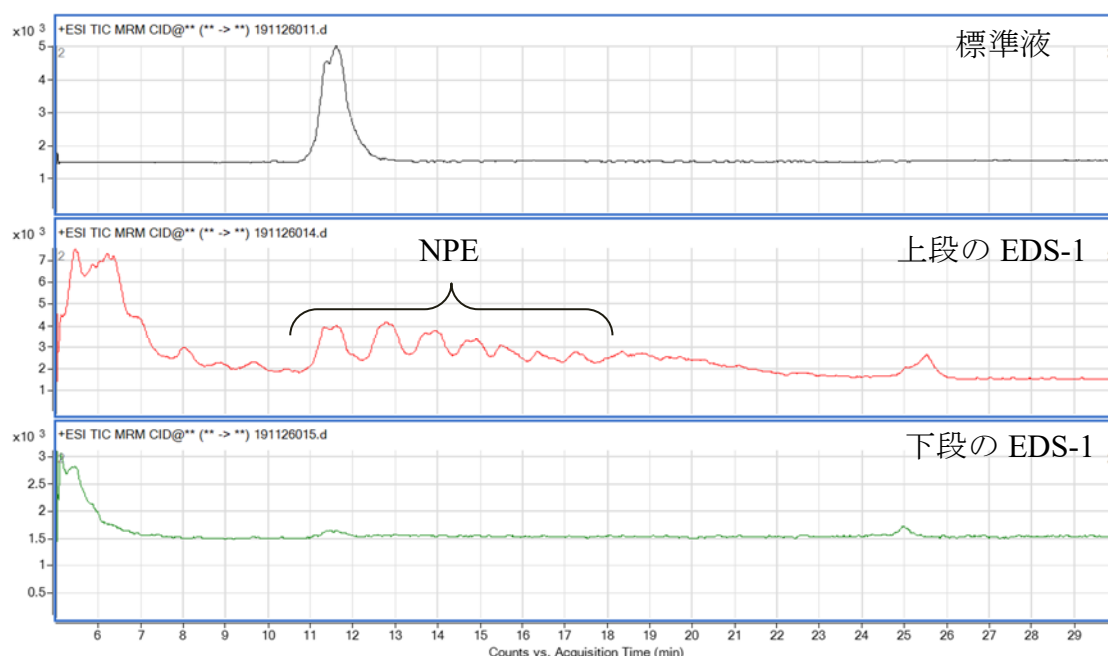


図 18-1 底質試料への添加回収試験のクロマトグラム (TIC、注入量 10 μL)

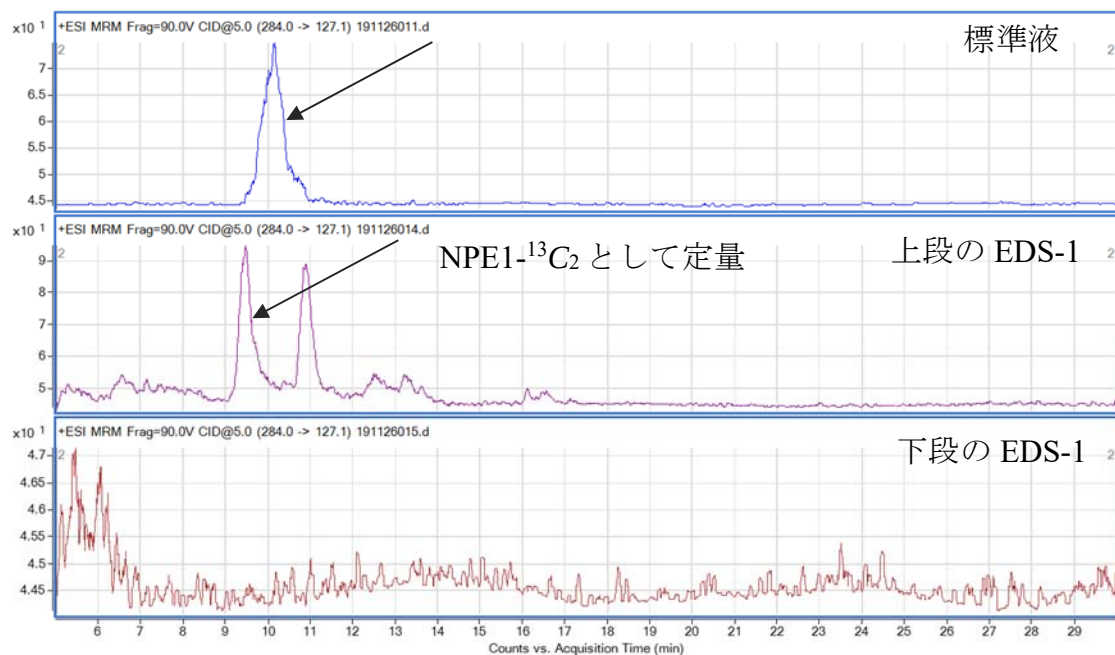


図 18-2 底質試料への添加回収試験のクロマトグラム (NPE1-¹³C₂、
注入量 10 μ L)

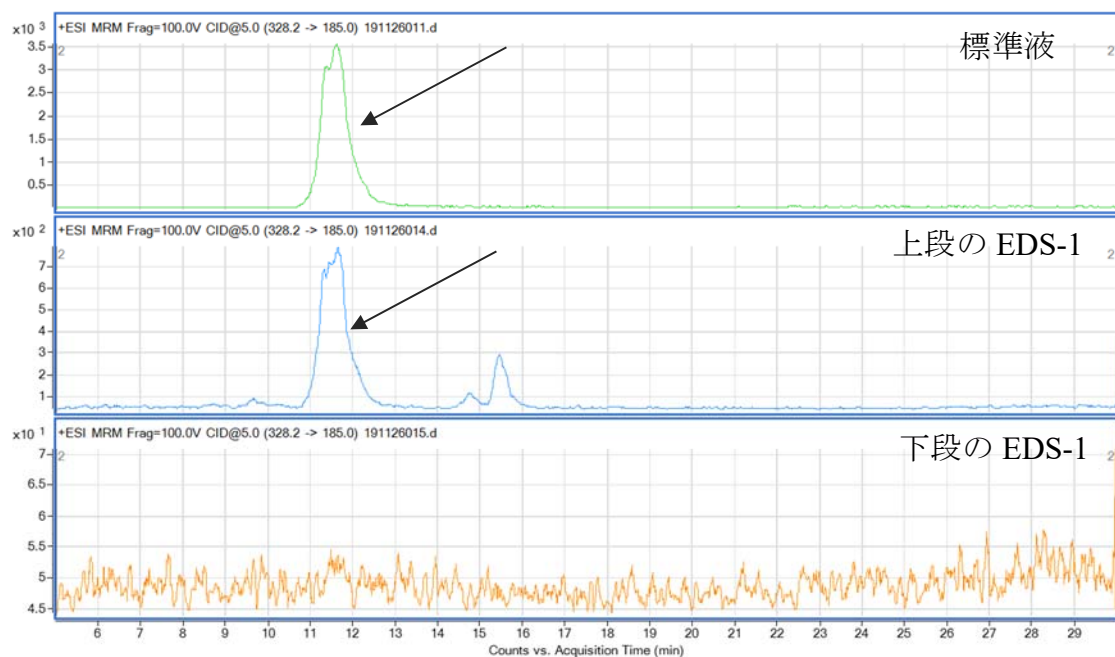


図 18-3 底質試料への添加回収試験のクロマトグラム (NPE2-¹³C₂、
注入量 10 μ L)

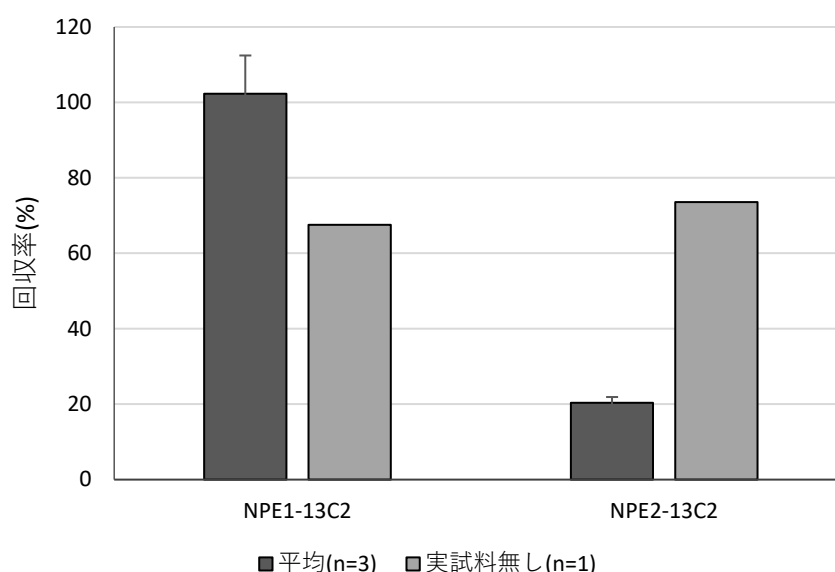


図 19 底質試料への添加回収試験結果

〔低い回収率の原因の検討①〕

〔試料量 5 g-dry、粗抽出液全量を精製〕において、5 g-dry の乾燥底質試料抽出液全量を供した場合、NPE1-¹³C₂ と NPE2-¹³C₂ の分析に支障があったことを確認した。この原因を明らかにするために、底質試料抽出液 (n = 3) と操作ブランク試験液 (n = 1) に NPE、NPE1-¹³C₂ 及び NPE2-¹³C₂ を添加し、各試験液中の対象物質の定量値を比較することで、対象物質の回収率低下の要因を明らかにすることを試みた。

乾燥させた底質試料 20 g を【試料の前処理及び試験液の調製】に従って 2 回のジクロロメタン抽出後の定容までの前処理を行い、20 mL の粗抽出液を得た。この粗抽出液 5 mL (n = 3) と、比較対象として操作ブランク試料 (n = 1) を用い、添加回収率を求めた。いずれの場合も装置への注入量は 10 µL とした。

1-1. イオン化抑制の確認①

底質試料 5 g-dry 分の粗抽出液を【試料の前処理及び試験液の調製】のカラムクリーンアップの条件に従って精製してジクロロメタンで 1 mL に定容した。得られた 1 mL の試験液から 400 µL を分取して NPE、NPE1-¹³C₂ 及び NPE2-¹³C₂ をそれぞれ 40 ng 添加し、それぞれに含まれる物質を定量し（各 NPE の試料換算濃度は 20 ng/g-dry、試験液中濃度 100 ng/mL、装置への注入量は 1 ng）、定量値から最終試験液中の夾雑物によるイオン化抑制の程度を確認した。

1-2. イオン化抑制の確認②－塩基性物質を除去

底質試料 5 g-dry 分の粗抽出液(5 mL)を 1 mol/L 酢酸/酢酸アンモニウム緩衝液 (1:1 (v/v)) 2 mL で 2 回洗浄し、遠心分離により水層とジクロロメタン層に分けた後、ジクロロメタン層を「1-1. イオン化抑制の確認①」と同様に精製した。得られた 1 mL の試験液から 400 μ L を分取して NPE、NPE1- $^{13}\text{C}_2$ 及び NPE2- $^{13}\text{C}_2$ をそれぞれ 40 ng 添加し（各 NPE の試料換算濃度は 20 ng/g-dry、試験液中濃度 100 ng/mL）、回収率を確認した。

2. 精製による対象物質の損失分の確認

底質試料 5 g-dry 分の粗抽出液に NPE、NPE1- $^{13}\text{C}_2$ 及び NPE2- $^{13}\text{C}_2$ をそれぞれ 40 ng 添加し（各 NPE の濃度は試料換算濃度 8 ng/g-dry、試験液中濃度 40 ng/mL）、**【試料の前処理及び試験液の調製】**のカラムクリーンアップの条件に従って精製して 1 mL に定容した。得られた試験液では白色の沈殿が生成したので、Merck 製 Millex-LG でろ過した。

各確認作業における物質ごとの回収率を図 20-1-1 から図 20-2-2 に示す。図中で「添加」または「無添加」は標準液の添加の有無、「試料なし」または「試料あり」は底質試料の有無、「1-1.」、「1-2.」または「2.」は検討項目を示す。

(1)-1 NPE1 の検討結果

各検討項目における NPE1 の回収率を図 20-1-1 に示す。

「1-1.」と「1-2.」では「試料なし」の「添加」の回収率は良好であったが、「試料あり」の「添加」の回収率は 40%程度でばらつきは小さかった。このことから、NPE1 の定量のための精製が十分ではないと判断した。

「1-1.」と「1-2.」の「試料あり」の回収率は同程度で、粗抽出液の酢酸と酢酸アンモニウム混合水溶液による洗浄は、精製効果がなかった。

Jonkers らは LC/MS 分析により NPE とナトリウムイオンとの数々の付加体の生成を確認している¹¹⁾。「1-1.」と「1-2.」の「試料あり添加」の Total Scan モードによる分析では報告されているイオン種は確認されず、生成するイオン種の変動はなかった。他の夾雑物の影響や、イオン種によって異なる最適フラグメンター電圧により検出できなかった可能性もあるが、精製の効果によるものであった可能性もある。

「2.」の「試料なし」の回収率は 80%未満で、精製過程での試料の損失が確認された。

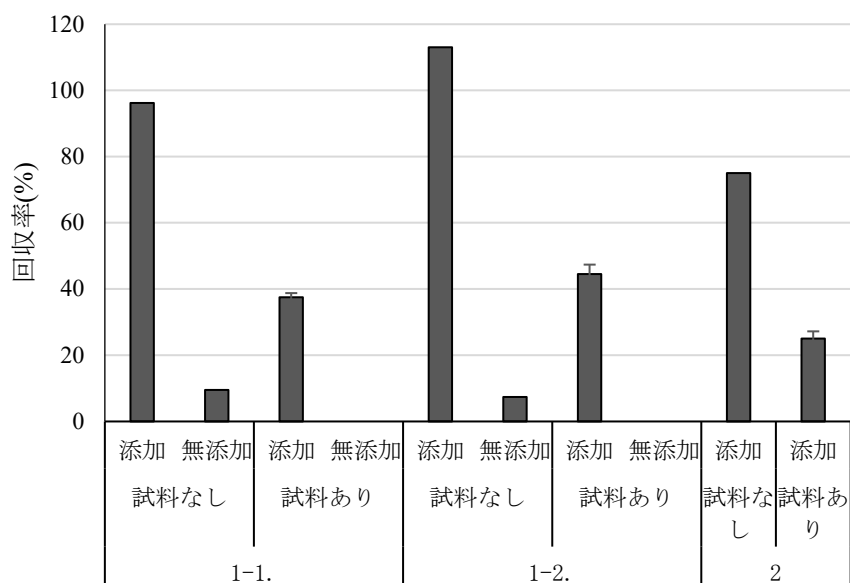


図 20-1-1 NPE1 の定量に対する夾雑物の影響 (試料量 5 g 相当)

(1)-2 NPE1- $^{13}\text{C}_2$ の検討結果

各検討項目における NPE1- $^{13}\text{C}_2$ の回収率を図 20-1-2 に示す。

「1-1.」と「1-2.」では「試料なし」の「添加」の回収率は良好であり、「試料あり」の「添加」の回収率は NPE1 よりも良好であった。一方、どちらにおいても「試料あり」の「無添加」でも夾雑物由来するピークが検出されており、この妨害ピークにより、見かけ上、良好な回収率を得たと考えられる。なお、「1-1.」と「1-2.」の「試料あり添加」の Total Scan モード分析では、 $[\text{NPE1-}^{13}\text{C}_2+\text{Na}]^+$ と $[\text{NPE1-}^{13}\text{C}_2+\text{K}]^+$ と考えられるイオン種は検出されなかった。

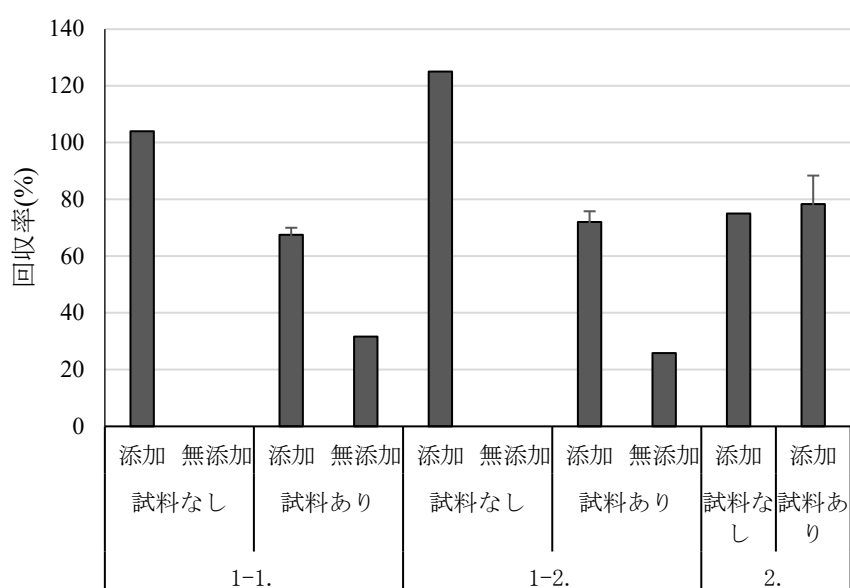


図 20-1-2 NPE1- $^{13}\text{C}_2$ の定量に対する夾雑物の影響 (試料量 5 g 相当)

(2)-1 NPE2 の検討結果

各検討項目における NPE2 の回収率を図 20-2-1 に示す。

「1-1.」、「1-2.」及び「2.」のいずれの場合も NPE1 と同様の結果を得たが、「試料あり」の「添加」の回収率は NPE1 よりも良好であった。

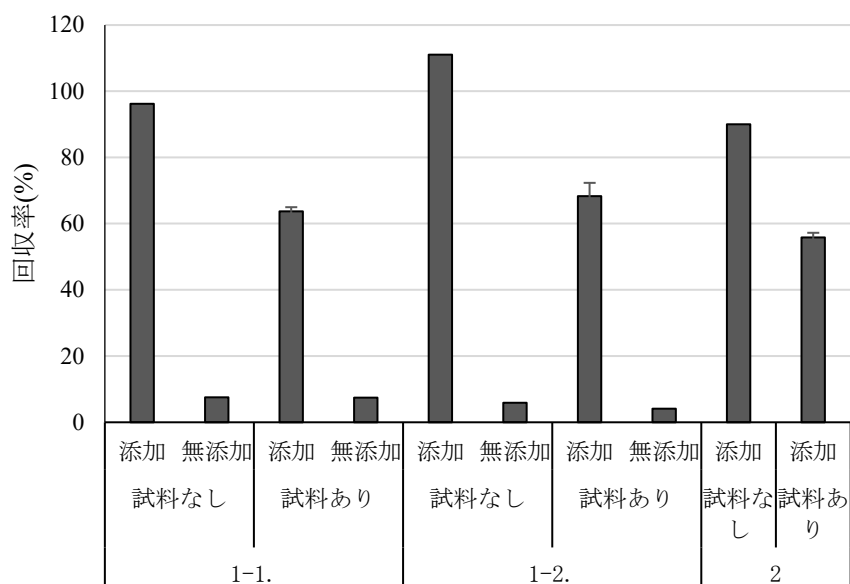


図 20-2-1 NPE2 の定量に対する夾雑物の影響（試料量 5 g 相当）

(2)-2 NPE2-¹³C₂ の検討結果

各検討項目における NPE2-¹³C₂ の回収率を図 20-2-2 に示す。

「1-1.」、「1-2.」及び「2.」のいずれの場合も NPE2 と同様の結果を得た。

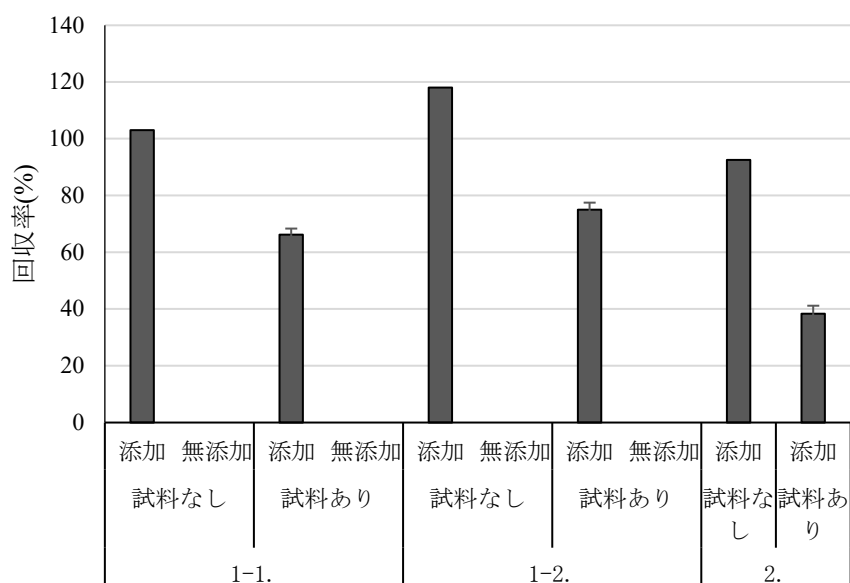


図 20-2-2 NPE2-¹³C₂ の定量に対する夾雑物の影響（試料量 5 g 相当）

(3) NPE3～NPE15 の検討結果

「1-1.」及び「1-2.」のそれぞれの「試料なし添加」と「試料あり添加」の回収率差はEOの負荷モル数が大きくなると小さくなる傾向がみられ、一連の操作による精製後は、夾雑物による妨害は小さかった。

「2.」の「試料なし」と「試料あり」の回収率の違いも見られなくなり、EOの付加モル数が増えると、夾雑物の影響を受けにくくなると考えられた。

〔低い回収率の原因の検討②〕

〔低い回収率の原因の検討①〕において、EDS-1 及び Envi-Carb では試料量 5 g-dry 相当の粗抽出液を十分に精製することができず、NPE1 と NPE2 の定量に支障をきたすことが分かった。そこで精製する粗抽出液と装置への注入量を減らすことで、試料中の夾雑物の影響を低減できるか確認した。

ここでは、〔低い回収率の原因の検討①〕で調製した粗抽出液の分取量を底質試料 0.5 g-dry に相当する 0.5 mL に、さらに装置への注入量を 10 μ L から 1 μ L に変更し、装置に注入する底質試料相当量を〔低い回収率の原因の検討①〕の 50 mg-dry から 0.5 mg-dry に減らした。検討は〔低い回収率の原因の検討①〕の「1-1. イオン化抑制の確認①」と「2. 精製による対象物質の損失分の確認」について行った。なお、添加する標準液を増やし、装置に注入される対象物質の量は〔低い回収率の原因の検討①〕と同程度にした。

1. イオン化抑制の確認

〔低い回収率の原因の検討①〕の「1-1. イオン化抑制の確認①」と同様に粗抽出液を精製した。得られた 1 mL の試験液から 450 μ L を分取し、NPE、NPE1- 13 C₂ 及び NPE2- 13 C₂ をそれぞれ 200 ng 添加して 1 mL に定容後に、それぞれに含まれる物質を定量した（各 NPE の濃度は実試料濃度 890 ng/g-dry、試験液中濃度 200 ng/mL、装置への注入量は 200 pg）。

2. 精製による対象物質の損失分の確認

〔低い回収率の原因の検討①〕の「2. 精製による対象物質の損失分の確認」と同様に試験液を調製した。試験液の NPE、NPE1- 13 C₂ 及び NPE2- 13 C₂ の添加量はそれぞれ 400 ng にした（各 NPE の濃度は試料換算濃度 2 μ g/g-dry、試験液中濃度 400 ng/mL、装置への注入量は 400 pg）。底質試料抽出液を用いた 3 つの試験液のうち 2 つの最終試験液に白い沈殿がみられたため、シリンジフィルターでろ過してから機器分析に供した。

各検討項目の NPE1 の回収率を図 21 に示す。「1.」の結果から、機器分析においては夾雑物の影響は見られなかった。これは NPE2～NPE15 全ての同族体においても同様の結果を得た。また、「2.」の結果から、夾雑物の精製過程において対象物質の損失が見られた。精製による損失は EO の負荷モル数が小さい同族体において多くなる傾向が見られた。

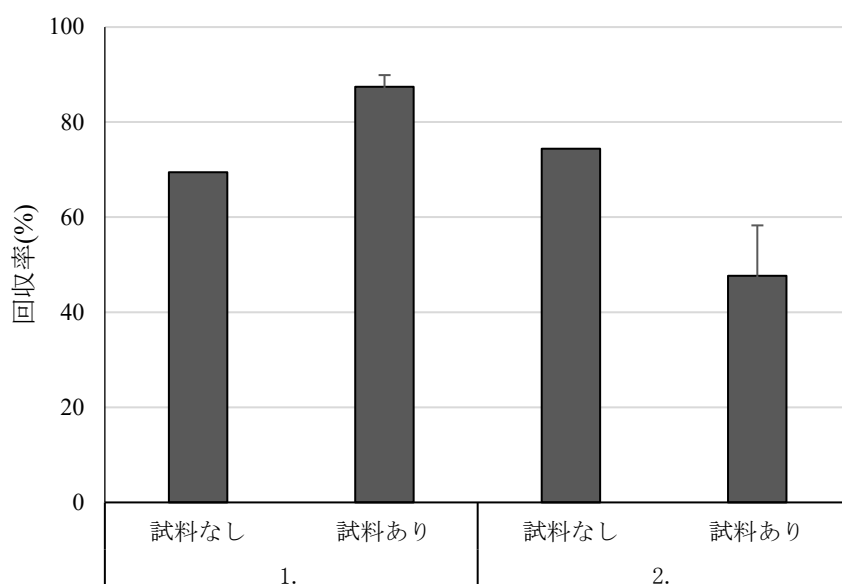


図 21 NPE1 の定量に対する夾雑物の影響 (試料量 0.5 g 相当)

〔低い回収率の原因の検討①〕及び〔低い回収率の原因の検討②〕の結果から、精製する粗抽出液は底質試料 0.5 g-dry 相当分とし、装置への注入量は 1 μ L (底質試料 0.5 mg-dry 相当) とすることにした。

また、精製過程での損失が多い NPE1 と NPE2 にはそれぞれ ^{13}C の安定同位体があり、サロゲートとして利用することが期待できる。各試験液で対象物質とサロゲートの応答値の比がばらつくかどうか確認した。結果を図 22-1 及び図 22-2 に示す。対象物質とサロゲートの応答値の比は夾雑物があってもなくてもほぼ同じであったため、NPE1- $^{13}\text{C}_2$ と NPE2- $^{13}\text{C}_2$ をサロゲートに利用し、底質試料 0.5 g-dry 相当の粗抽出液を精製することにした。

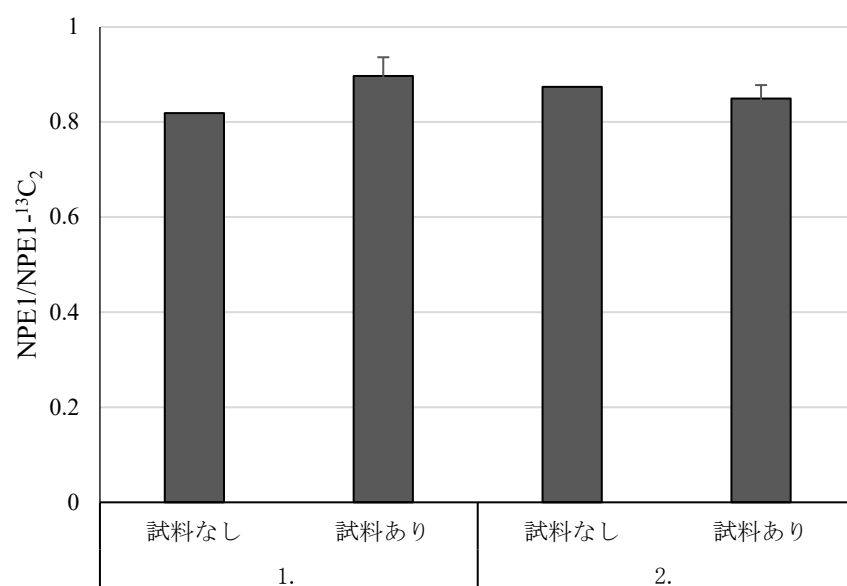


図 22-1 NPE1 と NPE1-¹³C₂ の応答値の比

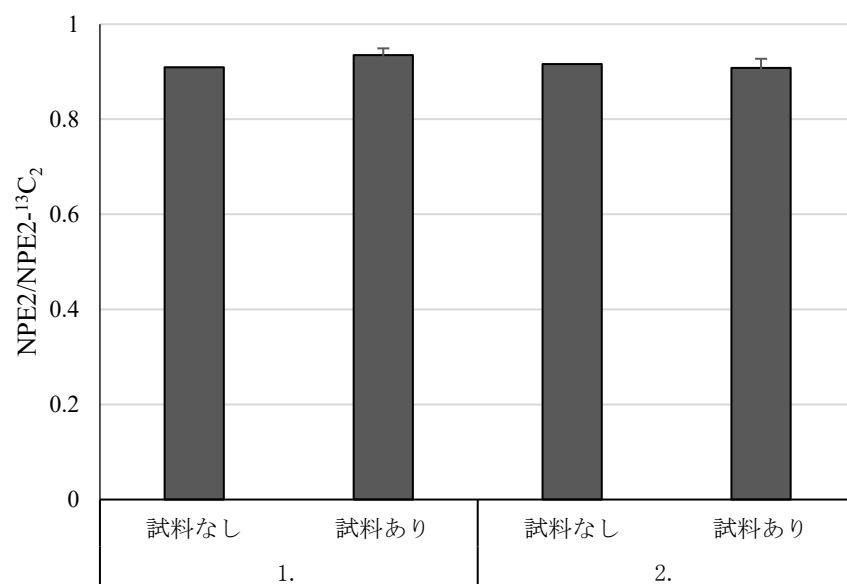


図 22-2 NPE2 と NPE2-¹³C₂ の応答値の比

〔回収率の確認〕

〔実試料への適用性－試料量への検討〕における添加回収試験から、固相抽出法による粗抽出液の精製過程で EO の付加モル数が小さい同族体の損失があることを確認した。一方、MDL 算出のための添加回収試験と【分析法】〔添加回収試験〕の添加回収試験では EO の付加モル数が大きい同族体の回収率が低い傾向が見られた（図 23）。

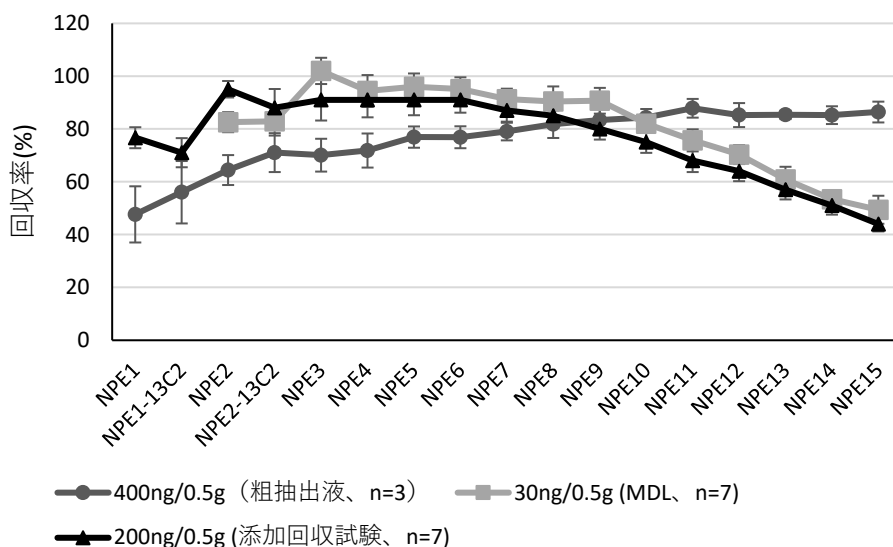


図 23 添加濃度の違いによる回収率の変化
(NPE1 と NPE2 の回収率はサロゲートによる補正をしていない)

EO の付加モル数が小さい同族体については、〔実試料への適用性－試料量への検討〕〔試料量 5 g-dry、粗抽出液全量を精製〕において、底質試料量 5 g-dry 分の粗抽出液を EDS-1 カラムに負荷させても NPE2-¹³C₂ の破過は見られなかったため、底質試料 0.5 g-dry 分の粗抽出液の精製においても NPE2 の破過は起きていないと考えられる。GCB カラムからの溶出では、GCB からは EO の付加モル数が小さい同族体から溶出するうえ、GCB に通液したもの全てを回収しているので、EO の付加モル数が小さい同族体の損失は考えにくい。一方、ナトリウムイオンとの数種の付加体の生成により回収率が低かった可能性があり¹¹⁾、試験液の状態によってはこれらの同族体の濃度を過小評価する可能性がある。

EO の付加モル数の大きい同族体については、Loyo-Rosales らはガラス器具、固相抽出カラム、試料粒子への吸着の可能性を指摘している¹²⁾。〔前処理方法確立のための検討〕における各検討事項で示したとおり、底質試料がない条件では十分な回収率を得ていることから、試料粒子への吸着の他、試料抽出液中の夾雑

物による回収率の低下が考えられる。後者については、粗抽出液への添加回収試験において 80%以上の回収率を得ていたため（図 23）、粗抽出液の調製過程におけるヘキサン洗浄での損失が考えられる。そこで、EO の付加モル数の大きい同族体の低い添加回収の原因とその対策を検討するために、次の検討を行った。

〔ヘキサン洗浄過程における夾雑物の影響〕

底質試料アルカリ抽出液のヘキサン洗浄過程における対象物質の損失を確認するため、NPE 標準液を添加した底質試料アルカリ抽出液をヘキサン洗浄し、ヘキサン層に移行する NPE の濃度を定量した。

底質試料 10 g-dry 相当のアルカリ抽出液 80 mL に 2 µg/mL NPE 標準液 0.5 mL を添加し、ヘキサン 20 mL で洗浄した。ヘキサン層の 1/10 を分取し、メタノール/精製水の混合溶媒に転溶媒、定容した。転溶媒により試験液中に沈殿が生成したためシリンジフィルターで除き、機器分析に供した。この試験液からは NPE は検出されなかった。NPE の MDL は 7.3 ~ 16 ng/g-dry で、試料量は 10 g-dry、最終液量は 20 mL であることから、MDL の試験液換算濃度は 3.7 ~ 8.0 ng/mL である。検討に用いた NPE の全てがヘキサン層に移行した場合の試験液濃度は 100 ng/mL であるため、NPE のヘキサン層への移行率は 8%未満である。

〔アルカリ抽出後の残渣試料からの回収〕

Loyo-Rosales らは対象物質が試料粒子に吸着している可能性を指摘している。そこで、アルカリ抽出後の残渣試料に NPE が残っているか、各種溶媒を用いた超音波抽出により確認した。

〔添加回収試験〕（底質試料 10 g-dry に対し、各同族体を 4000 ng ずつ添加）の 1 mol/L 水酸化カリウム-メタノール溶液によるアルカリ抽出後の残渣試料を図 24 に示すスキームにより、各溶媒による超音波抽出によって得られる NPE を定量した。アルカリ抽出後の残渣からの回収溶媒はメタノールを使用した。これは、残渣中に残っている可能性がある水酸化カリウムを回収するためである。残渣 2 からの回収溶媒はアセトン次いでジクロロメタンを使用した。最初にアセトンを選択したのは、残渣に残っている可能性がある水分を除くためである。次にジクロロメタンを選択し、トルエンを選択しなかったのは GCB に負荷した NPE（静電的相互作用で GCB に吸着）の溶出にジクロロメタンが利用でき、土壌・底質粒子に静電的相互作用で強く吸着した NPE をジクロロメタンで回収できると期待したためである。

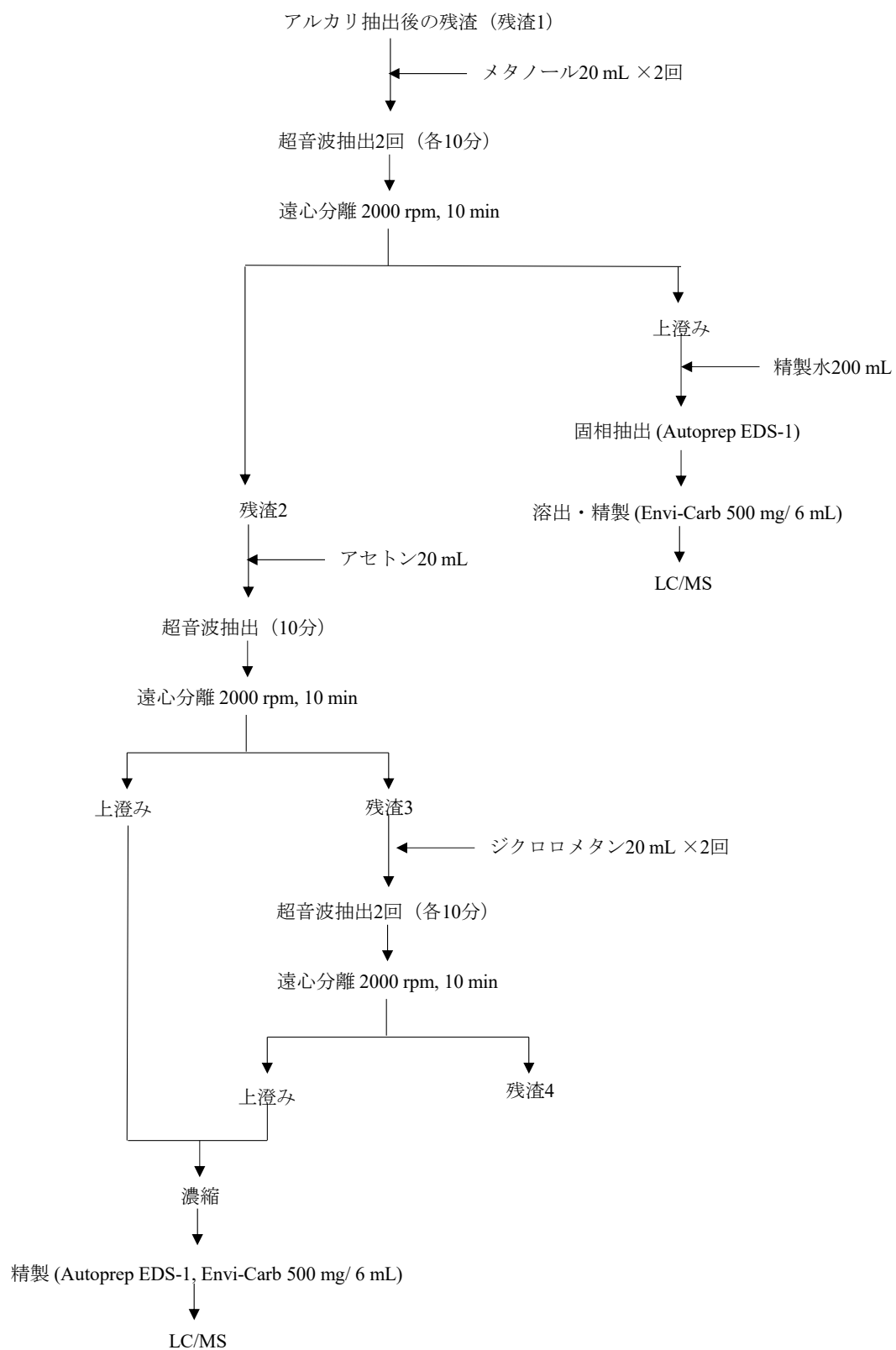


図 24 底質試料のアルカリ抽出残渣からの回収スキーム

各抽出操作による NPE の回収率を図 25-1 から図 25-2 に示す。ここでは MDL 未満の定量値をゼロとし、MDL 以上 MQL 未満の定量値はそのまま用いて回収率を算出した。

アルカリ抽出後の残渣からのメタノールによる回収では、どの物質も平均で 5%程度の回収率を得たが、回収率のばらつきが大きかった（図 25-1）。

残渣 2 からのアセトンとジクロロメタンによる回収では、EO の付加モル数が大きい物質の回収率が高い傾向が見られたが、最も高い回収率が 4%であったのに対し、ばらつきが大きかった。

以上の結果から、EO の付加モル数が大きい物質の回収率が低い要因は、底質試料への強い吸着によるもので、抽出方法を変更しても抽出率の向上は見込めないと判断した。なお、分子の底質試料表面への吸着は底質試料の性状に強く影響されると考えられるため、試料により回収率は大きく異なる可能性がある。

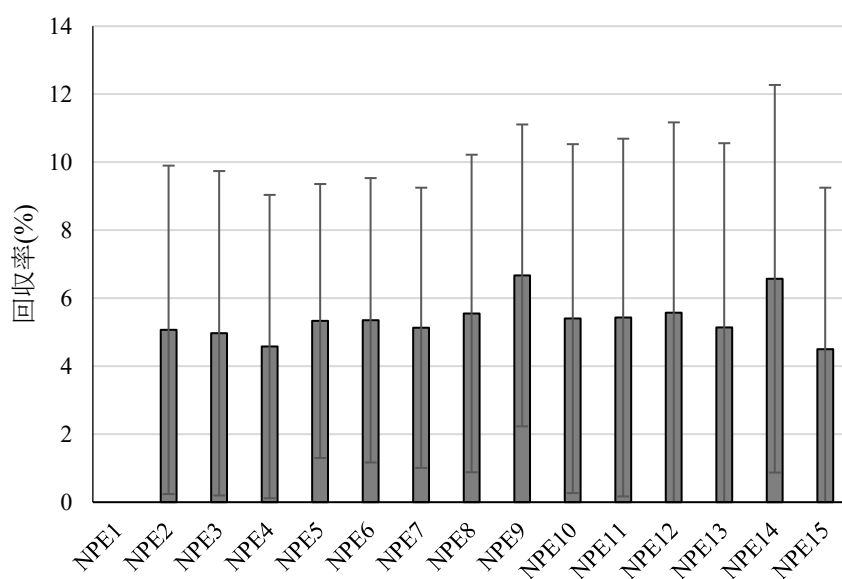


図 25-1 残渣 1 からの回収率
(抽出溶媒はメタノール)

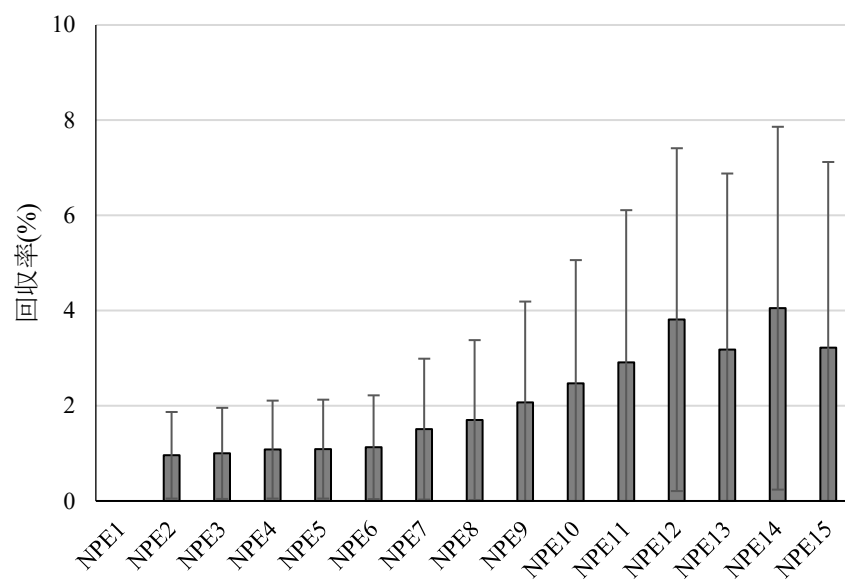


図 25-2 残渣 2 及び残渣 3 からの回収率
(抽出溶媒はアセトンとジクロロメタン)

【参考資料】

〔NPE1 及び NPE2 も含めた一斉分析法の検討〕

本法ではノニルフェノールに EO が付加した一連の同族体を対象にしているため、NPE1 及び NPE2 も同時分析できる分析法の確立を目指し、分析対象同族体と同時に検討を重ねた。ここではこれまでに記載しなかった検討結果について示す。なお、ここに記載のない検討事項については本法の対象物質に係る検討結果と合わせて次項以降に記載する。

〔分子量及びモノアイソトピック質量〕

対象物質の 略記	オキシフェノールの付 加モル数	分子式	分子量	モノアイソトピック 質量
NPE1	1	C ₁₇ H ₂₈ O ₂	264.4030	264.2089
NPE2	2	C ₁₉ H ₃₂ O ₃	308.4556	308.2351

〔検量線用標準液〕

〔検量線用標準液〕に記載した各検量線用標準液にサロゲート内標準として NPE1-¹³C₂ 及び NPE2-¹³C₂ をそれぞれ 1000 ng/mL 及び 50 ng/mL になるように添加した。

〔前処理法〕

【試料の前処理及び試験液の調製】の操作において、250 mL 遠心管に採った底質試料 10 g-dry に、10 µg/mL NPE1-¹³C₂ を 2 mL、1 µg/mL NPE2-¹³C₂ を 1 mL 添加し十分に攪拌してから 1 mol/L 水酸化カリウム-メタノール溶液による抽出を行った。なお、NPE1-¹³C₂ 及び NPE2-¹³C₂ の標準原液には林純薬工業製ノニルフェノールジエトキシレート-¹³C₂ 及びノニルフェノールモノエトキシレート-¹³C₂ 標準溶液（それぞれ 1000 µg/mL、1000 µg/mL。いずれもメタノール溶液）を用いた。

〔測定〕

【測定】に記載した条件で測定した。NPE1、NPE2 及びそれぞれのサロゲート物質のイオン化条件を表に示す。

イオン化条件

物質名	プレカーサーイオン (<i>m/z</i>)	プロダクトイオン (<i>m/z</i>)	フラグメンター 電圧(V)	CE	イオン種 ¹⁾
NPE1	282.2	127.1 (定量)	90	5	C ₉ H ₁₉ ⁺
		71.1 (確認)		25	C ₅ H ₁₁ ⁺
NPE2	326.3	183.3 (定量)	100	4	[C ₆ H ₅ (OCH ₂ CH ₂) ₂ OH+H] ⁺
		120.9 (確認)		15	[C ₆ H ₅ OC=C+H] ⁺
NPE1- ¹³ C ₂	284.0	127.1	90	5	H ₁₃ C ₆ (CH ₃) ₂ C ⁺
NPE2- ¹³ C ₂	328.2	185.0	100	4	[C ₆ H ₅ (OCH ₂ CH ₂) ₂ OH+H] ⁺ の C のうち 2 つが ¹³ C

[検量線]

〔検量線〕と同様に検量線用標準液 1.0 μL を LC/MS/MS に注入した。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、検量線を作成した。

[定量]

試験液 1.0 μL を LC/MS/MS に注入した。対象物質とサロゲート内標準のピーク面積の比を検量線に照らして定量した。

[濃度の算出]

底質試料中の NPE1 及び NPE2 の濃度 *C_n* (ng/g-dry)は次式により算出した。

$$C_n \text{ (ng/g-dry)} = R_n \cdot Q_n/V$$

R_n : 検量線から求めたサロゲート内標準物質に対する対象物質の濃度比

Q_n : 底質試料に添加したサロゲート内標準物質の量 (ng)

V : 試料量 (g-dry)

ここでは、

$$Q1 = 20000 \text{ (ng)}$$

$$Q2 = 1000 \text{ (ng)}$$

$$V = 10 \text{ (g-dry)}$$

即ち、

$$C1 = R1 \times 2000 \text{ (ng/g-dry)}$$

$$C2 = R2 \times 100 \text{ (ng/g-dry)}$$

である。

[IDL の算出]

NPE1 及び NPE2 の IDL の算出結果を表 9 に示す。また、IDL の算出時のクロマトグラムを図 26-1 及び図 26-2 に示す。

表 9 NPE1 及び NPE2 の IDL 算出結果

対象物質名	NPE1	NPE2
試料量 (g-dry)	10	10
最終液量 (mL)	20	20
注入液濃度 (ng/mL)	200	10
注入量 (pg)	200	10
装置注入液量 (μL)	1.0	1.0
結果 1 (pg)	196	8.67
結果 2 (pg)	220	10.2
結果 3 (pg)	196	8.76
結果 4 (pg)	190	9.34
結果 5 (pg)	186	9.20
結果 6 (pg)	190	7.12
結果 7 (pg)	204	8.10
平均値 (pg)	197.4	8.77
標準偏差 (σ_{n-1}) (pg)	11.5	0.978
IDL (pg)*	45	3.8
IDL 試料換算値 (ng/g-dry)	90	7.6
S/N 比	6.9	6.9
CV (%)	5.8	11

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

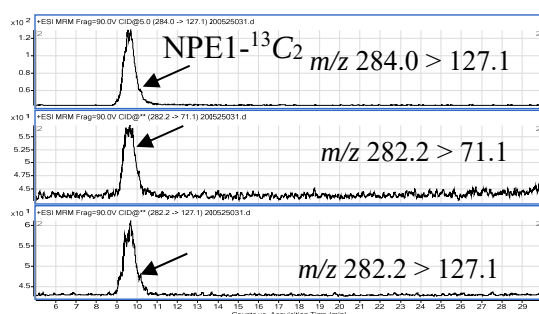


図 26-1 NPE1 の IDL 測定時のクロマトグラム (200 ng/mL)

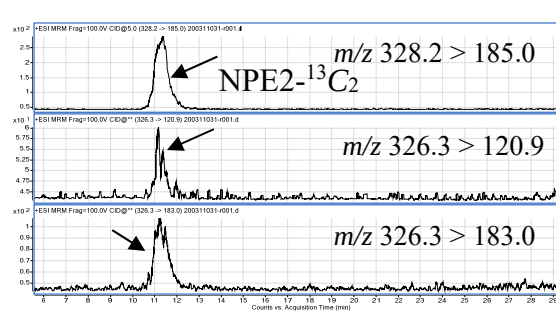


図 26-2 NPE2 の IDL 測定時のクロマトグラム (10 ng/mL)

[MDL 及び MQL の算出]

NPE1 及び NPE2 の MDL 及び MQL の算出結果を表 10-1 及び表 10-2 に示す。
また、算出時のクロマトグラムを図 27-1 及び図 27-2 に示す。

表 10-1 NPE1 の MDL 及び MQL の算出結果*1

対象物質名	NPE1	補正後 回収率(%)	サロゲート 回収率(%)
試料	乾燥底質	-	-
試料量 (g-dry)	10	-	-
標準添加量 (ng)	4000	-	-
試料換算濃度 (ng/g-dry)	400	-	-
最終液量 (mL)	20	-	-
注入液濃度 (ng/mL)	400	-	-
装置注入液量 (μL)	1.0	-	-
操作ブランク平均 (ng/g-dry)*2	< 12	-	-
無添加平均 (ng/g-dry)*3	< 12	-	65
結果 1 (ng/g-dry)	432	108	78
結果 2 (ng/g-dry)	426	107	61
結果 3 (ng/g-dry)	461	115	69
結果 4 (ng/g-dry)	435	109	70
結果 5 (ng/g-dry)	415	104	71
結果 6 (ng/g-dry)	432	108	72
結果 7 (ng/g-dry)	413	103	76
平均値 (ng/g-dry)	430.6		71.0
標準偏差 (σ _{n-1}) (ng/g-dry)	15.9		
MDL (ng/g-dry)*4	62		
MQL (ng/g-dry)*5	160		
S/N 比	7.8		
CV (%)	3.7		

*1： 定量結果は、サロゲート法により補正した値である。

*2： 空試験液を測定した値の平均値 (n=3)

*3： 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)

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

*5： $MQL = \sigma_{n-1} \times 10$

表 10-2 NPE2 の MDL 及び MQL の算出結果*1

対象物質名	NPE2	補正後 回収率(%)	サロゲート 回収率(%)
試料	乾燥底質	-	-
試料量 (g-dry)	10	-	-
標準添加量 (ng)	600	-	-
試料換算濃度 (ng/g-dry)	60	-	-
最終液量 (mL)	20	-	-
注入液濃度 (ng/mL)	30	-	-
装置注入液量 (μL)	1.0	-	-
操作ブランク平均 (ng/g-dry)*2	< 12	-	88
無添加平均 (ng/g-dry)*3	< 12	-	78
結果 1 (ng/g-dry)	71.2	119	77
結果 2 (ng/g-dry)	65.8	110	93
結果 3 (ng/g-dry)	71.2	119	81
結果 4 (ng/g-dry)	72.2	120	82
結果 5 (ng/g-dry)	75.1	125	79
結果 6 (ng/g-dry)	69.1	115	81
結果 7 (ng/g-dry)	67.3	112	87
平均値 (ng/g-dry)	70.27		82.9
標準偏差 (σ_{n-1}) (ng/g-dry)	3.13		
MDL (ng/g-dry)*4	12		
MQL (ng/g-dry)*5	31		
S/N 比	11		
CV (%)	4.5		

*1 : 定量結果は、サロゲート法により補正した値である。

*2 : 空試験液を測定した値の平均値 (n=3)

*3 : 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)

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

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

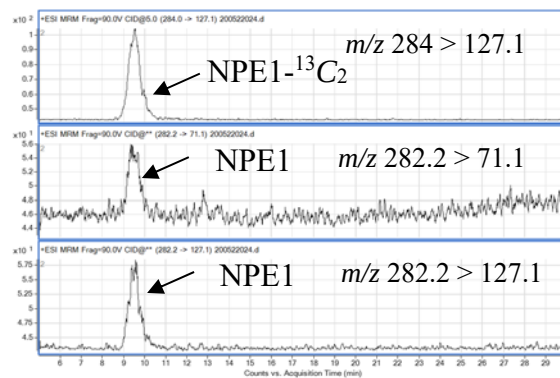


図 27-1 NPE1 の MDL 測定時のクロマトグラム (NPE1-¹³C₂ 1000 ng/mL)

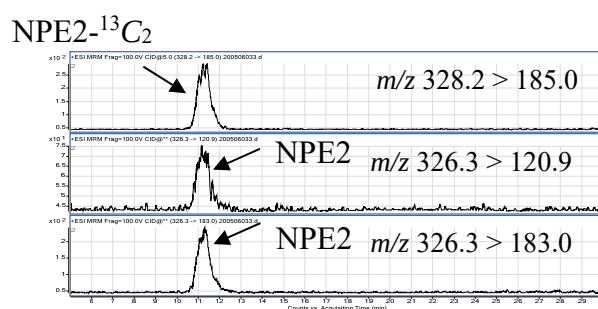


図 27-2 NPE2 の MDL 測定時のクロマトグラム (NPE2-¹³C₂ 50 ng/mL)

[検量線]

NPE1 及び NPE2 の検量線を図 28-1 から図 28-2-2 に、検量線作成用データを表 11-1 から表 11-2 に示す。なお、各同族体の濃度が 1000 ng/mL の標準液のクロマトグラムは図 5 に示した。

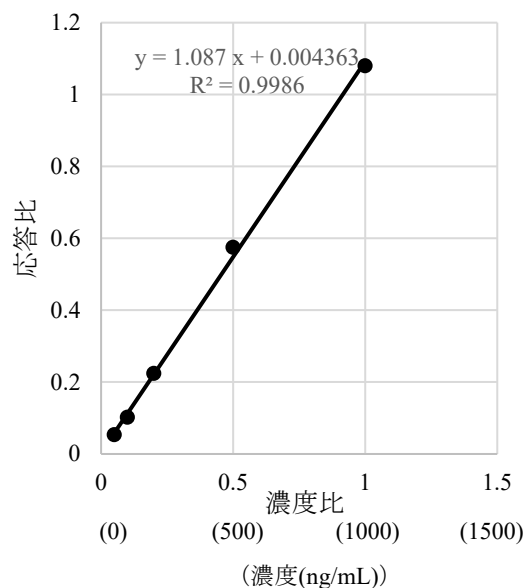


図 28-1 NPE1 の検量線

(50～1000 ng/mL、サロゲート内標準物質：1000 ng/mL)

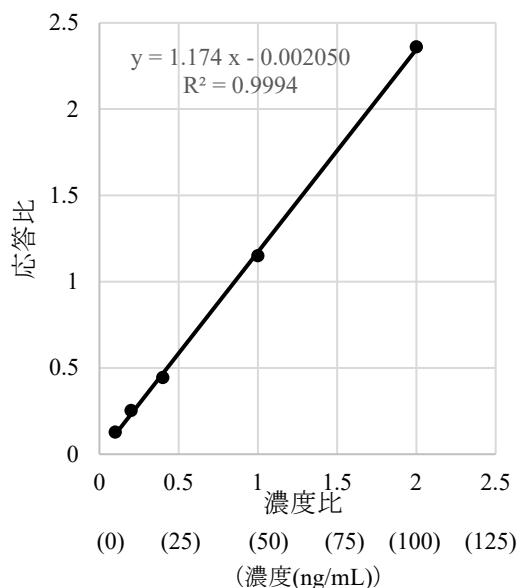


図 28-2-1 NPE2 の低濃度検量線

(5.0～100 ng/mL、

サロゲート内標準物質：50 ng/mL)

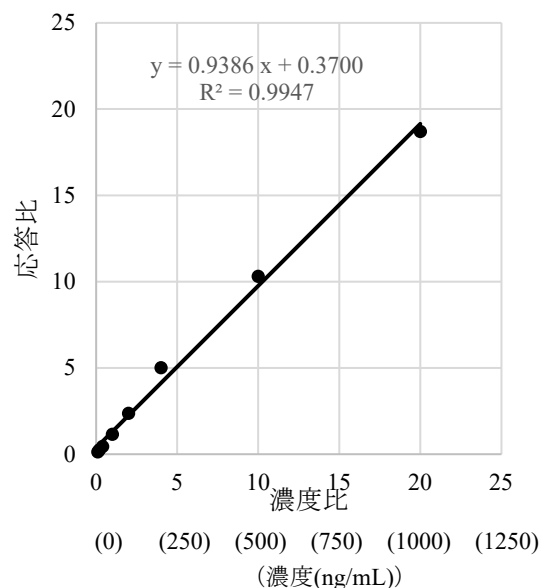


図 28-2-2 NPE2 の高濃度検量線

(5.0～1000 ng/mL、

サロゲート内標準物質：50 ng/mL)

表 11-1 NPE1 の検量線作成用データ

標準液 濃度 (ng/mL) (Cs)	濃度比 (Cs/Cis*)	応答値		応答比 (As1/Ais1)
		対象物質(As1)	内標準物質(Ais1)	
		【NPE1】 (m/z 282.2 > 127.1)	【NPE1- ¹³ C ₂ 】 (m/z 284.0 > 127.1)	
50	0.050	169	3154	0.0536
100	0.10	326	3196	0.102
200	0.20	719	3205	0.224
500	0.50	1882	3273	0.575
1000	1.0	3769	3486	1.08

Cis* : サロゲート内標準物質濃度 1000 ng/mL

表 11-2 NPE2 の検量線作成用データ

標準液 濃度 (ng/mL) (Cs)	濃度比 (Cs/Cis*)	応答値		応答比 (As2/Ais2)
		対象物質(As2)	内標準物質(Ais2)	
		【NPE2】 (m/z 326.3 > 183.0)	【NPE2- ¹³ C ₂ 】 (m/z 328.0 > 185.0)	
5.0	0.10	1241	9696	0.128
10	0.20	2430	9609	0.253
20	0.40	4667	10521	0.444
50	1.0	11063	9632	1.15
100	2.0	22379	9478	2.36
200	4.0	47135	9413	5.01
500	10	113079	11008	10.3
1000	20	237894	12708	18.7

Cis* : サロゲート内標準物質濃度 50.0 ng/mL

[マスペクトル]

NPE1、NPE2 及びサロゲート内標準物質のリテンションタイムの時間帯のマスペクトルを図 29-1-1-1 から図 29-2-2-2 に示す。また、4-*n*-NPE1 と 4NPE2 のマスペクトルについても同様に図 30-1-1 から図 30-2-2 に示す。

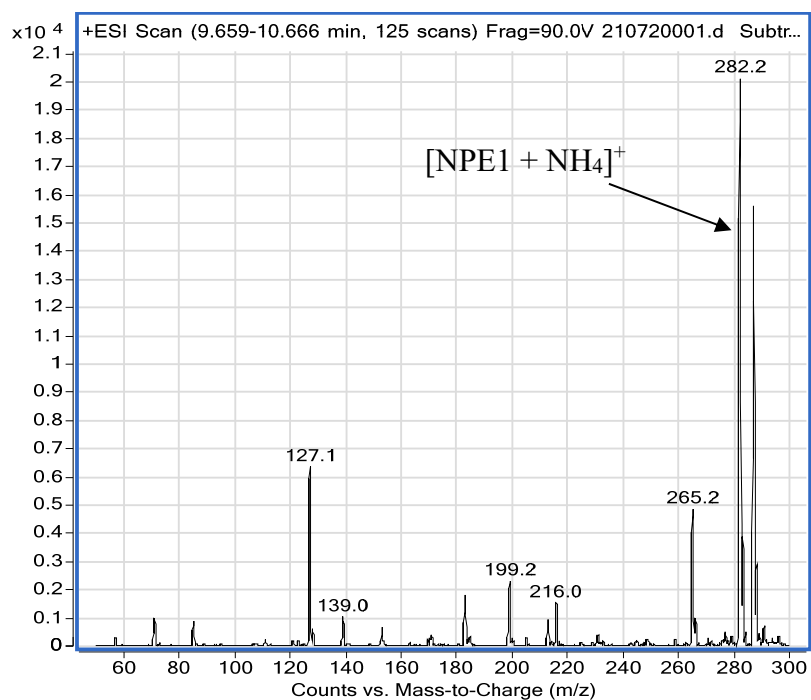


図 29-1-1-1 NPE1 のマススペクトル
(フラグメンター電圧は 90 V)

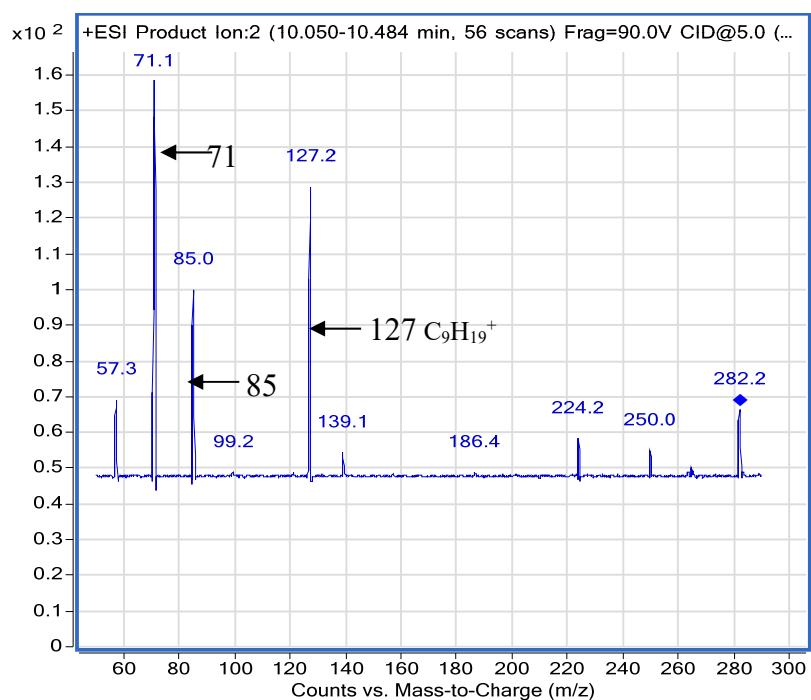


図 29-1-1-2 NPE1 の m/z 282.2 をプレカーサーイオンとしたプロダクトイオン
(フラグメンター電圧は 90 V、CE は 5)

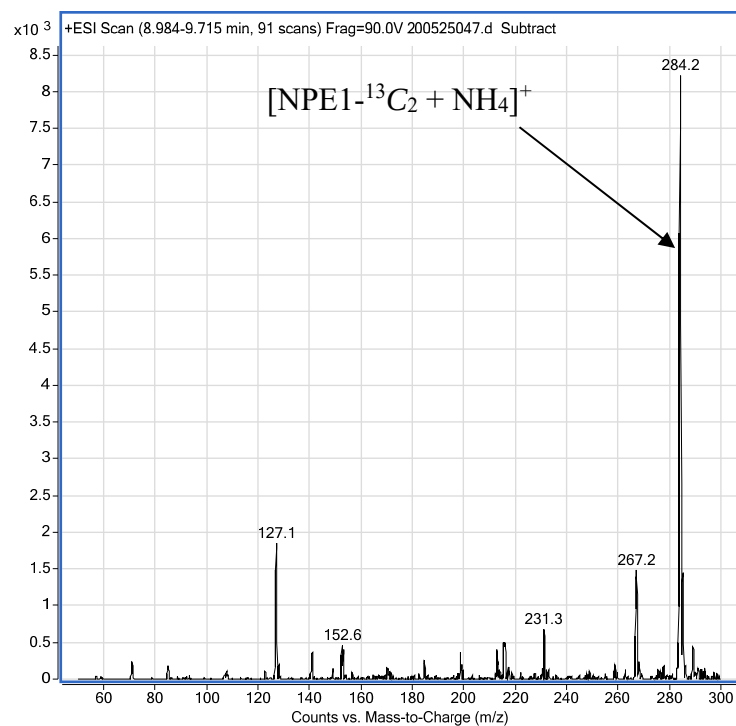


図 29-1-2-1 NPE1- $^{13}C_2$ のマススペクトル
(フラグメンター電圧は 90 V)

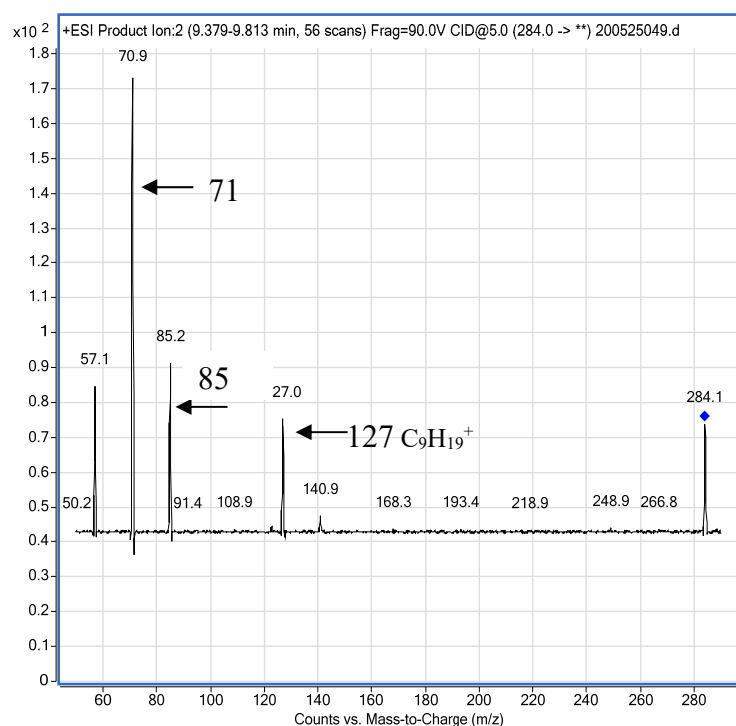


図 29-1-2-2 NPE1- $^{13}C_2$ の m/z 284.0 をプレカーサーイオンとしたプロダクトイオン
(フラグメンター電圧は 90 V、CE は 10)

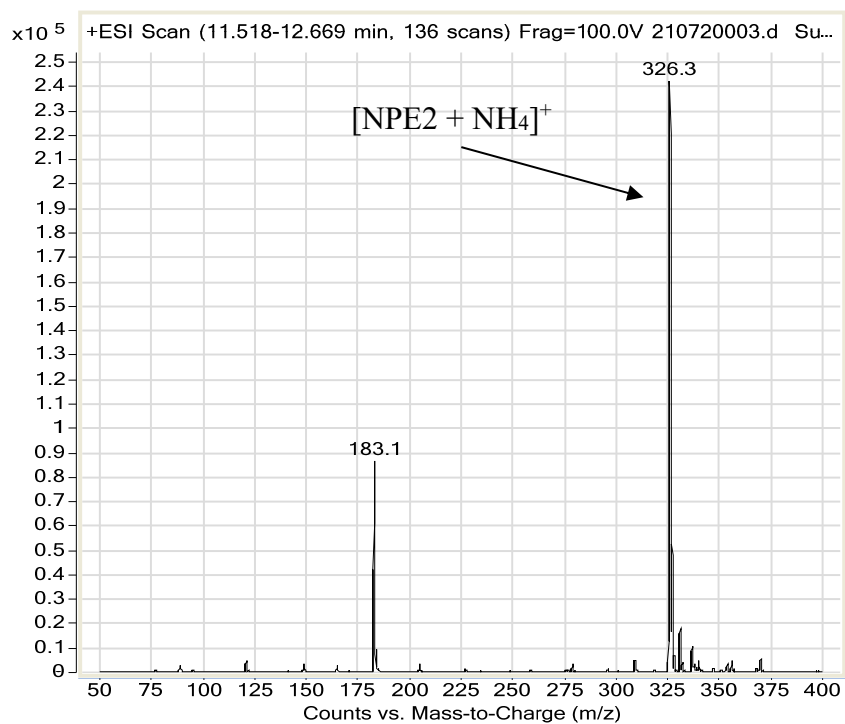


図 29-2-1-1 NPE2 のマススペクトル
(フラグメンター電圧は 100 V)

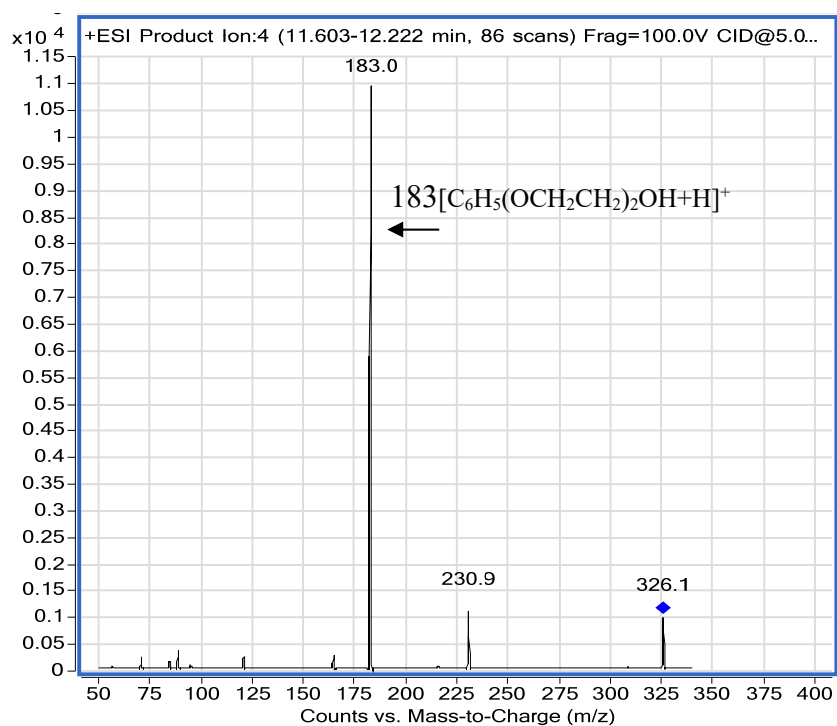


図 29-2-1-2 NPE2 の m/z 326.3 をプレカーサーイオンとしたプロダクトイオン
(フラグメンター電圧は 100 V、CE は 5)

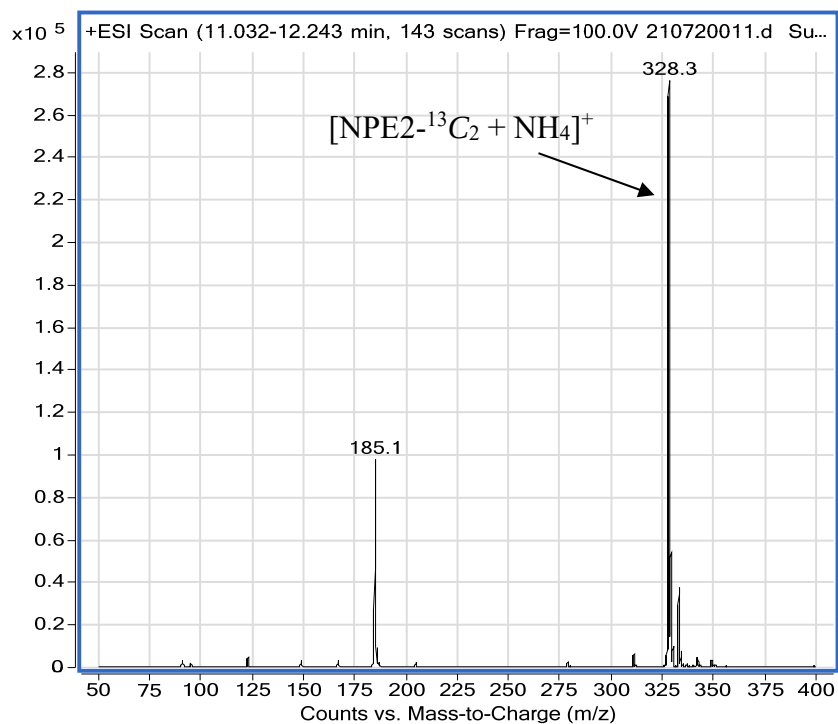


図 29-2-2-1 NPE2- $^{13}\text{C}_2$ のマススペクトル
(フラグメンター電圧は 100 V)

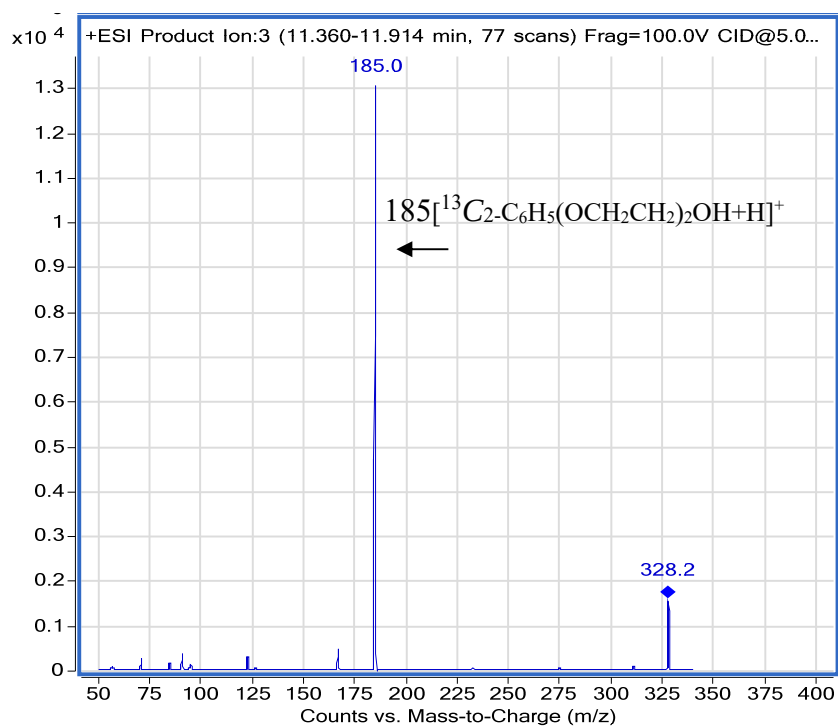


図 29-2-2-2 NPE2- $^{13}\text{C}_2$ の m/z 328.2 をプレカーサーイオンとしたプロダクトイオン
(フラグメンター電圧は 100 V、CE は 5)

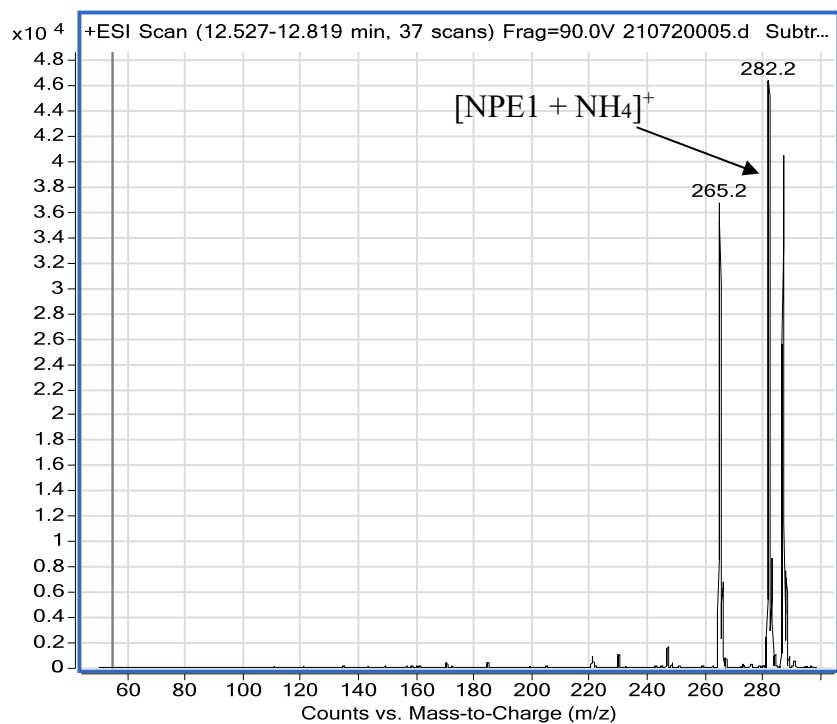


図 30-1-1 4-*n*-NPE1 のマスペクトル
(フラグメンター電圧は 90 V)

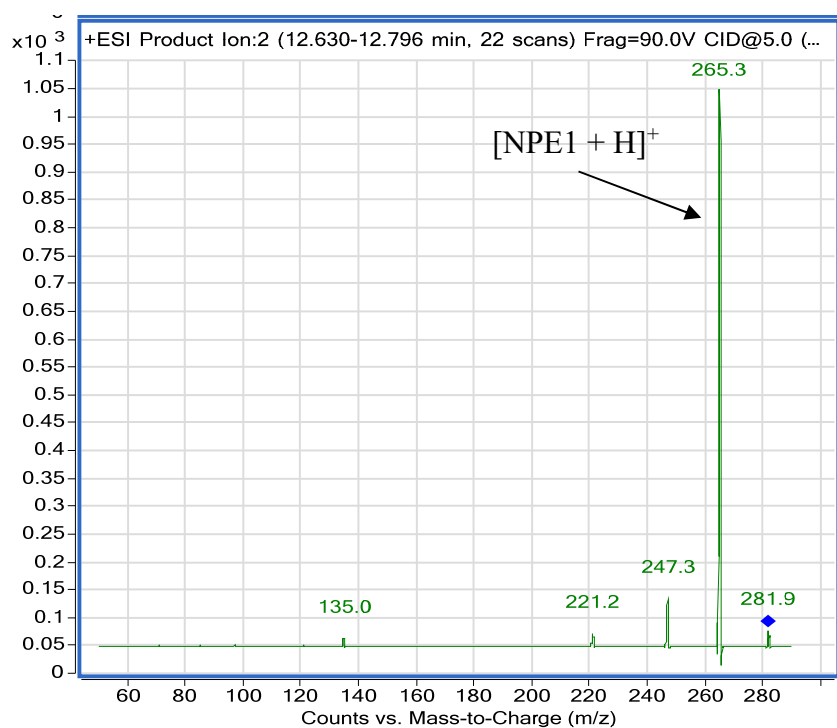


図 30-1-2 4-*n*-NPE1 の m/z 282.2 をプレカーサーイオンとしたプロダクトイオン
(フラグメンター電圧は 90 V、CE は 5)

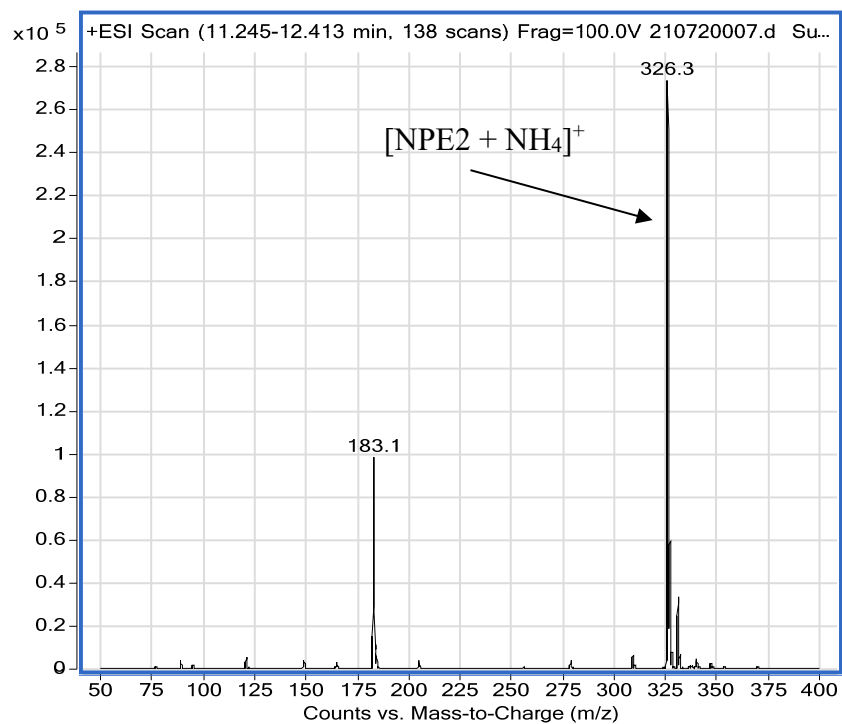


図 30-2-1 4- NPE2 のマスペクトル
(フラグメンター電圧は 100 V)

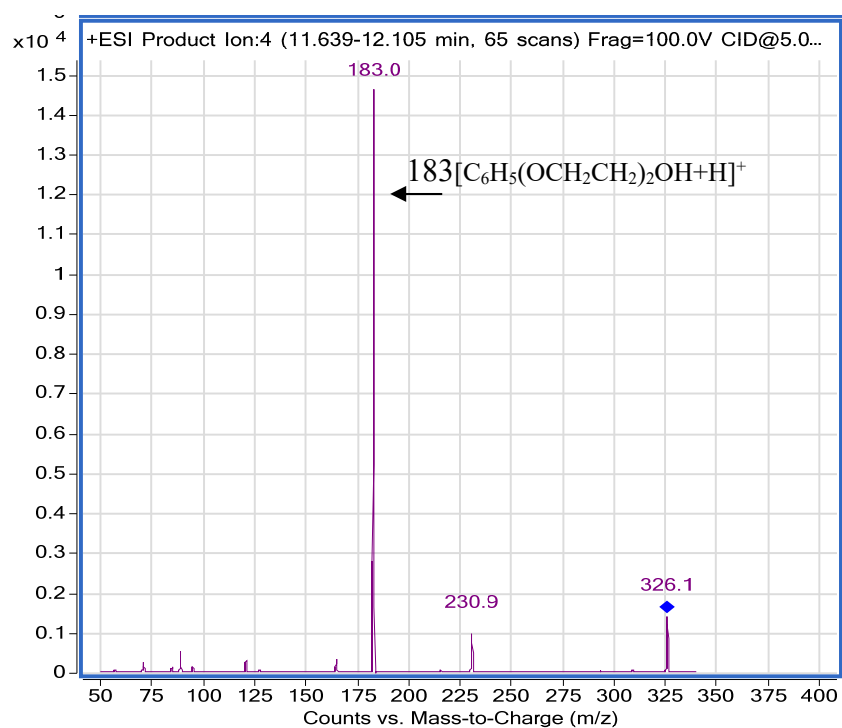


図 30-2-2 4- NPE2 の m/z 326 をプレカーサーイオンとしたプロダクトイオン
(フラグメンター電圧は 100 V、CE は 5)

[操作ブランク]

【空試験液の調製】で調製した空試験液（n=2）からはNPE1及びNPE2どちらも検出されなかった。この試験液のクロマトグラムを図31-1から図31-2に示す。なお、ここでのNPE1-¹³C₂の添加量は2.0 µgである。

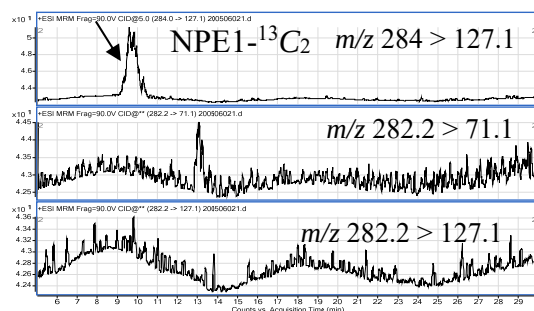


図31-1 空試験試料のクロマトグラム（NPE1）

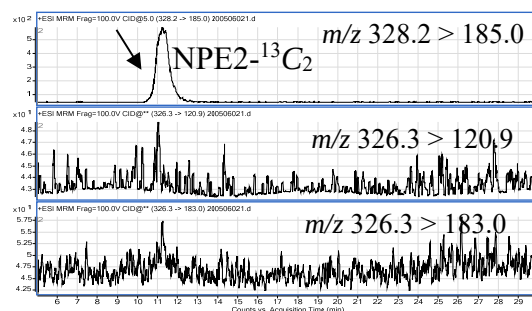


図31-2 空試験試料のクロマトグラム（NPE2）

[添加回収試験]

【添加回収試験】で行った操作における NPE2 に係る結果を表 12 に、クロマトグラムを図 32-1 及び図 32-2 に示す。なお、NPE1 の添加回収試験は行わなかった。

表 12 添加回収試験結果

物質名	試料	試料量 (g-dry)	添加量 (ng)	試験数	検出濃度* (ng/g-dry)	回収率* (%)	変動係数 (%)	サロゲート 回収率 (%)
		10	0	3	< 12	-	-	-
NPE2	底質	10	600	7	70.3	117	4.5	83
		10	4000	7	432	108	2.9	88

*：検出濃度及び回収率はサロゲート補正後の値

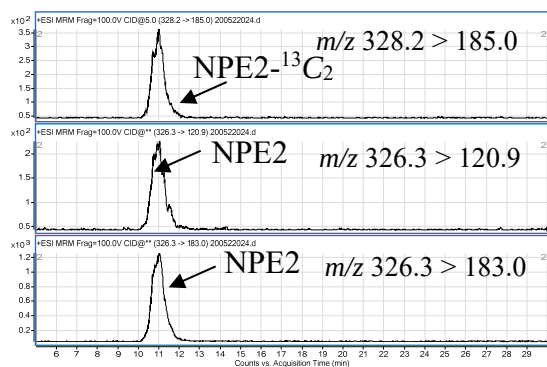


図32-1 添加回収試験試料のクロマトグラム (NPE2)

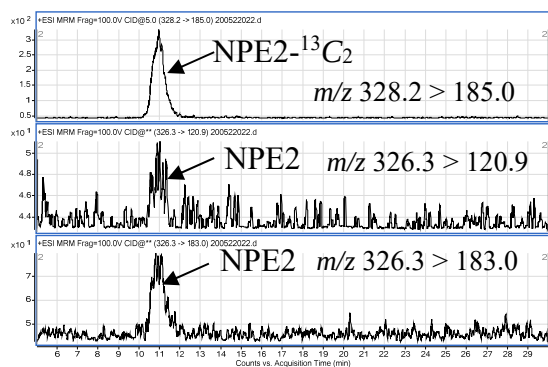


図32-2 無添加試料のクロマトグラム (NPE2)

NPE2は検出下限未満

〔保存性試験〕

〔保存性試験〕で行った操作における NPE1 及び NPE2 に係る結果を表 13 に示す。

表 13 保存性試験結果

試料名		調製濃度* ¹ (ng/g-dry また は ng/mL)	検出濃度(ng/g-dry) (残存率(%)* ²)		
			保存前	14 日後	75 日後
底質粗抽出液	NPE1	400	300	300 (100)	-
	NPE2	400	340	320 (94)	
標準液	NPE1	200	-	-	180 (90)
	NPE2	200	-	-	180 (90)
標準液	NPE1	1000	-	-	890 (89)
	NPE2	1000	-	-	910 (91)

*1：底質試料については底質試料への添加濃度、標準液については調製濃度。

*2：底質試料粗抽出液については保存前の検出濃度に対する保存後の検出濃度の割合。

〔環境試料の分析〕

苫小牧港内で採取した底質試料からは、定量下限値以上の NPE3～15 の同族体は検出されなかった。クロマトグラムを図 8-2-1 から図 8-2-13 に示す。

【評価】

底質中に含まれる α -(ノニルフェニル)- ω -ヒドロキシポリ(オキシエチレン)の分析法を開発した。この物質は多数の同族体の混合物であり、本法では EO の付加モル数が 3 から 15 の同族体を対象とした。各同族体の MDL は 7.3～16 ng/g-dry、MQL は 19～41 ng/g-dry であり、総 MDL 及び総 MQL は 140 ng/g-dry 及び 360 ng/g-dry であった。また、操作ブランクは検出されなかった。底質試料の粗抽出液及び検量線作成用標準液の試料の保存性は良好で、粗抽出液は 14 日間、検量線作成用標準液は 75 日間の保管後も分解が見られなかった。添加回収試験では、EO の付加モル数が大きくなると回収率が低くなる傾向が見られた。これは、底質試料に吸着した分子の脱離が十分ではないためと考えられるが、その解決には至らなかった。なお、本法の対象物質の同族体である NPE1 及び NPE2 については、本法による同時分析を試みたが、回収率が安定せず、同時分析法の確立には至らなかった。

【参考文献】

- 1) Loyo-Rosales, J. E., Schmitz-Afonso, I., Rice, C. P. and Torrents, A.: Analysis of Octyl- and Nonylphenol and Their Ethoxylates in Water and Sediments by Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry, *Anal. Chem.*, **75**, pp4811-4817, 2003
- 2) 環境庁環境保健部環境安全課：非イオン系界面活性剤, pp228-241, 「平成 9 年度化学物質分析法開発調査報告書」, (1998)
- 3) 環境庁環境安全課：LC/MS における試料処理, pp79-95, 「LC/MS を用いた化学物質分析法開発マニュアル」 (<http://www.env.go.jp/chemi/anzen/lcms/>)
- 4) 環境省 水・大気環境局：界面活性剤, pp7285-303, 「底質調査方法（平成 24 年 8 月）」, (2012)
- 5) Di Corcia, A, Samperi, R. and Marcomini, A.: Monitoring Aromatic Surfactants and Their Biodegradation Intermediates in Raw and Treated Sewages by Solid-Phase Extraction and Liquid Chromatography. *Environ. Sci. Technol.*, **28**, 850-858 (1994)
- 6) Crescenzi, C., Di Corcia, A., Samperi, R. and Marcomini, A.: Determination of nonionic polyethoxylate surfactants in environmental waters by liquid chromatography/electrospray mass spectrometry, *Anal. Chem.*, **67**, 1797-1804 (1995)
- 7) Shao, B., Hu, J. and Yang, M.: Determination of nonylphenol ethoxylates in the aquatic environment by normal phase liquid chromatography-electrospray mass spectrometry,

J. Chromatogr. A, **950**, 167-174 (2002)

- 8) 環境庁水質保全局水質管理課：フェノール類の分析法，ppIII-1－III-7，「外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル（水質、底質、水生生物）（平成 10 年 10 月）」，(2008)
- 9) 環境省環境保健部環境安全課：ポリ(オキシエチレン)＝ノニルフェニルエーテル(ノニルフェノールエトキシレート；ポリエチレングリコールモノノニルフェニルエーテル)の分析法，pp109-137，「化学物質分析法開発調査報告書（平成 16 年度）」，(2005)
- 10) 昭和電工技術資料 (http://www.autoprep.jp/kensa_kit/sos/sos_07.html)
- 11) Jonkers, N., Govers, H. and Voogt, P. D.: Adduct formation in LC-ESI-MS of nonylphenol ethoxylates: mass spectrometrical, theoretical and quantitative analysis aspects. *Analytica Chimica Acta*, **531**, 217-228 (2005)
- 12) Loyo-Rosales, J. E., Rice, C. P. and Torrents, A.: Octyl and nonylphenol ethoxylates and carboxylates in wastewater and sediments by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Chemosphere*, **68**, 2118-2127 (2007)

担当者連絡先】

所属先名称：(地独) 北海道立総合研究機構 環境・地質研究本部環境科学研究センター

所属先住所：〒060-0819 札幌市北区北 19 条西 12 丁目
TEL：011-747-3521 FAX：011-747-3254

担当者名：田原るり子

E-mail：tahara@hro.or.jp

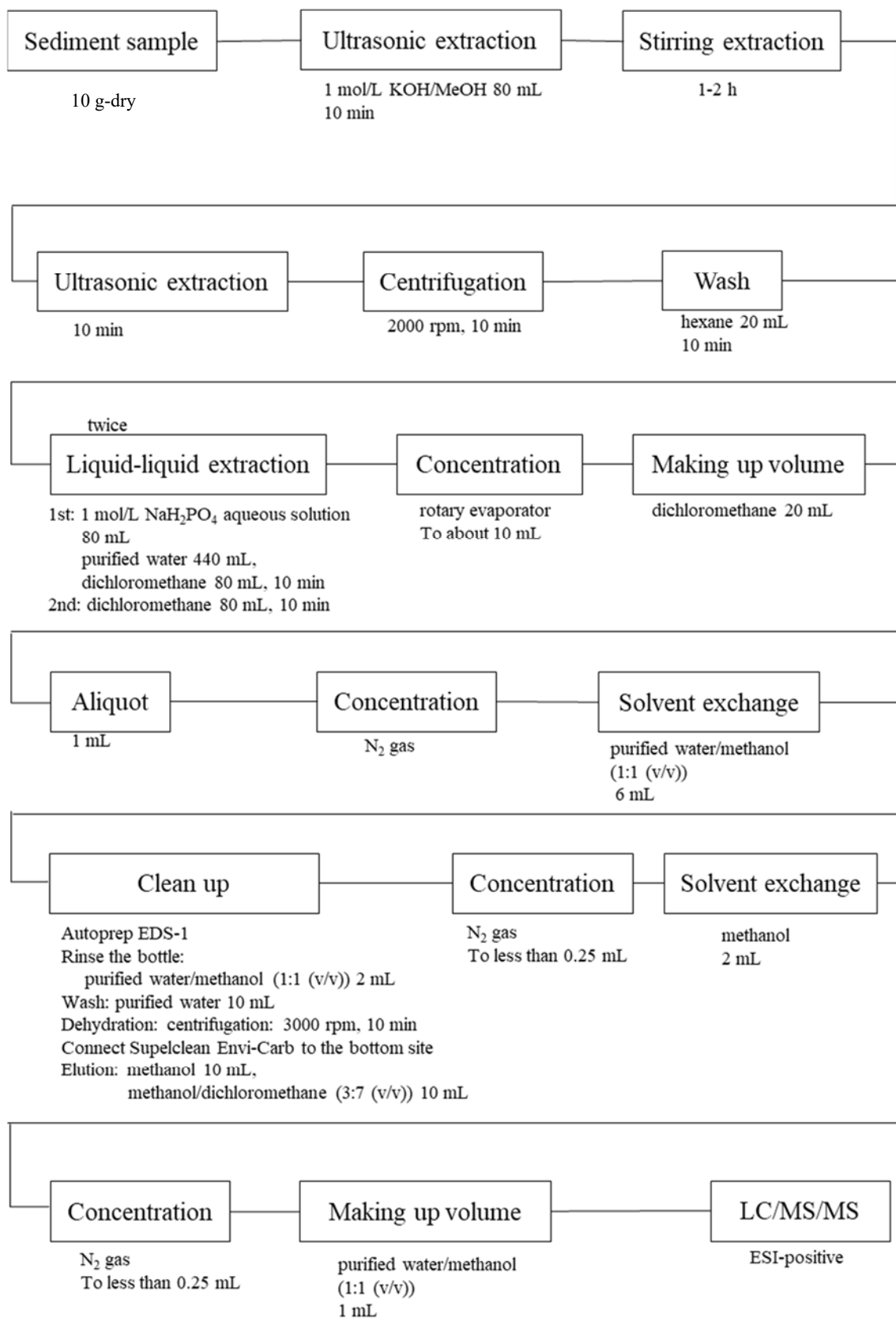
Poly(oxyethylene)nonylphenyl ether

This method provides procedures for the determination of poly (oxyethylene) nonylphenyl ether homologues (NPEn i.e., number of ethylene oxide (EO) units: 3-15, NPE3-NPE15) in sediment samples by liquid chromatography/tandem mass spectrometry with selected reaction monitoring (LC/MS/MS-SRM).

A sediment sample is air-dried at room temperature and ground in a mortar. The sediment sample (10 g-dry) is ultrasonically extracted for 10 min and then stir- extracted with 1.0 mol/L methanolic KOH solution for 1-2 h. After the stir- extracted, the sample is ultrasonically extracted for 10 min again, and then separated into solid phase and liquid phase by centrifuging. The liquid phase is washed by hexane. After the wash, the washed methanolic phase is added into 1 mol/L sodium dihydrogen phosphate aqueous solution and then is extracted with dichloromethane twice by shaking. The combined dichloromethane extracts are concentrated. The extract is made up volume to 20 mL. An aliquot (1 mL) of the concentrated solution is concentrated and dissolved in purified water / methanol (1:1 (v/v)). The sample is applied to a solid phase extraction cartridge (Autoprep EDS-1). The cartridge is washed with purified water (10 mL) and dehydrated by centrifugation. A GCB (Envi-Carb) cartridge is connected to the dehydrated cartridge, and methanol (10 mL) followed by methanol/dichloromethane (3:7 (v/v)) (10 mL) are passed through the cartridges. Then, the eluate from the reversed phase cartridge is purified by the GCB cartridge. The purified eluate is concentrated under gentle stream of ultra-pure grade nitrogen gas. Methanol is added to the concentrated eluate, and the methanolic solution is concentrated under gentle stream of ultra-pure nitrogen gas. The concentrated solution is made up volume to 1 mL with purified water / methanol (1:1 (v/v)).

The analyte is determined by LC/MS/MS-SRM. The method detection limits (MDLs) of NPEn homologues range from 7.3 ng/g-dry for NPE10, to 16 ng/ng-dry for NPE4. The total MDL for all the NPEn homologues is 140 ng/g-dry. The method quantification limits (MQLs) of NPEn homologues range from 19 ng/g-dry for NPE10, to 41 g/g-dry for NPE4. The total MQL of all the NPEn homologues is 360 ng/g-dry. The average recovery of NPEn homologues in sediment samples ranged from 44 - 102% (c.v. 3.5-11%).

Recovery of homologues with large number of added moles of ethylene oxide was low. This is thought to be due to insufficient desorption of the molecules adsorbed on the sediment sample, but this is not resolved. Regarding the NPE1 and NPE2, which are homologues of the target substances of this method, simultaneous analysis was attempted by this method, but the recovery rate was not stable and a simultaneous analysis method is not established.



物質名	分析法フローチャート	備考
α -(ノニルフェニル)- ω -ヒドロキシポリ(オキシエチレン) 別名： ポリ(オキシエチレン)=ノニルフェニルエーテル、ノニルフェニルエーテル	【底質】 <pre> graph TD A[底質試料 風乾試料 10 g] --> B[超音波抽出 1 mol/L KOH/メタノール溶液 80 mL 10分] B --> C[攪拌抽出 1時間～2時間] C --> D[超音波抽出 10分] D --> E[遠心分離 2000 rpm, 10分] E --> F[洗浄 ヘキサン 20 mL, 10分振とう] F --> G[2回 液液抽出 1st: 1 mol/L NaH₂PO₄水溶液 80 mL 精製水 440 mL、シクロヘキサン 80 mL 10分振とう 2nd: シクロヘキサン 80 mL、10分振とう] G --> H[濃縮 ロータリーエバポレーター 10 mL程度] H --> I[定容 シクロヘキサン 20 mL] I --> J[分取 1 mL] J --> K[濃縮 窒素気流下] K --> L[転溶 精製水/メタノール(1:1 (v/v)) 6 mL] L --> M[クリーンアップ Autoprep EDS-1 洗浄：試料容器内壁の洗液 (精製水/メタノール) 2 mL、精製水 10 mL 脱水：3000 rpm, 10分 溶出：メタノール 10 mL、 メタノール/シクロヘキサン混合溶液 10 mL 溶出時に Supelclean Envi-Carb を接続] M --> N[濃縮 窒素気流下 0.25 mL以下] N --> O[転溶 メタノール 2 mL] O --> P[濃縮 窒素気流下 0.25 mL以下] P --> Q[定容 精製水/メタノール 1 mL] Q --> R[LC/MS/MS ESI-positive] </pre>	分析原理： LC/MS/MS-SRM ESI positive 検出下限値： 【底質】 (ng/g-dry) 140 NPE3: 8.2 NPE4: 16 NPE5: 13 NPE6: 11 NPE7: 9.5 NPE8: 13 NPE9: 12 NPE10: 7.3 NPE11: 9.8 NPE12: 8.9 NPE13: 11 NPE14: 7.6 NPE15: 12 分析条件： 機器 LC：Agilent 1200 MS：Agilent 6410 Triple Quad カラム Inertsil Ph-3 HP 2.1 mm × 150 mm, 3 μm

フラン

Furan

IUPAC 名：1-オキサ-2,4-シクロペンタジエン

1-Oxa-2,4-cyclopentadiene

別名：ジビニレンオキシド、フルフラン

Divinylene oxide, Furfuran

【対象物質の構造】



CAS 番号：110-00-9

分子式：C₄H₄O

【物理化学的性状】

[分子量]	68.07
[モノアイソトピック質量]	68.0262
[比重]	0.9371 (19.4°C/4°C) ¹⁾
[沸点]	31.36°C (760 mmHg) ¹⁾
[融点]	-85.6°C ²⁾
[蒸気圧]	600 mmHg (25°C) ³⁾
[水溶解度]	10000 mg/L (25°C) ⁴⁾
[log P _{ow}]	1.34 ¹⁾

【毒性、用途】

〔毒性〕

〔実験動物に対する急性毒性情報〕⁵⁾

動物種	経路	致死量、中毒量等
ウサギ	経口	LD _{Lo} : 234 mg/kg
マウス	吸入	LC ₅₀ : 3000 mg/m ³ (2 hr)
ラット	吸入	LC ₅₀ : 2800 mg/m ³ (2 hr)
ラット	吸入	LC ₅₀ : 3000 mg/m ³

〔発がん性〕⁶⁾

IARC の発がん性評価：2B「ヒトに対して発がん性があるかもしれない」

〔用途〕⁷⁾

合成樹脂原料、有機合成原料、溶剤、洗浄剤

出典

- 1) O'Neil, M. J (ed) : Merck Index 15th Edition, 2013, CRC Press.
- 2) Lide, D.R. (ed.) (1994-1995): CRC Handbook of Chemistry and Physics. 75th ed. CRC Press Inc. Boca Raton, FL.
- 3) Daubert, T.E. and R.P. Danner (1989): Physical and Thermodynamic Properties of Pure Chemicals: Data Compilation. Hemisphere Publishing Corporation. Washington, D.C.
- 4) Valvani, S.C., S.H. Yalkowsky and T.J. Roseman (1981): Solubility and Partitioning IV: Aqueous solubility and octanol-water partition coefficients of liquid nonelectrolytes. J. Pharm. Sci. 70: 502-507.
- 5) US National Institute for Occupational Safety and Health Registry of Toxic Effects of Chemical Substances (RTECS) Database.
- 6) IARC (1995): IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risks to Humans. Vol. 63.
- 7) 独立行政法人製品評価技術基盤機構ホームページ「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

大気試料を捕集管に通気し、対象物質を捕集する。捕集管に内標準物質を添加後、加熱脱着-GC/MS-SIM で分析する。

(2) 試薬・器具

【試薬】

フラン標準品	: 東京化成工業製 (純度 > 99.0%)
フラン- <i>d</i> ₄ 標準品	: Merck 製 (純度 ≥ 99.0%)
メタノール	: 富士フイルム和光純薬製 トリハロメタン測定用
Carbopack B	: SUPELCO 製 (表面積 100 m ² /g、mesh size 60/80)
Carboxen 1000	: SUPELCO 製 (表面積 1200 m ² /g、mesh size 60/80)
過塩素酸マグネシウム	: 富士フイルム和光純薬製 元素分析用 (粒度 : 6~14 mesh)

【標準液の調製】

〔標準原液〕

フラン標準品 50.0 mg を正確に量り取り、メタノール 50 mL に溶解し、1000 µg/mL の標準原液を調製する。

〔内標準液〕

フラン-*d*₄ 標準品 50.0 mg を正確に量り取り、メタノール 50 mL に溶解し、1000 µg/mL の内標準原液を調製する。内標準原液を希釈し、20 ng/µL の内標準液を調製する。

〔検量線用標準液〕

標準原液をメタノールで順次希釈し、1.0~1000 ng/µL の検量線用標準液を調製する。

【器具】 (注 1)

空チューブ (Perkin Elmer 製 : ガラス製、外径 1/4 インチ、長さ 3.5 インチ)、メスフラスコ、ホールピペット、マイクロシリンジ、除湿管、石英ウール

(3) 分析法

【捕集管の調製】

Carbopack B 100 mg (大気側)、Carboxen1000 150 mg (ポンプ側) を秤量した

ものを、空チューブへ充填して石英ウールで固定する（図 1）（注 2、注 3）。流速 30 mL/min 程度の高純度ヘリウムを流しながら 300°C で 1 時間加熱してエージングを行う。捕集管は両端を密栓、または捕集管を専用のプラスチックケースに入れて密封し、活性炭入りデシケーターに保存する（注 4）。

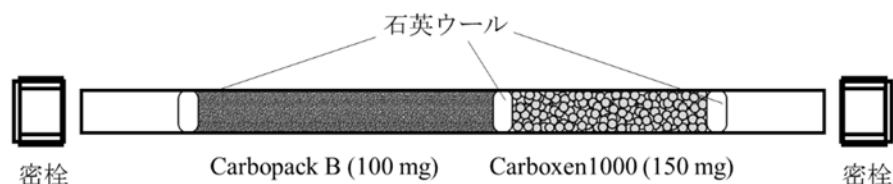


図 1 捕集管図解

【試料の捕集方法、保存及び輸送方法】

捕集管の前段に過塩素酸マグネシウム 10 g を充填した除湿管を設置し（注 5）、ガス採取装置に接続し、流速 0.10 L/min で 24 時間、計 144 L の環境大気試料を採取する（図 2）。試料捕集後の捕集管は両端を密栓、または専用のプラスチックケースに入れ密封し、チャック付きアルミバッグ等に入れ冷暗状態で保存・輸送する。

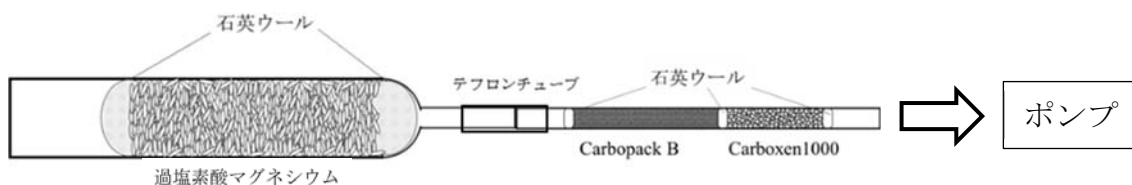


図 2 捕集時のイメージ

【試料の前処理】

大気試料を捕集した捕集管の密栓を外し、Carbopack B 側から流速 50 mL/min 程度の高純度窒素を流しながら、20 ng/μL 内標準液を 0.5 μL 添加後、1 分程度通気した捕集管を測定試料とする。

【空試験試料の調製】

【捕集管の調製】に従い調製した捕集管を【試料の前処理】の項に従って操作し、得られた捕集管を空試験試料とする。

【測定】（注 6）**〔加熱脱着条件〕**

使用機種	: TurboMatrix650 ATD（Perkin Elmer 製）
試料捕集管	: 熱脱離装置用捕集管 外径 1/4 インチ、長さ 3.5 インチ
脱着流量	: 50 mL/min
脱着温度	: 280°C
脱着時間	: 10 min
入口スプリット（注 7）	: 5 mL/min
コールドトラップ	: Tenax（Perkin Elmer 製）
トラップ温度	: 10°C（ペルティエ冷却）
加熱速度	: 40°C/sec
加熱温度	: 290°C
加熱保持時間	: 15 min
出口スプリット（注 7）	: 50 mL/min
バルブ温度	: 250°C
トランスファーライン温度	: 250°C
キャリアーガス	: He 11 psi

〔GC/MS 測定条件〕

使用機種	: GC ; 7890A（Agilent 製）
	MS ; 5975C（Agilent 製）
カラム	: PoraBOND Q（Agilent 製）(25 m × 0.32 mm, 5 μm)
カラム温度	: 40°C (5 min) → 5°C/min → 140°C (0 min) → 20°C/min → 250°C (1 min)
キャリアーガス	: He（流量 1 mL/min）
インターフェース温度	: 230°C
イオン源温度	: 230°C
イオン化法	: EI
検出モード	: SIM
モニターイオン	: フラン m/z 68（定量用）、 m/z 39（確認用） : フラン- d_4 m/z 72（定量用）

〔検量線〕

エージング済みの捕集管に CarboPack B 側から流速 50 mL/min 程度の高純度窒素を流しながら、各濃度の検量線用標準液を 0.5 μL 及び 20 ng/μL の内標準液

を 0.5 μL 添加後、1 分程度通気し、十分に吸着させる。この捕集管を加熱脱着-GC/MS を用いて測定する。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〕

捕集管を加熱脱着-GC/MS を用いて測定し、対象物質と内標準物質のピーク面積比から、検量線を用いて対象物質の濃度を求める。

〔濃度の算出〕

大気中の物質濃度 C (ng/m^3) は次式により算出する。

$$C (\text{ng}/\text{m}^3) = (R \times Q / V) \times ((273 + t) / 293) \times (101 / P)$$

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物質の量 (ng)

(= 添加した内標準液の濃度 ($\text{ng}/\mu\text{L}$) $\times$ 添加した内標準液の容量 (μL))

V ：試料量 (m^3)

t ：捕集時の平均気温 ($^{\circ}\text{C}$)

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。

$$Q = 10 (\text{ng})$$

(= 添加した内標準液の濃度 ($20 \text{ ng}/\mu\text{L}$) $\times$ 添加した内標準の容量 ($0.5 \mu\text{L}$))

$$V = 0.144 (\text{m}^3)$$

即ち、

$$C = R \times 69.4 \times ((273 + t) / 293) \times (101 / P) (\text{ng}/\text{m}^3)$$

である。

〔装置検出下限値 (IDL)〕

本分析法に用いた GC/MS の IDL を表 1 に示す (注 8)。

表 1 IDL の算出結果

物質名	IDL (ng)	試料量 (m^3)	試料換算値 (ng/m^3)
フラン	0.16	0.144	1.1

〔分析方法の検出下限値 (MDL) 及び定量下限値 (MQL)〕

本分析法における 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 (m ³)	MDL (ng/m ³)	MQL (ng/m ³)
フラン	0.144	2.3	6.0

注 解

- (注1) 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) 使用する捕集管は市販品でも良い。ただし、使用前にエージングを実施し、ブランクが出ないことを確認したうえで使用する。
- (注3) 使用済みの捕集管はエージングを実施し、ブランクが出ないことを確認できたものについて再利用してもよい。
- (注4) エージングを行った捕集管について、操作ブランクの確認を行った後、使用する。長期間使用しない捕集管については、使用前に必ずエージングを行う。
- (注5) 除湿管は内径 20 mm 程度のものを使用する。
- (注6) 測定する際は、空試験により装置内ブランクがないことを確認する。装置内ブランクが検出される際は、装置内のエージングを実施し、装置内ブランクの低減を図る。
- (注7) 入ロスプリット、出ロスプリットは、本測定に使用した機種 (TurboMatrix650 ATD) によるスプリット条件設定であるため、フランの感度やブランク等を考慮し、使用機種に応じたスプリット条件を設定する。

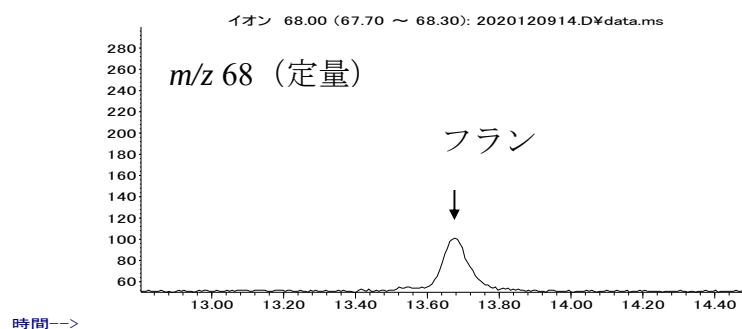
(注8) IDL は環境省「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 28 年 3 月)に従って表 3 のとおり算出した。また、IDL 測定時のクロマトグラムを図 3 に示した。

表 3 IDL の算出結果 (詳細)

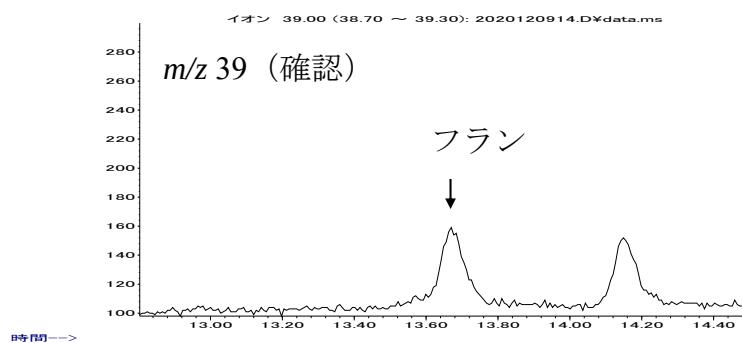
物質名	フラン
試料量 (m ³)	0.144
装置注入量 (ng)	0.50
結果 1 (ng)	0.421
結果 2 (ng)	0.389
結果 3 (ng)	0.428
結果 4 (ng)	0.503
結果 5 (ng)	0.480
結果 6 (ng)	0.439
結果 7 (ng)	0.483
平均値 (ng)	0.4489
標準偏差(σ_{n-1}) (ng)	0.0409
IDL (ng)*	0.16
IDL 試料換算値 (ng/m ³)	1.1
S/N	11
CV (%)	9.1

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

アバundance



アバundance



アバundance

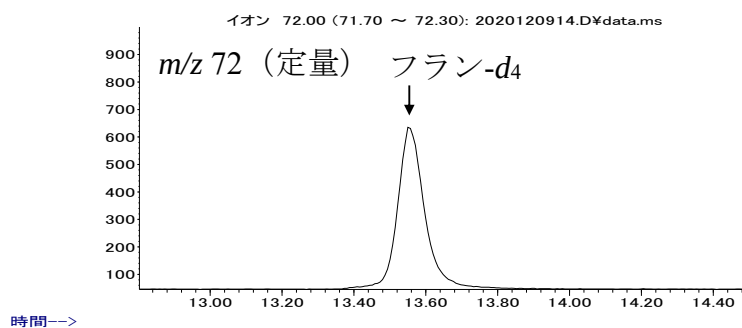


図3 IDL 測定時のクロマトグラム
(フラン : 0.50 ng、フラン- d_4 : 10 ng)

(注 9) MDL は「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 28 年 3 月)に従って表 4 のとおり算出した。測定時のクロマトグラムを図 4 に示す。なお、対象物質が大気試料から IDL 試料換算値の 5 倍以上検出されたため、捕集管を 2 連結して前段で大気中の対象成分を除去し、後段に標準物質を添加して試験を行った。その他の捕集条件は、通常(非連結)と同じく、吸引流量 0.10 L/min で 24 時間とした。MDL 及び MQL は、後段の捕集管を分析し、算出した。前段で捕集した大気試料からはフランが 23 ng/m³ 検出された。

表 4 MDL 及び MQL の算出結果 (詳細)

物質名	フラン	回収率 (%)
試料量 (m ³)	0.144 (全量分)	-
標準添加量 (ng)	1.0	-
試料換算濃度 (ng/m ³)	6.94	-
装置注入量 (ng)	1.0	-
操作ブランク平均 (ng/m ³)* ¹	< 2.3	-
無添加平均 (ng/m ³)* ²	< 2.3	-
結果 1 (ng/m ³)	7.20	104
結果 2 (ng/m ³)	6.34	91
結果 3 (ng/m ³)	6.32	91
結果 4 (ng/m ³)	6.23	90
結果 5 (ng/m ³)	6.12	88
結果 6 (ng/m ³)	6.87	99
結果 7 (ng/m ³)	5.30	76
平均値 (ng/m ³)	6.340	91.3
標準偏差(σ_{n-1}) (ng/m ³)	0.600	-
MDL (ng/m ³)* ³	2.3	-
MQL (ng/m ³)* ⁴	6.0	-
S/N	23	-
CV (%)	9.5	-

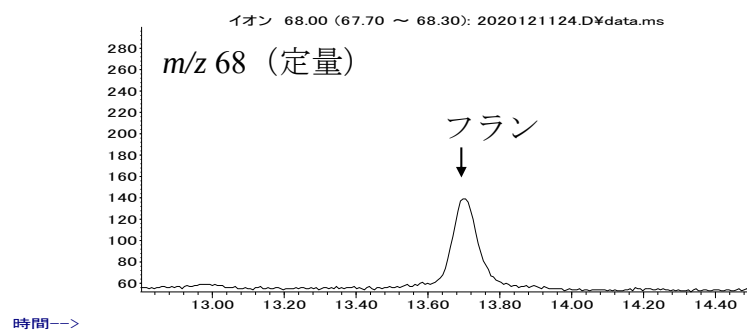
*1 : 試料マトリクスのみがない状態で他は同様の操作を行い測定した値の平均値 (n = 2)

*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)

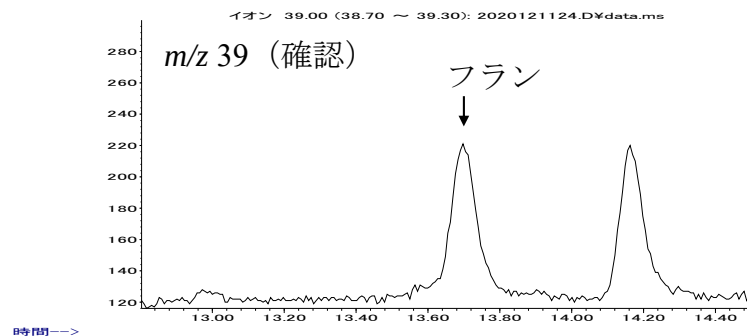
*3 : $MDL = t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$

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

アバundance



アバundance



アバundance

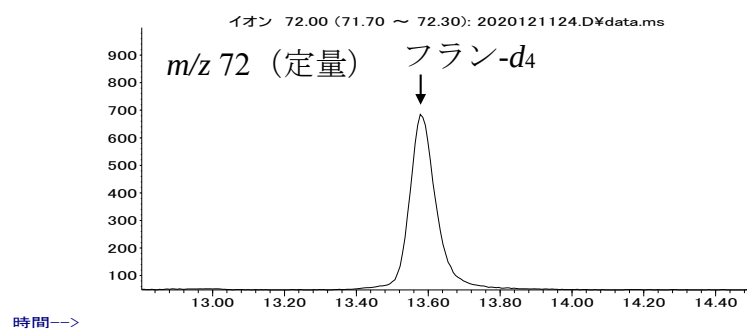


図4 MDL 測定時のクロマトグラム
(フラン : 1.0 ng、フラン-d₄ : 10 ng)

§2 解 説

【分析方法】

〔フローチャート〕

分析法のフローチャートを図 5 に示す。

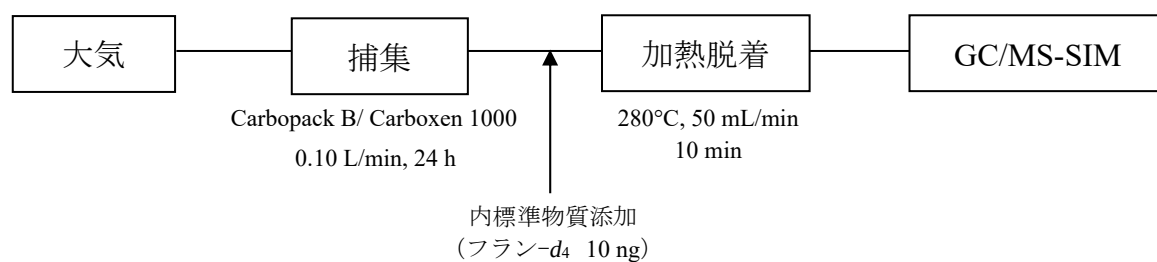


図 5 分析法のフローチャート

〔検量線〕

フランの検量線を図 6-1 及び図 6-2 に示す。検量線作成用データを表 5 に示す。

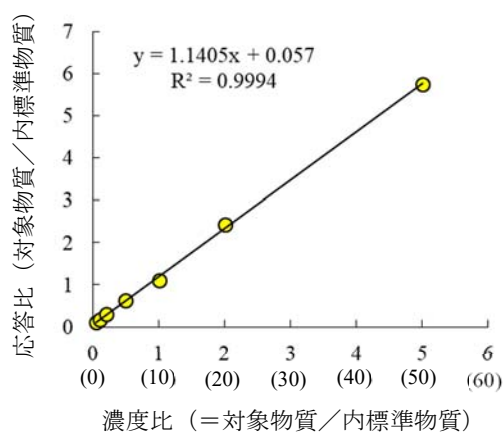


図 6-1 低濃度域検量線
(0.50～50 ng、内標準物質 10 ng)

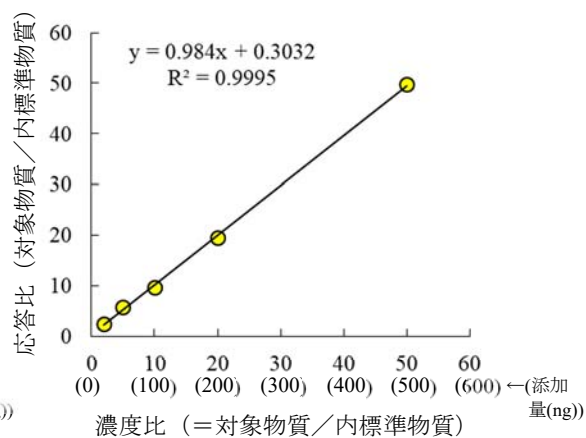


図 6-2 高濃度域検量線
(20～500 ng、内標準物質 10 ng)

表 5 検量線作成用データ

標準物質 添加量 (ng) (C _s)	添加量比 (C _s /C _{is} *)	応答値		応答比 (A _s /A _{is})
		対象物質 (A _s) 【フラン】 (m/z 68)	内標準物質 (A _{is}) 【フラン-d ₄ 】 (m/z 72)	
0.50	0.050	6721	61092	0.110
1.0	0.10	9413	53947	0.174
2.0	0.20	15491	49735	0.311
5.0	0.50	35788	57629	0.621
10	1.0	52834	47618	1.11
20	2.0	134529	55505	2.42
50	5.0	367540	64004	5.74
100	10	599031	61429	9.75
200	20	1133166	58160	19.5
500	50	2971617	59761	49.7

* C_{is} : 内標準物質添加量 10 ng

[クロマトグラム]

検量線用捕集管のクロマトグラムを図7に示す。

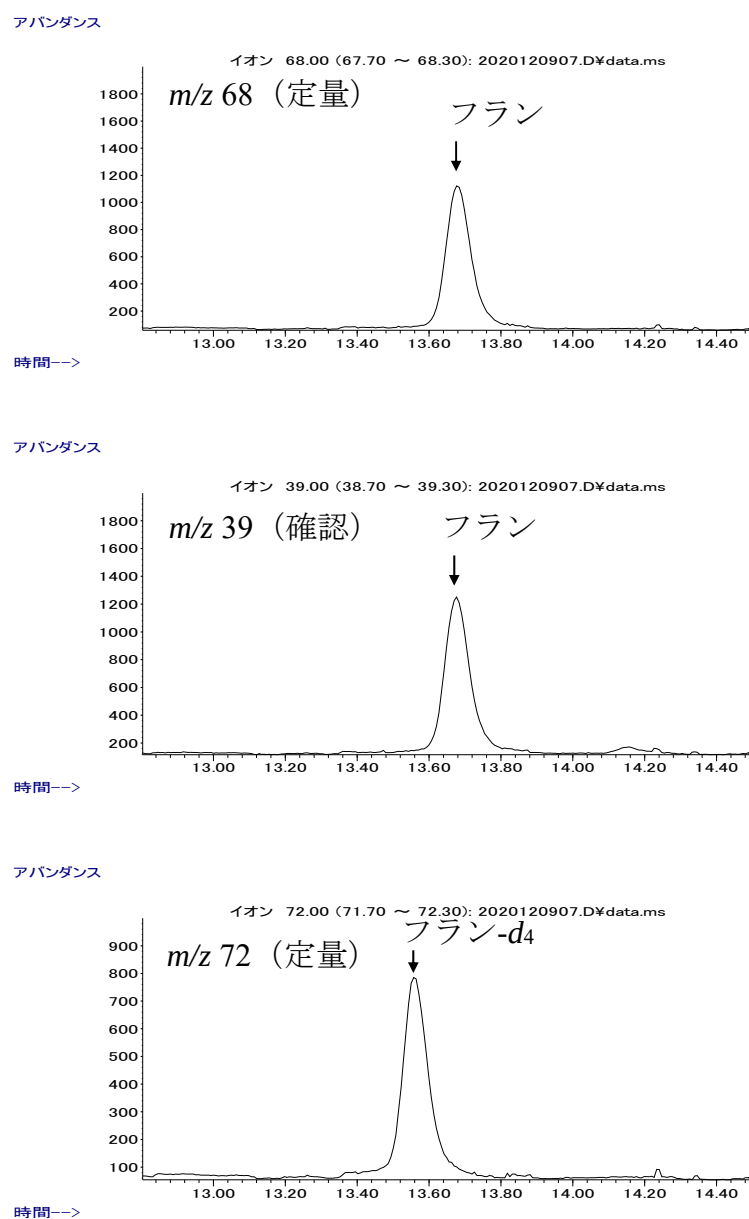


図7 検量線用捕集管測定時のクロマトグラム
(フラン : 10 ng、フラン-d₄ : 10 ng)

[マススペクトル]

標準原液及び内標準原液を添加した捕集管のマススペクトルをそれぞれ図 8 及び図 9 に示す。

アバundance

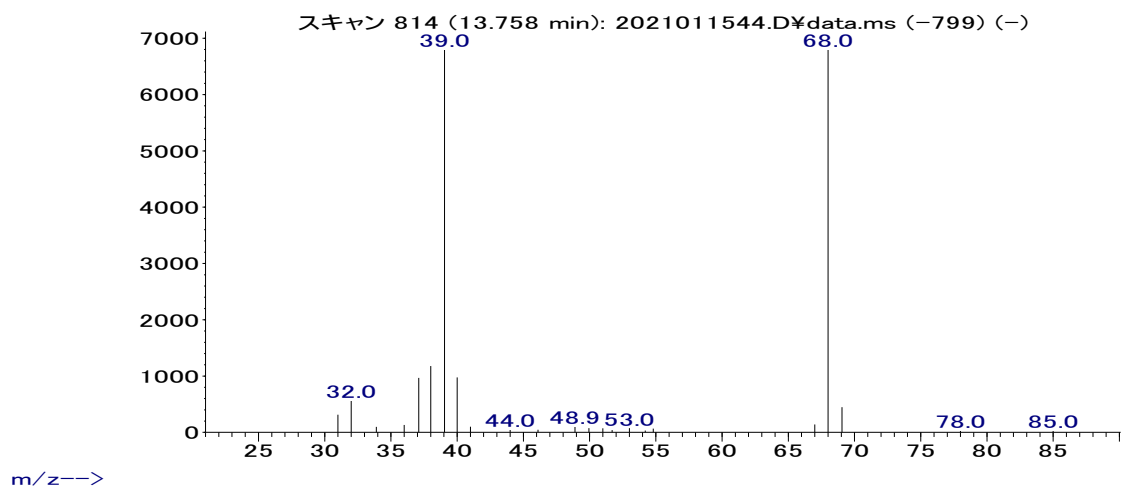


図 8 フランのマススペクトル

アバundance

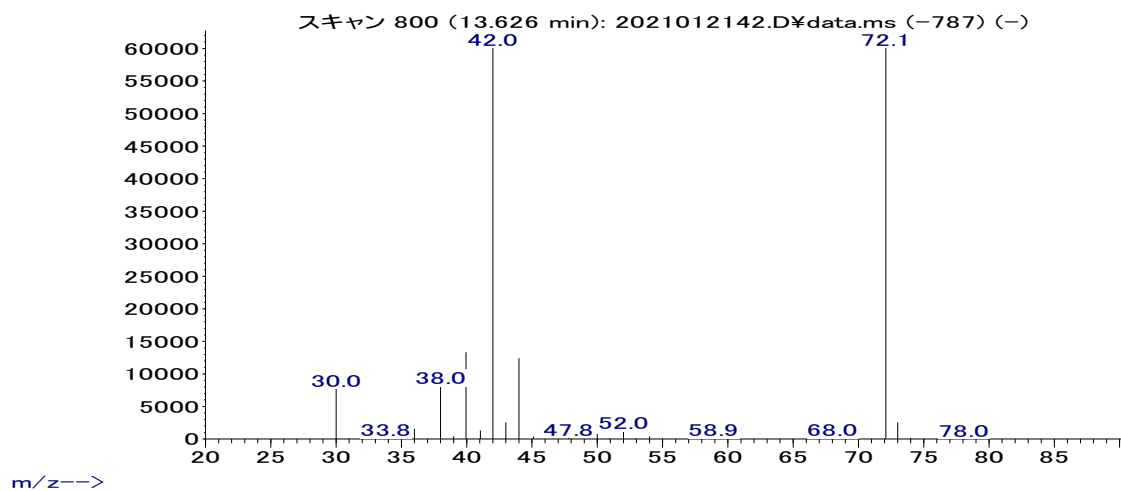


図 9 フラン-d₄のマススペクトル

〔操作ブランク試験〕

【空試験試料の調製】に従って調製して測定した操作ブランクのクロマトグラムを図 10 に示す。測定の結果、フランの検出時間にピークが確認されたが S/N 3 未満であった。

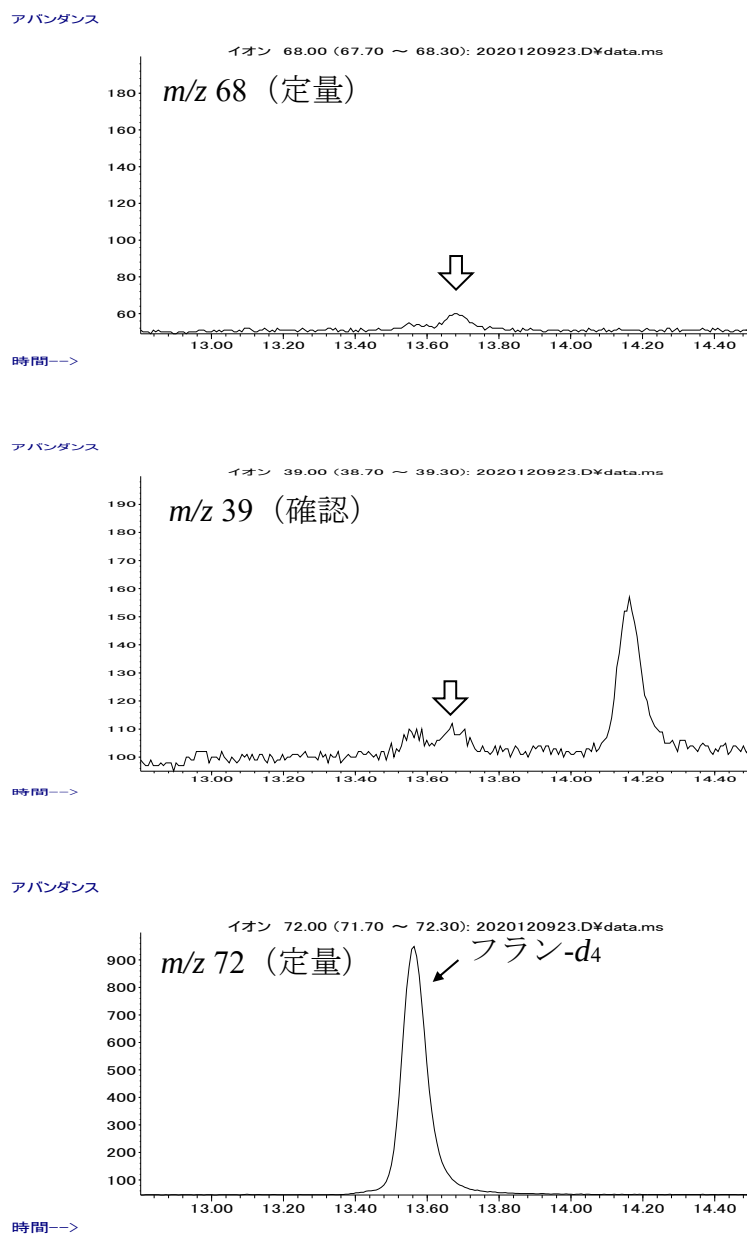


図 10 操作ブランクのクロマトグラム

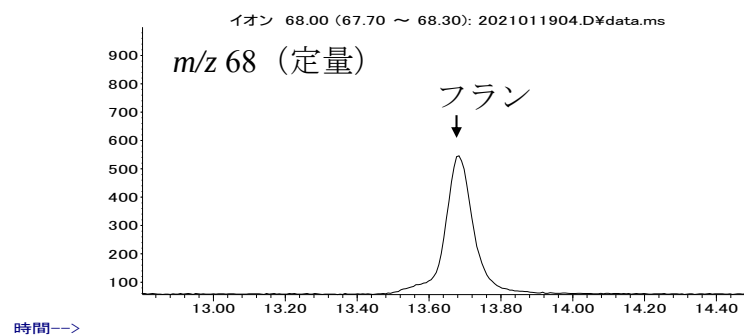
〔添加回収試験〕

標準液 (60 ng/μL) を 0.5 μL 添加した捕集管と無添加の捕集管に大気を採取して測定し、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、添加回収試験時の無添加試料及び添加試料のクロマトグラムをそれぞれ図 11、図 12 に示す。結果は回収率、変動係数共に良好であった。なお、標準物質の添加は、除湿管より上流のガラスウールに添加して実施した。また、無添加である環境大気試料からフランが 17～23 ng/m³ 検出された。

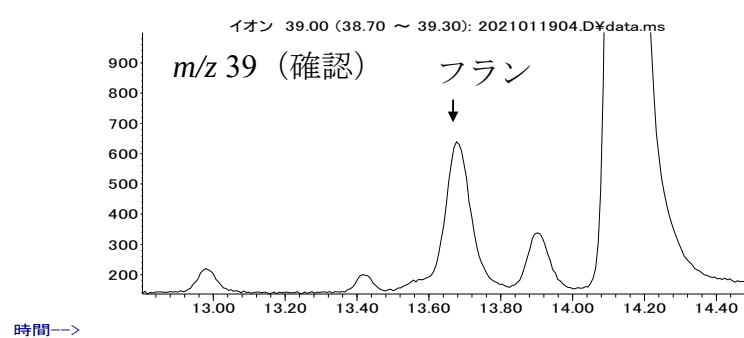
表 6 添加回収試験結果
(2021 年 1 月 18～19 日採取、天候 曇り、気温 2～7℃、湿度 44～84%)

試料	添加量 (ng)	大気採取量 (m ³)	検出量 (ng)	検出濃度 (ng/m ³)	回収率 (%)
無添加 1	0	0.144	2.5	17	-
無添加 2	0	0.144	3.3	23	-
			平均	20	-
添加 1	30	0.144	32.2	223	97.6
添加 2	30	0.144	31.6	220	95.7
添加 3	30	0.144	30.3	211	91.4
添加 4	30	0.144	28.5	198	85.5
添加 5	30	0.144	30.6	213	92.3
			平均	213	92.5
			変動係数 (CV%)		5.0

アバundance



アバundance



アバundance

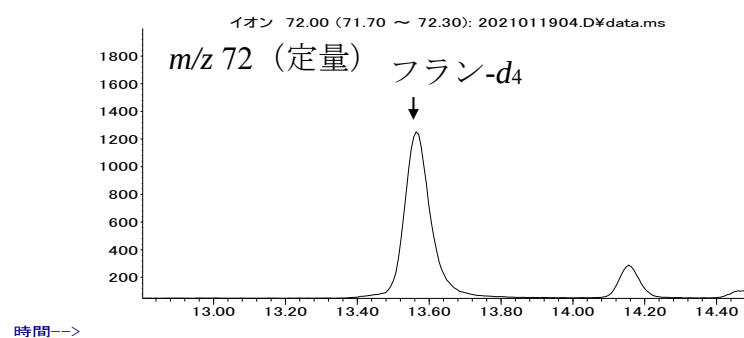


図 11 添加回収試験のクロマトグラム
(無添加試料、気温 2~7℃、湿度 44~84%)

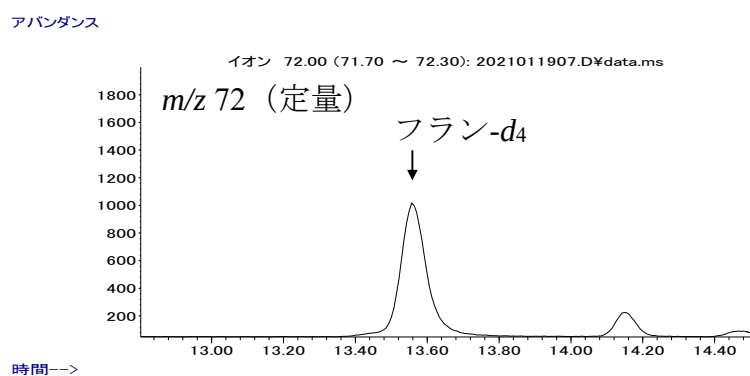
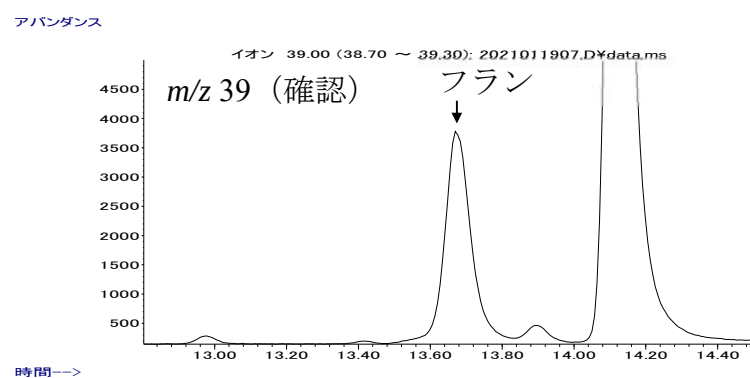
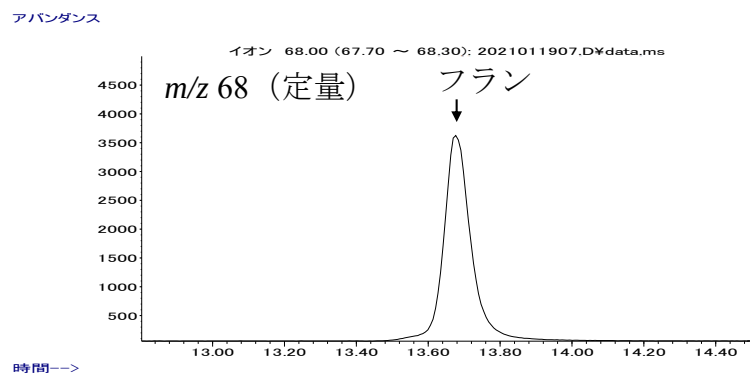


図 12 添加回収試験のクロマトグラム
(添加試料、添加量 30 ng、気温 2~7℃、湿度 44~84%)

〔高温高湿度条件の添加回収試験〕

高温高湿度条件下（温度 40℃、湿度 > 70%）での添加回収試験結果を表 7 に示す。回収率は平均 109%で良好な結果であった。なお、高温高湿条件は、恒温槽内を 40℃ 一定に保ち、純水を入れたガス洗浄瓶を繋げて加湿することによって湿度 70%以上を確保した。

表 7 添加回収試験結果（気温 40℃、湿度 > 70%）

試料名	添加量 (ng)	大気採取量 (m ³)	検出量 (ng)	検出濃度 (ng/m ³)	回収率 (%)
無添加	0	0.144	7.7	54	-
添加 1	30	0.144	38.8	270	104
添加 2	30	0.144	39.1	271	104
添加 3	30	0.133	40.3	304	120
			平均	282	109
			変動係数(CV%)		8.5

〔保存性試験〕

捕集管については、標準液 (40 ng/μL) を捕集管に 0.5 μL 添加し、大気を 24 時間捕集した。捕集管の両端を密栓し、チャック付アルミバック等に入れて冷蔵庫(4℃)で保管し、保存性試験を行った。標準液については、20 ng/μL 及び 100 ng/μL を冷蔵庫で保存後、捕集管に 0.5 μL 添加して測定した。保存性試験の結果を表 8 に示す。捕集管及び標準液の残存率はいずれも 90%以上と良好であったため、保存性試験期間中において対象物質は安定であるといえる。

表 8 保存性試験結果（試験数：各 n = 2）

試料名	添加量 ^{*1} (ng)	検出量 (ng) (残存率 (%))* ²				
		当日	4 日間	7 日間	14 日間	1 ヶ月
捕集管	20	21 (100)	21 (102)	20 (98)	22 (103)	-
標準液	10	-	-	-	-	9.3 (93)
	50	-	-	-	-	50 (101)

*1：各捕集管への添加量

*2：残存率 (%)：捕集管については、捕集当日の検出量(21 ng)に対する保存後の検出量の割合を示し、標準液については、捕集管への添加量に対する検出量の割合を示す。

〔GC カラムの検討〕

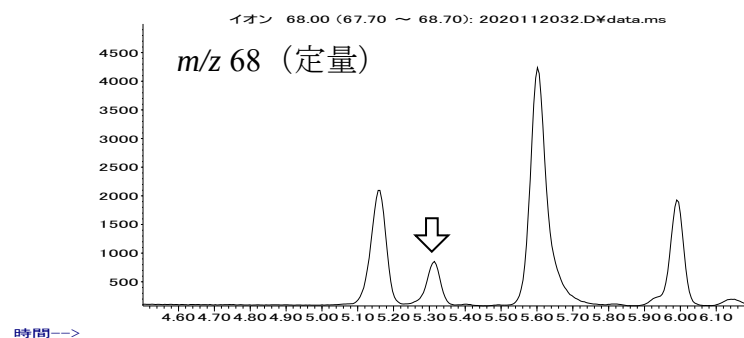
Agilent 製 HP-1、Agilent 製 DB-WAXETR、Agilent 製 PoraBOND Q の 3 種類のカラムについて検討を行った。使用カラム詳細とカラム温度を表 9 に、各条件で得られた環境試料のクロマトグラムを図 13～図 15 に示す。なお、使用カラムとカラム温度以外の条件は全て同じ条件である。

Agilent 製 HP-1 は、フランの定量イオンと確認イオンの応答比が通常 1.1 程度であるのに対し、0.5 以下で、フランの確認イオン (m/z 39) の検出位置に夾雑ピークが重なっていると考えられた (図 13)。Agilent 製 DB-WAXETR は、フランの確認イオン (m/z 39) 及びフラン- d_4 の定量イオン (m/z 72) のピークと夾雑ピークが近く、ピーク分離が不十分であった (図 14)。Agilent 製 PoraBOND Q は、前述のような問題は見られず、良好な分離結果が得られることが確認された (図 15)。また、Agilent 製 PoraBOND Q を用いて環境試料をスキャン法により定性分析を行った結果、環境試料中からフランが同定された (図 16)。以上のことから本分析法では、Agilent 製 PoraBOND Q を採用することとした。

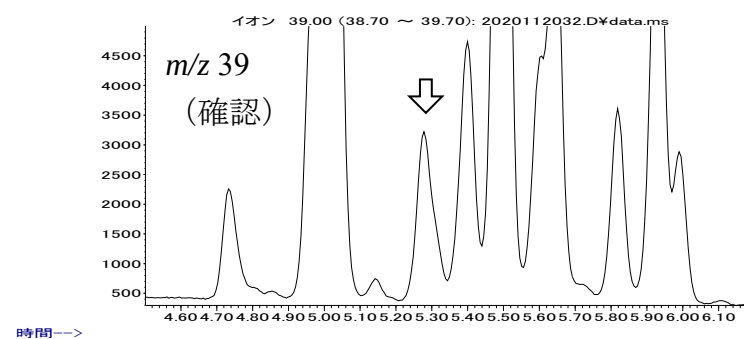
表 9 使用カラムとカラム温度

使用カラム	カラム温度
Agilent 製 HP-1, 長さ 60 m × 内径 0.32 mm, 膜厚 1 μ m	: 40°C (5 min) → 5°C/min → 80°C (0 min) → 20°C/min → 300°C (1 min)
Agilent 製 DB-WAXETR, 長さ 60 m × 内径 0.32 mm, 膜厚 1 μ m	: 40°C (5 min) → 5°C/min → 80°C (0 min) → 20°C/min → 250°C (1 min)
Agilent 製 PoraBOND Q, 長さ 25 m × 内径 0.32 mm, 膜厚 5 μ m	: 40°C (1 min) → 5°C/min → 140°C (0 min) → 20°C/min → 250°C (1 min)

アバundance



アバundance



アバundance

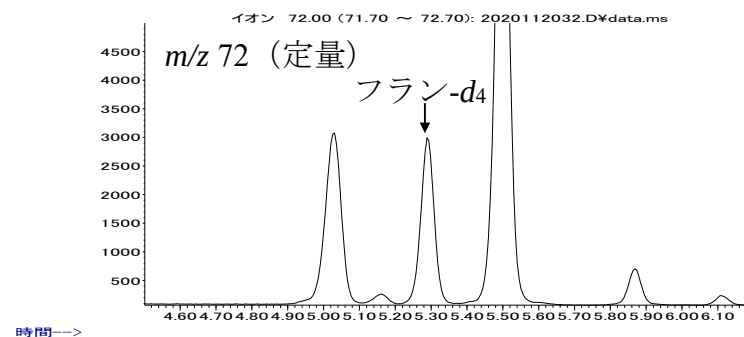


図 13 HP-1 カラムで分析した環境試料のクロマトグラム
(平均気温 20.3°C、平均湿度 79%)

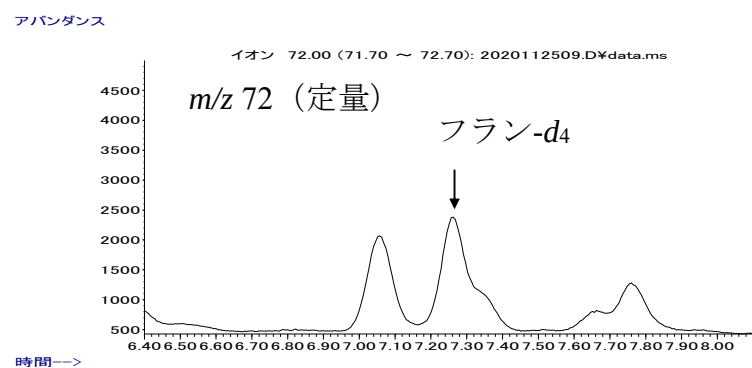
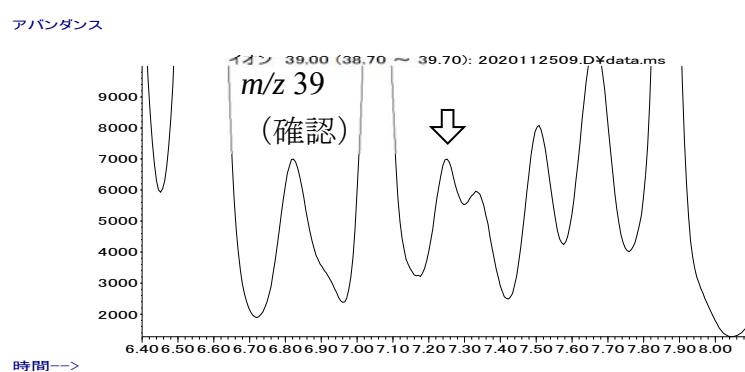
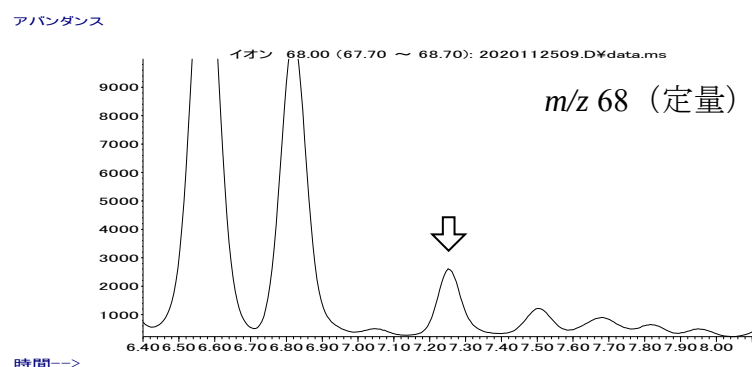


図 14 DB-WAXETR カラムで分析した環境試料のクロマトグラム
(平均気温 10.3℃、平均湿度 83%)

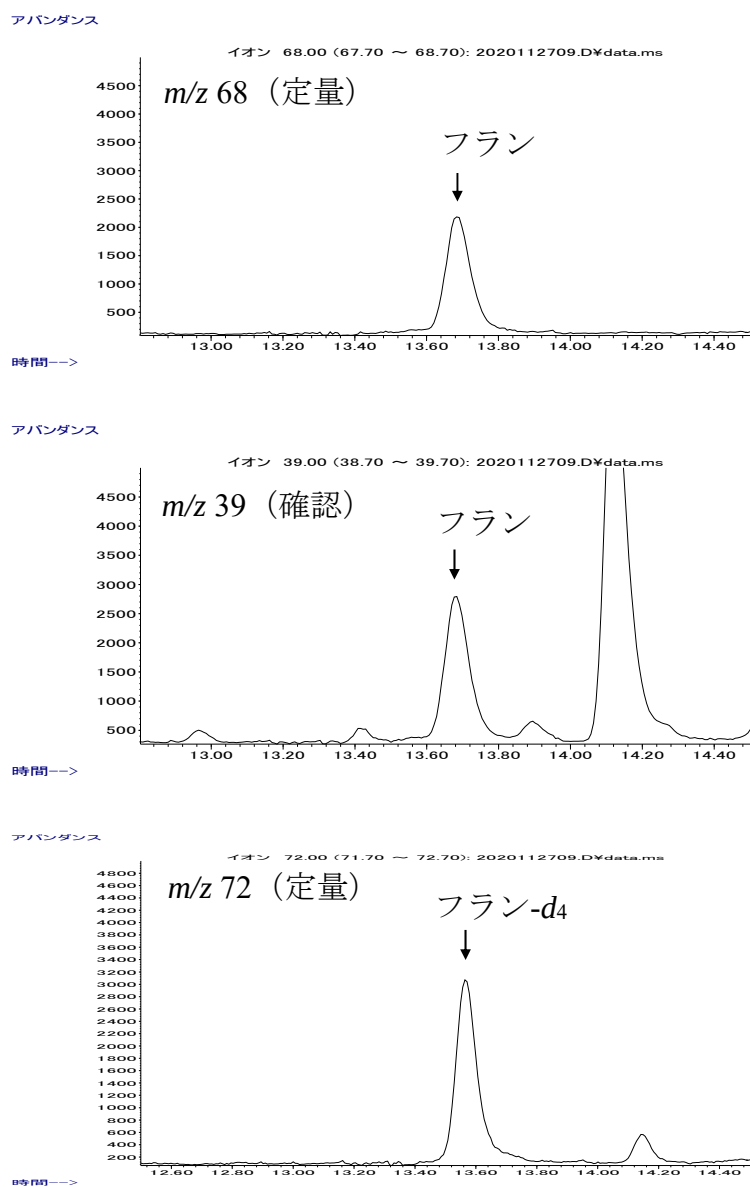


図 15 PoraBOND Q カラムで分析した環境試料のクロマトグラム
(平均気温 10.3°C、平均湿度 83%)

アバundance

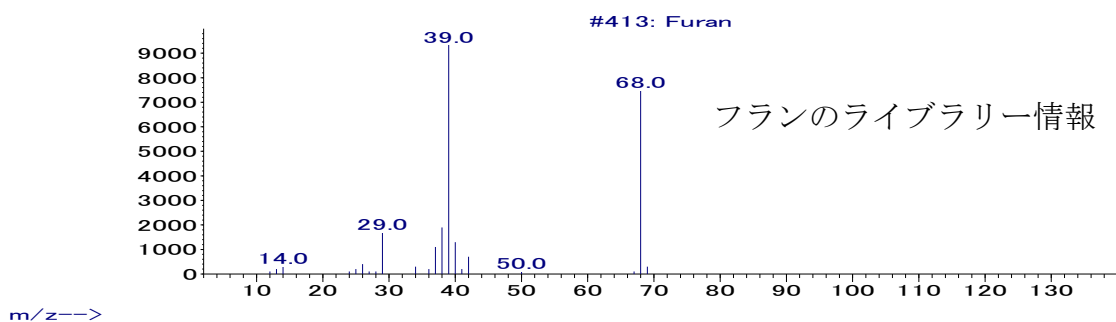
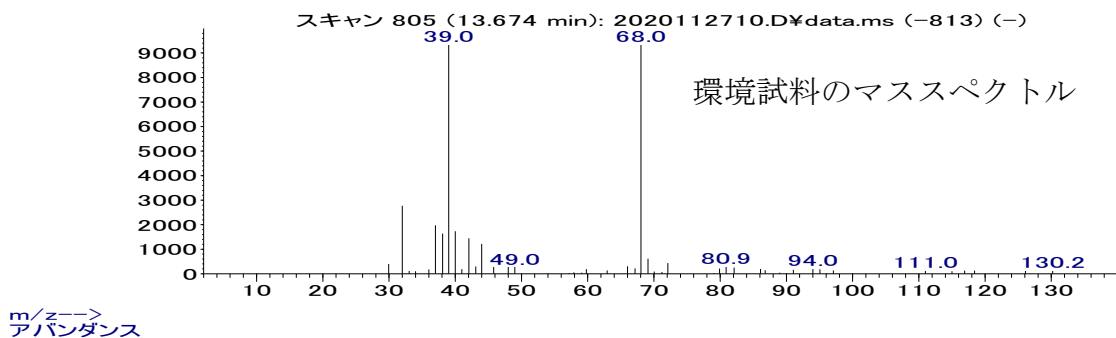


図 16 PoraBOND Q カラムで分析した環境試料のマスペクトル (上図)
及びフランのライブラリー情報 (下図)
(平均気温 10.3°C、平均湿度 83%)

〔環境試料の分析例〕

本分析法により、兵庫県姫路市内で実施した環境大気試料の測定結果を表 10 に示す。環境大気試料からフランは 15～23 ng/m³ の範囲で検出された。また、環境試料 (平均気温 10.1°C、平均湿度 75%) のクロマトグラムを図 17 に示す。

表 10 環境試料の測定結果

平均気温 (°C)	平均湿度 (%)	検出濃度 (ng/m ³)
10.1	75	23
3.5	64	15
3.2	64	18

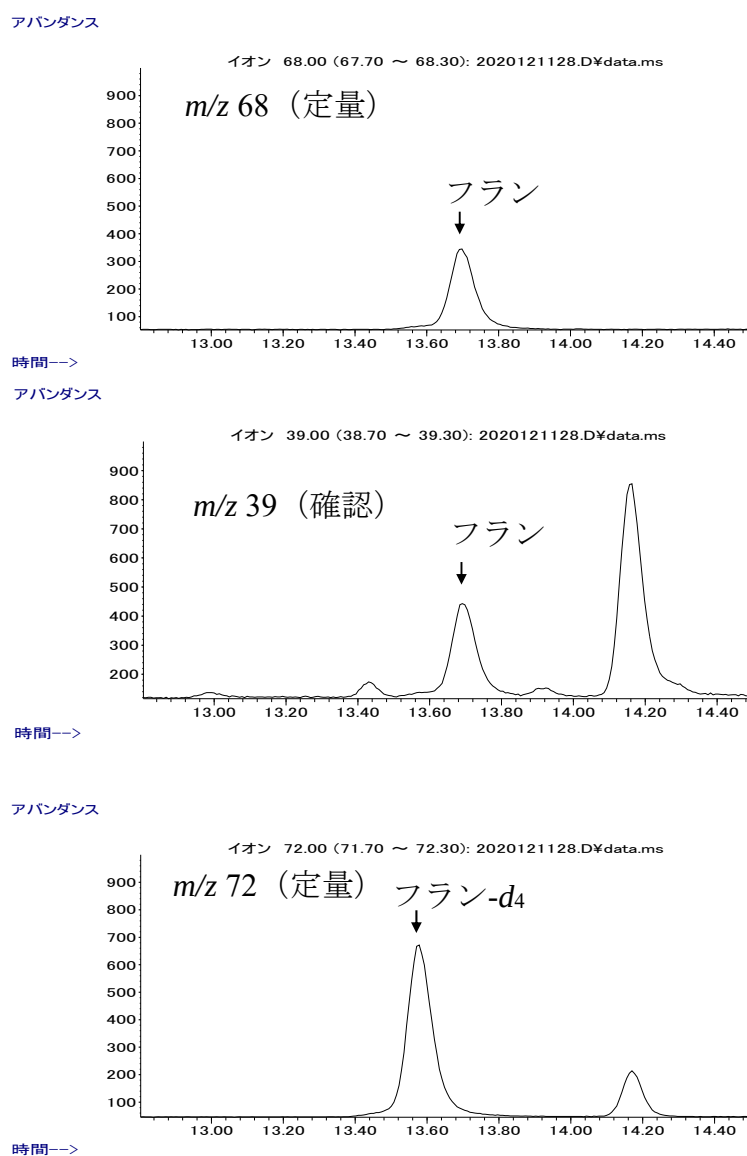


図 17 環境試料のクロマトグラム（平均気温 10.1°C、平均湿度 75%）

【評価】

環境大気中に含まれるフランの定量分析法を開発した。本分析法において、フランの IDL は 0.16 ng（IDL 試料換算値 1.1 ng/m³）であり、0.50～50 ng 及び 20～500 ng の範囲でそれぞれ直線性が確認された。本方法の MDL は 2.3 ng/m³、MQL は 6.0 ng/m³ であった。大気試料に対する添加回収試験の結果、回収率は 92.5%（変動係数 5.0%）であった。本法を用いて兵庫県姫路市で環境大気を測定したところ、フランは最大で 23 ng/m³ 検出された。以上の結果から本分析法は環境中に含まれる 3 ng/m³ レベルのフランの検出に適用可能であると考えられる。

【担当者連絡先】

所属先名称：日鉄テクノロジー株式会社 広畑事業所

所属先住所：〒671-1123 姫路市広畑区富士町1番地

TEL：079-278-5595、FAX：079-278-5020

担当者氏名：荻野徹哉、中野友里子、山本志穂子

E-mail : ogino.tetsuya.47n@nstec.nipponsteel.com

nakano.yuriko.dd5@nstec.nipponsteel.com

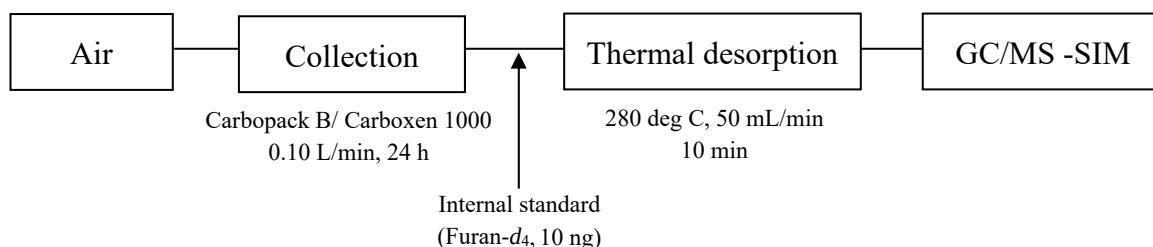
yamamoto.shihoko.xt8@nstec.nipponsteel.com

Furan

An measurement method has been developed for the determination of furan in ambient air by thermal desorption gas-chromatography/mass spectrometry using selected ion monitoring mode (TD-GC/MS-SIM).

A sorbent tube (packed in two layer with of 100 mg Carbopack B and 150 mg of Carboxen 1000) conditioned with high-purity helium gas at flow rate 30 mL/min for 1 hour under 300 deg C is used for the sampling by connecting a desiccant tube (approx..20mm ID glass tube packed with 10 g of MgClO_4) in front of the tube (the Carbopack B side). Airborne furan is collected in the sorbent tube by drawing the air through the desiccant tube followed by the sorbent tube at flowrate of 0.10 L/min for 24 hours (total sampling volume: 144 L). The tube is added with 10 ng of internal standard (furan- d_4) under a stream of high-purity nitrogen gas, attached to a thermal desorption system, and measured with GC/MS-SIM.

The instrument detection limit (IDL), the method detection limit (MDL) and the method quantification limit (MQL) are 0.16 ng, 2.3 ng/m³ and 6.0 ng/m³, respectively. The average of recoveries from five ambient air samples added with 30 ng of furan was 92.5% with the relative standard deviation of 5.0%. When measuring ambient air concentration of furan in Himeji City by this method, the maximum concentration was 23 ng/m³.



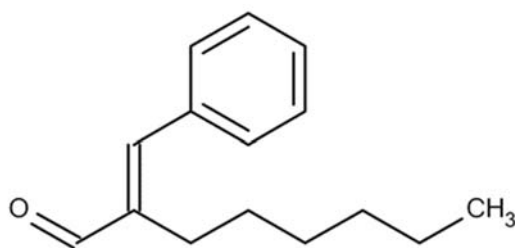
物質名	分析法フローチャート	備 考
フラン IUPAC 名 : 1-オキサ- 2,4-シクロ ペンタジ エン 別名 : ジビニレ ンオキシ ド フルフラ ン	【大気】 <pre> graph LR A[大気] --> B[捕集 Carbopack B/ Carboxen 1000 0.10 L/min, 24 h] B --> C[加熱脱着 280°C, 50 mL/min 10 min] D[内標準添加 (フラン-d4 10 ng)] --> C C --> E[GC/MS-SIM] </pre>	分析原理 : 加熱脱着- GC/MS-SIM 検出下限値 : 【大気】(ng/m ³) 2.3 分析条件 : 機器 GC : Agilent 7890A MS : Agilent 5975C カラム : PoraBOND Q (Agilent 製) 25 m × 0.32 mm, 5 μm

2-ベンジリデンオクタナール

2-Benzylideneoctanal

別名 α -ヘキシルシンナムアルデヒド α -Hexyl cinnamaldehyde

【対象物質の構造】

2-Benzylideneoctanal（異性体混合物（*E* 体及び *Z* 体））

CAS 番号：101-86-0

分子式：C₁₅H₂₀O

【物理化学的性状】

物質名	2-ベンジリデンオクタナール
分子量（平均分子量）	216.32
分子量（モノアイソトピック質量）	216.1514
比重	0.96 ¹⁾
沸点（°C）	175.05 ²⁾
融点（°C）	39.2 ²⁾
蒸気圧（hPa）	7.12×10 ⁻⁴ （25°C、推定値） ²⁾
水溶解度（mg/L）	2.75（25°C、推定値） ²⁾
ヘンリー定数（atm·m ³ /mol）	1.04×10 ⁻⁵ （25°C、推定値） ²⁾
log P _{ow}	4.82（推定値） ²⁾
pKa	-

【毒性、用途】

〔用途〕³⁾

香料（ジャスミン、チュベローズなど花香の調合）

出典：

- 1) 東京化成工業, <https://www.tcichemicals.com/JP/ja/structure-search>
- 2) U.S.EPA, Estimation Programs Interface (EPI) Suite™ version 4.11
- 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)

§1 分析法

(1) 分析法の概要

メタノールを加えた水質試料に、サロゲート内標準を添加し、固相カートリッジに通水する。固相カートリッジを精製水/メタノールで洗浄、脱水後、アセトニトリルで溶出し、LC/MS/MS-SRM(ESI-positive)で定量する。

(2) 試薬・器具

【試薬】

2-ベンジリデンオクタナール	: Sigma-Aldrich(Merck)製 Analytical Standard（純度 99.8%）
2-ベンジリデンオクタナール- <i>d</i> ₆	: 林純薬工業製（純度 95.0%、99.96 atom%D）分析用標準品 特注製品
ギ酸	: 富士フイルム和光純薬製 LC/MS 用
アセトニトリル	: 富士フイルム和光純薬製 LC/MS 用
メタノール	: 富士フイルム和光純薬製 LC/MS 用
精製水	: 超純水製造装置（Merck 製）Milli-Q Integral で製造した Milli-Q 水
固相カートリッジ	: Waters 製 Oasis HLB Plus (225 mg)

【標準液の調製】（注 1、注 2）

〔標準原液〕

2-ベンジリデンオクタナール 10.0 mg を正確に量り取り、アセトニトリルで 10

mL とし、1000 µg/mL の標準原液を調製する。

〔サロゲート内標準液〕

2-ベンジリデンオクタナール-*d*₆ 10.0 mg を、アセトニトリルでメスフラスコに洗い込み 10 mL とし、1000 µg/mL のサロゲート内標準原液として調製する。これをアセトニトリルで正確に希釈し、5.0 µg/mL のサロゲート内標準液を調製する。

〔検量線用標準液〕

標準原液をアセトニトリルで順次希釈し、0.20～50 ng/mL の検量線用標準液を調製する。各濃度の検量線用標準液に、サロゲート内標準（2-ベンジリデンオクタナール-*d*₆）の濃度が 10 ng/mL となるように添加する。

【器具】（注 1、注 2、注 3）

固相抽出送液装置	: 吸引式で試料通水及び固相カートリッジの洗浄に使用。GL Sciences 製 アクアローダー AL898
マニホールド	: 吸引式で固相カートリッジの脱水及び溶出に使用。
固相抽出用リザーバー	: ガラス製、50 mL
試料採取瓶	: ガラス製、120 mL 以上でこれに近い容量のもの
メスフラスコ	: ガラス製、10 mL、標準原液調製に使用。
目盛付き試験管	: ガラス製、10 mL
マイクロピペット（注 4）、マイクロピペットチップ（PP 製、10～100 µL 及び 100～1000 µL）	

(3) 分析法

【試料の採取及び保存】（注 1、注 2、注 5、注 6、注 7）

環境省「化学物質環境実態調査実施の手引き」（最新版）の「試料の採取及び検体の調製等」に従って採取する。なお、対象物質の容器への吸着及び光異性化を防ぐために、一部以下のとおりに変更する。

水質試料 100 mL を予めメタノール 20 mL 添加した褐色のガラス製容器へ採取後、十分に混和する。採取した試料は冷暗所に保存する。

【試料の前処理及び試験液の調製】（注 1、注 7）

対象物質は、光異性化の性質を有するため、操作は可能な限り照度を落として

迅速に実施する（注2）。メタノールを加えた試料に、5.0 µg/mL のサロゲート内標準液を 20 µL 添加し、十分混和した後、試料水全量を、予めコンディショニングした（注8）固相カートリッジ(Oasis HLB Plus)に 10 mL/min の流速で通水する。通水後、固相カートリッジを精製水/メタノール (10:2) 10 mL で洗浄し、アスピレーターで1分間吸引して脱水する。アセトニトリル 10 mL で溶出し、10 mL に定容したものを試験液とする。

なお、注解（注1）にも示したが、対象物質は日常使用される製品への添加例が多く、様々な経路から試料が汚染される危険性が高いので、ブランクチェックや器具類の選択は、特に慎重に行う。

【空試験液の調製】（注1、注7）

試料水と同様にメタノール 20 mL を添加した精製水 100 mL 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 測定条件】（注9）

【LC 条件】

LC 機種	: 島津製作所製 SHIMADZU LC-20A Series
カラム	: Waters 製 XBridge C18, 100 mm × 2.1 mm, 3.5 µm
移動相	: A: 0.1%(v/v)ギ酸水溶液 B: メタノール
	0→1 min A: 30 B: 70
	1→6 min A: 30→0 B: 70→100 linear gradient
	6→11 min A: 0 B: 100
	11→21 min A: 30 B: 70
流量	: 0.2 mL/min
カラム温度	: 40°C
試料注入量	: 2 µL
シリンジ洗浄液	: メタノール

【MS 条件】

MS 機種	: AB Sciex 製 API4000 Qtrap
イオン化法	: ESI-Positive
ターボガス温度 (TEM)	: 700°C
カーテンガス (CUR)	: 30 psi
イオンスプレー電圧 (IS)	: 5000 V

ネブライザーガス (GS1) : 80 psi

ターボガス (GS2) : 80 psi

コリジョンガス (CAD) : 6

測定モード : SRM

モニターイオン、ドリフト電圧、コリジョン電圧 :

物質名	モニターイオン (<i>m/z</i>)	ドリフト電圧 (DP) (V)	コリジョン電圧 (CE) (V)
2-ベンジリデンオクタナール	217.1 > 129.0 (定量用)	46 (定量用)	25 (定量用)
2-ベンジリデンオクタナール	217.1 > 147.0 (確認用)	46 (確認用)	15 (確認用)
2-ベンジリデンオクタナール- <i>d</i> ₆	223.1 > 134.0	46	25

〔検量線〕 (注 10)

検量線用標準液 2 μL を LC/MS/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〕 (注 10)

試験液 2 μL を LC/MS/MS に注入し、対象物質とサロゲート内標準のピーク面積比から検量線を基にして試験液中の対象物質濃度を求める。

〔濃度の算出〕

水質試料中濃度 *C* (μg/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物質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物質の量 (μg)

(添加したサロゲート内標準液の濃度 (μg/μL) × 添加したサロゲート内標準液の容量 (μL))

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。

$$Q = 0.1 \text{ (}\mu\text{g)}$$

(添加したサロゲート内標準液の濃度 (0.0050 μg/μL) × 添加したサロゲート内標準液の容量 (20 μL))

$$V = 0.1 \text{ (L)}$$

即ち、

$$C = R \text{ (}\mu\text{g/L)}$$

である。

〔装置検出下限値(IDL)〕

本分析に用いた LC/MS の IDL を表 1 に示す (注 11)。

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-ベンジリデン オクタナール	0.058	0.10	10	0.0029

〔分析方法における検出下限値 (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 12)。

表 2 MDL 及び MQL の算出結果

物質名	試料	試料量 (L)	最終液量 (mL)	MDL (μg/L)	MQL (μg/L)
2-ベンジリデン オクタナール	海水	0.10	10	0.0053	0.014

注 解

- (注1) 対象物質はガラス及びプラスチック製品へ非常に吸着しやすい性質を持つ上、流通する市販の洗濯用洗剤、柔軟剤、ハンドソープ、ボディソープ等に含まれているため、実験器具に既に吸着している可能性がある。使用する器具については、使用前にアセトニトリルで洗浄して乾燥後、必ずブランクチェックを実施してから使用すること。使用するガラス器具については、透明摺が望ましい。後述の〔**ブランクの確認**〕及び〔**日用品の含有調査**〕の項を参照すること。固相抽出の操作については、対象物質が流路等へ吸着するのを避けるため、接続経路を可能な限り短くする。例えば、リザーバーと固相カートリッジを直結し、吸引式で操作するのが望ましい。
- (注2) 対象物質は光により *E* 体から *Z* 体へ異性化する性質（光異性化）があるため、使用するガラス器具については褐色が望ましい。試料採取の際、透明のガラス容器を用いる場合はアルミホイルで遮光すること。室内作業では、暗室を使用する必要はないが、実験室の窓から差し込む太陽光をブラインドやカーテンにより可能な限り遮光し、作業可能なぎりぎりの照度まで室内の照明を落とす必要がある。目安として、照度 50 lux 未満の作業の場合、透明のガラス器具を使用しても異性化しない。室内の蛍光灯を点灯して操作した場合の結果については、後述の〔**蛍光灯照射による試験液調製中の光異性化**〕の項を参照すること。
- (注3) JIS R 3505 に記載のクラス A のガラス器具を使用する。
- (注4) 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5) 採取した水試料は全量使用するため、試料採取の際は、できるだけ正確に 100 mL 採取することを心がける。試料量は、試料採取前にあらかじめメタノール 20 mL 含む容器重量を量っておき、試料採取後に再び重量を量り、重量差と比重（河川水 1.00、海水 1.03 g/mL とする）から試料量を求める。
- (注6) 対象物質はガラス容器器壁に吸着しやすい性質があり、器壁への吸着抑制等、試料の保存性を高めるためにメタノールを予め添加しておく。
- (注7) 保護手袋からブランクが検出される可能性があるため、器具洗浄、試料採取、分析操作全般にわたって保護手袋の使用を極力避けるのが望ましい。また、手からブランクが検出される可能性があるため、器具洗浄や実験操作直前に、市販のハンドソープを用いた手洗いも極力避けるのが

望ましい。後述の【ブランクの確認】及び【日用品の含有調査】の項を参照すること。

- (注8) 固相カートリッジは使用直前にアセトニトリル及び精製水/メタノール (10:2)それぞれ 10 mL でコンディショニングを行う。
- (注9) LC/MS の条件は、本測定に使用した機種 (AB Sciex 製 API4000 Qtrap) 特有のものである。
- (注 10) 市販されている 2-ベンジリデンオクタナール (製品名は α -ヘキシルシンナムアルデヒド) の標準品は、*E* 体及び *Z* 体の異性体混合物 (CAS 番号 101-86-0) である。本検討で使用した標準品 (対象物質及びサロゲート内標準) は、*Z* 体の含有率が低く、異性化しないよう留意した条件下で検量線用標準液及び試験液を調製したため、クロマトグラム上では *E* 体由来のピークのみ検出されている (図 1、図 2、図 5、図 7、図 8-1、図 8-2、図 9-1 及び 9-2)。2-ベンジリデンオクタナールの各異性体は同様のプロダクトイオンのパターンを示す (図 12 及び図 13) ことから、対象物のピークは、異性体由来の 2 本のピークの面積の合計値とする。なお、本測定条件では *Z* 体は *E* 体より 0.3 分ほど遅く検出される (図 10 及び図 11)。

(注 11) IDL は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 28 年 3 月)に従って、表 3 のとおり算出した。また、図 1 に IDL 測定時のクロマトグラムを示す。

表 3 IDL の算出結果 (詳細)

物質名	2-ベンジリデンオクタナール
試料量 (L)	0.10
最終液量 (mL)	10
注入液濃度 (ng/mL)	0.20
注入量 (pg)	0.40
装置注入量 (μL)	2.0
結果 1 (pg)	0.384
結果 2 (pg)	0.412
結果 3 (pg)	0.382
結果 4 (pg)	0.406
結果 5 (pg)	0.410
結果 6 (pg)	0.402
結果 7 (pg)	0.376
平均値 (pg)	0.3960
標準偏差(σ_{n-1}) (pg)	0.0149
IDL (pg)*	0.058
IDL 試料換算値 (μg/L)	0.0029
S/N 比	9.0
CV (%)	3.8

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

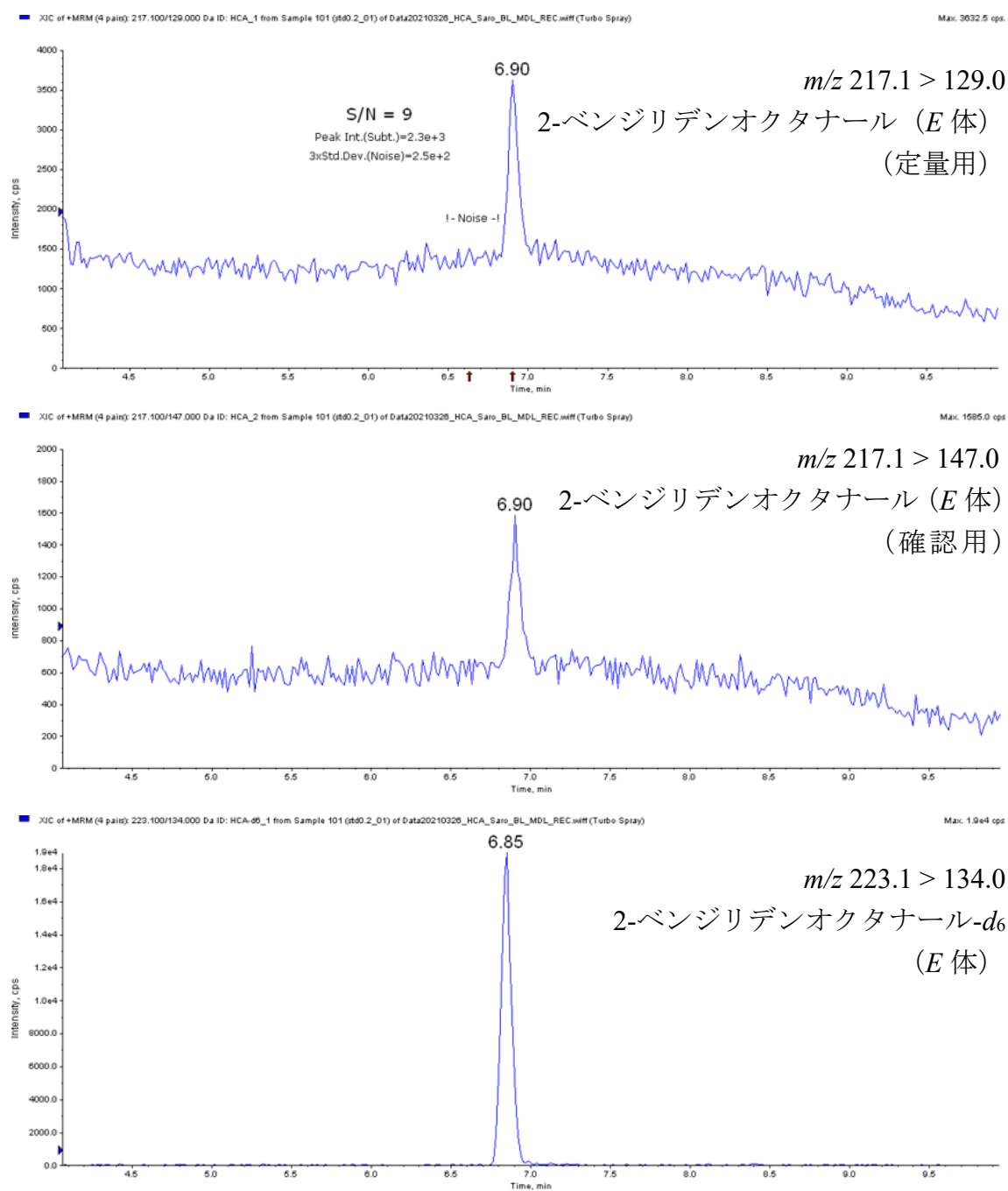


図1 IDL 測定時の SRM クロマトグラム
(2-ベンジリデンオクタナール : 0.20 ng/mL、
2-ベンジリデンオクタナール-*d*₆ : 10 ng/mL)

(注 12) MDL 及び MQL は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 28 年 3 月)に従って、表 4 のとおり算出した。また、図 2 に MDL 測定時のクロマトグラムを示す。

表 4 MDL 及び MQL の算出結果 (詳細) *1

物質名	2-ベンジリデン オクタナール	補正後 回収率 (%)	サロゲート 回収率 (%)
試料	海水	-	-
試料量 (L)	0.10	-	-
標準添加量 (ng)	3.0	-	-
試料換算濃度 (µg/L)	0.030	-	-
最終液量 (mL)	10	-	-
注入液濃度 (ng/mL)	0.30	-	-
装置注入量 (µL)	2.0	-	-
操作ブランク平均 (µg/L) *2	<0.0053	-	93
無添加平均 (µg/L) *3	<0.0053	-	95
結果 1 (µg/L)	0.0290	97	86
結果 2 (µg/L)	0.0283	94	85
結果 3 (µg/L)	0.0286	95	89
結果 4 (µg/L)	0.0257	86	92
結果 5 (µg/L)	0.0275	92	87
結果 6 (µg/L)	0.0300	100	87
結果 7 (µg/L)	0.0288	96	85
平均値 (µg/L)	0.02827	94.3	87.3
標準偏差(σ _{n-1}) (µg/L)	0.00136		
MDL (µg/L) *4	0.0053		
MQL (µg/L) *5	0.014		
S/N 比	9.7		
CV (%)	4.8		

*1 : 定量結果は、サロゲート法により補正した値である。

*2 : 空試験液を測定した値の平均値 (n = 2)

*3 : 無添加試料の平均濃度 (n = 2)

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

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

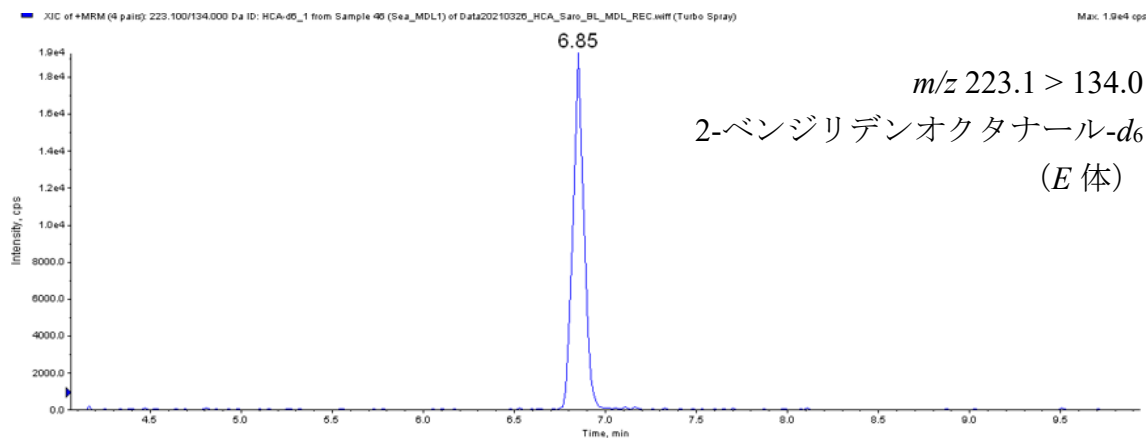
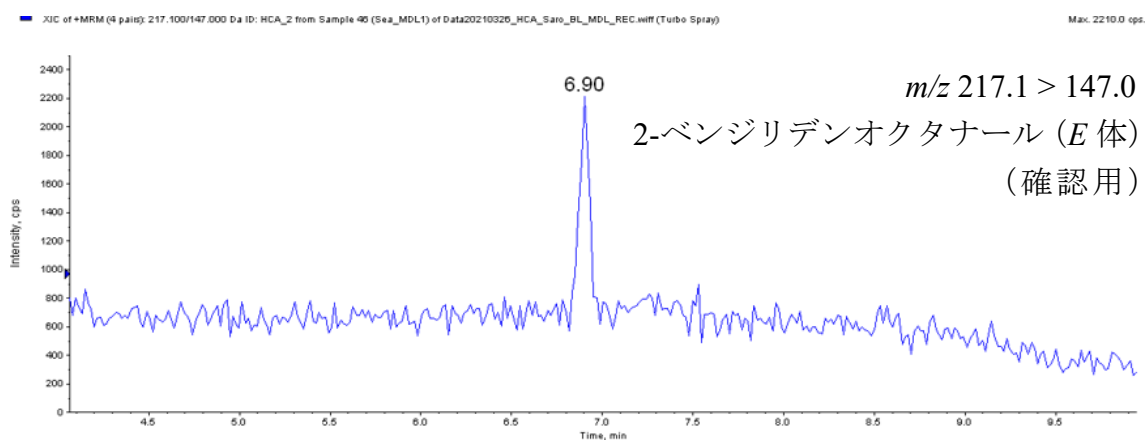
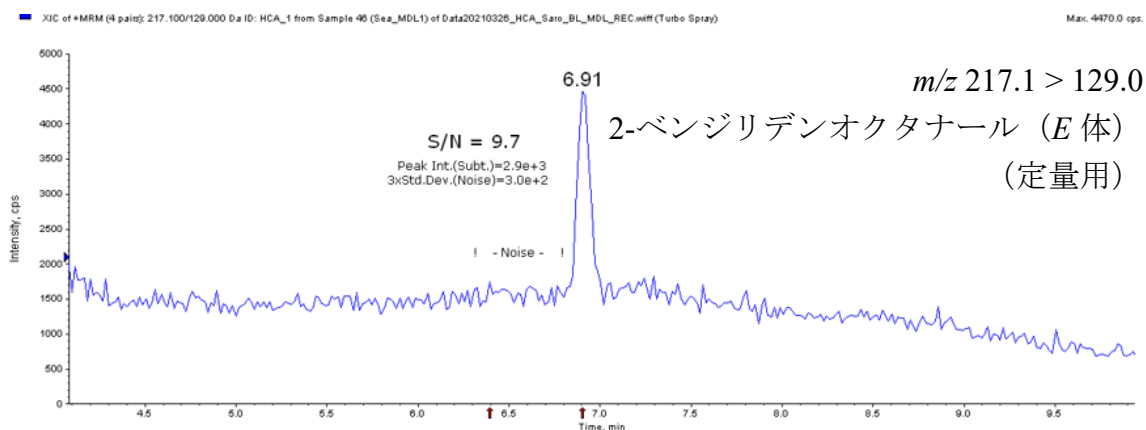


図2 MDL 測定時の SRM クロマトグラム
(2-ベンジリデンオクタナール : 3.0 ng 添加、
2-ベンジリデンオクタナール-*d*₆ : 100 ng 添加)

§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。

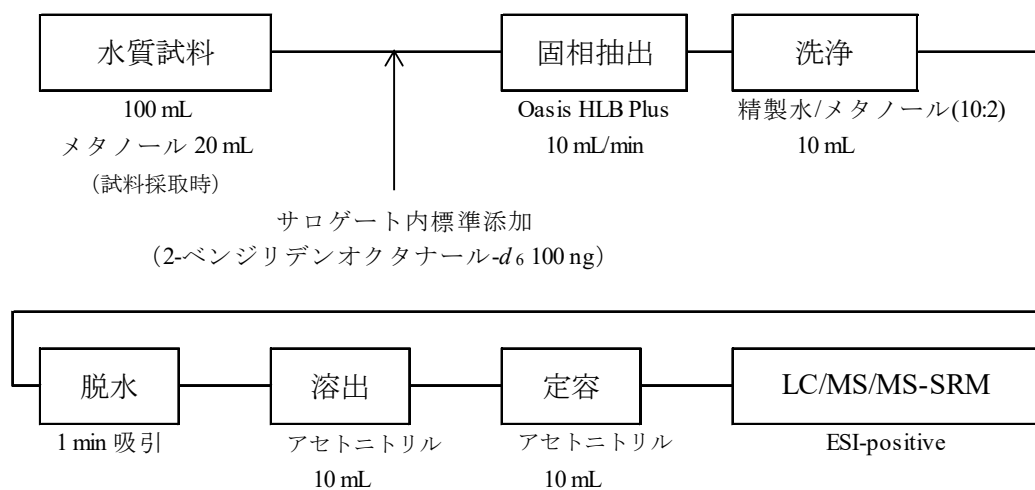


図3 分析法のフローチャート

〔検量線〕

検量線作成用データを表 5 に、検量線を図 4 に示す。

表 5 検量線作成用データ

標準液濃度 (ng/mL) (C _s)	濃度比 (C _s /C _{is} *)	応答値		応答比 (A _s /A _{is})
		対象物質(A _s)	サロゲート内標準(A _{is})	
		【2-ベンジリデン オクタナール】	【2-ベンジリデンオク タナール-d ₆ 】	
		m/z 217.1 > 129.0	m/z 223.1 > 134.0	
0.20	0.020	10111	86952	0.116
0.50	0.050	23355	91009	0.257
1.0	0.10	45293	87539	0.517
2.0	0.20	85610	92993	0.921
5.0	0.50	225780	90818	2.49
10	1.0	440035	91862	4.79
20	2.0	856995	91320	9.38
50	5.0	2030036	89746	22.6

C_{is}*:サロゲート内標準濃度 10 ng/mL

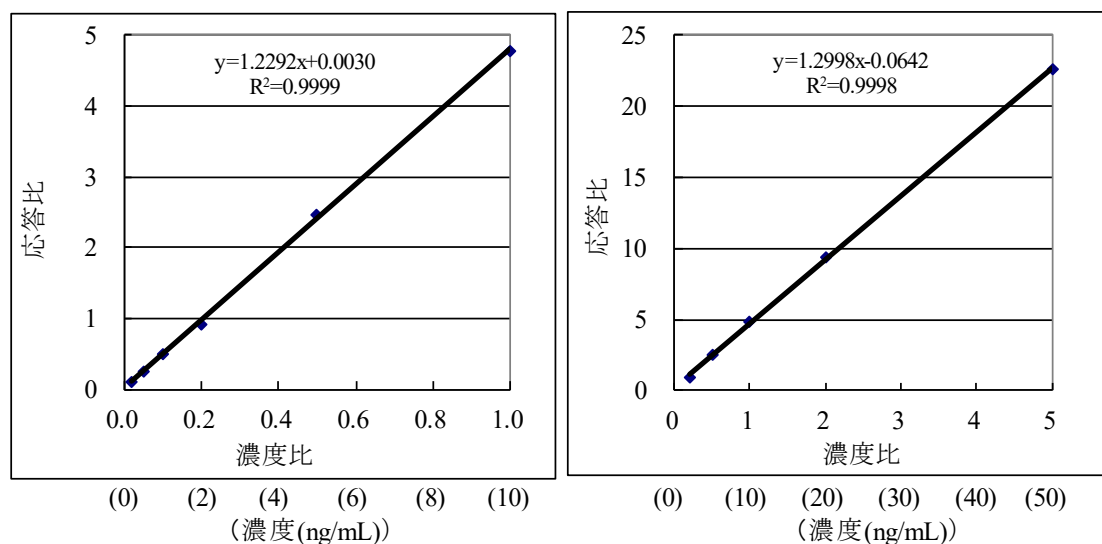


図 4 2-ベンジリデンオクタナールの検量線

(左図：低濃度域 0.20~10 ng/mL、右図：高濃度域 2.0~50 ng/mL、
サロゲート内標準：10 ng/mL)

〔クロマトグラム〕

標準液の SRM クロマトグラムを図 5 に示す。

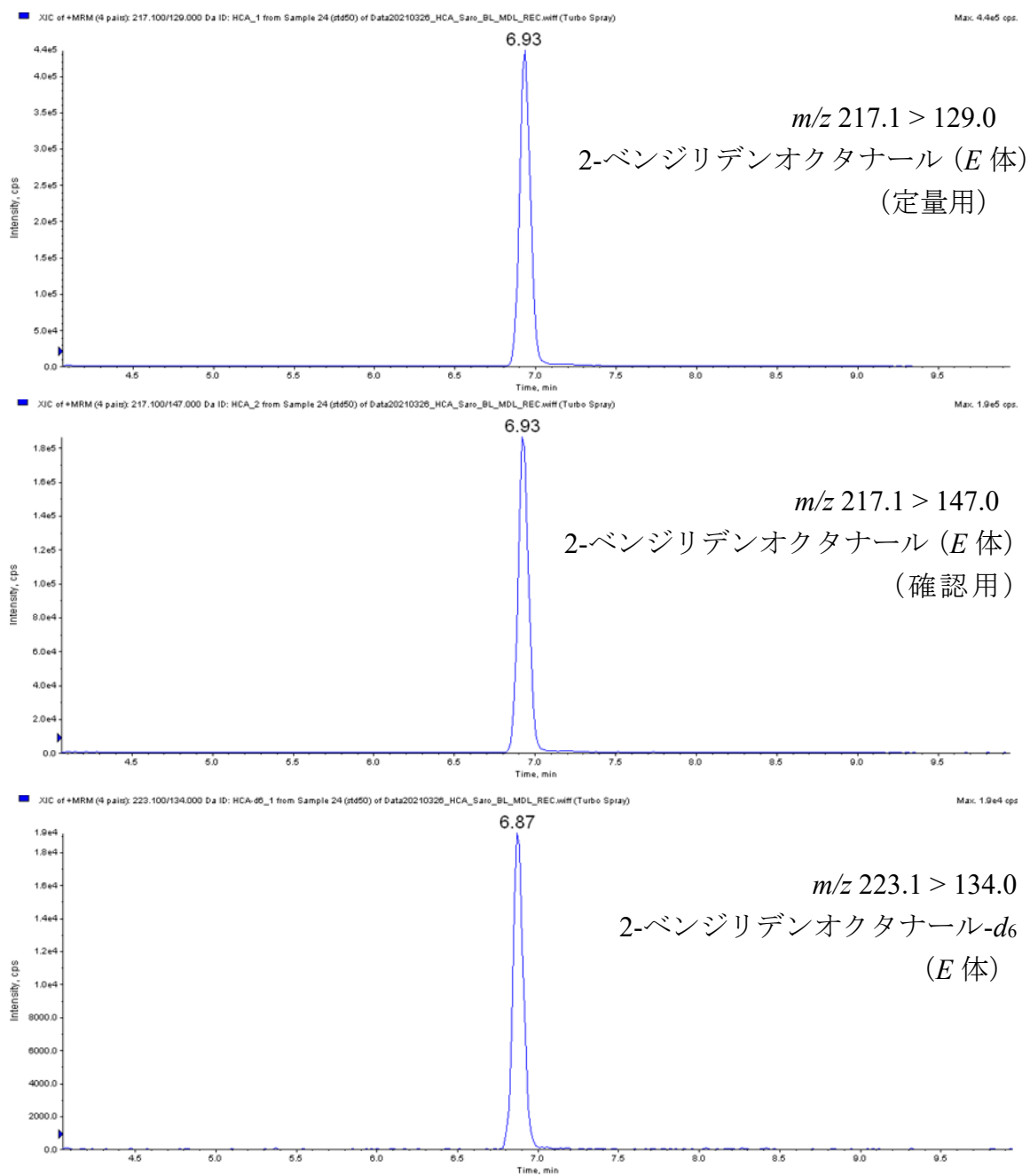


図 5 標準液の SRM クロマトグラム
(2-ベンジリデンオクタナール : 50 ng/mL、
2-ベンジリデンオクタナール- d_6 : 10 ng/mL)

[マスペクトル]

2-ベンジリデンオクタナール及び 2-ベンジリデンオクタナール- d_6 のマスペクトル並びにプレカーサーイオンに対するプロダクトイオンを図 6-1～図 6-2 に示す。

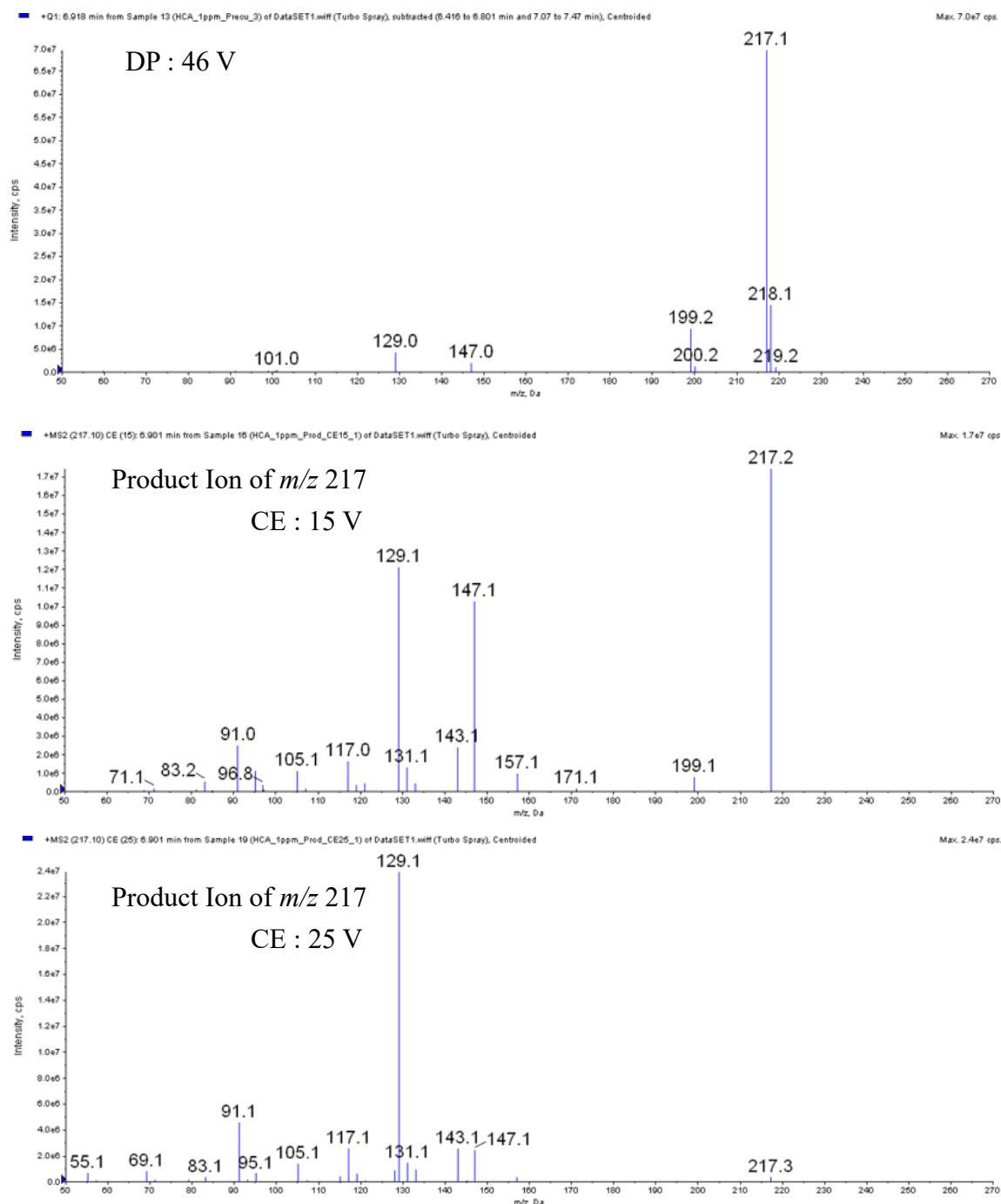


図 6-1 2-ベンジリデンオクタナールのマスペクトル（上図）、
 プレカーサーイオン m/z 217.1 に対する CE:15 V のプロダクトイオン（中図）
 及び CE:25 V のプロダクトイオン（下図）

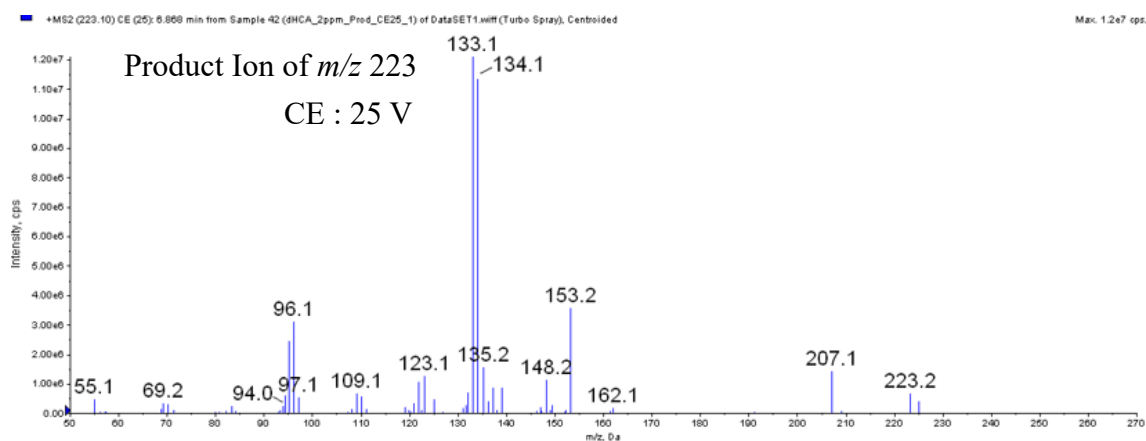
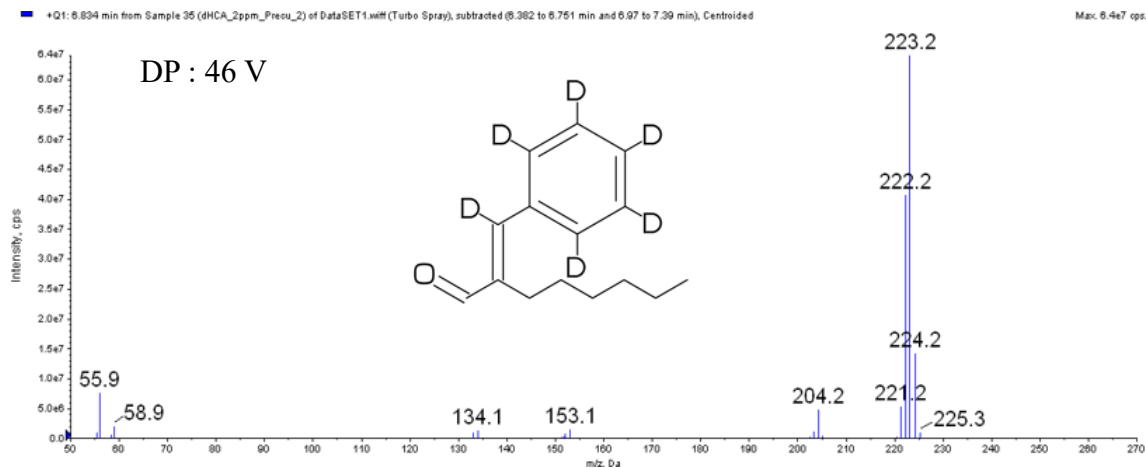


図 6-2 2-ベンジリデンオクタナール- d_6 のマススペクトル（上図）及び
プレカーサーイオン m/z 223.1 に対するプロダクトイオン（下図）

〔操作ブランク試験〕

操作ブランク試験結果を表 6 に、クロマトグラムを図 7 に示す。

表 6 操作ブランクの試験結果

物質名	試験数	検出濃度 ($\mu\text{g/L}$)
2-ベンジリデンオクタナール	2	<0.0053

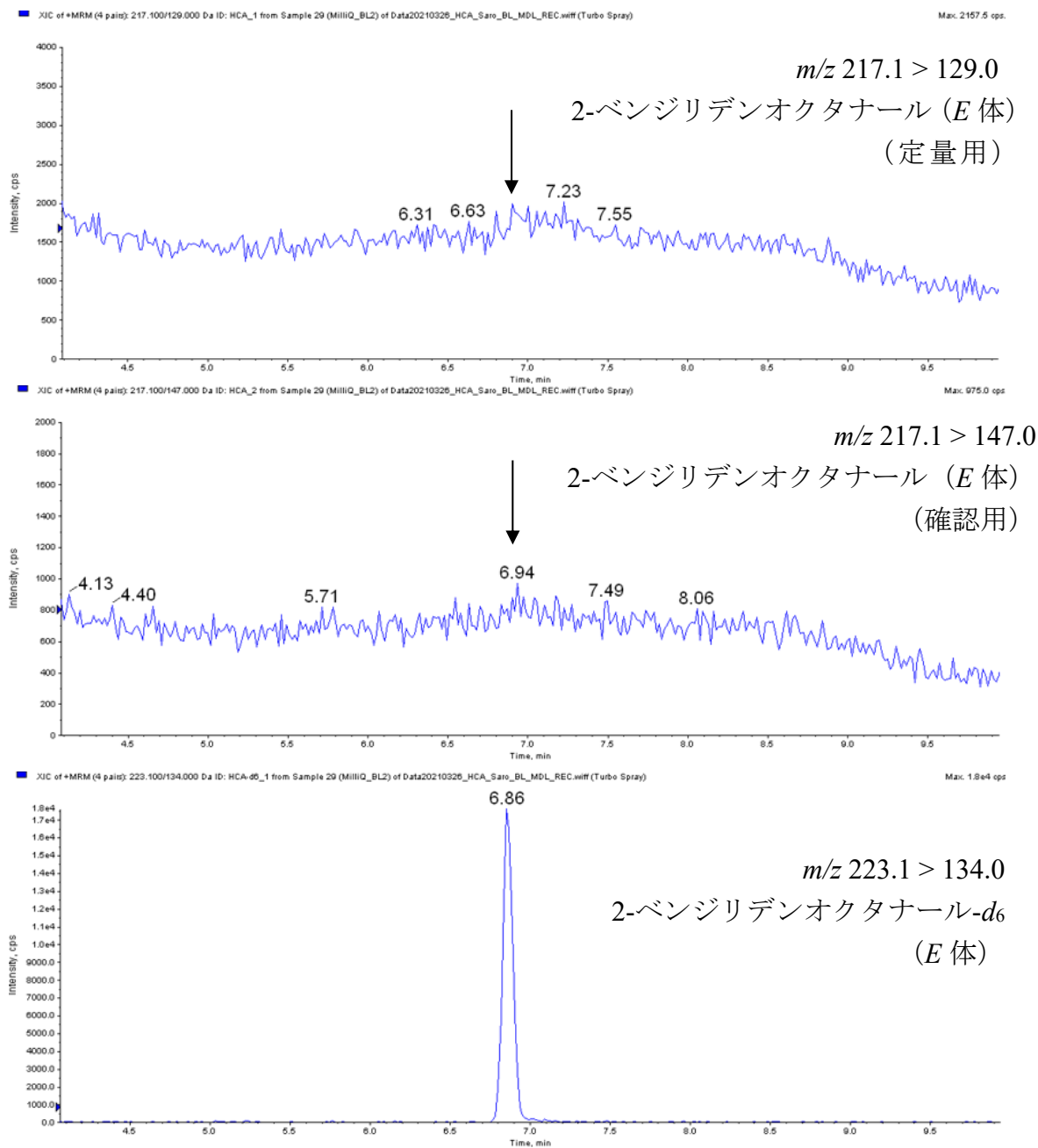


図7 操作ブランク（精製水 100 mL）の SRM クロマトグラム

〔添加回収試験〕

河川水及び海水への添加回収試験結果を表 7 に、クロマトグラムを図 8-1、図 8-2、図 9-1、図 9-2 に示す。

表 7 添加回収試験結果

物質名	試料	試料 量 (L)	試 験 数	添加 量 (ng)	検出 濃度* (μg/L)	回収 率* (%)	変動 係数 (%)	サロゲ ート回 収率(%)
2-ベンジリ デンオクタ ナール	河 川	0.10	2	0	< 0.0053	-	-	93
	水	0.10	5	30	0.289	97	2.1	92
ナール	海水	0.10	2	0	< 0.0053	-	-	95
		0.10	7	3.0	0.0283	94	4.8	87
		0.10	5	30	0.300	100	1.8	92

*：検出濃度及び回収率はサロゲート法により補正した値

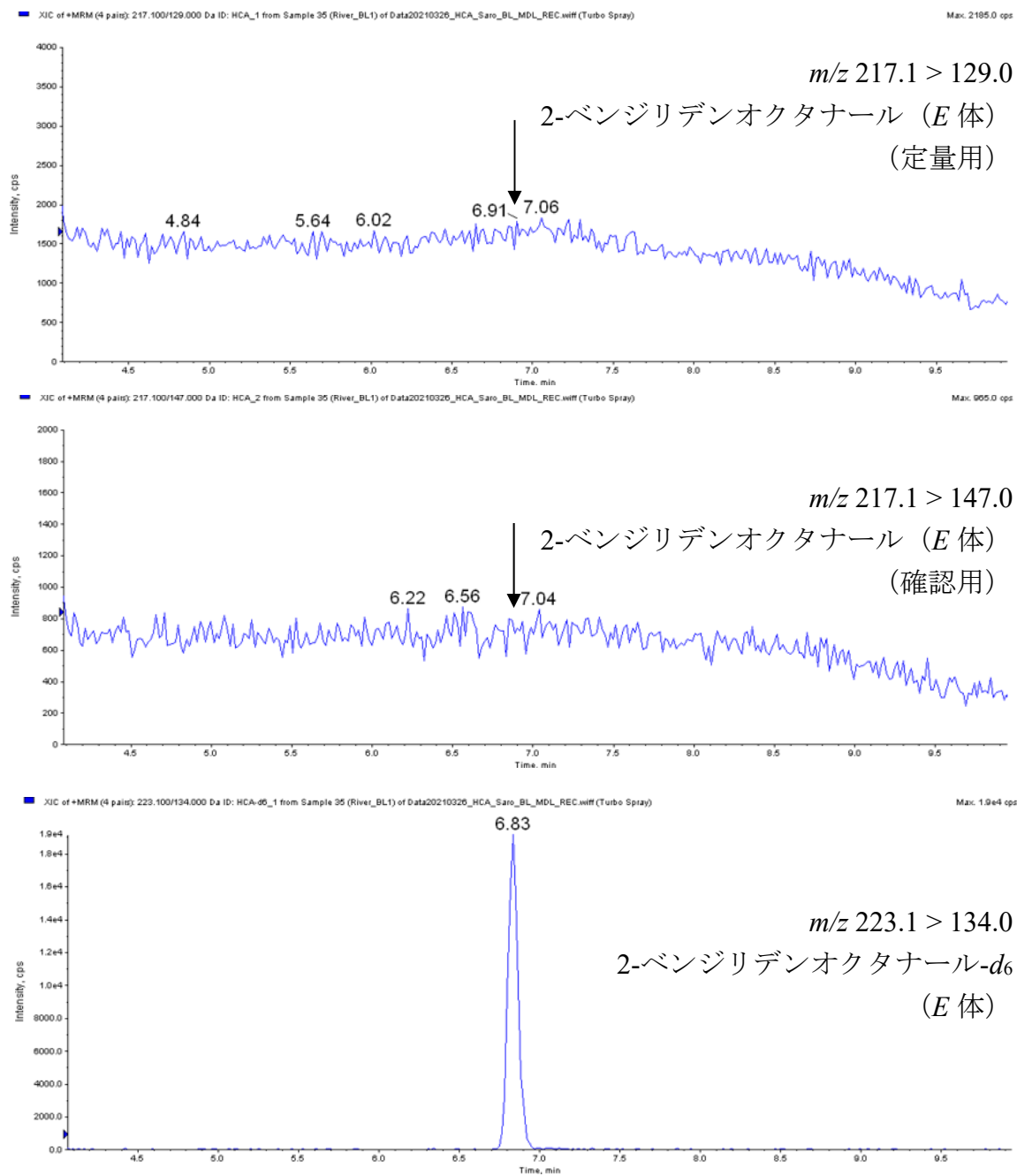


図 8-1 添加回収試験（河川水 100 mL）の SRM クロマトグラム
(無添加試料)

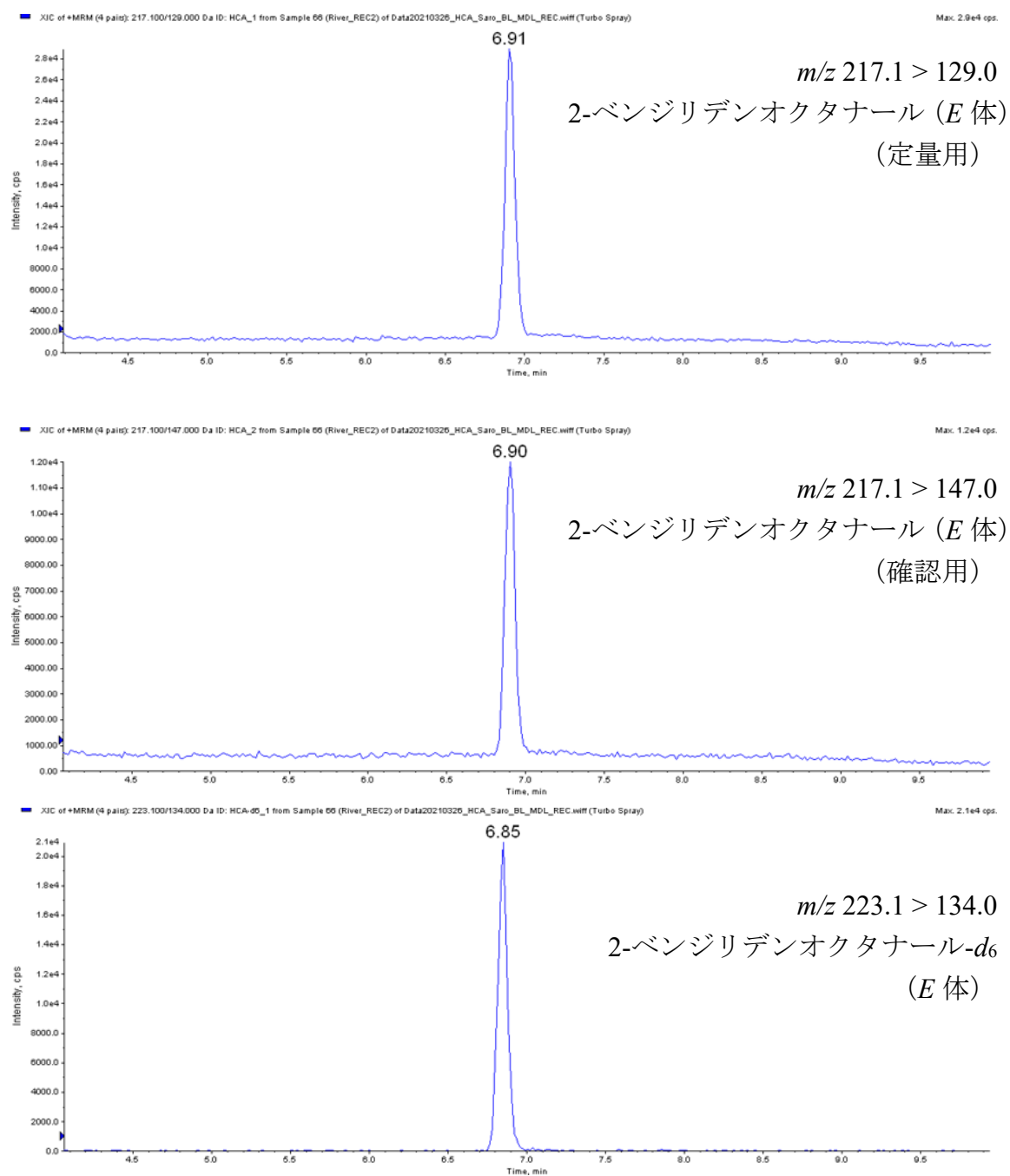


図 8-2 添加回収試験（河川水 100 mL）の SRM クロマトグラム
（添加試料 30 ng）

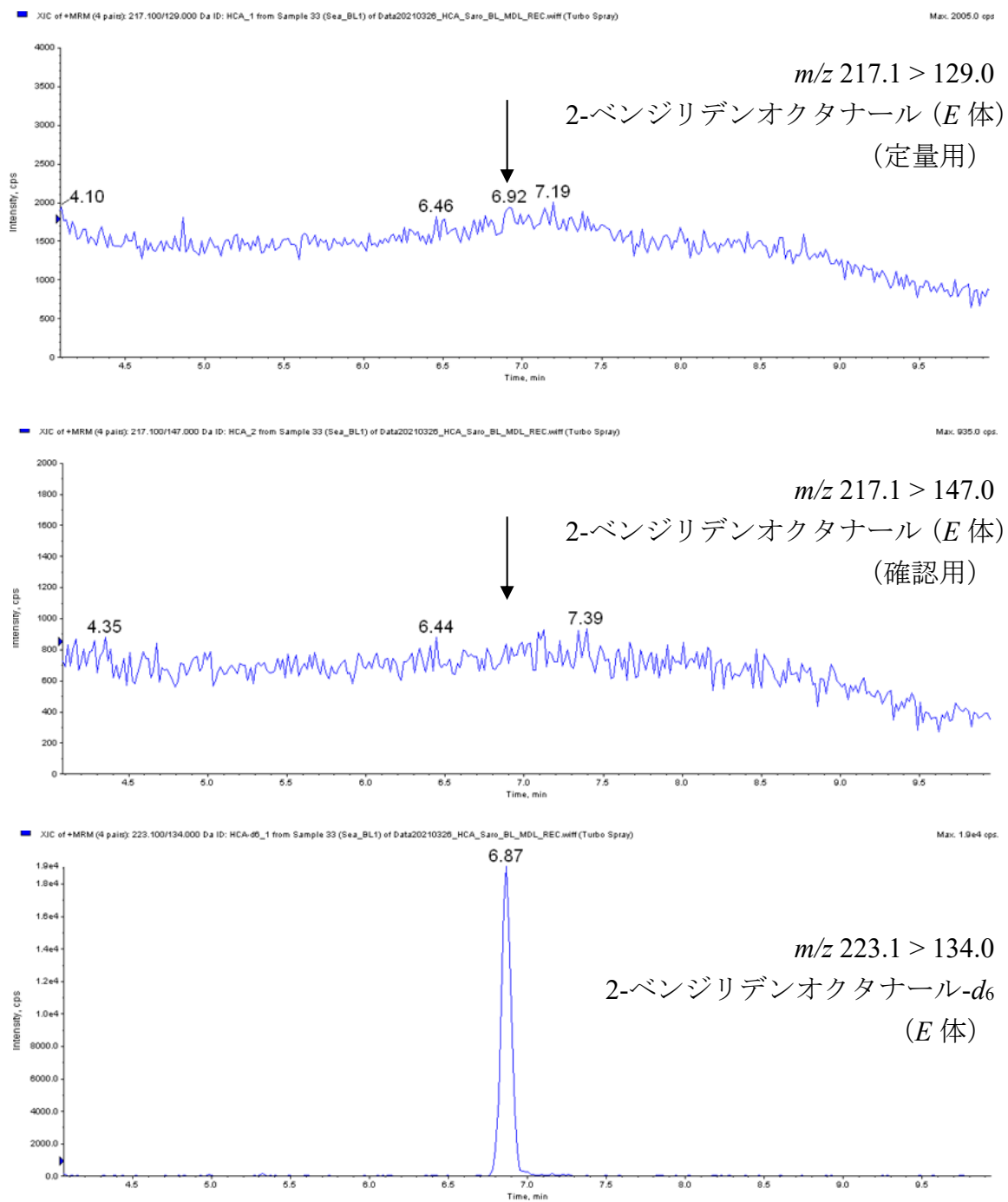


図 9-1 添加回収試験（海水 100 mL）の SRM クロマトグラム
（無添加試料）

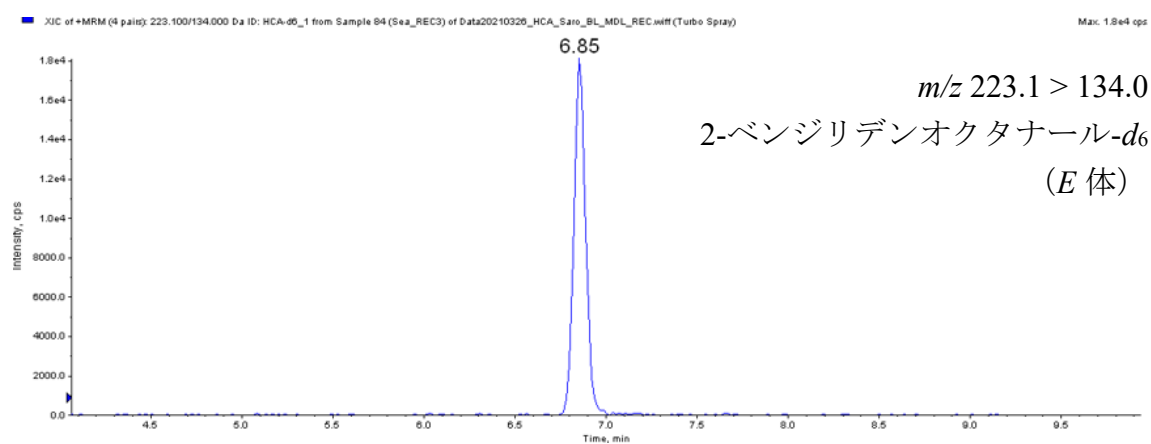
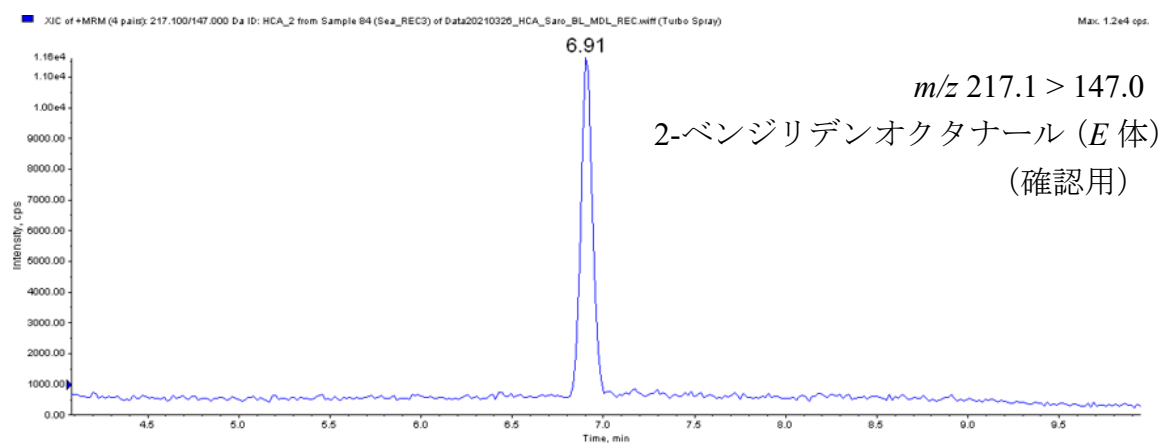
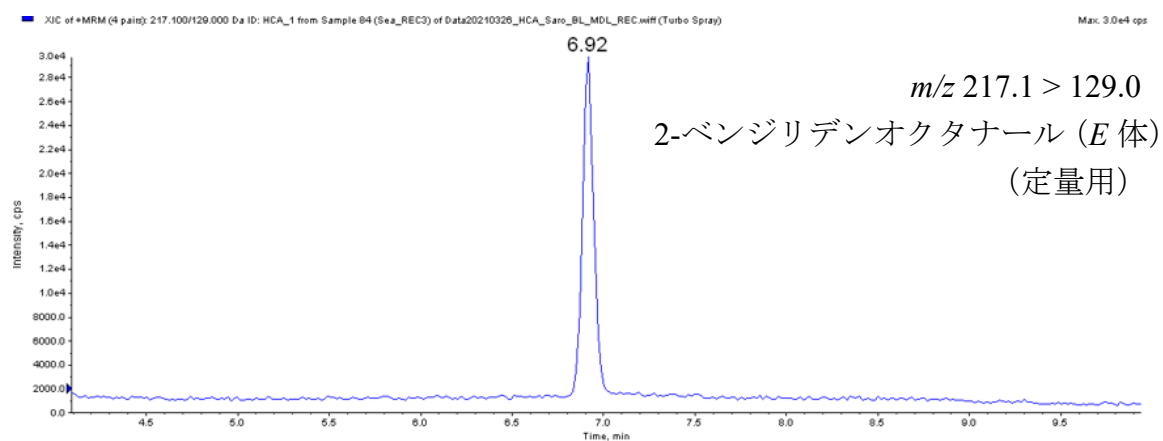


図 9-2 添加回収試験（海水 100 mL）の SRM クロマトグラム
(添加試料 30 ng)

〔分解性スクリーニング試験〕

pH5、7 または 9 に調整した精製水 10 mL に対象物質 10 ng を添加し、室温で保存した。調製 1 時間及び 7 日間後に、メタノールの添加及び前処理等の操作をせずに試験液についてそのまま機器分析を行った。なお、内標準は添加していない。

試験液中の対象物質の残存率の結果を表 8 に示す。対象物質のガラス器具器壁への吸着が示唆された。対象物質は疎水性が高いため、溶液中の対象物質の一部が器壁に吸着し、それ以降は新たに吸着せず安定して存在したものと考えられる。pH によるピーク形状の違いはみられなかった。後述の〔水質試料中に対象物質の容器への吸着挙動〕では、精製水に対してメタノール 20% 量加えることにより、吸着がほぼなくなることを示している。

明所に放置したものについては、E 体及び Z 体の 2 本のピークが確認され、Z 体のピーク面積値は、E 体及び Z 体の合計した面積値に対して 12% 程度であった。これは E 体から Z 体へ光異性化が原因と考えられ、実験操作中は、遮光する必要があることが解った。

表 8 分解性スクリーニング試験結果（メタノール無添加）

物質名	pH	試験 数	調製濃度 (ng/mL)	検出濃度*1 (ng/mL) (残存率(%))		
				1 時間放置後	7 日間放置後	
					暗所	明所*2
2-ベンジリデ	5	2	1.00	0.82 (82)	0.84 (84)	-
ンオクタナ-	7	2	1.00	0.82 (82)	0.84 (84)	0.85 (85)
ル	9	2	1.00	0.77 (77)	0.83 (83)	-

*1：残存率(%)は調製濃度に対する検出濃度の割合

*2：明所については E 体及び Z 体のピーク面積値の合計

〔保存性試験〕

環境試料、試験液及び標準液の保存性試験結果を表 9 に示す。分解性スクリーニング試験の結果からガラス器具器壁への吸着が示唆されたため、環境試料については、試料保存時にメタノールを添加した場合と、メタノールを添加していない場合を比較した。保存時にメタノールを添加しなかった環境試料については、試験溶液の調製開始時に試料 100 mL に対して 20 mL メタノールを添加した。それぞれ、試料保存開始時に 2-ベンジリデンオクタナール 15 ng を添加した水質試料を、冷蔵保存した後、7 日後に【試料の前処理及び試験液の調製】に従って固相抽出した。ただし、アセトニトリルの溶出量及び定容量は 5 mL とし、その試験液を測定した。

表 9 保存性試験結果

	試料	調製濃度 (ng/mL) *1	検出濃度 (ng/mL) (残存率(%)*2)		
			7 日間	14 日間	1 ヶ月
河川水	試料	メタノール 無添加	0.146	0.0153 (10)	-
		メタノール 20 mL 添加	0.137	0.136 (99)	-
	試験液		2.79	2.64 (95)	2.58 (92)
	試験液	メタノール 無添加	2.79	2.64 (95)	2.58 (92)
海水	試料	メタノール 無添加	0.138	0.00645 (4.7)	-
		メタノール 20 mL 添加	0.142	0.140 (99)	-
	試験液		2.78	2.70 (97)	2.66 (96)
	試験液	メタノール 無添加	2.78	2.70 (97)	2.66 (96)
標準液	検量線の低濃度		2.0	-	1.94 (97)
	検量線の最高濃度		50	-	53.9 (108)

*1：環境試料については調製当日の検出濃度

*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検討〕

固相カートリッジ選定のために、固相カートリッジへの保持および精製水の洗浄による溶出の程度を確認した。表 10 の各固相カートリッジに 2-ベンジリデンオクタナール 100 ng を添加した精製水 5 mL を通水し、精製水 5 mL で洗浄した。通過液および洗浄液の測定を行った。

その結果、Oasis HLB Plus と Sep-Pak PS-2 Plus とともに良好であった。今回は Oasis HLB Plus を用いて固相抽出することとした。

表 10 固相カートリッジの選定結果

固相カートリッジ	保持の程度	精製水の洗浄による溶出の程度
Oasis HLB Plus (Waters)	保持	溶出せず
Sep-Pak PS-2 Plus (Waters)	保持	溶出せず

〔水質試料中の対象物質の容器への吸着挙動〕

対象物質の容器器壁への吸着が疑われたため、試験液の溶媒組成と容器の材質を変えて対象物質の容器への吸着を確認した。

有機溶媒（メタノールもしくはアセトニトリル）と精製水の割合を、段階的に変化させ、各溶媒 10 mL を PP 製及びガラス製容器に入れ、対象物質 10 ng を添加後、転倒混和した試験液についてそのまま機器分析を行った。

結果を表 11 に示す。材質ではガラスよりも PP への吸着量が多かった。また、ガラス製の器具に対してはメタノール・アセトニトリルともに有機溶媒濃度がおおよそ 20%以上で吸着がほぼなくなり、PP 製の器具に対しては両有機溶媒とも 50%以上で吸着がなくなった。

よって、器具はガラス製を使用することとした。ただし、標準液を希釈する際の器具については、有機溶媒 100%を使用するため、マイクロピペット（PP 製のチップ）を用いても、ホールピペット（ガラス製）を用いても、どちらも同等の検量線用の段階希釈が可能であった。ガラス器具に対してはメタノールでもアセトニトリルでも、ほぼ同様の挙動を示したため、固相抽出時に加える有機溶媒はアセトニトリルに比べて安価なメタノールとした。

表 11 容器への吸着挙動(n=1)

有機溶媒	容器 材質	溶液中の残存率(%)					
		有機溶媒/精製水の割合(%)					
		0	5	10	20	50	100
メタノール	ガラス	75	89	96	99	102	103
	PP	26	38	49	63	101	99
アセトニトリル	ガラス	75	84	96	99	101	102
	PP	26	39	54	79	102	102

〔固相抽出時の有機溶媒割合の検討〕

固相カートリッジ(Oasis HLB Plus)を用い、抽出を行う際の有機溶媒の割合を検討した。精製水 100 mL に対して、メタノールを 10、15、20、25 及び 30 mL 加えた溶液を調製し、各溶液に対象物質 30 ng を添加した試料水を、それぞれ固相カートリッジに負荷した。各固相カートリッジに対して、それぞれ同じ割合の精製水/メタノール溶液 10 mL で洗浄、アスピレーターで 1 分間吸引後、アセトニトリル 10 mL で溶出した試験液について機器分析を行った。

その結果を表 12 に示す。その結果より、吸着を防ぐためには、試料採取時に有機溶媒を添加する方法が有効であり、添加量については、試料 100 mL に対してメタノール 20 mL とした。また、固相カートリッジの洗浄液については、精製水/メタノール (10:2)に決定した。

表 12 固相抽出時の有機溶媒割合(n=1) *

	メタノール添加量(mL)				
	10	15	20	25	30
回収率(%)	96	97	100	94	94

* : 試料量 100 mL、添加量 30 ng

〔固相カートリッジからの溶出液量の検討〕

固相カートリッジ(Oasis HLB Plus)について、溶出液量の検討を行った。精製水 100 mL にメタノール 20 mL を添加・混和した溶液に 2-ベンジリデンオクタナール 100 ng を添加した後、固相抽出を行い、アセトニトリル 2 mL ずつのフラクションで 10 mL まで溶出させた。結果を表 13 に示す。

その結果、最初の 4 mL までのフラクションで対象物質の大半は溶出されるが、回収率を向上させる観点から、溶出量を 10 mL とすることとした。

表 13 Oasis HLB Plus における溶出液量の検討結果(n=1) *

	アセトニトリル(mL)				
	0-2	2-4	4-6	6-8	8-10
回収率(%)	88	10	1.1	0.6	0.4

* : 試料量 100 mL、添加量 100 ng

〔蛍光灯照射による試験液調製中の光異性化〕

実験室の窓から差し込む太陽光の影響により、2-ベンジリデンオクタナールの光異性化が起こることがわかったので、室内の蛍光灯照射により光異性化は起こるのかを確認した。実験室の窓から差し込む太陽光をブラインドやカーテンにより可能な限り遮光した上で、室内の蛍光灯を全て点灯した状態で、光異性化がどの程度起こるか検討した。2-ベンジリデンオクタナール 15 ng を添加した精製水 100 mL を用いて【試料の前処理及び試験液の調製】に従って固相抽出を行った。ただし、アセトニトリルの溶出量及び定容量は 5 mL として試験液を調製した。得られた SRM クロマトグラムを図 10 に示す。

その結果、蛍光灯照射のより *E* 体（6.9 分のピーク）の面積の 8%（両ピークの合計面積に対する 7.2 分のピーク面積の割合）が *Z* 体（7.2 分のピーク）へ異性化した。さらに検討した結果、蛍光灯による照度を 50 lux 未満に絞って分析したところ、〔操作ブランク試験〕や〔添加回収試験〕で示したように異性化を抑えることができることがわかった。

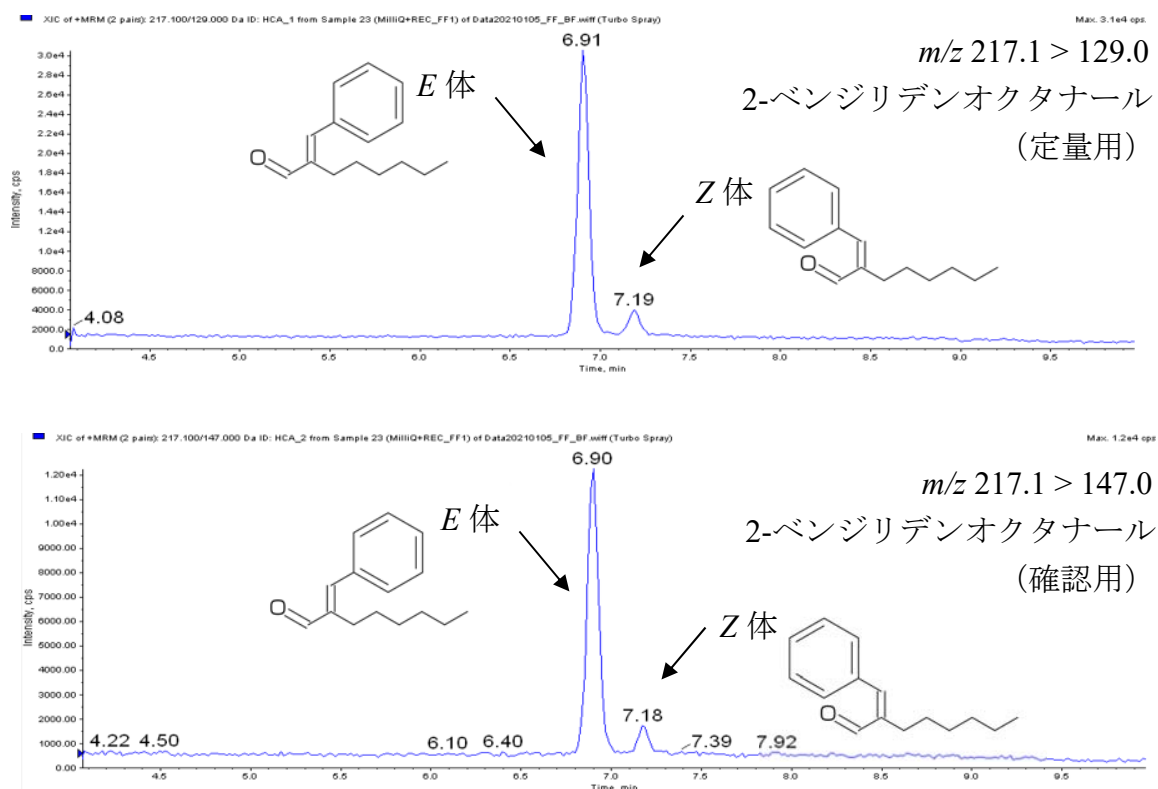


図 10 窓から差し込む太陽光を遮光した上で室内の蛍光灯を全て点灯して実施した添加回収試験（精製水 100 mL）の SRM クロマトグラム（添加量 15 ng）

〔異性体のプロダクトイオン〕

2-ベンジリデンオクタナール標準液(5 µg/mL) の入ったバイアルを窓際に3日間放置し、太陽光を照射後、SRMクロマトグラム、*E*体・*Z*体のマススペクトル及びプロダクトイオンを取得した。得られたSRMクロマトグラムを図11に、*E*体のマススペクトル及び m/z 217.1に対するプロダクトイオンを図12に、*Z*体の m/z 217.1に対するプロダクトイオンを図13に示す。

その結果、SRMクロマトグラムからは、約13%が光異性化したことがわかった。また、各異性体は同様のプロダクトイオンのパターンを示すことを確認した。

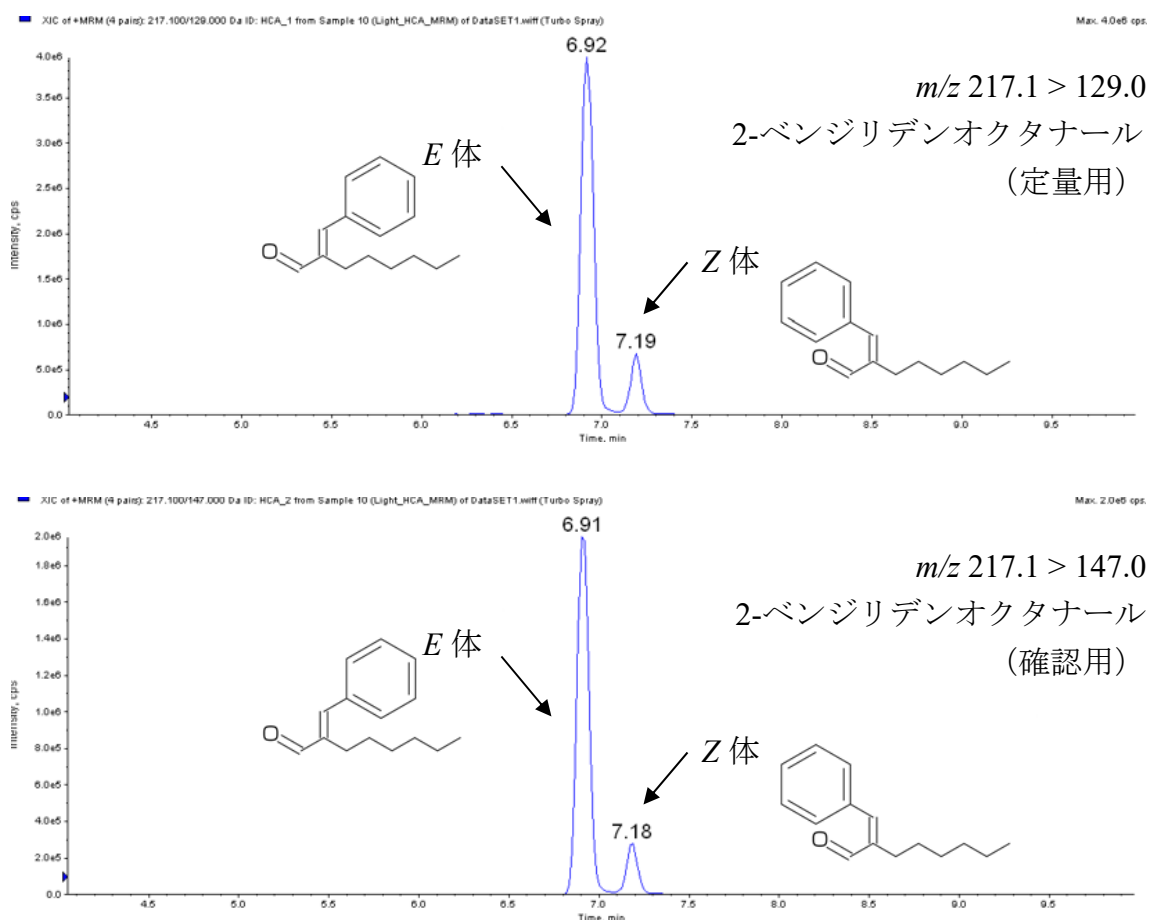


図 11 窓際に3日間放置した標準液のSRMクロマトグラム
(2-ベンジリデンオクタナール : 5 µg/mL)

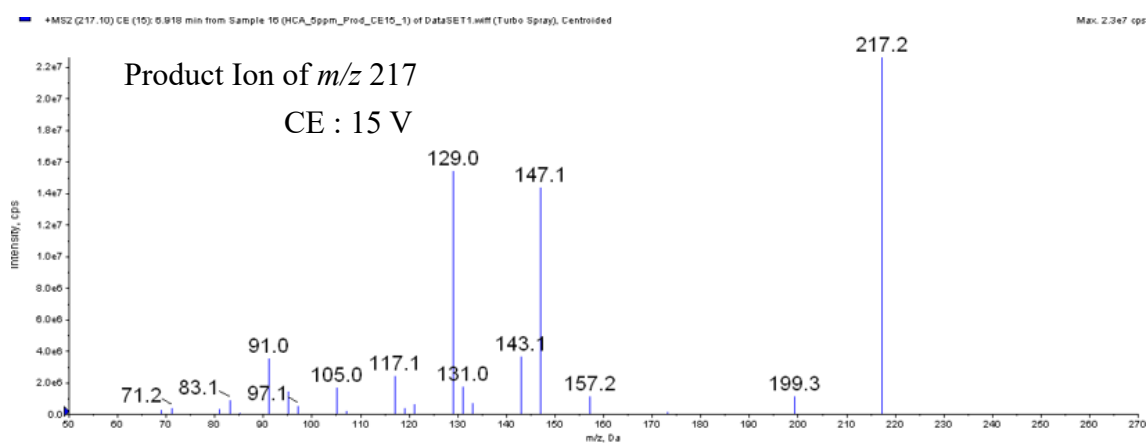
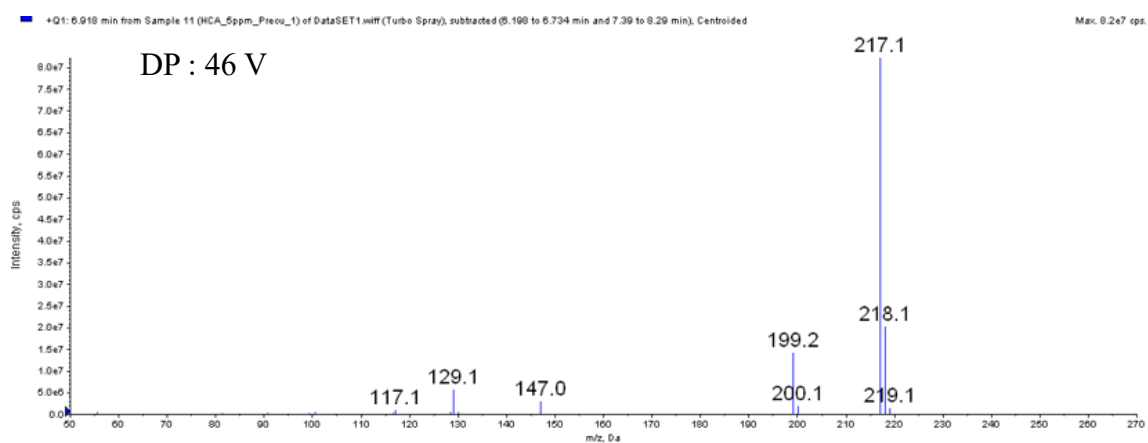


図 12 窓際に 3 日間放置した 2-ベンジリデンオクタナールの *E* 体 (SRM クロマトグラムの 6.9 分のピーク) のマススペクトル及び m/z 217.1 に対するプロダクトイオン (2-ベンジリデンオクタナール : 5 $\mu\text{g/mL}$)

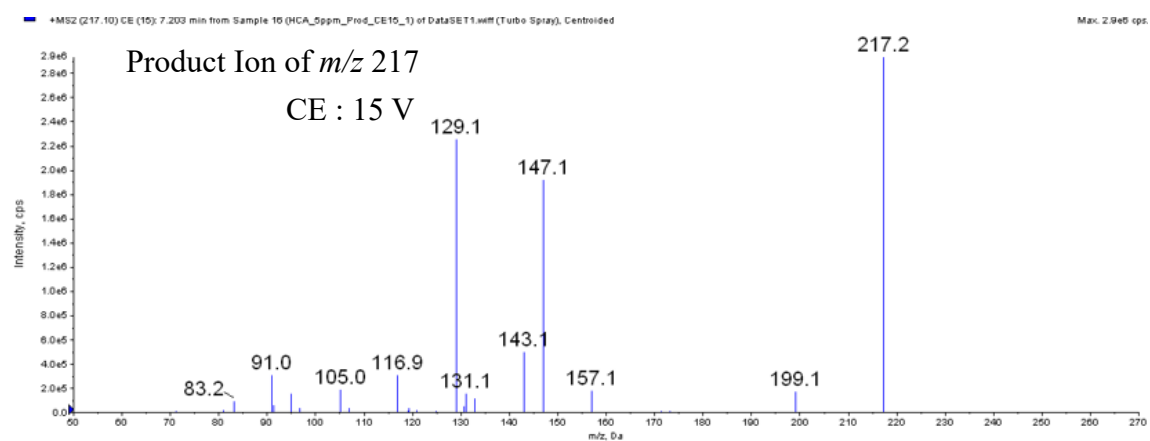
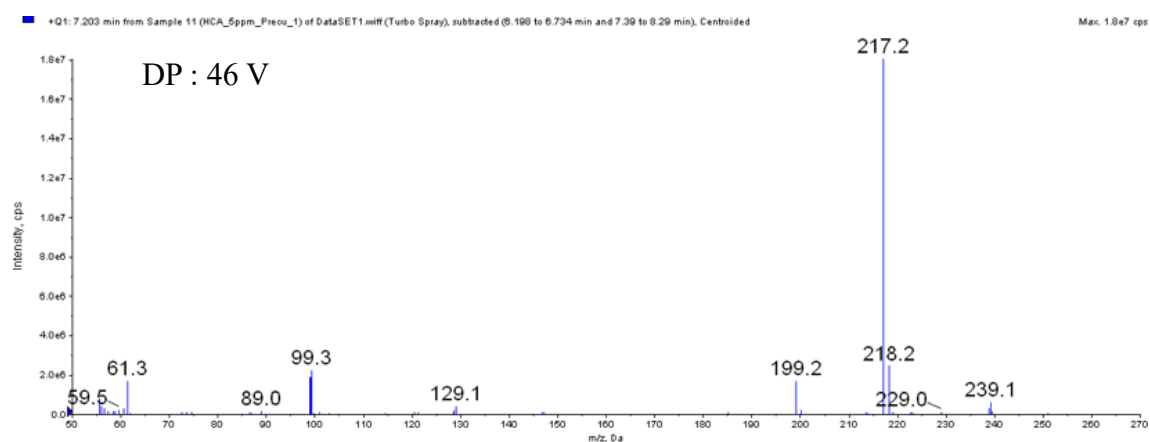


図 13 窓際に 3 日間放置した 2-ベンジリデンオクタナールの *Z* 体 (SRM クロマトグラムの 7.2 分のピーク) のマススペクトル及び m/z 217.1 に対するプロダクトイオン (2-ベンジリデンオクタナール : 5 $\mu\text{g/mL}$)

〔ブランクの確認〕

操作ブランクが検出されたため、実験器具や保護手袋からの汚染を疑い、原因を究明した。

① ガラス器具

洗浄（洗剤を使用して洗浄後、水道水で濯ぎ、乾燥）後のガラス器具に、アセトニトリル 1 mL で器具を洗い込み、直接ガラスバイアルに受けて機器分析を行い、溶出具合を確認した。

固相抽出用リザーバーとして使用するガラス製の摺入りシリンジ（注射筒）からは S/N 4 程度のピークが検出された。高濃度域の添加回収試験に使用したことにより器具に残存した対象物質が取り切れず、これを使用しないこととした。高濃度試料を扱った器具のブランクに注意が必要であった。アセトニトリル 5 mL で 2～3 回洗浄後、ピークが検出されなかったガラス製の摺入りシリンジを固相抽出用リザーバーとして使用することとした。

固相カートリッジからの溶出操作に使用していたガラス製の摺入りプランジャ（押子）から S/N 10 程度のピークが検出され、アセトニトリル 1 mL で洗浄するたびに検出された。添加回収試験で使用していないガラス製の摺入りプランジャ（新品ではない）からも同様にピークが検出された。また、炉を用いて 600℃ で 2 時間これらのプランジャを加熱した後もピークは検出された。このため、固相カートリッジからの溶出操作は、ガラス製のプランジャで溶媒を押し出すのではなく、マニホールドを用いた吸引式で実施することとした。

固相カートリッジからの溶出液の受け器として使用していた透明摺のガラス試験管やその蓋からも S/N 2 程度のピークが検出されたが、アセトニトリル 1 mL で 3 回程度洗浄するとピークが検出されなくなるものがほとんどであった。アセトニトリルを掛けただけの洗浄ではピークが検出されたものがあつたため、ビーカーに入れたアセトニトリル中で超音波洗浄 10 分間を 2 回実施後、ピークが検出されなかったガラス試験管やその蓋を使用することとした。

以上より、対象物質はガラス器具の摺部分に吸着すると、溶媒で洗浄しても繰り返し溶出される現象が生じた。従って、使用するガラス器具については、可能な限り透明摺のガラス器具を選び、使用前にアセトニトリルで十分洗浄し、必ずブランクチェックを実施することとした。

② 保護用手袋

前処理や器具洗浄の際に使用する保護用手袋（当実験室で使用しているニトリル製 3 種（白色、青色、薄紫色）及びポリエチレン製 1 種）計 4 種について、ブランクを確認した。ビーカーの中に手袋 1 枚とアセトニトリル 10 mL を入れ、

十分に浸した後のアセトニトリル 1 mL をバイアルに分取し、機器分析を行い、溶出具合を確認した。

ポリエチレン製手袋を浸したアセトニトリルから S/N 100 程度のピークを確認した。白色、青色、薄紫色のニトリル製手袋もそれぞれ S/N 4、18、13 程度のピークを確認した。

これらの結果、保護手袋からの汚染の可能性が示唆された。器具洗浄、試料採取、分析操作全般にわたって保護手袋の使用を極力さけるのが望ましい。

〔日用品の含有調査〕

操作ブランクが執拗に検出されたため、実験者の手や衣服からの汚染を疑い、日常使用している洗剤等（洗濯用洗剤、柔軟剤、ハンドソープ、ボディソープ、食器用洗剤、実験器具の洗浄に使用する洗剤）における対象物質の含有量を調査した。

調査した日用品 18 製品のうち 10 製品から 1 µg/g の検出がみられ、1 mg/g 程度検出した製品もあった。

これらの結果、ハンドソープ、ボディソープ、柔軟剤等から、実験者の手や衣服を経由した汚染の可能性が示唆された。器具洗浄や実験操作直前に、市販のハンドソープを用いた手洗いを極力さけるのが望ましい。

〔絶対検量線法による定量〕

サロゲート法による分析法及び結果を示してきたが、サロゲートを手に入できない場合を想定し、絶対検量線法を用いた場合の基礎的データを以下に示す。

絶対検量線作成用データを表 14 に、絶対検量線を図 14 に示す。

表 14 絶対検量線作成用データ	
標準液濃度 (ng/mL)	応答値
	2-ベンジリデン オクタナール
	(<i>m/z</i> 217.1 > 129.0)
0.00	0
0.20	12978
0.50	23882
1.0	63843
2.0	125767
5.0	245529
10	582383
20	1160386
50	2167429

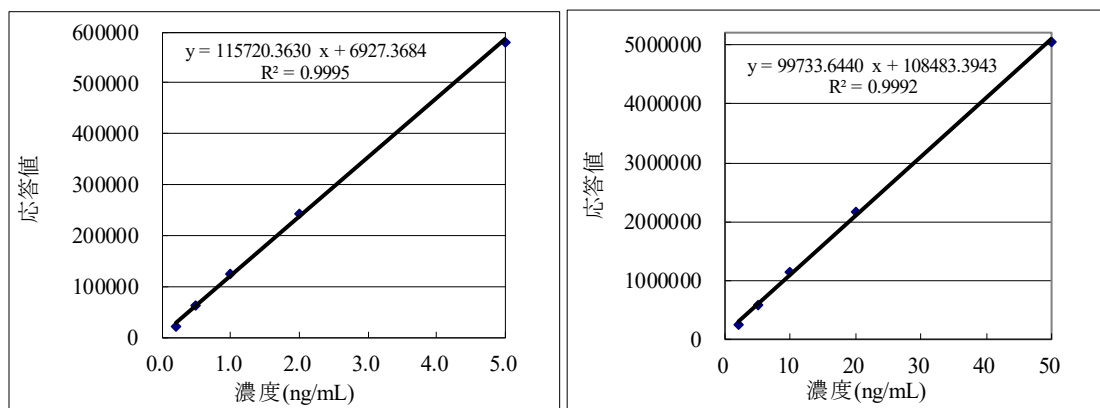


図 14 2-ベンジリデンオクタナールの絶対検量線
(左図：低濃度域 0.20～5.0 ng/mL、右図：高濃度域 2.0～50 ng/mL)

[絶対検量線による MDL 及び MQL]

絶対検量線による MDL 及び MQL を表 15 に示す。

表 15 MDL 及び MQL の算出結果 (詳細)

物質名	2-ベンジリデン オクタナール	回収率 (%)
試料	海水	-
試料量 (L)	0.10	-
標準添加量 (ng)	3.0	-
試料換算濃度 (ng/L)	0.030	-
最終液量 (mL)	10	-
注入液濃度 (ng/mL)	0.30	-
装置注入量 (μL)	2.0	-
操作ブランク平均 (μg/L) ^{*1}	<0.0041	-
無添加平均 (μg/L) ^{*2}	<0.0041	-
結果 1 (μg/L)	0.0309	103
結果 2 (μg/L)	0.0315	105
結果 3 (μg/L)	0.0307	102
結果 4 (μg/L)	0.0302	101
結果 5 (μg/L)	0.0303	101
結果 6 (μg/L)	0.0330	110
結果 7 (μg/L)	0.0323	108
平均値 (μg/L)	0.03127	104.2
標準偏差(σ _{n-1}) (μg/L)	0.00105	
MDL (μg/L) ^{*3}	0.0041	
MQL (μg/L) ^{*4}	0.011	
S/N 比	10	
CV (%)	3.4	

*1: 空試験液を測定した値の平均値 (n=2)

*2: 無添加試料の平均濃度 (n=2)

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

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

〔絶対検量線による添加回収試験〕

絶対検量線による河川水、海水への添加回収試験結果を表 16 に示す。

表 16 添加回収試験結果

物質名	試料	試料 量 (L)	試験 数	添加 量 (ng)	検出 濃度 ($\mu\text{g/L}$)	回収 率 (%)	変動 係数 (%)
2-ベンジリデン ンオクタナール	河川水	0.10	2	0	< 0.0041	-	-
		0.10	5	30	0.279	93	2.1
	海水	0.10	2	0	< 0.0041	-	-
		0.10	7	3.0	0.0313	104	3.4
		0.10	5	30	0.277	92	2.4

〔環境試料の分析〕

本法を用いて神戸市内の海水（神戸港）及び河川水（住吉川）を測定した結果、2-ベンジリデンンオクタナールはいずれも検出されなかった(< 0.0053 $\mu\text{g/L}$)（図 8-1 及び図 9-1）。

【評価】

環境水中に含まれる 2-ベンジリデンンオクタナールの定量分析法を開発した。本法で用いた LC/MS/MS での 2-ベンジリデンンオクタナールの IDL は 0.058 pg（試料換算濃度は 0.0029 $\mu\text{g/L}$ ）であり、0.20～50 ng/mL の範囲で検量線の直線性が確認された。固相抽出法による試験液の調製を行う本法の MDL は 0.0053 $\mu\text{g/L}$ 、MQL は 0.014 $\mu\text{g/L}$ であった。河川水に 2-ベンジリデンンオクタナールを 30 ng、海水に 3.0 及び 30 ng 添加した時の回収率はそれぞれ 97%、94%及び 100%、サロゲート回収率は 92～93%（河川水）及び 87～95%（海水）であった。本法で神戸の河川水及び海水を測定したところ、2-ベンジリデンンオクタナールはすべて検出されなかった(< 0.0053 $\mu\text{g/L}$)。以上の結果から、本法は水質試料中に含まれる 0.006 $\mu\text{g/L}$ 程度の 2-ベンジリデンンオクタナールを検出できるものと判断される。

【参考文献】

- 1) 亀田豊，山下洋正，尾崎正明：環境中の香料及び紫外線吸収剤の多成分同時分析手法の確立と環境中濃度の把握，水環境学会誌，31(1), 39-46 (2008)
- 2) 須戸幹：琵琶湖における日用品由来医薬品(PPCPs)の原単位法に基づく流入負荷量と琵琶湖からの流出負荷量，平成 21 年度 財団法人琵琶湖・淀川水質保

全機構「水質保全研究助成」研究報告書

【担当者連絡先】

所属先名称：神戸市健康科学研究所

所属先住所：〒650-0046 神戸市中央区港島中町 4-6-5

TEL：078-302-6302、FAX：078-302-0894

担当者名：吉野 共広、八木 正博

E-mail：tomohiro_yoshino@office.city.kobe.lg.jp

masahiro_yagi@office.city.kobe.lg.jp

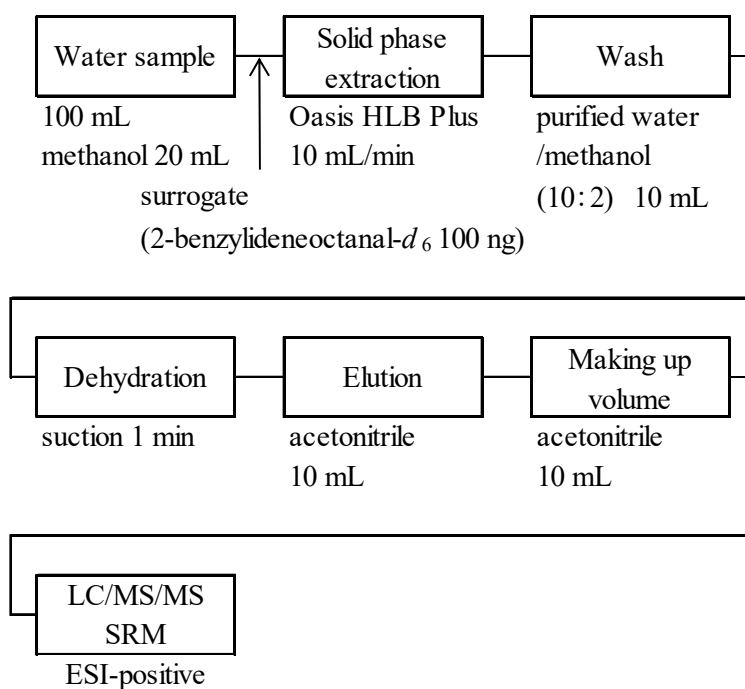
2-Benzylideneoctanal

This method provides a procedure for the quantitative determination of 2-benzylideneoctanal in water samples by liquid chromatography/tandem mass spectrometry with selected reaction monitoring (LC/MS/MS-SRM).

Twenty mL of methanol is added to a water sample (100 mL) to prevent adsorption to a sampling glass bottle. The bottle should be shaded to prevent photoisomerization. The following operations should be performed quickly with the reduced illumination as much as possible to prevent photoisomerization. The sample solution is spiked with 20 μL of 2-benzylideneoctanal- d_6 (surrogate, 0.0050 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$) and passed through a solid phase extraction cartridge (Oasis HLB Plus) preconditioned with 10 mL of acetonitrile and 10 mL of methanol/purified water (2:10). The cartridge is washed with 10 mL of methanol/purified water (2:10). The remaining solution in the cartridge is removed by suction. The analyte is eluted from the cartridge with 10 mL of acetonitrile. The final volume is made up to 10 mL with acetonitrile. The solution is analyzed by LC/MS/MS-SRM (ESI positive).

The instrument detection limits (IDL) and the method detection limits (MDL) of 2-benzylideneoctanal in water sample are 0.058 pg and 0.0053 $\mu\text{g}/\text{L}$, respectively. The recoveries of 2-benzylideneoctanal added to water samples (river and sea water) were 97%, 94-100%, respectively.

Using this method, 2-benzylideneoctanal was not detected in river and sea water in Kobe city.



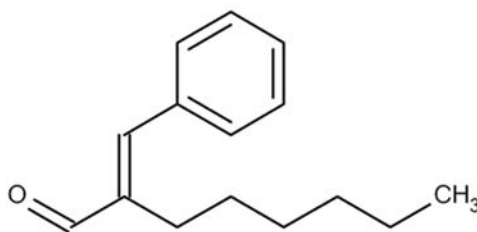
物質名	分析法フローチャート	備考
2-ベンジリ デンオクタ ナール 別名： α -ヘキシル シンナムア ルデヒド	【水質】 <pre> graph TD A[水質試料 100 mL] --> B[固相抽出 Oasis HLB Plus 10 mL/min] C[メタノール 20 mL] --> B B --> D[洗浄 精製水/メタノール (10:2) 10 mL] D --> E[脱水 1 min 吸引] E --> F[溶出 アセトニトリル 10 mL] F --> G[定容 アセトニトリル 10 mL] G --> H[LC/MS/MS-SRM ESI-positive] </pre> LC/MS/MS-SRM ESI-positive	分析原理： LC/MS/MS-SRM ESI-positive 検出下限値： 【水質】(μg/L) 0.0053 分析条件： 機器 LC: 島津製作所製 LC-20A MS: AB Sciex 製 API4000 Qtrap カラム Waters 製 XBridge C18 100 mm × 2.1 mm, 3.5 μm

2-ベンジリデンオクタナール

2-Benzylideneoctanal

別名 α -ヘキシルシンナムアルデヒド α -Hexyl cinnamaldehyde

【対象物質の構造】

2-Benzylideneoctanal（異性体混合物（*E* 体及び *Z* 体））

CAS 番号：101-86-0

分子式：C₁₅H₂₀O

【物理化学的性状】

物質名	2-ベンジリデンオクタナール
分子量（平均分子量）	216.32
分子量（モノアイソトピック質量）	216.1514
比重	0.96 ¹⁾
沸点（°C）	175.05 ²⁾
融点（°C）	39.2 ²⁾
蒸気圧（hPa）	7.12×10 ⁻⁴ （25°C、推定値） ²⁾
水溶解度（mg/L）	2.75（25°C、推定値） ²⁾
ヘンリー定数（atm·m ³ /mol）	1.04×10 ⁻⁵ （25°C、推定値） ²⁾
log P _{ow}	4.82（推定値） ²⁾
pKa	-

【毒性、用途】

〔用途〕³⁾

香料（ジャスミン、チュベローズなど花香の調合）

出典：

1) 東京化成工業, <https://www.tcichemicals.com/JP/ja/structure-search>

2) U.S.EPA, Estimation Programs Interface (EPI) SuiteTM version 4.11

1) 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)

§1 分析法

(1) 分析法の概要

底質試料にサロゲート内標準を添加し、アセトンで超音波抽出、遠心分離後、上澄み液を濃縮する。その後、活性炭カートリッジを用いてクリーンアップし、濃縮、定容後、LC/MS/MS-SRM (ESI-positive)で分析する。

(2) 試薬・器具

【試薬】

2-ベンジリデンオクタナール	: Sigma-Aldrich(Merck)製 Analytical Standard（純度 99.8%）
2-ベンジリデンオクタナール- <i>d</i> ₆	: 林純薬工業製（純度 95.0%、99.96 atom%D）分析用標準品 特注
アセトン	: 富士フイルム和光純薬製 残留農薬分析用
メタノール	: 関東化学工業製 LC/MS 用
アセトニトリル	: 関東化学工業製 LC/MS 用
ギ酸	: 富士フイルム和光純薬製 LC/MS 用
精製水	: 超純水製造装置 MilliQ Integral（MERCK MILLIPORE 製）により精製（注1）
固相カートリッジ	: GL サイエンス製 Inertsep GC (150 mg / 3 mL)

【標準液の調製】

〔標準原液〕

2-ベンジリデンオクタナール 10.0 mg を正確に量り取り、アセトニトリル 100 mL に溶解し、100 µg/mL の標準原液を調製する。

〔サロゲート内標準液〕

2-ベンジリデンオクタナール-*d*₆ 10.0 mg をアセトニトリル 100 mL に溶解し、100 µg/mL のサロゲート内標準原液を調製する。サロゲート内標準原液をアセトンで適宜希釈して 1.0 µg/mL のサロゲート内標準液を調製する。

〔検量線用標準液〕

標準原液をアセトンで適宜希釈し、0.20 ng/mL～100 ng/mL の検量線用標準液を調製する。また、各濃度の検量線用標準液にはサロゲート内標準（2-ベンジリデンオクタナール-*d*₆）の濃度が 10 ng/mL になるように添加する。

【器具】（注 2）

メスフラスコ、ホールピペット、メスピペット、パスツールピペット、マイクロシリンジ、マイクロピペット、遠沈管、ナスフラスコ、目盛付き試験管、窒素吹き付け装置、エバポレーターなど

JIS R 3505 に記載のクラス A のガラス器具を使用する。

(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」（最新版）に従う。また、底質試料は褐色ガラス製の容器に採取し、採取後 1 週間以内を目安に速やかに分析を行う。

【試料の前処理及び試験液の調製】（注 3）

底質試料を乾泥換算重量で 5 g 程度、遠沈管に量り取り、サロゲート内標準液（1.0 µg/mL）200 µL とアセトン 20 mL を添加する。十分に混和した後、超音波抽出 10 分間程度、遠心分離（2500 rpm、10 分間）を行う。上澄み液をナスフラスコへ移し入れ、再び遠沈管にアセトン 20 mL を加えて同様に操作した後、上澄み液をナスフラスコへ合わせ、エバポレーターで濃縮する。20 mL 容のメスフラスコ（もしくは、20 mL 目盛付き試験管）へ移し入れ、アセトンで 20 mL に定容

して粗抽出液とする。

予め 10 mL 以上のアセトンで十分に洗浄した固相カートリッジ(Inertsep GC (150 mg / 3 mL))に粗抽出液 2 mL 負荷した後、アセトン 10 mL で溶出して目盛り付きの試験管に受ける。溶出液は、窒素気流下で 1 mL 程度まで濃縮し、アセトンで 2 mL に定容したものを試験液とする。

なお、対象物質は、光異性化の性質を有するため、操作は可能な限り照度を落として迅速に実施する。さらに、注解（注 3）にも示したが、対象物質は日常使用される製品への添加例が多く、様々な経路から試料が汚染される危険性が高いため、ブランクチェックや器具類の選択は、特に慎重に行う。

【空試験液の調製】

底質試料は用いず、サロゲート内標準液とアセトンのみを用いて【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〕

〔LC 条件〕

使用機種 : Waters 製 Acquity H-class
カラム : Waters 製 CORTECS C18+ (2.1 mm × 100 mm, 1.6 μm)
移動相 : A: 0.1%(v/v)ギ酸水溶液 B: メタノール
0 → 1 min A : 30 B : 70
1 → 6 min A : 30 → 0 B : 70 → 100 linear gradient
6 → 16 min A : 0 B : 100
16 → 21 min A : 30 B : 70
カラム流量 : 0.2 mL/min
カラム温度 : 40°C
注入量 : 2 μL

〔MS 条件〕

使用機種 : Waters 製 Xevo TQD
イオン化法 : ESI-positive
キャピラリー電圧 : 3.00 kV
コーンガス流量 : 50 L/hr
デソルベーションガス流量 : N₂ (650 L/hr)
ソース温度 : 150°C
デソルベーション温度 : 200°C
測定モード : SRM

2021(R3)調査において、移動相のグラジエント条件を変更し保持時間を2分程度短縮した報告があったが、分析法と比べてクロマトグラムのピーク形状が悪いため望ましくない変更である。
(2022(R4)精査等検討会コメント)

物質名	モニターイオン (<i>m/z</i>)	イオン電圧 (V)	コリジョン電圧 (CE) (V)
2-ベンジリデンオクタナール	217.0 > 128.9 (定量)	28	16
クタナール	217.0 > 147.0 (確認)	28	10
2-ベンジリデンオクタナール- <i>d</i> ₆	223.0 > 133.1 (定量)	26	15
	223.0 > 153.0 (確認)	26	10

〔検量線〕

検量線用標準液 2 μL を LC/MS/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 2 μL を LC/MS/MS に注入し、対象物質とサロゲート内標準のピーク面積比から検量線を基にして試験液中の対象物質濃度を求める（注 4）。

〔濃度の算出〕

底質試料中の濃度 C (μg/g-dry) は、次式により算出する。

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

R : 検量線から求めたサロゲート内標準に対する対象物質の濃度比

Q : 試料中に添加したサロゲート内標準の量 (μg)

(添加するサロゲート内標準液の濃度 (μg/mL) × 添加するサロゲート内標準液の容量 (μL) / 1000)

V : 試料量 (g-dry)

本分析法に従った場合、以下の数値を使用する。

$$Q = 0.2 \text{ (μg)}$$

(添加したサロゲート内標準液の濃度 (1.0 μg/mL) × 添加したサロゲート内標準液の容量 (200 μL) / 1000)

$$V = 5.0 \text{ (g-dry)}$$

即ち、

$$C = R \times 0.04 \text{ (μg/g-dry)}$$

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 5）。

表 1 IDL の算出結果

物質名	IDL (pg)	試料量 (g-dry)	分取	最終液量 (mL)	IDL 試料換算値 ($\mu\text{g/g-dry}$)
2-ベンジリデン オクタナール	0.036	5.0	1/10	2.0	0.000071

〔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 6）。

表 2 MDL 及び MQL 算出の結果

物質名	試料	試料量 (g-dry)	分取	最終 液量 (mL)	MDL ($\mu\text{g/g-dry}$)	MQL ($\mu\text{g/g-dry}$)
2-ベンジリデン オクタナール	海域 底質	5.0	1/10	2.0	0.00017	0.00044

注 解

- (注 1) MilliQ 水の採水口に EDS-PAK（活性炭カートリッジ）を取り付けて採取した精製水を使用。
- (注 2) 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 3) IDL 以下レベルで操作ブランクが検出することが多いため、分析に使用する器具類、カートリッジ類は全てアセトンで十分に洗浄してから使用すること。また、保護手袋やハンドソープ、ハンドクリームなどからも検出するため、保護手袋は使用せず、水道水で十分に洗浄した素手で作業すること。
- (注 4) 市販されている 2-ベンジリデンオクタナール（製品名 α -ヘキシルシナムアルデヒド）の標準品は、*E* 体及び *Z* 体の異性体混合物（CAS 番号 101-86-0）である。本検討で使用した標準品（対象物質及びサロゲート内標準）は、*Z* 体の含有率が低く、異性化しないよう留意した条件下で検量線用標準液及び試験液を調製したため、クロマトグラム上

では *E* 体由来のピークのみ検出されている。2-ベンジリデンオクタナールの各異性体は同様のプロダクトイオンのパターンを示す（参照：参考文献 2）図 12 及び図 13）ことから、対象物のピークは、異性体由来の 2 本のピークの面積の合計値とする。なお、本測定条件では *Z* 体は *E* 体より 0.3 分ほど遅く検出される（参照：参考文献 2）図 10 及び図 11）、*Z* 体のピークが検出された場合は、*E* 体及び *Z* 体のピーク面積の合計値を定量に使用する。

(注 5) 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、表 3 のとおり算出した。また測定時の代表的なクロマトグラムを図 1 に示す。

表 3 IDL の算出結果 (詳細)

対象物質名	2-ベンジリデンオクタナール
試料量 (g-dry)	5.0
分取	1/10
最終液量 (mL)	2.0
注入液濃度 (ng/mL)	0.20
注入量 (pg)	0.40
装置注入量 (μL)	2
結果 1 (pg)	0.421
結果 2 (pg)	0.413
結果 3 (pg)	0.407
結果 4 (pg)	0.397
結果 5 (pg)	0.405
結果 6 (pg)	0.400
結果 7 (pg)	0.395
結果 8 (pg)	0.416
平均値 (pg)	0.4070
標準偏差 (σ_{n-1}) (pg)	0.00941
IDL (pg)*	0.036
IDL 試料換算値 (μg/g-dry)	0.000071
S/N 比	11
CV (%)	2.3

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

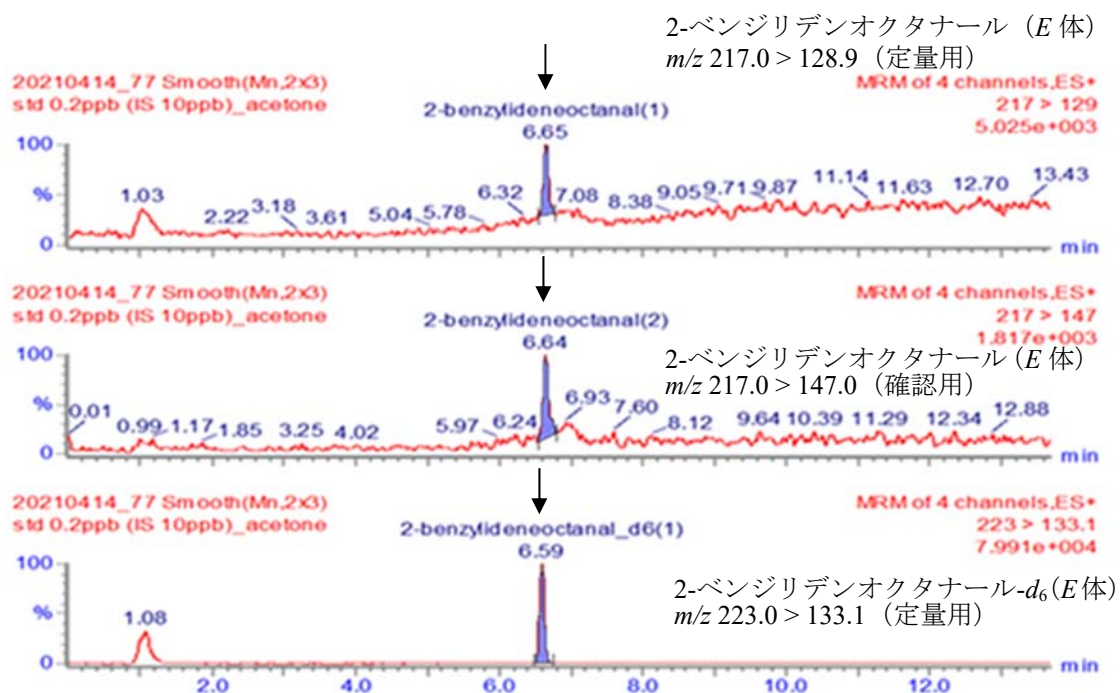


図1 IDL 測定時の SRM クロマトグラム
(2-ベンジリデンオクタナール : 0.20 ng/mL)

(注 6) 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。また、MDL 算出用に他の試料でも測定を試みたので結果を表 5～表 7 に示したが、S/N が高いために MDL としては採用しなかった。これらの結果は、参考値として記載した。

測定時の代表的なクロマトグラムを図 2～図 5 に示す。

表 4 MDL 及び MQL の算出結果 (海域底質、無添加試料) (詳細) *1

物質名	2-ベンジリデン オクタナール	サロゲート 回収率(%)
試料	底質	-
試料量 (g-dry)	5.0	-
分取	1/10	-
標準添加量 (ng)	-	-
試料換算濃度 (ng/g-dry)	-	-
最終液量 (mL)	2.0	-
注入濃度 (ng/mL)	-	-
装置注入量 (μL)	2	-
操作ブランク平均(ng/g-dry) *2	<0.17	100
結果 1 (ng/g-dry)	1.13	77
結果 2 (ng/g-dry)	1.18	81
結果 3 (ng/g-dry)	1.05	77
結果 4 (ng/g-dry)	1.14	83
結果 5 (ng/g-dry)	1.14	81
結果 6 (ng/g-dry)	1.13	73
平均値 (ng/g-dry)	1.128	78.6
標準偏差 (σ _{n-1}) (ng/g-dry)	0.0444	
MDL (ng/g-dry) *3	0.17	
MQL (ng/g-dry) *4	0.44	
S/N 比	26	
CV (%)	3.9	

*1 : 定量結果は、サロゲート法により補正した値である。

*2 : 空試験液を測定した値の平均値 (n = 3)

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

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

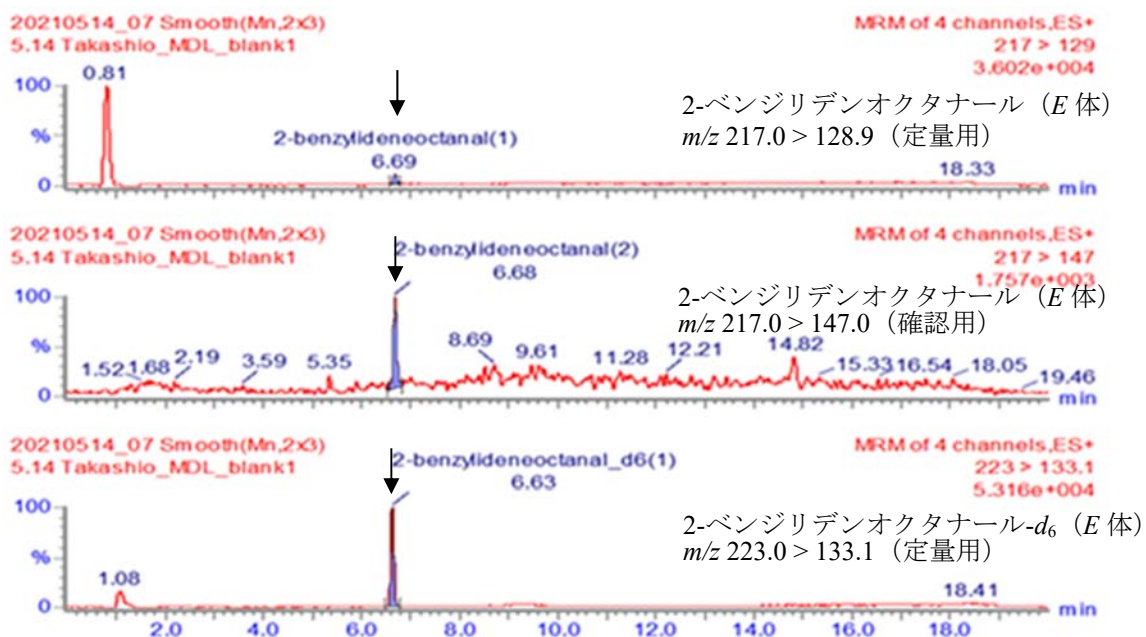


図2 MDL 測定時の SRM クロマトグラム (海域底質、無添加試料)

表 5 MDL 及び MQL の算出結果（河川底質）（詳細） *1

《参考値》

物質名	2-ベンジリデン オクタナール	補正後 回収率(%)	サロゲート 回収率(%)
試料	底質	-	-
試料量 (g-dry)	5.0	-	-
分取	1/10	-	-
標準添加量 (ng)	20	-	-
試料換算濃度 (ng/g-dry)	4.0	-	-
最終液量 (mL)	2.0	-	-
注入濃度 (ng/mL)	1.0	-	-
装置注入量 (μL)	2	-	-
操作ブランク平均 (ng/g-dry) *2	<1.1	-	100
無添加平均 (ng/g-dry) *3	12.8	-	80.3
結果 1 (ng/g-dry)	17.0	106	82
結果 2 (ng/g-dry)	16.6	94	76
結果 3 (ng/g-dry)	16.9	104	83
結果 4 (ng/g-dry)	16.5	93	79
結果 5 (ng/g-dry)	16.2	85	80
結果 6 (ng/g-dry)	16.7	97	86
結果 7 (ng/g-dry)	16.4	90	83
結果 8 (ng/g-dry)	16.5	93	84
平均値 (ng/g-dry)	16.59	95.3	81.8
標準偏差 (σ _{n-1}) (ng/g-dry)	0.281		
MDL (ng/g-dry) *4	1.1		
MQL (ng/g-dry) *5	2.8		
S/N 比	210		
CV (%)	1.7		

*1：定量結果は、サロゲート法により補正した値である。

*2：空試験液を測定した値の平均値 (n = 3)

*3：無添加試料の平均濃度 (n = 6)

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

*5：MQL = $\sigma_{n-1} \times 10$

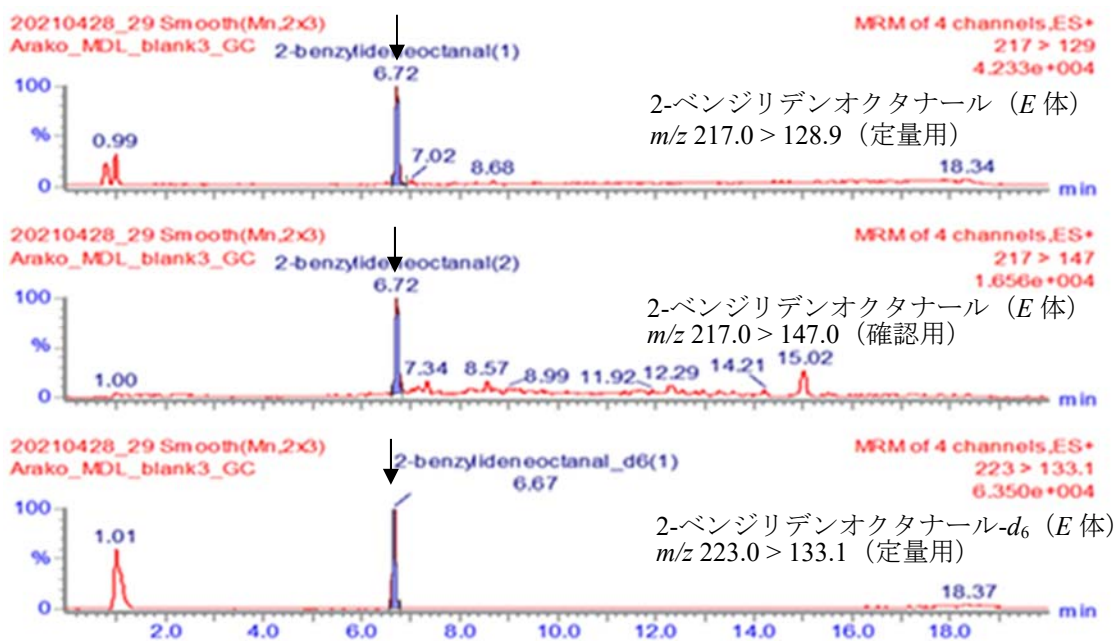


図 3-1 MDL 測定時の SRM クロマトグラム (河川底質、無添加試料)

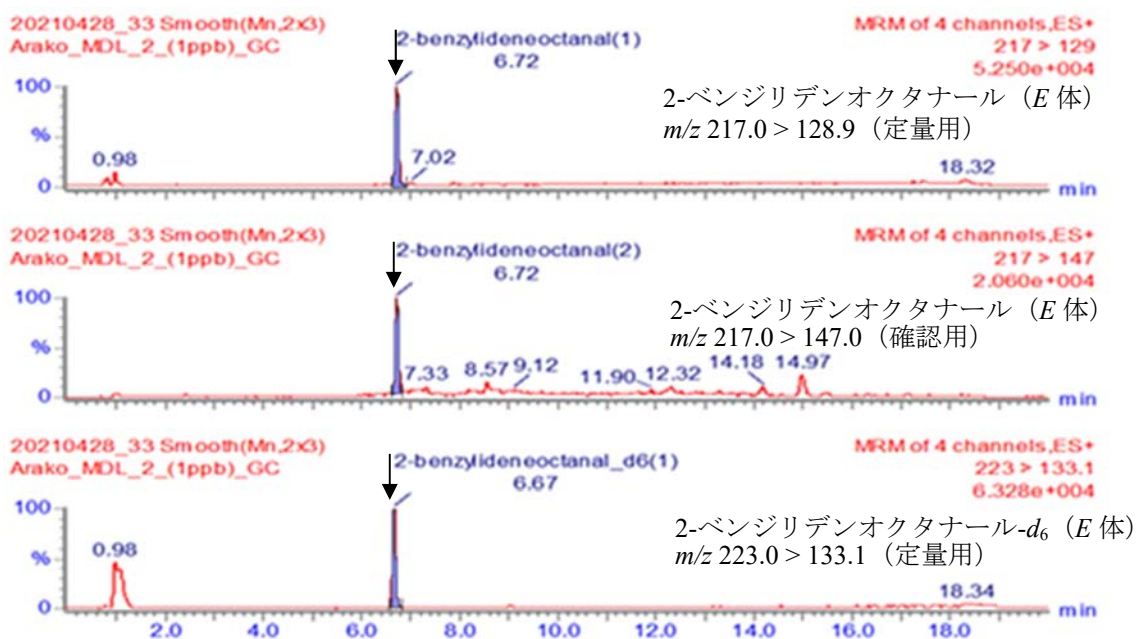


図 3-2 MDL 測定時の SRM クロマトグラム (河川底質、添加試料)

表 6 MDL 及び MQL の算出結果（海域底質、添加試料）（詳細）*1

《参考値》

物質名	2-ベンジリデン オクタナール	補正後 回収率(%)	サロゲート 回収率(%)
試料	底質	-	-
試料量 (g-dry)	5.0	-	-
分取	1/10	-	-
標準添加量 (ng)	20	-	-
試料換算濃度 (ng/g-dry)	4.0	-	-
最終液量 (mL)	2.0	-	-
注入濃度 (ng/mL)	1.0	-	-
装置注入量 (μL)	2	-	-
操作ブランク平均 (ng/g-dry) *2	<0.40	-	100
無添加平均 (ng/g-dry) *3	1.13	-	78.6
結果 1 (ng/g-dry)	4.95	95	74
結果 2 (ng/g-dry)	4.97	96	77
結果 3 (ng/g-dry)	5.15	101	74
結果 4 (ng/g-dry)	4.87	93	74
結果 5 (ng/g-dry)	5.09	99	72
結果 6 (ng/g-dry)	4.95	96	75
結果 7 (ng/g-dry)	4.98	96	75
結果 8 (ng/g-dry)	5.16	101	78
平均値 (ng/g-dry)	5.015	97.2	74.8
標準偏差 (σ _{n-1}) (ng/g-dry)	0.106		
MDL (ng/g-dry) *4	0.40		
MQL (ng/g-dry) *5	1.1		
S/N 比	80		
CV (%)	2.1		

*1：定量結果は、サロゲート法により補正した値である。

*2：空試験液を測定した値の平均値 (n = 3)

*3：無添加試料の平均濃度(n = 6)

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

*5：MQL = $\sigma_{n-1} \times 10$

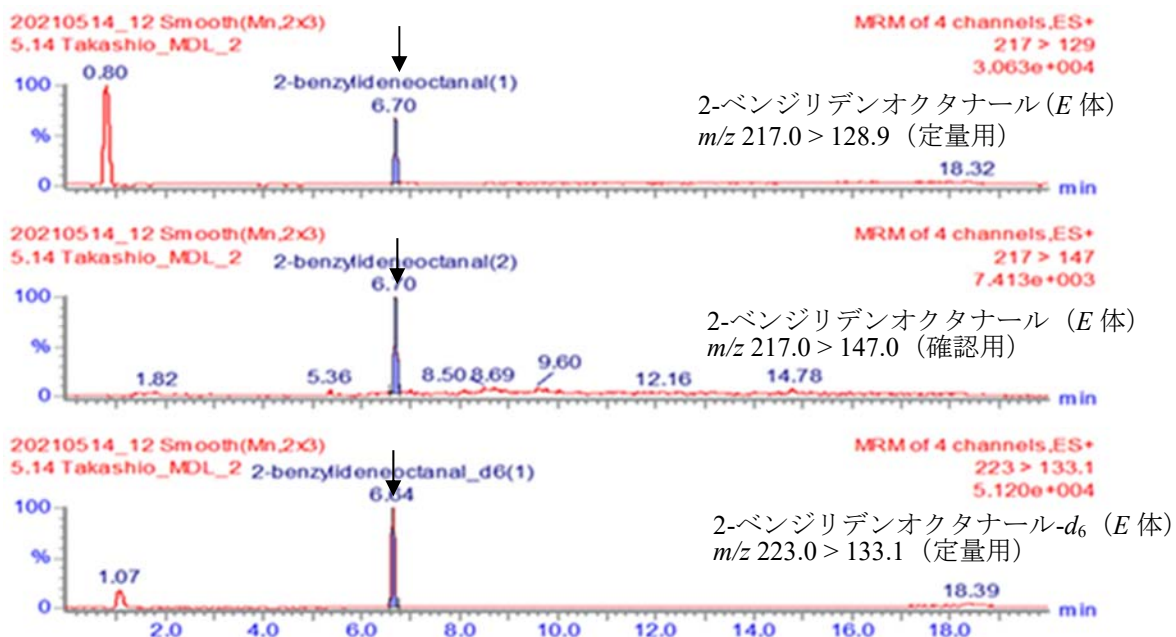


図4 MDL 測定時の SRM クロマトグラム (海域底質、添加試料)

表7 MDL 及び MQL の算出結果（汽水域底質、無添加試料）（詳細）*1

《参考値》

物質名	2-ベンジリデン オクタナール	サロゲート 回収率(%)
試料	底質	-
試料量 (g-dry) *2	5.0	-
分取	1/10	-
標準添加量 (ng)	-	-
試料換算濃度 (ng/g-dry)	-	-
最終液量 (mL)	2.0	-
注入濃度 (ng/mL)	-	-
装置注入量 (μL)	2	-
操作ブランク平均 (ng/g-dry) *3	< 0.40	100
結果 1 (ng/g-dry)	4.08	88
結果 2 (ng/g-dry)	4.13	97
結果 3 (ng/g-dry)	4.30	97
結果 4 (ng/g-dry)	3.92	91
結果 5 (ng/g-dry)	4.18	98
結果 6 (ng/g-dry)	4.15	88
結果 7 (ng/g-dry)	4.09	87
結果 8 (ng/g-dry)	4.09	88
平均値 (ng/g-dry)	4.118	91.6
標準偏差 (σ _{n-1}) (ng/g-dry)	0.105	
MDL (ng/g-dry) *4	0.40	
MQL (ng/g-dry) *5	1.0	
S/N 比	63	
CV (%)	2.5	

*1：定量結果は、サロゲート法により補正した値である。

*2：無添加試料からも高濃度で検出されたため、試料量を 1 g-dry に減じて 5 g-dry と仮定して算出した。

*3：空試験液を測定した値の平均値 (n = 3)

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

*5：MQL = $\sigma_{n-1} \times 10$

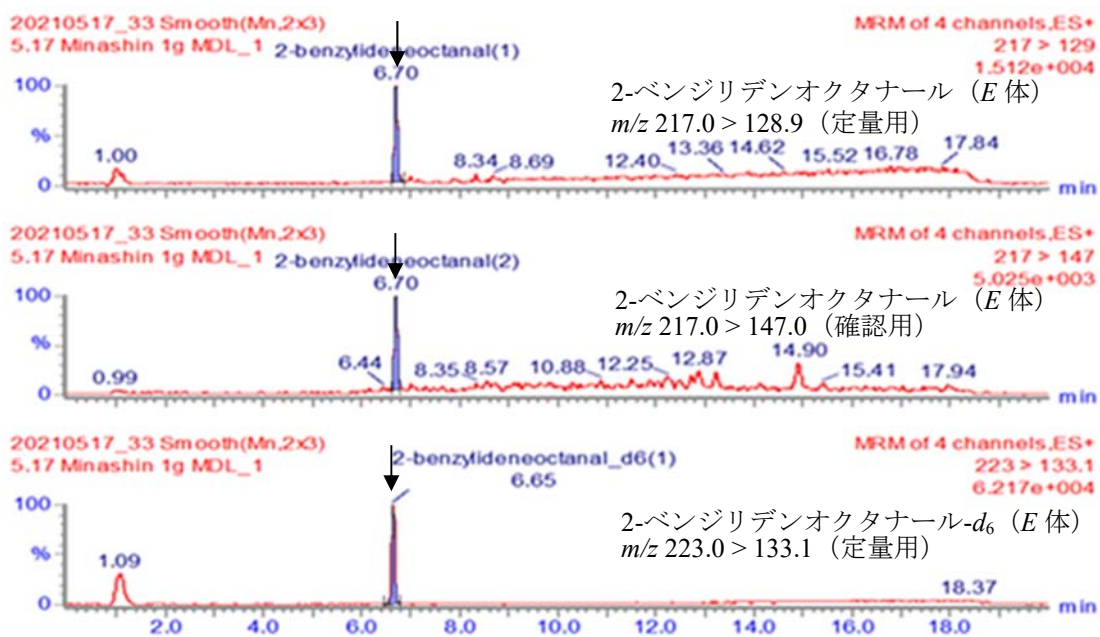


図5 MDL 測定時の SRM クロマトグラム (汽水域底質、無添加試料)

§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 6 に示す。

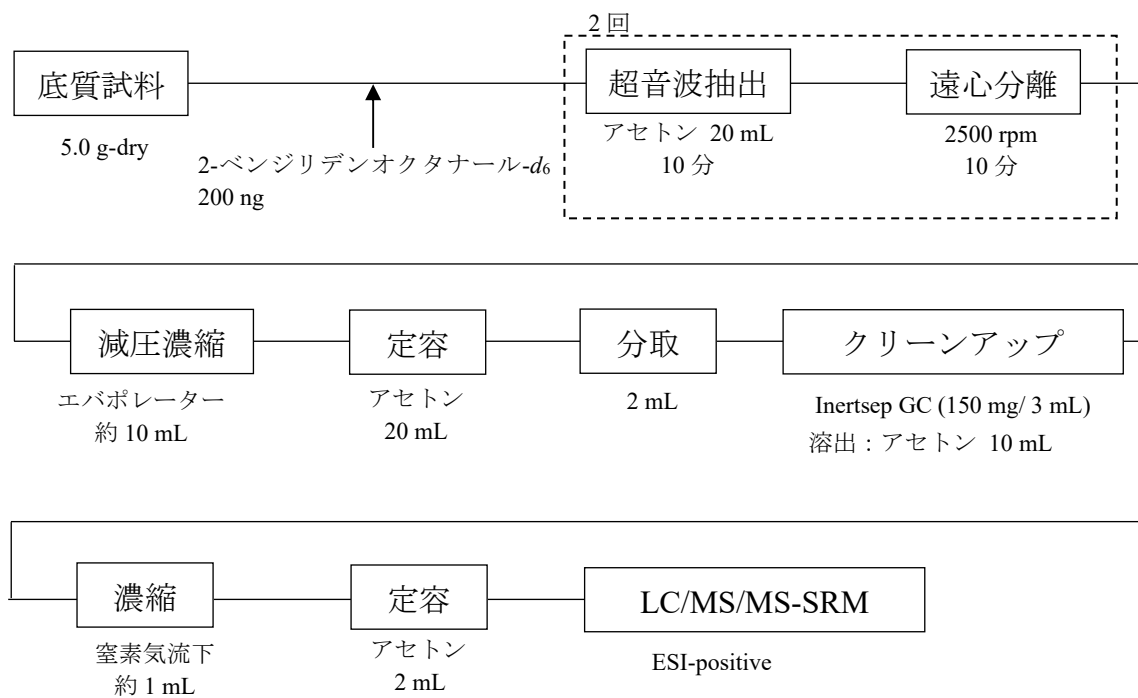
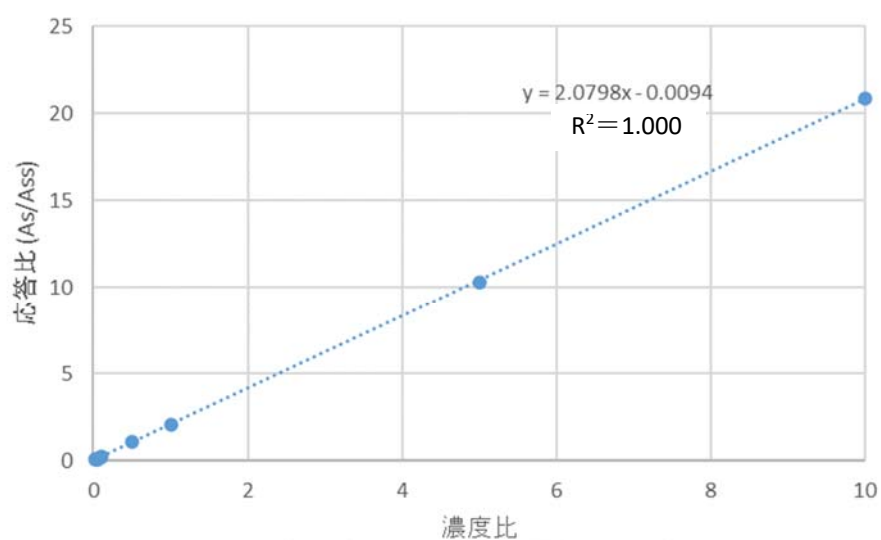


図 6 分析法のフローチャート

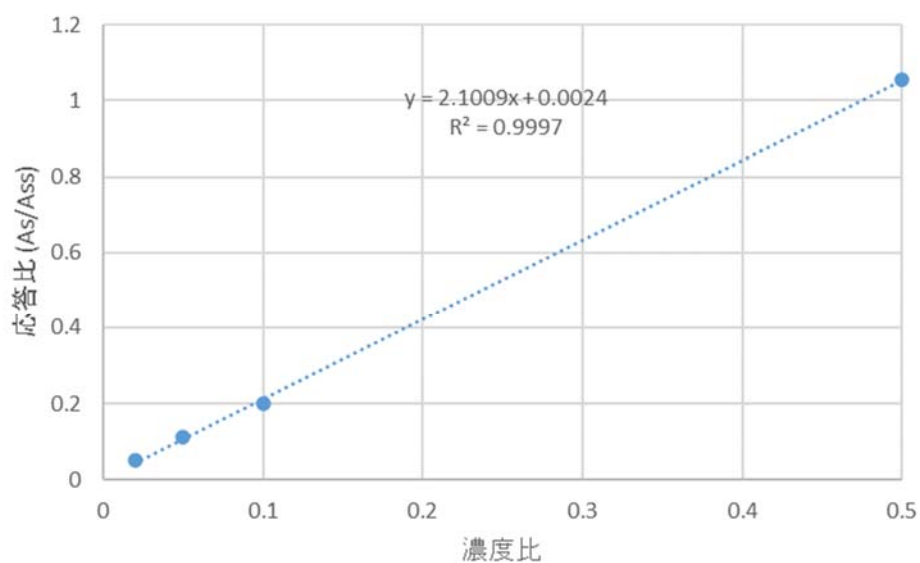
〔検量線〕

2-ベンジリデンオクタナールの検量線を図 7、図 8 に、検量線データを表 8 に示す。



(濃度(ng/mL) →) (0) (20) (40) (60) (80) (100)

図7 2-ベンジリデンオクタナールの検量線
(広濃度域 0.20~100 ng/mL、サロゲート内標準：10 ng/mL)



(濃度(ng/mL) →) (0) (1.0) (2.0) (3.0) (4.0) (5.0)

図8 2-ベンジリデンオクタナールの検量線
(低濃度域 0.20~5.0 ng/mL、サロゲート内標準：10 ng/mL)

表 8 検量線作成用データ

標準液濃度 (ng/mL) (C _s)	濃度比 (C _s /C _{is} [*])	応答値		応答比 (A _s /A _{is})
		対象物質(A _s)	サロゲート内物質(A _{is})	
		【2-ベンジリデン オクタナール】 (m/z 217.0 > 128.9)	【2-ベンジリデンオ クタナール-d ₆ 】 (m/z 223.0 > 133.1)	
0.20	0.020	302	5940	0.0508
0.50	0.050	665	5976	0.1113
1.0	0.10	1195	5960	0.2005
5.0	0.50	6228	5905	1.0546
10	1.0	12483	6081	2.0527
50	5.0	64358	6247	10.3016
100	10	124813	5991	20.8328

C_{is}^{*}: サロゲート内標準濃度 10 ng/mL

〔クロマトグラム〕

標準液のクロマトグラムを図 9 に示す。

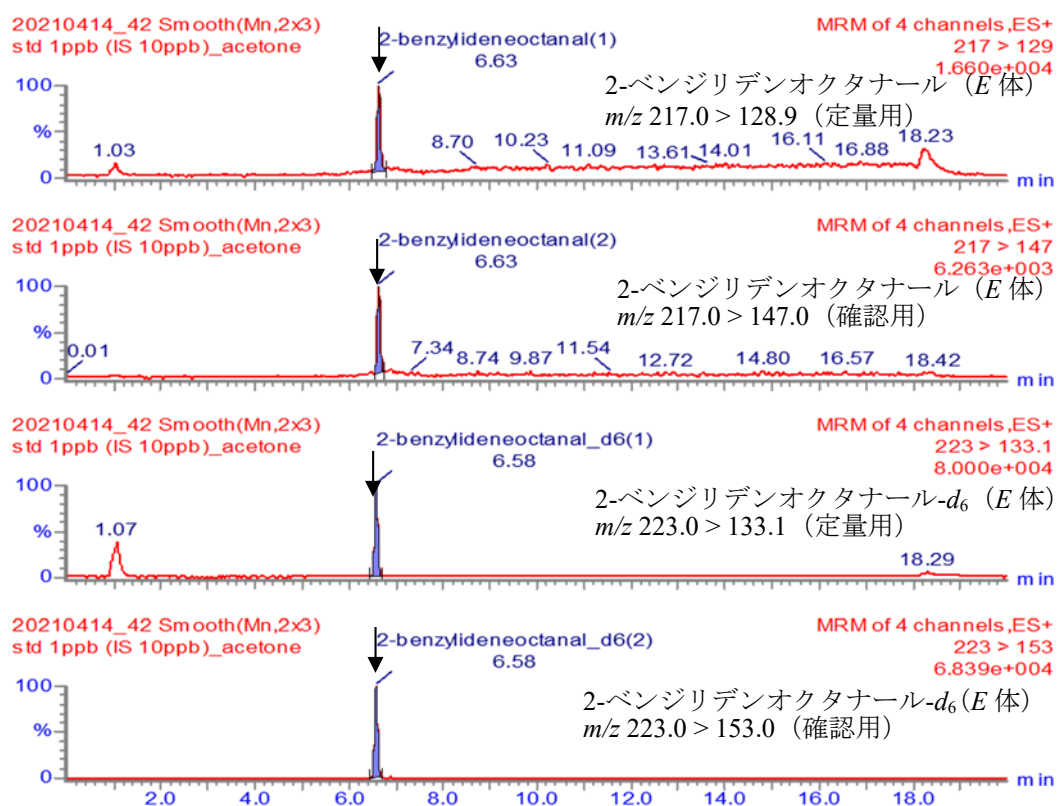


図 9 標準液(1.0 ng/mL)の SRM クロマトグラム

[マススペクトル]

2-ベンジリデンオクタナールのマススペクトル並びにプレカーサーイオン m/z 217.0 に対するプロダクトイオンを図 10 に、2-ベンジリデンオクタナール- d_6 のマススペクトル並びにプレカーサーイオン m/z 223.0 に対するプロダクトイオンを図 11 に示す。

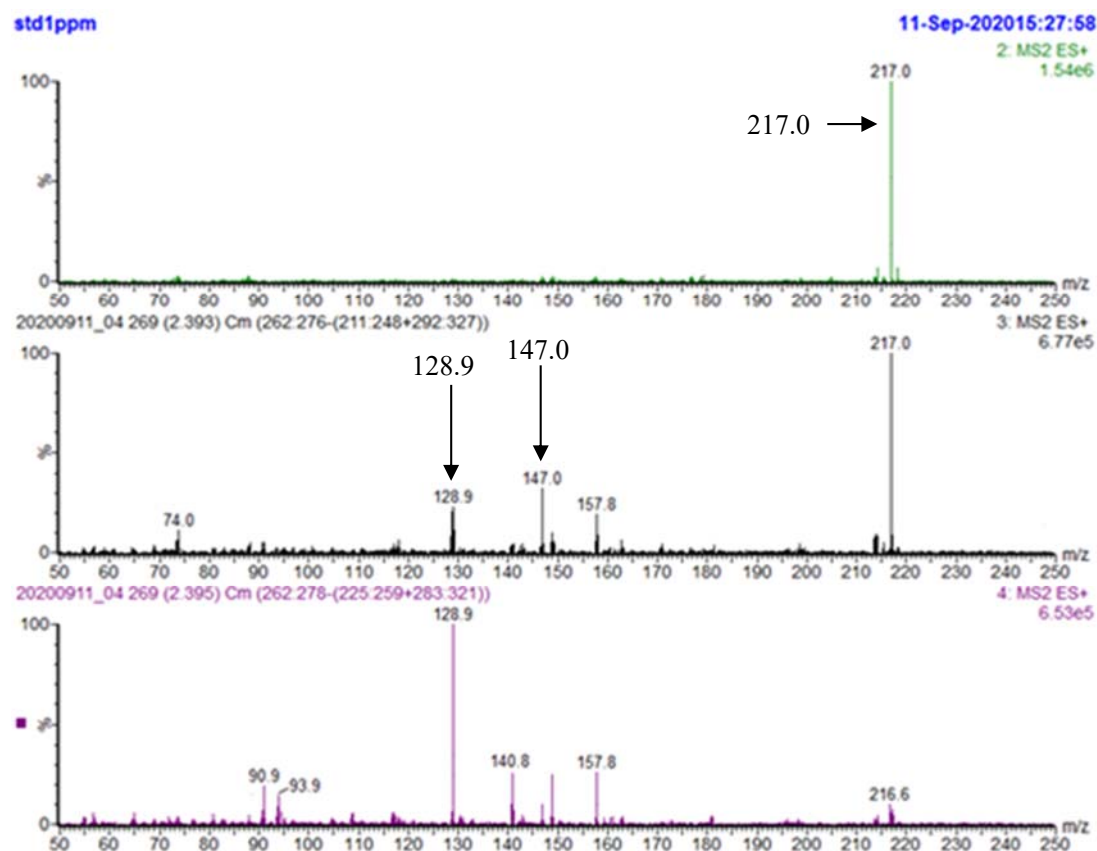


図 10 2-ベンジリデンオクタナールのマススペクトル（上図）、プレカーサーイオン m/z 217.0 に対する CE:10 V のプロダクトイオン（中図）及び、CE:16 V のプロダクトイオン（下図）

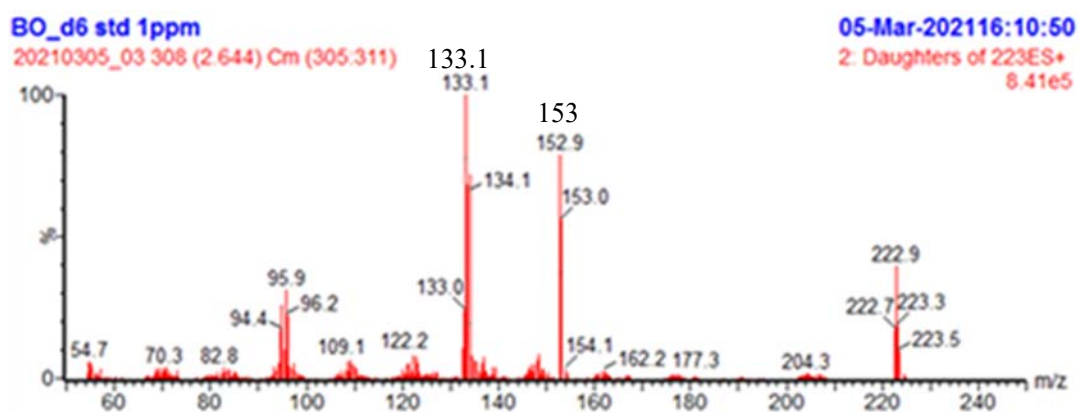
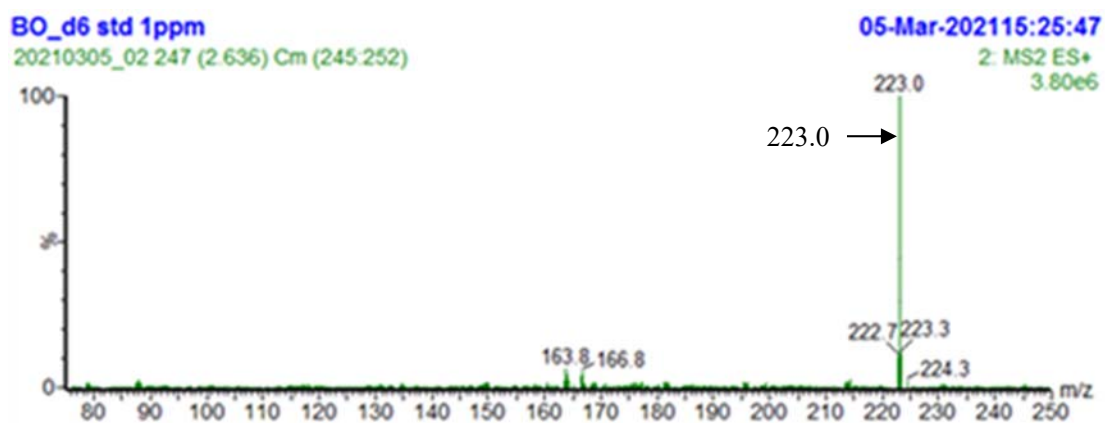


図 11 2-ベンジリデンオクタナール- d_6 のマススペクトル (図上) 及び
プレカーサーイオン m/z 223.0 に対するプロダクトイオン (図下)

〔操作ブランク試験〕

操作ブランク試験のクロマトグラムを図 12 に示す。対象物質は MDL 以下の濃度レベルで確認された。

対象物質は日常使用される製品への添加例が多く、様々な経路から試料が汚染される危険性が高いので、ブランクチェックや器具類の選択は、特に慎重に行うことが望ましい。

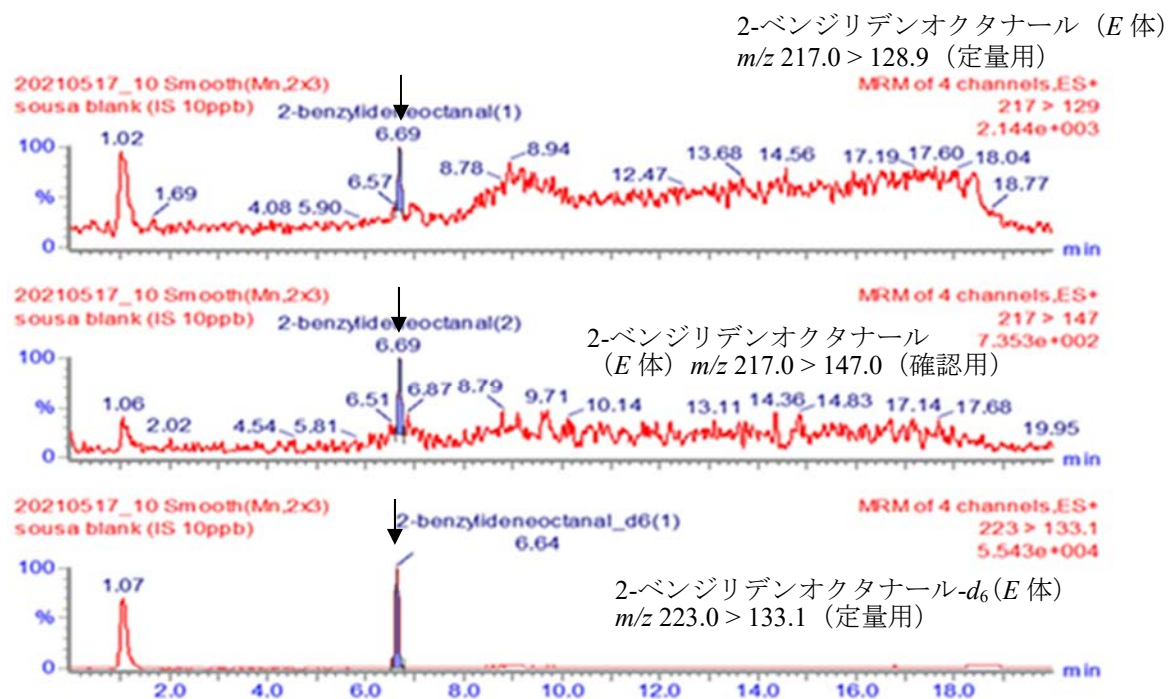


図 12 操作ブランクのクロマトグラム

2021(R3)調査において、5～6回のアセトン洗浄でブランクの低減が可能との情報提供があった。
(2022(R4)精査等検討会コメント)

〔添加回収試験〕

各底質試料を用いた添加回収試験結果を表 9 に示す。クロマトグラムは図 2～図 4 を参照する。

表 9 添加回収試験結果

物質名	試料	試料量 (g-dry)	添加量 (ng)	試験 数	検出濃度* (ng/g-dry)	回収 率* (%)	変動 係数 (%)	サロゲート 回収率(%)
2-ベンジリ デンオクタ ナール	海域底質	5.0	0	6	1.12	-	4.3	78
	(高潮防 波堤)	5.0	20	8	5.02	97	2.1	75
	河川底質	5.0	0	6	12.8	-	0.84	80
	(荒子ポ ンプ場)	5.0	20	8	16.6	95	1.7	82

*：検出濃度及び回収率はサロゲート法により補正した値

〔保存性試験〕

保存性試験結果を表 10 に示す。

抽出後は 2 週間以内であれば、対象物質の保存性に問題はないと思われるが、できるだけ早く分析をするのが望ましい。

表 10 保存性試験結果

試料	試験 数	調製濃度 (ng/mL)	検出濃度(ng/mL) (残存率 (%)*)	
			14 日後	1 ヶ月後
試験液	2	1.0	0.95 (95)	-
標準液	2	1.0	-	0.99 (99)

*残存率(%)：調製濃度に対する検出濃度の割合

〔抽出溶媒の検討〕

底質からの対象物質の抽出方法の検討として超音波抽出を検討した。

底質を 5.0 g-dry 量り取り、2-ベンジリデンオクタナール 50 ng を添加して一晩置き、翌日、溶媒を 20 mL 添加して超音波抽出（10 分間）を行った。検討した抽出溶媒は、メタノール、アセトニトリル、ジクロロメタン及びアセトンの 4 種で、抽出操作は 2 回繰り返した。2 回分の抽出液をまとめ、50 mL に定容してそのまま測定した。

各溶媒を用いた際の回収率を表 11 に示す。メタノール、アセトニトリル、アセトンを使用した場合、良好な回収率が得られた。

表 11 各溶媒を用いた際の回収率(%)（試験数 n=2）

試料 番号	回収率(%)			
	メタノール	アセトニトリル	アセトン	ジクロロメタン
#1	96.0	95.3	94.7	51.8
#2	94.9	92.3	95.4	53.3

〔クリーンアップの検討〕

超音波抽出によって得られた抽出液をそのまま機器分析すると、マトリックスの影響を大きく受けるため、抽出液のクリーンアップ条件を検討した。

底質を 5.0 g-dry 量り取り、2-ベンジリデンオクタナール 50 ng を添加して一晩置いた。翌日、メタノールを 20 mL 添加して超音波抽出を行ったのち、遠心分離をして上澄み液を回収、さらにもう一度メタノールを 20 mL 添加して超音波抽出を行った。抽出液はすべて合わせて濃縮後、20 mL に定容した。

その後、抽出液を分取し、以下の 3 通りの方法を検討した。

- ① 逆相固相カートリッジ（ポリマーベース）を用いた方法
- ② 順相固相カートリッジ（シリカゲルベース）を用いた方法
- ③ 活性炭カートリッジを用いた方法

① 逆相固相カートリッジ（ポリマーベース）を用いた方法

水質試料の前処理では、固相抽出で OasisHLB の使用が推奨されていたので、底質試料のクリーンアップでも使用の可否を検討した。あわせて、似た性質を持つ InertsepPLS3 も同様に検討した。

底質の粗抽出液（メタノール溶液）を 1.0 mL 分取し、精製水 0.5 mL、1.0 mL、2.0 mL または 4.0 mL をそれぞれ添加し、よく混合した。ガラスハードウェア製の OasisHLB 及び InertsepPLS3 を使用し、それぞれの抽出液を負荷し、そのままゆっくりと通液し通過液を採取した(Fr.1)。その後、5.0 mL のメタノール水溶液で溶出させた(Fr.2)。Fr.1、Fr.2 とともに窒素気流下で濃縮し、1.0 mL に定容して測定した。

なお、固相のコンディショニング及び溶出に用いたメタノール水溶液は、それぞれ、粗抽出液（メタノール溶液）と添加した精製水の混合比が同一となるよう調製したメタノール水溶液を使用した（メタノール：精製水の混合比が、1:0.5、1:1、1:2、1:4）。

表 12 に OasisHLB 及び InertsepPLS3 を用いた際のフラクション別の回収率を示した。2 種の固相を比較すると、PLS3 の方が回収率は良好であった。いずれの固相も、粗抽出液の割合（メタノールの割合）が 67%（メタノール/精製水 (1:0.5)）になると、固相への保持が弱かった。一方で 20%メタノール（メタノール/精製水(1:4)）であっても 5 mL 程度で溶出できることが分かった。20%メタノールでの溶出であれば、多くのマトリックスを溶出させる前に 2-ベンジリデンオクタナールを回収できると考えたが、クロロフィルなどの色素成分とは分離することができず、クリーンアップ後の溶液もかなり着色している状態であった。この方法では不十分と考え、別の方法を検討した。

表 12 各固相を用いた際のフラクションごとの回収率

メタノール/精製水の混合 比（メタノール濃度）	回収率(%)			
	Oasis HLB		Inertsep PLS3	
	Fr.1	Fr.2	Fr.1	Fr.2
1:0.5 (67%)	7.2	65.1	9.7	68.4
1:1 (50%)	4.6	62.3	0.5	86.4
1:2 (33%)	4.8	54.2	0.4	86.1
1:4 (20%)	2.5	52.9	0.4	85.2

* : OasisHLB 及び InertsepPLS3 の Fr.1 : 通過液、Fr.2 : 溶出液

② 順相固相（シリカゲル）を用いた方法

次にシリカゲルカートリッジ（Waters 製 Sep-Pak Vac 6cc (1g) Silica Cartridge）を使用したクリーンアップを検討した。①と同様に粗抽出液（メタノール溶液）を得たのち、5 mL を分取して 50 mL の精製水に合わせ、ヘキサン 10 mL で溶媒抽出を行った。ヘキサンで 2 回抽出した後、脱水、濃縮して、シリカゲルカートリッジへ負荷した。アセトン・ヘキサンの混合比を変化させながら 5 mL ずつ混合溶媒で溶出させ、そのまま機器分析を行った。

まず、メタノール溶液になっている抽出液からヘキサンで抽出する際の回収率を確認した結果、85%～92%の回収率が得られたので問題ないと考え、シリカゲルカートリッジでの検討へ進んだ。

シリカゲルカートリッジからの溶出の際の混合溶媒は、Fr.1 : ヘキサン 5 mL、Fr.2 : アセトン/ヘキサン(2:8) 5 mL、Fr.3 : アセトン/ヘキサン(5:5) 5 mL、Fr.4 : アセトン/ヘキサン(5:5) 5 mL、Fr.5 : アセトン/ヘキサン(8:2) 5 mL とした。その結果を表 13 に示す。

表 13 シリカゲルカートリッジからの溶出溶媒ごとの回収率(%)

回収率 (%)	アセトン/ヘキサンの混合比				
	(Fr.1)	(Fr.2)	(Fr.3)	(Fr.4)	(Fr.5)
	0:10	2:8	5:5	5:5	2:8
	0.2	99.9	1.0	0.4	0.1

ヘキサンのみで溶出してくることはないが、Fr.2 : アセトン/ヘキサン(2:8)でほぼ 100%回収できた。クロロフィルなどの着色成分とも分離ができ、得られた試験液は無色透明であった。

この方法を他の底質試料でも試してみたが、表 13 と同様に Fr.2 でほぼ 100% 回収され、クリーンアップ方法として採用できる可能性が示唆された。

③ その他クリーンアップカートリッジを用いた方法

次にグラファイトカーボンや活性炭のカートリッジを使用したクリーンアップを検討した。①と同様に粗抽出液を得たのち、2 mL を分取して、カートリッジへ負荷した。まずは、グラファイトカーボンカートリッジ Inertsep GC (150 mg/3 mL) を使用し、カートリッジからの溶出溶媒の種類を検討した。溶媒は、メタノール、アセトン、トルエンを 20 mL 使用し、それぞれ 5 mL ずつ分画した (Fr.1 : 0~5 mL、Fr.2 : 5~10 mL、Fr.3 : 10~15 mL、Fr.4 : 15~20 mL、Fr.5 : 20~25 mL)。結果を表 14 に示す。

表 14 各溶媒を用いた際の画分ごとの回収率 (Inertsep GC (150 mg/3 mL))

画分	回収率(%)		
	メタノール	アセトン	トルエン
0- 5 mL	0.4	39.7	0.5
5-10 mL	0.3	49.5	0.5
10-15 mL	0.2	2.0	0.1
15-20 mL	1.8	0.7	0.0
合計	2.7	91.9	1.1

メタノールやトルエンではほとんど溶出できないが、アセトンを使用すると 10 mL 程度で 90%程度が回収できた。そこで、他種のカートリッジを使用し、より回収しやすいものはないか検討した。検討に使用したカートリッジは、SepPak AC2、Envicarb、Inertsep GC(150mg)、Inertsep GC(500mg)の 4 種類でアセトン 25 mL で抽出し、5 mL ずつ分画した結果を表 15 に示す。

表 15 各カートリッジを用いた際の画分別回収率(%)

画分	回収率(%)			
	SepPak AC2	Envicarb	Inertsep GC (150 mg)	Inertsep GC (500 mg)
0-5 mL	0.1	0.1	39.7	0.5
5-10 mL	0.2	1.8	49.5	2.0
10-15 mL	1.3	0.1	2.0	1.3
15-20 mL	0.1	0.1	0.7	4.6
20-25 mL	0.1	1.4	0.5	26.1
合計	1.9	3.6	92.4	34.5

4 種のカートリッジを比較したところ、Inertsep GC での回収率がよかった。ただし、グラファイトカーボンの充填量が多いものを使用すると、より強く吸着するために回収率が低下する傾向が見られた。充填量が 150 mg のものであっても、得られる溶液は無色透明であり、機器分析の際も妨害なく測定できたため、Inertsep GC (150 mg/3 mL) が最も良いことが確認された。

以上の検討により、②シリカゲルカートリッジ、もしくは③グラファイトカーボンカートリッジによるクリーンアップが有効であった。

2-ベンジリデンオクタナールは我々の身近に非常に多く存在しており、分析の際には汚染に対して細心の注意を払う必要がある。そこで、少しでも手数の少ないクリーンアップ方法である③グラファイトカーボンカートリッジの Inertsep GC (150 mg/3 mL) を使用する方を採用することとした。

〔環境試料の分析〕

本法を用いて名古屋市内の底質を測定したところ、1.1～13 ng/g-dry で 2-ベンジリデンオクタナールが検出された。クロマトグラムは図 2、図 3-1 及び図 5 に示した。

【評価】

底質試料中に含まれる 2-ベンジリデンオクタナールの分析法を開発した。本法で用いた LC/MS/MS での 2-ベンジリデンオクタナールの IDL は 0.036 pg (試料換算濃度は 0.000071 µg/g-dry) であり、0.20～100 ng/mL の範囲で検量線の直線性が確認された。海域底質試料を用いた場合の MDL は 0.00017 µg/g-dry、MQL は 0.00044 µg/g-dry であった。底質試料に 2-ベンジリデンオクタナールを 20 ng 添加した時の回収率は海域底質で 97%、河川底質で 95% あった。本法で名古屋市内の底質を測定したところ、2-ベンジリデンオクタナールは 1.1～13 ng/g-dry で検出された。以上の結果から、本法は底質試料中に含まれる 0.0002 µg/g-dry レベルの 2-ベンジリデンオクタナールの検出が可能である。

【参考文献】

- 1) 須戸幹 : 琵琶湖における日用品由来医薬品(PPCPs)の原単位法に基づく流入負荷量と琵琶湖からの流出負荷量, 平成 21 年度 財団法人琵琶湖・淀川水質保全機構「水質保全研究助成」研究報告書
- 2) 環境省「化学物質分析法開発調査報告書」(令和 2 年度)「2-ベンジリデンオクタナール (水質)」

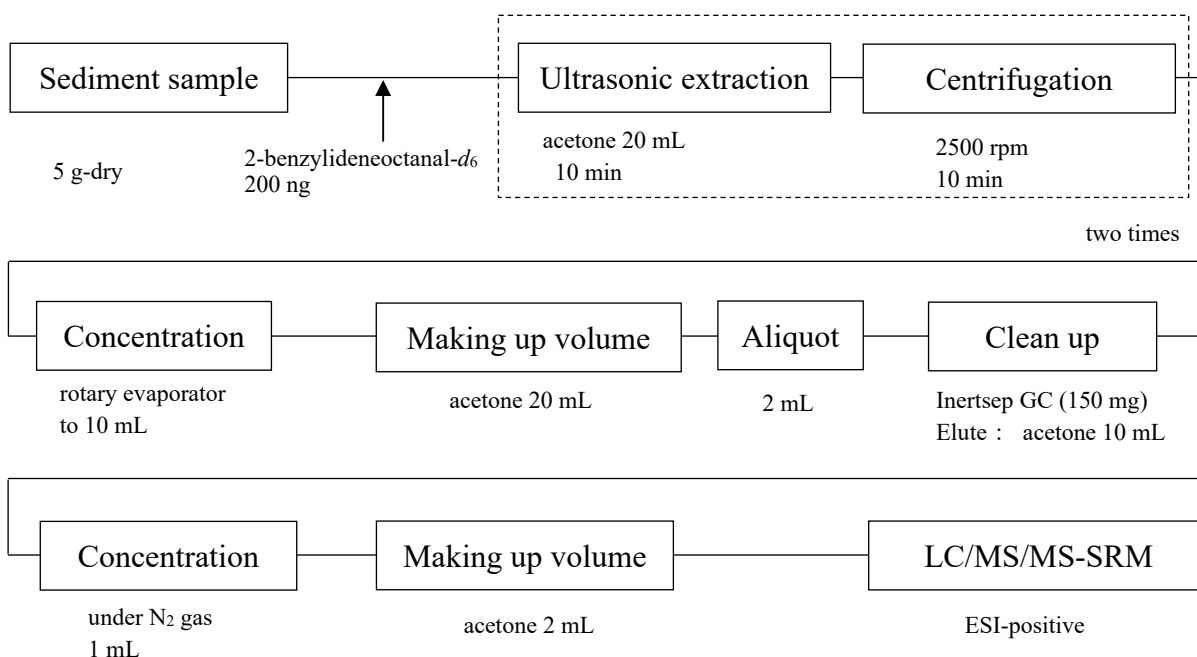
【担当者連絡先】

所属先名称 : 名古屋市環境科学調査センター
所属先住所 : 〒457-0841 名古屋市南区豊田 5-16-8
TEL : 052-692-8481 FAX : 052-692-8483
担当者名 : 長谷川瞳、平生進吾
E-mail : hitomi@ncies.net, hirao@ncies.net

2-Benzylideneoctanal

An analytical method has been developed for the determination of 2-benzylideneoctanal in sediment samples by liquid chromatography tandem-mass spectrometry (LC/MS/MS). A 5.0 g-dry of sediment sample is spiked with 200 μL of 2-benzylideneoctanal- d_6 as the surrogate (1 $\mu\text{g}/\text{mL}$) and extracted twice with 20 mL of acetone by ultrasonication. The extract is concentrated to approximately 10 mL by a rotary evaporator and made up the volume to 20 mL with acetone. Aliquot of 2 mL of the solution is loaded onto Inertsep GC, preconditioned with 10 mL of acetone, and 2-benzylideneoctanal is eluted with 10 mL of acetone. The eluate is concentrated to approximately 1 mL by nitrogen gas and made up the volume to 2 mL with acetone. The solution is analyzed by positive ion mode-ESI-LC/MS/MS-SRM.

The instrument detection limits (IDL) and the method detection limits (MDL) of 2-benzylideneoctanal in sediment sample is 0.036 pg and 0.00017 $\mu\text{g}/\text{g-dry}$, respectively. The recovery test was performed by using the sediment sample spiked with 20 ng of 2-benzylideneoctanal. The average recovery ($n = 8$) of 2-benzylideneoctanal was 95%. Using this method, 2-benzylideneoctanal was detected in all sediment samples at Nagoya city, and its concentration ranged from 1.1 to 13 ng/g-dry.



2500 rpm

10 分

物質名	分析法フローチャート	備考
2-ベンジリ デンオクタ ナール 別名： α -ヘキシル シンナムア ルデヒド	【底質】 <pre> graph TD A["底質試料 5 g-dry 2-ベンジリデン オクタナール-d₆ 200 ng"] --> B["超音波抽出 アセトン 20 mL 10 分"] B --> C["遠心分離 2500 rpm 10 分"] C -- 2回繰り返す --> B C --> D["減圧濃縮 約 10 mL"] D --> E["定容 アセトン 20 mL"] E --> F["分取 2 mL"] F --> G["クリーンアップ Inertsep GC (150 mg) 溶出：アセトン 10 mL"] G --> H["濃縮 窒素気流下 約 1 mL"] H --> I["定容 アセトン 2 mL"] I --> J["LC/MS/MS-SRM ESI-positive"] </pre>	分析原理： LC/MS/MS-SRM ESI-positive 検出下限値： 【底質】 ($\mu\text{g/g-dry}$) 0.0017 分析条件： LC： Waters 製 Acquity H-class MS： Waters 製 Xevo TQD カラム Waters CORTECS C18+ 2.1 mm × 100 mm, 1.6 μm

ベンゾフェノン-3

Benzophenone-3

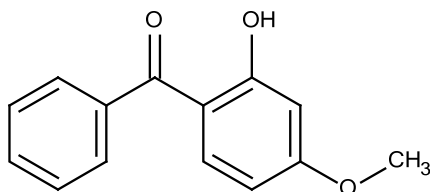
別名：2-Hydroxy-4-methoxybenzophenone, Oxybenzone

p-メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル

2-Ethylhexyl 4-methoxycinnamate

別名：Octyl 4-methoxycinnamate, Octinoxate

【対象物質の構造】

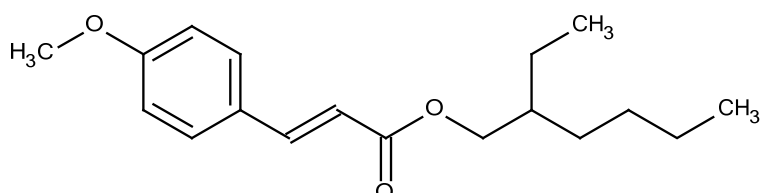


ベンゾフェノン-3

(以下 BP3)

CAS 番号：131-57-7

分子式：C₁₄H₁₂O₃

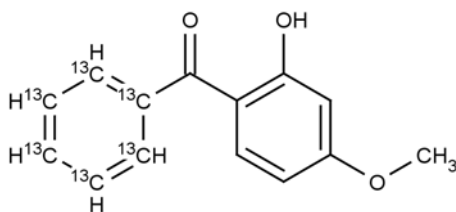


p-メトキシケイ皮酸 2-
エチルヘキシル

(以下 EHMC)

CAS 番号：5466-77-3

分子式：C₁₈H₂₆O₃



Oxybenzone (phenyl ¹³C₆)

(以下 BP3-¹³C₆)

CAS 番号：-

【物理化学的性状】

物質名	分子量 (モノアイソトピーック質量)	比重	融点 (°C)	沸点 (°C)	蒸気圧 (mmHg)	水溶解度 (mg/L)	log P _{ow}	pKa
BP3 ¹⁾	228.24 (228.0786444)	1.32	65.5	155	6.62×10^{-6}	3.7	3.79	8.07
EHMC ²⁾	290.4 (290.188195)	1.01	-68.3	382	2.3×10^{-5}	0.2	6.1	-4.8

【毒性、用途等】

〔毒性情報〕

- BP3¹⁾ : 経口：ラット LD₅₀ 値 >12800 mg/kg
 経皮：ラビット LD₅₀ 値 >16000 mg/kg
 : 生物濃縮性：コイ 0.01 mg/L 10 週間 濃縮倍率 33～156 倍³⁾
- EHMC²⁾ : 経口：ラット LD₅₀ 値 >20 mg/kg bw
 マウス LD₅₀ 値 >8000 mg/kg bw

〔用途〕^{1), 2)}

紫外線吸収剤

出典

- 1) PubChem <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4632>
- 2) PubChem <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5355130>
- 3) 通商産業省 既存化学物質安全性点検データ

§1 分析法

(1) 分析法の概要

水質試料にサロゲート内標準物質として BP3-¹³C₆ を添加して、固相カートリッジに通水後、精製水及び精製水/メタノール(1:1)で洗浄を行い、アセトン及びジクロロメタンで溶出させる。減圧濃縮を行った後、メタノールで再溶解させ、LC/MS/MS-ESI-positive で分析する。

(2) 試薬・器具

【試薬】(注1)

ベンゾフェノン-3 (BP3)	: 東京化成工業製	>99.0%
p-メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル(EHMC)	: 東京化成工業製	>97.0% 比重 1.01
Oxybenzone (phenyl- ¹³ C ₆) (BP3- ¹³ C ₆)	: Cambridge Isotope Laboratories 製	100 µg/mL (アセトニトリル溶液) 純度 >99%
精製水	: 富士フイルム和光純薬製	超純水 LC/MS 用
メタノール	: 富士フイルム和光純薬製	LC/MS 用
アセトン	: 富士フイルム和光純薬製	LC/MS 用
ジクロロメタン	: 富士フイルム和光純薬製	残留農薬用
ギ酸	: 富士フイルム和光純薬製	LC/MS 用
塩化ナトリウム	: 富士フイルム和光純薬製	残留農薬用
5 mol/L 塩酸	: 富士フイルム和光純薬製	容量分析用
固相カートリッジ	: Waters 製 Oasis HLB Plus Short Cartridge, 225 mg	
	: Waters 製 Sep-Pak AC2 Plus Short Cartridge, 400 mg	

【標準液の調製】(注2)

〔標準原液〕

ベンゾフェノン-3(BP3)を 10.0 mg 正確に量り取り、メタノールを用いて 10 mL に定容して 1000 µg/mL の標準原液を調製する。

p-メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル(EHMC)を 1 mL ホールピペットで量り取り、メタノールを用いて 10 mL に定容して 101 mg/mL の標準原液を作成する。

〔サロゲート内標準液〕

市販の Oxybenzone (phenyl-¹³C₆) 100 µg/mL (アセトニトリル溶液) (BP3-¹³C₆) をサロゲート内標準原液とする。メタノールを用いて順次希釈して 0.10 ng/µL の BP3-¹³C₆ サロゲート内標準液を調製する。

〔検量線用標準液〕

標準原液をメタノールで適宜希釈し、0.50 ng/mL～500 ng/mL の検量線用標準液を作成する。各濃度の検量線用標準液にサロゲート内標準の濃度が 10 ng/mL となるように添加する。

【器具】(注3)

メスフラスコ、ホールピペット、パスツールピペット、マイクロシリンジ、褐色ガラス瓶、ガラスアダプター、ナスフラスコ、保護手袋、コンセントレータ

一、マニホールド、窒素吹付装置、ロータリーエバポレーターなど

(3) 分析法

【試料の採取及び保存等】

環境省「化学物質環境実態調査実施の手引き」(最新版)に従う。密栓できる褐色ガラス製容器に水質試料 100 mL を採取後、速やかに前処理操作を行う。採取した試料は全量を抽出に用いる。試料容器は事前に 500°C で 5 時間焼くか、アセトン及びジクロロメタンで洗浄してから試料採取に用いる。採取当日に前処理操作が出来ない場合は、水質試料 100 mL に対して 3 g の塩化ナトリウムを添加しておく(河川水の場合のみ)。試料量(mL)は試料採取容器の採取前後の重量差と比重(河川水 1.00、塩化ナトリウム添加河川水および海水 1.03 g/mL とする)から求める。

【試料の前処理及び試験液の調製】(注 4)

水質試料 100 mL に塩化ナトリウム 3 g を加えた後(試料保存の際に既に添加している場合及び海水では不要)、5 mol/L 塩酸を用いて pH を 5 以下に調整する。サロゲート内標準物質として BP3-¹³C₆ (0.10 ng/μL) を 100 μL 添加して予めコンディショニングを行った HLB カートリッジ(注 1)に 10 mL/min で通水させる。試料が入っていた褐色瓶や抽出に用いたガラスアダプターをそれぞれ精製水 10 mL、次いで精製水/メタノール(1:1) 10 mL で洗いこみ、これらも HLB カートリッジに通水して固相を洗浄する(注 5)。遠心分離(3500 rpm、10 分)後、さらに 30 分間窒素通気で脱水した後、アセトン 5 mL 次いでジクロロメタン 10 mL で溶出する。溶出液をロータリーエバポレーターで減圧濃縮(40°C、溶媒がなくなるまで)後、メタノール 1.0 mL を加えて再溶解させたものを試験液とする。

【空試験液の調製】

試料水と同量の精製水を用い、【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】

【LC/MS/MS 測定条件】(注 6)

【LC 条件】

使用機種 : AB Sciex 製 ExionLC
カラム : 分析カラム : Watres 製 XBridge® C18 (2.1 mm×100 mm, 3.5 μm)

リテンションギャップカラム

: Watres 製 XBridge® C18 (2.1 mm×50 mm, 3.5 μm)

移動相 : A : 0.1%ギ酸、B : メタノール

0→12 min A : 65→0、B : 35→100 linear gradient

12→22 min A : B=0 : 100

22→22.1 min A : 0→65、B : 100→35 linear gradient

22.1→30 min A : B=65 : 35

カラム流量 : 0.2 mL/min

カラム温度 : 40°C

注入量 : 1 μL

[MS 条件]

MS 機種 : AB Sciex 製 TQ 4500

イオン化法 : ESI positive

ターボガス温度 (TEM) : 0→20 min : 300°C

20→30 min : 700°C (イオン源内焼き出しのため)

カーテングス (CUR) : 20 psi

イオンスプレー電圧 (IS) : 4000 V

ネブライザーガス (GS1) : 70 psi

ターボガス (GS2) : 50 psi

コリジョンガス (CAD) : 10 (単位なし)

モニターイオン、コリジョン電圧(CE)、ドリフト電圧(DP) :

BP3 : (定量) m/z 229.0 > 151.1 (CE 27 V , DP 91 V)

(確認) m/z 229.0 > 105.0 (CE 27 V , DP 91 V)

EHMC : (定量) m/z 291.0 > 161.0 (CE 25 V , DP 71 V)

(確認) m/z 291.0 > 179.1 (CE 13 V , DP 71 V)

BP3-¹³C₆ : (定量) m/z 235.1 > 151.1 (CE 31 V , DP 91 V)

(確認) m/z 235.1 > 111.0 (CE 25 V , DP 91 V)

[検量線] (注 7)

検量線用標準液1 μLをLC/MS/MSに注入し、BP3は対象物質とサロゲート内標準物質との濃度比及び得られたピーク面積比から、EHMCは対象物質の濃度及び得られたピーク面積から検量線を作成する。

[定量] (注 7)

試験液 1 μL を LC/MS/MS に注入し、BP3 は対象物質とサロゲート内標準物質とのピーク面積比を検量線に照らして定量する。EHMC は対象物質のピーク

面積から検量線に照らして定量する。

〔濃度の算出〕（注 7）

試料中の濃度は以下の式により算出する。

$$[\text{BP3}] \quad C (\mu\text{g/L}) = R \cdot Q/V$$

R ：検量線から求めたサロゲート内標準物質に対する対象物質の濃度比

Q ：試料中に添加したサロゲート内標準物質の量 (μg)

（添加したサロゲート内標準液の濃度 ($\text{ng}/\mu\text{L}$) $\times$ 添加したサロゲート内標準液の容量 (μL) $\times$ 1/1000）

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。

$$Q = 0.010 (\mu\text{g})$$

（添加したサロゲート内標準液の濃度 ($0.10 \text{ ng}/\mu\text{L}$) $\times$ 添加したサロゲート内標準液の容量 ($100 \mu\text{L}$) $\times$ 1/1000）

$$V = 0.10 (\text{L})$$

即ち、

$$C = R \times 0.10 (\mu\text{g/L})$$

である。

$$[\text{EHMC}] \quad C (\mu\text{g/L}) = (Ca - Cb) \times v/V$$

Ca ：検量線から求めた対象物質の濃度($\mu\text{g/L}$)

Cb ：検量線から求めた空試験液の対象物質の濃度($\mu\text{g/L}$)

v ：最終液量(mL)

V ：試料量(mL)

〔サロゲート回収率の算出〕

「検量線用標準液のサロゲート内標準のピーク面積」の平均を 100 とし、「試験液のサロゲート内標準のピーク面積」からサロゲート回収率を算出する。サロゲート回収率は「化学物質環境実態調査実施の手引き」（最新版）に従って 50～120%の範囲を目安とする。

〔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 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)
BP3	0.075	0.10	1.0	0.00075
EHMC	0.15	0.10	1.0	0.0015

〔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 算出の結果

物質名	試料	試料量 (L)	最終液量 (mL)	MDL (µg/L)	MQL (µg/L)
BP3	海水	0.10	1.0	0.0019	0.0048
EHMC	精製水	0.10	1.0	0.0055	0.014

注 解

- (注 1) HLB 固相カートリッジは、予めジクロロメタン 10 mL、アセトン 10 mL、精製水 10 mL で順にコンディショニングしたものを使用する。また、使用する試薬については、予め汚染がないか確認をすること。
- (注 2) 実験室内の空気汚染を避けるために、標準液調製は、前処理を行う部屋と別の部屋で行うことが望ましい。また、標準液は、褐色容器にて保存すること。
- (注 3) 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。また、ガラス器具は 500°C で 5 時間焼くか、使用前にアセトン及びジクロロメタンで洗浄する。保護手袋は、予め汚染がないことを確認すること。
- (注 4) 前処理を行うときは、なるべく試料に日光が当たらないように褐色ガラスを使用するか、アルミホイルで遮光する。また EHMC については空気中からの汚染の影響を受ける可能性があるため、操作ブランクで EHMC が検出される場合は、窓を開けるなどして実験室を換気することがブラ

シグナルの低減につながる。EHMC は日焼け止め製品だけでなく、多くの化粧品等にも含まれており、実験室内のあらゆるところに付着している恐れがある。例えば不特定の人も触れる恐れのある、ドアの取っ手や機器スイッチなどにも EHMC が付着している可能性があるため、操作時には手袋をこまめに交換するなどの注意が必要である。前処理操作においてコンセントレーターを用いて溶出させる場合、コンセントレーター内部からの汚染を防止するために、HLB カートリッジの前段に Sep-Pak AC2 を装着すると有効である。エバポレーター使用時には、試料ごとにトラップ球及び溶媒受けも洗浄を行い、さらに空引き運転を追加することでブランクの低減を図る。



- (注 5) 具体的な手順は、初めに試料が入っていた褐色瓶を精製水 10 mL を用いて洗いこみ、洗液はガラスアダプターを通して HLB カートリッジに通水させる。その後、ガラスアダプターを精製水 10 mL を用いて洗いこみながら HLB カートリッジに通水洗浄させる。次に精製水/メタノール (1:1) を用いて、精製水の時と同様の操作を行って褐色瓶及びガラスアダプターの通水洗浄を行う。
- (注 6) MS 条件は、本測定に使用した機種特有のものである。
- (注 7) EHMC については E 体と Z 体に分離するが、今回は二つを合算して計算を行った。

(注 8) 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 (詳細)

物質名	BP3	EHMC
試料量 (L)	0.10	0.10
最終液量 (mL)	1.0	1.0
注入液濃度 (ng/mL)	0.50	0.51
注入量 (pg)	0.5	0.51
装置注入量 (μL)	1.0	1.0
結果 1 (pg)	0.466	0.453
結果 2 (pg)	0.457	0.515
結果 3 (pg)	0.437	0.519
結果 4 (pg)	0.470	0.499
結果 5 (pg)	0.490	0.517
結果 6 (pg)	0.451	0.517
結果 7 (pg)	0.435	0.426
平均値 (pg)	0.4580	0.4922
標準偏差 (σ_{n-1}) (pg)	0.0194	0.0377
IDL (pg)*	0.075	0.15
IDL 水質試料換算値 (μg/L)	0.00075	0.0015
S/N	11	10
CV (%)	4.2	7.6

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

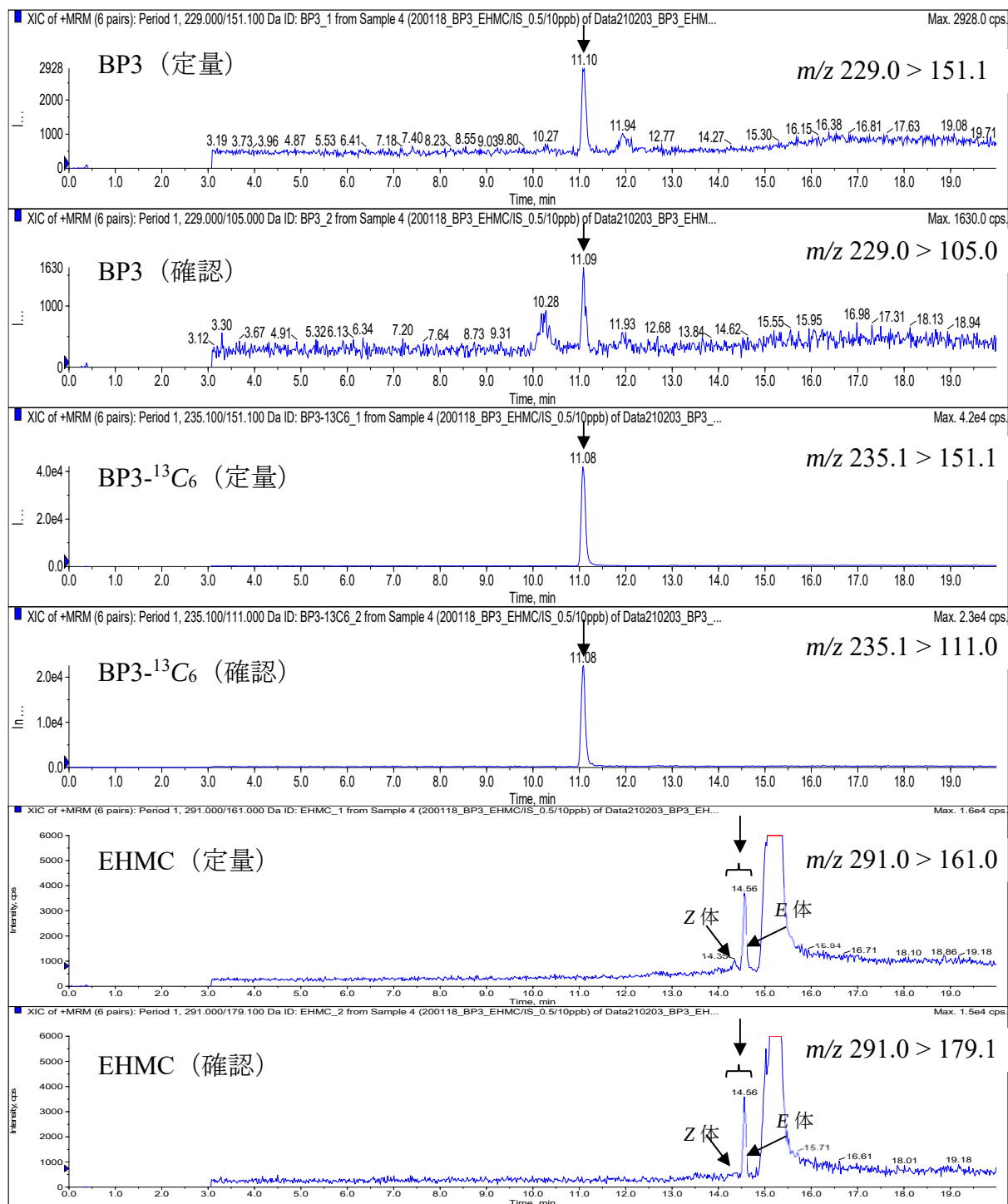


図1 IDL測定時のSRMクロマトグラム
 (BP3 : 0.50 ng/mL、EHMC : 0.51 ng/mL、
 サロゲート内標準 BP3-¹³C₆ : 10 ng/mL)
 ※EHMCは光の影響によりE体がZ体に変化する。

(注 9) 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)により、算出した。BP3 は海水を用いて MDL を算出した(表 4-1、図 2-1)。EHMC については操作ブランクが検出されたため、操作ブランク試験(n=7)を実施した。標準偏差を比較したところ環境水の時の標準偏差よりも大きかったため、EHMC の MDL は操作ブランク試料の繰り返しから算出した MDL を採用した(表 4-2、図 2-2)。

表 4-1 MDL 及び MQL の算出結果（海水、詳細）

対象物質名	BP3 ^{*5}	BP3 回収率 (%) ^{*5}	サロゲート 回収率 (%)	EHMC	EHMC 回収率 (%) ^{*6}
試料	海水	-	-	海水	-
試料量 (L)	0.10	-	-	0.10	-
標準添加量 (ng)	1.0	-	-	1.0	-
試料換算濃度 (μg/L)	0.010	-	-	0.010	-
最終液量 (mL)	1.0	-	-	1.0	-
注入濃度 (μg/L)	1.0	-	-	1.0	-
装置注入量 (μL)	1.0	-	-	1.0	-
操作ブランク平均 (μg/L) ^{*1}	<0.0019	-	-	0.00646	-
無添加平均 (μg/L) ^{*2}	<0.0019	-	-	0.00548	-
結果 1 (μg/L)	0.0102	102	87	0.0132	77
結果 2 (μg/L)	0.0103	103	89	0.0150	94
結果 3 (μg/L)	0.0090	90	95	0.0144	89
結果 4 (μg/L)	0.0093	93	90	0.0149	94
結果 5 (μg/L)	0.0099	99	89	0.0147	91
結果 6 (μg/L)	0.0097	97	88	0.0142	86
結果 7 (μg/L)	0.0101	101	92	0.0143	87
平均値 (μg/L)	0.00978	97.8	89.9	0.01438	88.2
標準偏差 (σ _{n-1})(μg/L)	0.000485			0.000604	
MDL (μg/L) ^{*3}	0.0019			0.0023	
MQL (μg/L) ^{*4}	0.0048			0.0060	
S/N	12			17	
CV(%)	5.1			4.3	

*1 空試験液を測定した値の平均値(n=7)

*2 MDL 算出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=3)

*3 $MDL=t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$ *4 $MQL=\sigma_{n-1} \times 10$

*5 BP3 定量結果はサロゲート法により補正した値である。

*6 EHMC 定量結果は絶対検量線法により算出した値である。

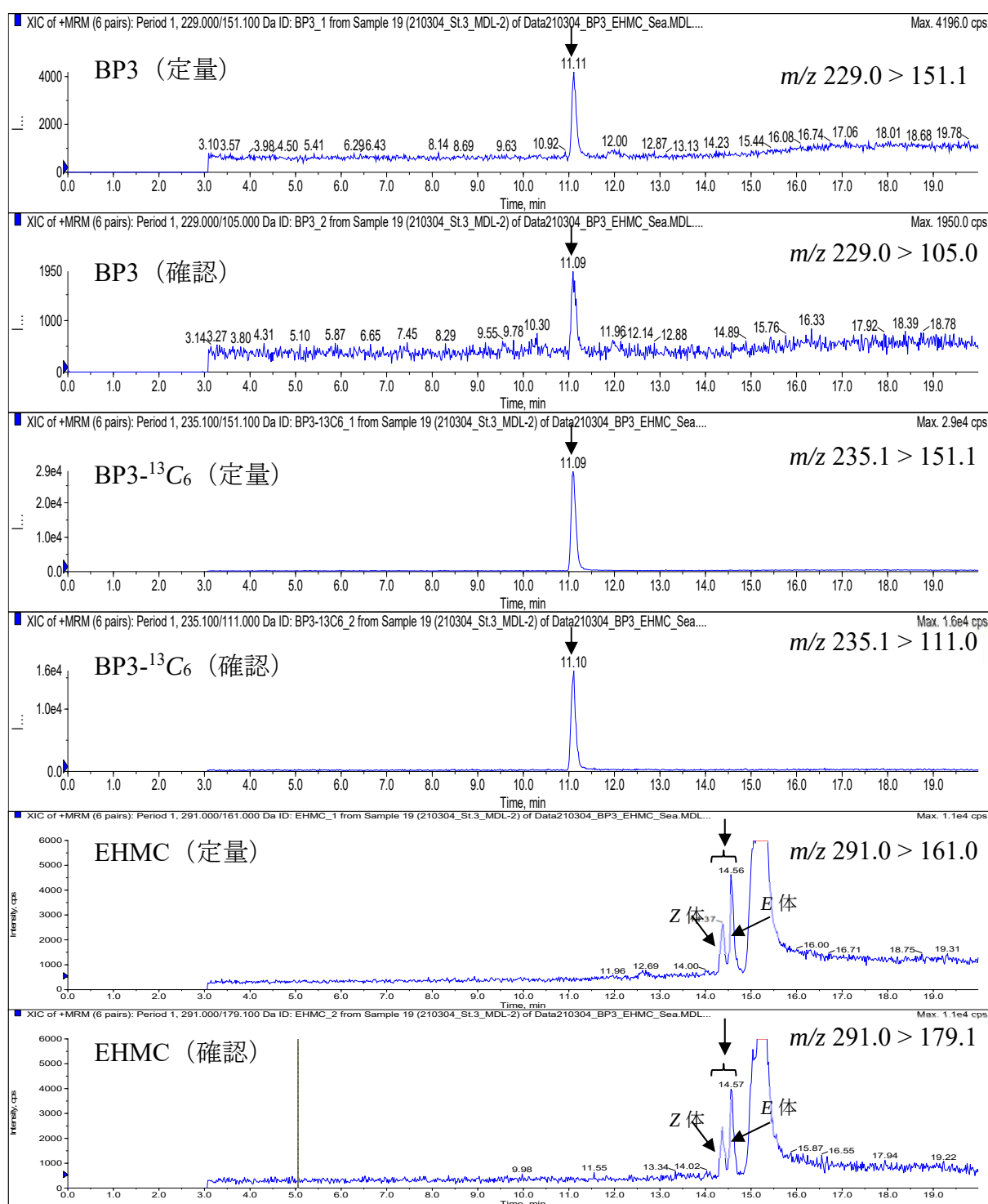


図 2-1 MDL 測定時のクロマトグラム
 (海水：試料換算濃度 BP3：0.010 ng/mL、EHC：0.010 ng/mL、
 サロゲート内標準 BP3-¹³C₆：10 ng/mL)
 ※EHC は光の影響により E 体が Z 体に変化する。

表 4-2 MDL 及び MQL の算出結果（操作ブランク、詳細）

対象物質名	BP3 ^{*4}	サロゲート回収率 (%)	EHMC ^{*5}
試料	精製水	-	精製水
試料量 (L)	0.10	-	0.10
標準添加量 (ng)	0	-	0
試料換算濃度 (μg/L)	0	-	0
最終液量 (mL)	1.0	-	1.0
注入濃度 (μg/L)	0	-	0
装置注入量 (μL)	1.0	-	1.0
操作ブランク平均 (μg/L) ^{*1}	<0.0019	-	0.00646
結果 1 (μg/L)	0.000	90	0.00576
結果 2 (μg/L)	0.000	90	0.00607
結果 3 (μg/L)	0.000	93	0.00561
結果 4 (μg/L)	0.000	91	0.00860
結果 5 (μg/L)	0.000	91	0.00827
結果 6 (μg/L)	0.000	88	0.00600
結果 7 (μg/L)	0.000	91	0.00492
平均値 (μg/L)	0.0000	90.8	0.006460
標準偏差 (σ_{n-1})(μg/L)	-		0.00140
MDL (μg/L) ^{*2}	-		0.0055
MQL (μg/L) ^{*3}	-		0.014
S/N	-		13
CV(%)	-		22

*1 操作ブランク平均：空試験液を測定した値の平均値(n=7)

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

*3 $MQL=\sigma_{n-1} \times 10$

*4 BP3 定量結果はサロゲート法により補正した値である。

*5 EHMC 定量結果は絶対検量線法により算出した値である。

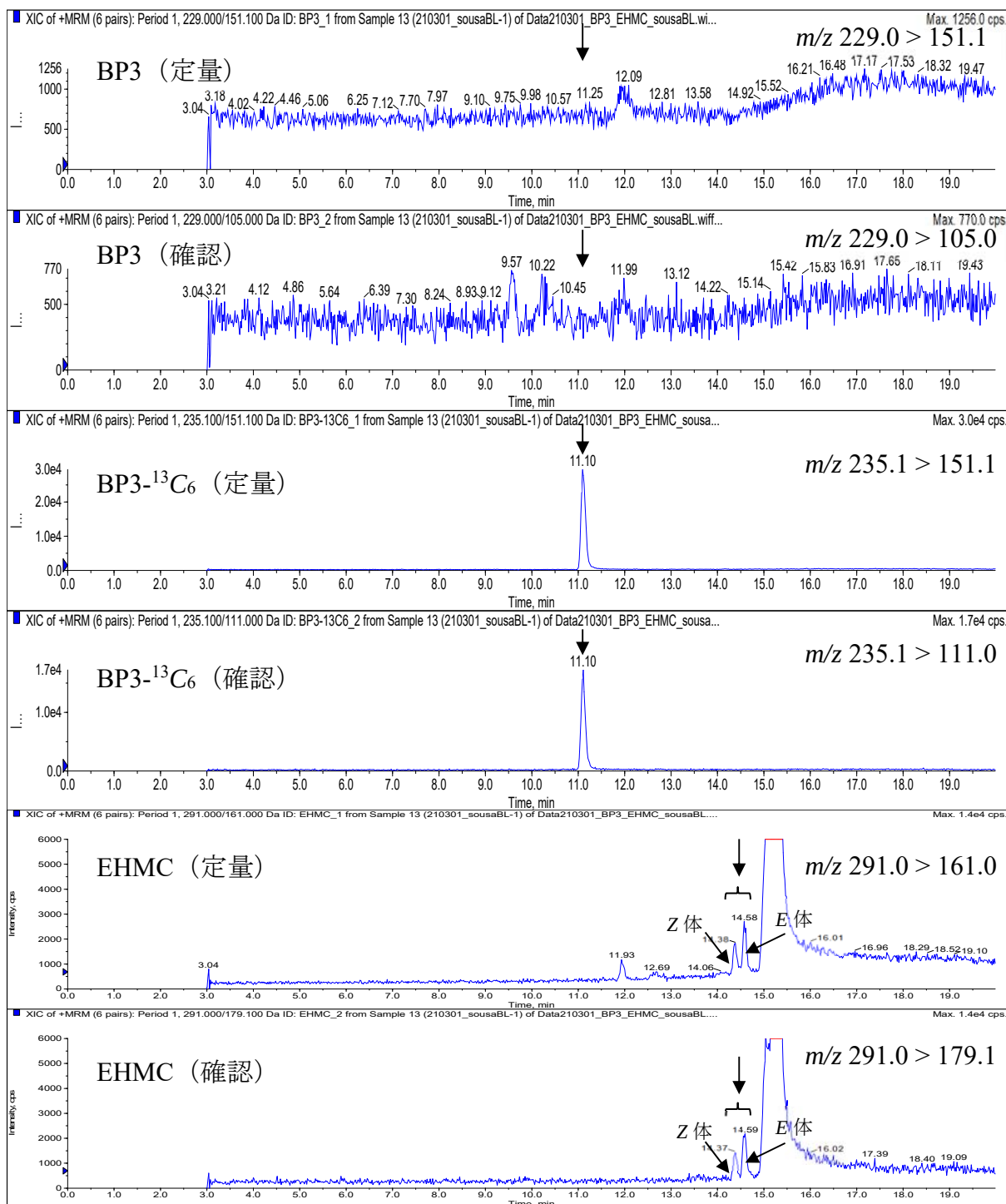


図 2-2 操作ブランククロマトグラム
(精製水：サロゲート内標準 BP3- $^{13}C_6$: 10 ng/mL)
※EHMC は光の影響により E 体が Z 体に変化する。

§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。

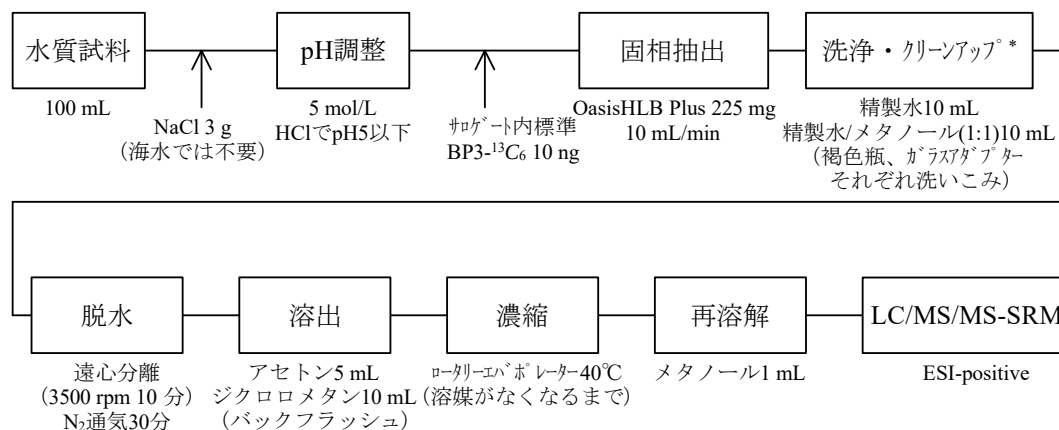


図3 分析法のフローチャート

*：水質試料が入っていた褐色瓶及び固相抽出に用いたガラスアダプターはそれぞれ精製水 10 mL 及び精製水/メタノール(1:1) 10 mL で洗いこみ、洗浄液を HLB 固相カートリッジに通液させることによりクリーンアップも兼ねる。

〔検量線〕

検量線を図 4-1 及び図 4-2 に、検量線作成用データを表 5-1 及び表 5-2 に示す。

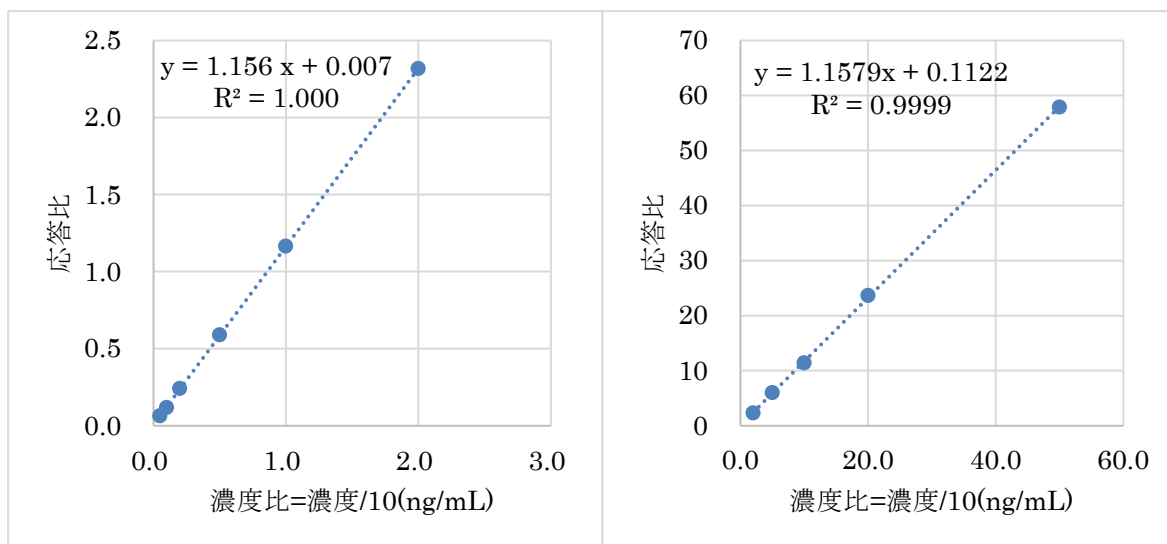


図 4-1 BP3 検量線

(左図：低濃度域 0.50～20 ng/mL、右図：高濃度域 20～500 ng/mL、サロゲート内標準：10 ng/mL)

表 5-1 検量線作成用データ(BP3)

標準液濃度 (ng/mL) (Cs)	濃度比	応答値		応答比 (As/Ais)
		対象物質 (As)[BP3]	サロゲート内標準物質 (Ais)[BP3- ¹³ C ₆]	
		(m/z 229>151)	(m/z 235>151)*	
0.50	0.050	18032	282913	0.0637
1.0	0.10	33376	283964	0.118
2.0	0.20	67452	278685	0.242
5.0	0.50	170477	289062	0.590
10	1.0	338329	290460	1.16
20	2.0	655500	282781	2.32
50	5.0	1739643	289966	6.00
100	10	3226281	282542	11.4
200	20	6449150	272571	23.7
500	50	16182350	279501	57.9

*： サロゲート内標準物質濃度：10 ng/mL (Cis)

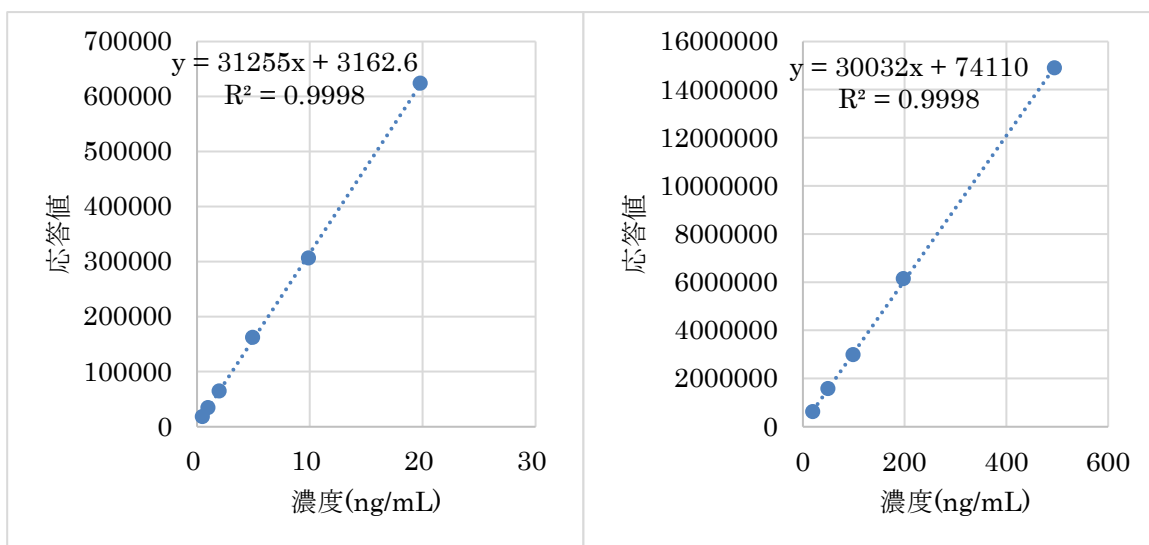


図 4-2 EPMC 検量線
(左図：低濃度域 0.51～20 ng/mL、右図：高濃度域 20～505 ng/mL)

表 5-2 検量線作成用データ(EPMC)

標準液濃度 (ng/mL) (Cs)	応答値
	対象物質(As)
	[EPMC] (<i>m/z</i> 291>161)
0.51	18161
1.0	34644
2.0	64855
5.1	162240
10	306360
20	624122
51	1580578
101	2986479
202	6144233
505	14903979

[クロマトグラム]

標準液の SRM クロマトグラムを図 5 に示す。

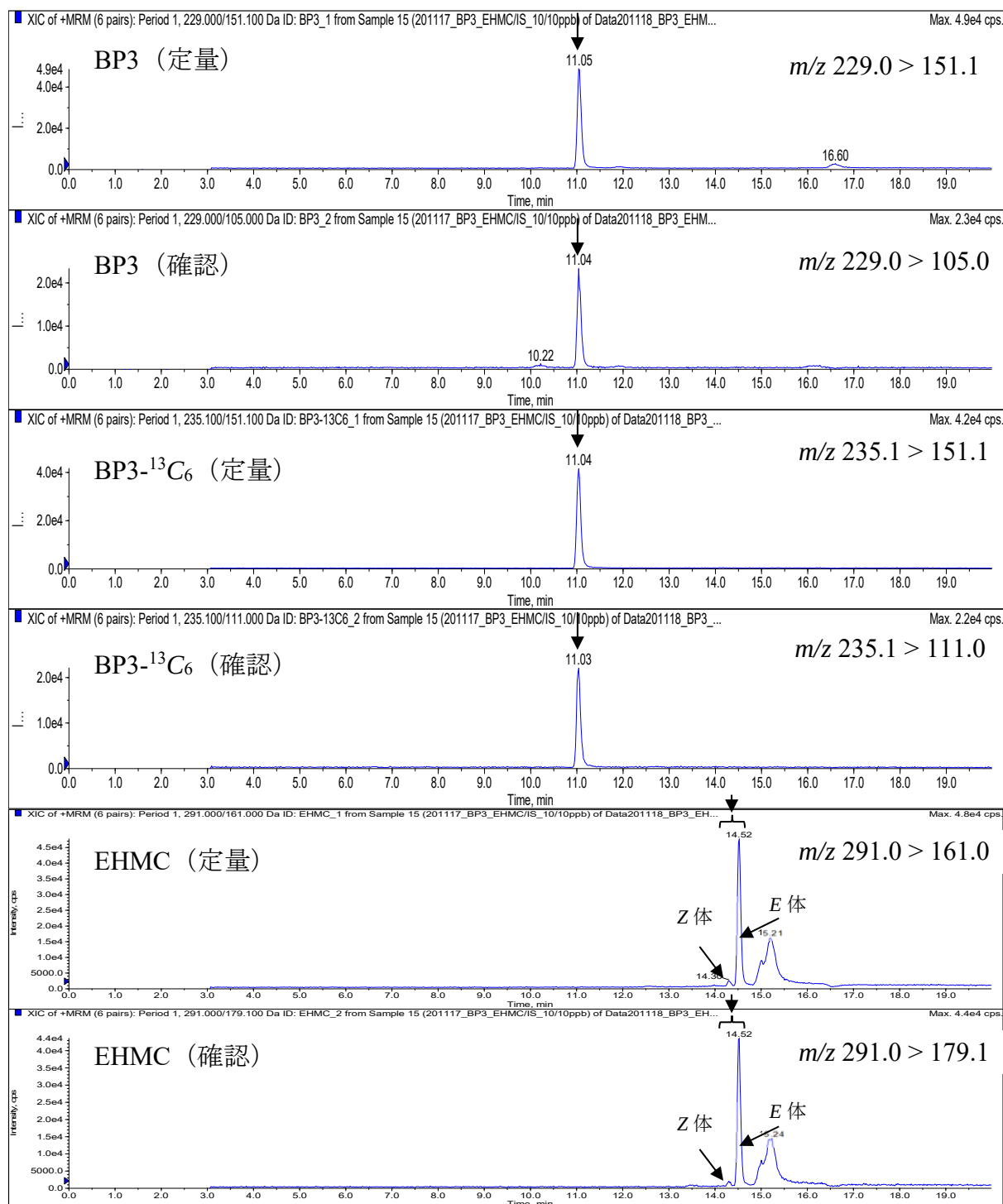


図 5 標準液の SRM クロマトグラム

(BP3 : 10 ng/mL、EHMC : 10 ng/mL、BP3-¹³C₆ : 10 ng/mL)

※EHMC は光の影響により E 体が Z 体に変化する。

[マスペクトル]

BP3、BP3-¹³C₆ 及び EPMC のマスペクトル並びにプレカーサーイオン m/z 229.0、 m/z 235.1 及び m/z 291.0 に対するプロダクトイオンを図 6-1～図 6-3 に示す。

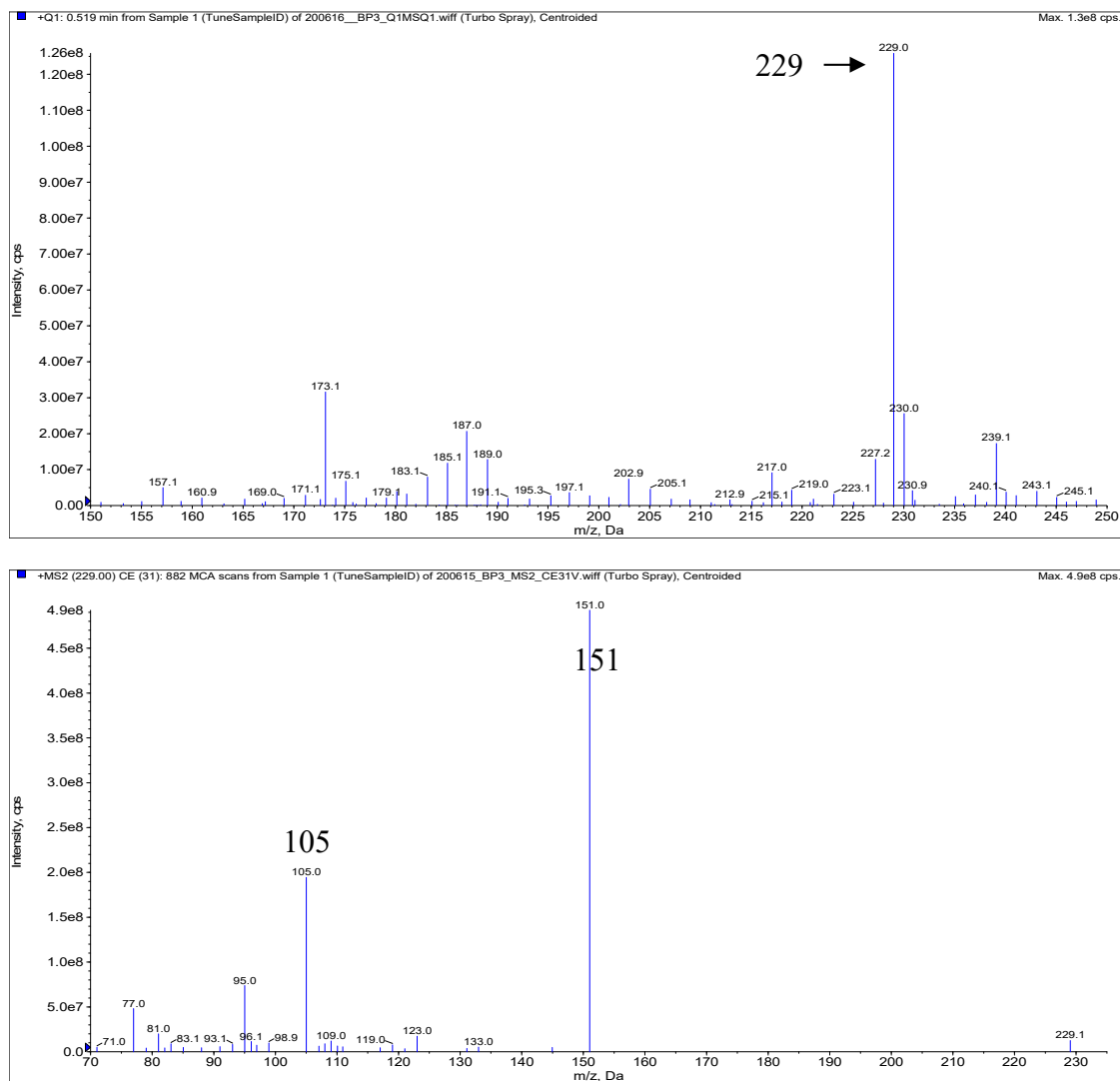


図 6-1 BP3 のマスペクトル（上図）及びプレカーサーイオン及び m/z 229.0 に対するプロダクトイオン（下図）

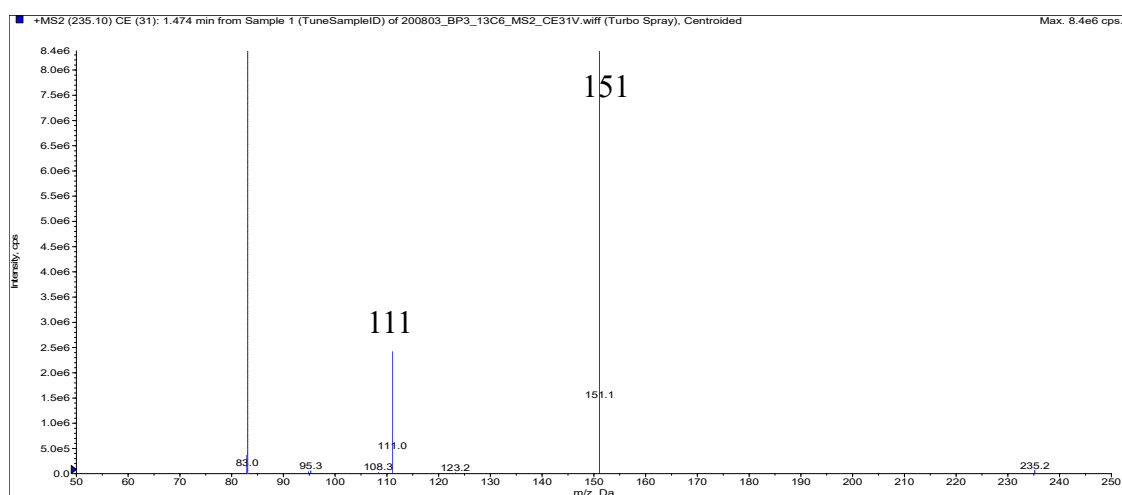
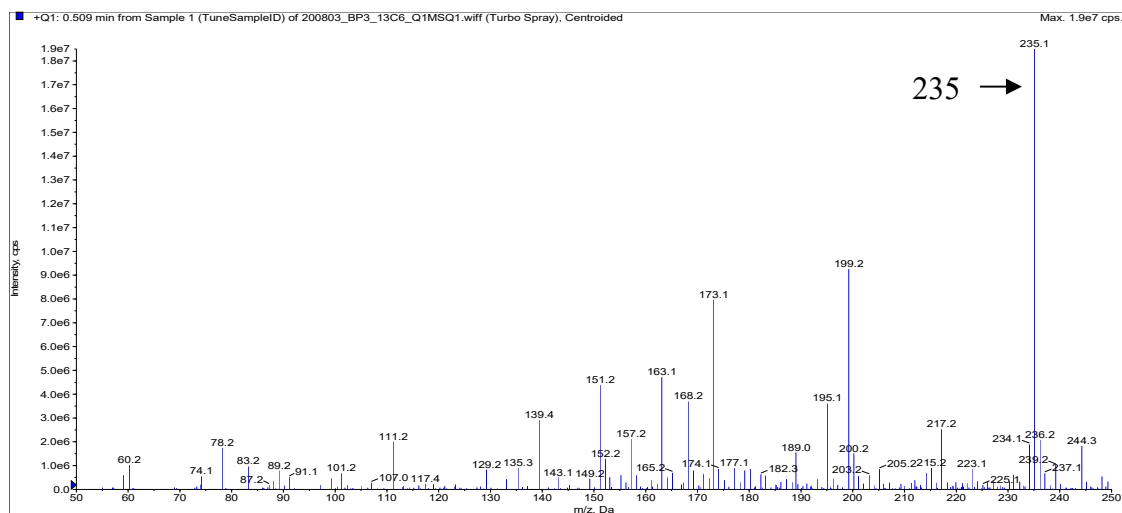


図 6-2 BP3- $^{13}\text{C}_6$ のマススペクトル（上図）及びプレカーサーイオン及び m/z 235.1 に対するプロダクトイオン（下図）

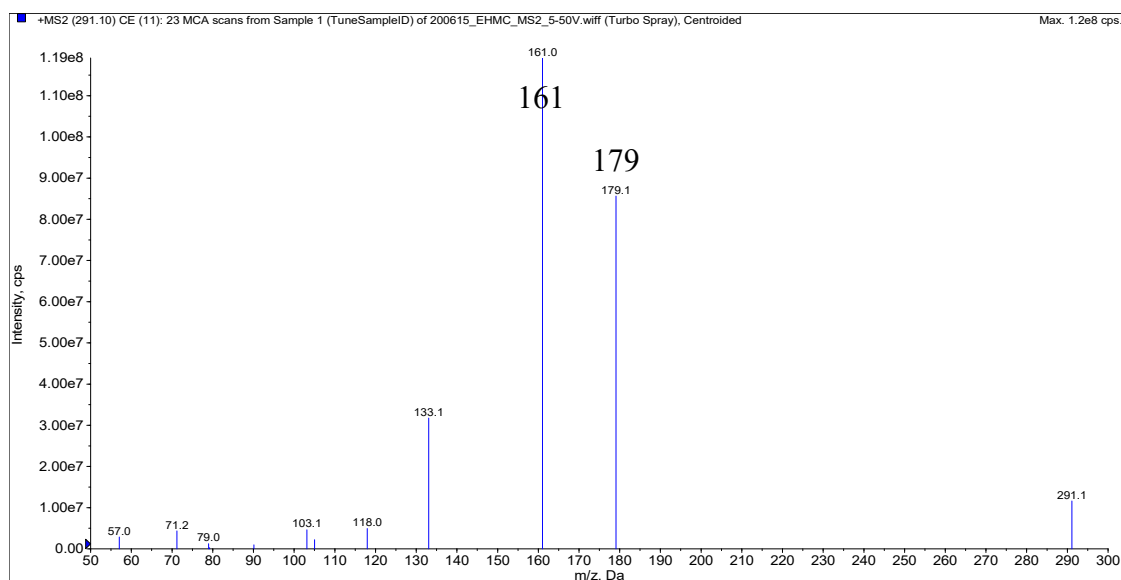
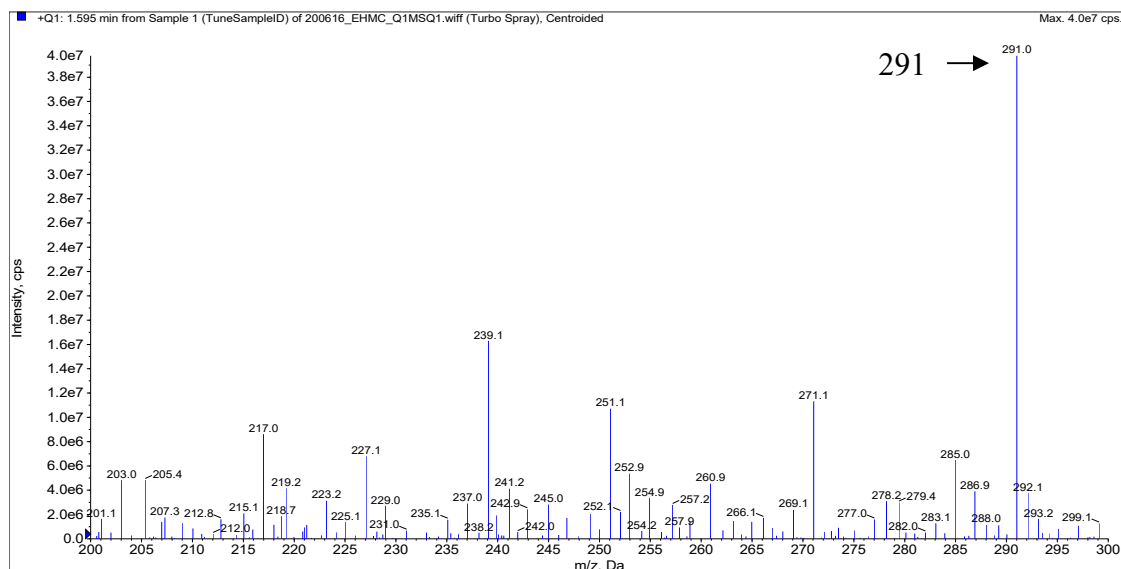


図 6-3 EHMC のマススペクトル（上図）及びプレカーサーイオン及び m/z 291.0 に対するプロダクトイオン（下図）

〔操作ブランク〕

精製水 100 mL を用いて【試料の前処理及び試験液の調製】の項に従い、操作ブランクを測定した。BP3 の操作ブランクは検出されなかったが、EHMC は操作ブランクが検出されたため、試験数 $n=7$ で操作ブランク試験を実施した。環境試料で実施した標準偏差と比較したところ、操作ブランクから算出した標準偏差の方が大きな値となったため、EHMC の MDL は操作ブランクから算出した MDL を採用した。（前述の表 4-2 及び図 2-2）

〔添加回収試験〕

河川水（佐備川）及び海水（大阪湾 St.18）への添加回収試験結果を表 6 に示す。また、添加回収試験時のクロマトグラムを図 7-1、図 7-2 及び図 8-1、図 8-2 に示す。

表 6 添加回収試験結果

試料名	物質名	試料量 (L)	添加量 (ng)	試験 数	検出 濃度 (μg/L)	回収 率 (%)	変動 係数 (%)	サゲート 回収率 (%)
河川水	BP3	0.10	0	3	<0.0019	-	-	86
		0.10	1.0	7	0.0105	105	4.7	90
	EHMC	0.10	0	3	0.0169	-	-	-
		0.10	1.01	7	0.0254	84	4.9	-
海水	BP3	0.10	0	3	<0.0019	-	-	89
		0.10	6.0	5	0.0599	100	1.8	93
	EHMC	0.10	0	3	0.00678	-	-	-
		0.10	6.1	5	0.0673	100	7.5	-

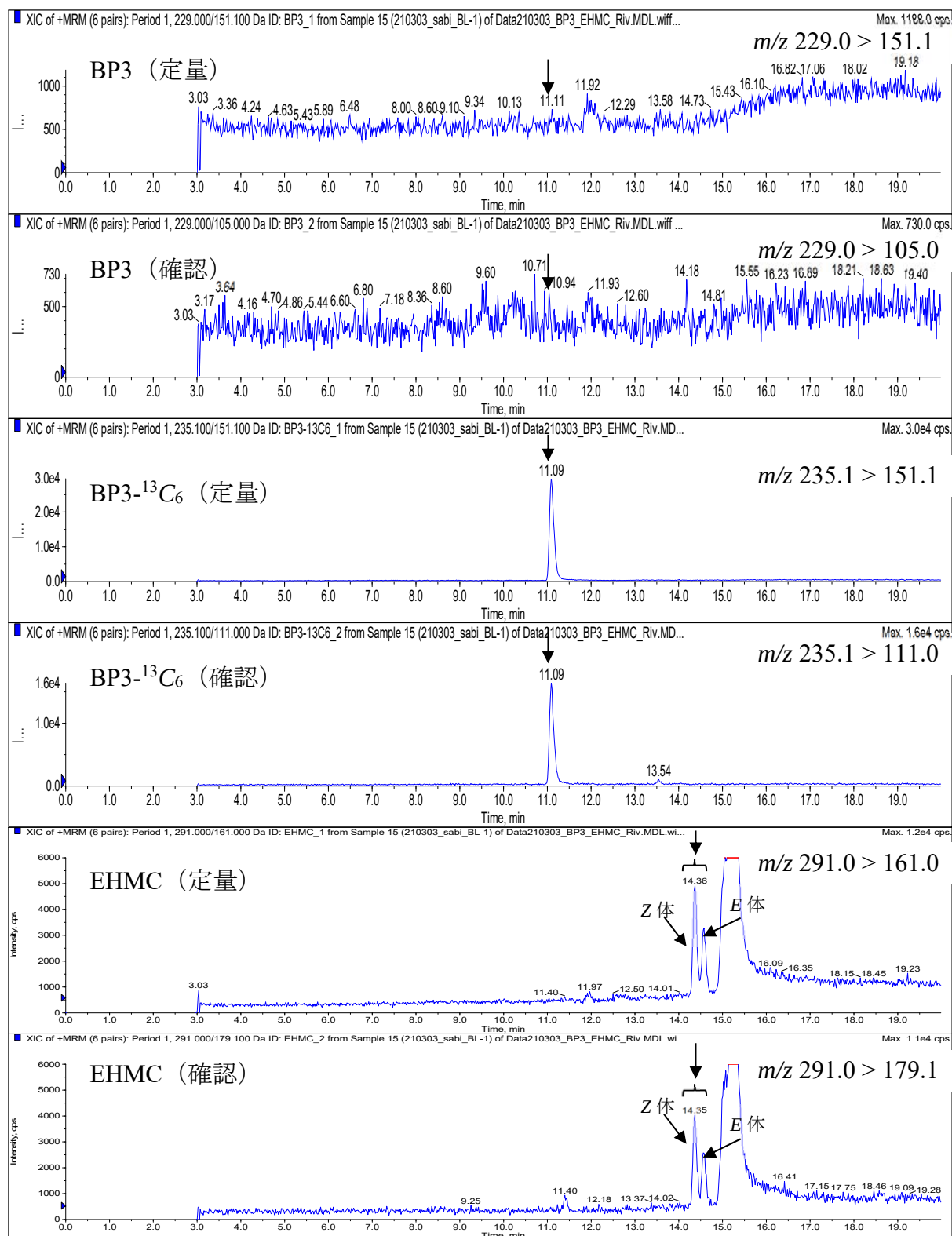


図 7-1 添加回収試験のクロマトグラム (佐備川：無添加)

※EHMC は光の影響により E 体が Z 体に変化する。

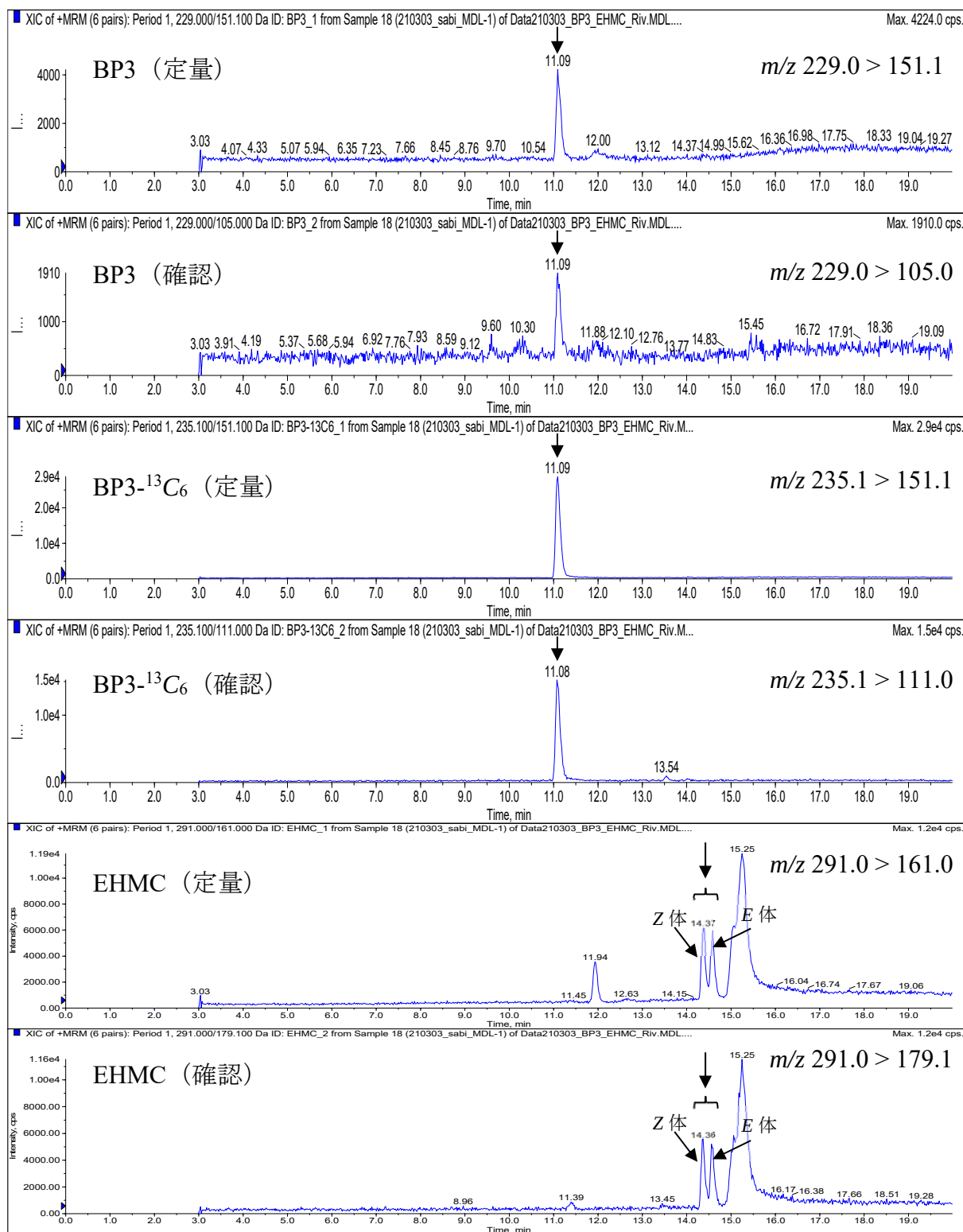


図 7-2 添加回収試験のクロマトグラム (佐備川：添加濃度 0.01 ng/mL)
 ※EHMC は光の影響により E 体が Z 体に変化する。

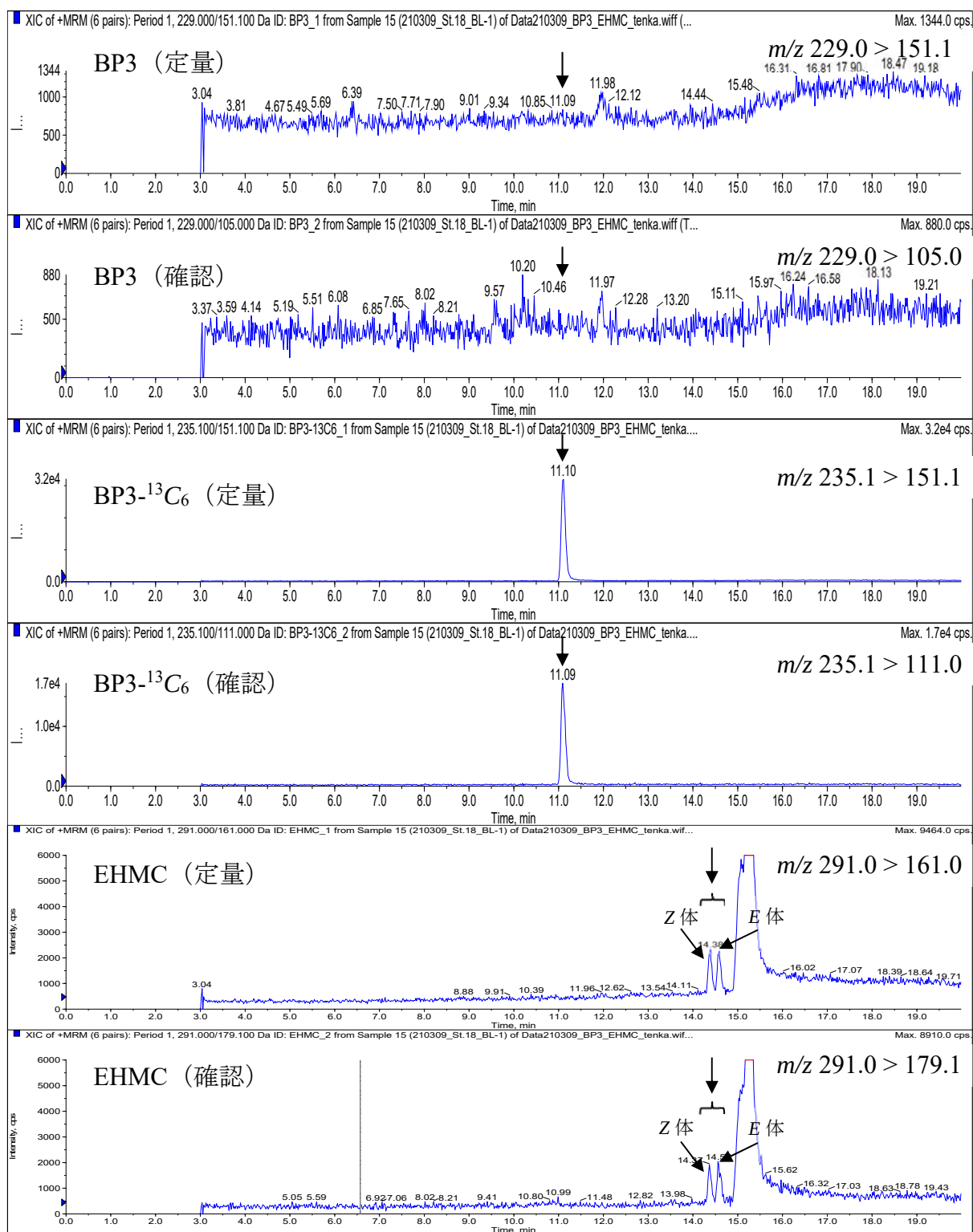


図 8-1 添加回収試験のクロマトグラム (大阪湾 St.18 : 無添加)

※EHMC は光の影響により E 体が Z 体に変化する。

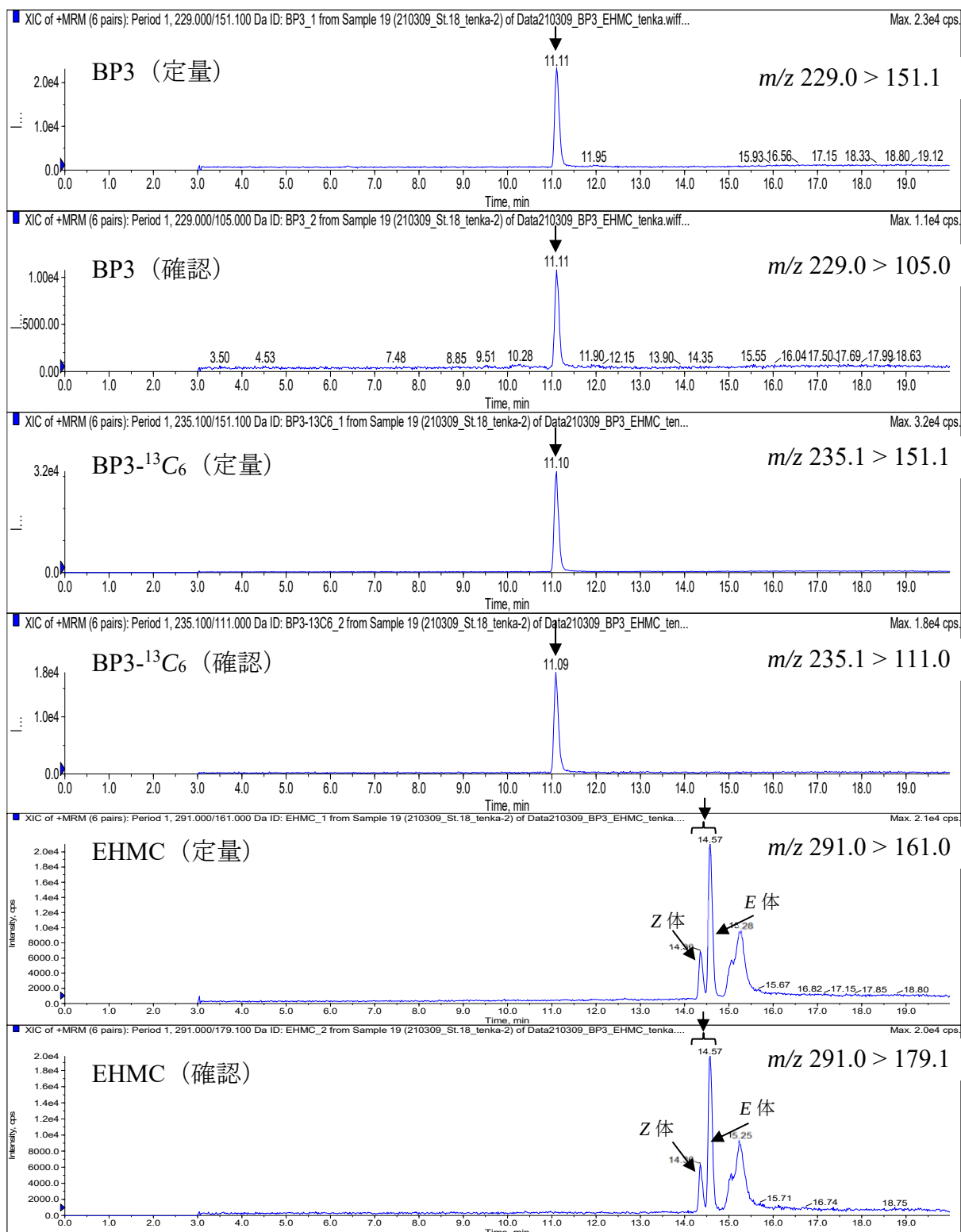


図 8-2 添加回収試験のクロマトグラム (大阪湾 St.18 : 添加濃度 0.06 ng/mL)

※EHMC は光の影響により E 体が Z 体に変化する。

〔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。5 mmol/L ギ酸アンモニウム水溶液に、1%ギ酸及び 1%アンモニアを用いて pH を 5、7、9 に調整した後、BP3 及び EHMC を添加した。所定時間経過後、【試料の前処理及び試験液の調製】に従って BP3-¹³C₆ を添加して前処理を行い測定した。

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) ^{*1} (残存率(%)) ^{*2}		
				1 時間 放置後	7 日間放置後	
					暗所	明所
BP3	5	2	0.20	0.19 (97)	0.21 (103)	-
	7	2	0.20	0.20 (98)	0.20 (102)	0.20 (101)
	9	2	0.20	0.19 (97)	0.20 (98)	-
EHMC	5	2	0.20	0.19 (92)	0.17 (83)	-
	7	2	0.20	0.19 (95)	0.19 (96)	0.19 (94)
	9	2	0.20	0.19 (93)	0.16 (81)	-

*1：BP3 はサロゲート補正後の値、EHMC は絶対検量線を用いた値

*2：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 に示す。河川水、海水の保存性試験は各試料 100 mL に BP3 及び EHMC を 2 ng 添加して冷蔵保存し、7 日後に【試料の前処理及び試験液の調製】に従って BP3-¹³C₆ を添加して前処理を行って測定した。試験液の保存性試験は、環境試料の試験液を冷蔵保存し、14 日後に測定した。

河川水の EHMC については、塩化ナトリウムを添加しない場合には、濃度低下が認められたが、あらかじめ 3%の塩化ナトリウムを添加して保存することで濃度低下は抑制できた。

表 8 保存性試験結果

物質名	試料名	調製 濃度 (ng/mL)	検出濃度(ng/mL) *1 (残存率(%)*2)			
			当日	7 日間	14 日間	1 ヶ月
BP3	河川水	試料 (NaCl 無添加)	0.02 (100)	0.020 (102)	-	-
		試料 (NaCl 添加)	0.02 (93)	0.020 (102)	-	-
		試験液	0.02 (93)	0.019 (93)	0.020 (99)	-
	海水	試料	0.02 (96)	0.019 (100)	-	-
		試験液	0.02 (96)	0.019 (96)	0.019 (95)	-
	標準液	検量線 最低濃度	0.5 (99)	0.49 (99)	-	0.51 (102)
		検量線 最高濃度	500 (100)	500 (100)	-	515 (103)
EHMC	河川水	試料 (NaCl 無添加)	0.020 (97)	0.020 (28)	0.0057 (28)	-
		試料 (NaCl 添加)	0.020 (96)	0.019 (96)	0.021 (104)	-
		試験液	0.020 (96)	0.019 (96)	0.019 (96)	-
	海水	試料	0.020 (90)	0.018 (90)	0.021 (104)	-
		試験液	0.020 (99)	0.020 (99)	0.021 (102)	-
	標準液	検量線 最低濃度	0.51 (109)	0.55 (109)	-	0.53 (105)
		検量線 最高濃度	505 (100)	505 (100)	-	514 (102)

*1 : BP3 はサロゲート補正後の値、EHMC は絶対検量線を用いた値

*2 : 残存率(%) : 調製濃度に対する検出濃度の割合

〔異性体について〕

EHMC には幾何異性体があり、紫外線を吸収すると *E* 体から *Z* 体へ変化する。このことを確認するために、10 ng/mL (50%メタノール溶液) に調製した標準液を直射日光の当たる実験室の窓際に置き、調製直後及び1時間～2日間放置後に測定を行った。ガラスバイアルは透明及び褐色のものを用意した。

用いた標準試薬はほぼ *E* 体で構成されており、調製1時間後には *E* 体の半分以上が *Z* 体へと変化した。また、今回の条件では2日放置しても全量が *Z* 体に変化することはなかった。褐色バイアルでは *E* 体のままであった。またこの反応は不可逆反応であった。このため、実験では褐色瓶或いはアルミホイルで器具を覆い、光が当たらないように注意をする必要がある。

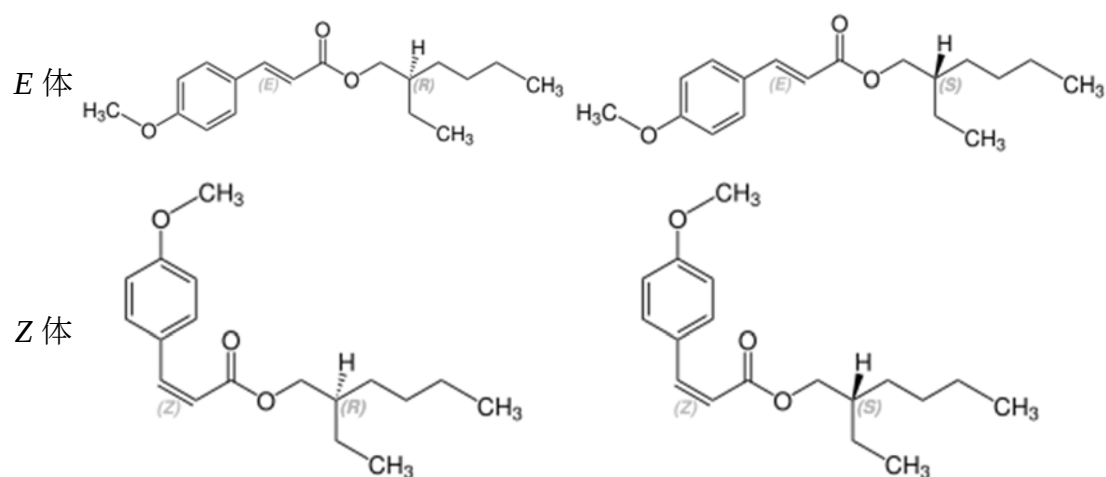


図9 EHMC の幾何異性体の構造式

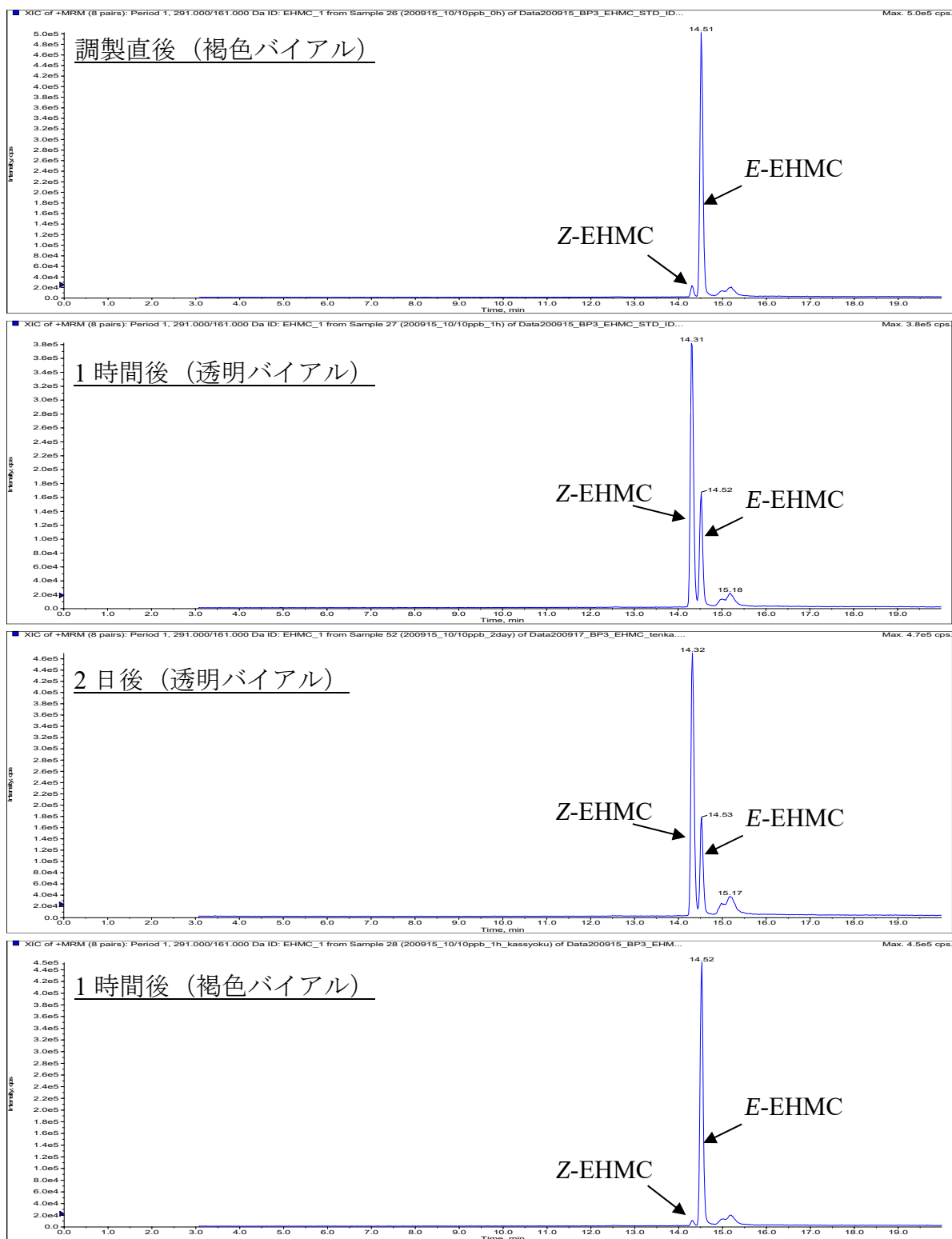


図 10 EHMC の *E* 体から *Z* 体への変化
(EHMC : 10 ng/mL (50%メタノール溶液))

〔リテンションギャップカラムの検討〕

EHMC は溶離液及び装置由来の汚染と考えられるピークやベースラインの上昇が認められた。そのため、リテンションギャップカラムを用いて、溶離液由来のピークを分離させた。リテンションギャップカラムは分析カラムと同じ種類で長さが短いものを選択した。さらに、イオン源内に入った EHMC を除去するために、測定サイクルの後半(20~30 min)にイオンソースの温度を 700℃に上げてイオン源の焼き出しを行うこととした。

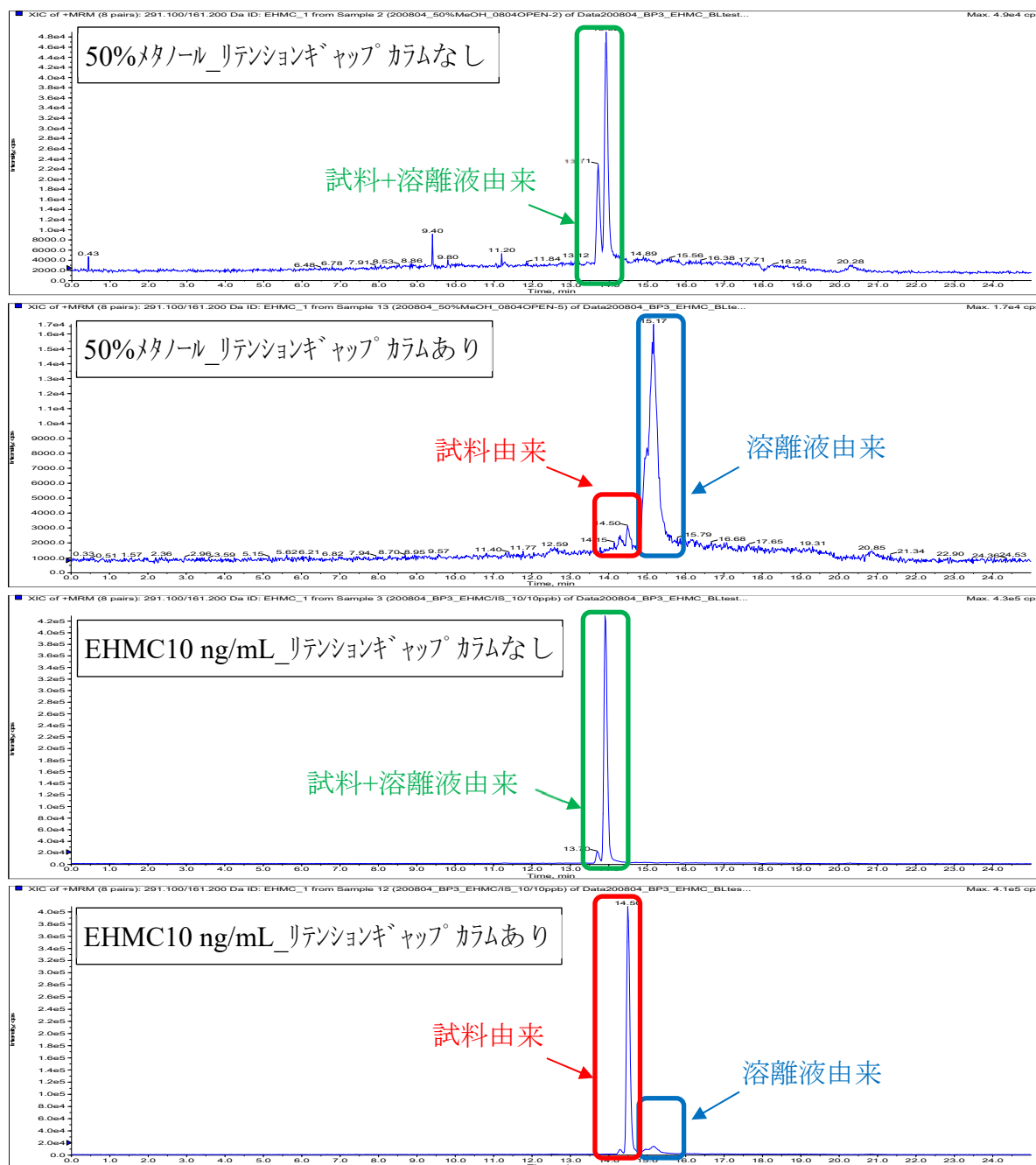


図 11 リテンションギャップカラムによって分離された EHMC のピーク

〔固相カートリッジの検討〕

環境試料から対象物質の抽出に用いる固相カートリッジを選定するため、精製水及び3%塩化ナトリウム水溶液を用いた添加回収試験を行った。固相カートリッジは OasisHLB、SepPakPS2、SepPakC18 の3種類を検討した。標準物質を添加する際は 25 mL 試験管及びガラスアダプターを用いた。標準物質を精製水 10 mL に対しては 50 ng、3%塩化ナトリウム水溶液 10 mL に対しては 20 ng 添加して試料溶液とした（サロゲート入手前のため、BP3 も絶対検量線法により算出した）。予めジクロロメタン、アセトン、メタノール、精製水の順に各 10 mL でコンディショニングを行った各固相カートリッジに試料溶液を通液させ、精製水 10 mL で洗浄後、脱水を行った。画分 1 としてメタノール 10 mL 及びアセトン 10 mL、画分 2 としてジクロロメタン 10 mL、画分 3 として酢酸エチル 10 mL（3%塩化ナトリウム水溶液の時のみ）で溶出させた。各溶出画分は窒素気流下にて濃縮乾固させた後メタノール 0.5 mL 及び精製水 0.5 mL で再溶解して LC/MS/MS 測定した。また、添加時に用いた試験管及びガラスアダプターはアセトン 10 mL 及びジクロロメタン 10 mL で洗浄を行って別の試験管に回収し、溶出画分と同様の操作を行い、試料容器等の壁面からの回収分（容器等からの回収液）を算出した。

表 9-1 及び表 9-2 に結果を示す。塩化ナトリウムを添加した方が BP3 及び EHMC の回収率は高かったため、水質試料には 3%となるように塩化ナトリウムを添加することとした。固相カートリッジは BP3 及び EHMC の両方で回収率が高い HLB カートリッジを用いることとした。また、ガラス器具等に EHMC が吸着されることが示唆された。

表 9-1 固相カートリッジの検討（精製水 10 mL、50 ng 添加）

物質名	溶出溶媒	回収率(%) ^{*1}					
		HLB		PS2		C18	
BP3	画分 1 ^{*2}	77	70	47	51	51	55
	画分 2 ^{*3}	2.4	2.4	3.4	2.7	4.5	5.3
	容器等からの回収液 ^{*4}	0.0	0.7	0.0	0.0	0.0	0.0
	合計	79	73	50	54	55	60
EHMC	画分 1 ^{*2}	41	51	49	54	31	31
	画分 2 ^{*3}	12	14	21	17	29	34
	容器等からの回収液 ^{*4}	7.9	11	12	1.1	8.3	8.9
	合計	61	76	82	72	68	73

*1：BP3、EHMC とともに絶対検量線法で定量

*2：メタノール 10 mL+アセトン 10 mL

*3：ジクロロメタン 10 mL

*4：試験管、ガラスアダプター壁面を洗浄したアセトン 10 mL+ジクロロメタン 10 mL

表 9-2 固相カートリッジの検討（3%塩化ナトリウム水溶液 10 mL、20 ng 添加）

物質名	溶出溶媒	回収率(%) ^{*1}					
		HLB		PS2		C18	
BP3	画分 1 ^{*2}	81	94	71	87	56	57
	画分 2 ^{*3}	3.6	2.3	4.3	3.4	7.5	8.0
	画分 3 ^{*4}	1.1	1.0	0.6	1.0	0.9	0.5
	容器等からの回収液 ^{*5}	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	合計	86	98	76	91	64	65
EHMC	画分 1 ^{*2}	37	49	44	54	29	32
	画分 2 ^{*3}	12	12	23	20	29	35
	画分 3 ^{*4}	5.4	3.3	2.2	6.2	5.4	11
	容器等からの回収液 ^{*5}	36	33	18	16	35	29
	合計	91	97	88	96	98	108

*1：BP3、EHMC とともに絶対検量線法で定量

*2：メタノール 10 mL+アセトン 10 mL

*3：ジクロロメタン 10 mL

*4：酢酸エチル 10 mL

*5：試験管、ガラスアダプター壁面を洗浄したアセトン 10 mL+ジクロロメタン 10 mL

〔溶出溶媒及び吸着の検討-1〕

溶出溶媒量及び吸着を検討するために〔固相カートリッジの検討〕と同様の方法で各溶出画分の回収率及び吸着分を算出した。3%塩化ナトリウム水溶液 100 mL に BP3 及び EHMC を 10 ng、サロゲート内標準を 10 ng 添加して試料とした。なお、本検討では試料量を増やしたため試験管ではなく褐色ガラス瓶を用いた。添加に用いた褐色ガラス瓶及びガラスアダプターは精製水 10 mL で洗浄し、洗浄液は HLB カートリッジに通液させた。精製水で洗浄後の褐色ガラス瓶及びガラスアダプターはその後さらにアセトン 10 mL 及びジクロロメタン 10 mL で洗浄を行って試験管に回収し、溶出画分と同様の操作を行い、容器等からの回収液として算出した。結果を表 10 に示す。両物質ともジクロロメタン 10 mL でほぼ回収できることが示唆された。また、ガラス瓶及びアダプターへの吸着は、EHMC については精製水のみでの洗浄では洗い切れておらず、まだ器具に残っていることが示唆された。

表 10 HLB カートリッジを用いた溶出試験-1
(3%塩化ナトリウム水溶液 100 mL、10 ng 添加(n=2))

溶出画分	回収率(%) ^{*1}		
	BP3	BP3- ¹³ C ₆	EHMC
画分 1 (メタノール 5 mL)	16	16	0.0
画分 2 (アセトン 5 mL)	74	69	34
画分 3 (ジクロロメタン 10 mL)	6.8	5.9	21
画分 4 (ジクロロメタン 5 mL)	0.6	0.6	0.0
画分 5 (ジクロロメタン 5 mL)	0.7	0.3	0.0
容器等からの回収液 ^{*2}	0.0	0.0	25
合計	99	92	80

*1：BP3 はサロゲートによる内標準法、EHMC は絶対検量線法で定量

*2：褐色ガラス瓶、ガラスアダプター壁面を洗浄したアセトン 10 mL +
ジクロロメタン 10 mL

〔溶出溶媒及び吸着の検討-2〕

〔溶出溶媒及び吸着の検討-1〕と同様に 3%塩化ナトリウム水溶液 100 mL に BP3 及び EHMC を 10 ng、サロゲート内標準を 10 ng 添加して回収率を求めた。添加に用いた褐色ガラス瓶及びガラスアダプターは精製水 10 mL の後、20%メタノール次いで 50%メタノールで洗浄し、洗浄液はクリーンアップを兼ねて HLB カートリッジに通液させた。洗浄後の褐色ガラス瓶及びガラスアダプターはその後さらにアセトン及びジクロロメタンで洗浄を行って試験管に回

収し、溶出画分と同様の操作を行い、容器等からの回収液として算出した。表 11 に結果を示す。50%メタノールで洗浄することで褐色ガラス瓶及びアダプターに吸着されていた分はほぼ回収することができた。またこの洗浄液を HLB カートリッジに通液しても HLB カートリッジからは溶出しなかったため、添加に用いた褐色瓶やガラスアダプターはそれぞれ精製水 10 mL 及び 50%メタノール 10 mL で洗浄を行い、さらに洗浄液をそのまま HLB カートリッジに通すことでクリーンアップも兼ねることとした。また、溶出溶媒はアセトン 5 mL 及びジクロロメタン 10 mL とすることとした。

表 11 HLB カートリッジを用いた溶出試験-2
(3%塩化ナトリウム水溶液 100 mL、10 ng 添加)

溶出画分	回収率(%) ^{*1}		
	BP3	BP3- ¹³ C ₆	EHMC
HLB 通過液 (50%メタノール) ^{*2}	0.0	0.0	0.0
溶出 1 (メタノール 5 mL)	98	88	46
溶出 2 (アセトン 5 mL)	2.9	3.2	16
溶出 3 (ジクロロメタン 10 mL)	0.0	0.2	3.9
容器等からの回収液 ^{*3}	0.0	0.0	4.9
合計	100	91	70

*1：BP3 はサロゲートによる内標準法、EHMC は絶対検量線法で定量

*2：褐色ガラス瓶及びアダプターをそれぞれ洗浄した 50%メタノール
合計 20 mL を HLB カートリッジに通液させた時の通過液

*3：褐色ガラス瓶、ガラスアダプター壁面を洗浄したアセトン 10 mL+
ジクロロメタン 10 mL

〔固相通液時の試料液の pH の検討〕

海水試料において添加回収試験を行うと BP3 の回収率がほぼ 0%となること
があった。BP3 の pKa は 8.07 であることから固相通液時の pH 調整することで
回収率が改善することができると考えられたため、pH 調整の効果の確認を行
った。海水及び 3%塩化ナトリウムを添加した河川水 100 mL に対して BP3 及
び EHMC を各 10 ng、サロゲート内標準 10 ng を添加し、pH を 5 以下にしたも
のと pH 未調整のもので添加回収試験を行った。海水では pH 未調整では回収
できていなかった BP3 の回収率が大きく改善した。河川水と比較して海水は
pH が高いことから pH 調整の効果が顕著であった。河川水でも pH が高くなる
現象は観測されるため汎用的な分析法として、河川水と海水どちらも pH 調整
(pH5 以下)を行うこととした。表 12-1 及び表 12-2 に pH 調整の有無の結果を

示す。

表 12-1 pH 調整による添加回収試験（海水 100 mL(n=2)、10 ng 添加）

試料	回収率(%)*		
	BP3	BP3- ¹³ C ₆	EHMC
海水（pH 調整なし）BL	-	8.9	-
海水（pH 調整なし）添加 1	77	9.3	95
海水（pH 調整なし）添加 2	73	6.2	103
海水（pH5 以下）BL	-	113	-
海水（pH5 以下）添加 1	102	101	92
海水（pH5 以下）添加 2	99	104	95

*：BP3 はサロゲートによる内標準法、EHMC は絶対検量線法で定量

表 12-2 pH 調整有無による添加回収試験
（3%NaCl 添加河川水 100 mL(n=2)、10 ng 添加）

試料	回収率(%)*		
	BP3	BP3	BP3
河川水（pH 調整なし）BL	-	100	-
河川水（pH 調整なし）添加 1	94	98	89
河川水（pH 調整なし）添加 2	95	102	78
河川水（pH5 以下）BL	-	101	-
河川水（pH5 以下）添加 1	95	104	83
河川水（pH5 以下）添加 2	94	104	105

*：BP3 はサロゲートによる内標準法、EHMC は絶対検量線法で定量

〔ブランク低減の検討-1〕

EHMC は非常に汚染しやすく、ブランクコントロールをしっかりと行うことが重要である。空気中からの汚染の影響を受ける可能性があるため、実験の際には窓を開けて換気を行う、使用するガラス器具は予め 500℃で焼成しておく、或いは使用前にアセトンとジクロロメタンで洗浄するなどの工夫が必要である。図 12 にガラスバイアル洗浄効果及び実験室内からの汚染状況を示したクロマトグラムを示す。焼成や洗浄で EHMC は除去されるが、洗浄を行った後に乾燥させずに室内にて放置した場合は汚染されることが分かったため、バイアルなどは 500℃にて焼成後密閉して保存を行い、焼成が難しい場合は使用直前に洗浄を行うこととした。

また使用する試薬溶媒やバイアルのセプタム、手袋などから EHMC が検出さ

れてこないかも予め確認しておくことが重要である。EHMC は日焼け止め剤だけでなく多くの化粧品等に含まれている。実験操作中に顔などを触らないことはもちろん、ペンなどにも付着していることがあるため注意が必要である。さらに実験室を複数人で使用する場合、例えばドアの取っ手や機器のスイッチなど、実験前に拭き取りをしてもいつの間にか汚染されてしまうことを考慮し、手袋を都度交換するなどの工夫が必要である。実験室内における汚染状況を調べるために簡易な実験を行った。汚染のないことを確認した PE 手袋で実験室内の汚染が懸念される場所を触り、その手袋をバイアル内にあらかじめ入れておいたメタノールに浸漬して LC/MS/MS 測定して汚染状況を確認した。クロマトグラムを図 13 に示す。

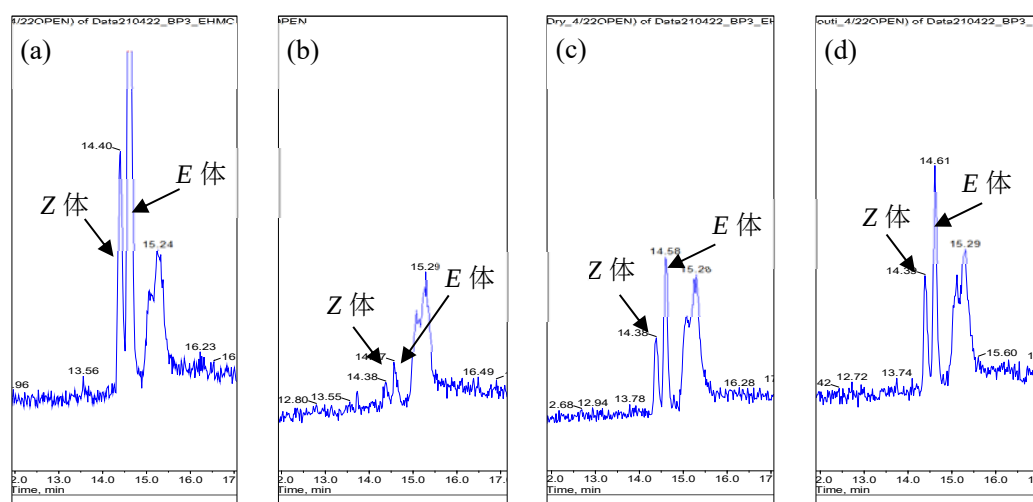


図 12 バイアルの洗浄効果と室内大気による汚染を示した EHMC のクロマトグラム（縦軸は全て同じスケール、注入量は 10 μ L）(a)未処理、(b)500°C焼成後密封保存、(c)アセトン、ジクロロメタン洗浄直後、(d)アセトン、ジクロロメタン洗浄後そのまま実験室内にて 2 時間放置したもの

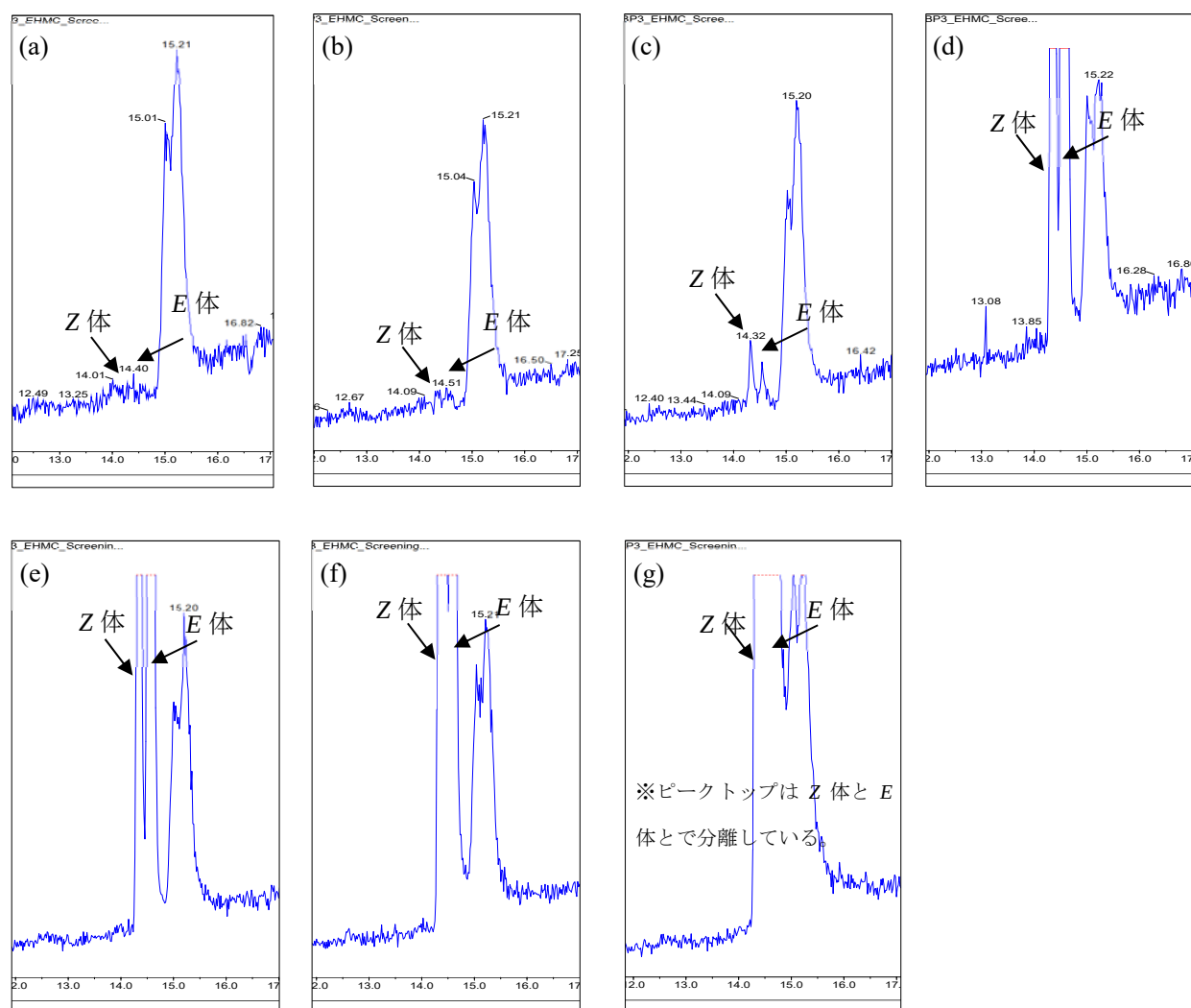


図 13 実験室内における汚染状況（縦軸は全て同じスケール、注入量 1 μ L）
 (a)PE 手袋のみ（対照）、(b)実験機（拭き取り直後）、(c)ドラフトやコン
 セントレーター及び照明スイッチ、(d)実験室のドアノブ、(e)実験に使用
 していたペン、(f)携帯電話、(g)顔

〔ブランク低減の検討-2〕

前処理操作の工程で、固相カートリッジからの溶出の際にコンセンレーターを使用する場合、コンセンレーター内部からの汚染が生じる恐れがある。そこでコンセンレーターを使用する際の EHMC の汚染を防ぐために、固相カートリッジを装着して EHMC 除去の効果を確認した。コンセンレーターのラインの先端に各種固相カートリッジを装着してジクロロメタン 10 mL を通液し、試験管に受けた。窒素気流下で乾固させ、メタノールで再溶解させて LC/MS/MS で測定した。固相カートリッジは装着なし、SepPakAC2、InertSep Slim-J、ActiveCarbon 及び SepPakSillica を試した結果、SepPakAC2 で EHMC 除去効果が認められた（表 13）。

溶出後の濃縮工程において、当初は吹付マニホールドを用いた窒素吹付の際に度々汚染が発生した。この原因は十分に究明されてはいないが吹付マニホールド内部の汚れによるものの可能性も考えられる。また、実験室空気中からの汚染の可能性も考えられることから、ロータリーエバポレーターでの減圧濃縮に切り替えたところ、汚染を低減できた。従って、本物質の分析の際にはロータリーエバポレーターを用いた濃縮が望ましい。以降の検討はロータリーエバポレーターによる濃縮とした。エバポレーターを使用する際は使用前及び検体ごとにトラップ管や溶媒受けをアセトン及びジクロロメタンで洗浄し、さらに 1 分半の空引き運転を行うこととした。

表 13 コンセンレーターに固相を接続したときのピーク面積値

条件	BP3	EHMC
コンセンレーター通過前（対照）	0	5264
コンセンレーター通過後（固相カートリッジなし）	0	96777
コンセンレーター通過後 SepPakAC2 接続	0	4561
コンセンレーター通過後 SlimJAC 接続	0	43532
コンセンレーター通過後 SepPakSillica 接続	0	12092

〔環境試料の分析〕

本法を用いて大阪府内の環境試料を測定した結果、BP3 は河川水、海水ともに MDL 以下であった。EHMC は河川水（佐備川）では 0.017 µg/L 検出され（前述の図 7-1）、海水は St.18（湾奥部）では 0.0068 µg/L 検出された（前述の図 8-1）。また採水日は海水浴客は多くはなかったが、日焼け止め剤が使用されていることが予想される海水浴場では 0.025 µg/L 検出された（図 14）。

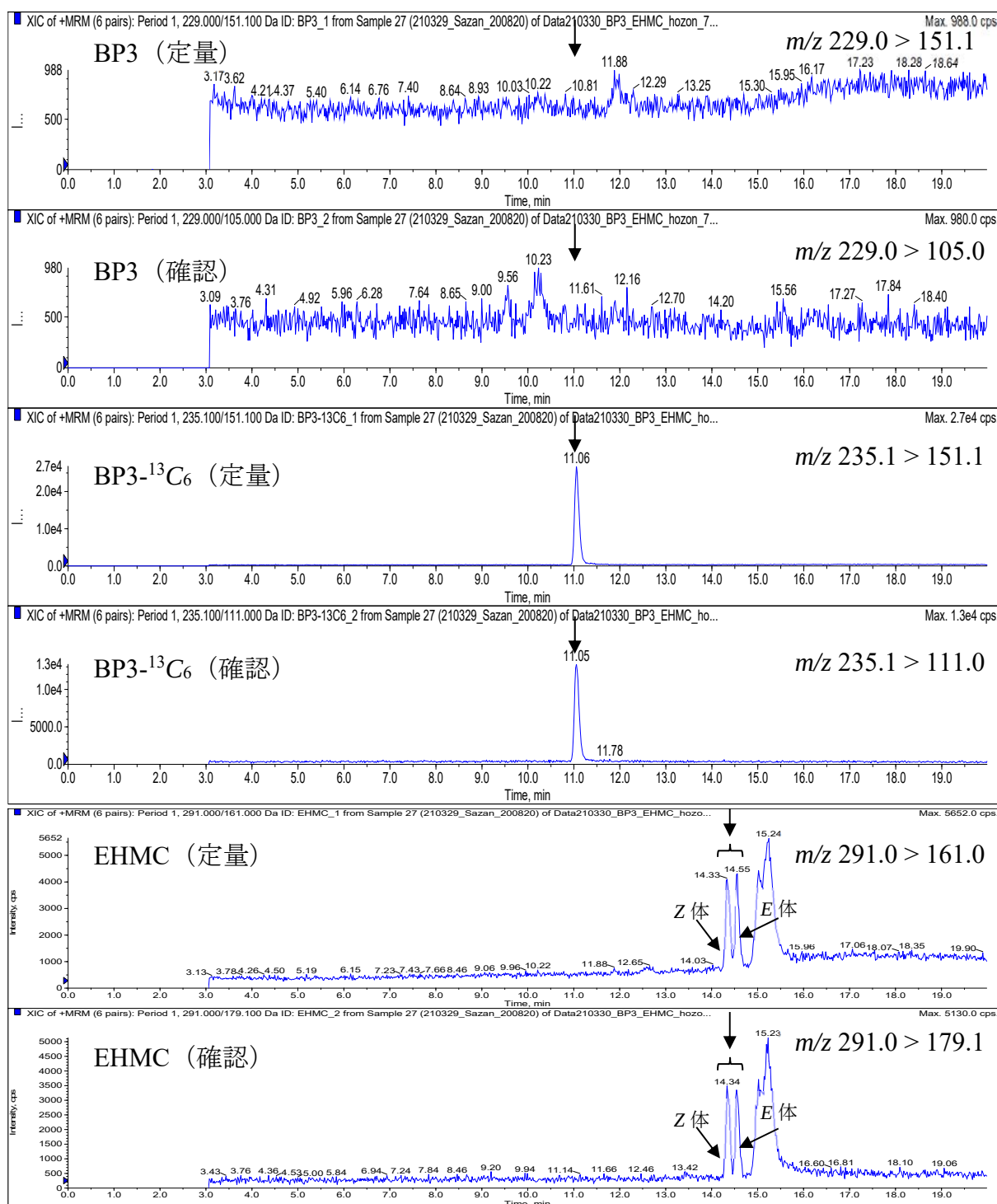


図 14 海水（海水浴場；8 月採水）のクロマトグラム

※EHMC は光の影響により E 体が Z 体に変化する。

【評価】

環境水中に含まれる BP3、EHMC の同時分析法を開発した。本法における BP3、EHMC の MDL はそれぞれ 0.0019 µg/L、0.0055 µg/L であり、MQL は 0.0050 µg/L、0.014 µg/L であった。検量線はともに 0.50～500 ng/mL の範囲で直線性が確認された($r^2=0.999$)。

水質試料 100 mL を用いた添加回収試験については、河川水では BP3 の回収率 105% (サロゲート回収率 90%、変動係数 4.7%)、EHMC の回収率 84% (変動係数 4.9%) であり、海水では BP3 の回収率 100% (サロゲート回収率 93%、変動係数 1.8%)、EHMC の回収率 100% (変動係数 7.5%) であった。

本分析法では、操作ブランクから EHMC が検出され、用いる試薬や器具、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、大阪府内の環境水中の BP3 及び EHMC を測定したところ、河川水、海水ともに BP3 は MDL 以下、EHMC は河川水では 0.017 µg/L、海水では湾奥部で 0.0068 µg/L、海水浴場で 0.025 µg/L など MDL を超えて検出された。本法は、環境水中に含まれる BP3 を 0.002 µg/L レベルで、EHMC を 0.006 µg/L レベルで検出することが可能である。

【担当者連絡先】

所属先名称 : 地方独立行政法人 大阪府立環境農林水産総合研究所

所属先住所 : 〒583-0862 大阪府羽曳野市尺度 442

TEL : 072-979-7064 FAX : 072-956-9790

担当者名 : 小野純子

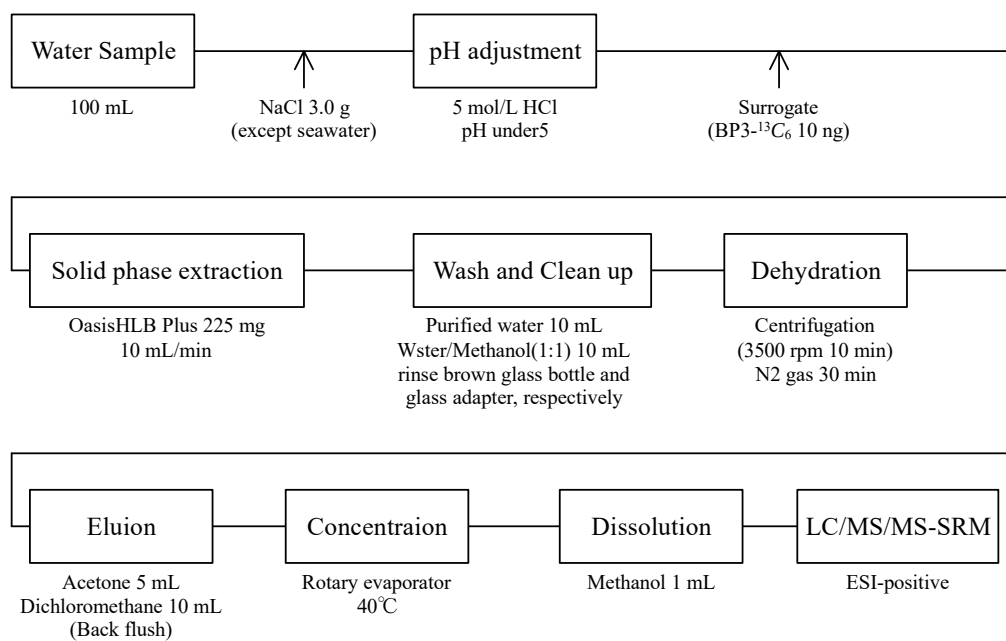
E-mail : OnoJ@mbox.kannousuiken-osaka.or.jp

Benzophenone-3

2-Ethylhexyl 4-methoxycinnamate

This method provides procedures for the determination of benzophenone-3 (BP3) and 2-ethylhexyl 4-methoxycinnamate (EHMC) in river water and sea water samples by liquid chromatography/tandem mass spectrometry (LC/MS/MS). A hundred millilitres of river water sample added with 3 g of NaCl and the same volume of seawater sample are adjusted pH to below 5 in a brown glass bottle. The water sample added with BP3-¹³C₆ (10 ng) as a surrogate compound is passed through a solid phase extraction cartridge (Oasis HLB Plus) to collect the analytes. Then 10 mL of purified water and 10 mL of water/methanol solution (1:1), which have been used with rinsing the glass adapter connected to the extraction cartridge and the brown glass sample bottle in that order, are passed through the cartridge. After residual water in the cartridge is removed by centrifugation (3500 rpm, 10 min) and nitrogen gas purging (30 min), the analytes are eluted from the cartridge with 5 mL of acetone followed by 10 mL of dichloromethane. The eluates are collected in a glass flask and gently concentrated to dryness with rotary evaporator. The residue in the flask is dissolved in 1 mL of methanol, and the analytes in the methanol solution are determined by LC/MS/MS-SRM (ESI-positive). The method detection limit (MDL) of BP3 and EHMC are 0.0019 and 0.0055 µg/L, respectively. The recovery rates of BP3 and EHMC from river water samples were respectively 105% (CV4.7%) and 84% (CV4.9%), and those from sea water samples were respectively 100% (CV1.8%) and 100% (CV7.5%).

BP3 and EHMC in environmental water in Osaka Prefecture were determined by the present method. The concentrations of BP3 were below the MDL in river and sea waters, and those of EHMC were 0.017 µg/L in river water and 0.0068 to 0.025 µg/L in sea water, respectively.



物質名	分析法フローチャート	備 考
[1] BP3 [2] EHMC	【水質】 <pre> graph TD A[水質試料 100 mL] --> B[pH調整 5 mol/L HClでpH5以下] B --> C[固相抽出 OasisHLB Plus 225 mg 10 mL/min ターゲット内標準 BP3-13C6 10 ng] C --> D[洗浄・クリーンアップ* 精製水10 mL 精製水/メタノール(1:1)10 mL (褐色瓶, ガラスアダプター それぞれ洗いこみ)] D --> E[脱水 遠心分離 (3500 rpm 10 分) N₂通気30 分] E --> F[溶出 アセトン5 mL ジクロロメタン10 mL (バックフラッシュ)] F --> G[濃縮 ロータリーエバポレーター-40℃ (溶媒がなくなるまで)] G --> H[再溶解 メタノール1 mL] H --> I[LC/MS/MS-SRM ESI-positive] </pre> *: 水質試料が入っていた褐色瓶及び固相抽出に用いたガラスアダプターはそれぞれ精製水 10 mL 及び精製水/メタノール(1:1) 10 mL で洗いこみ、洗浄液を HLB 固相カートリッジに通液させる。	分析原理： LC/MS/MS-SRM ESI-positive 検出下限値： 【水質】 (µg/L) [1] 0.0019 [2] 0.0055 分析条件： 機器 LC： Sciex ExionLC MS： Sciex TQ 4500 分析カラム Waters XBridge C18 100 mm×2.1 mm, 3.5 µm リテンションギ ャップカラム Waters XBridge C18 50 mm×2.1 mm, 3.5 µm

ベンゾ[*g,h,i*]ペリレン

Benzo[*ghi*]perylene

別名：1,12-ベンゾペリレン、1,12-ベンズペリレン
1,12-Benzoperylene, 1,12-Benzperylene

クリセン

Chrysene

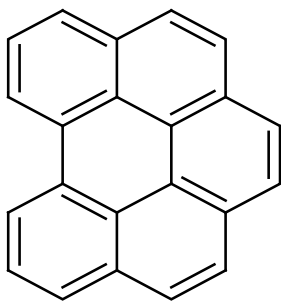
別名：1,2,5,6-ジベンゾナフタレン、1,2-ベンゾフェナントレン、
ベンゾ[*a*]フェナントレン
1,2,5,6-Dibenzonaphthalene, 1,2-Benzophenanthrene,
Benzo[*a*]phenanthrene

ピレン

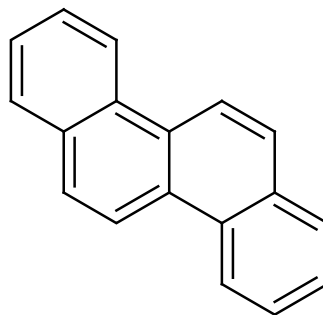
Pyrene

別名：ベンゾ[*d,e,f*]フェナントレン、 β -ピレン
Benzo[*def*]phenanthrene, β -Pyrene

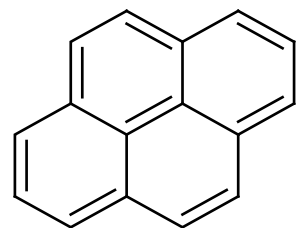
【対象物質の構造】



ベンゾ[*g,h,i*]ペリレン
CAS 番号：191-24-2
分子式：C₂₂H₁₂



クリセン
CAS 番号：218-01-9
分子式：C₁₈H₁₂



ピレン
CAS 番号：129-00-0
分子式：C₁₆H₁₀

【物理化学的性状】

ベンゾ[g,h,i]ペリレン

項目	値	出典
分子量（モノアイソトピック質量）	276.34 (276.0939)	—
融点	277°C	1)
沸点	550°C	2)
比重	1.329 g/cm ³ (20°C)	3)
蒸気圧	1.0 × 10 ⁻¹⁰ mmHg (1.33 × 10 ⁻¹⁰ hPa *) (25°C)	4)
水溶解度	0.00026 mg/L (25°C)	2)
log P _{ow}	6.63	5)

*：換算値 (1 mmHg = 1.33 hPa) による。

クリセン

項目	値	出典
分子量（モノアイソトピック質量）	228.29 (228.0939)	—
融点	255.5°C	6)
沸点	448°C	6)
比重	1.274 g/cm ³ (20°C)	6)
蒸気圧	6.23 × 10 ⁻⁹ mmHg (8.26 × 10 ⁻⁹ hPa *) (25°C)	7)
水溶解度	0.0020 mg/L (25°C)	2)
log P _{ow}	5.73	6)

*：換算値 (1 mmHg = 1.33 hPa) による。

ピレン

項目	値	出典
分子量（モノアイソトピック質量）	202.26 (202.07825)	—
融点	156°C	8)
沸点	404°C	8)
比重	1.271 g/cm ³ (23°C)	8)
蒸気圧	6.85 × 10 ⁻⁷ mmHg (9.11 × 10 ⁻⁷ hPa *) (20°C)	9)
水溶解度	0.135 mg/L (25°C)	2)
log P _{ow}	4.88	7)

*：換算値 (1 mmHg = 1.33 hPa) による。

【毒性、用途等】

〔毒性〕

ベンゾ[g,h,i]ペリレン

項目	毒性試験データ等	出典
急性毒性	データなし	—
反復毒性	データなし	—
変異原性	データなし	—
発がん性	IARC (2010) は 3 「ヒトに対して発がん性については分類できない」 に分類。	10)

クリセン

項目	毒性試験データ等	出典
急性毒性	マウス（腹腔）LD ₅₀ ：320 mg/kg	11)
反復毒性	データなし	—
変異原性	細菌を用いた系では代謝活性化の有無にかかわらず、陰性、陽性の報告あり、ラット肝細胞では陰性の報告があり。	12)～15)
発がん性	IARC (2010) は 2B 「ヒトに対して発がん性があるかもしれない」 に分類。	10)

ピレン

項目	毒性試験データ等	出典
急性毒性	ラット（経口）LD ₅₀ ：2700 mg/kg マウス（経口）LD ₅₀ ：800 mg/kg	11)
反復毒性	マウス（雌雄）に、0、75、125、250 mg/kg/day を 13 週間経口投与した結果、腎臓絶対重量及び相対重量は 125 mg/kg/day 以上の雌雄で増加し、125 mg/kg/day 以上の雌及び 250 mg/kg/day の雄で肝臓相対重量が増加し、75 mg/kg/day 以上の雄で血液影響がみられ、この結果から NOAEL 75 mg/kg/day を算出。	16)
変異原性	<i>in vitro</i> 試験で、ネズミチフス菌を用いた系では代謝活性化の有で、陰性、陽性の報告あり。	17)～24)
発がん性	IARC (2010) は 3 「ヒトに対して発がん性については分類できない」 に分類。	10)

〔用途〕 非意図的生成物

出典

- 1) Yalkowsky, S.H. and Valvani, S.C. (1979): Solubilities and partitioning. 2. Relationships between aqueous solubilities, partition coefficients, and molecular surface areas of rigid aromatic hydrocarbons. J. Chem. Eng. Data, 24, 127-129.
- 2) Mackay, D. and Shiu, W.Y. (1977): Aqueous solubility of polynuclear aromatic hydrocarbons. J. Chem. Eng. Data, 22, 399-402.
- 3) White, J.G. (1948): The crystal structure of 1:12-benzperylene: A quantitative X-ray investigation. J. Chem. Soc., 1, 1398-1408.
- 4) Lee, WMG et al. (1993): Partitioning model of PAHs between gaseous and particulate phases with consideration of reactivity of PAHs in an urban atmosphere. J. Environ. Sci. Health, A28, 563-583.
- 5) Hansch, C., Leo, A. and Hoekman, D. (1995): Exploring QSAR – Hydrophobic, Electronic, and Steric Constants.
- 6) Lide, D.R. ed. (2006): CRC Handbook of Chemistry and Physics. 86th Edition (CD-ROM Version 2006), Boca Raton, Taylor and Francis (CD-ROM).
- 7) Howard, P.H., and Meylan, W.M. ed. (1997): Handbook of Physical Properties of Organic Chemicals. Boca Raton, New York, London, Tokyo, CRC Lewis Publishers: 255, 289.
- 8) O’Neil, M.J. ed. (2006): The Merck Index – An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals. 14th Edition, Whitehouse Station, Merck and Co., Inc. (CD-ROM).
- 9) Verschueren, K. ed. (2001): Handbook of Environmental Data on Organic Chemicals. 4th Edition, New York, Chichester, Weinheim, Brisbane, Singapore, Toronto, John Wiley & Sons, Inc. (CD-ROM).
- 10) IARC (2010): IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans VOLUME 92 Some Non-heterocyclic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Some Related Exposures.
- 11) US National Institute for Occupational Safety and Health, Registry of Toxic Effects of Chemical Substances (RTECS) Database.
- 12) Ohta, T., Nakamura, N., Moriya, M., Shirasu, Y. and Kada, T. (1984): The SOS-function-inducing activity of chemical mutagens in *Escherichia coli*. Mutat. Res., 131, 101-109.
- 13) Rosenkranz, H.S. and Poirier, L.A. (1979): Evaluation of the mutagenicity and DNA-modifying activity of carcinogens and noncarcinogens in microbial systems. J. Natl. Cancer Inst., 62, 873-892.

- 14) Mc Coy, E.C., Hyman, J. and Rosenkranz, H.S. (1979): Conversion of environmental pollutant to mutagens by visible light. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 89, 729-734.
- 15) Tong, C., Laspia, M.F., Telang, S. and Williams, G.M. (1981): The use of adult rat liver cultures in the detection of the genotoxicity of various polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environ. Mutagen*, 3, 477-487.
- 16) Toxicity Research Laboratories (1989): 13-Week mouse oral subchronic toxicity with pyrene. TRL Study No. 042-012. Cited in: U.S.EPA (1993): IRIS (Integrated Risk Information System). No.0445.
- 17) Kaden, D.A., Hites R.A. and Thilly, W.C. (1979): Mutagenicity of soot and associated polycyclic aromatic hydrocarbons to *Salmonella typhimurium*. *Cancer Res.*, 39, 4152-4159.
- 18) Bridges, B.A., Zeiger, E. and McGregor, D.B. (1981): Summary report on the performance of bacterial mutation assays. In: de Serres, F.J. and Ashby, J. eds. *Evaluation of Short-Term Tests for Carcinogens*, Report of the International Collaborative Program, Progress in Mutation, Research, 1, New York, Elsevier/North-Holland, 49-67.
- 19) Sakai, M., Yoshida, D. and Mizusaki, S. (1985): Mutagenicity of polycyclic hydrocarbons and quinones on *Salmonella thyphimurium* TA97. *Mutat. Res.*, 156, 61-67.
- 20) Bhatia, A.L., Tausch, H. and Stehlik, G. (1987): Mutagenicity of chlorinated polycyclic aromatic compounds. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 14, 48-55.
- 21) McCann, J., Choi, E., Yamasaki, E. and Ames, B.N. (1975): Detection of carcinogens as mutagens in the *Salmonella*/microsome test: assay of 300 chemicals. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 72, 5135-5139.
- 22) LaVoie, E. et al, (1979): A comparison of the mutagenicity, tumor-initiating activity and complete carcinogenicity of polynuclear aromatic hydrocarbons. In: Jones, P.W. and P. Leber, eds., *Polynuclear Aromatic Hydrocarbons*, Ann Arbor, MI, Ann Arbor Science Publishers, 705-721.
- 23) Florin, I., Rutberg, L., Curvall, M. and Enzell, C.R. (1980): Screening of tobacco smoke constituents for mutagenicity using the Ames' test. *Toxicology*, 15, 219-232.
- 24) Ho, C.H. et al. (1981): Analytical and biological analyses of test materials from the synthetic fuel technologies: IV. Studies of chemical structure-mutagenic activity relationships of aromatic nitrogen compounds relevant to synfuels. *Mutat. Res.*, 85, 335-345.

§ 1 分析法

(1) 分析法の概要

底質試料にサロゲート内標準物質を添加し、高速溶媒抽出 (ASE) を行い、ヘキサン転溶後、シリカゲルクリーンアップする。溶出液を濃縮し、シリンジスパイク内標準物質を添加して GC/HRMS-SIM 法で定量する。

(2) 試薬・器具

【試薬】

ベンゾ[<i>g,h,i</i>]ペリレン	: Cambridge Isotope Laboratories 製 (200 µg/mL、純度 > 98%、トルエン溶液)
クリセン	: Cambridge Isotope Laboratories 製 (200 µg/mL、純度 > 95%、トルエン溶液)
ピレン	: Cambridge Isotope Laboratories 製 (200 µg/mL、純度 > 98%、トルエン溶液)
ベンゾ[<i>g,h,i</i>]ペリレン- ¹³ C ₁₂ 、クリセン- ¹³ C ₆ 、ピレン- ¹³ C ₃	: Cambridge Isotope Laboratories 製 (PAHs 16 物質 ¹³ C 内標準液、5 µg/mL、純度 > 99%、ノナン溶液) (注 1)
ベンゾ[<i>g,h,i</i>]ペリレン- <i>d</i> ₁₂	: Cambridge Isotope Laboratories 製 (200 µg/mL、純度 > 98%、トルエン溶液)
クリセン- <i>d</i> ₁₂	: Cambridge Isotope Laboratories 製 (200 µg/mL、純度 > 98%、トルエン溶液)
ピレン- <i>d</i> ₁₀	: Cambridge Isotope Laboratories 製 (200 µg/mL、純度 > 98%、イソオクタン溶液)
ヘキサン	: 富士フィルム和光純薬製 (ダイオキシン類用)
アセトン	: 富士フィルム和光純薬製 (ダイオキシン類用)
塩化ナトリウム	: 富士フィルム和光純薬製 (残留農薬用)
無水硫酸ナトリウム	: 富士フィルム和光純薬製 (残留農薬用)
還元銅 (粒状)	: キンダ化学製 (有機元素分析用)
精製水	: 超純水製造装置 (ADVANTEC 製) により精製された水 (注 2)
吸水剤 (珪藻土)	: Thermo SCIENTIFIC 製 Dionex ASE Prep DE
吸水剤 (ポリマー)	: Thermo SCIENTIFIC 製 Dionex ASE Prep MAP
シリカゲルカラム	: Waters 製 Sep-Pak Vac 12cc (2 g) Silica Cartridge

【標準液の調製】

〔標準液〕

市販のベンゾ[*g,h,i*]ペリレン標準液 (200 µg/mL、トルエン溶液)、クリセン標準液 (200 µg/mL、トルエン溶液) 及びピレン標準液 (200 µg/mL、トルエン溶液) を標準原液とする。各標準原液をヘキサンで希釈、混合して、10 µg/mL の混合標準液を調製する。ただし、添加回収試験用には、アセトンで希釈、混合して、10 µg/mL の混合標準液を調製する。

〔サロゲート内標準液〕

市販の PAHs 16 物質 ¹³C 内標準液 (5 µg/mL、ノナン溶液) をサロゲート内標準原液とする。サロゲート内標準原液をアセトンで希釈し、1.0 µg/mL のサロゲート内標準液を調製する。

〔シリンジスパイク内標準液〕

市販のベンゾ[*g,h,i*]ペリレン-*d*₁₂ 標準液 (200 µg/mL、トルエン溶液)、クリセン-*d*₁₂ 標準液 (200 µg/mL、トルエン溶液) 及びピレン-*d*₁₀ 標準液 (200 µg/mL、イソオクタン溶液) をシリンジスパイク内標準原液とする。各シリンジスパイク内標準原液をヘキサンで希釈、混合して、1.0 µg/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〕

混合標準液をヘキサンで適宜希釈し、0.50～1000 ng/mL の検量線用標準液を調製する。各濃度の検量線用標準液にはサロゲート内標準液の濃度が 10 ng/mL、シリンジスパイク内標準液の濃度が 10 ng/mL となるように添加する。

【器具】 (注 3)

高速溶媒抽出装置 : Thermo SCIENTIFIC 製 ASE200 (セル 33 mL)

ロータリーエバポレータ : 濃縮装置

マイクロピペット : 内標準液の添加に使用 (注 4)

ホールピペット、メスフラスコ、メスシリンダー、ビーカー、分液ロート (300 mL)、ナシ型フラスコ (300 mL)、目盛付き試験管 (20 mL)

(3) 分析法

【試料の採取及び保存等】

環境省「化学物質環境実態調査実施の手引き」(最新版) に従う。対象物質を含む PAHs は光分解性が確認されており¹⁾、試料採取容器は、褐色瓶を使用する

か、アルミホイルなどにより遮光する。

【試料の前処理及び試験液の調製】

底質試料 10 g-wet (5 g-dry 相当) をビーカーに正確に量り取り、吸水剤のポリマー 2 g と珪藻土 2 g (注 5)、及び還元銅 (粒状) 2 g (注 6) を加え、スパチュラ等で均一になるように混合し、ASE の 33 mL セルへ移し入れる (注 7)。セルに隙間がある場合は、ガラスビーズを入れてセル内を満たす。セルに 1.0 µg/mL のサロゲート内標準液を 40 µL 添加し (注 8)、高速溶媒抽出 (ASE) を行う。ASE 条件は、抽出溶媒はアセトン/ヘキサン (1 : 1)、抽出温度は 100°C (5 分)、圧力は 1500 psi、抽出回数は 3 回、静置時間は 10 分、洗浄体積は 60%、パージ時間は 60 秒で行う。得られた抽出液を少量のアセトンで洗い込みながら分液ロートに移し、さらに精製水 100 mL と塩化ナトリウム 5 g を加え、10 分間振とう後、10 分間静置し、水層を別の分液ロートに移す。水層に新しいヘキサン 20 mL を加え、再度、10 分間振とう後、10 分間静置する。分液ロートの下部から水層を廃棄し、残ったヘキサン層に 1 回目に抽出したヘキサン層を合わせた後、無水硫酸ナトリウムで脱水し、ナシ型フラスコに移し入れ、ロータリーエバポレータ (水浴温度 35°C) で数 mL まで濃縮する (注 9)。濃縮液を試験管に移し替え、ヘキサンで 8 mL に定容し、粗抽出液とする。粗抽出液から 2 mL 分取した液を 1 mL まで窒素気流下で濃縮し、あらかじめジクロロメタン/ヘキサン (5 : 95) 15 mL、ヘキサン 10 mL で洗浄したシリカゲルカラム (Waters 製 Sep-Pak Vac 12 cc (2 g) Silica Cartridge) に負荷する。ヘキサン 8 mL を通液 (廃棄) し、ジクロロメタン/ヘキサン (5 : 95) 20 mL で対象物質を試験管に溶出させる (注 10)。溶出液を窒素気流下で 0.5~1 mL まで濃縮し (注 9)、1.0 µg/mL のシリンジスパイク内標準液を 10 µL 添加し、ヘキサンで最終液量 1 mL に定容したものを試験液とする。

【空試験液の調製】

実試料に含有していると推定される水分量に相当する 5 mL の精製水を用いて、【試料の前処理及び試験液の調製】に従って操作して得られた試験液を空試験液とする。

【測定】

〔GC/MS 測定条件〕

GC/MS 装置	: GC : Agilent 製 7890B、MS : 日本電子製 JMS-800D	
GC カラム	: Phenomenex 製 ZB-PAH-SeleCT (40 m × 0.18 mm, 0.14 μm)	
カラム温度 (注 11)	: 45°C (0.8 min)→45°C /min→200°C (0 min)→3°C /min →265°C (5 min)→1°C /min→270°C (0 min)→10°C /min →320°C (15 min)	
注入口温度	: 300°C	
注入方法 (注 11)	: スプリットレス (パージ開始時間 1 min)	
注入量 (注 11)	: 1 μL	
キャリアーガス	: ヘリウム 1.0 mL/min	
インターフェース	: 300°C	
温度		
イオン源温度	: 300°C	
イオン化電圧	: 38 eV	
イオン化電流	: 500 μA	
イオン化法	: EI	
検出器電圧	: 0.275 kV	
検出モード	: SIM (分解能 > 10000)	
モニターイオン (注 12)	: ベンゾ[g,h,i]ペリレン	<i>m/z</i> 276.0939 (定量) <i>m/z</i> 274.0782 (確認 1) <i>m/z</i> 277.0973 (確認 2)
	ベンゾ[g,h,i]ペリレン- ¹³ C ₁₂	<i>m/z</i> 288.1342 (定量)
	ベンゾ[g,h,i]ペリレン- <i>d</i> ₁₂	<i>m/z</i> 288.1692 (定量)
	ロックマス	<i>m/z</i> 280.9824
	クリセン	<i>m/z</i> 228.0939 (定量) <i>m/z</i> 226.0782 (確認 1) <i>m/z</i> 229.0973 (確認 2)
	クリセン- ¹³ C ₆	<i>m/z</i> 234.1140 (定量)
	クリセン- <i>d</i> ₁₂	<i>m/z</i> 240.1692 (定量)
	ロックマス	<i>m/z</i> 230.9856
	ピレン	<i>m/z</i> 202.0783 (定量) <i>m/z</i> 200.0626 (確認 1) <i>m/z</i> 203.0816 (確認 2)
	ピレン- ¹³ C ₃	<i>m/z</i> 205.0883 (定量)
	ピレン- <i>d</i> ₁₀	<i>m/z</i> 212.1410 (定量)
	ロックマス	<i>m/z</i> 180.9888

〔検量線〕

検量線用標準液 1 μL を GC/HRMS に注入し、対象物質とサロゲート内標準物質の濃度比及び得られたピーク面積比から検量線を作成する。

〔定量〕

試験液 1 μL を GC/HRMS 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を検量線に照らして定量する。

〔濃度の算出〕

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

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

R : 検量線から求めた試料液中のサロゲート内標準物質に対する対象物質の濃度比

Q : 試料中に添加したサロゲート内標準物質の量 (μg)
(= 添加したサロゲート内標準液の濃度 ($\text{ng}/\mu\text{L}$) $\times$ 添加したサロゲート内標準液の容量 (μL) / 1000)

V : 試料量 (g-dry)

本分析法に従った場合、以下の数値を使用する。

$$Q = 0.040 \text{ } (\mu\text{g})$$

(= 添加したサロゲート内標準液の濃度 ($1.0 \text{ ng}/\mu\text{L}$) $\times$ 添加したサロゲート内標準液の容量 ($40 \mu\text{L}$) / 1000)

$$V = 5 \text{ } (\text{g-dry})$$

即ち、

$$C = R \times 0.008 \text{ } (\mu\text{g/g-dry})$$

である。

〔サロゲート回収率の算出〕

「検量線用標準液のサロゲート内標準物質のピーク面積/シリンジスパイク内標準物質のピーク面積」の平均を 100 とし、「試験液のサロゲート内標準物質のピーク面積/シリンジスパイク内標準物質のピーク面積」からサロゲート回収率を算出する。サロゲート回収率は「化学物質環境実態調査実施の手引き」（最新版）に従って 50～120%の範囲を目安とする。

〔装置検出下限値 (IDL)〕

本分析に用いた GC/HRMS の IDL を表 1 に示す (注 13)。

表 1 IDL の算出結果

物質名	IDL (pg)	試料量 (g-dry)	分取	最終液量 (mL)	IDL 試料換算値 (ng/g-dry)
ベンゾ[<i>g,h,i</i>]ペリレン	0.12	5.0	1/4	1	0.093
クリセン	0.10	5.0	1/4	1	0.081
ピレン	0.087	5.0	1/4	1	0.070

〔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 14)。

表 2 MDL 及び MQL の算出結果

物質名	試料量 (g-dry)	分取	最終液量 (mL)	MDL (ng/g-dry)	MQL (ng/g-dry)
ベンゾ[<i>g,h,i</i>]ペリレン	4.0	1/4	1	0.51	1.3
クリセン	4.0	1/4	1	0.77	2.0
ピレン	4.0	1/4	1	0.93	2.4

注解

- (注1) 本分析法ではサロゲート内標準として PAHs 16 物質 ^{13}C 内標準液を使用した。ベンゾ[*g,h,i*]ペリレン- $^{13}\text{C}_{12}$ 、クリセン- $^{13}\text{C}_6$ 、ピレン- $^{13}\text{C}_3$ をそれぞれ単品で購入して使用してもよい。
- (注2) 使用する精製水は、精製水由来のブランクが十分に低いことをあらかじめ確認して使用する。
- (注3) 計量器具については JIS R 3505 に記載のクラス A のガラス器具を使用する。
- (注4) 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ことが望ましい。
- (注5) 吸水剤の珪藻土及びポリマーからブランクが検出されたため、アセトン洗浄し、ドラフト等で乾燥させてから使用した。なお、吸水剤は本分析法で使用了製品以外のものを用いてもよいが、事前にブランク値を確認しておくこと。
- (注6) 使用前に 1 mol/L 塩酸で活性化し、精製水、アセトン、ヘキサンの順で

洗浄したものを用いた。還元銅の残りは、酸化防止のため窒素ガスを封入し、密閉保管すること。

- (注7) ASE セルは 66 mL や 99 mL のセルを使用してもよい。
- (注8) 機器の感度や試料濃度を考慮して、添加量は適宜変更すること。高濃度が予想される地点の検体は希釈することを前提に添加量を増やすこと。
- (注9) 乾固させないこと。
- (注10) 夾雑物の影響が予想される場合は、シリカゲルカラムの上層に 5%含水シリカゲル 1 g 程度を積層してもよい。なお、使用するシリカゲルの量と種類に合わせて事前に溶出パターンを確認しておくこと。5%含水シリカゲルは、カラムクロマトグラフィー用シリカゲル (Merck 製 Silica gel 60 (0.063-0.200 mm)) を 130°C で 15 時間加熱活性化後、デシケーター中で室温まで放冷し、95 g に精製水 5 mL を正確に添加して 30 分間振とう後、一昼夜デシケーター中で静置することにより調製する。
- (注11) ピレンのリーディングが著しい場合には、MDL を満たせる範囲で昇温条件やパージ開始時間、注入量の変更を行ってもよい。
- (注12) 定量イオンの信号強度がサチュレーション (検出器感度の頭打ち) を起こしたときは、確認イオン 1 または、確認イオン 2 を用いて定量することができる。本条件では、0.50~200 ng/mL の低濃度域では定量イオンで、50~1000 ng/mL の高濃度域では確認イオン 1 で、それぞれ検量線を作成して確認している。さらに高濃度域でも、検量線の直線性を確認することができた場合には、いずれかのイオンで作成した検量線を用いて定量してもよい。ただし、MDL 等を満たす感度での測定が必要な低濃度域は、定量イオンによる検量線を用いること。

(注13) IDL は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 28 年 3 月)に従って、表 3 のとおり算出した。また、IDL 測定時のクロマトグラムを図 1～図 3 に示す。

表 3 IDL の算出結果 (詳細)

対象物質名	ベンゾ[g,h,i] ペリレン	クリセン	ピレン
試料量 (g-dry)	5.0	5.0	5.0
分取	1/4	1/4	1/4
最終液量 (mL)	1	1	1
注入液濃度 (ng/mL)	0.50	0.50	0.50
注入量 (pg)	0.50	0.50	0.50
装置注入量 (μL)	1	1	1
結果 1 (pg)	0.548	0.515	0.527
結果 2 (pg)	0.480	0.531	0.487
結果 3 (pg)	0.517	0.510	0.513
結果 4 (pg)	0.491	0.512	0.526
結果 5 (pg)	0.529	0.472	0.484
結果 6 (pg)	0.483	0.536	0.529
結果 7 (pg)	0.550	0.470	0.479
平均値 (pg)	0.5139	0.5063	0.5066
標準偏差 (σ_{n-1}) (pg)	0.0299	0.0262	0.0224
IDL (pg)*	0.12	0.10	0.087
IDL 試料換算値 (ng/g-dry)	0.093	0.081	0.070
S/N 比	11	11	12
CV (%)	5.8	5.2	4.4

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

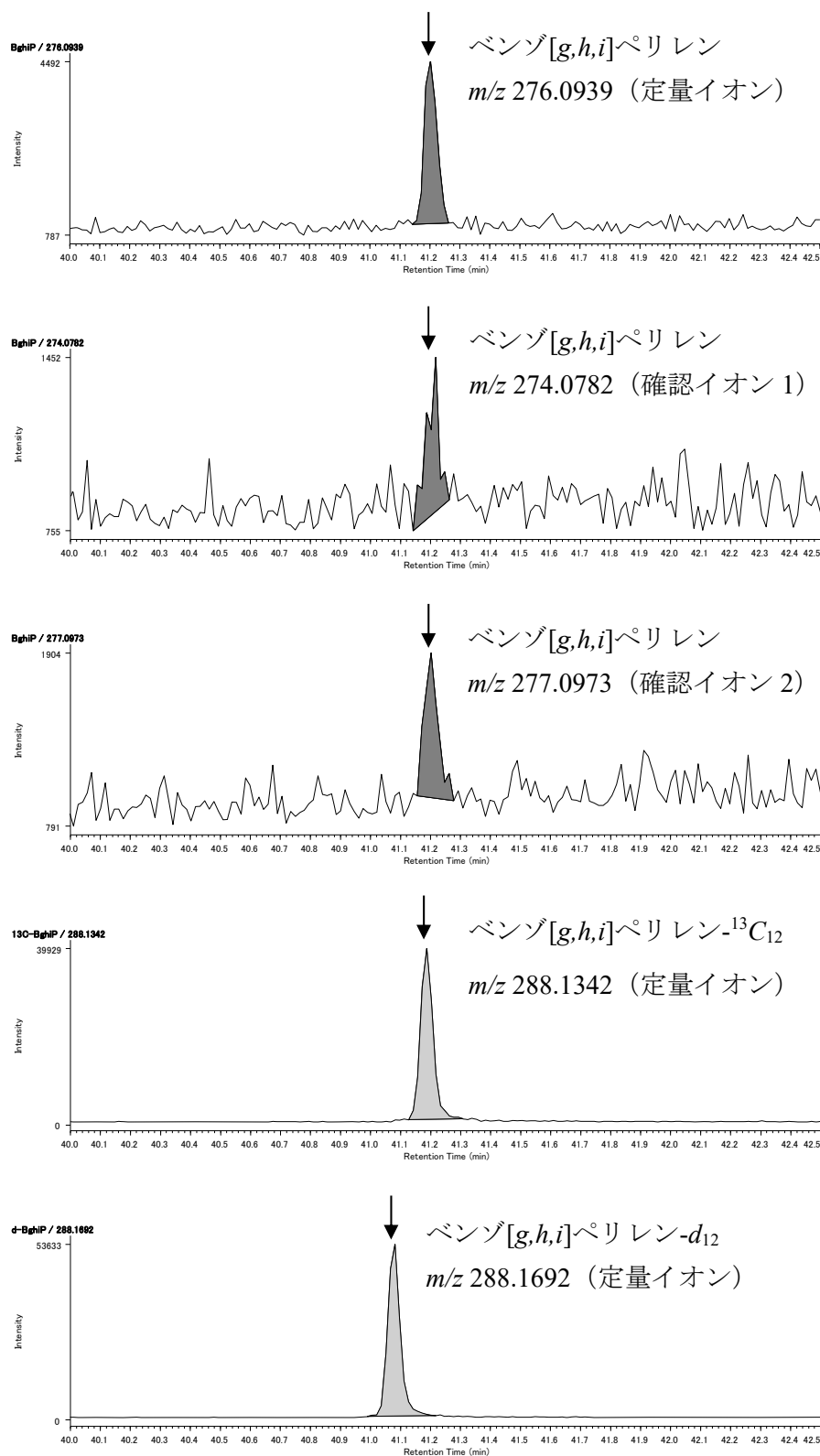


図1 IDL 測定時のクロマトグラム
 (ベンゾ[g,h,i]ペリレン (0.50 ng/mL)、ベンゾ[g,h,i]ペリレン- $^{13}C_{12}$ (10 ng/mL)、
 ベンゾ[g,h,i]ペリレン- d_{12} (10 ng/mL))

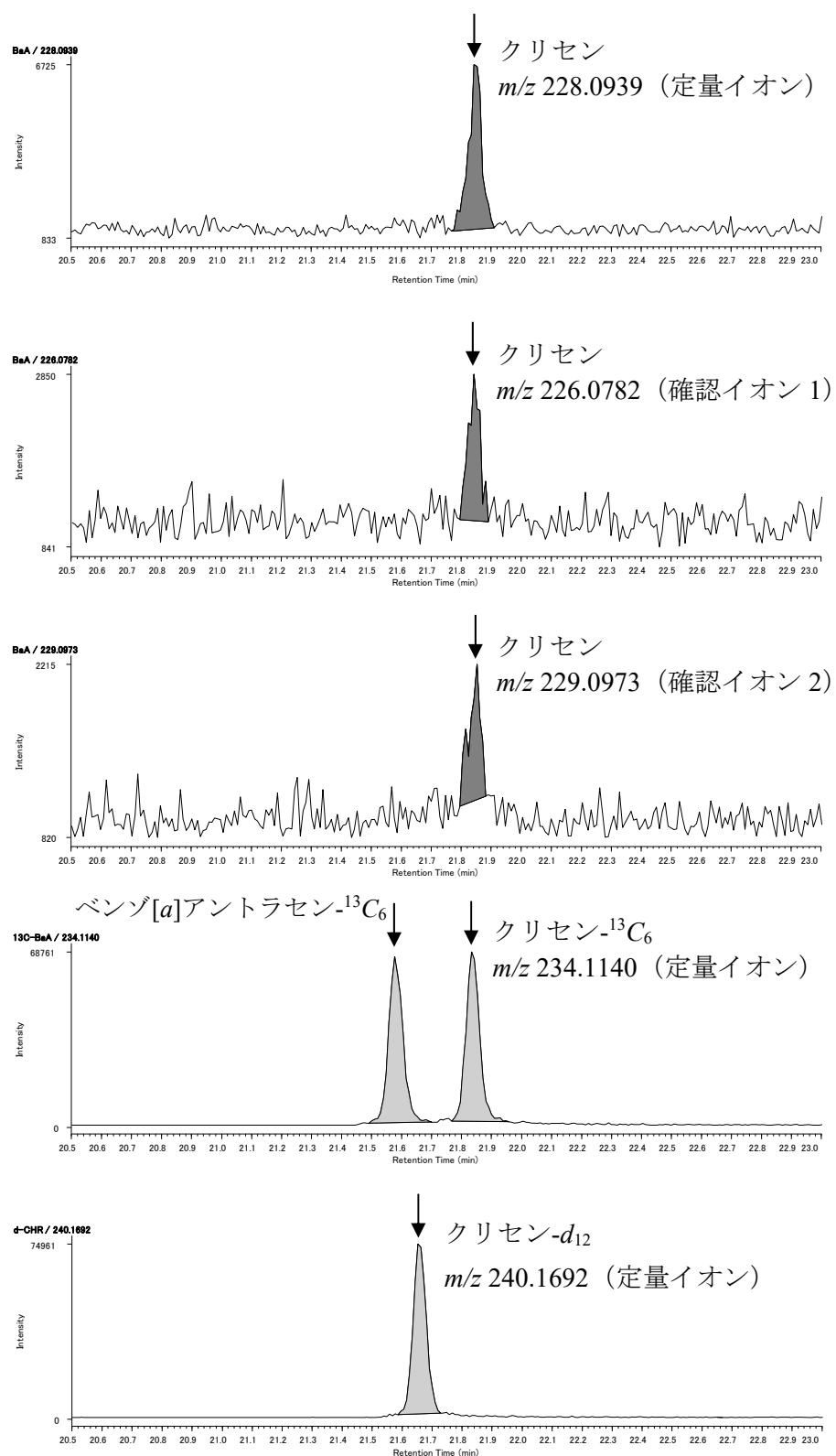


図2 IDL 測定時のクロマトグラム
(クリセン (0.50 ng/mL)、クリセン- $^{13}C_6$ (10 ng/mL)、クリセン- d_{12} (10 ng/mL))

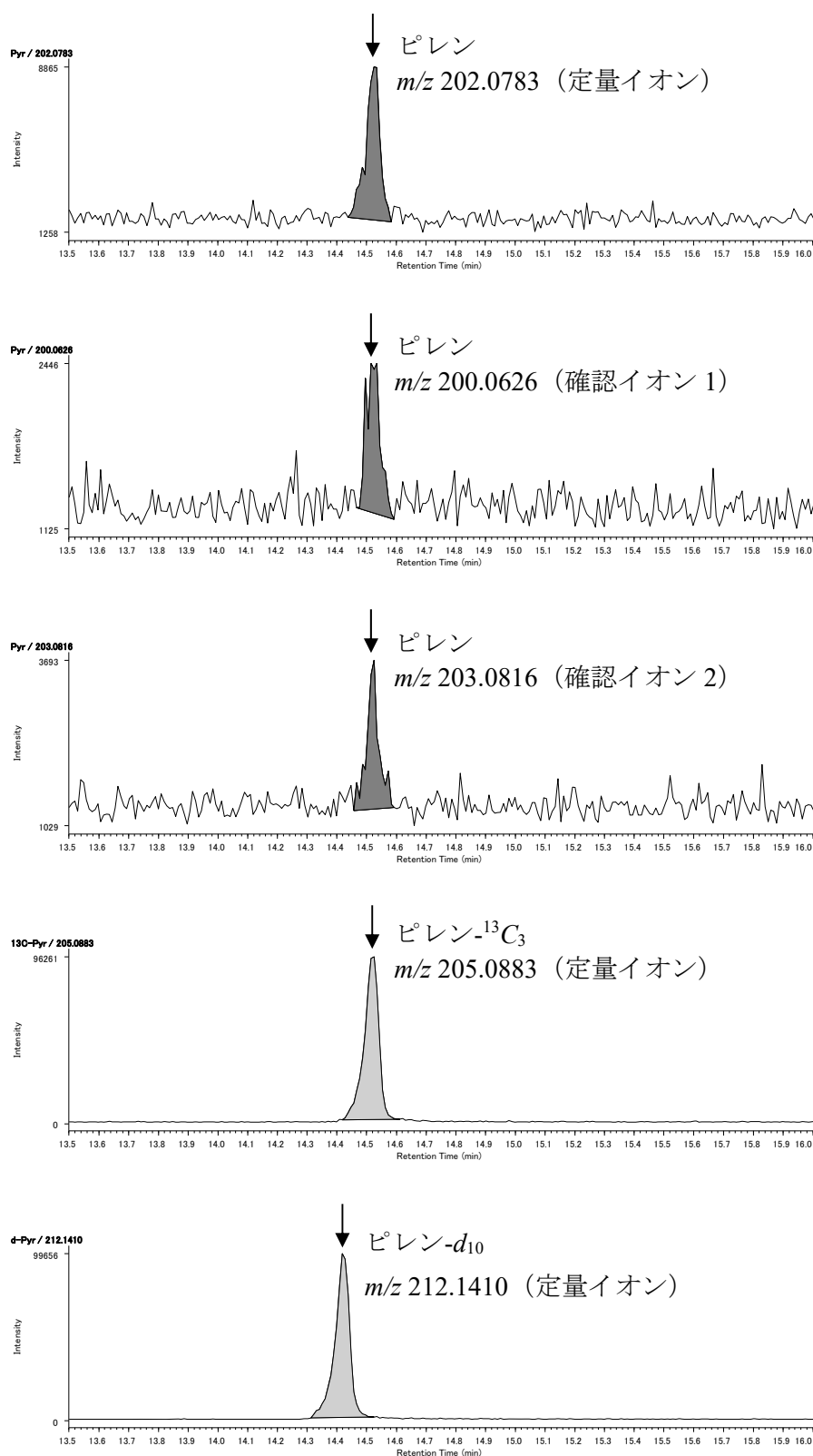


図3 IDL 測定時のクロマトグラム
(ピレン (0.50 ng/mL)、ピレン- $^{13}\text{C}_3$ (10 ng/mL)、ピレン- d_{10} (10 ng/mL))

(注 14) 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)に従って算出した。環境試料から検出されたため、標準物質を添加せず、MDL 及び MQL を算出した。算出結果を表 4 に、測定時のクロマトグラムを図 4～図 6 に示す。

また、操作ブランク試験においてベンゾ[*g,h,i*]ペリレンは不検出であったが、クリセン及びピレンは検出されたことから、「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 28 年 3 月)に従って操作ブランク試料を用いて MDL 及び MQL を算出した。操作ブランクの繰り返し測定による算出結果を表 5 に、測定時のクロマトグラムを図 7～図 9 に示す。底質試料から算出した MDL はクリセン 0.77 ng/g-dry、ピレン 0.93 ng/g-dry であった。操作ブランクから算出した MDL はクリセン 0.094 ng/g-dry、ピレン 0.044 ng/g-dry であったことから、より値の大きい底質試料から算出した MDL を採用した。

表4 MDL 及び MQL の算出結果 (詳細) *1

対象物質名	ベンゾ[<i>g,h,i</i>] ペリレン	クリセン	ピレン
試料	底質	底質	底質
試料量 (g-dry)	4.0	4.0	4.0
標準添加量 (ng)	0	0	0
試料換算濃度 (ng/g-dry)	-	-	-
分取	1/4	1/4	1/4
最終液量 (mL)	1	1	1
注入液濃度 (ng/mL)	-	-	-
装置注入量 (μL)	1	1	1
操作ブランク平均 (ng/g-dry) *2	< 0.51 (101)	0.161 (102)	0.0857 (100)
無添加平均 (ng/g-dry) *3	1.67 (92)	2.73 (93)	3.64 (93)
結果 1 (ng/g-dry)	1.53 (93)	2.51 (96)	3.45 (97)
結果 2 (ng/g-dry)	1.71 (95)	2.78 (87)	3.58 (87)
結果 3 (ng/g-dry)	1.50 (92)	2.53 (94)	3.38 (93)
結果 4 (ng/g-dry)	1.85 (86)	3.08 (91)	4.04 (91)
結果 5 (ng/g-dry)	1.67 (101)	2.86 (99)	3.45 (101)
結果 6 (ng/g-dry)	1.81 (84)	2.73 (87)	3.80 (85)
結果 7 (ng/g-dry)	1.64 (93)	2.63 (95)	3.76 (94)
平均値 (ng/g-dry)	1.672 (92)	2.731 (93)	3.636 (93)
標準偏差 (σ_{n-1}) (ng/g-dry)	0.132	0.199	0.240
MDL (ng/g-dry) *4	0.51	0.77	0.93
MQL (ng/g-dry) *5	1.3	2.0	2.4
S/N 比	36	69	78
CV (%)	7.9	7.3	6.6

*1 : 定量結果は、サロゲート法により補正した値である。

*2 : 空試験液を測定した値の平均値 (n = 7)

*3 : 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 = 7)

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

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

*6 : 括弧内の数値はサロゲート回収率 (%)

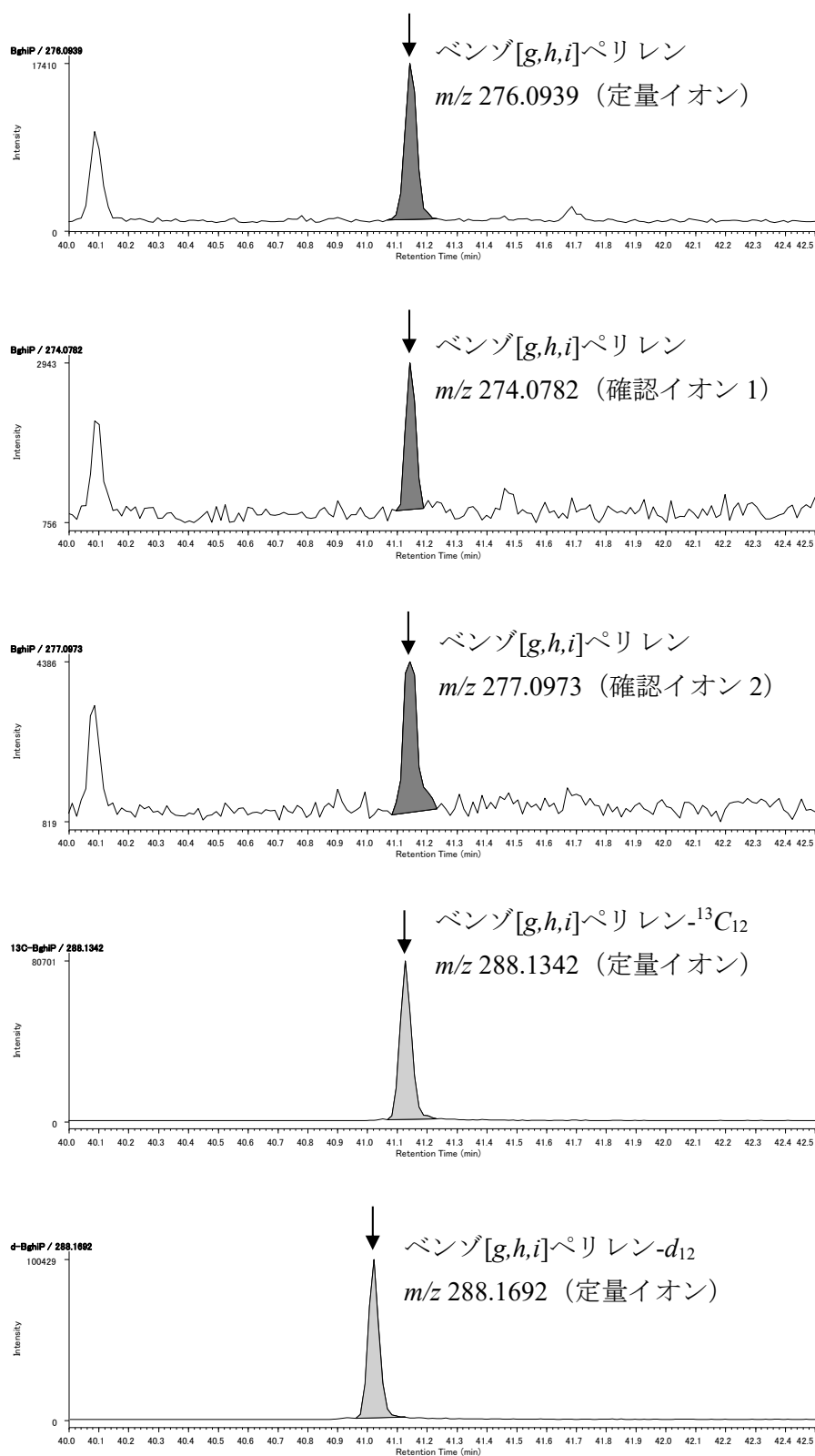


図4 MDL 測定時のクロマトグラム
(ベンゾ[*g,h,i*]ペリレン- $^{13}\text{C}_{12}$ (10 ng/mL)、ベンゾ[*g,h,i*]ペリレン- d_{12} (10 ng/mL))

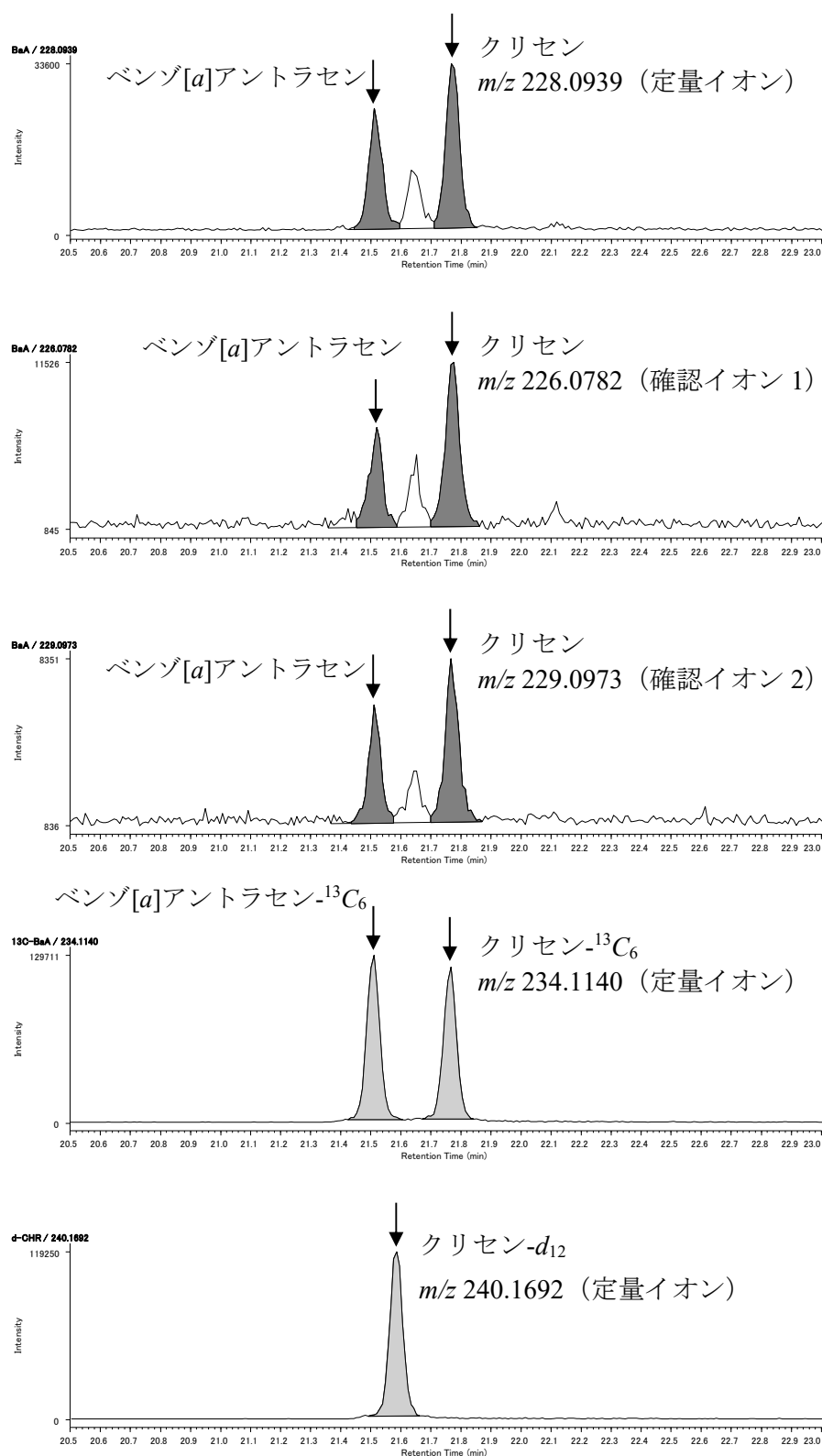


図5 MDL 測定時のクロマトグラム
(クリセン-¹³C₆ (10 ng/mL)、クリセン-d₁₂ (10 ng/mL))

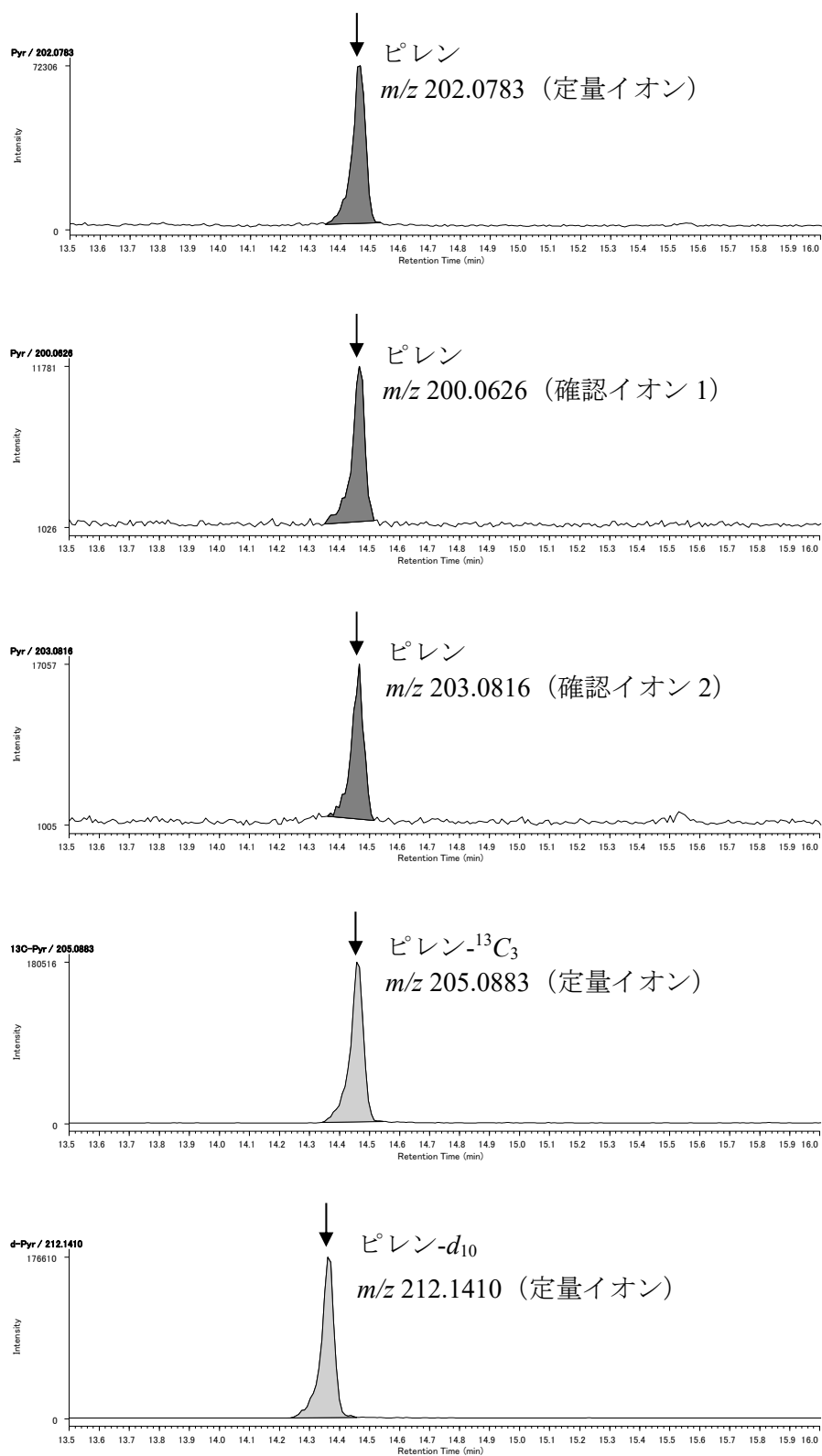


図6 MDL 測定時のクロマトグラム
(ピレン- $^{13}\text{C}_3$ (10 ng/mL)、ピレン- d_{10} (10 ng/mL))

表 5 MDL 及び MQL 算出結果 (操作ブランク) (参考値) *¹

対象物質名	クリセン	ピレン
試料	精製水	精製水
試料量 (g)	5.0	5.0
標準添加量 (ng)	0	0
分取	1/4	1/4
最終液量 (mL)	1	1
装置注入量 (μL)	1	1
結果 1 (ng/g-dry)	0.183 (107)	0.0878 (106)
結果 2 (ng/g-dry)	0.196 (109)	0.0975 (106)
結果 3 (ng/g-dry)	0.154 (109)	0.0730 (105)
結果 4 (ng/g-dry)	0.165 (104)	0.0748 (97)
結果 5 (ng/g-dry)	0.165 (97)	0.1023 (99)
結果 6 (ng/g-dry)	0.122 (95)	0.0868 (91)
結果 7 (ng/g-dry)	0.145 (92)	0.0773 (93)
平均値 (ng/g-dry)	0.1615 (102)	0.08565 (100)
標準偏差 (σ_{n-1}) (ng/g-dry)	0.0243	0.0113
MDL (ng/g-dry) * ²	0.094	0.044
MQL (ng/g-dry) * ³	0.24	0.11
S/N 比	8.5	7.0
CV (%)	15	13

*1 : 定量結果は、サロゲート法により補正した値である。

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

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

*4 : 括弧内の数値はサロゲート回収率 (%)

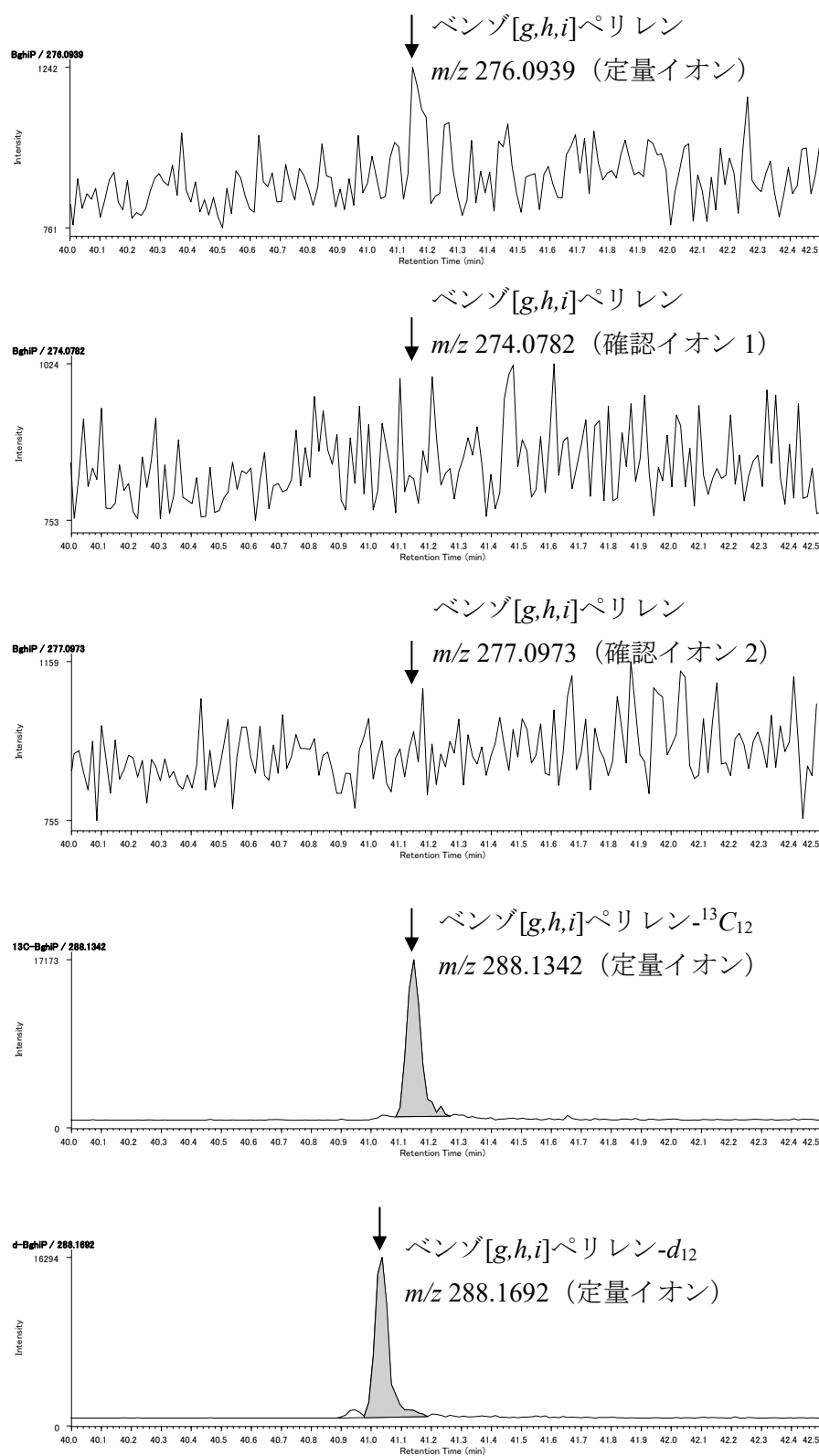


図7 操作ブランク測定時のクロマトグラム
(ベンゾ[g,h,i]ペリレン- $^{13}C_{12}$ (10 ng/mL)、ベンゾ[g,h,i]ペリレン- d_{12} (10 ng/mL))

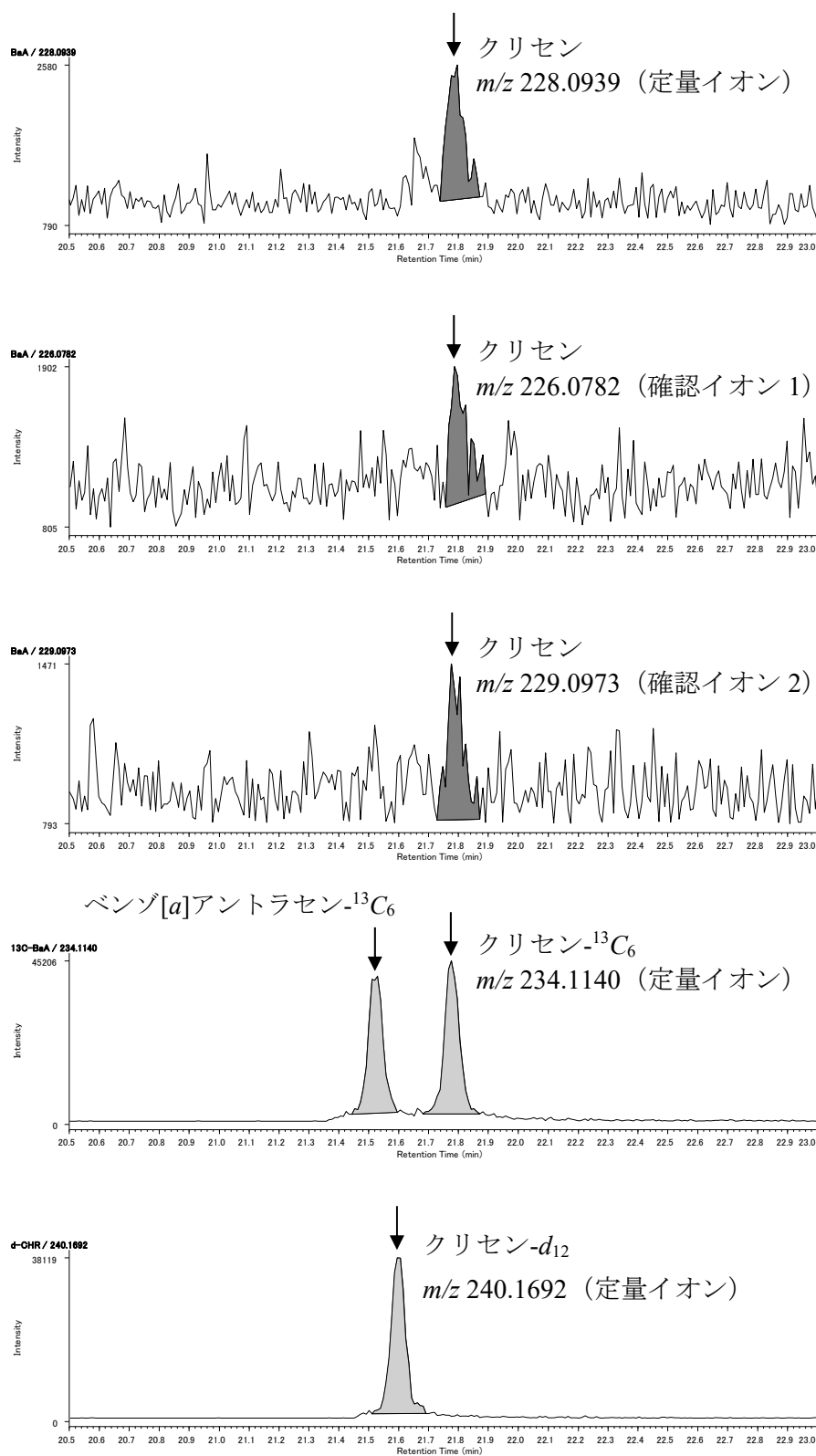


図8 操作ブランク測定時のクロマトグラム
(クリセン- $^{13}C_6$ (10 ng/mL)、クリセン- d_{12} (10 ng/mL))

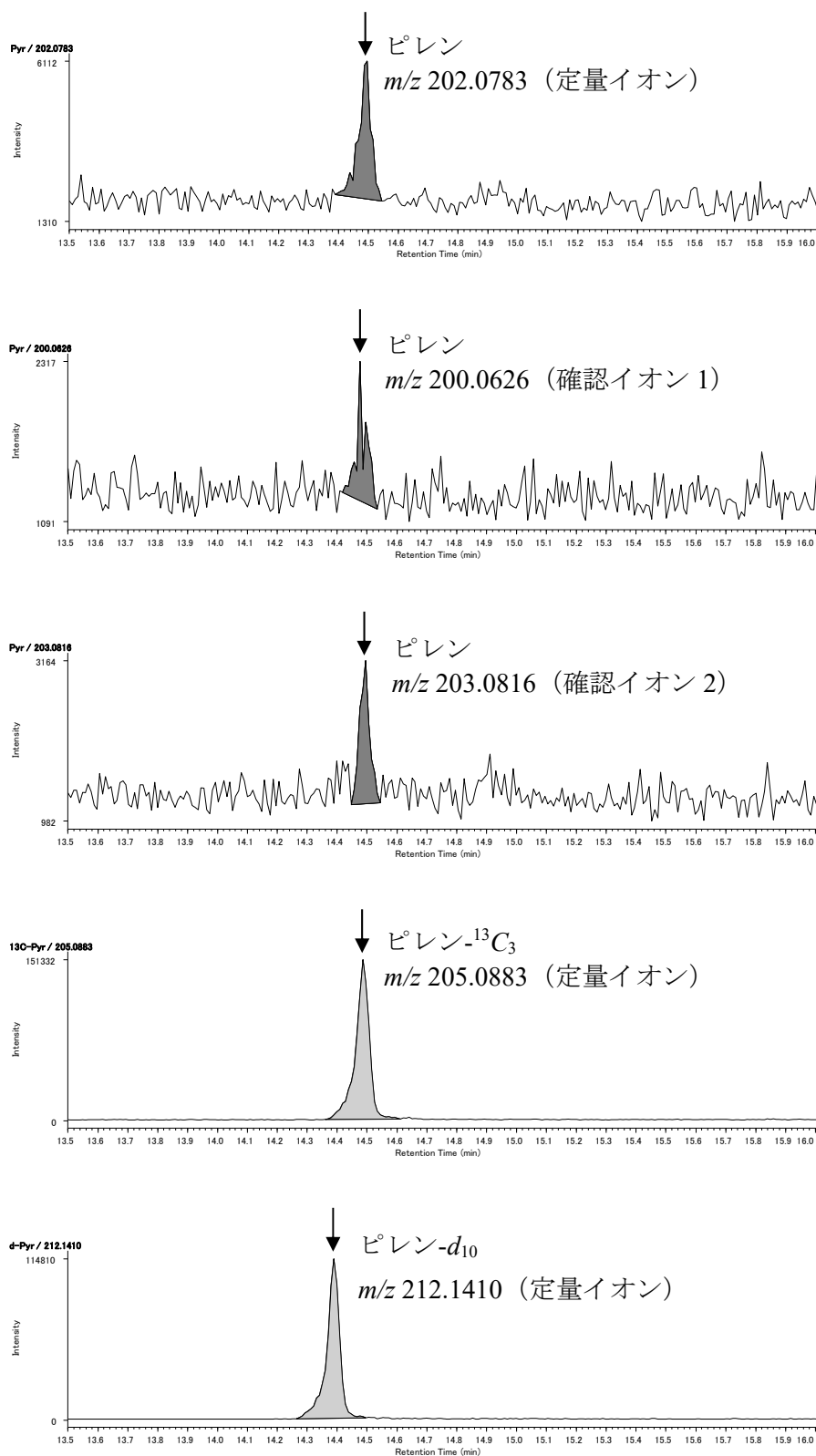


図9 操作ブランク測定時のクロマトグラム
(ピレン- $^{13}\text{C}_3$ (10 ng/mL)、ピレン- d_{10} (10 ng/mL))

§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 10 に示す。

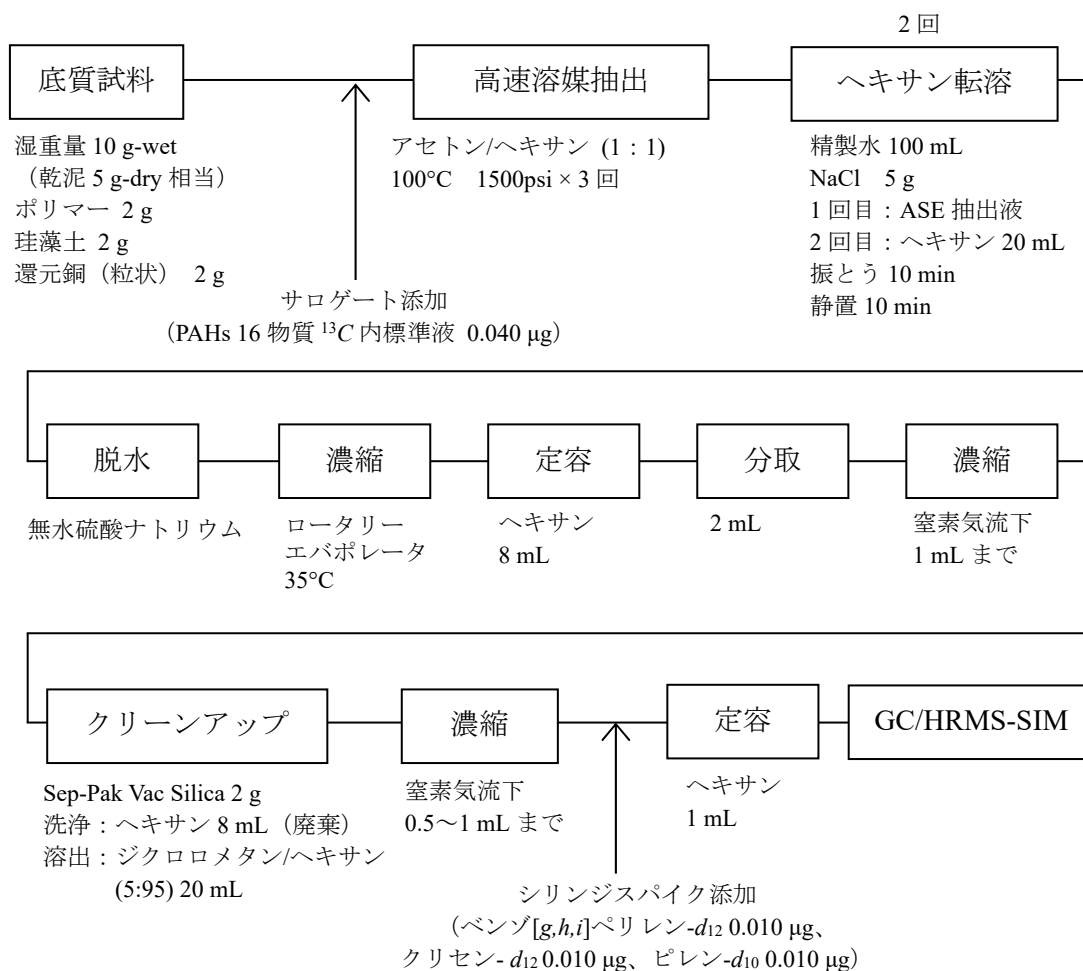


図 10 分析法のフローチャート

〔検量線〕

検量線を図 11～図 13 に、検量線作成用データを表 6-1～表 8-2 に示す。

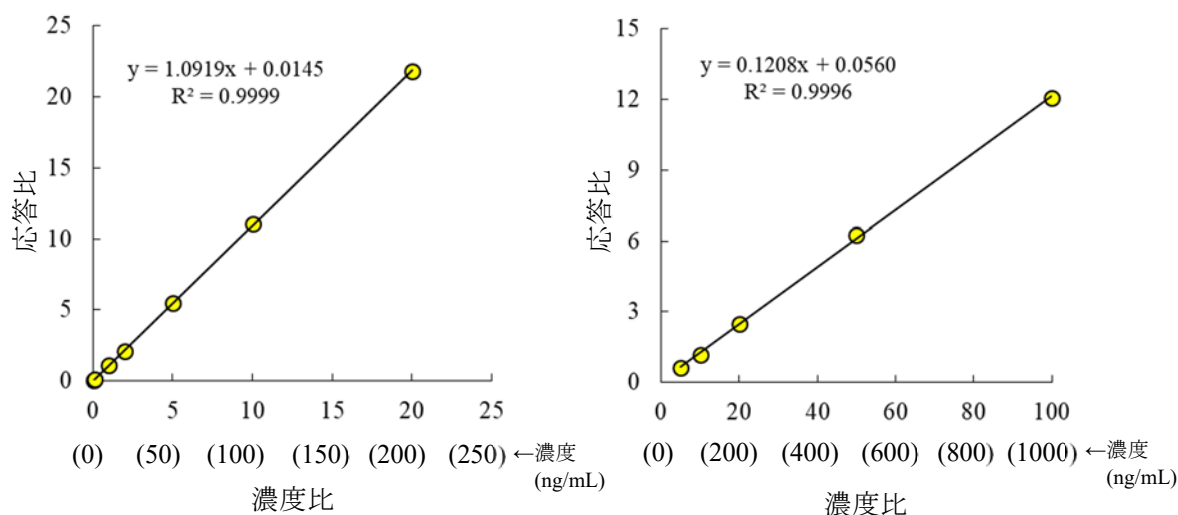


図 11 ベンゾ[g,h,i]ペリレンの検量線 (サロゲート内標準物質濃度 10 ng/mL)
 左図：低濃度域 (m/z 276.0939 (定量イオン)、濃度範囲：0.50～200 ng/mL)
 右図：高濃度域 (m/z 274.0782 (確認イオン 1)、濃度範囲：50～1000 ng/mL)

表 6-1 検量線作成用データ (ベンゾ[g,h,i]ペリレン、定量イオン)

標準液 濃度 (ng/mL) (C _s)	濃度比 (C _s /C _{is} [*])	応答値		応答比 (A _s /A _{is})
		対象物質 (A _s) 【ベンゾ[g,h,i] ペリレン】 (m/z 276.0939)	サロゲート内標準 (A _{is}) 【ベンゾ[g,h,i] ペリレン- ¹³ C ₁₂ 】 (m/z 288.1342)	
0.50	0.050	116	1562	0.0744
1.0	0.10	151	1360	0.111
10	1.0	1555	1376	1.13
20	2.0	2627	1243	2.11
50	5.0	9949	1822	5.46
100	10	13385	1208	11.1
200	20	26807	1230	21.8

C_{is}^{*}：サロゲート内標準濃度：10 ng/mL

表 6-2 検量線作成用データ（ベンゾ[g,h,i]ペリレン、確認イオン 1）

標準液 濃度 (ng/mL) (C _s)	濃度比 (C _s /C _{is} [*])	応答値		応答比 (A _s /A _{is})
		対象物質 (A _s) 【ベンゾ[g,h,i] ペリレン】 (m/z 274.0782)	サロゲート内標準 (A _{is}) 【ベンゾ[g,h,i] ペリレン- ¹³ C ₁₂ 】 (m/z 288.1342)	
50	5.0	1154	1822	0.633
100	10	1440	1208	1.19
200	20	3069	1230	2.50
500	50	6354	1018	6.24
1000	100	24490	2029	12.1

C_{is}^{*}：サロゲート内標準濃度：10 ng/mL

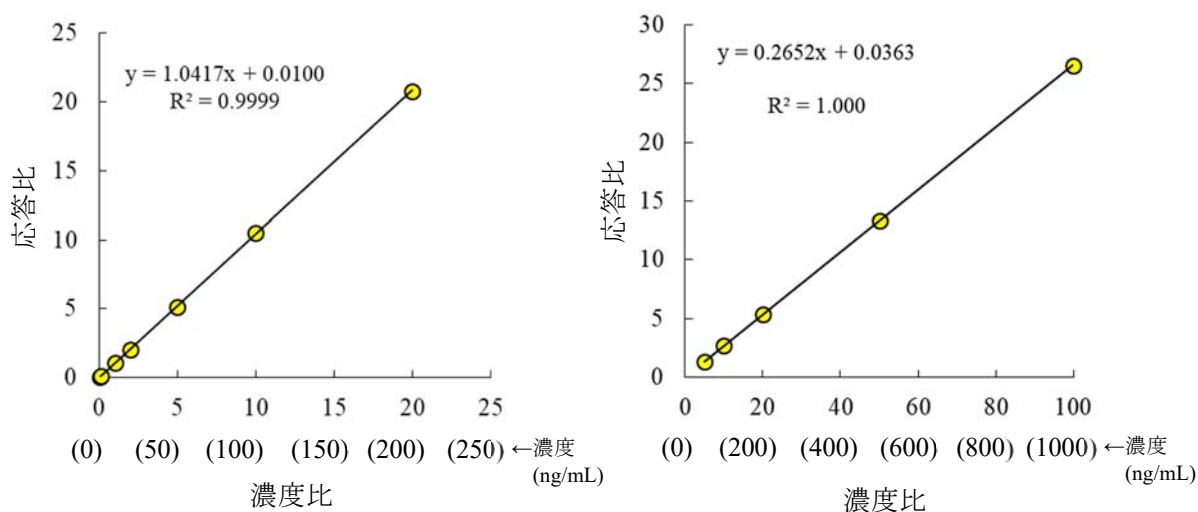


図 12 クリセンの検量線（サロゲート内標準濃度 10 ng/mL）

左図：低濃度域（m/z 228.0939（定量イオン）、濃度範囲：0.50～200 ng/mL）

右図：高濃度域（m/z 226.0782（確認イオン 1）、濃度範囲：50～1000 ng/mL）

表 7-1 検量線作成用データ (クリセン、定量イオン)

標準液 濃度 (ng/mL) (C _s)	濃度比 (C _s /C _{is} [*])	応答値		応答比 (A _s /A _{is})
		対象物質 (A _s) 【クリセン】 (<i>m/z</i> 228.0939)	サロゲート内標準 (A _{is}) 【クリセン- ¹³ C ₆ 】 (<i>m/z</i> 234.114)	
0.50	0.050	183	2780	0.0657
1.0	0.10	365	3474	0.105
10	1.0	3361	3111	1.08
20	2.0	4625	2239	2.07
50	5.0	17090	3322	5.14
100	10	31199	2959	10.5
200	20	64791	3114	20.8

C_{is}^{*} : サロゲート内標準濃度 : 10 ng/mL

表 7-2 検量線作成用データ (クリセン、確認イオン 1)

標準液 濃度 (ng/mL) (C _s)	濃度比 (C _s /C _{is} [*])	応答値		応答比 (A _s /A _{is})
		対象物質 (A _s) 【クリセン】 (<i>m/z</i> 226.0782)	サロゲート内標準 (A _{is}) 【クリセン- ¹³ C ₆ 】 (<i>m/z</i> 234.114)	
50	5.0	4355	3322	1.31
100	10	7973	2959	2.69
200	20	16743	3114	5.38
500	50	41241	3094	13.3
1000	100	96875	3650	26.5

C_{is}^{*} : サロゲート内標準濃度 : 10 ng/mL

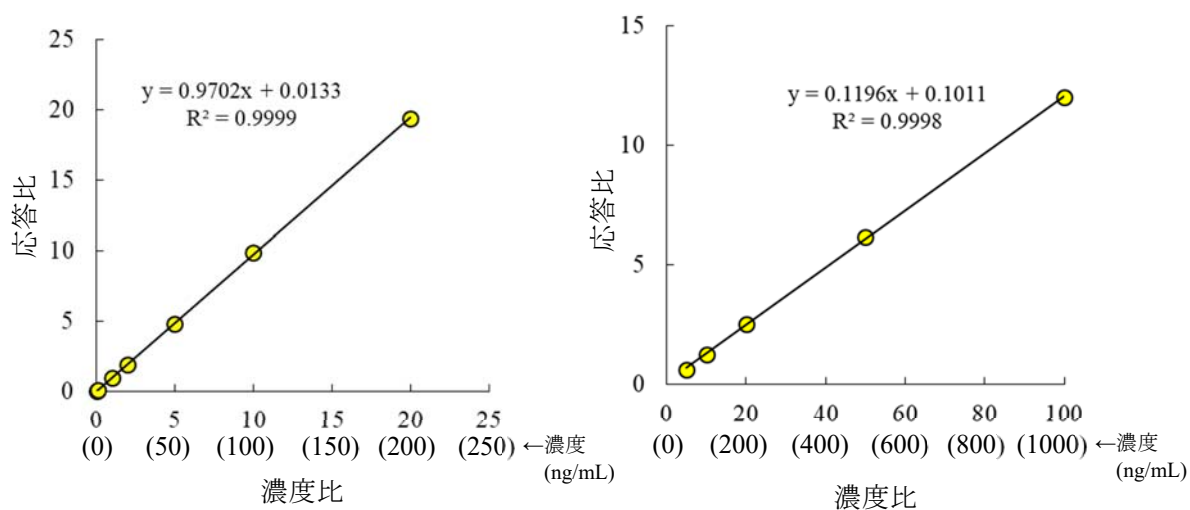


図 13 ピレンの検量線 (サロゲート内標準濃度 10 ng/mL)
 左図: 低濃度域 (m/z 202.0783 (定量イオン)、濃度範囲: 0.50~200 ng/mL)
 右図: 高濃度域 (m/z 200.0626 (確認イオン 1)、濃度範囲: 50~1000 ng/mL)

表 8-1 検量線作成用データ (ピレン、定量イオン)

標準液		応答値		
濃度 (ng/mL)	濃度比 (C_s/C_{is}^*)	対象物質 (A_s) 【ピレン】 (m/z 202.0783)	サロゲート内標準 (A_{is}) 【ピレン- $^{13}C_3$ 】 (m/z 205.0883)	応答比 (A_s/A_{is})
0.50	0.050	307	5128	0.0598
1.0	0.10	717	7508	0.0955
10	1.0	6484	6478	1.00
20	2.0	10446	5506	1.90
50	5.0	35725	7385	4.84
100	10	68121	6910	9.86
200	20	133490	6896	19.4

C_{is}^* : サロゲート内標準濃度: 10 ng/mL

表 8-2 検量線作成用データ (ピレン、確認イオン 1)

標準液 濃度 (ng/mL) (C _s)	濃度比 (C _s /C _{is} [*])	応答値		
		対象物質 (A _s) 【ピレン】 (<i>m/z</i> 200.0626)	サロゲート内標準 (A _{is}) 【ピレン- ¹³ C ₃ 】 (<i>m/z</i> 205.0883)	応答比 (A _s /A _{is})
50	5.0	4703	7385	0.637
100	10	8837	6910	1.28
200	20	17510	6896	2.54
500	50	39217	6367	6.16
1000	100	78249	6511	12.0

C_{is}^{*} : サロゲート内標準濃度 : 10 ng/mL

〔クロマトグラム〕

標準液のクロマトグラムを図 14～図 16 に示す。

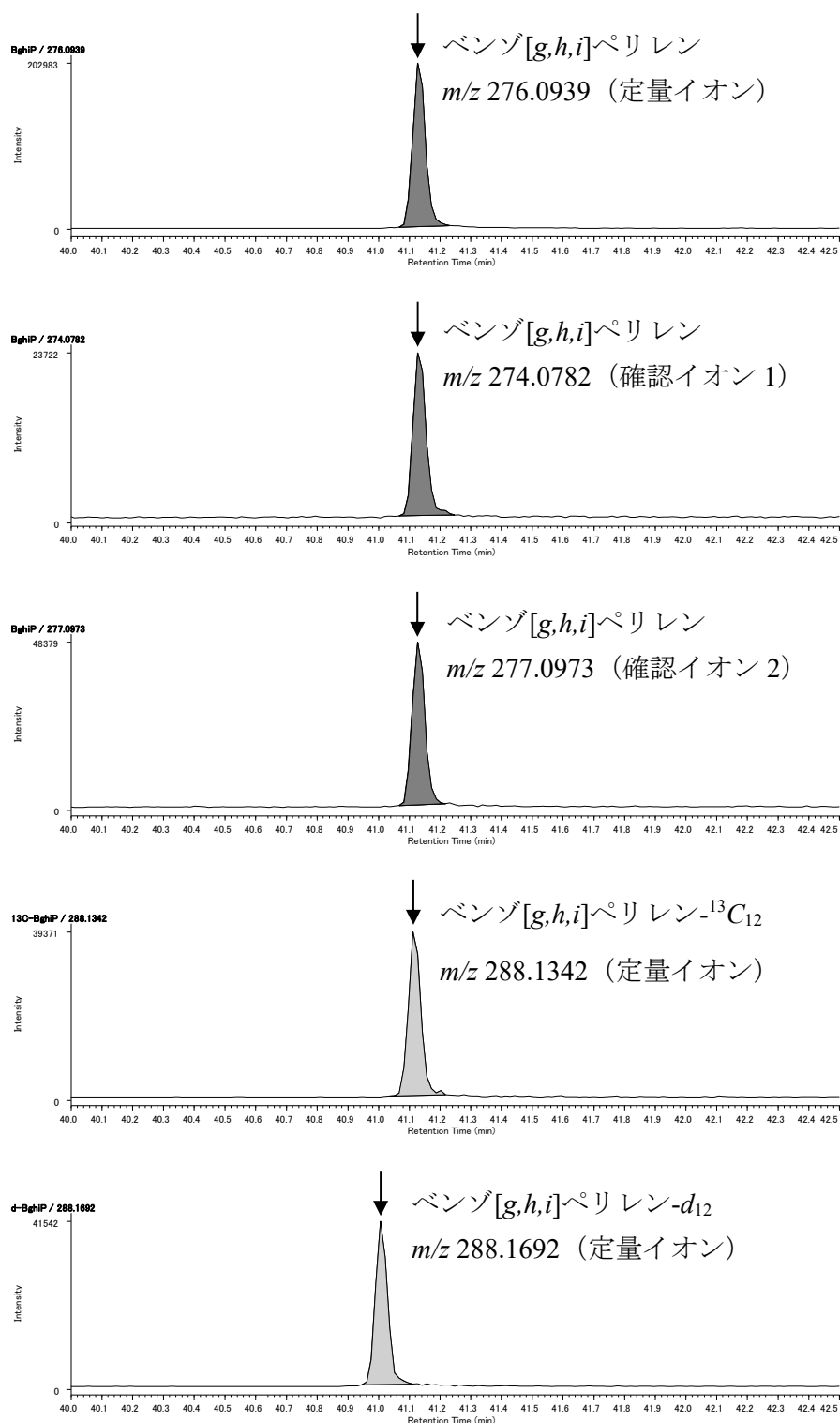


図 14 標準液測定時のクロマトグラム
(ベンゾ[*g,h,i*]ペリレン (50 ng/mL)、ベンゾ[*g,h,i*]ペリレン- $^{13}\text{C}_{12}$ (10 ng/mL)、
ベンゾ[*g,h,i*]ペリレン- d_{12} (10 ng/mL))

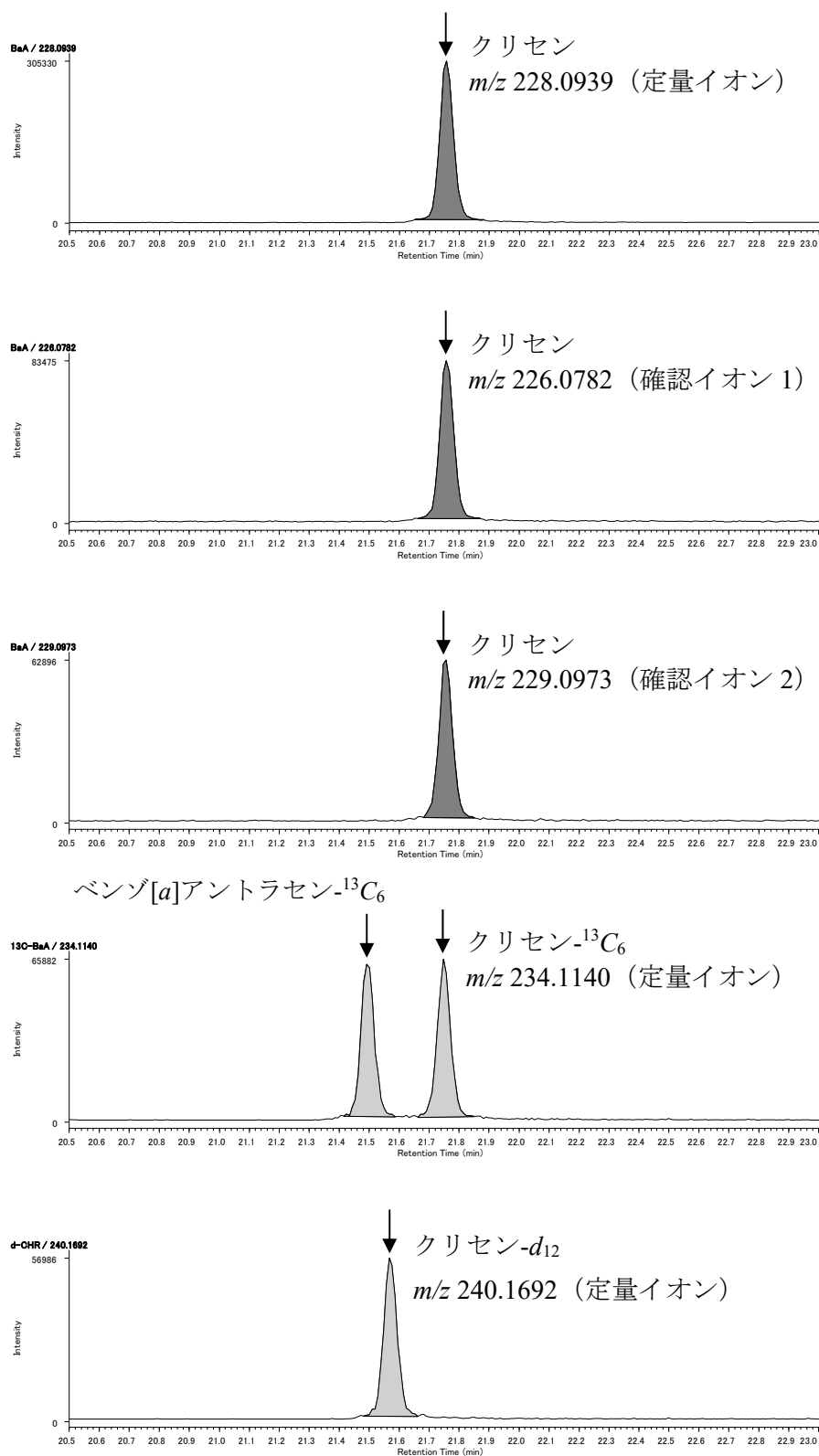


図 15 標準液測定時のクロマトグラム
(クリセン (50 ng/mL)、クリセン- $^{13}\text{C}_6$ (10 ng/mL)、クリセン- d_{12} (10 ng/mL))

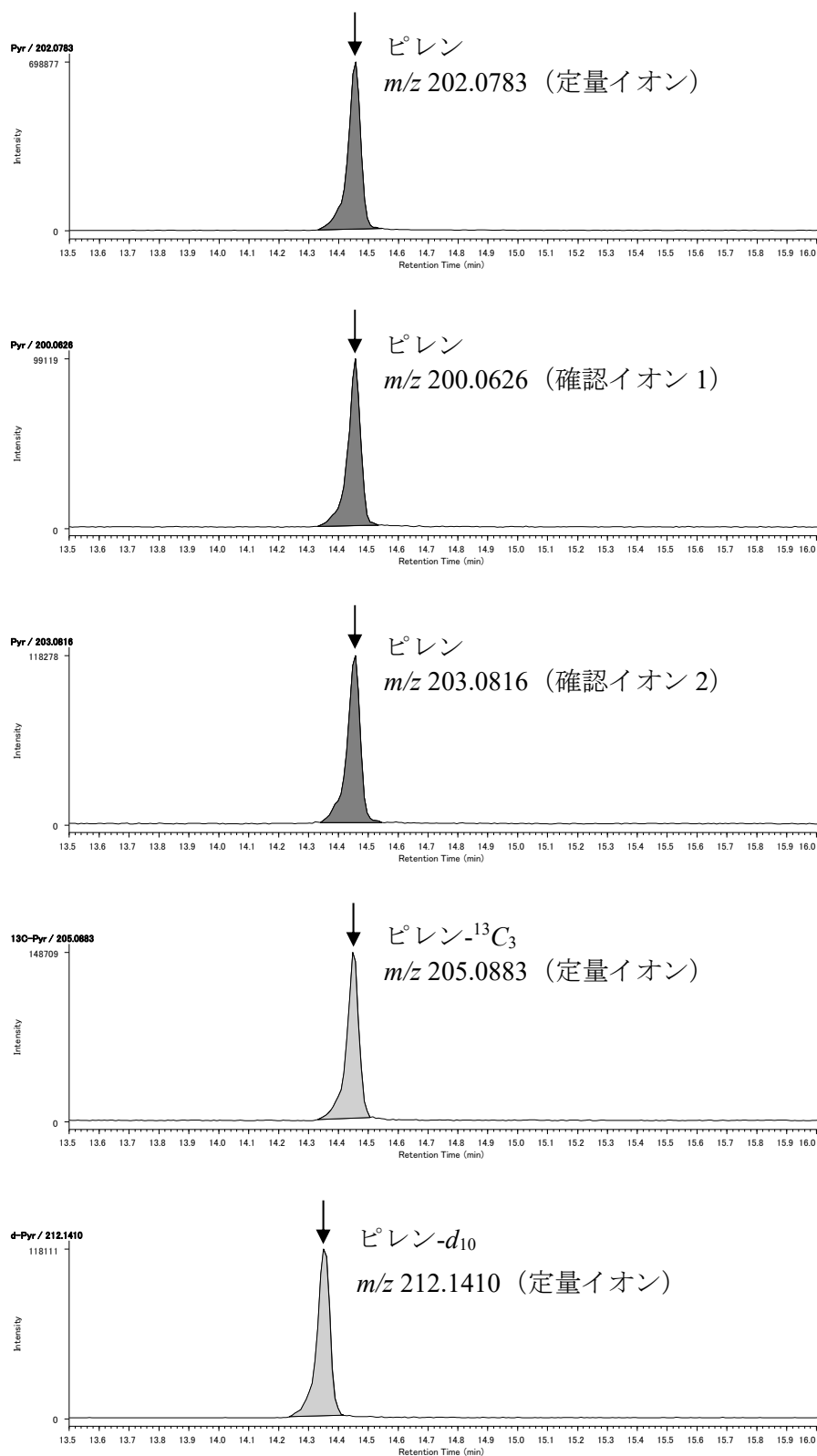


図 16 標準液測定時のクロマトグラム
(ピレン (50 ng/mL)、ピレン- $^{13}\text{C}_3$ (10 ng/mL)、ピレン- d_{10} (10 ng/mL))

[マスペクトル]

図 17-1～図 17-9 に各標準物質のマスペクトルを示す。

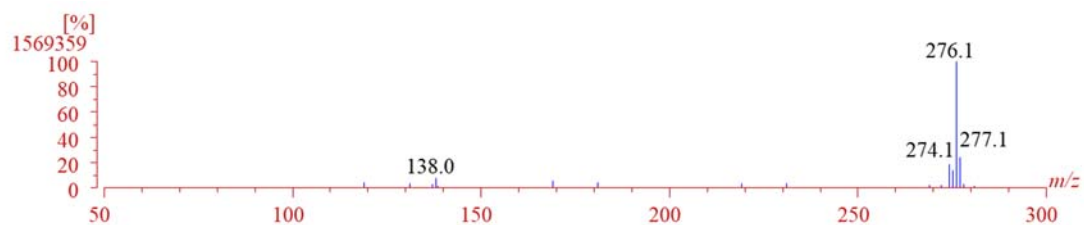


図 17-1 ベンゾ[g,h,i]ペリレンのマスペクトル

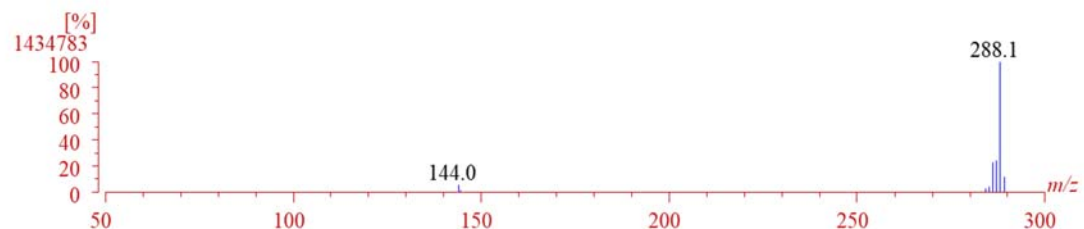


図 17-2 ベンゾ[g,h,i]ペリレン-¹³C₁₂のマスペクトル

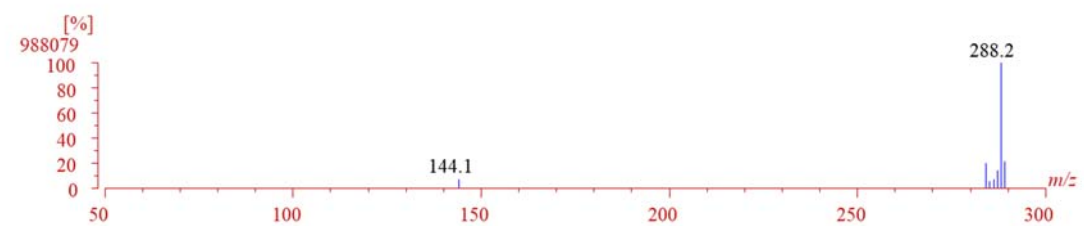


図 17-3 ベンゾ[g,h,i]ペリレン-d₁₂のマスペクトル

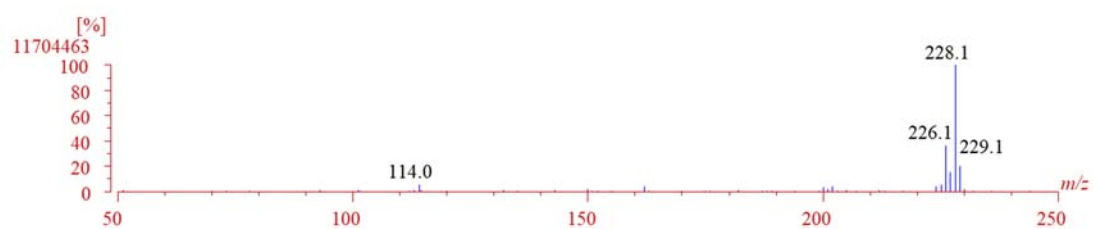


図 17-4 クリセンのマススペクトル

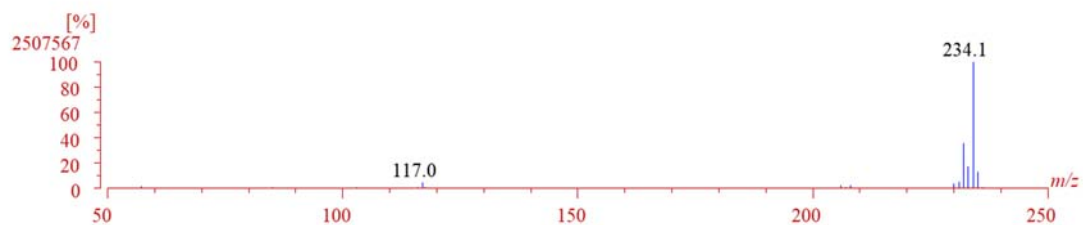


図 17-5 クリセシ- $^{13}\text{C}_6$ のマススペクトル

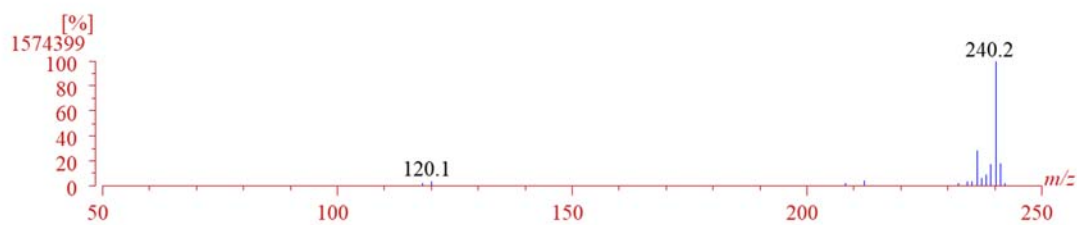


図 17-6 クリセシ- d_{12} のマススペクトル

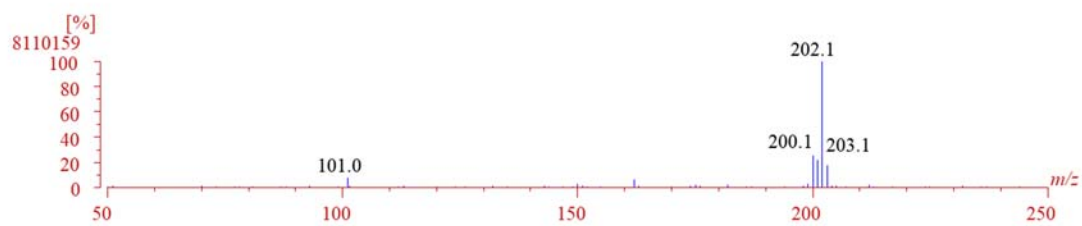


図 17-7 ピレンのマススペクトル

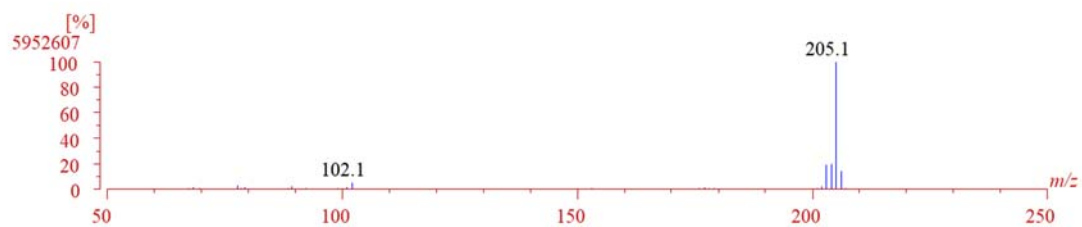


図 17-8 ピレン- $^{13}\text{C}_3$ のマススペクトル

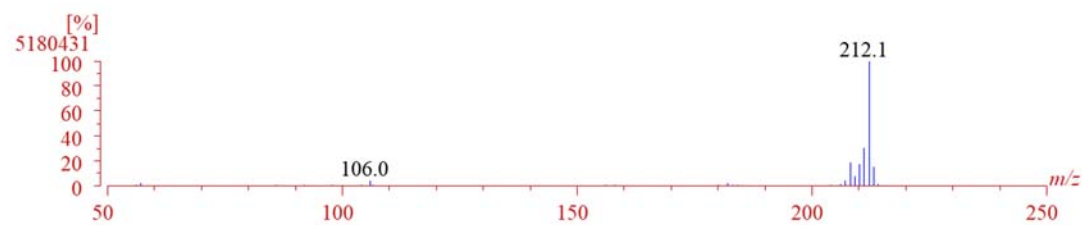


図 17-9 ピレン- d_{10} のマススペクトル

〔添加回収試験〕

添加回収試験の結果を表 9 に、クロマトグラムを図 18～図 23 に示す。なお、兵庫県姫路沖の底質試料（含水率 60.3%、強熱減量 14.3%）を使用した。

表 9 添加回収試験結果

物質	試料量 (g-dry)	添加量 (ng)	試験 数	検出濃度* ¹ (ng/g-dry)	回収率* ¹ (%)	変動 係数 (%)	サロゲート 回収率 (%)
ベンゾ[g,h,i]	4.0	0	2	30	-	-	80
ペリレン	4.0	1000	5	244	86	5.4	84
クリセン	4.0	0	2	58	-	-	85
	4.0	1000	5	277	88	6.3	95
ピレン	4.0	0	2	78	-	-	86
	4.0	1000	5	309	93	3.7	95

*1 検出濃度及び回収率はサロゲート補正後の値

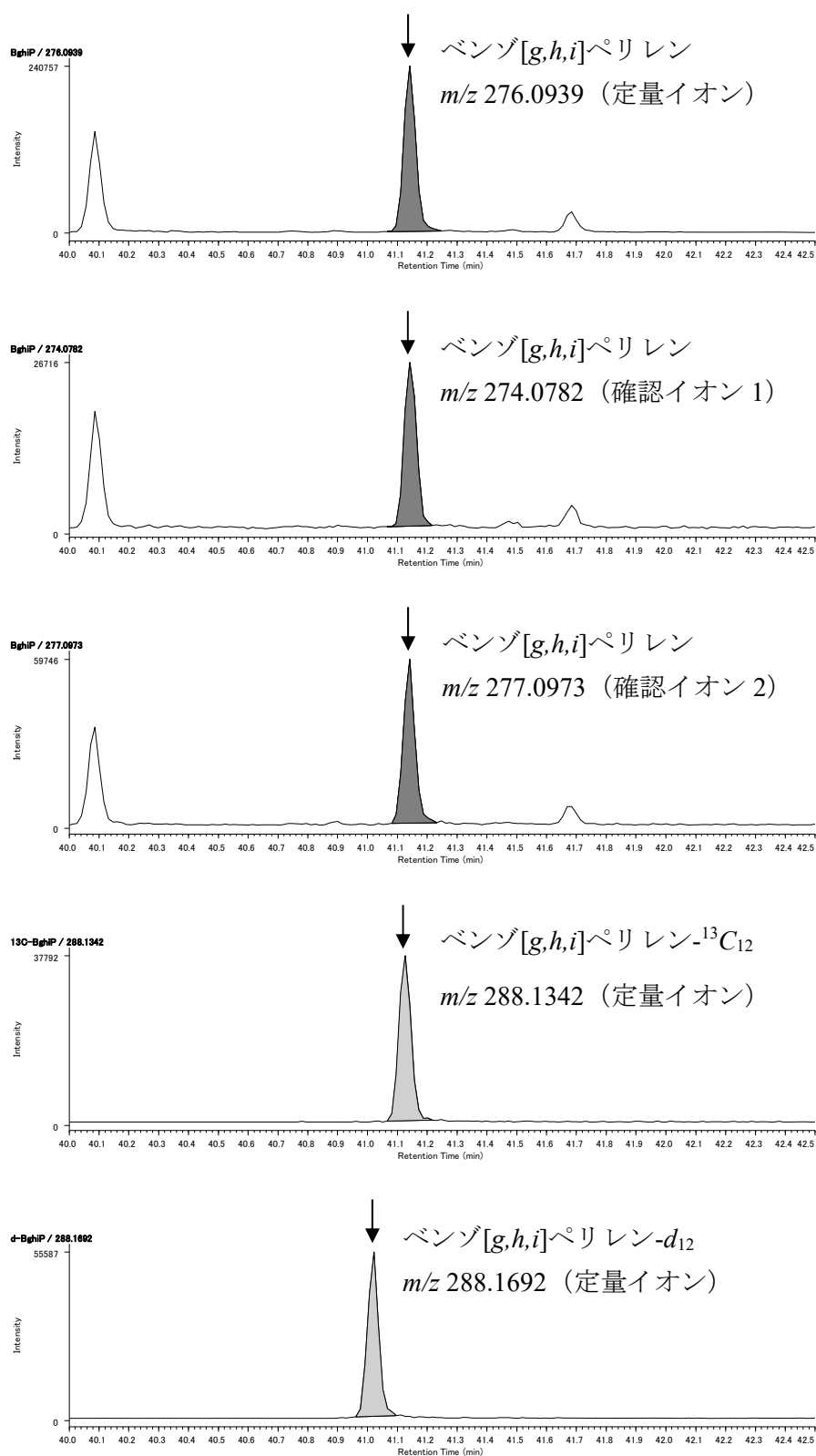


図 18 添加回収試験時（無添加底質試料）のクロマトグラム
 (ベンゾ[g,h,i]ペリレン-¹³C₁₂ (10 ng/mL)、ベンゾ[g,h,i]ペリレン-d₁₂ (10 ng/mL))

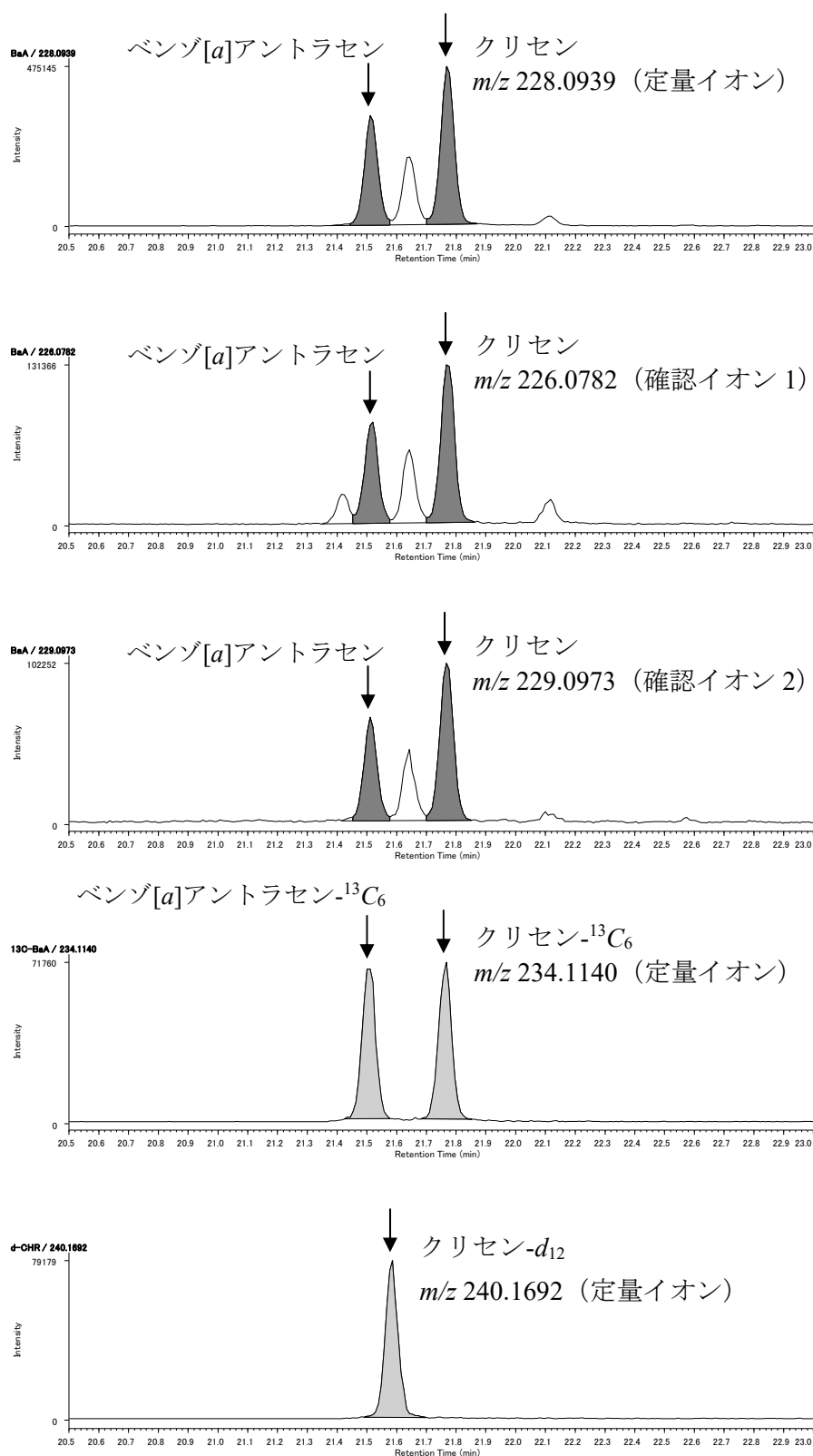


図 19 添加回収試験時（無添加底質試料）のクロマトグラム
（クリセン- $^{13}\text{C}_6$ (10 ng/mL)、クリセン- d_{12} (10 ng/mL)）

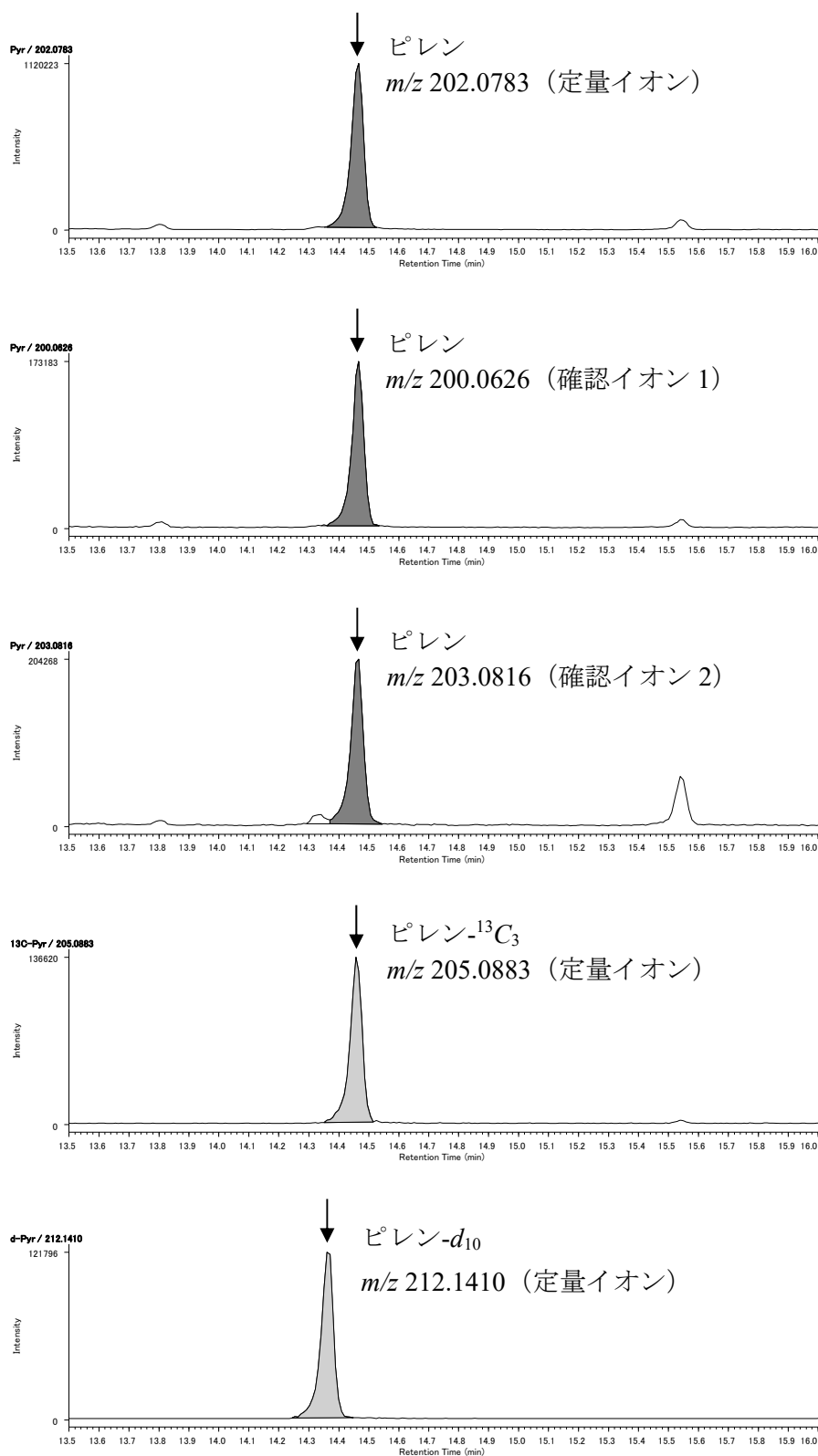


図 20 添加回収試験時（無添加底質試料）のクロマトグラム
 (ピレン- $^{13}\text{C}_3$ (10 ng/mL)、ピレン- d_{10} (10 ng/mL))

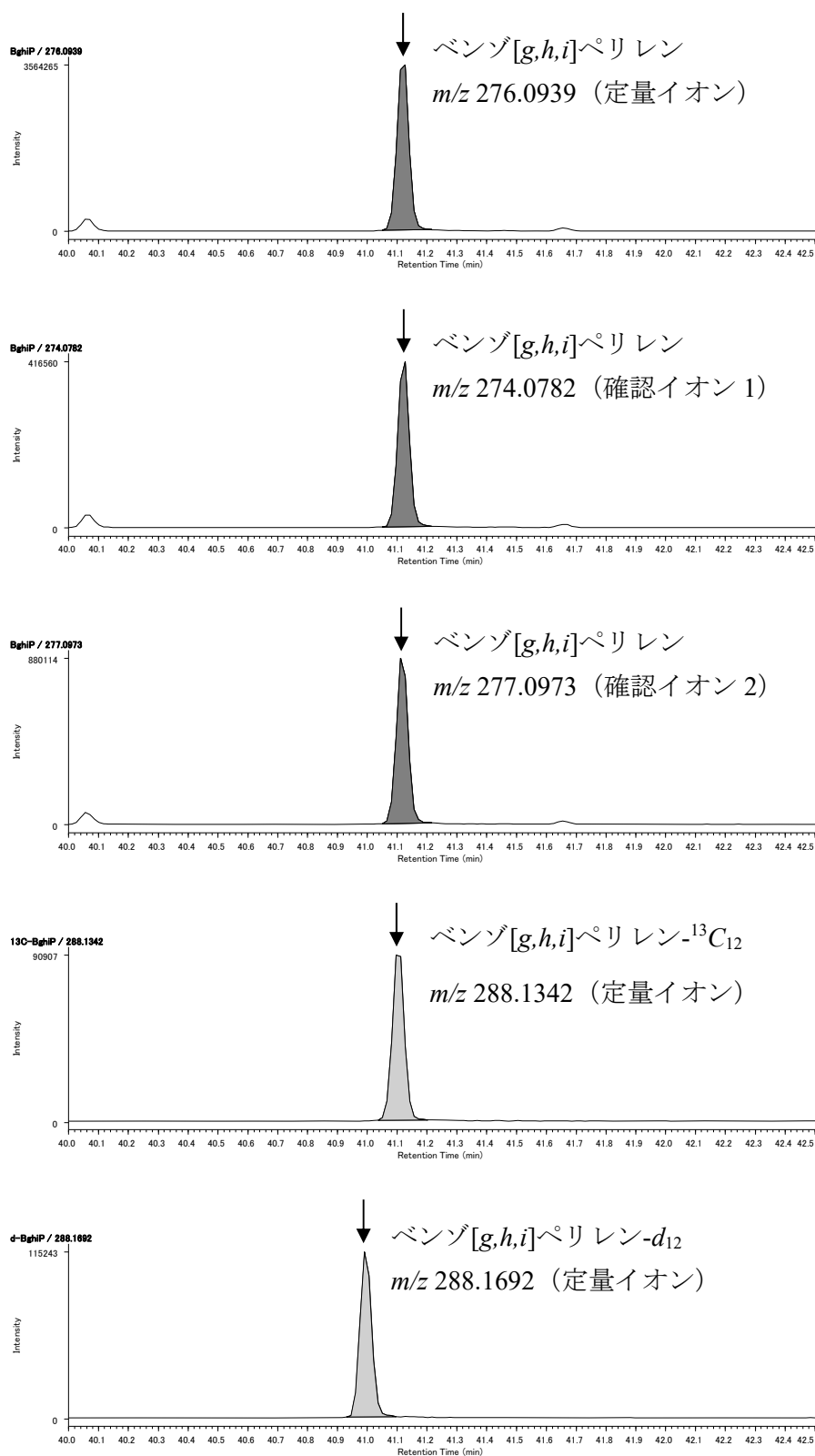


図 21 添加回収試験時（1000 ng/10 g-wet 標準添加底質試料）のクロマトグラム
（ベンゾ[g,h,i]ペリレン- $^{13}\text{C}_{12}$ (10 ng/mL)、ベンゾ[g,h,i]ペリレン- d_{12} (10 ng/mL)）

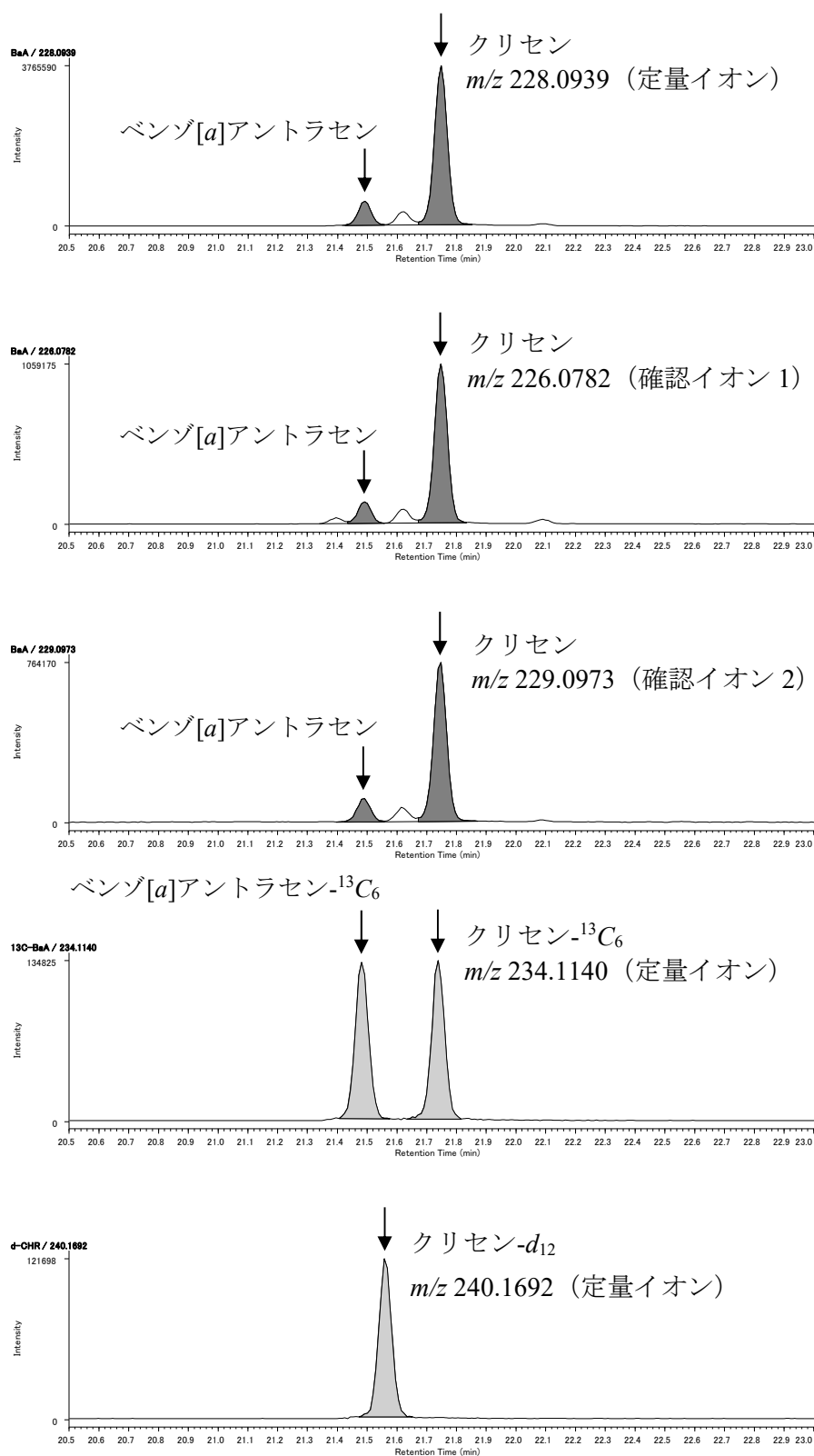


図 22 添加回収試験時（1000 ng/10 g-wet 標準添加底質試料）のクロマトグラム
（クリセン- $^{13}C_6$ (10 ng/mL)、クリセン- d_{12} (10 ng/mL)）

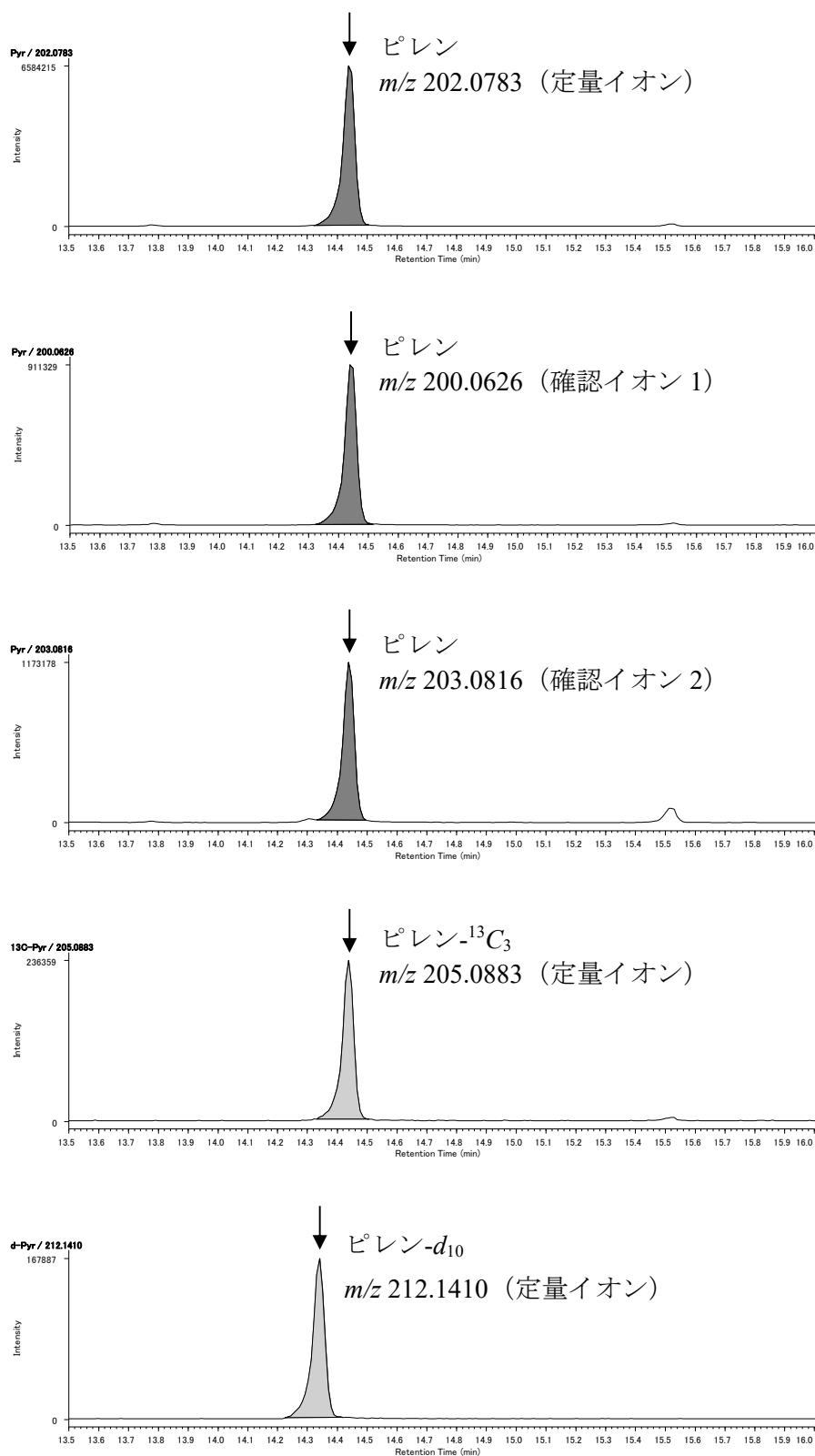


図 23 添加回収試験時 (1000 ng/10 g-wet 標準添加底質試料) のクロマトグラム
(ピレン- $^{13}\text{C}_3$ (10 ng/mL)、ピレン- d_{10} (10 ng/mL))

〔保存性試験〕

保存性試験の結果を表 10～表 11 に示す。添加回収試験で用いた底質試料（無添加）の粗抽出液を冷暗所（4℃）で保存し、14 日後に前処理・定量した。標準液におけるベンゾ[*g,h,i*]ペリレン、クリセン及びピレンの残存率はいずれも 90% 以上で良好であった。

表 10 粗抽出液の保存性試験結果

物質	試験数	初期濃度 (ng/g-dry)	検出濃度 (ng/g-dry) (残存率 (%)*)
			14 日間
ベンゾ[<i>g,h,i</i>]ペリレン	2	32	31 (95)
クリセン	2	60	58 (97)
ピレン	2	74	72 (98)

*：残存率 (%)：初期濃度に対する検出濃度の割合

表 11 標準液の保存性試験結果

物質	試験数	調製濃度 (ng/mL)	検出濃度 (ng/mL) (残存率 (%)*)
			1 か月
ベンゾ[<i>g,h,i</i>]ペリレン	2	1.0	1.0 (103)
	2	100	100 (100)
クリセン	2	1.0	1.0 (102)
	2	100	100 (100)
ピレン	2	1.0	0.98 (98)
	2	100	92 (92)

*：残存率 (%)：調製濃度に対する検出濃度の割合

2023 (R5) 調査において、分析機関が添加回収試験用の底質試料、粗抽出液および標準液を用いてピレン、クリセン、ベンゾ[*g, h, i*]ペリレンの保存性試験を独自に行っており、残存率は底質試料中で40日後88%以上、粗抽出液中で35日後100%以上、標準液中で60日後93%以上と安定であると報告された。(2024 (R6) 精査等検討会コメント)

〔シリカゲルカラムの溶出パターン〕

ヘキサン 1 mL にベンゾ[g,h,i]ペリレン、クリセン、ピレンをそれぞれ 200 ng 添加し、Sep-Pak Vac 12 cc (2 g) Silica Cartridge に負荷し、溶出させたときの溶出パターンを表 12 に示す。また、姫路沖底質の粗抽出液 1 mL を、Sep-Pak Vac 12 cc (2 g) Silica Cartridge でクリーンアップしたときの溶出パターンを表 13 に、姫路沖底質の粗抽出液 1 mL にベンゾ[g,h,i]ペリレン-¹³C₁₂、クリセン-¹³C₆、ピレン-¹³C₃をそれぞれ 50 ng 添加し、Sep-Pak Vac 12 cc (2 g) Silica Cartridge でクリーンアップしたときの溶出パターンを表 14 に示す。その結果、ヘキサン 8 mL で前捨てし、ジクロロメタン/ヘキサン (5:95) 20 mL で溶出させることにした。

表 12 標準液における Sep-Pak Vac 12cc (2 g) Silica Cartridge の
溶出パターン (%)

溶媒	画分	ベンゾ[g,h,i] ペリレン	クリセン	ピレン
ヘキサン	0-2 mL	0	0	0
	2-4 mL	0	0	0
	4-6 mL	0	0	0
	6-8 mL	0	0	0
	8-10 mL	0	0	0
	10-12 mL	0	0	4
	12-14 mL	0	0	38
	14-16 mL	0	0	42
	16-18 mL	0	1	12
ジクロロメタン/ヘキサン (5:95)	18-20 mL	5	15	2
	0-15 mL	95	82	0
	15-24 mL	0	0	0

表 13 姫路沖の底質粗抽出液での Sep-Pak Vac 12cc (2 g) Silica Cartridge の
溶出パターン (%)

溶媒	画分	ベンゾ[g,h,i] ペリレン	クリセン	ピレン
ヘキサン	0-8 mL	0	0	0
ジクロロメタ ン/ヘキサン (5:95)	0-3 mL	0	0	0
	3-6 mL	0	0	55
	6-9 mL	21	43	41
	9-12 mL	68	57	1
	12-15 mL	9	3	0
	15-18 mL	2	0	0
	18-21 mL	0	0	0
	21-24 mL	0	0	0

表 14 姫路沖の底質粗抽出液に添加した ^{13}C 体の Sep-Pak Vac 12cc (2 g) Silica
Cartridge の溶出パターン (%)

溶媒	画分	ベンゾ[g,h,i] ペリレン- $^{13}\text{C}_{12}$	クリセン- $^{13}\text{C}_6$	ピレン- $^{13}\text{C}_3$
ヘキサン	0-8 mL	0	0	0
ジクロロメタ ン/ヘキサン (5:95)	0-3 mL	0	0	1
	3-6 mL	0	0	57
	6-9 mL	26	43	45
	9-12 mL	66	53	2
	12-15 mL	10	4	0
	15-18 mL	2	0	0
	18-21 mL	0	0	0
	21-24 mL	0	0	0

〔環境試料の分析〕

本分析法により海域底質（姫路沖）を分析した結果、ベンゾ[*g,h,i*]ペリレンは 30 ng/g-dry、クリセンは 58 ng/g-dry、ピレンは 78 ng/g-dry 検出され、河川底質（姫路市近郊）では、ベンゾ[*g,h,i*]ペリレンは 1.7 ng/g-dry、クリセンは 2.7 ng/g-dry、ピレンは 3.6 ng/g-dry 検出された。一例として、添加回収試験に用いた海域底質（姫路沖）のクロマトグラムを図 24-1～図 24-4 に示す。また、本分析法はサロゲート内標準に PAHs 16 物質 ^{13}C 内標準液を用いているため、参考として対象外物質を含む 16 種 PAHs についてのサロゲート回収率を表 15 に示す。

表 15 海域底質（姫路沖）分析時における PAHs 16 物質のサロゲート回収率 (%)

物質名	サロゲート 回収率 (%)
ベンゾ[<i>g,h,i</i>]ペリレン- $^{13}\text{C}_{12}$	86.5
クリセン- $^{13}\text{C}_{12}$	88.4
ピレン- $^{13}\text{C}_{12}$	89.1
ナフタレン- $^{13}\text{C}_6$	80.2
アセナフチレン- $^{13}\text{C}_6$	87.0
アセナフテン- $^{13}\text{C}_6$	90.3
フルオレン- $^{13}\text{C}_6$	94.4
フェナントレン- $^{13}\text{C}_6$	101.1
アントラセン- $^{13}\text{C}_6$	94.2
フルオランテン- $^{13}\text{C}_6$	94.9
ベンゾ[<i>a</i>]アントラセン- $^{13}\text{C}_6$	92.1
ベンゾ[<i>b</i>]フルオランテン- $^{13}\text{C}_6$	99.5
ベンゾ[<i>k</i>]フルオランテン- $^{13}\text{C}_6$	94.0
ベンゾ[<i>a</i>]ピレン- $^{13}\text{C}_4$	102.3
インデノ[1,2,3- <i>c,d</i>]ピレン- $^{13}\text{C}_6$	96.0
ジベンゾ[<i>a,h</i>]アントラセン- $^{13}\text{C}_6$	78.1

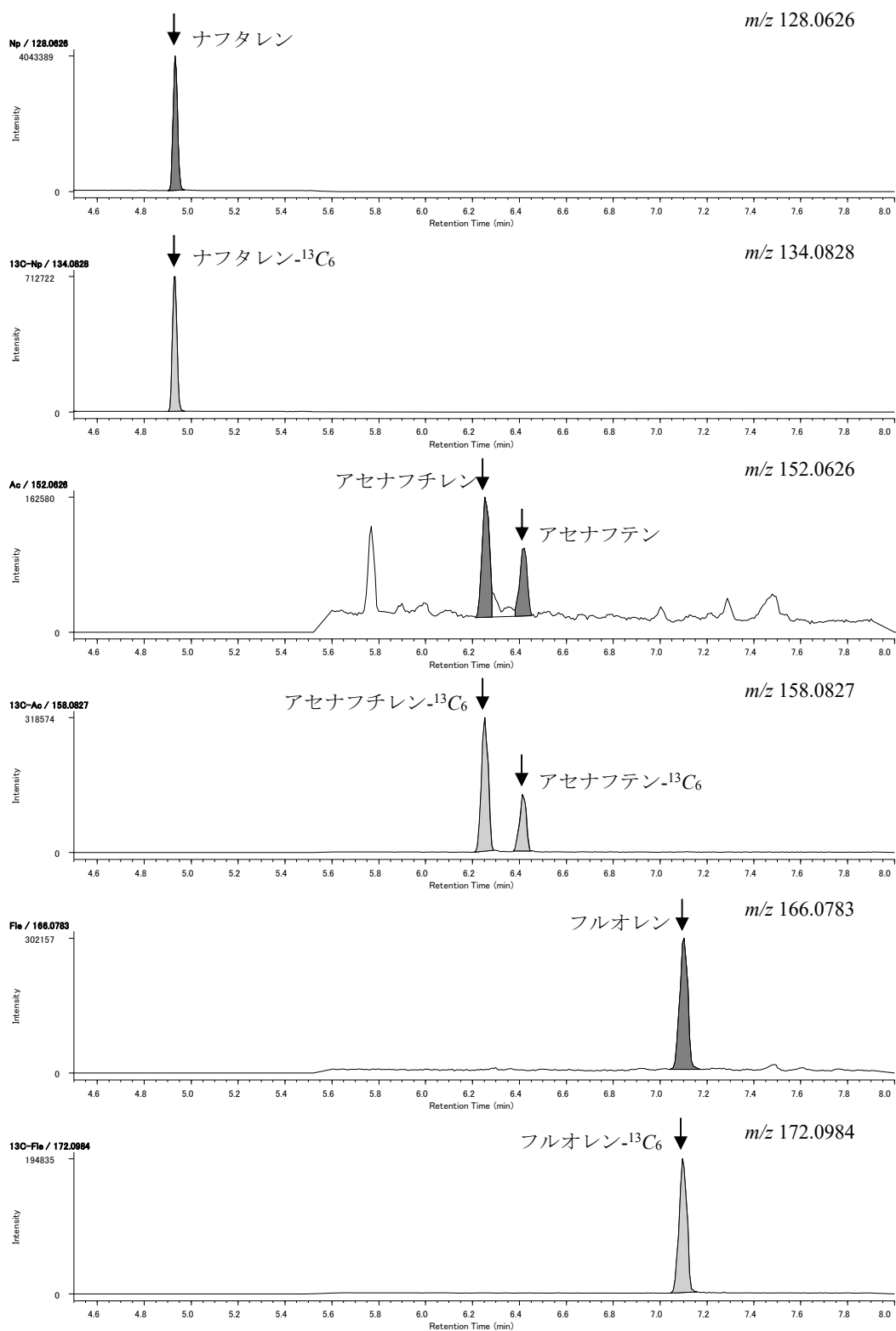


図 24-1 底質試料クロマトグラム (R.T. : 4.5~8.0 min)

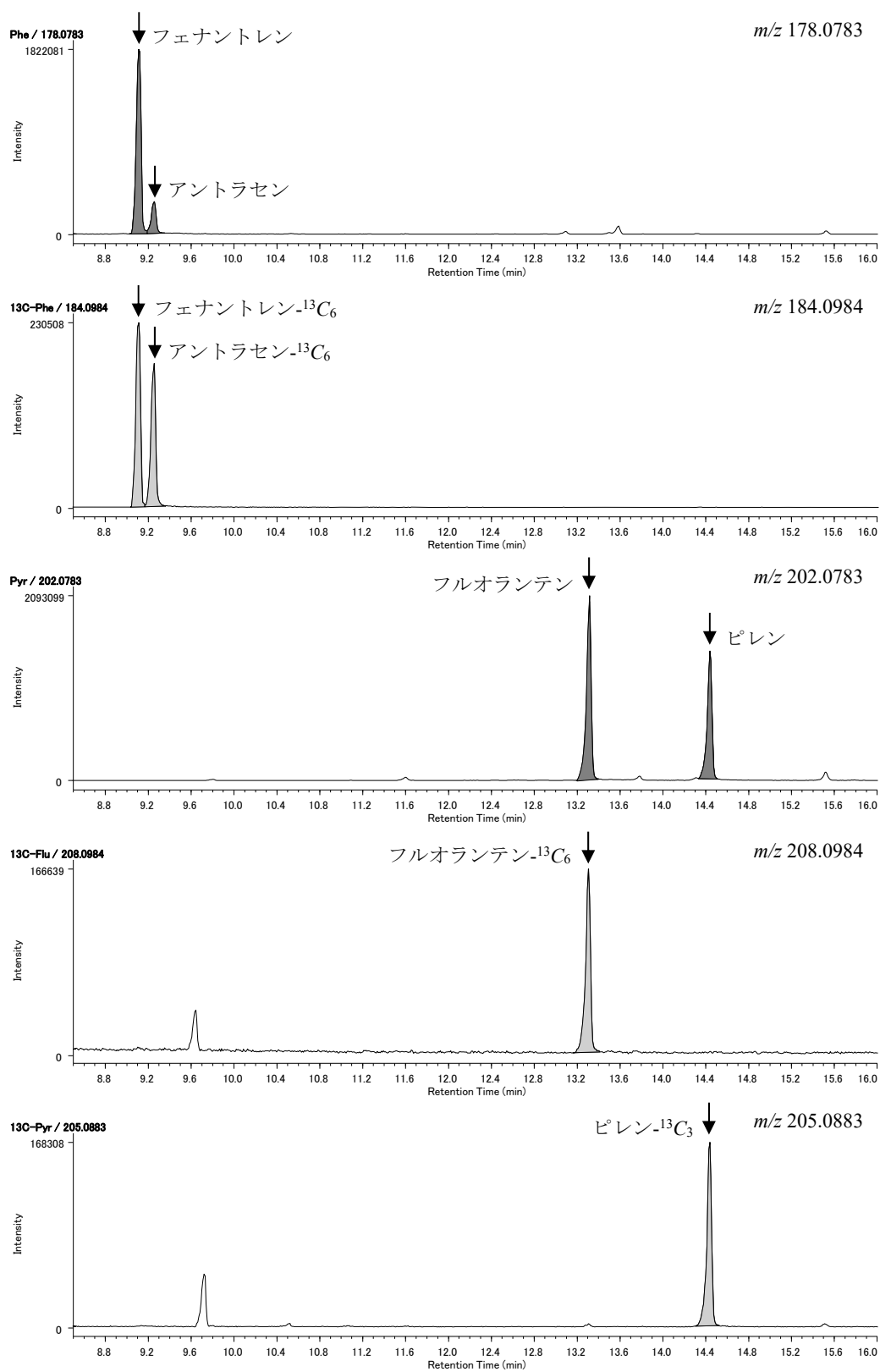


図 24-2 底質試料クロマトグラム (R.T. : 8.5~16.0 min)

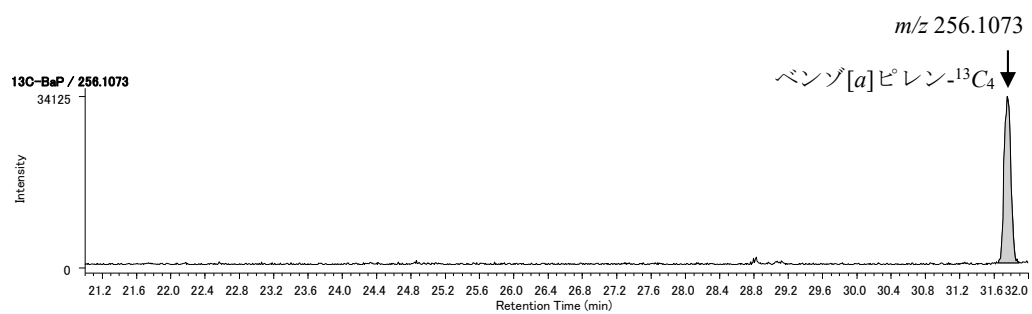
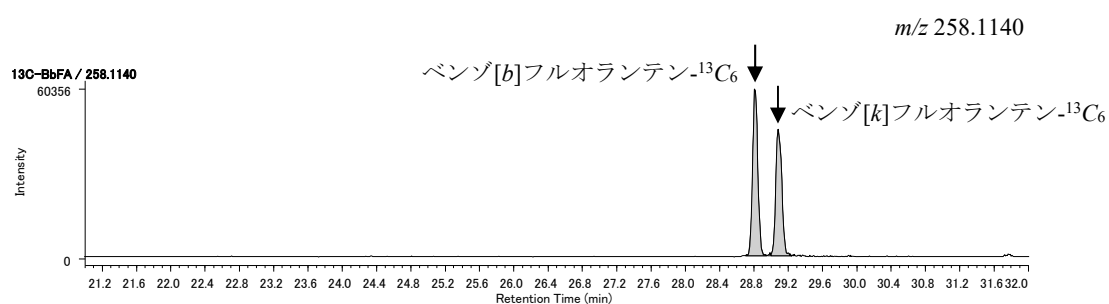
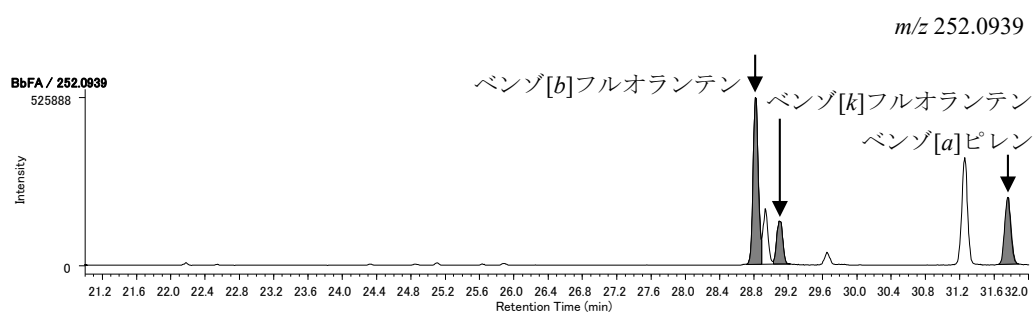
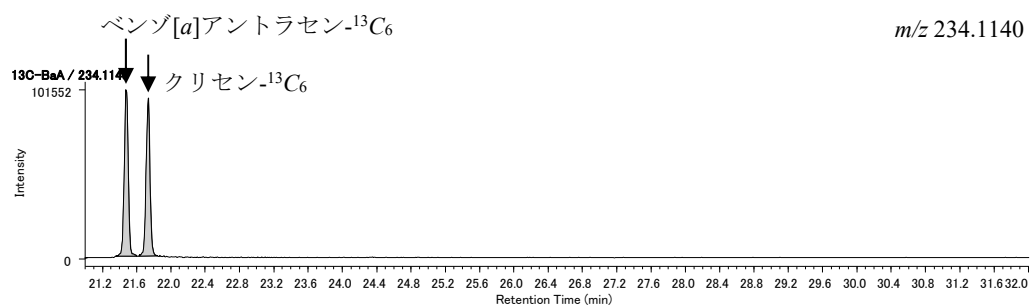
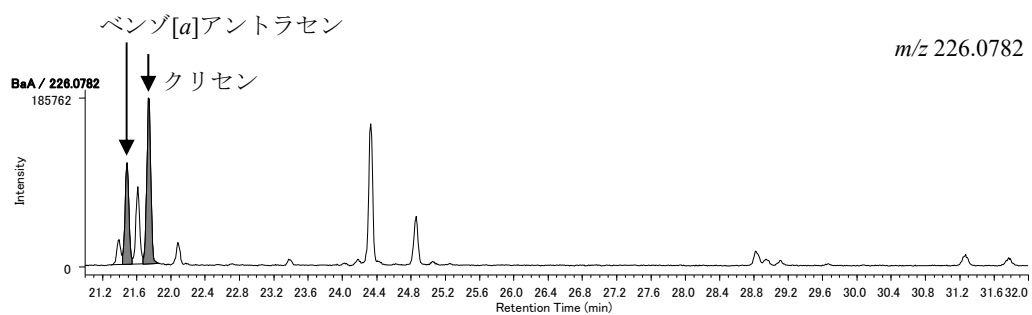


図 24-3 底質試料クロマトグラム (R.T. : 21.0~32.0 min)

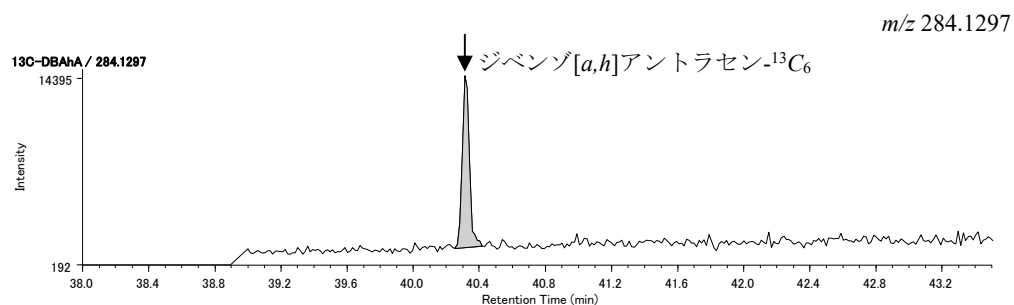
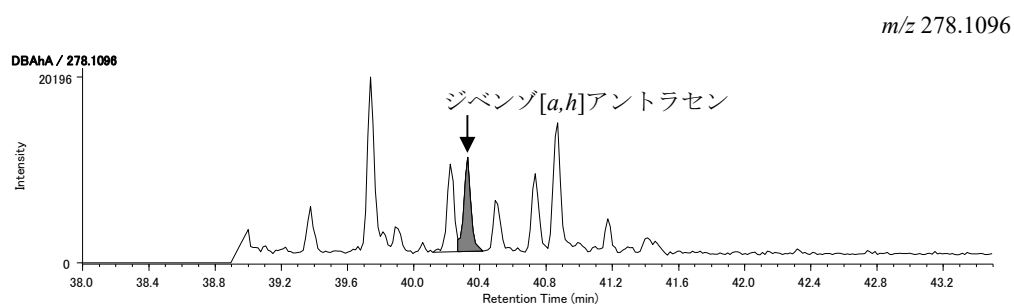
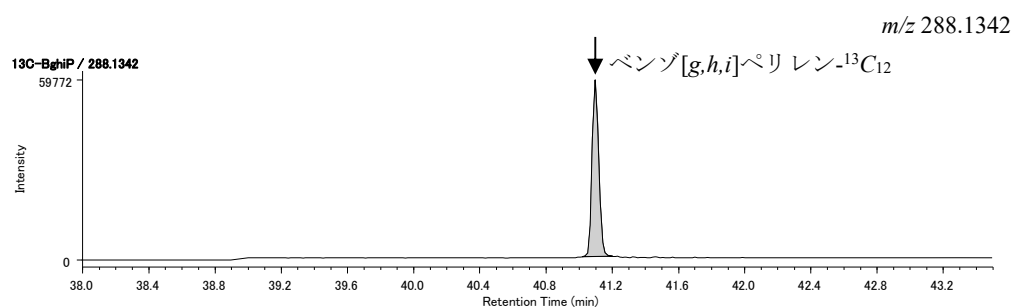
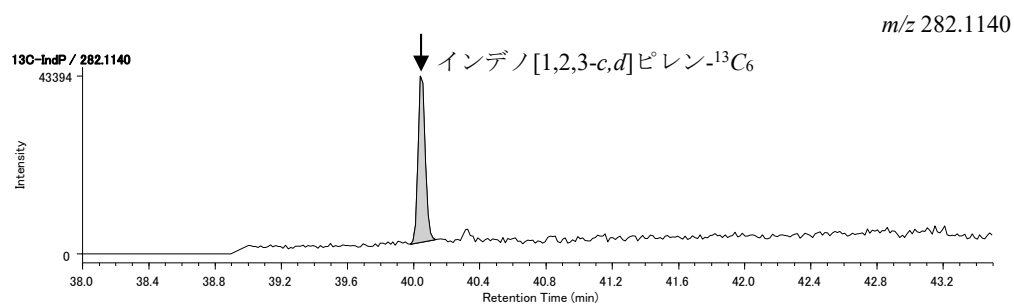
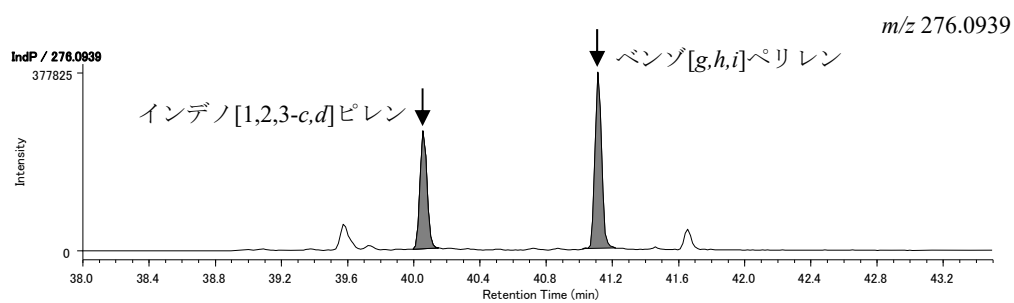


図 24-4 底質試料クロマトグラム (R.T. : 38.0~43.5 min)

【評価】

本分析法におけるベンゾ[g,h,i]ペリレン、クリセン及びピレンの検量線は、いずれも 0.50～1000 ng/mL の濃度範囲で $R^2 > 0.999$ であり、良好な直線性が得られた。ベンゾ[g,h,i]ペリレン、クリセン及びピレンの MDL はそれぞれ 0.51 ng/g-dry、0.77 ng/g-dry、0.93 ng/g-dry で、MQL は 1.3 ng/g-dry、2.0 ng/g-dry、2.4 ng/g-dry であった。底質試料を用いた添加回収試験（添加量 1000 ng）の結果は、ベンゾ[g,h,i]ペリレンの回収率が 86%（サロゲート回収率 84%、変動係数 5.4%）、クリセンの回収率が 88%（サロゲート回収率 95%、変動係数 6.3%）、ピレンの回収率が 93%（サロゲート回収率 95%、変動係数 3.7%）であった。海域底質（姫路沖）からはベンゾ[g,h,i]ペリレンが 30 ng/g-dry、クリセンが 58 ng/g-dry、ピレンが 78 ng/g-dry 検出され、河川底質（姫路市近郊）からはベンゾ[g,h,i]ペリレンが 1.7 ng/g-dry、クリセンが 2.7 ng/g-dry、ピレンが 3.6 ng/g-dry 検出された。クリセン及びピレンは、操作ブランクからそれぞれ 0.10 ng/g-dry 程度検出されるが、操作ブランク試験を同時に実施することで、底質試料中に 1 ng/g-dry レベルで存在するベンゾ[g,h,i]ペリレン、クリセン、ピレンの定量に適用可能であると判断される。

【参考文献】

- 1) 環境庁環境保健部環境安全課：平成 10 年度化学物質分析法開発調査報告書（その 2）（多環芳香族炭化水素類（PAHs）の分析法，岡山県環境保健センター），1-70 (1998)
- 2) 吉岡敏行，藤原博一，山辺真一，浦山豊弘：有害化学物質の環境汚染実態の解明と分析技術の開発に関する研究 ―GC/MSを用いた水質中多環芳香族炭化水素（PAH）の多成分分析法の検討，岡山県環境保健センター年報，35，35-42 (2011)
- 3) 環境省総合環境政策局環境保健部環境安全課：平成29年度化学物質分析法開発調査報告書（ベンゾ[a]ピレン，（公財）ひょうご環境創造協会 兵庫県環境研究センター），352-383 (2018)

【担当者連絡先】

所属先名称：日鉄テクノロジー株式会社 広畑事業所

所属先住所：〒671-1123 姫路市広畑区富士町 1 番地

TEL：079-278-5595、FAX：079-278-5020

担当者氏名：丸田秋穂、小紫典子、橋本圭介

E-mail：maruta.akiho.sf8@nstec.nipponsteel.com

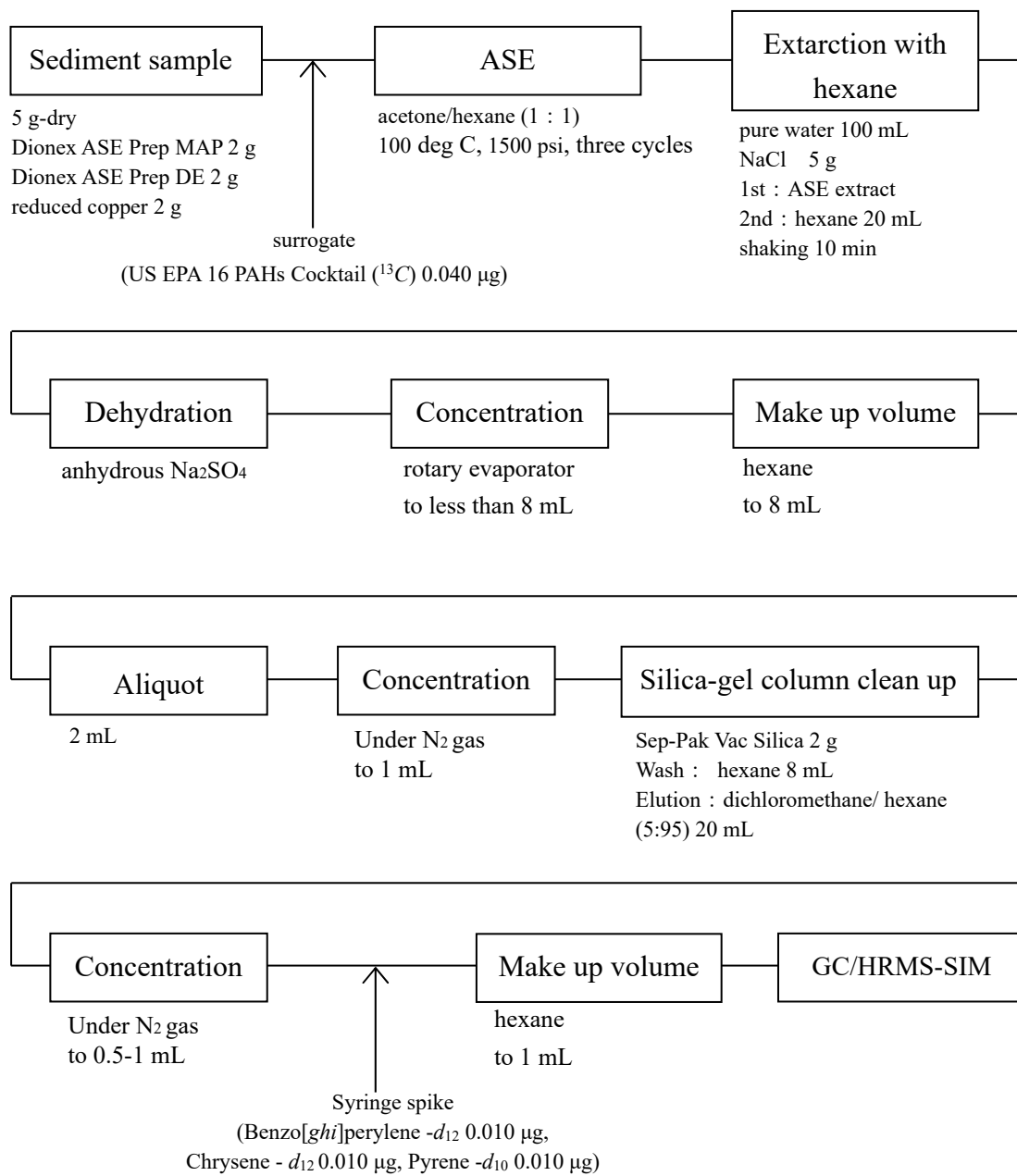
komurasaki.noriko.6cg@nstec.nipponsteel.com

hashimoto.keisuke.77a@nstec.nipponsteel.com

Benzo[ghi]perylene, Chrysene, Pyrene

This method has been developed for the determination of benzo[ghi]perylene, chrysene and pyrene in sediment samples by gas chromatography/high-resolution mass spectrometry with selected-ion monitoring (GC/HRMS-SIM). A sediment sample (5 g-dry), 2 g of Dionex ASE Prep DE, 2 g of Dionex ASE Prep MAP and 2 g of reduced copper are mixed, and then are spiked with 40 ng each of benzo[ghi]perylene- $^{13}\text{C}_{12}$, chrysene- $^{13}\text{C}_6$ and pyrene- $^{13}\text{C}_3$ as surrogates. The mixture is extracted with acetone/hexane (1:1) by accelerated solvent extraction (100°C, 1500 psi, 3 cycles). The extract is transferred to a separatory funnel containing 100 mL of purified water and 5 g of sodium chloride and is shaken for 10 min. After shaking, it is let alone for 10 min until the hexane phase perfectly separates from water. Then the hexane extract is transferred to a beaker. This extraction procedure is repeated again with another 20 mL of hexane, and the two hexane extracts are combined. The combined extract is dehydrated with anhydrous sodium sulfate, and then concentrated to 8 mL by rotary evaporation. Two-milliliter of the concentrate (8 mL) is concentrated to 1 mL under a gentle stream of nitrogen gas, and then, loaded to a Sep-Pak Vac 12 cc (2 g) silica cartridge. The cartridge is washed with 8 mL of hexane and is eluted with 20 mL of dichloromethane/hexane (5:95). The eluate is concentrated to 1 mL under a gentle stream of nitrogen gas. After 10 ng each of benzo[ghi]perylene- d_{12} , chrysene- d_{12} and pyrene- d_{10} are added to the concentrate as internal standards, the analytes are determined by GC/HRMS-SIM.

The instrument detection limits (IDL) of benzo[ghi]perylene, chrysene and pyrene are 0.12 pg, 0.10 pg and 0.087 pg, respectively. The method detection limits (MDL) of benzo[ghi]perylene, chrysene and pyrene are 0.51 ng/g-dry, 0.77 ng/g-dry and 0.93 ng/g-dry, respectively. The method quantification limits (MQL) of benzo[ghi]perylene, chrysene and pyrene are 1.3 ng/g-dry, 2.0 ng/g-dry and 2.4 ng/g-dry, respectively. The averages of recoveries ($n = 7$) from 1000 ng each of benzo[ghi]perylene, chrysene and pyrene spiked to sediment samples were 86% (CV = 5.4%), 88% (CV = 6.3%) and 93% (CV = 3.7%), respectively. Using this method, the concentrations of benzo[ghi]perylene, chrysene and pyrene in a sea sediment in Himeji city were 30 ng/g-dry, 58 ng/g-dry and 78 ng/g-dry, respectively, and in a river sediment near Himeji city were 1.7 ng/g-dry, 2.7 ng/g-dry and 3.6 ng/g-dry, respectively.



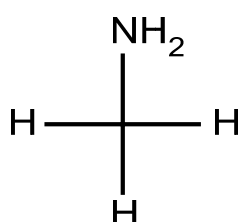
物質名	分析法フローチャート	備 考
[1] ベンゾ[g,h,i]ペ リレン 別名： 1,12-ベンゾペ リレン 1,12-ベンズペ リレン	底質試料 湿重量 10 g-wet (乾泥 5 g-dry 相当) ポリマー 2 g 珪藻土 2 g 還元銅 (粒状) 2 g 高速溶媒抽出 アセトン/ヘキサン(1 : 1) 100°C 1500psi × 3 回 サロゲート添加 (PAHs 16 物質 ¹³C 内標準液 0.040 µg) 2 回 ヘキサン転溶 精製水 100 mL NaCl 5 g 1 回目 : ASE 抽出液 2 回目 : ヘキサン 20 mL 振とう 10 min 静置 10 min 脱水 無水硫酸ナトリウム 濃縮 ロータリー エバポレータ 35°C 定容 ヘキサン 8 mL 分取 2 mL 濃縮 窒素気流下 1 mL まで クリーンアップ Sep-Pak Vac Silica 2 g 洗浄 : ヘキサン 8 mL (廃棄) 溶出 : ジクロロメタン/ヘキサン (5:95) 20 mL 濃縮 窒素気流下 0.5~1 mL まで シリンジスパイク添加 (ベンゾ[g,h,i]ペリレン-<i>d</i>₁₂ 0.010 µg クリセン- <i>d</i>₁₂ 0.010 µg、ピレン-<i>d</i>₁₀ 0.010 µg) 定容 ヘキサン 1 mL GC/HRMS-SIM	分析原理： GC/HRMS-SIM 検出下限値： 【底質】(ng/g-dry) [1] 0.050 [2] 0.077 [3] 0.093 分析条件： 機器 GC: Agilent 7890B MS: JEOL JMS-800D カラム ZB-PAH-SeleCT 40 m × 0.18 mm、 0.14 µm
[2] クリセン 別名： 1,2,5,6-ジベン ゾナフタレン 1,2-ベンゾフェ ナントレン ベンゾ[a]フェ ナントレン	底質試料 湿重量 10 g-wet (乾泥 5 g-dry 相当) ポリマー 2 g 珪藻土 2 g 還元銅 (粒状) 2 g 高速溶媒抽出 アセトン/ヘキサン(1 : 1) 100°C 1500psi × 3 回 サロゲート添加 (PAHs 16 物質 ¹³C 内標準液 0.040 µg) 2 回 ヘキサン転溶 精製水 100 mL NaCl 5 g 1 回目 : ASE 抽出液 2 回目 : ヘキサン 20 mL 振とう 10 min 静置 10 min 脱水 無水硫酸ナトリウム 濃縮 ロータリー エバポレータ 35°C 定容 ヘキサン 8 mL 分取 2 mL 濃縮 窒素気流下 1 mL まで クリーンアップ Sep-Pak Vac Silica 2 g 洗浄 : ヘキサン 8 mL (廃棄) 溶出 : ジクロロメタン/ヘキサン (5:95) 20 mL 濃縮 窒素気流下 0.5~1 mL まで シリンジスパイク添加 (ベンゾ[g,h,i]ペリレン-<i>d</i>₁₂ 0.010 µg クリセン- <i>d</i>₁₂ 0.010 µg、ピレン-<i>d</i>₁₀ 0.010 µg) 定容 ヘキサン 1 mL GC/HRMS-SIM	分析原理： GC/HRMS-SIM 検出下限値： 【底質】(ng/g-dry) [1] 0.050 [2] 0.077 [3] 0.093 分析条件： 機器 GC: Agilent 7890B MS: JEOL JMS-800D カラム ZB-PAH-SeleCT 40 m × 0.18 mm、 0.14 µm
[3] ピレン 別名： ベンゾ[d,e,f]フ ェナントレン β-ピレン	底質試料 湿重量 10 g-wet (乾泥 5 g-dry 相当) ポリマー 2 g 珪藻土 2 g 還元銅 (粒状) 2 g 高速溶媒抽出 アセトン/ヘキサン(1 : 1) 100°C 1500psi × 3 回 サロゲート添加 (PAHs 16 物質 ¹³C 内標準液 0.040 µg) 2 回 ヘキサン転溶 精製水 100 mL NaCl 5 g 1 回目 : ASE 抽出液 2 回目 : ヘキサン 20 mL 振とう 10 min 静置 10 min 脱水 無水硫酸ナトリウム 濃縮 ロータリー エバポレータ 35°C 定容 ヘキサン 8 mL 分取 2 mL 濃縮 窒素気流下 1 mL まで クリーンアップ Sep-Pak Vac Silica 2 g 洗浄 : ヘキサン 8 mL (廃棄) 溶出 : ジクロロメタン/ヘキサン (5:95) 20 mL 濃縮 窒素気流下 0.5~1 mL まで シリンジスパイク添加 (ベンゾ[g,h,i]ペリレン-<i>d</i>₁₂ 0.010 µg クリセン- <i>d</i>₁₂ 0.010 µg、ピレン-<i>d</i>₁₀ 0.010 µg) 定容 ヘキサン 1 mL GC/HRMS-SIM	分析原理： GC/HRMS-SIM 検出下限値： 【底質】(ng/g-dry) [1] 0.050 [2] 0.077 [3] 0.093 分析条件： 機器 GC: Agilent 7890B MS: JEOL JMS-800D カラム ZB-PAH-SeleCT 40 m × 0.18 mm、 0.14 µm

メチルアミン

Methylamine

別名：アミノメタン、メタナミン、モノメチルアミン
Aminomethane, Methanamine, Monomethylamine

【対象物質の構造】



CAS 番号：74-89-5 分子式：CH₅N

【物理化学的性状】

項目	値	測定条件	備考	出典
分子量	31.06	-	-	1
モノアイソトピック質量	31.042	-	-	
比重	0.7	液体	-	2
沸点	-6°C	-	-	2
融点	-93°C	-	-	2
蒸気圧	3040 hPa	20°C	-	2
水溶解度	非常に良く溶ける	25°C	-	2
log P _{ow}	-0.71	-	-	2

【毒性、用途等】

〔毒性〕

[健康に対する有害性]

急性毒性（経口）	: 飲み込むと有毒* ¹
急性毒性（吸入：ガス）	: 吸入すると有害* ¹
皮膚腐食性／刺激性	: 重篤な皮膚の薬傷及び眼の損傷* ¹
目に対する重篤な損傷／目刺激性	: 重篤な眼の損傷* ¹
特定標的臓器毒性（単回暴露）	: 臓器の障害（呼吸器系）* ¹
特定標的臓器毒性（反復暴露）	: 長期にわたる、又は反復暴露による

臓器の障害のおそれ（呼吸器系、肝臓）*1

〔用途〕

農薬、医薬、有機ゴム（加硫促進剤）原料¹⁾

出典

- 1) 独立行政法人製品評価技術基盤機構ホームページ「化学物質総合情報提供システム (CHRIP)」
- 2) IPCS, International Programme on Chemical Safety (2002) ICSC, International Chemical Safety Cards, Geneva.

§1 分析法

(1) 分析法の概要

大気試料を捕集管（シリカ系カートリッジ）に通気してメチルアミンを捕集する。捕集管は、精製水で抽出した後、誘導体化試薬を添加し、メチルアミンを *N*-メチルベンズアミドに誘導体化して GC/MS-SIM 法で測定する。

なお、生成物である *N*-メチルベンズアミドは、大気中にも存在する可能性があることから、誘導体化試薬を添加しない分析操作も並行して行う必要があり、その影響を把握するため捕集ブランク試験を並行して実施する。

(2) 試薬・器具

【試薬】（注1）

メチルアミン	: AccuStandard 製（2500 µg/mL 水溶液）
メチル- <i>d</i> ₃ -アミン塩酸塩	: Cambridge Isotope Laboratories 製（メチル- <i>d</i> ₃ , 98 %）
メタノール	: 富士フイルム和光純薬製（残留農薬試験・PCB 試験用 5000 倍濃縮）
28%アンモニア水	: 富士フイルム和光純薬製 試薬特級
塩化ベンゾイル	: 富士フイルム和光純薬製 和光特級
トルエン	: 富士フイルム和光純薬製（残留農薬試験・PCB 試験用 5000 倍濃縮）
<i>L</i> (+)-アスコルビン酸	: 富士フイルム和光純薬製 試薬特級
塩化ナトリウム	: 富士フイルム和光純薬製（残留農薬試験・PCB

試験用)
精製水 : Millipore 製超純水製造装置により精製した水
捕集管 : Waters 製 Sep-Pak Silica Plus light cartridge, 充填量 120 mg, 粒子径 55~105 μm

【標準液の調製】

〔標準液〕

市販のメチルアミン (2500 $\mu\text{g/mL}$ 水溶液) を標準原液とする。標準原液を 20 μL 分取し、メタノールで 1.0 mL として、50 $\mu\text{g/mL}$ の標準液を作成する。同様に、標準原液を 40 μL 分取し、メタノールで 1.0 mL として 100 $\mu\text{g/mL}$ の標準液を作成する。

〔内標準液〕

【試薬】の項のメチル- d_3 -アミン塩酸塩を迅速に 51.7 mg 精秤し (注 2)、精製水で 10 mL として、メチルアミン- d_3 として 2500 $\mu\text{g/mL}$ 程度の内標準原液を調製する。これを 40 μL 分取し、メタノールで 1 mL としてメチルアミン- d_3 濃度 100 $\mu\text{g/mL}$ 程度の内標準液を作成する。

〔検量線用標準液〕

3 mL の精製水を入れたポリプロピレン製遠心管に、50 $\mu\text{g/mL}$ 及び 100 $\mu\text{g/mL}$ の標準液を適量添加し、最終液 1 mL 中の濃度が 50 ng/mL から 2000 ng/mL の検量線用標準液を調製する。各ポリプロピレン製遠心管に、内標準液 2.0 μL 、28% アンモニア水 100 μL 、トルエン 1 mL 及び塩化ベンゾイル (誘導体化試薬) 5 μL の順に加え (注 3)、30 分間振とうし、誘導体化した後、5 分間静置し、トルエン層をパスツールピペットで GC バイアルに分取したものを検量線用標準液とする。

【器具】

ポリプロピレン製遠心管 (15 mL) (注 4)、マイクロシリンジ (注 5)、注射筒 (10 mL)、マイクロピペット、パスツールピペット、小型ポンプ ((株) ガステック製自動ガス採取装置 GSP-400FT) (注 1)、テフロンチューブ (外径 6 mm、内径 4 mm)、ガラスウール、振とう機 (宮本理研製 MW-YS 型) またはローター (ASY 製 RKVSD) (注 1)

(3) 分析法

【捕集管の調製】

L(+)-アスコルビン酸及び塩化ナトリウムをそれぞれ 6 g 量り取り、精製水 200 mL に溶解したコンディショニング液を調製する。捕集管(Sep-Pak Silica Plus light cartridge) を 6 mL 程度のコンディショニング液で洗浄（注 6）し、0.2 L/min 程度の流速で 60 分程度窒素ガス（ガス純度 99.99%以上）を通気して乾燥する。調製後の捕集管は両端を密栓して保存する。

【試料の捕集及び保存等】

大気試料採取用ポンプに捕集管をセットし、100 mL/min の流量で 24 時間、大気試料を捕集する。大気捕集後の捕集管は密栓し、チャック付きアルミパック等に入れ、分析時まで冷暗所で保存する。

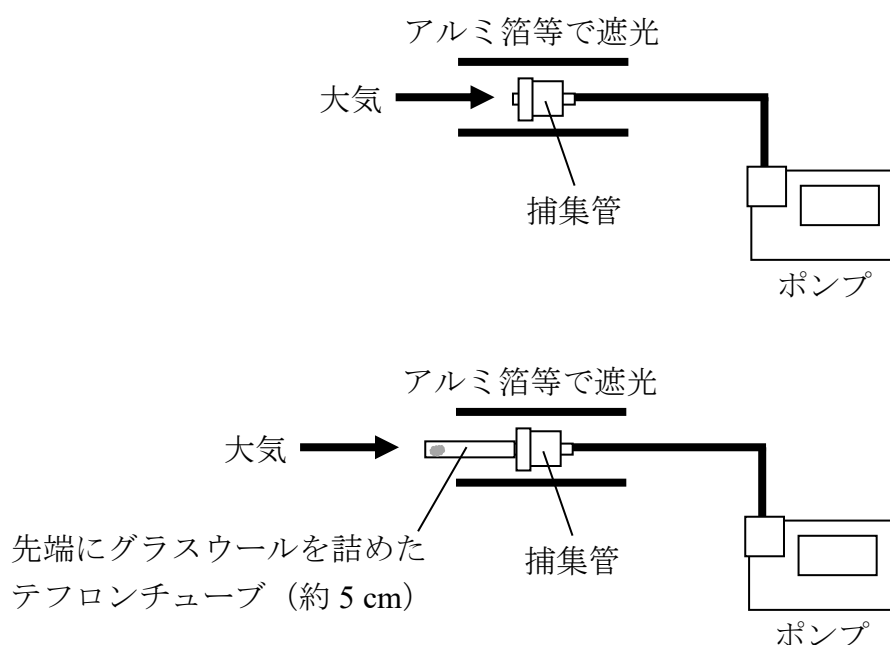


図1 試料採取装置
（上図：環境試料採取時、下図：添加回収試験時）

添加回収試験においては、調査対象物質が気体又は粒子状で捕集材に到達するように行うことが望ましいため、捕集管の先端にグラスウールを詰めたテフロンチューブを接続した。

また、以下の項で説明する誘導体化反応の生成物である *N*-メチルベンズアミドは、有機合成原料としての用途で使用されており、環境中から検出される可能性がある。そのため、添加回収試験時や環境試料測定時など、大気の捕集を伴う場合は、1つ以上の捕集管を捕集ブランクとして追加する。捕集方法等は他

の試料と同様である。

【誘導体化反応】

メチルアミンの塩化ベンゾイルによる誘導体化反応を図 2 に示す。誘導体化は脱塩酸縮合（ショッテン・バウマン反応）で進み、反応は無機塩基性水溶液中或いは非プロトン性溶媒中でも進行する。通常、生成する塩化水素を中和するために水酸化ナトリウムがよく用いられるが、メチルアミンにおいては、水酸化ナトリウムでは誘導体化が進まず、炭酸ナトリウムでは効率が悪かったが、アンモニア水を添加したところ、よい結果が得られたためこれを採用した。

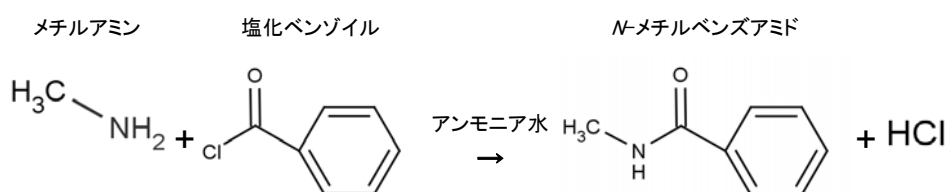


図 2 メチルアミンの誘導体化反応

【試料の前処理及び試験液の調製】

大気試料を捕集した捕集管に、試料捕集方向と逆方向から対象物質を精製水で溶出（バックフラッシュ）し、ポリプロピレン製遠心管に受ける。溶出液は 3 mL 程度（注 7）とし、そこに内標準液 2.0 μL 、28% アンモニア水 100 μL 、トルエン 1 mL 及び塩化ベンゾイル 5 μL の順に加え、振とう機（往復 200rpm 程度）またはローテーター（回転 50 rpm 程度）で 30 分振とうし、誘導体化する。振とう後は 5 分間静置し、トルエン層をパスツールピペットで GC バイアルに分取したものを試験液とする（注 8）。

【捕集ブランク試料の前処理及び試験液の調製】

大気中に存在する N-メチルベンズアミドの影響を評価するため、大気試料は同時に 2 試料を採取する。捕集した捕集管のうち一本以上について内標準液 2.0 μL 及び塩化ベンゾイルを添加しないで誘導体化操作を行い、捕集ブランク試料とする。捕集ブランク試料から N-メチルベンズアミドが確認された場合、大気中の対象物質の濃度から捕集ブランク試料の濃度を差し引く。なお、捕集ブランク試料の定量は絶対検量線法で行う。

【空試験液の調製】

試料捕集に用いる捕集管を【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 測定条件〕

使用機種	: GC : Agilent 6890N、MS : Agilent 5973
使用カラム	: DB-17ms (Agilent 製) 60 m × 0.25 mm, 0.25 μm
カラム温度	: 40°C (1 min) → 10°C/min → 230°C (10 min)
注入口温度	: 230°C
試料導入方法	: スプリット (スプリット比 20 : 1)
試料注入量	: 1 μL
キャリアーガス	: He 1 mL/min (定流量)
インターフェイス温度	: 230°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	: <i>N</i> -メチルベンズアミド <i>m/z</i> 135 (定量用)、 <i>m/z</i> 134 (確認用) : <i>N</i> -メチル- <i>d</i> ₃ -ベンズアミド <i>m/z</i> 138

〔検量線〕

検量線用標準液 1 μL を GC/MS に注入し、対象物質の誘導体化物 (*N*-メチルベンズアミド) と内標準の誘導体化物 (*N*-メチル-*d*₃-ベンズアミド) 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、*N*-メチルベンズアミドと *N*-メチル-*d*₃-ベンズアミド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。

$$C = (R \times Q / V) \times ((273 + t) / (273 + 20.0)) \times (101.3 / P)$$

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))

V : 試料量 (m^3)
 T : 捕集時の平均気温 ($^{\circ}\text{C}$)
 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。

$$Q = 200 \text{ ng}$$

(= 添加した内標準の濃度 ($100 \text{ ng}/\mu\text{L}$) $\times$ 添加した内標準の容量 ($2.0 \mu\text{L}$))

$$V = 0.144 \text{ (m}^3\text{)}$$

すなわち、

$$C = R \times 1.39 \times 10^3 \times ((273 + t) / (273 + 20.0)) \times (101.3 / P) \text{ (ng/m}^3\text{)}$$

である。

捕集ブランク試料から *N*-メチルベンズアミドが確認された場合は、その濃度を算出し、算出された対象物質の大気中濃度から差し引く。

〔装置検出下限値 (IDL)〕

本分析に用いた GC/MS (Agilent 6890N/5973) の IDL を表 1 に示す。

表 1 IDL の算出結果

物質名	IDL (pg)	試料量 (m^3)	最終液量 (mL)	IDL 試料換算値 (ng/m^3)
メチルアミン	9.2	0.14	1.0	64

〔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。

表 2 MDL 及び MQL の算出結果

物質名	試料量 (m^3)	最終液量 (mL)	MDL (ng/m^3)	MQL (ng/m^3)
メチルアミン	0.14	1.0	66	170

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よい。

アンモニア水は、毒物及び劇物取締法の劇物に該当する。取扱いの際は、手袋やゴーグルを着用するなど、安全面に十分注意すること。

塩化ベンゾイルは消防法の危険物第四類第三石油類に、また毒物及び劇物取締法の劇物に該当する。取扱いの際は、手袋やゴーグルを着用するなど、安全面に十分注意すること。

(注 2) メチル- d_3 -アミン塩酸塩は潮解が早いため、迅速な秤量が求められる。短時間で、正確に内標準原液が 2500 $\mu\text{g/mL}$ となる量を量り取ることは難しいため、近い量まで秤量し、秤量値から濃度を求めることが望ましい。

メチル- d_3 -アミン塩酸塩の分子量は 70.54、メチル- d_3 -アミンの分子量は 34.08 であるから、25 mg のメチルアミンに相当する量のメチルアミン塩酸塩は 51.7 mg である。

(注 3) 3 mL の精製水にメチルアミン塩酸塩を 300 ng、アンモニア水 100 μL 、トルエン 1 mL を加えた後、塩化ベンゾイル 5 μL の添加先を水層にした場合とトルエン層にした場合で、*N*-メチルベンズアミドのピーク高さを用いて簡易的に比較した結果を表 3 に示す。

塩化ベンゾイルの添加先は、水層であってもトルエン層であっても、表 3 のとおりピーク高さに差は見られなかったが、本検討ではトルエン層に添加することに統一した。

(注 4) 使用後のポリプロピレン製遠心管は、トルエンで洗浄した後、液体洗浄剤（中性・無リン）を添加した水道水に浸漬・超音波洗浄を行い、最後に精製水ですすぎを行えば、再利用可能である。しかし、洗浄が不十分であるとコンタミネーションが生じることやポリプロピレンの耐久性などを考慮して再利用すること。

(注 5) 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ことが望ましい。

(注 6) Sep-Pak Silica Plus light cartridge のコンディショニングは、捕集材へコンディショニング液を十分に浸潤させるため次に示す手順で行った。

① 3 mL のコンディショニング液を通水し、液で満たした状態で 5 分程度放置した。

② 再度、3 mL のコンディショニング液を通水した後、数 mL の空気を通気して過剰なコンディショニング液を排出した後、更に窒素ガス

を 60 分通気(0.2 L/min)して乾燥した。

表 3 コンディショニング方法の比較 (n = 2)

抽出法	試料量 (m ³)	添加量 (ng)	検出濃度 (ng/m ³)	回収率 (%)
通常法	0.14	100	555	80
上記の本法	0.14	100	648	93

(注 7) Sep-Pak Silica Plus light cartridge からの精製水 3 mL を用いた溶出は次の手順で行った。

- ① 注射筒を用いて捕集管から精製水が溢れない程度まで捕集管を精製水で満たし、5 分程度放置した。
- ② 放置後、注射筒で精製水を送り、液滴が繋がらない程度の速度で 1 mL 抽出し、さらに 1 分程度放置した。
- ③ ②の操作を合計 3 回繰り返し、3 mL 程度の抽出液を得た。

表 4 溶出方法の比較 (n = 2)

抽出法	試料量 (m ³)	添加量 (ng)	検出濃度 (ng/m ³)	回収率 (%)
通常法	0.14	100	608	88
上記の本法	0.14	100	648	93

(注 8) 大気中にメチルアミン塩酸塩等の塩類が含まれる場合、これらの塩類はメチルアミンと同時に捕集される可能性があり、前処理工程にて誘導体化され、N-メチルベンズアミドとして定量されるため、本分析法ではメチルアミンとこれらの塩類を区別することができない。

従って、本分析法での定量結果は、メチルアミンの他、メチルアミン塩酸塩等の塩類を含む可能性がある。

(注 9) IDL は環境省「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 28 年 3 月)に従って、表 5 のとおり算出した。また、IDL 測定時のクロマトグラムを図 3 に示した。

表 5 IDL の算出結果

物質名	メチルアミン
試料量 (m ³)	0.144
最終液量 (mL)	1.0
注入液濃度 (ng/mL)	50
注入量 (pg)	50
装置注入液量 (μL)	1.0
結果 1 (pg)	50.4
結果 2 (pg)	52.3
結果 3 (pg)	52.8
結果 4 (pg)	52.1
結果 5 (pg)	51.0
結果 6 (pg)	54.7
結果 7 (pg)	57.3
平均値 (pg)	52.94
標準偏差(σ _{n-1}) (pg)	2.37
IDL (pg)*	9.2
IDL 試料換算値 (ng/m ³)	64
S/N 比	10
CV (%)	4.5

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

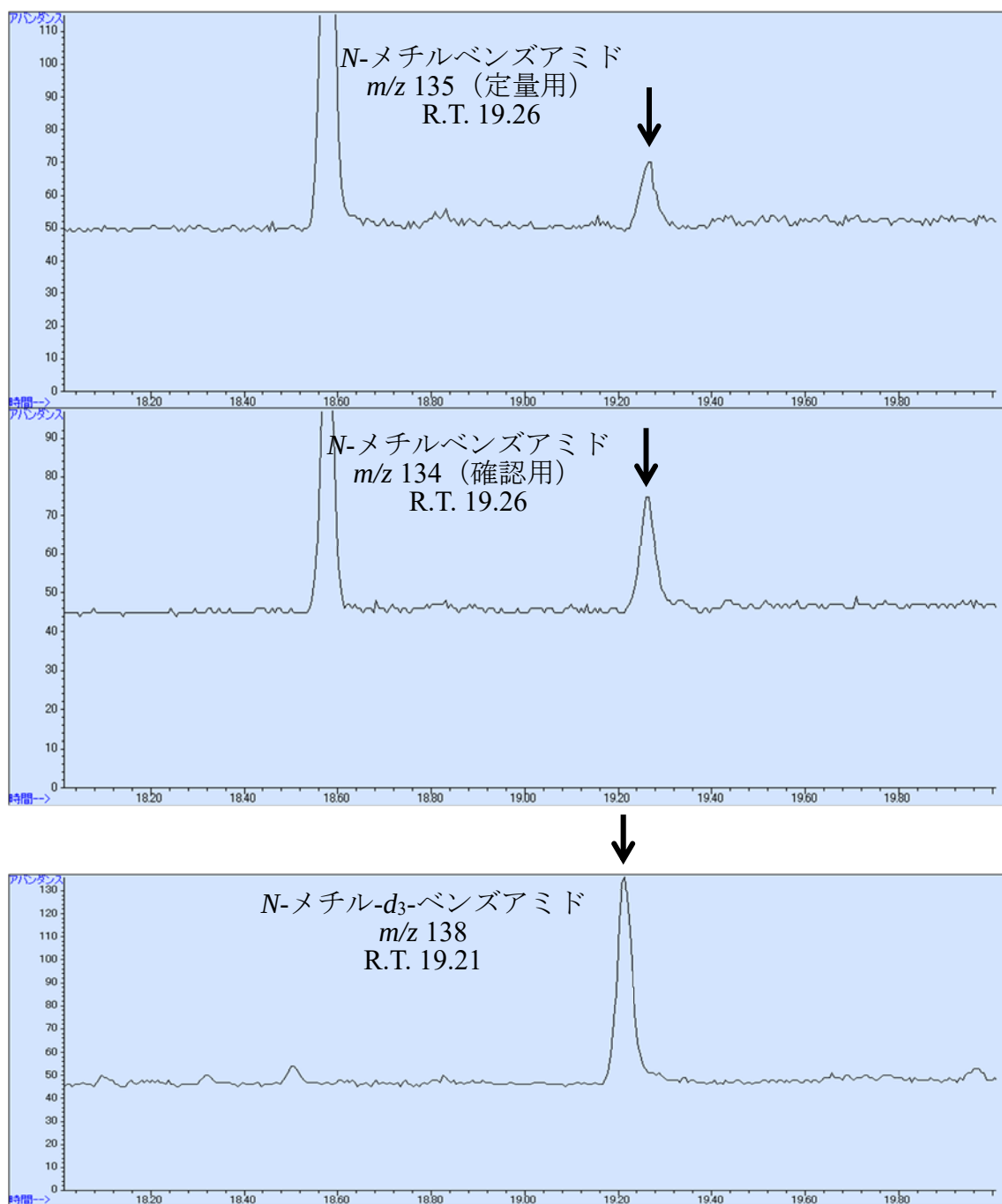


図3 IDL測定時のクロマトグラム
 (*N*-メチルベンズアミド : 50 ng/mL、
 内標準 *N*-メチル-*d*₃-ベンズアミド : 200 ng/mL)

(注 10) MDL 及び MQL は環境省「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 28 年 3 月)に従って、表 6 のとおり算出した。また、MDL 測定時のクロマトグラムを図 4 に示した。

表 6 MDL 及び MQL の算出結果

物質名	メチルアミン	回収率 (%)
試料量 (m ³)	0.144	-
標準添加量 (ng)	50	-
最終液量 (mL)	1.0	-
試料換算濃度 (ng/m ³)	350	-
注入液濃度 (ng/mL)	50	-
装置注入液量 (μL)	1.0	-
操作ブランク平均 (ng/m ³)* ¹	<66	-
無添加試料 (ng/m ³)* ²	<66	-
結果 1 (ng/m ³)	299	86
結果 2 (ng/m ³)	298	86
結果 3 (ng/m ³)	334	96
結果 4 (ng/m ³)	342	98
結果 5 (ng/m ³)	316	91
結果 6 (ng/m ³)	332	96
結果 7 (ng/m ³)	326	94
平均値 (ng/m ³)	321.0	92.4
標準偏差(σ _{n-1}) (ng/m ³)	17.1	-
MDL (ng/m ³)* ³	66	-
MQL (ng/m ³)* ⁴	170	-
S/N 比	47	-
CV (%)	5.3	-

*1 : 操作ブランク平均 : 空試験液を測定した値の平均値(n = 2)

*2 : 無添加試料 : 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(n = 1)

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

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

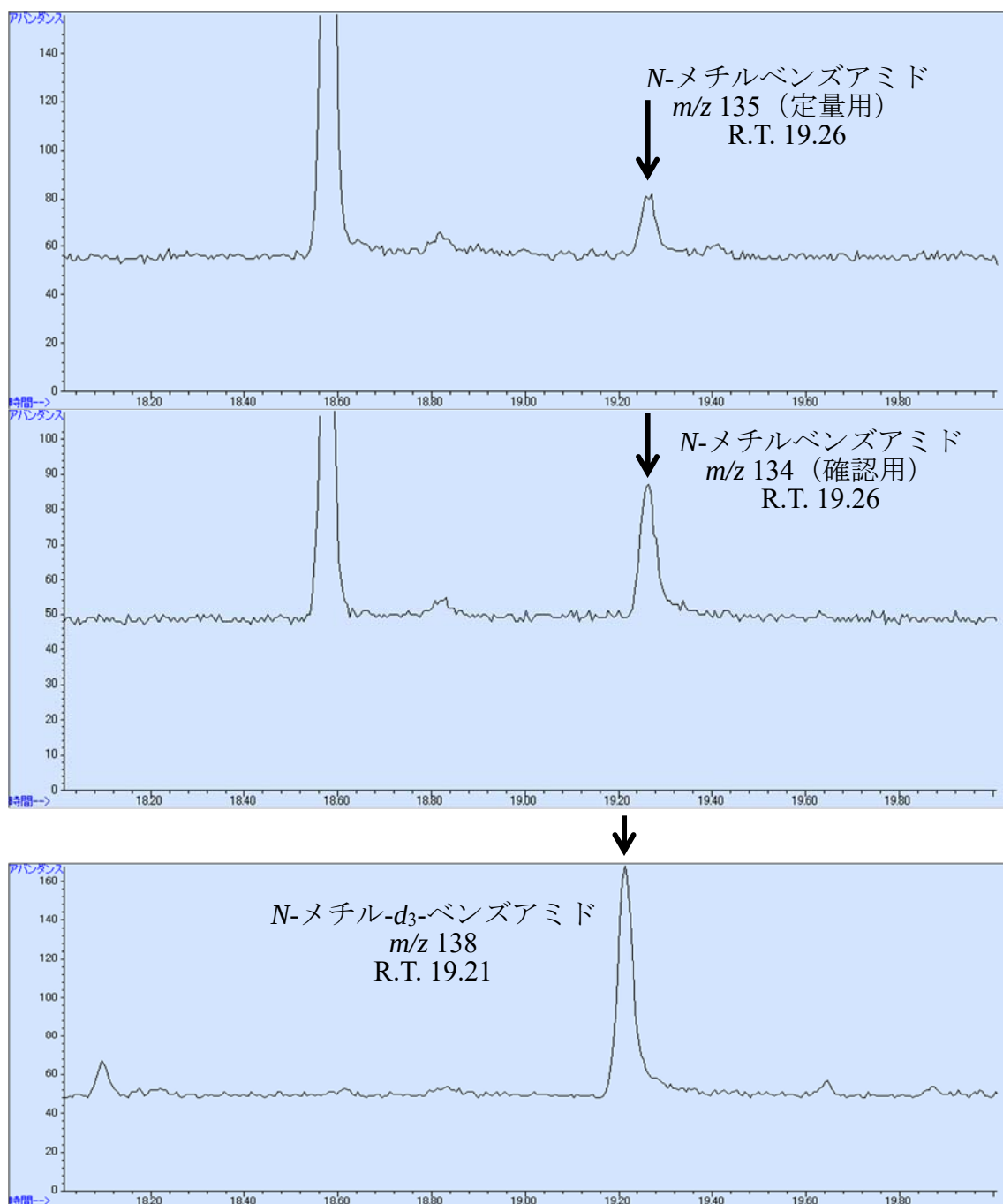


図4 MDL 測定時のクロマトグラム
 (N-メチルベンズアミド : 50 ng/mL、
 内標準 N-メチル-d₃-ベンズアミド : 200 ng/mL)

§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 5 に示す。

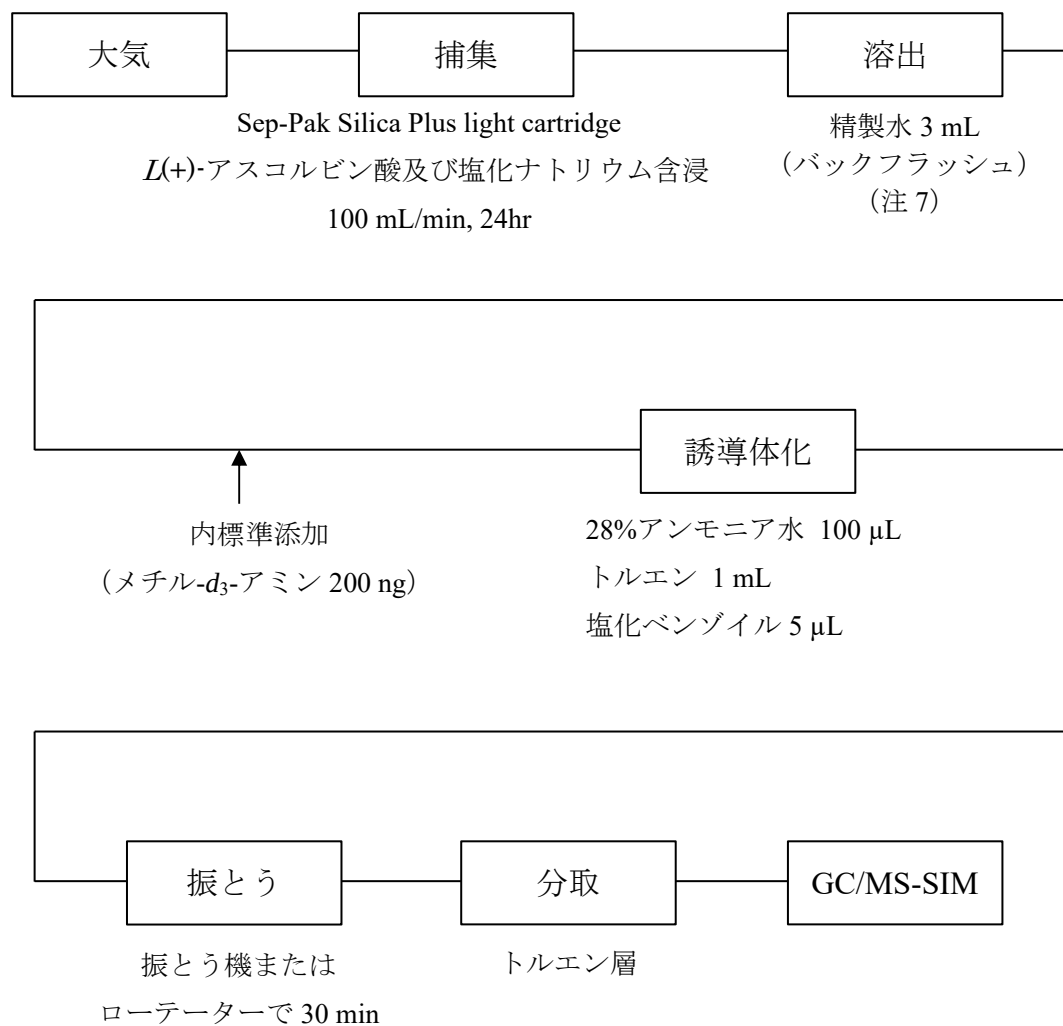


図 5 分析法のフローチャート

〔検量線〕

N-メチルベンズアミド（メチルアミンの誘導体化物）の検量線を図 6 に、検量線作成用データを表 7 に示す。また、検量線作成時のクロマトグラムを図 7 に示す。図 7 のとおり、*N*-メチルベンズアミドのピーク高さは *m/z*135 に比べ、*m/z*134 の方が高いがテーリングが大きいいため、*m/z*135 を定量用として採用した。

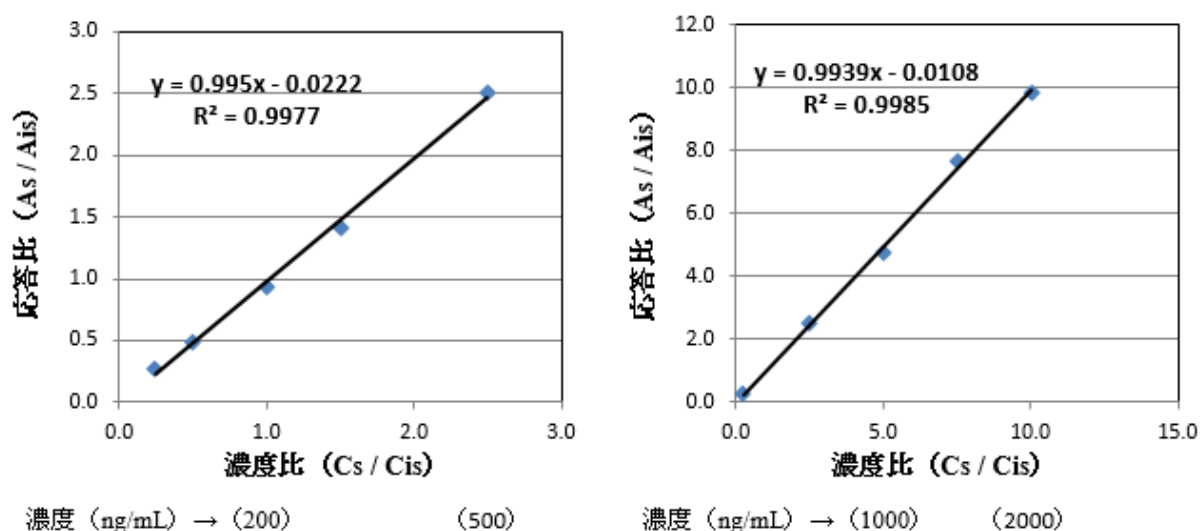


図 6 検量線

(低濃度域：50～500 ng/mL (左図)、高濃度域：50～2000 ng/mL (右図)、
内標準濃度：200 ng/mL)

表 7 検量線作成用データ

標準液濃度 (ng/mL) (Cs)	濃度比 (Cs/Cis*)	応答値		応答比 (As/Ais)
		対象物質 (As)	内標準物質(Ais)	
		【 <i>N</i> -メチル- ベンズアミド】 (<i>m/z</i> 135)	【 <i>N</i> -メチル- <i>d</i> ₃ - ベンズアミド】 (<i>m/z</i> 138)	
50	0.25	571	2172	0.263
100	0.50	962	1981	0.486
200	1.00	1899	2014	0.943
300	1.50	2907	2058	1.413
500	2.50	4739	1891	2.506
1000	5.0	10276	2159	4.760
1500	7.5	14730	1926	7.648
2000	10	19920	2019	9.866

*：内標準濃度 200 ng/mL(Cis)

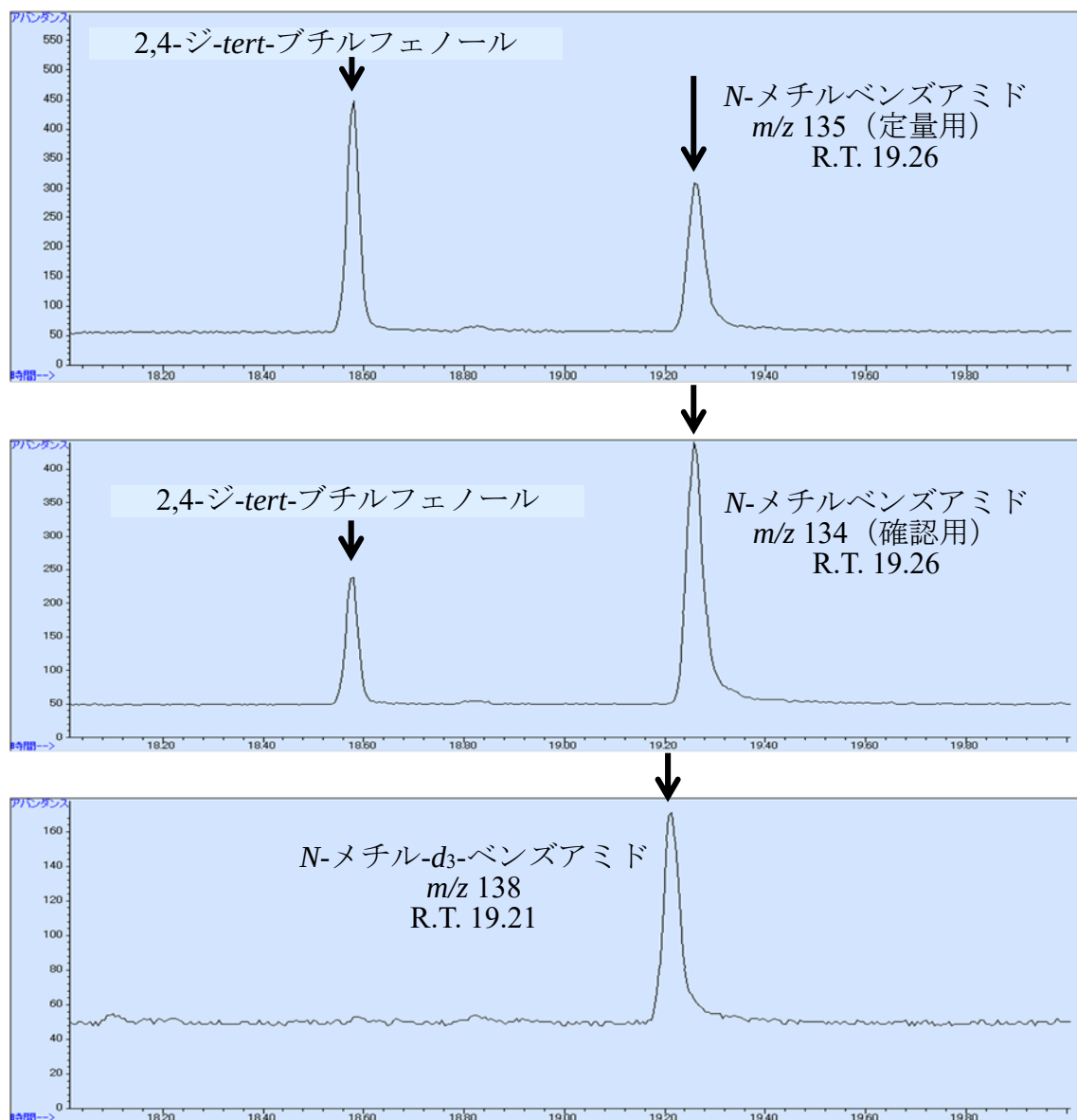


図7 標準液のクロマトグラム
(N-メチルベンズアミド：500 ng/mL、
内標準 N-メチル-d₃-ベンズアミド：200 ng/mL)

図7に示すとおり、N-メチルベンズアミドのピーク近くには、2,4-ジ-tert-ブチルフェノールのピークが確認できる。N-メチルベンズアミドのピークは、2,4-ジ-tert-ブチルフェノールのピークと異なり、m/z 134の方がm/z 135より高いため、よく確認の上、取り違えないようにすること。

また、内標準の回収率を表 8 に示す。算出に用いた値は MDL 測定時のものであり、回収率は 104%と良好であった。

表 8 内標準の回収率 (MDL 算出時)

試料	内標準誘導体化物の応答値	回収率(%)
検量線用(n=5)平均値	2571 (CV 4.5%)	104
MDL 試料(n = 7)平均値	2666 (CV 2.7%)	

〔マススペクトル〕

N-メチルベンズアミド及び内標準物質である *N*-メチル-*d*₃-ベンズアミドのマススペクトルを図 8 及び図 9 に示す。

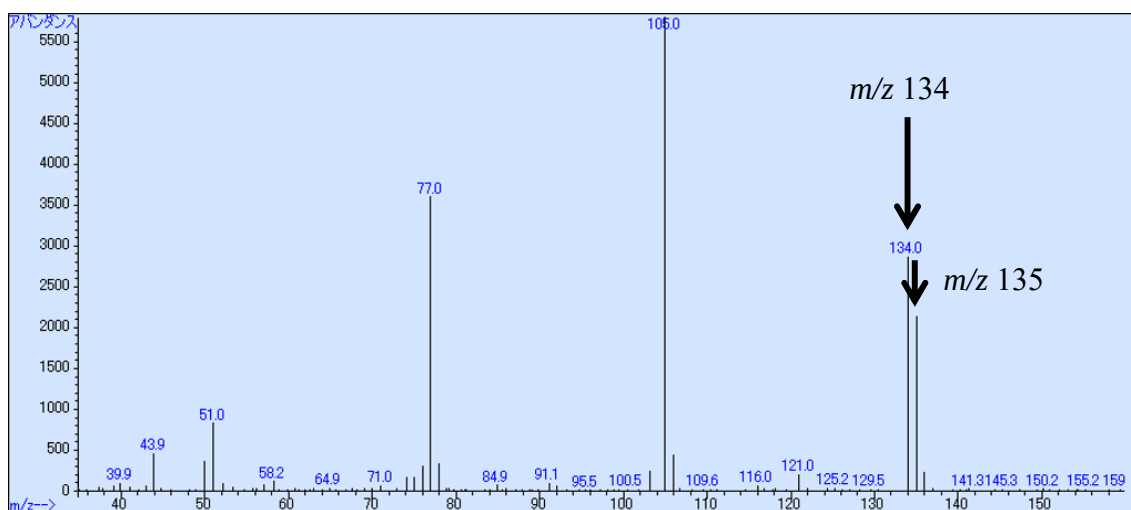


図 8 *N*-メチルベンズアミドのマススペクトル

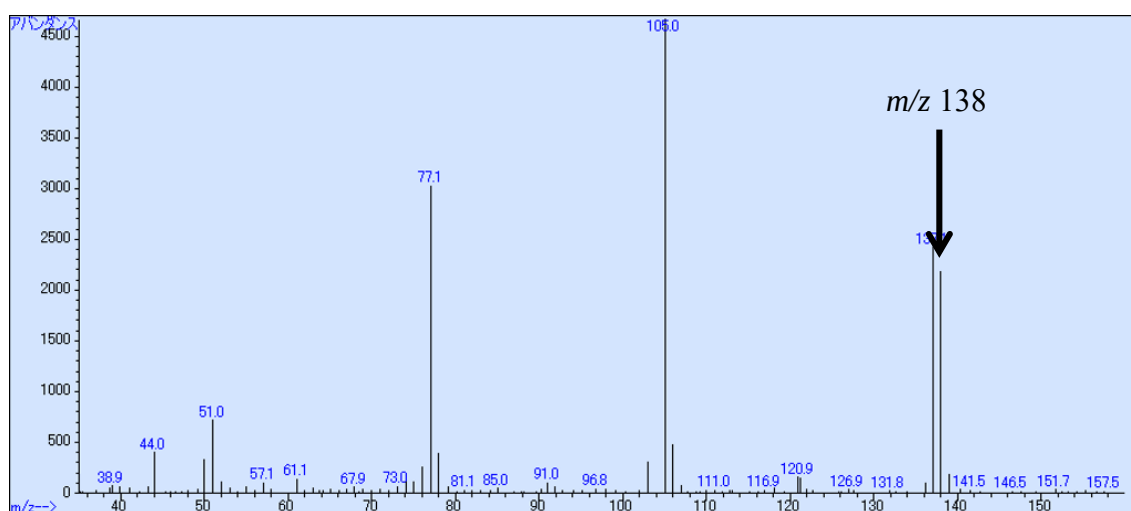


図 9 内標準物質 *N*-メチル-*d*₃-ベンズアミドのマススペクトル

〔操作ブランク〕

【空試験液の調製】の方法に従って操作ブランク試験を実施した結果、対象物質の濃度はMDL未満 ($< 66 \text{ ng/m}^3$)であった。操作ブランク試料のクロマトグラムを図10に示す。

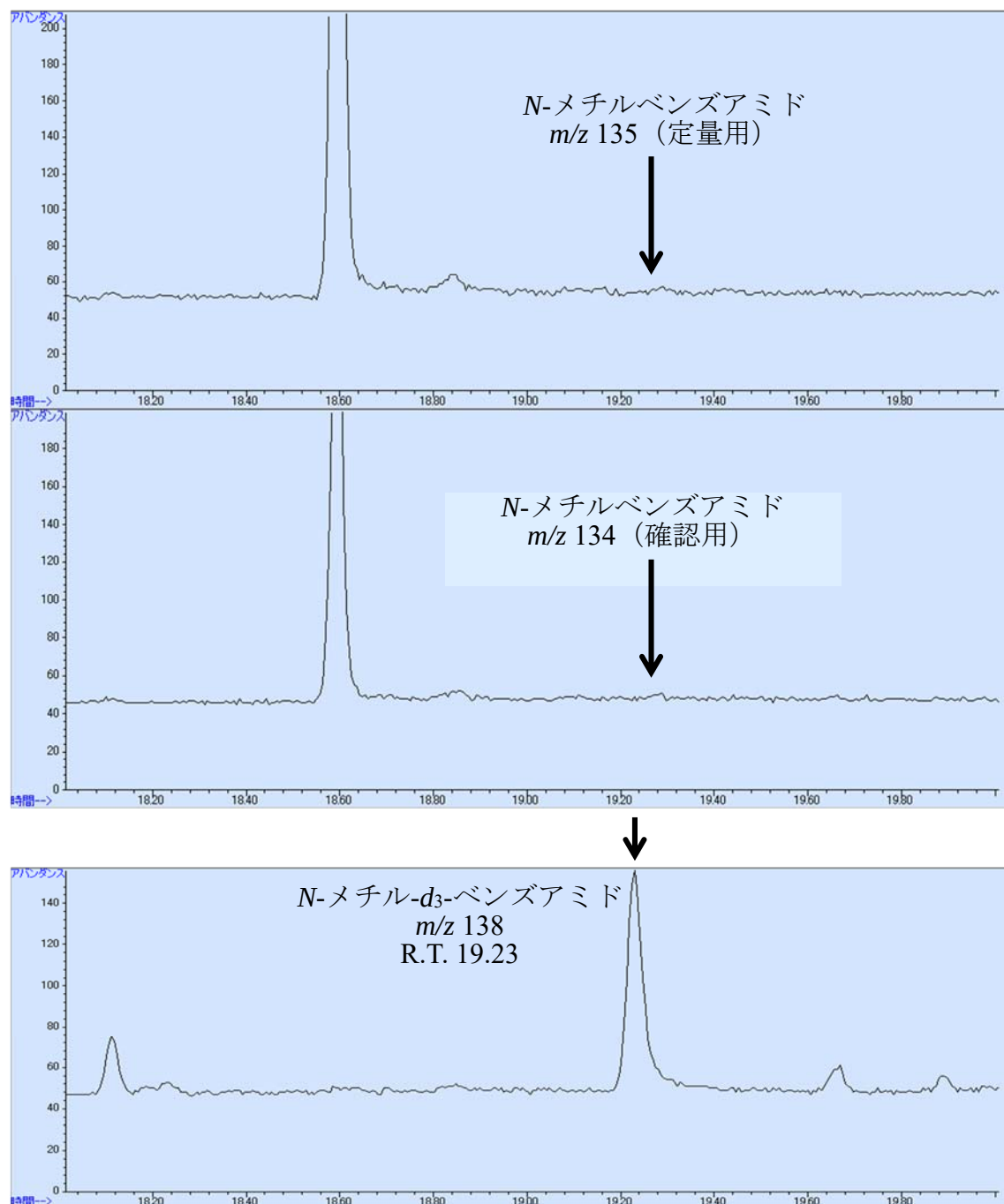


図10 操作ブランク試料のクロマトグラム

〔添加回収試験〕

【試料の捕集及び保存等】（図 1 下図）に示した装置構成で捕集管の先端に取付けたテフロンチューブ（約 5 cm）のグラスウール部分に標準物質を添加して添加回収試験を実施した。標準液（50 $\mu\text{g/mL}$ ）1 μL をグラスウール部分に添加した後、大気を 100 ml/min の流量で 24 時間通気し、捕集管への回収率を内標準で補正した上で求めた。試験結果を表 9 に示す。平均捕集効率は 92.4%であり、良好な結果であった。また、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。なお、本試験は MDL 試験を兼ねて実施した。

表 9 添加回収試験の結果（気温：11℃、湿度：73%）
（試験数：無添加 $n=1$ 、添加 $n=7$ ）

試料	試料量 (m^3)	添加量 (ng)	検出濃度 (ng/m^3)	回収率 (%)
無添加	0.144	0	< 66	-
結果 1	0.144	50	299	89
結果 2	0.144	50	298	88
結果 3	0.144	50	334	96
結果 4	0.144	50	342	98
結果 5	0.144	50	316	91
結果 6	0.144	50	332	96
結果 7	0.144	50	326	94
平均回収率 (%)				92.4
変動係数 (%)				5.3

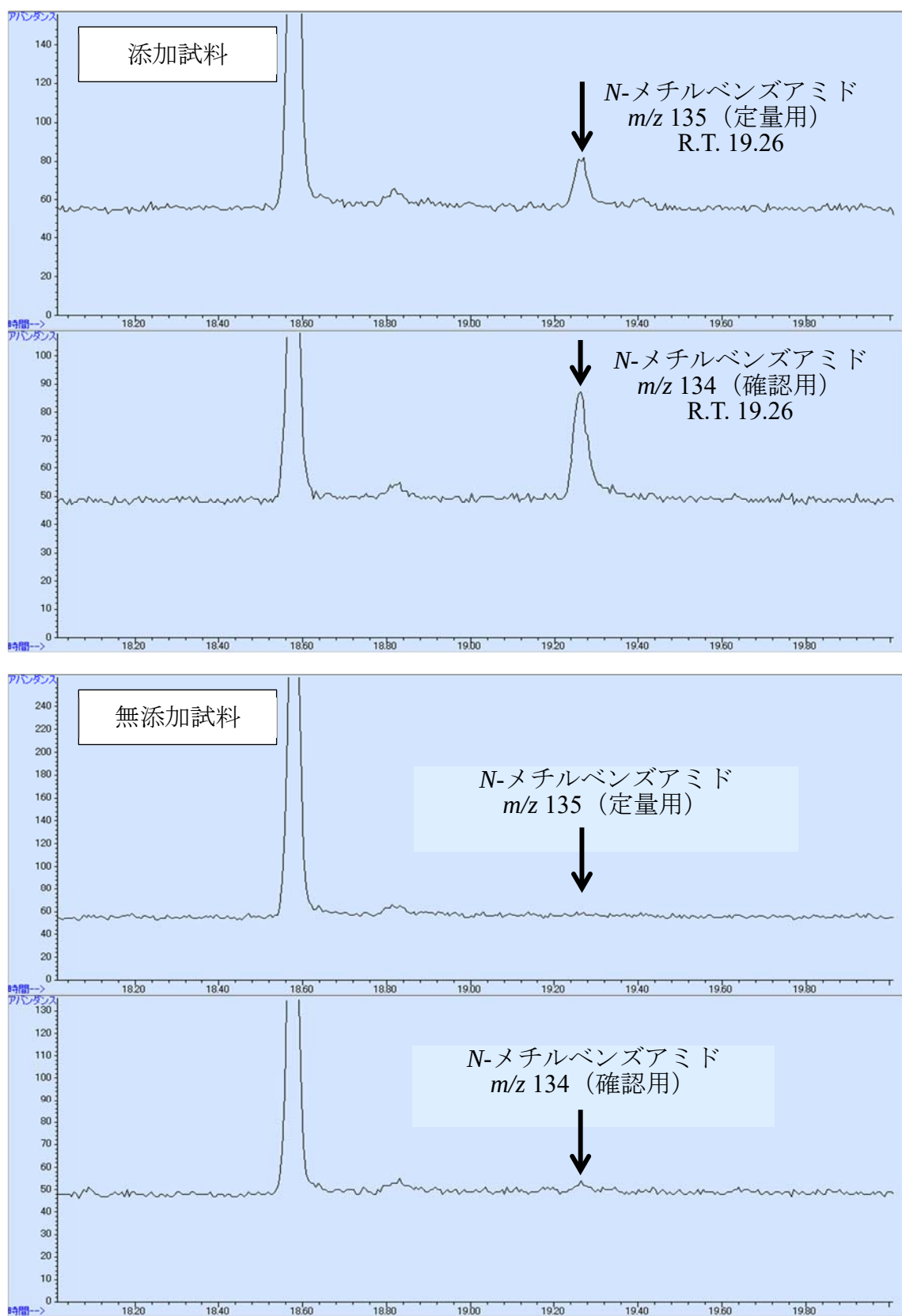


図 11 添加回収試験時のクロマトグラム (気温：11℃、湿度：73%)
(上図：添加試料、下図：無添加試料)

〔高温高湿時に対応した添加回収試験〕

同様の装置構成（図 1 下図）を用いて高温高湿条件下（温度 35～40℃、湿度 70%以上）での添加回収試験を実施した。捕集管は乾燥器内に 2 段で設置した。なお、乾燥機は 40℃ に設定し、排気口を閉じ、精製水を張ったトレーを入れて加湿した。温度と湿度はデータロガーにて記録した。100 µg/mL の標準液 1 µL をガラスウール部分に添加し、回収率を内標準で補正した上で求めた。結果を表 10 に示す。対象物質は無添加試料の前段・後段及び添加試料の後段の捕集管からは検出されず、平均捕集効率は 91%であり、変動係数も良好であった。

表 10 高温高湿時の添加回収試験の結果（平均温度：37.5℃、平均湿度：74.3%）
（試験数：無添加 $n=1$ 、添加 $n=3$ ）

試料	添加量 (ng)	試料量 (m ³)		検出濃度 (ng/m ³)	回収率 (%)
無添加	0	0.144	前	< 66	-
			後	< 66	-
結果 1	100	0.144	前	612	88
			後	<66	0
結果 2	100	0.144	前	638	92
			後	<66	0
結果 3	100	0.144	前	639	92
			後	<66	0
平均回収率 (%)					91
変動係数 (%)					2.4

〔保存性試験〕

保存性試験の結果を表 11 に示す。添加回収試験と同様の装置構成で、100 µg/mL の標準原液を 1 µL 添加し、大気を捕集した捕集管及びその粗抽出液（捕集管からの抽出のみを実施したもの）を密栓及び遮光して冷蔵保存（4℃）した。捕集管については 7 日後に【試料の前処理及び試験液の調製】に従って、粗抽出液については 14 日後に【試料の前処理及び試験液の調製】の項の抽出以降の作業を実施し、トルエン層の分析を行い、残存率を評価した（ $n=2$ ）。また、同時に 1 ヶ月保存した検量線用標準液（低濃度用検量線の最低濃度(50 ng/mL)と最高濃度(500 ng/mL)、MDL の 10 倍程度(100 ng/mL)及び高濃度用検量線の最高濃度(2000 ng/mL)）についても残存率を評価した。

捕集管での残存率が低いことから、捕集後は速やかに抽出する必要性が認められた。

表 11 保存性試験の結果（試験数：各 $n=2$ ）

試料名	調製濃度 (ng/m ³)	検出濃度(ng/m ³)（残存率(%) [*] ）		
		7 日間	14 日間	1 ヶ月
捕集管	690	590 (86)	-	-
粗抽出液	690	-	660 (94)	-
標準液	低濃度用検量線 最低濃度	350	-	-
				330 (96)
	MDL の 10 倍 (100 ng/mL)	690	-	-
				670 (96)
	低濃度用検量線 最高濃度	3500	-	-
				3500 (100)
	高濃度用検量線 最高濃度	14000	-	-
				14000 (98)

* 残存率 (%)：調製濃度に対する検出濃度の割合

〔メチルアミンの GC/MS による測定〕

当初、Agilent 製カラム CP-Volamine (60 m×0.32 mm)を用いて、メチルアミンを誘導体化せず測定しようと試みたが、使用した装置では 5 µg/mL のピークが見える程度で感度が悪かったため、以下の IC 測定及び誘導体化法を検討した。

〔イオンクロマトグラフ(IC) 測定〕

Thermo Scientific 製 Dionex Integrion HPIC（分離カラム Thermo Scientific 製 Ion Pac CS12A、ガードカラム Thermo Scientific 製 Ion Pac CG12A）を用いて測定を行ったところ、5 ng/mL のメチルアミンを検出することができた。使用したイオンクロマトグラフには溶離液ジェネレータが装備されていなかったことから測定時間が 100 分と長く、また、ベースラインの大きな変動も見られた。しかしながら、溶離液ジェネレータを装備するなどの対策を取れば、イオンクロマトグラフによる測定も実用的な方法になる可能性がある。

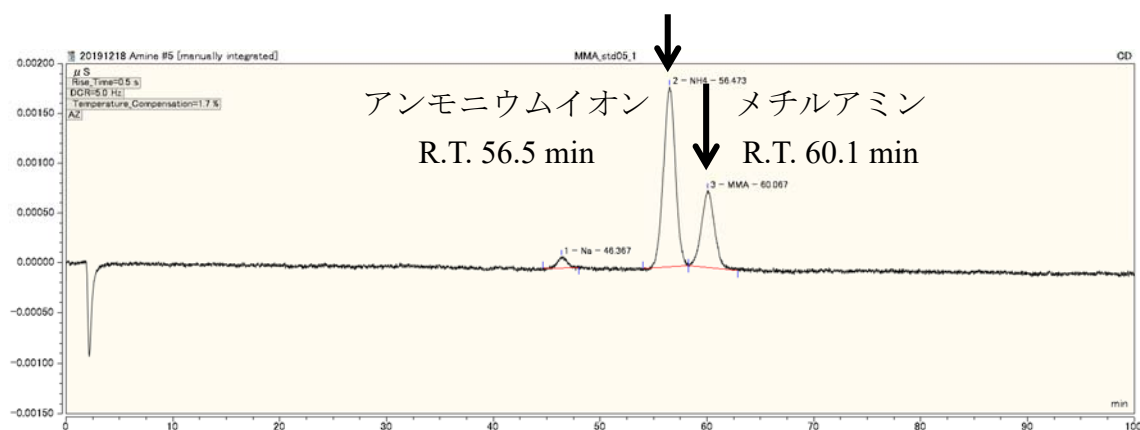


図 12 イオンクロマトグラフで測定した試験液のクロマトグラム
(メチルアミン : 5 ng/mL)

〔各種捕集管等の添加回収率の検討〕

まず、次の 7 種の捕集管等について、メチルアミン塩酸塩より作製した 10 µg/mL のメチルアミン水溶液 4 µL を捕集管に接続したテフロンチューブ先端のガラスウールに添加し、大気を通気して添加回収試験を行い、検討を行った。

- Oasis HLB Plus (Waters 製、充填量 225 mg、粒子径 60 µm)
- Oasis MAX Plus (Waters 製、充填量 225 mg、粒子径 60 µm)
- Sep-Pak Plus PS Air (Waters 製、商品番号 JJAN20234)
- Oasis MCX Plus (Waters 製、充填量 225 mg、粒子径 60 µm)
- Sep-Pak Plus C18 (Waters 製、充填量 360 mg、粒子径 55-105 µm)
- Sep-Pak AC2 Plus (Waters 製、充填量 400 mg、粒子径 85 µm)
- アスコルビン酸水溶液を 5 mL 入れたインピンジャー

なお、これらの捕集管等の検討時における添加回収試験は、以下の点で〔添加回収試験〕の項に示した方法と異なる。

- コンディショニングや溶出において (注 6) や (注 7) に示した方法とは異なり、液で満たした状態で 5 分程度放置していない。
- コンディショニングも溶出も精製水 5 mL で行った。
- 〔イオンクロマトグラフ (IC) 測定〕で示した方法にて対象成分の測定を行った。

捕集管等の検討結果をまとめたグラフを図 13 に示す。この時点で最も回収率の良かった捕集管は Sep-Pak AC2 Plus であったが、それでも 61% であった。なお、Oasis MAX Plus と Sep-Pak Plus C18 からは多量のブランクが検出されたため、結果のグラフには示さなかった。

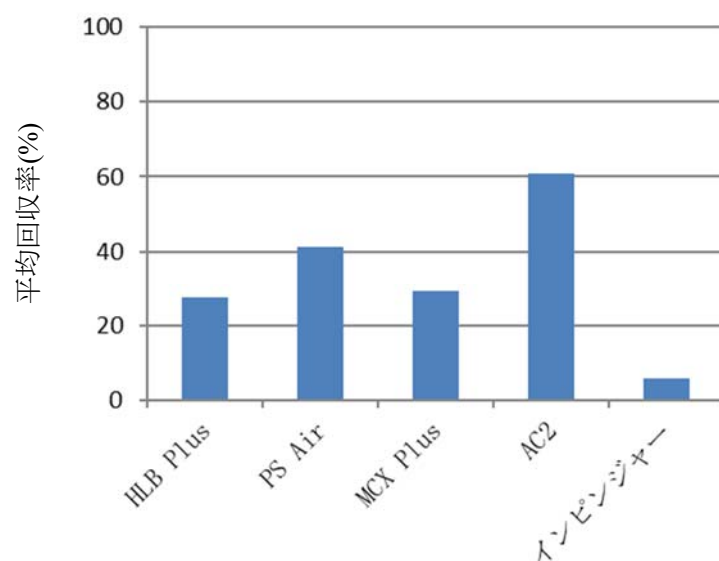


図 13 IC による捕集管検討(n = 2)の結果

〔AC2 カートリッジに対する酸化防止剤転化の効果〕

図 13 において比較的高い回収率が得られた AC2 について、酸化防止剤の効果を検討したが、図 14 のとおり、いずれも効果が認められなかった。

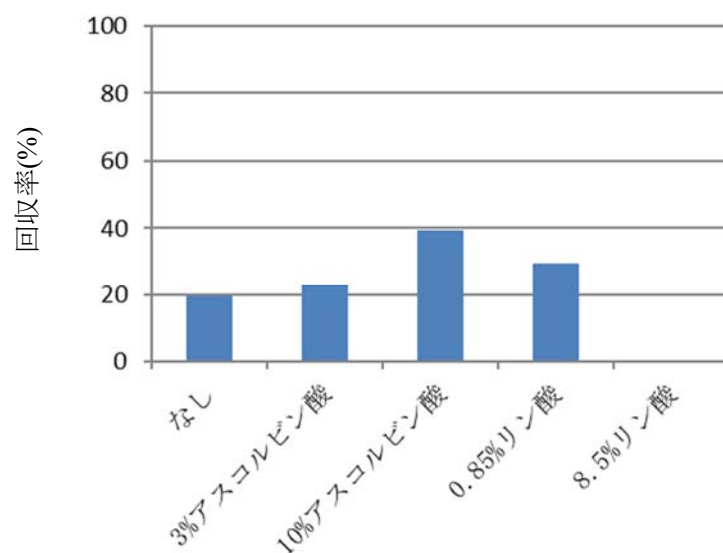


図 14 Sep-Pak AC2 Cartridge による酸化防止剤の検討(n = 1)結果

〔Sep-Pak Silica Plus カートリッジの検討と酸化防止剤添加の効果〕

Sep-Pak Silica Plus Long Cartridge (Waters 製、充填量 690 mg、粒子径 55-105 μm)

及び Sep-Pak Silica Plus Light Cartridge (Waters 製、充填量 120 mg、粒子径 55-105 μm) について、メチルアミン塩酸塩より作製したメチルアミン濃度 100 $\mu\text{g/mL}$ の標準液を 2 μL 添加して、同様に添加回収試験を行った。この 2 種の捕集管は AC2 よりも回収率が高く、特に Sep-Pak Silica Plus Light Cartridge がより良い回収率を示したため、これを用いることとした。

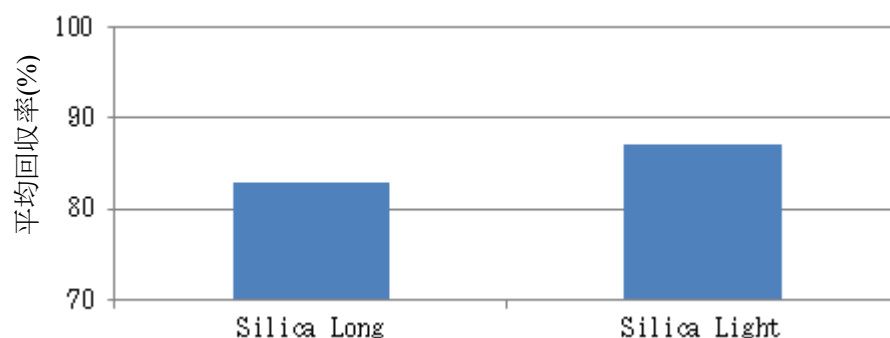


図 15 GC/MS による捕集管検討(n = 2)の結果

また、Sep-Pak Silica Plus Long Cartridge を用いてコンディショニングに用いるアスコルビン酸水溶液の濃度を 0、1、3%と変えて同様の検討を行ったところ、図 16 に示す結果を得た。アスコルビン酸濃度は 1%と 3%で大差はなかったが、回収率の良い 3%アスコルビン酸水溶液をコンディショニング液に採用した。

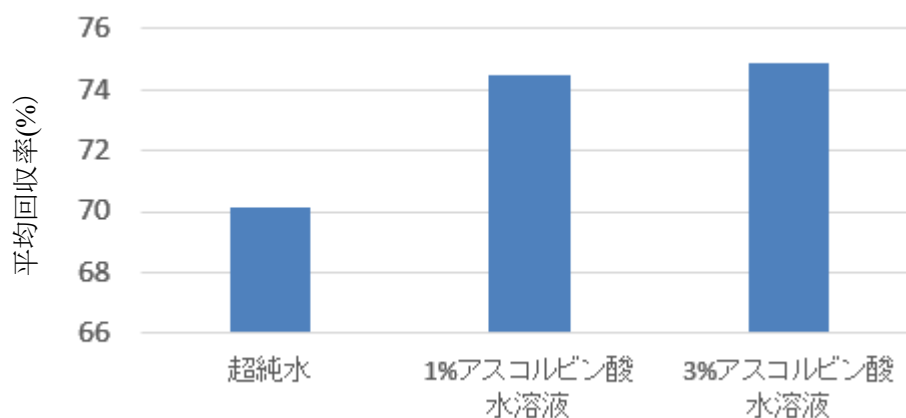


図 16 Sep-Pak Silica Plus Long Cartridge によるアスコルビン酸水溶液の濃度の検討結果(n = 2)

〔誘導体化物に対する GC カラムの検討〕

メチルアミン塩酸塩より調製したメチルアミン濃度 1000 ng/mL の試験液を誘導体化した *N*-メチルベンズアミドの分離を 2 種のカラム (DB-5ms (Agilent 製, 60 m × 0.25 mm, 0.25 μm) 及び DB-17ms (Agilent 製, 60 m × 0.25 mm, 0.25 μm)) により比較検討したクロマトグラムを図 17 に示す。測定条件は、【測定】の〔GC/MS 測定条件〕と同様であり、DB-5ms、DB-17ms とともに新品ではない。

いずれのカラムでも、十分なピーク高さが得られたが、DB-5ms に比べ、DB-17ms の方が、ピークのテーリングが小さく、これを採用することとした。

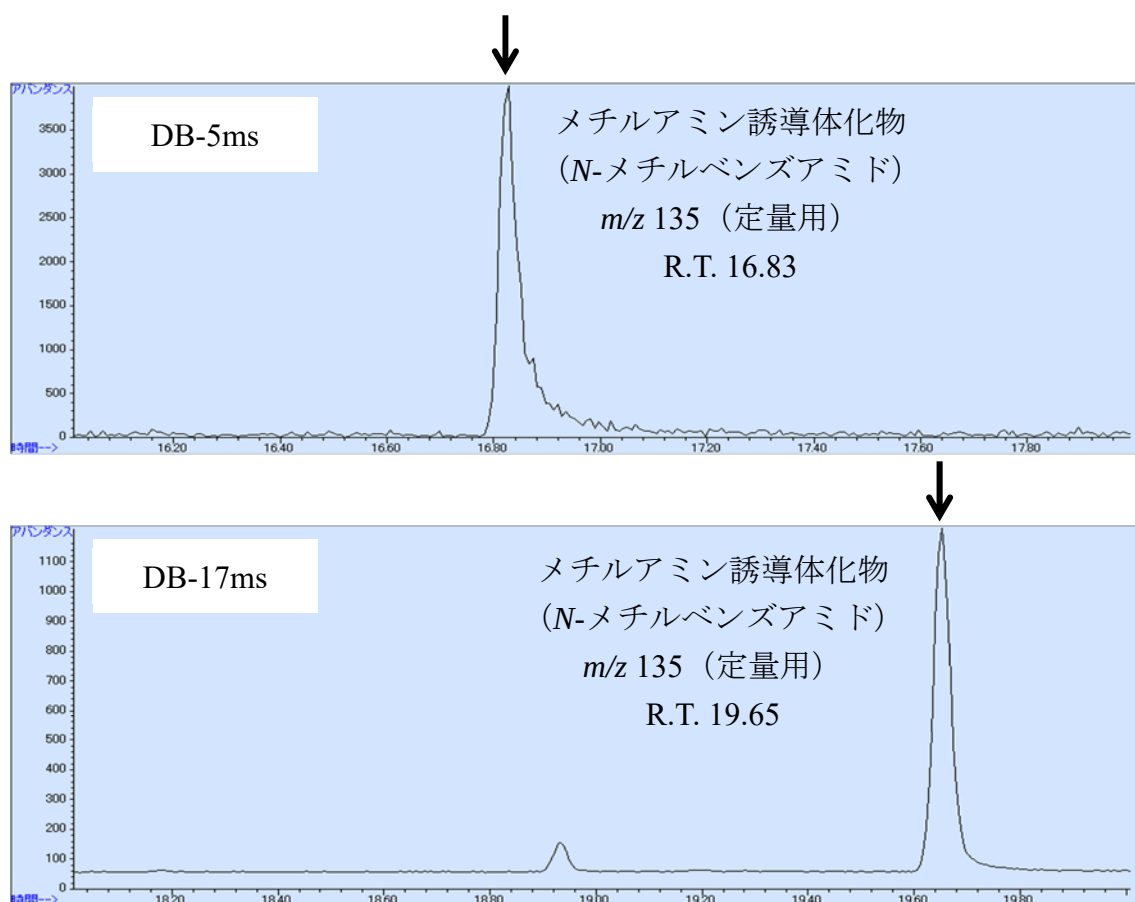


図 17 DB-5ms と DB-17ms のクロマトグラムの比較
(上図 : DB-5ms、下図 : DB-17ms)

〔誘導体化反応に必要な試薬量の検討〕

メチルアミン塩酸塩より調製したメチルアミン濃度 1000 ng/mL の試験液 3 mL に内標準液 1.5 μ L、28%アンモニア水 100 μ L、トルエン 1 mL の順に加え、ここに塩化ベンゾイルを3～10 μ Lまで1 μ L刻みで加えた各サンプルを調製した。これを振とう機 (200 rpm)で 30 分振とうし、誘導体化した後、測定を行い、生成した *N*-メチルベンズアミドと *N*-メチル-*d*₃-ベンズアミドのピーク高さの変化を図 18 に示す。塩化ベンゾイルは大過剰に入っており、生成物の量は大きく変わらないが、分取のしやすさを考慮し、添加量を 5 μ L とした。

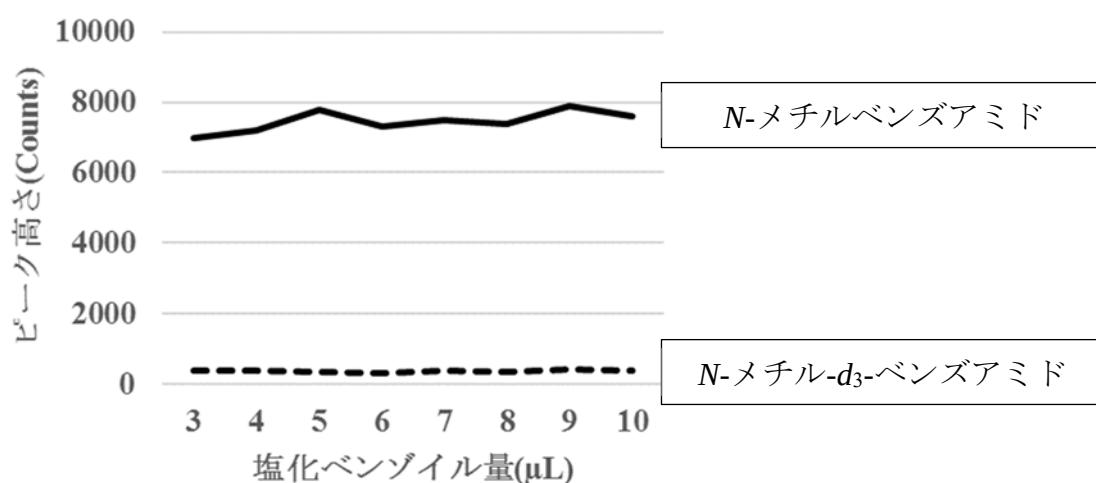


図 18 塩化ベンゾイル量を変えた時の反応生成物のピーク高さの変化
(28%アンモニア水量は 100 μ L に固定)

また、メチルアミン塩酸塩より調製したメチルアミン濃度 1000 ng/mL の試験液 3 mL に内標準液 1.5 μ L 加え、ここに 28%アンモニア水を 10、20、50、100、200、500、1000 μ L 加えた各サンプルを調整し、さらにトルエン 1 mL を加えた。これを振とう機 (200 rpm)で 30 分振とうし、誘導体化した後、測定を行い、生成した *N*-メチルベンズアミドと *N*-メチル-*d*₃-ベンズアミドのピーク高さの変化を図 19 に示す。アンモニアは脱塩酸縮合により生成する塩化水素を中和するために必要であるが、自身も誘導体化試薬と反応し、ベンズアミドを生成する。そのため、過剰に入れすぎると、*N*-メチルベンズアミドの生成を阻害する傾向が見られたため、添加量は 100 μ L とした。

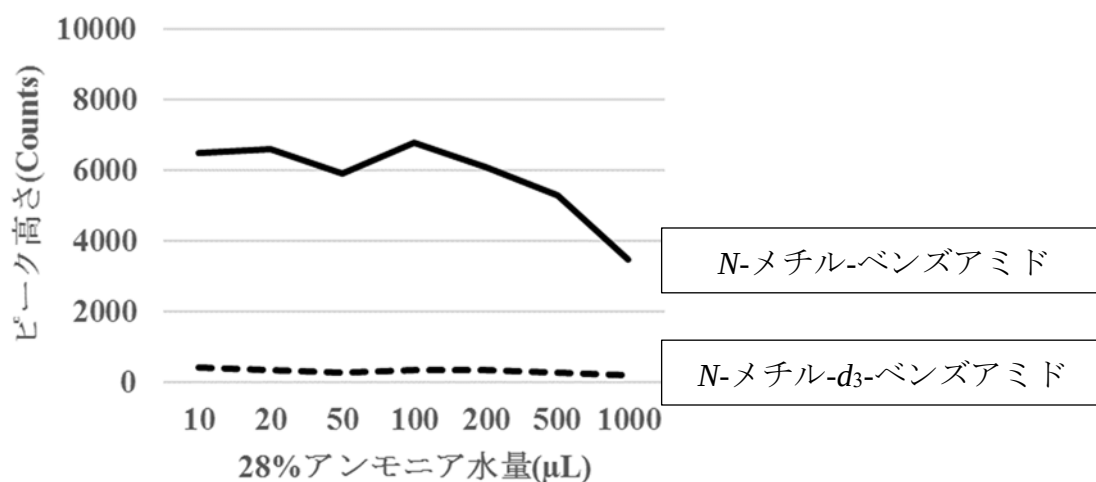


図 19 28%アンモニア水量を変えた時の反応生成物のピーク高さの変化
(塩化ベンゾイル量は 5 μ L に固定)

〔添加回収用テフロンチューブとウールの確認〕

図 1 の下図に示した添加回収時に用いるテフロンチューブとウール部分（以下、チューブ部）にメチルアミンが残留する可能性があったため、〔添加回収試験〕と同様の方法で回収率を確認した($n=2$)。なお、添加量は 100 μ g/mL の標準液 1 μ L である。結果は表 12 示すとおり、回収率はチューブ部では 0%であるのに対し、捕集管では 90%以上あり、チューブ部にメチルアミンは殆ど残留していなかった。以上の結果は、メチルアミンは気相中に移行し、捕集管に捕集されたものと考えられる。

表 12 チューブ部への残留の確認結果（試験数： $n=2$ ）

試料番号	添加量 (ng)	試料量 (m^3)	検出濃度 (ng/ m^3)	回収率 (%)
チューブ部 1	100	0.144	< 66	0
捕集管 1			656	95
チューブ部 2	100	0.144	< 66	0
捕集管 2			639	92

〔メチルアミン塩酸塩の検討〕

メチルアミンは大気中でメチルアミン塩酸塩等の形で存在している可能性があることから、市販のメチルアミン塩酸塩について、メタノール溶液を調製し、誘導体化を行って測定したところ、図 20 に示すクロマトグラムのとおり、*N*-メチルベンズアミドの保持時間にピークが確認され、メチルアミン塩酸塩もメチルアミンと同様に誘導体化され、*N*-メチルベンズアミドとなることが分かった。

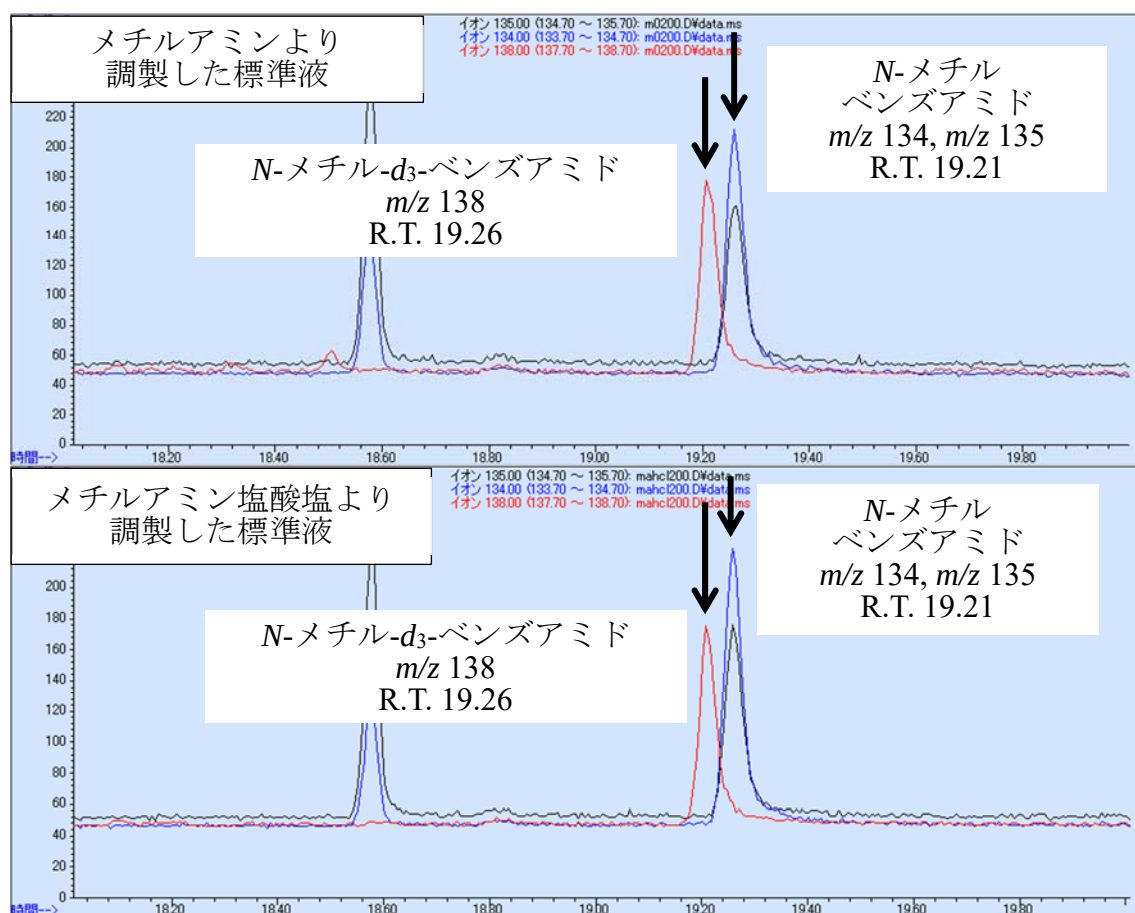


図 20 メチルアミン（上図）及びメチルアミン塩酸塩（下図）より調製した標準液のクロマトグラムの比較
（上図、下図いずれも *N*-メチルベンズアミド：メチルアミンとして 200 ng/mL、内標準 *N*-メチル-*d*₃-ベンズアミド：メチル-*d*₃-アミンとして 200 ng/mL）

また、メチルアミン塩酸塩から調製したメチルアミン濃度 100 µg/mL の標準液を捕集管に 1 µL 添加し、添加回収試験を行った。結果は表 13 に示すとおり、良好な回収率が得られた。したがって、本法ではメチルアミン及びその塩酸塩

は、*N*-メチルベンズアミドとして定量されるものと考えられる。

表 13 メチルアミン塩酸塩の添加回収試験結果（気温：5.7℃、湿度：51%）
（試験数：添加 $n=2$ ）

試験番号	試料量 (m^3)	添加量 (ng)	検出濃度 (ng/m^3)	回収率 (%)
結果 1	0.144	100	680	98
結果 2	0.144	100	675	97
平均回収率 (%)				98
変動係数 (%)				0.51

〔破過の確認試験〕

【捕集管の調製】に従って調製した捕集管 2 本を直列に接続し、装置構成図 1（下図）のテフロンチューブに詰めたグラスウール部分にメチルアミン標準液（1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）を 1 μL または 2 μL 添加した後、大気を 100 mL/min の流量で 24 時間（平均気温：5.7℃、平均湿度：51%）通気して、後段の捕集管への破過について測定を行った。その結果、表 14 に示すとおり、前段からは良好な回収率が得られたが、後段からは検出されなかったことから、2000 ng までのメチルアミンであれば、1 個の捕集管で破過せず捕集できると考えられる。

表 14 破過確認試験の結果
（試験数：添加量 1000 ng、添加量 2000 ng 各 $n=1$ ）

添加量 (ng)	試料量 (m^3)		検出濃度 (ng/m^3)	回収率 (%)
1000	0.144	前	6500	94
		後	< 66	0
2000	0.144	前	13455	97
		後	< 66	0

〔スキャン測定のカロマトグラムにおけるピークの同定〕

メチルアミン濃度 1000 ng/mL 及びメチル- d_3 -アミン濃度 1000 ng/mL となるよう調製した 3 mL の水溶液を〔検量線用標準液〕と同様の方法で誘導体化した試験液についてスキャン測定を行った。トルエンの溶媒ピーク (7.5 min) 以降のカロマトグラムを図 21 に示す。また、確認できたピークについてライブラリ検索を行い、同定した結果一致率 90% 以上のものについて表 15 に示す。

対象成分のピーク付近には、アンモニアと塩化ベンゾイルが反応して生成したベンズアミドの大きなピークが確認されたため、カラムの長さを本法で用いている 60 m より短くした場合、これらのピークが重なる可能性がある。

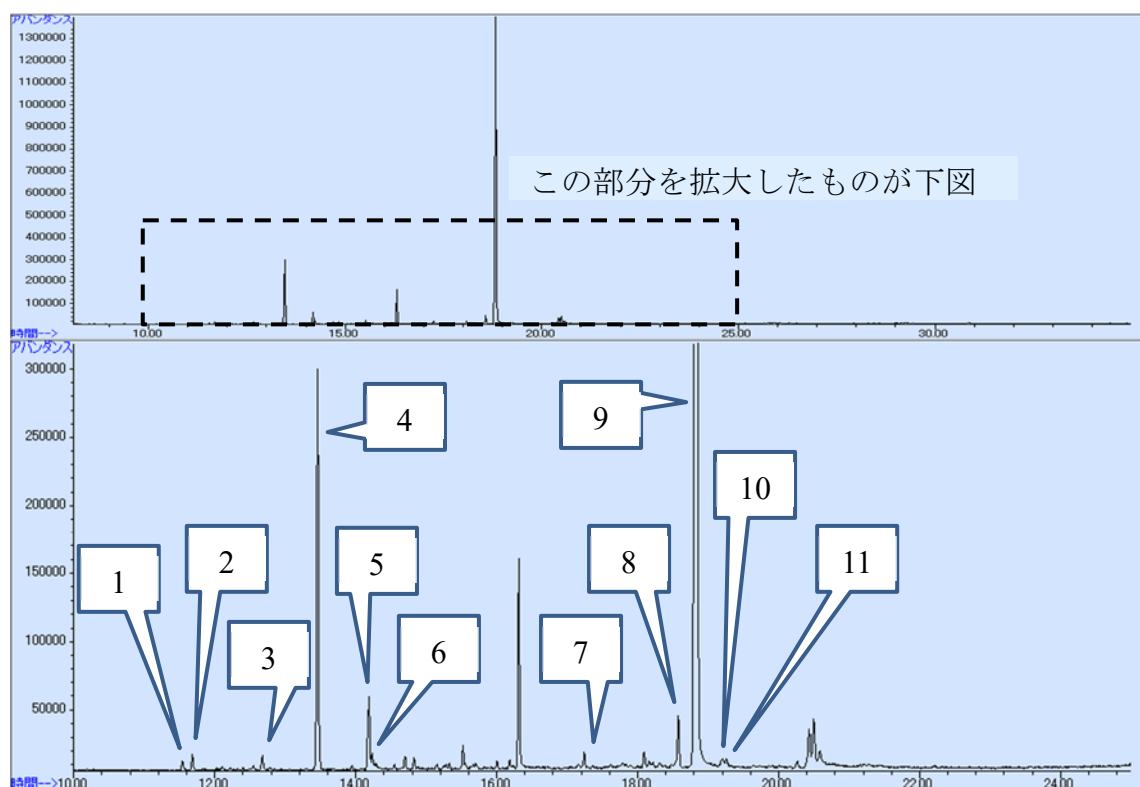


図 21 スキャン測定のカロマトグラム
 (N-メチルベンズアミド : 1000 ng/mL、
 内標準 N-メチル-d₃-ベンズアミド : 1000 ng/mL)
 (上図 : カロマトグラム全体、下図 : 破線部分(10~25 min)の拡大)

表 15 ピークの同定結果

ピーク番号	物質名	一致率(%)
1	ベンズアルデヒド	90
2	1,2-または 1,3-ジクロロベンゼン	91
3	エイコサン	94
4	安息香酸メチルエステル	91
5	1,3-ジ- <i>tert</i> -ブチルベンゼン	94
6	安息香酸	93
7	ヘキサデカン	91
8	2,4-ジ- <i>tert</i> -ブチルフェノール	95
9	ベンズアミド	91
10	N-メチル-d ₃ -ベンズアミド	--
11	N-メチルベンズアミド	90

〔環境試料の分析〕

本分析法を用いて、和歌山県和歌山市で環境大気試料（平均気温：11.0℃、平均湿度：69%）の測定を行った。環境大気試料のクロマトグラムを図 22 に示す。環境大気試料中のメチルアミン濃度は MDL 未満(< 66 ng/m³)であった。

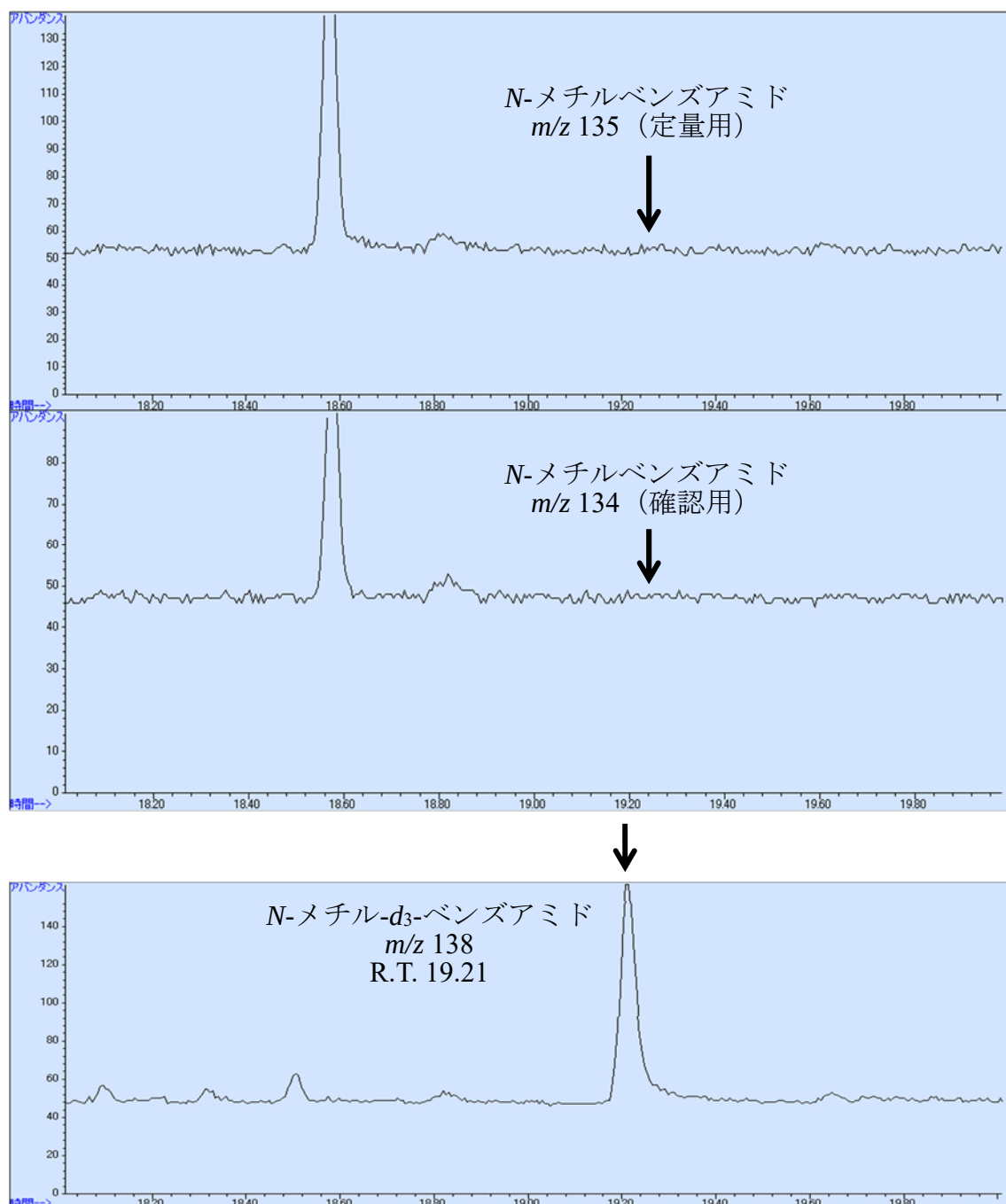


図 22 大気試料のクロマトグラム
(和歌山市、令和 2 年 11 月 29 日～30 日、
平均気温：10.9℃、平均湿度：69%)

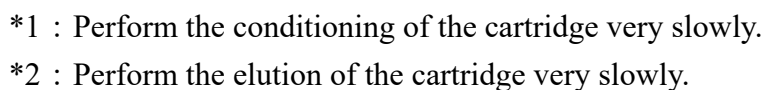
【評価】

本法におけるメチルアミンのIDLは9.2 pg（試料換算濃度 64 ng/m³）であり、50～2000 ng/mL の濃度範囲で検量線の直線性 ($r^2 > 0.9985$) が確認された。本法のMDLは66 ng/m³、MQLは170 ng/m³であった。大気試料に対する添加回収試験の結果、回収率は92.4%（添加量：50 ng、変動係数：5.3%）であった。また、高温高湿条件下の添加回収試験においても回収率は91%（添加量：100 ng、変動係数：2.4%）であった。本法を用いて和歌山県和歌山市で環境大気を測定した結果、メチルアミンはMDL (66 ng/m³) 未満であった。以上の結果から、本法は環境大気中に含まれる 70 ng/m³ レベルのメチルアミンの検出に適用可能であると判断される。ただし、本分析法での定量結果は、メチルアミンの他、メチルアミン塩酸塩等の塩類を含む可能性がある。

【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 3-3-45
TEL 073-423-9570、FAX073-423-8798
担当者名 : 吉田天平
E-mail : yoshida_t0033@pref.wakayama.lg.jp

The analytical method is developed for measuring methylamine as its *N*-methylbenzamide derivative in ambient air by gas chromatography-mass spectrometry with selected-ion monitoring (GC/MS-SIM). Ambient air sample is drawn through a solid-phase cartridge (Sep-Pak Silica Plus light) at a flow rate of 0.10 L/min for 24 hours (total volume 0.144 m³). The cartridge is previously washed with 6 mL of sodium chloride and ascorbic acid solution and dried by passing through high purity nitrogen gas. After collection, the target of methylamine is eluted from the cartridge with 3 mL of Milli-Q water. A 200 ng of methyl-*d*₃-amine (internal standard), 100 µL of 28% aqueous ammonia, 1 mL of toluene, and 100 µL of benzoyl chloride are added in order to the eluent. By shaking for 30 min, the target and internal standard are converted to their *N*-methylbenzamide derivatives. A 1 µL aliquot of upper toluene layer is analyzed by GC/MS-SIM. The instrument detection limit (IDL) is 9.2 pg. The method detection limit (MDL) and the method quantification limit (MQL) are 66 ng/m³ and 170 ng/m³, respectively. The average of recoveries from ambient air samples were 92.4%, and the relative standard deviation was 5.3%.



物質名	分析法フローチャート	備考
メチルアミン 別名： アミノメタン、 メタナミン、 モノメチルア ミン	【大気】 <pre> graph LR A[大気] --> B[捕集 Sep-Pak Silica plus light cartridge 100 mL/min, 24 hr] B --> C[溶出 精製水 3 mL (バックフラッシュ) (注 7)] C --> D[誘導体化 28%アンモニア水 100 μL トルエン 1 mL 塩化ベンゾイル 5 μL] E[内標準添加 (メチル-d3-アミン, 200ng)] --> D B --> F[振とう 振とう機 または ローターで 30 min 静置 5 min] F --> G[分取 トルエン層] G --> H[GC/MS-SIM] D --> H </pre>	分析原理： GC/MS-SIM 検出下限値： 【大気】 (ng/m ³) 66 分析条件： 機器 GC： Agilent 6890N MS： Agilent 5973 カラム DB-17ms (Agilent) 60 m × 0.25 mm, 0.25 μm