

# LC/MS による 2-(3,5-ジ-*tert*-ブチル-2-ヒドロキシフェニル)ベンゾトリアゾールの分析方法

山口県環境保健研究センター  
古谷典子・澄田和歌子・嘉村久美子

Determination of 2-(3,5-di-*tert*-butyl-2-hydroxyphenyl)benzotriazole by LC/MS

Noriko FURUYA・Wakako SUMIDA・Kumiko KAMURA  
*Yamaguchi Prefectural Research Institute of Public Health*

## はじめに

2-(3,5-ジ-*tert*-ブチル-2-ヒドロキシフェニル)ベンゾトリアゾール (DBHPB) はプラスチック用の紫外線吸収剤として使用されており、難分解性・高蓄積性である物質として2004年9月に化学物質審査規制法の第一種監視化学物質に指定されている。しかし、その分析法はこれまで確立されていないため、LC/MS による DBHPB の分析法について検討を行った。また、GC/MS による DBHPB の分析についても併せて検討した。

## 実験方法

### 1 試薬及び標準溶液

実験に使用した DBHPB の標準物質は東京化成工業(株)製を使用した。標準品をメタノールに溶解して1.0mg/ml のメタノール溶液を調製し標準原液とした。標準溶液(1~100ng/ml) は標準原液をメタノールで適宜希釈して調製した。

また、0.05ng/ml の DBHPB を含む試料水は精製水200ml に対して、標準原液から調製したメタノール溶液(1 $\mu$ g/ml) を10 $\mu$ l 添加して調製した。

ヘキサンは関東化学(株)製残留農薬試験・PCB 試験用、メタノールは和光純薬工業(株)製液体クロマトグラフ用、塩酸は和光純薬工業(株)製精密分析用、無水硫酸ナトリウム及び塩化ナトリウムは和光純薬工業(株)製残留農薬試験用を用いた。

### 2 LC/MS 装置及び分析条件

装置は Shimadzu 社製 LCMS2010、分析カラムは Waters 社製 XTerra MS C<sub>18</sub> (2.1mm $\phi$ ×150mm, 5 $\mu$ m)、移動相はメタノールを使用し、流速0.2ml/min とした。また、カ

ラム温度は40 $^{\circ}$ C、注入量は10 $\mu$ l とした。イオン化法は大気圧化学イオン化法 (APCI) の正イオンモード、定量はSIMモードで行い、モニターイオンは定量用 m/z=324、確認用 m/z=325 とした。APCI 温度は450 $^{\circ}$ C、CDL 温度は230 $^{\circ}$ C、CDL 電圧は50V、ブロック温度は200 $^{\circ}$ C、N<sub>2</sub> ガス流量は2.5L/min とした。

### 3 GC/MS 装置及び分析条件

装置は Agilent 社製 6890N 及び 5973inert を使用し、カラムは DB-5MS (30m×0.25mm, 0.25 $\mu$ m) を使用した。分析条件は、カラム温度は60 $^{\circ}$ C (1分)→20 $^{\circ}$ C/分→300 $^{\circ}$ C (0分)、注入方法はスプリットレス(パージ時間1分)、注入口温度は280 $^{\circ}$ C、キャリアガスはヘリウム(1ml/min)、トランスファーライン温度は280 $^{\circ}$ C、イオン源温度は250 $^{\circ}$ C、SIM モードで測定し、モニターイオンは定量用 m/z=308、確認用 m/z=323 とした。また、内部標準物質としてフルオランテン-d<sub>10</sub> を用いた。

### 4 試料の前処理

水試料は、200ml を300ml 分液ロートに分取し、塩酸0.2ml、塩化ナトリウム6g(海水は無添加)を添加し、よく振り混ぜて溶解させ、ヘキサン30mlを加え、10分間振とう抽出した。この操作を2回行い、ヘキサン層を無水硫酸ナトリウムで脱水した。ロータリーエバポレーターで数mlに濃縮し、さらに窒素パージにより濃縮乾固した後、これをメタノール1mlに溶解してLC/MS測定溶液とした。実試料としては、河川水及び海水を同様に処理したものをLC/MS測定溶液とした。

### 5 統計処理

装置検出下限値(IDL)は1ng/mlの標準溶液を7回測定し、その標準偏差に危険率1%のt値(片側)を乗じて求

めた<sup>1)</sup>。分析方法の検出下限値(MDL)は DBHPB の濃度を 0.05ng/ml に調製した水試料を前処理後分析する操作を 7 回繰り返し、IDL と同様に算出した<sup>1)</sup>。分析方法の定量下限値(MQL)は MDL の 3 倍値として求めた<sup>1)</sup>。

## 結果及び考察

### 1 LC/MS 条件

DBHPB 標準溶液 (100 μg/ml) をインフュージョンポンプにより導入して APCI 及びエレクトロスプレーイオン化法 (ESI) の正・負イオンモードでスキャン分析した。

いずれのモードにおいても DBHPB はイオン化され、正モードでは  $[M+H]^+$  イオンである  $m/z=324$ , 負モードでは  $[M-H]^-$  イオンである  $m/z=322$  のスペクトルが得られた。このうち最も高感度であった APCI 正イオンモードを採用した (図 1)。またフローインジェクション分析により、APCI 温度, ガス流量の最適化を行った。

LC 分析の分離カラムは逆相系 ODS カラムを使用し, 移動相はメタノール/水系, アセトニトリル/水系の二種類について検討した。後者においては DBHPB のピークは確認されず, カラムからの溶出が出来ていないか, イオン化していないかのいずれかが原因として考えられた。メタノール/水系においてはメタノール/水 (90/10) でピークがブロードとなったため, 移動相はメタノールのみを使用し, 流速を 0.2ml/min とした場合に良好な形状のピークが得られ, 保持時間は 4.1 分であった (図 2)。

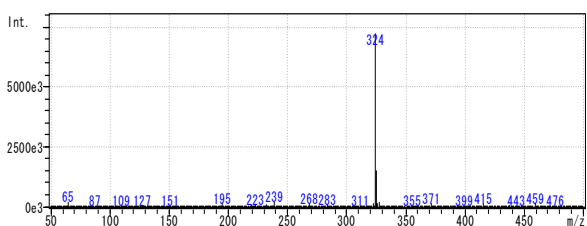


図 1 DBHPB のマスペクトル

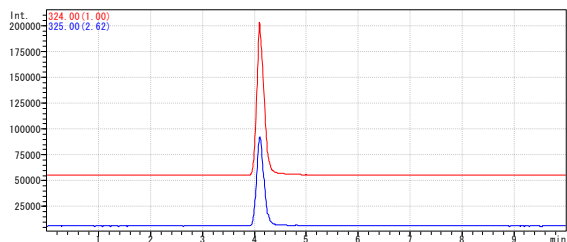


図 2 DBHPB 標準 (100ng/ml) のクロマトグラム

### 2 LC/MS における検量線・装置検出限界

1~100ng/ml の DBHPB メタノール溶液を調製し, 検量線を作成した (図 3)。IDL は 0.15ng/ml であり, その時

の変動係数は 4.2%であった。

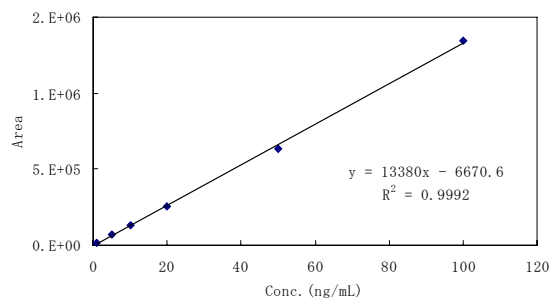


図 3 LC/MS による検量線の例 (1~100ng/ml)

### 3 GC/MS による分析の検討

GC/MS による DBHPB の分析については, 1~50ng/ml の濃度範囲で良好な検量線が得られたが, 添加回収試験を行ったところ, LC と GC/MS との結果に相違があった。この原因として, DBHPB のピークのテーリングが考えられたため, PEG 共注入法<sup>2)</sup> によるテーリングの解消を試みたが改善されず, GC/MS による DBHPB の定量はさらに分析条件の最適化が必要である。従って, 今回は LC/MS による定量法を採用することとした。

### 4 水試料抽出方法の検討

水試料の前処理法として固相抽出及び液々抽出について検討した。固相抽出については, 精製水 500ml に DBHPB を 100ng 添加し, 塩酸酸性にしてカートリッジ (Waters 社製 Sep-Pak plus C18 および Sep-Pak Plus PS-2) に通水後, 溶媒 10ml × 3 回で溶出を行った。液々抽出については, 精製水 500ml に DBHPB を 100ng, NaCl15g を添加し, 塩酸酸性にしてヘキサン 50ml で 2 回抽出した。

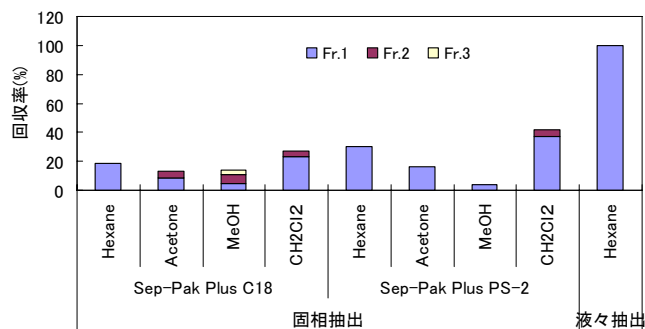


図 4 水試料抽出方法の検討

固相抽出ではいずれの場合も回収率が低く, 液々抽出では良好な回収率が得られた (図 4)。また固相抽出において, カートリッジ通過後のろ液を回収し, 液々抽出により分析したところ DBHPB は検出されなかった。このこ

とから、DBHPB は C18, PS-2 のいずれのカートリッジにも吸着されるが、図 4 に示した溶媒では溶出が不十分と考えられ、液々抽出を採用することとした。さらに、液々抽出においては 200 倍程度の濃縮で十分な感度が得られることから試料水は 200ml とした。

#### 5 分析方法の検出下限値及び定量下限値

本分析方法の MDL は  $0.006 \mu\text{g/L}$ , MQL は  $0.017 \mu\text{g/L}$  であり、その時の変動係数は 3.6%であった。

#### 6 添加回収試験

河川水及び海水 200ml に対して、DBHPB メタノール溶液 ( $1 \mu\text{g/ml}$ ) を  $10 \mu\text{l}$  添加して前処理を行い、実試料からの回収率を求めた。各 2 検体について分析した結果、平均回収率は 100 及び 102%であった。

#### 7 実試料の分析

実試料として、榎野川（山口市、2004 年 8 月採水）および徳山湾（2004 年 10 月採水）を分析した結果、いずれの地点においても DBHPB は検出されなかった。

## まとめ

環境水中 DBHPB の LC/MS による分析法について検討した。本法により環境水中に存在する DBHPB を数十 ppt レベルで分析することができた。今回試料として用いた河川水及び海水中から DBHPB は検出されなかった。

なお、本研究は環境省委託の平成 16 年度化学物質環境実態調査化学物質分析法開発 (LC/MS) の一環として実施した。

## 参考文献

- 1) 環境省環境保健部環境安全課：モニタリング調査マニュアル (2004)
- 2) 奥村為男：キャピラリー・GC/MS による水中の農薬及びその酸化生成物の定量—標準液の PEG 共注入法, 環境化学, **5**, 575-583 (1995)