

チオりん酸 **O,O-ジメチル-O-(3-メチル-4-ニトロフェニル)**

測定・分析手法に関する検討結果報告書

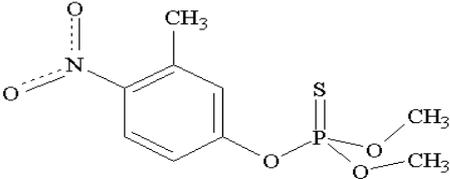
目次

1. はじめに.....	1
2. 文献調査.....	1
3. 捕集及び分析条件.....	1
4. ブランク.....	4
5. 脱着率.....	4
6. クロマトグラム.....	4
7. 検量線.....	6
8. 検出下限及び定量下限.....	7
9. 添加回収率（通気試験）.....	7
10. 保存性.....	8
11. まとめ.....	9
12. 検討機関.....	9
13. 参考文献.....	9

1. はじめに

チオリン酸 O,O-ジメチル-O-(3-メチル-4-ニトロフェニル)の物理化学的性状を以下に示した^{1),2)} (表1)。

表1 物理化学的性状

CAS No.	122-14-5	
別名	フェニトロチオン、スミチオン	
用途	農薬 (殺虫殺菌剤)	
構造式	 $C_9H_{12}NO_5PS$	
分子量	277.25	
物性	比重	1.32 - 1.34 (25°C)
	沸点	210°C付近から分解 (窒素雰囲気下)
	融点	3.4°C
	蒸気圧	1.57×10^{-3} Pa
	形状	淡黄色透明液体
ばく露限界値等	日本産業衛生学会	1 mg/m ³
	OSHA	設定されていない
	NIOSH	設定されていない
	ACGIH	設定されていない

2. 文献調査

チオリン酸 O,O-ジメチル-O-(3-メチル-4-ニトロフェニル) (以下、別名フェニトロチオンとする) の測定及びその分析方法に関する公定法は提示されていない。作業環境中に粒子として存在した場合を考慮してグラスファイバーフィルターを装着したジビニルベンゼン/メタクリレート共重合体のノビアス (こま型) 捕集管を用いて検討を実施した。

日本産業衛生学会のばく露限界値 1 mg/m³ を暫定 2 次評価値 (E) とし、2E~1/1000E を目指して検討を行った。

3. 捕集及び分析条件

捕集管にはジビニルベンゼン/メタクリレート共重合体系充填剤にグラスファイバーフィルター (写真1) を用いて検討を行った。

この捕集管をポンプ（ポケットポンプ SKC 社製）に接続して 0.2 L/min の流量で捕集を行うこととした。検討する濃度としては 0.001~0.1 mg/m³（捕集量；0.049~97 µg）とした。脱着溶媒はジクロロメタンとして、内部標準物質（トルエン-d8）をあらかじめ 2 µg/mL の濃度となるよう添加して用いた。脱着は捕集管に脱着溶媒を通液させる方法で行った。

具体的には写真 2 のように、ストップバルブ付マニーホールドに取り付け（ストップバルブは閉）、下部のマニーホールド内に目盛り試験管、捕集管上部には溶媒を入れるために注射筒をセットして吸引ポンプでマニーホールド内を減圧する。捕集管上部の注射筒に約 2 mL の脱着溶媒を入れ、ストップバルブを一瞬開き、高速で捕集管内に溶媒を通液させる。下部の試験管に約 0.5~1 mL 溶出され、かつ捕集管の上部に溶媒が十分残留していることを確認（溶媒がない場合は追加）して約 1 分間浸漬時間をとる。その後、マニーホールド内を常圧に戻し、ストップバルブを開放、調節して 1 mL/min 以下の速度で試験管の目盛り約 5 mL まで溶媒を通液し、最終的に 5 mL にメスアップする。概ね 10 分間程度を要する。なお、減圧せずに通液脱着を行ったところ、回収率にばらつきが見られた。分析には、DB-5MS カラムを使用し、感度・精度の高いガスクロマトグラフ質量分析法（GC/MS 法）、内部標準法で行うこととした。しかしながら、フェニトロチオンは GC/MS 分析の際に、検量線が低濃度領域で直線とならない現象が

みられるため、マトリックスとして最終試料液にポリエチレングリコール（PEG-300 和光純薬）を添加して分析を行うこととした。マトリックスの添加（あるいは共注入）については、食品中や水中の農薬（GC/MS）分析において、ガスクロマトグラフ注入口、カラム、MS 室などの活性点が影響し、検量線異常となる際にしばしば用いられている手法である^{3,4,5}。今回、添加する PEG-300 の量は最終試料液 PEG 濃度 0.1% となるように設定した。本法の分析条件では GC 注入口に 1000 ng 強の PEG-300 が注入されることになる。PEG 量については、酒井らの GC/MS/MS による農産物中の残留農薬一斉分析法⁴では注入量として約 600 ng、奥村らのキャピラリー・GC/MS による水中の農薬及びその酸化生成物の定量³では PEG 濃度として 1000 µg/mL であった。PEG-300 を加えた場合の検量線の改善例を図 1 に示す。0~90 µg/mL の検量線範囲においては、PEG-300（0.1%）で直線性の改善が見られた。また注入口への吸着が生じやすいため、注入口ライナー（低吸着仕様）内のグラスウールを 1/2 に減量して用いた。試料液については、捕集管を内部標準入りジクロロメタンで通液脱着した後に、試料液中の PEG-300 の濃度が 0.1% となるように添加する。本検討では、通液する際に目盛り試験管にあらかじめ PEG-300 を 1 µL 入れて通液脱着を行った。GC/MS による注入口温度（250℃）、カラム温度等の分析における諸条件は上記 3)、4)の文献のほか、GC/MS による農薬等の一斉試験法（農産物）⁵を参考にほぼ同様に設定し、表 2 のとおりとした。なお、フェニトロチオンは窒素雰囲気下 210℃付近で分解するというデータが示されており、注入口温度は 200℃以下が望ましいと考えられるが、PEG を使用することから 250℃とした。また、分析を行うにあたっては、注入口 150℃から 250℃と変化させて予備実験を行ったところフェ



ニトロチオンの応答に変化は認められなかった。

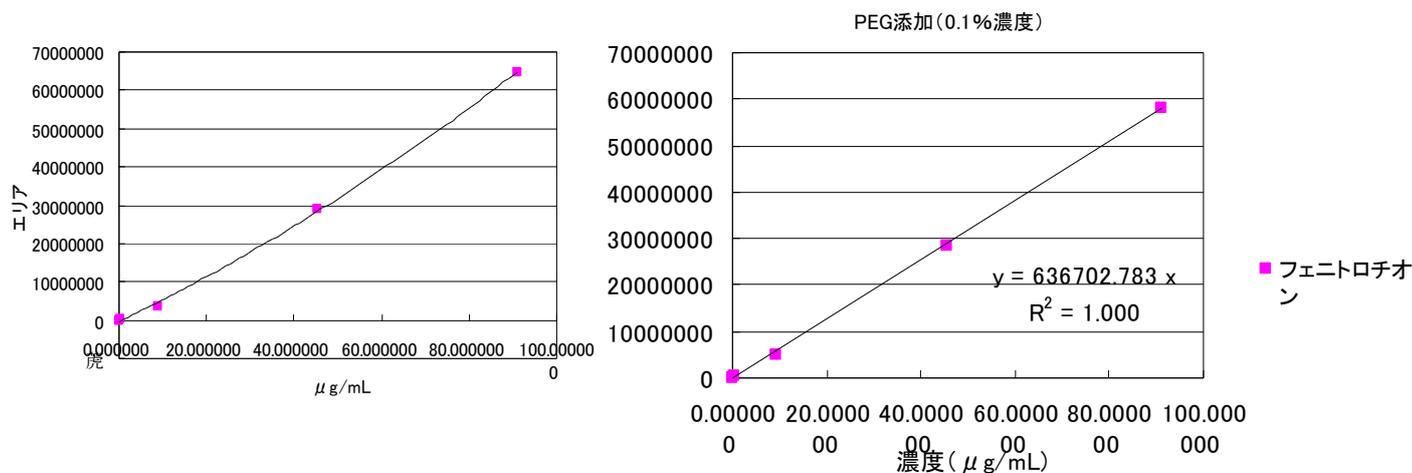


図1 PEG-300 添加による検量線直線性の改善例

なお、気中濃度の算出は次のようになる。以上の捕集及び分析条件については表2にまとめた。

$$C = c \times 5 \times \frac{1}{Q} \times \frac{1}{\varepsilon}$$

C : 環境気中のフェニトロチオン濃度 (mg/m³)

c : 最終試料液中のフェニトロチオン濃度 (μg/mL)

Q : 吸引試料空気量 (L)

ε : 脱着率

表2 捕集及び分析条件

捕集材	ノビアス NOBIAS RP-SG1WA 890-5342 日立ハイテックスサイエンス社製
捕集	0.2 L/min 10~240 分間
脱着溶媒	ジクロロメタン 5 mL ; 残留農薬試験用 5000 和光純薬 内部標準物質濃度 ; 2 μg/mL ※脱着用試験管に PEG をあらかじめ添加 (最終試料液濃度 0.1%)
内部標準物質	トルエン-d8 (TOL-d8 1 mg/mL ; 和光純薬)
装置	Agilent GC6890N + Agilent 5973 inert
カラム	DB-5MS 30 m×0.25 mm, 0.25 μm (Agilent 社製)
カラム温度	50°C(0.5 min) - 23°C/min - 270°C(5 min) ランタイム 15.1 min ポストラン : 310°C(5 min)
注入方法	スプリットレス、1 μL 注入
ライナー	シングルテーパーライナー (不活性処理) ※Agilent5100-2293 (ウルトラライナーとスプリットレス用ライナー) ライナー内のグラスウールを 1/2 に減量して使用

注入口温度	250℃
MS インターフェイス	270℃、ポストラン時 310℃ (5 min)
MS イオン源温度	230℃
イオン化法	EI 法 (70 eV)
測定モード	SIM
m/z	定量イオン ; 277、確認イオン ; 260、125, 109 (TOL-d8 定量イオン ; 98、確認イオン ; 100)
キャリアーガス	He ; 1.0 mL/min 注入口圧力 ; 7.5 psi

4. ブランク

内部標準物質入り脱着溶媒及び捕集材のブランクの確認を行ったところ、フェニトロチオンのリテンションタイム及び定量イオンに、妨害を与えるピークの検出は認められなかった。

5. 脱着率

脱着率は、MDHS 33/2 の方法⁷⁾に従い調べた。すなわち、0.001~2.0 mg/m³相当の気中空氣を 0.2 L/min で 240 分間吸引した時に、捕集管に捕集される絶対量 (捕集率 : 1 で算出) を算出し、その範囲の量となるように溶媒で調製したフェニトロチオン標準液を捕集管に添加した。別途脱着用のバイアルに脱着溶媒を入れ、捕集管と同様に標準液を添加し、これを対照とした。実際の添加量は表 3 に示したとおり、0.049~97.0 µg となった。添加後直ちに 0.2 L/min で 10 分間室内空氣を吸引 (22.5℃, 34.3%(R.H.)) させ、一昼夜冷蔵庫 (4℃) で保管後、脱着方法に従い脱着した。その結果、おおむね 90% 程度の脱着率を得ることができた (平均 94.8%)。

表 3 脱着率

添加量 (µg)	換算氣中濃度 (mg/m ³)	脱着率(%)		
		Mean	SD	RSD (%)
0.049	0.001	89	5.1	5.7
0.49	0.01	97	1.7	1.8
48.50	1.0	98	5.1	5.2
97.0	2.0	95	4.8	5.0

n=5

6. クロマトグラム

標準液のクロマトグラムの例を図 2 に示す。Scan モードで分析を行うと PEG-300 (平均分子量 300) の同族体のピークが確認出来る。フェニトロチオンのリテンションタイムは 9.7 min である。また、PEG のスペクトルは 100 m/z 以上のフラグメントイオンが殆ど存在せず、フェニトロチオンの SIM 定量分析において影響がないことを確認できた。

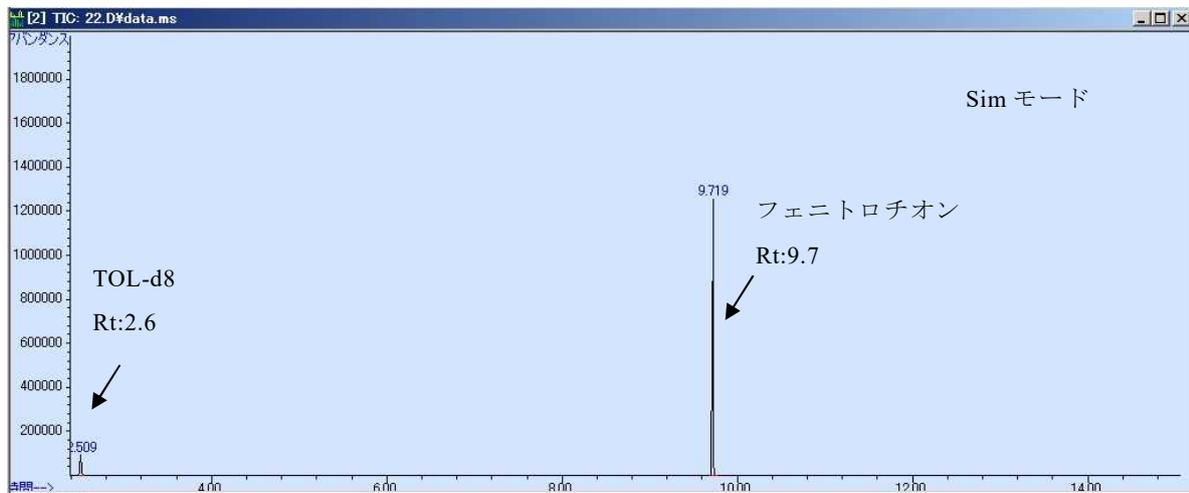
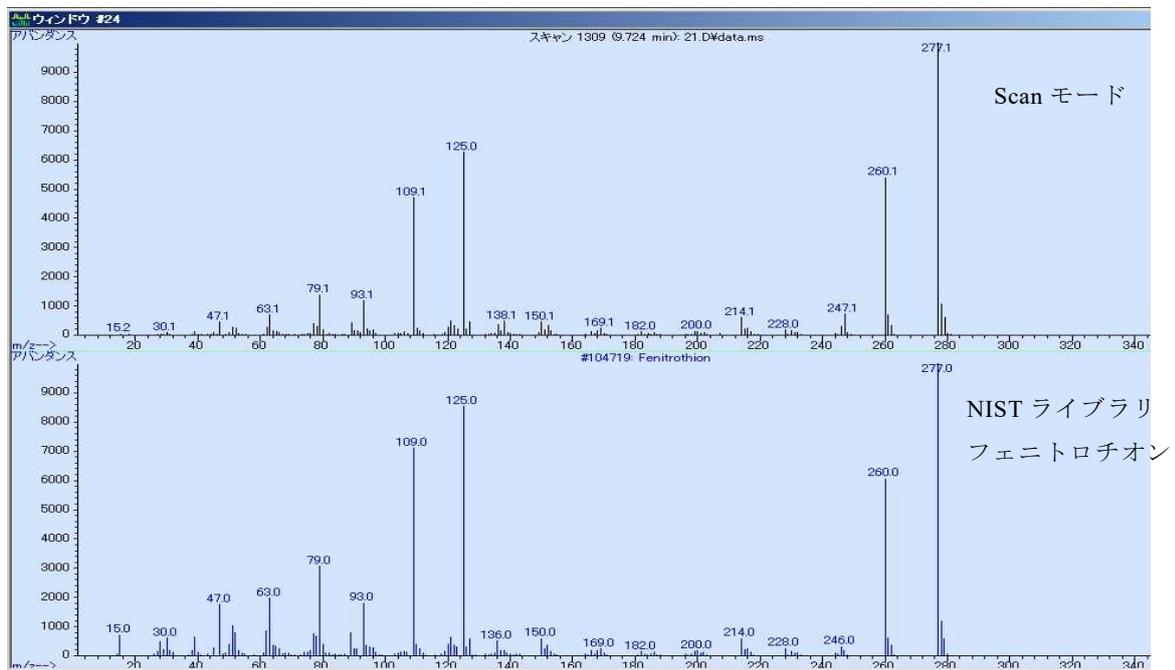
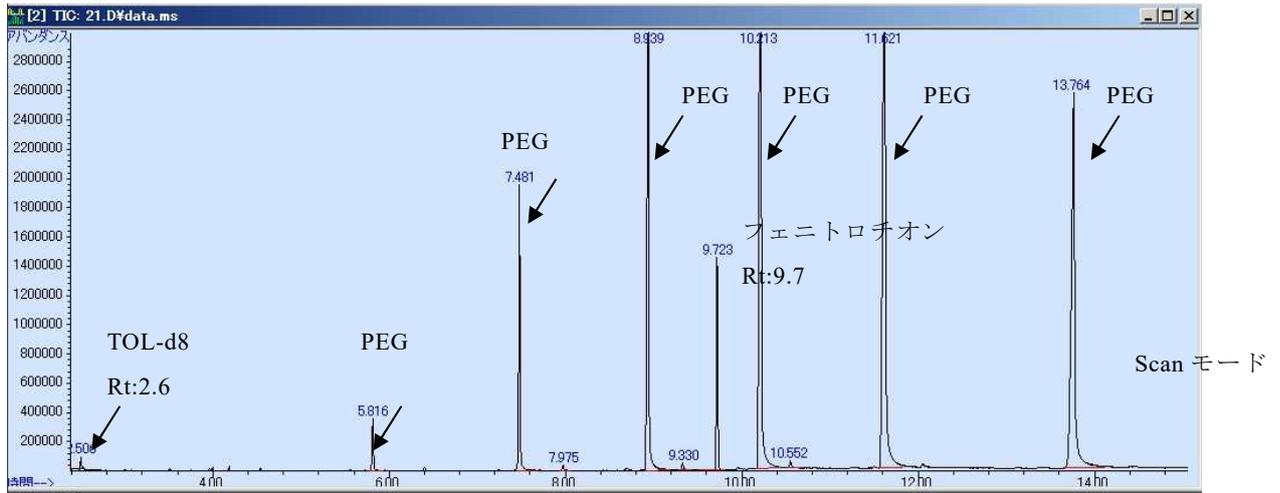


図2 フェニトロチオン (19.4 $\mu\text{g/mL}$ ジクロロメタンベース) のクロマトグラム例

7. 検量線

標準液を内部標準物質(トルエン-d8)入り0.1%PEGジクロロメタンで溶解、希釈し、0.000、0.0097、0.049、0.097、0.49、0.97、4.9、9.7、19.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の9段階の標準系列を調製した。0～90 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の範囲ではマトリックス(PEG-300)の添加により直線性の改善が見られ、今回の範囲(0.0097～19.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$)においても良好な直線性が得られたものの(図3全体)、低濃度0.0097～0.097 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の範囲の検量線を作成すると大幅に傾きが異なる現象が見られた(図3-①)。したがって、この範囲の検量線を除き、0.097～19.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の範囲で検量線を作成した(図3-②)。

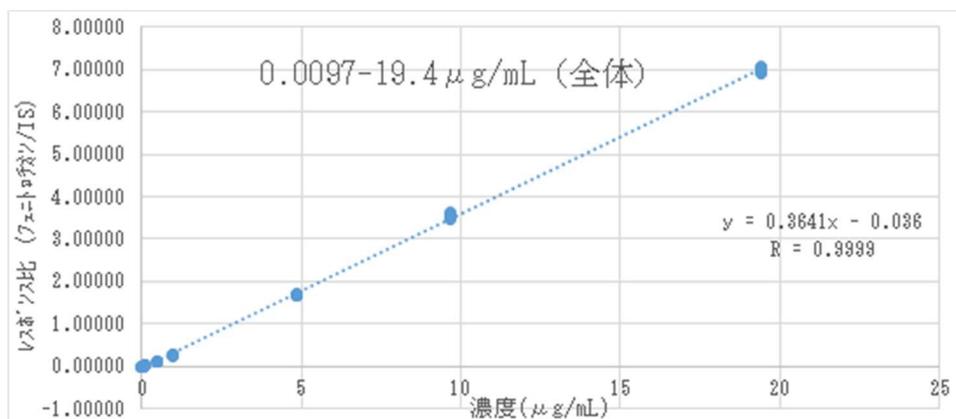


図3 0.0097-19.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の検量線 (全体)

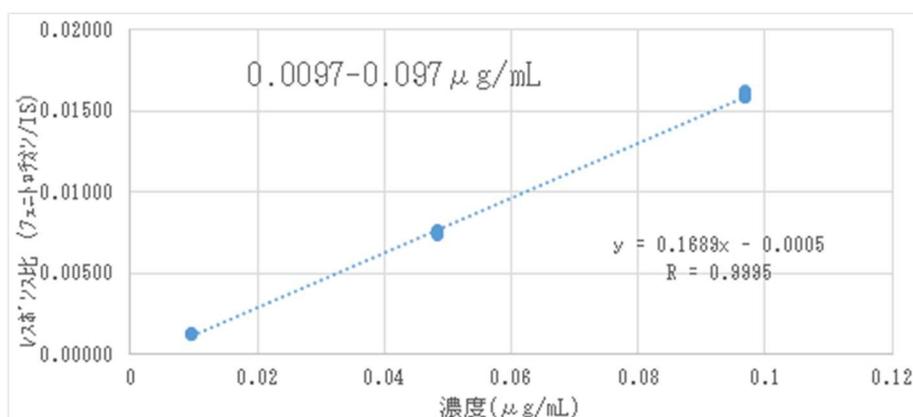


図3-① 0.0097-0.097 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の検量線

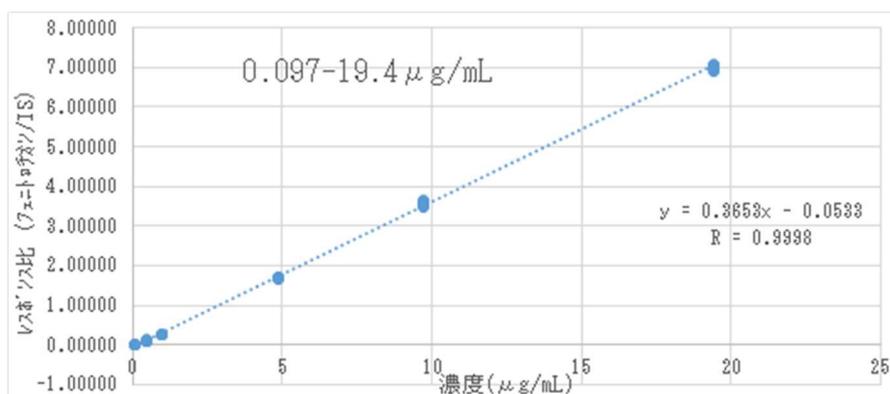


図3-② 0.097-19.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の検量線

表4 検量線 (データ)

濃度(μg/mL)	レスポンス比 (フェニトロチオン/IS)		
	Mean	SD	RSD (%)
0.0097	0.0013	0.00007	5.2
0.049	0.0075	0.00017	2.2
0.097	0.016	0.00038	2.4
0.49	0.11	0.0019	1.7
0.97	0.26	0.006	2.3
4.9	1.7	0.022	1.3
9.7	3.6	0.066	1.8
19.4	7.0	0.064	0.9

n=5

8. 検出下限及び定量下限

0.097 μg/mL を 5 サンプル分析し、その標準偏差 (SD) を算出した。次式より検出下限及び定量下限及び定量下限をもとめた。

$$\text{検出下限 (}\mu\text{g/mL)} = 3\text{SD}$$

$$\text{定量下限 (}\mu\text{g/mL)} = 10\text{SD}$$

その結果、検出下限 (3SD) は 0.0015 μg/mL、定量下限 (10SD) は 0.0049 μg/mL となった。しかしながら図 3-①の検量線の傾きを考えると図 3-②の検量線で精度よく定量することはできない。したがって、0.097 μg/mL (検量線最低濃度) を定量下限とすることとした。

定量下限値よりもとめられる気中濃度は 48 L 採気で 0.01 mg/m³ となり、1/100E が分析上の検出下限となった。

表5 検出・定量下限

	検出下限	定量下限値(10SD)
溶液濃度(μg/mL)	—	0.097
48 L 採気時の気中濃度(mg/m ³)*	—	0.01

※5 mL 脱着としたとき

9. 添加回収率 (通気試験)

6. 脱着率の実験操作と同様に、捕集管 1 層目に標準溶液を表 6-1、6-2 の添加量となるように添加し、直ちに 0.2 L/min で 10 分間及び 240 分間室内空気を吸引 (21.0~22.3℃、33.0~41.2%(R.H.)) した。その後、脱着・分析を行い、捕集管の回収率を求めた。1/1000E の濃度に相当する 0.049 μg (分析濃度 0.0097μg/mL) の 240 分間通気は 85%であったものの、他は 90%以上の結果を得られた。

表 6-1 添加回収率 (10 分間)

添加量 (μg)	換算気中濃度 (mg/m^3)	回収率(%)		
		Mean	SD	RSD (%)
0.049	0.025	99	7.3	7.3
0.49	0.25	95	3.9	4.1
48.5	24.0	96	5.7	6.0
97.0	48.5	98	6.8	7.0

n=3

表 6-2 添加回収率 (240 分間)

添加量 (μg)	換算気中濃度 (mg/m^3)	回収率(%)		
		Mean	SD	RSD (%)
0.049	0.0001	85	8.3	9.9
0.49	0.001	93	2.6	2.8
48.5	0.1	93	5.0	5.4
97.0	0.2	93	3.5	3.8

n=5

10. 保存性

捕集管に脱着率の実験操作と同様に、標準液を表 7 の添加量になるように添加後、0.2 L/min で 10 分間室内空気を吸引 (20.7~23.5°C、29.0~44.2%(R.H.)) し、両端をキャップした。その後冷蔵庫 (4°C) に保存した。サンプル作製直後を基準 (0 日目) とし、1、3、5 日後に脱着・分析し、保存性の確認を行った。その結果を表 7、図 4 に示した。本検討では保存性に関しては少なくとも 5 日間は 0 日目から減衰することがなかった。ただし、添加量 0.049 μg については他の濃度と比べ若干の減衰が見られた。

表 7 保存性

添加量 (μg)	保存日数 (日)	保存率		
		Mean (%)	SD	RSD (%)
0.049	0	100	7.9	7.9
	1	90	4.6	5.1
	3	93	3.2	3.4
	5	86	2.9	3.3
0.49	0	100	8.0	8.0
	1	99	2.8	2.8
	3	102	1.0	1.0
	5	95	2.2	2.3
48.5	0	100	6.0	6.0
	1	101	3.8	3.7
	3	100	5.2	5.2
	5	96	2.8	2.9
97.0	0	100	3.9	3.9
	1	100	1.1	1.1
	3	103	5.0	4.8
	5	97	4.7	4.8

(n = 3、1 日目データのみ n = 5)

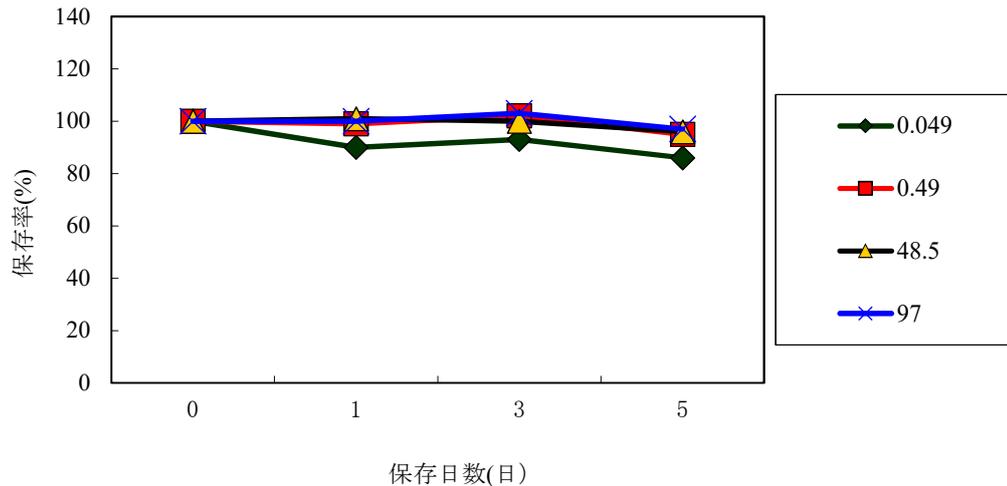


図 4 保存性

11. まとめ

チオりん酸 O,O-ジメチル-O-(3-メチル-4-ニトロフェニル)の、1/1000E~2E の濃度の濃度において測定・分析法の検討を行った。定量にあたっては注入口ライナーを工夫することにより、検量線は直線性が得られたが、低濃度領域は検量線の傾きが変わり、定量精度が劣るため 0.097 µg/mL 未満を除いた 0.097~19.4 µg/mL までとした。1/1000E (添加量 0.049 µg/mL) については、分析濃度 0.0097 µg/mL となり、検量線の範囲を外れている。また、添加回収率 (240 分間)、保存性 5 日間について 90% 未満となったことから、測定範囲は 1/100E~2E が妥当であると言える。

12. 検討機関

中央労働災害防止協会 労働衛生調査分析センター

13. 参考文献

- 1) 職場のあんぜんサイト、製品安全データシート、チオりん酸 O,O-ジメチル-O-(3-メチル-4-ニトロフェニル)、厚生労働省、2006
http://anzeninfo.mhlw.go.jp/anzen_pg/GHS_MSD_DET.aspx
- 2) 国際化学物質安全性カード、ICSC 番号: 0622
- 3) 奥村為雄：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、Vol.5、№3、575-583 (1995)
- 4) 酒井康行ほか：GC/MS/MS による農産物中の残留農薬一斉分析法の妥当性評価、福井県衛生環境研究センター年報、第 12 巻 (2013)
- 5) GC/MS による農薬等の一斉試験法 (農産物)、厚生労働省
<http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/0000075497.html>
- 6) Methods for the Determination of Hazardous Substances, 33/2 sorbent tube standards (Preparation by the syringe injection technique), Health and Safety Executive (HSE), Feb. 1997.

(別紙) チオりん酸 O,O-ジメチル-O-(3-メチル-4-ニトロフェニル)標準測定分析法

化学式：C ₉ H ₁₂ NO ₅ PS		分子量：277.25	CAS No.：122-14-5
許容濃度等 日本産業衛生学会：1 mg/m ³ NIOSH：設定されていない ACGIH：設定されていない		物性等 沸 点：210℃付近から分解 比 重：1.32-1.34 (25℃) 融 点：3.4℃ 蒸気圧：1.57×10 ⁻³ Pa 形 状：淡黄色透明液体	
別名：フェニトロチオン、スミチオン			
サンプリング		分析	
サンプラー：NOBIAS RP-SG1WA890-5342 日立ハイテクサイエンス社製 サンプリング流量：0.2 L/min サンプリング時間：10～240 分間 (2～48 L) 保存性：冷蔵 (4℃) で少なくとも 5 日間安定 (添加量 0.49～97 μg、保存率 95-103%) (添加量 0.049 μg、保存率 86-100%)		分析法：ガスクロマトグラフィー質量分析法 脱着液：ジクロロメタン 5 mL (内部標準物質 Tol-d8 入り 2.0 μg/mL) 脱着方法：通液脱着 (約 1 mL/min 以下) 通液 開始時 (通液量約 0.5 mL) に減圧 通液が必要。 マトリックス：脱着後の試料液に PEG-300 を 0.1%となるように添加。	
精度		装置：Agilent GC6890N+5973 inert カラム：DB-5MS 30 m×0.25 mm, 0.25 μm カラム温度： 50℃(0.5 min)－23℃/min－270℃(5 min) ポストラン：310℃(5min) 注入方法：スプリットレス (パルスなし) 注入ライナー：Agilent5100-2293 グラスウ ールを 1/2 に減量して使用 注入口圧力：7.5 psi (1.0 mL/min) 注入量：1 μL 注入口温度：250℃ MS インターフェイス：270℃ (ポストラン時 310℃、5分) MS イオン源温度：230℃ m/z：フェニトロチオン 定量イオン 277、確認イオン 260, 125, 109 Tol-d8 定量イオン 98、確認イオン 100 リテンションタイム：9.7 min 検量線：0.097－19.4 μg/mL (Tol-d8:2.0μg/mL、 PEG-300：0.1%のジクロロメタンで作 成) の範囲で直線性が得られている。 定量法：内部標準法	
脱着率：添加量	0.49 μg の場合 97% 48.5 μg の場合 98% 97.0 μg の場合 95%		
回収率：添加量 (10 分間)	0.49 μg 95% 48.5 μg 96% 97.0 μg 98%		
(240 分間)	0.49 μg 93% 48.5 μg 93% 97.0 μg 93%		
定量下限： 0.097 μg/mL 0.01 mg/m ³ (採気量 48 L、脱着量 5 mL)			
適用：個人ばく露濃度、作業環境測定			
妨害：確認されていない			
1) 職場のあんぜんサイト製品安全データシート、チオりん酸 O,O-ジメチル-O-(3-メチル-4- ニトロフェニル)、厚生労働省、2006 http://anzeninfo.mhlw.go.jp/anzen_pg/GHS_MSD_DET.aspx 2) 国際化学物質安全性カード、ICSC 番号:0622 3) 奥村為雄：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、Vol.5、No.No.、575-583 (1995) 4) 酒井康行ほか：GC/MS/MS による農産物中の残留農薬一斉分析法の妥当性評価、福井県衛 生環境研究センター年報、第 12 巻 (2013) 5) GC/MS による農薬等の一斉試験法 (農産物)、厚生労働省 http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/0000075497.html 6) Methods for the Determination of Hazardous Substances, 33/2 sorbent tube standards (Preparation by the syringe injection technique), Health and Safety Executive (HSE), Feb. 1997.			

作成日：平成 30 年 2 月 20 日