

## 目 次

### 目 的

1. 文献調査
2. 予備試験
  - 2-1. 分析条件
  - 2-2. 標準添加条件
  - 2-3. 抽出溶媒
3. 本試験
  - 3-1. 方法
    - 3-1-1. 試薬の調製
    - 3-1-2. 分析操作
  - 3-2. 結果
    - 3-2-1. 脱着率
    - 3-2-2. 捕集時間
    - 3-2-3. 保存安定性
    - 3-2-4. 検量線
    - 3-2-5. 検出下限及び定量下限
    - 3-2-6. 妨害物質等
4. まとめ
5. 参考文献
6. 検討実施者

① 溶媒抽出 GC/MS 法

## 目的

1-ブロモブタンは、医薬品中間体、農薬中間体、塩化ビニル安定剤原料などに使用されているが、変異原性が認められたことから、化学物質による労働者の健康障害防止に係るリスク評価の対象物質となった。しかし、現在のところ作業環境測定手法は示されていない。そこで、作業環境測定手法を確立するための検討を行ったので報告する。

## 1. 文献調査

表1に大気中のプロモアルカンの測定法に関する文献を示す。

表1 プロモアルカンの測定法に関する文献

出典	対象物質	サンプリング法	脱着溶媒	濃度範囲	測定装置
OSHA PV2061	1-ブ'ロモブタン 2-ブ'ロモブタン	活性炭	CS <sub>2</sub> /DMF (99/1)	0.007 ppm (0.037 mg/ m <sup>3</sup> ) at 12L	GC/FID
NIOSH No. 1025	1-ブ'ロモブタン 2-ブ'ロモブタン	活性炭	CS <sub>2</sub>	1 μg (LOD)	GC/FID
化学物質分析法開発調査報告書：1989 (環境省)	1,5-ジ'ブ'ロモブタン 他	Tenax-GC +Carbopack B	—	0.01 μg/ m <sup>3</sup> at 10L	加熱脱着-GC/MS
化学物質分析法開発調査報告書：1997 (環境省)	2-ブ'ロモブタン 他	TenaxTA +Carboxen1000	—	20ng/ m <sup>3</sup> at 4L	加熱脱着-GC/MS
川崎市公害研究所年報：1999	1-ブ'ロモブタン 他	Carboxen1000 又は Carbosieve S2	—	5ng/ m <sup>3</sup> at 10L	加熱脱着-GC/MS

## 2. 予備実験

1-ブロモブタンの分子構造を図1に示す。1-ブロモブタンは1-ブロモプロパンより分子の炭素数が1つ大きいだけで構造が類似することから NIOSH No. 1025 または OSHA PV2061 により測定が可能であると考えた。この方法は吸引ポンプを用いて活性炭チューブに捕集し、二硫化炭素または1%N,N-ジメチルホルムアミドの二硫化炭素溶液で抽出後、ガスクロマトグラフ-FID 検出法により分析する方法であるが、本実験においては、FID 検出器ではなく質量選択性を特長とするガスクロマトグラフ質量分析 (GC/MS) を分析機器に用いる方法を考えた。

### 2-1 分析条件

#### GC/MS 条件

分離カラムには VOC 化合物の分離に一般的に使用される 100%ポリジメチルシロキサンカラムとし、膜厚 1 μm のものを用いた。定量方法は絶対検量線法よりも定量性のよい内部標準法とし、内部標準物質には 1-ブロモブタンに保持時間が近く、妨害イオンの少ないフルオロベンゼン-d<sub>5</sub> を用いた。1-ブロモブタンのスペクトルを図 2 に示す。定量イオンはピーク強度の最も高い m/z = 57 の質量イオンとし、確認イオンは 1-ブロモブタンの特徴的な質量イオンである m/z = 136 及び 138 とした。

注入方法による測定クロマトグラムの違いを図 3 に示す。スプリットレス注入では、1-ブロモブタンの保持時間が脱着溶媒の二硫化炭素の過大なテーリングと重なり、さらに 1-ブロモブタンもテーリングを生じたため、測定精度への影響が懸念された。そこでスプリット比を 5:1 に変更

したところ、1-ブロモブタン及びフルオロベンゼン-d5 共に二硫化炭素の残留による影響を受けることなく良好なピークが得ることができた。また、スプリット 5:1 までは殆どピーク高さは変化せず、0.45 秒/サイクルの測定サイクルにおいて 14 点で構成されるシャープなピークが得られた。

以上により決定した GC/MS 分析条件を表 2 に示す。本試験はこの GC/MS 条件で行った。

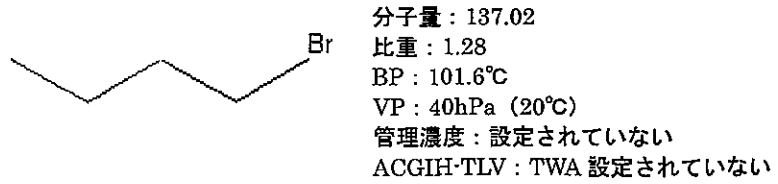


図1 1-ブロモブタンの分子構造

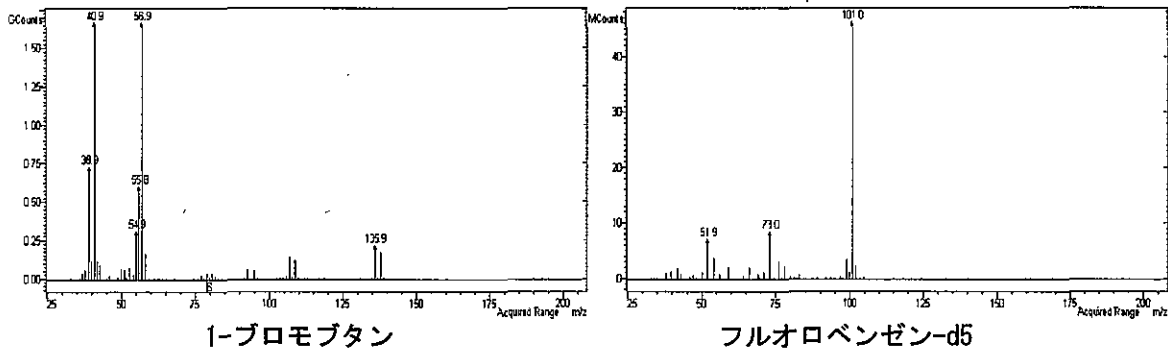


図2 1-ブロモブタン及びフルオロベンゼン-d5 (内部標準) の質量スペクトル

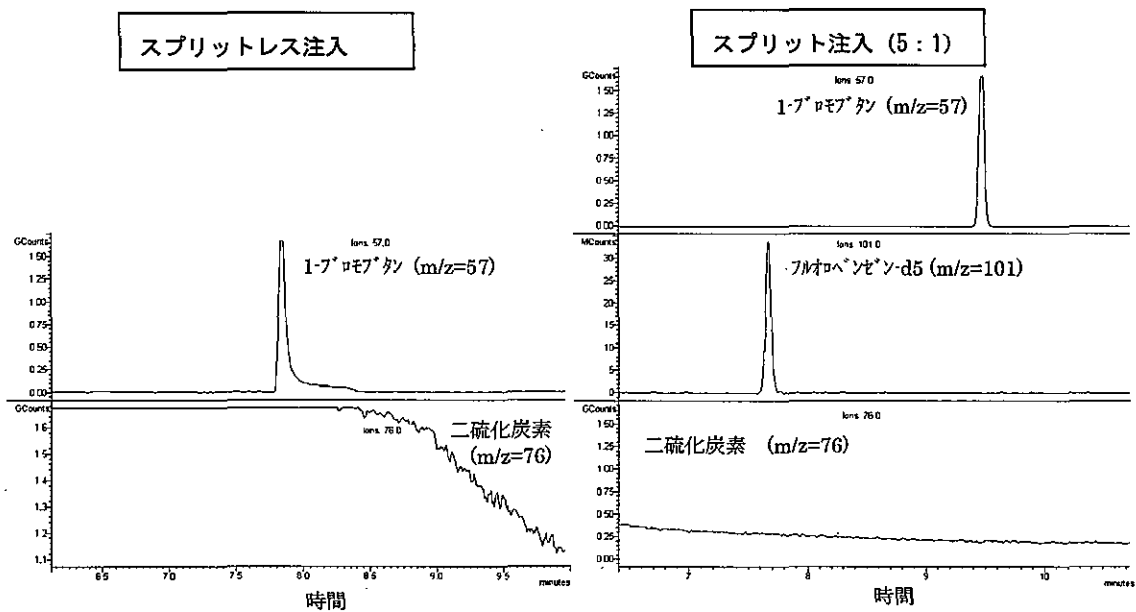


図3 注入法による測定クロマトグラムの違い (SIM クロマトグラム)

表 2 GC/MS 分析条件

装置	Varian 8400GC/320MS
<GC 部>	
カラム	VF-1ms 内径 0.25mm×膜厚 1μm×長さ 30m
カラム温度	35°C (5min) →8°C/min→80°C→20°C/min→200°C
キャリアガス	He 1mL/min
注入方法	スプリット (5:1)
注入量	1μL
注入口温度	220°C
インターフェース温度	200°C
<MS 部>	
イオン源温度	200°C
測定モード	SIM
測定サイクル	0.45s/cycle
測定イオン (m/z)	1-プロモブタン (対象物質): 定量イオン 57 確認イオン 136、138 フルオロベンゼン-d5 (内部標準物質): 定量イオン 101

2-2 標準添加条件

捕集剤への標準添加は、図 4 に示すガラス管を用いて吸引ポンプにより 0.1L/min の速度で通気しながら行った。標準溶液は二硫化炭素により各濃度に希釈調製し、マイクロシリンジにより捕集剤の先端のガラスウールに 2μL を添加した。

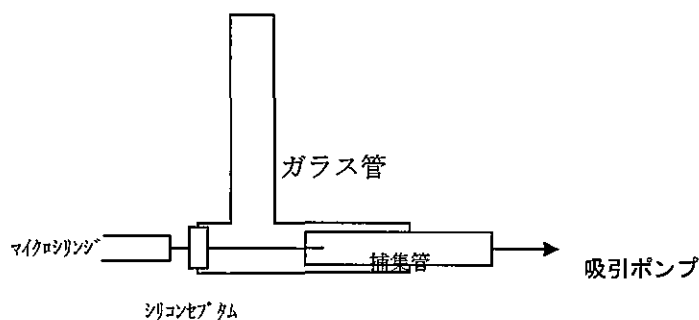


図 4 標準添加操作に用いたガラス管

### 2-3 抽出溶媒

NIOSH method No. 1025 および OSHA PV2061 共に活性炭を捕集剤として用いているため、本試験においても活性炭捕集剤（柴田科学 スタンダード型；φ6×70mm 20~40mesh 100mg/50mg）を用いた。捕集剤からの抽出操作は NIOSH method No. 1025 では、二硫化炭素のみで脱着するが、OSHA PV2061 では 1%の N,N ジメチルホルムアミド (DMF) を含有する二硫化炭素を用いて脱着する。これら 2 方法について検証するため、標準を添加して 5 分間通気した試料を 1mL の二硫化炭素により脱着し、測定した結果を表 3 に示す。いずれの溶媒においても脱着率 64~71% と少し低めであったが、DMF の有無による差異は特に認められなかった。

二硫化炭素以外にジクロロメタン、メタノールを用いて脱着を試みたが、二硫化炭素が最も良い結果であった。そこで、本試験においては二硫化炭素 1mL から 2mL に変更して脱着を行った。

表 3 NIOSH 法及び OSHA 法による脱着試験結果

添加量 (μg)	脱着率：% (mean±SD)	
	二硫化炭素 (NIOSH 法)	1vol%DMF 含有二硫化炭素 (OSHA 法)
0.05	71±4.1	64±3.8
1.0	64±4.4	68±4.7

(測定回数 n=5)

### 3. 本試験

試薬の調製及び抽出操作に従って試料の測定を行い、脱着率、保存安定性、捕集時間、検出限界、定量限界等を調べた。

#### 3-1. 方法

##### 3-1-1 試薬の調製

###### a) 標準物質

1-ブロモブタン (関東化学 特級、>98.0%GC)

フルオロベンゼン-d5 (CIL 社 98%)

二硫化炭素 (和光純薬工業 作業環境測定用 min99%)

###### b) 標準液

50mL のメスフラスコに二硫化炭素を標線付近まで入れ、そこに 10μL マイクロシリンジで 1-ブロモブタンを 5μL 添加して 128μg/mL の標準原液を調製する (なお、本報告では標準物質を純度 100%、密度 1.28g/cm<sup>3</sup> として調製を行う)。これを順次希釈して 0.0256μg/mL~12.8μg/mL の標準液を調製する。それ以外に、高濃度用の標準添加用の標準液は、1-ブロモブタン 10μL を二硫化炭素 25mL に希釈したものと 200μL を二硫化炭素 25mL に希釈したものを用いた。

###### c) 内部標準液

100mg のフルオロベンゼン-d5 を秤量し、メタノールに溶解してメスフラスコで 100mL とする。これを希釈して 50μg/mL の内部標準液を調製する。

##### 3-1-2 分析操作

4mL バイアルビンに捕集剤を取り出し二硫化炭素 2mL を加えて栓をして振り混ぜ、時々振り混ぜながら 30 分間静置する。50μg/mL の内部標準液をマイクロシリンジで 10μL 添加して振り混ぜた後、上澄みを GC バイアルビンにとり GC/MS により測定する。

### 3-2 結果

#### 3-2-1 脱着率

脱着溶媒による脱着率を調べるために、各濃度の標準液 2  $\mu\text{L}$  を捕集剤手前のガラスウールに添加し、室内空気を 0.1L/min で 5 分間通気した後、二硫化炭素 2mL により脱着し、測定して脱着率（回収率）を調べた。その結果を表 4 に示す。添加量 0.05  $\mu\text{g}$  の低濃度では脱着率が低下する傾向が見られた。なお後段（2 層目）の捕集剤からは 1-プロモブタンを検出しなかった。

表 4 標準添加量 vs 脱着率

添加量 ( $\mu\text{g}$ )	脱着率 : % (mean $\pm$ SD)
0.05	70.6 $\pm$ 10.6
1.0	91.4 $\pm$ 5.1
20	98.1 $\pm$ 7.6

(測定回数 n=5)

#### 3-2-2 捕集時間

捕集時間の増加による回収率低下を調べるために、標準液を添加し、室内空気（温度 15~23°C、湿度 40~55%）を 0.1L/min で各時間通気した後、二硫化炭素 2mL により脱着し、測定して回収率を調べた。その結果を表 5 及び図 5 に示す。いずれの濃度においても通気時間とともに回収率が低下する傾向がみられたが、高濃度よりも低濃度の添加において顕著であると考えられる。1.0  $\mu\text{g}$  添加では 60 分間以上の通気で回収率が 80% を下回る結果となった。なお後段（2 層目）の捕集剤からは 1-プロモブタンを検出しなかった。

表 5 通気時間 vs 回収率

通気時間 (min)	添加量 ( $\mu\text{g}$ )	回収率% (mean $\pm$ SD)	添加量 ( $\mu\text{g}$ )	回収率% (mean $\pm$ SD)	添加量 ( $\mu\text{g}$ )	回収率% (mean $\pm$ SD)
5		70.6 $\pm$ 10.6		91.4 $\pm$ 5.1		98.1 $\pm$ 7.6
60	0.05	66.9 $\pm$ 4.6	1.0	80.3 $\pm$ 2.2	20	103.2 $\pm$ 8.0
240		62.0 $\pm$ 4.6		76.9 $\pm$ 5.4		101.9 $\pm$ 4.7
480		62.9 $\pm$ 2.7		69.1 $\pm$ 2.3		85.5 $\pm$ 5.5

(測定回数 n=5)

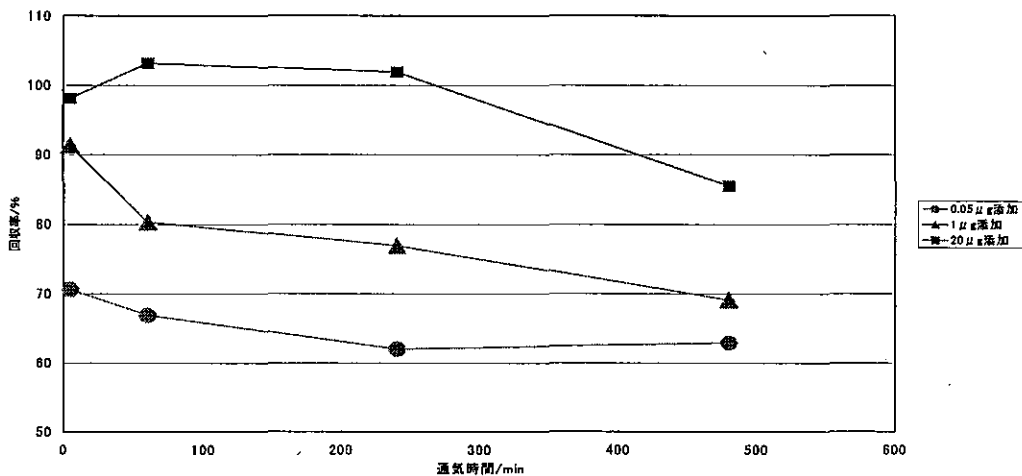


図 5 通気時間 vs 回収率

### 3-2-3 保存安定性

保存日数の経過による回収率低下を調べるために、標準液を添加し、室内空気を0.1L/minで5分間通気した後、4°C以下で各日数保存する。室温に戻してから二硫化炭素2mLにより脱着後、測定を行い回収率を調べた。その結果を表6及び図6に示す。3日以内は回収率が80%以上であったが5日後では1 $\mu$ g添加において著しい低下がみられた。なお、5日後の試料においても後段(2層目)の捕集剤から1-ブロモブタンを検出できなかった。

表6 保存日数 vs 回収率

保存日数	添加量 ( $\mu$ g)	回収率% (mean $\pm$ SD)	添加量 ( $\mu$ g)	回収率% (mean $\pm$ SD)	添加量 ( $\mu$ g)	回収率% (mean $\pm$ SD)
0		70.6 $\pm$ 10.6		91.4 $\pm$ 5.1		98.1 $\pm$ 7.6
1	0.05	—	1.0	84.3 $\pm$ 1.6	20	94.7 $\pm$ 5.8
3		52.5 $\pm$ 2.3		88.0 $\pm$ 3.9		91.5 $\pm$ 3.8
5		48.9 $\pm$ 3.5		62.6 $\pm$ 6.2		89.9 $\pm$ 1.5

(測定回数 n=3)

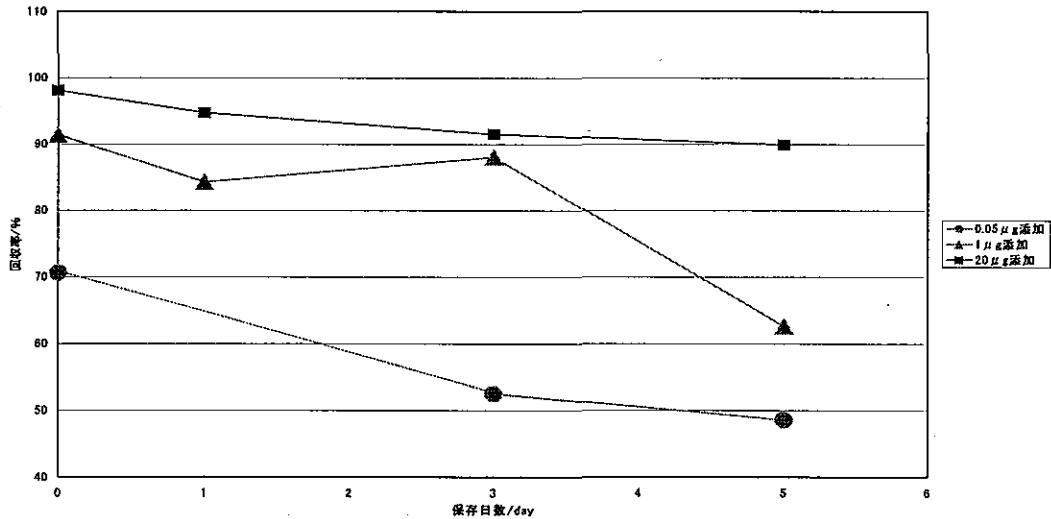


図6 保存日数 vs 回収率



### 3-2-4 検量線

検量線を図7に示す。0.0256  $\mu\text{g/mL}$  から 12.8  $\mu\text{g/mL}$  の範囲で RSD4.3%、相関係数 1.000 の良好な検量線が得られた。

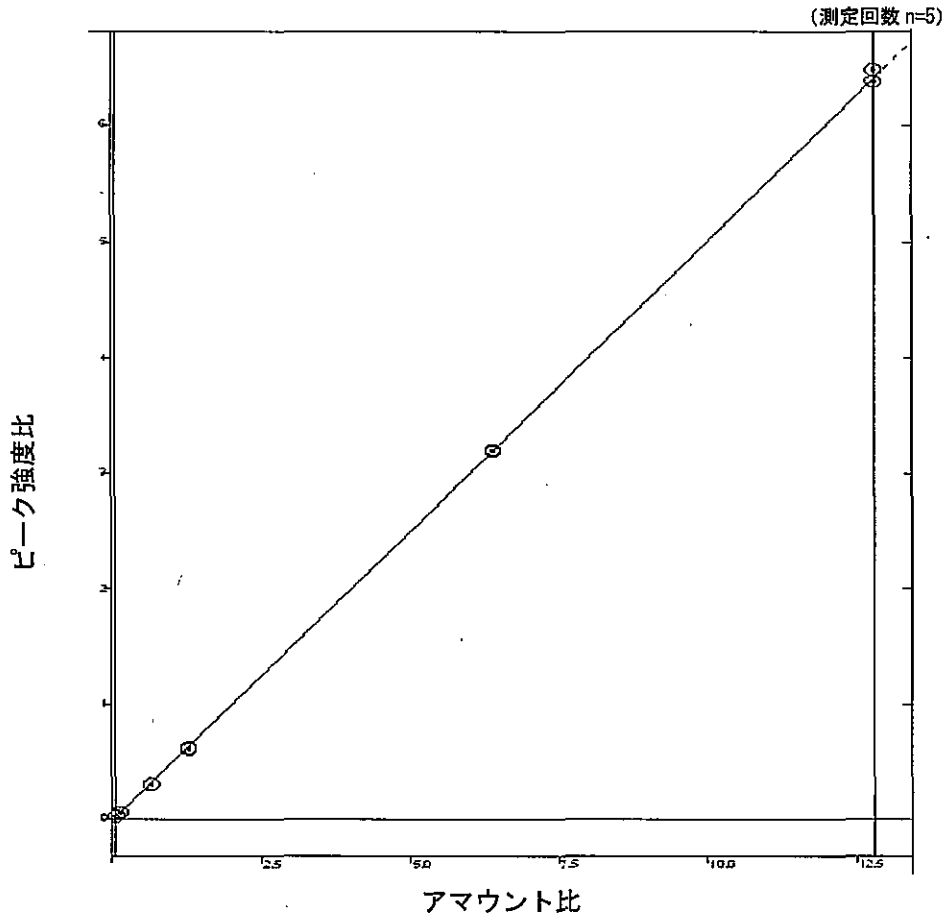


図7 検量線

### 3-2-5 検出下限及び定量下限

検量線の最低濃度の標準液を5サンプル測定し、得られた測定値の標準偏差を求め、その3倍を検出下限値 (LOD) 及び10倍を定量下限値 (LOQ) とするとそれぞれ、0.007  $\mu\text{g/mL}$  及び 0.024  $\mu\text{g/mL}$  となった。しかし、捕集剤への添加回収試験において捕集量が少ない (添加量 0.05  $\mu\text{g}$ ) 場合に回収率の低下がみられたことから実用性がないと判断し、回収率の低下が認められない捕集量 (添加量 1.0  $\mu\text{g}$ ) で行った添加回収試験 (n=5) の測定値から標準偏差を求め、同様に LOD 及び LOQ を計算するとそれぞれ 0.078  $\mu\text{g/mL}$ 、及び 0.261  $\mu\text{g/mL}$  となった。さらに、捕集時間 (通気時間) による回収率低下を防ぐために最大採気量を 6L として、気中の LOD 及び LOQ を計算すると表7のようになる。

表7 検出下限値 (LOD) 及び定量下限値 (LOQ)

試料液濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )		1L 採気時の濃度 (ppm(v/v))		6L 採気時の濃度 (ppm(v/v))	
LOD	LOQ	LOD	LOQ	LOD	LOQ
0.078	0.261	0.028	0.093	0.0047	0.015

備考：標準液の繰り返し測定による試料液濃度の LOD (3 $\sigma$ ) は 0.007  $\mu\text{g/mL}$ 、LOQ (10 $\sigma$ ) 0.024  $\mu\text{g/mL}$  であったが、低濃度域における回収率低下を避けるために測定方法における LOD 0.078  $\mu\text{g/mL}$ 、LOQ 0.261  $\mu\text{g/mL}$  とした。

### 3-2-6 妨害物質等

1-ブロモブタンの定量イオン  $m/z=57$  はアルカン骨核を有する化合物のフラグメントイオンでもある。そこで、揮発性炭化水素の混合物であるガソリン成分による妨害の有無を調べた。測定クロマトグラムを図8に示す。質量イオン  $m/z=41$  ではブロモブタンと炭化水素成分の一つが重なったが、 $m/z=57$  では妨害するピークがほとんどなく1-ブロモブタンのピークがほぼ分離される。さらに揮発性有機化合物混合標準液区（関東化学製 24 種混合）及び室内大気分析用標準物質（スペルコ製 50 種混合）の成分についても調べたが、1-ブロモブタンを妨害する成分はなかった。なお、いずれの場合も  $m/z=136$ 、 $138$  では全く妨害ピークを認めなかったことから、定量イオンと確認イオンの強度比を標準と比較して妨害が認められた場合には、定量イオンに  $m/z=136$  または  $138$  に用いて検量線を作成し定量することも可能である。

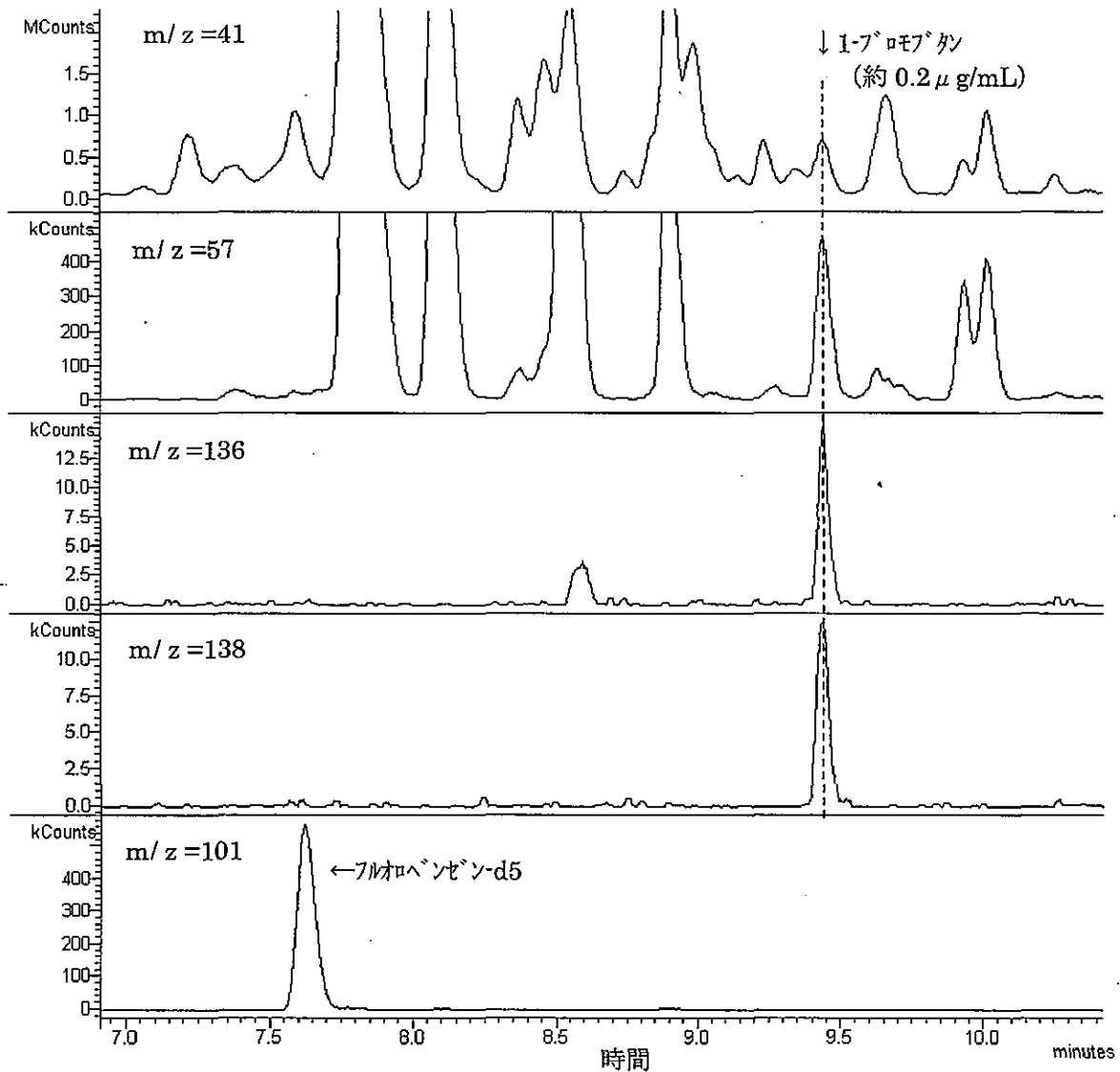


図8 炭化水素成分（ガソリン）を添加した測定クロマトグラム

#### 4. まとめ

- ・低濃度試料の添加回収率はいずれも低かったが、ブロモブタン  $1\mu\text{g}$  から  $20\mu\text{g}$  の添加範囲で良好な結果が得られた。
- ・採気量は  $0.1\text{L}/\text{min}$  の速度で  $6\text{L}$  以内、脱着操作は3日以内が良好な結果が得られ、それ以上の採気量及び保存日数では回収率が低下した。