

【調査研究】

事故時等緊急時の化学物質の分析技術の開発に関する研究 - 3-クロロ-2-プロペン-1-オールの水質分析法の検討 -

Study on the development of analysis method of chemical substances at the time of water quality accidents

- Study of water quality analysis method of 3-chloro-2-propen-1-ol -

山本浩司, 大月史彦, 浦山豊弘, 吉岡敏行 (水質科)

YAMAMOTO Koji, OTSUKI Fumihiko, URAYAMA Toyohiro, YOSHIOKA Toshiyuki (Water Section)

要 旨

環境基本法に基づき公共用水域の水質汚濁に係る環境基準及び地下水の水質汚濁に係る環境基準が定められている1,3-ジクロロプロペンの分解生成物¹⁾である3-クロロ-2-プロペン-1-オールについて、水質試料の高感度分析法を検討した。3-クロロ-2-プロペン-1-オールには異性体としてシス-3-クロロ-2-プロペン-1-オール及びトランス-3-クロロ-2-プロペン-1-オール（以下それぞれ「シス体」、「トランス体」という。）が存在する。誘導体化後、ガスクロマトグラフ質量分析計で分析することにより、検出下限値がシス体3.9 ng/L、トランス体3.4 ng/Lの高感度な同時分析法を開発することができた。河川水及び海水を用いた添加回収試験の回収率は、それぞれシス体が95%、87%、トランス体が80%、79%と良好な結果であった。

[キーワード：3-クロロ-2-プロペン-1-オール, 水質, 1,3-ジクロロプロペン, GC-MS]

[Key words：3-Chloro-2-propen-1-ol, Water quality, 1,3-Dichloropropene, GC-MS]

1 はじめに

当センターは事故時等緊急時における分析のため、最新の化学物質情報の入手や分析技術の習得等を目的に、毎年、環境省が実施する化学物質環境実態調査に参画し、化学物質の新規分析法開発及び環境中濃度の調査に取り組んでいる。今回、平成27～30年度化学物質環境実態調査で3-クロロ-2-プロペン-1-オールの水質分析法について検討した。

3-クロロ-2-プロペン-1-オールは、環境基本法に基づき公共用水域の水質汚濁に係る環境基準及び地下水の水質汚濁に係る環境基準が定められている1,3-ジクロロプロペンの分解生成物¹⁾である。本物質には異性体としてシス-3-クロロ-2-プロペン-1-オール及びトランス-3-クロロ-2-プロペン-1-オール（以下それぞれ「シス体」、「トランス体」という。）が存在する。

今回、ガスクロマトグラフ質量分析計（以下「GC-MS」という。）を用いて、シス体及びトランス体の分離分析法を検討し、誘導体化による高感度な同時分析法を開発したので報告する。

2 試験方法

2.1 試薬等

(Z)-3-クロロ-2-プロペン-1-オール（シス体）：林純薬製特注品（純度99.9%）

(E)-3-クロロ-2-プロペン-1-オール（トランス体）：林純薬製特注品（純度99.9%）

ナフタレン-*d*₈：Cambridge Isotope Laboratories製（純度99%）

アセトン：富士フィルム和光純薬製 残留農薬・PCB試験用（5000倍濃縮）

ジクロロメタン：富士フィルム和光純薬製 残留農薬・PCB試験用（5000倍濃縮）

N,O-ビス（トリメチルシリル）トリフルオロアセトアミド（BSTFA）：GL Sciences製

無水硫酸ナトリウム：関東化学製 残留農薬・PCB試験用

固相カートリッジ：Waters製Sep-Pak Plus AC-2

ガラスウール：予めアセトン洗浄し、乾燥させたもの

精製水：ミリポア製Milli-Q Advantageにより調製

ミネラルウォーター：Volvic

2.2 GC-MSの測定条件

使用機種：GC：Agilent7890A, MS：JMS-Q1000GC Mk II

使用カラム：DB-17HT（Agilent製, 60 m×0.32 mm,0.15 μm）

カラム温度：45℃（2 min）→7℃/min→180℃（0 min）→20℃/min→250℃（5 min）

注入方法：Pulsed splitless（20 psi（1.6 min））

表1 3-クロロ-2-プロペン-1-オールの物理化学的性状

分子量 (平均分子量)	92.52
分子量 (モノアイソトピック質量)	92.0029
融点(°C)	-50.09 (推定値) ²⁾
沸点(°C)	132.59 (推定値) ²⁾
蒸気圧(hPa, 25°C)	4.72 (推定値) ²⁾
溶解性(mg/L, 25°C)	1.291×10 ⁵ (推定値) ²⁾
log P _{ow}	0.57 (推定値) ²⁾

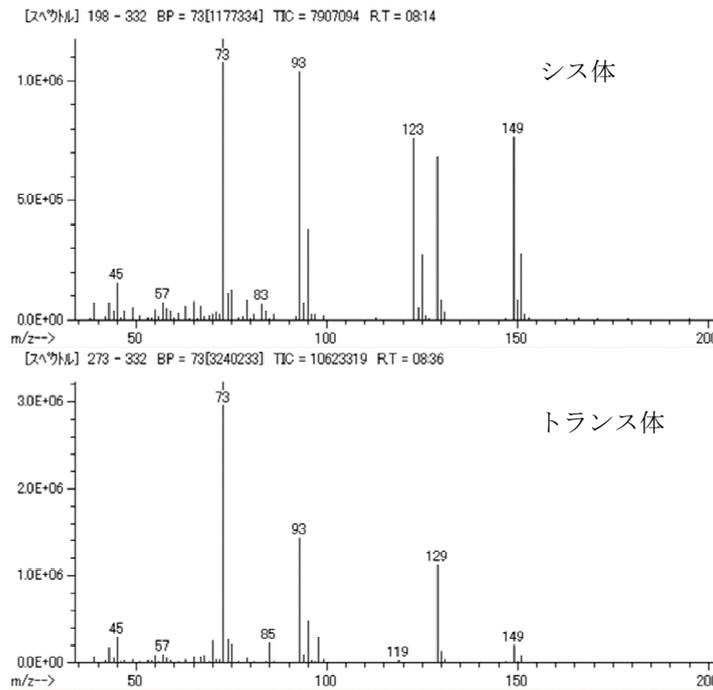


図1 シス体及びトランス体 (誘導體化) のマススペクトル

注入口温度：250 °C

キャリアーガス：ヘリウム (1 mL/min)

インターフェース温度：240 °C

イオン源温度：210 °C

イオン化電圧：70 eV

検出モード：SIM

モニターイオン：m/z 93 (シス体定量イオン), 129 (トランス体定量イオン), 95 (シス, トランス体定性イオン), 136 (ナフタレン-*d*₈定量イオン)

2.3 シス体及びトランス体混合標準液の調製

2.3.1 混合標準液の調製

シス体及びトランス体を各100 mg量り取り、アセトンを加えて100 mLに定容し、1000 μg/mLの混合標準原液を調製した。混合標準原液をアセトンで順次希釈して100, 10, 1 μg/mLの混合標準液を調製した。

2.3.2 内標準液の調製

ナフタレン-*d*₈を100 mg量り取り、アセトンを加えて

100 mLに定容し、1000 μg/mLの内標準原液を調製した。内標準原液を分取し、アセトンで希釈して5 μg/mLの内標準液を調製した。

2.3.3 検量線用標準液の調製

測定用バイアルにジクロロメタン1 mLを入れ、各濃度の混合標準液を添加し、BSTFAを50 μL添加後、蓋をして室温で16時間静置し、検量線用標準液を調製した。検量線用標準液の各濃度は1.0～500 ng/mLとし、各濃度の検量線用標準液には、内標準液を5 μL添加した。

2.4 前処理方法

分析法のフローチャートを図2に示す。

試料200 mLを量り採り、アセトン10 mL、精製水10 mLでコンディショニングした固相カートリッジに10 mL/minで通水した。通水終了後の固相カートリッジを精製水10 mLで洗浄した。試験管の上に、ガラスウール及び無水硫酸ナトリウムを入れたロート、固相カートリッジをセットし、ジクロロメタンでバックフラッシュ溶出

及び脱水後、溶出液4 mLを試験管に受けた。溶出液量は固相カートリッジのロットによって必要量が異なる場合があるため、事前に確認した。溶出液を窒素ガスで1 mLに濃縮した後、測定用バイアルに移し、BSTFAを50 μ L添加後、蓋をして室温で16時間静置した。静置後、内標準液を5 μ L添加したものを試験液とした。

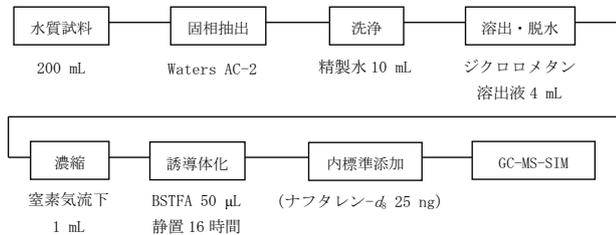


図2 分析法のフローチャート

2.5 装置検出下限値 (IDL), 分析法の検出下限値 (MDL) 及び定量下限値 (MQL)

IDL, MDL及びMQLの算出は、「化学物質環境汚染実態調査の手引き(平成27年度版)」³⁾(以下「手引き」という。)に従った。IDLは、2.3に従い1.0 ng/mLの検量線用標準液を7個作製し、GC-MSで測定し、得られた測定値の標準偏差を用いて算出した。MDL及びMQLは、河川水(笹ヶ瀬橋)200 mLに、IDLの5倍程度の濃度となるように1 μ g/mL混合標準液を5 μ L添加し、2.4に従い前処理を行ったものを7個作製し、GC-MSで測定し、得られた測定値の標準偏差を用いて算出した。

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

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

$$MQL = 10 \times \sigma_{n-1,M}$$

$t(n-1,0.05)$: 危険率5%, 自由度n-1のt値(片側)

$\sigma_{n-1,I}$: IDL算出のための測定値の標本標準偏差

$\sigma_{n-1,M}$: MDL算出のための測定値の標本標準偏差

2.6 シス体及びトランス体の添加回収試験及び環境試料の分析

海水試料(水島沖)200 mLに10 μ g/mL混合標準液を2 μ L添加し、2.4に従い前処理を行ったものを、GC-MSで測定した。環境試料として、無添加の河川水及び海水も分析した。河川水はMDL試験の結果を添加回収試験結果として採用した。

また、操作ブランクとして精製水200 mLを2.4に従い前処理を行ったものをGC-MSで測定した。

2.7 シス体及びトランス体の分解性スクリーニング試験及び保存性試験

手引きに従い、分解性スクリーニング試験及び保存性試験を実施した。

分解性スクリーニング試験の試験液は精製水を用いてpH 5, pH 7及びpH 9のものを作製し、各200 mLに10 μ g/mLの混合標準液を5 μ L添加し、1時間後及び7日後(約20 $^{\circ}$ Cの明所及び暗所に保存)に2.4に従い前処理を行ったものをGC-MSで測定した。

保存性試験は、酸化防止剤としてアスコルビン酸を添加(1.0 g/L)したものと無添加の2種類の採水ビンに河川水(笹ヶ瀬橋)及び海水(児島湾)を満水に入れ、対象物質の濃度が100 ng/Lになるように10 μ g/mL標準液を添加し、冷暗所で1~7日間保存後、分析フローに従いGC-MSで測定した。

また、検量線最高濃度の保存性試験として500 ng/mLの検量線用標準液を冷暗所に保存し、1か月後に再調製した検量線用標準液と測定結果を比較した。

2.8 抽出後の固相カートリッジへの窒素パージによる回収率への影響

本分析法では無水硫酸ナトリウムを使用した脱水を採用しているが、窒素パージを使用した脱水によるシス体及びトランス体の回収率への影響についても検討した。精製水200 mLに100 μ g/mLの混合標準液を2 μ L添加し、固相カートリッジに通水後、固相カートリッジに対して窒素パージを5分間行った。その他の工程は2.4と同様の操作を行い、GC-MSで測定した。

2.9 誘導体化に要する反応時間の検討

BSTFAによる3-クロロ-2-プロペン-1-オール誘導体化に要する時間について検討を行った。ジクロロメタン1 mLに100 μ g/mLの混合標準液を5 μ L添加し、BSTFA 50 μ Lを添加後1~20時間静置し、内標準液を5 μ L添加後GC-MSで測定を行った。

2.10 測定装置の検討

誘導体化GC-MS法以外での分析方法として、液体クロマトグラフ質量分析計(以下「LC-MS/MS」という。)及びヘッドスペースガスクロマトグラフ質量分析計(以下「HS-GC-MS」という。)による検討も行った。

LC-MS/MSでは、シス体及びトランス体各1 μ g/mLのメタノール溶液を10 μ L/minでインフュージョンにより注入し、マススペクトルを確認した。

MS (LC-MS/MS) 測定条件

使用機種: Micromass Quattro micro API (Waters製)

キャピラリー電圧: 3.0 kV, ソース温度: 100 $^{\circ}$ C

デゾルベーションガス温度: 500 $^{\circ}$ C

コーンガス流量: 50 L/hr

デソルベーションガス流量：600 L/hr
 イオン化法：ESI Negative
 コーン電圧：10 V
 スキャン範囲： m/z 30～150
 スキャンタイム：0.4 s（インタースキャンタイム：0.1 s）

HS-GC-MSでは、塩化ナトリウム（富士フィルム和光純薬製：水質試験用）3 gを加えたバイアルにミネラルウォーター（Volvic）を10 mL入れ、メタノール溶液で作製した混合標準液を添加し、HS-GC-MSで測定した。

HS測定条件 [トラップモード]

使用機種：12031HSA（JEOL製）

トラップ管：GLトラップ1

抽出回数：3回

サンプルブロック温度：80℃

攪拌時間：30 min

トランスファーライン温度：150℃

バルブブロック温度：100℃

トラップ管温度：23℃

加圧

圧力：40 kPa，加圧時間：10 s，トラップ流量：20.0 SCCM，サンプリング終了時圧力：3 kPa

ドライパージ時間：2 min 30 s，サンプリング後平衡時間：3 s

GCインジェクション

トラップ管温度：220℃，時間：3 min，トラップ管流量：20.0 SCCM

GC-MSの測定条件

使用機種：GC：Agilent7890A，MS：JMS-Q1000GC K9

使用カラム：AQUATIC-2（ジーエルサイエンス製，60 m×0.32 mm，1.8 μm）

カラム温度：40℃（5 min）→10℃/min→100℃（0 min）→20℃/min→220℃（5 min）

注入方法：ダイレクト

キャリアーガス：ヘリウム（2 mL/min）

インターフェース温度：200℃

イオン源温度：200℃

イオン化電圧：70 eV

検出モード：SIM

モニターイオン： m/z 57（定量イオン），55（定性イオン）

3 結果及び考察

3.1 GC-MS測定条件の検討結果

シス体及びトランス体の検量線を図3～6に、500 ng/mL検量線用標準液のクロマトグラムを図7に示す。1.0～20 ng/mLの低濃度領域，20～500 ng/mLの高濃度領域でも相関の高い直線性のある検量線が得られた。

3.2 IDL, MDL及びMQL

IDL, MDL及びMQLを表2に示す。IDL試料換算値はシス体1.4 ng/L，トランス体0.80 ng/L，MDLはシス体3.9 ng/L，トランス体3.4 ng/L，MQLはシス体10 ng/L，トランス体8.8 ng/Lであり，環境省の要求感度（5.6 ng/L）を十分満足できる分析方法を開発することができた。

3.3 添加回収試験及び環境試料分析結果

添加回収試験結果を表3に示す。河川水の回収率はシス体95%，トランス体80%，海水の回収率はシス体87%，トランス体79%と良好な結果であった。無添加の河川水及び海水（環境試料）からは，シス体，トランス体とも

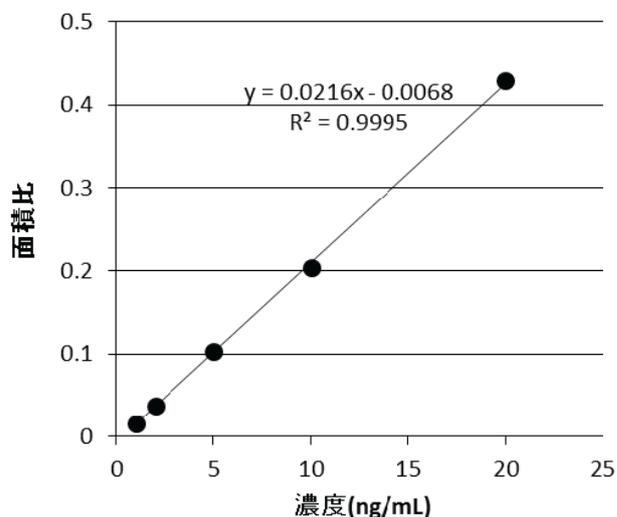


図3 シス体低濃度領域検量線

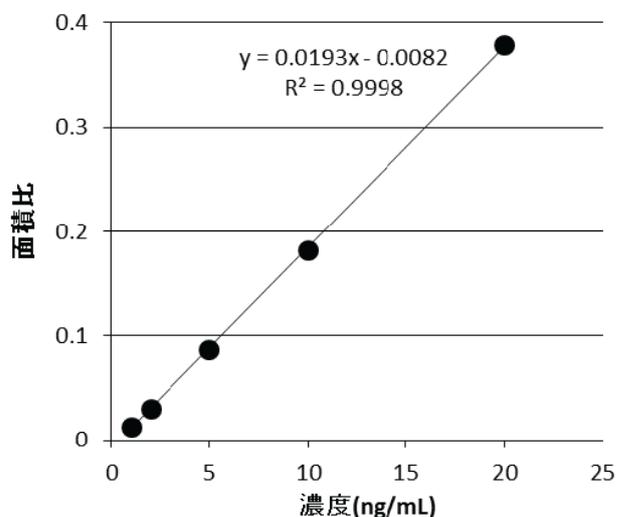


図4 トランス体低濃度領域検量線

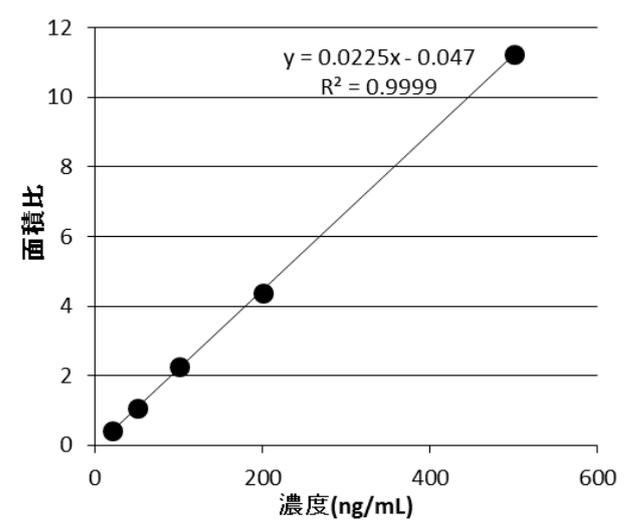


図5 シス体高濃度領域検量線

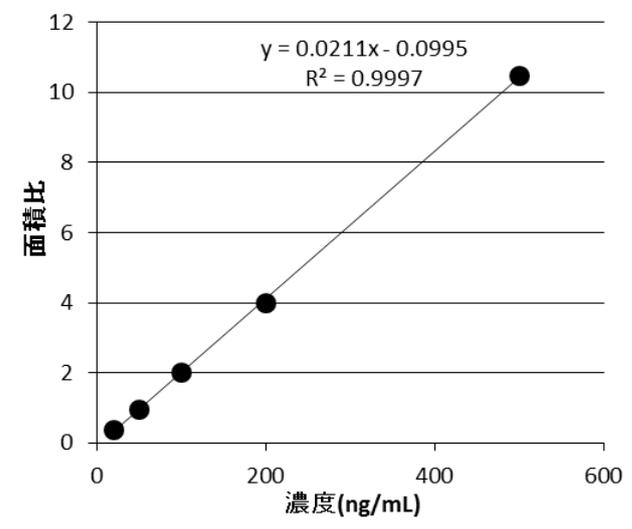


図6 トランス体高濃度領域検量線

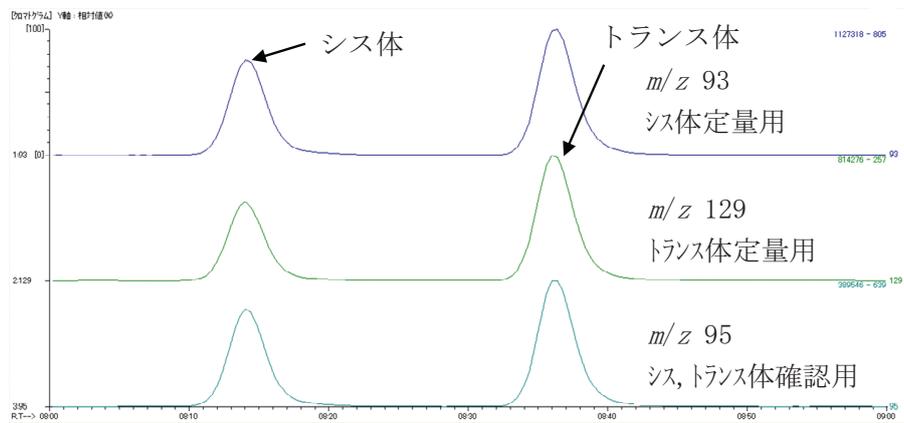


図7 500 ng/mL検量線用標準液のクロマトグラム

に検出されなかった。

また、操作ブランクのクロマトグラムを図8に示す。操作ブランクからシス体のリテンションタイム付近に m/z 129, トランス体のリテンションタイムに m/z 93の妨害ピークが観測された。よってシス体の定量には m/z 93, トランス体の定量には m/z 129を使用することとした。

3.4 分解性スクリーニング試験及び保存性試験結果

分解性スクリーニング試験結果を表4に示す。7日後における、いずれの条件においても、シス体及びトランス

体の残存率は70 %以上と安定した結果が得られた。

保存性試験結果を表5に示す。アスコルビン酸無添加の河川水では1日後にシス体, トランス体ともに残存率約10 %となり, 3日後にはシス体, トランス体ともに0 %となった。アスコルビン酸無添加の海水では1日後はシス体82 %, トランス体100 %と良好な結果が得られたが, 3日後はシス体22 %, トランス体80 %と特にシス体の残存率が大幅に減少した。

一方, アスコルビン酸を添加した場合は, 7日後の河川

表2 IDL, MDL及びMQL

対象物質名	IDL (pg)	IDL 試料換算値 (ng/L)	MDL (ng/L)	MQL (ng/L)
3-クロロ-2-プロペン-1-オール (シス体)	0.27	1.4	3.9	10
3-クロロ-2-プロペン-1-オール (トランス体)	0.16	0.80	3.4	8.8

表3 添加回収試験結果

試料名	試料量 (L)	添加量 (ng)	最終液量 (mL)	検体数	検出濃度 (ng/L)	回収率 (%)	変動係数 (%)	
河川水 (笹ヶ瀬橋)	シス体	0.20	0	1	1	< 3.9	-	-
		0.20	5	1	7	23.8	95	4.2
	トランス体	0.20	0	1	1	< 3.4	-	-
		0.20	5	1	7	20.0	80	4.4
海水 (水島沖)	シス体	0.20	0	1	1	< 3.9	-	-
		0.20	20	1	5	86.6	87	3.7
	トランス体	0.20	0	1	1	< 3.4	-	-
		0.20	20	1	5	79.2	79	3.7

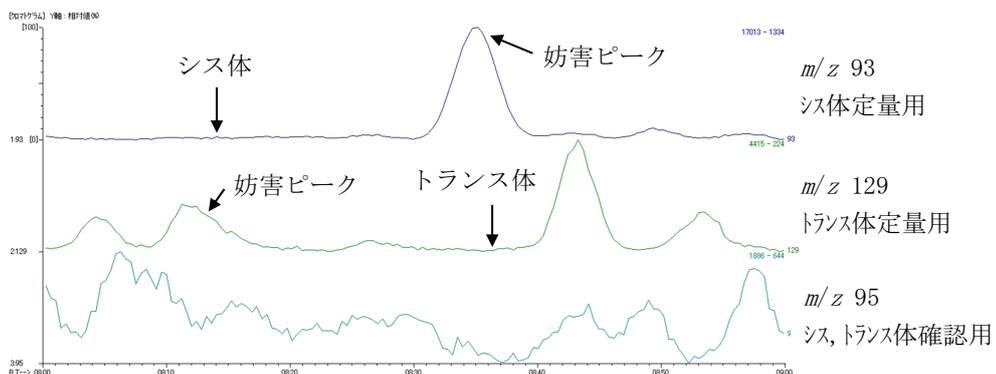


図8 操作ブランクのクロマトグラム

水及び海水でシス体、トランス体ともに残存率約90%であった。

本結果から、3-クロロ-2-プロペン-1-オールの分析はあらかじめ採水ビンにアスコルビン酸を添加して採水し、7日以内に分析することが望ましいことが分かった。

また、検量線用標準液については、1か月後にシス体、トランス体ともにほぼ残存率100%であったことから、誘導体化した検量線用標準液はジクロロメタン中で長期間保存可能であった。

3.5 抽出後の固相カートリッジへの窒素パージによる回収率への影響結果

窒素パージ操作の有無によるシス体及びトランス体の回収率への影響結果を表6に示す。窒素パージ有ではシス体32%、トランス体20%、窒素パージ無ではシス体92%、トランス体79%の回収率であったため、抽出後の固相カートリッジへの窒素パージは脱水方法として不適當であった。

た。

3.6 誘導体化に要する反応時間の検討結果

誘導体化条件の検討結果について図9に示す。静置16時間でシス体、トランス体ともにピーク面積値がほぼ最大となることがわかったため、本分析法の誘導体化に要する時間は16時間とした。

また、検量線用標準液を密閉性の高い容器で60℃に加温することで、静置の半分の8時間でピーク面積値がほぼ最大となることがわかった。しかし、この方法では密閉性の高い容器でジクロロメタン（沸点：40℃）を、長時間60℃に加温する必要があるため、前処理の安全性を考慮した結果、本分析法は静置による誘導体化を採用した。

3.7 測定装置の検討結果

LC-MS/MSによるインフュージョン測定の結果、ESI Negativeでは、3-クロロ-2-プロペン-1-オールの[M-H]⁻に相当するm/z 91のイオンは痕跡程度しか確認できなかった。

表4 分解性スクリーニング試験結果

	pH	調製濃度 (ng/L)	検出濃度 (ng/L) (残存率(%)*)		
			1時間放置後	7日間放置後	
				暗所	明所
シス体	5	250	211 (84)	205 (82)	-
	7	250	218 (87)	232 (93)	209 (84)
	9	250	218 (87)	215 (86)	-
トランス体	5	250	198 (79)	186 (74)	-
	7	250	190 (76)	192 (77)	176 (70)
	9	250	199 (80)	193 (77)	-

* 残存率 (%) : 調製濃度に対する検出濃度の割合

表5 保存性試験結果

試料名	アスコル ビン酸	調製濃度 (ng/L)	残存率(%)*				
			1日間	3日間	7日間	1か月	
河川水 (笹ヶ瀬橋)	シス体	無添加	50	12	0	0	-
		添加	100	94	92	93	-
	トランス体	無添加	50	12	0	0	-
		添加	100	87	86	90	-
海水 (児島湾)	シス体	無添加	50	82	22	0	-
		添加	100	86	85	89	-
	トランス体	無添加	50	100	80	56	-
		添加	100	87	86	87	-
検量線用 標準液	シス体	-	500 (ng/mL)	-	-	-	102
	トランス体	-	500 (ng/mL)	-	-	-	100

* 残存率 (%) : 調製濃度に対する検出濃度の割合

表6 窒素パージによる回収率への影響結果

	窒素パージ	試料量 (L)	添加量 (ng)	検出濃度 (ng/L)	回収率 (%)
シス体	有	0.2	200	315	32
	無	0.2	200	915	92
トランス体	有	0.2	200	195	20
	無	0.2	200	785	79

た。一方、ESI Positiveでの測定も行ったが、 $[M+H]^+$ に相当する m/z 93のイオンは確認できなかった。以上の結果からLC-MS/MS分析は困難であった。

環境省の要求感度 (5.6 ng/L) を満たすことはできなかった。ただし、高濃度での対象物質の存在確認及び簡易な定量といったスクリーニング検査には、適用可能と考えられた。

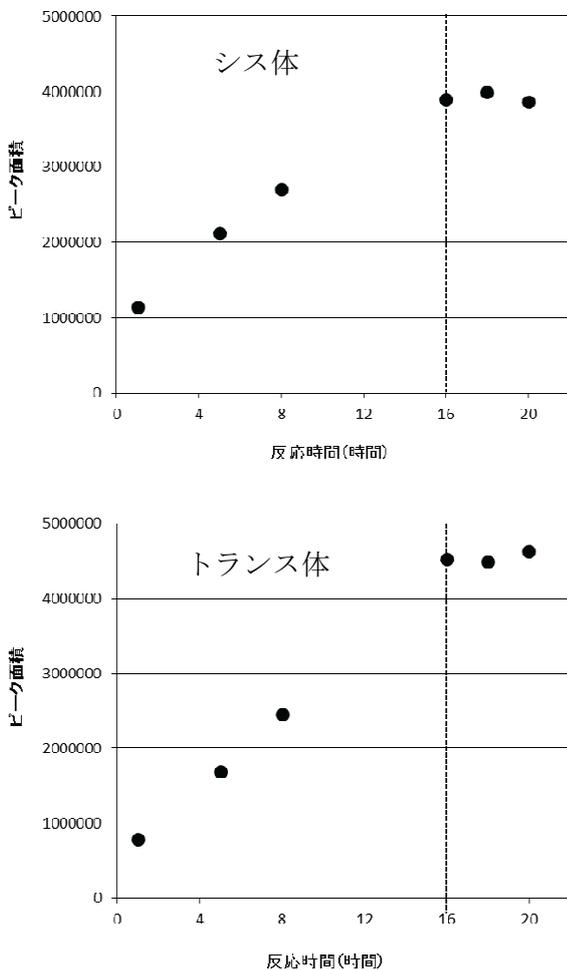


図9 誘導体化に要する反応時間の検討結果

HS-GC-MSによる測定結果を図10, 11に示す。10000 ng/Lの高濃度ではシス体, トランス体ともに良好なピークが観測された。

一方、操作ブランクからはシス体, トランス体ともに妨害ピークが観測されたため、シス体200 ng/L, トランス体1000 ng/L以下の測定は困難であり、HS-GC-MSでは

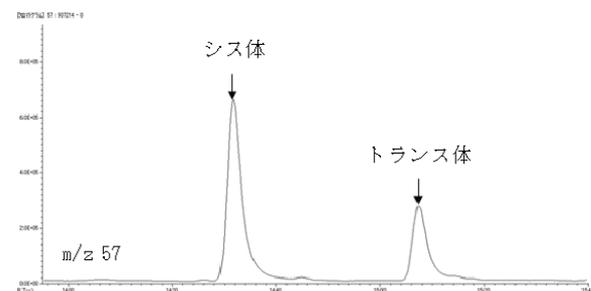


図10 HS-GC-MSでの10000 ng/Lのクロマトグラム

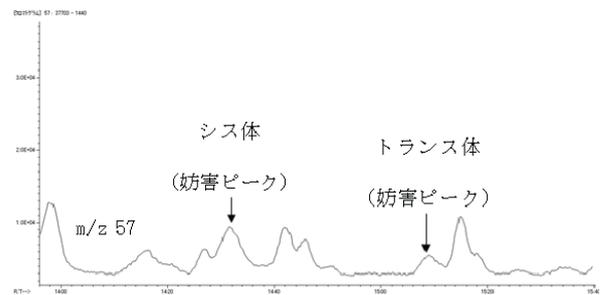


図11 HS-GC-MSでの操作ブランクのクロマトグラム

4 まとめ

3-クロロ-2-プロペン-1-オールの分析法を検討した結果、次に示すとおり高感度な分析法が開発できた。

- (1) BSTFAによる誘導体化を行うことで、高感度に分析できることが分かった。
- (2) 3-クロロ-2-プロペン-1-オールの検出下限 (MDL) はシス体3.9 ng/L, トランス体3.4 ng/L, 定量下限 (MQL) はシス体10 ng/L, トランス体8.8 ng/Lであった。
- (3) 河川水及び海水を用いた3-クロロ-2-プロペン-1-オールの添加回収試験の回収率は、河川水はシス体95%, トランス体80%, 海水はシス体87%, トランス体79%と良好な結果であった。
- (4) 環境試料水中での分解性が確認されたが、アスコルビ

ン酸を添加することで、冷暗所で7日間の保存が可能であった。

(5) LC-MS/MSによる分析では3-クロロ-2-プロペン-1-オールに関連イオンは確認されず、分析は困難であった。

(6) HS-GC-MSによる分析はシス体200 ng/L、トランス体1000 ng/L以上であれば測定可能であり、高濃度の3-クロロ-2-プロペン-1-オールの簡易なスクリーニング検査として適用可能であった。

なお、本研究は環境省委託の平成27～30年度化学物質分析法開発調査(環境省環境安全課)と連携して実施した。

文 献

- 1) IPCS(1993)Environmental Health Criteria,146
- 2) U.S.EPA, Estimation Programs Interface (EPI) Suite v4.11
- 3) 環境省総合環境政策局環境保健部環境安全課：化学物質環境実態調査実施の手引き（平成27年度版），2016