

特 集	有害化学物質
-----	--------

第 1 編	LC/MS の環境化学分析への応用
-------	-------------------

LC/MS を用いた環境水中のトリフェニルボランの定量*

花 田 喜 文*¹・谷 崎 定 二*²・古 賀 実*³
 白 石 寛 明*⁴・相 馬 光 之*⁵

キーワード

- ① Liquid chromatography/mass spectrometry ② LC/MS ③ triphenylboron
 ④ negative ion electrospray ionization ⑤ ESI

Summary

Liquid chromatography/mass spectrometry (LC/MS) has been applied to the analysis of triphenylboron, which has been produced as a substitute for organotin compounds, in water. Although commercial triphenylboron compounds are produced as pyridinyl complexes, the chemical form in water is supposed to be mainly triphenylboron after liberating pyridine. The triphenylborons were extracted from water with an Empore™ C 18 extraction disk under acidic condition, and the extracts were introduced directly into a liquid chromatograph-mass spectrometer equipped with a negative ion electrospray ionization interface. Identification of the compounds was performed with specific ions produced from the triphenylboron, and a quantitative analysis was carried out using the peak areas. The average recoveries from distilled water, seawater and river water at 0.30 ng/ml were 92.3, 100 and 85.3%, respectively. A detection limit of 0.023 ng/ml for triphenylboron was achieved.

1. はじめに

トリフェニルボラン化合物は、日本ではすでに使用禁止となっている有機スズ化合物の代替品として開発された化学物質であり、工業的にはピリジン-トリフェニルボランやトリフェニル(オクタデシルアミン)ボランなどのようにトリフェニル

ボラン錯体として製品化されている。トリフェニルボラン化合物の毒性としては、ピリジン-トリフェニルボランの経口毒性が⁴426mg/kg (LD₅₀, ラット)と報告されており、有機スズ化合物の塩化トリブチルスズ(129mg/kg)や塩化トリフェニルスズ(190mg/kg)に比べると弱いものの²⁾、有機

* Quantitative Analysis of Triphenylboron in Environmental Water Samples by Liquid Chromatography/Mass Spectrometry (LC/MS)

なお、本論文内容はすでに Analytical Sciences 誌 (vol. 18, 2002) で報告したものである¹⁾

¹Yoshifumi HANADA (北九州市環境局) Kitakyushu Environment Bureau

²Teizi TANIZAKI (北九州市環境科学研究所) Kitakyushu City Institute of Environmental Sciences

³Minoru KOGA (熊本県立大学) Prefectural University of Kumamoto

⁴Hiroaki SHIRAISHI (国立環境研究所) The National Institute for Environmental Studies

⁵Mitsuyuki SOMA (静岡県立大学) University of Shizuoka

スズ化合物と同様に船底防汚剤として環境中では開放系で用いられるため、これらの物質による環境汚染が懸念されている。

しかしながら、トリフェニルボランの使用量や環境への排出量に関する情報はほとんどなく、また十分な感度と選択性を持つ分析法もないため、現在までのところ、この物質に関する環境調査やモニタリングは行われていない。

トリフェニルボランは、ホウ素の立体因子および極性効果からアミン等の含窒素化合物が付加した方がそのままの状態より安定であるため³⁾、ピリジンあるいはオクタデシルアミン付加化合物として製品化されている。これらの物質は揮発性が低く、しかも熱的に不安定な性質を持つため、環境中化学物質の分析に汎用されている GC や GC/MS による分析は困難であり、そのため海水等の分析法としては HPLC-UV を用いた分析法⁴⁾が報告されている。

しかしながら、この方法の検出下限値は数 ppb であり、化学物質の環境における残留状況を評価するには高過ぎるきらいがある。環境省は化学物質の環境調査に際し、分析法の検出下限値を 0.1 ppb 以下に設定することを推奨している⁵⁾。

一方、液体クロマトグラフィー／質量分析法 (LC/MS) は GC や GC/MS で分析できない不揮発性物質や熱的に不安定な物質に対する新しい分析技術として期待されており、環境分野では界面活性剤⁶⁻⁸⁾、ジंकピリチオン⁹⁾および極性農薬¹⁰⁻¹¹⁾などに応用例が報告されている。

ここでは、水試料中のトリフェニルボランを

Empore™ C18固相ディスクを用いて抽出した後、LC/MS の適用を試み、検出下限値を ppb 以下の濃度レベルまで低減化することができたので報告する。また、実際の河川水等を用いた添加回収実験を行うことにより、LC/MS がきょう雑物の多い環境試料にも十分適用可能であることを実証したので合わせて報告する。

2. 実 験

2.1 試 薬

標準品に使用したピリジン-トリフェニルボランは北興ケミカル製品開発部から入手した。有機溶媒はすべて高速液体クロマトグラフ用、その他の試薬は特級試薬を使用した。抽出に用いた Empore™ C18固相ディスクは 3M 製を購入した。超純水は実験室に設置の Milli-Q システム (Millipore) を用いて調製した。

2.2 装 置

液体クロマトグラフ-質量分析計は、Alliance 2690型高速液体クロマトグラフおよび ZMD4000型エレクトロスプレーイオン化 (ESI) 用インターフェイス付質量分析装置 (双方とも Waters 製) を組み合わせて使用した。

2.3 分析操作

Empore™ C18固相ディスクによる抽出操作は、環境省の報告⁴⁾に準じて行った。抽出操作および LC/MS の手順を以下に示す。

水試料 500ml を 2M 塩酸で pH 2 に調整した後、アセトニトリルおよび超純水でコンディショニングした Empore™ C18固相ディスクに通水した。抽

Table 1 Operating conditions for LC/MS

LC conditions (Alliance 2690)	
column	Inertsil ODA-80A (250mm long, 1.5mm i.d., 5 μ m particle size)
mobile phase	A: acetonitrile/water (3:7) B: acetonitrile
gradient	100%A-(liner gradient 10min)-100%B(10min)
flow	0.2ml min ⁻¹
injection volume	2 μ l
MS conditions (ZMD 4000)	
ionization mode	negative ion-ESI
desolvation gas	nitrogen, 400lh ⁻¹
desolvation temperature	250°C
capillary voltage	3.5kV
cone voltage	30V
ion source temperature	100°C
SIM monitor ion	m/z 268 and 267

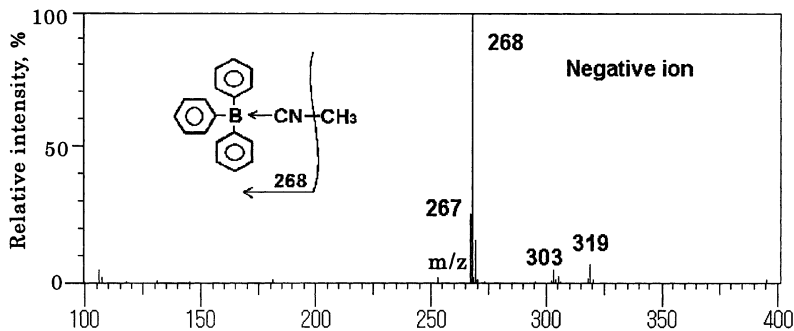


Fig.1 Negative ion mass spectrum of pyridinetriphenylboron acetonitrile solution by ESI

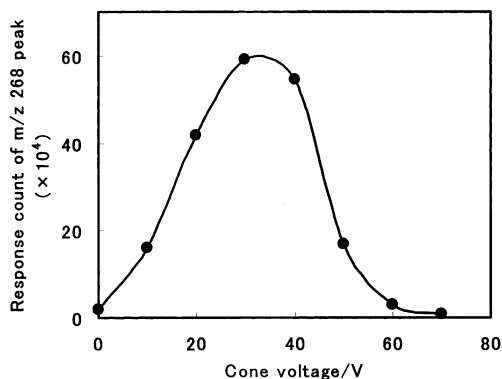


Fig.2 Effect of cone voltage on the ion intensity for m/z 268

出物を20mlのアセトニトリルで溶出した後、ロータリーエバポレーターで1mlに濃縮し、その2 μ lを液体クロマトグラフー質量分析計に注入した。LC/MSの分析条件をTable 1に示す。

3. 結果と考察

3.1 イオン化モードの検討

100 μ g/mlのピリジントリフェニルボラン標準溶液をESIインターフェイス付液体クロマトグラフー質量分析計にシリンジポンプを用いて2.0 ml/hの一定流速で導入し、正および負イオン化モードにおける質量スペクトルのベースピーク強度を比較した。その結果、負イオンでのベースピークのカウン数は 3.74×10^5 であり、正イオンに対するカウン数 2.41×10^4 の10倍以上の信号強度が得られた。そこで、本研究では負イオンESIモードを選択した。

3.2 SIM モニターイオンの選択

Fig.1にピリジントリフェニルボランの負イ

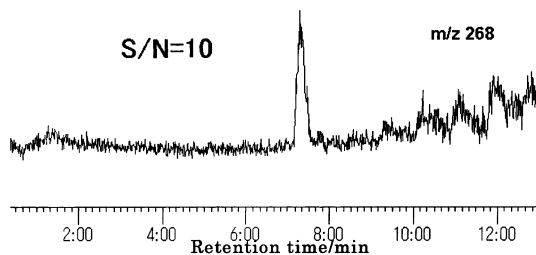


Fig.3 LC/MS-SIM chromatogram for determination of IDL

オンESIマスペクトルを示す。このときのベースピークの質量数はm/z 268であった。また、m/z 268とm/z 267のピーク強度の比は約4:1であり、ホウ素の同位体比($^{11}\text{B} : ^{10}\text{B} = 4 : 1$)と等しいことから、これらのピークはトリフェニルボランにアセトニトリル由来の CN^- が付加した $(\text{C}_6\text{H}_5)_3\text{BCN}^-$ イオンと考えられた。

したがって、SIMモニターイオンにはトリフェニルボラン特有のイオンであるm/z 268および267を選択した。

3.3 コーン電圧の影響

LC/MSでのイオン強度はコーン電圧によって大きく影響される。そのため、SIM法におけるモニターイオンの感度を最適化するため、コーン電圧を変化させながらm/z 268イオンのピーク強度を測定した。その結果、Fig.2に示すように30Vのコーン電圧で最大強度が得られた。

3.4 検量線および検出下限

検量線を作成するため、トリフェニルボラン換算濃度で0.038~3.8 μ g/mlの濃度範囲のピリジントリフェニルボラン標準溶液を調製し、Table 1に示す測定条件でLC/MSを行った。最低濃度の検量線用標準溶液を測定したSIMクロマトグ

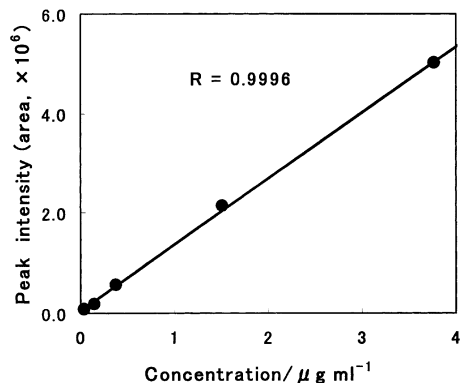


Fig.4 Example of calibration curve

ラムを Fig.3 に、検量線の例を Fig.4 に示す。この検量線の相関係数は0.9996であり、良好な直線性が得られた。また、最低濃度の検量線用標準溶液の繰返し分析の結果から装置検出限界(IDL)を次式¹²⁾により求めた。

$$IDL = t(n-1) \times Sd$$

ここで、 $t(n-1)$ は $n-1$ の自由度における95%片側t分布の値、 n は繰返し測定回数、 Sd は標準偏差である。

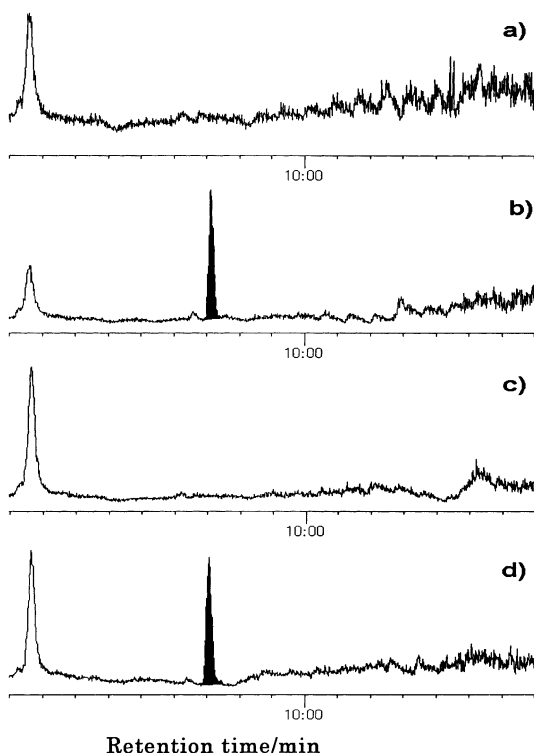
今回の実験では、繰返し測定を7回行った。その結果、標準偏差は $0.0059 \mu\text{g/ml}$ ($CV\% = 14.4\%$)であり、IDLは $0.011 \mu\text{g/ml}$ となった。これは、水中のトリフェニルボラン濃度に換算すると 0.023 ng/ml に相当し、すでに報告されているHPLC-UV法による検出下限値 3.23 ng/ml ⁴⁾に比べ本法の方が100倍以上高い感度が得られている。

一般的に環境水中の化学物質の分析法の検出下限値は、その物質の慢性毒性の値を考慮して決定することが合理的と考えられる。しかしながら、慢性毒性の情報を入手できる物質は少なく、トリフェニルボラン化合物の場合も LD_{50} や半数生存限界濃度(TLm, 0.7 ppm , carp, 48hr)などの急性毒性の値は報告されているものの、慢性毒性に関するデータはほとんど見当たらない。環境省はこのような化学物質の環境調査に際し、分析法の検出下限値を 0.1 ng/ml 以下に設定することを推奨している⁵⁾。

したがって、本法の検出下限値 0.023 ng/ml はLC/MSが環境中のトリフェニルボランの分析に適用可能であることを示し、LC/MSによる分析法の高感度化に十分期待できることがわかった。

Table 2 Result of overall recovery test (duplicate)

	Found, ng ml^{-1}	Recovery, %
Distilled water	0.256	84.9
	0.300	99.5
Seawater	0.307	102
	0.298	98.8
River water	0.247	81.9
	0.267	88.5

Fig.5 LC/MS-SIM chromatogram (m/z 268) for recovery tests from water samples

- a) seawater not spiked, b) seawater spiked,
c) river water not spiked, d) river water spiked

3.5 回収実験

極微量における本法の精度を評価するため、蒸留水500mlにトリフェニルボラン濃度として 0.30 ng/ml となるようにピリジン-トリフェニルボランを添加し、前述した分析操作に従って回収実験を行った。結果を Table 2 に示す。蒸留水からの回収率は84.9および99.5%であり、十分満足できる結果であった。

次に、本法が実際の環境試料に適用できることを確認するため、北九州市地域から採取した海水および河川水について回収実験を行った。結果を **Table 2** および **Fig.5** に示す。

実試料からトリフェニルボランは検出されず、トリフェニルボランが0.30ng/ml となるように添加した試料からは0.247~0.307ng/ml の濃度範囲で検出された。このときの回収率を計算すると、すべて80%以上であり、蒸留水からの添加回収実験と同様の結果が得られた。また、海水および河川水とも妨害ピークのない良好なクロマトグラムが得られ、LC/MS を用いた本分析法は、環境試料中に ppb 以下で存在するトリフェニルボラン化合物の分析に十分適用可能であることが証明された。

謝 辞

本研究の一部は環境省環境安全課の環境中化学物質安全性総点検事業の委託事業費を用いて実施した。

—引用文献—

- 1) Hanada, Y., Tanizaki, T., Koga, M., Shiraishi, H. and Soma, M.: Quantitative Analysis of Triphenylboron in Environmental Water Samples by Liquid Chromatography/Mass Spectrometry. *Analytical Sciences*, 18, 445-448, 2002
- 2) 環境庁環境化学物質研究会編集, 環境化学物質要覧, pp. 80-82, 丸善, 東京, 1988
- 3) 熊田誠, 梶崎千代利, 園欣弥, 椎名教: Ⅲ族元素(B, Al, Ga, In, Tl)の有機化合物. 小竹無二雄監修, 大有機化学

- 第18巻有機金属化合物, pp. 94-128, 朝倉書店, 東京, 1957
- 4) 平成9年度化学物質分析法開発調査報告書, pp. 115-125, 環境庁環境保健部環境安全課, 東京, 1988
- 5) 化学物質分析法開発マニュアル, pp. 186-191, 環境庁環境保健部保健調査室, 東京, 1987
- 6) Crescenzi, C., Corcia, D. 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) Scullion, S.D., Clench, M. R., Cooke, M. and Ashcroft, A. E.: Determination of surfactants in surface water by solid-phase extraction, liquid chromatography and liquid chromatography/mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 733, 207-216, 1996
- 8) Crescenzi, C., Corcia, D. A., Samperi, R. and Marcomini, A.: Detection of Poly (Ethylene Glycols) and Related Acidic Forms in Environmental Waters By Liquid Chromatography /Electrospray/Mass Spectrometry. *Environ. Sci. Technol.*, 31, 2679-2685, 1997
- 9) Thomas, K. V.: Determination of the antifouling agent zinc pyritone in water samples by copper chelate formation and high-performance liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 833, 105-109, 1999
- 10) Crescenzi, C., Corcia, D. A., Marchese, S. and Samperi, R.: Determination of Acidic Pesticides in Water by a Benchtop Electrospray Liquid Chromatography Mass Spectrometer. *Anal. Chem.*, 67, 1968-1975, 1995
- 11) Splid, N. H. and Koppen, B.: Determination of polar pesticides in ground water using liquid chromatography-mass spectrometry with atmospheric pressure chemical ionization. *J. Chromatogr. A*, 736, 105-114, 1996
- 12) *Manual of Analytical Method: Volume 1 Major Ions and Nutrients: Chapter 1 Quality Assurance/Quality Control*, Canada Center for Inland Waters, The National Laboratory for Environmental Testing, Burlington, Ontario, 1998