

<報文>

LC-MS/MSによる環境水中のジアクリル酸ヘキサメチレン分析法の開発*

平生 進吾**・長谷川 瞳**

キーワード ①ジアクリル酸ヘキサメチレン ②LC-MS/MS ③環境水 ④分析法開発

要 旨

ジアクリル酸ヘキサメチレンは、一般的にアクリル樹脂のモノマーや高分子改質剤として広く使用されてきた。本研究では、ジアクリル酸ヘキサメチレンをLC-MS/MSにより河川や海域などから採取された環境水中で0.2 μg/Lオーダーで検出する手法を開発した。また、本法では0.05から10 ng/mLの濃度範囲で検量線の直線性が確認された。さらに、河川水及び海水にジアクリル酸ヘキサメチレンを1.0 ng及び5.0 ng添加した際の回収率は、概ね80%程度であった。一方、名古屋市内の河川水及び海水からジアクリル酸ヘキサメチレンは検出されなかった。

1. はじめに

ジアクリル酸ヘキサメチレンは、別名1,6-ヘキサンジオールジアクリレートとも言われる化学物質であり、主にアクリル樹脂のモノマーや高分子改質剤として使用されている¹⁾。我が国におけるこの物質の製造・輸入量は、化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律(化審法)の届出公表値によれば、アルキレングリコールジアクリレート(アルキレン基の炭素数が4から6までのもの)として2012年度から2019年度にかけて年間1000トン未満と報告されている²⁾。また、この物質は特定化学物質の環境への排出量の把握等及び管理の改善の促進に関する法律(化管法)において、2008年11月21日付で第一種指定化学物質に指定された(政令番号:1-306, 二アクリル酸ヘキサメチレン)³⁾。その後、2021年10月20日付で第二種指定化学物質に指定変更された(政令番号:2-78, 二アクリル酸ヘキサメチレン)。PRTR集計排出量によれば、2011年度では合計で6,569 kg/年、2022年度では114 kg/年排出されたと推計されている。このことから、年度によって排出量に大きな増減はあるものの、ある程度の環境排出が認められている。また、ジアクリル酸ヘキサメチレンの毒性は、ラットを用いた経口投与試験のLD50値5,000 mg/kgであり、人体に対して刺激性皮膚炎の可能性があるとされており、一定の有害性を有することが判明している⁴⁾。

この物質が環境中に排出された場合、およそ23%程度が水質に、0.14%程度が底質に、0.36%程度が大気に、76%程度が土壌に移動すると分配予測されている⁵⁾。その一方で、

環境中における分解性等は現在不明であるが、この物質が底質や土壌に吸着し、継続的に水質へと移行することで環境中に長期的に残留する可能性がある。

こうした中で、水環境(環境水や底質)におけるジアクリル酸ヘキサメチレンの環境リスクを継続して監視する必要がある。水質のリスク評価を行うために、NOEC(魚類:初期生活段階毒性)(72 μg/L)に不確実係数として10で割ってからマージンを10として0.72 μg/L以下のオーダーの検出下限値が求められている。

既往のジアクリル酸ヘキサメチレンの分析法としては、国内においてはほぼ該当するものが無く、海外においてはアメリカ合衆国の労働安全衛生法(OSHA)に規定された大気中のジアクリル酸ヘキサメチレンの分析法のみである⁶⁾。

そこで、本研究では、環境水中のジアクリル酸ヘキサメチレンをLC-MS/MSで定量する方法について検討を行った。さらに、名古屋市内における環境水中の含有濃度についても調査を行ったので報告する。

2. 方法

2.1 試薬

ジアクリル酸ヘキサメチレン(ジアクリル酸1,6-ヘキサンジオール)の標準品は、Thermo Scientific製(純度99% stab. with 90ppm hydroquinone)を使用した。アセトニトリルはLC/MS用(関東化学, 東京)を用いた。アセトンは残留農薬・PCB分析用(300倍濃縮, 富士フイルム和光純薬工業製)を用いた。ヒドロキノンに関

*Development of Analytical Method for Hexamethylene diacrylate in Water Samples by LC-MS/MS

**Shingo HIRAO, Hitomi HASEGAWA (名古屋市環境科学調査センター)
Nagoya City Institute for Environmental Sciences

東化学製（鹿一級）を用いた。希釈水などに使用した超純水は、超純水製造装置（ミリポアMilli-Q Integral 3）で精製した水を使用した。固相抽出カートリッジとして、Oasis HLB Plus LP（ウォーターズ，Milford，MA，USA）を使用した。

2.2 装置

LC-MS/MS測定は Alliance2695/ Micromass Quattro micro API（ウォーターズ，Milford，MA，USA）を用い、定量はESI-Positive-SRMにより行った。詳細な測定条件を表1に示す。環境水試料からのジアクリル酸ヘキサメチレンの抽出には、GLサイエンス製の全自動固相抽出装置（アクアトレース ASPE-799）を用いた。

表1 LC-MS/MS条件

LC 条件			
LC	Waters Alliance2695		
分離カラム	L-column ODS (15 cm × 2.1 mm, 5 μm, CER1)		
カラム温度 (°C)	40		
カラム流量	0.2 mL/min		
移動相	A) 精製水 B) アセトニトリル		
送液条件	Time (min)	A (%)	B (%)
	0 - 20	30	70
試料注入量 (μL)	10		
MS 条件			
MS	Quattro micro API		
イオン化法	ESI-Positive		
データ取得モード	SRM		
モニターイオン (m/z)	227 > 83 (定量)	227 > 55 (確認)	227 > 73 (確認)
コーン電圧 (V)	20	20	20
コリジョンエネルギー (eV)	10	10	10
キャピラリー電圧 (kV)	2.8		
イオン源温度 (°C)	100		
デソルベーション温度 (°C)	500		
デソルベーションガス (L/hr)	700		
コーンガス (L/hr)	50		

2.3 試料

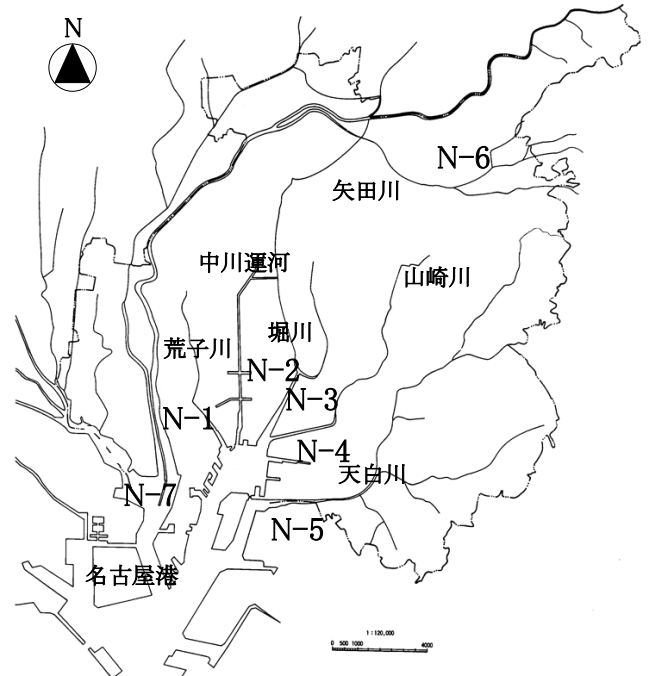
抽出方法の検討や検出下限の算出など分析方法の精度管理に用いた環境水試料は、2022年10月に名古屋市の矢田川大森橋で採取した。また、矢田川大森橋以外の名古屋市の環境実態調査に用いた環境水試料については、2023年の1月に、図1に示す河川6地点と海域1地点の計7地点で採取した (N-1~7)。

2.4 移動相条件の検討方法

アセトニトリル及び水を移動相として、グラジェント測定やアイソクラティック測定などの条件の検討を行った。

2.5 標準溶液及び試験液の溶媒の検討方法

標準溶液や試験液に重合禁止剤としてヒドロキノンを添加したアセトニトリル溶液を用いて、ジアクリル酸ヘキサメチレンの感度を評価した。



No	採水地点	
	名称	河川名
N-1	荒子川ポンプ所	荒子川
N-2	東海橋	中川運河
N-3	港新橋	堀川
N-4	道徳橋	山崎川
N-5	千鳥橋	天白川
N-6	大森橋	矢田川
	名称	海域名
N-7	藤前干潟	名古屋港

図1 調査地点

2.6 試料量の検討

環境水（河川水）100 mLにジアクリル酸ヘキサメチレン標準溶液を10 ng添加した。さらに、環境水をそれぞれ1 mL, 10 mL, 20 mL及び50 mL分取した場合も同様に10 ng添加して超純水で200 mLに希釈して添加回収率を評価した。

2.7 分析方法

環境水中におけるジアクリル酸ヘキサメチレンの分析フローを図2に示す。水質試料にヒドロキノンをアセトニトリル溶液を添加し、固相カートリッジに通水後、バックフラッシュによりヒドロキノンをアセトニトリル溶

液で溶出する。ヒドロキノン-アセトニトリル溶液を用いて定容し、LC-MS/MSで定量する。

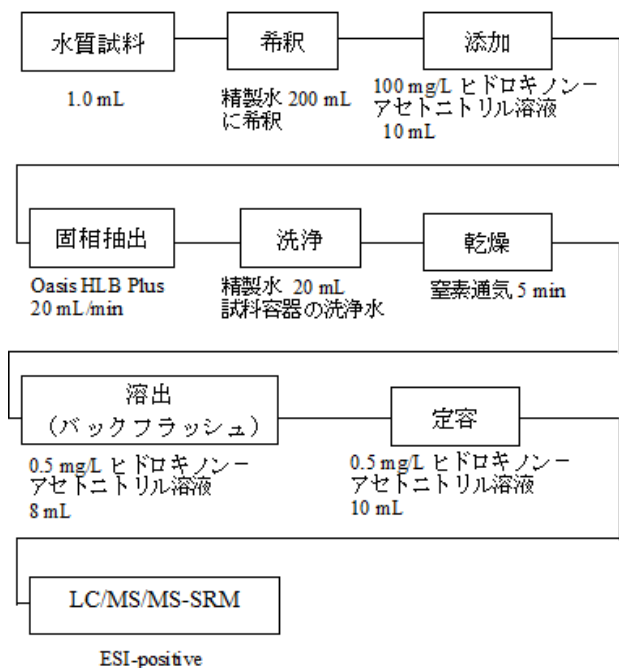


図2 分析フロー

2.8 分析方法の検出下限値, 定量下限値及び添加回収率の算出方法

分析方法の検出下限値 (MDL) 及び分析方法の定量下限値 (MQL) の算出には、「化学物質環境実態調査実施の手引き (令和2年度版)」⁷⁾に従った。なお、MDLの算出に用いた環境水 (矢田川大森橋) からジアクリル酸ヘキサメチレンは、検出されなかった。また、河川水 (矢田川大森橋) 及び海水 (名古屋港藤前干潟) の環境水に、ジアクリル酸ヘキサメチレンをそれぞれ1.0 ng及び5.0 ng添加して添加回収率を算出した。

3. 結果と考察

3.1 移動相条件の検討

図3にアセトニトリル及び水を移動相として、0.05 ng/mLジアクリル酸ヘキサメチレン-アセトニトリル溶液及びアセトニトリルを注入した際にグラジェント測定して得られたクロマトグラムを示す。図3に示すように、0.05 mg/Lジアクリル酸ヘキサメチレン-アセトニトリル溶液を注入した場合、保持時間がおおよそ10分のところにジアクリル酸ヘキサメチレンのピークが観測された。一方、アセトニトリルのみを注入した場合、分析対象物を注入していないにも関わらず、おおよそ10分の位置にジアクリル酸ヘキサメチレンと思われるピークを観測した。さらに、この現象がアセトニトリルを注入しなく

ても発現することも確認された。この現象は、LC-MS/MSの移動相の経路内からジアクリル酸ヘキサメチレンが継続的に溶出していることが原因と思われる。同様な事例は、ペルフルオロオクタンスルホン酸 (PFOS) や陽イオン界面活性剤⁸⁾などにもよく見られる現象である。経路内を長時間移動相で送液するなどの経路内の洗浄やリテンションギャップカラムの使用などを試みたが、状況が改善することがなかった。そこで、グラジェント測定に代えて移動相の比率を一定のまま測定をする、アイソクラティック測定を試みた。図4に、0.05 ng/mLジアクリル酸ヘキサメチレン-アセトニトリル溶液及びアセトニトリルを注入して得られたクロマトグラムを示す。図4から、0.05 ng/mLジアクリル酸ヘキサメチレン-アセトニトリル溶液を注入した場合、保持時間がおおよそ4分のところにジアクリル酸ヘキサメチレンのピークが観測された。一方、アセトニトリルを注入した場合であっても、保持時間が4分の箇所に顕著なピークは観測されおらず、改善が認められた。

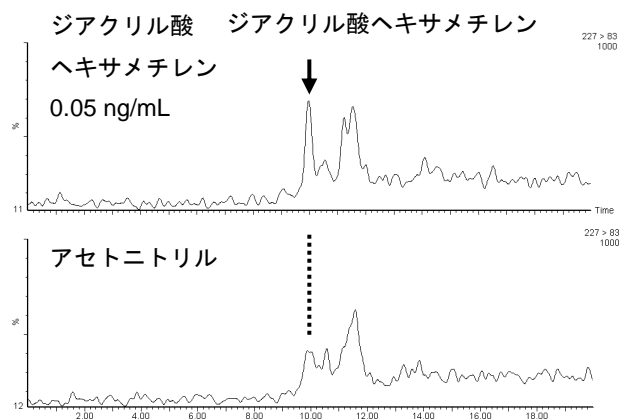


図3 クロマトグラム (グラジェント測定)

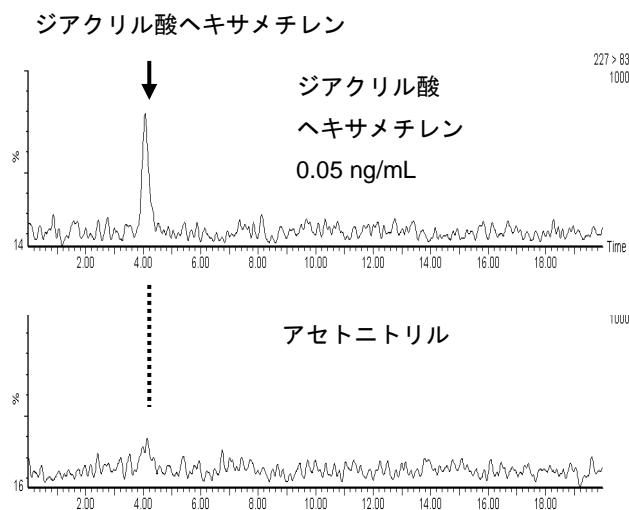


図4 クロマトグラム (アイソクラティック測定)

3.2 標準溶液及び試験液の溶媒の検討

0.05 ng/mLから10 ng/mLのジアクリル酸ヘキサメチレンの検量線を作成する際に、アセトニトリル溶液、0.50 mg/L重合禁止剤（ヒドロキノン）含有アセトニトリル溶液及び1.0 mg/L重合禁止剤（ヒドロキノン）含有アセトニトリル溶液をそれぞれ調製して得られた検量線を比較した。その結果、いずれの溶液であっても直線性が認められた。さらに、アセトニトリル溶液と比較してヒドロキノン含有させたアセトニトリル溶液の方が、検出感度がより向上することがわかった。これは、アセトニトリル溶液中でジアクリル酸ヘキサメチレンがヒドロキノンの影響で安定的に存在していると考えられる。また、ヒドロキノンの濃度によって感度に違いは見られなかった。しかしながら、1.0 mg/L重合禁止剤（ヒドロキノン）含有アセトニトリル溶液の場合、およそ20回の測定を経ると急速に感度が低下する現象が見られた。この現象は、LC-MS/MSのサンプリングコーンをメタノールで超音波洗浄することで感度が回復した。一方、0.5 mg/L重合禁止剤（ヒドロキノン）含有アセトニトリル溶液の場合、そのような感度の低下が認められなかった。従って、標準液の調製の際には、0.50 mg/Lヒドロキノン-アセトニトリル溶液を用いることにした。

3.3 試料量の検討

表2にジアクリル酸ヘキサメチレンの標準を添加された超純水100 mL及び環境水をそれぞれ1 mLから100 mL分取して超純水で200 mLに希釈した際の添加回収率を示す。なお、環境水からジアクリル酸ヘキサメチレンは検出されなかった。表2から、試料水が超純水の場合、添加回収率がおよそ90%以上と十分な結果が得られた。その一方で、試料水を環境水とした場合、超純水と同様に100 mLでは40%程度と十分な回収率を得ることができなかった。加えて、標準を添加せずに環境水を固相抽出して得られた抽出液にジアクリル酸ヘキサメチレンの標準を添加した場合においても同様な結果が得られた。さらに、試料量を1.0 mL、10 mL、20 mL及び50 mLに減じて超純水で100 mLに希釈した場合、分取量が減るに従って回収率が向上する傾向が確認でき、分取量が1.0 mLであれば、添加回収率がおよそ80%程度と十分な回収率を得ることができた。この現象は、環境水中の夾雑物によるジアクリル酸ヘキサメチレンへのイオン化抑制が起きていることを示唆していると考えられる。以上の結果から、試料量を1.0 mLとして超純水で100 mLに希釈した試料水を固相抽出することとした。これまでの様々な検討結果を踏まえて、図2に示したような分析法の開発を行った。

表2 試料量の検討

試料	試料量 (mL)	標準添加量 (ng)	検出濃度 (水の濃度に換算) (ng/mL)	添加 回収率 (%)
超純水	100	10	0.092	92.2
	100	10	0.042	42.3
	50	10	0.091	45.5
環境水	20	10	0.272	54.4
	10	10	0.630	63.0
	1	10	7.917	79.2

3.4 分析方法の検出下限値、定量下限値及び添加回収率

矢田川大森橋で採取した環境水を図2に示した分析フローに従って測定を行い、分析方法の検出下限値（MDL）、分析方法の定量下限値（MQL）及び再現性（CV, n=9）を求めた。なお、試験に用いた環境水からジアクリル酸ヘキサメチレンは検出されなかったため、環境水にジアクリル酸ヘキサメチレンを1.0 ng標準添加した。得られた結果を表3に示す。その結果、MDLが0.16 μg/L、MQLが0.43 μg/Lと算出された。また、CVが5.2%と再現性良く回収することができた。加えて、添加回収率はおよそ83%と良好な回収率が得られた。

さらに、矢田川大森橋の河川水にジアクリル酸ヘキサメチレンを50 ng添加した場合や名古屋港藤前干潟で採取した海水にジアクリル酸ヘキサメチレンを5.0 ng及び50 ng添加してそれぞれ添加回収率を求めた。その結果を表4に示す。表4から、いずれの場合でも、添加回収率が8%と以上となり精度良く回収することができた。以上のことから、河川水や海水といった環境水からジアクリル酸ヘキサメチレンを十分な回収率で精度よく定量できる分析法を開発することができた。

表3 MDL及びMQL

物質名	試料	MDL (μg/L)	MQL (μg/L)	再現性 (CV, n=9)	添加回収率 (%)
ジアクリル酸 ヘキサメチレン	河川水	0.16	0.43	5.2	83

表4 添加回収率

試料名	試料量 (mL)	添加量 (ng)	最終 液量 (mL)	試 験 数	検出濃度 (ng/mL)	回収率 (%)	変動係数 (%)
河川水	1.0	0	10	2	<0.16	-	-
(矢田川大森橋)	1.0	1.0	10	9	0.830	83	5.2
	1.0	50	10	6	50.5	101	2.7
海水	1.0	0	10	2	<0.16	-	-
(名古屋港)	1.0	5.0	10	5	4.16	83	1.6
藤前干潟)	1.0	50	10	6	50.7	101	3.4

3.4 環境実態調査

図1に示した名古屋市内の7地点の環境水について、ジアクリル酸ヘキサメチレンの濃度調査を行った。その結果、すべての地点の環境水からジアクリル酸ヘキサメチレンは検出されなかった。

4. まとめ

LC-MS/MSを用いて環境水中のジアクリル酸ヘキサメチレンを精度良く測定する手法を開発することができた。さらに、名古屋市内の河川水や海水からジアクリル酸ヘキサメチレンが検出されなかった。なお、本報の内容は、環境省が実施する化学物質環境実態調査の受託事業として実施されたものである。

5. 参考文献

1) 厚生労働省 職場のあんぜんサイト, 安全データシ

ート, ヘキサン-1,6-ジイル=ジアクリラート(2010) (<https://anzeninfo.mhlw.go.jp/anzen/gmsds/13048-33-4.html>)

- 2) 化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律(化審法)
- 3) 特定化学物質の環境への排出量の把握等及び管理の改善の促進に関する法律(化管法), 第一種指定化学物質 政令番号: 1-306, 二アクリル酸ヘキサメチレン(2008~), 第二種指定化学物質 政令番号: 2-78, 二アクリル酸ヘキサメチレン(2021~)
- 4) 厚生労働省 職場のあんぜんサイト, 安全データシート, ヘキサン-1,6-ジイル=ジアクリラート(2010) <https://anzeninfo.mhlw.go.jp/anzen/gmsds/13048-33-4.html>
- 5) U.S. EPA, Estimation Programs Interface (EPI) Suite™ v4.1 Level III Fugacity Modelによる媒体別分配予測
- 6) アメリカ合衆国 労働安全衛生法(OSHA), 1,6-Hexanediol Diacrylate, Sampling and Analytical Methods (Method no: PV2133) <https://www.osha.gov/methods/osha-pv2133U>
- 7) 環境省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(令和2年度版)(2021)
- 8) 平生進吾, 長谷川瞳, 森健次, 山守英朋: LC-MS/MSによる底質中のトリメチル(オクタデシル)アンモニウム及びその塩の分析法の開発及び濃度の経年変化に関する研究. 環境化学, **33**, 19-25, 2023