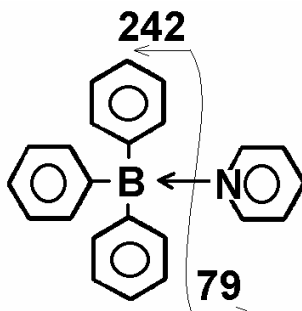


# 環境水中のピリジン-トリフェニルボランの分析

## Prydine-triphenylboron

北九州市環境科学研究所  
花田喜文

### [ 構造式 ]



### 物 性

| 分子式                                | 分子量   | 水溶解度   | LD <sub>50</sub>     | CAS-No   | 用 途            |
|------------------------------------|-------|--------|----------------------|----------|----------------|
| C <sub>23</sub> H <sub>20</sub> BN | 321.2 | 1 mg/L | 426mg/kg<br>[ラット(♂)] | 971-66-4 | 魚網、船底等の<br>防汚剤 |

#### 1. はじめに

トリフェニルボラン化合物は、1990年以來我が国では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る。その形態は、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426 mg/kg (LD<sub>50</sub>, ラット)と報告されている。これは、塩化トリブチルスズ(129 mg/kg)や塩化トリフェニルスズ(190 mg/kg)などの有機スズ化合物に比べると弱いものの[1]、その使用形態が有機スズと同様に環境中では開放系であるため、トリフェニルボランによる環境汚染が懸念される。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殆どなく、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、ホウ素の立体因子及び極性効果からアミン等の含窒素化合物が付加している方がそのままの状態より安定なため[2]、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、環境分析に汎用されているGCやGC/MSによる分析は困難である。そのため、環境省は海水等の環境水の分析にHPLC-UV法を用いた分析法を報告している[3]。しかしながら、この方法の検出下限値はppbレベルであり、化学物質の環境における残留状況を評価するためには不十分である。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0.1ppb (ng/ml)以下に設定することを推奨している[4]。そのため本研究においても、分析法の検出下限値として0.1 ng/ml以下を目標とした。

液体クロマトグラフィー/質量分析法(LC/MS)は、GCやGC/MSでの分析が困難な不揮発性化学物質や熱的に不安定な化学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[5-7]、ジंकピリチオン[8]及び極性を持つ農薬[9.10]などの分析に応用例が報告されている。

ここでは、LC/MSを用いて水質試料中のトリフェニルボランを0.1ppb以下の濃度レベルまで定量できる分析法の開発を行う。また、実試料を用いた添加回収試験を行うことにより、本法が実際の環境試料に適用可能であることを実証する。

## 2. 分析法

### 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。有機溶媒は全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-質量分析装置(LC-MS)は、Alliance 2690型高速液体クロマトグラフ及び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[3]に準じて行った。抽出操作及びLC/MS分析の手順を以下に示す。

水質試料500 mlを2M塩酸でpH2に調整した後、アセトニトリル及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。抽出物を20 ml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に濃縮した。濃縮液の2 µlを装置に注入した。LC-MSの操作条件をTable 1に示す。

Table 1 Operating conditions for LC-MS

|                               |   |
|-------------------------------|---|
| LC conditions (Alliance 2690) |   |
| Column                        | Inertsil ODA-80A, (250mm long, 1.5mm i.d., 5µm particle size) |
| Mobile phase                  | A: acetonitrile/water(3:7)<br>B: acetonitrile                 |
| Gradient                      | 100% A-(liner gradient 10min)-100% B (10min)                  |
| Flow                          | 0.2 ml min <sup>-1</sup>                                      |
| Injection volume              | 2 µl  |
| MS conditions (ZMD4000)       |   |
| Ionization mode               | Negative ion-ESI  |
| Desolvation gas               | Nitrogen, 400 l h <sup>-1</sup>                               |
| Desolvation temperature       | 250 °C  |
| Capillary voltage             | 3.5 kV  |
| Cone voltage                  | 30 V  |
| Ion source temperature        | 100 °C  |
| SIM monitor ion               | m/z 268 and 267   |

### 3. 結果と考察

#### 3. 1 イオン化モード及びSIM測定イオン

100  $\mu$ 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-質量分析装置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、正及び負イオン化モードにおけるスペクトルのベースピーク強度（カウント値）を比較した。その結果、負イオン ( $3.74 \times 10^5$ ) では、正イオン ( $2.41 \times 10^4$ ) の10倍以上の信号強度が得られた。従って、本研究では負イオンESIモードを選択した。Fig. 1にピリジン-トリフェニルボランの負イオンESIマスペクトルを示す。m/z 268のピークがベースピークとして観察され、m/z 268とm/z 267のピーク強度の比が、ホウ素の同位体比 ( $^{11}\text{B} : ^{10}\text{B} = 4:1$ ) と等しいことから、m/z 268のイオンはトリフェニルボランにCNが付加したイオンと考えられる。以上のことからトリフェニルボランのSIM法による測定イオンにはm/z 267と268を選択した。

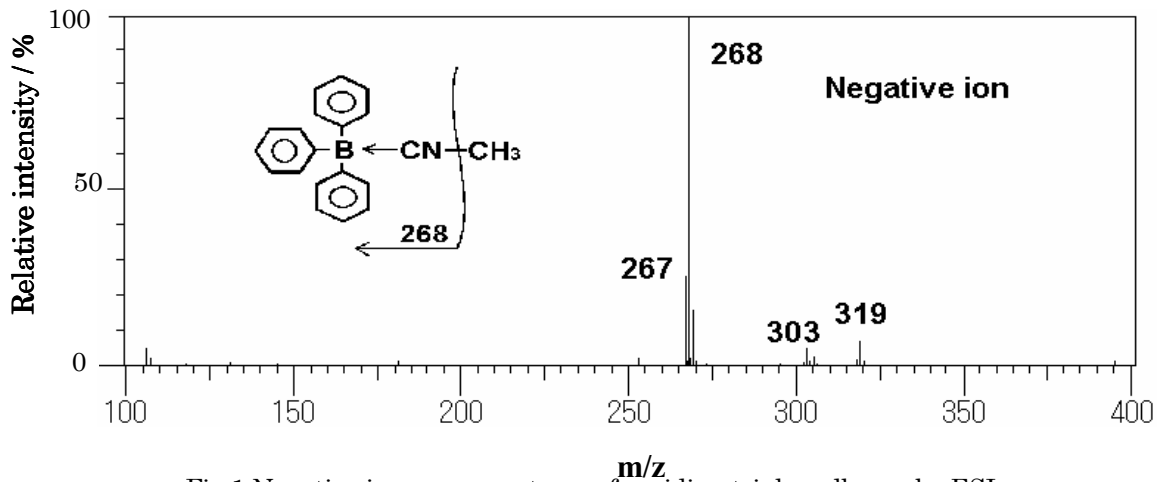


Fig.1 Negative ion mass spectrum of pyridine-triphenylboron by ESI.

#### 3. 2 コーン電圧の影響

ESIにおけるイオン強度はインターフェイスのコーン電圧によって変化する。m/z 268の最高ピーク強度を得るため、コーン電圧の最適化を検討した。その結果、Fig. 2に示すように30 Vのコーン電圧で最大強度が得られた。

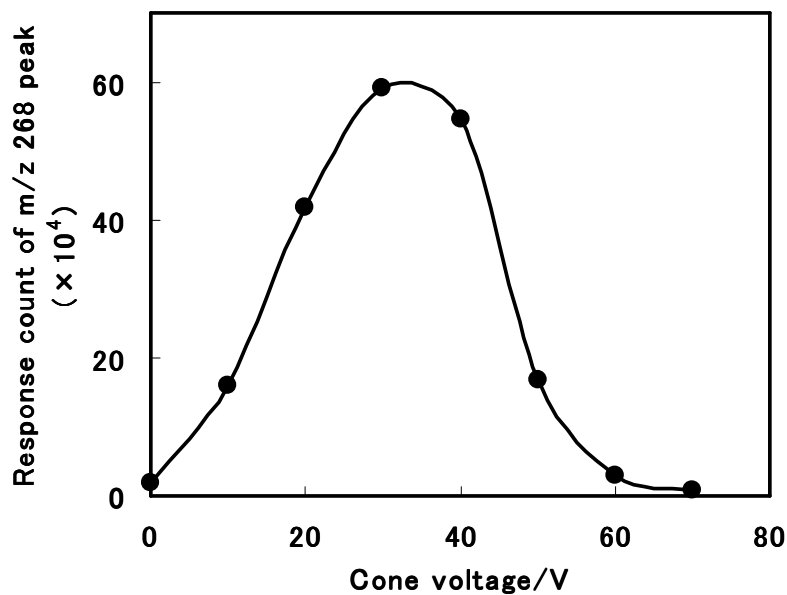


Fig.2 Effect of cone voltage on the ion intensity for m/z 268.

### 3. 3 検量線及び検出下限

検量線を作成するため、トリフェニルボラン換算として $0.038 - 3.8 \mu\text{g/ml}$ の濃度のピリジン-トリフェニルボラン標準溶液を調製し、Table 1のLC/MS条件で測定した。検量線の例をFig. 3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。

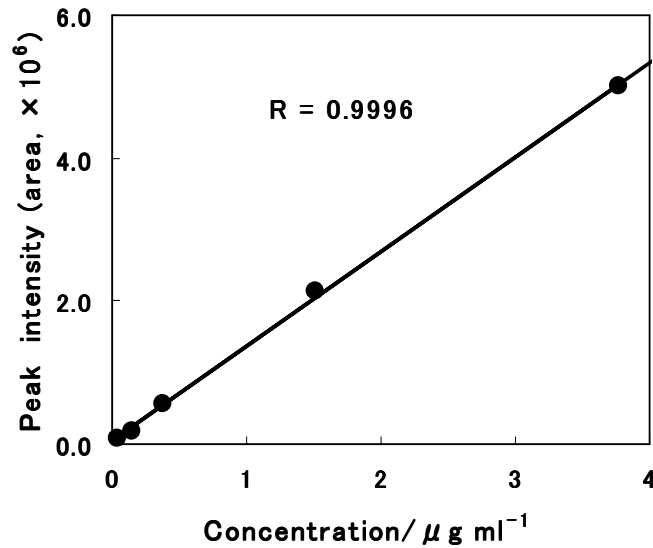


Fig.3 Example of calibration curve.

最低濃度の検量線作成用標準溶液 ( $0.038 \mu\text{g/ml}$ ) の繰り返し分析の結果から装置検出限界 (IDL) を次式により求めた[11].

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

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、 $n$ は繰り返し測定の回数、 $\text{Sd}$ は標準偏差である。このときの標準偏差は $0.0059 \mu\text{g/ml}$  ( $\text{CV}\% = 14.4\%$ )であった。この結果から算定したIDLは $0.011 \mu\text{g/ml}$ であり、これは、水中試料中濃度に換算すると $0.023 \text{ng/ml}$ に相当した。検量線の最低濃度のマスクロマトグラムをFig. 4に示す。

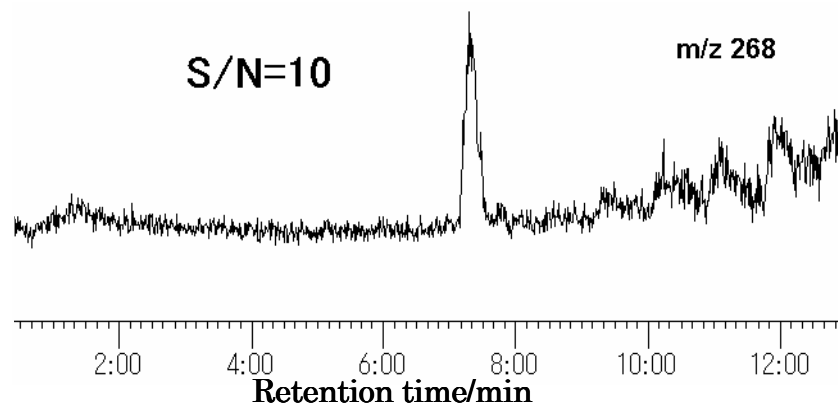


Fig.4 LC/MS-SIM chromatogram for determination of IDL.

本法の感度を既に報告されている HPLC-UV 法 (3.23 ng/ml) [3] と比較した場合、本法の感度が 100 倍以上高い結果が得られている。一般的に、環境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である。しかしながら、慢性毒性の情報を入手できる化学物質は少なく、トリフェニルボラン化合物の場合も LD<sub>50</sub> や半数生存限界濃度 (TLm, 0.7ppm, 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見当たらなかった。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[4]。従って、本法の検出下限値 0.023 ng/ml は、環境中のトリフェニルボランの分析に適用可能であり、LC/MS が分析法の高感度化に有効であることが確認された。

### 3. 4 回収試験

極微量濃度域における本法の精度を評価するため、添加回収試験を 2 度行った。蒸留水 500 ml にピリジン-トリフェニルボラン 0.2 μg (トリフェニルボランとして 0.30 ng/ml 相当) を添加し、前述した分析操作に従って、回収試験を行った。その結果を Table 2 に示す。蒸留水からの回収率は、84.9 及び 99.5% であり、十分満足できる結果であった。

さらに、本法が実際の環境試料に適用できることを実証するため、北九州市地域から採取した海水及び河川水について分析を行った。結果を Table 2 及び 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として 0.30 ng/ml となるように添加した試料から 0.247 – 0.307 ng/ml の濃度範囲で検出された。回収率は 80% 以上であり、蒸留水からの添加回収試験と同様の結果が得られ、海水及び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た。以上のことから、LC/MS を用いた本法は環境試料中に ppb 以下で存在するトリフェニルボランの分析に十分適用可能であることが証明された。

Table 2 Result of overall recovery test

|                 | Found, ng ml <sup>-1</sup> | 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        |

#### 4. 本章のまとめ

有機スズ化合物の代替物質であるトリフェニルボランの分析にLC/MSを応用した。現在、製造されているトリフェニルボラン化合物は、ピリジン錯体として製品化されているが、水中ではピリジンを遊離し、主にトリフェニルボランとして存在しているものと考えられる。水中のトリフェニルボランを酸性下でEmpore™ C18 固相ディスクを用いて抽出した後、液体クロマトグラフ-質量分析装置に導入し、負イオンエレクトロスプレーイオン化法による選択イオン検出法（SIM法）で分析した。SIM法では、トリフェニルボラン固有のイオンを測定イオンとし、このイオンのピーク面積から定量した。蒸留水、海水及び河川水に0.30 ng/mlとなるように添加したときの回収率は、各々92.3、100及び85.3%であった。また、検出下限値はトリフェニルボラン換算で0.023 ng/mlであり、実試料に十分適用できる濃度レベルであった。

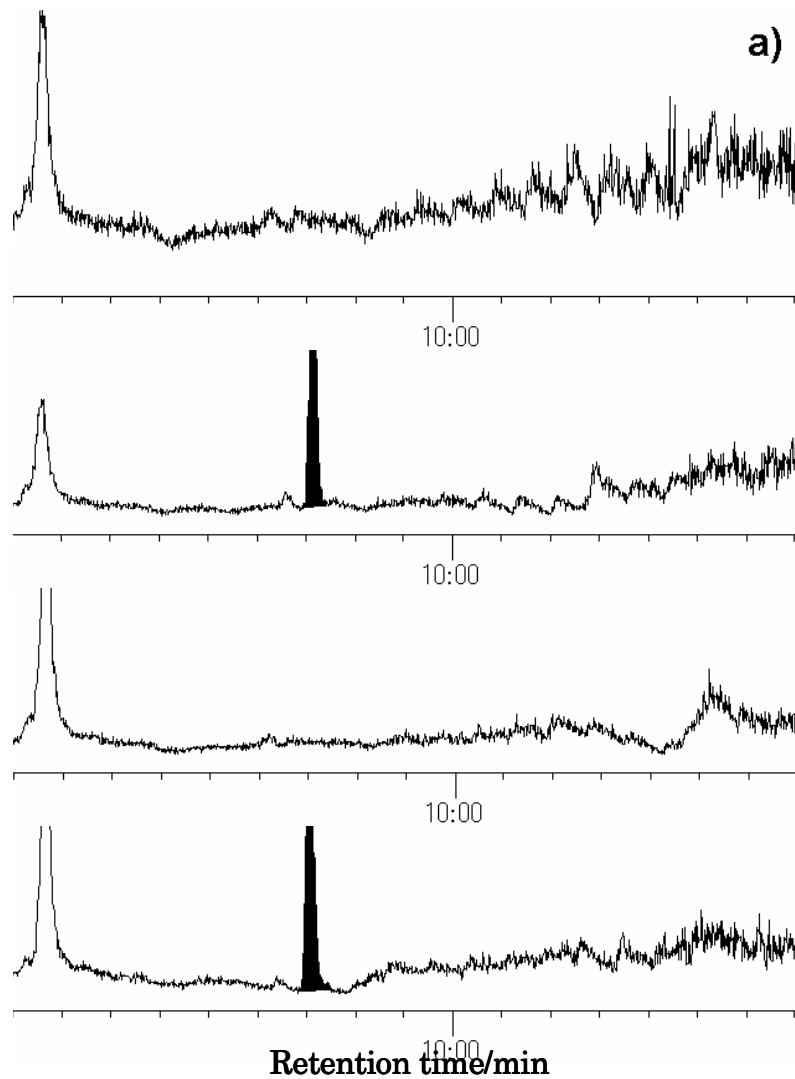


Fig.5 LC/MS-SIM chromatogram ( $m/z$  268) for recovery tests from water samples. a) seawater not spiked, b) seawater spiked, c) river water not spiked, d) river water spiked.

## 引用文献

1. “環境化学物質要覧”：塩化トリフェニルスズ，環境庁環境化学物質研究会編，丸善，東京，1988，pp.80-82.
2. 熊田誠，梶崎千代利，園欣弥，椎名教.“大有機化学 第18巻 有機金属化合物”：Ⅲ族元素(B, Al, Ga, In, Tl)の有機化合物，小竹無二雄監修，朝倉書店，東京，1957，pp.94-128.
3. “平成9年度化学物質分析法開発調査報告書”：ピリジン-トリフェニルボラン，環境庁環境保健部環境安全課，1988，pp.115-125.
4. “化学物質分析法開発マニュアル”：検出限界及び定量限界の算定方法，環境庁環境保健部保健調査室，1987，pp.186-191.
5. 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).
6. 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).
7. 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).
8. Thomas, K. V. : Determination of the antifouling agent zinc pyritione 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).
9. 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).
10. 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).
11. “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.