

シクロヘキシルアミン、ジシクロヘキシルアミン、
ビス(2-エチルヘキシル)アミンの分析法

1 対象物質

シクロヘキシルアミン、ジシクロヘキシルアミン、ビス(2-エチルヘキシル)アミン

2 目標検出下限値及び定量下限値

本分析法の目標検出下限値及び目標定量下限値を表1に示す。

表1 対象物質の目標検出下限値及び目標定量下限値

物質名	水質 (µg/L)		底質 (µg/kg)		生物 (µg/kg)	
	目標検出 下限値	目標定量 下限値	目標検出 下限値	目標定量 下限値	目標検出 下限値	目標定量 下限値
シクロヘキシルアミン	0.01	0.03	1	3	1	3
ジシクロヘキシルアミン	0.01	0.03	1	3	1	3
ビス(2-エチルヘキシル)アミン	0.01	0.03	1	3	1	3

3 分析法の概要

水質、底質試料中の対象物質は、アルカリ性で蒸留後、留液をアルカリ性とする。ジクロロメタンで液液抽出し、濃縮後、アセチル化してGC/MS-SIMで定量する(注1、注2)。生物試料中の対象物質は、アセトンで固液抽出後、蒸留し、以下、水質試料と同様に分析する。

4 試薬、器具及び装置

(1) 試薬

- ・ジクロロメタン、アセトン：残留農薬分析用またはこれと同等以上のもの(注3)。
- ・塩化ナトリウム、無水硫酸ナトリウム：残留農薬分析用またはこれと同等以上のもの(注4)。
- ・シクロヘキシルアミン、ジシクロヘキシルアミン及びビス(2-エチルヘキシル)アミン：市販品(注5)。
- ・内標準(ナフタレン-d₈、アセナフチレン-d₁₀、1,2-ジフェニルエタン-d₁₄)：市販の標準品(注6)。

- ・標準原液：標準物質 100 mg を各々別の 100 mL メスフラスコに精秤し、ジクロロメタンを加えて正確に 100 mL とし、これを 1,000 µg/mL の標準原液とする。各標準原液 10 mL を 100 mL メスフラスコに正確にとり、ジクロロメタンで 100 mL とし、これを標準混合原液とする。標準混合原液は 1 mL 中に各標準物質 100 µg を含む（注 7）。
- ・内標準溶液：各内標準 100 mg を各々別の 100 mL メスフラスコに精秤し、ジクロロメタンを加えて正確に 100 mL とし、これを 1,000 µg/mL の内標準原液とする。各内標準原液 10 mL を 100 mL メスフラスコに正確にとり、ジクロロメタンで 100 mL とし、これを内標準溶液とする。内標準溶液は 1 mL 中に各内標準 100 µg を含む。
- ・還元銅カラム：ロート（足外径 7 mm）の足にガラスウールを詰め、還元銅（有機元素分析用還元銅またはこれと同等以上のもので 60～80 メッシュ程度のもの）を 2 cm 充填する。還元銅は、窒素ガス中で保存し、使用直前に使用する溶媒で洗浄する。
- ・水：対象物質及びその妨害物質を含まないもの（注 8）。

（ 2 ） 器具・装置

- ・試料採取容器：水質試料用は、ガラス製共栓付き褐色ガラス瓶（容量 1 L）、又は、四フッ化エチレン樹脂張りシリコーンゴム栓付きスクリュウキャップ用ネジ口褐色ガラス瓶（容量 1 L）又はこれと同等以上のもの。底質試料用はガラス製共栓付き褐色広口ガラス瓶（容量 100～300 mL）、又は、四フッ化エチレン樹脂張りシリコーンゴム栓付きスクリュウキャップ用ネジ口褐色広口ガラス瓶（容量 100～300 mL）又はこれと同等以上のもの。洗浄後、水ですすぎ、乾燥する。アセトン及びヘキサンで洗浄し、乾燥する。キャップを堅くしめ、汚染のない場所に保管する。
- ・蒸留装置：1 L 又は 2 L のフラスコが接続できるもの。洗浄後、水ですすぎ、乾燥する。アセトン及びジクロロメタンで洗浄し、乾燥する。
- ・ガラス器具：洗浄後、水ですすぎ、乾燥する。さらに、アセトン及びジクロロメタンで洗浄し、乾燥する。
- ・ロータリーエバポレータまたは KD 濃縮装置。
- ・振とう器
- ・試験管ミキサー
- ・ホモジナイザー：万能ホモジナイザー、超高速万能ホモジナイザー、攪拌分散器、又は同等品

- ・ GC/MS：キャピラリーカラムの取付可能な GC 付き四重極型、二重収束型又はこれらと同等以上の性能を有する MS。

5 分析操作

(1) 試料採取

(ア) 水質試料

試料採取容器を採取試料で数回共洗いしてから、試料を泡立たないように静かに採取容器に満たし、直ちにキャップをする。このとき、瓶内に空気層を残さないよう注意する。試料は遮光して運搬する。試験操作は試料採取後直ちに行う。

(イ) 底質試料

試料を採取容器に 8 割程度採り、キャップをする。試料は遮光して運搬する。試験操作は試料採取後直ちに行う。直ちに行えない場合は、汚染のない冷暗所で凍結保存する。

なお、試料採取、運搬、調製にかかわる手順などの詳細は、本マニュアルの「[5.1 試料の採取、運搬、調製にかかわる一般事項](#)」に従う。

(2) 試験操作

(ア) 水質試料の前処理

水試料 1 L を 2 L 蒸留フラスコにとり、塩化ナトリウム 50 g (注 9)、10 N 水酸化ナトリウム 10 mL、沸石を入れ、蒸留装置に接続する。1 N 塩酸 10 mL を入れた 200 mL メスシリンダーなどを受器として、受器の液量が 180 mL となるまで蒸留する (注 10、11)。受器内の溶液を 300 mL 分液ロートに移し、塩化ナトリウム 25 g、10 N 水酸化ナトリウム溶液 20 mL を加えてから、ジクロロメタン 20 mL を加えて 5 分間振とうする。静置し、ジクロロメタン層を分離後、さらにジクロロメタン 10 mL を加えて同様に操作する。この操作を再度繰り返す (注 12)。ジクロロメタン層を合わせ、無水硫酸ナトリウムで脱水後、ナス型フラスコに入れ、アセトン 10 mL を加え、ロータリーエバポレータ又は KD 濃縮装置を用いて約 5 mL まで濃縮する (注 13)。得られた溶液を目盛付試験管などに移し、ナス型フラスコを少量のアセトンを用いてよく洗い (注 14)、洗液をジクロロメタン溶液と合わせる。この操作を数回繰り返し、得られた溶液を前処理液とする (注 15)。

(イ) 底質試料の前処理

試料 20 g を 1 L 蒸留フラスコにとり、精製水 500 mL、塩化ナトリウム 15 g、10 N 水酸化ナトリウム 5 mL、沸石を入れ、蒸留装置に接続する（注 16）。以下、水試料の前処理と同様に操作する（注 17）。

(ウ) 生物試料の前処理

試料 20 g を 100 mL の共栓付遠沈管にとり、アセトン 50 mL を加え、5 分間ホモジナイザーで攪拌抽出する。3,000 rpm で 10 分間遠心分離し、上澄みを回収する。残さにアセトン 50 mL を加え、この抽出分離操作をさらに行う。アセトン層を合わせ、1 L 蒸留フラスコにとり、塩化ナトリウム 15 g、10 N 水酸化ナトリウム 5 mL、沸石を入れ、蒸留装置に接続する。1 N 塩酸 10 mL を入れた 300 mL メスシリンダーなどを受器として（注 9）、受器の液量が 300 mL となるまで蒸留する（注 18）。以下、水試料の前処理と同様に操作する。

(エ) 測定用試料液の調製

前処理液に清浄な窒素ガスを穏やかに吹き付けて 0.5 mL とし（注 19）、無水酢酸 50 μ L 及び内標準を添加し（注 20）、アセトンを加えて 1 mL とし、試験管ミキサーでかく拌する（注 14）。溶液をバイアルに移し、密栓後、70 で 1 時間放置し（注 21）、測定用試料液とする。

(3) 空試料液の調製

試料と同量の精製水を用いて、「試験操作」に従って試料と同様の処理を行い、得られた試料液を空試料液とする（注 22）。

(4) 標準液の調製

標準混合原液を順次ジクロロメタンで希釈し、0.02 ~ 2 μ g/mL 程度の濃度の標準溶液を調製する（注 23）。各標準溶液 0.5 mL に無水酢酸 50 μ L 及び内標準を添加後（注 24）、アセトンを加えて 1 mL とし、以下、測定用試料液の調製に従って操作し、得られた溶液を標準液とする。

(5) 測定

(ア) GC/MS 条件の例 (注 25、注 26)

(a) GC

- ・カラム:5%フェニルメチルシリコン化学結合型(内径 0.2~0.75 mm、長さ 15~30 m、膜厚 0.1~3.0 μm 程度)カラムまたは同等以上の分離性能をもつもの(注 27)
- ・カラム温度:60 (1分) 7.5 /分 280
- ・注入口温度:250
- ・キャリアガス:ヘリウム(線速度 40 cm/秒)
- ・注入法:スプリットレス(1分後パーズ開始)

(b) MS

- ・イオン化法:EI
- ・イオン化エネルギー:70eV
- ・イオン化電流:300 μA
- ・イオン源温度:250

(c) 定量イオンの例(注 28、注 29)

- ・*N*-シクロヘキシルアセトアミド:141、98、60
- ・ジシクロヘキシルアセトアミド:223、166、140
- ・ビス(2-エチルヘキシル)アセトアミド:184、142
- ・ナフタレン- d_8 :136
- ・アセナフチレン- d_{10} :164
- ・1,2-ジフェニルエタン- d_{14} :196
- ・フルオランテン- d_{10} :212

(イ) 検量線

各標準液 1 mL に内標準を添加し、その一部を GC/MS に注入する(注 30)。内標準と対象物質の面積比を求め、検量線を作製する(注 31)。

(ウ) 試料液の測定

測定用試料液の一部を GC/MS に注入する (注 32)。内標準と対象物質の各測定イオンの面積を求める。

7 同定、定量及び計算

(1) 同定

対象物質、サロゲート及び内標準について、定量イオン及び確認イオンが、検量線作成に用いた標準物質などの保持時間の ± 5 秒以内に出現し (注 33)、定量イオンと確認イオンの強度比が検量線作成に用いた標準物質などにおける強度比の $\pm 20\%$ 以下であれば、対象物質などが存在しているを見なす。

(2) 定量及び計算

測定用試料液及び空試料液について内標準と対象物質の面積比を求め、対象物質の濃度を内標準法で求める (注 31)。次式で試料中の各対象物質濃度を計算する (注 34)。なお、底質の試料量は乾燥試料量とする。

$$\text{水質：濃度 (}\mu\text{g/L)} = (\text{検出量 (ng)} - \text{空試料液の検出量 (ng)}) \times \text{測定用試料液量 (mL)} \\ / \text{注入量 (}\mu\text{L)} / \text{試料量 (L)}$$

$$\text{底質：濃度 (}\mu\text{g/kg)} = (\text{検出量 (ng)} - \text{空試料液の検出量 (ng)}) \times \text{測定用試料液量 (mL)} \\ / \text{注入量 (}\mu\text{L)} / \text{試料量 (g)} \times 1,000$$

$$\text{生物：濃度 (}\mu\text{g/kg)} = (\text{検出量 (ng)} - \text{空試料液の検出量 (ng)}) \times \text{測定用試料液量 (mL)} \\ / \text{注入量 (}\mu\text{L)} / \text{試料量 (g)} \times 1,000$$

8 分析精度管理

本マニュアルの「 . 分析精度管理」に従い、標準作業手順を設定し、器具・装置の性能評価と維持管理を徹底し、その結果を記録しなければならない。

9 注意事項

(注 1) 全操作を通じて、良好な回収結果が得られることをあらかじめ確認すること。

GC/MS 測定において、十分な感度が得られれば SIM 測定の代わりにスキャン測

定でもよい。

- (注 2) 対象物質の安定同位体が入手可能であればサロゲートとして用いることが望ましい。対象物質と類似構造をもつ物質の安定同位体など適当な物質をサロゲートとして用いても良い。サロゲートは試験操作において試料に添加する。サロゲートの添加量は対象物質濃度や試験操作条件などに応じて適切な量とする。サロゲートは、原則として全操作を通しての回収率を確認するために用いる。
- (注 3) 使用前に空試験を行い、使用の適否を確認すること。
- (注 4) 妨害が認められる場合は、500～700 で 8 時間程度加熱後、汚染のない場所で冷却して用いる。
- (注 5) 純度を確認してから使用すること。
- (注 6) 内標準として、フェナントレン-d₁₀、アントラセン-d₁₀、*p*-ターフェニル-d₁₄、ピレン-d₁₀、HCB-¹³C₆などを用いてもよい。
- (注 7) 長期の保存はさける。保存した標準原液は、純度を確認してから使用する。
- (注 8) 蒸留水や逆浸透膜により精製した水などを用いる。必要に応じてヘキサンや使用する溶媒などで洗浄する。いずれも使用前に空試験を行い、使用の適否を確認すること。
- (注 9) 海水などについては塩化ナトリウム量が 50 g となるように添加する。
- (注 10) 対象物質の揮散による損失を防ぐため、流出口が受器の底部に来るようにするとともに、必要に応じて受器を氷水などで冷却する。蒸留操作においては、必要に応じて消泡剤を加えても良い。なお、アミン類が容器の壁面に吸着している可能性がある場合は、蒸留後、蒸留装置の冷却管や逆流止めなどを少量のアセトンで洗いこみ、受器内の溶液に合わせる。
- (注 11) なお、清浄な水試料については蒸留操作を行わず、液々抽出を行っても良い。この場合は、2 L 分液ロートに水試料 1 L をとり、塩化ナトリウム 125 g (注 9)、10 N 水酸化ナトリウム溶液 100 mL を加えてから、ジクロロメタン 100 mL を用いて 5 分間振とう抽出する。さらにジクロロメタン 50 mL を用いて 5 分間振とう抽出する。この操作を再度繰り返す。
- (注 12) 留液を濃縮後、溶媒抽出してもよい。この場合は、留液が酸性であることを確認後、300 mL ナス型フラスコに移し、ロータリーエバポレータを用いて乾固するまで減圧濃縮する。直ちに精製水を用いて 20 mL 共栓付試験管に移して 5 mL と

する。これにジクロロメタン 1 mL と 10 N 水酸化ナトリウム溶液 1 mL を加えて 1 分間振とうし、ジクロロメタン層を分取する。さらにジクロロメタン 1 mL を加えて同様に抽出操作を行う。この操作をさらに 1 回繰り返す。ジクロロメタン層を合わせ、無水硫酸ナトリウムで脱水し、得られた溶液 (5 mL 以下) を前処理液とする。

- (注 13) 湯浴温度は 25 以下とする。また、減圧時の圧力などにも配慮し、対象物質が揮散しないよう十分留意する。
- (注 14) アミン類が容器の壁面に吸着している可能性があるので注意すること。
- (注 15) 溶液量は 10 mL 以下とする。
- (注 16) 30 mL 程度の水で試料をよく分散させながらフラスコに入れる。
- (注 17) 単体硫黄が溶出し GC/MS 測定の影響となる場合は、ジクロロメタン抽出液を還元銅カラムに通して硫黄を除去する。還元銅カラム中の還元銅の充填量は必要に応じて増減しても良い。
- (注 18) 最初にアセトンが約 100 mL 留出するので、300 mL を採取する。
- (注 19) 湯浴温度は 25 以下とする。また、吹き付ける窒素ガスの流量にも配慮し、対象物質が揮散しないよう十分留意する。
- (注 20) 内標準の添加量は対象物質濃度や試験操作条件などに応じて適切な量とする。
- (注 21) 反応が完了したことを確認する。
- (注 22) 空試験値については可能な限り低減化を図る。
- (注 23) 試料中の対象物質濃度や試験操作条件に応じて適切な濃度範囲とする。
- (注 24) 内標準の添加量は試料の前処理液の場合と同量とする。
- (注 25) 共存する他の物質の影響を受けないよう GC 条件を十分検討する。また、試料注入部やカラムなどに対象物質が吸着することがあるので、材質や汚れなどに注意する。
- (注 26) GC の注入口セプタムからゴーストが出現することがある。その場合には、セプタムを GC に装着後、270 程度で一夜程度パーズしてから使用する。
- (注 27) 例えば HP-5 など (備考 1)。
- (注 28) ここに示す測定イオン例を参考にして、最適な定量用イオンを選定する。定量用イオンと異なる質量数のイオンを対象物質の確認用イオンとする。
- (注 29) 定量に用いる内標準は、原則として対象化合物の保持時間に最も近いものを用い

る。内標準として(注6)に示す物質を使用する場合は、定量イオンとしてフェナントレン-d₁₀:188、アントラセン-d₁₀:188、*p*-ターフェニル-d₁₄:244、ピレン-d₁₀:212、HCB-¹³C₆:290などを用いる。

(注30) GC/MSへの注入量は装置に応じて適切な量とする。

(注31) サロゲートを用いた場合は、内標準のかわりにサロゲートを用いて定量を行い、内標準をサロゲートの回収率の確認に用いてもよい。

(注32) GC/MSへの注入量は検量線作成の場合と同量とする。

(注33) 測定用試料中に夾雑物が多い場合には、保持時間が変わることがあるので注意する。

(注34) 空試料における検出値が空試験に用いた水に由来する場合は、空試料の検出量は差し引かない。

(備考1) ここに示す商品は、このマニュアル使用者の便宜のために、一般に入手できるものとして例示したが、これらを推奨するものではない。これと同等以上の品質、性能のものを用いてもよい。

参考文献

- 1) 環境庁環境保健部保健調査室:「昭和58年度 化学物質分析法開発調査報告書」,化学物質分析法開発調査報告書総覧(上), p.1907(1991)
- 2) 環境庁環境保健部保健調査室:「昭和57年度 化学物質分析法開発調査報告書」,化学物質分析法開発調査報告書総覧(上), p.2138(1991)
- 3) 環境庁環境保健部保健調査室:「昭和56年度 化学物質分析法開発調査報告書」,化学物質分析法開発調査報告書総覧(下), p.103(1991)
- 4) 環境庁環境保健部保健調査室:「昭和56年度 化学物質分析法開発調査報告書」,化学物質分析法開発調査報告書総覧(下), p.195(1991)

分析法フローチャート

