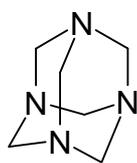


ヘキサメチレンテトラミンの調査マニュアル

1 対象物質

本法は水質（淡水）中のヘキサメチレンテトラミン（HMT）の分析に適用する。HMTは、ヘキサミンまたは1,3,5,7-テトラアザトリシクロ[3.3.1.1(3,7)]デカンともいい、加水分解や塩素処理によりホルムアルデヒドとアンモニアを生成する。合成樹脂の硬化促進剤、農薬の安定補助剤、ゴムや合成樹脂の発泡剤、医薬品原料、自動車用部品などの鋳物用砂型の硬化促進剤、火薬原料として使われている他、ホスゲンの吸収剤などとして使われている。なお、海外では食品の保存料としてイクラやチーズなどに添加される場合があるが、わが国では食品添加物としての使用は認められていない。



Hexamethylenetetramine

（別名：hexamine、methenamine、urotropine、1,3,5,7-tetraazaadamantane）

C₆H₁₂N₄

CAS No. 100-97-0

Log P_{ow}: -4.15

2 目標検出下限及び定量下限値

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

物質名	水質（淡水）（mg/L）	
	目標検出下限値	目標定量下限値
ヘキサメチレンテトラミン	0.002	0.006

3 分析法の概要

水質（淡水）試料は、0.45 μm もしくはそれ以下の孔径のメンブランフィルターを通したのち（注1）、HMT-*d*₁₂ を内標準物質として加えた後、ESI ポジティブモードのイオン化を用いたLC/MS/MSで定量する。

4 試薬、器具及び装置

（1）試薬

- ・ HMT：試薬特級
- ・ HMT-*d*₁₂：99.9 atom%D

- ・酢酸アンモニウム：試薬特級もしくは市販の 1 mol/L 水溶液
- ・メタノール：LC/MS 用
- ・水：LC/MS 用もしくは HPLC 用蒸留水

(2) 器具及び装置

- ・0.45 μm もしくはそれ以下の孔径のメンブランフィルター（注1）
- ・C18 シリカゲルカラム（注2）、ESI インターフェース、及び MS/MS 機能を備えた高速液体クロマトグラフィー質量分析装置

5 試料の採取・運搬

水質試料はガラス瓶に採取する。試料容器は、試料水を容器に流し入れて密栓する。採取した試料は冷蔵状態で試験室まで運搬し、すみやかに分析する。

6 試験操作

(1) 前処理及び試料液の調製

水質試料を 0.45 μm もしくはそれ以下の孔径のメンブランフィルターでろ過した後（注1）（注3）、HMT- d_{12} を 0.050 mg/L となるように加え、試験液とする。

(2) 空試験液の調製

試料と同量の水を用いて前項の操作を行い、空試験液を調製する。

(3) 添加回収試験液の調製

試料中の被検物質の濃度が 0.050 mg/L となるように標準溶液を添加し十分に混合した後、「(1) 前処理と試料溶液の調製」の操作により得られた試料液を添加回収試験液とする。

(4) 標準液の調製

HMT を 50 mg 正確に秤取し、水で正確に 50 mL とし、1000 mg/L の標準原液を調製する。これを水で順次希釈して、0.005～0.100 mg/L の範囲で検量線作成用の標準液を調製する。

これとは別に、HMT- d_{12} を 5 mg 正確に秤取し、水で正確に 5 mL とし、1000 mg/L の内標準原液を調製する。これを水で適宜希釈して、添加用の内標準液とする。

(5) 測定

(ア) LC/MS/MS 測定条件

LC/MS/MS 測定条件の一例を示す。これを参考にして適宜設定する。

(a) 液体クロマトグラフ部

- ・装置（注4） : 液体クロマトグラフ
- ・カラム（注5） : C18 シリカゲルカラム（注2）
- ・移動相（注6） : (C18 シリカゲルカラムの場合) 10 mmol/L 酢酸アンモニウム
溶液 : メタノール = 95 : 5

- ・カラム流量 : 0.2 mL/min
- ・カラム温度 : 30°C
- ・試料注入量（注7） : 5 µL

(b) 質量分析計部

- ・装置（注8） : MS/MS 機能のある質量分析計
- ・イオン化法 : ESI-positive
- ・イオン化電圧 : 4200 V
- ・ネブライザーガス : 14 L/min
- ・カーテンガス : 10 L/min
- ・コリジョンガス : 4 L/min
- ・ガス温度 : 450°C
- ・モニターイオン : HMT（定量用） 141.0 > 112.0
: HMT（確認用-1） 141.0 > 42.0
: HMT（確認用-2） 141.0 > 85.0
: HMT-*d*₁₂ 153.2 > 122.0
- ・コリジョン電圧 : HMT（定量用） 21 V
: HMT（確認用-1） 45 V
: HMT（確認用-2） 25 V
: HMT-*d*₁₂ 23 V

(イ) 検量線

検量線作成用標準液の一定量を LC/MS/MS に注入して、検量線作成用標準液中の対象物質と内標準物質との面積比を求め、検量線を作成する。

(ウ) 試験液の測定

試験液の一部を LC/MS/MS に注入して、試験液中の対象物質と内標準物質との面積比を求める。

7 同定、定量及び計算

(ア) 同定

定量用モニターイオンのピークが検量線作成に用いた標準物質の当該保持時間に観察され（注9）、定量用イオンと確認用イオンとの強度比が検量線作成に用いた標準物質における強度比の ±20%以下であれば、対象物質等が存在していると見なす。

(イ) 定量及び計算

試験液中の対象物質と内標準物質との面積比及び6.(イ)で作成した検量線とを用いて対象物質の量(検出量)を求め、次式によって試料中の対象物質の濃度を計算する。

$$\text{対象物質濃度}(\mu\text{g/L}) = (\text{検出量}(\mu\text{g}) - \text{空試験液の検出量}(\mu\text{g})) / \text{試料量(L)}$$

8 分析精度管理

本マニュアルの「II. 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、その結果を記載しなければならない。

9 注意事項

(注1) 使用するカラムの粒子径が3 μm未満の場合(特にUPLC用カラムを使用する場合)は、目詰まり防止を考慮し、0.45 μmのメンブランフィルターに替えてそれ以下の孔径のものを使う。インラインフィルターやガードカラムを使用している等により、ろ過が不要と判断される場合には省いてよい。

(注2) 例えば、Atlantis T3(ウォーターズ社)、Inertsil ODS-3(GLサイエンス社)、あるいはL-column ODS(化学物質評価研究機構)などがある。

また、Atlantis HILIC Silica(ウォーターズ社)で測定した例もある。その際の移動相は、10 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液:アセトニトリル = 50:50としており、C18シリカゲルカラムを用いた場合と比較して、保持時間は遅くなり、ピーク形状が改善された(参考文献1)。しかしながら、用いるHILICカラムの種類によって異なる結果となる可能性があるため、使用する場合には、適宜条件を検討する必要がある。

(注3) ヘキサメチレンテトラミンの加水分解半減期(37.5°C)は、pH2では1.6時間、pH5.8では13.8時間と報告されている(参考文献2)。試料の採取、保存に当たっては、pHに注意する必要がある。

(注4) ここでは、アジレント・テクノロジー社製Agilent1100を用いた。

(注5) ここでは、ウォーターズ社製Atlantis T3 2.1 mm I.D.×150 mm, 3 μmを用いた。

(注6) 移動相として10 mM-酢酸アンモニウム水溶液100%を使用すると、保持時間を若干増やすことが出来るが、C18カラムに移動相として100%水溶液を流し続けるとデウエッティング現象によりカラムに突然保持しなくなることがあるため、あえて若干のメタノールを移動相に加える条件とした。

(注7) ここでは、注入量は100 μLとしてもピーク形状に大きな崩れは生じなかったが、面積値の直線性は50 μL程度までであった。カラムの内容積から計算した一般的な注入量として5 μLとした。

(注8) ここではApplied biosystem社製API3000を用いた。

(注9) 内部標準物質との保持比の変化が±0.5%以内であることを確認する。また、当該ピークの保持時間は標準品の保持時間±5%以内であることを確認する。

(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。

(備考2) この測定方法における用語の定義その他で、この測定方法に定めのない事項については日本工業規格に定めるところによる。

参考文献

1. 柿本貴志, 茂木 守, 野尻喜好: 液体クロマトグラフィー/タンデム型質量分析計を用いる河川水中ヘキサメチレンテトラミンの迅速定量, 分析化学, 2013, vol62, 47-50
2. 独立行政法人 製品評価技術基盤機構: 化学物質の初期リスク評価書 Ver.1.0 No.107, available from < http://www.safe.nite.go.jp/risk/files/pdf_hyokasyo/198riskdoc.pdf>, (accessed 2012-06-18)

分析法フローチャート

