

# 水質試料中の安息香酸ベンジルの分析について

酒井 学 (横浜市環境科学研究所)

## Determination of benzyl benzoate in aqueous samples

Manabu Sakai (Yokohama Environmental Science Research Institute)

キーワード：安息香酸ベンジル、水質、GC/MS

### 要 旨

優先評価物質に位置付けられ、環境モニタリングの必要性の高い安息香酸ベンジルについて、分析法を開発し、環境試料への適用を行った。今回開発した分析手法は、水質試料を弱酸性で保管した後、ヘキサン抽出からシリカゲルカートリッジによる前処理を行い、ガスクロマトグラフ質量分析装置 (GC/MS) を用いて測定するものであり、この方法による検出下限値は、4.4 ng/L、定量下限値は、11 ng/Lであった。また、横浜市内の河川 (鶴見川・亀の子橋) 及び海域 (恵比須運河) の水質試料をこの方法で測定した結果、安息香酸ベンジルはいずれの地点からも検出されなかった。

### 1. はじめに

安息香酸ベンジル (図1) は、「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律」において、優先評価物質に位置付けられている上に、環境モニタリングのデータも少なく、化学物質の環境リスクを評価する上で、実態把握の必要性が高い化学物質の一つである。しかし、水環境中の安息香酸ベンジルを測定する適切な分析方法が認められないことから、環境省・化学物質環境実態調査の一環として、分析方法の開発検討を行うこととした。

安息香酸ベンジルの物理化学的性質を表1に示す。蒸気圧が0.000224 mmHg (25℃) であり、気化させることが可能と考えられたので、検出にはガスクロマトグラフ質量分析装置 (GC/MS) を用いることとした。また、分配係数 (log Pow) が3.97と極性溶媒よりも非極性溶媒に溶けやすいことから、水試料からの抽出は、有機溶媒 (ヘキサン) による抽出とした。更に、サロゲート物質 (安息香酸ベンジル- $d_{12}$ ) が市販されていることから、分析精度を高めるためにサロゲートを使用する方法を検討した。

次に、実際の環境試料への適用例として、横浜市内の河川及び海域の水質試料について分析を行った。

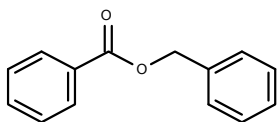


図1 安息香酸ベンジル ( $C_{14}H_{12}O_2$ )

表1 安息香酸ベンジルの物理化学的性質

融点 ( $^{\circ}C$ ) <sup>1)</sup>	沸点 ( $^{\circ}C$ ) <sup>2)</sup>	蒸気圧 (mmHg) <sup>2)</sup>	水溶解度 (mg/L) <sup>2)</sup>	log Pow <sup>3)</sup>
21	323- 324	0.000224 (25 $^{\circ}C$ )	15.4 (25 $^{\circ}C$ )	3.97

### 2. 分析

#### 2-1 試薬類

ヘキサン、酢酸エチル、アセトン、和光純薬工業製の残留農薬・PCB試験用、硫酸ナトリウム (無水) は、関東化学製の残留農薬試験用、*p*-テルフェニル- $d_{14}$  は和光純薬工業製の環境分析用を使用した。

安息香酸ベンジルは、和光純薬工業製の特級、安息香酸ベンジル- $d_{12}$  は、C/D/N Isotopes製を使用した。

また、シリカゲルカートリッジは、スペルクリン LC-Si SPE (1 g、スペルコ製) を使用した。

#### 2-2 分析機器及びGC/MS条件

島津製作所製のGC/MS QP-2010 Plusを用い、装置の分析条件を表2に示す。安息香酸ベンジルの定量は、選択イオンモニタリング (SIM) で行い、マススペクトルの測定は、スキャンで測定を行った。

表2 GC/MSの測定条件

使用カラム	: SGE Analytical Science製 BPX50 0.25 mm×30 m×0.25 $\mu$ m
カラム温度	: 60 $^{\circ}C$ (1min)→20 $^{\circ}C$ /min→120 $^{\circ}C$ (5min)→10 $^{\circ}C$ /min→250 $^{\circ}C$ (2min) →20 $^{\circ}C$ /min→280 $^{\circ}C$ (5min)→20 $^{\circ}C$ /min→300 $^{\circ}C$ (1min)
注入口温度	: 230 $^{\circ}C$
試料導入方法	: スプリットレス (パージ開始時間1 min)
試料注入量	: 1 $\mu$ L
ヘッド圧	: 193 kPa 0~0.8 min、89.6 kPa 0.8 min以降
キャリアーガス	: He
インターフェース温度	: 250 $^{\circ}C$
イオン源温度	: 210 $^{\circ}C$
イオン化電圧	: 70eV
検出モード	: SIM (定量m/z:194、204、244)

### 2-3 安息香酸ベンジルの抽出及び前処理

水質試料 200 mL にヘキサン 20 mL、安息香酸ベンジル- $d_{12}$  25 ng を加えて、分液ロートを用いてヘキサン抽出を行い (2 回)、最初及び 2 回めに抽出したヘキサン溶液を併せてから硫酸ナトリウム (無水) で脱水後、窒素ガス吹付けで 5 mL に濃縮した。あらかじめヘキサン 5 mL で洗浄したシリカゲルカートリッジにヘキサン抽出液を負荷し、ヘキサン 5 mL を流して捨て、酢酸エチル/ヘキサン (2:98) 8 mL で溶出した分画を集めた。

溶出液を窒素ガス吹付けで 1.0 mL に濃縮した後、シリンジスパイクの  $p$ -テルフェニル- $d_4$  を 50 ng 添加し、分析用の試料とした。

### 2-4 検量線及び検出下限値

安息香酸ベンジルの濃度 (4.00~100 ng/mL) の標準液各 1.0 mL に対して安息香酸ベンジル- $d_{12}$  を 25 ng、 $p$ -テルフェニル- $d_4$  を 50 ng 加えた後、GC/MS を用いて分析を行った。検量線は、50.0 ng/mL までの低濃度領域用と、100 ng/mL までの高濃度領域用の 2 種類を作成した<sup>4)</sup>。

分析方法の検出下限値 (MDL) の算出は、横浜市内の河川水 (平戸永谷川・渡戸橋) 200 mL に安息香酸ベンジル 4.00 ng を添加した試料の GC/MS 測定 (n=7) の標準偏差より算出した<sup>4)</sup>。

### 2-5 空試験

精製水を用いて、試料同様に抽出、濃縮操作の後、GC/MS 測定を行った。

### 2-6 保存性試験

化学物質環境実態調査実施の手引<sup>4)</sup>に従い、河川水 (鶴見川・亀の子橋) 及び海水 (恵比須運河) に安息香酸ベンジルを加えてから冷暗所に保存し、7 日後に残存率の測定を行った。

### 2-7 添加回収試験

河川水及び海水に安息香酸ベンジルを加えた後、抽出及び前処理を行ってから安息香酸ベンジル濃度を調べ、回収率 (=検出量/添加量×100) を求めた。

### 2-8 環境試料の測定

平成 27 年 10 月、あらかじめリン酸二水素カリウム 4 g を入れた 1 L のガラス瓶に河川水 (鶴見川・亀の子橋) 及び海水 (恵比須運河) を採水し、速やかに測定を行った。

## 3. 結果

### 3-1 安息香酸ベンジルのマススペクトル

安息香酸ベンジルのマススペクトルを図 2 に安息香酸ベンジル- $d_{12}$  のマススペクトルを図 3 に示す。定量イオンの選択は、(m/z=212 と 224) と (m/z=194 と 204) の組合せが考えられるが、m/z=224 は、バイアルのセプタム等に由来するピークが現れることがあるため、定量イオンには、安息香酸ベンジル (m/z=194)、安息香酸ベンジル- $d_{12}$  (m/z=204) の組合せを用いた。

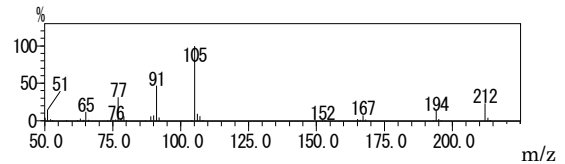


図 2 安息香酸ベンジルのマススペクトル

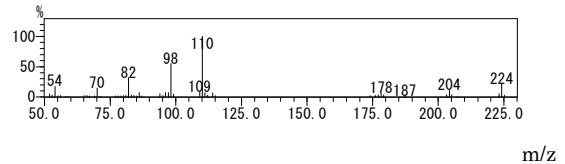


図 3 安息香酸ベンジル- $d_{12}$  のマススペクトル

### 3-2 検量線

今回の分析条件で標準液を測定したところ、安息香酸ベンジルは、保持時間 19.6 分に、安息香酸ベンジル- $d_{12}$  は保持時間 19.5 分にピークが認められた。図 4 に標準液 (4.0 ng/mL) の GC/MS クロマトグラムを示す。

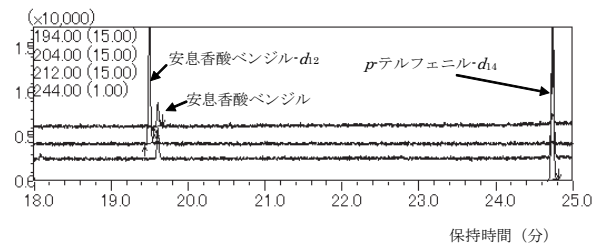


図 4 標準液の GC/MS クロマトグラム

次に、安息香酸ベンジル (m/z=194) と安息香酸ベンジル- $d_{12}$  (m/z=204) の濃度比及び面積比より検量線を作成した。検量線 (図 5 及び図 6) は、いずれも  $r^2$  (相関係数の 2 乗) > 0.99 の直線を示した。

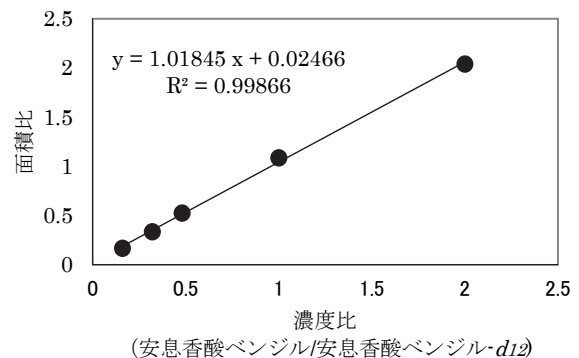


図 5 低濃度領域の検量線 (対象物質濃度 4.00~50.0 ng/mL)

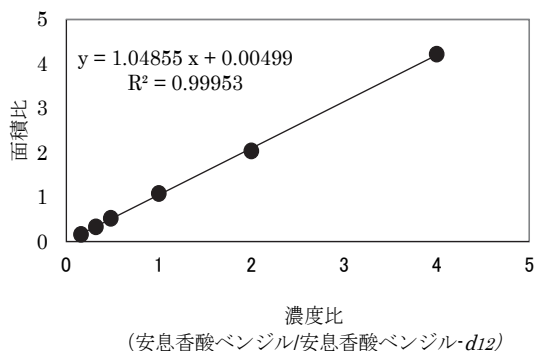


図6 高濃度領域の検量線  
(対象物質濃度 4~100 ng/mL)

### 3-3 MDL 及び MQL

MDL (検出下限値) 及び MQL (定量下限値) の結果を表 3 に示す。今回の方法による MDL は 4.4 ng/L、MQL は 11 ng/L となった<sup>4)</sup>。

表 3 MDL 及び MQL の算出

対象物質名	安息香酸ベンジル	サロゲート 回収率(%)
試料	河川水	
試料量 (mL)	200	
標準添加量 (ng)	4.00	
試料換算濃度 (ng/L)	20.0	
最終液量 (mL)	1.0	
注入液濃度 (ng/mL)	4.00	
装置注入量 (μL)	1	
操作ブランク平均 (ng/L)*1	<4.4	94
無添加平均(ng/L)*2	<4.4	94
結果 1 (ng/L)	20.9	86
結果 2 (ng/L)	19.4	95
結果 3 (ng/L)	20.3	92
結果 4 (ng/L)	19.3	87
結果 5 (ng/L)	18.5	98
結果 6 (ng/L)	17.8	98
結果 7 (ng/L)	18.2	97
平均値 (ng/L)	19.21	93.2
標準偏差 (ng/L)	1.13	
MDL (ng/L)*3	4.4	
MQL (ng/L)*4	11	
S/N 比	7	
CV (%)	5.9	

\*1 操作ブランク平均: 試料マトリクスのみがない状態で他と同様の操作を行い測定した値(n=2)

\*2 無添加平均: MDL 算出用試料に標準を添加していない状態で含まれる濃度(n=2)

\*3  $MDL = (n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$

\*4  $MQL = \sigma_{n-1} \times 10$

\*5 結果の濃度はサロゲート補正後の値

### 3-4 空試験

空試験の結果、安息香酸ベンジル及び安息香酸ベンジル-d<sub>2</sub> の保持時間付近にはピークが検出されなかった。

### 3-5 添加回収試験

添加回収試験の結果、安息香酸ベンジルの回収率及びサロゲートの回収率は 80% を超えており、回収率は河川水、海水いずれも良好であった。図 7 に無添加の海水試料、図 8 に海水 200 mL に安息香酸ベンジルを 10 ng 添加した試料の GC/MS クロマトグラムを示す。無添加の海水試料では、安息香酸ベンジルのピークが認められないが、標準を添加した試料では、安息香酸ベンジルのピークが認められ、海水の場合の回収率は 101% であった。

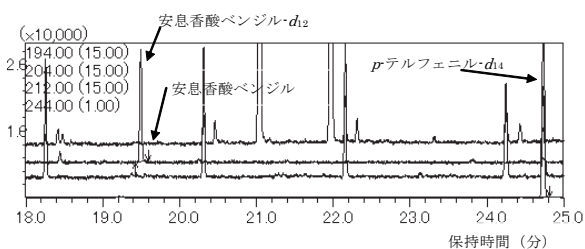


図 7 無添加試料 (海水) のクロマトグラム

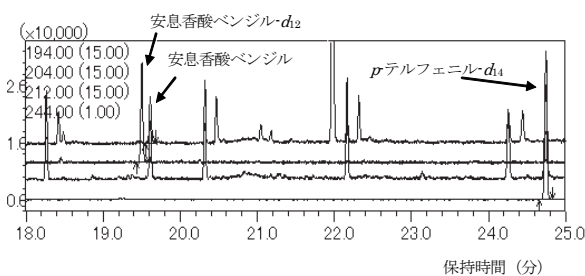


図 8 標準添加した試料 (海水) のクロマトグラム

### 3-6 保存性試験

河川水及び海水を用いて、安息香酸ベンジルを添加した試料に関する保存性試験を行った。その結果、河川水及び海水の場合、そのまま冷暗所保存で 7 日後の残存率が 50% 以下となったが、あらかじめリン酸二水素カリウムを加えた容器に試料を採取して研究所に持ち帰り、所内で pH5 に調整した試料では、河川水、海水いずれも 7 日後の残存率が 70% を超えていた。そこで、環境試料の調査に際しては、あらかじめリン酸二水素カリウム 4 g を入れたガラス瓶に試料 1000 mL を採取してから、クーラーボックス等を用いて保冷状態で運搬し、分析まで冷暗所に保管するものとした。また、弱酸性下でも分解が認められることから、分析 (抽出) はできるだけ速やかに行うこととした (表 4)

表 4 保存性試験の結果

試料名	試料数	調製濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	検出濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )* <sup>1</sup> (残存率 (%))* <sup>2</sup>		
			7日後	14日後	1ヶ月後
河川水	2	0.045	0.021(47)	-	-
海水	2	0.046	0.005(10)	-	-
河川水(pH5)	2	0.05	0.037(73)	-	-
海水(pH5)	2	0.05	0.039(79)	-	-
海水粗抽出液	2	10	-	10.6(106)	-
標準液	2	10	-	-	9.4(94)

\*1: 検出濃度はサロゲート補正後の値

\*2: 調製濃度に対する残存率

### 3-7 環境試料の分析

鶴見川及び恵比須運河の水質試料を分析したが、いずれも検出されなかった。図 9 は、鶴見川の試料を分析した際のクロマトグラムを示す。安息香酸ベンジル- $d_{12}$ 及び  $p$ -テルフェニル- $d_{14}$ のピークは認められるものの、安息香酸ベンジルのピークは認められなかった。

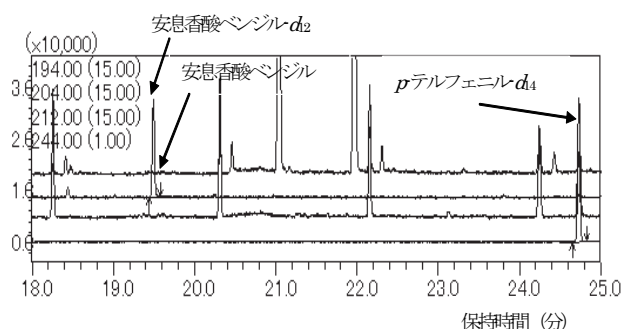


図 9 河川水試料の GC/MS クロマトグラム

### 4. まとめ

水質試料中の安息香酸ベンジルは、試料をそのまま冷暗所に保存した場合、7 日後には残存率が 50%以下となることが認められた。そこで、採取した水試料を弱酸性で保存してから、サロゲート物質(安息香酸ベンジル- $d_{12}$ )を添加し、ヘキサン抽出を行うこととした。前処理には、市販のシリカゲルカートリッジを用い、溶出には酢酸エチル/ヘキサン=2:98 の混合溶液 8 mL を用いた。溶出液を濃縮してから、GC/MS を用いた分析により、検出下限値 4.4 ng/L、定量下限値 11 ng/L が得られた。分析方法を確認するため、添加回収試験として、安息香酸ベンジルを河川水及び海水に添加して回収率を求めたところ、いずれも 80%を超えており、回収率は良好であった。そして、今回の方法を用いて横浜市内の河川水及び海水を測定したところ、安息香酸ベンジルは検出されなかった。

### 5. 補足

今回の分析法の検討、開発については、環境省化学物質環境実態調査の一環として実施したものであり、環境省の報告書<sup>5)</sup>から要点等を記したものである。

### 文献

- 1) Budavari, S. (ed.): The Merck Index Ver 12.2. (1996)
- 2) Philip H. Howard, William M. Meylan: Handbook of Physical Properties of Organic Chemicals (1996)
- 3) Lide, D.R. (ed.): CRC Handbook of Chemistry and Physics 84th Edition (2003)
- 4) 環境省総合環境政策局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(平成 27 年度版) (2016)
- 5) 環境省総合環境政策局環境保健部環境安全課: 平成 27 年度化学物質分析法開発調査報告書、26-45 (2016)