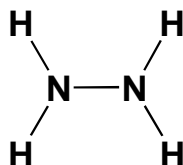


ヒドラジン (Hydrazine)

【対象物質の構造式】



CAS番号：302-01-2（無水物）7803-57-8（一水和物）、N₂H₄

【物理化学的性状】

分子量	融点	沸点	LogPow	溶解度
32.05	1.4℃	113.5℃	-1.31（文献値）*	水に無限に溶ける

* 初期環境調査分析法開発対象物質シートより

【毒性、用途】

・LD ₅₀	ラット	経口	60 mg/kg	マウス	経口	59 mg/kg
		静脈内注射	55 mg/kg		静脈内注射	57 mg/kg
		腹腔内注射	59 mg/kg		腹腔内注射	62 mg/kg
	ウサギ	静脈内注射	20 mg/kg	イヌ	静脈内注射	25 mg/kg
		経皮	91 mg/kg		経皮	96 mg/kg

・変異原性

DNA合成阻害試験	ヒト（生体外）	陽性
腫瘍遺伝子転換試験	ヒト（生体外）	陽性
不定期DNA合成試験	ラット（生体内）	陽性
Ames試験（-S9）	サルモネラ菌	陽性
姉妹染色分体交換試験	ハムスター（生体外）	陽性

- ・発がん性評価 IARC 2B（発がん性の可能性がある物質）
（Web kis-netより）

用途：燃料、医薬中間体等

§ 1 分析法

(1) 分析法の概要

硫酸及びアスコルビン酸を含浸させた固相カートリッジに大気試料を1L/minの流速で2時間(120L)捕集し、EDTAリン酸バッファー溶液で溶出、ベンズアルデヒドを加えて誘導体化し、生成したベンザラジンをヘキサンで抽出し、GC/MS(SIM)で分析する。

(2) 試薬・器具

ヒドラジン一水和物	: 和光純薬製、和光特級
ベンズアルデヒド	: 特級
ヘキサン、アセトニトリル	: 残留農薬試験用
アセトニトリル	: 残留農薬試験用
エチレンジアミン四酢酸二水素二ナトリウム (EDTA・2Na)	: 特級
リン酸一ナトリウム・一水和物	: 特級
リン酸	: 特級
硫酸	: 特級
L(+)-アスコルビン酸	: 特級
フルオランテン-d ₁₀	: CIL社製

0.26N硫酸・1%アスコルビン酸メタノール溶液

: 硫酸0.75mL及びL(+)-アスコルビン酸1gをメタノールに溶解し、100mLにする。使用時に調製すること。

EDTAリン酸バッファー溶液

: EDTA・2Na 18.61g及びリン酸一ナトリウム・一水和物13.80gを蒸留水に溶解し、1000mLにしたものにリン酸を加えて、pH3.5にする。

ベンズアルデヒド溶液

: ベンズアルデヒド1mLにアセトニトリルを加えて100mLにする。使用時に調製すること。

固相カートリッジ Sep-Pak PS-Air : Waters製

(3) 分析法

【捕集管の調製】

Sep-Pak PS-Airをメタノール5mLで洗浄した後、0.26N硫酸・1%アスコルビン酸メタノール溶液を2mL流し、純窒素ガスを通気して乾燥したものを捕集管とする。調製した捕集管は密栓して冷蔵庫でサンプリングまで保管する。(注1)

【試料捕集法】

捕集管に大気試料を1L/minの流速で2時間(120L)捕集する。捕集管はアルミホイルで遮光する。捕集後は捕集管を密栓し、保冷して実験室へ持ち帰り、直ちに試料溶液の調製を行う。(注2)

【試料溶液の調製】

捕集管に採取した試料は、通気方向と逆方向からEDTAリン酸バッファー溶液2mLで10mL試験管に溶出し、溶出液にベンズアルデヒド溶液を1mL添加、よく混合し、室温で40分間反応させる。その後、ヘキサン1mLと1 μ g/mL内標準溶液10 μ Lを加えて、手で2分間ほど激しく攪拌し、抽出する。これを遠心分離し、ヘキサン層をパスツールピペットでサンプルバイアルに分取し、試料溶液とする。

【空試験液の調製】

大気試料を捕集しない捕集管について【試料溶液の調製】の項の操作を行い、空試験液とする。

【標準溶液の調製】

〔ヒドラジン標準溶液〕

ヒドラジン一水和物156mgを秤量し、蒸留水で100mLとし、ヒドラジンとして1000 μ g/mLの標準原液を作成する。これを蒸留水で希釈して1000ng/mLの標準溶液を作成する。標準溶液は使用時に作成する。

〔内標準溶液〕

フルオランテン-d₁₀50mgを秤量し、ヘキサンで50mLとし、1000 μ g/mLのヘキサン溶液を作成する。これをヘキサンで希釈して、1 μ g/mL内標準溶液とする。

〔検量線用標準溶液〕

10mL試験管にEDTAリン酸バッファー溶液2mLを取り、これに1000ng/mLヒドラジン標準溶液をマイクロシリンジで1 μ Lから50 μ L程度まで段階的に添加する。(試料溶液の濃度として、1～50ng/mLに相当する。)また、ヒドラジン標準溶液を添加しないものを検量線用ブランクとする。これらの溶液を【試料溶液の調製】の項にしたがって処理し、検量線用標準溶液とする。

【測定】

〔GC/MS条件〕

GC/MS機器	: GC ; HP5890 MS ; JMS-AM50S II
カラム	: RESTEC Rtx-1MS (0.25mm×25m×0.25 μ m)
昇温条件	: 40°C(1min)→20°C/min→160°C→10°C/min→280°C(5min)
注入方法	: スプリットレス (パージ開始時間1min)
注入口温度	: 250°C
インターフェース温度	: 250°C
イオン源温度	: 230°C
イオン化電流	: 300 μ A

モニターイオン : ヒドラジン誘導体 (ベンザラジン) 定量用208、確認用207

内標準 (フルオランテン-d₁₀) 212

[検量線]

検量線用標準溶液1μLをGC/MSに注入し、得られたヒドラジン誘導体のピーク面積と内標準のピーク面積の比と検量線用標準溶液の濃度から検量線を作成する。

[定量]

試料液1μLをGC/MSに注入し、ピーク面積比から試料溶液中のヒドラジン濃度を定量する。

[大気中濃度の算出]

大気中のヒドラジン濃度Cは、次式により計算する。

$$C = \frac{W - W_b}{V} \times \frac{1000 \times (273 + t)}{273 + 20} \times \frac{101.3}{P}$$

- C: 大気中のヒドラジン濃度 (ng/m³)
- W: 検量線から求めた測定値 (ng)
- W_b: 検量線から求めた空試験の測定値 (ng)
- V: 大気採取量 (L)
- t: 試料採取時の平均温度 (°C)
- P: 試料採取時の平均気圧 (kPa)

[装置検出下限 (IDL)]

本分析法に用いたGC/MSのIDLを下表に示す。(注2)

物質	IDL(ng)	試料量(L)	最終液量(mL)	試料換算値(ng/m ³)
ヒドラジン	0.26	120	1	2.2

[測定方法の検出下限 (MDL)、定量下限 (MQL)]

本測定方法における検出下限及び定量下限を下表に示す。(注3)

物質	試料量(L)	最終液量(mL)	検出下限(ng/m ³)	定量下限(ng/m ³)
ヒドラジン	120	1	8.3	21

注解

(注1)

0.26N硫酸・1%アスコルビン酸メタノール溶液を含浸させた捕集管は、純窒素ガスを通気して乾燥させると薄紫色に着色するが使用には問題ない。

(注2)

§2【分析法】〔試料捕集後の捕集管の保存性〕の項に述べているように、試料の保存性がよくないのでサンプリング終了後は、試料溶液の調製を速やかに行うこと。

(注3)

装置の検出下限 (IDL) は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成17年度版)に従って、表1のとおり算出した。なお、検量線用ブランク溶液に対象物質のピークが認められたため、ブランク溶液と1ng標準溶液についてIDLを算出し、数値の大きかった1ng標準溶液におけるIDLを選定した。

表1 装置の検出下限(IDL)の算出

物質名	ヒドラジン
試料量(L)	120
最終液量(mL)	1
注入液濃度(ng/mL)	1
装置注入量(μL)	1
結果1(ng/mL)	0.993
結果2(ng/mL)	0.890
結果3(ng/mL)	1.044
結果4(ng/mL)	0.987
結果5(ng/mL)	0.974
結果6(ng/mL)	1.120
結果7(ng/mL)	1.048
結果8(ng/mL)	0.967
平均値(ng/mL)	1.003
標準偏差(ng/mL)	0.0683
IDL(ng/mL)	0.26
IDL試料換算値(ng/m ³)	2.2
S/N	17
CV%	6.8

$$\text{※IDL} = t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$$

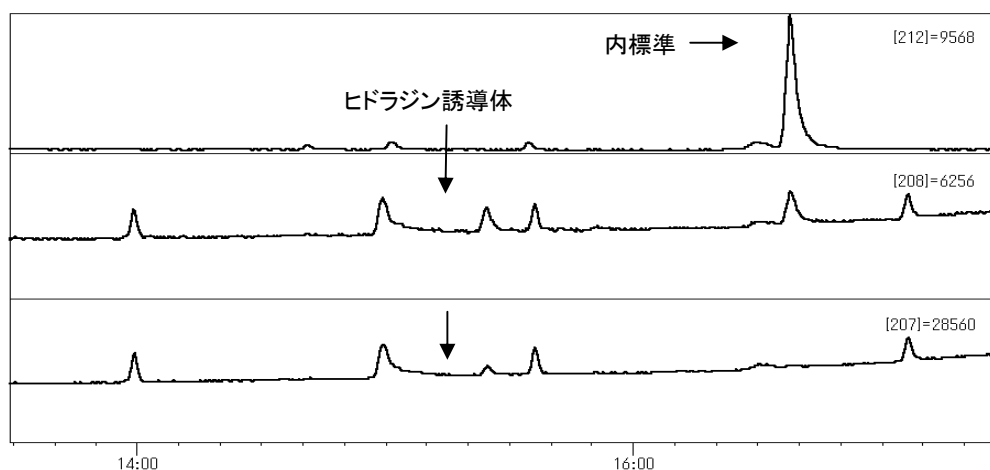


図1 IDL測定時のクロマトグラム

(注4)

測定方法の検出下限 (MDL) 及び定量下限 (MQL) は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成17年度版)に従って、表2のとおり算出した。

表2 測定方法の検出下限(MDL)及び定量下限(MQL)の算出

物質名	ヒドラジン
試料	環境大気
試料量(L)	120
標準添加量(ng)	2.5
試料換算濃度(ng/m ³)	21
最終液量(mL)	1
注入液濃度(ng/mL)	2.5
装置注入量(μL)	1
操作ブランク平均(ng/m ³) ^①	0
無添加平均(ng/m ³) ^②	0
結果1(ng/m ³)	12.34
結果2(ng/m ³)	11.14
結果3(ng/m ³)	14.53
結果4(ng/m ³)	15.11
結果5(ng/m ³)	10.03
結果6(ng/m ³)	15.14
結果7(ng/m ³)	11.08
平均値(ng/m ³)	12.77
標準偏差(ng/m ³)	2.136
MDL(ng/m ³)	8.3
MQL(ng/m ³)	21
S/N	12
CV%	16.7

$$\text{※MDL} = t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$$

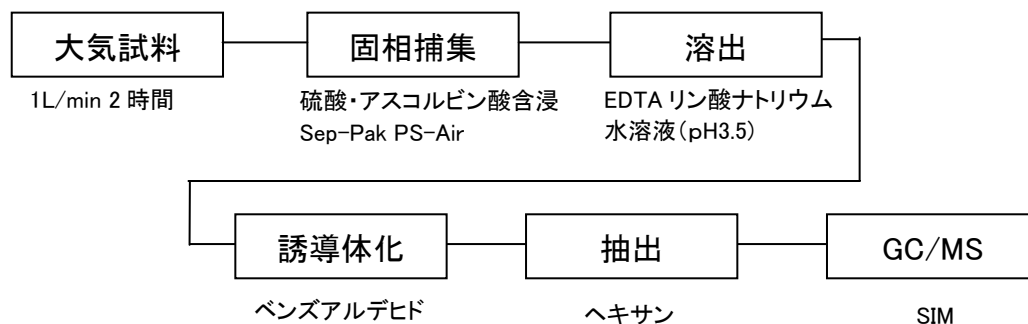
$$\text{※MQL} = \sigma_{n-1} \times 10$$

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は同様の操作を行い測定した値の平均値

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の平均値

【分析法】

〔フローチャート〕



〔検量線〕

検量線の例を図2に示す。(濃度範囲：1～50ng/mL、内標準濃度:10ng/mL)

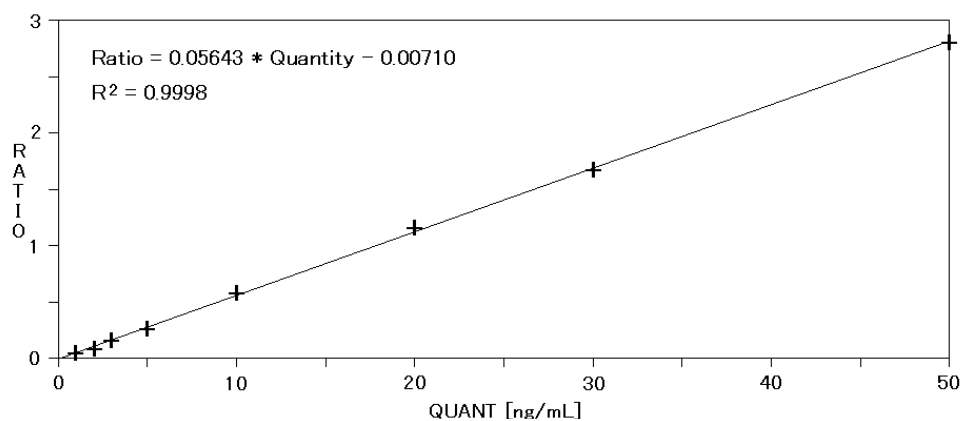


図2 検量線

〔マススペクトル〕

ヒドラジン誘導体化物 (ベンザラジン) のマススペクトルを図3に示す。

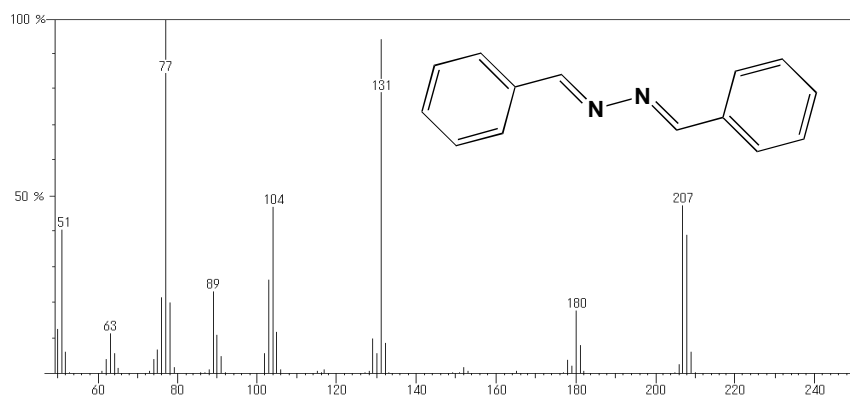


図3 マススペクトル

[クロマトグラム]

検量線の最小濃度 (1ng/mL) のクロマトグラムを図4に示す。

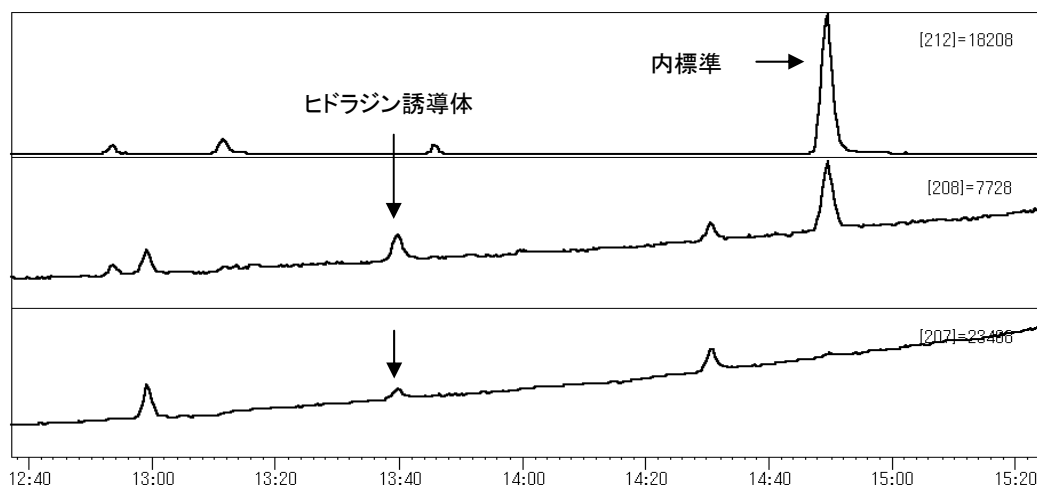


図4 クロマトグラム

[誘導体化の検討]

(1) 誘導体化試薬の添加濃度について

EDTAリン酸バッファー溶液2mLにヒドラジン5ngを添加し、ベンズアルデヒド溶液の濃度を0.1~4%に変えたものを1mL加え室温で30分間反応させ、生成量を確認した。結果は、1%の場合の生成量を1として図5に示した。1~2%の濃度で最も生成量が多かったので、分析に用いるベンズアルデヒド溶液の濃度は1%とした。

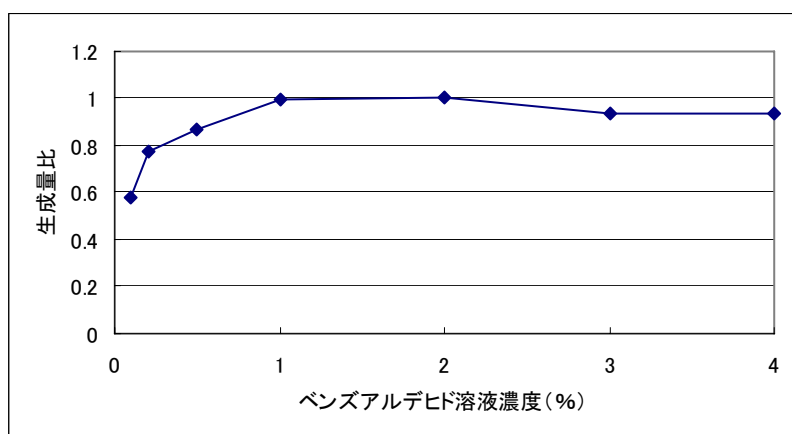


図5 誘導体化試薬の添加濃度

(2) 誘導体化時間について

EDTAリン酸バッファー溶液2mLにヒドラジン5ngを添加し、1%ベンズアルデヒド溶液を1mL加え室温で5~120分反応させた。結果は、図6に示すように30分で生成量が一定となったところから、反応時間は40分とした。

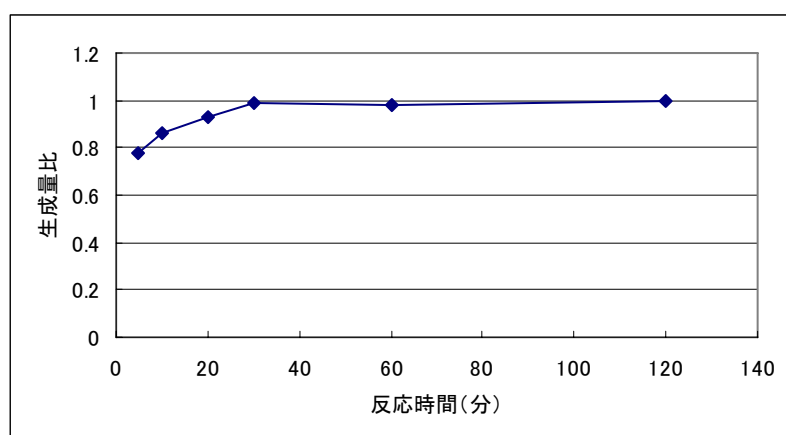


図 6 誘導体化時間

〔調製した捕集管の保存性〕

調製した捕集管を密栓し、アルミホイルで包み、冷蔵庫で2日間及び9日間保存したものと調製直後の捕集管にヒドラジン10ngを添加して室内空気60Lを通気し、回収実験を行った。下表に示すとおり、9日間保存しても使用に問題はないことがわかった。

保存期間	直後	2日	9日
回収率(%)	73.5	69.1	71.6

〔試料捕集後の捕集管の保存性〕

ヒドラジン10ngを添加、室内空気60Lを通気した捕集管を直ちに分析した場合と、密栓し、アルミホイルで包み、冷蔵庫で保存した後に分析した場合の回収率を比較した結果を下表に示す。直ちに分析したものに比べ、14時間経過したものでも回収率が低下していることから、サンプリング後、速やかに分析を開始した方がよいと言える。

保存期間	直後	14時間	24時間	48時間
回収率(%)	73.5	58.7	53.9	25.9

〔添加回収実験〕

捕集管にヒドラジン10ngを添加し、室内空気（気温22℃、湿度46%）を1L/minの流速で120L通気し、回収率を求めたところ、下表のとおり回収率は56.0%であった。

試料量 (L)	添加量 (ng)	測定回数	検出濃度 (ng/mL)	回収率 (%)	変動係数 (%)
120	10	7	5.60	56.0	19.3

[回収率が低い原因について]

添加回収実験で十分な回収率が得られなかったことについては、捕集管に捕集されたヒドラジンが空気中のアルデヒド類の影響により分解していることが予想された。

これを確認する目的で捕集管の上流にDNPHカートリッジを取付け、アルデヒド類を除去した空気を捕集管に通気して、添加回収実験を行ったところ下表のとおり、DNPHカートリッジを取付けない場合に比べ回収率が改善されていた。このことから、空気中のアルデヒド類の影響により回収率が低下している可能性がある。しかし、空気中のアルデヒド類を除去し、かつ、ヒドラジンを捕集する方法が開発できなかったため、回収率を向上するためには、短時間のサンプリングが望ましく、捕集時間は2時間程度とする。

条件	回収率(%)
DNPHカートリッジあり	91.4
DNPHカートリッジなし	57.6

[環境試料分析例]

当研究所3階窓外の大気を捕集した試料及び環境試料にヒドラジンを添加した試料のクロマトグラムを図7に示す。大気中からはヒドラジンは検出されなかった。

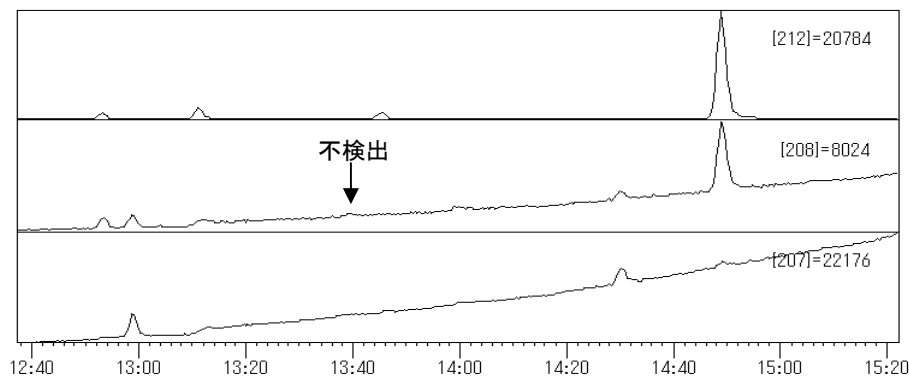


図 7-1 環境試料分析例

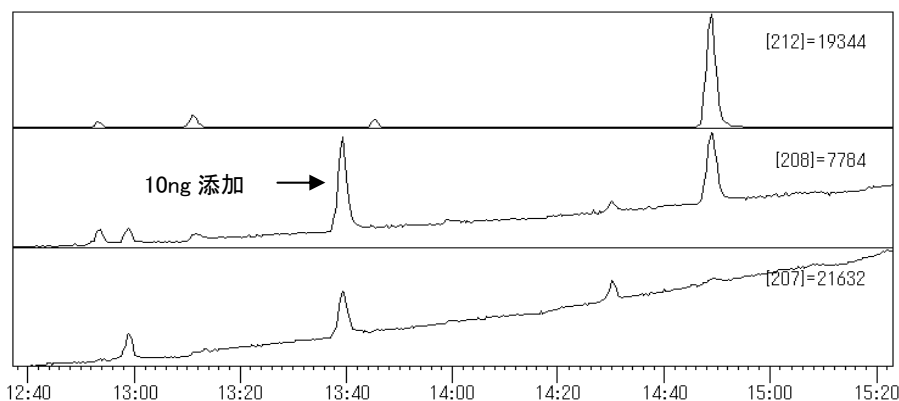


図 7-2 環境試料分析例(添加)

§ 3 分析方法の再検討

捕集剤として、硫酸・アスコルビン酸含浸PS-Airカートリッジを用いて検討を行ってきたが、十分な回収率を得ることができなかつたので、硫酸・アスコルビン酸に代えて10%クエン酸メタノール溶液をPS-Airカートリッジに含浸させたものを用いて抽出溶液、誘導体化反応条件など分析法の再検討を行った。また分析条件についても、誘導体化捕集（後述）の検討時にベンザラジンの感度がGC/MS比べて数十倍高いとわかっているLC/MS/MSを用い、最適化を行った。

(1) 検討結果

- ・抽出溶液：10%クエン酸水溶液：メタノール=9：1の5mLで抽出するのが最も抽出率が良好であった。
- ・誘導体化試薬溶液：5%ベンズアルデヒドのメタノール溶液（V/V%）0.6mLで誘導体化するのが最も反応率がよかった。

(2) 分析法

[捕集管の調製]

Sep-Pak PS-Airをメタノール5mLで洗浄した後、10%クエン酸メタノール溶液を2mL流し、純窒素ガスを通気して乾燥したものを捕集管とする。調製した捕集管は密栓して冷蔵庫でサンプリングまで保管する。

[試料捕集法]

硫酸・アスコルビン酸捕集法の分析法に準じて行う。

[試料溶液の調製]

捕集管に捕集した試料を10%クエン酸水溶液：メタノール=9：1の5mLで抽出し、5%ベンズアルデヒドのメタノール溶液（V/V%）0.6mLを加え、室温で1時間反応、水2mL、ヘキサン1mL、フタル酸ジエチルヘキシル-d4 100ng/mL溶液10 μ Lを加え、1分間、手で激しく振とう抽出する。

ヘキサン層の500 μ Lをマイクロピペットで褐色スピッツ管に取り、窒素吹き付けにより乾固寸前まで濃縮し、メタノール1mLを加え、超音波照射により溶解したものをLC/MS試料溶液とする。

[空試験液の調製] 以下の項は、硫酸・アスコルビン酸捕集法の分析法に準じて行う。

[検量線用標準溶液]

10mL試験管に10%クエン酸水溶液：メタノール=9：1の5mLを取り、これに100ng/mLヒドラジン標準溶液をマイクロシリンジで段階的に添加する。また、ヒドラジン標準溶液を添加しないものを検量線用ブランクとする。これらの溶液を前項〔試料溶液の調製〕にしたがって処理し、検量線用標準溶液とする。

[分析条件]

LC 使用機種 Agilent社製 1100 Series
 カラム Waters, XTerra C18 2.1×50mm
 溶離液 A:水、B:メタノール
 0 → 2min A:B = 70:30
 2 → 8min A:70 → 0 B:30 → 100 linear gradient
 8 → 20min B = 100
 20 → 21min A:0 → 70 B:100 → 30 linear gradient
 21 → 30min A:B = 70:30

注入量 10μL

温度 室温 (22°C程度)

MS 機種 Applied Biosystems社製 API3000

イオン化法 APCI Positive

定量イオン

ベンザラジン ; プレカーサーイオン : 209.2、プロダクトイオン : 106.1

内標準 ; プレカーサーイオン : 395.4、プロダクトイオン : 153.0

[検量線]

検量線用標準溶液10μLをLC/MS/MSに注入し、得られたヒドラジン誘導体のピーク面積と内標準のピーク面積の比と検量線用標準溶液の濃度から検量線を作成する。

[定量]

試料液10μLをLC/MS/MSに注入し、ピーク面積比から試料溶液中のヒドラジン濃度を定量する。

[装置検出下限 (IDL)]

本分析法に用いたLC/MS/MSのIDLを下表に示す。

物質	IDL(pg)	試料量(L)	最終液量(mL)	試料換算値(pg /m ³)
ヒドラジン	0.011	60	1	18

表3 装置の検出下限(IDL)の算出

物質名	Benzalazine (Hydrazine 換算値)
試料量(L)	60
最終液量(mL)	1
注入液濃度(ng/mL)	0.02
装置注入量(μL)	10
結果1(μg)	0.278
結果2(μg)	0.238
結果3(μg)	0.266
結果4(μg)	0.223
結果5(μg)	0.251
結果6(μg)	0.244
結果7(μg)	0.246
平均値(μg)	0.250
標準偏差(μg)	0.018
IDL(μg)	0.071 (0.011)
IDL 試料換算値(ng/m ³)	0.118 (0.018)
S/N	15
CV(%)	7.3

$$\text{※IDL} = t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$$

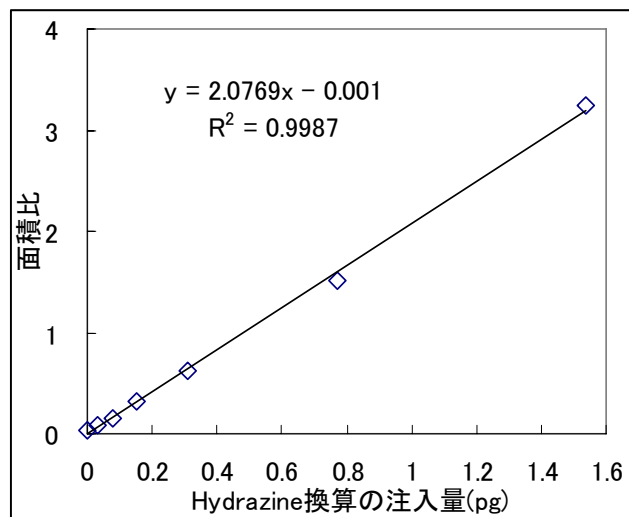


図8 IDL測定時の検量線(各濃度のベンザラジンより算出)

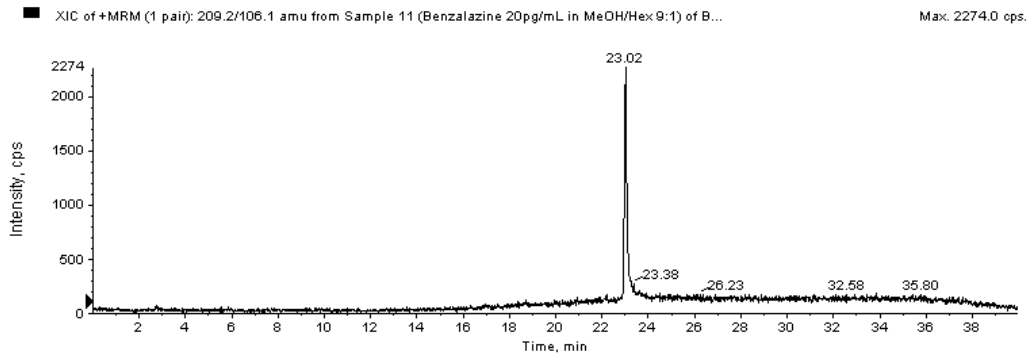


図9 IDL測定時のクロマトグラム

[測定方法の検出下限 (MDL)、定量下限 (MQL)]

10%クエン酸メタノール含浸PS-Airカートリッジにヒドラジン1ngを添加し、窒素を0.5L/minの流速で2時間(60L)通気した後、試料の前処理にしたがって試料溶液を調製し、LC/MS/MS測定を行った。本分析法における測定方法の検出下限及び定量下限は下表に示すとおりである。

物質	試料量(L)	最終液量(mL)	検出下限(ng/m ³)	定量下限(ng/m ³)
ヒドラジン	60	1	12	31

表4 測定方法の検出下限(MDL)及び定量下限(MQL)の算出

物質名	ヒドラジン
試料	窒素ガス
試料量(L)	60
標準添加量(ng)	1
試料換算濃度(ng/m ³)	17
最終液量(mL)	1
注入液濃度(ng/mL)	1
装置注入量(μL)	10
操作ブランク平均(ng/m ³) ^①	3.2
無添加平均(ng/m ³) ^②	0
結果1(ng/m ³)	8.9
結果2(ng/m ³)	12.7
結果3(ng/m ³)	16.4
結果4(ng/m ³)	13.5
結果5(ng/m ³)	10.5
結果6(ng/m ³)	17.6
結果7(ng/m ³)	14.9
平均値(ng/m ³)	13.5
標準偏差(ng/m ³)	3.12
MDL(ng/m ³)	12
MQL(ng/m ³)	31
S/N	100
CV%	23

$$\text{※MDL} = t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$$

$$\text{※MQL} = \sigma_{n-1} \times 10$$

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は同様の操作を行い測定した値の平均値

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の平均値。今回は、誘導体化捕集時にヒドラジンが観測されたことから、窒素ガスを使用したため、ゼロになる。

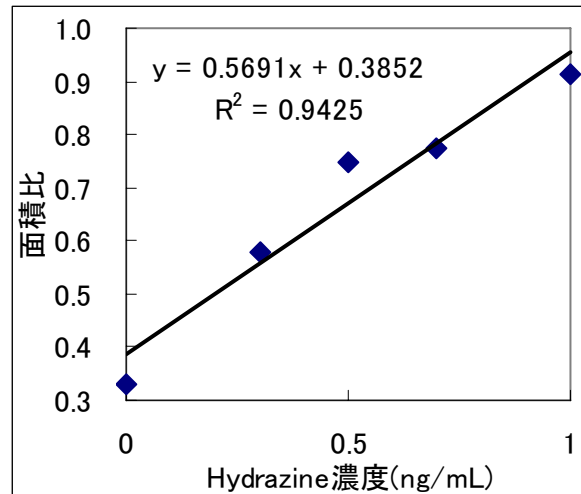


図10 MDL測定時の検量線

[クロマトグラム]

検量線の最小濃度（0.02ng/mL、ヒドラジン換算0.003ng/mL）のクロマトグラムを図11に示す。

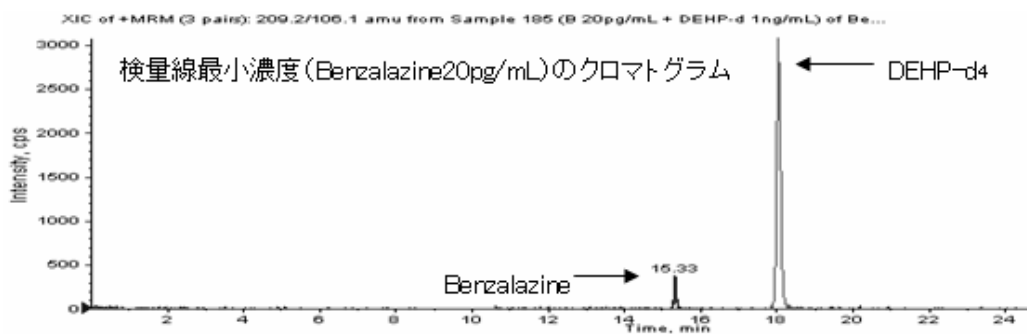


図11 検量線最小濃度のクロマトグラム

[操作ブランク]

MDL測定時には、検量線のゼロ点や操作ブランク測定用試料から、ベンザラジンのピークが確認された。また、予備検討段階でカートリッジからの抽出操作を酢酸-酢酸アンモニウム水溶液で行ったとき、通常よりも多量のベンザラジンが観測されたので、アンモニア等の影響について調べた。

酢酸(0.5N)・硫酸(0.5N)・蒸留水、各4mLに、アンモニア水・酢酸アンモニウム(0.1ng程度)を加えて、ベンズアルデヒドと反応させてから抽出し、ベンザラジンを測定した。結果は、酸やアンモニアが存在しているとベンザラジンが多く観測されたが、無添加の蒸留水でも観測された。(表5)

表5 測定されたヒドラジン量

	NH ₄ OH	AcONH ₄	無添加
酢酸・硫酸	170 - 350 pg	130 - 200 pg	160 - 210 pg
蒸留水	150 - 220 pg	90 pg	75 - 90 pg

アンモニア水・酢酸アンモニウムの添加量を大過剰(0.1mg程度)にすると、230pgから1900pg程度と、生成量が増加した。

PS-Airカートリッジにクエン酸を含浸させたものと、硫酸を含浸させたものを用意し、濃アンモニア水を通った窒素を500mL/minで30分通気した。500pg前後のヒドラジンが観測された。

	カートリッジあたりのヒドラジン量
クエン酸含浸	580 - 870 pg
硫酸含浸	390 - 500 pg

操作ブランクを低減するためには、アンモニア水中にヒドラジンが含まれるかどうかや、空気中のヒドラジンの溶解込み、または、アンモニア自体が関係しているかどうかを、今後検討する必要がある。

(3) まとめ

分析法の再検討を行った結果、LC/MS/MSを用いた分析方法の検出下限は、硫酸・アスコルビン酸捕集法に比べ改善されているとは言えず、要求感度を満足することはできなかった。また、MDL測定における添加回収率についても61.6%となっており、不十分な結果であった。分析装置について、LC/MS/MSは感度がよいものの、ブランクが入りやすい状況にあり、その操作ブランクが定量的ではないことから、大気中のヒドラジンの分析には硫酸・アスコルビン酸捕集法を用いるGC/MS分析法が適していると考ええる。

§ 4 誘導体化捕集による分析法の検討

(1) 誘導体化捕集の検討 (ラージスケール)

平成13年度の分析法開発報告書では、水系のヒドラジン分析法が掲載されており、そこではヒドラジンの誘導体化試薬としてフルフラールが使用されている。

しかしながら、ヒドラジン-フルフラール誘導体化物が標準物質として市販されていなかったの
で、ヒドラジンの誘導体化物がベンザラジンとして市販されている、ベンズアルデヒドでの誘
導体化捕集を検討した。

(ア) 溶媒中での反応

トルエン20 mLをビーカーに入れ、ヒドラジン-水和物(240 μ L)とベンズアルデヒド(980 μ L)
を加え、スターラーで約30分混合した後の生成物(ヒドラジン誘導体のベンザラジン)をジ
クロロメタンで段階的に希釈、分析し、ベンザラジン標準品との面積の差を比較した。

結果、ベンザラジンは約90%生成していた。

また、同一の反応をベンズアルデヒド過剰系(ヒドラジン(2.4 μ L):ベンズアルデヒド(980 μ L))
で行って見たところ、同じように約90%ベンザラジンが生成していた。

(イ) 捕集管での反応

【捕集管の調製】

Sep-Pak plus Silicaカートリッジをジクロロメタン10mLで洗浄した後、1%ベンズアルデヒド/
ジクロロメタン溶液2mLを添加し、窒素ガスを通気(100mL/min、30分程度)し、溶媒を除去
して調製する。調製した捕集管は両端を密栓してサンプリング時まで冷暗所で保存する。

【捕集管での反応】

調製したSep-Pak plus silicaカートリッジを2連にして、前段にヒドラジン-水和物をヒドラ
ジンとして500ngになるように調製して(ヒドラジン50ppm水溶液、10 μ L)添加し、窒素を150
~200mL/minで2時間(約20L)通気した。その後、捕集管をジクロロメタン2mLで溶出して
分析を行い、ベンザラジンの生成量を求めた。

結果、ベンザラジンとして前段から72~87%、後段から5~8%回収された。

	1	2	3	4	5	6
前段	77%	78%	87%	72%	79%	83%
後段	7%	7%	8%	5%	5%	5%

(ウ) ベンザラジンの添加回収

ジクロロメタンで洗浄した後窒素10Lを通気したSep-Pak plus silicaカートリッジに、ベンザラ
ジン1000ngを添加し、大気を200mL/minと500mL/minで24h通気した。ベンザラジンを添加しな
い捕集管で同様に大気を通気したものをコントロールとして添加回収率を求めたところ、良
好な回収率が得られた。また、500mL/min通気したものは、Sep-Pak plus silicaを2連にして行
ったが、後段からベンザラジンは回収されなかった。

また、大気中からベンザラジンは検出されなかった。

	1	2	3	4
大気200mL/min(280L)	87%	100%	103%	87%
大気500mL/min(720L)	79%	94%		

(エ) ヒドラジンの添加回収

・窒素での添加回収

【捕集管の調製】のとおり調製したSep-Pak plus silicaカートリッジに、ヒドラジンを500ngまたは100ng添加し、窒素を150～200mL/minで24h通気して添加回収率を求めた。

	500ng		100ng	
窒素200mL/min(280L)	99%	78%	73%	75%

・大気での添加回収

【捕集管の調製】のとおり調製したSep-Pak plus silicaカートリッジに、ヒドラジンを500ngまたは100ng添加し、大気を500、200、100mL/minで24h通気した。ヒドラジンを添加しない捕集管で同様に大気を通気したものをコントロールとして添加回収率を求めた。

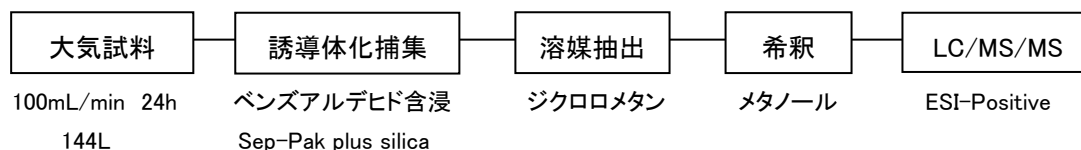
結果、流速が速いと回収率が下がるため100mL/min以下の流速で捕集する必要があると思われる。

	500ng				100ng			
大気100mL/min(150L)					126%	91%	106%	104%
大気200mL/min(280L)	61%	63%	63%	60%	53%	45%	38%	36%
大気500mL/min(720L)	33%	15%	32%	39%				

(2) 誘導体化捕集の検討 (スモールスケール)

前項での検討結果をもとに、LC/MSによる分析法を考え、検討を行った。

(ア) フローチャート



(イ) 分析法

【捕集管の調製】前項のとおり。

【試料捕集法】調製したカートリッジをポンプに接続し、100mL/minの流速で24時間大気試料を捕集する。捕集管はアルミホイルなどで遮光する。

【試料の前処理】試料を採取した捕集管を2mLのジクロロメタンで溶出し、その後メタノールで正確に10mLとしたものを試料溶液とする。

【標準溶液の調製】ベンザラジン100mgをジクロロメタン100mLに溶かしたものを(1mg/mL)を標準原液とする。標準原液を適宜メタノールで希釈し、0.02～1ng/mL(ヒドラジン換算0.003～0.150ng/mL)の濃度範囲で数種類の標準溶液を調製する。

【測定方法】

(a)分析条件

LC	使用機種	Agilent社製 1100 Series
	カラム	化学物質評価研究機構 L-column HB, 2.1×150mm, 3μm
溶離液		A:水、 B:メタノール
	0 → 3min	A:B = 70:30
	3 → 13min	A:70 → 0 B:30 → 100 linear gradient
	13 → 30min	B = 100
	30 → 31min	A:0 → 70 B:100 → 30 linear gradient
31 → 40min	A:B = 70:30	
	注入量	10μL
	温度	室温 (22℃程度)
MS	機種	Applied Biosystems社製 API3000
	イオン化法	ESI Positive
	定量イオン	プレカーサーイオン : 209.2
		プロダクトイオン : 106.1

(b)マススペクトル

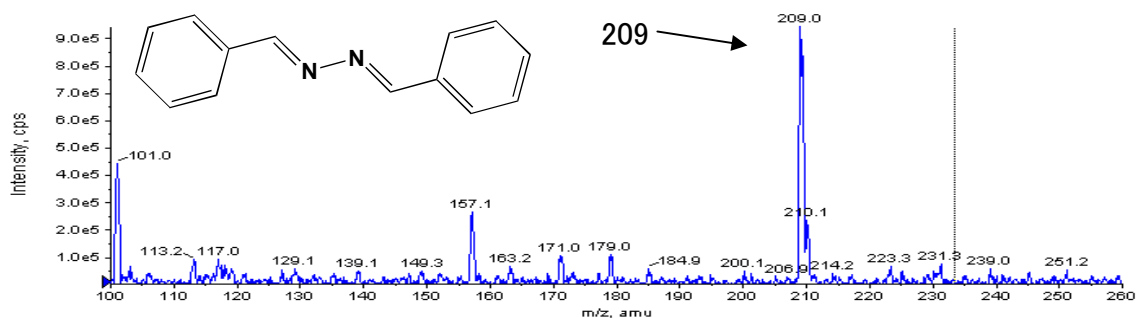


図12 ベンザラジンのMSスペクトル

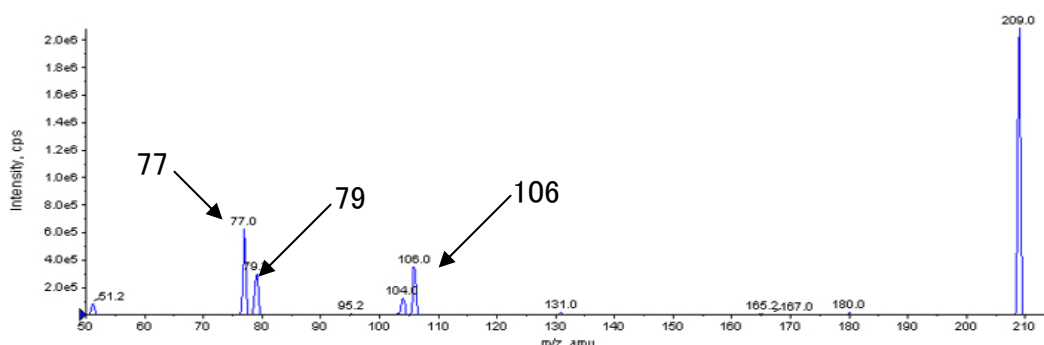


図13

ベンザラジンのMS/MSスペクトル

(c)検量線

ベンザラジン0.02~1ng/mL (ヒドラジン換算0.003~0.150ng/mL) の濃度範囲で、検量線は直線であった。(10μL注入)

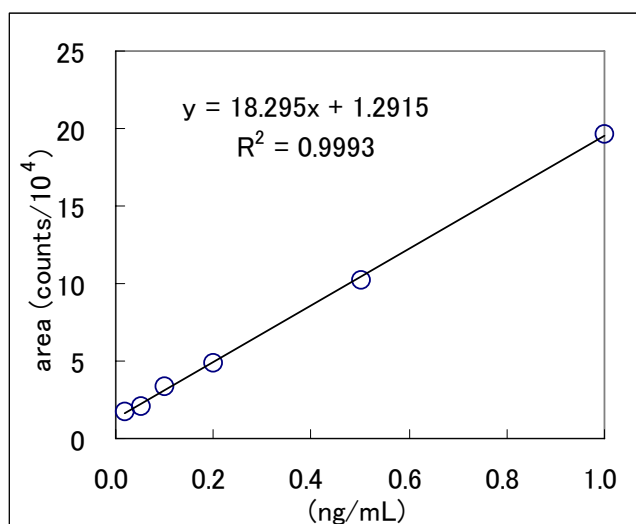


図14 ベンザラジンの検量線
(0.02~1.0ng/mL ; ヒドラジン換算0.003~0.15ng/mL)

(d)検量線最小濃度のマスクロマトグラム(0.02ng/mL, 10 μ L注入)

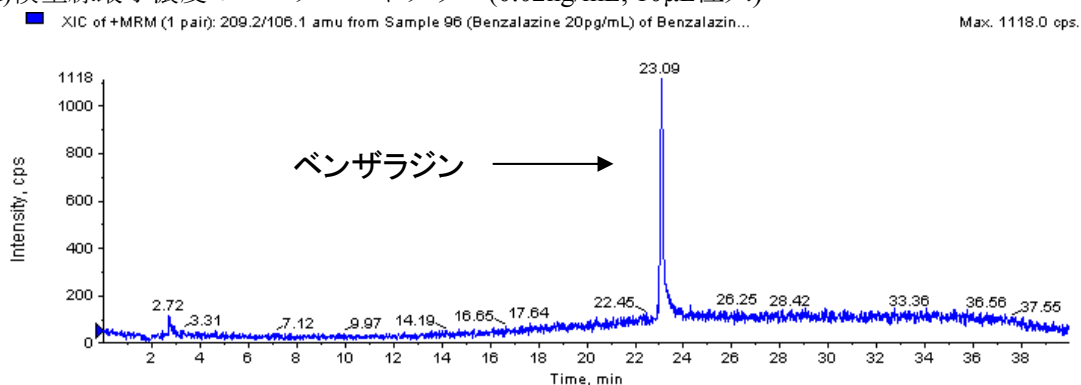


図15 ベンザラジンのLC/MS/MSクロマトグラム 0.2pg

(e)装置検出下限 (IDL)

ベンザラジンの装置検出下限の結果を表に示す。(注入量 0.2pg)

	IDL (pg)	試料量 (L)	最終液量 (mL)	試料換算値 (ng/m ³)
ベンザラジン測定値	0.115	144	10	0.80
ヒドラジン換算値	0.018	-	-	0.12

装置検出下限 (IDL) は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成17年3月)に従って算出した。

表6 装置検出下限(IDL)の算出

物質名	Benzalazine (カッコ内はHydrazine換算)
試料量(L)	144
最終液量(mL)	10
注入液濃度(ng/mL)	0.02 (0.003)
装置注入量(μL)	10
結果1(pg)	0.166 (0.026)
結果2(pg)	0.222 (0.034)
結果3(pg)	0.204 (0.031)
結果4(pg)	0.189 (0.029)
結果5(pg)	0.247 (0.038)
結果6(pg)	0.243 (0.037)
結果7(pg)	0.230 (0.035)
平均値(pg)	0.214 (0.033)
標準偏差(pg)	0.0297 (0.0046)
IDL(pg)	0.115 (0.018)
IDL試料換算値(ng/m ³)	0.80 (0.12)
S/N	28
CV(%)	14

$$\text{※IDL} = t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$$

(f) 測定方法の検出下限 (MDL)、定量下限 (MQL)

低濃度の添加回収の結果がおもわしくないこと(後述)と、大気中からIDLの数十倍以上のヒドラジンが検出されることから、予備調査で20ng/m³程度と測定された大気試料を用いて検出下限等を算出した。

	試料量 (L)	最終液量 (mL)	検出下限 (ng/m ³)	定量下限 (ng/m ³)
ベンザラジン測定値	144	10	111	286
ヒドラジン換算値	-	-	17	44

測定方法の検出下限 (MDL) および定量下限 (MQL) は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成17年3月)をもとに算出した。

表7 測定方法の検出下限(MDL)及び定量下限(MQL)の算出

物質名	Benzalazine (カッコ内はHydrazine換算)
試料	環境大気
試料量(L)	144
標準添加量(ng)	0
試料換算濃度(ng/m ³)	130 (20)
最終液量(mL)	10
注入液濃度(ng/mL)	1.9 (0.29)
装置注入量(μL)	10
結果1(ng/m ³)	114 (17.5)
結果2(ng/m ³)	163 (25.0)
結果3(ng/m ³)	124 (19.0)
結果4(ng/m ³)	146 (22.4)
結果5(ng/m ³)	122 (18.8)
結果6(ng/m ³)	182 (28.0)
結果7(ng/m ³)	182 (27.9)
平均値(ng/m ³)	147 (22.7)
標準偏差(ng/m ³)	28.6 (4.40)
MDL(ng/m ³)	111 (17.1)
MQL(ng/m ³)	286 (44.0)
S/N	100
CV(%)	19

$$\text{※MDL} = t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$$

$$\text{※MQL} = \sigma_{n-1} \times 10$$

(ウ) 大気中のベンザラジン

Sep-Pak plus Silicaカートリッジをジクロロメタン10mLで洗浄した後、ベンズアルデヒド溶液を添加せず、窒素ガスを通気(100mL/min、30分程度)して溶媒を除去した後、環境試料を100mL/minの流速で24時間採取し、【試料の前処理】に従って前処理を行ったサンプルを分析した。結果はピークがわずかに検出されたが、定量はできなかった。

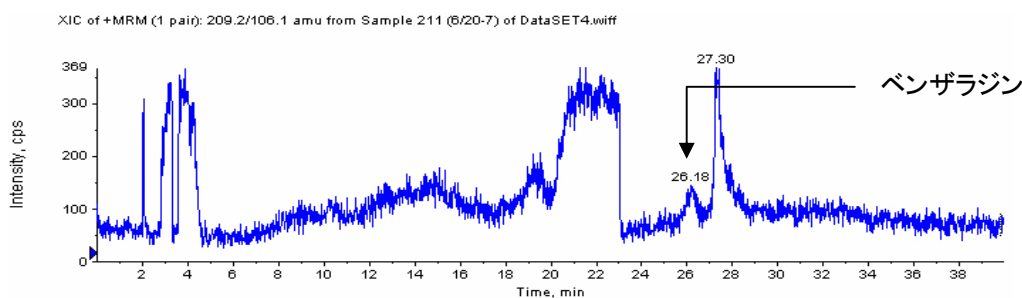


図16 大気中のベンザラジンのLC/MS/MSクロマトグラム

(エ) 添加回収試験

100ng添加では良好な回収率であったが、低濃度(5ng)では大気では回収できず、窒素気流下でも10ng添加での回収率は良くなかった。

添加量(ng/cartridge)		測定回数	回収率(%)	変動係数(%)
10	窒素	4	50	46
5	大気	6	1.5	294
100	大気	4	105	19

(イ) (f)でMQLは44ng/m³ (6.3ng/cartridge) と算出したが、添加回収の結果をみると、実際に捕集して定量できるのは100ng/cartridgeあたりからと考えられる。したがって、実際のMQLは100ng/144L(約700ng/m³)として、それ未満は参考値とすることが妥当と考えられる。

(オ) 環境試料の分析例

誘導体化捕集により、公害研究所で大気を測定したところ、ヒドラジン0.9～28ng/m³ (参考値)であった。

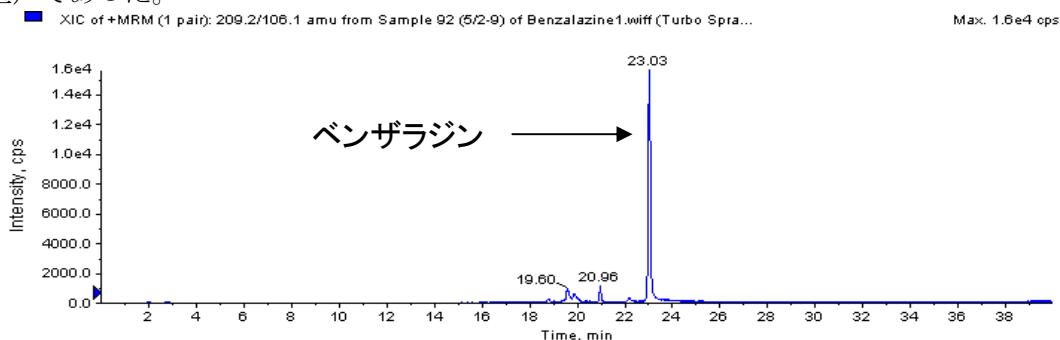


図17 環境試料分析時のLC/MS/MSクロマトグラム

(カ) 誘導体化捕集による分析法のまとめ

この方法では、低濃度で回収率が低下することから、定量下限としては1μg/m³レベルであるが、回収率を考慮せず、参考値としてヒドラジンが存在するかどうかを確認する方法としては機器の感度が良いために適していると考えられる。

【評価】

§ 1、2に記述した硫酸・アスコルビン酸捕集法を用いるGC/MS分析法は、捕集中にヒドラジンが空気中のアルデヒド類により反応すると思われる。このため添加回収率が50～60%と十分な回収率が得られていない。したがって、調査結果は過小評価されるおそれがあり、定量を目的とする調査には適さないと思われるが、10ng/m³の濃度レベルで大気中にヒドラジンが存在するか否かの確認には用いることができる。

なお、ヒドラジン誘導体であるベンザラジンのIDLはLC/MS/MSの方が低く、高感度分析が可能であるが、§ 3、4での検討の結果、添加回収率が不十分なこと、操作ブランクが検出され、ブランク値が一定しないことなどから、LC/MS/MSを用いた低濃度での分析法検討は、困難と判断し、GC/MSでより高い濃度レベルでの分析法を採用した。

【担当者氏名・連絡先】

担当 川崎市公害研究所
住所 〒210-0853 川崎市川崎区田島町 20-2
TEL 044-355-5811 FAX 044-355-5837

担当者 小塚義昭 江原均

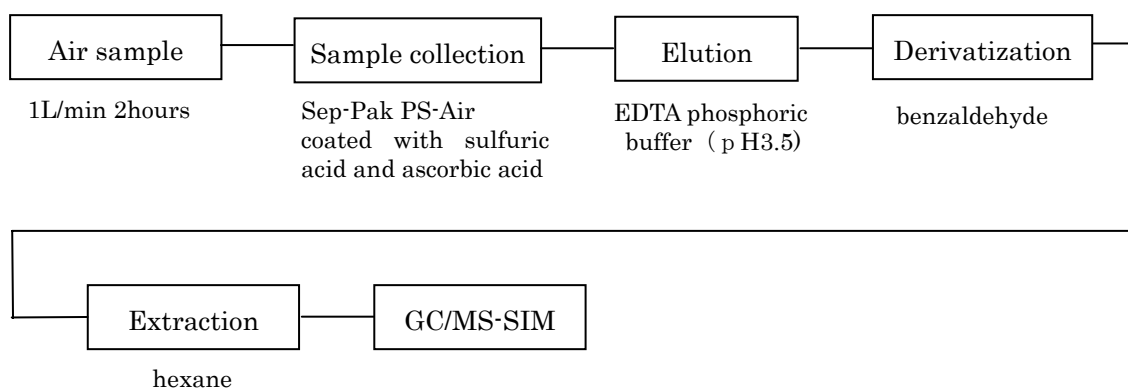
E-mail 30koken1@city.kawasaki.jp

Hydrazine

Summary

An analytical method was developed for determination of hydrazine in air by gas-chromatography mass spectrometry (GC/MS). A cartridge of Sep-Pak PS-Air coated with sulfuric acid and ascorbic acid was used for sampling air. Sample air was drawn through the cartridge at a flow rate of 1L/min for 2 hours. After collection, the sample was eluted with EDTA phosphate buffer solution. The eluent was derivatized with benzaldehyde. The hydrazine derivative was extracted with hexane and determined by GC/MS. The recovery from air sample and method detection limit were 56% and 8.3ng/m³.

Flow chart



物質名	分析法フローチャート	備考
ヒドラジン	<pre> graph TD A[大気試料 1L/min 2時間] --> B[固相捕集 硫酸・アスコルビン酸 含浸 Sep-Pak PS-Air] B --> C[溶出 EDTA リン酸ナトリウム水溶液 (pH3.5)] C --> D[誘導体化 ベンズアルデヒド] D --> E[抽出 ヘキサン] E --> F[GC/MS SIM] </pre>	<p>GC/MS-SIM</p> <p>カラム RESTEC Rtx-1MS (0.25mm×30m, 0.25 μm)</p> <p>測定方法の検出下限 MDL : 8.3ng/m³</p>