

GC/MS による 1,5,9-シクロドデカトリエンの分析法の検討

平生 進吾

A Study on the Analysis for 1,5,9-Cyclododecatriene by GC/MS

Shingo Hirao

合成繊維原料や可塑剤として使用されている 1,5,9-シクロドデカトリエンを含んでいる環境水を分析する手法を開発した。本法により、水質試料中 0.025 µg/L レベルでの定量が可能である。また、名古屋市内の河川や海水中からは、検出されなかった。

はじめに

1,5,9-シクロドデカトリエン (Fig.1, Table1) は、3 個の二重結合を持つ不飽和環状炭化水素でテルペンに似た青臭い臭いのある常温で無色の液体で、ブタジエンを三量化することで生成され工業的に重要な物質である。構造異性体はいくつか存在するが (1,5,9-*cis,trans,trans* : CAS 4904-61-4, 1,5,9-*trans,cis,cis*:CAS 2765-29-9, 1,5,9-*trans,trans,trans*: CAS 676-22-2 など)、その中で 1,5,9-*cis,trans,trans* 異性体のみが工業的には重要である。一般に、ポリマーの中間原料やプラスチックに添加される臭素系難燃剤の原料、芳香剤の原料など様々な合成繊維原料や可塑剤として広く使用されている。健康影響として刺激性及び腐食性皮膚、粘膜を激しく刺激し、皮膚に炎症や潰瘍を起すことがわかっている¹⁾。1,5,9-シクロドデカトリエンは、化審法により第一種監視化学物質に指定されており²⁾、平成 21 年度には 228 トン製造もしくは輸入されていると公表された³⁾。このように広く使用されている 1,5,9-シクロドデカトリエンの環境水中の濃度を計測するための分析手法として過去に報告例⁴⁾があるが検出限界が 0.008 mg/L 程度に留まるため、より低濃度まで検出が可能な手法の検討を行ったのでその結果について報告する。これは平成 22 年度環境省化学物質環境実態調査分析法開発業務として行ったものである。

実験方法

1. 試薬

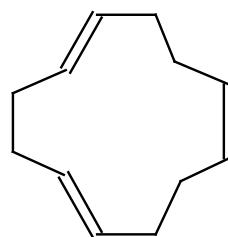


Fig.1 *cis,trans,trans*-1,5,9-シクロドデカトリエン (CAS 4904-61-4) の化学構造

Table 1 *cis,trans,trans*-1,5,9-シクロドデカトリエン (CAS 4904-61-4) の物性情報

分子量 ⁵⁾ (モノイットピック分子量)	沸点 (°C) ⁶⁾	蒸気圧 (Pa) ⁶⁾
162.27 (162.2713)	240°C	11.1(25°C)
水溶解度 ⁶⁾ (mg/L)		LogPow ⁶⁾
0.39(25°C)		5.5

cis,trans,trans-1,5,9-シクロドデカトリエン (CAS 4904-61-4) : 和光純薬工業製, 97+(GC)

trans,cis,cis-1,5,9-シクロドデカトリエン (CAS 2765-29-9) : Fluka 製, >96%(GC)

trans,trans,trans-1,5,9-シクロドデカトリエン (CAS 676-22-2) : 和光純薬工業製, 安定剤として 30~50 mg/L の 4-*tert*-butylcatechol を含む

1,5,9-シクロドデカトリエン : ダイセル・エボニック (Daicel-Evonik Ltd.) 製品, ドイツ製

ナフタレン- d_8 ：和光純薬工業製，1000 mg/L ヘキサン溶液

ヘキサン：和光純薬工業製，ヘキサン 300

活性炭カラムカートリッジ：スペルコ，Envi-Carb 250 mg

(注) 活性炭カラムカートリッジを溶媒で洗浄せずに使用すると GC/MS 測定の際に夾雑物に由来すると思われるピークが観測されたが，約 3 mL のヘキサンで通液・洗浄することによりそれらのピークは観測されなくなった。従って，活性炭カラムカートリッジは，使用前に約 3 mL のヘキサンを通液・洗浄して使用する。

2. 器具及び装置

ガスクロマトグラフ質量分析装置：6890- JMS-700D

分離カラム：DB-WAX(60 m×0.25 mm×0.25 μ m)

ロータリーエバポレーター：35°C，180 mbar で濃縮
分液ロート(300 mL)，振とう機，濃縮管(10 mL)

分析 方法

1. 標準溶液の調製及び試料の前処理

1.1 標準液

cis,trans,trans-1,5,9-シクロドデカトリエン (CAS 4904-61-4) を 1000 mg 採取し，ヘキサンで 100 mL に定容し，10000 mg/L の標準原液とする。これをヘキサンで希釈し，100 mg/L，及び 1.00 mg/L の濃度に調製したものを標準液とする。これらの 3 種の標準液は，遮光性のある褐色の瓶で冷暗所にて保管する。

1.2 内標準液

ナフタレン- d_8 の 1000 mg/L ヘキサン溶液をヘキサンで 100 倍希釈して 10.0 mg/L の内標準液を調製する。

1.3 検量線作成用標準液

1.00 mg/L の標準液を，100, 200, 300, 500, 1000, 2000, 5000 μ L 採取し，内標準液 10.0 mg/L ヘキサン溶液 250 μ L を添加してそれぞれをヘキサンで 10 mL に定容する (10, 20, 30, 50, 100, 200, 500 μ g/L ヘキサン溶液，内標準物質の濃度は 250 μ g/L)。さらに，内標準物質を添加しない標準液 (100 μ g/L ヘキサン溶液) を調製してこれを 500, 800 μ L 採取し，内標準液(10 mg/L) 250 μ L を添加してヘキサンで 10 mL に定容する (5, 8 μ g/L ヘキサン溶液)。これらの標準液は，用時に調製する。また，MDL 測定や添加回収試験の際に水質試料に標準物質を添加する場合，100 mg/L の標準液から 1 mg/L

アセトン溶液を調製し，以下の濃度もアセトン溶液として調製する。

1.4 試料の採取及び採取試料の前処理

環境省「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 21 年 3 月)⁷⁾に従う。1,5,9-シクロドデカトリエンは揮発性有機物質であるため，採取や運搬の際には泡立てず冷蔵保存するなど揮散しないように留意する。また，試料採取後できるだけ速やかに分析を行う。

1.5 試料の前処理及び試験液の調製

水質試料 200 mL を分液ロートに分取し，ヘキサン 50 mL 及び飽和食塩水 (約 36%) 25 mL を加え，10 分間激しく振とうする (飽和食塩水は試料が海水の場合加える必要はない)。振とう後，静置して二層に分離させる (分離が困難である場合は遠心分離を行う)。下層の水層をビーカーで受け，上層のヘキサン層を無水硫酸ナトリウムで脱水しながらナスフラスコに受ける。ビーカーの水層を分液ロートに移し，ヘキサン 50 mL を加えて再び振とう抽出を行う。ヘキサン層は合わせてロータリーエバポレーターにて 35°C・180 mbar で緩やかに濃縮を行う。5 mL 以下まで濃縮後，あらかじめ溶媒で洗浄した活性炭カラムに通液させシリンジで押し出してクリーンアップを行い，約 3 mL 程度のヘキサンでカラムを通液・洗浄する。クリーンアップした液を 10 mL 試験管に洗浄液も含めて移し，窒素ガスを穏やかに吹き付け，2 mL 以下まで濃縮する。内標準液 (ナフタレン- d_8 10 mg/L) 50 μ L を添加し，ヘキサンで 2 mL に定容し試験液とする (内標準物質の濃度は 250 μ g/L)。

1.6 空試験液の調製

試料と同量の精製水を用い，1.5 試料の前処理及び試験液の調製 の項に従って操作し，得られた試験液を空試験液とする。

2. 測定条件

2.1 装置条件

GC 条件

装置：6890 (Agilent 製)

カラム：DB-WAX(60 m×0.25 mm×0.25 μ m)

注入口温度：200°C

カラム昇温条件：50°C (2 min)-(10°C/min)-200°C (8.5 min) Total 25 min

試料注入法：スプリットレス法 (ページ時間：1 min)

キャリアーガス：He (流量 1 mL/min)

注入量：3 μ L

MS 条件

装置：JMS-700D (JEOL 製) 分解能 1000 で実施

インターフェイス温度：200°C

接続管温度：200°C

ガラス管温度：200°C

イオン源温度：200°C

質量検出法：SIM 法 (m/z 162, 147, 136, 133)

定量イオンとして m/z 162, 内標準イオンとして m/z 136 を用いる。

分解能：1000 程度

2.2 検量線

検量線用標準液 (5 $\mu\text{g/L}$ ~1000 $\mu\text{g/L}$) 3 μL を GC/MS に注入して $m/z=162$ 及び $m/z=136$ について SIM 測定を行う。各々得られたクロマトグラムにおいて、対象物質のピーク面積を内標準物質のピーク面積で除して得られる応答比を計算し、検量線の縦軸とする。対象物質の濃度を内標準物質の濃度で除して得られる濃度比を計算し、横軸とする。最小二乗法により一次の検量線を作成し、関係式及び相関係数を計算する。

2.2 定量

試験液 3 μL を GC/MS に注入して $m/z=162$ 及び $m/z=136$ について SIM 測定を行う。得られたクロマトグラム上の対象物質のピーク面積を内標準物質のピーク面積で除した応答比から検量線に照らして対象物質の濃度を内標準物質の濃度で除した濃度比を算出する。得られた濃度比から、対象物質の濃度 ($\mu\text{g/L}$) を求める。

2.3 濃度の算出

試料中の濃度は C ($\mu\text{g/L}$) は、次式により算出する。

$$C (\text{ng/L}) = R \times Q / V$$

R ：検量線から求めた内標準物質に対する対象物質の濃度比

Q ：試料中に添加した内標準物質の量 (μg)

V ：試料量 (L) (本法では 0.200 L)

結果と考察

1. 標準物質のマスペクトル

標準液 1000 $\mu\text{g/L}$ のマスペクトルを Fig.2 に示す。さらに、他の 2 種の異性体のマスペクトルも併せて Fig.3 に示す。

シクロドデカトリエンの分子イオンである m/z 162 は、ある程度の強度で観測されていることがわかった。そこで、定量には m/z 162 を使用することにした。

2. 検量線の作成

調製濃度 5.0 $\mu\text{g/L}$ 溶液を測定して得られたクロマトグラムを Fig.4 に示す。併せて内標準物質のナフタレン- d_8 のクロマトグラムも示す。このとき、5.0 $\mu\text{g/L}$ から 1000 $\mu\text{g/L}$ の範囲の検量線を Fig.5 に示す。

3. 装置検出下限値 (IDL) の算出

IDL は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 21 年 3 月) に準じて以下の Table 2 のとおり算出した。

また、IDL と同濃度の標準液を調製し、GC/MS に導入して得られたクロマトグラムを Fig.6 に示す。Fig.6 より IDL 濃度で検出が可能であることが確認できた。

4. 測定方法の検出下限値 (MDL), 定量下限値 (MQL) の算出

試料水として河川水を選択し、大留橋 (庄内川中流域, 環境基準 B ランク) にて採水を行った。このとき、含有濃度が IDL 試料換算値 0.0181 $\mu\text{g/L}$ の 5~6 倍程度に相当する 0.10 $\mu\text{g/L}$ になるように標準物質を水に添加した。また、そのときのクロマトグラムを Fig.7 に示す。MDL は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 21 年 3 月) に準じて以下の Table 3 のとおり算出した。

5. 操作ブランク

操作ブランク試料として純水を用いて試験を行った結果、対象物質は検出されなかった。そのときのクロマトグラムを Fig.8 に示す。

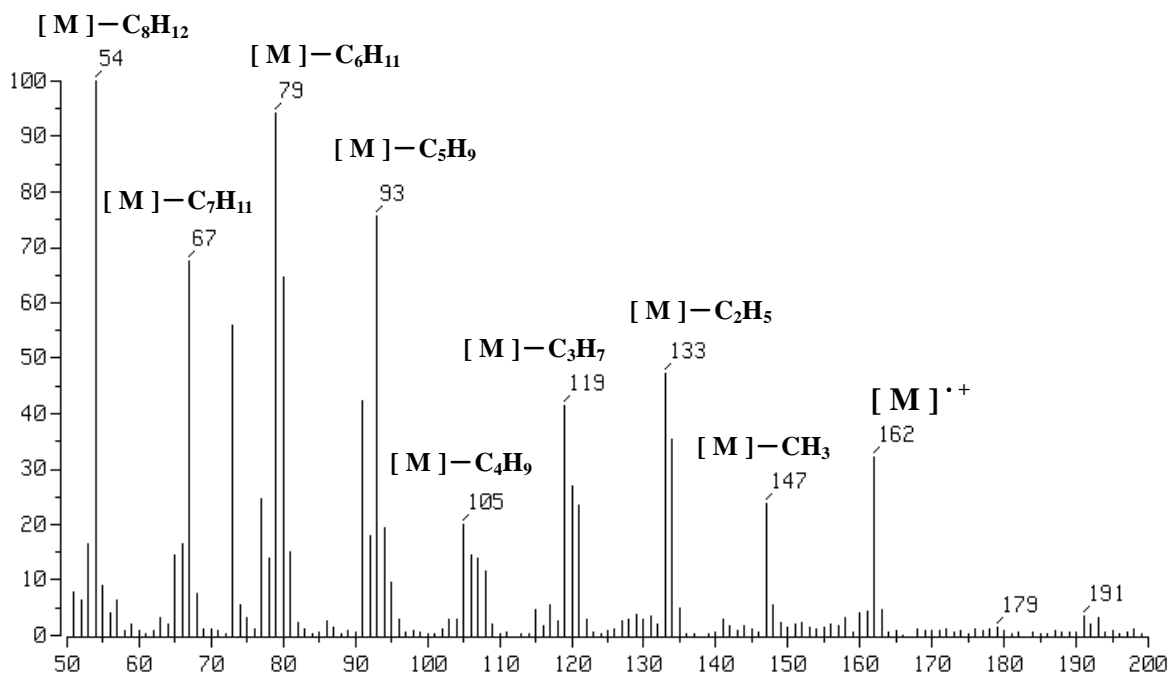


Fig.2 1,5,9-シクロドデカトリエン (CAS 4904-61-4) のマススペクトル ($m/z=50\sim 200$)

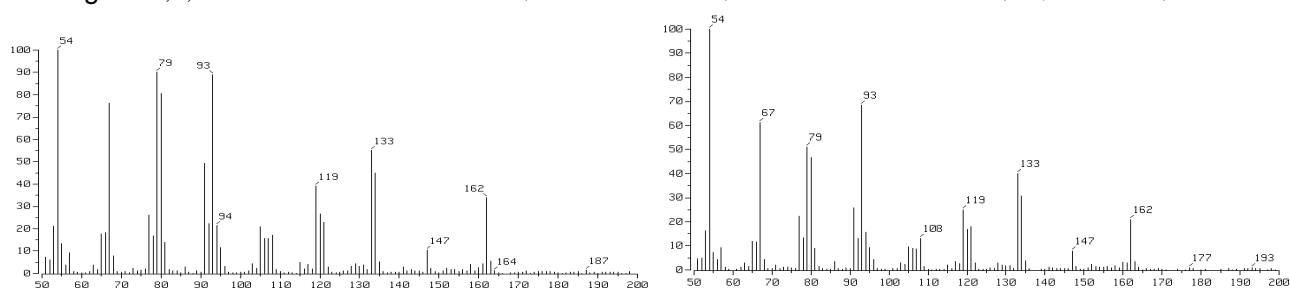


Fig.3 1,5,9-シクロドデカトリエン異性体のマススペクトル ($m/z=50\sim 200$)
 (左) CAS : 676-22-2, (右) CAS : 2765-29-9

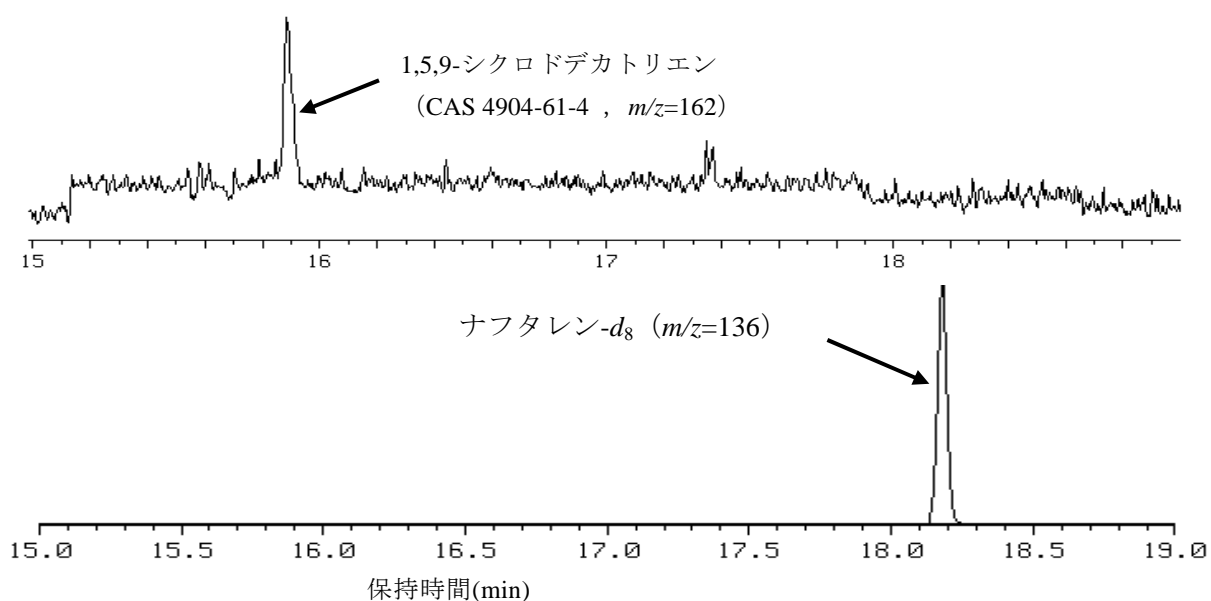
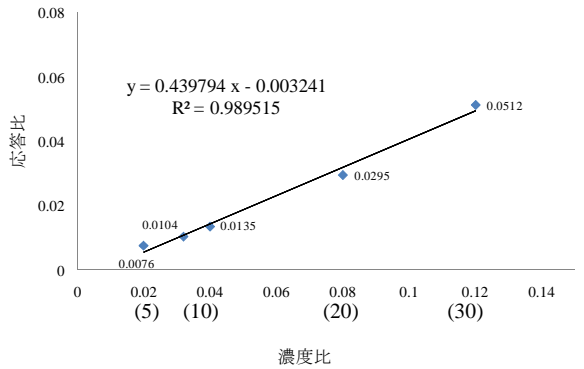
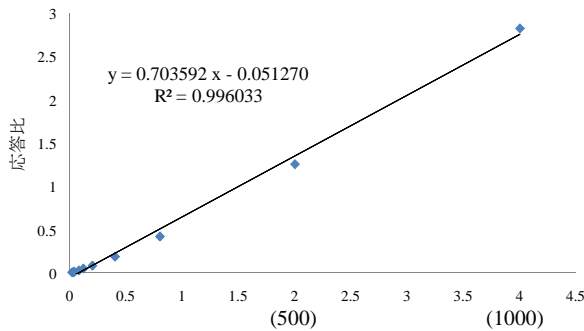


Fig.4 1,5,9-シクロドデカトリエン標準物質 (5.0 $\mu\text{g/L}$) 及び内標準物質 (250 $\mu\text{g/L}$) のクロマトグラム ($m/z=162$ 及び $m/z=136$) (上) 標準物質 (下) 内標準物質



(括弧内の数値は標準溶液濃度。内標準物質濃度=250µg/L)

濃度範囲 5.00 µg/L～30.0 µg/L



(括弧内の数値は標準溶液濃度。内標準物質濃度=250µg/L)

濃度範囲 5.00 µg/L～1000 µg/L

Fig.5 1,5,9-シクロドデカトリエン (CAS 4904-61-4, $m/z=162$) の検量線

Table 2 IDL の算出結果

対象物質名	1,5,9-シクロドデカトリエン (CAS 4904-61-4)
試料量 (mL)	200
最終液量 (mL)	2.0
注入液濃度 (µg/L)	5.00
装置注入量 (µL)	3
結果 1 (µg/L)	6.37
結果 2 (µg/L)	5.65
結果 3 (µg/L)	4.83
結果 4 (µg/L)	5.20
結果 5 (µg/L)	6.04
結果 6 (µg/L)	6.14
結果 7 (µg/L)	6.17
結果 8 (µg/L)	5.83
結果 9 (µg/L)	6.04
結果 10 (µg/L)	6.24
平均値 (µg/L)	5.852
標準偏差 (µg/L)	0.493
IDL (µg/L) *	1.8
IDL 試料換算値 (µg/L)	0.0181
S/N 比	10
CV(%)	8.4

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

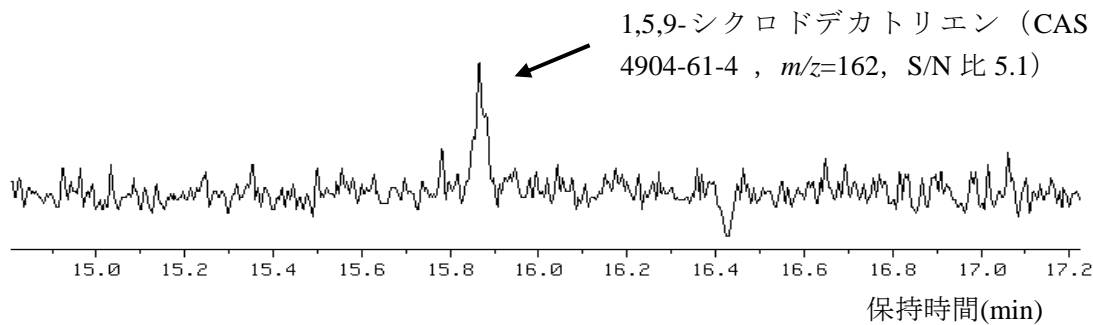


Fig.6 IDL 濃度(1.8 µg/L)でのクロマトグラム ($m/z=162$)

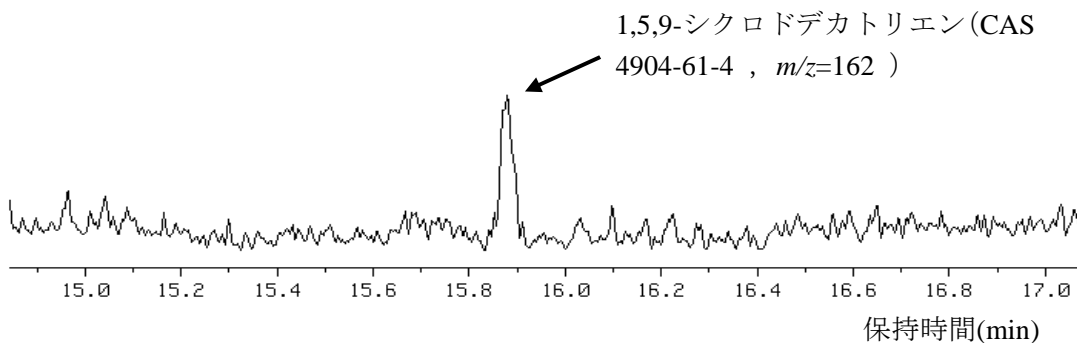


Fig.7 MDL 試験試料 (0.10 µg/L) のクロマトグラム ($m/z=162$)

Table 3 MDL および MQL の算出結果

対象物質名	1,5,9-シクロドデカトリエン (CAS 4904-61-4)
試料	河川水
試料量 (mL)	200
標準添加量 (μg)	0.020
試料換算濃度 (μg/L)	0.10
最終液量 (mL)	2.0
注入液濃度 (μg/L)	10
装置注入量 (μL)	3
操作ブランク平均 (μg/L) *1	0.00
無添加平均 (μg/L) *2	0.00
結果 1 (μg/L)	0.114
結果 2 (μg/L)	0.097
結果 3 (μg/L)	0.097
結果 4 (μg/L)	0.096
結果 5 (μg/L)	0.097
結果 6 (μg/L)	0.094
結果 7 (μg/L)	0.097
結果 8 (μg/L)	0.104
平均値 (μg/L)	0.0994
標準偏差 (μg/L)	0.0065
MDL (μg/L)	0.0246
MQL (μg/L)	0.0649
S/N 比	21
CV(%)	6.5

*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 (n=3)

*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=3)

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

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

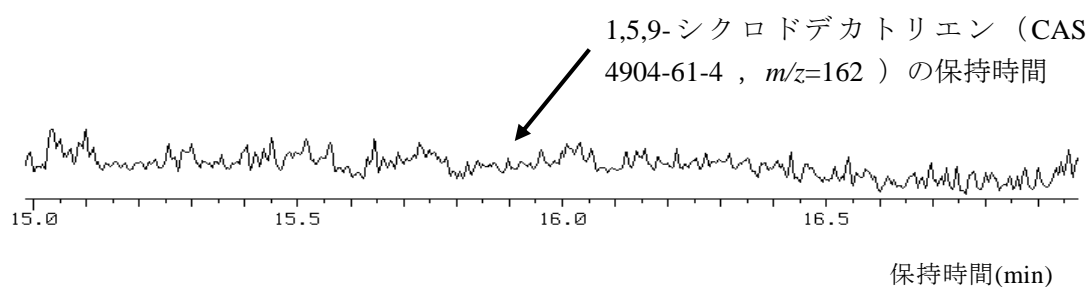


Fig.8 操作ブランクのクロマトグラム (m/z=162)

6. 添加回収試験

河川水については MDL 測定の際に実施したので、名古屋港潮見埠頭にて採取された海水について添加回収試験を実施した。海水については、水質濃度が MDL 濃度 0.0246 µg/L の 30 倍程度に相当する 0.80 µg/L になるように標準物質を添加して試験を行った。得られた結果を Table 4 に、そのときのクロマトグラムを Fig.9 に示す。

その結果、河川水及び海水いずれの試料についてもほぼ 100%回収できていることがわかった。

7. 分解性スクリーニング試験

精製水を pH5, 7, 9 に調製し、1,5,9-シクロドデカトリエンを添加して 1 時間及び 7 日間放置してから分解性スクリーニング試験を行った。結果を Table 5 に示す。初期濃度は、MDL の 10 倍程度の濃度になるように調製した。

1 時間後の残存率は 90%程度あるものの、7 日後に

はどの pH においても分解が進行していることがわかった。

8. 保存性試験

保存性試験結果を Table 6 に示す。初期濃度は、MDL の 10 倍程度の濃度になるように調製した。分解性スクリーニング試験と異なり、7 日でも 5~7 割程度の残存が確認された。水中の浮遊物質や溶存物質等にある程度保持された可能性が考えられる。

9. 異性体

1,5,9-シクロドデカトリエンには、1,5,9-Cyclododecatriene (*cis,trans,trans*) (CAS 4904-61-4)、1,5,9-Cyclododecatriene (*cis,cis,cis*)、1,5,9-Cyclododecatriene (*trans,cis,cis*) (CAS 2765-29-9)、1,5,9-Cyclododecatriene (*trans,trans,trans*) (CAS 676-22-2) の 4 つの異性体が存在し、そのうちいくつかは試薬として入手が可能である。それらをそれぞれ

Table 4 添加回収試験結果

対象物質名	1,5,9-シクロドデカトリエン (CAS 4904-61-4)	
	河川水	海水
試料		
試料量 (mL)	200	200
標準添加量 (µg)	0.020	0.16
試料換算濃度 (µg/L)	0.10	0.80
最終液量 (mL)	2.0	2.0
注入液濃度 (µg/L)	10	80
装置注入量 (µL)	3	3
操作ブランク平均 (µg/L) *1)	0.00	0.00
無添加平均 (µg/L) *1)	0.00	0.00
結果 1 (µg/L)	0.111	0.731
結果 2 (µg/L)	0.113	0.802
結果 3 (µg/L)	0.108	0.751
結果 4 (µg/L)	0.113	0.812
結果 5 (µg/L)	0.115	0.847
結果 6 (µg/L)	0.100	0.724
結果 7 (µg/L)	0.096	0.673
結果 8 (µg/L)	0.114	-
平均値 (µg/L)	0.1086	0.7628
標準偏差 (µ/L)	0.0070	0.0602
CV(%)	6.5	7.9
平均回収率(%)	108.6	95.4

*1) n=3

*2) 河川水は、MDL 測定の結果を用いている。

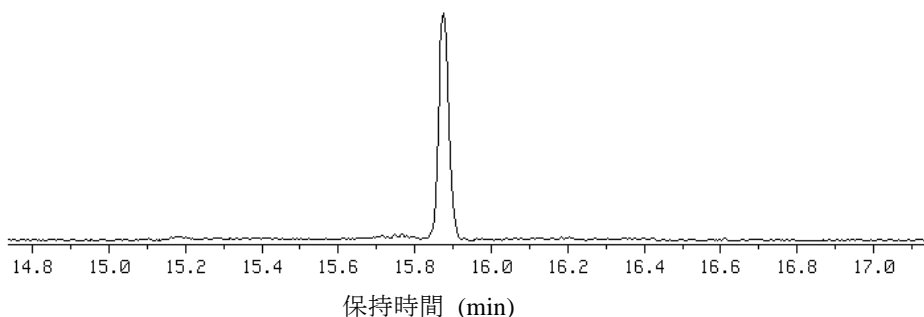


Fig.9 添加回収試験試料のクロマトグラム（海水：名古屋港潮見埠頭，0.16 μg 添加）

Table 5 分解性スクリーニング試験結果

pH	初期濃度 $\mu\text{g/L}$	1 時間後の残存率 (%)	7 日後の残存率 (%)	
			暗所	明所
5	0.30	89	16	-
7	0.30	88	24	12
9	0.30	89	31	-

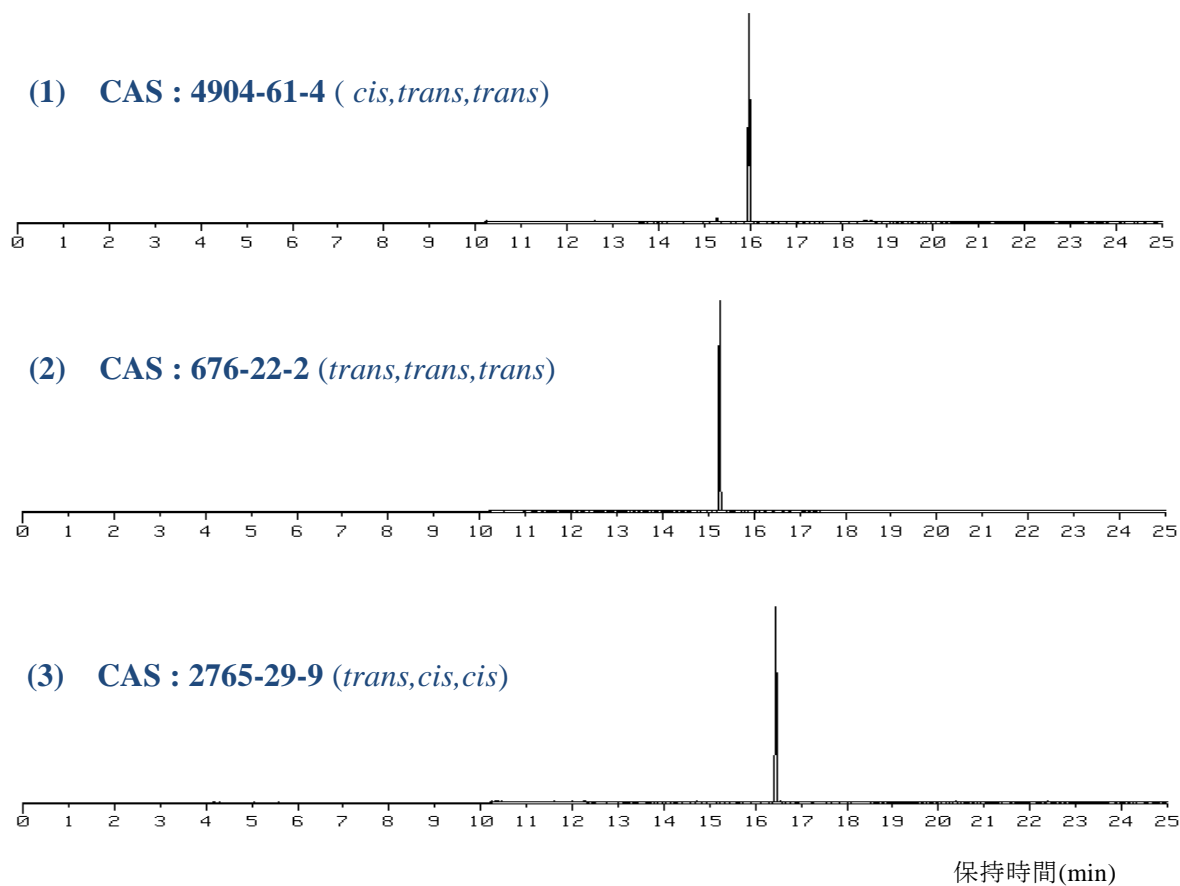


Fig.10 各異性体のSIMクロマトグラム
(1000 $\mu\text{g/L}$ ヘキサン溶液)

Table 6 保存性試験結果

試料名	初期濃度 μg/L	残存率(%)		
		7日間	14日間	1ヶ月
河川水 試料	0.30	70	-	-
粗抽出液	0.30	72	36	-
海水 試料	0.30	57	-	-
標準液 MDLの10倍程度	0.30	98	78	17

標準液として 1000 μg/L ヘキサン溶液に調製し、分析した結果得られた各異性体のクロマトグラム (SIM) を Fig.10 に示す。

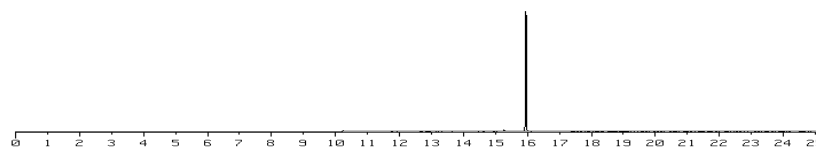


Fig.11 ダイセル・エボニック社 (Daicel-Evonik Ltd.) 製品 1,5,9-シクロドデカトリエン (ドイツ製) の 1000 μg/L ヘキサン溶液の SIM クロマトグラム

10. 工業製品について

工業製品として製造されている 1,5,9-シクロドデカトリエンを入手したので、標準液として 1000 μg/L ヘキサン溶液に調製し、その SIM クロマトグラムを Fig.11 に示す。

1,5,9-Cyclododecatriene (*cis,trans,trans*)と同様の保持時間にピークが観測された以外は、大きなピークは観測されなかった。また、同濃度の標準と比較してピーク面積、マススペクトルは、ほぼ同一であった。

さらに、標準試薬及び工業製品の 1,5,9-シクロドデカトリエン(*cis,trans,trans*)の赤外吸収スペクトル (IR) を測定し、比較を行ったので Fig.12 に示す。Fig.12 では、標準試薬の IR スペクトルと工業製品のそれと比較して、ほぼ同様なスペクトルが得られた。

これらのことから、ダイセル・エボニック社工業製品の成分は、1,5,9-Cyclododecatriene (*cis,trans,trans*)と思われる。

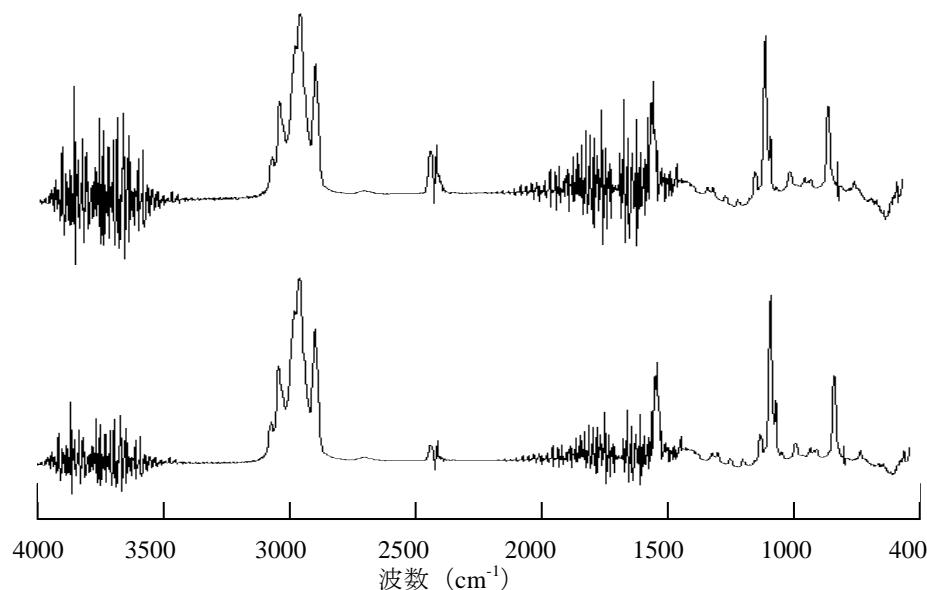


Fig.12 標準試薬及び工業製品の 1,5,9-シクロドデカトリエンの赤外吸収スペクトル
(上) 標準試薬(*cis,trans,trans*) (下) 工業製品

11. 環境試料の分析

河川水及び海水を分析した結果、得られたクロマトグラムを Fig.13 及び Fig.14 に示す。いずれの試料でも対象物質は検出されなかった。

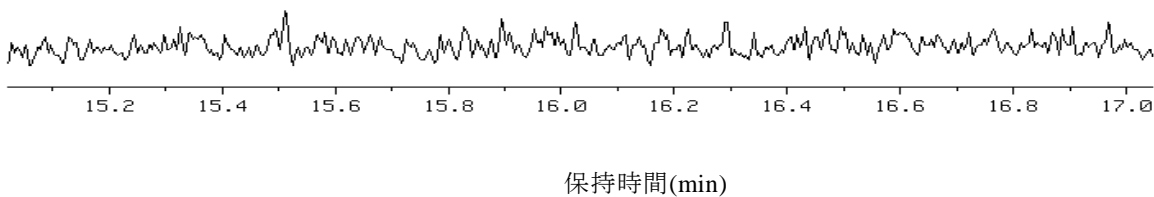


Fig.13 河川水のクロマトグラム 河川水：大留橋（庄内川中流域，環境基準 B）

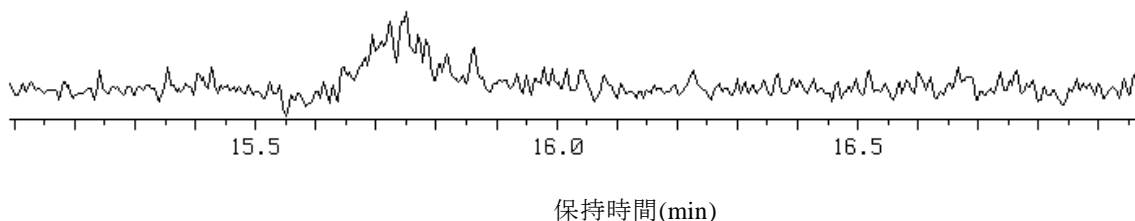


Fig.14 海水のクロマトグラム 海水：名古屋港潮見埠頭

ま と め

本法により水質試料中 0.025 $\mu\text{g/L}$ レベルでの定量が可能である。また、名古屋市内の河川や海水中からは、検出されなかった。

7) 環境省「化学物質環境実態調査実施の手引き」
(平成 21 年 3 月)

文 献

- 1) 化審法の既存化学物質安全性点検データ集 (財)化学工業協会編(1992), Registry of Toxic Effects of Chemical Substances NIOSH, 15308 の化学商品 化学工業日報社 (2008)
- 2) 化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律 (化審法, 昭和四十八年十月十六日法律第百十七号, 最終改正: 平成二一年五月二〇日法律第三九号)
- 3) 平成 21 年度, 第一種監視化学物質の製造・輸入数量の合計量の公表について (平成 22 年 10 月 28 日公表)
- 4) 福島 実, 榊元慶子, 山本 武: 大阪市立環境科学研報告, 48, 6-14 (1986)
- 5) 神奈川県化学物質安全情報提供システム (kis-net)
- 6) 独立行政法人製品評価技術基盤機構: 化学物質総合情報提供システム (CHRIP)