

[調査研究]

事故時等緊急時の化学物質の分析技術の開発に関する研究

－ 4-ビニル-1-シクロヘキサンの水質分析法の検討 －

Study on the development of analysis method of chemical substances
at the time of water quality accidents

－ Study of water quality analysis method of 4-vinyl-1-cyclohexene －

山本浩司, 浦山豊弘, 新 和大, 吉岡敏行 (水質科)

Koji Yamamoto, Toyohiro Urayama, Kazuhiro Atarashi, Toshiyuki Yoshioka
(Water Section)

要 旨

難燃剤, 塗料用樹脂などに使用される4-ビニル-1-シクロヘキセンについて, 水質試料の高感度分析法を検討した。ヘッドスペースガスクロマトグラム質量分析計 (以下「HS-GC/MS」という) で分析することにより, 検出下限値が0.047ng/mLの高感度な分析法を開発することができた。河川水及び海水を用いた添加回収試験の回収率は, それぞれ95%, 94%であった。また, 4-ビニル-1-シクロヘキセンの異性体及び揮発性有機化合物 (以下「VOCs」という) 23物質との同時分析の検討も行った。

[キーワード: 4-ビニル-1-シクロヘキセン, 同時分析, 水質, 難燃剤, HS-GC/MS]

[Key words: 4-vinyl-1-cyclohexene, Simultaneous analysis, Water quality, Flame retardant, HS-GC/MS]

1 はじめに

当センターは, 最新の化学物質情報の入手や分析技術の習得等を目的に, 毎年, 環境省が実施する化学物質環境実態調査に参画し, 化学物質の新規分析法を開発し, 環境中の濃度の把握に努めている。今回, 平成28年度化学物質環境実態調査で4-ビニル-1-シクロヘキセンの水質分析法について検討した。

4-ビニル-1-シクロヘキセンは, 難燃剤, 塗料用樹脂の原料などに使用される有機化合物¹⁾であり, 人に対する生殖・発生毒性並びに内分泌かく乱作用の報告²⁾が確認されている。

今回, HS-GC/MSを用いて, 4-ビニル-1-シクロヘキセン, その異性体及びVOCs23物質との同時分析法を検討し, 高感度分析法を開発したので, 報告する。

2 実験方法

2.1 試薬

4-ビニル-1-シクロヘキセン: Sigma-Aldrich製 (純度99.5%)

ビシクロ [3.2.1] オクタ-2-エン: 東京化成製 (純度96.0%)

1,3-シクロオクタジエン: 東京化成製 (純度95.0%)

1,5-シクロオクタジエン: 東京化成製 (純度98.0%)

VOCs 23種混合標準液: 和光純薬工業製 [揮発性有機化合物23種混合標準液 (メタノール溶液)] (1,1-ジクロロエチレン, ジクロロメタン, トランス-1,2-ジクロロエチレン, シス-1,2ジクロロエチレン, クロロホルム, 1,1,1-トリクロロエタン, 四塩化炭素, ベンゼン, 1,2-ジクロロエタン, トリクロロエチレン, 1,2-ジクロロプロパン, プロモジクロロメタン, シス-1,3-ジクロロプロペン, トルエン, トランス-1,3-ジクロロプロペン, 1,1,2-トリクロロエタン, テトラクロロエチレン, ジプロモクロロメタン, *m*-キシレン, *p*-キシレン, *o*-キシレン, トリプロモメタン, *p*-ジクロロベンゼン, 各900 ~ 1100mg/L)

トルエン-*d*₈: Cambridge Isotope Laboratories製 (純度99.94%)

p-プロモフルオロベンゼン-フルオロベンゼン混合標準液: 和光純薬工業製 (各1mg/mL)

メタノール: 和光純薬工業製 トリハロメタン測定用

塩化ナトリウム: 和光純薬工業製 水質試験用

ミネラルウォーター: Volvic

精製水: ミリQ水

2.2 HSの測定条件

使用機種：12031HSA (JEOL製)

(ループモード)

サンプルループ：1mL

加熱温度：60℃

加熱時間：30分

トランスファーライン温度：150℃

バルブブロック温度：100℃

加圧

圧力：20kPa, 加圧時間：10秒, サンプルループ流量：

20.0SCCM

サンプリング終了時圧力：3kPa, サンプリング後平衡時

間：3秒

2.3 GC-MSの測定条件

使用機種：GC：Agilent7890A, MS：JMS-Q1000GC K9

使用カラム：AQUATIC-2 60m×0.32mm, 1.8μm (ジーエルサイエンス製)

カラム温度：40℃ (5min) →5℃/min→75℃ (0min)

→15℃/min→170℃ (0min) →25℃/min→220℃ (5min)

注入方法：ダイレクト

表1 各物質のモニターイオン

物質名	定量イオン(m/z)	定性イオン(m/z)
4-ビニル-1-シクロヘキセン	93	91
ビシクロ [3.2.1]オクタ-2-エン	93	91
1,3-シクロオクタジエン	93	91
1,5-シクロオクタジエン	93	91
1,1-ジクロロエチレン	61	96
ジクロロメタン	49	84
トランス-1,2-ジクロロエチレン	61	96
シス-1,2-ジクロロエチレン	61	96
クロホルム	83	85
1,1,1-トリクロロエタン	97	61
四塩化炭素	117	119
ベンゼン	78	51
1,2-ジクロロエタン	62	64
トリクロロエチレン	95	60
1,2-ジクロロプロパン	63	62
プロモジクロロメタン	83	85
シス-1,3-ジクロロプロペン	75	77
トルエン	91	92
トランス-1,3-ジクロロプロペン	75	77
1,1,2-トリクロロエタン	83	61
テトラクロロエチレン	166	164
ジブロモクロロエタン	129	127
<i>m,p</i> -キシレン	91	106
<i>o</i> -キシレン	91	106
トリプロメタン	173	171
<i>p</i> -ジクロロベンゼン	146	75
トルエン- <i>d</i> ₈ (内標準)	98	100
フルオロベンゼン (内標準)	96	70
<i>p</i> -プロモフルオロベンゼン (内標準)	95	75

キャリアーガス：ヘリウム (3.5mL/min (10 min)

→2mL/min)

インターフェース温度：200℃

イオン源温度：200℃

イオン化電圧：70eV

検出モード：SCAN (45 ~ 200)

2.4 前処理方法

分析フローを図1に示す。

塩化ナトリウムを入れたバイアルに試料を採り、内標準としてトルエン-*d*₈を添加した。バイアルを密栓して混和したものを試験液とした。

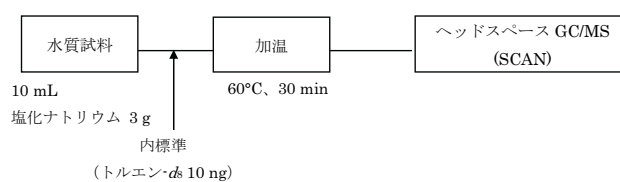


図1 分析フロー

2.5 4-ビニル-1-シクロヘキセン標準液の調製

メタノールを少量入れたメスフラスコに、4-ビニル-1-シクロヘキセンを100mg量り取り、メタノールを加えて100mLに定容し、1000μg/mLの標準原液を調製する。標準原液を分取し、メタノールで希釈し、100、10及び1μg/mLの標準液を調製する。

メタノールを少量入れたメスフラスコにトルエン-*d*₈を100mg量り取り、メタノールを加えて100mLに定容し、1000μg/mLの内標準原液を調製する。内標準原液を分取し、メタノールで希釈して100μg/mL及び5.0μg/mLの内標準液を調製する。

1000μg/mLの標準原液または各濃度の標準液と、100μg/mLの内標準液をそれぞれ分取し、メタノールで希釈する。0.10 ~ 100ng/mLの検量線を作成するため、各標準濃度が0.50μg/mL ~ 500μg/mL、内標準濃度が5.0μg/mLとなるように検量線用混合標準液（以下、混合標準液）を調製する。

2.6 4-ビニル-1-シクロヘキセンの装置検出下限値 (IDL), 分析法の検出下限値 (MDL) 及び定量下限値 (MQL)

IDL, MDL及びMQLの算出は、「化学物質環境汚染実態調査の手引き (平成27年度版)」³⁾に従った。IDLは、Volvic10mLに1μg/mL混合標準液を2μL添加し、塩化ナトリウム3gを加えてバイアルを密栓して混和したものを7個作製し、分析フローに従い加温してHS-GC/MSで測定

し、得られた測定値の標準偏差を用いて算出した。MDL及びMQLは、河川水10mLに、IDLの5倍程度の濃度となるように1 μ g/mL混合標準液を2 μ L添加し、塩化ナトリウム3gを加えてバイアルを密栓して混和したものを7個作製し、分析フローに従い加温してHS-GC/MSで測定し、得られた測定値の標準偏差を用いて算出した。

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

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

$$MQL = 10 \times \sigma_{n-1, M}$$

t(n-1, 0.05)：危険率5%，自由度n-1のt値（片側）

$\sigma_{n-1, I}$ ：IDL算出のための測定値の標本標準偏差

$\sigma_{n-1, M}$ ：MDL算出のための測定値の標本標準偏差

2.7 4-ビニル-1-シクロヘキサンの添加回収試験及び環境試料の分析

河川水及び海水試料10mLに100 μ g/mL混合標準液を2 μ L添加し、塩化ナトリウム3gを加えてバイアルを密栓して混和したものを、分析フローに従い加温してHS-GC/MSで測定した。また、環境試料として、無添加の河川水及び海水も分析した。

2.8 4-ビニル-1-シクロヘキサンの分解性スクリーニング試験及び保存性試験

「化学物質環境汚染実態調査の手引き（平成27年度版）」³⁾に従い、分解性スクリーニング試験及び保存性試験を実施した。

分解性スクリーニング試験の試験液は精製水を用いてpH5、pH7及びpH9のものを作製し、各10mLに5 μ g/mLの4-ビニル-1-シクロヘキサン標準液を2 μ L添加し、1時間後及び7日後（明所及び暗所に保存）に分析フローに従いHS-GC/MSで測定した。

保存性試験は、採水ビンに河川水及び海水を満水に入れ、対象物質の濃度が1.0ng/mLになるように100 μ g/mL標準液を添加し、冷暗所で7日間保存後、分析フローに従いHS-GC/MSで測定した。検量線最高濃度は500 μ g/mL混合標準液を冷暗所に保存し、1ヶ月後に再調製した500 μ g/mL混合標準液とともに、100ng/mL標準試料を作製し、測定結果を比較した。

2.9 異性体及びVOCsとの同時分析の検討

4-ビニル-1-シクロヘキサンの異性体である、ビスクロ[3.2.1]オクタ-2-エン、1,3-シクロオクタジエン、1,5-シクロオクタジエンとの同時分析を行った。4-ビニル-1-シク

ロヘキセンと異性体3物質を含む4種混合標準液を2.5に準じて作製し、測定した。なお、分析フローと異なり、塩化ナトリウムを添加せずに測定した。

さらに、上記の4種混合標準液と市販品のVOCs 23種混合標準液を使用し、VOCs23物質を含む27物質同時分析の検討も行った。VOCsの内標準は、*p*-ブロモフルオロベンゼン-フルオロベンゼン混合標準液を使用した。なお、こちらも塩化ナトリウムは添加せずに測定した。

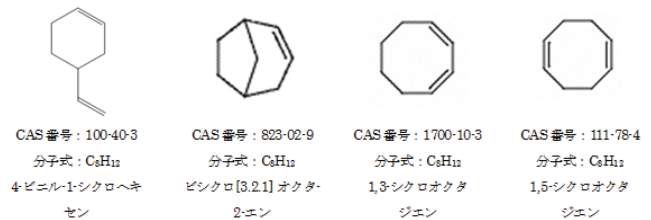


図2 4-ビニル-1-シクロヘキセン及び異性体3物質

2.10 トラップモード及びSIM法の検討

2.9までの検討はすべてHSをループモード、測定モードをSCAN法（以下「ループ-SCAN」という。）で実施したが、さらなる高感度分析の検討として、HSをトラップモード、測定モードをSIM法（以下「トラップ-SIM」という。）で4-ビニル-1-シクロヘキセン及び異性体3物質を測定した。こちらも、2.9と同様に塩化ナトリウムを添加せずに測定した。なお、この検討はIDL測定時よりも時間が経過して行っており、装置のメンテナンス等によって感度変動があったこと、塩化ナトリウムを添加していないこと等、測定条件が異なることから、ループ-SCANの定量下限値がIDL測定で得られた定量下限値と異なっている。

(HS測定条件 [トラップモード])

使用機種：12031HSA (JEOL製)

トラップ管：GLトラップ1

抽出回数：3回

サンプルブロック温度：68℃

攪拌時間：25min

トランスファーライン温度：150℃

バルブブロック温度：100℃

トラップ管温度：23℃

加圧

圧力：40kPa、加圧時間：10秒、トラップ流量：

20.0SCCM、サンプリング終了時圧力：3kPa

ドライパージ時間：2分30秒、サンプリング後平衡時間：

3秒

GCインジェクション

トラップ管温度：220℃，時間：3min，トラップ管流量：20.0SCCM

3 結果及び考察

3.1 GC/MS測定条件の検討結果

4-ビニル-1-シクロヘキセンの検量線を図3と図4に示す。0.10～2.0ng/mLの低濃度領域，2.0～100ng/mLの高濃度領域でも相関の高い直線性のある検量線が得られた。

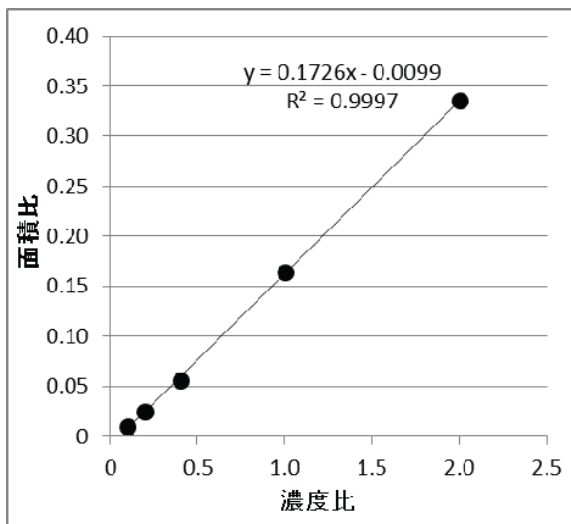


図3 検量線（低濃度領域）

内標準物質 1.0 ng/mL
対象物質濃度範囲 0.10～2.0 ng/mL

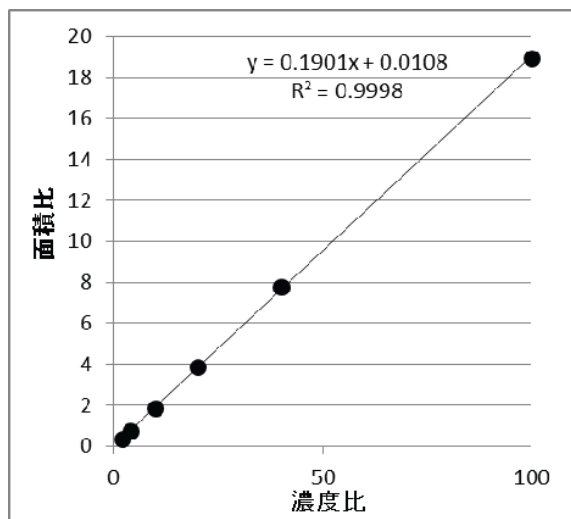


図4 検量線（高濃度領域）

内標準物質 1.0 ng/mL
対象物質濃度範囲 2.0～100 ng/mL

3.2 IDL, MDL及びMQL

4-ビニル-1-シクロヘキセンのIDL, MDL及びMQLを表2に示す。IDLは0.036ng/mL, MDLは0.047ng/mL, MQLは0.12ng/mLであり，環境省の要求感度(0.92ng/mL)を十分満足できる分析方法を開発することができた。

表2 4-ビニル-1-シクロヘキセンのIDL及びMDL, MQL

対象物質名	試料量 (mL)	IDL (ng/mL)	MDL (ng/mL)	MQL (ng/mL)
4-ビニル-1-シクロヘキセン	10	0.036	0.047	0.12

3.3 添加回収試験及び環境試料分析結果

4-ビニル-1-シクロヘキセンの添加回収試験結果を表3に示す。河川水の回収率は95%，海水の回収率は94%と良好な結果であった。無添加の河川水及び海水（環境試料）からは，4-ビニル-1-シクロヘキセンは検出されなかった。

表3 4-ビニル-1-シクロヘキセンの添加回収試験結果

試料名	試料量 (mL)	添加量 (ng)	検体数	検出濃度 (ng/mL)	回収率 (%)	変動係数 (%)
河川水 (笹ヶ瀬橋)	10	0	1	<0.047	-	-
	10	20	5	1.90	95	0.8
海水 (水島沖)	10	0	1	<0.047	-	-
	10	20	5	1.87	94	0.7

3.4 分解性スクリーニング試験及び保存性試験結果

4-ビニル-1-シクロヘキセンの分解性スクリーニング試験結果を表4に示す。7日後における，pHによる分解及び光分解は認められなかった。

表4 4-ビニル-1-シクロヘキセンの分解性スクリーニング試験結果

pH	調製濃度 (ng/mL)	検出濃度(ng/mL) (残存率(%))		
		1時間放置後	7日間放置後	
			暗所	明所
5	1.0	0.96 (96)	0.96 (96)	-
7	1.0	1.0 (100)	0.96 (96)	0.98 (98)
9	1.0	0.99 (99)	0.97 (97)	-

* 残存率(%): 調製濃度に対する検出濃度の割合

4-ビニル-1-シクロヘキセンの保存性試験結果を表5に示す。7日後に河川水が87%，海水が86%の残存率であった。この結果から，試料採取後，可能な限り早く分析することが望ましいと考えられた。検量線最高濃度は1ヶ月後に99%の残存率であり，冷暗所で長期保存できることがわかった。

表5 4-ビニル-1-シクロヘキセンの保存性試験結果

試料名	検体数	調製濃度 (ng/mL)	検出濃度 (残存率 (%))	
			7日後	1ヶ月後
河川水	2	1.0	0.87 (87)	-
海水	2	1.0	0.86 (86)	-
検量線 最高濃度	2	100	-	99 (99)

* 残存率(%): 調製濃度に対する検出濃度の割合

3.5 異性体及びVOCs成分との同時分析結果

4-ビニル-1-シクロヘキセンと異性体3物質との同時分析のクロマトグラムを図5に示す。4-ビニル-1-シクロヘキセンは異性体3物質すべてのピークと分離できており、これらの物質から妨害を受けることなく、同時分析が可能であると考えられた。

また、4-ビニル-1-シクロヘキセンと異性体3物質及びVOCs23物質を含む27物質同時分析のクロマトグラムを図6に示す。4-ビニル-1-シクロヘキセンはいずれの物質と

もピークは重なっておらず、0.20ng/mL ~ 20ng/mLの範囲で良好な検量線が得られたことから、VOCs23物質との同時分析が可能であると考えられた。一方、異性体である1,3-シクロオクタジエンは*o*-キシレンと、1,5-シクロオクタジエンはトリプロモメタンとリテンションタイムが重なっていた。各物質の定量イオンまたはフラグメントイオンがかぶっているため、これら4物質を同時分析するにはGCカラム等の分析条件についてさらなる検討が必要である。

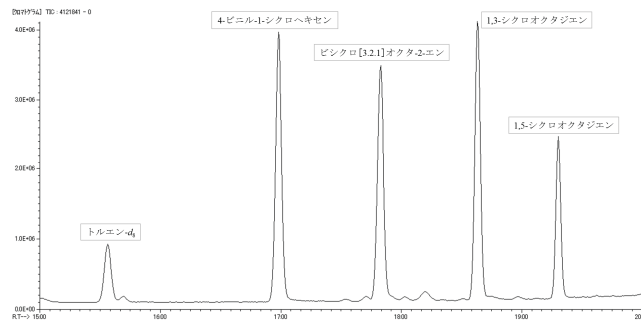


図5 4-ビニル-1-シクロヘキセン及び異性体3物質との同時分析のクロマトグラム (各2ng/mL)

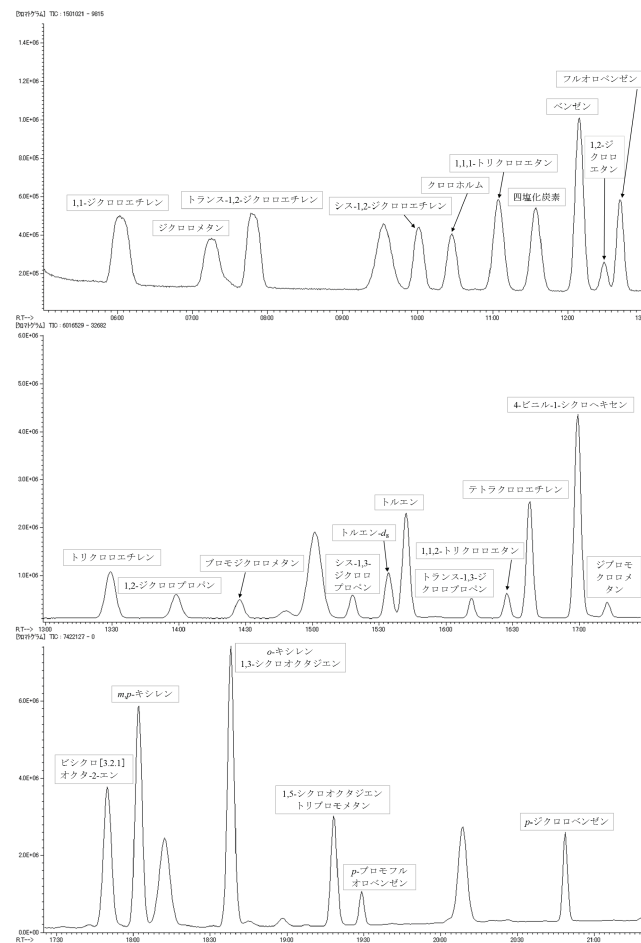


図6 27物質同時分析のクロマトグラム (各2ng/mL)

3.6 トラップモード及びSIM法による分析結果

ループ-SCAN及びトラップ-SIMにより得られた4-ビニル-1-シクロヘキセンのクロマトグラムを図7に示す。ループ-SCANでは0.020ng/mL、トラップ-SIMでは0.0010ng/mLまで定量が可能と考えられた。よって、トラップ-SIMにすることで20倍高感度な分析をすることが可能であった。異性体3物質についても、10～20倍高感度な分析が可能であった。また、今回のトラップ-SIMでの検討では塩析をしなかったが、塩析を行うことでさらなる高感度な分析を行える可能性が考えられた。

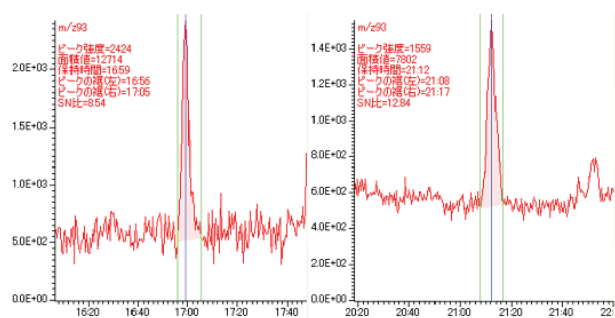


図7 4-ビニル-1-シクロヘキセンのクロマトグラム
(図左：ループ-SCAN、濃度0.020ng/mL、図右：トラップ-SIM、濃度0.0010ng/mL)

4 まとめ

4-ビニル-1-シクロヘキセン、その異性体及びVOCs23物質の同時分析法を検討したところ、HS-GC/MSで分析することにより、次に示すとおり高感度な分析法が開発できた。

- (1) 4-ビニル-1-シクロヘキセンのMDLは0.047ng/mL、MQLは0.12ng/mLであった。
- (2) 河川水及び海水を用いた4-ビニル-1-シクロヘキセンの添加回収試験の回収率は、それぞれ95%、94%であった。
- (3) 4-ビニル-1-シクロヘキセン及び異性体3物質との同時分析が可能であった。
- (4) 4-ビニル-1-シクロヘキセン及びVOCs23物質との同時分析が可能であった。
- (5) トラップ-SIMにすることでループ-SCANより20倍高感度な4-ビニル-1-シクロヘキセンの分析が可能であった。

なお、本研究は環境省委託の平成28年度化学物質分析開発調査（環境省環境安全課）と連携して実施した。

文 献

- 1) 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）

- 2) http://www.env.go.jp/chemi/report/h16-01/pdf/chap02/02_2_36.pdf
- 3) 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）、平成28年3月、2016