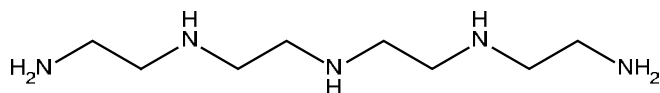


テトラエチレンペンタミン

Tetraethylenepentamine

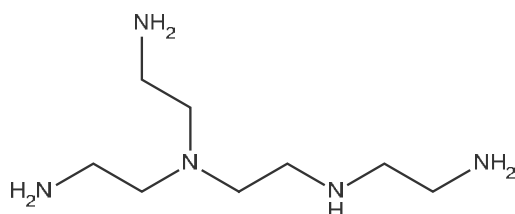
【対象物質の構造】



テトラエチレンペンタミン (TEPA)

CAS 番号：112-57-2

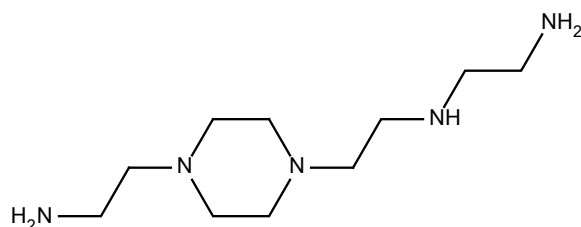
分子式：C₈H₂₃N₅ (分子量：189.3)



4-(2-アミノエチル)-N-(2-アミノエチル)-N'-{2-[(2-アミノエチル)アミノ]エチル}-1,2-エタンジ^oアミン (AETETA)

CAS 番号：31295-46-2

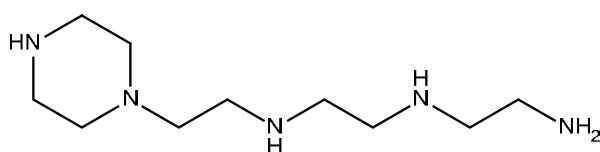
分子式：C₈H₂₃N₅ (分子量：189.3)



1-(2-アミノエチル)-4-[(2-アミノエチル)アミノ]エチルピ^oラジ^oン (APEEDA)

CAS 番号：31295-54-2

分子式：C₁₀H₂₅N₅ (分子量：215.2)



1-[2-[[2-(2-アミノエチル)-4-[(2-アミノエチル)アミノ]エチル]アミノ]エチル]-ピ^oラジ^oン (PEDETA)

CAS 番号：31295-49-5

分子式：C₁₀H₂₅N₅ (分子量：215.2)

【物理化学的性状】

物質名	分子量	沸点(°C)	水溶解度(mg/L)	log P _{ow}
テトラエチレンペンタミン	189.3	333 ¹⁾	6540000 ²⁾	-3.16 ²⁾

【毒性、用途等】

〔毒性〕 急性経口毒性 LD₅₀ (ラット) 3990 mg/kg¹⁾

〔用途〕 界面活性剤、合成中間体、キレート剤³⁾

出典

- 1) 和光純薬工業 Material Safety Data Sheet
- 2) Physical Properties Database (PhysProp), Syracuse Research Corporation (SRC), USA
- 3) 化学物質安全情報提供システム (KIS-NET、神奈川県) による化学物質データベース

§ 1 分析法

(1) 分析法概要

水質試料に塩化ベンゾイルを加え誘導体化を行った後、ジクロロメタン抽出を行い、メタノールに転溶し、LC-MS/MS-SRM-ESI-Positive で分析する方法を検討したが、誘導体化率が安定せず、添加回収率の変動が大きいため、分析法を確立できなかった。

(2) 試薬・器具

【試薬】

テトラエチレンペンタミン	: 東ソー製工業製品 (注 1)
メタノール	: 和光純薬工業製、LC/MS 用
ギ酸アンモニウム	: 和光純薬工業製
ジクロロメタン	: 和光純薬工業製、ダイオキシン分析用
塩化ナトリウム	: 和光純薬工業製、残留農薬・PCB 試験用
塩化ベンゾイル	: 和光純薬工業製
無水硫酸ナトリウム	: 和光純薬工業製、残留農薬・PCB 試験用
2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液	: 和光純薬工業製
精製水	: 超純水、和光純薬工業製、LC/MS 用

【標準液の調製】〔標準液〕

テトラエチレンペンタミン 100 mg を正確に量り取り、精製水 100 mL に溶解し、1000 µg/mL の標準原液とする。この標準液を精製水で順次希釈し、100 ng/mL の標準液を

調製する（注2）。

〔検量線用標準液〕

精製水 200 mL に塩化ナトリウム 6 g と 2 mol/L 水酸化ナトリウム水溶液 30 mL を溶解した溶液を、調製する標準液の個数分用意する。これらに、標準液の 1～10 mL を段階的にそれぞれ添加した後、塩化ベンゾイル 2 mL を加え、激しく振とうして誘導体化を行う。この反応液をジクロロメタン 25 mL で 2 回抽出し、抽出液を【試料の前処理及び試験液の調製】と同様に洗浄、濃縮操作を実施し、10.0～100 ng/mL の検量線用標準液を調製する。

【器具】

共栓付三角フラスコ、分液ロート、ナスフラスコ、10 mL 容共栓付遠沈管

(3) 分析法

【試料の採取及び保存等】

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）の「試料の採取及び検体の調製等」に従って採取する。

【試料の前処理及び試験液の調製】

水質試料 200 mL を共栓付三角フラスコに取り、塩化ナトリウム 6 g（注3）、2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液 30 mL を加え溶解させた後、塩化ベンゾイル 2 mL を加え、激しく振とうして誘導体化を行う（注4）。この反応液に、ジクロロメタン 25 mL を洗い込みながら添加した後、分液ロートに移し、10 分間振とうする。静置後ジクロロメタン層を分取し、再度ジクロロメタン 25 mL を加え、同様の操作を行う。ジクロロメタン層を合わせ、これに精製水 50 mL を加え洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで脱水する。得られたジクロロメタン液を減圧濃縮する（一滴残る程度）。これに、メタノール 15 mL 程度加え、再度減圧濃縮し、10 mL 容共栓付遠沈管に移して、メタノールで 10 mL に定容し、試験液とする。

【空試験液の調製】

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

【測定】

〔LC/MS 条件〕

LC 条件

機種 : Waters 製 Alliance 2695
カラム : Waters 製 X Bridge C8 (2.1 × 150 mm, 5 μm)
移動相 : A: メタノール、 B: 10 mmol/L ギ酸アンモニウム
0 → 5 min A: 50 → 90、 B: 50 → 10 linear gradient
5 → 20 min A: B = 90 : 10
20 → 30 min A: B = 50 : 50
流量 : 0.2 mL/min
カラム温度 : 40°C
注入量 : 10 μL

MS 条件

機種 : Waters 製 Quattro micro API
イオン化法 : ESI-Positive
測定モード : SRM
キャピラリー電圧 : 3.5 kV
コリジョン電圧 : 20 V
コーン電圧 : 35 V
ソース温度 : 120°C
デゾルベーション温度 : 350°C
コーンガス流量 : 50 L/hr
デゾルベーション流量 : 650 L/hr
モニターイオン : 710 > 295

〔標準物質のマススペクトルと SIM クロマトグラム〕

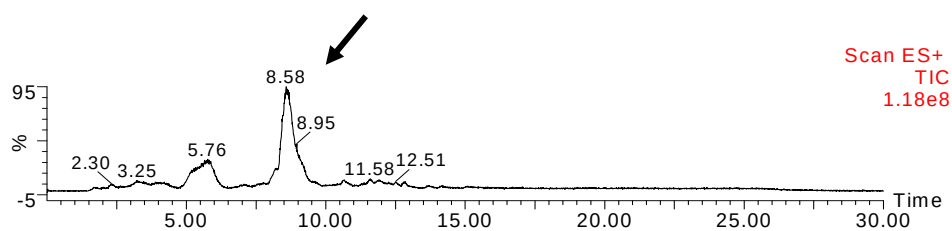


図 1 標準物質のクロマトグラム (10 μg/mL)

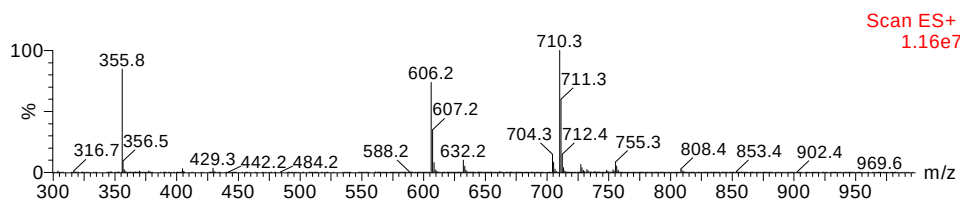


図2 保持時間 8.6 分のピークのマスペクトル (10 μ g/mL)

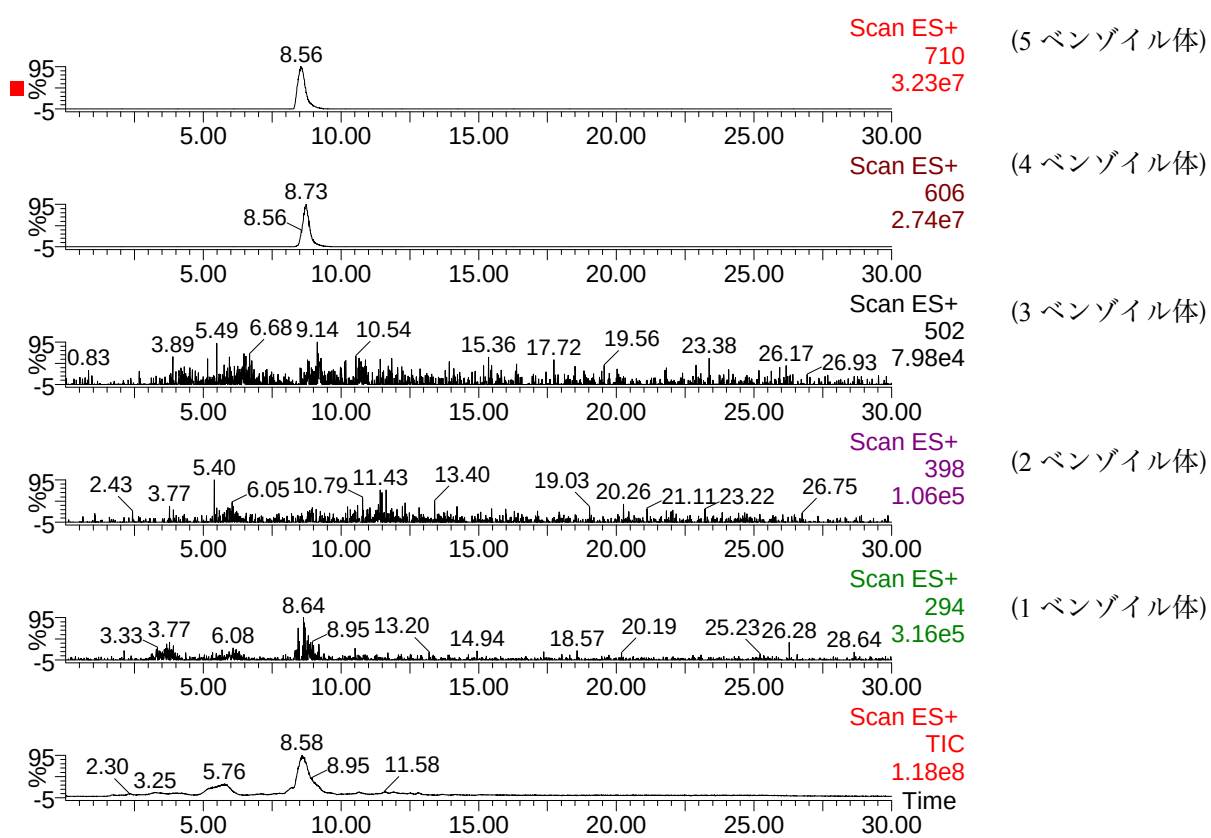


図3 分子量が 189.3 の物質を誘導体化した際の各質量数のクロマトグラム

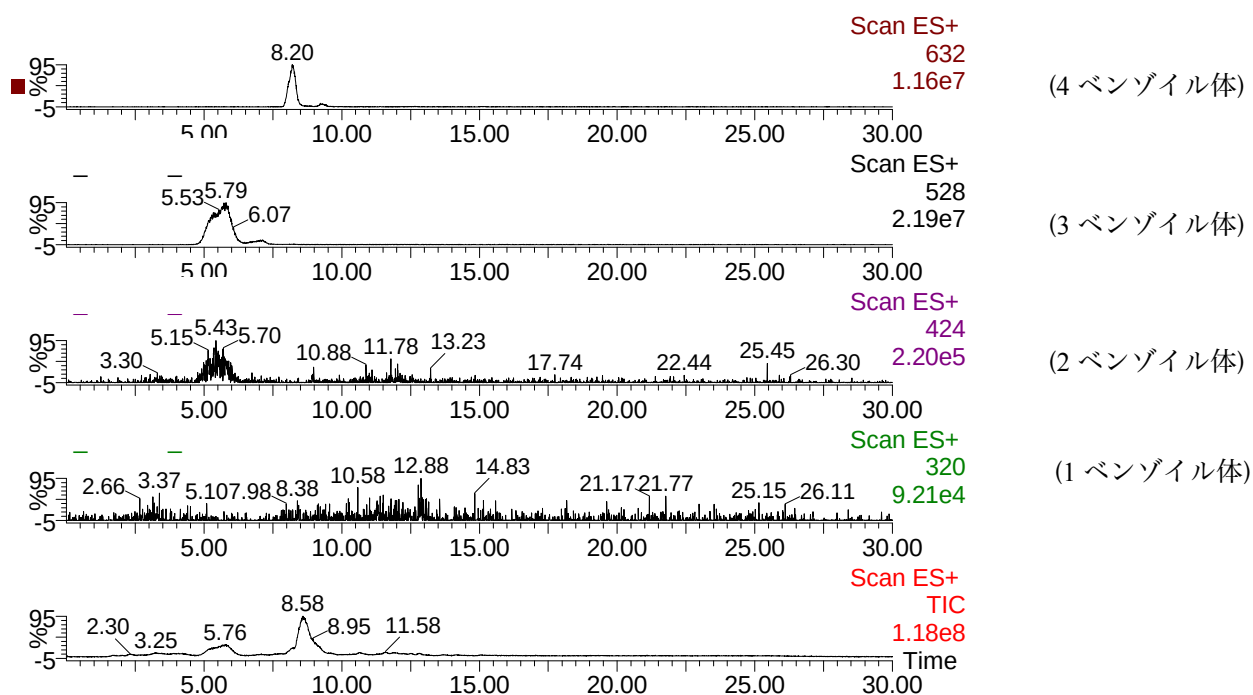


図4 分子量が215.2の物質を誘導体化した際の各質量数のクロマトグラム

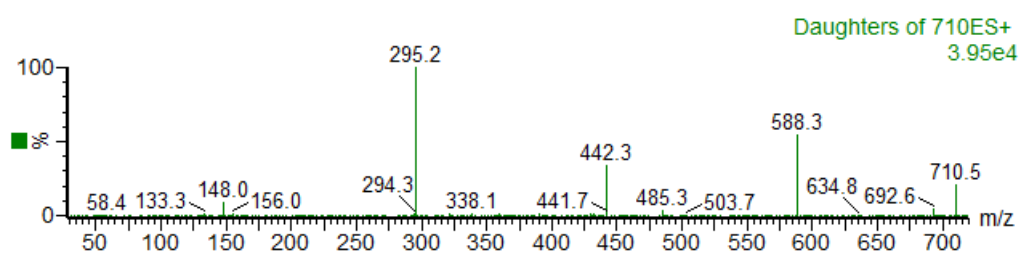


図5 質量数710のプロダクトイオン（保持時間8.6分のピークのマススペクトル）

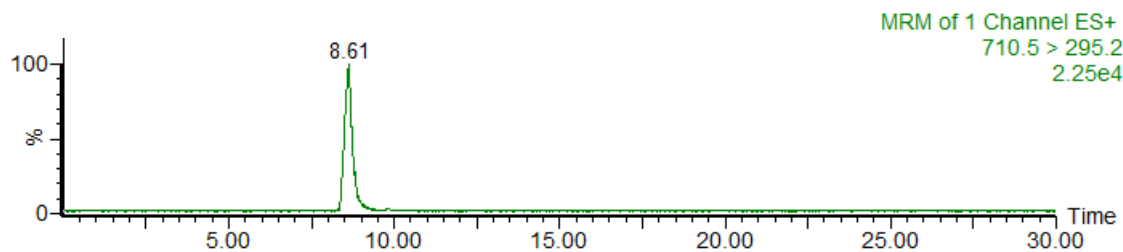


図6 標準液 100 ng/mL のクロマトグラム

注 解

(注 1) テトラエチレンペンタミンの直鎖状(TEPA)のもの (CAS 番号：112-57-2、分子式： $C_8H_{23}N_5$) が対象物質であるが、テトラエチレンペンタミンは基本的に 4 種の近接した沸点を持つ化合物の混合物とされている。

国内でエチレンアミンを製造販売するメーカーは東ソーのみであり、国内で最も流通量が多いのも東ソーの製品である。標準試薬として、東ソー製を用いることとした。

表 1 製品中の TEPA 異性体組成 [%]

	平均値(AVE)	標準偏差(σ)	AVE+3 σ	AVE-3 σ
トータル TEPA	96.6	1.4	100.7	95.0
直鎖体 TEPA	48.6	1.5	53.2	47.1
分岐体(AETETA)	22.5	1.0	25.7	20.6
環状(AEPEEDA)	17.1	1.1	20.4	15.2
環状(PEDETA)	6.0	0.6	7.7	3.6

試料：東ソー製 TEPA (1998 年－2009 年 製造実績より算出)

下記は、標準試薬として販売されているものであるが、これらは異性体組成等や、その含有割合などは定かではなく、ロットによっても割合は異なる可能性が高い。

- 1) ハンツマン・三井化学ファイン製：直鎖のものと分岐したものと 2 種の環状の化合物、それに高分子量化合物を含む。
- 2) シグマ・アルドリッチ製：テトラエチレンペンタミンとして純度 30～50.8%含む。不純物として、トリエチレンテトラミン、ペンタエチレンヘキサミンを含むが、その割合は不明。
- 3) 東京化成工業製：テトラエチレンペンタミン(so called)として販売している。
- 4) 和光純薬工業製 (→Strem chemicals 製造試薬を販売している)：直鎖のものが～50%、分岐したものが 41%含まれる。直鎖の中には、長さが異なる（分子量が違う）ものもいくらか含む。分岐型も違う分子量のものを含み、さらに様々な構造のものが混ざっている。

(注 2) ガラス器具への吸着を防ぐため、ポリプロピレン製の容器に保存する。

(注 3) 試料が海水の場合は、塩化ナトリウムを加える必要はない。

(注4) 誘導体化の際の振とうは、添加した塩化ベンゾイルが全て安息香酸に分解するまで行う。安息香酸への分解は、内壁に油状のものが付着しなくなることによって確認でき、約3分程度で分解は完了する。

§2 解説

【分析法】

〔フローチャート〕

分析法のフローチャートを図7に示す。

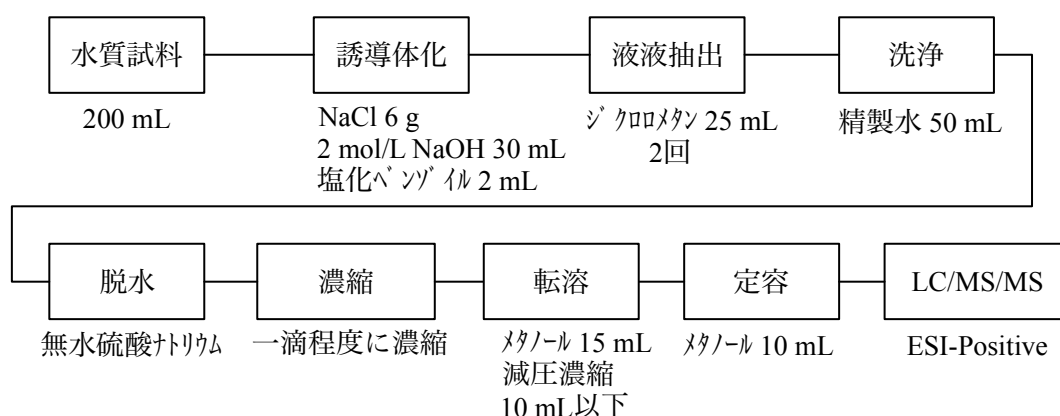


図7 分析のフローチャート

〔LC/MS 条件の検討〕

テトラエチレンペンタミンを誘導体化せず、メタノール標準液として、LC カラムの検討を行った。下記に LC/MS 条件を示す。また、図8に保持時間 10.9 分付近におけるマススペクトルを、図9～11に、テトラエチレンペンタミンの 250～1000 ng/mL のクロマトグラムを示す。このとき、東ソー製品を入手できていなかったため、シグマ・アルドリッチ製標準試薬を用いている。

LC 条件

機種 : Waters 製 Alliance 2695

カラム : Waters 製 X Bridge C18 (2.1×150 mm, 5 μm)

移動相 : A: メタノール, B: 0.1v/v%ギ酸/精製水

0 → 15 min A: 100 → 0, B: 0 → 100 linear gradient

15 → 20 min A: B = 0 : 100

20 → 30 min A: B = 100 : 0

流量 : 0.2 mL/min

カラム温度: 40°C

注入量 : 10 μ L

MS 条件

機種 : Waters 製 Quattro micro API
イオン化法 : ESI-Positive
測定モード : SIM
キャピラリー電圧 : 3.5 kV
コーン電圧 : 25 V
ソース温度 : 120°C
デゾルベーション温度 : 350°C
コーンガス流量 : 50 L/hr
デゾルベーション流量 : 650 L/hr
モニターイオン : TEPA, AETETA; 190.2 [M+H]⁺
APEEDA, PEDETA; 216.2 [M+H]⁺

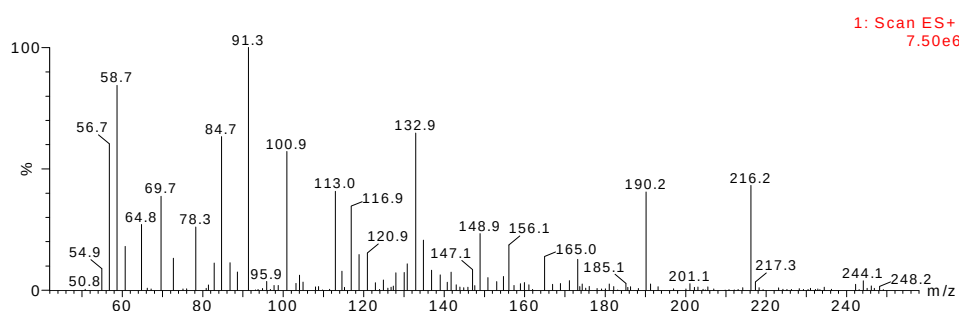


図8 保持時間 10.9 分付近におけるマススペクトル

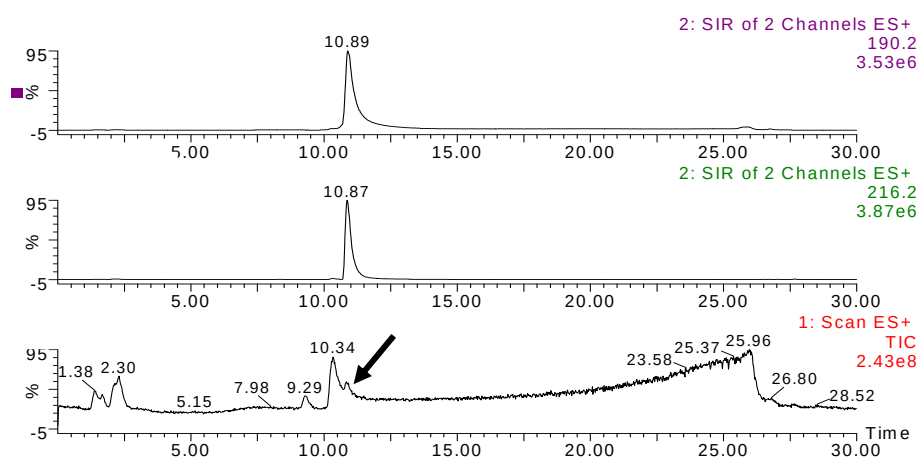


図9 標準物質のクロマトグラム(1000 ng/mL)

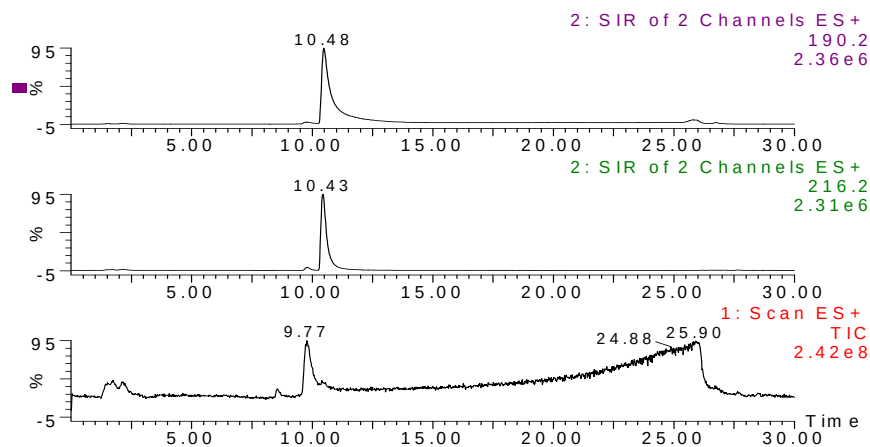


図 10 標準物質のクロマトグラム(500 ng/mL)

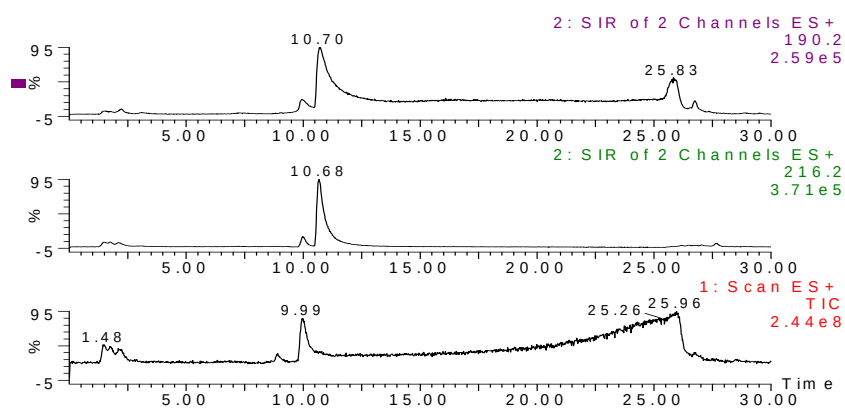
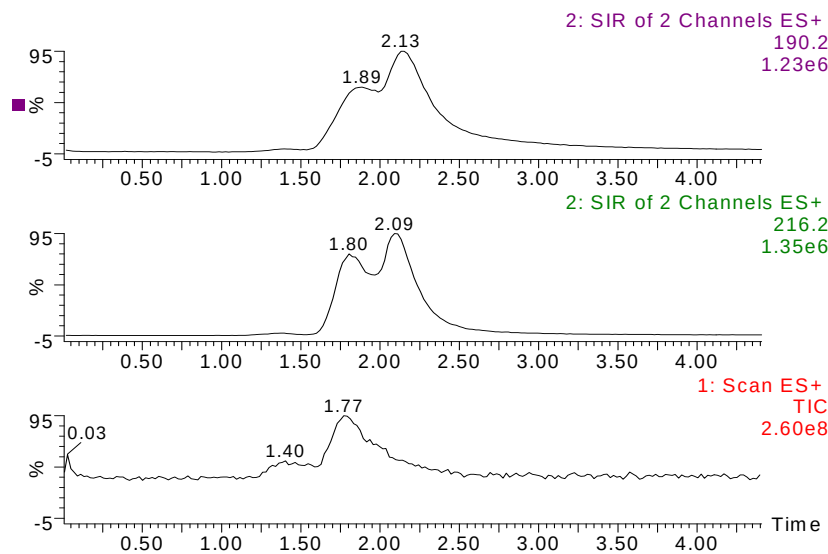
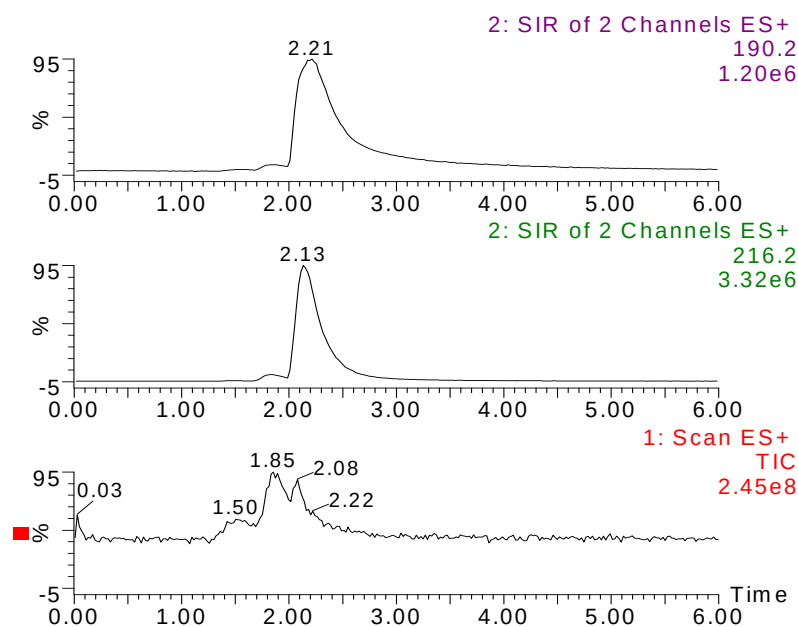


図 11 標準物質のクロマトグラム(250 ng/mL)

本条件ではテーリングがひどく、500 ng/mL 濃度未満では定量は不可能と考えられた。そこで、isocratic 条件での測定を試みた。図 12 に、メタノールと 0.1%ギ酸水溶液の割合を、50:50 と 70:30 としたときのクロマトグラムを示す。割合が 50:50 のときに、ピークが二つに割れる結果となった。



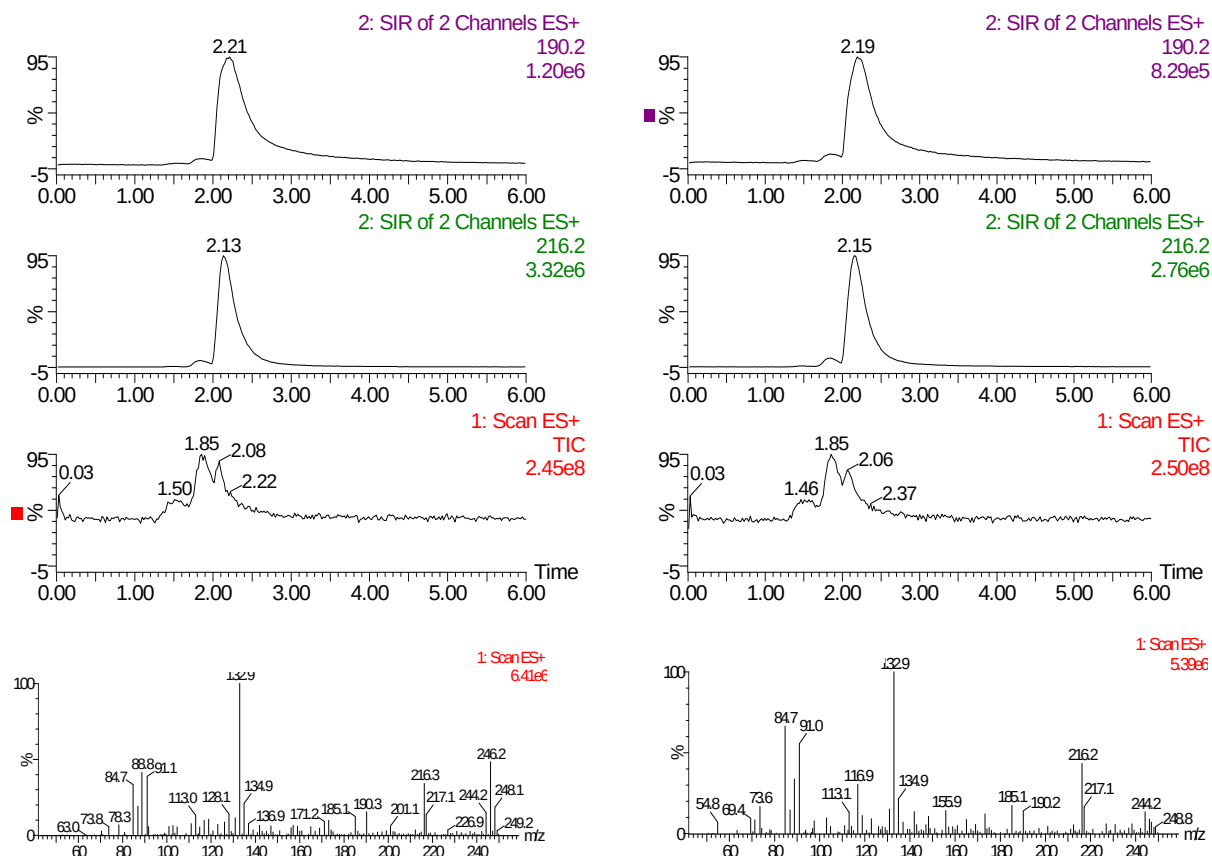
(a) メタノール：0.1%ギ酸水溶液=50:50



(b) メタノール：0.1%ギ酸水溶液=70:30

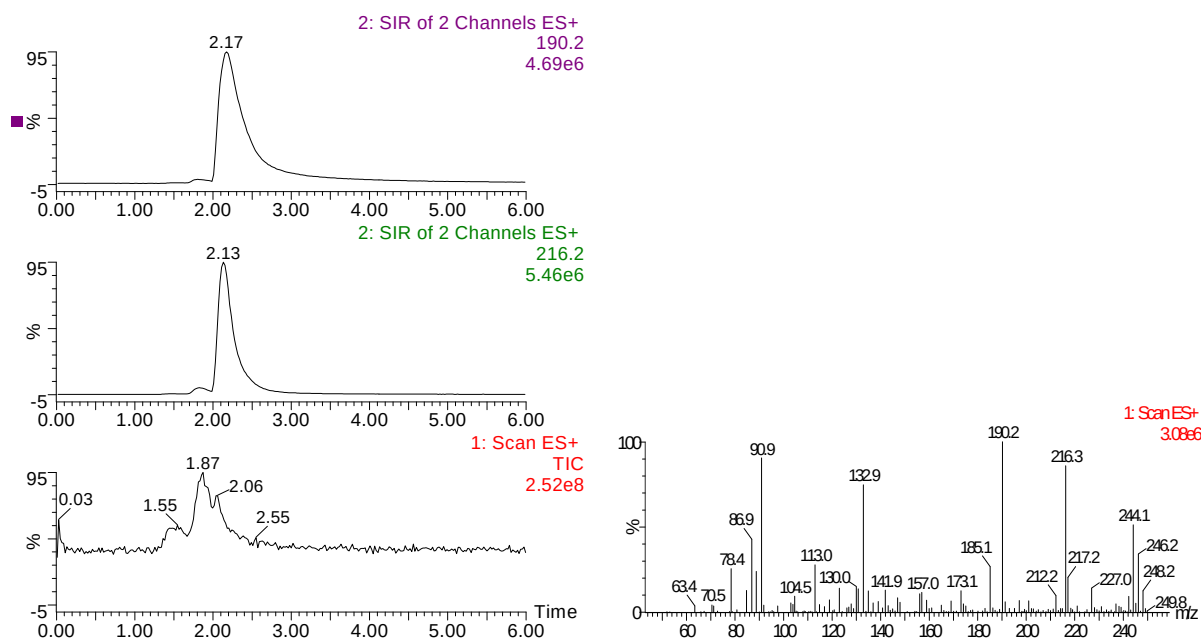
図 12 標準液のクロマトグラム(1000 ng/mL)

次に、移動相条件をメタノール：0.1%ギ酸水溶液=70:30 として、アルドリッチ製、Strem chemicals 製（和光取り扱い）、及び東京化成製の標準試薬の比較を行った（図 13）。



(a) アルドリッチ製標準試薬 (1 µg/mL)

(b) Strem chemicals 製標準試薬 (1 µg/mL)



(c) 東京化成製標準試薬 (1 µg/mL)

図 13 3 社標準試薬によるクロマトグラムの比較

東京化成製標準試薬が3種の中でピーク強度が高かったため、希釈したものも測定してみたが、isocratic 条件においても 500 ng/mL 濃度未満では定量は不可能と考えられた。

また、感度向上を目的として、移動相のギ酸を TFA に替え、イオン交換カラムである資生堂 Capcell Pak SCX (2.0×20 mm, 5 μm)や、ポリマーカラムである Shodex ODP2 HP (2.0×150 mm, 5 μm)を用いて測定を試みたが、やはり 500 ng/mL 濃度未満での定量は不可能と判断された。

以上の結果から、感度向上を目的として、誘導体化を検討することとした。

〔誘導体化の検討〕

低濃度における定量を目的として、誘導体化の検討を試みた。誘導体化試薬として、塩化ベンゾイルを用いた（参考文献 1）。

東ソー製品を用いてメタノール標準液を作製し、10～100 ng/mL の濃度の検量線作成を誘導体化により検討した。図 14 に検量線を示す。各濃度でバラツキが目立ち、低濃度での感度低下が顕著であった。

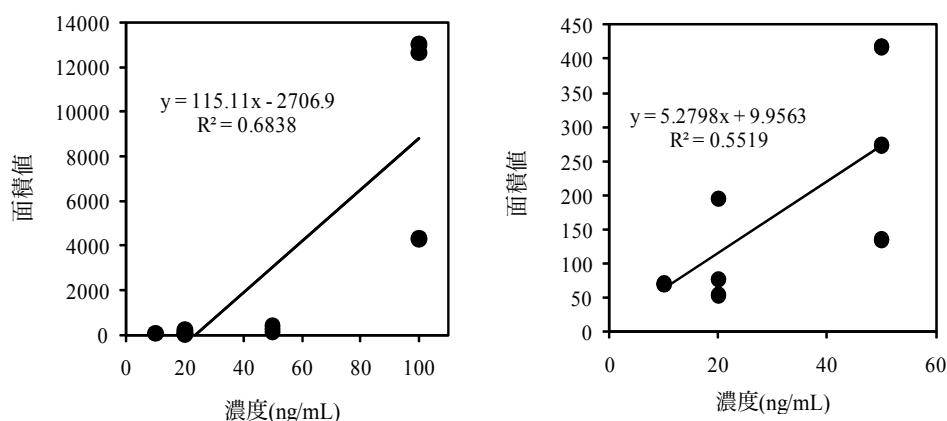


図 14 検量線 (10～100 ng/mL)
(標準試料 (メタノール溶液) を誘導体化)

メタノール溶液とした場合、誘導体化反応が進行しにくくなる可能性が考えられたため、精製水を用いて標準水溶液を作製し、誘導体化を試みた。結果を図 15 に示す。

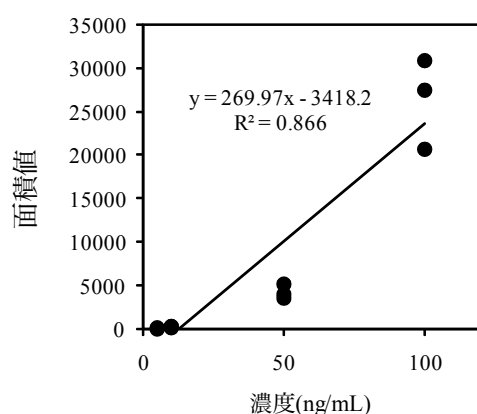


図 15 検量線(10～100 ng/mL)

(標準試料 (水溶液) を誘導体化)

(標準水溶液を添加後、NaCl、NaOH を添加して誘導体化)

結果から、やはり水溶液としても低濃度での感度低下が確認された。

テトラエチレンペンタミンは $\log P_{ow}$ が-3.16 で親水性が高いため、誘導体化試薬と反応する前に、ガラス壁に吸着する可能性が考えられた。そこで、先に塩化ナトリウム及び水酸化ナトリウム溶液を添加し、その後に標準水溶液を添加した後に塩化ベンゾイルを入れる方法で、誘導体化を検討した。図 16 に結果を示す。若干直線性が確認されるようになったものの、バラツキが大きい結果となった。

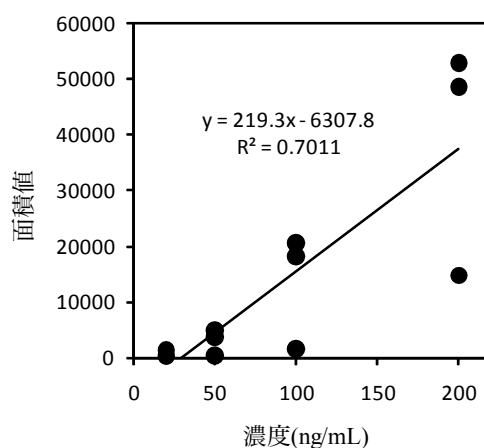


図 16 検量線 (20～200 ng/mL)

(NaCl、NaOH を添加後、標準水溶液を添加して誘導体化)

標準添加前に塩化ナトリウム及び水酸化ナトリウム溶液を添加した状態でも、テトラエチレンペンタミンのガラスへの吸着の可能性が否定できないため、誘導体化反応に用いる容器にテフロン製 500 mL 容ボトルを使用し、誘導体化を試みた。結果を図

17 に示す。テフロン製ボトルを使用した場合においても、各濃度でのバラツキを防ぐことは不可能であった。

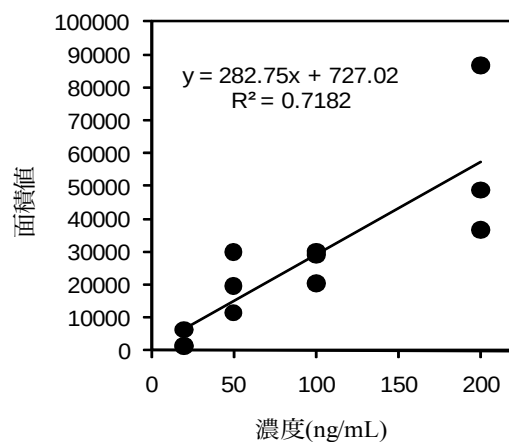


図 17 検量線 (20~200 ng/mL)

→テフロン容器を用いて誘導体化

(NaCl、NaOH を添加後、標準水溶液を添加して誘導体化)

バラツキを抑えることを目的として、塩化ベンゾイルを標準水溶液添加前に 5 mL 添加し、振とう後に標準水溶液を添加し、その後再び塩化ベンゾイルを 5 mL 添加して振とうすることにより、誘導体化を検討した。結果を図 18 に示す。本条件においてもバラツキを抑制することは不可能であった。

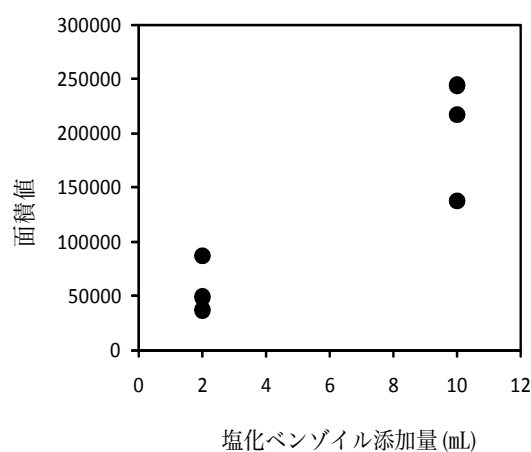


図 18 塩化ベンゾイル添加量の検討 (200 ng/mL)

→テフロン容器を用いて誘導体化

(10 mL 添加；先に 5 mL 添加→STD 添加→さらに 5 mL 添加)

【評価】

テトラエチレンペンタミンはアミノ基を多数有するため、ガラス器具等へ吸着しやすい性質がある。誘導体化法を用いて検討を行ったが、誘導体化試薬と反応する前にガラス壁に吸着する可能性が高いため、十分な誘導体化を実現できなかった。また、テフロン製器具を用いた誘導体化においても、テトラエチレンペンタミンと誘導体化試薬が反応する前に、誘導体化試薬が分解する可能性が考えられ、安定した誘導体化が行われず、バラツキが大きい結果となった。以上の結果から、分析法の確立には至らなかった。

【参考文献】

- 1) 内藤宏孝, 角脇怜: 液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析法による水環境資料中のイミノクタジンの定量及びその挙動、環境化学、21, 49-56 (2011)
- 2) 環境庁保健調査室: 昭和 59 年度 化学物質分析法開発調査報告書
(ジエチレントリアミン、トリエチレンテトラミン; 北九州市環境衛生研究所)

【担当者連絡先】

所属先名称 : 福岡県保健環境研究所
所属先住所 : 福岡県太宰府市向佐野 39
TEL: 092-921-9943、FAX: 092-928-1203
担当者名 : 塚谷裕子、飛石和大、大石興弘、黒川陽一
E-mail : tsukatani@fihes.pref.fukuoka.jp