

水質及び底質中のエタノールアミンの分析法について

Analytical Method of Ethanolamine in Water and Sediment

担当者 西野 茂幸 小田 達也

1. はじめに

本報告は、平成5年度に環境庁より化学物質環境汚染実態調査の一環として、化学物質分析法開発調査の委託を受け、水質、底質中のエタノールアミンの分析法を開発したものである。

2. 分析法要旨

水質試料は、ジクロロメタン洗浄後、ロータリーエバポレーターで濃縮し、BSC（ベンゼンスルホンクロリド）により誘導体化を行い、スルホンアミド誘導体にし、pH調整をして、ジクロロメタンで抽出を行い、脱水、濃縮後、GC/MS(SIM)で定量する。

底質試料は、銅粉を加えて水で抽出し、遠心分離を行い、ジクロロメタンで洗浄した後、水質試料と同様に操作する。

試験法

【試料の前処理】

〔水質試料〕 試料 500mlを 1lの分液ロートにとり、ジクロロメタン 50mlで 2回、各5分間振とう洗浄した後、水溶液を 1lのフラスコに移し、60℃のウォーターバス中でロータリーエバポレーターにより 80ml程度まで濃縮し（注1）、精製水でフラスコ内を洗い、100mlに定容する。

河川水ではこの濃縮液を 200mlの分液ロートに移し、水酸化ナトリウム 3g、BSC7ml を加え、30分

間激しく振とうして誘導体化を行う（注2）。海水では 100ml に定容した濃縮液を 200ml のビーカーに移し、水酸化ナトリウム 5g を加え、マグネットスターラーで 5分間攪拌した後（注3）、250mlの遠沈管に移し 3000rpm で 10分間遠心分離を行い上澄液を分取する。残さに精製水 25mlを加え、よく攪拌して再度遠心分離を行い、上澄液を合わせて、ろ紙 5Aでろ過し、精製水で100ml に定容した後、200ml の分液ロートに移し、BSC7mlを加え、30分間激しく振とうして誘導体化を行う。誘導体化した水溶液に水酸化ナトリウム3gを加え、さらに 10分間激しく振とうした後（注4）、ろ紙 5Aでろ過し、500ml の分液ロートに移してジクロロメタン 100ml で 2回、各 5分間振とう洗浄して、水溶液を 200ml のビーカーに移す。pHメーターを使用して 6N-塩酸で pH を 5に調整し（注5）、500ml の分液ロートに移して、塩化ナトリウム 15g を加え（注6）、ジクロロメタン 100ml で 2回、50ml で 1回、各5分間振とう抽出を行い、抽出液を合わせ無水硫酸ナトリウムで脱水し、300ml のフラスコに受け、試料前処理液とする。

〔底質試料〕 試料 20g を 300ml の共栓付三角フラスコに取り、銅粉 5g、精製水 100ml を加え、10分間振とう抽出した後、250ml の遠沈管に移し、3000rpm で 20分間遠心分離を行い、抽出液を分取する。残さに精製水 100ml を加え、再度同様の操作を行い、抽出液を合わせる。この抽出液をろ過

助剤のハイフロスーパーセル 5g で吸引ろ過し（注7），ろ液を 500ml の分液ロートに移した後，ジクロロメタン洗浄，濃縮，以下〔水質試料〕の河川水と同様の操作を行い，試料前処理液とする。

【試料液の調製】

各試料の前処理液をロータリーエバポレーター（ウォーターバス 40℃）で 5ml 程度まで濃縮後，2ml の濃縮受器に移し内部標準物質のフェナンスレン-d10（0.5 μg/ml，ジクロロメタン溶液）を正確に 0.5ml 加え，窒素ガスを吹きつけ 1ml に定容して，測定試料液とする。

【空試料液の調製】

試料と同じ量の精製水を用い，【試料の前処理】及び【試料液の調製】と同様に操作を行い，得られたものを空試料液とする（注8）。

【標準液の調製】

標準品 100mg を精秤して，精製水に溶解し正確に 100ml とし，1000 μg/ml の標準原液とする。標準原液を精製水で順次希釈し，1.0 μg/ml の標準溶液を調整する。この標準溶液の 0.05~1.0ml を段階的に取り，精製水で 100ml に定容し，200 ml の分液ロートに移して，水酸化ナトリウム 3g，BSC7ml を加え，30分間激しく振とうして誘導体化を行い，さらに水酸化ナトリウム 3gを加え 10分間振とうする。以下，〔水質試料〕と同様に誘導体化した水溶液をジクロロメタン 100ml で 2回，各 5分間振とう洗浄を行い，pHを5 に調整し，塩化ナトリウム 15g を加え，ジクロロメタン 100 ml で 2回，50ml で 1回振とう抽出して，抽出液を合わせ，無水硫酸ナトリウムで脱水した後，【試料液の調整】と同様の操作を行い，各標準液とする。

【測定】

〔GC/MS条件〕

GC:Hewlett-Packard社製 5890 II

MS:日本電子(株)製 Automass 50

カラム:DB-17 0.25mm×15m 膜厚0.25 μm(J&W社製) (注9)

カラム温度:80℃(1分間)—15℃/min—260℃(4分間)

注入口温度:250℃

注入方法:スプリットレス (パージオフ時間 1分)

キャリアーガス:He 線速度 40cm/sec at 80℃ (ヘッド圧 50kPa)

イオン化法:EI

イオン化電圧:70V

インターフェース温度:250℃

イオン源温度:220℃

設定質量数:m/z 170(定量用), 141(確認用)

m/z 188 (内部標準物質:フェナンスレン-d10)

〔検量線〕

標準液 1 μlをとり，さらにポリエチレングリコール溶液 1 μlをとり（注10, 注11），GC/MSに注入し，標準物質と内部標準物質のピーク面積比から検量線を作成する。

〔定量〕

試料液 1 μl を GC/MS に注入し，得られたクロマトグラム上のピーク面積と内部標準物質のピーク面積の比から検量線により定量値を求める。

〔計算〕

計算値 (μg/ml, μg/g)

$$= \text{検出量} (\mu\text{g}) \times \frac{1}{\text{試料量} (\text{ml}, \text{g})}$$

〔検出限界及び定量限界〕 本分析法に基づく検出限界及び定量限界を下記に示す（注12）

	試料量	検出限界	定量限界
水質試料	500ml	0.17 μg/l	0.56 μg/l
底質試料	20g	7.1 μg/Kg	—

試薬・器具

【試薬】

エタノールアミン標準品：東京化成工業製 試薬特級
ジクロロメタン，アセトン：残留農薬試験用
無水硫酸ナトリウム：残留農薬試験用を 600℃で
一夜加熱処理したもの。

塩化ナトリウム：試薬特級を 600℃ で一夜加熱処
理したもの。

塩酸，水酸化ナトリウム：試薬特級

ベンゼンスルホニルクロリド (BSC)：和光純薬工
業製 試薬 1 級

フェナンスレン-d10：CIL社製

ポリエチレングリコール溶液：和光純薬工業製試
薬 1 級のポリエチレングリコール 200 及び 300を
それぞれジクロロメタンに溶解し，各100ppmの混
合溶液。

精製水：Milli-Q SP 超純水装置(Millipore社製)
で精製したもの。

【器 具】

ロータリーエバポレーター，ウォーターバス：試
料，抽出液の濃縮に用いる。

振とう器：試料の抽出，液液抽出等に用いる。

遠心分離機：抽出液の分離に用いる。

pHメーター

分液ロート (11, 200ml, 500ml)，共栓付三角フ
ラスコ (300ml)，ビーカー (200ml)

フラスコ (11, 300ml)，遠沈管 (250ml)，桐山
ロート (SU-40)，濃縮受器 (2ml) は，アセトン
で十分洗浄し，乾燥後使用する。

注 解

(1) 予めロータリーエバポレーターの廃液容器に
420ml の位置に印をつけておく。

(2) 30分間振とうすると発熱するので，十分注意
して脱気する。また，振とう後そのまま放置して
おくと分液ロートの栓が抜けなくなることがある
ので，振とう後直ちに脱気し，分液ロートの栓を
抜くこと。

(3) 海水には，カルシウム塩，マグネシウム塩等
が多量に入っているため，誘導体化時の水酸化ナ

トリウムの添加で水に不溶な物質が生成し，溶液
全体がゲル状になり，回収率が悪かったため，誘
導体化の前に水酸化ナトリウムで強アルカリにし，
遠心分離を行い，カルシウム塩，マグネシウム塩
等を除去する。

(4) 過剰の水酸化ナトリウムを加えて振とうし，
未反応の BSC を分解する。

(5) pH調整で，pH が 5以下の酸性になったとき
は，0.1~3N-水酸化ナトリウム溶液で pH5 に
調整する。

(6) 海水では塩化ナトリウム 5g 加える。

(7) 桐山ロート(SU-40)に 5Aのろ紙を敷き，ハイ
フろスーパーセル 5g をのせ，アセトン 20ml，精
製水 20ml で洗浄した後，吸引ろ過する。

(8) 精製水からブランク値が検出されたので，使
用するガラス器具は全てアセトンで十分洗浄して
乾燥後使用し，塩化ナトリウム，無水硫酸ナトリ
ウムは加熱処理して使用する。

(9) カラムは劣化したものを使用するとピークが
テーリングして定量値に誤差を与えるので，カラ
ムは新しいものを使用する。

(10) エタノールアミンのスルホンアミド誘導体
(EA-SA) を GC/MS に注入すると，感度が徐々に
高くなっていき，同じ濃度の標準品を数回注入し
ないと安定しない，また標準品を添加した底質試
料の方がマトリックス成分の影響により標準品よ
りピークがシャープになることから，標準品とポ
リエチレングリコールを同時に注入することで標
準品のピークがシャープになり，感度の安定性も
くなった。

(11) EA-SA は注入口に吸着するので，標準品や
濃度の高いサンプルを注入した後は，ジクロロメ
ンのみを注入し，EA-SA のピークが出現しないこ
を確認してから次のサンプルを注入する。

(12) 検出限界及び定量限界は「検出限界等の定
め方について」(平成 3 年 5 月 29 日)により算出し
た。

	水 質		
試料濃度 ($\mu\text{g/l}$)	0.25	0.5	1.0
応答値 (x)	0.1777	0.4410	0.9955
標準偏差 (σ_R)	0.0934	0.0317	0.0555
検出力 (Dn)	0.0209	0.0577	0.0879
検出限界 ($D \times 3$)		0.1665	
定量限界 ($D \times 10$)		0.5550	
不偏分散 (Fd)		8.68	

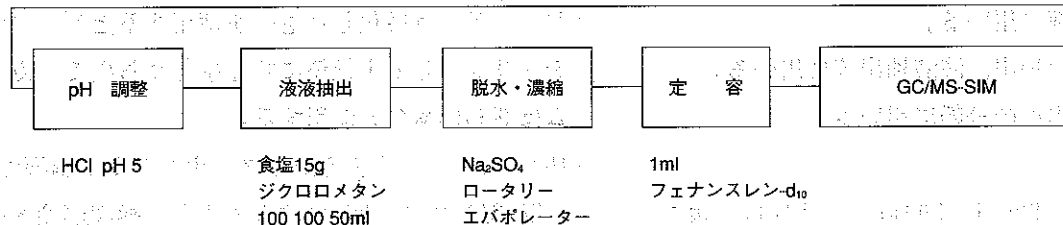
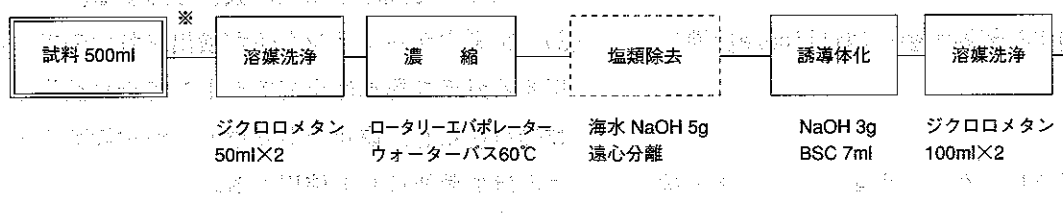
	底 質
検出限界推定値 ($\mu\text{g/Kg}$)	5.0
試料濃度 ($\mu\text{g/Kg}$)	25
分析値 (x)	17.2
標準偏差 (S_c)	2.27
検出限界 (DL)	7.13
95%信頼区間	4.56-15.68

3. 解 説

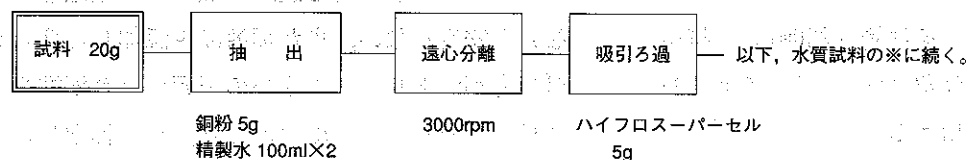
【分析法】

〔フローチャート〕

(水質試料)



(底質試料)



〔分析法の検討〕

3-1 検量線

エタノールアミンのスルホンアミド誘導体 (EA-SA) の検量線の例を図1に示す。

3-2 試料の濃縮及び抽出法

エタノールアミンは、水溶解度が 246g/l と非常に水溶性が高く、Log Pow も -1.31 で水質試料では通常の液液抽出で有機溶媒に抽出されないことから、試料の濃縮方法の検討を行った。

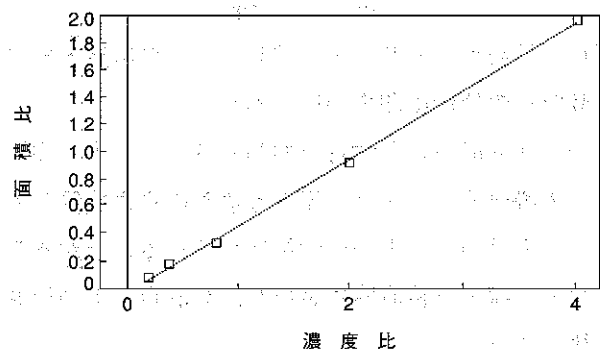


図 1 EA-SA体の検量線

濃縮方法として、単蒸留、水蒸気蒸留、また ODSカラム、XAD樹脂、活性炭を用いた液固抽出法について検討したが、エタノールアミンは蒸留では全く留出せず、液固抽出法でもいずれの固相にもほとんど吸着しなかった。

そこで、試料をロータリーエバポレーターにより直接濃縮したところ、良好な結果が得られたので、精製水 500ml に標準品 100 μg を添加しウォーターバスの温度及び塩酸添加の有無による濃縮損失を検討した結果を表-1に示す。この結果より、ウォーターバスの温度を 60℃ とし、塩酸は添加せずに濃縮することにした。

表 1 濃縮損失の検討結果

濃縮温度	塩酸	回収率(%)
60℃	無添加	95.1
	添加	95.6
80℃	無添加	79.1
	添加	86.3

底質試料の抽出は、試料 20g に標準品 100 μg を添加し、100ml の精製水、アセトン、メタノール、エタノール、アセトニトリルを用いて振とう抽出及び超音波抽出による回収率を検討したところ、1回の抽出でいずれも精製水の回収率が最も良かったが、振とう抽出で 57%、超音波抽出で 41% と良好な結果は得られなかった。

次に、精製水で振とう抽出した抽出液に標準品 100 μg を添加し、回収率を調べたところ、90% 以上の回収率であったため、抽出時においてエタノールアミンが底質中のマトリックス成分の影響により分解されてるものと考え、銅粉を添加して精製水で振とう抽出を行ったところ88%と良好な回収率が得られた。以上の結果から、底質試料の抽出は、銅粉を添加し精製水による振とう抽出法を採用した。

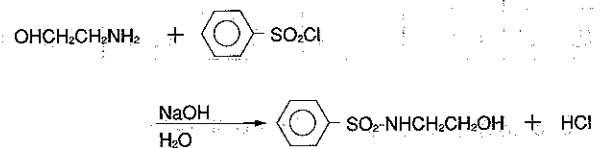
3-3 誘導体化の検討

エタノールアミンは、通常の液液抽出では有機

溶媒に抽出されず、GC に注入してもピークが出ないことから、水溶液中での誘導体化について検討を行った。

DNFB, PFBC, BSC を用いて誘導体化を行った結果、DNFB化では、リテンションタイムが遅く感度もなく、また PFBC化ではピークが出なかったが、BSC化では感度も良く再現性も良好であったため、BSC を用いて誘導体化することにした。

エタノールアミンと BSC との反応は次のとおりである。



次のとおり合成したエタノールアミンのスルホンアミド誘導体の標準液を用いて、本分析法の誘導体化の収率を求めたところ、88% であった。

エタノールアミンのスルホンアミド誘導体の合成は、エタノールアミン 1g を 5% 水酸化ナトリウム溶液に溶かし、BSC2ml を攪拌しながらゆっくり適下し 30分間攪拌後、ジクロロメタンで洗浄し、pH を 5 に調整して、ジクロロメタンで抽出を行い、3ml 程度まで濃縮した後、約6時間真空乾燥を行って、透明で粘性のある液体を得た。この合成物をジクロロメタンで希釈して GC/MS に注入し、本分析法の標準液と同じスペクトルであることを確認した。

3-4 液液抽出時の塩析効果の検討

精製水を用いて前処理を行いジクロロメタンによる液液抽出時における塩析効果を検討した結果を表2に示す。この結果より液液抽出時には塩化ナトリウムを 15g 添加することにした。

表 2 液液抽出時における塩析効果

塩化ナトリウムの量	0g	5g	10g	15g
抽出比率	1.00	1.11	1.24	1.38

3-5 低濃度添加回収試験結果

水質試料 500ml, 底質試料 20g に標準品を添加し, 本分析法に従って行った添加回収試験の結果を下記に示す。

試料	添加量 (μg)	試料量 (ml, g)	回数	回収率 (%)	C.V. (%)
精製水	0.125	500ml	4	86.3	5.3
精製水	0.25	500ml	4	93.2	7.1
精製水	0.5	500ml	4	92.5	5.5
河川水	0.5	500ml	4	93.9	10.0
海水	0.5	500ml	4	84.4	12.9
底質	0.5	20g	7	68.9	13.2

3-6 分解性スクリーニング試験結果

HPLC法により測定した結果, エタノールアミンは蒸留水中では, pH, 光に関係なく, ほとんど分解は認められなかった。

pH	初期濃度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	1時間後 (%)	5日後	
			暗所(%)	明所(%)
5	2.0	103	104	—
7	2.0	102	105	99
9	2.0	101	93	—

3-7 マススペクトル及び質量数の設定

EA-SA体のマススペクトルを図2に示す。

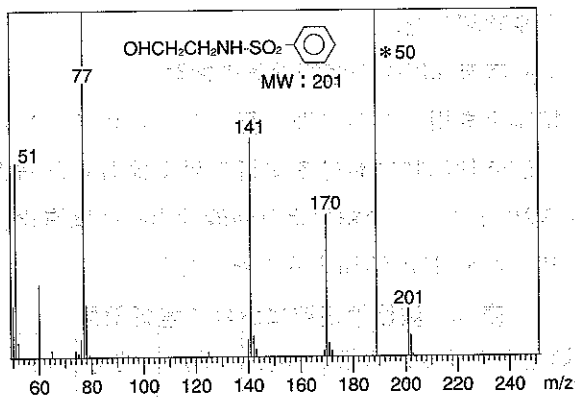


図2 EA-SA体のマススペクトル

分子イオンピークは m/z 201 であるが, イオン強度が非常に弱く, またベースピークとなっている m/z 77 はバックグラウンドが高いため, m/z 170 を定量用質量数とし, m/z 141 を確認用質量数とした。

3-8 クロマトグラム

図-3 に標準品のマスクロマトグラム, 図-4 に環境試料のマスクロマトグラムを示す。

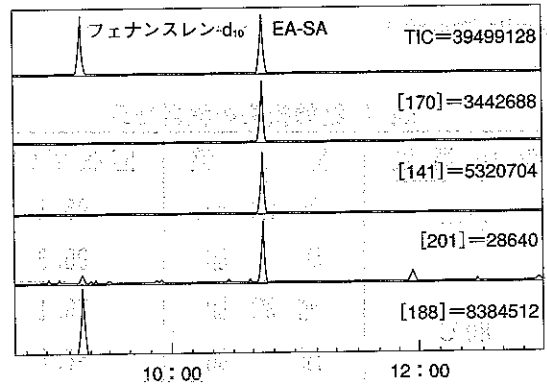


図3 EA-SA体のマスクロマトグラム

【評価】

本分析法により, 環境中に存在するエタノールアミンを ppbレベルで測定することが可能である。

なお, 環境試料の共通底質(東京湾底質)から $17.5 \mu\text{g}/\text{kg}$ のエタノールアミンが検出され, 河川水, 海水からも検出限界以下ではあるがピークが認められた。

4. 文 献

- 1) 環境庁保健調査室: 化学物質分析法開発調査報告書総覧(下巻), p. 687-691 (平成3年)
- 2) 環境庁保健調査室: 化学物質分析法開発調査報告書総覧(下巻), p. 954-958 (平成3年)
- 3) A. Terashi, Y. Hanada, A. Kido and R. Shinohara: J. Chromatogr, 503, 369-375, 1990.
- 4) Neil P. J. Price, John L. Firmin and David O Gray: J. Chromatogr, 598, 51-57, 1992.

(公害検査課水質検査係)

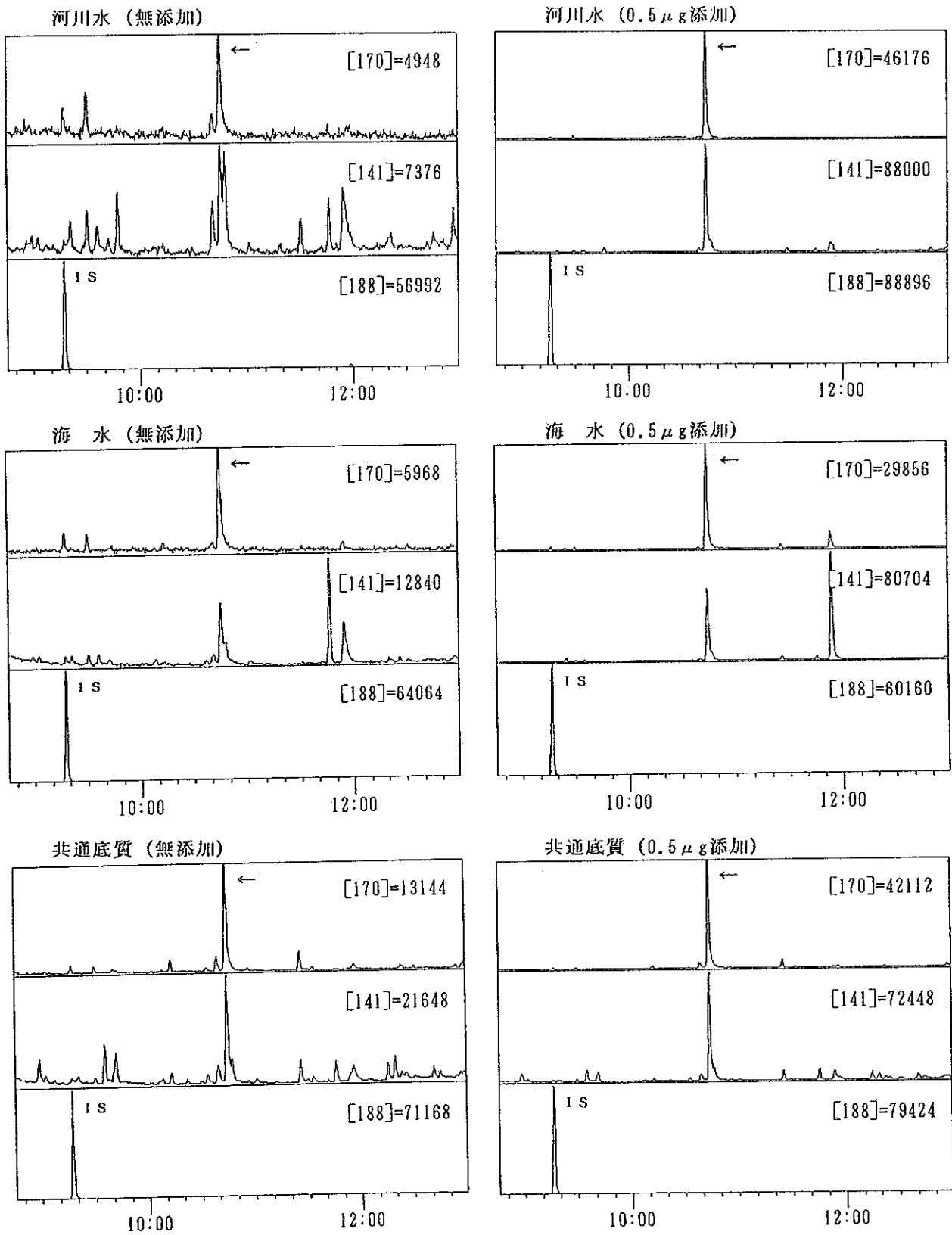


図 4 環境試料のマスクロマトグラム