

水質および底質中のヒドロキノンの分析法について

Analytical Method of Hydroquinone in water and sediment

担当者 小田達也 西野茂幸

1.はじめに

本報告は、平成7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・底質中のヒドロキノンの分析法の開発を検討したものである。

2.分析法

2-1 要旨

水質試料は、サロゲートを添加し、ガラス繊維ろ紙でろ過、ヘキサン洗浄後、ペンタフルオロベンゾイルクロリドで誘導体化を行い、これをヘキサンで抽出し、脱水・濃縮後、GC/MS(SIM)で定量する。

底質試料は、サロゲートを添加し、メタノールでソックスレー抽出し、メタノール溶液を濃縮させ、水に転溶し、水質試料と同様に操作する。

2-2 試料の前処理

(1)水質試料

試料100ml(注1)にサロゲートとして1.0 μ g/mlヒドロキノン-d₆を0.1ml添加し、ガラス繊維ろ紙で吸引ろ過し、200mlの分液漏斗にとり、ヘキサン30mlで1回、3分間振とう洗浄した後、水溶液を200mlの分液漏斗に移し、5%炭酸水素ナトリウム溶液5ml、ペンタフルオロベンゾイルクロリド0.1mlを加える。10分間振とう後、ヘキサン30mlを加え5分間振とう抽出を行う。(注2)これを無水硫酸ナトリウムで脱水し、200mlのフラスコに受け、試料前処理液とする。

(2)底質試料

試料5gを円筒ろ紙にとり、1.0 μ g/mlヒドロキノ

ン-d₆を0.1ml添加し、沸騰水浴につけたソックスレー抽出器で100mlのメタノールを溶媒として3時間抽出する。このメタノール溶液をガラス繊維ろ紙で吸引ろ過し、ロータリーエバポレーターを用いて減圧下40 $^{\circ}$ Cで5ml程度まで濃縮させる。(注3)これを精製水100mlで200mlの分液漏斗に移し、ヘキサン30mlで2回3分間振とう洗浄した後、水溶液を200mlの分液漏斗に移し、5%炭酸水素ナトリウム溶液5ml、ペンタフルオロベンゾイルクロリド0.1mlを加える。10分間振とう後、ヘキサン30mlを加え5分間振とう抽出を行う。これを無水硫酸ナトリウムで脱水し、200mlのフラスコに受け、試料前処理液とする。

2-3 試料液の調製

各試料の前処理液をロタリーエバポレーターを用いて減圧下40 $^{\circ}$ Cで5ml程度まで濃縮後、5mlの濃縮受器に移し内部標準物質のフルオランテン-d₁₀(0.05 μ g/ml、ヘキサン溶液)を正確に0.1ml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。(注4)

2-4 空試料液の調製

試料と同じ量の精製水等を用い、2-2及び2-3と同様に操作を行い、得られたものを空試料液とする。

2-5 標準液の調製

(1)検量線作成用標準液

ヒドロキノン標準品100mgを精秤して、精製水に溶解し正確に100mlとし、1000 μ g/mlの標準原液とする。標準原液を精製水で希釈し、1.0 μ g/mlの標準溶液を調整する。(注5)この標準溶液の0.02~

1.0mlを段階的に取り，精製水で100mlに定容する。これにヒドロキノン-d₆を0.1 μg添加し，200mlの分液ロートに移し，5%炭酸水素ナトリウム溶液5ml，ペンタフルオロベンゾイルクロリド0.1mlを加える。10分間振とう後，ヘキサン30mlを加え5分間振とう抽出を行う。これを無水硫酸ナトリウムで脱水し，200mlのフラスコに受け，これを2-3と同様の操作を行い，各標準液とする。

(2) サロゲート化合物標準液

ヒドロキノン-d₆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のサロゲート化合物原液とする。原液を精製水で希釈し，1.0 μg/mlの標準溶液を調整する。(注5)

2-6 測定

(1) GC/MS条件

使用機種:MS 日本電子(株)製 AUTOMASS 50型

GC HP製 5890 型

使用カラム:DB-5 0.25mm × 15m ,膜厚0.25 μm(注6)

(注7)

カラム温度:60 (1min) - 20 /min - 320 (1min)

注入口温度:250 (注8)

キャリアガス:He 線速度 76cm/sec at 60 (ヘッド圧 50kPa)

注入方法:スプリットレス(パ - ジオフ時間 1min)

インタ - フェ - ス温度:250

イオン源温度:220

イオン化法:EI

イオン化電圧:70V

モニタ - 質量数:m/z 498,499

502(サロゲート)

212(フルオランテン-d₁₀)

(2) 検量線

標準液2 μlをとり，GC/MSに注入し，標準物質とサロゲート物質のピーク面積比から検量線を作成する。

(3) 定量

試料液2 μlをGC/MSに注入し，得られたクロマト

グラムのピーク面積とサロゲート化合物のピーク面積の比から検量線により定量値を求める。

(4) 計算

計算値(μg/ml, μg/g)

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

(5) 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9)

	試料量	検出限界	定量限界
水質試料	100ml	0.087 μg/l	0.29 μg/l
底質試料	5g	6.1 μg/kg	-

2-7 試薬・器具

(1) 試薬

ヒドロキノン:和光純薬 試薬特級

ヒドロキノン-d₆:CDN Isotopes

ペンタフルオロベンゾイルクロリド(PFBC):東京化成

ヘキサン,アセトン:残留農薬試験用

メタノール:HPLC用

炭酸水素ナトリウム:特級

無水硫酸ナトリウム:残留農薬試験用

フルオランテン-d₁₀:CDN Isotopes

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

(2) 器具

ロ - タリ - エバポレ - タ - ,ウォ - タ - バス:試料，抽出液の濃縮に用いる。

振とう器:試料の反応，液液抽出等に用いる。

湯浴:底質のソックスレー抽出に用いる。

マイクロピペット:PFBCの添加に使用する。

ソックスレー抽出器，分液ロート(200ml)，ピ - カ - (200ml)，フラスコ(200ml)，濃縮受器(5ml)

これらのガラス器具は，アセトンで十分洗浄し，乾燥後使用する。

円筒ろ紙:ガラス繊維またはシリカ繊維

ガラス繊維ろ紙

これらのろ紙は，水質の場合は水で，底質の場合

はメタノールで十分洗浄し，乾燥後使用する。

注解

(注1)保存のためpHを5に下げた試料もpHを調節しないでそのまま分析できる。

(注2)食塩を添加して抽出しても，回収率は変化しない。

(注3)濃縮時，乾固もしくはメタノールがなくなると回収率が著しく低下する。

(注4)内部標準フルオランテン-d₁₀の添加により測定対象物質の絶対回収が確認できる。

(注5)ヒドロキノン は分解しやすいので，標準液は冷蔵保存し，古くなった標準液は作り直す。

(注6)DB-1を使用するとピークがテーリングする。

(注7)ピーク形状が劣化したら，カラムを注入口側から数10cm切断すると改善する場合がある。

(注8)セプタムの材質により，妨害ピークが生じる(特にm/z 502)。セプタムをグレイからサーモグリーンに換えたところ妨害ピークはなくなった。

(注9)検出限界及び定量限界は「検出限界の定め方について」(平成3年5月29日)により算出した。

水質

試料濃度(μg/l)	0.20	0.40	0.80
応答値(x)	0.2519	0.5485	1.0078
標準偏差(R)	0.0139	0.0253	0.0354
検出力(Dn)	0.0175	0.0294	0.0404
検出限界(Dx3)	0.0874		
定量限界(Dx10)	0.291		
不偏分散(Fd)	6.48		

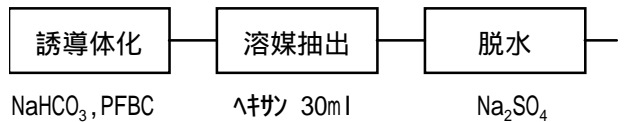
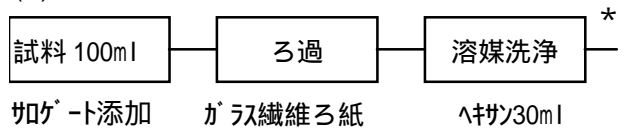
底質

検出限界推定値(μg/kg)	20.0
試料濃度(μg/kg)	20.0
分析値(x)	15.7
標準偏差(Sc)	1.95
検出限界(DL)	6.13
95%信頼区間	3.92 ~ 13.4

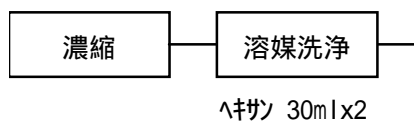
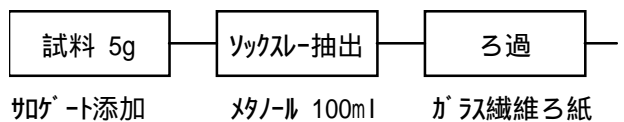
3.解説

3-1 フロ - チャ - ト

(1)水質試料



(2)底質試料



以下，水質試料の*に続く

3-2 分析法の検討

(1)試料の濃縮・抽出法の検討

・水質試料

ヒドロキノン は単蒸留では回収できない。抽出溶媒として，ヘキサン，エチルエーテル，酢酸エチル，ジクロロメタン，ベンゼンで検討した。これらの中では，酢酸エチルとエチルエーテルに抽出された。ヘキサンには抽出されないのので，溶媒洗浄にヘキサンを使用する。

・底質試料

振とう抽出，超音波抽出，ソックスレー抽出で検討した。これらの中で，ソックスレー抽出のばらつきがやや小さいので，底質はソックスレー抽出で行うこととする。

抽出溶媒として，メタノール，アセトン，酢酸エチル，アセトニトリルで検討した。アセトン，酢酸エチルはほとんど回収できない。メタノールとアセ

トニトリルのうちで沸点が低いメタノールを使用する。

(2)誘導体化の検討

・誘導体

ヒドロキノンは、GCの注入口で分解もしくは吸着するため、誘導体化を検討した。誘導体試薬は、フェニルホウ酸、ブチルホウ酸、ペンタフルオロベンジルブロマイド、トリフルオロ酢酸、ペンタフルオロベンゾイルクロリドで検討した。

これらの中では、ペンタフルオロベンジルブロマイド、ペンタフルオロベンゾイルクロリドが良好であった。操作の簡便さからペンタフルオロベンゾイルクロリドを誘導体化試薬とする。

・5%NaHCO₃溶液の添加量

ペンタフルオロベンゾイルクロリド0.1mlに対して5%NaHCO₃溶液を1~20ml添加した。

内標準と比較して、5~10mlの時ピーク面積比が最大になる。このため5%NaHCO₃溶液の添加量は5mlとする。

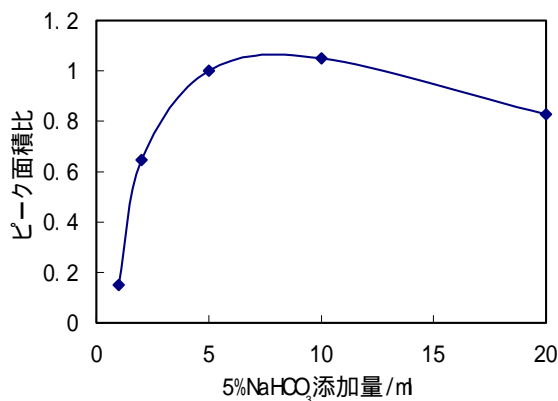


図1 5%NaHCO₃溶液の添加量とピーク面積比

3-3 低濃度添加回収試験結果

水質試料100ml、底質試料5g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。底質については、標準及びサロゲートを添加直後に回収試験を行った。

サロゲート(ヒドロキノン-d₆)で定量

試料	試料量	添加量 (μg)	回数	回収率 (%)	C.V. (%)
精製水	100ml	0.02	4	98	4.8
精製水	100ml	0.04	4	100	4.3
精製水	100ml	0.08	4	99	3.0
河川水	100ml	0.05	3	91	1.6
海水	100ml	0.05	3	90	0.1
底質	5.0g	0.10	7	78	12.3

内標準(フルオランテン-d₁₀)で定量

試料	試料量	添加量 (μg)	回数	回収率 (%)	C.V. (%)
河川水	100ml	0.05	3	71	10.9
海水	100ml	0.05	3	67	8.2
底質	5.0g	0.10	6	48	15.4

3-4 分解性スクリーニング試験結果

本法に従い、誘導体化し、GC/MSで測定した。アルカリ性で分解し、中性でも5日後には分解する。酸性では安定である。光は分解には関係がない。溶液はリン酸塩緩衝液を使用した。

pH	初期濃度 (μg/ml)	1時間後 (%)	5日後	
			暗所 (%)	明所 (%)
5	0.5	93	101	-
7	0.5	101	31	43
9	0.5	3	1	-

3-5 海水での分解

高pHで分解することから、海水での分解を検討した。濃度は1μg/lとした。

酸を無添加の場合は、20℃では1,2日ですぐ分解する。4℃でも1週間ではほとんど分解する。塩酸でpH4にしても同様である。しかし、リン酸や硫酸でpH5にするとかなり分解を抑えることができる。

このことから、水質試料の保存は、リン酸でpH5程度にすることにした。本実験で用いたpH8.1の海水では、100mlに対して、リン酸(1+100)を1.0ml加えるとpH5.1となった。

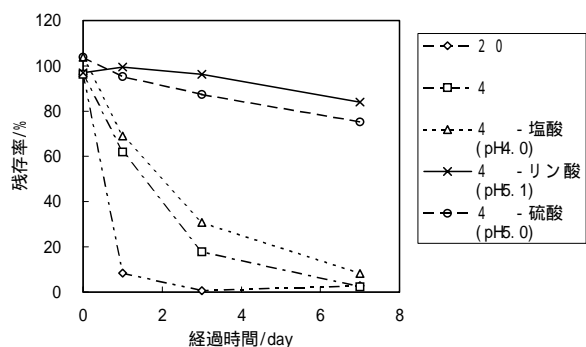


図2 海水でのヒドロキノン分解

3-6 マススペクトル及び質量数の設定

ヒドロキノンのペンタフルオロベンゾイル誘導体のマススペクトルを図3に示す。ベースピークは m/z 195であるが、これは、ペンタフルオロベンゾイルイオンなので、他の誘導体やサロゲートの誘導体にも存在する。そこで、分子ピークの m/z 498を定量用質量数とし、 m/z 499を確認用質量数とした。

サロゲートとして用いたヒドロキノン- d_6 のペンタフルオロベンゾイル誘導体のマススペクトルを図4に示す。重水素のうち2つは反応の際に溶液に移行するので、分子ピークは m/z 502となる。これをモニター質量数とする。

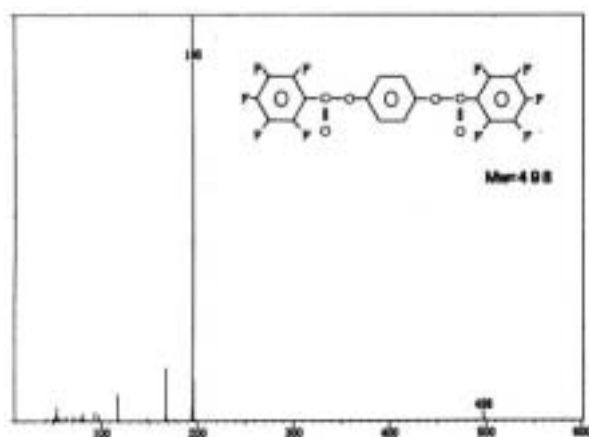


図3 ヒドロキノン - ペンタフルオロベンゾイル誘導体のマススペクトル

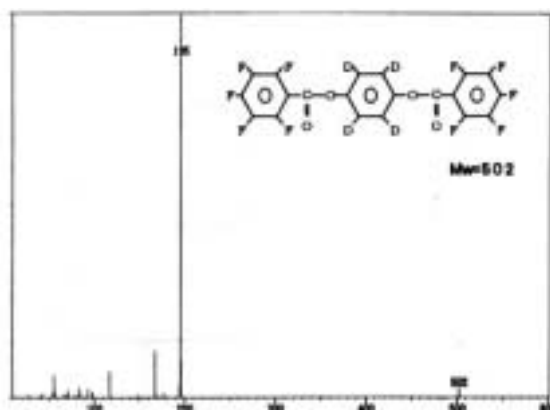


図4 ヒドロキノン- d_6 - ペンタフルオロベンゾイル誘導体のマススペクトル

3-7 クロマトグラム

図5に標準品のマスクロマトグラム、図6、7、8に環境試料のマスクロマトグラムを示す。

ヒドロキノンには、オルト位に水酸基があるカテコールとメタ位に水酸基があるレゾルシンの2つの異性体があり、これら3つの物質はマススペクトルはほとんど同じで、標準品では図5のようにマスクロマトグラムに現れる。なお、添加回収試験にはこれらの異性体も添加した。

3-8 p-キノン

ヒドロキノンの酸化体であるp-キノンは、この条件ではヒドロキノンと同一の誘導体となる。p-キノンからヒドロキノンには容易に変化するため、この条件での分離はできないと思われる。

3-9 評価

本分析法により、環境中に存在するヒドロキノン μ g/Lレベルで測定することが可能である。ただし、ヒドロキノンの酸化体であるp-キノンも同時に定量される。

4. 参考文献

- 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), 846-853, (滋賀県 1980)
- 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), 95-101, (北海道 1982)

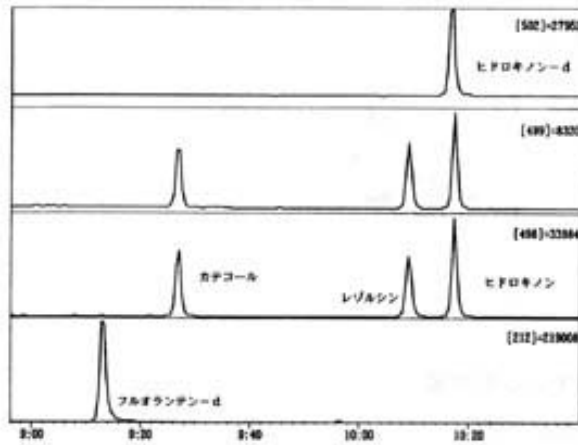


図5 ヒドロキノン-ペンタフルオロベンゾイル誘導体のマスクロマトグラム

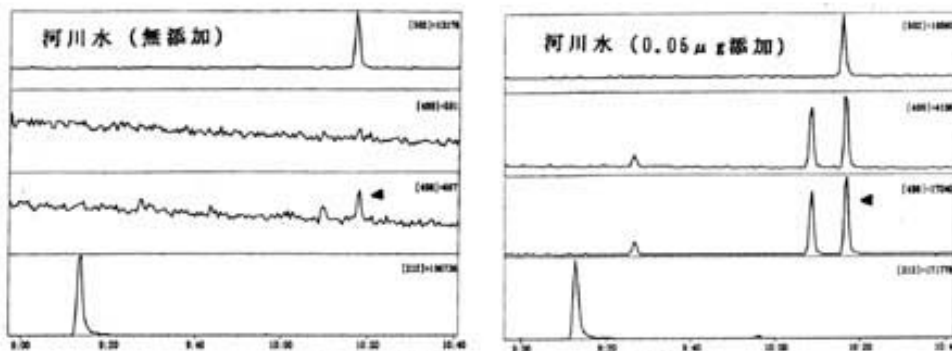


図6 河川水のマスクロマトグラム

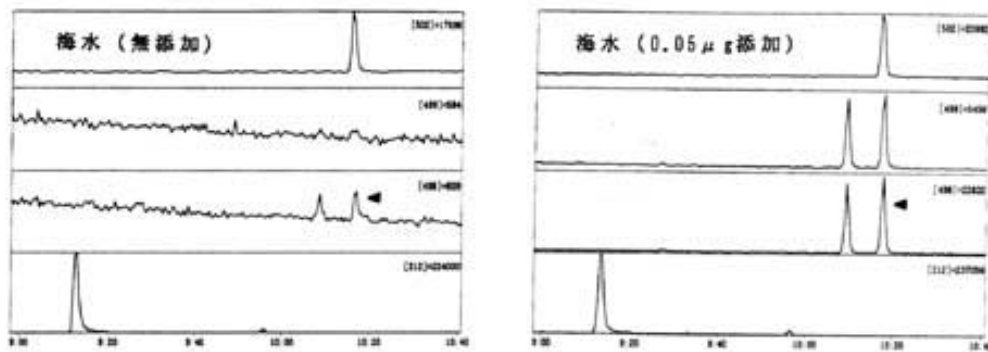


図7 海水のマスクロマトグラム

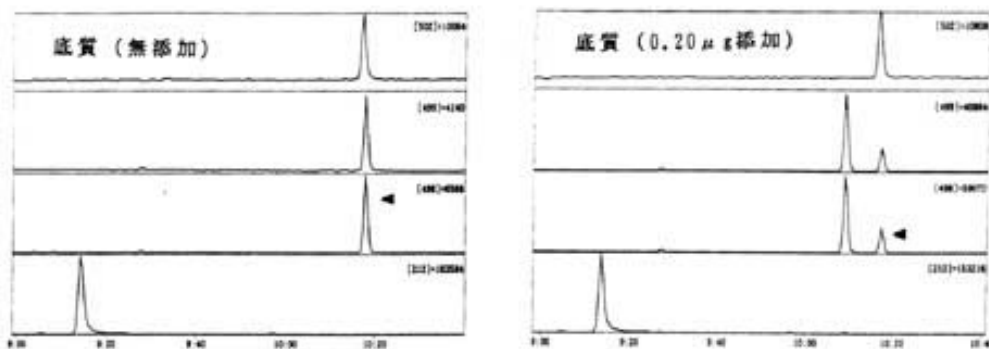


図8 共通底質のマスクロマトグラム