

水質及び底質中の1,2-エタンジオール, 1,2-ブタンジオール, 2-メチル-2,4-ペンタンジオールの分析法について

Analytical Method of 1,2-Ethandiol 1,2-Butanediol, and
1,2-Methyl-2,4-Pentanediol 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6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1,2-エタンジオール(エチレングリコール)、1,2-ブタンジオール(1,2-ブチレングリコール)、2-メチル-2,4-ペンタンジオール(ヘキシレングリコール)の分析法の開発を検討したものである。

2. 分析法要旨

水質試料は、ジクロロメタン・ヘキサン混液で洗浄後、ロ-タリ-エバポレ-タ-で濃縮し、フェニルホウ酸により誘導体化し、ヘキサンで抽出を行い、脱水、濃縮後、GC/MS(SIM)で定量する。

底質試料は、水で抽出し、遠心分離を行い、ジクロロメタン・ヘキサン混液で洗浄した後、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をガラス繊維ろ紙で吸引ろ過し、1lの分液口-トにとり、ジクロロメタン-ヘキサン(1:1)溶液100mlで1回、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-タ-バス中でロ-タリ-エバポレ-タ-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。この濃縮液を500mlの分液口-トに移し、塩化ナトリウム30g(海水では15g)、0.5%フェニルホウ酸溶液10mlを加え、3分間激しく振とうして誘導体化を行う(注2)。反応後、ヘキサン100mlで2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。(注3)

〔底質試料〕 試料20gを300mlの共栓付三角フラスコに取り、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。この抽出液をガラス繊維ろ紙で吸引ろ過し、ろ液を500mlの分液口-トに移した後、ジクロロメタン・ヘキサン洗浄する。以下〔水質試料〕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-タリ-エバポレ-タ-(ウォ-タ-バス 40)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アセナフテン-d₁₀(1.0µg/ml、ヘキサン溶液)を正確に0.5ml加え、窒素ガスを吹きつけ5ml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。

【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、1000µg/mlの標準原液とする。標準原液を精製水で順次希釈し、1.0µg/mlの標準溶液を調整する。この標準溶液の0~2.0mlを段階的に取り、精製水で100mlに定容する。(注3)500mlの分液口-トに移し、塩化ナトリウム30g、0.5%フェニルホウ酸溶液10mlを加え、3分間激しく振とうし

て誘導体化を行う。ヘキサン100mlで2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〕

使用機種

GC：Hewlett-Packard社製 5890

MS：日本電子(株)製 Automass 50

カラム：DB-17 0.25mm×15m 膜厚0.25µm(J&W社製)

カラム温度：60 (1分間) 10 /min 200 (3分間)

注入口温度：250

注入方法：スプリットレス(パ-ジオフ時間 1分)

キャリア-ガス：He 線速度 30cm/sec at 60 (ヘッド圧 50kPa)

イオン化法：EI

イオン化電圧：70V

インタ-フェ-ス温度：250

イオン源温度：220

モニタ-質量数：

エチレングリコ-ル誘導体 m/z 148,118

1,2-ブチレングリコ-ル誘導体 m/z 147,176

ヘキシレングリコ-ル誘導体 m/z 189,204

アセナフテン-d₁₀ m/z 164(内部標準物質)

〔検量線〕

標準液2µlをとり、GC/MSに注入し、標準物質と内部標準物質のピ-ク面積比から検量線を作成する。(注4)

〔定量〕

試料液2µlをGC/MSに注入し、得られたクロマトグラム上のピ-ク面積と内部標準物質のピ-ク面積の比から検量線により定量値を求める。

〔計算〕

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

〔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5)

1,2-エチレングリコ-ル

測定不能

1,2-ブチレングリコ-ル

| | 試料量 | 検出限界 | 定量限界 |
|------|-------|-----------|-----------|
| 水質試料 | 500ml | 0.16 µg/l | 0.56 µg/l |
| 底質試料 | 20g | 2.3 µg/kg | |

ヘキシレングリコ-ル

| | 試料量 | 検出限界 | 定量限界 |
|------|-------|-----------|-----------|
| 水質試料 | 500ml | 0.17 µg/l | 0.57 µg/l |
| 底質試料 | 20g | 2.1 µg/kg | |

試薬・器具

【試薬】

フェニルホウ酸(ジヒドロキシフェニルボラン)：Aldrich社製

ジクロロメタン、ヘキサン、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。

アセナフテン-d₁₀：MSD ISTOPES社製

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

【器具】

ロ-タリ-エバポレ-タ-、ウオ-タ-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。

ガラス繊維ろ紙：アドバンテック社製 GS25を精製水で洗浄して用いる。

分液ロ-ト(1l, 500ml), 共栓付三角フラスコ(300ml), フラスコ(1l, 300ml),

遠沈管(250ml), 濃縮受器(5ml)

これらの器具は、アセトンで十分洗浄し、乾燥後使用する。

注解

(1)濃縮が50ml以下になると、ヘキシレングリコ-ルの回収率が低下する。

(2)この時にヘキサンを加えて、誘導体化反応と溶媒抽出を同時に行うと、1,2-ブチレングリコ-ル

が抽出されない。

(3)誘導体化物は安定なので、一週間程度の後、GC/MS測定しても定量に影響はない。

(4)誘導体化物は標準品無添加からも検出されるので、標準品無添加を加えた検量線を作成する。

(5)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。

1,2-ブチレングリコ-ル 水質

| | | | |
|------------|--------|--------|--------|
| 試料濃度(μg/l) | 0.40 | 0.80 | 1.20 |
| 応答値(x) | 0.3590 | 0.6982 | 1.0797 |
| 標準偏差(R) | 0.0219 | 0.0255 | 0.0475 |
| 検出力(Dn) | 0.0389 | 0.0465 | 0.0840 |
| 検出限界(D×3) | 0.1695 | | |
| 定量限界(D×10) | 0.5650 | | |
| 不偏分散(Fd) | 4.69 | | |

底質

| | |
|----------------|-----------|
| 検出限界推定値(μg/kg) | 5.0 |
| 試料濃度(μg/kg) | 25 |
| 分析値(x) | 19.3 |
| 標準偏差(Sc) | 0.74 |
| 検出限界(DL) | 2.33 |
| 95%信頼区間 | 1.49-5.12 |

ヘキシレングリコ-ル 水質

| | | | |
|------------|--------|--------|--------|
| 試料濃度(μg/l) | 0.40 | 0.80 | 1.20 |
| 応答値(x) | 0.4307 | 0.7700 | 1.1162 |
| 標準偏差(R) | 0.0379 | 0.0229 | 0.0458 |
| 検出力(Dn) | 0.0560 | 0.0380 | 0.0784 |
| 検出限界(D×3) | 0.1725 | | |
| 定量限界(D×10) | 0.5751 | | |
| 不偏分散(Fd) | 3.98 | | |

底質

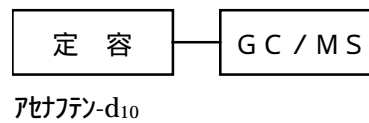
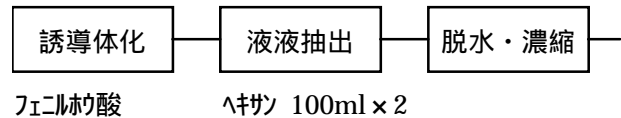
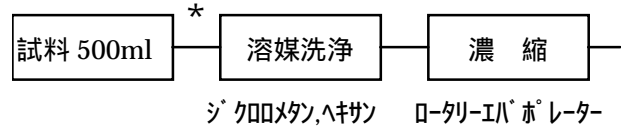
| | |
|----------------|-----------|
| 検出限界推定値(μg/kg) | 5.0 |
| 試料濃度(μg/kg) | 25 |
| 分析値(x) | 18.2 |
| 標準偏差(Sc) | 0.67 |
| 検出限界(DL) | 2.11 |
| 95%信頼区間 | 1.35-4.64 |

3. 解説

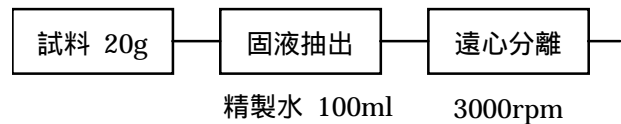
【分析法】

〔フロ-チャ-ト〕

【水質試料】



【底質試料】



以下、水質試料の*に続く

〔分析法の検討〕

3-1. 試料の濃縮・抽出・誘導体化の検討

エチレングリコ-ル(EG), ヘキシレングリコ-ル(HG), ジエチレングリコ-ル(DEG), 1,2-ブチレングリコ-ル(1,2-BG)は、いずれも水に易溶であり、液液抽出はできない。液固抽出も活性炭にHGは大部分吸着されたが、他の2物質はほとんど吸着されなかった。水蒸気蒸留では、HGのみが回収できた。

誘導体化物は、次のように生成した。

表1 誘導体の検討

| | EG | 1,2-BG | HG |
|----------------|----|--------|----|
| トリフルオロアシル化 | | | × |
| ヘプタフルオロアシル化 | × | × | × |
| ペンタフルオロベンゾイル化 | × | × | × |
| トリメチルシリル化 | × | × | × |
| 環状フェニルホウ酸エステル化 | | | |
| 環状ブチルホウ酸エステル化 | × | | |

このことから、EG, 1,2-BG, HGは、水溶液中でフェニルホウ酸エステル化を行うこととした。

3-2. EG - フェニルホウ酸誘導体のブランクについて

図1にEG, 1,2-BG, HGの標準品の誘導体のマスクロマトグラムを示す。図2に空試料液のマスクロマトグラムを示す。EGのピークと同一の保持時間に現れたピークのマスマスペクトルは、標準品のマスマスペクトルは同一のものであった。これは、ppbオ - ダ - の分析に影響を及ぼすレベルである。

フェニルホウ酸中の不純物と考え、フェニルホウ酸を熱水で3回再結晶し、精製しても変わらない。また、Aldrich社製以外の東京化成、和光純薬製のフェニルホウ酸を使用してみたが、EGが検出される。容器ブランクやその他の試薬からの汚染でもなかった。

また、カラムや注入口でフェニルホウ酸がEG - フェニルホウ酸誘導体となっていることも考えられるので、フェニルホウ酸の除去を検討してみたが、Sep-Pakのフロリジルやジオ - ルならびに陰イオン交換樹脂でも、フェニルホウ酸は除去できなかった。

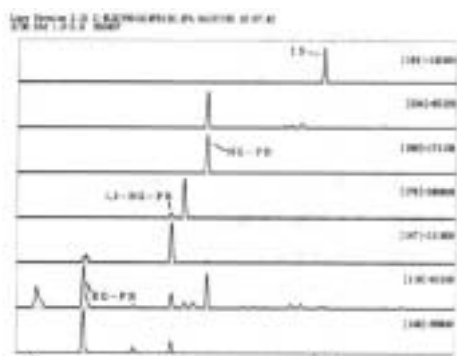


図1 EG, 1,2-BG, HGの標準品の誘導体のマスクロマトグラム

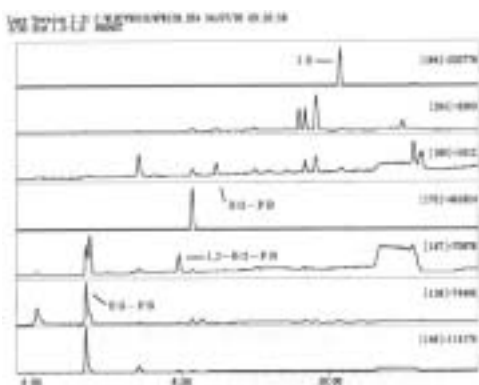


図2 空試料液のマスクロマトグラム

3-3. フェニルホウ酸誘導体化の検討

・誘導体化試薬の添加量

精製水を用いて前処理を行い添加するフェニルホウ酸濃度を検討した結果を図3に示す。HGはいずれでも変わらないが、1,2-BGが0.5%で最大になる。また、0.5%を10ml加えたものと15ml加えたものではピーク高さは変わらない。このことから、試料水100mlに対して0.5%フェニルホウ酸溶液を10ml加えることとした。

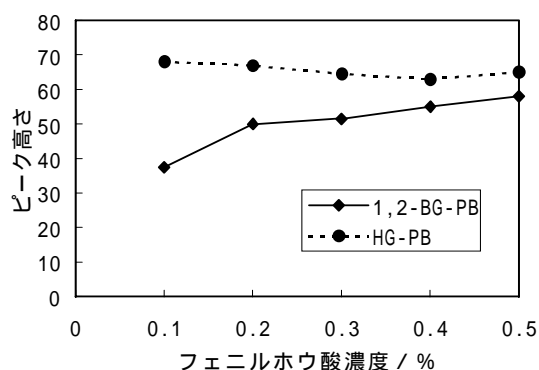


図3 フェニルホウ酸濃度の検討

・液液抽出時の条件

精製水を用いて前処理を行いヘキサンによる液液抽出時における塩の量と溶媒の量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30gとし、ヘキサン100ml使用した。

表2 液液抽出時における塩析効果

| ヘキサン/ml | 50 | | 100 | |
|-----------|------|------|------|------|
| 塩化ナトリウム/g | 15 | 30 | 15 | 30 |
| 1,2-BG | 1.50 | 2.56 | 2.00 | 3.20 |
| HG | 2.86 | 2.86 | 2.86 | 3.10 |

・Dean Stark還流

HGで70%回収されるが、1,2-BGは回収されない。

3-4. 検量線

1,2-BGのフェニルホウ酸誘導体(BG - PB)とHGのフェニルホウ酸誘導体(HG - PB)の検量線の例を図4に示す。

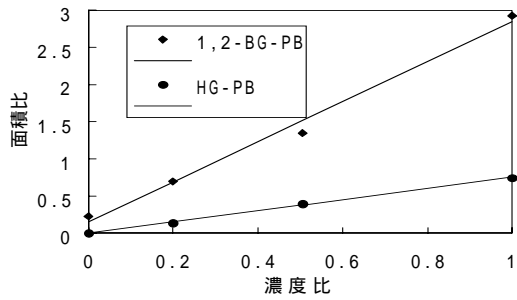


図4 1,2-BG - PB誘導体, HG - PB誘導体の検量線

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。

1,2-BG

| 試料 | 添加量 (μg) | 試料量 | 回数 | 回収率 (%) | C.V. (%) |
|-----|--------------------------|-------|----|------------|----------|
| 精製水 | 0.2 | 500ml | 4 | 89.7 | 6.1 |
| 精製水 | 0.4 | 500ml | 4 | 87.2 | 3.6 |
| 精製水 | 0.6 | 500ml | 4 | 89.9 | 4.4 |
| 河川水 | 0.5 | 500ml | 3 | 81.2 | 4.3 |
| 海水 | 0.5 | 500ml | 3 | 73.1 | 4.9 |
| 底質 | 0.5 | 20g | 7 | 77.4 | 3.8 |

HG

| 試料 | 添加量 (μg) | 試料量 | 回数 | 回収率 (%) | C.V. (%) |
|-----|--------------------------|-------|----|------------|----------|
| 精製水 | 0.2 | 500ml | 4 | 107.5 | 8.8 |
| 精製水 | 0.4 | 500ml | 4 | 96.2 | 2.9 |
| 精製水 | 0.6 | 500ml | 4 | 92.5 | 4.1 |
| 河川水 | 0.5 | 500ml | 3 | 81.0 | 9.4 |
| 海水 | 0.5 | 500ml | 3 | 80.2 | 2.4 |
| 底質 | 0.5 | 20g | 7 | 73.0 | 3.6 |

3-6. マススペクトル及び質量数の設定

EG - PB誘導体のマススペクトルを図5に示す。分子イオンピークは m/z 148である。このマススペクトルは, EGを添加しない場合に生じるピークと同一である。

1,2-BG - PB誘導体のマススペクトルを図6に示す。分子イオンピークは m/z 176であるが, イオン強度が弱く, m/z 147を定量用質量数とし, m/z 176

を確認用質量数とした。

HG - PB誘導体のマススペクトルを図7に示す。分子イオンピークは m/z 204である。 m/z 189を定量用質量数とし, m/z 204を確認用質量数とした。

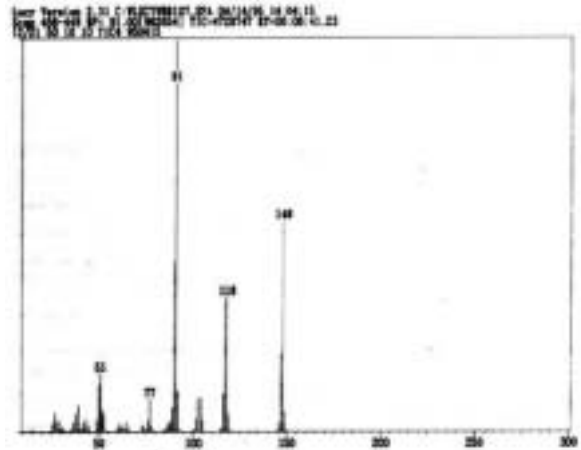


図5 EG - PB体のマススペクトル

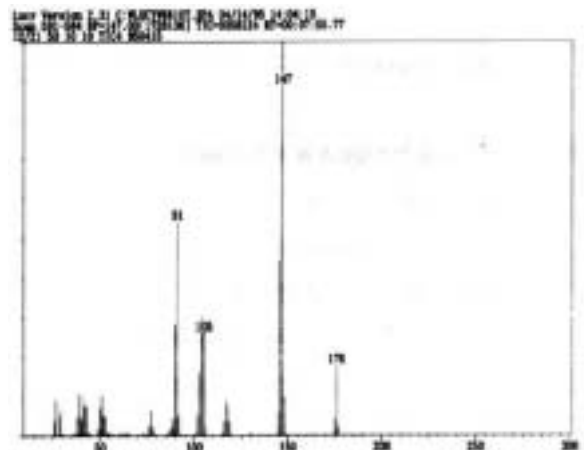


図6 1,2-BG - PB体のマススペクトル

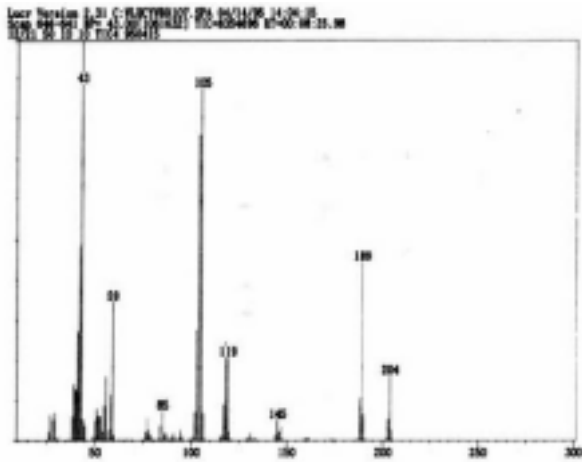


図7 HG - PB体のマススペクトル

3-7. クロマトグラム

図8, 9, 10に環境試料(河川水, 海水, 底質)のマスクロマトグラムを示す。

HGが河川水中から検出された。

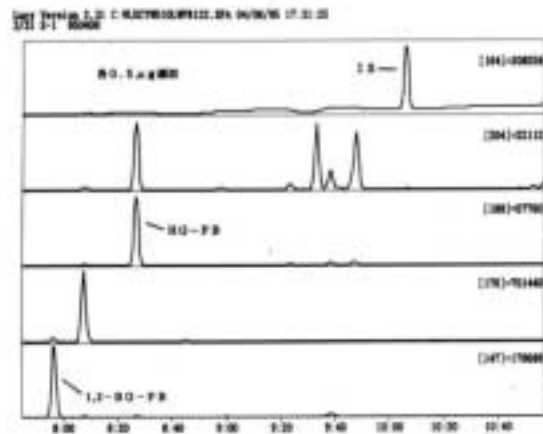
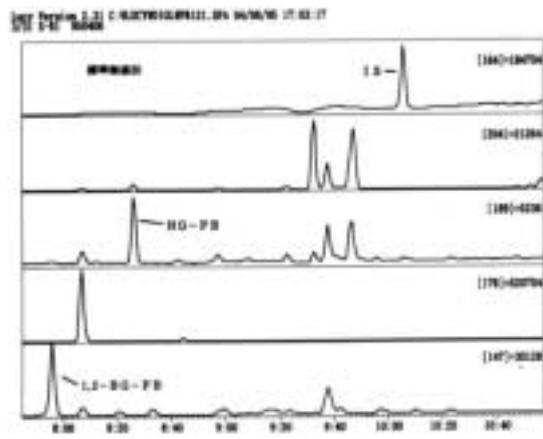


図9 海水のマスクロマトグラム

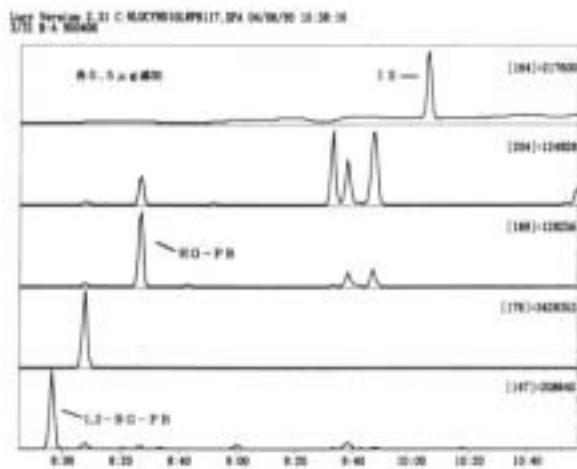
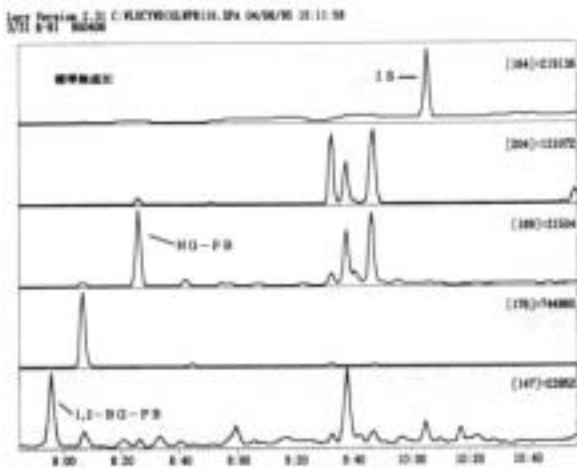


図8 河川水のマスクロマトグラム

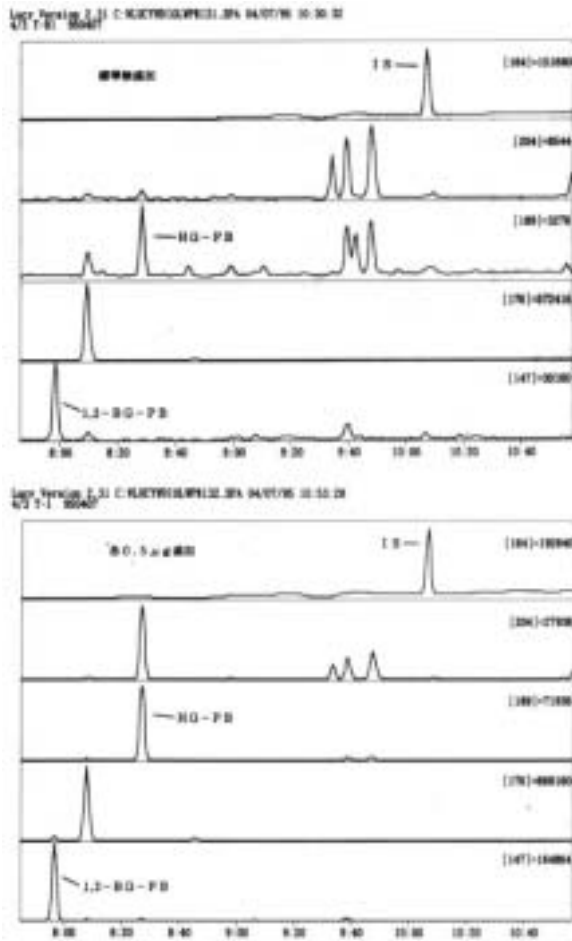


図10 底質のマスキロマトグラム

3-8. 分解性スクリーニング試験結果

GC/FIDで測定した結果、これら3物質は蒸留水中では、pH、光に関係なく、ほとんど分解は認められなかった。

1,2-エチレングリコール

| pH | 1時間後 | 5日後 | |
|----|------|-----|-----|
| | | 暗所 | 光照射 |
| 5 | 101 | 94 | - |
| 7 | 102 | 96 | 96 |
| 9 | 100 | 93 | - |

1,2-ブチレングリコール

| pH | 1時間後 | 5日後 | |
|----|------|-----|-----|
| | | 暗所 | 光照射 |
| 5 | 98 | 92 | - |
| 7 | 101 | 98 | 95 |
| 9 | 102 | 100 | - |

ヘキシレングリコール

| pH | 1時間後 | 5日後 | |
|----|------|-----|-----|
| | | 暗所 | 光照射 |
| 5 | 101 | 90 | - |
| 7 | 97 | 98 | 90 |
| 9 | 99 | 96 | - |

3物質とも初期濃度25 µg/ml, 単位は%

【評価】

本分析法により、環境中に存在する1,2-ブチレングリコールとヘキシレングリコールをppbレベルで測定することが可能である。

なお、エチレングリコールについては、ブランクが高いため、ppbレベルの分析はできない。

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(上巻) p.1052-1063(昭和60年度三重県)