

# 水質、底質中の2-メトキシフェノール、3-メトキシフェノール、4-メトキシフェノールの分析法について

## Analytical Method of 2-Methoxyphenol, 3-Methoxyphenol and 4-Methoxyphenol in Water and Sediment

中島 純夫（現在水質試験所） 浦嶋 幸雄

### 1 はじめに

本報告は、昭和60年度に環境庁より化学物質分析法開発調査（化学物質環境汚染実態調査の一環）の委託を受け、分析法を開発したものである。

### 2 分析法

水試料については、炭酸水素ナトリウムを触媒として無水酢酸でアセチル化した後、ジクロロメタンで抽出する。底質試料は、1 N水酸化ナトリウムで振とう抽出した後、これを塩酸で中和し、生成した沈澱を遠心分離し、水洗を行った後、水試料と同様に行う。アセチル化反応率を良くする目的で、アセチル化の前にpH 9.5のホウ酸緩衝液を加える。定量は、GC/MFにより行い、試料がGC/MSを汚染すると思われる際には、セップパックフロリジルによるカラムクロマトグラフィーを行う。

### 試験法

#### 【試験の前処理】

〔水質試料〕試料200 mlを分液漏斗に取り、pH 9.5ホウ酸緩衝液10 mlを加えてpHを調整した後、炭酸水素ナトリウム1 g、無水酢酸0.5 mlを加え、約5分間静置した後ジクロロメタン20 mlで5分間振とう抽出する。水層をジクロロメタン20 mlでさらに抽出した後、ジクロロメタン層を無水硫酸ナトリウムで脱水し、常圧下でKD濃縮器で濃縮する。KD

濃縮器をスナイダー管ごと少量のジクロロメタンで洗い込みKD受器をはずし、窒素ガスを吹きつけて乾固させないように1 mlになるまで濃縮し、試料液とする。セップパックフロリジルによるカラムクロマトグラフィーを必要とする際には、ジクロロメタン10 mlで溶離させた後1 mlに濃縮する。

〔底質試料〕試料20 gを共栓遠心管にとり、1 N水酸化ナトリウム40 mlを加え、15分間振とうする。3000 r.p.mで5分間遠心分離し、アルカリ抽出液を他の容器に移したのち、残渣にさらに1 N水酸化ナトリウム20 mlを加えてホモジナイズした後、15分間振とう抽出する。アルカリ層を合わせ、これを6 N塩酸で中和し、生成したコロイド状の沈澱を、3000 r.p.mで5分間遠心分離し、さらに、沈澱を水50 mlで2回水洗・遠心分離を繰り返す。水層及び洗液を合わせ約200 mlとし、以下、水試料と同様に操作する。

#### 【空試料液の調整】

試料と同量の精製水を用い、〔試料の前処理〕と同様に操作する。

#### 【標準液の調製】

3種の異性体各100 mgを精秤し、メタノールで100 mlとし、標準原液とする。標準原液を水またはメタノールで順次希釈し、0.05~0.5 μgを試料と同量の精製水を加え、〔試料の前処理〕と同様に操作し、検量線の作成に用いる。

【測定】

〔GC/MFの条件〕

充てん剤：5% FON Shimalite (NAW)(101)

カラム管：長さ2 m, 内径2.6 mm

カラム温度：180℃

注入口温度：210℃

キャリアーガス：He 30 ml/min

イオン化電圧：70 eV

セパレーター温度：250℃

イオン源温度：250℃

測定質量数：124

モニタリングイオン：109(2-, 4-メトキシフェノール), 94(3-メトキシフェノール)

〔検量線〕【標準液の調製】で調製した試料を各1μl GC/MSに注入して作成する。

〔定量〕試料液1μl GC/MSに注入し、得られたピーク高さにより検量線から定量値を求める。

〔計算〕

定量値(μg/l または μg/kg) = GC/MF 検出

$$\text{量(ng)} \times \frac{\text{最終試料量(ml)}}{\text{注入量(μl)} \times \text{試料量(ml または g)}}$$

〔検出限界及び定量限界〕各異性体とも下記の値となる。

	試料量	検出限界	定量限界
水質試料	200 ml	0.2 μg/l	0.7 μg/l
底質試料	20 g	2 μg/kg	7 μg/kg

試薬・器具

〔試薬〕

ジクロロメタン, メタノール：残留農薬試験用  
無水硫酸ナトリウム：PCB・フタル酸エステル分析用

炭酸水素ナトリウム：ジクロロメタンで洗浄し、  
風乾する。

無水酢酸・水酸化ナトリウム：特級試薬

pH9.5 ホウ酸緩衝液：0.1M ホウ砂を0.1N  
水酸化ナトリウムで  
pH9.5 とする。

〔器具〕

常圧用KD濃縮装置：スナイダー管を用いる。

ジクロロメタンの濃縮に使用する。

~~~~~ 注 解 ~~~~~

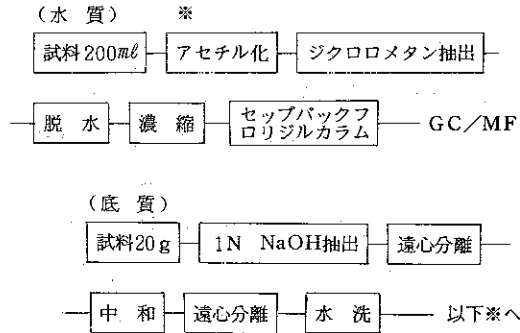
- 1) メトキシフェノールアセチル化体は揮発性が高いため、濃縮時に乾固させないようにする。
- 2) セップバックフロリジルからの溶出は比較的緩慢なため、あらかじめ標準品のアセチル化体でロットごとに溶出パターンを確認する必要がある。
- 3) 環境庁指定の方法により検出力Dを求めた。

| 試料名         | 濃度(μg/l) | 応答値                      | 計算結果                                                |                                                                              |
|-------------|----------|--------------------------|-----------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|
| 2-メトキシフェノール | 0.75     | 676<br>716<br>649<br>626 | $\bar{R} = 667$<br>$\sigma = 38.7$<br>$D_1 = 0.069$ | $\bar{D} = 0.052$<br>$\bar{D} \times 3 = 0.15$<br>$\bar{D} \times 10 = 0.52$ |
|             | 0.50     | 452<br>460<br>411<br>399 | $\bar{R} = 431$<br>$\sigma = 30.0$<br>$D_2 = 0.055$ |                                                                              |
|             | 0.25     | 191<br>218<br>193<br>222 | $\bar{R} = 206$<br>$\sigma = 16.3$<br>$D_3 = 0.031$ |                                                                              |
| 3-メトキシフェノール | 0.75     | 555<br>578<br>502<br>486 | $\bar{R} = 530$<br>$\sigma = 43.4$<br>$D_1 = 0.098$ | $\bar{D} = 0.054$<br>$\bar{D} \times 3 = 0.16$<br>$\bar{D} \times 10 = 0.54$ |
|             | 0.50     | 334<br>362<br>316<br>321 | $\bar{R} = 333$<br>$\sigma = 20.6$<br>$D_2 = 0.049$ |                                                                              |
|             | 0.25     | 173<br>175<br>180<br>189 | $\bar{R} = 179$<br>$\sigma = 7.1$<br>$D_3 = 0.016$  |                                                                              |
| 4-メトキシフェノール | 0.75     | 526<br>518<br>461<br>442 | $\bar{R} = 487$<br>$\sigma = 41.6$<br>$D_1 = 0.101$ | $\bar{D} = 0.062$<br>$\bar{D} \times 3 = 0.19$<br>$\bar{D} \times 10 = 0.62$ |
|             | 0.50     | 305<br>319<br>271<br>289 | $\bar{R} = 296$<br>$\sigma = 20.7$<br>$D_2 = 0.056$ |                                                                              |
|             | 0.25     | 137<br>150<br>139<br>161 | $\bar{R} = 147$<br>$\sigma = 11.1$<br>$D_3 = 0.030$ |                                                                              |

### 3 解説

#### 【分析法】

〔フローチャート〕



〔分析法の検討〕

#### 1 検量線

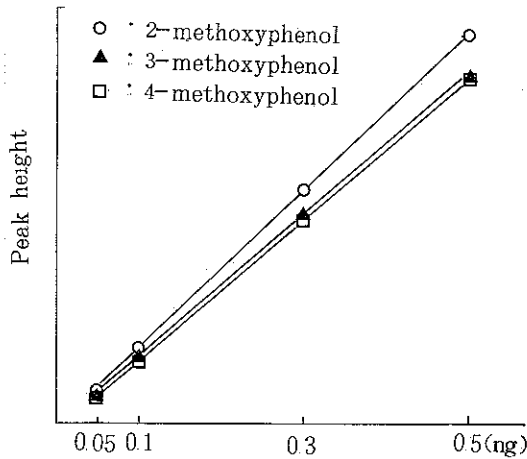


図1 検量線の例

#### 2. 添加回収実験 (n = 5)

| 物質名         | 試料  | 添加量    | 試料量    | 回収率 (%) | R. S. D |
|-------------|-----|--------|--------|---------|---------|
| 2-メトキシフェノール | 河川水 | 0.4 μg | 200 ml | 92      | 5.4     |
|             | 海水  | 0.4 μg | 200 ml | 84      | 6.4     |
|             | 底質  | 0.1 μg | 20 g   | 74      | 10.7    |
| 3-メトキシフェノール | 河川水 | 0.4 μg | 200 ml | 85      | 6.8     |
|             | 海水  | 0.4 μg | 200 ml | 98      | 4.1     |
|             | 底質  | 0.1 μg | 20 g   | 62      | 7.3     |
| 4-メトキシフェノール | 河川水 | 0.4 μg | 200 ml | 84      | 7.0     |
|             | 海水  | 0.4 μg | 200 ml | 96      | 4.7     |
|             | 底質  | 0.1 μg | 20 g   | 85      | 11.4    |

#### 3 分解性スクリーニング結果 (初期濃度 10 μg/ml, 単位%)

| pH | 2-メトキシフェノール |       | 3-メトキシフェノール |      | 4-メトキシフェノール |      |
|----|-------------|-------|-------------|------|-------------|------|
|    | 5日間         |       | 5日間         |      | 5日間         |      |
|    | 1時間         | 暗所照射  | 1時間         | 暗所照射 | 1時間         | 暗所照射 |
| 5  | 100.7       | 99.6  | 99.1        | 96.4 | 99.3        | 98.4 |
| 7  | 101.2       | 101.2 | 100.7       | 99.7 | 98.4        | 99.3 |
| 9  | 99.1        | 100.7 | 98.4        | 97.8 | 97.4        | 98.4 |

#### 4. マススペクトル

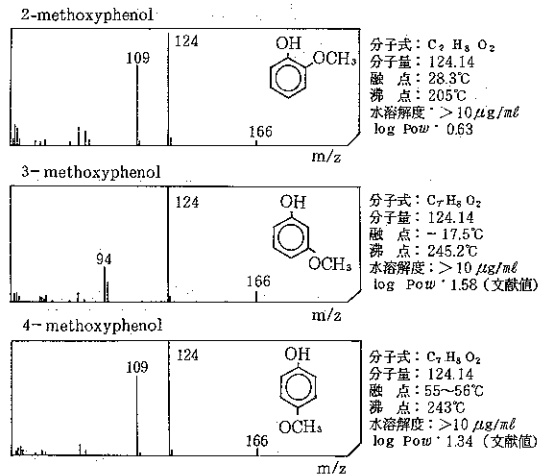


図2 メトキシフェノールアセチル化体のマススペクトル

5. マスフラグメントグラム

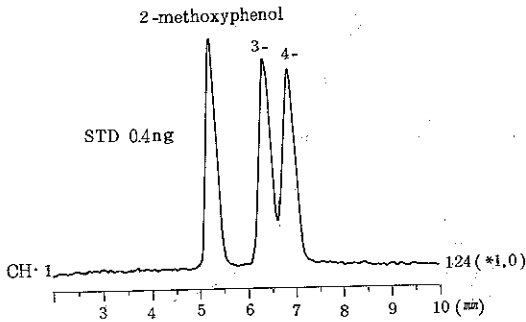


図3 メトキシフェノールアセチル化体のマスフラグメントグラム

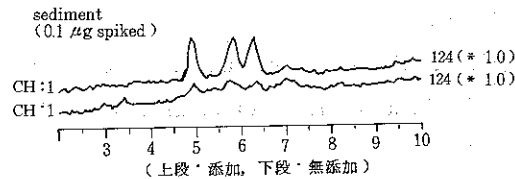
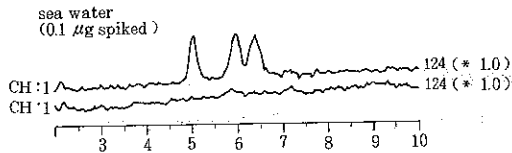
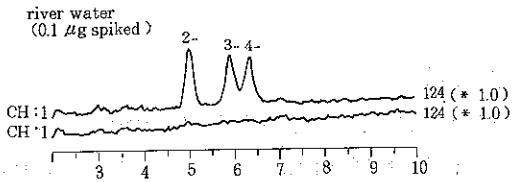


図4 実試料のマスフラグメントグラム

6. キャピラリーカラムによる検討

5% FON 充てんカラムによる分離が完全ではないためキャピラリーカラムによるGC/MFを行ったところ、良好な分離が得られた。図5に0.5 μg 添加した標準底質のマスフラグメントグラムを示す。また、ジクロロフェノール類は、メトキシフェノールと同一分析操作上でアセチル化され、

5% FON カラムでは保持時間が近く妨害となる可能性があるため、キャピラリーカラムによる分離を試みたところ、メトキシフェノールとジクロロフェノールは完全に分離可能であった。

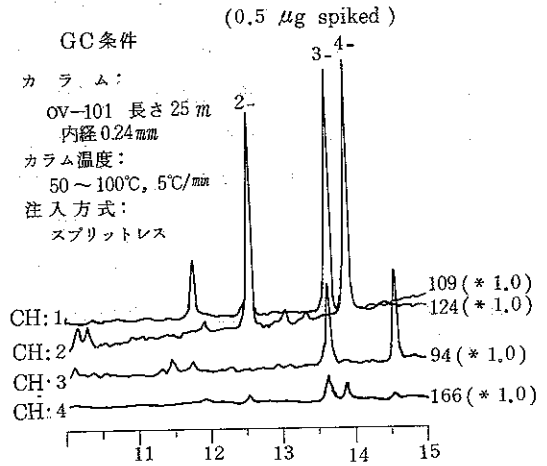


図5 標準底質のキャピラリーGC/MFによるクロマトグラム

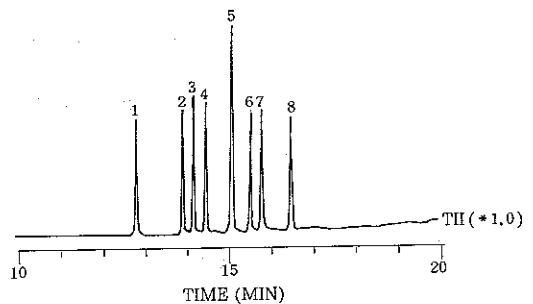


図6 キャピラリーGCによるメトキシフェノールとクロロフェノールの分離 (図5と同一GC条件)

- 1 : 2-メトキシフェノール
- 2 : 3-メトキシフェノール
- 3 : 4-メトキシフェノール
- 4 : 2, 3-ジクロロフェノール
- 5 : 2, 4-, 2, 5-ジクロロフェノール
- 6 : 2, 6-ジクロロフェノール
- 7 : 3, 5-ジクロロフェノール
- 8 : 3, 4-ジクロロフェノール

## 7 アセチル化反応に対する pH の影響

炭酸水素ナトリウムが過剰に存在すると底質では発生する二酸化炭素による泡が分液漏斗から溢れ出す事があるため炭酸水素ナトリウム 1 g, 無水酢酸 0.5 ml としたところ, 試料によっては未反応のメトキシフェノールが存在した。アセチル化はエステル化反応であり, 炭酸水素ナトリウムが触媒として作用することを考慮すると, 溶液中の pH が影響する事が予想される。図 7 は Britton-Robinson の広域緩衝液を等倍に希釈した水溶液中での pH とアセチル化体ピーク高との関係を示した図で, pH 9 と 10 の間でピーク高が最大となり, この程度の pH が適していることを示している。

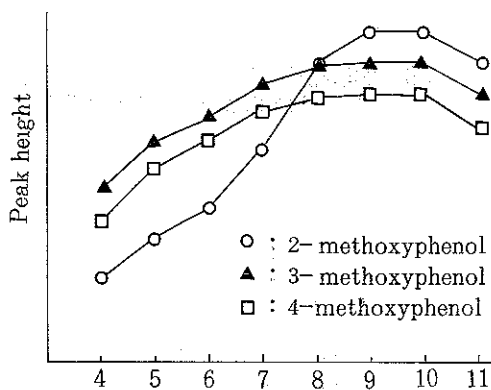


図 7 pH とアセチル化反応の関係

## 8 クリーンアップの検討

底質試料では 1 N 水酸化ナトリウムで抽出を行っているため, あらゆる酸性物質が抽出されており, GC/MS を汚染する可能性があるため, セツパックフロリジルによるクリーンアップについて検討を行ったところ, 各アセチル化体ともジクロロメタン 8 ml で溶離し, 着色成分を除去できた。

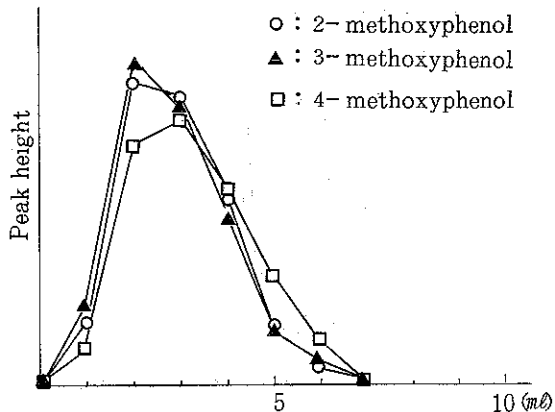


図 8 セツパックフロリジルからの溶離パターン例

## 【評価】

5% FON カラムによる分離が完全ではないが, 水質 1 ppb, 底質で 10 ppb レベルの分析が充分可能である。

## 参考文献

- 1) R. T. Coutts, E. E. Hargesheimen and F. M. Pasutto, J. Chromatography, 179, 291 (1979)
- 2) R. T. Coutts, E. E. Hargesheimen and F. M. Pasutto, J. Chromatography, 195, 105 (1980)
- 3) 漆川芳国, 米澤義堯, 益永茂樹, 山口文男, 平井正直, 田中稔, 公害資源研究所彙報, 11, 83 (1981)

## 4 あとがき

本分析法により, 環境庁実施の昭和 61 年度化学物質環境汚染実態調査が行われた。

(公害検査課 水質検査係)