

2-ヒドロキシベンズアルデヒドアジンをを用いた ヒドロキシルアミン、ヒドラジンの検出法について

赤石 準一 浦嶋 幸雄 前田 博之* 菊地由生子

要 旨

地下水中からヒドロキシルアミン、ヒドラジンを検出することを最終目的にその分析方法の検討を試みた。

アミン類の試料からの抽出は固相のセップパック C_{18} とアクセルプラス CM を用いた。

蛍光誘導体化試薬としての 2-ヒドロキシベンズアルデヒドアジンは 2-ヒドロキシベンズアルデヒドと硫酸ヒドラジンから合成した。

アミン類単独及び混合液の Synergistic effect の定量は 2-ヒドロキシベンズアルデヒドアジンをを用い、示差動力学的方法により定量することができた。

アミン類混合液の 5 回の平均偏差 (%) は約 $\pm 1.5\%$ の精度であった。

1. 緒 言

ヒドロキシルアミン、ヒドラジンは人体に吸収されると肝臓に蓄積して障害を及ぼすとされている。水中での微量のアンモニアは硝化菌による硝化過程でヒドロキシルアミンに変成する経路がある。一方、河川水にも工場排水によるヒドラジンの混入も考えられる。よって地下水中からこれらの物質を検出することは意義あるものと考えられた。しかし標記混合物の分析例については他に見いだすことができなかった。そこで 2 種類のカートリッジカラムを用いて、試料からのアミン類の分取方法の検討と、蛍光誘導体化試薬としての 2-ヒドロキシベンズアルデヒドアジン (以下 2-OH・BAA) を用いたアミン類の示差動力学的定量方法の検討を行った。その結果若干の知見を得たので報告する。

2. 方 法

2-1 試薬及び器具

(1) 標準試薬

ヒドラジン (無水, 特級), ヒドロキシルアミン (特級)

(2) 2-OH・BAA 縮合用及び合成用試薬

硫酸ヒドラジン (Merck 社), 酢酸ナトリウム, 2-ヒドロキシベンズアルデヒド, エタノール, メタノール, 水酸化ナトリウム (全て特級)

(3) カートリッジカラム

セップパック C_{18} , セップパック アクセルプラス CM (Waters 社)

2-2 装 置

マグネチックスターラー

融解点測定装置 (島津製)

蛍光分光光度計 F-4000 (日立製)

2-3 アミン類の分取方法

試料からアミン類を分取する際、妨害物質のアンモニアは、セップパック C_{18} をメタノールでコンディショニングし、pH 6.8 に調製した試料を通過させて除去した。次に、セップパック アクセルプラス CM を pH 6.8 の緩衝液でコンディショニングした後、先のろ液からヒドラジンを分取しようとするときは、ろ液を pH 8.7 に調製後 1 ml を負荷し、その溶出液は 0.3 N 硫酸、1 ml を用いた。また、ヒドロキシルアミンの分取にあたっては、ろ液を pH 6.8 に調製したもの 1 ml を負荷した。

ヒドラジン、ヒドロキシルアミンの混合溶液から、それぞれを分取するときは、前述の操作中、コンディショニングを終えたセップパック アクセルプラス CM に pH 8.7 及び pH 6.8 に調製した混合溶液をそれぞれ 1 ml 負荷した後、0.3 N 硫酸で溶出した。

2-4 2-OH・BAA の合成法

硫酸ヒドラジン 0.7 g, 酢酸ナトリウム 0.5 g を蒸留

* 札幌市白石保健所

水 25 ml に溶解した後、2-ヒドロキシベンズアルデヒド 1.2 g をエタノール 15 ml に溶解し先の溶液に加え、約 2 時間攪拌した。縮合反応で得られた 2-OH・BAA の結晶はカゼイン状で 95% エタノールに溶解し再結晶を繰り返して精製した。融点は 193°C であった。

2-5 誘導体化

試料を pH 11.0 に調製後、加水分解を防ぐため試料 10 ml に対してエタノールを 1 ml 加え、さらに $1.25 \times 10^{-3} \text{M}$ の 2-OH・BAA を 1 ml 加えた。次に、10 cm 石英セルに移し温度調節器付、蛍光分光光度計を用い 55°C を保持しながら誘導体化を行った (Table 1)。

2-6 波長の選定

ヒドロキシルアミン ($5 \times 10^{-3} \text{M}$)、ヒドラジン ($7 \times 10^{-4} \text{M}$)、pH 11.0 の水酸化ナトリウム溶液及び 2-OH・BAA ($1.25 \times 10^{-4} \text{M}$) の 4 種類の溶液について先の誘導体化条件にて励起及び蛍光波長を測定した。その結果、それぞれに共通した最大波長として、励起波長 347 nm、蛍光波長 462 nm を選定することとした (Fig 1)。

2-7 定量方法

ヒドロキシルアミン単独、ヒドラジン単独及びこれ

らの混合物の標準液に 2-OH・BAA を加え、反応直後からの蛍光強度を測定し、反応の進行を調べた。

定量範囲を求めるため、ヒドロキシルアミン ($10^{-3} \text{M} \sim 7 \times 10^{-3} \text{M}$)、ヒドラジン ($10^{-4} \text{M} \sim 7 \times 10^{-4} \text{M}$) の濃度範囲で、両者の濃度を変えて、12 の組み合わせをつくり、これらの反応時間曲線を作成した。未知試料の定量については同条件で反応時間曲線を求め、その最も近傍の標準液の反応時間曲線と示差濃度を判定することとした (Fig 2)。

3. 結 果

試料からのアミン類の分取はセップバック C_{18} を用いてアンモニアを除去した後、そのろ液をアクセルプラス CM に負荷し、0.3 N 硫酸 1 ml で溶出した。その結果、ほぼ良好な溶出曲線を得ることができた。2-OH・BAA は $5 \times 10^{-3} \text{M}$ の濃度で保存し約 2 カ月間は安定であった。ヒドロキシルアミン及びヒドラジンについて、10 分後の蛍光強度とその濃度との相関係数は、それぞれ $r=0.999$ と $r=0.944$ と高かった (Fig 3)。これに対し混合液の反応時間曲線は協同効果としての Synergistic effect を呈して測定された (Fig 4)。

混合液の 5 回の平均偏差は約 $\pm 1.5\%$ の精度であった。

4. 考 察

Fig 4 に示した混合液での Synergistic effect については 10 分後の測定値でヒドロキシルアミン、ヒドラジンの濃度の和に比例することなく各濃度列で特異的な反応時間曲線を示した。これは相乗抑制作用が働い

Table 1. アミン類の誘導体化条件

	NH_2OH	N_2H_4
0.1M NaOH(Final pH 11.0)	10ml	10ml
$1.25 \times 10^{-3} \text{M}$ 2-OH・BAA	1ml	1ml
Ethanol	1ml	—
Temperature	55°C	55°C

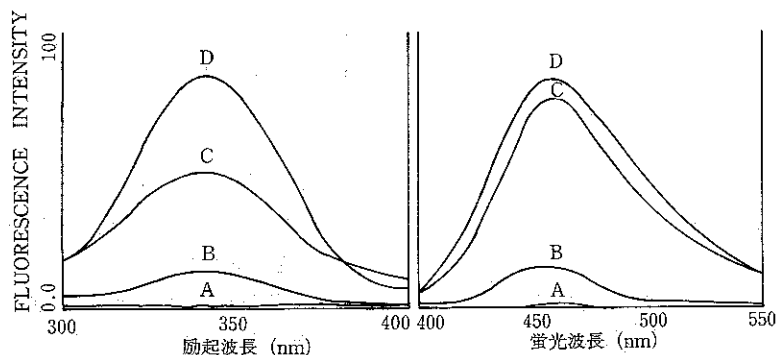


Fig. 1 2-OH・BAA との反応による励起及び蛍光波長曲線

- A: 2-OH・BAA ($1.25 \times 10^{-4} \text{M}$) alone B: Hydrolytic reaction at pH 11.0
C: Hydroxylamine ($5 \times 10^{-3} \text{M}$) D: Hydrazine ($7 \times 10^{-4} \text{M}$)

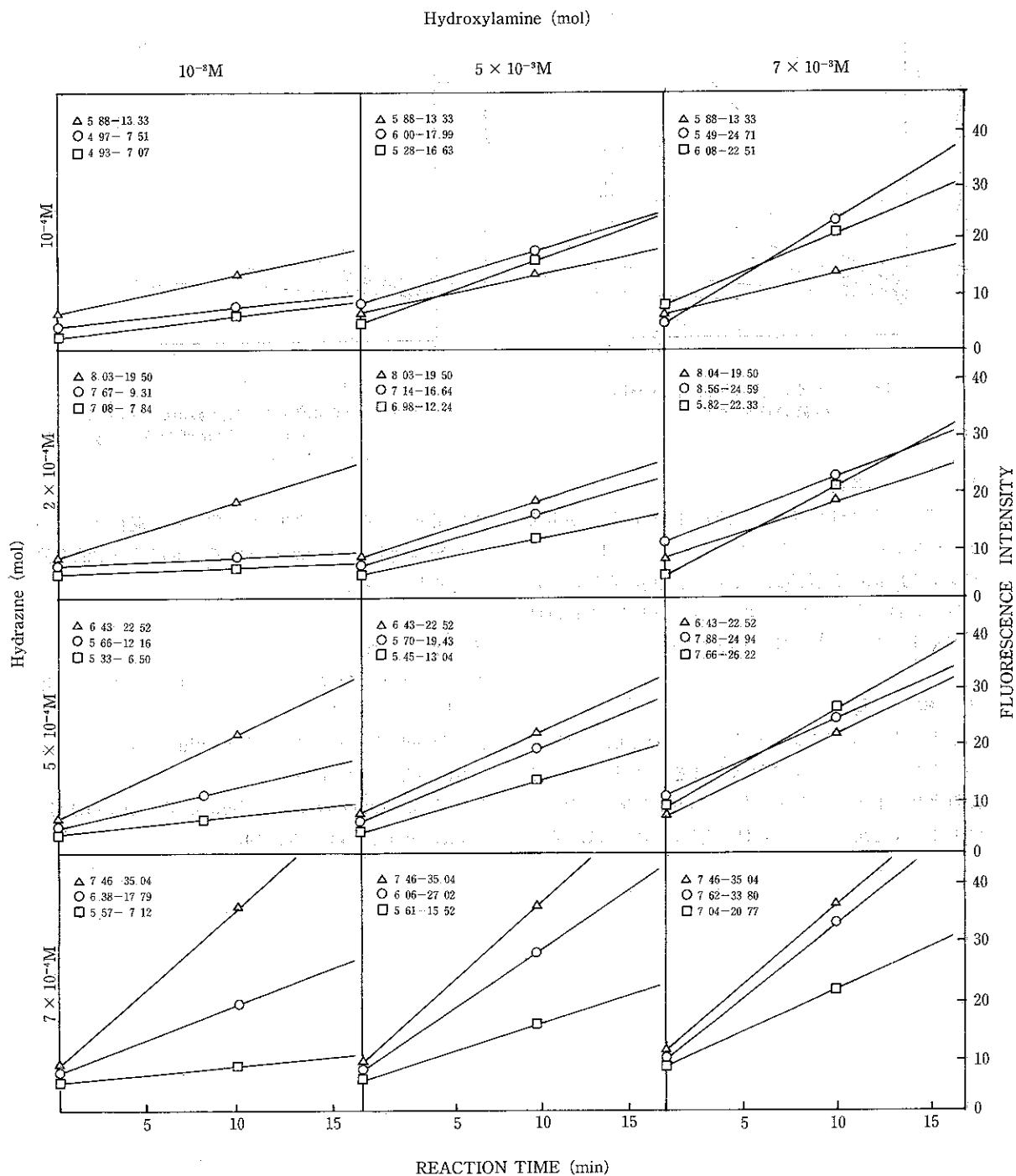


Fig. 2 アミン類単独及び混合液の Synergistic effect

△ : Hydrazine alone
○ : Mixture
□ : Hydroxylamine alone

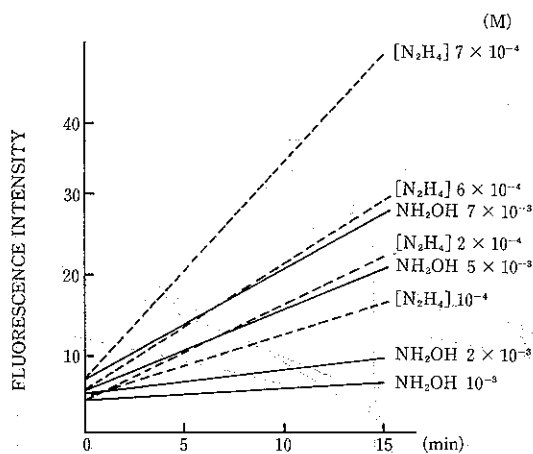


Fig. 3 Hydroxylamine, Hydrazine
単独の時間曲線

たものと考察された。

今回は標準試料を用いて分析方法を検討したが本法での検出感度がヒドロキシルアミンで 10^{-3} M, ヒドラジンで 10^{-4} M と比較的低いため, 実試料の定量については, 試料をあらかじめ濃縮したり, 固相への負荷量を増やすなどの工夫が必要と考えられた。

5. 結 語

ヒドロキシルアミン, ヒドラジンの分取はセップパック C_{18} とアクセルプラス CM を併用することで試料より分取することができた。合成で得られた 2-OH-BAA を用いたアミン類の定量については, 各ア

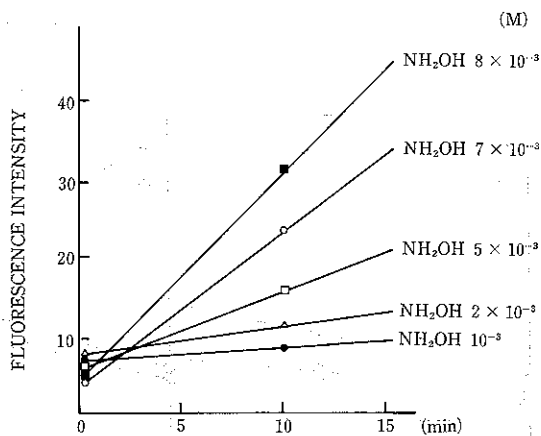


Fig. 4 一定濃度上の Hydrazine に対する
Hydroxylamine 濃度列の Synergistic effect

ミン類単独で良好な相関係数が得られ, 混合液についても Synergistic effect を含めて, 示差動力学的方法で定量することができた。

6. 文 献

- 1) 日本生化学会編, 代謝マップ, 140-141, 東京化学同人, 東京, 1980.
- 2) Angel, R. Manuel, S.: Fresenius Z Anal Chem, 320, 762-768, 1985.
- 3) M, D, Luque de, C. Miguel, V.: AFINIDAD, Mayojuño, 243-248, 1978.

Detective Method of Hydroxylamine and Hydrazine Using 2-Hydroxybenzaldehyde Azine

Junichi Akaishi, Yukio Urashima, Hiroyuki Maeda* and Yuko Kikuchi

ABSTRACT

An investigation of the analyzing method was conducted for the purpose of detecting hydroxylamine hydrazine in underground water.

Sep-Pak C₁₈ and Accel Plus CM were used for the extraction of amine from specimens.

2-hydroxybenzaldehyde azine, a fluorescent inductive reagent, was produced by condensing 2-hydroxy benzaldehyde and hydrazine sulfate.

Determination of synergistic effect of the pure amine or the mixture was conducted with the use of 2-OH · BAA and by the differential dynamics method.

As for accuracy, average deviation of 5 tests of an amine mixed liquid was approximately 1.5%.

*Sapporo Shiroshi Health Center