

水および底質中のブチルヒドロキシアニソール, ヒドロキノ ンおよびキノン誘導体の分析について

誌名	愛知県公害調査センター所報
巻/号	8
掲載ページ	p. 6-13
発行年月	1980年12月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



水および底質中のブチルヒドロキシアニソール、 ヒドロキノンおよびキノン誘導体の分析について

児玉 剛則

水および底質中の butyl hydroxy anisole, 2,5-di-tert-butyl-hydroquinone, 2,5-di-tert-butyl-quinone, 2,5-tert-amyl-hydroquinone および 2,5-tert-amyl-quinone の分析を、XAD-2 樹脂による吸着によって行った。50mlのXAD-2 樹脂を充てんしたカラムに1~10%の試料水を10ml/minの流速で通じて水中の化合物を捕集する。メチルアルコールとn-ペンタンによって、XAD-2 樹脂から化合物を溶出する。溶出液に精製水を加え、振とう抽出を行う。底質はメタノールによって振とう抽出し、n-ペンタンに転溶する。n-ペンタンを無水硫酸ナトリウムで脱水乾燥し、次いでスナイダー管を付属した蒸留器により濃縮する。共存物と分離するため、1gのフロリジルを充てんしたミニカラムへ目的物質を昇華せしめ、5%メチルアルコール含有n-ペンタン20mlで、フロリジカラムから溶出し、1mlに濃縮する。測定は1.5%SE30を液相としたカラムにより、GC(FID)あるいはGC/MS(MID)により行う。昇華分析を行えば、これらの化合物はいずれも十分分離される。この方法による検出限界は、水試料では1 μ g/l(FID)、底質では5 μ g/g(FID)であり、GC/MS(MID)によれば、この10倍の値となる。この分析方法は感度および選択性においてすぐれていた。

1 はじめに

プラスチックやゴムが空気中の酸素により酸化劣化を受け、品質低下が生じることを抑制、防止するため、酸化防止剤や老化防止剤が添加されている¹⁾。

これらの薬品の中で、ポリエチレンなどに添加されている2,6-di-tert-butyl-p-cresol: butyl-hydroxy-toluene(BHT)については、食品の容器や包装材から食品への移行が認められるため、多数の分析方法が検討されている²⁾⁻⁴⁾。また、環境中における残留量を測定するための分析方法も既に報告されている⁵⁾。しかし、BHTに類似したbutyl hydroxy anisole(BHA)や老化防止剤として使用されている2,5-di-tert-butyl-hydroquinone(BHQ)と2,5-di-tert-amyl-quinone(AHQ)ならびに、そのキノン体の環境中における残留量測定のための分析方法は検討されていない。

BHTを分析する際に使用されている精製方法には薄層クロマトグラフ^{6),7)}、カラムクロマトグラフ^{8),9)}、

水蒸気蒸留^{10),11)}および昇華¹²⁾などを利用しているが、BHQやAHQは熱に対して不安定であること、酸化物を形成するエチルエーテル中ではキノン体へ変化することなどを考慮して、著者は、昇華法を用いた精製法について検討した。また、BHA、BHQ、AHQおよびこれらのキノン体を同時に一括測定するガスクロマトグラフの条件を検討し、あわせて、水中におけるこれらの化合物の消長について若干の検討を行ったところ有益な知見が得られた。

2 試薬および器具

2・1 試薬

メチルアルコールおよび無水硫酸ナトリウム：和光純薬製残留農薬分析用。n-ペンタン：和光純薬製特級品を蒸留して使用した。フロリジル：和光製を使用した。XAD-2 樹脂：ローム・アンド・ハース社製を古賀ら¹³⁾の方法によって精製して使用した。標準品：butyl hydroxy anisole(BHA)

- 2,5-di-tert-butyl-hydroquinone (BHQ)
- 2,5-di-tert-butyl-quinone (BQ)
- 2,5-tert-amyl-hydroquinone (AHQ)
- 2,5-tert-amyl-quinone (AQ)

はすべて東京化成製を使用し、少量の四塩化炭素を使用して溶解し、次いで n-ペンタンにて 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 濃度の標準原液を調製し、これを適宜希釈して 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 濃度として使用した。

2・2 器具

昇華装置：ミル氏昇華管（水冷型）を Fig. 1 のように小型としたもの。

トラップカラム：Fig. 2 に示す。

循環式水蒸気蒸留装置：既報のとおり。

ガスクロマトグラフ (GC)：Perkin Elmer 社製 900型 (FID) を使用した。

ガスクロマトグラフ・質量分析計 (GC-MS)：日本電子製 JMS06H型 (MID) を使した。

3・1 水試料

あらかじめ、常法によって 50ml の XAD-2 樹脂を充てんしたカラム (径 20mm, 長さ 30cm) へ 1~20 ℓ の試料水を 10ml/min の流速で通過させる。次いで、カラム充てん剤をロート (径 50mm, 長さ 10cm) へ移し、メチルアルコール 25ml を展開する。次いで、n-ペンタン

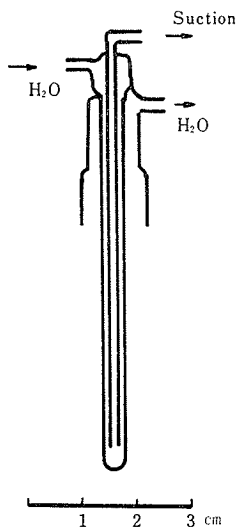


Fig. 1 Tube for sublimation

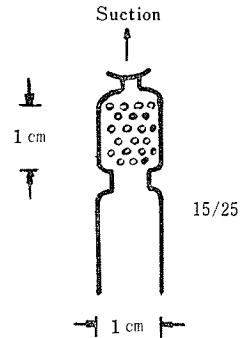


Fig. 2 Mini column for sublimation

75ml を展開し、先のメチルアルコールと混合し、精製水 30ml を加えて、10分間振とう抽出する。n-ペンタン層を分取し、無水硫酸ナトリウムによって脱水した後、スナイダー管を付属した装置により、常圧蒸留し n-ペンタンをほとんど留去する。

n-ペンタン留去後、直ちにフロリジルカラム (径 8mm, 長さ 1cm) を接続させ、昇華法によって共存物と分離する。フロリジルに吸着された試料を 5%メチルアルコール含有 n-ペンタン 20ml によって溶出させ、1ml に濃縮した後、GC (FID) あるいは GC/MS (MID) によって測定する。

3・2 底質試料

湿泥 100g とメチルアルコール 100ml を 500ml 三角フラスコに入れ、1時間振とう抽出する。分液ロートにメチルアルコール 50ml を分取し、精製水 50ml と n-ペンタン 100ml を加えた後、10分間振とう抽出する。

以下、水試料と同様に操作して測定を行う。以上の分析操作の概略を Fig. 3 に示す。

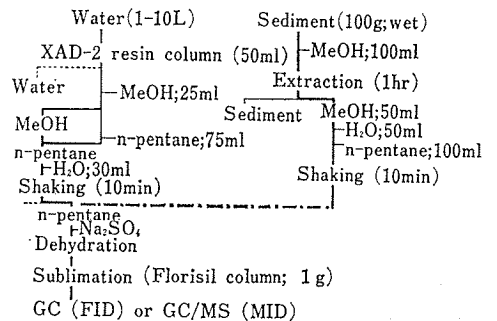


Fig. 3 Flow sheet of analytic process

3・3 ガスクロマトグラフ分析

BHA, BHQ, AHQ およびそのキノノン体などを同時にガスクロマトグラフ分析を行うためには、通常、昇温分析による場合が多い。著者は種々のカラム充てん剤について検討を行ったところ、1.5% SE-30 (クロモソルブW AW) を充てん剤として、カラム温度を100°Cから4°C/minの速度で180°Cまで昇温した場合、Fig. 4に示すようなガスクロマトグラムが得られた。しかし、ある特定物質について、多量の検体を対象としたルーチン分析を行う場合はカラム温度を一定とした恒温条件とする必要がある。カラムの温度条件について検討した結果を、Fig. 5に示す。

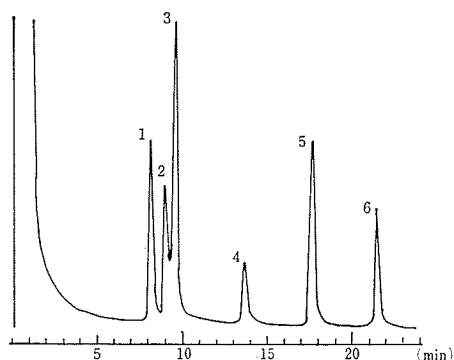


Fig. 4 Gas chromatogram of BQ, BHA, BHT, BHQ and AHQ under the condition

- Peak (1) BQ; 2, 5-di-tert-butyl quinone
 (2) BHA; tert-butyl-4-hydroxyanisole
 (3) BHT; 4, 6-di-tert-butyl-4-hydroxytoluene
 (4) ? ; 2, 5-di-tert-amyl-quinone
 (5) BHQ; 2, 5-di-tert-butyl-hydroquinone
 (6) AHQ; 2, 5-di-tert-amyl-hydroquinone

Column : 1.5% SE-30 on ChromosorbW AW (60-80) mesh, 1 m, 2 mm i. d. glass column, column temperature : 100°C (2 min) ~ 4°C/min ~ 180°C, carrier gas : N₂ 40 ml/min, injection temp. : 200°C, detector : FID, injection volume : 1 μl (200 ppm)

3・4 溶媒留去の際における損失

有機物の分析操作では、ロータリーエバポレーターによって溶媒留去や濃縮操作を行うことが多い。分析対象の化合物は、揮発性が高いため溶媒留去の際に、損失することが考えられるため、通常、使用されている溶媒について、水浴の温度を変化させた場合の回収率を検討したところ Table I を得た。

この結果、エーテルは共存する酸化物の作用によって、BQ, BHQ および AHQ が分解されることから、分析上不適當であることが認められた。n-ペンタンを用い、水浴の温度を40°C以下とすれば、100%の回収率が得られるけれども、溶媒が留去された後も操作を続ける危険を避けるため、溶媒の留去はスナイダー管を付属した常圧蒸留装置により行うことにした。

3・5 XAD-2樹脂による海水からの回収率

5ℓの海水に夫々100μgの化合物を加えよく攪拌し、5ℓ/minの流速でXAD-2樹脂を通過させた場合の回収率を Table II に示す。実験の結果、内径20mm

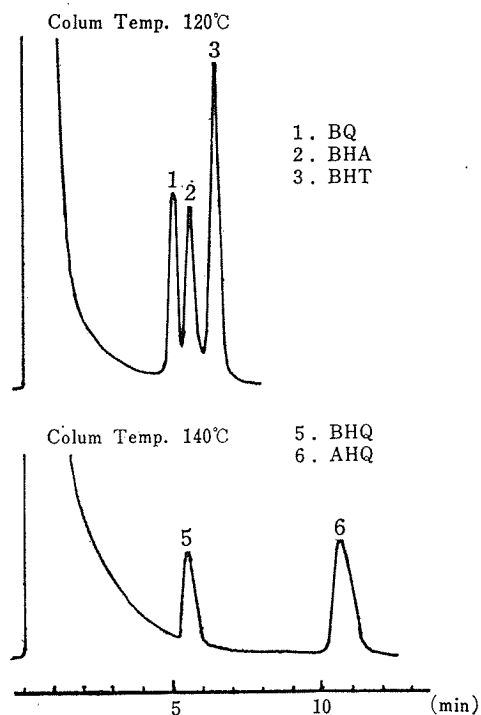


Fig. 5 Gas chromatogram of BQ, BHA, BHT, BHQ and AHQ

Table I Effect of temperature on the recovery from n-pentane, ethyl ether, methyl alcohol or n-hexane by rotary evaporator

Solvent	Recovery (%)											
	n-pentane			ethyl ether			methyl alcohol			n-hexane		
Bath temp. (°C)	40	60	80	40	60	80	40	60	80	40	60	80
Substance												
BQ	100	95	80	40	40	20	85	80	70	80	75	70
BHA	100	95	95	80	75	65	90	85	80	90	85	80
BHT	100	95	95	80	70	60	100	95	90	100	96	90
BHQ	100	95	85	50	50	30	85	80	70	80	75	70
AHQ	100	95	95	50	50	30	85	80	70	80	75	70

Substance were added 10 μ g to 50ml of solvents

のカラムを使用し、約 25ml の XAD-2 樹脂を充てんし、下向流によって、試料水を通過させれば、十分な回収が得られることが明らかとなった。但し、上向流による場合は、カラム径や、充てん量に関係なく 90% 程度の回収率に止まった。

3・6 循環式水蒸気蒸留法による回収率

500ml の海水に夫々 100 μ g の化合物を加えた試料水を循環式水蒸気蒸留法により、10ml の n-ペンタンによって回収実験を行ったところ、Table III に示す結果を得た。1 時間の加熱によって、BHA と BHT は 100% の回収が認められたが、他は極めて低い回収率しか得られなかった。これは、これらの化合物が熱に対して不安定であるためと考えられる。従って、BHA と BHT のみを分析する場合には、この方法は有益と考えられる。

3・7 昇華法による回収率

Fig. 1 に示す装置を利用して、昇華法による回収率を検討したところ、容器の形状による回収率の差が認められた。また、残存溶媒量によっても回収率に変動が生じるため、昇華管の代わりにフロリジルなどを充てんしたカラムにトラップする操作によって昇華する物質を捕集する方法を検討した。すなわち、充てん剤として夫々 1g のフロリジル、セライト 545 およびアルミナを Fig. 2 に示すカラムに充てんし、10 分間アスピレーターによって吸引した場合の回収率を検討したところ、アルミナの回収率が低いほかは、いずれも 100%

Table II Effect of XAD-2 resin column on the recovery from sea water

Column condition			Recovery (%)				
i. d. (mm)	flow column	height (cm)	BQ	BHA	BHT	BHQ	AHQ
10	down	20	90	93	92	87	83
	up	40	85	92	81	81	81
20	down	8	95	100	93	92	92
	up	16	85	90	83	79	78

Substances were add 100 μ g to 5 ℓ of sea water After mixing the water was passed through the XAD-2 resin column at 5ml/min of flow rate

Table III Recovery of BQ, BHA, BHT, BHQ and AHQ by the cyclic steam distillation

Substance	Time (min)		
	20	40	60
BQ	40%	50%	50%
BHA	80	100	100
BHT	60	80	100
BHQ	40	30	20
AHQ	40	30	20

Substance were added 100 μ g to 500ml of a water, and extracted 10 ml n-pentane by the cyclic steam distillation

の回収率が認められた。次に、捕集された化合物の溶出液について検討するため、前記のカラム充てん剤の

Table IV Column chromatograms with Florisil, Celite 545 or Alumina column

Packing	Substance	Eluting solution				
		—	0.5%	1.0%	2.0%	5.0%
Florisil	BQ	—	—	—	25	75
	BHA	—	—	—	5	95
Celite	BQ	70	30	—	—	—
	BHA	80	20	—	—	—
Alumina	BQ	—	—	—	5	10
	BHA	—	—	—	20	80

10 μ g of BQ and BHA were separated on a column (i. d. 8 mm) packed with Florisil; 1g, Celite 545; 1g or Alumina; 1g (35~60 mesh) by elution with n-pentane and n-pentane-methyl alcohol mixture (99.5: 0.5, 99: 1, 98: 2, 95: 5)

夫々1gに10 μ gのBQとBHAをまぶし、実験を行ったところ Table IV を得た。この結果、フロリジルを充てん剤として分析を行うことにした。

3・8 GC/MS (MID) の操作条件

BQをはじめ、対象化合物の質量スペクトルは Fig. 6 に示すとおりである。この結果、MIDによるm/zの値は、BQ[220]、BHQ[222]、AHQ[250] および BHA[180]とした。MIDを用いて測定を行う場合、イオン化電圧によって、感度が相当異なることが多い。そこで、イオン化電圧を20eVから75eVまでの範囲で変化させ、BQ、BHAおよびBHTの感度

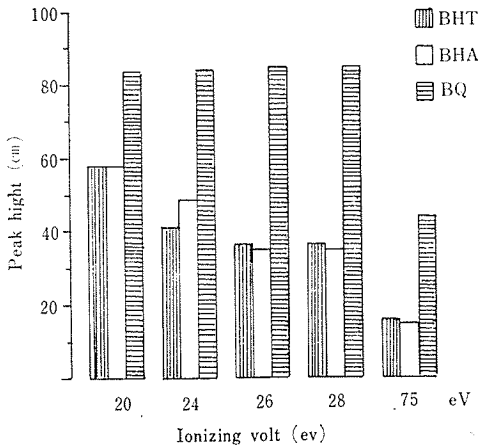


Fig. 7 Relationship of ionizing volt and peak height

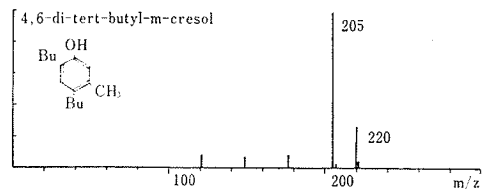
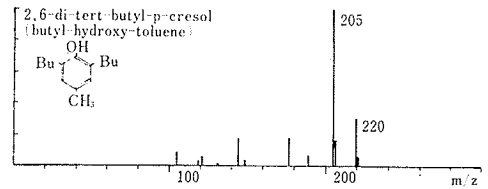
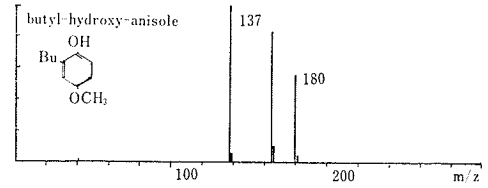
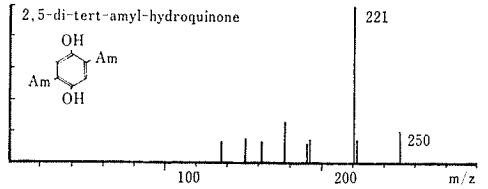
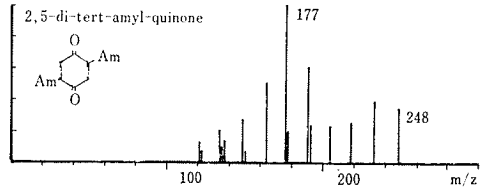
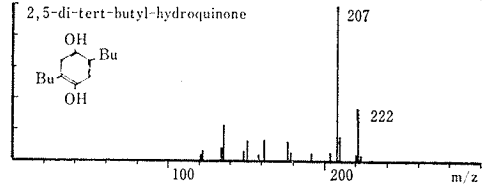
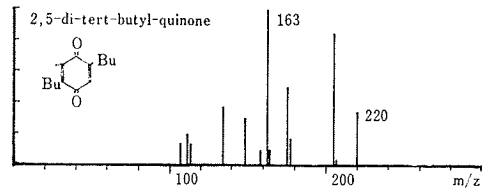


Fig. 6 Mass spectrum

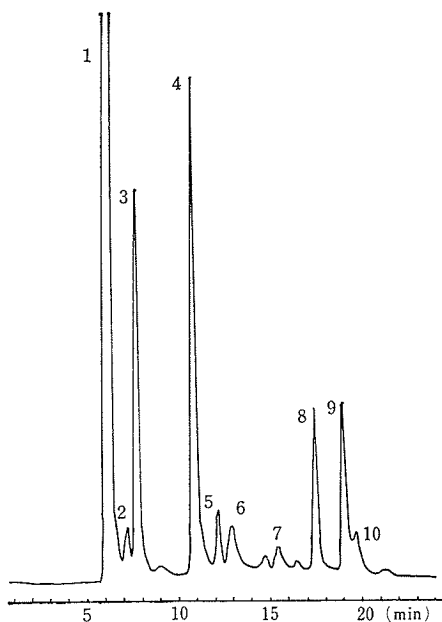


Fig. 8 TIM chromatogram of BQ and by-products by GC/MS

- Peak : (1) 2,5-di-butyl-quinon m/z;220
 (2) m/z; 220
 (3) m/z; 218
 (4) m/z; 220
 (5) m/z; 220
 (6) m/z; 220
 (7) 2,5-di-butyl-hydroquinone m/z;222
 (8) m/z; 222
 (9) m/z; 220
 (10) m/z; 220

を検討したところ, Fig. 7 を得た。この結果, 20eV のイオン化電圧によって測定を行うことにした。

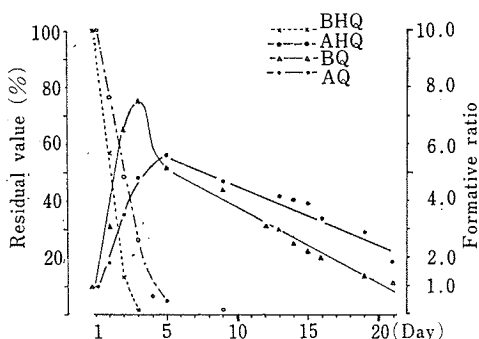


Fig. 10 Degradation of BQ or AHQ and formation of BQ or AQ in acetone and chloroform mixture (99 : 1)

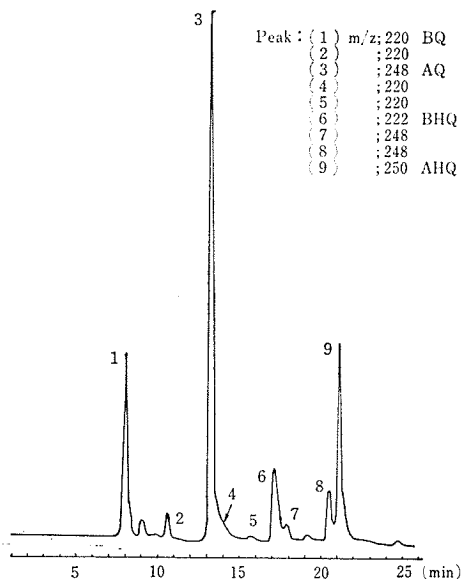


Fig. 9 TIM chromatogram of AHQ, BHQ and these by products in n-pentane by GC/MS

- Peak : (1) m/z; 220 BQ
 (2) ; 220
 (3) ; 248 AHQ
 (4) ; 220
 (5) ; 220
 (6) ; 222 BHQ
 (7) ; 248
 (8) ; 248
 (9) ; 250 AHQ

4 標準物質の溶媒中における分解

BQ および BHQ と AHQ を n-ペンタン中に別々に溶解し, 日光が入射する実験室へ 5 日間放置した後, GC/MS によって分析したところ, Fig. 8 および Fig. 9 を得た。この結果, これらの化合物は日光によ

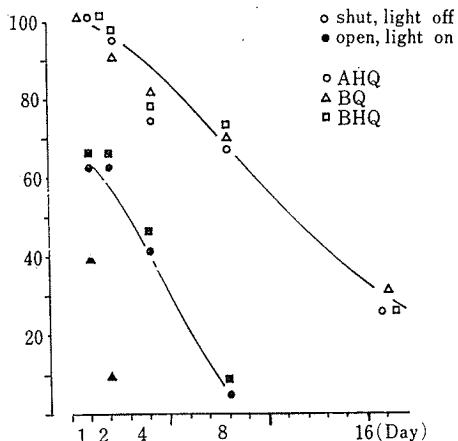


Fig. 11 Degradation of BQ, AHQ and BQ in sea water

BHQ, AHQ and BQ were added 100 μ g to 1 L of sea water. After mixing the water was allowed to stand in a beaker or a glass bottle at room temperature

って分解され、各種の副生物を生じることが考えられる。

次に、BHQとAHQの経時変化を検討するため、アセトン・クロロホルム 混液 (99:1) 中に溶解し、生成するBQとAQ、および分解消滅するBHQとAHQの量を経時的に測定したところ、Fig. 10を得た。

アセトン中では分解がn-ペンタン中よりも促進され、5日間でBHQとAHQはいずれも消滅する。これによる副生物と考えられるBQとAQは4日後にその生成のピークを示し、その後ゆるやかな速度で減少してゆく。

5 水中における分解

海水中におけるBQ、BHQおよびAHQの分解を検討するため、夫々100 μ gを1 ℓ の海水中へ加え、ビーカーあるいは褐色ビン中に入れて静置する。その後経時的に海水中の残存量を測定したところ、Fig. 11を得た。この結果、開放系で日光が照射された条件の下での半減期は3日間であるのに対して、閉鎖系で遮光されている条件の下での半減期は10日間であることが明らかとなった。従って、測定にあたっては、採取後、褐色ビン中に試料を入れて保存すること、迅速な処理が望ましい。

6 おわりに

酸化防止剤あるいは老化防止剤として使用されているbutyl hydroxy anisole, 2,5-di-tert-butyl-hydroquinone, 2,5-tert-amyl-hydroquinone およびこれらのキノン体の分析方法について検討した。

これらの化合物は、酸化物が共存するエーテルなどの溶媒中や光の作用により分解されるほか、熱に対しても不安定である。従って、溶媒を大量に必要とする溶媒抽出法は不適當であることから、XAD-2樹脂による吸着法によって前処理を行った。同時に吸着される多種類の有機物との分離は、これらの化合物の物理的性質を生かし、昇華法によった。この際、昇華管へ捕集する方法は、残存する溶媒の影響によって回収率が変動するため、フロリジルを充てんしたミニカラムによって捕集した。測定はGC (FID) あるいはGC/MS (MID) により、FIDを用いた場合の検出下限は試料水10 ℓ を用いたとき1 μ g/ ℓ 、底質100gを用いたとき5 μ g/gであり、MIDを用いればこの10倍の下限値となる。

本法によれば、大量の試料水が処理でき、しかもこ

の分析に必要とする溶媒は少量であるため、ブランク値を小さくできる。また、昇華という選択性の高い精製法を用いるため、共存物との分離も容易に行い得る。

分析上の注意は、試料を遮光し、迅速な分析を行うことである。また、溶媒留去の際には減圧蒸留法を避け、水浴の温度を高くしなければ蒸留し得ない、沸点の高い溶媒を用いぬことである。

文 献

- 1) 化学工業日報社編：7078の化学商品，p. 533 (昭和53年)
- 2) 成田弘子，向後勝成，木村庄治：静岡県衛生研究所報，19，45 (1976)
- 3) 向後勝成，成田弘子，木村庄治：同誌，19，49 (1976)
- 4) 成田弘子，向後勝成，木村庄治：同誌，19，55 (1976)
- 5) 白井宣一郎，松林万行：昭和51年度化学物質環境調査分析方法報告書，p. 234 (1978) 環境庁保健調査室
- 6) 兼松弘ら：食衛誌，14，357 (1973)
- 7) M. R. Tahasrabudhe: J. Assoc. Offic. Agr. Chem., 47, 888 (1964)
- 8) E. E. Stoddard: J. Assoc. Offic. Anal. Chem., 55, 1081 (1972)
- 9) J. Singh, M. R. Lapointe: ibid, 57, 804 (1974)
- 10) 天野立爾，川田公平：食衛誌，5，333 (1964)
- 11) 佐藤洋子，河村大郎：同誌，3，47 (1962)
- 12) D. F. McCaulley et al: J. Assoc. Offic. Anal. Chem., 50, 243 (1967)
- 13) 古賀夷ら：水質汚濁研究，1，23 (1978)

Determination of butyl-hydroxy-anisole, hydroquinone and its derivatives in waters or sediments

Takenori KODAMA

Butyl-hydroxy-anisole, 2,5-di-tert-butyl-hydroquinone, 2,5-di-tert-butyl-quinone, 2,5-di-tert-amyl-hydroquinone and 2,5-di-amyl-quinone (object substances) in waters were collected by the adsorption with XAD-2 resin.

These chemicals in samples were concentra-

ted through a glass column packed with 50ml of XAD-2 resin at a flow rate of 10ml/min. They were eluted from the XAD-2 resin with 25ml of methyl alcohol and 75ml of n-pentane and the elute was shaken for 10 min after adding 30ml of distilled water.

In case of sediment samples, the extract was transferred from methyl alcohol to n-pentane after shaking 100 g of samples with 100 ml of methyl alcohol.

The extract was dried with an anhydrous sodium sulfate and concentrated by the distillater equipped with Snaider tube. Object substances in the extract were collected through a mini column packed with 1g of Florisil by the sublimation method for separating the coexisted substance. Object su-

bstances were eluted from Florisil with 20ml of the mixture of n-pentane and methyl alcohol (95 : 5), and then the elute was concentrated to 1 ml in the distillater equipped with Snaider tube.

Object substances were separated by the programmed temperature gas chromatography, and determined on 1.5% SE-30 as a liquid phase in GC (FID) or GC/MS (MID). Detection limits of object substances in a water sample were 1 $\mu\text{g}/\ell$ (FID) or 0.1 $\mu\text{g}/\ell$ (MID). Those of sediment samples were 5 $\mu\text{g}/\text{g}$ or 0.5 $\mu\text{g}/\text{g}$ (MID)(FID).

This analytical method was considered to be usefull because of its sensitivity and selectivity.