

水環境中アミノアントラキノンの分析法開発および実態調査

長谷川 瞳, 平生 進吾

Investigation of Aminoanthraquinone in Water Environment

in Nagoya City

Hitomi Hasegawa, Shingo Hirao

アミノアントラキノンは染料の原料として使用されており、平成 20 年の PRTR 法改正により、第 1 種特定化学物質に指定された。指定登録されたことにより、環境中の存在量を把握する必要があるため、1-アミノ-9,10-アントラキノンの分析法開発を行った。さらに、開発した方法を用いて名古屋市内の河川及び海域において実態調査を行ったところ、すべての地点において不検出であった。

はじめに

アミノアントラキノンの (図 1) は染料や医薬品の原料として使用されており、生産量は 1 年間に約 1000 トン程度である。また、その物性・毒性から¹⁾⁶⁾PRTR 法第 1 種特定化学物質に指定されており、管理が必要な化学物質として登録されている。そのため、環境中の存在量を把握する必要があると考え、分析法開発を行った。この物質は 2 種類の異性体が存在しており、1-アミノ-9,10-アントラキノン(1-AAQ)および、2-アミノ-9,10-アントラキノン(2-AAQ)を対象物質とした。さらに、開発した方法を用いて名古屋市内の河川及び海域において実態調査を行ったので、その結果について報告する。

実験

1. 試薬

1-アミノアントラキノン (1-AAQ)標準品 (環境分析用)、2-アミノアントラキノン (2-AAQ)標準品 (環境分析用)は AccuStandard, Inc. 製、アセトン (残留農薬試験用)、ヘキサン (残留農薬試験用)は和光純薬(株)製、メタノール (LC/MS 用)、アセトニトリル (LC/MS 用)は関東化学(株)製を使用した。

1-AAQ, 2-AAQ 標準原液、標準液は、1-AAQ 標準品および 2-AAQ 標準品を正確に 10.0 mg 量り取り、アセトニトリル 100 mL に溶解して 100 µg/mL の混合標準原液を調製した。この標準原液をアセトニトリルで適宜希釈して 1000 ng/mL の標準液を作成した。(標準溶液のクロマトグラムを図 2, スペクトルを図 3, 検量線を図 4 に示す)

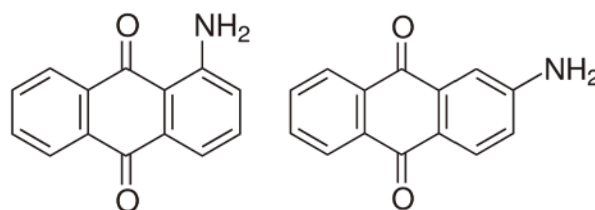


図 1 1-AAQ (左) および 2-AAQ (右) の構造

2. 器具および装置

水質試料からの抽出には、固相カートリッジ (Sep-Pak tC2)を使用し、固相への通液はコンセントレーター (Waters 社, Milford, MA, USA) により行った。濃縮操作は窒素吹付装置を用いて行った。

LC-MS 測定は Alliance2695/ Micromass Quattro micro API(Waters 社, Milford, MA, USA)を用い、定量は ESI-Positive-SRM モードにより行った。測定条件を以下に示す。

[LC 条件]

機種 : Waters 製 Alliance2695

カラム : GL science Inertsustain C18
(3 µm, 2.1 × 100 mm)

移動相 : A 精製水, B メタノール

0→15 min A : 50 → 20 B : 50 → 80

linear gradient

15→20 min A : 20 → 5 B : 80 → 95

linear gradient

20→25 min A : 5 B : 95

25→30 min A : 50 B : 50

カラム流量 : 0.2 mL/min

カラム温度 : 40° C

試料注入量 : 5 µL

[MS 条件]

機種：Waters 製 QuattroMicro API

キャピラリー電圧 : 4.00 kV

コーンガス流量 : 50 L/hr

デソルベーションガス流量 : N₂ (700 L/hr)

ソース温度 : 110° C

デソルベーション温度 : 350° C

イオン化法 : ESI(+)

測定モード : SRM

1-AAQ 224>167 (定量) 224>151 (確認)

2-AAQ 224>167 (定量) 224>151 (確認)

1,2-AAQ 5ng/mL, AQ-d8 100ng/mL_8.29

sh20140829r17

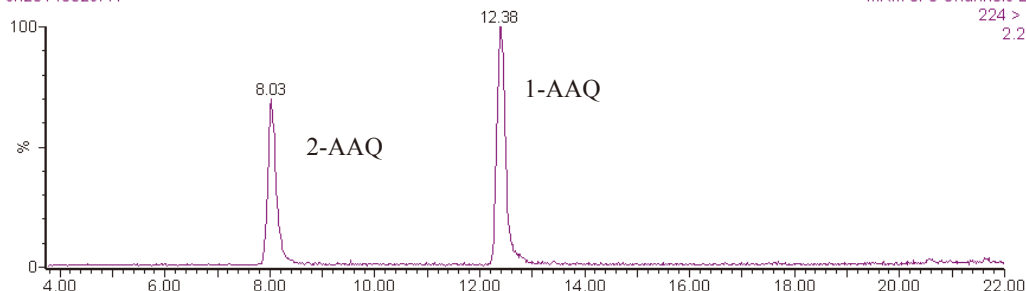


図2 1-AAQ および 2-AAQ の標準溶液のクロマトグラム (5ng/mL)

scan, posi, cap2.8, cone70

1508183_1AAQ 194 (0.346)

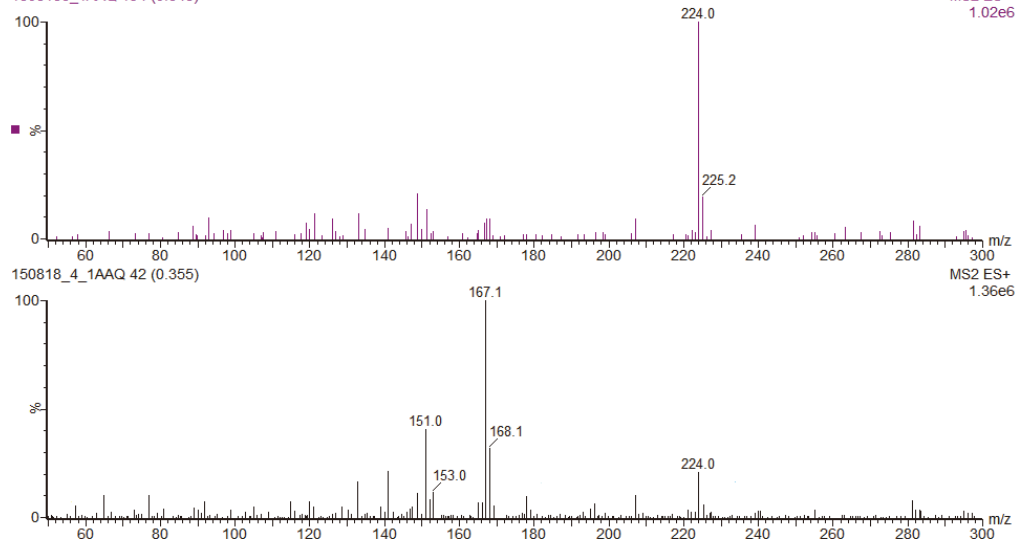


図3 1-AAQ の標準溶液のマスペクトル

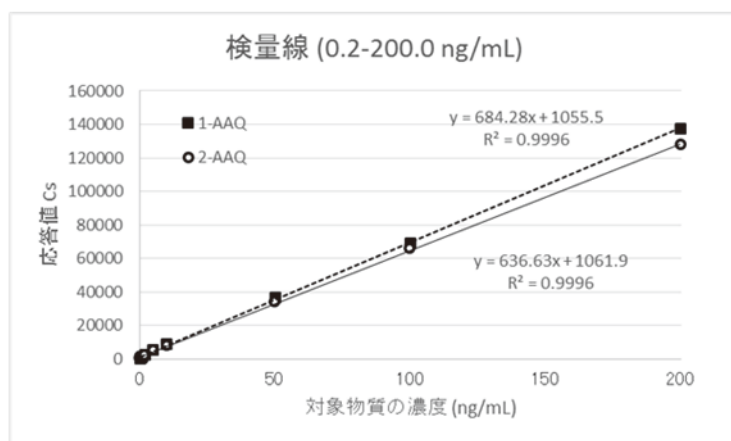


図4 1-AAQ および 2-AAQ の検量線

3. 分析方法

固相カートリッジ(Sep-Pak tC2)はメタノール 10 mL 及び精製水 10 mL でコンディショニングした後、水質試料 200 mL を約 10 mL/min の速度で通水した。メタノール/精製水(1:9)10 mL で、ビーカー内壁を洗い込み、その液を固相カートリッジに通すことにより、固相カートリッジを洗浄した。その後、固相カートリッジをコンセンレーターから取り外し、10 分程度、吸引乾燥させた。メタノール 5 mL でバックフラッシュ溶出し、精製水を加えて 10 mL に定容して試験液とした。

結果・考察

1. 分析法の定量性とその評価

1.1 検量線および装置検出下限 (IDL), 測定方法の検出下限(MDL)

検量線は、0.200 ng/mL から 200.0 ng/mL の濃度範囲において相関係数 0.9996 で十分な直線性を示した。

「化学物質環境実態調査実施の手引き」に記載される方法に従って、装置検出下限 (IDL), 測定方法の検出下限(MDL)を

求めた。IDL は 1-AAQ が 0.054 ng/mL, 2-AAQ が 0.063 ng/mL と算出され、20 倍濃縮時の試料換算 IDL は 1-AAQ が 0.0027 µg/L, 2-AAQ が 0.0031 µg/L であった。測定法に関する下限値については、河川水を用いた MDL は、1-AAQ 0.0028 µg/L, 2-AAQ 0.0026 µg/L, 海水を用いた MDL は、1-AAQ 0.0025 µg/L, 2-AAQ 0.0022 µg/L であった。

1.2 添加回収試験

精製水、河川水（庄内川）、海水（名古屋港）への標準物質添加回収結果を表1に示す。添加量20ngの回収率は河川水で1-AAQ 92%, 2-AAQ 82%, 海水で1-AAQ 94%, 2-AAQ 85%であった。

1.3 試料水中における AAQ の保存性

河川水、海水および標準試料の AAQ の保存性試験結果、および pH の違いや紫外線による精製水中での AAQ の分解性スクリーニングの結果を表2に示す。

環境水試料中の AAQ は、酸化防止剤等を添加しなくとも、1 週間の保存が可能であり、粗抽出液に関しては1ヶ月の保存が可能であった。また、標準溶液に関しては0.2 ng/mL という比較的低濃度であっても1か月は保存できる。

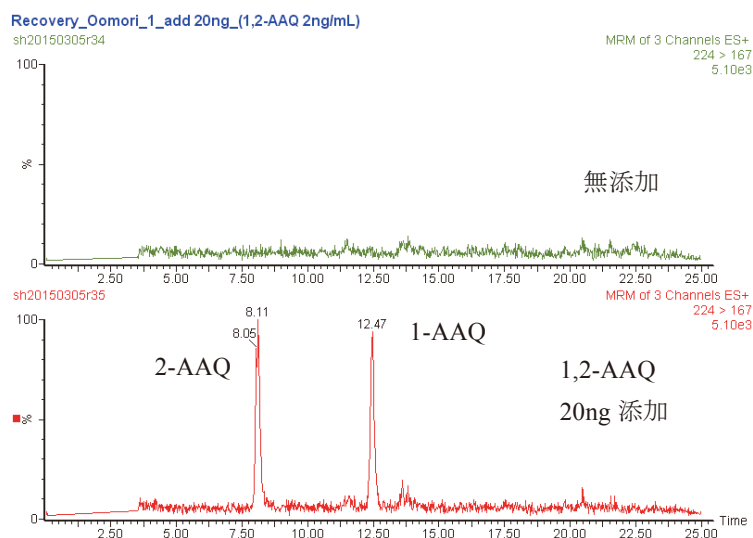


図5 添加回収試験時のクロマトグラム

表1 1-AAQ および 2-AAQ の添加回収試験結果

試料	物質名	試料量(L)	添加量(ng)	試験数	検出濃度(μg/L)	回収率(%)	CV(%)
精製水	1-AAQ	0.2	0	2	ND	-	-
		0.2	20	5	1.9	95	3.2
	2-AAQ	0.2	0	2	ND	-	-
		0.2	20	5	1.83	92	2.1
海水 (潮見ふ頭)	1-AAQ	0.2	0	2	ND	-	-
		0.2	20	5	1.87	94	2.1
	2-AAQ	0.2	0	2	ND	-	-
		0.2	20	5	1.71	85	1.7
河川水 (大森橋)	1-AAQ	0.2	0	2	ND	-	-
		0.2	20	5	1.83	92	2.7
	2-AAQ	0.2	0	2	ND	-	-
		0.2	20	5	1.64	82	2.5

表2 1-AAQ および 2-AAQ の保存性試験結果

試料名		初期濃度 (ng/mL)	残存率(%)			
			7日間		1か月	
			1-AAQ	2-AAQ	1-AAQ	2-AAQ
河川水	環境水	0.1	94	104	-	-
	粗抽出液	0.2	-	-	92	96
海水	環境水	0.1	91	103	-	-
	粗抽出液	0.2	-	-	92	90
標準液	検量線最低濃度	0.2	-	-	91	95
	検量線最高濃度	5	-	-	101	101

pH	初期 濃度 (ng/mL)	1時間後の 残存率(%)		7日後の残存率(%)			
		1-AAQ	2-AAQ	暗所		明所	
				1-AAQ	2-AAQ	1-AAQ	2-AAQ
5	2	84	87	83	84	-	-
7	2	84	90	81	84	79	76
9	2	84	86	81	81	-	-

2. 分析法に関する要素技術とその評価

2.1 カラム分離

分離カラムは①Inertsustain C18, ②Inertsil C18, ③Ascentis express C18, ④Ascentis express RP amide, ⑤Ascentis C18 の5種を検討した。どのカラムも使用開始直後は良好な分離を示すが, ②から⑤については数回サンプルを注入するとピーク形状が乱れる, テーリングをおこす等の不具合が生じた。また, 測定終了後, 数日おいて再測定するとうまく分離しなくなる現象もあった。これらの現象が生じなかった①のカラムを分離カラムとして選択した。

2.2 固相抽出方法の検討

固相は逆相系 ([A] : RP1, RP-C18, C18, PS2, HLB,

EDS1)とイオン交換系 ([B] : MCX, MPC, SCX) について検討を行った。

10 mL の精製水に 1-AAQ, 2-AAQ を 20 ng ずつ添加し, コンディショニングを行った固相へ通液したのち, 表 3 に示した溶出溶媒で溶出し, 5 mL に定容した。固相抽出の詳細条件を表 3 に, 各固相の回収率結果を図 6 に示した。

イオン交換固相では, 固相をメタノールで洗浄した後, 5%アンモニア/メタノールで溶出する方法を用いたが, 1-AAQ に関してはメタノール洗浄の段階で溶出してしまうため, 100%メタノールで固相を洗浄することは出来なかった。

表 3 固相抽出の検討における各条件

固相		固相の コンディショニング	試料通液後の 洗浄	溶出溶媒
[A] 逆相系	RP1, RP-C18,	1st:メタノール10 mL、	精製水	1st:メタノール5 mL
	C18, PS2,	2nd:精製水10 mL	10 mL	2nd:メタノール5 mL
	HLB, EDS1			
[B]* イオン交換系	MCX,	1st:メタノール10mL	2%ギ酸	1st:メタノール5 mL
	MPC,	2nd:2%ギ酸10 mL	10 mL	2nd:5%アンモニア/メタノール5 mL
	SCX			

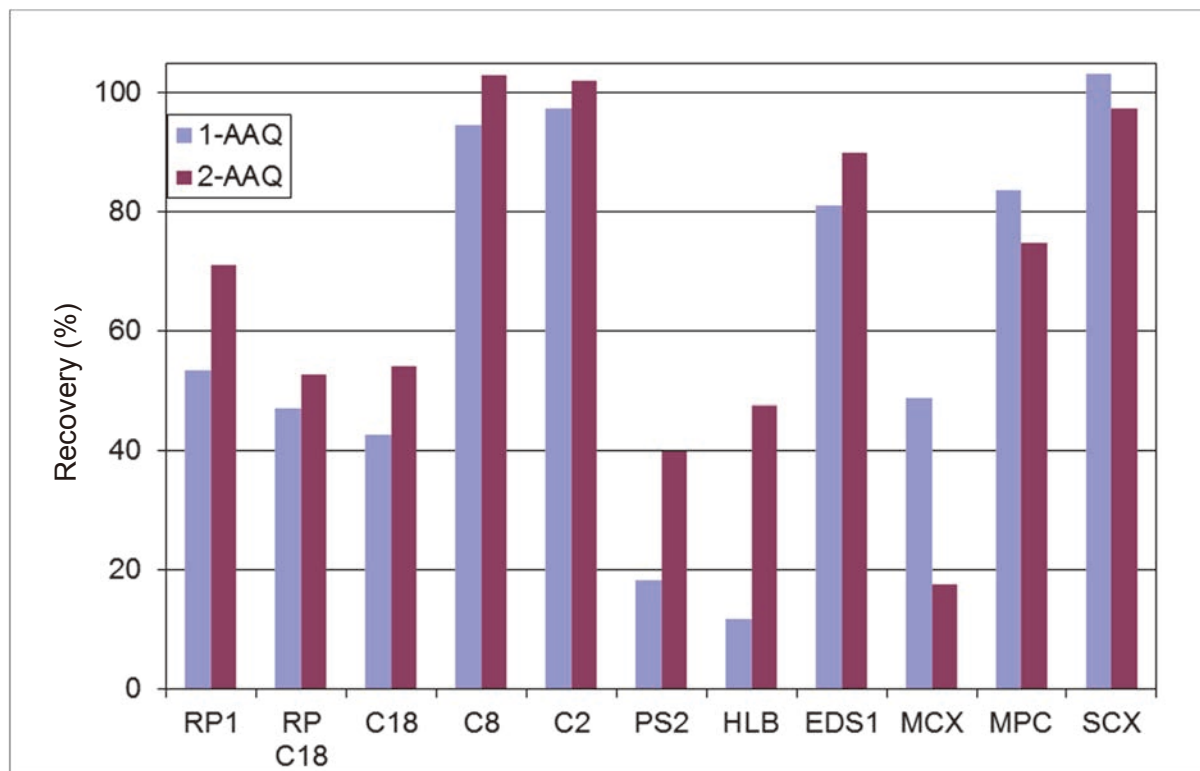


図 6 各固相を用いた際の 1-AAQ, 2-AAQ の回収率

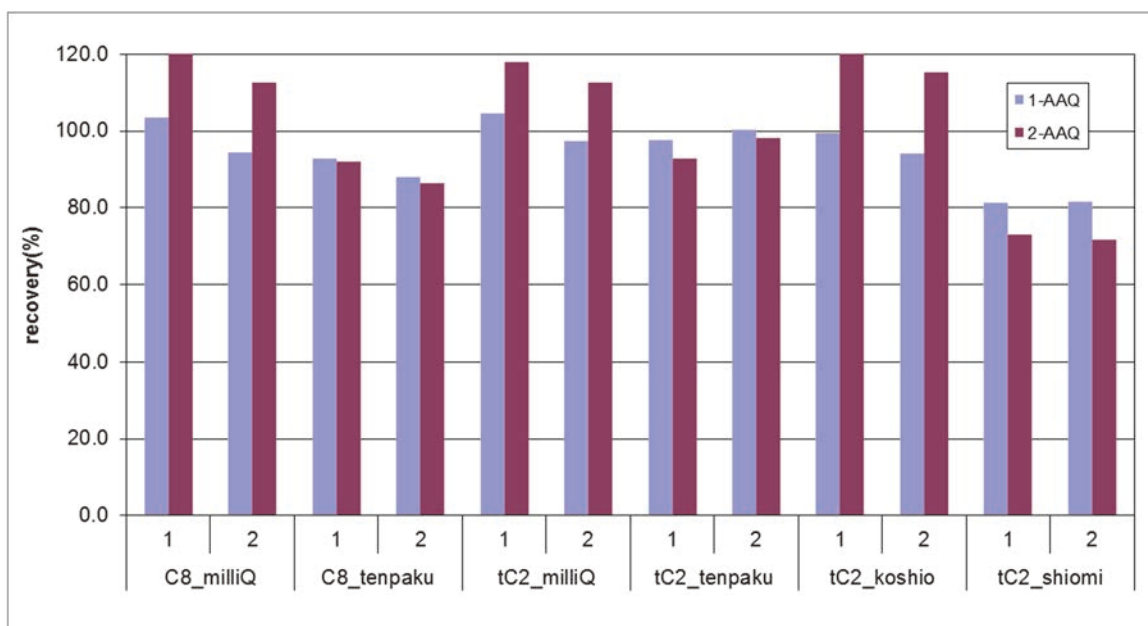


図 7 C8 および tC2 固相を用いた際の 1-AAQ, 2-AAQ の回収率

9 種類の固相の中で最も回収率がよかったのが、イオン交換系の固相 SCX であった。しかし、SCX を用いて実際の環境試料を前処理したところ、試料によって回収率に大きな変動があった。そのため、次に回収率が良好であった、炭素鎖の短い tC2 や C8 の固相についても環境試料を用いて検討を行った。コンディショニングや溶出などの条件は、前述の検討条件[A]と同様である。その結果を図 7 に示した。SCX と比較すると、環境試料においても(図 7 中の tenpaku および koshio は河川水試料, shiomi は海水試料)、著しい回収率の低下は見られず、C8, tC2 とともに良好な回収率が得られた。両者のうち、より回収率が良好な結果であった tC2 を固相抽出で用いることとした。また、バックフラッシュ溶出と通常の溶出とを比較したところ、バックフラッシュ溶出を行ったほうが少ない溶媒で溶出が可能で、また回収率もよかったので、バックフラッシュ溶出を採用した。

2.3 メタノールおよびギ酸の添加

環境試料を前処理する際、試料中の SS 成分に AAQ が吸着している可能性があるため、試料にメタノールを添加して、SS 成分から AAQ を脱離させられるか検討した。対象物質添加済み試料 200 mL にメタノールを 0, 10, 20 及び 40 mL 添加し、tC2 に試料負荷後、メタノール 5 mL で溶出し、精製水を加えて 10 mL に定容して測定を行った(図 8)。また、試料を酸性にすることにより、対象物質が吸着した SS 成分から脱離させられるかを検討するため、対象物質添加済み試料にギ酸を添加してその効果を調べた(表 4)。

図 8 より、メタノール添加によって、回収率が大幅に向上することはなかった。また、200 mL の試料に対して 20%以上のメタノールを添加すると、固相での保持が弱まり、回収率が低下した。また、表 4 より、ギ酸を添加することによって、2-AAQ の回収率が低下することもわかった。以上より、試料にメタノールやギ酸を加える方法は採用しないこととした。

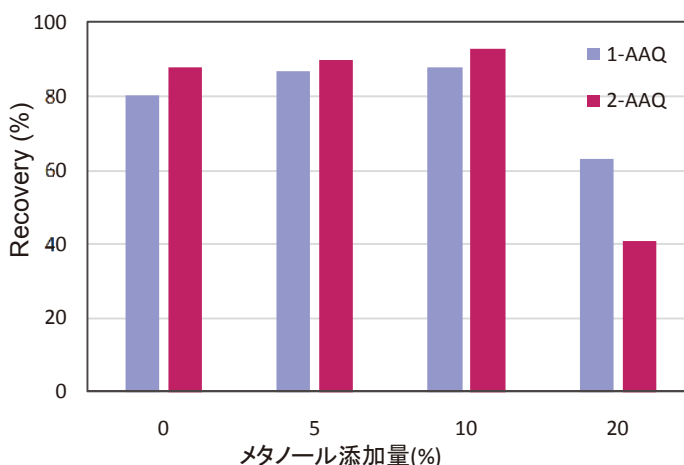


図 8 メタノール添加による回収率の違い

表 4 試料へメタノールおよびギ酸を添加した際の回収率

試料 200 mL への添加量		回収率(%)	
メタノール (mL)	ギ酸(mL)	1-AAQ	2-AAQ
-	-	84	85
-	2	85	49
20	-	83	80
20	2	87	56

3. 環境調査

名古屋市河川水および名古屋港海水を本法により分析した。名古屋市北部を流れる庄内川中流域で採水した河川水や名古屋市内中部を流れる堀川の河口部で採水した海水、藤前干潟で採水した海水を測定したところ、いずれの地点からも AAQ は検出されなかった。測定結果の一例として、図 9 に藤前干潟の海水の分析結果のクロマトグラムを示す。

今回の調査結果から、AAQ の水環境への汚染の可能性は低いと考えられるが、今後、底質や水性生物についても調査を進める必要があると考えられる。

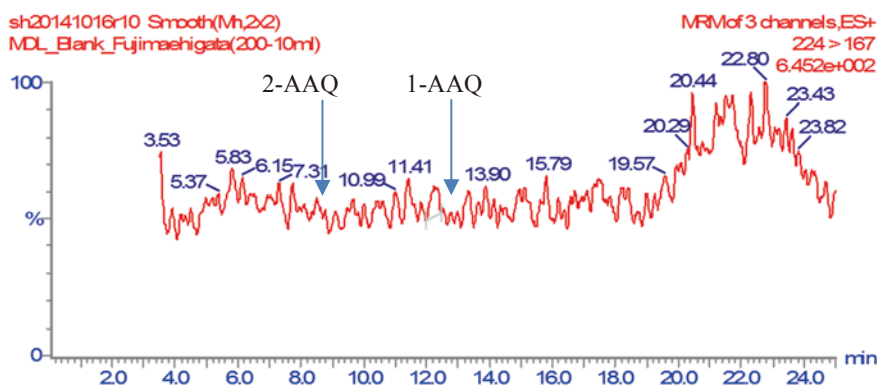


図 9 環境試料の測定例（藤前干潟）

まとめ

環境水中に含まれる 1-AAQ および 2-AAQ の同時分析法を開発した。本法における河川水を用いた MDL は、1-AAQ 0.0028 $\mu\text{g/L}$ 、2-AAQ 0.0026 $\mu\text{g/L}$ 、海水を用いた MDL は、1-AAQ 0.0025 $\mu\text{g/L}$ 、2-AAQ 0.0022 $\mu\text{g/L}$ であった。河川水及び海水を用いた添加回収試験（添加量 20ng）の回収率は河川水で 1-AAQ 92%、2-AAQ 82%、海水で 1-AAQ 94%、2-AAQ 85% であった。よって、本法は環境水中に含まれる 0.002 $\mu\text{g/L}$ オーダーの 1-AAQ および 2-AAQ の検出に適用可能であると判断される。

また、本分析法を用いて、名古屋市河川水および名古屋港海水を分析したところ、いずれの地点からも 1-AAQ および 2-AAQ は検出されず、AAQ の水環境への汚染の可能性は低いことが示唆された。

参考文献

- 1) Maryadele J. O'Neil(Ed), The Merck Index 14th Edition
- 2) International Uniform Chemical Information Database
IUCLID Data Set
- 3) Handbook of Aqueous Solubility Data

- 4) Philip H. Howard, William M. Meylan, Handbook of Physical Properties of Organic Chemicals
- 5) Philip H. Howard, William M. Meylan, Handbook of Physical Properties of Organic Chemicals, The Syracuse Research Co.
- 6) Data from SRC PhysProp Database