

1,4-ベンゼンジオール

1,4-Benzenediol

別名 ハイドロキノン Hydroquinone

OH



OH

分子式 $C_6H_6O_2$ 分子量 110.11

m.p. 170~171°C b.p. 285~287°C

本分析法は、水試料については、酢酸エチルで抽出を、底質試料については、蒸留水で抽出を行い、脱水濃縮後にHPLC、あるいはシリル化後にFID-GC、またはアシル化後にECD-GCで定量するものである。

試験法

〔試料の前処理〕

(水質試料)

試料水100mlを300mlの分液ロートにとり、1 N硫酸 5 mlで酸性としたのち、塩化ナトリウム10 gを加え、酢酸エチル50mlで10分間振とう抽出する。静置後、水層を別の分液ロートに移し、酢酸エチル50mlで再度、10分間振とう抽出する。静置後、有機層を合わせて、無水硫酸ナトリウムで脱水したのち、ロータリーエバポレーターで減圧濃縮して5 mlとする。これを試料処理液とする。

(底質試料)

底質50 gを500ml共栓付三角フラスコに秤とり、蒸留水100mlを加え、10分間振とう抽出する。抽出液を遠沈管に移し、3000 r.p.m.で10分間遠心分離する。この上澄み50mlを分液ロートに分取する。以下水質試料と同様な操作とする。

〔試料液の調製〕

(TMS誘導体の調製)

先に得た試料処理液を、ねじ口試験管に、0.2mlとりHexamethyldisilazane(HMDS)を0.2mlとり、良く振り混ぜたのち、85°Cで3時間反応させる。これをGC-FID用試料溶液とする。

(アシル化誘導体の調製)¹⁾

試料処理液0.2mlを、ねじ口試験管にとり、Heptafluorobutyrylimidazole (HFBtI) 20μlをシリンジで加え、すばやく密栓し、よく振り混ぜた後、85°Cで1時間反応させる。終了後、ベンゼン3 mlで3回、50ml分液ロートに洗い込み、1%炭酸水素ナトリウム溶液10ml、続いて、蒸留水20mlで2回洗浄後、無水硫酸ナトリウムで脱水し、濃縮後、5 ml定容としGC-ECD試料溶液とする。

〔標準液、空試料液の調製〕

標準原液は、ハイドロキノン100mgを正確に秤量し、酢酸エチルに溶かし、褐色メスフラスコにて正確に100mlとする。

〔測定〕

(HPLCの条件)

充填剤：リクロソルP RP18(10μm) 2.8mmφ×25cm 移動相：0.01Mリン酸塩緩衝液(PH7.0)
流速：0.4ml/min 検出器：UV280nm

(GC-FIDの条件)

充填剤：2%SE-30 クロモソルP W(AWDMCS) 80~100メッシュ
カラム：30mmφ×2 mガラスカラム
カラム温度：90°C
検出器温度：200°C
キャリアーガス：N₂ 40ml/min

(GC-ECDの条件)

充填剤：2%SE-30 クロモソルP(AWDMCS) 80~100メッシュ
カラム：3 mm × 2 mガラスカラム

カラム温度：80℃

検出器温度：200℃

キャリアーガス：40ml/min

(検量線)

1. GC-FID用

標準原液を酢酸エチルで希釈して、20 μ g/ml、40 μ g/ml、100 μ g/ml、200 μ g/mlの溶液を、褐色メスフラスコで製作する。これらより、メスピペットにて、0.2mlをねじ口試験管にとり、シリル化を試料処理液と同様に行う。反応終了後、1～5 μ lをガスクロマトグラフィーに注入し、ピーク高にて検量線を作製する。

2. GC-ECD用

標準原液を酢酸エチルで希釈して、10 μ g/mlの溶液をつくる。これより、1ml、2ml、5ml、10ml、をとり、100ml褐色メスフラスコにて正確に100mlとする。各々より0.2mlをねじ口試験管にとり、アシル化を試料処理液と同様に行う。その1～5 μ lをガスクロマトグラフに注入して、ピーク高にして検量線を作製する。

3. HPLC用

標準原液を酢酸エチルで希釈して、10 μ g/ml、20 μ g/ml、40 μ g/ml、60 μ g/mlの溶液を、褐色メスフラスコで作製する。各々の5 μ lを、高速液体クロマトグラフィーに注入し、ピーク高さより検量線を作製する。

(定量)

HPLCについては、試料処理液を、GCについては、各々の試料溶液を1～5 μ l、マイクロシリンジにてHPLCあるいはGCに注入する。得られたピーク高より検量線から定値を求める。

(検出限界)

本分析法に基づく検出限界を下記に示す。

	検出法	検出限界
水質試料	HPLC	0.1 μ g/ml
	GC-FID	0.4 μ g/ml
	GC-ECD	0.002 μ g/ml
底質試料	HPLC	0.4 μ g/g
	GC-FID	2.0 μ g/g
	GC-ECD	0.08 μ g/g

HPLCの場合、10 μ l注入し、20ng検量線に対応するものとする。FID-GCの場合5 μ l注入し、20ngに、ECD-GCの場合、5 μ l注入し10pg検量線に対応するものとして計算した。

試薬・器具

【試薬】

酢酸エチル、ベンゼンおよび無水硫酸ナトリウム：残留農薬分析用

ペンタン、炭酸水素ナトリウム：試薬特級

HMDS：和光純薬製

HFBI：PIERCE社製

【器具】

分液漏斗、ナス型フラスコ、褐色メスフラスコ、ねじ口試験管、共栓付三角フラスコ、振とう器、リアクティサーモ、ロータリエバポレータ。

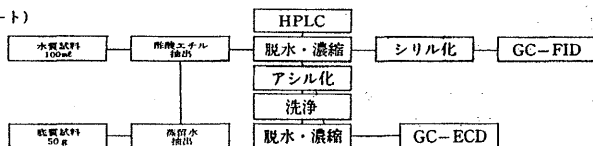
注解

(1)過剰試薬の洗浄は、1%炭酸水素ナトリウム溶液の方が、0.1Mリン塩緩衝溶液(PH6.0)よりも良好であった。

解説

【分析法】

(フローチャート)



(分析法の検討)

1. 検量線

図1、図2、図3に代表的な検量線を示す。

2. 回収実験結果

(1)水質試料

水100mlに、10 μ gのヒドロキノンを添加してGC-ECDで分析し、また、500 μ gのヒドロキノンを添加し、GC-FIDで分析してそれぞれの回収率を求めた。

(2)底質試料

底質50gに、水質試料と同様に10 μ gを添加しGC-ECDで分析し、また、500 μ gを添加しGC-FIDで分析して、それぞれの回収率を求めた。

	添加量(μ g)	平均回収率(%)	変動率(%)
水質試料	10	49.5	3.8
	500	82.7	2.1
底質試料	10	41.2	3.2
	500	60.5	1.9

各4回の平均

3. 分解性スクリーニング結果

ガラス製撹拌子を入れた160mlのバイアルビンにPII5.0,7.0,9.0に調製した緩衝液100ml入れ、このバイアルビン中へ、ヒドロキノンを溶液を100 μ g/ml、の濃度になるようにマイクロシリジにて加え、10分間マグネティックスターラーで撹拌した。20 $\pm$ 5 $^{\circ}$ Cの温度条件下で①1時間②暗所で5日後、③光照射下で5日後(PH7.0のみ)の濃度測定を行い、初期濃度を標準にして残存率を算出した。結果を図4、表1に示す。

4. 標準品のクロマトグラム

図5、図6、図7に代表的なヒドロキノ、ヒドロキノ誘導体のクロマトグラムを示す。

5. その他検討事項

ガスクロマトグラフィーの充填剤としては他に2%OV-1が使用できる。また1%OV-17, Dexsil300GC, 10%DNP, PEG20Mを検討したがピークは出現しなかった。

(環境試料分析)

石狩川河口の水質および底質料を分析した結果、ヒドロキノンに一致するピークは出現しなかった。分析例図図8、図9に示す。

【評価】

低濃度における添加回収実績は、良くなかった。更に、今回用いた水および底質試料からは妨害ピークの出現は認められなかった。環境試料に適用させるためには、回収率の向上、クリーンアップ法、試料の採取量等の検討が必要と思われる。

担当者 近藤秀治 村田清康

参考文献

- (1)N.V.RAGHAVAN, J.of Chromatogr.,168 (1978) 523~525
- (2)H.Röper, K.Heyno, Z.Naturforsch., 32C61~66(1977)
- (3)児玉剛則:愛知県公害調査センター所報告P6(1981. 10)
- (4)中西 弘:「昭和54年度化学物質分析法開発調査報告書」P78(1980.3)

表1. Residual value of Hydroquinone

pH	1 hour	5 days		Residual value	
		dark	$\Delta h\nu$	dark	$\Delta h\nu$
5.0	100 μ g/ml	100 μ g/ml		100%	
7.0	100 μ g/ml	92 μ g/ml	88 μ g/ml	92%	88%
9.0	56 μ g/ml	0 μ g/ml		0%	

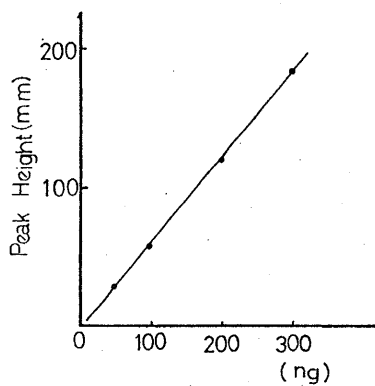


图1. Working curve
(Hydroquinone)

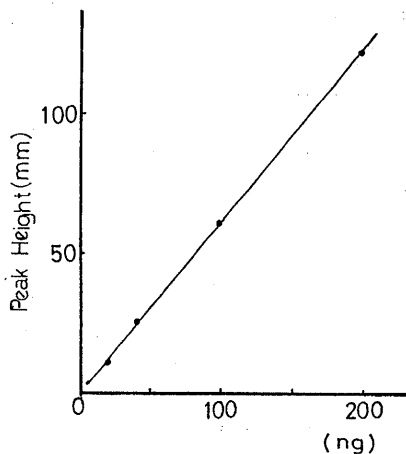


图2. Working curve
(Hy-TMS Derivative)

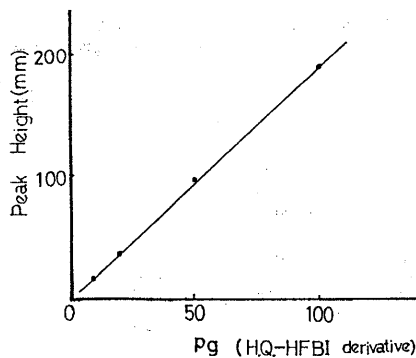


图3. Working curve

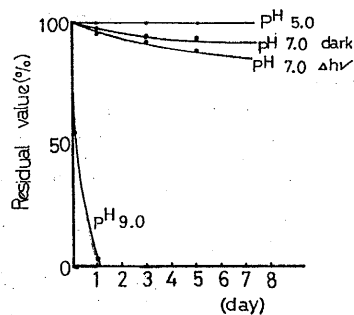


图4. Degradation of Hydroquinone

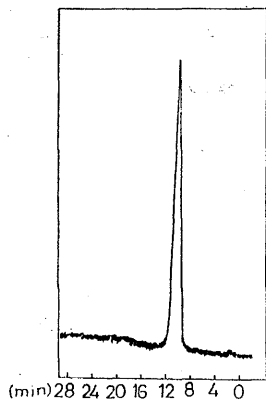


图5. HPLC Chromatogram of Hydroquinone

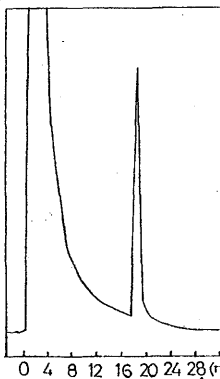


图6. Chromatogram (Hy-TMS Derivative)

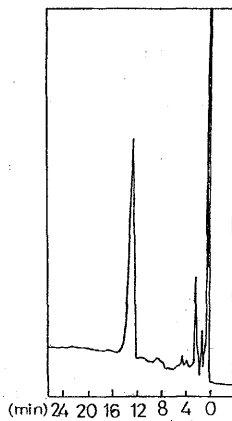


图7. Chromatogram (Hy-HFBI Derivative)

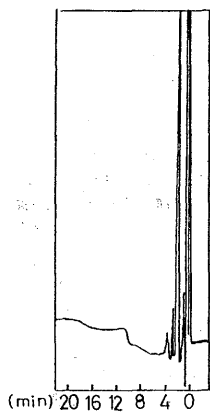


图8. Chromatogram (Water)

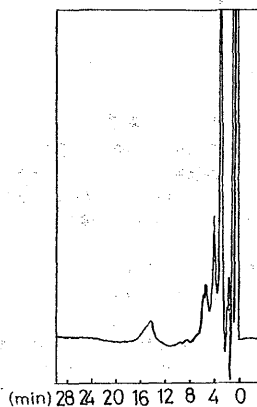


图9. Chromatogram (Sediment)

2,5-シクロヘキサジエン-1,4-ジオン

2,5-cyclohexadiene -1,4-dione

別名 P-キノン P-quinone

 O P-ベンゾキノン

P-benzoquinone

分子式 $\text{C}_6\text{H}_4\text{O}_2$ 分子量 108.09

m.p. 115.7℃

P-キノンは酢酸エチルで抽出されるが、中性およびアルカリ性では、容易に分解するので、分析法の確立は困難であった。

分析法の検討

1. 試験法

試料水100mlを1N硫酸5mlで酸性として、塩化ナトリウムを10%になるように加え、酢酸エチル50mlで2回抽出し、抽出液を無水硫酸ナトリウムで脱水後、減圧濃縮により5mlとし、GC-FIDにより分析した。底質試料については、底質50g(湿泥)を500ml共栓三角フラスコに秤取り、蒸留水100mlを加え、10分間振とう抽出する。抽出液を遠心管に移し、遠心分離する。この上澄液50mlを分液ロートに分取する。以下水質試料と同様に操作をする。

2. 測定

(ガスクロマトグラフ条件)

充填剤: 20% DNPクロモソルブW カラム: 3mmφ × 2m ガラスカラム

カラム温度: 120℃ 検出器温度: 200℃ キャリヤーガス: N₂ 50ml/min

3. 誘導体の検討

GC-ECD用の誘導体として、2,4-Dinitrophenylhydrazine (2,4-DNP) Pentafluorophenylhydrazine (PFPH), Pentafluorobenzyloxamine (PFBOA), による誘導体化を試みたが、いずれもP-ベンゾキノンとの誘導体は得られなかった。

4. 検量線

図1に代表的な検量線を示す。

5. 添加回収実験

	平均回収率(%)	変動係数(%)
水質試料	73.8	5.9
底質試料	65.6	7.2

6. 分解性スクリーニング結果

ガラス製攪拌子を入れた160mlのバイアルびんに、PH=5.0, 7.0, 9.0に調整した蒸留水100mlを入れ、このバイアルビンの中へ、酢酸エチルに溶かしたP-キノンを100ppmの濃度になるように、マイクロシリンジにて加え、10分間マグネティックスターラーで攪拌した。20℃±5℃の温度条件下で、①この1時間後②暗所にて5日間後③光照射下にて5日間後(PH=7.0のみ)の濃度測定を行い、初期濃度を標準にして、残存率を算出した。図2、表1に結果を示す。

7. 標準品のクロマトグラム

P-ベンゾキノンのガスクロマトグラムの一例を図3に示す。

〈評価〉

P-ベンゾキノンは、中性およびアルカリ性溶液中では、非常に分解しやすいことが判明した。従って、これらのことを考慮して、種々の検討を行ったが、環境試料中の微量分析法の開発は困難であった。

担当者 近藤秀治 村田清康

参考文献

- (1) N.V. RAGHAVAN, J.Chromatogr., 168 (1978) 5-23
- (2) H. Röder, K. Heyus, Z.Naturforsch., 32C, 61-66(1977)
- (3) 児玉剛則: 愛知県公害調査センター所報告P6 (1981.10)

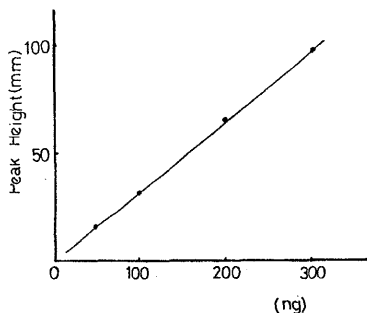


图1. Working curve
(P-Benzoquinone)

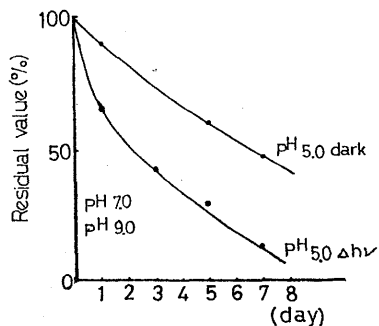
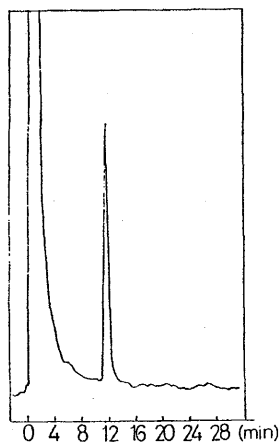


图2. Degradation of p-Benzoquinone



Gas chromatogram of
p-benzoquinone

图3.

表1. Residual value of p-Benzoquinone

pH \	1 hour	5 days		Residual value	
		dark	$\Delta h\nu$	dark	$\Delta h\nu$
5.0	98 $\mu\text{g/ml}$	60 $\mu\text{g/ml}$		61 %	
7.0	0 $\mu\text{g/ml}$	0 $\mu\text{g/ml}$	0 $\mu\text{g/ml}$	0 %	0 %
9.0	0 $\mu\text{g/ml}$	0 $\mu\text{g/ml}$		0 %	

シクロヘキシルアミン

(別名)ヘキサヒドロアニリン

(構造式)

(分子式, 分子量) $C_6H_{11}N$: 99.18

§ 1 分 析 法

本分析法は、水試料については、アルカリ性下単蒸留し、留液を酸性にして濃縮したのち、再びアルカリ性にしてヘキサン抽出後、無水酢酸でアセチル化し、FTD-ガスクロマトグラフで定量する方法である。底質試料については、精製水を加え、水試料と同様に操作する。

試 験 法

【試料の前処理】

〔水質試料〕

単蒸留装置を組み立て、出口側に1N-塩酸10mlを入れた200mlメスシリンダーを受器として置く。試料水1ℓをはかりとり、1ℓ丸底フラスコ中に注ぎ入れ、これに沸石、消泡剤、塩化ナトリウム30g及び10N-水酸化ナトリウム、10mlを入れ、加熱蒸留する。留液が180mlになるまで蒸留を行い、留液が酸性であることを確かめたのち、ナスフラスコに移し、ロータリーエバポレータで乾固するまで減圧濃縮する。乾固後直ちに精製水で洗いながら20ml共栓付試験管に移し、5mlにする。

〔底質試料〕

底質試料50gをはかりとり、1ℓ蒸留フラスコ中に入れ、これに精製水500ml、消泡剤、塩化ナトリウム15g及び10N-水酸化ナトリウム5mlを入れ、加熱蒸留する。留液を180mlまでとり、以下水質試料と同様に操作する。

【試料液の調製】

試料の前処理で得た濃縮液5mlにヘキサン2mlを入れたのち、冷水で冷しながら12N-水酸化ナトリウム10mlを少しずつ加える。加え終わったら、1分間振とう抽出後、上澄のヘキサン層を別の試験管にピペットで移し、これに無水酢酸10μlをマイクロシリンジで加え、軽く振とうして試験液とする。

【標準液、空試料液の調製】

シクロヘキシルアミン100mgをはかりとり、精製水に溶かして100mlにする。これを標準原液とする。これを精製水で順次段階的に希釈して0.4~2μg/mlの標準液を調製する。この5mlを20ml共栓付試験管にとり、試料液の調製の項に従って操作し、ガスクロマトグラフ用標準液を得る。このようにして調製したガスクロマトグラフ用標準液の濃度はシクロヘキシルアミンとして1~5μg/mlである。

空試料液については精製水1ℓを水試料の前処理及び試料液の調製の項と同様に操作する。

【測 定】

測定は上記の試料液4μlをガスクロマトグラフへ注入する。

(ガスクロマトグラフ条件)

充てん剤: 5% Therman 1000+0.5%リン酸, クロモソルブ W (AW-DMCS) 80~100メッシュ

カラム: 3mmφ×2m, ガラスカラム

カラム温度: 160℃

検出器温度：240℃

キャリアガス：窒素，50 ml/min

検出器：熱イオン化検出器（FTD）

〔検量線〕

3の項で調製したGC用標準液4μlをガスクロマトグラフへ注入し、シクロヘキシルアミンとしての注入量を横軸にとり、ピーク面積をたて軸にとって検量線を作製する（図-1）。

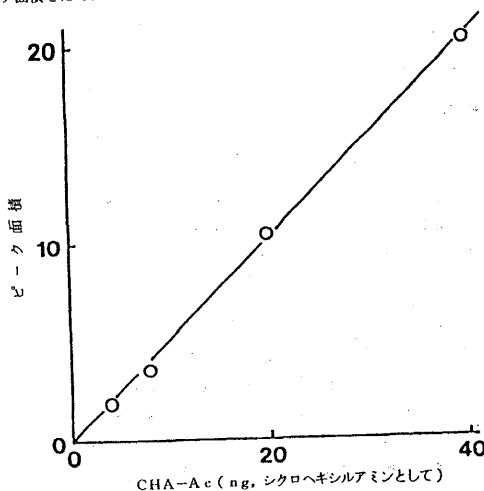


図-1 CHA-Acの検量線

〔計算式〕

水質：試料1 lを2 mlに濃縮，そのうちの4 μlをガスクロマトグラフへ注入した場合の検出量を a ngとすると，

試料濃度は，

$$b = \frac{a}{2,000} \mu\text{g/ml}$$

底質：試料50 gを2 mlに濃縮，そのうちの4 μlをガスクロマトグラフへ注入した場合の検出量を a ngとすると，

試料濃度は，

$$b = \frac{a}{100 \left(1 - \frac{c}{100}\right)} \mu\text{g/g}$$

ただし，c：底質の水分含有率（%）

〔定量限界〕

FTD-GCでのシクロヘキシルアミンの定量限界を1 ngとすると，試料の定量限界は，

水質：0.0005 μg/ml

底質：0.01 μg/g

試薬，器具

〔試薬〕

精製水：ミリポア社製純水製造装置による逆浸透膜-活性炭-イオン交換水

ヘキサン：和光純薬残留農薬試験用

水酸化ナトリウム：和光純薬製特級

塩 酸：和光純薬製精密分析用
 シクロヘキシルアミン：東京化成製
 無水酢酸：和光純薬製特級

【 器 具 】

単蒸留装置（1ℓ丸底フラスコ、スニーダー蒸留塔、連結管、じゃ管冷却器、マントルヒーター、スライダック）、ロータリーエボレータ、FTD検出器付ガスクロマトグラフ。

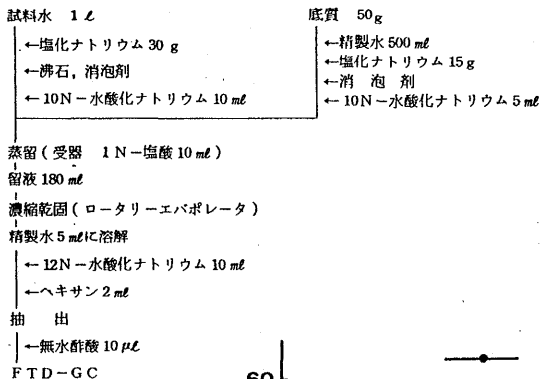
~~~~~ 注 解 ~~~~~

- 1) 河川水及び底質に水を加えたものを蒸留する場合発泡するので、消泡剤を入れる必要がある。
- 2) 高濃度のアルカリを用いるので、手袋をして実験を行うことが望ましい。
- 3) 留液を乾固後水で溶かすとき、少量の水で壁面を洗いぬいで3回以上洗うこと。
- 4) 留液の濃縮は乾固するまでとしたが、必ずしも乾固している必要はなく、水分量が極少量になればよい。
- 5) ロータリーエボレータによる留液の濃縮では、液が酸性であれば乾固してもシクロヘキシルアミンの揮散はほとんどない。
- 6) 濃縮液に12N-水酸化ナトリウムを加える際に発熱するので、冷しながら少量ずつ添加を行う。

§ 2 解 説

【 分析法 】

〔 フローチャート 〕



〔 分析法の検討 〕

1. 留出速度の測定

精製水1ℓにシクロヘキシルアミン5mgを加え、塩化ナトリウム30gを添加したときと添加しないときのシクロヘキシルアミンの留出速度を調べた（図-2）。その結果、初留100mlで90%以上留出しており、150ml以上とれば100%回収されることとがわかった。また塩化ナトリウムを添加した方が留出が速かった。

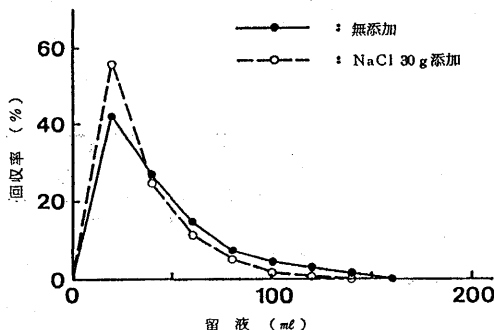


図-2 水中シクロヘキシルアミンの蒸留
 精製水：1ℓ，10N-NaOH：10ml，シクロヘキシルアミン：5mg

2. 水中シクロヘキシルアミンの抽出溶媒の検討

シクロヘキシルアミン 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を含む 1 N-水酸化ナトリウム溶液 10 ml に抽出溶媒 1 又は 2 ml を加えて振とうし、有機層を FTD-GC で分析して抽出率を調べた。その結果、表-1 に示すように、シクロロメタンが最も抽出率が高かったが、シクロロメタンは FTD-GC の注入溶媒としては不適当であるので、ヘキサンを抽出溶媒として選んだ。

表-1 抽出溶媒

	液 量 (ml)	抽出率 (%)	分配係数
エチルエーテル	2	33.6	5.4
イソプロピルエーテル	2	31.6	2.5
シクロロメタン	2	91.7	60.4
ベンゼン	2	51.3	5.5
シクロヘキサン	1	26.2	3.6
メチルイソブチルケトン	2	52.7	6.3
トルエン	1	31.2	4.5
ヘキサン*	1	48.8	9.5

* 1.25 N 水酸化ナトリウム

3. ヘキサン抽出に及ぼすアルカリ濃度の影響

シクロヘキシルアミン 1 mg を含むヘキサン溶液 1 ml に 0 ~ 10 N 水酸化ナトリウム 5 ml を加えて振とう後ヘキサン層中のシクロヘキシルアミン濃度を調べた。その結果、図-3 に示すように、水酸化ナトリウムの濃度が高いほど抽出率（残存率）は高く、5 N 以上であれば 90% 以上の抽出率が得られることがわかる。

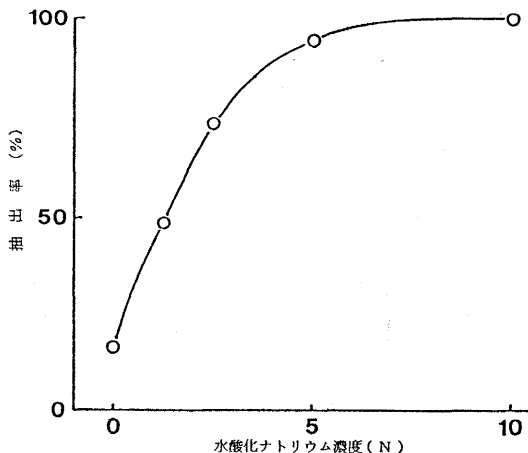
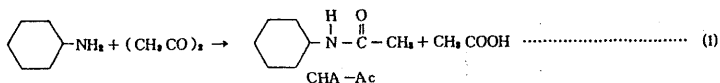


図-3 シクロヘキシルアミンの抽出に及ぼすアルカリ濃度の影響
精製水: 5 ml, ヘキサン: 1 ml

4. シクロヘキシルアミンのアセチル化

シクロヘキシルアミンは 10% Therman 1000 + 3% KOH または 15% Therman 1000 + 10% PEG 1000 + 3% KOH カラムで直接分析可能であるが、カラム内に吸着を起し、低濃度分析が困難な場合もあるため、無水酢酸を用い、生成した N-シクロヘキシルアセトアミド (CHA-Ac) を GC 分析した。(1) 式の反応は瞬時に完結した。生成物である CHA-Ac は CHA-Ac の単品を合成し、ヘキサンで再結晶したのちマススペクトル



を測定し、同定を行った(図-4)。

副生成物の酢酸および未反応の無水酢酸はガスクロマトグラム上妨害とはならなかった。

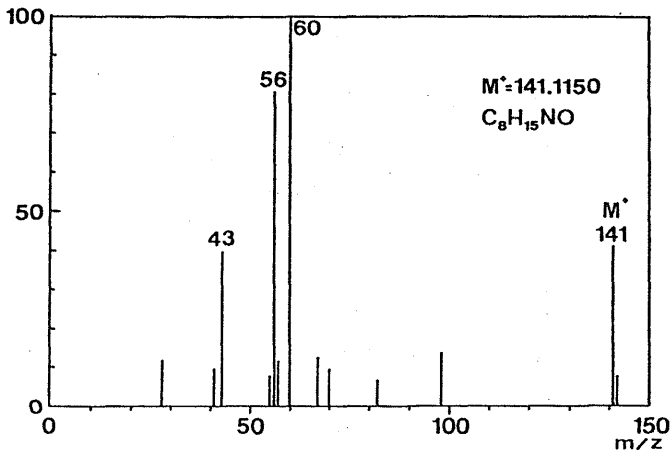


図-4 CHA-Ac のマススペクトル

5. 他の分析方法の検討

水試料について、ジクロロメタンによる液々抽出法について検討した。精製水 1 L に 10 N-水酸化ナトリウム 10 mL, シクロヘキシルアミン 50 μg を加え、ジクロロメタン 200, 100 mL で抽出し、抽出液を 0.1 N-塩酸 10 mL で逆抽出する。この塩酸溶液に 10 N-水酸化ナトリウム 10 mL を加え、ジクロロメタン 5 mL で抽出し、FID-GC で定量した。その結果、回収率は 10% と著しく低かった。この回収率が悪い原因としてジクロロメタン中に含まれる微量の不純物によってシクロヘキシルアミンが反応又は分解等を起こしたためと思われる。

6. 添加回収実験

精製水、河川水、底質にシクロヘキシルアミン 10 μg を添加し、フローチャートに従って添加回収試験を行い、その結果を表-2 に、ガスクロマトグラムを図-5 に示した。

表-2 添加回収実験結果

試料	添加量 (μg)	回収率 (%)	検出限界
精製水 (1 L)	10	93.9	—
河川水 (1 L)	10	90.4	0.0005 μg/mL
底質 (50 g)	10	89.9	0.01 μg/g

n = 3

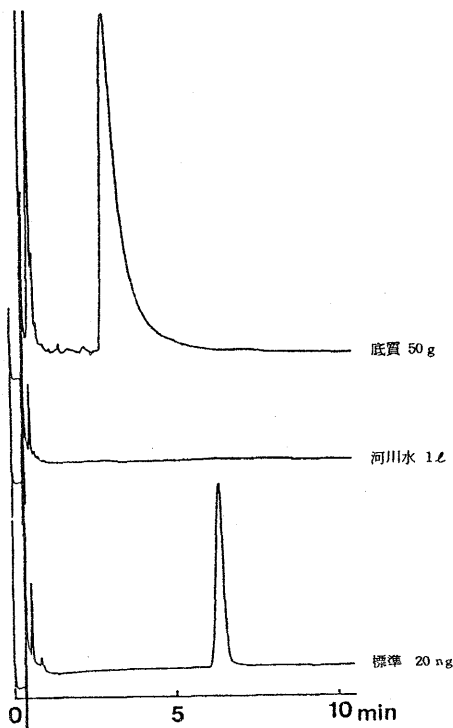


図-5 CHA-Ac のガスクロマトグラフ

『 分解性スクリーニング結果 』

シクロヘキシルアミン濃度 $2 \mu\text{g}/\text{ml}$ での pH 5, 7, 9 における分解性試験を行い, 結果を表-3 に示した。シクロヘキシルアミンは, この濃度では比較的安定であった。

表-3 シクロヘキシルアミンの分解性試験 ($2 \mu\text{g}/\text{ml}$)

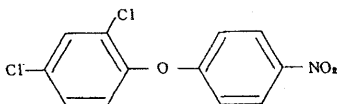
pH	放 置 時 間		
	1 時 間	5 日	
		暗 所	光 照 射
5	98	93	—
7	96	91	85
9	88	94	—

(担当者 村山等, 向井博之, 尾崎邦雄, 富永泰子)

参考文献

笹井春雄: 化学物質環境調査分析方法報告書 p.50 (昭和 55 年 3 月), (日本環境協会) 。

① 2,4-ジクロロフェニル-4'-ニトロフェニルエーテル

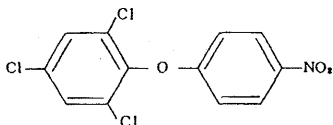


(別名) NIP

(分子式) $C_{12}H_8Cl_2NO_2$

(分子量) 284.1

② 2,4,6-トリクロロフェニル-4'-ニトロフェニルエーテル

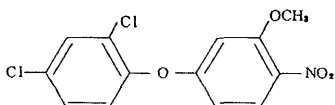


(別名) CNP

(分子式) $C_{12}H_5Cl_3NO_2$

(分子量) 318.5

③ 2,4-ジクロロフェニル-3'-メトキシ-4'-ニトロフェニルエーテル



(別名) X-52, クロメトキシニル

(分子式) $C_{13}H_9Cl_2NO_3$

(分子量) 314.1

§ 1 分 析 法

本分析法は、水試料についてはXAD-4樹脂で抽出し、アセトンで溶出後、溶出液を水に投入しヘキサン中に転溶する。ついでフロリジルカラムでクリーンアップを行い、GC-ECDで定量する。底質試料はアセトン抽出後、過マンガン酸カリウムで処理し、ヘキサンに転溶する。以下、水試料と同様に操作する。

試 験 法

〔試料の前処理〕

〔水質試料〕試料水を次の手順でXAD-4樹脂へ通し、NIP、CNP、X-52を抽出する。内径2cmのクロマト管にガラスウールを敷き、洗浄したアンバーライトXAD-4樹脂を10cmの高さにメタノールを用いて湿式充てんし、さらにガラスウールを上部につめる。ここへ精製水を1ℓ流し、樹脂中のメタノールを水で完全に置換する。この時、水の流下速度を1秒2〜3滴に調整する。ついで2ℓの分液漏斗中に入れた試料水を同様の速度で通過させ樹脂に吸着させる。試料の通水が終了後アスピレーターを用い、カラム管の下方から樹脂中の水分を除いた後、アセトン100mlで溶出させる。溶出液は1ℓの分液漏斗に受け、ここへ精製水400ml、ヘキサン100mlを加えて振とうし、ヘキサン層へNIP、CNP及びX-52を抽出する。この水層をさらに100ml、50mlのヘキサンで抽出を繰り返す。ヘキサン層を合わせ100mlの水で2回洗浄した後、硫酸ナトリウム・無水物で脱水し、KD濃縮器を用いて2〜3mlに濃縮し器壁を洗い込んで5ml程度にし、ついでフロリジルカラムクロマトグラフィーを行う。フロリジルは130℃で24時間以上活性化しておき、使用直前にデシケーター中で放冷する。このフロリジル3gを内径1cm、長さ30cmのクロマト管にヘキサンで湿式充てんし、上部に硫酸ナトリウム・無水物を2cm層厚積す。溶離液はヘキサン150ml¹⁾、1%酢酸エチル含有ヘキサン100ml、1%エチルアルコール含有ヘキサン80mlとし、最初のヘキサン150mlは捨てる。酢酸エチル含有ヘキサン(100ml)はNIP、CNPを含む試料分画であり、エチルアルコール含有ヘキサン(80ml)はX-52を含む分画である。これをそれぞれKD濃縮器で濃縮し、GC用試料とする。

〔底質試料〕 混泥 30g を共栓付三角フラスコに取り、アセトン 200 ml を加え 1 時間振とう、抽出する。静置後、デカンテーションもしくは遠心分離によって固液分離し、上澄液をできるだけ多くとり、その容量をメスシリンダーではかり、KD 濃縮器で 20 ml 以下に濃縮する。少量のアセトンで器壁を洗い込み、これをフラスコ (150 ml) に移し入れ、アセトン (50 ml、先のアセトン量を勘案して全量が 50 ml となるようにする)、0.1 mol 過マンガン酸カリウム (20 ml)、濃酢酸 (5 ml) を入れ、水を加えて 100 ml とし、還流冷却管を付けて 30 分間湯浴中で加熱還流する。放冷後、20% ヒドロキシルアミン塩酸塩水溶液を加え、過マンガン酸カリウム及び二酸化マンガンを分解し、分液漏斗に移し水 400 ml、ヘキサン 100 ml を加えて振とう抽出する。さらに 100 ml、50 ml のヘキサンで計 3 回抽出を繰り返す。このヘキサン層を合わせ 100 ml の水で 2 回洗浄した後、硫酸ナトリウム・無水物で脱水し、KD 濃縮器で濃縮し、以下水試料と同様にフロリジルカラムクロマトグラフィーを行い濃縮後 GC 用試験液とする。

〔標準液、空試験液の調製〕

標準液は NIP、CNP、X-52 をそれぞれ 100 mg 精秤し、ヘキサンに溶かして 100 ml とし 1,000 µg/ml の標準液を調製する。これを 0.02 µg/ml 程度に希釈して GC 用標準液とする。

空試験液は、水試料については精製水 2 L を XAD-4 に通し、以下水試料の項と同様に操作し、底質についてはアセトン 200 ml を底質試料の項に従って同様に操作したものとす。

〔測定〕

〔ガスクロマトグラフ条件〕

- (1) カラム充てん剤：4% OV-17 を Chromosorb W (AW-DMCS) 60~80 mesh にコーティングしたもの
カラム管：ガラスカラム (内径 3 mm、長さ 2 m)

カラム温度：250 °C

注入口及び検出器温度：290 °C

キャリアーガス：窒素、50 ml/min

検出器：ECD (**Ni)

- (2) カラム充てん剤：2% DEGS + 0.5% リン酸を Chromosorb W (HP) 80~100 mesh にコーティングしたもの

カラム管：ガラスカラム (内径 3 mm、長さ 1 m)

カラム温度：160 °C

注入口及び検出器温度：220 °C

キャリアーガス：窒素、70 ml/min

検出器：ECD (**Ni)

〔検量線〕

GC 用標準液を段階的に希釈して GC に注入し得られたピークの面積もしくはピーク高から検量線を作成する。

〔計算式〕

- (1) 水試料の場合

$$x = b \times \frac{c}{a}$$

a : 試料液量 (L) b : GC 用試験液中の濃度 (µg/ml) c : 濃縮後の GC 用試験液量 (ml)

x : 定量値 (µg/L)

- (2) 底質試料の場合

$$y = b \times c \times \frac{200 + \frac{d}{100} \times e}{\left(1 - \frac{d}{100}\right) \times e \times f}$$

d : 含水率 (%) e : 混泥の量 (g) f : アセトン抽出後分取した上澄液の量 (ml)

y : 定量値 (µg/g)

〔定量下限〕

	水試料	底質試料
NIP	0.001 $\mu\text{g}/\text{L}$	0.0002 $\mu\text{g}/\text{g}$
CNP	0.001 $\mu\text{g}/\text{L}$	0.0002 $\mu\text{g}/\text{g}$
X-52	0.002 $\mu\text{g}/\text{L}$	0.0004 $\mu\text{g}/\text{g}$

なお、水試料及び底質試料は、試料量を増すことによって検出限界は異なる。

〔試薬及び試液〕

アセトン、ヘキサン：残留農薬試験用

フロリジル：フロリジルPR（フロリジン社）を使用前に130℃で24時間以上活性化し、放冷後使用した。

NIP、CNP、X-52 標準物質：市販されている農薬から、アセトン抽出後、アセトンなどを用いて2回再結晶したものを標準物質とした。

他の試薬はすべて市販特級品を用いた。

〔器具〕

クロマト管：2cm×30cmのガラスカラム管（XAD-4樹脂用）、1cm×30cmのガラスカラム管（フロリジル用）
分液漏斗（2L、1L及び500ml）、KD濃縮器、共栓付三角フラスコ（500ml）、平底フラスコ（150ml）、ウォーターバス、アリン管、振とう機。

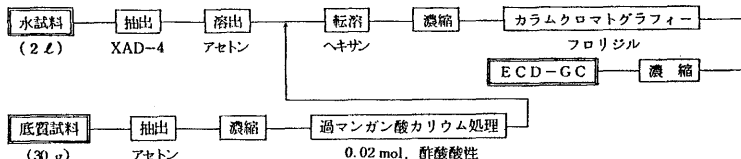
~~~~~ 注 解 ~~~~~

- (1) XAD-4樹脂は使用前にソックスレー抽出器を用いて、メタノール、エーテル及びメタノールで各々8時間ずつ洗浄しメタノール中に保存する。
- (2) フロリジカラムクロマトグラフィーによりガスクロマトグラム上妨害ピークとなる恐れのある有機塩素系農薬 *o,p'*-DDT及び *p,p'*-DDTやPCBは最初の溶出液ヘキサン150ml中に溶出する。

§ 2 解 説

〔分析法〕

〔フローチャート〕



〔分析法の検討〕

1. 標準液、水試料及び底質試料のガスクロマトグラムを図-1に示す。

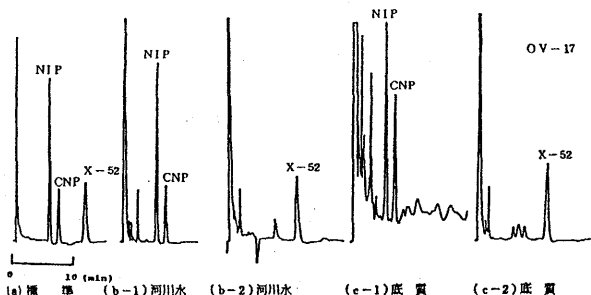


図-1 ガスクロマトグラム

## 2. 添加回収実験

添加回収実験のためにはNIP, CNP, X-52をそれぞれ $0.036 \mu\text{g}/\text{ml}$ ,  $0.016 \mu\text{g}/\text{ml}$ ,  $0.037 \mu\text{g}/\text{ml}$ に調製した水溶液を $10\text{ml}$ 添加した。その結果を表-1に示す。

表-1 添加回収実験結果

| 物質名  | 試料  | 添加量 ( $\mu\text{g}$ ) | n | 平均回収率 (%) | CV (%) |
|------|-----|-----------------------|---|-----------|--------|
| NIP  | 精製水 | 0.36                  | 3 | 91.4      | 2.1    |
|      | 河川水 | 0.36                  | 5 | 89.1      | 5.9    |
|      | 底質  | 0.36                  | 6 | 86.3      | 10.3   |
| CNP  | 精製水 | 0.16                  | 3 | 89.1      | 5.3    |
|      | 河川水 | 0.16                  | 5 | 83.5      | 6.3    |
|      | 底質  | 0.16                  | 6 | 95.7      | 8.8    |
| X-52 | 精製水 | 0.37                  | 3 | 96.5      | 3.2    |
|      | 河川水 | 0.37                  | 5 | 91.4      | 4.6    |
|      | 底質  | 0.37                  | 6 | 88.1      | 9.8    |

## 3. XAD-4樹脂による水からのNIP, CNP及びX-52の抽出

NIP, CNP, X-52についてそれぞれ $0.36 \mu\text{g}$ ,  $0.16 \mu\text{g}$ ,  $0.37 \mu\text{g}$ を精製水 $2\text{L}$ 中に溶かしXAD-4樹脂を通過させ、通過した水をヘキサンで抽出、濃縮後ガスクロマトグラフに注入したところ、3物質とも検出されず樹脂中に吸着されていることがわかった。またこのカラムにおいてアセトンでXAD-4樹脂からの溶離を確認したところ3物質とも $60\text{ml}$ で完全に溶離させることができた。

## 4. 過マンガン酸カリウムの濃度変化に伴う回収率の変化

このことについて図-2に示す。過マンガン酸カリウムの濃度変化により回収率には大きな変化はみとめられなかったが、若干 $0.1\text{mol}$ では回収率が下った。このことから $0.02\text{mol}$ とした。

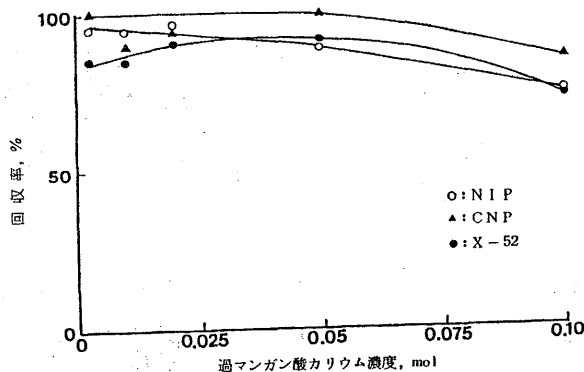


図-2 過マンガン酸カリウム処理における過マンガン酸カリウム濃度の影響

## 5. 有機塩素系農薬の過マンガン酸カリウムによる分解について

ガスクロマトグラム上妨害ピークになる可能性があると思われる有機塩素系農薬(12種)について過マンガン酸カリウムによる処理を試みたところ、アルドリノ、デルドリノ、エンドリン及びヘプタクロルエポキシドが減少もしくは認められなかった。このことについて図-3に示した。なお、これらの有機塩素系農薬

葉のうちで、NIP、CNP、X-52の分析でガスクロマトグラム上で妨害となるものはOV-17を用いた場合、NIPについては $o,p'$ -DDT、CNPについては $p,p'$ -DDTが認められるが、次の項のフロリジルカラムクロマトグラフィーを行うことによって取り除くことができる。

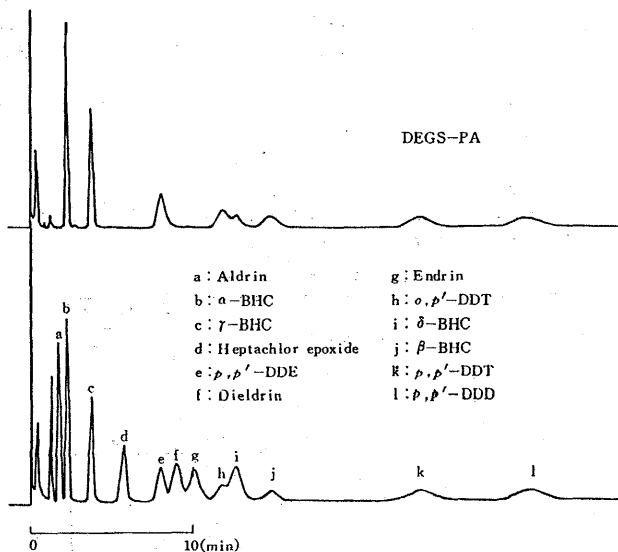


図-3 過マンガン酸カリウム処理による有機塩素系農薬の分解

6. フロリジルカラムクロマトグラフィーによるNIP、CNP、X-52、PCB、有機塩素系農薬の分離  
フロリジルカラムクロマトグラフィーによりNIP、CNPやX-52、PCB及び有機塩素系農薬は図-4のように分離することができ、妨害とはならない。

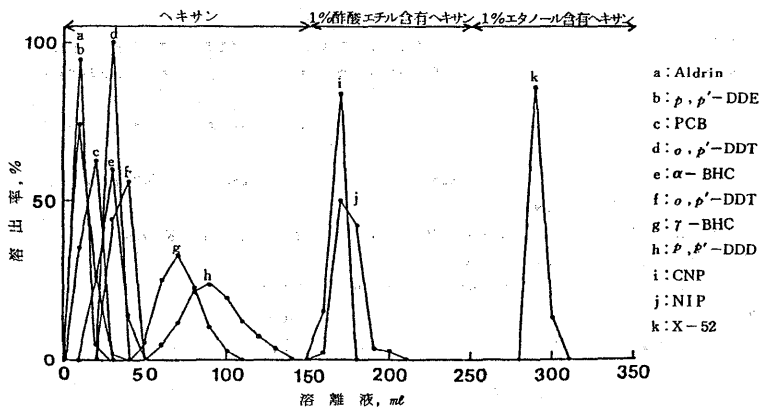


図-4 フロリジルカラムクロマトグラフィー

〔他の分析法について〕

水からの抽出液として液々抽出法は試料量が限定されるので、ここでは採用しなかった。

1 N水酸化カリウム・エチルアルコール溶液によりアルカリけん化を行ったところ水試料では3物質ともに60%以上回収されたが底質に添加した場合はまったく回収されなかった。このことから、けん化中に分解している可能性もあることが推測されたので採用しなかった。なお文献にはアルカリけん化法を用いている報告<sup>2)</sup>もあることから、けん化条件によるものとも考えられる。

文献<sup>2)</sup>に報告されている硝酸銀フロリジルカラムクロマトグラフィーを試みたところ、NIP、CNP及びX-52に再現性が認められなかったので採用しなかった。

循環式水蒸気蒸留ではNIP 77%、CNP 89%、X-52が22%回収された。

〔分解性スクリーニング結果〕

初期濃度 NIP 3.6  $\mu\text{g}/\text{L}$ 、CNP 1.6  $\mu\text{g}/\text{L}$  及び X-52 3.7  $\mu\text{g}/\text{L}$  の水溶液を用いて測定したところ、表-2に示すごとく3物質とも分解は認められなかった。

表-2 分解性スクリーニング結果

| 物質名    | pH | 1時間後<br>残存率(%) | 5日後残存率(%) <sup>*</sup> |       |
|--------|----|----------------|------------------------|-------|
|        |    |                | 場 所                    | 光 照 射 |
| N I P  | 5  | 99.6           | 97.6                   | 90.8  |
|        | 7  | 97.6           | 100.4                  | 103.8 |
|        | 9  | 102.3          | 99.8                   | 99.0  |
| C N P  | 5  | 94.6           | 100.2                  | 97.7  |
|        | 7  | 96.2           | 98.4                   | 101.7 |
|        | 9  | 101.4          | 97.0                   | 96.9  |
| X - 52 | 5  | 98.0           | 97.4                   | 94.7  |
|        | 7  | 100.6          | 97.7                   | 99.9  |
|        | 9  | 104.5          | 95.0                   | 96.9  |

<sup>\*</sup> 5日後残存率は1時間後残存率を基準とした。

〔評 価〕

ここで採用した方法は水については試料量を増すことによって検出限界を下げることができ、また底質についても同様のことかといえる。添加回収実験では比較的高濃度であったが、十分検出限界をさげることができると考えられる。

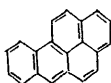
(担当者 尾崎邦雄、富永泰子、向井博之、村山等)

参考文献

- 1) 向井博之、尾崎邦雄、村山等、三屋彰、大科達夫：昭和53年度化学物質環境調査分析方法報告書、p.185 (昭和54年3月)。(日本環境協会)。
- 2) T. Yamagishi, K. Akiyama, M. Morita, R. Takahashi, T. Miyazaki and S. Kaneko : Bull. Environ. Contam. Toxicol., 23, 58 (1979)。
- 3) 石川潔、鈴木滋、佐藤信俊、高規圭悟、堺敬一：食衛誌, 22, 56 (1981)。
- 4) 佐藤信俊、石川潔、鈴木滋、高規圭悟、堺敬一：同上, 22, 1 (1981)。
- 5) 武田明治、鈴木隆、大槻久美子、関田寛、藤沢佳津子、星美恵子：同上, 14, 6 (1973)。

## ベンゾ(a)ピレン

Benzo (a) pyrene

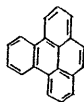
分子式  $C_{20}H_{12}$ 

分子量 252.30

融点  $179 - 179.3^{\circ}C$ 

## ベンゾ(e)ピレン

Benzo (e) pyrene

分子式  $C_{20}H_{12}$ 

分子量 252.30

融点  $178 - 179^{\circ}C$ 

## § 1 分 析 法

本分析法は、水試料については、ラウリル硫酸ナトリウムを吸着させたポリアミドカラム (SLS-PAカラム) に通水吸着後、ジクロロメタンで溶離し、脱水、濃縮、窒素ガスをおだやかに吹きつけて乾固しヘキサンに溶解する。底質試料については鹼化処理後ヘキサンで抽出する。ついでヘキサン-アセトニトリル液々分配抽出を行ない、アセトニトリル層に水を加えヘキサンに再転溶し、脱水、濃縮後シリカゲルカラムでクリーンアップし、HPLC-F1 で定量する方法である。

## 試 験 法

## 〔試料の前処理〕

〔水質試料〕 試料を図1に示す液固抽出装置の分液ロートに取り、脱脂綿ろ過後SLS-PAカラム (注1)  
(注2)

-  $60\text{ ml/min}$ の流速で $10\text{ L}$ 通水する。通水終了後、水 $100\text{ ml}$ でカラムを洗い、二連球を用いてカラム上部より加圧し、水をできるだけ除去する。ついでメタノール $30\text{ ml}$ をカラムに加え、カラム上部に栓をし、カラムを転倒させて気泡を除去したのち $5 \sim 6\text{ ml/min}$ の流速で溶出し、溶出液は分液ロートに受ける。さらにメタノール $70\text{ ml}$ を用いて溶出を続け、メタノールが流下したのち、加圧してメタノールをできるだけ流出させる。続いてジクロロメタン $40\text{ ml}$ をカラムに加え、カラム上部に栓をし、カラムを転倒させて気泡を除去後カラムのヘッドに脱脂綿を栓状につめたのち、 $2 \sim 3\text{ ml/min}$ の流速で溶出する。さらにジクロロメタン $120\text{ ml}$ を用いて溶出を続け、ジクロロメタンが流下したのち、加圧してジクロロメタンをできるだけ流出させる。溶

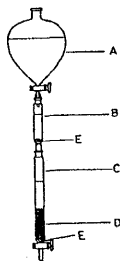


図1 液 固 抽 出 装 置

A：分液ロート，B：脱脂綿3過用ガラス管（2×20 cm），C：カラムクロマト管（2×30 cm），  
D：SLS-PA，E：脱脂綿

出液に5%塩化ナトリウム溶液500 mlを加え，10%水酸化ナトリウム溶液でPHを12にし，15分間振とう抽出する。水層はジクロロメタン30 mlで更に抽出し，ジクロロメタン層を合わせ，水200 mlずつで3回水洗する。

一方浮遊物質を付着した脱脂綿はナス型フラスコに入れ，水酸化カリウム2.8 g，エタノール50 mlを加え30分間加熱還流後，ガラスロートを用いて分液ロートに移し，ガラスロート上で脱脂綿をガラス棒を用いてよくしぼる。ナス型フラスコはエタノール20 mlで洗い，上と同様にして分液ロートに合わせる。ついで水210 mlを加え，ヘキサン25 mlずつで2回，15分間振とう抽出する。ヘキサン層を合わせ水50 mlずつで2回水洗し，先の抽出液と合わせ，無水硫酸ナトリウムで脱水，KD装置で濃縮後，窒素ガスをおだやかに吹きつけて乾固し，ヘキサン50 mlに溶解する。

〔底質試料〕 試料20 gを正確にはかり，ナス型フラスコに入れ，水酸化カリウム5.6 g，エタノール100 mlを加え30分間加熱還流後，上澄液を速心分離し分液ロートに移す。ナス型フラスコをエタノール20 mlで洗い，上と同様にして分液ロートに合わせる。ついで水360 mlを加え，ヘキサン25 mlずつで2回，15分間振とう抽出し，ヘキサン層を合わせ，5%塩化ナトリウム溶液50 mlずつで2回洗浄する。

#### 〔試料液の調製〕

〔水質，底質試料〕 試料処理液を分液ロートに取り，ヘキサン飽和アセトニトリル100 ml，100 ml，50 ml，50 mlで4回10分間，10分間，5分間，5分間振とう抽出し，アセトニトリル層を合わせ，水900 mlを加え，ヘキサン120 mlで15分間振とう抽出する。ヘキサン層を水120 mlずつで2回水洗後，脱水，KD濃縮器で1 ml迄濃縮する。ついで濃縮液を無水硫酸ナトリウム2 gを層積したシリカゲルカラム（活性度1，1

（注1）

×15 cm）にのせ，容器は少量のヘキサンで数回洗い，洗液をカラムクロマト管に加える。続いてヘキサン300 mlを流し，初めの90 mlを捨て，つぎの90-300 mlをKD濃縮器に受け，約3-5 mlとなるまで濃縮し，

（注1）

窒素ガスをおだやかに吹きつけて乾固し，アセトン1.0 mlに溶かし試料液とする。

## 〔空試料液の調整〕

〔試料の前処理〕および〔試料液の調製〕と同様に操作して得られる液を空試料液とする。（但し、水質試料についてはSLS-PAカラムに水10ℓを通さないで行う）

## 〔標準液の調整〕

ベンゾ(a)ピレン10mg, ベンゾ(e)ピレン10mgを正確にはかり、おのおのアセトンを加えて正確に100mlとし標準原液とする。標準原液よりB(a)P 0.1 ppm, B(e)P 1 ppm アセトン溶液およびB(a)P 1 ppm, B(e)P 1 ppm アセトン溶液を作製する。

## 〔測定〕

### 〔HPLC-FIの条件〕

カラム：パーキンエルマー-PAH/10 0.26×25cm

検出器：螢光分光光度計

移動相：アセトニトリル：水=70：30

B(a)P：Ex.w.1.296nm Em.w.1.405nm

流速：1.5ml/min

B(e)P：Ex.w.1.288nm Em.w.1.378nm

〔検量線〕 標準液1～10μℓを高速液体クロマトグラフに注入し、そのピーク高により作製する。

〔定量〕 試料液10μℓをマイクロシリンジでとり、高速液体クロマトグラフに注入する。得られたピーク高により検量線から定量値を求める。

### 〔計算〕

$$\text{計量値 (ppm)} = \text{HPLC検出量 (ng)} \times \frac{\text{最終抽出液量 (ml)}}{\text{HPLC注入量 (μℓ)}} \times \frac{1}{\text{試料量 (mlまたはg)}}$$

〔定量限界〕 本分析法に基づく定量限界を下記に示す。

|      | 試料量 | 定量限界   |        |
|------|-----|--------|--------|
|      |     | B(a)P  | B(e)P  |
| 水質試料 | 10ℓ | 0.3ppt | 2ppt   |
| 底質試料 | 20g | 0.1ppb | 0.6ppb |

最終抽出液量：1ml HPLC注入量：10μℓ

## 試薬・器具

### 〔試薬〕

ヘキサン、ジクロルメタン、アセトン、エタノール、メタノール：残留農薬試験用

無水硫酸ナトリウム：残留農薬試験用

塩化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化ナトリウム：特級試薬

ポリアミド：カラムクロマトグラフ用ポリアミドC-100（和光純薬）を三角フラスコに入れ、メタノールでスラリーとし、微粉状の樹脂を除去する。

ラウリル硫酸ナトリウム（SLS）溶液：ラウリル硫酸ナトリウム（生化学用、和光純薬）5gをメタノール150

mlに溶かし、円心分離後上澄液を分液ロートに移し、水150mlを加え、ヘキサン250mlで5回洗浄する。

カラムクロマトグラフィー用充填剤SLS-PA:メタノールを用いてポリアミド50gを湿式法によりカラム(4×18cm)を作り、これにSLS溶液60mlを加え3ml/minの流速で流下させる。ついで水洗を行ない、流出液の泡立ちがほとんど消失したのち、メタノール700mlで洗浄し、更にジクロルメタン200mlを加え、カラムヘッドに脱脂綿を栓状につめたのち、ジクロルメタン1,000mlで洗浄する。ついでこの担体を吸引ろし過量の溶媒を除き、ロータリーエボレーターを用いて60℃で乾燥する。

#### 〔器具〕

SLS-PAカラム:内径2cm、高さ30cmのカラム(下部にコックを有し、上部にはすり合わせジョイントを有するもの)に水を用いてSLS-PA(約7g)を湿式法により充填し、10cmのカラムを調整し、カラム上部に水を高さ10cm程度残存させる。

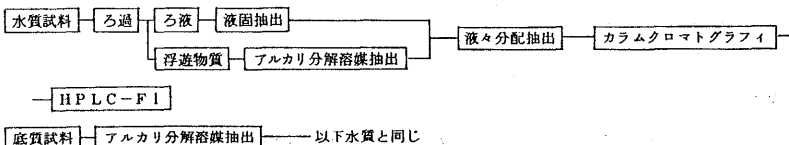
#### 注 解

- 1) ベンゾ(a)ピレンは水溶液中でも、有機溶媒中でもかなり光により分解される為、試料液の保存およびカラムクロマト中はアルミ箔で遮光しておく必要がある。
- 2) 通水中徐々に流速が低下するが、図1のB、C中の水の高さを増し圧力をかけて通水する。

## § 2 解 説

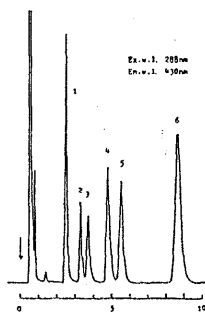
### 分 析 法

#### 〔フローチャート〕



#### 〔分析法の検討〕

1. HPLCカラム Lichrosorb RP-18で移動相としてメタノール-水系、アセトニトリル-水系の混合比を変化させてB(a)Pとベンゾ(b)フルオランテン、ベリレン、ベンゾ(b)フルオランテンの分離を試みたが、良好な分離ができなかった。ついでPAH/10カラムについて検討したが良好な結果を得た。このクロマトグラムを図2に示す。



保持時間 (min)

図2 PAHの高速液体クロマトグラム

1.クリセン 2.ベンゾ(e)ピレン 3.ベンゾ(b)フル  
オランテン+ベリレン 4.ベンゾ(k)フルオランテ  
ン 5.ベンゾ(a)ピレン 6.ジベンゾ(a,h)ア  
ントラセン

## 2. 検量線 図3, 図4に示す

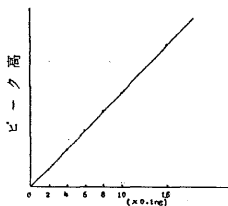


図3 ベンゾ(a)ピレンの検量線

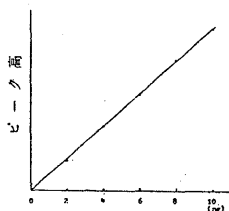


図4 ベンゾ(e)ピレンの検量線

## 3. 回収実験結果

| 試料  | 添加量 (μg) |         | 試料量  | 回収率 (%) |         |
|-----|----------|---------|------|---------|---------|
|     | B (a) P  | B (e) P |      | B (a) P | B (e) P |
| 精製水 | 0.1      | 1.0     | 10 L | 91.2    | 92.2    |
| 海水  | 0.1      | 1.0     | 10 L | 69.0    | 73.4    |
| 湿泥  | 1.0      | 1.0     | 20 g | 95.3    | 89.6    |

## 4. 水中での分解性スクリーニング結果

| PH | 放置時間 | B (a) P |      |      |        |      | B (e) P |      |      |        |      |
|----|------|---------|------|------|--------|------|---------|------|------|--------|------|
|    |      | 1時間     | 5日間  |      | 残存率(%) |      | 1時間     | 5日間  |      | 残存率(%) |      |
|    |      |         | 暗所   | 光照射  | 暗所     | 光照射  |         | 暗所   | 光照射  | 暗所     | 光照射  |
| 5  |      | 99.6    | 90.5 |      | 90.9   |      | 99.8    | 99.1 |      | 99.3   |      |
| 7  |      | 96.5    | 85.6 | 16.1 | 88.7   | 16.7 | 99.9    | 97.3 | 93.4 | 97.4   | 93.5 |
| 9  |      | 97.9    | 77.7 |      | 79.4   |      | 100.4   | 84.9 |      | 84.6   |      |

# 〔分析例〕

東京羽田田沖の底質資料の高速液体クロマトグラムを  
図 5 に、ベンゾ(a)ピレンの蛍光および励起スペクトルを  
図 6 に、ベンゾ(e)ピレンの蛍光および励起スペクトルを  
図 7 に示す。

図 5 底質の高速液体クロマトグラム

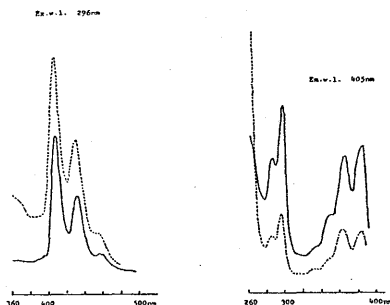
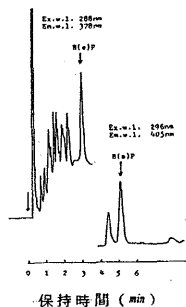


図 6 ベンゾ(a)ピレンの蛍光および励起スペクトル

—— 試料 ..... 標準品

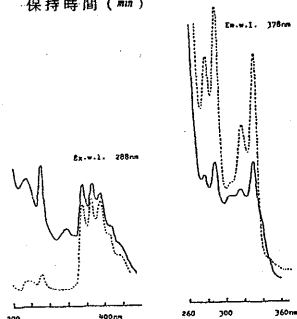


図 7 ベンゾ(e)ピレンの蛍光および励起スペクトル

—— 試料 ..... 標準品

この底質試料の実測値は B(a)P 4.2 ppb, B(e)P 3.3 ppb であった。

## 評 価

この方法により、環境試料中の微量のベンゾ(a)ピレンおよびベンゾ(e)ピレンを定量でき、また励起波長および蛍光波長を適切に選択すればその他多くの多環芳香族炭化水素を同時に定量することができる。

担当者 岡本 寛 土屋悦輝 西垣 進

## 参考文献

- 1) 竹下隆三, 他: 日本薬学会第 96 年会講演要旨集
- 2) 富田勲, 他: 衛生化学 23 200 (1977)
- 3) K. Ogan, et al.: Anal. Chem 51 1315 (1979)

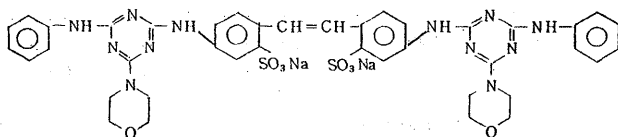
4,4'-bis (4-アニリノ-6-モルホリノ-1,3,5-トリアジン-2-イル) アミノスチルベン-2,2'-ジスルホン酸-2-ナトリウム

4,4'-bis (2-スルフォスチリル) ビフェニル-2-ナトリウム

4,4'-bis (4-anilino-6-morpholino-1,3,5-triazin-2-yl) aminostilbene-2,2'-disulfonic acid disodium salt

4,4'-bis (2-sulfostyryl) biphenyl disodium salt

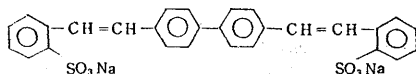
4,4'-bis (4-アニリノ-6-モルホリノ-1,3,5-トリアジン-2-イル) アミノスチルベン-2,2'-ジスルホン酸-2-ナトリウム



分子式  $C_{40}H_{35}N_{12}O_8S_2Na_2$

分子量 924

4,4'-bis (2-スルフォスチリル) ビフェニル-2-ナトリウム



分子式  $C_{28}H_{20}O_6S_2Na_2$

分子量 562

## § 1 分 析 法

本分析法は、水質試料については、セップバック  $C_{18}$  カートリッジを用いて濃縮してメタノールで溶離したのち、底質試料については、メタノールで抽出してこれをメンブランフィルターを用いてろ過したのち、それぞれのメタノール抽出液を蒸発乾固させ、これらを一定量の水・アセトニトリル混合溶媒に再溶解させて、蛍光光度計検出器付高速液体クロマトグラフ (HPLC) で定量する方法である。

## 試 験 法

### 【試料の前処理】

【水質試料】 試料水(注1)に0.1%になるように過塩素酸テトラエチルアンモニウム( $TEA^+$ )を加え溶解させる(注2)。その20mlを正確に注射筒に取り、注射筒の先端にとりつけたセップバック  $C_{18}$  カートリッジ

に試料水を約3～4 ml/minの速度で通過させる。ついで、セップバックC<sub>18</sub> カートリッジに0.1%過塩素酸テトラエチルアンモニウム溶液5 mlを通水したのち(注4)、メタノール3 mlを2回通し蛍光増白剤(Fluorescent Whitening Agent, 以下FWAという)を溶離させる。

(底質試料) 底質(注1) 2～10 g (湿泥)を100 mlの共栓付遠沈管に取り、これにメタノール50 mlを加え、振とう機を用いて20分間振とうしたのち、3,000回転で5分間遠心分離する。上澄液(メタノール層)を200 mlのメスフラスコにデカンテーションして移す。ついで再び遠沈管にメタノール50 mlを加え、同様に操作し、メタノール層を先のメタノール抽出液と合わせる。この操作をもう一度くり返したのち、メタノール抽出液の全量を200 mlとし、その一定量をメンブランフィルターでろ過する。

#### 【HPLC用試験溶液の調製】

試料の前処理で得られたメタノール抽出液(注3)(水質試料の場合は全量の6 ml、底質試料の場合は5 mlを分取)をロータリーエボレーターを用いて蒸発乾固したのち、これらに1 mlの水・アセトニトリル混合溶媒(70:30 v/v)を正確に加え、これをHPLC用試験溶液とする。

#### 【HPLC用空試験溶液の調製】

試料を用いないで、【試料の前処理】および【HPLC用試験溶液の調製】と同様に操作して得られた溶液をHPLC用空試験溶液とする。

#### 【標準溶液の調製】

(標準原液の調製) 4,4'-Bis(4-anilino-6-morpholino-1,3,5-triazin-2-yl) aminostilbene-2,2'-disulfonic acid disodium salt (以下FWA Iという) 0.100 gをメスフラスコにとり、これにジメチルスルホキシド(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO 10 mlを加え溶かしたのち、水を加えて100 mlとする。これをFWA I 標準原液(1,000 μg/ml)とする。

4,4'-Bis(2-sulfostyryl) biphenyl disodium salt (以下FWA IIという) 0.100 gをメスフラスコにとり、水を加えて100 mlとする。これをFWA II 標準原液(1,000 μg/ml)とする。

(標準溶液の調製) それぞれの標準原液を水・アセトニトリル混合溶媒(70:30 v/v)で希釈して、FWA I については1 μg/ml、FWA II については、0.1 μg/mlの標準混合溶液を調製する。

#### 【測定】

測定は、HPLCに試験液および空試験液それぞれ10 μlを注入する。

#### 【HPLC条件】

検出器：蛍光光度計検出器(Ex 358 nm, Em 403 nm)

カラム：日本分光工業体製 ODS SS-10-B

ステンレス 4 mm φ × 250 mm

移動相：a) 0.01 M NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> / アセトニトリル(75:25 v/v)

b) 0.1% (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)<sub>4</sub> NClO<sub>4</sub> - 水 / アセトニトリル(70:30 v/v)

流速：1 ml/min

(検量線) FWA I 標準溶液(0.1～1 μg/ml)およびFWA II 標準溶液(0.01～0.1 μg/ml)の溶液を調製し、HPLCにその10 μlを注入して、そのピーク高さにより検量線を作成する。

(計算式) 水質試料：試料20 mlを使用し、試験液1 mlにして、HPLCにその10 μlを注入した場合の検出量を a ng とすると

$$\frac{a}{200} \quad \mu\text{g/ml}$$

底質試料：試料10 g (湿泥)を、メタノール 200 mlで抽出し、その5 mlを使用し、試験液1 mlにして、HPLCにその10 μlを注入した場合の検出量を b ng とすると、

$$\frac{2b}{5(1 - \frac{D}{100})} \quad \mu\text{g/g} \quad D: \text{底質の水分含有率}(\%)$$

(データ表示) 水質試料の場合は μg/ml、底質試料の場合は μg/g (dry) とする。

〔定量限界〕

|        | 水質試料 $\mu\text{g/g}$ (ppb) | 底質試料 $\mu\text{g/g}$ (ppm) |
|--------|----------------------------|----------------------------|
| FWA I  | 1.3                        | 0.05                       |
| FWA II | 0.13                       | 0.005                      |

試 薬 ・ 器 具

〔試 薬〕

|                  |   |                 |
|------------------|---|-----------------|
| 過塩素酸テトラエチルアンモニウム | ： | 和光純薬（株）特級試薬     |
| メタノール            | ： | “ 液体クロマトグラフ用    |
| アセトニトリル          | ： | “ 液体クロマトグラフ用    |
| FWA I            | ： | 化成品工業協会から入手     |
| FWA II           | ： | 日本チバガイギー（株）から入手 |

〔器具及び装置〕

|                               |   |                                |
|-------------------------------|---|--------------------------------|
| セップバック C <sub>18</sub> カートリッジ | ： | ウォーターズ社、セップバック C <sub>18</sub> |
| 振とう器                          | ： | （株）杉山元理器製                      |
| 遠心分離機                         | ： | （株）佐久間製作所製                     |
| 高速液体クロマトグラフ                   | ： | 日本分光工業（株）製 トライローター型            |

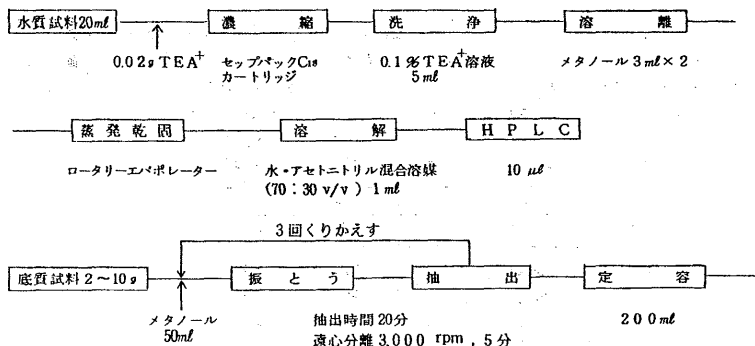
注 解

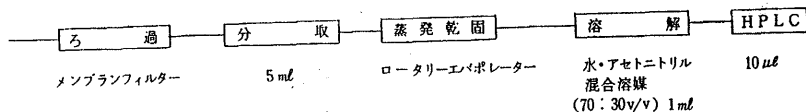
- 1) FWA は光によって分解されやすいので、試料の採取はかっ色の容器を用い、分析操作もしゃ光して行う。
- 2) 過塩素酸テトラエチルアンモニウムを加えることにより、試料中に含まれている FWA がセップバック C<sub>18</sub> カートリッジに吸着され易くなる。
- 3) 水質、底質試料中に含有されている FWA 量により、メタノール抽出液を適当量分取すると良い。
- 4) 海水のように塩濃度が高い試料は、塩類が保持時間をおくらせる原因となるので、セップバック C<sub>18</sub> カートリッジに吸着した塩を追い出すために 0.1% 過塩素酸テトラエチルアンモニウムを通水する。

§ 2 解 説

〔分析法〕

〔分析フローチャート〕





(分析法の検討)

1. 検量線 FWA I および FWA II の検量線を図1に示した。FWA I は 0 ~ 10 ng まで、FWA II は 0 ~ 1 ng まで、それぞれ原点を通る直線性を示した。

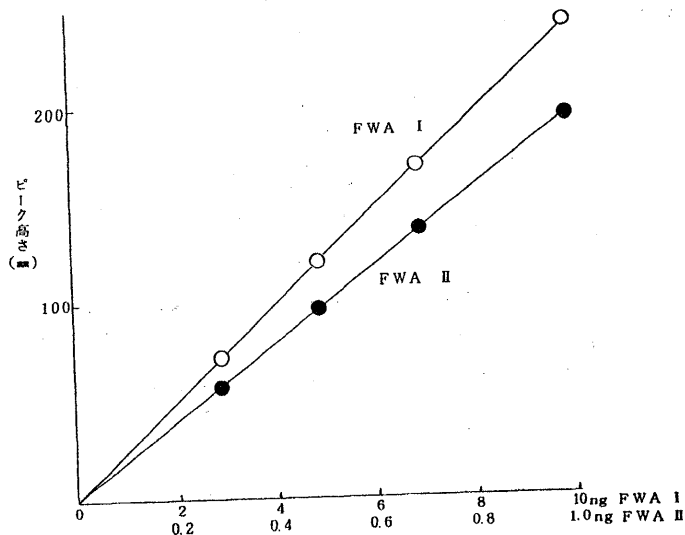


図1 検 量 線

2. セップパック C<sub>18</sub> カートリッジ濃縮時における過塩素酸テトラエチルアンモニウムの影響 水質試料 20 ml をセップパック C<sub>18</sub> カートリッジに通水するときの過塩素酸テトラエチルアンモニウム (TEA<sup>+</sup>) の影響について検討したところ、表1に示す結果を得た。セップパック C<sub>18</sub> カートリッジ濃縮を行う時、試料水中に過塩素酸テトラエチルアンモニウムが 0.1 % 程度入っていた方が、FWA の吸着は良かった。

表1 セップパック C<sub>18</sub> カートリッジ濃縮時における過塩素酸テトラエチルアンモニウム (TEA<sup>+</sup>) の影響

| TEA <sup>+</sup><br>% | FWA I       |              | FWA II      |              |
|-----------------------|-------------|--------------|-------------|--------------|
|                       | 5 $\mu$ g/l | 10 $\mu$ g/l | 5 $\mu$ g/l | 10 $\mu$ g/l |
| 0                     | 82 %        | 77 %         | 78 %        | 64 %         |
| 0.1                   | 87 %        | 87 %         | 94 %        | 96 %         |
| 0.2                   | 85 %        | 77 %         | 86 %        | 99 %         |

3. 底質試料におけるメタノールによる抽出回数について 底質試料中に含まれているFWAをメタノールで抽出するときの抽出回数について検討したところ、図2に示す結果を得た。これからわかるようにメタノールで3回抽出を行えば充分であることがわかった。

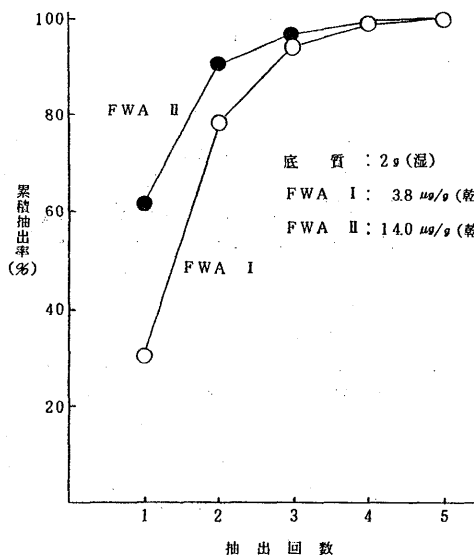


図2 底質試料におけるメタノールによる抽出回数

4. 添加回収実験結果 河川水、海水については20mlの試料水に、底質については10gの河川底泥にFWA IおよびFWA IIを添加して回収実験を行って、それらの回収率を求めたところ、それぞれ表2、表3および表4に示す結果を得た。河川水、海水および底質試料ともに満足すべき回収率を得ることができた。

表2 水質試料への添加回収実験結果

| 試料        | FWA I                      |                            |                            |            | FWA II                     |                            |                            |            |
|-----------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|------------|
|           | 検出量<br>( $\mu\text{g/l}$ ) | 添加量<br>( $\mu\text{g/l}$ ) | 回収量<br>( $\mu\text{g/l}$ ) | 回収率<br>(%) | 検出量<br>( $\mu\text{g/l}$ ) | 添加量<br>( $\mu\text{g/l}$ ) | 回収量<br>( $\mu\text{g/l}$ ) | 回収率<br>(%) |
| 河川水 (C水域) | N. D                       | 5.0                        | 5.0                        | 100        | 5.2                        | 5.0                        | 9.8                        | 99         |
|           |                            | 10.0                       | 9.0                        | 90         |                            | 10.0                       | 13.9                       | 95         |
|           |                            | 5.0                        | 4.3                        | 86         |                            | 5.0                        | 5.8                        | 94         |
| 河川水 (C水域) | N. D                       | 10.0                       | 8.8                        | 88         | 1.2                        | 10.0                       | 10.7                       | 97         |

表3 海水への添加回収実験結果

| 試料   | FWA I                         |                               |                               |            | FWA II                        |                               |                               |            |
|------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|------------|
|      | 検出量<br>( $\mu\text{g}/\ell$ ) | 添加量<br>( $\mu\text{g}/\ell$ ) | 回収量<br>( $\mu\text{g}/\ell$ ) | 回収率<br>(%) | 検出量<br>( $\mu\text{g}/\ell$ ) | 添加量<br>( $\mu\text{g}/\ell$ ) | 回収量<br>( $\mu\text{g}/\ell$ ) | 回収率<br>(%) |
| 海水 1 | N. D                          | 5.0                           | 4.0                           | 80         | N. D                          | 5.0                           | 4.55                          | 91         |
|      |                               | 10.0                          | 7.4                           | 74         |                               | 10.0                          | 9.0                           | 90         |
| 海水 2 | N. D                          | 5.0                           | 4.0                           | 80         | N. D                          | 5.0                           | 4.6                           | 92         |
|      |                               | 10.0                          | 8.0                           | 80         |                               | 10.0                          | 9.3                           | 93         |
| 海水 2 | N. D                          | 5.0                           | 4.65                          | 93         | N. D                          | 5.0                           | 4.95                          | 99         |
|      |                               | 10.0                          | 8.0                           | 80         |                               | 10.0                          | 9.6                           | 96         |

表4 底質試料への添加回収実験結果

| 試料     | FWA I                    |                          |                          |            | FWA II                   |                          |                          |            |
|--------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|------------|
|        | 検出量<br>( $\mu\text{g}$ ) | 添加量<br>( $\mu\text{g}$ ) | 回収量<br>( $\mu\text{g}$ ) | 回収率<br>(%) | 検出量<br>( $\mu\text{g}$ ) | 添加量<br>( $\mu\text{g}$ ) | 回収量<br>( $\mu\text{g}$ ) | 回収率<br>(%) |
| 河川底質 1 | 2.7                      | 10.0                     | 9.8                      | 71         | 6.9                      | 10.0                     | 15.5                     | 86         |
| 河川底質 2 | 4.1                      | 10.0                     | 13.3                     | 92         | 14.3                     | 10.0                     | 23.4                     | 91         |
| 河川底質 3 | 1.1                      | 1.0                      | 2.0                      | 90         | 1.4                      | 1.0                      | 2.4                      | 100        |

5. 分解性スクリーニング試験結果 PHを4, 7, 9に調整した蒸留水100mlをテフロン製攪拌子を入れたバイアルビンに入れ、このバイアルビン中にFWA IおよびFWA IIをそれぞれ100ppになるように添加し、密栓して約5分間攪拌した。室温で①1時間後、②暗所にて5日後、③光照射下にて5日後の試料濃度を測定し、初期濃度を標準にして残存率を算出したところ表5に示す結果を得た。なお、FWAの光分解については松尾昌幸らが短時間の光照射ではトランス→シス光異性化を起し、シス体に富む平衡混合物となり、長時間の光照射ではシス体が徐々に分解し、ついには $\text{NH}_3$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$ 、 $\text{HSO}_4^-$ 、 $\text{CO}_3^{2-}$ および有機酸残基になることを報告している。

表5 分解性スクリーニング試験結果

| PH | FWA I |           |     | FWA II |           |    |
|----|-------|-----------|-----|--------|-----------|----|
|    | 1時間   | 5日間<br>暗所 | 明所  | 1時間    | 5日間<br>暗所 | 明所 |
| 4  | 97    | 96        | 11  | 100    | 90        | 32 |
| 7  | 100   | 95        | 4.3 | 93     | 91        | 23 |
| 9  | 97    | 95        | 4.0 | 104    | 90        | 23 |

単位 %

6. 標準品のクロマトグラム 0.01M  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ /アセトニトリル (75:25v/v) の移動相を用いて、図3に示した6種類のFWAを分離したときのクロマトグラムを図4に示した。通常、環境試料から検出されるFWA IおよびFWA IIを分離するには0.1% ( $\text{C}_2\text{H}_5)_4\text{NClO}_4$ -水/アセトニトリル (70:30v/v) の移動相を用いることが操作上便利である。しかし、この場合はFWA IIとFWA Vの分離が難しいため、定性的確認には0.01M  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ /アセトニトリル (75:25v/v) の移動相を併用するとよい。

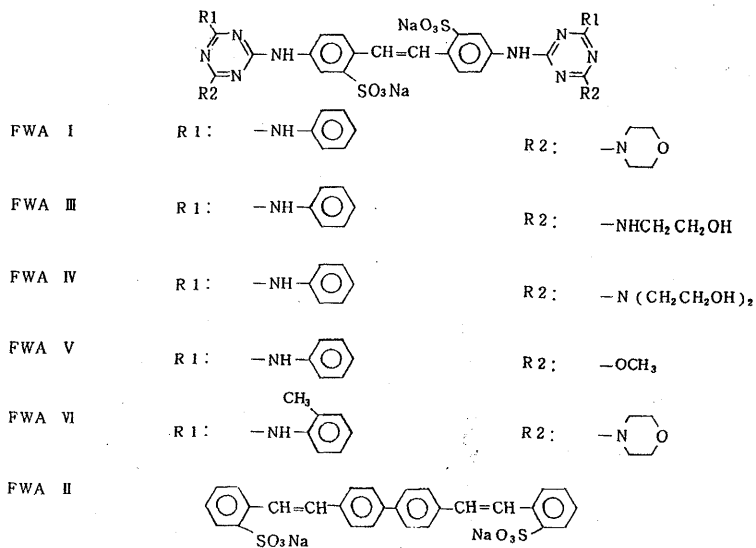


図3 FWAの種類と構造式

#### HPLCの条件

蛍光波長 : Ex 358 nm, Em 403 nm

カラム : ODS SS-10-B  
4mmφ × 250mm

移動相 : 0.01M  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  / アセトニトリル : 75 / 25 v/v

流速 : 1 ml/min

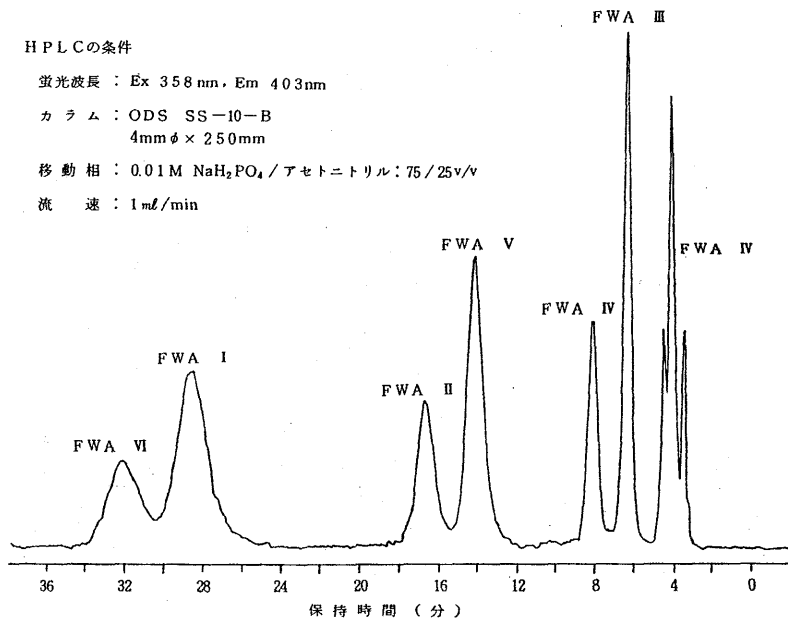


図4 FWAのクロマトグラム

〔環境試料分析〕

1. 実測データ 相模川における河川水および底質の調査地点を図5に示した。これらの地点においてFWAを分析し、その結果を表6および表7に示した。

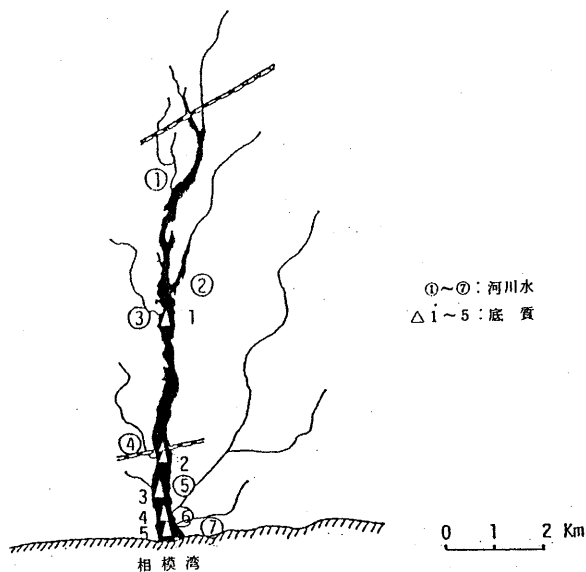


図5 調査地点

表6 相模川河川水中のFWAの分析結果

| 調査地点 | FWA I<br>( $\mu\text{g}/\ell$ ) | FWA II<br>( $\mu\text{g}/\ell$ ) |
|------|---------------------------------|----------------------------------|
| 1    | < 1.3                           | 3.4                              |
| 2    | "                               | 2.2                              |
| 3    | "                               | 4.4                              |
| 4    | "                               | 2.5                              |
| 5    | "                               | 1.5                              |
| 6    | "                               | 0.85                             |
| 7    | "                               | 4.2                              |

表7 相模川底質中のFWAの分析結果

| 調査地点 | FWA I<br>( $\mu\text{g}/\text{g dry wt.}$ ) | FWA II<br>( $\mu\text{g}/\text{g dry wt.}$ ) | 1-L<br>(%) |
|------|---------------------------------------------|----------------------------------------------|------------|
| 1    | 0.56                                        | 0.99                                         | 12.1       |
| 1'   | 0.67                                        | 1.6                                          | 11.6       |
| 2    | 0.29                                        | 1.1                                          | 10.0       |
| 3    | 0.34                                        | 0.81                                         | 5.0        |
| 4    | 1.3                                         | 4.6                                          | 11.7       |
| 4'   | 3.4                                         | 10.7                                         | 21.3       |
| 5    | 0.09                                        | 0.14                                         | 1.6        |

2. クロマトグラム例 環境試料（河川水、海水、底質）を分析した時に得られた高速液体クロマトグラムを図6、図7および図8に示した。

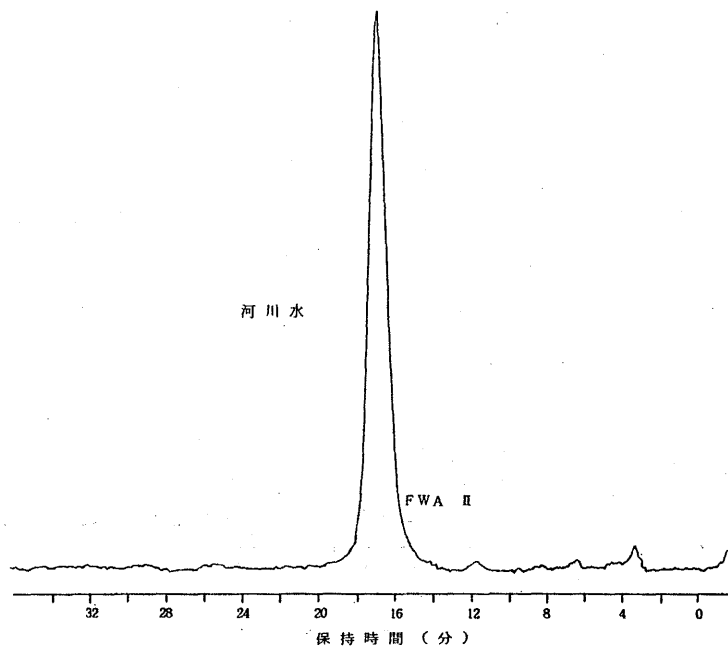


図6 河川水のクロマトグラムの一例

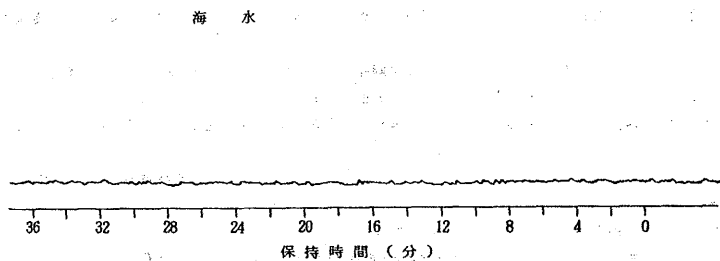


図7 海水のクロマトグラムの一例

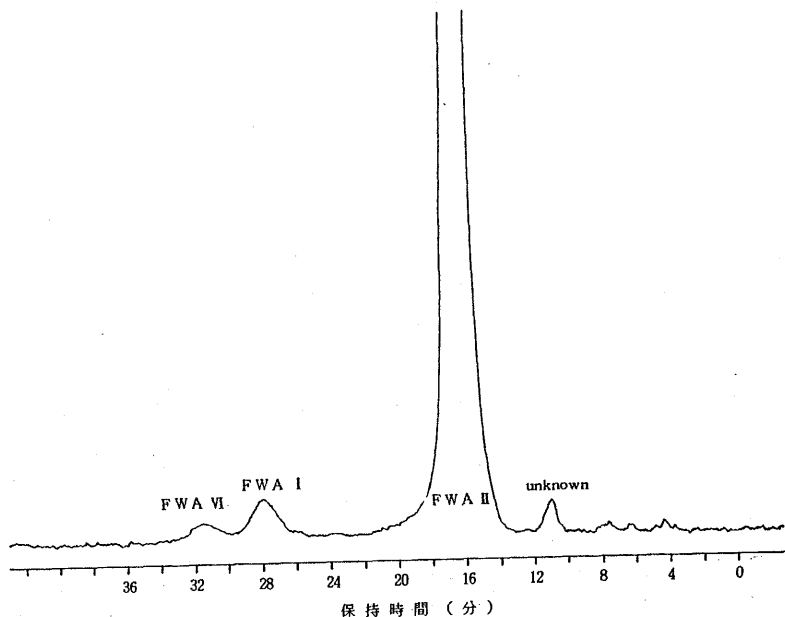


図8 底質のクロマトグラムの一例

#### 【評 価】

1. 本法は、分析操作時間が比較的短く、回収率もほぼ満足できる結果が得られ、環境分析に充分応用できるものと考えられる。
2. 本法で使用した標準品は、市販されている標準試薬ではないので純度は保証されていない。しかし、純度は入手先からの情報によるとFWA Iは100%、FWA IIは90%であったので、これに基づいて定量値を補正した。
3. 分解性スクリーニングの結果では、FWAは分解性のある物質であることがわかったので、環境調査を行う場合、この点について充分考慮する必要があると思われる。
4. 本法は、6種類のFWAを分離することができたが、環境試料からは2種類のFWAが検出され、これらは合成洗剤に使用されているものと一致した。

安部明美 田中克彦

#### 参考文献

- 安部明美他, 水質汚濁研究 Vol 1, No 3, 216~222 (1978)  
 野馬幸生他, 化学物質分析法開発調査報告書, (財)日本環境協会, 昭和55年3月, 130~136  
 松尾昌季他, 日本化学会誌 No 10, 1994~1996 (1972)

## 横浜市公害研究所

## 化学物質名

- 1) ベンゾ ( a ) ビレン (BaP)
- 2) ベンゾ ( c ) ビレン (BeP)
- 3) フルオランテン (Flu)

## 構 造 式

1)



2)



3)



## 分 子 量

- 1)  $C_{20}H_{12}$  252
- 2)  $C_{20}H_{12}$  252
- 3)  $C_{16}H_{10}$  202

## 沸 点

- 1)  $310 \sim 312^{\circ}\text{C}$  (10 mmHg)
- 2)  $250^{\circ}\text{C}$  (3~4 mmHg)
- 3)  $382^{\circ}\text{C}$

## 融 点

- 1)  $179 \sim 179.3^{\circ}\text{C}$
- 2)  $178 \sim 179^{\circ}\text{C}$
- 3)  $111^{\circ}\text{C}$

## 分 析 法

本分析法は、水試料については、ベンゼンで抽出し、底質試料についてはアセトニトリルによって抽出を行い、脱水、濃縮後、薄層クロマトグラフィーによってクリーンアップし、高速液体クロマトグラフィー光分光光度計によって定量する方法である。

## 試料の前処理

(水試料) 試料100 mlを分液ロートにとり、塩化ナトリウム30 gを加え混和し、ベンゼン30 mlを加え10分間振盪抽出後、ベンゼン層を取る。残りの水層に、さらにベンゼン30 mlを加え抽出し、先のベンゼンに合わせる。得られたベンゼン層を無水硫酸ナトリウムによって脱水する。次に、ロータリーエボレーターを用い、 $30^{\circ}\text{C}$ 以下で1 ml以下に減圧濃縮後、(注-1) 1 mlにメスアップし、これを試料処理液とする。

(底質試料) 底質試料は湿潤状態のまま、約10 gを正確にはかりとり、アセトニトリル20 mlを加え、超音波洗浄器内で30分間抽出する<sup>1)</sup>。抽出後ろ過し、ろ液を無水硫酸ナトリウムによって脱水する。以下水試料と同様の操作をし、試料処理液とする。

## 試料液の調製

二層一次元薄層クロマトグラフ用プレート(下層: キーゼルゲル, 上層: 26%アセチル化セルロース)に試料処理液を250  $\mu\text{l}$  滴下し、メタノール: エーテル: 水(4: 4: 1)で、上層上10 cm展開する(注-2)。展開後、各目的物質のフラクションをかき取り、ジメチルスルホキシド4 mlを加え、超音波洗浄器内で30分間抽出し、高速液体クロマトグラフ用試料液とする。

## 空試料液の調製

試料と同量の水を用い、試料の前処理、および、試料液の調製と同様な操作をして、得られる液を空試料液とする。

## 〔標準液の調製〕

BaP, BeP, Fluの約1.6 $\mu$ gを精秤し、ジメチルスルホキシド2.0 mlを加え、標準原液を作製する(80  $\mu$ g/ml)。

標準原液を順次希釈し、約1  $\mu$ g, 0.5  $\mu$ g, 0.1  $\mu$ g/mlの溶液を調製し標準液とする。

## 〔測定〕

(HPLCの条件)

固定相: "Zorbax" ODS 25 cm  $\times$  4.6 mm  $\phi$

移動相: 90% MeOH (12 min)

1%/min GE

100% MeOH (12 min)

カラム温度: 40  $^{\circ}$ C

カラム圧力: 20.0 atm

液流量: 1.0 ml/min

検出器: ケイ光分光光度計

|     | E (nm) | F (nm) |
|-----|--------|--------|
| BaP | 370    | 407    |
| BeP | 292    | 389    |
| Flu | 289    | 460    |

(検量線)

標準液の10  $\mu$ lを高速度液体クロマトグラフに注入し、そのピーク高さによりBaP, BeP, Fluの検量線を作製する。

(定量)

試料液10  $\mu$ lをマイクロシリンジでとり、高速度液体クロマトグラフに注入する。得られたピーク高さにより検量線から定量値を求める。

(試薬)

- 1) ベンゼン (特級)
- 2) アセトニトリル (特級)
- 3) ジメチルスルホキシド (ケイ光分析用)
- 4) メタノール (特級)
- 5) エーテル (特級)

(器具)

- 1) 薄層クロマトグラフ
- 2) 超音波洗浄器
- 3) ロータリーエバポレーター
- 4) 液体クロマトグラフ
- 5) ケイ光分光光度計

(注: 解)

- 1) ロータリーエバポレーターによる減圧濃縮は、温度30  $^{\circ}$ C以下で行い、乾固は避けること。
- 2) 薄層クロマトグラフでの展開中、およびプレートの風乾は暗所で行うこと。

〔分析フローチャート〕

図-1に分析フローチャートを示す。

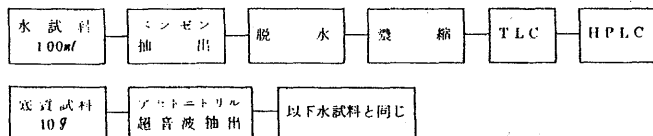


図-1 分析フローチャート

〔分析法の検討〕

環境中には数十種の多環芳香族炭化水素が存在し、さらに他の物質が多種類存在している。BaP, BeP, Fluを分析する場合、高速液体クロマトグラフィー単独では、他の成分の妨害があるため、この3物質を定量することはできない。このため、前処理としてTLC分画操作を行い、妨害成分の除去を行った。また、分画処理後、妨害成分が混入する場合は、物質のケイ光特性を利用して定量を行った。

(1) 二層一次元薄層クロマトグラフィー

図-2にBaP, BeP, Fluの二層一次元薄層クロマトグラムを示す。Rf値はBaP=0.09, Flu=0.31, BeP=0.36である。

UV(254nm)によって、標準物質と共に、確認しながら、各フラクションの分画のかきとりは大きめに行い、特にBePについては、Fluのスポット以下のベンゾ(K)フルオランテン(BkF), ペリレン(Per)を含まないように、Fluを境界線のマーカーとしてかきとる。

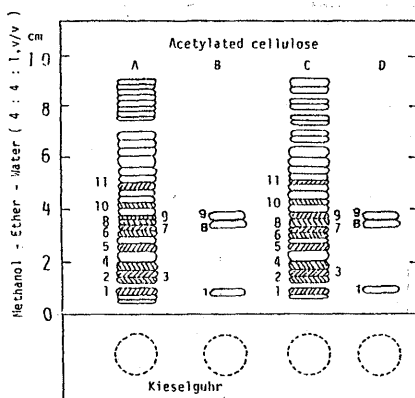


図-2 二層一次元薄層クロマトグラム

1: BaP      8: Flu      9: BeP

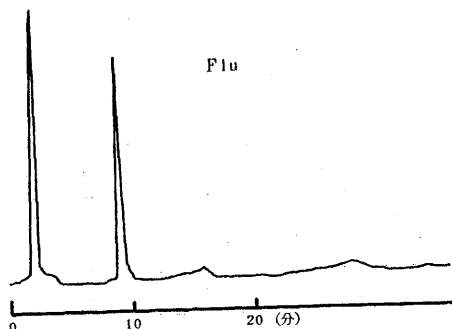


図-3 FluのHPLCチャート

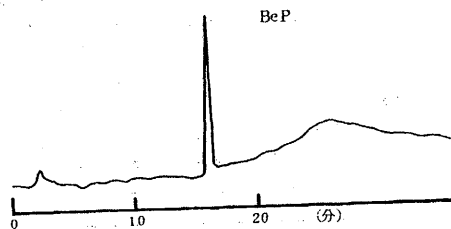


図-4 BePのHPLCフローチャート

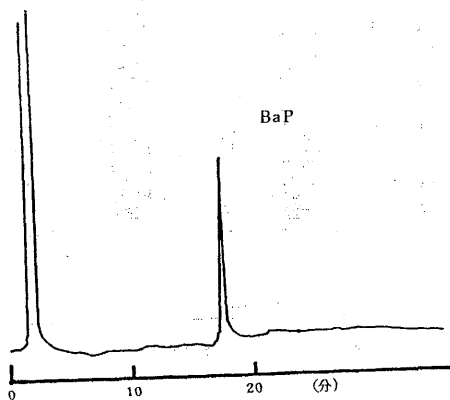


図-5 BaPのHPLCチャート

## (2) 高速液体クロマトグラフィ

図-3~5にBaP, BeP, FluのHPLCクロマトグラムを示す。Rt値はFlu=8'30", BeP=16'00", BaP=17'30"であった。本実験に使用した、HPLCの固定相("Zorbax" ODS)では、ベンゾ(b), フルオランテン(BbF), BbF, Per, BeP が同一ピークとなり、分離出来ない。しかし、TLCの分画処理によって、BbF, BbFの妨害を防ぐことができた。

## (3) 励起ケイ光スペクトル

図-6~9にBaP, BeP, Per, Fluの励起ケイ光スペクトルを示す。実線は標準、破線はHPLCよりの実サンプルの濃縮物である。BaP, BeP, Fluとも標準と同様なスペクトルを示し、TLC, HPLCのRf値、およびRt値とも標準物質と同一なことから、BaP, BeP, Fluは単離されたと思われる。又、Perは300nm以下に励起波長を持たず、設定波長(E=292nm F=389nm)でのHPLC分析では、BePがPerと共存しても、BePの定量値に妨害を与えなかった。

## (添加回収実験)

図10~12にBaP, BeP, Fluの検量線を、表-1~2にBaP, BeP, Fluの添加回収及び、分解性スクリーニング結果を示す。検量線は3物質とも0.2~10ng間で直線性を示した。回収率は底質のFluの76%を除き、各条件で80%以上の回収率を得た。又、回収率の変動も、3物質とも8%以下であった。

## (評価)

本分析法はTLC分画操作によって、迅速、簡易にHPLCまでの前処理を行うことが出来、水、底質中のBaP, BeP, Fluの定量分析法として用いることが出来ると思われる。今後、HPLCの定量時間の短縮、およびBaP, BeP, Fluの一斉分析の検討が必要であろう。

担当者 太田正雄

表-1 回収率、検出限界

| 試料  | 添加量(μg) |      |      | 試料量   | 回収率(%) |     |     | 回収率のCV |     |     | 検出限界     |        |        |
|-----|---------|------|------|-------|--------|-----|-----|--------|-----|-----|----------|--------|--------|
|     | BaP     | BeP  | Flu  |       | BaP    | BeP | Flu | BaP    | BeP | Flu | BaP      | BeP    | Flu    |
| 精製水 | 8.15    | 6.60 | 8.60 | 100μl | 98     | 91  | 91  | 6.0    | 7.8 | 7.2 | 0.3ng/μl | 1ng/μl | 1ng/μl |
| 海水  | 8.15    | 6.60 | 8.60 | 100μl | 87     | 96  | 90  | 4.4    | 2.5 | 5.0 | 0.3ng/μl | 4ng/μl | 1ng/μl |
| 底質  | 8.15    | 6.60 | 8.60 | 10g   | 100    | 89  | 76  | 1.6    | 6.0 | 1.6 | 3ng/g    | 40ng/g | 10ng/g |

n=5

表-2 水中での分解性スクリーニング結果

| BaP |          |         |        |    | BeP |          |         |        |      |     |    |
|-----|----------|---------|--------|----|-----|----------|---------|--------|------|-----|----|
| pH  | 1時間後(μg) | 5日後(μg) | 残存率(%) |    | pH  | 1時間後(μg) | 5日後(μg) | 残存率(%) |      |     |    |
|     |          | 暗所      | 光照射    | 暗所 | 光照射 |          | 暗所      | 光照射    | 暗所   | 光照射 |    |
| 5   | 7.98     | 6.68    | —      | 83 | —   | 5        | 6.00    | 5.67   | —    | 94  | —  |
| 7   | 6.68     | 5.70    | 7.00   | 85 | 104 | 7        | 6.00    | 5.74   | 5.28 | 95  | 88 |
| 9   | 8.31     | 4.97    | —      | 59 | —   | 9        | 6.20    | 4.95   | —    | 79  | —  |

Flu

| pH | 1時間後(μg) | 5 日後(μg) |       |     |     | 残 存 率(%) |     |
|----|----------|----------|-------|-----|-----|----------|-----|
|    |          | 暗所       | 光照射   | 暗所  | 光照射 | 暗所       | 光照射 |
| 5  | 7.8 2    | 6.7 9    | -     | 86  | -   | -        | -   |
| 7  | 8.0 8    | 8.3 4    | 6.8 8 | 103 | 85  | -        | -   |
| 9  | 7.8 2    | 7.2 2    | -     | 92  | -   | -        | -   |

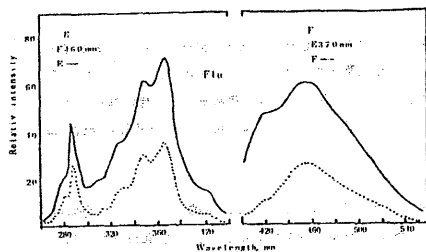


図-6 Fluの励起-ケイ光スペクトル

( — : 標準, ..... : 試料 )

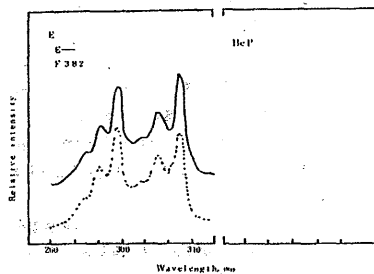


図-7 BePの励起スペクトル

( — : 標準, ..... : 試料 )

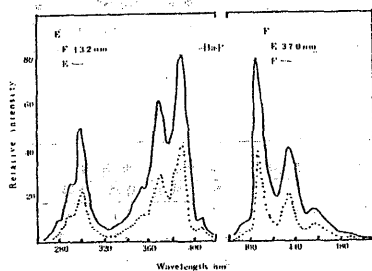


図-8 BaPの励起-ケイ光スペクトル

( — : 標準, ..... : サンプル )

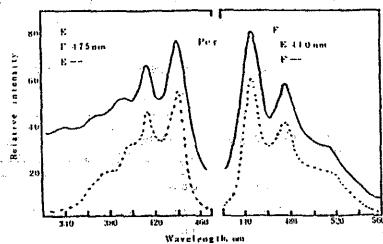


図-9 Perの励起-ケイ光スペクトル

( — : 標準, ..... : 試料 )

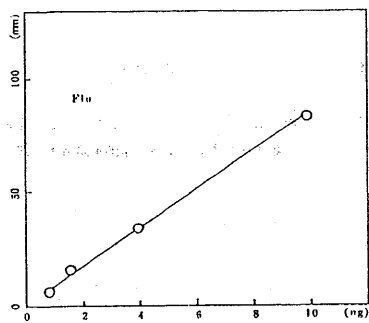


図-10 Fluの検量線

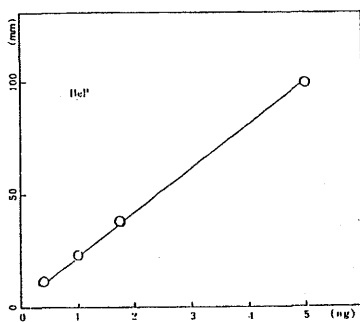


図-11 BePの検量線

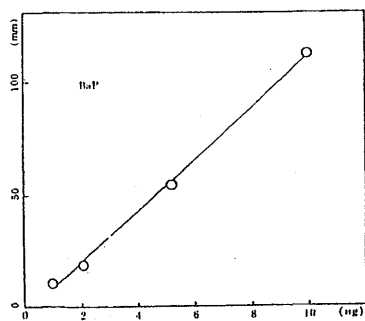


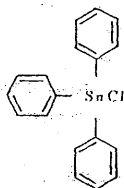
図-12 BaPの検量線

## 参考文献

- 1) 松下秀鶴, 風谷孝一, 半田隆: 超音波抽出法を用いた大気浮遊粉じん中のベンゾ( a )ピレンの簡易微量分析法, 分析化学, 25, 263-268 (1976)
- 2) 松下秀鶴, 大塚富士雄, 前田康二: 二層薄層プレートを用いた直接抽出, 分離定量法による大気浮遊粉じん中の多環芳香族炭化水素の簡易分析法, 第17回大気汚染研究全国協議会大会講演集, 112 (1976)

## 塩化トリフェニル錫

Triphenyltin Chloride



|     |                   |     |        |
|-----|-------------------|-----|--------|
| 分子式 | $(C_6H_5)_3 SnCl$ | 分子量 | 385.47 |
| 融点  | 101~105°C         | 沸点  | 249°C  |

## § 1 分 析 法

## 要 旨

水質試料は、ジクロロメタンで塩化トリフェニル錫を抽出分離し濃縮した後、窒素気流でジクロロメタンを除去して一定容のメタノールに残留物を溶解し、その一部を高速液体クロマトグラフィーに注入して定量する。底質は、塩酸酸性にした後メタノールに懸濁させろ過する。ろ液をリン酸-クエン酸緩衝液を加え、ジクロロメタンで目的物質を抽出して濃縮し、濃縮液を活性アルミナカラムに通しジクロロメタン50mlで溶出させる。以下水質試料と同様に操作する。また質量分析計で定量する場合は、ジクロロメタンで塩化トリフェニル錫を抽出し濃縮したものの一部を注入して測定する。

## 分 析 操 作

## 試料の処理と調製

水質試料 試料1ℓを分液漏斗にとり、メチルオレンジ溶液2~3滴添加し、塩酸(1+1)をわずかに赤くなる程度加える。ジクロロメタン50mlで2回振とう抽出し、ジクロロメタンを合わせ無水硫酸ナトリウム5~10gで脱水後、KD濃縮器で濃縮する。濃縮後窒素気流でジクロロメタンを完全に除去し、残留物をメタノール5mlで溶解する。

底質試料 試料20gを共栓三角フラスコ100mlにとり、メタノール30mlと塩酸1mlを加え、10~20分間振とうするか、超音波で5~10分間懸濁する。No.5Cのろ紙を用いて吸引ろ過し、三角フラスコとろ紙上の残物を20mlのメタノールで洗浄してろ液と合わせ、メタノールの全量を50mlにする。この溶液を300mlの分液漏斗に移し、リン酸-クエン酸緩衝液150mlとジクロロメタン60mlを加えて振とうし抽出する。再度ジクロロメタン60mlを加え抽出し、先のジクロロメタンと合わせ無水硫酸ナトリウム5~10gで脱水し、KD濃縮器で約1mlまで濃縮する。濃縮したジクロロメタンを活性アルミナカラムに通し、ジクロロメタン50mlで溶出させ、KD濃縮器で濃縮して以下水質試料と同様に操作する。

## 空白試験溶液の調製

水質試料と同じ量の精製水を用い、〔試料の処理と調製〕と同様に操作する。

## 標準溶液の調製

塩化トリフェニル錫約100mgを正確に秤量し、メタノールに溶解させ正確に100.0mlにして標準原液とする(1000ppm)。この標準原液を順次希釈して、150~7ppmまで数段階調製する(標準溶液)。

# 測定:

高速液体クロマトグラフィーの条件

カラム: 逆相分配 PSG-100 (40×500 mm) 島津製

キャリアー液: 5% *n*-Hexan-CH<sub>3</sub>OH + 1N-HCl 2 ml/ℓ

流量: 1.4 ml/min (約 150 kg/cm<sup>2</sup>)

測定波長: 229 nm, (258.5 nm)

検量線: 各濃度の標準溶液, 10 μℓ を高速液体クロマトグラフィー (以下 HPLC とする) に注入して、各濃度におけるピーク高さを方眼紙にプロットして検量線を作成する。

〔定量〕: 試料溶液 10 μℓ を HPLC に注入して、得られたピーク高さから検量線より定量値を求める。

〔計算〕:

$$\text{濃度 (ppm)} = \text{HPLC 検出量 (}\mu\text{g)} \times \frac{\text{最終抽出液量 (ml)}}{\text{HPLC 注入量 (}\mu\text{ℓ)}} \times \frac{1}{\text{試料量 (ml または g)}}$$

〔定量限界〕: 本法の定量限界を下記に示す (注 4)。

|      | 試料量      | 定量限界      |
|------|----------|-----------|
| 水質試料 | 1.000 ml | 0.035 ppm |
| 底質試料 | 20 g     | 1.8 ppm   |

\* 最終抽出液量 5 ml で HPLC に 10 μℓ 注入

## 試薬・器具

### 試薬

〔溶媒〕: *n*-ヘキサン 5.0 ml と塩酸 (1N) 2 ml をメスフラスコに入れ、メタノールを標準まで加える。

〔メチルオレンジ溶液〕: メチルオレンジ 0.1 g を熱水 100 ml に溶かす。

〔リン酸・クエン酸緩衝液〕: リン酸二ナトリウム 0.56 g, クエン酸 17.3 g, 塩化ナトリウム 5 g を水 800 ml に溶かし、塩酸 (1N) で pH 2 に調整して 1 ℓ とする。なお使用時には、この溶液を水で 3 倍に希釈する。

〔活性アルミナ〕: 無水活性アルミナ、ICN Pharmaceutical 社製 Aluminum oxide W.200 neutral, 活性度 Super I) に 10% の含水率になるように蒸留水を加え、よく振り混ぜた後密栓して保存する。

〔塩化トリフェニル錫〕: 純度 98% 以上の試薬を使用する。

### 器具

〔活性アルミナカラム〕: 内径 10 mm × 長さ 300 mm のガラスカラムに、活性アルミナ 1.5 ~ 2 g をジクロルメタンに懸濁させて充填し、上部に無水硫酸ナトリウム 1 g を積層する。

〔濃縮装置〕: KD 濃縮器でジクロルメタンの濃縮に用いる。

### 注 解

- 1) 水質試料からジクロルメタンで塩化トリフェニル錫を抽出する場合、通常 (pH 5 ~ 8) の水中での塩化トリフェニル錫は、析出している状態が考えられるため、採水と抽出に使用した容器をジクロルメタンで洗浄するか、または、採水時に水質試料 1 ℓ に塩酸 5 ml の割合で添加する必要がある。
- 2) ジクロルメタンを KD 濃縮器で濃縮する場合、沸騰水浴上で常圧にて行なえるが、濃縮後さらに、窒素気流でジクロルメタンを完全に除去しないと主ピークの妨害になる。
- 3) HPLC で塩化トリフェニル錫を分離定量する場合、229 nm 付近の検出波長は紫外吸収のある物質の殆どが吸収されるため、試料によっては煩雑なピークが予想される。そこで感度は低いが、塩化トリフェニル錫として比較的選択性の良い吸収波長が 259 nm 付近にあるため、229 nm で定量後 259 nm で確認

する。

4) 本分析に使用したHPLCの検出限界はピーク高さで5 mm以上とした。

## § 2 解 説

〔分析法〕

〔フローチャート〕

本分析法の操作過程を図-1に示す。

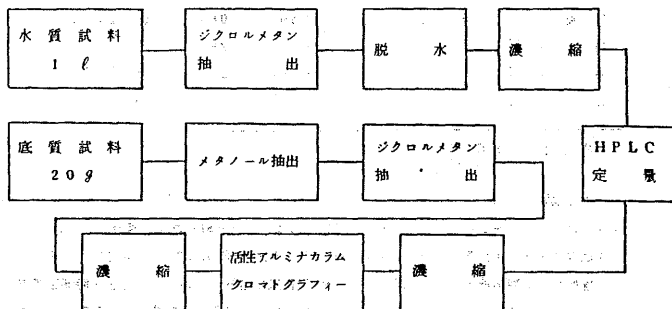


図-1 分析操作

〔分析法の検討〕

### 1. 検量線

図-2に本分析法の検量線を示す。

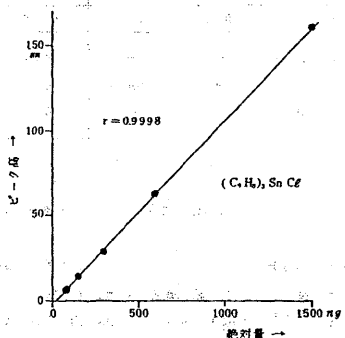


図-2 塩化トリフェニル錫の検量線

### 2. 回収実験結果

#### 1) 水質試料

水1ℓに、メタノールに溶解した塩化トリフェニル錫を絶対量で1,500 μgを添加して、ジクロロメタン50 mlで2回振とう抽出し、脱水、濃縮後HPLCで定量して回収率を求めた。結果を表-1に示

す。

## 2) 底質試料

河川底質 2.0 g に、メタノールに溶解した塩化トリフェニル錫を絶対量で 1,500  $\mu$ g を添加して良く攪拌した後、前述の底質試料の分析操作に従い、回収率を求めた。なお今回の底質から塩化トリフェニル錫は検出されなかった。結果を表-1 に示す。

表-1 添加回収試験結果

n = 3

| 試料  | 添加量          | 試料量      | 回収率(%) | C V(%) | 検出限界             |
|-----|--------------|----------|--------|--------|------------------|
| 精製水 | 1500 $\mu$ g | 1 $\ell$ | 94.9   | 0.67   | 0.035 $\mu$ g/ml |
| 河川水 | "            | "        | 93.2   | 2.9    | "                |
| 海水  | "            | "        | 91.0   | 3.3    | "                |
| 湿泥  | "            | 20 g     | 91.0   | 4.0    | 1.8 $\mu$ g/g    |

注：湿泥の含水率 = 50 %

## 3) 分解性試験

100 ml のバイアル瓶に、pH 5, 7, 9 に調整した水 100 ml とガラス攪拌子を入れ、塩化トリフェニル錫のメタノール溶液 (3,000  $\mu$ g/ml) 5.00  $\mu$ l を添加して、10 分間マグネチックスターラーで攪拌して試験溶液とした。pH 5, 7, 9 の各試験溶液について、一部を 1 時間後に本分析法に従い測定した後、残りの溶液は 20℃ の暗所に入れ 5 日後に再度本分析法に従い測定した。さらに pH 7 の試験溶液については、20℃、白色蛍光灯下で 5 日間放置したものと、室内 (温度 18℃ ± 5℃) で太陽光線が入射する (日照時間 4 ~ 5 h/day) ガラス窓際に、5 日間放置したものを測定した。その結果を表-2 に示す。

表-2 分解性試験結果

(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)<sub>3</sub>SnCl 1,500  $\mu$ g 添加 n = 3

|      | 1 時間後        | 5 日間放置       |              |              | 残存率 (%) |      |      |
|------|--------------|--------------|--------------|--------------|---------|------|------|
|      |              | 暗所           | 白色蛍光灯下       | 太陽光          | 暗所      | 蛍光灯下 | 太陽光  |
| pH 5 | 1420 $\mu$ g | 1340 $\mu$ g | —            | —            | 94.4    | —    | —    |
| 7    | 1390 "       | 1160         | 1290 $\mu$ g | 1360 $\mu$ g | 83.3    | 92.6 | 97.7 |
| 9    | 1400 "       | 1230         | —            | —            | 87.8    | —    | —    |

## 3. 高圧液体クロマトグラム

図-3 に、HPLC の 229 nm と 259 nm の検出波長でのクロマトグラムの例を示す。

## 4. クリーンアップの検討

有機錫化合物のジクロロメタン溶液をアルミナカラムに通すと、トリブチル錫やトリフェニル錫は吸着されずにそのまま溶出し、ジブチル錫やジフェニル錫は吸着される。また塩化トリフェニル錫は 95.3 % とほぼ定量的にカラムから溶出する (参考文献)。塩化トリフェニル錫の溶離に必要なジクロロメタンは 10 ~ 20 ml であるが、本分析法では安全性を考慮して 50 ml とした。

## 〔評価〕

以上の方法により環境中に存在する塩化トリフェニル錫の分析を定量的に行なうことができる。

担当者 大場 栄次

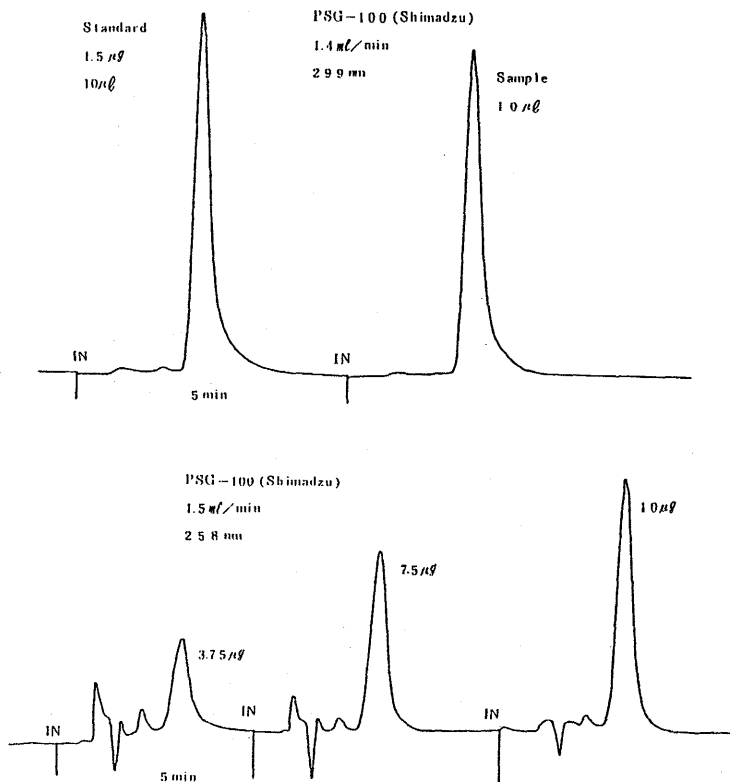


図-3 HPLCのクロマトグラム

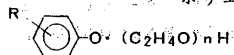
## 参考文献

小島茂雄, 中村晃忠, 鹿庭正昭, 国立衛生試験所; 衛生化学 25(3) 141~146 (1979)

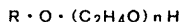
ポリオキシエチレンアルキルフェニルエーテル

ポリオキシエチレンアルキルエーテル

ポリエチレングリコール脂肪酸エステル



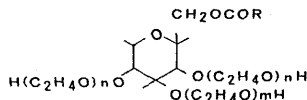
ポリオキシエチレンアルキルフェニルエーテル



ポリオキシエチレンアルキルエーテル



ポリエチレングリコール脂肪酸エステル



ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル

R : 8~18, n : 1~25

## 分 析 法

本分析法は、水試料については、酢酸エチルで抽出し、陽イオンおよび陰イオン交換樹脂カラムで妨害物質を除去する。底質試料はアルカリ分解後、ベンゼンを用いて抽出、シリカゲルカラムでクリーンアップした液を同様にイオン交換樹脂カラムで処理し、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) でポリオキシエチレンアルキルフェニルエーテルを測定する。

続いて、前述成分測定後の検液を2分し、ポリオキシエチレンアルキルエーテルについては、トリメチルシリル化法 (TMS法) により、ポリエチレングリコール脂肪酸エステルはシリカゲルカラムを用いて油脂成分を除去後、水系化リチウムアルミニウムで還元生成した高級アルコールを同様にTMS法で処理し、FID-GCで測定する。

## 試 験 法

## (試料の前処理)

(水質試料) 試料 2,000 ml を分液漏斗にとり、塩化ナトリウム 200 g、酢酸エチル 200 ml を加え、10分間振とうし抽出、さらに酢酸エチル 100 ml を用い、この抽出操作を2回くり返す。酢酸エチル抽出液を水 50 ml で洗浄後、乾燥ろ紙を用いてろ過、ろ液はロータリーエバポレーターにより溶媒を留去し、残留物をメタノール 5 ml に溶解する。

(底質試料) 105℃で約2時間乾燥し、2mmフルイで別し底質試料 25 g を 200 ml ナス型フラスコ中に採取、これにメタノール 45 ml, 10N 水酸化カリウム溶液 5 ml を加え、水浴上3時間還流し分解する。冷却、Na 5 A ろ紙を用いてろ過し、ろ液はロータリーエバポレーターを用いてメタノール溶媒を留去、残留液は水 50 ml を用いて分液漏斗中に移し入れる。これに塩化ナトリウム 20 g、ベンゼン 20 ml を加えて約5分間振とう後、ベンゼン層を分取する。さらに、ベンゼン 20 ml を用いて同様な抽出操作をくり返し、抽出ベンゼン層は水洗後無水硫酸ナトリウムで脱水後ろ過する。溶媒を減圧下留去し、得た残留物をクロロホルム 2 ml に溶解する。

このクロロホルム溶液をシリカゲルカラム (クロマト管: 内径 1 cm, 高さ 30 cm, 活性 W コーゲル C-100, 5 g を充填) にのせ、クロロホルム約 50 ml を流した後、メタノール・クロロホルム混液 (1:25) を溶出剤として用いクリーンアップ後、溶媒を留去し、残留物をメタノール 5 ml に溶解する。

# 【ポリオキシエチレンアルキルフェニルエーテル】

## 〔測定試料液の調製〕

前処理により調製したメタノール液を、ダウエックス50W-8と、ダウエックス1-X8をそれぞれ10cmの高さにつめたイオン交換樹脂カラム（クロマト管：内径1cm，高さ30cm，コック付）に通し，引き続き，メタノール100mlを約5ml/分の速度で流下，全流出液を分取する。溶媒をロータリーエバポレーターで留去，1～2mlに濃縮後，ミニバイアル中に移し，蒸留フラスコはさらにメタノール約1mlで洗浄後，窒素または空気を吹きつけて溶媒を揮散，乾燥させ，これにメタノール1mlを正確に加えて試料液とする。

## 〔標準液の調製〕

ポリオキシエチレンノニルフェニルエーテル（n：9，EO：9）0.5gを正確に秤り，メタノールに溶かし50mlとし，この溶液5mlをとり，メタノールを加えて100mlとする。このメタノール1ml中には標準品500 $\mu$ gを含有する。

## 〔測定〕

### 〔HPLCの条件〕

カラム：シマズゲル PSG 100（内径4mm，長さ50cm）

移動相：15% ヘキサン含有メタノール

流速：1.5 ml/分（圧力：55kg/cm<sup>2</sup>）

測定波長：277 nm

チャートスピード：2.5 mm/分

### 〔検量線〕

メタノール標準原液（500  $\mu$ l/ml）をメタノールで希釈し，50～500  $\mu$ gに調製した標準液10  $\mu$ lを装置に導入，そのピーク高から検量線を作成する。

### 〔定量〕

試料液10  $\mu$ lを装置に導入，得られたピーク高さにより検量線から定量値を求める。

また，ピークが隣接した場合，図1の作図法により，そのピーク高を算出する。

### 〔定量限界〕

本分析法に基づく定量限界を下記に示す。

|      | 試料量      | 最終液量 | 定量限界        |
|------|----------|------|-------------|
| 水質試料 | 2,000 ml | 1 ml | 0.03 mg/l   |
| 底質試料 | 25 g     | 1 ml | 2 $\mu$ g/g |

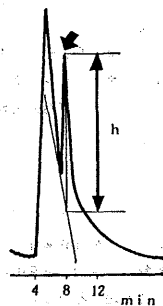


図1. 作図法  
（0.05  $\mu$ g試料）

## 【ポリオキシエチレンアルキルエーテル】

### 〔測定試料液の調製〕

前述，ポリオキシエチレンアルキルフェニルエーテル測定後の，メタノール試料液0.5mlを正確にミニバイアル中に移し，窒素または空気を吹きつけて濃縮，さらにデジケター中で吸引，乾燥した残留物に，マイクロシリッジを用いてピリジン0.1ml，ヘキサメチルジシラザン0.1mlおよびトリメチルクロロシラン0.05mlを加え，テフロンラバーディスクで密栓後，リアクティ・サーモビーターを用い60℃，30分加熱する。冷後，ヘキサン2mlおよび水2mlを加え密栓後，強く振とう，その上澄液をガスクロマトグラフに導入する。

### 〔標準液の調製〕

ポリオキシエチレン n-ドデシルエーテル，EO付加モル数：1，2，3，4，5，6，7および8モルの8標準物質それぞれ0.5gを正確に秤り，メタノールに溶かし50mlとし，この各溶液10mlをとり，メタノールを

加えて 100 ml とする。この標準原液 1 ml 中には各標準品 1,000  $\mu$ g を含有する。

この各標準原液をそれぞれ 1 ml (EO:1), 2 ml (EO:2 および 3), 4 ml (EO:4 および 5), 8 ml (EO:6 および 7), および 10 ml (EO:8) を採取、混合し、メタノールを加えて全量 50 ml とする。この混合標準液 1 ml 中にはそれぞれ 20  $\mu$ g (EO:1), 40  $\mu$ g (EO:2, 3), 80  $\mu$ g (EO:4, 5), 160  $\mu$ g (EO:6, 7) および 200  $\mu$ g (EO:8) を含有する。

#### 〔測定〕

##### 〔FID-GC の条件〕

カラム管: ガラスカラム (3 mm  $\phi$   $\times$  1 m)

充てん剤: 2% OV-1, Chromosorb W 60/80

カラム温度: 150  $^{\circ}$ C  $\rightarrow$  270  $^{\circ}$ C, 昇温速度 20  $^{\circ}$ C / 分

注入口温度: 300  $^{\circ}$ C

キャリアーガス: N<sub>2</sub> 35 ml / 分

##### 〔検量液〕

混合標準液 2 ml をミニバイアル中に採取、窒素または空気を吹きつけて濃縮。十分乾燥後トリメチルシリル化処理を行い、ヘキサン上澄液を採取する。ヘキサン抽出液はさらにヘキサンを用いて希釈、標準液を作成後その 2  $\mu$ l を装置に注入し、それぞれの EO に相当するピーク高さにより検量線を作成する。

##### 〔定量〕

TMS 化後のヘキサン抽出液 2  $\mu$ l を装置に注入、それぞれの一致する Rt から相当する EO の mol 数を求め、得られたピーク高さにより検量線から定量値を求める。

##### 〔定量限界〕

本分析法に基づく定量限界を下記に示す。

|           |                          |          |    |     |      |     |     |         |
|-----------|--------------------------|----------|----|-----|------|-----|-----|---------|
| 水質試料      | 試料量                      | 2,000 ml |    |     | 最終液量 |     |     | 1 ml    |
| 底質試料      |                          | 25 g     |    |     |      |     |     | 1 ml    |
| 定量限界      |                          |          |    |     |      |     |     |         |
| (EO: mol) |                          | 1        | 2  | 3   | 4    | 5   | 6   | 7 8     |
| 水質試料      | $\mu\text{g} / \text{l}$ | 4        | 10 | 10  | 10   | 10  | 20  | 40 100  |
| 底質試料      | $\mu\text{g} / \text{g}$ | —        | —  | 0.4 | 0.4  | 0.4 | 0.8 | 1.6 4.0 |

#### 〔ポリエチレングリコール脂肪酸エステル〕

##### 〔測定試料液の調製〕

前述のポリオキシエチレンアルキルエーテル測定後のメタノール残液 (検液量: 1 ml  $\sim$  (0.5 ml + HPLC 測定液)) をミニバイアル中で、窒素または空気を吹きつけて濃縮、乾燥後、クロロホルム約 2 ml に溶解する。このクロロホルム溶液をシリカゲルカラム (クロマト管: 内径 1 cm, 高さ 30 cm, 活性ワコーゲル C-100, 5 g を充てん) 上にのせ、続いてクロロホルムを約 1.5  $\sim$  2 ml / 分の速度で、30 ml 流し油脂成分を除去する。これにメタノールを同様の速度で 50 ml を流し、この流出液を全量採取する。ロータリーエバポレーターを用いてメタノール溶媒を留去、約 1  $\sim$  2 ml に濃縮後、ミニバイアル中に移し入れる。蒸留フラスコは更にメタノール約 1 ml で 2  $\sim$  3 回洗浄し、ミニバイアル中に移し入れる。バイアル中の溶媒は、窒素または空気を吹きつけて濃縮、さらにデシケーター中で吸引下、十分乾燥を行う。この残留物に、水素化リチウムアルミニウム・無水エチルエーテル、懸濁液 2 ml を加え、テフロンラバーディスクで密栓、室温に約 5 時間放置後、ミクロビペットを用い、水素の発生が止まるまで、水を極めて徐々に滴下する。続いて、3 N HCl 1 ml を加え密栓後、振とうし放置する。上層のエチルエーテル抽出層をミクロビペットを用いてミニバイアル中に移し、水層はさらにエチルエーテル約 2 ml で同様に抽出操作を 3 回繰り返す。バイアル中のエチルエーテル溶媒は窒素または空気を吹きつけて濃縮、乾燥する。この残留物について、ピリジン、ヘキサメチルジシラザンおよびトリメチルクロロシランの各試薬を用いポリオキシエチレンアルキルエーテルと同様な操作でトリメチルシリル化を行い、そのヘキサン抽出液を装置に

注入する。

#### 〔標準液の調製〕

パルミチン酸 0.5 g を正確に秤り、メタノールを加えて 50 ml とし、この溶液 5 ml をとりメタノールを加えて 100 ml とする。このメタノール液 1 ml 中にはパルミチン酸 500  $\mu$ g を含有する。

パルミチン酸 500  $\mu$ g は標準物質（ポリエチレングリコールモノパルミテート、EO: 10、パルミチン酸含有量、36.16%，MW: 708.98）1.383  $\mu$ g に相当する。

#### 〔測定〕

〔FID-GC の条件〕

ポリオキシエチレンアルキルエーテル測定と同一条件

#### 〔検量線〕

パルミチン酸標準液 2 ml をミニバイアル中に採取、乾燥後、同様にトリメチルシリル化を行い、上層のヘキサン抽出層をマイクロベットの用いて 10 ml メスフラスコに移し、水層はさらにヘキサン約 2 ml で同様な抽出操作を 3 回繰り返した後、ヘキサンでメスアップする。この標準液 1 ml 中にはパルミチン酸 100  $\mu$ g（標準物質として 277  $\mu$ g）を含有する。この TMS・パルミチン酸標準原液をヘキサンを用いて希釈し、標準系列を作成、各標準液 2  $\mu$ l を装置に注入し、そのピーク高さにより検量線を作成する。

#### 〔定量〕

TMS 化後のヘキサン抽出液 2  $\mu$ l を装置に注入、得られたピーク高さにより、検量線からパルミチン酸量を求め、次式から標準物質、ポリエチレングリコールモノラウレートとして算出する。

$$\text{ポリエチレングリコール脂肪酸含有量} = \text{パルミチン酸量} \times \frac{1}{0.3616}$$

#### 〔定量限界〕

本分析法に基づく定量限界を下記に示す。

|      | 試料量      | 最終液量 | 定量限界                                  |
|------|----------|------|---------------------------------------|
| 水質試料 | 2,000 ml | 1 ml | 4 $\mu$ g（パルミチン酸）<br>10 $\mu$ g（標準物質） |

#### 試 薬 器 具

##### 〔試薬・試液〕

ヘキサメチルジシラザン : 和光純薬

トリメチルクロロシラン : 和光純薬

ピリジン : 日本クロマド

パルミチン酸、ススアリン酸、オレイン酸 : バイオケミカルズ製標準品

水素化リチウムアルミニウム : メタルゲゼルシャフト A. G.

ダウエックス 50W-X8、1-X8 : 室町化学工業

50-100 メッシュ、文献 1 により調製

ワコーゲル C-100 : 和光純薬

130℃、3 時間加熱、デシケータ中で 1 時間放冷後使用

3 N 塩酸 : 精密分析用、濃度 20% を精製水で 2 倍に希釈

無水エチルエーテル : 特級エチルエーテルを硫酸、硫酸第 1 鉄溶液（濃硫酸 50 ml + 硫酸第 1 鉄 100 g）で洗い、次に水洗後、アルカリ性過マンガン酸カリウム液、最後に水で洗った後、無水硫酸ナトリウムで脱水、蒸留する。これに、金属ナトリウムを入れ、瓶口に、塩化カルジウム管を附して放置し、水素の発生が止むに到って使用する。

水素化リチウムアルミニウム・エチルエーテル液 : 水素化リチウムアルミニウムナトリウム 100 mg を無水エチルエーテル 20 ml 中に懸濁させ、直ちに使用する。

(器具・装置)

紫外・可視分光光度計検出器SPD-1

マイクロシリンジ : 100  $\mu$ l, 250  $\mu$ l

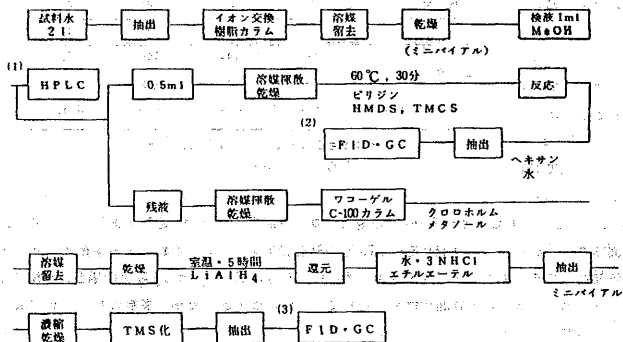
注 解

1. ミニバイアル中での溶媒、揮発濃縮法として、サンプルコンセントレータおよび加熱用シリカモヒータを用い、エチルエーテルは常温で、その他の溶媒は約60℃で、窒素（空気でよい）を吹きつつながら、ドラフト中で操作を行った。
2. 水素化リチウムアルミニウム使用に際しては、特に安全に留意する必要がある、乾燥空気中では安定な固体であるが、125℃以上では、水素を遊離して分解。また、水・アルコール・酸とも激しく反応して水素を放出する。  
取扱いに際しては、“江島昭：有機化合物定量法の実験、広川書店、1974、pp154～155”を参照のこと。
3. 今回、標準物質として、バルミチン酸標準品を使用した。還元生成物と考えられるバルミチルアルコールについては、検討中である。

解 說

### 分析法

{フローチャート}



(1) ポリオキシエチレンアルキル :

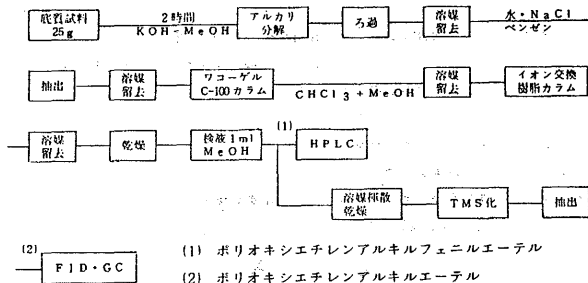
フェニルエーテル

(2) ポリオキシエチレンアルキル

## エーテル

(3) ポリエチレングリコール

脂肪酸エステル



### (分析法の検討)

(ポリオキシエチレンアルキルフェニルエーテル)

1. HPLC測定条件の検討 (カラム・移動相溶媒・測定波長)
2. 試験操作の検討 (抽出法、クリーンアップ法・回収試験)

文献 2 を参照のこと

(ポリオキシエチレンアルキルエーテル)

1. トリメチルシリル化反応条件の検討

TMS化の反応は表 1 に示したように反応温度 60℃、反応時間、30分で、十分、反応の進行が認められた。

### 2. 検量線

ポリオキシエチレン n-ドデシルエーテル (C<sub>12</sub>) は、標準物質として単一であり、EO : 1, 2 mol に対しては、カラム温度 180℃で、EO : 1 ~ 5 mol の化合物は 210℃で、また、EO : 4 ~ 8 mol の場合、カラム温度 270℃が適当であった。このため、EO : 1 ~ 8 mol の界面活性剤分析のためには 150℃ ~ 270℃の昇温分析を行ない、これによる検量線は図 1 として示した。

また、市販品ポリオキシエチレンアルキルエーテル中、C<sub>16</sub>、EO : 7 mol 以上の場合、本法では分析困難であり、また C<sub>18</sub>、EO : 2 mol の界面活性剤に対しては分析可能であったが、多数のピークが出現、単一成分とは認められなかった。

### 3. クリーンアップ法

ポリオキシエチレンアルキルエーテルの場合、ワコーゲル C-100 カラムによるクリーンアップ法について、標準物質を用い、検討の結果、表 2 に示したように溶出剤、クロロホルム : メタノール (25 : 1) で、EO : 1, 2 mol の物質はほとんど回収されなかった。このことから、水質試料についてはクリーンアップ操作を行わず、また、底質試料については、EO : 3 mol ~ 8 mol の物質測定を目的とした。

表 1. TMS 反応条件

| 温 度 ℃ |   | 室 温  |      |      |      |
|-------|---|------|------|------|------|
| 時 間 分 |   | 30   | 30   | 60   | 120  |
| n     |   | 1    | 2    | 2    | 1    |
| ピーク   | h | 128  | 144  | 140  | 143  |
|       | b | —    | 146  | 142  | —    |
| 比 率   |   | 0.88 | 1.00 | 0.97 | 0.99 |

ポリオキシエチレン n-ドデシルエーテル  
(EO : 7 mol) ; 1,000 μg

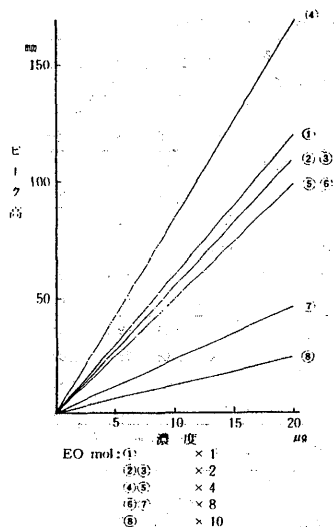


図1. 検量線

表2. クリーンアップ法の検討

| 溶出画分                    | EO | $\mu\text{g}$ | 回収率 % |       |       |       | 回収率<br>% 計 |
|-------------------------|----|---------------|-------|-------|-------|-------|------------|
|                         |    |               | 0-10  | 10-20 | 20-30 | 30-40 |            |
| n-ドデシルエーテル<br>ポリオキシエチレン | 1  | 40            | 0     | 0     | 0     | 0     | 0          |
|                         | 2  | 80            | 18.2  | 0     | 0     | 0     | 18.2       |
|                         | 3  | 80            | 0     | 92.4  | 0     | 0     | 92.4       |
|                         | 4  | 160           | 0     | 91.0  | 6.2   | 0     | 97.2       |
|                         | 5  | 160           | 0     | 62.8  | 35.1  | 0     | 97.9       |
|                         | 6  | 320           | 0     | 33.1  | 62.4  | 0     | 95.5       |
|                         | 7  | 320           | 0     | 18.7  | 69.7  | 7.9   | 96.3       |
|                         | 8  | 400           | 0     | 9.8   | 75.2  | 11.8  | 96.8       |

#### 4. 回収試験

本法による回収試験は、水質試料の場合EO: 1~8molについて、底質試料EO: 7molについての検討の結果、平均 水 97.9%, 河川水 90.4%であった。

表3. 回収試験成績 (回収率 %)

| 物質<br>EO | n | ポリオキシエチレン n-ドデシルエーテル |      |      |      |      |      |      |      |
|----------|---|----------------------|------|------|------|------|------|------|------|
|          |   | 1                    | 2    | 3    | 4    | 5    | 6    | 7    | 8    |
| 精製水      | 3 | 96.3                 | 109  | 94.3 | 92.7 | 96.0 | 99.7 | 101  | 94.5 |
| 河川水      | 3 | 92.5                 | 96.0 | 93.0 | 84.0 | 82.0 | 95.0 | 95.0 | 86   |
| 底質       | 4 | 80.2                 |      |      |      |      |      |      | —    |

〔ポリエチレングリコール脂肪酸エステル〕

##### 1. 水素化リチウムアルミニウムの還元条件

試薬量 2 ml および 3 ml, 反応時間 (室温) 3 時間, 5 時間, 一昼夜の条件下で、脂肪酸エステル還元による生成物量について検討の結果、試薬量 2 ml, 放置時間 5 時間で最大量に達した。

##### 2. 油脂との分離

水素化リチウムアルミニウム還元法は、油脂成分中の脂肪酸も同時に測定される。(表4参照)

このことから、油脂成分を除去するため、その分離方法について検討を行った結果、表5.に示したように、ワコーゲル C-100 カラム、溶出剤クロロホルムを用いることにより、油脂成分はクロロホルム溶出液 20 ml 中に溶出、脂肪酸エステルは続いてメタノール溶剤により溶出されることを認めた。

表4. 脂肪酸エステル型非イオン界面活性剤および油脂中の脂肪酸含有量

| 市 販 品       |          | EO   | 脂 肪 酸 含 有 量      |                 |      |                 |      |      |
|-------------|----------|------|------------------|-----------------|------|-----------------|------|------|
|             |          |      | 理 論 値<br>Cn    % | 測 定 値           |      |                 |      |      |
|             |          |      |                  | C <sub>16</sub> |      | C <sub>18</sub> |      |      |
|             |          |      | %                | 比率*             | %    | 比率*             |      |      |
| ポリエチレングリコール |          | 10   | 18 <sup>2</sup>  | 38.5            | 19.4 | 1.00            | 33.6 | 1.00 |
| モノステアレート    |          | 25   | 18               | 20.3            | 8.7  | 0.52            | 15.6 | 0.53 |
| ポリオキシエチレン   | モノパルミテート | (20) | 16               | 19.4            | 20.4 | 1.30            | 0    | -    |
| ソルビタン       | モノステアレート |      | 18               | 21.5            | 10.8 | 0.67            | 14.2 | 0.54 |
| 脂肪酸エステル     | モノオレート   |      | 18 <sup>-1</sup> | 21.4            | 0    | -               | 15.0 | 0.57 |
|             | トリオレート   |      | 18 <sup>-1</sup> | 46.5            | 0    | -               | 27.2 | 1.07 |
| 油           | 大 豆      | -    | -                | -               | 12.8 | 0.51            | 69.6 | 2.57 |
|             | コ ー ン    |      |                  |                 | 14.4 | 0.68            | 76.0 | 3.09 |
|             | 菜 種      |      |                  |                 | 0    | -               | 99.2 | 3.65 |
|             | サ ラ ダ    |      |                  |                 | 0    | -               | 100  | 4.13 |

表5. クリーンアップ法の検討 (1,000 μg) 米ビニク高の比率

| 溶 出 剤         | 溶 出 量<br>ml | 回 収 率 ( % )                     |                 |                 |
|---------------|-------------|---------------------------------|-----------------|-----------------|
|               |             | ポリエチレングリコール<br>モノステアレート (EO:10) |                 |                 |
|               |             | サラダ油                            | C <sub>16</sub> | C <sub>18</sub> |
| クロロホルム        | 0 - 10      | 37.8                            | 0               | 0               |
|               | 10 - 20     | 62.2                            | 3.2             | 3.6             |
|               | 20 - 30     | 0                               | 2.9             | 3.1             |
|               | 30 - 50     | 0                               | 6.4             | 6.5             |
|               | 計           | 100                             | 12.5            | 13.2            |
| 25 : 1        |             | 0                               | 40.4            | 38.6            |
| クロロホルム 10 : 1 |             | -                               | 70.0            | 71.0            |
| メタノール 5 : 1   | 0 - 50      | -                               | 70.0            | 68.8            |
| 0 : 1         |             | -                               | 87.4            | 86.8            |

### 3. 検量線

ポリオキシエチレン脂肪酸エステル化合物として、標準物質は市販されていないため、パルミチン酸を標準として検量線を作成。これから、理論的標準物質としてポリエチレングリコールモノパルミテート (EO:10, MW:708.98, C<sub>16</sub>含有量 36.2%) として標示を行った。

### 4. 回収試験

水および河川水 1,000 ml に、M.Y.S.-10 (ポリオキシエチレンモノステアレート) 500 μg を添加、回収試験を試みた結果はつぎのとおりであった。

|     | n | 平均回収率  |
|-----|---|--------|
| 水   | 3 | 82.0 % |
| 河川水 | 2 | 76.4 % |

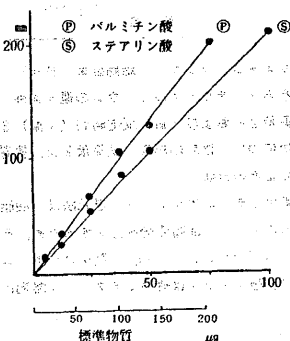


図2. 検量線

河川水、4例についての測定結果は表6のとおりである。

表6. 環境試料測定成績

| 河 川 水                 |  | Na 1     | Na 2 | Na 3 | Na 4 |
|-----------------------|--|----------|------|------|------|
| 成 分                   |  | (μg / l) |      |      |      |
| 臭化水素法 (総濃度)           |  | 354      | -    | -    | -    |
| ポリオキシエチレンアルキルフェニルエーテル |  | 146      | 81   | 0    | -    |
| EO : 2                |  | 156      | 248  | 81   | 52   |
| ポリオキシエチレン             |  | 0        | 0    | 36   | 0    |
| アルキルエーテル              |  | 80       | 28   | 30   | 16   |
|                       |  | 0        | 118  | 32   | 45   |
|                       |  | 236      | 394  | 179  | 113  |
| ポリエチレングリコール脂肪酸エステル    |  | -        | -    | 122  | 88   |

クロマトグラム

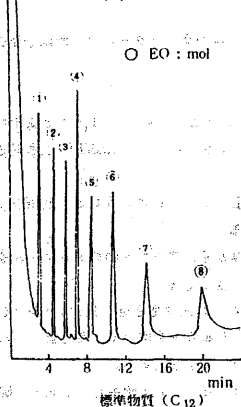
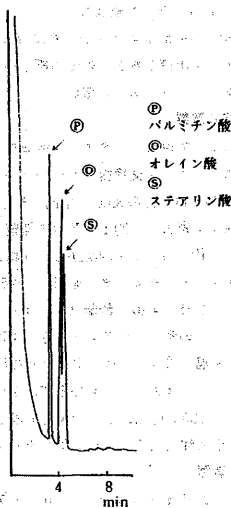
図3. ポリオキシエチレン  
n-デシルエーテル

図4 脂肪酸

## 評 価

本法により、河川水中のポリオキシエチレンアルキルフェニル型、ポリオキシエチレンアルキル型、およびポリエチレングリコール脂肪酸エステル型非イオン界面活性剤の測定法として、また、底質については前2者の成分測定法として適用が可能である。

## 文 献

1. 界面活性剤分析研究会編「界面活性剤分析法」初版、幸書房、東京、1975、p. 108
2. 小林規矩夫、沼田一；全国公害研会誌 6 (2) 58 (1981)
3. 小島次雄、岡恒；工業化学雑誌 70 (4) 448 (1967)

(沼田 一)

## 非イオン界面活性剤分析法

## 分 析 法

本分析法は、試料中のポリオキシエチレン型界面活性剤(POEn)を抽出し、イオン交換樹脂カラムにより妨害物質を除去後、臭化水素酸を反応させ生成した臭化エチレンを、FID-GCで測定することにより、POEnを定量的する方法である。

## 試 験 法

## 〔試料の前処理〕

試料水 1,000 ml を共栓メスシリンダー (1,000 ml) 中に取り、これに塩化ナトリウム (100g)、炭酸水素ナトリウム (5g) を加えて溶解、この調製試料水を、泡末濃縮装置に移し、酢酸エチル (100 ml) を加える。これに窒素ガスを 0.5 ~ 0.8 ml / 分の速度で 10 分間導入し抽出を行う。抽出後分離した酢酸エチル層を分液漏斗に移し、混入した水層は、泡末濃縮装置にもどす。同様な抽出操作を、更に酢酸エチル 100 ml、50 ml で繰り返した後、これを分液漏斗中の酢酸エチル抽出液に合わせる。

酢酸エチル抽出液を水洗、乾燥ろ紙を用いてろ過後、ロータリーエバポレーターにより溶媒を留去し、得た残留物をメタノール (5 ml) に溶かす。

## 〔試験溶液の調製〕

前操作によって得た、メタノール溶液を、ダウエックス 50 W-X 8 とダウエックス 1-X 8 をそれぞれ 10 cm の高さにつめた、イオン交換樹脂カラム (クロマト管: 内径 1.0 cm, 高さ 30 cm, コック付) に通し、引き続きメタノール (100 ml) 約 5 ml / 分の速度で流下、全流出液を分取する。

溶媒を減圧下留去し、約 1 ~ 2 ml に濃縮、これを凍結乾燥用硬質アンブルに移し入れる。蒸留フラスコは更にメタノール (約 1 ml) で 2 回洗浄し、同様にアンブルに移し入れる。

リアクティブサーモヒーターを用い、約 60℃ で空気を吹きつけながら、アンブル中のメタノールを揮散後、乾燥し、これに臭化水素酸-酢酸 (1 : 1) 0.5 ml を加え、アンブルを封じる。

つづいて、この密封したアンブルを、150 ± 5℃ の乾燥器に入れ 5 時間反応させ、臭化エチレンを生成させる。

反応後、室温で冷却した後、アンブルを開封して、反応生成物を 5 ml の水を用いて、遠心管 (10 ml) に移しかえ、これに二硫化炭素 0.5 ml を加えて、1 分間振とうして臭化エチレンを抽出する。

この液を、1500 rpm、5 分間遠心分離させた後、水層をコマゴメビレットで除去し、下層の二硫化炭素を、FID-GC に注入 (2 µl) し臭化エチレンのピークの高さを測定する。

## 〔標準液の調製〕

標準液は、ポリオキシエチレンノドデシルエーテル (EO : 7) 0.5 g を正確に取り、メタノールに溶かし 50 ml とする。

この溶液 10 ml を取り、メタノールを加えて 100 ml とする。

この溶液 1 ml 中には、POEn 1,000 µg を含有する。

## 測 定

## 〔ガスクロマトグラフィー条件〕

充てん剤 : 10% Apiezon L Shimalite 60/80

カラム : 3 mm φ × 3 m ガラス

カラム温度 : 120℃

検出器 : FID

キャリアーガス : 窒素 0.62 kg/cm<sup>2</sup>

導入量 : 2  $\mu$ l

チャートスピード : 10mm/分

#### (検量線)

標準液を、10, 20, 30, 40, 50  $\mu$ g/ml 宛メタノールで希釈調製した液を、各1 ml宛アンプルに取り、試料と同様な操作を行い、ガスクロマトグラフに2  $\mu$ l導入し、ピーク高から検量線を作成する。

#### (計算式)

検量線を用い試験液のピーク高の割合から、その濃度を読みとり、試料採取量から換算して試料中濃度を算出する。

#### (定量限界)

試料水1,000 ml、最終液量0.5 ml、ガスクロマトグラフィーの導入量2  $\mu$ lとした場合、定量限界は、水質5  $\mu$ g/lである。

#### 試薬・器具

##### (試薬)

|        |       |
|--------|-------|
| 臭化エチレン | 和光特級  |
| 酢酸エチル  | "     |
| メタノール  | "     |
| 二硫化炭素  | "     |
| 酢酸     | 精密分析用 |
| 臭化水素酸  | 和光特級  |

臭化水素酸—酢酸 試液 : 同量を用時混合し調製する。

ダウエックス 1—X 8, 50W—X 8, : 文献3により調製

##### (器具)

泡沫濃縮装置 (Sublator) : Wickboldの装置に従い改良したもの。(文献3, 4)

リアクティブ—サーモヒーター (日本クロマト)

凍結乾燥用硬質アンプル : 内容積5 ml

ダイヤモンドアンプルカッター

バーナー : 三方吹き、アンプル融閉用

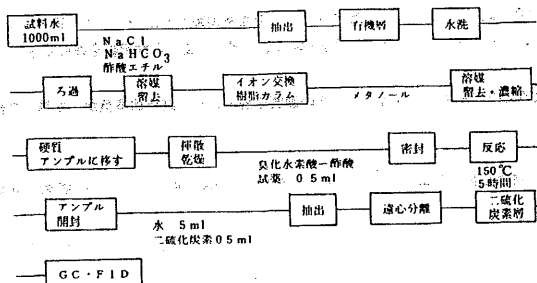
F1D付ガスクロマトグラフ : 日立073型

#### 注 解

- 1) 泡沫濃縮装置の代わりに、2 lの分液漏斗を用いてもよい。
- 2) 対照にピークが出現する場合、特に酢酸の品質に注意すること。
- 3) 硬質アンプルは、水2 mlを入れ密封後、150℃で5時間加熱しても、破損しない。

分析法

(フローチャート)



(分析法の検討)

検量線 図-1に示す。

対照 図-2に示す。対照のピーク高, 6例 平均 0.5 mm

(標準物質のプロム化生成率)

標準物質, ポリオキシエチレン  $n$ -ドデシルエーテル (EO : 7) 50  $\mu\text{g}$  からは, 理論的に二臭化エチレン 139.5  $\mu\text{g}$  を生成する。実際の測定値からは, 平均 115.9  $\mu\text{g}$  を生成しており, その収率 ( $n=4$ ) は, 83.1% (CV : 3.12%) であった。

(再現性および回収試験)

河川水測定例の再現性および回収率

| 試料<br>添加量 $\mu\text{g}$                     | 河川水-Na 1      |                | 河川水-Na 2      |
|---------------------------------------------|---------------|----------------|---------------|
|                                             | 0             | 30             | 0             |
| n                                           | 6             | 5              | 9             |
| $\bar{x} \pm \delta \mu\text{g} / \text{l}$ | $7.8 \pm 1.2$ | $35 \pm 4.3$   | $276 \pm 3.6$ |
| 回収率 $\bar{x} \% \delta$                     | —             | $90.7 \pm 4.3$ | —             |
| CV%                                         | 14.8          | 12.2           | 7.3           |

河川水-Na 1 の BOD 値 2.0  $\text{mg} / \text{l}$

河川水-Na 2 の “ 12.5  $\text{mg} / \text{l}$

河川水-Na 1 のチャート : 図-3

河川水-Na 1 の添加事例のチャート : 図-4

河川水-Na 2 のチャート : 図-5

各非イオン界面活性剤についての, 臭化水素酸分解法による測定感度 : 表-1.

評 価

比色法に比べて, 底濃度まで測定が可能であり, 河川については十分適用できる。

底質については, 検討中である。

〔参考文献〕

- 1) I. I. Kaduji and J. B. Stoad : Analyst 101, 728 ~ 731 (1976)
- 2) 飯塚 貞男 : 横浜市公害研究所報第5号 79 ~ 83 (1980)
- 3) 小林 規矩夫, 田中 久, 沼田 一 : 衛生化学 26 (2) 92 ~ 98 (1980)
- 4) 小林 規矩夫, 沼田 一 : 全国公害研会誌 6 (2) 58 (1981)

(田中 久)

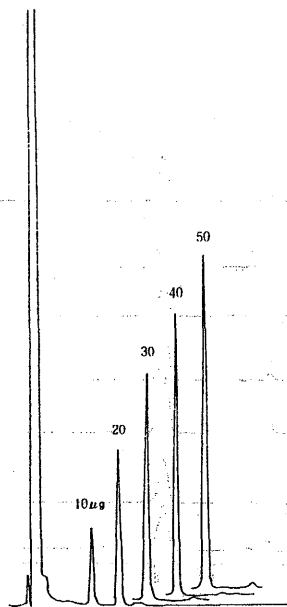


図-1-(1) 標準物質のクロマトグラム

Range : 1

Attenuation : 16

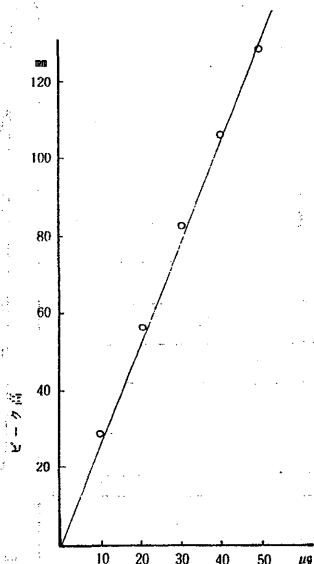


図-1-(2) 検量線

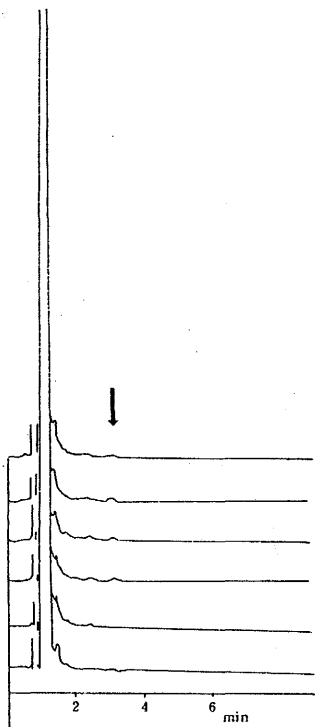


図-2. 対 照 (n:5)

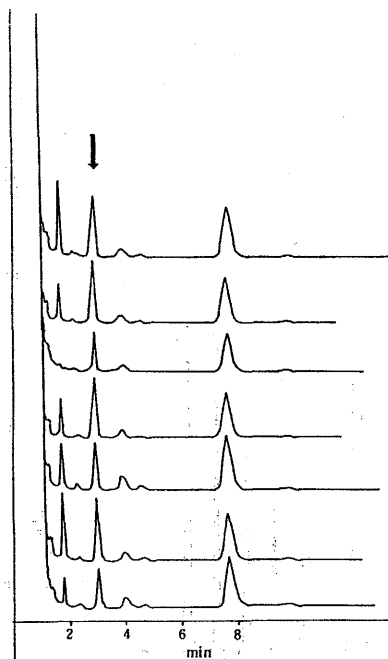
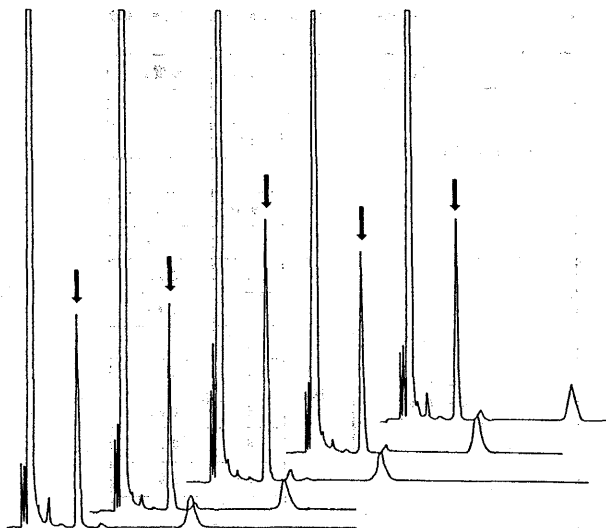
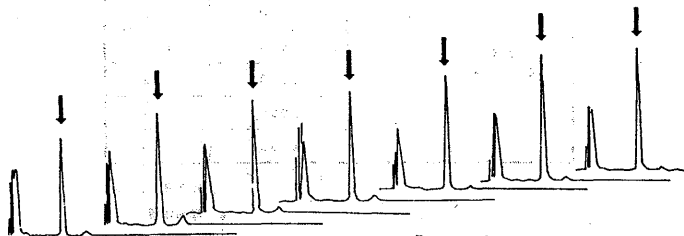


図-3. 河川水-No1のクロマトグラム (n:7)



Range : 1

図-4. 30  $\mu$ g 添加例 (河川水-No 1) のガスクロマトグラム (n:5) Attenuation : 16



Range : 10

Attenuation : 16

図-5 河川水-No 2 のガスクロマトグラム (n:7)

表1. 各非イオン界面活性剤についての、臭化水素分解法による測定感度

| 物 質                            | C                | EO    | 濃 度 比 |
|--------------------------------|------------------|-------|-------|
| ポリオキシエチレン<br>アルキルフェニール<br>エーテル | 8                | —     | 1.04  |
|                                | 9                | 3.29  | 0.54  |
|                                |                  | 7.90  | 0.90  |
|                                |                  | 9.00  | 1.05  |
|                                |                  | 13.74 | 1.04  |
| ポリオキシエチレン<br>アルキルエーテル          | 12               | 1     | 0.20  |
|                                |                  | 2     | 0.48  |
|                                |                  | 3     | 0.60  |
|                                |                  | 4     | 0.75  |
|                                |                  | 5     | 0.89  |
|                                |                  | 6     | 0.89  |
|                                |                  | 7*    | 1.00  |
|                                |                  | 8     | 1.00  |
| ポリオキシエチレン<br>ソルビタン脂肪酸<br>エステル  | 12               | 20    | 0.94  |
|                                | 16               |       | 0.88  |
|                                | 18               |       | 0.89  |
|                                | 18 <sup>-1</sup> | 20    | 0.91  |
|                                |                  |       | 0.65  |
| ポリオキシエチレン<br>グリコール             | 平均分子量            |       | 濃 度 比 |
|                                | 200              |       | 1.13  |
|                                | 400              |       | 1.42  |
|                                | 1000             |       | 1.52  |
|                                | 2000             |       | 1.44  |
|                                | 4000             |       | 1.40  |

測定濃度: 50  $\mu$ g

\* 標準物質

## 非イオン界面活性剤の生分解

非イオン界面活性剤の生分解について、比色法とともに、GC法、HPLC法を併用し、生分解性ならびに生分解機序、生分解中間生成物等について検討した。

## 試 験 法

## 〔試料液の調製〕

河川水(A: BOD = 1.6 mg/l, B: BOD = 17.0 mg/l)に非イオン界面活性剤を添加, 4℃, 20℃に放置し, これから経日的に検水を分取して残存する非イオン界面活性剤濃度を測定した。試験に用いた非イオン界面活性剤は, ポリオキシエチレンドデシルエーテル, EO7モル付加〔以下POE(A)と略す〕ポリオキシエチレンノニルフェニルエーテル, EO9モル付加〔POE(P)〕, ポリエチレングリコールモノステアレート, EO10モル付加〔PEG(F)〕である。

## 〔定量方法〕

試料液から酢酸エテルを用いて抽出, イオン交換樹脂カラムを通じたのち, チオシアン酸コバルト法(CTAS法)による比色分析を行なうとともに, POE(P)は高速液体クロマトグラフ法(HPLC法)で, POE(A)はトリメチルシリル化(TMS化)を行ないGC法で, PEG(F)は水素化リチウムアルミニウム(LiAlH<sub>4</sub>)で還元後, 同様にTMS化しGC法で測定した。

## 結 果

生分解試験の結果は図1～3に, GC, HPLCのクロマトグラムを図4～6に示した。

一般的に生分解性は放置温度に大きく影響され, POE(A)は20℃では3日後にはほとんど分解, 消失したが, 4℃では3日経過しても分解されず, 4日後から徐々に分解の進行が観察された。POE(P)は生分解を受けにくく, 4℃では全く分解されず, 20℃では5日後からわずかな分解が観察された。PEG(F)は前記のものとは異なった傾向を示し, 図3, 図6に示すように4℃においても生分解の進行が認められた。また脂肪酸としてステアリン酸(C<sub>18</sub>)はパルミチン酸(C<sub>16</sub>)に比較し, 生分解の進行がすみやかであった(図3-(2))。

一方, 水質の差異による生分解作用については, 明らかな相違はみられなかった。

一般的にポリオキシエチレン型非イオン界面活性剤の生分解は脂肪酸エステル型<アルキル型<アルキルフェニル型の順に難分解性を示した。なお, アルキル型, アルキルフェニル型は底質測定法で認められたように, アルカリ等の化学的作用に対しては比較的安定性を示していた。

また, 各非イオン界面活性剤の生分解は比色法に対し, GC法, HPLC法ともほぼ一致した傾向を示しており, 図4のクロマトグラムでみられるようにPOE(A)の生分解に際し, 標準物質(EO7モル付加)よりEO付加モル数が少ない物質の出現は観察されず, 明らかなEOの開裂, 減少はみられなかった。このことは, 生分解の進行に際し, 一方でエーテル結合が容易に開裂することがうかがえる。この点に関しては更にEO付加モル数の多い非イオン界面活性剤についても検討する必要があるものと考えている。なお, POE(P)の場合は図5にみられるようにHPLCの測定例ではピーク高の減少が観察されたに過ぎなかった。

## 参考文献

- 1) 菊地幹夫, 若林明子, 露崎亀吉 : 東京都公害研究所年報, 11, 114～117 (1980)
- 2) 井上善介, 福山丈二, 本多淳裕 : 水処理技術, Vol 18, No 2, 119～132 (1977)
- 3) 北原文雄ら : 界面活性剤—物性, 応用, 化学生態学— 427～455 講談社 (1979)
- 4) 大場健吉, 杉山豊樹 : 油化学 23, 120～127 (1974)

(小林規矩夫)

POE (A) の生分解

添加量 A 河川水 : 500  $\mu\text{g}$  / l  
B 河川水 : 1,000  $\mu\text{g}$  / l

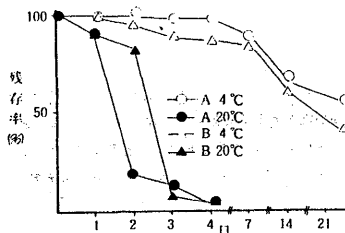


図1-(1) CTAS法による測定例

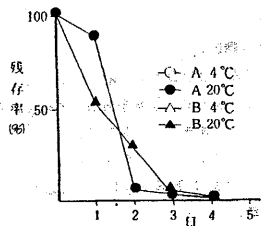


図1-(2) GC法による測定例

POE (P) の生分解

添加量 500  $\mu\text{g}$  / l

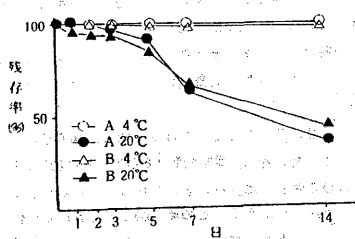


図2-(1) CTAS法による測定例

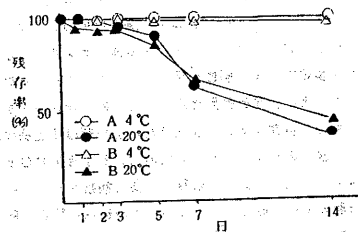


図2-(2) HPLC法による測定例

PEG (F) の生分解

添加量 1,000  $\mu\text{g}$  / l

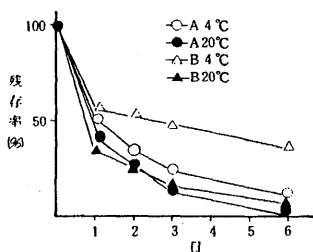


図3-11) CTAS法による測定例

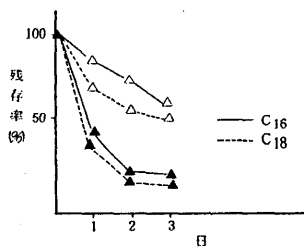


図3-12) GC法による測定例  
C16: パルミチン酸, C18: ステアリン酸

POE (A)

POE (P)

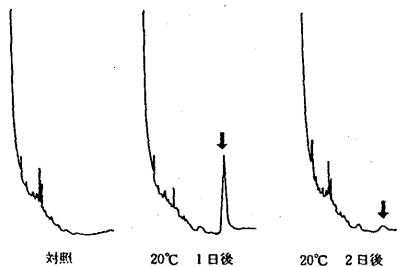


図4. GC法のクロマトグラム



図5. HPLC法のクロマトグラム

PEG (F)

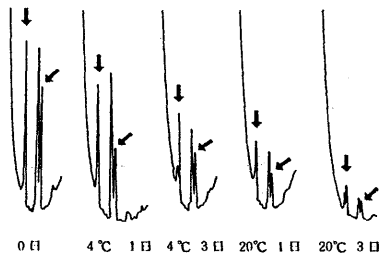
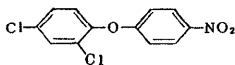


図6. GC法のクロマトグラム

2,4-ジクロロフェニル-4'-ニトロフェニルエーテル<sup>(1)</sup>2,4-ジクロロフェニル-3'-メトキシ-4'-ニトロフェニルエーテル<sup>(2)</sup>2,4,6-トリクロロフェニル-4'-ニトロフェニルエーテル<sup>(3)</sup>

(1)

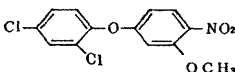


別 名：ニップ、ニトロフェン

分子式：C<sub>12</sub>H<sub>7</sub>Cl<sub>2</sub>NO<sub>2</sub> 分子量：284.1

M. P. 70 ~ 71 °C

(2)

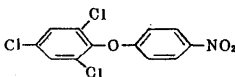


別 名：クロメトキシニル、エックスゴーニ

分子式：C<sub>13</sub>H<sub>9</sub>Cl<sub>2</sub>NO<sub>4</sub> 分子量：314.1

M. P. 113 ~ 114 °C

(3)



別 名：CNP, MO

ダイムロン, モリネート

分子式：C<sub>12</sub>H<sub>6</sub>Cl<sub>3</sub>NO<sub>2</sub> 分子量：318.5

M. P. 107 °C

本分析法は、環境試料（水・底泥）から有機溶媒で振とう抽出し、フロリジルカラムクロマトグラフィーによりクリンアップ後、ECD-GCで定量する方法である。

## 試 験 法

### 〔試料の前処理〕

〔水質試料〕 試料水 1 l を 2 l の分液ロートにとり、塩化ナトリウム 40 g、アセトン 50 ml を加える。これに、n-ヘキサン 100 ml を加え、10 分間振とうする。静置し二層に分離後、水層を他の分液ロートに移し、さらに 100 ml の n-ヘキサンを加えて振とう抽出する。抽出液を合わせ、20% の塩化ナトリウム溶液 50 ml で洗浄後、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、K.D 濃縮する。この濃縮液をフロリジルカラム（φ 1.5 cm のカラムに 130 °C で活性化したフロリジル 10 g を充填したもの）に移し、まずベンゼン：n-ヘキサン（3：7）混液 100 ml を通し、妨害物質を除去する。次に、アセトン：n-ヘキサン（7：93）混液 100 ml で溶出し、これを K.D 濃縮し定容したものを、ガスクロマトグラフ用試料液とする。

〔底質試料〕 底泥 50 g を 200 ml の共栓付三角フラスコにとり、アセトン 100 ml を加えて 30 分間振とう抽出する。静置し分離後、上澄液をろ過し、再び 100 ml のアセトンを加えて振とう抽出する。ろ液を合わせロータリエバポレーターで約 50 ml まで濃縮し、4% の塩化ナトリウム溶液 1 l を入れた分液ロートに移す。これに n-ヘキサン 100 ml を加えて 10 分間振とう抽出し、分離後さらに 100 ml の n-ヘキサンで抽出する。以下〔水質試料〕と同様に操作する。

### 〔空試料液の調整〕

空試料液は、精製水を用いて〔試料の前処理〕と同様に操作する。底質試料の場合は、アセトン 200 ml を用いて、同様に操作したものを空試料液とする。

### 〔標準液の調整〕

NIP, CNP, クロメトキシニルをそれぞれ 0.100 g を正確に計り、アセトン（ベンゼン）を加えて正確に

100 mlとし、標準原液を作製する。これをn-ヘキサンで希釈したものを標準液とする。

〔測定〕

〔ECD-GCの条件〕

充填剤 : 2% Silicone O-V-17 Gaschrom Q, 60~80 mesh

カラム :  $\phi 3 \text{ mm} \times \text{L } 2.1 \text{ m}$  ガラスカラム

カラム温度 : 240 °C

検出器温度 : 240 °C

注入口温度 : 270 °C

キャリアガス : 窒素 45 ml/min

〔検量線〕 標準液を1~5  $\mu\text{l}$  ガスクロマトグラフに注入し、ピーク高さあるいはピーク面積から検量線を作成する。図1に検量線の例を示す。

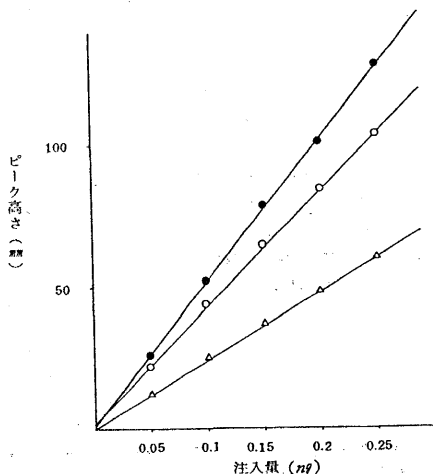


図1 ECD-GCによる検量線  
(●—NIP, ○—CNP)  
(△—クロメトキシニル)

〔定量〕 試料液 5  $\mu\text{l}$  をガスクロマトグラフに注入し、得られたピーク高さあるいはピーク面積により、検量線から定量値を求める。

〔計算〕

$$A = BC / DE$$

ここで

A : 試料中の濃度 ( $\text{ng/ml}$  or  $\text{ng/g}$ )

B : GC検出量 ( $\text{mV}$ )

C : 最終抽出液量 ( $\text{ml}$ )

D : GC注入量 ( $\mu\text{l}$ )

E : 試料量 ( $\text{ml}$  or  $\text{g}$ )

〔データ表示・定量限界〕

データ表示は水質は  $\text{ng/ml}$ 、底質は  $\text{ng/g}$  とし、有効数字の2桁とする。定量限界値を表1に示す。

表1 定量限界値 (単位  $ng/ml$  or  $ng/g$ )

|          | 水 質 <sup>1)</sup> | 底 質 <sup>2)</sup> |
|----------|-------------------|-------------------|
| NIP      | 0.01              | 0.5               |
| CNP      | 0.01              | 0.5               |
| クロメトキシニル | 0.02              | 1                 |

1) 試料水 1 l をとり、5 ml に濃縮し、5  $\mu$ l を注入した場合

2) 乾物として 20 g をとり、5 ml に濃縮し、5  $\mu$ l を注入した場合

## 試 薬 ・ 器 具

### 〔試 薬〕

n-ヘキサン、アセトン、ベンゼン、無水硫酸ナトリウム：残留農薬試験用

塩化ナトリウム：試薬特級

フロリジル：130℃で12時間活性化したもの

2% Silicone OV-17 Gaschrom Q, 60~80 mesh

### 〔器 具〕

分液ロート：2 l, 300 ml

カラムクロマト管： $\phi$  1.5 cm  $\times$  L 30 cm

共栓付三角フラスコ：200 ml, 300 ml

振とう器、ロータリーエバポレーター

K・D濃縮器

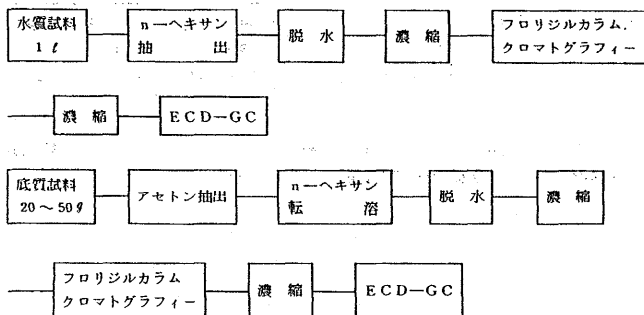
ガスクロマトグラフ：ECD付

解

説

### 〔分析法〕

#### 〔フローチャート〕



#### 〔分析法の検討〕

##### 1. GC用充填剤

GCにおける分離性のよい充填剤を選定するため、種々検討した結果、2% OV-17, 2% OV-101,

5% SE-52, 2% OV-225が良い分離を示したが, 2% OV-17が最も良い分離を示した。

## 2. 底泥からの抽出溶媒

アセトン, メタノール, アセトニトリルの親水性溶媒を用いて検討したところ, アセトンが最も高い抽出率を示した。表2に結果を示す。

表2 抽出溶媒の検討 (単位 %)

| 溶 媒     | NIP  | CNP  | クロメト |
|---------|------|------|------|
| アセトン    | 92.0 | 93.7 | 89.0 |
| メタノール   | 87.6 | 84.8 | 83.6 |
| アセトニトリル | 85.4 | 81.6 | 84.9 |

(溶媒 100 ml で1回抽出後, n-ヘキサンに転溶した。)

## 3. クリナップ

カラムクロマト: 底泥のような有機物を多量に含む試料は, GC分析の際, 妨害となるため, フロリジル, シリカゲルカラムクロマトについて検討した。NIP, CNP, クロメトキシニルはフロリジルに強く吸着されるため, 溶出液にエチルエーテル, アセトン等を用いなくと溶出せず, また各成分ごとに分離することはできなかった。そこで, ベンゼン: n-ヘキサン (3:7) でできるだけ妨害物質を除去後, アセトン: n-ヘキサン (7:93) で溶出することにした。シリカゲルの場合も, 各成分ごとに分離することはできなかったが, ベンゼン: n-ヘキサン (5:95) で妨害物質を除去後, エチルエーテル: n-ヘキサン (7:93) で溶出させることによりクリナップできる。

アセトニトリル分配: 油の多い試料に効果的であり, 同容量のアセトニトリルで2回分配すれば, はば十分である。

濃硫酸洗浄: 本法では適用できない。

## 4. 添加回収実験

水質試料の場合は1 lに, 底質試料の場合は, 湿泥 50 gに NIP, CNP, クロメトキシニルをアセトン溶液として各 0.5 mgずつ添加し, 回収実験を行った際の結果を表3に示す。

表3 添加回収実験結果 (単位 %)

|          | 精 製 水 |      | 河 川 水 |      | 海 水  |      | 底 質  |      |
|----------|-------|------|-------|------|------|------|------|------|
|          | 回収率   | C, V | 回収率   | C, V | 回収率  | C, V | 回収率  | C, V |
| NIP      | 95.9  | 1.57 | 96.2  | 1.56 | 96.4 | 1.36 | 95.4 | 1.98 |
| CNP      | 86.4  | 2.21 | 90.1  | 3.41 | 89.7 | 2.02 | 89.5 | 1.74 |
| クロメトキシニル | 96.1  | 1.65 | 98.6  | 0.96 | 96.4 | 2.55 | 98.8 | 2.84 |

## 5. 分解性スクリーニング結果

精製水に NIP, CNP, クロメトキシニルのアセトン溶液を 10 mg/ml になるように添加して実験を行なった。分析は n-ヘキサンで抽出後, ECD-GC で定量した。表4に結果を示す。

表4 分解性スクリーニング結果

|          | pH | 残 存 率 (%) |        |       |
|----------|----|-----------|--------|-------|
|          |    | 1時間       | 5日(暗所) | 5日(光) |
| NIP      | 5  | 100       | 99.5   | —     |
|          | 7  | 100       | 100    | 87.9  |
|          | 9  | 100       | 99.1   | —     |
| CNP      | 5  | 100       | 99.2   | —     |
|          | 7  | 100       | 99.1   | 65.1  |
|          | 9  | 100       | 99.1   | —     |
| クロメトキシニル | 5  | 100       | 99.3   | —     |
|          | 7  | 100       | 100    | 45.8  |
|          | 9  | 100       | 100    | —     |

この結果NIP, CNP, クロメトキシニルは光による分解が認められるため, サンプリング後, 光を避けて暗所に保存するかまたは, 速やかな処理が必要である。

#### 6. その他の定量方法

##### HPLC法

カラムに逆相分配用の $\mu$  Bondapak C18 (waters社)を, 移動相に, 水:メタノール(15:85), 測定波長290nmで定量すると, 絶対量でNIP 3 $\mu$ g, CNP 3 $\mu$ g, クロメトキシニル 5 $\mu$ gまで定量できる。図2に代表的なクロマトグラムを, 図3に検量線の例を示す。

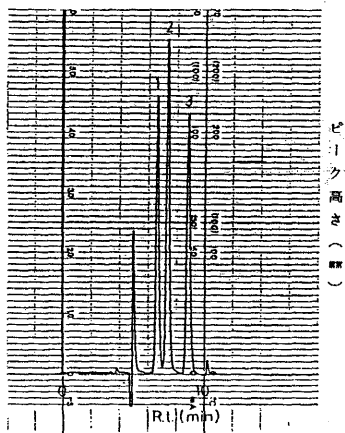


図2 HPLCによるクロマトグラム

(1 クロメトキシニル, 2 NIP)  
(3 CNP)

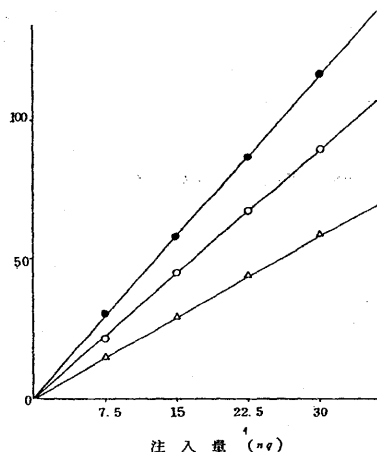


図3 HPLCによる検量線

(●— NIP, ○— CNP)  
(△— クロメトキシニル)

##### GC-MS法(MF法)

GC-MSによるスペクトルを, 図4, 5, 6, に示す。MF法による検量線の例を図7に示す。MF法による検出限界は, NIP(M/E=283), CNP(M/E=317)が1 $\mu$ g, クロメトキシニル(M/E=313)が2 $\mu$ gであった。

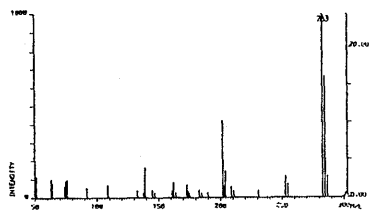


図4 NIPのマススペクトル

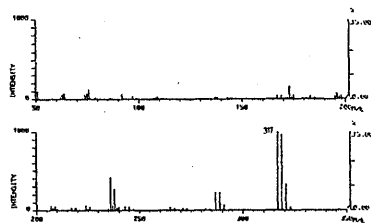


図5 CNPのマススペクトル

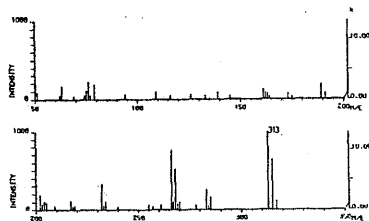


図6 クロメトキシニルのマススペクトル

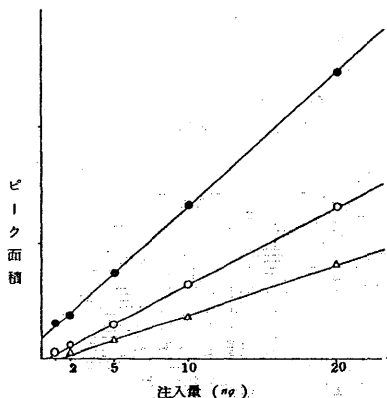


図7 MF法による検量線

(●—NIP, ○—CNP)  
(△—クロメトキシニル)

# 7. 標準品のガスクロマトグラム

図8に標準品のクロマトグラムを示す。

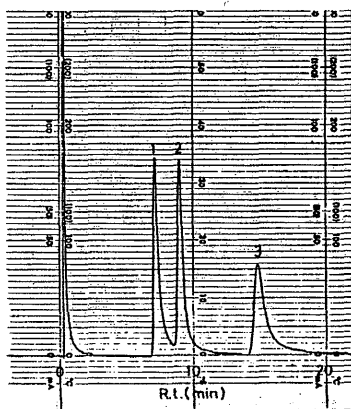


図8 ECD-GCによるクロマトグラム

( 1 NIP, 2 CNP )  
( 3 クロメトキシニル )

〔環境試料分析例〕

環境試料への応用例として、河川水、海水、底質を分析した際のクロマトグラムを図9～11に示した。

水試料からは、NIP、CNP、クロメトキシニルは検出されなかったが、底質試料からは、NIPが検出された。

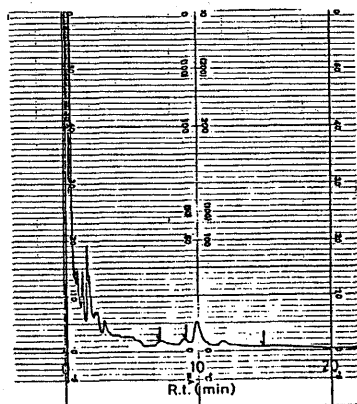


図9 河川水試料のガスクロマトグラム( 裾花川 )

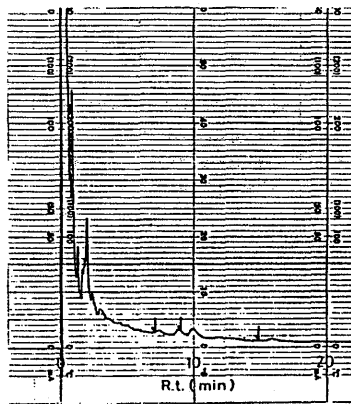


図10 海水試料のガスクロマトグラム

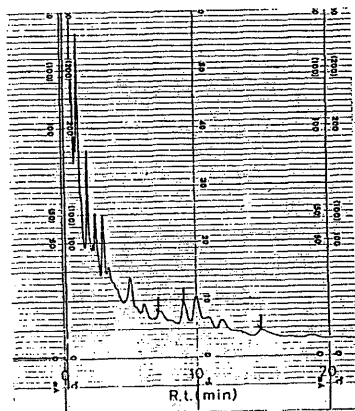


図 11 底質試料のガスクロマトグラム (真宗寺川)

〔操作上の注意〕

NIP, CNP, クロメトキシニルは光による分解が認められるため、サンプリング後、遮光し速やかに分析する必要がある。

〔評 価〕

本分析法は、水質、底質試料に十分適用できると考えられるが、検出された場合は、GC-MSにより確認した方が良い。

(担当者 月岡 忠)

参 考 文 献

- 1) 加藤誠哉 後藤真康 編著：“残留農薬分析法” ソフトサイエンス社 (1980)
- 2) 佐藤信俊他：食衛誌，22，50～55 (1981)
- 3) 石川 淳 他：食衛誌，22，56～59 (1981)
- 4) 化学工業日報社：“1981の化学商品” (1981)

## ジメチルテレフタレート

Dimethyl Terephthalate

別名 テレフタル酸ジメチル

Terephthalic Acid Dimethyl Ester

分子式  $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_4$ 

分子量 194.19

m. p. 140.6℃

b. p. 288℃

## 1 分 析 法

試料をn-ヘキサンで抽出し、フロリジルカラムクロマトグラフィーによるクリーンアップを行い、GC (FID) で定量する方法である。

## 試 験 法

## 〔試料の前処理〕

〔水質試料〕 試料水1ℓを2ℓの分液ロートにとり、塩化ナトリウム40gを加えて溶解後<sup>1)</sup>、アセトン50ml及びn-ヘキサン100mlを加えて5分間振とうする。静置分離後、水層を別の2ℓ分液ロートに移し、n-ヘキサン層は300mlの分液ロートに移す。水層に更に100mlのn-ヘキサンを加えて振とうし、n-ヘキサンは先の分液ロートに合わせる。これを20%の塩化ナトリウム溶液50mlで洗浄し、試料液とする。

〔底質試料〕 湿泥約30gを200mlの共栓三角フラスコに秤取し、アセトン20mlを加えて混和する。n-ヘキサン50mlを加えて10分間はげしく振とうする。静置分離後、n-ヘキサン層をデカンテーションによって300ml分液ロートに移す<sup>2)</sup>。更に50mlのn-ヘキサンで2回振とうを行い、n-ヘキサン層を先の分液ロートに合わせ、20%の塩化ナトリウム溶液50mlで2回洗浄する。これを試料液とする。

## 〔試験液の調製〕

試料液を適量の硫酸ナトリウムで脱水した後、K.D濃縮器を用いて5~10mlに濃縮する。これをフロリジルカラム(15mm×300mmのカラムクロマト管にフロリジル10gを湿式充填法で充填し、少量の無水硫酸ナトリウムをカラム上端に積層させたもの)に流入し、カラムベッドまで流下させる。容器を少量のn-ヘキサンで洗浄し同様の操作を行う。ベンゼン100mlを流して洗浄し、つぎにn-ヘキサン・アセトン混液(98:2)150mlを用いて溶出する。初めの20mlを捨てた後、溶出液をK.D濃縮器を用いて濃縮し、10ml定容としたものをガスクロマトグラフ用試験液とする。<sup>3)</sup>

## 〔空試験液の調整〕

水質試料では精製水1ℓについて、底質試料ではアセトン20mlについて、試料と同様に操作し、空試験液とする。

## 〔標準液の調製〕

ジメチルテレフタレート0.100gを100mlのメスフラスコにとり、n-ヘキサンを加えて振とう溶解後100mlとし、1000μg/mlの標準原液を調製する。この標準原液をn-ヘキサンで希釈し、10μg/mlの標準液を調製する。

## 〔測定〕

測定は上記試験液5μlをガスクロマトグラフに注入する。

## 〔GCの条件〕

充填剤 : 5 % S E - 52, Shimalite W, 60 ~ 80 mesh

カラム : 3 mm × 2 m ガラスカラム

カラム温度 : 180 °C

注入口温度 : 250 °C

検出器温度 : 180 °C

キャリアガス : He 40 ml/min

H<sub>2</sub> : 0.5 kg/cm<sup>2</sup>

Air : 0.5 kg/cm<sup>2</sup>

検出器 : FID

〔検量線〕 標準液の 1 ~ 5 μl をガスクロマトグラフに注入し、ピーク高さを求め検量線を作成する。

〔計算式〕

水質 : 試料 1 l を採取し、10 ml に濃縮し、5 μl をガスクロマトグラフに注入した場合の検出量を a ng とすると

$$\text{試料水中の濃度} = 2 a \times 10^{-3} \mu g / ml$$

底質 : 湿泥 x g を採取し、10 ml に濃縮し、5 μl をガスクロマトグラフに注入した場合の検出量を b ng とすると

$$\text{湿泥中の濃度} = 2 b / x \mu g / g$$

〔定量限界〕 本法の定量限界は、水質試料の場合は 0.003 μg/ml、底質試料の場合は 0.1 μg/g である。

ただし、定量限界値は水質試料は 1 l、底質試料は 30 g を用い、最終液量を 5 ml にした場合に標準液のピーク高さの 1/20 まで測定可能として計算した。

〔試薬〕

n-ヘキサン、アセトン、ベンゼン、及び無水硫酸ナトリウムは、残留農薬試験用を使用。塩化ナトリウムは、特級試薬を使用。

フロリジルは、60 ~ 100 mesh のものを 130 °C で 12 時間活性化して使用。

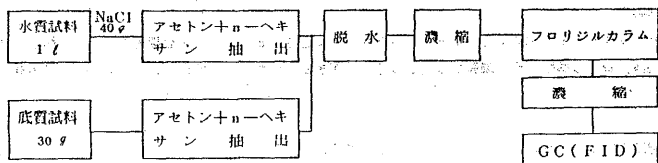
## 注 解

- 1) 塩析剤として加える。海水の場合は不要。
- 2) 湿泥からの抽出には、アセトンと混和後に n-ヘキサンで抽出すると抽出率が高く、抽出後の有機層の分離も良好であった。分離が悪い試料の場合には、遠心分離を行う。
- 3) 黄色を帯びていることがあるが、目的成分の付近には他のピークを認めなかった。

## 2 解 説

〔分 析 法〕

〔フローシート〕



〔分析法の検討〕

1. 検量線 図1に検量線を示す。

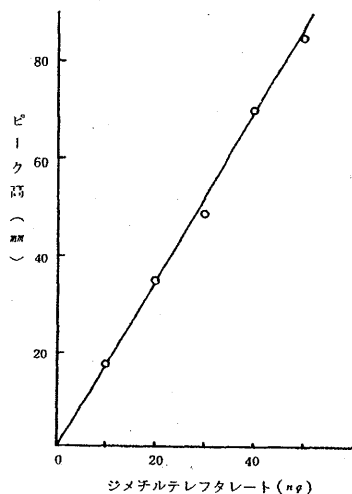


図1 ジメチルテレフタレートの検量線

2. 回収実験結果

|     | n | 添加量 ( $\mu g$ ) | 回収率 (%) | 変動係数 (%) |
|-----|---|-----------------|---------|----------|
| 精製水 | 4 | 100             | 96      | 2.6      |
| 河川水 | 4 | 100             | 91      | 1.8      |
| 海水  | 4 | 100             | 93      | 2.7      |
| 底質  | 4 | 100             | 92      | 2.7      |

精製水、河川水、海水は1 l、底質は30 g（湿泥）の試料にジメチルテレフタレート（100  $\mu g/ml$  アセトン溶液）100  $\mu g$  を添加して回収率を求めた。

3. 分解性スクリーニング結果

精製水に標準品のアセトン溶液を10 ppmになるよう添加して試験を行った。

| 放置後の残存率 |                        |                   |               |      |
|---------|------------------------|-------------------|---------------|------|
| PH      | 初期濃度<br>( $\mu g/ml$ ) | 1時間放置後の<br>残存率(%) | 5日間放置後の残存率    |      |
|         |                        |                   | 略所(%), 光照射(%) |      |
| 5       | 10                     | 100               | 98.9          | —    |
| 7       | 10                     | 100               | 99.6          | 98.9 |
| 9       | 10                     | 100               | 98.5          | —    |

その結果、いずれの条件でも5日間放置後も98%以上が残存し、高い残存率を示した。

4. ガスクロマトグラム 図2に標準品のクロマトグラムを示す。

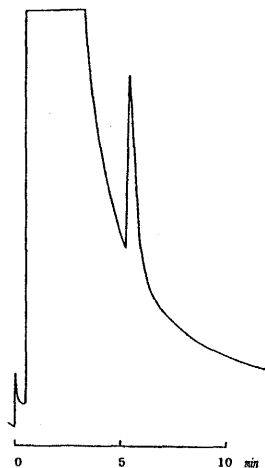


図2 FIDによるガスクロマトグラム (50 ng)

#### 5. クリーンアップの検討

クリーンアップには、フロリジルカラムを用いた。フロリジルに吸着されたジメチルテレフタレートは、*n*-ヘキサン及びベンゼンによっては溶離されず、*n*-ヘキサン・アセトン混液 (98 : 2) 120 ml で溶離した。従ってクリーンアップは、濃縮液をフロリジルカラムに吸着させた後 100 ml のベンゼンで洗浄し、溶出液として、*n*-ヘキサン・アセトン混液 (98 : 2) 150 ml を使い、初めの 20 ml は捨てて残りの溶出液を試料とした。

6. その他の方法 標準品のマススペクトルを図3、マスフラグメント法による検量線を図4に示す。マスフラグメント法によればGC (FID) の場合の約 1/20 まで測定可能であった。

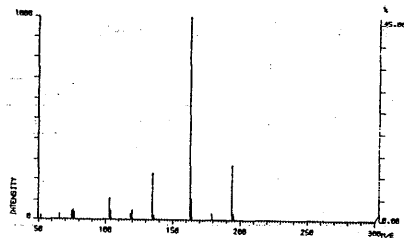


図3 標準品のマススペクトル

WORKING CURVE  
 WORKING CURVE TYPE:  
 NOTE  
 R<sup>2</sup> = 1.000  
 SLOPE = 0.333 INTERCEPT = 7.333 1000\* 236.40

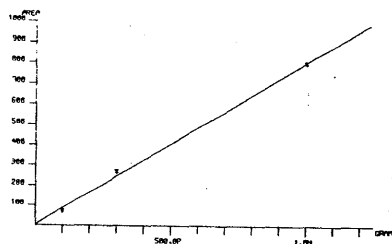


図4 マスフラグメント法による検量線

〔環境試料分析〕

1. 実測データ 長野県内の河川水，河川底質，湖沼底質，上越の海水について分析を行ったが，いずれの試料からも検出されなかった。
2. ガスクロマトグラム例 河川水に100  $\mu$ g 添加した場合（図5）と河川底質（図6）のガスクロマトグラム例を示す。



図5 河川水に100  $\mu$ g 添加した場合の分析例

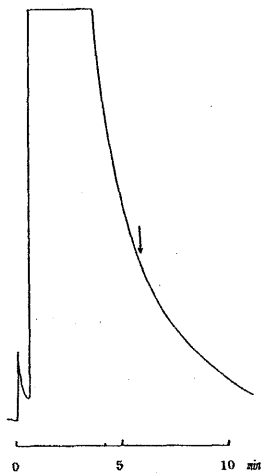


図6 底質の分析例

〔評 価〕

本分析法は、水質試料、底質試料ともに使用できるが、シルト質の底質試料では回収率が低い場合があり、抽出方法について検討の余地がある。

（担当者 鹿角孝男）

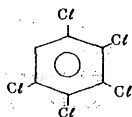
参 考 文 献

環境庁保健調査室：化学物質環境分析手法，講談社（1980）

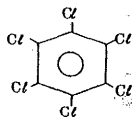
7981の化学商品，化学工業日報社（1981）

クロロベンゼン類、クロロアニリン類、クロロニトロベンゼン類、クロロフェノール類

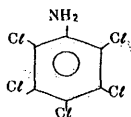
| 物質名                                                          | 分子式                                   | 分子量    | 融点    | 沸点          |
|--------------------------------------------------------------|---------------------------------------|--------|-------|-------------|
| (1) ペンタクロロベンゼン<br>Pentachlorobenzene                         | $\text{Cl}_5 \text{C}_6 \text{H}$     | 230.35 | 85~6  | 275~7       |
| (2) ヘキサクロロベンゼン<br>Hexachlorobenzene                          | $\text{Cl}_6 \text{C}_6$              | 284.8  | 231   | 323~<br>326 |
| (3) ペンタクロロアニリン<br>Pentachloroaniline                         | $\text{Cl}_5 \text{C}_6 \text{NH}_2$  | 265.37 | 232   |             |
| (4) 2,3,5,6-テトラクロロニトロベンゼン<br>2,3,5,6-Tetrachloronitrobenzene | $\text{Cl}_4 \text{C}_6 \text{HNO}_2$ | 260.91 |       |             |
| (5) ペンタクロロニトロベンゼン<br>Pentachloronitrobenzene                 | $\text{Cl}_5 \text{C}_6 \text{NO}_2$  | 295.36 | 144   | 328         |
| (6) 2,3,4,6-テトラクロロフェノール<br>2,3,4,6-Tetrachlorophenol         | $\text{Cl}_4 \text{C}_6 \text{HOH}$   | 231.96 | >300  |             |
| (7) ペンタクロロフェノール<br>Pentachlorophenol                         | $\text{Cl}_5 \text{C}_6 \text{OH}$    | 266.35 | 188~9 | 309~<br>10  |



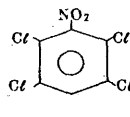
(1)



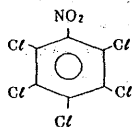
(2)



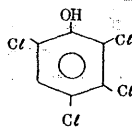
(3)



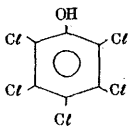
(4)



(5)



(6)



(7)

水試料はアルカリ性とし、吸引ろ過をする。次いで、水中の(1)～(5)の化合物を ODS (C<sub>18</sub> 商品名セブパップ) カラムに捕集する。カラムを通過した試料は硫酸によって酸性とし、循環式水蒸気蒸留によって、(6)および(7)の化合物を n ヘキサンに抽出する。(1)～(5)の化合物はフロリジルカラムによって精製した後、GC (ECD) により測定する。(6)および(7)の化合物は直接 GC (ECD) によって測定する。

底質試料は(6)および(7)の化合物を抽出するため、NaOH 水を加えて振とう抽出する。吸引ろ過を行って NaOH 水中へ溶解した(6)および(7)と、底質中に残存する化合物とを分離する。ろ過は水試料と同様に、循環式水蒸気蒸留を行い、GC (ECD) によって測定する。アルカリ抽出を経た底質は、アモトンを加えて振とう抽出し、抽出物質を n ヘキサンに転溶する。以下、水試料と同様の操作を行い測定する。

## 試 験 法

### 【 試料の前処理 】

〔水質試料〕 1 l の水試料に NaOH を加えて 0.01 規定濃度とする。ワットマン GF/F のガラス繊維ろ紙を用いて吸引ろ過をする。次いで、ろ液を 20～80 ml/min の流速で ODS カラムを通過させる。ODS カラムを通過した水試料は 5 ml/min の流速で循環式水蒸気蒸留を行ってクロロフェノール類を n ヘキサンに抽出する。

先のガラス繊維ろ紙は細長く切断して内容量 10 ml の共栓付試験管に入れる。メタノール 10 ml を加え、3 分間超音波を作用させる。このメタノールを注射器を用いて、水中有機物を捕集している ODS カラムに注入して、捕集された化合物を脱離する。次に、ろ紙が入っている試験管へ n ヘキサン 10 ml を加えて同様に超音波を作用させ、さらにこの n ヘキサンを ODS カラムに注入する。化合物を脱離させたメタノールと n ヘキサンは 50 ml の円筒型分液ロートへ移し、さらに NaCl を飽和した水溶液 10 ml を加えて 10 分間振とう抽出した後、5 分間静置する。n ヘキサンを分取した後、再び n ヘキサン 10 ml を加えて同様に振とう抽出する。n ヘキサンを無水硫酸ナトリウムによって脱水し、ロータリーエボレーターを用い、1 ml まで濃縮する。以下、クリーンアップ操作に移る。

循環式水蒸気蒸留によって得た n ヘキサンは、脱水乾燥して直接測定に供する。

〔底質試料〕 0.01 規定 NaOH 液 50 ml を底質 20 g (湿試料) に加え、15 分間振とう抽出する。次に、ワットマン GF/F のガラス繊維ろ紙を用いて吸引ろ過する。抽出に用いた容器などを少量の蒸留水で洗浄し、同様に吸引ろ過する。ろ液が中性となるまで蒸留水で洗浄しながら吸引ろ過する。ろ液を全て集めて硫酸により酸性とし、循環式水蒸気蒸留によってクロロフェノール類を n ヘキサンへ抽出せしめる。以下、水試料と同様に処理する。

アルカリ抽出を経た試料に、アセトン 30 ml を加えて振とう抽出を行う。アセトンを分取し、次に n ヘキサン 30 ml を試料に加えて混合攪拌した後、先のアセトンに加える。この操作をくり返して、試料中の目的物質を抽出する。このアセトン・n ヘキサン混合液を分液ロートに移し、飽和 NaCl 水 30 ml を加え、10 分間振とう抽出する。n ヘキサンを分取後、さらに n ヘキサン 30 ml を加え、同様に抽出を行う。n ヘキサンを無水硫酸ナトリウムによって脱水乾燥後、ロータリーエボレーターにより 1 ml まで濃縮する。以下、水試料と同様にクリーンアップ操作に移る。

### 【 試料液の調整 】 クリーンアップ

常法によって、あらかじめ調整したフロリジルカラムへ試料処理液を入れ、コックを調整して液面をカラムヘッドまで下げる。少量の n ヘキサンで容器を洗浄し、試料処理液と同様にカラムに入れ、液面を下げておく。次に、n ヘキサン 75 ml を展開する。この溶出液中にはクロロベンゼン類と、クロロアニリン類の一部が含まれている。さらに、5% エチルエーテル含有 n ヘキサン 50 ml を展開して、クロロトロベンゼン類を溶出する。それぞれの溶出液をロータリーエボレーターによって 1 ml に濃縮し、0.5 g の銅粉を加えて激しく振とうする。15 分以上静置した後、GC (ECD) によって測定する。

# 【 空試料液の調整 】

試料と同じ量の水を用い、【試料の前処理】および【試料液の調整】と同様に操作して得られる液を空試料液とする。

# 【 標準液の調整 】

(1)～(7)の化合物を、それぞれ個別に20mgを正確に小型ビーカーにはかり取る。ジクロロメタン20mlを加えて標準原液を作成する。この原液をnヘキサンによって順次希釈し以下のような濃度の混合液として使用する。

(1)、(3)、(4)および(5)を0.005ppm、(2)を0.002ppmとした混合液、(6)を0.01ppm、(7)を0.05ppmとした混合液

# 【 測 定 】

〔ガスクロマトグラフの条件〕

表-1のとおり。

表-1 ガスクロマトグラフの条件

| 物 質     | (1) ～ (5)                         | (6) ～ (7)                                       |
|---------|-----------------------------------|-------------------------------------------------|
| カラム充填剤  | 1.5%OV-17<br>ガスクロムQ<br>80～100メッシュ | 2%T 1000+0.5% $H_3PO_4$<br>クロモソルブW<br>60～80メッシュ |
| カラム 形 状 | 内径 3mm<br>長さ 2m                   | 同 左<br>長さ 1.5m                                  |
| カラム 温 度 | 180℃                              | 200℃                                            |
| 検出器 温 度 | 250℃                              | 250℃                                            |

# 〔 検量線の作成及び計算 〕

標準液1～5μlをGCへ注入し、そのピーク高さあるいはインテグレーターによる計測値と注入量から検量線を作成する。計算は下式により求める。

$$\text{計量値 (ppb)} = \text{検出量 (ng)} \times \frac{\text{最終液量 (ml)}}{\text{GC注入量 (μl)}} \times \frac{1}{\text{試料量 (mlあるいはg)}}$$

# 〔 回収率と定量限界 〕

表-2のとおり。

表-2 回収率と検出限界

| 物 質 名     | 水          |         | 質                  |  | 底             |         | 質                  |  |
|-----------|------------|---------|--------------------|--|---------------|---------|--------------------|--|
|           | 添加量 (ml/l) | 回収率 (%) | 定量限界 (μg/l)        |  | 添加量 (μg/100g) | 回収率 (%) | 定量限界 (μg/g)        |  |
| (1) PCB   | 100        | 88      | $5 \times 10^{-2}$ |  | 1             | 85      | $5 \times 10^{-1}$ |  |
| (2) HCB   | 10         | 85      | $1 \times 10^{-2}$ |  | 0.1           | 82      | $1 \times 10^{-1}$ |  |
| (3) PCA   | 10         | 87      | $1 \times 10^{-2}$ |  | 0.1           | —       | —                  |  |
| (4) TeCNB | 50         | 84      | $5 \times 10^{-2}$ |  | 0.5           | —       | —                  |  |
| (5) PCNB  | 10         | 83      | $1 \times 10^{-2}$ |  | 0.1           | —       | —                  |  |
| (6) TeCP  | 200        | 92      | $5 \times 10^{-2}$ |  | 2             | 88      | $5 \times 10^{-1}$ |  |
| (7) PCP   | 20         | 97      | $1 \times 10^{-2}$ |  | 0.2           | 92      | $1 \times 10^{-1}$ |  |

# 〔 分解性スクリーニング 〕

表-3のとおり。

表-3 水中での分解性スクリーニング

| 物質名       | 暗所 | PH5 | 7  | 9  | 光照射 | PH7 | 添加量 ng/100ml |
|-----------|----|-----|----|----|-----|-----|--------------|
| (1) PCB   |    | 97  | 98 | 96 |     | 97  | 100          |
| (2) HCB   |    | 98  | 97 | 94 |     | 98  | 10           |
| (3) OCA   |    | 101 | 95 | 93 |     | 96  | 10           |
| (4) TeCNB |    | 108 | 97 | 92 |     | 94  | 50           |
| (5) PCNC  |    | 95  | 95 | 94 |     | 97  | 10           |
| (6) TeCP  |    | 92  | 92 | 91 |     | 90  | 200          |
| (7) PCP   |    | 95  | 95 | 99 |     | 91  | 20           |

各PH値に記されている値は残存率%〔5日後/1時間後×100〕を示す。

## 試 薬 ・ 器 具

### 【 試 薬 】

メチルアルコール、nヘキサン、エチルエーテル、ジクロロメタン、無水硫酸ナトリウムはいずれも残留農薬分析用を使用する。

水酸化ナトリウム、塩化ナトリウム及び硫酸は特級品を用いる。塩化ナトリウムは400℃で4時間加熱したものを使用する。

フロリジルはメルク製を400℃で4時間加熱し、デシケーター中で1週間放置する。使用前に120℃で2時間加熱しデシケーター中で1時間放冷後使用する。カラムの調整は次の操作による。フロリジルをピーカーに入れ、nヘキサン30mlを加えて1分間超音波を作用させてから、カラムへ充てんする。

標準品は全て東京化成製を直接使用する。

### 【 器 具 】

① フロリジルカラム：内径1cm、長さ30cmのガラスカラム

② 節環式水蒸気蒸留：図-1のとおり

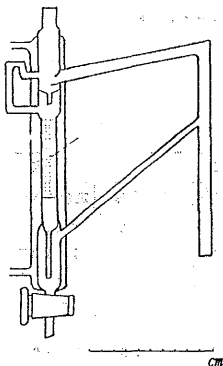


図-1 節環式水蒸気蒸留装置

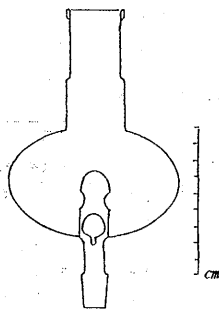


図-2 ロータリーエバレーター用トラップ

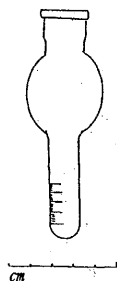


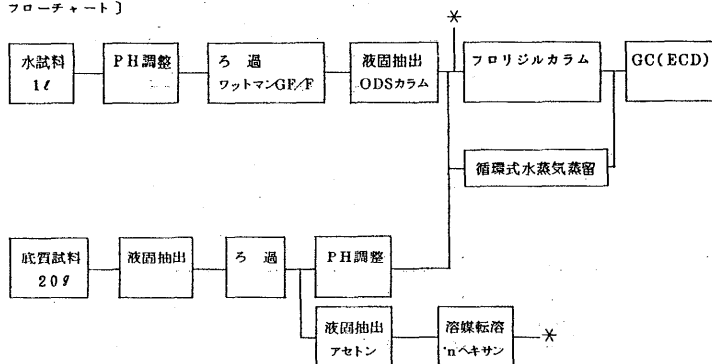
図-3 溶媒除去用容器

エバポレーター用トラップ：図-2のとおり

エバポレーター用容器：図-3のとおり

【 分 析 法 】

〔 フローチャート 〕



〔 分析法の検討 〕

1. ガスクロマトグラフ

図-4 のとおり

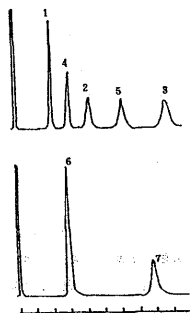


図-4 ガスクロマトグラム

2. フロリジルカラム、シリカゲルTLCによる化合物の分離状況は表-4のとおりである。

表-4 化合物の分離

| 物質名       | フロリジル<br>A B C D E F G | T L C |     |     |
|-----------|------------------------|-------|-----|-----|
|           |                        | I     | II  | III |
|           |                        | a b   | a b | a b |
| (1) PCB   | ○ ○                    | ○     |     |     |
| (2) HCB   | ○ ○                    | ○     |     |     |
| (3) PCA   | ○ ○                    |       | ○   |     |
| (4) TeCNB | ○                      |       | ○   |     |
| (5) PCNB  | ○                      | ○     | ○   |     |
| (6) TeCP  | △ △ △ △ ○              |       | ○   | ○   |
| (7) PCP   | △ △ △ △ △              |       | ○   | ○   |

A nヘキサン25ml

B nヘキサン50ml

C 5%エーテルnヘキサン50ml

D 10% "

E 15% "

F 30% "

G 2%エタノールnヘキサン50ml

I : 石油エーテル

II : ベンゼン

III : 酢酸エチル/シクロヘキサン(1)

a :  $0.5 \leq R_f$

b :  $0.25 \leq R_f < 0.5$

(メルク)シリカゲル40F254

【評 価】

この分析法は、個々の物質ごとに個別に測定する方法(個別試験法)を目的としておらず、多成分を同時に分析する方法(多成分同時分析法)を目的としている。このため、分析法の確立にあたっては次の点を制約条件とした。

- ① 操作が簡便であること
- ② 試料量が操作上から無理の無いこと
- ③ 市販の物品が直接分析に供し得ること
- ④ 多成分が同時に試料から抽出できること
- ⑤ 抽出物中の化合物が容易に分離できること

である。

制約条件の中で①～④は、この報告で満足されているが、⑤については十分に検討できなかった。今後は、大量の抽出物を簡便かつ充分に分離する方法を検討する必要がある。

また、GCについては、含窒素化合物(アニリンやニトロベンゼン)を特異的に検出するGCの検出器(FID)による検討、及びキャピラリーカラムによる異性体の分離などが残された課題である。

担当者 児玉剛則、石川 創

## 2,4-ジクロロフェノキシ酢酸

2,4-dichlorophenoxyacetic acid

別名 2,4-D.A

OCH<sub>2</sub>COOH分子式 C<sub>8</sub>H<sub>6</sub>Cl<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 分子量 221

m.p. 141°

## 2,4,5-トリクロロフェノキシ酢酸

2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid

OCH<sub>2</sub>COOH分子式 C<sub>8</sub>H<sub>3</sub>Cl<sub>3</sub>O<sub>3</sub> 分子量 255

m.p. 153°

## § 1. 分 析 法

本分析法は、被検物質が酸性であることを利用し、酸性条件下で河川水及び海水より Sep-pak C<sub>18</sub> により濃縮した。また、底質についてはアルカリ抽出後、Sep-pak C<sub>18</sub> により濃縮を行ない HPLC で定量する方法である。

## 試 験 法

## 【試料の前処理】

(水質試料) 検水を GF/B (ワットマン Co Ltd) で濾過し、正確に 250 ml を分取する。

次に、10% 硫酸 1 ml を加え、Sep-pak C<sub>18</sub> に 5 ml/min 以下の流速で通過・濃縮を行なった。

(底質試料) 100 ml の比色管に、試料 20 g を取り、0.1N-水酸化ナトリウム水溶液を 100 ml 加える。10 分間、振とう抽出後、5 A 濾紙で上澄液を濾過し、正確に 50 ml を分取した後、10% 硫酸で pH を 2 程度に調製する。以下、水質試料に準じた。

## 【試料溶の調製】

上記の Sep-pak C<sub>18</sub> を、5 ml の再蒸留水で洗浄する。次に、5% メタノール液 200 ml に 10% 硫酸を 1 ml 添加した洗浄液 10 ml で洗浄する。最後に、メタノール/リン酸緩衝液 4 ml で Sep-pak C<sub>18</sub> から目的成分を溶離させる。さらに、再蒸留水で 5 ml にメスアップする。この溶液を 0.45 ミクロンのフィルターで濾過後、試料液とする。

## 【空試料液の調製】

空試料液は、水質試料の場合、再蒸留水を 250 ml、底質試料は 50 ml を試料とし、同様の操作を行なった。

## 【標準液の調製】

2,4-D 及び 2,4,5-T の 100 mg をメタノールに溶解して、全量を 100 ml とする。必要に応じて、順次希釈する。

## 【測 定】

## 【HPLC の条件】

使用機器：ウォーターズ社製 (ALC/GPC モデル 244)

カラム：マイクロボンダパック C<sub>18</sub> (3.9 φ mm × 30 cm)

流 速：1 ml/min

検出器：UV-検出器（ $\lambda = 280\text{nm}$ ）

移動相：(A)液メタノール

(B)液 0.01Mリン酸塩緩衝液

溶離法：メタノール（20%）→メタノール（100%）まで30分間直線グラジエント  
〔検量線〕

2,4-D及び2,4,5-Tの10～100ng/ $\mu\text{l}$ の標準液を作り、HPLCに1  $\mu\text{l}$ 注入する。ピーク高さを求め、これより検量線を作成する。検量線を図1に示した。

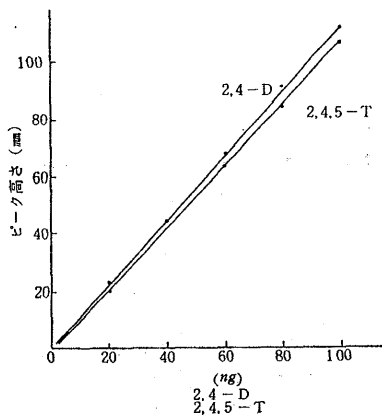


図1 検量線

〔定 量〕

試料液200  $\mu\text{l}$ をマイクロシリンジで取り、HPLCに注入する。得られたピーク高さを測定し、検量線からのその濃度を読み取る。

〔計 算〕

$$\text{水質試料 (ppb)} = \text{HPLC 検出量 (ng)} \times \frac{\text{最終検液量 (ml)}}{\text{HPLC 注入量 (}\mu\text{l)}} \times \frac{1000}{\text{試料量 (ml)}}$$

$$\text{底質試料 (ppb)} = \text{HPLC 検出量 (ng)} \times \frac{\text{最終検液量 (ml)}}{\text{HPLC 注入量 (}\mu\text{l)}} \times \frac{1000}{\text{乾泥重さ (g)}} \times 2$$

〔定量限界〕

| 試 料     | 物 質     | 試 料 量  | 定 量 限 界 |
|---------|---------|--------|---------|
| 水 質 試 料 | 2,4-D   | 250 ml | 1 ppb   |
|         | 2,4,5-T | 250 ml | 1 ppb   |
| 底 質 試 料 | 2,4-D   | 20 g   | 25 ppb  |
|         | 2,4,5-T | 20 g   | 25 ppb  |

## 試薬・器具

### 試薬

精製水：再蒸留水

硫酸：特級

リン酸一水素ナトリウム：特級

リン酸二水素ナトリウム：特級

リン酸塩緩衝液：上記リン酸塩の 0.01M 溶液を作り、pH を水酸化ナトリウムで 7.0 としたもの

メタノール：液体クロマトグラフ用

### 器具

ミニ・ポンプ（マイクロチューブ型）

100 ml 比色管

振とう器

Sep-pak C<sub>18</sub>

### 注解

(i) ここで述べた方法は、比較的清潔な試料を短時間に多く処理できるが、汚濁のひどい試料については解説に述べる抽出法を用いる。

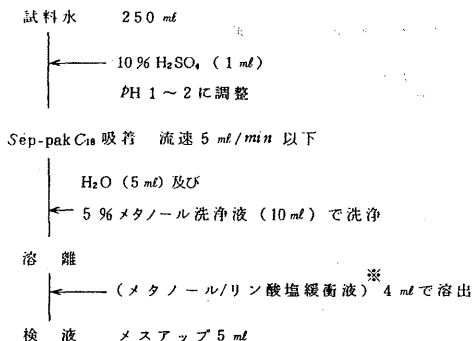
(ii) Sep-pak C<sub>18</sub> は使用前にメタノール 10 ml でよく洗浄する。

(iii) 試料液の調整の場合、Sep-pak C<sub>18</sub> を異なる溶液で洗浄、溶離の際には十分空気を送って、水分を除去する。

### 解説

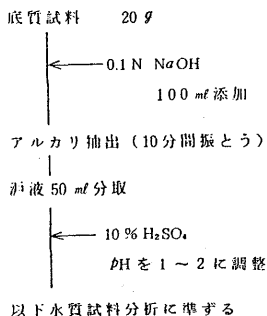
#### 分析法フローチャート

##### 水質試料



※) メタノール : 溶液 (移動相) = 50 ml : 50 ml の混合液を作り、この 4 ml を使用する。

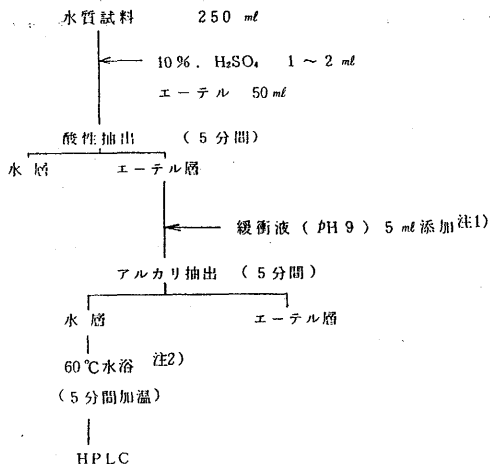
## 底質試料



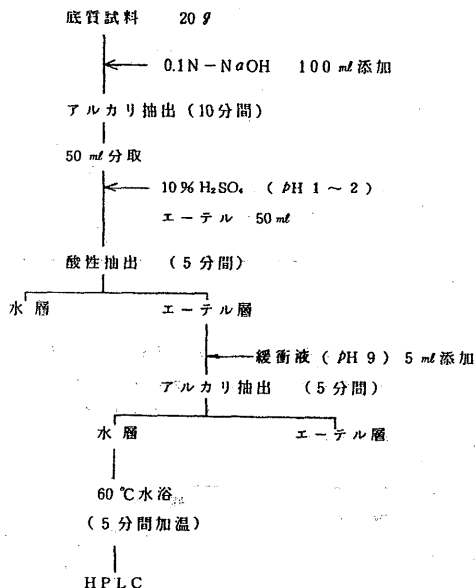
## 分析法の検討

注解にも述べたように、本法は汚染のはなはだしい試料については、良好な結果が得られない。この場合には、以下の抽出法を併用することが望ましい。

## 水質試料



# 底質試料



注1) 0.1M ホウ酸緩衝液を使用した。(この緩衝液のpHは高い方がよく、NaOHなども考えられるが、逆相系のカラムのため、充填剤のシリカが溶出し、カラムの性能が著しく劣化するため、pH 9とした。)

注2) 加温してエーテルを除去する。

## 回収実験結果

(i) Sep-pak C<sub>18</sub> 使用 (n = 4)

| 試料  | 物質      | 添加量  | 回収率  | 試料量    |
|-----|---------|------|------|--------|
| 蒸留水 | 2,4-D   | 1 μg | 100% | 250 ml |
|     | 2,4,5-T |      | 100% |        |
| 河川水 | 2,4-D   | "    | 98%  | "      |
|     | 2,4,5-T |      | 88%  |        |
| 海水  | 2,4-D   | "    | 92%  | "      |
|     | 2,4,5-T |      | 88%  |        |
| 底質  | 2,4-D   | 2 μg | 92%  | 20 g   |
|     | 2,4,5-T |      | 93%  |        |

## (ii) 抽出法 (n = 4)

| 試料  | 物質          | 添加量       | 回収率  | 試料量    |
|-----|-------------|-----------|------|--------|
| 蒸留水 | 2, 4 - D    | 1 $\mu$ g | 97 % | 250 ml |
|     | 2, 4, 5 - T |           | 97 % |        |
| 河川水 | 2, 4 - D    | "         | 88 % | "      |
|     | 2, 4, 5 - T |           | 78 % |        |
| 海水  | 2, 4 - D    | "         | 91 % | "      |
|     | 2, 4, 5 - T |           | 82 % |        |
| 底質  | 2, 4 - D    | 2 $\mu$ g | 72 % | 20 g   |
|     | 2, 4, 5 - T |           | 78 % |        |

## 分解性スクリーニングの結果

ガラス製かくはん子を入れた 160 ml バイアルビンに pH = 5, 7, 9 に調整した蒸留水 100 ml を入れ、2, 4 - D 及び 2, 4, 5 - T を 10  $\mu$ g/ml になるように添加し、10 分間スターラーでかくはんした。セプトラムで密栓し、20  $\pm$  5  $^{\circ}$ C の条件で 1) 1 時間後、2) 暗所にて 5 日後、3) 光照射下にて 5 日後 (pH = 7 のみ) の濃度測定を行なった。

| pH   | 物質          | 1 時間後 | 5 日後残存率 |       |
|------|-------------|-------|---------|-------|
|      |             |       | 暗所      | 光照射   |
| pH 5 | 2, 4 - D    | 100 % | 100 %   | —     |
|      | 2, 4, 5 - T | 100 % | 108 %   | —     |
| pH 7 | 2, 4 - D    | 100 % | 100 %   | 103 % |
|      | 2, 4, 5 - T | 100 % | 103 %   | 103 % |
| pH 9 | 2, 4 - D    | 100 % | 102 %   | —     |
|      | 2, 4, 5 - D | 100 % | 105 %   | —     |

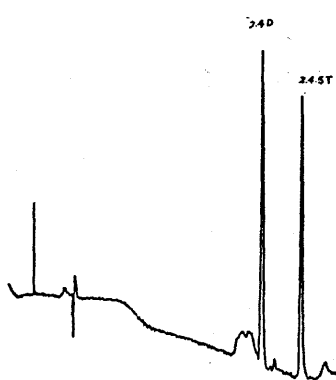
## クロマトグラム

(i) 標準品チャート (100 ng)

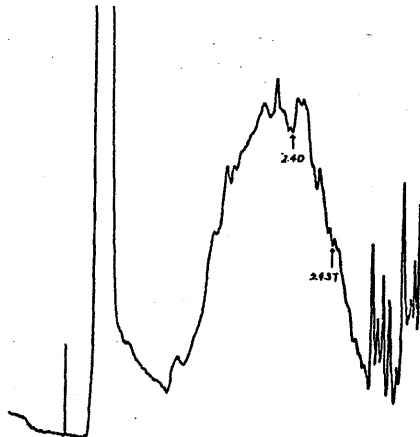
(ii) 河川水チャート

(iii) 海水チャート

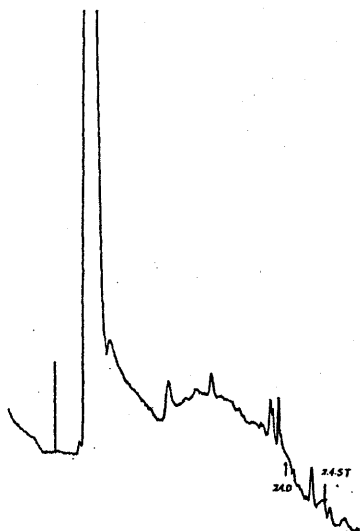
(iv) 底質チャート



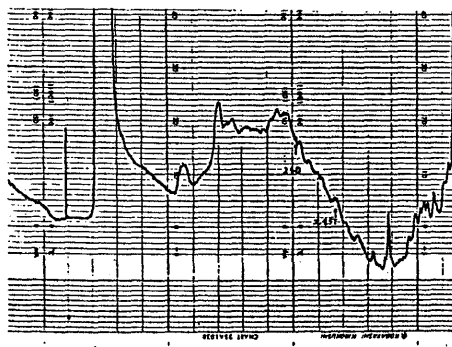
(i) 標準品チャート



(ii) 河川水チャート



(iii) 海水チャート



(iv) 底質チャート

【評 価】

本分析法は操作が迅速・容易であるが、抽出法に比べると目的成分以外に280nmに吸収のある物質のピークがみとめられた。この場合は、抽出法を利用することによってピークは除去できた。

(担当者 加藤 進)

化学物質名

シクロヘキシルアミン

Cyclohexyl amine

構造式

分子式  $C_6H_{11}N$ 

分子量 99.2

沸点 134℃

## (分析法要旨)

本分析法は、水試料においてはシクロヘキシルアミン(以下、C.H.A.)をアルカリ性下においてクロルアセチルクロリド(以下、C.A.C.)と反応させ、N-シクロヘキシルクロルアセトアミド(以下、N.C.A.)とした後ジクロルメタンで水中より抽出し、以後、カラムクロマトグラフィーによるクリーンアップを経てGC(ECD又はFID)で定量する方法である。底質試料では精製水によりC.H.A.を抽出した後、その抽出液を水試料と同様に操作して分析する。

## (分析法)

## 1. 試料の前処理

## (水質試料)

試料水100mlを300mlの分液ロートに入れ、そこへ1N-水酸化ナトリウム溶液を湖沼水又は河川水の場合には10ml、海水の場合には30mlを加えた後、C.A.C.2mlを加え、1分間激しく振りC.H.A.とC.A.C.とを反応させる。その後、ジクロルメタン30mlにてその反応により生成したN.C.A.を抽出する。この抽出操作を3回くりかえし各々のジクロルメタン層をあわせた後、1N-水酸化ナトリウム溶液20mlにて洗浄する。次に精製水20mlによる洗浄および無水硫酸ナトリウムによる脱水をおこなった後、K.D.濃縮器により乾固近くまで濃縮する。

## (底質試料)

試料底質50gを100mlの遠心分離管に入れそこへ精製水30mlを加えて1分間激しく振盪する。次いで3000rpmで5分間遠心分離した後、上澄液を取り出す。この操作を3回くりかえし、各々の上澄液をあわせて100mlにメスアップした後、300mlの分液ロートに入れる。そこへ1N-水酸化ナトリウム溶液10mlおよびC.A.C.2mlを加え、以後水質試料の場合と同様の操作をおこなう。

## 2. 試験溶液の調整

前処理した濃縮液を120℃で12時間活性化したシリカゲル(ワコーゲルC-200)10gをベンゼンをもちいて充填した内径1cmのカラムクロマト管に移し入れる。まずベンゼン100mlを流下させたのち、ベンゼン+酢酸エチル(8+1)混合溶媒を流下させ、その最初の50mlはすて、以後100mlまでの溶出液を集める。この溶出液をK.D.濃縮器により濃縮定容しガスクロマトグラフ用試験溶液とする。

## 3. 標準物質の合成および標準液の調製

C.A.C.10g(0.1mole)を300mlの分液ロート中の精製水100mlに溶解させ、そこへ1N-水酸化ナトリウム溶液10mlおよびC.A.C.14g(0.12mole)を加える。その後1分間激しく振盪して反応を完結させ、それにより生成した白色沈殿(N.C.A.)をジクロルメタン30mlで抽出する。ジクロルメタン層を分離し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、100mlのビーカーに入れホットプレート上で加熱しジクロルメタンを除去する。残った白色結晶すなわち粗製N.C.A.をエタノールからの再結晶をくりかえすことにより精製し、融点104.5~105.0℃の美しい針状結晶とする。ここに得られた精製N.C.A.の0.100gをベンゼンに溶かし100mlとした溶液(1,000μg/ml)を標準液とする。

#### 4. 測定

測定は上記試料液を5 $\mu$ l G Cに注入することによりおこなう。

(ガスクロマトグラフ条件)

充填剤: DEGS (2%) + H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (0.5%)

Chromosorb - W (AW-DMCS) 60 ~ 80 mesh

カラム: 3mm  $\times$  1.5m ガラスカラム

カラム温度: 150 $^{\circ}$ C

注入口温度: 180 $^{\circ}$ C

検出器温度: 180 $^{\circ}$ C

キャリアーガス: N<sub>2</sub> 60ml/min.

検出器: ECD又はFID

(検査線)

NCA標準液を希釈し、ECD使用の場合には0.5 ~ 10  $\mu$ g/ml、FID使用の場合には2.5 ~ 50  $\mu$ g/mlの溶液を作り、その5 $\mu$ lをGCに注入し、その各々のガスクロマトグラム上のピーク高により検査線を作成する。

(計算式)

。水質試料

試料水100mlを採取して、GC用試験溶液を1mlまで濃縮し、その5 $\mu$ lをGCに注入した場合

$$\frac{a}{5} \times \frac{1}{100} \times 0.566^* = a \times 0.0011 (\mu\text{g/ml})$$

a: 検査線より算出した検出量 (ng)

。底質試料

試料50gを採取して、GC用試験溶液を1mlまで濃縮し、その5 $\mu$ lをGCに注入した場合

$$\frac{a}{5} \times \frac{1}{50} \times 0.566^* = a \times 0.0023 (\mu\text{g/g})$$

\* 0.99gのCHAは1.75gのNCAとなるため、 $\frac{0.99}{1.75} = 0.566$ の値を乗じる必要がある。

(定量限界)

水質試料では100ml、底質試料では50g採取し、GC用試験溶液を1mlまで濃縮し、その5 $\mu$ lを注入した場合

(FID使用の場合) (ECD使用の場合)

|    |                  |                  |
|----|------------------|------------------|
| 水質 | 0.014 $\mu$ g/ml | 0.003 $\mu$ g/ml |
| 底質 | 0.028 $\mu$ g/g  | 0.006 $\mu$ g/g  |

(試薬・器具)

。試薬

ベンゼン: 残留農薬分析用試薬

酢酸エチル: "

ジクロルメタン: "

無水硫酸ナトリウム: "

水酸化ナトリウム: 試薬特級

シリカゲル: ワコーゲルC-200

クロルアセチルクロリド：試薬 一 級

シクロヘキシルアミン：試薬 特 級

精製水：蒸留後、ベンゼンで2回以上洗浄したもの

#### 器具

分液ロート(100ml, 300ml)

カラムクロマト管(内径1cm)

遠心分離管(100ml)

遠心分離器

クデルナ・ダニッシュ濃縮器

恒温水槽

ホットプレート

ガスクロマトグラフ

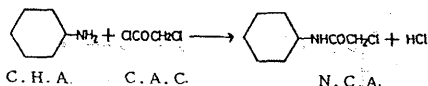
#### 【注 解】

- (1) C.A.C.には非常な刺激臭があるため使用の際は実験室の換気に注意すること。
- (2) 濃縮の際、恒温水槽の温度は91℃までは可相である。しかし、乾固は絶対にさなければならない。
- (3) B.C.Dで分析する場合は、有機溶媒からの妨害ピークがみられるため使用する有機溶媒(特に酢酸=チル)はかならず蒸留精製してから使用すること。
- (4) カラムクロマトグラフィーによるクリーンアップは清澄な試料をF.I.Dで分析する場合には除くことが出来る。

#### 【解 説】

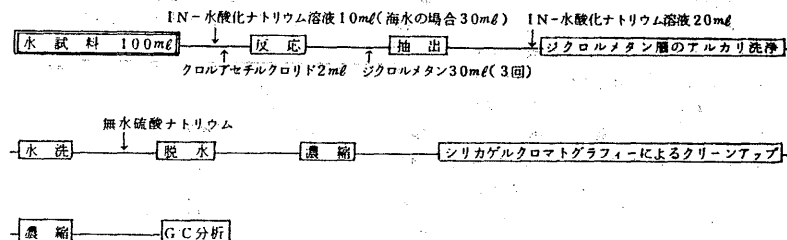
##### 1. C.H.A.とC.A.C.との反応

反応式は以下のとおりである。

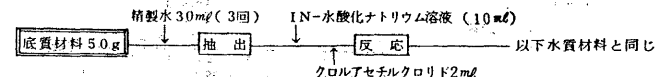


##### 2. 分析法フローシート

###### (1) 水質試料



###### (2) 底質材料



### 3. 分析法の検討

#### (1) 1N-水酸化ナトリウム溶液の添加量について

反応はアルカリ性下においておこなため、反応の際の1N-水酸化ナトリウム溶液の添加量について検討した。

図-1に見られるように精製水では8ml以上で、また海水では27ml以上で回収率が90%前後となったため、精製水(環境水としては河川水と湖沼水)には10ml、海水には30ml添加することとした。

#### (2) C.A.C.の添加量について

図-2に見られるように添加量が1ml以上において回収率が90%前後となったため、2ml添加することとした。

#### (3) 振盪(反応)時間について

図-3に見られるように反応はほとんど瞬時におこなっているため、振盪時間は1分間で十分である。

#### (4) シリカゲルカラムクロマトグラフィーによるクリーンアップについて

クリーンアップをおこなわなければ、特にECDを使用した場合ガスクロマトグラム上に妨害ピークが見られるため、シリカゲルクロマトグラフィーによるクリーンアップ法について検討した。

シリカゲルは120℃で12時間活性化したワコーゲルC-200であり、これの10gを内径1cmのカラムクロマト管につめ使用した。展開溶媒としてベンゼン、n-ヘキサンを使用すればN.C.A.の溶出が認められず、酢酸エチル、エチルエーテル、エタノールを使用すればN.C.A.の溶出は認められるが妨害物質との分離が困難であった。ベンゼン+酢酸エチル(8+1)混合溶媒を使用すれば妨害物質は最初の50mlまでに溶出し、目的とするN.C.A.はそれ以後の55mlから100mlまでに溶出するため分離が可能となった。故に今回はまずベンゼン100mlを流し、可能なかぎり妨害物質をのそいた後、ベンゼン+酢酸エチル(8+1)混合溶媒を流し、その最初の50mlはすべてそれ以後の100mlまでを集めて試験溶液とすることとした。

(5) 検量線 図-5にECDを使用した場合の検量線の例をあげた。

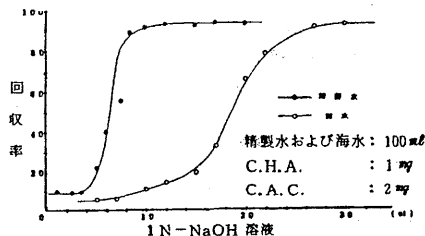


図-1 アルカリ量の検討

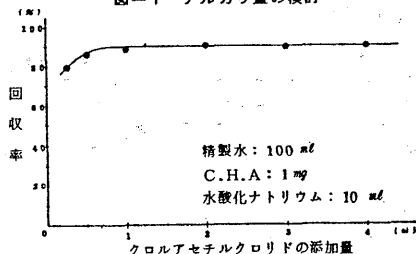


図-2 クロルアセチルクロリドの添加量の検討

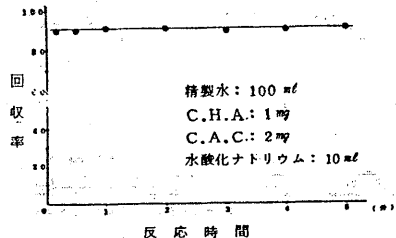


図-3 反応時間の検討

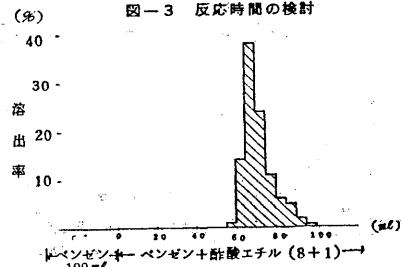


図-4 シリカゲルカラムからの溶出パターン

## (6) 回収実験結果

精製水、湖沼水、合成海水は100mlの試料に、また底質は50gの試料にCHAを10 $\mu$ g添加し回収率を求めた。

|      | 回収率(%) | C. V. % |
|------|--------|---------|
| 精製水  | 86.8   | 3.0     |
| 湖沼水  | 85.5   | 4.4     |
| 合成海水 | 88.1   | 0.9     |
| 底質   | 46.1   | 17.6    |

(試行3回)

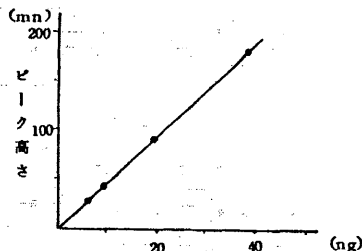


図-5 ECDを使用した場合の検量線の例

## (7) 分解性スクリーニング結果

pH 5、7、9に調整した標準

緩衝液100mlをテフロン製攪拌子を入れた130mlのバイアルビンに入れ、このバイアルビン中にCHAを10 $\mu$ g/mlとなるよう添加した。10分間攪拌後20℃の温度条件下におき、1時間後、暗所にて5日後、照射下で5日後(pH=7のみ)の3条

件について濃度測定をおこない残存率を算出した。

## (8) 環境試料の分析例

浜大津沖の水質および底質を本分析法に従って分析した結果は図-6のガスクロマトグラムにみられるように不検出であった。

表-1 水中での分解性スクリーニング結果

| pH \ 放置時間 | 1 時間           | 5 日間 |       | 残 存 率  |       |
|-----------|----------------|------|-------|--------|-------|
|           |                | 暗 所  | 光 照 射 | 暗 所    | 光 照 射 |
| 5         | 8.6 $\mu$ g/ml | 7.5  | —     | 87.2 % | —     |
| 7         | 9.5            | 9.0  | 9.4   | 94.7   | 98.9  |
| 9         | 10.0           | 9.6  | —     | 96.0   | —     |

初期濃度は10 $\mu$ g/mlある。

## 評 価

底質からの回収率が低い点をのぞけば、本分析法は十分に環境試料に適用できうる。底質からの回収率を高める方法としては抽出溶媒の変更等が考えられるが、これらは今後の問題として検討を加えてゆきたい。

担当者 大 野 達 雄

## 参 考 文 献

船 久 英 一：有機化合物確認法 Ⅲ 美 賢 堂

R. C. Crippen: Identification of organic compounds with the aid of gas chromatography

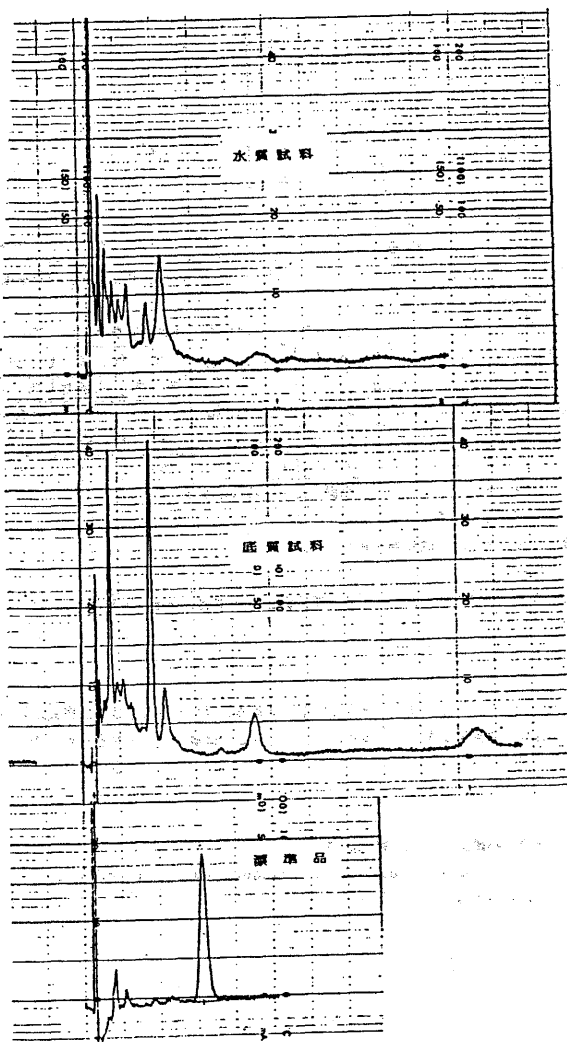


図-6 分析例のガスクロマトグラム

## 化学物質名

## チ オ フ ェ ノ ール

## Thiophenol

## 構造式



(別名) ベンゼンチオール

フェニルメルカプタン

MW=110.18, B. P.=169.5℃

水に不溶、エタノール、エーテルに可溶

## (分析法要旨)

本分析法は、水試料をpH3以下でn-ヘキサンで抽出したのち、1-クロル 2,4-ジニトロベンゼンと反応させ、生成する1-フェニルチオ-2,4-ジニトロベンゼンをGC-FIDで定量する。

## 分 析 法

## 1. 試料の前処理

試料水250mlを300ml分液ロートに取り、1規定塩酸でpHを3以下に調整する。次にn-ヘキサン50mlを加え、5分間振とう抽出する。静置して二層に分離したのち、有機層を無水硫酸ナトリウムで脱水し、100ml分液ロートに移す。水層に再度n-ヘキサン50mlを加え、同様に5分間振とう抽出する。静置後、有機層を無水硫酸ナトリウムで脱水し、先のn-ヘキサン抽出液に合らす。

## 2. 試料液の調製

抽出液約100mlに1規定水酸化ナトリウム溶液1mlを加え、5分間振とうする。振とう後さらに1-クロル 2,4-ジニトロベンゼン-エタノール溶液1mlを加え、5分間振とうする。静置後、水層を捨て、0.1規定塩酸10mlを加え、振とうし、n-ヘキサン層を洗浄する。静置後、水層を捨て、再び0.1規定塩酸10mlを加え、振とうする。静置後、水層を捨て、無水硫酸ナトリウムで脱水して、K.D.濃縮装置で減圧濃縮を行ない、液量を約5ml以下まで濃縮する。さらに水浴上で空気をふきつけて濃縮し、1mlに定容したものをガスクロマトグラフ用試料とする。

## 3. 標準原液、空試料液の調製

標準原液は、1-フェニルチオ-2,4-ジニトロベンゼンをn-ヘキサンに溶かし、1,000 $\mu$ g/ml溶液とする。

空試料は、精製水250mlについて、試料水と同様の操作を行ない、空試料液とする。

## 4. 測 定

測定は、上記試料液5 $\mu$ lをガスクロマトグラフィーに注入する。

(ガスクロマトグラフ条件)

充てん剤: 3% Silicone OV-3, Chromosorb W-HP 80~100mesh

カラム: 3mm $\phi$  × 1m ガラスカラム

カラム温度: 220℃

注入口、検出器温度: 250℃

キャリアガス: N<sub>2</sub> 60ml/min

検出器: FID

チャート・スピード: 10mm/min

(検量線)

標準原液(1,000 $\mu$ g/ml)をn-ヘキサンで希釈して、100 $\mu$ g/ml、10 $\mu$ g/mlの溶液をそれを1~10 $\mu$ l GCに注入して、ピーク高法により検量線を作製する。

# 〔計 算 式〕

チオフエノールは、1-フェニルチオール-2,4-ジニトロベンゼンになると2.51倍になる。

試料250mlを分析し、1mlに濃縮し、5μlをGCに注入した時の検出量をX ngとすると

$$\begin{aligned}\text{チオフエノール } \mu\text{g/ml} &= X(\text{ng})/5(\mu\text{l}) \times 1(\text{ml})/250\text{ml} \times 1/2.51 \\ &= X/3.138 \mu\text{g/ml}\end{aligned}$$

〔データ表示及び定量限界〕

単位はμg/mlとする。

定量限界は、0.02μg/ml

(試料水250mlから抽出し、最終液量を1mlとし、その5μlをガスクロマトグラフィーに注入した場合)

## 〔試 薬 ・ 器 具 〕

### 1. 試 薬

精製水：再蒸留水をn-ヘキサンで洗浄したもの

n-ヘキサン：残留農薬試験用(和光)

無水硫酸ナトリウム：残留農薬試験用(和光)

1-クロル-2,4-ジニトロベンゼン(東京化成)

チオフエノール(和光)

エチルアルコール：残留農薬試験用(東京化成)

### 2. 器 具

分液ロート(300ml、100ml)

K.D濃縮装置

振とう器

マイクロシリンジ(10μl用)

### 〔注 解〕

#### (1) 1-フェニルチオール-2,4-ジニトロベンゼンの合成法

チオフエノール1.1gをエタノール30mlに溶かし、水酸化ナトリウム0.01モルを水3mlに溶かしたものに加え、ナトリウムメルカプドを作り、これを1-クロル-2,4-ジニトロベンゼン2.0gをエタノール10mlに溶かしたものの中に入注する。水浴上で加熱して、反応を完結させ、温溶液を手早くろ過し、冷却すると、美しい黄金針状結晶となって析出する。エタノール中で数回再結晶を繰り返して、精製する。融点は121℃である。(参考図鑑1)

#### (2) 減圧濃縮をする時、乾固してもさしつかえない。また乾固したものを溶かす時、n-ヘキサンでは、少し溶けにくいので酢酸エチル等の他の溶媒を用いてもさしつかえない。

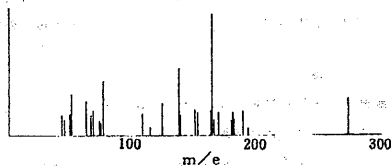
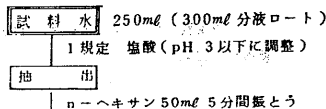
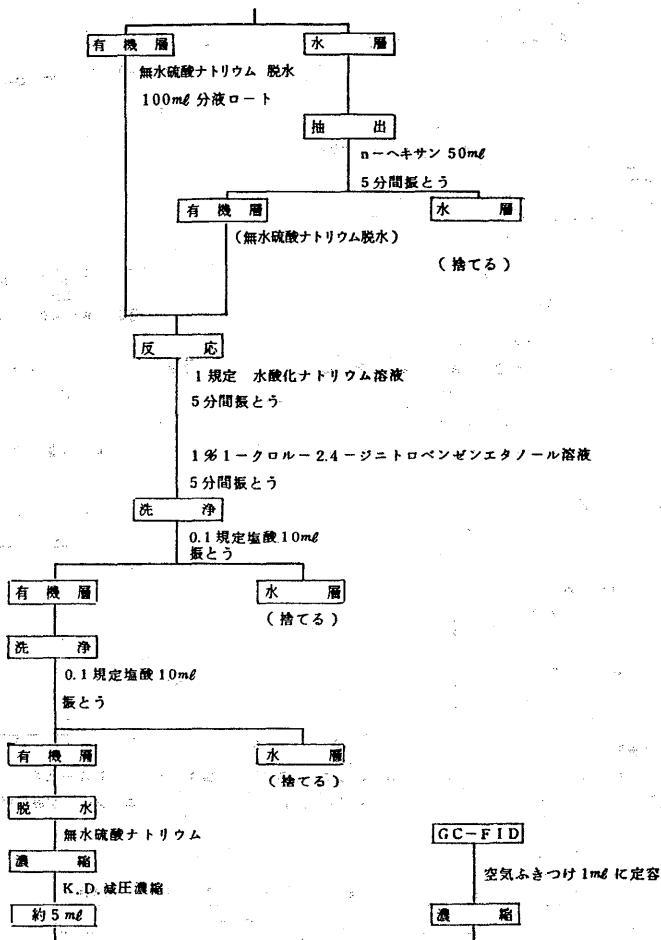


図-1 合成した1-フェニルチオール-2,4-ジニトロベンゼンのマススペクトル

### 〔解 説〕

#### 1. 分析フローチャート





## 2. 分析検討基礎実験の結果

### 2.1 抽出溶媒の検討

精製水 (pH 5.3) 250mg 溶媒 50mg 5分間2回

抽出率

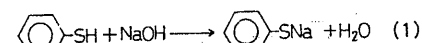
|         |     |
|---------|-----|
| ジクロルメタン | 84% |
| n-ヘキサン  | 93% |
| ベンゼン    | 90% |
| シクロヘキサン | 88% |

この結果、n-ヘキサンを使用することに決定した。

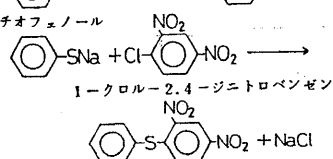
## 2.2 抽出時の pH の影響

この図2の結果、pHを3以下にして抽出を行なうことに決定した。

## 2.3 反 応



チオフェノール



1-クロル-2,4-ジニトロベンゼン

1-フェニルチオ-2,4-ジニトロベンゼン

チオフェノールは、濃縮時に揮発や酸化の為に損失が生じるので、高沸点化合物のスルフィドに変えて分析を行なった。1-クロル-2,4-ジニトロベンゼンが他の塩基性基と反応しやすい点に注目して、チオフェノールを水酸化ナトリウムと反応させ、ナトリウムメルカプタイトに変えて、1-クロル-2,4-ジニトロベンゼンと反応させ、1-フェニルチオ-2,4-ジニトロベンゼンを合成し、これをGCで分析、定量した。

1規定水酸化ナトリウム溶液添加量、1% 1-クロル-2,4-ジニトロベンゼン-エタノール溶液添加量の検討は以下の図3、4のような結果が得られた。この結果よりそれぞれの添加量を1mlずつとした。また、それぞれの反応は瞬間におこることからそれぞれの振とう時間を5分間とした。

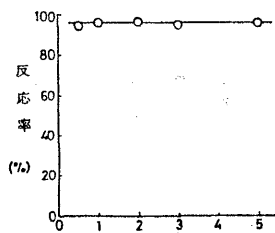


図3. 1N水酸化ナトリウム溶液の添加量の検討

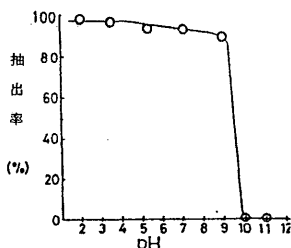


図2. 抽出時の pH の影響

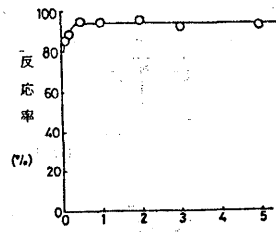


図4. 1% 1-クロル-2,4-ジニトロベンゼン-エタノール溶液の添加量の検討

## 2.4 1) 各試料水中からの回収率

| 試料名  | 添加量 $\mu\text{R}$ | 試料量 ml | 回収率  | 回収率のC.V. (%) |
|------|-------------------|--------|------|--------------|
| 精製水  | 500               | 250    | 82.4 | 2.9          |
| 湖沼水  | 500               | 250    | 91.7 | 3.8          |
| 人工海水 | 500               | 250    | 88.0 | 0.4          |

## 2) 各濃度における回収率と反応率 (精製水 250ml)

| 添加量 $\mu\text{R}$ | 回収率 (%) | 反応率 (%) |
|-------------------|---------|---------|
| 500               | 82.4    | 93.3    |
| 50                | 56.7    | 87.6    |
| 5                 | 35.1    | 86.1    |

- \*1 チオフェノールを精製水中に添加し、全操作を行なった時の回収率
- \*2 チオフェノールをn-ヘキサン中に添加し、反応操作以後を行なった時の反応率

各濃度における回収率と反応率から、チオフェノールの低濃度における回収率の低さは反応時における損失ではなく、抽出時までの損失と考えられる。これを改善するための直接水中へ試薬(1.規定水酸化ナトリウム溶液、1-クロル-2,4-ジニトロベンゼン-エタノール溶液)を入れ、反応後n-ヘキサンで抽出する方法を検討したが回収率は本分析操作の回収率とかわらず、満足すべき結果は得られなかった。

## 2.5 分解性スクリーニング結果

125ml バイアルビンに所定の pH に調整した溶液を 100ml 取り、チオフェノールのエタノール溶液(10,000  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )よりマイクロシリンジで 40 $\mu\text{l}$  取り、バイアルビン中へ注入し、マグネチックスターラーで 10 分間 攪拌した後、20 $\pm$ 5 $^{\circ}\text{C}$  に保ち、各々を分析した。

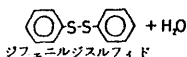
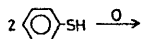
| pH | 1時間後(%) | 5日後(%) |      |
|----|---------|--------|------|
|    |         | 暗所     | 光照射  |
| 5  | 89.8    | 43.9   |      |
| 7  | 89.8    | 0      | 44.4 |
| 9  | 92.3    | 0      |      |

## 2.6 標準品のクロマトグラム

合成した1-フェニルチオ-2,4-ジニトロベンゼンのクロマトグラムを右図5に示した。

## 2.7 チオフェノールの酸化

分解性スクリーニングにおいて、抽出液のガスクロマトグラムより、チオフェノールは、水中の溶存酸素等により酸化されジフェニルジスルフィドに変化したものと考察される。



また、チオフェノールは各種酸化剤により、酸化される。その為、水中の酸化剤の一種で、環境水中に分布する第2鉄イオンの影響を検討した。

| 第2鉄イオン濃度 $\text{mg}/\ell$ | チオフェノール $\mu\text{g}$ | ジフェニルジスルフィド $\mu\text{g}$ |
|---------------------------|-----------------------|---------------------------|
| 100                       | 0                     | 390                       |
| 10                        | 80                    | 322                       |
| 1                         | 380                   | 73                        |

(チオフェノール 500 $\mu\text{g}$  を精製水 250ml に添加し、pH 3 以下に調整し、n-ヘキサン 50ml 5分間、2回抽出した)

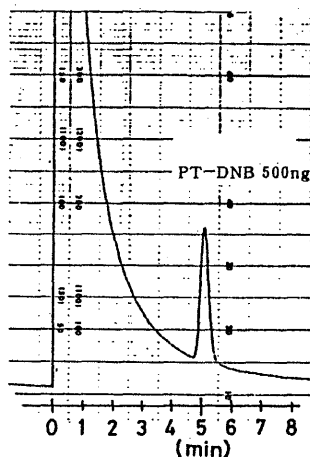


図5 1-フェニルチオ-2,4-ジニトロベンゼン (PT-DNB) のクロマトグラム

以上の結果より、第2鉄イオンの濃度の高い場合、水中に存在するチオフェノールのすべては、ジフェニルジスルフィドに酸化されていると推察される。この為、酸化剤が存在する底質からのチオフェノールの回収は不可能であると考えられる。また底質からエタノールによる抽出法や精油定置装置による回収法を試みたがほとんど回収できなかった。この為、底質中からの分析法の確立しなかった。

### 3. 評 価

分析法について評価するよりも、チオフェノールが環境中に存在するかが問題である。分解性スクリーニングの結果からみて、環境中に放出されたチオフェノールは、ほとんど5日後には酸化され、存在しない。それゆえ、環境中のチオフェノールの分析法について検討するよりも、酸化生成物のジフェニルジスルフィドについて検討すべきであろう。また仮に存在するとしてもかなり高濃度であると予想されるので、この分析法で十分分析できると考えられるが、著しく汚染された試料については、カラムクリーンアップ等のクリーンアップ操作の必要があると考えられる。

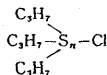
担当者 前 川 昭

### 4. 参 考 図 書

- 1) 船久保 英 一 有機化合物確認法 Ⅱ 養賢堂

(1) 塩化トリプロピルスズ<sup>\*)</sup>

Tri-n-propyl Tin Chloride

分子式:  $\text{C}_9\text{H}_{21}\text{S}_n\text{Cl}$ , 分子量: 283.2, 沸点:  $123^\circ\text{C}$  (13 mmHg)比重: 1.256 ( $30^\circ\text{C}$ ), 溶解度: 0.52% (水), 無色透明の液体, アセトンに易溶

## § 1 分 析 法

本分析法は、塩化トリ-n-プロピル錫 (以下、TPrTClと略す) を試料水からベンゼンにより抽出、濃縮後、リン酸処理をしたアルミナ (10%含水) によりカラムクレンジングした試料をGC-ECDを用いて定量する方法である。底質試料については、エタノールにより抽出後、ベンゼンに転溶させた後、水質試料と同様の分析操作を行う。

## 試 験 法

## 【試料の前処理】(注1)

〔水質試料〕 試料1ℓを分液漏斗にとり、塩化ナトリウム水溶液 (10W/V%) 100ml及びベンゼン60mlを加え10分間振とう抽出する。さらにベンゼン40ml及び30mlで2回抽出し、これらの抽出液を合わせて、無水硫酸ナトリウムにより脱水し、KD濃縮器を用いて5~10mlにまで濃縮し、窒素気流下でドライヤーにより加熱して、2mlまで濃縮して試料液とする。

〔底質試料〕 試料10~20gを正確にはかり、平底フラスコに入れ、エチルアルコール100mlを加える。これに還流冷却器を付けて、80~90℃の湯浴中で、30分間還流抽出する。抽出液は、冷却後、分液漏斗にとり、塩化ナトリウム水溶液 (10W/V%) 100ml及びベンゼン50mlを加えて、10分間振とう抽出する。さらにベンゼン30ml及び20mlを加えて同様に抽出し、合わせたベンゼン抽出液を塩化ナトリウム水溶液 (10W/V%) 10mlで3回洗浄した後、無水硫酸ナトリウムにより脱水する。これをKD濃縮器により5~10mlまで濃縮し、窒素気流下でドライヤーにより加熱して、2mlまで濃縮して試料液とする。

## 【試料液の調製】

〔水質試料〕 試料処理液のうち1mlを正確に、あらかじめ用意したリン酸処理アルミナカラムクロマト管に入れ、ヘキサンにより溶出させる。最初に流出するヘキサン溶液30mlを捨てた後、次のヘキサン溶液100mlをとる。溶出液をKD濃縮器により5mlとなるまで濃縮し、試料液とする。必要に応じて、窒素気流下で、ドライヤーにより加熱して、さらに濃縮し試料液とする。

〔底質試料〕 水質試料と同じ。

## 【空試料液の調製】

試料と同じ量の水を用い、【試料の前処理】及び【試料液の調製】と同様に操作して得られる液を空試料液とする。

## 【標準液の調製】

TPrTCl約50mgを正確にはかり、ヘキサンを加えて正確に50mlとし、標準原液を作製する。(約1,000ppm原液)。標準原液より順次希釈し、100ppm、10ppm及び1.0ppmの溶液を作製する。

# 【測定】

〔ガスクロマトグラフ条件〕

装置：バリアン社製2100型ガスクロマトグラフ（ECD，<sup>63</sup>Ni，8.5mCi）

カラム管：ガラスカラム（内径2 mm × 長さ1.8m）

充てん剤：担体（Gaschrom Q 100~120メッシュ），液相（2%OV-1）

カラム温度：110℃

注入口温度：200℃

検出器温度：320℃

キャリアガス：窒素30ml/min.

測定感度： $4 \times 10^{-10}$

試料注入量：5  $\mu$ l

〔検量線〕 標準液 5  $\mu$ l をガスクロマトグラフに注入し，そのピーク高さにより検量線を作成する。

〔定量〕 試料液 5  $\mu$ l をマイクロシリンジでとり，ガスクロマトグラフに注入する。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〕

$$\text{計量値 (ppm)} = \text{GC 検出濃度 (ppm)} \times \frac{\text{最終試料液量 (ml)}}{\text{試料量 (ml または g)}}$$

〔定量限界〕（注2.3） 本分析法に基づく定量限界を下記に示す。

|                                     | 試料量    | 定量限界                  |
|-------------------------------------|--------|-----------------------|
| 水質試料                                | 1000ml | 0.25 ppb (0.05 ppb)   |
| 底質試料                                | 10g    | 0.025 ppb (0.005 ppb) |
| 最終試料液量：5 ml (1 ml)，GC 注入量：5 $\mu$ l |        |                       |

## 試薬・器具

〔試薬〕（注4）

ヘキサン，ベンゼン，エチルアルコール：残留農薬試験用試薬を使用する。

無水硫酸ナトリウム：残留農薬試験用試薬をヘキサンで洗浄し，乾燥したものを使用する。

濃リン酸：試薬特級

塩化ナトリウム：試薬特級

リン酸処理アルミナ：メルク社製 Aluminium oxid 90 activ (sauer) 100g に対して，濃リン酸 3 ml 及び適量の水を加えて，リン酸が均一に混合されるように攪拌しながら，加熱し，水を蒸発させた後，150℃で4時間加熱乾燥したものに，水を10%加えて30分間振とう攪拌したものを使用する。

〔器具〕

リン酸処理アルミナ：内径10 mm × 長さ30 cm のガラスカラムに，リン酸処理アルミナ（10%含水）12~15 g をヘキサンで懸濁させて湿式充てんし，さらに無水硫酸ナトリウムを1 cm 程度積層させたものを使用する。  
KD濃縮器：ヘキサンの濃縮に使用する。

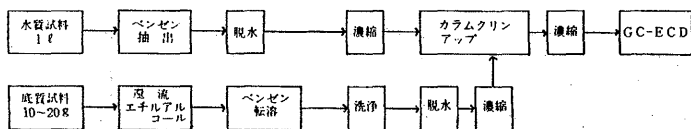
## 注 解

- 抽出溶媒として，ヘキサンを使用できることも確認している。
- 本分析に使用したGC-ECDの検出限界は，S/Nを2とすると，0.13 ng である。
- 試料液を1 ml 程度まで濃縮する場合は，回収率が低くなる場合がある。
- リン酸処理アルミナのカラムを使用する時には，そのつど溶出範囲を調べておく必要がある。

# 解 脱

## 【分析法】

〔フローチャート〕



## 〔分析法の検討〕

1. 検量線 図1に代表的検量線を示す。

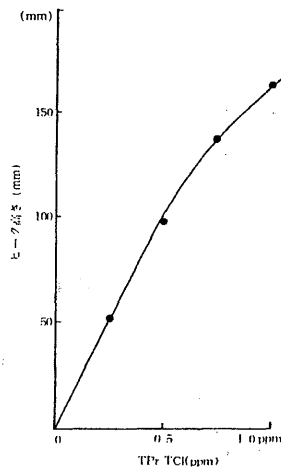


図1 TP7TCIの検量線

## 2. 回収実験結果

| 試 料 | 添加量(μg) | 試料量   | 回収率 (%)             |
|-----|---------|-------|---------------------|
| 精製水 | 20      | 1 ℓ   | 79.8 (77.5, 82.0)   |
| 河川水 | 20      | 1 ℓ   | 79.2 (82.0, 76.4)   |
|     | 2       | 500ml | 98.0* (100.5, 95.4) |
| 海 水 | 20      | 1 ℓ   | 76.9 (77.5, 76.3)   |
| 底 質 | 20      | 10 g  | 70.3 (70.8, 69.7)   |
|     | 2       | 10 g  | 69.9* (68.8, 70.9)  |

\*抽出溶媒としてヘキサンを使用した。

## 3. 分解性スクリーニング結果

| 放置時間<br>pH | 1 時間 | 5 日 目 |       | 残 存 率 |       |
|------------|------|-------|-------|-------|-------|
|            |      | 暗 所   | 光照射   | 暗 所   | 光照射   |
| 5          | 100% | 82.5% | 94.3% | 82.5% | 94.3% |
| 7          | 100% | 100%  |       | 100%  |       |
| 9          | 100% | 103%  |       | 103%  |       |

水中濃度 (約40 ppm)

#### 4. ガスクロマトグラム

5. クリーンアップの検討 カラムクリーンアップのための充てん剤として、アルミナを検討したが、カラム滞留時間が長いと、TPrTClのカラム回収率が低かったため、リン酸処理をしたアルミナを使用を行い、良好な回収率を得た。ガスクロマトグラムの妨害もほとんどみられなかった。図3に標準品のカラムクロマトにおける溶出パターンを示した。TPrTClのベンゼン溶液100 ppm 1 mLをリン酸処理アルミナ（10%含水）に添加した後、ヘキサンにより溶出させた結果、ほぼ100%の回収率で、図3の様な溶出パターンが得られた。

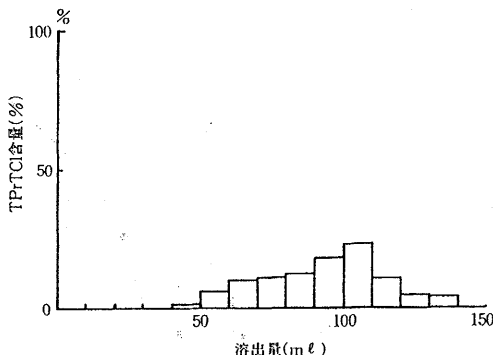


図3 TPrTClの溶出パターン

#### 【環境試料分析】

1. 実測データ 大阪市内の河川水1試料、底質1試料と大阪湾の海水1試料、底質2試料について分析を行ったが、TPrTClは検出されなかった。
2. ガスクロマトグラム例 図4に大阪湾底質について測定したガスクロマトグラム例を示す。

#### 【操作上の注意】

1. TPrTClは、揮発しやすいので、試料濃縮時に、乾固させないように注意しなければならない。
2. カラムクリーンアップの際の溶出範囲は、その都度チェックしなければならない。

#### 【評価】

この方法により、環境中の塩化トリ-n-プロピル錫の定量を高感度に行うことができる。

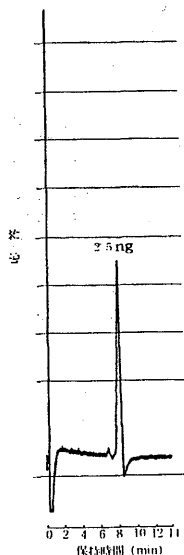


図2 標準溶液のガスクロマトグラム

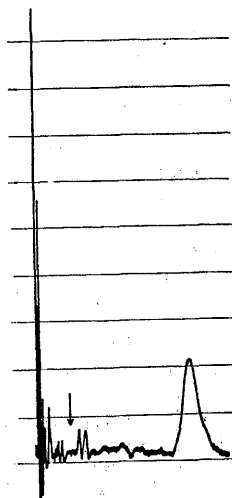
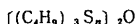


図4. 大阪湾底質抽出物のガスクロマトグラム

## (2) ビス(トリブチルスズ)オキシサイド<sup>\*2</sup>

Bis (Tri-n-butyl Tin) Oxide



分子式  $C_{24}H_{54}Sn_2O$  分子量 596.08

水にはほとんど不溶、粘性の比較的少い無色澄明の液体、アセトンにあまりとけず、メタノールによくとける。

### § 1 分 析 法

本分析法は、水試料についてはホウ酸緩衝液を加え、ジチゾン・ベンゼン溶液で抽出し、吸光光度法により定量する方法である。底質試料については塩酸・メタノール溶液により抽出後ベンゼンに転溶させ、ベンゼン溶液を濃縮し、リン酸処理をしたアルミナカラム(10%含水)でクリンアップする。以下水試料と同様の分析操作を行う。

### 試 験 法

#### 【試料の前処理】

〔水質試料〕 試料1ℓを分液漏斗にとり、ホウ酸緩衝液30ml、ジチゾン・ベンゼン溶液25mlを加え5分間振とう抽出する。この抽出操作を2回くり返し、ベンゼン溶液を合せる。ジチゾン・ベンゼン溶液を希アンモニア水で洗浄後水洗し、無水硫酸ナトリウムでベンゼン溶液を脱水する。

〔底質試料〕 底質試料20gを平底フラスコにとり、塩酸・メタノール溶液(0.05V/V%)を加え、70~80℃で30分間還流させる。冷却後この溶液を分液漏斗にとりホウ酸緩衝液50mlを加え、ベンゼン30mlで2回抽出を行う。無水硫酸ナトリウムでベンゼン層を脱水後KD濃縮器で2~4mlになるまで濃縮する。この濃縮液を10%含水、リン酸処理をしたアルミナ12gを充てんしたカラムに入れる。ヘキサンで溶出するが、初留30mlを捨て、130mlをとる。KD濃縮器で濃縮後窒素気流を通じてはほとんど乾固するまで溶媒を飛ばす。ジチゾン・ベンゼン溶液10mlにとかし、蒸留水20mlを入れた分液漏斗に入れる。以下水試料と同じ操作で分析を行う。

#### 【空試料液の調製】

試料と同じ量の水を用い、【試料の前処理】と同様に操作して得られる液を空試料液とする。

#### 【標準液の調製】

ビス(トリブチルスズ)オキシサイド約1gを正確にはかりメタノールを加えて正確に100mlとし、標準原液を作製する。標準原液を順次希釈し、必要な濃度の溶液を作製する。

#### 【測 定】

分光光度計 日立製作所製ダブルビーム分光光度計200-20形および日立340形自記分光光度計(キーボード付属装置付)を用いた。

〔検量線〕 標準溶液から10~100μgの範囲をマイクロピペットで秤取し、分液ロートに入れた100mlの水に加える。試料液と同様の操作を行い検量線を作製する。この場合ジチゾン・ベンゼン溶液は5mlで2回、ホウ酸緩衝液10mlを加え5分間激しく振とう、抽出する。抽出液を合せ、無水硫酸ナトリウムで脱水後470nmの波長で吸光度測定を行う。

〔定 量〕 試料液について得られたジチゾン・ベンゼンの希アンモニア水・洗浄液について吸光度測定を行い、吸光度から定量値を求める。

〔定量限界〕 本分析法に基づく定量限界を下記に示す。

|      | 試料量 | 定量限界       |
|------|-----|------------|
| 水質試料 | 1ℓ  | 0.010 mg/ℓ |
| 底質試料 | 20g | 5 μg/g     |

### 【試薬】

ヘキサン、ベンゼン、アセトン、エチルアルコール、およびメチルアルコール：残留農薬試験用試薬を使用する。

無水硫酸ナトリウム：特級試薬を乾燥したものを使用した。

リン酸処理アルミナ：塩化トリプロピルシズスの項と同じ。

ビス（トリブチルスズ）オキシド：米国 I C N Pharmaceuticals 社製のものをを用いた。

0.02W/V% ジチゾン・ベンゼン溶液：メルク社製ジチゾン0.02gを秤量し、残留農薬試験用ベンゼン100mlに溶解させた。

ホウ酸緩衝液：ホウ酸12g、四ホウ酸ナトリウム19gおよびEDTA 2.5gを水に溶かし1ℓとした。

希アンモニア水：28%アンモニア水1mlに水を加えて50mlとした。

### 【器具】

リン酸処理アルミナカラム：塩化トリプロピルシズスの項と同じ。

KD濃縮器：ベンゼンおよびヘキサンの濃縮に用いる。

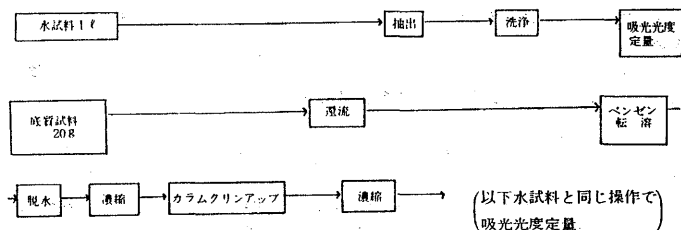
### 注 解

- 1) 底質試料の場合、ベンゼンに転溶する操作においてエマルジョンができた場合、濾過するか、遠心分離をすればよい。
- 2) ジチゾン・吸光度定量においては、できるだけすみやかに吸光度測定を行うこと。また測定の前にベンゼン溶液は無水硫酸ナトリウムで脱水しておくこと。
- 3) 吸光度測定に際しては遮光することが望ましい。

## § 2 解 説

### 【分析法】

（フローチャート）



### 【分析法の検討】

1. 検出線 図5に代表的検量線を示す。

2. 回収実験結果

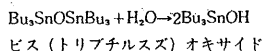
- (1) 水質試料 精製水、河川水、および海水1ℓに各250μgのビス（トリブチルスズ）オキシドを添加し、フローチャートに従って分析を行った。得られた結果を下表に示した。
- (2) 底質試料 河川底質20gに2mgのビス（トリブチルスズ）オキシドを添加し、フローチャートに従って分析を行った。得られた結果を下表に示した。使用した底質にはビス（トリブチルスズ）オキシドは検出されなかった。

# 回収率

|      |            |
|------|------------|
| 水質試料 |            |
| 精製水  | 120        |
| 河川水  | 155        |
| 海水   | 128        |
| 底質試料 | 51 (58.6*) |

\* カラムクリンアップにおいて初留分中の値も加えた。

上表において回収率が100%を超過する結果が得られたが、この原因として



の如き反応が生じ、水中では不安定で分解しやすいためと考えられる。(大阪市立環境科学研究所の報告による)

この反応については更に詳細な検討が必要であると思われる。

3. 分解性スクリーニング結果 得られた結果を下表に示す。

| 放置時間<br>pH | 1 時間   | 5 日 間    |     | 残存率 (%) |     |
|------------|--------|----------|-----|---------|-----|
|            |        | 暗 所      | 光照射 | 暗所      | 光照射 |
| 5          | 10 ppm | 9.4 ppm  |     | 94      |     |
| 7          | 10 ppm | 4.2 ppm  |     | 42      | 41  |
| 9          | 10 ppm | 11.3 ppm |     | 113     |     |

4. 吸収スペクトル ビス(トリブチルスズ) オキシライドのジチゾン発色・アンモニア洗浄・ベンゼン溶液の吸収スペクトルを図6に示す。470~480 nm に吸収極大を示す。

## 【評 価】

この方法により環境中に数10 ppb レベルで存在するビス(トリブチルスズ) オキシライドの定量を行うことができる。

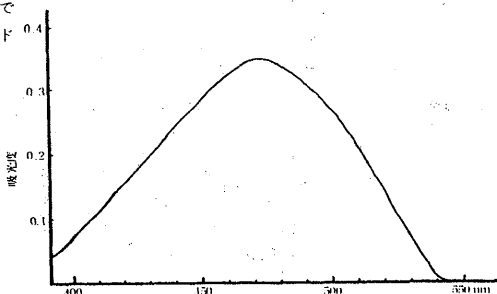


図6 ビス(トリブチルスズ) オキシライドのジチゾン溶液の吸収スペクトル  
溶液: 10ml(ベンゼン)

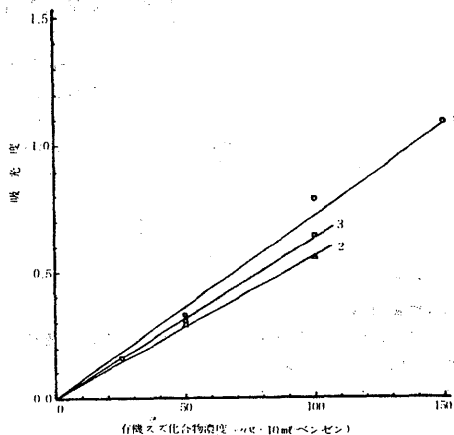


図5 有機スズ化合物の検量線

1. ビス(トリブチルスズ) オキシライド
2. 酢酸トリブチルスズ
3. 水酸化トリブチルスズ

### (3) 酢酸トリフェニルスズ<sup>\*2</sup>

Triphenyl Tin Acetate

$(C_6H_5)_3Sn(CH_3CO_2)$

分子式:  $C_{20}H_{18}O_2Sn$  分子量: 409.05

白色粉末状結晶, 融点121~122°C

アセトン, ベンゼン, アルコールにかなりとける。

酢酸によくとける, 水に不溶

## § 1 分 析 法

本分析法はビス(トリブチルスズ)オキサイドの場合と同様である。得られた結果のみ記述する。

#### 【標準液の調製】

酢酸トリフェニルスズ0.05 gを正確にはかりアセトンを加えて正確に100 mlとし, 標準原液を作製する。標準原液を順次希釈し, 必要な濃度を作製する。

〔定量限界〕

|      | 試料量  | 定量限界       |
|------|------|------------|
| 水質試料 | 1 ℓ  | 0.016 mg/ℓ |
| 底質試料 | 20 g | 8 μg/g     |

## § 2 解 説

#### 【分析法の検討】

1. 検量線 図5に代表的検量線を示す。

2. 回収実験結果

- (1) 水質試料 精製水, 河川水, および海水1 ℓに各250 μgの酢酸トリフェニルスズを添加し, フローチャートに従って分析を行った。得られた結果を下表に示した。
- (2) 底質試料 河川底質20 gに2 mgの酢酸トリフェニルスズを添加し, フローチャートに従って分析を行った。得られた結果を下表に示した。

回収率(%)

|      |      |
|------|------|
| 水質試料 |      |
| 精製水  | 102  |
| 河川水  | 93.6 |
| 海 水  | 104  |
| 底質試料 | 70.2 |

3. 分解性スクリーニング結果 得られた結果を下表に示す。

| pH \ 放置時間 | 1時間    | 5日間     |         | 残 存 率 |      |
|-----------|--------|---------|---------|-------|------|
|           |        | 暗 所     | 光 照 射   | 暗所    | 光照射  |
| 5         | 10 ppm | 8.5 ppm | 7.9 ppm | 85.0  | 78.9 |
| 7         | 10 ppm | 8.3 "   |         | 82.5  |      |
| 9         | 10 ppm | 8.5 "   |         | 84.9  |      |

#### (4) 水酸化トリフェニルスズ<sup>\*2</sup>

Triphenyl Tin Hydroxide

$(C_6H_5)_3SnOH$

分子式:  $C_{18}H_{15}OSn$  分子量: 367.02

白色粉末状結晶, メタノール, アセトンにかなりとける。

### § 1 分 析 法

本分析法はビス(トリブチルスズ)オキシドの場合と同様である。得られた結果のみ記述する。

#### 【標準液の調製】

水酸化トリフェニルスズ0.01gを正確にはかりアセトンを加えて正確に100mlとし、標準原液を作製する。標準原液を順次希釈し、必要な濃度の溶液を作製する。

〔定量限界〕

|      | 試料量  | 定量限界       |
|------|------|------------|
| 水質試料 | 1 ℓ  | 0.016 mg/ℓ |
| 底質試料 | 20 g | 8 μg/g     |

### § 2 解 説

#### 【分析法の検討】

1. 検量線 図5に代表的検量線を示す。

2. 回収実験結果

(1) 水質試料 精製水, 河川水, および海水1ℓに各250 μgの水酸化トリフェニルスズを添加し、フローチャートに従って分析を行った。得られた結果を下表に示した。

回収率

|      |      |
|------|------|
| 水質試料 |      |
| 精製水  | 103  |
| 河川水  | 90.3 |
| 海水   | 105  |
| 底質試料 | 70.8 |

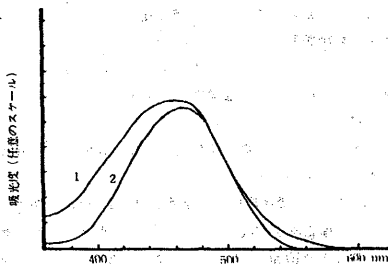


図7 酢酸トリフェニルスズ(1)および水酸化トリフェニルスズ(2) ジチゾン錯体の吸収スペクトル (50 μg/10 ml ベンゼン)

#### 3. 分解性スクリーニング結果

得られた結果を下表に示す。

| 放置時間<br>pH | 1時間   | 5日間     |         | 残 存 率 |     |
|------------|-------|---------|---------|-------|-----|
|            |       | 暗 所     | 光 照 射   | 暗所    | 光照射 |
| 5          | 5 ppm | 4.6 ppm | 4.2 ppm | 92    | 83  |
| 7          | 5 ppm | 5.0 ppm |         | 100   |     |
| 9          | 5 ppm | 5.2 ppm |         | 104   |     |

## (5) ジブチルスズジラウレート

Di-n-butyl Tin Dilaurate

$(C_4H_9)_2Sn(O_2CC_{11}H_{23})_2$

分子式:  $C_{32}H_{64}O_4Sn$  分子量: 631.56

粘性の強い無色澄明の液体、水に不溶、アセトンに可溶

### § 1 分 析 法

本分析法は、水試料については、ホウ酸緩衝液を加え、ジチゾン・ベンゼン溶液で抽出し、吸光光度法により定量する方法である。底質試料についてはエタノールにより抽出後ベンゼンに転溶させ、ベンゼン溶液を濃縮し、リン酸処理をしたアルミナカラム（10%含水）でクリンアップする。以下水試料と同様の分析操作を行う。

#### 試 験 法

##### 【試料の前処理】

〔水質試料〕 試料 1 ℓ を分液漏斗にとり、ホウ酸緩衝液 30 ml、ジチゾン・ベンゼン溶液 25 ml を加え 5 分間振とう抽出する。この抽出操作を 2 回くり返し、ベンゼン溶液を合せる。ジチゾン・ベンゼン溶液を希アンモニア水で洗浄後水洗し、無水硫酸ナトリウムでベンゼン溶液を脱水する。

〔底質試料〕 底質試料 10~20 g を平底プラスチックにとり、エタノール 100 ml を加え、70~90℃で 30 分間還流させる。冷却後この溶液を分液漏斗にとりホウ酸緩衝液 50 ml を加え、ベンゼン 30 ml で 2 回抽出を行う。無水硫酸ナトリウムでベンゼン層を脱水後 K<sub>2</sub>D 濃縮器で 2~4 ml になるまで濃縮する。この濃縮液を 10% 含水、リン酸処理したアルミナ 6 g を充てんしたカラムに入れる。アセトン 50 ml で溶出する。溶出液を窒素ガスを吹きつけて濃縮し、ほとんど乾固させる。ジチゾン・ベンゼン溶液 10 ml にとかし、蒸留水 20 ml を入れた分液漏斗に入れる。以下水試料と同じ操作で分析を行なう。

##### 【空試料液の調製】

試料と同じ量の水を用い、【試料の前処理】と同様に操作して得られる液を空試料液とする。

##### 【標準液の調製】

ジブチルスズジラウレート約 1 g を正確にはかりアセトンを加えて正確に 20 ml とし、標準原液を作製する。標準原液を順次希釈し、必要な濃度を作製する。

##### 【測 定】

分光光度計 日立製作所製ダブルビーム分光光度計 200-20 形および日立 340 型自記分光光度計（キーボード付属装置付）を用いた。

〔検量線〕 標準原液の 10 倍希釈液を 10~50 μℓ 取り、分液漏斗に入れた 20 ml の水に加える。試料液と同様の操作を行い検量線を作成する。この場合ジチゾン・ベンゼン溶液は 5 ml で 2 回、ホウ酸緩衝液 10 ml、10% 塩化ナトリウム溶液 10 ml を加え 5 分間激しく振とう、抽出する。抽出液を合せ、無水硫酸ナトリウムで脱水後吸光度測定を行う。

〔定 量〕 試料液について得られたジチゾン・ベンゼンの希アンモニア水洗浄液について吸光度測定を行い、吸光度から定量値を求める。

〔定量限界〕 本分析法に基づく定量限界を下記に示す。

|      | 試料量  | 定量限界      |
|------|------|-----------|
| 水質試料 | 1 ℓ  | 25.0 μg/ℓ |
| 底質試料 | 10 g | 2.5 μg/ℓ  |

【分析法】

〔フローチャート〕 フローチャートはビス（トリブチルスズ）オキシドと同様であるが底質試料の場合試料量は10g、抽出溶媒はエタノールを用いた。またカラムクリアアップ時のアルミナの量は6gとし、アセトン50mlで溶出させた。

〔分析法の検討〕

1. 検量線 図8に代表的検量線を示す。

2. 回収実験結果

(1) 水質試料 精製水、河川水、および海水1ℓに各31.4μgのジブチルスズジラウレートを追加し、フローチャートに従って分析を行った。得られた結果を下表に示した。

(2) 底質試料 河川底質10gに31.4μgのジブチルスズジラウレートを追加し、フローチャートに従って分析を行った。得られた結果を下表に示した。

| 回収率(%) |      |
|--------|------|
| 水質試料   |      |
| 精製水    | 78.2 |
| 河川水    | 74.3 |
| 海水     | 81.6 |
| 底質試料   | 71.4 |

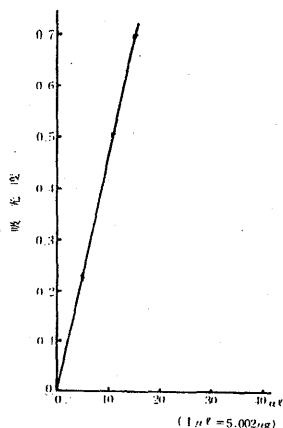


図8 ジブチルスズジラウレートの検量線

3. 分解性スクリーニング結果 得られた結果を下表に示す。

| 放置時間<br>pH | 1 時 間  |        | 5 日 間  |       | 残 存 率 |     |
|------------|--------|--------|--------|-------|-------|-----|
|            |        |        | 暗 所    | 光 照 射 | 暗所    | 光照射 |
| 5          | 50 ppm | 51 ppm | 46 ppm | 92%   | 102%  | 92% |
| 7          | 50 ppm | 49 ppm |        |       | 98%   |     |
| 9          | 50 ppm | 47 ppm |        |       | 94%   |     |

4. 吸収スペクトル 図9にジブチルスズジラウレートのジチゾン発色、アンモニア洗浄、ベンゼン溶液の吸収スペクトルを示した。470~490nmに吸収極大を示す。

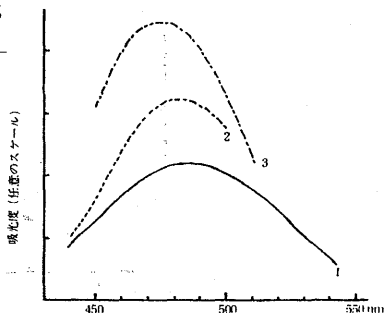


図9 有機スズ化合物のジチゾン錯体の吸収スペクトル

1. ジブチルスズ・ビス（イソオクチルマレート）
2. ジブチルスズ・ジラウレート
3. ジブチルスズ・ビス（ラウリルメルカプタート）

## (6) ジブチルスズ・ビス(イソオクチルマレート)

Dibutyl Tin Bis(isooctylmaleate)

$(C_8H_{17})_2 Sn(O_2CCH=CHCO_2C_8H_{17})_2$

分子式:  $C_{32}H_{56}O_8Sn$  分子量: 687.50

非常に粘潤性の無色透明の液体。

水に不溶、アセトンにとける。

### § 1 分 析 法

本分析法はジブチルスズジラウレートの場合と同様である。得られた結果のみ記述する。

#### 【標準液の調製】

ジブチルスズジラウレート約0.05 gを正確にはかりアセトンを加えて正確に100 mlとし、標準原液を作製する。  
標準原液を順次希釈し、必要な濃度の溶液を作製する。

#### 【定量限界】

|      | 試料量  | 定量限界              |
|------|------|-------------------|
| 水質試料 | 1 ℓ  | 25.5 $\mu g/\ell$ |
| 底質試料 | 10 g | 2.6 $\mu g/g$     |

### § 2 解 説

1. 検量線 図10に代表的検量線を示す。

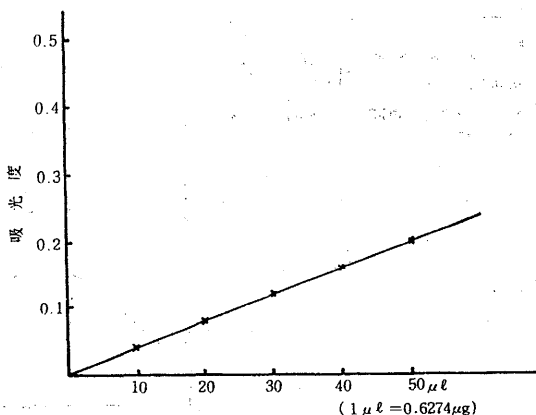


図10 ジブチルスズ・ビス(イソオクチルマレート)の検量線

## 2. 回収実験結果

- (1) 水質試料 精製水、河川水、および海水 1 ℓ に各 31.4 μg のジブチルスズ・ビス(イソオクチルマレート) を添加し、フローチャートに従って分析を行った。得られた結果を下表に示した。
- (2) 底質試料 河川底質 10 g に 31.4 μg のジブチルスズ・ビス(イソオクチルマレート) を添加し、フローチャートに従って分析を行った。得られた結果を下表に示した。

| 回収率 (%) |      |
|---------|------|
| 水質試料    |      |
| 精製水     | 76.5 |
| 河川水     | 73.9 |
| 海水      | 79.8 |
| 底質試料    | 80.1 |

## 3. 分解性スクリーニング結果 得られた結果を下表に示す。

| pH | 1 時間     | 5 日間     |          | 残 存 率 |       |
|----|----------|----------|----------|-------|-------|
|    |          | 暗 所      | 光 照 射    | 暗 所   | 光 照 射 |
| 5  | 50.9 ppm | 49.4 ppm |          | 97%   |       |
| 7  | 50.9 ppm | 48.4 ppm | 48.9 ppm | 95%   | 96 %  |
| 9  | 50.9 ppm | 47.8 ppm |          | 94%   |       |

## (7) ジブチルスズ・ビス(ラウリルメルカプチド)

Dibutyl Tin Bis (Lauryl Mercaptide)

$(C_4H_9)_2 Sn(SC_{12}H_{25})_2$

分子式:  $C_{32}H_{68}S_2Sn$  分子量: 635.71

粘性の比較的少ない無色澄明の液体、

水に不溶、アセトンにとける。

## § 1 分 析 法

本分析法はジブチルスズジラウレートの場合と同様である。得られた結果のみ記述する。

### 【標準液の調製】

ジブチルスズ・ビス(ラウリルメルカプチド) 約 1 g を正確にはかりアセトンを加えて正確に 100 ml とし、標準原液を作成する。標準原液を順次希釈し、必要な濃度の溶液を作製する。

### 【定量限界】

試料量 定量限界

水質試料 1 ℓ 94.1 μg/ℓ

底質試料 10 g 9.4 μg/g

## 2. 回収実験結果

- (1) 水質試料 精製水、河川水、および海水 1 ℓ に各 31.4 μg のジブチルスズ・ビス(イソオクチルマレート) を添加し、フローチャートに従って分析を行った。得られた結果を下表に示した。
- (2) 底質試料 河川底質 10 g に 31.4 μg のジブチルスズ・ビス(イソオクチルマレート) を添加し、フローチャートに従って分析を行った。得られた結果を下表に示した。

| 回収率 (%) |      |
|---------|------|
| 水質試料    |      |
| 精製水     | 76.5 |
| 河川水     | 73.9 |
| 海水      | 79.8 |
| 底質試料    | 80.1 |

## 3. 分解性スクリーニング結果 得られた結果を下表に示す。

| pH | 1 時間     | 5 日間     |          | 残 存 率 |       |
|----|----------|----------|----------|-------|-------|
|    |          | 暗 所      | 光 照 射    | 暗 所   | 光 照 射 |
| 5  | 50.9 ppm | 49.4 ppm |          | 97%   |       |
| 7  | 50.9 ppm | 48.4 ppm | 48.9 ppm | 95%   | 96 %  |
| 9  | 50.9 ppm | 47.8 ppm |          | 94%   |       |

## (7) ジブチルスズ・ビス(ラウリルメルカプチド)

Dibutyl Tin Bis (Lauryl Mercaptide)

$(C_4H_9)_2 Sn(SC_{12}H_{25})_2$

分子式:  $C_{32}H_{68}S_2Sn$  分子量: 635.71

粘性の比較的少ない無色澄明の液体、

水に不溶、アセトンにとける。

## § 1 分 析 法

本分析法はジブチルスズジラウレートの場合と同様である。得られた結果のみ記述する。

### 【標準液の調製】

ジブチルスズ・ビス(ラウリルメルカプチド) 約 1 g を正確にはかりアセトンを加えて正確に 100 ml とし、標準原液を作成する。標準原液を順次希釈し、必要な濃度の溶液を作製する。

### 【定量限界】

試料量 定量限界

水質試料 1 ℓ 94.1 μg/ℓ

底質試料 10 g 9.4 μg/g

## 1. 検量線 図11に代表的検量線を示す。

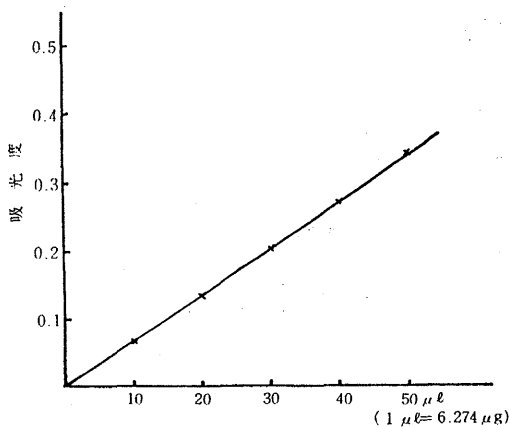


図11 ジブチルスズ・ビス (ラウリルメルカプチド) の検量線

## 2. 回収実験結果

- (1) 水質試料 精製水, 河川水, および海水 1 ℓ に各 0.25 mg のジブチルスズ・ビス (ラウリルメルカプチド) を添加し, フローチャートに従って分析を行った。得られた結果を下表に示した。
- (2) 底質試料 河川底質 10 g に 0.25 mg のジブチルスズ・ビス (ラウリルメルカプチド) を添加し, フローチャートに従って分析を行った。得られた結果を下表に示した。

| 水質試料 | 回収率 (%) |
|------|---------|
| 精製水  | 86.3    |
| 河川水  | 81.5    |
| 海水   | 103.4   |
| 底質試料 | 64.0    |

## 3. 分解性スクリーニング結果 得られた結果を下表に示す。

| pH \ 放置時間 | 1 時間     | 5 日 間    |          | 残 存 率 |       |
|-----------|----------|----------|----------|-------|-------|
|           |          | 暗 所      | 光 照 射    | 暗 所   | 光 照 射 |
| 5         | 50.1 ppm | 48.1 ppm | 46.1 ppm | 96%   | 92%   |
| 7         | 50.1 ppm | 47.6 ppm |          | 95%   |       |
| 9         | 50.1 ppm | 46.6 ppm |          | 93%   |       |

- (1) 塩化トリプロピルスズ<sup>\*1</sup>, (2) ビス (トリプロピルスズ) オキシサイド<sup>\*2</sup>,  
 (3) 酢酸トリフェニルスズ<sup>\*2</sup>, (4) 水酸化トリフェニルスズ<sup>\*2</sup>,  
 (5) ジブチルスズジラウレート<sup>\*3</sup>, (6) ジブチルスズ・ビス (イソオクチルマレート) <sup>\*3</sup>,  
 (7) ジブチルスズ・ビス (ラウリルメルカプチド) <sup>\*3</sup>

○久下 芳生<sup>\*3</sup>、竹本 修明<sup>\*2</sup>、長谷川次郎<sup>\*2</sup>、石谷寿<sup>\*2</sup>、服部 幸和<sup>\*1</sup>、

高見 勝重<sup>\*4</sup>、中本 雅雄

\* 1, 2, 3 物質毎の分析法開発担当主担者

\* 4 分離分析法開発担当主担者

#### 参 考 文 献

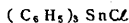
- (1) 有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律施行規則（昭和54年12月18日厚生省令第46号）
- (2) 奥本千代美，長嶋真知子，吉原武俊，下平彰男，東京衛研年報30-1，89（1979）。
- (3) S. Kojima, Analyst, **104**, 660 (1979).
- (4) 小嶋茂雄，中村晃忠，鹿庭正昭，衛生化学，**25**，141（1979）。
- (5) 兼俊明夫，本間正一，北海道立衛生研究所報，第25集，156。
- (6) 山東英幸，横山剛，和衛研年報，No. 23，53（1977）。
- (7) W. A. Aue and C. G. Flum, J. Chromatogr., **142**, 145 (1977).
- (8) F. Vernon, Anal. Chim. Acta, **71**, 192 (1974).
- (9) T. P. O'Brien, Anal. Lett., A **11**(10), 829(1978).

#### 謝 辞

最初の実験準備段階において、原子吸光測定等に御協力頂いた当センターの北村秀樹氏ならびに文献調査等に御援助頂いた大阪市環境科学研究所の小田国雄博士に謝意を表したい。

# 塩化トリフェニルスズ

## Triphenyltin Chloride

分子式  $\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{SnCl}$ 

分子量 385.4

m.p. 106 °C

b.p. 249 °C (13.5 mm Hg)

本分析法は、水試料についてはn-ヘキサンで抽出し、底質試料については酸性メタノールを用いて還流抽出し、n-ヘキサンに転溶後、脱水、濃縮後シリカゲルカラムでクリーンアップし、GC-MSで定量する方法である。

### 試験法

#### 【試料の前処理】

【水質試料】 試料 500 ml を 10 倍塩酸で pH2 に調節し分液漏斗にとり 0.04 M リン酸-クエン酸緩衝液 (pH2.0) 100 ml を加え、n-ヘキサン 100 ml で振とう抽出する。この抽出操作を 3 回くり返し、n-ヘキサン層をあらかじめ用意した無水硫酸ナトリウムカラムにより脱水し、減圧用 KD 濃縮器に受け、50 °C 前後で 3~5 ml になるまで減圧濃縮し、試料処理液とする。

【底質試料】 試料 20 g を正確に丸底フラスコにはかりとり、塩酸酸性メタノール (メタノール : 塩酸 (85%) = 99 : 1) 50 ml を加え約 2 時間水浴中 (70 °C 前後) で還流抽出を行なう。抽出液は遠心分離機にかけ、ガラスファイバー濾紙で濾過後 0.04 M リン酸-クエン酸緩衝液 (pH2.0) 50 ml 及び蒸留水を加えて総体積 200 ml にする。この試料溶液を分液漏斗にとり、n-ヘキサン 50 ml を加え振とう抽出する。この抽出操作を 3 回くり返し、n-ヘキサン層をあらかじめ用意した無水硫酸ナトリウムカラムにより脱水し、減圧用 KD 濃縮器に受け 50 °C 前後で 3~5 ml になるまで減圧濃縮し、試料処理液とする。

#### 【試料液の調製】

【水質試料】 試料処理液をあらかじめ用意したシリカゲルカラムクロマト管に入れ、コックを調節して液面をカラムヘッドまで下げる。KD 濃縮器を少量の n-ヘキサンで数回洗い、洗液をカラムクロマト管に加える。n-ヘキサン-エチルエーテル混液 (n-ヘキサン : エチルエーテル = 9 : 1) 100 ml を加え、すべての流出液を減圧用 KD 濃縮器にとり、約 3~5 ml になるまで減圧濃縮し、さらに窒素ガスを吹きつけて正確に 1 ml になるまでおだやかに濃縮し試料液とする。

【底質試料】 試料処理液を、上記の水質試料と同様に操作し、試料液とする。

#### 【空試料液の調整】

試料と同じ量の蒸留水を用い【試料の前処理】および【試料液の調整】と同様に操作して得られる液を空試料液とする。

#### 【標準液の調整】

塩化トリフェニルスズ約 0.5 g を正確にはかり、アセトンを加えて正確に 50 ml とし、標準原液を作製する (約 10,000

ppm 原液)、標準原液より希釈し約 1000 ppm の溶液を製作する。

## 【測定】

### 〔GC の条件〕

カラム管: ガラスカラム

(内径 2 mm × 長さ 2 m)

充填剤: 担体 (Unipore HP

100 ~ 120 メッシュ) 液相 (3 号 OV-17)

カラム温度: 240 °C

注入口温度: 200 °C

キャリアガス: ヘリウム 20 ml/min

### 〔MS の条件〕

イオン化エネルギー: 75 eV

イオンマルチ電圧: 2.5 KV

測定質量数:  $m/z = 309$

イオン化電流: 100  $\mu$ A

レンジ: 0.1 - 0.2 V

〔検査線〕 標準液 1 ~ 5  $\mu$ L をガスクロマトグラフに注入し、そのピーク高さにより両対数グラフを用いて作成する。

〔定量〕 試料液 5  $\mu$ L をマイクロシリンジでとりガスクロマトグラフに注入する。得られたピーク高さにより検査線から定量値を求める。

### 〔計算〕

$$\text{計量値 (ppm)} = \text{GC 検出量 (}\mu\text{g)} \times \frac{\text{最終抽出液量 (ml)}}{\text{GC 注入量 (}\mu\text{L)}} \times \frac{1}{\text{試料量 (ml または g)}}$$

〔定量限界〕 本分析法に基づく定量限界を下記に示す

|      | 試料量    | 定量限界     |
|------|--------|----------|
| 水質試料 | 500 ml | 0.01 ppm |
| 底質試料 | 20 g   | 0.5 ppm  |

最低抽出液量: 1 ml GC 注入量: 5  $\mu$ L

## 試薬・器具

### 【試薬】

n-ヘキサン、エチルエーテルおよびアセトン: 残留農薬試験用のものをそのまま使用する。

硫酸ナトリウム・無水物: 残留農薬試験用無水硫酸ナトリウムをそのまま使用する。

シリカゲル: ワコゲル S-1 (100 ~ 200 メッシュ) をソックスレー抽出器に入れ、ベンゼン・エタノール混液 (1 : 1) で 24 時間洗浄したのち、 $145 \sim 150$  °C で 1 昼夜活性化して使用する。

0.04 M リン酸-クエン酸緩衝液 (pH 2.0): 試薬特級無水リン酸 2 ナトリウム塩 1.14 g、試薬特級クエン酸 84.6 g、試薬特級塩化ナトリウム 10 g を適当量の蒸留水に加え、1 N 塩酸で pH 2.0 に調整したのち、蒸留水を加え、全量 2 L にしたものを使用する。

塩酸: 有害金属測定用 35 % 塩酸を使用する。

塩化トリフェニルスズ: 試薬特級を使用する。

## 【 器 具 】

無水硫酸ナトリウムカラム：内径 15 mm×長さ 300 mm のガラスカラムに硫酸ナトリウム・無水物 6 g（内径 15 mm×高さ 50 mm）を入れたものを使用する。

シリカゲルカラム：2 g のシリカゲルを *n*-ヘキサンで懸濁させ、内径 10 mm×長さ 200 mm のガラスカラムに入れ、その上に無水硫酸ナトリウムを 2 cm の高さに入れたものを使用する。

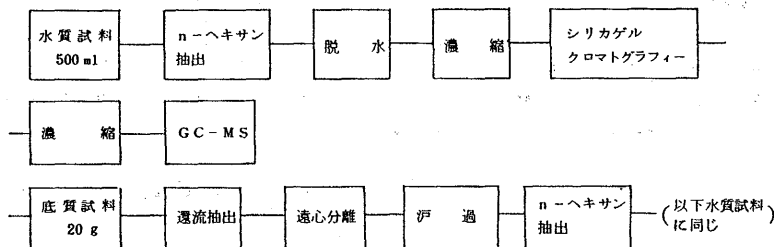
還流抽出装置：底質からの抽出に使用する。

減圧用 K D 濃縮装置：*n*-ヘキサン、及び *n*-ヘキサン・エチルエーテル（9：1）の濃縮に使用する。

## § 2 解 説

### 【 分析法 】

#### 〔 フローチャート 〕



#### 〔 分析法の検討 〕

##### 1. 回収実験結果

- (1) 水質試料 水 500 ml に 1000 ppm 塩化トリフェニルスズアセトン溶液 1 ml を添加し、試験法の項と同様の操作を行ない、GC-MS により分析し、回収率を求めた。抽出時の pH は酸性側の方が効率が顕著に良い。
- (2) 底質試料 海城底質 20 g に 1000 ppm 塩化トリフェニルスズアセトン溶液 1 ml を添加し、試験法の項と同様の操作を行ない GC-MS により分析し、回収率を求めた。使用した底質には塩化トリフェニルスズは検出されなかった。

|      | 平均回収率% | 変 動 率 % |
|------|--------|---------|
| 水質試料 | 99     | 8       |
| 底質試料 | 96     | 3       |

各 5 回の平均

##### 2. 分解性スクリーニング結果

本化学物質は水中において pH 5～9 の間で安定で光に対しても比較的安定であると考えられる。分解性スクリーニング実験における回収率の結果を下記に示す。

| 放置<br>時間<br>pH | 1 時 間 | 5 日 間 |       |
|----------------|-------|-------|-------|
|                |       | 暗 所   | 光 照 射 |
| 5              | 100 % | 101 % | 100 % |
| 7              | 100   | 96    |       |
| 9              | 100   | 102   |       |

### 3. クリーンアップの検討

水質試料及び底質試料の抽出液をそのままFID-GCにより分析したところ顕著な妨害がみられた。そこでシリカゲルによるクリーンアップを検討した。

イソオクタン溶液を流したところ、本物質はほとんど吸着されない。溶出を短時間で効率良く回収する為にn-ヘキサン・エチルエーテル混液(9:1) 100 mlを用いはじめの流出液 100 mlを分取する。

### 【評価】

この方法により環境中に数 100 ppbレベルで存在する塩化トリフェニルすズの定量を行うことができるが、GC上における分離は、我々が試みた数種類のカラムの充てん剤においてもあまり良好とはいえず、本物質はGCによる分析は好ましいものとは言えない。下記の文献は高速液体クロマトグラフィーによる分離を試みた文献であるが、かなり良好な結果が得られており塩化トリフェニルすズの分析定量には高速液体クロマトグラフィーを用いたほうが好ましいと言えよう。

K.L. Jeweff and F.E. Brinckman

Speciation of Trace Di- and Triorganotins in Water by Ion-Exchange HPLC-GFAA  
J. Chromatogr. Sci. 19: 588-593 (1981)

担当者 岡本 章 良、山本 武

# 塩化トリプロピルスズ Tripropyltin Chloride



分子式  $\text{C}_9\text{H}_{21}\text{SnCl}$

分子量 283.4

b. p. 123 °C (13 mm Hg)

本分析法は、水試料についてはn-ヘキサンで抽出し、底質試料については酸性メタノールを用いて還流抽出しn-ヘキサンに転溶後、脱水、濃縮後シリカゲルカラムでクリーンアップし、GC-MSで定量する方法である。

## 試験法

### 【試料の前処理】

【水質試料】 試料 500 ml を 10 倍塩酸で pH 2 に調節し、分液漏斗にとり 0.04 M リン酸-クエン酸緩衝液 (pH 2.0) 100 ml を加え、n-ヘキサン 100 ml で振とう抽出する。この抽出操作を 3 回くり返し、n-ヘキサン層をあらかじめ用意した無水硫酸ナトリウムカラムにより脱水し、減圧用 KD 濃縮器に受け、50 °C 前後で約 3~5 ml になるまで減圧濃縮し、試料処理液とする。

【底質試料】 試料 20 g を正確に丸底フラスコにはかりとり、塩酸酸性メタノール (メタノール : 塩酸 (85%) = 99 : 1) 50 ml を加え約 2 時間水浴中 (70 °C 前後) で還流抽出を行なう。抽出液は遠心分離機にかけ、ガラスファイバー濾紙で濾過後、0.04 M リン酸-クエン酸緩衝液 (pH 2.0) 50 ml 及び蒸留水を加えて総体積 200 ml にする。この試料溶液を分液漏斗にとり、n-ヘキサン 50 ml を加え振とう抽出する。この抽出操作を 3 回くり返し、n-ヘキサン層をあらかじめ用意した無水硫酸ナトリウムカラムにより脱水し、減圧用 KD 濃縮器に受け、50 °C 前後で 3~5 ml になるまで減圧濃縮し、試料処理液とする。

### 【試料液の調製】

【水質試料】 試料処理液を、あらかじめ用意したシリカゲルカラムクロマト管に入れ、コックを調節して液面をカラムヘッドまで下げる。KD 濃縮器を少量の n-ヘキサンで数回洗い、洗液をカラムクロマト管に加える。n-ヘキサン-エチルエーテル混液 (n-ヘキサン : エチルエーテル = 9 : 1) 100 ml を加え、すべての流出液を減圧用 KD 濃縮器にとり、約 3~5 ml になるまで減圧濃縮し、さらに窒素ガスを吹きつけて正確に 1 ml になるまでおだやかに濃縮し、試料液とする。

【底質試料】 試料処理液を、上記の水質試料と同様に操作し、試料液とする。

### 【空試料液の調製】

試料と同じ量の蒸留水を用い【試料の前処理】および【試料液の調製】と同様に操作して得られる液を空試料液とする。

### 【標準液の調製】

塩化トリプロピルスズ 0.4 ml (0.5 g に相当) を正確にはかり、メタノールを加えて正確に 50 ml とし、標準原液を

作製する(10,000 ppm原液)、標準原液より順次希釈し、1000 ppm、100 ppmおよび10 ppmの溶液を作製する。

## 【測定】

### 〔GCの条件〕

カラム管：ガラスカラム

カラム温度：120℃

(内径2 mm×長さ2 m)

注入口温度：200℃

充てん剤：担体(Uniport HP

キャリアガス：ヘリウム 20 ml/min

100~120メッシュ)、液相(3%OV-17)

### 〔MSの条件〕

イオン化エネルギー：75 eV

イオン化電流：100 μA

イオンマルチ電圧：2.5 KV

レンジ：0.1 - 0.2 V

測定質量数： $m/z = 242$

〔検量線〕 標準液1~5 μLをガスクロマトグラフに注入し、そのピーク高さにより面対数グラフを用いて作成する。

〔定量〕 試料液5 μLをマイクロシリンジでとり、ガスクロマトグラフに注入する。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〕

$$\text{計量値 (ppm)} = \text{GC検出量} (\mu\text{g}) \times \frac{\text{最終抽出液量 (ml)}}{\text{GC注入量} (\mu\text{L})} \times \frac{1}{\text{試料量 (mlまたはg)}}$$

〔定量限界〕 本分析法に基づく定量限界を下記に示す。

|      | 試料量    | 定量限界     |
|------|--------|----------|
| 水質試料 | 500 ml | 0.01 ppm |
| 底質試料 | 20 g   | 0.5 ppm  |

最終抽出液量：1 ml    GC注入量：5 μL

## 試薬・器具

### 【試薬】

n-ヘキサン、エチルエーテル、およびメタノール：残留農薬試験用のものをそのまま使用する。

硫酸ナトリウム・無水物：残留農薬試験用無水硫酸ナトリウムをそのまま使用する。

シリカゲル、ワコゲルS-1 (100~200メッシュ)をソックスレー抽出器に入れ、ベンゼン・エタノール混液(1:1)で24時間洗浄したのち、濾取し、145~150℃で1昼夜活性化して使用する。

0.04 Mリン酸-クエン酸緩衝液(pH 2.0)：試薬特級無水リン酸2ナトリウム塩1.14 g、試薬特級クエン酸34.6 g、試薬特級塩化ナトリウム10 gを適当量の蒸留水に加え、1 N塩酸でpH 2.0に調整したのち蒸留水を加え全量2 Lにしたものを使用する。

塩酸：有害金属測定用35%塩酸を使用する。

塩化トリプロピルスズ：大阪府立公害監視センターから貸与されたものを使用した。

## 【器 具】

無水硫酸ナトリウムカラム：内径 15 mm × 長さ 800 mm のガラスカラムに硫酸ナトリウム・無水物 6 g (内径 15 mm × 高さ 50 mm) を入れたものを使用する。

シリカゲルカラム：2 g のシリカゲルを n-ヘキサンで懸濁させ、内径 10 mm × 長さ 200 mm のガラスカラムに入れ、その上に無水硫酸ナトリウムを 2 cm の高さに入れたものを使用する。

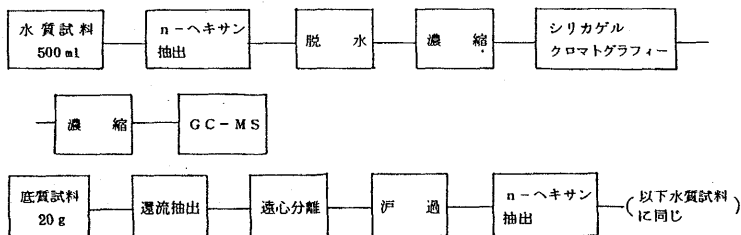
還流抽出装置：底質からの抽出に使用する。

減圧用 K D 濃縮装置：n-ヘキサン、及び n-ヘキサン・エチルエーテル (9 : 1) の濃縮に使用する。

## § 2 解 説

### 【分析法】

#### 〔フローチャート〕



#### 〔分析法の検討〕

##### 1. 回収実験結果

- (1) 水質試料 水 500 ml に 1000 ppm 塩化トリプロピルズメタノール溶液 1 ml を添加し、試験法の項と同様の操作を行い、GC-MS により分析し、回収率を求めた。抽出時の pH は酸性側の方が効率が顕著に良い。
- (2) 底質試料 海域底質 20 g に 1000 ppm 塩化トリプロピルズメタノール溶液 1 ml を添加し、試験法の項と同様の操作を行い GC-MS により分析し、回収率を求めた。使用した底質には塩化トリプロピルズは検出されなかった。

|      | 平均回収率% | 変 動 率 % |
|------|--------|---------|
| 水質試料 | 99     | 5       |
| 底質試料 | 86     | 4       |

各 5 回の平均

##### 2. 分解性スクリーニング結果

本化学物質は水中において pH 5～9 の間で安定で光に対しても比較的安定であると考えられる。

分解性スクリーニング実験における回収率の結果を下記に示す。

| 放置<br>時間<br>pH | 1 時 間 | 5 日 間 |       |
|----------------|-------|-------|-------|
|                |       | 暗 所   | 光 照 射 |
| 5              | 100 % | 105 % | 98 %  |
| 7              | 100   | 100   |       |
| 9              | 100   | 101   |       |

### 3. クリーンアップの検討

水質試料及び底質試料の抽出液をそのままFID-GCにより分析したところ、顕著な妨害がみられた。そこでシリカゲルによるクリーンアップを検討した。

n-ヘキサン溶液を流したところ、本物質は若干の吸着は見られるが、ほとんど吸着されない。

n-ヘキサン・エチルエーテル混液(9:1) 100 mlを用いると短時間に100%溶離されてくる。そこでクリーンアップは全濃縮液をシリカゲルカラムに添加し、n-ヘキサン・エチルエーテル混液(9:1) 100 mlを用い、溶出分取する。

### 【評 価】

この方法により環境中に数100 ppbレベルで存在する塩化トリプロピルスズの定量を行うことができる。

担当者 岡 本 章 良、 山 本 武

ビストリブチルスズオキサイド

Bis(tri-n-butyltin)oxide



分子式  $\text{C}_{24}\text{H}_{54}\text{OSn}_2$

分子量 596.1

b. p. 180 °C (2 mm Hg)

本分析法は、水試料についてはn-ヘキサンで抽出し、脱水、濃縮後GC-MSで定量する方法である。

試験法

【試料の調整】

〔水質試料〕 試料 500 ml を 10 % 塩酸で pH 2 に調整し、分液漏斗にとり 0.04 M リン酸-クエン酸緩衝液 (pH 2.0) 100 ml を加え、n-ヘキサン 100 ml で振とう抽出する。この抽出操作を 3 回くり返し、n-ヘキサン層をあらかじめ用意した無水硫酸ナトリウムカラムにより脱水し、減圧用 KD 濃縮器に受け、50 °C 前後で 8~5 ml になるまで減圧濃縮し、さらに窒素ガスを吹きつけて正確に 1 ml になるまでおだやかに濃縮し、試料液とする。

【空試料液の調製】

試料と同じ量の蒸留水を用い【試料液の調整】と同様に操作して得られる液を空試料液とする。

【標準液の調整】

ビストリブチルスズオキサイド約 0.5 g を正確にはかり、メタノールを加えて正確に 50 ml とし、標準原液を作製する (約 10,000 ppm 原液)。標準原液より希釈し、約 1000 ppm の溶液を作製する。

【測定】

〔GCの条件〕

カラム管：ガラスカラム

カラム温度：130 °C

(内径 2 mm × 長さ 2 m)

注入口温度：200 °C

充てん剤：担体 (Uniport HP

キャリアーガス：ヘリウム 20 ml/min

100~120 メッシュ) 液相 (3%OV-17)

〔MSの条件〕

イオン化エネルギー：75 eV

イオン化電流：100 μA

イオンマルチ電圧：2.5 KV

レンジ：0.1 - 0.2 V

測定質量数：m/z = 291

## 試薬・器具

### 【試薬】

n-ヘキサン、エチルエーテル：残留農薬試験用のものをそのまま使用した。

硫酸ナトリウム・無水物：残留農薬試験用無水硫酸ナトリウムをそのまま使用した。

シリカゲル：ワコーゲルS-1（100～200メッシュ）をソックスレー抽出器に入れ、ベンゼン-エタノール混液（1：1）で24時間洗浄したのち、ろ取り、145～150℃で1昼夜活性化して使用する。

0.04 Mリン酸-クエン酸緩衝液（pH 2.0）：試薬特級無水リン酸2ナトリウム塩1.14 g、試薬特級クエン酸34.6 g、試薬特級塩化ナトリウム10 gを適当量の蒸留水に加え、1 N塩酸でpH 2.0に調整したのち蒸留水を加え、全量2 ℓにしたものを使用する。

塩酸：有害金属測定用35%塩酸を使用する。

ビストリブチルスズオキシド：試薬特級を使用する。

### 【器具】

無水硫酸ナトリウムカラム：内径15 mm×長さ300 mmのガラスカラムに硫酸ナトリウム・無水物6 g（内径15 mm×高さ50 mm）を入れたものを使用する。

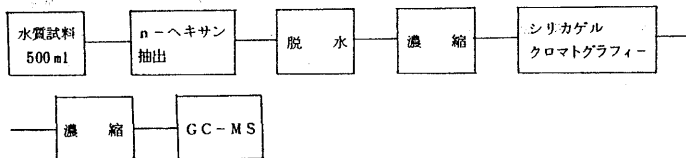
シリカゲルカラム：2 gのシリカゲルをn-ヘキサンで懸濁させ、内径10 mm×長さ200 mmのガラスカラムに入れ、その上に無水硫酸ナトリウムを2 cmの高さに入れたものを使用する。

減圧用KD濃縮装置：n-ヘキサン、及びn-ヘキサン・エチルエーテル（9：1）の濃縮に使用する。

## § 2 解 説

### 【分析法】

#### 〔フローチャート〕

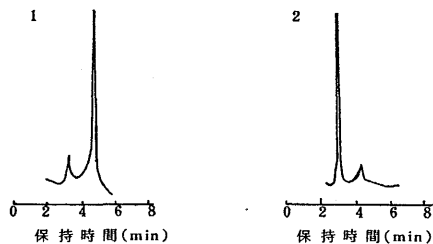


#### 〔分析法の検討〕

##### 1. 分解性スクリーニング結果

本化学物質は水中において不安定であり分解性を示す。また光に対しても著しく不安定であり、下記に示したMSのTIM (Total Ion Monitor) において原液とpH 7で水中において5日間太陽光のもとで放置したものを比較すると後者ではほとんどが $(\text{Bu}_3\text{Sn})\text{OH}$ と推定されるピークに移行する。

図2にビストリブチルスズオキシドと分解産物のマススペクトルを示す。



1. pH 7 5日間太陽光  
のもとで放置したもの

2. 原液

図1 ビストリブチルスズオキシドのMS-TIMグラム

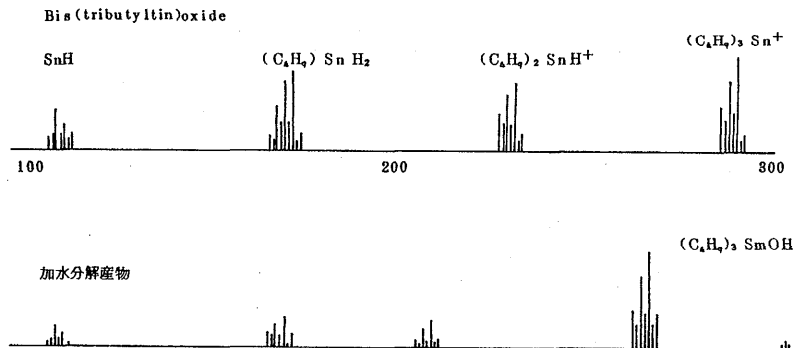


図2 ビストリブチルスズオキシドと加水分解産物のマススペクトル

#### 【評 価】

ビストリブチルスズオキシドは上記に示した様に不安定で環境中にそのままの形で存在する可能性は少ないと考えられる。

図1で示した pH 7 で水中において5日間太陽光のもとで放置したものの保持時間5分近くに見られるピークは、原液のものの保持時間3分近くに見られるピークとマスパターンにおいても明らかに異なっている。

担当者 岡 本 章 良、山 本 武

## 1,2-ジブロモエタン (別名 臭化エチレン)

1,2 - Dibromoethane Ethylene Bromide

 $\text{CH}_2\text{Br}-\text{CH}_2\text{Br}$  $\text{C}_2\text{H}_4\text{Br}_2$ 

M.W. 187.87

M.P. 9.1℃

B.P. 131℃

## 1,2-ジブロモ-3-クロロプロパン

1,2 - Dibromo-3-chloropropane

 $\text{CH}_2\text{Br}-\text{CHBr}-\text{CH}_2\text{Cl}$  $\text{C}_3\text{H}_5\text{ClBr}_2$ 

M.W. 236.36

B.P. 196℃

## § 1 分 析 法

本分析法は、標準添加試料の気液分配係数を用いて、環境試料(水質、底質)のヘッドスペース中のガス濃度を測定することにより、水中および底質中の濃度を算出する方法であり、定量はGC-ECDにより実施した。

## 試 験 法

## 【試料の前処理】

〔水質試料〕 50 mlの試料水を130 mlバイアルびんに取り、500 mlの窒素ガスでバイアル内の空気を置換し、密栓後、40℃の恒温槽に入れ、相平衡に達するまで放置する(注1)。

〔底質試料〕 10gの試料を100 mlビーカーに取り、精製水を加えて50 mlにし、130 mlバイアルびんに入れ、500 mlの窒素ガスでバイアル内の空気を置換し、密栓後、40℃の恒温槽に入れ、相平衡に達するまで、放置する(注2)。

## 【試料ガスの調製】

恒温槽から取り出したバイアルびんを、30秒間激しく振とうした後、ガスタイトシリンジで1 mlのヘッドスペースガスを採取し、ガスクロマトグラフ用試料ガスとする。

## 【空試料ガスの調整】

精製水について【試料の前処理】および【試料ガスの調製】と同様に操作して得られるガスを空試料ガスとする。

## 【標準液の調製】

1,2-ジブロモエタン100 mg, 1,2-ジブロモ-3-クロロプロパン500 mgを正確に秤り、アセトンを加えて正確に100 mlにメスアップし、標準原液を作製する。標準原液を10倍希釈して標準液とする。

標準液を精製水に溶解し、1,2-ジブロモエタン0.002~0.02 ppm, 1,2-ジブロモ-3-クロロプロパン0.01~0.1 ppmの溶液を調整する。

## 【測定】

## 〔GC-ECDの条件〕

カラム管: ガラスカラム

カラム温度: 110℃

(内径3 mm×長さ2 m)

注入口温度: 150℃

充てん剤: 担体(Chromosorb WAW 60/80メッシュ)

液相(5% Silicone DC-550)

キャリアガス: 窒素 1.0 kg/cm<sup>2</sup>

〔検 量 線〕 標準液を精製水に溶解し、【試料の前処理】および【試料ガスの調整】と同様の操作をして得られる1 mlのヘッドスペースガスをガスクロマトグラフに注入し、検量線を作成する。

〔定 量〕 試料ガスをガスクロマトグラフに注入し、検量線から定量値を求める。

〔定量限界〕 本分析法に基づく定量限界は次の通りである。

|                     | 水質試料<br>(50 mL) | 底質試料<br>(10 g) |
|---------------------|-----------------|----------------|
| 1, 2-ジブロモエタン        | 2 ppb           | 10 ppb         |
| 1, 2-ジブロモ-3-クロロプロパン | 12 ppb          | 50 ppb         |

## 試薬・器具

### 【試薬】

精製水：蒸留水を1時間煮沸し、冷却して使用する。

窒素ガス：超高純度窒素ガス（99.995%以上）を使用する。

アセトン、n-ヘキサン：残留農薬試験用を使用する。

1, 2-ジブロモエタン：特級を使用する。

1, 2-ジブロモ-3-クロロプロパン：化学用を使用する。

### 【器具】

バイアルびん：130 mLの採血びんを用いた。

ガスタイトシリンジ：1 mLのプレッシャーロックシリンジを用い、使用毎にドライヤー加熱により、水分、吸着成分を除いた。

恒温水槽：40℃に設定した。

ガスクロマトグラフ：柳本 G-800 E  $^{63}\text{Ni}$

## 注 解

- 1) バイアルびんのヘッドスペースガスを窒素ガスで置換した後密栓し、汚染空気による測定誤差を除く。
- 2) 底質中の化学物質は精製水と振とうすることにより、水中に移行し、平衡状態に達する。

## § 2 解 説

### 【分析法】

（フローチャート）

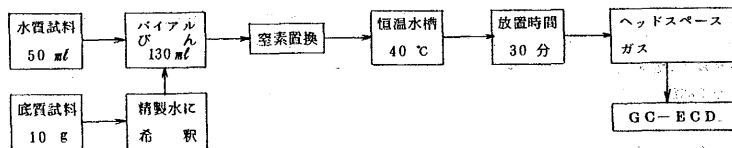


図1 フローチャート

### 1. 検量線

図2に代表的検量線を示す。

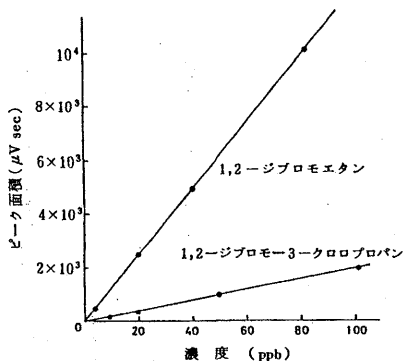


図2 1,2-ジブロモエタン、1,2-ジブロモ-3-クロロプロパンの検量線

## 2. 回収実験結果

- (1) 水質試料 河川水、海水各 50 ml に標準液を添加して分析した値と精製水に標準液を添加して分析した値の比を回収率とした。
- (2) 底質試料 海域底質 10. g に 1, 2-ジブロモエタン 1 μg、1, 2-ジブロモ-3-クロロプロパン 5 μg を加え、精製水を加えて 50 ml にして分析した値と精製水に標準液を加えて分析した値の比を回収率とした。

|                     | 河 川 水  |         | 海 水    |         | 底 質    |         |
|---------------------|--------|---------|--------|---------|--------|---------|
|                     | 回収率(%) | C V (%) | 回収率(%) | C V (%) | 回収率(%) | C V (%) |
| 1, 2-ジブロモエタン        | 98     | 3.5     | 110    | 7.8     | 96     | 10.0    |
| 1, 2-ジブロモ-3-クロロプロパン | 100    | 7.4     | 121    | 11.7    | 94     | 9.6     |

各 5 回の平均値

## 3. 分解性スクリーニング結果

|                     | 1 時 間 |      |      | 5 日間 ( 暗 所 ) |      |      | 5 日間 ( 光 照 射 ) |
|---------------------|-------|------|------|--------------|------|------|----------------|
|                     | pH 5  | pH 7 | pH 9 | pH 5         | pH 7 | pH 9 | pH 7           |
| 1, 2-ジブロモエタン        | 98    | 98   | 98   | 83           | 85   | 85   | 85             |
| 1, 2-ジブロモ-3-クロロプロパン | 97    | 97   | 97   | 84           | 86   | 84   | 86             |

## 4. ガスクロマトグラム 図 3-A、3-B に代表的クロマトグラムを示す。

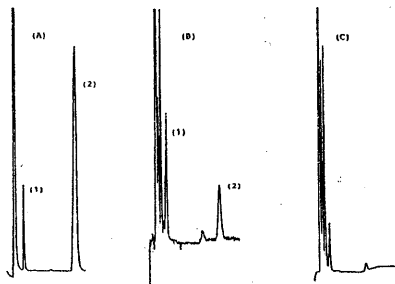


図3 1,2-ジブロモエタン、1,2-ジブロモ  
3-クロロプロパンの代表クロマトグラム  
(A)標準 (B)海水に添加 (C)海水  
(1) 1,2-ジブロモエタン、(2) 1,2-ジブロ  
モ-3-クロロプロパン

〔環境試料の分析〕

1. 実測データ：瀬戸内海の海水及び同底質9試料について分析を行ったが、全ての試料について不検出であった。
2. ガスクロマトグラム例：図3-Cに代表的なクロマトグラムを示す。

〔評 価〕

この方法は、環境水中の1,2-ジブロモエタン、1,2-ジブロモ-3-クロロプロパンを1～数ppbで定量することが可能である。

担当者 山崎 富夫、辻 正彦、吉岡昌徳、奥野年秀、新谷幸三、渡辺 弘

参考文献

Environmental Monitoring near Industrial Sites: Brominated Chemicals, Part I.  
EPA 68-01-1978, PB-286 484 (June 1978).

## フタル酸エステル類

## Phthalic Acid Esters

フタル酸ジ-*n*-ブチル、フタル酸ジ-*n*-ヘプチル、フタル酸ジ-*n*-オクチル、フタル酸ジ-2-エチルヘキシル、フタル酸ジ-*iso*-デシル

|                                           |                                                                                   |                   | M.W.  | M.P. | B.P.                   |
|-------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-------------------|-------|------|------------------------|
| Di- <i>n</i> -butyl phthalate<br>(DBP)    |  | $C_{16}H_{22}O_4$ | 278.3 | -35  | 340                    |
| Di- <i>n</i> -heptyl phthalate<br>(DHP)   |  | $C_{22}H_{34}O_4$ | 362.5 |      | 152-156<br>(0.04 mmHg) |
| Di- <i>n</i> -octyl phthalate<br>(DnOP)   |  | $C_{24}H_{38}O_4$ | 390.6 | -25  | 220-248<br>(4 mmHg)    |
| Di-2-ethylhexyl phthalate<br>(DEHP)       |  | $C_{24}H_{38}O_4$ | 390.6 | -55  | 386.9                  |
| Di- <i>iso</i> -decyl phthalate<br>(DIDP) |  | $C_{28}H_{46}O_4$ | 446.7 | -53  | 250-257<br>(4 mmHg)    |

## § 1 分 析 法

本分析法は、試料を少量の溶剤で抽出することにより、溶剤の濃縮操作を省略し、分析操作の簡略化と試薬に起因するフタル酸エステル汚染を防止する。抽出した試料は必要に応じて硫酸転溶処理<sup>1)</sup>を行ない、GC-ECDで定量的。

## 試 験 法

## 【試料の前処理】

〔水質試料〕 試料 1 l を 1 l の試薬びんに入れ、これにヘキサン 5 ml および塩化ナトリウム 100 g を加えて密栓した後、1 分間激しく振とう抽出する(注1)。静置後、10%塩化ナトリウム水溶液を試薬びんに加え、びん内に薄く広がったヘキサン層を試薬びん上部に集める。通常の水質試料はクリーンアップ操作を省略し、このヘキサン層を試料液とする(注2)。

〔底質試料-A法〕 試料 20 g を図 1 に示した循環式水蒸気蒸留装置に入れ、精製水 50 ml およびヘキサン 5 ml を加えて 1 時間加熱還流し、ヘキサン層を試料処理液とする。

〔底質試料-B法〕 試料 20 g を 50 ml の共栓付遠心管に入れ、アセトン 20 ml を加え栓をして 15 分間激しく振り混ぜた後、毎分約 3,000 回転で遠心分離し、アセトン層を分液漏斗にとる。遠心管に再度アセトン 20 ml を加え、振とう後遠心分離を行なった後、アセトン層をはじめのアセトン層に合わせる。分液漏斗内のアセトン層にヘキサン 10 ml および精製水 100 ml を加えて 10 分間振とうする。静置後、ヘキサン層を分離し、試料処理液とする。

### 【試料液の調整】

試料処理液を硫酸ナトリウム・無水物で脱水した後、50mlの共栓付遠心管に入れ、濃硫酸2mlを加え、栓をして1分間激しく振とうする。毎分3,000回転で遠心分離し、ヘキサン層を吸引除去した後、ヘキサン5mlで硫酸層を2回洗浄し、ヘキサン層は吸引除去する。

硫酸層にヘキサン5mlを加えた後、氷冷しながら精製水を一滴ずつ20ml加える。1分間激しく振とうした後、毎分3,000回転で遠心分離し、遠心管上部のヘキサン層を試料液とする。

### 【空試料液の調整】

試料と同じ量の水を用い、【試料の前処理】および【試料液の調整】と同様に操作して得られるヘキサン液を空試料液とする。

### 【標準液の調整】

DBP、DHP、DnOP、DEHP、DIDPの各100mgを精秤し、アセトンで10mlとし、標準原液(10,000 ppm)を作製する。標準原液をヘキサンで順次希釈し1 ppmおよび0.1 ppmの溶液を作成する。

### 【測定】

(GC-ECDの条件)

カラム管 : ガラスカラム

カラム温度 : 220℃または250℃

(内径3mm×長さ1m)

注入口温度 : 280℃

充填剤 : 担体 (Chromosorb W, AW-DMCS 60~80メッシュ) キャリヤーガス : 窒素 60ml/min  
液相 (5% Dexsil 300 GC)

(検量線) 標準液1~5 μlをGC-ECDに注入し、そのピーク高さより検量線を作成する。

(定量) 試料液5 μlをGC-ECDに注入する。各成分ごとに得られた検量線と比較して試料中の濃度を求める。

(計算)

$$\text{計量値 (ppm)} = \text{GC検出量 (ng)} \times \frac{\text{最終抽出液量 (ml)}}{\text{GC注入量 (μl)}} \times \frac{1}{\text{試料量 (mlまたはg)}}$$

(定量限界) 本分析に基づく定量限界を下記に示す。

|         | DBP      | DHP     | DnOP     | DEHP    | DIDP    |
|---------|----------|---------|----------|---------|---------|
| 水質試料1 l | 0.05 ppb | 0.2 ppb | 0.05 ppb | 0.1 ppb | 1.0 ppb |
| 底質試料20g | 2.5 ppb  | 10 ppb  | 2.5 ppb  | 5.0 ppb | 50 ppb  |

最終抽出液量5 ml, GC注入量5 μl

## 試薬・器具

### 【試薬】

アセトン、n-ヘキサン: 残留農薬試験用を使用する。

硫酸ナトリウム・無水物、塩化ナトリウム: 特級試薬を500℃で4時間加熱したのち、デンケーター中で放冷したものを使用する。

フタル酸エステル標準品: 和光純薬工業より入手した。

### 【器具】(注3)

抽出用試薬びん: 残留農薬試験用ヘキサン等の空びんを使用する。

循環式水蒸気蒸留装置: 底質からの抽出にDean and Starkの抽出器(図1)を使用する。

共栓付遠心管: 日盛付50 ml遠心管

## 注 解

- 1) 少量のヘキサン(5 ml)で抽出し、濃縮操作を省略した。
- 2) 水質試料については、クリーンアップ操作を省略して、GC-ECD分析を行なった。
- 3) ガラス器具類は洗浄後、200℃の乾燥器中で2時間以上加熱したものを使用する。

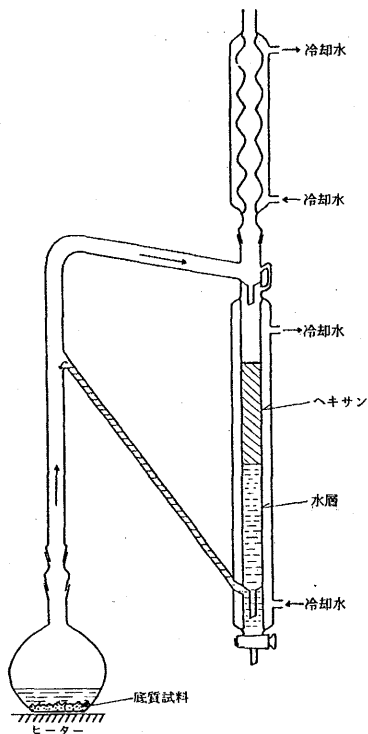
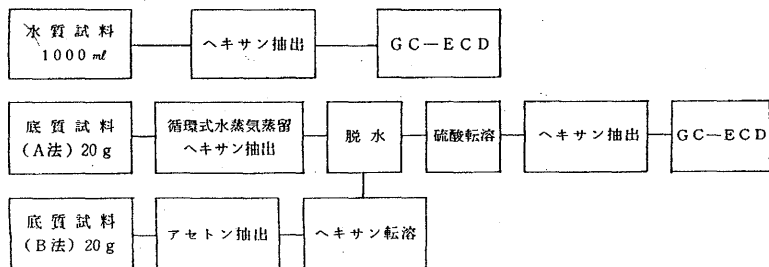


図1 循環式水蒸気蒸留装置

## § 2 解 説

### 【分析法】

〔フローチャート〕



〔分析法の検討〕

1. 検量線 図2にフタル酸エステル類の検量線を示す。

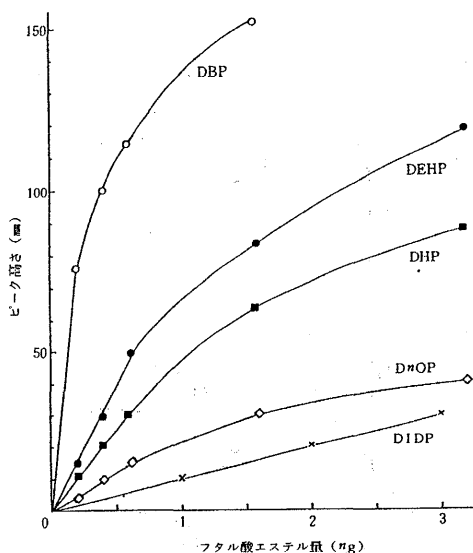


図2 フタル酸エステル類の検量線

GC条件: カラム 3mmφ×1m, 5% Dexsil 300 GC/ChromosorbW (AW-DMCS)

カラム温度 220℃ (DIDP 250℃を除く)

2. 回収実験結果

(1) 水質試料 水1000 mlに各50 μgのフタル酸エステルを添加し、5 mlのヘキサンで振とう抽出した。ヘキサン抽出時に塩化ナトリウムを塩析剤として加えて抽出効率を高めた。表1に塩化ナトリウム添加による回収率の変化を示した。

(2) 底質試料 海域底質20 gに各50 μgのフタル酸エステルを加え、循環式水蒸気蒸留法、又は、アセトン抽出・ヘキサン転溶法により抽出した。

表2に回収実験結果を示した。

表1 塩化ナトリウム添加によるフタル酸エステルの回収率の変化

| 物質名  | NaCl添加量 |      |       |
|------|---------|------|-------|
|      | 0 g     | 50 g | 100 g |
| DBP  | 88 %    | 95 % | 95 %  |
| DHP  | 78      | 96   | 100   |
| DnOP | 85      | 94   | 93    |
| DEHP | 82      | 96   | 100   |
| DIDP | 78      | 81   | 100   |

試料量: 1000 ml

表2 フタル酸エステル類の添加回収率および変動率

| 物質名  | 精製水(n=4)     | 河川水(n=3)     | 海水(n=3)      | 底質A法(n=4)    | 底質B法(n=5)    |
|------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
|      | 回収率(変動率)     | 回収率(変動率)     | 回収率(変動率)     | 回収率(変動率)     | 回収率(変動率)     |
| DBP  | 95 % (1.0 %) | 90 % (1.6 %) | 90 % (2.0 %) | 94 % (3.2 %) | 92 % (4.0 %) |
| DHP  | 100 (7.5 )   | 100 (5.6 )   | 99 (6.1 )    | 91 (9.6 )    | 90 (9.7 )    |
| DnOP | 93 (1.3 )    | 94 (3.6 )    | 94 (4.9 )    | 72 (12 )     | 95 (10 )     |
| DEHP | 100 (2.2 )   | 97 (5.7 )    | 96 (5.6 )    | 87 (9.7 )    | 96 (5.3 )    |
| DIDP | 100 (4.3 )   | 100 (6.6 )   | 98 (8.7 )    | 32 (29 )     | 97 (10 )     |

注) 水質試料 1000 ml, 底質試料 20 g にフタル酸エステルをそれぞれ 50  $\mu$ g を添加した試料について回収率を求めた。

### 3. 分解性スクリーニング結果

130 ml のバイアルびんに Clark — Lubs の緩衝液で pH = 5, 7, 10 に調整した精製水 100 ml を入れ、これにアセトンに溶かしたフタル酸エステル標準液 (1 %) を 1 ppm の濃度になるように添加したものについて、1 時間後および暗所にて 5 日後にバイアルびん内のフタル酸エステル濃度を測定した。また、光による分解の有無をみるため、pH 7 の検液については明所に 5 日間放置した後、測定した。結果を表 3 に示した。

表3 分解性スクリーニング試験結果

| 物質名  | 単位: 残存率 (%) |      |      |           |      |      |            |
|------|-------------|------|------|-----------|------|------|------------|
|      | 1 時間        |      |      | 5 日後 (暗所) |      |      | 5 日後 (光照射) |
|      | pH 5        | pH 7 | pH 9 | pH 5      | pH 7 | pH 9 | pH 7       |
| DBP  | 100         | 100  | 100  | 94        | 100  | 78   | 95         |
| DHP  | 100         | 100  | 97   | 97        | 100  | 81   | 100        |
| DnOP | 100         | 100  | 96   | 94        | 100  | 77   | 99         |
| DEHP | 100         | 100  | 93   | 99        | 100  | 89   | 100        |
| DIDP | 100         | 100  | 90   | 91        | 100  | 79   | 100        |

実験温度:  $20 \pm 5^\circ\text{C}$

### 4. ガスクロマトグラム

図 3 に標準試料のガスクロマトグラムを示す。

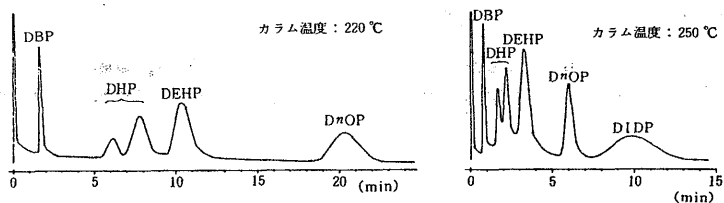


図3 フタル酸エステル類のガスクロマトグラム

GC 条件: カラム 3 mm  $\phi$   $\times$  1 m, 5 % Dexsil 300 GC/ChromosorbW (AW-DMCS)

## 5. クリーンアップの検討

フタル酸エステル類は、ガスクロマトグラム上でポリ塩化ビフェニル (PCB) と殆んど同じ保持時間にGCピークが出現する。このため、硫酸転溶処理によるクリーンアップでフタル酸エステルとPCBとを分離精製した。

フタル酸エステル類の0.1 ppmヘキサン溶液、およびPCB (KC-300: KC-400: KC-500: KC-600 = 1:1:1:1) の0.1 ppmヘキサン溶液5 mlに濃硫酸1 mlを添加し1分間振とうした。硫酸層上部のヘキサン層中にはGC-ECD分析で、フタル酸エステルは全く検出されなかった。一方、PCBは添加量の全量がヘキサン層から検出された。濃硫酸層をヘキサンで2回洗浄した後、水20 mlを濃硫酸層に注意深く加え、ヘキサン5 mlで硫酸水溶液中のフタル酸エステルを回収した。フタル酸エステルの回収率はDBP 99%, DHP 88%, DnOP 93%, DEHP 94%, DIDP 98%であり、PCBは検出されなかった。

水質試料については、PCBが殆んど検出されないため、硫酸転溶処理は省略した。

## 6. 分析時におけるフタル酸エステル汚染の防止

ガラス器具に付着しているフタル酸エステルを加熱処理により除去した。表4に加熱処理による除去効果を示す。Giam<sup>2)</sup>らは320℃で10時間加熱処理を行なっているが、表4の結果より200℃で2時間加熱処理を行なった。

表4 ガラス器具の加熱処理によるフタル酸エステルの除去効果

| 加熱条件<br>容器<br>物質名 | 50℃(24時間) |    | 100℃(18時間) |     | 150℃(2時間) |     | 200℃(2時間) |   | 250℃(2時間) |   |
|-------------------|-----------|----|------------|-----|-----------|-----|-----------|---|-----------|---|
|                   | A         | B  | A          | B   | A         | B   | A         | B | A         | B |
| DBP               | 20        | 32 | 0          | 6.5 | 0         | 0   | 0         | 0 | 0         | 0 |
| DHP               | 21        | 35 | 0          | 20  | 0         | 0   | 0         | 0 | 0         | 0 |
| DnOP              | 32        | 35 | 0          | 15  | 0         | 0   | 0         | 0 | 0         | 0 |
| DEHP              | 35        | 39 | 0          | 20  | 0         | 0   | 0         | 0 | 0         | 0 |
| DIDP              | 46        | 50 | 0          | 38  | 0         | 7.5 | 0         | 0 | 0         | 0 |

容器A: 100 mlビーカー, 容器B: 100 mlバイアルビン

フタル酸エステルを50 µgを付着させたビーカーまたはバイアルビンを乾燥器で加熱した時の残存フタル酸エステルの量 (µg)

ガスクロマトグラフの注入口パッキンによるフタル酸エステルの影響を除くため、注入口パッキンはヘキサン洗浄した後、使用した。パッキンの洗浄はソックスレー抽出器を用いて行ない、ヘキサンで5時間抽出した。パッキンはヘキサンにより膨潤するが、溶剤の加熱除去(200℃1時間)により元の大きさにもどった。

パッキンの溶剤洗浄により、過剰の可塑剤が除かれて、パッキンの重さが2.2%減少し、GCのブランク値も大巾に減少した。

(環境試料分析)

## 1. 実測データ

播磨灘および大阪湾の海水中にDBP: 0.05~2.2 ng/ml, DEHP: 0.1~0.8 ng/ml検出された。また同地域の海泥中にDBP: 17~30 ng/g, DHP: 17~56 ng/g, DEHP: 55~310 ng/gが検出された。

## 2. ガスクロマトグラム例

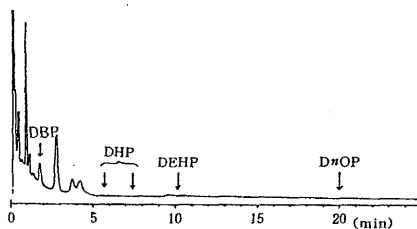


図4 水質試料中のフタル酸エステル

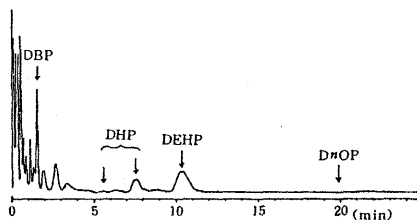


図5 底質試料中のフタル酸エステル

### 〔操作上の注意〕

フタル酸エステルは可塑剤として大量に使用されているため、実験器具、試薬等からのフタル酸エステル汚染を最少減にするため以下の点に注意した。

1. ガラス器具類は 200℃で 2 時間以上加熱したものを冷却後、直ちに使用した。
2. 抽出操作は必要最少量の試薬で行ない、溶剤の濃縮は行なわなかった。
3. 大気中のフタル酸エステル(数  $\text{ng}/\text{m}^3$ )の混入を防ぐため、できるだけ大気との接触を少なくして抽出操作を行なった。

### 〔評価〕

この方法により環境中に ppb レベルで存在するフタル酸エステルの定量を行なうことができる。

担当者 辻 正彦, 山崎富夫, 吉岡昌徳, 奥野年秀, 新谷幸三, 渡辺 弘

# 參 考 文 獻

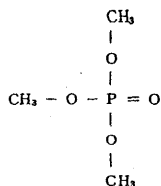
- 1) 環境庁保健調査室:「昭和 50 年度, 化学物質環境調査分析方法」
- 2) C.S.Giam, H.S.Chan and G.S.Neff: Anal.Chem., 47 ( 13 ) 2225 ~ 2229 ( 1975 ).
- 3) C.S.Giam, E.Atras, H.S.Chan and G.S.Neff: Atmos.Enviro., 14 , 65 ~ 69 ( 1980 ).

## 有機リン酸トリエステル類の分析法

## トリメチルホスフェート(略称TMP)

Trimethyl phosphate

既存化学物質 2-2000

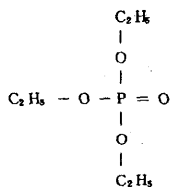


|       |                                     |
|-------|-------------------------------------|
| 分子式   | $\text{C}_3 \text{H}_9 \text{PO}_4$ |
| 分子量   | 140.07                              |
| b. p. | 180~195℃ (760 mmHg)                 |
| m. p. | < -70℃                              |
| 比重    | 1.215                               |

## トリエチルホスフェート(略称TEP)

Triethyl phosphate

既存化学物質 2-2000



|       |                                        |
|-------|----------------------------------------|
| 分子式   | $\text{C}_6 \text{H}_{15} \text{PO}_4$ |
| 分子量   | 182.16                                 |
| b. p. | 214℃ (760 mmHg)                        |
| m. p. | -56.5℃                                 |
| 蒸気圧   | 1 mmHg (39.6℃)                         |
| 比重    | 1.067                                  |

本分析法は、ホスフェート類の水～有機溶媒系における分配率が各物質において大きく異なることに着目して水系に存在するホスフェート類を *n*-ヘキサン可溶性分画とクロロホルム可溶性分画にそれぞれ抽出分離した後精製を行い、FPD-GCにより測定することにより、表1に示すホスフェート類を同時分析することを目的とする分析法である。

表1 同時分析可能な化合物名とその略称

| Compounds                              | Abbreviations |
|----------------------------------------|---------------|
| Trimethyl phosphate                    | TMP           |
| Triethyl phosphate                     | TEP           |
| Triallyl phosphate                     | TAP           |
| Tributyl phosphate                     | TBP           |
| Tris (2-chloroethyl) phosphate         | TCEP          |
| Trichloropropyl phosphate              | TCPP          |
| Tri- <i>n</i> -amyl phosphate          | TNAP          |
| Tris (1,3-dichloro-2-propyl) phosphate | CRP           |
| Tris (2-butoxyethyl) phosphate         | TBXP          |
| Triphenyl phosphate                    | TPP           |
| Cresyl diphenyl phosphate              | CDP           |
| Phenyl dicresyl phosphate              | PDGP          |
| Tris (2-ethylhexyl) phosphate          | TOP           |
| 2-ethylhexyl diphenyl phosphate        | ODP           |
| Tris (1-iso-propylphenyl) phosphate    | TIPP          |
| Tricresyl phosphate                    | TCP           |
| Tri- <i>o</i> -cresyl phosphate        | ToCP          |
| Trixylenyl phosphate                   | TXP           |
| Tris (2,3-dibromopropyl) phosphate     | TDBP          |
| Tris (4-tert-butylphenyl) phosphate    | TBPP          |
| Triethyl thiophosphate                 | TESP          |

## 試 験 法

### 《 試料の前処理 》

#### 〔水質試料〕

試料 1 ℓ を分液ロートに取り、無水硫酸ナトリウム 20 g を溶解した後、*n*-ヘキサン 100 ml を加え 5 分間振とう洗浄する。水層は更に *n*-ヘキサン 50 ml を用いて 2 回洗浄<sup>1)</sup>した後、得られた水層にクロロホルム 50 ml を加え振とう抽出する。この抽出操作を合計 5 回繰り返し、得られたクロロホルム抽出液は合わせた後、無水硫酸ナトリウムで脱水し、2～3 ml まで減圧濃縮<sup>2)</sup>を行い、これを TMP 及び TEP 用試料処理液とする。なお *n*-ヘキサン抽出液は脱水後、5 ml まで減圧濃縮を行い、疎水性ホスフェート類分析用処理液とする。

## 《底質試料》

試料 30 g を共栓付遠心管に秤り取り、メチルアルコール 50 ml を加えた後、10 分間振とうする。遠心分離 (3000 rpm × 10 分間) によりメチルアルコール層を採取した後、沈渣は更にメチルアルコール 50 ml づつを加えて 2 回振とう抽出する。メチルアルコール抽出液は合わせた後、あらかじめ用意した 2 % 無水硫酸ナトリウム水溶液 500 ml に希釈した後、n-ヘキサン 100 ml、50 ml、50 ml づつで 3 回洗浄<sup>1)</sup>する。得られた水層は更にクロロホルム 50 ml づつで 5 回抽出を行い、抽出液は合わせた後、無水硫酸ナトリウムを用いて脱水を行った後、2 ~ 3 ml まで減圧濃縮<sup>2)</sup>し、これを TMP 及び TEP 用試料処理液とする。なお n-ヘキサン抽出液は脱水後、5 ml まで減圧濃縮を行い、疎水性ホスフェート分析用処理液とする。

## 《試料液の調製》

### 《TMP 及び TEP 測定用試料液》

窒素ガスを吹きつけて、わずかにクロロホルムが残存する程度まで濃縮した後、n-ヘキサン-アセトン-エチルアルコール混液 (8 : 2 : 0.1)<sup>3)</sup>を加え、1 ml 定容とし、試料液とする。

### 《疎水性ホスフェート類測定用試料液》

疎水性ホスフェート分析用処理液 (n-ヘキサン溶液) を氷冷した後、これに氷冷した硫酸 (96 : 4)<sup>4)</sup> 2 ml を加えて十分振とうした後、静置する。ヘキサン層を取り除き<sup>5)</sup>後、硫酸層を氷冷 n-ヘキサン 5 ml づつで 5 回洗浄<sup>5)</sup>し、硫酸層は氷冷した 5 % 無水硫酸ナトリウム溶液 100 ml によくかくはんしながら希釈し、直ちにベンゼン 50 ml を用いて抽出する。分液後、水層は更にベンゼン 30 ml で抽出し、抽出液は合わせた後、5 % 無水硫酸ナトリウム溶液 30 ml で洗浄する。ベンゼン層は更に 0.5 N 水酸化ナトリウム溶液 30 ml 用いて 5 分間振とう洗浄する。分液後、ベンゼン層を更に 5 % 無水硫酸ナトリウム溶液、ついでリン酸緩衝液 30 ml で洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで脱水する。このベンゼン溶液を溶媒がわずかに残る程度まで減圧濃縮する。内径 15 mm × 長さ 300 mm のガラスカラムに無水硫酸ナトリウム 5 g を充填した後、カラム用活性炭 20 g をアセトン-ベンゼン-ヘキサン混液 (3 : 3 : 4) を用いて湿式充填し、更に無水硫酸ナトリウム 5 g を重層させる。試料を少量のアセトン-ベンゼン-ヘキサン混液 (3 : 3 : 4) で負荷した後、この混液 50 ml を用いて溶離させる。溶出液を減圧濃縮した後<sup>6)</sup>、窒素ガスを用いて溶媒をほぼ完全に取り除いた後、少量の n-ヘキサンに溶解した後、フロリジルカラム<sup>7)</sup> (5 % 含水フロリジル 3 g, 10 mm × 300 mm) に負荷する。カラムを n-ヘキサン 20 ml を用いて洗浄した後、ベンゼン 20 ml (第 1 フラクション)、30 % エーテル含有 n-ヘキサン 20 ml (第 2 フラクション)、20 % アセトン含有 n-ヘキサン 20 ml (第 3 フラクション)、5 % エチルアルコール含有 n-ヘキサン 100 ml (第 4 フラクション) を用いて順に溶離させる。第 1 フラクションには P=S 型の有機リン系農薬<sup>8)</sup>が、第 2 フラクションにはトリクレジルホスフェート等の弱極性ホスフェート類が、第 3 フラクションにはトリブチルホスフェート等の比較的極性の強いホスフェート類が、第 4 フラクションにはさらに極性の強いトリクロルエチルホスフェート等が溶出する。

なお水質試料の場合、硫酸抽出・活性炭カラムクロマトグラフィー・フロリジルカラムクロマトグラフィーを適宜省略することができる。

## 《空試験液の調製》

試料を用いないで《試料液の前処理》及び《試料液の調製》と同様に操作して得られる液を空試料液とする。なお水質試料の場合は、クロロホルムで 5 回洗浄した精製水を用いて、試料と同様な操作を行う。

## 《標準液の調製》

標準物質 100 mg を少量のアセトンに溶解しベンゼンで 100 ml 定容とする。(1000 µg/ml 標準原液)。この標準原液を n-ヘキサンで適宜希釈する。

## 《測定》

〔ガスクロマトグラフ条件〕

検出器：FPD(526 nm, P フィルター)

充填剤：Thermon - 3000 (担体：Chromosorb W (AW-DMCS), 80~100 mesh) 又は 10% OV-1 (担体：Gaschrom Q, 80~100 mesh)

カラム温度：120~260℃, 10℃/min (Thermon - 3000), 又は 200~280℃, 6℃/min (OV-1)

カラム：3 mm  $\phi$   $\times$  1 m ガラスカラム

なおTMP, TEPはThermon - 3000を用いて測定する。

〔定量及び計算〕

標準液または試料液 5  $\mu$ l をガスクロマトグラフに注入し、ピーク高さまたはピーク面積を測定し、検量線法により定量する。

〔定量限界〕

本法による定量限界は、TMPの場合、水質 0.02  $\mu$ g/l, 底質 0.0005  $\mu$ g/g であり、TEPの場合、水質 0.01  $\mu$ g/l, 底質 0.0003  $\mu$ g/g である。

## 試薬・器具

《試薬》

クロロホルム、メチルアルコール、ベンゼン、アセトン、n-ヘキサン：残留農薬分析用試薬を使用する。

無水硫酸ナトリウム：残留農薬分析用試薬を750℃で加熱し、放冷後使用する。

精製活性炭：ダルコG活性炭(Atlas Powder Co.) 50~100 $\phi$ を分液ロートに取り、ベンゼン1 $\ell$ を加え約30分間振とうする。静置後、沈降した活性炭を別の分液ロートに移し、アセトン、続いてベンゼンで洗浄する。減圧ろ過後、130℃で乾燥し、乳ばちでメッシュをそろえた後、更に130℃で乾燥する。

カラム用活性炭：精製活性炭を2.5 w/w%となるように無水硫酸ナトリウムと均一に混合したもの。

5%含水フロリジル：カラムクロマト用フロリジル(Floridin社, 60~100 mesh)を130℃ 15時間以上加熱活性化した後、その95 $\phi$ に精製水5mlを加え密栓混合し、一昼夜放置した(密栓してデジケータに保存する)。

硫酸(96:4)：蒸留水8mlに濃硫酸(SSG, 97%)192mlを加える。

リン酸緩衝液(pH7)：リン酸1カリウム、水酸化ナトリウム1.2 $\phi$ 及び無水硫酸ナトリウム50 $\phi$ を水に溶解して、1 $\ell$ としたものをpH7に調整後、ベンゼンで2回洗浄した。

2%無水硫酸ナトリウム溶液：クロロホルムで3回洗浄後、n-ヘキサンで1回洗浄した。

0.5 N水酸化ナトリウム溶液：水酸化ナトリウム20 $\phi$ と無水硫酸ナトリウム50 $\phi$ を水1 $\ell$ に溶解後ベンゼンで2回洗浄する。

その他試液はベンゼンで洗浄後使用する。

《器具》

カラムクロマト管：G2 フィルター付のガラス製カラムクロマト管を使用。

濃縮装置：ロータリーエバポレータを使用する。

## 注 解

1) 分液が不完全な場合、次のクロロホルム抽出液に妨害物質が混入する場合がある。

2) 乾固するとTMP, TEPの損失が生じる。

- 3) エチルアルコールはクロロホルムの分解を妨げる目的で加えた。
- 4) ホスフェート類及び大多數の有機リン系農薬は硫酸抽出可能である。しかしその最適硫酸濃度は物質によって異なる。
- 5) ヘキサン層には、イオウ化合物、*n*-パラフィン、PCB等の妨害物質が存在するので十分注意して取り除く。
- 6) はとんどの場合、この段階でGCによる測定が可能である。
- 7) あらかじめ溶出状態を確認するとともに、分析目的物質に合わせて溶離条件を変更する。
- 8) P=S型の有機リン系農薬、たとえばスミチオン・EPN・PAP等も本法で同時分析可能なため、フロリジルカラムを用いて分離する必要がある。

## § 2 解 説

### 《 分析法 》

〔フローチャート〕

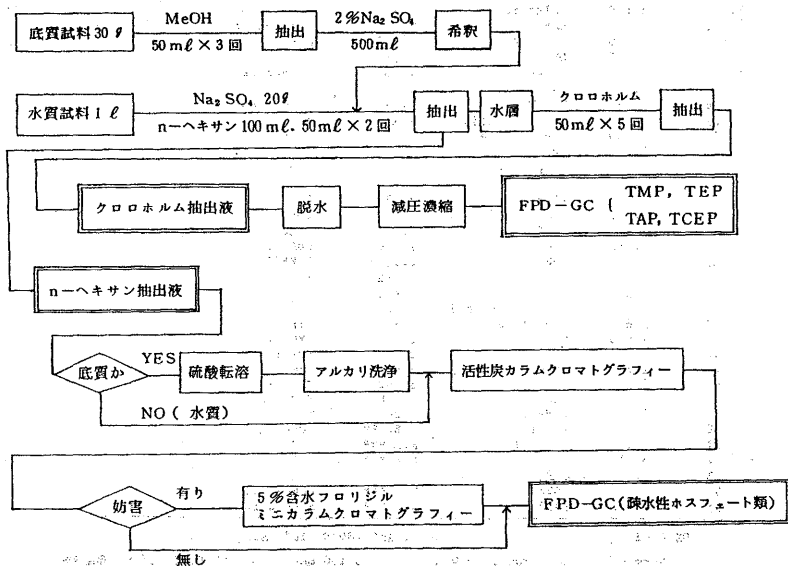


図 1. 分析法フローチャート

### 〔分析法の検討〕

#### 1. ガスクロマトグラフィーの検討

本法で同時分析可能な有機リン化合物の保持容量を表 2 に示した。

表2 ホスファート酸のガスクロマトグラフィーにおける相対保持容量 (Rt)

| 10% OV-1* |       |                  | 5% Thérmon 3000** |                  |  |
|-----------|-------|------------------|-------------------|------------------|--|
| No.       | Rt    | 物質名              | Rt                | 物質名              |  |
| 1         | 0.158 | TMP              | 0.250             | TMP              |  |
| 2         | 0.225 | TESP             | 0.300             | TESP             |  |
| 3         | 0.250 | TEP              | 0.347             | TEP              |  |
| 4         | 0.320 | BRP(1)           | 0.681             | DEP              |  |
| 5         | 0.330 | DEP              | 0.681             | DDVP             |  |
| 6         | 0.330 | Phorate          | 0.702             | BRP              |  |
| 7         | 0.358 | DDVP             | 1.000             | TBP              |  |
| 8         | 1.000 | TBP              | 1.255             | Phorate          |  |
| 9         | 1.000 | BRP(2)           | 1.333             | Diazinon         |  |
| 10        | 1.000 | Salithion        | 1.356             | TNAP             |  |
| 11        | 1.190 | TCEP             | 1.417             | Ethylthiomethone |  |
| 12        | 1.210 | CYAP             | 1.590             | TCPP             |  |
| 13        | 1.240 | Dimethoate       | 1.611             | Salithion        |  |
| 14        | 1.320 | Diazinon         | 1.662             | Chloropyrifos    |  |
| 15        | 1.330 | TCPP             | 1.722             | Azinphos-methyl  |  |
| 16        | 1.330 | Ethylthiomethon  | 1.804             | CYAP             |  |
| 17        | 1.460 | Methyl Parathion | 1.830             | TOP              |  |
| 18        | 1.520 | TNAP             | 1.853             | Malathion        |  |
| 19        | 1.530 | Paraaxon         | 1.856             | $\alpha$ -CVP    |  |
| 20        | 1.550 | Parathion        | 1.875             | MPP              |  |
| 21        | 1.610 | MPP              | 1.910             | Paraaxon         |  |
| 22        | 1.610 | Malathion        | 1.911             | Parathion        |  |
| 23        | 1.640 | MEP              | 1.919             | Dimethoate       |  |
| 24        | 1.670 | Chloropyrifos    | 1.920             | $\beta$ -CVP     |  |
| 25        | 1.680 | DVP              | 1.944             | MEP              |  |
| 26        | 1.740 | $\alpha$ -CVP    | 1.954             | Propaphos        |  |
| 27        | 1.790 | PAP              | 2.010             | PAP              |  |
| 28        | 1.830 | $\beta$ -CVP     | 2.111             | Methyl Parathion |  |
| 29        | 2.160 | MPP-sulfoxide    | 2.111             | TCEP             |  |
| 30        | 2.160 | MPP-sulfone      | 2.210             | TBXP             |  |
| 31        | 2.170 | CRP              | 2.510             | ODP              |  |
| 32        | 2.280 | Propaphos        | 2.568             | CVP              |  |
| 33        | 2.290 | CYP              | 2.611             | TPP              |  |
| 34        | 2.310 | TBXP             | 2.630             | CRP              |  |
| 35        | 2.320 | TPP              | 2.691             | CDP(1)           |  |
| 36        | 2.460 | CDP(1)           | 2.710             | ToCP             |  |
| 37        | 2.460 | TOP              | 2.756             | CDP(2)           |  |
| 38        | 2.470 | ODP              | 2.784             | TIPP(1)          |  |
| 39        | 2.520 | CDP(2)           | 2.792             | EPN              |  |
| 40        | 2.530 | EPN              | 2.853             | CDP(3)           |  |
| 41        | 2.600 | Azinphos-methyl  | 2.880             | TwCP             |  |
| 42        | 2.620 | Phosalone        | 2.919             | TIPP(2)          |  |
| 43        | 2.660 | TIPP(1)          | 2.966             | TXP(1)           |  |
| 44        | 2.660 | ToCP             | 2.990             | TCF(isomer)      |  |
| 45        | 2.690 | PDCE             | 3.095             | TXP(2)           |  |
| 46        | 2.780 | TwCP             | 3.240             | TXP(3)           |  |
| 47        | 2.850 | TCF(isomer)      | 3.246             | TIPP(3)          |  |
| 48        | 2.970 | TIPP(2)          | 3.280             | IpCP             |  |
| 50        | 3.140 | TIPP(3)          | N.R.***           | TDBP             |  |
| 51        | 3.360 | TIPP(4)          | N.R.***           | TBPP             |  |
| 52        | 3.410 | TXP(1)           | N.R.***           | DVP              |  |
| 53        | 3.550 | TXP(3)           | N.R.***           | Phosalone        |  |
| 54        | 4.100 | TDBP             | N.R.***           | MPP-sulfoxide    |  |
| 55        | 7.050 | TBPP             | N.R.***           | MPP-sulfone      |  |

\* 10% OV-1 on Gas chrom Q, 80-100 mesh, 150-280°C, 10°C/min, 昇温分析

\*\* 5% Thérmon-3000 on Chromosorb W(AW-DMCS) 80-100 mesh, 100-260°C, 10°C/min, 昇温分析。

\*\*\* N.R.: 検出しな。

Rt: 相対保持容量 (TBPを基準として測定)

## 2. 抽出溶媒の検討

標準物質を溶解した各種溶媒を等量の水で洗浄し、溶媒層に残存した標準物質の残存率を測定することにより各物質の抽出性を検討した(表3)。その結果、クロロホルムが最も良い抽出効果を示した。

表3. 各種抽出溶媒によるTMP及びTEPの抽出(有機溶媒層を水洗後、有機溶媒層中濃度を測定)

| Solvents           | Remainings in organic solvent (%) |      |      |
|--------------------|-----------------------------------|------|------|
|                    | TMP                               | TESP | TEP  |
| n-Hexane           | 1.7                               | 102  | 9.2  |
| Ethyl ether        | 5.5                               | 108  | 63.5 |
| Benzene            | 17.0                              | 103  | 85.5 |
| Ethyl acetate      | 28.7                              | 107  | 83.9 |
| Methylene chloride | 79.2                              | 110  | 104  |
| Chloroform         | 84.1                              | 104  | 103  |

\* 10ml of organic solvents were washed once with 10ml of water.

クロロホルムを抽出溶媒として、1回抽出した場合の各種ホスフェート類の抽出率を表4に示した。

表4. 水系に存在するホスフェート類のクロロホルムによる抽出(1回抽出)

| Chemicals | Recovery (% mean $\pm$ SD) |           |                        |           |
|-----------|----------------------------|-----------|------------------------|-----------|
|           | Water <sup>a)</sup>        |           | Sediment <sup>b)</sup> |           |
| TMP       | 19.9                       | $\pm$ 0.7 | 28.6                   | $\pm$ 0.8 |
| TESP      | 85.4                       | $\pm$ 0.1 | 86.6                   | $\pm$ 2.3 |
| TEP       | 84.6                       | $\pm$ 1.3 | 86.2                   | $\pm$ 1.6 |
| TAP       | 95.3                       | $\pm$ 0.4 | 93.1                   | $\pm$ 2.0 |
| TBP       | 97.2                       | $\pm$ 1.4 | 95.9                   | $\pm$ 2.2 |
| TNAP      | 98.3                       | $\pm$ 1.4 | 97.4                   | $\pm$ 0.5 |
| TCPP      | 101                        | $\pm$ 1.1 | 98.9                   | $\pm$ 1.3 |
| TOP       | 98.1                       | $\pm$ 1.9 | 98.2                   | $\pm$ 0.4 |
| TCEP      | 96.7                       | $\pm$ 0.1 | 93.6                   | $\pm$ 0.1 |
| TBXP      | 99.5                       | $\pm$ 2.1 | 98.6                   | $\pm$ 0.2 |
| OJP       | 98.8                       | $\pm$ 1.1 | 98.1                   | $\pm$ 0.2 |
| CRP       | 100                        | $\pm$ 0.9 | 98.8                   | $\pm$ 1.3 |
| ToCP      | 99.0                       | $\pm$ 1.3 | 98.4                   | $\pm$ 0.7 |
| TXP       | 97.6                       | $\pm$ 1.3 | 97.5                   | $\pm$ 0.2 |

a) water 1L    b) water 1L + MeOH 150ml

c) Solution was extracted once with 50 ml of chloroform.

TMPは、1回の抽出により約20%が定量的に抽出されるため、水質の場合、分析法における最終回収率を70%と考えて、抽出回数を5回と定めた。

揮発性が強く、また極性の強いTMP、TEPを他のホスフェート類とともに抽出して精製操作を繰り返すことは、回収率の面や精製効果の面で好ましくないため、疎水性ホスフェート類や妨害物質をあらかじめn-ヘキサンによる洗浄により除去し、別個に精製する方法とした。

底質の抽出溶媒を検討する目的で、水-底質系におけるホスフェート類の吸着性を検討した(表5)。

表5. ホスフェート類の底質吸着性の検討

| Compounds | Remaining in water % |        |           |        |
|-----------|----------------------|--------|-----------|--------|
|           | Purified water       |        | Sea water |        |
| TMP       | 78.6                 | ± 6.1  | 86.6      | ± 0.8  |
| TESP      | 40.5                 | ± 24.7 | 44.5      | ± 25.6 |
| TEP       | 80.1                 | ± 0.6  | 90.3      | ± 6.3  |
| TAP       | 78.3                 | ± 0.9  | 88.9      | ± 1.8  |
| TBP       | 60.0                 | ± 4.1  | 63.0      | ± 0.2  |
| TNAP      | 7.2                  | ± 0.1  | 7.2       | ± 0.5  |
| TCPP      | 74.7                 | ± 0.4  | 78.5      | ± 2.4  |
| TOP       | nd                   |        | nd        |        |
| TCEP      | 75.2                 | ± 0.4  | 82.9      | ± 1.7  |
| TBXP      | 22.4                 | ± 0.4  | 24.0      | ± 2.4  |
| ODP       | nd                   |        | nd        |        |
| CRP       | 21.4                 | ± 6.9  | 22.5      | ± 5.7  |
| ToCP      | nd                   |        | nd        |        |
| TXP       | nd                   |        | nd        |        |

TMP, TEPはほとんど底質に吸着しない性質を示し、水も抽出溶媒としても分析可能と考えられる。このようにTMPの抽出には、極性の強い溶媒を使用するためメチルアルコールを使用した。しかしTXP等の疎水性ホスフェート類の抽出には、アセトニトリル等のもう少し極性の弱い溶媒が有効と考えられる。

## 3. 添加回収率

水1ℓ、底質30gを用い、TMP10μg、TEP5μgを添加した場合の添加回収率を各抽出分画別に示した(表6)。TMP, TEP, TCEPはクロロホルム分画に抽出された。

表6. 水質、底質における添加回収率(各抽出分画別に測定)

| Samples | Recovery % (C.V. %) |           |                   |           |                   |           |                   |           |
|---------|---------------------|-----------|-------------------|-----------|-------------------|-----------|-------------------|-----------|
|         | Purified water      |           | Sea water         |           | River water       |           | Sea sediment      |           |
| Extract | CHCl <sub>3</sub>   | n-hexane  | CHCl <sub>3</sub> | n-hexane  | CHCl <sub>3</sub> | n-hexane  | CHCl <sub>3</sub> | n-hexane  |
| TMP     | 64.4(0.6)           | nd        | 73.8(1.9)         | nd        | 70.2(1.5)         | nd        | 91.0(1.8)         | nd        |
| TESP    | nd                  | 66.5(13)  | nd                | 59.8(3.9) | nd                | 71.4(17)  | nd                | 41.9(11)  |
| TEP     | 87.6(3.2)           | 2.5(4.4)  | 89.4(1.7)         | 2.9(11)   | 95.4(2.2)         | 3.1(22)   | 93.3(1.1)         | 3.3(3.6)  |
| TAP     | 43.9(2.1)           | 44.1(3.1) | 26.1(6.6)         | 60.7(3.7) | 53.6(2.6)         | 42.1(2.3) | 63.1(3.3)         | nd        |
| TBP     | nd                  | 97.0(1.1) | nd                | 96.9(1.1) | nd                | 101(1.6)  | nd                | 90.7(1.4) |
| TNAP    | nd                  | 96.6(1.0) | nd                | 98.8(0.6) | nd                | 101(1.4)  | nd                | 91.7(0.4) |
| TCPP    | nd                  | 94.2(5.7) | nd                | 96.9(1.4) | nd                | 100(0.1)  | 9.0(3.5)          | 81.8(1.4) |
| TOP     | nd                  | 97.5(0.8) | nd                | 98.9(1.9) | nd                | 97.5(2.3) | nd                | 84.3(0.3) |
| TCEP    | 83.4(1.4)           | 8.3(32)   | 78.5(0.8)         | 13.5(4.5) | 85.6(3.3)         | 10.2(1.4) | 83.3(2.5)         | 7.0(10)   |
| TBXP    | nd                  | 95.5(3.1) | nd                | 93.8(3.1) | nd                | 96.3(0.6) | nd                | 81.8(3.4) |
| ODP     | nd                  | 96.8(2.1) | nd                | 101(1.0)  | nd                | 96.2(0.5) | nd                | 77.1(2.9) |
| CRP     | nd                  | 93.6(8.6) | nd                | 100(0.6)  | nd                | 95.5(0.6) | nd                | 97.5(3.0) |
| ToCP    | nd                  | 96.0(1.4) | nd                | 97.7(0.4) | nd                | 97.0(1.5) | nd                | 76.1(1.3) |
| TXP     | nd                  | 95.0(2.4) | nd                | 97.9(1.9) | nd                | 96.0(0.2) | nd                | 24.1(3.7) |

#### 4. 分解性スクリーニング結果

規定された方法に従い分解性スクリーニングを実施した(表7)。

表7. 分解性スクリーニング結果(全量抽出法による)

| Compound            | pH | Remaining (%) |         |          | Remaining Ratio to A (%) |      |
|---------------------|----|---------------|---------|----------|--------------------------|------|
|                     |    | 1 hr          |         | 5 days   |                          |      |
|                     |    | light(A)      | dark(B) | light(C) | B/A                      | C/A  |
| TMP<br>2 $\mu$ g/ml | 5  | 96.0          | 93.2    | 90.4     | 97.1                     | 94.2 |
|                     | 7  | 99.4          | 98.1    | 100      | 98.7                     | 101  |
|                     | 9  | 94.6          | 92.4    | 92.8     | 97.7                     | 98.1 |
| TEP<br>1 $\mu$ g/ml | 5  | 94.7          | 96.3    | 95.4     | 102                      | 101  |
|                     | 7  | 103           | 103     | 99.7     | 100                      | 96.8 |
|                     | 9  | 96.0          | 95.4    | 95.8     | 99.4                     | 99.8 |

TMP, TEPともにpHに依存した分解性は認められなかった。

(環境試料分析)

水質及び底質について分析を実施した(図2)。

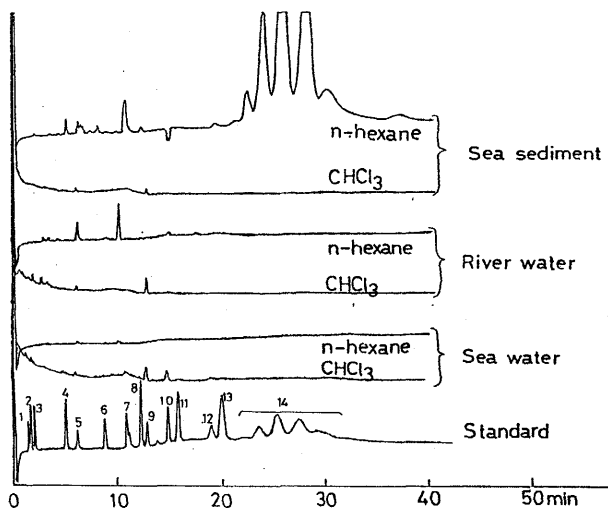


図2. 環境試料のガスクロマトグラム(水質1 $\ell$ , 底質30 $g \rightarrow$ 1 $ml$ に濃縮して測定)

1-TMP, 2-TESP, 3-TEP, 4-TAP, 5-TBP, 6-TNAP, 7-TCPP,  
8-TOP, 9-TCEP, 10-TBXP, 11-ODP, 12-CRP, 13-ToCP, 14-TXP

TMP, TEPは検出されなかったが、底質のヘキサン抽出分画においてTXPが検出された。

〔操作上の注意〕

環境中には多種多様な有機リン化合物が存在している可能性があるため、同定作業においては常に類似化合物の存在を考慮する必要がある。

#### 〔評 価〕

環境試料の微量分析法として、十分適用可能な分析方法である。

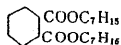
担当者 剣 持 堅 志

#### 参 考 文 献

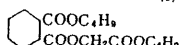
- 1) 剣持堅志他, 食品衛生学雑誌, 21, 18 - 31, ( 1980 )
- 2) 剣持堅志他, 岡山県環境保健センター年報, 3, 175 - 191, ( 1979 )
- 3) 剣持堅志他, 同上, 4, 105 - 110, ( 1980 )
- 4) 剣持堅志他, 同上, 5, 145 - 156, ( 1981 )
- 5) 剣持堅志他, 同上, 5, 167 - 175, ( 1981 )
- 6) 剣持堅志他, 昭和55年度化学物質環境調査分析方法報告書。

フタル酸(ジヘプチル<sup>(1)</sup>), プチルグリコリルプチル<sup>(2)</sup>, プチルベンジル<sup>(3)</sup>, ジイソデシル<sup>(4)</sup>,

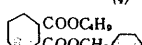
構造式:(1)



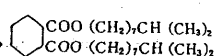
(2)



(3)



(4)



| 略 称           | : D H P  | B P B G | B B P  | D I D P |
|---------------|----------|---------|--------|---------|
| M. W.         | : 362.51 | 336.38  | 312.36 | 446.67  |
| M. P.         | :        | -35     | 40     | -53     |
| B. P.         | :        | 219     | 370    | 420     |
| 比 重           | : 0.969  | 1.097   | 1.110  | 0.969   |
| 水に対する溶解度(ppm) | : 20     | 11      | 13     | 31      |

## § 1. 分 析 法

本分析法は、水試料の場合、*n*-ヘキサンを用いた液々抽出、底質試料の場合、アセトニトリルを用いた固液抽出を行い、同時分析を目的とした含水フロリジルカラムクロマトグラフィーにより主クリーンアップで精製する。なお、狭雑物の多い試料の場合、従クリーンアップによりBBP以外のPAE類は硫酸転溶、BBPは更に前記クロマトグラフィーにより分離溶出させ、GC(ECD), 又はGC-MS(MF法)を用いて定量する方法である。

### 試 験 法

#### 《 試料の前処理 》

(水質試料) 試料 1 l を 2 l 分液ロートにとり、*n*-ヘキサン 100 ml<sup>1)</sup>を加え 10 分間振とう抽出後、静置して *n*-ヘキサン層を分取する。再び、水層に *n*-ヘキサン 100 ml を加えて同様な抽出操作をもう一回繰り返して *n*-ヘキサン層を集める。

*n*-ヘキサン抽出液 200 ml は少量の 5% Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 溶液と共にゆるく振とうして洗浄後、無水硫酸ナトリウムで脱水して、40℃以下の湯浴中でロータリーエバポレーター<sup>2)</sup>を用いて、5 ml まで減圧濃縮する。この濃縮液をカラムクロマトグラフィーにかける。

(底質試料) 底質 40 g (湿泥) を 100 ml 共栓付遠沈管にとり、アセトニトリル 40 ml を加えて 5 分間振とう抽出後、3,000 rpm で遠心分離を行ってアセトニトリル層を分取する。再び、残渣にアセトニトリル 40 ml を加えて同様の抽出操作をもう一回繰り返してアセトニトリル層を集める。全アセトニトリル抽出液 80 ml を、2 l 分液ロートに予め用意した 5% Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 溶液 400 ml に投入し、更に、*n*-ヘキサン 100 ml を加え振とう機で 10 分間振とうする。静置後、分離した *n*-ヘキサン層を分取する。再び、水層に *n*-ヘキサン 100 ml を加え同様な抽出操作をもう一回繰り返して、*n*-ヘキサンを分取する。全 *n*-ヘキサン抽出液 200 ml は少量の 5% Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 溶液と共にゆるく振とうして洗浄する。<sup>3)</sup> 以下水質の項と同様に、洗浄した *n*-ヘキサン層は脱水し、更に濃縮してカラムクロマトグラフィー(二等分して、<sup>4)</sup> 主及び従クリーンアップ)にかける。

#### 《 試料液の調製 》

##### (主クリーンアップ)

上記各試料の濃縮液 5 ml を含水フロリジルカラム(10×300 mmのカラムに 2 g のフロリジルを *n*-ヘキサンを使って湿式充填し、この上層に更に無水硫酸ナトリウムを 1 cm の高さに層積して調製)に少量の *n*-ヘキサンで負荷する。受器を設置し 3 ml/min の速度で液面をカラムヘッド面まで下げてから *n*-ヘキサン 100 ml で洗浄する。この *n*-ヘキサン 100 ml (1 st. Fr.)<sup>5)</sup> は捨てる。再び、受器を変えて *n*-ヘキサンと液面に断続がないように 0.5%

アセトニトリル-*n*-ヘキサン (0.5 : 100) 100 ml を用いて 3 ml/min の速度で溶出させる。<sup>6)</sup> この溶出液 (2nd.Fr.) は、少量の 5% Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 溶液と共にゆるく振とうして洗浄した後、40℃以下の湯浴中でロータリーエバポレーター<sup>2)</sup>を使って減圧濃縮し (1~5 ml), GC (ECD) 又は GC-MS 測定用試料液とする。

(從クリーンアップ)

(1) DHP, BPBG, DIDE (他の PAEs 類)

(1)-1 硫酸転溶<sup>7)</sup>

各試料について上記カラムクリーンアップした濃縮液 5 ml を 10 ml 共栓付試験管に移し、氷冷する。これに硫酸 (95:5) 1 ml を加えて充分振とうした後、静置する。*n*-ヘキサン層を取り除いた後、硫酸層を氷冷ヘキサンで、更に、3回洗浄した。次に、硫酸層は氷冷した 5% Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 30 ml によく攪はんしながら希釈し、直ちに *n*-ヘキサン 10 ml を加え振とう抽出する。再び、水層に *n*-ヘキサンを加えて同様な抽出操作をもう一回繰り返して *n*-ヘキサン層を集める。全 *n*-ヘキサン抽出液 20 ml は少量の 5% Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で 3回洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで脱水して、減圧濃縮し (1~5 ml), GC (ECD) 又は GC-MS 測定用試料液とする。

(1)-2 BBP

各試料の *n*-ヘキサン濃縮液 5 ml (試料の前処理の項) を含水フロリジルカラム (主クリーンアップカラムと同じ条件で調製) に少量の *n*-ヘキサンで負荷する。受器を設置して 3 ml/min の速度で液面をカラムヘッドまで下げてから 0.2% アセトニトリル-*n*-ヘキサン (0.2 : 100) 50 ml で洗浄する。この *n*-ヘキサン 50 ml (1st.Fr.)<sup>8)</sup> は捨てる。再び受器を変えて *n*-ヘキサンと液面に断続がないように、0.5% アセトニトリル-*n*-ヘキサン (0.5 : 100) 100 ml によって 3 ml/min の速度で溶出させる。この溶出液 (2nd.Fr.) は、少量の 5% Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 溶液と共にゆるく振とうして洗浄した後、40℃以下の湯浴中でロータリーエバポレーターを使って減圧濃縮し (1~5 ml), GC (ECD) 又は GC-MS 測定用試料液とする。

#### 《 空試料液の調製 》

空試料液は分析試料を除いて前処理及び試料液の調製の項に従って調製する。

#### 《 標準液の調製 》

各標準物質 50 mg を正確にはかり、*n*-ヘキサンを加えて 50 ml とし、標準原液を作製する (1,000 ppm 原液)。標準原液より順次希釈し、BPBG, BBP は 0.1~0.4 ppm, DHP は 5~20 ppm, DIDE は 25~100 ppm の溶液を作製する。

#### 《 測定 》

(GC-ECD の条件)<sup>9)</sup>

(1) DHP, BPBG, BBP

検出器: ECD

充填剤: DEGS+H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (2+0.5%)

ガスクローム Q (80~100 メッシュ)

カラム: 3mm×1m, ガラスカラム

カラム温度: 180℃, 190℃

キャリアガス: N<sub>2</sub> 1.0 kg/cm

(GC-MS (MF 法) の条件)

充填剤: 2% Dexsil 300 GC

クロモソルブ W-HP (80~100 メッシュ)

カラム: 3mm×2m, ガラスカラム

(2) DIDE

検出器: ECD

充填剤: 2% Dexsil 300 GC

クロモソルブ W-HP (80~100 メッシュ)

カラム: 3mm×1m, ガラスカラム

カラム温度: 260℃

キャリアガス: N<sub>2</sub> 1.0 kg/cm

カラム温度: 210→280℃ (7℃/min)

イオン化電圧: 20 eV

キャリアガス: He, 30 ml/min

フラグメントイオン:  $m/z$ , 149

#### 〔検量線〕

標準液 5  $\mu\text{l}$  をガスクロマトグラフに注入し、ピーク高さにより作成する。

#### 〔定量〕

試料液 5  $\mu\text{l}$  をマイクロシリンジでとり、ガスクロマトグラフに注入して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〕

$$\text{計量値 (PPb)} = \text{GC 検出量 (ng)} \times \frac{\text{最終抽出液量 (ml)}}{\text{GC 注入量 (}\mu\text{l)}} \times \frac{1}{\text{試料量 (ml 又は g)}}$$

#### 〔定量限界〕

水質試料では 1,000 ml、底質試料では 20 g 採取し、GC 用試料液を 5 ml まで濃縮し、その 5  $\mu\text{l}$  を注入した場合について表 1 に示した。

表 1 定量限界

| 試料  | 試料量      | 定量下限値 ( $\mu\text{g/ml}$ , $\mu\text{g/g}$ ) |         |         |         |
|-----|----------|----------------------------------------------|---------|---------|---------|
|     |          | D H P                                        | B P B G | B B P   | D I D P |
| 精製水 | 1 $\ell$ | 0.002                                        | 0.00006 | 0.00008 | 0.007   |
| 河川水 | 1 $\ell$ | 0.002                                        | 0.00006 | 0.00008 | 0.007   |
| 海水  | 1 $\ell$ | 0.002                                        | 0.00006 | 0.00008 | 0.007   |
| 底質  | 20 g     | 0.09                                         | 0.003   | 0.004   | 0.4     |

#### 試薬・器具

##### 《試薬》

n-ヘキサン、アセトニトリル、無水硫酸ナトリウム: 残留農薬分析用試薬

濃硫酸: 精密分析用試薬

フタル酸エステル (DHA, BPBG, BBP, DIDP): 東京化成工業製, 試薬特級

フロリジル: 和光製, 60~80 メッシュのフロリジルを 700℃ で 20 時間焼成したのち、デシケーター中で放冷し 5.7% 含水したもの。

##### 《器具》

ロータリーエバポレーター: n-ヘキサンの濃縮に使用する。

遠心分離機: 泥とアセトニトリルの分離に使用する。カラム: 10×300 mm

#### 注 解

1) 有機物の多い試料はアセトニトリル 50 ml を添加した後、n-ヘキサンで抽出する。

2) K-D 濃縮器を使用すると、特に、ジブチルフタレートの大気からの汚染が認められるため、エバポレーターを使用することにした。

- 3) アセトニトリルが残留すると後のカラムフロマトグラフィーに影響する。水洗は充分に行う。
- 4) 二等分してDHP、BPPG、DIDPとBBPのフローシートへ進む、BBPフローシートでもDHP、BPPG、DIDPの回収は行われ、依雑物の多少によるが、回収率は15%低下する。
- 5) 1 st. Fr. では硫酸化合物が20 ml分画までに溶出し(FPD測定)、また、PCB、有機塩素系農薬の中で溶出の遅いエンドリン(60 mlまでの分画) > デルドリン(90 ml) >  $\delta$ -BHC(100 ml)の順で100 ml分画までに完全に溶出し、これらの物質によるECD測定上の妨害はなくなる。

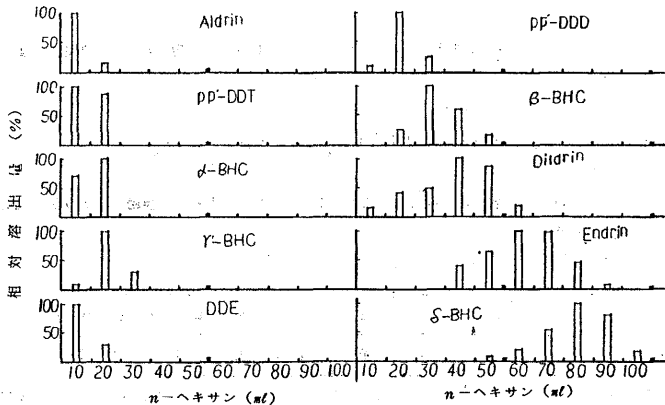


図1. フロリジルカラム(1 st. Fr.)による農薬の溶出状況

- 6) このフラクションで、特に、極性の大きいBPPGは、予め各自溶出パターンを求めてロスがないようにする。
- 7) 主クリーンアップだけでは底質(依雑物の多い試料)のガスクロマトグラム(FID測定、Rt.のDBP~DHP間)に多数のピークが存在し、クロマトグラム(ECD)のベースをみだす。そこで、硫酸転溶を行えば依雑物のピークも消え、クロマトグラムのベースを安定にする。硫酸転溶の操作が不十分な時、再度、この操作を繰り返せば良い結果が得られる。

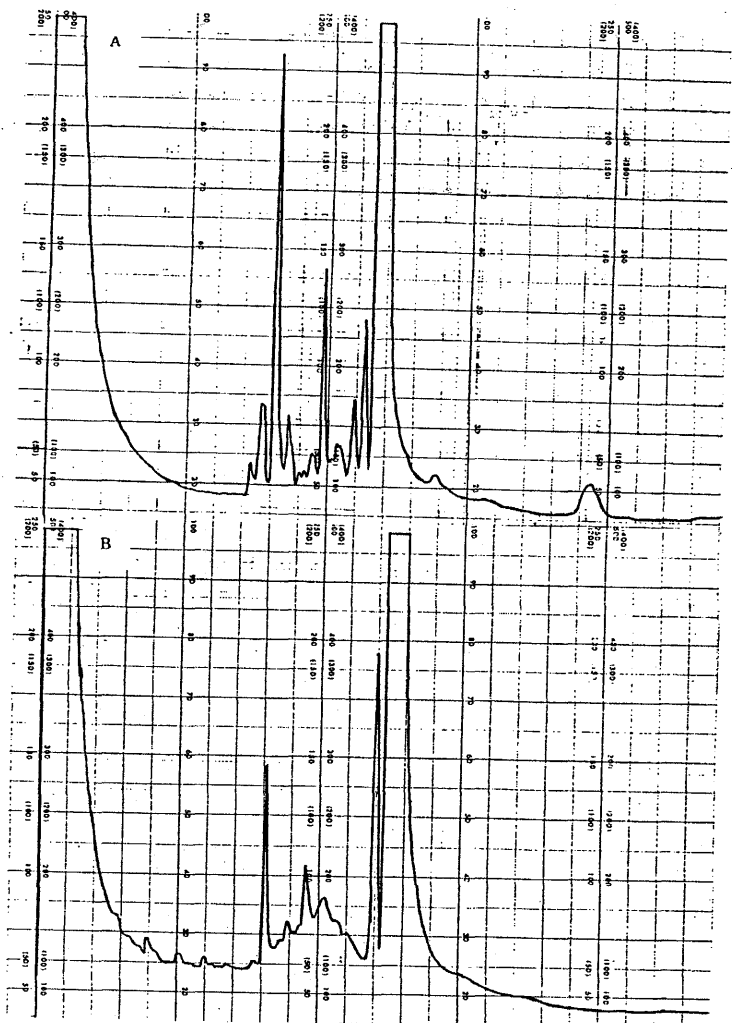


図2 主及び従クリーンアップによる底質のガスクロマトグラム

A : 主クリーンアップ (底質 40  $\mu$ , 5 $\mu$ l/5ml 注入)

B : 従クリーンアップ (底質 40  $\mu$ , 5 $\mu$ l/ml 注入)

- 8) 前記の残渣物はカラムクロマトでBBPより早く溶出し、以後の分画には認められない事により、0.2%アセトニトリル- $\pi$ -ヘキサン50 ml洗浄で、安定したクロマトグラム(ECD)が得られる。
- 9) 充填剤はDEGS+ $H_3PO_4$ , OV-1, Dexsil, SE-30, OV-225, OV-17等検討したが、特に、DEGS+ $H_3PO_4$ は他のPAEsとの分離度、ピーク形が比較的良好であった。溶出順位はDHP>BPBG>BBPの順であった。OV-1はDEGS+ $H_3PO_4$ に比べてややテーリングするが、溶出順位はBPBG>BBP>DHPの順でDEGS+ $H_3PO_4$ と比較すると溶出順位が異なり、確認カラムとして適当と考えられる。DIDPはDEGS+ $H_3PO_4$ の最高使用温度では溶出しないが、耐熱性のDexsil, SE-30はピーク形が一番良好であった。

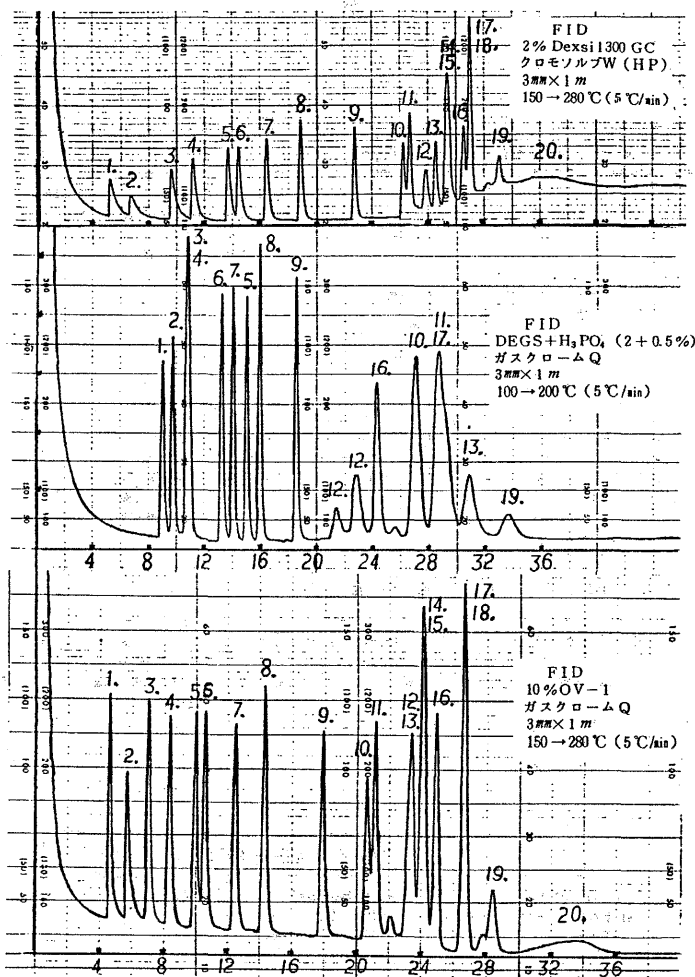


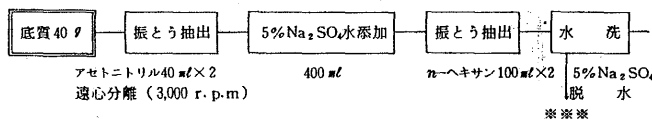
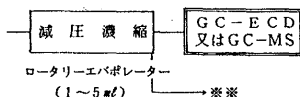
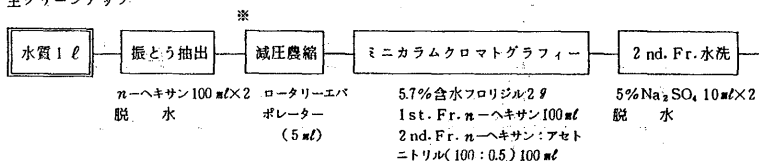
図3. 標準品 (フタル酸エステル類) のガスクロマトグラム

1. Diisomethyl phthalate 2. Dimethyl phthalate 3. Diethyl phthalate  
 4. Diisopropyl phthalate 5. Diallyl phthalate 6. Dipropyl phthalate  
 7. Diisobutyl phthalate 8. Dibutyl phthalate 9. Diamyl phthalate 10.  
 BPBG 11. BBP 12. DHP 13. Di(2-butoxyethyl) 14. Diphenyl phthalate 15.  
 Dicyclohexyl phthalate 16. Di(2-ethylhexyl) phthalate 17. Diisononyl  
 phthalate 18. Dinonyl phthalate 19. Di-n-octyl phthalate 20. Diisodecyl  
 phthalate

〔分析法〕

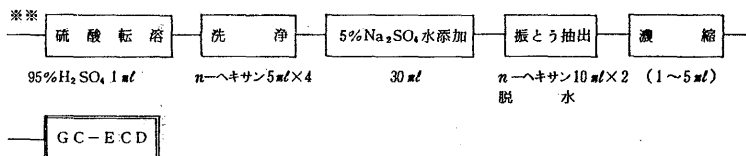
〔フローチャート〕

主クリーンアップ

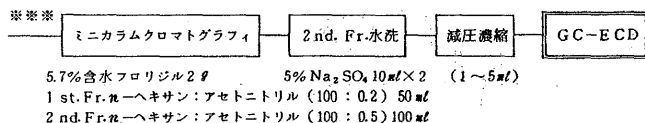


→以下水質※に続く  
 従クリーンアップ

(d) DHP, BPBG, DIDP (その他のPAE類)



(e) BBPのフローチャート



〔分析法の検討〕

1. 検量線, 図3に代表的検量線を示す。

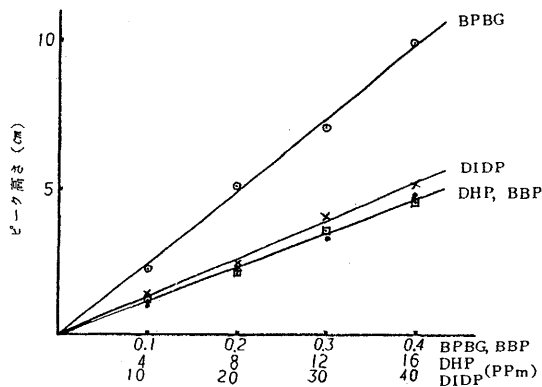


図4. 検量線

## 2. 回収実験結果

表2 回収率

| 試料  | 回収率(%), ( ) 内 C.V. (%) |         |       |         |
|-----|------------------------|---------|-------|---------|
|     | D H P                  | B P B G | B B P | D I D P |
| 精製水 | 95(5)                  | 97(2)   | 98(3) | 99(1)   |
| 河川水 | 92(4)                  | 95(3)   | 97(4) | 100(2)  |
| 海水  | 93(5)                  | 97(2)   | 93(3) | 95(3)   |
| 底質  | 97(4)                  | 84(6)   | 94(3) | 98(2)   |

注) 水質は1ℓに0.5μgを、底質は乾重量20gに0.5μgづつを添加し、DIDPについては各々50μg添加したものについて回収実験を行った。

## 3. 分解性スクリーニング結果

ガラス製攪拌子を入れた130mlのバイアル瓶に、PH 5, 7, 9に調製した蒸留水100mlを入れ、このバイアル瓶中へアセトンに溶解した。DHP, BPBG, BBPを10ppmの濃度となるようにマイクロシリンジにて加えて、10分間マグネティックスターラーで攪拌した。20±5℃の温度条件下にて、この後①1時間後、②暗所にて5日間後、③光照射下にて5日間後(PH 7の分のみ)の濃度の測定を行い、初期濃度を標準にして残存率を算出した。

表3 水中分解性実験結果

| 物質名                         | 放置時間<br>P H | 1 時間 後<br>(A) | 5 日 後   |         | 残 存 率 (%) |       |
|-----------------------------|-------------|---------------|---------|---------|-----------|-------|
|                             |             |               | 暗 所 (B) | 光照射 (C) | B / A     | C / A |
| D H P<br>( $\mu g / ml$ )   | 5           | 9.7           | 9.7     | —       | 100       | —     |
|                             | 7           | 9.4           | 9.4     | 9.4     | 100       | 100   |
|                             | 9           | 9.7           | 8.4     | —       | 86        | —     |
| B P B G<br>( $\mu g / ml$ ) | 5           | 9.5           | 9.5     | —       | 100       | —     |
|                             | 7           | 9.4           | 9.4     | 9.4     | 100       | 100   |
|                             | 9           | 9.5           | 1.8     | —       | 19        | —     |
| B B P<br>( $\mu g / ml$ )   | 5           | 9.5           | 9.5     | —       | 100       | —     |
|                             | 7           | 9.4           | 9.4     | 9.4     | 100       | 100   |
|                             | 9           | 9.6           | 8.7     | —       | 90        | —     |
| D I D P<br>( $\mu g / ml$ ) | 5           | 10.0          | 10.0    | —       | 100       | —     |
|                             | 7           | 9.8           | 9.8     | 9.8     | 100       | 100   |
|                             | 9           | 10.0          | 9.4     | —       | 94        | —     |

## 4. ガスクロマトグラム

図4に標準品のガスクロマトグラムを示す。

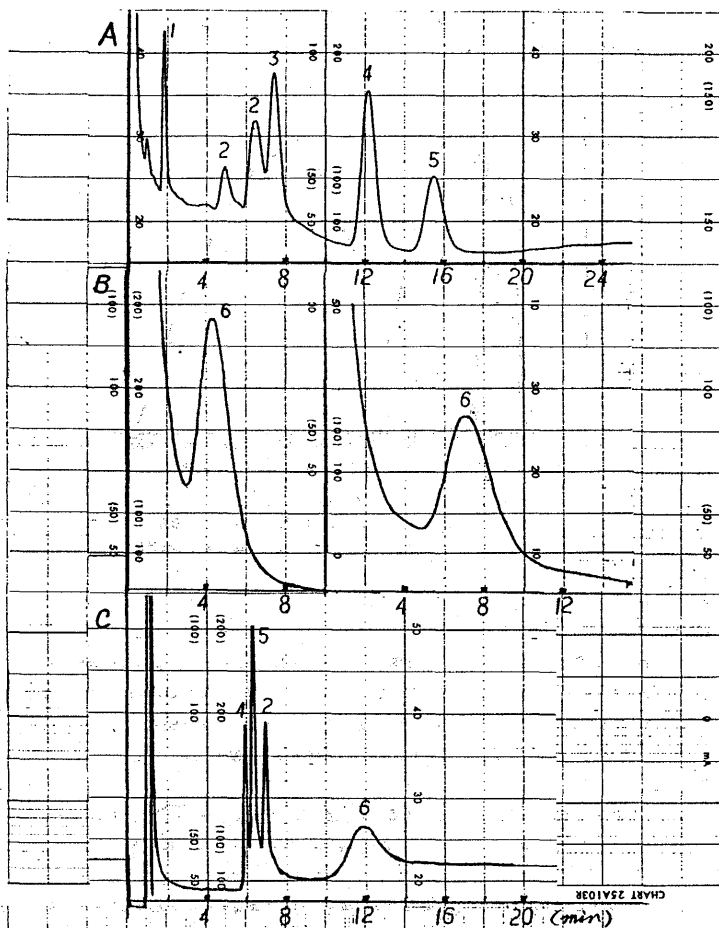


図5. 標準品のガスクロマトグラム

1. DBP, 2. DHP, 3. DEHP, 4. BPBG, 5. BBP, 6. DIDP

A→ECD, DEGS+H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (2+0.5%), ガスクローム Q, 3mm×1m, 180℃

B→FID, 2% SE-30, ガスクローム Q, 3mm×1m,

C→TIM, 2% Dexsil 300 GC, クロモソルブ W-HP, 3mm×2m, 210→280℃ (7℃/min)

## 5. クリーンアップの検討

5.7%含水フロリジルによるクリーンアップを検討した。フロリジルに吸着されたPAEは $n$ -ヘキサンによって溶離されず、図5に示すようにアセトニトリル： $n$ -ヘキサン（0.5：100）で溶離する。

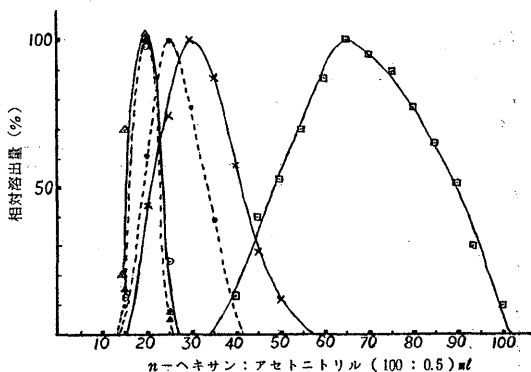


図6 フロリジルカラムからの溶出状況

△-△: DHP, □-□: BPBG, ×-×: BBP,  
○-○: DIDP, .....: DBP, ▲-▲: DEHP

## 〔環境試料分析〕

### 1. 実測データ

河川水、特に、底質からはDOP、DBP、微量にDHP、BPBG、BBPが検出され、代表的な検出例について図7、8に示した。検出感度は、DOP、DBP、DHP、DIDPについてはECDとFIDにあまり差が認められず、FIDでも充分検索され、GC-MSで充分確認された。しかし、BPBG、BBPについてはFIDよりECDの方が100倍の感度で検出され、微量のためGC-MSにより確認できなかった。

### 〔操作上の注意〕

フロリジルクロマト条件は狭雑物を少なくするため、溶出極性溶媒の量を下げているため、特に、極性の大きいBPBGと更にBBP等について、各自溶出パターンを求めてロスがないようにする。

### 〔評 価〕

BPBG、BBPのECDによる検出下限値が低いため環境試料中の微量分析には充填剤を変える事により確認し、又、DHPはECDとFIDにあまり差が認められないがGC-MSの併用により充分適応できると思う。DIDPはGC分析でピークがブロードで、従って、検出下限値も高いため微量分析としては期待できない。

担当者、荻野泰夫、斉藤直己

### 参 考 文 献

斉藤行生他、食衛誌、17、170～175（1976）

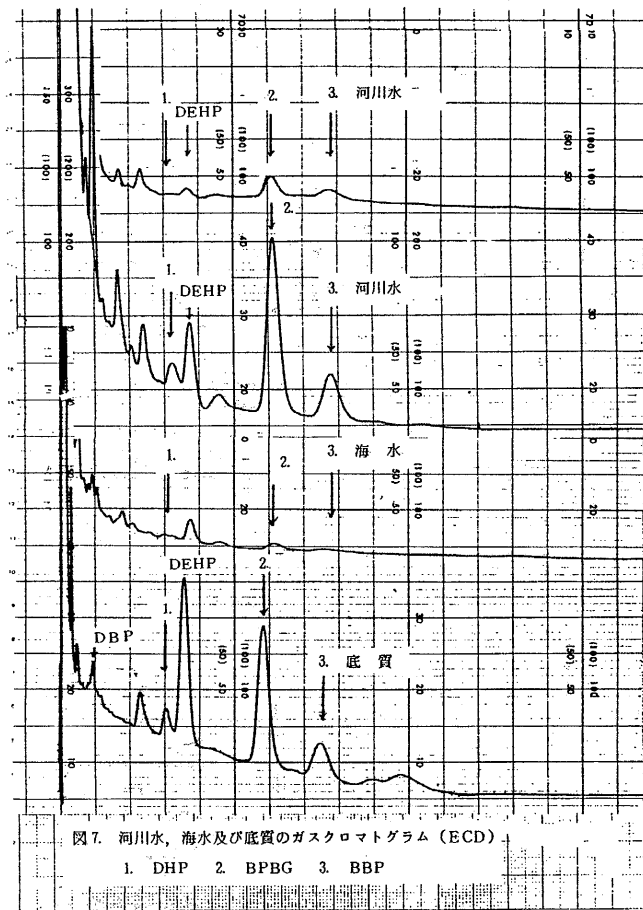


図7. 河川水、海水及び底質のガスクロマトグラム (ECD)

1. DHP 2. BPBG 3. BBP

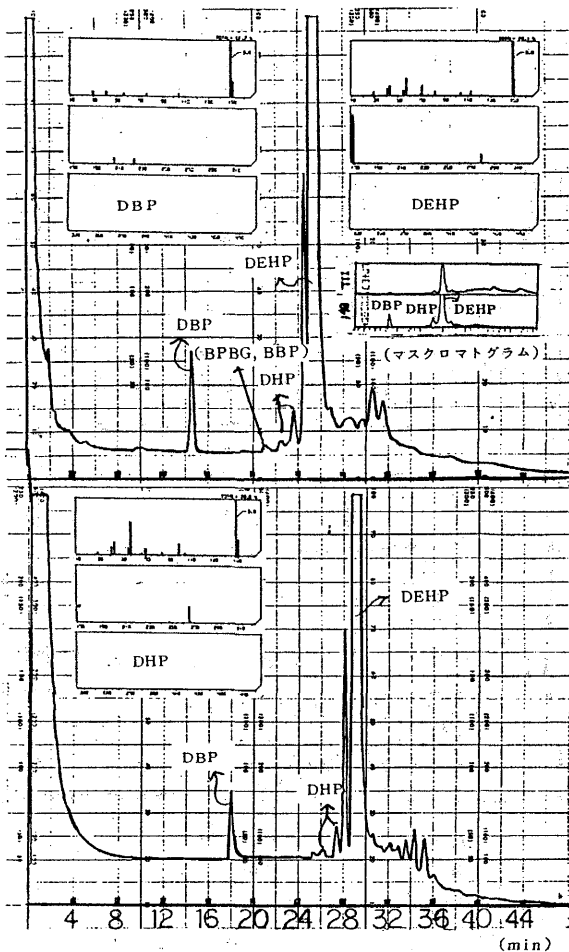


図8. 底質のガスクロマトグラム (FID), マススペクトル

2, 4-ジメチルフェノール

2, 5-ジメチルフェノール

3, 5-ジメチルフェノール

2, 4-Dimethylphenol

2, 5-Dimethylphenol

3, 5-Dimethylphenol

別名 2, 4-, 2, 5-, 3, 5-キシレノール 2, 4-, 2, 5-, 3, 5-Xylenol

|                              | 構造式                                                                               | 分子式          | 分子量    | mp(°C) | bp(°C)         |
|------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|--------------|--------|--------|----------------|
| 2, 4-ジメチルフェノール<br>(2, 4-DMP) |  | $C_8H_{10}O$ | 122.17 | 27-28  | 210            |
| 2, 5-ジメチルフェノール<br>(2, 5-DMP) |  | $C_8H_{10}O$ | 122.17 | 75     | 211.5(762 mm)  |
| 3, 5-ジメチルフェノール<br>(3, 5-DMP) |  | $C_8H_{10}O$ | 122.17 | 68     | 219(Subliming) |

§ 1 分 析 法

本分析法は、水試料についてはジクロロメタンで抽出し、底質試料については水蒸気蒸留後陰イオン交換樹脂でクリーニングアップして、GC/MS (MF, MC)で定量する方法である。

試 験 法

【試料の前処理】

〔水質試料〕 試料1ℓを分液ロートにとり、りん酸5ml、アセトン50ml及びジクロロメタン150mlを加えて10分間振とう抽出し、抽出液を試料処理液とする(注1)。

〔底質試料〕 試料100-150g(湿重量)を正確にはかり、水300mlを用いて水蒸気蒸留のできるフラスコに移し入れる。これに、10W/V%硫酸銅10-20ml(注2)及びりん酸5mlを加えて振り混ぜ、直ちに水蒸気蒸留を行う(注3)。受器に下口摺合わせ付分液ロートを用い、留出速度を毎分10-15mlとして200ml留取し、これを試料処理液とする。

【試料液の調整】

〔水質試料〕 試料処理液を常圧KD濃縮して2mlの定容とし(注4)、試料液とする(注5)。

〔底質試料〕(注6) 試料処理液に、5M NaOH 2mlを加えて振り混ぜ、分液ロートをあらかじめ用意しておいた陰イオン交換樹脂カラム(アンバーリストA-26)に装着して、毎分10-15mlの速さで流下させ各DMPを吸着させる。水10mlで2回分液ロート及びカラムの内壁を洗ったのち、メタノール50ml、水50mlの順でA-26カラムを洗う(注7, 8)。次に、ジクロロメタンを25ml入れた分液ロートを受器にして、4M HCl 25ml、水50ml、アセトン-水(10:1)混液60ml、水60mlの順に流して各DMPを溶離させ(注9)、溶離液の入った分液ロートを振とう抽出する。更にジクロロメタン25mlで抽出を行って抽出液を合わせ、常圧KD濃縮して2mlの定容とし(注4)、試料液とする。

## 【空試料液の調整】

試料と同量の水を用い、【試料の前処理】及び【試料液の調整】の順と同様の操作を行って空試料液とする。

## 【標準液の調整】

2,4-, 2,5-, 3,5-DMP それぞれの 50 mg を正確にはかり、アセトンを加えてそれぞれ 50 ml とし、標準溶液とする (約 1000  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )。これをアセトンで順次うすめて段階的に 0.2 - 2.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  の溶液を作製する (注 10)。

## 【測定】(注 11)

〔GC/MS の条件〕(注 12)

カラム: (2-3) mm  $\phi$   $\times$  (2-3) m, ガラスカラム

セパレート温度: 260  $^{\circ}\text{C}$

充てん剤: (1) KG-02

(180  $^{\circ}\text{C}$ )

イオン源温度: 290  $^{\circ}\text{C}$

(カラム温度) (2) 2% DEGS + 0.5%  $\text{H}_3\text{PO}_4$

(130  $^{\circ}\text{C}$ )

イオン化エネルギー: 70 eV

(注 13) (3) 2% Thermo 1000 + 0.5%  $\text{H}_3\text{PO}_4$  (140  $^{\circ}\text{C}$ )

キャリアガス: ヘリウム, 30 ml/分

注入口温度: 220  $^{\circ}\text{C}$

設定質量数:  $m/z$  122 (107, 121)

〔検量線〕 0.2 - 2.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  の標準液各 5  $\mu\text{l}$  を GC/MS に注入し、ピーク高さまたはピーク面積により作製する。

〔定量〕 試料液 5  $\mu\text{l}$  を GC/MS に注入して得られたピーク高さまたはピーク面積により検量線から求める。

(注 14)

〔計算〕

$$\text{濃度 (または)} \frac{\mu\text{g}/\text{ml}}{\mu\text{g}/\text{g}} = \frac{1}{1000} \times \text{検出量 (ng)} \times \frac{\text{最終試料液量 (ml)}}{\text{GC/MS 注入量} (\mu\text{l})} \times \frac{1}{\text{試料量 (ml または g)}}$$

〔定量下限〕 各 DMP と同様の通り。

|      | 試料量        | 最終試験液量 | 定量下限                           |
|------|------------|--------|--------------------------------|
| 水質試料 | 1 g        | 2 ml   | 0.0004 $\mu\text{g}/\text{ml}$ |
| 底質試料 | 30 g (乾重量) | 2 ml   | 0.013 $\mu\text{g}/\text{g}$   |

注入量 5  $\mu\text{l}$ , 検出下限量 1 ng とした場合。

## 試薬・器具

### 【試薬】

アセトン, ジクロロメタン, メタノール: 残留農薬試験用あるいは各 DMP を含まないもの。

2,4-DMP, 2,5-DMP, 3,5-DMP: 市販品特級

水酸化ナトリウム: 各 DMP を含まないもの

その他の試薬: 特級試薬

水: イオン交換水を蒸留したもの

陰イオン交換樹脂: ロームアンドハース社製アンバーリスト A-26

陰イオン交換樹脂の精製: A-26 をグラスフィルター付きのガラスカラムまたはロートに入れ, 2 M NaOH, 水, 4 M HCl, 水, アセトン, 水の順に洗い (軽く吸引しても良い), アセトン洗液に着色の認められなくなるまで繰り返す (通常 3 回)。次に, A-26 をソックスレー抽出器に移し入れ, アセトン-メタノール (1:1) 混液で 16 時間洗浄を行って, 水洗後, 水中に保存しておく。

### 【器具】

常圧 K.D 濃縮装置, 水蒸気蒸留装置, ソックスレー抽出器, その他のガラス器具: 使用前にアセトンで洗浄しておく。

A-26 カラム: 内径 10 mm, 長さ 300 mm のガラスカラムに精製の A-26 を 12 cm の高さになるように入れ, 0.2 M NaOH 30 ml で水酸基型にし, 水で過剰の NaOH を洗い流して用いる。

- 1) 試料が浸水で、アルカリを加えた時に炭酸塩などの腐り、沈澱を生じない場合、試料 500 ml - 1 l に 5 MN aOH 5 ml を加えて混ぜたあと A-26 カラムに通水処理することができる。
- 2) 試料中のイオウの量に応じて添加量を増す。
- 3) 甲蒸留でも良い。
- 4) 濃縮して 2 ml 以下になった時はアセトンを加えて定容とする。また、2 ml 以上であれば、アセトン少量で器壁を洗い流したあと、窒素ガスをゆるやかに吹きつけて定容とする。なお、注意深く行えば DMP の損失なく 0.1 ml まで濃縮できる。
- 5) DMP と同じ保持時間に  $m/z$  122 及び 107 あるいは 121 のピークが認められた場合、次の処理を行って確認する。試料液に窒素ガスをゆるやかに吹きつけて溶媒をほとんど除去したのち、メタノール 2 ml を加えて内容物を溶かし、水 2 ml を加えた混液を A-26 カラムに移し、メタノール洗浄以下、底質試料と同様の操作を行う。または、試料液を分液ロートに移し、0.1 MN aOH 100 ml、ジクロロメタン 30 ml を加えて逆抽出し、ジクロロメタン相を捨てたあと、 $H_3PO_4$  5 ml を加えてジクロロメタン 30 ml で抽出しても良い。なお、使用充てん剤、ピークの位置に応じて、注 14 を参考にすること。
- 6) 操作の中断は好ましくないが、試料の前処理からジクロロメタン抽出までは連続して行う。
- 7) 洗脱あるいは溶離液が水からメタノール、アセトンに換わると流速が増すので、カラムコックを調整して流速を毎分 3-5 ml とする。
- 8) メタノール、HCl、アセトンを通すとき、A-26 カラム中に気泡が生ずるが、このまま操作を続けると妨害物質の除去が 1 分に行わないだけでなく、DMP の回収率が低下する。この場合、気泡が生じた液を約半量流したところでカラムのコックを閉じ、カラムの外壁を軽くたたいて気泡を大きくまとめると良い。その後、液を少しずつ流しながらこの操作を数回繰り返す。また、気泡の発生が大きいつきは、カラム中にメタノールなどがほとんど残っていない状態で、カラムに栓をしてさかさにして振りながら気泡を除去し、静置後 2 BV の水を通す。
- 9) このままで A-26 カラムは繰り返し使用が可能であるが、mg オーダーの標準物質あるいは着色のばげしい試料を用いたあとは、精製し直す必要がある。
- 10) GC/MS の感度に応じて調整する。2, 4-DMP あるいは 2, 5-DMP と 3, 5-DMP は混合して良い。
- 11) いずれの条件においても 2, 4-DMP と 2, 5-DMP は分離しない。
- 12) 試料液の濃度が概ね  $5 \mu g/ml$  以上であれば GC/MC での定量が可能である。SCAN INTERVAL: 3 sec, MASS RANGE: 90-270 とする 20 以上の物質が同時に測定できる。
- 13)  $m-$ ,  $p$ -クロレゾールが分離する充てん剤であれば他のものでも良い。(2), (3) では 3, 5-DMP と  $p$ -エチルフェノール ( $p$ -Et) が重なる。
- 14) 2, 4-DMP と 2, 5-DMP の合計量、充てん剤 (2), (3) では 3, 5-DMP と  $p$ -Et の合計量を測定することになる。これらの分離法については解説を参照のこと。

## § 2 解 説

### 【分析 法】

〔フローチャート〕



〔分析法の検討〕

1. 検量線 GC/MF における 2, 5-DMP と 3, 5-DMP の検量線を図 1 に示す。

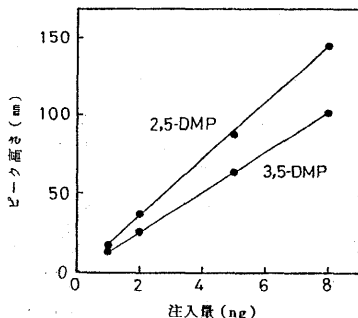


図 1 2, 5-DMP と 3, 5-DMP の検量線 (GC/MF),  $m/z$  122

2. 回収実験結果 水質試料1 gに2,4-DMP, 3,5-DMPを5  $\mu$ gずつ添加して、底質試料100-150 gに2,4-DMP, 3,5-DMPを2  $\mu$ gずつ添加して、それぞれ§.1分析法に従って操作したところ、次に示す結果を得た。

|     |  | 回収率(%) (変動係数) |          | 試行回数 |
|-----|--|---------------|----------|------|
|     |  | 2,4-DMP       | 3,5-DMP  |      |
| 精製水 |  | 88 (7.7)      | 89 (5.0) | 3    |
| 海水  |  | 92 (2.5)      | 93 (5.7) | 3    |
| 底質  |  | 76 (3.7)      | 79 (4.3) | 4    |

2,5-DMP: 底質試料に50  $\mu$ g添加した場合79% (c.v.4.0%) (n=6)であった(MG法による)

3. 分解スクリーニング結果 初期濃度100  $\mu$ g/mlのものについて、各条件とも水溶液2  $\mu$ lをGC-FIDに注入して残存量を求めた。

| P II | 1時間後       | 残存濃度( $\mu$ g/ml) |            | 残存率(%)       |               |
|------|------------|-------------------|------------|--------------|---------------|
|      |            | 5日後               |            | 5日後          |               |
|      |            | 暗所                | 光の当たる所     | 暗所           | 光の当たる所        |
| 5    | 98, 97, 94 | 97, 100, 96       |            | 99, 103, 102 |               |
| 7    | 94, 93, 98 | 94, 94, 93        | 96, 96, 96 | 100, 101, 95 | 102, 102, 103 |
| 9    | 94, 94, 90 | 91, 87, 86        |            | 97, 93, 96   |               |

左: 2,4-DMP, 中: 2,5-DMP, 右: 3,5-DMP

#### 4. クロマトグラム例 標準物質

のマススペクトルを図2に、マスクロマトグラム例を図3, 4に示すが、これらは36種のフェノール類の混合試料チャートの一部分である。KG-02において(図3), 2,4-DMP (+2,5-DMP), 3,5-DMPとも $m/z$  122を選べば他のフェノール類と分離できることがわかる。前者は $m/z$  107が $p$ -クレゾールの影響を受け、後者は $m/z$  121が $p$ -イソプロピルフェノールの影響を受けるので、それぞれ $m/z$  121, 107を確認用とすれば良い。一方、DEGS +  $H_3PO_4$ においては(図4), 2,4-DMP (+2,5-DMP)は $p$ -クレゾールと重なるため、KG-02と同様に $m/z$  122, 121で定量、確認すれば良いが、3,5-DMPは $p$ -Etと重なるので $m/z$  122では、この2物質の合計量が測定されることになり、 $m/z$  107, 121はそれぞれ $o$ - $t$ -ブチルフェノール、 $o$ - $s$ -ブチルフェノールの影響を受けるため確認用には使用できない。

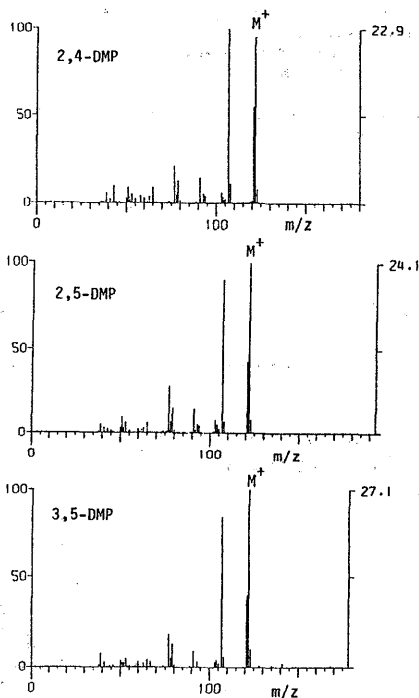


図2. DMPのマススペクトル

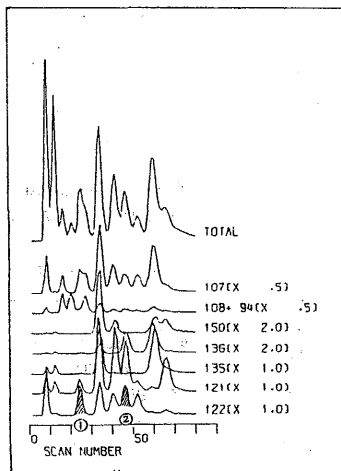


図3. フェノール類のマスキロマトグラム  
(KG-02)

- ① 2,4-DMP + 2,5-DMP  
② 3,5-DMP

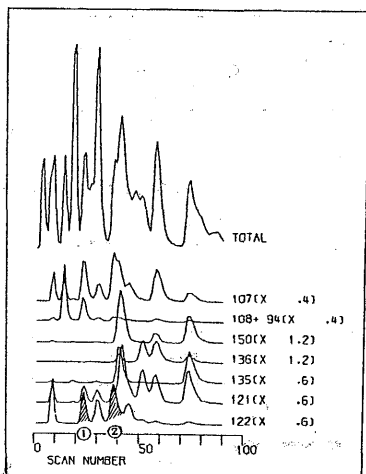


図4. フェノール類のマスキロマトグラム  
(DEGS + H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>)

- ① 2,4-DMP + 2,5-DMP  
② 3,5-DMP + *p*-E<sub>1</sub>

5. 試料の前処理及びクリーンアップ法の検討 A-26カラム法は、C. D. Chriswell らの方法を一部改良して *p*-ノオクチルフェノール、ノニルフェノールなど(昭和52年度分析法報告書)、フェノール、クレゾール(昭和52年度一般環境調査)に適用して良好な結果を得ているので、今回はこれを発展させたものである。昭和52年度では、水蒸気蒸留されにくいナフトールを含んでいたで、アセトン抽出、アルカリ逆抽出を前処理の中心としたが、DMPは水蒸気蒸留されるし、アルカリ逆抽出ではエマルジョンの処理に時間と手間がかかることもあり、今回は水蒸気蒸留を採用した。また、GC/MSを使用するので水蒸気蒸留後のクリーンアップ操作は不要に思われるが、いずれの充てん剤においてもDMPの付近に *m/z* 122, 107, 121 を有する中性物質が現われるため、何らかのクリーンアップは必要であった。なお、A-26カラムの代わりにアルカリ逆抽出を行っても良いが、エマルジョンの処理に時間がかかり、1日で操作を終えることが困難な場合が多い。

6. ブロム化について 現在、2,4-DMPと2,5-DMPを実用的に分離できる充てん剤が市販されていないので、これを分離定量するためには誘導体化する必要がある。これまでにアセチル化、シリルエーテル化、ベンジルエーテル化などが報告されているが、今年度は、ブロム化について簡単な検討を行った。

まず、フェノール類混合水溶液に、0.4N KBr-KBrO<sub>3</sub> 溶液、HClを加えて反応させ、Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>にて反応を停止させた後、ジクロロメタンで抽出した。その結果、2,5-DMP、3,5-DMP、*p*-E<sub>1</sub>はそれぞれ4, 6-ジブプロモ-2,5-ジメチルフェノール、2,4,6-トリブプロモ-3,5-ジメチルフェノール、2,6-ジブプロモ-4-エチルフェノールになることがわかったが、2,4-DMPの生成物は確認できなかった。ここで生成したブロム化フェノールは(2)、(3)の充てん剤において良く分離しており、他のブロム化アルキルフェノールとの重なり(GC/MCの場合)もなかったことから、確認法としては有効な方法だと思われる。反応条件、反応収率など詳しく検討していないので、現在では定量を行うのは無理であるが、更に検討を加えれば、GC-ECDの使用も可能となり、より低濃度の測定が行えると考えられる。参考までに、(3)の充てん剤を用いた時の各ブロム化フェノールの昇温分析保持指標(PTRI)とベースピークを次に示す。

|         |                        | 2, 4-DMP | 2, 5-DMP | 3, 5-DMP | $\rho$ -Et |
|---------|------------------------|----------|----------|----------|------------|
| P T R I | フエノール                  | 1859     | 1859     | 1947     | 1947       |
|         | ブロム化フェノール              | -        | 2095     | 2594     | 2207       |
|         | ブロム化フェノールのベースピーク (m/z) | -        | 280      | 358      | 265        |

(2+0.5)% Thermo 1000+ $\text{I}_2\text{PO}_4$  on Gas ChromQ (80-100メッシュ), 2 m

#### 〔分析例〕

1. 実測データ 広島県内海域の水質1ℓ, 底質100~150gについて分析を試みたが, 一部の底質(最終試料液量0.1ml, GC/MS注入量7~10 $\mu$ l)から2, 4-DMP + 2, 5-DMP (2, 5-DMP換算)が0.6~2.3 ng/g, 3, 5-DMPが0.4~2.7 ng/g検出された。
2. マスフラグメントグラム例 DMPの認められた底質試料のマスフラグメントグラム例を図5, 6に示す。

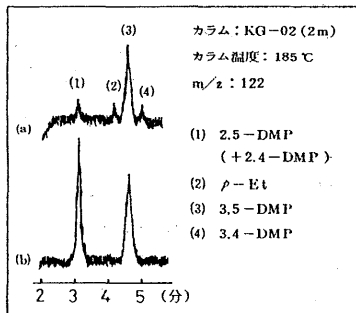


図5. 底質試料と標準物質のマスフラグメントグラム例

- (a) 底質試料-1
- (b) 標準物質(2,5-DMP, 3,5-DMP), 2 ng

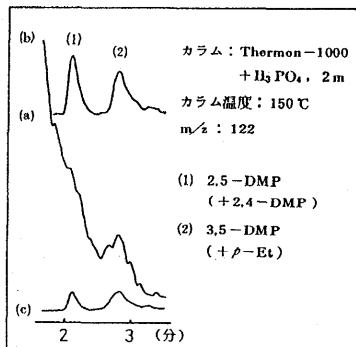


図6. 底質試料と標準物質のマスフラグメントグラム(CMF)の例

- (a) 標準物質(2,5-DMP, 3,5-DMP), 10 ng
- (b) 底質試料-2, A-26処理しない場合
- (c) 底質試料-2, A-26処理した場合

#### 〔操作上の注意〕

1. 試料の保存については検討していないが, JISK0102(フェノール類)に準じた取扱いが好ましいと思われる。
2.  $\text{NaOH}$ はフェノール類を吸収しやすいので標準物質とは別の場所で保管することが望ましい。

#### 〔評 価〕

本分析法により, 水質, 底質中の2, 4-DMP + 2, 5-DMP及び3, 5-DMPの定量を行うことができる。また, 本分析法は水蒸気蒸留されにくいもの( $\rho$ -メトキシフェノール, ナフトールなど)及び水酸基が立体障害を受けているもの(2, 6-ジ-*i*-ブチルフェノールなど)以外の多くのフェノール類の同時分析に使用できる。

担当者 白根 義治 岡本 拓

#### 参考文献

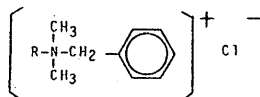
- 1) “昭和52年度化学物質環境調査分析方法報告書”, 環境庁(昭和53年3月) p. 133
- 2) C.D.Chriswell, R.C.Chang and J.S.Fritz, *Anal.Chem.*, **47**, 1325 (1975)
- 3) “Ambient Water Quality Criteria for 2,4-Dimethylphenol”, US.EPA (Oct. 1980) EPA 440/5-80-044
- 4) W.L.Spilthoff and H.Hart, *Anal.Chem.*, **27**, 1492 (1955)
- 5) A.T.Shulgin, *Anal.Chem.*, **36**, 920 (1964)
- 6) JIS K0102 (1981) 規格28
- 7) 小野 晃, 日本化学会第41春季年会講演予稿集I, p. 271 (1980)
- 8) 白根義治, 日本化学会第44秋季年会講演予稿集I, p. 78 (1981)

## アルキルジメチルベンジルアンモニウム クロライド

Alkyldimethylbenzylammonium Chloride

別名 塩化ベンザルコニウム

Benzalkonium Chloride

R=C<sub>12</sub>—C<sub>16</sub>(R=C<sub>8</sub>—C<sub>18</sub> in Pharmacopoeia Japonica)

## § 1 分 析 法

本分析法は、水試料は、オレンジⅡとの錯体をクロロホルムで抽出後、乾固し、テトラヒドロフラン中で水素化アルミニウムリチウムで還元し、生成したアルキルジメチルアミンをn-ヘキサンで抽出、GC-FTDで定量する。底質試料は、超音波処理してメタノールに抽出後、水で希釈し、以下、水試料と同様に操作する。

## 試 験 法

## 【試料の前処理】

「水試料」 試料1ℓを3ℓの分液ロートにとり、塩化ナトリウム30g、1%オレンジⅡ溶液5ml、クロロホルム100mlを加え10分間振とう抽出する。静置してクロロホルム層を分取したあと、水層に再びクロロホルム100mlを加え同様に操作する。クロロホルム層を合わせ、試料処理液とする。

「底質試料」 試料30gを350mlの遠沈管にとり、メタノール100mlを加え、30分間の超音波処理後、3000回転で20分間遠心し、上澄液を2ℓの分液ロートにうつす。残渣には再びメタノール100mlを加えて同様に操作し、えられた上澄液を先の分液ロートに合わせる。これに水500mlを加えてゆるく振りまぜ、以下、水試料と同様に操作して試料処理液をえる。

## 【試料液の調製】

「水試料」 試料処理液を40℃以下の水浴中でロータリーエバポレータにより減圧濃縮したあと、窒素ガスを吹きつけて乾固させる（注1）。残渣は無水テトラヒドロフラン10mlを用いて50mlのナスフラスコへ移し、水素化アルミニウムリチウム50mgを加え、還流冷却器をつけて75℃の湯浴上2時間加熱する（注2）。これを分液ロートにうつし、n-ヘキサン50mlを加えたあと、水をマイクロシリンジで1滴ずつ注意して加え、余剰の水素化アルミニウムリチウムを分解する（注3）。分解終了後、水50mlを加え、エマルジョンを生じないように注意しながら振りまぜ、静置したのちn-ヘキサン層をKD濃縮器の受器に分取する。水層はn-ヘキサン50mlで再び抽出し、n-ヘキサン層を先の受器に合わせる。これにエタノール15mlを加え、40℃以下で減圧濃縮後、エタノールで5mlの定容とし、試料液とする（注4）。

「底質試料」 水試料の場合と同様に操作するが、水素化アルミニウムリチウムの添加量は100mgである。

## 【空試料液の調製】

試料と同量の水を用い、試料の前処理及び試料液の調製の項にしたがって操作してえた試料液を空試料液とする。

## 【標準液の調製】

ラウリルジメチルアミン、ミリスチルジメチルアミン及びステアリルジメチルアミンの各々50mgを正確にはかりとり、それぞれにエタノールを加えて正確に50mlとし1000μg/mlの標準原液とする。これを適宜希釈して0.4～4μg/mlの標準溶液を製する。

## 【測定】

〔GC-FIDの条件〕

カラム管：ガラスカラム（3mmφ×1m）

充てん剤：担体（Celite 545 60/80）

液相（10% PEG 6000）

カラム温度：130℃（2分保持）→170℃（6℃/min）

注入口温度：190℃

キャリアーガス：ヘリウム 40ml/min

〔検量線〕 標準溶液 5μl をガスクロマトグラフに注入し、そのピーク高またはピーク面積により作成する。

〔定量〕 試料液 5μl をガスクロマトグラフに注入し、得られたピーク高またはピーク面積を検量線と比較して定量値を求める。

〔計算〕

$$\text{計算値} \left( \frac{\mu\text{g}/\text{ml}}{\mu\text{g}/\text{g}} \right) = \text{GC検出量} (\text{ng}) \times \frac{\text{最終液量} (\text{ml})}{\text{GC注入量} (\mu\text{l})} \times \frac{1}{\text{試料量} (\text{ml} \text{ または } \text{g})} \times \frac{M}{M-126}$$

$$\left[ \begin{array}{l} R = C_{16} H_{33} \text{ の時 } M = 395 \\ R = C_{14} H_{29} \text{ の時 } M = 367 \\ R = C_{12} H_{25} \text{ の時 } M = 339 \end{array} \right]$$

底質試料は水分を補正し、乾燥試料あたりに換算する。

〔定量限界〕 本分析法の定量限界は Table 1 のとおりである。

Table 1. Lower Limit of Detection

| Sample   |     | Lower limit of detection |
|----------|-----|--------------------------|
| Water    | 1L  | 0.003μg / ml             |
| Sediment | 10g | 0.3μg / mg               |

## 試薬・器具

### 【試薬】

塩化ナトリウム：特級試薬を 500℃で 15時間加熱したのち、デシケーター中で放冷した。

オレンジⅠ：1級試薬，P-（β-ナフトール-アゾ）ベンゼンスルホン酸

水素化アルミニウムリチウム：1級試薬

テトラヒドロフラン：特級試薬を蒸留し、金属ナトリウムを加え脱水した。

n-ヘキサン：残留農薬試験用

メタノール：残留農薬試験用

エタノール：残留農薬試験用

ラウリルジメチルアミン：東京化成製

パルミチルジメチルアミン：東京化成製

ミリスチルジメチルアミン：ミリスチルジメチルベンジルアンモニウムクロライドを水素化アルミニウムリチウムで還元した。

ミリスチルジメチルベンジルアンモニウムクロライド：エーテル-エタノールの混合溶媒で 2 度再結晶し、真空乾燥した。

### 【器具】

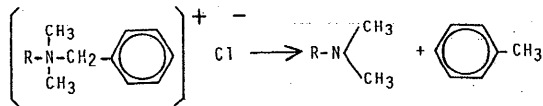
ロータリーエバポレータ：クロロホルムの濃縮に使用する。

減圧用 K D 濃縮装置：n-ヘキサンの濃縮に使用する。

超音波洗浄器：底質からの抽出に使用する。

## 注 解

- 1) 塩化ベンザルコニウムは熱分解を起こしやすいのでクロロホルムを留去する時は水温 40℃ 以下で行い、乾固は窒素を吹きつけて行う。
- 2) 水素化アルミニウムリチウムによる還元分解反応は次のとおりである。また、この分解は完全に無水の状態で行う必要がある。

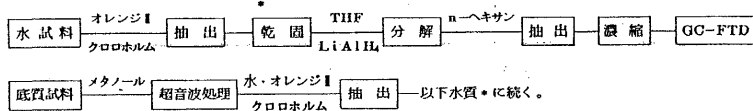


- 3) アルキルジメチルアミンは揮散しやすいので、分解後の余剰の水素化アルミニウムリチウムの分解は、n-ヘキサンを加えた後、マイクロシリンジで水を注意深く滴下して行う。また、n-ヘキサンの留去は、KD濃縮器を用いて水温 40℃ 以下で減圧下で行う。
- 4) アルキルジメチルアミンは、GC 注入時、溶媒による感度差があるので、KD濃縮時エタノールを 15 ml 添加してエタノール溶液に置き換える。

## § 2 解 説

### 【分析法】

〔フローチャート〕



〔分析法の検討〕

1. 検量線 Fig. 1 に代表的検量線を示す。

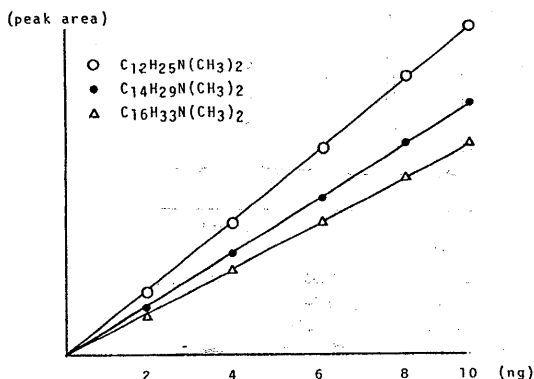


Fig. 1. Calibration Curve of Alkyldimethylamines.

## 2. 回収実験結果

水 1 l および海産底質 30 g にそれぞれ 100  $\mu\text{g}$  のパルミチルジメチルベンジルアンモニウムクロライドを添加し、試料と同様に操作して回収率を求めた。標準には、13.6  $\mu\text{g}/\text{ml}$  のパルミチルジメチルアミン（パルミチルジメチルベンジルアンモニウムクロライドの 100  $\mu\text{g}$  添加に相当）を用いた。結果は Table 2 のとおりである。

Table 2. Result of Recovery Test

| Sample          | Added ( $\mu\text{g}$ ) | Recovery (%) | CV (%) |
|-----------------|-------------------------|--------------|--------|
| Distilled water | 100                     | 84           | 0.45   |
| River water     | 100                     | 80           | 1.0    |
| Sea water       | 100                     | 81           | 0.85   |
| Sea sediment    | 100                     | 43           | 1.4    |

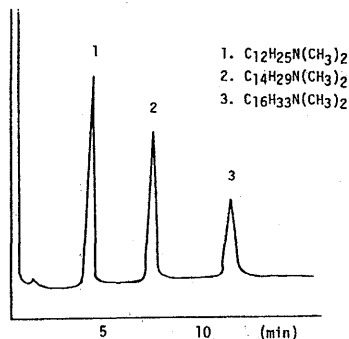
## 3. 分解性スクリーニング結果

pH = 5, 7, 9 に調製した緩衝液 100 ml をテフロン製攪拌子を入れた 130 ml のバイアルビンに入れ、このバイアルビン中にパルミチルジメチルベンジルアンモニウムクロライドを 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$  になるように添加した。10 分間攪拌後、20  $^{\circ}\text{C}$  の温度条件下におき、1 時間後、暗所にて 5 日後、光照射下で 5 日後 (pH = 7 のみ) の 3 条件について濃度測定を行い、初期濃度に対する残存率を算出した。分解実験結果を Table 3 に示す。

Table 3. Result of Decomposition Test

| Standing time<br>pH | 1hr. | 5Days      |                   |
|---------------------|------|------------|-------------------|
|                     |      | Dark place | Light irradiation |
| 5                   | 97   | 96         |                   |
| 7                   | 100  | 99         | 96                |
| 9                   | 98   | 98         |                   |

## 4. ガスクロマトグラム Fig. 2 に代表的クロマトグラムを示す。



Conditions

packing 10%PEG6000 celite545 60/80  
 column 3mm  $\times$  1m  
 carrier He 40 ml/min  
 column T. 130 $^{\circ}\text{C}$  (2min hold)  $\rightarrow$  170 $^{\circ}\text{C}$  6 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$

Fig. 2. Chromatogram of Alkyldimethylamine

〔環境試料分析〕

1. 実測データ 広島県内の河川水 1 試料、海水 9 試料及び海域底質 9 試料について分析を行ったが、いずれも検出限界以下であった。

2. ガスクロマトグラム例 Fig. 3に実試料のクロマトグラムを示す。

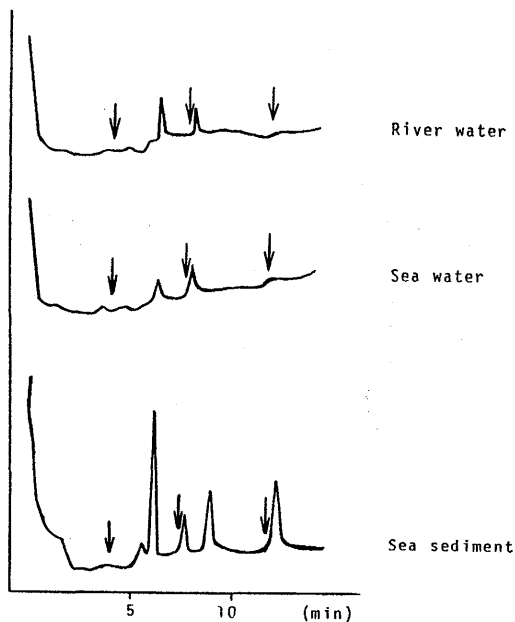


Fig.3. Chromatograms of Samples

〔操作上の注意〕

金属ナトリウムおよび水素化アルミニウムリチウムを使用するので出火しないよう十分注意する必要がある。

【評 価】

この方法により環境中に ppb レベルで存在するベンザルコニウム塩の定量を行うことができる。ただし、ベンザルコニウム塩だけでなく、アルキルトリメチルアンモニウム塩、ジアルキルジメチルアンモニウム塩等、分解してアルキルジメチルアミンとなる物も同時定量することとなる。

担当者 野馬幸生 村上 剛

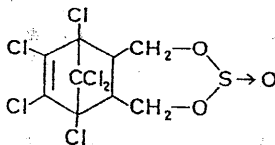
参考文献

- 1) 刈米孝夫, "界面活性剤分析法," 界面活性剤分析研究会編, 幸書房, 東京, 1975.
- 2) 宇野登三, 宮嶋孝一郎, 中川照貞, 分析化学, 15, 584 (1966).
- 3) 大野幸雄, 栗山良子, 田中誠之, 分析化学, 25, 736 (1976).

## エンドサルファン(ベンゾエピン)

1,2,3,4,7,7-hexachlorobicyclo-(2,2,1)-2-heptene-5,6-bisoxymethylene sulfite

別名, チオダン (Thiodan), ナイアガラ 5462 (Niagara 5462)



分子式  $C_{10}H_6Cl_6O_3S$       分子量 406.95

融点  $\alpha$ 異性体 約108℃

$\beta$ 異性体 約208℃

## § 1 分 析 法

本分析法は、水試料については、ヘキサンで抽出し、底質試料については、アセトンで抽出後、ヘキサンに転溶し、脱水、濃縮後フロリジルカラム（底質試料では、フロリジル・活性炭カラム）でクリーンアップを行い、ECD-GCで定量的方法である。

## 試 験 法

## 〔 試料の前処理 〕

〔水質試料〕 試料の1ℓを分液漏斗にとり、ヘキサン100mlを加え10分間振とう抽出する。さらに、ヘキサン50mlを加えて抽出操作を繰り返す。これらのヘキサン層を無水硫酸ナトリウム30gで脱水し、ナス型フラスコに入れ、ロータリーエバポレーターを用いて40℃の水浴上で減圧濃縮し、試料処理液とする。

〔底質試料〕 試料20gを正確にはかり、三角フラスコに入れ、アセトン100mlを加え1時間振とう抽出する。抽出液は汙過し、汙液にヘキサン100mlを加え10分間振とうする。さらに、2%硫酸ナトリウム水溶液300mlを加えおだやかに振とうし、水層を捨てる。その後、水100mlを加えおだやかに振とうし、水層を捨てる操作を3回繰り返す。ヘキサン層を無水硫酸ナトリウムで脱水し、ナス型フラスコに入れ、ロータリーエバポレーターを用いて40℃の水浴上で減圧濃縮し、試料処理液とする。

## 〔 試料液の調製 〕

〔水質試料〕及び〔底質試料〕 試料処理液をあらかじめ用意したフロリジルカラム（底質試料ではフロリジル・活性炭カラム）に入れ、ナス型フラスコを少量のヘキサンで洗い、洗液をフロリジルカラムに入れる。次に、ヘキサン100mlを流し、このとき流出するヘキサンは捨てる。その後、ヘキサン・アセトン混液（9：1）85mlを流し、初めの20mlは捨てる。次に流出してくる65mlをナス型フラスコにとり、ロータリーエバポレーターで減圧濃縮し、20mlに定容してECD-GC試料液とする。

## 〔 空試料液の調製 〕

試料と同じ量の水を用い、〔試料の前処理〕および〔試料液の調製〕と同様に操作して得られる液を空試験液

とする。

#### 〔標準液の調製〕

エルドサルファン ( $\alpha = 2.5 \text{ mg}$ ,  $\beta = 2.5 \text{ mg}$ ) を正確にはかり、ヘキサンを加えて正確に  $2.5 \text{ ml}$  とし、標準原液を作成する ( $\alpha = 1000 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}}$ ,  $\beta = 1000 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}}$ )。標準原液より順次希釈し、 $\alpha$  ( $0.03 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}}$ ,  $0.003 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}}$ ),  $\beta$  ( $0.09 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}}$ ,  $0.009 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}}$ ) の標準溶液を作成する。

#### 〔測定〕

##### 〔ECD-GCの条件〕

カラム管：ガラスカラム

カラム温度：190℃

(内径 2 mm × 長さ 1.5 m)

注入口温度および検出器温度：250℃

充てん剤：担体 (Chromosorb

キャリアーガス：窒素  $2.0 \text{ ml/min}$

WAW, DMCS, 80~100メッシュ)

液相 (3% Silicon XE-60)

〔検査線〕 標準液  $1 \sim 5 \mu\text{l}$  をマイクロシリンジでとり、ガスクロマトグラフに注入し、そのピーク高さにより作成する。

〔定量〕 試料液  $5 \mu\text{l}$  をガスクロマトグラフに注入し、得られたピーク高さにより検査線から定量値を求める。

##### 〔計算〕

$$\text{計算値} \left( \frac{\text{ng}}{\text{ml}} \text{ または } \frac{\text{ng}}{\text{g}} \right) = \text{GC 検出量} (\text{ng}) \times \frac{\text{最終抽出液量} (\text{ml})}{\text{GC 注入量} (\mu\text{l})} \times \frac{1}{\text{試料量} (\text{ml} \text{ または } \text{g})}$$

〔定量限界〕 (注1) 本分析法に基づく定量限界を下記に示す。

|      | 試料量     | 定<br>$\alpha$ | 量<br>$\beta$ | 限<br>界                        |
|------|---------|---------------|--------------|-------------------------------|
| 水質試料 | 1000 ml | 0.02          | 0.06         | $\frac{\text{ng}}{\text{ml}}$ |
| 底質試料 | 20 g    | 1.0           | 2.8          | $\frac{\text{ng}}{\text{g}}$  |

#### 試薬・器具

##### 〔試薬〕

フロリジル：フロリジルPRをエアース中で130℃一夜活性化する。

活性炭：タルコG-60を粉末セルロース（アビセル）と1：10で混合する。

ヘキサン、アセトン、無水硫酸ナトリウム：残留農薬試験用を使用する。

エルドサルファン：特級試薬を使用する。

##### 〔器具〕

フロリジルカラム：ガラス製カラム (15 mm  $\phi$  × 25 cm) にフロリジル 10 g、無水硫酸ナトリウム 8 g (底質の場合、フロリジル 10 g、活性炭 2 g、無水硫酸ナトリウム 5 g) をヘキサンを用いて詰めたものを使用する。

分液ロート (1 L)、ナス型フラスコ (200 ml)、ロート (桐山製, 60 mm)、三角フラスコ (500 ml)、振とう機及びECD付ガスクロマトグラフを使用する。

#### 注 解

1) 本分析法に使用したECD-GCの検出限界はS/Nを3とすると、 $\alpha = 0.005 \text{ ng}$ ,  $\beta = 0.014 \text{ ng}$  である。

【 分析法 】

〔 フローチャート 〕

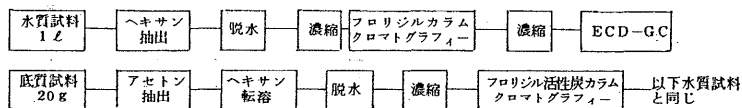


図1 原理図

〔 分析法の検討 〕

1. 検量線 図2, 3に代表的な検量線を示す。

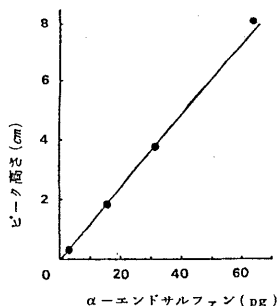


図2  $\alpha$ -エンドサルファンの検量線

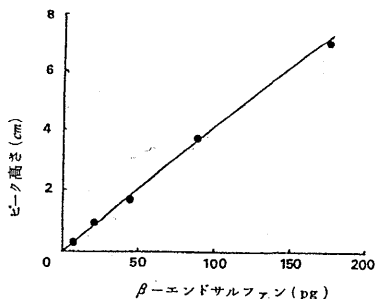


図3  $\beta$ -エンドサルファンの検量線

2. 回収実験結果

(1) 水質試料 水 1 L に  $\alpha = 0.16 \mu\text{g}$ ,  $\beta = 0.44 \mu\text{g}$  のエンドサルファンを添加し、フローチャートに準じて分析し、回収率を求めた。

(2) 底質試料 河川底質 20 g に  $\alpha = 0.16 \mu\text{g}$ ,  $\beta = 0.16 \mu\text{g}$  のエンドサルファンを添加し、フローチャートに準じて分析し、回収率を求めた。

精製水、河川水、海水、河川底質での回収実験結果を下表に示す。

| 試 料   | 平均回収率 (%) |         | 変 動 率 (%) |         |
|-------|-----------|---------|-----------|---------|
|       | $\alpha$  | $\beta$ | $\alpha$  | $\beta$ |
| 精 製 水 | 98.8      | 99.3    | 0.8       | 0.9     |
| 河 川 水 | 94.4      | 95.3    | 1.6       | 2.1     |
| 海 水   | 97.8      | 97.3    | 1.8       | 2.1     |
| 底 質   | 95.7      | 91.0    | 2.3       | 4.2     |

試料数: 5

### 3. 分解性スクリーニング結果

ガラス製攪拌子を入れた130mlのバイアルびんに pH 5, 7, 9に調製した緩衝液100mlを入れ、エンドサルファンのアセトン溶液 ( $\alpha = 0.12 \mu\text{g}/\text{ml}$ ,  $\beta = 0.12 \mu\text{g}/\text{ml}$ ) 100 $\mu\text{l}$ を加え、 $\alpha = 0.12 \mu\text{g}/\text{ml}$ ,  $\beta = 0.12 \mu\text{g}/\text{ml}$ になるよう調製した。これを10分間マグネチックスターラーで攪拌した。20 $\pm$ 5 $^{\circ}\text{C}$ の温度条件下で、1時間後、暗所5日間後、光照射下5日間後 (pH 7のみ)の各濃度を測定し、初期濃度を標準にして残存率を算出した。その結果は次のとおりである。

| pH \ 放置時間 | 1時間 ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) |         | 5日間 ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) |         |          |         | 残存率 (%)  |         |          |         |
|-----------|---------------------------------|---------|---------------------------------|---------|----------|---------|----------|---------|----------|---------|
|           | $\alpha$                        | $\beta$ | 暗 所                             |         | 光 照 射    |         | 暗 所      |         | 光 照 射    |         |
|           |                                 |         | $\alpha$                        | $\beta$ | $\alpha$ | $\beta$ | $\alpha$ | $\beta$ | $\alpha$ | $\beta$ |
| 5         | 0.12                            | 0.12    | 0.12                            | 0.12    |          |         | 100      | 100     |          |         |
| 7         | 0.11                            | 0.11    | 0.11                            | 0.09    | 0.11     | 0.10    | 100      | 82      | 100      | 91      |
| 9         | 0.11                            | 0.09    | 0.00                            | 0.00    |          |         | 0        | 0       |          |         |

初期濃度:  $\alpha = 0.12 \mu\text{g}/\text{ml}$ ,  $\beta = 0.12 \mu\text{g}/\text{ml}$

$$\text{残存率} = \frac{5 \text{ 日間値 } (\mu\text{g}/\text{ml})}{1 \text{ 時間値 } (\mu\text{g}/\text{ml})} \times 100$$

### 4. ガスクロマトグラム

図4に代表的クロマトグラムを示す。

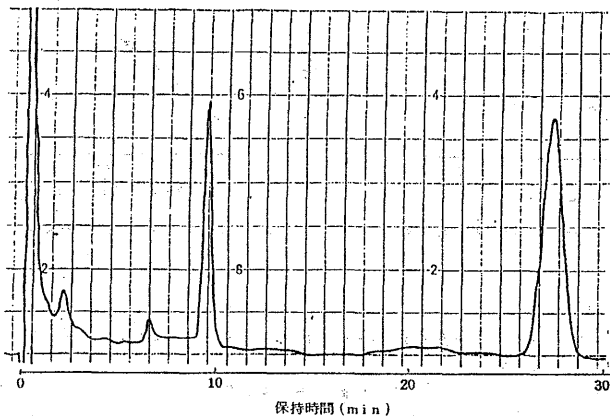


図4. ECD-GCによるガスクロマトグラム ( $\alpha = 0.04 \text{ ng}$   $\beta = 0.11 \text{ ng}$ )

### 5. マススペクトル

図5.6にGC-MSで測定したマススペクトルを示す。

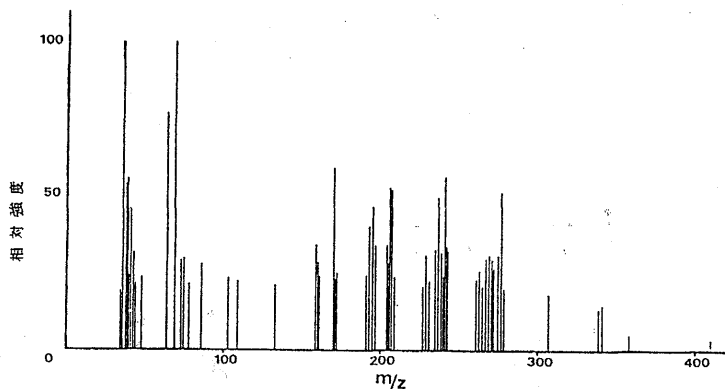


図5  $\alpha$ -エンドサルファンのマススペクトル

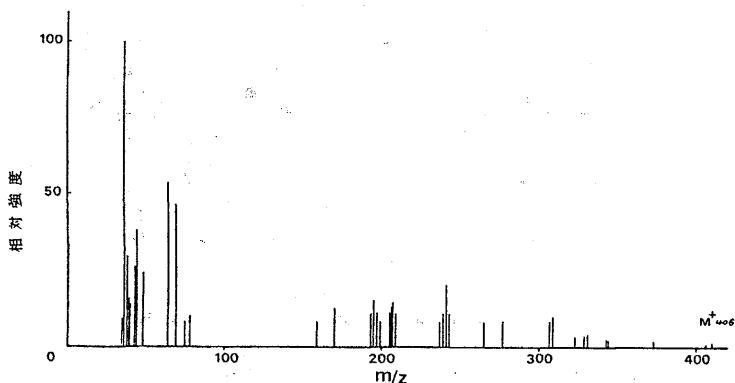


図6  $\beta$ -エンドサルファンのマススペクトル

6. クリーンアップの検討 水質試料処理液をそのままECD-GCにより分析したところ、顕著な妨害がみられた。そこで、フロリジルカラムによるクリーンアップを検討した。フロリジルに吸着されたエンドサルファンはヘキサンによって溶離されず、図7に示すように、ヘキサン・アセトン混液(9:1)の30~50 mlで流出する。そこで、クリーンアップは試料処理液をフロリジルカラムに入れ、ヘキサン100 mlおよびヘキサン・アセトン混液(9:1)85 mlを用い行う。

初めに流出してくるヘキサンおよびヘキサン・アセトン流出液20 mlを捨てた後、次に流出してくる65 mlを分取する。そこで、底質試料処理液を水質試料処理液と同じ操作でクリーンアップをしたところ、着色成分が流出することが判った。着色成分を除くために、クロマトカラムのフロリジル層の上に活性炭・粉末セルローズ混合物(1:10)2 gを詰め、その上層に無水硫酸ナトリウム5 gを詰めてクリーンアップの検討を行ったところ、エンドサルファンは、図8に示すようにヘキサン・アセトン混液(9:1)の30~70 mlで流

出し、流出液は着色しないことが判った。そこで、底質試料処理液のクリーンアップは、フロリジル・活性炭カラムを用いて水試料処理液のクリーンアップと同様の操作とした。

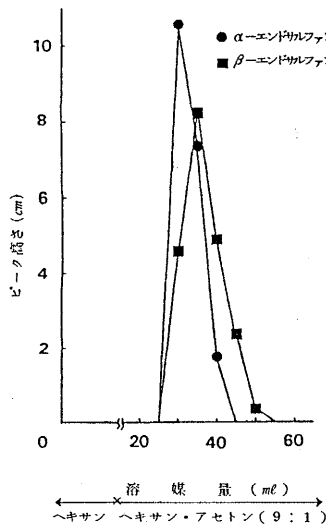


図7 フロリジカラムクロマトグラム

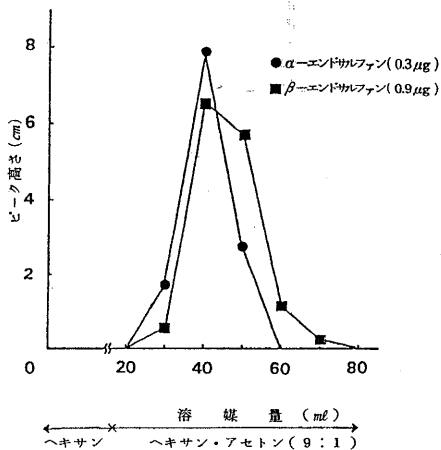


図8 フロリジル・活性炭カラムクロマトグラム

#### [環境試料分析]

1. 実測データ 福岡県の河川水、海水および河川底質各々1試料について分析を行ったが検出されなかった。
2. ガスクロマトグラム例

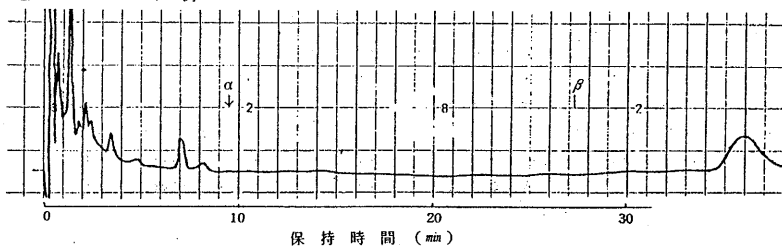


図9 河川水のカスクロマトグラム

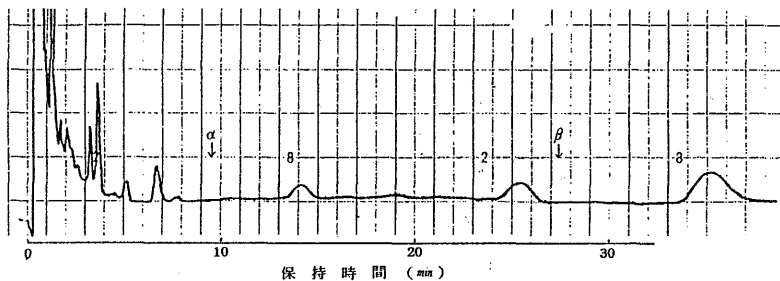


図10 海水のガスクロマトグラム

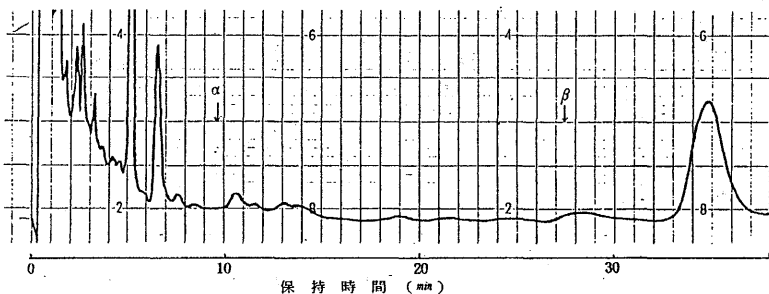


図11 底質のガスクロマトグラム

〔操作上の注意〕

底質試料の場合、ヘキサン転溶後の水洗においてアセトンを十分に除去しておくこと。

〔評価〕

この方法により、環境にppbレベルで存在するエンドサルフェンの定量を行うことができる。

担当者 中 村 又 善

参 考 文 献

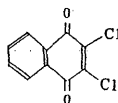
- 1) 武田明治：食品衛生研究，Vol. 26, No. 11, 1052-1064 (1980)
- 2) J. R. W. Miles, P. Moy：Bull. Environm. Contam. Toxicol., 23, 13-19(1979)
- 3) Desiraju M. R. Rao：J. Assoc. Off. Anal. Chem., Vol. 64, No. 2, 340-342(1981)
- 4) 東境亨：昭和54年度，HCB及びPCNに係る環境調査，汚染実態調査実施要領

## 2,3-ジクロロ-1,4-ナフトキノン

2,3-Dichloro-1,4-naphthoquinone

別名 ジクロロDichloro, フェイゴンPhygon

構造式

分子式  $C_{10}H_4O_2Cl_2$ 融点  $193^{\circ}C$ 

分子量 227.05

沸点  $275^{\circ}C$  (2mmHg)

## § 1 分 析 法

本分析法は、水質試料についてはベンゼンで抽出し、底質試料についてはアセトンで抽出後、2%硫酸ナトリウム水溶液共存下にベンゼンで抽出し、脱水、濃縮後フロリジルカラムでクリーンアップした後、ECD付きGCで定量する方法である。

## 試 験 法

## 〔試料の前処理〕

〔水質試料〕 試料1ℓを1.5ℓの分液漏斗に採り、りん酸0.5mlを添加後、ベンゼン50mlを加えて30分間振とう抽出する。静置後、分液した水層に再び、ベンゼン50mlを加えて抽出操作を繰り返す。ベンゼン層を15gの無水硫酸ナトリウムをのせた三角漏斗で脱水して、200mlナス型フラスコに受ける。これを30～40℃の水浴上でロータリーエバポレーターを用いて、約1mlに減圧濃縮し、試料処理液とする。

〔底質試料〕 試料約20gを精秤し、200ml栓付き三角フラスコに採り、10%りん酸水溶液5mlを加えて振り混ぜる。これにアセトン100mlを加え、1時間振とうする。混合液を吸引し、得られた固形分に再びアセトン100mlを加えて、同様に操作する。これらアセトン溶液とベンゼン100mlを1ℓ分液漏斗に入れ、さらに、2%硫酸ナトリウム600mlを加えて、10分間振とうする。静置後、水層を除去し、有機層に2%硫酸ナトリウム100mlを加え同様な操作を3回繰り返す。得られた有機層を〔水質試料〕と同様に脱水し、200mlナス型フラスコに受ける。これを30～40℃の水浴上でロータリーエバポレーターを用いて、乾固直前まで減圧濃縮し、これにベンゼン約1mlを加えて試料処理液とする。

## 〔試料液の調製〕

〔水質試料〕及び〔底質試料〕 試料処理液を予め用意したフロリジルカラムクロマト管に入れる。さらに、ベンゼン5mlを数回に分けてナス型フラスコを洗浄し、洗液をフロリジルカラムクロマト管に加え、流出速度1～2ml/分でベンゼン40mlを流出させ、引き続きアセトン・ベンゼン(1:99)60mlを同様に流す。最初の流出液50mlを除いた後、以後の流出液をすべてKD濃縮用レシーブアンブルに捕集する。この液をロータリーエバポレーターを用いて30～40℃の水浴上で減圧濃縮し、25mlにする。これを試料液とする。

## 〔空試験液の調製〕

試料と同量の水或いは底質を用い、〔試料の前処理〕及び〔試料液の調製〕と同様に操作して得られる液を空試験液とする。

## 〔標準液の調製〕

2,3-ジクロロ-1,4-ナフトキノン(以下、ジクロロと略)100mgを100mlの褐色メスフラスコに採り、

ベンゼンを加えて溶かし100mlとする。これを標準原液(1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ )とした。これを順次希釈し、10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の溶液を調製した。

## 〔測定〕

### 〔ECD付きGCの条件〕

機種：柳本G-1800

カラム温度：162℃

カラム管：ガラスカラム

注入口及び検出器温度：250℃

(内径2mm×長さ1.5m)

キャリアーガス：窒素20ml/分、1.2kg/cm<sup>2</sup>

充てん剤：担体(Chromosorb WAW

ATTENUATOR: 1/8

-DMCS 80-100メッシュ)

液相(3%Silicone XE-60)

〔検量線〕 標準液0.1, 2, 4, 6, 8及び10 $\mu\text{g}/50\text{ml}$  ベンゼン溶液を調製し、5 $\mu\text{l}$ をガスクロマトグラフに注入し、そのピーク高さを方眼紙にプロットする。

〔定量〕 試料液5 $\mu\text{l}$ をマイクロシリンジでとり、ガスクロマトグラフに注入する。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〕

$$\text{計算値 (ng/ml, ng/g)} = \text{GC検出量 (ng)} \times \frac{\text{最終抽出液量 (ml)}}{\text{GC注入量 (}\mu\text{l)}} \times \frac{1}{\text{試料量 (ml, g)}}$$

〔定量限界〕 注) 本分析法に基づく定量限界を下記に示す。

|      | 試料量  | 定量限界      |
|------|------|-----------|
| 水質試料 | 1 L  | 0.08ng/ml |
| 底質試料 | 20 g | 62ng/g    |

最終抽出液量：25 ml, GC注入量：5 $\mu\text{l}$

## 試薬・器具

### 〔試薬〕

りん酸：試薬特級

ベンゼン、アセトン及び無水硫酸ナトリウム：残留農業試験用

フロリジルPR：FLORIDIN社製、乾燥器中(130℃)で一夜活性化した後、使用した。

ガラスウール：ガラスカラムにつめ、ベンゼンを用いて洗浄したもの

ジクロロ：東京化成株式会社製

### 〔器具〕

分液ロート(1.5 L)、三角漏斗、ナス型フラスコ(200ml)、共栓付き三角フラスコ(200ml)、キリヤマロート(径60mm)

フロリジルカラム：ガラス製カラム(1.5cm $\phi$ ×30cm)に活性化したフロリジル7gをベンゼンを用いて詰め、その上に無水硫酸ナトリウム5gをのせたもの

振とう器、ECD付きガスクロマトグラフ、ロータリーエバポレーター

## 注 解

1) 本分析に使用したECD付きGCの検出限界は $S_N$ を3とすると、0.03ngである。

## 〔分析法〕

〔フローチャート〕

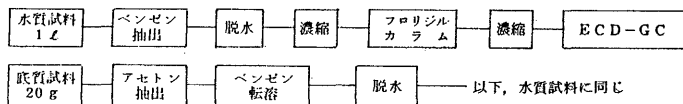


図1 原理図

## 〔分析法の検討〕

## 1. 検量線

図2に代表的な検量線を示す。

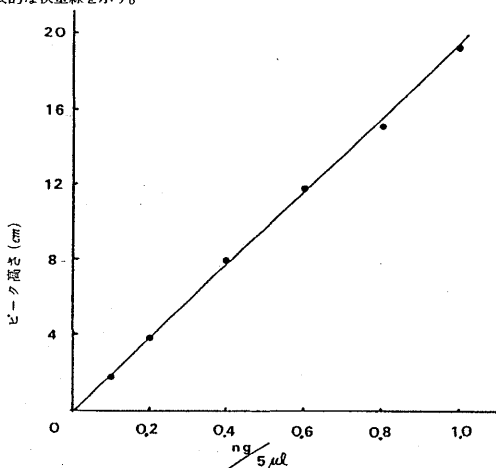


図2 ジクロロンの検量線

## 2. 回収実験結果

(1) 水質試料 水1 Lにジクロロ 2  $\mu\text{g}$  (1  $\mu\text{g}/\text{ml}$  アセトン溶液, 2 ml) を添加後, リン酸 0.5 ml を加え, 50 ml のベンゼンで2回抽出した。脱水, 濃縮後, ECD付きGCにより回収率を求めた。

(2) 底質試料 河川底質 20 g にジクロロ 2  $\mu\text{g}$  (1  $\mu\text{g}/\text{ml}$  アセトン溶液, 2 ml) を添加後, 10% リン酸水溶液 5 ml を加え, 100 ml のアセトンで2回抽出した。2% 硫酸ナトリウム水溶液の共存下でベンゼンへ転溶し, 脱水, 濃縮後, ECD付きGCにより回収率を求めた。

|     | 平均回収率 (%) | 変動率 (%) |
|-----|-----------|---------|
| 精製水 | 8.2       | 5       |
| 河川水 | 9.0       | 1       |
| 海水  | 7.9       | 2       |
| 底質  | 5.8       | 5       |

(各5回の平均)

### 3. 分解性スクリーニング結果

ガラス製攪拌子を入れた 130ml のバイアルびんに pH 5, 7 及び 9 に調製した緩衝液 100ml を入れ、これにジクロン 10 $\mu$ g (10 $\mu$ g/ml アセトン溶液・1 ml) を加えた後、密封する。これを 10 分間マグネチックスターラーで攪拌した。20  $\pm$  5 $^{\circ}$ C の温度条件下で 1 時間後、5 日後及び光照射下 5 日後 (pH, 7 のみ) の各濃度を測定し、1 時間後の濃度を基準にして残存率を算出した。その結果は次のとおりである。

なお、ヘッドスペースにジクロンは認められなかった。

| pH \ 放置時間 | 1 時間後<br>( $\mu$ g/ml) | 5 日後 ( $\mu$ g/ml) |       | 残 存 率 (%) |     |
|-----------|------------------------|--------------------|-------|-----------|-----|
|           |                        | 暗 所                | 光照射   | 暗 所       | 光照射 |
| 5         | 0.100                  | 0.092              |       | 92        |     |
| 7         | 0.095                  | 0.012              | 0.000 | 13        | 0   |
| 9         | 0.000                  | 0.000              |       | 0         |     |

初期濃度: 0.1 $\mu$ g/ml

残存率:

$$\frac{5 \text{ 日後濃度}}{1 \text{ 時間後濃度}} \times 100$$

### 4. ガスクロマトグラム

図 3 に代表的なクロマトグラムを示す。

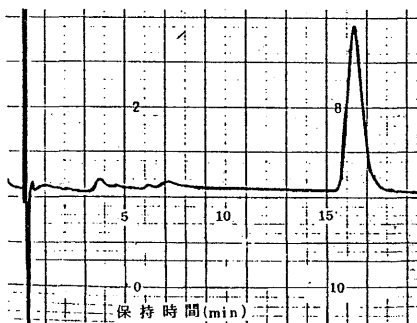


図 3 ECD-GC によるガスクロマトグラム (0.2ng/5 $\mu$ l)

### 5. マススペクトル

図 4 に GC-MS で測定したマススペクトルを示す。

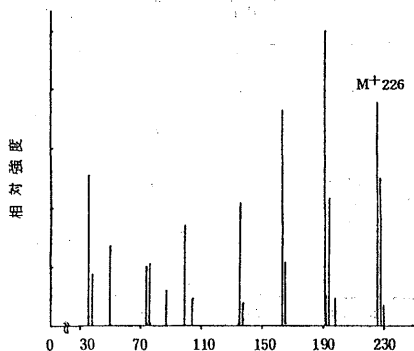


図 4 ジクロンのマススペクトル

6. クリーンアップの検討 ジクロン $2\mu\text{g}$  ( $1\mu\text{g}/\text{ml}$ ベンゼン溶液 $2\text{ml}$ ) をフロリジルカラムクロマト管に入れ、ベンゼンで溶離した。フロリジル $7\text{g}$  及び $10\text{g}$  の場合、前者は $60\sim 110\text{ml}$ 、後者は $90\sim 160\text{ml}$ の間にジクロンの溶離が認められた。一方、文献(2)によると、ベンゼンを流した後、アセトン・ベンゼン(1:99)を溶離液として用いてある。よって、フロリジル $7\text{g}$  に対してベンゼン $40\text{ml}$ を流した後、アセトン・ベンゼン(1:99)  $60\text{ml}$ を用いて溶離することにした。フロリジル $7\text{g}$  を用いた場合の溶離曲線を図5に示す。

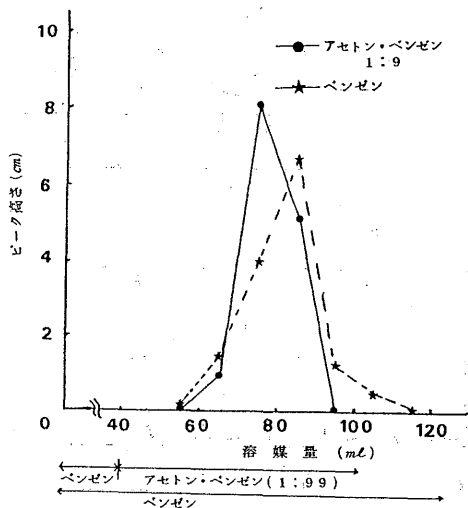


図5 フロリジルカラムクロマトグラム (ジクロン $2\mu\text{g}$ )

#### 7. 添加物の検討

〔水質試料〕 精製水 $1\text{L}$ に次表に示す添加を行った後、ジクロン $2\mu\text{g}$  ( $1\mu\text{g}/\text{mg}$ アセトン溶液 $2\text{ml}$ ) を加えて回収率を検討した。その結果、りん酸 $0.5\text{ml}$ を添加することにした。

| 添 加 物  | 無 添 加 | $\text{Na}_2\text{SO}_4$<br>$20\text{g}$ | $\text{H}_3\text{PO}_4$<br>$0.5\text{ml}$ | $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 20\text{g}$<br>$\text{H}_3\text{PO}_4 \cdot 0.5\text{ml}$ |
|--------|-------|------------------------------------------|-------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|
| 回収率(%) | 68    | 80                                       | 82                                        | 77                                                                                      |

〔底質試料〕 河川底質 $20\text{g}$ に次表に示す添加を行った後、ジクロン $2\mu\text{g}$  ( $1\mu\text{g}/\text{ml}$ アセトン溶液 $2\text{ml}$ ) を加えて回収率を検討した。その結果、 $10\text{ml}$ りん酸 $5\text{ml}$ を添加することにした。りん酸の添加量を増すと経過が困難となり、かつ、ベンゼンへの転溶時にエマルジョン量が多くなることが観察された。

| 添 加 物  | 無 添 加 | $10\% \text{H}_3\text{PO}_4 \cdot \text{ml}$ |    |    |
|--------|-------|----------------------------------------------|----|----|
|        |       | 5                                            | 10 | 20 |
| 回収率(%) | 17    | 69                                           | 69 | 60 |

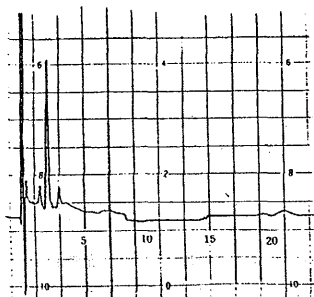
(但し、無添加はアセトン抽出1回のみである)

8. 共存物質：文献3)に記述がある $\delta$ -BHCについては本分析のGC条件下では問題なかった。

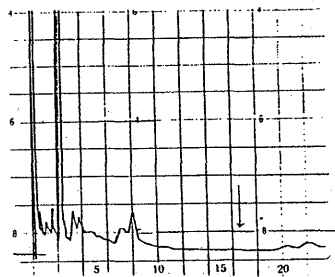
〔環境試料〕

1. 実測データ 福岡県内の河川水、海水及び河川底質各1試料について分析を行ったがジクロロンは検出されなかった。

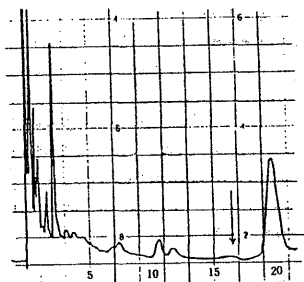
2. ガスクロマトグラム例 (ECD付きGC)



保持時間 (min)  
図6-1 河川水のカスクロマトグラム



保持時間 (min)  
図6-2 海水のカスクロマトグラム



保持時間 (min)  
図6-3 河川底質のカスクロマトグラム

〔操作上の注意〕

分析操作中、特に光を避けることはしなかったが、長時間放置する時は暗所に保存した。

〔評 価〕

この方法により、環境中にppbレベルで存在するジクロロンの定量を行うことができる。

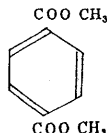
担当者 森 木 弘 樹

参考文献

- 1) Earl R. White et al., J. Agr. Food Chem., Vol 17, 663-588 (1969)
- 2) George A. Miller: Journal of the A. O. A. C., Vol 48, 664-759-762 (1965)
- 3) K. Suzuki et al.: Agr. Biol. Chem., 39 (8) 1433-1442 (1974)
- 4) 昭和54年度 HCB及PCNに係る環境調査, 汚染実態調査実施要領
- 5) 武藤鶴雄, 農薬概説, 1042p, (616-619) 東京, 技報堂 (1970)

## テレフタル酸ジメチル

Dimethyl terephthalate

分子式  $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_4$ 

分子量 194.19

融点  $141 \sim 142^\circ\text{C}$ 沸点  $288^\circ\text{C}$ 

## § 1 分 析 法

本分析法は、水試料については、ヘキサンで抽出し、底質試料については、水蒸気蒸留を行い留液をヘキサンで抽出し、脱水、濃縮後シリカゲルカラムでクリーンアップし、ECD-GCで定量する方法である。

## 試 験 法

## 〔試料の前処理〕

〔水質試料〕 試料1ℓを分液漏斗にとり、無水硫酸ナトリウム20g、ヘキサン50mlを加え10分間振とう抽出する。さらに、ヘキサン50mlを加えて抽出操作をくり返し、ヘキサン層は少量の無水硫酸ナトリウムで脱水し、ナス型フラスコに受ける。ロータリーエバポレータを用いて35℃の水浴上で1mlになるまで減圧濃縮し、試料処理液とする。

〔底質試料〕 試料30gを正確にはかり、ケルダールフラスコに入れ、硫酸銅5g、無水硫酸ナトリウム5g、水50mlを加えて水蒸気蒸留する。留液100mlを分液漏斗にとり、無水硫酸ナトリウム2g、ヘキサン10mlを加え10分間振とう抽出する。さらに、ヘキサン10mlを加えて抽出操作をくり返し、ヘキサン層は少量の無水硫酸ナトリウムで脱水し、ナス型フラスコに受ける。ロータリーエバポレータを用いて、35℃の水浴上で1mlになるまで減圧濃縮し、試料処理液とする。

## 〔試料液の調製〕

〔水質試料〕および〔底質試料〕 試料処理液をあらかじめ用意したシリカゲルカラムに入れ、流出液をメスシリンダーに受ける。ヘキサン5mlを数回に分け、ナス型フラスコを洗浄し、洗液をシリカゲルカラムに入れる。次に、エーテル・ヘキサン混液(1:19)65mlを加え、ヘキサンおよびエーテル・ヘキサン流出液30mlを捨てる。次に流出してくる40mlをナス型フラスコにとり、ロータリーエバポレータで減圧濃縮し、ECD-GC試料液とする。

## 〔空試料液の調製〕

試料と同じ量の水を用い、〔試料の前処理〕および〔試料液の調製〕と同様に操作して得られる液を空試料液とする。

## 〔標準液の調製〕

テレフタル酸ジメチル約10mgを正確にはかり、ヘキサンを加えて正確に100mlとし、標準原液を作製する(約10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ )。標準原液より順次希釈し、約10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、1.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の溶液を作製する。

## 〔測定〕

〔ECD-GCの条件〕

カラム管：ガラスカラム

カラム温度：190℃

(内径3mm×長さ2m)

注入口温度および検出器温度：240℃

充てん剤：担体 (Gas Chrom Q

キャリアーガス：窒素 30 ml/min

80～100メッシュ), 液相

(3%OV-17)

〔検量線〕 標準液1～2μlをマイクロシリンジでとりガスクロマトグラフに注入し、そのピーク高さにより作成する。

〔定量〕 試料液1～2μlをガスクロマトグラフに注入し、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〕

$$\text{計算値 (ng/mlまたはng/g)} = \text{GC検出量 (ng)} \times \frac{\text{最終抽出液量 (ml)}}{\text{GC注入量 (μl)}} \times \frac{1}{\text{試料量 (mlまたはg)}}$$

〔定量限界〕 (注1) 本分析法に基づく定量限界を下記に示す。

|      | 試料量     | 定量限界      |
|------|---------|-----------|
| 水質試料 | 1000 ml | 0.5 ng/ml |
| 底質試料 | 30 g    | 15 ng/g   |

試薬・器具

〔試薬〕

シリカゲル：ワコーゲルC-200をエアース中で180℃4時間活性化したのち、水を加えて5% (5:100, W/V) に調製する。

ヘキサン, エチルエーテル, アセトン, 無水硫酸ナトリウム：残留農薬試験用を使用する。

テレフタル酸ジメチルおよび硫酸銅：特級試薬を使用する。

〔器具〕

シリカゲルカラム：外套管付ガラス製カラム (1cmφ×30cm) に水道水かん流を行い、シリカゲル4gをヘキサンを用いて詰めしたものを使用する。

分液漏斗 (1L, 100ml), ナス型フラスコ (200ml), 水蒸気蒸留装置, 振とう機, およびECD付ガスクロマトグラフを使用する。

注 解

1) 本分析法に使用したECD-GCの検出限界はS/Nを3とすると0.1 ngである。

## 【分析法】

〔フローチャート〕

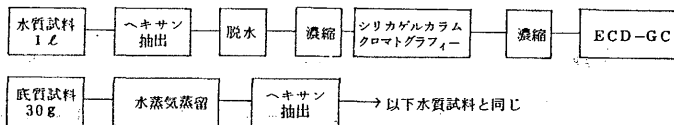


図1 原理図

## 【分析法の検討】

1. 検量線 図2に代表的検量線を示す。

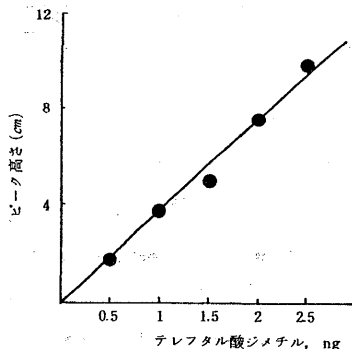


図2 テレフタル酸ジメチルの検量線

## 2. 回収実験結果

(1) 水質試料 水1 Lに10  $\mu$ gのテレフタル酸ジメチルを添加し、フローチャートに準じて分析し、回収率を求めた。塩析剤に塩化ナトリウムおよび硫酸アンモニウムを用いた時、妨害ピークが認められた。

(2) 底質試料 河川底質30 gに10  $\mu$ gのテレフタル酸ジメチルを添加し、フローチャートに準じて分析し、回収率を求めた。水蒸気蒸留操作時、水酸化ナトリウムで塩基性とする回収率は0%であった。また、酸、アルカリ無添加では、酸(塩酸)添加に比較して、若干の回収率の低下がみられた。硫酸銅添加では、塩酸添加と同程度の回収率が得られた。

| 試料  | 平均回収率(%) | 変動率(%) |
|-----|----------|--------|
| 精製水 | 95.5     | 3.6    |
| 河川水 | 86.5     | 5.8    |
| 海水  | 94.3     | 6.4    |
| 底質  | 87.9     | 6.1    |

各5回の平均

### 3. 分解性スクリーニング結果

ガラス製攪拌子を入れた 130ml のバイアルびんに pH 5, 7, 9 に調整した緩衝液 100ml を入れ、テレフタル酸ジメチルのアセトン溶液 (10 mg/ml) 200  $\mu$ l を加え、20  $\mu$ g/ml の濃度になるように調整した。これを 10 分間マグネチックスターラーで攪拌した。20  $\pm$  5  $^{\circ}$ C の温度条件下で、1 時間後、暗所 5 日間後、照射下 5 日間後 (pH 7 のみ) の各濃度を測定し、初期濃度を標準にして残存率を算出した。その結果は次のとおりである。

| pH \ 放置時間 | 1 時 間           | 5 日 後           |                 | 残 存 率 % |       |
|-----------|-----------------|-----------------|-----------------|---------|-------|
|           |                 | 暗 所             | 光 照 射           | 暗 所     | 光 照 射 |
| 5         | 19.9 $\mu$ g/ml | 19.4 $\mu$ g/ml |                 | 97      |       |
| 7         | 19.8 $\mu$ g/ml | 18.8 $\mu$ g/ml | 18.8 $\mu$ g/ml | 95      | 95    |
| 9         | 19.6 $\mu$ g/ml | 8.3 $\mu$ g/ml  |                 | 42      |       |

### 4. ガスクロマトグラム 図 3 に代表的クロマトグラムを示す。

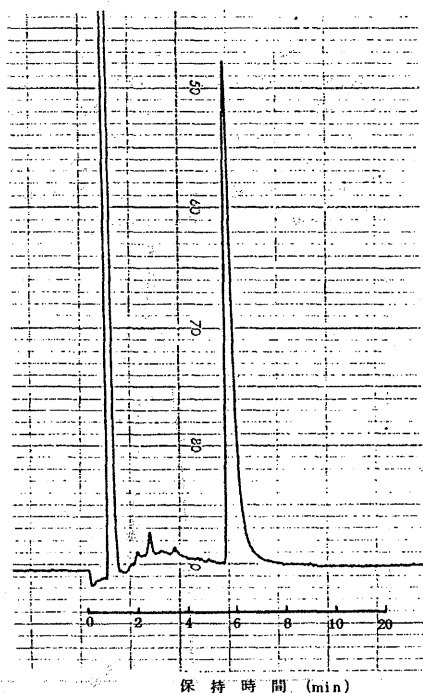


図 3 ECD-GCによるガスクロマトグラム (25ng)

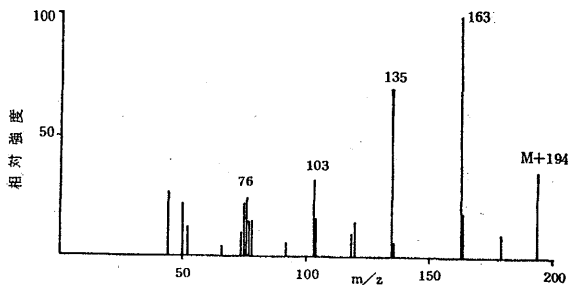


図4 テレフタル酸ジメチルのマススペクトル

6. クリーンアップの検討 試料処理液をそのままECD-GCにより分析したところ、テレフタル酸ジメチルの保持時間の前後に妨害成分がみられた。そこで、シリカゲルカラムによるクリーンアップを検討した。シリカゲルに吸着されたテレフタル酸ジメチルはヘキサンによって溶解されず、図5に示すように、エーテル・ヘキサン混液(1:19)の28~48 mlで流出する。そこで、クリーンアップは試料処理液をシリカゲルカラムに入れ、ヘキサン5 mlで洗ったのち、エーテル・ヘキサン(1:19)を用い、初めに流出してくるヘキサンおよびエーテル・ヘキサン流出液30 mlを捨てたのち、次に流出する40 mlを分取する。なお、フタル酸ジブチルはテレフタル酸ジメチルと分離せずECD-GC分析において、テレフタル酸ジメチルの後方にピークが出現する。

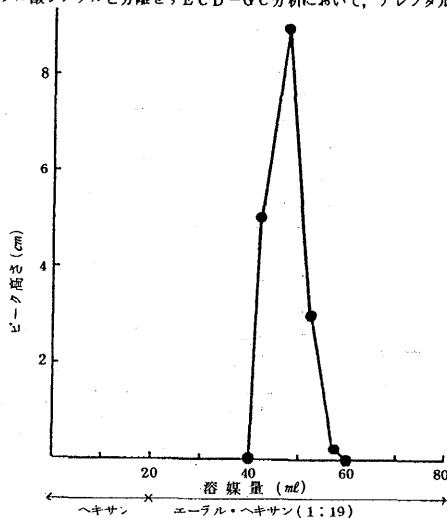
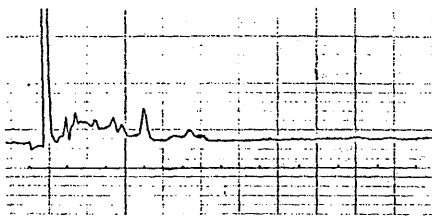


図5 シリカゲルカラムクロマトグラム  
テレフタル酸ジメチル: 400 μg

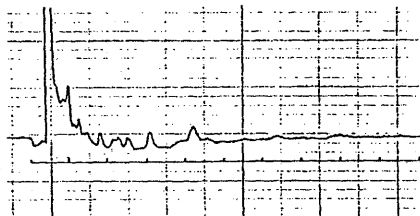
〔環境試料分析〕

1. 実測データ 福岡県の河川水、海水および河川底質各々1試料について分析を行ったが検出されなかった。
2. ガスクロマトグラム例



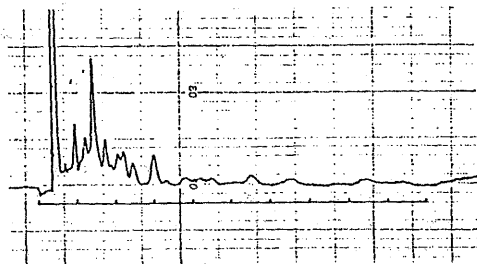
保 持 時 間 (min)

図 6-1 河川水のカクロマトグラム



保 持 時 間 (min)

図 6-2 海水のカクロマトグラム



保 持 時 間 (min)

図 6-3 底質のカクロマトグラム

〔操作上の注意〕

濃縮操作においては乾固しないこと。

〔評 価〕

この方法により、環境に ppb レベルで存在するテレフタル酸ジメチルの定量を行うことができる。

担当者 森 田 邦 正

参 考 文 献

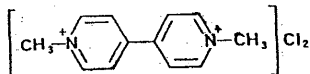
- 1) L. Fishbein, P.W. Albro : J. Chromatogr. 70, 365 (1972)
- 2) D. T. Williams : J. Assoc. Off. Anal. Chem., 56, 181 (1973)

## 1,1'-ジメチル-4,4'-ビピリジニウムジクロライド

1,1'-Dimethyl-4,4'-bipyridinium dichloride

別名 パラコート Paraquat

メチルビオロゲン Methyl viologen

分子式:  $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{Cl}_2\text{N}_2$ 

分子量: 257.16

融点:

沸点:

## § 1 分 析 法

本分析法は、水試料については、陽イオン交換樹脂に吸着濃縮し、飽和塩化アンモニウム溶液で溶出、溶出液に水酸化ナトリウム溶液を添加してアンモニアを除き高速液体クロマトグラフ（HPLC）で定量する方法である。

## 試 験 法

## 【試料の前処理】

〔水質試料〕 試料1ℓを耐圧びんにとり、減圧下において超音波洗浄器内で約5分間超音波（注1）をあてた後、陽イオン交換樹脂カラム（ガラス内径1cm、樹脂高さ8～10cm、樹脂の上下にガラスウールをつめる）に滴下速度約5ml/minで通して吸着濃縮する。次に純水100ml、2N塩酸50ml、純水100ml、2.5%塩化アンモニウム溶液50ml及び純水100mlを順次滴下（速度3～5ml/min）して樹脂層を洗浄した後飽和塩化アンモニウム溶液30ml滴下速度約0.7ml/min（10～12滴/min）で溶離し、試料処理液とする。

〔底質試料〕 引き続き検出中

## 【試料液の調製】

〔水質試料〕 200mlナシ型フラスコに移した試料処理液に10M水酸化ナトリウム溶液20mlを添加し、ロータリーエバポレータで5ml以下に濃縮後、塩酸で中和し3紙5種Bを用いて濾過する。濾液を全量25mlにメスアップし、試料液とする。

## 【空試料液の調製】

試料と同じ量の水を用い、〔試料の前処理〕及び〔試料液の調製〕と同様に操作して得られる液を空試料液とする。

## 【標準液の調製】

1, 1'-ジメチル-4, 4'-ビピリジニウムジクロライド（パラコート）約100mgを正確にはかり、純水を加えて正確に100mlとし、標準原液を作製する（約1,000ppm原液）。標準原液より希釈液に飽和塩化ナトリウム溶液を用いて順次希釈し、100ppm及び10～0.5ppmの溶液を作製する。

## 【測 定】

〔HPLCの条件〕

カラム: Unisil C<sub>18</sub> 10μm（内径4.6mm×長さ30cmステンレス製）、カラム温度: 40℃、移動相: 水/メタノール=70/30（5mMオクタンスルホン酸ナトリウム、0.1M硫酸アンモニウム、pH2.2にリン酸で調整）

調整), 流速(圧力):  $1.3 \text{ ml/min}$  ( $85 \text{ kg/cm}^2$ ), 検出器及び波長: 紫外吸光度計,  $254 \text{ nm}$ , フルスケール:  $0.02 \text{ AUF}$ , チャート送速度:  $0.25 \text{ cm/min}$ , 試料注入量:  $50 \mu\text{l}$

〔検量線〕 標準液  $50 \mu\text{l}$  を HPLC に注入し, そのピーク高さにより作成する。

〔定量〕 試料液  $50 \mu\text{l}$  をマイクロシリンジでとり, HPLC に注入する。得られたピーク高さより検量線から定量値を求める。

〔計算〕

計量値 = HPLC 検出量 ( $\mu\text{g/ml}$ )  $\times$  試料液量 ( $25 \text{ ml}$ )  $\times 1 /$  試料量 ( $\text{ml}$  又は  $\text{g}$ )

〔定量限界〕 本分析法に基づく定量限界を下記に示す。

|                                                      | 試料量               | 定量限界             |
|------------------------------------------------------|-------------------|------------------|
| 水質試料                                                 | $1000 \text{ ml}$ | $25 \text{ ppb}$ |
| 最終試料液量: $25 \text{ ml}$ , HPLC 注入量: $50 \mu\text{l}$ |                   |                  |

## 試薬・器具

### 〔試薬〕

塩化ナトリウム, 塩化アンモニウム, 硫酸アンモニウム, リン酸, 水酸化ナトリウム及び塩酸: 特級試薬を使用する。

メタノール: HPLC 用を使用する。

1-オクタンスルホン酸ナトリウム: アルドリッチ社製を使用した。

1, 1'-ジメチル-4, 4'-ビビリジニウムジクロライド (バラコート): シグマ社製を使用した。

純水: 脱イオン水を全硬質ガラス製蒸留器で蒸留して使用する。

ガラスウール: 市販のガラスウールを熱水で充分洗って使用する。

陽イオン交換樹脂: Dowex AG 50W-X8 ( $100 \sim 200$  メッシュ) を使用した。

### 〔器具〕

陽イオン交換樹脂カラム: 内径  $1 \text{ cm}$   $\times$  長さ  $30 \text{ cm}$  のガラスカラムに陽イオン交換樹脂  $6 \sim 7 \text{ ml}$  (内径  $1 \text{ cm}$   $\times$  高さ  $8 \sim 10 \text{ cm}$ ) を入れたものを使用する。

超音波洗浄器: 水試料中の S S 成分の微細化に使用する。

ロータリーエバポレータ: 試料液の濃縮に使用する。

## 注 解

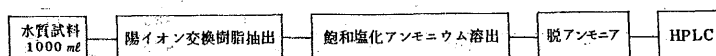
1) 陽イオン交換樹脂カラムに試料水を通水する際の目づまり及び発泡を防ぐために行う。

## § 2 解

## 説

### 〔分析法〕

〔フローチャート〕



底質試料: 検討中である。

〔分析法の検討〕

1. 検量線

図1に代表的な検量線を示す。

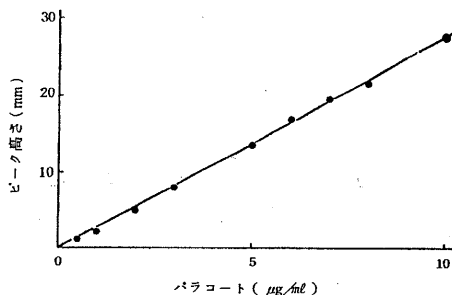


図1 パラコートの検量線

2. 回収実験結果

(1) 水質試料 水 1 L に 200  $\mu$ g のパラコートを添加し、陽イオン交換樹脂カラムに通したのち、飽和塩化アンモニウム溶液で溶離、水酸化ナトリウムで脱アンモニア後HPLC 分析して回収率を求めた。結果は次のとおりである。

| 試料  | 添加量 ( $\mu$ g) | 試料量 (L) | 回収率 (%) | 回収率の CV |
|-----|----------------|---------|---------|---------|
| 精製水 | 200            | 1       | 96      | 6       |
| 河川水 | 200            | 1       | 77      | 7       |
| 海水  | 200            | 1       | 70      | 5       |

各5回測定

陽イオン交換樹脂に吸着させる際の試料 pH の影響はなかった。また、飽和塩化アンモニウム溶離液 3.0 mL に対して脱アンモニアに要する 1.0 M 水酸化ナトリウム溶液添加量は 2.0 mL 以上である。

(2) 底質試料 底質試料から 1.8 N 硫酸あるいは 6 N 塩酸を用いて抽出後、水試料と同様に陽イオン交換樹脂カラム操作以下に進む方法がある。詳細は引き続き検討する。

3. 分解性スクリーニング結果

ガラス製かく拌子を入れた 130 mL バイアルびんに pH 5, 7, 9 に調整した蒸留水 100 mL をとり、これにパラコート水溶液を 100 ppm の濃度となるようにマイクロシリンジで添加し、10 分間マグネチックスターラーでかく拌した。20  $\pm$  5  $^{\circ}$ C の温度条件下で 1 時間後、暗所 5 日間後及び光照下 5 日間後 (pH 7 の分のみ) の濃度の測定をそれぞれ行い、初濃度を標準にして残存率を算出した。結果は次のとおりである。

| pH \ 放置時間 | 1 時間<br>(ppm) | 5 日間 (ppm) |       | 残存率 (%) |       |
|-----------|---------------|------------|-------|---------|-------|
|           |               | 暗 所        | 光 照 射 | 暗 所     | 光 照 射 |
| 5         | 100           | 97.6       |       | 97.6    |       |
| 7         | 100           | 98.3       | 97.4  | 98.3    | 97.4  |
| 9         | 100           | 97.9       |       | 97.9    |       |

#### 4. 高速液体クロマトグラム

図2に代表的なクロマトグラムを示す。

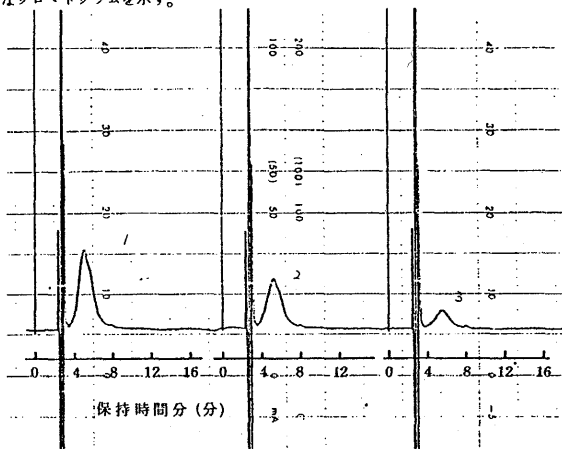


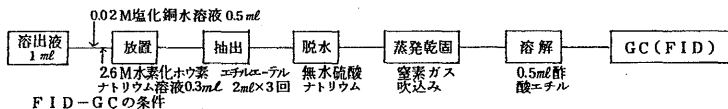
図2 パラコートのHPLCクロマトグラム

1: 8ppm, 2: 5ppm, 3: 2ppm, 注入量: 50 $\mu$ l

#### 5. その他

水素化ホウ素ナトリウム-銅(II)系還元法によるGC(FID)分析が可能である。

その分析法フローチャートを次に示す。



カラム: 5% PEG 20M + 5% KOH (ガスクロム Z 80-100 メッシュ), 3mm × 2m ガラス, カラム温度: 175℃, 注入口温度: 250℃, キャリヤガス: 窒素 3.0 ml/min (1.2 kg/cm<sup>2</sup>), 注入容量: 1~5  $\mu$ l  
GC法による検出限界は約 50  $\mu$ g/l (水試料 1 l に対して) である。

GC-MS により確認をするためには GC カラムに 3% OV-17 (ガスクロム Q 100-120 メッシュ) を使用する。

#### 〔環境試料分析〕

実測データ 河川水 (類型 B) 及び海水 (類型 C) 各 1 検体について分析を行ったが両試料とも検出限界値以下であった。

#### 〔操作上の注意〕

陽イオン交換樹脂カラムから飽和塩化アンモニウム溶液を用いて溶離する時の滴下速度 (10~12 滴/min) は厳守すること。

#### 評 価

HPLC 法によるパラコート検出条件はほぼ完成していると思われるが前処理法の検討が必要である。

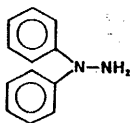
担当者 深 町 和 美

#### 参 考 文 献

- 1) P. F. Lott, J. W. Lott: J. Chromatogr. Sci., 16, 390 (1978)
- 2) L. Needham, D. Paschal, Z. J. Rollen, J. Liddle, D. Bayse: J. Chromatogr. Sci., 17, 87 (1979)
- 3) 船岡茂夫, 広瀬一雄, 河原章司: 衛生化学, 23 (1), 32 (1977)

## 1,1-ジフェニルヒドラジン

## 1,1-Diphenylhydrazine

分子式  $C_{12}H_{12}N_2$ 

分子量 184.23

融点  $35.5^{\circ}C$ 沸点  $220^{\circ}C$  (40mmHg)

## § 1 分 析 法

## 【分析法要旨】

本分析法は、*n*-ペンタン抽出を行い、酸抽出によって妨害物質を除去した後、再度 *n*-ペンタン抽出を行い、濃縮後、GC-FTD で定量する方法である。

## 【試料の前処理】

〔水質試料〕 試料100mlを分液ロートにとり、*n*-ペンタン20mlを加え、10分間振とう抽出する。この抽出操作を2回くり返し、少量の精製水で洗浄する。*n*-ペンタン層を集めて、塩酸(2N)20mlを加え、10分間振とう抽出する。この抽出操作を2回くり返す。塩酸層を別の分液ロートに集め、水酸化ナトリウム溶液(5N)20mlを加えて、よく攪拌する。放冷後、*n*-ペンタン20mlを加え、10分間振とう抽出する。この抽出操作を2回くり返す。*n*-ペンタン層を集め少量の精製水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムを用いて脱水した後、減圧式KD濃縮器で、3~5mlになるまで濃縮する。

〔底質試料〕 試料約20gを正確にはかりとり、共栓付三角フラスコに入れる。メタノール200mlを加え、30分間振とう抽出する。GFP(5G)を用いてろ過した後、少量のメタノールでろ紙を洗浄する。メタノール溶液の容積を記録し、50mlを分取して分液ロートに移す。水酸化ナトリウム溶液(2N)10ml及び精製水50mlを加えて、よく攪拌する。以下、水質試料と同様の抽出操作を行う。

## 【試料液の調製】

窒素ガスを吹きつけて、わずかに *n*-ペンタンが残るまで濃縮し、*n*-ペンタンを加えて正確に1mlとし、試料液とする。

## 【空試料液の調製】

精製水100mlについて、水質試料と同様の操作を行い、得られる液を空試料液とする。

## 【標準液の調製】

1,1-ジフェニルヒドラジン100mgもしくは塩酸1,1-ジフェニルヒドラジン120mgを正確にはかりとり、メタノールを加えて正確に100mlとし、標準原液を作成する(1000ppm原液)。定量直前に、標準原液をメタノールで段階的に希釈し、1~10ppmの標準液を作成する。

## 【測定】

〔GC-FTD条件〕

カラム管：ガラスカラム(内径3mm×長さ2m又は6ft)

充填剤：担体(Uniport HPS 60~80メッシュ)、液相(3%OV-17)

カラム温度：200℃

注入口温度：250℃

キャリアガス：窒素 40 mL/min

〔検量線〕 標準液 5  $\mu$ L をガスクロマトグラフに注入し、ピーク高さにより、検量線を作成する。

〔定量〕 試料液 5  $\mu$ L をガスクロマトグラフに注入し、得られたピーク高さにより、検量線から定量値を求める。

〔定量限界〕 本分析法に基づき定量限界を下記に示す。

|      | 試料量    | 定量限界          |
|------|--------|---------------|
| 水質試料 | 100 mL | 10 $\mu$ g/L  |
| 底質試料 | 20 g   | 0.2 $\mu$ g/g |

最終抽出液量：1 mL、GC注入量：5  $\mu$ L

#### 【試薬、器具】

##### 〔試薬〕

○ n-ペンタン及びメタノール（残留農薬用試薬）

○ 塩酸（2 N） 塩酸（有害金属分析用試薬）1 容と精製水 5 容とを混合する。

○ 水酸化ナトリウム溶液（2 N及び5 N）水酸化ナトリウム 8 g（2 N）及び 20 g（5 N）を、それぞれ精製水 100 mL に溶解させる。

○ 無水硫酸ナトリウム 特級試薬を 500℃ で 4 時間加熱したのち、デシケータ中で放冷する。

○ 1,1-ジフェニルヒドラジン 市販試薬（東京化成）

○ 塩酸 1,1-ジフェニルヒドラジン 市販試薬（東京化成）

##### 〔器具〕

○ 減圧用 K D 濃縮器

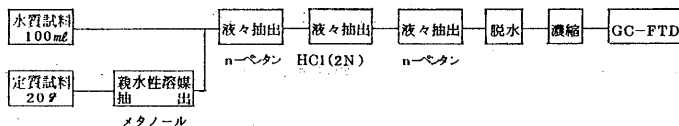
#### 【注 解】

1,1-ジフェニルヒドラジンの市販品（東京化成）は微褐色液状である。容器開封後は長期保存できない。

## § 2 解 説

#### 【分析法】

##### 〔フローチャート〕



#### 【分析法の検討】

〔検量線〕 図 1 に代表的検量線を示す。

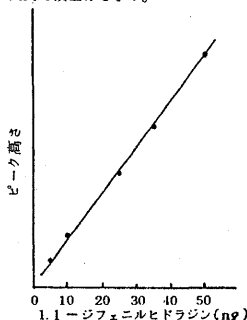


図 1 1,1-ジフェニルヒドラジンの検量線

〔回収実験結果〕 精製水、河川水（B水域）、海水（B水域）、及び底質（B水域）に100  $\mu$ g の1,1-ジフェニルヒドラジンを添加し、全操作を行った。試験回数は、水質試料については各2回、底質試料については4回である。

| 試料  | 添加量         | 試料量    | 回収率    |
|-----|-------------|--------|--------|
| 精製水 | 100 $\mu$ g | 100 ml | 95.9 % |
| 河川水 | "           | "      | 94.7 % |
| 海水  | "           | "      | 94.4 % |
| 底質  | "           | 20 g   | 67.7 % |

〔水中での分解性スクリーニング結果〕

| pH \ 放置時間 | 1 時間 | 5 日間 |      | 残存率 (%) |      |
|-----------|------|------|------|---------|------|
|           |      | 暗所   | 光照射  | 暗所      | 光照射  |
| 5         | 51.4 | 24.7 | 24.7 | 48.1    | 48.1 |
| 7         | 98.0 | 64.7 | 63.7 | 66.0    | 65.0 |
| 9         | 97.0 | 85.6 | 85.6 | 88.2    | 88.2 |

注) pH 5, 7, 及び9のClark-Lubsの標準液各100mlに、メタノール溶液として10  $\mu$ g添加した。

〔標準品のクロマトグラム〕 図2に、代表的クロマトグラムを示す。

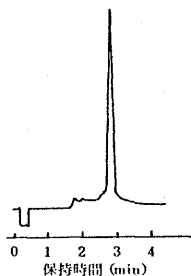


図2 FTDによるクロマトグラム (50  $\mu$ g)

〔分析例〕 河川水、海水、及び底質について分析を行ったが、検出されなかった。

〔操作上の注意〕

- 1,1-ジフェニルヒドラジンは非常に不安定であるため、操作は迅速に行い、標準液は直前に調製しなければならない。

〔担当者氏名〕 重住研一、石川裕一

## チ オ フ ェ ノ ール

## Thiophenol

別名ベンゼンチオール Benzenethiol  
フェニルメルカプタン Phenylmercaptan



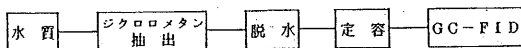
分子式  $C_6H_5S$   
b.p.  $168.3^\circ C$

分子量 110.17

チオフェノールは、酸性水溶液からジクロロメタンにより抽出し、脱水、定容ののち、GC-FIDで分析する。  
なお、チオフェノールは、酸性、中性および塩基性水溶液中で酸化されジフェニルジスルフィドを生じるので、  
環境試料についての分析法の確立にはいたらなかった。以下分析法検討基礎実験の結果を述べる。

## 分析法検討基礎実験の結果

## 1. 分析法フローチャート



## 2. 試薬

アセトンおよびジクロロメタン：特級試薬を蒸留により精製したものを使用した。

チオフェノール：試薬GRを使用した。

## 3. 標準液の調製

チオフェノールを正確に1gひょう量し、アセトンを加えて正確に100mlとし、標準原液を作成した（1%原液）。標準原液を順次希釈し、1000 ppm、100 ppmおよび10 ppmの溶液を作成した。なお、チオフェノールは不安定なため、低濃度の標準液は、用時調製した。

## 4. 測定

チオフェノールの測定は、GC-FIDにジクロロメタン抽出液もしくは水溶液のそのままを1~5μl注入して行った。

〔GC-FIDの条件〕

## 1) ジクロロメタン抽出液

充填剤 : 10% SP-1000 (ユニポート HP 60~80メッシュ)  
カラム : 3mmφ×2m ガラスカラム  
カラム温度 : 180℃  
注入口温度 : 200℃  
キャリアーガス :  $N_2$  , 50 mL/min

## 2) 水溶液

充填剤 : ユニカーボン A-100  
カラム : 3mmφ×1m ガラスカラム  
カラム温度 : 200℃  
注入口温度 : 210℃  
キャリアーガス :  $N_2$  , 50 mL/min

ジクロロメタン抽出液の場合、充填剤はOV-17でも良好なピークが得られた。

# 5. ガスクロマトグラムおよびマススペクトル

チオフェノールのガスクロマトグラムおよびマススペクトルを図-1、図-2に示す。

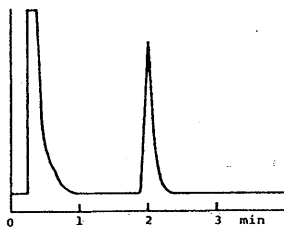


図-1 チオフェノールのガスクロマトグラム

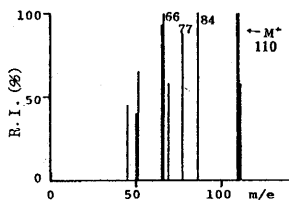


図-2 チオフェノールのマススペクトル

# 6. 溶媒抽出

精製水100mlにチオフェノールを1mg添加し、ジクロロメタン10mlで10分間振とう抽出した結果、1回の抽出で90%以上が回収された。

また、水溶液のpHと抽出率の関係を調べた結果は図-3のとおりであり、pHを7以下として抽出する必要があることがわかった。

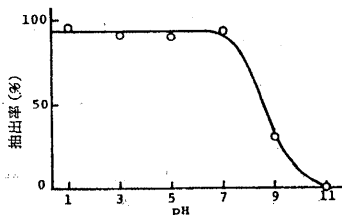


図-3 pHの抽出率におよぼす影響

# 7. 水中での分解性スクリーニング結果

所定の方法で調製したpH 5, 7, 9の緩衝液100mlにチオフェノール1mg/mlアセトン溶液の1mlを加えて10μg/ml水溶液とし、20℃における1時間後、暗所および光照射下にて5日後(pH 7のみ)の残存率を調べた。結果を表-1に示す。すべての条件下でチオフェノールは、ほとんど残存してなかった。

また、時所におけるpH 7および海水(B類型)の分解率の経時変化(1~6日後)を調べた。その結果を図-4に示す。

表-1 分解性スクリーニング試験

| 放置時間<br>pH | 1時間 |     | 5日間 |     | 残存率% |     |
|------------|-----|-----|-----|-----|------|-----|
|            | 暗所  | 光照射 | 暗所  | 光照射 | 暗所   | 光照射 |
| 5          | 78  | 19  |     |     | 24   |     |
| 7          | 91  | 7   | 11  |     | 8    | 12  |
| 9          | 90  | 3   |     |     | 3    |     |

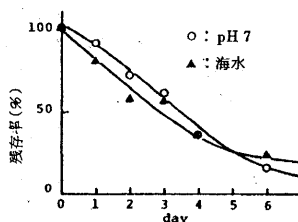


図-4 分解率の経時変化

# 8. チオフェノールの分解生成物の確認

GC / MSを用いてチオフェノールの分解生成物を検討した結果、分解生成物はジフェニルジスルフィド ( $C_{12}H_{10}SSC_{12}H_{10}$ ) であることがわかったジフェニルジスルフィド標準品と分解生成物のガスクロマトグラムを図-5に分解生成物のマスペクトルを図-6に示す。なお、図-5のGC条件は次のとおりである。

3.9 OV-17, 2mm $\phi$   $\times$  2m ガラスカラム  
200 $\sim$ 250 $^{\circ}C$ , 10 $^{\circ}C$  / min

〔担当者〕 門上 希和夫, 衛 藤 修 一

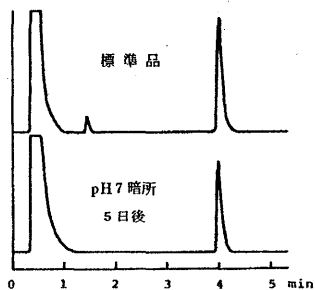


図-5 ジフェニルジスルフィドと分解物のガスクロマトグラム

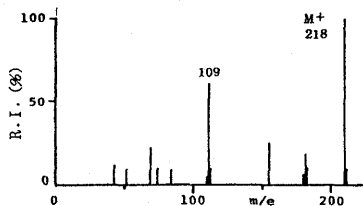


図-6 分解生成物のマスペクトル

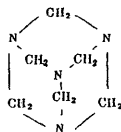
ヘキサメチレンテトラミン  
Hexamethylenetetramine

別名 ユトロピン、ヘキサミン

Urotropin Hexamine

分子式  $C_6H_{12}N_4$  分子量 140

260 ~ 263℃で昇華する。



## § 1. 分 析 法

## 〔分析法要旨〕

本分析法は、水試料についてはジクロロメタンで洗浄後、ヨウ素-ジクロロメタン溶液で抽出し、抽出液に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水後、水酸化カリウムを加えてヨウ素を除去した後、GC-FTDで定量するものである。

## 【水試料】

試料水100mlを分液ロート(200ml)にとり、ジクロロメタン30mlで2回洗浄後、ジクロロメタン層をすてる。水相に2%ヨウ素-ジクロロメタン溶液10mlを加えて20分間振とうし抽出した後、ジクロロメタン抽出液の5mlを栓付きスピッツ管に分取する。これに無水硫酸ナトリウム4gを加えて脱水後、水酸化カリウム1gを加え、ヨウ素の色が消えるまで振とうする。

## 【底質試料】

底質試料50g(湿配)を500ml遠心分離管に取り、50mlの精製水を加えて約10分間振とうする。これを遠心分離機で20分間(3000rpm)遠心分離後、No.5A濾紙を用いて濾過する。同様に、抽出、分離、濾過操作をさらに1回繰り返す。得られた抽出液を合せて水試料と同様に操作する。

## 【標準液の調製】

ヘキサメチレンテトラミン(以下HMTと略称)1gを正確にはかり、メタノールを加えて100mlとし、標準原液とする(1%原液)。標準原液をジクロロメタンまたは精製水で順次希釈し、低濃度の標準液を作製する。標準原液は冷蔵庫に保存し、低濃度の水溶液の標準は用時調整する。

## 【測定】

## 〔GC-FTDの条件〕

カラム管：ガラスカラム(内径2mm×6ft.)  
 充てん剤：4% PEG 20M+0.8% KOH  
 on Carbowack B(80~100mesh)

カラム温度：220℃  
 注入口温度：200℃  
 キャリヤガス：窒素、40ml/min

## 〔GC-FIDの条件〕

カラム管：ガラスカラム(内径2mm×1m)

キャリヤガス：窒素、20ml/min

他の条件はGC-FTDと同様である。

## 〔定量〕試料液2~5μL(通常2μL)をガスクロマトグラフに注入する。

標準液の注入量は試料注入量と同一にする。同一試料について、2回以上注入し、ピーク高を平均する。

〔計算〕 計算値(ppb) = GC検出量(ng) ×  $\frac{\text{最終抽出液量(ml)}}{\text{GC注入量(μL)}} \times \frac{1}{\text{試料量(mlまたはg)}}$

〔定量限界〕 水試料100mlを10mlのヨウ素-ジクロロメタンで抽出した場合の検出限度は10 PPbである。

# 【試 薬】

精製水：蒸留、イオン交換後、XAD-2樹脂カラムに通したもの。

メタノール、ジクロロメタン：試薬特級を蒸留精製したもの。

ヨウ素：試薬特級

水酸化カリウム：試薬特級

無水硫酸ナトリウム：試薬特級を800℃で6時間加熱したもの。

ヘキサメチレンテトラミン：東京化成試薬特級

# 【器 具】

分液ロート (200ml)

共栓付スピッツ管 (10ml)

振とう機

500ml容量のステンレス遠心分離管

FTD付ガスクロマトグラフ

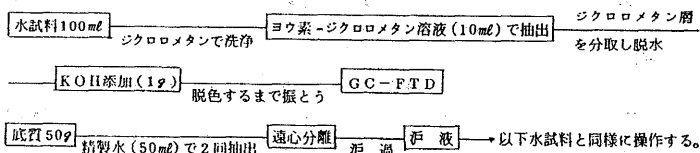
# 注 解

1) ヨウ素-ジクロロメタン溶液は冷蔵所に保存すれば1週間は安定である。

2) HMTは酸性で加水分解してホルムアルデヒドとアンモニアになる。

# § 2 解 説

## 1. 分析フローチャート



## 2. 分析法検討基礎実験の結果

### 1) ヨウ素-ジクロロメタン溶液のヨウ素濃度と抽出率との関係

HMT 50  $\mu$ g を精製水 100ml に添加し、ヨウ素濃度を変化させて、抽出率を検討した結果、図1に示すように2%ヨウ素ジクロロメタン溶液で最も高い抽出率が得られた。

この際ジクロロメタン層で起る反応は次の通りである。

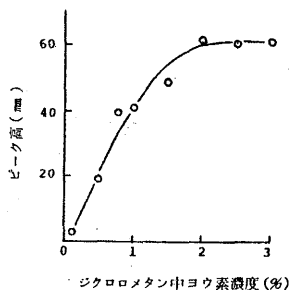
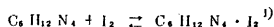


図1 ヨウ素濃度と抽出率との関係

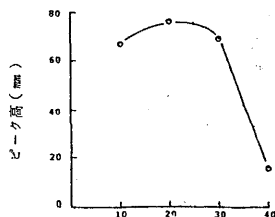
## 2) 振とう時間の検討

精製水100mlにHMT 50  $\mu$ g を添加し、2% ヨウ素—ジクロロメタン10mlで抽出した場合の抽出率と振とう時間との関係を図2に示す。振とう時間20分で最も高い抽出率が得られた。

## 3) 抽出率に及ぼす pH の影響

抽出率と pH との関係を図3に示す。

pH 7 で最も良い抽出率を得た。

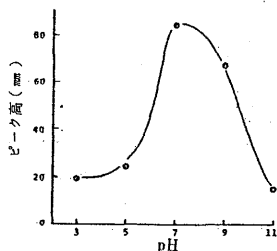


振とう時間(min)

図2 振とう時間と抽出率との関係

## 4) 回収率

| 試料  | 試料量   | 添加量        | 回収率 | 変動係数 | 実験回数 |
|-----|-------|------------|-----|------|------|
| 精製水 | 100ml | 50 $\mu$ g | 73% | 12%  | 4    |
| 海水  | 100ml | 50 $\mu$ g | 65% | 11%  | 4    |
| 河川水 | 100ml | 50 $\mu$ g | 62% | 16%  | 4    |



抽出率に及ぼす pH の影響

## 3. 分解性スクリーニング結果

ガラス製攪拌子を入れた150mlのバイアルビンに、それぞれ pH を 5、7、9 に調整した緩衝液100mlを入れ、これに HMT 標準原液 1ml を加えて 100  $\mu$ g/ml の濃度となるように調整した。これを10分間マグネチックスターラーで攪拌した後、20 $\pm$ 5℃の温度条件で①1時間後 ②5日後(暗所) ③5日後(光照射、pH 7 のみ)の各濃度を測定した。測定法は試料水を直接 GC-FID に注入する方法を用いた。

| 残 存 率 (単位 %) |      |       |       |
|--------------|------|-------|-------|
| 放置時間<br>pH   | 1 時間 | 5 日 間 |       |
|              |      | 暗 所   | 光 照 射 |
| 5            | 97   | 60    |       |
| 7            | 100  | 100   | 100   |
| 9            | 100  | 100   |       |

## 4. ガスクロマトグラム

図4に標準品のガスクロマトグラムを示す。

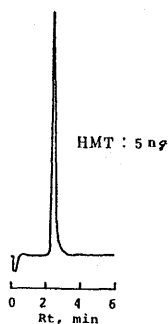


図4 HMTのFTDガスクロマトグラム

## 5. 分析法開発上検討した事項

### 1) 溶媒抽出法

酢酸エチル、ベンゼン、ジクロロメタン、クロロホルム、四塩化炭素、1,2-ジクロロエタン、*n*-ヘキサンを用いて溶媒抽出法の検討を行ったが、いずれの溶媒にもHMTは抽出されなかった。

### 2) イオン交換樹脂による吸着試験

HMTは、アンバーライトIRC50樹脂に吸着され、3N-KOH(メタノール50%)ではほぼ100%回収できるが、河川水にHMTを添加して回収実験を行ったところ、HMTを検出することができなかった。

### 3) 水蒸気蒸留法による分離

pH8~pH12に調整した精製水にHMTを添加して水蒸気蒸留を行ない、留出液をIRC50樹脂に吸着させ、3N-KOH(メタノール50%)で溶出した後、GCで測定したところ、いずれのpHでもHMTは検出されなかった。

### 4) 誘導体(ニトロ化)の検討

HMTをニトロ化して、トリメチレントリニトロアミン(ヘキソゲンまたはRDX)とする反応を検討したが、この反応は無水反応であるため、水試料中でのHMTのニトロ化反応は全く起らなかった。

### 5) 試料を直接GCに注入する方法

Carbopack Bのカラムを用いれば、水試料を直接GCに注入してHMTを測定する事ができる<sup>2)</sup>が、海水試料などの塩類を多量に含む試料を注入すると、カラムの入口に塩が析出してピーク高の再現性が悪くなり、またカラムの寿命が短くなる傾向にある。

## 6. 評価

本分析法はHMT濃度0.5mg/Lのレベルでは、さきに示した回収率と変動係数を示し、分析可能であるが、低濃度の場合はさらに検討が必要である。

## 7. 参考文献

- 1) A.M.Taha et al., Analyst, **105**, 568~574 (1980)
- 2) A.Nieminen et al., J.Chromatogr., **181**, 11~16 (1980)

担当者 小嶋 勉・篠原 亮太

## ヘキサブロモベンゼン

### 1. 試料の精製

【水試料】 試料水1ℓ E2ℓの混合ロータにとり、塩化ナトリウム40g, アセトン50ml,  $\pi$ -ヘキサン100ml Eを加え, 10分間振混ぜる。静置し, 二層に分離したのち, 水層を他の混合ロータに移し, さらに $\pi$ -ヘキサン100ml Eと同様に抽出する。抽出液を合わせ, 4%の塩化ナトリウム溶液50mlで洗浄後, 無水硫酸ナトリウムで脱水し, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>を添加する。この濃縮液をフロリジルカラム(内径1.5cmのカラムにフロリジル10g,  $\pi$ -ヘキサンで湿式充填したもの)に移し,  $\pi$ -ヘキサン100mlで溶かし, 溶出液をK<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>で脱水し, 定容したものを用いてマトグラフ用試料液とする。

【底質試料】 泥50g E 200mlの炭酸ナトリウム溶液にはかりとり, アセトン100ml Eを加え, 30分間振混ぜる。静置し分離後, 上清液を分離し, 残渣に再び100mlのアセトンを加えて再び抽出する。う液を合わせ, ロータリーエバポレーターで約50mlまで濃縮し, 4%の塩化ナトリウム溶液1ℓを加えて混合ロータへ移す。これを100mlずつの $\pi$ -ヘキサンを抽出し, 水試料と同様に精製する。

【分析試料】 細かく乾燥した試料10g Eブレンダー-カップにはかりとり, これに無水硫酸ナトリウム50g,  $\pi$ -ヘキサン100ml Eを加え, 5000~6000 rpmで5分間をミックスする。抽出液を合わせ, 約100mlにK<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>で濃縮し, 50mlの混合ロータへ移す。これを濃硫酸5mlで処理し, 4%の塩化ナトリウム溶液で洗浄し, 無水硫酸ナトリウムで脱水する。22水試料と同様に, フロリジルカラムを以て後の操作を行う。

### 2. 測定

測定はECD-GCにより行う。

【GC条件】

充填剤: 2% Silicone OV-17 Gaschrom Q 60-80 $\mu$ m  
2% Silicone OV-101 Gaschrom Q 60-80 $\mu$ m  
2% Silicone GE SE-30 Chromosorb W  
(AW-DMCS) 60-80 $\mu$ m

カラム:  $\phi$ 3mm  $\times$  2.1m ガラスカラム

カラム温度: 210~250℃

流入口温度: 260℃

キャリアガス: N<sub>2</sub>, 40ml/min

【検量線】  $\pi$ -ヘキサンを標準液として, 一定量のガスフロマトグラフへ注入し, ピーク位置からピーク面積法で検量線を作成する。

### 【定量限界】

ヘキサブロモベンゼンの検出限界は, ECD-GCの感度によって異なるが, およそ0.05 $\mu$ gである。

|      | 試料量 | 最終液量 | 注入量       | 定量限界                                    |
|------|-----|------|-----------|-----------------------------------------|
| 水試料  | 1ℓ  | 5ℓ   | 5 $\mu$ l | 5 $\times$ 10 <sup>-4</sup> $\mu$ g/ml  |
| 底質試料 | 20g | 5ℓ   | 5 $\mu$ l | 2.5 $\times$ 10 <sup>-4</sup> $\mu$ g/g |
| 分析試料 | 10g | 5ℓ   | 5 $\mu$ l | 5 $\times$ 10 <sup>-4</sup> $\mu$ g/g   |

### 3. 試薬・器具

#### 【試薬】

塩化ナトリウム: 試薬特級

硫酸: 濃度分析用

アセトン,  $\pi$ -ヘキサン, 無水硫酸ナトリウム: 残留炭素用

フロリジル: 60-80 $\mu$ m, 130℃で12時間活性化した。

#### 【器具】

ガラス。