

## 水質及び底質中の化学物質の抽出方法等の検討

森 田 一 夫 渡 辺 正 子  
和 田 照 美 (非常勤研究員)

### 1 はじめに

本報告は、昭和63年度から当研究所で実施している「化学物質による環境汚染に関する研究」で、平成4年度に調査対象とした化学物質の分析条件を検討した結果である。

報告する内容は、①底質中の有機すず化合物の抽出方法及び妨害となる硫黄化合物の除去方法、②水質中の2-メルカプトベンゾチアゾールの抽出方法及び検出感度の向上、③ニトロフェノール類の検出感度の向上、の3点についてである。

「化学物質による環境汚染に関する研究」で調査対象とした化学物質のなかには、複雑な操作を伴う分析方法によるものが少なくない。しかしながら、本研究では毎年20~30物質を調査する計画であるため、同一の抽出条件で、できるだけ多くの物質を分析することを前提として従来から検討を行ってきた。

平成4年度は研究の最終年にあたり、分析条件を統一しにくい物質が残る結果となったが、これまで実施してきた分析法を適用することを念頭において上記①~③について検討した。

### 2 底質中の有機すず化合物の抽出方法及び妨害となる硫黄化合物の除去方法

#### (1) 前処理

##### ア 試料の調製

塩化トリブチルすず及び塩化トリフェニルすず標準品をアセトンに溶解し、このアセトン溶液を一定量底泥に添加し試験用試料とした。試料中の標準物質濃度は、表2に掲げた。

##### イ 抽出

抽出条件は、200mlの三角フラスコに試験用試料を30g、メタノール100ml、12N塩酸を1ml加えて水平方向に1時間振とうする。

##### ウ 分離

振とう終了後、抽出液を遠心分離して上澄みをNo5Aのろ紙でろ過し、ろ液を分取する。残さに再びメタノールを100ml加えて同様な操作を繰り返し、先のろ液と合わせて濃縮用試料とする。

##### エ 濃縮・誘導体化

濃縮用試料をロータリーエバポレーターで適量(50ml程度)まで濃縮し、ヘキサン/エーテル(5%)100ml、飽和食塩水100mlを加えて約5分間振とうして、有機すず化合物をヘキサン/エーテル層に転溶する。水層に、再び抽出溶媒を50ml加えて同様の操作を行い、先の溶媒層に合わせて、無水硫酸ナトリウムと銅粉末を添加して一晩放置する。これをろ過後10ml程度まで濃縮した後、窒素気流中で約1mlまで濃縮し、環境庁通知(平成3年11月18日 水質規制課)に示す方法に従って、誘導体化(プロピル化)し、分析用試料とする。

誘導体化の操作の概要は、約1mlに濃縮した試料をグリニヤール試薬(臭化プロピルマグネシウム)によってプロピル化し、硫酸によって未反応の試薬を分解・除去して、ミニカラム(セップバックフロリジル)でクリーンアップして分析試料とするものである。

#### (2) 定量

定量は炎光光度検出器(FPD)付ガスクロマトグラフ(GC)によって行った。GCの条件は表1のとおりである。

##### ウ 結果及び考察

抽出方法としては、振とう抽出、ソックスレー抽出、超音波抽出等が考えられる。ソックスレー抽出は長時間を要するため、検討対象から除外し、振とう抽出法について実験することとした。なお、超音波抽出については時間的制約によって検討することができなかった。

実験結果を表2に示した。同表には、大阪府公害監視センターが報告した検討結果を参考データとして掲げて

表1 GCの分析条件

使用カラム	フューズドシリカキャピラリーカラム CPB1
	長さ25m 内径0.30mm 膜厚0.25 $\mu$ m
オープン温度	80 $^{\circ}$ C(2分保持) ~200 $^{\circ}$ C(20 $^{\circ}$ C/分) ~310 $^{\circ}$ C(40 $^{\circ}$ C/分)4分保持
注入口温度	300 $^{\circ}$ C
試料注入モード	スプリットレス パージオフタイム1分
試料注入量	2 $\mu$ l
カラム圧	3kg/cm <sup>2</sup>

ある。概ね90%近い回収率が得られ良好な結果と判断されるが、参考データと比較するとばらつきが大きい。ばらつきを大きくする要因としては、試料中の試験物質の濃度が低いこと及び濃縮の最終段階でのクリーンアップ操作が参考データの場合と異なることなどが考えられる。

表2 塩化トリブチルすず(TBT)、塩化トリフェニルすず(TPT)の分析結果及び参考データ

項目	回収率	変動係数	添加時濃度 ( $\mu$ g/kg)
TBT	84.5	18.88	167
TPT	90.7	15.88	501
TBT	101.2	6.2	400 <sup>1)</sup>
TPT	61.6	7.0	1200

注) 1) 大阪府公害監視センター

底質に多量に含まれる硫黄化合物は、しばしば目的とする物質と共に抽出され、分析上の妨害となる場合が多い。本実験においても、ガスクロマトグラム上で目的物質のピークと重なり、定量を困難としたが、硫黄化合物の妨害の除去方法として有効であることが確認されている銅粉末の添加によって、図1に示すような有効な結果が得られた。

ところで、有機すず化合物は吸着しやすい物質であるため、銅粉末に吸着する恐れがある。本実験の回収率から判断すると、問題となる程度の吸着はないと思われるが、今後、更に検討する必要がある。

### 3 水質中の2-メルカプトベンゾチアゾールの抽出方法及び検出感度の向上

#### (1) 前処理及び定量方法

##### ア 試料の調製

実験は、蒸留水1 $\ell$ に対して、アセトン溶液とした2-メルカプトベンゾチアゾールを所定量加えたものを試料として用い、次の条件で行った。

①濃度4ppbとした溶液1 $\ell$ に対して、1%の2-メルカプトエタノール(ME)を20 $\mu$ l添加した場合と無添加の場合、②200ppb濃度の溶液に対してME無添加の場合、の3通りについて行った。

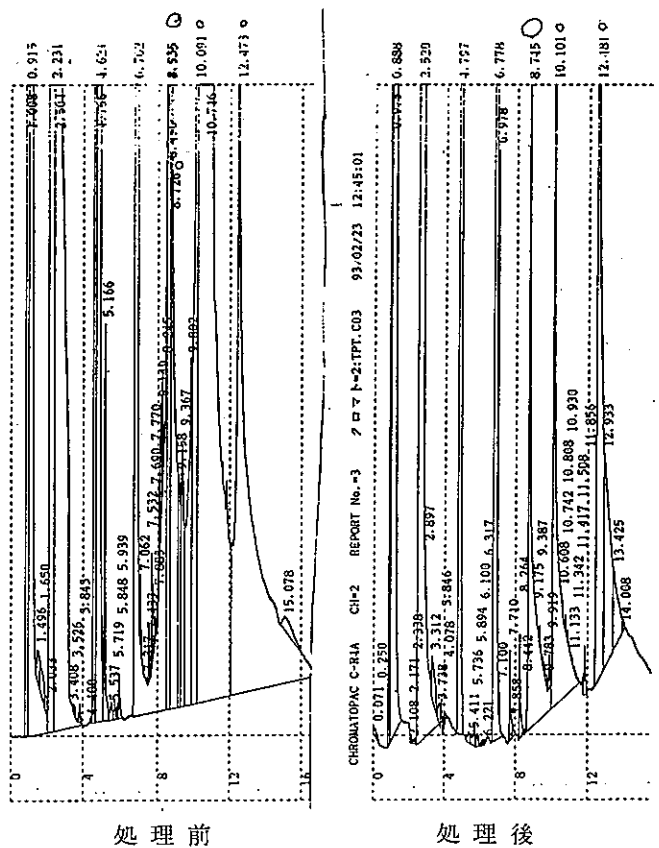


図1 銅粉末の添加による効果

#### イ 抽出

抽出は、試料1 $\ell$ を硫酸酸性とし(約pH1)、酢酸エチル200mlを加えて10分間振とう抽出する。30分静置後、溶媒層を分取し、水層に更に酢酸エチルを100ml加えて同様の操作を行い、溶媒層を分取して先の溶媒層に合わ

せ、濃縮用試料とする。

ウ 濃縮

濃縮用試料に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水した後、ロータリーエバポレーターで5 ml程度まで濃縮し、更に窒素気流中で0.3mlまで濃縮し、誘導体化用試料とする。

エ 誘導体化 (メチル化)

試料0.3mlにメタノール0.2ml、メチル化剤 (トリメチルシリルジアゾメタン (TMS)) 0.5mlを加えて、室温で30分間反応させて分析試料Aとする。

オ クリーンアップ

誘導体化 (メチル化) した試料を窒素気流中で0.1ml程度まで濃縮し、セップパックフロリジルカラムに添加して、ヘキサン10mlで展開し、所定量 (1 ml) まで濃縮したものを分析用試料Bとする。

(2) 定量

定量はガスクロマトグラフ・質量分析装置 (GC/MS) を用いて行った。分析条件を表3に示す。

表3 GC/MSの条件

使用カラム	フューズドシリカキャピラリーカラム DB-5
	長さ30m 内径0.25mm 膜厚0.25 $\mu$ m
オープン温度	150 $^{\circ}$ C(2分保持) ~200 $^{\circ}$ C(10 $^{\circ}$ C/分) ~280(40 $^{\circ}$ C/分)4分保持
注入口温度	240 $^{\circ}$ C
試料注入モード	スプリットレス パージオフタイム1分
試料注入量	1 $\mu$ l
カラム圧	20psi
モニターイオン	148、181

(3) 結果及び考察

村山らによると<sup>2)</sup>、水質中の2-メルカプトベンゾチアゾールの回収率を低下させる大きな要因として、2-メルカプトベンゾチアゾールが水中で酸化されやすいことを挙げており、その防止策として、MEの添加を提案している。添加したMEが酸化されることにより、2-メルカプトベンゾチアゾールの酸化を抑制するという方法である。そこで、本実験はMEの添加の有無による回収率の相違を検討した。

結果及び参考データを表4に示す。表4にみるように、

表4 2-メルカプトベンゾチアゾールの回収率及び参考データ

項目	回収率	標準 偏差	変動 係数	サンブ ル数	備考
200ppb	82.4	9.8	11.89	4	ME無添加
4ppb	41.9	4.2	10.12	4	ME1%を20 $\mu$ l添加、
4ppb	13.5	2.3	16.6	4	ME無添加
蒸留水	44		50	3	ME無添加 <sup>2)</sup>
"	92			1	ME添加1ml
河川水	9		74	3	ME無添加
"	90		5.8	4	ME添加1ml
海水1ppb	40	1.5			ME無添加 <sup>3)</sup>
"200ppb	75	1.3			

注) <sup>2)</sup> 村山ら、<sup>3)</sup> 篠原ら

分析試料Aを用いた検討ではME添加による効果は認められるが、低濃度における2-メルカプトベンゾチアゾールの回収率は50%にも達しなかった。ただし、ばらつき具合は、無添加に比べて小さかった。高濃度の場合、無添加であっても80%以上の回収率が得られていることから、低回収率の原因は、酸化以外の要素も考えられる。

参考データでは、100%ME1ml添加により90%以上の回収率を得ていることから、MEの大量添加が望ましいと思われるが、MEを大量に添加すると、ガスクロマトグラム上でMEのピークが2-メルカプトベンゾチアゾールのピークと重なってしまう。村山らは抽出後のMEの除去方法についても検討しているが、有効な方法を見いだしていない。

誘導体化試料は、多くの余分なピークを含んでいることから、クリーンアップ方法を検討した。クリーンアップは、簡便性を考慮してセップパック・フロリジルカラムを用いた。図2に、クリーンアップを行った場合 (試料B) と行わなかった場合 (試料A) との比較チャートを示す。図から明らかなように、クリーンアップによって余分なピークが除去されるうえ、シャープなピークが得られる。

表5にクリーンアップ処理前と処理後のピーク比を示す。ピークの大きさを処理前後の感度を比較すると、2

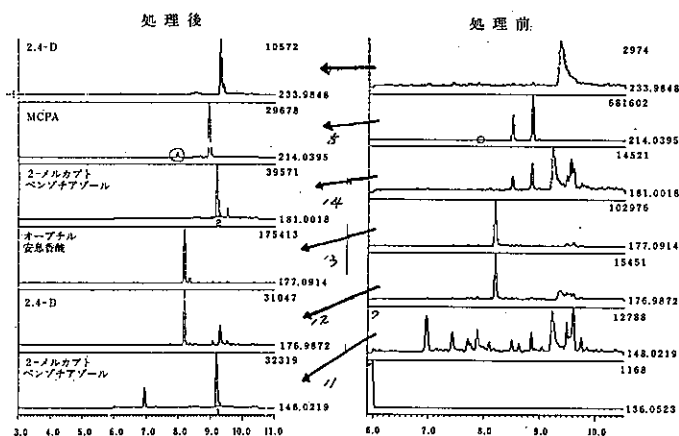


図2 2-メルカプトベンゾチアゾールのクリーンアップによる効果

倍程度向上している。なお、表5には同時に分析した物質についての効果も参考に示した。

表5 クリーンアップによる効果

項目	処理後/処理前	
	ピーク面積	ピーク高さ
2-メルカプトベンゾチアゾール (M/Z=148)	1.82	2.97
" (M/Z=181)	1.98	3.01
安息香酸 (M/Z=136)	0.85	1.25
o-ブチル安息香酸 (M/Z=177)	1.37	1.42
MCPA (M/Z=214)	6.68	4.48
2, 4-D (M/Z=233)	1.50	3.85
ヘキサクロ (M/Z=181)	0.34	0.34
ロフェン (M/Z=224)	1.31	1.32

#### 4 ニトロフェノール類の検出感度の向上

##### (1) 前処理

##### ア 試料の調製

検討は、ニトロフェノール類の標準品を各、0、2、2、10 ppmの濃度の酢酸エチル溶液としたものを試料として行った。

なお、抽出方法等に関しては「3-メルカプトベンゾチアゾールの抽出方法及び検出感度の向上」と同様である。

##### イ 誘導体化

誘導体化は「3-メルカプトベンゾチアゾールの抽出方法及び検出感度の向上」と同様に行った。

##### (2) 定量

分析はGC/MSで行った。分析条件を表6に示す。

表6 ニトロフェノール類のGC/MSによる分析条件

使用カラム	フューズドシリカキャピラリーカラム DB-5
	長さ30m 内径0.25mm 膜厚0.25 $\mu$ m
オープン温度	50 $^{\circ}$ C(2分保持) ~200 $^{\circ}$ C(10 $^{\circ}$ C/分)
注入口温度	230 $^{\circ}$ C
試料注入モード	スプリットレス
	パージオフタイム1.5分
試料注入量	1 $\mu$ l
カラム圧	20psi
モニターイオン	メチル化後:153, 107 メチル化前:139, 165

##### (3) 結果及び考察

ニトロフェノール類の分析方法は、電子捕獲型検出器 (ECD) 付ガスクロマトグラフ (GC) で定量し、GC/MS 確認する方法が一般的であり、本研究もこれに従ったが、GC/MSによる確認ではニトロフェノール類はテーリングを起こしやすく、十分な感度が得られなかった。なかでも、メタ (m-) 体とパラ (p-) 体の感度が低く、オルト (o-) 体と比べて前者は5倍、後者は10倍感度が悪かった。このような問題点があったため、誘導体化による感度の向上を検討した。

フェノール基を誘導体化する試薬としては、TMSは必ずしも最適とは言えないが、本研究でこれまで行ってきたカルボキシル化合物の分析と同一条件で、ニトロフェノール類の抽出・前処理を行おうとするため、TMSによるメチル化の有効性を検討したものである。

メチル化による効果を、表7に示す。感度はm-体で2.5~7倍、p-体で11~30倍も向上している。しかし、o-体の感度は、2ppm程度の濃度では3倍程度向上したが、10ppmになると効果は認められなかった。メチル化による効果は、低濃度においては顕著に現れるが、高濃度になるに従って効果が小さくなる傾向にあった。

また、表中では比較できなかったが、メチル化することで0.2ppmの濃度でもピークを読み取ることが出来る程度に、感度が向上した。

なお、この条件でニトロフェノール類のメチル化が定

量的に進むか否かの確認は、行っていない。

表7 ニトロフェノール類のメチル化による効果

項目・条件	処理後/処理前	
	ピーク面積	ピーク高さ
2 ppm		
o-ニトロフェノール	2.5	3.6
m-"	∞注)	∞
p-"	∞	∞
10 ppm		
o-"	0.65	0.27
m-"	2.5	7.3
p-"	11	30

注) m・p-体は、2 ppm程度の濃度では明瞭なピークが認められなかったため、この様な表現とした。

GC/MSのチャートを見ると、メチル化しただけの試料は図3にみられるように余分なピークが多く存在し、定量に相当な誤差を生じる。そこで、ミニカラムによるクリーンアップを検討したところ、未反応のメチル化剤等を除去するだけで図3に示す結果が得られた。すなわち、窒素気流中で約0.1ml程度まで濃縮・揮散させた試料を、ヘキサンで所定量までメスアップする(但し、乾固すると、目的物質までも揮散してしまう)。

未反応メチル化剤等の除去による効果を、図3に示す。ピークが明瞭となり、2~3倍高くなっている。

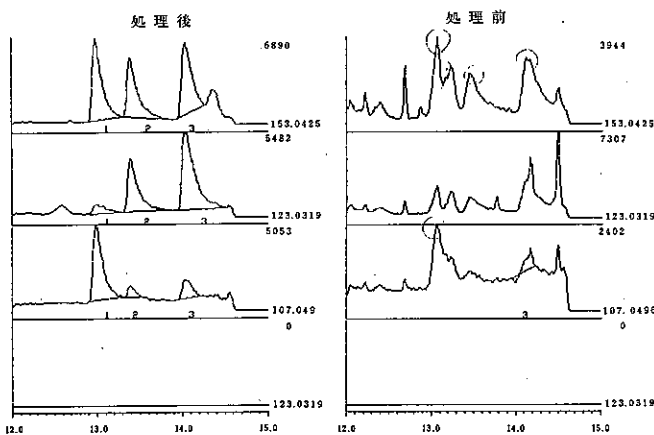


図3 メチル化剤の除去による効果

### 5 まとめ

(1)底質中の有機すず化合物の抽出方法については振とう法によって、概ね90%近い回収率が得られたが、変動係数は15%以上とばらつきはやや大きかった。

硫黄化合物の妨害除去については、銅粉末の添加が有

効であることが確認されたが、有機すず化合物の銅粉末への吸着の恐れがあり、更に検討を要する。

(2)水質中の2-メルカプトベンゾチアゾールの抽出方法及び検出感度の向上については、ME添加による効果は認められるが、本実験の添加量では2-メルカプトベンゾチアゾールの低濃度における回収率は50%にも達しなかった。MEの大量添加は回収率の向上に有効であるが、2-メルカプトベンゾチアゾールの分析上の妨害となる。

一方、セップパック・フロリジルカラムによるクリーンアップによって余分なピークが除去されるうえ、シャープなピークが得られる。また、感度が2倍程度向上する。

(3)ニトロフェノール類の検出感度の向上については、メチル化による感度の向上は、m-体で2.5~7倍、p-体で11~30倍にも達した。o-体の感度は低濃度では向上したが、高濃度では効果が見られなかった。未反応メチル化剤等の除去によって、余分なピークが消失し、ニトロフェノール類はピークが2~3倍高くなった。

### 参考文献

- 1) 大阪府公害監視センター  
環境庁保健部保健調査室編：“昭和62年度分析法開発調査報告書(1988年)”環境試料中におけるトリブチル、トリフェニルスズ化合物の定量法
- 2) 村山等ら：“高速液体クロマトグラフィーによる水中の2-メルカプトベンゾチアゾール及び2-メルカプトベンゾイミダゾールの定量”新潟県公害研報告No.4 1979
- 3) 篠原純子ら：“炎光光度検出器付きガスクロマトグラフィーによる水、底質中の2-メルカプトベンゾチアゾールの微量分析法”BUNSEKI KAGAKU, vol.27(1978)