

水質，底質及び生物中のジオクチルスズ化合物の分析法について

Analytical Method of Octyltin Compounds in Water, Sediment and Fish

担当者 小田達也

1 はじめに

本報告は，平成11年度に環境庁より化学物質環境汚染実態調査の一環として，化学物質分析法開発調査の委託を受け，水質・底質・生物中のジオクチルスズ化合物の分析法の開発を検討したものである。

水質試料は，テトラエチルホウ酸ナトリウム(NaBEt_4)を加えて誘導体化する。これをヘキサンで抽出し，脱水・濃縮後，GC/MS-SIMで測定する。

底質試料は，1M塩酸-メタノール/酢酸エチル混合溶液で抽出し，抽出液を濃縮， NaBEt_4 で誘導体化する。これをヘキサンで抽出し，脱水・濃縮する。これをフロリジルでクリーンアップし，濃縮後，GC/MS-SIMで測定する。

生物試料は，1M臭化水素酸-メタノール/酢酸エチル混合溶液で抽出し，さらに酢酸エチル/ヘキサン混合溶液で再抽出する。抽出液を脱水・濃縮後， NaBEt_4 で誘導体化する。これをアルカリ分解し，ヘキサンで抽出し，脱水・濃縮する。これをフロリジルでクリーンアップし，濃縮後，GC/MS-SIMで測定する。

2 分析方法

2-1 試料の前処理及び調製

(1)水質試料

試料を入れたガラスビンに確認用サロゲート溶液100 μl を添加し(注1)，軽く振り混ぜる。これに2% NaBEt_4 水溶液0.5mlを添加し10分間振とうする。これを1Lの分液ロートに移す。ガラスビンをヘキサン50mlで洗浄し，ヘキサンも分析ロートに移し，10分間振とう抽出を行う。静置後，水相を別の分液ロ

ートに移し，ガラスビンを再びヘキサン50mlで洗浄し，抽出操作を繰り返す。ヘキサン抽出液を合わせ，無水硫酸ナトリウムで脱水後，ロータリーエバポレータを用いて約2mlに濃縮し，試料前処理液とする。

(2)底質試料

均一化した試料2gを50ml遠沈管にとり，確認用サロゲート溶液100 μl を添加する。これに1M塩酸-メタノール/酢酸エチル(1:1)混合溶液10mlを加えて20分間振とう抽出する。これを遠心分離(2000rpm, 10分)し，上澄みを50mlナス型フラスコに移す。残さに1M塩酸-メタノール/酢酸エチル(1:1)混合溶液10mlを加え，20分間振とう抽出・遠心分離し，上澄みをナス型フラスコに移す。この抽出液をロータリーエバポレータで約10mlまで濃縮する。さらに窒素を用いて，酢酸エチル臭がほとんどなくなるまで濃縮する。これに酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液(pH5)20mlと2% NaBEt_4 水溶液2mlを添加し，軽く振り混ぜる。これを100ml分液ロートに移し，10分間振とうする。次にナス型フラスコをヘキサン20mlで洗浄し，ヘキサンを分液ロートに移し，10分間振とう抽出する。静置後，水相を別の分液ロートに移し，ナス型フラスコを再びヘキサン20mlで洗浄し，抽出操作を繰り返す。ヘキサン抽出液を合わせ，無水硫酸ナトリウムで脱水後，ロータリーエバポレータを用いて約2mlに濃縮し，試料前処理液とする。

(3)生物試料

ホモジナイズした試料5gを50ml遠沈管にとり，確認用サロゲート溶液100 μl を添加する。これに1M臭化水素酸-メタノール/酢酸エチル(1:1)混合溶液30mlを加え，30分間振とう抽出する。これを遠心分

離(2000rpm,10分)し,上澄みを200ml分液ロートに移す。残さに1M臭化水素酸-メタノール/酢酸エチル(1:1)混合溶液30mlを加え,20分間振とう抽出・遠心分離し,上澄みを分液ロートに移す。分液ロートに20%臭化ナトリウム溶液50mlを入れ,酢酸エチル/ヘキサン(3:2)混合溶液30mlを加えて10分間振とう抽出する。静置後水相を別の分液ロートに移し,さらに酢酸エチル/ヘキサン(3:2)混合溶液30mlを加えて,同様の抽出操作を行う。有機相を合わせ,ヘキサン100mlを加えて混合し,20分間放置する。生じた水相を廃棄後,無水硫酸ナトリウムで脱水する。これをロータリーエバポレータで約5mlまで濃縮し,さらに窒素ガスを吹き付けて溶媒を揮散させる。残さにエタノール5mlを加えて溶解し,200mlの分液ロートに流し込む。これに酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液(pH5)5ml及び精製水10mlを加えて混合後,2%NaBEt₄溶液5mlを添加し,10分間振とうする。これに1M水酸化カリウム-エタノール溶液40mlを加え1時間振とうし,アルカリ分解を行う。これに精製水25ml及びヘキサン40mlを加え10分間振とう抽出を行う。水相を別の分液ロートに移し,ヘキサン40mlを加え同様の抽出操作を行う。ヘキサン相を合わせ,無水硫酸ナトリウムで脱水後,ロータリーエバポレータで約2mlまで濃縮し,試料前処理液とする。

2-2 試料液の調製

試料前処理液をヘキサン10mlでコンディショニングしたフロリジルカラムカートリッジに負荷し,流出液も回収する。次に5%ジエチルエーテル-ヘキサン6mlで溶出し,負荷時の流出液と合わせる。これを窒素ガスで0.5mlまで濃縮し,内標準物質テトラブチルスズ-d₃₆溶液50µlを加えGC/MS測定用試料液とする。(注2)但し,妨害物質の少ない水質試料はフロリジルを用いたクリーンアップ操作を省略できる。

2-3 試料液の調製

(1)水質試料

試料と同量の精製水を用いて(1)試料の前処理及

び調製と同様の操作を行って得た試料液を空試験液とする。

(2)底質・生物試料

試料を用いずに(1)試料の前処理及び調製と同様の操作を行って得た試料液を空試験液とする。

2-4 測定

(1)GC/MS測定条件

使用機種 GC: HP6890

MS: HP5973MSD

カラム: HP-5ms (30m×0.25mm ×0.25µm)

カラム温度: 60 (1min) (15 /min) 300 (2min)

キャリアーガス: He (1.00ml/min)

注入モード: スプリットレス (1.00min, 20.0ml/min)

注入口温度: 280 注入量: 2µl

イオン源温度: 230

SIMモニターイオン

ジオクチルスズ 373, 375, 263

内部標準 テトラブチルスズ-d₃₆ 318

(2)検量線(注3)

検量線作成用標準溶液2µlをGC/MSに注入し,ジオクチルスズエチル誘導体化合物と内標準物質のピーク面積を求め,内標準法により検量線を作成する。

(3)定量

測定用試料液2µlをGC/MSに注入し,検量線と同様に内標準物質とのピーク面積比を求め,検量線から濃度比を求める。

(4)計算式

試料中の濃度(µg/L or µg/g)=検量線から求めた濃度比×内標準添加量(ng) / 試料量(ml or g)

本分析法でのジオクチルスズ化合物の計算結果は,ジオクチルスズオキシド(DOTO)換算の値となる。

(5)装置検出限界

本分析に用いたGC/MSの装置検出限界(IDL)は次のとおりである。

| IDL(ng/ml) | 濃縮率(倍) | IDL試料濃度換算値 (ng/L) |
|------------|--------|-------------------|
| 1.47 | 2,000 | 0.735 |

(6)検出限界及び定量限界

本分析法の検出限界及び定量限界は次のとおりである。

| 試料 | 試料量 | 検出限界 | 定量限界 |
|----|--------|-------------|------------|
| 水質 | 1L | 0.0059 µg/l | 0.020 µg/L |
| 底質 | 2g-wet | 6.1 µg/kg | - |
| 生物 | 5g | 0.64 µg/kg | - |

2-5 試薬・器具

(1)試薬

ジ-n-オクチルスズオキシド：東京化成工業

テトラブチルスズ-d₃₆：林純薬

テトラエチルホウ酸ナトリウム(NaBEt₄)：

Strem Chemicals(注4)

ヘキサン，アセトン，メタノール，エタノール，酢酸エチル，ジエチルエーテル，無水硫酸ナトリウム：残留農薬試験用

塩酸，酢酸，臭化水素酸，酢酸ナトリウム，塩化ナトリウム，臭化ナトリウム，水酸化カリウム：特級

フロリジルカラムカートリッジ：Sep-Pak plus (910mg) または同等品。

2%NaBEt₄溶液：用事調製

酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液(pH5)：2M酢酸と2M酢酸ナトリウム溶液をpH5になるように混合(酢酸：酢酸ナトリウム=5.9:14.1(V:V))

1M塩酸-メタノール溶液

1M塩酸メタノール/酢酸エチル(1:1)混合溶液

1M臭化水素酸-メタノール/酢酸エチル(1:1)混合溶液

1M水酸化カリウム-エタノール溶液

20%臭化ナトリウム溶液

精製水：Milli-Q

トリブチルスズクロライド(塩化トリブチルスズ)-d₂₇：和光純薬(確認用)

トリフェニルスズクロライド(塩化トリフェニルスズ)-d₁₅：和光純薬(確認用)

(2)器具

共栓付ガラスビン：1L

広口ガラスビン

分液ロート：1L，200ml，100ml

スピッツ管

ナス型フラスコ：50ml

遠沈管：50ml

振とう機

遠心分離機

ロータリーエバポレータ

ガラス器具(注5)は使用前に1M塩酸-メタノール，水，アセトンの順に洗浄したものをを用いる。但し，誘導体化以降に使用するガラス器具は，ヘキサン洗浄のみでもよい。

注 解

- 1)トリブチルスズ・トリフェニルスズのd体は，定量には使用しないが，次の確認に使用できる。誘導体化反応が行われているかどうかの確認となるトリフェニルスズの誘導体化物はクリーンアップの際ジオクチルスズの誘導体化物よりも遅れて溶出するので，ジオクチルスズの溶出の確認となる。
- 2)ジオクチルスズの誘導体化物はフルオランテン-d₁₀のリテンションタイムにととても近いが，ジオクチルスズの誘導体化物と比べてフルオランテン-d₁₀がカラムの状態の影響を受けやすいため，テトラブチルスズ-d₃₆を内標準物質とした。
- 3)検体と同じ条件でないとピーク面積値が異なるので，各媒体の検量線もそれぞれ検体と同じ条件で誘導体化及び抽出を行う。
- 4)この試薬は紙などについて放置すると発火する。また，一度開封すると，空気と反応し劣化して，誘導体の反応率が低下するので注意する。
- 5)空試験で検出されるので洗浄は十分に行う。

3 解説

3-1 フローチャート

(1)水質

試料 - 誘導体化 - 抽出 - 脱水 - 濃縮 - GC/MS-SIM
 NaBEt₄ ヘキサン

(2)底質

試料 - 抽出 - 遠心分離 - 濃縮 - 誘導体化 - 抽出
 1M HCl - NaBEt₄ ヘキサン
 メタノール/酢酸

脱水 - 濃縮 - クリーンアップ - 濃縮 - GC/MS-SIM
 フロリジル

(3)生物

試料 - 抽出 - 遠心分離 - 抽出 - 脱水 - 濃縮 -
 1M HBr - 酢酸/ヘキサン
 メタノール/酢酸

誘導体化 - アルカリ分解 - 抽出 - 濃縮
 NaBEt₄ 1M KOH/イタノール ヘキサン

クリーンアップ - GC/MS-SIM
 フロリジル

3-2 クリーンアップの検討

ジオクチルスズ化合物の誘導体化物のクリーンアップ条件をSep-Pakフロリジル(910mg)を用いて検討した。

ジオクチルスズ(DOT)及び確認用のトリブチルスズ(TBT)・トリフェニルスズ(TPT)はヘキサン12ml(図1)もしくは5%ジエチルエーテル/ヘキサン6ml(図2)でほぼ全量溶出する。

但し、実検体(魚)ではヘキサンのみの溶出で、トリフェニルスズが完全には溶出してこなかった。

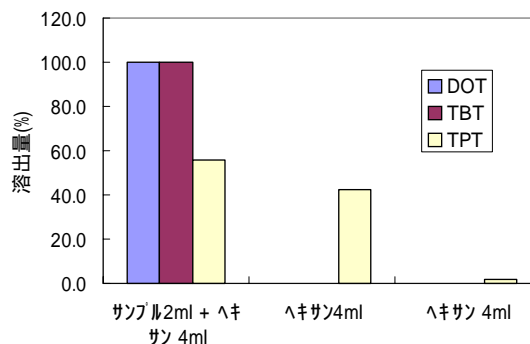


図1 クリーンアップ(ヘキサン溶出)

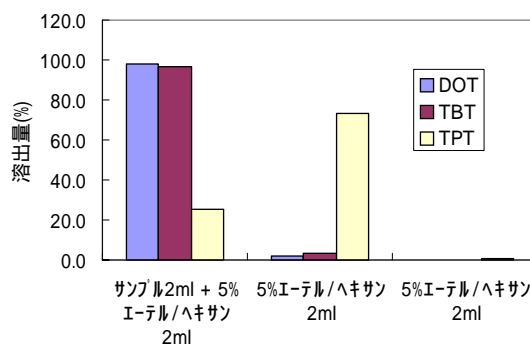


図2 クリーンアップ(5%エーテル/ヘキサン溶出)

3-3 低濃度添加回収試験結果

低濃度回収試験の結果を表1に示す。

表1 低濃度回収試験結果

| 試料 | 試料量 | 添加量 (μg) | 測定回数 | 回収率(%) | 変動係数(%) |
|-----|--------|----------|------|--------|---------|
| 精製水 | 1L | 0.020 | 4 | 139 | 4.2 |
| 河川水 | 1L | 0.020 | 3 | 87 | 7.1 |
| 海水 | 1L | 0.020 | 3 | 84 | 7.3 |
| 底質 | 2g-wet | 0.030 | 7 | 121 | 10.6 |
| 魚 | 5g | 0.030 | 7 | 93 | 3.6 |

3-4 標準物質の誘導体化物のマススペクトル及びSIMクロマトグラム

ジオクチルスズ化合物のエチル化物ジエチルジオクチルスズのマススペクトル(図3)とSIMクロマトグラム(図4)を示す。

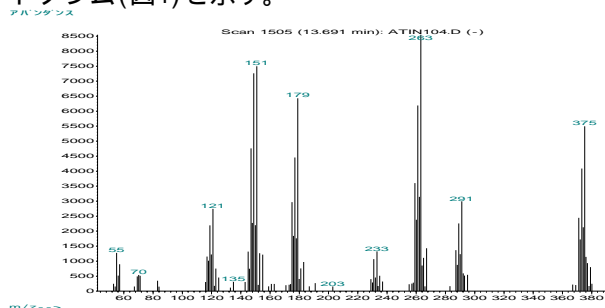


図3 ジエチルジオクチルスズのマススペクトル

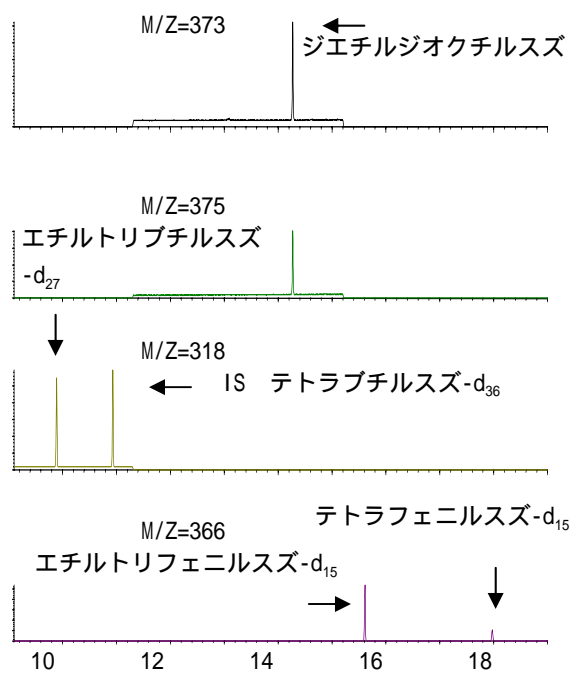


図4 ジエチルジオクチルスズのSIMクロマトグラム

3-5 環境試料分析結果

環境試料の分析結果を図5から12に示す。空試験からも検出される。

本調査の詳細は、「平成11年度化学物質分析法開発調査報告書(その1)」(平成12年8月 環境庁環境保健部環境安全課)に掲載されている。

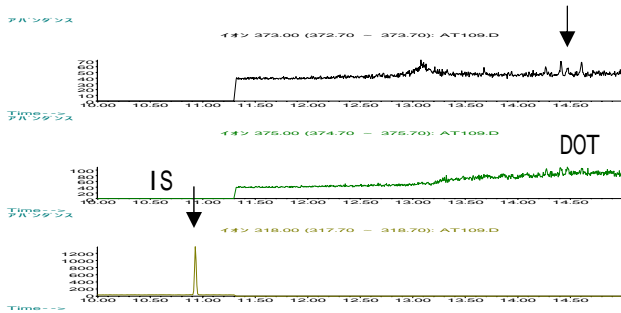


図5 河川水(無添加)のSIMクロマトグラム

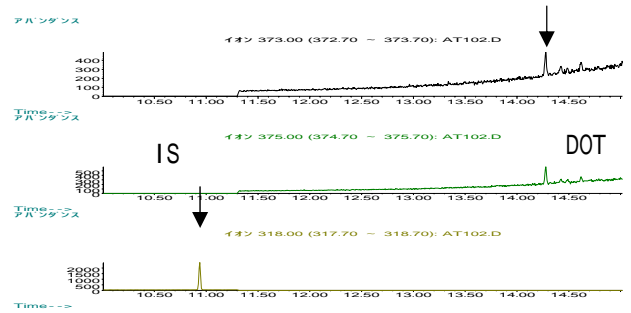


図9 東京湾共通底質(無添加)のSIMクロマトグラム

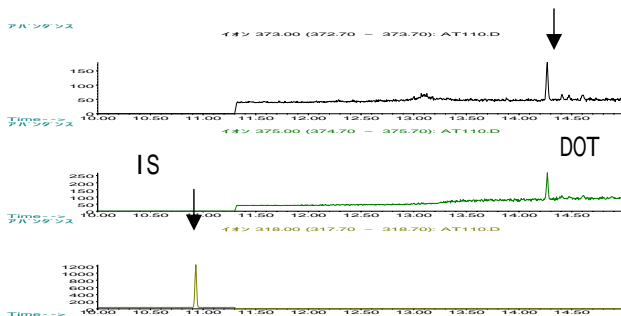


図6 河川水(標準20ng添加)のSIMクロマトグラム

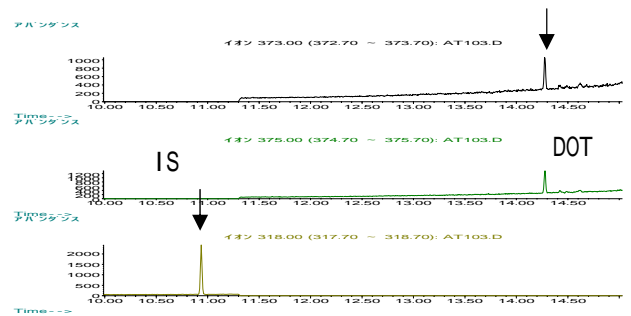


図10 東京湾共通底質(標準物質30ng添加)のSIMクロマトグラム

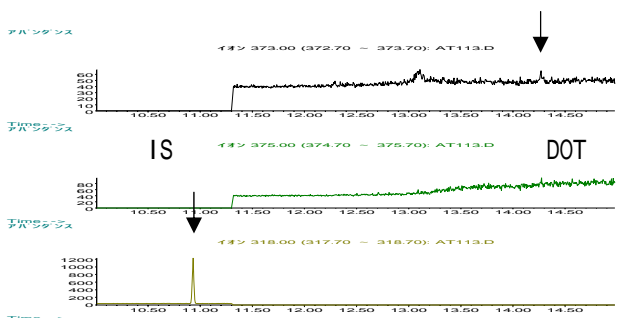


図7 海水(無添加)のSIMクロマトグラム

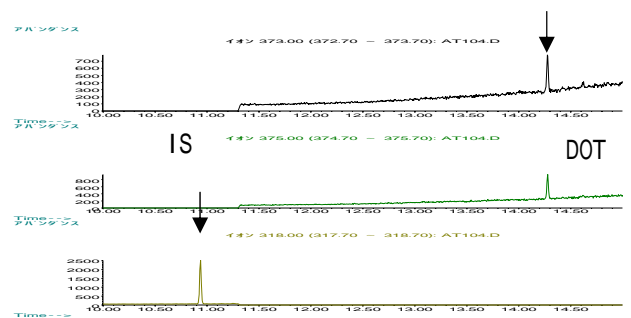


図11 魚(無添加)のSIMクロマトグラム

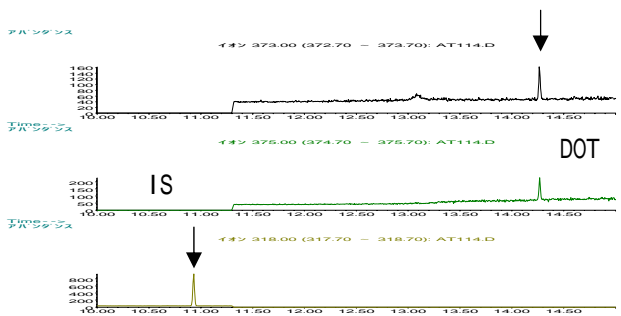


図8 海水(標準物質20ng添加)のSIMクロマトグラム

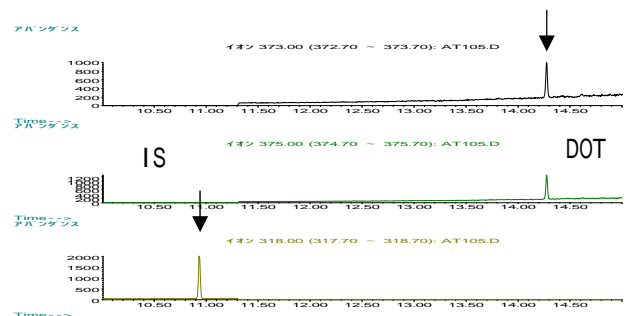


図12 魚(標準物質25ng添加)のSIMクロマトグラム