

水質、底質及び魚類中の ϵ -カプロラクタムの 分析法について

Analytical Method of ϵ -Caprolactam in Water, Sediment and Fish

担当者 西野茂幸 小田達也

1. はじめに

本報告は、平成2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、底質及び魚類中の ϵ -カプロラクタムの分析法を開発したものである。

2. 分析法

水質試料は、活性炭に通水吸着させた後、アセトンで溶出し、アセトンを留去して、水溶液を n -ヘキサンで洗浄し、ジクロロメタン抽出を行い、シリカゲルカラムでクリーンアップしてGC/MS(SIM)により定量する。

底質及び生物試料は、アセトンで抽出した後、アセトンを留去して、以下水質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1Lを活性炭カラムに毎分10ml以下の流速で通水し(注1)、目的物質を吸着させた後、精製水20mlを流してカラムを洗浄する。次にアセトン50mlで溶出させ(注2)、100~150mlの平底フラスコに溶出液を受ける。溶出液をロータリーエバポレーターで濃縮した後、窒素ガスを強めに吹き付けて、アセトンを留去する。残った水溶液を100mlの分液ロートに移し、平底フラスコ内を精製水5mlで2回洗浄し、さきの分液ロートに合わせ、過剰の食塩を加え、飽和させ、 n -ヘキサン15mlで2回溶媒洗浄を行う。このヘキサン層は捨てる。次にジクロロメタン10mlを加え、5分間、3回抽出を行い、ジクロロメタン層を合わせて、無水硫酸ナトリウムで脱水する。その後、KD濃縮器で2~3mlまで濃縮したのち酢酸エチル10mlを加え(注3)、再度5mlまで濃縮して前処理液とする。

〔底質試料〕 試料20gを100ml共栓付遠沈管に取り、アセトン50mlを加えて、15分間振とう抽出した後、3,000rpmで15分間遠心分離を行い、抽出液を分取する。残さに再度アセトン30mlを加え、同様の操作を行い、抽出液を合わせる。抽出液をロータリーエバポレーターで濃縮(注4)した後、窒素ガスを吹き付けて、アセトンを留去する。以下、水質試料と同様に n -ヘキサン洗浄、抽出、脱水、KD濃縮を行い、前処理液とする。

〔生物試料〕 試料20gを100ml遠沈管に取り、アセトン50mlを加えて、ポリトン型ホモジナイザーで5分間ホモジナイズ抽出した後、3,000rpmで15分間遠心分離を行い、抽出液を分取する。残さに再度アセトン30mlを加え、同様の操作を行い、抽出液を合わせる。抽出液をロータリーエバポレーターで濃縮(注4)した後、窒素ガスを吹き付けて、アセトンを留去する。以下、水質試料と同様に n -ヘキサン洗浄、抽出、脱水、KD濃縮を行い、前処理液とする。

【試料液の調整】

水質、底質、生物試料の各前処理液5mlをシリカゲルカラムに移し、濃縮受器を約1mlの酢酸エチルで2回洗い、洗液をカラムに加える。液面をカラムヘッドまで下げ、最初に n -ヘキサン・酢酸エチル(7:3)50mlを流してカラムを洗浄し、この溶出液は捨てる。次に酢酸エチル40mlを流し、この溶出液を分取する。溶出液をKD濃縮器で濃縮して、窒素ガスを吹き付けて、正確に2mlとし測定試料液とする。

【空試料液の調整】

試料と同じ量の精製水を用い【試料の前処理】及び【試料液の調整】と同様に操作を行い、得られたものを空試料液とする。

【標準液の調整】

標準品 100 mg を正確に精秤し、酢酸エチルで正確に 100 ml として、これを標準原液 (1,000 $\mu\text{g/ml}$) とする。酢酸エチルで適宜希釈し、0.05~0.5 $\mu\text{g/ml}$ の標準液を作成する。

【測定】

(GC/MS の条件)

カラム・PEG-20 M 0.53 mm×15 m

膜厚 1.0 μm

カラム温度・130°C (1 分間保持) → 180°C

5°C/min 昇温

注入口温度・230°C

注入方法・スプリットレス

(パージョフ時間 0.5 分)

キャリアーガス・He

(線速度 91 cm/sec, 12 ml/min)

セパレータ温度・250°C

イオン源温度・250°C

イオン化電圧・70 eV

モニター質量数・113 (84)

(検量線)

0.05~0.5 $\mu\text{g/ml}$ の標準液 2 μl を GC/MS に注入し、得られたピーク面積から検量線を作成する。

(定量)

試料液 2 μl を GC/MS に注入し、得られたピーク面積と検量線から定量値を求める。

(計算)

$$\text{計算値}(\mu\text{g/ml 又は } \mu\text{g/g}) = \frac{\text{検出量}(\text{ng}) \times \text{最終液量}(\text{ml})}{\text{GC/MS 注入量}(\mu\text{l})} \times \frac{1}{\text{試料量}(\text{ml 又は g})}$$

(検出限界及び定量限界)

本分析法に基づく検出限界及び定量限界を下記に示す。(注 5)

試料	試料量	検出限界	定量限界
水質	1L	0.15 $\mu\text{g/L}$	0.50 $\mu\text{g/L}$
底質	20g	5.2 $\mu\text{g/kg}$	—
生物	20g	4.7 $\mu\text{g/kg}$	—

試薬・器具

【試薬】

ϵ -カプロラクタム標準品・和光純薬製 試薬特級
ヘキサン、ジクロロメタン、アセトン、酢酸エチル

残留農薬試験用 (注 6)

無水硫酸ナトリウム・PCB・フタル酸エステル分析用 (注 6)

塩化ナトリウム・試薬特級 (注 6)

活性炭・和光純薬製 クロマトグラフ用 Charcoal, Activated

シリカゲル・Merck 社製 Kieselgel 60 (70~230 mesh) を 130°C で、3 時間活性化して使用する。

精製水・超純水を蒸留して使用する。

【器具】

ポリトン型ホモジナイザー・生物試料のホモジナイズ抽出に使用する。

振とう器・液液抽出に使用する。

ロータリーエバポレーター、KD 濃縮器・溶媒の濃縮に使用する。

活性炭カラム・精製水中に保存した活性炭を内径 10 mm×長さ 30 cm のクロマト管に 5 cm の長さに充填して使用する。

シリカゲルカラム・内径 10 mm×長さ 30 cm のクロマト管にシリカゲル 1 g を酢酸エチルで湿式充填し、無水硫酸ナトリウムを 1 g 積層して使用する。

ガラス器具・分液ロート、平底フラスコ、共栓付遠沈管、クロマト管。

~~~~~ 注 解 ~~~~~

- (1) 通水時に、カラム内に気泡が発生したり、流速が早すぎたりすると、吸着率が低下するので、試料は、通水前に超音波・アスピレーターによる減圧法で、十分脱気し、流速は毎分 10 ml 以下とする。
- (2) アセトンをカラムに流すと、気泡が発生し、そのままアセトンを流すと、回収率の低下がみられるので、最初にアセトンを 5 ml 程度加え、クロマト管に栓をして、数回反転させ気泡を除去してから、残りのアセトンを流す。
- (3) ジクロロメタン溶液でシリカゲルカラムにチャージすると、回収率の低下からみられるので、KD 濃縮時に、酢酸エチルに転溶する。
- (4) 底質、生物では、試料の突沸を避けるため、水浴の温度は 40°C 以下にし、おだやかに濃縮する。
- (5) 検出限界及び定量限界は「検出限界等の定め方について」(昭和 63 年 5 月 27 日)により算出する。なお、生物試料の検出限界は底質における求め方に準

じる。

- (6) 精製水から $0.07 \mu\text{g}$ 程度ブランク値が検出されたので、全ての溶媒を蒸留して精製し、無水硫酸ナトリウム及び塩化ナトリウムは 600°C で1夜加熱し、精製して使用する。

水 質			
試料濃度 ($\mu\text{g/L}$)	0.2	0.4	0.6
応答値 (\bar{X})	345	653	1,035
標準偏差 (σR)	34.2	57.2	70.2
検出力 (D_n)	0.031	0.055	0.064
検出限界 ($\bar{D} \times 3$)		0.150	
定量限界 ($\bar{D} \times 10$)		0.50	

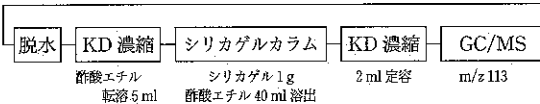
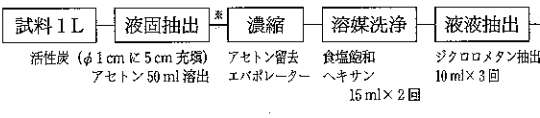
	底 質	生 物
検出限界推定値	4.0	4.0
試料濃度 ($\mu\text{g/kg}$)	20	20
分析値 (\bar{X})	13.88	12.98
標準偏差 (S_c)	1.65	1.50
検出限界 (DL)	5.18	4.71
95%信頼区間	3.31~11.39	3.01~10.36

3. 解 説

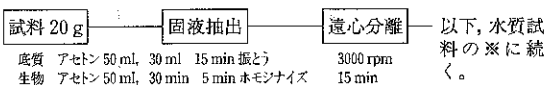
【分析法】

〔フローチャート〕

(水質試料)



(底質・生物試料)



〔分析法の検討〕

3-1. 検量線

検量線の例を図-1に示す。

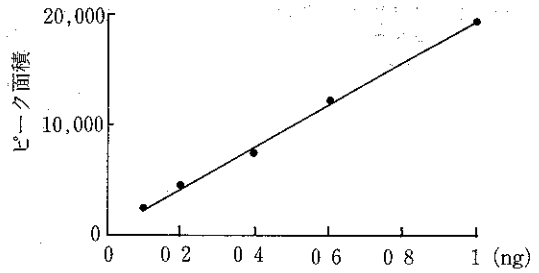


図-1 ε-カプロラクタムの検量線

3-2. 低濃度添加回収実験

水質試料、底質及び生物試料に標準品を添加し、本分析法に従って行った添加回収実験の結果を下記に示す。

試料	添加量 (μg)	試料量	回数	回収率 (%)	CV (%)
精製水	0.2	1L	4	81.9	9.9
河川水	0.4	1L	4	77.9	7.4
海水	0.4	1L	4	76.1	8.1
底質	0.4	20g	7	69.4	11.9
生物	0.4	20g	7	64.9	11.5

3-3. 分解性スクリーニング試験

常法に従い、HPLC法により測定した結果は下記のとおりであり、ε-カプロラクタムは水中では pH に関係なく安定であった。

pH	初期濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	1時間放置後 (%)	5日間放置後 (%)	
			暗所	照射
5	2.0	100.3	97.9	—
7	2.0	95.7	97.0	99.6
9	2.0	99.4	95.5	—

3-4. 分析法の検討

ε-カプロラクタムは、水溶解度が非常に高いことから、水質試料については活性炭を用いた液固抽出法を採用した。単蒸留、水蒸気蒸留についても検討したが、ε-カプロラクタムは全く留出されなかった。

活性炭の充填長さ及び吸着率の関係を表-1に、活性炭カラムからのアセトン溶出液量と回収率の関係を表-2に、ジクロロメタン抽出時の食塩濃度と抽出率

表-1 活性炭の充填長さ
と吸着率

活性炭充填長	吸着率 (%)
1 cm	37.5
2 cm	57.8
3 cm	78.6
4 cm	95.0
5 cm	95.4

φ 1 cm × 30 cm クロマト管

表-2 活性炭カラムからの
回収率

アセトン溶出量	回収率 (%)
10 ml	54.9
20 ml	67.9
30 ml	84.7
40 ml	92.0
50 ml	97.9

活性炭充填長さ 5 cm

表-3 食塩濃度とジクロロメタン
の抽出率

食塩濃度	抽出率 (%)
0%	58.5
10%	75.4
20%	89.5
30%	95.0
飽和	96.2

の関係を表-3に示す。

これらの結果より、活性炭の充填長さは5 cm、アセトン溶出量は50 mlとした。また、ジクロロメタン抽出時には食塩を飽和にした。

3-5. クリーンアップ

シリカゲルカラムに標準品 20 μg を添加し、酢酸エチルで溶出したパターンを図-2に示す。

3-6. マススペクトル

ε-カプロラクタムのマススペクトルを図-3に示す。m/z 55 がベースピークになっているが、バックグラウンドが高いため、モニターイオンとして使用できず、分子イオンピークの m/z 113 をモニターイオンとし、m/z 84 を確認とした。

3-7. クロマトグラム

標準品、環境試料のクロマトグラムを図-3、図-4、図-5に示す。

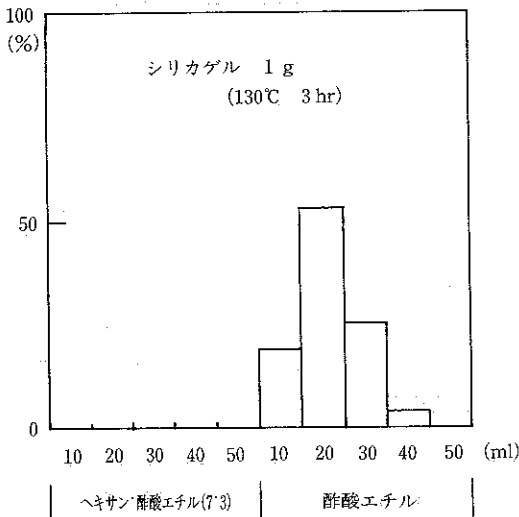


図-2 シリカゲルカラムの溶出パターン

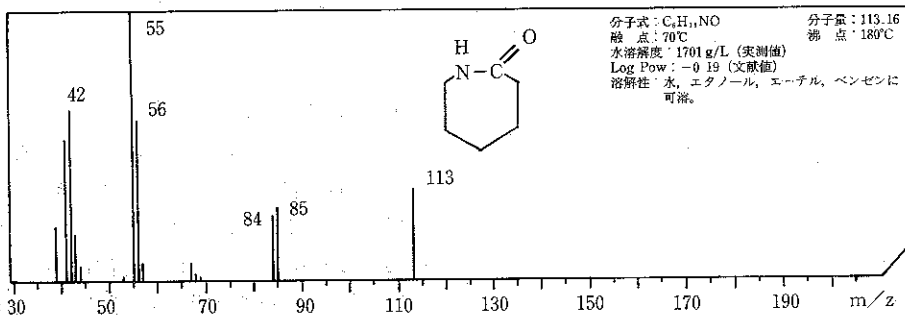
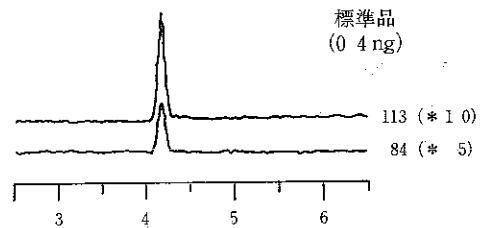


図-3 ε-カプロラクタムのマススペクトル

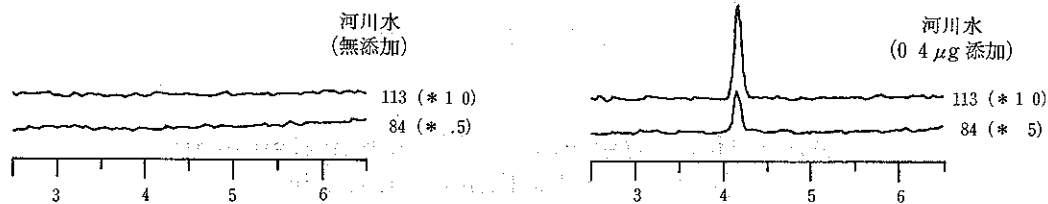


図-4 標準品, 河川水のクロマトグラム

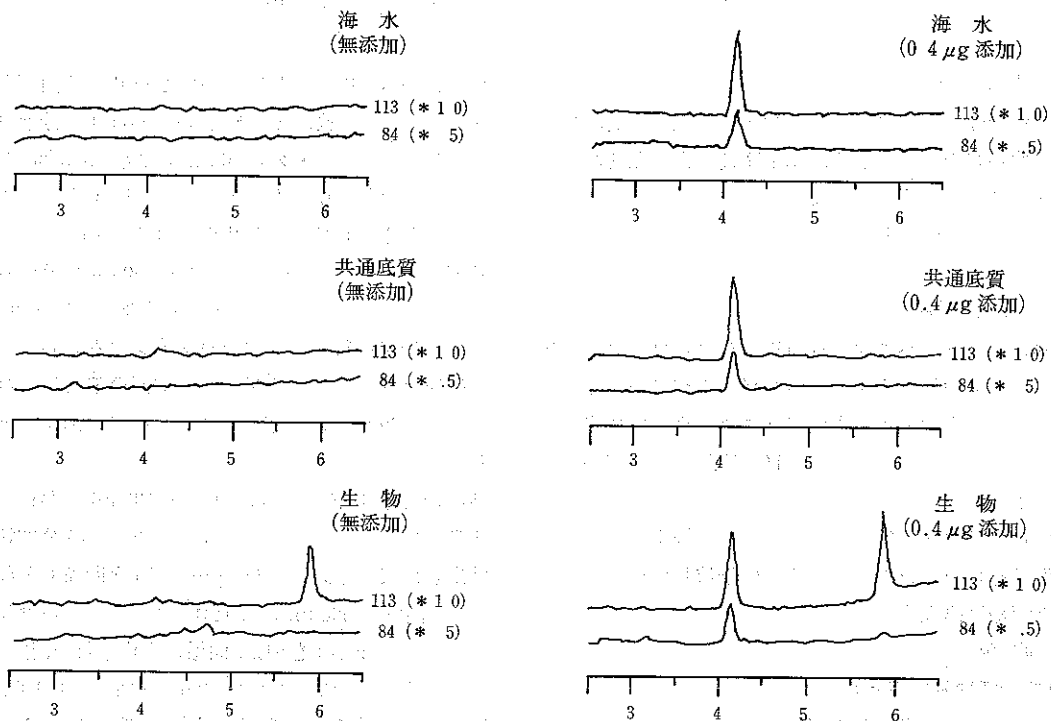


図-5 海水, 共通底質, 生物のクロマトグラム

【評価】

本分析法により、環境中に ppb オーダーで存在するε-カプロラクタムの定量を行うことが可能である。

参考文献

環境庁保健調査室：昭和 62 年度化学物質分析法開

発調査報告書

あとがき

本分析法により、環境庁実施の平成 3 年度化学物質環境調査が全国 18 地点で行われた。

(公害検査課水質検査係)