

水試料からの有機化合物の抽出・捕集法*

笹井春雄**

キーワード ①前処理 ②抽出 ③濃縮 ④誘導體化

1. はじめに

PCBによる化学物質の環境汚染問題を契機として1973年、化学物質の審査および規制を趣旨とした「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律」(化審法)が制定された。環境庁は、化学物質の環境中の濃度レベルを把握するため水質、底質・生物および大気に係る環境調査(黒本調査)を開始し、74年から99年まで782物質を全国で調査し、322物質が一般環境中より検出されている¹⁾。しかし、調査対象となったこれら化学物質の水質、底質、大気等の微量分析法は、既存の分析法があることは少なく、環境調査を実施する地方公共団体の研究機関の研究者の努力により開発された。

ここでは、化学物質分析法のうち水試料の前処理、とくに水試料からの有機化合物の抽出・捕集法をいくつかのグループに分け、また、地方公共団体の研究者により開発された分析法で使用されている抽出・捕集法についても整理した²⁾。

2. 水試料からの抽出・捕集方法

水試料の前処理の基本的フローは、①水試料からの抽出または捕集、②クリーンアップ(カラムクロマト、溶媒洗浄等)、③濃縮——である。水試料の場合②の操作は必要としないことが多く、また①の操作がクリーンアップを兼ねる場合が多く、ここでは資料等³⁻⁵⁾を整理して、水試料からの有機化合物の抽出・捕集方法について紹介する。

2.1 揮発性有機化合物の捕集法

これは、水試料(液体)中に存在する水に溶けにくく揮発性の高い有機化合物(VOC)を加熱したり、ヘリウムあるいは窒素ガス等でバージし気相中に移す方法で、水試料中のVOCの捕集には次の3つの方法がある。

(1) ヘッドスペース法

気密容器に水試料の一定量と目的物質を含まない気体を入れ、気液平衡状態で気相(ヘッドスペース)中の目的物質濃度を測定することにより、水試料中の目的物質濃度を算出する。ここで物質の気相と水相の分配比は密閉系では一定(ヘンリーの法則)であることを利用している。

(2) ストリッピング法

図1に示すような装置に水試料を入れ、試料容器を加熱し(あるいは室温)、ヘリウムまたは窒素ガスでバージしながら揮発性有機化合物を水相から追い出して、捕集剤を詰めた捕集管に吸着させる。捕集剤としては水分の影響を受けにくいテナックス-GCを使用する場合が多く、テナックス-GCでは破過しやすい有機化合物の場合は活性炭系の捕集管を使用する。本法は水系分析の溶媒抽出法やヘッドスペース法に比べ、試料から

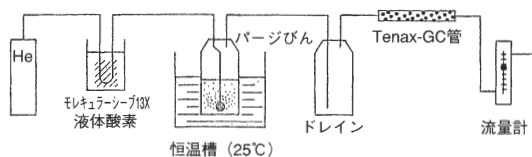


図1 ストリッピング装置

*Isolation and Concentration of Organic Matters in Water

**Haruo SASAI (長野県衛生公害研究所)

抽出された全物質を分析系に導入可能なため、きわめて感度よく分析でき、パックドカラムによる分析が主流の頃多く採用された。しかし、分析操作に熟練を要すること、捕集管から分析系に試料を導入する際に特別の加熱導入装置が必要とされ、悪臭物質や大気中の化学物質の分析手法を踏襲しているため、水系の分析者にはなじみにくい面も見られた。

(3) パージ&トラップ法

本法は、試料水中から VOC 成分を追い出し (Purge)、吸着剤へ捕集 (Trap)、濃縮成分を GC へ導入することにより VOC を一括分析でき、自動分析も可能である。捕集管は Tenax-GC やシリカゲル、活性炭を単体あるいは重層して使用することが多い。また、キャピラリーカラムの高い分離能を有効に活用するため、捕集管から加熱脱着させた被検成分をカラム先端に狭いバンド幅で再濃縮する必要がある、これにはカラム先端を液体窒素により -100°C 以下に冷却するコールドトラップ (クライオフォーカス) が不可欠となっている。現在、内径 0.32mm のキャピラリーカラムを使用することにより、液体窒素を必要とするクライオフォーカシングを行わない分析も可能である。

2.2 溶媒(液液)抽出法

溶媒抽出はお互いに混じり合わない 2 種類の液体 (通常は水と有機溶媒) を振り混ぜ、目的の有機化合物を水から一方の液体 (有機溶媒) に抽出分離する方法である。液液抽出とも呼ばれ、簡単な操作で高い分離効率と再現性が得られ、古くから使用されてきた。

一方で次のような欠点も指摘されている。①多量の溶媒を使用し、濃縮に時間がかかり、溶媒廃棄や分析者の健康管理の問題、②エマルジョンを形成した場合、分離と回収率がよくない、③極性の高い有機化合物の回収率が低い。

これら欠点をクリアすべく、次項の固相抽出法が 1980 年中頃から急速な普及を見せている。

2.3 固相(液固)抽出法

固相抽出は液体試料中の目的物質をイオン交換樹脂、シリカゲルや活性炭などの吸着剤に吸着させ水から抽出する方法で、溶媒抽出の欠点を補い次のような利点がある。①分析対象物質の高い回

収率、②少量の試料溶液で分析でき、自動分析が可能、③抽出する固相を選ぶことにより水溶性物質にも適用できる、④エマルジョンを生成しない、⑤有機溶媒の使用量が少なく、溶媒濃縮が容易、⑥操作が簡単で熟練を要しない。

固相抽出における物質の保持、溶出は液相と固相間の分子間力が寄与し、物質の保持機構は非極性、極性、イオン変換の 3 つに分類されている。

また現在、固相抽出には抽出に使用する固相の形態により、①従来から多く使用されている固相抽出カートリッジ、②多量の環境水を素早く処理できる固相抽出ディスク、③固相マイクロ抽出——の 3 つに分類されるが、固相マイクロ抽出は ①、②に比較して抽出法や GC 注入法が大きく異なるため次項で述べる。

2.4 固相マイクロ抽出法⁶⁾

固相マイクロ抽出 (SPME) 法は、図 2 に示すように、細いニードルに結合された固相 (ファイバーという) に試料中の化学物質を吸着させ、ニードルを GC または GC/MS の注入口に挿入して化学物質を加熱脱着させることにより測定を行う方法であり、最近では HPLC でも使用可能なインターフェースも開発されている。

SPME 法では、試料の前処理は試料水からのファイバーへの吸着操作のみであるため、きわめて少量の試料を用いて短時間に測定を開始することができること、また、通常のスプリット・スプリットレス注入口を用いて測定が可能のため、特殊な注入装置を必要としないこと、汚濁の著しい試料を分析してもキャピラリーカラムを損傷しにくい等の長所がある。また、抽出の際に分配平衡を促進するために試料のかくはん、pH 調整、あ

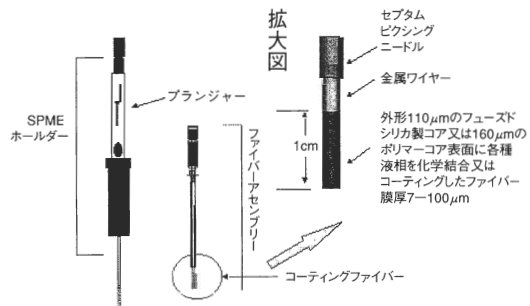


図 2 SPME の原理 (岡山県ホームページ: 岡山県環境保健センター制作)

るいは食塩を飽和量添加することにより抽出率の改善を図ることができる。

一方、欠点としては、定量性が低いため必ず内標準物質の添加が必要なこと、一般に強極性化合物の感度が低くなること、水中に共存する夾雑物の影響を受けやすいこと——などである。しかし、SPME法は他の分析法に比較して短時間で分析が可能なこと、SPME法は溶液、固体および気体サンプルに対しても適用できることから、緊急時における定性・定量分析に有効な方法である。

2.5 水蒸気蒸留法

水蒸気蒸留法は水に不溶で比較的蒸気圧の高い有機化合物を水蒸気とともに流出させる方法で、不揮発成分や無機物質と分離でき、クリーンアップ操作の一環としても水蒸気蒸留は重要である。蒸留後の留出液をさらに溶媒あるいは固相抽出する場合が多い。

循環式水蒸気蒸留法は精油定量装置等を使用し、水蒸気蒸留を行い、留液を有機溶媒層に通過させることにより、蒸留操作を行いながら同時に溶媒抽出し、連続的に化学成分を水から抽出できる(図3)。

2.6 反応系を利用した溶媒抽出法

反応系を利用した化学物質の水からの抽出には誘導体化と錯形成があり、誘導体化はある化合物に、ある特定の原子(原子団)が他の原子(原子団)により置換されることで、次の利点がある。①水溶性の化合物を水中で誘導体化できる、②誘導体化により水相から簡単に有機溶媒に抽出できるような非極性の誘導体を生成する、③化合物のある官能基に特異的に反応する——など。

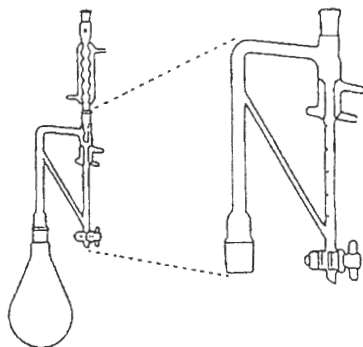


図3 循環式水蒸気蒸留装置

なお、誘導体化は抽出のほか、次のような目的のためにも利用されている。①検出器に対しより高感度で、選択性よく、テーリングを防ぎ、揮発性が増す、②分析操作による分解(熱分解等)を防ぐ、③目的物質の確認操作。

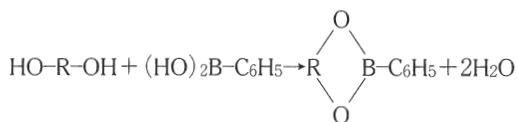
誘導体化と錯形成法を利用した有機化合物の水からの抽出の代表的反応⁷⁾を示す。

2.6.1 エステル化

反応性が高く極性の強い酸はGC分析でテーリングを起こしやすいが、エステル化により極性が弱まり、より揮発性が高まりGC分析には有用である。エステル化の基本は酸のカルボキシル基とアルコールの水酸基の脱水を伴う縮合である。

しかし、エステル化は非水環境で進行するため、水からの抽出手法としてのエステル化例は少ない。

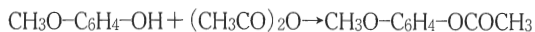
次のエステル化により、水試料を濃縮後、極性の高いジオール類をフェニルホウ酸により環状エステル化反応後、有機溶媒により水から抽出している。



2.6.2 アシル化

アシル化はクロマトグラフィーでもっとも広く使用される誘導体化の一つで、水溶性の有機化合物を誘導体化により有機溶媒で抽出できる。

アミンや含窒素化合物をベンゼンスルホン誘導体化やフェノールをアセチル誘導体化等のアシル化により、水から有機化合物を有機溶媒で抽出している。メトキシフェノールのアセチル化の反応式を示す。



2.6.3 アルキル化

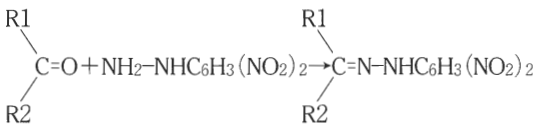
アルキル化はアシル化と同様に反応性の高い水素を含む有機化合物の水素をアルキル基で置換する反応で、その誘導体を有機溶媒により水から抽出にしている。トリプチルスズやトリフェニルスズ等の有機スズ化合物をテトラエチルホウ酸ナトリウムにより水溶液中でアルキル化により、溶媒

抽出している。

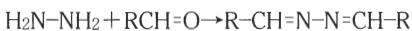


2.6.4 カルボニル基—塩基縮合

アルデヒドやケトン等のカルボニル基を含む化合物にヒドラジンを反応させ、ヒドラゾンを生成する反応で、初期には HPLC 分析の際カルボニル化合物の検出感度を高めるためにこの誘導体化が使用されたが、現在は誘導体を水から抽出後、GC/MS 分析している。もっとも代表的な誘導体化試薬である 2,4-ジニトロフェニルヒドラジンとケトンの反応式は次のとおりである。



さらに、カルボニル化合物をヒドラジンで誘導体化してヒドラゾンを抽出するだけでなく、逆にヒドラジンやフェニルヒドラジンをカルボニル化合物で誘導体化し、生成したヒドラゾンを有機溶媒で抽出する分析法ある。

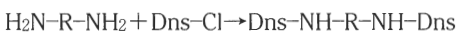


また最近では、2,4-ジニトロフェニルヒドラジンを含浸した固相カラムも製品化され、これに水質試料を通し、固相カラム上で誘導体化し、生成したヒドラゾンを同時に固相抽出している。

2.6.5 HPLC 分析用の蛍光誘導体化

ここで採用されている誘導体化は GC 分析用の誘導体化では困難と思われる化合物、すなわち複数の官能基を有するポリアミンやアミノスルホン酸などの化合物を対象としている。

ポリアミンのダンシル誘導体化の例を示す。



2.6.6 錯形成

錯形成の代表は陰イオン界面活性剤をメチレンブルーと錯体を生成させ、有機溶媒で抽出する。

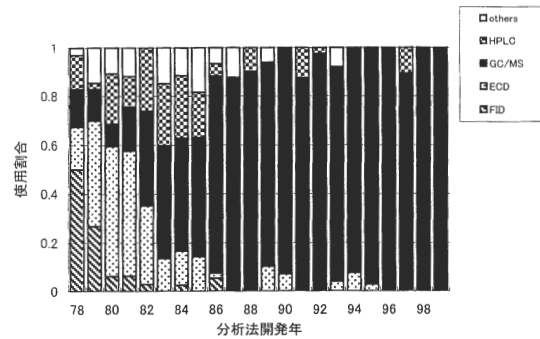
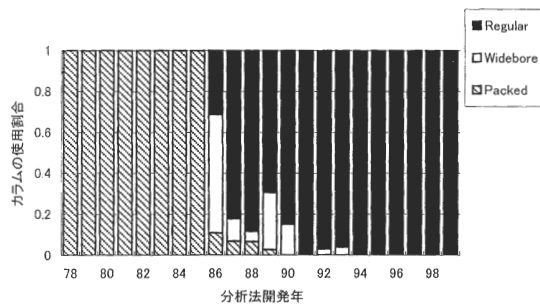


図4 分析法開発で使用された分析機器の経年変化



注) Regular : キャピラリーレギュラーボアカラム
Widebore : キャピラリーワイドボアカラム
Packed : パックドカラム

図5 分析法開発で使用された GC カラムの経年変化

3. 黒本調査の抽出法とその変遷

化審法の成立を契機として、1974年から化学物質に関する各種の調査研究が実施され、79年にはそれまでの各種調査を体系化した第1次化学物質環境安全性総点検調査がスタートした。一方、環境調査は地方自治体で分析法開発した物質について翌年実施されるため、第1次化学物質環境安全性総点検調査としての分析法開始年は79年の前年に当たる78年に相当する。

ここでは、第1次化学物質環境安全性総点検調査開始から、現在までの分析法開発調査結果(1978~99年)について整理した。その間、1,000以上の分析法が開発され、物質によっては1年で分析法が開発が終了しないで翌年も同じ化学物質の分析法を開発したり、いったん分析法を開発しても、後年に同一物質をさらに精度よいまたは検出限界の低い分析法が開発されているため、実際に開発された化学物質数は800程度と考えられる。また、こ

の中には試行錯誤を重ね分析法を検討しても、最終的には環境調査まで至らなかった分析法も含まれている。

分析法開発調査で用いられている化学物質の分析装置と GC カラムの年別の経年変化を図 4, 5^{8,9)} に示す。分析装置は1980年前後に GC/FID から GC/ECD に代わり、それ以後各種分析装置が使用されているが、GC/MS の割合が漸次増え86年以降80%以上を占め、98年以降は本調査での機器分析装置は100%GC/MS である。

また使用される GC カラムは、調査開始以来85年頃までパックドカラムのみであったが、86年にキャピラリーカラムが導入された。この時はワイドボアが優勢であったが87年以後一気にレギュラー化が進み、94年以降は100%を占めており、GC カラムといえばレギュラーのこととなった。

すなわち、87年以降キャピラリー GC/MS 分析が分析法の80%以上で、ここ2, 3年は100%を占めている。

1988年、ゴルフ場で使用される農薬が原因の水質汚濁問題を発端として、ゴルフ場農薬問題が社会問題化したことを受け、90年に本問題に関係する3省庁（環境庁、厚生省、農林水産省）が指導指針等を出した¹⁰⁾。その結果、公定法として GS/MS 等による「ゴルフ場農薬に係わる検査方法」が厚生省より出され、さらにこれらの試験法をもとに水道法が見直され、新たな「水道基準に関する省令」が公布された。これらの分析法は農薬の一括分析として固相抽出—GC/MS, VOC の一括分析としてパージ&トラップ法が新規に採用された。

以上のような黒本調査の分析法で使用されてきた分析機器や GC カラムの経年変化、およびゴルフ場の農薬問題や水道法の改正で採用された新しい抽出・捕集、固相抽出法やパージ&トラップ法の導入を考慮し、1990年を分析法の区切りの年として捉えた。ここでは黒本調査の分析法開発調査時期を前期(1978~89年)と後期(1990~99年)の2グループに分け、水からの化学物質の抽出・捕集方法を分類して、各種方法での使用数とその割合で示した(表 1)。

3.1 揮発性有機化合物の捕集法

調査前期は、VOC 分析が比較的手軽にできる

表 1 水からの化学物質抽出・捕集法の分類^(注)
(黒本調査：1978~1999年)

抽出法	1978~89年 使用数 (%)	1990~99年 使用数 (%)
ヘッドスペース	25 (3.4)	1 (0.3)
ストリッピング	44 (6.1)	2 (0.7)
パージ&トラップ	0 (0.0)	10 (3.5)
溶媒抽出	437 (60.2)	160 (55.9)
固相抽出	93 (12.8)	76 (26.6)
SPME	0 (0.0)	15 (5.2)
蒸留	31 (4.3)	1 (0.3)
反応	95 (13.1)	19 (6.6)
その他	1 (0.1)	2 (0.7)
開発分析法総数	726	286

注) 本分類は大阪府公害監視センターの奥村為男氏が作成したデータベース(Excel形式：2001年2月)を集計した

ヘッドスペース法、あるいは感度よく分析するためのストリッピング法が採用された。

しかし、ヘッドスペース法は感度の点で問題があり、また、GC 分析がパックドカラムからキャピラリーカラムへ代わり、VOC 分析の主流が次のパージ&トラップ法に移り、ヘッドスペース法やストリッピング法は使用されなくなった。なお、ストリッピング法からパージ&トラップ法への移行期にはストリッピング法により試料をパージし、TCT管(捕集管)に捕集し、TCT装置によりキャピラリー GC/MS に導入する分析法も開発された。

その後、後期はパージ&トラップ法の開発により VOC 分析は感度よく、自動分析も可能なパージ&トラップ/GC-MS 法が採用されている。

3.2 溶媒抽出法

溶媒抽出法は調査前期・後期とも、使用されている割合は50%以上と半数以上の分析法は溶媒抽出であり、黒本調査の中心的抽出法である。溶媒抽出法に比べ固相抽出法が有利といわれているにもかかわらず、調査前期と後期の抽出法の割合で差が少ない。これは水試料だけの分析法であれば、溶媒抽出法の多くは固相抽出法に代えることができるが、黒本調査は水系分析法として水質に加え底質・生物の分析法も合わせて開発する必要があるのである。すなわち、底質・生物の分析法では前処理と

してメタノールやアセトン等の親水性溶媒により目的物質を媒体から抽出した後、目的物質が含まれる親水性溶媒を水に加え再度溶媒抽出する必要がある。この場合固相抽出法は親水性溶媒濃度の制約を受けやすく、一貫性を持たせた溶媒抽出法を多用する傾向があると推定される。また、固相抽出法は溶媒使用量や操作面で多くの利点はあるが固相の単価がやや高く、一部で敬遠されると考えられる。

3.3 固相抽出法

調査前期では酸や塩基をイオン交換樹脂で、農薬や多種類の炭化水素をポリマーゲル系で、また水溶性のアルコール等を活性炭により水から抽出している。しかし、この当時の固相抽出は樹脂等の前処理(多量に使用する樹脂の洗浄および充填、目的物質の溶出)が非常に煩雑であり、固相用カラムを作成するまでに試薬と時間が多くかかり、さらにブランクの問題があった。その後1980年頃からシリカーODS系の固相カートリッジタイプが製品化され、その後、各種固相で同製品化が進み、調査後期では農薬やフェノール類等をシリカーODS系やポリマーゲル系で一括抽出・分析している。さらに液液抽出が困難な水溶性有機化合物(ピリジン等)の抽出を活性炭系の固相で抽出している。表1より、固相抽出法の使用割合は前期の2倍に増え、今後も増加が予想される。一方、イオン交換樹脂はほとんど使用されなくなった。

また、1993年に商品化された固相抽出法の一つであるSPME法は黒本調査の後期(1994年)に登場した。水溶性の高いアルコールの分析、またフタル酸エステル類は通常、分析時に操作ブランクが大きく、できるだけ操作を簡便にしてブランクを少なくする方法として採用されている。

SPME法は試料量の少ない生体試料や一部の研究機関では多用されているが、試料の多量採取が容易なこともあり、本調査ではこの分析法が発表された当初予想したほどには普及していない。それは3.2で述べた溶媒抽出と固相抽出法の関係と同様に、水質試料だけでなく底質・生物試料も分析する必要がある、この場合にSPME法は共存する有機溶媒の影響を受けやすいと推定されるため、黒本調査ではSPMEが敬遠されていると考えられる。

3.4 水蒸気蒸留法

黒本調査では水蒸気蒸留法を循環式水蒸気蒸留法だけでなく水を直接濃縮し、水溶液のままGCに注入する場合も含め集計した。調査前期で循環式水蒸気蒸留法により炭化水素類を抽出したり、アミン類を濃縮後、直接水溶液のままパックドカラムに注入している。

後期には蒸留法は大幅に減少した。それはパックドカラムと異なり、キャピラリーカラムでは水を直接注入できないこと、水蒸気蒸留法から固相抽出法等に替わったからと推定される。

3.5 反応系を用いた抽出法

表1に示すように有機化合物を反応させる抽出法が調査後期で減少したのは、手軽に各種の固相抽出法が利用でき、あえて反応させる必要がなくなったことが考えられる。後期にはHPLC分析自体が減少し、そのための蛍光誘導体化も行われなくなった。

また、調査前期にフェノール類やスルホン酸をメチレンブルーに、有機アンモニウム塩をオレンジIIで錯体を形成させ有機溶媒で抽出しているが、後期では錯体形成は使用されず、固相抽出法や誘導体化がそれに替わったと考えられる。

4. ま と め

1970年代後半から1980年代前半の黒本調査の分析法は、抽出操作などの前処理や分析機器等非常にバリエーション豊かである。最近では化学物質の分析法の体系化が進み、物質群により分析法が確立されている。これは、地方公共団体の研究者により開発された多くの分析法によるところが大きいと考えられる。そして黒本調査の分析法は、黒本調査以外の環境調査等でも有効に利用されている。また、今まで数多くの分析法が開発され、蓄積された分析法は、分析法をさらに精度高く改良したり、新たな物質の分析法を構築するに当たり有用であると考えられる。

一方、最近話題となっている環境ホルモン、POPs条約関連物質の分析では、ダイオキシン分析で取り入れられている極微量領域を対象とした多成分一斉分析法の開発が重要である。また、黒本調査では主としてGC/MS分析可能な物質を対象としていたが、難揮発性、熱不安定性物質も対

象とされるようになり、LC/MS分析が導入され、それに対応した分析法の開発も必要となっている。

—参考文献—

- 1) 環境省環境安全課：平成12年度版 化学物質と環境，平成13年3月
- 2) 環境庁環境保健部保健調査室：化学物質環境調査分析方法のキーワードによる整理，昭和58年3月
- 3) 梅澤喜夫，澤田嗣郎，中村洋：最新の分離・精製・検出法，(株)エヌ・ティー・エス，1997
- 4) 保母 敏行：高純度化技術大系 第1巻分析技術，フジ・テクノシステム，1996
- 5) 日本化学会編：分離精製技術ハンドブック，丸善，1993
- 6) 岡山県環境保健センターホームページ，2001，1，15
- 7) 中村洋：分離分析のための誘導体化ハンドブック，丸善，1996
- 8) 山本武：微量物質分析にみる最近のトレンドとGC/MS，資源環境対策，**28**（2），7～13，1992
- 9) 環境庁環境保健部保健調査室：化学物質分析法開発調査報告書総覧（昭和49年度～平成元年度，上，下巻），平成3年3月
- 10) 尾川 毅：最近のゴルフ場における農薬問題とその対策，資源環境対策，**28**（12），35～42，1992