

化学物質に関する調査研究 (第1報)

— 下水汚泥中クロルデン類の分析法について —

Studies on The Chemicals (I)

The Analytical Method of Chlordanes in Sewage Sludge

藤田 淳二 山本 務 多田 薫
 Junji FUJITA Tsutomu YAMAMOTO Kaoru TADA
 中野 智 細川 仁
 Satoru NAKANO Sinobu HOSOKAWA

下水汚泥中のクロルデン類分析に関する検討を行い、Florisil Column Chromatographyによりtrans-nonachlor及びheptachlorepoxideの分離を試みた。さらにガスクロラム充てん剤5種類を使って、クロルデン類の分離状態を検討した。これまで魚介類、底泥中のクロルデン類分析に、ヘキサン抽出-アセトニトリル分配-Florisil Column Chromatography-gas Chromatographyが使用されているが、これを下水汚泥に適用し、精度良く下水汚泥中クロルデン類を分離定量できることがわかった。

はじめに

クロルデンは、西日本を中心に多量に使用された防蟻剤である。すでに、特定化学物質に指定され使用中止となっているが、これまで広範囲に使用されており、しかも残留性の強いことから、今後も汚染の広がりが危惧される所である。

すでに、底泥、土壌、魚介類さらには、母乳、皮脂、血液からのクロルデン類検出報告^{1)~5)}がなされている。また、これら報告に伴って、各種サンプルに対する分析法の研究^{6)~9)}もなされている。しかし、これまで下水汚泥に関するクロルデン類分析例及び分析法の研究報告は殆んどない。そこで今回、下水汚泥中のクロルデン類分析に関する検討を行った。

一般に、魚介類、底泥中のクロルデン類分析は、ヘキサン抽出-アセトニトリル分配-Florisil Column Chromatography-Gas Chromatographyで行われているわけであるが、この中でFlorisil Column Chromatography, Gas Chromatographyでのクロルデン類の分離条件の検討、試料濃縮時におけるクロルデン類損失状態の検討を行った。

さらに、下水汚泥にクロルデン類を添加し、回収実験を行った。実験の結果若干の知見が得られたので報告する。

実験方法

1. 試薬

ヘキサン	和光純薬工業	残留農薬試験用
アセトニトリル	" "	"
エチルエーテル	" "	"
γ -Chlordane	" "	標準品
α -Chlordane	" "	"
trans-nonachlor	Velsicol Chemical Co.	標準品
Cis-nonachlor	" "	"
Oxy-Chlordane	" "	"
heptachlorepoxide	和光純薬工業	標準品
Florisil	ガスクロ工業	Florisil PR

2. 装置

ガスクロマトグラフ	島津GC-4CM (ECD ⁶³ Ni)
フラクションコレクター	TOYO KAGAKU SANGYO Co. LTD SF-160 Fraction-Collector

3. 実験操作

3-1 Florisil Column Chromatographyによる分離

130℃5時間活性化させたFlorisilを1時間デシケータ中で放冷する。このFlorisil 10gをヘキサンを使って、15 ϕ ×300mmクロマト管に湿式で充てんする。上部に無水硫酸ナトリウム2gを充てんし、ヘキサン100mlを通す。その後 γ -Chlordane (γ -C), α -Chlordane (α -C), trans-nonachlor (t-NC), Cis-nona-

chlor (C-NC), Oxy-Chlordane (O-C), heptachlorepoide をそれぞれ 100 ng (0.1 mg/l 1.0 ml) を添加し、まずヘキサン 130 ml で溶離を行う。ついで、エチルエーテル含有ヘキサン (2%, 4%, 6%) 180 ml で溶離を行う。なお、4 ml/min の速度で溶離を行った。溶離液はフラクションコレクターにて 10 ml づつ分画し、各画分におけるクロルデン類を GC-ECD により測定した。

3-2 Gas Chromatography による分離

ガスクロカラム充てん剤 5 種類を用いて γ -C, α -C, t-NC, C-NC, O-C, heptachlorepoide の分離状態を検討した。使用した充てん剤は次のとおりである。

- 1) 2% Silicone OV-1 Chromosorb W AW DMCS 60/80
- 2) 2% Silicone OV-17 Chromosorb W AW DMCS 60/80
- 3) 2% Silicone QF-1 Uniport KS 60/80
- 4) 2% Silicone OV-210 Chromosorb W AW DMCS 60/80
- 5) (3+3)% Silicone OV-17+DCQF-1 Chromosorb W AW DMCS 60/80

3-3 試料濃縮に伴うクロルデン類の損失

ヘキサン 150 ml に γ -C, α -C, t-NC, C-NC, O-C, heptachlorepoide をそれぞれ 0.02 μ g (0.01 mg/l のヘキサン溶液 2.0 ml) を添加し、クーデルナードニッシュ濃縮器で約 5~10 ml に濃縮した。その後濃縮器の受器を取りはずし、75°C 水浴水で加温しつつエアポンプで通気 (約 0.5 l/min) しながら 2.0 ml に濃縮した。この試料のクロルデン類を GE-ECD で測定し、その回収率を調べた。

3-4 クロルデン類の添加回収実験

M 下水処理場脱水汚泥 20.0 g (水分 80.0%) に γ -C, α -C, t-NC, C-NC, O-C, heptachlorepoide の 0.1 μ g をアセトン溶液として添加 (0.1 mg/l を 1.0 ml) し、図 1 に示すフローに従って分離定量した。

結果及び考察

1. Florisil Column Chromatography による分離

分画を行った、フロリジルカラムクロマトグラムを図 2-1, 2-2, 2-3 に示した。

図 2-1 より、2% エチルエーテル含有ヘキサンで heptachlorepoide が分離できることがわかる。但し heptachlorepoide が溶離し終るには 2% エチルエー

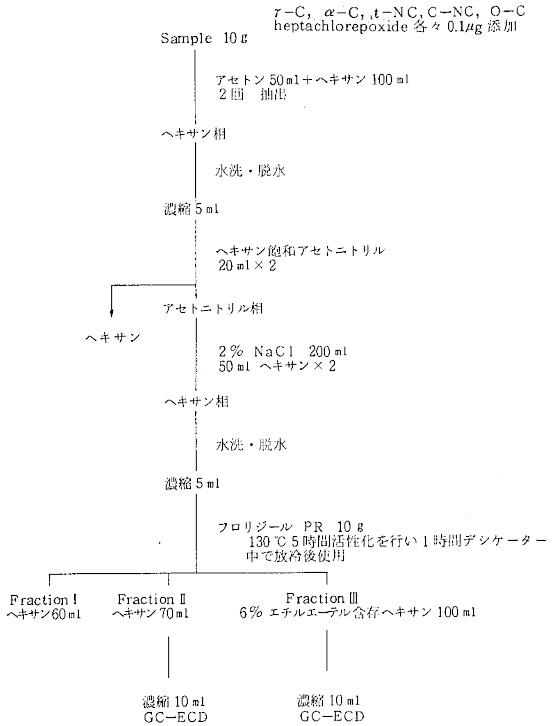


図 1 添加回収実験フロー

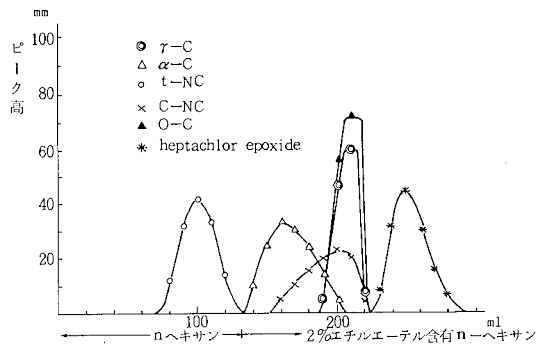


図 2-1 ヘキサン・2% エチルエーテル含有ヘキサンによる Florisil Column 分画

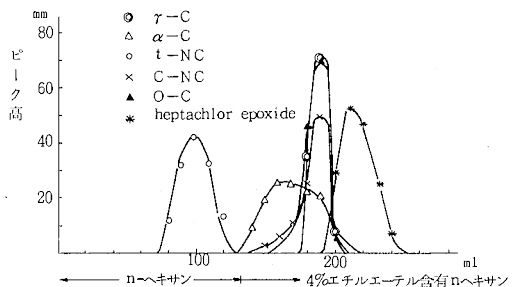


図 2-2 ヘキサン・4% エチルエーテル含有ヘキサンによる Florisil Column 分画

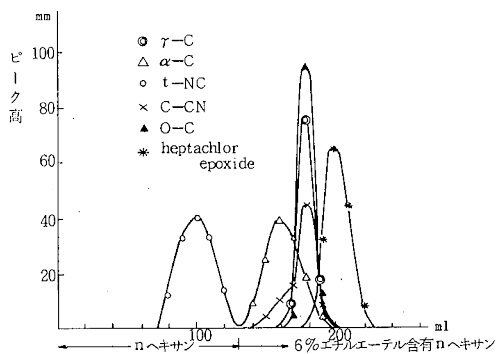


図 2-3 ヘキサン・6%エチルエーテル含有ヘキサンによる Florisil Column 分画

ル含有ヘキサンが 160 ml 必要である。

一方図 2-2, 2-3 より, エチルエーテル含有量が增大すると heptachlorepoide の分離が困難であることがわかる。4%エチルエーテル含有ヘキサンでは 120 ml で, 6%エチルエーテル含有ヘキサンでは 100 ml で全て溶離することがわかる。

t-NC は, ヘキサン 70 ml から 130 ml の画分に溶離し, 他のクロルデン類との分離が可能である。なお, Florisil の活性化の仕方, あるいはロットにより分離が不十分な場合が見られた。

2. Gas Chromatography による分離

5種類のガスクロカラム充てん剤を使ってクロルデン類の分離を行い, 各充てん剤におけるクロマトグラムを図 3-1, 3-2, 3-3, 3-4, 3-5 に示した。

OV-1 では, O-C と heptachlorepoide は全くかさなり, C-C と t-NC の分離も不十分であった。

しかし, Florisil Column Chromatography により t-NC, heptachlorepoide はそれぞれ分離できるため, あらかじめ, t-NC, heptachlorepoide を分離しておけば, OV-1 で 6 物質を定量できる事がわかる。

OV-17 では, O-C, heptachlorepoide, C-NC は分離できるが, r-C, t-NC, alpha-C はかさなり分離定量は困難である。しかし, あらかじめ t-NC を Florisil-Column Chromatography により分離しておくと, r-C, alpha-C はガスクロマトグラム上で分離され定量可能となる。従って, Florisil Column と OV-17 をうまく組み合わせると, 6 物質を分離定量できることがわかる。

QF-1 では, O-C, C-NC は良い分離を示したが, r-C, t-NC はかさなり, heptachlorepoide, C-C もかさなる事が分った。また t-NC, heptachlorepoide の分離をあらかじめ行っても t-C, C-C は十分な分離を示さなかった。

OV-210 では, O-C, C-NC において良い分離を示したが, t-C, t-NC, C-C, heptachlorepoide では QF-1 と同様分離は不十分であった。

OV-17+DC QF-1 では, OV-17 と同様 O-C, heptachlorepoide, C-NC において良い分離を示した。しかし t-NC, t-C は同一ピークとなり, このピークと C-C とも分離が不十分であった。あらかじめ, t-NC を Florisil Column Chromatography により分離を行っても t-C, C-C の分離は不十分であった。

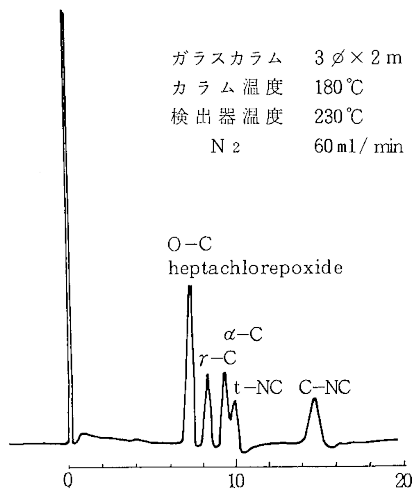


図 3-1 2% Silicone OV-1 Chromosorb W AW DMCS 60/80 によるクロマトグラム

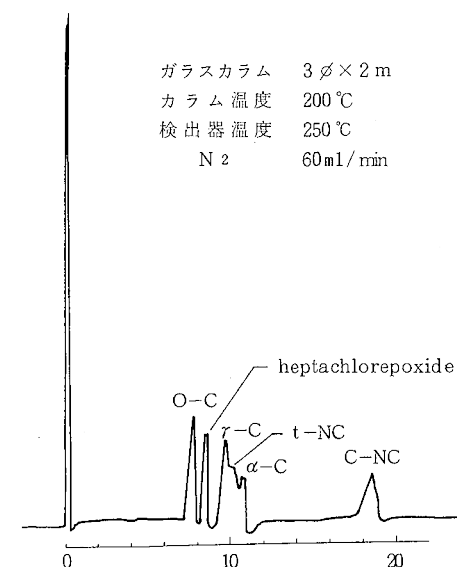


図 3-2 2% Silicone OV-17 Chromosorb W AW DMCS 60/80 によるクロマトグラム

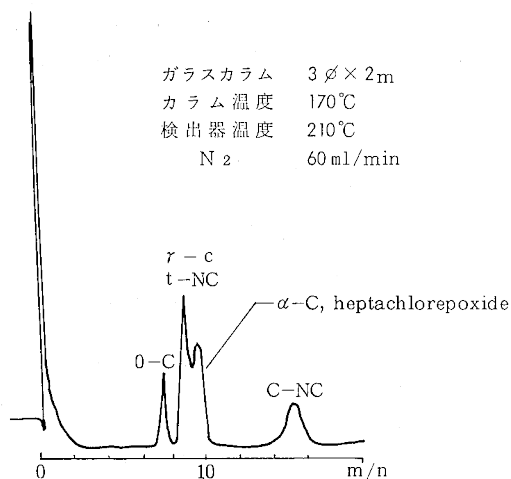


図3-3 2% Silicone OF-1
Uniport KS 60/80による
クロマトグラム

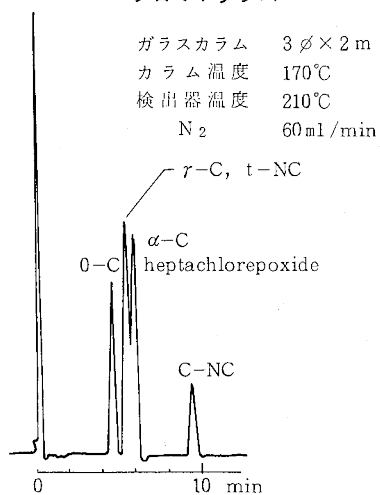


図3-4 2% Silicone OV-210
Chromosorb W AW DMCS
60/80によるクロマトグラム

3. 試料濃縮に伴うクロルデン類の損失

試料をクーデルナーダニッシュ濃縮器で濃縮した後さらに、エアープンプで通気しながら2.0mlに濃縮した場合と、エアープンプで通気せず沸石を入れて、水浴中で2.0mlに濃縮した場合のクロルデン類回収率を表1に示した。

表1 濃縮率操作後のクロルデン回収率

	通気濃縮後の 回収率 (%)	通気を伴わない濃縮 後の回収率 (%)
r-C	76.5	99.5
alpha-C	82.0	100
t-NC	77.4	101
C-NC	80.0	99.0
O-C	82.0	102
heptachlorepoide	84.4	98.5

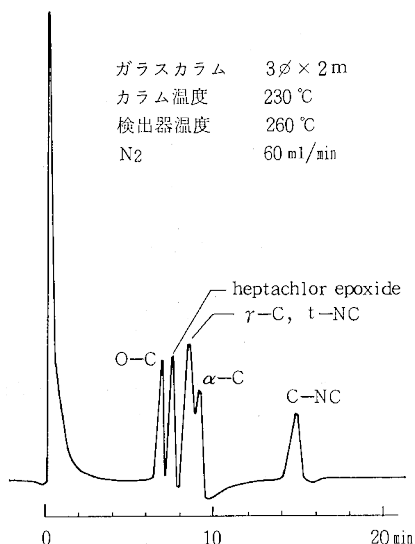


図3-5 (3+3)% Silicone OV-17+DC
QF-1 Chromosorb W AW DMCS
60/80によるクロマトグラム

すでにクロルデン濃縮に伴う回収率の低下は光武⁷⁾らによって指摘されているが、今回の実験においても通気した場合16~24%の損失がみられた。しかし通気せずに濃縮した場合殆んど損失はみられなかった。

4. 下水汚泥への添加回収実験

M下水処理場脱水汚泥を用いてクロルデン類の添加回収実験を行った。その結果を表2に示した。

表2 添加回収実験結果

	r-C	alpha-C	t-NC	C-NC	O-C	heptachlor epoxide
平均回収量(μg)	0.091	0.087	0.092	0.091	0.089	0.091
回収率(%)	91	87	92	91	89	91
CV (%)	2.0	1.7	1.9	1.9	0.9	2.0
n = 5						

87%以上の平均回収率を得ると共に2.0%以下の変動を示した。使用した下水汚泥では、6化合物分離定量に際し、ガスクロマトグラム上妨害ピークは見られなかった。なお使用した下水汚泥中r-C, t-NC, C-NC, O-C, heptachlorepoideは、それぞれ0.05, 0.016, 0.049, 0.012, 0.005>, 0.005>μg/g(乾重量当り)であった。

ま と め

1. Florisil Column Chromatographyでは、溶離液をヘキサン130ml, その後2%エチルエーテル含有ヘキサンを用いることにより, t-NC, heptachlorepoide

を分離することができる。

2. ガスクロラム充てん剤の種類により、次のクロルデン類がうまく分離される。

OV-1では、 γ -C, C-NC, OV-17では、O-C, heptachlorepoxyde, C-NC, QF-1では、O-C, C-NC, OV-210では、O-C, C-NC, OV-17+DCQF-1では、O-C, heptachlorepoxyde, C-NCが良い分離を示す。

3. Florisil Column ChromatographyとGas Chromatography (充てん剤 OV-1, OV-17)を組み合わせるにより、6化合物をうまく分離定量できる。

4. 試料の通気加温濃縮を行うと16~24%のクロルデン類損失を見た。しかし通気を行わず加温のみで濃縮を行うと殆んど損失は見られなかった。

5. 下水汚泥でのクロルデン類添加回収は、87%以上の回収率を得た。

6. 下水汚泥中のクロルデン類分析にヘキサソ抽出-アセトニトリル分配-Florisil Column Chromatography-Gas Chromatographyを使用することによって、6化合物を精度良く分離定量することができる。

文 献

- 1) 化学物質と環境 58年版 環境庁
- 2) YAMAGISHI T, MIYAZAKI T, AKIYAMA K, KANEKO S, HORII S : 食品衛生学雑誌, 22, 4, 270(1981)
- 3) 大城善昇 : 第20回衛生化学技術協議会講演要旨集 p 64 (1984)
- 4) MIYAZAKI T, AKIYAMA K, KANEKO S, HORII S, YAMAGISHI T : Bull Environ. Contam. Toxicol. 25, 4, 518(1980)
- 5) Masonobu Wariishi, Yasuo Suzuki, Keitaro Nishiyama : Bull. Environ. Contam. Toxicol. 36, 635(1986)
- 6) 宮崎奉之, 秋山和幸, 金子誠二, 堀井昭三, 山岸達典, 村上 一 : 東京都衛生研究所年報 31, 1, 161(1980)
- 7) 光武隆久, 村山卓雄, 馬場千恵子, 等 : 全国公害研会誌, 8, 2, 77,(1983)
- 8) 酒井 洋, 高井 透, 郷同一等, 第19回全国衛生化学技術協議会年会講演集, p 38 (1983)
- 9) 沼田 一, 沢登春成 : 山梨県衛公研年報,, 25, 59 (1981)