〔衛生化学〕
EISEI KAGAKU
33 (2) 118-128 (1987)

尿素包接化合物形成による *n*-アルカンの改良定量法

松永和義, 今中雅章, 劔持堅志, 日野誠二

岡山県環境保健センター

Improved Determination of *n*-Alkanes by Forming of Urea Inclusion Compounds

KAZUYOSHI MATSUNAGA, MASAOKI IMANAKA, KATASHI KENMOTSU
and SEIJI HINO

Institute of Environment and Public Health of Okayama Prefecture
739-1, Uchio, Okayama 701-02, Japan

(Received October 6, 1986)

This report describes the trace analytical method of *n*-alkanes, based on the inclusion ability of urea, from a mixture of iso-alkanes, cycloalkanes, poly aromatic hydrocarbons and organic sulfur compounds.

n-Alkane-urea inclusion complexes were formed by adding ethanol 2 ml of saturated with urea to 0.5 ml of a mixed solution of acetone and *n*-hexane (3:2) containing the above described compounds. The inclusion compounds formed in the hydrophobic medium were precipitated by adding ice-cold ethyl ether and then cooling for 5–10 min in an ice-bath. The precipitates were separated with centrifuge (3000 rpm, 6 min) at 5°C from organic reaction medium. The precipitates were dissolved in 30 ml of 4% Na₂SO₄ and extracted with *n*-hexane (total volume, 20 ml), and also the supernatant by the addition of 30 ml of 4% Na₂SO₄ was treated with *n*-hexane (20 ml). *n*-Alkanes were measured in the former *n*-hexane solution while iso-alkanes and/or others in the latter by each gas chromatographic analysis. The recoveries of *n*-alkanes of C₁₂ and C₁₄ were 67% and 80%, respectively, being recovered in the past reports with yield of under 40%. The yields of *n*-alkanes of C₁₅–C₂₈, 2,2,4,4,6,8,8-heptamethylnonane, heptylbenzene, pristane, dibenzothiophene and 3,4-benzpyrene were 91% on the average, 77%, 79%, 80%, 83% and 84%, respectively.

This analytical method was applied to the solvent extracts of a bait of cultured fish and the sea bottom sediment.

Keywords—urea; *n*-alkane; iso-alkane; pristane; dibenzothiophene; 3,4-benzpyrene; GC determination; inclusion ability; host-guest chemistry

緒 言

海洋は多くの化学物質によって汚染され、その汚染は海水、底質及び生物へと広範に及んでいる。その中でも石油系炭化水素類の環境影響について大きな関心が寄せられ、炭化水素類の測定法について多くの報告¹⁻⁷⁾及び総説⁸⁻¹⁰⁾がある。

この炭化水素類についての分析法の1つに尿素アダクト¹¹⁾生成を利用した方法がある。尿素は約5 Åの筒状空洞を持った包接化合物の1つであり、直鎖状炭化水素

と結晶性付加化合物を作る。石油化学工業では、かつて直鎖状炭化水素の工業的分離精製に尿素が利用されたことがあるが、分析化学の分野では引き続き利用されていて、¹¹⁾石炭液化油の分析への利用研究¹²⁾もある。しかしながら、人間活動によって汚染された海産物、底質中の微量の石油炭化水素類の分析には尿素アダクト法¹¹⁾はそのまま適用できなかった。したがって、この方法に代わるモレキュラーシーブ⁵⁾による方法、TLC法¹⁾及びゲルパーミエーションクロマトグラフィー⁷⁾が提案され

ている。また、同一の底質試料について8測定研究室での種々の分析法による測定比較を行い、100倍のばらつきを指摘した報告⁴⁾もある。このように底質などの環境試料、魚肉中の微量の*n*-アルカンの分析法は確立されたものではなく、特にC₁₄以下の直鎖状炭化水素の回収率は低い。^{5,13)}

尿素は有機溶媒中において、*n*-アルカンと包接化合物を形成すると疎水性が増加する。本報告ではより疎水性の溶媒を加えることによって、尿素の親水性を相対的に増強させて、疎水性環境下でその沈殿生成を冷却とエチルエーテル添加によって促進することによって微量の石油系炭化水素類から*n*-アルカンを分離する微量分析法とその実試料への適用について述べる。

なお、本研究は包接能を有する化合物の分離分析法への応用研究¹⁴⁾の一部である。

実験方法

1. 試薬 尿素飽和溶液——和光純薬製特級品をエタノールに溶かし飽和溶液とする。ただし、尿素はあらかじめ*n*-ヘキサンで抽出して、妨害ピークのないことを確認したロット製品を使用する。

n-アルカン (C₁₂—C₂₈: 特級, ただし C₂₀ 及び C₂₇ は一級), 2,2,4,4,6,8,8-heptamethylnonane (特級), *n*-heptylbenzene (一級), cyclododecane (一級), pristane (一級), pyrene (一級), squalene (特級), 3,4-benzopyrene (一級) の各標準液——東京化成工業製の各級化合物 200 mg をベンゼンの最少量で溶かしたのち、アセトンを加えて全量 50 ml として 4000 ppm 溶液とする。用時アセトンで希釈して各化合物ごとに 100 ppm 濃度の標準溶液を作成する。

4% Na₂SO₄ 溶液——無水硫酸ナトリウムの 4% 水溶液を *n*-ヘキサンで洗浄を行う。

銅粉末——Blumer¹⁵⁾ の方法に従って処理したもの。

n-ヘキサン, アセトン, エタノール, エチルエーテル, ジクロロメタン, 無水硫酸ナトリウム——残留農薬分析用。

その他の試薬は特級品を使用する。

2. 装置及び測定条件 ガスクロマトグラフ——島津 GC-4BM 型, FID 付き。

測定条件——カラム: 2% OV-17, Chromosorb W (AW-DMCS), 80—100 mesh, 2.6 mm i.d. × 2 m, ガラスカラム。

カラム温度: 80°C—7°C/min—270°C (15 min 定温)。

ガス: 窒素 (99.999%), 60 ml/min, 水素 0.8 kg/cm², 空気 1.0 kg/cm²。

3. 予試験 各種 *n*-アルカンの 100 ppm アセトン

溶液 0.3 ml を 10 ml 用栓付円錐形遠心沈殿管 (遠沈管) にとり、尿素飽和溶液 2 ml を加えたものを3本作成する。各遠沈管を試験管ミキサーで約 10 秒間攪拌する。この各遠沈管にエチルエーテル 1 ml を加えて生成した沈殿を 5°C の室温下で遠心分離 (3000 rpm, 6 分) を行って沈殿 (*n*A-1) と溶液層に分離し、溶液層は先の細い駒込ピペットで注意しながら、別の遠沈管にそれぞれ分取する。3本の各溶液層は水中に15分, 30分及び60分間それぞれ1本ずつ放置後、その各々を再び5°C下で遠心分離 (3000 rpm, 6 分) を行って沈殿 (*n*A-2) を得る。*n*A-1 及び *n*A-2 の計 6 本の遠沈管中の沈殿はそれぞれ 4% Na₂SO₄ 溶液 10 ml を加えて溶かし、この水溶液を 50 ml 分液ロートに移し入れ、*n*-ヘキサン 5 ml ずつで3回抽出を繰り返す。分液して集めた *n*-ヘキサンは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 30°C 下で減圧濃縮を行って少量としたのち *n*-ヘキサンで一定容として、それぞれ *n*-アルカン測定溶液とする。

4. 分析法 サンプルから実験法 5 の項によって得た遠心管中の試料溶液 (mother sample) に、窒素気流を吹きかけて乾固直前まで濃縮する。これに *n*-ヘキサン-アセトン混液 (2:3) 0.5 ml を加えてとかし、更に尿素飽和溶液 2 ml を加えて試験管ミキサーで攪拌後、水中に15分間冷却する。ついでこの冷却溶液にあらかじめ水中で冷却したエチルエーテル 1 ml を加えると白沈が生ずるが、そのまま 5—10 分間水中に冷却したのち、5°C 室温下で遠心分離 (3000 rpm, 6 分) を行って沈殿と溶液層に分離する。この溶液層は先の細い駒込ピペットで 50 ml 分液ロート A に移しとる。

遠沈管底部に残した白色沈殿は *n*-ヘキサン 1 ml を静かに加えて手でゆるく回転させたのちに *n*-ヘキサンを駒込ピペットで分取して分液ロート A に移し入れる。その後、白沈は 4% Na₂SO₄ 溶液約 20 ml を加えてとかし、50 ml 分液ロート B に移し、*n*-ヘキサン 5 ml ずつで3回抽出を繰り返して、*n*-ヘキサン層を集める。この *n*-ヘキサン溶液は無水硫酸ナトリウムで脱水後、ナス型フラスコに移し取りロータリーエバポレータで 30°C 下で減圧濃縮を行って少量としたのち、*n*-ヘキサンで一定容にして *n*-アルカン測定試料液としてガスクロマトグラフ (GC) で分析する。

分液ロート A 中の溶液層は 4% Na₂SO₄ 約 30 ml を追加して希釈を行う。この時分離してくる *n*-ヘキサン層を分取後、水層は *n*-ヘキサン 5 ml ずつで2回抽出を繰り返して *n*-ヘキサン層を集め、先の *n*-ヘキサン層と合わせる。この *n*-ヘキサン溶液は無水硫酸ナトリウムで脱

Chart 1. Procedure to Determine *n*-Alkanes and Others

水後、上述の条件で減圧濃縮を行って一定容にして *iso*-アルカン等の測定試料溶液として GC で分析する。

分析手順を Chart 1 に示す。

5. 実試料の分析法 1) 魚の飼料——固形のサンプル 10 g を 300 ml ナスフラスコにとり、*n*-ヘキサン 200 ml と共に 2 時間沸とう水中で加熱還流を行う。次いで、*n*-ヘキサンの洗淨済のガラスウールをつめたロータリーエバポレータで 30°C、減圧下で乾固直前まで濃縮したのち、10% エタノール性水酸化カリウム 100 ml を加えて沸とう水中で 2 時間アルカリ分解を行う。分解液に精製水 200 ml を加えて *n*-ヘキサン抽出操作 (80 ml x 3 回) を行って *n*-ヘキサン層を集める。*n*-ヘキサン層は水洗後無水硫酸ナトリウムで脱水後ナス型フラスコに移し入れてからロータリーエバポレータで 30°C 下で減圧濃縮を行って少量とする。これを *n*-ヘキサン少量で遠沈管に入れて窒素気流を吹きかけて一定容として試料溶液 (mother sample) とする。これを GC で測定後、以下 4. 分析法によって操作する。

2) 底質——底質 50 g を共栓付 100 ml 用遠心沈殿管に採取して 3500 rpm、15 分間遠心分離を行って水層を除去する。水分除去の試料は円筒ろ紙に移しとり、ソ

ックスレー抽出器で CH_2Cl_2 を使って 12 時間加熱還流を行う。ジクロロメタンを分取水洗後ロータリーエバポレータで乾固直前まで減圧濃縮 (30°C 下) を行い、再び少量の *n*-ヘキサンに溶かす。この *n*-ヘキサン溶液は銅粉末を添加して脱イオウ操作を行った後に *n*-ヘキサンを窒素気流を吹きかけて濃縮し、以下 5. 1) の水酸化カリウムによるアルカリ分解以降の操作を同様に行う。

結果及び考察

1. エチルエーテル添加と冷却による尿素包接化合物の生成

尿素による石油成分中の *n*-アルカンの分離方法として尿素飽和溶液を添加後、減圧下に濃縮乾固して包接化合物を得る方法 (濃縮法) を報告¹³⁾ したが、この濃縮法においても他の報告⁵⁾ と同じように *n*-dodecane (C_{12}), *n*-tetradecane (C_{14}) 等の比較的低沸点の *n*-アルカンにあっては 40% 台の収率であった。この原因としては尿素包接化合物は炭素鎖が長いほど生成がしやすく、また安定性も大きい。¹¹⁾ 一方包接されない *n*-heptylbenzene, cyclododecane 等の低沸点化合物も低収率であったことから、回収率が低いのは炭素数が少ない *n*-アルカンでは包接化合物の生成量が少なく、安定性も悪いという以外に、包接化のための濃縮操作時の揮散による損

Fig. 1. Effect of Cooling and Addition of Ethyl Ether in Forming of the Precipitates of Inclusion Compounds in Hydrophobic Solvents

▨ : cooling time ; 15 min, ▤ : cooling time ; 30 min, ▩ : cooling time ; 60 min, □ : addition of ethyl ether, --- : recovery curve with *n*-hexane.

失も一因と考えられた。

したがって、この損失を小さくし、高収率を得るためにエチルエーテル添加と冷却などによって包接化合物の溶解度を小さくしてその沈殿量を増大して分離する方法を実験方法 4 によって試み、Fig. 1 に示す結果を得た。エチルエーテル添加によって得られた *n*-アルカン (*n*A-1) の収率を空白部分で表し、氷冷によるそれ (*n*A-2) を線・点部分で示した。この結果から次のことが明らかとなった。

① *n*-eicosane (C₂₀) 以上の大きい分子量の *n*-アルカンの尿素包接体はエチルエーテル添加によって 90% 以上の収率で沈殿として溶液中から分離できる。② C₁₂ から *n*-nonadecane (C₁₉) までのものは氷冷によって収率を上げることができる。特に C₁₂, C₁₄ は氷冷によって始めて包接体の分離が可能となる。③ 破線で示すように *n*-アルカン類では炭素数が増加するにつれて包接体の生成収率は上昇傾向を示す。④ 氷冷時間は 30 分が最適である。

このように *n*-アルカンの尿素包接体の沈殿量は、エチルエーテル添加と氷冷により増加することから次のように考えられた。すなわち、尿素添加による包接化反応を行ったのちに、この溶液を氷冷しておき、これにあらかじめ氷冷したエチルエーテル（氷冷エーテル）を添加すれば、包接体の沈殿生成時間の短縮と沈殿生成量の増大が期待できると推定された。また遠心分離を室温で行う

と高速回転による発熱のために遠心器の槽内温度が上昇して包接体の溶解度が上がり、包接体収量の著しい低減がみられたことから、収量を保持するために 5 °C 下で遠心分離を行うことにして、以下のとおり至適条件を検討した。

尿素包接化合物からの *n*-アルカンの遊離は包接体を水に完全にとかすことによって 97.5% 分離できる¹¹⁾ ので、この方法によった。

2. 包接化に必要な尿素量

尿素の 2%, 3%, 4% 及び飽和のエタノール溶液各 2 ml を標準液 0.3 ml に添加して包接化を行い、氷冷エーテル 1 ml 添加、氷冷後の収率を求めた。その結果、2% 溶液では包接体の沈殿は全く得ることができなかった。3%, 4% 及び飽和溶液の結果は Fig. 2 に示すとおり各アルカンとも尿素的飽和溶液が最適であると明らかになった。Fig. 2 中、負の収量（点線部）は包接体分離後の溶液部に残った未包接 *n*-アルカン分を示しているが、飽和溶液の使用ではこの未包接分もないので、以下の検討では尿素飽和溶液 2 ml を使用した。

3. エチルエーテル添加量

尿素包接化合物を沈殿として得るために濃縮法を採った場合、低級 *n*-アルカンの収量が低いため、エチルエーテル添加による沈殿の促進と増加を図り、1 で示したようにその効果を明らかにした。疎水性のゲストである *n*-アルカンが、エタノール（疎水性は比較的弱い）に溶

Fig. 2. Yield of *n*-Alkanes Depended on the Amount of Urea

(A) : 3% urea ethanol solution, (B) : 4% urea ethanol soln, (C) : urea saturated ethanol soln.

□ : the included *n*-alkanes with urea, ▨ : non-including *n*-alkanes.

1 : *n*-dodecane, 2 : *n*-tetradecane, 3 : *n*-pentadecane, 4 : *n*-hexadecane, 5 : *n*-heptadecane, 6 : *n*-octadecane, 7 : *n*-nonadecane, 8 : *n*-eicosane, 9 : *n*-docosane, 10 : *n*-tetracosane, 11 : *n*-heptacosane, 12 : *n*-octacosane.

Fig. 3. Effect of Volume of Ethyl Ether for the Precipitation of Inclusion Compounds

(A) : ethyl ether ; 0 ml, (B) : ethyl ether ; 1 ml, (C) : ethyl ether ; 3 ml, (D) : ethyl ether 5 ml.

□ : non-including *n*-alkane, 1—12 : compounds as mentioned in Fig. 2, 13 : 2,2,4,4,6,8,8-heptamethylnonane, 14 : *n*-heptylbenzene, 15 : cyclodecane, 16 : pristane, 17 : dibenzothiophene, 18 : pyrene, 19 : squalene, 20 : 3,4-benzpyrene.

Fig. 4. Time Course of Recovery Yield of *n*-Alkanes by Cooling of the Reaction Medium after Adding of Ethyl Ether

Number is the compounds mentioned in Fig. 2.

3-5, 6-12: the average yield of 3-5 or 6-12, respectively.

Fig. 5. Volume of Acetone Dissolving Sample

(A) : acetone ; 0.3 ml, (B) : acetone ; 0.5 ml, (C) : acetone ; 1 ml, (D) : acetone ; 2 ml

Number is the compounds as mentioned in Fig. 3.

□ : non-including *n*-alkane.

Fig. 6. Effect of Addition of *n*-Hexane to Acetone Solution Dissolving Sample

(A) : *n*-hexane ; 0.2 ml, (B) : *n*-hexane ; 0.5 ml, (C) : *n*-hexane : 1.5 ml, (D) : *n*-hexane-acetone (2 : 3) 0.5 ml and *n*-hexane 1 ml where *n*-alkanes were extracted more gently from the precipitates of including compounds.

□ : non-including *n*-alkanes.

TABLE I. Recovery of Standard Compounds by This Method

Compounds	No.	Yield (%)	
		This method ^{a)} $\chi \pm \sigma$ (C.V.)	Concentration method ¹⁴⁾
<i>n</i> -Dodecane	1	67 ± 5 (7.5)	23
2,2,4,4,6,8,8-Heptamethylnonane	13	77 ± 5 (6.5)	40
<i>n</i> -Heptylbenzene	14	79 ± 3 (3.8)	42
<i>n</i> -Tetradecane	2	66 ± 4 (6.3)	48
Cyclododecane	15	76 ± 3 (3.9)	47
<i>n</i> -Pentadecane	3	87 ± 5 (5.7)	72
<i>n</i> -Hexadecane	4	91 ± 4 (4.4)	83
Pristane	16	80 ± 3 (3.8)	79
<i>n</i> -Heptadecane	5	80 ± 4 (5.0)	80
<i>n</i> -Octadecane	6	91 ± 4 (4.4)	91
<i>n</i> -Nonadecane	7	92 ± 3 (3.3)	93
<i>n</i> -Eicosane	8	94 ± 4 (4.3)	95
Dibenzothiophene	17	83 ± 4 (4.8)	78
<i>n</i> -Docosane	9	94 ± 4 (4.3)	93
<i>n</i> -Tetracosane	10	92 ± 3 (3.3)	98
Pyrene	18	82 ± 3 (3.7)	98
Squalene	19	83 ± 3 (3.6)	100
<i>n</i> -Heptacosane	11	97 ± 4 (4.1)	96
<i>n</i> -Octacosane	12	94 ± 3 (3.2)	98
3,4-Benzpyrene	20	84 ± 5 (5.9)	100

a) $n=4$.

Fig. 7. Gas Chromatograms of Standard Compounds

(A): *n*-alkanes released from inclusion complexes, (B): iso-alkanes and others after separating precipitation of inclusion complexes, (C): mother sample of standard compounds.

Number is the compounds as mentioned in Fig. 3.

Standard compounds were dissolved in *n*-hexane-aceton (2:3) solution.

解している親水性のホストである尿素に包接されると、包接化合物は疎水性を増して80%がエタノールである反応溶液系に溶解している状態にある。この系に疎水性溶媒を添加して溶液全体を、より強い疎水性環境にすることによって、包接化合物を形成している尿素の親水性が相対的に増強されて包接化合物が疎水性環境下で沈殿を形成すると推測した。また、比重の軽い液体は溶解度も低い性質があり、沈殿生成を助けることができるという理由からエチルエテルを選択して効率的な包接化合物の反応系外除去を試みた。更にこの氷冷エテルの添加は、*n*-アルカン以外の包接されない iso-アルカン、脂環状炭化水素、多核芳香族炭化水素及び有機イオウ化合物が包接化合物と共沈することを防いで、溶液部に定量的に残ることも意図した。ここではその氷冷エテルの適当量を検討して Fig. 3 に示した。Fig. 3 中(A)は氷冷

エーテル無添加、(B)、(C)及び(D)はそれぞれ 1 ml, 3 ml 及び 5 ml 添加の結果である。*n*-アルカンでは氷冷エーテル添加の場合が無添加の場合の収率より約10%高くなり、特に C₁₂, C₁₄ でその傾向が顕著である。(B)、(C)及び(D)間では *n*-アルカンで80%前後を示し、顕著な収率の差は認められないが、pyrene, squalene, 3,4-benzpyrene が 5 ml の場合に、1, 3 ml に比較して約5%の収率低下が認められた。したがって至適量としては最小必要量として 1 ml と結論した。

4. エチルエテル添加後の氷中での冷却時間

尿素添加後の反応溶液の予冷時間は反応液が 2.5 ml なので15分で十分冷却されると判断して氷冷エーテル添加後の放置時間を検討した。各化合物毎あるいはグループ化してその平均収率を Fig. 4 に示すと、各 *n*-アルカンとも氷冷エーテル添加後 5—10分間が最適であり、そ

Fig. 8. Gas Chromatograms of a Bait of Cultured Fish

(A): iso-alkanes and others, (B): *n*-alkanes, (C): mother sample.

れ以上の放置時間では低収率となった。30分間放置では C_{12} — C_{28} のすべてにわたって未包接分が認められ、これは一旦生成した包接体から再び *n*-アルカンが遊離したものと考えられる。この現象はシクロデキストリン包接体の場合にも認められ、¹⁴⁾ 包接体中のゲスト化合物に対する包接能化合物の包接能力と溶媒の溶解力との競争的な関係が成り立っているものと推察される。

5. 試料の溶解液

n-アルカンに対しては氷冷エーテル 1 ml が最適であったが、溶液部に溶解している iso-アルカン等は 58—87 % の低収率のものもあったので、この点について標準試料を溶解しているアセトンの量的関係を検討して Fig. 5 の結果を得た。*n*-アルカンについてはアセトン 0.3 ml が最適であり、 C_{12} , C_{14} 及び *n*-heptadecane を除き 90 % 以上の収率を示した。しかし他方の iso-アルカン等はアセトン 1 ml 又は 2 ml の場合の平均 80 % 台より低率の 70 % 台を示した。アセトンの増量は未包接 *n*-アルカンを残すなど適切でないので、エタノール、エチルエーテル、アセトンのバランス上に *n*-ヘキサンを追加する方策

を検討した。すなわち、Fig. 6 に示すように標準液 0.3 ml に *n*-ヘキサン 0.2 ml (A), 0.5 ml (B) 及び 1.5 ml (C) を追加して試料液とし、これに尿素飽和溶液を添加して包接化を行った。*n*-ヘキサン-アセトン (2:3) の溶媒比率 (A) において *n*-アルカンの収率も低下せず、同時に iso-アルカン等の収率も増加した。しかし、(A) の場合に溶液部に分離されるべき 2,2,4,4,6,8,8-heptamethylnonane, cyclododecane, dibenzothiophene が *n*-アルカン側に一部検出されることが明らかになり、これは包接体沈殿に付着して移行するものと考えられたので、遠沈管に残っている沈殿を *n*-ヘキサン 1 ml を静かに加えて、手でゆるく回転させて洗浄し、その洗浄液を先の溶液部と合わせて測定 (D) する方法を採った。(D) の結果は (A) より *n*-アルカンで約 5 % 減、iso-アルカン等で 3 % 増加の収率を得た。

6. 分析法の再現性

以上の検討結果を総合して、実験の部 4. 分析法を策定し、本法によって、*n*-ヘキサン-アセトン (2:3) 混液に溶解した標準物質の混合物に対して再現性を検討した。

Fig. 9. Gas Chromatograms of Sea Bottom Sediment

(A) : mother sample, (B) : iso-alkanes and others, (C) : *n*-alkanes, (D) : *n*-alkanes of standard compound.

Table I に再現性を, Fig. 7 にそれらのクロマトグラムを示した. 濃縮法¹⁸⁾では C_{12} , 2,2,4,4,6,8,8-heptamethylnonane, C_{14} 及び cyclododecane の収率は23–48%であったが, 本法では60–79%に上昇し, pristane, dibenzothiophene についても 80–97% の収率を示し, 変動係数は 3.3–7.5% (平均 4.9%) であった. 本法によると溶媒使用量の低減, 分析時間の短縮化もはかれる.

7. 実試料への適用

魚の飼料, 底質試料について本法を適用した結果のガスクロマトグラムを Fig. 8, 9 に示す.

飼料 (Fig. 8) については, それぞれの化合物の属する区分に分離されており, mother sample では極めて近接している a と b 及び c と d のピークが各々明確に分離されて, 帰属が明確になっている. また e のピーク中に f のピークが22%含まれていることを明らかにしている. この e のピークは他の iso-アルカン等の平均収率が 91%を示していて, 十分な回収がなされているにもかかわらず, mother sample のピーク高さよりも特異的に高

くなっている. このような例は底質 (Fig. 9) のクロマトグラムにおいても認められた. すなわち, g, h, j, l, n, o 及び p のピークはいずれも mother sample の対応ピークよりも高くなっており, この中特に j, k, n 及び p は尿素による分画操作を行ってはいじめて明瞭になったピークである. これらのピークは尿素からの移行ピークとも考えられたが, 尿素には検出されていない.

これら2例で示すように試料中の *n*-アルカン等の測定には mother sample 段階での定量には問題があり, 本法あるいはモレキュラーシーブ等の分離定量が測定値の信頼性を高めるために必要であると考えられた. この点が Hilpert ら⁴⁾の指摘した定量値の大きな差異の原因ではないかとも考えられた.

石油成分を各成分別に分離定量する必要性の主旨に沿えば, チオ尿素による iso-アルカンと多核芳香族化合物等の分離法も可能であるが, チオ尿素中に多数の妨害物質があり, その除去が困難なため検討できなかった.

結 論

魚介類、底質中の微量の石油系炭化水素及び有機イオウ化合物のそれぞれを定量性よく分析するために、包接化合物の1つである尿素による *n*-アルカンの包接現象を応用した微量分離分析法について検討した。

1. 疎水性溶媒中での *n*-アルカン-尿素包接化合物の沈殿形成において、エチルエーテルと氷冷操作によって包接化合物の沈殿量増加とその形成時間短縮が計られた。

2. 本法の概略は次のとおりである。試料のアルカリ分解抽出物を溶かした *n*-ヘキサン-アセトン混液(2:3)を入れた目盛付円錐形遠心沈殿管に尿素飽和エタノール溶液 2 ml を加えて攪拌後15分間氷冷する。ついで氷冷エーテル 1 ml を追加して攪拌して再び 5-10分間氷冷を続けたのち、5℃で遠心分離を行って沈殿と溶液をそ

れぞれ分取する。沈殿は水にとかし、*n*-ヘキサン抽出を行って *n*-アルカンを得る。一方の上清は水で希釈後 *n*-ヘキサン抽出を行って iso-アルカン等を得る。

3. 本法によって、従来の報告では40%台の回収率であった比較的低沸点の化合物のうち、 C_{14} 以下の *n*-アルカンが 67-80%、2,2,4,4,6,8,8-heptamethylnonane 77%、heptylbenzene 79% の回収率であった。またその他の化合物の回収率は C_{15} - C_{28} の *n*-アルカンが平均91%、pristane 80%、dibenzothiophene 83%、3,4-benzpyrene 84%であった。

4. 実試料についての尿素による分離操作前後のクロマトグラムの比較結果、*n*-アルカンと iso-アルカン等の両者ともピークの明確化とピーク高さの変動があり、定量値のバラツキの原因となっていると考えられる現象が認められた。

引 用 文 献

- 1) J.W. Farrington, J.M. Teal, G.C. Medeiros, K.A. Burns, E.A. Robinson Jr., *Anal. Chem.*, **48**, 1711 (1976).
- 2) J.S. Warner, *Anal. Chem.*, **48**, 576 (1976).
- 3) M. Ogata, Y. Miyake, S. Kira, K. Matsunaga, M. Imanaka, *Water Res.*, **11**, 333 (1977).
- 4) L.H. Hilpert, W.E. May, S.A. Wise, S.N. Chesler, H.S. Hertz, *Anal. Chem.*, **50**, 458 (1978).
- 5) Y. Saito, M. Takeda, M. Uchiyama, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **62**, 1327 (1979).
- 6) D.C. Malins, *Environ. Sci. Technol.*, **14**, 32 (1980).
- 7) K.J. Welch, D.W. Kuehl, E.N. Leonard, G.D. Veith, N.D. Shoenthal, *Bull. Environm. Contam. Toxicol.*, **26**, 724 (1981).
- 8) 武田明治, ぶんせき, **1979**, 446.
- 9) 粒松喬介, ぶんせき, **1981**, 326.
- 10) F.C. Trusell, *Anal. Chem.*, **57**, 191 R (1985).
- 11) 雨宮登三編, “石油化学,” 産業図書, 東京, 1963, p.534.
- 12) 加藤 隆, 加藤八重, 大内公耳, 分析化学, **34**, 295 (1985).
- 13) 松永和義, 今中雅章, 剣持堅志, 日野誠二, 岡山県環境保健センター年報, **8**, 280 (1984).
- 14) K. Matsunaga, M. Imanka, T. Ishida, T. Oda, *Anal. Chem.*, **56**, 1980 (1984).
- 15) M. Blumer, *Anal. Chem.*, **29**, 1039 (1957); T.S. Bates and R. Carpenter, *ibid.*, **51**, 551 (1979).