

ポーラスポリマービーズ, 2,6-ジフェニル-*p*-フェニレン オキシド捕集管を用いた環境及び生体試料中の低級脂肪 族多硫化物の濃縮と予備分離

星加 安之[®], 村山 忍三^{*}, 武藤 義一^{**}

(1987 年 6 月 20 日受理)

不快臭, 導管腐蝕, 触媒毒などの原因となる極微量低級脂肪族多硫化物の GC 分析のための前処理法について研究した. 本前処理法は, 室温のポーラスポリマービーズ試料捕集管 (16cm×4mm i.d., 2,6-ジフェニル-*p*-フェニレンオキシド, Enka nv Arnhem/オランダ製, 商品名 Tenax-GC, 60/80 メッシュ) に吸着濃縮された多硫化物について, 窒素を通じた際の各々の成分の破過容量の差を利用して低～中沸点硫黄化合物と多硫化物とを予備分離する手法に基づいている. 本実験条件でのチオフェン, 二硫化ジメチル, テトラヒドロチオフェン, 二硫化ジエチル, 三硫化ジメチルの破過容量 (10% 脱離を指標とした) は, それぞれ 4.5, 25, 28, 450, 600 l であった. 従って, 本法によれば多量の付臭剤 (テトラヒドロチオフェンなど) の存在する都市ガス中三硫化ジメチルや, 複雑な組成のレギュラーガソリンなどの環境試料及び尿などの生体試料中の多硫化物を気相において効率よく予備分離可能である. 予備分離時間は, 60 分以下であった.

1 緒 言

都市ガス, 石油精製, パルプ製造などの各化学工業や大気, 水質, 底質, 土壌, 悪臭などの環境問題, 食品, 健康指標としての人体からの揮発性成分に関連して低, 中～高沸点硫黄化合物はいずれも極めて重要である^{1)~6)}. このうち, 我が国では比較的低沸点(低分子量)の4種の硫黄化合物(硫化水素, メチルメルカプタン, 硫化ジメチル, 二硫化ジメチル)が悪臭防止法⁷⁾により規制され, 炎光光度型検出器付き GC (FPD-GC) によりそれらの測定法⁸⁾も定められている. ところが, 高沸点硫黄化合物(三硫化物を含む)の中にはきゅう覚いき値の極めて低い成分が存在し⁹⁾, たばこの煙やクラフトパルプ排ガスなど多くの悪臭発生源から低沸点硫黄化合物と共に検出され¹⁰⁾, 官能試験結果への対応を考察するうえで重視されている.

一方, 都市ガス中の硫化水素, メルカプタン, 酸素などから低級脂肪族多硫化物が生成してガス導管内面が腐蝕

され, 生成物が導管の特定場所に集積しガスの導通が妨害されることはかなり古くから知られている¹¹⁾. 一般に供給されている都市ガス中には, 危険予知などの目的で付臭剤が添加されているが, 供給末端栓においても ppm レベル¹²⁾であることが知られており低級脂肪族多硫化物よりも量的にはるかに多いことが推定される. このように大量に共存する低～中沸点硫黄化合物中の微量の高沸点低級脂肪族多硫化物を混合系から気相において迅速に予備分離できれば, 高度の選択的検出能力を備えた高価な GC/MS 装置などを用いなくても簡便な日常分析が可能となり有用と考えられる.

著者らは既に, 大気中の極微量三硫化ジメチルの GC について, 液体アルゴンを用いる低温濃縮法とポーラスポリマービーズ (2,6-ジフェニル-*p*-フェニレンオキシド, Enka nv Arnhem/オランダ製, 和光純薬工業より購入, 商品名 Tenax-GC, 以下 Tenax-GC と略記) を用いる常温吸着濃縮法を比較し報告した¹⁰⁾⁶⁾. 後者の常温法は精度が高く 400 l まで定量的試料濃縮が可能で, 88 時間まで吸着成分量の変化はないことなど低温法より優れていることを明らかにした.

最近, Tenax-GC 捕集剤を用いて 90 種の有機化合物の破過容量が川田ら¹³⁾により詳細に調べられており,

* 信州大学医学部衛生学教室 : 390 長野県松本市旭 3-1-1

** 埼玉工業大学 : 369-02 埼玉県大里郡岡部町普濟寺 1690

二硫化ジメチル 19 l, チオフェン 14 l などが硫黄化合物の例として報告されている. Tenax-GC は, 吸着剤からの試験値が低く, 耐熱性に優れ, 水の吸着がほとんどなく, 吸着・加熱脱着操作が簡便であるなどの特徴を有する.

そこで, 本研究において代表的な中～高沸点硫黄化合物を用い破過容量の実験を追試した結果, 350 l の窒素ページによってテトラヒドロチオフェンまでの低～中沸点硫黄化合物はほぼ完全に Tenax-GC 試料捕集管から脱離し, 高沸点硫黄化合物と気相における予備分離が達成された. この破過容量 (一般的に目的成分の 10% 脱離に要する通過ガス量として示されるが, これは常温程度で吸着剤を固定相とした GC の保持容量に相当するもので, 定量的な試料採取, あるいは, 有害ガス除去剤の寿命保証を知るうえで最も重要である) の差を利用する濃縮・予備分離の手法は, 最近 Tsuge ら¹⁴⁾により装置化された. Tenax-GC においても高沸点化合物の除去¹⁵⁾, 段階的導入法¹⁶⁾などが研究されている. 又, 大気中悪臭成分¹⁷⁾のうちフェノール類, インドール類の分析時に低級炭化水素類の妨害を除く目的で試みられているが硫黄化合物に関してはまだ報告されていない. なお, 常温吸着濃縮法の一般環境大気, 作業環境, 悪臭試料などへの応用については一般化されこれらに関する論文, 総説が多数報告¹⁸⁾されている.

2 実 験

2.1 装置, 試薬及び濃縮管

装置, 試薬及び濃縮管はそれぞれ既報^{10)e)}と同じものを用いた. すなわち, ガスクロマトグラフは FPD 付き島津 GC-5AP₆FFpT 型ガスクロマトグラフ (デジタルインテグレーター島津 ITG-2A 付き), 加熱導入装置は島津 FLS-1 及び FLS-3 をそれぞれ用いた. Tenax-GC 試料捕集管は, 16cm×4mm i.d. のバイレックスガラス製で Tenax-GC, 60/80 メッシュを充てんし, あらかじめ窒素を流しながら (50 ml/min) 300 °C で 4 時間, 使用直前に 5 分間エージング後使用した.

2.2 試料の濃縮, 予備分離及びガスクロマトグラフへの導入方法

Tenax-GC 試料捕集管への試料の濃縮方法は, 真空ポンプ (ヤマト真空機器製 Mini-VAC PS-05) とガスメーター (中部品川製作所製乾式ガスメーター T-3, 1 l/1 回転) を使用した. 通気流量は最大 0.375 l/min であった. 予備分離には液体酸素で冷却したモレキュラーシーブ 5A 30/60 メッシュ 充てんカラム (40 cm×6 mm i.d., ステンレス鋼カラム) を通して不純物を除去した

窒素を使用した. 流量はガスメーターで読み取った. 温度は 25 °C で行った. 次に, 試料を捕集した Tenax-GC 試料捕集管をガスクロマトグラフのキャリアーガスバイパス流路に接続し, 流路を切り換え, 5 分後, キャリアーガス流量が安定してから常温から 250 °C までを約 35 秒で昇温し, 250 °C に 30 秒間保持して捕集試料をガスクロマトグラフに導入し分析した. 標準試料は特級エタノール (和光純薬工業製) 溶液として, マイクロシリンジ (Hamilton 製 10 µl 用) を用いて Tenax-GC 試料捕集管に添加して同様に操作した.

3 結果及び考察

3.1 充てん剤の検討

既報^{10)e)}では, 25% TCEP on Shimalite (AW, DMCS) 60/80 メッシュ, 3 mm×3 mm i.d., ガラス, 70 °C, N₂ 50 ml/min の条件で主に分析した. このほか, 5% FFAP+0.3% H₃PO₄ on Shimalite, 5% PPE+0.1% H₃PO₄ on Shimalite, 20% Apiezon L on C-545, 6% DEGS on Chromosorb W-HP 及び 10% PEG-20M on Shimalite W を検討した結果, PEG-20M を除いていずれも良好なクロマトグラムを得た.

3.2 低級脂肪族多硫化物の保持時間 t_R (保持容量 V_R) 対数値と硫黄原子数 (分子量) のプロット

Fig. 1 には, TCEP カラムにおける一, 二硫化ジメチル, 三硫化ジメチル, 一, 二硫化ジエチルの t_R (V_R) と硫黄原子数及び分子量を片対数方眼紙上にプロットしたものを示した. 三硫化ジエチルは, 三硫化ジメチルより更にきゅう覚いき値が低く重要であるが, 現在標準試薬としては入手できないことから正確な分析が行えない. Fig. 1 の硫化ジエチル, 二硫化ジエチルのプロットの延長線上にピークが存在するものと考えられる¹⁾.

3.3 代表的硫黄化合物の破過容量曲線

Fig. 2 には代表的硫黄化合物の破過容量曲線を示した.

各標準物質は 20～32 ng を用い窒素ページ後のピーク面積と検量線から求めた物質量の残留百分率で示した. 10% 脱離を指標とした破過容量は, それぞれ, チオフェン 4.5 l, 二硫化ジメチル 25 l, テトラヒドロチオフェン 28 l, 二硫化ジエチル 450 l, 三硫化ジメチル 600 l であった. 従って, 350 l の窒素をページすれば低級脂肪族多硫化物とテトラヒドロチオフェンまでの低～中沸点硫黄化合物は気相において Tenax-GC 試料捕集管から予備分離可能であると考えられる.

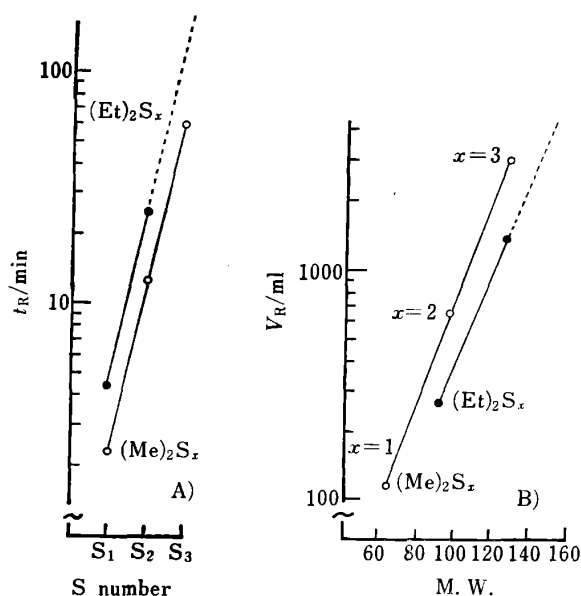


Fig. 1 Plots of t_R vs. $(R)_2S_x$ (A) and V_R vs. M. W. of $(R)_2S_x$ (B)

25% TCEP on Shimalite (AW, DMCS), 60/80 mesh, 3 m×3 mm i. d., 70 °C, FPD, N₂ 50 ml/min for direct injection method

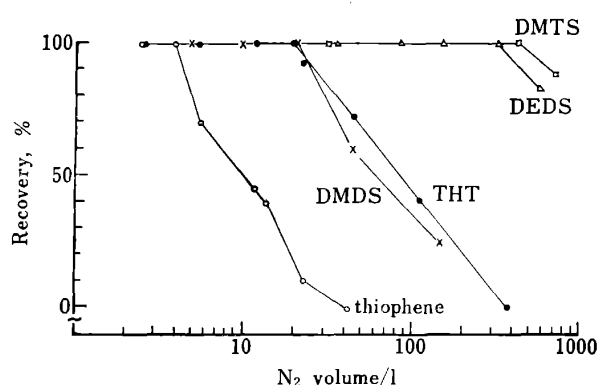


Fig. 2 Relationship between recovery of several sulfur compounds and nitrogen gas volume (l) passed through Tenax-GC precolumn (at 25 °C)

DMDS: dimethyl disulfide; THT: tetrahydrothiophene; DEDS: diethyl disulfide; DMTS: dimethyl trisulfide

3.4 実際試料の分析例

Fig. 3 にはトウモロコシデンプン製造工場排ガスの分析例を示した。極めて多量の低沸点硫黄化合物が存在したが、窒素パージ 7.5 l でほぼ良好な結果を得た。

Fig. 4 にはレギュラーガソリン 1 ml を窒素パージ 240 l で予備分離した試料の分析例を示した。三硫化ジメチルに対して、著大な三硫化ジエチルと考えられるピ

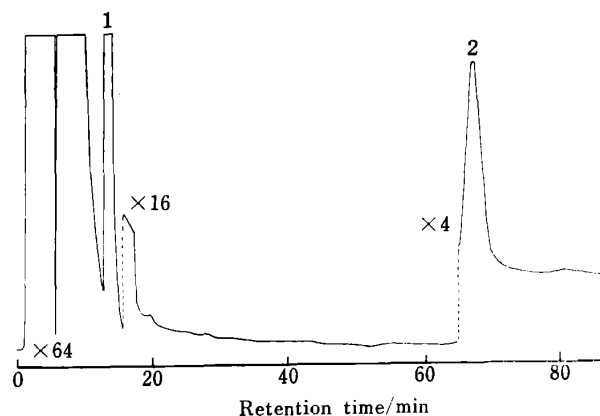


Fig. 3 Typical gas chromatogram of dimethyl trisulfide and other sulfur compounds in exhaust gas from a corn starch manufacturing factory

Peak 1: dimethyl disulfide; 2: dimethyl trisulfide 1.2 ppb. Sample volume: 1.6 l; N₂ prepurge volume: 7.5 l; Tenax-GC precolumn: 25% TCEP on Shimalite (AW, DMCS) 60/80 mesh, 3 m×3 mm i. d., 70 °C, N₂ 50 ml/min, FPD

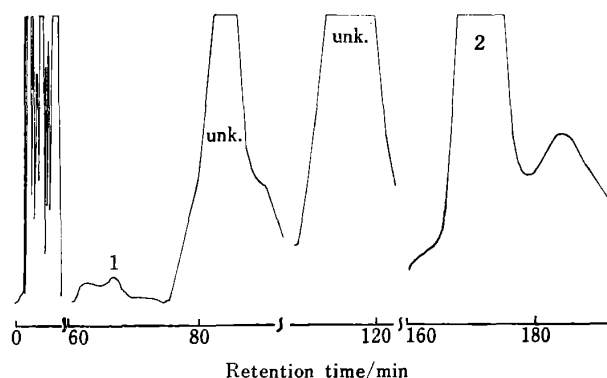


Fig. 4 Typical gas chromatogram of sulfur compounds in regular gasoline (1 ml)

Peak 1: dimethyl trisulfide; Peak 2: diethyl trisulfide (tentative); unk.: unknown. N₂ prepurge volume: 240 l; Tenax-GC precolumn: 25% TCEP on Shimalite (AW, DMCS) 60/80 mesh, 3 m×3 mm i. d., 70 °C, N₂ 50 ml/min, FPD

ーク (保持時間は約 170 分で、Fig. 1 のプロットより推定した) を検出したが定量には至らなかった。保持時間約 85 分, 115 分に未知の著大ピークを検出した。

これまでに直留ガソリン中 17 種の硫黄化合物が同定されているが、三硫化物については触れられていない¹⁰⁾。

Fig. 5 には、都市ガス 5 l を濃縮し窒素パージ 333

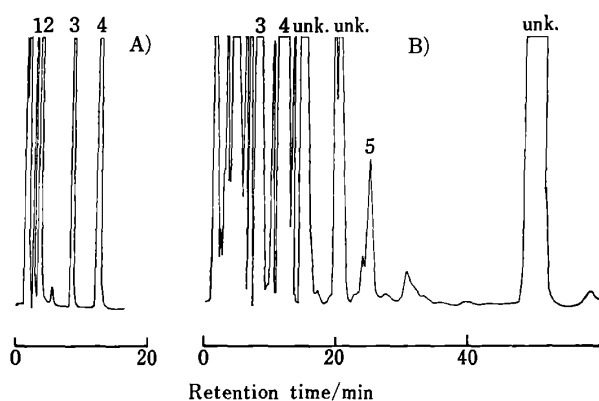


Fig. 5 Typical gas chromatograms of sulfur compounds in town gas (5 l)

Chromatogram A) authentic sulfur compounds each 20 ng—Peak 1: diethyl sulfide; 2: dimethyl disulfide; 3: diethyl disulfide; 4: dimethyl trisulfide. Chromatogram B) town gas (5 l)—Peak 3: diethyl disulfide; 4: dimethyl trisulfide (2.3 ppb); 5: diethyl trisulfide (tentative); unk.: unknown. N_2 prepurge volume: 333 l; Tenax-GC precolumn: 20% Apiezon L on Celite 545, 3 m $\times$ 3 mm i.d., 120 $^{\circ}C$, N_2 50 ml/min, FPD

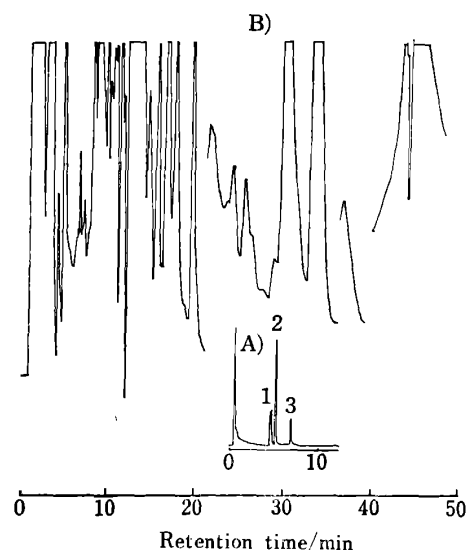


Fig. 6 Typical gas chromatograms of sulfur compounds in normal urine

Chromatogram A) authentic sulfur compounds—Peak 1: di-*n*-butyl disulfide (1 ng); 2: β -methylmercaptopropionaldehyde (2 ng); 3: di-*n*-amyl disulfide (1 ng). Chromatogram B) fresh urine (36 y. male)—200 μ l N_2 prepurge volume 8 l. Tenax-GC precolumn: 6% DEGS on Chromosorb W-HP, 80/100 mesh, 2 m $\times$ 3 mm i.d., holding for 1 min at 100 $^{\circ}C$, heating the column oven at a rate of 10 $^{\circ}C$ /min from 100 to 190 $^{\circ}C$, maintaining this temperature, N_2 50 ml/min, FPD, 16 $\times$ 10

1 で予備分離した試料の分析例を示した。三硫化ジメチル 2.3 ppb を検出したが、三硫化ジエチルと推定されるピークはこれに比べて小さかった。更に、高沸点硫黄化合物のピークが認められたが同定には至らなかった。都市ガス中の硫黄化合物に関する最近の報告からは、チオフェン環を有する成分が重要であると考えられている²⁰⁾。

Fig. 6 には、健常者新鮮尿 200 μ l を窒素バージ 8 l で予備分離した試料の分析例を示した。極めて多成分の複雑なクロマトグラムが得られたが、これらはいずれも高沸点硫黄化合物であると考えられる。尿の全硫酸塩(無機硫酸+エーテル硫酸)の正常値は 1.5~3 g (SO_4 として)/日であり、これは全硫黄の 85~95% を占め残りの 5~15% が有機性及び中性硫黄であるとされている²¹⁾。

これまでに尿中揮発性硫黄化合物として Zlatkis²²⁾ らは、二硫化ジメチル、チオラン-2-オン、アリールイソシアネートを、Mopper ら²³⁾ は、尿中チオール化合物としてメルカプトコハク酸、チオ乳酸、2-メルカプトエタノールが主成分で、このほかに微量のグルタチオン、*N*-アセチルシステイン、モノグリセロール、メタンチオールを、Einarsson ら²⁴⁾ は、尿中アミノ酸のうちの含硫黄化合物として多量のタウリンを検出している。一方、尿中

硫酸イオンとしては 48 mmol/l²⁵⁾ が、尿中無機硫酸イオン及び結合型硫酸基としては、それぞれ 1.41 ± 0.81 mg/ml, 0.26 ± 0.15 mg/ml²⁶⁾ が、尿中チオシアン酸としては、39.6~171.4 μ mol/l²⁷⁾ が、又、尿中チオ硫酸としては 31.2 ± 15.9 μ mol/d²⁸⁾ が報告されているが検出成分数は多くなかった。本法の Tenax-GC 上では、尿中タンパク質や含硫アミノ酸をはじめ多くの有機化合物及び無機化合物に基づく熱分解などの二次反応も考えられるところであるが、充てんカラム方式でも比較的簡便な前処理によって多成分の高沸点硫黄化合物を検出することができた。しかし、充てんカラムを主分析カラムに用いた場合には、理論段数不足が原因となって実際試料分析時の不完全分離が明らかであることから、今後更に高分離能を有する溶融シリカキャピラリーカラムとの併用によって、個々の成分ピークの同定を確実にを行うと共に臨床的にも意義のある活用が望まれる。

以上、環境試料及び生体試料中の微量低級脂肪族多硫化物を低~中沸点硫黄化合物から気相において、簡便

に、効率よく予備分離する前処理法を確立した。今後、環境及び生体中でのこれら多硫化物の挙動と役割に関連した研究の進展が期待される。

終わりに、本研究に対して種々の御援助と御助言をいただいた前愛知県公害調査センター所長吉本健二先生に深謝します。

本研究に要した経費の一部は、財団法人日本生命財団昭和 58 年度研究助成金 (C8311077) 及び昭和 59 年度研究助成金 (C84110247) によってまかなわれたものであり記して謝意を表する。

(1983 年 10 月, 日本分析化学会)
(第 32 年会において一部発表)

文 献

- 1) J. H. Karchmer, Ed.: "The Analytical Chemistry of Sulfur and Its Compounds", Part II in P. J. Elving, I. M. Kolthoff, Ed.: "Chemical Analysis—A Series Monographs on Analytical Chemistry and Its Applications", Vol. 29, (1972), (Wiley-Interscience, New York).
- 2) D. M. Greenberg, Ed.: "Metabolism of Sulfur Compounds", Vol. VII, "Metabolic Pathways" (1975), (Academic Press, New York).
- 3) M. Thompson, M. Stanisavljevic: *Talanta*, **27**, 477 (1980).
- 4) 小野 哲, 小野弘子, 真鍋重夫, 和田 攻訳: "環境汚染物質の生体への影響, 15, 硫化水素", (1980), (東京化学同人); {Committee on Medical and Biological Effects of Environmental Pollutants: "Hydrogen Sulfide", National Research Council Ed., (1989), (University Park Press)}.
- 5) K. A. Brown: *Environ. Pollut. Ser. B*, **13**, 47 (1982).
- 6) F. Bernardi, I. G. Csizmadia, A. Mangini Ed.: "Organic Sulfur Chemistry—Theoretical and Experimental Advances. Studies in Organic Chemistry", (1985), (Elsevier, Amsterdam).
- 7) 法律第 91 号 (1971).
- 8) 環境庁告示第 9 号 (1972), 第 47 号 (1976), 第 7 号 (1984).
- 9) F. W. Wilby: *J. Air Pollut. Contr. Ass.*, **19**, 96 (1969).
- 10) a) D. M. Oaks, H. Hartmann, K. P. Dimick: *Anal. Chem.*, **36**, 1560 (1964).
b) P. J. Groenen, L. J. VanGemert: *J. Chromatogr.*, **57**, 239 (1971).
c) J. G. Irwin, T. A. Dorling, R. L. Moss: *Atmos. Environ.*, **13**, 1569 (1979).
d) D. Pope, B. J. Davis, R. L. Moss: *Atmos. Environ.*, **15**, 251 (1981).
e) 星加安之: 分析化学, **30**, T15 (1981).
- 11) 佐藤忠明: 化学と工業, **26**, 91 (1972); L. Mcgrath, K. A. Prebble: *J. Appl. Chem Biotechnol.*, **22**, 811 (1972).
- 12) Y. Hoshika, Y. Iida: *J. Chromatogr.*, **134**, 423 (1977).
- 13) 川田邦明, 植村達夫, 貴船育英, 富永泰子, 及川紀久雄: 分析化学, **31**, 453 (1982).
- 14) S. Tsuge, Y. Matsushima, N. Watanabe, [A. Shintai, K. Nishimura, Y. Hoshika: *Anal. Sci.*, **3**, 101 (1987)].
- 15) W. V. Ligon, Jr., R. L. Johnson, Jr.: *Anal. Chem.*, **48**, 481 (1976). 星加安之: 大気汚染学会誌, **15**, 64 (1980).
- 16) H. G. Eaton: *J. Chromatogr. Sci.*, **18**, 580 (1980).
- 17) 星加安之, 武藤義一: 分析化学, **29**, T10 (1980). Y. Hoshika, Y. Nihei, G. Muto: *J. Chromatogr. Sci.*, **19**, 200 (1981).
- 18) a) D. L. Fox: *Anal. Chem.*, **57**, 223R (1985).
b) 安原昭夫: ぶんせき, **1986**, 381.
c) 斎藤 貴, 白井恒雄: ぶんせき, **1987**, 397.
- 19) 藤井敏博: 分析化学, **25**, 141 (1976). J. Thomas, S. Ringen: *Anal. Chem.*, **57**, 210R (1985). Thompson and M. Stanisavljevic: *Talanta*, **27**, 477 (1980).
- 20) 森屋幸衛: 日本瓦斯協会誌, **32**, 27 (1979). J. D. Beardsley: *Anal. Chem.*, **57**, 195R (1985).
- 21) カンタロウ・トランパー, 吉川春寿訳: "臨床生化学", p. 231 (1955), (朝倉書店).
- 22) A. Zlatkis, H. A. Lichtenstein, A. Tishbee, W. Bertsch, F. Shunbo, H. M. Liebich: *J. Chromatogr. Sci.*, **11**, 299 (1973). A. Zlatkis, W. Bertsch, H. A. Lichtenstein, A. Tishbee, F. Shunbo, H. M. Liebich, A. M. Coscia, N. Fleischer: *Anal. Chem.*, **45**, 763 (1973).
- 23) K. Mopper, D. Delmos: *Anal. Chem.*, **56**, 2557 (1984).
- 24) S. Einarsson, S. Folestad, B. Josefsson, S. Lagerkvist: *Anal. Chem.*, **58**, 1638 (1986).
- 25) C. Anderson: *Clin. Chem.*, **22**, 1424 (1976).
- 26) 田辺信三, 戸井田敏彦, 今成登志男, 大久保登, 宮崎元一: 分析化学, **29**, 543 (1980).
- 27) 戸井田敏彦, 緒方惟治, 田辺信三, 今成登志男: 分析化学, **29**, 764 (1980).
- 28) T. Kawanishi, T. Togawa, A. Ishigami, S. Tanabe, T. Imanari: *Bunseki Kagaku*, **33**, E295 (1984).

☆

Adsorption trapping and pre-separation of lower aliphatic polysulfides in environmental and biological samples using a precolumn packed with a porous polymer beads, 2,6-diphenyl-p-phenylene oxide. Yasuyuki HOSHIKA, Ninzo MURAYAMA* and Giichi MUTO** (*Department of Hygiene, Shinshu University School of Medicine, 3-1-1, Asahi, Matsumoto-shi, Nagano 390; **Department of Environmental Engineering, Saitama Institute of Technology, 1690, Fusaiji, Okabe-machi, Osato-gun, Saitama 369-02)

The pretreatment for GC of lower aliphatic polysulfides was investigated using a Tenax-GC precolumn (16 cm x 4 mm i.d., glass, 60/80 mesh). The sample was directly collected in the Tenax-GC precolumn by adsorption at room temperature. Then pre-separation process in the gas phase under nitrogen carrier gas flow was carried out to eliminate the sulfur compounds with lower to middle boiling points in the sample that were condensed on the Tenax-GC adsorbent. The Tenax-GC precolumn, which collected sample was purged with nitrogen carrier gas flow of 0.2 to 0.375 l/min at

25 °C. This pre-separation in the gas phase was necessary for the elimination of the large amounts of lower to middle boiling sulfur compounds, which interfered for the determination of the trace amount of lower aliphatic polysulfides by flame photometric detector-GC detection. The break through volume (10% loss) of several sulfur compounds was as follows: 4.5 l for thiophene, 25 l for dimethyl disulfide, 28 l for tetrahydrothiophene, 450 l for diethyl disulfide, 600 l for dimethyl trisulfide, respectively. Therefore, the lower aliphatic polysulfides were quantitatively

recovered from the Tenax-GC precolumn in the pre-separation process in the gas phase. The maximum time for the pre-separation was less than 60 min.

(Received June 20, 1987)

Keyword phrases

lower aliphatic polysulfides in the gas phase; GC; environmental and biological analyses.