

アルカリビーズ法による大気中の低級脂肪酸の分析条件に関する検討

細野 繁雄

要 旨

アルカリビーズ法による大気中低級脂肪酸の分析において、濃縮量が比較的少なくても十分な定量性が得られるよう、試料捕集管によるブランクの原因であるアルカリビーズの充填量を減らし、これに伴うサンプリング及び回収の条件と、この方法に適したカラム充填剤の検討を行った。

試料捕集管のブランクは、アルカリビーズの充填量を1.25g（充填長さ5cm）とし、前処理操作を行うことで、検討した全ての低級脂肪酸について2ng以下となった。また、捕捉した低級脂肪酸の遊離に用いる蟻酸量を2 μ lとし、カラム充填剤として新たに燐酸処理したTenax GCを使用して分析条件を検討した結果、ピーク面積による回帰検量線（対数目盛）は、試料捕集管への注入量2ng（n-酪酸、イソ吉草酸）、5ng（プロピオン酸、イソ酪酸、n-吉草酸）及び20ng（酢酸）から500ngの範囲で直線に近似することができた。また精度は、検討した全ての低級脂肪酸に対し、変動係数で11%未満であった。

ブランクの低減に伴って定量限界が引き下げられたことにより、通気量わずか5 ℓ で酢酸（1.5ppb）を除き概ね0.2ppbまで定量することが可能となった。この試料捕集管は、アルカリビーズ充填量が減らされているにもかかわらず50 ℓ 以上の濃縮容量があり、通気量を増すことでさらに低濃度まで定量が可能である。

1 緒 言

養豚場や化製場における悪臭の原因物質とされる低級脂肪酸は、n-酪酸、イソ吉草酸の検知閾値¹⁾がそれぞれ 9.6×10^{-2} ppb、 5.3×10^{-2} ppbであるなど、嗅覚閾値の極めて低い物質であり、これの測定には高感度な分析法が必要とされる。

大気中の低級脂肪酸を選択的に濃縮捕集する方法として、アルカリ沔紙法^{2, 3)}、アルカリ溶液捕集法^{4, 5)}及びアルカリビーズ法⁶⁻¹⁰⁾が検討され報告されている。しかしアルカリ沔紙法、アルカリ溶液捕集法では、捕集試料の一部しかガスクロマトグラフに導入することができないため、低濃度の測定が困難である。これに対しアルカリビーズ法は、アルカリビーズ（水酸化ストロンチウムを被覆したガラスビーズ）を充填したガラス製の捕集管（試料捕集管）に被検空気を通気し

て低級脂肪酸を捕集後、蟻酸を用いて捕集した全試料をガスクロマトグラフに導入して分析する。この点で低濃度の測定に有利であり、pptオーダーでの測定例も報告⁶⁾されている。

しかしながらアルカリビーズ法では、試料捕集管に由来するブランクにより定量限界が高くなる場合が多く、低濃度の測定では濃縮捕集量を多くするため大容量の通気が必要となる。このことは、特に臭気の測定のように低濃度の測定が必要とされるだけでなく、試料捕集時間が制限されている場合には、吸引速度を大きく設定する必要から装置が大型となり、電源の確保が必要となるなど野外の測定に不利である。

既報の内で試料捕集管のブランクが問題になっていないのはHoshikの報告⁶⁾だけであり、他の報告⁷⁻¹⁰⁾とはアルカリビーズの充填量がかなり異なっている。即ち、前者では0.5gと少量であるのに対して、後者

では3.0gまたは4.5gである。また、試料捕集管のブランクは、アルカリビーズの充填量が同じでも水酸化ストロンチウムの被覆量が少ない程小さいと報告¹⁰⁾されている。

ここでは、水酸化ストロンチウムの被覆率は従来通り1%とし、アルカリビーズの充填量を減らすことで試料捕集管のブランクを低減して定量限界を引き下げ、比較的少容量の捕集で臭気の測定に十分な感度が得られるよう、分析条件の検討を行った。アルカリビーズ充填量を減らしたことに伴うサンプリング及び捕集した低級脂肪酸を遊離させてガスクロマトグラフに導入（以下回収と言う）する条件の他、本法に適した新たなカラム充填剤についても検討を行い、比較的良好な結果を得たので報告する。

2 方法

2・1 試薬

蟻酸はメルク社製、6種類の標準低級脂肪酸（酢酸（C₂）、プロピオン酸（C₃）、イソ酪酸（iso-C₄）、n-酪酸（n-C₅）、イソ吉草酸（iso-C₅）、n-吉草酸（n-C₅））は和光純薬及び東京化成製、水酸化ストロンチウムは関東化学製を、他の試薬は全て和光純薬製を使用し、試薬は全て特級とした。

標準溶液は、各低級脂肪酸0.5mlを分取して混合し、蒸留水または蟻酸に溶解して全量を50mlとした後に、それぞれをさらに蒸留水または蟻酸で適宜希釈して概ね1~1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度範囲に調整し、標準水溶液または標準蟻酸溶液とした。濃度（ $\mu\text{g}/\text{ml}$ ）は、各低級脂肪酸の比重を用いて算出した。

試料捕集管は、パイレックスガラス製のスチレン捕集管（19.5cm×5mm i. d.）に、水酸化ストロンチウムを1%被覆した15~20メッシュのガラスビーズを5cmの長さ（充填量1.25g）に充填して使用した。

2・2 装置及び操作条件

〈装置〉

ガスクロマトグラフ：島津GC-9APFE
検出器：水素炎イオン化検出器（FID）
データ処理装置：島津C-R3A
加熱導入装置：島津FIS-1

〈操作条件〉

カラム：1% H₃PO₄ Tenax GC 60~80メッシュ、2m×2.6mm i. d. ガ

ラスカラム

温度：カラム 160°C、注入口 230°C、
検出器 230°C
キャリアーガス：窒素 50ml/min
空気 350ml/min
水素 45ml/min

2・3 試料の捕集

試料捕集管に吸引ポンプと乾式ガスメーターを連結し、被検空気を1~1.5 l/minの速度で吸引して低級脂肪酸を濃縮捕集する。試料捕集管は、両端をそれぞれ注入口パッキング及びフッ素樹脂製キャップで塞ぎ、この上をParafilm M（American Can Company）で覆って分析まで保管した。

2・4 分析操作

試料を捕集した試料捕集管の先端に注射針を固定し、ガスクロマトグラフに接続してキャリアーガスを流しながら試料捕集管を180°Cに加熱する。この状態に8分間保持した後に、10 μl マイクロシリンジ（ハミルトン701N）を用いて蟻酸2 μl を試料捕集管に注入し、低級脂肪酸を回収する。ガスクロマトグラフによる分析の開始は、試料捕集管に蟻酸を注入した時点とした。

3 結果と考察

3・1 分離カラム

アルカリビーズ法におけるカラム充填剤としては、0.3% FFAP+0.3% H₃PO₄ Carbo-pack B⁶⁾、¹⁰⁾及び2% H₃PO₄ Chromosorb 101⁷⁻⁹⁾の使用が報告されている。この内0.3% FFAP+0.3% H₃PO₄ Carbo-pack Bは特別注文品であり、カラム充填剤としては比較的高価であることから、2% H₃PO₄ Chromosorb 101を購入して試験した。その結果、3mカラムを使用したにもかかわらず酪酸異性体間の分離が不十分であり、低級脂肪酸の吸着や昇温時のベースラインドリフトが大きいなどの問題があった。このためFAL-M, SP-1200, FFAP, Diasolid ZF-1など酸性化合物の分析に適すると思われる20数種類の充填剤について、蟻酸と目的成分の分離も確認する必要があることから、標準蟻酸溶液をカラムに直接注入することで検討した。

これらの内1% H₃PO₄ Tenax GCは、カラム温度160°Cの恒温条件で全ての低級脂肪酸を5分以内には

ば完全に分離することができ、ピークの形状はシャープでテーリングも認められなかった。ピークはC₂ (10ng)を除き注入量1ngから認められ、注入量とピーク面積は、対数目盛を用いて2ng (iso-C₅) ~ 10ng (C₂)以上で直線に近似できた。また、カラムへの吸着の程度を各低級脂肪酸約1000ng (標準蟻酸溶液1 μ l)を注入し、全ての成分がカラムから流出後に蟻酸2 μ lを注入して確認したところ、蟻酸の注入によって検出された各低級脂肪酸のピークは5ng以下にしか相当せず、ほとんど問題にならないレベルであった。

3・2 試料捕集管の前処理

アルカリビーズをガラス管に充填し、窒素ガスを流しながら280 $^{\circ}$ Cで2時間空焼きした後に室温まで放冷した。このアルカリビーズをスチレン捕集管に5cmの長さに充填し、ガスクロマトグラフに接続してキャリアガスを流しながら180 $^{\circ}$ Cに加熱し、蟻酸2 μ lを注入して前処理を行った。クロマトグラムでブランクの状況を確認しながら蟻酸の注入を繰り返し、各低級脂肪酸のブランクを全て2ng以下とした。

ただし、この前処理操作の後にもn-C₅の直後に、n-C₅で20ng程度に相当するブランクが残る場合もあった。このブランクが何に起因するのかわからないが、試料捕集管の加熱温度が高い程、また加熱時間が長い程大きくなる傾向にあった。

3・3 回収条件の設定

蟻酸注入量を前処理操作と同じ2 μ lとし、試料捕集管の加熱温度による回収率の変化を調査した。ガスクロマトグラフに接続してキャリアガスを流しながら試料捕集管を180 $^{\circ}$ Cに加熱後、標準水溶液1 μ l (いずれの低級脂肪酸も約100ng)を注入し、Hoshikaの報告⁹⁾にあるように、この状態で8分間保って低級脂肪酸を捕捉させた。次に試料捕集管を120~200 $^{\circ}$ Cまで20 $^{\circ}$ C刻みの温度とし、それぞれに蟻酸2 μ lを注入して低級脂肪酸を回収した。回収率は、同量の各低級脂肪酸を含む標準蟻酸溶液を、カラムに直接注入した時の各成分のピーク面積と比較して算出した。

試料捕集管の加熱温度による回収率の変化を図1に示す。回収率は160 $^{\circ}$ Cまで温度と共に増加し、以後200 $^{\circ}$ Cまで90%前後で一定となった。このことから、低級脂肪酸の回収条件は、試料捕集管を180 $^{\circ}$ Cに加熱して8分間保持した後に蟻酸2 μ lを注入することとした。

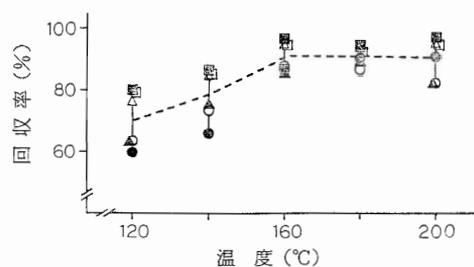


図1 試料捕集管の加熱温度による回収率の変化

●：酢酸；○：プロピオン酸；▲：イソ酪酸
△：n-酪酸；■：イソ吉草酸；□：n-吉草酸

また、上記の捕捉・回収で得られたクロマトグラムを図2に示す。カラムに直接注入した場合と同様に、

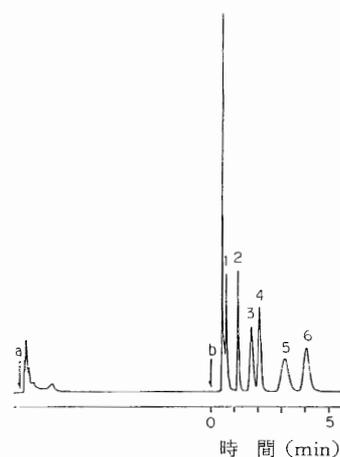


図2 捕捉・回収によるクロマトグラム

感度：64 \times 10⁻¹¹AFS

a：標準水溶液注入，b：蟻酸注入

1 = 酢酸，2 = プロピオン酸，3 = イソ酪酸
4 = n-酪酸，5 = イソ吉草酸，6 = n-吉草酸

全ての低級脂肪酸は蟻酸注入後5分以内に流出し、ほぼ完全に分離されている。

3・4 捕捉・回収による回帰検量線

3・3で設定した条件に従って捕捉・回収を行い、回帰検量線を作成した。アルカリビーズ法では、捕集した試料を全てガスクロマトグラフに導入して分析するため、一つの試料は一度しか分析することができない。このため回帰検量線は、広い濃度範囲に亘る必要があるため、対数目盛を用いて作成することとした。

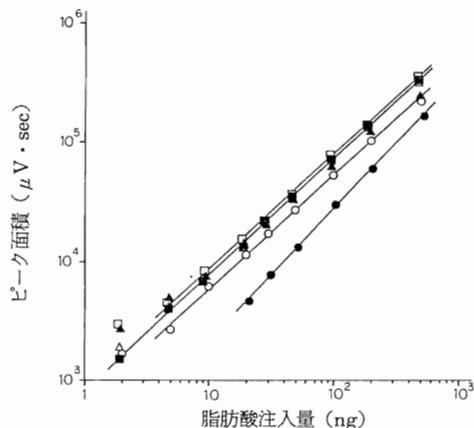


図3 捕捉・回収による回帰検量線
●：酢酸；○：プロピオン酸；▲：イソ酪酸
△：n-酪酸；■：イソ吉草酸；□：n-吉草酸

得られた回帰検量線を図3に示す。各低級脂肪酸のピーク面積は、注入量2ng (n-C₄, iso-C₅)、5ng (C₃, iso-C₄, n-C₅)ないしは20ng (C₂)から500ngの範囲で直線に近似することができた。ただし、試料捕集管に注入する低級脂肪酸の量をいずれも約1000ngとした場合、捕捉時にベースラインが上昇し、一部の低級脂肪酸 (C₃, iso-C₄)の脱離が認められた。

また、試料捕集管に注入する低級脂肪酸の量をいずれも約20ng及び約200ngとし、捕捉・回収を5回行って再現性を確認した。変動係数はどちらの注入量においても全ての成分で約5%以下であり、良好な再現性が得られた。

3・5 サンプリング条件の設定

3・5・1 濃縮容量の設定

ガスクロマトグラフに接続した試料捕集管を180℃に加熱し、これに標準水溶液1μl (注入量はいずれの低級脂肪酸も約200ng)を注入して低級脂肪酸を捕捉後、キャリアーガスを流しながら室温付近 (約40℃)まで放冷した。次にこの試料捕集管をガスクロマトグラフから取り外し、400ml/minの定流量で窒素ガスを10~50ℓ通気後、再びガスクロマトグラフに接続して回収操作を行い、通気量による回収率を調査した。回収率は、ここに用いた標準水溶液を3・4と同様に操作した時の各成分のピーク面積と比較することで算出した。

表1 通気量による回収率の変化 (単位：%)

低級脂肪酸	通気量 (ℓ)		
	10	30	50
C ₂	99	100	103
C ₃	101	102	100
iso-C ₄	100	100	99
n-C ₄	100	102	99
iso-C ₅	99	102	99
n-C ₅	101	102	99

通気量10, 30及び50ℓにおける回収率を表1に示す。回収率は全て99~103%の範囲にあり、通気量50ℓまで定量的な回収が得られたことから、試料捕集管の濃縮容量は50ℓ以上であると判断された。

3・5・2 吸引速度の設定

使用したサンプリングバッグに低級脂肪酸が吸着するため、標準ガスを調整することができなかった。このため、真空瓶内にガス化させた低級脂肪酸の一部をガスタイトシリンジを用いて分取し、窒素ガスを流しながらサンプリングバッグ (50ℓ)に注入することで低級脂肪酸含有ガスを調整した。次に、このサンプリングバッグに試料捕集管に2本直列に継ぎ、吸引速度を変えて吸引した後に、各試料捕集管からの回収量を求めて捕捉率を算出した。捕捉率は、1段目からの回収量を1段目と2段目の回収量の和で割って求めた。また、通気量は5ℓとした。

結果を表2に示す。検討を行った0.5, 1.0及び1.5ℓ/minのいずれの吸引速度においても、捕捉率はC₂が86~88%と比較的低い他は、全て99~100%と一定していた。C₂の捕捉率が低い点については、2段目からの回収量がいずれの吸引速度においてもほぼ一定であることから、1段目に捕捉しきれずに通過したためとは考え難く、むしろ後述するように実験室内空気中のC₂濃度が他の低級脂肪酸に比較してかなり高いことから、操作及び分析までの保管の間に試料捕集管がこれに汚染されたためであると考えられる。従って、全ての成分で吸引速度1.5ℓ/minまで捕捉率の低下は認められないと判断した。既報⁹⁾から推測すると、1.5ℓ/minを上回る吸引速度でも捕捉率は低下しないであろうと思われたが、ここで使用した吸引ポンプでは能力が不足であり、確認することができなかった。

表2 吸引速度による捕捉率

低級脂肪酸	0.5 (ℓ/min)			1.0 (ℓ/min)			1.5 (ℓ/min)		
	回収量*(ng)		捕捉率** (%) $\left(\frac{a}{a+b}\right)$	回収量*(ng)		捕捉率** (%) $\left(\frac{a}{a+b}\right)$	回収量*(ng)		捕捉率** (%) $\left(\frac{a}{a+b}\right)$
	1段目 (a)	2段目 (b)		1段目 (a)	2段目 (b)		1段目 (a)	2段目 (b)	
C ₂	145	(19.0)	88.4	140	20.1	87.4	122	(19.2)	86.4
C ₃	248	(2.7)	98.9	235	(2.4)	99.0	224	(2.2)	99.0
iso-C ₄	445	(2.7)	99.4	442	(3.0)	99.3	439	(1.6)	99.6
n-C ₄	321	(1.6)	99.5	334	(1.9)	99.4	344	ND	100
iso-C ₅	360	ND	100	374	ND	100	385	ND	100
n-C ₅	252	(1.7)	99.3	249	ND	100	252	ND	100

*1 () は定量限界以下のため、検量線の外挿により求めた
 *2 () 内の数値をそのまま用い、また NDは0とした

3・5・3 吸引捕集・回収における再現性

3・5・2と同様に低級脂肪酸含有ガスをサンプリングバッグに調整した。最初の10ℓを捨て、バッグの中央付近から1ℓ/minの速度で5ℓを試料捕集管に通気した。この操作を5本の試料捕集管に対して行い、回収量から濃度を算出して再現性を確認した。

表3に示した通り変動係数は11%未満であり、比較的良好な再現性が得られた。

表3 吸引捕集・回収における再現性 (n = 5)

低級脂肪酸	濃度 (ppb)		変動係数 (%)
	平均値	標準偏差	
C ₂	19.7	2.1	10.7
C ₃	8.7	0.8	9.2
iso-C ₄	12.1	0.5	4.1
n-C ₄	8.5	0.3	3.5
iso-C ₅	8.5	0.1	1.2
n-C ₅	8.3	0.3	3.6

3・6 実験室内空気中の濃度と試料捕集管の保存

今回の検討を行った実験室内の空気を1ℓ/minの流速で試料捕集管に30ℓ通気し、実験室内空気中の低級脂肪酸濃度を測定した。クロマトグラムの1例を図

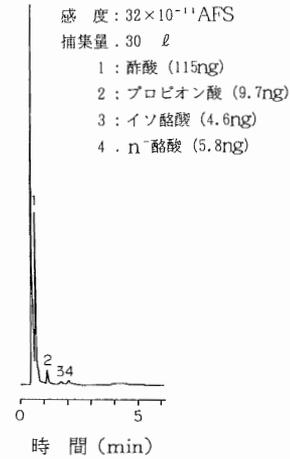


図4 実験室内空気中の低級脂肪酸のクロマトグラム

4に示す。低級脂肪酸以外のピークは認められず、選択的に捕集されていることが分かる。主要成分はC₂ (1530ppt)であり、他にC₃ (104ppt), iso-C₄ (32ppt), n-C₄ (26ppt)が検出されている。5検体の濃度範囲及び平均濃度を表4に示す。濃度範囲、平均濃度共に、既に報告されている一般環境大気中の

表4 実験室内空気中の低級脂肪酸素濃度
(単位: ppt, n = 5)

低級脂肪酸	範囲	平均値
C ₂	1,340 ~ 2,030	1,620
C ₃	97 ~ 125	110
iso-C ₄	15 ~ 35	29
n-C ₄	19 ~ 34	27
iso-C ₅	(10)* ~ (14)*	(13)*
n-C ₅	ND ~ (15)*	(6)*

* 定量限界以下であり、検量線を外挿して求めた参考値

濃度^{6, 8)}と比較して類似のレベルにあり、実験室内空気中の低級脂肪酸は特に高い濃度ではなかった。

実験室内空気中の低級脂肪酸はC₂が最も多く、次に多いC₃に比較して15倍程存在していることから、試料捕集管の保存に際してもC₂による汚染が最も懸念される。そこで、前処理した試料捕集管の端をそれぞれ注入口パッキング及びフッ素樹脂製キャップで塞ぎ、この上をParafilm Mで覆って実験室内に保管し、経過日数によるブランクの上昇を確認した。

この結果、C₂のブランクは1週間で25ng、2週間で75ng、1カ月で100ng程度にまで上昇した。これに対し、他の低級脂肪酸は全て2週間で3ng以下、1カ月でも5ng以下にとどまった。C₂ブランクの上昇を考慮すれば、一般環境のような低濃度の測定を行う場合は特に、試料捕集管を前処理後1週間以内に使用するのが適当であると判断された。

4 結論

試料捕集管によるブランクを低減するため、従来一般に報告されているよりも試料捕集管のアルカリビーズ充填量を減らし、これに伴うサンプリング及び回収などの分析条件を検討した。

試料捕集管のブランクは、アルカリビーズの充填量を1.25ng(充填長さ5cm)とし、前処理操作を行うことで全ての低級脂肪酸に対し2ng以下となった。

また、本法に適したカラム充填剤の検討を行い、新たに1% H₃PO₄ Tenax GCが有用であると判断された。この充填剤を使用して回収条件を検討した結果、恒温条件で迅速な分析が可能となり、定量限界も環境中に比較的多く存在するC₂(20ng)を除き、注入量で2ngないしは5ngとすることができた。精度は、酢酸を含めた全ての低級脂肪酸に対し変動係数が11%

未満であり、比較的良好であった。

以上の結果から、通気量わずか5 l (1 l/min × 5 min) でC₂(1.5ppb)を除き概ね0.2ppbまで定量が可能で、臭気の測定に十分な感度を得られた。また試料捕集管は、アルカリビーズの充填量を減らしたものの、50 l以上の濃縮容量があることから、さらに低濃度まで測定が可能であり、一般環境にも充分適用できるものと思われる。

他方、アルカリビーズの充填量を減らしたことで負荷が減少し、充電式などの小型の吸引ポンプを使用することができる。このことは、電源の確保が困難な場合の多い野外の調査に極めて有利である。

文 献

- 1) 加藤龍夫ら: 悪臭の機器測定, 講談社サイエンスフィク, 290~291pp, 1984.
- 2) 大喜多敏一, 貴船育英: 沓紙法による脂肪酸, メチルアミン, アンモニアの測定法の検討, 大気汚染研究, 10(3), 87~91, 1975.
- 3) 早田寿文, 古川暁: 悪臭としての低級脂肪酸の測定, 大気汚染研究, 10(4), 175, 1975.
- 4) 岡林南洋ら: ガスクロマトグラフによる大気中低級脂肪酸の定量, 分析化学, 25, 436~440, 1976.
- 5) 宮本弘子ら: 悪臭発生源における低級脂肪酸の分析, 公害と対策, 18, 243~246, 1982.
- 6) Y. Hoshika: Gas chromatographic determination of lower fatty acids in air at part-per-trillion levels, Anal. Chem., 54, 2433~2437, 1982.
- 7) 仲山伸次ら: 固体反応管法(アルカリビーズ法)による大気中低級脂肪酸の分析法の検討, 日本環境衛生センター所報, [3], 79~89, 1976.
- 8) 仲山伸次ら: 固体反応管法(アルカリビーズ法)による大気中低級脂肪酸の分析法の検討 第2報, 日本環境衛生センター所報, [5], 90~93, 1978.
- 9) 高原康光ら: アルカリガラスビーズ法による大気中低級脂肪酸の測定法についての検討, 岐阜県公害研究所年報, [9], 33~35, 1981.
- 10) 高原康光, 早川友邦: アルカリビーズ法による大気中低級脂肪酸の測定法について, 岐阜県公害研究所年報, [16], 85~89, 1988.