

原著

微極性カラムを用いた鉱物油および動植物油脂のGC/MS定性分析

土田大輔・志水信弘

主要な鉱物油および動植物油脂を対象に、微極性カラムを用いてガスクロマトグラフ質量分析法(GC/MS)により定性分析した。各油脂について、ヘキサンで希釈した試料、および水面上で1日放置した模擬油膜試料の2種類を調製した。ガソリンおよび灯油からは、主に低沸点化合物が検出された。軽油、A重油、B重油、およびC重油のクロマトグラムは互いに類似していた。動植物油脂をメチルエステル(ME)化してGC/MS測定したところ、3~5本のピークが検出され、6種の脂肪酸MEであると判断された。動植物油脂は、油膜状で1日放置した後も脂肪酸組成の変化は小さかった。本分析結果により、油流出事故時の油種の判別分析を効率化できると考える。

[キーワード: 鉱物油、動植物油脂、GC/MS、メチルエステル化、微極性カラム]

1 はじめに

鉱物油や動植物油脂(以下、油脂類)の公共用水域への流出事故発生時には、迅速な対応が求められる。特に、発生源や原因油種が不明な場合は、油種判別の一環としてガスクロマトグラフィー(GC)による定性分析を行うことがある^{1,2)}。分析を速やかに行うためには、想定し得る流出状況や原因油種に応じて、分析条件等を検討しておくことが重要である。

まず、油流出の状況によって、採取される試料中の油分濃度に幅があることを考慮する必要がある。例えば、大量の油が流出して油脂類そのものを油層として採取できる場合と、流出油が少量のため油膜の浮いた水試料として採取される場合が想定される。また、油膜試料の場合は、油分濃度が減少するだけでなく、揮散・拡散等により油分組成も変化することが予想される。

さらに、鉱物油と動植物油脂とでは主成分が異なるため、GC分析手順も異なってくる。特に分離カラムは、鉱物油分析には微(無)極性カラムが、動植物油には極性カラムが一般的に用いられる。これらのカラムのうち、微極性カラムは環境試料の分析で広く用いられているため、微極性カラムにより鉱物油と動植物油脂の双方を測定できれば、迅速性が求められる油流出事故時に分析の効率化を図ることができる。

そこで本研究では、主要な油脂類を対象に微極性カラムを用いてGC/MS分析を行い、油種ごとのクロマトグラムを把握した。さらに、油膜を模擬した試料を調製して同様の分析を行い、クロマトグラムの変化を明らかにした。

2 材料および方法

2・1 試薬

ヘキサン、硫酸ナトリウム、アセトンは、和光純薬工業株式会社製または関東化学株式会社製の残留農薬・PCB試験用を用いた。トルエンは和光純薬工業株式会社製のダイオキシン類分析用を用いた。ナトリウムメトキシドは和光純薬工業株式会社製(28%メタノール溶液)を、メタノール(和光純薬工業株式会社製、LC/MS用)で希釈して用いた。酢酸は和光純薬工業株式会社製の試薬特級を用いた。鉱物油の標準品には、ノルマルパラフィン混合溶液ASTM D2887(Sigma-Aldrich Co. LLC.製)を用いた。脂肪酸メチルエステル(以下、メチルエステルをMEと略す)の標準品は、ミリスチン酸ME(ジューエルサイエンス株式会社製)、および脂肪酸ME混合標準液FAME Mix GLC-10(SUPELCO製、含有脂肪酸ME; パルミチン酸ME、ステアリン酸ME、オレイン酸ME、リノール酸ME、リノレン酸ME)を混合して用いた。

2・2 対象油脂類

対象油脂類として、ガソリン、灯油、軽油、A重油、B重油、C重油、菜種(キャノーラ)油、パーム油、大豆油、豚脂、牛脂を選定した。対象油脂類の流通量は表1に示すとおりであり、石油製品の7割、植物油脂の8割、動物油脂の7割を占めている。なお、鉱物油(石油製品)は国内向販売量³⁾、植物油脂は供給量⁴⁾(国内生産と輸入の和)、動物油脂は国内生産量⁵⁾を集計した。

鉱物油は、市販品を実験に用いた。動植物油は、食用菜種油(日清オイリオグループ株式会社製)、精製パーム油(不二製油株式会社製)、食用大豆油(理研農産化工株式

会社製)、精製豚脂および精製牛脂(ともに山桂産業株式会社製)を用いた。

2・3 前処理方法

鉱物油、動植物油脂それぞれについて、油層が採取された場合を想定したヘキサン希釈試料と、油膜の浮いた水試料を想定した模擬油膜試料の2種類を調製した。

2・3・1 鉱物油

(1) ヘキサン希釈試料

鉱物油0.1 gをヘキサン100 mLに溶かし、鉱物油の1 mg/mL 溶液を調製した。このうち10 μ Lをマイクロシリンジで取り、ヘキサン1 mLで希釈して、GC/MS測定用試料とした。なお、B重油とC重油には濁りが認められたため、メンブレンフィルター(アドバンテック東洋株式会社製DISMIC-13JP020AN(孔径0.20 μ m))を用いてろ過した。

(2) 模擬油膜試料

鉱物油0.1 gを、200 mL容三角フラスコに入れた超純水100 mLに添加し、水平振とう機(ヤマト科学株式会社製、MK200D)で室温にて24時間70rpmで巡回攪拌した。

次に、攪拌後の試料全量を分液ロートに移し、ヘキサン30 mLで30分間振とうした。分離後のヘキサン層を硫酸ナトリウムで脱水し、100 mL容メスフラスコを用いてヘキサンで定容した。このヘキサン溶液10 μ Lをマイクロシリンジで取り、ヘキサン1 mLで希釈して、GC/MS測定用試料とした。

2・3・2 動植物油脂

(1) ヘキサン希釈試料

動植物油脂0.1 gをヘキサン100 mLに溶かし、1 mg/mL溶液を調製した。次に、油脂の極性や沸点を下げたGC分析

時の分離能を上昇させるため、次に示すナトリウムメトキシド法⁶⁾により、油脂をメチルエステル化した。まず、ヘキサン溶液20 mLをスピッツ管に分取し、窒素ガス気流下40°Cで乾固した。乾固した試料を1 mLのトルエンで溶かし、0.5 mol/L ナトリウムメトキシド-メタノール溶液2 mLを加え、室温で10分間放置した。この試料に0.5 mol/L酢酸2 mLを加えて中和した後、ヘキサン4 mLを加えて振り混ぜ、分離したヘキサン層を採取した。このヘキサン溶液10 μ Lをマイクロシリンジで取り、ヘキサン1 mLで希釈して、GC/MS測定用試料とした。

(2) 模擬油膜試料

動植物油脂についても、鉱物油と同様の手順で模擬油膜試料を作成後、ヘキサン抽出した。さらに、このヘキサン溶液20 mLを分取し、ナトリウムメトキシド法によりメチルエステル化した後、マイクロシリンジで10 μ Lを取り、ヘキサン1 mLで希釈して、GC/MS測定用試料とした。

2・4 使用機器および測定条件

ガスクロマトグラフ質量分析計(GC-MS)は株式会社島津製作所製GCMS-QP2010 Plusを、微極性カラムにはアジレント・テクノロジー株式会社製DB-5MS(30 m \times 0.250 mm ID, 0.25 μ m)を用いた。GC-MS装置の測定条件を表2に示す。鉱物油分析の昇温条件については、油汚染対策ガイドライン⁷⁾を参考にした。

3 結果および考察

3・1 鉱物油の分析結果

図1(a)~(f)に、鉱物油(ヘキサン希釈試料)のトータルイオンクロマトグラム(TIC)を示す。ガソリンは保持時間15分以内にピークがみられ、特徴的な成分として芳香族炭化水素がマススペクトル解析により確認された。灯油については、7分から20分にかけてピークがみられた。標準品であるノルマルパラフィン混合標準液の分析結果(図1(g))との比較から、灯油の主要なピークは炭素数12を中心とした炭素数9~16の脂肪族炭化水素と判断された。軽

表1 分析対象油脂類の流通量

対象油脂類	流通量*	割合
鉱物油(石油製品) 計	185,450	
ガソリン	53,608	29%
灯油	17,214	9%
軽油	33,789	18%
A重油	12,741	7%
B,C重油	19,232	10%
上記以外の石油製品	48,866	26%
植物油脂 計	2,595	
菜種油	1,087	42%
パーム油	599	23%
大豆油	401	15%
上記以外の植物油脂	508	20%
動物油脂 計	317	
豚脂	146	46%
牛脂	69	22%
上記以外の動物油脂	102	32%

*流通量の単位: 鉱物油(石油製品)[$\times 10^3$ kL/y]
植物油脂および動物油脂[kt/y]

表2 GC-MS 装置の測定条件

	(1) 鉱物油	(2) 動植物油脂
カラム温度	50°C(5 min) \rightarrow 10°C/min \rightarrow 300°C(30 min)	40°C(2 min) \rightarrow 10°C/min \rightarrow 280°C(14 min)
キャリアーガス	ヘリウム (1.2 ml/min)	ヘリウム (1.0 ml/min)
注入口温度	250°C	230°C
注入方法	1分間スプリットレス	1分間スプリットレス
試料導入量	1 μ L	1 μ L
インターフェース温度	300°C	280°C
イオン源温度	200°C	230°C
測定モード	スキャン (m/z:33-600)	スキャン (m/z:60-500)

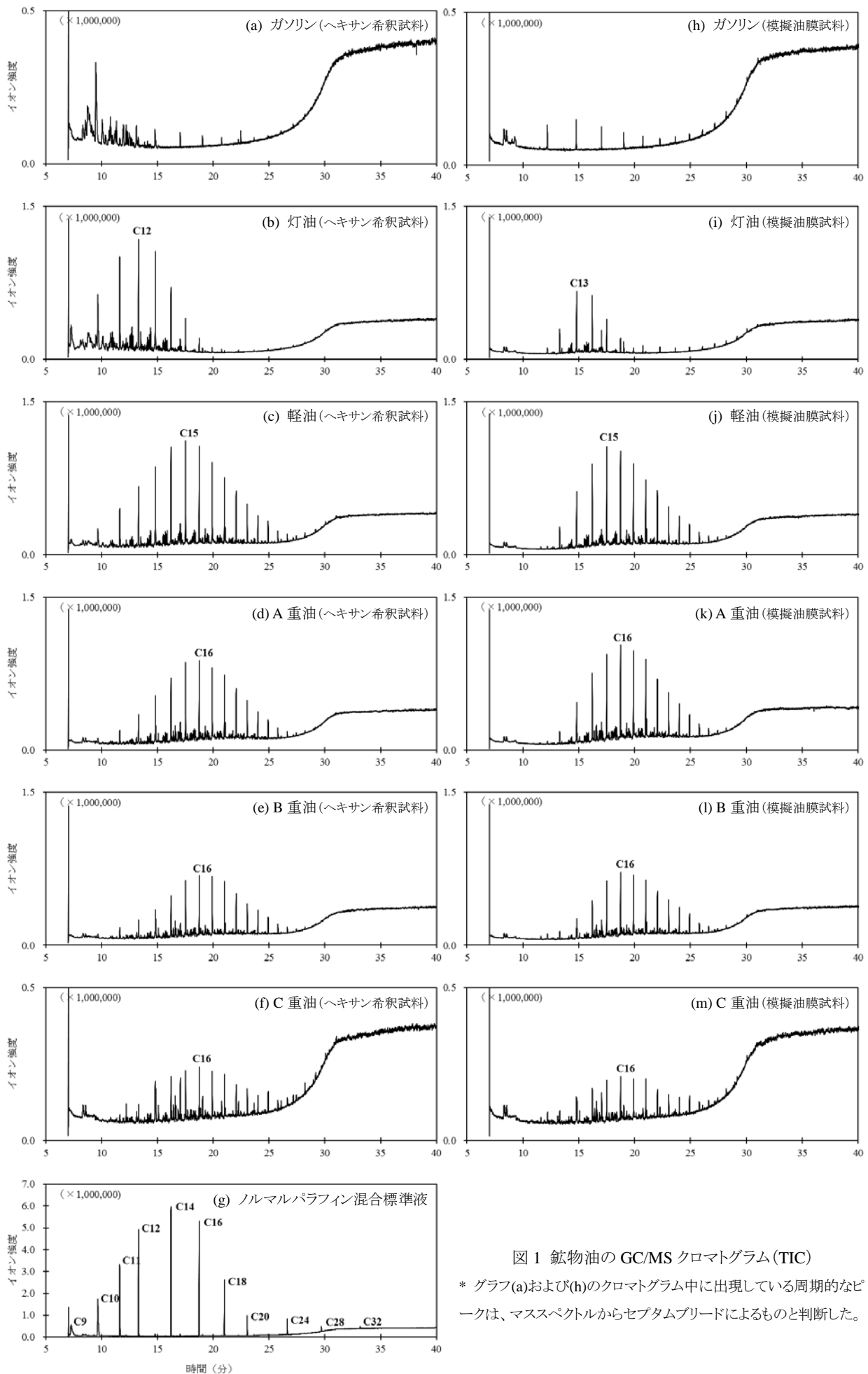


図1 鉱物油のGC/MSクロマトグラム(TIC)

* グラフ(a)および(h)のクロマトグラム中出现している周期的なピークは、マススペクトルからセプタムブリードによるものと判断した。

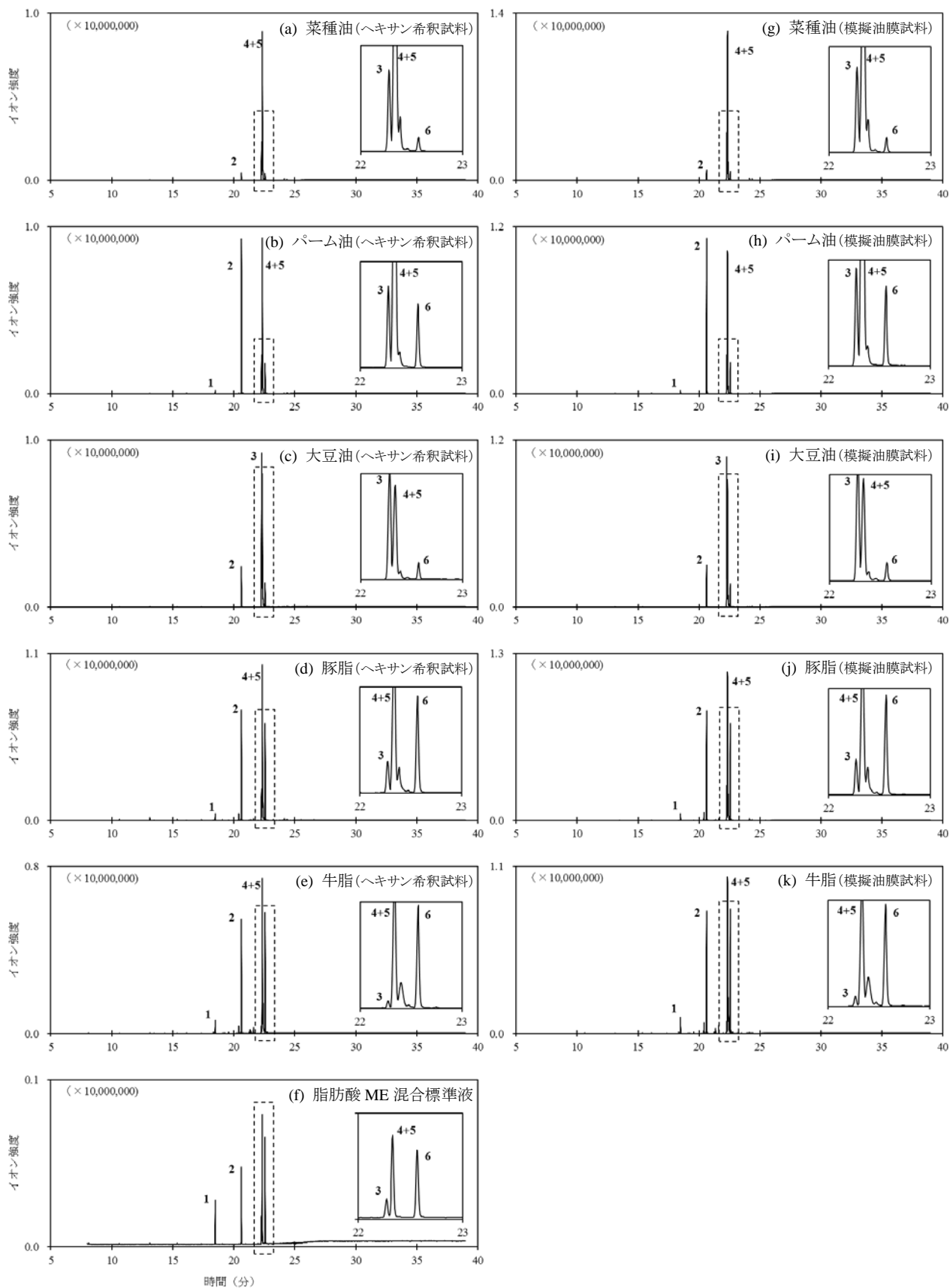


図2 動植物油脂のGC/MSクロマトグラム(TIC)

* 図中の拡大グラフは全て22分から23分(点線部分)の拡大図である。

** 図中のピーク番号は、次の脂肪酸メチルエステル(炭素数:二重結合数)を示す;1 ミリスチン酸 ME (C14:0)、2 パルミチン酸 ME (C16:0)、3 リノール酸 ME (C18:2)、4 オレイン酸 ME (C18:1)、5 リノレン酸 ME (C18:3)、6 ステアリン酸 ME (C18:0)。

油、A重油、B重油、およびC重油については、10分から28分にかけて炭素数10~24の脂肪族炭化水素のピークがみられた。軽油、A重油、B重油、およびC重油は、この順に、炭素数の多い脂肪族炭化水素の割合が増えるもののクロマトグラムの形状は類似しており、これら油種間の識別は困難であると考えられた。下尾ら⁸⁾は、灯油、A重油に軽油識別剤として添加されているクマリンを検出することにより、これらの油種を識別する方法を示しているが、本報ではヘキサンで約10万倍希釈してscanモードで測定したため、クマリンを検出することはできなかった。

図1(h)~(m)に、鉱物油（模擬油膜試料）のTICを示す。ガソリンおよび灯油については、ヘキサン希釈試料の場合とピークパターンが異なり、保持時間12分未満のピークが消失した。したがって、本報の分析条件では、ガソリンおよび灯油が水面上に常温で1日放置された場合、芳香族炭化水素や炭素数11以下の脂肪族炭化水素は検出できなくなることを確認した。軽油、A重油、B重油、およびC重油については、保持時間が10~12分までの低沸点成分が減少したが、全体に占める割合は小さいため、クロマトグラムの形状に大きな変化はなかった。結果として、模擬油膜試料における軽油、A重油、B重油、およびC重油の識別は困難であった。

3・2 動植物油脂の分析結果

図2(a)~(e)に動植物油脂（ヘキサン希釈試料）のTICを示す。全ての油脂で3~5つのピークが検出された。脂肪酸ME混合標準液の測定結果（図2(f)）から判断された脂肪酸ME名を、保持時間の短いピークから順に示すと、1 ミリスチン酸ME、2 パルミチン酸ME、3 リノール酸ME、4 オレイン酸MEと5 リノレン酸ME、6 ステアリン酸MEとなった。内藤ら⁹⁾が行った脂肪酸の分析結果を参考にし、4 オレイン酸MEと5 リノレン酸MEのピークは重複していると判断した。

油脂ごとの特徴をみていくと、大豆油を除いて、オレイン酸ME・リノレン酸MEの重複ピークが最も高かった。菜種油は、オレイン酸ME・リノレン酸MEのピークがほぼ単

独で突出していた。パーム油は、パルミチン酸MEのピークがオレイン酸ME・リノレン酸MEと同程度の高さで検出され、ステアリン酸MEのピークも確認できた。大豆油は、リノール酸MEのピークが最も高く、次いでオレイン酸ME・リノレン酸MEが高かった。豚脂および牛脂のクロマトグラムは類似しており、オレイン酸ME・リノレン酸MEに次いで、パルミチン酸MEとステアリン酸MEのピークが比較的高く、わずかではあるがミリスチン酸MEのピークも確認された。

表3に各動植物油脂の平均的な脂肪酸組成¹⁰⁾を示す。定性分析した6種の脂肪酸が占める割合は、脂質1g当たりで84~92%である。また、本報では定量分析は行っていないが、各動植物油脂の主な脂肪酸（表3）は、上述したように各油脂のクロマトグラムからも確認できた。

図2(g)~(k)に、動植物油脂（模擬油膜試料）のTICを示す。鉱物油の場合と異なり、動植物油脂は油膜状で1日間経過しても、クロマトグラムの形状に大きな変化は認められなかった。これは、鉱物油に比べ動植物油脂の沸点が高いためであると考えられた。

4 まとめ

油流出事故への対応を想定し、主要な油脂類を対象にGC/MS 定性分析を行った。本分析結果を活用することにより、以下の点で油流出事故時の油種判別分析を効率化できると考える。

- GCの分離カラムには、環境分析で広く用いられる微極性カラム（DB-5MS）を、鉱物油および動植物油脂に共通して用いた。したがって、油種に応じてカラム交換をする必要がないため、交換作業に要する時間を短縮できる。
- 通常、流出油分析の際は市販油脂との比較により油種を推定することが多い。本報で測定した鉱物油および動植物油脂に関してはクロマトグラムを参照できるため、これらの分析に要する時間を短縮できる。
- 鉱物油と動植物油脂のクロマトグラムは大きく異なるため、油類の区分（不揮発性鉱物油類および不揮発性動

表3 動植物油脂の平均的な脂肪酸組成

油脂名	脂肪酸 総量	ミリスチン酸	パルミチン酸	ステアリン酸	オレイン酸	リノール酸	リノレン酸	6種の脂肪酸 が脂質1gに 占める割合
		C14:0	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	
菜種油	933	1	40	19	585	186	75	90.6%
パーム油	929	11	409	41	364	90	2	91.7%
大豆油	928	1	99	40	218	497	61	91.6%
豚脂	927	16	233	134	400	89	5	87.7%
牛脂	899	22	234	141	409	33	2	84.1%

*出典:参考文献10)

植物油類)を行う際の簡易的なスクリーニングとしても活用できると考えられる。

文献

- 1) 中牟田啓子ら：環境化学, 11, 815-826, 2001.
- 2) 藤原博一ら：岡山県環境保健センター年報, 32, 67-74, 2008.
- 3) 経済産業省 資源エネルギー庁 資源・燃料部：資源・エネルギー統計年報（石油），石油製品国内向月別販売（平成26年），p.39, 2014.
- 4) 一般社団法人 日本植物油協会：植物油の基礎知識，日本の油種別植物油供給量（2014年），http://www.oil.or.jp/kiso/seisan/seisan06_03.html（2016年6月27日アクセス）
- 5) 農林水産省：平成26年度食料需給表，主要項目の品目別累年表，主要油脂類の国内生産量の内訳，2016.
- 6) 日本薬学会：衛生試験法・注解（2010），p.217, 2010（金原出版，東京都）.
- 7) 中央環境審議会 土壤農薬部会 土壤汚染技術基準等専門委員会：油汚染対策ガイドライン—鉱油類を含む土壤に起因する油臭・油膜問題への土地所有者等による対応の考え方—，資料3 GC-FID法によるTPH試験法，2006.
- 8) 下尾和歌子ら：山口県環境保健センター所報, 53, 61-64, 2010.
- 9) 内藤裕一ら：Res. Org. Geochem., 26, 139-145, 2010.
- 10) 文部科学省 科学技術・学術審議会 資源調査分科会：日本食品標準成分表2015年版（七訂）脂肪酸成分表編，第2章 第3表 脂質1g当たりの脂肪酸成分表（14 油脂類），2015.

(英文要旨)

Qualitative Analysis of Mineral Oils, Vegetable Oils, and Animal Fats using Gas Chromatography-Mass Spectrometry with a Low-Polarity Column

Daisuke TSUCHIDA and Nobuhiro SHIMIZU

*Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences,
Mukaizano 39, Dazaifu, Fukuoka 818-0135, Japan*

In oil spills, oil analyses will facilitate the identification of the source. This paper describes the results of qualitative analyses of major oils, including mineral oils, vegetable oils, and animal fats, using a gas chromatograph-mass spectrometer equipped with a low-polarity column. Two types of samples were prepared: oils diluted with n-hexane and oils left on the surface of water for one day (simulated oil-film). Low boiling point components were detected in the chromatograms of gasoline and kerosene, and the chromatograms of diesel and three heavy oil samples (A, B, and C) were similar to each other. Vegetable oils and animal fats were methyl esterified and analyzed by gas chromatography-mass spectrometry. Three-to-five peaks were detected in the chromatograms. The presence of six fatty acids, which constitute a large portion of vegetable oils and animal fats, was confirmed. Exposure on the surface of water for one day did not affect the fatty acid composition. These results provide information that will be useful in discriminatory analysis of oils in oil spills.

[Key words; mineral oil, vegetable oil, animal fat, GC/MS, methyl esterification, low polarity phase column]