

【調査研究】

有害化学物質の環境汚染実態の解明と分析技術の開発に関する研究

—GC/MSを用いた水質中フタル酸エステル (PAE) の多成分分析法の検討—

Study for Simultaneous Analysis Method of Phthalate esters
(PAE) in Water by GC/MS

吉岡敏行, 山辺真一, 坂口浩範, 大月史彦 (水質科)

Toshiyuki Yoshioka, Shinichi Yamabe, Hironori Sakaguchi, Fumihiko Otsuki (Department of Water)

要 旨

フタル酸エステル10種類の水質分析法を検討した。前処理方法は、メスフラスコを用いたヘキサンスターラー攪拌抽出法と分液ロートを用いたジクロロメタン振とう抽出法を比較検討するとともに、ブランクの管理手法についても検討した。その結果、分析法の検出下限値は0.0013~0.040 $\mu\text{g/L}$ 、定量下限値は0.0034~0.10 $\mu\text{g/L}$ となり、従来の分析法に比べてブランク値がほとんど検出されずばらつきの少ない高感度分析方法が確立できた。

[キーワード：フタル酸エステル, 操作ブランク, GC/MS, 多成分分析]

[Key words : Phthalate esters, Operation Blank, GC/MS, Simultaneous analysis]

1 はじめに

本県では、最新の化学物質情報の入手や分析技術の習得等を目的に、毎年、環境省が実施する化学物質環境実態調査に参画し、化学物質の新規分析法の開発や、環境中の濃度の把握に努めている。今回、平成23年度化学物質環境実態調査と連携して、フタル酸ブチルベンジル及びフタル酸ジ(2-エチルヘキシル)等のフタル酸エステル10種類の水質分析法について検討した。

フタル酸エステルは、その有害性から食品衛生法では特に、玩具や器具及び容器包装で規制がされている。環境基本法では水質汚濁に係る環境基準の要監視項目としてフタル酸ジエチルヘキシルの指針値が0.06mg/Lと規定され、また、その測定方法として、共栓付き試験管を用いたヘキサン抽出法でGC/MS又はGC/ECD等を用いて測定する方法が規定されている。一方、環境省の化学物質環境実態調査では、フタル酸ブチルベンジルがメスフラスコを用いたヘキサン抽出法によりGC/MSを用いて測定する方法¹⁾がある。また、JIS K0450-30-10では、工業用水・工場排水中のフタル酸エステル類の試験法として8種類の同様の測定法²⁾がある。このようにさまざまな公定法が規定されているが、フタル酸エステルはプラスチック製品の可塑剤等として身近に多量に使用されており、特に、フタル酸ジ(2-エチルヘキシル)やフタル酸ジ-n-ブチルは実験環境や試薬・器具類等からの汚染により、操作ブランク値が検出されることが多く、一定にコントロールすることは比較的困難であった。そのため、できるだけシンプルで操作ブランクの混入

が少ない分析法を採用しているが、基本的には検出された操作ブランク値を差し引いて定量すること等から変動係数が比較的高く、検出下限も比較的高い等の問題点がある。

今回、試薬、器具、操作手順等を再確認したところ、汚染経路が明確となり、操作ブランク値をできるだけ低減するように汚染対策を行い、操作ブランク値がほとんど検出されず、検出下限も従来の分析法よりかなり低い分析方法を確立することができたので報告する。

2 実験方法

2.1 ガラス器具及び試薬

ガラス器具(メスフラスコ)は、洗剤を入れたステンレス製の容器につけ置き、水道水、超純水で十分すすいだ後、乾燥させ、アセトン、ヘキサンで洗浄し、乾燥機で250℃、約3時間加熱処理後、放冷して使用した。加熱処理しないパスツールピペットと測定用バイアルピンは使用直前にアセトン、ヘキサンで洗浄後、自然乾燥し、直ちに使用した。

試薬(アセトン、ヘキサン、塩化ナトリウム、無水硫酸ナトリウム)は、フタル酸エステル試験用の規格品を使用した。塩化ナトリウムや無水硫酸ナトリウムは、あらかじめ450℃、約16時間加熱処理後、ある程度冷却してデシケーター中で保管したものをできるだけ早く使用した。

2.2 分析フロー及び前処理工程における検討

今回検討した分析フローを図1に示す。化学物質環境実

態調査の分析方法¹⁾を採用したが、汚染の原因のひとつであると考えられる塩析は行わなかった。使用するガラス器具もメスフラスコとパストゥールピペットだけで極力、汚染の機会を排除したシンプルな分析方法とした。前処理工程では、メスフラスコを用いたヘキサンスターラー攪拌抽出法と分液ロートを用いたジクロロメタン振とう抽出法を比較検討した。

また、妨害物質の除去を行う必要がある試料を想定してシリカゲルカートリッジカラムによる溶出パターンも検討した。

2.3 GC/MSの測定条件

今回検討したGC/MSの測定条件を表1に、モニターイオンを表2に示す。d体がある物質はクリーンアップスパイク

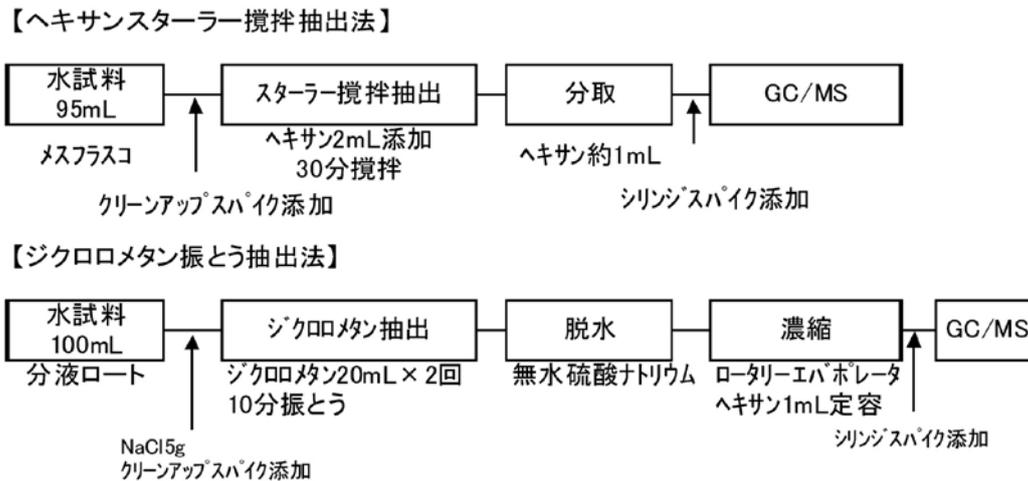


図1 分析フロー

表1 GC/MSの測定条件

使用機種	: GC: Agilent7890A, MS: JMS-Q1000GCMk II
カラム	: HP-1MS 30 m × 0.25 mm × 0.25 μm (Agilent)
カラム温度	: 50°C (2min)-20°C/min-120°C(0min)-7°C/min-310°C(5min)
注入口温度	: 250°C
注入方法	: スプリットレス(パージ開始時間1.5 min)
注入量	: 1 μL
キャリアーガス	: ヘリウム 1 mL/min(定流量)
インターフェース温度	: 240°C
イオン源温度	: 210°C
イオン化電圧	: 70eV
検出モード	: SIM

表2 モニターイオン

番号	IS	保持時間	定量イオン(Q)	参照イオン(I)	
IS	IS p-terphenyl-d14	-	0:21:08	244	-
S1	Di-methyl phthalate-d4	-	0:10:49	198	-
S2	Di-ethyl phthalate-d4	-	0:12:54	153	-
S3	Di-isobutyl phthalate-d4	-	0:16:57	153	-
S4	Di-n-butyl-d4	-	0:18:13	153	-
S5	Benzyl n-butyl-d4	-	0:22:57	153	-
S6	Di-n-heptyl phthalate-d4	-	0:25:18	153	-
S7	Di(2-ethylhexyl) phthalate-d4	-	0:25:27	153	-
S8	Di-n-octylphthalate-d4	-	0:27:23	153	-
1	Di-methyl terephthalate	S1	0:11:38	163	194
2	Di-ethyl phthalate	S2	0:12:55	149	177
3	Di-allyl phthalate	S3	0:15:09	149	189
4	Di-isobutyl phthalate	S3	0:16:58	149	223
5	n-Butyl phthalate	S4	0:18:14	149	223
6	Butyl benzyl phthalate	S5	0:22:58	149	206
7	Di-n-heptyl phthalate	S6	0:25:20	149	265
8	Di-cyclohexyl phthalate	S6	0:24:55	149	167
9	Di(2-ethylhexyl) phthalate	S7	0:25:29	149	167
10	Di-n-octyl phthalate	S8	0:27:24	149	279

イクを内標準とし、d体がない物質は保持時間が近いクリーンアップスパイクを内標準として定量した。シリンジスパイク(p-terphenyl-d14)は、クリーンアップスパイクの回収率の計算に用いた。

2.4 分解性スクリーニング試験及び保存性試験

化学物質環境実態調査実施の手引き(平成20年度版)²⁾に基づき、分解性スクリーニング試験を実施した。試験液は精製水を用いてpH5、pH7、pH9のものを作成し、対象物質の濃度が0.42 μ g/Lになるように添加し、1時間後及び7日後(明所及び暗所に保存)にサロゲート物質を添加した後、ヘキサン抽出を行い、GC/MSで測定した。

保存性試験は、河川水に対象物質の濃度が0.21 μ g/Lになるように添加し、添加直後、7日後、14日後及び1ヶ月(冷暗所に保存)にサロゲート物質を添加した後、ヘキサン抽出を行い、GC/MSで測定した。

2.5 装置検出下界値及び分析法の検出下限値と定量下限値

装置検出下界値(IDL)及び測定方法の検出下限値(MDL)と定量下限(MQL)は、化学物質環境汚染実態調査の手引き(平成20年度版)²⁾に従って実施した。IDLは、検量線に用いる最低濃度付近の標準液を7回繰り返し測定し、得られた測定値の標準偏差を用いて算出した。MDLとMQL試験には、用水路の水質試料を使用し、無添加の用水からフタル酸ジ(2-エチルヘキシル)が検出されたため、精製水で1/4に希釈した試料を7個作成した。フタル酸ジ(2-エチルヘキシル)を除く9物質の標準物質を添加して、分析フローに従い前処理を実施した後、GC/MSで測定し、得られた測定値の標準偏差を用いて算出した。

2.6 添加回収試験

河川水は、旭川(乙井手堰)の水質試料95mLに標準物質を添加し、海水は水島沖の水質試料95mLに標準物質を添加し、分析フローに従い前処理を実施した後、GC/MSで測定した。

3 検討結果及び考察

3.1 GC/MS測定条件の検討結果

対象物質のGCカラムでの分離状況を図2と図3に示す。フタル酸エステルの測定では、一般的に、無極性から微極性のGCカラムが使用されるが、HP-1MSとDB-5MS(Agilent J&W)を比較したところ、DB-5MSではフタル酸ジ-n-ヘプチルとフタル酸ジ(2-エチルヘキシル)のピークが分離しなかったため、今回はHP-1MSを用いて検討を行った。

フタル酸エステルの検量線を図4に示す。物質により最

低濃度は0.05~2.0ng/mLの幅があり、感度は大きく異なっていた。また、一部の物質では検量線は直線ではなく、二次曲線で相関が高かったが、今回検討に使用した分析装置の特徴と思われる。

3.2 汚染源の検討結果

試薬類は、フタル酸エステル分析用の規格品が販売されているが、必ず、事前にブランクの有無をチェックして使用した。しかし、一度、開封して実験室内に放置すると、実験室の環境によっては室内空気から汚染されることがあることから、念のため使用の都度、新しい溶媒を使用した。なお、当センターの微量化学物質分析棟(建設後約10年経過)は、外気の導入及び室内空気の排気は活性炭フィルターやヘパフィルター等でろ過しているため、実験室内の空気が非常に清浄であり、溶媒を開封して約1ヶ月放置したものでほとんどフタル酸エステルの汚染はなかった。

塩化ナトリウムや無水硫酸ナトリウムはフタル酸エステル用のものであっても、使用前には加熱処理し、清浄な環境で放冷したものを使用した。しかし、長期間保存すると、室内空気から再度汚染される可能性があるため、基本的には塩析も脱水も行わない分析法とすることが望ましい。

器具類の洗浄等に使用する水は超純水を用い、また、操作ブランクに使用する水は超純水を活性炭(EDS-Pak)処理した後、必要に応じて、さらに、ヘキサン洗浄した。

加熱処理できるガラス器具類は、溶媒(アセトンとヘキサン)洗浄後、乾燥させ、250℃で3時間程度加熱処理した後、放冷し、できるだけ早めに使用することによりブランクを低く管理することができた。

分析操作で汚染を受ける可能性が考えられたのは、駒込ピペットのゴム球と操作を行う人の手指が考えられた。素手で分析を行うと、極微量のフタル酸エステルが検出されることがあり、ブランクを一定にコントロールすることは非常に困難であった。今回、試薬やガラス器具等のブランク管理を十分行った状態で、分析操作時に手袋をしないで低濃度試料を分析したときのフタル酸ジ(2-エチルヘキシル)のばらつきを図5に示す。操作ブランクである超純水にも0.010 μ g/L程度検出され、変動係数も15%を超過し、測定結果は比較的ばらついていた。実際の河川試料の変動係数は、試料水の濃度が高くなるほど小さくなる傾向があり、0.025 μ g/L程度であれば変動係数が10%を下回り、安定した測定値が得られた。

その原因を確認するために、手指にヘキサンを1mL滴下してGC/MSで分析したところ、図6に示すとおり、非常に高濃度のフタル酸ジ(2-エチルヘキシル)が検出され、分析工程での最大の汚染源は分析者の手指である可能性

が示唆された。このためフタル酸エステル類の分析を行う際には、試料採取から分析操作のすべての工程において、素手でガラス器具等を取り扱えないと判断した。次に、手指からの汚染を避けるために手袋の汚染状況を手指と同様の方法で確認したところ、ニトリル手袋にはフタル酸エステルはほとんど検出されなかったことから、分析のすべての工程でニトリル手袋を着用することとした。その結果、操作ブランクはほとんど検出されなくなった。操作ブランクのクロマトグラムを図7に示す。

また、フタル酸エステルの分析では、GC/MS測定時にブランクピークが検出される場合³⁾もあるが、今回の検討時には装置由来のブランクピークはまったく検出されなかった。当センターでは、日常的に比較的清潔な試料と汚染の程度が著しい試料では分析装置の使用を目的により使い分けていることや、ピークのテーリング等が生じた場合には、頻繁に注入口周辺の洗浄と部品の交換を実施し、装置のメンテナンスを十分に行っているため装置由来のブランクが検出されなかったものと考えられた。

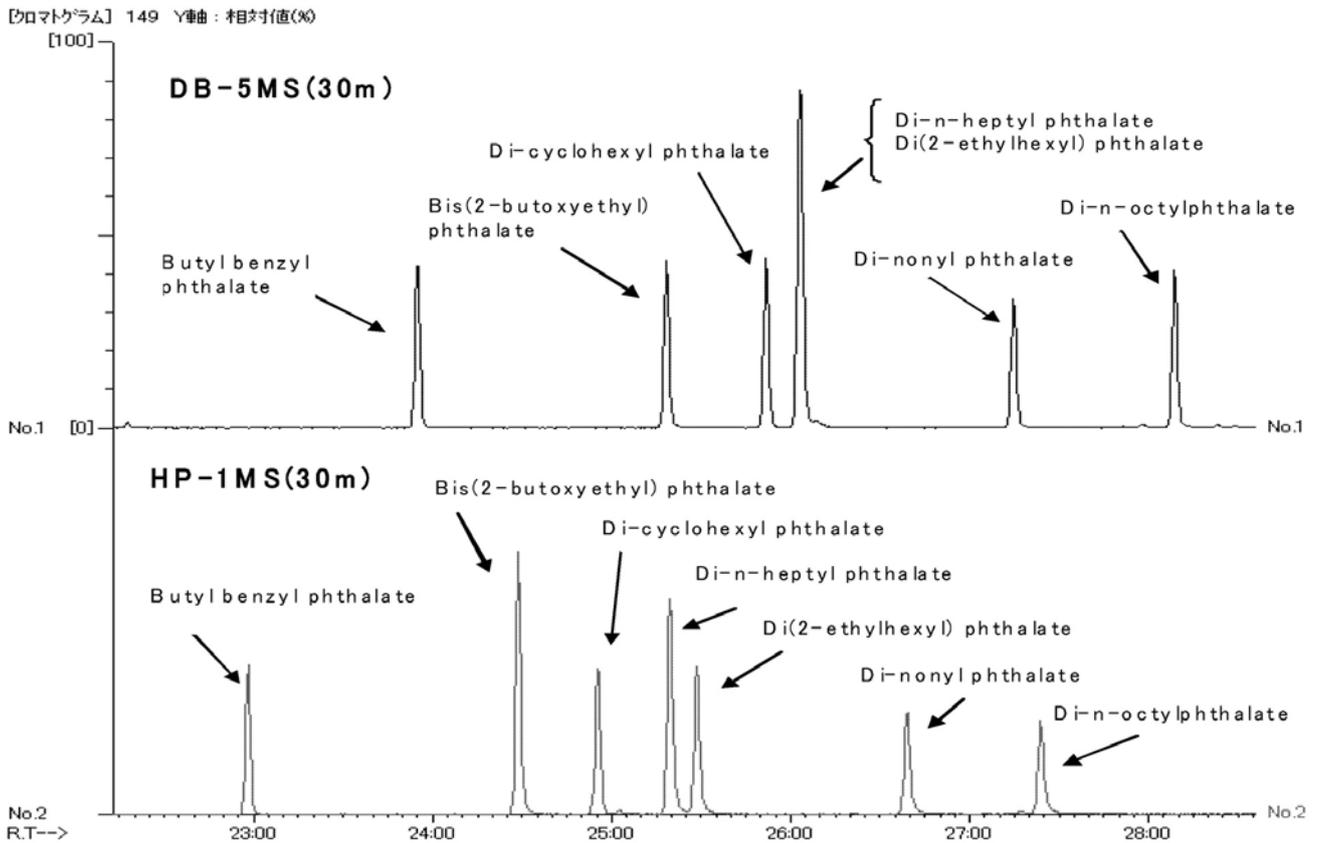


図2 GCカラムの比較

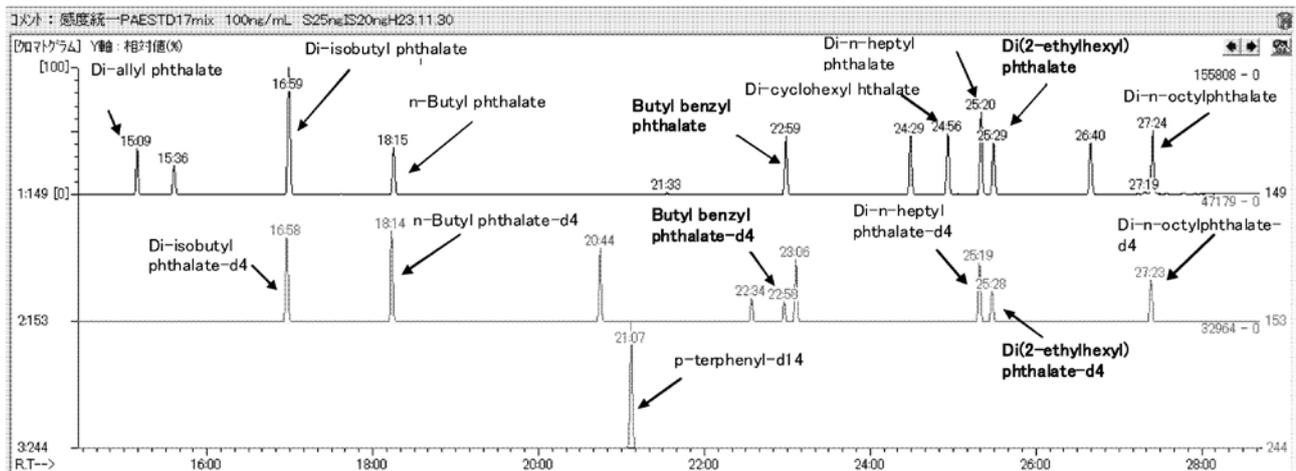


図3 標準物質のクロマトグラム

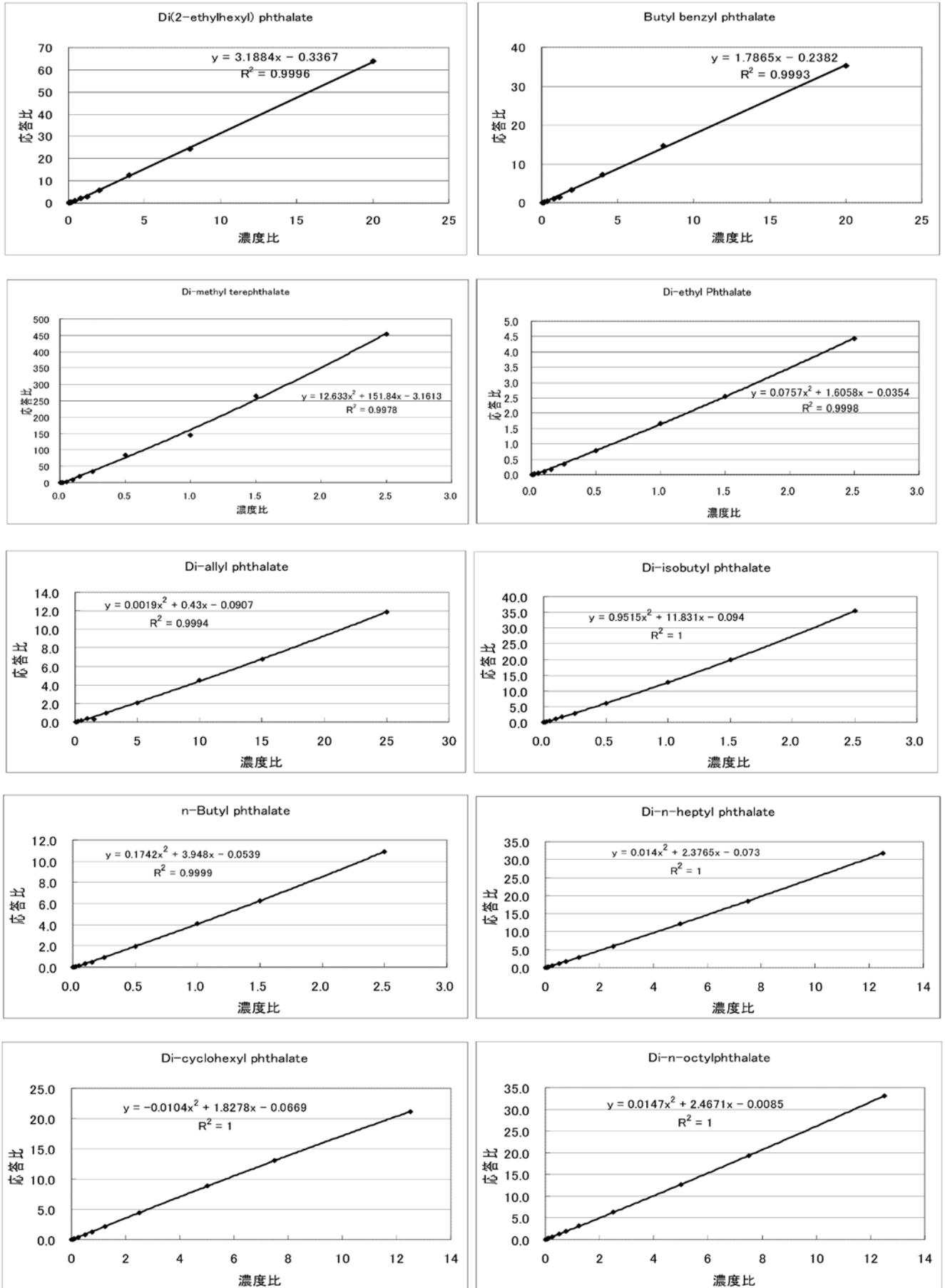


図4 検量線

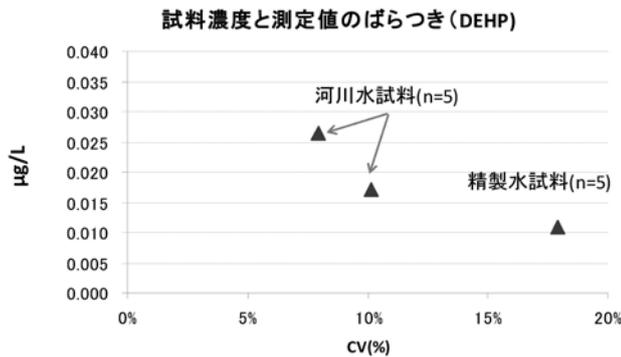


図5 フタル酸ジ (2-エチルヘキシル) 濃度による測定値のばらつき

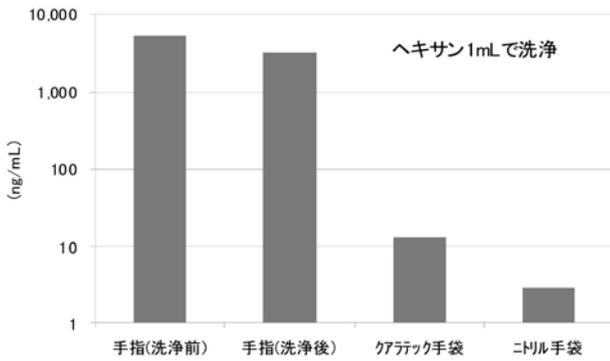


図6 フタル酸ジ (2-エチルヘキシル) の汚染状況

3.3 抽出方法及びクリーンアップの検討結果

メスフラスコを用いたヘキサンスターラー攪拌抽出法と分液ロートを用いたジクロロメタン振とう抽出法の添加回収試験結果を図8と図9に示す。ヘキサンスターラー攪拌抽出法では、比較的分子量が小さく水溶性が高いテレフタル酸ジメチルとフタル酸ジエチルの回収率は40%未満と低かった。また、フタル酸ジアリルの回収率も60%程度であり、スターラー攪拌が十分でない抽出率が低くなる傾向が見られた。なお、今回の検討では塩析を行わなかったことから、河川水の回収率は海水の回収率に比べて若干低い傾向が見られた。ジクロロメタン振とう抽出法では、分液ロートを加熱処理しなかったことや塩化ナトリウムと無

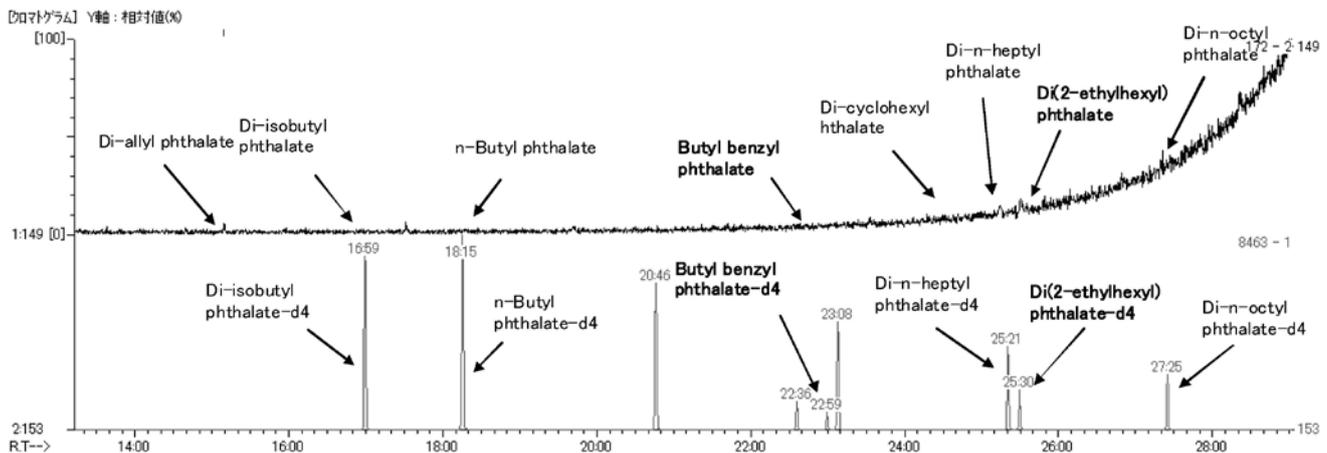


図7 操作ブランクのクロマトグラム

水硫酸ナトリウムの添加や、ロータリーエバポレーターの使用等の操作工程が増加したことにより、フタル酸ジ-n-ブチルやフタル酸ジ (2-エチルヘキシル) 等の汚染をコントロールできず、回収率が100%を大きく超過した。

2種類の抽出方法を検討した結果、操作ブランクが懸念される物質でヘキサンによる抽出率に問題のないフタル酸エステルは、ヘキサンスターラー攪拌抽出法が適用できると考えられた。一方、ヘキサン抽出率が悪いが、操作ブランクが検出されないフタル酸エステルは、ジクロロメタン振とう抽出法が適用できると考えられた。

シリカゲルカートリッジカラム (Supelclean LC-Si 1 g) の溶出パターンを図10に示す。アセトン及びヘキサンで洗浄したカートリッジカラムに標準物質 (d体) を10ng添加し、溶出液を順次、流したところ、5%アセトン/ヘキサン5mLの画分に溶出したが、試料95mLを2mLヘキサンで抽出することから濃縮倍率が低く、妨害物質がない限りは、汚染の原因となる可能性があるクリーンアップ操作は省略するほうが望ましいと考えられた。なお、カートリッジカラムは、ガラス製であっても使用しているテフロンフリットから妨害物質が溶出することがあるため、あらかじめアセトンで洗浄した後、再度、ヘキサンで十分置換してから使用する必要があった。

3.4 分解性スクリーニング試験及び保存性試験結果

分解性スクリーニング試験結果を表3に示す。7日後程度であれば、いずれのフタル酸エステルも分解はほとんど認められなかった。

保存性試験結果を表4に示す。1ヶ月経過した後、フタル酸ジアリルを除いて残存率は70%以上であった。フタル酸ジアリルの残存率が低くなった原因は、ヘキサンスターラー攪拌抽出法を行う際、攪拌が不十分で、抽出率が低下した可能性が考えられた。

また、標準物質を添加しない超純水だけの保存性試験結

果を図11に示す。14日後までは目立った操作ブランクは見られなかったが、1ヶ月経過した際の精製水からはフタル酸ジエチルやフタル酸ジアリル、フタル酸ジ-n-ブチル、フタル酸ジ(2-エチルヘキシル)が検出され、冷蔵庫での保存中に汚染された可能性が考えられた。したがって、分解する可能性は少ないが、保存中に汚染を受ける可能性があることを考慮すれば、試料採取後は数日中には分析するのが望ましいと考えられた。

3.5 IDL及び分析法のMDLとMQL

IDL及びMDL, MQLを表5に示す。IDLは0.00023~0.013 $\mu\text{g/L}$, MDLは0.0013~0.040 $\mu\text{g/L}$, MQLは0.0034~0.10 $\mu\text{g/L}$ であり、徹底したブランク管理と分析操作の簡略化により従来の分析方法に比べてかなり定量下限値を下げる事ができた。

3.6 添加回収試験

添加回収試験結果を表6に示す。回収率は62~111%と比較的良好な結果であった。

サロゲートの回収率も69~90%であり、特に問題はなかった。

表3 分解性スクリーニング試験結果

物質名	pH	1時間後の 残存率(%)	7日後の残存率(%)	
			暗所	明所
Di-allyl phthalate	pH5	88	90	104
	pH7	89	79	98
	pH9	97	83	76
Di-isobutyl phthalate	pH5	88	90	105
	pH7	90	80	99
	pH9	99	86	78
n-Butyl phthalate	pH5	104	99	112
	pH7	106	70	109
	pH9	116	104	97
Butyl benzyl phthalate	pH5	93	88	97
	pH7	96	71	95
	pH9	84	76	87
Di-n-heptyl phthalate	pH5	83	88	97
	pH7	95	53	98
	pH9	94	105	106
Di-cyclohexyl phthalate	pH5	87	86	101
	pH7	97	60	97
	pH9	102	108	109
Di(2-ethylhexyl) phthalate	pH5	90	89	106
	pH7	103	61	87
	pH9	98	90	104
Di-n-octylphthalate	pH5	79	75	94
	pH7	85	54	74
	pH9	89	72	84

初期濃度0.42 $\mu\text{g/L}$

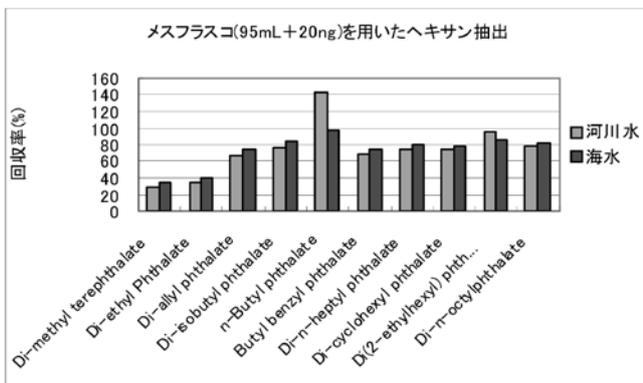


図8 ヘキサンスターラー攪拌抽出法の回収率

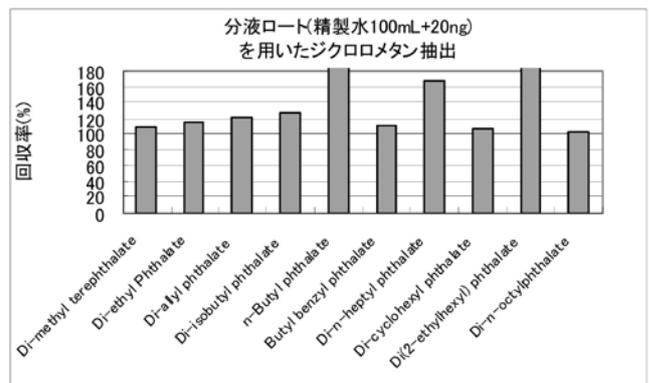


図9 ジクロロメタン振とう抽出法の回収率

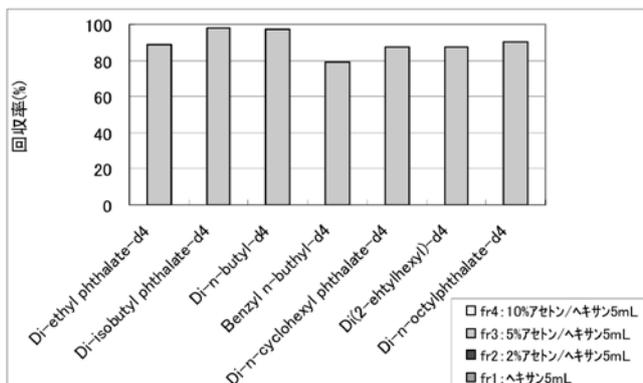


図10 シリカゲルカートリッジカラムの溶出パターン

表4 保存性試験結果

	試料	1時間後	1日後	3日後	6日後	14日後	1ヶ月後
Di-allyl phthalate	河川水	66	68	60	58	55	54
	海水	75	72	75	70	61	58
Di-isobutyl phthalate	河川水	74	79	81	79	81	91
	海水	83	71	89	84	81	93
n-Butyl phthalate	河川水	101	87	85	81	87	94
	海水	96	77	100	95	87	98
Butyl benzyl phthalate	河川水	73	71	74	74	73	77
	海水	75	77	85	83	77	90
Di-n-heptyl phthalate	河川水	73	76	81	82	79	54
	海水	80	65	87	86	81	89
Di-cyclohexyl phthalate	河川水	70	74	77	79	81	97
	海水	79	63	88	85	82	93
Di(2-ethylhexyl) phthalate	河川水	93	86	93	90	92	112
	海水	87	92	93	94	85	97
Di-n-octylphthalate	河川水	76	76	84	84	80	74
	海水	81	80	88	89	82	89

初期濃度0.21 μg

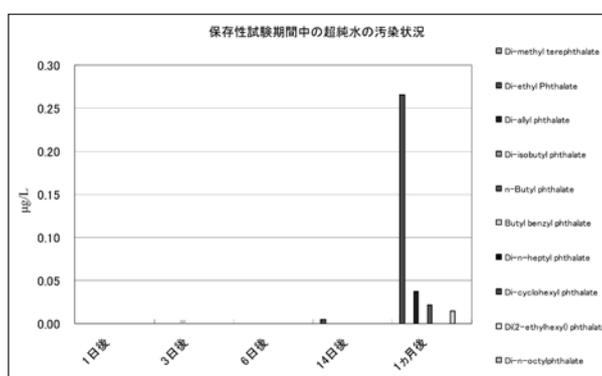


図11 保存性試験期間中の超純水の汚染状況

表5 IDL及びMDL, MQL

	試料量 (mL)	最終液量 (mL)	IDL (μg/L)	MDL (μg/L)	MQL (μg/L)
Di-methyl terephthalate*	100	1.00	0.00052	0.0013	0.0034
Di-ethyl phthalate*	100	1.00	0.00023	0.0016	0.0040
Butyl benzyl phthalate	95	2.00	0.013	0.033	0.085
Di(2-ethylhexyl) phthalate	95	2.00	0.0076	0.014	0.035
Di-allyl phthalate	95	2.00	0.011	0.040	0.10
Di-isobutyl phthalate	95	2.00	0.00048	0.0051	0.013
n-Butyl phthalate	95	2.00	0.00057	0.0045	0.012
Di-n-heptyl phthalate	95	2.00	0.0042	0.026	0.067
Di-cyclohexyl phthalate	95	2.00	0.0036	0.024	0.063
Di-n-octyl phthalate	95	2.00	0.0024	0.028	0.073

*：分液ロートをを用いたジクロロメタン振とう抽出法

表6 添加回収試験結果

試料	物質名	試料量 (mL)	添加量 (ng)	検対数	検出濃度 (μg/L)	回収率 (%)	サロゲート 回収率
河川水	Butyl benzyl phthalate	95	40	6	0.45	107	88
	Di(2-ethylhexyl) phthalate	95	40	6	0.48	108	90
	Di-allyl phthalate	95	10	6	0.065	62	-
	Di-isobutyl phthalate	95	1	6	0.0082	78	84
	n-Butyl phthalate	95	1	6	0.0081	77	86
	Di-n-heptyl phthalate	95	5	6	0.043	83	78
	Di-cyclohexyl phthalate	95	5	6	0.043	81	75
	Di-n-octylphthalate	95	5	6	0.050	95	69
海水	Butyl benzyl phthalate	95	40	6	0.47	111	85
	Di(2-ethylhexyl) phthalate	95	40	6	0.49	111	85

4 まとめ

フタル酸ブチルベンジル及びフタル酸ジ(2-エチルヘキシル)を含むフタル酸エステル10種の水質分析法について検討し、次の結果を得た。

- 1) フタル酸エステルを分析する際の最大の汚染源は分析者の手指であることが確認された。汚染の少ないニトリル手袋を使用することにより、前処理工程で汚染されることが多いフタル酸ジ(2-エチルヘキシル)等の操作ブランクが検出されない分析方法が確立できた。
- 2) テレフタル酸ジメチルとフタル酸ジエチル以外の8種類のフタル酸エステルは、ブランクを管理するため、使用するガラス器具はメスフラスコとパスツールピペットだけで、塩析も行わず、サロゲートと抽出溶媒のヘキサンを添加し、回転子によりスターラー攪拌して抽出する非常にシンプルな分析方法とした。
- 3) 汚染の少ないテレフタル酸ジメチルとフタル酸ジエチルは、ヘキサンスターラー攪拌抽出法では抽出率が悪く、分液ロートを用いたジクロロメタン振とう抽出法が適用できた。
- 4) 徹底したブランク管理と操作法の簡略化により、MDLは0.0013~0.040 $\mu\text{g/L}$ 、MQLは0.0034~0.10 $\mu\text{g/L}$ となり、従来の分析方法に比べてかなり定量下限値を下げ

ることができた。

なお、本研究は環境省委託の平成23年度化学物質環境実態調査と連携して実施した。

文 献

- 1) 環境庁環境保健部環境安全課：化学物質と環境 平成11年度化学物質分析法開発調査報告書 129-144 2000
- 2) 日本規格協会：工業用水・工場排水中のフタル酸エステル類の試験法 JIS K 0450-30-10 2006
- 3) 笠井信善ら：環境中の化学物質の測定方法に関する研究(第4報) 富山県環境科学センター年報 研究報告 第31-2号 14-19 2003