

環境中の化学物質の測定方法に関する研究（第4報）

— 環境水中のフタル酸エステル類の分析 —

笠井 信善

水畑 剛

中山 将人

溶媒抽出法を用いて、河川水中のフタル酸エステル類（アジピン酸エステルを含めて10物質）のGC/MSによる一斉分析方法を検討した。フタル酸エステル類は、プラスチック製品の可塑剤等として多量に使用されているため、室内環境や試薬・器具等からの汚染が懸念されることから、フタル酸エステル類の測定値に大きく影響を及ぼすことが問題になっている。そこで、ブランク値を低減するため、抽出容器及び試料容器には200℃で2時間加熱処理した容器、ブランク水には超純水を活性炭処理したものを用いることにした。

試料水100mlを分液ロートに分取し、フタル酸エステル類100ngを添加し、ヘキサン2mlで抽出した後、GC/MSによる一斉分析を行ったところ、精製水では、94～103%、河川水では95～110%の良好な回収率が得られた。

1 はじめに

現在、約70種類の化学物質が内分泌攪乱作用の疑いがある物質として指摘されており、環境濃度の把握が急がれている。今回、対象としたフタル酸エステル類は、プラスチック製品の可塑剤等として多量に使用されているため、室内環境や試薬・器具等からの汚染により、フタル酸エステル類の測定値に大きく影響を及ぼすことが問題になっている。そこで、上水試験方法¹⁾に定められている測定方法を参考として、フタル酸エステル類（アジピン酸エステルを含めて10物質）のブランク値の低減方法、抽出条件等について検討した。

2 試験方法

2.1 試薬及び器具等

対象としたフタル酸エステル類の標準品は、和光純薬工業製を用い、ヘキサンに溶解させて100mg/lの標準溶液を調整した。これらを混合して10種混合標準溶液（0.5mg/lヘキサン及び0.5mg/lアセトン溶液）を作製した。内部標準品（IS）は和光純薬工業製を用い、ヘキサンに溶解させて200mg/lの4種混合内部標準溶液を調整した。これをヘキサンの希釈して、0.1μg/lの混合内部標準溶液を作製した。

アセトン、ヘキサンは和光純薬工業製の環境分析用を用いた。

使用するガラス器具類は、アセトン、ヘキサンで洗浄し、乾燥器で加熱した後、ステンレス容器に保存した。また、ガラス器具類の栓は透明摺り合わせのものを使用した。

分析操作に際しては、測定者の手からの汚染を防止するため、綿製の手袋を着用した。また、室内環境からの汚染をできるだけ少なくするため、実験台をアルミホイルで覆った。

2.2 分析方法

100ml分液ロートに試料水100mlを分取し、混合標準溶液100ng（アセトン溶液）を添加し、手で軽く振とうした後、0.1μg/lの混合内部標準溶液2ml（ヘキサン溶液）を添加し、振とう器で20分間振とうした。次に、水層を分離し、ヘキサン層をパスツールピペットで採取し、これをGC/MSに注入した。

なお、サロゲート化合物を内部標準物質に用いた内部標準法で定量した。

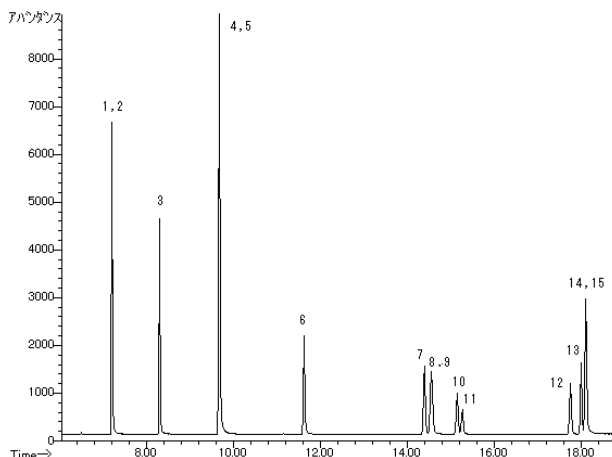
2.3 装置及び測定条件

GC/MSはHP製のHP5890型ガスクロマトグラフにHP5972型質量分析計を装備したものを用いた。フタル酸エステル類の測定条件を表1に示した。

図1に GC/MS によるフタル酸エステル類の SIM測定したときのTICクロマトグラムを示した。表1に示す条件により、フタル酸エステル類は十分分離定量が可能であった。

表1 GC/MS 測定条件

GC 条件	
カラム：	HP-5MS (30m×0.25mm×0.25 μm)
キャリアガス：	He 1ml/min (定流量)
恒温槽：	100°C(1min)-20°C/min-220°C -2°C/min-240°C-40°C/min -280°C(4min)
注入量：	2 μl
注入法：	スプリットレス (ハートアップ時間：1.5min)
MS 条件	
イオン化方法：	EI
イオン化エネルギー：	70eV
エミッション電流：	300 μA
測定モード：	SIM



- 1:フタル酸ジエチル-d4(DEP-d4)
- 2:フタル酸ジエチル(DEP)
- 3:フタル酸ジプロピル(DPP)
- 4:フタル酸ジブチル-d4(DBP-d4)
- 5:フタル酸ジブチル(DBP)
- 6:フタル酸ジペンチル(DPeP)
- 7:フタル酸ジヘキシル(DHxP)
- 8:フタル酸ブチルベンジル-d4(BBP-d4)
- 9:フタル酸ブチルベンジル(BBP)
- 10:アジピン酸ジエチルヘキシル-d8(DEHA-d8)
- 11:アジピン酸ジエチルヘキシル(DEHA)
- 12:フタル酸ジシクロヘキシル(DCHP)
- 13:フタル酸ジヘプチル(DHpP)
- 14:フタル酸ジエチルヘキシル-d4(DEHP-d4)
- 15:フタル酸ジエチルヘキシル(DEHP)

図1 フタル酸エステル類のクロマトグラム

3 結果及び考察

3.1 ブランク値の低減方法

3.1.1 機器のブランク値

ヘキサンのみを GC/MS で測定した場合であってもフタル酸ジブチル (DBP) の大きなブランクピークがみられたので、この機器ブランクの影響をできるだけ低減するための検討を行った。

ヘキサンのみを数回連続測定する操作を繰り返し行った時のブランク値を表2に示す。初めはブランク値が高く不安定であるが、4回目あたりから安定することがわかった。以後の試験においては、ヘキサンのみ5回連続測定し、ブランク値が安定したことを確認した後、本試料を測定することにした。

なお、オートサンプラ用バイアルはアルミ製のテフロンセプタム付きクリンプキャップを使用しており、バイアル、クリンプキャップ共に200°Cで2時間加熱処理した。

表2 ヘキサン注入回数別の DBP 機器ブランク値
(ピーク面積)

試料名	1 回目	2 回目	3 回目
ヘキサン注入 1 回目	45121	48497	32271
ヘキサン注入 2 回目	4189	3934	3301
ヘキサン注入 3 回目	2887	2621	2193
ヘキサン注入 4 回目	2231	2246	2063
ヘキサン注入 5 回目	1997	1863	1416

表3 精製水のブランク値

(ピーク面積)

試料名	DEP	DBP	DEHP
蒸留水	3494	25600	2493
ヘキサン洗浄水	0	6833	11503
超純水	0	24635	0
活性炭処理水	0	6846	0

3.1.2 精製水のブランク値

試験に通常使用している精製水（蒸留水、蒸留水をヘキサンで洗浄した水（和光純薬工業製）、超純水、超純水を活性炭処理した水）100ml をメスフラスコに入れヘキサン 2ml で抽出し、測定したブランク値を表3に示す。蒸留水ではフタル酸ジエチル（DEP）とフタル酸ジブチル（DBP）、超純水ではフタル酸ジブチル（DBP）、また、ヘキサン洗浄水ではフタル酸ジエチルヘキシル（DEHP）のブランク値が高く、ブランク水として使用できないことがわかった。以後の試験においては、ブランク値の低い超純水を活性炭処理した水を用いた。

3.1.3 抽出容器のブランク値

試料水からフタル酸エステル類を溶媒抽出する場合の抽出容器については、分液ロートは空間量が大きいことによるコンタミネーションの影響が考えられることから、一般的にメスフラスコが使用されている。一方、下水試験方法²⁾（追補暫定版）では、試料量を増やす場合は分液ロートを用いても良いことになっている。そこで、精製水 100ml をメスフラスコと分液ロートに入れヘキサン 2ml で抽出し、メスフラスコと分液ロートのブランク値を測定した結果を表4に示す。メスフラスコと分液ロートによるブランク値には、大きな違いが見られなかった。

3.1.4 加熱処理した抽出容器のブランク値

抽出容器由来のフタル酸エステル類を除去するため、抽出容器を加熱処理した。加熱温度の違いによるブランク値を表5に示す。ヘキサン、アセトンで洗浄し、120℃、150℃、200℃でそれぞれ 2 時間加熱処理した分液ロートに、精製水 100ml を入れヘキサン 2ml で抽出した時のブランク値を比較したところ、200℃で 2 時間加熱処理した場合、ブランク値をかなり低減することができたので、以後、抽出容器は 200℃で 2 時間加熱処理した。

3.1.5 試料の保存による汚染状況

環境分析用溶媒の空瓶（細口、アルミ蓋）と褐色共栓ガラス瓶（細口、透明摺りガラス）を用いて、試料保存時における容器の違いによる汚染の状況を調べた。

試料容器に精製水を直接採取し、3日間室温で放置した時のブランク値を表6に示す。検出された物質は DBP と DEHP であり、試料容器による違いは、見られなかった。

なお、溶媒の空瓶は洗浄や加熱処理していないもの、褐色共栓ガラス瓶はアセトン、ヘキサン洗浄後、200℃で加熱処理したものを使用した。

3.2 抽出条件の検討

3.2.1 抽出容器

メスフラスコと分液ロートの違いによるフタル酸エステル類の回収率を比較した結果を表7に示す。分液ロートからの回収率は、95%～110%と良好であったが、メスフラスコの回収率では75%～107%で、特に、アジピン酸ジエチルヘキシル（DEHA）およびフタル酸ジヘプチル（DHpP）の回収率が分液ロートと比較して悪かった。これは、メスフラスコ内の空隙が少ないため、フタル酸エステル類の抽出率が低下することによるものと考えられる。このことから、以後、抽出容器は分液ロートを用いることとした。

なお、混合内部標準溶液の回収率は表8に示すとおりで、フタル酸ジエチル（DEP-d4）は65%と低い回収率であったが、その他の回収率は良好であった。

表4 抽出容器のブランク値

(ピーク面積)		
	DBP	DEHP
メスフラスコ	4633	104
分液ロート	4896	134

表5 加熱処理による分液ロートのブランク値

(ピーク面積)		
	DBP	DEHP
120℃加熱	17355	703
150℃加熱	10397	902
200℃加熱	8288	219

表6 保存容器による汚染状況

(ピーク面積)		
物質名	空瓶	ガラス瓶
DBP	2208	2143
DEHP	305	384

表7 抽出容器による回収率

フタル酸エステル類	メスフラスコ		分液ロート	
	回収率 (%)	変動係数 (%)	回収率 (%)	変動係数 (%)
DEP	103.2	0.53	104.6	1.36
DPP	96.3	0.91	97.9	1.86
DBP	107.4	0.38	110.0	1.00
DPeP	100.4	0.76	103.5	2.40
DHxP	94.8	2.14	98.6	0.54
BBP	103.9	1.65	104.6	2.29
DEHA	77.6	10.67	102.1	0.43
DCHP	105.6	2.74	103.1	2.33
DHpP	82.1	7.13	99.8	1.85
DEHP	75.5	11.58	95.4	8.56

表8 内部標準化合物の回収率

内部標準	回収率 (%)	変動係数 (%)
DEP-d4	64.8	2.59
DPP-d4	108.6	3.98
BBP-d4	111.6	5.84
DEHA-d8	108.6	0.98
DEHP-d4	106.2	3.67

表9 抽出時間による精製水からの回収率

フタル酸エステル類	5 分		10 分		20 分	
	回収率 (%)	変動係数 (%)	回収率 (%)	変動係数 (%)	回収率 (%)	変動係数 (%)
DEP	101.7	3.94	103.0	2.37	102.8	0.85
DPP	94.3	7.10	101.3	4.10	95.7	1.76
DBP	94.3	4.55	99.7	2.66	98.4	3.14
DPeP	97.0	6.40	99.3	2.92	100.2	0.15
DHxP	96.8	4.41	94.5	1.72	94.7	1.87
BBP	98.2	8.73	90.9	5.16	95.9	3.14
DEHA	97.9	4.03	99.0	0.14	101.1	1.62
DCHP	102.2	4.15	105.5	2.06	101.4	1.10
DHpP	96.7	5.03	98.6	1.65	98.5	1.36
DEHP	98.2	5.07	101.0	1.88	98.6	2.23

表10 河川水からの回収率

フタル酸エステル類	回収率 (%)	変動係数 (%)
DEP	105.2	0.82
DPP	99.4	0.04
DBP	102.2	2.00
DPeP	100.1	1.27
DHxP	94.8	1.28
BBP	108.1	1.20
DEHA	107.8	1.41
DCHP	106.4	1.04
DHpP	109.8	1.59
DEHP	106.9	1.29

3. 2. 2 抽出時間の検討

精製水に混合標準溶液を添加し、安定したフタル酸エステル類の回収率が得られる振とうによる抽出時間を検討した結果を表9に示す。いずれの抽出時間においても回収率は94%~103%と良好であったが、時間が長くなるほど変動係数が低くなる傾向がみられた。

3. 3 河川水を用いた添加回収試験

河川水 100ml に混合標準溶液 100ng を添加し、回収試験を行った結果を表 10 に示す。河川水からの回収率は、95%~110%と良好であった。

3. 4 分析方法のまとめ

上記の検討結果を整理するとフタル酸エステル類（アジピン酸エステルを含めて 10 物質）一斉分析のための分析方法は、図2のフローのとおりである。

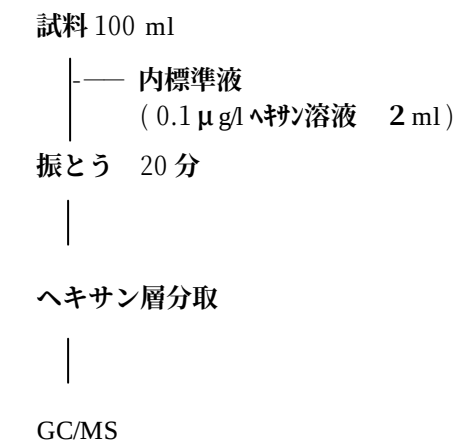


図2 分析フロー

4 まとめ

内分泌攪乱物質の疑いのあるフタル酸エステル類（アジピン酸エステルを含めて 10 物質）の分析方法を検討したところ、次の知見を得た。

- (1) ブランク値を低減する方法としては、抽出容器及び試料容器はあらかじめアセトン、ヘキサンで洗浄し、200℃で2時間加熱処理すること、ブランク水は超純水を活性炭処理した水を用いること及び試料を測定する前に GC/MS でヘキサンのみを5回連続して測定することが有効であった。
- (2) 抽出容器はメスフラスコと分液ロートによるブランク値には、大きな違いが見られず、むしろ、分液ロートの回収率が良かったので、以後、分液ロートを用いることにした。
- (3) 分液ロートを用いた抽出時間の違いによる回収率は5分間、10分間及び20分間いずれの時間においても良好であった。また、時間が長くなるほど変動係数が低い傾向がみられた。
- (4) 精製水からの回収率は、95~103%、河川水からの回収率は94~110%で、共に良好な回収率が得られた。

参 考 文 献

- 1) 日本水道協会：上水試験方法（14 フタル酸エステル類）2001
- 2) 下水道協会：下水試験方法（追補暫定版）2002
- 3) 安部正弘、吾妻正道等：フタル酸エステル類の水質汚染に関する調査；宮城県保健環境センター、化学物質の環境汚染に関する調査研究報告書（平成14年3月）
- 4) 剣持堅志：環境ホルモン様物質残留分析法（Part III）；HPC NEWS Vol. 3 2~9（1999）
- 5) 藤本千鶴：水中のフタル酸エステル類の分析方法の検討と県内水質モニタリング結果；千葉県水質保全研究所年報

Determination of chemical substances in the environment (IV)

—Determination of phthalate esters in environmental water—

Nobuyoshi KASAI

Tsuyoshi MIZUHATA

Masato NAKAYAMA

An analytical method was developed for GC/MS monitoring of 10 endocrine disrupting phthalate esters (10 chemical compounds including di (2-ethylhexyl) adipate) in environmental water by solvent extraction.

Before analysis, ultrapure water was treated with activated charcoal and extraction vessels were rinsed with acetone and hexane. An internal standard solution was added to a sample solution (100ml) and the solution was extracted with hexane (2 ml). The hexane solution was analyzed by GC-MS.

The recoveries of the phthalated esters spiked into ultrapure water (100ng in 100ml) and river water (100ng in 100ml) were 94~103% and 95~110%, respectively .