

河川水中のフタル酸ジエチルヘキシル測定条件の検討

武田 真由美 多田 哲子

Improvement of a Method for Quantitative Determination of Bis (2-ethylhexyl) Phthalate in River Water

Mayumi TAKEDA Noriko TADA

フタル酸ジエチルヘキシル(以下、DEHP)は、公共用水域において要監視項目(水質汚濁に係る環境基準)に設定されており、当所ではガスクロマトグラフ質量分析法で測定しているが、測定に1検体あたり34分を要していた。また、DEHPはプラスチックの可塑剤として多用されているため、その測定に当たって、作業環境からのコンタミネーションの低減が課題となっていた。そこで、DEHP測定に要する時間の短縮と、コンタミネーションの低減を目的として、ガスクロマトグラフの温度条件の変更と前処理操作方法の改良を検討した。カラムオープンの昇温速度を大きくすることと最高温度を270℃から300℃に上げることにより測定時間は34分から16分に短縮することができた。また、前処理操作においては、フタル酸エステル類が含まれていない手袋を着用すること、脱水操作を簡略化することでブランク値を大幅に低減できた。

キーワード：フタル酸ジエチルヘキシル、可塑剤、ガスクロマトグラフ質量分析法、コンタミネーション、カラムオープン、ブランク値

Keywords : Bis (2-ethylhexyl) phthalate, Plasticizer, Gas chromatography mass spectrometry, Contamination, Column oven, Blank value

はじめに

フタル酸エステル類は、プラスチック類の可塑剤として平成27年には188,087トンが生産され、日本で生産される可塑剤全体の約80%のシェアを占めている¹⁾。中でも、フタル酸ジエチルヘキシル(以下、DEHP)の生産量は、フタル酸系可塑剤の60%強(可塑剤工業会HP : <http://www.kasozai.gr.jp/data/toukei-pdf/2016-07seisan.pdf>)を占め、汎用可塑剤として広く使用されている²⁾。DEHPは、平成5年3月に、「人の健康の保護に関連する物質ではあるが、公共用水域等における検出状況等からみて、直ちに環境基準とはせず、引き続き知見の集積に努めるべきもの」として、要監視項目に設定され、0.06 mg/L以下の指針値が示された。水道水についても平成16年4月1日に水道水質管理目標設定項目に設定され、平成27年4月1日からは、目標値が0.08 mg/L以下に強化された。また、フタル酸エステル類は食品衛生法においても指定おもちゃへの使用が規制されている。

当所においては、平成19年度より、公共用水域の環境基準点において採水した試料についてDEHPの測定を実施しているが、従来の測定方法では、ガスクロマトグラフ質量分析計(以下、GC/MS)による測定に要する時間が1試料あたり34分であった。また、カラムオープンの最高温度を270℃に設定していたために、昇温終了後の温度保持中にDEHPのピークを検出していた。今回、カラムオープンの温度プログラムを変更することで、測定時間の短縮が可能となった。

(平成28年9月30日受理)

さらに、DEHPは、可塑剤として身近な製品に多量に使用されているため、測定の前処理工程であるヘキサン抽出操作において、器具類や試薬、試験室環境などからの汚染を受けやすい。そのため、ブランク値の低減策として、従来から溶媒による器具の洗浄や強熱によるDEHPの除去を行ってきたが、今回さらにヘキサン抽出操作の工程を改良した結果、ブランク値が著しく低減され、環境試料を測定するのに十分な定量下限値を得ることができたので、あわせて報告する。

材料と方法

1. 試薬

ヘキサンは、未開封のフタル酸エステル試験用(関東化学社製)を、塩化ナトリウムは、残留農薬試験・PCB試験用(関東化学社製)を450℃で3時間以上加熱し、デシケータ中で放冷したものを使用した。器具洗浄用のアセトンは、残留農薬試験・PCB試験用(関東化学社製)を、標準液はDEHP標準原液(関東化学社製、1 mg/mL)を使用した。また、標準液の調製及び空試験には、市販のミネラルウォーター(ボルヴィック社製)を使用した。

2. 器具

分析に使用するガラス器具類は、使用前直前にアセトン及びヘキサンで洗浄し、乾燥させたものを使用した。GC/MS測定用フタ付きバイアル瓶については溶媒洗浄をせずにそのまま使用した。また、DEHPの最大の汚染源は分析者の手指からの混入であることから^{3, 4)}、フタル酸エステル類が含まれていない手袋を着用した。

3. 測定方法の概略

環境省告示「水質汚濁に係る人の健康保護に関する環境基準の測定方法及び要監視項目の測定方法について」付表3により測定した。すなわち、試料40 mLを共栓付き試験管に分取し、ヘキサン2 mLと塩化ナトリウム10 gを加え激しく振り混ぜた。静置後、ヘキサン層を分取して、バイアル瓶に移し、GC/MSで測定した。検量線は、ミネラルウォーター40 mLを分取した共栓付き試験管にDEHP標準原液(関東化学社製)をヘキサンで段階的に希釈したもの2 mLと塩化ナトリウム10 gを加え、以後は試料と同じ操作を行って作成した。

4. GC/MS測定条件の検討

従来のカラムオープンの温度プログラム(50°C (2 min) → 10°C/min → 270°C (10 min))では、DEHPの保持時間は24.28分だったので、カラムオープン温度の初期値を50°Cから100°Cにし、昇温速度を大きくして、保持時間の短縮を図った。また、最高温度を270°Cから300°Cに上げ、昇温中にDEHPのピークが検出されるようにした。測定機器及び測定条件を表1に示す。

5. ヘキサン抽出操作におけるブランク低減対策

従来から、ブランク低減策として使用器具の溶媒洗浄及び塩化ナトリウムの強熱を行っていたが、今回、以下の工程を追加または変更した。まず、全行程を通じ、フタル酸エステル類が含まれていない手袋を着用した。また、塩化ナトリウムの計量は電子天秤と薬包紙を用いず、溶媒洗浄した専用の添加試薬計量スプーンを用いて簡素化を図った。さらに、これまで振とう後の脱水操作として、ヘキサン層をクデルナ・ダニッシュ受器に分取し、強熱した無水硫酸ナトリウムを添加後、バイアル瓶に分取していたが、この工程を省略し、共栓付き試験管から直接バイアル瓶に分取した。振とう後にエマルジョンを生じた試料については、超音波洗浄器を用いて超音波を照射することにより^{3, 4)}ヘキサン層を分離した後、バイアル瓶に分取した。また、器具類の溶媒洗浄の代替法として、250°C 3時間の加熱処理が適用出来るかどうかについても検討を行った。

6. 測定精度

装置検出下限値(IDL)、測定方法の検出下限値(MDL)及び定量下限値(MQL)は化学物質環境実態調査実施の手引き(平成27年度版)⁵⁾に従って求めた。すなわち、IDLは、DEHP標準原液をヘキサンでS/Nが10程度となる濃度(20 µg/L)に調製したものを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次式より算出した。

$$IDL = t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$$

$t(n-1, 0.05)$: 危険率5%、自由度 $n-1$ の t 値(片側)、 $n = 7$ の場合は 1.9432。

σ_{n-1} : 測定値の標準偏差

MDL及びMQLは、京都市伏見区市街地を流れる桂川支流の東高瀬川より採水した河川水を使用し、上述の方法で求めたIDL試料換算濃度の約5倍濃度である1 µg/Lとなるように標準液を添加し、8回繰り返し測定を行い、得られた測定値の標準偏差を用いて次式より算出した。

$$MDL = t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$$

$$MQL = 10 \times \sigma_{n-1}$$

$t(n-1, 0.05)$: 危険率5%、自由度 $n-1$ の t 値(片側)、 $n = 8$ の場合は 1.8946。

σ_{n-1} : 測定値の標準偏差

7. 添加回収試験

添加回収試験は、化学物質環境実態調査実施の手引き(平成27年度版)⁵⁾に従って行った。すなわち、京都市伏見区市街地を流れる桂川支流の東高瀬川より採水した河川水に、「6. 測定精度」で求めたMDLの約30倍である6 µg/Lとなるように標準液を添加し、3回の繰り返し測定をした。

8. 実試料への適用

京都府の環境基準点である小畑川(小畑橋)、田原川(蛭橋)、大谷川(ニノ橋)、和東川(菜切橋)、犬飼川(並河橋)、園部川(神田橋)、高屋川(黒瀬橋)、由良川(安野橋)、棚野川(和泉大橋)で採取した水を試料として用いた。

表1. フタル酸ジエチルヘキシル測定におけるガスクロマトグラフ質量分析計の測定条件

測定部	分析条件	
ガスクロマトグラフ	使用機種	Trace GC Ultra (サーモフィッシャー社製)
	使用カラム	DB-5MS (30 m(長さ) × 0.25 mm(内径), 0.25 µm(膜厚), アジレント社製)
	注入口温度	250°C
	試料導入方法	スプリットレス (パーズ開始時間 1分)
	試料注入量	1 µL
	キャリアガス	He 1.2 mL/min (定流量モード)
	オープン温度	100°C (1 min) → 20°C/min → 260°C → 10°C/min → 300°C (3 min)
	トランスファーライン温度	250°C
	質量分析計	使用機種
イオン化法		電子イオン法 (EI)
イオン化電圧		70 eV
測定モード		スキャンモード(測定範囲 $m/z = 140-250$)
モニターイオン (m/z)		149 (定量用)、167 (確認用)
	イオン源温度	250°C

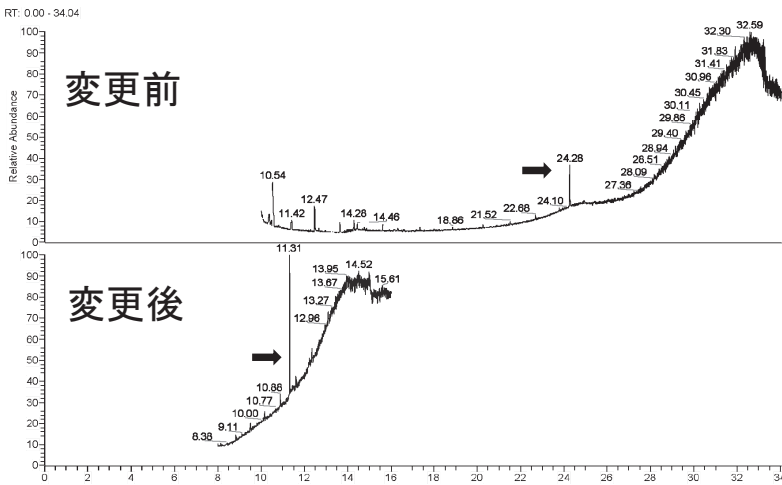


図1. フタル酸ジエチルヘキシルのガスクロマトグラフ質量分析法におけるカラムオープンの温度プログラム条件変更前後のクロマトグラム(標準液500 µg/Lのトータルイオンクロマトグラム)。矢印は、フタル酸ジエチルヘキシルのピークを示す。変更前後の昇温プログラム条件は本文及び表1に示す。

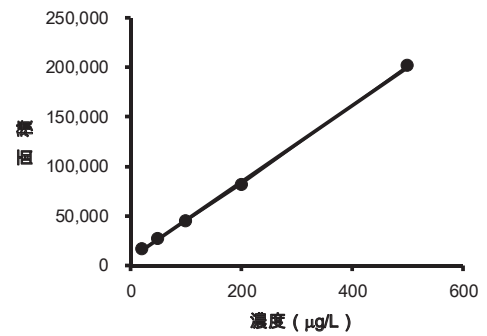


図2. 測定条件変更後のフタル酸ジエチルヘキシルのガスクロマトグラフ質量分析法による検量線。

結果

1. GC/MS測定における温度条件の変更

GC/MS測定におけるカラムオープン温度プログラムの変更前と変更後のクロマトグラムを図1に示す。カラムオープンの温度プログラムを変更したことにより、DEHPの保持時間は24.28分から11.31分と短縮され、昇温中にピークが観察された。また、トータルの測定時間も34分から16分に短縮された。変更後の条件で測定した検量線を図2に示す。検量線の相関係数は、0.995であった。

2. 前処理操作法の改良

ヘキサン抽出操作の変更前後の空試験のクロマトグラムを図3に示す。変更前は、DEHPの保持時間である24.28分に、試料換算濃度で、0.2-0.4 µg/L程度のブランク値が検出されたが、変更後にDEHPに相当するピークは検出されなかった。また、ガラス器具の溶媒洗浄と強熱によるコンタミネーション除去効果を比較したが、試料換算濃度1 µg/Lの面積値は、それぞれ4659と4691でほとんど差はなかった。

3. 測定精度

IDL, MDL, MQLの試料換算値はそれぞれ、0.19 µg/L、0.20 µg/L、0.54 µg/Lであった。

4. 添加回収試験結果

DEHPを河川水に6 µg/Lになるよう添加した時の回収率は、91.5-93.5% (平均: 92.5%)であった。

5. 実試料の測定

京都府の環境基準点の河川水について測定を行った結果、DEHPの濃度はMQL未満から0.62 µg/Lの範囲であり、いずれもDEHPの報告下限値(6 µg/L)未満であった。

考察

要監視項目に設定されているDEHPについて、測定時間の短縮と前処理操作におけるコンタミネーションの低減を目的として、GC/MSの測定条件とヘキサン抽出操作工程の変更を試みた。

カラムオープン温度プログラムの昇温速度を大きくし、最高温度を上げたことにより、DEHPの保持時間は24.28分から11.31分と早くなり、昇温中にDEHPのピークを検出することができた。また、測定時間は34分から16分に短縮され、測定効率の大幅な改善につなげることができた。

プラスチック可塑剤として汎用されているDEHPの測定において、著者らは、従来から、ヘキサン抽出操作におけるブランク低減対策として、ガラス器具の溶媒洗浄と添加試薬である塩化ナトリウムの強熱を行ってきたが、今回、新たにフタル酸エステル類が含まれない手袋を着用した^{3, 4)}。また、塩化ナトリウムの添加に専用の計量スプーンを使用することで、薬包紙を使用した秤量の工程を簡素化した。さらに、脱水操作に変えて超音波照射^{3, 4)}により水層からヘキサン層を分離することで、無水硫酸ナトリウムの添加と使用器具の数を減らした。これらの操作変更により、空試験からDEHPのピークは検出されなくなった。手袋の着用と操作の簡略化により使用器具や試薬を減らしたことが、コンタミネーションの抑制に非常に効果的であったと考えられる。また、使用器具の溶媒洗浄と強熱処理によるコンタミネーション除去効果において、両者の間にほとんど差はなかった。このことは、使用器具のコンタミネーション除去方法としていずれの方法も取り得ることを示し、今後、準備時間の多寡や溶媒の準備状況に応じて、いずれかの方法を選択することが可能となった。

変更後のヘキサン抽出操作とGC/MS測定条件による測定精度は非常に良好だった。測定の定量下限値であるMQLは、報告下限値の10分の1未満であり、報告下限値付近を正確に

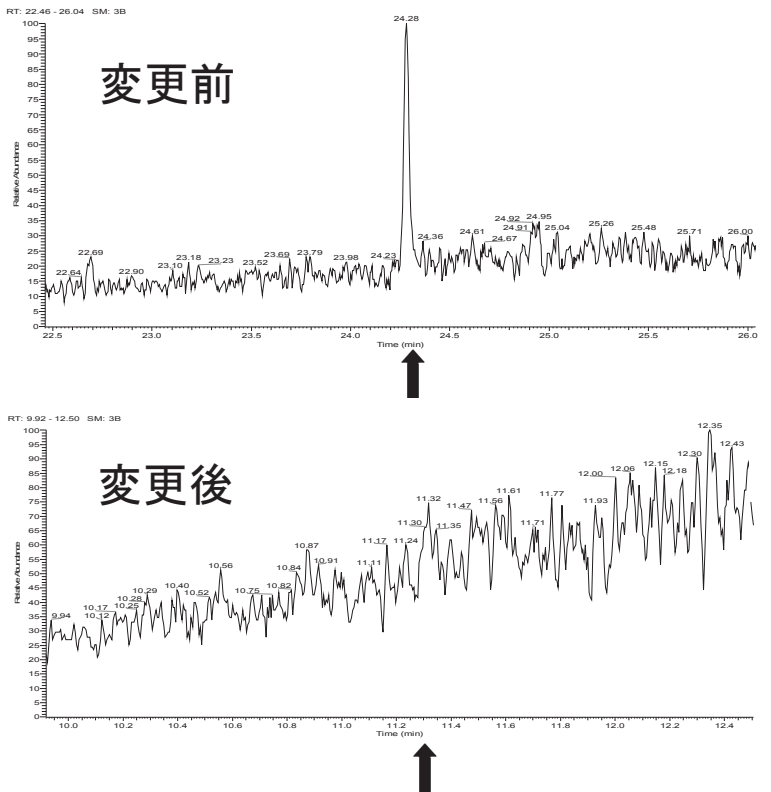


図3. フタル酸ジエチルヘキシルのガスクロマトグラフ質量分析法におけるヘキサン抽出操作の変更前後のクロマトグラム(空試験のモニターイオン(m/z 149)のクロマトグラム)。矢印は、フタル酸ジエチルヘキシルの保持時間を示す。

測定するのに、十分な精度であった。また、河川水への添加回収率は、91.5-93.5%と回収率、再現性とも良好であり、今回の方法が、環境試料に十分適用できることが明らかになった。

今回、ヘキサン抽出方法とGC/MS測定条件を変更改良したことにより、測定時間をほぼ半分に短縮するとともに、実試料の測定において、ブランク値を抑え、正確な定量が可能となった。環境中の化学物質の微量分析の需要は今後ますます大きくなることが予測される。今回得られた知見は、新たな化学物質の測定方法を最適化する上で、測定精度の向上や効率化に資するものと考えられる。

引用文献

- 1) 経済産業省大臣官房調査統計グループ. 2016. 平成27年 経済産業省生産動態統計年報化学工業統計編.
- 2) 独立行政法人・製品評価技術基盤機構 フタル酸エステル類リスク評価管理研究会. 2003. フタル酸エステル類リスク評価管理研究会中間報告書(フタル酸ビス(2-エチルヘキシル)), 2-1-2-6.
- 3) 吉岡敏行, 山辺真一, 坂口浩範, 大月史彦. 2012. 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—. 岡山県環境保健センター年報, 36, 35-43.
- 4) 環境省総合環境政策局 環境保健部環境安全課. 2012. フタル酸ノルマル-ブチル=ベンジル Butylbenzylphthalate, フタル酸ビス(2-エチルヘキシル) Bis(2-ethylhexyl) phthalate. 化学物質と環境, 平成23年度, 化学物質分析法開発調査報告書, 274-305.
- 5) 環境省総合環境対策局 環境保健部環境安全課. 2016. 化学物質環境実態調査実施の手引き(平成27年度版), 70-91.