

アスコルビン酸含浸捕集剤を用いた大気中アルキルフェノール類 及び各種農薬類の LC/MS 一斉分析法の開発と実態調査

Development of Simultaneous Analysis for LC/MS and Atmospheric Concentration of Alkylphenols

浦木 陽子	Yoko	URAKI
菊地 美加	Mika	KIKUCHI
古塩 英世	Hideyo	KOSHIO
山田 健二郎 ¹⁾	Kenjiro	YAMADA
斉藤 政久 ²⁾	Masahisa	SAITOH
鈴木 茂 ³⁾	Shigeru	SUZUKI

キーワード：LC/MS、内分泌かく乱化学物質、アルキルフェノール類、農薬類

Key words：LC/MS, Endocrine Disrupting Chemicals, Alkylphenols, Pesticides

1 はじめに

内分泌かく乱化学物質（Endocrine Disrupting Chemicals; EDCs、以下 EDCs とする）は、現在、ダイオキシン類問題と並んで、日本の化学物質問題の中核を占めている。環境省は 1998 年に Speed98¹⁾ で内分泌かく乱作用の疑われる物質として 64 物質を選定し、水質、底質、生物について全国一斉調査を開始した。また、各地方研究所や民間分析機関も独自の分析検討を進めており、川崎市でも、「ダイオキシン類及び内分泌かく乱化学物質実態調査」において平成 11 年から市内調査を開始している。

これらについては、学会等において情報交換も盛んであり、特にその中で LC/MS 法の環境分析への適用は注目されている。

EDCs は微量暴露による生体影響が疑われているため、環境中実態調査においては、超微量領域における再現性の良い定量が求められる。しかし、EDCs には極性物質も含まれており、現在、環境分析に広く適用されている GC/MS 法だけでは、十分な感度が得られない場合が多い。半・難揮発性成分について GC/MS 法で感度を向上させるためには、誘導体化等による水酸基のマスキング処理を必要とするので前処理が煩雑になっているのが現状である。

一方で LC/MS 法は、それら GC/MS が苦手とする、高極性・高分子化合物の分析において、簡便な前処理で再現性良く高感度が得られるため、いずれは GC/MS と並んで環境分析に必須の分析機器に発展する分野として、注目を集めている。

本研究は、前述した「川崎市ダイオキシン類及び内分泌かく乱化学物質実態調査」の一環として、2,4,5-トリクロロフェノキシ酢酸（以下 2,4,5-T）2,4-ジクロロフェノキシ酢酸（以下 2,4-D）ノニルフェノール及びオクチルフェノールを含むアルキルフェノール類、ビスフェノール A (BPA)、ペンタクロロフェノール（以下 PCP）、2,4-ジクロロフェノールについて、アスコルビン酸含浸捕集剤を用いた LC/MS 法による一斉分析法を開発すると共に、川崎市市内 4 地点において、夏季・冬季に大気調査を行ったので報告する。

表 1 対象物質の物理化学的性状値

	分子式	分子量	沸点 ()
プ ^ラ ルフェノール	C ₁₀ H ₁₄ O	150.2	237
ペン ^タ ルフェノール	C ₁₁ H ₁₆ O	164.2	
ヘキ ^シ ルフェノール	C ₁₂ H ₁₈ O	178.2	
ヘプ ^タ ルフェノール	C ₁₃ H ₂₀ O	192.3	
オク ^ト ルフェノール	C ₁₄ H ₂₂ O	206.3	276
ノニ ^ル フェノール	C ₁₅ H ₂₄ O	220.4	293
ビス ^{フェ} ノール A	C ₁₅ H ₁₆ O ₂	228.3	250 ~ 252
2,4-ジ ^ク ロロフェノール	C ₆ H ₄ Cl ₂ O	163	209 ~ 211
PCP	C ₆ H ₁₀ Cl ₅ O	266.3	310
2,4-D	C ₆ H ₆ Cl ₂ O ₃	221.04	160 ~ 317
2,4,5-T	C ₆ H ₅ Cl ₃ O ₃	255.48	

1) 公害部自動車対策課

2) 水道局工務部水質課

3) 独立行政法人国立環境研究所

表2 対象物質の用途及び法規制

	用途	備考
ブチルフェノール	油溶性フェノール樹脂、各種合成樹脂変性、界面活性剤他	
ナフチルフェノール	油溶性フェノール樹脂、界面活性剤	PRTR 第一種 SPEED98'
ニルフェノール	界面活性剤(アニオン性活性剤、非イオン性界面活性剤)、分解生成物	PRTR 第一種 SPEED98'
2,4-ジクロロフェノール		SPEED98'
PCP	防腐剤、除草剤、殺菌剤	SPEED98' 毒劇法
ビスフェノールA	ポリカーボネート樹脂、エポキシ樹脂原料	PRTR 第一種 SPEED98'
2,4-D	除草剤	PRTR 第一種 SPEED98'
2,4,5-T	除草剤	SPEED98' 毒劇法

2 調査方法

2.1 調査対象物質

対象物質の主要な物理化学的性状値を表1に、対象物質に関わる主な用途及び法規制を表2に示した。

2.2 分析法概要

大気試料 1.0m³ を、アスコルビン酸を含浸させた Sep-Pak plus silica cartridge に捕集し、アセトニトリルで抽出して LC/MS で測定した。

2.2.1 標準溶液の調製

各標準物質をアセトニトリルに溶解し混合希釈して、それぞれ 0.1mg/mL となるようにしたものを標準原液とする。標準原液を希釈し、1~1000ng/mL の濃度範囲で、数種類の標準溶液を調製した。

2.2.2 捕集剤の調製

Sep-Pak plus silica cartridge (Waters 社製) を図1に示したようにアセトニトリル 10mL でクリーンアップした後、5%アスコルビン酸溶液 2mL を含浸させたものを、純窒素ガスでコンディショニングし捕集剤とした。

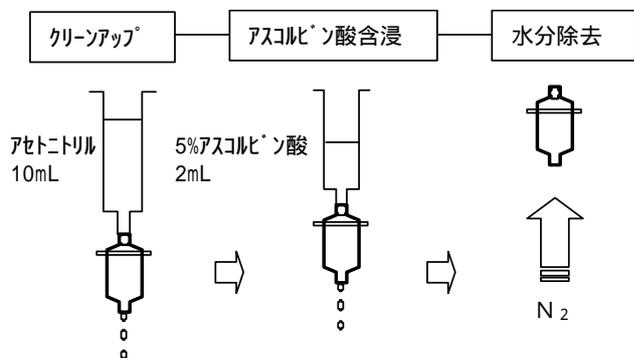


図1 捕集剤の調製

2.2.3 試料捕集法

試料捕集管をエアサンプラーに接続し、大気試料を 1L/分程度の流速で、24 時間通気した。

2.2.4 試料液の調製

図2に示したとおり、Sep-Pak plus silica cartridge にガラスのシリンジを接続し、アセトニトリル 2mL で溶出した後、析出してきたアスコルビン酸を十分除去し、内標準を加えて試料液とした。

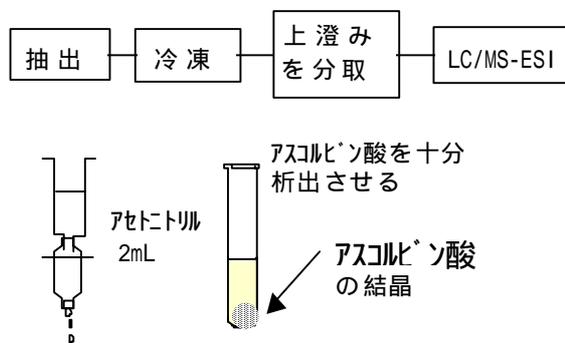


図2 試料液の調製

2.2.5 測定方法

LC 及び MS 条件を表3に示す。また、図3に標準溶液のマスキングマトグラムを示した。

2.2.6 検量線

各標準物質の混合標準溶液を5段階の濃度で(1~1000ng/mL) 10µL を LC/MS に導入し、得られたピーク面積から検量線を作成した(図4、図5)。

2.2.7 定量

試料液及び空試験液の 10µL を LC/MS に導入し、得られた対象物質のピーク面積と内標準物質のピーク面積の比を検量線と比較して、対象物質の試料液及び空試験液の濃度を求める。

2.2.8 大気中濃度の算出

大気中の各物質濃度 (ng/m³) は次式から算出する。

$$C = (W - W_b) \times L \times \frac{273 + t}{V \times (273 + 20)} \times \frac{101.3}{P}$$

C : 対象物質の大気中濃度 (ng/m³)

W : 検量線から求めた対象物質の試料液中濃度 (ng/mL)

W_b : 検量線から求めた対象物質の空試験液濃度 (ng/mL)

L : 調整した試料液の量 (mL)

t : 試料採取時の平均気温 ()

V : 大気捕集量 (m³)

P : 試料採取時の気圧 (kPa)

表3 LC/MS条件

LC機種	Agilent Technologies 社製 HP1100 Waters社製 ALLIANCE2690	
カラム	野村化学 Develosil C30 2.1mm × 15cm	
溶離液	30% MeOH / 70% 5mmol 酢酸アンモニウム水溶液 (PH8) 100% MeOH 0.2mL/min	
カラム温度	20	
注入量	10ul	
MS機種	アプライトハイシステム社製 API3000 Waters社製 PLATFORM LCZ 日本電子社製 LC-mate	
イオン化法	ESI negative	
モニターイオン	ブチルフェノール	149.0/117.0
	ペンチルフェノール	162.9/106.1
	ヘキシルフェノール	177.1/106.8
	ヘプチルフェノール	191.0/105.8
	オクチルフェノール	205.0/106.0
	ノニルフェノール	219.0/106.0
	ビスフェノールA	227.1/132.6
	2,4-ジクロロフェノール	160.8/125.0
	PCP	266.6/36.9
	2,4-D	219.0/160.8
	2,4,5-T	253.0/195.0
	ビスフェノールA_d14(サゲート)	
	ノニルフェノール_d4(内標準)	223.0/109.9

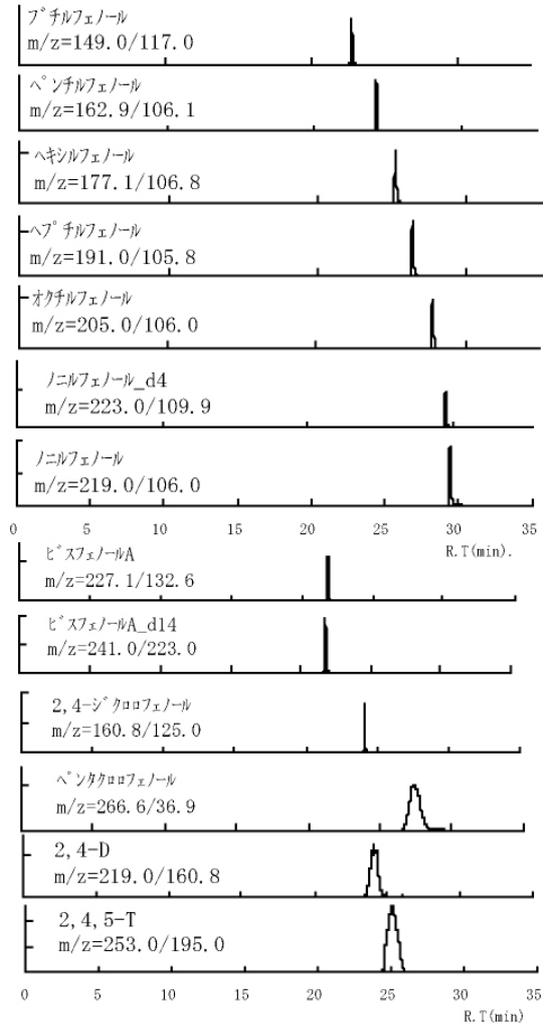


図3 対象物質のマスクロマトグラム

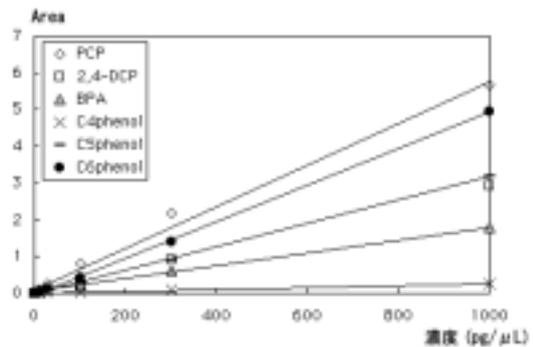
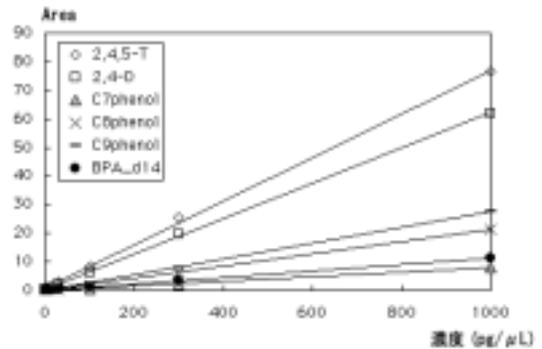


図4、図5 対象物質の検量線

2.3 分析法の検討

2.3.1 添加回収実験

対象物質の標準 100ng をそれぞれ添加したアスコルビン酸含浸捕集剤を用いて、2.2.3 と同様に 24 時間通気後、分析を行った。通気中に捕集される対象物質をコントロールとして差し引き、添加回収率を求めた。回収率は捕集温度を 25、40 と変え測定し比較検討したところ、25 では 78% から 123%、40 では 56% から 115% の回収率が得られた。結果は表 4 に示した。

表 4 添加回収率 (%)

	n = 6			
	回収率	C.V.	回収率	C.V.
	25	(%)	40	(%)
ブチルフェノール	115	2.9	100	3.7
ペンチルフェノール	117	5.1	97	7.9
ヘキシルフェノール	120	4.4	100	8
ヘプチルフェノール	123	5.9	103	5.5
オクチルフェノール	108	4.7	96	9
ノニルフェノール	98	1.1	105	10.2
ビスフェノールA	103	4.7	85	6.1
ビスフェノールA_d14	111	3.1	115	5.7
2,4-ジクロロフェノール	78	2.8	99	6.9
PCP	119	6.2	56	1.9
2,4-D	91	6.7	93	7.3
2,4,5-T	83	9.1	93	8.8

2.3.2 定量限界及び試料の保存性

定量限界及び試料の保存性について検討したところ、表 5 のような結果が得られた。ほとんどの物質については、1 ng/m³ 以下の感度の良い結果が得られたが、ブチルフェノール、ビスフェノールA、2,4-ジクロロフェノールの 3 物質については検量線の傾きからも分かるように、ESI の感度がやや悪く 4 ng/m³ 以上だった。

なお、IDL(機器検出限界)、定量限界は、次式により求めた。標準偏差は S/N が 5 から 15 程度になる量の標準溶液を 7 回連続測定した結果から求めた。

IDL の計算方法

$$IDL(ng) = Sd \times t(n-1, \alpha)$$

定量限界の計算方法

$$定量限界(ng/m^3) = \frac{Sd \times 10}{L}$$

α: 危険率 IDL-両側 2%

t(n-1, α): 自由度 n-1、危険率 α における t 値

Sd : 7 回繰り返し試験の標準偏差

L : 積算流量(m³)

試料の保存性は、捕集剤上では 10 日間で 73% 以上、抽出溶液上では 14 日間で 72% 以上あり、おおむね良好な保存性を確認した。

表 5 IDL、定量限界及び試料保存性

	IDL (ng)	定量限界 (ng/m ³)	保存性(%)	
			捕集剤上 10日間	抽出液中 14日間
ブチルフェノール	1.1	5.6	99	89
ペンチルフェノール	0.066	0.34	73	104
ヘキシルフェノール	0.068	0.35	107	102
ヘプチルフェノール	0.069	0.35	104	109
オクチルフェノール	0.092	0.49	96	111
ノニルフェノール	0.09	0.48	120	116
ビスフェノールA	0.85	4.4	113	123
ビスフェノールA_d14	0.13	0.69	111	126
2,4-ジクロロフェノール	4.2	21	79	87
PCP	0.3	1.5	76	80
2,4-D	0.17	0.86	93	72
2,4,5-T	0.076	0.39	80	91

2.3.3 GC/MS 法との感度差

ビスフェノールAについては、平成7年度化学物質分析法開発調査報告書(環境省環境保健部環境安全課)で、TMS 誘導体化-GC/MS 法が報告されており、そのときの定量限界値は 24ng/m³、全 18 地点で定量限界以下であった。しかし、LC/MS による本分析法では、誘導体化を必要としない上に、定量限界値は 4 ng/m³ となり、大幅な前処理操作の短縮と感度向上が実現できた。

3 調査結果

3.1 調査地点及び日時

調査地点は川崎市内の 4 地点で、南から千鳥町ふ頭管理事務所(以下千鳥)、田島測定局(田島健康ランチ屋上、以下田島)、中原測定局(中原保健所屋上、以下中原)、生田浄水場(以下生田)である。調査地点を図 6 に示した。調査日時は平成 14 年 8 月 6 日から 7 日、平成 15 年 1 月 21 日から 22 日の夏季と冬季 1 日ずつ年 2 回行った。

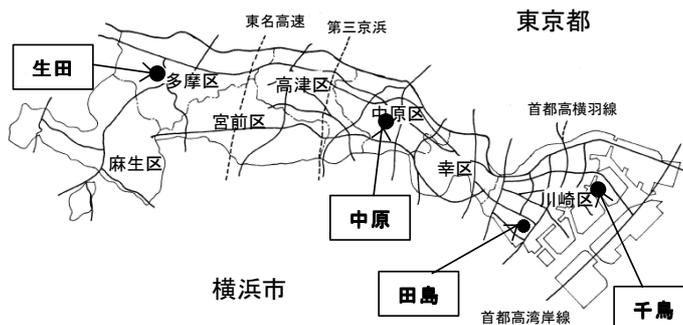


図 6 調査地点

3.2 調査結果

調査結果を表6に示した。ビスフェノールAが、冬季調査の千鳥で11ng/m³の濃度で検出された。他の物質については、いずれの地点においても定量限界以下であった。

表6 市内調査結果 (ng/m³)

	夏季調査			
	千鳥	田島	中原	生田
ブ ^o チルフェノール	ND	ND	ND	ND
ペンチルフェノール	ND	ND	ND	ND
ヘキシルフェノール	ND	ND	ND	ND
ヘブ ^o チルフェノール	ND	ND	ND	ND
オクチルフェノール	ND	ND	ND	ND
ノニルフェノール	ND	ND	ND	ND
ビスフェノールA	ND	ND	ND	ND
2,4-ジ ^o クロロフェノール	ND	ND	ND	ND
PCP	ND	ND	ND	ND
2,4-D	ND	ND	ND	ND
2,4,5-T	ND	ND	ND	ND

	冬季調査			
	千鳥	田島	中原	生田
ブ ^o チルフェノール	ND	ND	ND	ND
ペンチルフェノール	ND	ND	ND	ND
ヘキシルフェノール	ND	ND	ND	ND
ヘブ ^o チルフェノール	ND	ND	ND	ND
オクチルフェノール	ND	ND	ND	ND
ノニルフェノール	ND	ND	ND	ND
ビスフェノールA	11	ND	ND	ND
2,4-ジ ^o クロロフェノール	ND	ND	ND	ND
PCP	ND	ND	ND	ND
2,4-D	ND	ND	ND	ND
2,4,5-T	ND	ND	ND	ND

4 まとめ

- (1) LC/MSを使用する本分析法により、大気中のアルキルフェノール類6物質、ビスフェノールA、2,4,5-T、2,4-D、PCP及び2,4-ジクロロフェノールの農薬等5物質をng/m³以下のオーダーで測定を行なうことが可能となった。
- (2) 本分析法を用いて、川崎市内4地点の環境大気を測定したところ、ビスフェノールAは工業地帯に位置する千鳥で冬季に11ng/m³検出されたが、他地点では定量限界以下であった。川崎市内の一般環境中ビスフェノールA濃度レベルは、数ng/m³以下であると思われる。また、他の10物質はいずれも定量限界以下であったので、検出されたとしても一般環境中濃度レベルはng/m³以下であると思われる。

文献

- 1) 環境省環境保健部環境安全課：化学物質と環境-平成14年度化学物質分析法開発調査報告書-(2003)
- 2) 環境庁環境保健部環境安全課：平成7年度化学物質分析法開発調査報告書 (1998)