

排水中の微量有機成分の分析に関する研究 (第3報)
 ～ GC-MSによるビスフェノールAの定量 ～

化学環境室 児嶋 正敏, 森 文彦, 藤枝 正之

Study of Trace Analysis about Organic Constituent in the Waste Water (3rd)
 ～ Quantitative analysis of Bisphenol-A by GC-MS ～

Masatoshi KOJIMA, Fumihiko MORI and Masayuki FUJIEDA

環境負荷を有する微量のフェノール類を固相抽出による前処理を行い、ガスクロマト質量分析計で分析する方法について検討を行った。対象物質として排水中にビスフェノール A を添加したものをを用い、測定を行ったところ良好な定量性が得られた。

1. はじめに

環境負荷を抑えた製造方法や環境に優しい製品づくり等の企業活動が重視されている中、当研究所では、排水中の微量有機成分の分析法を検討するため、フローインジェクション法 (FIA 法) によるフェノールの定量法の検討とガスクロマト質量分析計 (GC-MS) によるビスフェノール A (BPA) の定量法の二法について検討を行ってきた。GC-MS による BPA の定量法については、公定法^{1) 2)} で定められている試験方法について検討し、本研究の前報³⁾ においてサンプルの前処理や分析条件などについて検討を行っているが、今回、排水中の低濃度の BPA を固相抽出法により分離濃縮し、GC-MS により定量する方法について検討した内容について報告する。

2. 実験方法

2. 1 低濃度検量線用サンプルの調製

0.01, 0.02, 0.05, 0.1 µg/ml の BPA アセトン溶液 1ml を共栓付き濃縮管に分取した。更に、5 µg/ml の重水素化ビスフェノール A (BPA-d14) アセトン溶液 1ml 濃縮管に添加し、これらを 40 °C で加熱しながら窒素気流下で濃縮乾固した。

これに、内部標準としてピレンの 10 µg/ml アセトン溶液 1ml とシリル化剤として N,O-ビス-(トリメチルシリル) ートリフルオロアセトアミド (BSTFA) を 200 µl 添加し、60 °C で 2h 加熱した後窒素気流下で濃縮し、これを低濃度検量線作成用のサンプルとした。

2. 2 BPA添加回収試験用サンプルの調製

蒸留水 1000ml に 0.01, 0.02, 0.05, 0.1 µg/ml の BPA アセトン溶液を 1ml 添加したものに、サロゲート物質として 5 µg/ml の BPA-d14 アセトン溶液 1ml を加え、(1+9) 塩酸で pH3.2 ~ 3.5 程度に調整したものを試料水とした。また、BPA を加えないものをブランクとした。固相抽出カートリッジ (ENVI Chrom P) に無水メタノール、蒸留水を各 5ml 通し、コンディショニングを行った。コンディショニングした固相抽出カートリッジに試料水を約 10ml/min で通水した。さらに、蒸留水 10ml で容器を洗い、これもカートリッジに通水した。このカートリッジを乾燥するため、1時間程度通気した。溶出溶媒乾燥用としてあらかじめジクロロメタン 5ml で洗浄した無水硫酸ナトリウム 4g 入りカートリッジを下に接続した。溶出溶媒ジクロロメタン 9ml を滴下し、溶出液を濃縮管に受けた。溶媒を 40 °C で加熱しながら窒素気流下で濃縮した。更にジクロロメタン 9ml で溶出 (合計 18ml のジクロロメタンで溶出) し、これを 40 °C で加熱しながら窒素気流下で濃縮乾固した。

これに、内部標準としてピレンを 10 µg/ml のアセトン溶液 1ml と BSTFA を 200 µl 添加し、60 °C で 2h 加熱した後窒素気流下で濃縮し、BPA 添加回収試験のサンプルとした。

2. 3 試験水による繰り返しBPA添加回収試験用サンプルの調製

2. 2 の蒸留水の代わりに、試験水として当所

表 1 SIM測定で使用した各物質ごとのイオン

物質名		測定イオン (m/z)	
		定量用	確認用
BPA-diTMS	測定目的物	357	372
BPA-d14-diTMS	サロゲート	368	386
BPA-monoTMS	反応副生物	285	300
ピレン	内部標準	202	

の排水を使用した。実験方法については、2. 2と同様に行った。ただし、BPAの添加量は0.05 μ g/mlのBPAアセトン溶液を1ml添加とし、3反復行った。

2. 4 GC-MSによる測定

以下の条件を用いて、GC-MSによる測定を行った。

装置：HP5989B（四重極型）

[GC部：HP5890]

カラム：HP-5MS 30m \times 0.25mm I.D. 膜厚 0.25 μ m

カラム温度：100 $^{\circ}$ C (1min) \rightarrow 20 $^{\circ}$ C/min \rightarrow 200 $^{\circ}$ C \rightarrow 5 $^{\circ}$ C/min \rightarrow 230 $^{\circ}$ C (2min)

カック内はその温度での保持時間を示す

キャリアガス：He 2ml/min

試料注入条件：1 μ l, スプリットレス (1min 後 10:1でページ)

注入口温度：240 $^{\circ}$ C

[MS部]

イオン化法：EI (70eV)

イオン源温度：200 $^{\circ}$ C

四重極温度：100 $^{\circ}$ C

測定モード：選択イオン検出法 (SIM)

BPA および BPA-d14 は BSTFA により分子内に有する 2 つの水酸基が全てシリル化する diTMS 化と 1 つの水酸基のみがシリル化される

表 2 SIMの測定条件

group	Dwell	測定イオン (m/z)	start time (min)
pyrene	100	202	8.0
BPA	50	368、386、357、 372、285、300	10.5

monoTMS 化の可能性がある。今回の GC-MS 測定では、diTMS 化 BPA (BPA-diTMS) および diTMS 化 BPA-d14 (BPA-d14-diTMS) を測定するのに加え、BPA と BSTFA の反応副生物であり、BPA の分析誤差の元となると考えられる monoTMS 化 BPA (BPA-monoTMS) についても測定した。それぞれの物質において使用したイオンを表 1 に示す。また、SIM の測定条件を表 2 に示す。

それぞれの物質のピーク面積は、表 1 の測定用のイオンを用い、コンピュータが自動的にピーク面積を積分する AutoIntegrate により得られた数値を使用した。

3. 実験結果

3. 1 低濃度検量線に関する検討

それぞれの BPA 濃度における物質のピーク面積および BPA-diTMS と BPA-d14-diTMS の比を表 3 に示す。また、BPA-diTMS と BPA-d14-diTMS のピーク面積比による BPA 濃度の検量線を図 1 に示す。

検量線は相関係数 0.9998 と高く、GC-MS による BPA0.01 μ g の分析は十分可能であるものと思われた。BPA0.01 μ g という値は BPA の分析下限値の目標となるものである²⁾。

また、BPA-monoTMS は、今回の分析では検出されなかった。

3. 2 BPA回収実験

それぞれの BPA 添加サンプルにおける物質の

表 3 それぞれの物質のピーク面積およびその比

BPA濃度 (μ g)	ピレン	BPA-d14-TMS	BPA-TMS	BPA-TMS/BPA-d14-TMS	BPA-d14-TMS/ピレン
0	32707613	10341408	N. D.		0.316
0.01	35207407	11592458	36025	0.00311	0.329
0.02	37170703	12287144	79892	0.00650	0.331
0.05	42765280	14209445	245983	0.01731	0.332
0.10	41137581	13886533	485732	0.03498	0.338

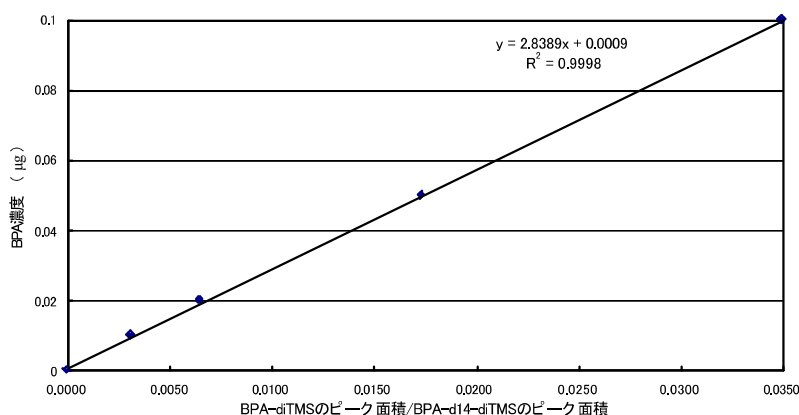


図 1 BPA濃度の検量線

表 4 回収実験におけるそれぞれの物質のピーク面積および回収率等

BPA濃度 (μg)	ピレン	BPA-d14-TMS	BPA-TMS	BPA-TMS /BPA-d14-TMS	BPA-d14-TMS /ピレン	予想BPA濃度 (μg)	回収率 (%)
BLANK1	41293477	13577216	N. D.		0.329		
0.01	40023935	13231051	N. D.		0.331		
0.02	42200324	14834168	104222	0.00703	0.352	0.020	100
0.05	5839999*	14389010	268489	0.01866		0.053	106
0.10	6087957*	15369448	548508	0.03569		0.101	101

* この区のみ1μg/mlピレン1ml添加した

ピーク面積、BPA-diTMS と BPA-d14-diTMS の比および 3.1 で得られた検量線からの予想 BPA 濃度を表 4 に示す。

今回の回収実験で、BPA 添加量が 0.01μg では BPA-diTMS のピークを AutoIntegrate では検出することができなかった。しかし、ピーク自体は存在することから、AutoIntegrate のパラメータを変更することで解決できると思われる。BPA 添加量が 0.02μg 以上では、検量線から計算した予想 BPA 値は添加量とほぼ同じであり、回収率は 100～106%以内であった。

また、サロゲート物質である BPA-d14 の回収率は、ピレンおよび BPA-d14-diTMS のピーク面積比を比較することで推定可能と思われる。表 3, 4 に示したように、BPA-d14-diTMS / ピレン比が検量線作成用の試料と回収した試料どちらも 0.316～0.352 とほぼ同じ値を示していることから固相抽出によるサロゲート物質の回収率はほぼ 100%と考えられる。

この回収実験において、検量線作成時には検出されなかった BPA-monoTMS の定量用測定イオンである 285 のピークが検出された。しかし、ブ

ランクサンプルでも検出され、また、BPA 濃度に関係なくほぼ一定の値となっていることから、ノイズなどの影響によると考えられる。例え副生成物が生成していると仮定した場合でも、サロゲート物質の回収率が 100%近いと考えられることから、反応副生物はごく少量と考えられる。

ここで数値は示さないが、それぞれのサンプルに一定量加えているピレンと BPA-d14-diTMS のピーク面積が時間によってドリフトする現象が見られた。GC-MS の測定を連続して行っていたところ、ドリフト量が減少した。今回分析したような回収率も考慮する必要がある微量分析を行う場合、GC-MS 自体の安定性についても十分注意を払う必要があると考えられる。

3.3 試験水による反復実験

検量線は 3.1 の結果を使用しようとしたが、内部標準のピレンのピーク面積が反復実験の値とかなり異なったことから、検量線用のサンプルと反復実験のサンプルを同時に GC-MS で分析するようにした。これは、MS の調整やドリフトなどが原因であると考えられる。従って、検量線の作

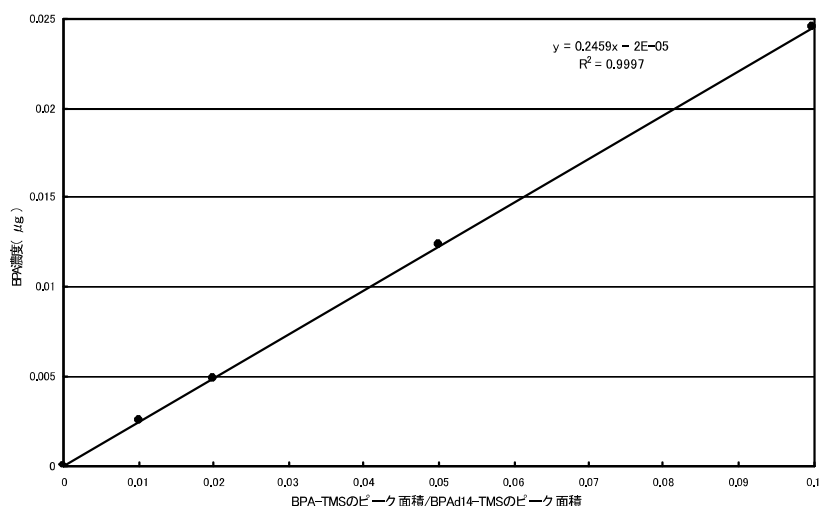


図2 反復実験における検量線

表5 それぞれの物質のピーク面積およびその比 (その2)

BPA濃度 (μg)	ピレン	BPA-d14-TMS	BPA-TMS	BPA-TMS/BPA-d14-TMS	BPA-d14-TMS/ピレン
0	32194765	19126530	N. D.	0.00000	0.59409
0.01	40191663	23261119	57478	0.00247	0.57875
0.02	43427371	24981453	120137	0.00481	0.57525
0.05	48948574	28100448	346193	0.01232	0.57408
0.1	44922628	25683269	630798	0.02456	0.57172

表6 反復実験におけるそれぞれの物質のピーク面積および予想濃度

BPA濃度 (μg)	ピレン	BPA-d14-TMS	BPA-TMS	BPA-TMS / BPA-d14-TMS	BPA-d14-TMS / ピレン	予想濃度 (μg)	補正濃度 (μg)
BLANK1	41277065	21842255	193608	0.00886	0.52916	0.036	0.000
0.05	54385971	25221577	534341	0.02119	0.46375	0.086	0.050
0.05	48924307	24397093	515218	0.02112	0.49867	0.086	0.050
0.05	55516978	27390752	597088	0.02180	0.49338	0.089	0.053

成は分析毎、多くのサンプルで長時間かかる場合は何回か作成する必要があると思われる。

検量線と反復実験の結果を表5・6に、検量線のグラフを図2に示す。

検量線は相関係数 0.9997 と高く、3.1の相関係数と同様の値を示した。しかし、検量線の数式の傾きはかなり異なる値となった。

ブランク値を引いた今回の反復実験の値は、0.050～0.053μg とほぼ添加量と同様の値を示し、CV(%)値は3%と良好な値を示した。サロゲート物質の回収率は約75%と3.2の回収実験より低い値となった。これは、試験水が蒸留水ではなく懸濁物質があり、これに吸着されたためと思われる。

しかし、これまでのブランクサンプルでは、検出されていなかった BPA が今回は検出された。その値は 0.036μg と検出限界の目標値である 0.01μg の約4倍と大きかった。これは、分析器具の洗浄に問題があったものと思われ、洗浄方法に十分な検討が必要と考えられる。

4. まとめ

BPA を分析対象として、固相抽出法により濃縮し、GC-MS を用いた分析について検討を行った。得られた結果は以下のとおりであった。

- 1) GC-MS による BPA の分析において 0.01μg は充分検出可能であり、0.01～0.1μg の範囲において、検量線の相関係数は高い値が得ら

れた。

- 2) 回収実験による BPA の分析において、定量下限は 0.02 μ g 程度と考えられた。ただし、0.01 μ g でもピークはあることから、パラメータの変更で測定可能と思われた。
- 3) 反復実験による BPA の分析において、CV (%) 値が 3% と良好な値であった。
- 4) 固相抽出による回収率は蒸留水に添加した場合で 100%、懸濁物質がある排水で 75% 程度であった。
- 5) GC-MS により微量分析を行う場合、装置自体の安定性についても検討する必要があると思われた。
- 6) 分析器具の洗浄に充分気を付ける必要があると思われた。

文献

- 1) 社団法人 下水道新技術推進機構：下水道における内分泌攪乱化学物質水質調査マニュアル (1999)
- 2) JIS K 0450-10-10:2000
- 3) 森文彦，藤枝正之：千葉県工業試験場研究報告 16,17(2002)