

飲料水中のフェノール類分析過程における水分除去操作の影響

小高 陽子, 中山 和好, 福嶋 得忍

Influence of the dehydration operation in the analytical process of phenols in drinking water

Yoko ODAKA, Kazuyoshi NAKAYAMA, Tokunin FUKUSHIMA

I はじめに

平成16年4月1日から施行となった新水質基準¹⁾(以下、告示法)において、飲料水中のフェノール類(フェノール、2-クロロフェノール、4-クロロフェノール、2,4-ジクロロフェノール、2,6-ジクロロフェノール、2,4,6-トリクロロフェノール)の分析方法は、「固相抽出-誘導体化-ガスクロマトグラフ質量分析(以下、GC/MS)法」による方法と定められており、固相カラムからの溶出溶媒にはジクロロメタンが指定され、測定結果は良好な再現性を得ていた。

しかし、パブリックコメントを経て、告示法の一部改正²⁾が行われ、平成17年4月1日より、固相カラムからの溶出溶媒はジクロロメタンに替わり、環境や人体への負荷の少ない³⁾酢酸エチルが指定されることとなった。

その後、溶出溶媒を酢酸エチルに変更した分析方法により、繰り返し測定を試みたところ、フェノール類の一部の成分の検出感度が、時間の経過とともに徐々に低下するという現象が起こった。

そこで、酢酸エチルを用いた場合においても、測定結果に良好な再現性が得られるよう、脱水方法、乾燥方法及び固相カラム等の操作方法について検討したので報告する。

II 実験方法

1. 試薬

1) 標準品

フェノール標準原液(1 mg/mL in water, 水質試験用, 関東化学)と、クロロフェノール標準原液(1 mg/mL in acetone, 水質試験用, 関東化学)を合わせ採り、アセトンで希釈し、フェノール類標準液とした(10 µg/mL)。

アセナフテン-d₁₀(98.0%, 和光純薬工業)を正確に50mg採り、アセトンで溶解して50mlとした(1 mg/mL)。これをアセトンで希釈し、アセナフテン-d₁₀内部標準液とした(10 µg/mL)。

2) 誘導体化試薬

N,O-ビス-(トリメチルシリル)-トリフルオロアセトアミド(環境分析用, 和光純薬工業)

3) その他の試薬

ジクロロメタン, 酢酸エチル, メタノール, アセトン及び無水硫酸ナトリウムは残留農薬PCB試験用, 脱水酢酸エチルは有機合成用, 塩酸は特級品を用いた。

2. 装置及び器具

GC/MS: GC-17型ガスクロマトグラフ, QP-5000型質量分析計, AOC-20i型オートインジェクター及びCLASS-5000型データ処理機(島津製作所)を使用し、測定条件は告示法に従った。

超純水製造システム: Elix5/Milli-Q Plus (MILLIPORE)

固相抽出加圧装置: Sep-Pak Concentrator System Controller Plus (Waters)

固相抽出減圧装置: Vacuum Manifold (Waters)

固相カラム: Oasis HLB Plus Extraction Cartridges 225mg, Sep-Pak Dry Sodium Sulfate (Waters), Aquasis PLS-3 Jr. 230mg (ジーエルサイエンス)

3. 試験方法

溶出溶媒の違いによる再現性の差を見るため、pH値2に調整済みの超純水にフェノール類標準液を0.0005mg/L, 0.002mg/L, 0.0035mg/L, 0.005mg/L(検量線濃度)となるように添加した試料500mLを用い、溶出溶媒はジクロロメタンと酢酸エチルの2種を用いた。固相カラム, 脱水方法及び乾燥方法は図1の告示法に従い、試験溶液を調製し、GC/MSにより測定した。

また、溶出溶媒に酢酸エチルのみを用いた時の操作方法の検討には、pH値2に調整済みの超純水に、フェノール類標準液を0.0005mg/L(定量下限値)となるように添加した試料500mLを用いた。酢酸エチルのメーカー, グレードの違い, 脱水方法の違い, 乾燥方法の違い毎に、試験溶液を調製し、GC/MSにより測定した。

また、異なるメーカーの固相カラムを用いて、告示法どおりコンディショニングと通水を行った後に、通気時間毎に固相カラム内に残留する水分量を測定した。

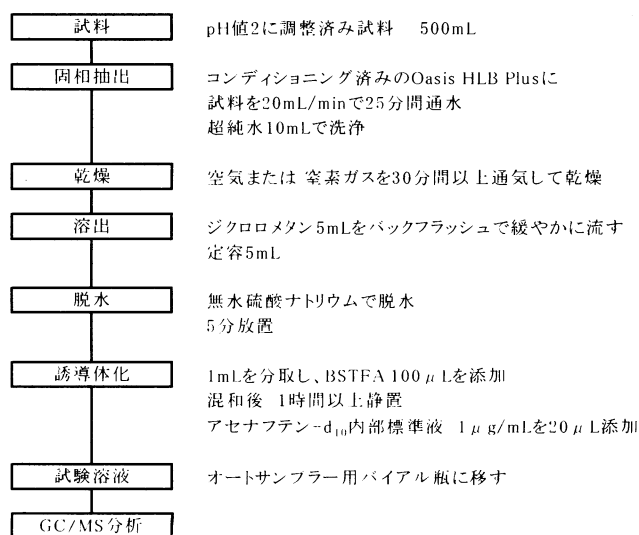


図1 厚生労働省告示第261号 平成15年7月22日による方法(告示法)

III 結果

1. 溶出溶媒の違いによる再現性の差

検量線濃度に調製した試料について、ジクロロメタンと酢酸エチルを用いて、告示法に従って調製した試験溶液を、各々2回繰り返し測定を行った。標準液と内部標準液の面積値の比から求めたArea Ratioを感度として表し、フェノール類のうち感度の変化が見られた2,4-ジクロロフェノール、2,6-ジクロロフェノール及び2,4,6-トリクロロフェノールを図2に示した。

検量線の1回目と、約1時間後に再度測定した2回目のグラフを比較すると、ジクロロメタン溶出による試験溶液は、良好な再現性が得られたのに対し、酢酸エチル溶出による試験溶液は、調製後の時間経過による感度の低下が見られた。

2. 酢酸エチルのみを溶出溶媒に用いた時の再現性

1) 酢酸エチルのメーカー、グレードによる比較

定量下限値の濃度に調製した試料について、溶出溶媒として残留農薬PCB試験用酢酸エチル（関東化学）、残留農薬PCB試験用酢酸エチル（和光純薬工業）、有機合成用脱水酢酸エチル（和光純薬工業）を用いて試験溶液を各々5回繰り返し測定した感度の変化を、Area Ratioの減少率として図3に示した。なお、5回繰り返し測定は、1試行の試験溶液を5本のオートサンプラー用バイアル瓶に分注して測定する方法で行った。2.2), 2.4) も同様の方法で行った。

全ての酢酸エチルにおいて、フェノール類のうち特に2,4-ジクロロフェノール、2,6-ジクロロフェノール、2,4,6-トリクロロフェノールの測定で、繰り返し回数、調製後の時間経過とともに感度の低下が見られ、用いた酢酸エチルのメーカー、グレードにおいては差が見られなかった。

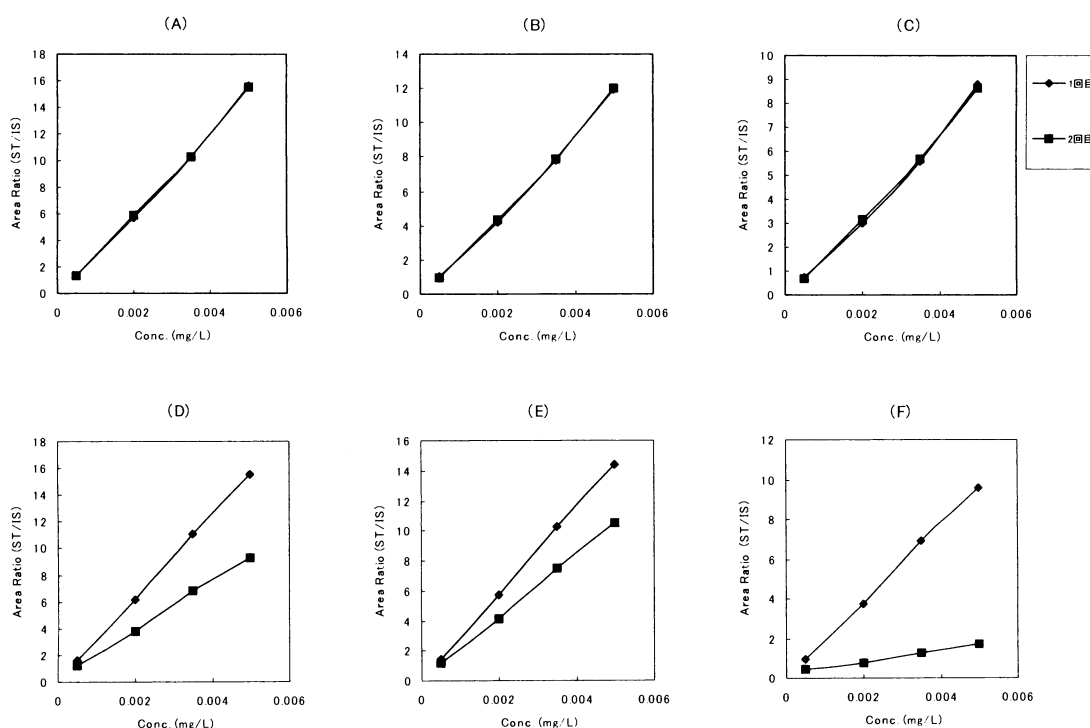


図2 溶出溶媒の違いによるクロロフェノール類測定の再現性

(A) : 2,6-ジクロロフェノール (溶媒:ジクロロメタン)、(B) : 2,4-ジクロロフェノール (溶媒:ジクロロメタン)、
(C) : 2,4,6-トリクロロフェノール (溶媒:ジクロロメタン)、(D) : 2,6-ジクロロフェノール (溶媒:酢酸エチル)、
(E) : 2,4-ジクロロフェノール (溶媒:酢酸エチル)、(F) : 2,4,6-トリクロロフェノール (溶媒:酢酸エチル)

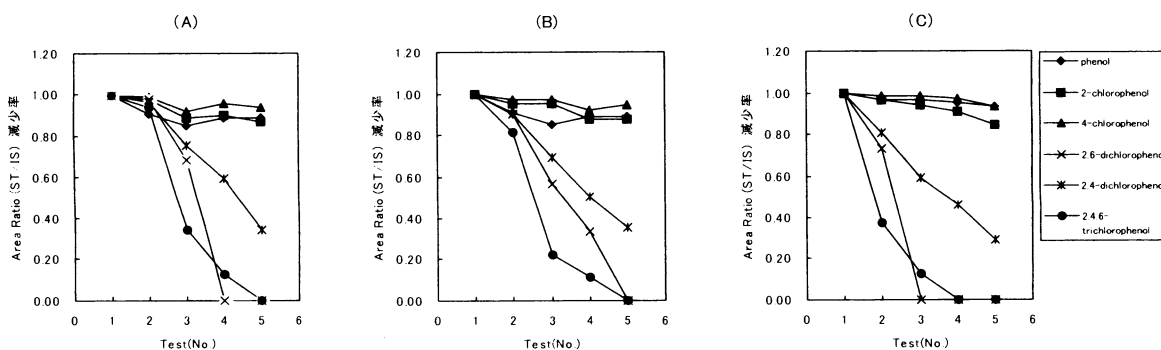


図3 酢酸エチルの違いによるフェノール類測定の再現性

(A) : 残留農薬PCB試験用酢酸エチル (関東化学)、(B) : 残留農薬PCB試験用酢酸エチル (和光純薬工業)、
(C) : 有機合成用脱水酢酸エチル (和光純薬工業)

2) 脱水方法による比較

2.1)と同様に試料を調製し、溶出溶媒の脱水に無水硫酸ナトリウム、Sep-Pak Dry、無水硫酸ナトリウム+Sep-Pak Dryを用い、試験溶液を各々5回繰り返し測定した感度の変化を、Area Ratioの減少率として図4に示した。

2.1)と同様、全ての脱水方法において、フェノール類のうち特に2,4-ジクロロフェノール、2,6-ジクロロフェノール、2,4,6-トリクロロフェノールの測定で、繰り返し回数、調製後の時間経過とともに感度の低下が見られ、用いた脱水方法の違いによる差は見られなかった。

3) 固相カラム内に残留する水分量の比較

固相カラムを告示法どおりコンディショニング、通水後、通気時間毎の固相カラムの重量から、固相カラム内に残留する水分量を求めた。コンディショニングの溶媒はジクロロメタンと酢酸エチルの2種を用い、固相カラムはOasis HLB PlusとAquisis PLS-3 Jr.の2種を3個ずつ用い、通気時間毎に測定した重量の平均値を図5に示した。

コンディショニングの溶媒の種類、固相カラムの種類に関わらず、固相カラム内の水分量は、空素30分間通気後が約7mgであるのに対し、空気30分間通気後は約220mgであり、空気90分間通気後は約30mgであった。

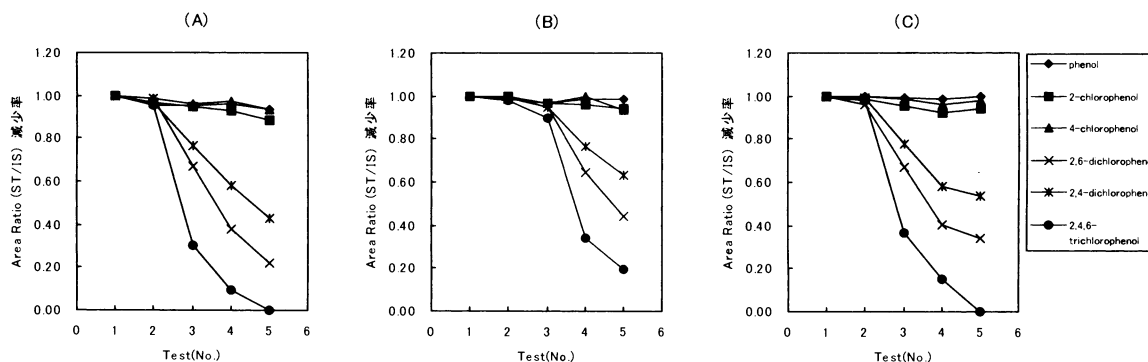


図4 脱水方法の違いによるフェノール類測定の見直し

(A): 無水硫酸ナトリウムによる脱水、(B): Sep-Pak Dryによる脱水、(C): 無水硫酸ナトリウム+Sep-Pak Dryによる脱水

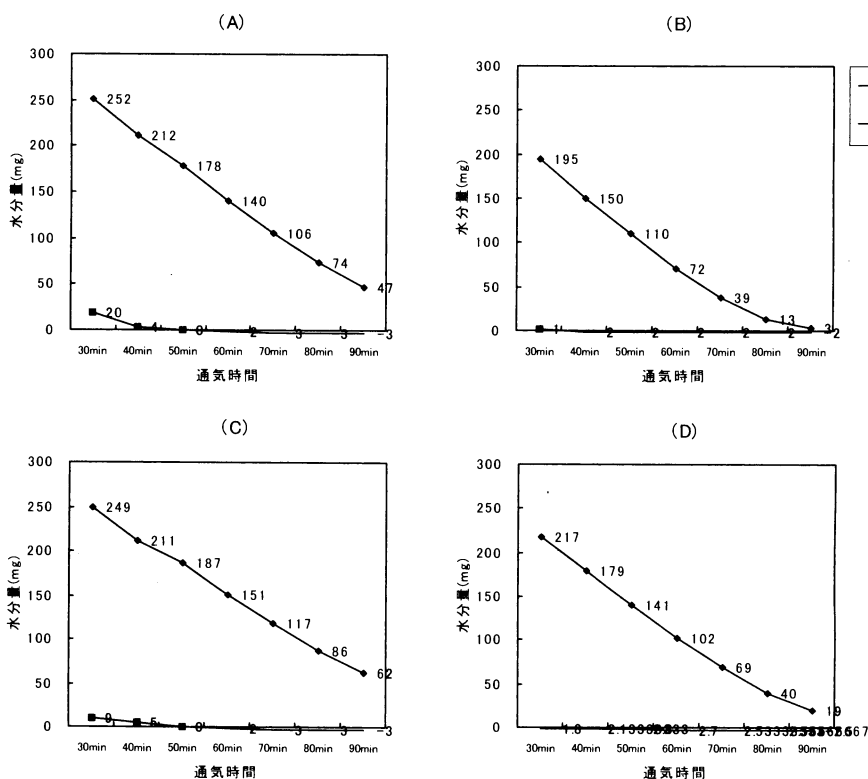


図5 通気時間と固相カラム内に残留する水分量との関係

(A): Oasisに残留する水分量 (溶媒: ジクロロメタン)、(B): Aquisisに残留する水分量 (溶媒: ジクロロメタン)、(C): Oasisに残留する水分量 (溶媒: 酢酸エチル)、(D): Aquisisに残留する水分量 (溶媒: 酢酸エチル)

4) 固相カラムの乾燥方法の違いによる再現性
 2.3) の結果から、感度の低下が、乾燥方法の違いにより生じた、固相カラム内に残留する水分量に起因することが考えられたため、固相カラムの乾燥方法を変えて再現性を確認した。
 2.1) と同様に試料を調製し、固相カラムの乾燥方法を、空気30分間通気、窒素30分間通気、空気90分間通気の方法を用いて試験溶液を各々5回繰り返し測定した感度の変化を、Area Ratio の減少率として図6に示した。

空気30分間通気による乾燥方法では、2.1) と同様、フェノール類のうち特に2,4-ジクロロフェノール、2,6-ジクロロフェノール、2,4,6-トリクロロフェノールの測定結果に感度の低下が見られたが、窒素30分間通気、空気90分間通気による乾燥方法では感度の低下は見られず、測定結果に良好な再現性が得られた。溶出溶媒がジクロロメタンから酢酸エチルに変更後に見られた感度の低下が、固相カラム内に残留する水分の乾燥方法に起因するものであることが確認できた。

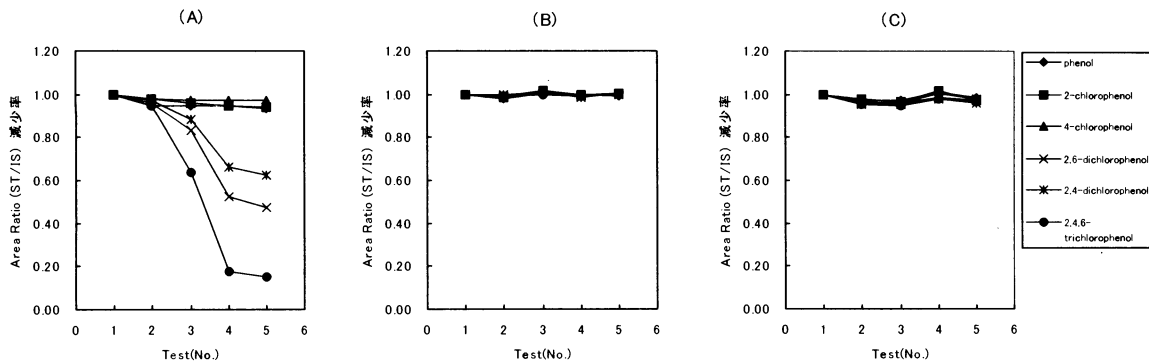


図6 乾燥方法の違いによるフェノール類測定の再現性

(A)：空気30分間通気による乾燥、(B)：窒素30分間通気による乾燥、(C)：空気90分間通気による乾燥

IV 考察

溶出溶媒に酢酸エチルを用いた場合、測定結果の良好な再現性を得るためには、告示には「30分間以上測定対象成分を含まない空気又は窒素ガスを通気して固相カラムを乾燥させる。」とあるが、窒素なら30分間程度、空気を用いた場合は90分間程度の通気時間を必要とすることがわかった。

改正以前、溶出溶媒にジクロロメタンを用いていた際には、固相カラムの通気時間は、20分間程度でも測定結果に良好な再現性が得られていた。⁴⁾

この違いは、ジクロロメタンの水への溶解性⁵⁾が2 g/100gであるのに対し、酢酸エチルが8.7g/100gであるという、各々の試薬の水への溶解性の違いによるものであると考えられる。固相カラムで除去されなかった水分が溶媒に溶け込んだ時、ジクロロメタンを用いた場合は、後の操作の無水硫酸ナトリウムで脱水されるが、酢酸エチルは無水硫酸ナトリウムであってもSep-Pak Dryであっても脱水されず、その水分がBSTFA誘導体化操作に影響を及ぼしたものと考えられる。

試薬自体に含まれている水分量は、規格値⁵⁾として、残留農薬PCB試験用ジクロロメタンは0.01%以下、同酢酸エチルは0.05%以下、有機合成用脱水酢酸エチルは0.005%であり、測定結果に影響を及ぼすものとは考えられなかった。また、残留している水分量に差が認められなかったことから、固相カラムの差が測定結果に影響を及ぼしているとも考えられなかった。

フェノール類の基準値は、6成分を足し合わせた濃度に対して設けられており、個々の成分の測定感度がかなり低いものも含まれている。今回のような、溶出溶媒の変更等、分析方法の一部改

正であっても、測定結果に良好な再現性を得るための十分な検討が必要であると思われる。

謝辞

本検討を行うにあたり、ご助言をいただきました、東京都健康安全研究センター多摩支所 鈴木俊也主任研究員、大阪府立公衆衛生研究所 宮野啓一主任研究員に深謝いたします。

文献

- 1) 厚生労働大臣「水質基準に関する省令の規定に基づき厚生労働大臣が定める方法」. 厚生労働省告示第261号, 平成15年7月22日.
- 2) 厚生労働大臣「水質基準に関する省令の規定に基づき厚生労働大臣が定める方法の一部改正」. 厚生労働省告示第125号, 平成17年3月31日.
- 3) 吉増幸誠, 木野善夫, 宇治田正則: 固相抽出を用いたフェノール類の測定法. 和歌山市衛生研究所報, No.12, 50-54 (2002)
- 4) 桐山徳也, 金田恵美子, 坪田てるみ, 小林博美, 徳田三郎: 水道水中のフェノール類分析について. 滋賀県立衛生環境センター所報, Vol.39, 125-128 (2005)
- 5) 和光純薬工業株, 製品安全データシート, MSDS NO. JW050618