

固相抽出法を用いた地下水からの フタル酸エステル類の分析法について —第一報—

赤石 準一 浦嶋 幸雄 大谷 崇 菊地由生子

要 旨

地下水中より6種類のフタル酸エステル類(以下PAE類)を簡単な操作で固相抽出を行いHPLCで一斉分析する方法を試みた。

PAE類のうちフタル酸ジメチル(DMP), フタル酸ジエチル(DEP), フタル酸ジ-n-プロピル(DPP), フタル酸ジブチル(DBP), フタル酸ジヘプチル(DHP), フタル酸ジ-2-エチルヘキシル(DEHP)の6種類について固相抽出用カートリッジ Adsorbex RP-18 を用いて濃縮及び溶出方法の検討を行った。その結果, 添加回収率は82.2%の精度であった。

定量分析はグラジエント法を用いたHPLC法による。充填剤に逆相系を用いて高感度に定量することができた。6種類の添加回収液による相関係数の平均は $r=0.924$ であった。

1. 緒 言

フタル酸エステル類(PAE類)はプラスチックの可塑剤や顔料等の添加物として広く用いられている物質である。PAE類を含むプラスチックが長期間水に接触したとき微量ではあるが水中に溶出したり, 使用量が多いため大気へ揮散するなど環境中にあまねく分布している物質である。近年その毒性についても次第に解明されてきており, DBPの胎仔毒性やDEHPの催奇形性なども指摘されている。検出方法として従来のGC法の前処理としての液-液抽出法は操作が煩雑であり, フロリジルを用いた液-固吸着法にしても同一条件で一度に多成分のPAE類を溶出することは困難であった。そこでこれらPAE類のうちDMP, DEP, DPP, DBP, DHP, DEHPの6種類について固相抽出用カートリッジ Adsorbex RP-18 を用いた濃縮・溶出方法とグラジエントによるHPLCでの分析方法を検討した。その結果若干の知見を得たので報告する。

2. 方 法

2-1 試薬および器具

(1) 標準試薬及び使用溶媒

フタル酸ジメチル(DMP), フタル酸ジエチル(DEP), フタル酸ジ-n-プロピル(DPP), フタル酸ジブチル(DBP), フタル酸ジヘプチル(DHP), フタル

酸ジ-2-エチルヘキシル(DEHP), (フタル酸エステル試験用, 和光純薬)を用いた。混合標準液は80%アセトニトリルに12~15 $\mu\text{g}/\ell$ の濃度で保存し適宜希釈した。使用溶媒はHPLC用アセトニトリル, 残留農業試験用メタノール(Merck)を使用した。

(2) カートリッジカラム及び充填剤

固相抽出用カートリッジカラムに Adsorbex RP-18/400 mg (Merck), 分離用カラムに2.6×500 mm ステンレスカラム, 充填剤にイナートシル ODS-2 (5 μm) (GLサイエンス)を用いた。

2-2 装 置

試料の吸引に水流アスピレーターを用いた。

HPLC分析機器にL-6000 インテリジェントポンプ, L-4000 UV 検出器, D-2500 インテグレーターを使用した。

ガラス器具はメタノール洗浄後使用した。

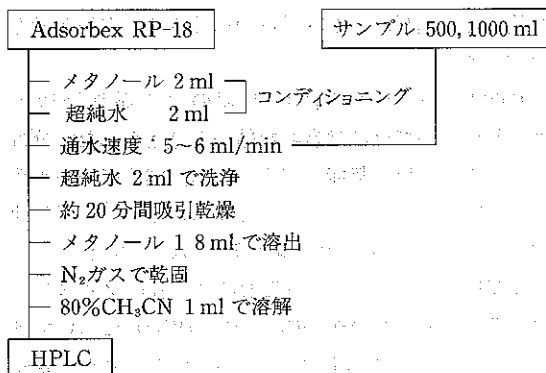
2-3 固相抽出方法

Adsorbex RP-18 のコンディショニングはメタノール2 ml, 膨潤には超純水2 mlを用いた。試料のpH域は5~8の範囲で, カートリッジへの負荷はアスピレーターを用いて固相から気泡が発生しない程度の流速の約5~6 ml/min で吸引負荷した。負荷終了後超純水2 ml で洗浄し次に約20分間アスピレーターでカートリッジを吸引し固相を乾燥させた。乾燥後メタ

ノール 1.8 ml で溶出し²⁾, 溶出メタノールを窒素ガスで乾固し, 80%アセトニトリル溶液 1 ml で溶解し HPLC の注入試料とした。Adsorbex RP-18 への最大負荷容量は 1000 ml までとした (Scheme 1)。

2-4 HPLC 条件

カラム充填剤にイナートシル ODS-2 (5 μm) を用い, 2.6×500 mm のステンレスカラムに充填し使用した。作成したカラムの理論段数は 9216 であった。移動相は 90%, 100% のアセトニトリル溶液を使用した³⁾。グラジエントプログラムは T1: 90%-90%, 13 min, T2: 90%-100%, 22 min, T3: 100%-100%, 10 min, T4: 90%-90%, 15 min, の合計 60 分で設定した (Fig. 1)。流速は 0.32 ml/min の室温で, 検出波長は UV 226 nm で測定した。一回の注入量は 100 μl サンプルループを用いて 50 μl 注入測定した。



Scheme 1 Extractive method by a solid phase of phthalate esters.

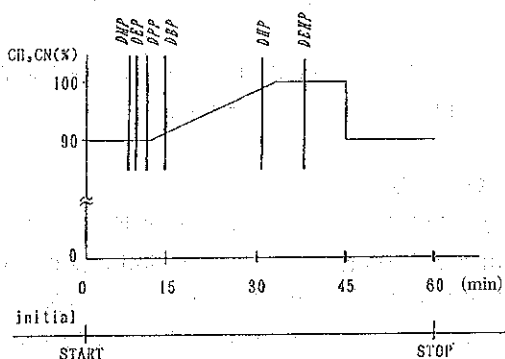


Fig. 1 Gradient cycle for analysis of 6 phthalate esters.

3. 結果

試料の吸引速度は固相通過後, 気泡が発生しない程度の流速で約 5~6 ml/min が適当であった。また初期速度を最後まで一定に保持するようにした。

負荷後のクリーンナップについては超純水 2 ml で洗浄する方法が夾雑物の除去及び標準液の添加回収率の維持に最も適切であった。1000 倍濃縮での添加回収率は平均 82.2% であった。特に多く使用される DEP, DBP, DEHP については平均 102.7% の精度であった (Table 1)。

添加回収液による 2 点の相関係数は DMP $r=0.943$, DEP $r=0.923$, DPP $r=0.910$, DBP $r=0.915$, DHP $r=0.930$, DEHP $r=0.925$ であった。

Table 1 Added Volumes (μg) recovery (%) and coefficient of Variation (%) in extract of enriched 6 phthalate esters by a factor of 1000. (n=5)

Compound	Add (μg)	Recovery (%)	C. V. (%)
DMP	1.48	51.3	2.66
DEP	1.34	98.5	1.84
DPP	1.32	83.4	1.45
DBP	1.36	110.4	2.07
DHP	1.30	50.7	6.71
DEHP	1.12	99.1	2.99

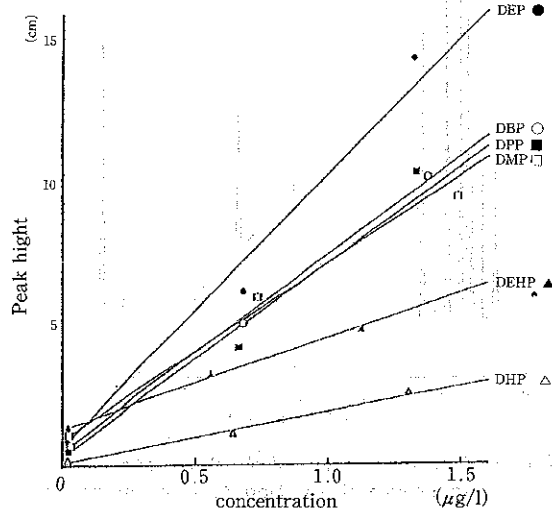


Fig. 2 Correlations for peak height (cm) and concentration (μg/l) in added recovery solution of enriched 6 phthalate esters by a factor of 1000.

(Fig 2)。

以上の条件による HPLC での標準液と添加回収液

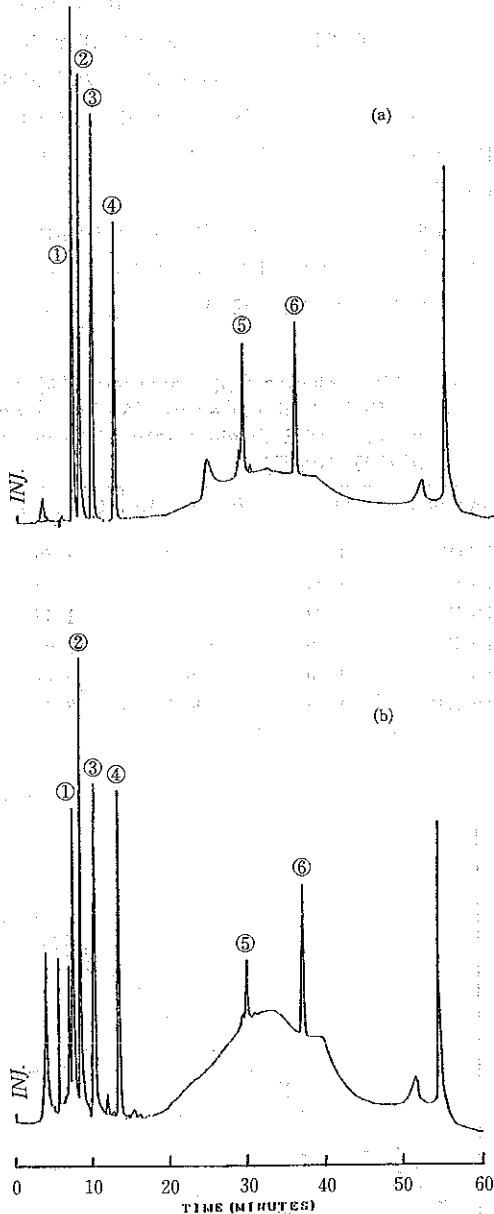


Fig. 3 Chromatograms of phthalate esters (a) in standard solution and (b) in added recovery solution. peak identification ① dimethylphthalate, ② diethylphthalate, ③ di-n-propylphthalate, ④ dibutylphthalate ⑤ diheptylphthalate, ⑥ di-(2-ethylhexyl)phthalate.

のクロマトグラムは (Fig 3) のとおりであった。使用したカラムの理論段数は 9216 であった。

ブランクノイズピーク高の変動係数は測定回数 $n=5$ で DEP 12.41%, DBP 8.22%, DEHP 7.46% であった。

定量限界については、ブランクノイズとの関係からノイズピーク高のそれぞれについて約 1.5~2 倍の濃度で設定し、DMP 0.3, DEP 0.3, DPP 0.2, DBP 0.3, DHP 0.2, DEHP 0.5, ($\mu\text{g}/\ell$) とした。

4. 考 察

C₁₈ の固相については他社の製品 (Waters 社, J & W SCIENTIFIC 社) についても検討したが回収率が低く適用しなかった。

試料の負荷速度の途中変更は回収率を低下させる原因となった。

負荷後のクリーンナップについては洗浄液の pH 域を検討した結果、pH 6.5 付近の超純水での洗浄が最も適切であった。

1000 倍濃縮での 6 種 PAE 類の平均添加回収率 82.2% についてはほぼ良好な結果と考えられた。分析カラムの選定は分離能を高めるため、細くて長いカラム (2.6 × 500 mm) にイナートシル ODS-2 を充填し使用したところ 9216 の高理論段数で分析できた。

定量限界については PAE 類それぞれのノイズピークに関して設定したが DEP, DBP, DEHP についてはノイズレベルと変動係数をさらに小さくする必要があった。しかしブランクノイズについては実験室内汚染以外に水道水及び超純水中から DBP, DEHP が常に微量に検出され、その検出値から定量限界を設定する必要があると考えられ、今後の定量上の課題として残された。

同時に実験室内汚染を最小限に防止することも定量精度の向上につながるものと思われた。

5. 結 語

試料の抽出法については従来の液-液抽出に変えて C-18 による固相抽出をおこなった。抽出法は 6 種類の PAE 類を対象に適切な吸引速度で固相へ負荷し一定の溶出条件で分取した。添加回収率平均は 82.2% であった。

HPLC による分析はカラム充填剤にイナートシル

ODS-2 (5 μ m) を用い 2.6 \times 500 mm のステンレスカラムに充填し使用した。理論段数は 9216 であった。

移動相は 90%, 100% のアセトニトリルを用いグラジエントを用い定量した。定量精度は相関係数で 6 種類平均 $r=0.92$ とほぼ良好であった。

6. 文 献

- 1) 中村好志: 衛生化学, vol.33 (2), 71-89, 1987.
- 2) JACK L. ROBINSON: Journal of Chromatography, 402, 201-210, 1987.
- 3) Michael W. Dong and Joseph L. Dicesare: Journal of Chromatographic Science, vol. 20, November, 1982.

Investigation of method for detecting Phthalate esters in underground water using an extraction column. (Part 1)

Junichi Akaishi, Yukio Urashima, Takashi Otani and Yuko Kikuchi

An investigation of an analyzing method for detecting dimethylphthalate diethylphthalate di-n-propylphthalate dibutylphthalate diheptylphthalate and di-(2-ethylhexyl)phthalate in underground water was conducted.

Adsorbex RP-18 was used for the concentration and the extraction of phthalate esters from specimens.

The recovery rate of 6 phthalate esters averaged 82.2% using an extraction column. The HPLC assay was carried out with 80% to 100% acetonitrile using the gradient method and a reverse phase type column (2.6 \times 500mm). 6 phthalate esters were able to be successfully separated and analyzed within a sixty minute cycle.