

環境汚染微量化学物質の定量法

環境技術センター 村上 雅志 / 吉田 寧子 / 木村 義孝

1 はじめに

近年、ダイオキシン類、内分泌かく乱化学物質(いわゆる環境ホルモン)^{1,2)}、残留性有機汚染物質(POPs)³⁾といった物質が環境汚染問題としてクローズアップされている。これらは、これまで検出できなかったごく微量レベルで健康影響や生態影響が懸念されるものや、地球規模での汚染防止を考える必要がある物質であり、これまでの環境分析の枠にとどまらないアプローチが重要となっており、微量汚染化学物質定量に関する要求は定量レベル、データの信頼性ともますます高まっている。今回は微量汚染化学物質の定量法で重要となる分析精度管理とノニルフェノール関連物質およびニトロ化多環芳香族炭化水素類の測定例の紹介、今後の環境汚染微量化学物質測定法の動向について述べる。

2 分析精度管理⁴⁾

測定データの信頼性確保のための精度管理として、標準作業手順(SOP)を作成し、分析操作に用いる器具・装置、測定値の評価と管理を適切に行う必要がある。

2.1 試料採取

試料採取においては、予め測定に妨害を及ぼすことがないことを確認し、操作ブランク値を可能な限り低減させる配慮が必要となる。そのため、採取容器は対象物質に応じた洗浄法が重要であり、たとえばフタル酸エステル類

の場合はブランク低減のためにアセトン、ヘキサンで洗浄後、電気炉で数時間加熱することもある。

2.2 検出下限値について

分析値評価の基準となる検出下限値は、装置検出下限値(IDL: Instrumental Detection Limit)、分析法の検出下限値(MDL: Method Detection Limit)の確認が必要で、IDL、MDLの算出方法は以下の通りである。操作ブランクの検出有無とその検出レベルはMDLに大きく影響を及ぼすため可能な限り低減させておく必要がある。

IDL; 最低濃度の検量線作成用標準溶液またはS/N比5~15程度の濃度標準液の繰り返し測定標準偏差の2倍
MDL; 5回以上の空試験(操作ブランク)または添加回収試験の標準偏差(s)から次式により算出する。

$$MDL = s \times t(n-1, 0.05)$$

ここで、 $t(n-1, 0.05)$ は自由度n-1の危険率5%(片側)のt値であり、試行数n=6の場合2.015を用いる。

2.3 回収率測定

試料液中濃度が定量下限値の10倍程度となるように測定対象物質を試料マトリックスに添加し、所定の分析操作を行い、概ね80~120%の回収率、また同位体希釈法の場合にはサロゲート物質について50~120%の回収率が得られることを確認する。回収率の測定は実試料の測定に先立って行うが、

回収率に影響を及ぼす試験条件の変更があった場合は再確認の必要がある。

2.4 装置感度変動の日常チェック

1日に1回以上、または10試料に1回以上、検量線の間濃度標準液を測定し、検量線作成時からの感度変動が±20%以内であることを確認する。

2.5 操作ブランク試験、二重測定

10試料ごとに1回または1日に1回を目安に実施する。

2.6 トラベルブランク測定

試料採取準備から試料測定までの汚染の有無を確認するために実施し、移送中の汚染が考えられる場合には一連の試料採取において10%程度の頻度、少なくとも3試料以上で実施する。

3 測定例

3.1 ノニルフェノール関連物質の定量法^{5,6)}

ここではノニルフェノールエトキシカルボン酸(NPnEC)を中心に分析例を紹介する。ノニルフェノールエトキシレート(NPnEO)は非イオン系の界面活性剤として広く用いられているものの一種であるが、その原料および分解生成物であるノニルフェノール(NP)は水生生物への環境ホルモン作用が認められている物質のひとつである。NPnEOからNPにいたる分解経路としては、エーテルの開裂によりエトキシ基が段階的に減少してNP(n-1)

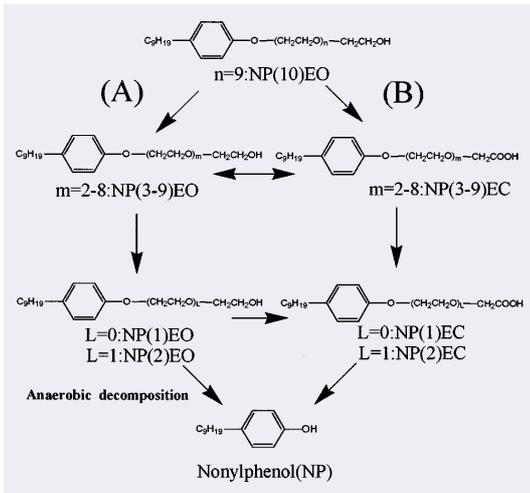


図1 ノニルフェノール関連物質の分解経路^{8,9)}

EOを生成する経路，末端のアルコールの酸化によりNPnECが生成する経路のふたつが報告されている^{7,8)}。これらは界面活性剤としての使用量すなわち環境への負荷量が大いこと，またNPnEC自体の内分泌攪乱作用についても報告されていることから注目されている物質である。図1に分解経路を示す。

3.1.1 測定法

下水処理水又は河川水500mLをガラス繊維ろ紙を用いてろ過し，ろ紙は

表1 NPnEC測定条件

使用機器	Agilent 1100MSD	
HPLC	Column	SUMIPAX ODS-L-05-2015 5μm, 2mm × 150mm
	Temp.	40
	Mobile phase	5mM 酢酸アンモニウム / メタノール
	Injection	30μL
	Flow rate	0.2mL/min
MS	Ionization Mode	API-ES
	Polarity	Negative
	Fragmenter	90V
	Gas Temp.	320
	Drying gas	12.0 L/min
	SIM Ion	NP1EC 277.1 NP2EC 219.1又は321.2 NP3EC 365.2

表2 NPnECのIDL

	平均値 (n=5)	標準偏差,	IDL, 2 ×
NP1EC	0.0066	0.000084	0.00017
NP2EC	0.0067	0.000055	0.00011
NP3EC	0.0070	0.00028	0.00056

5mLのメタノールで2回抽出し，ろ過試料をメタノールおよび精製水でコンディショニングした固相カラム (C18) に通水捕集後，メタノール10mLで溶出し，窒素パージで溶媒を除去し，クロロホルムで溶解し1mLとした。次にヘキサンで湿式充填した5%含水シリカゲルカラム (5g) に負荷したのち，クロロホルム50mLの画分を廃棄してメタ

ノール/クロロホルム50/50(v/v) 80mLの画分を採取し，ロータリーエバポレータおよび窒素パージ下で濃縮し，メタノールで1mLとしたものをLC/MS測定用試料とした。

3.1.2 測定結果

検量線の例を図2に示す。精製水を用いて標準溶液の添加回収試験を行った結果から検出下限値 (MDL; Method Detection Limit) を算出した。それぞれ

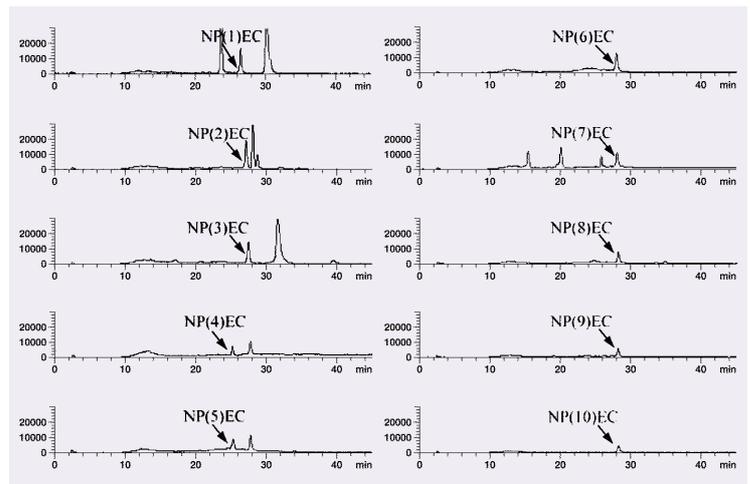


図3 都市下水処理場流入水の測定クロマトグラム

表3 0.05 μg/L添加回収試験より求めたNPnECのMDL (単位: μg/L)

	平均値 (n=5)	平均回収率 (%)	標準偏差,	MDL 2.132 ×
NP1EC	0.0443	88.6	0.0024	0.0051
NP2EC	0.0388	77.6	0.0029	0.0062
NP3EC	0.0465	93.0	0.00094	0.0020

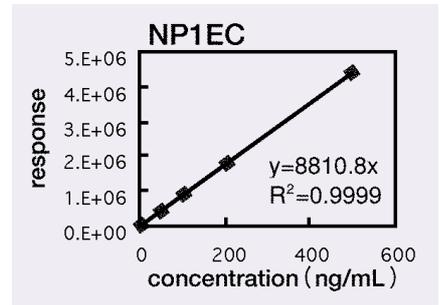


図2 NP1EC検量線

数は5とした。求めたIDLおよびMDLを表2および表3に示す。ここではNPnEC (n=1~3) のデータを示したが，(n=1~10) の測定が可能となっている。本分析法を都市下水処理場流入水に用いたときの測定クロマトグラムを図3に示す。またNPnEO (n=1~15) についてもLC/MSを用いた分析法を検討し，良好な結果を得ている。

3.2 ニトロ化多環芳香族炭化水素類の定量法⁹⁾

多環芳香族炭化水素類 (PAHs) がニトロ化したニトロ化多環芳香族炭化

表4 NPAHs測定条件

HPLC装置	島津製作所 LC-10A VP system / 化学発光検出器 (CLD)
カラム	SCAS SUMIPAX ODS-J 5μm, 4.6mm × 250mm, 28
移動相	アセトニトリル - 10mMイミダゾール・過塩素酸緩衝液pH 7.6 (1:1, v/v), 流量 1.0mL/min
化学発光試液	0.02mMシュウ酸ビス(2,4,6-トリクロロフェニル)(TCPO) - 15mM過酸化水素(H ₂ O ₂)アセトニトリル溶液, 流量 1.0mL / min
化学発光反応コイル	PTFE製チューブ, 0.5mm i.d. × 300mm
フォトマル印加電圧	0.80kV, 検出部温度: 30

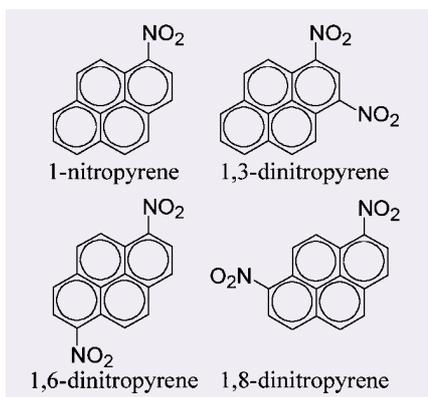


図4 NPAHsの構造

水素類(ニトロアレーン: NPAHs)は, PAHsと比較して10~100倍も変異原性が高いことが一般に知られている。NPAHsのような化学物質は排ガス中の浮遊粒子状物質(Suspended Particle Matter: SPM)に多く含まれており, その主な発生源としてディーゼル機関¹⁰⁾などが疑われている。最近の調査¹¹⁾で, SPMの中でも粒径2.5 μm以下の浮遊粒子状物質(PM 2.5)が人体に与える影響が高いことが報告されており, PM2.5に含まれ

る化学物質の分析は重要と考えられているが, 大気中のPM2.5存在量は非常に少なく, 化学物質成分分析を行うためには高感度な測定法が必要とされている。

NPAHsの測定はGC/MS法やHPLC/蛍光検出法などで行われているが, 検出感度があまり高くなく, 大気粉じん中の濃度を測るためには長時間のサンプリングにより採取粉じん量を多くする必要がある。そこで上記の測定法に比べて対象物質によっては100倍以上の高感度化が可能であるHPLC/化学発光検出器(CLD)を用いた測定法^{12, 13)}により, PM2.5中のNPAHsを測定した結果をここで紹介する。

3.2.1 測定法

測定対象物質は1-nitropyrene(1-NP), 1,3-dini-

trophyrene(1,3-DNP), 1,6-dinitropyrene(1,6-DNP)および1,8-dinitropyrene(1,8-DNP)とし, これらの構造式を図4に示す。

大気中のPM2.5は採取装置により石英ろ紙(47mm)上に捕集し, ろ紙を裁断して溶媒を用いて超音波抽出を行い, アルカリ, 酸および純水の順に洗浄して濃縮を行った。水酸化ナトリウムを用いてNPAHsをアミノアレーン(APAHs)に還元した後, HPLC/CLD法により測定する。

3.2.2 測定結果

PM2.5試料は Speciation Aerosol Sampling System (SASS, 米 Met One Instrument社)を用いて, 主要幹線道路沿道の平日および休日ならびに工場地帯の3地点で2日間48時間のサンプリング(採取容量: 約20m³)により採取した。また, PM2.5とPM10試料についてはMiniVol(米 AIRMETRICS社)を用いて, 郊外,

表5 NPAHs装置検出下限値(IDL)

(単位; μg/L)

	平均値(n=7)	標準偏差,	IDL, 2 ×
1-NP	0.159	0.010	0.020
1,3-DNP	0.135	0.010	0.020
1,6-DNP	0.136	0.007	0.014
1,8-DNP	0.169	0.009	0.018

表6 NPAHs検出下限値(MDL)

(単位; μg/L)

	平均値(n=5)	標準偏差,	MDL, 2.132 ×
1-NP	0.522	0.021	0.045
1,3-DNP	0.505	0.036	0.077
1,6-DNP	0.43	0.028	0.060
1,8-DNP	0.375	0.021	0.045

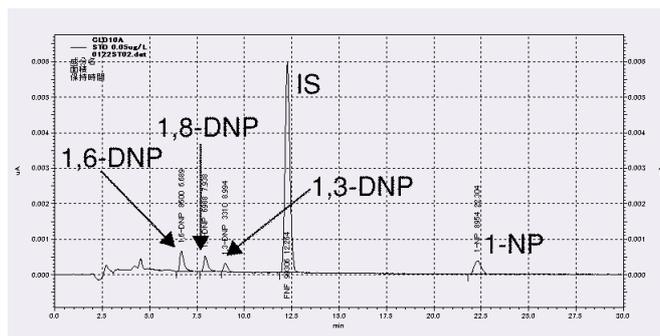


図5 混合標準溶液の測定クロマトグラム

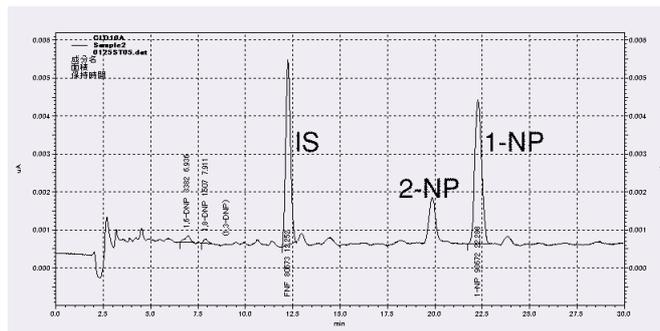


図6 休日採取試料の測定クロマトグラム

表7 PM2.5中のNPAHs定量例

(単位: $\mu\text{g}/\text{m}^3$)

サンプリング地点	1-NP	1,3-DNP	1,6-DNP	1,8-DNP
主要幹線道路(平日)	90	< 1	< 1	< 1
主要幹線道路(休日)	40	< 1	< 1	< 1
工場地帯	20	< 1	< 1	< 1

表8 PM2.5およびPM10中の1-NP and DNPs定量例(単位: $\mu\text{g}/\text{m}^3$)

サンプリング地点	PM mode	1-NP	DNPs
田園地帯	PM2.5	2.1	< 2.0
	PM10	2.2	< 2.0
工場地帯	PM2.5	5.0(75%)	< 2.0
	PM10	6.6	< 2.0
都市部	PM2.5	5.6(79%)	< 2.0
	PM10	7.1	< 2.0

括弧内はPM10中の1-NPを100%とした時の比率

都市部および工場地帯の3地点で同時に24時間のサンプリング(採取容量:約 7.6m^3)により採取した。

装置検出下限値(IDL)および検出下限値(MDL)を表5および表6に示すが,装置検出下限値は4物質共に絶対注入量で 2pg となった。絶対注入量 5pg の測定クロマトグラムを図5に示す。

試料採取量が 10m^3 の場合,採取量ベースの検出下限値は $2\text{pg}/\text{m}^3$,定量下限値は $6\text{pg}/\text{m}^3$ となり,また抽出から測定までの全工程における回収率は $70\sim 120\%$,相対標準偏差は $4\sim 8\%$ と高精度な測定が可能であった。

主要幹線道路沿道の平日および休日ならびに工場地帯の試料測定の結果,1-NPがそれぞれ90,40および $20\text{pg}/\text{m}^3$ の濃度で検出されたが,DNP類はいずれも検出下限以下であった。1-NPは移動発生源による寄与が高いと予想される。また休日採取試料の測定結果から,大気中で2次生成される2-NPの存在が示唆された。休日採取試料の測定クロマトグラムを図6に示す。

PM2.5およびPM10中のNPAHs測定結果を表8に示す。DNP類は

3試料共に不検出,1-NPの検出量は田園地帯が最も少なく,工場地帯,都市部の順に多くなった。工場地帯と都市部では,PM2.5の1-NP検出量はPM10の1-NP検出量に対して80%弱となり,1-NPはPM2.5以下の粒子に多く付着

していることが推測される。

4 おわりに

化学物質の環境汚染調査については昭和54年から化学物質環境汚染実態調査(黒本調査)により実施されてきているが,近年の「化学物質排出把握管理促進法(PRTR法)」やPOPs条約等への対応をふまえ,調査内容の見直しが行われている。この見直しにおいては化学物質対策における環境汚染調査の位置づけが明確にされ,ニーズに応じた調査対象物質の選定,リスク評価に必要な暴露量調査の強化,非意図的生成化学物質の調査等を充実する方向になっている。

一方EPAにおいては未規制の汚染物質のモニタリングと将来の規制対象となる潜在的な物質特定のために汚染候補物質リスト(Contaminate Candidate List)が1998年に発表されており¹⁴⁾,化学物質とともに微生物も対象として含まれている。日本においても上水水質基準のWHOガイドラインへの対応が始まるなど,今後微量汚染化学物質に関する関心はますます高まるものと考えられるため,一層の

技術力向上に向けて積極的に新規物質に取り組んでいきたい。

文献

- 奪われし未来(シーア・コルボーンら)
- 内分泌攪乱化学物質問題への環境庁の対応方針について-環境ホルモン戦略計画SPEED '98-2000年11月版 環境庁
- 残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約(POPs条約)
- 要調査項目等調査マニュアル(平成14年9月),環境省環境管理局水環境部企画課
- 吉田,木村,村上,蛭子,竹田,加藤,第4回環境ホルモン学会研究発表会要旨集 p91(2001)
- 吉田,竹田,加藤,佐藤,高田,磯部,第36回日本水環境学会年会講演集 p432(2002)
- Renner,R., Environ. Sci. Tech., 31, pp. 316A-320A, 1997
- Ball, H.A., M. Reinhard, P. L. McCarty, Environ. Sci. Technol., 23, pp. 951-961, 1989.
- 木村,蛭子,村上,加藤,竹田,早川,第11回環境化学討論会講演要旨集 p238-239(2002)
- ディーゼル排気微粒子リスク評価検討会:平成13年度報告,(2002)
- Wilson, W. E., 大気環境学会誌, 33, A67-A76(1998)
- K. Hayakawa et al., Anal. Sci., 7, 573-577(1991)
- K. Hayakawa et al., Anal. Chim. Acta, 266, 251-256(1992)
- <http://www.epa.gov/ogwdw/ccl/cclfs.html>



村上 雅志
(むらかみ まさし)
環境技術センター



吉田 寧子
(よしだ やすこ)
環境技術センター



木村 義孝
(きむら よしたか)
環境技術センター