

LC/MSによる河川水中のアルキルフェノール類の分析法の検討

A Study on the Determination of Alkylphenols in River Water by LC/MS

阿部 公恵 渡部 正弘 三沢 松子
阿部 時男*

Kimie ABE, Masahiro WATANABE, Matsuko MISAWA
Tokio ABE

キーワード：アルキルフェノール類，LC/MS，フラグメンター電圧，河川水，
外因性内分泌攪乱化学物質

Key Words : Alkylphenols , LC/MS , Fragmentor Voltage , River Water ,
Endocrine Disrupters

内分泌攪乱作用が確認されているアルキルフェノール類を対象としてLC/MSによる分析法の検討を行った。その結果、夾雑物の多い環境試料について、フラグメンター電圧を上げることにより生じたフラグメントイオンをモニターイオンにすることにより目的物質を検出することが可能になった。また、本分析法を用いて県内2河川の実態調査を行った。

1 はじめに

アルキルフェノール類は、界面活性剤であるアルキルフェノールエトキシレート¹⁾の分解生成物であり、環境中に広く存在していることが知られている¹⁾。その中で、ノニルフェノールや4-tert-オクチルフェノールは、魚類に対する内分泌攪乱作用を有することが確認されている²⁾ことから、それらの濃度を把握し、環境中での挙動を明らかにすることは重要である。「外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル」(1998年環境庁策定)ではGC/MSによる分析法が示されているが、十分な感度が得られないことや誘導体化を必要とすることなど操作が煩雑である。そこで、今回選択性及び検出感度に優れているLC/MSを用いた分析法を検討し、良好な結果が得られたので報告する。また、この方法を用いた県内2河川の実態調査結果も併せて報告する。

2 方法

2.1 分析対象物質

環境省が示した「環境ホルモン戦略SPEED'98」にアルキルフェノール類としてリストアップされている4-tert-ブチルフェノール、4-n-ペンチルフェノール、4-n-ヘキシルフェノール、4-n-ヘプチルフェノール、4-tert-オクチルフェノール、4-n-オクチルフェノール及び4-ノニルフェノール(mix)の7物質を対象とした。対象物質ごとのモニターイオンを表1に示した。

* 現 宮城県下水道公社

表1 対象物質

化合物名	モニターイオン	
4-tert-butylphenol	149	
4-n-pentylphenol	163	
4-n-hexylphenol	177	106
4-n-heptylphenol	191	
4-tert-octylphenol	205	
4-n-octylphenol	205	
4-nonylphenol (mix)	219	133

2.2 試薬

標準品は、関東化学製の各標準品及びアルキルフェノール混合標準液を用いた。アセトニトリル及びメタノールは関東化学製のHPLC測定用、アセトンは関東化学製の残留農薬試験用、塩酸は関東化学製の有害金属測定用を用いた。また、精製水は日本ミリポア製純水製造装置より採取した水を用いた。固相カートリッジはWaters社製のOasisHLB GLASSカートリッジ6cc/200mgを用いた。

2.3 前処理法

前処理法は、米久保らの方法に準じた³⁾。あらかじめアセトニトリル3ml、メタノール3ml、超純水3mlで洗浄及びコンディショニングしたOasisHLB GLASSカートリッジに10%塩酸でpH3.0に調整した試料水500mlを10ml/分で通水する。通水後、5%メタノール水溶液3mlで洗浄し、3分間吸引乾燥する。アセトニトリル6mlで

溶出させ、窒素気流吹き付けで約0.5mlまで濃縮し超純水を加えて1mlとする。

2.4 装置及び分析条件

高速液体クロマトグラフ/質量分析計(LC/MS)はAgilent社製Agilent 1100 Series LC/MSD, 分析カラムはWaters社製X Terra™ MS C18(内径2.1mm×長さ150mm, 膜厚3.5µm), 移動相はメタノール/水系を使用した。イオン化法はESIの負イオンモード(Negative Mode), 定量はSIM法で行った。測定条件を表2に示した。

表2 LC/MS条件

HPLC	カラム	X Terra™C18 (内径2.1mm×長さ150mm, 膜厚3.5µm)
	移動相	A: 水 B: メタノール
	グラジエント	B: 70%から90%(6分間) B: 90%から100%(7分間) 2分間保持
	流速	0.2ml/分
	カラム温度	40
	注入量	10 µl
MS	イオン化法	ESI, Negative Mode
	ネブライザー及び圧力	N ₂ 50psi
	キャピラリー-電圧	5000V
	乾燥ガス, 流量及び温度	N ₂ , 10 l/分, 350
	フラグメンター電圧	150V, 200V

3 結果

3.1 標準液のSIMクロマトグラム

図1に標準液(25 µg/l)を分析した時のSIMクロマトグラムを示した。モニターイオンは, すべての物質で擬分子イオン[M-H]とした。

3.2 フラグメンター電圧の検討

フラグメンター電圧について最適化を行ったところ, 擬分子イオン[M-H]のピーク強度が最大であったのは150Vであった。しかし, 河川水では, フラグメンター電圧を150Vにした場合, 4-ノニルフェノールと4-n-ヘキシルフェノールの位置に妨害ピークがあり, 擬分子イオンでは定量できなかった。そこで, LC条件を変えずにフ

ラグメンター電圧を200Vにすることにより生じたフラグメントイオンをモニターイオンにした結果, 目的物質のピークから妨害ピークを取り除くことができた(図2, 3)。さらに, この条件で既知濃度の検体を擬分子イオン及びフラグメントイオンをそれぞれモニターイオンとして定量したところその濃度はほぼ一致した。

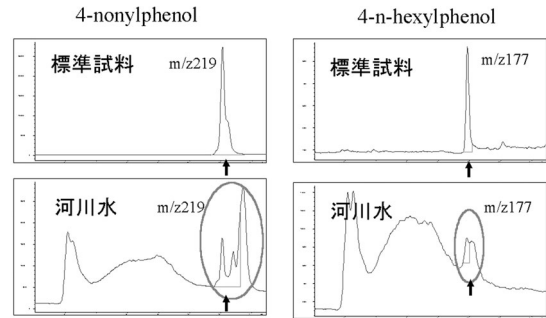


図2 フラグメンター電圧150VのSIMクロマトグラム

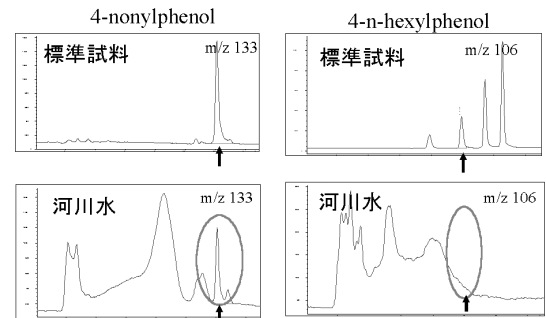


図3 フラグメンター電圧200VのSIMクロマトグラム

3.3 検量線, 検出下限値, 定量下限値及び添加回収試験

検量線を5 µg/lから100 µg/l(4-ノニルフェノールは10 µg/lから1000 µg/l)の範囲で絶対検量法により作成したところ, すべての化合物で良好な結果(R² > 0.999)が得られた(図4)。

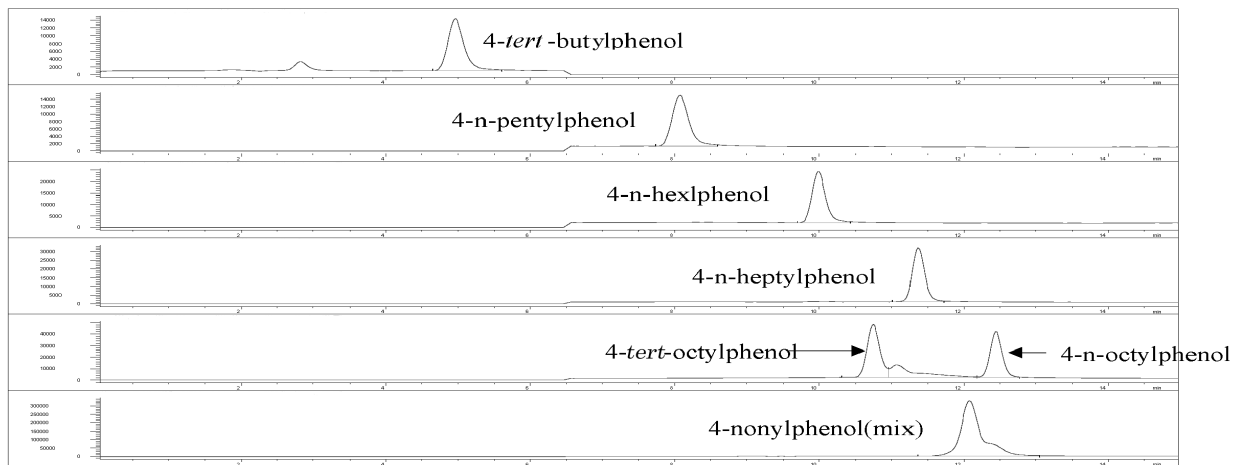


図1 LC/MS SIM クロマトグラム (25µg/l)

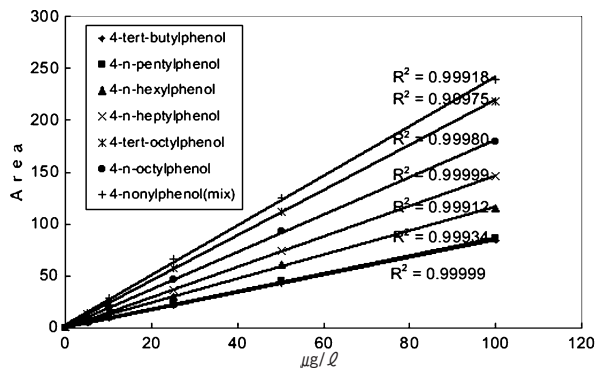


図4 検量線

表3 装置の検出下限値及び定量下限値

単位: µg/l

化合物名	平均値	標準偏差	CV (%)	検出下限 3	定量下限 10
4-tert-butylphenol	5.03	0.0640	1.3	0.192	0.64
4-n-pentylphenol	4.96	0.0843	1.7	0.253	0.84
4-n-hexylphenol	4.87	0.2797	5.7	0.839	2.80
4-n-heptylphenol	4.91	0.1676	3.4	0.503	1.68
4-tert-octylphenol	4.87	0.1424	2.9	0.427	1.42
4-n-octylphenol	4.50	0.2955	6.6	0.887	2.96
4-nonylphenol(mix)	6.09	0.4720	7.7	1.416	4.72

n = 5 (注入量10 µl)

表4 添加回収試験

単位: µg/l

化合物名	平均値	回収率 (%)
4-tert-butylphenol	24.8	99.2
4-n-pentylphenol	23.7	94.8
4-n-hexylphenol	23.3	93.2
4-n-heptylphenol	20.8	83.2
4-tert-octylphenol	28.8	115.2
4-n-octylphenol	15.6	62.4
4-nonylphenol (mix)	189.8	75.9

n=3

また、装置の検出下限値は0.192~1.416 µg/l、定量下限値は0.64~4.72 µg/lと低く、変動係数もすべて10%以下と良好な値を示した(表3)

測定対象物質を25 µg/l(4-ノニルフェノールは、250 µg/l)になるように添加し、添加回収試験を行ったところ、添加回収率は、4-n-オクチルフェノールの62.4%を除き75.9%から115.2%と概ね良好であった(表4)。なお4-n-オクチルフェノールの添加回収率については、今後さらに検討する必要がある。

3.4 河川水の調査

平成13年度の調査でノニルフェノールが検出された吉田川及び増田川の2河川について、流域ごと及び時間帯ごとに調査を行なった。その結果を表5に示す。

吉田川では、すべての地点でアルキルフェノール類は、検出されなかった。

増田川では、4-ノニルフェノールが、中流(舟橋)の午後に0.08 µg/l、下流(柚の木橋)の午前に0.04 µg/l、午後に0.03 µg/l検出されたが、環境省が提示している魚類に対する予測無影響濃度の0.608 µg/l²⁾を下回った。また、4-ノニルフェノール以外のアルキルフェノール類は、検出されなかった。

なお、時間帯ごとの大きな差は認められなかった。

4 まとめ

アルキルフェノール類についてLC/MSによる分析法の検討を行った結果、簡便で高感度な分析法を確立することができた。さらに、本法を河川水に適用したところ、LC条件を変えずフラグメンター電圧を上げることにより生じたフラグメントイオンをモニターイオンにした結果、目的物質のピークから妨害ピークを取り除くことができた。

また、河川水の調査を行った結果、増田川において4-ノニルフェノールが検出されたが、魚類に対する予測無影響濃度の0.608 µg/l²⁾を下回った。

今後はこの方法を用い、他の公共用水域についても汚染状況を明らかにするとともに、アルキルフェノール類による汚染の原因物質であるアルキルフェノールエトキ

表5 河川水調査結果

単位: µg/l

化合物名	吉田川						増田川					
	二子屋橋(上流)		悟溪寺橋(中流)		二子屋橋(下流)		河原前橋(上流)		舟橋(中流)		柚子橋(下流)	
	11:03	14:10	10:40	13:45	9:51	13:10	11:30	14:45	10:41	14:15	10:17	13:55
4-tert-butylphenol	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
4-n-pentylphenol	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
4-n-hexylphenol	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
4-n-heptylphenol	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
4-tert-octylphenol	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
4-n-octylphenol	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
4-nonylphenol(mix)	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	0.08	0.04	0.03

(平成14年11月25日採水)

シレートの挙動も把握する必要がある。

参 考 文 献

- 1) 水環境学会「水環境と洗剤研究委員会」編：非イオン界面活性剤と水環境，51，技報堂出版（2000）
- 2) 環境省総合環境政策局環境保健部：ノニルフェノールが魚毒に与える内分泌攪乱作用の試験結果に関する報告（2001）
- 3) 米久保 淳他：分析化学，48，6，571 - 577（1999）