

環境中の合成高分子化合物による由来物質及び環境ホルモン 化合物の動態解析(1) —NO_x, SO_xの環境動態とフェノールの高感度計測—

Studies on the Dynamics of Endocrine Disruptors and Chemical Substances Arising from Synthetic Polymers in the Environment —Environmental Dynamics of NO_x and SO_x in the Atmosphere and Highly Sensitive Determination of Phenol—

酒井忠雄, 手嶋紀雄

Tadao SAKAI, Norio TESHIMA

Abstract The dynamics of nitrogen oxides and sulfur oxides as pollutants in air and water samples collected at Nagoya and its environs were investigated by using flow injection (FI) technique. Nitrogen monoxide (NO), nitrogen dioxide (NO₂) and sulfur dioxide (SO₂) as air pollutants were collected by the passive sampling device. NO and NO₂ were determined based on a diazotization/coupling reaction with the copperized cadmium (Cd/Cu) reduction column installed in the FI system. Another FI method using dimethylsulfonazo III-barium chelate was used for SO₂ determination. These proposed FI methods were also applied to the monitoring the concentrations of nitrite nitrogen (N-NO₂⁻) and nitrate nitrogen (N-NO₃⁻) in river water, pond water, rainwater and seawater, and of sulfate ion in seawater. In addition, a sensitive spectrophotometry for the determination of phenol using a solid-phase extraction cartridge was developed. It is based on the oxidative coupling of 4-aminoantipyrine with phenol to form an azo compound (aminoantipyrine dye) in the presence of hexacyanoferrate(III) at pH 10. The proposed method using Sep-Pak C₁₈ or Porapak R_{DX} cartridge showed a high enrichment factor (10 – 100) and made it possible to determine the 1 – 8 ng ml⁻¹ level of phenol with a low relative standard deviation. The recoveries of ng ml⁻¹ levels of phenol added to tap water were satisfactory for both cartridges.

1. はじめに

石油は、衣料、プラスチック製容器、ゴム等の様々な合成高分子を産み出し、さらに熱源や動力源となって現代社会を支えている。しかし、種々の合成高分子からは、内分泌攪乱化学物質、いわゆる環境ホルモンが溶出する可能性が指摘されている。したがって、様々な人工化合物のリスクアセスメントやそのための定量技術の高度化は我々の急務である¹⁾。

高分子材料の燃焼や自動車から排出される窒素酸化物(NO_x)や硫黄酸化物(SO_x)は、環境中で化学形態が変化してラジカル反応を引き起こし、酸性雨をもたらす。国や地方自治体は常時監視局を設置し、NO_x、SO_x等の測定を行っているが、大型装置による定点測定であることから、汚染状況を広域的に把握することは困難である。交通量の多い道路周辺では環境基準を超えることがあり、大気汚染度は高いが、気象条件によっては広域拡散し、間接的に人体の健康に及ぼす影響が懸念される。そこで本研究では、

NO_x、SO_xの環境動態に的をしぼり、大気及び水圏におけるNO_xとSO_x濃度の簡便で迅速なモニタリング法の開発を行い、名古屋市近郊におけるこれら酸化物の動態解析を行った。

一方、フェノール類はフェノール樹脂の原料や医薬品、化粧品の原料として工業的に広く使われており、中でもフェノールは反応性が高いので利用範囲が広い。しかし、排水などに含まれるフェノールは塩素処理や光化学反応などでクロロフェノール、ブromoフェノールに容易に変換されると言われ²⁾、これらのハロゲン化フェノールは環境ホルモンの疑似体として考えることができる。又、水道原水を塩素処理すると、原水中の芳香族化合物によりハロゲン化フェノールが生成する可能性があることが指摘されている³⁾。そこで、本研究では固相抽出を利用してng ml⁻¹レベルのフェノールの高感度定量法を開発したので、併せて報告する。

2. NO_x、SO_xの環境動態

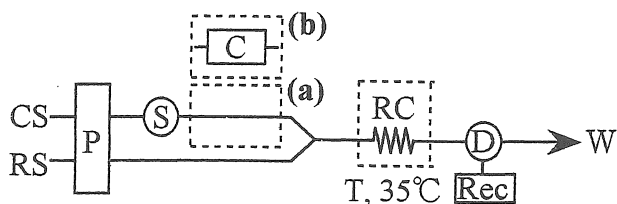


図1 NO₂またはN-NO₂⁻定量(a)及びNO_xまたはN-NO₃⁻定量(b)のためのフローシステム。
CS: キャリヤー溶液{(a)水, (b) EDTAとNH₄Clの混合溶液}; RS: 試薬溶液(スルファニルアミドとN-1-ナフチルエチレンジアミンの混合溶液); P: ポンプ(1.5 ml/min); S: 注入バルブ(100 μl); C: Cd-Cu還元カラム(2 mm i.d.×150 mm); RC: 反応コイル(0.5 mm i.d.×3 m); T: 恒温槽; D: 検出器(540 nm); Rec: 記録計; W: 廃液。

プリングすることができる拡散型サンプラー、いわゆるパッシブサンプラーが考案された⁴⁾⁵⁾。平野らは、このパッシブサンプラーを、NOとNO₂⁶⁾及び二酸化硫黄(SO₂)⁷⁾⁸⁾の同時捕集デバイスとして改良した。しかし、サンプリング後の濃度測定は、NO_xの場合バッチマニュアル式の吸光度法で行われており、捕集濾紙からのNO₂⁻抽出液には未反応のPTIO(2-フェニル-4,4,5,5-テトラメチルイミダゾリン-3-オキシド-1-オキシド)が残留しており、これが測定精度の低下を招いていた。又、SO₂の測定にはイオンクロマトグラフィーが用いられているが、迅速性にいくぶん問題がある。

樋口ら⁹⁾¹⁰⁾は、カドミウム-銅カラム還元-ナフチルエチレンジアミン吸光度法¹¹⁾とフローインジェクション

(FI)分析法を組み合わせ、亜硝酸態窒素(N-NO₂⁻)と硝酸態窒素(N-NO₃⁻)分析法の精度の向上、試薬の低消費化及び分析時間の大幅な短縮を実現した。本研究では、この方法を簡便な環境モニター法として取り入れ、名古屋市近郊における河川、池水、雨水及び海水水中のN-NO₂⁻とN-NO₃⁻の定量を行うとともに、パッシブサンプラーを用いるNOとNO₂の同時定量への導入を試み、自動車交通量に起因するこれら汚染物質の拡散動向の追跡調査を行った。一方、SO_xの測定には、ジメチルスルホナゾIII-バリウム(DMSIII-Ba)錯体とSO₄²⁻との沈殿生成に伴う発色変化を利用する方法^{12)~14)}を採用した。この方法は、0~2 ppmの範囲でSO₄²⁻の検量線を作成することができ高感度で、一検体当たり2分以内の迅速な測定が可能である。しかし、パッシブサンプラーを併用するSO₂測定への適用例は報告されていない。そこで、名古屋市近郊の大気中のSO₂測定についてもFI法を導入し、併せて海水水中のSO₄²⁻定量を行い、濃度変動の把握を試みた。

2・1 実験

2・1・1 NO₂及びN-NO₂⁻の定量操作

図1(a)において、キャリヤー溶液の水と発色溶液をそ

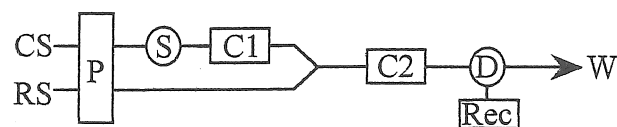


図2 SO₂またはSO₄²⁻定量のためのフローシステム。
CS: キャリヤー溶液(水); RS: 試薬溶液(ジメチルスルホナゾIII-Ba錯体); P: ポンプ(1.5 ml/min); S: 注入バルブ(100 μl); C1: 陽イオン交換樹脂カラム(2.2 mm i.d.×150 mm); C2: 硫酸バリウム固定化ガラスビーズ反応カラム(2.2 mm i.d.×150 mm); D: 検出器(662 nm); Rec: 記録計; W: 廃液。

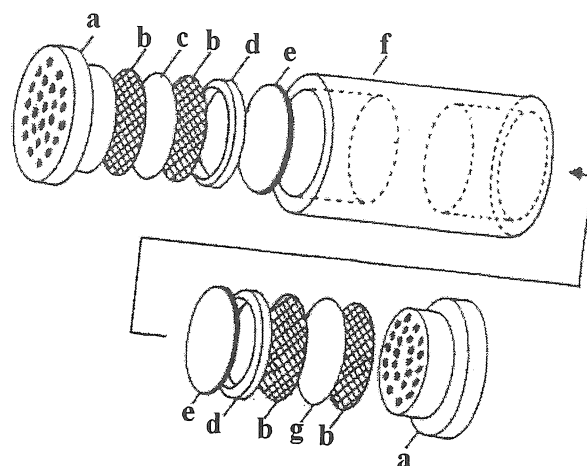


図3 パッシブサンプラーの構造。
a: キャップ; b: ステンレス網; c: NO₂及びSO₂捕集ろ紙(14.5 mm φ); d: テフロンリング; e: テフロン板; f: 本体; g: NO_x捕集ろ紙(14.5 mm φ)。

れぞれ0.75 ml/minの流速で送液した。オートサンプラーより100 μlの試料溶液を注入し、3 mの反応コイル内で反応を行わせ、540 nmにおける吸光度を測定した。

2・1・2 NO_x及びN-NO₃⁻の定量操作

図1(b)において、EDTAと塩化アンモニウムを含むキャリヤー溶液(pH 8.2)と発色溶液をそれぞれ0.75 ml/minの流量で送液した。オートサンプラーより100 μlの試料溶液が注入されると、Cd/Cu還元カラムを通過する。このカラムは、NO_xの定量の際は、NO_x捕集の際に残存したPTIOを還元分解し、N-NO₃⁻の定量の際は、NO₃⁻をNO₂⁻へ還元する働きを持つ。発色試薬と合流後は、2・1・1と同様である。

2・1・3 SO₂及びSO₄²⁻の定量操作

図2において、キャリヤー溶液の水とジメチルスルホナゾIII-バリウム(DMSIII-Ba)錯体溶液をそれぞれ0.75 ml/minの流量で送液した。オートサンプラーより100 μlの試料溶液が注入されると、まず陽イオン交換カラムを通過する。ここで、SO₂の定量の場合は、捕集の際に残存したトリエタノールアミンが除去され、環境水試料の場合は、共存するマグネシウムイオンやカルシウムイオン等の陽イオンが除去される。試料溶液は次いでDMSIII-Ba錯体

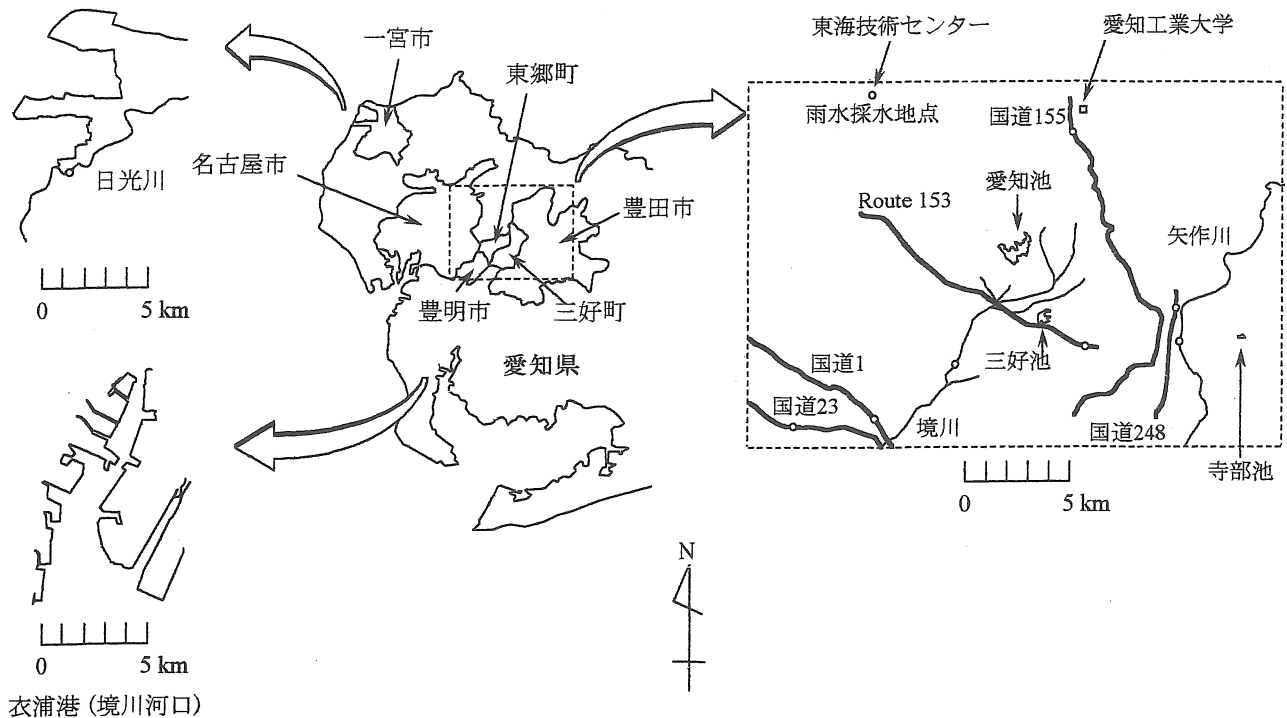


図4 サンプルング地点。

分析対象物：国道における大気試料[NO₂, NO_x (NO+NO₂), NO, SO₂];

河川、池水及び雨水[N-NO₂⁻, N-NO₃⁻];

海水（境川河口）[N-NO₂⁻, N-NO₃⁻, SO₄²⁻].

溶液と合流し、硫酸バリウム固定化反応カラム中で硫酸バリウム沈殿反応が促進される。この際、DMSIII-Ba 錯体 ($\lambda_{max} = 662 \text{ nm}$) は DMSIII へ解離するので、662 nm における吸光度は SO₄²⁻ 濃度に比例して減少する。

2・1・4 パッシブサンプラーの構造

平野らのパッシブサンプラーは、長期曝露用⁷⁾ (4~5週間) と短期曝露用⁸⁾ (1週間以下、通常8~24時間) がある。本研究では後者を利用した。図3にその構造を示す。内部に NO₂ 捕集濾紙と NO_x (NO+NO₂) 捕集濾紙がセットされている。なお、NO₂ 捕集濾紙には、SO₂ も同時に捕集される。

NO₂・SO₂ 捕集濾紙：10 ml のトリエタノールアミンにアセトンを加え、全量を 100 ml とし、これを NO₂・SO₂ 吸収溶液とした。濾紙 (アドバンデック東洋製, No. 50, クロマトグラフィー用) を直径 14.5 mm に打ち抜き、水とアセトンで 3 回洗浄した。この濾紙 1 枚当たり 50 μ l の NO₂・SO₂ 吸収溶液を担持させ、自然乾燥させた後、パッシブサンプラー内に装着した。

NO_x 捕集濾紙：0.3 g の PTIO (東京化成製) を上記の NO₂・SO₂ 吸収溶液 10 ml に溶解し、これを NO_x 吸収溶液とした。NO₂・SO₂ 捕集濾紙と同様の濾紙 1 枚当たり、50 μ l の NO_x 吸収溶液を担持させ、同様にパッシブサンプラー内に装着した。PTIO は NO を NO₂ に酸化するので、この濾紙には NO+NO₂ が捕集される。

2・1・5 大気捕集物の前処理と濃度算出法

大気への曝露を終了したサンプラーから NO₂ 捕集濾紙を取り出し、水 10 ml 中に浸し、30 分間放置して抽出した。この抽出液を図 1(a) のフローシステムに注入した。又、NO_x 捕集濾紙も同様に処理をし、図 1(b) のフローシステムに注入した。一方 SO₂ の場合、抽出後に 1.75% の過酸化水素を 0.4 ml 加えることにより SO₄²⁻ に酸化し、この溶液を図 2 のフローシステムに注入した。それぞれの分析値をあらかじめチャンバー実験で求められた下式⁷⁸⁾に代入し、実環境中の濃度を算出した。

$$\text{NO (ppb)} = \alpha_{\text{NO}} \times (W_{\text{NO}_x} - W_{\text{NO}_2}) / t$$

$$\text{NO}_2 \text{ (ppb)} = \alpha_{\text{NO}_2} \times W_{\text{NO}_2} / t$$

$$\text{SO}_2 \text{ (ppb)} = \alpha_{\text{SO}_2} \times W_{\text{SO}_2} / t$$

ここで W_{NO_x} , W_{NO_2} は、それぞれの捕集濾紙に捕集された NO₂ 量 (ng), W_{SO_2} は、SO₂ 捕集濾紙に捕集された SO₂ 量 (ng) であり、 t は曝露時間 (min) である。又、 $\alpha_{\text{NO}} = 60$, $\alpha_{\text{NO}_2} = 56$, $\alpha_{\text{SO}_2} = 39$ は、それぞれの気体の ppb 濃度換算係数 (ppb・min/ng) である。なお、いずれの気体についても未曝露の濾紙を同様に前処理し、空試験を行った。

2・1・6 曝露地点と採水地点

大気の曝露地点、環境水の採水地点及び分析対象物を図 4 にまとめた。パッシブサンプラーは、名古屋市とその近郊の国道の道路標識や樹木に 1.5 m の高さで設置した。雨水を除く環境水は、採水後にミリポアフィルター (孔径 1.0 μ m) でろ過した。

表1 各分析対象物に対する検量線の特徴

分析対象物	検出 化学種	FIA システム	定量範囲 /ppm	相関係数	R.S.D./% (n=10)	試料処理 速度 /h ⁻¹
NO ₂	NO ₂ ⁻	Fig. 1 (a)	0-1.0	0.999	0.1 [†]	40
NO _x	NO ₂ ⁻	Fig. 1 (b)	0-1.0	0.999	0.1 [†]	40
N-NO ₂ ⁻	NO ₂ ⁻	Fig. 1 (a)	0-1.0	0.999	0.1 [‡]	40
N-NO ₃ ⁻	NO ₃ ⁻	Fig. 1 (b)	0-1.0	0.999	0.1 [*]	40
SO ₂ , SO ₄ ²⁻	SO ₄ ²⁻	Fig. 2	0-2.0	0.995	0.6 ^{**}	30

[†]1.0 ppm NO₂⁻, [‡]1.0 ppm N-NO₂⁻, ^{*}1.0 ppm N-NO₃⁻, ^{**}2.0 ppm SO₄²⁻.

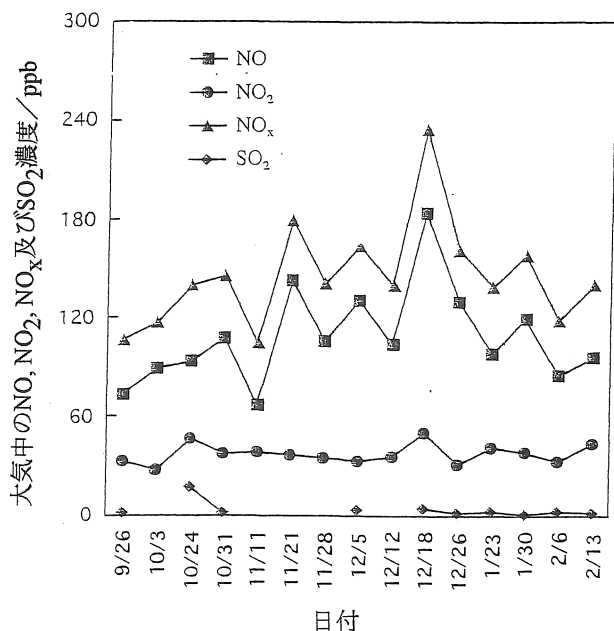


図5 国道153号におけるNO, NO₂, NO_x及びSO₂の測定結果。

測定期間: 1997年9月26日~1998年2月13日。

分析化学, 49, pp. 455-462 (2000)より引用転載。

2・2 結果と考察

2・2・1 NO₂, NO_x, N-NO₂⁻, N-NO₃⁻, SO₂, SO₄²⁻の検量線

大気及び環境水中の各成分を定量するための検量線を作成した(表1)。各成分について相関の高い検量線が得られ、精度も極めて良好であり、迅速な測定が可能である。なお、パッシブサンプラーにより捕集された同一試料中のNO, NO₂及びSO₂濃度を本法と他法とで比較した。NOとNO₂については、バッチ式吸光光度法⁹⁾と比較したところ、それぞれの相関係数は0.999, 0.998(いずれもデータ数17)と良い相関が得られた。SO₂については、イオンクロマトグラフィー⁸⁾による測定結果とも比較したところ相関係数0.952(データ数11)の関係が得られた。これらの結果により、2・1・5で示した実環境中のNO, NO₂及びSO₂濃度の換算式が、本実験のFIAシステムに適用可能であることが示された。

2・2・2 大気中のNO, NO₂, NO_x, SO₂の動態

測定地点として、いずれも交通量の多い名古屋市近郊の主要な国道を選んだ。図5に豊田市内の国道153号線における測定結果を示す。各測定日のNO₂濃度は、ほとんど変化しておらず、NOの濃度変化がNO_xの濃度変化を大きく支配していることが分かる。ほかの国道においても同様な傾向が見られた。国道23号線の各測定値は、ほかに比べ著しく高かった。これは、朝夕の交通渋滞が顕著であったこと、又測定地点が路肩になっており、トラックの休憩場所となることなどが影響したと考えられる。主に住宅地での測定を行っている愛知県の大気汚染調査結果では、県内のほとんどの地点でNO濃度はNO₂濃度よりも低いかほぼ同じくらいである。したがって、NOの主な発生源はトラック等のディーゼルエンジンからの排ガスと考えられる。一方SO₂は、図5に示すように濃度が非常に低く10 ppb前後で推移しており、ほかの国道でも同様であった。

又、気象情報(名古屋地方気象台提供)との検討を行ったところ、風向や降雨との関係が推測された。風向についてみると、工場や接続する別の国道又は県道から吹く風によって濃度の上昇が見られた。降雨が観測される場合には全体的に低くなる傾向が見られた。これは、大気中に存在しているNOが酸化されてNO₂になり、更に水に溶けてNO₃⁻になると考えられる。

愛知県環境部が管理している自動監視測定局の2箇所(東郷町春木, 日進市五色園)にサンプラーを設置して測定を行い、1997年4~8月の愛知県の結果との比較をしたところ、ほぼ同等の結果を得た。測定時期が異なるので、そのまま比較することはできないが、数年間の年平均が横ばいであることを考慮すればほぼ一致した結果が得られ、簡易・高精度な測定法といえる。

2・2・3 河川, 池水中のN-NO₂⁻, N-NO₃⁻の動態

名古屋市近郊の日光川, 矢作川, 境川, 及び, 三好池, 寺部池, 愛知池において約5か月間にわたりN-NO₂⁻, N-NO₃⁻濃度の測定を行った。矢作川と愛知池の結果を図6と図7に示す。川と池のいずれも、N-NO₂⁻とN-NO₃⁻の間に大きな濃度の差が見られた。又、池よりも川のほうの濃度が高いことが分かり、ほかの川と池でも同様であった。

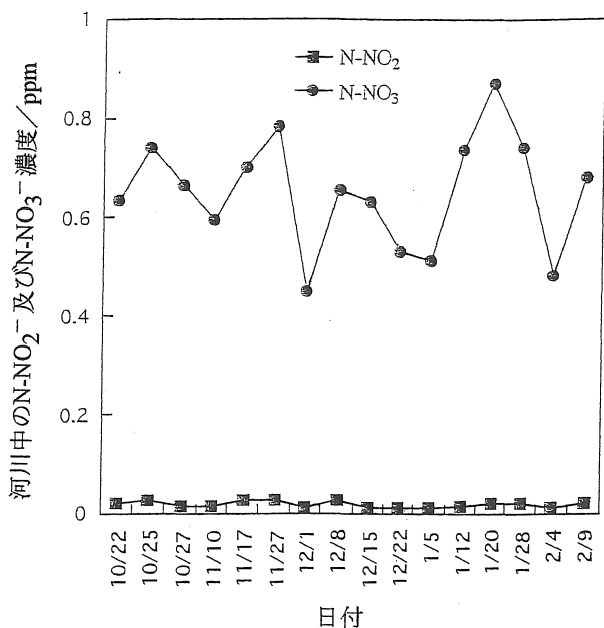


図6 矢作川における $N-NO_2^-$ 及び $N-NO_3^-$ の測定結果。
測定期間：1997年10月22日～1998年2月9日。
分析化学, 49, pp. 455-462 (2000)より引用転載。

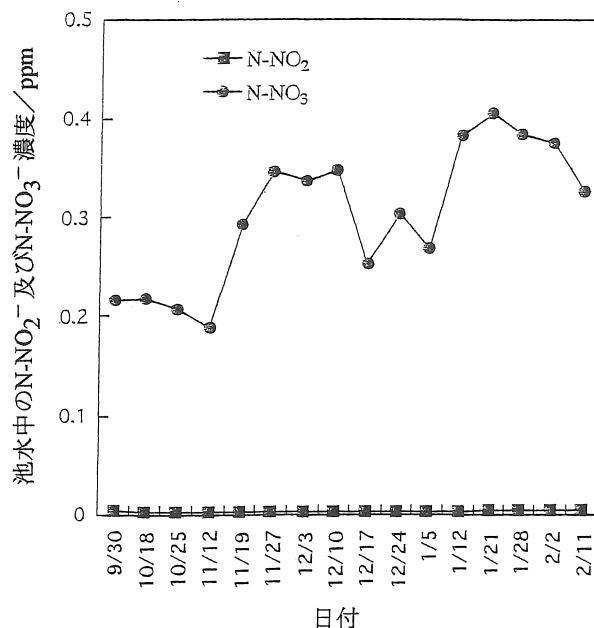


図7 愛知池における $N-NO_2^-$ 及び $N-NO_3^-$ の測定結果。
測定期間：1997年9月30日～1998年2月11日。
分析化学, 49, pp. 455-462 (2000)より引用転載。

表2 雨水中の $N-NO_2^-$ 、 $N-NO_3^-$ 濃度の測定結果

サンプリング日	$N-NO_2^-$ /ppm	$N-NO_3^-$ /ppm
1998年 9月 30日	0.017	0.102
10月 7日	0.015	0.093
10月 13日	0.037	1.41
10月 21日	0.017	0.126
12月 5日	0.048	0.308
1999年 1月 19日	0.019	-
1月 25日	0.019	1.25

表3 海水中の $N-NO_2^-$ 、 $N-NO_3^-$ 及び SO_4^{2-} 濃度の測定結果[†]

試料	$N-NO_2^-$ /ppm	$N-NO_3^-$ /ppm	SO_4^{2-} /ppm [‡]
1	0.053	0.194	1560
2	0.024	0.195	1840
3	0.016	0.292	1030
4	0.085	0.431	1470
5	0.019	0.379	1220
6	0.076	0.674	2640
7	0.064	0.471	2300
8	0.063	0.401	2390
9	0.036	0.562	2440

これは、川には生活排水や工場排水が流れ込むためであると考えられる。又、 $N-NO_2^-$ に比べて $N-NO_3^-$ は、測定日ごとに大きな変化がみられ、高いときと低いときで約2倍の差があった。矢作川、日光川、境川については愛知県も測定を行っており、1995年と1996年の測定結果と比較した。この場合も時期が異なるので、それを考慮しなければならないが、いずれの河川でも同等の結果が得られ、本法が大気と同様にモニタリング法として適していることが示された。

2・2・4 雨水と海水中の $N-NO_2^-$ 、 $N-NO_3^-$ 及び海水中の SO_4^{2-} の動態

名古屋市名東区における雨水をサンプリングし、 $N-NO_2^-$ 、 $N-NO_3^-$ の測定を行った。結果を表2に示す。一般に、自動車や工場等の人工的発生源から排出される窒素酸化物は大部分が NO であり、大気中での光化学反応やオゾン等との酸化反応を経て NO_2 に変化する。 NO_2 は反応性に富み、雲霧雨滴など水滴中で更に酸化されて NO_3^- に

[†]1998年11月4日衣浦港(境川河口)で採水した。

[‡] SO_4^{2-} 定量の際は、海水サンプルを測定前に1000倍希釈した。

なり酸性雨として地上に降るといわれている。 $N-NO_3^-$ 濃度が比較的高い日では、その日の数日前で降雨が観測されておらず、その測定日に比較まとまった雨が降っている。更にデータを蓄積して、降雨との関係をより明らかにしたい。

境川河口付近、すなわち衣浦港の汽水域でサンプリングを行い、 $N-NO_2^-$ 、 $N-NO_3^-$ 及び SO_4^{2-} の測定を行った(表3)。 $N-NO_2^-$ と $N-NO_3^-$ の定量の際は、海水中の塩分の影響を除くために、図1(a)及び図1(b)のキャリアー溶液中に、0.36 Mの塩化ナトリウムと0.032 Mの塩化マグネシウムを共存させた。その結果、海水試料への適用も可能となった。 $N-NO_2^-$ 濃度が $N-NO_3^-$ 濃度に比べ非常に低いことは、河川や池水の結果と同等の傾向であった。一方、 SO_4^{2-} の測定の際は、試料水を1000倍希釈して図2のシステムに

注入した。河口でもより上流では, SO_4^{2-} 濃度が低い傾向が現れた。

3. 水道水中のフェノールの固相濃縮/吸光光度法

フェノール水溶液の毒性はラットでは経口吸収で 50% 致死量 (LD_{50}) 0.53 g/kg, イヌでは 0.5 g/kg, *o*-, *m*-, *p*-クロロフェノールのラットに対する LD_{50} はそれぞれ 0.67, 0.57, 0.67 g/kg と報告され, 毒性としては強いほうではないが, 高濃度のフェノール類を短期あるいは長期に暴露すると様々な生理的影響が現れ, 病理的所見も報告されている¹⁵⁾。このような背景から, 環境水及び排水を対象にしたフェノール類の高速液体クロマトグラフィーによる形態別分析法が種々検討されている^{16)~20)}。

現在排水基準におけるフェノール類含有量の許容限度は 5 mg l^{-1} 以下に定められている²¹⁾。一方上水道中のフェノール及び関連化合物は, 毒性よりもむしろ不快な臭いと味の原因となり, 又, 食品工業などでは, 製品に異臭味を与えるため, 品質低下を招くことになる。そこで, 水道法に基づく水質基準では, フェノール量として 0.005 mg l^{-1} 以下であることが定められている²²⁾。

フェノール類の定量法としては JIS K0102 に 4-アミノアンチピリン吸光光度法 (4-AA 法) が定められており, フェノールの低濃度範囲 ($25 \sim 500 \text{ } \mu\text{g l}^{-1}$) ではクロロホルムを用いる溶媒抽出法を使用することが規定されている²³⁾。しかし, 4-AA 法では検出感度が不十分であるため, 4-スルホベンゼンジアゾニウム塩による発色誘導体化と濃縮法が¹⁶⁾, 又ジビニルベンゼン-親水性メタクリル酸エステル共重合ゲルを用いる濃縮法¹⁷⁾が検討されたが, いずれも JIS K0102 に準ずるものではない。

一方, 4-AA 法を基本としたオンライン固相抽出/FI 法が検討され, 分析の自動化と高感度化が図られたが²⁴⁾²⁵⁾, 定量範囲は $0.01 \sim 1 \text{ } \mu\text{g ml}^{-1}$ で水道水中のフェノール検出には十分な感度ではない。Zhi らによる溶媒抽出を併用した FIA 法では 0.2 ng ml^{-1} の検出限界を得ているが, Amberlite XAD-4 カラムを用いるオンライン濃縮/FIA 法での定量下限は 3 ng ml^{-1} である²⁶⁾。そこで, 4-AA 法の高感度化を目的に, Sep-Pak C_{18} 及び Porapak R_{DX} を用いる濃縮法を検討したところ, 簡便に 10~100 倍濃縮まで可能であることが分かったので報告する。

3・1 実験

3・1・1 標準操作

$10 \text{ } \mu\text{g ml}^{-1}$ フェノール標準溶液 1~10 ml を 25 ml メスフラスコに採り, 塩化アンモニウム-アンモニア緩衝液 (pH 10) 0.75 ml, 2% 4-アミノアンチピリン溶液 0.6 ml, 0.93% ヘキサシアノ鉄(III)酸カリウム溶液 5 ml を加え, 蒸留水で標線に合わせる。同様に操作した試薬空試験液を対照にして 505 nm で吸光度を測定する。

3・1・2 Sep-Pak C_{18} による濃縮法

Sep-Pak C_{18} (Waters 製) は前処理としてメタノール 2 ml を通し, 蒸留水 5 ml で洗い流す。この操作を 2 回繰り返したものを用いた。3・1・1 の標準操作を行い, $0.4 \sim 4 \text{ } \mu\text{g ml}^{-1}$ フェノール発色溶液を作る。この溶液を図 8(a) に示す手順で Sep-Pak C_{18} に通し, 60% アセトニトリル水溶液 3 ml で溶離し, 503 nm で吸光度を測定する。

3・1・3 Porapak R_{DX} による濃縮法

Porapak R_{DX} (Waters 製) はメタノール 10 ml を通し, 蒸留水 10 ml で洗浄したものを用いた。 $10 \text{ } \mu\text{g ml}^{-1}$ フェノール標準溶液 1~10 ml を 25 ml メスフラスコに採り, リン

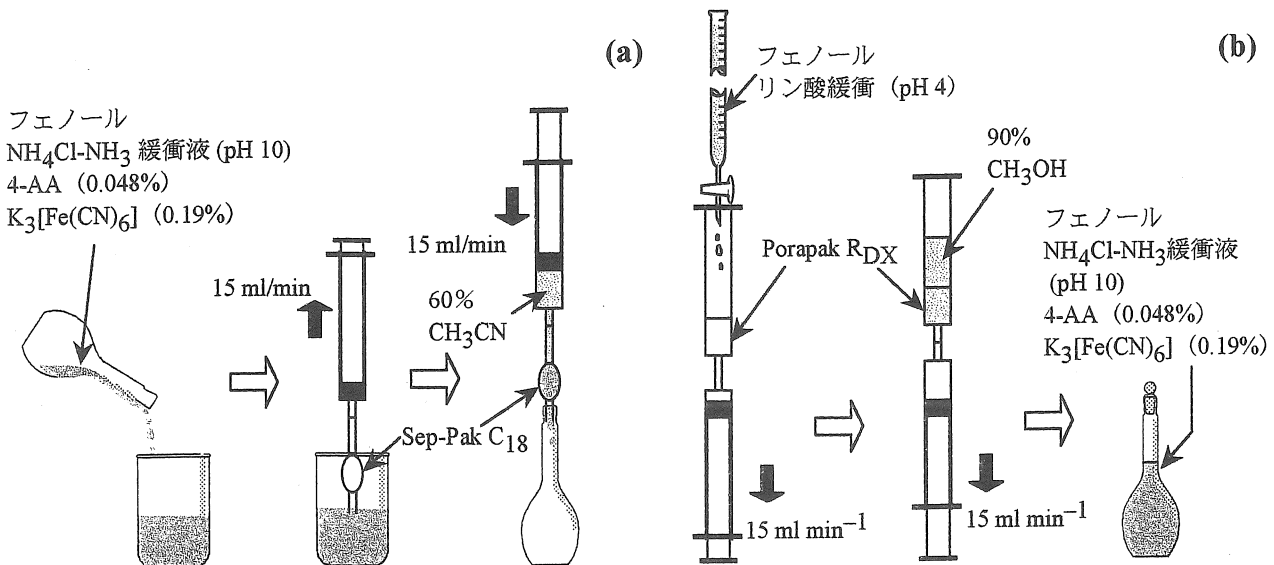


図8 Sep-Pak C_{18} (a) 及び Porapak R_{DX} (b) カートリッジを用いるフェノールの固相抽出/定量操作。分析化学, 49, pp. 677-681 (2000)より引用転載。

表 4 Sep-Pak C₁₈ による固相抽出の濃縮効果

フェノール濃度	濃縮率	$\epsilon_{app} /$ $l mol^{-1} cm^{-1}$
0.4 $\mu g ml^{-1}$	1 (25→25)	1.4×10^4
	2 (50→25)	2.7×10^4
	4 (100→25)	5.5×10^4
	10 (250→25)	1.4×10^5
	20 (500→25)	2.7×10^5
40 ng ml ⁻¹	20 (500→25)	2.3×10^5
	50 (500→10)	7.1×10^5
4 ng ml ⁻¹	100 (500→)	1.7×10^6

酸緩衝液 (pH 4) 3 ml を加え、蒸留水で 25 ml とする。その溶液を図 8(b) の操作に従って、前処理した Porapak R_{DX} に通す。90% メタノール水溶液 5 ml でフェノールを溶離し、3・1・1 の操作により、発色体を生成させ、試葉空試験液を対照にして 501 nm で吸光度を測定する。

3・2 結果と考察

3・2・1 溶離液濃度及び溶離液量の影響

Sep-Pak C₁₈ : 3・1・2 の操作において、0.8, 1.6, 2.4, 3.2, 4 $\mu g ml^{-1}$ フェノール標準溶液を用い、溶離液であるアセトニトリル濃度の影響を 40~100% の範囲で検討した。溶離液量は 3 ml に固定した。60% アセトニトリル以下ではわずかに低い吸光度を示したが、60% 以上ではほぼ一定の吸光度が得られた。したがって 60% アセトニトリルを用いてアミノアンチピリン色素を溶離することとした。次に 4 $\mu g ml^{-1}$ フェノールを用い、未濃縮時の吸光度を基準とし、0.5~5 ml の範囲で溶離液量の影響を検討した。その結果、3 ml 以上の液量で 98% の回収率が得られた。3ml 溶離液を用いたときの相対標準偏差 (RSD) ($n=5$) は 1.24% であった。本法では 3 ml で溶離することとした。

Porapak R_{DX} : 3・1・3 の操作において、0.8, 0.16, 2.0 $\mu g ml^{-1}$ フェノール溶液を用いて溶離液であるメタノールの濃度の影響を 60~100% の範囲で検討した。溶離液量は 3 ml に固定した。濃度が 60, 70, 80% と増加するにつれ吸光度は大きく増加したが、90% 以上で最大かつ一定となった。ここでは 90% メタノールを用いてフェノールを溶離することとした。又、2.4 $\mu g ml^{-1}$ フェノールを用いて溶離液量について検討した。3・4・1 と同様に未濃縮時の吸光度を基準とし、1~5 ml の範囲で溶離液量を変化させたところ、4 ml 以上でほぼ 100% の回収率が得られた。しかし、3 ml でも 96% の回収率が得られ、RSD ($n=5$) は 0.63% で再現性は良く、濃縮効果を考えると溶離液量が少ない方が好ましいので、本法では 3 ml で溶離することとした。

表 5 Porapak R_{DX} による固相抽出の濃縮効果

フェノール濃度	濃縮率	$\epsilon_{app} /$ $l mol^{-1} cm^{-1}$
0.4 $\mu g ml^{-1}$	1 (25→25)	0.92×10^4
	2 (50→25)	1.9×10^4
	4 (100→25)	4.2×10^4
	10 (250→25)	1.1×10^5
	20 (500→25)	2.1×10^5
40 ng ml ⁻¹	20 (500→25)	2.0×10^5
	50 (500→10)	5.3×10^5
4 ng ml ⁻¹	50 (500→10)	4.5×10^5

3・2・2 濃縮効果

Sep-Pak C₁₈ : 10 $\mu g ml^{-1}$ フェノール標準溶液 0.25~1 ml を 25 ml メスフラスコに採り、3・1・1 と 3・1・2 の操作に従って発色体を溶離し、最終容積を 25 ml とし、検量線を作成した。その結果、原点を通る良好な直線 ($r=0.999$) が得られた。最終のフェノール濃度が 0.1~0.4 $\mu g ml^{-1}$ となるよう溶液を調製し、発色溶液の液量を 50, 100, 250, 500 ml にし、同様に上述の操作を行い、検量線を作成した。その結果、濃度と吸光度の間にはいずれも 0.999 の相関係数が得られ、又、検量線の傾きはほぼ 2~20 倍が得られ、濃縮効果が理論的に成立していることが分かった。表 4 に濃縮率と見掛けのモル吸光係数 (ϵ_{app}) を示す。この表に示すように、濃縮率 1 倍のときの $\epsilon_{app} 1.4 \times 10^4 l mol^{-1} cm^{-1}$ に対し、例えば濃縮率が 10 倍となれば ϵ_{app} も 10 倍の $1.4 \times 10^5 l mol^{-1} cm^{-1}$ となっている。その他の濃縮率でも ϵ_{app} が濃縮率に対応して変化していることから、濃縮効果が化学量論的に起こっていると思われる。又吸光度測定する最終体積を 10 ml, 5 ml, すなわち濃縮率を 50, 100 倍にしても濃度と吸光度の間には良好の直線関係が見られた。

Porapak R_{DX} : 10 $\mu g ml^{-1}$ フェノール標準溶液 1~10 ml を 25 ml メスフラスコに採り、3・1・1 と 3・1・3 の操作に従い、501 nm で検量線を作成したところ、 $r=0.999$ の原点を通る直線が得られた。又 4 $\mu g ml^{-1}$ フェノールにおける RSD ($n=5$) は 1.36%、測定体積を 10 ml とし、2.5 倍濃縮したときの RSD ($n=5$) は 0.98% であった。表 5 に濃縮率と ϵ_{app} の関係を示す。Porapak R_{DX} を用いた場合でも濃縮率の増加に応じて ϵ_{app} が増大している。表 5 に示すように、4 ng ml⁻¹ フェノール標準溶液 500 ml を用い、発色溶液の最終体積を 10 ml とすれば、50 倍濃縮が可能であることが分かった。

3・2・3 その他のフェノール類の発色

1 $\mu g ml^{-1}$ α -クレゾール、 m -クレゾール、1-ナフトール 1~4 ml を 500 ml メスフラスコに採り、2~8 ng ml⁻¹ の発色

溶液を作り, Sep-Pak C₁₈を通し, 60%アセトニトリル3 mlで溶離し, 最終体積を5 mlにして検量線を作成した。その結果, フェノールの見掛けのモル吸光係数 $2.0 \times 10^6 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ に対し *o*-クレゾールは 1.5×10^6 , *m*-クレゾールは 1.3×10^6 , 1-ナフトールは 5.4×10^5 となり, 発色率は75, 65, 27%であった。Porapak R_{DX}を用いて同様の検討をした。2・4・2に従って得た溶離液に蒸留水を加え最終体積を10 mlとして得られたフェノールの見掛けのモル吸光係数は $4.5 \times 10^5 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, *o*-クレゾールは 3.3×10^5 , *m*-クレゾールは 3.1×10^5 , 1-ナフトールは 9.4×10^4 となり, それぞれの発色率は73, 69, 21%であった。

3・2・4 水道水への添加回収率

飲料水である水道水の水質を保全するためには低濃度のフェノールを監視する必要がある。しかし, 前述したように, 公定法である4-AA法による ng ml^{-1} レベルのフェノールの検出は困難である。そこで, 本法を水道水に適用するため, 添加回収実験を行った。水道水に1, 4, 8 ng ml^{-1} フェノール標準溶液を添加し, アミノアンチピリン色素を生成させ, Sep-Pak C₁₈で濃縮検出し, 標準操作で行ったものと比較した。この時の濃縮率は100倍とした。その結果, 1 ng ml^{-1} フェノールでは96%, 4 ng ml^{-1} では95%, 8 ng ml^{-1} では99%の回収率を得た。又, Porapak R_{DX}を用いて, 50倍濃縮による2及び4 ng ml^{-1} フェノールの回収率を求めたところ, 2 ng ml^{-1} フェノールの場合103%と良好な結果を得たが, 4 ng ml^{-1} は88%で幾分低い結果となったが, その理由は明らかではない。

4. おわりに

パッシブサンプラーと本研究で用いたFIシステムとの融合分析システムは, 測定点を任意に又広域的に設定することができ, さらにはサンプルを迅速に測定できることから多検体分析が可能で, 大気汚染物を監視する上で有効である。又, 同一のシステムで種々の水圏試料の測定もできることから, 大気と水圏のNO_xとSO_xの環境循環の動態を精度良く把握でき, 重要な環境情報を提供できる方法として注目に値する。

又, 4-AA法を水道水中のフェノールを検出する方法としてSep-Pak C₁₈及びPorapak R_{DX}による濃縮法の検討では, Sep-Pak C₁₈を用いた場合10~100倍濃縮が可能となり, Porapak R_{DX}においても10~50倍の濃縮率が得られ, 1~8 ng ml^{-1} フェノール濃度での検量線の相関係数はいずれも0.999と良好であった。Sep-Pak C₁₈を用いたときの定量下限は0.3 ng ml^{-1} , Porapak R_{DX}を用いたときは0.8 ng ml^{-1} であった。本法は溶媒抽出をすることなく, 簡便に操作できる固相抽出法を用いることにより高い濃縮率が得られ, 4-AA法によるフェノールの微量定量法として有用と思わ

れる。

本研究の一部は, 本学総合技術研究所平成10~12年度プロジェクト研究の助成金により行われた。ここに感謝の意を表す。又, 本報告に基づく原著論文は学術性を考慮し日本分析化学会発行の学術誌「分析化学」に報告した。データの一部は転載することを許可されたものである。

文 献

- 1) A. N. Wright, A. E. Fischli ed.: "Natural and Anthropogenic Environmental Oestrogens: the Scientific basis for Risk Assessment", an issue of special reports devoted Environmental Oestrogens, *Pure & Appl. Chem.*, **70**(9), (1998).
- 2) 上水道試験方法 解説編: p. 507 (1993), (日本水道協会).
- 3) J. Czuczwa, C. Leuenberger, J. Tremp, W. Giger, M. Ahel: *J. Chromatogr.*, **403**, 233 (1987).
- 4) E. D. Palmes, C. Tomczyk: *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.*, **40**, 588 (1979).
- 5) 柳沢幸雄, 西村 肇: 大気汚染学会誌, **15**, 316 (1980).
- 6) 平野耕一郎, 前田裕行, 石井哲夫, 米山悦夫: 環境と測定技術, **12**, 32 (1985).
- 7) 平野耕一郎, 前田裕行, 松田啓吾: 横浜市公害研究所報, **15**, 3 (1991).
- 8) 平野耕一郎, 前田裕行, 松田啓吾: 横浜市環境科学研究所環境研資料, No. 128, (1997).
- 9) K. Higuchi, S. Motomizu: *Anal. Sci.*, **15**, 129 (1999).
- 10) 樋口慶郎, 井上亜希子, 玉之内啓満, 服部隆康, 本水昌二: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **48**, 477 (1999).
- 11) JIS K 0102, 工場排水試験方法 (1993).
- 12) O. Kondo, H. Miyata, K. Toei: *Anal. Chim. Acta*, **134**, 353 (1982).
- 13) S. Nakashima, M. Yagi, M. Zenki, M. Doi, K. Toei: *Fresenius' Z. Anal. Chem.*, **317**, 29 (1984).
- 14) K. Higuchi: Ph.D. Thesis, Okayama University, (1999).
- 15) 内藤裕史, 横手規子監訳: "化学物質毒性ハンドブック", II-271 (2000), (丸善).
- 16) 伊藤純一, 広沢幸弘, 小俣雅嗣: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **43**, 959 (1994).
- 17) 清水尚登, 井上嘉則: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **43**, 1107 (1994).
- 18) P. Bartak, L. Cap: *J. Chromatogr. A*, **767**, 171 (1997).
- 19) 西川治光, 加藤邦夫, 早川友邦, 酒井忠雄: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **39**, T71 (1990).

- 20) M-W. Jung, D. W. Lee, J-S. Rhee, K-J. Paeng: *Anal.Sci.*, **12**, 981 (1996).
- 21) 総理府令第35号排水基準を定める総理府令, 別表第2 (昭和46年).
- 22) 上水道試験方法 解説編: p. 508 (1993), (日本水道協会).
- 23) JIS K0102, 工場排水試験方法 (1993).
- 24) J. Moller, M. Martin: *Fresenius' Z Anal. Chem.*, **329**, 728 (1988).
- 25) W-L. Song, Z-L. Zhi, L-S. Wang: *Talanta*, **44**, 1423 (1997).
- 26) Z-L. Zhi, A. Rios, M. Valcarcel: *The Analyst* [London], **121**, 1 (1996).

(受理 平成13年3月19日)