多孔質ポリスチレン樹脂カートリッジによる 水中微量有機化合物の濃縮条件の一般化

石 井 誠 治* 浦 野 紘 平* 亀 屋 隆 志*

General Conditions for Concentrating Trace Organic Compounds in Water with Porous Polystyrene Cartridges

Seiji ISHII*, Kohei URANO* and Takashi KAMEYA*

* Laboratory of Safety and Environmental Engineering, Yokohama National University, 79-5, Tokiwadai, Hodogaya-ku, Yokohama 240-8501 Japan

Abstract

General application conditions of the solid phase extraction with porous polystyrene polymer cartridges, Sep-Pak PS-1 and PS-2, were investigated.

The PS-1 and PS-2 could adsorb various organic compounds from water in several ten times to several hundred times in comparison with tC_{18} which is a conventional octadecylsilane adsorbent. The adsorbable volumes for the solution to PS-2 are more than ca. 70% of those to PS-1. The adsorbable volumes for single component solution of 44 compounds to the PS-1 cartridge could be shown by the function of the concentration C and the solubility in water S . The adsorbed compounds could desorb with 3ml acetone from PS-1 and PS-2. From these results, the procedure for deciding the concentration conditions for simultaneous analysis or bioassay test of various trace organic compounds in water samples was proposed. It was confirmed that various trace compounds in the river water samples could be concentrated simultaneously by the proposed conditions.

Key words: simultaneous analysis, solid phase extraction, porous polystyrene cartridge, bioassay, solubility in water

1. はじめに

水中の微量有機化合物の分離定量にはガスクロマトグラフィ (GC) やガスクロマトグラフ/質量分析法 (GC/MS), 高速液体クロマトグラフィ (HPLC) が多く用いられている。また, 水中の様々な有機汚染物質の複合系での毒作用をバイオアッセイで評価する方法も注目されている。しかし, 実際の水試料中の有害物質はきわめて低濃度であるため, 前濃縮を必要とすることが多い。

揮発性の高い有機化合物の濃縮には液液抽出法や固相抽出法が経験的に用いられている。特に固相抽出法は操作が容易で, 溶媒の使用量が少ないことなどから, 最近急速に普及し, 各種の公定測定法にも導入されてきているが, 様々な有機化合物に対する固相抽出剤の吸着容量や最適な脱離溶媒の種類と量などの適用条件が明確でなく, 研究者ごとに様々な方法が用いられている¹⁾。

例えば, 奥村ら²⁾は GC/MS で農薬を一括分析するため, 140種類の農薬を $0.25 \sim 0.50 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ にした 3% NaCl 溶液 2 l をオクタデシルシラン系吸着剤 C_{18} の充填カー

トリッジで吸着し, アセトン 5 ml で脱離した場合と n -ヘキサンあるいはジクロロメタン 100ml で液液抽出を 1 回行った場合の回収率を求め, オクタノール-水分分配係数 (P_{ow}) との関係を調べ, n -ヘキサン抽出では $\log P_{ow}$ が 2.5 以上の物質が 85% 以上, ジクロロメタン抽出ではほとんどの物質が 85% 以上回収できたが, C_{18} 固相抽出では $\log P_{ow}$ が 3 以上の物質が 95% 以上回収でき, さらに $\log P_{ow}$ が 3 以下でも 85% 以上捕集できる物質群が存在すると報告している。

また, 小泉ら³⁾は, 30種類の農薬の $25 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ 水溶液約 200ml をジクロロメタン 3 ml で脱離する場合, C_{18} を改良した tC_{18} の充填カートリッジで吸着すると回収率が 50% 以下の農薬が何種類かあるが, 工業用吸着剤の多孔質ポリスチレン樹脂や多孔質ポリメタクリル酸メチル樹脂では, ほぼ全量を回収できたと報告している。

本研究では, 従来のオクタデシルシラン系吸着剤と最近普及し始めている多孔質ポリスチレン樹脂を充填した固相抽出用カートリッジについて, 両者の吸着性能の比較を行い, 吸着性能が優れている多孔質ポリスチレン樹

* 横浜国立大学工学部物質工学科 〒240-8501 横浜保土ヶ谷区常盤台79-5

脂カートリッジを用いて、44種類の有機化合物の単成分水溶液の各濃度においてほぼ完全に吸着できる通水量と水への溶解度 S や P_{ow} との一般的な関係を明らかにし、さらに多成分系でほぼ完全に吸着できる通水量を検討した。また、脱離に必要なアセトン量を求め、様々な有機汚染物質を含む実際の水試料の一括分析やバイオアッセイのための前濃縮を多孔質ポリスチレン樹脂カートリッジを用いた固相抽出法で行う場合の一般的な適用条件と適用方法を提示した。

2. 実験

2.1 固相抽出剤

固相抽出剤には日本ウォーターズ製 Sep-Pak Plus PS-1 と PS-2 を用いた。PS-1 と PS-2 は多孔質のスチレンジビニルベンゼン共重合体で、平均粒径をそれぞれ $25\mu\text{m}$, $50\mu\text{m}$ とした樹脂をポリエチレンカートリッジに充填したものである。充填体積は同じだが充填重量(実測値)は PS-1 が約 $260\sim 270\text{mg}$, PS-2 が約 $230\sim 240\text{mg}$ である。また、従来から広く用いられている Sep-Pak Plus tC_{18} を比較対照に用いた。これはシリカゲル基材にオクタデシルシランを網目状に結合させた C_{18} のシラノール末端の OH 基をなくして吸着性を向上させた吸着剤 tC_{18} を同体積のカートリッジに約 400mg 充填したものである。

用いた固相抽出剤の特徴を Table 1 に、メタノール蒸気吸着法⁴⁾で測定した直径 20nm 以下の細孔分布を Fig. 1 に示す。 tC_{18} は細孔の大部分が直径 $6\sim 10\text{nm}$ に分布し、直径 20nm 以下の細孔容積は約 $0.5\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$ であったが、PS-1 と PS-2 は細孔が直径 $4\sim 20\text{nm}$ まで幅広く分布し、細孔容積は約 $1.2\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$ で tC_{18} の約 2.4 倍あった。PS-1 と PS-2 の内部表面積は $650\pm 10\text{m}^2\cdot\text{g}^{-1}$ で tC_{18} の約 2.3 倍あった。このため、吸着容量は PS-1 や PS-2 の方が tC_{18} よりかなり大きいと予想された。また、PS-1 と PS-2 は粒径以外は同一の樹脂なので充填重量が

Table 1 Properties of solid phase extraction cartridges used in this study

Cartridge name	tC_{18}	PS-1	PS-2
Adsorbent	Octadecyl silane	Styrene-divinyl benzene copolymer	
Average particle diameter [μm]	46	25	50
Specific surface area [$\text{m}^2\cdot\text{g}^{-1}$]	280	640	660
Packed weight [$\text{mg}\cdot\text{dry}\cdot\text{cartridge}^{-1}$]	400	265	235
Packed volume [$\text{mL}\cdot\text{cartridge}^{-1}$]	0.8	0.8	0.8

Fig. 1 Pore size distributions of adsorbents

約10%小さい PS-2 は PS-1 よりカートリッジあたりの平衡吸着量が約10%小さくなると予想された。

2.2 実験に用いた有機化合物

本研究では、様々な微量有機化合物の一括濃縮回収を考えるため、化学構造や物性の異なる44種類の化合物を対象としたが、特に、吸着性が低いと予想される水への溶解度 S が数十 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 以上、または P_{ow} が 10^3 以下の化合物を中心に選定した。用いた化合物の化学式と主な物性⁵⁻⁸⁾をイオン化しない非解離性化合物、スルホン酸類、カルボン酸類およびその他の解離性化合物に大別して Table 2 に示す。

各化合物の単成分標準原液は残留農薬試験用アセトニ

Table 2 Properties of compounds used in this study⁵⁻⁸⁾

No.	Compound	Formula	Solubility in water [$\text{S}[\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}]$]	log P_{ow}	No.	Compound	Formula	Solubility in water [$\text{S}[\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}]$]	log P_{ow}
Non-ionized compounds (○)					24	Chlorobenzene	$\text{C}_6\text{H}_5\text{Cl}$	295	2.8
1	Acephate*	$\text{C}_4\text{H}_{10}\text{NO}_3\text{PS}$	790000	-0.9	25	Isoprothiolane*	$\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{O}_4\text{S}_2$	48	3.3
2	Hydroquinone	$\text{C}_6\text{H}_4(\text{OH})_2$	500000	0.6	26	Diazinon*	$\text{C}_{12}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_3\text{PS}$	40	3.1
3	Diethylnitrosamine	$(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{NNO}$	408000	0.5	27	Naphthalene	C_{10}H_8	30	3.3
4	Trichlorfon*	$\text{C}_4\text{H}_8\text{Cl}_3\text{O}_4\text{P}$	154000	0.4	28	Thiobencarb*	$\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{ClNOS}$	30	3.4
5	Phenol	$\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$	70000	1.5	29	Propyzamide*	$\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{Cl}_2\text{NO}$	15	3.2
6	Methomyl*	$\text{C}_5\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$	58000	0.6	30	Simazine*	$\text{C}_7\text{H}_{12}\text{ClN}_5$	5	4.7
7	Cyclohexanone	$\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}$	50000	0.8	31	Chlorothalonil*	$\text{C}_8\text{Cl}_4\text{N}_2$	0.9	4.4
8	Aniline	$\text{C}_6\text{H}_5\text{NH}_2$	34000	0.9	32	Quintozen*	$\text{C}_6\text{Cl}_3\text{NO}_2$	0.6	4.8
9	Benzyl alcohol	$\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{OH}$	35000	1.1	Sulfonic acids (□)				
10	m-Chlorophenol	$\text{C}_6\text{H}_4\text{ClOH}$	26000	2.5	33	2-Naphthalenesulfonic acid	$\text{C}_{10}\text{H}_7\text{SO}_3\text{H}$	679000	—
11	p-Cresol	$\text{C}_6\text{H}_4\text{CH}_3\text{OH}$	19000	1.9	34	p-Toluenesulfonic acid	$\text{C}_6\text{H}_4\text{CH}_3\text{SO}_3\text{H}$	670000	—
12	2-Hexanone	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{COCH}_3$	14000	1.4	35	Benzenesulfonic acid	$\text{C}_6\text{H}_5\text{SO}_3\text{H}$	7500	—
13	m-Nitrophenol	$\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2\text{OH}$	13500	2.0	36	Sodium dodecylbenzenesulfonate	$\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_3\text{Na}$	560	—
14	Dichlorvos*	$\text{C}_4\text{H}_7\text{Cl}_2\text{O}_4\text{P}$	8000	1.5	Carboxylic acids (Δ)				
15	1-Hexanol	$\text{C}_6\text{H}_{13}\text{OH}$	6240	2.0	37	Valeric acid	$\text{C}_5\text{H}_9\text{COOH}$	34000	1.5
16	Acetophenone	$\text{C}_6\text{H}_5\text{COCH}_3$	5400	1.6	38	p-Hydroxybenzoic acid	$\text{C}_6\text{H}_4\text{OHCOOH}$	6400	1.6
17	Benzaldehyde	$\text{C}_6\text{H}_5\text{CHO}$	2860	1.5	39	Benzoic acid	$\text{C}_6\text{H}_5\text{COOH}$	2900	1.9
18	Benzonitrile	$\text{C}_6\text{H}_5\text{CN}$	2200	1.6	40	2,4-Dichlorophenoxyacetic acid	$\text{C}_8\text{H}_6\text{Cl}_2\text{O}_3$	890	2.8
19	Nitrobenzene	$\text{C}_6\text{H}_5\text{NO}_2$	1900	1.9	41	p-Toluic acid	$\text{C}_6\text{H}_4\text{CH}_3\text{COOH}$	345	2.3
20	1-Naphthylamine	$\text{C}_{10}\text{H}_7\text{NH}_2$	1700	2.3	42	p-Nitrobenzoic acid	$\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2\text{COOH}$	300	1.9
21	Bromacil*	$\text{C}_9\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}_2\text{Br}$	815	2.1	43	p-Chlorobenzoic acid	$\text{C}_6\text{H}_4\text{ClCOOH}$	73	2.7
22	p-Nitrotoluene	$\text{C}_6\text{H}_4\text{CH}_3\text{NO}_2$	498	2.4	Other weak acid (Δ)				
23	Benzyl chloride	$\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{Cl}$	493	2.3	44	Asulam*	$\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$	5000	-0.3

* are Pesticides. ○, Δ, □ are used in Figs. 3, 5, 6.

Fig. 2 Apparatus for adsorption tests

トリルまたはメタノールに溶解して調製し、また、これらを混合して多成分標準原液とした。

吸着剤の性能比較や化合物の物性と吸着性との関係を検討する実験では、単成分あるいは多成分標準原液を純水で希釈し、 $1 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1} \sim 10000 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ とした水溶液を用いた。希釈水には水道水をイオン交換樹脂と精製活性炭カラムに通した純水を用いた。なお、弱酸であるカルボン酸類とアシュラムは塩酸で pH 2 に調整し、ほぼ完全に解離しない状態にして用いた。また、実際の河川水等からの回収実験では、多成分標準原液を $10 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ または $100 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ となるように添加した河川水等を用いた。

2.3 固相抽出装置

固相抽出装置の概要を Fig. 2 に示す。カートリッジへの通水には、日本ウォーターズ製の定流量ポンプ（コンセントレーター）を用い、加圧式で通水した。また、脱離には同社製の有機溶媒用定流量ポンプを用い、通水時とは逆方向に通液した。

2.4 吸着可能通水量の測定

各カートリッジへの吸着可能通水量の測定では、流出濃度を HPLC 用 UV 検出器（日本分光製 UVIDEC100II 型）で連続測定して流出曲線を求め、流出率が 10% になるまでの時間と流量との積を算出し、濃度 $C [\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}]$ の単成分水溶液からほぼ完全に吸着できる吸着可能通水量 $v_c [l \cdot \text{cartridge}^{-1}]$ とした。ただし、流出水の紫外吸光度が 0.005 未満となる場合や紫外吸光のない化合物については、通水量を数段階として吸着させたカートリッジをそれぞれアセトンで完全に脱離させて FID-GC（島津製作所製 GC-14A）で定量した。

2.5 脱離方法

従来、脱離溶媒として多く用いられているメタノールは極性が大きいので、吸着性の高い化合物の脱離性がやや低いことが予備実験でわかったこと、ジクロロメタンは発がん性の疑いがあること、アセトニトリルは GC や GC/MS で分析しにくいことや吸着性の高い化合物の脱離性がやや低いことが予備実験でわかったことから、本研究ではアセトンを脱離溶媒に用いることとした。

試料水を PS-1 あるいは PS-2 に $20 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ で通水後、 10 ml の注射器で空気を 3～4 回通してカートリッジ内の粒子間隙水を追い出した。アセトンを下向流で $1 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ で通液し、0～3 ml、3～6 ml、6～9 ml

に分画して採取した脱離液を HPLC で分離定量した。HPLC には日本ウォーターズ製 600 Multisolute Delivery System, 717 Autosampler, 486 Tunable Absorbance Detector を用いた。

2.6 河川水等での標準添加回収実験

腐葉土抽出水⁹⁾を希釈した模擬河川水および 3ヶ所の河川水を用いた。腐葉土抽出水原液は TOC で約 $80 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ であったので、希釈して TOC で約 $5 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ として用いた。この pH は 7.2、電気伝導率は $55 \mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$ であった。また、河川水は、相模川、多摩川、鶴見川の水を $1 \mu\text{m}$ ガラスフィルターでろ過して用いた。いずれも pH は 7～8 であり、TOC と電気伝導率はそれぞれ $1.2 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ と $154 \mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$ 、 $3.9 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ と $295 \mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$ 、および $7.2 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ と $369 \mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$ であった。

これらの河川水等に吸着性の異なる 5 種類の化合物を混合標準添加して回収率を求めた。

3. 結果と考察

3.1 多孔質ポリスチレン樹脂の吸着性能

濃度 $1000 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ の 12 種類の化合物単成分水溶液についての t_{C18} と PS-1 それぞれでほぼ完全に吸着できた吸着可能通水量 v_{1000} を Fig. 3 に示す。PS-1 はいずれの化合物についても v_{1000} が t_{C18} の約 10～40 倍となり、高い吸着性能を有することが分かった。

つぎに、フェノールとベンズアルデヒドについて通水濃度 C による吸着可能通水量 v_c の変化を調べた結果を Fig. 4 に示す。 t_{C18} の v_c は C によらずほぼ一定であったが、PS-1 の v_c は C の $-0.2 \sim -0.3$ 乗に比例して増加した。すなわち、 t_{C18} への吸着量が濃度にほぼ比例するのに対して、PS-1 は吸着量が濃度の $0.7 \sim 0.8$ 乗に比例するため、低濃度ほど v_c が大きくなることが明らかになった。例えば $10 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ の場合の PS-1 の v_{10} は、 t_{C18} の百倍から数百倍にもなる。これは、PS-1 の方が t_{C18} に比べて吸着ポテンシャルが高い小さな細孔が多いためと考えられた。

また、フェノール水溶液を PS-1 に $10 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ 、 $20 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ 、 $40 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ でそれぞれ通水したところ、 v_c は

Fig. 3 Relationships between adsorbable volumes to t_{C18} and PS-1 for $1000 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ solution (Numbers correspond to compound No. in Table 2)

Fig. 4 Changes of adsorbable volumes to PS-1 or tC₁₈ with concentration of solution

誤差範囲内で一致し、この範囲の流量は v_c に影響しないことが確かめられた。また、通水流量が大きすぎると圧力損失が増加して漏れの原因になるので、 $20 \sim 30 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ 程度が適当であると考えられた。

3.2 各種有機化合物単成分水溶液の吸着可能通水量

濃度 $1000 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ の44種類の化合物について、PS-1への吸着可能通水量 v_{1000} の P_{ow} による変化を Fig. 5 に、また水への溶解度 S による変化を Fig. 6 に示す。ただし、カルボン酸類とアシュラムは中性付近ではイオン化してほとんど吸着しないので、解離しない pH 2 で実験した。また、ドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウムは水への溶解度 S としてミセル化濃度を用いた。なお、通水量は作業性を考慮して最大 4 l と決めたので、 v_{1000} はいずれも 4 l までとなる。

P_{ow} が不明確なスルホン酸類とアシュラム以外の全ての化合物について、 P_{ow} [-] と v_{1000} [$\text{l} \cdot \text{cartridge}^{-1}$] との関係は(1)式の範囲となったが、化合物による差が大きく、同じ P_{ow} でも v_{1000} に約30倍の差があることが認められた。一方、水への溶解度 S [$\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$] と v_{1000} [$\text{l} \cdot \text{cartridge}^{-1}$] との関係は(2)式で表され、化合物による差は4倍以内と小さいことが分かった。

$$1.0 \times 10^{-1} P_{ow} \geq v_{1000} \geq 3.0 \times 10^{-3} P_{ow} \quad (1)$$

$$1.3 \times 10^3 \times S^{-0.7} \geq v_{1000} \geq 3.2 \times 10^2 \times S^{-0.7} \quad (2)$$

また、弱酸であるカルボン酸類とアシュラムの S と v_{1000} との関係は、特殊な農薬の2,4-ジクロロフェノキシ酢酸以外は(2)式の v_{1000} の約8分の1程度となり、(3)式で

Fig. 5 Relationships between P_{ow} of organic compounds and adsorbable volume to PS-1 for $1000 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ solution (Numbers correspond to compound No. in Table 2)

Fig. 6 Relationships between solubility in water of organic compounds and adsorbable volume to PS-1 for $1000 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ solution (Numbers correspond to compound No. in Table 2)

Fig. 7 Changes of adsorbable volumes to PS-1 with concentration of solution

表せた。

$$1.6 \times 10^2 \times S^{-0.7} \geq v_{1000} \geq 4.0 \times 10^1 \times S^{-0.7} \quad (3)$$

一方, pH によらずイオン化するスルホン酸類の v_{1000} は, 炭素数 6 以上で疎水基がある程度大きい化合物であれば, 非解離性の化合物と大差ない値となり, (2)式で表せることが分かった。

次に, 7 種類の化合物について, 通水濃度 C による PS-1 への吸着可能通水量 v_c の変化を Fig. 7 に示す。いずれの化合物についても C [$\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$] と v_c [$\text{l} \cdot \text{cartridge}^{-1}$] との関係が両対数ではほぼ直線近似でき, (4)式で表され, 濃度依存性を表す n 値は 0.2~0.3 の範囲であることが分かった。

$$v_c = kC^{-n} \quad (4)$$

また, C が $1000 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ のとき (4)式は (5)式となり, k は (6)式で与えられるので, (4)式は (7)式となる。

$$v_{1000} = k \times 10^{-3n} \quad (5)$$

$$k = 10^{3n} v_{1000} \quad (6)$$

$$v_c = 10^{3n} v_{1000} C^{-n} \quad (7)$$

このとき, 弱酸類以外の化合物についての吸着可能通水量 v_c は, 低濃度側での v_c の増分を安全側の小さめに考えて n を 0.2 とすると, (2)式と (7)式から (8)式で表せる。

$$\begin{aligned} v_c &\geq 10^{3 \times 0.2} \times 3.2 \times 10^2 S^{-0.7} C^{-0.2} \\ &= 1.3 \times 10^3 \times S^{-0.7} C^{-0.2} \end{aligned} \quad (8)$$

ただし, v_{1000} は 4 l 以下としているので, v_c は $16C^{-0.2}$ 以下となる。

3.3 多成分混合水試料中での吸着可能通水量

多成分系の実試料中でのある有機化合物についての吸着可能通水量 V_c [$\text{l} \cdot \text{cartridge}^{-1}$] を単成分での v_c から推算する方法を検討した。

まず, 試料水中に水への溶解度が大きく変わらない化合物が 10 倍存在して競争吸着する場合について考えると, 目的化合物が単成分で 10 倍濃度存在している状態とほぼ同じとなるので (8)式に従い, V_c は v_c の $10^{-0.2} = 0.63$ 倍になると推算される。次に, 吸着性が 10 倍高い化合物が 10 倍濃度共存する場合は, 吸着性の低い化合物の v_c まで通水しても, 吸着性の高い化合物はカートリッジの入口側の $(1/10) \times 10^{0.2} = 0.16$, すなわち 16% 程度までで全量吸着することとなり, 吸着性の低い化合物は残り 84% 部分で吸着することになり, V_c は吸着性の低い化合物の v_c の 0.84 倍になると推算される。また, 吸着性が 10 倍高い化合物が 10 倍量共存し, かつ同等の化合物が 10 倍量共存する場合は, V_c は v_c の $0.84 \times 0.63 = 0.53$ 倍になると推

算される。さらに極端に共存物の多い場合として, 吸着性が 100 倍高い化合物と吸着性が 10 倍高い化合物および吸着性が同等の化合物がいずれも 100 倍量共存する場合を想定すると, それぞれカートリッジの入口側から 2.5% 部分, 次の 25.1% 部分, および残り $(1 - 0.025 - 0.25) \times 100 = 72\%$ 部分に吸着することになり, V_c は v_c の $0.72 \times (10^2)^{-0.2} = 0.29$ 倍になると推算される。以上のことより, 多成分共存系でのある化合物の V_c は極端に共存物が多い場合でも少なくとも v_c の 3 分の 1 よりは大きいと推定できるので, 実際の多成分系水試料で確実に吸着できることが保証される V_c と水への溶解度 S との関係は (8)式から (9)式で表せると考えられた。

$$\begin{aligned} V_c &= \{1.3 \times 10^3 \times S^{-0.7} C^{-0.2}\} \times (1/3) \\ &= 4.3 \times 10^2 \times S^{-0.7} C^{-0.2} \end{aligned} \quad (9)$$

ただし, V_c は $16C^{-0.2} \times (1/3) = 5.3C^{-0.2}$ 以下である。

また, 本研究では (4)式の吸着性の濃度依存性を表す n 値を 0.2 とし, さらに (9)式で V_c を v_c の 3 分の 1 として十分安全側に仮定しているため, Fig. 7 に実測データの無い $1 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ 以下の低濃度でも (9)式で V_c が推定可能であると考えられる。そこで (9)式を用いて, 水への溶解度 S のある化合物の濃度 C での吸着可能通水量 V_c を求めて Fig. 8 に示す。図中には (9)式において試料水中で予測される最高濃度 C_{max} [$\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$] だけ存在した場合の V_c の線を示している。なお, v_{1000} を 4 l 以下で求めたため, V_c が $5.3C^{-0.2}$ 以下, つまり水への溶解度 S が $520 \text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 以下の場合については実験的に (9)式の成立が確認されていないので, S が $520 \text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 以下では V_c を保証される最低値で一定とした。

例えば, $1 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ 程度の環境水中濃度が問題になる農薬等を濃縮回収したい場合には, 水への溶解度 S が $10^5 \text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ の場合には 0.14 l 程度まで, S が $10^3 \text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ の場合には 3.4 l までは確実に通水可能である。ただし, 試料水濃度が高く, 通水量が 0.1 l 程度以下の少量で済む場合には液液抽出の方が簡便になると考えられる。

なお, 弱酸類の pH2 の多成分系での V_c は (3)式, (7)式

Fig. 8 Relationships between solubility in water and adsorbable volume of a target compound except weak acids to PS-1 in coexisting various compounds following expected maximum concentration C_{max} of the compound

Table 3 Recoveries by acetone desorption after adsorbing $100\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ solution of 0.5 l with PS-1 ($n=2$)

Compound	Solubility in water $S[\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}]$	Recovery [%]			
		0~3	3~6	6~9ml	total
Acetophenone	5400	108	N.D.	N.D.	108
Bromacil	815	107	N.D.	N.D.	107
Isoprothiolane	48	102	N.D.	N.D.	102
Thiobencarb	30	103	N.D.	N.D.	103
Simazine	5	106	N.D.	N.D.	106
Chlorothalonil	0.9	94	N.D.	N.D.	94
Quintozene	0.6	80	12	5	97

から同様に(10)式で表せると考えられた。

$$V'_c = \{10^{3 \times 0.2} \times 4.0 \times 10^1 S^{-0.7} C^{-0.2}\} \times (1/3) \\ = 5.3 \times 10^1 \times S^{-0.7} C^{-0.2} \quad (10)$$

3.4 多孔質ポリスチレン樹脂の脱離性能

吸着性が異なる7種類の化合物をPS-1に吸着後、アセトンで脱離した各画分ごとの回収率をTable 3に示す。2回行った繰返し誤差は最大5%と良好であり、水への溶解度Sが $0.6\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ のキントゼンを除く全ての化合物がアセトン3 mlでほぼ100%回収できた。したがって、Sが約 $1\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ 以上の化合物はアセトン3 mlで全量脱離できると考えられた。また、Sが $1\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ 未満で脱離性がやや低い化合物はアセトン量を9 ml程度にする必要があると考えられた。

3.5 多成分一括分析のための濃縮条件の決定方法

様々な対象化合物が様々な濃度で混在する実際の水試料をPS-1で一括濃縮するために、(9)式あるいはFig. 8(弱酸類については(10)式)を用いて算出した V_c だけ試料水を通水後、脱離、分析するための条件決定の手順を整理してFig. 9に示す。

まず、測定したい全ての化合物と目的に応じたそれぞれの定量したい最低濃度 $C_{\min}$ [$\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$]を決める。

次に、使用する分析機器を決め、その定量限界量 x [μg]と分析機器への注入液量 y [μl]から定量限界濃度 x/y [$\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$]を確認する。例えば、 x が4 μg の汎用四重極型GC/MSに濃縮液を2 μl 注入する場合は x/y は $2\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ 、 x が4 ngのHPLCに濃縮液を20 μl 注入する場合は x/y は $200\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ となる。

次に、対象化合物の水への溶解度Sを調べ、また、試料水中で予想される最高濃度 $C_{\max}$ [$\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$]を推定する。Sと $C_{\max}$ から(9)式あるいはFig. 8(弱酸類は(10)式)によって化合物ごとの V_c を求めれば、それらの最小値 $V_{\min}$ から実際の水試料の通水量が決定できる。

このとき、 $V_{\min}$ と $C_{\min}$ の関係が(11)式を満たせば、実際に $V_{\min}$ 通水して3 mlのアセトンで脱離して分析できることになる。ただし、Sが $1\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ 未満の化合物を含む場合には脱離用アセトン量を9 ml程度にする必要があるため(12)式を満たす必要がある。

$$V_{\min} C_{\min} / 0.003 = 330 V_{\min} C_{\min} \geq x/y \quad (S \geq 1) \quad (11)$$

$$V_{\min} C_{\min} / 0.009 = 110 V_{\min} C_{\min} \geq x/y \quad (S < 1) \quad (12)$$

また、(11)式あるいは(12)式を満たさない場合にも揮発性の高くない化合物であれば脱離液を窒素パージして0.2 ml程度まで濃縮できるので、(13)式の条件を満たせば分析できることになる。なお、沸点が約 240°C 以上の化合物であれば窒素パージで0.2 mlまで濃縮してもロスがほとんどないことが分かっている¹⁰⁾。

$$V_{\min} C_{\min} / 0.0002 = 5000 V_{\min} C_{\min} \geq x/y \quad (13)$$

Fig. 9 Procedure of deciding concentration conditions for simultaneous analysis of various organic compounds by solid phase extraction using a porous polystyrene cartridge PS-1

揮発性の化合物あるいは(13)式も満たせない化合物は、初めに $V_{\min}$ を決定した目的化合物を定量したい最低濃度 $C_{\min}$ を大きくして再度 $V_{\min}$ を決定するか、あるいは高感度な分析機器を用いるかを検討しなければならない。また、実際の測定値が(9)式あるいは(10)式の推算に用いた $C_{\max}$ を超えた場合には全量吸着できていることが論理的に保証されないため、 $C_{\max}$ を再設定して(9)式あるいはFig. 8(弱酸類は(10)式)によって新たに $V_{\min}$ を求めて測定し直す必要がある。

3.6 バイオアッセイのための濃縮条件の決定方法

バイオアッセイで濃縮が必要な場合には次の2通りがあると考えられる。

一つ目は、対象化合物群が決まっているが、それらの個別濃度測定が困難であるために、その化合物群を全量濃縮してバイオアッセイする場合である。濃縮条件の決定手順は上記の機器分析の場合と同様に、まず、対象とする化合物群の検出したい最低濃度 $C_{\min}$ を決定し、また陰性対照と明確な差が現れて毒性強度が定量できる陽性

判定限界 x/y [$\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$] を確認する。次に対象化合物群の水への溶解度 S を調べ試料水中の予想される最大濃度 C_{max} を推定すれば、(9)式あるいは Fig. 8(弱酸類は(10)式)によって通水可能量 V_c が決定でき、(11)式または(12)式によって検出範囲内であることを確認すれば、試験できることになる。

二つ目は、実試料水中のできるだけ多くの未知の毒性有機化合物を濃縮回収して試験しようとする場合である。この場合には、対象とする試料水群(産業廃水、飲料水、都市河川水など)ごとに対象毒性有機化合物濃度が最も高いと想定されるいくつかの水試料について、(9)式あるいは Fig. 8(弱酸類は(10)式)によって、まず、吸着可能通水量 V_c を仮決定して PS-1 を 2 本直列に連結させて吸着、脱離し、2 本目に毒性有機化合物が破過していないことを確認する。もし、2 本目に 1 本目の 10% 以上破過している場合には、その破過率 $x\%$ から、仮決定した V_c を $(1 + 0.01x)$ で除した値を V_c とする。

例えば、水道水源となっている清浄な河川水からの濃縮回収では、存在するほとんどの毒性有機化合物の水への溶解度 S が $10^3\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ 以下 (P_{ow} で約 2 以上) で、同程度の S をもつ有機化合物濃度は合計でも $10\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ 以下であるとみなすと、(9)式あるいは Fig. 8(弱酸類は(10)式)から V_c は 2 l と仮設定できる。そこで、汚染度の高い水道水源河川水で 2 l での試験を行ってみて、2 本目に破過していないことを確認し、もし破過していることがあれば、 $2/(1 + 0.01x)$ まで通水量を少なくする。

また逆に、(9)式あるいは Fig. 8(弱酸類については(10)式)から、毒性をもつ化合物群のうち水への溶解度 S が約 $1100\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ 以下の化合物は個別濃度が $10\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ 以下、あるいは S が約 $2100\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ 以下の化合物は個別濃度が $1\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ 以下までの量は PS-1 で確実に水中から濃縮回収できていることが保証される。すなわち、これまで曖昧であったバイオアッセイ前の濃縮回収したものの意味(物性)をある程度評価できることになる。

3.7 多孔質ポリスチレン樹脂の粒径による性能比較

PS-1 より粒径が 2 倍大きく、充填重量が約 10% 少ない PS-2 について $100\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ と $1000\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ のベンジルアルコール、メソミル、p-クレゾール、ベンゾニトリル水溶液の吸着可能通水量 v_c および流出曲線の積分値から算出した吸着容量 q [$\mu\text{g}\cdot\text{cartridge}^{-1}$] を Table 4 に示す。PS-2 の吸着容量 q は化合物の種類や濃度ごとにばらつきはあるが、PS-1 よりおよそ 10% 小さくなった。これは両者の充填重量の違いと一致し、PS-1 と PS-2 が基本的に同じ化学構造で細孔分布もほぼ等しいことによる。

一方、 v_c は Fig. 10 に例を示すように、PS-2 の方が

Fig. 10 Break-through curves for $100\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ solution of benzyl alcohol and methomyl with PS-1 and PS-2

PS-1 の 68~90% とやや小さい値となった。これは、吸着容量が小さいことのほか、粒径が大きいために吸着速度が低下したことにも起因すると考えられる。

また、PS-2 にアセトフェノン、イソプロチオラン、シマジンを $100\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ 含む水溶液を 0.5 l 通水後、3 ml のアセトンで脱離して回収率を調べたところ、いずれも $102 \pm 8\%$ となり、PS-1 と同様に水への溶解度 S が $1\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ 以上の化合物は 3 ml のアセトンで完全に脱離できることが確認された。

以上のことから粒径の大きな PS-2 では充填重量と吸着速度が若干低下するため、 v_c が PS-1 の約 68~90% となるが、(9)式または(10)式で与えられる PS-1 の V_c の約 0.7 倍の通水量までならばいずれの場合も確実に回収できると考えられた。また、微小なコロイド粒子などによる目詰まりを考慮すると、環境水や排水の分析などには粒子径が大きい PS-2 を用いた方がよい場合もあると考えられる。

3.8 実際の河川水等からの回収率

腐葉土抽出水を希釈した模擬河川水と有機汚濁度の異なる 3 種の河川水に 5 種類の化合物を混合で標準添加し、PS-2 に 0.5 l 通水して、3 ml のアセトンで脱離回収した結果を Table 5 に示す。 $10\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ 、 $100\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ 添加のいずれでも、全ての化合物で 80~110% の回収率が得られた。このうち、水への溶解度 S が $26000\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ で、 V_c が最も小さく回収しにくいと考えられる m-クロロフェノールについて(9)式から推算される PS-1 での V_{10} 、 V_{100} は、それぞれ 0.22 l、0.14 l となり、また PS-2 での V_{10} と V_{100} はその約 70% の 0.15 l、0.10 l となる。しかし、

Table 4 Comparison of adsorbabilities of PS-1 and PS-2

Compound	Inlet conc. $C[\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}]$	Flow rate $[\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}]$	Adsorbable volume $v_c[\text{l}\cdot\text{cartridge}^{-1}]$		Adsorption capacity $q[\mu\text{g}\cdot\text{cartridge}^{-1}]$	
			PS-1	PS-2	PS-1	PS-2
Benzyl alcohol	100	10	0.24	0.17	31	28
Methomyl	100	10	0.38	0.26	48	43
	1000	10	0.26	0.18	340	330
p-Cresol	100	10	1.09	0.79	120	110
	100	20	1.07	0.73	120	110
Benzonitrile	100	10	3.0	2.7	350	340
	1000	10	1.4	1.2	1800	1800
	1000	20	1.4	1.1	1900	1700

Table 5 Recoveries of various compounds from river water with PS-2 [%] (pH=7-8, n=2)

Compound	Solubility in water $S[\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}]$	Concentration [$\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$]									
		Pure water		Mold leaf		Sagami river		Tama river		Turumi river	
		100	10	100	10	100	10	100	10	100	10
m-Chlorophenol	26000	104	96	101	96	98	98	95	82	96	
1-Naphthylamine	1700	105	106	105	95	110	92	103	102	107	
p-Nitrotoluene	498	103	99	98	93	98	82	95	96	93	
Benzyl chloride	493	101	80	87	83	86	87	86	87	86	
Propylamide	15	102	95	100	93	96	96	94	95	94	

Sample water : 0.5 l / Acetone : 3 ml

実際には0.5l 通水しても82%~101%とほぼ全量回収できていた。これは、m-クロロフェノールの実際の v_c が(8)式で計算される v_c より約4倍大きいことにもよるが、多成分系の実試料での V_c を v_c の3分の1とする本研究の方法が十分安全側であること、また脱離も3 mlで十分であることを示しており、提案した一括濃縮の適用条件が適切であることが実証されたといえる。

なお、今回の水試料はpH 7~8であったがpHが異なる場合も弱酸類以外では同様の濃縮ができ、弱酸類についてはpHを2程度にして(10)式に従って吸着すれば本手順で濃縮可能となる。

4. 結 論

水中微量有機化合物の一括分析やバイオアッセイの前処理方法として、多孔質ポリスチレン樹脂を充填したPS-1またはPS-2カートリッジによる固相抽出法を利用する場合の適用条件の一般化を検討した結果、以下の知見が得られた。

1) PS-1とPS-2は従来の tC_{18} に比べて非常に優れた吸着性能を有し、 $10\mu g \cdot l^{-1}$ 程度の低濃度でも吸着可能通水量を百倍以上に大きくでき、高い濃縮率が得られることが分かった。

2) PS-1への $1000\mu g \cdot l^{-1}$ 単成分水溶液の吸着可能通水量 v_{1000} [$l \cdot cartridge^{-1}$]は、 P_{ow} の関数として(1)式の範囲となった。

$$1.0 \times 10^{-1} P_{ow} \geq v_{1000} \geq 3.0 \times 10^{-3} P_{ow} \quad (1)$$

3) 弱酸類以外の化合物について、PS-1への v_{1000} [$l \cdot cartridge^{-1}$]は水への溶解度 S [$mg \cdot l^{-1}$]の関数として(2)式の範囲となることを見出した。

$$1.3 \times 10^3 \times S^{-0.7} \geq v_{1000} \geq 3.2 \times 10^2 \times S^{-0.7} \quad (2)$$

4) 弱酸類以外の化合物について、濃度 C の単成分水溶液のPS-1への吸着可能通水量 v_c は(8)式で表わせることを見出した。

$$v_c \geq 1.3 \times 10^3 \times S^{-0.7} C^{-0.2} \quad (8)$$

5) (8)式から多成分系水試料で弱酸類以外の化合物が確実にPS-1に吸着できる通水量 V_c は(9)式で一般化できることを示した。

$$V_c = 4.3 \times 10^2 \times S^{-0.7} C^{-0.2} \quad (9)$$

6) 多成分系水試料での弱酸類がpH 2で確実にPS-1へ吸着できる通水量 V'_c は(10)式で一般化できることを示した。

$$V'_c = 5.3 \times 10^1 \times S^{-0.7} C^{-0.2} \quad (10)$$

7) PS-1またはPS-2に吸着した化合物は、 S が約 $1 mg \cdot l^{-1}$ 以上の場合にはアセトン3 ml、 S が $1 mg \cdot l^{-1}$ 未満の場合は9 mlで完全に脱離できることを確認した。

8) 実際の水試料中の各種有機化合物をPS-1で一括濃縮回収する際に、あらかじめ確実に吸着できる通水量を決定し、また、分析機器の定量限界以上の脱離液が得られるか否かを判定する一般的手順(Fig. 9)を提示できた。

9) PS-1を用いた固相抽出法をバイオアッセイに適用する際の考え方を整理して示した。

10) 粒径の大きなPS-2でも(9)式、(10)式で示したPS-1の V_c の約70%までは確実に回収できることが分かった。

11) 本研究で明らかにした濃縮条件の決定方法に従って、河川水中の5種類の代表的な化合物をほぼ全量濃縮回収できることを実証した。

謝 辞

本研究は横浜国立大学卒業生の平澤晴人氏、高木悦夫氏、田中宏樹氏、(株)島津製作所の後藤武氏にご協力を頂いた。また、日本ウォーターズ(株)の佐々木俊哉氏にご意見とご協力を頂いた。ここに記して感謝致します。

(原稿受付 1999年8月27日)

(原稿受理 1999年12月2日)

参 考 文 献

- 1) Waters Corporation (1995) Waters Solid-Phase Extraction Applications Guide and Bibliography 6th Edition, pp.1-646, Milford, MA., U. S. A.
- 2) 奥村為男, 今村清 (1991) キャピラリー・GC/MSによる農薬の一斉分析について, 水質汚濁研究, 14, 109-122.
- 3) 高橋清, 小泉清, 高木博夫, 木村繁夫 (1993) 上水試験方法の改訂に伴う試験方法の検討 (III) 一固相抽出-GC/MS法による農薬一斉分析一, 第44回全国水道研究発表会講演集, pp.783-785.
- 4) 浦野紘平 (1975) 多孔質材料の細孔分布測定法の理論, 装置および問題点(3), 表面, 13, 738-745.
- 5) Royal Society of Chemistry (1998) Dictionary of Substances and Their Effects (DOSE), Silver Platter Intern., U. K.
- 6) Clive Tomlin (1996) The Pesticide Manual Tenth Edition, pp.49; 271, Crop Protection Public., U. K.
- 7) A. Seidell (1941) Solubilities of Organic Compounds, pp.474; 489; 586, Van Nostrand, Princeton, NJ.
- 8) Sangsten Research Laboratories (1996) A Databank of Evaluated Octanol-Water Partition Coefficients (LogP) on Microcomputer Diskette., U. S. A.
- 9) 浦野紘平, 渡部茂樹, 岩瀬葉子, 藤江幸一 (1991) 有機ハロゲン前駆物質の分子量と粒状活性炭の固定床吸着性能, 水質汚濁研究, 14, 451-459.
- 10) Kato, M., Urano, K. and Tasaki, T. (2000) Development of semi- and non-volatile organic halogen (SNVOX) as a new hazardous index of flue gas, *Environmental Science and Technology* (submitted)