

# 水道水中のクロロ酢酸類の分析法

小島 俊男・砂原千寿子・黒田 弘之

Determination of Chloroacetic Acids in Tap Water

Toshio KOJIMA, Tizuko SUNAHARA and Hiroyuki KURODA

(Kagawa Prefectural Institute of Public Health, 1-17-28 Matsushima-cho,  
Takamatsu, Kagawa 760 Japan)

Method for the determination of dichloroacetic acid (DCA) and trichloroacetic acid (TCA) of nonvolatile chlorinated organic compounds in tap water has been studied.

The addition of ethanol to the sample tap water, acidified with sulfuric acid, raised the recoveries of DCA and TCA by the ethyl ether extraction. By the ethyl esterification of DCA and TCA with the ethanol in the presence of sulfuric acid as catalyst, the determination of DCA and TCA was in the range of 0.001 to 0.5mg/ℓ. The systematic analysis of trihalomethanes (THM), chloral hydrate (CH), DCA and TCA in tap water was possible by this procedure. The average recoveries at the 0.005 and 0.5mg/ℓ level throughout the whole procedure were 96-98% (DCA), 90-93% (TCA), 99% (CH).

This ethyl esterification of DCA and TCA with the ethanol and sulfuric acid seemed to be superior to the methyl esterification with the diazomethane in regard to safety of the esterification agents, simplicity of the operating conditions and stability of the esterification derivatives.

## I 緒 言

水道水中には、浄水処理過程の塩素処理によってトリハロメタン (THM) などの揮発性有機ハロゲン化合物が生成すると同時に、抱水クロラール (CH), ジクロロ酢酸 (DCA), トリクロロ酢酸 (TCA) やハロゲン化アセトン, ハロゲン化アセトニトリルなどの不揮発性有機ハロゲン化合物が生成している<sup>1),2),3),4)</sup>。

これら微量の有機ハロゲン化合物が全有機ハロゲン化合物 (TOX) 中に占める割合は、鶴川ら<sup>3)</sup>の測定例で TOX の約30~40% (ハロゲン濃度をClに換算) であり、含有率の高い順に THM 類, クロロ酢酸類, 抱水クロラールおよびハロゲン化アセトン類, ハロゲン化アセトニトリル類となっている。

そこで、THM に次いで含有率の高い可能性がある DCA, TCA, CH を微量に摂取することによる生体影響が懸念されるが、変異原性については鶴川ら<sup>3)</sup>が Ames test を TA98, TA100 株を用いて行った結果、S9mix の添加、無添加のいずれについても変異原活性は認められていない。発ガン性については、現在のところ不明である。一方、CH, DCA, TCA は塩素処理によって生成するばかりでなく、現在地下水汚染物質として問題になっているトリクロロエチレン、テトラクロロエチレン、1,1,1-トリクロロエタンが生体内へ吸収された後、主に肝臓で代

謝され、CH を経て TCA 等に分解し、尿中に排泄される<sup>5),6),7)</sup>ことが知られている。この様な現状の中で水道水中の DCA, TCA, CH の実態を明らかにしておくことは重要であると考えられる。

水道水中の DCA, TCA, CH の分析法については杉野ら<sup>1)</sup>、松原ら<sup>2)</sup>、鶴川ら<sup>3)</sup>によって報告されているが、DCA, TCA の分析はいずれもジアゾメタン溶液<sup>8)</sup>を用いたメチルエステル化法による。しかし、ジアゾメタンには発ガン性や爆発性があるため取扱いに注意する必要があると、調査研究に常用される方法としては問題があると思われる<sup>4)</sup>。

そこで THM, CH, DCA, TCA を簡便に、しかも系統的に分析でき、さらに安全な分析法として DCA, TCA のエチルエステル化法を検討し、知見を得たので報告する。

## II 実験方法

### 1. 試薬

DCA および TCA の各エタノール標準原液：DCA (一級, 99%, 和光純薬), TCA (生化学研究用, 99.5%, 半井化学) を、エタノールに溶かし 1000mg/ℓ の濃度を正確に調整した。この標準原液は冷蔵庫 (5℃) に保存した。これらを用時エタノールで希釈して混合し、標準液として用いた。

CH のエチルエーテル標準原液：CH (一級, 99.5%,

和光純薬)を、エチルエーテルに溶かし1000mg/ℓの濃度を正確に調整した。この標準原液は密栓して冷蔵庫(5℃)に保存し、容量の変化に注意して用いた。これを用時エチルエーテルで希釈して標準液として用いた。

DCA, TCAおよびCHの各水溶液原液：前述のDCA, TCAおよびCHを精製水に溶かし1000mg/ℓの濃度を正確に調整した。この水溶液原液は冷蔵庫(5℃)に保存した。これらを用時精製水で希釈して用いた。

ジクロロ酢酸エチル(DCE)およびトリクロロ酢酸エチル(TCE)の各n-ヘキサン標準原液：DCE(一級, 半井化学), TCE(特級, 半井化学)を, n-ヘキサンに溶かし各々DCA, TCAとして1000mg/ℓの濃度を正確に調整し用いた。この標準原液は冷蔵庫(5℃)に保存した。これらを用時n-ヘキサンで希釈して混合し, 標準液として用いた。

THM標準原液：水質試験用有機ハロゲン化合物標準液B(和光純薬)を用いた。これを用時n-ヘキサンで希釈して標準液として用いた。

エタノール, エチルエーテルおよびn-ヘキサン：残留農薬試験用(和光純薬)。各々, ECD-GCによるDCA, TCA, CHの定量に, 妨害ピークが生じないことを確認した。

精製水：蒸留後, 脱イオンした水を用いた。この精製水には, DCA, TCA, CHが検出されないことを確認した。なお必要に応じてn-ヘキサンで洗浄後, 煮沸して用いた。

硫酸ナトリウム(無水)：残留農薬試験用(和光純薬)。

硫酸, リン酸, 亜硫酸ナトリウム：特級(和光純薬)。

## 2. 装置

ガスクロマトグラフ：島津GC-4BM

検出器：ECD (<sup>63</sup>Ni)

カラム：20%DC-550/Chromosorb WAW-DMCS(60~80mesh), φ3mm×3m, ガラスカラム

## 3. 分析方法

ECD-GCによるDCA, TCA, CHおよびTHMの定量方法の概略をFig. 1に示す。

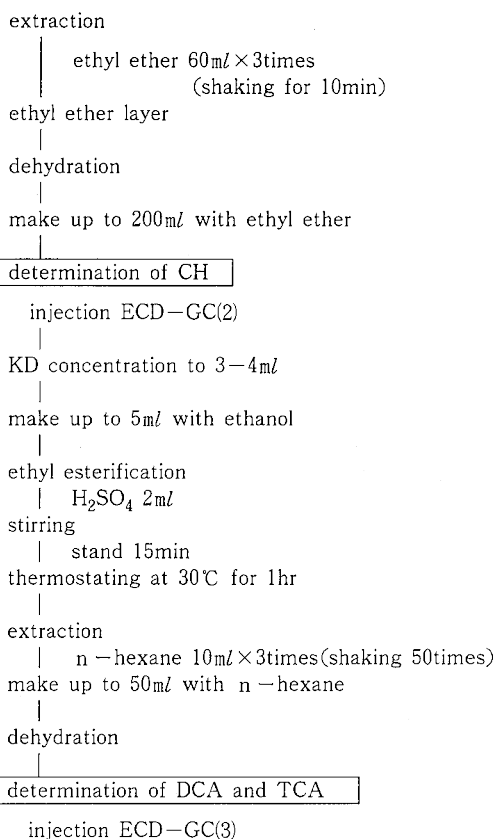
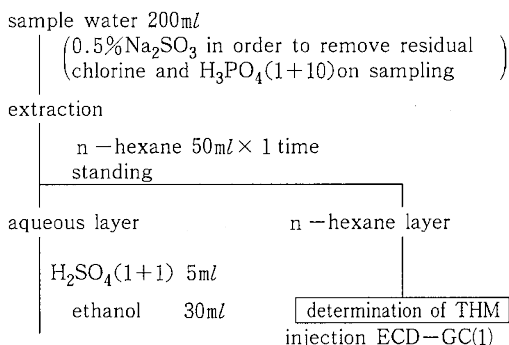


Fig. 1 Procedure for determination of DCA, TCA, CH and THM

### 1) ECD-GCによるTHM等の定量

試料は採水時に, 0.5%亜硫酸ナトリウム溶液を添加して残留塩素を除去し, リン酸(1+10)を添加してpH約3にする。分液ロート(容量500ml)に試料200mlを採り, 厚生省通知<sup>9)</sup>あるいは上水試験方法<sup>10)</sup>のTHM測定方法のうちの溶媒抽出・ガスクロマトグラフ法と同様にして, n-ヘキサン(50ml×1回)で振とう抽出し, ECD-GCに注入してTHMなどの有機ハロゲン化合物を測定する。THM標準原液をn-ヘキサンで希釈して作製した標準液のガスクロマトグラムピーク高より検量線を作成してTHM等の定量を行った。

ガスクロマトグラフィーの測定条件を次に示す。

ECD-GC (1)      カラム温度：80℃  
                          検出器および注入口温度：200℃  
                          キャリアガス：N<sub>2</sub>60ml/min  
                          注入量：4 μℓ

### 2) ECD-GCによるCHの定量

1)でn-ヘキサン抽出によりTHM等を除去した後の水層に, 硫酸(1+1)5mlを添加してpHを約0.8にする。さらに, DCA, TCAの抽出率を高めるためにエタノール30mlを加え混和した後, エチルエーテル(60ml×

3回)で10分間振とう抽出を行う。このエチルエーテル層を硫酸ナトリウム(無水)で脱水した後、メスフラスコ(容量200ml)に移し、エチルエーテルで定容にする。このエチルエーテル抽出液をECD-GCに注入し、CHを測定しておく。CHエチルエーテル標準原液をエチルエーテルで希釈して作製した標準液のガスクロマトグラムのピーク高より検量線を作成して、CHの定量を行った。

ガスクロマトグラフィー測定条件を次に示す。

ECD-GC (2) カラム温度：80℃  
 検出器および注入口温度：200℃  
 キャリアガス：N<sub>2</sub>60ml/min  
 注入量：5 μl

### 3) ECD-GCによるDCA, TCAの定量

2)で得られたエチルエーテル抽出液をKuderna-Danish濃縮器(20mlの目盛付濃縮試験管装着)で3~4mlまで濃縮する。この濃縮液は、エーテルがほとんど除去されたのち、エーテルに少量溶け込んだエタノールが残留したもので、DCA, TCAが溶解している。この溶液を20mlの目盛付KD濃縮管中エタノールで5mlに定容する。これに硫酸2mlを注意して添加し、試験管ミキサーでかくはんし、エチルエステル化反応を促進させる。これを定温で15分程放置して冷やした後、一定条件にする

ために30℃の恒温水槽中で1時間静置する。この濃縮試験管にn-ヘキサン(10ml×3回)を加え50回程振とうし、エチルエステル化反応によって生成したDCEおよびTCEを抽出する。このn-ヘキサン抽出液をメスフラスコ(容量50ml)に合わせ、n-ヘキサンで定容にする。このn-ヘキサン抽出液に少量の硫酸ナトリウム(無水)を加えて、さらに脱水する。そしてECD-GCに注入し、DCA, TCAを測定する。DCA, TCAの各標準原液をエタノールで希釈して作製した混合標準液を、数段階20mlのKD濃縮試験管にとりエタノールで5mlに定容にする。これらを試料と同様に操作してエチルエステル化し、n-ヘキサン抽出液を得る。標準液によって得られたガスクロマトグラムのピーク高より検量線を作成して、試料中のDCA, TCAの定量を行った。試料濃度が高い場合には、n-ヘキサンで適宜希釈して濃度を算出した。

ガスクロマトグラフィー測定条件を次に示す。

ECD-GC (3) カラム温度：120℃  
 検出器および注入口温度：200℃  
 キャリアガス：N<sub>2</sub>60ml/min  
 注入量：5 μl

Fig. 2に精製水にDCAおよびTCAの標準水溶液を添加して、上記の定量法に従って分析したn-ヘキサン抽出

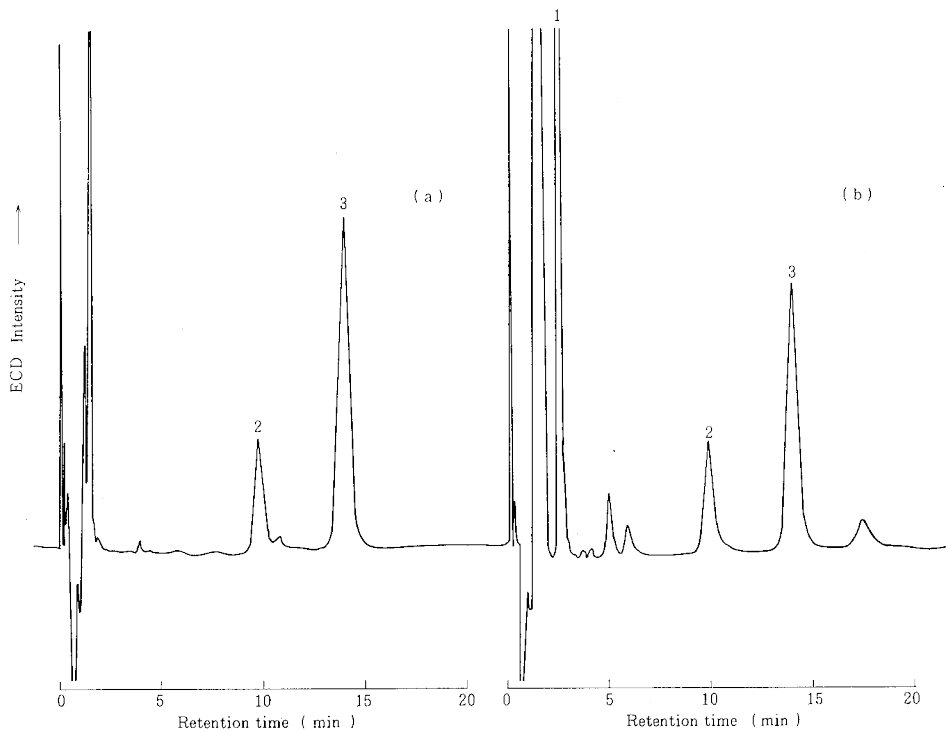


Fig. 2. ECD-gas chromatogram of ethyl esterification-extracts of (a) purification water on addition of DCA, TCA and (b) tap water. 1: CH, 2: DCA(ethyl ester), 3: TCA(ethyl ester).

液 (DCE, TCE) のガスクロマトグラムと、水道水から同様に得られた *n*-ヘキサン抽出液のガスクロマトグラムを示す。

### Ⅲ 結果および考察

#### 1. DCA, TCA および CH の溶媒抽出の条件

DCA, TCA のエチルエーテル抽出について、杉野ら<sup>1)</sup>は  $H_2SO_4$  (1+1) を添加して pH 約 0.6、松原ら<sup>2)</sup>は濃硫酸を添加して pH 約 0.5、鶴川ら<sup>3)</sup>は  $H_2SO_4$  (1+1) を添加して pH 約 0.5 とした後、各々エチルエーテルで 2~3 回抽出している。今回試料を硫酸酸性にした後、エタノールを添加することにより、エチルエーテルによる DCA, TCA の抽出率を上げることができ、さらに後のエチルエステル化の操作が扱い易くなったので、エタノールを添加する方法を検討した。溶媒抽出の条件の検討は、DCA, TCA および CH の水溶液原液を精製水で希釈、混合して精製水 200 ml に DCA 1.0  $\mu$ g, TCA 1.0  $\mu$ g および CH 1.0  $\mu$ g が含まれる様にして行った。

Fig. 3 にエタノール 30 ml 添加時における硫酸 (1+1) の量が DCA および TCA の抽出率に及ぼす影響を調べた結果を示す。

杉野ら<sup>1)</sup>、鶴川ら<sup>3)</sup>によると、酸の添加量が増加するに従って DCA および TCA の抽出率が高くなっている。今

回エタノールを最適加えることによって硫酸量にほとんど影響されなくなった。Fig. 3 に示した様に、エタノール 30 ml 添加したとき、硫酸 (1+1) 量を 5~40 ml と変えてみたが DCA, TCA 共に 5 ml のときが良く、40 ml では共にやや低下の傾向がみられた。このため  $H_2SO_4$  (1+1) 5 ml を添加することとした。この硫酸添加量での pH は約 0.8 となる。

次に添加するエタノールの量は、Fig. 4 に示す様に、硫酸 (1+1) 5 ml 添加時、エタノールの添加量が増すに従って DCA, TCA 共に抽出率が高くなるが、エタノール量を 40 ml 以上に増やしても抽出率はほとんど変わらず、また 1 回目のエーテル抽出時にエーテル層が減少し、操作が難しくなる。このためエタノール添加量は 30 ml にした。

一方、CH の定量において、エチルエーテル抽出時の pH は、硫酸 (1+1) 5 ml 添加した時の pH 約 0.8 で良く、またエタノール 30 ml 添加による影響は認められず、ほぼ 100% 抽出された。

#### 2. DCA および TCA のエチルエステル化の条件

最適条件の検討は、20 ml の目盛付 KD 濃縮試験管を用いて、DCA および TCA のエタノール標準原液をエタノールで希釈し、混合してエタノール 5 ml 中に DCA 1.0  $\mu$ g および TCA 1.0  $\mu$ g が含まれる様にしてエチルエス

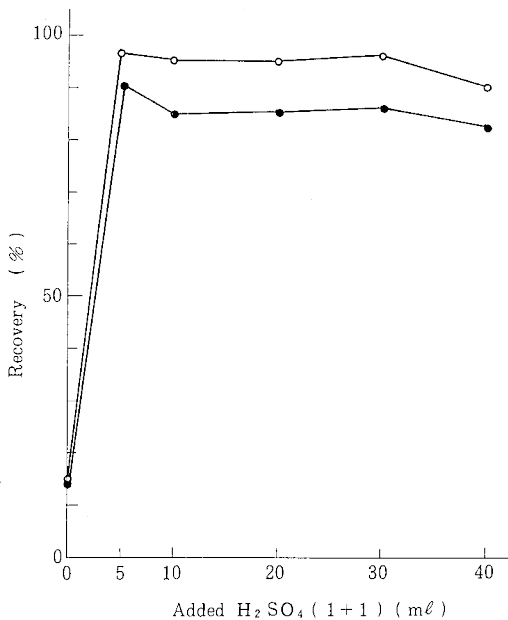


Fig. 3. Effect of amount of sulfuric acid (1+1) on addition of ethanol 30ml.

○—○ DCA added 1.0  $\mu$ g,  
●—● TCA added 1.0  $\mu$ g.

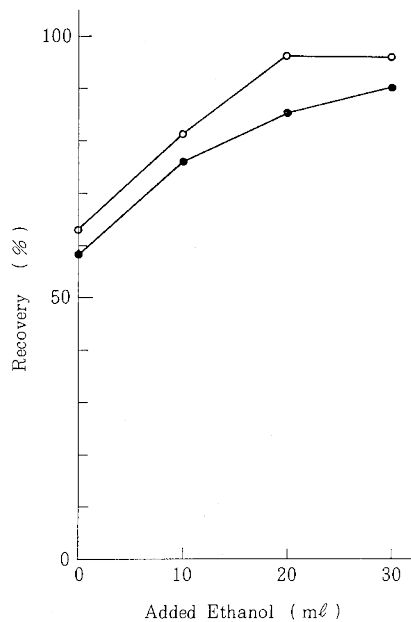


Fig. 4. Effect of amount of ethanol on addition of sulfuric acid (1+1) 5ml.

○—○ DCA added 1.0  $\mu$ g,  
●—● TCA added 1.0  $\mu$ g.

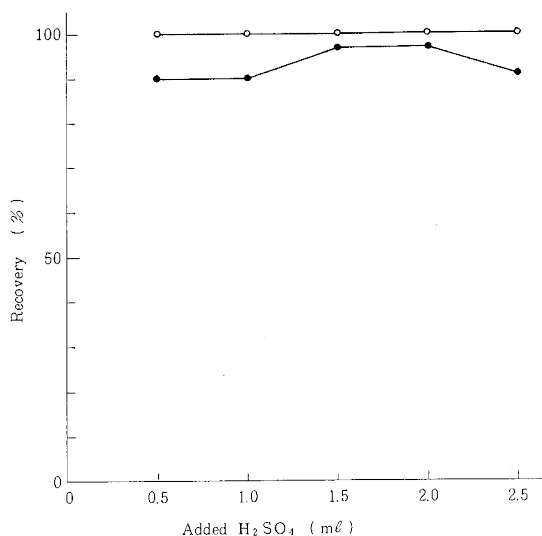


Fig. 5. Effect of amount of sulfuric acid as catalyst on ethyl esterification.

○—○ DCA,  
●—● TCA.

テル化を行った。ただしDCA, TCAの回収率は、DCEおよびTCEのn-ヘキサン標準原液をn-ヘキサンで希釈し、混合した0.020 μg/ml溶液 (DCAおよびTCAとして) の濃度を正確に調整し、GCに5 μl注入した (DCAとして0.1ngおよびTCAとして0.1ngに相当) ガスクロマトグラムのピーク高と、DCA, TCAをエチルエステル化したガスクロマトグラムのピーク高とから求めた。

触媒として働く硫酸添加量について検討した結果を Fig. 5に示す。

硫酸の添加量の差がDCA, TCAのエチルエステル化に及ぼす影響はほとんどみられなかった。TCAについては、添加量が1.5ml, 2.0mlのとき、やや向上した。しかし、1.0ml, 0.5mlと硫酸添加量が減少するに従って、ECD-ガスクロマトグラムのベースラインが不安定になる傾向がみられた。このため、硫酸添加量は2.0mlにした。

エタノール溶液に硫酸を添加したとき発熱するが、これを室温近くまで放冷した後、直ぐにn-ヘキサン抽出した場合、室温が20℃以上になっている春期から秋期にかけては、DCA, TCAの回収率は各々約100%, 95%になる。しかし冬期に室温が20℃以下になった場合、DCA, TCAの回収率が低下する傾向がみられた。このため恒温水槽中で一定温度にし、加熱温度による影響をみてみた。20度から70度の温度に1時間加熱した結果を Fig. 6に示す。

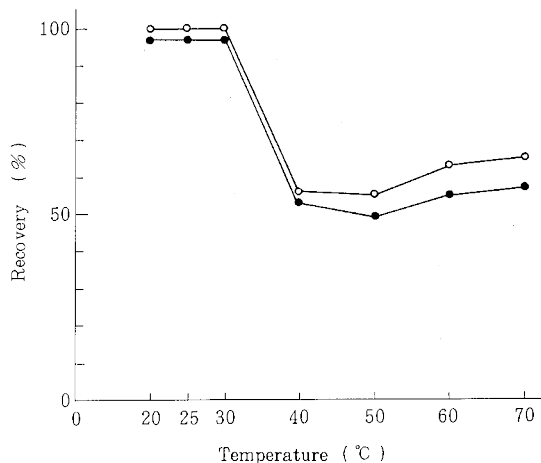


Fig. 6. Effect of heating temperature on ethyl esterification by heating for 1 hour.

○—○ DCA,  
●—● TCA.

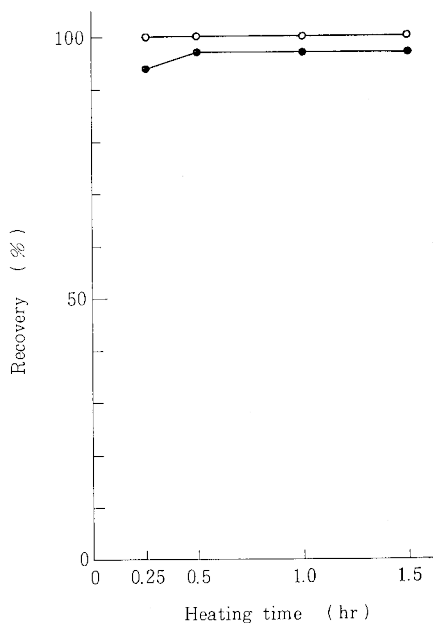


Fig. 7. Effect of heating time on ethyl esterification by heating at 30°C.

○—○ DCA,  
●—● TCA.

この結果、20~30℃でDCA, TCAの回収率に変化はなかったが、40℃以上になるとDCA, TCAいずれも回収率が低下した。年間を通しての恒温水槽の温度調整のし易さから、30℃とすることにした。

次に、恒温水槽30℃での加熱時間について検討した結果を、Fig. 7に示す。

Table 1. Effect of extraction frequency on recovery of ethyl esters by n-hexane.

Chloroacetic acids	Average recovery (%)			
	Extraction frequency			
	1	2	3	4
DCA	73	100	100	100
TCA	78	92	98	98

30分, 1時間, 1時間30分でDCA, TCAの回収率に変化はなかった。15分ではTCAの回収率が低かった。このため, 硫酸添加の時間差を考慮して, 加熱時間は1時間とした。

エチルエステル化後, n-ヘキサンによる抽出率を求めた。その結果をTable 1に示す。

n-ヘキサン10mlずつで抽出回数を1, 2, 3, 4回と変えて回収率を求めた結果, 1回の抽出でDCA約75%, TCA約80%で, 2回目でDCA100%, TCA92%となり, 3回抽出でDCA100%, TCA98%となり, 4回の抽出では変わらなかった。そのためn-ヘキサン抽出は, 10mlで3回抽出することにした。

以上の最適条件でエチルエステル化を行ったところ, その精度はn=7でDCAの変動係数が3.0%, TCAの変動係数が2.8%と良好なものであった。

### 3. 検量線

DCA, TCAのエタノール標準原液をエタノールで希釈し, 混合して各々0.2~100 μg (試料200ml中0.001~0.500mg/lとなる)を10段階とり, 20mlの目盛付KD濃縮試験管中エタノール溶液5mlとなる様にした。これに硫酸2mlを加えてエチルエステル化した後, n-ヘキサン抽出し, ECD-GCに注入し, ガスクロマトグラムピーク高より検量線を作成した。その結果を, Fig. 8に示す。

ただし, 高濃度部分において記録紙からスケールアウトした場合は, n-ヘキサンで希釈して直線範囲に納め, ピークの高さに希釈倍率をかけている。

この結果, DCA, TCA共に0.2~100 μg, すなわち試料200ml中0.001~0.500mg/lの微量濃度から高濃度まで直線性が得られ, エチルエステル化反応が定量的に進んでいることがわかった。

また, これら標準DCA, TCAのn-ヘキサン抽出液の室温における安定性を検討した。ガスクロ検液調整後から, 1, 2, 4日, 1週間と以後1週間毎に, 経時的にECD-GC測定を行ったところ, 室温の暗所に保存すれば, 少なくとも1ヶ月間は安定であることがわかった。このため試験毎に多段階の標準をエチルエステル化する必要はなく, 例えばDCA, TCAの各1.0 μgを一点だけ

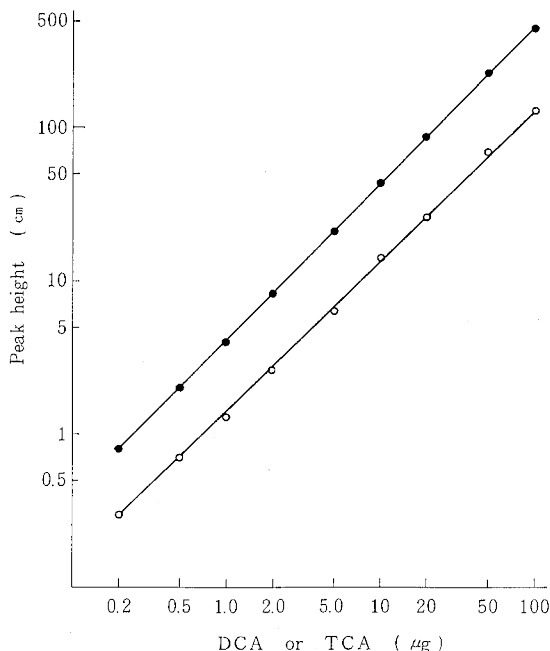


Fig. 8. Calibration curves of ethyl esterification-extracts of standard solution containing DCA (○) and TCA (●) in ethanol.

とり, エステル化反応や抽出がうまく操作できたかを確認するだけで良いと考えられる。

### 4. 水道水試料に対する添加回収率

水道水200mlに, DCA, TCAおよびCHの各水溶液原液を希釈し, 混合水溶液として3物質が1.0 μgおよび100 μgとなる様に添加し, 確立した定量法Fig. 1に従って分析し, 回収率を求めた。その結果をTable 2に示す。

CHは1.0 μgおよび100 μgのいずれにおいてもほぼ100%の回収率が得られた。DCA, TCAのエチルエステル化物は, DCA, TCA換算で, 1.0 μg添加の場合は各々98, 95%の回収率であったが, 100 μg添加の場合は各々96, 90%と回収率がやや低下した。これらの結果から, 水道水中の0.001~0.5mg/lの範囲の微量濃度から高濃度までの定量が可能である。

Table 2. Recoveries of DCA, TCA, and CH from tap water.

Added (μg)	Recovery (%)	
	Mean	S. D.
CH 1.0	99	3.0
DCA 1.0	98	2.5
TCA 1.0	93	2.7
CH 100	99	4.4
DCA 100	96	2.1
TCA 100	90	2.5

なお、水道水のエチルエステル化後のn-ヘキサン抽出液についても、標準のそれと同様に、室温の暗所に置けば、少なくとも1ヶ月間は安定に保存できた。

## IV 結 論

水道水中の不揮発性有機塩素化合物DCA, TCAの微量分析法について検討した。

1. 水道水中のTHMをn-ヘキサン抽出し、ECD-GCで定量した後、水層中のDCA, TCAおよびCHを、硫酸酸性(pH約0.8)下、エタノールを添加し、エチルエーテルで抽出した。CHはそのままECD-GCで定量し、DCA, TCAはKD濃縮によりエーテル除去後、エタノールに転溶し、硫酸を触媒としてエチルエステル化した。生成したDCE, TCEをn-ヘキサン抽出し、ECD-GCで定量した。
2. 水道水試料を硫酸酸性とした後、エタノールを添加することにより、エチルエーテル抽出によるDCA, TCAの回収率を90%以上にすることができた。
3. DCA, TCAをエチルエステル化する方法を確立したことにより、ジアゾメタンを使用するメチルエステル化法と比較して、安全で簡便な定量分析を行うことができた。
4. DCA, TCAをエチルエステル化しECD-GC測定することにより、0.001~0.5mg/lの微量濃度から高濃度まで定量することが可能で、水道水中のDCA, TCAの定量法として十分適用できることがわかった。また、このエチルエステル化反応によって生成するDCE, TCEをn-ヘキサン抽出することにより、検液を室温で1ヶ月以上安定に保存し、測定することができた。
5. エチルエステル化によるDCA, TCA定量法を水道水に適用することにより、THMおよびCHも系統的に分析することができた。  
今後、このエチルエステル化法により、県内の水道水

中のDCA, TCAおよびCHの実態調査を行い、生成特性を研究したいと考えている。

## 文 献

- 1) 杉野邦雄, 西末雄, 大浦れい子, 堀本能之: 水道水及び塩素処理フミン酸溶液中のクロロ酢酸類及び抱水クロラルの分析, 水質汚濁研究, 9(2), 97~103, (1986).
- 2) 松原英隆, 佐藤正雄: 塩素処理による低分子有機ハロゲン化合物の生成, 水質汚濁研究, 10(1), 39~47, (1987).
- 3) 鶴川昌弘, 中村清一, 宮野啓一, 布浦雅子: 水中有機物の検索に関する研究(第4報) —水道水中の有機ハロゲン化合物の分析—, 大阪府立公衛研所報公衆衛生編, 26, 63~70, (1988).
- 4) 大浦 敏, 高柳信孝, 井上洋子: 水道水中の低分子有機ハロゲン化合物について, 富山衛研年報, 11, 153~155, (1988).
- 5) 佐谷戸安好: 地下水汚染の生体影響評価, 用水と廃水, 30(8), 732~740, (1988).
- 6) 緒方正名, 田口豊都: 労働衛生管理における生物学的モニタリングの意義, トキシコロジーフォーラム, 11(4), 333~344, (1988).
- 7) 吉良尚平: 有機溶剤を対象とした生物学的モニタリング, トキシコロジーフォーラム, 11(4), 345~360, (1988).
- 8) McKay, A. F.: A New Method of Preparation of Diazomethane, J. Am. Chem. Soc., 70, 1974~1975, (1948).
- 9) 厚生省通知 環水第15号(昭和59年2月18日): 水道におけるトリクロロエチレン, テトラクロロエチレン及び1,1,1-トリクロロエタン対策について, (1979).
- 10) 厚生省生活衛生局水道環境部監修: 上水試験方法(1985年版), 487~489, 日本水道協会, (1985).