

4-t-オクチルフェノールの測定方法

- ・ 固相抽出-ガスクロマトグラフ質量分析法

1 試薬

- ・ 標準物質：4-t-オクチルフェノール標準品
- ・ サロゲート内標準物質：¹³C 標識化 4-t-オクチルフェノール
- ・ シリンジスパイク内標準物質：4-n-ノニルフェノール-d₄
- ・ 水：JIS K 0557 に規定する A1～A4 の水（注 1）
- ・ アセトン：JIS K 8040 に規定するもの（注 2）
- ・ ヘキサン：JIS K 8825 に規定するもの（注 2）
- ・ ジクロロメタン：JIS K 8117 に規定するもの（注 2）
- ・ 硫酸ナトリウム：残留農薬試験用
- ・ 固相抽出カラム：カラム充てん剤は、シリカゲルに逆相系化合物を化学結合したものの又は合成吸着剤を充てんしたものとす。合成吸着剤は、多孔性のスチレンジビニルベンゼン共重合体又はこれと同じ性能をもつもの。（注 3）（注 4）（注 5）

（注 1）4-t-オクチルフェノールの空試験濃度が十分に低いもの。ミネラルウォーターを使用しても良い。

（注 2）4-t-オクチルフェノールの保持時間に相当するピークのないことを確認する。

（注 3）固相は、市販品にディスク形のものもあり、これを用いてもよい。この場合、試料の流量及び溶出溶媒の必要量は、あらかじめ確認しておく。

（注 4）固相カラムには、Aquis PLS-3、Excel pak SPE-ENV/124、Inert Sep RP-1、Oasis™HLB、Sep-Pak PS-2 カートリッジ形などがある。

（注 5）使用前にアセトン 10ml、次いでブランク水約 10ml を通して洗浄する。

2 器具・装置（注 6）

- ・ ガラス器具類：使用前に水で洗浄した後、更にアセトンで洗浄し、放置して、アセトンを揮散させる。その後、約 200℃ で約 2 時間加熱し、汚染のない場所で放冷する。
- ・ 固相抽出用器具：カートリッジ、ろ過・濃縮装置、注射器など
- ・ カラムクロマトグラフ管：内径約 2 cm、長さ約 20 cm のコック付きガラス管

（注 6）本分析法における定量下限値を満足するためには、分析操作中の測定対象物質の汚染を最小限にすることが必要不可欠である。このため、使用するガラス器具等は十分な洗浄を行い、汚染がないことを確認してから使用する。また、全分析操作を通じた測定対象物質の空試験値が、定量下限値以下であり、かつ安定していることを適正に管理しなければならない。

3 試験操作

(1) 前処理及び試験液の調製

(ア) ^{13}C 標識化 4-t-オクチルフェノールサロゲート溶液 (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 1 mL をアセトンで 100 mL (サロゲート溶液 (0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$)) にする。試料を振り混ぜて均一化した後、500 mL をとり、塩酸 (1 mol/L) を加えて pH を約 3.5 に調節し、サロゲート溶液 (0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 0.5 mL を加えた後、固相カラムに加圧法又は減圧法によって、試料を 5~10 mL/min で通す。

なお、試料中に懸濁物が多量に含まれる場合には、ろ過操作 (注 7) を行い、これらの溶液を合わせて、塩酸 (1 mol/L) を加える以降の操作を行う。

(イ) 試料容器を水 10 mL で洗い込んだ後、その水を固相カラムに通水し、約 30 分間窒素ガスを通気して水分を分離して除去する。(注 8)

(ウ) 固相カラムの上端からアセトン 4 mL を緩やかに通して対象物質を溶出させ、目盛付き共栓試験管に受ける。(注 9)

(エ) この目盛付き共栓試験管を約 40 の水浴中で加熱しながら、溶出液に窒素を緩やかに吹き付け、濃縮後ジクロロメタンに転溶し約 1 mL にする。続いて、硫酸ナトリウム約 0.3 g を加えて脱水する。ただし、硫酸ナトリウムはろ別しない。(注 10)(注 11)

(オ) 全量をカラムクロマトグラフ管の上部から流し込み、コックを操作して液面を硫酸ナトリウム層よりわずかに上部になるようにする。濃縮液が入っていた目盛付き共栓試験管の内壁をジクロロメタン 0.5~1 mL で洗い、洗液はカラムクロマトグラフ管に流し込む。

(カ) カラムクロマトグラフ管の上部に円筒形滴下漏斗を装着し、ジクロロメタン - ヘキサン混合液 (3+7) 50 mL を入れ、約 1 mL/min で流下し、ジクロロメタン - ヘキサン混合液 (3+7) が硫酸ナトリウム層のわずかに上部にある状態でコックを閉め、流出液は捨てる。

(キ) 引き続いてカラムクロマトグラフ管の上部の円筒形滴下漏斗から、ジクロロメタン - ヘキサン溶離液 (3+2) 100 mL を約 1 mL/min で流下し、対象物質を溶出させ、溶出液を濃縮器用フラスコに受ける。(注 12)

(ク) 濃縮器を用いて、約 40 の水浴中で加熱しながら、ジクロロメタン溶液を約 5 mL になるまで濃縮する。(注 13)

(ケ) この濃縮液を目盛付き共栓試験管に移す。濃縮に用いた濃縮器用フラスコをジクロロメタン 2~3 mL で洗浄し、その洗液も目盛付き共栓試験管に合わせる。続いて 4-n-

ノニルフェノール- d_4 標準品 10mg をジクロロメタンで溶かし、100mL にする（シリンジスパイク内標準原液（1000 $\mu\text{g/mL}$ ））。シリンジスパイク内標準原液 1 mL をジクロロメタンで 100mL にする。さらにここから 1mL 取り、ジクロロメタンで 100mL にする（シリンジスパイク内標準液 0.1 $\mu\text{g/mL}$ ）。シリンジスパイク内標準液 0.5mL を加えた後、約 40 の水浴中で加熱しながら、窒素を緩やかに吹き付け、約 0.5 mL になるまで濃縮し、測定用溶液とする。（注 14）（注 15）

(2) 空試験液の調製

試料と同量の水を用いて「3 試験操作（1）前処理及び試験液の調製」の操作を行い、空試験用の溶液とする。

(3) 標準液の調製

4-t-オクチルフェノール標準品 10mg をアセトンで溶かし、100mL にする（4-t-オクチルフェノール標準原液（100 $\mu\text{g/mL}$ ））。4-t-オクチルフェノール標準原液 1 mL をジクロロメタンで 100 mL にする（4-t-オクチルフェノール標準液（1 $\mu\text{g/mL}$ ））。4-t-オクチルフェノール標準液（1 $\mu\text{g/mL}$ ）5, 10, 25, 50, 100, 250, 500 μL を目盛付き共栓試験管に段階的にとり、それぞれにサロゲート溶液（0.1 $\mu\text{g/mL}$ ）0.5 mL 及びシリンジスパイク内標準液（0.1 $\mu\text{g/mL}$ ）0.5 mL を加え、目盛付き共栓試験管を、約 40 の水浴中で加熱しながら、窒素を緩やかに吹き付け、約 0.5 mL になるまで濃縮する。

これを検量線作成用標準液とし、それぞれの一定量（試料と同量。例えば、1 μL ）を GC/MS に注入する。

(4) 分析

(ア) GC/MS 測定条件

カラム：長さ 30m、内径 0.25mm、膜厚 0.25 μm 程度

昇温条件：50 (1min) - 8 /min - 300

キャリアーガス：He 1mL/min

注入口温度：250

注入量：1 μL

注入方法：スプリットレス

インターフェース温度：280

イオン源温度：230

対象物質の選択イオン

物質名	定量イオン (m/z)	確認イオン (m/z)
4- t- オクチルフェノール	135	107
^{13}C 標識化 4-t-オクチルフェノール	141	113
4-n- ノニルフェノール- d_4	111	224

(イ) 検量線

検量線作成用標準液中の 4-t-オクチルフェノールの濃度 (C_s) と ^{13}C 標識化 4-t-オクチルフェノールの濃度 (C_i) との比 (C_s/C_i) を横軸にとり, 4-t-オクチルフェノールの選択イオンにおける指示値 (ピーク面積) (A_s) と ^{13}C 標識化 4-t-オクチルフェノールの選択イオンにおける指示値 (A_i) との比 (A_s/A_i) を縦軸にとって, 4-t-オクチルフェノールの検量線を作成する。検量線の作成は, 試料測定時に行う。

(ウ) 測定用溶液の測定

測定用溶液 1 μL をマイクロシリンジでとり、検量線作成用標準液の各対象物質の保持時間と一致していることを確認し、保持時間に相当する位置のピークについて、指示値としてピーク面積を読み取る。

(エ) 同定

試料中の各対象物質の定量イオンと確認イオンとのフラグメントピーク強度比, 及び標準液中の各対象物質の定量イオンと確認イオンとのフラグメントピーク強度比が $\pm 20\%$ 以内であれば、同じ物質が存在しているものとみなす。

(オ) 定量及び計算

(イ) で作成した検量線を用い, 4-t-オクチルフェノールの指示値と ^{13}C 標識化 4-t-オクチルフェノールとの指示値との比から, 4-t-オクチルフェノールと ^{13}C 標識化 4-t-オクチルフェノールとの濃度比 (a 及び b) を求める。次の式によって試料中の 4-t-オクチルフェノールの濃度 ($\mu\text{g/L}$) を算出する。

$$x = (a - b) \times n \times \frac{1000}{v}$$

x : 試料中の 4-t-オクチルフェノールの濃度 ($\mu\text{g/L}$)

a : 検量線から求めた 4-t-オクチルフェノールと ^{13}C 標識化 4-t-オクチルフェノールとの濃度比

b : 空試験について検量線から求めた 4-t-オクチルフェノールと ^{13}C 標識化 4-t-オクチルフェノールとの濃度比

n : 添加した ^{13}C 標識化 4-t-オクチルフェノールの質量 (μg)

v : 試料 (mL)

1000: 試料 1 L に換算する係数 (mL/L)

(注 7) ろ過操作は次のとおりである。

試料を振り混ぜ、懸濁物を均一に分散した後、その 500mL をとり、アセトンで洗浄したろ過材 (孔径 1 μm のガラス繊維ろ紙) を用いて吸引ろ過する。ろ過材上の懸濁物は、ろ過材ごとピーカーに移してアセトン約 10 mL を加え、超音波洗浄

器を用いて溶出操作を 2 回又は 3 回行う。溶出液を合わせ，濃縮器を用いて減圧濃縮を行い，約 5 mL にする。

- (注 8) 長時間通気すると，回収率が低下する恐れがあるので注意する。
- (注 9) アセトンの量は，あらかじめ対象物質を溶出するのに十分な量であることを確認しておく。また，溶出流量は，カラムからの溶出液の液滴が連続しない程度とする。
- (注 10) 直ちに操作を行わない場合は，濃縮液を，- 20 の暗所に保存する。
- (注 11) 窒素を吹き付ける操作では，濃縮液が飛散しないように注意する。濃縮液の表面が動いているのがようやく見える程度に窒素の流量を調節する。また，乾固させると窒素の吹き付けによって対象物質が揮散することがあるので注意する。
- (注 12) あらかじめ溶出パターン及び回収率を確認しておくことよ。
- (注 13) 濃縮器にロータリーエバポレーターを用いる場合は，約 40 の水浴中で減圧濃縮し，乾固しないように注意する。クデルナ - ダニッシュ濃縮器を用いる場合は，減圧方式ではなく，大気圧下で 75 以下で加熱して濃縮する。濃縮終了後，スニーターカラムを濃縮部に付けたまま装置からとり外し，スニーターカラムの上部から少量のジクロロメタンを加えて洗浄し，スニーターカラムを付けたまま放冷する。
- (注 14) 直ちに分析を行わない場合は，濃縮液を - 20 の暗所に保存する。
- (注 15) 窒素を吹き付ける操作では，濃縮液が飛散しないように注意する。濃縮液の表面が動いているのがようやく見える程度に窒素の流量を調節する。また，乾固させると窒素の吹き付けによって対象物質が揮散することがあるので注意する。
- (注 16) 試料中の 4-t-オクチルフェノールの濃度を算出するときは，試料に添加した ^{13}C 標識化 4-t-オクチルフェノールの回収率が 50 ~ 120 % であることを確認する。回収率は、試料中の ^{13}C 標識化 4-t-オクチルフェノールと 4-n-ノニルフェノール - d_4 のピーク面積比と検量線標準液中の ^{13}C 標識化 4-t-オクチルフェノールと 4-n-ノニルフェノール - d_4 のピーク面積比の平均値の百分率とする。