

## 1-オクタノール、1-ノナノール及び1-デカノールの分析法

### 1 対象物質

1-オクタノール

1-ノナノール（別名：1-ノニルアルコール）

1-デカノール（別名：1-デシルアルコール）

### 2 目標検出下限値及び定量下限値（注1）

	水質（ $\mu\text{g/L}$ ）		底質（ $\mu\text{g/kg}$ ）	生物（ $\mu\text{g/kg}$ ）
	検出下限値	定量下限値	検出下限値	検出下限値
1-オクタノール	0.002	0.006	0.2	0.8
1-ノナノール	0.003	0.009	0.3	0.4
1-デカノール	0.002	0.006	0.2	0.2

### 3 分析法の概要

水質試料は、サロゲートを添加し、ジクロロメタンで抽出後、脱水濃縮・乾固し、*N,O*-ビス（トリメチルシリル）トリフルオロアセトアミド（BSTFA）でTMS化を行い、GC/MS（SIM）で定量する。

底質は、サロゲートを添加し、メタノールで超音波抽出を行う。ジクロロメタンに転溶後、脱水濃縮・乾固し、BSTFAによりTMS化を行ったのち、アルカリ分解を行い、フロリジルカートリッジカラムでクリンアップ後、GC/MS（SIM）で定量する。

生物試料は、サロゲートを添加し、メタノールで抽出、ジクロロメタンに転溶する。脱水・濃縮・乾固し、BSTFAでTMS化を行い、アルカリ分解後、ヘキサンで抽出し、フロリジルのオープンカラムでクリンアップを行い、GC/MS（SIM）で定量する。

### 4 試薬、器具及び装置

#### （1）試薬

・1-オクタノール、1-ノナノール、1-デカノール：市販特級品

- ・ *n*-オクタノール- $d_{17}$ 、*n*-デカノール- $d_{21}$ ：市販標準品（注2）
- ・ ジクロロメタン、メタノール、ヘキサン、エチルエーテル、アセトン：市販残留農薬試験用
- ・ 無水硫酸ナトリウム、塩化ナトリウム：市販残留農薬試験用 電気炉で 550 6 時間焼いて使用（ブランク値の低減のため必ず実行すること）。
- ・ 水酸化ナトリウム、ジメチルホルムアミド：市販特級品
- ・ 水：市販ミネラルウォーター
- ・ *N,O*-ビス（トリメチルシリル）トリフルオロアセトアミド（BSTFA）：市販ガスクロマト用（注3）
- ・ フロリジルカートリッジ：市販品（注4、注5）
- ・ フロリジル：市販品（注6、注7）

## （2）器具及び装置

- ・ KD 濃縮装置                   ： 試料液の濃縮に用いる。
- ・ 超音波洗浄機                 ： 底質試料の抽出に用いる。
- ・ 遠心分離器                   ： 試料の液固分離に用いる。
- ・ 湯浴                            ： 試料のアルカリ分解に用いる。
- ・ カラムクロマト管            ： 内径 1 cm 長さ 30 cm

## 5 試料の採取・運搬

### （1）水質試料

洗剤、水、アセトンの順で洗浄したガラスビンに試料水を採取し、直ちに試料 1 L に対して 1 g のアスコルビン酸を添加し、冷暗所（4 以下）で保存し、氷冷輸送すること。搬入されたサンプルは出来るだけすみやかに分析すること。やむを得ず分析できない場合は冷暗所に保管し、1 週間以内に分析すること。（アスコルビン酸を添加しないと、冷暗所に保管しても 1 日でほぼ完全に分解する。）

### （2）底質試料

底質は、湿重量約 100 g の底質を採取し、夾雑物を除去した後、遠心分離して水分を出来るだけ除いたのち、冷凍保存する。

### (3) 生物試料

生物試料はホモジナイズした後、冷凍保存する。

## 6 試験操作

### (1) 前処理(注8)

#### (ア) 水質試料

試料 1,000 mL を分液ロートにとり、サロゲート標準溶液(100 µg/mL アセトン溶液) 5 µL と塩化ナトリウム 50 g を加え振とうして溶解させる。ジクロロメタン 50 mL を加え、5 分間振とう抽出する。静置後、ジクロロメタン層を分取し、水層には再度ジクロロメタン 50 mL を加え、同様の操作を行う。

ジクロロメタン層を合わせて、無水硫酸ナトリウムで脱水し、KD 濃縮器で 3~5 mL に濃縮し、窒素ガスを吹き付けて乾固寸前まで濃縮し(注9) 試料前処理液とする。

#### (イ) 底質試料

試料 10 g を遠沈管に採り、サロゲート溶液 5 µL 及びメタノール 30 mL を添加し、スパーテルで固まりをよくほぐし 10 分間超音波を照射して抽出を行う。3,000 rpm で 10 分間遠心分離を行い、メタノール層を採取する。残さにはさらにメタノール 30 mL を添加して同様に抽出を行い、メタノール層を合わせる。

メタノール層に 5% 塩化ナトリウム水溶液 100 mL を加え、ジクロロメタン 50 mL ずつで 2 回振とう抽出を行い、ジクロロメタン層を合わせる。ジクロロメタン層は無水硫酸ナトリウムで脱水し(注10) KD 濃縮器を用いて 3~5 mL まで濃縮し、窒素気流で乾固寸前まで濃縮し(注9) 試料の前処理溶液とする。

#### (ウ) 生物試料

試料 10 g をビーカーに採り、サロゲート溶液 5 µL 及びメタノール 30 mL を加え、ホモジナイザーを用いて抽出を行う。次いで 3,000 rpm で 10 分間遠心分離を行い、メタノール層を採取する。残さにはさらにメタノール 30 mL を加え、同様に操作し、メタノール層を合わせる。メタノール溶液に 5% 塩化ナトリウム水溶液 100 mL を加え、ジクロロメタン 50 mL で抽出を行う。水層はさらにジクロロメタン 50 mL で抽出を行い、ジクロロメタン

層を合わせる。ジクロロメタン層を無水硫酸ナトリウムで脱水し（注 10）、KD 濃縮器で 5 mL 程度に濃縮した後、窒素気流で乾固寸前まで濃縮し（注 11）、試料前処理液とする。

## （2）試料液の調製

### （ア）水質試料

試料前処理液にジメチルホルムアミド（DMF）0.2 mL と BSTFA 0.2 mL を加え、栓をして室温で 30 分間放置して TMS 化を行う。反応終了後、5% NaOH 水溶液 2 mL を加えて（注 12）激しく振り混ぜる。次いでヘキサン 2 mL を加えて同様に激しく振り混ぜて静置する。別に 10 mL 容 KD 濃縮管に、綿栓をし無水硫酸ナトリウム約 4 g を入れた小口ポートをセットしたものを用意しておく。パスツールピペットの先端を、静置した水層の約 1 mm 上部のヘキサン層に位置させてヘキサン層を採取し（注 13）、これを無水硫酸ナトリウムの上にしみ込ませ、さらにヘキサン 3 mL で溶出させる。このものを窒素気流により 0.5 mL まで濃縮し試料処理液とする。

### （イ）底質試料

試料前処理液にジメチルホルムアミド（DMF）0.2 mL と BSTFA 0.2 mL を加え、栓をして室温で 30 分間放置して TMS 化を行う。反応終了後、5% NaOH 水溶液 2 mL を加えて激しく振り混ぜた後、栓をして  $70 \pm 3$  の湯浴に漬け時々軽く降り混ぜながら 1 時間アルカリ分解を行う。放冷後、ヘキサン 2 mL を加え、激しく振り混ぜて静置する。水質試料と同様の方法でヘキサン層を採取し、脱水濃縮し乾固寸前まで濃縮し、ヘキサン 1 mL を加えて溶解させる。このものをセップパック フロリジルに負荷し、最初にヘキサン 5 mL で展開しこの画分は捨てる（注 14）。次いで 4% エチルエーテル / ヘキサン 5 mL で展開し、この画分を採取し（注 15）、窒素気流で 0.5 mL に濃縮し、試料処理液とする。

### （ウ）生物試料

試料前処理液に DMF 0.2 mL 及び BSTFA 1 mL を加え（注 16）、軽く降り混ぜた後、栓をして室温に 30 分間放置し TMS 化を行う。5% 水酸化ナトリウム水溶液 8 mL を加え（注 17）、栓をし、良く振り混ぜた後、 $70 \pm 3$  の湯浴にセットし、時々降り混ぜながら 1 時間アルカリ分解を行う。室温に放冷後、分液ポートに入れ、ヘキサン 20 mL を加え、激しく振とうし、静置する（注 18）。ヘキサン層を脱水・濃縮・乾固し（注 9）、ヘキサン 1 mL

を加えて溶解させる。このヘキサン溶液を、あらかじめ用意したクロマト管（内径 1 cm、長さ 30 cm のクロマト管にフロリジル 7 g をヘキサンスラリー法で充てんし、無水硫酸ナトリウムを約 2 cm 層積したものに）に負荷し、4%エ - テルノヘキサン 40 mL で溶出させ（注 15） 0.5 mL に濃縮したものを試料処理液とする。

### （ 3 ）空試験液の調製

#### （ア）水質試料

精製水（又はミネラルウォーター）500 mL にサロゲート及び塩化ナトリウム 25 g を添加し、以下水質試料の前処理及び試料液の調製に従って操作する。

#### （イ）底質試料

精製水（又はミネラルウォーター）5 mL を用いて、以下底質試料の前処理及び試料液の調製に従って操作する。

#### （ウ）生物試料

メタノール 60 mL にサロゲートを添加したものを用いて、以下生物試料の前処理及び試料液の調製に従って操作する。

### （ 4 ）添加回収試験液の調製

水質試料 1,000 mL、底質試料 10 g 及び生物試料 10 g に各対象物質を検出下限値の 5 ~ 10 倍量をアセトン溶液で添加し、充分混合した後、「（ 1 ）前処理」及び「（ 2 ）試料液の調製」に従って操作を行い、得られた試験液を添加回収試験液とする。

### （ 5 ）標準液の調製（注 19）

1-オクタノール、1-ノナノール及び 1-デカノールの各 100 µg/mL アセトン混合溶液（標準混合溶液 - A）及び各 10 µg/mL アセトン混合溶液（標準混合溶液 - B）を調製する（注 20）。

サロゲート標準溶液は 100 µg/mL アセトン混合溶液を調製する。

### （ 6 ）測定

(ア) GC/MS 測定条件

(a) GC

- ・ カラム：溶融シリカキャピラリーカラム (25 m × 0.32 mm 0.52 μm film thickness)
- ・ 液相：5% フェニルメチルシリコン
- ・ カラム温度：60 (1分) 7 /分 280 (5分)
- ・ 注入口温度：250
- ・ 注入法：スプリットレス法 (1分後パージ、1 μL 注入)
- ・ キャリアーガス：He カラムヘッド圧 8.0 psi (線速度 31 cm/秒)
- ・ インターフェース温度：250

(b) MS

- ・ イオン化法：EI
- ・ イオン化エネルギー：70eV
- ・ イオン源温度：250
- ・ イオン化電流：300 μA
- ・ 検出モード：SIM

(c) 測定イオン

対象物質及び内標準物質の測定イオンを表に示す。

	定量用イオン	参考イオン
1-オクタノール	187	103
1-ノナノール	201	103
1-デカノール	215	103
1-オクタノール-d <sub>17</sub>	204	
1-デカノールd <sub>21</sub>	236	

1-オクタノール及び1-ノナノールは1-オクタノール-d<sub>17</sub>を、1-デカノールは1-デカノールd<sub>21</sub>をそれぞれ内標準として定量する。

#### (イ) 検量線

サロゲート標準溶液 5 μL 及び混合標準溶液 - A 又は - B を 0~10 μL の範囲で段階的に採り、ジメチルホルムアミド 0.2 mL 及び BSTFA 0.2 mL を加え、栓をして室温で 30 分間反応させる。5% NaOH 水溶液 2 mL を加え栓をして激しくふりまぜる。次にヘキサン 2 mL を加えて栓をし激しく振り混ぜて静置する。以下「試料液の調製」の項に従って操作し得られた試料液 2 μL を GC/MS に注入し、対象物質のピーク面積と内標準物質とのピーク面積比から検量線を作成する。

#### (ウ) 試料液の測定

検量線作成後、空試験液、測定用試験液及び添加回収試験液を注入して測定を行う。一定時間毎に検量線用の中間濃度の試料液を注入し、期待値の 20% 以内の変動であることを確認する。もし、20% を越えていれば GC/MS を再調整後、検量線を作成し直して測定を再開する。

### 7. 同定、定量及び計算

#### (1) 同定

対象物質の定量イオン及び確認イオンのピークが予想保持時間と ±5 秒以内に出現し、確認イオンと定量イオンのピーク強度比が予想値と ±20% 以内の差で合っていれば、物質が存在していると思なす。

#### (2) 定量

得られた対象物質と内標準とのピーク面積比から検量線により検出量を求める。次に検出量、分析した試料量等から、次式により試料中の濃度を計算する。なお、底質の試料量は乾燥試料量とする。

$$\text{水質試料濃度 (}\mu\text{g/L)} = \text{検出量 (}\mu\text{g)} \times \frac{1}{\text{試料量 (L)}}$$

$$\text{底質試料濃度 (}\mu\text{g/kg)} = \text{検出量 (}\mu\text{g)} \times \frac{1}{\text{試料量 (kg)}}$$

(ここでの検出量とは試料液中に存在する対象物質の全量である。)

## 8 分析精度管理

本調査マニュアルの「 . 分析精度管理」に従い、標準作業手順を設定し、器具・装置の性能評価と維持管理を徹底し、その結果を記録しなければならない。

## 9 注意事項

(注1) 検出下限は8回の空試験を行いブランク値から求めた。

(注2) CIL社製など(備考1)。

(注3) BSTFA は溶液で市販されているものでなく、純品(90%以上)のものを使用すること。

(注4) 例 セツパックRフロリジル(ウォーターズ社製)(備考1)。

(注5) 使用直前にヘキサン10mLで洗浄して使用する。

(注6) 例 フロリジル PR(和光純薬工業製)(備考1)。

(注7) 130 で1夜活性化し、デシケータ内で放冷して使用する。

(注8) 分析(特に誘導体化以前)に使用するガラス器具、特に分液ロートのような表面積の大きなものは使用直前に洗浄して使用する。大気からの汚染があるので注意。

(注9) 乾固はしすぎると対象物質の揮散が起こるので、必ず乾固寸前でとめること。また、窒素ガスからの汚染を防止するため、活性炭を通過させた窒素ガスを使用すること。

(注10) ジクロロメタン中にメタノールが存在しているのでやや脱水しにくい。時々振り混ぜながら30分程度かけて脱水する。

(注11) 生物試料では脂質が残るため乾固の終点がわかりにくい。乾固しすぎてもいけないし、メタノールが残りすぎるとTMS化が完全に進行しない。全量が0.5mL程度になったら加熱を止め慎重に行うこと。

(注12) BSTFA を分解するために添加する。必ず水溶液で添加すること。メタノールやエタノール溶液で添加するとTMS誘導体が完全に分解し、もとのアルコールになってしまう。

(注13) ヘキサン層の全量を採取する必要はない。出来るだけ水層を採らないようにして

9割程度は充分採取できる。

(注 14) カートリッジへの負荷分も含めて 5 mL を捨てる。

(注 15) 溶出パターンについては事前に確認しておく。

(注 16) 水質及び底質試料では 0.2 mL の BSTFA で完全に反応が進行するが、生物試料ではマトリックス(脂質)のため完全に進行しないため、1 mL を加える。

(注 17) 一度に添加すると激しく反応して突沸することがあるので、最初は 0.5 ~ 1 mL 程度を加え(このとき発熱する) 30 分程度静置しておき、反応が緩やかになってから全量を加える。また安全のため保護手袋を着用して行うこと。

(注 18) なかなか分離しないが、1 時間程度静置しておくで分離する。1 時間程度静置しても分離しない場合は遠心分離を行う。

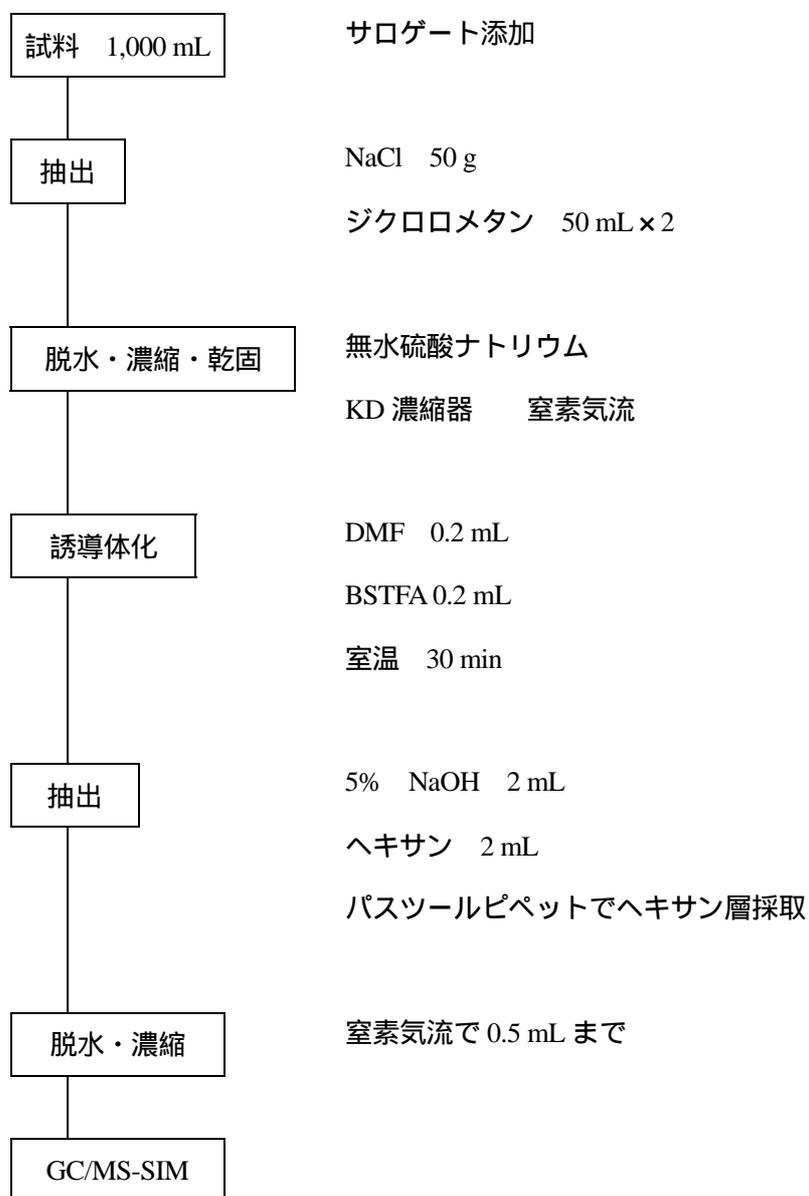
(注 19) 標準液及びサロゲートの濃度レベルは機器(MS)の感度に応じて適宜変更してもよい。

(注 20) 試料中の濃度レベルにかなりの差があるので検量線の濃度レベルを 2 段階にした。試料によって検量線を使い分けたほうが良い。

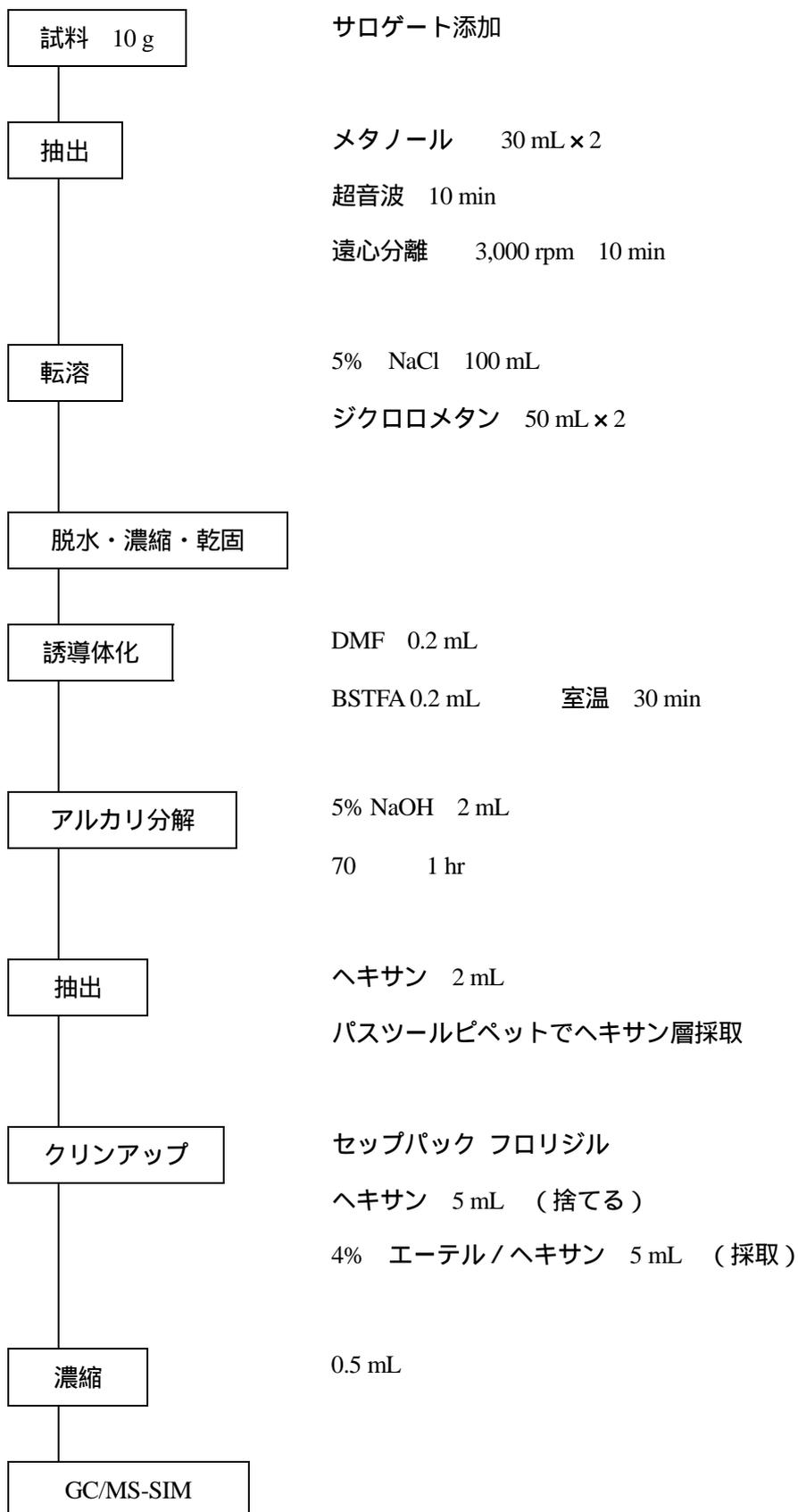
(備考 1) ここに示す商品は、このマニュアルの使用者の便宜上、一般に入手できるもの及び本分析法開発に使用したものを例示したが、これを推奨するものではない。これと同等または同等以上の品質・性能のものを用いても良い。

## 分析法フローチャート

### 水質試料



## 底質試料



## 生物試料

