

x トリクロロホン (DEP) の分析法

1 対象物質

トリクロロホン (DEP)

2 目標検出下限及び定量下限

本分析法の目標検出下限値及び目標定量下限値を表 1 に示す。

表 1 目標とする検出下限値及び定量下限値

水質 (µg/L)		底質 (µg/kg)		生物 (µg/kg)	
目標検出下限	目標定量下限	目標検出下限	目標定量下限	目標検出下限	目標定量下限
0.03	0.1	3	10	3	10

3 分析法の概要

対象物質の水試料からの抽出は、サロゲート物質を添加し、塩酸酸性下で塩化ナトリウムを飽和させ、ジクロロメタンで振とう抽出し、脱水、濃縮して前処理液を得る。

底質試料、生物試料はサロゲート物質を添加し、アセトンで振とう抽出（生物試料はホモジナイズ抽出）する。精製水で希釈し、ヘキサンで洗浄したあと、水試料と同様に対象物質を捕集し、以下同様にして前処理液を得る。

各試料前処理液に無水酢酸を添加してアセチル化したのち、GC/MS で同定・定量を行う。

なお、濃度の算出はサロゲート物質との相対検量線に基づく。

4 試薬、器具及び装置

(1) 試薬

- ・トリクロロホン (DEP): 純度 97%以上の試薬であって測定の妨害となる成分を含有しないもの、または既知濃度に調製した標準液。純品は必要量を精秤して、少量をアセトンに溶解させた後、ヘキサンで 1,000 ~ 2,000 µg/mL の標準原液を調製する。
- ・トリクロロホン (DEP) -d₆: 純度 97%以上の市販標準品。必要量を精秤して、標準物質と同様にアセトンで 1,000 ~ 2,000 µg/mLの標準原液を調製する。
- ・試薬、溶媒類: 無水硫酸ナトリウム、塩化ナトリウムなどの試薬類、ヘキサン、アセトン、ジクロロメタンなどの溶媒類は、原則として残留農薬試験用の純度を用い、あ

あらかじめ測定を妨害する成分が無いことを確認する。

- ・精製水：超高純度水（蒸留水を超純水製造装置で精製したもの）であって、妨害成分を含まないもの。必要に応じて、ジクロロメタンで洗浄して用いる。
- ・窒素ガス：高純度窒素 1 級（純度 99.999% 以上）を用い、配管に活性炭や水分吸収剤を装着する。

（ 2 ）器具及び装置

- ・ガラス器具：試料瓶、分液ロート、共栓付試験管、濃縮フラスコ、遠沈管、メスシリンダー、メスフラスコ、ホールピペット、駒込ピペット、パスツールピペットなど。使用に先立ち、精製水や有機溶媒で十分に洗浄する。
- ・振とう機。
- ・濃縮器（注 1）
- ・ホモジナイザー（注 2）
- ・超音波抽出器：超音波洗浄器または同等品。
- ・ガスクロマトグラフ/質量分析計（GC/MS）
- ・マイクロシリンジ：内部標準液の添加あるいは GC/MS の注入に用いる。

5 試料の採取・運搬

（ 1 ）水質試料

水質試料は、あらかじめアセトン、ヘキサン等でよく洗浄したもので、容量 1 L 程度の共栓またはねじ栓つき褐色硬質ガラス瓶を用いる。採取した試料に 0.1M 塩酸 2 mL を加えて（注 3）酸性状態にし、氷冷して実験室へ持ち帰る。分析操作は可能な限り速やかに行う。やむを得ず保管が必要な場合は、1~2 日を限度として冷暗所（ 4 ）に置く。

（ 2 ）底質試料

底質試料は、エクマンバージ型採泥器等によって表層泥（0~10 cm）を採取し、目視でできる夾雑物を除いて、硬質ガラス瓶、ポリエチレン製袋または箱等に入れ、氷冷・遮光状態で実験室へ持ち帰る。この試料は、孔径 2 mm 目の篩に通した後、20 分間の遠心分離（3,000 rpm）で間隙水を除き、均質に混合したものを分析に供する。底質試料の保存は、調製試料を -4 で凍結させる。

(3) 生物試料

採捕した生物試料は、ポリエチレン製袋に入れ、氷またはドライアイスで保冷したクーラーボックスに収納して、実験室に持ち帰る。生物試料の分析部位は、原則として筋肉組織（可食部）である。生物試料の保存は -4 ℃ での凍結による。

なお、試料採取、運搬、調製にかかわる手順等の詳細は、本マニュアルの「試料の採取、運搬、調製にかかわる一般事項」に従う。

6 試験操作

(1) 前処理

(ア) 水質試料

試料水 1 L にサロゲート標準溶液(1.0 µg/mL のアセトン溶液)0.2 mL を添加したのち、0.1M 塩酸を加え pH を 3.5 に調整する。これに 300 g の塩化ナトリウム（注 4）と 100 mL のジクロロメタンを加えて 10 分間振とうする。ジクロロメタン抽出液を分取して、さらに 100 mL のジクロロメタンで振とう抽出を繰り返す。抽出液にヘキサン 100 mL を加えて無水硫酸ナトリウムで脱水する。脱水した抽出液は、ロータリーエバポレーターまたは窒素気流下 40 ℃ 以下で 1 mL まで濃縮して前処理液とする。

(イ) 底質試料

湿泥 20 g を共栓付遠心沈殿管に採り、サロゲート標準溶液(1.0 µg/mL のアセトン溶液)を 0.2 mL 添加、少量の精製水を添加して十分に攪拌する。これにアセトン 50 mL を加え密栓して 10 分間振とうした後、遠心分離（3,000 rpm、10 分）して抽出液を 1 L 容分液ロートに分取する。この分液ロートにはあらかじめ精製水 500 mL を入れておく。遠心分離の残渣にはアセトン 50 mL を加えて 10 分間振とうして、遠心分離を行い、抽出液を先の分液ロートに併せる。抽出液を入れた分液ロートにヘキサン 50 mL を加えて 10 分間振とうする。静置後、ヘキサン層を捨て、水層に再度ヘキサン 50 mL を加えて、ヘキサン洗浄を繰り返す。水層を水試料と同様に pH 調整し、塩化ナトリウム 300 g、ジクロロメタン 100 mL を加えて 10 分間振とう抽出する。ジクロロメタン抽出液を分取して、さらに 100 mL のジクロロメタンで振とう抽出を繰り返す。抽出液にヘキサン 100 mL を加えて水試料と同様に脱水、濃縮して前処理液とする。

(ウ) 生物試料

細切し均一化した湿組織 20 g にサロゲート標準溶液(1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ のアセトン溶液)0.2 mL を添加しホモジナイザーで攪拌する。これにアセトン 50 mL を加え、10 分間ホモジナイザーで攪拌し対象物質を抽出する。攪拌後、3,000 rpm で 10 分間遠心分離して、抽出液を 1 L 容分液ロートに分取する。この分液ロートにはあらかじめ精製水 500 mL を入れておく。遠心分離の残渣にはアセトン 50 mL を加えて、同様の操作を行い、抽出液を併せる。以降、底質試料と同様にヘキサン洗浄を行い、pH 調整、ジクロロメタン抽出、脱水、濃縮して前処理液とする。

(2) 試料液の調製

(ア) 水質試料

前処理液に無水酢酸 0.1 mL を加え、窒素気流下で 1.0 μL に定容して GC/MS 測定する(注 5)。

(イ) 底質試料

前処理液は水質試料と同様に調製し、GC/MS 測定する。

(ウ) 生物試料

前処理液は水質試料と同様に調製し、GC/MS 測定する。

(3) 空試験液の調製

水試料はそれと同量の精製水、底質および生物試料は精製水 10 mL を用い、試験操作の「前処理」および「試料液の調製」と同様な操作を行って得られた試験液を空試験に用いる。

(4) 添加回収試験液の調製

任意の水試料 1,000 mL、底質と生物試料の 20 g に定量下限値の 5 ~ 10 倍になるよう検量線作成用標準液のアセトン溶液を加え、試験操作の「前処理」および「試料液の調製」と同様な操作を行って添加回収試験液を得る。

(5) 標準液の調製

検量線作成用標準液、サロゲート標準液を調製する。検量線作成用標準液は、その原液をジクロロメタンで希釈して0~1.0 µg/mLの範囲で5段階以上個別に調製する。サロゲート標準液は、トリクロロホン（DEP）の重水素標識標準物質をジクロロメタンで希釈して10 µg/mLの濃度に調製する。

(6) 測定

(ア) GC/MS 測定条件

GC/MS 測定条件の一例を参考として示す。これを参考にして適宜設定する。(注6)

(a) ガスクロマトグラフ部

試料注入部：スプリットレス、オンカラム、昇温気化方式などの非分割方式のもの。

キャピラリーカラム：5%フェニルメチルシリコン系、内径0.25~0.32 mm、長さ20~30 m、膜厚0.2~0.3 µm。

キャリアーガス：純度99.999%以上の高純度ヘリウム、流速1 mL/min、線速度41~35 cm/sec。

カラム恒温槽：50 (1 min) (30 /min) 170 (5 /min) 250 。

(b) 質量分析部

イオン化法：電子衝撃イオン化（EI）法、イオン化電圧70 eV。

イオン源温度：230 。

インタフェース温度：250 。

イオン検出法：選択イオンまたは全イオン検出。

(c) 測定イオン

対象物質および内部標準物質の検出に設定する測定イオンを表2にまとめた。

表 2 5%フェニルメチルシリコン系カラムの溶出順位とモニターイオン質量

項目番号	物質名	質量数	モニターイオン m/z		
			定量	確認	
IS	トリクロロホンアセチル-d ₆	305.93	116	-	-
165	トリクロロホンアセチル	299.93	110	109	124

(イ) 検量線

(a) 標準液の測定

各濃度段階の検量線作成用標準液 (0~2.0 µg/mL の範囲で 5 段階以上) 0.5 mL にサロゲート標準液 (1.0 µg/L) 0.2 mL を添加し、さらに無水酢酸 0.1 mL を加えて 1.0 mL に定容する。この標準液系列は、標準物質を 0~1.0 µg/mL、サロゲート物質を 0.2 µg/mL の濃度で含み、1 濃度段階の 1 または 2 µL の一定量を最低 3 回 GC/MS に注入し、全濃度域で計 15 点以上のデータを得る。

(b) ピーク面積 (または高さ) の強度比の確認

得られたクロマトグラムから、定量用と確認用質量のイオン強度比が、対応するマススペクトル上の強度比とほぼ一致することを確認する。

(c) 検量線の作成

表 2 の通り、各標準物質と対応する測定用内標準物質の濃度比と強度比の関係を XY プロットし、検量線を作成する。この時、各濃度段階における標準物質毎の強度比の変動が 5% 以内であることを確認する。

(ウ) 試料液の測定

実試料、空試験あるいは添加回収試験から得られた試料液に測定用内標準混合溶液 (10 µg/mL) を 10 µL 添加したのち 1.0 mL に定容して、GC/MS 注入用の試料液とする。注入量は検量線作成用の混合標準液と同量であって 1 または 2 µL である。検出されたクロマトグラム上のピークについて、同定確認の後、対応する測定用内部標準物質のピーク強度 (面積または高さ) に対する対象物質のピーク強度の比から、検量線または相対感度係数により定量する。

7 同定、定量及び計算

(1) 同定

測定対象物質および内標準物質の定量イオンと確認イオンのピークが、検量線に用いた標準物質などの保持時間の±5秒以内に出現し、定量イオンと確認イオンのピーク強度比が検量線作成に用いた標準物質などの強度比の±20%以内で一致していればその物質が存在しているとみなす。

(2) 定量

内標準物質と対象物質のピークの強度比から、検量線から濃度比を求め、次式により試料中の対象物質の濃度を算出する。

$$Ct(\mu\text{g}/\text{l}, \mu\text{g}/\text{kg}) = \frac{RFt \times Qis(\mu\text{g})}{Vs(\text{l}, \text{kg})}$$

ここで、Ct：対象物質の試料中濃度（μg/L または μg/kg）、RFt：濃度比、Qis：内標準物質の添加量（μg）、分析への試料採取量：Vs（L または kg）。なお、底質の試料量は乾燥試料量とする。

8 分析精度管理

本調査マニュアルの 章“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) ロータリーエバポレータ（恒温槽付き）または Turbo Vap 、 Turbo Vap LV などの窒素吹き付けによるものまたは同等の性能を有するもの（備考1）。

(注2) 万能ホモジナイザー（ポリトロン）、超高速万能ホモジナイザー（ヒスコトロン）、攪拌分散器（ウルトラターラックス）または同等品（備考1）。

(注3) トリクロロホンは加水分解と脱塩素を受けやすく、pH=6以上または加熱により促進され、アルカリでジクロロボス（DDVP）に変化するため、試料採取後ただちに pH 調整を行う。

(注4) 塩化ナトリウム飽和状態で抽出する。

(注5) 無水酢酸は、測定直前に添加する。

(注6) 注入口ライナーの汚れは定量値に大きく影響するので注意を要する。また、測定前に標準物質を数回注入し面積値等が安定してから本測定する必要がある。

(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。

10 参考

参考文献

- 1) 環境庁 水質保全局 水質管理課：「置換ベンゼン類、有機酸エステル類、有機リン酸エステル類及び農薬類の分析法」，要調査項目等調査マニュアル，p81-99（平成12年12月）
- 2) 岡本寛、大橋則雄、笹野英雄：「トリクロロホン（DEP）：平成4年度化学物質分析法開発調査報告書」，環境庁 環境保健部 保健調査室，1-14（平成5年6月）

分析法フローチャート
水試料

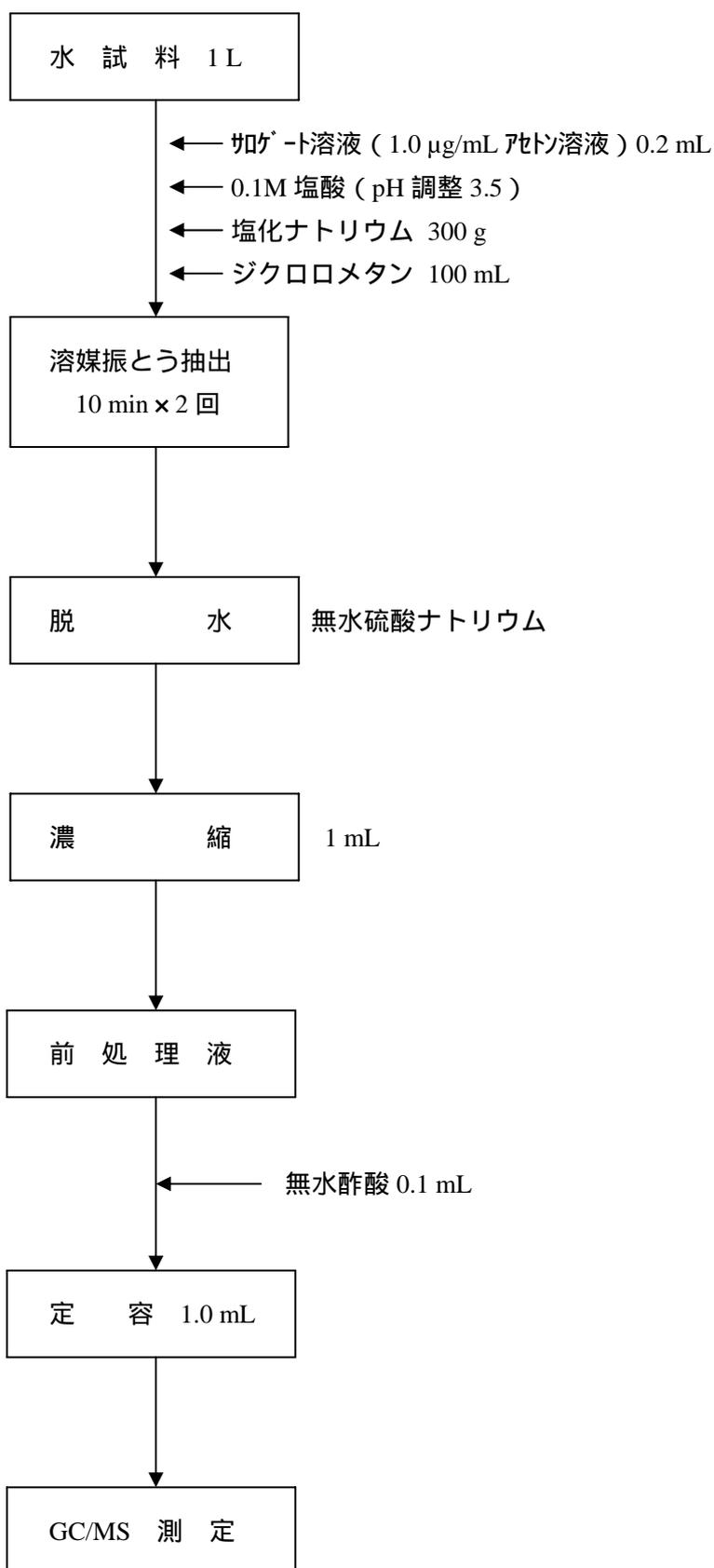


図 1 水試料の分析操作手順

底質試料

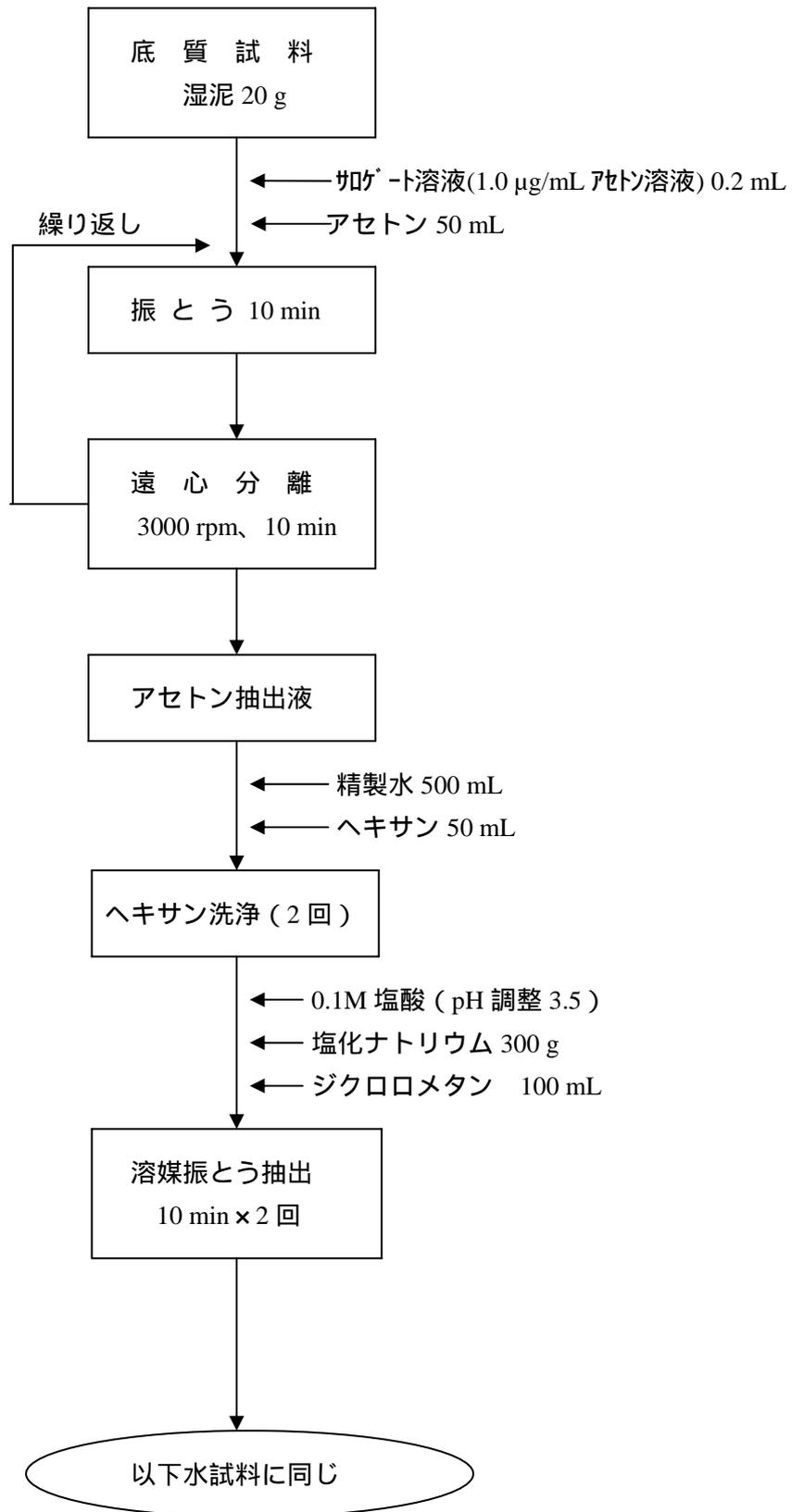


図2 底質試料の分析操作手順

生物試料

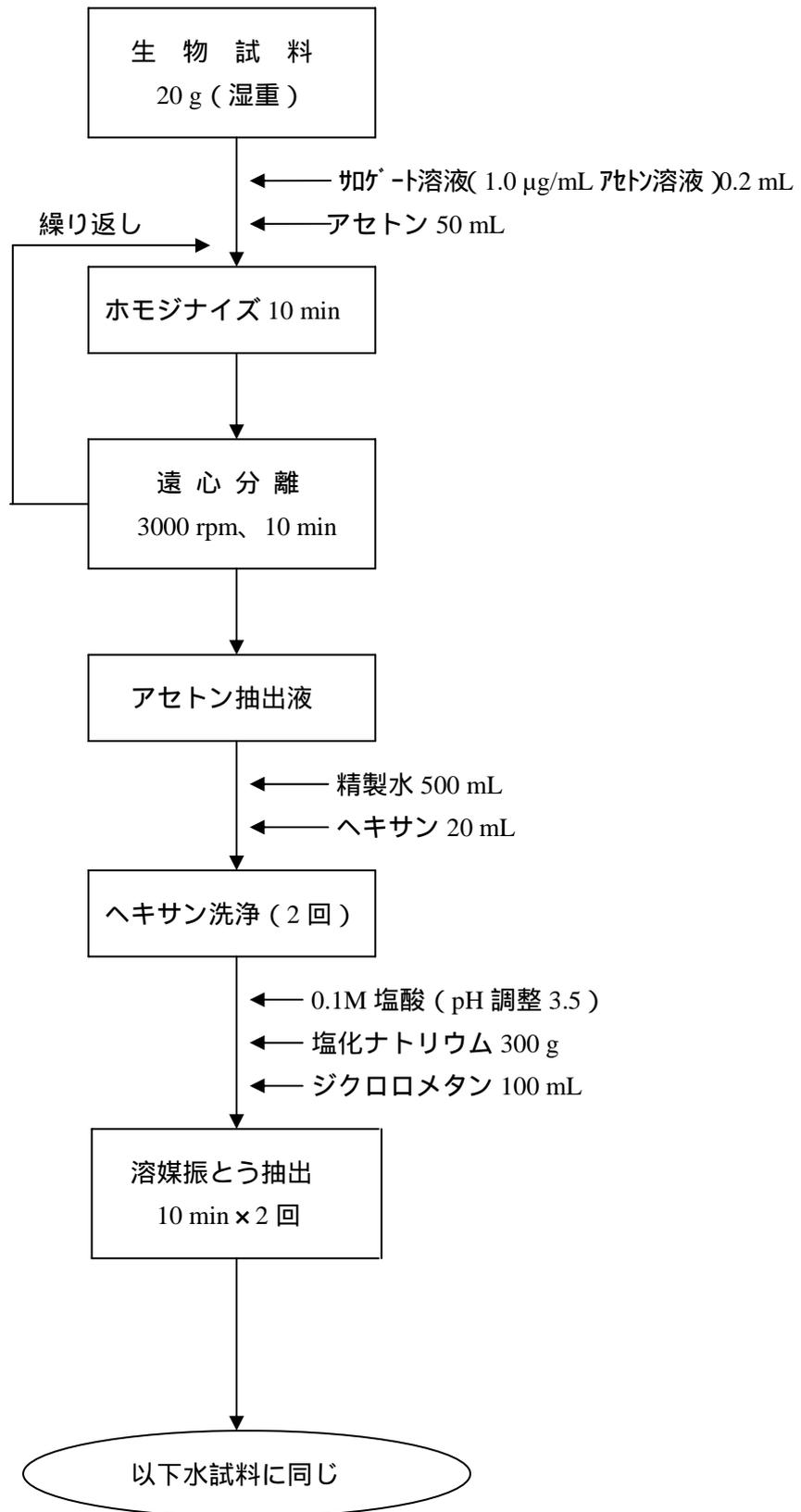


図3 生物試料の分析操作手順