

2,4-ジクロロ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：2,4-ジクロロフェノール標準品（99%以上）
- ・ サロゲート内標準物質： $^{13}\text{C}_6$ 標識化 2,4-ジクロロフェノール標準品（99%）（注 1）
- ・ シリンジスパイク内標準物質：アセナフテン- d_{10} 標準品（注 2）
- ・ 水：日本工業規格 K 0557 に規定する A1～A4 の水（注 3）
- ・ アセトン：残留農薬・PCB 試験用
- ・ ヘキサン：残留農薬・PCB 試験用
- ・ ジクロロメタン：残留農薬・PCB 試験用
- ・ 硫酸ナトリウム：残留農薬・PCB 試験用
- ・ 塩酸：特級
- ・ 1 mol/L 塩酸：濃塩酸 1 容を精製水 11 容に入れて希釈したもの。
- ・ *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)：環境分析用
- ・ 固相抽出カートリッジカラム（注 4）：逆相系固相

（注 1）重水素標識化体も市販されているが、フラグメントイオンによる干渉があるため、 ^{13}C 標識化体を使用することが望ましい。

（注 2）内標準物質には測定対象物質（2,4-ジクロロフェノール）を妨害せず、安定して検出されるものを使用する。また、測定対象物質の保持時間と大きく離れないものが望ましい。ここではアセナフテン- d_{10} を使用した。

（注 3）使用前に空試験を行い、対象物質の分析に影響がないことを確認する。

（注 4）逆相系固相カートリッジカラムとして、Waters 社製の Oasis[®] HLB 等がある。

2 器具・装置

- ・ ガラス器具類：使用前に水で洗浄した後、更にアセトン、次いでヘキサンで洗浄し、乾燥したものを使用する。
- ・ pH 計：校正して使用する。
- ・ 固相抽出用器具：カートリッジ、コンセンレーター、注射筒等
- ・ 窒素吹き付け濃縮装置
- ・ ガスクロマトグラフ/質量分析計：キャピラリーカラムを装着できるもの

3 試験操作

(1) 試料の採取・運搬

水質試料は細口褐色ガラス瓶（内容積は 500～1000 mL 程度。金属キャップ付き）に、試料水で内部を 2～3 回共洗い後、泡立てないように静かに容器に流し入れて満水にし、直ちに密栓する。密栓の後、容器中に気泡が無いことを確認する。なお、残留塩素が含まれている場合は、採水時に残留塩素 1 mg に対してアスコルビン酸ナトリウムを 0.01～0.02 g の割合で加える。採取した試料は冷蔵状態で試験室まで運搬し、すみやかに分析する。

また、試料容器のガラス瓶は、洗剤、水、アセトン、ヘキサンの順で洗浄し、乾燥後密栓したものを使用する。

(2) 前処理及び試験液の調製

(ア) 試料を振り混ぜ均一化した後、100 mL を分取し、サロゲート内標準液として $^{13}\text{C}_6$ 標識化 2,4-ジクロロフェノール内標準液 (5,000 ng/mL) を加えた後 (例えば各 50 μL)、1 mol/L 塩酸溶液で pH 3～4 に調整する。その後、加圧法により試料を固相カートリッジカラム (注 5) に 5～10 mL/min の速度で抽出する。

(イ) 試料を通水後、カラムの上端から精製水約 5 mL を緩やかに通してカラム内を洗浄した後、吸引等でカラム内の水分を除去する。更に窒素パージによりカラム内の乾燥させた後、ジクロロメタン 9 mL で溶出する (注 6)。なお、溶出流量は一滴/秒程度とする。

(ウ) この溶出液を無水硫酸ナトリウムで脱水後、窒素を緩やかに吹き付け、約 4.5 mL になるまで濃縮する (注 7) (注 8)。この濃縮液に BSTFA 0.5 mL を添加して緩やかに攪拌した後、1 時間放置する。放置後、シリンジスパイク内標準液を添加し、試験液とする。

(3) 空試験液の調製

試料と同量の精製水を用いて、「6 試験操作 (1) 前処理及び試験液の調製」に従って試料と同様の処理をして得た試験液を空試験液とする。

(4) 標準液の調製

標準物質、サロゲート内標準物質及びシリンジスパイク内標準物質はそれぞれ 100 mg を精秤してアセトンで正確に 100 mL に定容し、1,000 $\mu\text{g/mL}$ の標準原液、サロゲート内標準原液及びシリンジスパイク内標準原液を調製する。

標準原液、サロゲート内標準原液は適宜アセトンで希釈し、標準液は 5 段階以上になるようにジクロロメタン溶液として調製する。また、サロゲート内標準液は各標準液に一定

濃度で調製する。これらに BSTFA を添加して、軽く攪拌した後、1 時間放置して誘導体化する。誘導体化後、各標準液にシリンジスパイク内標準液として、アセナフテン- d_{10} を一定濃度となるよう添加する。添加用のシリンジスパイク内標準液はヘキサンで調製する。

これを検量線作成用標準液とし、それぞれの一定量（試験液と同量。例えば、 $1\ \mu\text{L}$ ）を GC/MS に注入する。

(5) 分析

(ア) GC/MS 測定条件

(a) GC

- ・カラム：(5 % -フェニル) -メチルポリシロキサン型（内径 0.25 mm、長さ 30 m、膜厚 0.25 μm 程度）カラム又は同等以上の分離性能をもつもの（注 9）
- ・カラム温度：40 (1min) 10 /min 120 (0min) 5 /min 150 (0min) 20 /min 280 (5 min)
- ・注入口温度：250
- ・キャリアガス：ヘリウム、1 mL/min
- ・注入法：スプリットレス（パージ開始時間 1 min）
- ・注入液量： $1\ \mu\text{L}$

(b) MS

- ・イオン源温度：230
- ・イオン化法：EI
- ・検出モード：SIM

(c) 測定イオン

対象物質、サロゲート内標準物質及びシリンジスパイク内標準物質の測定イオンを表 2 に示す。

表 2 対象物質、サロゲート内標準物質及びシリンジスパイク内標準物質の測定イオン

| 物質名 | 定量イオン (m/z) | 確認イオン (m/z) |
|---|-----------------|-----------------|
| 2,4-ジクロロフェノール-TMS 誘導体 | 219 | 234 |
| 2,4-ジクロロフェノール- $^{13}\text{C}_6$ -TMS 誘導体 | 227 | 242 |
| アセナフテン- d_{10} | 164 | - |

(イ) 検量線（注 10）、（注 11）

検量線作成用標準液の一定量を GC/MS に注入して、検量線作成用標準液中の対象物質とサロゲート内標準物質の面積比を求め、検量線を作成する。

(ウ) 試験液の測定

試験液の一部を GC/MS に注入する。試験液中の対象物質とサロゲート内標準物質の各測定イオンの面積を求める。

(エ) 同定

対象物質、サロゲート内標準物質及びシリンジスパイク内標準物質について、定量イオン及び確認イオンが、検量線作成に用いた標準物質の保持時間の ± 5 秒以内に出現し (注 12)、確認イオンの強度比が検量線作成に用いた標準物質における強度比の ± 20 % 以下であれば、対象物質などが存在していると思なす。

(オ) 定量及び計算

試験液中の対象物質及びサロゲート内標準物質の面積比並びにサロゲート内標準物質の添加量から、(イ) で作成した検量線を用いて、対象物質の量 (検出量) を求め、次式によって試料中の対象物質の濃度を計算する。

$$\text{対象物質濃度}(\mu\text{g/L}) = (\text{検出量}(\text{ng}) - \text{空試験液の検出量}(\text{ng}) (\text{注 13})) / \text{試料量}(\text{mL})$$

(注 5) 使用前にジクロロメタン約 10 mL、アセトン約 5 mL、次いで精製水約 10 mL を通して洗浄する。

(注 6) バックフラッシュを利用することにより 5mL に低減も可能であり、事前に試料量と同量の精製水に既知量の対象物質を添加し、固相抽出を行い、対象物質の溶出に必要なジクロロメタン量を確認しておく。

(注 7) 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 8) 液量が減る度に段階的に少量のジクロロメタンで濃縮容器の壁面を洗浄する。

(注 9) ジクロロフェノールは 6 種類の異性体が存在するため、2,4-ジクロロフェノール-TMS 誘導体が他の異性体と分離するキャピラリーカラムを使用する。ここでは DB-5MS を使用した。(備考 1)

(注 10) 検量線の切片は限りなく 0 (ゼロ) に近づける。

(注 11) 検量線の R^2 は 0.990 以上 (0.995 以上が望ましい) であることを確認する。これ以下の場合は、測定条件の見直しや検量線の範囲を狭くする等して、再度作成する。

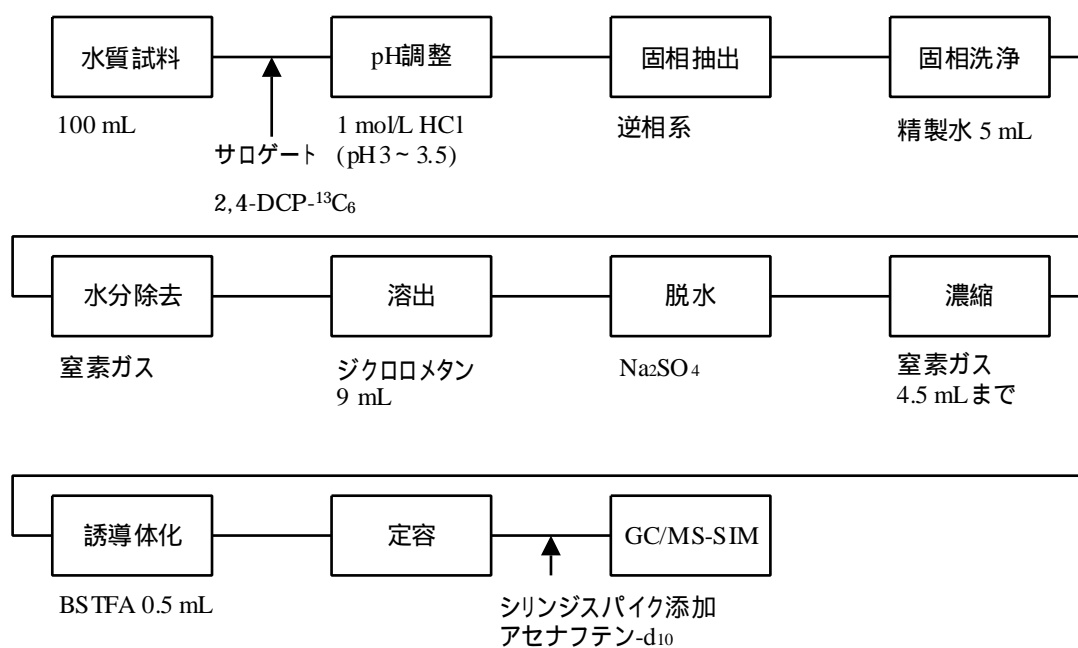
(注 12) 測定用試料中に夾雑物が多い場合には、保持時間が変わることがあるので注意する。

(注 13) 空試験液における検出値が空試験に用いた水以外の試料に由来する場合は、空試験液の検出量を差し引くこと。

備考

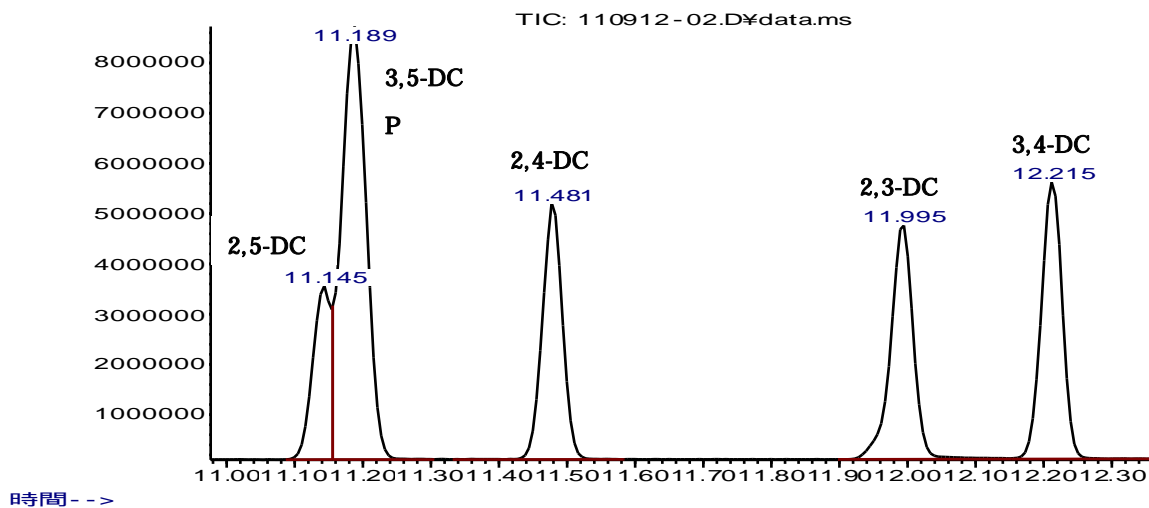
- 1 ここに示す商品は、このマニュアル使用者の便宜のために、一般に入手できるものとして例示したが、これを推奨するものではない。これと同等以上の品質、性能のものを用いてもよい。
- 2 この測定方法における用語の定義その他で、この測定方法に定めのない事項については日本工業規格に定めるところによる。

分析法フローチャート



参考資料：ジクロロフェノール-TMS誘導体のクロマトグラム

アバンドンス



分析カラム：DB-5MS (Agilent 社製 30 m × 0.25 mm、0.25 μm)