

8 注意事項

- (注 1) ジクロロメタン抽出に代えて固相抽出を行い、捕集した対象物質を、メタノール及び酢酸エチルで溶出してもよい。また、臭化ペンタフルオロベンジルを用いて誘導体化を行ってもよい。
- (注 2) 全操作を通じて、良好な回収結果が得られることをあらかじめ確認すること。
- (注 3) 純度を確認してから使用すること。
- (注 4) 純度を確認してから使用すること。サロゲートとしてここに掲載するもの以外で適当なものがあれば使用してもよい。
- (注 5) 内標準はサロゲートの回収率の確認に用いる。内標準としてここに掲載するもの以外で適当なものがあれば使用してもよい。
- (注 6) 使用前に空試験を行い、使用の適否を確認すること。
- (注 7) 又は、特級品を 500~700℃で 8 時間程度加熱後、汚染のない場所で冷却して用いる。使用前に空試験を行い、使用の適否を確認すること。
- (注 8) 蒸留水や逆浸透膜により精製した水などを用いる。必要に応じて *n*-ヘキサンや使用する溶媒などで洗浄する。いずれも使用前に空試験を行い、使用の適否を確認すること。
- (注 9) 長期の保存はさける。保存した標準原液などは、純度を確認してから使用する。
- (注 10) 溶媒抽出に代えて固相抽出を行っても良い。この場合は以下のように操作する。

(1) 試薬、器具及び装置

- ・ 固相：カートリッジ型、ディスク型など。あらかじめ、酢酸エチル 10ml、メタノール 15 mL 及び精製水 15 mL でコンディショニングしてから使用する。
- ・ ガラス繊維ろ紙：保留粒子径 1 μm 程度のもので、あらかじめメタノール等の溶媒で洗浄するか、450℃程度で焼成し、妨害物質の溶出がないことを確認したもの。
- ・ ろ過装置

- ・ 固相抽出装置
- ・ 溶出装置

(2) 前処理

試料水 50 mL を正確にはかりとり、ガラス繊維ろ紙でろ過する。サロゲート 0.1 μ g (注11) 及び塩化ナトリウム 10 g (注12) を加え、よく振り混ぜて混合し、6M塩酸で pH 3 以下とする。得られた液を固相に通水する。精製水 10 mL でカートリッジカラムを洗浄後、メタノール 2 mL 及び酢酸エチル 3 mL で溶出する。(なお、浮遊物が多い試料では、ガラス繊維ろ紙でろ過し、得られたろ液を固相に通水する。浮遊物はメタノールで超音波抽出等の抽出操作を行い、得られた抽出液を 3000 rpm で 10 分間遠心分離後、固相からえられた溶出液にあわせる。) 窒素を吹き付けることにより 3 mL 程度に濃縮する(注13)。少量の無水硫酸ナトリウムで脱水後、さらに窒素を吹き付けることにより濃縮し 1 mL とし (注14)、得られた溶液を前処理液とする。

(注 11) サロゲートの添加量は対象物質濃度や試験操作条件などに応じて適切な量としてよい。

(注 12) 海水試料では塩化ナトリウムは加えない。

(注 13) 抽出液を加温したり、多量の窒素ガスを吹き付けると対象物質が揮散することがあるので注意する。

(注 14) 液量は対象物質濃度や試験操作条件などに応じて適切な量としてよい。

(注 15) 内標準の添加量は対象物質濃度や試験操作条件などに応じて適切な量としてよい。

(注 16) GC/MS 測定において対象物質のピーク形状が著しく悪い場合は以下に示す誘導体化を行う。

(1) 試薬、器具及び装置

- ・ 内標準：フェナントレン- d_{10}
- ・ 2-プロパノール：試薬特級
- ・ 標準混合溶液：各標準原液 10 mL を正確にはかりとり混合し、2-プロパノールで正確に 100 mL としこれを標準混合液とする。標準混合液は 1 mL 中に各標準 100 μ g を含む。
- ・ PFBB 溶液：臭化ペンタフルオロベンジル 1 g、18-クラウン 6-エーテ

ル 1 g を 2-プロパノールで溶かし 50 mL としたものの。この溶液は冷暗所保存で 1 週間程度安定である。PFBB の毒性は不明であるが、催涙性が強いため、必ず手袋を着用し、ドラフト内で扱うこと。また、使用済の器具は、付着した試薬をアルカリ液で分解後、洗浄すること。標準試薬の秤量操作などもドラフト内で行い、実験者への化学物質の曝露を出来るだけ避けること。

(2) 誘導体化操作

GC/MS 測定用試料に、PFBB 誘導体化試薬 0.5 mL 及び炭酸カリウム約 3 mg を加えた後、密栓をし、80℃で 30 分間加熱する。冷却後、20%塩化ナトリウム溶液水 6 mL、ヘキサン 2 mL を加え、激しく振り混ぜて静置する。パスツールピペットを用いてヘキサン層を採取し、抽出を再度繰り返す。ヘキサンを少量の無水硫酸ナトリウムをつめたカラムに通じ乾燥し、容器とカラムをヘキサン 5 mL で洗浄し、抽出液とあわせ、窒素を吹き付け 1 mL とする（注 14）。内標準化合物を 0.2 μg 添加し（注 15）、GC/MS 測定用試料とする。

標準混合液を 2-プロパノールで希釈し、各対象物質濃度を 0.05 μg/mL から 1 μg/mL の範囲で数点の希釈混合標準液を作成する（注 20）。2-プロパノール及び各濃度の希釈混合標準液 1 mL をとり、サロゲート 0.1 μg（注 17）を加えよく混合する。PFBB 誘導体化試薬 0.5 mL 及び炭酸カリウム約 3 mg を加えた後、密栓をし、80℃で 30 分間加熱する。冷却後、精製水 6 mL、ヘキサン 2 mL を加え、激しく振り混ぜて静置する。パスツールピペットを用いてヘキサン層を採取し、抽出を再度繰り返す。ヘキサンを少量の無水硫酸ナトリウムをつめたカラムに通じ乾燥し、容器とカラムをヘキサン 5 mL で洗浄し、抽出液とあわせ、窒素を吹き付け 1 mL とする。内標準 0.1 μg（注 18）を添加し、GC/MS 測定用試料とする。

(3) GC/MS 条件の例（注 21、注 22）

(a) GC

- ・カラム：5%フェニルメチルシリコン又は 5%フェニルメチルシリコン化学結合型（内径 0.2~0.32 mm、長さ 15~30 m、膜厚 0.1~3.0 μm 程度）カラムまたは同等以上の分離性能をもつもの（注 23）

- ・カラム温度：60℃(1分)→7.5℃/分→280℃
- ・注入口温度：250℃
- ・キャリアガス：ヘリウム (線速度 40 cm/秒)
- ・注入法：スプリットレス (1分後ページ開始)

(b) MS

- ・イオン化法:EI
- ・イオン化エネルギー：70eV
- ・イオン化電流：300 μA
- ・イオン源温度：250℃
- ・検出モード：SIM (注 24)
- ・測定イオン(注 25)

化合物名	測定イオン	
	定量イオン	確認イオン
フェノール-PFB	274	181
フェノール-d ₅ -PFB	279	181
フェナントレン-d ₁₀	188	—

(注 17) サロゲートの添加量は試料の前処理液の場合と同量とする。

(注 18) 内標準の添加量は試料の前処理液の場合と同量とする。

(注 19) 空試験値については可能な限り低減化を図ること。対象物質を含まない精製水を調製することが困難な場合は、試薬ブランクをもって空試験とする。

(注 20) 試料中の対象物質濃度や試験操作条件に応じて適切な濃度範囲とする。

(注 21) 共存する他の物質の影響を受けないよう GC 条件を十分検討する。また、試料注入部やカラムなどに対象物質が吸着することがあるので、材質や汚れなどに注意する。

(注 22) GC の注入口セプタムからゴーストが出現することがある。その場合には、セプタムを GC に装着後、270℃程度で一夜程度ページしてから使用する。

(注 23) ポリエチレングリコールを液相とするカラム例として DB-Wax, Supelco-Wax 10 などが、また、5%フェニルメチルシリコンを液相とするカラム例として DB-5、50%フェニルメチルシリコンを液相とするカラム例として DB-17 などがある (備考 1)。

(注 24) GC/MS 測定において、十分な感度が得られれば SIM 測定の代わりにスキャ

ン測定でもよい。

(注 25) ここに示す測定イオン例を参考にして、最適な定量用イオンを選定する。定量用イオンと異なる質量数のイオンを対象物質の確認用イオンとする。

(注 26) GC/MS への注入量は装置に応じて適切な量とする。

(注 27) GC/MS への注入量は検量線作成の場合と同量とする。

(注 28) 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 29) 空試料における検出値が空試験に用いた水に由来する場合は、空試料の検出量は差し引かない。

(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のために、一般に入手できるものとして掲げたが、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。

ホルムアルデヒドの分析法案

1 対象物質

ホルムアルデヒド

2 目標検出限界値及び定量下限値

水質における本分析法の目標検出限界値は 1 µg/L、定量下限値は 3 µg/L である（注 1）。

3 分析法概要

水質試料に直接ペンタフルオロベンジルヒドロキシルアミン塩酸塩（PFBOA）を加えて誘導体化し、過剰の PFBOA を硫酸で分解後、ヘキサンで抽出する。抽出液を脱水後、濃縮しないで GC/MS（注 2）で定量する。

ここで対象とするホルムアルデヒドは遊離状態のもので、結合状態のものは対象としない。

4 試薬・器具

(1) 試薬

- ・ホルムアルデヒド：市販特級品
- ・内標準物質（ナフタレン-d₈）：市販標準品
- ・ペンタフルオロベンジルヒドロキシルアミン塩酸塩（PFBOA）：市販標準品
- ・PFBOA ホルムアルドキシム：市販標準品
- ・メチルアルコール、ヘキサン：残留農薬試験用試薬
- ・無水硫酸ナトリウム：残留農薬試験用試薬
- ・ヨウ素酸カリウム：容量分析用標準試薬
- ・その他の試薬：特級試薬を用いる
- ・蒸留水：市販のもの
- ・ブランク水：ホルムアルデヒドのブランク値が低い水（注 3）
- ・ヨウ素溶液：ヨウ素約 13 g をビーカーに採り、ヨウ化カリウム 20 g と蒸留水 20 mL を加えて溶かした後、蒸留水を加えて 1 L としたもの。
- ・水酸化カリウム溶液（6 w/v%）：水酸化カリウム 6 g を蒸留水 94 mL に溶かしたも

の。

- ・硫酸（1 + 15）：純硫酸 1 容を蒸留水 15 容に入れて希釈したもの。
- ・硫酸（1 + 5）：純硫酸 1 容を蒸留水 5 容に入れて希釈したもの。
- ・硫酸（1 + 1）：純硫酸 1 容をブランク水 1 容に入れて希釈したもの。
- ・でんぷん溶液（1 w/v%）：可溶性でんぷん 1 g を蒸留水 99 mL にとかしたもの。腐敗しやすいために、冷蔵庫内での短期保存しかできない。
- ・0.1 mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液：市販のチオ硫酸ナトリウム五水和物 26 g 及び炭酸ナトリウム 0.2 g を蒸留水に溶かして 1 L とする。2 日間放置した後、使用時に標定して使用すること。

[標定] 容量分析用標準試薬のヨウ素酸カリウムを 130°C で約 2 時間加熱し、デシケーター中で放冷する。その約 0.72 g を 1 mg のけたまで正確に量り採り、少量の蒸留水に溶かしてメスフラスコ（200 mL）に移し入れ、蒸留水を標線まで加える。この 20 mL を共栓付き三角フラスコ（300 mL）に採り、ヨウ化カリウム 2 g 及び硫酸（1 + 5）5 mL を加え、直ちに密栓して静かに混ぜ、暗所に約 5 分間放置する。蒸留水約 100 mL を加えた後、遊離したヨウ素をこのチオ硫酸ナトリウム溶液で滴定し、溶液の黄色が薄くなってから指示薬としてでんぷん溶液（1 w/v%）1 mL を加え、生じたヨウ素でんぷんの青い色が消えるまで滴定する。別に、蒸留水について同一条件で空試験を行って補正した mL 数から、次式によって 0.1 mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液のファクター（f）を算出する。

$$f = a \times (b/100) \times (20/200) \times [1 / (x \times 0.003567)]$$

ここで、a：ヨウ素酸カリウムの量（g）

b：ヨウ素酸カリウムの純度（%）

x：滴定に要した 0.1 mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液（補正值、mL）

- ・ペンタフルオロベンジルヒドロキシルアミン塩酸塩（PFBOA）溶液：PFBOA 600 mg をメスフラスコ（100 mL）に採り、ブランク水で溶かして全量を 100 mL とする。本溶液は冷暗所に保存する。

（2）器具及び装置

- ・振とう機
- ・ガスクロマトグラフ／質量分析計 (GC/MS) : GC はキャピラリーカラム対応のもの。
MS は二重収束型もしくは四重極型のもの。

5 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、試料水で内部を共洗い後、空気が入らないようにロ一杯に試料水を満たし、冷蔵状態で試験室まで運び、すみやかに分析する。

水質試料にチオ硫酸ナトリウムなどを添加することは、汚染を持ち込む可能性があるもので、やむを得ない場合を除いて行わない。やむを得ず添加した場合は、試薬によるブランクをチェックすること。

試料容器は純水で十分洗浄後、200℃程度のオーブンで 6 時間ほど加熱し、冷却後密栓して清浄な場所に保管する。

ホルムアルデヒドは空気中の微量常在成分であり、家具類や衣類、プラスチックからも発生することがあるので、試料採取容器の汚染には細心の注意を払う必要がある。ホルマリンを使用している実験室で試料および採取容器を扱うことは避けねばならない。

6 試験操作 (注 4)

(1) 前処理法

水質試料 100 mL を取り出し、必要ならばガラス製フィルターでろ過してけん濁物を除き、ガラス栓 (密栓) 付き三角フラスコ (100 mL) に入れる。

(2) 試料液の調製

前処理法で得られた液に PFBOA 溶液 1 mL を加えて密栓し緩やかに振とうし、2 時間放置する。硫酸 (1 + 1) 1.6 mL を加えてよくかき混ぜ、5 分間おく。次いで塩化ナトリウム 25 g を溶かし、ヘキサン 10 mL で 10 分間抽出する。抽出液に内標準液 1 mL を加えてよく混合し、無水硫酸ナトリウムで脱水したもの (注 5) を試料液とする。

(3) 空試験液の調製 (注 6)

PFBOA 溶液 1 mL に硫酸 (1 + 1) 1.6 mL を加えてよくかき混ぜ、ブランク水 100 mL

を加えて5分間おく。次いで塩化ナトリウム 25 g を溶かし、ヘキサン 10 mL で10分間抽出する。内標準液 1 mL を添加して、無水硫酸ナトリウムで脱水したものを空試験液とする。

(4) 添加回収試験液の調製

任意の水質試料 100 mL にホルムアルデヒド 5 µg を添加し、十分に混合した後、「前処理法」ならびに「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

- ・ホルムアルデヒド標準原液 (1 mg/mL) : ホルマリン (ホルムアルデヒド濃度 : C %) の 10/C (g) を正確にメスフラスコ (100 mL) に採り、メタノールを加えて全量を 100 mL とする。本溶液は、褐色ガラス瓶に入れて冷凍保存する。ここで、C の値は以下のように標定する。

[標定] 市販ホルマリンの約 1 g をブランク水 5 mL を入れた褐色メスフラスコに採り、ブランク水を加えて 100 mL とする。その 10 mL を共栓付き三角フラスコに採り、これにヨウ素溶液 50 mL 及び水酸化カリウム溶液 (6 w/v%) 20 mL を加え、栓をして静かに振り混ぜ、15分間常温で静置する。次いで、硫酸 (1 + 15) 15 mL を加え、遊離したヨウ素を 0.1 mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液を用いて滴定し、液が淡黄色になったら、でんぷん溶液 1 mL を指示薬として加えた後、液の青色が消えるまで更に滴定し、これに要した 0.1 mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液の mL 数 (a) を求める。別にブランク水 10 mL についても同様に操作し、これに要した 0.1 mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液の mL 数 (b) を求め、次式によりホルマリン中のホルムアルデヒド含量 (%) を算定する。

$$C = 1.5013 \times [(b-a)/W] \times f$$

ここで、f : 0.1 mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液のファクター

W : ホルマリンの採取量 (g)

- ・内標準原液 : 内標準 (ナフタレン-d₈) を褐色メスフラスコ (100 mL) に正確に 100