

直鎖アルキルベンゼンスルホン酸及びその塩 (LAS) の測定方法

・液体クロマトグラフ質量分析法

1 試薬

(1) 水

日本工業規格 K 0557 に規定する A 1、A 2、A 3 又は A 4 のもの (注 1)

(2) メタノール

日本工業規格 K 8891 に定めるもの (注 2)

(3) アセトニトリル

日本工業規格 K 8039 に定めるもの (注 2)

(4) ギ酸

日本工業規格 K 8264 に定めるもの (注 2)

(5) ギ酸アンモニウム (注 2)

(6) ギ酸 (0.1v/v%)・ギ酸アンモニウム水溶液 (50mmol/L)

ギ酸アンモニウム 1.57g を水 500ml に溶かし、ギ酸 0.5ml を加えたもの

(7) アセトニトリル・水混液 (65:35)

アセトニトリルと水を体積比 65 対 35 の割合で混合したもの

(8) LAS 標準原液 (各 1000 µg/ml)

デシルベンゼンスルホン酸ナトリウム (C10-LAS) 標準品、ドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム (C11-LAS) 標準品、ウンデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム (C12-LAS) 標準品、トリデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム (C13-LAS) 標準品及びテトラデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム (C14-LAS) 標準品 100mg をそれぞれ別の全量フラスコ 100ml に採り、メタノールを標線まで加えたもの (注 3)

(9) LAS 標準液 (各 10 µg/ml)

LAS 標準原液 (各 1000 µg/ml) 各 1ml を全量フラスコ 100ml に採り、アセトニトリル・水混液 (65:35) を標線まで加えたもの (注 4)

(10) LAS 標準液 (各 0.1 µg/ml)

LAS 標準液 (各 10 µg/ml) 1ml を全量フラスコ 100ml に採り、アセトニトリル・水混液 (65:35) を標線まで加えたもの

(11) 内標準原液 (1000mg/L)

オクチルベンゼンスルホン酸ナトリウム (C8-LAS) 標準品 100mg を全量フラスコ 100ml に採り、メタノールを標線まで加えたもの

(12) 内標準液 (1 mg/L)

内標準原液 (1000mg/L) 0.1ml を全量フラスコ 100ml に採り、アセトニトリル・水混液 (65:35) を標線まで加えたもの

(13) 検量線標準液

LAS標準液(各0.1mg/L)を50~500 μ l及びLAS標準液(各10mg/L)を10~100 μ Lの範囲で目盛付き共栓試験管に段階的に採り、これらに内標準液50 μ lを加えた後、アセトニトリル・水混液(65:35)を加えて約1mlとしたもの

(注1) 使用前に空試験を行い、測定対象となるC10~C14-LAS(以下「各対象物質」という)等の汚染が測定を妨害することのないことを確認する。ミネラルウォーターを用いてもよい。

(注2) 各対象物質の保持時間に相当する位置にピークがないことを確認する。

(注3) 市販の混合標準溶液を用いてもよい。この場合、各対象物質濃度が1000 μ g/mLの混合標準溶液を用いること。

(注4) 市販の混合標準溶液を用いてもよい。この場合、市販の混合標準溶液1mlを全量フラスコ100mlに採り、アセトニトリル・水混液(65:35)を標線まで加えたもの。

2 器具及び装置(注5)

(1) 固相カラム(注6)

内径10mm、長さ30~50mmのカートリッジ型のものであって、カラム充てん剤として、シリカゲルに逆相系化合物を化学結合したもの又は、合成吸着剤(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等の性能を有するもの)を充てんしたもの

(2) 目盛付き共栓試験管

容量10~20mlのものであって、1mlの目盛りのあるもの

(3) マイクロシリンジ

容量50 μ lのもの

(4) 高速液体クロマトグラフ・タンデム質量分析計(以下「LC/MS/MS」という。)

(a) 分離管

内径2.0~6.0mm、長さ150~250mmのステンレス鋼製のもの

(b) 充てん剤

オクタデシルシリル化シリカゲル(粒径2~5 μ m)を充てんしたもの又はこれと同等の分離性能を有するもの

(c) 移動相

アセトニトリル及びギ酸(0.1v/v%)・ギ酸アンモニウム水溶液(50mmol/L)を体積比65対35の割合で混合し、超音波処理等で十分脱気したもの

(d) 流量

毎分約0.2mlとしたもの

(e) カラム槽

温度を40℃に保つことができるもの

(f) 質量分析計

エレクトロスプレーイオン化法(負イオンモード)が可能で、選択反応検出法でクロマトグラム測定が可能なもの

(注5) ガラス器具類は水で洗浄し、更にアセトン及びメタノールで洗浄した後、各対象物質による汚染がないことを確認してから使用する。

(注6) カラム充てん剤は、あらかじめメタノール約10ml及び水約10mlを順次通して洗浄する。

3 試験操作

(1) 試験液の調製

(a) 試料(注7)を振り混ぜて均一化した後、500mlを採り、固相カラムに加圧又は吸引により毎分流速約20mlで流下させる。

(b) 試料容器を水5mlで洗い、洗液を固相カラムに通し、約2分間窒素ガスを吹き付け、水分を除去する。

(c) 固相カラムの上端からメタノール5mlを穏やかに通し、各対象物質を溶出させ、目盛付き共栓試験管に受ける。

(d) 溶出液に窒素ガスを穏やかに吹き付けて、蒸発乾固させる。(注8)

(e) 内標準液50 μ lを加えた後、アセトニトリル・水混液(65:35)で、約1mlに定容する。

(2) 空試験液の調製

水500mlを用いて、(1)と同様に操作して得られる液を空試験液とする。(注9)

(3) 分析

(a) 表に掲げる選択反応検出イオンを用い、測定する。

表 選択反応検出イオン

物質名	プリカーサーイオン	プロダクトイオン
C10-LAS	297	183
C11-LAS	311	183
C12-LAS	325	183
C13-LAS	339	183
C14-LAS	353	183
C8-LAS	269	183

(b) 試験液5 μ lをLC/MS/MSに注入し、保持時間が検量線標準液の保持時間と一致していることを確認しておく。各対象物質のクロマトグラムのピークの位置は別図を参考にする。

(c) 保持時間に相当する位置のピークについて、ピーク面積を測定する。各対象物質と内標準物質のピーク面積の比を求める。

(d) あらかじめ検量線標準液5 μ lをLC/MS/MSに注入し、各対象物質と内標準物質のピーク面積比から検量線を作成する。

(e) 検量線を用いて、各対象物質と内標準物質の面積の比から各対象物質と内標準物質の濃度比を求める。

(f) 空試験についても(b)、(c)及び(e)の操作を行い、各対象物質と内標準物質の濃度比を求める。

次の式によって試験液中の各対象物質の濃度(μg/l)を算出する。

試料中の各対象物質の濃度(μg/l) = (a - b) × n × (1000 / 試料量(ml))

この式において、a、b及びnは、それぞれ次の値を表す。

a 検量線から求めた各対象物質と内標準物質の濃度比

b 空試験について検量線から求めた各対象物質と内標準物質の濃度比

n 添加した内標準物質の質量(μg)

各対象物質の濃度の和をLAS濃度とする。

(注7) 浮遊物が多いときは、あらかじめろ過する。ろ過は、メタノールで洗浄したろ過材(孔径1μmのガラス繊維ろ紙)で吸引ろ過し、ろ過材ごとビーカーに移してメタノール約5mlを加え、超音波洗浄器を用いて溶出させ、これを2~3回繰り返し得られた溶出液を全て合わせ、ロータリーエバポレーター、ケデルナダニッシュ濃縮器又はスニーターカラムを用いて約5mlまで濃縮し、試料に加える。

(注8) 水分の残存により乾固できない試料は、約0.3mlまで濃縮して(e)の操作を行う。

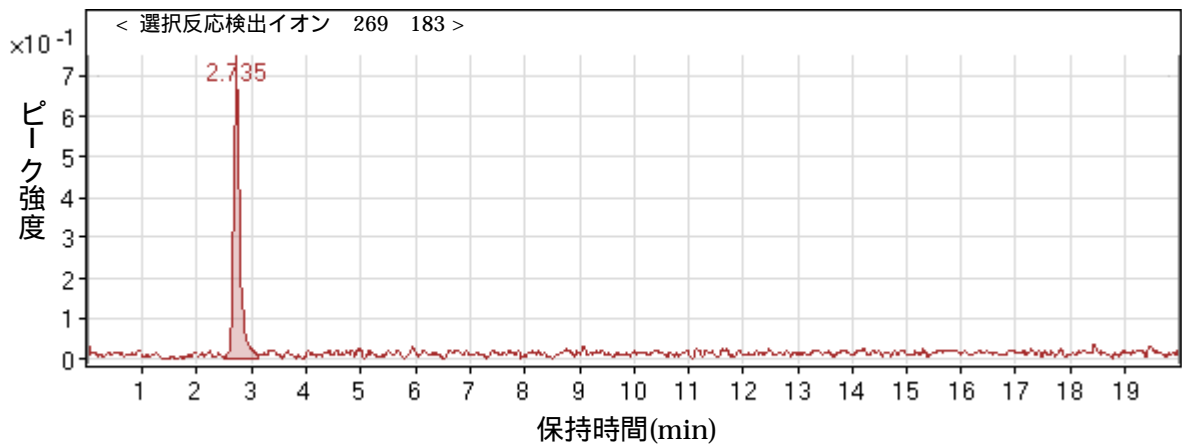
(注9) 空試験値は可能な限り低減化を図る。

備考

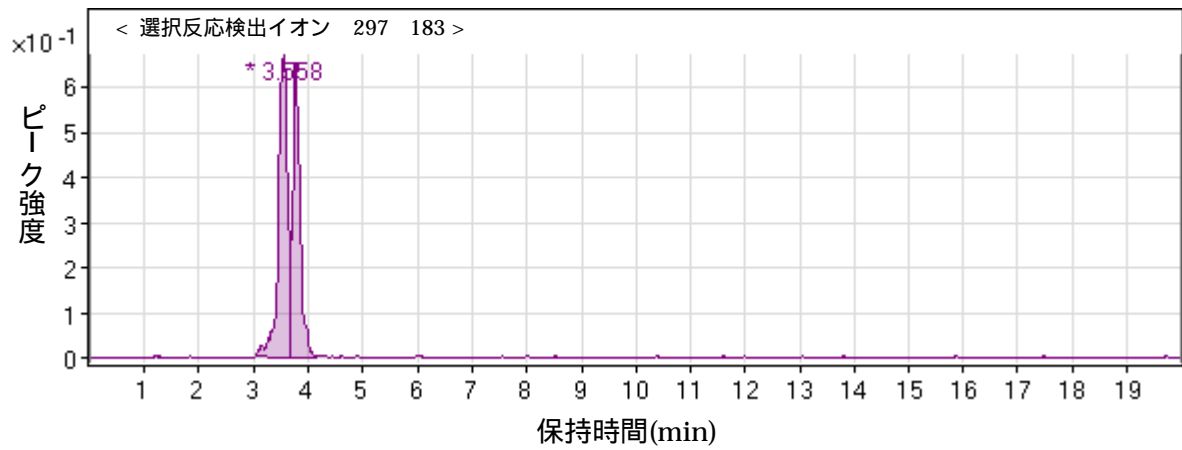
- 1 この測定方法の定量下限はLAS濃度として0.1μg/Lである。
- 2 ここで示す商品は、この測定法使用者の便宜のために、一般に入手できるものとして例示したが、これらを推奨するものではない。これと同等以上の品質、性能のものを用いてもよい。
- 3 この測定方法における用語の定義その他でこの測定方法に定めのない事項については、日本工業規格に定めるところによる。

別図

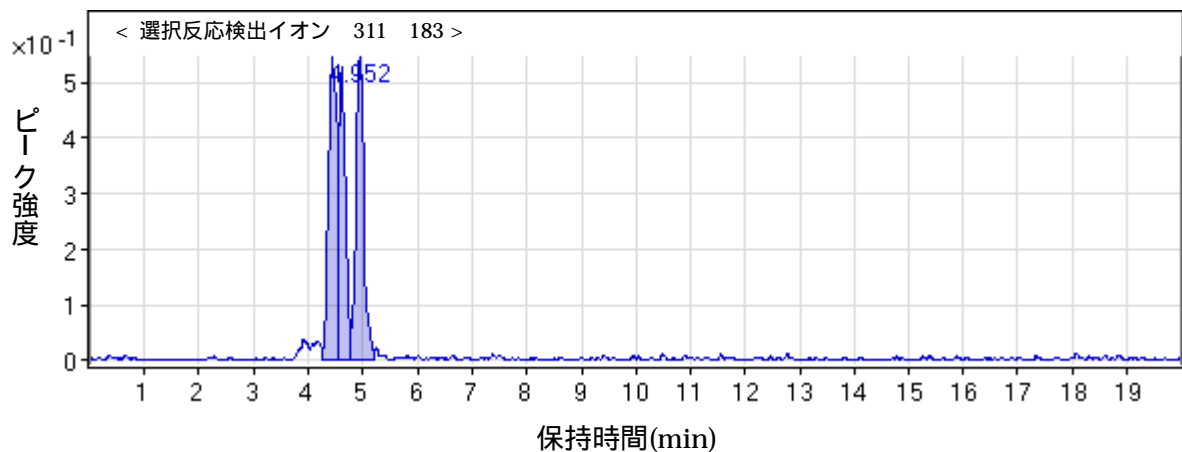
1 内部標準(C8-LAS)のクロマトグラム



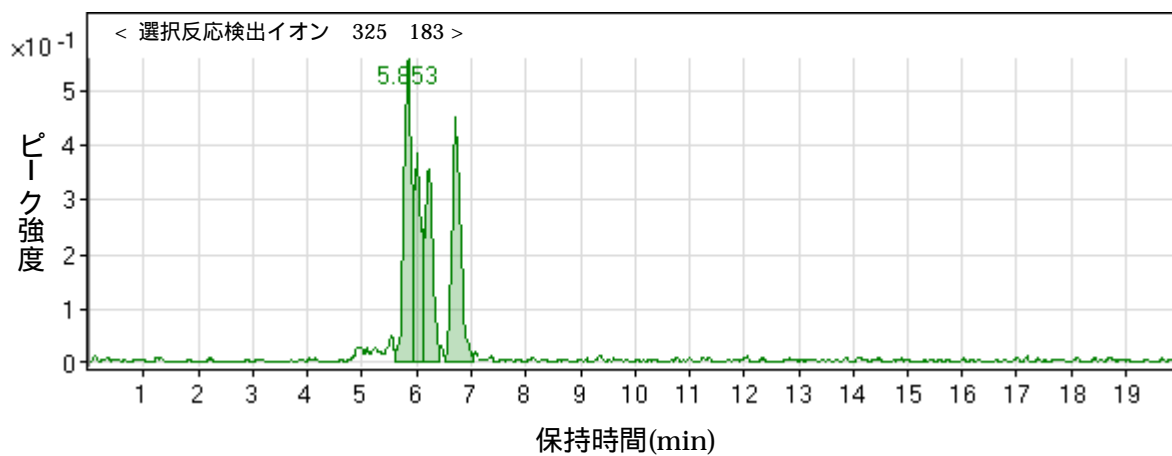
2 C10-LAS のクロマトグラム



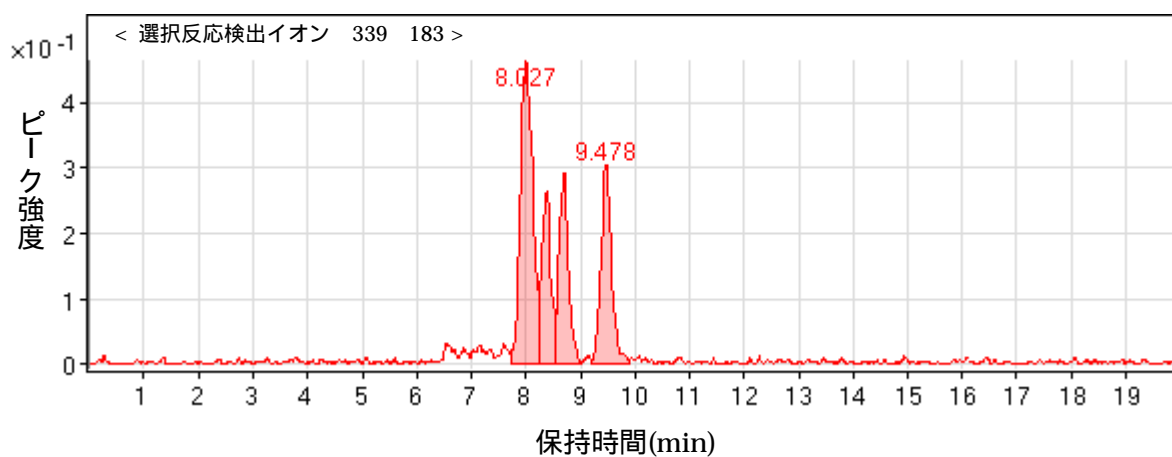
3 C11-LAS のクロマトグラム



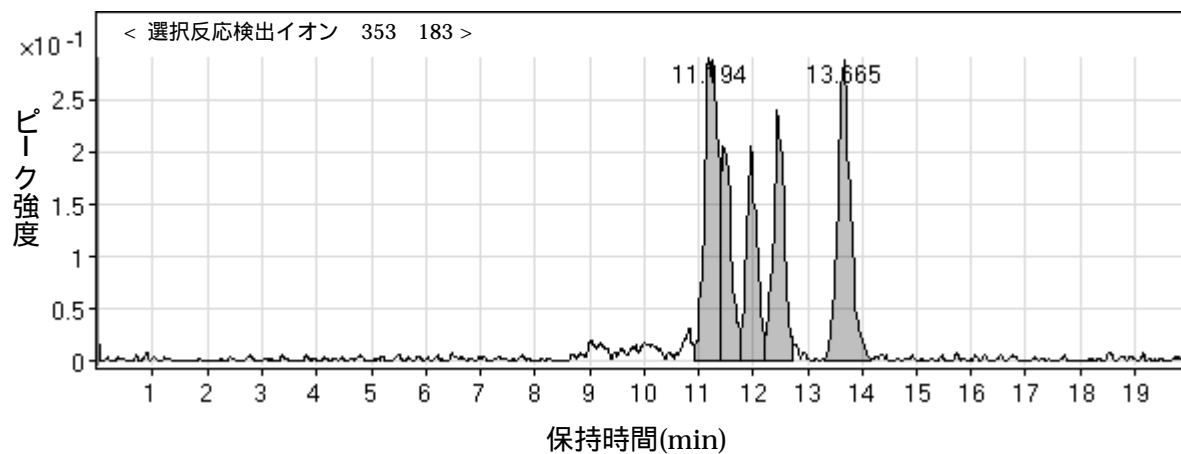
4 C12-LAS のクロマトグラム



5 C13-LAS のクロマトグラム



6 C14-LAS のクロマトグラム



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又は合成吸着剤を充てんしたものとする。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 Aquasis PLS-3 ,Excelpak SPE-ENV/124 ,InertSep 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内標準原液 (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 1 mL をアセトンで 100 mL (サロゲート内標準液 (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、サロゲート内標準液 (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 10mL 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 1mL 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- d₄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 μg/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 μg/mL）。シリンジスパイク内標準液 0.5 mL 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 μg/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 μg/mL））。4-t-オクチルフェノール標準液（1 μg/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 μg/mL）0.5 mL 及びシリンジスパイク内標準液（0.1 μg/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 (<i>m/z</i>)	確認イオン (<i>m/z</i>)
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い。
- (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。

アニリンの測定方法

・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：アニリン標準品（試薬特級）
- ・サロゲート内標準物質：アニリン-2,3,4,5,6-*d*₅（99.6 atom % D）
- ・シリンジスパイク内標準物質：ナフタレン-*d*₈標準品（98%）（注1）
- ・水：日本工業規格 K 0557 に規定する A1～A4 の水（注2）
- ・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
- ・メタノール：残留農薬・PCB 試験用
- ・酢酸メチル：環境分析用
- ・硫酸ナトリウム：残留農薬・PCB 試験用
- ・水酸化ナトリウム：特級
- ・固相抽出カートリッジカラム（注3）：スチレンジビニルベンゼン共重合体

（注1）シリンジスパイク内標準物質にはアニリンを妨害せず、安定して検出されるものを使用する。また、アニリンの保持時間と大きく離れないものが望ましい。ここではナフタレン-*d*₈を使用した。

（注2）アニリンの空試験濃度が十分に低いもの。

（注3）スチレンジビニルベンゼン共重合体を充填した固相カートリッジカラムとして、GLサイエンス製 InertSep® PLS-2、Waters 社製の Sep-Pak® PS-2 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、コンセントレーター、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 500～1,000 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。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（注 4）。なお、試料水に保存の目的で塩酸を添加してはならない。

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（注 5）、サロゲート内標準液としてアニリン- d_5 内標準液（200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）を加えた後（例えば各 10 μL ）、水酸化ナトリウムで pH11～12 に調整する（注 6）。その後、加圧法により試料を固相カートリッジカラム（注 7）に 5～10 mL/min の速度で通水する。（注 8）

(イ) 試料を通水後、注射筒（10 mL）でゆっくりと空気 10 mL を通気してカラム内の水分を取り除く（注 9）。その後、酢酸メチル 4 mL で溶出する（注 10）。なお、溶出流量は一滴 / 秒程度とする。

(ウ) この溶出液に窒素を緩やかに吹き付け、約 1 mL になるまで濃縮する（注 11）（注 12）（注 13）。この濃縮液にヘキサンを加え 10 mL に定容する。その後、シリンジスパイク内標準液を添加し、硫酸ナトリウム 3 g を加えて脱水し（注 14）、測定用バイアルに分取したものを試験液とする。

(3) 空試験液の調製

試料と同量の水を用いて、「3 試験操作（2）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

標準物質及びサロゲート内標準物質はそれぞれ 100 mg を精秤して酢酸メチルで正確に 100 mL に定容し、1,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の標準原液及びサロゲート内標準原液を調製する。また、シリンジスパイク内標準物質は 50 mg を精秤してジクロロメタンで正確に 50 mL に定容し、1,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ のシリンジスパイク内標準原液を調製する。

標準原液及びサロゲート内標準原液は適宜酢酸メチルで希釈し、標準液は 5 段階以上になるように酢酸メチル溶液として調製する（注 15）。サロゲート内標準液は各標準液に一定

濃度で調製する。また、各標準液にシリンジスパイク内標準液として、ナフタレン- d_8 を一定濃度となるよう添加する。

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 μ L）をGC/MSに注入する。

(5) 分析

(ア) GC/MS 測定条件

(a) GC

- ・カラム：ポリエチレングリコール化学結合型（内径 0.25 mm、長さ 30 m、膜厚 0.25 μ m 程度）カラム又は同等以上の分離性能をもつもの（注 16）
- ・キャリアガス：ヘリウム、1 mL/min
- ・カラム温度：60（1min） \rightarrow 5 /min \rightarrow 145（0min） \rightarrow 10 /min \rightarrow 240（0 min）
- ・注入温度：250
- ・注入方法：スプリットレス（パージ開始時間 1 min）
- ・注入液量：1 μ L

(b) MS

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

(c) 選択イオン

表 1 対象物質の選択イオン（注 17）

物質名	定量イオン (m/z)	確認イオン (m/z)
アニリン	93	65 (66)
アニリン- d_5	98	71
ナフタレン- d_8	136	108

(イ) 検量線（注 18）（注 19）

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アニリンとアニリン- d_5 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。試験液中のアニリンとアニリン- d_5 の各測定イオンの面積を求める。

(エ) 同定

各対象物質について、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 20)、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、アニリン等が存在していると見なす。

(オ) 定量及び計算

試験液中のアニリン及びアニリン-*d*₅の面積比並びにアニリン-*d*₅の添加量から、(イ)で作成した検量線を用いて、アニリンの量(検出量)を求め、次式によって試料中のアニリンの濃度を計算する。

$$\text{アニリン濃度}(\mu\text{g/L}) = (\text{検出量}(\text{ng}) - \text{空試験液の検出量}(\text{ng}) (\text{注 21})) / \text{試料量}(\text{mL})$$

(注4) アニリンは光分解や生分解することが報告されている。

(注5) 吸引ろ過により試料が減圧状態に置かれることでアニリンが揮散してしまうため、試料に SS があってもろ過操作を行わない。

(注6) 海水等の多量に塩類が含まれる試料では水酸化ナトリウムを溶解させたとき、不溶性の水酸化物を生じる。その場合は 30 分～1 時間程度静置して沈降させる。

(注7) 使用前に酢酸メチル約 10 mL、メタノール約 5 mL、次いで精製水約 10 mL を通して洗浄する。

(注8) 固相抽出時にはコンセントレーターの吸水口を試料容器の底部から 2～3 cm の位置にセットし、大部分の試料が通水するまで出来るだけ SS 分を吸引しないようにする。また、(注 6)の沈殿させた試料においても、同様に沈殿物を最後に吸引させて通水する。

(注9) アスピレータによる通気脱水を行うと、著しい回収率の低下の原因となる。ここでは完全に脱水しなくても間隙水を除く程度でよい。

(注10) 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酢酸メチルの量を確認しておく。

(注11) 溶出後、0.3 mL 程水分が残るが、分取して除去せずに窒素により約 1 mL まで濃縮した後、硫酸ナトリウムを加えて脱水する。また、ここでは約 0.7 mL の酢酸メチルを残しておくこと。酢酸メチルが無くなると、ヘキサンと硫酸ナトリウムを添加して脱水したときにヘキサンに対象物質が移行しない。

(注12) 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。

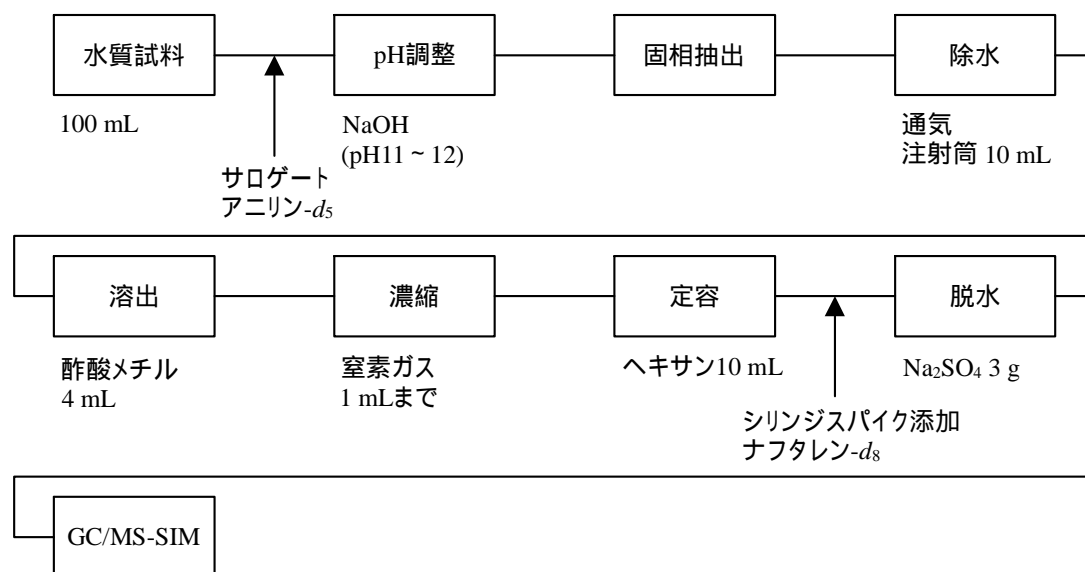
(注13) 液量が減る度に段階的に少量のヘキサンで濃縮容器の壁面を洗浄する。

- (注14) よく振とうして脱水する。この操作により対象物質はヘキサンに移行する。
- (注15) アセトンとの縮合反応による Siff 塩基の生成防止のため、標準液の調製用溶媒にアセトンを使用しないこと。
- (注16) ここでは InertCap® Pure WAX を使用した。
- (注17) アニリンの確認イオン m/z 65、66 はサロゲート物質からのフラグメントイオンの影響を受けるため、アニリン- d_5 の添加量はアニリンの定量に影響を与えないレベルで使用する。参考資料にアニリンとアニリン- d_5 のマススペクトルを示す。
- (注18) 検量線の切片は限りなく 0 (ゼロ) に近づける。
- (注19) 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20) 試験液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21) 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。

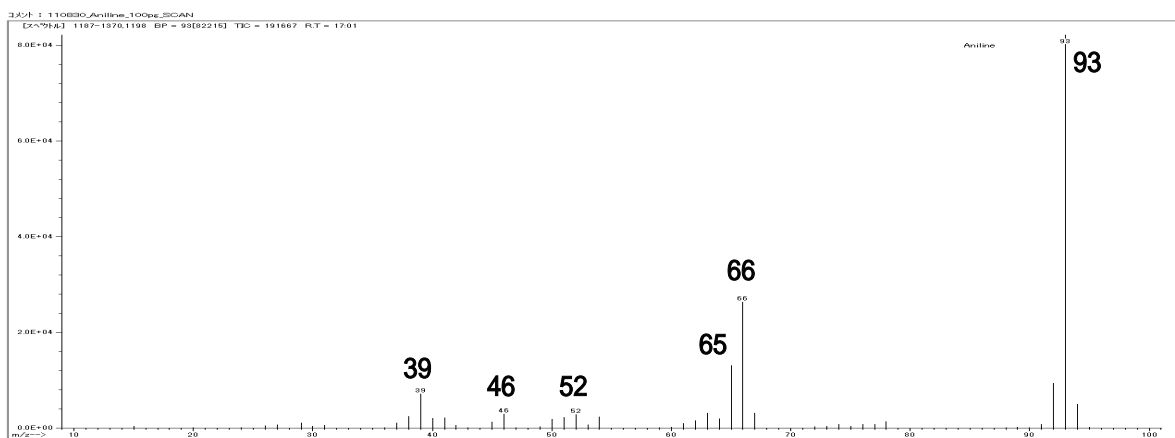
備考

- 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。

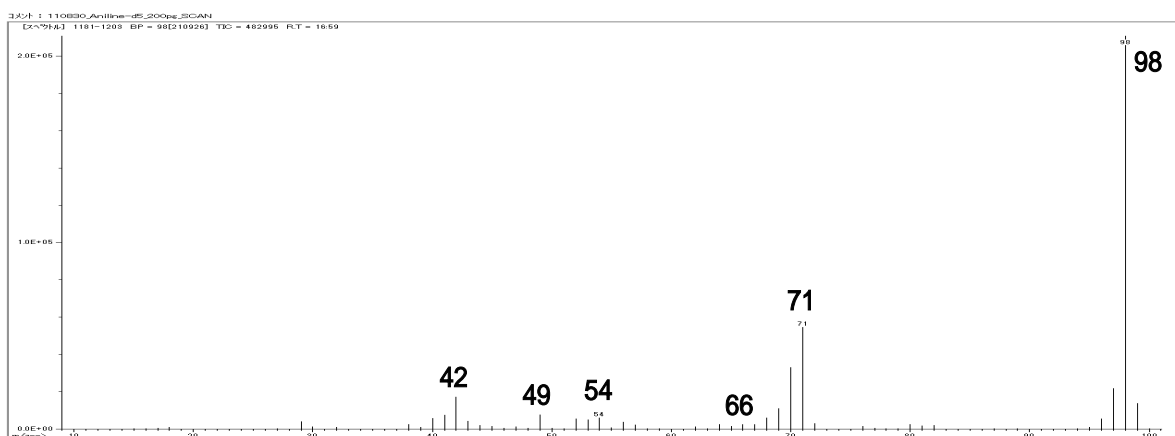
分析法フローチャート



参考資料: アニリンとアニリン- d_5 のマススペクトル



アニリンのマススペクトル



アニリン- d_5 のマススペクトル

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（98%）（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）シリンジスパイク内標準物質には 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、2,4-ジクロロフェノール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 500～1,000 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 の速度で通水する。

(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を乾燥させた後、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、「3 試験操作（2）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 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 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 μL ）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 μL

(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

表1 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)
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 2,4-ジクロロフェノール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 2,4-ジクロロフェノールとサロゲート

内標準物質の各選択イオンの面積を求める。

(エ) 同定

各対象物質について、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 $\pm 20\%$ 以下であれば、2,4-ジクロロフェノール等が存在していると思なす。

(オ) 定量及び計算

試験液中の 2,4-ジクロロフェノール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、2,4-ジクロロフェノールの量(検出量)を求め、次式によって試料中の 2,4-ジクロロフェノールの濃度を計算する。

$$\begin{aligned} & \text{2,4-ジクロロフェノール濃度}(\mu\text{g/L}) \\ & = (\text{検出量}(\text{ng}) - \text{空試験液の検出量}(\text{ng}) (\text{注13})) / \text{試料量}(\text{mL}) \end{aligned}$$

(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の量を確認しておく。

(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。

(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。

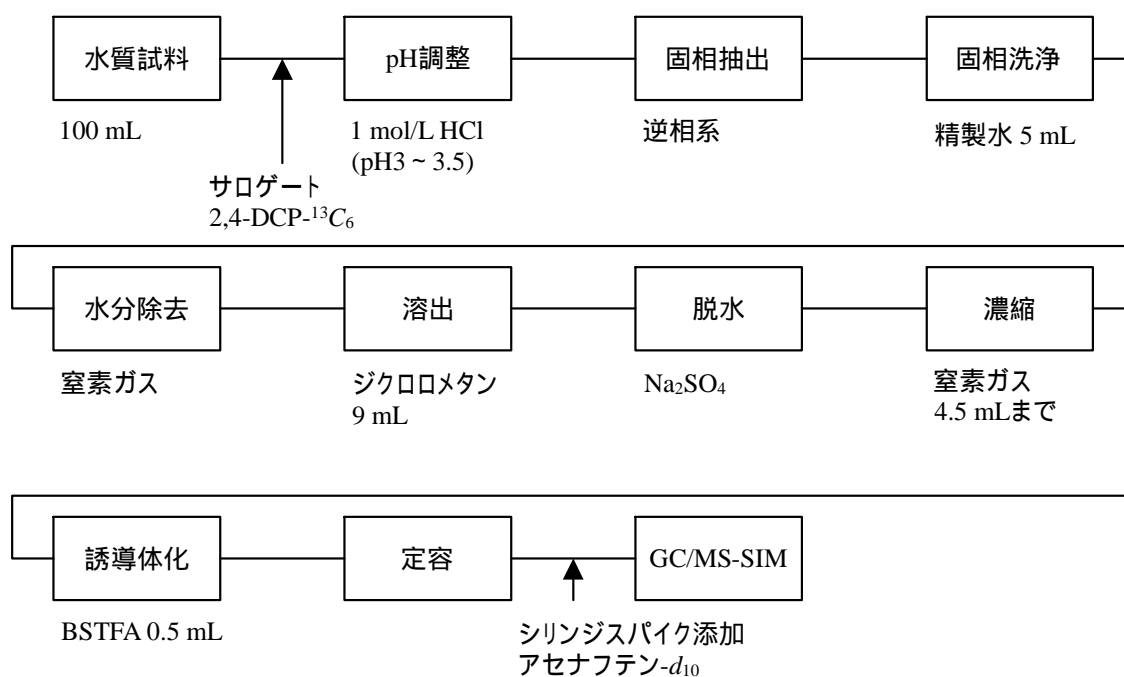
(注12) 試験液中に夾雑物が多い場合には、保持時間が変わることがあるので注意する。

(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

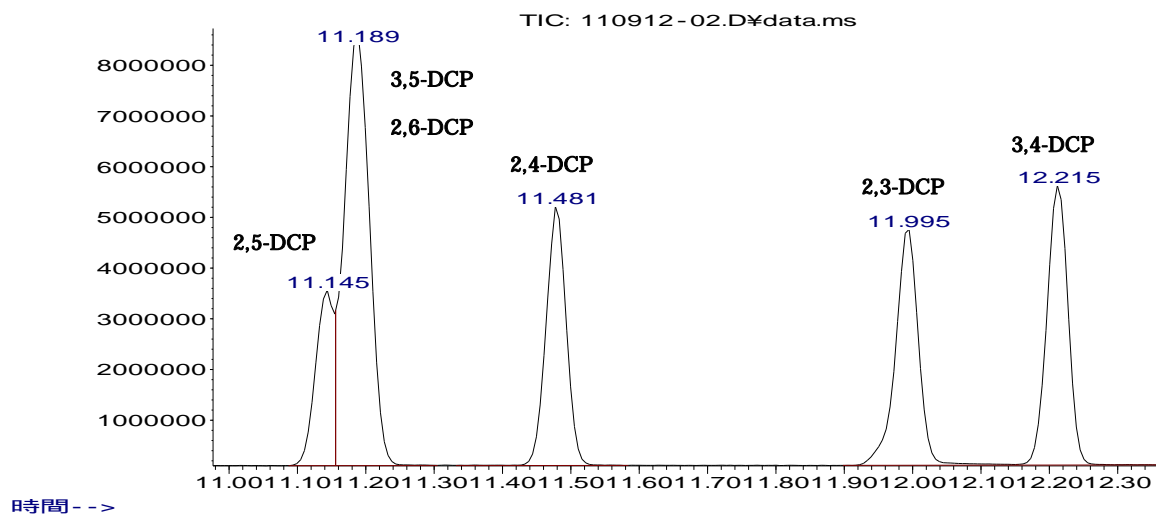
- 1 ここに示す商品は、このマニュアル使用者の便宜のために、一般に入手できるものとして例示したが、これを推奨するものではない。これと同等以上の品質、性能のものを用いてもよい。
- 2 この測定方法における用語の定義その他で、この測定方法に定めのない事項については日本工業規格に定めるところによる。

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

アバダンス



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