

x ii . クロロ酢酸類の分析法

1 対象物質

モノクロロ酢酸、ジクロロ酢酸、トリクロロ酢酸

2 目標検出下限値及び定量下限値（注1）

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 目標検出下限値及び目標定量下限値

		水質 (µg/L)		底質 (µg/kg)		生物 (µg/kg)	
		目標検出 下限値	目標定量 下限値	目標検出 下限値	目標定量 下限値	目標検出 下限値	目標定量 下限値
GC/E CD	モノクロ酢酸	0.1	0.5				
	ジクロ酢酸	0.03	0.1	—	—	—	—
	トリクロ酢酸	0.01	0.1				
GC/ MS	モノクロ酢酸	0.3	2.0	20	50	20	50
	ジクロ酢酸	0.1	0.5	3.0	10	3.0	10
	トリクロ酢酸	0.1	0.5	2.0	10	2.0	10

3 分析法の概要

水質試料については、試料水にサロゲート物質を加え、硫酸酸性下で、塩化ナトリウムを飽和量以上添加し、*tert*-ブチル-メチル-エーテル (MTBE) で抽出し、ジアゾメタンによるメチル化を行い、電子捕獲型検出器 (ECD) を用いたガスクロマトグラフ法、またはガスクロマトグラフィー質量分析計を用いたイオン選択検出法 (SIM) 法あるいはマスクロマトグラフ法で測定し、クロロ酢酸類の濃度を求める方法である。

底質及び生物試料については、試料にサロゲート物質を加え、底質試料では精製水で振とう抽出し、遠心分離で得られた上澄み液を得る。一方、生物試料でも精製水を用いてホモジナイズ抽出し、遠心分離で得られた上澄み液を、更にヘキサンで脱脂する。これら底質及び生物試料の上澄み液を硫酸酸性下で、塩化ナトリウムを飽和量以上添加し、MTBEで抽出し、ジアゾメタンでメチル化を行い、これを含水シリカゲルでクレンジアップし、濃縮して、ガスクロマトグラフィー質量分析法で測定し、クロロ酢酸類の濃度を求める方法である。

なお、水質試料は GC/ECD 法では絶対検量線法、内標準法、サロゲート法のどれか、

GC/MS 法では内標準法またはサロゲート法のどちらか、底質及び生物試料は GC/MS 法のみでサロゲート法で定量する。サロゲート法でない場合、即ち絶対検量線法または内標準法ではサロゲート物質を添加しないが、添加することにより回収率を試料毎に確認できる。

4 試薬、器具及び装置

(1) 試薬

- ・対象物質：市販標準品、または市販特級品
- ・サロゲート物質 (GC/ECD 法では 2,3-ジブロモプロピオン酸)：市販標準試薬、または市販特級品
- ・サロゲート物質 (GC/MS 法ではクロロ酢酸-d₃、ジクロロ酢酸-d₂、トリクロロ酢酸-¹³C₁)：市販標準品
- ・内標準物質 (1,2,3-トリクロロプロパン、4-クロロトルエン-d₄)：市販標準品
- ・MTBE：高速液体クロマトグラフ用 (注 2)。MTBE を濃縮し、その一定量を GC/ECD (または GC/MS) に注入したとき、目的物質の保持時間にピークを生じないもの。
- ・アセトン、ジクロロメタン、ヘキサン：残留農薬試験用。
- ・無水硫酸ナトリウム：残留農薬試験用。
- ・精製水、またはミネラルウォーター：目的物質の分析に影響のないもの。
- ・塩化ナトリウム、硫酸、水酸化ナトリウム：特級品。
- ・塩化ナトリウム：塩化ナトリウムを 300℃で 2 時間強加熱後、汚染のないところで冷却したもの。
- ・硫酸 (1+1)：純硫酸 1 容を精製水 1 容に入れて希釈したもの。
- ・水酸化ナトリウム溶液 (20 w/v%)：水酸化ナトリウム 20 g を精製水 80 mL に溶かしたもの。
- ・*N*-メチル-*N'*-ニトロ-*N*-ニトロソグアニジン：ジアゾメタン溶液調製用 (注 3)。
- ・ジアゾメタン溶液：市販のジアゾメタン発生装置を用い、*N*-メチル-*N'*-ニトロ-*N*-ニトロソグアニジン 0.2 g に精製水 0.5 mL と水酸化ナトリウム溶液 (20 w/v%) 0.6 mL とを加え、発生したジアゾメタンを水冷した MTBE 3 mL に黄色を呈するまで捕集し、この MTBE ジアゾメタン溶液とする (注 4)。この溶液は使用時、直前に調製する。
なお、この操作は必ずドラフト内で行う。
- ・シリカゲル：カラムクロマトグラフ用

- ・含水シリカゲル：透明摺り合わせ共栓付き三角フラスコにカラムクロマトグラフ用シリカゲルを入れ、130°Cで16時間加熱後、密栓して室温まで放冷する。このシリカゲルを攪拌しながら、シリカゲル95 gに対して精製水5 mLを滴下する。密栓し、発熱が終了するまで、静かに混合する。更に振とう器で30分振とう後、乾燥剤としてシリカゲルを入れたデシケーター中で15時間以上放置する。

(2) 器具及び装置

- ・ねじ口瓶：容量100～250 mLで、ポリテトラフルオロエチレン張りのねじ口キャップをしたガラス瓶（注5）。
- ・パストゥールピペット：容量2 mL強のもの。
- ・透明摺り合わせまたは同等以上（注6）の共栓付分液ロート：容量100 mL、及び300 mLのもの。
- ・透明摺り合わせまたは同等以上（注6）の共栓付遠沈管：容量100 mLのもの。
- ・透明摺り合わせまたは同等以上（注6）の共栓付試験管：容量10 mL、及び30 mLのもの。
- ・透明摺り合わせまたは同等以上（注6）の共栓付ナス型フラスコ：容量250 mLのもの。
- ・透明摺り合わせまたは同等以上（注6）の共栓付三角フラスコ：容量100 mL、及び200 mLのもの。
- ・乾燥器：シリカゲルの活性化、及びガラス器具等の乾燥に使用する。
- ・振とう器：底質試料からの抽出に用いる。
- ・超音波照射器（または超音波洗浄器）：底質及び生物試料からの抽出に用いる。
- ・ポリトロン型ホモジナイザー：生物試料からの抽出に用いる。
- ・遠心分離器：底質及び生物試料の固液分離に使用する。
- ・ジアゾメタン発生装置：ジアゾメタン溶液を調整する装置。
- ・5%含水シリカゲルカラム：長さ30 cm、内径1.5 cmのガラスカラムに5%含水シリカゲル10 g（注7）をヘキサンを用いて湿式充填し、この上部に無水硫酸ナトリウムを1 cm積層したもの。
- ・ロータリーエバポレーター、またはKD濃縮装置：抽出液の濃縮に用いる。
- ・電気炉：塩化ナトリウムの焼成に使用する。

- ・GC/ECD：GCはキャピラリーカラム対応のもの。ECDは電子捕獲型検出器のもの。
- ・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

(1) 水質試料

水質試料については、洗剤、水、アセトンで洗浄したねじ口瓶を試料水で2～3回共洗った後、試料水を泡立てないように採水し、満水にして直ちに密栓し、直ちに試験を行う。直ちに試験できないときは、冷暗所（4℃）に保存し、速やかに試験する。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 ないし 0.02 g の割合で加える。

(2) 底質試料及び生物試料

底質試料及び生物試料については、水質試料と同様の方法で洗浄した摺り合わせの広口ガラスビンに入れ密栓し、-20℃以下で保存する。

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「Ⅲ. 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（注8）

(ア) 水質試料

透明摺り合わせ分液ロート 100 mL に塩化ナトリウム 20 g、試料水 50 mL を採り、所定量のサロゲート（注9）、硫酸（1+1）3 mL（注10）を加えて軽く振り混ぜる。これに MTBE 15 mL（注11）を加えて5分間振り混ぜ、静置後、MTBE層を共栓付試験管（注6）30 mL に分取（注12）する。再び水層に MTBE 15 mL を加えて同様に抽出し、分離した MTBE 層を前の MTBE 層に合わせる。

(イ) 底質試料

底質試料 20 g（湿重量）を透明摺り合わせ共栓付遠心管 100 mL に採取し、所定量のサ

ロゲート（注9）、ミネラルウォーター45 mLを加えて10分間振とうする。次に3000 rpmで10分間遠心分離を行い、上澄み液を塩化ナトリウム30 gが入っている透明摺り合わせ分液ロート300 mLに入れる。残渣にミネラルウォーター45 mLを加えて、同様の操作を行い、上澄み液を先の分液ロートに合わせる。この分液ロートに硫酸（1+1）10 mL（注10）、MTBE 25 mLを加えて5分間振り混ぜ、静置後、MTBE層を共栓付三角フラスコ（注6）100 mLに分取（注12）する。再び水層にMTBE 25 mLを加えて同様に抽出し、分離したMTBE層を前のMTBE層に合わせる。

（ウ）生物試料

生物試料20 g（湿重量）を透明摺り合わせ共栓付遠心管100 mLに採取し、所定量のサロゲート（注9）、ミネラルウォーター45 mLを加えてホモジナイザーで10分間抽出を行う。次に3000 rpmで10分間遠心分離を行い、上澄み液を透明摺り合わせ分液ロート300 mLに入れる。残渣にミネラルウォーター45 mLを加えて、同様の操作を行い、上澄み液を先に分液ロートに合わせる。この分液ロートにヘキサン25 mLを加えて5分間振り混ぜ、静置後、上層にあるヘキサン層を破棄する。再び水層にヘキサン25 mLを加えて同様に振り混ぜ、静置後、ヘキサン層を破棄し、脱脂する。この分液ロートに塩化ナトリウム30 g、硫酸（1+1）10 mL（注10）、MTBE 25 mLを加えての以降の操作は底質と同じ。

（2）試料液の調製

（ア）水質試料

MTBE抽出液を無水硫酸ナトリウムで脱水（注13）した後、窒素ガスを穏やかに吹き付けて1 mL弱迄（注14）濃縮し、MTBEで1 mLに定容する。このMTBE液にジアゾメタン溶液0.1 mL（注15）を加え、60分間静置してクロロ酢酸類をメチル化し、次いで30～40℃に加熱し、未反応のジアゾメタンを分解させる。その後、絶対検量線法以外では更に内標準液を正確に添加し、試料液とする。

（イ）底質試料及び生物試料

MTBE抽出液を無水硫酸ナトリウムで脱水（注13）した後、ロータリーエバポレーターまたはKD濃縮装置（注16）で、約10 mL（注17）に濃縮し、この濃縮液を共栓付き試験管（注6）に採り、窒素ガスを穏やかに吹き付けて1 mL（注14）に濃縮する。こ

の濃縮液にジアゾメタン溶液 0.5 mL (注 1 5) を加え、60 分間静置してクロロ酢酸類をメチル化し、次いで 30~40°C に加温し、未反応のジアゾメタンを分解させる。このメチル化液にヘキサン約 6 mL 加え、窒素ガスを穏やかに吹き付けて 1 mL 迄濃縮し、ヘキサンに転溶する。このメチル化液を予め用意した含水シリカゲルカラム (注 1 8) に負荷する。受器を設置し、1 mL 強/分の速度で液面をカラムヘッド面まで下げてから、ヘキサン 30 mL を同速度で流す。このヘキサン溶出液は捨てる。再び、受器を変えてヘキサンが断続しないようにジクロロメタン/ヘキサン (50 : 50) 100 mL を用いて、1 mL 強/分の速度で溶出させる。この溶出液を無水硫酸ナトリウムで脱水後、ロータリーエバポレーターまたは KD 濃縮装置 (注 1 6) を用いて、約 10 mL 弱 (注 1 7) まで濃縮する。この濃縮液を SPC 共栓付き試験管に採り、窒素ガスを穏やかに吹き付けて 0.1 mL (注 1 4) まで濃縮し、MTBE (注 1 9) で 1 mL に定容し、内標準液を正確に添加し、試料液とする。

(3) 空試験液の調製

水質、底質及び生物試料別に、試料を用いずに「前処理」及び「試料液の調製」に従って操作を行い、得られた試料液を空試験液とする。

(4) 添加回収試験液の調製 (注 2 0)

水質試料では任意の試料水 100 mL、底質試料及び生物試料では任意の試料 20 g に各クロロ酢酸類のアセトン標準溶液を検出下限値の 10 倍量と一定量のサロゲートのアセトン標準液を添加し、十分に混合した後、60 分以上放置してから、「前処理」及び「試料液の調製」に従って操作を行い、得られた試料液を添加回収試験液とする。

(5) 標準液の調製 (注 2 1)

各対象物質の標準品または特級試薬を 30%MTBE 含んだヘキサンで、1000 mg/L 標準原液を調製する。水質試料の場合には、この標準原液を MTBE で希釈混合して所定濃度の混合標準液を 5 段階以上作製し、また底質・生物試料の場合にも、この標準原液をヘキサンで希釈混合して所定濃度の混合標準液 (注 2 2) を 5 段階以上作製する。

サロゲート物質も各測定対象物質と同様に 30%MTBE 含んだヘキサンで、100 mg/L 標準原液を調製し、この標準原液をアセトンに溶解して、所定濃度 (通常、0.1 mg/L) の混合標準液 (注 2 2) を調製する。

内標準物質はヘキサンに溶解し 1000 mg/L 標準原液を調製し、この標準原液をアセトンに溶解して、所定濃度（通常、1～10 mg/L）の混合標準液を調製する。

全ての標準原液及び混合標準液は暗所-20℃以下で保存（注 2 3）する。

（6）測定

（ア）測定条件

GC/ECD 測定条件の例（注 2 4）

- ・カラム：溶融シリカキャピラリーカラム（内径 0.20～0.25 mm、長さ 30 m 程度）
- ・液相：ジメチルポリシロキサン、膜厚は 0.10～0.25 μm。またはこれと同等の分離性能を有するもの（注 2 5）。
- ・カラム温度：一例として、45℃（12 分）→8℃/分→ 150℃（2 分）→ 20℃/分→210℃（5 分）（注 2 6）
- ・注入口温度：200～250 °C
- ・注入法：スプリットレス方式（1 分後パージ、1 μL 注入）
- ・キャリアーガス：純度 99.999 v/v%以上のヘリウムガスで、平均線速度：30～60 cm/秒
- ・メイクアップガス：純度 99.999 v/v%以上の窒素ガス
- ・検出器：電子捕獲検出器（ECD）で、その温度を 250～280℃。

なお、サロゲートとして、2,3-ジブロモプロピオン酸を、内標準物質として、1,2,3-トリクロロプロパンを用いることを推奨する。

GC/MS 測定条件の例

- ・イオン化法：EI
- ・イオン化電圧：70 eV
- ・イオン化電流：300 μA
- ・イオン源温度：150～250℃（機種により異なる）
- ・MS インターフェース温度（またはデテクター温度）：250℃
- ・検出モード：SIM または同等のもの（注 2 7）。
- ・測定イオン：クロロ酢酸類、サロゲート及び内標準物質の測定質量数を表 1 に示す。
- ・その他：GC/ECD 測定条件の内、メイクアップガス、検出器以外は同一。

表 1 クロロ酢酸類、サロゲート及び内標準物質の測定質量数

化合物名	測定質量数(m/z)
クロロ酢酸 (メチル化物)	108、110、77
ジクロロ酢酸 (メチル化物)	83、85
トリクロロ酢酸 (メチル化物)	117、119
クロロ酢酸-d ₃ (メチル化物)	111、113
ジクロロ酢酸-d ₂ (メチル化物)	84、86
トリクロロ酢酸- ¹³ C ₁ (メチル化物)	118、120
1,2,3-トリクロロプロパン	147
4-クロロトルエン-d ₄	130

(イ) 検量線 (注 2 8)

GC/ECD 法

絶対検量線法を用いる場合は、所定濃度の各対象物質の混合標準液(水質試料では MTBE 溶液、底質及び生物試料ではジクロロメタン溶液) 1 mL にジアゾメタン溶液 0.1 mL を加えて、メチル化する。それぞれのメチル化液 1 μL を GC/ECD に注入し、得られた各対象物質のピーク面積値 (高さ) から対象物質毎に検量線を作成する。検量線の濃度範囲は、分析法の検出下限値付近と予想される検出濃度レベルを含む 5 段階以上とする。

内標準法を用いる場合は、所定濃度の各対象物質の混合標準液 (同上) 1 mL にジアゾメタン溶液 0.1 mL を加えて、メチル化する。それぞれのメチル化液に所定量の内標準物質 (通常、1 ppm、10 μL) を加え、その 1 μL を GC/ECD に注入し、各対象物質と内標準とのピーク面積値 (高さ) の比から対象物質毎の検量線を作成する。検量線の濃度範囲は、分析法の検出下限値付近と予想される検出濃度レベルを含む 5 段階以上とする。

サロゲート法を用いる場合は、試料を用いずに所定量の各対象物質と一定量のサロゲート物質を加え、「前処理」及び「試料液の調製」に従って操作を行う。このメチル化液 1 μL を GC/ECD に注入し、各対象物質とサロゲート物質とのピーク面積値 (高さ) の比から対象物質毎の検量線を作成する。検量線の濃度範囲は、分析法の検出下限値付近と予想される検出濃度レベルを含む 5 段階以上とする。

GC/MS 法

内標準法を用いる場合は、所定濃度の各対象物質の混合標準液（同上）1 mL にジアゾメタン溶液 0.1 mL を加えて、メチル化する。それぞれのメチル化液に一定量の内標準物質（通常、10 ppm、10 μ L）を加え、その 1 μ L を GC/MS に注入し、各対象物質と内標準物質とのピーク面積値（高さ）の比から対象物質毎の検量線を作成する。検量線の濃度範囲は、分析法の検出下限値付近と予想される検出濃度レベルを含む 5 段階以上とする。

サロゲート法を用いる場合は、試料を用いずに所定量の各対象物質と一定量のサロゲート物質を加え、「前処理」及び「試料液の調製」に従って操作を行う。このメチル化液 1 μ L を GC/MS に注入し、各対象物質とサロゲート物質とのピーク面積値（高さ）の比から対象物質毎の検量線を作成する。検量線の濃度範囲は、分析法の検出下限値付近と予想される検出濃度レベルを含む 5 段階以上とする。

（ウ） 試料液の測定

検量線作成後、空試験液、測定用試料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/ECD（あるいは GC/MS）を再調整後、検量線を作成し直して測定を行う。

7 同定、定量及び計算

（1） 同定

GC/ECD では、対象物質のピークが検量線作成で用いた標準物質の保持時間の ± 5 秒以内に出現すれば、対象物質が存在すると見なす。

GC/MS でも、対象物質（メチル化物）とサロゲート（メチル化物）の定量イオン及び確認イオンのピークが検量線作成で用いた標準物質の保持時間の ± 5 秒以内に出現し、また定量イオンと確認イオンのピーク強度比が検量線作成で用いた標準物質の強度比の $\pm 20\%$ 以下であれば、対象物質が存在すると見なす。

（2） 定量及び計算

内標準物質またはサロゲート物質と対象物質のピーク面積比（高さ）から、試料中の対

象物質の検出量を求める。次に検出量、分析した試料量から、次式により試料中の対象物質の濃度を計算する。なお、底質の試料量は乾燥試料量とする。

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

$$\text{底質及び生物試料濃度 (}\mu\text{g/kg)} = \text{検出量 (ng)} / \text{試料量 (g)}$$

8 分析精度管理

本調査マニュアルの「Ⅱ. 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（注15）。

9 注意事項

（注1）長い集中ガス配管であると、汚れ等により感度が低下する場合がある。ガスを GC、GC/MS に直接配管すると感度が上がる人が多い。目標検出下限値を 2～5 倍下げることが可能である。

（注2）今回の対象としたクロロ酢酸類の定量には、どのメーカーの MTBE でも問題はないが、対象外のハロ酢酸類、ハロ二塩基酸類の定量にはナカライテスクを推奨する。

（注3）今回の対象としたクロロ酢酸類の定量には、GC/MS ではどのメーカーの *N*-メチル-*N'*-ニトロ-*N*-ニトロソグアニジンでも問題はない。しかし、GC/ECD による測定及び対象外のクロロ酢酸類、ハロ二塩基酸の定量にはナカライテスク社製のものを推奨する。

（注4）*N*-メチル-*N'*-ニトロ-*N*-ニトロソグアニジンは強い変異原性があるので、取り扱いには保護手袋を使用するなど十分注意すること。使用後のジアゾメタン溶液はドラフト内に放置して分解させた後、破棄する。

なお、ジアゾメタン溶液の黄色が 2～3 時間で消える場合は、新しい *N*-メチル-*N'*-ニトロ-*N*-ニトロソグアニジンで再度調製し直す。

（注5）一例として、トリハロメタン測定用の空き瓶 200 mL を加熱処理して使用。

（注6）ここでは SPC 透明ジョイントガラス器具（柴田科学社製）を用いた（備考1）。

（注7）狭雑物及び分解できず残留するジアゾメタンの影響で、破過することがあるので、

フロリジルを 10 g にした。

(注 8) 妨害物の影響で定量困難である場合、硫酸 (1+1) を添加する前に水質試料ではヘキサン 10 mL 抽出を 1~2 回、底質試料でもヘキサン 20 mL 抽出を 1~2 回行う。

このヘキサン抽出液には揮発性ハロゲン化消毒副生成物等が含まれている。

(注 9) サロゲートの添加量は測定装置の感度及び回収率により異なる。目安として、水質試料では GC/ECD 法は 2,3-ジブromopropion 酸 50~100 ng の一定量、GC/MS 法はモノクロロ酢酸 d 体 400~2000 ng、ジクロロ酢酸 d 体とトリクロロ酢酸 ¹³C 100~500 ng の一定量を添加する。底質及び生物試料では GC/MS 法のみであるが、モノクロロ酢酸 d 体 4~20 µg、ジクロロ酢酸 d 体とトリクロロ酢酸 ¹³C 1~10 µg の一定量を添加する。2,3-ジブromopropion 酸はクロロ酢酸類に比較して MTBE 抽出率が劣るので、今後サロゲート物質として使用されなくなる可能性がある。

なお、底質及び生物試料ではサロゲート法のみであるが、水質試料では、回収率が 80% 以上の場合にはサロゲート法でなくても良い。その場合にはサロゲートを添加する必要はない。

(注 10) 強酸性溶液であるので、分液ロートを振り混ぜる時、注意すること。

なお、残留塩素除去済の水道水では、硫酸 (1+1) の添加量を増やすとハロ酢酸量が増加することがあるので、一定量添加する。

(注 11) ハロ酢酸の 0.04 mg/L 濃度における MTBE 10 mL の抽出率は、モノクロロ酢酸 53%、ジクロロ酢酸 80%、トリクロロ酢酸 84% である。今回 MTBE 15 mL を 2 回抽出し、抽出率の悪いモノクロロ酢酸も 80% 以上にした。

なお、GC/ECD でサロゲートとして用いている 2,3-ジブromopropion 酸の MTBE 抽出率はモノクロロ酢酸より高く、ジクロロ酢酸・トリクロロ酢酸より低い。

(注 12) 過剰の塩化ナトリウムを添加しているので、分液ロートの下部に沈殿が生じ、MTBE 層を分取するときは慎重に行う。また、MTBE 層と試料水の境が鮮明でないため、分取するときは慎重に行う。

(注 13) MTBE は水をかなり溶解させるので、脱水を十分に行うこと。脱水が不十分であるとメチル化が不完全になりるので、特に注意する。

(注 14) 窒素ガス吹き付けで濃縮する時、乾固させないこと。乾固すると、水質試料ではキパー量が少ないので、顕著に損失する。

- (注15) GC/ECD 及び GC/MS のクロマトグラム上で、クロロ酢酸類のピークとジアゾメタン及び MTBE 由来のピークが使用するキャピラリーカラムにより、隣接する場合があるので、キャピラリーカラムの選択と同時に、ジアゾメタン溶液は少ない方が望ましい。
- (注16) 水浴温度が高いと、クロロ酢酸類のメチル化は損失するので、空気浴中で行うことを薦める。
- (注17) 濃縮を 5 mL 以下にすると、損失することがあるので、5 mL 以下にしないこと。
- (注18) 予め含水フロリジルカラムクロマトグラフィーにおける溶出パターンと回収率を確認しておく。
- (注19) 感度を考慮して、ヘキサンでなく、MTBE に置換した。
- (注20) 内標準法及び絶対検量線法の場合には、サロゲートを添加しない。
- なお、任意の試料からクロロ酢酸類が検出される場合には、任意の試料にクロロ酢酸類のアセトン標準液を添加しない試験液（添加回収試験液のブランク）も調製する。
- (注21) GC/MS のクロロ酢酸類の感度差は GC/ECD に比較して小さい。GC/ECD のモノクロロ酢酸:ジクロロ酢酸:トリクロロ酢酸の感度差は測定装置により異なるが、目安として 60 : 10 : 4 である。
- (注22) 希薄標準液程、使用毎に調製すること。今回対象でないブロモ化合物は特に顕著である。
- (注23) MTBE 溶液は揮発性が非常に高いので、冷凍庫がない場合には、アンプルに保存した方が望ましい。
- (注24) 不活性化したガラスインサート、または石英インサートを使用すること。未処理のインサートを用いると、十分なピークの分離が得られず感度も低下する。
- (注25) 例えば、DB-17、Ultra-2、HP-1 等の名称で市販されている。対象外のハロ酢酸類、ハロ二塩基酸類も同時測定する場合には、SPB-20 カラムで昇温条件を検討する必要がある。
- (注26) 特に GC/ECD の場合には、キャピラリーカラム内に残留している物質が次の試料液のガスクロマトグラフ上に現れることがあるので、210°C (5分) まで温度を上げることを推奨する。
- (注27) 十分な感度が得られる場合には SIM 測定の代わりにスキャン測定でもよい。

(注28) GC/ECD では安定・再現性・回収率良好である場合には絶対検量線法を使用しても良い。また測定機器が不安定であるが、回収率が良好である場合には内標準法、あるいはサロゲート法のどちらかを使用する。GC/MS 法では絶対検量線法の定量値はバラツキが大きいので、使用しない。

10 参考

(1) 参考文献の分析法骨格

EPA method 552 は水中のモノクロロ酢酸、ジクロロ酢酸、トリクロロ酢酸、モノブromo酢酸、ブromoクロロ酢酸、ジブromo酢酸を MTBE で抽出し、ジアゾメタンでメチル化後、GC/ECD で定量している。この試験法では、内標準物質は 1,2,3-トリクロロプロパンを、サロゲート物質は 3,5-ジクロロ安息香酸を用いている。

EPA method 552.1 はディスク型固相で抽出し、メチル化後、GC/ECD で定量している。この試験法の特徴は MTBE 抽出の代わりに、ディスク型固相抽出を用いていることである。この試験法では、内標準物質は 1,2,3-トリクロロプロパンを、サロゲート物質は 2-ブromoプロピオン酸を用いている。

EPA method 552.2 は更にブromoジクロロ酢酸、クロロジブromo酢酸、トリブromo酢酸も対象物質としているが、MTBE で抽出し、硫酸/メタノールでメチル化後、中和した後、GC/ECD で定量している。この試験法では、内標準物質は 1,2,3-トリクロロプロパンを、サロゲート物質は 2,3-ジブromoプロピオン酸を用いている。この EPA method はハロ酢酸だけでなく、農薬 Dalapon も測定できる。この試験法の特徴は有毒であるジアゾメタンの代わりに、硫酸/メタノールを用いてメチル化していることである。最近、日本では硫酸/メタノールの代わりに硫酸/エタノールでメチル化する方法が検討されている。

上水試験方法と衛生試験法・注解は EPA method 552 に基づき作成されたので、対象物質及び分析法も同一である。しかし、検出器を GC/ECD だけでなく、GC/MS も採用している。

高橋らの確立した「水道水中のハロゲン化消毒副生成物の多成分系統分析法」はハロゲン化消毒副生成物(34種類)を測定する分析法である。この分析法のハロ酢酸の測定では、対象物質は EPA method 552.2 と同じであるが、分析法骨格は EPA method 552 とほぼ同一である。

最近、国立公衆衛生院の関口らはハロ酢酸を誘導体化せず、直接イオンクロマトグラフ

一質量分析法（IC/MS）で、定量する方法を提案してきている。なお、上水試験方法、高橋らの確立した試験法、関口らの提案している IC/MS 法は内標準物質、サロゲート物質を用いていない。

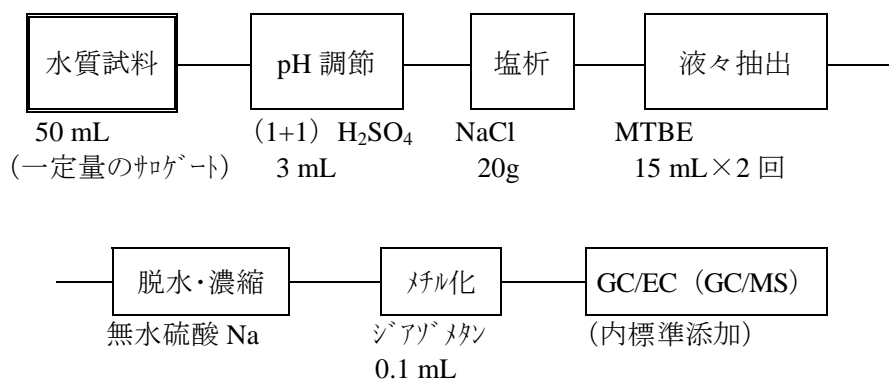
以上の対象試料は水質であるが、昭和 57 年度科学物質分析法開発調査報告書では水質及び底質試料中のクロロ酢酸類の分析法を開発している。この分析法骨格はエーテル抽出、ベンジル化誘導体、シリカゲルクロマト、パックドカラム GC/ECD の組み合わせで、クロロ酢酸類を定量している。

参考文献

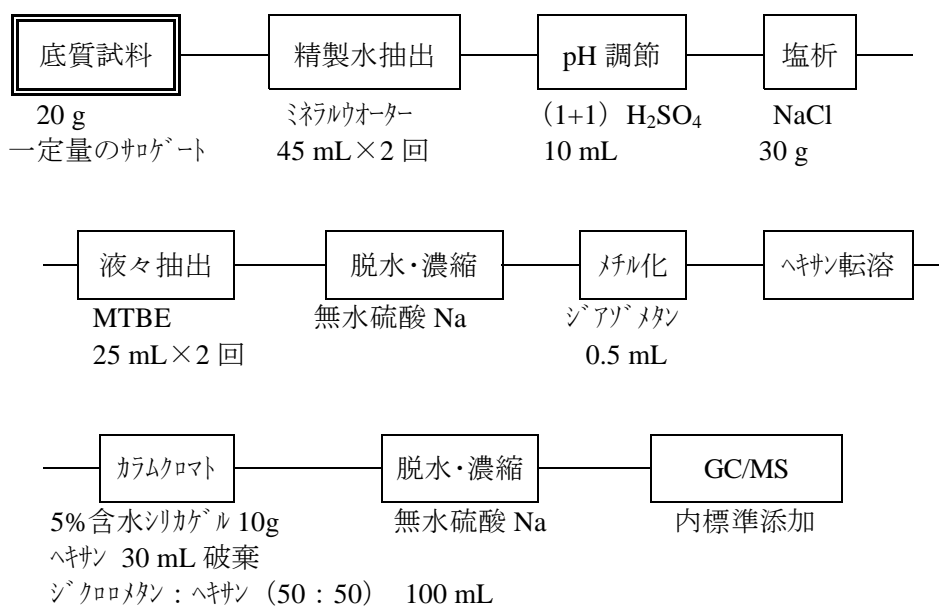
- 1) EPA method 552: Determination of haloacetic acids in drinking water by liquid-liquid extraction, derivatization, and gas chromatography with electron capture detection, 201-232 (1990)
- 2) EPA method 552.1: Determination of haloacetic acids and dalapon in drinking water by ion-exchange liquid-solid extraction and gas chromatography with electron capture detection, 1-30 (1992)
- 3) EPA method 552.2: Determination of haloacetic acids and dalapon in drinking water by liquid-liquid extraction, derivatization and gas chromatography with electron capture detection, 1-32 (1995)
- 4) 園田要, 伊藤正義, 田辺智子, 川畑浩一: 硫酸/エタノール溶液によるハロ酢酸のメチル誘導体のヘッドスペース-GC/MS を利用した分析の検討, 第 51 回全国水道研究発表会, 544-545 (2000)
- 5) 上水試験方法 (1993 年版): ハロ酢酸, pp380-384, 「日本水道協会」, 東京 (1993)
- 6) 衛生試験法・注解 (1990): ハロ酢酸, pp1795-1798, 「日本薬学学会」, 東京 (1995)
- 7) 高橋保雄, 森田昌敏: 水道水中のハロゲン化消毒副生成物の多成分系統分析法, 環境化学, 7, 495-506 (1997)
- 8) 関口益男, 浅見真理, 相澤貴子: イオンクロマトグラフィー質量分析法による親水性消毒副生成物の測定, 第 51 回全国水道研究発表会, 542-543 (2000)
- 9) 環境庁環境保健部保健調査室 (長野県衛生公害研究所 鹿角孝男): 「クロロ酢酸、ジクロロ酢酸、トリクロロ酢酸, 昭和 57 年度化学物質分析法開発調査報告書」, 2015-2020 (1980) sy

分析法フローチャート

水質試料



底質試料



生物試料

