

表-5.1 対象物質とサロゲート物質の TMS 体及び内部標準物質の測定イオン

No.	化合物名	備考	測定イオン		
			定量用	確認用①	確認用②
1	フタル酸ジ-2-エチルヘキシル	対象物質	149	167	150
2	フタル酸ジ-2-ブチル	対象物質	149	150	
3	フタル酸-n-ブチルベンジル	対象物質	149	91	206
4	フタル酸ジシクロヘキシル	対象物質	149	167	150
5	フタル酸ジエチル	対象物質	149	177	
6	フタル酸ジペンチル	対象物質	149	150	
7	フタル酸ジ-n-プロピル	対象物質	149	191	209
8	アジピン酸ジ-2-エチルヘキシル	対象物質	129	112	
	フタル酸ジ-2-エチルヘキシル-d4	サロゲート物質	153	171	
	フタル酸ジ-2-ブチル-d4	サロゲート物質	153	154	
	フタル酸-n-ブチルベンジル-d4	サロゲート物質	153	210	
	フタル酸ジシクロヘキシル-d4	サロゲート物質	153	171	
	フタル酸ジエチル-d4	サロゲート物質	153	181	
	フェナントレン-d10	内部標準物質	188		
	フルオランテン-d10	内部標準物質	212		
	p-ターフェニル-d14	内部標準物質	244		

5. 5. 2 検量線

検量線は一連の測定ごとに作成する。標準混合液 1mL に内部標準添加液 4 μ L を加えてよく混合し、2 μ L を GC に注入する。各対象物質及びサロゲート物質と内部標準物質とのピーク高さの比から各物質ごとの検量線を作成し、それを用いて試料を定量する。検量線の濃度範囲は、分析法の検出下限値付近と予測される濃度レベルを含む 5 段階以上とする。

5. 5. 3 試料の測定

検量線作成後、測定用試験液、空試験液、容器空試験液及び添加回収試験液に内部標準添加液 4 μ L を加えてよく混合し、各 2 μ L を GC に注入して測定を行う。

6. 同定、定量及び計算

6. 1 同定

対象物質の定量イオン及び確認イオンのピークが予想保持時間と ± 5 秒以内に出現し、確認イオンと定量イオンのピーク強度比が予想値と $\pm 20\%$ 以内の差で合致すれば、同一

物質とみなす。

6. 2 定量

得られた各対象物質と内部標準物質とのピーク高さの比から検量線により検出量を求める。次に、検出量、分析した試料量などから次式により試料中の対象物質及びサロゲート物質の濃度を計算する。

$$\text{水質試料中濃度 } (\mu\text{g/L}) = \text{検出量 (ng)} \times [\text{測定用試験液量 (mL)} / \text{GC 注入量 } (\mu\text{L})] \times [1 / \text{試料量 (L)}]$$

参考文献

第 24 回 日本環境化学会講演会 資料集

第 26 回 日本環境化学会講演会 予稿集

外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル（水質、底質、水生生物）

「平成 10 年 10 月環境庁 水質保全局 水質管理課」

2. アルキルフェノール類等の分析法

1. 対象物質

フェノール、4-エチルフェノール、2-sec-ブチルフェノール、2-tert-ブチルフェノール、3-tert-ブチルフェノール、4-sec-ブチルフェノール、4-tert-ブチルフェノール、4-オクチルフェノール、4-tert-オクチルフェノール、4-n-ノニルフェノール、ビスフェノール A、2-ヒドロキシビフェニル、3-ヒドロキシビフェニル、4-ヒドロキシビフェニル、ノニルフェノール

2. 目標検出限界

本分析法の目標検出限界は $0.01 \mu\text{g/L}$ （ノニルフェノールのみ $0.1 \mu\text{g/L}$ ）である。

3. 分析法概要

試料水に懸濁物質（SS）が多く認められるときは、ガラスファイバーフィルターでろ過し、SS はアセトンで抽出後濃縮して、ろ液に合わせて以下の操作を行う。試料水（又はろ液）を酸性にしてジクロロメタンで抽出後、脱水・濃縮してトリメチルシリル化を行い、GC/MS-SIM で測定する。また、ジクロロメタンによる抽出の代わりに固相抽出も利用できるが、今回は行わなかった。

4. 試薬・器具

4. 1 試薬

- ・対象物質：市販標準試薬（表 1 参照）
- ・サロゲート物質（重水素化ビスフェノール A）：市販標準試薬（表 1 参照）
- ・内部標準物質（*p*-フタルン-d8、*m*-クレソール-d12、フェナントレン-d10、フルオランテン-d10、*p*-ターフェニル-d14）：市販標準試薬（表 1 参照）
- ・ジクロロメタン、アセトン、ヘキサン、メタノール：和光純薬・残留農薬分析用（Grade1000）
- ・反応試薬 BSTFA（N,O-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide）：和光純薬・ガスクロマトグラフ用（冷所保管）
- ・無水硫酸ナトリウム：関東化学・残留農薬分析用（700℃で4時間加熱後放冷してジクロロメタンで洗浄）
- ・塩酸：和光純薬・精密分析用
- ・固相カートリッジ（捕集用）：Waters 社製 OASIS
- ・固相カートリッジ（脱水用）：Waters 社製 Sep-Pak-Dry
- ・ガラスファイバーフィルター：ADVANTEC・GA100

- ・精製水：活性炭カートリッジ及びRO膜で処理したもの

表-4.1 対象物質、サロゲート物質及び内部標準物質

No.	化合物名	メーカー	Lot.No	備考
10	4-n-ノニルフェノール	林純薬	70090	対象物質
11	4-オクチルフェノール	関東化学	005G7516	対象物質
12	4-tert-オクチルフェノール	和光純薬	ACK4415	対象物質
13	ビスフェノールA	関東化学	003G7201	対象物質
14	4-ヒドロキシビフェニル	和光純薬	WTF0650	対象物質
15	3-ヒドロキシビフェニル	Aldrich	FIG01	対象物質
16	2-ヒドロキシビフェニル	和光純薬	WTR9026	対象物質
17	2-tert-ブチルフェノール	関東化学	007D2259	対象物質
18	2-sec-ブチルフェノール	和光純薬	DLJ5725	対象物質
19	3-tert-ブチルフェノール	関東化学	007D2163	対象物質
20	4-tert-ブチルフェノール	和光純薬	RLL9893	対象物質
21	4-sec-ブチルフェノール	東京化成	FAY01	対象物質
22	4-エチルフェノール	関東化学	007D2023	対象物質
23	フェノール	和光純薬	WTJ8043	対象物質
9	ノニルフェノール	東京化成	FEG 01-LD	対象物質
	重水素化ビスフェノールA	林純薬	JIO6362	サロゲート物質
	ナフタレン-d8	Aldrich	14409CF	内部標準物質
	クリセン-d12	関東化学	009G7208	内部標準物質
	フェナントレン-d10	Aldrich	10107TN	内部標準物質
	フルオランテン-d10	関東化学	009G7209	内部標準物質
	p-ターフェニル-d14	Aldrich	06430AR	内部標準物質

4. 2 器具及び装置

- ・ロータリーエバポレーター：EYELA・NAJ-100T
- ・超音波洗浄機：iuchi・ULTRASONIC CLEANER VS-100
- ・振盪機：TAITEC・SR-2W
- ・乾燥機：Yamato・Drying Oven DV61
- ・電気炉：ADVANTEC・ELECTRIC MUFFLE FURNACES KM-280
- ・固相抽出機：Waters・Sep-Pak Concentrator
- ・ガスクロマトグラフ/質量分析計（GC/MS）：島津製作所・QP5050A
- ・ガラス器具：洗浄後 250℃で 2 時間乾燥させ、使用直前にアセトン及びヘキサンで洗浄する

5. 試験操作

5. 1 前処理法

5. 1. 1 溶媒抽出

試料水 1L を 1M 塩酸^{注1}で pH 値を 3 に調整後、サロゲート物質（重水素化ビスフェノール A）5 μ g を加えて十分混合する。これにジクロロメタン 100mL を加え、10 分間振盪抽出する。この抽出を計 2 回行い、ジクロロメタン層を合わせる。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と窒素ガスを吹き付けて約 0.5mL まで濃縮し^{注2}、前処理液とする。

注 1：市販の塩酸の中には 4-tert-ブチルフェノールが含有しているものがあるので、確認する。

注 2：濃縮操作において、試験液は乾固させない。

5. 1. 2 固相抽出

試料水 1L を 1M 塩酸^{注1}で pH 値を 3 に調整後、サロゲート物質（重水素化ビスフェノール A）5 μ g を加えて十分混合する。試料水に懸濁物質（SS）が多く認められるときは、抽出前にガラスファイバーフィルターで試料水をろ過する。SS はフィルターごと超音波洗浄機を使って少量のアセトンで数回抽出し、抽出液を合わせて 5mL 程度に減圧濃縮し、ろ液に加える。この試料水をあらかじめジクロロメタン、メタノール、精製水の順で洗浄及びコンディショニングしたカートリッジに流速 20mL/min で通水する。通水終了後、窒素ガスを吹き付けて余分な水を除去し、脱水しながら 7mL のジクロロメタンで 10mL 容積の試験管内に溶出させる。この溶出液に窒素ガスを吹き付けて約 0.5mL まで濃縮し^{注2}、前処理液とする。

5. 2 試験液の調製

各試料の前処理液にシリル化剤 BSTFA (N,O-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide) 200 μ L を加え、素早く栓をしてよく振り混ぜた後、室温で 1 時間放置し、誘導化する。これをジクロロメタンで 1mL とし、試験液とする。

5. 3 空試験液の調製

5. 3. 1 溶媒抽出

あらかじめジクロロメタン 100mL で 2 回洗浄した精製水を用いて、試料と同じ操作を行い、得られた試験液を空試験液とする。空試験液から対象物質が検出された場合は、空試験値を差し引いて検出値とする。

5. 3. 2 固相抽出

精製水を固相抽出と同じカートリッジに通水処理したものを用いて、試料と同じ操作を行い、得られた試料液を空試験液とする。空試験液から対象物質が検出された場合は、空試験値を差し引いて検出値とする。

5. 4 添加回収試験液の調製

任意の水質試料 1L に対象物質とサロゲート物質、各 0.1 μ g を添加し、十分混合した後、「前処理法」並びに「試験液の調製」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. 5 標準液の調製

対象物質の標準品をそれぞれ 20mg ずつ秤量し、アセトンで 20mL に定容して 1000mg/L 標準原液を調製する。これを適宜混合し、ジクロロメタンで希釈して所定の濃度の標準混合液を調製する。サロゲート物質（重水素化ビスフェノール A）の調製も、対象物質と同様に行う。内部標準物質（ナフタリン-d8、クレセン-d12、フェントレン-d10、フルオランテン-d10、p-ターフェニル-d14）及び内部標準添加液（25 μ g/L）の調製も、対象物質と同様に行う。

5. 6 測定

5. 6. 1 GC/MS 測定条件

(1) GC

- ・カラム：HEWLETT PACKARD 社製キャピラリーカラム HP-5MS
(30m \times 0.25mmI.D.、 $d_f=0.25\mu$ m)
- ・カラム温度：50 $^{\circ}$ C（3分） \rightarrow 10 $^{\circ}$ C/分 \rightarrow 280 $^{\circ}$ C（1分）
- ・注入口温度：250 $^{\circ}$ C
- ・注入法：スプリットレス法
- ・キャリアガス：He

(2) MS

- ・イオン化法：EI
- ・イオン化電圧：70eV
- ・イオン源温度：280 $^{\circ}$ C
- ・検出モード：SIM

(3) 定量イオン

対象物質とサロゲート物質の TMS 体及び内部標準物質の定量イオンと確認イオン

を表-5.1 に示す。

表-5.1 対象物質とサロゲート物質の TMS 体及び内部標準物質の測定イオン

No.	化合物名	備考	測定イオン		
			定量用	確認用①	確認用②
10	4-n-ノニルフェノールのTMS体	対象物質	107	220	
11	4-オクチルフェノールのTMS体	対象物質	107	206	77
12	4-tert-オクチルフェノールのTMS体	対象物質	135	107	206
13	ビスフェノールAのTMS体	対象物質	135	107	121
14	4-ヒドロキシビフェニルのTMS体	対象物質	170	141	115
15	3-ヒドロキシビフェニルのTMS体	対象物質	170	141	115
16	2-ヒドロキシビフェニルのTMS体	対象物質	170	169	141
17	2-tertブチルフェノールのTMS体	対象物質	107	135	150
18	2-sec-ブチルフェノールのTMS体	対象物質	121	150	77
19	3-tert-ブチルフェノールのTMS体	対象物質	135	107	150
20	4-tert-ブチルフェノールのTMS体	対象物質	135	107	150
21	4-sec-ブチルフェノールのTMS体	対象物質	121	150	77
22	4-エチルフェノールのTMS体	対象物質	107	122	77
23	フェノールのTMS体	対象物質	94	95	
9	ノニルフェノールのTMS体	対象物質	135	107	121
	重水素化ビスフェノールAのTMS体	サロゲート物質	362	363	364
	ナフタレン-d8	内部標準物質	136		
	クリセン-d12	内部標準物質	240		
	フェナントレン-d10	内部標準物質	188		
	フルオランテン-d10	内部標準物質	212		
	p-ターフェニル-d14	内部標準物質	244		

5. 6. 2 検量線

検量線は一連の測定ごとに作成する。標準混合液 1mL に窒素ガスを吹き付けて 0.5mL 程度に濃縮し、「試験液の調製」の誘導化に従って操作を行い、得られた試験液に内部標準添加液 4 μ L を加えてよく混合し、2 μ L を GC に注入する。各対象物質及びサロゲート物質のトリメチルシリル体と内部標準物質とのピーク高さの比から各物質ごとの検量線を作成し、それを用いて試料を定量する。検量線の濃度範囲は、分析法の検出下限値付近と予測される濃度レベルを含む 5 段階以上とする。

5. 6. 3 試料の測定

検量線作成後、測定用試験液、空試験液及び添加回収試験液に内部標準添加液 4 μ L

を加えてよく混合し、各 2 μ L を GC に注入して測定を行う。

6. 同定、定量及び計算

6. 1 同定

対象物質及びサロゲート物質のトリメチルシリル体の定量イオン及び確認イオンのピークが予想保持時間と ± 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予想値と $\pm 20\%$ 以内の差で合致すれば、同一物質とみなす。

6. 2 定量

得られた各対象物質及びサロゲート物質のトリメチルシリル体と内部標準物質とのピーク高さの比から検量線により検出量を求める。次に、検出量、分析した試料量などから次式により試料中の対象物質及びサロゲート物質の濃度を計算する。

$$\text{水質試料中濃度 } (\mu\text{g/L}) = \text{検出量 (ng)} \times [\text{測定用試験液量 (mL)} / \text{GC 注入量 } (\mu\text{L})] \times [1 / \text{試料量 (L)}]$$

参考文献

第 24 回 日本環境化学会講演会 資料集

第 26 回 日本環境化学会講演会 予稿集

外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル（水質、底質、水生生物）

「平成 10 年 10 月環境庁 水質保全局 水質管理課」

分離分析のための誘導体化ハンドブック

「中村洋監訳：丸善株式会社」

3. スチレン2量体・3量体類の分析法

1. 対象物質

1,3-ジフェニルプロパン、cis-1,2-ジフェニルシクロブタン、2,4-ジフェニル-1-ブテン、trans-1,2-ジフェニルシクロブタン、2,4,6-トリフェニル-1-ヘキセン、1e-フェニル-4e-(1'-フェニルエチル)テトラリン

2. 目標検出限界

本分析法の目標検出限界は 0.01 $\mu\text{g/L}$ である。

3. 分析法概要

試料水をジクロロメタンで抽出後、脱水・濃縮して GC/MS-SIM で測定する。

4. 試薬・器具

4. 1 試薬

- ・対象物質：市販標準試薬（表-4.1 参照）
- ・内部標準物質（フェントレン-d10、クリセン-d12、フルオランテン-d10、p-ターフェニル-d14）：市販標準試薬（表-4.1 参照）
- ・参考物質（1a-フェニル-4a-(1'-フェニルエチル)テトラリン、1a-フェニル-4e-(1'-フェニルエチル)テトラリン、1e-フェニル-4a-(1'-フェニルエチル)テトラリン）：市販標準試薬（表-4.1 参照）
- ・ジクロロメタン、アセトン、ヘキサン：和光純薬・残留農薬分析用（Grade1000）
- ・無水硫酸ナトリウム：関東化学・残留農薬分析用（700℃で4時間加熱後、放冷してジクロロメタンで洗浄）
- ・精製水：活性炭カートリッジ及びRO膜で処理したもの

表-4.1 対象物質及び内部標準物質

記号	化合物名	メーカー	Lot.No	備考
D-1	1,3-ジフェニルプロパン	東京化成	FIA01	対象物質
D-2	cis-1,2-ジフェニルシクロブタン	林純薬	JII06907	対象物質
D-3	2,4-ジフェニル-1-ブテン	和光純薬	RLK9363	対象物質
D-4	trans-1,2-ジフェニルシクロブタン	林純薬	JII06908	対象物質
T-1	2,4,6-トリフェニル-1-ヘキセン	和光純薬	RLK9370	対象物質
T-2	1e-フェニル-4e-(1'-フェニルエチル)テトラリン	林純薬	JII06537	対象物質
T-3	1a-フェニル-4a-(1'-フェニルエチル)テトラリン	林純薬	JII07561	参考物質
T-4	1a-フェニル-4e-(1'-フェニルエチル)テトラリン	林純薬	JII07562	参考物質
T-5	1e-フェニル-4a-(1'-フェニルエチル)テトラリン	林純薬	JII07563	参考物質
	フェナントレン-d10	Aldrich	10107TN	内部標準物質
	クリセン-d12	関東化学	009G7208	内部標準物質
	フルオランテン-d10	関東化学	009G7209	内部標準物質
	p-ターフェニル-d14	Aldrich	06430AR	内部標準物質

4. 2 器具及び装置

- ・ロータリーエバポレーター：EYELA・NAJ-100T
- ・振盪機：TAITEC・SR-2W
- ・乾燥機：Yamato・Drying Oven DV61
- ・電気炉：ADVANTEC・ELECTRIC MUFFLE FURNACES KM-280
- ・ガスクロマトグラフ／質量分析計（GC/MS）：島津製作所・QP5050A
- ・ガラス器具：洗浄後 250℃で 2 時間乾燥させ、使用直前にアセトン及びヘキサンで洗浄する

5. 試験操作

5. 1 前処理法

試料水 1L にジクロロメタン^{注1}100mL を加え、10 分間振盪抽出する。この操作を計 2 回行い、ジクロロメタン層を合わせる。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と窒素ガスを吹き付けて 1mL まで濃縮し、試験液とする^{注2}。

注 1：抽出溶媒はヘキサンでも可能であるが、ロットによっては 2,4,6-トリフェニル-1-ヘキセンが含有する場合がある。抽出溶媒は必ず対象物質が含有されていないことを確認してから使用する。

注 2：スチレン 2 量体・3 量体の中には、光分解しやすい物質が含まれているので、速やかに分析する。

5. 2 空試験液の調製

あらかじめジクロロメタン 100mL で 2 回洗浄した精製水を用いて、試料と同じ操作を行い、得られた試験液を空試験液とする。空試験液から対象物質が検出された場合は、空試験値を差し引いて検出値とする。

5. 3 添加回収試験液の調製

精製水 1L に対象物質を添加し、十分混合した後、「前処理法」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. 4 標準液の調製

対象物質及び参考物質の標準品をそれぞれ 20mg ずつ秤量し、アセトンで 20mL に定容して 1000mg/L 標準原液を調製する。これを適宜混合し、ジクロロメタンで希釈して所定の濃度の標準混合液を調製する。内部標準物質（フィントレン-d10、クリレン-d12、フルオランテン-d10、p-ターフェニル-d14）及び内部標準添加液（25 μ g/L）の調製も、対象物質と同様に行う。

5. 5 測定

5. 5. 1 GC/MS 測定条件

(1) GC

- ・カラム：HEWLETT PACKARD 社製キャピラリーカラム HP-5MS
(30m×0.25mmI.D.、 $d_f=0.25\mu\text{m}$)
- ・カラム温度：100℃（3分）→10℃/分→280℃（2分）
- ・注入口温度：250℃
- ・注入法：スプリットレス法
- ・キャリアガス：He

(2) MS

- ・イオン化法：EI
- ・イオン化電圧：70eV
- ・イオン源温度：280℃
- ・検出モード：SIM

(3) 定量イオン

対象物質及び内部標準物質の定量イオンと確認イオンを表-5.1 に示す。

表-5.1 対象物質及び内部標準物質の測定イオン

記号	化合物名	備考	測定イオン		
			定量用	確認用①	確認用②
D-1	1,3-ジフェニルプロパン	対象物質	9 2	9 1	1 9 6
D-2	cis-1,2-ジフェニルシクロブタン	対象物質	1 0 4	7 8	
D-3	2,4-ジフェニル-1-ブテン	対象物質	9 1	1 0 4	
D-4	trans-1,2-ジフェニルシクロブタン	対象物質	1 0 4	7 8	
T-1	2,4,6-トリフェニル-1-ヘキセン	対象物質	9 1	1 1 7	
T-2	1e-フェニル-4e-(1'-フェニルエチル)テトラリン	対象物質	9 1	1 2 9	2 0 7
T-3	1a-フェニル-4a-(1'-フェニルエチル)テトラリン	参考物質	9 1	1 2 9	2 0 7
T-4	1a-フェニル-4e-(1'-フェニルエチル)テトラリン	参考物質	9 1	1 2 9	2 0 7
T-5	1e-フェニル-4a-(1'-フェニルエチル)テトラリン	参考物質	9 1	1 2 9	2 0 7
	フェナントレン-d10	内部標準物質	1 8 8		
	クリセン-d12	内部標準物質	2 4 0		
	フルオランテン-d10	内部標準物質	2 1 2		
	p-ターフェニル-d14	内部標準物質	2 4 4		

5. 5. 2 検量線

検量線は一連の測定ごとに作成する。標準混合液 1mL に内部標準添加液 4 μ L を加えてよく混合し、2 μ L を GC に注入する。各対象物質と内部標準物質とのピーク高さの比から対象物質毎の検量線を作成し、それを用いて試料を定量する。検量線の濃度範囲は、分析法の検出下限値付近と予測される濃度レベルを含む 5 段階以上とする。

5. 5. 3. 試料の測定

検量線作成後、測定用試験液、空試験液及び添加回収試験液に内部標準添加液 4 μ L を加えてよく混合し、各 2 μ L を GC に注入して測定を行う。

6. 同定、定量及び計算

6. 1 同定

対象物質の定量イオン及び確認イオンのピークが予想保持時間と ± 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予想値と $\pm 20\%$ 以内の差で合致すれば、同一物質とみなす。

6. 2 定量

得られた各対象物質と内部標準物質とのピーク高さの比から検量線により検出量を求める。次に、検出量、分析した試料量などから次式により試料中の対象物質の濃度を計算する。

$$\text{水質試料中濃度 } (\mu\text{g/L}) = \frac{\text{検出量 (ng)} \times [\text{測定用試験液量 (mL)} / \text{GC 注入量 } (\mu\text{L})]}{\text{試料量 (L)}}$$

参考文献

第 24 回 日本環境化学会講演会 資料集

第 26 回 日本環境化学会講演会 予稿集

外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル（水質、底質、水生生物）

「平成 10 年 10 月環境庁 水質保全局 水質管理課」

食品用ポリスチレン製品に残存する未知物質の同定

「河村葉子、杉本直樹、武田由比子、山田隆：食品衛生学雑誌、39、110～119」

ポリスチレン容器入り即席めん中のスチレンダイマー及びトリマーの分析法

「河村葉子、西暁子、佐々木春美、山田隆：食品衛生学雑誌、39、310～314」

ポリスチレン容器から即席食品へのスチレンダイマー及びトリマーの移行

「河村葉子、西暁子、前原玉枝、山田隆：食品衛生学雑誌、39、390～398」

4. 17β-エストラジオールの分析法

1. 対象物質

17β-エストラジオール

2. 目標検出限界

本分析法の目標検出限界は 0.002 μg/L である。

3. 分析法概要

試料水に懸濁物質 (SS) が多く認められるときは、ガラスファイバーフィルターでろ過し、SS はアセトンで抽出後濃縮して、ろ液に合わせて以下の操作を行う。試料水 (又はろ液) を固相カートリッジに通し、ジクロロメタンで溶出後、脱水・蒸発乾固して抱合体を分解した後、トリメチルシリル化を行い、GC/MS-SIM で測定する。

4. 試薬・器具

4. 1 試薬

- ・対象物質：市販標準試薬 (表-4.1 参照)
- ・サロゲート物質 (17β-エストラジオール-d4)：市販標準試薬 (表-4.1 参照)
- ・参考物質 (17α-エストラジオール、ジエチルスチルベストロール)：市販標準試薬 (表-4.1 参照)
- ・内部標準物質 (フェナントリン-d10、フルオランテン-d10、p-ターフェニル-d14)：市販標準試薬 (表-4.1 参照)
- ・ジクロロメタン、アセトン、ヘキサン、メタノール：和光純薬・残留農薬分析用 (Grade1000)
- ・ウンデカン：和光純薬・特級
- ・N,N-ジメチルホルムアミド：和光純薬
- ・反応試薬 BSTFA (N,O-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide)：和光純薬・ガスクロマトグラフ用 (冷所保管)
- ・固相カートリッジ (捕集用)：Waters 社製 OASIS
- ・固相カートリッジ (脱水用)：Waters 社製 Sep-Pak-Dry
- ・ガラスファイバーフィルター：ADVANTEC・GA100
- ・精製水：活性炭カートリッジ及び RO 膜で処理したもの

表-4.1 対象物質、サロゲート物質及び内部標準物質

化合物名	メーカー	Lot.No	備考
17β-エストラジオール	和光純薬	TPE1188	対象物質
17α-エストラジオール	Aldrich	13021BR	参考物質
ジエチルスチルベストロール	Aldrich	16404TR	参考物質
17β-エストラジオール-d4	Cambridge	V-582	サロゲート物質
フェナントレン-d10	Aldrich	10107TN	内部標準物質
フルオランテン-d10	関東化学	009G7209	内部標準物質
p-ターフェニル-d14	Aldrich	06430AR	内部標準物質

4. 2 器具及び装置

- ・ロータリーエバポレーター：EYELA・NAJ-100T
- ・超音波洗浄機：iuchi・ULTRASONIC CLEANER VS-100
- ・振盪機：TAITEC・SR-2W
- ・乾燥機：Yamato・Drying Oven DV61
- ・固相抽出機：Waters・Sep-Pak Concentrator
- ・ガスクロマトグラフ/質量分析計（GC/MS）：島津製作所・QP500
- ・ガラス器具：洗浄後 250℃で 2 時間乾燥させ、使用直前にアセトン及びヘキサンで洗浄する

5. 試験操作

5. 1 前処理法

試料水 1L にサロゲート物質（17β-エストラジオール-d4）10ng を加え、十分混合する。試料水に懸濁物質（SS）が多く認められるときは、抽出前にガラスファイバーフィルターで試料水をろ過する。SS はフィルターごと超音波洗浄機を使って少量のアセトンで数回抽出し、抽出液を合わせて 5mL 程度に減圧濃縮し、ろ液に加える。この試料水をあらかじめジクロロメタン、メタノール、精製水の順で洗浄及びコンディショニングをしたカートリッジに流速 20mL/min で通水する。通水終了後、窒素ガスを吹き付けて余分な水を除去し、脱水しながら 7mL のジクロロメタンで 10mL 容積の試験管内に溶出させる。この溶出液に窒素ガスを吹き付けて蒸発乾固させる。

5. 2 抱合体の分解

蒸発乾固させた残留物に 1M 塩酸メタノール溶液 1mL を添加し、強く密封した後、80℃で 20 分間^{注1}加熱する。冷却後、窒素ガスを吹き付けて蒸発乾固^{注2}させる。

注 1：分解は 80℃で 10～60 分間で 95%以上達成されるので、第 26 会環境化学会法に

従って 20 分間とした。

注 2：水分が残っていると、次の TMS 化が十分に達成されないので、注意する。この蒸発乾固に 50℃で 2 時間必要であった。

5. 3 試験液の調製

残留物をジメチルホルムアミド溶液 100 μ L に溶かし、シリル化剤 BSTFA (N,O-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide) 200 μ L を加え、素早く栓をしてよく振り混ぜた後、80℃で 1 時間加熱して誘導体化する。冷却後、窒素ガスを吹き付けて蒸発乾固させる。これにウンデカン 0.2mL^{注3}を加えて溶解する。

注 3：0.2mL オストワルドを使用した。

5. 4 空試験液の調製

精製水を固相抽出と同じカートリッジに通水処理した水を空試験試料水とする。この水を用いて試料と同じ操作を行い、得られた試験液を空試験液とする。空試験液から対象物質が検出された場合は、空試験値を差し引いて検出値とする。

5. 5 添加回収試験液の調製

任意の水質試料 1L に対象物質とサロゲート物質、各 0.1 μ g を添加し、十分混合した後、「前処理法」並びに「試験液の調製」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. 6 標準液の調製

対象物質及び参考物質の標準品をそれぞれ 20mg ずつ秤量し、アセトンで 20mL に定容して 1000mg/L 標準原液を調製する。これを適宜混合し、ジクロロメタンで希釈して所定の濃度の標準混合液を調製する。サロゲート物質 (17 β -エストラジオール-d4) の調製も、対象物質と同様に行う。内部標準物質 (フェントリン-d10、フルオランテン-d10、p-タ-フェニル-d14) 及び内部標準添加液 (25 μ g/L) の調製も、対象物質と同様に行う。

5. 6 測定

5. 6. 1 GC/MS 測定条件

(1) GC

・カラム：GLサイエンス社製キャピラリーカラム TC-1

(30m \times 0.25mmI.D.、 $d_f=0.25\mu$ m)

・カラム温度：50℃ (3 分) \rightarrow 20℃/分 \rightarrow 200℃ (1 分) \rightarrow 5℃/分 \rightarrow 220℃ (1 分)

\rightarrow 20℃/分 \rightarrow 280℃ (1 分)

- ・注入口温度：250℃
- ・注入法：スプリットレス法
- ・キャリアガス：He

(2) MS

- ・イオン化法：EI
- ・イオン化電圧：70eV
- ・イオン源温度：280℃
- ・検出モード：SIM

(3) 定量イオン

対象物質とサロゲート物質の TMS 体及び内部標準物質の定量イオンと確認イオンを表-5.1 に示す。

表-5.1 対象物質とサロゲート物質の TMS 体及び内部標準物質の測定イオン

化合物名	備考	測定イオン		
		定量用	確認用①	確認用②
17β-エストラジオールのTMS体	対象物質	416	285	417
17α-エストラジオールのTMS体	参考物質	416	285	417
ジエチルスチルベストロールのTMS体	参考物質	412	413	217
17β-エストラジオール-d4のTMS体	サロゲート物質	420	287	288
フェナントレン-d10	内部標準物質	188		
フルオランテン-d10	内部標準物質	212		
p-ターフェニル-d14	内部標準物質	244		

5. 6. 2 検量線

検量線は一連の測定ごとに作成する。標準混合液 0.2mL に窒素ガスを吹き付けて蒸発乾固し、「抱合体の分解」、「試験液の調製」の誘導體化に従って操作を行い、得られた試験液に内部標準添加液 4μL を加えてよく混合し、2μL を GC に注入する。各対象物質及びサロゲート物質のトリメチルシリル体と内部標準物質とのピーク高さの比から各物質ごとの検量線を作成し、それを用いて試料を定量する。検量線の濃度範囲は、分析法の検出下限値付近と予測される濃度レベルを含む 5 段階以上とする。

5. 6. 3 試料の測定

検量線作成後、測定用試験液、空試験液及び添加回収試験液に内部標準添加液 4μL

を加えてよく混合し、各 2 μ L を GC に注入して測定を行う。

6. 同定、定量及び計算

6. 1 同定

対象物質及びサロゲート物質のトリメチルシリル体の定量イオン及び確認イオンのピークが予想保持時間と ± 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予想値と $\pm 20\%$ 以内の差で合致すれば、同一物質とみなす。

6. 2 定量

得られた各対象物質及びサロゲート物質のトリメチルシリル体と内部標準物質とのピーク高さの比から検量線により検出量を求める。次に、検出量、分析した試料量などから次式により試料中の対象物質及びサロゲート物質の濃度を計算する。

$$\text{水質試料中濃度 } (\mu\text{g/L}) = \frac{\text{検出量 (ng)} \times [\text{測定用試験液量 (mL)} / \text{GC 注入量 } (\mu\text{L})] \times [1 / \text{試料量 (L)}]}{}$$

参考文献

第 24 回 日本環境化学会講演会 資料集

第 26 回 日本環境化学会講演会 予稿集

外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル（水質、底質、水生生物）

「平成 10 年 10 月環境庁 水質保全局 水質管理課」

分離分析のための誘導体化ハンドブック

「中村洋監訳：丸善株式会社」

5. 塩化ビニルモノマー・スチレンモノマー・エピクロロヒドリンの分析法

1. 対象物質

塩化ビニルモノマー、スチレンモノマー、エピクロロヒドリン

2. 目標検出限界

本分析法の目標検出限界は、塩化ビニルモノマー及びスチレンモノマーでは0.1 μ g/Lで、エピクロロヒドリンでは0.5 μ g/Lである。

3. 分析法概要

試料液中に不活性ガスを通気して対象物質を気相中に移動させてトラップ管に捕集し、次にトラップ管を加熱して対象物質を脱着し、GC/MSに導入して測定する。

4. 試薬・器具

4. 1 試薬

- ・対象物質：市販標準試薬（表-4.1 参照）
- ・内部標準物質（p-ブロモフルオロベンゼン）：市販標準試薬（表-4.1 参照）
- ・メタノール：関東化学・水質試験用
- ・L-アスコルビン酸：関東化学・鹿特級
- ・塩酸（1+2）：VOCs成分を含まないこと
- ・試薬調製用精製水：RO-TOCの超純水を48時間以上窒素ガスでパージしたもの。又は、RO-TOC超純水を3L三角フラスコに採り、これを激しく沸騰させて1~2時間で1/3程度に減じ、24時間以上窒素ガスでパージ冷却したもの

表-4.1 対象物質及び内部標準物質

化合物名	メーカー	Lot.No	備考
塩化ビニルモノマー	GLサイエンス	212-39A	対象物質
スチレンモノマー	東京化成	TIF01	対象物質
エピクロロヒドリン	和光純薬	PAN5704	対象物質
p-ブロモフルオロベンゼン	和光純薬	APE3800	内部標準物質

4. 2 器具及び装置

- ・パージ・トラップ装置：TekmarAQUAtek50、TekmarLSC2000
- ・イオントラップGC/MS装置：Varian社3400、Finniganmat社MAGNUM
- ・窒素ガス発生装置：ボルストン製・超高純度窒素ガス発生装置75-92型