

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
17 $\beta$ -エストラジオール	和光純薬	TPE1188	対象物質
17 $\alpha$ -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
17 $\beta$ -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（17 $\beta$ -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、堅く密封した後、80℃で 20 分間<sup>注1</sup>加熱する。冷却後、窒素ガスを吹き付けて蒸発乾固<sup>注2</sup>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  $\mu$ L に溶かし、シリル化剤 BSTFA (N,O-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide) 200  $\mu$ 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<sup>注 3</sup>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  $\mu$ 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 $\beta$ -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  $\mu$ 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 $\times$ 0.25mm I.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 $\mu$ 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 $\pm 5$  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。

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」

## 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  $0.1 \mu\text{g/L}$  で、エピクロロヒドリンでは  $0.5 \mu\text{g/L}$  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-プ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-プ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

- ・乾燥機：島津製作所・ER-60
- ・ガラス器具：洗浄後 200℃で 2 時間乾燥

## 5. 試験操作

### 5. 1 前処理法

試料水を 40mL 試験用バイアル瓶に空隙がないように入れ、オートサンプラーにセットする。

### 5. 2 空試験液の調製

試薬調製用精製水を用いて試料水と同じ操作を行い、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 標準液の調製

#### 5. 3. 1 塩化ビニルモノマー

市販の標準液 100mg/L をメタノールで希釈して所定の濃度（表-5.1 参照）の標準液を調製する。

#### 5. 3. 2 スチレンモノマー

市販の標準液 1000mg/L をメタノールで希釈して所定の濃度（表-5.1 参照）の標準液を調製する。

#### 5. 3. 3 エピクロロヒドリン

市販の標準品を 100mg 秤量し、メタノールで 10mL に定容して 10000mg/L 標準原液を調製する。これをメタノールで希釈して所定の濃度（表-5.1 参照）の標準液を調製する。

表-5.1 対象物質標準液濃度

	(μg/L)				
塩化ビニルモノマー	1	2	10	20	100
スチレンモノマー	1	2	10	20	100
エピクロロヒドリン	10	20	100	200	1000

#### 5. 3. 4 内部標準液

p-ブロモフルオロベンゼン 100mg を秤量し、メタノールで 10mL に定容して 10000mg/L 内部標準原液を調製する。これをメタノールで希釈して 5mg/L 内部標準添加

液を調製する。

## 5. 4 測定

### 5. 4. 1 GC/MS 測定条件

#### (1) パージトラップ装置

- ・ Stanby : 38°C
- ・ Bake : 200°C 8min
- ・ Purge : 10min
- ・ Line : 100°C
- ・ Desorb : 180°C 2min
- ・ Valbe : 100°C
- ・ MCM Desob : 0°C
- ・ Trap 管 : G3 Temax : Silica Gel : Chacoal GLサイエンス社製
- ・ サンプル量 : 5mL
- ・ 内部標準液量 : 5 $\mu$ L

#### (2) GC

- ・ カラム : JW 社製 DB-624 (75m $\times$ 0.53mmI.D.,  $d_f=3\mu$ m)
- ・ 昇温プログラム : -20°C (2分)  $\rightarrow$  8°C/分  $\rightarrow$  210°C (1分)
- ・ キャリアガス : He 0.8kgf/cm<sup>2</sup>

#### (3) MS

- ・ スキャン速度 : 48-26OU 1.5sec
- ・ ピークレッシュホールド : 1.5 count
- ・ イオン源温度 : 220°C
- ・ フィラメント CutTime : 240sec
- ・ 分析時間 : 30min
- ・ スキャンモード : EI

#### (4) 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-5.2 に示す。

表-5.2 対象物質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
塩化ビニルモノマー	対象物質	62	64
スチレンモノマー	対象物質	104	78
エピクロロヒドリン	対象物質	57	49
p-プロモフルオロベンゼン	内部標準物質	95,174,176の含量	

#### 5. 4. 2 検量線

検量線は一連の測定ごとに作成する。あらかじめ 40mL 試験用バイアル瓶に試薬調製用精製水 40mL を入れ、各成分の標準溶液をマイクロシリンジで添加する。

表-5.3 検量線濃度

	(μg/L)						
	1	2	3	4	5	6	7
塩化ビニルモノマー	0.05	0.1	0.5	1.0	5.0	10.0	25.0
スチレンモノマー	0.05	0.1	0.5	1.0	5.0	10.0	25.0
エピクロロヒドリン	0.5	1.0	5.0	10.0	50.0	100	25.0

#### 5. 4. 3 試料の測定

検量線作成後、試料を前処理法に従って採取し、試験に供した。

なお、残留塩素が含まれている場合には、アスコルビン酸ナトリウム 0.0~0.02g を加える。

試料の測定は、採水後、速やかに行わなければならないが、速やかに試験できない場合は、目的成分の揮発等が考えられるため、冷蔵保存する。

### 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±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面積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。

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

### 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」