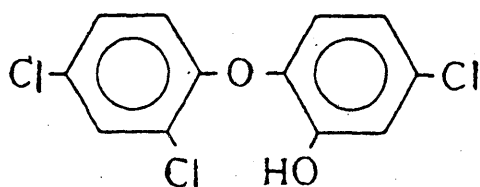


トリクロサン 3-クロロトリクロサン
 5-クロロトリクロサン
 3, 5-ジクロロトリクロサン

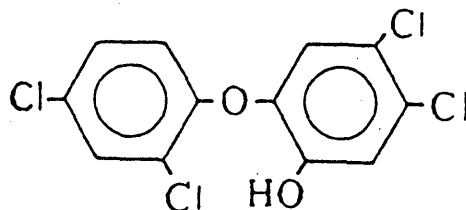
化学名 1)	トリクロサン	2,4,4'-trichloro-2'-hydroxydiphenyl ether
2)	3-クロロトリクロサン	2',3,4,4'-tetrachloro-2-hydroxydiphenyl ether
3)	5-クロロトリクロサン	2',4,4',5-tetrachloro-2-hydroxydiphenyl ether
4)	3,5-ジクロロトリクロサン	2',3,4,4',5-pentachloro-2-hydroxydiphenyl ether

1. 対象物質及び構造式

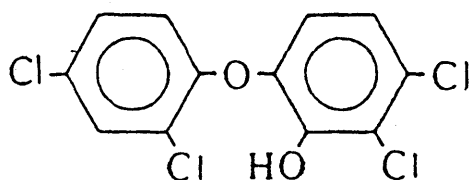
(1) トリクロサン



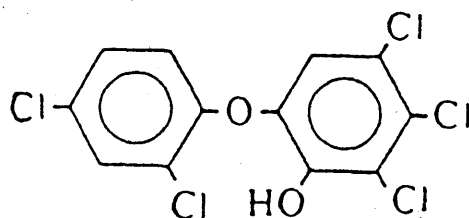
(3) 5-クロロトリクロサン



(2) 3-クロロトリクロサン



(4) 3,5-ジクロロトリクロサン



物性

物質	分子量	融点 (℃)	Log Pow	水溶解度 (mg/l)	蒸気圧 (mm Hg)	溶解性
1.	273.68	55~57	4.76*	4.16**	17* 9.0**	4×10 ⁻⁶ (20℃)
2.	308.18	91		4.19	8.1**	
3.	308.18	76		5.04	7.5**	有機溶媒
4.	342.68	104		4.43	0.41**	可溶

*文献値 **測定値

§1 分析法

本法では、トリクロサン及びその塩素置換体（トリクロサン類）はフェノール類であり、そのままではピークのテーリングがあり、また感度も悪いのでジアゾメタンでメチル化し、フルオランテン-d₁₀を内標準としてキャピラリーGC/MS (SIM) で定量する。

水質試料については、水酸化ナトリウムでアルカリ性 (pH>13) としヘキサンで洗浄、塩酸で酸性 (pH 2~3) としヘキサン抽出したのち、脱水、濃縮、乾固し、ジアゾメタンでメチル化して定量する。但し、海水試料

については、アルカリ性下でのヘキサン洗浄は行わない。

底質試料については、アセトン抽出し、アルカリ性下でヘキサン洗浄後、酸性下でヘキサン抽出し、水質試料と同様にメチル化し、SEP-PAKフロリジルでクリンアップし定量する。

魚試料については、アセトニトリルで抽出し、アセトニトリル/ヘキサン分配により脂質を除去したのち、アルカリ性下でヘキサン洗浄する。塩酸酸性下でヘキサン抽出し、脱水、濃縮、乾固後ジアゾメタンでメチル化する。このものを1N-KOH/エタノール溶液でケン化し、内標準を添加、塩酸酸性化でヘキサン抽出、SEP-PAKフロリジルでクリンアップして、定量する。

試 験 法

【試料の採取及び保存】

環境庁「化学物質環境調査における試料採取にあたっての留意事項」に従う。

【試料の前処理】

〔水質試料〕

ア) 湖沼、河川水等塩分をあまり含まない水質試料の場合。

試料1ℓを分液ロートにとり、NaOH10gを加えて溶解させる。(注1) ヘキサン100mlを加え、5分間振とうし、静置する。(注2) 水層をビーカーにとり塩酸(35%)を加えpHを2～3に調整する。(注3) これを分液ロートにとり、ヘキサン100mlを加え5分間振とうして抽出する。この操作をもう一度繰り返しヘキサン層を合わせる。ヘキサン層は無水硫酸ナトリウムで脱水し、KD濃縮器で3～5ml程度まで濃縮し、試料前処理液とする。

イ) 海水の場合(注4)

試料1ℓをビーカーにとり、塩酸(35%)を加えてpHを2～3に調整する。これを分液ロートにとり、ヘキサン100mlで2回抽出し、ア)と同様に処理して試料前処理液を得る。

〔底質試料〕

試料10gを50ml容遠沈管にとり、アセトン30mlを加え、スパーテルでよくかき混ぜた後、10分間超音波抽出を行う。3,000rpmで10分間遠心分離しアセトン層をとる。残さにはさらにアセトン30mlを加え、同じ操作を繰り返しアセトン層を合わせる。アセトン層は、あらかじめ分液ロートに用意した、水500mlにNaOH 5gを溶解させた水溶液に入れ、さらにヘキサン50mlを加え、5分間振とうし、静置する。水層をビーカーにとり塩酸(35%)でpHを2～3に調整したのち、ヘキサン50mlずつで2回抽出し、水質試料と同様にして試料前処理液を得る。

〔生物試料〕

試料10gをとり、アセトニトリル50mlを加え、5分間ホモジナイザーで抽出、3,000rpmで10分間遠心分離しアセトニトリル層を採る。残さはさらにアセトニトリル50mlで抽出し、アセトニトリル層を合わせる。アセトニトリル層を分液ロートにとり、ヘキサン20mlを加え、5分間振とうし、静置する。(注5) アセトニトリル層は、あらかじめ分液ロートに用意した水500mlにNaOH 6gとNaCl 25gを溶解させたものに入れ、ヘキサン50mlを加え、5分間振とうし、静置する、水層はビーカーにとり、底質試料と同様にして試料前処理液を得る。

【試料液の調製】

〔水質試料〕

ア) 湖沼及び河川水

試料前処理液を窒素気流で乾固し(注6)、メタノールを2～3滴(注7)とジアゾメタン/エーテル溶液を1ml加え、栓をし室温で一時間放置する。(注8) 窒素気流で乾固し、内標準溶液0.2mlを加え、アセトンで1mlにし、試料処理液とする。

イ) 海 水

試料前処理液を窒素気流で乾固し、内標準溶液0.2mlを加え、アセトンで1mlとし、GC/MS(SIM)測定を行う。
(注9)SIM測定後、窒素気流で乾固し、ア)と同様にメチル化を行い試料処理液を得る。(注10)

〔底質試料〕

試料前処理液を窒素気流で乾固し、メタノールを2～3滴とジアゾメタン/エーテル溶液を2ml加え、栓をし室温で一時間放置する。(注11)内標準溶液0.2mlを加え、窒素気流で乾固し、ヘキサン1mlを加えて溶解する。これをSEP-PAKフロリジルカートリッジに負荷し、4%エーテル/ヘキサン7mlで目的物を溶出させる。(注12)これを窒素気流で乾固し、アセトンで1mlとして試料処理液を得る。

〔生物試料〕

試料前処理液を窒素気流で乾固し、メタノールを2～3滴とジアゾメタン/エーテル溶液を3ml加え、栓をし室温で一時間放置する。(注13)窒素気流で乾固し、1N-KOHエタノール溶液2mlを加え、きつく栓をし60～70℃の湯浴で1時間ケン化処理を行う。(注14)放冷後、水2ml、内標準溶液0.2ml(注15)、塩酸(35%)4～5滴(注16)、ヘキサン3mlを加えて1分間激しく振とうし、静置する。ヘキサン層を、あらかじめ用意した10ml容KD濃縮管に乗せた小ロート(脱脂綿で軽く栓をし2～3g程度の無水硫酸ナトリウムを入れておく。)に入れる。(注17)この操作をもう一度繰り返す。無水硫酸ナトリウムは1mlのヘキサンで洗浄し、ヘキサン溶液に合わせる。このヘキサン溶液を窒素気流で乾固し、ヘキサン1mlを加え溶解させる。以下、底質試料と同様にSEP-PAKフロリジルカートリッジでクリンアップを行い試料処理液を得る。

〔空試験液の調整〕

水質試料について1ℓの精製水を、底質試料ではアセトン60mlを、生物試料ではアセトニトリル100mlを用い、〔試料の前処理〕及び〔試料液の調製〕と同様に操作を行い、得られたものを空試験液とする。

〔標準液の調製〕

トリクロサン類の各100μg/ml混合アセトン溶液を調製し、これを標準原液(保存溶液)とする。これを適宜アセトンで希釈し、1.0μg/ml(検量線用)及び0.1μg/ml(添加実験用)を調製する。

〔測 定〕

〔GC/MS-SIMの測定条件〕

カラム: Ultra-2(Crosslinked 5%phenyl methylsilicone 25m×0.32mm, 膜厚0.52μm)

カラム温度: 70℃…15℃/min…280℃(6分間保持)

注入口温度: 250℃

キャリアーガス: He(カラムヘッド圧 7.5psi、線速度 61cm/sec)

注 入 方 法: スプリットレス(パージオフ時間 1分間)

注 入 量: 2μℓ

セパレーター温度: 250℃

イオン化法: EI法

イオン源温度: 250℃

イオン化電圧: 70V

イオン化電流: 300μA

イオンマルチ電圧: 1.6kV

モニターイオン	1) トリクロサン:	m/z	302.0 (定量用)	304.0 (確認用)
	2) 3-クロロトリクロサン	m/z	335.9 (確認用)	337.9 (定量用)
	3) 5-クロロトリクロサン	m/z	335.9 (確認用)	337.9 (定量用)
	4) 3, 5-ジクロロトリクロサン	m/z	369.9 (確認用)	371.9 (定量用)
	内標準(フルオランテン-d ₁₀)	m/z	212.0	

〔検量線〕

標準液(1.0μg/mlアセトン溶液)を0～1.0mlの範囲で段階的にとり、窒素気流で乾固する。メタノール2～

3滴を加え、さらにジアゾメタン/エーテル溶液1mlを加え、栓をし室温で放置する。1時間後に窒素気流で乾固し、内標準溶液0.2mlを加え、アセトンで1mlにする。これの2 μ lをGC/MSに注入し、得られたクロマトグラムのピーク面積比と内標準物質のピーク面積比の関係から検量線を作成する。

〔定 量〕

試料液2 μ lをGC/MSに注入し、得られたクロマトグラムのピーク面積と内標準物質のピーク面積比を求め、検量線から定量する。

〔計 算〕

$$\text{計算値 } (\mu\text{g/l または } \mu\text{g/kg}) = \text{検出量 } (\mu\text{g}) \times \frac{1}{\text{試料量 } (\text{l または kg})}$$

〔検出限界及び定量限界〕

本分析法の検出限界及び定量限界を表1に示した。

表1 検出限界及び定量限界

(1) 検出限界

試 料	試料量	トリクロサン	3-クロロトリクロサン	5-クロロトリクロサン	3,5-ジクロロトリクロサン
水質	1000ml	0.037 $\mu\text{g/l}$	0.030 $\mu\text{g/l}$	0.059 $\mu\text{g/l}$	0.046 $\mu\text{g/l}$
底質	10g	4.62 $\mu\text{g/kg}$	1.76 $\mu\text{g/kg}$	1.72 $\mu\text{g/kg}$	2.14 $\mu\text{g/kg}$
生物	10g	2.51 $\mu\text{g/kg}$	2.03 $\mu\text{g/kg}$	1.92 $\mu\text{g/kg}$	0.89 $\mu\text{g/kg}$

(2) 定量限界

試 料	試料量	トリクロサン	3-クロロトリクロサン	5-クロロトリクロサン	3,5-ジクロロトリクロサン
水質	1000ml	0.122 $\mu\text{g/l}$	0.099 $\mu\text{g/l}$	0.195 $\mu\text{g/l}$	0.154 $\mu\text{g/l}$
底質	10g	--	--	--	--
生物	10g	--	--	--	--

試薬・器具

〔試 薬〕

標準物質 (トリクロサン、3-クロロトリクロサン、5-クロロトリクロサン、3, 5-ジクロロトリクロサン)：北海道立衛生研究所 兼俊明氏より供与されたもの。

ヘキサン、アセトン、アセトニトリル、エーテル、メタノール、エタノール：和光純薬製 残留農薬試験用

塩化ナトリウム、無水硫酸ナトリウム：和光純薬製 残留農薬試験用

水酸化ナトリウム、水酸化カリウム：和光純薬製 試薬特級

塩酸 (35%)：和光純薬製 有害金属測定用

水：イオン交換蒸留水

ジアゾメタン発生試薬 (1-メチル-3-ニトロ-1-ニトロソグアニジン)：Aldrich Chem. Co.製

ジアゾメタン発生法：ジアゾメタン発生器の外管にエーテル6ml、内管に発生試薬500mgを入れ、セプタムとキャップをし、外管に差し込む。氷水で冷却しながら20% NaOH水溶液 (2ml程度) をセプタム部から注射器で滴下する。NaOH水溶液がエーテル部に入らないようにジアゾメタンの出口の小穴は上部を向くようにしておく。発生器を上下に振り ジアゾメタンとエーテルがよく接触するようにする。(あまりきつく振ると発生試薬がエーテル部に入ってしまうことがあるから注意) NaOHの滴下速度は、速すぎると激しく反応がおこり、発生試薬がエーテル部に入ってしまうことがある。あまり遅すぎるとリークによるロスのためジアゾメタンの濃度が薄くなってしまいます。また、注射器のシリンダーには圧力がかかるのでしっかりおさえていること。さらに、必ず、この操作は両手にゴム手袋をし、ドラフト内で行うこと。

SEP-PAK フロリジル：Waters製 (QTY 50) (Part No51960) 使用前にヘキサン10mlを通過して洗浄する。

内標準（フルオランテン- d_{10} ）：MSD Isotopes製 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ アセトン溶液を調製し、内標準溶液とする。

【器 具】

ジアゾメタン発生器：Wheaton製（ミリモル用）

ホモジナイザー：ポリトロン型 生物試料のホモジナイズ及び抽出に用いる。

超音波洗浄器：底質試料の抽出に用いる。

遠心分離器：底質及び生物試料の抽出液の分離に用いる。

KD濃縮器：試料液の濃縮に用いる

注 解

- 1) NaOHを溶解させる時、静置した状態ではなかなか溶解しない。振とう機にかけると容易に溶解する。なお、この時溶解熱で発熱するので洗浄溶媒のヘキサンを入れないこと。
- 2) 充分静置時間を取り、分離を完全に行うこと。エマルション部に被検物質が吸着されるので、エマルション部は水層に入れる。
- 3) 酸性化（pH 2～3）に要する塩酸量は22ml前後である。
- 4) 海水の場合は、NaOHを加えてpH>13にすると水酸化物が析出し、ヘキサンと振とうした時分離しないので、アルカリ性下ヘキサン洗浄は行わない。
- 5) 静置時間を充分にとり可能な限り脂質を除去すること。脂質が残留するとメチル化の時にジアゾメタンを消費するのでメチル化が完全に進行しないことがある。
- 6) 乾固する操作はすべて溶媒がわずかに残る程度で行う。やりすぎると揮散ロスが起こるので注意すること。
- 7) メタノールはメチル化の速度を速めるために入れる。
- 8) 室温に1時間放置した時、ジアゾメタンエーテル溶液の黄色が残っていることを確かめること。この時点で無色になっている場合はメチル化が完全に進行していない可能性があるので、再乾固してジアゾメタン溶液を加える。なお、ジアゾメタンによるメチル化はやりすぎることはないので、一夜放置したほうが無難である。
- 9) フェノール類の自然界におけるメチル化が指摘されているので、アルカリ性下ヘキサン洗浄で除去する。しかし、海水ではこの操作が困難であるので、この段階でトリクロサン類のメチル化体の存在をチェックする。もし、検出された場合は結果を補正する。
- 10) ここでは、既に内標準は添加してあるので加えない。
- 11) 底質試料では多少黄色に着色している場合が多いので、ジアゾメタンの残留をチェックするのは困難であるので2ml添加する。
- 12) 底質試料では、大抵の試料でSEP-PAK フロリジルによるクリンアップは不要である。また、東京湾の標準底質及び大和川の底質にもトリクロサンが検出されたことから、トリクロサンは広範囲の底質から検出されることが予想された。そこで、底質の検出限界を求めるにあたり、家庭排水や工場排水のまったく混入しない山間部の孤立した池の底質を使用した。この底質は木の葉等の腐食により生成した汚泥であり極めて有機質の多いものであったため、メチル化後にクリンアップが必要であった。しかし、東京湾や大和川の底質のように汚染度の高い底質でも、メチル化後そのままGC-MSに注入してもなら妨害は認められなかった。
- 13) 可能な限り脂質を除去しても、極めてわずかに残った脂質がジアゾメタンを消費する。（ジアゾメタン溶液を入れた時、窒素ガスの発生が肉眼的にも観測される）従って、ジアゾメタン溶液は3ml使用した。この時も、1時間後にジアゾメタン溶液の黄色が残っていることを確認すること。
- 14) ジアゾメタンでメチル化を行うと残留している生体成分もメチル化され、極性が小さくなりピークがシャープになり著しくGC/MS分析を妨害する。この状態では目的物とフロリジルにより分離できない。そこでケン化することにより生体成分のみをもとの強極性物質に戻す。目的物はエーテルであるので加水分解されない。このようにすれば容易に生体成分を除去できる。この温度は、エタノールの沸点以下であるので、KD濃縮管

の栓をややきつくしておくだけで栓が飛ぶようなことはない。

- 15) 内標準溶液はこの時点で添加する。フルオランテン-d₁₀はトリクロサン類のメチル化物とヘキサンによる抽出挙動及びSEP-PAK フロリジルの挙動がほとんど同じであるのでサロゲートの役割をするのでこの時点で入れるのが好都合である。
- 16) アルカリ性のままヘキサン抽出を行うとなかなか分離しない。酸性にするとすみやかに分離する。
- 17) この時点では既に内標準を入れてあるので必ずしもヘキサン層の全量をとる必要はない。パスツールピペットのようなもので8～9割程度とればよい。
- 18) 検出限界及び定量限界は、「化学物質分析法開発マニュアル（案）」（昭和62年3月）に定められた方法に従い、以下のように算出した。

算 出 表

トリクロサン	水質				底質	生物質
試料濃度 (μg/l)	0.05	0.10	0.15	検出限界推定値 (μg/Kg)	3.7	3.7
応答値 (X)	0.0428	0.0577	0.1349	試料濃度 (μg/Kg)	10	10
標準偏差 (σR)	0.00548	0.00705	0.004	分析値 (X)	11.7	11.6
検出力 (Dn)	0.0107	0.01943	0.00708	標準偏差 (σR)	1.471	0.797
検出限界 (D*3)		0.037		検出限界 (DL)	4.62	2.51
定量限界 (D*10)		0.122		95%信頼区間	2.96-10.2	1.60-5.51
不偏分散 (Fd)		3.48				

3-カトリカチ	水質				底質	生物質
試料濃度 (μg/l)	0.05	0.10	0.15	検出限界推定値 (μg/kg)	3.0	3.0
応答値 (X)	0.0373	0.0745	0.0922	試料濃度 (μg/kg)	10	10
標準偏差 (σR)	0.00161	0.00234	0.00824	分析値 (X)	9.9	11.9
検出力 (Dn)	0.00342	0.00499	0.02134	標準偏差 (σR)	0.561	0.645
検出限界 (D*3)		0.030		検出限界 (DL)	1.76	2.03
定量限界 (D*10)		0.099		95%信頼区間	1.13-3.88	1.30-4.46
不偏分散 (Fd)		25.52				

5-カトリカチ	水質				底質	生物質
試料濃度 (μg/l)	0.05	0.10	0.15	検出限界推定値 (μg/Kg)	5.9	5.9
応答値 (X)	0.0254	0.044	0.0768	試料濃度 (μg/Kg)	10	10
標準偏差 (σR)	0.00343	0.00171	0.01341	分析値 (X)	10.0	10.1
検出力 (Dn)	0.01075	0.0062	0.04167	標準偏差 (σR)	0.547	0.611
検出限界 (D*3)		0.059		検出限界 (DL)	1.72	1.92
定量限界 (D*10)		0.195		95%信頼区間	1.10-3.78	1.23-4.22
不偏分散 (Fd)		4.10				

3,5-ジカトリカチ	水質				底質	生物質
試料濃度 (μg/l)	0.05	0.10	0.15	検出限界推定値 (μg/kg)	4.6	4.6
応答値 (X)	0.0217	0.0411	0.064	試料濃度 (μg/kg)	10	10
標準偏差 (σR)	0.00088	0.00275	0.00868	分析値 (X)	8.3	8.5
検出力 (Dn)	0.00324	0.01063	0.03238	標準偏差 (σR)	0.682	0.283
検出限界 (D*3)		0.046		検出限界 (DL)	2.14	0.89
定量限界 (D*10)		0.154		95%信頼区間	1.37-4.72	0.57-1.96
不偏分散 (Fd)		92.19				

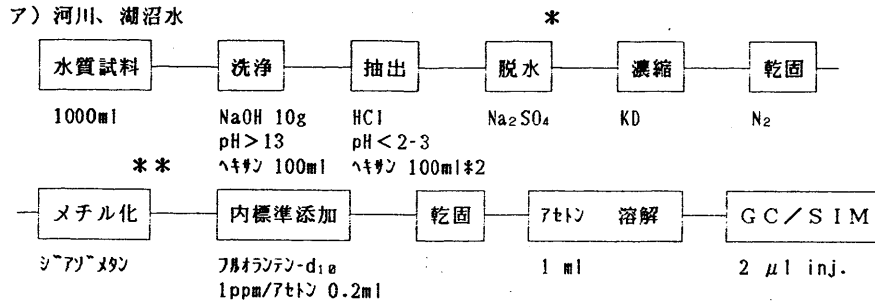
§ 2 解 説

【分 析 法】

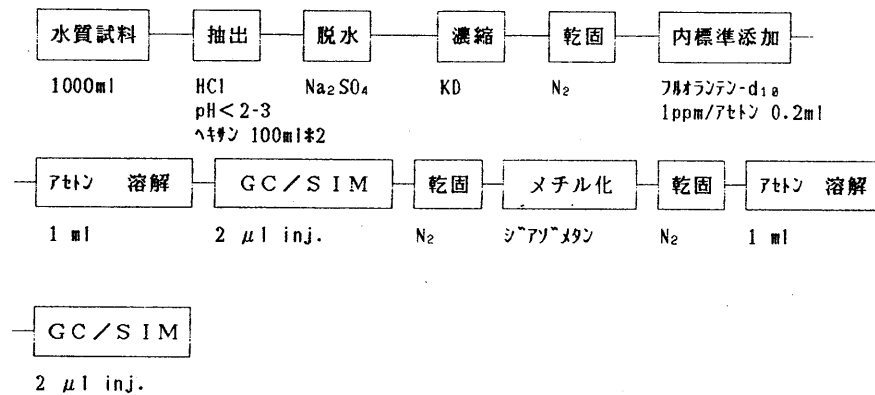
〔フローチャート〕

水質

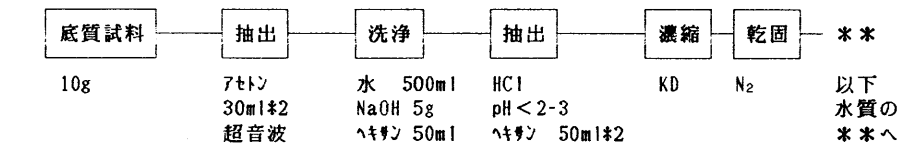
ア) 河川、湖沼水



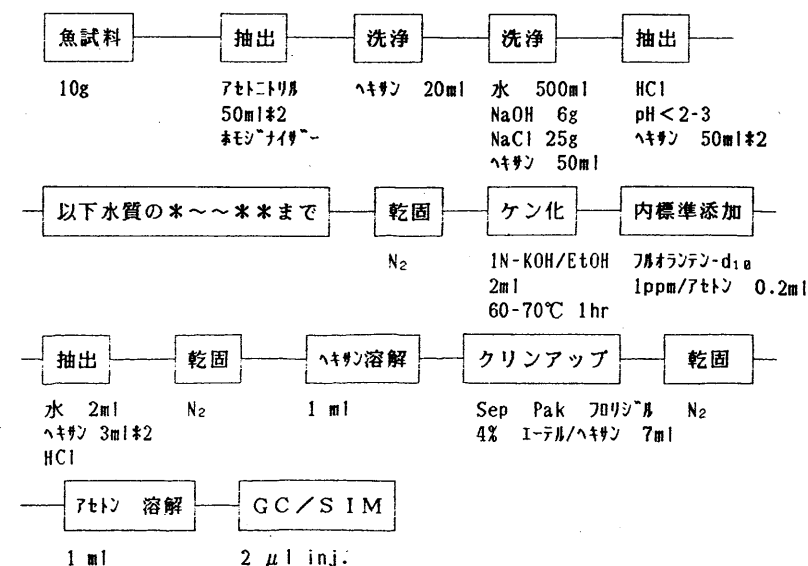
イ) 海水



底質



生物試料



〔分析法の検討〕

1. 検量線

図1に検量線の例を示した。

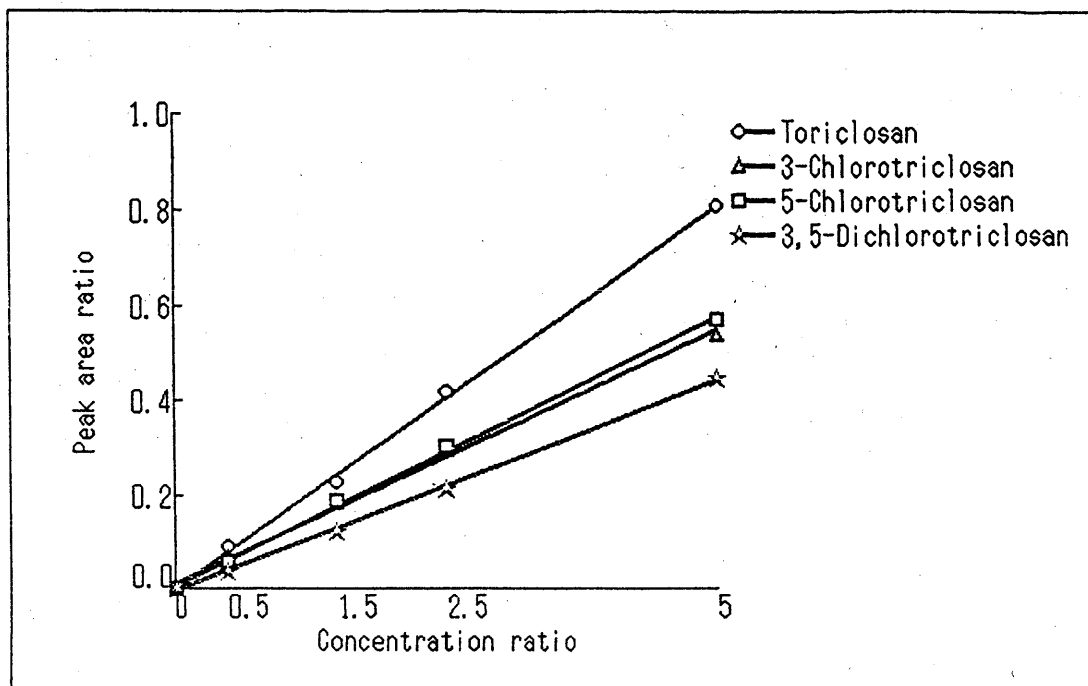


図1 検量線

2. 低濃度添加回収実験結果

水質試料1ℓ、底質試料及び生物試料10gにそれぞれ所定の標準物質を添加し、本分析法にしたがって回収実験を行った。実験結果を表2に示した。

表2 添加回収

(トリクロサン)					
試料	試料量	添加量 (ug)	測定回数	回収率 (%)	変動係数 (%)
精製水	1000ml	0.05	4	112	12.9
	1000ml	0.10	4	75.3	12.3
	1000ml	0.15	4	119	3.0
河川水	1000ml	0.10	3	98.6	3.1
海水	1000ml	0.10	3	96.6	9.3
底質	10g	0.10	7	117	12.6
生物	10g	0.10	7	116	6.9

(3-クロロトリクロサン)					
試料	試料量	添加量 (ug)	測定回数	回収率 (%)	変動係数 (%)
精製水	1000ml	0.05	4	122	4.5
	1000ml	0.10	4	123	3.2
	1000ml	0.15	4	102	9.0
河川水	1000ml	0.10	3	112	6.4
海水	1000ml	0.10	3	119	5.4
底質	10g	0.10	7	99.0	5.7
生物	10g	0.10	7	119	5.4

(5-クロロトリクロサン)

試料	試料量	添加量 (ug)	測定回数	回収率 (%)	変動係数 (%)
精製水	1000ml	0.05	4	76.3	15.2
	1000ml	0.10	4	76.1	4.1
	1000ml	0.15	4	82.7	3.1
河川水	1000ml	0.10	3	90.7	11.7
海水	1000ml	0.10	3	90.8	7.7
底質	10g	0.10	7	100	5.5
生物	10g	0.10	7	101	6.1

(3,5-ジクロロトリクロサン)

試料	試料量	添加量 (ug)	測定回数	回収率 (%)	変動係数 (%)
精製水	1000ml	0.05	4	89.7	3.9
	1000ml	0.10	4	85.6	6.8
	1000ml	0.15	4	88.8	13.8
河川水	1000ml	0.10	3	73.8	5.8
海水	1000ml	0.10	3	94.9	3.9
底質	10g	0.10	7	83.0	8.2
生物	10g	0.10	7	85.0	3.3

3. 分解性スクリーニング試験結果

所定の方法により測定した結果を表3に示した。pH5の場合残存率が低く観測された。これはpHが下がることにより平衡がフリーのフェノール側に傾き、器壁に吸着したものと推定される。いずれにしても、1時間後と5日後の残存率にほとんど差が認められないことから、本物質はいずれの条件下でも安定である。

表3 分解性スクリーニング試験

1. トリクロサン(2,4,4'-trichloro-2'-hydroxydiphenyl ether)

pH	初期濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	1時間放置後の 残存率(%)	5日間放置後の残存率(%)	
			暗所	光照射
5	1.5	85	89	89
7	1.5	95	97	
9	1.5	101	100	

2. 3-クロロトリクロサン(2',3,4,4'-tetrachloro-2-hydroxydiphenyl ether)

pH	初期濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	1時間放置後の 残存率(%)	5日間放置後の残存率(%)	
			暗所	光照射
5	1.5	70	76	92
7	1.5	94	97	
9	1.5	98	100	

3. 5-クロトリクロサン(2',4,4',5-tetrachloro-2-hydroxydiphenyl ether)

p H	初期濃度 (μ g/ml)	1 時間放置後の 残存率(%)	5 日間放置後の残存率(%)	
			暗 所	光 照 射
5	1. 5	6 5	7 5	8 2
7	1. 5	8 2	8 9	
9	1. 5	9 2	9 7	

4. 3,5-ジクロトリクロサン(2',3,4,4',5-pentachloro-2-hydroxydiphenyl ether)

p H	初期濃度 (μ g/ml)	1 時間放置後の 残存率(%)	5 日間放置後の残存率(%)	
			暗 所	光 照 射
5	1. 5	5 5	5 4	8 5
7	1. 5	9 1	9 7	
9	1. 5	9 6	9 9	

4. ジアゾメタンによるメチル化の検討

トリクロルサンのGC分析用誘導体化については、ジアゾメタンによるメチル化及びトリメチルシリル化が報告されている。ここでは、特に生物試料については誘導体化後もクリンアップ処理を必要としたことから、安定でしかも物性が明かなメチル化を採用した。

ジアゾメタンによるメチル化の反応時間を以下に述べる方法により検討した。

トリクロルサン類 各1.0 μ g/mlアセトン溶液1.0mlを数本のKD濃縮管にとり、窒素気流で乾固した。メタノール2～3滴を添加し、ジアゾメタンエーテル溶液1mlを加えて栓をし室温に放置した。経時的に窒素気流で乾固し、内標準溶液0.2mlを加え、アセトンで1mlとしてGC/MS-SIMを測定した結果を図2に示した。

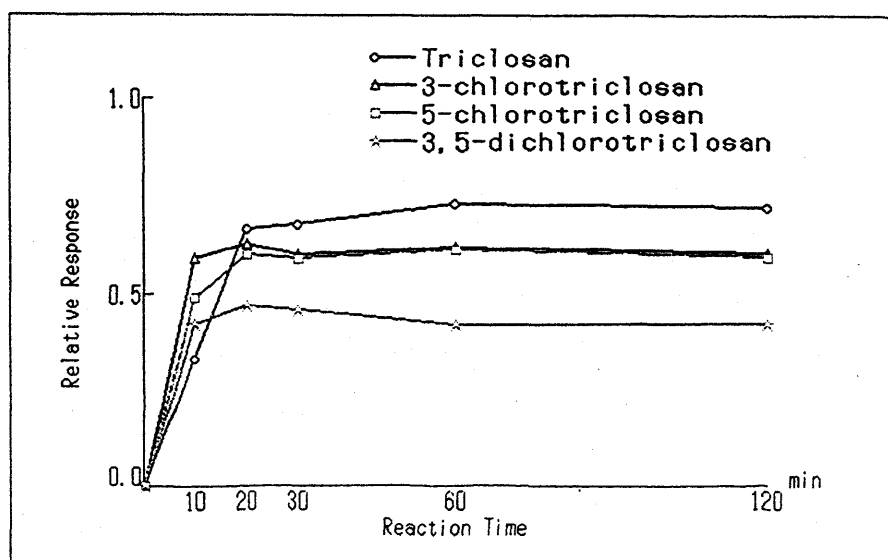


図2 ジアゾメタンによるメチル化と反応時間

20分程度でほぼ反応は完結していた。しかし、実試料の場合は共存物質によりジアゾメタンが消費されることを考慮し、水質試料では1ml、底質試料では2ml、生物試料では3ml添加し、反応時間を1時間とした。ジアゾメタンによる反応はいくら反応時間を長くしても差し支えない。

5. トリクロサン類の水/ヘキサン分配とpHの関係

自然界には水酸基のメチル化の存在が指摘されており、トリクロサン類をメチル化して定量する場合、すでにトリクロサン類のメチル化物が存在する懸念がある。そこでこれらを除去することとクリンアップを兼ねるために検討した。

塩酸及び水酸化ナトリウムを用いて各pHの水溶液100mlを調製し、これにトリクロサン類各1 μ gを添加し、ヘキサン10mlを加え、振とう後、ヘキサン層への移行率を求めた結果を図3に示した。

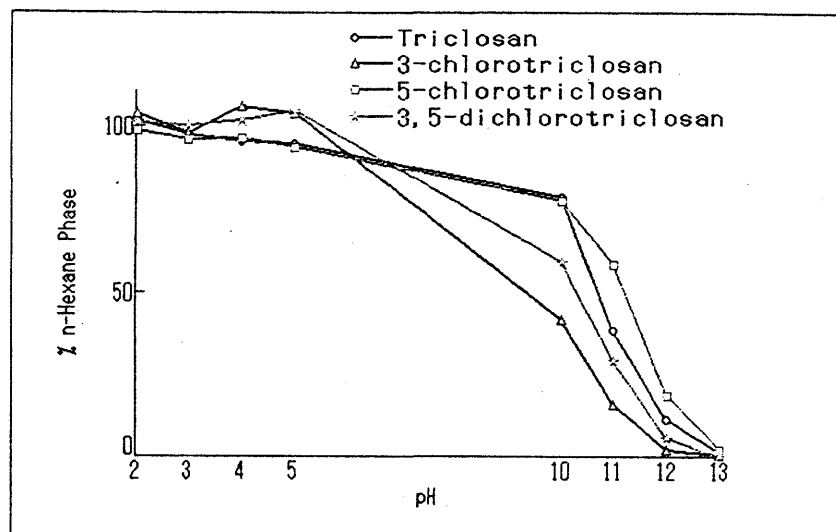


図3 水/ヘキサン分配に及ぼすpHの影響

pH>13であれば、ヘキサン層への移行は無視できること、及びpH5以下ではほとんど定量的にヘキサン層に分配されることが解った。そこで、ここでは、pH>13でヘキサン洗浄しトリクロサンのメチル化物を除去するとともにクリンアップを行うこととした。また、トリクロサン類は、pH2~3でヘキサン抽出することとした。

6. pH13におけるヘキサン洗浄に及ぼすアセトン混入の影響

底質試料については、アセトンで抽出するため、アセトンの混入の影響を検討した。

pH13の水溶液100mlにトリクロサン類各1 μ gを添加し、それぞれにアセトンを0, 1, 5, 10, 20mlと各ヘキサン10mlを加え、振とう後、ヘキサン層へのトリクロサン類の移行率を求めた結果を図4に示した。その結果アセトンの混入はなんら影響なく、本操作によるトリクロサン類の損失は数%であり無視できた。

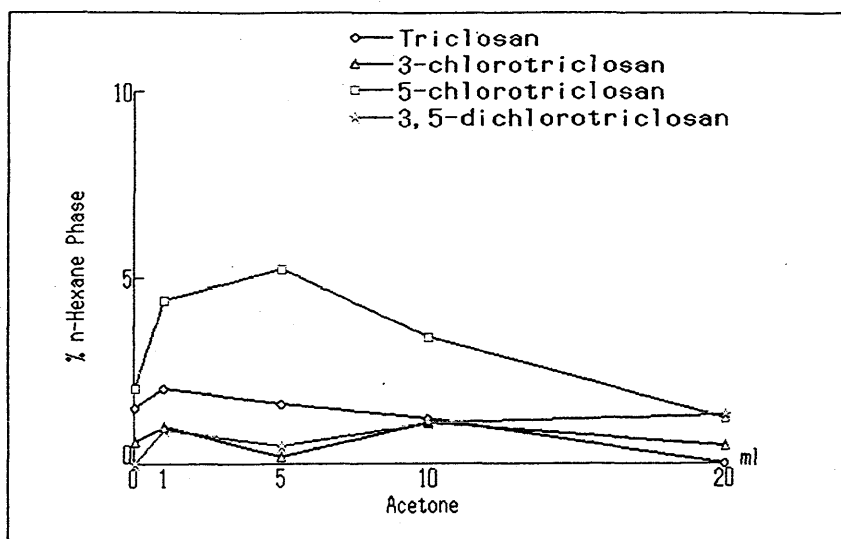


図4 水/ヘキサン分配に及ぼすアセトンの影響 (pH13)

7. pH13のヘキサン洗浄における塩化ナトリウム添加量の影響

pH13の水溶液100mlにトリクロサン類各1 μ gを添加し、それぞれに塩化ナトリウムを0, 2, 3, 5gと各アセトン12mlとヘキサン10mlを加え、振とう後、ヘキサン層へのトリクロサン類の移行率を求めた結果を図5に示した。その結果塩化ナトリウムの添加は分配率になんらの影響もなかった。そこで、水質及び底質分析時には塩化ナトリウムは添加しなかった。ただし、生物試料では分離に難点が認められたので、分離を速める目的で塩化ナトリウムを添加することにした。

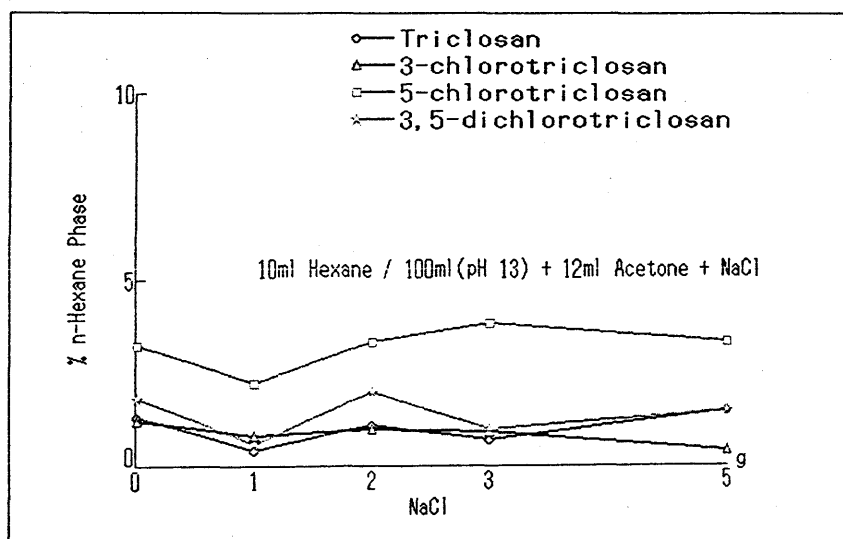


図5 アセトン存在下ヘキサン洗浄に及ぼす塩化ナトリウムの影響

8. pH3におけるヘキサン抽出に及ぼすアセトンの影響

pH3でトリクロサン類をヘキサン抽出する時に、水溶性溶媒であるアセトンが共存した時の影響を検討した。

pH3の水溶液100mlにトリクロサン類各1 μ gを添加し、それぞれにアセトンを0, 1, 5, 10, 20mlとヘキサン10mlを加え、振とう後、ヘキサン層へのトリクロサン類の移行率を求めた結果を図6に示した。その結果アセトンの共存は分配率になんらの影響もなく、定量的にヘキサンにより抽出された。

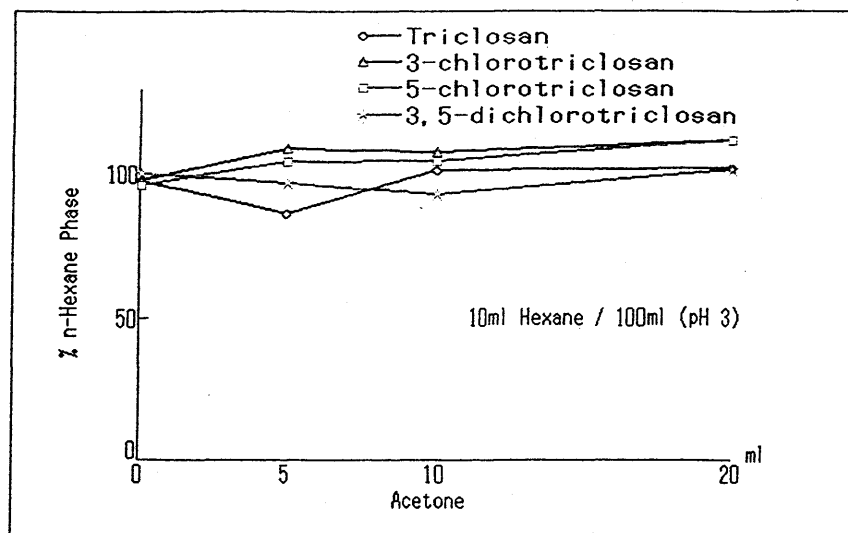


図6 ヘキサン抽出に及ぼすアセトンの影響 (pH3)

なお、アセトン同様に水溶性溶媒であるアセトニトリルについては、アセトンのように個別には検討しなかったが、生物試料の全分析から判断して、ほぼアセトンと同様であると判断される。

9. SEP-PAK フロリジルカートリッジにおける溶出パターン

トリクロサン類のメチル化物及び内標準のフルオランテン- d_{10} のヘキサン溶液 (1 ml) をSEP-PAK フロリジルに負荷し、4 % エーテル/ヘキサンで展開した時の溶出パターンを図7に示した。いずれも7 mlで完全に溶出した。また、内標準物質のフルオランテン- d_{10} が全く同じ挙動を示した。このことから、生物試料の分析では、ケン化処理をした時点で内標準を添加することとした。さらに、実試料での検討から本クロマトにおいて、無極性の溶媒 (例えばヘキサン) で前洗浄する必要は全くなかった。これは、 $pH > 13$ でのヘキサン洗浄で無極性物質はほぼ完全に除去されているからと思われる。

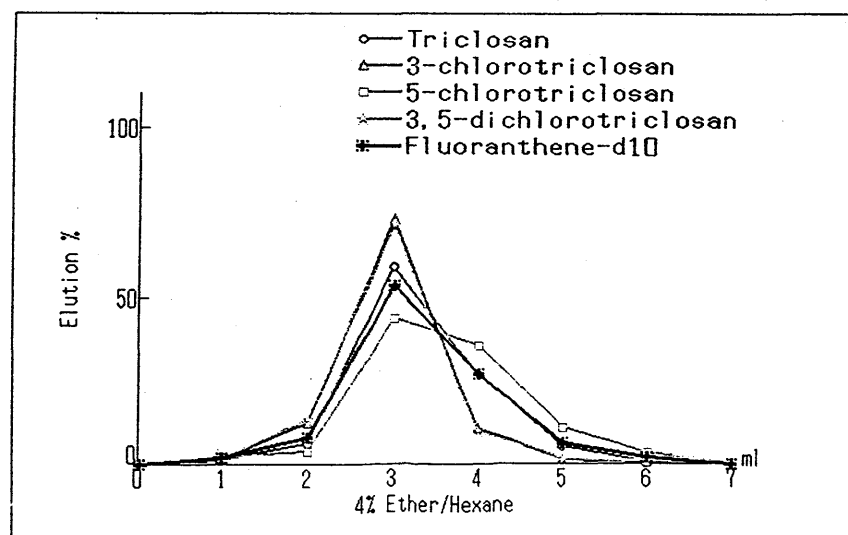


図7 メチル化トリクロサン類及び内標準の
SEP-PAK フロリジルにおける溶出パターン

10. マススペクトル

図8にトリクロサン類、図9にトリクロロサン類のメチル誘導体のマススペクトルを示した。

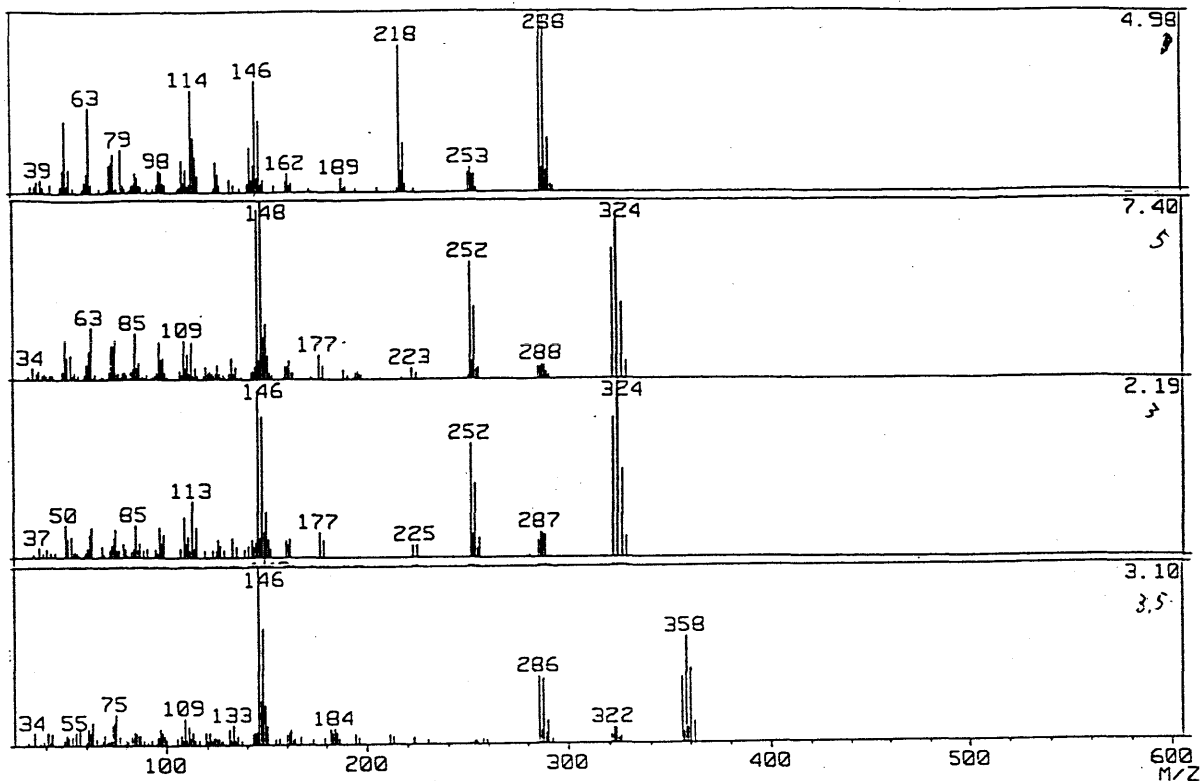


図8 トリクロロサン類のマススペクトル

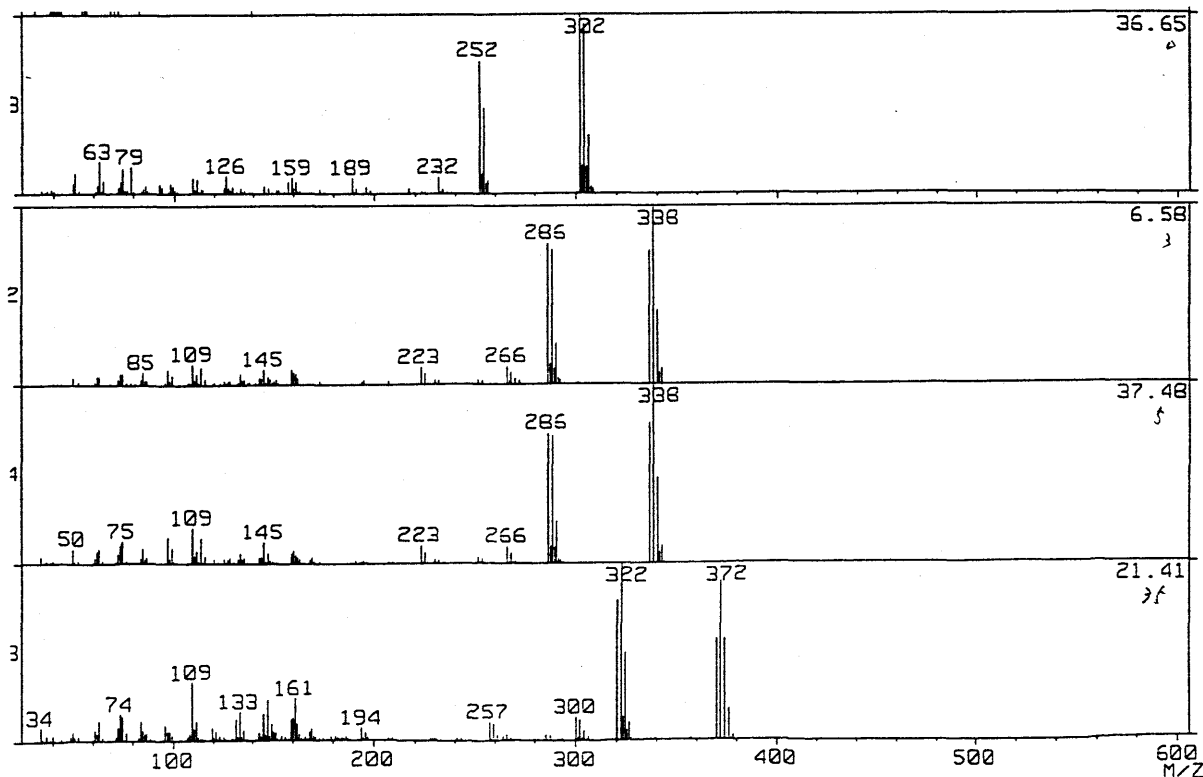


図9 メチル化トリクロロサン類のマススペクトル

11. SIMクロマトグラム

図10に標準品のSIMクロマトグラムを示した。

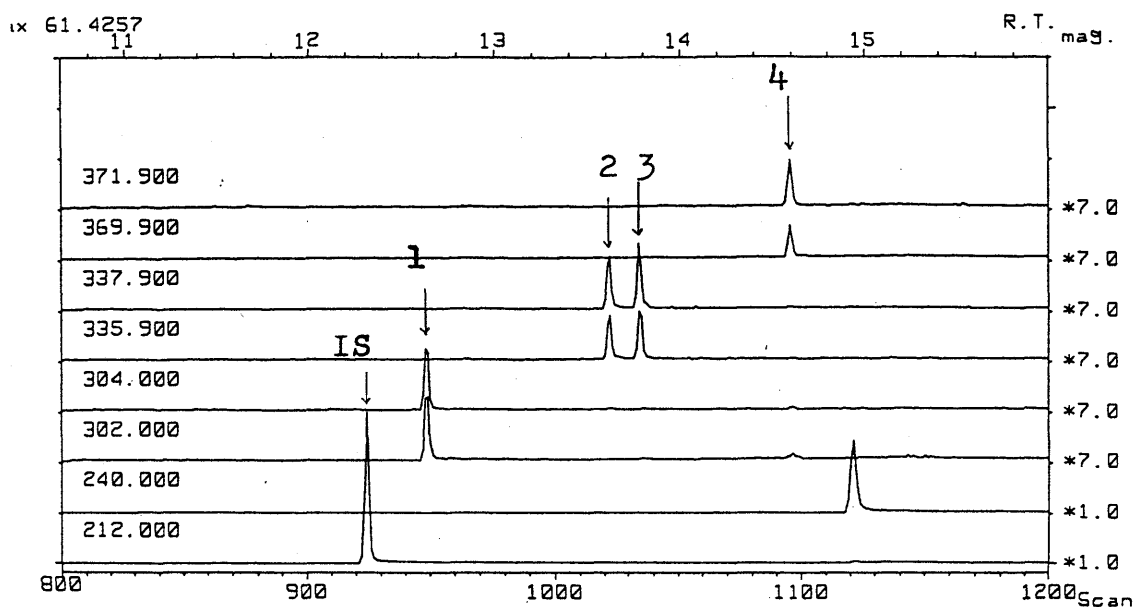


図10 標準物質のSIMクロマトグラム

トリクロサン類 各0.1ppm 内標準 0.2ppm

〔環境試料分析〕

河川水については大川（旧淀川）、海水については大阪湾、生物試料についてはスズキ（大阪湾）を使用した。なお、底質試料については東京湾（共通底質）及び大和川河口底質ともトリクロサンが検出されたため、これらの底質を使用して低濃度添加回収実験を行えなかった。そこで、山間部の家庭排水や工場排水のまったく混入しない孤立した池の底質を使用した。この底質は、いわば特殊な底質で、腐葉土が汚泥化したような底質であり著しく有機質が多かった。そのためメチル化後、SEP-PAK フロリジルカラム処理が必要であった。しかし、東京湾や大和川河口の底質でも、SEP-PAK フロリジル処理を行わなくてもクロマトグラムはきれいであった。図11に河川水、図12に海水、図13に池の底質、図14に生物試料（スズキ）、図15に東京湾底質の分析例SIMクロマトグラムを示した。

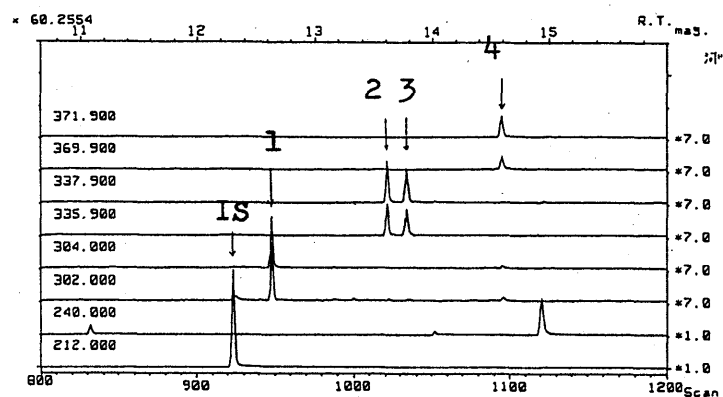
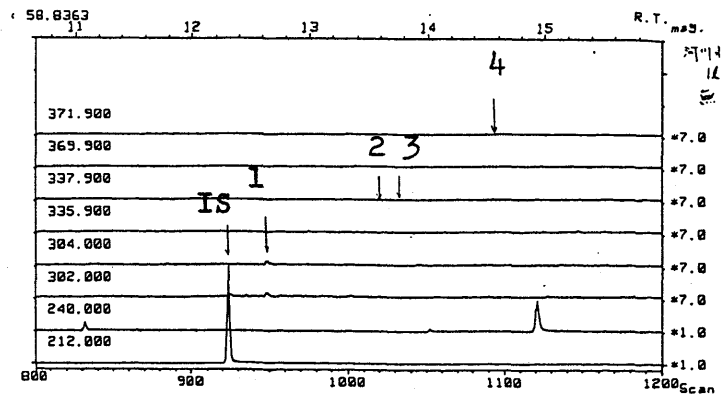


図11 河川水分析例

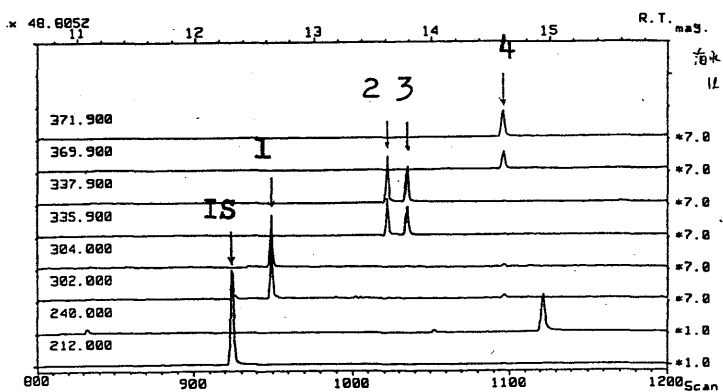
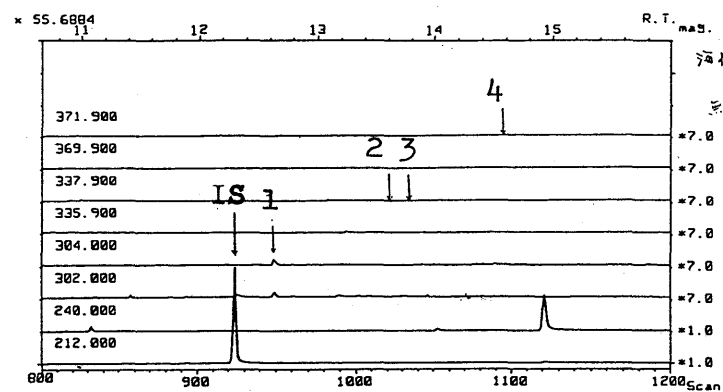


図12 海水分析例

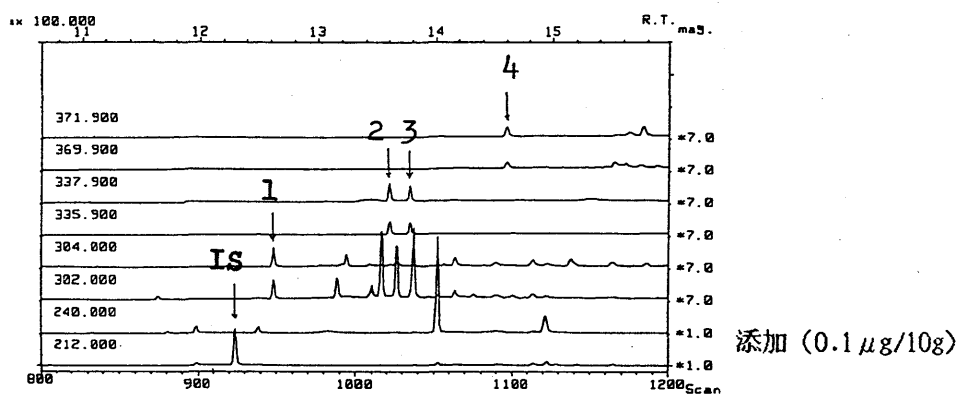
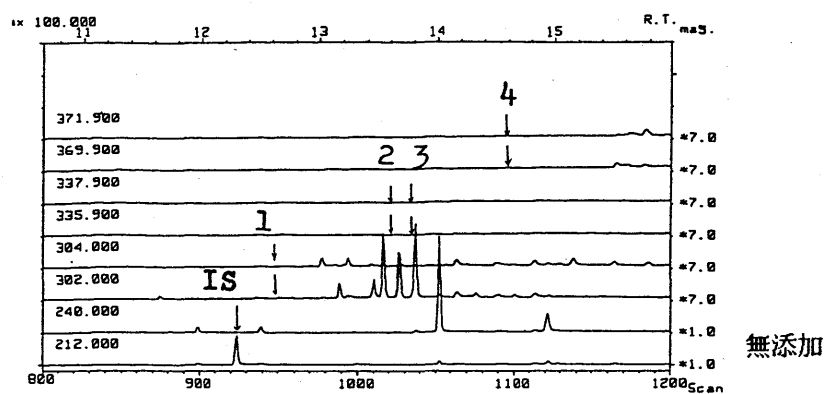


图13 底質分析例

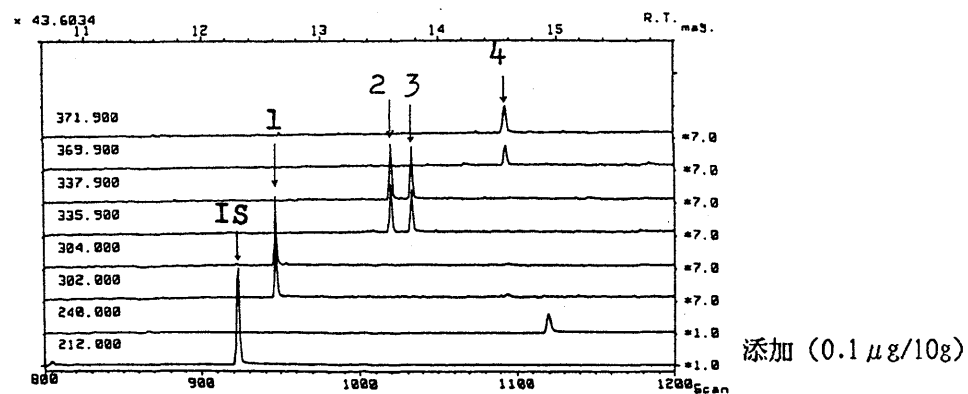
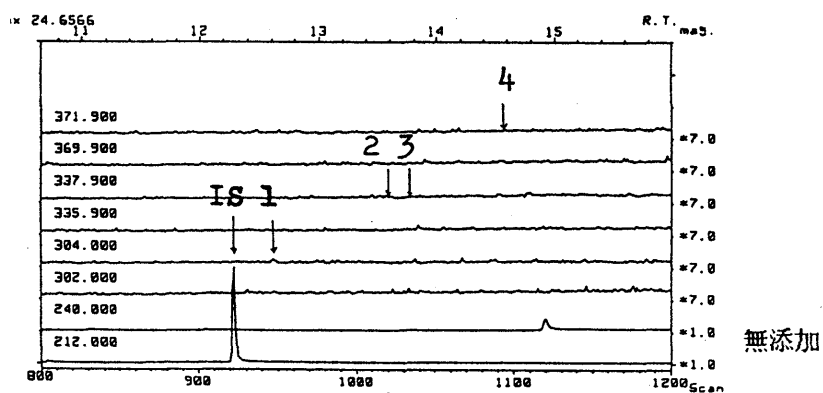


图14 魚分析例

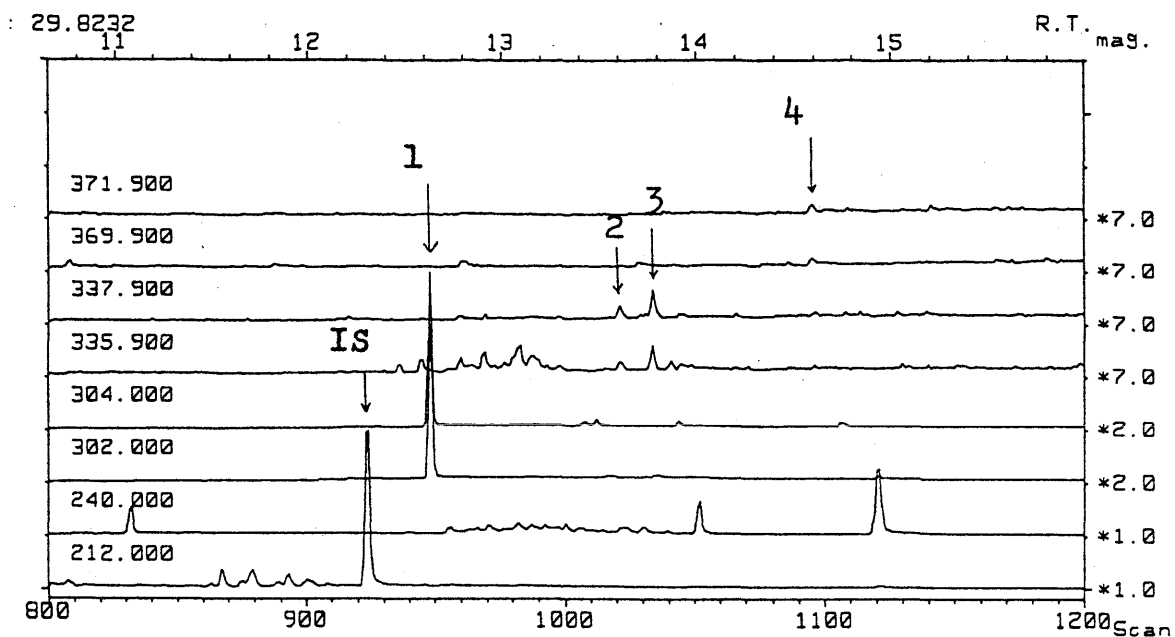


図15 東京湾底質分析例 無添加

【評 価】

本分析法により環境試料中に存在するトリクロサン類をppbレベルで測定することができる。クロマトグラムに妨害ピークは存在せず、また他のピークもほとんど認められずきわめて選択性の高い分析法である。

謝 辞

本分析法の検討を行うにあたり、北海道立衛生研究所 兼俊明夫氏よりトリクロサン類の供与を頂きました。ここに感謝の意を表します。

参 考 文 献

- 1) T. Miyazaki et al., Bull. Environ. Contam. Toxicol. (1984) 32,227-232 (1984)
- 2) 高菅ら 環境化学, 4 (2)530-531 (1994)

担当者 奥村為男 西川嘉範

【分析試料の送付方法】

1. 試料の前処理を行わない場合

〔水質試料〕試料をヘッドスペースの残らないようにガラス瓶に入れ、梱包して送付する。

〔底質及び生物試料〕均一化した試料をガラス瓶に入れ、ドライアイスで冷却した状態で梱包して送付する。

2. 試料の前処理を行う場合

〔水質、底質及び生物試料〕分析法に示した【試料の前処理】の要領に従って調製し、得られた試料前処理液をアンプルに密封して送付する。

物質名	分析法フローチャート	備考
1. トリクロサン 2. 3-クロ トリクロサン 3. 5-クロ トリクロサン 4. 3,5-ジクロ トリクロサン	水質 ア) 河川、湖沼水 <pre> graph LR A[水質試料 1000ml] --> B[洗浄 NaOH 10g pH>13 水 100ml] B --> C[抽出 HCl pH<2-3 水 100ml*2] C --> D[脱水 Na2SO4] D --> E[濃縮 KD] E --> F[乾燥 N2] F --> G[メチル化 シアツタン] G --> H[内標準添加 744577-d1a 1ppm/744577 0.2ml] H --> I[乾燥 N2] I --> J[744577 溶解 1ml] J --> K[GC/SIM 2 μl inj.] </pre> イ) 海水 <pre> graph LR A[水質試料 1000ml] --> B[抽出 HCl pH<2-3 水 100ml*2] B --> C[脱水 Na2SO4] C --> D[濃縮 KD] D --> E[乾燥 N2] E --> F[内標準添加 744577-d1a 1ppm/744577 0.2ml] F --> G[744577 溶解 1ml] G --> H[GC/SIM 2 μl inj.] H --> I[乾燥 N2] I --> J[メチル化 シアツタン] J --> K[乾燥 N2] K --> L[744577 溶解 1ml] L --> M[GC/SIM 2 μl inj.] </pre> 底質 <pre> graph LR A[底質試料 10g] --> B[抽出 744577 30ml*2 超音波] B --> C[洗浄 水 500ml NaOH 5g pH<2-3 水 50ml] C --> D[抽出 HCl pH<2-3 水 50ml*2] D --> E[濃縮 KD] E --> F[乾燥 N2] F --> G[以下水質の本々へ] </pre> 生物試料 <pre> graph LR A[魚試料 10g] --> B[抽出 744577 50ml*2 超音波] B --> C[洗浄 水 500ml NaOH 6g pH<2-3 NaCl 25g 水 50ml] C --> D[抽出 HCl pH<2-3 水 50ml*2] D --> E[以下水質の本々へ] </pre> 以下水質の本々へ <pre> graph LR A[以下水質の本々へ] --> B[乾燥 N2] B --> C[ケン化 1N-KOH/EtOH 2ml 60-70℃ 1hr] C --> D[内標準添加 744577-d1a 1ppm/744577 0.2ml] D --> E[抽出 水 2ml 水 3ml*2 HCl] E --> F[乾燥 N2] F --> G[744577 溶解 1ml] G --> H[GC/SIM 2 μl inj.] </pre>	GC/MS(SIM) カラム: Ultra-2 25m X 0.32mm 膜厚 0.52 μm 検出限界 水質 0.037 μg/l 0.030 μg/l 0.059 μg/l 0.046 μg/l 底質 4.62 μg/Kg 1.76 μg/Kg 1.72 μg/Kg 2.14 μg/Kg 生物 2.51 μg/Kg 2.03 μg/Kg 1.92 μg/Kg 0.89 μg/Kg

(大阪府)