

都道府県知事 殿
水質汚濁防止法政令市長 殿

環境省水・大気環境局長

水質汚濁に係る環境基準についての一部を改正する件の施行等について

環境基本法（平成 5 年法律第 91 号。以下「法」という。）第 16 条に基づく環境基準については、平成 25 年 3 月 27 日に「水質汚濁に係る環境基準についての一部を改正する件」（平成 25 年 3 月環境省告示第 30 号）が告示された。

この改正は、生活環境の保全に関する環境基準（以下「環境基準生活環境項目」という。）として、新たに公共用水域における水生生物及びその生息又は生育環境を保全する観点から直鎖アルキルベンゼンスルホン酸及びその塩を追加するとともに、これについて基準値を設定したものである。

環境基準の達成のために必要な措置については、今後国においても順次講じていくこととしているが、貴職におかれても、下記事項に留意の上、これらの環境基準が維持達成されるよう有効かつ適切な施策の推進を図られたい。

記

1. 基本的考え方

水生生物の保全に係る水質環境基準（以下「水生生物保全環境基準」という。）は、生活環境を構成する有用な水生生物及びその餌生物並びにそれらの生息又は生育環境の保全を目的として設定するものであり、環境基準生活環境項目として位置付けるものである。

現在得られている我が国に生息する魚介類及びその餌生物に係る化学物質の毒性等に関する知見、公共用水域等における検出状況等から判断して、水環境の汚染を通じ水生生物の生息又は生育に支障を及ぼすおそれがあり、水質汚濁に関する施策を総合的かつ有効適切に講ずる必要があると考えられる物質について、今般、環境基準生活環境項目に追加することとした。

また、4-t-オクチルフェノール、アニリン及び 2,4-ジクロロフェノールの 3 物質について、要監視項目として設定することとした。

水生生物保全環境基準の考え方の詳細については、「水生生物の保全に係る水質環境基準の項目追加等について（第 2 次答申）」（平成 24 年 12 月 27 日付け中環審第 701 号）を参照されたい。

2. 新たな水生生物保全環境基準及び基準値等

新たに水生生物保全環境基準に追加した項目は、直鎖アルキルベンゼンスルホン酸及びその塩 1 項目である。これは、我が国における当該物質の生産・使用状況、公共用水域等における検出状況等を踏まえて、環境基準として設定したものである。基準値は、水生生物の集団の維持を可能とする観点から、基本的には慢性影響を防止する上で必要な水質の水準を定

めるものである。このため直鎖アルキルベンゼンスルホン酸及びその塩の濃度の年間平均値として基準値を定めたものである。また、海域及び淡水域の区分、水域の水温、産卵・繁殖又は幼稚子の生育場等の水生生物の生息状況の適応性に応じて6種類の類型に分けて設定した。

水域類型及び基準値の概要は別表1のとおりである。

3. 環境基準の運用上の取扱い

環境基準の運用上の取扱いについては、以下に掲げる事項に留意されたい。

(1) 公共用水域等の監視の実施について

新たに水生生物保全環境基準に追加した項目については、水質汚濁防止法(昭和45年法律第138号)第15条に基づく都道府県知事による公共用水域等の常時監視の対象として位置付け、水質の汚濁の状況の把握に努められたい。なお、平成25年度は準備期間とし、暫定的な体制での監視で差し支えないこととする。

測定地点、測定回数、測定時期及び測定頻度の決定に当たっては、以下に掲げる事項を踏まえて行うものとし、適正な水域の監視に努められたい。

また、水生生物保全環境基準の類型指定について、類型が当てはめられていない水域については、類型指定の検討を引き続き実施されたい。なお、環境基準項目としての常時監視については、類型当てはめの後に行うこととなるが、それまでの間においても必要に応じて監視を行いつつ、概況の把握等に努められたい。

ア 測定地点

測定地点の選定に当たっては、水生生物の生息又は生育状況等を勘案し、水域内の既存の環境基準点・補助点等を活用しつつ、水域の状況を把握できる適切な地点を選定するものとする。

イ 測定回数

従来你的生活環境項目と同様、年間を通じ原則として月1日以上採水分析するものとする。

ウ 測定時期や回数の変更

水生生物の生息又は生育状況、発生源の状況等により特定の時期等に注目する必要がある場合、凍結等水域の状況が測定に不適当な時期がある場合等にあっては、水質の時期的変動の有無等を勘案し、必要な対策につなげられるよう、「公共用水域測定計画策定に係る水質測定の効率化・重点化の手引き」(平成21年3月環境省水・大気環境局)を参考に測定時期や回数を適宜変更しても差し支えない。

(2) 環境基準達成状況の評価について

新たに水生生物保全環境基準に追加した項目についての達成状況の評価は、「環境基本法に基づく環境基準の水域類型の指定及び水質汚濁防止法に基づく常時監視等の処理基準について」(平成13年5月31日環水企第92号)に基づき実施されたい。

(3) 水域の類型指定について

水域類型の指定に関する手続き等は、従来環境基準生活環境項目において行われてきたものと同様であり、「環境基準に係る水域及び地域の指定の事務に関する政令」(平成5年政令第371号)の別表に掲げる公共用水域以外の公共用水域については、法第16条第2項の規定により都道府県知事が類型を当てはめる水域の指定を行うこととされている。

4. 要監視項目について

今回、水生生物保全環境基準として設定した直鎖アルキルベンゼンスルホン酸及びその塩

のほかに、生活環境を構成する有用な水生生物及びその餌生物並びにそれらの生息又は生育環境の保全に関連する物質ではあるが、公共用水域等における検出状況等からみて、現時点では直ちに環境基準とせず、引き続き知見の集積に努めるべきと判断された、4-t-オクチルフェノール、アニリン及び2,4-ジクロロフェノールの3項目について要監視項目として位置付け、継続して公共用水域等の水質測定を行い、その推移を把握していくべきこととした。

要監視項目については、今後、国等において物質の特性、使用状況等を考慮し体系的かつ効果的に公共用水域等の水質測定を行うとともに、測定結果を国において定期的に集約し、その後の知見の集積状況を勘案しつつ、環境基準項目への移行等を検討することとしている。

水質測定については、適宜、地域の実情に応じ必要と考えられる項目について、関係機関との連携を図りつつ、効率的に実施し、その結果を当職あて報告するとともに、必要に応じ公共用水域等の環境管理の参考とされたい。

要監視項目の水域類型、指針値及び測定法は、別表2及び別表3のとおりとする。

別表1 水生生物保全環境基準の水域類型及び基準値

淡水域（河川及び湖沼）

項目 類型	水生生物の生息状況の適応性	基準値	該当水域
		直鎖アルキルベンゼン スルホン酸及びその塩	
生物A	イワナ、サケマス等比較的低温域を好む水生生物及びこれらの餌生物が生息する水域	0.03mg/L 以下	第1の2の(2)により水域類型ごとに指定する水域
生物特A	生物Aの水域のうち、生物Aの欄に掲げる水生生物の産卵場（繁殖場）又は幼稚仔の生育場として特に保全が必要な水域	0.02mg/L 以下	
生物B	コイ、フナ等比較的高温域を好む水生生物及びこれらの餌生物が生息する水域	0.05mg/L 以下	
生物特B	生物A又は生物Bの水域のうち、生物Bの欄に掲げる水生生物の産卵場（繁殖場）又は幼稚仔の生育場として特に保全が必要な水域	0.04mg/L 以下	

備考 基準値は年間平均値とする。

海域

項目 類型	水生生物の生息状況の適応性	基準値	該当水域
		直鎖アルキルベンゼン スルホン酸及びその塩	
生物A	水生生物の生息する水域	0.01mg/L 以下	第1の2の(2)により水域類型ごとに指定する水域
生物特A	生物Aの水域のうち、水生生物の産卵場（繁殖場）又は幼稚仔の生育場として特に保全が必要な水域	0.006mg/L 以下	

備考 基準値は年間平均値とする。

別表2 要監視項目の水域類型及び指針値

項目	水域	類型	指針値
4-t-オクチルフェノール	淡水域 (河川及び湖沼)	生物 A	0.001mg/L 以下
		生物特 A	0.0007mg/L 以下
		生物 B	0.004mg/L 以下
		生物特 B	0.003mg/L 以下
	海域	生物 A	0.0009 mg/L 以下
		生物特 A	0.0004 mg/L 以下
アニリン	淡水域 (河川及び湖沼)	生物 A	0.02 mg/L 以下
		生物特 A	0.02 mg/L 以下
		生物 B	0.02 mg/L 以下
		生物特 B	0.02 mg/L 以下
	海域	生物 A	0.1 mg/L 以下
		生物特 A	0.1 mg/L 以下
2,4-ジクロロフェノール	淡水域 (河川及び湖沼)	生物 A	0.03 mg/L 以下
		生物特 A	0.003 mg/L 以下
		生物 B	0.03 mg/L 以下
		生物特 B	0.02 mg/L 以下
	海域	生物 A	0.02 mg/L 以下
		生物特 A	0.01 mg/L 以下

別表3 要監視項目の測定法

項目	測定法
4-t-オクチルフェノール	付表1に掲げる方法
アニリン	付表2に掲げる方法
2,4-ジクロロフェノール	付表3に掲げる方法

付表 1

4-t-オクチルフェノール測定方法

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) ヘキサン
日本工業規格 K 8025 に定めるもの (注 2)
- (3) アセトン
日本工業規格 K 8840 に定めるもの (注 2)
- (4) ジクロロメタン
日本工業規格 K 8117 に定めるもの (注 2)
- (5) 硫酸ナトリウム (無水)
日本工業規格 K 8987 に定めるもの (注 2)
- (6) 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品 10mg を全量フラスコ 100ml に採り、アセトンを標線まで加えたもの
- (7) 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原液 1ml を全量フラスコ 100ml に採り、ジクロロメタンを標線まで加えたもの
- (8) サロゲート溶液 (0.1 µg/ml)
¹³C 標識化 4-t-オクチルフェノールサロゲート溶液 (10 µg/ml) 1ml を全量フラスコ 100ml に採り、アセトンを標線まで加えたもの
- (9) 内標準原液 (1 mg/ml)
4-n-ノニルフェノール-d4 標準品 100mg を全量フラスコ 100ml に採り、ジクロロメタンを標線まで加えたもの
- (10) 内標準液 (0.1 µg/ml)
内標準原液 1ml を全量フラスコ 100ml に採り、ジクロロメタンを標線まで加えた後、この溶液 1ml を全量フラスコ 100ml に採り、ジクロロメタンを標線まで加えたもの
- (11) 検量線標準液
4-t-オクチルフェノール標準液を 5 ~ 500 µl の範囲で目盛り付き共栓試験管に段階的に採り、これらにサロゲート溶液 0.5 ml 及び内標準液 0.5 ml を加え、約 40 の水浴上で窒素ガスを緩やかに吹き付け、約 0.5 ml に濃縮したもの
(注 1) 使用前に空試験を行い、測定を妨害する 4-t-オクチルフェノール等による汚染が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) 4-t-オクチルフェノール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。

2 器具及び装置 (注 3)

- (1) 固相カラム (注 4)
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 (注 5)
- (2) 目盛り付き共栓試験管
容量 10 ~ 20ml のものであって、0.5 ml 及び 1ml の目盛りのあるもの
- (3) カラムクロマトグラフ管
 - (a) カラム用管
内径約 20mm、長さ約 200mm のコック付ガラス管

(b) カラム充てん剤

カラムクロマトグラフ用のシリカゲル（粒径150～250 μm）を約130 gで15時間以上加熱し、デシケーター内で放冷した後、95gを共栓三角フラスコに採り、かき混ぜながら水5 mlを滴下し、軽く栓をし、発熱が終了するまで静かに混合し、振とう器で約30分間振り混ぜたもの

(c) クロマトグラフ管

底部にガラスウール（あらかじめヘキサンで洗浄したもの）を詰め、少量のヘキサンを加えてガラスウール間の気泡を除去したカラム用管に、カラム充てん剤約15gをヘキサンでかゆ状にして流し込み、更に縦横の振動を与え、カラム充てん剤を均一に充てんした後、硫酸ナトリウム（無水）をカラム充てん剤層の上層に約2 cmになるように積層し、ヘキサンの液面を硫酸ナトリウム（無水）層の上面まで下げたもの

(4) 円筒形滴下漏斗

(5) 濃縮用フラスコ

(6) 濃縮器

ロータリーエバポレーター、クデルナダニッシュ濃縮器又はスニーダーカラムであって、濃縮時における試料溶媒に接触する部分のガラス器具類をあらかじめ水及びアセトンで洗浄したもの

(7) マイクロシリンジ

容量1～10 μlのもの

(8) ガスクロマトグラフ質量分析計

(a) キャピラリーカラム

内径0.25mm、長さ30mの結合型溶融シリカ製のものであって、内面にメチルシリコン系固定相液体を0.25 μm程度の厚さで被覆したもの又は、これと同等以上の分離性能を有するもの

(b) 検出器

電子衝撃イオン化法（EI法）が可能で、選択イオン検出法（SIM法）又はこれと同等の性能を有する方法でクロマトグラム測定が可能なもの

(c) キャリヤーガス

ヘリウム（純度99.9999vol%以上）であって、線速度を毎秒20～40cmとしたもの

(d) 試料導入部

スプリットレス方式により試料を導入することができるものであって、温度を220～280℃に保つことができるもの

(e) インターフェース部

温度を280℃程度に保つことができるもの

(f) イオン源

温度を230℃以上に保つことができるもの

(g) カラム槽昇温プログラム

50℃で1分保ち、50～300℃の範囲で毎分8℃の昇温を行うことができるもの

(注3) ガラス器具類は水で洗浄し、更にアセトンで洗浄した後、放置してアセトンを揮散させ、約200℃で約2時間加熱し、汚染のない場所で放冷し、4-t-オクチルフェノールによる汚染がないことを確認してから使用する。

(注4) 同等の性能を有する固相ディスクでもよい。その場合、試料の流量及び溶出溶媒の必要量をあらかじめ確認しておく。

(注5) カラム充てん剤は、あらかじめアセトン約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6）を振り混ぜて均一化した後、500mlを採り、塩酸（1 mol/l）を加え

てpHを約3.5に調整し、更にサロゲート溶液0.5mlを加え、固相カラムに加圧又は吸引により毎分流速5～10mlで流下させる。(注7)

- (b) 試料容器を水10mlで洗い、洗液を固相カラムに通水し、約30分間窒素ガスを吹き付け、水分を除去する。(注8)
- (c) 固相カラムの上端からアセトン4mlを穏やかに通し、4-t-オクチルフェノールを溶出させ、目盛付き共栓試験管に受ける。
- (d) 約40 ℃の水浴中に目盛付き共栓試験管に浸し、溶出液に窒素ガスを緩やかに吹き付けて濃縮し、ジクロロメタンに転溶し約1mlにする。さらに硫酸ナトリウム(無水)約0.3gを用いて脱水する。(注9)
- (e) 全量をカラムクロマトグラフ管に流し込み、コックを操作し液面を硫酸ナトリウム(無水)層の上面まで下げる。目盛付き共栓試験管をジクロロメタン0.5～1mlで洗浄し、洗液はカラムクロマトグラフ管に加える。(注10)
- (f) 円筒形滴下漏斗をカラムクロマトグラフ管に装着し、円筒形滴下漏斗からジクロロメタン-ヘキサン混合液(3+7)50mlを毎分流速約1mlで流下させ、液面を硫酸ナトリウム(無水)層の上面まで下げ、流出液を捨てる。
- (g) 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)100mlを毎分流速約1mlで流下させ、溶出液を濃縮器用フラスコに受ける。(注11)
- (h) 濃縮器を用いて、約40 ℃の水浴上で溶出液を約5mlになるまで濃縮する。(注12)
- (i) 濃縮液を目盛付き共栓試験管に移し、濃縮器用フラスコをジクロロメタン2～3mlで洗浄し、洗液を目盛付き共栓試験管に加える。続いて内標準液0.5mlを加えた後、約40 ℃の水浴上で窒素ガスを緩やかに吹き付けて約0.5mlに濃縮する。(注9)

(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13)

(3) 分析

- (a) 表に掲げる質量数を用い、モニターする。

表 質量数

物質名	定量用質量数(確認用質量数)
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-d4	111(224)

- (b) マイクロシリンジを用いて試験液1μlをガスクロマトグラフに注入し、保持時間が検量線標準液の4-t-オクチルフェノールの保持時間と一致していることを確認しておく。4-t-オクチルフェノールのクロマトグラムピークの位置は別図を参考にする。(注14)
- (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。4-t-オクチルフェノールとサロゲート物質の面積の比、サロゲート物質と内標準物質のピーク面積の比を求める。(注15)
- (d) あらかじめ4により作成した検量線を用い、4-t-オクチルフェノールとサロゲート物質のピーク面積の比から4-t-オクチルフェノールとサロゲート物質の濃度比を求める。
- (e) 空試験液についても(b)、(c)及び(d)の操作を行い、4-t-オクチルフェノールとサロゲート物質の濃度比を求める。
- (f) 次の式によって試験液中の4-t-オクチルフェノールの濃度(μg/L)を算出する。

$$\text{試料中の対象物質の濃度 (μg/L)} = (a - b) \times n \times (1,000 / \text{試料量(ml)})$$

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4-t-オクチルフェノールとサロゲート物質の濃度比
- 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サロゲート物質の濃度比

n 添加したサロゲート物質の質量 (μg)

- (注6) 浮遊物が多いときは、あらかじめろ過する。ろ過は、アセトンで洗浄したろ過材(孔径 $1\ \mu\text{m}$ のガラス繊維ろ紙)で吸引ろ過し、ろ過材ごとピーカーに移してアセトン約10mlを加え、超音波洗浄器を用いて溶出させ、これを2~3回繰り返して得られた溶出液を全て合わせ、濃縮器を用いて約5mlまで濃縮し、試料に加える。
- (注7) 浮遊物が多いときは、本文(1)の(a)から(d)までの操作に代えて溶媒抽出にすることができる。溶媒抽出は、塩酸(1 mol/L)で試料のpHを約3に調整し、サロゲート溶液0.5mlを加えた後、塩化ナトリウム30gを加え(海水には添加しない。)十分混合して溶解する。この溶液にジクロロメタン50mlを加え10分間振とう抽出する。この抽出を2回行い、ジクロロメタン層を全て合わせる。硫酸ナトリウム(無水)で脱水後、ロータリーエバポレーターの使用及び窒素ガスの吹き付けにより約1mlまで濃縮する。
- (注8) 長時間通気すると、回収率が低下するおそれがあるので注意する。
- (注9) 直ちに次の操作を行わない場合は、この濃縮液を-20℃の暗所に保存する。また、窒素ガス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ことが確認できる程度に窒素ガスの流量を調節する。乾固させた場合は、窒素ガスの吹き付けによって4-t-オクチルフェノールが揮散することがあるので注意する。
- (注10) 妨害物質が無視できる程度に少ない試料については、(1)の(e)~(h)の操作は省略することができる。
- (注11) 事前に既知量の標準物質を添加したものをを用いて、4-t-オクチルフェノールの溶出パターンを確認し、カラムクロマトグラム操作に必要なジクロロメタン-ヘキサン混合液(3+7)及びジクロロメタン-ヘキサン混合液(3+2)の量を求めておく。
- (注12) 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℃の水浴上で減圧濃縮し、乾固しないように注意する。ケ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、75℃以下で加熱して濃縮する。濃縮終了後、スニードーカラムを濃縮部に付けたまま装置から取り外し、スニード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、スニードーカラムをつけたまま放冷する。
- (注13) 空試験値は可能な限り低減化を図る。
- (注14) 試料中の4-t-オクチルフェノールの定量イオンと確認イオンのピーク面積比と標準液中の4-t-オクチルフェノールの定量イオンと確認イオンのピーク面積比を比較して $\pm 20\%$ 以内であれば、同じ物質が存在しているものとみなす。
- (注15) 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、試料に添加したサロゲート物質の回収率が50~120%であることを確認する。回収率は、試料中のサロゲート物質と内標準物質のピーク面積比と検量線標準液中のサロゲート物質と内標準物質のピーク面積比の平均値の百分率とする。

4 検量線の作成

検量線標準液 $1\ \mu\text{l}$ をガスクロマトグラフに注入し、4-t-オクチルフェノールとサロゲート物質のピーク面積比から検量線を作成する。

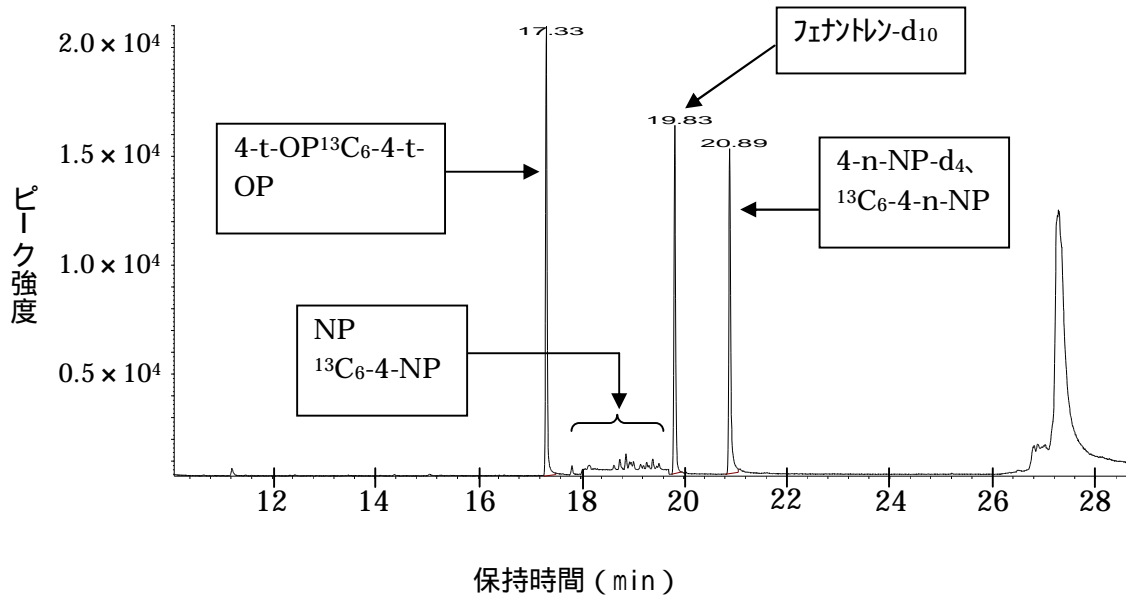
備考

- 1 本法は、環境庁告示第59号付表11「ノニルフェノールの測定方法」に規定された方法に基づいており、ノニルフェノールの標準物質及び必要なサロゲート物質、内標準物質を追加し、同時分析が可能である。
- 2 この測定方法の定量下限は $0.03\ \mu\text{g/L}$ である。
- 3 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。

4 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 4-t-オクチルフェノールのクロマトグラム



付表 2

アニリンの測定方法

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) ヘキサン
日本工業規格 K 8825 に定めるもの (注 2)
- (3) アセトン
日本工業規格 K 8040 に定めるもの (注 2)
- (4) 酢酸メチル
日本工業規格 K 8382 に定めるもの (注 2)
- (5) ジクロロメタン
日本工業規格 K 8117 に定めるもの (注 2)
- (6) メタノール
日本工業規格 K 8891 に定めるもの (注 2)
- (7) 硫酸ナトリウム (無水)
日本工業規格 K 8987 に定めるもの (注 2)
- (8) 水酸化ナトリウム
日本工業規格 K 8576 に定めるもの (注 2)
- (9) アニリン標準原液 (1,000 µg/ml)
アニリン標準品 100mg を全量フラスコ 100ml に採り、酢酸メチルを標線まで加えたもの
- (10) アニリン標準液 (10 µg/ml)
アニリン標準原液 1 ml を全量フラスコ 100ml に採り、酢酸メチルを標線まで加えたもの
- (11) サロゲート原液 (1,000 µg/ml)
アニリン-2,3,4,5,6-*d*₅ 標準品 100mg を全量フラスコ 100ml に採り、酢酸メチルを標線まで加えたもの
- (12) サロゲート溶液 (10 µg/ml)
サロゲート原液 1 ml を全量フラスコ 100ml に採り、酢酸メチルを標線まで加えたもの
- (13) 内標準原液 (1,000 µg/ml)
ナフタレン-*d*₈ 標準品 50mg を全量フラスコ 50ml に採り、ジクロロメタンを標線まで加えたもの
- (14) 内標準液 (10 µg/ml)
内標準原液 1 ml を全量フラスコ 100ml に採り、ジクロロメタンを標線まで加えたもの
- (15) 検量線標準液
アニリン標準液を 0.1 ~ 10ml の範囲で全量フラスコ 100ml に段階的に採り、これらにサロゲート溶液 10ml 及び内標準液 10ml を加え、ヘキサンを標線まで加えたもの
(注 1) 使用前に空試験を行い、測定を妨害するアニリン等による汚染がないことを確認しておく。ミネラルウォーターを用いてもよい。
(注 2) アニリンの保持時間に相当する位置にピークがないことを確認しておく。

2 器具及び装置 (注 3)

- (1) 固相カラム (注 4)
スチレンジビニルベンゼン共重合体 (ポリスチレン系ゲル) 又はこれと同等の性能を有するもの 200 ~ 1,000mg を充てんしたものに、酢酸メチル約 10ml、メタノール約 5 ml 及び水約 10ml を順次緩やかに通し、調製したもの (注 5)
- (2) 目盛り付き共栓試験管
容量 10 ~ 20ml のものであって、1 ml の目盛りのあるもの

(3) マイクロシリンジ

容量 1 ~ 10 μ l のもの

(4) ガスクロマトグラフ質量分析計

(a) キャピラリーカラム

内径0.25mm、長さ30mの化学結合型溶融シリカ製のものであって、内面にポリエチレングリコールを0.25 μ m程度の厚さで被覆したもの又は、これと同等以上の分離性能を有するもの

(b) 検出器

電子衝撃イオン化法 (EI法) が可能で、選択イオン検出法 (SIM法) 又はこれと同等の性能を有する方法でクロマトグラム測定が可能なもの

(c) キャリヤーガス

ヘリウム (純度99.9999vol%以上) であって、線速度を毎秒20 ~ 40cmとしたもの

(d) 試料導入部

スプリットレス方式により試料を導入することができるものであって、温度を220 ~ 280 に保つことができるもの

(e) インターフェース部

温度を240 程度に保つことができるもの

(f) イオン源

温度を230 以上に保つことができるもの

(g) カラム槽昇温プログラム

60 で1分保ち、60 ~ 145 の範囲で毎分5 の昇温、145 ~ 240 の範囲で毎分10 の昇温を行うことができるもの

(注3) ガラス器具類は水で洗浄し、更にアセトン及びヘキサンで順次洗浄した後、放置してヘキサンを揮散させ、約200 で約2時間加熱し、汚染のない場所で放冷し、アニリンによる汚染がないことを確認してから使用する。

(注4) 同等の性能を有する固相ディスクでもよい。その場合、試料の流量及び溶出溶媒の必要量をあらかじめ確認しておく。

(注5) カラム充てん剤の製品、ロット、充てん量等により、調製に用いる溶媒量は異なるため、あらかじめ測定を妨害するアニリン等による汚染がなく、アニリンが抽出できる調製量を確認しておく。

3 試験操作

(1) 試験液の調製

(a) 試料 (注6) を振り混ぜて均一化した後、100mlを採り、水酸化ナトリウムを加えて pHを11 ~ 12に調整し、更にサロゲート溶液10 μ lを加え、固相カラムに加圧又は吸引により毎分流速5 ~ 10mlで流下させる。(注7) (注8)

(b) 試料を通水後、注射筒でゆっくりと10ml通気してカラム内の水分を除去する。(注9)

(c) 固相カラムの上端から酢酸メチル4mlを穏やかに通し、アニリンを溶出させ、目盛付き共栓試験管に受ける。(注10)

(d) 溶出液に窒素ガスを緩やかに吹き付けて約1mlに濃縮し、ヘキサンを加えて10mlに定容する。(注11) (注12) (注13)

(e) 内標準液10 μ lを加えた後、硫酸ナトリウム (無水) 3gを用いて脱水し、測定用バイアルに分取したものを試験液とする。(注14)

(2) 空試験液の調製

水100ml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15)

(3) 分析

(a) 表に掲げる質量数を用い、モニターする。

表 質量数

物質名	定量用質量数 (確認用質量数)
アニリン	93 (65)
アニリン-2,3,4,5,6- d_5	98 (71)
ナフタレン- d_8	136 (108)

- (b) マイクロシリンジを用いて試験液 1 μ l をガスクロマトグラフに注入し、保持時間が検量線標準液のアニリンの保持時間と一致していることを確認しておく。(注16)
- (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。アニリンとサロゲート物質のピーク面積の比及びサロゲート物質と内標準物質のピーク面積の比を求める。(注17)
- (d) あらかじめ 4 により作成した検量線を用い、アニリンとサロゲート物質のピーク面積の比からアニリンとサロゲート物質の濃度比を求める。
- (e) 空試験液についても (b)、(c) 及び (d) の操作を行い、アニリンとサロゲート物質の濃度比を求める。
- (f) 次の式によって試験液中のアニリンの濃度 (μ g/l) を算出する。
 試料中のアニリンの濃度 (μ g/l) = (a - b) \times n \times (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 検量線から求めたアニリンとサロゲート物質の濃度比
 b 空試験について検量線から求めたアニリンとサロゲート物質の濃度比
 n 添加したサロゲート物質の質量 (μ g)
- (注6) 吸引ろ過により試料が減圧状態に置かれることによりアニリンが揮散してしまうため、試料に浮遊物があってもろ過操作を行わない。
- (注7) 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、不溶性の水酸化物が生じる。その場合は30分～1時間程度静置して沈降させる。
- (注8) 固相抽出時には固相抽出器の吸水口を試料容器の底部から2～3cmの位置にセットし、大部分の試料が通水するまでできるだけ浮遊物を吸引しないようにする。また、不溶性の水酸化物を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アニリンを添加し、固相抽出を行い、アニリンの溶出に必要な酢酸メチル量を確認しておく。
- (注11) 溶出後、0.3ml程水分が残るが、分取して除去せずに窒素により約1ml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0.7mlの酢酸メチルを残しておく。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) 窒素ガス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ことが確認できる程度に窒素ガスの流量を調節する。
- (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。この操作によりアニリンはヘキサンの移行する。
- (注15) 空試験値は可能な限り低減化を図る。
- (注16) 試料中のアニリンの定量イオンと確認イオンのピーク面積比と標準液中のアニリンの定量イオンと確認イオンのピーク面積比を比較して \pm 20%以内であれば、アニリンが存在しているものとみなす。
- (注17) 試料中のアニリンの濃度を算出するときは、試料に添加したサロゲート物質の回収率が50～120%であることを確認する。回収率は、試料中のサロゲート物質と内標準物質のピーク面積比と検量線標準液中のサロゲート物質と内標準物質のピーク面積比の平均値の百分率とする。

4 検量線の作成

検量線標準液 1 μ l をガスクロマトグラフに注入し、アニリンとサロゲート物質のピーク面積比から検量線を作成する。

備考

- 1 この測定方法の定量下限は 2 μ g/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。

付表 3

2,4-ジクロロフェノール測定方法

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) ヘキサン

日本工業規格 K 8825 に定めるもの (注 2)

(3) アセトン

日本工業規格 K 8040 に定めるもの (注 2)

(4) ジクロロメタン

日本工業規格 K 8117 に定めるもの (注 2)

(5) 硫酸ナトリウム (無水)

日本工業規格 K 8987 に定めるもの (注 2)

(6) 塩酸

日本工業規格 K 8180 に定めるもの (注 2)

(7) N,0-ビス(トリメチルシリル)トリフルオロアセトアミド (以下、「BSTFA」という。) 環境分析用又はこれと同等以上の純度のもの

(8) 2,4-ジクロロフェノール標準原液 (1,000 µg/ml)

2,4-ジクロロフェノール標準品 100mg を全量フラスコ 100ml に採り、アセトンを標線まで加えたもの

(9) 2,4-ジクロロフェノール標準液 (10 µg/ml)

2,4-ジクロロフェノール標準原液 1ml を全量フラスコ 100ml に採り、ジクロロメタンを標線まで加えたもの

(10) サロゲート標準原液 (1,000 µg/ml)

¹³C₆ 標識化 2,4-ジクロロフェノール標準品 100mg を全量フラスコ 100ml に採り、アセトンを標線まで加えたもの

(11) サロゲート溶液 (10 µg/ml)

サロゲート標準原液 1ml を全量フラスコ 100ml に採り、アセトンを標線まで加えたもの

(12) 内標準原液 (1,000 µg/ml)

アセナフテン-*d*₁₀ 標準品 100mg を全量フラスコ 100ml に採り、ヘキサンを標線まで加えたもの

(13) 内標準液 (10 µg/ml)

内標準原液 1ml を全量フラスコ 100ml に採り、ヘキサンを標線まで加えたもの

(14) 検量線標準液

2,4-ジクロロフェノール標準液を 0.05 ~ 5ml の範囲で全量フラスコ 100ml に段階的に採り、次にサロゲート溶液 0.5ml を採る。それぞれの全量フラスコにジクロロメタンを約 5ml 量となるように入れ、これらに BSTFA 0.5ml を添加して、軽く攪拌した後、1 時間放置してトリメチルシリル誘導体化 (TMS 化) する。誘導体化後、内標準液 0.5ml を加え、ジクロロメタンを標線まで加えたもの

(注 1) 使用前に空試験を行い、測定を妨害する 2,4-ジクロロフェノール等による汚染がないことを確認しておく。ミネラルウォーターを用いてもよい。

(注 2) 2,4-ジクロロフェノールの保持時間に相当する位置にピークがないことを確認しておく。

2 器具及び装置 (注 3)

(1) 固相カラム (注 4)

逆相系固相又はこれと同等の性能を有するもの 200 ~ 1,000mg を充てんしたものに、ジクロロメタン約 10ml、アセトン約 5ml 及び水約 10ml を順次緩やかに通し、調製したもの

(注5)

(2) 目盛付き共栓試験管

容量5～10mlのものであって、0.5ml及び1mlの目盛りのあるもの

(3) マイクロシリンジ

容量1～25 μ lのもの

(4) ガスクロマトグラフ質量分析計

(a) キャピラリーカラム

内径0.25mm、長さ30mの化学結合型溶融シリカ製のものであって、内面にメチルシリコン系固定相液体を0.25 μ m程度の厚さで被覆したもの又は、これと同等以上の分離性能を有するもの(注6)

(b) 検出器

電子衝撃イオン化法(EI法)が可能で、選択イオン検出法(SIM法)又はこれと同等の性能を有する方法でクロマトグラム測定が可能なもの

(c) キャリヤーガス

ヘリウム(純度99.9999vol%以上)であって、線速度を毎秒20～40cmとしたもの

(d) 試料導入部

スプリットレス方式により試料を導入することができるものであって、温度を220～280℃に保つことができるもの

(e) インターフェース部

温度を280℃程度に保つことができるもの

(f) イオン源

温度を230℃以上に保つことができるもの

(g) カラム槽昇温プログラム

40℃で1分保ち、40～120℃の範囲で毎分10℃の昇温、120～150℃の範囲で毎分5℃の昇温及び150～280℃の範囲で毎分20℃の昇温を行うことができるもの

(注3) ガラス器具類は水で洗浄し、更にアセトン及びヘキサンで順次洗浄した後、放置してヘキサンを揮散させ、約200℃で約2時間加熱し、汚染のない場所で冷却し、2,4-ジクロロフェノールによる汚染がないことを確認してから使用する。

(注4) 同等の性能を有する固相ディスクでもよい。その場合、試料の流量及び溶出溶媒の必要量をあらかじめ確認しておく。

(注5) カラム充てん剤の製品、ロット、充てん量等により、調製に用いる溶媒量は異なるため、あらかじめ測定を妨害する2,4-ジクロロフェノール等による汚染がなく、2,4-ジクロロフェノールが抽出できる調製量を確認しておく。

(注6) 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。

3 試験操作

(1) 試験液の調製

(a) 試料を振り混ぜて均一化した後、100mlを採り、塩酸(1mol/L)を加えてpHを約3～4に調整し、更にサロゲート溶液25 μ lを加え、固相カラムに加圧又は吸引により毎分流速5～10ml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水し、約5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ジクロロメタン9mlを穏やかに通し、2,4-ジクロロフェノールを溶出させ、目盛付き共栓試験管に受ける。(注7)

(d) 溶出液を硫酸ナトリウム(無水)約1gを用いて脱水した後、窒素ガスを緩やかに吹き付け、約4.5mlになるまで濃縮する。(注8)(注9)

(e) 濃縮液にBSTFA 0.5mlを添加して緩やかに攪拌した後、1時間静置する。

(f) 内標準液25 μ l添加し、測定用バイアルに分取したものを試験液とする。

(2) 空試験液の調製

水100ml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10)

(3) 分析

(a) 表に掲げる質量数を用い、モニターする。

表 質量数

物質名	定量用質量数(確認用質量数)
2,4-ジクロロフェノール-TMS誘導体	219(234)
¹³ C ₆ 標識化2,4-ジクロロフェノール-TMS誘導体	227(242)
アセナフテン-d ₁₀	164

(b) マイクロシリンジを用いて試験液 1 μl をガスクロマトグラフに注入し、保持時間が検量線標準液の2,4-ジクロロフェノールの保持時間と一致していることを確認しておく。2,4-ジクロロフェノールのクロマトグラムピークの位置は別図を参考にする。(注11)

(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。2,4-ジクロロフェノールとサロゲート物質のピーク面積の比、サロゲート物質と内標準物質のピーク面積の比を求める。(注12)

(d) あらかじめ4により作成した検量線を用い、2,4-ジクロロフェノールとサロゲート物質のピーク面積の比から2,4-ジクロロフェノールとサロゲート物質の濃度比を求める。

(e) 空試験液についても(b)、(c)及び(d)の操作を行い、2,4-ジクロロフェノールとサロゲート物質の濃度比を求める。

(f) 次の式によって試験液中の2,4-ジクロロフェノールの濃度(μg/l)を算出する。

$$\text{試料中の対象物質の濃度(μg/l)} = (a - b) \times n \times (1,000 / \text{試料量(ml)})$$

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2,4-ジクロロフェノールとサロゲート物質の濃度比

b 空試験について検量線から求めた2,4-ジクロロフェノールとサロゲート物質の濃度比

n 添加したサロゲート物質の質量(μg)

(注7) バックフラッシュを利用することにより5mlに低減化も可能であり、事前に試料量と同量の精製水に既知量の2,4-ジクロロフェノールを添加し、固相抽出を行い、2,4-ジクロロフェノールの溶出に必要なジクロロメタン量を確認しておく。

(注8) 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ことが確認できる程度に窒素ガスの流量を調節する。乾固させた場合は、窒素ガスの吹き付けによって2,4-ジクロロフェノールが揮散することがあるので注意する。

(注9) 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10) 空試験値は可能な限り低減化を図る。

(注11) 試料中の2,4-ジクロロフェノールの定量イオンと確認イオンのピーク面積比と標準液中の2,4-ジクロロフェノールの定量イオンと確認イオンのピーク面積比を比較して±20%以内であれば、同じ物質が存在しているものとみなす。

(注12) 試料中の2,4-ジクロロフェノールの濃度を算出するときは、試料に添加したサロゲート物質の回収率が50~120%であることを確認する。回収率は、試料中のサロゲート物質と内標準物質のピーク面積比と検量線標準液中のサロゲート物質と内標準物質のピーク面積比の平均値の百分率とする。

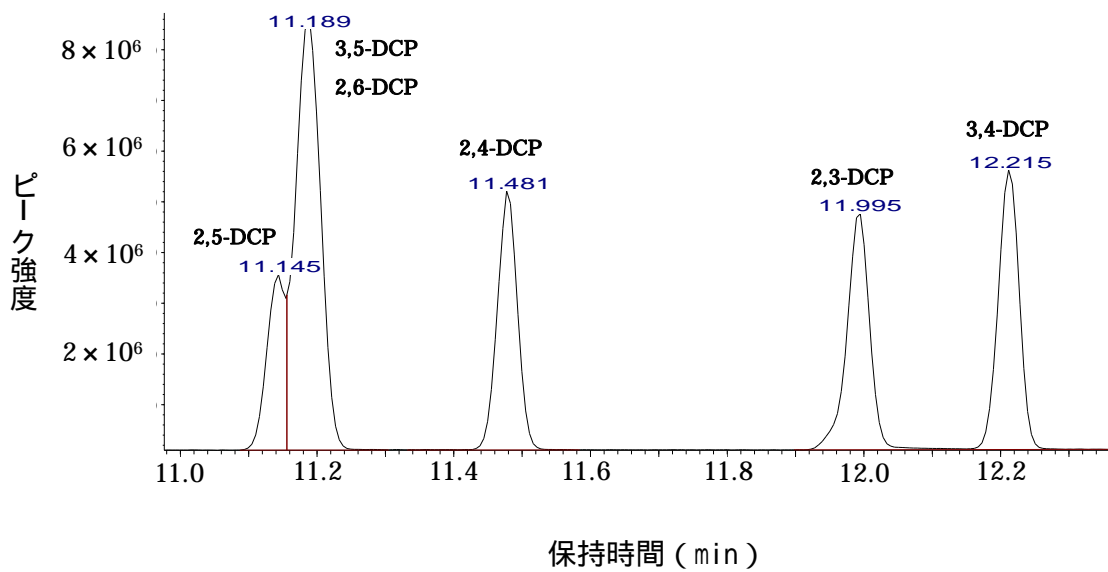
4 検量線の作成

検量線標準液 1 μl をガスクロマトグラフに注入し、2,4-ジクロロフェノールとサロゲート物質のピーク面積比から検量線を作成する。

備考

- 1 この測定方法の定量下限は0.3 $\mu\text{g/L}$ 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 キャピラリーカラムに DB-5MS(長さ 30m 内径 0.25mm 膜厚 0.25 μm)を用いたときのクロマトグラム(TMS 誘導体)



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

(参考 1) 水生生物の保全に係る水質環境基準の水域類型及び基準値

河川及び湖沼

項目 \ 類型	水生生物の生息状況の適応性	基準値		
		全亜鉛	ニルフェノール	直鎖アルキルベンゼン スルホン酸及びその 塩
生物 A	イワナ、サケマス等比較的低温域を好む水生生物及びこれらの餌生物が生息する水域	0.03mg/L以下	0.001mg/L 以下	0.03mg/L 以下
生物特 A	生物 A の水域のうち、生物 A の欄に掲げる水生生物の産卵場（繁殖場）又は幼稚仔の生育場として特に保全が必要な水域	0.03mg/L以下	0.0006mg/L 以下	0.02mg/L 以下
生物 B	コイ、フナ等比較的高温域を好む水生生物及びこれらの餌生物が生息する水域	0.03mg/L以下	0.002mg/L 以下	0.05mg/L 以下
生物特 B	生物 B の水域のうち、生物 B の欄に掲げる水生生物の産卵場（繁殖場）又は幼稚仔の生育場として特に保全が必要な水域	0.03mg/L以下	0.002mg/L 以下	0.04mg/L 以下

海域

項目 \ 類型	水生生物の生息状況の適応性	基準値		
		全亜鉛	ニルフェノール	直鎖アルキルベンゼン スルホン酸及びその 塩
生物 A	水生生物の生息する水域	0.02mg/L以下	0.001mg/L 以下	0.01mg/L 以下
生物特 A	生物 A の水域のうち、水生生物の産卵場（繁殖場）又は幼稚仔の生育場として特に保全が必要な水域	0.01mg/L以下	0.0007mg/L 以下	0.006mg/L 以下

(参考 2) 水生生物の保全に係る要監視項目の水域類型及び指針値

物質名	水域	類型	指針値 (mg/L)
クロロホルム	淡水域	生物 A	0.7
		生物特 A	0.006
		生物 B	3
		生物特 B	3
	海域	生物 A	0.8
		生物特 A	0.8
フェノール	淡水域	生物 A	0.05
		生物特 A	0.01
		生物 B	0.08
		生物特 B	0.01
	海域	生物 A	2
		生物特 A	0.2
ホルムアルデヒド	淡水域	生物 A	1
		生物特 A	1
		生物 B	1
		生物特 B	1
	海域	生物 A	0.3
		生物特 A	0.03
4-t-オクチルフェノール	淡水域	生物 A	0.001
		生物特 A	0.0007
		生物 B	0.004
		生物特 B	0.003
	海域	生物 A	0.0009
		生物特 A	0.0004
アニリン	淡水域	生物 A	0.02
		生物特 A	0.02
		生物 B	0.02
		生物特 B	0.02
	海域	生物 A	0.1
		生物特 A	0.1
2,4-ジクロロフェノール	淡水域	生物 A	0.03
		生物特 A	0.003
		生物 B	0.03
		生物特 B	0.02
	海域	生物 A	0.02
		生物特 A	0.01