

要調査項目等調査マニュアル
(水質、底質、水生生物)

平成14年3月

環境省水環境部企画課

要調査項目等調査マニュアルの制定に当たって

水環境を経由した多種多様な化学物質からの、人の健康や生態系に有害な影響を与えるおそれを低減するため、あらかじめ系統的、効率的に対策を進める必要があるとの認識のもと、調査を進める際に優先的に知見の集積を図るべき物質のリストとして「水環境保全に向けた取り組みのための要調査項目リスト」を平成10年6月に作成した。

これら、選定された要調査項目の調査は、超微量測定を要求され、高度な測定技術等が必要である。しかしながら、測定方法の詳細について標準化されていないため、要調査項目の調査実施に当たっては、測定方法の確立が必要である。

そこで、これら要調査項目について、毒性情報の収集、水環境中の存在状況実態調査を通じて知見の集積を進め、その測定方法等について平成11年12月及び平成12年12月には「要調査項目等調査マニュアル(水質、底質、水生生物)」としてとりまとめてきており、今般も、さらに知見の集積や測定方法の検討を進め、本マニュアルのとおりとりまとめた。

本マニュアルの作成にあたっては、国立環境研究所森田昌敏統括研究官のご指導のもと、下記の方々にご尽力いただいたものである。

本マニュアルにより、本マニュアルに掲載した要調査項目の分析方法が標準化され、測定値の信頼性向上等に寄与し、環境保全活動の一助となれば幸いである。

平成14年 3月

環境省環境管理局水環境部水環境管理課

総括	森田 昌敏	国立環境研究所統括研究官
	石井 康雄	農業環境技術研究所環境化学分析センター長
	石川 精一	北九州市環境科学研究所アクア研究センターアクア研究課主査
	太田 壮一	摂南大学薬学部衛生薬学科食品衛生学教室助教授
	岡本 拓	広島県保健環境センター生活環境部主任研究員
	奥村 為男	大阪府公害監視センター調査室主任研究員
	彼谷 邦光	国立環境研究環境研究基盤技術ラボラトリー長
	川田 邦明	新潟県保健環境科学研究所水質科学科専門研究員
	白石 寛明	国立環境研究所化学物質環境リスク研究センター暴露評価研究室長
	高橋 保雄	東京都立衛生研究所環境保健部水質研究科主任研究員
	福島 実	大阪市立環境科学研究所研究副主幹
	藤森 一男	兵庫県立公害研究所第3研究部主任研究員
	吉永 淳	東京大学大学院新領域創成科学研究科環境学専攻環境学助教授

目 次

・ 調査対象物質一覧表.....	1
・ 分析精度管理	4
・ 試料の採取、運搬、調製にかかわる一般事項	10
・ 分析法	
・ ウラン、マンガンの分析法.....	17
・ 三価クロムの分析法.....	33
・ 酸化エチレンの分析法.....	50
・ 1-オクタノール、1-ノナノール及び1-デカノールの分析法.....	58
・ 1,3-ジクロロ-2-プロパノールの分析法	70
・ モノエタノールアミンの分析法	77
・ シクロヘキシルアミン、ジシクロヘキシルアミン、ビス(2-エチルヘキシル) アミンの分析法.....	86
・ ニトリロ三酢酸 (NTA) の分析法	96
・ -メチルスチレン、ニトロベンゼンの分析法.....	106
・ ポリブロモジフェニルエーテルの分析法	129
・ フェノール類の分析法.....	149
・ 4,4'-ジアミノ-3,3'-ジクロロジフェニルメタン (DACPM) 及び 3,3'-ジクロロ ベンジジン (DCB) の分析法.....	163
・ 有機スズ化合物の分析法.....	173
・ トリクロピル、ベンタゾン及びベンタゾンのナトリウム塩の分析法	185
・ グリホサートの分析法.....	197
・ アセフェートの分析法.....	206
・ トリクロルホン (DEP) の分析法.....	218
・ 農薬類及びニトロベンゼン類の分析法	229

調査対象物質一覧表

1 調査対象物質及びその分析法

番号	要調査項目 目別番号	物質名	分析法
1. ウラン, マンガン			
1	37	ウラン	IPC 質量分析法
2	266	マンガン及びその化合物 (または総マンガン)	電気加熱原子吸光法 ICP発光分析法 ICP質量分析法
2. 三価クロム			
3	84	三価クロム	吸光光度法 フレイム原子吸光法 電気加熱原子吸光法 ICP発光分析法 ICP質量分析法
3. 酸化エチレン			
4	83	酸化エチレン (別名:エチレンオキサイド)	窒素パージ, HBrをコーティングした 活性炭で臭素化・捕集, GC/MS
4. アルコール類			
5	55	1-オクタノール	BSTFA誘導体化, GC/MS
6	195	1-ノナノール (別名:1-ノニルアルコール)	
7	150	1-デカノール (別名:1-デシルアルコール)	
5. 1,3-ジクロロ-2-プロパノール			
8	102	1,3-ジクロロ-2-プロパノール	水蒸気蒸留, 固相抽出, GC/MS
6. モノエタノールアミン			
9	286	モノエタノールアミン	BSC誘導体化, GC/MS
7. アルキルアミン類			
10	94	シクロヘキシルアミン	アルカリ性下蒸留, 溶媒抽出, アセチル 化, GC/MS
11	106	ジシクロヘキシルアミン	
12	200	ビス(2-エチルヘキシル)アミン	
8. ニトリロ三酢酸			
13	187	ニトリロ三酢酸 (別名:NTA)	メチルエステル誘導体化, GCMS
9. 芳香族炭化水素化合物			
14	276	-メチルスチレン (別名:イソプロペニルベンゼン)	パージトラップGC/MS (参考法:ヘッドスペースGC/MS)
15	193	ニトロベンゼン	
10. ポリプロモジフェニルエーテル			
16	149	ポリプロモジフェニルエーテル (要調査項目はデカプロモジフェニルエーテル)	HRGC/HRMS(3~6 臭素化体) GC/ECD(7~10 臭素化体)
11. フェノール類			
17	62	2,4-キシレノール (別名:2,4-ジメチルフェノール)	硫酸ジエチル誘導体化, GC/MS
18	62	2,5-キシレノール (別名:2,5-ジメチルフェノール)	
19	62	2,6-キシレノール (別名:2,6-ジメチルフェノール)	
20	62	3,5-キシレノール (別名:3,5-ジメチルフェノール)	
21	166	2,4,6-トリクロロフェノール	
22	174	2,4,6-トリプロモフェノール	
23	281	o-メトキシフェノール (別名:グアヤコール)	

注) パージトラップ GC/MS 法とヘッドスペース GC/MS 法では、一般的にパージトラップ GC/MS 法が検出下限値を低く得ることができる。調査目的に応じ、分析法を選択することが望ましい。

番号	目別番号	要調査項目	物質名	分析法
12. メチレンビスアニリン・ベンジジン類				
24	87		4,4 -ジアミノ-3,3 -ジクロロジフェニルメタン (別名:4,4 -メチレンビス(2-クロロアニリン))	MBTFA誘導体化、GC/MS
25	103		3,3 -ジクロロベンジジン (別名:3,3 -ジクロロ-4,4 -ジアミノピフェニル)	
13. 有機スズ化合物				
26	119		ジブチルスズ化合物	NaBEt ₄ 誘導体化、GC/MS
27	289		モノフェニルスズ化合物	
28	115		ジフェニルスズ化合物	
14. トリクロピル、ペンタゾン及びペンダゾンのナトリウム塩				
29	164		トリクロピル	アルカリ加水分解、ジアゾメタ誘導体化、GC/MS
30	257		ペンタゾン及びペンダゾンのナトリウム塩	
15. グリホサート				
31	67		グリホサート	FMOC-Cl蛍光誘導体化、LC/蛍光
16. アセフェート				
32	13		アセフェート	活性炭抽出、GC/MS
17. トリクロルホン				
33	165		トリクロルホン (別名: DEP)	アセチル誘導体化、GC/MS
18. 農薬類及びニトロベンゼン類				
34	75		1-クロロ-2,4-ジニトロベンゼン	固相抽出または溶媒抽出、GC/MS
35	99		1,4-ジクロロ-2-ニトロベンゼン	
36	65		キントゼン (別名:ペンタクロロニトロベンゼン)	
37	86		シアナジン	
38	108		ジチオピル	
39	207		ピリプチカルブ	
40	219		ブタミホス	
41	258		ペンディメタリン	
42	271		メタラキシル	

2 測定可能項目

	分 類	番 号	水 質	底 質	水生生物
1	ウラン、マンガン	1~2			
2	三価クロム	3			
3	酸化エチレン	4			
4	アルコール類	5~7			
5	1,3-ジクロロ-2-プロパノール	8			×
6	モノエタノールアミン	9			×
7	アルキルアミン類	10~12			
8	ニトリロ三酢酸(NTA)	13	*		
9	芳香族炭化水素化合物	14~15			
10	ポリプロモジフェニルエーテル	16			
11	フェノール類	17~23			
12	メチレンビスアニリン・ベンジジン類	24~25			
13	有機スズ化合物	26~28			
14	トリクロピル、ベンタゾン及びベンタゾンのナトリウム塩	29~30			
15	グリホサート	31			×
16	アセフェート	32			
17	トリクロルホン(DEP)	33			
18	農薬類及びニトロベンゼン類	34~42			

* : 海水以外

．分析精度管理

要調査項目は、水環境中での検出状況や複合影響等に関する知見を優先的に集積すべき物質（群）として設定されたものであり、水環境の汚染に起因する環境リスク対策を系統のかつ効率的に進めるうえで信頼性の高い環境測定データが不可欠となる。環境測定データの信頼性を確保するためには、適切な精度管理が必要となり、標準作業手順（SOP：Standard Operating Procedure）を作成するとともに、試料採取と分析操作に用いる器具・装置および測定値の評価と管理を適切に行わなければならない。

1 標準作業手順（SOP）

試験機関においては以下の項目等について作業手順を設定しておく。この作業手順は具体的で分かり易いこと、および関係者に周知徹底することが重要である。

試料採取・運搬用器具等の準備、メンテナンス、保管および取扱い方法。

前処理用試薬類の準備、精製、保管および取扱い方法。

分析用試薬、標準物質等の準備、標準溶液の調製、保管および取扱い方法。

水質、底質および生物試料における前処理操作の手順。

分析機器の測定条件の設定、調整、操作手順。

分析方法全工程の記録（使用するコンピュータのハードおよびソフトを含む）。

2 器具・装置の性能評価と維持管理

（1）試料採取と運搬

本調査マニュアルの「 ．試料の採取、運搬、調製にかかわる一般事項」に従い、予め測定に妨害を及ぼすことがないことを確認するとともに、操作ブランク値を可能な限り低減させるよう配慮する。試料は調査目的に応じた代表性を有するものであって、品質を維持するために器具類、材料および試薬類等を適切に管理し、その方法について説明ができるようにしておく。

（2）前処理操作と機器測定

（ア）標準溶液

測定値は、採取試料と標準物質の分析結果を比較することによって得られるため、結果

の信頼性を確保するためには、可能な限りトレーサビリティの保証された標準物質を用いる必要がある。

(イ) 前処理操作

試料を分析するに際して、適切な抽出、精製、濃縮といった前処理操作が必要であり、これらの操作の出来不出来が結果に大きく影響するので、予め、「 .分析法」のそれぞれの方法に記載された添加回収試験液を用いて試験を行い、回収率とその再現性を確認しておく。添加回収試験における回収率は 80～120%程度、サロゲート標準物質の回収率は 50～120%程度が望ましく、この範囲を大きく逸脱する場合はその原因を究明する。また、操作ブランクの有無と程度を確認し、その改善に努める。

(ウ) 分析装置の最適化

使用する分析装置は、試料の測定が可能になるよう測定条件を設定し、調整する。この際、感度とその直線性、安定性等の他、測定の誤差となる干渉の有無や大きさ、その補正機能等、十分信頼できる分析が可能かどうかを確認しておく。

感度は装置検出下限値 (IDL : Instrument Detection Limit) で評価する。最低濃度の検量線作成用標準液、もしくはシグナル/ノイズ (S/N) 比 5～15 程度の濃度の標準液を 5 回以上繰り返して測定し、得られた測定値から標準偏差を求め、その 2 倍 (t 検定片側、危険率 5%) を IDL とする。試料量、最終前処理液量、装置導入量等から、IDL の試料換算値を求め、この値が目標とする検出下限値以下であることを確認する。

(3) 測定値の品質管理と評価

(ア) 検出下限値 (MDL)

試料の分析に先立ち、次の試験を行って分析法の検出下限値 (MDL : Method Detection Limit) を求め、各分析法の目標とする MDL が達成できることを確認する。達成できない場合は、試料量を増やしたり、測定用試料液をより濃縮することなどで対応してもよいが、報告書にその手順を記載しておく。

空試験において対象物質が検出される場合

各分析法に示した空試験を 5 回以上繰り返す。個々の測定値を試料中濃度に換算し、標

標準偏差(s)から、次式により MDL を算出する。

$$MDL = t(n-1,0.05) \times s$$

ここで、 $t(n-1,0.05)$ は自由度 $n-1$ の危険率 5% (片側) の t 値であり、次表を与える。
繰り返し回数とその $t(n-1,0.05)$

繰り返し回数(n)	自由度(n-1)	$t(n-1,0.05)$ 、片側
5 回	4	2.132
6 回	5	2.015
7 回	6	1.943

但し、空試験の測定値が高すぎたり、バラツキが大きければ、適切な MDL が算出できない。したがって、本法による MDL の算出は、次の事項の確認が前提となる。

- ・後述の「エ 操作ブランク試験」に示したように、汚染の原因を究明して操作ブランク値を可能な限り低減させておくこと。
- ・操作ブランク試験の繰り返し測定において、各測定値間のバラツキを十分に小さくし、安定化させておくこと。許容できるバラツキの目安は、“操作ブランク値の平均値 ± (目標 MDL の 1/2)” 以内である。

空試験において対象物質が検出されない場合

検量線の最低濃度の 2~5 倍 (又は IDL の 2~5 倍) になるように水質試料にあっては精製水に、底質および生物試料にあっては各分析法に記載の抽出溶媒に対象物質を添加して、所定の前処理、試料液の調製、測定を行い、個々の測定値を求める。これらの値を試料中濃度に換算し、標準偏差(s)から、次式により MDL を算出する。

$$MDL = t(n-1,0.05) \times s$$

ここで、 $t(n-1,0.05)$ は自由度 $n-1$ の危険率 5% (片側) の t 値である。

(イ) 定量下限値

MDL の 3 倍値を測定方法の定量下限値とする。

(ウ) 装置の感度変動の日常チェック

1日に1回以上、または10試料に1回以上、定期的に検量線の間程度度の標準液を測定して、装置感度が検量線作成時に比べて $\pm 20\%$ 以内であることを確認する。これを超えて変動する場合はその原因を精査して取り除いた後、それ以前の試料について再測定する。

(エ) 操作ブランク試験

操作ブランク試験は、試験液の調製または分析機器への導入操作等に起因する汚染を確認し、試料の分析に支障がない測定環境に設定するために行うものである。

操作ブランク値が大きいと測定感度が悪くなるばかりでなく、定量下限値が大きくなり測定値の信頼性が低下する。したがって、操作ブランク値は極力低減を図り、試料濃度への換算値が目標定量下限値以下になるよう管理する。試験頻度は、10試料ごとに1回、または1日に1回（測定試料が10試料以下）が目安である。

(オ) 回収率測定

添加回収試験では、試料液中の濃度が定量下限値の10倍量程度となるよう測定対象の標準物質を試料マトリックスに添加して、所定の前処理、試料液の調製、測定を行い、回収率が概ね80~120%の範囲にあることを確認する。同位体希釈法を用いた方法では、サロゲート標準物質の回収率は50~120%の範囲である。但し、操作ブランク値が大きかったり、試料中に対象物質が含まれる場合は、その濃度が回収率に影響しない程度に標準物質の添加量を増やして試験する。

回収率が許容できる範囲を大きく逸脱する場合は、その原因を究明した後、試料の再採取または粗抽出液から測定をやり直す。

回収率の測定は実試料の測定に先だてて行う。また、一連の試料の測定にあつて、前処理や試料液の調製に用いる試薬の製造メーカーあるいはロットが異なるなど、回収率が変化する可能性がある時には、回収率を再確認する必要がある。

(カ) 二重測定

試料採取、前処理操作および機器分析における総合的な信頼性を確保するために、同一条件で採取した2つ以上の試料について同様に分析する。頻度は10試料ごとに1回が目安であり、定量下限値以上の濃度の被検物質に対して2つ以上の測定値の差が平均値に比べ

て30%以下であることを確認する。測定値の差が大きい場合は、その原因を精査して取り除き、再測定する。

(キ) トラベルブランク値の測定

トラベルブランク試験は、試料採取準備時から試料測定時までの汚染の有無を確認するためのものであり、採取操作以外は試料と全く同様に扱い持ち運んだものを測定し、トラベルブランク値とする。移送中に汚染が考えられる場合には、一連の試料採取において試料数の10%程度の頻度で、少なくとも3試料以上行う。

但し、トラベルブランク値を管理しておけば毎回行わなくてもよいが、試料採取における信頼性を確保するため、前もってトラベルブランク値について十分検討しておき、必要に応じてそのデータが提示できるようにしておく。

(ク) 異常値、欠測値の取扱い

分析装置の感度の変動が大きい場合、二重測定の結果が大きく異なる場合、トラベルブランク値が大きく試料の汚染の問題がある場合などは、測定値の信頼性に問題があるため、再測定を行ったり、欠測扱いとして再測定することなどを示した。このような問題が起こると、多大な労力、時間、コストがかかるだけでなく、異常値や欠測値が多くなると、調査結果全体の評価に影響するため、事前のチェックを十分に行い、異常値や欠測値を出さないように注意する。また、異常値や欠測値が出現した経緯を十分に検討し、記録に残して、以後の再発防止に役立てることが重要である。

(ケ) 測定操作の記録

以下の情報を記録し、整理・保管しておく。

- ・ 試料採取に使用する装置や器具の調整、校正及び操作。
- ・ 容器等の取り扱い及び保管の状況。
- ・ 採取対象の条件及び状況（採取方法、採取地点、採取日時）
- ・ 試料に関する調査項目（水質：pH、有機物濃度、懸濁物質濃度など、底質：外観、臭気、夾雑物、水分含量、強熱減量など、生物：種、生物計測データ、生育段階、脂質含量など）
- ・ 試料調製条件。

- ・ 分析装置の校正及び操作。
- ・ 測定値を得るまでの各種の数値。

(4) 精度管理に関する報告

精度管理に関する以下の情報を記録し、データと共に報告する。

SOP に規定されていること

- ・ 日常的点検、調整の記録 (装置の校正等)
- ・ 標準物質等のメーカー及びトレーサビリティ、分析機器の測定条件の設定と結果。

検出下限値及び定量下限値の測定結果。

操作ブランク試験およびトラベルブランク試験の結果。

試料採取、前処理操作等の回収試験の結果。

分析装置の感度の変動。

分析操作の記録 (試料採取から前処理・分析に関する記録)

・試料の採取、運搬、調製にかかわる一般事項

ここでは、試料の採取、運搬、調製にかかわる一般的な考え方、手順、方法についてまとめます。本章とともに、各分析法の「試薬、器具及び装置」、「試料の採取・運搬」ならびに「注意事項」に留意して、適切な地点と時期を選定し、代表性のある試料採取を行い、調査媒体と測定対象物質に変質が無いよう運搬、調製することが重要である。

1 試料採取地点の選定

試料採取に当たっては、特定の発生源の影響を受けない一般的な環境を対象として地点を選定すると共に、水質及び底質を同一地点で採取する場合は、泥分率の高い地点を選定する。また、測定結果を評価する上で参考となる水文、気象、土地利用等のデータが利用できる地点を優先する。なお、河川、湖沼および海域で試料を採取する際、特に生物の採取や港湾内の作業では各種規制等に抵触する場合がありますので、事前に関係機関に確認するなどして許可申請等必要な措置を講ずる。

2 試料採取

(1) 水質

(ア) 採水時期

原則として比較的晴天が続き、水質が安定している日を選定する。感潮域や海域にあっては潮汐等も考慮して採水時間を決める。

(イ) 採水部位

表層水の採取を基本とし、河川では原則として流心で採取する。表層は水深の 1/5 程度までの層であり、通常水面下 0～数 10 cm を採取することになる。水深が極浅い地点においては浮泥の混入がないよう注意深く採水する。また、表面に浮遊ゴミや浮遊油脂類等が目視されれば、これらが混入しないよう 0～2 cm 層を避ける。なお、目的によっては深度別に採水する。

(ウ) 採水器

採水器具は、地点の状況に応じ、バケツ、柄付きの採水器（ひしゃく）、ハイロート採水

器、バンドーン採水器等を用いる。材質はガラス製、ステンレス製、合成樹脂製、四フッ化エチレン樹脂フィルムコーティング製などがあるが、測定対象物質や測定を妨害する物質が溶出しない材質、また測定対象物質が内壁に付着し難い材質を選ぶ。基本的には、有機化合物の分析には合成樹脂製、重金属類にはステンレス製の材質は避ける。採水器は予め水洗等による洗浄を行い、装着するロープやワイヤー等も含めて測定対象物質等の汚染や溶出がないことを予め確認しなければならない。

なお、試料容器で直接試料水を採ることもできる。

(エ) 試料容器

試料容器は、運搬・保管時の汚染や損失がないよう、測定対象物質に応じて準備しなければならない。試料容器の品名、品質および形状、ならびにそれらの洗浄方法は各分析法に記載の通りであるが、予め定めた目標検出下限値が確保できるものを使用する。

基本的には、揮発性有機物質の場合は、四フッ化エチレン樹脂でコーティングしたシリコンゴムセプタム等で密封できる無色または褐色のガラス製ネジ口瓶または同等以上の容器を用い、水洗、有機溶媒洗浄したものを使用直前に 105 で 3 時間程度加熱し、デシケータなどで再汚染の汚染のないよう放冷した容器とする。

中・難揮発性有機物質には、無色または褐色の硬質ガラス製の共栓付試薬瓶またはネジ口試薬瓶を用いる。これらは使用直前に水洗を行い有機溶媒で洗って乾燥させる。但し、EDTA と界面活性剤の試料容器は、可能な限り洗剤を用いた洗浄は避けるとともに、精製水による十分な濯ぎを行う。

重金属等無機物質用の試料容器は、ポリエチレン、ポリカーボネートなどの合成樹脂製、または硬質ガラス製の容器を用い、予め水洗、硝酸 (1+10) または塩酸 (1+5) による酸洗浄を行い、精製水で濯ぐ。

(オ) 採水操作

採取場所の状況、測定対象物質に適した採水器を用いて表層水を採取する。採水器は表層水で 2~3 回共洗いした後、試料とする表層水を試料容器に移す。

揮発性有機物質の分析に用いる試料は、予め試料容器を共洗いした後に、泡立てないよう静かに容器に流し入れて満水にし、直ちに密栓する。密栓の後、容器中に気泡が無いことを確認する。

中・難揮発性有機物質および重金属等無機性物質についても同様に採取して試料容器に流し入れ満水にして栓をする。但し、試料容器の内壁への付着が想定される疎水性有機物質（水溶解度：1 µg/mL 以下）等が測定対象となる場合は、試料容器の共洗いは行わない。

なお、測定対象物質の安定化のために還元剤や酸の添加、あるいはサロゲート標準物質の添加が必要な場合は、分析法に従って適切に処理する。

採水量と試料数は、分析法と調査項目数によって決まるが、予備保存用あるいは二重測定も考慮しなければならない。

採水にあわせて、水温、外観、色相、臭気、夾雑物、油膜の有無など水質にかかわる基本事項を記録する。

（２）底質

（ア）採泥時期

水質と底質は同時に採取することを原則とする。

（イ）採泥場所

一般に底質の性状は流れの速さで異なる。地点の特性が試料に反映するよう配慮しつつ、可能な限り泥分率が高い底質が確保できる場所で採泥を行う。また、河川では中心と両岸の 3 ヶ所、湖沼・海域では 50 m 間隔の 3 ヶ所で採泥し、均質に混合したものを試料としてもよい。

（ウ）採泥器

底質はエクマンバージ型採泥器またはこれに準ずる採泥器、例えば SK 式採泥器、スミスマッキンタヤー型採泥器など、を用いて採取する。深度別の柱状サンプルが必要な時は柱状試料採泥器を用いる。

（エ）試料容器

揮発性有機化学物質用には水質試料に準じた密封できるガラス製容器を用いる。その他の有機物質および重金属等無機物質については、硬質ガラス製または硬質プラスチック製広口試薬瓶であって、共栓やねじ口栓ができる容器、あるいはポリエチレン製袋や箱を用いる。いずれも、測定対象物質や妨害物質の溶出がない材質を選び、予め定めた目標検出

下限値が確保できるものを用いる。

(オ) 採泥操作

原則として底質表面から 10 cm 程度の表層泥を試料とする。エクマンバージ採泥器等を用いて 1ヶ所から 3 回以上の採泥を行い、表層泥をポリエチレン製(重金属分析用)、ステンレス製(有機物質分析用)または珧瑯引き(重金属及び有機物質分析用)バットに集め、竹べら、竹製ピンセットなどで静かにかき混ぜ、小石、貝殻、動植物片などの明らかな夾雑物を除く。この時、泥温、外観、色相、臭気、夾雑物等について記録する。均質に混合した底質は試料容器に入れる。

なお、揮発性有機物質測定用の試料にあつては、採泥器内で水切りをし、小石、貝類、動植物片などの固形物を含まないように混和し、速やかに試料採取容器に移し入れ、空隙が残らないよう直ちに密栓する。

採泥量と試料数は、分析法と調査項目数によって決まるが、予備保存用あるいは二重測定も考慮しなければならない。

(3) 生物

(ア) 生物種の選定

魚類、甲殻類および貝類の水生生物を調査対象生物とする。生物種は調査目的によって決まるが、要調査項目の生物への蓄積の有無を知る観点から、次の条件を満たすことが望まれる。物質を蓄積する性質があり、体内濃度が比較的速やかに平衡に達すること。年齢と成長の関係および食性に関する知見が得られていること。全生活史にわたる生活領域が明確であり、それが比較的狭いこと。日本各地に広く分布し、採捕が容易なこと。

これらの全てを兼ね備えた生物種の選定は困難な面があるが、比較的適した生物種に次がある。

- ・淡水産魚類：ウグイ、フナ類、コイ、オイカワ、オオクチバス、チチブ
- ・淡水産甲殻類：アメリカザリガニ、スジエビ
- ・淡水産貝類：カワニナ、ヤマトシジミ
- ・海産魚類：スズキ、ボラ、コノシロ、マハゼ、マコガレイ
- ・海産甲殻類：ガザミ、シャコ
- ・海産貝類：ムラサキイガイ、マガキ、アサリ

なお、地域差に関する知見を得るためには、生物種と成長段階（体長、殻長など）を可能な限り固定することが重要である。

（イ）採捕時期

水質および底質試料と同時期を原則とするが、一般的に水生生物の活動が活発な 4～11 月期が望ましい。

（ウ）試料容器

基本的に底質試料に同じ、測定対象物質や妨害物質の溶出がない清浄な容器であって、予め定めた目標検出下限値が確保できるものを用いる。

（エ）採捕器具と方法

魚類は定置網、投網、刺網など、甲殻類はタモ網やカニ籠などを用いて採捕する。貝類はタモ網等で採捕し、ムラサキイガイやマガキなどの付着性の貝類にあっては金属製ヘラ等を用いて殻が壊れないよう注意しながら剥ぎ取る。各試料は、採捕日、地点および標準和名等を記録し、試料容器に入れて、氷またはドライアイスの入ったクーラーボックスに収容する。

なお、採捕日と水域が特定できれば、漁業者が捕獲した魚介類を購入し、試料とすることができ。

3 運搬・保存方法

採取した試料は、汚染のない適切な運搬容器に入れて、遮光・保冷状態で試験施設まで運搬する。

試験施設に到着後、できるだけ速やかに試料の調製を行い、分析に供する。やむを得ず保存が必要な場合は、試料を汚染することのない冷暗所（4℃以下）で保存する。

試料調製と分析が異なる機関で行われる場合は、試料調製を行った後、水質試料は遮光・保冷状態、底質と生物試料は凍結状態で送達する。但し、揮発性有機物質の試料は、試料調製を行わず、試料採取時の状態で、遮光・保冷して送達する。

4 試料調製

水質試料は、原則として懸濁物質を含む試料を分析する。

底質試料は、揮発性物質の試料にあつては、後述の篩別処理は行わず、試料容器内の表層に浮上した間隙水を捨て、さらに表層部をかきとった下層で、固形物を含まない部分を分析に供する。同時に水分含量と強熱減量を測定する試料を採取する。

中・難揮発性有機物質および重金属等無機物質の試料は、孔径 2 mm (8.6 メッシュ) のフルイで篩別し、20 分間の遠心分離 (3,000 rpm) で間隙水を除き、均質に混合したものを分析試料とする。この際、重金属等無機物質の試料調製には、原則として金属製のフルイおよび遠心分離管の使用は避ける。

なお、調製した底質試料について、泥分率 (フルイを通過した試料の重量/フルイにかけ前の試料重量%)、水分含量 (105 ~ 110 °C、2 時間程度) および強熱減量 (600 ± 25 °C、2 時間程度) を求める。

生物試料の分析部位は、原則として魚類では筋肉部、甲殻類と貝類は軟体部とする。シジミやアサリなどの底棲貝類は餌とともに底質を取り込むため、これらの生物を分析試料とする場合は、3 % 程度の食塩水に一晩浸け置き、消化管中の底質を体外に排出させる。単一個体で分析に必要な量を確保できない場合は、複数個体を混合して必要量を確保する。

5 野外および試料に関するデータの記録

(1) 野外データ

次の事項を参考に、試料採取に先立ち様式を決めて、野外データを記録する。

- ・採取日時、採取者名
- ・採取地域の名称、正確な位置(地図)、一般環境状態、周辺施設その他の生活圏の状況、潮汐の状態、気象条件、水深、流速、流量
- ・水温、泥温、透明度、水底の状態、濁度、pH、塩分、溶存酸素、目視観察による色相、臭気、夾雑物
- ・捕獲生物の標準名、体長、体重、個体数、採捕方法
- ・試料の安定化処理、運搬・運搬の条件

(2) 試料データ

測定結果の表示に必要な、あるいは結果の評価に参考となる項目をあげる。これらの試料

データは試料調製に併せて測定、整理し、記録することが望まれる。

- ・水質試料：浮遊物質、有機物量（COD、BOD、TOC など）、塩素イオン（または塩分）など。
- ・底質試料：水分含量、強熱減量、泥分率、粒度組成、有機炭素量、硫化物など。
- ・生物試料：体長（殻高、殻長、殻幅、甲長、甲幅）、体重（重量）、生物種、雌雄、生育段階（年・月・週齢、性成熟・未成熟）、脂質含量、腸管内容物など。

6 参考資料

- 1) 環境庁水質保全局：「水質調査方法」（昭和 46 年 9 月）
- 2) 日本規格協会：「JIS K 0094 工業用水・工場排水の試料採取方法」
- 3) 環境庁水質保全局：「底質調査法」（昭和 63 年 9 月）
- 4) 環境庁環境保健部：「生物モニタリング調査マニュアル」（昭和 62 年 5 月）

．ウラン、マンガンの分析法

1 対象物質

ウラン、マンガン

2 目標検出下限値及び定量下限値

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 ($\mu\text{g/L}$)		底 質 (mg/kg)		生 物 (mg/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
ウラン	0.01	0.05	0.01	0.05	0.01	0.05
マンガン	0.05	0.25	0.05	0.25	0.05	0.25

3 分析法の概要

表 2 のいずれかの方法により単元素測定あるいは多元素同時測定を行う。

表 2 分析法の一覧表

	単元素測定	多元素同時測定
ウラン	ICP 質量分析法	
マンガン	電気加熱原子吸光法	ICP 発光分析法 ICP 質量分析法

- ・電気加熱原子吸光法：試料を前処理した後、電気加熱炉で原子化し各元素による原子吸光を測定して定量する。
- ・ICP 発光分析法：試料を前処理した後、試料導入部を通して誘導結合プラズマ中に噴霧し、各元素による発光を測定して定量する。
- ・ICP 質量分析法：試料を前処理した後、内標準物質を加え、試料導入部を通して誘導結合プラズマ中に噴霧し、各元素と内標準物質のそれぞれの質量 / 荷電数におけるイオンの電流を測定し、各元素のイオンの電流と内標準物質のイオンの電流との比を求めて定量する。

4 試薬、器具及び装置

(1) 試薬

- ・ウラン：定量分析用標準物質または標準物質標準液
- ・マンガン：定量分析用標準物質または標準物質標準液
- ・水：定量する元素について空試験を行なって使用に支障のないことを確認しておく。
- ・硝酸：有害金属測定用又は同等品
- ・塩酸：有害金属測定用又は同等品
- ・過塩素酸：有害金属測定用又は同等品
- ・硫酸：有害金属測定用又は同等品

(2) 器具及び装置

電気加熱原子吸光法

- ・電気加熱原子吸光分析装置：電気加熱炉方式でバックグラウンド補正が可能なもの
- ・マンガン中空陰極ランプ
- ・プッシュボタン式液体用微量体積計または自動注入装置

ICP発光分析法

- ・同時多元素分析型 ICP 発光分析装置またはシーケンシャル型 ICP 発光分析装置：バックグラウンド補正が可能なもの

ICP質量分析法

- ・ICP 質量分析計

5 試料の採取・運搬

(1) 水質試料

水質試料は、予め水洗、硝酸（1+10）または塩酸（1+5）による酸洗浄を行い、精製水で濯いだポリエチレン、ポリカーボネートなどの合成樹脂製容器を用い、氷冷・遮光して、実験室へ持ち帰る。分析操作は可能な限り速やかに行い、試料容器中の全量を分析に供試する。やむを得ず保管が必要な場合は、冷暗所（4）に置く。

(2) 底質試料

底質試料は、エクマンバージ型採泥器等によって表層泥（0～10 cm）を採取し、目視でできる夾雑物を除いて、硬質プラスチック製広口試薬瓶、ポリエチレン製袋または箱等に入れ、氷冷・遮光状態で実験室へ持ち帰る。この試料は、孔径 2 mm 目の篩に通した後、20

分間の遠心分離（3,000 rpm）で間隙水を除き、均質に混合したものを分析に供する。底質試料の保存は、調製試料を-20 で凍結させる。保存する試料は乾燥試料・風乾試料が望ましい。

（3）生物試料

採捕した生物試料は、ポリエチレン製袋に入れ、氷またはドライアイスで保冷したクーラーボックスに収納して、実験室に持ち帰る。生物試料の分析部位は、原則として筋肉組織（可食部）である。生物試料の保存は-20 での凍結による。保存試料は凍結乾燥試料が望ましい。

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「 . 試料の採取、運搬、調製にかかわる一般事項」に従う。

6 試験操作及び同定、定量

（1）前処理

（ア）水質試料

河川水

共存物質により妨害を除去するための前処理方法として、工場排水試験公定法には、元素定量のための前処理方法が記載されている。これらは共存する無機、有機物質の分解が目的であり、元素によらずほぼ共通の方法である。検水の性状によって以下(a)～(d)の方法があげられている。なお、溶存状態の成分のみを分析する場合には、採水直後にろ紙（たとえば5種C）、メンブランフィルターなどでろ過し、最初の約50 mLを捨て、その後のろ液を試料として分析する。

(a)塩酸または硝酸酸性で煮沸

有機物や懸濁物質がきわめて少ない試料に適用する。

試料100 mLにつき塩酸5 mLまたは硝酸5 mLの割合で加える。

加熱して約10分間沸騰させる。

放冷後、必要に応じて蒸留水で一定量にする。

(b)塩酸または硝酸による分解

有機物が少なく、懸濁物質として水酸化物、酸化物、硫化物、リン酸塩などを含む試料に適用する。

試料をよく振り混ぜた後、直ちに分取し、試料 100 mL につき塩酸 5 mL または硝酸 5 mL の割合で加える。

加熱して液量が約 15 mL になるまで濃縮する。

不溶解物が残った場合はろ過し、蒸留水でよく洗浄する。

ろ液と洗液を合せて一定量にする。

(c)硝酸と過塩素酸による分解

酸化されにくい有機物を含む試料に適用する。

試料をよく振り混ぜた後、適量をビーカー等にとり、硝酸 5 ~ 10 mL を加える。

ホットプレート上で加熱濃縮し、液量が 10 mL 程度になったら放冷し、硝酸 5 mL を加え、過塩素酸 (60%) 10 mL を少量ずつ加える。

過塩素酸の白煙を生ずるまで加熱を続け、その後時計皿などで覆いをして加熱を続ける。

有機物の分解が完全に終了するまで、を繰り返し行う。

放冷後、蒸留水を加え、不溶解物が残った場合はろ過後よく洗浄し、ろ液と洗液を合せて一定量とする。

(d)硝酸と硫酸による分解

この方法は多種類の試料の前処理として適用できる。

試料をよく振り混ぜた後、適量をビーカー等にとり、硝酸 5 ~ 10 mL を加える。

ホットプレート上で加熱濃縮し、液量が 10 mL 程度になったら放冷し、硝酸 5 mL と硫酸 (1+1) 10 mL を加える。

硫酸の白煙を生ずるまで加熱を続ける。

有機物の分解が完全に終了するまで、を繰り返し行う。

放冷後、蒸留水を加え、不溶解物が残った場合はろ過後よく洗浄し、ろ液と洗液を合わせて一定量とする。

試料に含まれている有機物及び懸濁物の量、その存在状態及び適用しようとする分析法

を考慮して上記(a)~(d)のうち最も適当なものを選択して前処理を行う(注1)。調製した試料をそのまま噴霧する ICP 発光分析法を適用する場合には、特に断らない限り試料は塩酸または硝酸酸性(注2)、電気加熱原子吸光法及び ICP 質量分析法を適用する場合には硝酸酸性とし、適当な濃度に調節する。

海水

・ウラン

イオン交換法

試料 500 mL を硝酸分解した後、酢酸アンモニウム 3.8 g を加えた後、硝酸で pH 5.6 に調整する。この溶液をメタノール 2 mL、3N 硝酸 20 mL、精製水 50 mL × 2 回、0.1 M 酢酸アンモニウム溶液でコンディショニングしたキレートディスクに通す。キレートディスクを精製水 20 mL で洗浄した後、3N 硝酸 10 mL でディスクに捕集されたウランを溶出させる。海水のマトリックスも同時に濃縮された場合には、適宜希釈する。

オンラインキレート樹脂分離 - ICP 質量分析法

試料 100 mL をビーカーにとり、硝酸 (1+1) 2 mL を加え、ホットプレート上で、試料量が約 20 mL になるまで、約 85 °C で 85 °C を超えないようにゆるやかに加熱する。このとき、沸騰させてはならない。100 mL の試料を 20 mL にするためには約 2 時間が必要である(注3)。更なる蒸発を防ぐためにビーカーに時計皿を乗せ、30 分間ゆるやかに還流させる。このとき僅かな沸騰は生じてもよいが、激しく沸騰させてはならない。放冷後、全量フラスコ 100mL に移し入れ、水を標線まで加える。不溶物は一晩放置して沈殿させるか、試料が透明になるまで遠心分離する。この操作の後に懸濁物がある場合には、試料の一部を測定前にろ過してもよいが、ろ過に伴う汚染が生じないように十分に注意する。この試料を図 1 に示すようなキレート樹脂分離装置によりウランを分離・濃縮し、オンラインで ICP-MS に導入し測定を行う。希釈された試料の安定性は不明なので、調整後は速やかに測定する。

キレート樹脂分離装置は最初の使用の前に ICP-MS 装置から取り外し、0.2 M シュウ酸で洗浄し、汚染を除去する(注4)。調整した ICP-MS に、キレート樹脂分離装置を再接続し、バルブ A、バルブ B を OFF、バルブ C を ON の位置にし、ポンプ P4 を用い、流速 4 mL/min で 4 分間、試料をサンプルループを通じて廃液へと流す。キャリアーポンプ P3 を稼働し、

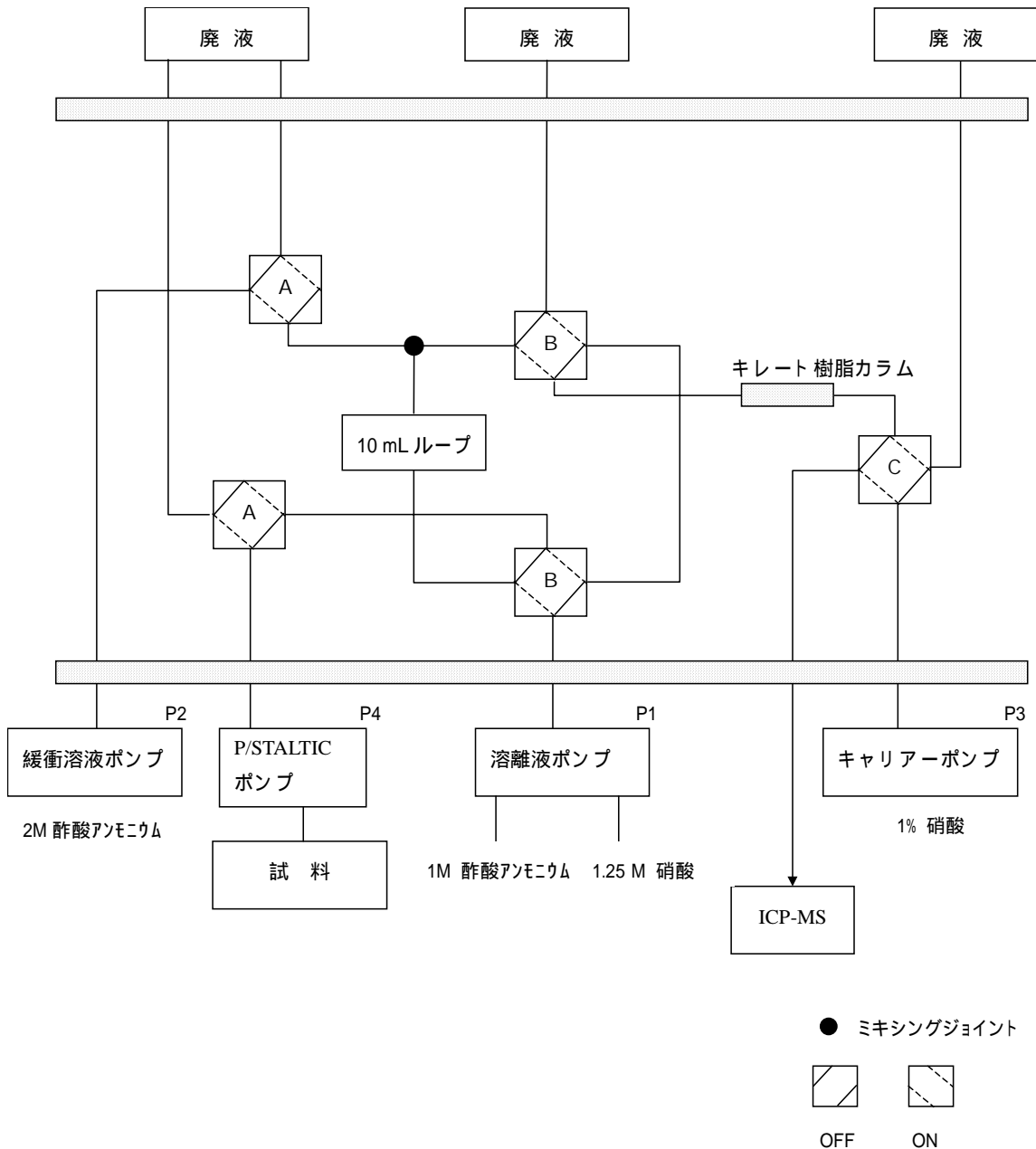


図 1 キレート樹脂分離装置の構成

1%硝酸を流速 0.8-1.0 mL/min で ICP-MS 装置のネブライザーへ流す。緩衝溶液ポンプ P2 を稼働させ、2M 酢酸アンモニウム溶液を流速 1.0 mL/min で流す。試料の分離・濃縮は表 3 のような溶離液ポンプ (P1) プログラムシーケンスにより行われる。シーケンスの時間は、配管の内容積、使用される装置の設定により変更する。バルブ A、B、C を ON の位置にし、1M 酢酸アンモニウム溶液を流速 4.0 mL/min で 4.5 分間流し、ループからカラムへ試料を導入する。次にバルブ A、B を OFF にし、1.25M 硝酸を流速 4.0 mL/min で流しウランの溶出を開始する。バルブ C を OFF にし、流速 1.0 mL/min で、溶出させたウラ

ンを ICP-MS 装置に導入する。カラム流出液が直接廃液に入るようにバルブ C を ON にし、流速 4 mL/min で 1.25M 硝酸、この工程の間に、ポンプ P4 を用い次の試料をサンプルループに導入することができる。測定終了後は、カラムは 1M 酢酸アンモニウム緩衝溶液を満たした状態で保管する。

表 3 溶離液ポンプのプログラムシーケンス

Time (min)	Flow (mL/min)	溶離液	Valve A,B	Valve C
0.0	4.0	1M 酢酸アンモニウム	ON	ON
4.5	4.0	1.25M 硝酸	ON	ON
5.1	1.0	1.25M 硝酸	OFF	ON
5.5	1.0	1.25M 硝酸	OFF	OFF
7.5	4.0	1.25M 硝酸	OFF	ON
8.0	4.0	1M 酢酸アンモニウム	OFF	ON
10.0	4.0	1.25M 硝酸	OFF	ON
11.0	4.0	1M 酢酸アンモニウム	OFF	ON
12.5	0.0		OFF	ON

・マンガン

溶媒抽出法(1)

試料 200 mL をビーカーにとり、塩酸 10 mL を加え、約 5 分間煮沸する。放冷後、pH を 4.5 ~ 5.0 に調節し、分析ロートに移し入れる。硫酸アンモニウム溶液 (飽和) 20 mL を加える。1-ピロリジンカルボジチオ酸アンモニウム (ピロリジン-N-ジチオカルバミド酸アンモニウム) (APDC) 溶液 (10 g/L) 5 mL を加え、静かに振り混ぜた後、約 3 分間放置する。次に、4-メチル-2-ペンタノン 10 mL を加え、約 3 分間激しく振り混ぜ、静置する。有機層を分離し、テフロンビーカー 100 mL に入れる。水層に 4-メチル-2-ペンタノン 5 mL を加え、抽出操作を繰り返す。抽出した有機層は先のテフロンビーカーに合わせる。加熱して 4-メチル-2-ペンタノンを蒸発乾固させた後、硝酸 2 mL、過塩素酸 2 mL を加えて加熱し、有機物を分解する。ほとんど乾固した後、放冷する。残留物を硝酸 (1+5) 10 mL に定容し、電気加熱原子吸光法、ICP 発光分析法、ICP 質量分析法の測定用試験液とする。

溶媒抽出法(2)

試料 500 mL をビーカーにとり、塩酸 5 mL を加え、約 5 分間煮沸する。放冷後、酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 5) (酢酸ナトリウム三水和物 19.2 g と酢酸 3.4 mL とを水に溶

かして 1 L とする。) 10 mL を加え、アンモニア水 (1+1) または硝酸 (1+10) で pH を 5.2 に調節する。この溶液を分液ロート 1,000 mL に移し、1-ピロリジンカルボジチオ酸アンモニウム溶液 (20 g/L) 2 mL、ヘキサメチレンアンモニウム-ヘキサメチレンカルバモジチオ酸 (ヘキサメチレンアンモニウム-ヘキサメチレンジチオカルバミド酸) のメタノール溶液 (20 g/L) 2 mL を加えて混合した後、キシレンの一定量 (5~20 mL) を加えて約 5 分間激しく振り混ぜて静置する。水層を捨てキシレン層を共栓試験管に入れる。この溶液を ICP 発光分析法の測定用試験液とする。

なお、この操作に用いる酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 5) は使用前に 1-ピロリジンカルボジチオ酸アンモニウム溶液、ヘキサメチレンアンモニウム-ヘキサメチレンカルバモジチオ酸のメタノール溶液及びキシレンを加えて振り混ぜ、精製したものとする。

(イ) 底質試料

乾燥試料約 0.1 g を密閉式のテフロン容器に 1 mg の桁まではかり取る。硝酸 5 mL、塩酸 2 mL を加え、密閉して加熱装置に入れ、加圧分解する (注 5)。放冷後、溶液が淡黄色から白色になっていることを確認した後 (注 6) 100 mL のテフロンビーカーに移し入れる。容器及びふたを少量の水で洗い、硝酸 2 mL を加え加熱溶解後、水 50 mL を加えて静かに加熱した後、不溶解物が沈降するのを待って、ろ紙 5 種 B でろ過し、ろ液を全量フラスコ 100 mL に受ける。ビーカー中の不溶解物を少量の水で洗浄し、洗液を先のろ紙上に移し入れる。この操作を 2~3 回繰り返す。ろ液を受けた全量フラスコ 100 mL に水を標線まで加える。

元素の濃度が低い場合、塩類の影響がある場合には、海水の前処理法の項に示された溶媒抽出法、イオン交換法を併用する。

(ウ) 生物試料

試料約 0.1 g を密閉式のテフロン容器に 1 mg の桁まではかり取る。硝酸 3 mL、純水 3 mL を加え、密閉して加熱装置に入れ、加圧分解する (注 5)。分解液を 100 mL のテフロンビーカーに移し入れ、容器及びふたを少量の水で洗い、この洗液もビーカーに入れる。これを蒸発乾固させた後、1%硝酸で定容する。

元素の濃度が低い場合、塩類の影響がある場合には、海水の前処理の項に示された溶媒抽出法、イオン交換法を併用する。

(2) 電気加熱原子吸光分析法

(ア) マンガンの電気加熱原子吸光分析法

(a) 概要

試料を前処理した後、電気加熱炉で原子化し、マンガンによる原子吸光を波長 279.5 nm で測定して、マンガンを定量する。この方法は共存する酸や塩の種類及び濃度の影響を受けやすいので、これらの影響の少ない試料、またはこれらを前処理で分離した試料に適用する。

定量範囲：1～30 µg/L

繰り返し分析精度：変動係数で2～10%（装置、測定条件によって異なる）

(b) 標準液の調製

マンガン標準液（1 µg Mn/mL）：マンガン標準液（10 µg Mn/mL）10 mL を全量フラスコ 100 mL にとり、硝酸（1+1）2 mL を加え、水を標線まで加える。

(c) 操作

前処理法（1）に従い処理した試料の一定量を、JIS K0121（原子吸光分析のための通則）の操作方法に従い、プッシュボタン式液体用微量体積計または自動注入装置を用いて電気加熱炉に導入し、乾燥（100～120℃、30～40 秒間）、灰化（500～800℃、30～40 秒間）、原子化（2,000～2,700℃、4～6 秒間）を行い（注7）、波長 279.5 nm の指示値（注8）を読む（注9）。

(d) 空試験

試料と同量の精製水を用いて、試料と同様に前処理、測定を行い、試料について得られた指示値を補正する。

(e) 検量線

マンガン標準液（1 µg Mn/mL）0.1～3 mL を全量フラスコ 100 mL に段階的にとり試料と同じ酸の濃度になるように酸を加えた後、水を標線まで加える。この溶液について(c)の測定操作を行って標準液について得た指示値を補正し、マンガン（Mn）の量と指示値との関

係線を作成する。検量線の作成は試料測定時に行う。

(f) 同定・定量

検量線からマンガンの量を求め、試料中のマンガンの濃度を算出する。なお、底質の試料量は乾燥試料量とする。

(3) ICP 発光分光分析法を用いた多元素同時分析法

通常使用する装置は、マルチチャンネル型の分光器を使用した ICP 発光分析装置による同時多元素分析法とモノクロメータをコンピュータで制御した ICP 発光分析装置によるシーケンシャル分析法の 2 種類がある。

以下に、マンガン等の元素を含む多元素同時分析法を示す。

(ア) 概要

試料を前処理した後、試料導入部を通して誘導結合プラズマ中に噴霧し、元素による発光を定量する。

(イ) 標準液の調製

混合標準原液 [(10 µg B、10 µg Be、20 µg Mo、10 µg V) /mL]

混合標準原液 [(5 µg Cd、20 µg Ni、50 µg Pb、20 µg Zn、20 µg Cu) /mL]

混合標準原液 あるいは に 10 µg Mn/mL になるようにマンガンを加える。

いずれも使用時に調製する。例えば 100 mL の全量フラスコを用いる場合は、予め水約 20 mL と硝酸 1 mL を全量フラスコに入れておき、そこに各標準液を上記の濃度になるように添加し、水を標線まで加える。

(ウ) 操作

試料を前処理法(1)に従い処理し(注10)、JIS K 0116 の 7.3 (ICP 発光分析)に従って、プラズマ中に噴霧し(注11)、各元素の波長(Mn:257.610 nm、Cu 324.754 nm、Zn 213.856 nm、Be 313.042 nm、B 249.773 nm(注12)、Pb 220.351 nm、Cd 214.438 nm、Ni 221.647 nm、Mo 202.030 nm、V 309.311 nm)の発光強度を測定する(注13、注14、注15)。

(エ) 空試験

試料と同量の精製水を用いて、試料と同様に前処理、測定を行い、試料について得られた発光強度を補正する。

(オ) 検量線

混合標準液 0.1 ~ 20 mL を全量フラスコ 100 mL に段階的にとる。(3)(ウ)の操作を行った試料と同じ酸の濃度になるように酸を加えた後、水を標線まで加える。この溶液について(3)(ウ)の操作を行う。別に空試験として水について検量線の作成に用いた標準液と同じ条件になるように酸を加えた後、(3)(ウ)の操作を行って、標準液について得た発光強度を補正し、各元素の量と発光強度との関係線を作成する。検量線の作成は、試料測定時に行う。

(カ) 同定・定量

検量線から各元素の量を求め、試料中の各元素の濃度を算出する。なお、底質の試料量は乾燥試料量とする。

(4) ICP 質量分析法を用いた多元素同時分析法

本法は、試料中の元素を高周波誘導結合プラズマでイオン化した後、質量分析計に導入し、各被測定元素の測定質量でイオンカウント値を測定して、試料中の被測定元素を定量する方法である。ICP 質量分析法の特徴としては、他の一般的な元素分析法と比較し、検出下限値が 100 ~ 1,000 倍低い、スペクトルが単純で定性分析、半定量分析が容易、同位体の測定が可能、他元素同時測定が可能、等が挙げられる。

以下に、ウラン、マンガン等の元素を含む多元素同時分析法を示す。

(ア) 概要

試料を前処理した後、内標準物質を加え、試料導入部を通して誘導結合プラズマ中に噴霧し、元素と内標準物質のそれぞれの質量/荷電数におけるイオンの電流を測定し、元素イオンの電流と内標準物質のイオンの電流との比を求め定量する。

(イ) 標準液の調製

混合標準液 [1 µg 各元素 /mL]: ウラン、マンガン及び他の測定元素を含む市販混合標準液 (注 16) から、あるいはウランを含む市販混合標準液 (注 16) とマンガン標準液、他の測定元素の標準液から混合標準液を調整する。これらの標準液の適量 (0.1 mg/L の場合は 1 mL、10 µg/L の場合は 10 mL) をあらかじめ硝酸 (1 + 1) 3 mL を入れた全量フラスコ 100 mL にとり、水を標線まで加える。使用時に調製する。

(ウ) 操作

試料を前処理法 (1) に従い処理し、試料中の被測定元素の濃度が 0.5 µg/L 以下となるように水で希釈する。また試料中のナトリウム、カリウム、マグネシウム、カルシウムなどの濃度が高い場合には、試料中の全塩濃度が 0.1% 以下になるよう純水で希釈した後定量操作を行う。この試料をプラズマトーチ中に噴霧し、各元素の質量数 (m/z) (U : 238、Mn : 55、他の測定元素の質量数の例 Cd : 111、114、Pb : 206、207、208、Cu : 63、65、Zn : 64、66、Ni : 58、60、Be : 9 等) におけるイオンカウント値を測定する (注 17、注 18、注 19、注 20)。

(エ) 空試験

試料と同量の精製水を用いて、試料と同様に前処理、測定を行い、試料について得られたイオンカウント値を補正する。

(オ) 検量線

混合標準液 1 µg 各元素 /mL 0.05 ~ 5 mL を別の全量フラスコ 100 mL に段階的にとる。(4)(ウ) の試料と同じ酸の濃度になるように酸を加えた後、水を標線まで加える。この溶液について (4)(ウ) の操作を行う。別に空試験として水について検量線の作成に用いた標準液と同じ酸の濃度になるように酸を加えた後、(4)(ウ) の操作を行って、標準液について得たイオンカウント値を補正し、各元素の量とイオンカウント値との関係線を作成し検量線を作成する。検量線の作成は、試料測定時に行う。

(カ) 同定・定量

検量線から各元素の量を求め、試料中の試料中の各元素の濃度を算出する。なお、底質の試料量は乾燥試料量とする。

7 分析精度管理

本調査マニュアルの「 . 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。

8 注意事項

- (注1) ICP 発光分析法に先だって溶媒抽出を適用する場合の前処理は、原則として各項目のとおりとし、妨害する可能性のある有機物その他の妨害物質を十分に分解する。ICP 質量分析法の場合は、酸の種類と濃度によって空試験値が無視できないことがあるので、測定する元素についてあらかじめ酸の種類と濃度の影響について調べておく。
- (注2) ICP 発光分析法の場合、硫酸酸性では試料導入量が少なく感度が悪くなることもあるため、(d)の適用はやむを得ない場合のみとする。
- (注3) 試料の量が 20 mL 程度になると蒸発速度が急激に速くなる。別のビーカーに水 20 mL を入れたものを量の目安として使用してもよい。
- (注4) キレート樹脂分離装置の洗浄は下記のように行う。約 500 mL の 0.2 M シュウ酸をすべての溶離液・溶液の容器に入れ、試料ポンプ P4 を用いて流速 3-5 mL/min で 0.2 M シュウ酸をサンプルループに満たす。キレート樹脂分離装置を ICP-MS 装置からはずし、表 3 のポンププログラムシーケンスを用いて、シュウ酸ですべての経路を洗い流す。洗い流しの操作は 3 回繰り返す。この一連の洗い流しの操作を 1.25M 硝酸、水で 3 回ずつ行った後、溶離液・溶液の容器を水で完全に濯ぐ。溶離液・溶液の容器を図 1 に示された溶液で満たし、ポンプ及びすべての配管を使用する溶液で満たすために、表 3 のシーケンスで 1 回稼動する。
- (注5) 分解条件は機種や試料の採取量により異なる。
- (注6) 液がまだ茶褐色を呈していたら、再び分解を継続する。
- (注7) 吸光度またはその比例値
- (注8) 乾燥、灰化、原子化の条件は装置によって異なる。試料の注入量及び共存する塩類の濃度によっても変わることがある。
- (注9) 引き続いて少なくとも(c)の操作を 3 回繰り返す、指示値が合うことを確認する。
- (注10) 前処理を行なった試料のナトリウム、カリウム、マグネシウムなどの濃度が高く、

測定対象とする元素の濃度が低い場合には、「(1)前処理(ア)水質試料」の海水の前処理法により試料の前処理を行う。

(注11) 前処理を行った試料のナトリウム、カリウム、カルシウムやマグネシウムなどの濃度の総量が約1 mg/Lを超えることが無い場合は、超音波ネブライザーを使用することができる。その場合、ホウ素はメモリー効果により測定できない。また(注13)に記載する内標準法を用いることが望ましい。

(注12) ホウ酸はろ過のみで測定可能な試料について、多元素分析が適用できる。

(注13) 波長の異なる2本以上のスペクトル線の同時またはシーケンシャル測定が可能な装置では、内標準法によることができる。内標準法を用いるときは、前処理した試料の適量を全量フラスコ100 mLにとり、イットリウム溶液(50 µg Y/mL) [酸化イットリウム()0.318 g をとり高純度試薬硝酸5 mLを加え加熱して溶かし、窒素酸化物を追い出し、冷却後、全量フラスコ250 mLに移し入れ、水を標線まで加える。この溶液10 mLを全量フラスコ200 mLにとり、水を標線まで加える。]10 mLを加え、(3)(ウ)の試料と同じ条件になるように酸を加えた後、水を標線まで加える。この溶液について(3)(ウ)の噴霧操作を行って各元素の波長と同時または逐次に371.029 nm(イットリウム)の発光強度を測定し、各元素とイットリウムの発光強度の比を求める。

別に混合標準原液 [(10 µg B、10 µg Be、20 µg Mo、10 µg V)/mL]0.1~20 mLを全量フラスコ100 mLに段階的にとる。同じように混合標準原液 [(5 µg Cd、20 µg Ni、50 µg Pb、20 µg Zn、20 µg Cu)/mL]0.1~20 mLを各々別の全量フラスコ100 mLに段階的にとる。イットリウム溶液(50 µg Y/mL)10 mLをそれぞれ加えた後、水を標線まで加える。この溶液について(3)(ウ)の噴霧操作を行って各元素の波長と同時または逐次に371.029 nmの発光強度を測定し、各元素の濃度に対する各元素とイットリウムとの発光強度比の関係線を作成し、検量線とする。この検量線から、試料について得た発光強度比に相当する各元素の量を求め、試料中の各元素の濃度を算出する。

(注14) 塩濃度が高いため、検量線法が適用できない試料の場合には、JIS K 0116の5.8.3(2)に規定する標準添加法を用いるとよい。ただし、この場合は試料の種類によらずバックグラウンド補正を行う必要がある。

(注15) 高次のスペクトル線が使用可能な装置では、高次のスペクトル線を用いて測定し

てもよい。また、精度、正確さを確認してあれば、他の波長を用いてもよい。

(注 16) 米国スペックス社製混合標準用液、関東化学混合標準液 (EM サイエンス社製) などがある (備考 1)。

(注 17) 亜鉛、銅の測定には硝酸と硫酸による前処理を行わない。

(注 18) 内標準法を用いる。前処理した試料の適量を全量フラスコ 100 mL にとり、イットリウム溶液 (5 $\mu\text{g Y/mL}$) [(注 13) のイットリウム溶液 (50 $\mu\text{g Y/mL}$) 100 mL を全量フラスコ 1,000 mL にとり硝酸 (1+1) を 3 mL を加え水を標線まで加える] 1 mL を加え、(4)(ウ) の試料と同じ条件になるように硝酸を加えた後、水を標線まで加える。この溶液について (4)(ウ) の噴霧操作を行って各元素の質量数 (m/z) (Cd : 111、114、Pb : 206、207、208、Cu : 63、65、Zn : 64、66、Mn : 55、Ni : 58、60、Be : 9) と同時に 89 (イットリウム) のイオンカウント値を測定し、各元素とイットリウムのイオンカウント値の比を求める。別に混合標準液 [(2 $\mu\text{g Cd}$ 、1 $\mu\text{g Pb}$ 、1 $\mu\text{g Cu}$ 、1 $\mu\text{g Zn}$ 、1 $\mu\text{g Mn}$ 、1 $\mu\text{g Ni}$ 、1 $\mu\text{g Be}$) /mL] 0.05 ~ 5 mL を全量フラスコ 100 mL に段階的にとる。イットリウム溶液 (5 $\mu\text{g Y/mL}$) 1 mL をそれぞれ加えた後、水を標線まで加える。この溶液について (4)(ウ) の噴霧操作を行って各元素の質量数 (m/z) (Cd : 111、114、Pb : 206、207、208、Cu : 63、65、Zn : 64、66、Mn : 55、Ni : 58、60、Be : 9) と同時に 89 (イットリウム) のイオンカウント値を測定し、各元素の濃度に対する各元素とイットリウムとのイオンカウント値比の関係線を作成し、検量線とする。この検量線から、試料について得たイオンカウント値比に相当する各元素の量を求め、試料中の各元素の濃度 (mg/L) を算出する。

内部標準元素としてはイットリウムを用いるが、マトリックスによる減感が広い質量範囲で生じる恐れがある場合には、被測定元素に最適な内部標準元素を追加して、複数の内部標準元素を用いる必要がある。たとえば、鉛、ウランなど質量数の大きい元素の分析値が重要である場合には、内部標準元素としてイットリウムではなくタリウムやビスマスを用いる。

(注 19) 試料中のマトリックスの影響が大きく検量線法が適用できない場合には、JIS K 0133 に規定する標準添加法を用いるとよい。

(注 20) 複数の質量数 (m/z) を用いて測定を行うことにより、その同位体比から分子イオンによる妨害を確認することができる。試料の希釈によっても分子イオンによ

る影響を無視できない場合には、適当な分離法を用いて妨害となるマトリックスを除去した後、測定を行う必要がある。

(備考 1) ここに示す商品は、このマニュアル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。

9 参考

原子スペクトル分析に関しては、「原子吸光分析通則 (JIS K 0121: 1993)」と「発光分光分析通則 (JIS K 0116: 1995)」が定められている。

また、誘導結合プラズマ質量分析法 (ICP 質量分析法) については、ICP 質量分析法が広く一般に普及するようになってきたことから、1998 年 4 月に改正された「工業用水試験方法 (JIS K 0101: 1998)」、¹⁾「工業排水試験法 (JIS K 0102: 1998)」に、銅、亜鉛、鉛、マンガ、ン、クロムの分析法として ICP 質量分析法が新たに採用された。また、今般、2000 年 7 月に「高周波プラズマ質量分析通則 (JIS K 0133: 2000)」が規定された。詳細については、これらの通則を参考にして頂きたい。

．三価クロムの分析法

1 対象物質

クロム（ ）

2 目標検出下限値及び定量下限値

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 ($\mu\text{g/L}$)		底 質 (mg/kg)		生 物 (mg/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
クロム ()	1	5	0.1	0.5	0.01	0.05
総クロム	1	5	0.1	0.5	0.01	0.05

3 分析法の概要

表 2 のいずれかの方法によりクロム（ ）と総クロムの測定を行い、両者の差をクロム（ ）とする。

表 2 分析法の一覧表

	測 定 法
クロム ()	吸光光度法 フレーム原子吸光法 電気加熱原子吸光法
総クロム	ICP 発光分析法 ICP 質量分析法

- ・ジフェニルカルバジドとクロム（ ）との反応により生じる 1,5-ジフェニルカルバゾンの吸光度を測定する。
- ・フレーム原子吸光法：試料を前処理した後、空気 - アセチレンフレームにより原子化し、クロムによる原子吸光を測定して定量する。
- ・電気加熱原子吸光法：試料を前処理した後、電気加熱炉で原子化しクロムによる原子吸光を測定して定量する。
- ・ICP 発光分析法：試料を前処理した後、試料導入部を通して誘導結合プラズマ中に噴霧し、クロムによる発光を測定して定量する。
- ・ICP 質量分析法：試料を前処理した後、内標準物質を加え、試料導入部を通して誘導結合プラズマ中に噴霧し、各元素と内標準物質のそれぞれの質量 / 荷電数におけるイ

オンの電流を測定し、クロムイオンの電流と内標準物質のイオンの電流との比を求めて定量する。

4 試薬、器具及び装置

(1) 試薬

- ・エタノール (95)
- ・ジフェニルカルバジド溶液 (10 g/L)
- ・過マンガン酸カリウム溶液 (3 g/L)
- ・亜硝酸ナトリウム溶液 (20 g/L)
- ・尿素溶液 (200 g/L)
- ・クロム () 標準液 (2 µg Cr()/mL)
- ・クロム標準液 (10 µg Cr/mL)
- ・水：定量する元素について空試験を行なって使用に支障のないことを確認しておく。
- ・硝酸：有害金属測定用又は同等品
- ・塩酸：有害金属測定用又は同等品
- ・硫酸：有害金属測定用又は同等品
- ・フッ化水素酸：有害金属測定用又は同等品
- ・アンモニア水：有害金属測定用又は同等品
- ・炭酸ナトリウム
- ・硝酸ナトリウム
- ・過酸化ナトリウム
- ・トリオクチルアミン - 酢酸ブチル溶液 (30 g/L)
- ・ジフェニルカルバジド (10 g/L)
- ・硫酸アンモニウム鉄 () 溶液 (50 g/L)

(2) 器具及び装置

分光光度計または分電光度計

フレイム原子吸光法

- ・フレイム原子吸光分析装置：空気 - アセチレンフレイム方式でバックグラウンド補正が可能なもの

- ・クロム中空陰極ランプ

電気加熱原子吸光法

- ・電気加熱原子吸光分析装置：電気加熱炉方式でバックグラウンド補正が可能なもの
- ・クロム中空陰極ランプ
- ・プッシュボタン式液体用微量体積計または自動注入装置

ICP発光分析法

- ・同時多元素分析型 ICP 発光分析装置またはシーケンシャル型 ICP 発光分析装置：バックグラウンド補正が可能なもの

ICP質量分析法

- ・ICP 質量分析計

5 試料の採取・運搬

(1) 水質試料

水質試料は、予め水洗、硝酸(1+10)または塩酸(1+5)による酸洗浄を行い、精製水で濯いだポリエチレン、ポリカーボネートなどの合成樹脂製容器を用い、氷冷・遮光して、実験室へ持ち帰る。分析操作は可能な限り速やかに行う。クロム()測定用試料の保存は望ましくない。

(2) 底質試料

底質試料は、エクマンバージ型採泥器等によって表層泥(0~10 cm)を採取し、目視でできる夾雑物を除いて、硬質プラスチック製広口試薬瓶、ポリエチレン製袋または箱等に入れ、氷冷・遮光状態で実験室へ持ち帰る。この試料は、孔径2 mm目の篩に通した後、20分間の遠心分離(3,000 rpm)で間隙水を除き、均質に混合したものをできる限り速やかに分析に供する。クロム()測定用試料の保存は望ましくない。

(3) 生物試料

採捕した生物試料は、ポリエチレン製袋に入れ、氷またはドライアイスで保冷したクーラーボックスに収納して、実験室に持ち帰る。生物試料の分析部位は、原則として筋肉組織(可食部)である。できる限り速やかに分析に供する。クロム()測定用試料の保存は望ましくない。

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「 . 試料の採取、運搬、調製にかかわる一般事項」に従う。

6 試験操作及び同定、定量

(1) 前処理

(ア) 水質試料

クロム() 定量のための前処理は特に必要としない。なお、溶存状態の成分のみを分析する場合には、採水直後にろ紙(たとえば5種C)、メンブランフィルターなどでろ過し、最初の約50 mLを捨て、その後のろ液を試料として分析する。

総クロム定量のためには、共存物質により妨害を除去するための前処理方法として、工場排水試験公定法に記載されている方法を用いる。これらは共存する無機、有機物質の分解が目的であり、元素によらずほぼ共通の方法である。検水の性状によって4つの方法があげられているが、総クロムの分析のための前処理としては過塩素酸を用いた方法はクロムの揮散を招くおそれがあるので、以下の3つの方法の中から選択する。なお、溶存状態の成分のみを分析する場合には、採水直後にろ紙(たとえば5種C)、メンブランフィルターなどでろ過し、最初の約50 mLを捨て、その後のろ液を試料として分析する。

(a) 塩酸または硝酸酸性で煮沸

有機物や懸濁物質がきわめて少ない試料に適用する。

試料100 mLにつき塩酸5 mLまたは硝酸5 mLの割合で加える。

加熱して約10分間沸騰させる。

放冷後、必要に応じて蒸留水で一定量にする。

(b) 塩酸または硝酸による分解

有機物が少なく、懸濁物質として水酸化物、酸化物、硫化物、リン酸塩などを含む試料に適用する。

試料をよく振り混ぜた後、直ちに分取し、試料100 mLにつき塩酸5 mLまたは硝酸5 mLの割合で加える。

加熱して液量が約15 mLになるまで濃縮する。

不溶解物が残った場合はろ過し、蒸留水でよく洗浄する。

ろ液と洗液を合わせて一定量にする。

(c)硝酸と硫酸による分解

この方法は多種類の試料の前処理として適用できる。

試料をよく振り混ぜた後、適量をビーカー等にとり、硝酸 5～10 mL を加える。

ホットプレート上で加熱濃縮し、液量が 10 mL 程度になったら放冷し、硝酸 5 mL と硫酸 (1+1) 10 mL を加える。

硫酸の白煙を生ずるまで加熱を続ける。

有機物の分解が完全に終了するまで、を繰り返し行う。

放冷後、蒸留水を加え、不溶解物が残った場合はろ過後よく洗浄し、ろ液と洗液を合わせて一定量とする。

試料に含まれている有機物及び懸濁物の量、その存在状態及び適用しようとする分析法を考慮して上記(a)～(c)のうち最も適当なものを選択して前処理を行う(注1)。調製した試料をそのまま噴霧する ICP 発光分析法を適用する場合には、特に断らない限り試料は塩酸または硝酸酸性(注2)、電気加熱原子吸光法及び ICP 質量分析法を適用する場合には硝酸酸性とし、適当な濃度に調節する。

(イ) 底質試料

(a) クロム () 分析用前処理

乾燥固形分と水の重量体積比が 3/100 になり、かつ、混合液量が 500 mL 以上になるように、5 (2) の試料を取り、水を加えて混合液を調製し、室温において 4 時間連続して振り混ぜる。

30 分放置した後、ろ紙 5 種 B を用いてろ過し、これを試験溶液とする。

(b) 総クロム分析用前処理

炭酸ナトリウム融解

(i) 乾燥底質試料をめのう製乳鉢を用いて細かくすりつぶし、その 10 g を 10 mg の桁まで磁器製のろつぼにはかり取り、電気炉で徐々に温度を上げ 550 で 2 時

間灰化する。

- (ii) るつぼの内容物を白金るつぼ(内容量 20~30 mL)に移し入れ、硫酸(1+2)数滴とフッ化水素酸 20 mL を加え、ドラフト内において熱板上で硫酸白煙が発生するまで加熱する。
- (iii) 放冷後、フッ化水素酸 5 mL を加え、硫酸白煙の発生がほとんどなくなるまで加熱する。
- (iv) 白金るつぼに炭酸ナトリウム 5 g 及び硝酸ナトリウム 0.3 g を加えよく混合し、ふたをした後、直火で徐々に温度を上げ、約 900 °C で時々るつぼをゆり動かし、内容物をよく混ぜ合わせ、約 20 分間加熱融解する。
- (v) 放冷後、白金るつぼに温水を加え融解物をビーカー 200 mL に移し入れ、ビーカーを水浴上で加熱してクロム酸塩を浸出する。これをろ紙 5 種 B を用いてろ過し、ろ紙上の沈殿物を温水で洗浄する。
- (vi) ろ液と洗液を合わせ、硫酸(1+2)を加えて中和する。これを蒸発し、冷却後、全量フラスコ 100 mL に移し入れ、水を標線まで加え、これを試験溶液とする。
- (vii) 別に分析試料を入れない白金るつぼ等を用いて(ii)~(vi)の操作を行い空試験液とする。

過酸化ナトリウム融解

- (i) 乾燥底質試料をめのう製乳鉢を用いて細かくすりつぶし、その 0.5 g をニッケル製のるつぼに入れ、電気炉で徐々に温度を上げ 550 °C で 2 時間灰化する。
- (ii) 放冷後、過酸化ナトリウム約 5 g を入れて混合し、さらに少量の過酸化ナトリウムで表面をおおい、バーナー直火で初めは徐々に加熱し、内容物が融解状となってから温度を高め、約 3 分間赤熱状として融解後放冷する。
- (iii) るつぼを 50 mL の水を入れたビーカー 300 mL に入れる。温水 50 mL を注意しながら少しずつ加え、加熱してるつぼの内容物を浸出する。
- (iv) るつぼを水で洗って取り出す。浸出液をかき混ぜながら過酸化ナトリウムを少量ずつ加えて加熱煮沸して、クロムを完全にクロム(VI)まで酸化するとともに、過剰の過酸化ナトリウムを分解する。
- (v) 室温まで冷却後、全量フラスコ 250 mL に沈殿物ごと移し入れ、水を標線まで加えてよく振り混ぜた後静置する。

- (vi) 上澄み液をろ紙 5 種 B でろ過し、初めのろ液 10 mL は捨て、次のろ液を試験溶液とする。
- (vii) 別に試料を入れないニッケルろつぼ等を用いて(ii)～(vi)の操作を行い、空試験液とする。

溶媒抽出

- (i) 試験溶液の適量 (Cr として 0.01～0.1 mg を含む) をビーカー 100 mL にとり、硫酸(1+2) 2 mL を加え数分間煮沸した後、過マンガン酸カリウム溶液(30 g/L) を液の色が赤紫色になるまで滴下し、更に 2～3 滴を加えた後数分間煮沸してクロムを完全に酸化する。加熱中に液の赤紫色が消えそうになったら過マンガン酸カリウム溶液を滴下し、つねに液の色を赤紫色に保っておく。
- (ii) 室温まで冷却した後、分液ロート 200 mL に移し、水を加えて 100 mL とする。
- (iii) 分液ロートにトリオクチルアミン - 酢酸ブチル溶液(30 g/L) 10 mL を加えて 10 分間振り混ぜる。
- (iv) 酢酸ブチル層を乾燥ろ紙でろ過するなどして水分を取り除き、試験液とする。

(ウ) 生物試料

(a) クロム() 分析用前処理

試料 20 g を遠心管にとり、水 10 mL を加え、3 分間ホモジナイズする。

3,000rpm で 10 分間遠心分離し、液相をろ紙 5 種 B を用いてろ過し、これを試験溶液とする。

(b) 総クロム分析用前処理

試料約 0.1 g (注 3) を密閉式のテフロン容器に 1 mg の桁まではかりとる。

硝酸 3 mL、水 3 mL を加え、密閉して加熱容器に入れ、加圧分解する。

分解液を 100 mL のテフロンビーカーに移し入れ、容器及びふたを少量の水で洗い、この洗液もビーカーに入れる。これを蒸発乾固させた後、1%硝酸で定容する。

(2) 吸光光度法

(ア) クロム() の吸光光度法分析

試験溶液中のクロム()とジフェニルカルバジドとの反応により生じる赤紫色の錯体 1,5-ジフェニルカルバゾンの吸光度を測定する。

定量範囲：2~50 µg Cr (VI)

クロム()測定用試験溶液の適量 (Cr(VI)として 2~50 µg を含む) を 2 個のビーカー(A)、(B)にとり、試料が酸性の場合には、水酸化ナトリウム溶液 (40 g/L) で、また、アルカリ性のときは硫酸 (1+35) で中和する。

ビーカー(A)の溶液は全量フラスコ 50 mL (A) に移し入れ、硫酸 (1+9) 2.5 mL を加える。

ビーカー(B)の溶液に硫酸 (1+9) 2.5 mL を加え、次にエタノール (95) を少量加え、煮沸してクロム()をクロム()に還元し、過剰のエタノールを追い出す。放冷後、全量フラスコ(B)に移し入れる。

全量フラスコ(A)、(B)を約 15 に保ち、それぞれにジフェニルカルバジド溶液 (10 g/L) 1 mL ずつを加え、直ちに振り混ぜ、水を標線まで加え、約 5 分間放置する。

全量フラスコ(A)の一部を吸収セルに移し、全量フラスコ(B)の溶液を対照液として波長 540 nm 付近の吸光度を測定する。

クロム()標準液 (2 µg Cr(VI)/mL) 1~25 mL を段階的にとり、 ~ の操作における全量フラスコ (A) に対するのと同じ操作を行う。この溶液の一部を吸収セルにとり、水約 30 mL について、 ~ の操作における全量フラスコ (B) に対するのと同じ操作を行った溶液を対照液とし、波長 540 nm 付近の吸光度を測定し、検量線を作製する。

検量線からクロム()の量を求め、試料中のクロム()濃度を算出する。

(イ) 総クロムの吸光度法分析

試験溶液中のクロム()を過マンガン酸カリウムで酸化してクロム()とした後、ジフェニルカルバジドを加え、生成する赤紫の錯体 1,5-ジフェニルカルバゾンの吸光度を測定する。

定量範囲：2~50 µg Cr (VI)

6 (1)(ア) (a)~(c)の前処理を行った水試料、あるいは 6 (1)(イ) (b) あるいは ~ の前処理を行った底質試料、あるいは 6 (1)(イ) (b)の前処理を行った生物試料の適量 (Cr として 2~50 µg を含む) をビーカーにとり、硫酸 (1+9) 3 mL を加

え、加熱して硫酸の白煙を軽く生じさせる。放冷後、水約 30 mL を加え、残留物を加熱して溶かす。

溶液を静かに加熱し、過マンガン酸カリウム溶液 (3 g/L) を 1 滴ずつ加え、着色させる。引き続き加熱し、溶液の赤い色が消えそうになったら、さらに過マンガン酸カリウム溶液 (3 g/L) を滴下し、常に赤い色を保つようにして数分間煮沸を続ける。流水で冷却し、尿素溶液 (200 g/L) 10 mL を加え、激しくかき混ぜながら亜硝酸ナトリウム溶液 (20 g/L) 1 mL を 1 滴ずつ加えて溶液の赤い色を消し、過剰の過マンガン酸及び酸化マンガン () を分解する。

全量フラスコ 50 mL に移し入れ、液温を約 15 °C に保ち、ジフェニルカルバジド溶液 (10 g/L) 1 mL を加え、直ちに振り混ぜる。水を標線まで加えて振り混ぜ、約 5 分間放置する。

溶液の一部を吸収セルに移し、波長 540 nm 付近の吸光度を測定する。

空試験として空試験溶液あるいは水約 30 mL をとり、硫酸 (1+9) 3 mL を加えた後、

及び の操作を行って吸光度を測定し、試料について得た吸光度を補正する。

クロム標準液 (2 µg Cr/mL) 1 ~ 25 mL を段階的にビーカーにとり、それぞれに硫酸 (1+9) 3 mL を加え、水を加えて液量を約 30 mL とした後、 ~ の操作を行ってクロムの量と吸光度の検量線を作成する

検量線からクロムの量を求め、試験溶液中の総クロム濃度を算出する。

(3) フレーム原子吸光分析法

(ア) クロム () のフレーム原子吸光分析法

試験溶液中のクロム () を水酸化クロムとして沈殿・ろ別し、ろ液をアセチレン - 空気フレームなどのフレーム中に噴霧し、クロム () による原子吸光を波長 357.9 nm で測定する (注 4)。

定量範囲 : 0.2 ~ 5 mg/L

500 mL 以下の水試料、あるいは 6 (1)(イ)(a)により前処理した底質試料、あるいは 6 (1)(ウ)(a)により前処理した生物試料をとって、硫酸アンモニウム鉄 () 溶液 (硫酸アンモニウム鉄 () · 12 水 5 g を硫酸 (1+1) 1 mL に溶かし、水で 100 mL にする) 1 mL を加えてかき混ぜる。

アンモニア水 (1+4) を加えて微アルカリ性とした後、アンモニア臭がほとんどな

くなるまで静かに煮沸する。

沸騰近くの温度に保って沈殿を熟成させた後、ろ紙 5 種 A でろ過し、温硝酸アンモニウム溶液 (10 g/L) で洗浄する。ろ液と洗液をあわせ、塩酸または硝酸を加えて 0.1 ~ 1 mol/L の酸性溶液とする。

クロム標準液 (10 mg/L) 2 ~ 50 mL を段階的に全量フラスコ 100 mL にとり、硝酸または塩酸を適量加えて、水を標線まで加えて標準液とする (0.1 ~ 1 mol/L、 の試料溶液と同じ濃度)。

アセチレン - 空気フレームなどに を噴霧して検量線を作製し、 の試料のクロム量を測定する。

(イ) 総クロムのフレーム原子吸光分析

試料を前処理した後、アセチレン - 空気フレームなどの中に噴霧し、クロムによる原子吸光を波長 357.9 nm で測定して総クロムを定量する。

6 (1)(ア)(a) ~ (c) の前処理を行った水試料あるいは 6 (1)(イ)(b) あるいは および の前処理を行った底質試料、あるいは 6 (1)(ウ)(b) の前処理を行った生物試料を、アセチレン - 空気フレームなどに噴霧して波長 357.9 nm における原子吸光を測定する。

クロム標準液 (10 mg/L) 2 ~ 50 mL を段階的に全量フラスコ 100 mL にとり、硝酸または塩酸を適量加えて、水を標線まで加えて標準液とし (0.1 ~ 1 mol/L、 の試料溶液と同じ濃度) と同様に波長 357.9 nm における原子吸光を測定して検量線を作製する。なお 6 (1)(イ)(b) によって溶媒抽出を行った試料の検量線は、上記標準液を 6 (1)(イ)(b) によって前処理したものを用いて作製する。

空試験として試料と同量の水に 6 (1)(ア)(a) ~ (c) の前処理を行ったものを用いる。

検量線から試料中の総クロム量を算出する。

(4) 電気加熱原子吸光法

電気加熱炉で原子化し、クロムによる原子吸光を波長 357.9 nm で測定して、クロムを定量する。この方法は共存する酸や塩の種類及び濃度の影響を受けやすいので、これらの影響の少ない試料、またはこれらを前処理で分離した試料に適用する。

定量範囲：5～100 µg/L

(ア) クロム()の電気加熱原子吸光分析

6(3)(ア)～によって前処理した試料溶液の一部を、JIS K0121(原子吸光分析のための通則)の操作方法に従い、プッシュボタン式液体用微量体積計または自動注入装置を用いて電気加熱炉に導入し、乾燥(100～120、30～40秒間)、灰化(500～600、30～40秒間)、原子化(2,400～2,900、5～10秒間)を行い、波長357.9 nmの指示値を読む。(注5)(注6)

試料と同量の水を用いて、試料と同様に前処理、測定を行い、試料について得られた指示値を補正する。

クロム標準液(1 µg Cr(VI)/mL)0.5～10 mLを全量フラスコ100 mLに段階的にとり試料と同じ酸の濃度になるように酸を加えた後、水を標線まで加える。この溶液について の測定操作を行って標準液について得た指示値を補正し、クロムの量と指示値との関係線を作成する。検量線の作成は試料測定時に行う。

検量線からクロムの量を求め、試料中のクロム()の濃度を算出する。なお、底質の試料量は乾燥試料量とする。

(イ) 総クロムの電気加熱原子吸光分析

6(1)(ア)(a)～(c)の前処理法に従い処理した水試料、あるいは6(1)(イ)(b)あるいは の前処理を行った底質試料(注7)、あるいは6(1)(ウ)(b)の前処理を行った生物試料の一定量を、JIS K0121(原子吸光分析のための通則)の操作方法に従い、プッシュボタン式液体用微量体積計または自動注入装置を用いて電気加熱炉に導入し、乾燥(100～120、30～40秒間)、灰化(500～600、30～40秒間)、原子化(2,400～2,900、5～10秒間)を行い、波長357.9 nmの指示値を読む。(注5)(注6)

試料と同量の水を用いて、試料と同様に前処理、測定を行い、試料について得られた指示値を補正する。

クロム標準液(1 µg Cr/mL)0.5～10 mLを全量フラスコ100 mLに段階的にとり試料と同じ酸の濃度になるように酸を加えた後、水を標線まで加える。この溶液について の測定操作を行って標準液について得た指示値を補正し、クロムの量と指示値との関係線を作成する。検量線の作成は試料測定時に行う。

検量線からクロムの量を求め、試料中のクロムの濃度を算出する。なお、底質の試料量は乾燥試料量とする。

(5) ICP 発光分光分析法

通常使用する装置は、マルチチャンネル型の分光器を使用した ICP 発光分析装置による同時多元素分析法とモノクロメータをコンピュータで制御した ICP 発光分析装置によるシーケンシャル分析法の 2 種類がある。試料を前処理した後、試料導入部を通して誘導結合プラズマ中に噴霧し、元素による発光を定量する。

(ア) ICP 発光分光分析法によるクロム()の分析

6(3)(ア) ~ によって前処理した試料を、JIS K 0116 の 7.3 (ICP 発光分析) に従って、プラズマ中に噴霧し(注 8)、クロムの波長(359.349 nm)の発光強度を測定する。

試料と同量の水を用いて試料と同様に前処理をしたもの、あるいは空試験溶液の測定を行い、試料について得られた発光強度を補正する。

Cr 標準液(10 µg/mL) 0.1 ~ 20 mL を全量フラスコ 100 mL に段階的にとる。6(3)(ア) の操作を行った試料と同じ酸の濃度になるように酸を加えた後、水を標線まで加える。この溶液について の操作を行う。別に空試験として水について検量線の作成に用いた標準液と同じ条件になるように酸を加えた後、 の操作を行って、標準液について得た発光強度を補正し、クロムの量と発光強度との関係線を作成する。検量線の作成は、試料測定時に行う。

検量線からクロムの量を求め、試料中のクロム()の濃度を算出する。なお、底質の試料量は乾燥試料量とする。

(イ) ICP 発光分光分析法による総クロムの分析(注 9)

6(1)(ア)(a)~(c)の前処理法に従い処理した水試料、あるいは6(1)(イ)(b)あるいは の前処理を行った底質試料(注 10)、あるいは6(1)(ウ)(b)の前処理を行った生物試料を、JIS K 0116 の 7.3 (ICP 発光分析) に従って、プラズマ中に噴霧し(注 8)、クロムの波長(359.349 nm)の発光強度を測定する。

試料と同量の水を用いて試料と同様の前処理を行ったもの、あるいは空試験溶液の

測定を行い、試料について得られた発光強度を補正する。

Cr 標準液 (10 µg/mL) 0.1 ~ 20 mL を全量フラスコ 100 mL に段階的にとる。試料と同じ酸濃度になるよう酸を加えた後、水を標線まで加える (注 11)。この溶液について の操作を行う。別に空試験として水について検量線の作成に用いた標準液と同じ条件になるように酸を加えた後、 の操作を行って、標準液について得た発光強度を補正し、クロムの量と発光強度との関係線を作成する。検量線の作成は、試料測定時に行う。

検量線からクロムの量を求め、試料中の総クロム濃度を算出する。なお底質の試料量は乾燥試料量とする。

(6) ICP 質量分析法を用いた分析法

本法は、試料中の元素を高周波誘導結合プラズマでイオン化した後、質量分析計に導入し、被測定元素の測定質量でイオンカウント値を測定して、試料中の被測定元素を定量する方法である。ICP 質量分析法の特徴としては、他の一般的な元素分析法と比較し、検出下限値が 100 ~ 1,000 倍低い、スペクトルが単純で定性分析、半定量分析が容易、同位体の測定が可能、多元素同時測定が可能、等が挙げられる。試料を前処理した後、内標準物質を加え、試料導入部を通して誘導結合プラズマ中に噴霧し、元素と内標準物質のそれぞれの質量/荷電数におけるイオンの電流を測定し、元素イオンの電流と内標準物質のイオンの電流との比を求め定量する。

(ア) ICP 質量分析法によるクロム () の分析

6 (3)(ア) ~ によって前処理した試料を、JIS K 0133 に従って、プラズマ中に噴霧し、クロムの質量数 ($m/z=52$) (注 14) のイオンカウントを測定する (注 15)。試料と同量の水を用いて試料と同様に前処理をしたもの、あるいは空試験溶液の測定を行い、試料について得られたイオンカウントを補正する。

Cr 標準液 (1 µg/mL) 0.05 ~ 5 mL を全量フラスコ 100 mL に段階的にとる。6 (3) (ア) の操作を行った試料と同じ酸の濃度になるように酸を加えた後、水を標線まで加える。この溶液について の操作を行う。別に空試験として水について検量線の作成に用いた標準液と同じ条件になるように酸を加えた後、 の操作を行って、標準液について得たイオンカウントを補正し、クロムの量とイオンカウントとの関

係線を作成する。検量線の作成は、試料測定時に行う。

検量線からクロムの量を求め、試料中のクロム()の濃度を算出する。なお、底質の試料量は乾燥試料量とする。

(イ) ICP 質量分析法による総クロムの分析

6(1)(ア)(a)~(c)の前処理法に従い処理した水試料、あるいは6(1)(イ)(b)あるいは の前処理を行った底質試料(注16)(注17)(注18) あるいは6(1)(ウ)(b)の前処理を行った生物試料を、JIS K 0133 に従って、プラズマ中に噴霧し、クロムの質量数 ($m/z=52$)(注14) のイオンカウントを測定する。(注15)

試料と同量の水を用いて試料と同様の前処理を行ったもの、あるいは空試験溶液の測定を行い、試料について得られたイオンカウントを補正する。

Cr 標準液(1 $\mu\text{g/mL}$)0.05~5 mL を全量フラスコ 100 mL に段階的にとる。試料と同じ酸濃度になるよう酸を加えた後、水を標線まで加える(注11)。この溶液について の操作を行う。別に空試験として水について検量線の作成に用いた標準液と同じ条件になるように酸を加えた後、 の操作を行って、標準液について得たイオンカウントを補正し、クロムの量とイオンカウントとの関係線を作成する。検量線の作成は、試料測定時に行う。

検量線からクロムの量を求め、試料中の総クロム濃度を算出する。なお底質の試料量は乾燥試料量とする。

7 クロム()濃度の算出

6に挙げた方法の中から適切なものを選び、クロム()および総クロムを定量した後、(総クロム)-(クロム())〔単位:水質(mg/L)、底質(mg/kg 乾燥重量)、生物(mg/kg)〕によって算出する。

8 分析精度管理

本調査マニュアルの「 . 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。

9 注意事項

- (注1) ICP 発光分析法に先だって溶媒抽出を適用する場合の前処理は、原則として各項目のとおりとし、妨害する可能性のある有機物その他の妨害物質を十分に分解する。ICP 質量分析法の場合は、酸の種類と濃度によって空試験値が無視できないことがあるので、測定する元素についてあらかじめ酸の種類と濃度の影響について調べておく。
- (注2) ICP 発光分析法の場合、硫酸酸性では試料導入量が少なく感度が悪くなることもあるため、(c)の適用はやむを得ない場合のみとする。
- (注3) 分解条件は機種や試料の採取量により異なる。
- (注4) この沈殿分離法が適用できるのは比較的単純な組成を持つ試料のみである。
- (注5) 乾燥、灰化、原子化の条件は装置によって異なる。試料の注入量及び共存する塩類の濃度によっても変わることがある。
- (注6) 引き続いて少なくとも(c)の操作を3回繰り返す、指示値が合うことを確認する。
- (注7) アルカリ融解を行った試料溶液にはナトリウムなどが高濃度で含まれるので、なるべく希釈して電気加熱炉に注入する。
- (注8) 前処理を行った試料のナトリウム、カリウム、カルシウムやマグネシウムなどの濃度の総量が約 1 mg/L を超えることが無い場合は、超音波ネブライザーを使用することができる。また(注12)に記載する内標準法を用いることが望ましい。
- (注9) クロム以外の元素の同時(逐次)定量も可能である。その際は多元素混合標準液を用いる。
- (注10) アルカリ融解を行った試料溶液にはナトリウムなどが高濃度で含まれる。これが 0.1%以上になる場合は、6(1)(イ)(b)により溶媒抽出を行い、酢酸ブチル層を直接プラズマに導入する。その際標準液も同様に抽出したものをを用いる。
- (注11) アルカリ融解試料の場合、ナトリウム等共存元素の濃度が 0.1%未満であっても 300 µg/mL を超える場合は、標準液に試料と同じ元素を同じ濃度で共存させて、試料と標準液の分光学的・物理的特性を類似させる(マトリックスマッチング)か(注12)に記載する標準添加法あるいは(注13)に記載する内標準法を使用することが望ましい。
- (注12) 塩濃度が高いため、検量線法が適用できない試料の場合には、JIS K 0116 の 5.8.3(2)に規定する標準添加法をもちいる。ただし、この場合は試料の種類によらずバックグラウンド補正を行う必要がある。

(注 13) 波長の異なる 2 本以上のスペクトル線の同時またはシーケンシャル測定が可能な装置では、内標準法によることができる。内標準法を用いるときは、前処理した試料の適量を全量フラスコ 100 mL にとり、イットリウム溶液 (50 $\mu\text{g Y/mL}$) [酸化イットリウム()0.318 g をとり高純度試薬硝酸 5 mL を加え加熱して溶かし、窒素酸化物を追い出し、冷却後、全量フラスコ 250 mL に移し入れ、水を標線まで加える。この溶液 10 mL を全量フラスコ 200 mL にとり、水を標線まで加える。] 10 mL を加え、試料と同じ条件になるように酸を加えた後、水を標線まで加える。この溶液についてクロムの波長と同時または逐次に 371.029 nm(イットリウム)の発光強度を測定し、クロムとイットリウムの発光強度の比を求める。

別にクロム標準液 (10 $\mu\text{g/mL}$) 0.1 ~ 20 mL を各々別の全量フラスコ 100 mL に段階的にとる。イットリウム溶液 (50 $\mu\text{g Y/mL}$) 10 mL をそれぞれ加えた後、水を標線まで加える。この溶液についてクロムの波長と同時または逐次に 371.029 nm の発光強度を測定し、クロムとイットリウムとの発光強度比の関係線を作成し、検量線とする。この検量線から、試料について得た発光強度比に相当するクロムの量を求め、試料中のクロムの濃度を算出する。

(注 14) 試料に含まれる炭素からの干渉がある場合には質量数 53 を使用する。

(注 15) 複数の質量数 (m/z) を用いて測定を行うことにより、その同位体比から分子イオンによる妨害を確認することができる。試料の希釈によっても分子イオンによる影響を無視できない場合には、適当な分離法を用いて妨害となるマトリックスを除去した後、測定を行う必要がある。

(注 16) アルカリ融解を行った試料溶液にはナトリウムなどが高濃度で含まれるので、ナトリウム濃度が 500 $\mu\text{g/mL}$ 未満になるようになるべく希釈してプラズマに噴霧し、(注 16) 標準添加法あるいは(注 17) 内部標準法を併用して定量する。

(注 17) 試料中のマトリックスの影響が大きく検量線法が適用できない場合には、JIS K 0133 に規定する標準添加法を用いる。

(注 18) 前処理した試料の適量を全量フラスコ 100 mL にとり、イットリウム溶液 (5 $\mu\text{g Y/mL}$) [(注 13) のイットリウム溶液 (50 $\mu\text{g Y/mL}$) 100 mL を全量フラスコ 1,000 mL にとり硝酸 (1+1) を 3 mL を加え水を標線まで加える] 1 mL を加え、試料と同じ条件になるように硝酸を加えた後、水を標線まで加える。この溶液につい

てクロムの質量数 ($m/z = 52$ あるいは 53) と同時に 89 (イットリウム) のイオンカウント値を測定し、クロムとイットリウムのイオンカウント値の比を求める。別にクロム標準液 ($1 \mu\text{g/mL}$) $0.05 \sim 5 \text{ mL}$ を全量フラスコ 100 mL に段階的にとる。イットリウム溶液 ($5 \mu\text{g Y/mL}$) 1 mL をそれぞれ加えた後、水を標線まで加える。この溶液についてクロムの質量数 ($m/z = 52$ あるいは 53) と同時に 89 (イットリウム) のイオンカウント値を測定し、クロムとイットリウムとのイオンカウント値比の関係線を作成し、検量線とする。この検量線から、試料について得たイオンカウント値比に相当するクロムの量を求め、試料中のクロム濃度を算出する。

内部標準元素としてはイットリウムを用いるが、マトリックスによる減感が広い質量範囲で生じる恐れがある場合には、被測定元素に最適な内部標準元素を追加して、複数の内部標準元素を用いる必要がある。

(備考 1) ここに示す商品は、このマニュアル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。

10 参考

原子スペクトル分析に関しては、「原子吸光分析通則 (JIS K 0121: 1993)」と「発光分光分析通則 (JIS K 0116: 1995)」が定められている。

また、誘導結合プラズマ質量分析法 (ICP 質量分析法) については、ICP 質量分析法が広く一般に普及するようになってきたことから、1998 年 4 月に改正された「工業用水試験方法 (JIS K 0101: 1998)」、「工業排水試験法 (JIS K 0102: 1998)」に、銅、亜鉛、鉛、マンガン、クロムの分析法として ICP 質量分析法が新たに採用された。また、今般、2000 年 7 月に「高周波プラズマ質量分析通則 (JIS K 0133: 2000)」が規定された。詳細については、これらの通則を参考にして頂きたい。

．酸化エチレンの分析法

1 対象物質

酸化エチレン（エチレンオキサイド）

2 目標検出下限値及び定量下限値

	水質(μg/L)		底質(μg/kg-dry)	生物(μg/kg-wet)
	検出下限値	定量限界値	検出下限値	検出下限値
エチレンオキサイド	0.098	0.33	2.14	1.93

3 分析法の概要

水質試料は塩析剤として塩化ナトリウムを加え、窒素ガスでパージを行い、HBrをコーティングした活性炭に導き、エチレンオキサイドを2-プロモエタノールに変換・捕集する。活性炭をアセトニトリル：トルエン=1：1に入れ、生成した2-プロモエタノールを溶出させ、内標準として2-プロモエタノール-d₄を添加し、GC/MS（SIM）で定量する。

底質試料は、水を加えてパージ瓶に入れ、以下水質試料と同様にする。

生物試料は水を加えてホモジナイズを行い、パージ瓶に入れ、以下水質試料と同様にする。

4 試薬・器具及び装置

(1) 試薬

- ・エチレンオキサイド：市販標準品
- ・2-プロモエタノール、2-プロモエタノール-d₄：市販標準品
- ・メタノール、トルエン、アセトニトリル：残留農薬試験用
- ・塩化ナトリウム、無水硫酸ナトリウム：残留農薬試験用
- ・炭酸ナトリウム：試薬特級
- ・消泡剤：市販消泡シリコン
- ・精製水：市販ミネラルウォーター
- ・HBr コーティング活性炭：市販品（注1）

(2) 器具及び装置

- ・ パージ瓶：250 mL 容 フリーテッドバブラー瓶
- ・ ホモジナイザー：生物試料の抽出に使用

5 試料の採取・運搬

(1) 水質試料

水質試料は 1 L 容ガラス瓶に満タンになるように入れ、氷冷して実験室に搬入する。搬入後は出来るだけすみやかに分析に供する。困難な場合は冷蔵庫内に保管し、少なくとも 2 週間以内に分析する。

(2) 底質試料

底質試料はガラス瓶に採取し、氷冷して実験室に搬入する。搬入された試料は冷蔵庫内に 1 夜静置し、上澄水を除き分析に供する(遠心分離や篩いによる操作は行わない)。直ちに分析が困難な場合は冷凍庫に保管し、分析時自然解凍して使用する。エチレンオキサイドの標準液が保管されている冷凍庫はコンタミを起こす可能性があるので避ける。

(3) 生物試料

生物試料はホモジナイズしないで、ブロックの状態で冷凍保存しておく。分析時水を加えて自然解凍し(凍った状態ではホモジナイズ出来ない)すみやかにホモジナイズを行い分析に供する。

6 試験操作

(1) 前処理

(ア) 水質試料

試料 200 mL を 250 mL 容パージ瓶に採り、塩化ナトリウム 50 g を加え溶解させる(注 2)。パージ瓶の出口側に HBr コーティング活性炭入り管を接続し(注 3)室温下窒素ガス(600 mL/min)で 90 分パージを行う。

(イ) 底質試料

試料 10 g を精製水 100 mL でよく解かしながらパージ瓶に入れ、塩化ナトリウム 25 g、

消泡シリコン 2~3 滴を加え(注4)、以下水質試料と同じ条件でパージを行う。

(ウ) 生物試料

試料 10 g に精製水 50 mL を加え、ホモジナイズを行う(注5)。このものを精製水 50 mL を用いてパージ瓶に入れる。塩化ナトリウム 25 g 及び消泡シリコン約 0.5 mL を加え(注4)、以下水質試料と同じ条件でパージを行う。

(2) 試料液の調製

(ア) 水質試料

パージ終了後、吸着管を取り外し、別に用意したバイアル瓶(アセトニトリル:トルエン=1:1 1 mLに内標準 2-プロモエタノール-d₄ 100 µg/mL メタノール溶液 5 µLを添加したもの)に活性炭を入れ、無水炭酸ナトリウム約 100 mg及び無水硫酸ナトリウム約 500 mg を添加し(注6)、1時間以上放置した後(注7)、2 µLをGC/MSに注入する。

(イ) 底質試料

水質試料と同じ。

(ウ) 生物試料

水質試料と同じ。

(3) 空試験液の調製

水試料については、精製水 200 mL に塩化ナトリウム 50 g を溶解させたもの、底質試料については精製水 100 mL に塩化ナトリウム 25 g 及び消泡シリコン 2~3 滴を加えたもの、生物試料について精製水 100 mL に塩化ナトリウム 25 g 及び消泡シリコン 0.5 mL を加えたものについて「(1) 前処理」及び「(2) 試料液の調製」に従って処理したものを空試験液とする。

(4) 添加回収試験液の調製

水質試量 200 mL、底質試料 10 g に対象物質を検出限界の 5~10 倍量をメタノール溶液で添加し、充分混合した後、「(1) 前処理」及び「(2) 試料液の調製」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) 標準液の調製

エチレンオキシドの50,000 µg/mL メタノール溶液が市販されているので、このものをメタノールで希釈し 100 µg/mL メタノール溶液を調製し標準液とする(注8)。

2-ブロモエタノールは 100 µg/mL メタノール溶液を調製し標準液とする。

2-ブロモエタノール-d₄は 100 µg/mLメタノール溶液を調製し内標準液とする。

(6) 測定

(ア) GC/MS 測定条件の例

(a)ガスクロマトグラフ部

- ・カラム : 化学結合型溶融シリカキャピラリーカラム
60 m × 0.25 mm
- ・液相 : ポリエチレングリコール 0.25 µm (注9)
- ・カラム温度 : 50 (1 min)-10 /min-240 (5 min)
- ・注入口温度 : 200
- ・注入法 : スプリットレス (パージオフ 1 min)
- ・キャリアーガス : He (20 psi)

(b)質量分析部

- ・イオン化法 : EI
- ・イオン源温度 : 250
- ・イオン化エネルギー : 70 eV
- ・イオン化電流 : 300 µA
- ・インターフェース部温度 : 250

(c)測定イオン

2-ブロモエタノール	31	(45)
2-ブロモエタノール-d ₄	33	(49)

()は参考値

(イ) 検量線

アセトニトリル：トルエン = 1：1 混合溶液 1.0 mLに、標準液（2-プロモエタノール 100 µg/mLのメタノール溶液）を 0～10 µLを段階的に、さらに内標準液（2-プロモエタノール-d₄ 100 µg/mLのメタノール溶液）5 µLを添加する（注 10）。このものの 2 µLをGC/MSに注入し、標準物質と内標準物質の濃度比とピーク面積比から検量線を作成する。

（ウ）試料液の測定

検量線作成後、空試験液、測定用試験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/MS を再調整後、検量線を作成し直して測定を再開する。

7 同定、定量及び計算

（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±20%以内の差で合っていれば、物質が存在しているを見なす。

（2）定量及び計算式

得られた対象物質と内標準とのピーク面積比から検量線により検出量を求める。次に検出量、分析した試料量等から、次式により試料中の濃度を計算する。なお、底質の試料量は乾燥試料量とする。

〔計算式〕

$$\begin{aligned} \text{試料中の濃度 (µg/L 又は µg/kg)} = & \frac{\text{検量線から求めた濃度比} \times \text{内標準添加量 (µg)}}{\text{試料量 (L 又は kg)}} \\ & \times \frac{44}{125} \end{aligned}$$

8 分析精度管理

本調査マニュアルの「 . 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。

9 注意事項

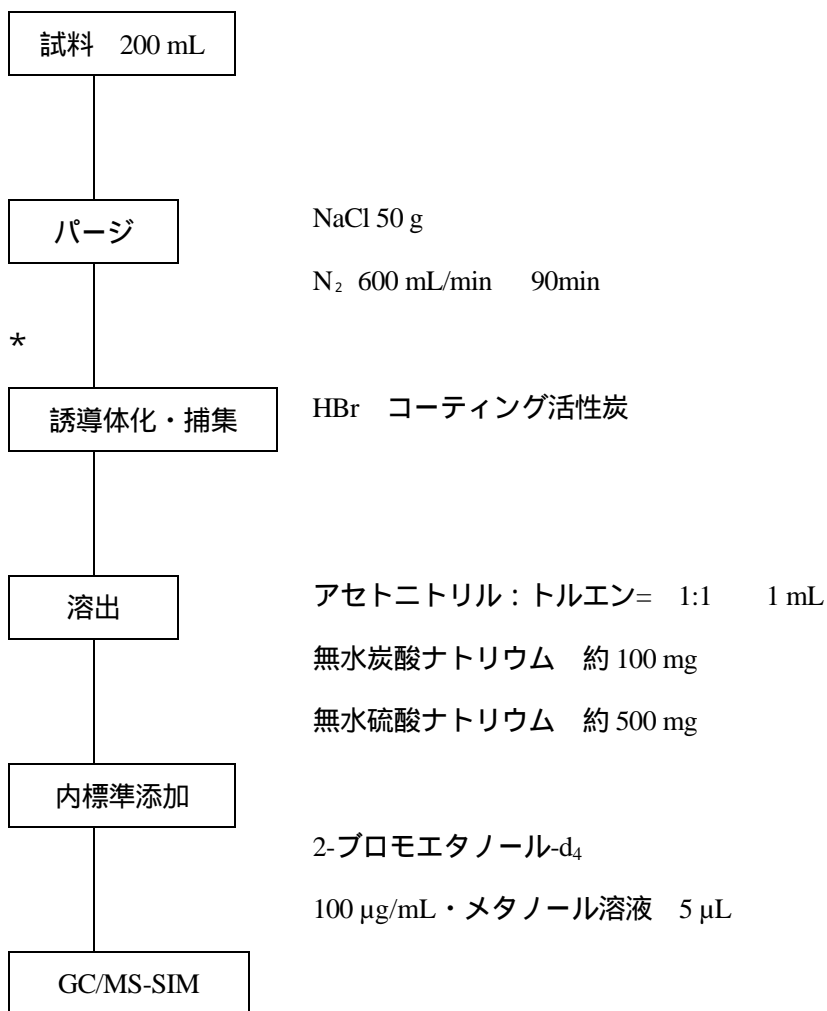
- (注1) 例 ORBOTM-78 Adsorbent Tube (スペルコ社製)(備考1)。
- (注2) エチレンオキシドの揮散を防ぐため、塩化ナトリウム添加後、すぐに吸着管をセットしたバブラー部を取り付けてから、パージ瓶を振り回すようにして溶解させる。海水についても塩化ナトリウムを添加すること。
- (注3) 吸着管(ORBO管)は400 mgのA部と200 mgのB部に別れているので、A Bに気流が流れるようにセットする。
- (注4) 泡が吸着管に入ると分析は失敗である。泡立ちが激しい時は、パージを中断し、消泡剤を追加する。特に魚試料の場合は要注意である。
- (注5) 長時間ホモジナイズを行うと発熱によりエチレンオキシドが揮散する懸念があるので5分以内にとどめる。
- (注6) HBrと水分を除去するために加える。
- (注7) 溶媒中に活性炭を入れた時、溶媒中にすでに存在する2-ブロモエタノール- d_4 が活性炭に吸着するのと、活性炭中の2-ブロモエタノールが溶媒中に溶けだして平衡状態になるのに多少の時間がかかる。すぐにGC/MSに注入すると定量値が低めになる。オートサンプラーを使用する場合はパスツールピペットで溶媒部を取り出しバイアル瓶に入れる。
- (注8) このものは密栓して冷凍庫内に保管する。分析用試料にコンタミを起こさないように別々の冷凍庫を使用する。
- (注9) 例 DB-WAX(備考1)。
- (注10) 検量線の濃度範囲及び内標準の添加量は使用するGC/MSの感度により適宜変更してもよい。
- (備考1) ここに示す商品は、このマニュアルの使用者の便宜上、一般に入手できるもの及び本分析法開発に使用したものを例示したが、これを推奨するものではない。これと同等または同等以上の品質・性能のものを用いても良い。

参考文献

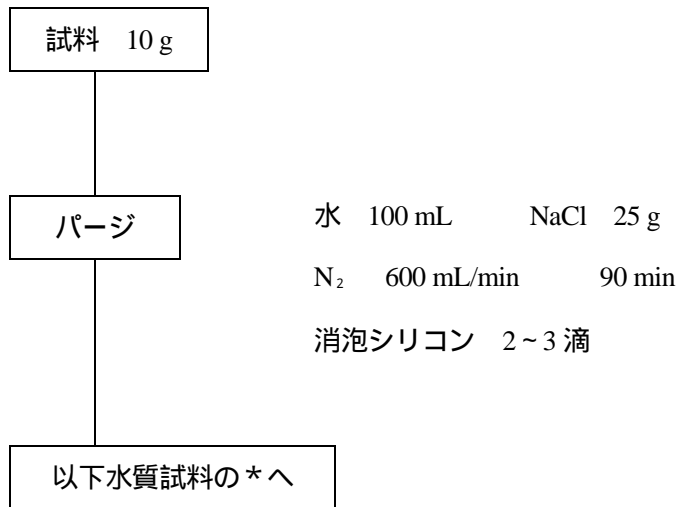
- 1) 「平成7年度 化学物質分析法開発報告書」, p.275-280, 環境庁環境保健部環境安全課 (平成8年6月)

分析法フローチャート

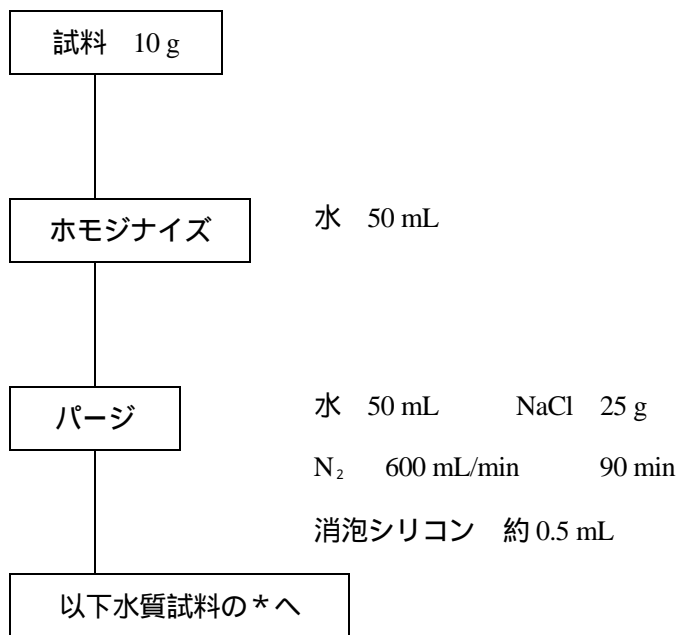
水質試料



底質試料



生物試料



1-オクタノール、1-ノナノール及び1-デカノールの分析法

1 対象物質

1-オクタノール

1-ノナノール（別名：1-ノニルアルコール）

1-デカノール（別名：1-デシルアルコール）

2 目標検出下限値及び定量下限値（注1）

	水質（ $\mu\text{g/L}$ ）		底質（ $\mu\text{g/kg}$ ）	生物（ $\mu\text{g/kg}$ ）
	検出下限値	定量下限値	検出下限値	検出下限値
1-オクタノール	0.002	0.006	0.2	0.8
1-ノナノール	0.003	0.009	0.3	0.4
1-デカノール	0.002	0.006	0.2	0.2

3 分析法の概要

水質試料は、サロゲートを添加し、ジクロロメタンで抽出後、脱水濃縮・乾固し、*N,O*-ビス（トリメチルシリル）トリフルオロアセトアミド（BSTFA）でTMS化を行い、GC/MS（SIM）で定量する。

底質は、サロゲートを添加し、メタノールで超音波抽出を行う。ジクロロメタンに転溶後、脱水濃縮・乾固し、BSTFAによりTMS化を行ったのち、アルカリ分解を行い、フロリジルカートリッジカラムでクリンアップ後、GC/MS（SIM）で定量する。

生物試料は、サロゲートを添加し、メタノールで抽出、ジクロロメタンに転溶する。脱水・濃縮・乾固し、BSTFAでTMS化を行い、アルカリ分解後、ヘキサンで抽出し、フロリジルのオープンカラムでクリンアップを行い、GC/MS（SIM）で定量する。

4 試薬、器具及び装置

（1）試薬

・1-オクタノール、1-ノナノール、1-デカノール：市販特級品

- ・ *n*-オクタノール- d_{17} 、*n*-デカノール- d_{21} ：市販標準品（注2）
- ・ ジクロロメタン、メタノール、ヘキサン、エチルエーテル、アセトン：市販残留農薬試験用
- ・ 無水硫酸ナトリウム、塩化ナトリウム：市販残留農薬試験用 電気炉で 550 6 時間焼いて使用（ブランク値の低減のため必ず実行すること）。
- ・ 水酸化ナトリウム、ジメチルホルムアミド：市販特級品
- ・ 水：市販ミネラルウォーター
- ・ *N,O*-ビス（トリメチルシリル）トリフルオロアセトアミド（BSTFA）：市販ガスクロマト用（注3）
- ・ フロリジルカートリッジ：市販品（注4、注5）
- ・ フロリジル：市販品（注6、注7）

（2）器具及び装置

- ・ KD 濃縮装置 ： 試料液の濃縮に用いる。
- ・ 超音波洗浄機 ： 底質試料の抽出に用いる。
- ・ 遠心分離器 ： 試料の液固分離に用いる。
- ・ 湯浴 ： 試料のアルカリ分解に用いる。
- ・ カラムクロマト管 ： 内径 1 cm 長さ 30 cm

5 試料の採取・運搬

（1）水質試料

洗剤、水、アセトンの順で洗浄したガラスビンに試料水を採取し、直ちに試料 1 L に対して 1 g のアスコルビン酸を添加し、冷暗所（4 以下）で保存し、氷冷輸送すること。搬入されたサンプルは出来るだけすみやかに分析すること。やむを得ず分析できない場合は冷暗所に保管し、1 週間以内に分析すること。（アスコルビン酸を添加しないと、冷暗所に保管しても 1 日でほぼ完全に分解する。）

（2）底質試料

底質は、湿重量約 100 g の底質を採取し、夾雑物を除去した後、遠心分離して水分を出るだけ除いたのち、冷凍保存する。

(3) 生物試料

生物試料はホモジナイズした後、冷凍保存する。

6 試験操作

(1) 前処理(注8)

(ア) 水質試料

試料 1,000 mL を分液ロートにとり、サロゲート標準溶液(100 µg/mL アセトン溶液) 5 µL と塩化ナトリウム 50 g を加え振とうして溶解させる。ジクロロメタン 50 mL を加え、5 分間振とう抽出する。静置後、ジクロロメタン層を分取し、水層には再度ジクロロメタン 50 mL を加え、同様の操作を行う。

ジクロロメタン層を合わせて、無水硫酸ナトリウムで脱水し、KD 濃縮器で 3~5 mL に濃縮し、窒素ガスを吹き付けて乾固寸前まで濃縮し(注9) 試料前処理液とする。

(イ) 底質試料

試料 10 g を遠沈管に採り、サロゲート溶液 5 µL 及びメタノール 30 mL を添加し、スパーテルで固まりをよくほぐし 10 分間超音波を照射して抽出を行う。3,000 rpm で 10 分間遠心分離を行い、メタノール層を採取する。残さにはさらにメタノール 30 mL を添加して同様に抽出を行い、メタノール層を合わせる。

メタノール層に 5% 塩化ナトリウム水溶液 100 mL を加え、ジクロロメタン 50 mL ずつで 2 回振とう抽出を行い、ジクロロメタン層を合わせる。ジクロロメタン層は無水硫酸ナトリウムで脱水し(注10) KD 濃縮器を用いて 3~5 mL まで濃縮し、窒素気流で乾固寸前まで濃縮し(注9) 試料の前処理溶液とする。

(ウ) 生物試料

試料 10 g をビーカーに採り、サロゲート溶液 5 µL 及びメタノール 30 mL を加え、ホモジナイザーを用いて抽出を行う。次いで 3,000 rpm で 10 分間遠心分離を行い、メタノール層を採取する。残さにはさらにメタノール 30 mL を加え、同様に操作し、メタノール層を合わせる。メタノール溶液に 5% 塩化ナトリウム水溶液 100 mL を加え、ジクロロメタン 50 mL で抽出を行う。水層はさらにジクロロメタン 50 mL で抽出を行い、ジクロロメタン

層を合わせる。ジクロロメタン層を無水硫酸ナトリウムで脱水し（注 10）、KD 濃縮器で 5 mL 程度に濃縮した後、窒素気流で乾固寸前まで濃縮し（注 11）、試料前処理液とする。

（ 2 ） 試料液の調製

（ア）水質試料

試料前処理液にジメチルホルムアミド（DMF）0.2 mL と BSTFA 0.2 mL を加え、栓をして室温で 30 分間放置して TMS 化を行う。反応終了後、5% NaOH 水溶液 2 mL を加えて（注 12）激しく振り混ぜる。次いでヘキサン 2 mL を加えて同様に激しく振り混ぜて静置する。別に 10 mL 容 KD 濃縮管に、綿栓をし無水硫酸ナトリウム約 4 g を入れた小口ポートをセットしたものを用意しておく。パスツールピペットの先端を、静置した水層の約 1 mm 上部のヘキサン層に位置させてヘキサン層を採取し（注 13）、これを無水硫酸ナトリウムの上にしみ込ませ、さらにヘキサン 3 mL で溶出させる。このものを窒素気流により 0.5 mL まで濃縮し試料処理液とする。

（イ）底質試料

試料前処理液にジメチルホルムアミド（DMF）0.2 mL と BSTFA 0.2 mL を加え、栓をして室温で 30 分間放置して TMS 化を行う。反応終了後、5% NaOH 水溶液 2 mL を加えて激しく振り混ぜた後、栓をして 70 ± 3 の湯浴に漬け時々軽く降り混ぜながら 1 時間アルカリ分解を行う。放冷後、ヘキサン 2 mL を加え、激しく振り混ぜて静置する。水質試料と同様の方法でヘキサン層を採取し、脱水濃縮し乾固寸前まで濃縮し、ヘキサン 1 mL を加えて溶解させる。このものをセップパック フロリジルに負荷し、最初にヘキサン 5 mL で展開しこの画分は捨てる（注 14）、次いで 4% エチルエーテル / ヘキサン 5 mL で展開し、この画分を採取し（注 15）、窒素気流で 0.5 mL に濃縮し、試料処理液とする。

（ウ）生物試料

試料前処理液に DMF 0.2 mL 及び BSTFA 1 mL を加え（注 16）、軽く降り混ぜた後、栓をして室温に 30 分間放置し TMS 化を行う。5% 水酸化ナトリウム水溶液 8 mL を加え（注 17）、栓をし、良く振り混ぜた後、 70 ± 3 の湯浴にセットし、時々降り混ぜながら 1 時間アルカリ分解を行う。室温に放冷後、分液ポートに入れ、ヘキサン 20 mL を加え、激しく振とうし、静置する（注 18）、ヘキサン層を脱水・濃縮・乾固し（注 9）、ヘキサン 1 mL

を加えて溶解させる。このヘキサン溶液を、あらかじめ用意したクロマト管（内径 1 cm、長さ 30 cm のクロマト管にフロリジル 7 g をヘキサンスラリー法で充てんし、無水硫酸ナトリウムを約 2 cm 層積したもの）に負荷し、4%エ - テルノヘキサン 40 mL で溶出させ（注 15） 0.5 mL に濃縮したものを試料処理液とする。

（ 3 ）空試験液の調製

（ア）水質試料

精製水（又はミネラルウォーター）500 mL にサロゲート及び塩化ナトリウム 25 g を添加し、以下水質試料の前処理及び試料液の調製に従って操作する。

（イ）底質試料

精製水（又はミネラルウォーター）5 mL を用いて、以下底質試料の前処理及び試料液の調製に従って操作する。

（ウ）生物試料

メタノール 60 mL にサロゲートを添加したものを用いて、以下生物試料の前処理及び試料液の調製に従って操作する。

（ 4 ）添加回収試験液の調製

水質試料 1,000 mL、底質試料 10 g 及び生物試料 10 g に各対象物質を検出下限値の 5 ~ 10 倍量をアセトン溶液で添加し、充分混合した後、「（ 1 ）前処理」及び「（ 2 ）試料液の調製」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 ）標準液の調製（注 19）

1-オクタノール、1-ノナノール及び 1-デカノールの各 100 µg/mL アセトン混合溶液（標準混合溶液 - A）及び各 10 µg/mL アセトン混合溶液（標準混合溶液 - B）を調製する（注 20）。

サロゲート標準溶液は 100 µg/mL アセトン混合溶液を調製する。

（ 6 ）測定

(ア) GC/MS 測定条件

(a) GC

- ・ カラム：溶融シリカキャピラリーカラム (25 m × 0.32 mm 0.52 μm film thickness)
- ・ 液相：5% フェニルメチルシリコン
- ・ カラム温度：60 (1分) 7 /分 280 (5分)
- ・ 注入口温度：250
- ・ 注入法：スプリットレス法 (1分後パージ、1 μL 注入)
- ・ キャリアーガス：He カラムヘッド圧 8.0 psi (線速度 31 cm/秒)
- ・ インターフェース温度：250

(b) MS

- ・ イオン化法：EI
- ・ イオン化エネルギー：70eV
- ・ イオン源温度：250
- ・ イオン化電流：300 μA
- ・ 検出モード：SIM

(c) 測定イオン

対象物質及び内標準物質の測定イオンを表に示す。

	定量用イオン	参考イオン
1-オクタノール	187	103
1-ノナノール	201	103
1-デカノール	215	103
1-オクタノール-d ₁₇	204	
1-デカノールd ₂₁	236	

1-オクタノール及び1-ノナノールは1-オクタノール-d₁₇を、1-デカノールは1-デカノールd₂₁をそれぞれ内標準として定量する。

(イ) 検量線

サロゲート標準溶液 5 μ L 及び混合標準溶液 - A 又は - B を 0~10 μ L の範囲で段階的に採り、ジメチルホルムアミド 0.2 mL 及び BSTFA 0.2 mL を加え、栓をして室温で 30 分間反応させる。5% NaOH 水溶液 2 mL を加え栓をして激しくふりまぜる。次にヘキサン 2 mL を加えて栓をし激しく振り混ぜて静置する。以下「試料液の調製」の項に従って操作し得られた試料液 2 μ L を GC/MS に注入し、対象物質のピーク面積と内標準物質とのピーク面積比から検量線を作成する。

(ウ) 試料液の測定

検量線作成後、空試験液、測定用試験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/MS を再調整後、検量線を作成し直して測定を再開する。

7. 同定、定量及び計算

(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 $\pm 20\%$ 以内の差で合っていれば、物質が存在していると思なす。

(2) 定量

得られた対象物質と内標準とのピーク面積比から検量線により検出量を求める。次に検出量、分析した試料量等から、次式により試料中の濃度を計算する。なお、底質の試料量は乾燥試料量とする。

$$\text{水質試料濃度 (}\mu\text{g/L)} = \text{検出量 (}\mu\text{g)} \times \frac{1}{\text{試料量 (L)}}$$

$$\text{底質試料濃度 (}\mu\text{g/kg)} = \text{検出量 (}\mu\text{g)} \times \frac{1}{\text{試料量 (kg)}}$$

(ここでの検出量とは試料液中に存在する対象物質の全量である。)

8 分析精度管理

本調査マニュアルの「 . 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。

9 注意事項

(注1) 検出下限は8回の空試験を行いブランク値から求めた。

(注2) CIL社製など(備考1)。

(注3) BSTFA は溶液で市販されているものでなく、純品(90%以上)のものを使用すること。

(注4) 例 セツパックRフロリジル(ウォーターズ社製)(備考1)。

(注5) 使用直前にヘキサン10mLで洗浄して使用する。

(注6) 例 フロリジル PR(和光純薬工業製)(備考1)。

(注7) 130 で1夜活性化し、デシケータ内で放冷して使用する。

(注8) 分析(特に誘導体化以前)に使用するガラス器具、特に分液ロートのような表面積の大きなものは使用直前に洗浄して使用する。大気からの汚染があるので注意。

(注9) 乾固はしすぎると対象物質の揮散が起こるので、必ず乾固寸前でとめること。また、窒素ガスからの汚染を防止するため、活性炭を通過させた窒素ガスを使用すること。

(注10) ジクロロメタン中にメタノールが存在しているのでやや脱水しにくい。時々振り混ぜながら30分程度かけて脱水する。

(注11) 生物試料では脂質が残るため乾固の終点がわかりにくい。乾固しすぎてもいけないし、メタノールが残りすぎるとTMS化が完全に進行しない。全量が0.5mL程度になったら加熱を止め慎重に行うこと。

(注12) BSTFA を分解するために添加する。必ず水溶液で添加すること。メタノールやエタノール溶液で添加するとTMS誘導体が完全に分解し、もとのアルコールになってしまう。

(注13) ヘキサン層の全量を採取する必要はない。出来るだけ水層を採らないようにして

9割程度は充分採取できる。

(注 14) カートリッジへの負荷分も含めて 5 mL を捨てる。

(注 15) 溶出パターンについては事前に確認しておく。

(注 16) 水質及び底質試料では 0.2 mL の BSTFA で完全に反応が進行するが、生物試料ではマトリックス(脂質)のため完全に進行しないため、1 mL を加える。

(注 17) 一度に添加すると激しく反応して突沸することがあるので、最初は 0.5 ~ 1 mL 程度を加え(このとき発熱する)、30 分程度静置しておき、反応が緩やかになってから全量を加える。また安全のため保護手袋を着用して行うこと。

(注 18) なかなか分離しないが、1 時間程度静置しておくで分離する。1 時間程度静置しても分離しない場合は遠心分離を行う。

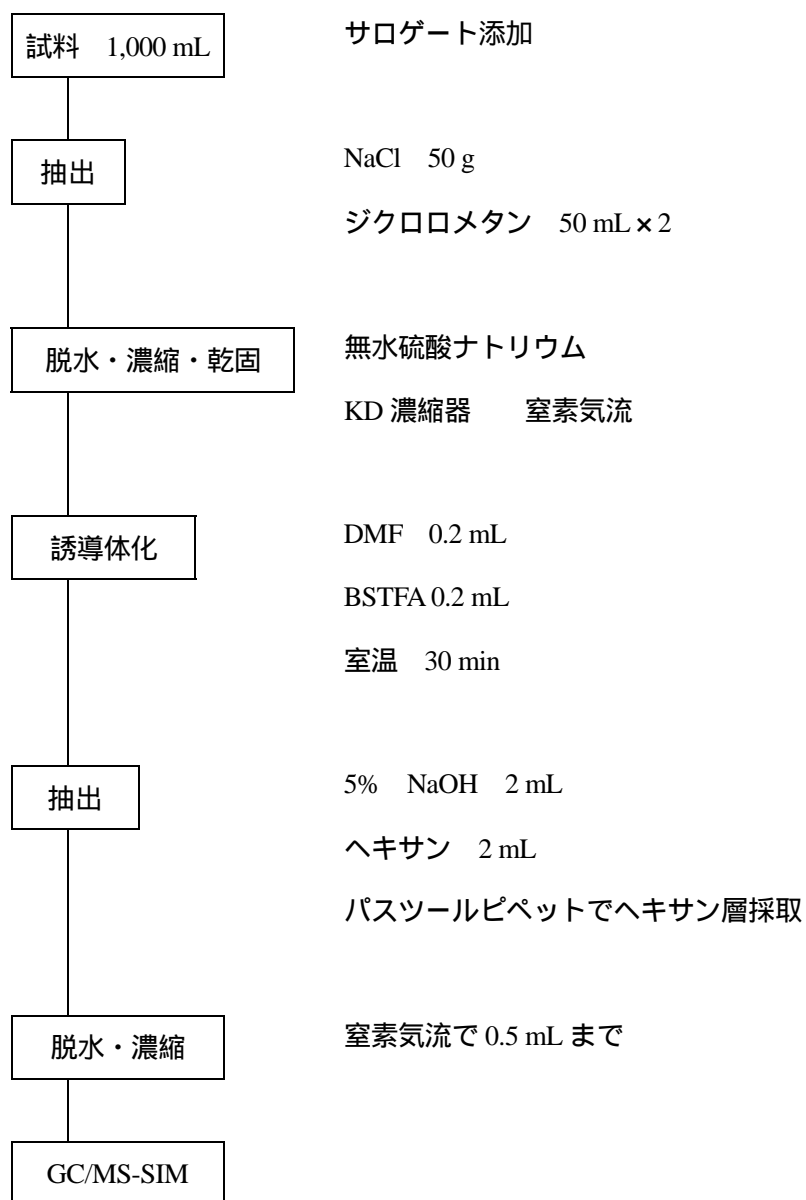
(注 19) 標準液及びサロゲートの濃度レベルは機器(MS)の感度に応じて適宜変更してもよい。

(注 20) 試料中の濃度レベルにかなりの差があるので検量線の濃度レベルを 2 段階にした。試料によって検量線を使い分けたほうが良い。

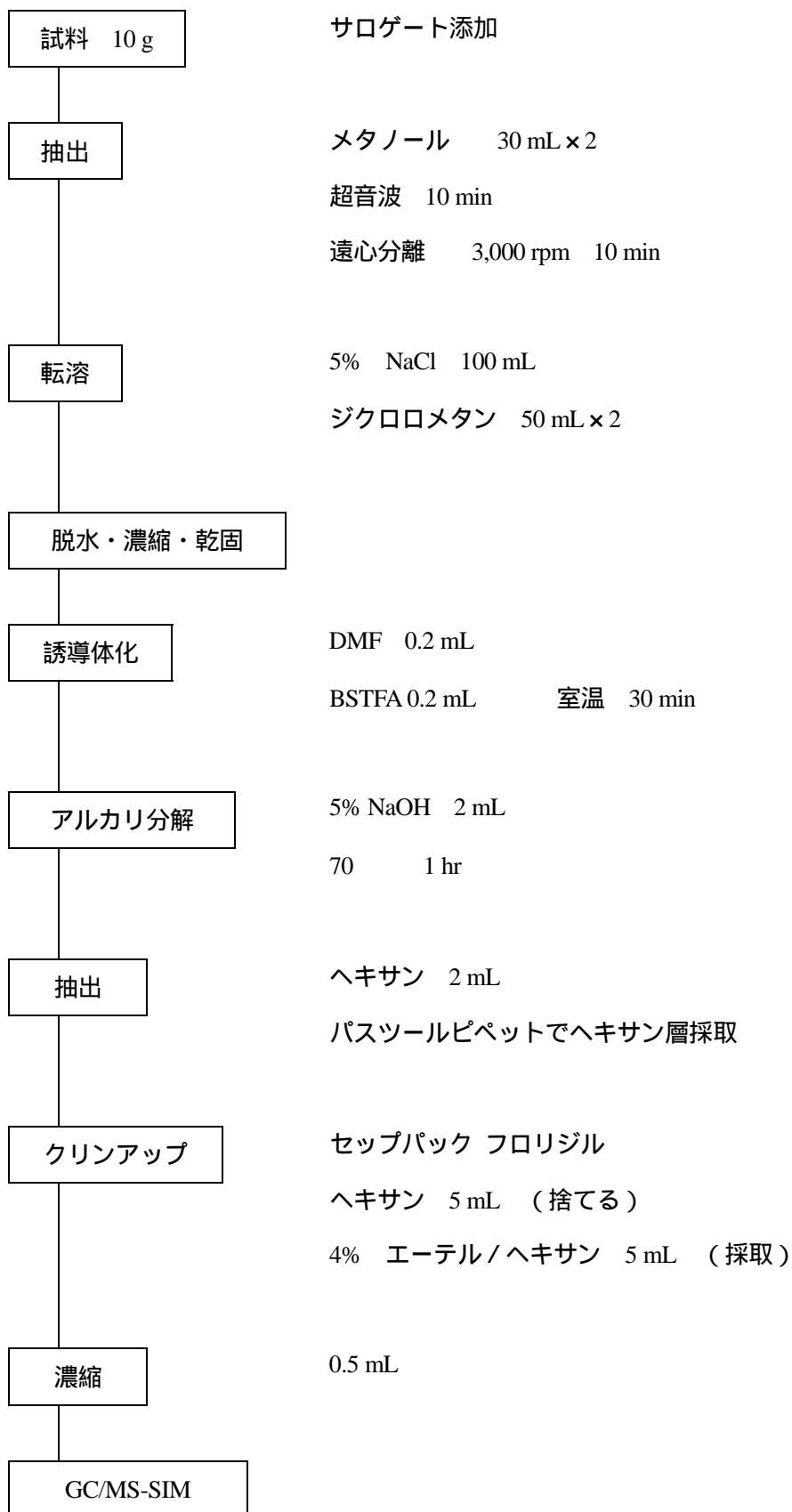
(備考 1) ここに示す商品は、このマニュアルの使用者の便宜上、一般に入手できるもの及び本分析法開発に使用したものを例示したが、これを推奨するものではない。これと同等または同等以上の品質・性能のものを用いても良い。

分析法フローチャート

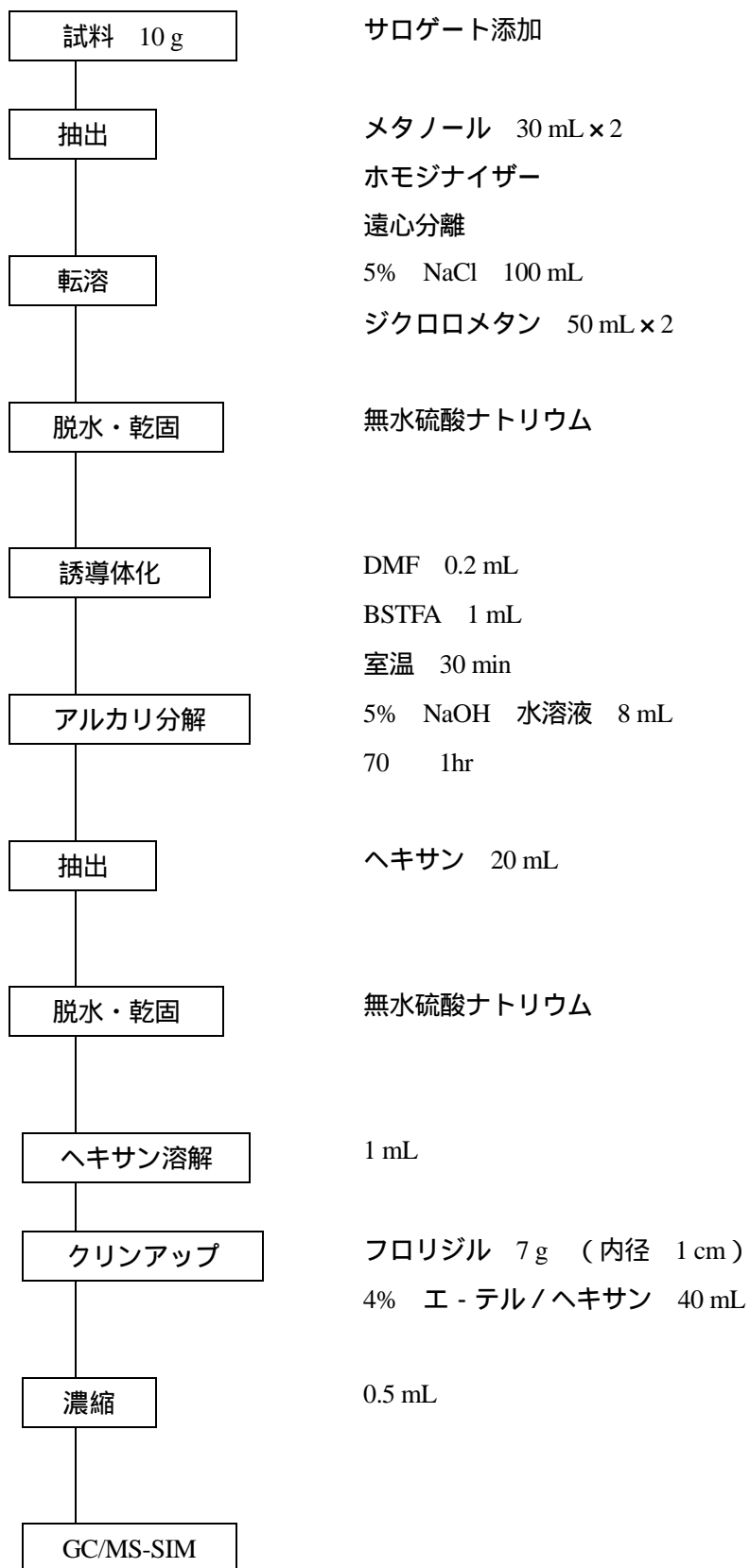
水質試料



底質試料



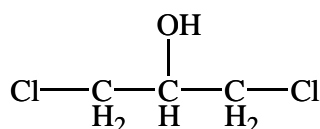
生物試料



1,3-ジクロロ-2-プロパノールの分析法

1 対象物質

セルロース系材料の架橋剤、プラスチック・合成樹脂用の溶剤、合成中間体などの用途をもつ。水溶解度は 99,000 mg/L と高く、蒸気圧は 1.3×10^2 Pa である。



1,3-dichloro-2-propanol

表 1 対象物質

項目番号	物質名	分子式 (分子量)	CAS NO.
102	1,3-ジクロロ-2-プロパノール 1,3-dichloro-2-propanol	$\text{C}_3\text{H}_6\text{Cl}_2\text{O}$ (128.9858)	96-23-1

2 目標検出下限値及び定量下限値

本法が目標とする検出下限値は表 2 の通りであり、定量下限値はその 3 倍値となる。

表 2 目標とする検出下限値

物質名	水質 ($\mu\text{g/L}$)	底質 ($\mu\text{g/kg}$)
1,3-ジクロロ-2-プロパノール	0.02	30

3 分析法の概要

本法は同位体希釈法によって水質および底質試料中の 1,3-ジクロロ-2-プロパノールを定量する。試料は、水蒸気蒸留を経て、カーボンモレキュラーシーブ型吸着剤（注 1）で固相抽出し、アセトンで溶出して GC-MS（SIM）で測定する。

4 試薬、器具及び装置

(1) 試薬

- ① 1,3-ジクロロ-2-プロパノール：標準物質、純度 98% 以上

- ② 1,3-ジクロロ-2-プロパノール-d₅：標準物質、純度 98%以上
- ③ ヘプタデカン-d₃₆：標準物質、純度 98%以上
- ④ アセトン、メタノール：残留農薬試験用
- ⑤ 沸石
- ⑥ 硫酸銅（Ⅱ）五水和物：試薬特級
- ⑦ 精製水：蒸留水を超純水製造装置で精製したもの
- ⑧ 固相カラム：50 mL 容のリザーバーにカーボンモレキュラーシーブ型吸着剤（注 1）を 500 mg 充てんし、アセトン 10 mL、1N-塩酸 10 mL、精製水 10 mL で順次洗浄したもの

（2）器具及び装置

- ① 水蒸気蒸留セット：試料の抽出・精製に用いる
- ② 遠心分離器
- ③ 固相抽出装置
- ④ ガスクロマトグラフ質量分析装置（GC/MS）：キャピラリーカラムが装着できる GC に四重極型、磁場型またはイオントラップ型 MS を連結したもの

5 試料の採取・運搬

予めアセトン、ヘキサン等でよく洗浄した容量 1 L 程度の共栓またはねじ栓つき硬質ガラス瓶を試料瓶とする。試料水は、2、3 回共洗いした後、満水に入れ、氷冷・遮光して、実験室へ持ち帰る。分析操作は可能な限り速やかに行う。やむを得ず保管が必要な場合は、1～2 日を限度として冷暗所（4℃）に置く。

底質試料は、エクマンバージ型採泥器等によって表層泥（0～10 cm）を採取し、目視できる夾雑物を除いて、硬質ガラス瓶、ポリエチレン製袋または箱等に入れ、氷冷・遮光状態で実験室へ持ち帰る。この試料は、孔径 2 mm 目の篩に通した後、20 分間の遠心分離（3,000rpm）で間隙水を除き、均質に混合したものを分析に供する。底質試料の保存は、調製試料を-4℃で凍結させる。

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

(ア) 水質試料

水蒸気蒸留による前処理を行う。水質試料 500 mL を 1 L 容の水蒸気蒸留フラスコに入れ、サロゲート標準物質として 1,3-ジクロロ-2-プロパノール- d_5 を 2 μg (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ アセトン溶液、0.2 mL) 加え、沸石を入れて十分に混合する。水蒸気蒸留では約 10 mL/min の留出速度で蒸留し、200 mL までの留出分をメスシリンダーに採取し前処理液とする。

(イ) 底質試料

水蒸気蒸留による前処理を行う (注 2)。底質試料 10 g を 100 mL 容のビーカーに採って、サロゲート標準物質として 1,3-ジクロロ-2-プロパノール- d_5 を 1 μg (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ アセトン溶液、0.2 mL) 加えガラス棒で十分に混和して、精製水 400 mL で攪拌しながら全量を蒸留フラスコ (1 L 容) に入れる。これに 10% 硫酸銅水溶液を 100 mL 加え、水質試料と同様に水蒸気蒸留を行い前処理液を得る。

(2) 試料液の調製

水質及び底質試料の前処理液は、アセトン、1N 塩酸、精製水の各 10 mL を順次通して活性化させた固相カラムに 10 mL/min で通水し、1,3-ジクロロ-2-プロパノールを吸着捕集する (注 3)。通水後、固相カラムは遠心分離 (3,000rpm、10 min) で水分を除去し (注 4)、アセトン 5 mL で溶出させる。溶出液に内標準物質としてヘプタデカン- d_{36} を 20 μg (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ アセトン溶液、2 mL) 添加して 10 mL 定容とする。

(3) 空試験液の調製

水質試料はそれと同量、底質は 10 mL の精製水を用い、試験操作の「前処理」および「試料液の調製」と同様な操作を行って空試験液を調製する。

(4) 添加回収試験液の調製

任意の水質試料 500 mL、底質 10 g に定量下限値の 5~10 倍になるよう検量線作成用標準液のアセトン溶液を加え、試験操作の「前処理」および「試料液の調製」と同様な操作を行って添加回収試験液を得る。

(5) 標準液の調製

1,3-ジクロロ-2-プロパノール、1,3-ジクロロ-2-プロパノール-d₅およびヘプタデカン-d₃₆は、正確に 25 mgを採り、アセトン 25 mLに溶解して 1,000 µg/mLの標準原液を調製する。各標準原液はそれぞれ個別に 1 mLを分取し、アセトンで 100 mLとして 10 µg/mLの試料添加用内標準液、検量線作成用標準液、内標準液を調製する。

(6) 測定

(ア) GC/MS 測定条件

GC/MS 測定条件の一例を示す。

(a) ガスクロマトグラフ

- ① 試料注入部：スプリットレスなどの非分割方式のもの
- ② キャピラリーカラム：WAX系、内径 0.2~0.3 mm、長さ 20~30 m、膜厚 0.2~0.3 µm。
- ③ キャリヤガス：純度 99.999%以上の高純度ヘリウム、流速 1 mL/min、線速度 35 cm/sec
- ④ カラム恒温槽：40°C(1 min 保持)→10°C/min→200°C
- ⑤ 注入口温度：200°C

(b) 質量分析計

- ① イオン化法：電子衝撃イオン化(EI)法、イオン化電圧 70eV
- ② イオン源温度：200°C
- ③ インタフェース部：ダイレクトカップリング(200°C)
- ④ イオン検出法：選択イオンまたは全イオン検出
- ⑤ モニターイオン質量

1,3-ジクロロ-2-プロパノール	m/z	81、79
1,3-ジクロロ-2-プロパノール-d ₅	m/z	84、82
ヘプタデカン-d ₃₆	m/z	114、146

(イ) 検量線

1,3-ジクロロ-2-プロパノールの 10 mg/mL標準液を個別に 0、0.5、1、1.5、2、2.5 mLを分

取して、それぞれに内標準として 10 µg/mL の 1,3-ジクロロ-2-プロパノール-d₆ を 0.1 mL、ヘプタデカン-d₃₆ 標準液を 1 mL 加え、アセトンで 5 mL に定容する。この標準列は 1,3-ジクロロ-2-プロパノールを 0~0.25 µg/mL、1,3-ジクロロ-2-プロパノール-d₆ を 0.2 µg/mL、ヘプタデカン-d₃₆ を 2 µg/mL で含む検量線作成用標準液である。

検量線は個々の標準液の 1 µL を GC/MS に導入して測定し、1,3-ジクロロ-2-プロパノールと 1,3-ジクロロ-2-プロパノール-d₆ の間の濃度比と検出強度面積比の関係をプロットして定量用の検量線を作成する。また、1,3-ジクロロ-2-プロパノールとヘプタデカン-d₃₆ についても同様に検量線を作成し、添加回収率試験の評価に用いる（注 5）。

（ウ） 試料液の測定

検量線を作成した後、空試験液、添加回収試験液および試料液の 1 µL を GC/MS に注入測定を行う。

なお、一定時間ごとに検量線標準列の中位を測定し、変動が 20% 以内であることを確かめる。

7 同定、定量及び計算

（1） 同定

1,3-ジクロロ-2-プロパノール、1,3-ジクロロ-2-プロパノール-d₆ およびヘプタデカン-d₃₆ の定量イオンおよび確認イオンのピークが予想保持時間の ±5 秒以内に出現し、定量イオンと確認イオンの強度比が理論値と ±20% 以内で一致した場合、対象物質が存在しているとみなす。

（2） 定量および計算

得られた 1,3-ジクロロ-2-プロパノール、1,3-ジクロロ-2-プロパノール-d₆ およびヘプタデカン-d₃₆ の検出強度の面積から対応する強度比を算出して、検量線により検出量を求め、次式により試料中の濃度を計算する。なお、底質の試料量は乾燥試料量とする。

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

$$\text{底質試料濃度 (}\mu\text{g/kg 乾泥)} = \text{検出量} / \text{試料量 (kg)}$$

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。

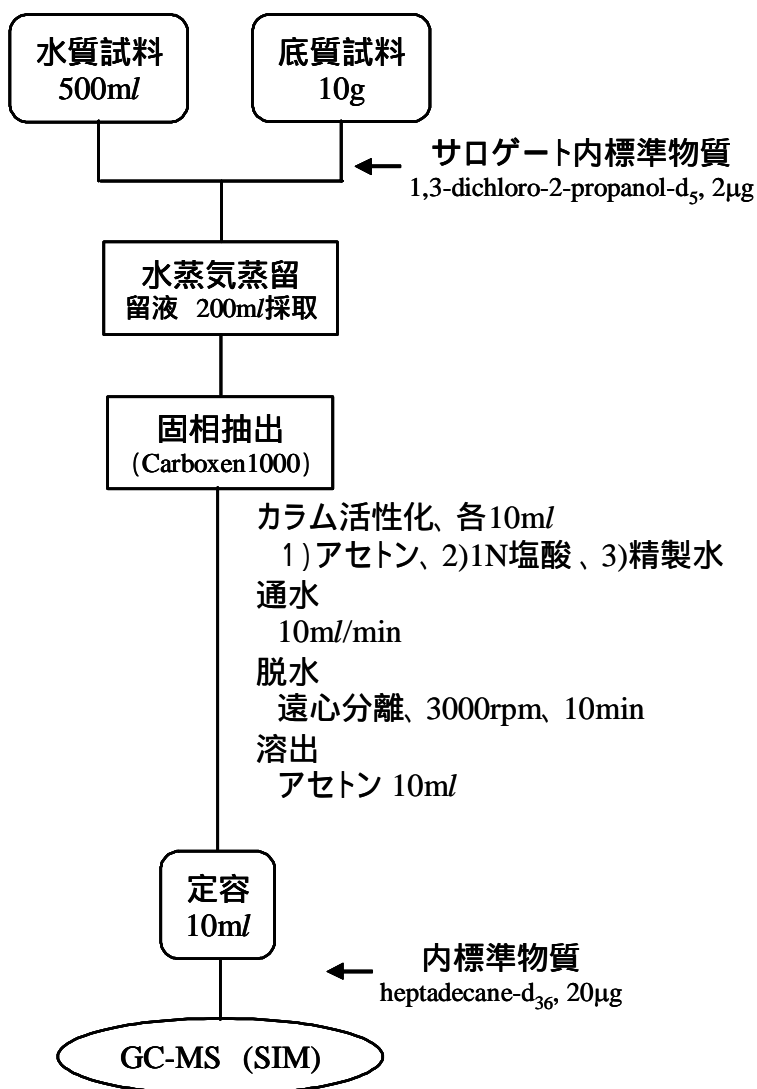
9 注意事項

- (注1) 例 Carboxen 1000 (スペルコ社製)。(備考1)
- (注2) 底質試料は蒸留中に突沸する場合があります、加熱温度や水蒸気量を調節して防ぐ。
- (注3) カーボンモレキュラーシーブ型吸着剤を充填した固相カラムの前に ODS あるいはポリスチレン系樹脂のカラムを連結すると、疎水性物質を除去することができ、精製効果が期待できる。
- (注4) 固相カラムに水分が残存していると回収率の低下やクロマトグラム形状の乱れにつながり、精度の低下をきたす。
- (注5) サロゲート標準物質である 1,3-ジクロロ-2-プロパノール-d₆の回収率の確認は重要であり、50%以上の確保が望まれる。
- (備考1) ここに示す商品は、このマニュアルの使用者の便宜のために、一般に入手できるものとして掲げたが、これ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。

参考文献

- 1) 山口之彦, 先山孝則: 1-ノナノール, 3-メトキシ-1-ブタノール, 2-ブトキシエタノール, 1,3-ジクロロ-2-プロパノール, 2-エチルヘキサノール, 2-オクタノール, 「平成6年度化学物質分析法開発調査報告書」, pp33-65, 環境庁環境保健部環境安全課 (平成7年6月)

分析法フローチャート



GC/MS操作条件例

カラム: WAX系、30m × 0.25mm、df=0.25µm
 オープン: 40 (1min) 10 /min 200
 注入口: 200
 キャリヤーガス(ヘリウム): 1.0ml/min (35cm/sec)
 注入モード: スプリットレス
 イオン化: EI、70eV、イオン源: 230
 モニターイオン
 1,3-dichloro-2-propanol m/z 81, 79
 1,3-dichloro-2-propanol-d₃ m/z 84, 82
 heptadecane-d₃₆ m/z 114

．モノエタノールアミンの分析法

1 対象物質

モノエタノールアミン（エタノールアミン）

表1 対象物質及びその物理化学的性質

物質名	分子式	分子量	融点	沸点	水溶解度	Log Pow	用途
エタノールアミン	C ₂ H ₇ NO	61.08	10.5	171.0 (101.3 kPa)	246 g/L	- 1.31	吸収剤、乳化剤、中和剤、界面活性剤、可塑剤等

2 目標検出下限値及び定量下限値

本分析法の目標検出下限値及び目標定量下限値を表2に示す（注1）。

表2 目標検出下限値及び目標定量下限値

	水質（ $\mu\text{g/L}$ ）		底質（ $\mu\text{g/kg}$ ）	
	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
エタノールアミン	0.17	0.56	7.1	-

3 分析法の概要

水質試料は、ジクロロメタン洗浄後、ロータリーエバポレーターで濃縮し、ベンゼンスルホニルクロリド（BSC）によりスルホンアミド誘導体にし、pH調整して、ジクロロメタンで抽出を行い、脱水、濃縮後、GC/MS（SIM）で定量する。

底質試料は、銅粉を加えて水で抽出し、遠心分離を行い、ジクロロメタンで洗浄した後、水質試料と同様に操作する。

4 試薬、器具及び装置

（1）試薬

- ・エタノールアミン標準品：市販標準品
- ・ジクロロメタン：残留農薬試験用（1,000以上）

- ・アセトン：残留農薬試験用（1,000 以上）
- ・塩酸：有害金属測定用
- ・水酸化ナトリウム：試薬特級
- ・無水硫酸ナトリウム：残留農薬試験用を 600 で一夜加熱処理したもの。
- ・塩化ナトリウム：試薬特級を 600 で一夜加熱処理したもの。
- ・ベンゼンスルホニルクロリド（BSC）：試薬 1 級
- ・フェナンスレン-d₁₀：市販標準品
- ・ポリエチレングリコール溶液：試薬 1 級のポリエチレングリコール 200 及び 300 をそれぞれジクロロメタンに溶解し、各 100 µg/mL の混合溶液とした。
- ・精製水：（注 2）

（ 2 ） 器具及び装置

- ・ロータリーエバポレーター、ウォーターバス
- ・振とう機
- ・遠心分離機
- ・pH メーター
- ・分液ロート：200 mL、500 mL、1 L
- ・フラスコ：300 mL、1 L
- ・共栓付三角フラスコ：300 mL
- ・ビーカー：200 mL
- ・遠沈管：250 mL
- ・桐山ロート：SU-40
- ・濃縮受器：2 mL

（これらのガラス器具は、アセトンで十分洗浄し、乾燥後使用する。）

5 試料の採取・運搬

（ 1 ） 水質試料

洗剤、水、アセトンで洗浄したねじ口瓶を試料水で 2～3 回共洗いした後、試料水を泡立てないように採水し、満水にして密栓し、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、速やかに試験を行う。

(2) 底質試料

水質試料と同様の方法で洗浄した摺り合せの広口ガラス瓶に入れ密栓し、-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「[4. 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

(ア) 水質試料

試料 500 mL を 1 L 分液ロートに取り、ジクロロメタン 50 mL で 2 回、各 5 分間振とう洗浄した後、水溶液を 1 L フラスコに移し、60℃のウォーターバス中でロータリーエバポレーターにより 80 mL 程度まで濃縮し（注 3）、精製水でフラスコ内を洗い、100 mL に定容する。河川水では、この濃縮液を 200 mL 分液ロートに移し、水酸化ナトリウム 3 g、BSC 7 mL を加え、30 分間激しく振とうして誘導体化を行う（注 4）。海水では、100 mL に定容した濃縮液を 200 mL ビーカーに移し、水酸化ナトリウム 5 g を加え、マグネティックスターラーで 5 分間攪拌した後（注 5）250 mL 遠沈管に移し、3,000 rpm で 10 分間遠心分離を行い上澄液を分取する。残渣に精製水 25 mL を加え、よく攪拌して再度遠心分離を行い、上澄液を合わせる。上澄液は 5A ろ紙でろ過し、精製水で 100 mL に定容した後 200 mL 分液ロートに移し、BSC 7 mL を加え、30 分間激しく振とうして誘導体化を行う。誘導体化した水溶液に水酸化ナトリウム 3 g を加え、さらに 10 分間激しく振とうした後（注 6）5A ろ紙でろ過し、500 mL 分液ロートに移してジクロロメタン 100 mL で 2 回、各 5 分間振とう洗浄する。水溶液を 200 mL ビーカーに移し、pH メーターを使用して、6N 塩酸で pH を 5 に調整し（注 7）、500 mL 分液ロートに移して、塩化ナトリウム 15 g を加え（注 8）、ジクロロメタン 100 mL で 2 回、50 mL で 1 回、各 5 分間振とう抽出を行う。抽出液を合わせ、無水硫酸ナトリウムで脱水後、300 mL フラスコに受け、試料前処理液とする。

(イ) 底質試料

試料 20 g を 300 mL 共栓付三角フラスコに取り、銅粉 5 g、精製水 100 mL を加え、10 分間振とう抽出した後 250 mL 遠沈管に移し、3,000 rpm で 20 分間遠心分離を行い抽出液を

分取する。残渣に精製水 100 mL を加え、再度同様の操作を行い、抽出液を合わせる。抽出液をろ過助剤のハイフロースーパーセル 5 g で吸引ろ過し（注 9）、ろ液を 500 mL 分液ロートに移した後、ジクロロメタン洗浄、濃縮、以下「(ア)水質試料」の河川水と同様の操作を行い、試料前処理液とする。

(2) 試料液の調製

各試料の前処理液をロータリーエバポレーター（ウォーターバス 40 ）で 5 mL 程度まで濃縮後、2 mL 濃縮受器に移し、内標準液 500 μ L を加え、窒素気流で 1 mL とし、測定用試料液とする。

(3) 空試験液の調製

試料と同じ量の精製水を用い、「(1)試料の前処理」及び「(2)試料液の調製」と同様に操作して得られたものを空試験液とする（注 10）。

(4) 添加回収試験液の調製

任意の試料水 500 mL、底質試料 20 g に検出下限値の 5～10 倍になるように検量線作成用標準液の水溶液を加え、十分に混合した後、「(1)試料の前処理」及び「(2)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

エタノールアミン 100 mg を精秤し、精製水に溶解させて正確に 100 mL とし、1,000 μ g/mL の標準原液とする。標準原液を精製水で希釈し 1 μ g/mL の標準溶液を調製する。この標準溶液の 0.05～1 mL を段階的に取り、精製水で 100 mL に定容し、200 mL 分液ロートに移して、水酸化ナトリウム 3 g、BSC 7 mL を加え、30 分間激しく振とうして誘導体化を行う。誘導体化した水溶液に水酸化ナトリウム 3 g を加え、さらに 10 分間激しく振とうする。以下、「(1)(ア)水試料」及び「(2)試料液の調製」と同様の操作を行い、各標準液とする。

(6) 測定

(ア) GC/MS 測定条件の例

(a) ガスクロマトグラフ部

- ・ GC : (注 11)
- ・ カラム : DB-17 0.25 mm × 15 m 膜厚 0.25 μm (注 12)
- ・ カラム温度 : 80 (1 min) - 15 / min - 280 (2 min)
- ・ 注入口温度 : 250
- ・ 注入量 : 1 μL
- ・ 注入方法 : スプリットレス (1 分間パージオフ)
- ・ キャリアーガス : He 1 mL/ min

(b) 質量分析部

- ・ MS : (注 13)
- ・ イオン化法 : EI
- ・ イオン化電圧 : 70V
- ・ インターフェイス温度 : 280
- ・ イオン源温度 : 230

(c) 測定イオン

- ・ m/z 170 (定量用) 141 (確認用)
- ・ m/z 188 (内標準物質 : フェナンスレン-d₁₀)

(イ) 検量線

標準液 1 μL を取り、さらに、ポリエチレングリコール溶液 1 μL を取り (注 14、注 15) GC/MS に注入し、標準物質と内標準物質のピーク面積比から検量線を作成する。

(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の各 1 μL を GC/MS に注入して測定を行う。一定時間ごとに、検量線の間濃度の標準液を測定し、期待値の 20% 以内の変動であることを確認する。もし、この範囲を外れた場合は、GC/MS を再調整後、検量線を作成し直して、測定を再開する。

7 同定、定量及び計算

(1) 同定

GC/MS の測定結果から、定量用及び確認用モニターイオンのピークが予想保持時間の ± 5 秒以内に出現し、定量用及び確認用モニターイオンのピーク強度比が予想値と ± 20% 以内で一致した場合、物質が存在していると見なす。

(2) 定量及び計算

誘導体と内標準物質のピーク面積比を求め、上記の検量線に照らしてエタノールアミンの検出量を求める。次に、検出量と分析試料量から、次式により試料中の濃度を計算する。なお、底質の試料量は乾燥試料量とする。

$$\text{計算値} (\mu\text{g/L}, \mu\text{g/kg}) = \text{検出量} (\mu\text{g}) / \text{試料量} (\text{L}, \text{kg})$$

8 分析精度管理

本マニュアルの「 . 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。

9 注意事項

(注1) 検出下限値及び定量下限値は、本マニュアルの「 . 分析精度管理」に従って算出する。

(注2) Milli-Q SP 超純水装置(ミリポア社製)による精製水と同等以上のもの(備考1)。

(注3) 予め、ロータリーエバポレーターの廃液容器に 420 mL の位置に印をつけておく。

(注4) 30 分間振とうすると発熱するので、十分注意して脱気する。また、振とう後そのまま放置しておくとう分液ロートの栓が抜けなくなることがあるので、振とう後直ちに脱気し、分液ロートの栓を抜くこと。

(注5) 海水には、カルシウム塩やマグネシウム塩等が多量に入っているため、誘導体化時の水酸化ナトリウムの添加で水に不溶な物質が生成し、溶液全体がゲル状になり、回収率が悪くなる。このため、誘導体化の前に水酸化ナトリウムで強アルカリ性にし、遠心分離を行い、カルシウム塩やマグネシウム塩等を除去する。

(注6) 過剰の水酸化ナトリウムを加えて振とうし、未反応の BSC を分解する。

(注7) pH 調整で、pH が 5 以下の酸性になったときは、0.1 ~ 3N 水酸化ナトリウム溶液

で pH5 に調整する。

- (注 8) 海水では、塩化ナトリウム 5 g を加える。
- (注 9) 桐山ロート (SU-40) に 5A のろ紙を敷き、ハイフロースーパーセル 5 g をのせ、アセトン 20 mL、精製水 20 mL で洗浄した後、吸引ろ過する。
- (注 10) 0.1 ng 程度ブランク値が検出されたので、使用するガラス器具は全てアセトンで十分洗浄して乾燥後使用し、塩化ナトリウム及び無水硫酸ナトリウムは加熱処理して使用するなど、ブランク値を極力下げよう努力する。
- (注 11) 例 ヒューレット・パッカード社製 6890 (備考 1)。
- (注 12) カラムは、劣化したものや汚染したものを使用するとピークがテーリングして定量値に誤差を与えるので、カラムは新しいものを使用する。
- (注 13) 例 ヒューレット・パッカード社製 5973 (備考 1)。
- (注 14) エタノールアミンのスルホンアミド誘導体 (EA-SA) を GC/MS に注入すると、感度が徐々に高くなっていき、同じ濃度の標準品を数回注入しないと安定しない。また、標準品を添加した底質試料の方がマトリックス成分の影響により標準品よりピークがシャープになることから、標準品とポリエチレングリコールを同時に注入することで標準品のピークがシャープになり、感度の安定性も良くなった。検量線の直線性は、0.1 ~ 1.0 ng を注入したときの相関係数で 0.995 以上であった。
- (注 15) EA-SA は注入口に吸着するので、標準品や濃度の高いサンプルを注入した後はジクロロメタンのみを注入し、EA-SA のピークが出現しないことを確認してから次のサンプルを注入する。また、注入口ライナーは汚染していないものを使用する。
- (備考 1) ここに示す商品は、このマニュアル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。

10 参考

- (1) 分析試料の送付方法
- (ア) 試料の前処理を行わない場合
- (a) 水質試料

アセトンで十分洗浄し、乾燥させたガラス瓶に、ヘッドスペースが残らないように試料を採取し、梱包して送付する。

(b) 底質試料

アセトンで十分洗浄し、乾燥させたガラス瓶に試料を入れ、ドライアイスで冷却した状態で、梱包して送付する。

(イ) 試料の前処理を行う場合

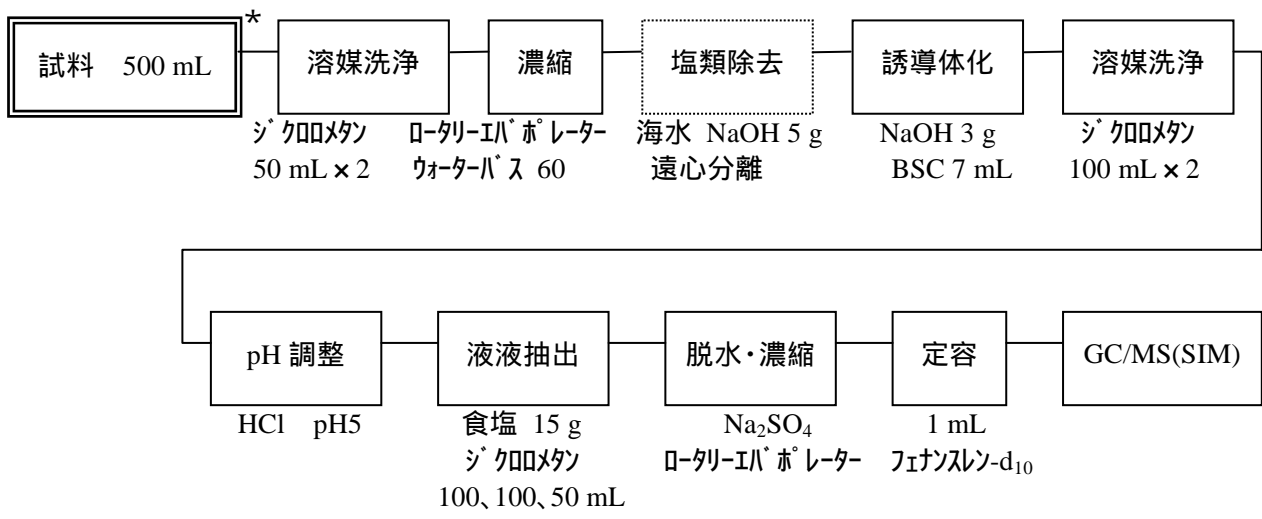
分析法に示した「6(1) 試料の前処理」及び「(2) 試料液の調製」の要領に従って得られた約 5 mL 程度のジクロロメタン溶液を、アンプルまたはバイアル瓶に密封して送付する。

参考文献

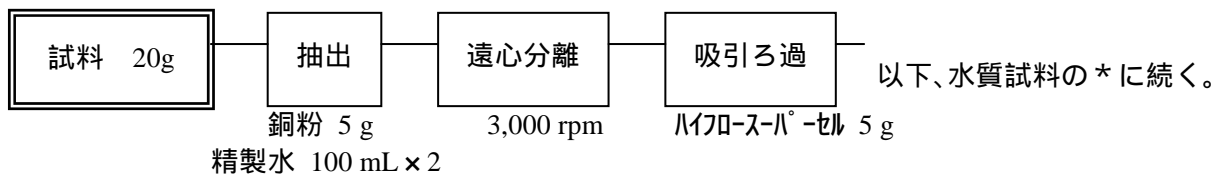
- 1) 柞木ルミ子, 貴戸 東: エチルアミン, アリルアミン, *n*-ブチルアミン, *tert*-ブチルアミン, pp687-691, 「化学物質分析法開発調査報告書総覧(下巻)」, 環境庁環境保健部保健調査室, 東京(1991)
- 2) 貴戸 東, 柞木ルミ子, 篠原亮太: *iso*-プロピルアミン, *n*-プロピルアミン, *iso*-プロパノールアミン, *n*-プロパノールアミン, モノエタノールアミン, pp954-958, 「化学物質分析法開発調査報告書総覧(下巻)」, 環境庁環境保健部保健調査室, 東京(1991)
- 3) Terashi, A., Hanada, Y., Kido, A., and Shinohara, R.: Determination of primary and secondary aliphatic amines in the environment as sulphonamide derivatives by gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr.*, **503**, 369-375 (1990)
- 4) Price, N. P. J., Firmin, J. L., and Gray, D. O.: Screening for amines by dansylation and automated high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.*, **598**, 51-57 (1992)
- 5) 西野茂幸, 小田達也: エタノールアミン, pp181-191, 「平成5年度化学物質分析法開発調査報告書」, 環境庁環境保健部保健調査室, 東京(1994)

分析法フローチャート

水質試料



底質試料



シクロヘキシルアミン、ジシクロヘキシルアミン、
ビス(2-エチルヘキシル)アミンの分析法

1 対象物質

シクロヘキシルアミン、ジシクロヘキシルアミン、ビス(2-エチルヘキシル)アミン

2 目標検出下限値及び定量下限値

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 対象物質の目標検出下限値及び目標定量下限値

物質名	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
シクロヘキシルアミン	0.01	0.03	1	3	1	3
ジシクロヘキシルアミン	0.01	0.03	1	3	1	3
ビス(2-エチルヘキシル)アミン	0.01	0.03	1	3	1	3

3 分析法の概要

水質、底質試料中の対象物質は、アルカリ性で蒸留後、留液をアルカリ性とする。ジクロロメタンで液液抽出し、濃縮後、アセチル化してGC/MS-SIMで定量する(注1、注2)。生物試料中の対象物質は、アセトンで固液抽出後、蒸留し、以下、水質試料と同様に分析する。

4 試薬、器具及び装置

(1) 試薬

- ・ジクロロメタン、アセトン：残留農薬分析用またはこれと同等以上のもの(注3)。
- ・塩化ナトリウム、無水硫酸ナトリウム：残留農薬分析用またはこれと同等以上のもの(注4)。
- ・シクロヘキシルアミン、ジシクロヘキシルアミン及びビス(2-エチルヘキシル)アミン：市販品(注5)。
- ・内標準(ナフタレン-d₈、アセナフチレン-d₁₀、1,2-ジフェニルエタン-d₁₄)：市販の標準品(注6)。

- ・標準原液：標準物質 100 mg を各々別の 100 mL メスフラスコに精秤し、ジクロロメタンを加えて正確に 100 mL とし、これを 1,000 µg/mL の標準原液とする。各標準原液 10 mL を 100 mL メスフラスコに正確にとり、ジクロロメタンで 100 mL とし、これを標準混合原液とする。標準混合原液は 1 mL 中に各標準物質 100 µg を含む（注 7）。
- ・内標準溶液：各内標準 100 mg を各々別の 100 mL メスフラスコに精秤し、ジクロロメタンを加えて正確に 100 mL とし、これを 1,000 µg/mL の内標準原液とする。各内標準原液 10 mL を 100 mL メスフラスコに正確にとり、ジクロロメタンで 100 mL とし、これを内標準溶液とする。内標準溶液は 1 mL 中に各内標準 100 µg を含む。
- ・還元銅カラム：ロート（足外径 7 mm）の足にガラスウールを詰め、還元銅（有機元素分析用還元銅またはこれと同等以上のもので 60～80 メッシュ程度のもの）を 2 cm 充填する。還元銅は、窒素ガス中で保存し、使用直前に使用する溶媒で洗浄する。
- ・水：対象物質及びその妨害物質を含まないもの（注 8）。

（ 2 ） 器具・装置

- ・試料採取容器：水質試料用は、ガラス製共栓付き褐色ガラス瓶（容量 1 L）、又は、四フッ化エチレン樹脂張りシリコーンゴム栓付きスクリュウキャップ用ネジ口褐色ガラス瓶（容量 1 L）又はこれと同等以上のもの。底質試料用はガラス製共栓付き褐色広口ガラス瓶（容量 100～300 mL）、又は、四フッ化エチレン樹脂張りシリコーンゴム栓付きスクリュウキャップ用ネジ口褐色広口ガラス瓶（容量 100～300 mL）又はこれと同等以上のもの。洗浄後、水ですすぎ、乾燥する。アセトン及びヘキサンで洗浄し、乾燥する。キャップを堅くしめ、汚染のない場所に保管する。
- ・蒸留装置：1 L 又は 2 L のフラスコが接続できるもの。洗浄後、水ですすぎ、乾燥する。アセトン及びジクロロメタンで洗浄し、乾燥する。
- ・ガラス器具：洗浄後、水ですすぎ、乾燥する。さらに、アセトン及びジクロロメタンで洗浄し、乾燥する。
- ・ロータリーエバポレータまたは KD 濃縮装置。
- ・振とう器
- ・試験管ミキサー
- ・ホモジナイザー：万能ホモジナイザー、超高速万能ホモジナイザー、攪拌分散器、又は同等品

- ・ GC/MS : キャピラリーカラムの取付可能な GC 付き四重極型、二重収束型又はこれらと同等以上の性能を有する MS。

5 分析操作

(1) 試料採取

(ア) 水質試料

試料採取容器を採取試料で数回共洗いしてから、試料を泡立たないように静かに採取容器に満たし、直ちにキャップをする。このとき、瓶内に空気層を残さないよう注意する。試料は遮光して運搬する。試験操作は試料採取後直ちに行う。

(イ) 底質試料

試料を採取容器に 8 割程度採り、キャップをする。試料は遮光して運搬する。試験操作は試料採取後直ちに行う。直ちに行えない場合は、汚染のない冷暗所で凍結保存する。

なお、試料採取、運搬、調製にかかわる手順などの詳細は、本マニュアルの「[5.1 試料の採取、運搬、調製にかかわる一般事項](#)」に従う。

(2) 試験操作

(ア) 水質試料の前処理

水試料 1 L を 2 L 蒸留フラスコにとり、塩化ナトリウム 50 g (注 9)、10 N 水酸化ナトリウム 10 mL、沸石を入れ、蒸留装置に接続する。1 N 塩酸 10 mL を入れた 200 mL メスシリンダーなどを受器として、受器の液量が 180 mL となるまで蒸留する (注 10、11)。受器内の溶液を 300 mL 分液ロートに移し、塩化ナトリウム 25 g、10 N 水酸化ナトリウム溶液 20 mL を加えてから、ジクロロメタン 20 mL を加えて 5 分間振とうする。静置し、ジクロロメタン層を分離後、さらにジクロロメタン 10 mL を加えて同様に操作する。この操作を再度繰り返す (注 12)。ジクロロメタン層を合わせ、無水硫酸ナトリウムで脱水後、ナス型フラスコに入れ、アセトン 10 mL を加え、ロータリーエバポレータ又は KD 濃縮装置を用いて約 5 mL まで濃縮する (注 13)。得られた溶液を目盛付試験管などに移し、ナス型フラスコを少量のアセトンを用いてよく洗い (注 14)、洗液をジクロロメタン溶液と合わせる。この操作を数回繰り返し、得られた溶液を前処理液とする (注 15)。

(イ) 底質試料の前処理

試料 20 g を 1 L 蒸留フラスコにとり、精製水 500 mL、塩化ナトリウム 15 g、10 N 水酸化ナトリウム 5 mL、沸石を入れ、蒸留装置に接続する（注 16）。以下、水試料の前処理と同様に操作する（注 17）。

(ウ) 生物試料の前処理

試料 20 g を 100 mL の共栓付遠沈管にとり、アセトン 50 mL を加え、5 分間ホモジナイザーで攪拌抽出する。3,000 rpm で 10 分間遠心分離し、上澄みを回収する。残さにアセトン 50 mL を加え、この抽出分離操作をさらに行う。アセトン層を合わせ、1 L 蒸留フラスコにとり、塩化ナトリウム 15 g、10 N 水酸化ナトリウム 5 mL、沸石を入れ、蒸留装置に接続する。1 N 塩酸 10 mL を入れた 300 mL メスシリンダーなどを受器として（注 9）、受器の液量が 300 mL となるまで蒸留する（注 18）。以下、水試料の前処理と同様に操作する。

(エ) 測定用試料液の調製

前処理液に清浄な窒素ガスを穏やかに吹き付けて 0.5 mL とし（注 19）、無水酢酸 50 μ L 及び内標準を添加し（注 20）、アセトンを加えて 1 mL とし、試験管ミキサーでかく拌する（注 14）。溶液をバイアルに移し、密栓後、70 で 1 時間放置し（注 21）、測定用試料液とする。

(3) 空試料液の調製

試料と同量の精製水を用いて、「試験操作」に従って試料と同様の処理を行い、得られた試料液を空試料液とする（注 22）。

(4) 標準液の調製

標準混合原液を順次ジクロロメタンで希釈し、0.02 ~ 2 μ g/mL 程度の濃度の標準溶液を調製する（注 23）。各標準溶液 0.5 mL に無水酢酸 50 μ L 及び内標準を添加後（注 24）、アセトンを加えて 1 mL とし、以下、測定用試料液の調製に従って操作し、得られた溶液を標準液とする。

(5) 測定

(ア) GC/MS 条件の例 (注 25、注 26)

(a) GC

- ・カラム: 5% フェニルメチルシリコン化学結合型(内径 0.2 ~ 0.75 mm、長さ 15 ~ 30 m、膜厚 0.1 ~ 3.0 μm 程度) カラムまたは同等以上の分離性能をもつもの (注 27)
- ・カラム温度: 60 (1分) 7.5 /分 280
- ・注入口温度: 250
- ・キャリアガス: ヘリウム (線速度 40 cm / 秒)
- ・注入法: スプリットレス (1 分後パーズ開始)

(b) MS

- ・イオン化法: EI
- ・イオン化エネルギー: 70eV
- ・イオン化電流: 300 μA
- ・イオン源温度: 250

(c) 定量イオンの例 (注 28、注 29)

- ・*N*-シクロヘキシルアセトアミド: 141、98、60
- ・ジシクロヘキシルアセトアミド: 223、166、140
- ・ビス (2-エチルヘキシル) アセトアミド: 184、142
- ・ナフタレン- d_8 : 136
- ・アセナフチレン- d_{10} : 164
- ・1,2-ジフェニルエタン- d_{14} : 196
- ・フルオランテン- d_{10} : 212

(イ) 検量線

各標準液 1 mL に内標準を添加し、その一部を GC/MS に注入する (注 30)。内標準と対象物質の面積比を求め、検量線を作製する (注 31)。

(ウ) 試料液の測定

測定用試料液の一部を GC/MS に注入する (注 32)。内標準と対象物質の各測定イオンの面積を求める。

7 同定、定量及び計算

(1) 同定

対象物質、サロゲート及び内標準について、定量イオン及び確認イオンが、検量線作成に用いた標準物質などの保持時間の ± 5 秒以内に出現し (注 33)、定量イオンと確認イオンの強度比が検量線作成に用いた標準物質などにおける強度比の $\pm 20\%$ 以下であれば、対象物質などが存在していると見なす。

(2) 定量及び計算

測定用試料液及び空試料液について内標準と対象物質の面積比を求め、対象物質の濃度を内標準法で求める (注 31)。次式で試料中の各対象物質濃度を計算する (注 34)。なお、底質の試料量は乾燥試料量とする。

$$\text{水質：濃度 (}\mu\text{g/L)} = (\text{検出量 (ng)} - \text{空試料液の検出量 (ng)}) \times \text{測定用試料液量 (mL)} \\ / \text{注入量 (}\mu\text{L)} / \text{試料量 (L)}$$

$$\text{底質：濃度 (}\mu\text{g/kg)} = (\text{検出量 (ng)} - \text{空試料液の検出量 (ng)}) \times \text{測定用試料液量 (mL)} \\ / \text{注入量 (}\mu\text{L)} / \text{試料量 (g)} \times 1,000$$

$$\text{生物：濃度 (}\mu\text{g/kg)} = (\text{検出量 (ng)} - \text{空試料液の検出量 (ng)}) \times \text{測定用試料液量 (mL)} \\ / \text{注入量 (}\mu\text{L)} / \text{試料量 (g)} \times 1,000$$

8 分析精度管理

本マニュアルの「 . 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。

9 注意事項

(注 1) 全操作を通じて、良好な回収結果が得られることをあらかじめ確認すること。

GC/MS 測定において、十分な感度が得られれば SIM 測定の代わりにスキャン測

定でもよい。

- (注 2) 対象物質の安定同位体が入手可能であればサロゲートとして用いることが望ましい。対象物質と類似構造をもつ物質の安定同位体など適当な物質をサロゲートとして用いても良い。サロゲートは試験操作において試料に添加する。サロゲートの添加量は対象物質濃度や試験操作条件などに応じて適切な量とする。サロゲートは、原則として全操作を通しての回収率を確認するために用いる。
- (注 3) 使用前に空試験を行い、使用の適否を確認すること。
- (注 4) 妨害が認められる場合は、500～700 で 8 時間程度加熱後、汚染のない場所で冷却して用いる。
- (注 5) 純度を確認してから使用すること。
- (注 6) 内標準として、フェナントレン-d₁₀、アントラセン-d₁₀、*p*-ターフェニル-d₁₄、ピレン-d₁₀、HCB-¹³C₆などを用いてもよい。
- (注 7) 長期の保存はさける。保存した標準原液は、純度を確認してから使用する。
- (注 8) 蒸留水や逆浸透膜により精製した水などを用いる。必要に応じてヘキサンや使用する溶媒などで洗浄する。いずれも使用前に空試験を行い、使用の適否を確認すること。
- (注 9) 海水などについては塩化ナトリウム量が 50 g となるように添加する。
- (注 10) 対象物質の揮散による損失を防ぐため、流出口が受器の底部に来るようにするとともに、必要に応じて受器を氷水などで冷却する。蒸留操作においては、必要に応じて消泡剤を加えても良い。なお、アミン類が容器の壁面に吸着している可能性がある場合は、蒸留後、蒸留装置の冷却管や逆流止めなどを少量のアセトンで洗いこみ、受器内の溶液に合わせる。
- (注 11) なお、清浄な水試料については蒸留操作を行わず、液々抽出を行っても良い。この場合は、2 L 分液ロートに水試料 1 L をとり、塩化ナトリウム 125 g (注 9)、10 N 水酸化ナトリウム溶液 100 mL を加えてから、ジクロロメタン 100 mL を用いて 5 分間振とう抽出する。さらにジクロロメタン 50 mL を用いて 5 分間振とう抽出する。この操作を再度繰り返す。
- (注 12) 留液を濃縮後、溶媒抽出してもよい。この場合は、留液が酸性であることを確認後、300 mL ナス型フラスコに移し、ロータリーエバポレータを用いて乾固するまで減圧濃縮する。直ちに精製水を用いて 20 mL 共栓付試験管に移して 5 mL と

する。これにジクロロメタン 1 mL と 10 N 水酸化ナトリウム溶液 1 mL を加えて 1 分間振とうし、ジクロロメタン層を分取する。さらにジクロロメタン 1 mL を加えて同様に抽出操作を行う。この操作をさらに 1 回繰り返す。ジクロロメタン層を合わせ、無水硫酸ナトリウムで脱水し、得られた溶液 (5 mL 以下) を前処理液とする。

- (注 13) 湯浴温度は 25 以下とする。また、減圧時の圧力などにも配慮し、対象物質が揮散しないよう十分留意する。
- (注 14) アミン類が容器の壁面に吸着している可能性があるので注意すること。
- (注 15) 溶液量は 10 mL 以下とする。
- (注 16) 30 mL 程度の水で試料をよく分散させながらフラスコに入れる。
- (注 17) 単体硫黄が溶出し GC/MS 測定の影響となる場合は、ジクロロメタン抽出液を還元銅カラムに通して硫黄を除去する。還元銅カラム中の還元銅の充填量は必要に応じて増減しても良い。
- (注 18) 最初にアセトンが約 100 mL 留出するので、300 mL を採取する。
- (注 19) 湯浴温度は 25 以下とする。また、吹き付ける窒素ガスの流量にも配慮し、対象物質が揮散しないよう十分留意する。
- (注 20) 内標準の添加量は対象物質濃度や試験操作条件などに応じて適切な量とする。
- (注 21) 反応が完了したことを確認する。
- (注 22) 空試験値については可能な限り低減化を図る。
- (注 23) 試料中の対象物質濃度や試験操作条件に応じて適切な濃度範囲とする。
- (注 24) 内標準の添加量は試料の前処理液の場合と同量とする。
- (注 25) 共存する他の物質の影響を受けないよう GC 条件を十分検討する。また、試料注入部やカラムなどに対象物質が吸着することがあるので、材質や汚れなどに注意する。
- (注 26) GC の注入口セプタムからゴーストが出現することがある。その場合には、セプタムを GC に装着後、270 程度で一夜程度パーズしてから使用する。
- (注 27) 例えば HP-5 など (備考 1)。
- (注 28) ここに示す測定イオン例を参考にして、最適な定量用イオンを選定する。定量用イオンと異なる質量数のイオンを対象物質の確認用イオンとする。
- (注 29) 定量に用いる内標準は、原則として対象化合物の保持時間に最も近いものを用い

る。内標準として(注6)に示す物質を使用する場合は、定量イオンとしてフェナントレン-d₁₀:188、アントラセン-d₁₀:188、*p*-ターフェニル-d₁₄:244、ピレン-d₁₀:212、HCB-¹³C₆:290などを用いる。

(注30) GC/MSへの注入量は装置に応じて適切な量とする。

(注31) サロゲートを用いた場合は、内標準のかわりにサロゲートを用いて定量を行い、内標準をサロゲートの回収率の確認に用いてもよい。

(注32) GC/MSへの注入量は検量線作成の場合と同量とする。

(注33) 測定用試料中に夾雑物が多い場合には、保持時間が変わることがあるので注意する。

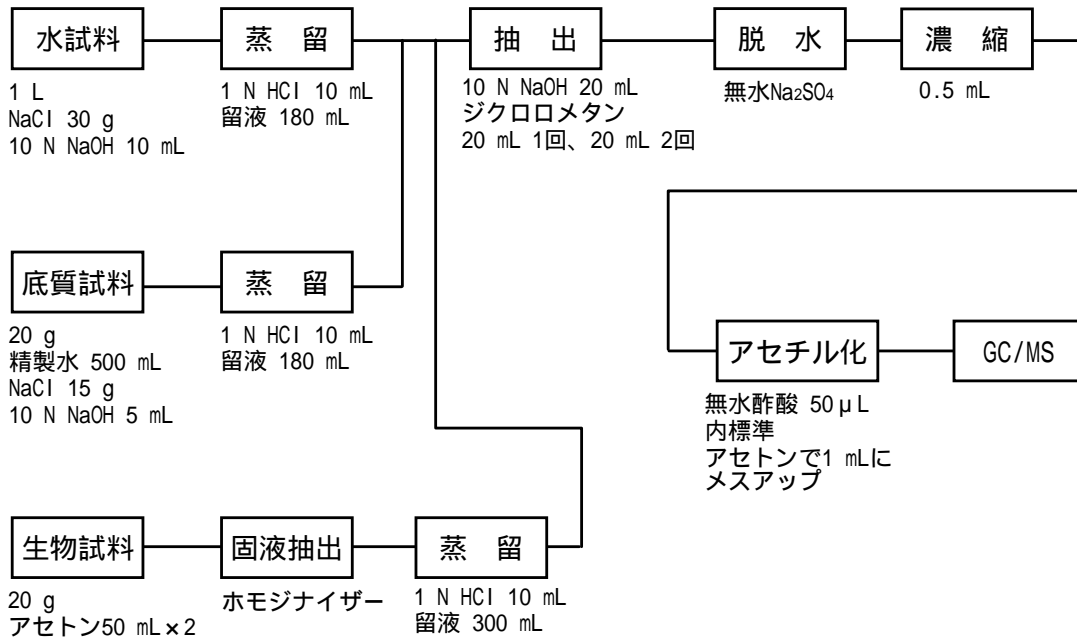
(注34) 空試料における検出値が空試験に用いた水に由来する場合は、空試料の検出量は差し引かない。

(備考1) ここに示す商品は、このマニュアル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。

参考文献

- 1) 環境庁環境保健部保健調査室:「昭和58年度 化学物質分析法開発調査報告書」,化学物質分析法開発調査報告書総覧(上), p.1907(1991)
- 2) 環境庁環境保健部保健調査室:「昭和57年度 化学物質分析法開発調査報告書」,化学物質分析法開発調査報告書総覧(上), p.2138(1991)
- 3) 環境庁環境保健部保健調査室:「昭和56年度 化学物質分析法開発調査報告書」,化学物質分析法開発調査報告書総覧(下), p.103(1991)
- 4) 環境庁環境保健部保健調査室:「昭和56年度 化学物質分析法開発調査報告書」,化学物質分析法開発調査報告書総覧(下), p.195(1991)

分析法フローチャート



．ニトリロ三酢酸（NTA）の分析法

1 対象物質

ニトリロ三酢酸（別名：NTA）

2 目標検出下限値及び定量下限値

	水質（ $\mu\text{g/L}$ ）		底質（ $\mu\text{g/kg}$ ）	生物（ $\mu\text{g/kg}$ ）
	目標検出下限値	目標定量下限値	目標検出下限値	目標検出下限値
NTA	0.07	0.2	5	20

3 分析法の概要

水質試料は、試料を濃縮乾固し、三フッ化ホウ素メタノール錯体（ $\text{BF}_3\text{-MeOH}$ ）メタノール溶液でメチルエステル誘導体化し、GC/MS-SIMで定量する。なお、本法は海水については適用出来ない。

底質試料は、超音波で水抽出（pH 9-12）し、遠心分離後水層を分取、蟻酸で酸性にし、再遠沈後、水質試料と同様に操作する。

生物試料については、ホモジナイザーで水抽出（pH 9-12）し、遠心分離後水層を分取、蟻酸で酸性にし、底質試料と同様に操作する。

4 試薬、器具及び装置

（1）試薬

・ *trans*-1,2-シクロヘキサンジアミン-*N,N,N',N'*-四酢酸（CyDTA）・ H_2O ：市販特級品

CyDTA 溶液：CyDTA 一水和物 10 mg を 1M-NaOH 100 mL に溶解して調製する。

・ 内標準物質（フェナンスレン- d_{10} ）：市販標準品

内標準溶液：1.0 $\mu\text{g/mL}$ ジクロロメタン溶液を調製する。

・ 三フッ化ホウ素メタノール錯体メタノール溶液（ BF_3 abt. 14%がスクラムトグラ用）：市販品

・ 水：蒸留水又はミネラルウォーター（注1）

・ 緩衝溶液（pH 7）：1M- KH_2PO_4 を調製し、10M-NaOHを加えてpHを7に調整する。

・ ジクロロメタン、アセトン：残留農薬試験用

- ・無水硫酸ナトリウム：残留農薬試験用
- ・蟻酸、水酸化ナトリウム：試薬特級

(2) 器具及び装置

- ・超音波洗浄器：底質試料の抽出に用いる。
- ・ホモジナイザー：魚試料の抽出に用いる。
- ・遠心分離器：底質及び魚試料の抽出液の分離に用いる。
- ・ロータリーエバポレータ：試料液の濃縮に用いる（注2）。
- ・ヘアードライヤー：窒素気流による試料の乾固に使用。集中的に加温出来るのでフード付きのものが好ましい。

5 試料の採取・運搬

(1) 水質試料

洗剤、水、アセトンの順で洗浄し、最後は蒸留水で5回程度すすいだ（注3）1Lの共栓付きガラスビンに試料水を採取し、冷暗所（4以下）で保存し、氷冷輸送すること。搬入されたサンプルは出来るだけすみやかに分析すること。

(2) 底質試料

底質は、湿重量約100gの底質を採取し、夾雑物を除去した後、遠心分離して水分を出るだけ除いたのち、冷凍保存する。

(3) 生物試料

魚試料は、分析部位をホモジナイズした後、冷凍保存する。分析時は自然解凍して用いる。

6 試験操作

(1) 前処理

(ア) 水質試料

試料100mLを300mLの丸型フラスコにとり、CyDTA溶液50 μ Lを添加し（注4）ロータリーエバポレータで2mL程度まで濃縮し（注5）10mL共栓付き試験管に移しかえ、

加熱しながら窒素ガスを吹き付け蒸発乾固する（注 6）。

（イ）底質試料

試料 10 g を 50 mL 容遠沈管にとり、精製水 30 mL、CyDTA 溶液 50 μ L（注 4）、4M-NaOH を数滴添加し、スパーテルでよくかき混ぜ、超音波抽出を 10 分間行った後、3,000 rpm で 10 分間遠心分離を行う。水層を分取し、4M-蟻酸で pH を 2.5 付近に調整した後（注 7）、再度遠心分離を行う。水層を分取し、水質試料と同様に処理する。

（ウ）生物試料

試料 1 g を 200 mL のビーカーにとり、CyDTA 溶液 50 μ L（注 4）、精製水 30 mL 及び 4M-NaOH を数滴加え、ホモジナイザーで抽出する。50 mL 遠沈管に移し替え遠心分離する。水層を分取し（注 8）、4M-蟻酸で pH 2.5 付近に調整した後、底質試料と同様に処理する（注 9）。

（ 2 ） 試料液の調製

（ア）水質試料、底質試料及び生物試料

乾固した試料に $\text{BF}_3\text{-MeOH}$ 溶液 1 mLを加え、堅く栓をしてストッパーで止め（注 10）、80 で 30 分間誘導体化反応を行う。室温に放冷後、内標準液 0.2 mL及び緩衝液（pH 7）3 mLを加え、50 mL分液ロートに移した後、ジクロロメタン 3 mLずつで 2 回抽出する。無水硫酸ナトリウムで脱水し、窒素ガスを吹き付けて 0.5 mLまで濃縮したものを試料液とする。

（ 3 ） 空試験液の調製

（ア）水質試料、底質試料及び生物試料

試料と同量の精製水を用いて「（ 1 ） 前処理」及び「（ 2 ） 試料液の調製」の項に従って操作をして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

水質試料 100 mL、底質試料 10 g 及び生物試料 1 g に各対象物質を検出限界の 5 ~ 10 倍量の水溶液で添加し、充分混合した後、「（ 1 ） 前処理」及び「（ 2 ） 試料液の調製」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) 標準液の調製

NTA・2Na の 100 µg/mL 水溶液を調製する。

(6) 測定

(ア) GC/MS 測定条件

(a) GC

- ・ カラム：溶融シリカキャピラリーカラム (25 m × 0.32 mm 0.52 µm film thickness)
- ・ 液相：5% フェニルメチルシリコン
- ・ カラム温度：70 (2 分) 15 / 分 300 (10 分)
- ・ 注入口温度：250
- ・ 注入法：スプリットレス法 (2 分後パージ、2 µL 注入)
- ・ キャリアーガス：He カラムヘッド圧 7.5psi
- ・ インターフェース温度：250

(b) MS

- ・ イオン化法：EI Positive
- ・ イオン化エネルギー：70 eV
- ・ イオン源温度：250
- ・ イオン化電流：300 µA
- ・ 検出モード：SIM

(c) 測定イオン

対象物質、CyDTA 及び内標準物質の測定イオンを表 1 に示す (注 11)。

(イ) 検量線

標準液 (10 µg/mL 水溶液) を 0 ~ 500 µL の範囲で段階的に採り (注 12)、CyDTA 溶液 50 µL (注 4) を加え、加熱しながら窒素ガスを吹き付けて蒸発乾固する。以下「(2) 試料液の調製」の項に従って操作をして得た試料液を GC/MS に注入し、標準物質と内標準とのピーク面積比から検量線を作成する。

表 1 対象物質、サロゲート物質及び内標準物質の測定イオン

化合物名	測定イオン	
	定量用	確認用
NTA	233	174
CyDTA	402	
フェナンスレン-d ₁₀	188	

(ウ) 試料液の測定

検量線作成後、空試験液、測定用試験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/MS を再調整後、検量線を作成し直して測定を再開する。

7. 同定、定量及び計算

(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 ±20% 以内の差で合っていれば、物質が存在しているを見なす。

(2) 定量及び計算

得られた対象物質と内標準(注 13)とのピーク面積比から検量線により検出量を求める。次に検出量、分析した試料量等から、次式により試料中の濃度を計算する(注 14)。

$$\text{水質試料濃度 (}\mu\text{g/L)} = \text{検出量 (}\mu\text{g)} \times \frac{1}{\text{試料量 (L)}} \times \text{換算係数}$$

$$\text{底質・生物試料濃度 (}\mu\text{g/kg)} = \text{検出量 (}\mu\text{g)} \times \frac{1}{\text{試料量 (kg)}} \times \text{換算係数}$$

$$\text{フリー体への換算係数} = \frac{\text{NTA (191.1)}}{\text{NTA} \cdot 2\text{Na (235.1)}} = 0.813$$

(ここでの検出量とは試料液中に存在する対象物質の全量である。)

8 分析精度管理

本マニュアルの「 . 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。

9 注意事項

サロゲートとして添加したCyDTAにより定量するとやや過大に定量され、またGCの保持時間が離れすぎているため変動係数が大きくなるため、内標準のフェナンスレン-d₁₀により定量する（注 15）。CyDTAは回収や誘導体化反応がうまくいっているかの判断に使用する。

なお、本分析法はエチレンジアミン四酢酸（EDTA）「要調査項目等調査マニュアル 平成 12 年度版」と全く同じであり、従って本法により EDTA も同時に定量できる。

（注 1） 使用する水については本分析法により定量を行い、使用の可否について検討しておくこと。

（注 2） ロータリーエバポレーターには必ず逆流止めを付けること。また、前使用者が有機溶媒の濃縮に使用し、溶媒溜に有機溶媒が入っている場合は蒸気圧のため、水の濃縮が困難となる。必ず残っている有機溶媒を除去して使用すること。

（注 3） EDTA を同時定量する場合、実験室で使用している洗剤には EDTA が配合されているものが有り、洗浄後は充分蒸留水で洗浄すること。事前に 0.1 mL の洗剤を乾固し、本法の誘導体化を行い EDTA 添加の有無を確認しておくことと良い。

（注 4） EDTA同時定量時、サロゲート(EDTA-d₁₂)を使用する場合は添加しなくてよい。またその場合、定量はサロゲートを内標準として行う。サロゲートを使用しない場合は、CyDTAは分析がうまくいっているかの判断に使う。

（注 5） ロータリーエバポレーターの湯浴の温度はコントロールする必要は無い。可能な限り高くして濃縮速度を速めること。但し突沸しない程度の温度にすること。

検体数が多く時間がかかる場合は、試料水を 200 mL 容ビーカーに入れホットプレート上で濃縮してもよい。（ホットプレートの温度にもよるが 2.5 時間程度で濃縮できる。水が無くなった状態で加熱を続け焦げ付かさないように注意すること。

なお、本法は海水については適用出来ない。塩が大量に析出し分析が困難であ

る。

(注 6) 乾固は充分に行う。水分が残っていると誘導体化反応が完全に進行しない。また窒素の吹き付けを続けても EDTA が揮散する心配は無い(加熱しながら数時間も行うと揮散のおそれがあるので乾固後数分程度にとどめること)。乾固したときに残さがある場合は窒素ガスの吹き付けをゆるやかにを行い残さを吹き飛ばさないように注意すること。

検体数が多い場合は、濃縮した試料水を 10 mL 容 KD 濃縮管に入れ、130 程度にセットされた恒温乾燥器内にセットすれば 3 時間程度で乾固できる。一夜放置して置いても揮散により回収率が低下することは無い。

(注 7) アルカリ性で遠心分離しても水層はわずかに濁っている場合がある。酸性にして再度遠心分離を行うと透明になる。

(注 8) 移し替える時、静かにすること。沈殿物を入れないようにすること。

(注 9) 生物試料の乾固は、ヘアードライヤーで加熱しながら、残さが褐色になるまで完全に行う。この乾固が不十分な場合、誘導体化反応が完全に進行しない。また、ジクロロメタン抽出時に水層と分離しにくい。

(注 10) 圧力がかかるので強く栓をし、ストッパーで止めておくこと。

(注 11) EDTA 同時定量時にはピーク強度の大きい m/z 174 を使用するが、妨害があれば他の m/z 289 又は 348 を使用する。

CyDTA を内標準としての定量もできるが、添加回収実験の結果、回収率が 100% を越える結果が得られたのでフェナンスレン- d_{10} を内標準として定量することとした。

(注 12) 検量線の濃度範囲は、使用する GC/MS の感度に応じて適宜変更してもよい。

(注 13) EDTA 定量時、サロゲートを使用した場合は対象物質とサロゲートのピーク面積比から検量線により定量する。

(注 14) 標準品として Na 塩や水和物を使用しているため、遊離体の無水物濃度に換算するため、換算係数を乗じる。

(注 15) 本法に於ける底質からの回収率はやや悪く 50% 程度であった。底質試料の場合のみ CyDTA により定量すれば、見かけ上 90% 程度の回収率が得られる。

(備考 1) ここに示す商品は、このマニュアルの使用者の便宜上、一般に入手できるもの

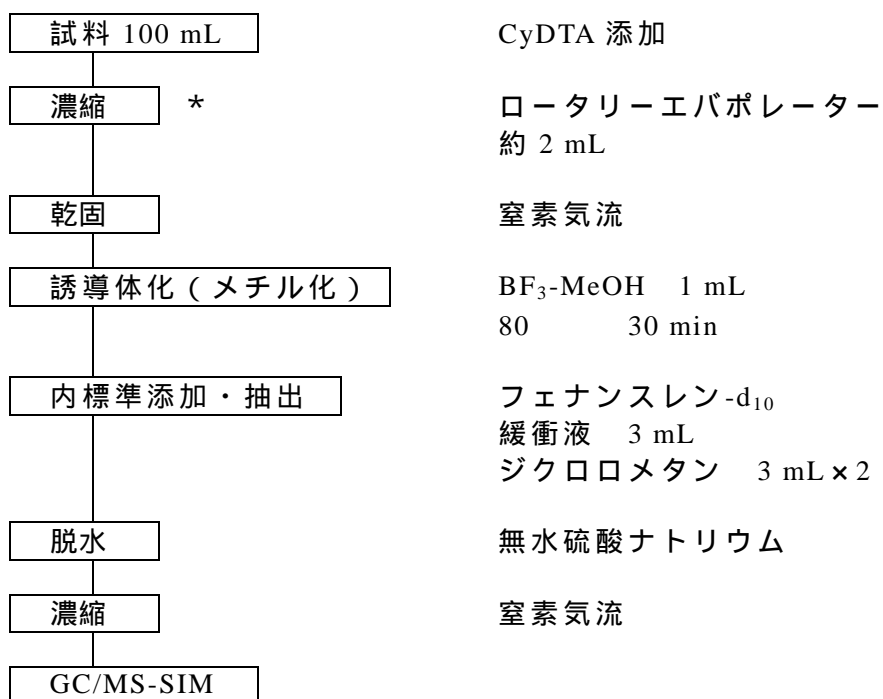
及び本分析法開発に使用したものを例示したが、これを推奨するものではない。
これと同等または同等以上の品質・性能のものを用いても良い。

参考文献

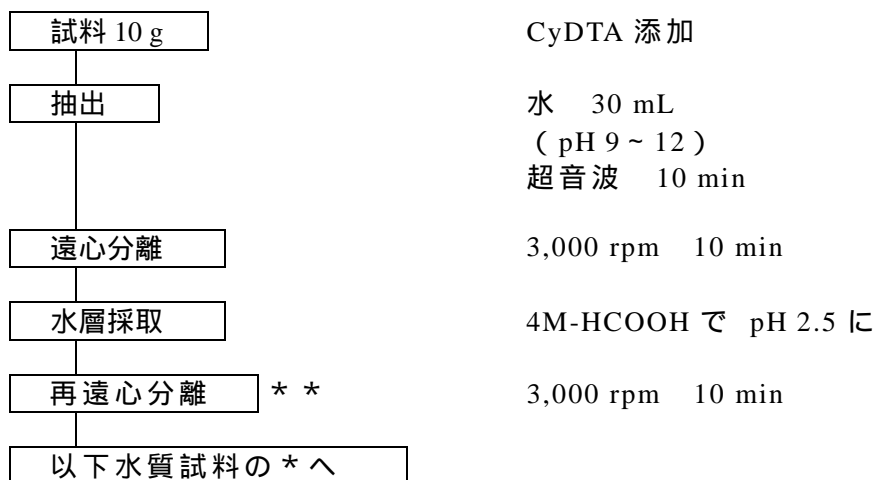
- 1) 環境庁 環境保健部 保健調査室「平成 5 年度 化学物質分析法開発報告書」p.88-99, 平成 6 年 6 月
- 2) Rudlig L., *Water Research* , **6**, 871-876 (1972)

分析法フローチャート

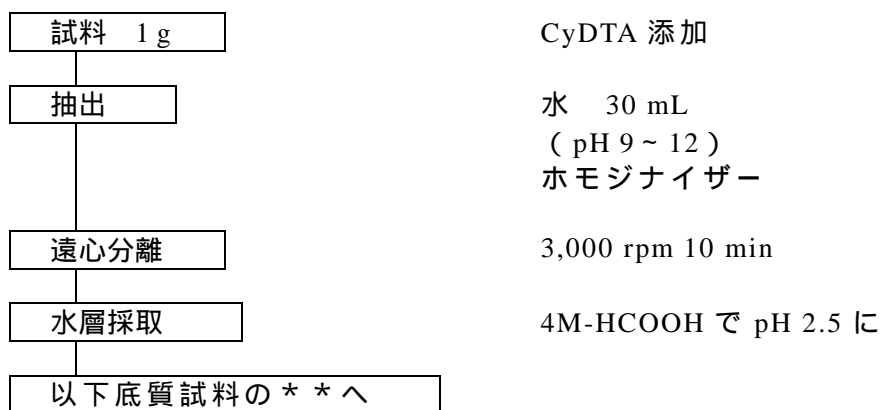
水質試料



底質試料



生物試料



-メチルスチレン、ニトロベンゼンの分析法

1 対象物質

-メチルスチレン（イソプロペニルベンゼン）及びニトロベンゼン（表1）。

表1 対象物質、サロゲートと定量イオンの例（注1）

物質名	測定イオンの例	サロゲートの例	測定イオンの例
-メチルスチレン	103 117 118	<i>p</i> -クロロトルエン-d ₄	95 130
ニトロベンゼン	77 123	ニトロベンゼン-d ₅	82 128

2 目標検出下限値及び定量下限値

本分析法の目標検出下限値及び目標定量下限値を表2に示す。

表2 対象物質の目標検出下限値及び目標定量下限値

物質名	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
-メチルスチレン	0.01	0.03	1	3	1	3
ニトロベンゼン	0.01	0.03	1	3	1	3

3 分析法の概要

水質試料については、サロゲートを添加し、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対象物質を脱着して、冷却凝縮装置でクライオフォーカスさせ、GC/MS-SIM に導入して測定する。底質及び生物試料については、サロゲートを添加し、試料中の対象物質をメタノールで抽出後、抽出液の一部に水を加えたものに不活性ガスを通気することにより、水質試料と同様に測定する（注1、注2、注3、注4、注5）。

4 試薬、器具及び装置

(1) 試薬

- ・メタノール：対象物質の分析に影響のないもの（注6）
- ・塩化ナトリウム：対象物質の分析に影響のないもの（注7）

- ・水：対象物質の分析に影響のないもの（注 8）
- ・対象物質：試験に支障のない純度のもの（注 9）
- ・標準原液：メタノールを 30～50 mL 入れた 100 mL メスフラスコに、対象物質の標準品各 100 mg を精秤し、メタノールで 100 mL とし標準混合原液（1,000 µg/mL）とする（注 10）。
- ・サロゲート原液：メタノールを 50～90 mL 入れた 100 mL メスフラスコに、サロゲート各 10 mg を秤量し、メタノールで 100 mL とし、サロゲート原液（100 µg/mL）とする（注 11）。
- ・サロゲート溶液：メタノールを 50～80 mL 程度入れた 100 mL メスフラスコに、サロゲート原液 1 mL を採り、メタノールで 100 mL としサロゲート溶液（1 µg/mL）とする（注 12）。
- ・内標準原液：メタノールを 50～90 mL 入れた 100 mL メスフラスコに、内標準（フルオロベンゼン及び 4-ブロモフルオロベンゼン）各 10 mg を秤量し、メタノールで 100 mL とする（注 11）。
- ・内標準溶液：メタノールを 50～90 mL 程度入れた 100 mL メスフラスコに、内標準原液 1 mL を採り、メタノールで 100 mL とし内標準溶液（1 µg/mL）とする（注 12）。

（ 2 ） 器具及び装置

- ・パージ容器：試料 5～50 mL のパージが可能なガラス製容器またはそれに試料導入部を有するもので、試験操作中に加温、冷却しても容器の機密性が保たれるもの（注 13）。洗浄後、水ですすぎ、乾燥する。約 105 °C の電気乾燥器内で 3 時間程度放置し、汚染のない場所で冷却する。
- ・パージトラップ装置（注 14）。
- ・GC/MS：キャピラリーカラムの取付可能な GC 付き四重極型、二重収束型又はこれらと同等以上の性能を有する MS。

5 試料の採取・運搬

（ 1 ） 水質試料

試料採取容器を採取試料で数回共洗いしてから、試料を泡立たないように静かに採取容器に満たし、マイクロシリンジでサロゲート溶液を添加し（注 15）、直ちにキャップを

する。このとき、瓶内に空気層を残さないよう注意する。試料を運搬する場合には、汚染のない運搬用容器を用いて遮光・冷蔵する。前処理操作は試料採取後直ちに行う。直ちに行えない場合には、試料を汚染のない冷暗所（4 以下）で凍結しないように保存する。

（2）底質試料

試料は採泥器で採取後、採泥器内で水切りをし、小石、貝類、動植物片などの固形物を含まないよう混和し、速やかに試料採取容器に移し入れ、空隙が残らないように直ちに密栓する。試料を運搬する場合には、汚染のない運搬用容器を用いて遮光・冷蔵する。試験操作は試料採取後直ちに行う。直ちに行えない場合には、試料を汚染のない冷暗所（4 以下）で凍結しないように保存する（注 16）。試料はフルイを通さず、容器内の表層の水を捨て、表層部をかき取った下層とし、固形物を含まないものを試験する。

（3）生物試料

試料を運搬する場合には、汚染のない運搬用容器を用いて遮光・冷蔵する。試験操作は試料採取後直ちに行う。直ちに行えない場合は、汚染のない冷暗所（4 以下）で凍結しないように保存する（注 16）。試験操作の直前に、汚染のない冷所で試験する部位を速やかに分け取る。

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「[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

（ア）水質試料

試料 5～50 mL の適量を静かに泡立てないようにパージ容器にホールピペットで入れ、内標準溶液を添加し（注 17）、測定用試料とする（注 18）。

（イ）底質試料

試料 20 g を遠心管に採り、3,000 rpm で 20 分間遠心分離し、上澄みは捨てる。試料にサロゲート溶液を添加し（注 17）、メタノール 10 mL を加え、10 分間超音波抽出を行う

(注 19)。3,000 rpm で 10 分間遠心分離し、液層を全量フラスコに入れる。残さにメタノール 10 mL を加え、10 分間超音波抽出を行う。3,000 rpm で 10 分間遠心分離し、液層を全量フラスコに加え、定容 (25 ~ 50 mL) とし、試料液とする。

パージ容器に、水 9.8 mL に対して試料液 0.2 mL の割合となるように、水 4.9 ~ 49 mL 及び試料液 0.1 ~ 1 mL を静かに泡立てないように入れ (注 20)、内標準溶液を添加し (注 17)、測定用試料とする (注 21)。

(ウ) 生物試料

試料 20 g にサロゲート溶液 (注 17) を添加し、メタノール 10 mL を加え、3 分間ホモジナイズする (注 19)。3,000 rpm で 10 分間遠心分離し、液層を全量フラスコに入れる。残さにメタノール 10 mL を加え、10 分間超音波抽出を行う。3,000 rpm で 10 分間遠心分離し、液層を全量フラスコに加え、定容 (25 ~ 50 mL) とし、試料液とする。

パージ容器に、水 9.8 mL に対して試料液 0.2 mL の割合となるように、水 4.9 ~ 49 mL 及び試料液 0.1 ~ 1 mL を静かに泡立てないように入れ (注 20)、内標準溶液を添加し (注 17)、測定用試料とする (注 21)。

(2) 空試料の調製

水質試料については、試料と同量の水を用いて、また、底質及び生物試料については、試料と同量の水及びメタノールを用いて、「6 試験操作 (1) 前処理」に従って試料と同様の処理をして得たものを空試料とする (注 22)。

(3) 添加回収試験用試料の調製

「6 試験操作 (1) 前処理」に従って、水質試料の場合はパージ容器中の試料に、また、底質及び生物試料の場合は遠心管に採った試料に、各々、標準溶液を添加し (注 23)、添加回収試験用試料とする。

(4) 標準液の調製

標準原液をメタノールで希釈し、0.05 ~ 50 µg/mL の標準溶液を調製する。

(5) 測定

(ア) パージトラップ測定条件の例 (注 24、注 25、注 26)

- ・ パージ時間：8 分
- ・ パージ温度：40
- ・ ドライパージ時間：3 分
- ・ トラップ温度：室温
- ・ トラップ管加熱時間：2 分
- ・ トラップ管加熱温度：200
- ・ 注入時間：6 分
- ・ トラップ管焼きだし時間：20 分
- ・ トラップ管焼きだし温度：210

(イ) GC-MS 測定条件の例

(a) ガスクロマトグラフ部 (注 27)

- ・ カラム：フェニルメチルシリコン化学結合型 (内径 0.2 ~ 0.75 mm、長さ 25 ~ 120 m、膜厚 0.1 ~ 3.0 μm 程度) カラムまたは同等以上の分離性能をもつもの (注 28)
- ・ カラム温度：40 (1 分) 3 /分 80 10 /min 200 (15 分)
- ・ キャリアガス：ヘリウム (線速度 40 cm/秒)

(b) 質量分析部 (注 29)

- ・ イオン化法：EI
- ・ イオン化エネルギー：70 eV
- ・ イオン化電流：300 μA
- ・ イオン源温度：210

(c) 測定イオンの例 (注 30)

- ・ -メチルスチレン：103, 117, 118
- ・ ニトロベンゼン：77, 123
- ・ *p*-クロロトルエン- d_4 ：130
- ・ ニトロベンゼン- d_5 ：128

(ウ) 検量線

「6 試験操作(1)前処理」に従って、水質試料の場合は試料と同量の水に、また、底質及び生物試料の場合は、試料と同量の水及びメタノールに、標準溶液を添加して0.01~1 µg/L とする(注 23)。これをパージトラップ装置のトラップ部に接続する(注 29)。パージガスを一定量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対象物質を脱着して、冷却凝縮装置でクライオフォーカスさせ、GC/MS に導入して測定する(注 24、注 25、注 26)。サロゲート又は内標準と対象物質の面積比を求め、検量線を作成する。

(エ) 試料液の測定

「6 試験操作(1)前処理」により得られた測定用試料をパージトラップ装置のトラップ部に接続する(注 31)。パージガスを一定量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対象物質を脱着して、冷却凝縮装置でクライオフォーカスさせ、GC/MS に導入して測定する(注 24、注 25、注 26)。サロゲート又は内標準と対象物質の面積比から、試料中の対象物質の検出量を求める(注 32)。

7 同定、定量及び計算

(1) 同定

対象物質、サロゲート及び内標準について、定量イオン及び確認イオンが、検量線作成に用いた標準物質などの保持時間の±5秒以内に出現し(注 33)、定量イオンと確認イオンの強度比が検量線作成に用いた標準物質などの強度比の±20%以下であれば、対象物質などが存在していると見なす。

(2) 定量及び計算

測定用試料及び空試料について、サロゲート又は内標準と対象物質の面積比から、対象物質の検出量を求める(注 34)。次式で試料中の各対象物質濃度を計算する。なお、底質の試料量は乾燥試料量とする。

$$\text{水質:濃度 (}\mu\text{g/L)} = (\text{検出量 (ng)} - \text{空試料の検出量 (ng)}) / \text{試料量 (mL)}$$

底質濃度 (μg/kg) = (検出量 (ng) - 空試料の検出量 (ng)) × 試料液量 (mL) / パージ容器への分取量 (mL) / 試料量 (g)

生物濃度 (μg/kg) = (検出量 (ng) - 空試料の検出量 (ng)) × 試料液量 (mL) / パージ容器への分取量 (mL) / 試料量 (g)

8 分析精度管理

本調査マニュアルの「 ．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。

9 注意事項

(注1) 分析操作において揮散しやすいことから、安定同位体をサロゲートとして用いることが望ましい。表 1 に例示した以外に適当な物質があればサロゲートとして用いてもよい。GC/MS 測定においては最適なイオンを選定する。

(注2) あらかじめ使用する機器における諸条件を検討し、表 2 に示す目標検出下限値及び目標定量下限値まで分析できるよう調整する。GC/MS 測定においては、十分な感度を得られれば SIM 測定の代わりにスキャン測定などでもよい。

(注3) 十分な感度を得られればパージトラップ GC/MS 法にかえて参考法 1 に示すヘッドスペース GC/MS 法を用いてもよい。

(注4) ニトロベンゼンについては、環境庁水質保全局水質管理課：「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)」(1998)の「VI. ベンゾ[*a*]ピレン、ベンゾフェノン、4-ニトロトルエン、スチレン 2 量体及びスチレン 3 量体の分析法」に示された方法のうち、4-ニトロトルエンに係る分析方法でも定量可能である。なお、サロゲートとして、ニトロベンゼン-*d*₅を用いることが望ましい。

硫黄分の多い底質試料などでは、ニトロベンゼンが還元されやすいため回収率が低下することがあるので注意する。

(注5) 本法において適当なモニターイオンを用いて GC/MS 測定することにより、1,2-ジブromo-3-クロロプロパン、スチレン、*n*-ブチルベンゼン、ジクロロメタン、ジブromokロロメタン、テトラクロロメタン、トリクロロメタン(クロロホルム)、トリブromomメタン(ブromホルム)、1,2-ジクロロエタン、1,1,1-トリクロ

ロエタン、1,1,2-トリクロロエタン、1,1-ジクロロエチレン、*cis*-1,2-ジクロロエチレン、*trans*-1,2-ジクロロエチレン、テトラクロロエチレン、トリクロロエチレン、1,2-ジクロロプロパン、1,3-ジクロロ-1-プロペン、1,4-ジクロロベンゼン、キシレン、ベンゼン、トルエン、エチルベンゼン、プロピルベンゼン、塩化アリル（アリルクロライド）、塩化エチル（クロロエタン）、塩化ビニル、塩化メチル、ジシクロペンタジエン、シクロペンタン、1,1-ジクロロエタン、ジブromクロロメタン、臭化メチル、1,1,1,2-テトラクロロエタン、1,1,2,2-テトラクロロエタン、1,2,3-トリクロロプロパン、1,3-ブタジエン、ブromクロロメタン、ブromジクロロメタン、1-ブromプロパン、2-ブromプロパン、*n*-ヘキサン、メチル *t*-ブチルエーテル、クロロベンゼン、アクリル酸メチル、アクリル酸エチル、アクリル酸ブチル、イソプレン、イソプロピルベンゼン（クメン）、エピクロロヒドリン、塩化ベンジル、1-オクテン、クロロ酢酸エチル、*p*-クロロトルエン、酢酸ビニル、1,2-ジエチルベンゼン、1,3-ジエチルベンゼン、1,4-ジエチルベンゼン、1,2-ジクロロベンゼン、1,3-ジクロロベンゼン、1,2,3-トリクロロベンゼン、1,2,4-トリクロロベンゼン、1,3,5-トリクロロベンゼン、二硫化炭素、ヘキサクロロブタジエン、ペンタクロロエタンなどの分析が可能である。

（注6） 例えば、水質試験用、トリハロメタン測定用など（備考1）。使用前に空試験を行い、使用の適否を確認する。

（注7） 例えば、試薬特級品を約 105～200 の電気乾燥器内で 3～6 時間程度放置し、汚染のない場所で冷却したもの。使用前に空試験を行い、使用の適否を確認する。

（注8） 蒸留水またはイオン交換水 1～3 L を三角フラスコに採り、これをガスコンロなどで強く加熱して、液量が約 1/3 になるまで煮沸する。直ちに環境からの汚染がない場所に静置して冷却する。蒸留水またはイオン交換水を炭素系吸着剤を充填したカラムで精製したもの、市販の揮発性有機物質試験用の水、市販のミネラルウォーターなどを用いても良い。使用前に空試験を行い、使用の適否を確認する。市販のミネラルウォーターなどを用いる場合、パージトラップ装置の経路にアルカリ土類金属塩などが析出することがある。

（注9） 市販の標準メタノール溶液などを用いても良い。

（注10） 標準原液は使用時に調製する。ただし、調製した標準品を直ちに液体窒素で冷

却し、液体窒素またはメタノール・ドライアイスなどの冷媒を用いた冷却条件下でアンプルに移し、溶封して冷暗所に保存すれば1~3カ月は保存できる。それ以上の期間を経過したものは純度を確認してから使用する。なお、使用する装置の感度などにあわせて各物質の濃度比を変えても良い。

(注 11) 標準原液と同様にアンプルに封入し、冷暗所に保存すれば1~3カ月は保存できる。それ以上の期間を経過したものは純度を確認してから使用する。例示した以外に適当な物質があれば内標準として用いてもよい。

(注 12) サロゲート溶液や内標準溶液の濃度は対象物質濃度や試験操作条件などに応じて適切な濃度となるように調製する。

(注 13) 使用するパージトラップ装置によってはバイアルを用いる。バイアルは、ネジ口のもので四フッ化エチレン樹脂張りシリコーンゴム栓付きスクリュウキャップを用いることにより加温、冷却しても容器の機密性が保たれるもの、又は四フッ化エチレン樹脂フィルム、シリコーンゴム栓、アルミニウムキャップをキャップ締め器で固定でき、加温、冷却しても容器の機密性が保たれるものを用いる。

パージ容器やバイアルによっては、多少の誤差があるので、測定結果に影響が考えられる場合は、使用前に容量を確認し、誤差が大きいものは除いて使用する。

(注 14) あらかじめパージトラップ装置の取り扱い説明書などに従って洗浄し、試験操作に支障のある妨害などが無いことを確認する。

(注 15) 単位体積（または重量）あたりのサロゲートの添加量は、試料の前処理において添加する単位体積（または重量）あたりの内標準の量と同程度を目安とする。

(注 16) 保存中は試料体積の変動にともない汚染されることがあるので、この場合は、試料採取容器をチャック付きポリエチレン製袋などに入れて密封し、試料採取容器の口を下にした状態で保存する。可能な限り速やかに測定すること。

(注 17) 内標準やサロゲートの添加量は対象物質濃度や試験操作条件などに応じて適切な量とする。

(注 18) 装置によっては、試料を泡立たないように静かにバイアルに満たし、内標準溶液を添加後、直ちにキャップをし、測定用試料とする。このとき、バイアル内に空気層を残さないよう注意する。バイアルは、洗浄後、水ですすぎ、乾燥し、

使用直前に約 105 の電気乾燥器内で 3 時間程度放置し、汚染のない場所で冷却して使用する。試料に塩化ナトリウムなどを添加することによりパーズの効率を上げることができる。塩類を加える場合は装置の経路などに不具合が生じないように注意する。

- (注 19) 良好な結果が得られれば超音波抽出に代えて振とう抽出やホモジナイズを、また、ホモジナイズに代えて振とう抽出等を行ってもよい。なお、抽出操作で損失が考えられるので、必要に応じてメタノール・ドライアイスなどの冷媒で冷却しながら抽出する。
- (注 20) または、あらかじめ、全量フラスコに容量の 90% 程度の水を入れ、水 9.8 mL に対して試料液 0.2 mL の割合となるように静かに泡立てないように加え、水で標線までメスアップする。泡立てないように静かに混和後、その 5~50 mL を採り、パーズ容器に静かに泡立てないように入れる。GC/MS 測定において、メタノールが影響する場合もあるので注意する。水に塩化ナトリウムなどを添加することによりパーズの効率を上げることができる。塩類を加える場合は装置の経路などに不具合が生じないように注意する。
- (注 21) 装置によっては、水 9.8 mL に対して試料液 0.2 mL の割合となるように静かにバイアルに満たし、内標準溶液を添加後、直ちにキャップをし、測定用試料とする。このとき、バイアル内に空気層を残さないよう注意する。
- (注 22) 空試験値については可能な限り低減化を図る。
- (注 23) 試料中の対象物質濃度や試験操作条件に応じて適切な濃度範囲とする。装置によっては、パーズ容器の代わりにバイアル中に作成する。
- (注 24) パーゾトラップ装置の取り扱い説明書などに従って操作する。
- (注 25) クライオフォーカスを行わない場合は、対象物質をトラップ管に捕集後、トラップ管を加熱して、そのまま GC/MS に導入する。
- (注 26) パーゾトラップの最適条件は使用する試料量、吸着剤の種類や量などによって異なるため、あらかじめ十分な回収結果の得られる条件を求めておく。パーズ条件はトラップ管の破過容量を超えないよう注意する。トラップ管の例として、ポリマー (Tenax TA) を充填したもの、ポリマー及びグラファイトカーボンを配合したポリマー (Tenax GR) を 2 層に充填したものなどがある (備考 1)。
- (注 27) 共存する他の物質の影響を受けないよう GC 分離条件を十分検討する。

(注 28) 例えば、Aquatic、DB-1、DB-1301、DB-624、DB-WAX、VOCOL など(備考 1)。

(注 29) GC/MS 装置により、最適な条件を設定する。

(注 30) 表 1 に示す測定イオン例を参考に、最適な定量用イオンを選定する。定量用イオンと異なる質量数のイオンを対象物質の確認用イオンとする。

(注 31) 測定用試料をパージ容器の代わりにバイアル中に調製した場合は、バイアルをパージトラップ装置にセットする。パージトラップ装置の取り扱い説明書などに従って操作し、測定用試料の一部又は全量をパージ容器に移し入れる。

(注 32) 複数の内標準を添加した場合、定量に用いる内標準の選定にあたっては、原則として対象物質の保持時間に最も近いものを用いる。

(注 33) 測定用試料中に夾雑物が多い場合には、保持時間が変わることがあるので注意する。

(注 34) 空試料の検出値が空試験に用いた水に由来する場合は、空試料の検出量は差し引かない。

(備考 1) ここに示す商品は、このマニュアル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。

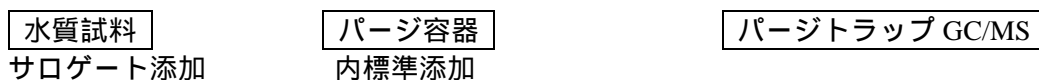
参考文献

- 1) 環境庁環境保健部保健調査室：「昭和 61 年度 化学物質分析法開発調査報告書」(1987)
- 2) 環境庁水質保全局水質規制課：「環境水質分析マニュアル」、環境化学研究会(1993)
- 3) 環境庁水質保全局水質規制課：「新しい排水基準とその分析」、環境化学研究会(1994)
- 4) 日本規格協会：「JIS K 0125」(1996)
- 5) EPA: Method 524.2, US EPA
- 6) EPA: Method 609, US EPA
- 7) EPA: Method 624, US EPA
- 8) 環境庁環境保健部環境安全課：「平成 8 年度 化学物質分析法開発調査報告書」、p.22(1997)

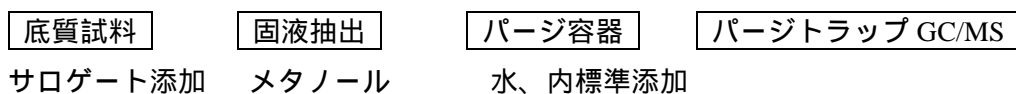
- 9) 環境庁水質保全局水質管理課：「外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル（水質、底質、水生生物）」、p.VI-1（1998）
- 10) 環境庁水質保全局水質管理課：「要調査項目等調査マニュアル（水質、底質、水生生物）」、p.2（1999）
- 11) 環境庁水質保全局水質管理課：「要調査項目等調査マニュアル（水質、底質、水生生物）」、p.36（2000）
- 12) 環境庁環境保健部環境安全課：「平成 8 年度 化学物質分析法開発調査報告書」、p.1（1997）
- 13) 環境庁環境保健部環境安全課：「平成 12 年度 化学物質分析法開発調査報告書（その 1）」、p.1（2001）

分析法フローチャート

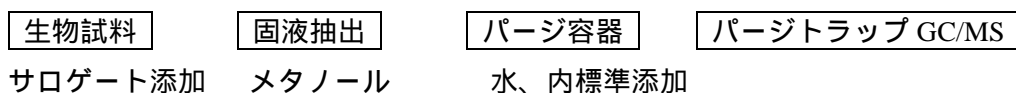
水質試料



底質試料



生物試料



参考法 1 ヘッドスペース GC/MS 法による -メチルスチレン、 ニトロベンゼンの分析法（注 1）

1 対象物質

-メチルスチレン（イソプロペニルベンゼン）及びニトロベンゼン（表 1）。

2 目標検出下限値及び定量下限値

本分析法の目標検出下限値及び目標定量下限値を表 2 に示す。

3 分析法の概要

水質試料については、サロゲートを添加し、塩化ナトリウムを入れたバイアルに採り内標準を加えて密栓して混和する。底質及び生物試料については、サロゲートを添加し、試料中の対象物質をメタノールで抽出する。抽出液の一部を水及び塩化ナトリウムを入れたバイアルに採り、内標準を加えて密栓して混和する。これらのバイアルは一定温度で保持し、対象物質を気液平衡状態とし、気相の一部を GC/MS-SIM で定量する（注 2、注 3）。

4 試薬、器具及び装置

（1）試薬

- ・メタノール：対象物質の分析に影響のないもの（注 4）。
- ・塩化ナトリウム：対象物質の分析に影響のないもの（注 5）。
- ・水：対象物質の分析に影響のないもの（注 6）。
- ・対象物質：試験に支障のない純度のもの（注 7）。
- ・標準原液：メタノールを 30～50 mL 入れた 100 mL メスフラスコに、対象物質の標準品各 100 mg を精秤し、メタノールで 100 mL とし標準混合原液（1,000 µg/mL）とする（注 8）。
- ・サロゲート原液：メタノールを 50～90 mL 入れた 100 mL メスフラスコに、サロゲート各 10 mg を秤量し、メタノールで 100 mL とし、サロゲート原液（100 µg/mL）とする（注 9）。
- ・サロゲート溶液：メタノールを 50～80 mL 程度入れた 100 mL メスフラスコに、サロ

ゲート原液 10 mL を採り、メタノールで 100 mL としサロゲート溶液 (10 µg/mL) とする (注 10)。

- ・内標準原液：メタノールを 50~90 mL 入れた 100 mL メスフラスコに、内標準 (フルオロベンゼン及び 4-ブロモフルオロベンゼン) 各 100 mg を秤量し、メタノールで 100 mL とする (注 9)。
- ・内標準溶液：メタノールを 50~90 mL 程度入れた 100 mL メスフラスコに、内標準原液 1 mL を採り、メタノールで 100 mL とし内標準溶液 (10 µg/mL) とする (注 10)。

(2) 器具及び装置

- ・試料採取容器：水質試料用は、容量 50~250 mL 程度の四フッ化エチレン樹脂張りシリコンゴム栓付きスクリューキャップ用ネジ口ガラス瓶。底質試料用は、容量 50~250 mL 程度の四フッ化エチレン樹脂張りシリコンゴム栓付きスクリューキャップ用広口ネジ口ガラス瓶、またはこれと同等以上の瓶。洗浄後、水ですすぎ、乾燥する。約 105 °C の電気乾燥器内で 3 時間程度放置し、汚染のない場所で冷却する。冷却後、キャップを強く締め、汚染のない場所に保管する。
- ・遠心管：容量 50 mL の共栓付きガラス製のもの。洗浄し、水ですすぎ、メタノールで洗浄後、乾燥する。約 105 °C の電気乾燥器内で 3 時間程度放置し、汚染のない場所で冷却する。冷却後、キャップを強く締め、汚染のない場所に保管する。
- ・バイアル：試料 (10~100 mL) を入れた時に、試料量の 10~30% の空間が残るガラス製容器で、その上部の口に四フッ化エチレン樹脂フィルム、シリコンゴム栓 (注 11)、アルミニウムキャップをキャップ締め器で固定し、加温、冷却しても容器の機密性が保たれるもの (注 12)。洗浄後、水ですすぎ、乾燥する。約 105 °C の電気乾燥器内で 3 時間程度放置し、汚染のない場所で冷却する。
- ・ヘッドスペースサンプラー (注 13、注 14)
- ・GC/MS：キャピラリーカラムの取付可能な GC 付き四重極型、二重収束型又はこれらと同等以上の性能を有する MS。

5 試料の採取・運搬

(1) 水質試料

試料採取容器を採取試料で数回共洗いしてから、試料を泡立たないように静かに採取容

器に満たし、マイクロシリンジでサロゲート溶液を添加し（注 15）、直ちにキャップをする。このとき、瓶内に空気層を残さないよう注意する。試料を運搬する場合には、汚染のない運搬用容器を用いて遮光・冷蔵する。前処理操作は試料採取後直ちに行う。直ちに行えない場合には、試料は汚染のない冷暗所（4 以下）で凍結しないように保存する。

（2）底質試料

試料は採泥器で採取後、採泥器内で水切りをし、小石、貝類、動植物片などの固形物を含まないよう混和し、速やかに試料採取容器に移し入れ、空隙が残らないように直ちに密栓する。試料を運搬する場合には、汚染のない運搬用容器を用いて遮光・冷蔵する。試験操作は試料採取後直ちに行う。直ちに行えない場合には、試料は汚染のない冷暗所（4 以下）で凍結しないように保存する（注 16）。試料はフルイを通さず、容器内の表層の水を捨て、表層部をかき取った下層とし、固形物を含まないものを試験する。

（3）生物試料

試料を運搬する場合には、汚染のない運搬用容器を用いて遮光・冷蔵する。試験操作は試料採取後直ちに行う。直ちに行えない場合は、汚染のない冷暗所（4 以下）で凍結しないように保存する（注 16）。試験操作の直前に、汚染のない冷所で試験する部位を速やかに分け取る。

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「[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

（ア）水質試料

塩化ナトリウムをバイアルに入れる（注 17）。試料 10～100 mL の適量を静かに泡立たないようにバイアルにホールピペットで入れ、内標準溶液を添加する（注 18）。四フッ化エチレン樹脂フィルム、シリコンゴム栓及びアルミシールで直ちに密栓してふりませ、測定用試料とする。

（イ）底質試料

試料 20 g を遠心管に採り、3,000 rpm で 20 分間遠心分離し、上澄みは捨てる。試料にサロゲート溶液を添加し（注 15）、メタノール 10 mL を加え、10 分間超音波抽出を行う。3,000 rpm で 10 分間遠心分離し、液層を全量フラスコに入れる。残さにメタノール 10 mL を加え、10 分間超音波抽出を行う（注 19）。3,000 rpm で 10 分間遠心分離し、液層を全量フラスコに加え、定容（25～50 mL）とし、試料液とする。

塩化ナトリウムをバイアルに入れる（注 17）。バイアルに、水 9.4 mL に対して試料液 0.6 mL の割合となるように、水 9.4～94 mL 及び試料液 0.6～6 mL を静かに泡立てないように入れ（注 20）、内標準溶液を添加する（注 18）。四フッ化エチレン樹脂フィルム、シリコーンゴム栓及びアルミシールで直ちに密栓して振り混ぜ、測定用試料とする。

（ウ）生物試料

試料 20 g を遠心管に採り、3,000 rpm で 20 分間遠心分離し、上澄みは捨てる。試料にサロゲート溶液（注 15）を添加し、メタノール 10 mL を加え、3 分間ホモジナイズする（注 19）。3,000 rpm で 10 分間遠心分離し、液層を全量フラスコに入れる。残さにメタノール 10 mL を加え、10 分間超音波抽出を行う。3,000 rpm で 10 分間遠心分離し、液層を全量フラスコに加え、定容（25～50 mL）とし、試料液とする。

塩化ナトリウムをバイアルに入れる（注 17）。バイアルに、水 9.4 mL に対して試料液 0.6 mL の割合となるように、水 9.4～94 mL 及び試料液 0.6～6 mL を静かに泡立てないように入れ（注 20）、内標準溶液を添加する（注 18）。四フッ化エチレン樹脂フィルム、シリコーンゴム栓及びアルミシールで直ちに密栓してふりまぜ、測定用試料とする。

（2）空試料の調製

水質試料については、試料と同量の水を用いて、また、底質及び生物試料については、試料と同量の水及びメタノールを用いて、「6 試験操作（1）前処理」に従って試料と同様の処理をして得たものを空試料とする（注 21）。

（3）添加回収試験用試料の調製

「6 試験操作（1）前処理」に従って、水質試料の場合はパージ容器中の試料に、また、底質及び生物試料の場合は遠心管に採った試料に、各々、標準溶液を添加し（注 22）、添加回収試験用試料とする。

(4) 標準液の調製

標準原液をメタノールで希釈し、0.1 ~ 50 µg/mL の標準溶液を調製する。

(5) 測定

(ア) ヘッドスペース測定条件の例 (注 23)

- ・ 注入圧 : 10 psi
- ・ ループ温度 : 140
- ・ トランスファーライン温度 : 150
- ・ ループ充填時間 : 0.01 分
- ・ ループ平衡時間 : 0.05 分
- ・ 注入時間 : 0.1 分

(イ) GC-MS 測定条件の例

(a) ガスクロマトグラフ部 (注 24)

- ・ カラム : フェニルメチルシリコン化学結合型 (内径 0.2 ~ 0.75 mm、長さ 25 ~ 120 m、膜厚 0.1 ~ 3.0 µm 程度) カラムまたは同等以上の分離性能をもつもの (注 25)
- ・ カラム温度 : 40 (1 分) 3 /分 60 10 /分 130 15 /分 210 (15 分)
- ・ 注入口温度 : 200
- ・ キャリアガス : ヘリウム (線速度 40 cm/秒)
- ・ 注入法 : スプリットレス (1 分後パージ)

(b) 質量分析部 (注 26)

- ・ イオン化法 : EI
- ・ イオン化エネルギー : 70 eV
- ・ イオン化電流 : 300 µA
- ・ イオン源温度 : 230

(c) 測定イオン (注 27)

- ・ -メチルスチレン：103、117、118
- ・ ニトロベンゼン：77、123
- ・ *p*-クロロトルエン- d_4 ：130
- ・ ニトロベンゼン- d_5 ：128

(ウ) 検量線

「6 試験操作(1)前処理」に従って、水質試料の場合は試料と同量の水に、また、底質及び生物試料の場合は、試料と同量の水及びメタノールに、標準溶液を添加して0.01~50 µg/Lとする(注20)。これをヘッドスペースサンプラーにより20~70 の範囲の一定温度で、20~120 分の範囲で一定時間放置する。ヘッドスペースガスの一定量を採取し、GC/MS に注入して測定する(注28)。サロゲート又は内標準と対象物質の面積比を求め、検量線を作成する(注29)。

(エ) 試料液の測定

「6 試験操作(1)前処理」により得られた測定用試料は、ヘッドスペースサンプラーにより20~70 の範囲の一定温度で、20~120 分の範囲で一定時間放置する。ヘッドスペースガスの一定量を採取し、GC/MS に注入して測定する(注28)。サロゲート又は内標準と対象物質の面積比から、試料中の対象物質の検出量を求める(注29)。

7 同定、定量及び計算

(1) 同定

対象物質、サロゲート及び内標準について、定量イオン及び確認イオンが、検量線作成に用いた標準物質などの保持時間の±5秒以内に出現し(注30)、定量イオンと確認イオンの強度比が検量線作成に用いた標準物質などの強度比の±20%以下であれば、対象物質などが存在していると見なす。

(2) 定量及び計算

測定用試料及び空試料について、サロゲート又は内標準と対象物質の面積比から、対象物質の検出量を求める(注31)。次式で試料中の各対象物質濃度を計算する。なお、底質の試料量は乾燥試料量とする。

水質:濃度 (μg/L) = (検出量 (ng) - 空試料の検出量 (ng)) / 試料量 (mL)

底質:濃度 (μg/kg) = (検出量 (ng) - 空試料の検出量 (ng)) × 試料液量 (mL) / バイアル
への分取量 (mL) / 試料量 (g)

生物:濃度 (μg/kg) = (検出量 (ng) - 空試料の検出量 (ng)) × 試料液量 (mL) / バイアル
への分取量 (mL) / 試料量 (g)

8 分析精度管理

本調査マニュアルの「 . 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。

9 注意事項

- (注1) *n*-メチルスチレン (イソプロピルベンゼン) 及びニトロベンゼンの分析方法として示したパージトラップ GC/MS 法と同等以上の感度が得られれば、本参考法を代用してもよい。
- (注2) 分析操作において揮散しやすいことから、安定同位体をサロゲートとして用いることが望ましい。表 1 に例示した以外に適当な物質があればサロゲートとして用いてもよい。GC/MS 測定においては最適なイオンを選定する。
- (注3) GC/MS 測定において、十分な感度が得られれば SIM 測定の代わりにスキャン測定などでもよい。本参考法において適当なモニターイオンを用いて GC/MS 測定することにより、1,2-ジブromo-3-クロロプロパン、スチレン、*n*-ブチルベンゼン、ジクロロメタン、ジブromokロロメタン、テトラクロロメタン、トリクロロメタン (クロロホルム)、トリブromometan (ブromホルム)、1,2-ジクロロエタン、1,1,1-トリクロロエタン、1,1,2-トリクロロエタン、1,1-ジクロロエチレン、*cis*-1,2-ジクロロエチレン、*trans*-1,2-ジクロロエチレン、テトラクロロエチレン、トリクロロエチレン、1,2-ジクロロプロパン、1,3-ジクロロ-1-プロペン、1,4-ジクロロベンゼン、キシレン、ベンゼン、トルエン、エチルベンゼン、プロピルベンゼン、塩化アリル (アリルクロライド)、塩化エチル (クロロエタン)、塩化ビニル、塩化メチル、ジシクロペンタジエン、シクロペンタン、1,1-ジクロロエタン、ジブromokロロメタン、臭化メチル、1,1,1,2-テトラクロロエ

タン、1,1,2,2-テトラクロロエタン、1,2,3-トリクロロプロパン、1,3-ブタジエン、プロモクロロメタン、プロモジクロロメタン、1-プロモプロパン、2-プロモプロパン、*n*-ヘキサン、メチル *t*-ブチルエーテル、クロロベンゼン、アクリル酸メチル、アクリル酸エチル、アクリル酸ブチル、イソプレン、イソプロピルベンゼン（クメン）、エピクロロヒドリン、塩化ベンジル、1-オクテン、クロロ酢酸エチル、*p*-クロロトルエン、酢酸ビニル、1,2-ジエチルベンゼン、1,3-ジエチルベンゼン、1,4-ジエチルベンゼン、1,2-ジクロロベンゼン、1,3-ジクロロベンゼン、1,2,3-トリクロロベンゼン、1,2,4-トリクロロベンゼン、1,3,5-トリクロロベンゼン、二硫化炭素、ヘキサクロロブタジエン、ペンタクロロエタンなどの分析が可能である。

- (注4) 例えば、水質試験用、トリハロメタン測定用など（備考1）。使用前に空試験を行い、使用の適否を確認する。
- (注5) 例えば、試薬特級品を約 105～200 の電気乾燥器内で 3～6 時間程度放置し、汚染のない場所で冷却したもの。使用前に空試験を行い、使用の適否を確認する。
- (注6) 蒸留水またはイオン交換水 1～3 L を三角フラスコに採り、これをガスコンロなどで強く加熱して、液量が約 1/3 になるまで煮沸する。直ちに環境からの汚染がない場所に静置して冷却する。蒸留水またはイオン交換水を炭素系吸着剤を充填したカラムで精製したもの、市販の揮発性有機物質試験用の水、市販のミネラルウォーターなどを用いても良い。使用前に空試験を行い、使用の適否を確認する。
- (注7) 市販の標準メタノール溶液などを用いても良い。
- (注8) 標準原液及びサロゲート原液は使用時に調製する。ただし、調製した標準品を直ちに液体窒素で冷却し、液体窒素またはメタノール・ドライアイスなどの冷媒を用いた冷却条件下でアンプルに移し、溶封して冷暗所に保存すれば 1～3 カ月は保存できる。それ以上の期間を経過したものは純度を確認してから使用する。なお、使用する装置の感度などにあわせて各物質の濃度比を変えても良い。
- (注9) 標準原液と同様にアンプルに封入し、冷暗所に保存すれば 1～3 カ月は保存できる。それ以上の期間を経過したものは純度を確認してから使用する。例示した以外に適当な物質があれば内標準として用いてもよい。

- (注 10) サロゲート溶液や内標準溶液の濃度は対象物質濃度や試験操作条件などに応じて適切な濃度となるように調製する。
- (注 11) 四フッ化エチレン樹脂張りシリコンゴム栓を用いてもよい。
- (注 12) バイアルによっては多少の誤差があるので、使用前に容量を確認し、誤差が大きいバイアルは除いて使用する。
- (注 13) ヘッドスペースサンプラーの取り扱い説明書などに従って洗浄し、試験操作に支障のある妨害などがないことを確認する。
- (注 14) ヘッドスペースサンプラーを用いない場合は、0.02~5 mL 程度の容量を正確に採取できるガスタイトシリンジと 20~60 程度の範囲で ± 0.5 に調節可能な恒温水槽を用いる。
- (注 15) 単位体積(又は重量)あたりのサロゲートの添加量は、試料の前処理において添加する単位体積(又は重量)あたりの内標準の量と同程度を目安とする。
- (注 16) 保存中は試料体積の変動にともない汚染されることがあるので、この場合は、試料採取容器をチャック付きポリエチレン製袋などに入れて密封し、試料採取容器の口を下にした状態で保存する。可能な限り速やかに測定すること。
- (注 17) 塩化ナトリウムは試料量に対し、濃度が 30%程度となるように加える。
- (注 18) 内標準やサロゲートの添加量は対象物質濃度や試験操作条件などに応じて適切な量とする。
- (注 19) 良好な結果が得られれば超音波抽出に代えて振とう抽出やホモジナイズを、また、ホモジナイズに代えて振とう抽出等を行ってもよい。なお、抽出操作で損失が考えられるので、必要に応じてメタノール・ドライアイスなどの冷媒で冷却しながら抽出する。
- (注 20) または、あらかじめ、全量フラスコに容量の 90%程度の水を入れ、水 9.4 mL に対して試料液 0.6 mL の割合となるように静かに泡立てないように加え、水で標線までメスアップする。泡立てないように静かに混和後、その 10~100 mL を採り、塩化ナトリウムを入れたバイアルに静かに泡立てないように入れる。GC/MS 測定において、メタノールが影響する場合もあるので注意する。
- (注 21) 空試験値については可能な限り低減化を図る。
- (注 22) 試料中の対象物質濃度や試験操作条件に応じて適切な濃度範囲とする。
- (注 23) ヘッドスペースサンプラーの構造などにより、最適な条件を設定する。

(注 24) GC 分離条件によっては、*p*-クロロトルエンのピークが *o*-クロロトルエンのピークと重なることがあるので注意する。

(注 25) 例えば、Aquatic、DB-1、DB-1301、DB-624、DB-WAX、VOCOL など(備考 1)。

(注 26) GC/MS 装置により、最適な条件を設定する。

(注 27) 表 1 に示す測定イオン例を参考に、最適な定量用イオンを選定する。定量用イオンと異なる質量数のイオンを対象物質の確認用イオンとする。

(注 28) ヘッドスペースサンプラーの取り扱い説明書などに従って操作する。ヘッドスペースサンプラーを用いない場合は、一定温度に保った恒温水槽中にバイアルをくびまで入れ、一定時間放置する。シリコーンゴム栓を通じて、バイアル瓶の気相の一定量をガスタイトシリンジで採取し、GC/MS に注入する。

(注 29) 定量に用いる内標準は、原則として対象化合物の保持時間に最も近いものを用いる。

(注 30) 測定用試料中に夾雑物が多い場合には、保持時間が変わることがあるので注意する。

(注 31) 空試料の検出値が空試験に用いた水に由来する場合は、空試料の検出量は差し引かない。

(備考 1) ここに示す商品は、このマニュアル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。

参考文献

- 1) 環境庁水質保全局水質規制課：「環境水質分析マニュアル」、環境化学研究会(1993)
- 2) 環境庁水質保全局水質規制課：「新しい排水基準とその分析」、環境化学研究会(1994)
- 3) 日本規格協会：「JIS K 0125」(1996)
- 4) EPA: Method 524.2, US EPA.
- 5) 田辺顕子ほか：環境化学, 7, 69 (1997)
- 6) 環境庁環境保健部環境安全課：「平成 8 年度 化学物質分析法開発調査報告書」、p.1

(1997)

- 7) 環境庁環境保健部環境安全課：「平成 8 年度 化学物質分析法開発調査報告書」, p.22

(1997)

- 8) 環境庁水質保全局水質管理課：「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）」, p.VI-1 (1998)

- 9) 環境庁水質保全局水質管理課：「要調査項目等調査マニュアル（水質、底質、水生生物）」, p.2 (1999)

- 10) 環境庁水質保全局水質管理課：「要調査項目等調査マニュアル（水質、底質、水生生物）」, p.49 (2000)

分析法フローチャート

水質試料

水質試料 サロゲート添加	パイアル NaCl、内標準添加	ヘッドスペース GC/MS 密栓、振り混ぜ、加温
-----------------	--------------------	-----------------------------

底質試料

底質試料 サロゲート添加	固液抽出 メタノール	パージ容器 NaCl、水、 内標準添加	ヘッドスペース GC/MS 密栓、振り混ぜ、加温
-----------------	---------------	---------------------------	-----------------------------

生物試料

生物試料 サロゲート添加	固液抽出 メタノール	パージ容器 NaCl、水、 内標準添加	ヘッドスペース GC/MS 密栓、振り混ぜ、加温
-----------------	---------------	---------------------------	-----------------------------

．ポリブロモジフェニルエーテルの分析法

1 対象物質

水、底質および水生生物試料中のポリブロモジフェニルエーテル (PBDEs) の分析に適用する。測定対象物質としては、現在標準品が市販されている TriBDE ~ DeBDE となる (表 1)。また、各同族体の測定対象異性体は、TriBDE (8 異性体)、TeBDE (6 異性体)、PeBDE (8 異性体)、HxBDE (7 異性体)、HpBDE (5 異性体)、OcBDE (3 異性体)、NoBDE (2 異性体) 及び DeBDE の計 40 異性体である。従って、本調査対象物質は、環境中において極めて微量かつ多数の異性体を有することから、同位体希釈法を基礎とした高分解能 GC/MS による分析法を採用している。

2 目標検出下限値

目標検出下限値 (注 1) を表 1 に示す。

表 1 目標検出下限値

対象物質	水質 (ng/L)	底質 (µg/kg, dry)	生物 (µg/kg)
TriBDE	0.1	0.01	0.01
TeBDE	0.1	0.01	0.01
PeBDE	0.1	0.01	0.01
HxBDE	0.1	0.01	0.01
HpBDE	0.2	0.02	0.02
OcBDE	0.4	0.04	0.04
NoBDE	3	0.3	0.3
DeBDE	5	0.5	0.5

3 分析法の概要

本分析法は同位体内標準質量分析を基本とすることより、均一になるように処理を行った各試料に対して、サロゲート標準混合溶液を添加した後、前処理操作を開始する (注 2)。

水質試料からの抽出は、ジクロロメタンで液液分配抽出するか、または固相カートリッジ等で抽出して脱水、濃縮し、前処理液を調整する。

底質試料はよく風乾させた後、さらに減圧乾燥させて完全に水分を除去した試料を用い

てトルエン還流抽出を行う。抽出終了後速やかに熱時ろ過を行い、濃縮して前処理液を調製する。

生物試料はホモジナイズ等の処理によりペースト状になった試料を用いてアルカリ分解処理を行う。次に、水、ヘキサンを用いて液液分配抽出法にて抽出し、脱水、濃縮することにより前処理液を調製する。

調製した各試料の前処理液は、多層シリカゲルカラムクロマトグラフィー及び活性炭カラムクロマトグラフィー等にて精製を行った後、高分解能 GC/MS を用いて EI-SIM 法で測定する。

4 試薬、器具及び装置

(1) 試薬等

- ・トルエン、ヘキサン、*n*-ノナン、ジクロロメタン、アセトン及びエタノール等は、残留農薬分析用（1,000 倍濃縮検定品）以上の溶媒または同等品を使用する。
- ・無水硫酸ナトリウムは PCB 分析用、水酸化カリウムと硝酸銀は特級品を、硫酸は精密分析用を使用する。また、その他の試薬は全て特級品以上のものを使用する。
- ・分析用精製水は蒸留水をヘキサンで十分に洗浄したものを使用する。
- ・多層シリカゲルカラムクロマトグラフィーに使用される各種シリカゲル充填剤は、ダイオキシン類精製時に繁用されているものと同等品を使用（以下 ~ に調製法を記載）する。また、市販されているダイオキシン類精製用の各シリカ充填剤を用いてもよい。

シリカゲル（注 3）を残留農薬試験用（1,000 倍濃縮検定品）メタノール（注 4）で洗浄後、減圧乾燥したものを使用する。

10%硝酸銀シリカゲルはシリカゲルに対し、硝酸銀が 10（w/w）%の割合になるようにシリカゲルに 40（w/w）%硝酸銀水溶液を加え、よく攪拌し減圧下乾燥したものを使用する。

22%および 44%硫酸シリカゲルはシリカゲルに対し、硫酸が 22（w/w）% および 44（w/w）% の割合になるようにシリカゲルに加えて、よく攪拌し減圧下乾燥したものを使用する。

2%水酸化カリウムシリカゲルはシリカゲルに対し、水酸化カリウムが 2（w/w）%の割合になるようにシリカゲルに 1 mol/L 水酸化カリウム水溶液を加えて、よく攪拌し

減圧下乾燥したものを使用する。

調製した各充填剤は、遮光して保存する。

- ・ サロゲート物質及び native 標準品：市販標準品（注5）（参照；表2及び表3）。

表2 測定対象となる PBDEs

PBDEs congener	IUPAC #
2,2',4-Tribromodiphenyl ether	17
2,3',4-Tribromodiphenyl ether	25
2,4,4'-Tribromodiphenyl ether	28
2,4,6-Tribromodiphenyl ether	30
2,4',6-Tribromodiphenyl ether	32
2,3',4-Tribromodiphenyl ether	33
3,3',4-Tribromodiphenyl ether	35
3,4,4'-Tribromodiphenyl ether	37
2,2',4,4'-Tetrabromodiphenyl ether	47
2,2',4,5'Tetrabromodiphenyl ether	49
2,3',4,4'-Tetrabromodiphenyl ether	66
2,3',4',6-Tetrabromodiphenyl ether	71
2,4,4',6-Tetrabromodiphenyl ether	75
3,3',4,4'-Tetrabromodiphenyl ether	77
2,2',3,4,4'-Pentabromodiphenyl ether	85
2,2',4,4',5-Pentabromodiphenyl ether	99
2,2',4,4',6-Pentabromodiphenyl ether	100
2,3,3',4,4'-Pentabromodiphenyl ether	105
2,3,4,5,6-Pentabromodiphenyl ether	116
2,3',4,4',5-Pentabromodiphenyl ether	118
2,3',4,4',6-Pentabromodiphenyl ether	119
3,3',4,4',5-Pentabromodiphenyl ether	126
2,2',3,4,4',5'-Hexabromodiphenyl ether	138
2,2',3,4,4',6'-Hexabromodiphenyl ether	140
2,2',4,4',5,5'-Hexabromodiphenyl ether	153
2,2',4,4',5,6'-Hexabromodiphenyl ether	154
2,2',4,4',6,6'-Hexabromodiphenyl ether	155
2,3,3',4,4',5-Hexabromodiphenyl ether	156
2,3,4,4',5,6-Hexabromodiphenyl ether	166
2,2',3,4,4',5,6-Heptabromodiphenyl ether	181
2,2',3,4,4',5',6-Heptabromodiphenyl ether	183
2,2',3,4,4',6,6'-Heptabromodiphenyl ether	184
2,3,3',4,4',5,6-Heptabromodiphenyl ether	190
2,3,3',4,4',5',6-Heptabromodiphenyl ether	191
2,2',3,3',4,4',5,6'-Octabromodiphenyl ether	196
2,2',3,3',4,4',6,6'-Octabromodiphenyl ether	197
2,2',3,4,4',5,5',6-Octabromodiphenyl ether	203
2,2',3,3',4,4',5,5',6-Nonabromodiphenyl ether	206
2,2',3,3',4,4',5,6,6'-Nonabromodiphenyl ether	207
Decabromodiphenyl ether	209

表 3 サロゲート物質としての¹³Cラベル化PBDEs

2,4,4'-Tribromodiphenyl ether	28
2,2',4,4'-Tetrabromodiphenyl ether	47
2,2',4,4',5-Pentabromodiphenyl ether	99
2,2',4,4',5,5'-Hexabromodiphenyl ether	153
2,2',3,4,4',5',6-Heptabromodiphenyl ether	183
Decabromodiphenyl ether	209

- ・ガラス繊維ろ紙（底質試料用）は保留粒子径 0.4 μm のものを使用する（注 6）。使用前に精製水、アセトン及びトルエン等で十分に洗浄する。
- ・活性炭カラムクロマトグラフィーに用いる充填剤としては、市販のダイオキシン類分析用または同等品を使用する（注 7）。

（ 2 ） 器具及び装置等

- ・多層シリカゲルカラム：ガラスカラム管（水質用；内径 15 mm × 長さ 25 cm, 底質・生物用；内径 25 mm × 長さ 25 cm）に各シリカゲル充填剤を湿式充填する。充填方法は水質、底質等のダイオキシン類分析マニュアルに準じた方法で充填する（注 7、注 8）。
- ・ロータリーエバポレーターあるいはクデルナダニッシュ（K.D.）濃縮装置
- ・ホモジナイザー：万能ホモジナイザー（注 9）または同等品
- ・ガスクロマトグラフ / 質量分析計（磁場型 GC/MS）：GC は、キャピラリーカラム対応のもの。MS は、高分解能 MS。

5 試料の前処理

（ 1 ） 水質試料（注 10）

水質試料 1 L（注 11）を 2 L の分液ロートに採取し、採取試料水の保存容器（ガラス製）はアセトン 10 mL、次にジクロロメタン 10 mL で洗浄後、この洗浄液を分液ロート内の試料水に合わせる。そして、塩化ナトリウム 30 g（海水の場合は無添加）及びサロゲート物質（TriBDE ~ HxBDE；2 ng, HpBDE；4 ng, DeBDE；8 ng）を加えて十分混合し（注 12）、ジクロロメタン 200 mL を加えて 10 分間振とう抽出し静置した後、ジクロロメタン層を採取する。さらに上記水層にジクロロメタン 100 mL を添加し、同様に振とう抽出しジクロロメタン層を回収する。回収されたジクロロメタン抽出液を 500 mL の分液ロートに取り、無水硫酸ナトリウム 20 g を加えて 15 分間振とうし、脱水処理を行う。最後に、無水硫酸

ナトリウムを充填したガラスロートでろ過を行い、ロータリーエバポレーターあるいはK.D.濃縮器で約 10 mL に濃縮し、前処理液とする。(注 13)。

(2) 底質試料(注 14)

底質試料は、日陰でよく風乾し(注 15) 次に恒量に達するまで減圧乾燥させる(注 16)。そして、この底質試料を 300 mL の丸底フラスコに 10 g (乾重量) に秤量し、次にトルエン 100 mL とサロゲート物質 (TriBDE ~ HxBDE ; 2 ng, HpBDE ; 4 ng, DeBDE ; 8 ng) さらに銅粉末 1g を加えて還流冷却管に装着し、マントルヒーター上で 5 時間還流抽出を行う。抽出終了後、速やかに抽出液をガラス繊維ろ紙上で熱時ろ過を行う(注 17)。さらに、予め加温(約 60) にしておいたトルエン 50 mL を用いて、抽出フラスコ容器内の残渣に添加して完全に洗い込むように再びろ過を行い、先のろ液と合わせる(注 18)。得られたトルエン抽出液は無水硫酸ナトリウムを充填したガラスロートでろ過を行い、脱水処理した後、ロータリーエバポレーターあるいは K.D.濃縮器で約 10 mL に濃縮し、前処理液とする(注 19)。また、その他の抽出法としてダイオキシン類を抽出する場合と同様に、16 時間以上のトルエンソックスレー抽出法を採用してもよい。

(3) 生物試料(注 20)

生物試料は、ホモジナイザー等で均一なペースト状にしたもの 20 g を 500 mL の分液ロートに秤量し、これに 1 mol/L KOH/ EtOH (10% H₂O 含有) 溶液 150 mL とサロゲート物質 (TriBDE ~ HxBDE ; 2 ng, HpBDE ; 4 ng, DeBDE ; 8 ng) を加えて(注 21) 2 時間振とうしながらアルカリ分解を行う(注 22)。次に、このアルカリ分解液に、ヘキサン 75 mL およびヘキサン交換水 120 mL を加え、30 分間振とうする。静置後このヘキサン層を 300 mL の分液ロートに分取して、水層にヘキサン 75 mL を加え同様の操作を 2 回行う。そして、ヘキサン抽出液を合わせ、精製水 50 mL を加えて回転するように穏やかに振り動かし、静置後水層を取り除き、同様の操作を 2 回繰り返す(注 23)。そして、分取したヘキサン層をロータリーエバポレーターあるいは K.D.濃縮器で約 10 mL に濃縮し、前処理液とする。

6 試料液の調製

PBDEs の精製には、ダイオキシン類の精製時に繁用されている多層シリカゲルカラムクロマトグラフィーと活性炭シリカゲルカラムクロマトグラフィーを組み合わせた

精製法を採用する（注 7、注 8）。ただし、試料の差異により、共存する夾雑物の種類や量が著しく異なるため、試料毎にカラムサイズ、充填シリカゲル量及び溶出溶媒量等を適宜最適化して行う。

（ 1 ）水質試料

図 1 は、多層シリカゲルカラムクロマトの一例を示したものであるが、ガラスカラム（内径 15 mm×長さ 30 cm）に各種シリカゲル{下からシリカゲル（0.4 g）、2%水酸化カリウムシリカゲル（1.5 g）、シリカゲル（0.4 g）、44%硫酸シリカゲル（2.2 g）、22%硫酸シリカゲル（2.5 g）、シリカゲル（0.4 g）、10%硝酸銀シリカゲル（3.0 g）を順次積層}を湿式充填した後（注 24）、ヘキサン 50 mL で洗浄を行う。次に、注射筒等を用いて前処理液（注 25）をカラムに負荷して液面をカラムヘッドまで下げる。少量のヘキサンで注射筒を洗浄しながら、カラムに負荷した後、80 mL のヘキサン（充填シリカゲル量の約 8 倍量）で夾雑物を溶出させる。そして、10%ジクロロメタン/ヘキサン 100 mL（充填シリカゲル量の約 10 倍量）により、測定対象物質である PBDEs を溶出させる（注 26）。この PBDEs 精製画分をロータリーエバポレーターあるいは K.D.濃縮器により数 mL にまで濃縮した後、窒素気流下で、約 100 μ L まで濃縮する（注 27）。さらに、ガラスカラム（内径 15 mm×長さ 30 cm）に活性炭シリカゲル（1.0g）を乾式充填した後、注射筒等を用いて、濃縮液をカラムに負荷した後、25%ジクロロメタン/ヘキサン 150mL により、測定対象物質である PBDEs を溶出させる。最後に、この溶出液を上記と同様な操作で数 mL まで濃縮後、*n*-ノナン溶液を 20 μ L 添加し、ジクロロメタンでの洗い込みと窒素気流下での濃縮を繰り返しながらサンプルバイアルに洗い込み、最終試料液（20 μ L）とする（注 28）。

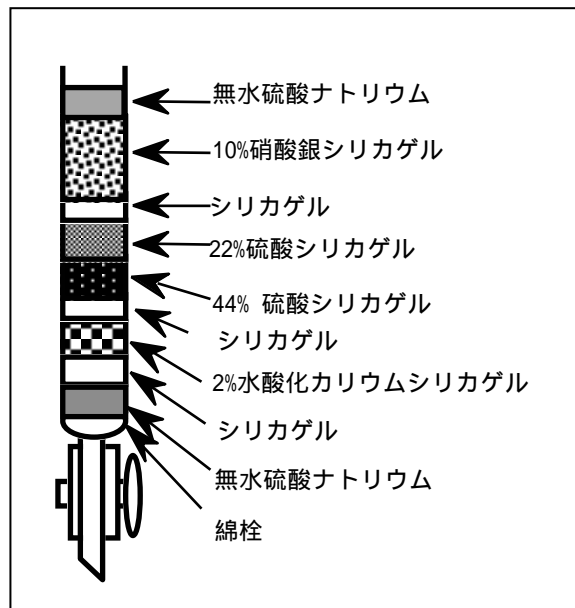


図1 多層シリカゲルカラムの一例

(2) 底質試料 (注 29)

底質試料の場合においては、試料中に夾雑物が大量に存在することより、水質試料の場合と比較して多層シリカゲルカラムによる精製を若干スケールアップして行う。具体的には、ガラスカラム(内径 25 mm × 長さ 25 cm)に各種シリカゲル{下からシリカゲル(0.9 g)、2%水酸化カリウムシリカゲル(3.0 g)、シリカゲル(0.9 g)、44%硫酸シリカゲル(4.5 g)、22%硫酸シリカゲル(6.0 g)、シリカゲル(0.9 g)、10%硝酸銀シリカゲル(10.0 g)を順次積層}を湿式充填した後(注 24)、ヘキサン 100 mL で洗浄を行う。次に、注射筒等を用いて前処理液(注 25)をカラムに負荷して液面をカラムヘッドまで下げる。少量のヘキサンで注射筒を洗浄しながら、カラムに負荷した後、200 mL のヘキサン(充填シリカゲル量の約 8 倍量)で夾雑物を溶出させる。そして、10%ジクロロメタン/ヘキサン 260 mL(充填シリカゲル量の約 10 倍量)により PBDEs を溶出させる(注 26)。そして、以下の操作は上記した水質試料の場合と同様な操作手順で行い、最終試料液(20 μL)を調製する。

(3) 生物試料

生物試料においては、底質試料の場合と比較して硝酸銀シリカゲルの充填量を若干減量した多層シリカゲルカラムを調製する。すなわち、ガラスカラム(内径 25 mm × 長さ 25 cm)各種シリカゲル{下からシリカゲル(0.9 g)、2%水酸化カリウムシリカゲル(3.0 g)、シリ

カゲル(0.9 g)、44%硫酸シリカゲル(4.5 g)、22%硫酸シリカゲル(6.0 g)、シリカゲル(0.9 g)、10%硝酸銀シリカゲル(6.0 g)を順次積層}を湿式充填した後(注24)、ヘキサン 100 mLで洗浄を行う。次に、注射筒等を用いて前処理液(注25)をカラムに負荷して液面をカラムヘッドまで下げる。少量のヘキサンで注射筒を洗浄しながら、カラムに負荷した後、160 mLのヘキサン(充填シリカゲル量の約8倍量)で夾雑物を溶出させる。そして、10%ジクロロメタン/ヘキサン 220 mL(充填シリカゲル量の約10倍量)によりPBDEsを溶出させる(注26)。そして、以下の操作は上記した水質試料の場合と同様な操作手順で行い、最終試料液(20 µL)を調製する。

7 空試験液の調製

試料を用いずに「5 試料の前処理」及び「6 試料液の調製」の実験操作に準じて行なって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(注30)。

8 標準液の調製

標準原液を *n*-ノナン等で適宜希釈混合して所定の濃度の混合標準液を調製する。全ての標準原液及び標準液は、暗所-20 以下で保存し、有効使用期間は分解が認められない場合は開封後1年間とする。

9 測定

本測定法においては、高分解能GC/MS(EI-SIM法)を用いてPBDEsの定量を行う。また、測定対象物質としてはTriBDE(M.W.; 406.89) ~ DeBDE(M.W.; 959.17)までの、かなり物性の異なる同族体・異性体を含んでいることから、測定条件を3~6臭素化体(測定法A)及び7~10臭素化体(測定法B)に分けて定量操作を行う。具体的には、より高感度なPBDEsの検出を目的として、本測定ではタイムグループング法を採用しながら、測定法Aでは対象物質の親イオン群を、測定法Bでは娘イオン群をモニターする。

(1) 高分解能GC/MSの測定条件(注31)

- ・使用カラム：キャピラリーカラム(注32)

測定法A：TriBDE ~ HxBDE；(例)長さ 30 m，内径 0.25 mm，膜厚 0.15 µm

- 測定法 B : HpBDE ~ DeBDE ; (例) 長さ 15 m , 内径 0.25 mm , 膜厚 0.25 μ m
- ・液相
 - 測定法 A : TriBDE ~ HxBDE ; 50% フェニルメチルシリコン等 (注 33)
 - 測定法 B : HpBDE ~ DeBDE ; 5% フェニルメチルシリコン等 (注 34)
 - ・カラム温度
 - 測定法 A : TriBDE ~ HxBDE ; (例) 180 (2 min) -3 /min-240 -20 /min-340 (10 min)
 - 測定法 B : HpBDE ~ DeBDE ; (例) 180 (2 min) -20 /min-340 (10 min)
 - ・タイムグルーピング
 - 測定法 A : TriBDE ~ HxBDE ; 3,4 臭素化体 (0 ~ 24.5 min) , 5,6 臭素化体 (24.5 ~ 37 min)
 - 測定法 B : HpBDE ~ DeBDE ; 7,8 臭素化体 (0 ~ 10 min) , 9,10 臭素化体 (10 ~ 20 min)
 - ・注入法 : スプリットレス法 , パージ開始時間 1.5 min (注 32)
 - ・キャリアーガス : He カラム流量 : 1.2mL/min
 - ・注入口温度 : 280
 - ・イオン源温度 : 280
 - ・イオン化電圧 : 45 eV
 - ・注入量 : 1 μ L
 - ・試料導入法 : Capillary
 - ・イオン化法 : EI+
 - ・加速電圧 : 10 kV
 - ・磁場コイル : 測定法 A : TriBDE ~ HxBDE ; HS, 測定法 B : HpBDE ~ DeBDE ; HF
 - ・質量分解能 : 10,000
 - ・SIM 検出法 : Fix
 - ・質量幅 : 300 ppm
 - ・制御場 : Electric Field
 - ・スイッチング時間 : 測定法 A : TriBDE ~ HxBDE ; 90 m 秒
測定法 B : HpBDE ~ DeBDE ; 150 m 秒
 - ・質量微調整法 : Lock & Check Method
 - ・マスロック用物質 : PFK EIpos

表 4 対象物質の測定イオン（注 35）

対象物質	定量イオン	確認イオン
TriBDE	405.8027 [M+2] ⁺	407.8007 [M+4] ⁺ , 403.8047 [M] ⁺
TeBDE	485.7112 [M+4] ⁺	483.7132 [M+2] ⁺ , 487.7092 [M+6] ⁺
PeBDE	563.6217 [M+4] ⁺	565.6197 [M+6] ⁺ , 561.6237 [M+2] ⁺
HxBDE	643.5302 [M+6] ⁺	641.5322 [M+4] ⁺ , 645.5282 [M+8] ⁺
HpBDE	561.6060 [M+4] ⁺ -2Br	563.6040 [M+6] ⁺ -2Br , 559.6080 [M+2] ⁺ -2Br
OcBDE	641.5145 [M+6] ⁺ -2Br	639.5165 [M+4] ⁺ -2Br , 643.5125 [M+8] ⁺ -2Br
NoBDE	719.4250 [M+6] ⁺ -2Br	721.4230 [M+8] ⁺ -2Br , 717.4270 [M+4] ⁺ -2Br
DeBDE	799.3335 [M+8] ⁺ -2Br	797.3355 [M+6] ⁺ -2Br , 801.3315 [M+10] ⁺ -2Br

表 5 サロゲート物質の測定イオン（注 35）

サロゲート物質	定量イオン	確認イオン
TriBDE (2,4,4'-Tribromodiphenyl ether)	417.8429 [M+2] ⁺	419.8409 [M+4] ⁺
TeBDE (2,2',4,4'-Tetrabromodiphenyl ether) (3,3',4,4'-Tetrabromodiphenyl ether) (注 36)	497.7514 [M+4] ⁺	495.7534 [M+2] ⁺
PeBDE (2,2',4,4',5-Pentabromodiphenyl ether) (2,2',4,4',6-Pentabromodiphenyl ether) (注 36) (2,3',4,4',5-Pentabromodiphenyl ether) (注 36) (3,3',4,4',5-Pentabromodiphenyl ether) (注 36)	575.6619 [M+4] ⁺	577.6598 [M+6] ⁺
HxBDE (2,2',4,4',5,5'-Hexabromodiphenyl ether) (2,2',4,4',5,6'-Hexabromodiphenyl ether) (注 36)	655.5704 [M+6] ⁺	653.5724 [M+4] ⁺
HpBDE (2,2',3,4,4',5',6-Heptabromodiphenyl ether)	573.6462 [M+4] ⁺ -2Br	575.6442 [M+6] ⁺ -2Br
DeBDE (Decabromodiphenyl ether)	811.3737 [M+8] ⁺ -2Br	809.3757 [M+6] ⁺ -2Br

表 6 タイムグループピッキング測定時におけるロックマス質量数

TriBDE ~ HxBDE の測定（測定法 A）		HpBDE ~ DeBDE の測定（測定法 B）	
ロックマス（3,4 臭素化体）	454.9729	ロックマス（7 臭素化体）	604.9633
ロックマス（5,6 臭素化体）	604.9633	ロックマス（10 臭素化体）	754.9537

(2) 検量線

ダイオキシン類の測定法と同様に感度係数(RF)を用いて試料中のPBDEsを定量する。使用する高分解能GC-MSの検出下限付近と予想される濃度レベルを含む5段階以上の標準液1μLを3回以上測定し、次式からRFを求める。RFの相対標準偏差が10%以下の場合には平均RFを用いて試料を定量する。毎回の試料測定前に、検量線の間濃度の標準液を測定して感度係数法で定量し、得られた定量値が注入標準液濃度の±20%以内であるならば、平均RFをそのまま用いて試料を定量する。一方、その濃度が±20%を外れた場合には、全ての標準液の再測定を行い、新たな平均RFを求めて試料の定量を行う。

$$RF=(As \times Cis)/(Ais \times Cs)$$

ここで、As：対象物質の測定イオンのピーク面積

Ais：サロゲート物質の測定イオンのピーク面積

Cis：検量線標準液中のサロゲート物質質量(pg)

Cs：検量線標準液中の対象物質質量(pg)

(3) 試料の測定

測定用最終試料液1μLをGC-MSに注入して測定を行う(注37)。ただし、測定時には、注入試料数の10%程度の割合で検量線の間濃度の標準液についても測定し、その濃度の値を確認する。もし、調製した検量線用標準液の濃度の±20%を外れた場合は、測定を中止し、GC-MSを再調整する。そして、RFを確認後、測定を再開する。

10 同定、定量及び計算

測定対象物質の存在の確認及び同定作業を行った後、存在する場合は定量を行う。

(1) 同定

(ア) PBDEsの同定

対象物質の定量イオン及び確認イオンのピークの保持時間と標準品のそれと比較して±5%以内に出現すること(注38)、並びに対象物質の確認イオンのピークと定量イオンのピークとの相対強度比が標準品のそれと比較して±20%以下であれば、PBDEsとして同定する。

(イ) サロゲート物質の同定

サロゲート物質の定量イオン及び確認イオンのピークの保持時間と標準品のそれと比較して±5%以内に出現すること(注38)並びに対象物質の確認イオンのピークと定量イオンのピークとの相対強度が標準品のそれと比較して±20%以下であれば、サロゲート物質として同定する。

(2) 定量(注39)

下記の計算式を用いて各異性体濃度を算出する。

$$\text{検出量(pg)} = (A_s \times C_{is}) / (A_{is} \times RF)$$

ここで、 A_s : 対象物質の測定イオンのピーク面積

A_{is} : サロゲート物質の測定イオンのピーク面積

C_{is} : 試料に添加したサロゲート物質質量 (pg)

(3) 回収率の確認

シリンジスパイクを用いた場合は以下に示す計算式でサロゲート物質(クリーンアップスパイク)の正確な回収率を確認する。この回収率が50%以上120%以下の範囲から外れるときは前処理操作から再分析を行う。

$$R_c = (A_{csi} / A_{rsi}) \times (Q_{rsi} / RR_{frs}) \times (100 / Q_{csi})$$

ここで、 R_c : サロゲート物質の回収率

A_{csi} : サロゲート物質のピーク面積

A_{rsi} : シリンジスパイクのピーク面積

Q_{rsi} : シリンジスパイクの添加量 (pg)

Q_{csi} : サロゲートの添加量 (pg)

RR_{frs} : サロゲート物質のシリンジスパイクに対する相対感度

$$RR_{frs} = (Q_{rs} / Q_{cs}) \times (A_{cs} / A_{rs})$$

ここで、 Q_{rs} : 標準液中のシリンジスパイクの量 (pg)

Q_{cs} : 標準液中のサロゲート物質の量 (pg)

A_{cs} : 標準液中のサロゲート物質のピーク面積

A_{rs} : 標準液中のシリンジスパイクのピーク面積

1 1 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。

1 2 注意事項

- (注1) 試料の分析を開始する前に、記載した検出下限値を達成できることを確認しておく。達成できない場合は、試料量を増やすなどの対策を講じる。ただし、本測定は高分解能 GC-MS を使用するため、表 1 に記載した検出下限値は十分達成できるものと推定されることから、もし達成できない場合には、機器の性能等を再点検する。
- (注2) PBDEs は光分解を受けやすい性質を有するために、直射日光等の強光下での操作は避け、可能な限り遮光された条件下で前処理操作を行う。操作過程で得られる PBDEs 含有試料液等は、褐色あるいは遮光した容器に入れて低温で保管する。
- (注3) 例 メルク社製 kieselgel 60 (60 ~ 230 mesh、Art 7734)(備考 1)
- (注4) 例 関東化学社製の残留農薬試験用メタノール(1,000 倍濃縮検定品)(備考 1)
- (注5) 測定対象としたサロゲート物質及び native 標準品は、現在までに Cambridge Isotope Laboratories 社と Wellington 社から市販されている TriBDE ~ DeBDE の全標準品とした。ただし、両社以外に Accu Standard 社から PBDEs の native 標準品として、TriBDE (9 異性体)、TeBDE (12 異性体)、PeBDE (8 異性体)、HxBDE (7 異性体)、HpBDE (2 異性体)、OcBDE (2 異性体) 及び NoBDE (1 異性体) の計 41 異性体が市販されている。従って、精度管理上問題がなければ適宜測定対象異性体を追加してもかまわない (備考 1)。
- (注6) ADVANTEC 社製 GB-140 等 (備考 1)
- (注7) 例 和光純薬社製の活性炭混合シリカゲル(ダイオキシン類分析用)等(備考 1)
- (注8) ここに記載しているガラスカラムクロマト管とは、本体部分がガラス製のものであるならば、コック部分等の一部部品がテフロン製のものであっても使用してよい。また、多層シリカゲルカラムクロマトの調製法の詳細は、ダイオキシン類分析マニュアル等を参照する (参考例 : ダイオキシン類に係る土壌調査測定マニュアル 平成 12 年 1 月 環境庁水質保全局土壌農薬課)。
- (注9) 例 ポリトロン (キネマティカ社製)(備考 1)

- (注 10) ODS やポリマーなどを充填した固相抽出カートリッジや固相ディスクを用いることで、ジクロロメタン抽出の場合と同等の抽出率が得られる場合は、固相抽出を用いることができる。ただし、使用前に、プレコンタミの確認をし、十分洗浄したものを使用する。
- (注 11) 水質試料は、採取後、冷暗所に保管し、出来るだけ早く抽出操作に着手する。長期間保存することで微生物等によるフロックが形成しないように注意する。また、試料の前処理時に試料中に多量の浮遊物質が存在する場合には、抽出する前にガラス繊維ろ紙で試料をろ過する。そして、このろ紙を少量のジクロロメタンで超音波抽出（15分；2回）し、この抽出液をろ液に合わせた後、抽出操作に移る。ただし、サロゲート物質は、ろ過する前に添加しておく。
- (注 12) 同族体毎に最低 1 種類のサロゲート物質を添加する。表 3 に記載のサロゲート物質は、各同族体のピークが検出される保持時間帯のほぼ中間に検出されるサロゲート物質を選択している。また、より高精度な分析を達成することを目的として、市販標準品が存在するならば同族体毎に複数のサロゲート物質を添加することができる(例：4 臭素化体；3,3',4,4'-TeBDE (BDE77), 5 臭素化体；2,2',4,4',6-PeBDE (BDE100), 2,3',4,4',5-PeBDE (BDE118), 3,3',4,4',5-PeBD (BDE126), 6 臭素化体；2,2',4,4',5,6'-HxBDE (BDE154))。さらに、本分析法の記載時には、¹³Cの 8 臭素化体 (OcBDE) や 9 臭素化体 (NoBDE) が現存していないために、OcBDEのサロゲート物質の代わりに¹³C-2,2',3,4,4',5',6-HpBDEを、NoBDEのサロゲート物質代わりに¹³C-DeBDEを用いて定量することを推奨する。従って、今後、上記サロゲート物質が市販された場合には、速やかに本分析法に導入し、より高精度なPBDEsの分析法として定量することが望ましい。
- (注 13) ジクロロメタンは沸点が低いため、その濃縮時には、試料が乾固しないように注意する。また、乾固する前に、少量のヘキサンを数回添加しながら完全にヘキサンに溶媒転溶する。
- (注 14) 底質試料の抽出機器として、迅速型抽出装置 (ASE や超音波還流抽出装置等) を用いて抽出液を調製してもかまわないが、その抽出法がトルエン還流抽出法やトルエンソックスレー抽出法と同等以上の抽出率が得られることを予め確認する必要がある。
- (注 15) 底質試料の場合、試料の乾燥に伴って固化していくので、風乾後、乳鉢等で十分

すりつぶしふるいにかけて均一な試料を調製する。

- (注 16) 添加回収試験を行った際に、低回収率の主因は、試料の乾燥度に相関していることがよく観察されるので必ず恒量に達した試料を用いて抽出を行う。
- (注 17) トルエン還流抽出法においては、試料と抽出溶媒が共存しているために、トルエンが冷却すると抽出された PBDEs が、底質に再吸着される可能性があるため、抽出終了後速やかにろ過を行う。また、底質試料の測定時にしばしば妨害物質となる硫黄化合物等を除去するために、本分析法では銅粉末を使用しているが、その代わりに銅チップ等を用いてもよい。
- (注 18) 抽出フラスコ内等に、付着した目的成分や残渣中に残存する目的成分を回収する目的で加える。
- (注 19) ロータリーエバポレーターや K.D.濃縮器での操作時に、*n*-ノナン 100 μ L を予め添加しておくこと、試料の乾固を未然に防ぐことができ便利である。
- (注 20) 生物試料は、試料の前処理時まで -20 以下のフリーザーで大切に保管すること。また、湿重量測定時には、ペーパータオル等で余分な水分を十分除去した後、正確に秤量する。データ誤差の多くの原因が、機器分析データではなく、単純な秤量ミス等によることが多い。
- (注 21) 7 臭素化体以上の高臭素化体の場合、測定時に著しい感度低下が観察されることより、分析機器の感度性能と各試料中の実測濃度を十分に考慮した上で、適切なサロゲート物質の添加濃度を決定する。
- (注 22) 試料にアルカリ添加後、長時間静置した場合には、高臭素化体の分解が起こることがあるので、アルカリ分解処理は振とうしながら行うことを推奨する。
- (注 23) 激しく振とうすると、水とヘキサンの界面に不溶性物質が生じることがあるので注意する。
- (注 24) ガラスカラムに各シリカゲルを湿式充填する際には、カラムに弱い振動を与えながら均一に充填できるように注意する。また、ヘキサン洗浄時においてカラム内に気泡等が観察された場合は、窒素ガス等でカラム内を加圧して気泡が無くなるようにする。また、PBDEs の光分解を防ぐ目的で、精製時には、ガラスカラムをアルミホイル等で遮光したり、あるいは褐色のガラスカラムを用いることを推奨する。
- (注 25) 固相抽出カートリッジ等を用いて抽出を行った時に、その溶離液等にアセトンや

ジクロロメタン等の比較的極性をもつ溶媒が含まれている場合には、ヘキサンに溶媒転溶してからカラムに負荷する。

(注 26) 事前に標準混合液を用いて多層シリカゲルカラムクロマトにおける PBDEs の溶出パターンを確認する。

(注 27) 本分析法では、全試料の精製の第 1 段階で多層シリカゲルカラムクロマト法を採用している。その他の方法としては、ダイオキシン類の精製時に繁用されている、硫酸処理法とシリカゲルカラムクロマト法を組み合わせた精製法が想定されるが、その場合には、上記の精製法に対する最適条件等を詳細に検討し、同等の結果が得られることを確認してから行う必要がある。

(注 28) より高精度な定量を行うことを目的として、サロゲート物質として使用していない他の¹³Cラベル化体をシリンジスパイクとして用いることを強く推奨する。例えば、¹³C-2,2',3,4,4',6-HxBDE (Wellington社製) 等を用いる。(備考 1)

(注 29) 通常硝酸銀シリカ等を増量した多層シリカゲルカラムの精製で、殆どの夾雑物を除去することが可能であるが、希に多量の夾雑物が最終試験液に共存し定量が妨害される場合がある(最終試験液が着色)。この場合は、もう一度、この試験液を、多層シリカゲルカラムを通して再精製するか、あるいは前処理時に、試料に対してアルカリ分解処理 [1 mol/L KOH/EtOH (水 10% 含有) 150 mL で 2 時間振とう] を行うことによって改善できる。そして、このアルカリ分解処理液を濃硫酸等で攪拌しながら穏やかに中和処理を行い、その後、プフナーロートで減圧下、ろ過を行う。次に、ろ液に対して水 120 mL とヘキサン 75 mL で液液分配抽出(2 回抽出 ; 30 分振とう)を行い、水洗後、脱水、ろ過を行い、最後に KD 濃縮器で濃縮することにより前処理液を調製する。

(注 30) 空試験試料中に検出された各異性体の実測値が、試料中のその 10 % 以上である場合には、原則的にその値を採用しないと共に、コンタミの原因を究明した後、再分析を行う必要がある。

(注 31) 高精度な DeBDE の定量分析を行うには、四重極型 MS では定量イオンのモニターが、ECD-GC では、サロゲート物質を使用できないことから、本測定法では二重収束型 MS による測定法を採用している。ただし、DeBDE は熱や光等に対して不安定であるため、260 °C 以上で GC 注入口部やカラムオープン内で熱分解を起こす可能性があることより、必ずサロゲート物質として¹³C-DeBDE を使用しなければ

ならない。また、その使用によって、定量性等への阻害的影響は殆どなくなるものと推察される。ただし、その様な懸念を完全に払拭することを考慮して、クーロンカラムによるGCへの注入方式を採用することも考慮される。

(注 32) 将来的により分離能や定量性が高い分析条件やキャピラリーカラム等に関する研究例が報告された場合には、それらの再現性や性能を十分確認した後、新規に採用しても構わない。すなわち、本分析法は、現時点までの多くの研究報告で採用されている PBDEs の分析条件を基礎として、そのカラムや GC-MS 条件等を記載しているためであり、例えば、最近の知見では高臭素化体(7 臭素化体以上、特に DeBDE) を定量する場合には、カラムオープン内での熱分解や感度低下を防ぐ目的で、より膜圧が薄く (0.1 μm)、またその分離に問題がなければより短いカラムの使用が推奨されるといった報告があるためである。

(注 33) 例 J&W 社製 DB-17ht 等 (備考 1)。

(注 34) 例 J&W 社製 DB-5 等 (備考 1)。

(注 35) 定量イオンが妨害を受ける場合は、妨害を受けていない確認イオンを用いて定量を行う。

(注 36) 4~6 臭素化体の分析のために複数のサロゲート物質を添加した場合には、表 5 に示す定量イオンをモニターする。また、この時に、測定対象異性体により近い保持時間を有するサロゲート物質の回収率を用いて、算出、定量を行う。

(注 37) 試料間のクロスコンタミを防止するため、高濃度の試料測定後は、溶媒を測定するなどしてキャリアオーバーが無いことを確認する。

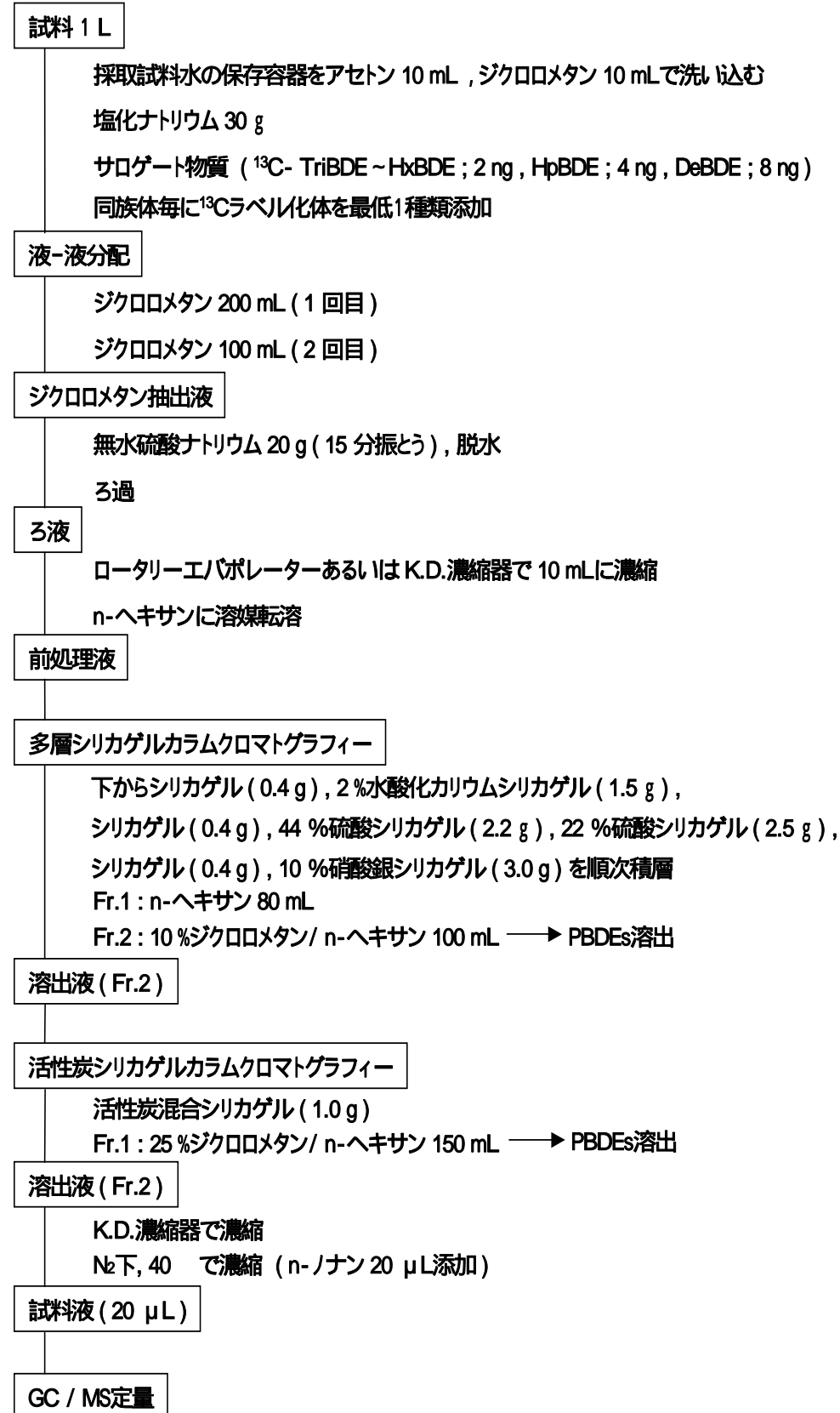
(注 38) クリーンアップが不十分で最終試料液中に夾雑物が多い場合には、保持時間が遅くなることもある

(注 39) 3 臭素化体である 2,3',4-TriBDE(BDE33)と 3,3',4-TriBDE(BDE35)は、記載したカラム条件では分離、定量することが出来ないため、この 2 種のピーク面積を合わせた形式で、算出、定量する。また、この両異性体の分離に関する報告は、現時点では見あたらない。

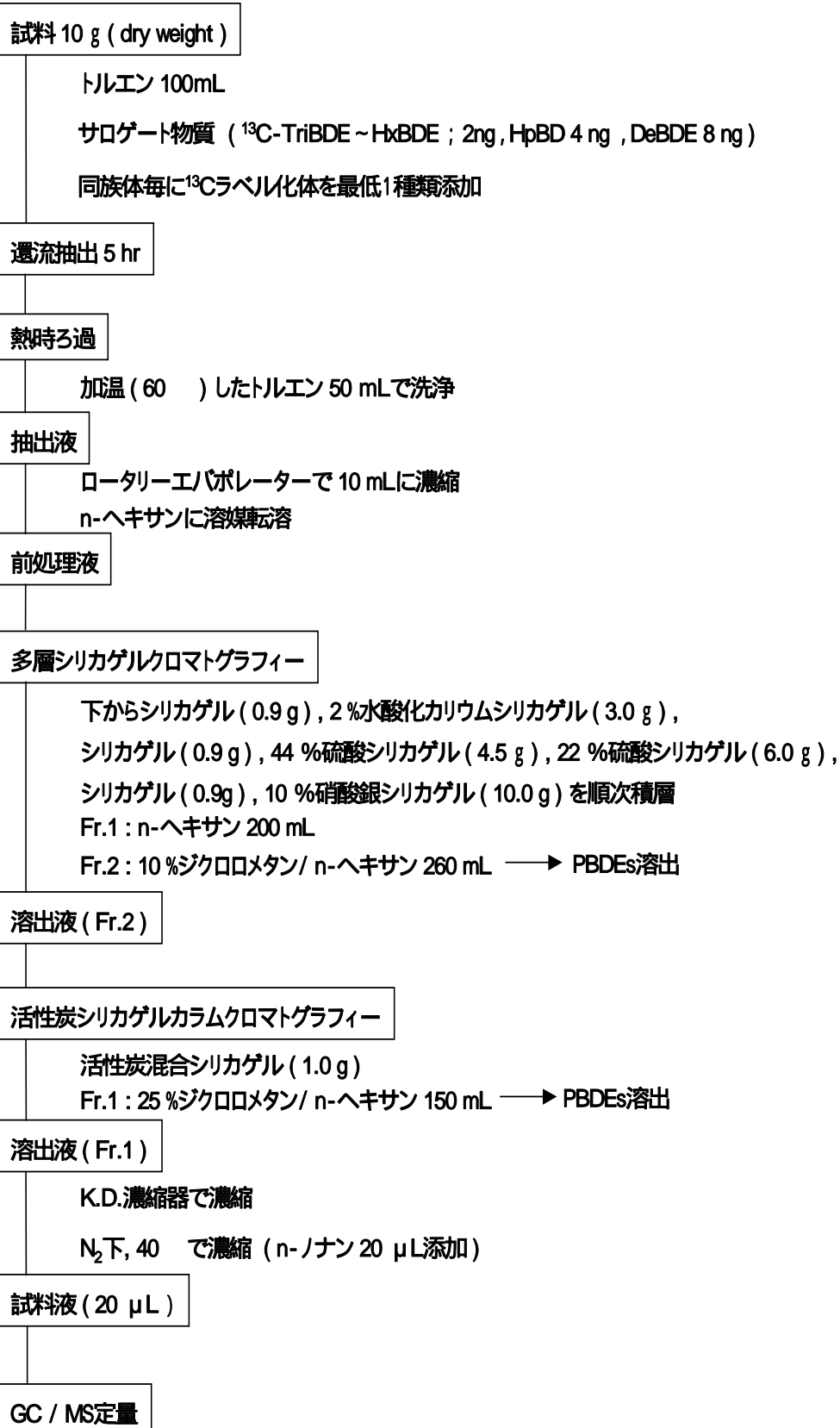
(備考 1) ここに示す商品は、このマニュアル使用者の便宜のために、一般に入手できるものとして例示したが、これを推奨するものではない。これと同等以上の品質、性能のものであれば用いてもよい。

分析法フローチャート

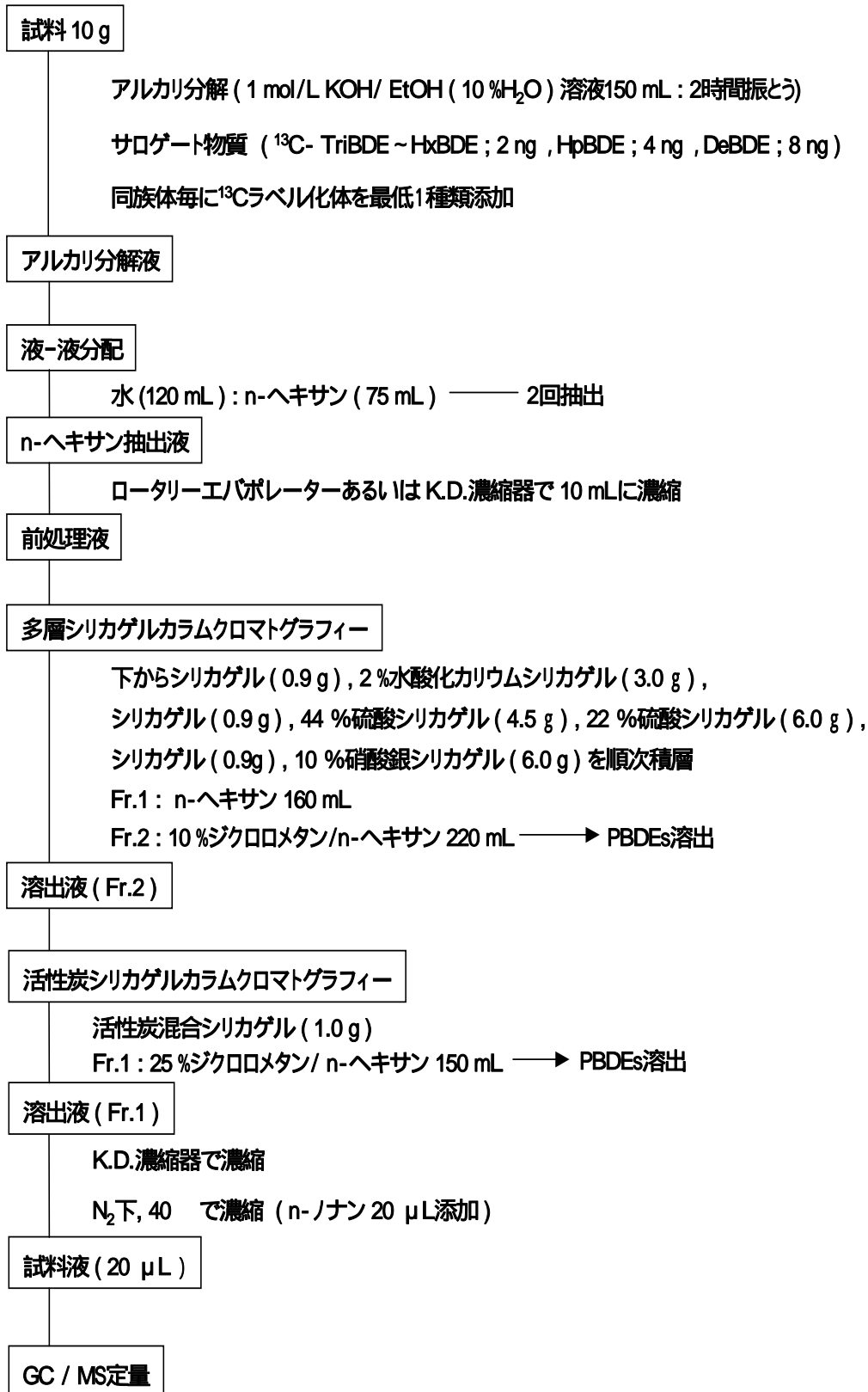
水質試料



底質試料



生物試料



．フェノール類の分析法

1 対象物質

2,4-ジメチルフェノール、2,5-ジメチルフェノール、2,6-ジメチルフェノール、3,5-ジメチルフェノール、2-メトキシフェノール、3-メトキシフェノール*、4-メトキシフェノール*、2,4,6-トリブロモフェノール、2,4,6-トリクロロフェノールとする。

なお、2,4,5-トリクロロフェノール、モノクロロフェノール類、ジクロロフェノール類、ジブロモフェノール類、クロロ-メチルフェノール類、*p*-プロモフェノールも測定可能である。

2 目標検出下限値及び定量下限値（注1）

	水質 (µg/L)		底質 (µg/L)		生物 (µg/L)	
	500 mL		20 g		10 g	
目標検出・定量下限値	検出	定量	検出	定量	検出	定量
2,4-ジメチルフェノール	0.005	0.015	0.15	0.50	0.30	1.00
2,5-ジメチルフェノール	0.005	0.015	0.15	0.50	0.30	1.00
2,6-ジメチルフェノール	0.005	0.015	0.15	0.50	0.30	1.00
3,5-ジメチルフェノール	0.005	0.015	0.15	0.50	0.30	1.00
2-メトキシフェノール	0.020	0.060	0.50	2.00	1.00	4.00
3-メトキシフェノール*	0.020	0.060	0.50	2.00	1.00	4.00
4-メトキシフェノール*	0.020	0.060	0.50	2.00	1.00	4.00
2,4,6-トリクロロフェノール	0.005	0.015	0.15	0.50	0.30	1.00
2,4,6-トリブロモフェノール	0.010	0.030	0.30	1.00	0.60	2.00

3 分析法の概要

水質試料は pH 3.0 ~ 3.5 に調整し、固相抽出する。通水後、脱水しアセトンで溶出させる。このアセトン溶出液を、濃縮後、硫酸ジエチルを用いてエチル化し、この誘導体化生成物

* :3-メトキシフェノール、4-メトキシフェノールは要調査項目ではないが、同時測定可能なので参考までに掲載した。

を GC/MS-SIM で定量する。

底質試料は 0.1 N 水酸化カリウム/メタノール溶液で振とう抽出を行う。この抽出液をジクロロメタンで洗浄した後、塩酸で pH 3.0 ~ 3.5 に調整し、ジクロロメタン抽出を行う。このジクロロメタン抽出液をアセトンに転溶・濃縮、更に硫酸ジエチルを用いてエチル化した後、アルカリ分解、フロリジルカラムカートリッジでクリンアップし、この誘導体化生成物を GC/MS-SIM で定量する。

生物試料はメタノールで抽出し、メタノール/ヘキサン分配で脂質を除去後、pH 3.0 ~ 3.5 に調整し、ジクロロメタン抽出を行う。以下、底質試料と同様に、このジクロロメタン抽出液をアセトンに転溶・濃縮、更にエチル化、アルカリ分解、フロリジルカラムカートリッジでクリンアップし、この誘導体化生成物を GC/MS-SIM で定量する。

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・一級品
- ・サロゲート物質：市販標準品
- ・内部標準物質：市販標準品
- ・アセトン、ジクロロメタン、エタノール、メタノール、ヘキサン、エチルエーテル：残留農薬試験用。
- ・無水硫酸ナトリウム：残留農薬試験用。
- ・硫酸ジエチル、塩酸、水酸化カリウム：特級品。
- ・固相カートリッジ（注2）
- ・塩化ナトリウム：特級品の塩化ナトリウムを 250 で 9 時間強加熱後、汚染のないところで放冷したもの。
- ・1 N 塩酸：濃塩酸 1 容を精製水 11 容に入れて希釈したもの。
- ・0.1 N 塩酸：濃塩酸 1 容を精製水 110 容に入れて希釈したもの。
- ・0.1 N 水酸化カリウム：水酸化カリウム 1.12 g を精製水に溶かし、精製水で 1 L に定容。
- ・1 N KOH/エタノール：水酸化カリウム 5.6 g を精製水 5 mL でホットプレートまたはドライヤーで熱しながら溶解する。溶解後、直ちにエタノール 95 mL を加えたもの。
- ・0.1 N 水酸化カリウム/メタノール：300 mL のメタノールに水酸化カリウム 2.8 g を入れ、完全に溶解させた後、メタノールで 500 mL に定容する。

- ・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。
- ・石英ウール：ヘキサンで洗浄したもの。
- ・フロリジルカートリッジカラム（注3）

（2）器具及び装置

- ・ねじ口瓶：容量 500～1,000 mL で、四フッ化エチレン樹脂張りのねじ口キャップをしたガラス瓶（注4）
- ・パストゥールピペット：容量 2 mL 強のもの。
- ・小型ロート：誘導体（エチル化）のヘキサン層の脱水に使用。
- ・透明摺り合わせまたは SPC 共栓付分液ロート：容量 200 mL、及び 1L のもの。
- ・透明摺り合わせまたは SPC 共栓付遠沈管：容量 200 mL のもの。
- ・透明摺り合わせまたは SPC 共栓付試験管：容量 10 mL、及び 20 mL のもの。
- ・透明摺り合わせまたは SPC ナス型フラスコ：容量 300 mL、及び 100 mL のもの。
- ・透明摺り合わせまたは SPC 共栓付三角フラスコ：容量 300 mL のもの。
- ・透明摺り合わせまたは SPC 共栓付メスフラスコ：容量 300 mL、及び 100 mL のもの。
- ・乾燥器：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。
- ・ロータリーエバポレーター濃縮装置：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/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、水質試料、底質試料及び生物試料の採取、運搬、調製にかかわる手順等の詳細は、本マニュアルの「 . 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

(ア) 水質試料

試料水 500 mL (注 5) を採取し、サロゲート混合標準液 (0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 0.5 mL 加え、更に 1 N 塩酸 1 mL 加え、pH 3.0 ~ 3.5 (注 6) に調整後、固相カラム (注 7、注 8) に通水 (5 ~ 10 mL/分) する。精製水約 10 mL を固相カラムに通し、更に吸引操作等で固相カラム中の水分を除去 (注 9) した後、アセトン (注 10) 10 mL を 1 ~ 2 mL/分の通液速度で目的物質を透明摺り合わせ試験管 10ml に溶出する。このアセトン溶出液に、窒素ガスを吹き付けて 0.5 mL (注 11) に濃縮する。この濃縮液を前処理液とする。

[参考：溶媒抽出法]

試料水 1 L を透明摺り合わせ分液漏斗 2 L に採取し、塩化ナトリウム 50 g 及びサロゲート混合標準液 (0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 0.5 mL 加え十分混合し、溶解した後、更に 1 N 塩酸 2 mL 加え、pH 3.0 ~ 3.5 (注 6) に調整する。ジクロロメタン 100 mL を加えて約 10 分間振とうした後、十分に静置したジクロロメタン層を透明摺り合わせ共栓三角フラスコ 300ml に採取する。水相に再度ジクロロメタン 100 mL を加え同様な振とう抽出を行い、ジクロロメタン層を先の三角フラスコに合わせる。

このジクロロメタン抽出液を無水硫酸ナトリウムで脱水した後、透明摺り合わせナス型フラスコ 300 mL に移し、ロータリーエバポレーターを用いて、水浴を加熱せずに約 10 mL 弱 (注 12) まで減圧濃縮する。このジクロロメタン濃縮液を透明摺り合わせ試験管 10mL に移し、窒素ガスを吹き付けて約 1 mL に濃縮した後、アセトン約 8 mL を加え、窒素ガス

を吹き付けて 0.5 mL (注 11) に濃縮する。この濃縮液を前処理液とする。

(イ) 底質試料

試料 20 g を透明摺り合わ遠沈管 200ml に採取し、サロゲート混合標準液 (0.5 µg/mL) 0.5 mL 加え、0.1 N 水酸化カリウム/メタノール溶液 50 mL を加え 10 分間振とうする。更に超音波照射を 10 分間行う。遠心分離 (3,000 rpm、10 分間) により、上澄みのメタノール層を透明摺り合わせ分液漏斗 1L に入れる。残渣に、更に 0.1 N 水酸化カリウム/メタノール 50 mL を加え、同様の操作を行い、上澄みのメタノール層を先の分液漏斗に合わせる。

このメタノール層の入った分液漏斗に精製水 500mL を入れ、ジクロロメタン 100 mL を加え、15 分間振とうし、ジクロロメタン層 (注 13) を捨てる。水相に再度ジクロロメタン 50 mL を加え洗浄し、ジクロロメタン層 (注 13) を捨てる。この洗浄操作を再度繰り返す。この水相に塩化ナトリウム 50 g を加え、更に 1 N と 0.1 N の塩酸で pH 3.0 ~ 3.5 (注 6) に調整した後、ジクロロメタン 100 mL を加えて、10 分間振とうする。静置後、ジクロロメタン層を透明摺り合わせ共栓三角フラスコ 300 mL に採取する。水相に再度ジクロロメタン 100 mL を加えて、同様な操作を行い、ジクロロメタン層を先の三角フラスコに合わせる。

このジクロロメタン抽出液を無水硫酸ナトリウムで脱水した後、透明摺り合わせナス型フラスコ 300 mL に移し、ロータリーエバポレーターを用いて、水浴を加熱せずに約 10 mL 弱 (注 12) まで減圧濃縮する。このジクロロメタン濃縮液を透明摺り合わせ試験管 10 mL に移し、窒素ガスを吹き付けて約 1 mL に濃縮した後、アセトン約 8 mL を加え、窒素ガスを吹き付けて 0.5 mL (注 11) に濃縮する。この濃縮液を前処理液とする。

(ウ) 生物試料

生物試料 10g を透明摺り合わせ遠沈管 200 mL に採取し、サロゲート混合標準液 (0.5 µg/mL) 0.5 mL 加え、メタノール溶液 50 mL を加え、約 10 分間ポリトロンホモジナイザーでホモジナイズする。遠心分離 (3,000 rpm、10 分間) により、上澄みのメタノール層を透明摺り合わせ分液漏斗 200 mL に入れる。残渣に、更にメタノール 50 mL を加え、同様の操作を行い、上澄みのメタノール層を先の分液漏斗に合わせる (注 14)。

このメタノール層の入った分液漏斗に精製水約 1 mL (注 15) を加え、更にメタノール飽和ヘキサン 20 mL (注 16) を加えて約 5 分間振とうし、静置する。メタノール層を別の

透明摺り合わせ分液漏斗 100 mL に移し、再度ヘキサン 10 mL 加えて洗浄した後、予め 10% 塩化ナトリウム水溶液 500 mL を入れた透明摺り合わせ分液漏斗 1 L に移す。1N と 0.1N の塩酸で pH3.0 ~ 3.5 (注 6) に調整した後、ジクロロメタン 100 mL を加えて、10 分間振とうする。静置後、ジクロロメタン層を透明摺り合わせ共栓三角フラスコ 300 mL に採取し、水相に再度ジクロロメタン 100mL を加えて、同様な操作を行い、ジクロロメタン層を先の三角フラスコに合わせる。

以下、底質試料と同様に、このジクロロメタン抽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を用いて、水浴を加熱せずに約 10 mL 弱 (注 12) まで減圧濃縮する。このジクロロメタン濃縮液に窒素ガスを吹き付けて約 1 mL に濃縮した後、アセトン約 8 mL を加え、窒素ガスを吹き付けて 0.5 mL (注 11) に濃縮する。この濃縮液を前処理液とする。

(2) 試料液の調製

(ア) 水質試料

前処理液に 1 N 水酸化カリウム/エタノール 0.5 mL と硫酸ジエチル 0.5 mL (注 17、注 18、注 19) を加え攪拌し、30 分間静置 (注 20) する。その後、1 N 水酸化カリウム/エタノール 4 mL と精製水 3 mL を加え、溶解 (注 21) する。ヘキサン 1 mL を加え振とう (注 22) する。30 分間静置後、ヘキサン層をパスツールピペットで石英ウールと無水硫酸ナトリウムを詰めた小型ロートに通して脱水し、透明摺り合わせ試験管 10 mL に分取する。この分取液に窒素ガスを吹き付けて 0.5 mL (注 11) に濃縮した後、混合内部標準液 (10 µg/mL) を正確に 5 µL 加え、測定試料液とする。

(イ) 底質及び生物試料

前処理液に 1 N 水酸化カリウム/エタノール 0.5 mL と硫酸ジエチル 0.5 mL (注 17、注 18、注 19) を加え攪拌し、30 分間静置 (注 20) する。その後、1 N 水酸化カリウム/エタノール 4 mL を加え、70 °C の温浴に 1 時間放置 (注 23) する。その後、精製水 3 mL を加え、混合し放冷し、ヘキサン 1 mL を加え振とう (注 22) する。30 分間静置後、ヘキサン層をパスツールピペットで石英ウールと無水硫酸ナトリウムを詰めた小型ロートに通して脱水し、透明摺り合わせ試験管 10 mL に分取する。この分取液をフロリジルカラムカートリッジ (注 24) に供し、4% エチルエーテル/ヘキサン 20 mL でエチル化したフェノール類を透

明摺り合わせ試験管 20 mL に溶出させる。この溶出液に窒素ガスを吹き付けて 0.5 mL (注 11) に濃縮した後、混合内部標準液 (10 µg/mL) を正確に 5 µL 加え、測定試料液とする。

(3) 空試験液の調製

(ア) 水質試料

水質は精製水 500 mL (注 25) を用いて「(1) 前処理」及び「(2) 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料液とする。

(イ) 底質及び生物試料

底質は 20 mL、生物は 10 mL の精製水を用いて「(1) 前処理」及び「(2) 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料液とする。

(4) 添加回収試験液の調製

水質試料では任意の試料水 500 mL、底質試料では任意の試料 20g、生物試料では任意の試料 10 g に検出下限の 10 倍量の混合標準液を添加し、充分混合する。60 分以上放置した後、「(1) 前処理」及び「(2) 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 26)

各標準物質、各内部標準物質はそれぞれ 50 mg を精秤してアセトンで正確に 50 mL とし、1,000 µg/mL の標準原液を調製する。各サロゲート標準物質はそれぞれ 5 mg を精秤してアセトンで正確に 50 mL とし、100 µg/mL の標準原液を調製する。

対象物質の混合標準液は各標準原液をアセトンで段階的に希釈し、0.02 ~ 1.0 µg/mL の範囲で 5 点以上調製する。サロゲート物質の混合標準液 (0.5 µg/mL) 及び混合内部標準液 (10 µg/mL) はそれぞれの標準原液をアセトンを用いて希釈して調整する。これらの標準原液及び混合標準液は暗所-20 °C で保存する。

(6) 測定

(ア) GC/MS の測定条件

- ・使用カラム：50% フェニルメチルポリシロキサン (注 27)

長さ 30 m , 内径 0.25 mm , 膜厚 0.25 μm

・ カラム槽温度 : 45 (2分) - 10 /分 - 200 - 20 /分 - 250 (13.5分)

・ 使用カラム : 5%フェニルメチルシリコン (注 28)

長さ 30 m , 内径 0.25 mm , 膜厚 0.50 μm

・ カラム槽温度 : 45 (2分) - 4 /分 - 200 - 10 /分 - 270 (3.5分)

・ 注入法 : スプリットレス法

・ 注入温度 : 240

・ キャリヤーガス : ヘリウム(99.999vol%以上)であって、定流量型では 1 mL / 分、定圧型では線速度が 30 ~ 60cm/秒

・ パージ開始時間 : 1.0 分

・ イオン化法 : EI 法 (注 29)

・ イオン化電圧 : 70 eV

・ モニターイオン

\$ 2,4-ジメチルフェノール M/Z : 150 , (107)

2,5-ジメチルフェノール M/Z : 150 , (107)

\$ 2,6-ジメチルフェノール M/Z : 150 , (107)

\$ 3,5-ジメチルフェノール M/Z : 150 , (107)

\$ 2-メトキシフェノール M/Z : 152 , (109)

3-メトキシフェノール* M/Z : 152 , (124)

4-メトキシフェノール* M/Z : 152 , (109)

\$ 2,4,6-トリクロロフェノール M/Z : 196 , (224)

2,4,6-トリブロモフェノール M/Z : 332 , (358)

サロゲート物質

2,4-ジメチルフェノール-d₃ M/Z : 153 , (110)

2,6-ジメチルフェノール-d₃ M/Z : 153 , (110)

3,5-ジメチルフェノール-d₃ M/Z : 153 , (110)

2-メトキシフェノール-¹³C₆ M/Z : 158 , (115)

* :3-メトキシフェノール、4-メトキシフェノールは要調査項目ではないが、同時測定可能なので参考までに掲載した。

2,4,6-トリクロロフェノール-¹³C₆ M/Z : 202 , (230)

内部標準物質

ナフタレン-d ₈	M/Z : 136
ビフェニル-d ₁₀	M/Z : 164
フェナントレン-d ₁₀	M/Z : 188

() : 確認イオン

\$: 現在、サロゲート物質が市販されている。

(サロゲート物質が市販のフェノール類はサロゲート物質を使用して、サロゲート法で定量する。)

(サロゲート物質が未市販のフェノール類は内部標準物質を使用して、内部標準法で定量する。)

(イ) 検量線

検量線は対象物質の混合標準液 (0.02 ~ 1.0 µg/mL) 0.5 mL 及びサロゲート物質の混合標準液 (0.5 µg/mL) 0.5 mL を透明摺り合わせ試験管 10 mL に採取し、窒素ガスを吹き付けて 0.5 mL (注 11) に濃縮した後、「(2) 試料液の調製」を行って検量線の標準液を作成する。この検量線の標準液 1 µL を GC/MS に注入し、\$ 印のフェノール類はサロゲート法で、各物質の示すピーク面積 (又は高さ) とサロゲート物質のピーク面積 (又は高さ) の比から、印の無いフェノール類は内部標準法で、各物質の示すピーク面積 (又は高さ) と内部標準物質のピーク面積 (又は高さ) の比から検量線を作成する。

(ウ) 試料液の測定

検量線作成後、空試験液、測定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/MS を再調製後、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

対象物質及びサロゲート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予想値の ± 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

試料液 1 μL を GC/MS に注入し、各物質の示すピーク面積（又は高さ）とサロゲート物質又は内部標準物質のピーク面積（又は高さ）の比を求め、検量線により検出量を求める。次に検出量、分析した試料量等から、次式により試料中の濃度を計算する。なお、底質の試料量は乾燥試料量とする。

$$\text{水質試料濃度} (\mu\text{g/L}) = \text{検出量} (\mu\text{g}) \times \frac{1}{\text{試料量} (\text{L})}$$

$$\text{底質・生物試料濃度} (\mu\text{g/kg}) = \text{検出量} (\mu\text{g}) \times \frac{1}{\text{試料量} (\text{kg})}$$

（ここでの検出量とは試料液中に存在する対象物質の全量である。）

8 分析精度管理

本調査マニュアルの「 . 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。

9 注意事項

（注1） 使用するキャピラリーカラムの種類、膜厚、内径、長さにより、フェノール類の検出下限値が異なる。また試料中の狭雑物及び使用機器により、検出下限値が異なる。

（注2） 横川アナリティカルシステムズ社製の SPE UNI/154。またはウォーターズ社製のセップパックプラス PS-2（備考1）。

（注3） ウォーターズ社製のセップパックフロリジル（備考1）。

（注4） 一例として、残留農薬分析用の空き瓶 1,000 mL を加熱処理して使用。

（注5） マトリックス等を考慮すると、試料水の量は 500 mL ~ 700 mL 以下である。

（注6） pH を下げすぎると、回収率が変動する対象物質もあるので、pH 3.0 ~ 3.5 の範囲

に調整する。pH の微量調整は 1 N と 0.1 N の塩酸及び 0.1 N の水酸化カリウムで行う。

(注 7) 逆相系固相カートリッジカラムの内、回収率を考慮すると、横川アナリティカルシステムズ社製の SPE UNI/154 を推奨する(備考 1)。

(注 8) 固相カートリッジカラムは使用直前アセトン 10 mL、精製水 10 mL でコンデショニングを行う。

(注 9) アスピレーターの引きの強さに関係するが、約 30 分引く。または、3,000 rpm で 10 分間強遠心分離することで脱水する。

(注 10) 溶出液として、アセトンの代わりにジクロロメタンを用いても良い。

ジクロロメタンを使用の場合には固相カートリッジカラムは使用直前にジクロロメタン 10 mL、メタノール 10 mL、精製水 10 mL でコンデショニングを行う。

(注 11) 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、水質試料ではキーパー量が少ないので、顕著に損失する。

(注 12) 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 13) 分離しない場合には、冷凍凍結法、又は遠心分離で分離する。

(注 14) 底質試料と同様に 0.1N 水酸化カリウム/メタノール溶液で抽出を行うと、エマルジョンが多量にでき、遠心分離が行えないことがある。そこで、生物試料はメタノールで抽出し、メタノール/ヘキサン分配で脱脂することにした。

メタノール/ヘキサン分配は回収率に大きく影響するので、十二分に注意すること。最近では脱脂を GPC カラムで行うことが度々ある。

(注 15) 添加する精製水と試料中の水分合計量が 5 mL を超えると対象物質がヘキサン層に移行する可能性があるので、注意する。

(注 16) メタノールを飽和させるヘキサン量は 8~15 mL 程度であるので、メタノール飽和ヘキサンを 20 mL 加えた。

(注 17) 硫酸ジエチルの添加量を 0.5 mL より少なくすると、メトキシフェノール類のエチル化反応効率が低下する。

(注 18) 硫酸ジエチルの添加量を 2 mL 越えると、硫酸ジエチル由来の大きなピークが生じる。

(注 19) 硫酸ジエチルは添加後数十秒で固化するので、すばやく攪拌する。

(注 20) 生成量は反応時間(静置時間)、10 分から 6 時間はほぼ一定である。

- (注 21) 溶解しにくい、振とうを続けると徐々に溶解する。固形物を完全に溶解させる。
- (注 22) 手で 1 分間激しく振等する。
- (注 23) ジクロロメタンが残留する為、試験管の栓が飛ばないようにクリップ等で止める。
固形物は温めながら振とうすることで、完全に溶解させる。
- (注 24) フロリジルカートリッジカラムは使用直前に 4%エチルエーテル/ヘキサン 20 mL で洗浄する。また対象物質の溶出パターンと回収率も確認しておく。
2-メトキシフェノールは 4%エチルエーテル/ヘキサン 10 mL で溶出する場合と、4%エチルエーテル/ヘキサン 20 mL でも溶出しない場合がある。溶出しない場合には 4%エチルエーテル/ヘキサン量を更に増やす。
- (注 25) 目的物質の分析に影響のない市販品のミネラルウォーターも可能である。
- (注 26) 測定物質の d 体または ¹³C 体が市販されているフェノール類はサロゲート法、未市販のフェノール類は内部標準法で定量する。但し、未市販のフェノール類でも市販されたら、サロゲート法に切り替えることを推奨する。
- (注 27) 一例として、DB-17, または HP-50+ (備考 1)。
- (注 28) 一例として、DB-625。DB-17・HP-50+カラムでは、強雑物の影響でフェノール類が測定不能である場合、DB-625 を使用する。DB-625 カラムは管理不足及び GC を付け替えるごとに、酸素により著しく劣化するので注意すること(備考 1)。
- (注 29) 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。
- (備考 1) ここに示す商品は、このマニュアル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。

参考文献

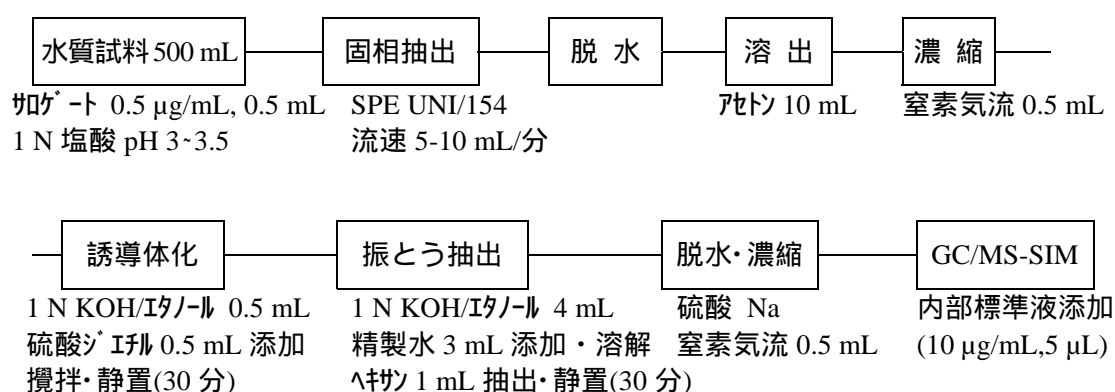
- 1) 肥塚加奈江, 剣持堅志:「平成 5 年度 化学物質分析法開発調査報告書(ニトロフェノール類)」, 102-143 (平成 6 年 6 月)
- 2) 先山孝則, 張野宏也:「平成 7 年度 化学物質分析法開発調査報告書(トリクロロフェノール類)」, 48-77 (平成 8 年 6 月)
- 3) 大阪市立環境科学研究所:「平成 10 年度 化学物質分析法開発調査報告書(ジメチルフ

エノール類・メトキシフェノール類)」, 74-93 (平成 11 年 6 月)

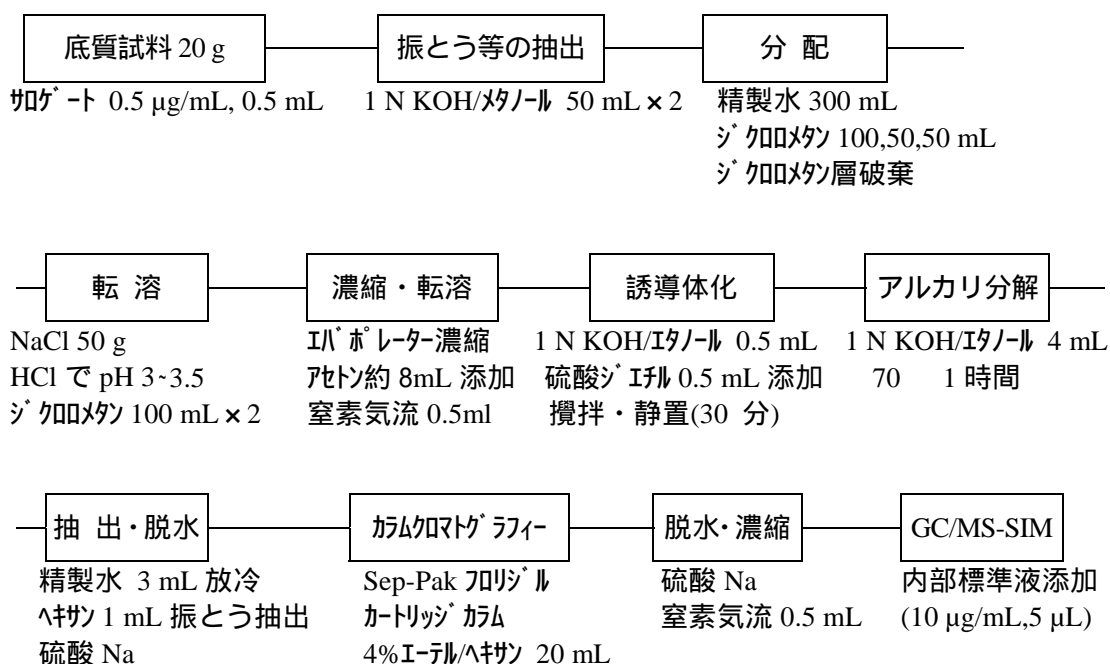
- 4) 高橋保雄, 森田昌敏:「GC/MS による水中のフェノール類の分析」,環境化学 ,6 ,363-373 (1996)
- 5) 山口之彦, 福島実也:「フェノール類の多成分分析法の検討」,第 10 回環境化学討論会要旨集, 492-493 (2001)

分析フローチャート

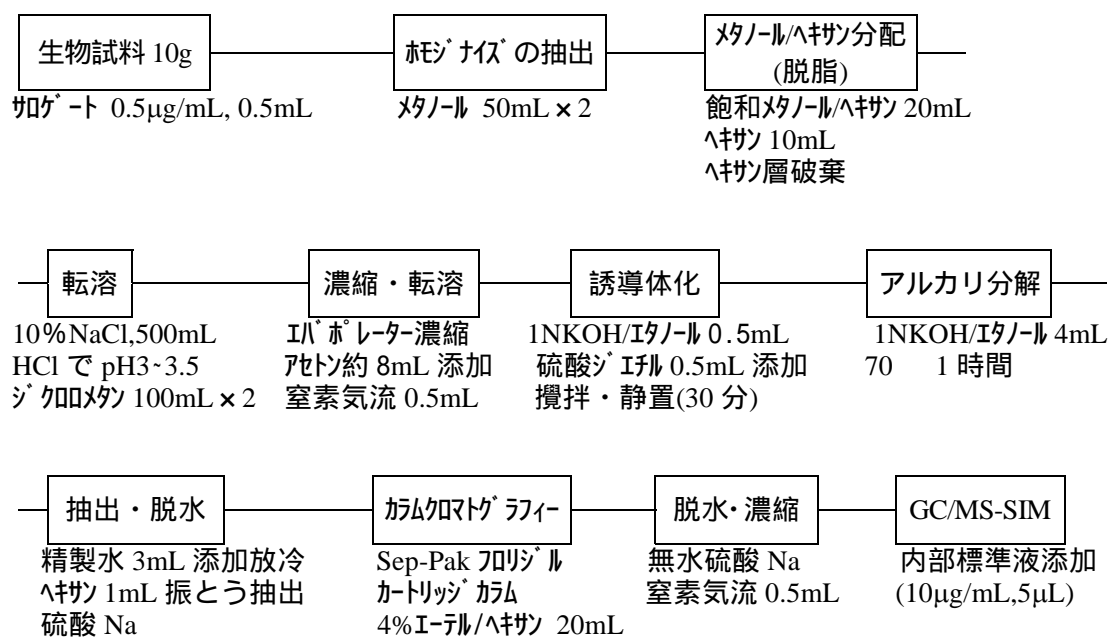
水質試料



底質試料



生物試料



4,4'-ジアミノ-3,3'-ジクロロジフェニルメタン (DACPM) 及び
3,3'-ジクロロベンジジン (DCB) の分析法

1 対象物質

4,4'-ジアミノ-3,3'-ジクロロジフェニルメタン (DACPM)

3,3'-ジクロロベンジジン (DCB)

2 目標検出下限値及び定量下限値

	水質 (µg/L)		底質 (µg/kg)	生物 (µg/kg)
	検出下限値	定量下限値	検出下限値	検出下限値
DACPM	0.03	0.1	2.2	4.0
DCB	0.03	0.1	2.2	4.0

3 分析法の概要

水質試料は、ジクロロメタンで抽出後、脱水濃縮し *N*-メチルピストリフルオロアセトアミド (MBTFA) により TFA 化を行い、GC/MS (SIM) で定量する。

底質は、1M-KOH/エタノール溶液でアルカリ分解と抽出を行い、水を加えてジクロロメタンに転溶する。塩酸による逆抽出によりクリンアップを行い、再度アルカリ下でジクロロメタン抽出を行い、脱水濃縮後水質試料と同様に操作する。

生物試料は、エタノールで抽出し、抽出液に水酸化カリウムを加えアルカリ分解を行い、以下底質と同様に操作する。

4 試薬、器具及び装置

(1) 試薬

- ・4,4'-ジアミノ-3,3'-ジクロロジフェニルメタン、3,3'-ジクロロベンジジン：市販特級品
- ・*p*-ターフェニル- d_{14} (内標準)：市販標準品

内標準溶液：10 µL/mL ジクロロメタン溶液を調製する。

- ・アセトン、エタノール、ジクロロメタン：市販残留農薬試験用
- ・無水硫酸ナトリウム、塩化ナトリウム：市販残留農薬試験用

- ・水酸化ナトリウム、水酸化カリウム：市販特級品
- ・水：市販ミネラルウォーター
- ・塩酸：市販精密分析用
- ・*N*-メチルビストリフルオロアセトアミド (MBTFA)：市販ガスクロマト用

(2) 器具及び装置

- ・KD 濃縮装置：試料液の濃縮に用いる。
- ・環流冷却器：底質試料のアルカリ分解に用いる。
- ・桐山ロート：底質のアルカリ分解物の吸引ろ過に用いる。
- ・湯浴：底質及び生物試料のアルカリ分解に用いる。

5 試料の採取・運搬

洗剤、水、アセトンの順で洗浄し、ガラスビン（残留塩素が残らないようにする。）に試料水を採取し、冷暗所（4℃以下）で保存し、氷冷輸送すること。搬入されたサンプルは出来るだけすみやかに抽出すること。（保存の目的で塩酸を添加しては絶対にならない。）

底質は、湿重量約 100 g の底質を採取し、夾雑物を除去した後、遠心分離して水分を出るだけ除いたのち、冷凍保存する。

6 試験操作

(1) 前処理

(ア) 水質試料

試料 1 L（注 1）を分液ロートにとり、塩化ナトリウム 30 g（注 2）及びジクロロメタン 100 mL を加え、5 分間振とう抽出する。静置後、ジクロロメタン層を分取し、水層には再度ジクロロメタン 50 mL を加え、同様の操作を行う。

ジクロロメタン層を合わせて、無水硫酸ナトリウムで脱水し、KD 濃縮器で 3~5 mL に濃縮し、窒素ガスを吹き付けて 2 mL とし試料前処理液とする。

(イ) 底質試料

試料 10 g を、1M-KOH/エタノール溶液 50 mL で解きほぐしながら 100 mL 容丸型フラスコに入れる。環流冷却器にセットし 1 時間加熱環流を行う。室温に法令後、桐山ロートで

吸引ろ過し(注3) 容器中の残さはエタノール 30 mL で洗浄し、ロート内に入れ(注4) る液を合わせる。ろ液を 500 mL 容分液ロートに入れ、5%塩化ナトリウム水溶液 200 mL とジクロロメタン 50 mL を加え、5 分間振とう抽出を行い、静置後ジクロロメタン層を分取し、水層には再度ジクロロメタン 50 mL を加え、同様の操作をしてジクロロメタン層を合わせる。

ジクロロメタン層に 2M-HCl 50 mL を加え 5 分間振とう抽出を行い、静置後水層を分取する。ジクロロメタン層は再度 2M-HCl 50 mL で抽出し、水層を合わせる。水層に 3M-NaOH 100 mL を加え、アルカリ性とし(注5) ジクロロメタン 50 mL ずつで 2 回振とう抽出を行い(注6) ジクロロメタン層を合わせる。ジクロロメタン層を水 50 mL で振とう洗浄を行い、無水硫酸ナトリウムで脱水濃縮し、KD 濃縮器で 3~5 mL に濃縮し、窒素ガスを吹き付けて乾固する(注7)。乾固した試料にジクロロメタン 2 mL を加えたものを試料の前処理液とする。

(ウ) 生物試料

試料 10 g にエタノール 30 mL を加え、ホモジナイザーを用いて 5 分間抽出を行う。遠沈管に移し替え、3,000 rpm で 10 分間遠心分離を行う。上澄みのエタノール溶液を 50 mL 容丸底フラスコに採り、残さはもう一度エタノール 30 mL で抽出し、遠沈後エタノール溶液を合わせる。このものに KOH 3 g を加え、冷却管をセットし、湯浴を用いて 1 時間加熱環流でアルカリ分解を行う。室温に放冷後、5%塩化ナトリウム水溶液 200 mL を加え、以下底質試料と同様に処理する。

(2) 試料液の調製

(ア) 水質試料

試料前処理液に MBTFA 100 μ L を加え(注8) すばやく栓をしてよく振り混ぜた後、室温で 30 分間放置させ、誘導体化を行う。ヘアードライヤーで加温しながら窒素ガスを吹き付け乾固し、内標準溶液 20 μ L を加え(注9) ジクロロメタンで 1 mL としたものを試料処理液とする。

(イ) 底質試料

水質試料に同じ。

(ウ) 生物試料

水質試料に同じ。

(3) 空試験液の調製

(ア) 水質試料

精製水(又はミネラルウォーター) 1 L に塩化ナトリウム 30 g を添加し、以下水質試料の前処理及び試料液の調製に従って操作する。

(イ) 底質試料

精製水(又はミネラルウォーター) 10 mL を用いて、以下底質試料の前処理及び試料液の調製に従って操作する。

(ウ) 生物試料

エタノール 60 mL に水酸化ナトリウム 3 g を加え、以下生物試料の前処理及び試料液の調製に従って操作する。

(4) 添加回収試験液の調製

水質試料 1 L、底質試料 10 g 及び生物試料 10 g に各対象物質を検出限界の 5~10 倍量をアセトン溶液で添加し、充分混合した後、「(1) 前処理」及び「(2) 試料液の調製」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) 標準液の調製

4,4'-ジアミノ-3,3'-ジクロロジフェニルメタン、3,3'-ジクロロベンジジンの 10 µg/mL ジクロロメタン混合溶液を調製する。添加回収実験用標準液は同濃度のアセトン溶液を調製する。

(6) 測定

(ア) GC/MS 測定条件

(a) GC

- ・ カラム：溶融シリカキャピラリーカラム（25 m×0.32 mm 0.52 μm film thickness）
- ・ 液相：5% フェニルメチルシリコン
- ・ カラム温度：60（1分） 10 /分 280（5分）
- ・ 注入口温度：260
- ・ 注入法：スプリットレス法（1分後パージ、1 μL 注入）
- ・ キャリアーガス：He カラムヘッド圧 8.0 psi（線速度 31 cm/秒）
- ・ インターフェース温度：250

(b) MS

- ・ イオン化法：EI
- ・ イオン化エネルギー：70 eV
- ・ イオン源温度：250
- ・ イオン化電流：300 μA
- ・ 検出モード：SIM

(c) 測定イオン

対象物質及び内標準物質の測定イオンを表 1 に示す。

(イ) 検量線

標準液（ジクロロメタン溶液）を 0～50 μL の範囲（注 10）で段階的に採り、ジクロロメタンで 2 mL にする。以下「試料液の調製」の項に従って操作し得られた試料液 1 μL を GC/MS に注入し、対象物質のピーク面積と内標準物質とのピーク面積比から検量線を作成する（注 11）。

表 1 対象物質、サロゲート物質及び内標準物質の測定イオン

化合物名	測定イオン	
	定量用	確認用
DACPM	423	458
DCB	444	409
<i>p</i> -ターフェニル - d ₁₄	244	

(ウ) 試料液の測定

検量線作成後、空試験液、測定用試験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/MS を再調整後、検量線を作成し直して測定を再開する。

7. 同定、定量及び計算

(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 ±20% 以内の差で合っていれば、物質が存在しているを見なす。

(2) 定量及び計算

得られた対象物質と内標準とのピーク面積比から検量線により検出量を求める。次に検出量、分析した試料量等から、次式により試料中の濃度を計算する。なお、底質の試料量は乾燥試料量とする。

$$\text{水質試料濃度 (}\mu\text{g/L)} = \text{検出量 (}\mu\text{g)} \times \frac{1}{\text{試料量 (L)}}$$

$$\text{底質試料濃度 (}\mu\text{g/kg)} = \text{検出量 (}\mu\text{g)} \times \frac{1}{\text{試料量 (kg)}}$$

(ここでの検出量とは試料液中に存在する対象物質の全量である。)

8 注意事項

(注1) 試料水の pH が 5~8 の間にあることを確認すること。もしこの範囲外であれば、HCl 又は NaOH でこの範囲になるように調整する。pH が 5 以上であれば定量的に抽出されるが、あまり pH が大きくなると抽出時にエマルジョンを生成しやすいので 5~8 の範囲とした。

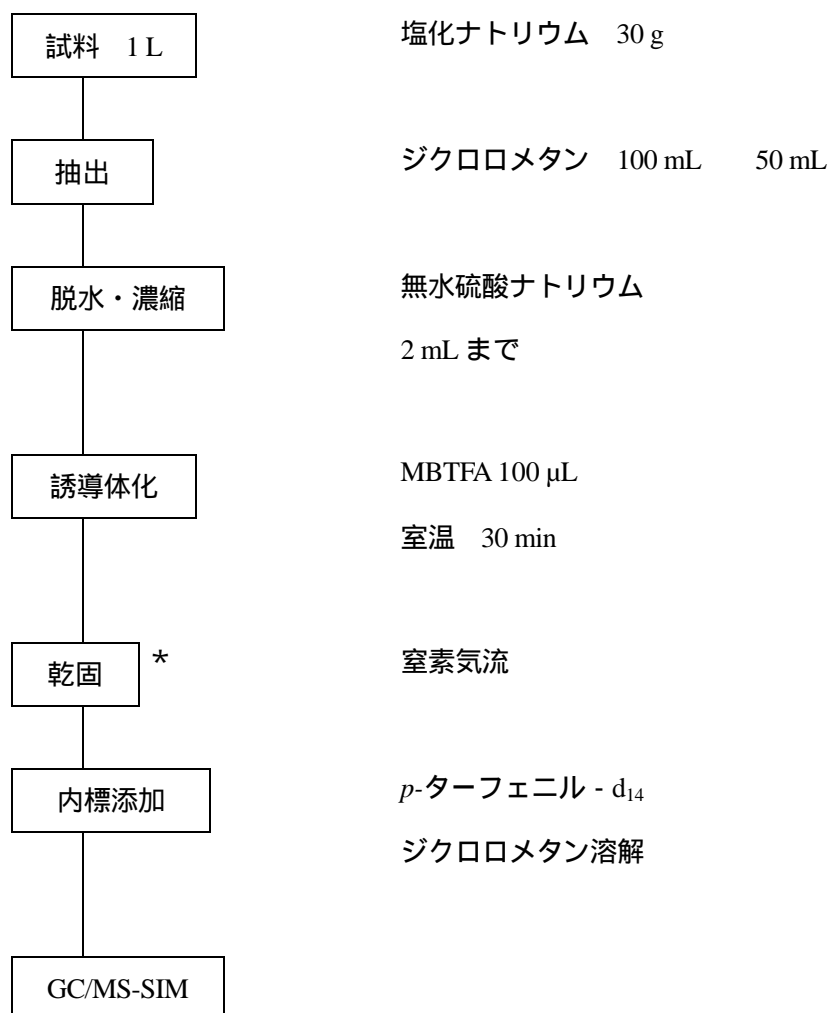
- (注2) 海水の場合は添加しなくてよい。
- (注3) ろ過に使用するガラス繊維ろ紙は、エタノールで洗浄して使用する。
- (注4) 洗浄液をロート内に入れる場合は、ロート内のエタノールがろ過されて無くなる直前に入れる。完全にろ過されて、ろ紙上の底質にひび割れが生じている状態では洗浄液による抽出効果が低い。
- (注5) 静かに加え、pH試験紙でアルカリ性であることを確認する。
- (注6) 中和熱で発熱しているから、冷めるのを待ってから抽出を行う。
- (注7) 試料中にエタノールが残っていると誘導体化反応が阻害されるので、エタノールを完全に除去するために乾固する。
- (注8) 誘導体化試薬である MBTFA を取り扱う際は、ドラフト内でゴム手袋等をして注意深く取り扱う。
- (注9) 内標準の添加量は、使用する GC/MS の感度によって適宜変更してもよい。
- (注10) 検量線の濃度範囲は、使用する GC/MS の感度によって適宜変更してもよい。
- (注11) 本対象物質(誘導体)は、キャピラリーカラムの劣化状態にもよるが、カラムに吸着されることがある。このような場合、同一標準液を数回注入した時の対象物質のピーク面積と、内標準のピーク面積の比の相対変動係数が 20%程度にもなることがあり、相対感度(RF値)が大きくなっていく現象が観測される。また、検量線が曲線(低濃度側から注入した場合が特に著しい。)になる。対策としては、高濃度の試料液(10~20 µg/mL)を注入して吸着部位をブロックすると効果がある。高濃度注入後、ジクロロメタンのみを注入して対象物質のピークが出ないことを確認してから測定を行うこと。
- (備考1)ここに示す商品は、このマニュアルの使用者の便宜上、一般に入手できるもの及び本分析法開発に使用したものを例示したが、これを推奨するものではない。これと同等または同等以上の品質・性能のものを用いても良い。

参考文献

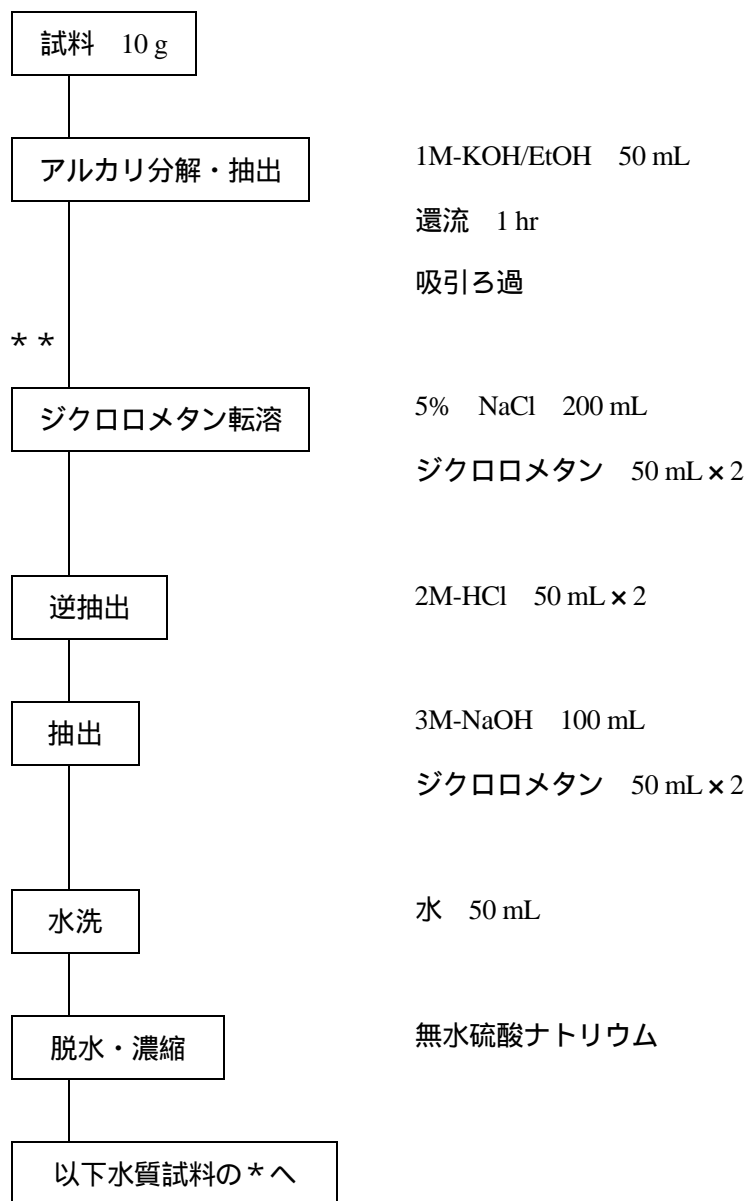
- 1) 環境庁 環境保健部 環境安全課：「平成6年度 化学物質分析法開発報告書」，p.220-234，平成7年6月

分析法フローチャート

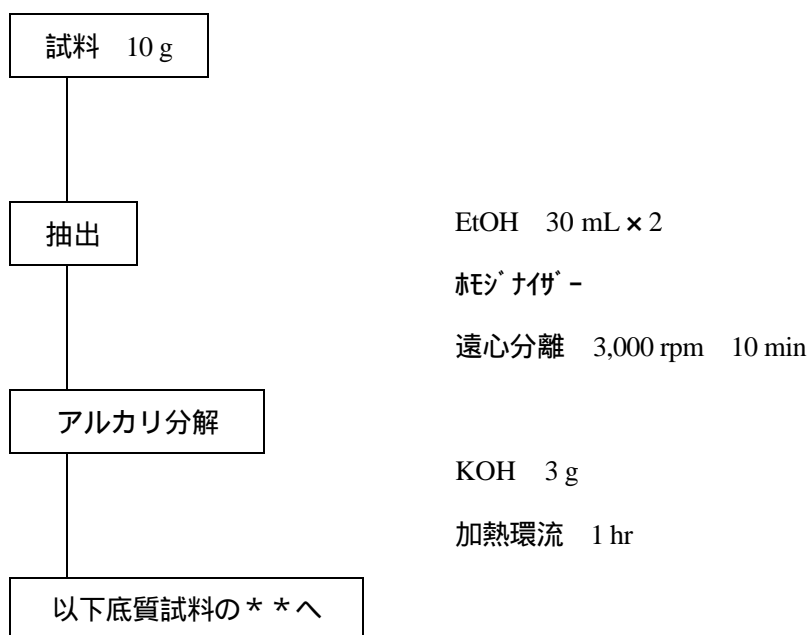
水質試料



底質試料



生物試料



. 有機スズ化合物の分析法

1 対象物質

本分析法の対象物質及びその物理化学的性状を以下に示す。

- | | |
|-----------------------|--|
| (1) ジブチルスズ化合物 (DBT) | (C ₄ H ₉) ₂ SnX ₂ |
| (2) トリブチルスズ化合物 (TBT) | (C ₄ H ₉) ₃ SnX |
| (3) モノフェニルスズ化合物 (MPT) | (C ₆ H ₅)SnX ₃ |
| (4) ジフェニルスズ化合物 (DPT) | (C ₆ H ₅) ₂ SnX ₂ |
| (5) トリフェニルスズ化合物 (TPT) | (C ₆ H ₅) ₃ SnX |

(X=陰性基)

表 1 対象物質及びその物理化学的性質 (塩化物)

	二塩化ジブチルスズ	塩化トリブチルスズ	三塩化フェニルスズ	二塩化ジフェニルスズ	塩化トリフェニルスズ
分子式	(C ₄ H ₉) ₂ SnCl ₂	(C ₄ H ₉) ₃ SnCl	(C ₆ H ₅)SnCl ₃	(C ₆ H ₅) ₂ SnCl ₂	(C ₆ H ₅) ₃ SnCl
分子量	303.83	325.49	302.18	343.81	385.46
比重		1.200	1.839		
融点	39-41			41-43	108
沸点	135 /10 mmHg	171-173 /25 mmHg	142-143 /25 mmHg	333-337	240 /13.5 mmHg
水溶解度	295 mg/L	976 mg/L	> 10 mg/mL	11.5 mg/L	
logPow	0.949	1.725	0.831	1.014	2.11
蒸気圧		0.01 mmHg/20			

2 目標検出下限値及び定量下限値

本分析法の目標検出下限値及び目標定量下限値を表 2 に示す。

表 2 目標検出下限値及び目標定量下限値

	水質 (µg/L)		底質 (µg/kg dry)		生物 (µg/kg wet)	
	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
ジブチルスズ化合物	0.0004	0.0012	1	3	1	3
トリブチルスズ化合物	0.0003	0.0009	1	3	1	3
モノフェニルスズ化合物	0.002	0.006	5	15	5	15
ジフェニルスズ化合物	0.0002	0.0006	0.5	1.5	0.5	1.5
トリフェニルスズ化合物	0.0002	0.0006	0.5	1.5	0.5	1.5

3 分析法の概要

水質試料は、サロゲート物質を添加後、テトラエチルホウ酸ナトリウム (NaBEt_4) を加えて誘導体化する。次に、ヘキサンを加えて誘導体化物を抽出し、脱水・濃縮後、GC/MS-SIM で測定する。

底質試料及び生物試料は、サロゲート物質を添加後、1M臭化水素酸-メタノール/酢酸エチル混合溶液を加えて抽出し、さらに酢酸エチル/ヘキサン混合溶液で再抽出する。抽出液を脱水・濃縮後、エタノールに溶解して水及び緩衝液を加え、テトラエチルホウ酸ナトリウム (NaBEt_4) 溶液を添加して誘導体化する。次に 1M KOH-エタノール溶液を加えて室温で 1 時間振とうし、アルカリ分解を行う。分解液に水及びヘキサンを加えて振とう抽出し、脱水・濃縮後、フロリジルカートリッジカラムによるクリーンアップを行い、GC/MS-SIM で定量する。

4 試薬、器具及び装置

(1) 試薬

- ・ヘキサン、アセトン、メタノール、エタノール、酢酸エチル：残留農薬試験用 (1,000 倍濃縮検定品以上)
- ・塩酸、酢酸、臭化水素酸：特級試薬
- ・酢酸ナトリウム、塩化ナトリウム、臭化ナトリウム、水酸化カリウム：特級試薬
- ・無水硫酸ナトリウム：残留農薬試験用
- ・二塩化ジブチルスズ：市販試薬 (注 1)
- ・塩化トリブチルスズ：市販試薬 (注 1)
- ・三塩化フェニルスズ：市販試薬 (注 2)
- ・二塩化ジフェニルスズ：市販試薬 (注 3)
- ・塩化トリフェニルスズ：市販試薬 (注 2)
- ・二塩化ジブチルスズ- d_{18} 、塩化トリブチルスズ- d_{27} 、三塩化フェニルスズ- d_5 、二塩化ジフェニルスズ- d_{10} 、塩化トリフェニルスズ- d_{15} 、テトラブチルスズ- d_{36} ：市販標準試薬 (注 4)
- ・テトラエチルホウ酸ナトリウム (注 5)：市販試薬 (注 6)
- ・2% NaBEt_4 溶液、10% NaBEt_4 溶液：用時調製し、残った溶液は捨てる。
- ・酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 5)：2M 酢酸と 2M 酢酸ナトリウムを pH 5 になる

ように混合する。(酢酸：酢酸ナトリウム = 5.9 : 14.1 (v : v))

(2) 器具及び装置

- ・ 共栓付三角フラスコ：200 mL
- ・ 減圧ろ過装置
- ・ 分液ロート：200 mL、300 mL
- ・ スピッツ管：10 mL
- ・ ナス型フラスコ：300 mL
- ・ 減圧 KD 濃縮装置：100 mL
- ・ 振とう機
- ・ 遠心分離機
- ・ ロータリーエバポレーター
- ・ フロリジルカートリッジカラム (注7)：使用前にヘキサン 10 mL で洗浄する。

ガラス器具は使用前に 1M 塩酸 (または臭化水素酸) -メタノール、精製水、アセトンの順で洗浄する (注8)。

5 試料の採取・運搬

有機スズ化合物は保存容器に吸着されやすいため、以下の方法で試料を採取、保存し、試料採取後速やかに前処理操作を行う。

(1) 水質試料

2 L の共栓付ガラスビンを洗剤で洗浄後、水道水でよくすすぎ、乾燥させる。これを 1M 塩酸-メタノールで洗浄し、精製水、アセトンの順で洗浄する。この容器に試料水を正確に 1 L 採取し、直ちに試験を行う。直ちに行えない場合はサロゲート物質を添加して冷暗所 (4 以下) で保存する。

(2) 底質試料

水質試料と同様の方法で洗浄した広口ガラス瓶に入れ密栓し、-20 以下で保存する。

(3) 生物試料

水質試料と同様の方法で洗浄した広口ガラス瓶にホモジナイズした試料を入れて密栓し、
-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「
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

(ア) 水質試料

試料水に 1 µg/mL サロゲート混合溶液 10 µL (注 9、注 10) 及び塩化ナトリウム 30 g を添加し (注 11)、軽く振り混ぜる。これに酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 5) 2 mL を加えて pH を調製し、2% NaBEt₄ 水溶液 0.5 mL を添加して 10 分間振とうし、誘導体化を行う。次に試料を 2 L 分液ロートに移し、容器をヘキサン 100 mL で洗浄する。洗浄したヘキサンは分液ロートに移し、10 分間振とう抽出する。静置してヘキサン層を分取し、水層を別の分液ロートに移す。ヘキサン 50 mL で再び容器を洗浄し、抽出操作を繰り返す。ヘキサン抽出液を合わせ、無水硫酸ナトリウムで脱水後、減圧 KD 濃縮装置 (注 12) を用いて約 2 mL に濃縮し、試料前処理液とする。

(イ) 底質試料

均一化した試料 5 g (乾泥換算) を精秤して 200 mL 三角フラスコに取り、1 µg/mL サロゲート混合溶液 50 µL (注 9) 及びアスコルビン酸 1 g (注 13) を加え、十分攪拌して 1 時間放置する (注 14)。これに 1M 臭化水素酸-メタノール/酢酸エチル (1:1) 混合溶液 70 mL を加えて 30 分間振とう抽出し、No.5A のろ紙で吸引ろ過する。三角フラスコを 1M 臭化水素酸-メタノール/酢酸エチル混合溶液 30 mL で洗浄して、洗浄液を抽出液と合わせる。得られた抽出液をあらかじめ飽和 NaBr 溶液 100 mL を入れた 300 mL 分液ロートに移し、酢酸エチル/ヘキサン (3:2) 混合溶液 30 mL を加えて 10 分間振とう抽出する (注 15)。静置後水層を別の分液ロートに移し、さらに酢酸エチル/ヘキサン (3:2) 混合溶液 30 mL を加えて、同様の抽出操作を繰り返す。有機層を合わせ、ヘキサン 200 mL を加えて混合し、20 分間放置する。生じた水層を廃棄後、無水 Na₂SO₄ で脱水する。これをロータリーエバポレーターで約 5 mL まで濃縮し、さらに乾固しないように注意しながら窒素ガスを穏やかに吹き付

けて溶媒を揮散させる。残渣にエタノール 5 mLを加えて溶解し(注 16)、試料前処理液を得る。

(ウ) 生物試料

ホモジナイズした試料 5 gを精秤して 200 mL三角フラスコに取り、1 µg/mLサロゲート混合溶液 50 µL(注 9)を添加し、十分攪拌して 1 時間放置する(注 14)。これに 1M臭化水素酸-メタノール/酢酸エチル(1:1)混合溶液 70 mLを加えて 30 分間振とう抽出し、No.5A のろ紙で吸引ろ過する。三角フラスコを 1M臭化水素酸-メタノール/酢酸エチル混合溶液 30 mLで洗浄して、洗浄液を抽出液と合わせる。得られた抽出液をあらかじめ飽和NaBr溶液 100 mLを入れた 300 mL分液ロートに移し、酢酸エチル/ヘキサン(3:2)混合溶液 30 mLを加えて 10 分間振とう抽出する(注 15)。静置後水層を別の分液ロートに移し、さらに酢酸エチル/ヘキサン(3:2)混合溶液 30 mLを加えて、同様の抽出操作を繰り返す。有機層を合わせ、ヘキサン 200 mLを加えて混合し、20 分間放置する。生じた水層を廃棄後、無水Na₂SO₄で脱水する。これをロータリーエバポレーターで約 5 mLまで濃縮し、さらに乾固しないように注意しながら窒素ガスを穏やかに吹き付けて溶媒を揮散させる。残渣にエタノール 5 mLを加えて溶解し(注 16)、試料前処理液を得る。

(2) 試料液の調製

(ア) 水質試料

試料前処理液をヘキサン 10 mLでコンディショニングしたフロリジルカートリッジカラムに負荷し、負荷時に流出する液も回収する。次に 5 %ジエチルエーテル-ヘキサン 6 mLで溶出し、負荷時の流出液と合わせ、溶出液とする。この溶出液に窒素ガスを穏やかに吹きつけ、0.2 mLまで濃縮する。これに 1 µg/mLの内標準溶液 10 µLを正確に添加したものを測定用試料液とする。なお、妨害物質の少ない水質試料の場合は、フロリジルカートリッジカラムによるクリーンアップ操作を省略できる。

(イ) 底質試料、生物試料

試料前処理液を少量のエタノールを用いて 200 mLの分液ロートに洗い込む。これに酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液(pH 5) 5 mL及び精製水 10 mLを加えて混合後(注 17)、10%NaBEt₄溶液 1 mLを添加し、10 分間振とうして有機スズ化合物を誘導体化する。これに 1M KOH-

エタノール溶液 40 mLを加えて 1 時間振とう・アルカリ分解する。分解終了後、精製水 25 mL及びヘキサン 40 mLを加えて 10 分間振とう抽出する。水層を別の分液ロートに移し、ヘキサン 40 mLを加えて同様の抽出操作を繰り返す。ヘキサン層を合わせ、無水硫酸ナトリウムで脱水後、減圧KD濃縮装置を用いて約 2 mLまで濃縮する（注 12、注 18）。得られた濃縮液をあらかじめコンディショニングしたフロリジルカートリッジカラムに負荷し、流出液を回収する。さらにカートリッジに 5%ジエチルエーテル含有ヘキサン 6 mLを流して有機スズ化合物を溶出する。溶出液を合わせ、窒素ガスを穏やかに吹き付けて 1 mLまで濃縮し、1 µg/mLの内標準溶液 50 µLを正確に添加して、測定用試料液とする。

（ 3 ） 空試験液の調製

（ア）水質試料

試料と同量の精製水を用いて、「（ 1 ）試料の前処理」及び「（ 2 ）試料液の調製」と同様の操作を行って得た試料液を空試験液とする。

（イ）底質試料、生物試料

試料を用いずに、「（ 1 ）試料の前処理」及び「（ 2 ）試料液の調製」と同様の操作を行って得た試料液を空試験液とする（注 8）。

（ 4 ） 添加回収試験液の調製

任意の試料水 1L、底質試料 5 g（乾泥換算）、生物試料 5 g に検出下限値の 5～10 倍になるように対象物質の混合標準液を加え、十分に混合した後、「（ 1 ）試料の前処理」及び「（ 2 ）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

・対象物質

二塩化ジブチルスズ 10 mg、塩化トリブチルスズ 10 mg、三塩化フェニルスズ 10 mg、二塩化ジフェニルスズ 10 mg、塩化トリフェニルスズ 10 mg を正確に秤り取り、ヘキサンでそれぞれ正確に 100 mL として標準原液（100 µg/mL）を調製する（注 19）。各標準原液の所定量を混合し、酢酸エチルまたはアセトンで希釈して 0.1 µg/mL～1 µg/mL の混合標準溶液を作成する（注 10）。

・ サロゲート物質

二塩化ジブチルスズDBT-d₁₈、塩化トリブチルスズTBT-d₂₇、三塩化フェニルスズMPT-d₅、二塩化ジフェニルスズDPT-d₁₀、塩化トリフェニルスズTPT-d₁₅をそれぞれ 10 mg正確に秤り取り、ヘキサンでそれぞれ正確に 100 mLとしてサロゲート標準原液 (100 µg/mL) を調製する (注 19)。各サロゲート標準原液を混合し、酢酸エチルまたはアセトンで希釈してサロゲート混合溶液 (1 µg/mL) を調製する (注 10)。

・ 内標準物質

テトラブチルスズ (TeBT) -d₃₆を 10 mg正確に秤り取り、ヘキサンで正確に 100 mLとして内標準原液 (100 µg/mL) を調製する。内標準原液から 1 mLを正確に分取し、ヘキサンで 100 mLとして内標準溶液 (1 µg/mL) とする。

・ 検量線作成用混合標準溶液

あらかじめ 3% 塩化ナトリウム溶液 30 mLを入れた 50 mL分液ロートに混合標準溶液 (0.1 µg/mLまたは 1 µg/mL) の所定量とサロゲート混合溶液 (1 µg/mL) 500 µLを添加した後、酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 5) 1 mLを加えて軽く振り混ぜる。次に、2% NaBEt₄溶液 0.5 mLを添加して 10 分間振とうする。これをヘキサン 3 mLで 2 回抽出し、抽出液を合わせて脱水後、内標準溶液 (1 µg/mL) 500 µLを正確に添加し、ヘキサンを加えて 10 mL定容として検量線作成用混合標準溶液とする。

(6) 測定

(ア) GC/MS 測定条件の例

(a) ガスクロマトグラフ部

- ・ カラム：溶融シリカキャピラリーカラム (30 m × 0.25 mm i.d.) (注 20)
- ・ 液相：5% フェニルメチルシリコン 膜厚 0.25 µm
- ・ カラム温度：60 (2 min) 20 /min 130 10 /min 210 5 /min
260 10 /min 300 (2min)
- ・ 注入口温度：270
- ・ 注入法：スプリットレス (1 分間パージオフ)
- ・ 注入量：1 µL
- ・ キャリアーガス流速：1 mL/ min (定流量モード)

(b) 質量分析部

- ・イオン化法：EI
- ・イオン化電圧：70 eV
- ・インターフェイス温度：280
- ・イオン源温度：230

(c) 測定イオン

DBT	: 261 (263)	DBT-d ₁₈	: 279 (281)
TBT	: 263 (261)	TBT-d ₂₇	: 318 (316)
MPT	: 253 (255)	MPT-d ₅	: 260 (258)
DPT	: 303 (301)	DPT-d ₁₀	: 313 (311)
TPT	: 351 (349)	TPT-d ₁₅	: 366 (364)
TeBT-d ₃₆	: 318 (316)	()	は確認用イオン

(イ) 検量線

検量線作成用標準溶液1 μLをGC/MSに注入し、各対象物質の重水素化物（サロゲート）を内標準として、内標準法により検量線を作成する。また、サロゲート物質の回収率を計算するため、TeBT-d₃₆に対する各サロゲート物質のピーク面積比をそれぞれ求めておく。

(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の各 1 μL を GC/MS に注入して測定を行う。一定時間ごとに、検量線の間濃度の標準液を測定し、期待値の 20% 以内の変動であることを確認する。もし、この範囲を外れた場合は、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

対象物質、サロゲート物質及び内標準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の ±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% 以内で一致した場合、物質が存在していると見なす。

(2) 定量及び計算

対象物質と対応するサロゲート物質とのピーク面積比を求め、検量線から濃度比を求める。また、サロゲート物質と内標準物質とのピーク面積比を同様に求める。

トリブチルスズ化合物は、次式により TBTO 換算として試料中の濃度を求める。

$$\text{計算値} (\mu\text{g}/L \text{ または } \mu\text{g}/\text{kg}) = \frac{\text{濃度比} \times \text{サロゲート物質添加量} (\mu\text{g})}{\text{試料量} (L \text{ または } \text{kg})} \times 0.916$$

その他の有機スズ化合物は次式により塩化物換算としての濃度を求める。

$$\text{計算値} (\mu\text{g}/L \text{ または } \mu\text{g}/\text{kg}) = \frac{\text{濃度比} \times \text{サロゲート物質添加量} (\mu\text{g})}{\text{試料量} (L \text{ または } \text{kg})}$$

なお、底質の試料量は乾燥試料量とする。

8 分析精度管理

本マニュアルの「 . 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。

9 注意事項

(注1) 東京化成工業株式会社製市販試薬など(備考1)。

(注2) 和光純薬工業株式会社製市販試薬、Strem Chemicals Inc.社製市販試薬など(備考1)。

(注3) アルドリッチ社製市販試薬など(備考1)。

(注4) 林純薬株式会社製市販試薬など(備考1)。

(注5) テトラエチルホウ酸ナトリウムは白色の粉末であるが、開封後は徐々に黄変する。

試薬ビンをチャック付きビニール袋に入れて冷凍保存することにより黄変を抑えることができる。また、試薬がキムワイブ等に付着すると数十秒後に発火するため、ふき取ったキムワイブ等は直ちに水に浸ける。

(注6) Strem Chemicals Inc.から市販されており、林純薬工業株式会社や和光純薬工業株式会社などで輸入販売を行っている(備考1)。

- (注7) セツパックプラスフロリジル(ウォーターズ社製)(910 mg 充填)または、同等品を用いる(備考1)。
- (注8) MBT、DBT、MPT 及び DPT がブランクから出ることがある。特に、DBT は安定剤としてプラスチックに添加されており、プラスチックを使用する精製水製造装置からの汚染、即ち精製水からの汚染にも注意が必要である。使用するガラス器具を 1M 塩酸-メタノールで洗浄することで低減できるが、器具以外からの汚染も考えられる。実試料の分析開始前に、ブランク値を下げる努力を行って一定レベル以下に低減する。この場合、検出値からブランク値を差し引いた値を測定値とする。
- (注9) 試料中濃度が予測できる場合は、予測濃度と同程度になるようにサロゲート物質を添加する。
- (注10) 水質試料への添加は、アセトン溶液とする。なお、アセトン及びエタノール中ではMPTCl₃が特に不安定であるため、試料添加用標準溶液は用時調製する。
- (注11) 海水の場合は不要。
- (注12) DBT、TBT、MPT のエチル化体に濃縮損失が見られるため注意が必要である。減圧 KD 濃縮装置がない場合はロータリーエバポレーターを用いてもよい。ロータリーエバポレーターを使用する場合は、湯浴上の温度を 40 以下とし、バキュームコントローラー等を用いて必要以上に減圧しないよう注意する。
- (注13) 嫌気性の底質の場合に、湿泥 1 g に 0.1 g の割合で加える。砂状で嫌気性ではない底質には、添加の必要はない。
- (注14) サロゲート物質を試料に十分なじませるため、添加後 1 時間放置する。
- (注15) 飽和 NaBr 溶液を加えた際に、NaBr が析出する場合があるが、析出物も水層として操作する。
- (注16) MPT はエタノール中で不安定であるため、試料前処理液を長く保存せず、できるだけ早く次の操作を行う。
- (注17) pH 試験紙を用いて pH 5 であることを確認する。pH 5 になっていない場合は、緩衝液の添加量を増やす。その場合は、精製水の添加量を減らし、緩衝液と精製水の添加量の合計を 20 mL とする。
- (注18) 試料によっては濃縮液に濁りが生じて柔らかいゲル状になることがある。このような試料は次のクリーンアップ操作においてカートリッジが詰まるが、注射筒な

どで上から加圧すればよい。なお、濁りの有無による回収率の差は見られなかった。

(注 19) MPTCl_3 は有機溶媒中で不安定であり、時間の経過と共にMPTが減少してDPTが生成する現象が見られる。そのため、定期的にDPTの生成の有無を確認し、必要に応じて標準原液を作成しなおす。

(注 20) J&W DB-5ms など (備考 1)。

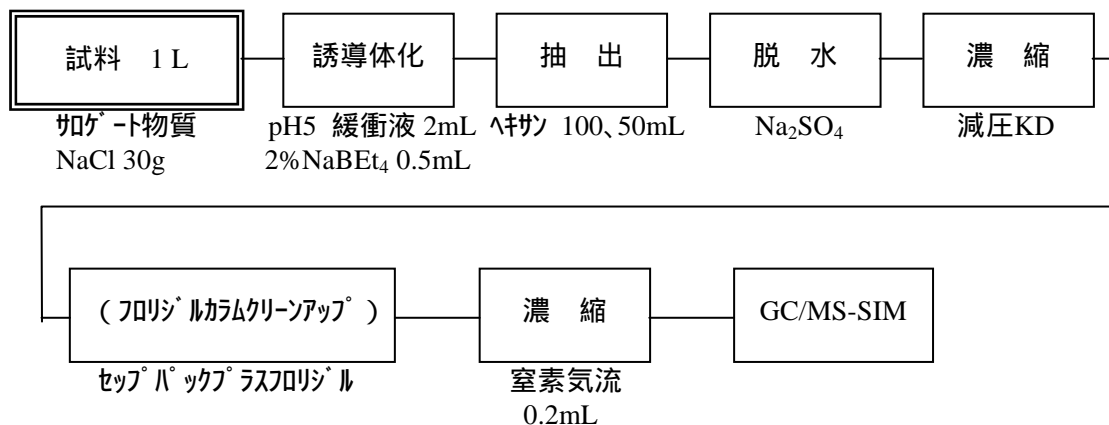
(備考 1) ここで示す商品は、このマニュアル使用者の便宜のために、一般に入手できるものとして例示したが、これを推奨するものではない。これと同等以上の品質、性能のものを用いてもよい。

参考文献

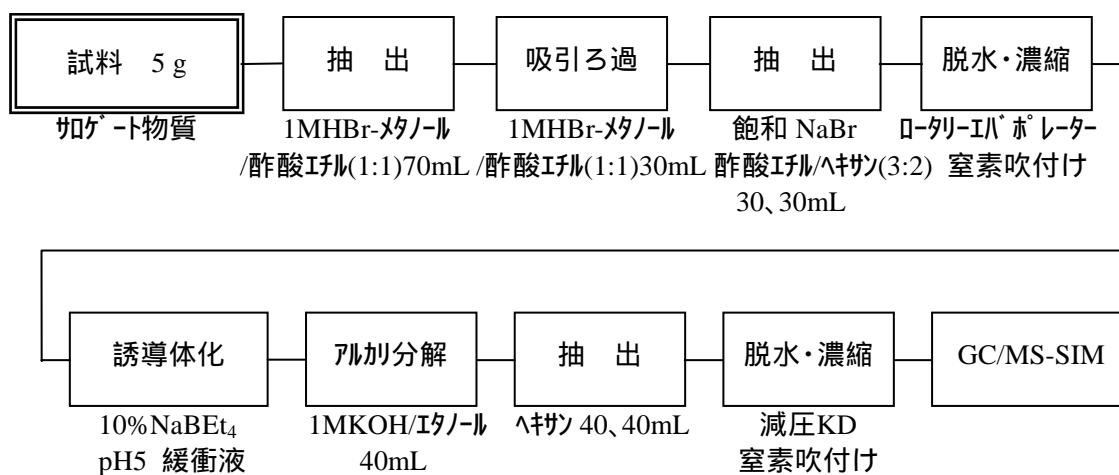
- 1) 北九州市環境科学研究所：ジブチルスズ化合物，トリブチルスズ化合物，フェニルスズ化合物，ジフェニルスズ化合物，トリフェニルスズ化合物，pp1-33，「平成 9 年度化学物質分析法開発調査報告書」，環境庁環境保健部環境安全課，東京（1998）
- 2) 北九州市環境科学研究所：ジブチルスズ化合物，トリブチルスズ化合物，フェニルスズ化合物，ジフェニルスズ化合物，トリフェニルスズ化合物，pp1-31，「平成 10 年度化学物質分析法開発調査報告書（その 1）」，環境庁環境保健部環境安全課，東京（1999）
- 3) 岩村幸美，門上希和夫，陣矢大助，花田喜文，鈴木學：同位体希釈/ガスクロマトグラフィー/質量分析法による水質及び底質中の有機スズ化合物の一斉分析，分析化学，**48**，555-561 (1999)
- 4) 岩村幸美，門上希和夫，陣矢大助，棚田京子：エチル誘導體化/ガスクロマトグラフィー/質量分析法による生物試料中の有機スズ化合物の一斉分析，分析化学，**49**，523-528 (2000)

分析法フローチャート

水質試料



底質試料、生物試料



．トリクロピル、ベンタゾン及びベンタゾンのナトリウム塩の分析法

1 対象物質

トリクロピルはフェノキシ酢酸系除草剤であり、主に非農耕地の広葉雑草などの防除に、遊離型、アミン塩、ブトキシエチルエステル形態で用いられる。遊離型のトリクロピルの水溶解度は 440 mg/L (25)、蒸気圧は 0.17 mPa である。ベンタゾンはダイアジン系の除草剤であり、水田や畑地の一年生雑草の防除に用いられる。水溶解度は 500 mg/mL、蒸気圧 0.46 mPa で酸および塩基性で安定に存在する。

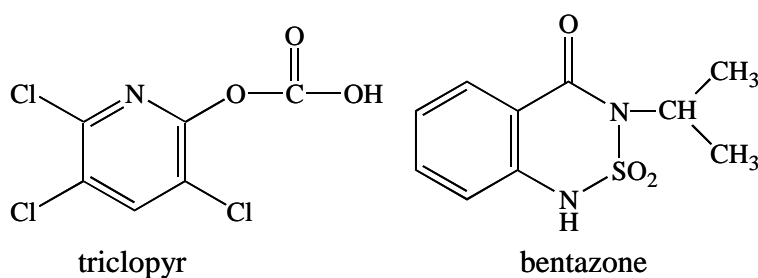


表 1 対象物質

項目番号	物質名	化学名	分子式 (分子量)	CAS NO.
164	トリクロピル triclopyr	[(3,5,6-trichloro-2-pyridinyl)oxy] acetic acid	C ₇ H ₄ Cl ₃ NO ₃ (256.4725)	55335-06-3
257	ベンタゾン bentazone	3-isopropyl-1H-2,1,3-benzothiadiazin- 4(3H)-one-2,2-dioxide	C ₁₀ H ₁₂ N ₂ O ₃ S (240.2764)	25057-89-0

2 目標検出下限値及び定量下限値

本法が目標とする検出下限値は表 2 の通りであり、定量下限値はその 3 倍値となる。

表 2 目標とする検出下限値

物質名	水質 (µg/L)	底質 (µg/kg)	生物 (µg/kg)
トリクロピル	0.01	1	3
ベンタゾン	0.01	1	3

3 分析法の概要

水質試料は塩酸で pH 2 に調整し、ジクロロメタンによる振とう抽出を行い、アルカリ分解、ジクロロメタンによる洗浄と再抽出を経て、ジアゾメタンで誘導体化し、GC/MS(SIM)

で定量する。底質と生物試料は、1N 水酸化ナトリウム溶液-アセトン (1:9) で抽出し、濃縮、アルカリ分解の後、ジクロロメタン洗浄、pH 2 への調整、20%ジクロロメタン/ヘキサン抽出、濃縮、メチル誘導体化を経て、GC/MS で定量する (図 1~3)。

本法は、トリクロピルの遊離型、アミン塩および 2-プトキシエチルエステル型は遊離型として、ベンタゾンとそのナトリウム塩はベンタゾンとして総量を求める。また、2,4,5-トリクロロフェノキシ酢酸 (2,4-D) や 2,4-ジクロロフェノキシ酢酸 (2,4,5-T) のフェノキシ酢酸系農薬との一斉分析が可能である。

4 試薬、器具及び装置

(1) 試薬

ベンタゾン：純度 97% 以上の農薬分析用標準物質または既知濃度に調製した標準溶液

トリクロピル：純度 97% 以上の農薬分析用標準物質または既知濃度に調製した標準溶液

フェナンスレン-d₁₀：フェナンスレンの重水素標識体、純度 98% 以上、または既知濃度に調製した標準溶液

ベンタゾン-d₇：ベンタゾンの重水素標識体、純度 98% 以上、または既知濃度に調製した標準溶液

ジクロロメタン、ヘキサン、アセトン、メタノール、無水硫酸ナトリウム：残留農薬分析用または同等のものであって、測定を妨害する成分を含まないもの

ジエチルエーテル：残留農薬分析用、用時に蒸留し、測定を妨害する成分を含まないもの

塩化ナトリウム：600 で 4 時間加熱したもの、または同等な品質なもの

N-メチル-*N'*-ニトロ-*N*-ニトロソグアニジン：ジアゾメタン発生試薬 (注 1)

水酸化ナトリウム：試薬特級または同等な品質のもの、1N 水酸化ナトリウム溶液は粒状試薬 40 g を精製水 1 L に溶解したもの

塩酸：精密分析用または同等な品質のもの、塩酸 (1+10) は濃塩酸と精製水を 1:10 で混合したもの

窒素ガス：高純度窒素 1 級 (純度 99.999% 以上)

精製水：蒸留水または超純水

(2) 器具及び装置

硬質ガラス瓶、分液ロート、共栓付試験管、メスシリンダー、メスフラスコなどガラス器具

振とう機

ホモジナイザー：(注2)

超音波抽出装置：超音波洗浄器を用いることができる

ロータリーエバポレータ(恒温槽つき)

ウォーターバス

ジアゾメタン発生装置：密閉性が高い専用器具

シリカゲルカートリッジカラム：容量 3 mL 程度のミニカラムにクロマトグラフィー用シリカゲルを 0.5~1 g 充填したもの

ガスクロマトグラフ/質量分析計(GC/MS)

5 試料の採取・運搬

水質試料は、予めアセトン、ヘキサン等でよく洗浄したもので、容量 1 L 程度の共栓またはねじ栓つき硬質ガラス瓶に満水に入れ、氷冷・遮光して、実験室へ持ち帰る。分析操作は可能な限り速やかに行い、試料容器中の全量を分析に供試する。やむを得ず保管が必要な場合は、1~2日を限度として冷暗所(4)に置く。

底質試料は、エクマンバージ型採泥器等によって表層泥(0~10 cm)を採取し、目視でできる夾雑物を除いて、硬質ガラス瓶、ポリエチレン製袋または箱等に入れ、氷冷・遮光状態で実験室へ持ち帰る。この試料は、孔径 2 mm 目の篩に通した後、20分間の遠心分離(3,000 rpm)で間隙水を除き、均質に混合したものを分析に供する。底質試料の保存は、調製試料を-4で凍結させる。

採捕した生物試料は、ポリエチレン製袋に入れ、氷またはドライアイスで保冷したクーラーボックスに収納して、実験室に持ち帰る。生物試料の分析部位は、原則として筋肉組織(可食部)である。生物試料の保存は-4での凍結による。

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「[5.1 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

(ア) 水質試料

試料水 1 L を分液ロートに採り、内標準物質としてペンタゾン-d₇ (5 µg/mL) 0.1 mL を添加し十分に混合して、塩酸 (1+10) で pH 2 に調整、塩化ナトリウム 25 g で塩析し、ジクロロメタン 100 mL を加えて 10 分間振とうした後、十分静置してジクロロメタン層を分取する (注 3)。水層へは再度ジクロロメタン 100 mL を加えて同様の抽出操作を繰り返し、十分静置してジクロロメタン層を先の抽出液に合わせる。ジクロロメタン抽出液は、ロータリーエバポレータを用いて浴温 25 °C で留出液が出なくなるまで減圧濃縮した後、メタノール 10 mL、1N 水酸化ナトリウム溶液 10 mL、精製水 10 mL を添加し、70 °C の水浴中で 15 分間アルカリ分解を行う。分解液を 100 mL 容の分液ロートに移し、液性が塩基性であることをみて、ジクロロメタン 30 mL を加え 5 分間振とう洗浄、十分静置してジクロロメタン層を分液する。続いて、水層は塩酸 (1+5) で pH 2 に調整し、ジクロロメタン 30 mL を加えて 10 分間振とう抽出を行う。十分静置してジクロロメタン層を分取して、別の容器に移す。水層には再度ジクロロメタン 30 mL を加えて同様の抽出を繰り返し、先のジクロロメタン抽出液に合わせ、無水硫酸ナトリウムで脱水する。このジクロロメタン抽出液は、ロータリーエバポレータを用いて 25 °C で減圧濃縮した後、窒素気流下で乾固直前まで濃縮する。

(イ) 底質試料

均一化した湿泥 10 ~ 25 g を 50 mL の遠沈管に採取し、内標準物質としてペンタゾン-d₇ (5 µg/mL) 0.1 mL を添加、十分に混合する。これに、1N 水酸化ナトリウム溶液-アセトン (1:9) 20 mL を加え、振とう機で 10 分間振とうし、さらに 10 分間超音波処理を行う。その後、3,000 rpm で 10 分間遠心分離を行い、上澄みのアセトン層を分取する。残渣には 1N 水酸化ナトリウム溶液-アセトン (1:9) 20 mL を加えて、同様な操作をさらに 2 回繰り返し、アセトン層を合わせる。アセトン抽出液は、浴温 25 °C のロータリーエバポレータでアセトンの留出がなくなるまで減圧濃縮し、メタノール 5 mL と 1N 水酸化ナトリウム溶液を 10 mL 加えて、70 °C のウォータバス中で 15 分間アルカリ分解を行う。分解液は 100 mL 分液ロートに移し、液性が塩基性であることを確認して、ジクロロメタン 30 mL を加え、5 分間振とうする。十分に静置した後、ジクロロメタンを捨て、水層は塩酸 (1+5) で pH 2 に調整、

20%ジクロロメタン含有ヘキサン 50 mLを加えて、10 分間振とう抽出を行う。十分に静置して、20%ジクロロメタン含有ヘキサン層を分取し、水層にこの混合溶媒を 50 mL加えて抽出を繰り返す。抽出操作は3 回行い、合わせた 20%ジクロロメタン含有ヘキサン抽出液は無水硫酸ナトリウムで脱水した後、ロータリーエバポレータを用いて 25 ℃で減圧濃縮した後、窒素気流下で乾固直前まで濃縮する。

(ウ) 生物試料

細切し均一化した湿組織 10~25 gに内標準液としてペンタゾン-d₇ (5 µg/mL) 0.1 mLを添加して混合した後、1N水酸化ナトリウム溶液-アセトン (1:9) 30 mLを加え、10 分間ホモゲナイザー抽出を行い、さらに 10 分間超音波抽出して、3,000 rpmで 10 分間遠心分離を行い、上澄みのアセトン層を分取する。この抽出操作は3 回繰り返して、アセトン抽出液を合わせ、濃縮する。その後のアルカリ分解、20%ジクロロメタン含有ヘキサンによる抽出、脱水、濃縮の操作は底質試料と同様である。

(2) 試料液の調製

水質、底質および生物質試料から得られた抽出濃縮物は直ちにメタノール 0.5 mLとジアゾメタン/ジエチルエーテル溶液 1 mLを加えて室温で 1 時間静置、メチル化反応を行う。反応終了後、ドラフト内で窒素ガスを緩やかに吹き付け、乾固直前まで濃縮し、ヘキサン 0.5 mLと内標準物質のフェナンスレン-d₁₀ (0.5 µg/mLヘキサン溶液) 10 µLを加えてよく混合したものを測定用の試料液とする。

なお、精製の必要があれば、誘導体化の後、シリカゲルカートリッジカラムに負荷し、ヘキサン 5 mLで洗浄、次いで 20%エチルエーテル含有ヘキサン 5 mLで被験物質を溶出し、窒素気流下で 0.5 mLまで濃縮して測定用の試料液を得る。

(3) 空試験液の調製

試料量に対応した精製水を用いて、試験操作の「前処理」および「試料液の調製」と同様な操作を行って得られた試験液を空試験に用いる。

(4) 添加回収試験液の調製

任意の水試料 1,000 mL、底質と生物試料の 20 g に定量下限値の 5 ~ 10 倍になるよう検量

線作成用標準液のアセトン溶液を加え、試験操作の「前処理」および「試料液の調製」と同様な操作を行って添加回収試験液を得る。

(5) 標準液の調製

トリクロピルとベンタゾンの標準物質はそれぞれ 100 mg 正確に秤取り、100 mL のメスフラスコに移してヘキサンに溶解し、1,000 mg/mL の標準原液とする。既知濃度の標準溶液を標準原液とすることができる。標準原液を等量混合しヘキサンで順次希釈、10 µg/mL の標準溶液を調製する。

サロゲート標準物質のベンタゾン-d₇は 5.0 µg/mLアセトン溶液、シリンジスパイク用内標準物質のフェナンスレン-d₁₀は 1.0 µg/mLヘキサン溶液に調製する。

(6) 測定(注4)

(ア) GC/MS 測定条件

GC/MS 測定条件の一例を参考として示す。これを参考にして適宜設定する。

(a) ガスクロマトグラフ

試料注入部：スプリットレス、オンカラム、昇温気化方式などの非分割方式のもの

キャピラリーカラム：メチルシリコンまたはフェニルメチルシリコン系、内径 0.2 ~ 0.3 mm、長さ 20 ~ 30 m、膜厚 0.2 ~ 0.3 µm

キャリアーガス：純度 99.999%以上の高純度ヘリウム、流速 1 mL/min、線速度 35 cm/sec

カラム恒温槽：50 (2 min) (20 /min) 180 (5 /min) 280 (10 min)。

注入口温度：250

(b) 質量分析計

イオン化法：電子衝撃イオン化(ED)法、イオン化電圧：70eV

イオン源温度：250

インタフェース部:ダイレクトカップリング(250)

イオン検出法：選択イオンまたは全イオン検出

モニターイオン：フェナンスレン-d₁₀ m/z188

トリクロピル-メチル m/z 210、269、212

ベンタゾン-メチル m/z 212、254、133

ベンタゾン-d₇-メチル m/z 219、261、140

(イ) 検量線

(a) 標準液の測定

混合標準液をヘキサンで希釈し、対象物質（0 および 0.05 ~ 1.0 µg/mL）を目安に 5 段階以上の検量線用標準液を作成し、各濃度の標準溶液 0.5 mL とサロゲート標準溶液（5 µg/mL ベンタゾン-d₇アセトン溶液）0.1 mL を正確に試験管に入れる。これにメタノール 0.5 mL とジアゾメタン/エチルエーテル溶液 1 mL を加え、1 時間室温でメチル化を行う。反応終了後、ドラフト内で窒素を緩く吹き付け、乾固直前まで濃縮する。これにヘキサン 0.5 mL とフェナンスレン-d₁₀ヘキサン溶液（1.0 µg/mL）を 10 µL 加える。

これらの 1 または 2 µL の一定量を GC/MS に注入し、クロマトグラムを得る。

(b) ピーク面積（または高さ）の強度比の確認

得られたクロマトグラムから、定量用と確認用質量のイオン強度比が、対応するマススペクトル上の強度比とほぼ一致することを確認する。

(c) 検量線の作成

ベンタゾンはベンタゾン-d₇、トリクロピルはフェナンスレン-d₁₀とのピーク強度（面積または高さ）比および濃度比から検量線を作成する。

(ウ) 試料液の測定

実試料、空試験あるいは添加回収試験から得られた試料液を 0.5 mL 定容とし、フェナンスレン-d₁₀（1.0 µg/mLヘキサン溶液）を 10 µL 添加して、GC/MS 注入用の試料液とする。注入量は検量線作成用の混合標準液と同量であって 1 または 2 µL である。検出されたクロマトグラム上のピークについて、同定確認の後、対応するサロゲート標準物質または測定用内部標準物質のピーク強度（面積または高さ）に対する対象物質のピーク強度の比から、検量線または相対感度係数により定量する。

7 同定、定量及び計算

(1) 同定

測定対象物質、サロゲート標準物質および内標準物質の定量イオンと確認イオンのピークが、検量線に用いた標準物質などの保持時間の±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検量線作成に用いた標準物質などの強度比の±20%以内で一致していればその物質が存在しているとみなす。

(2) 定量及び計算

検量線から求めた検出量により、次式で濃度を算出する。

濃度 (µg/L、µg/g) = 検出量 (ng) × [最終液量(mL)/注入量(µL)] × [1/試料量(L、g)]

底質試料は水分を補正し、乾燥重量あたりに換算する。

8 分析精度管理

本調査マニュアルの「[8.1 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。

9 注意事項

(注1) ジアゾメタン発生装置を用いてジアゾメタン-エーテル溶液を調製する。ジアゾメタンは毒性が極めて高いため、この操作は必ずドラフト内で行う。*N*-メチル-*N'*-ニトロ-*N*-ニトロソグアニジンのジアゾメタン発生試薬に代えて、取扱が容易なトリメチルシリルジアゾメタンなどのメチル化剤を使用してもよい。

(注2) 万能ホモジナイザー (ポリトロン)、超高速万能ホモジナイザー (ヒスコトロン)、攪拌分散器 (ウルトラターラックス) またはその同等品

(注3) ジクロロメタンは排水・排気中に混入しないよう、除去装置を取り付けるなどの配慮を要す。

(注4) モニターイオンの設定には干渉の有無に留意する。

(備考1) ここに示す商品は、このマニュアル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。

参考文献

- 1) 環境庁水質保全局水質管理課 (1998) IX 農薬の分析法 ii フェノキシ酢酸系農薬の分析法 .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) , ppIX7-10.

分析法フローチャート

水質試料

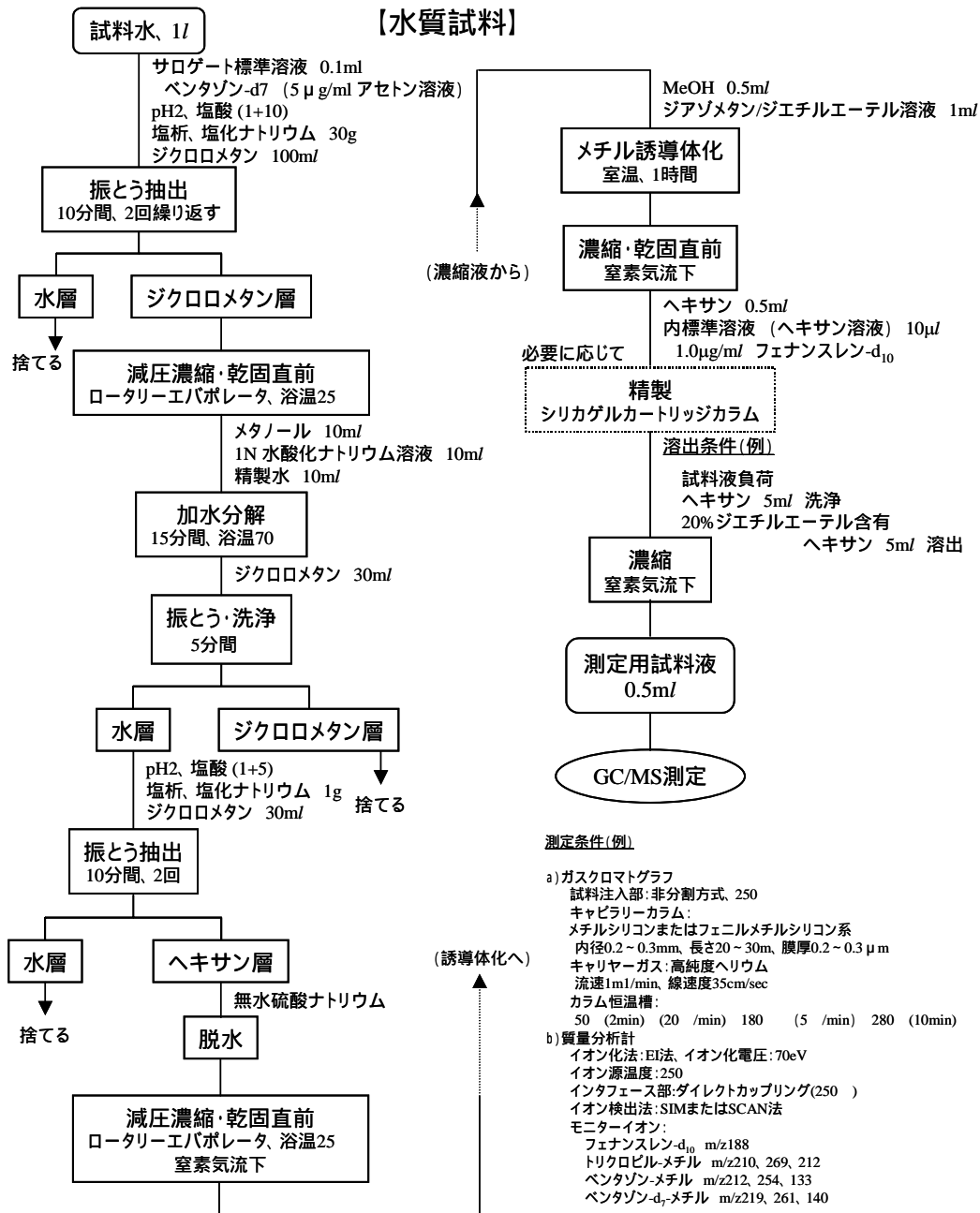


図1 水質試料におけるトリクロピルおよびペンタゾン分析の操作手順

底質試料

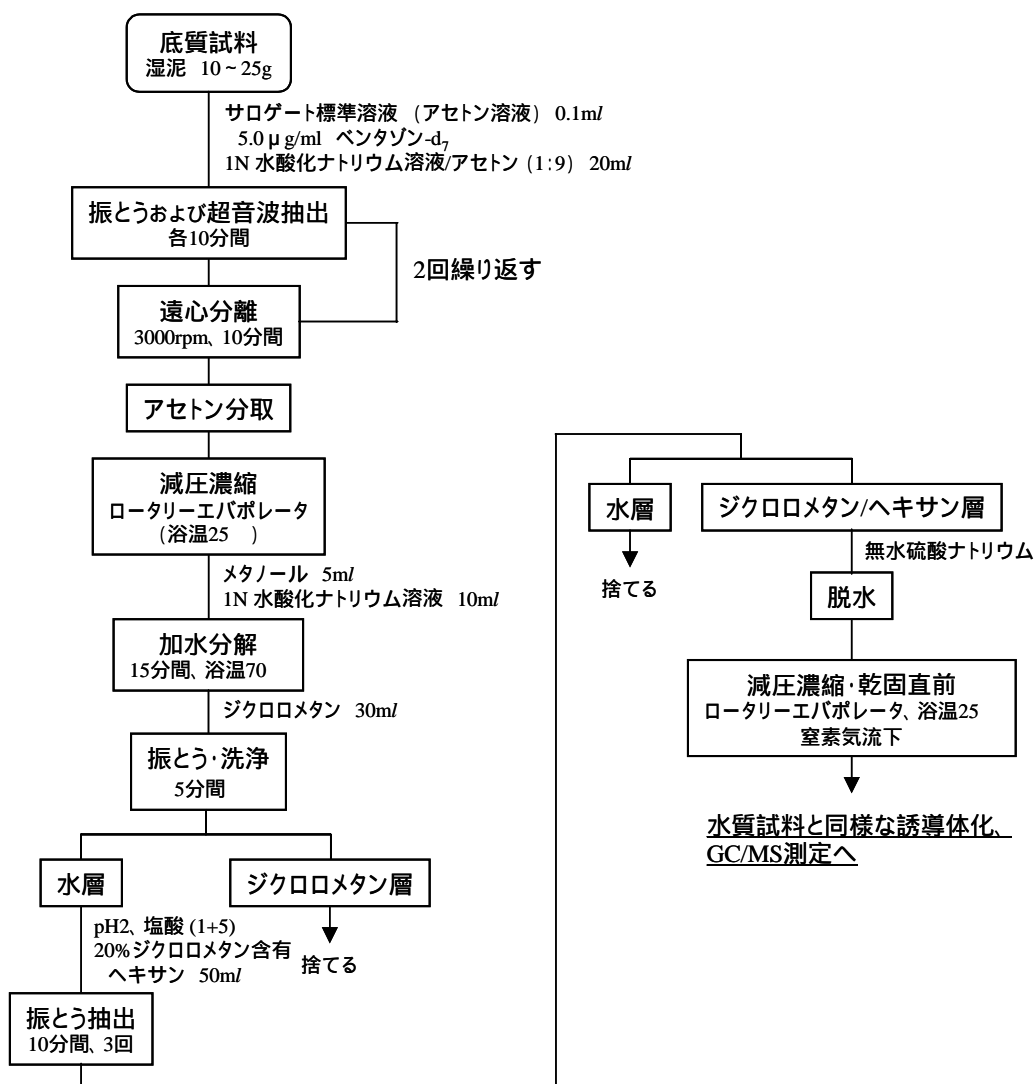


図2 底質試料におけるトリクロピルおよびペンタゾン分析の操作手順

生物試料

【生物試料】

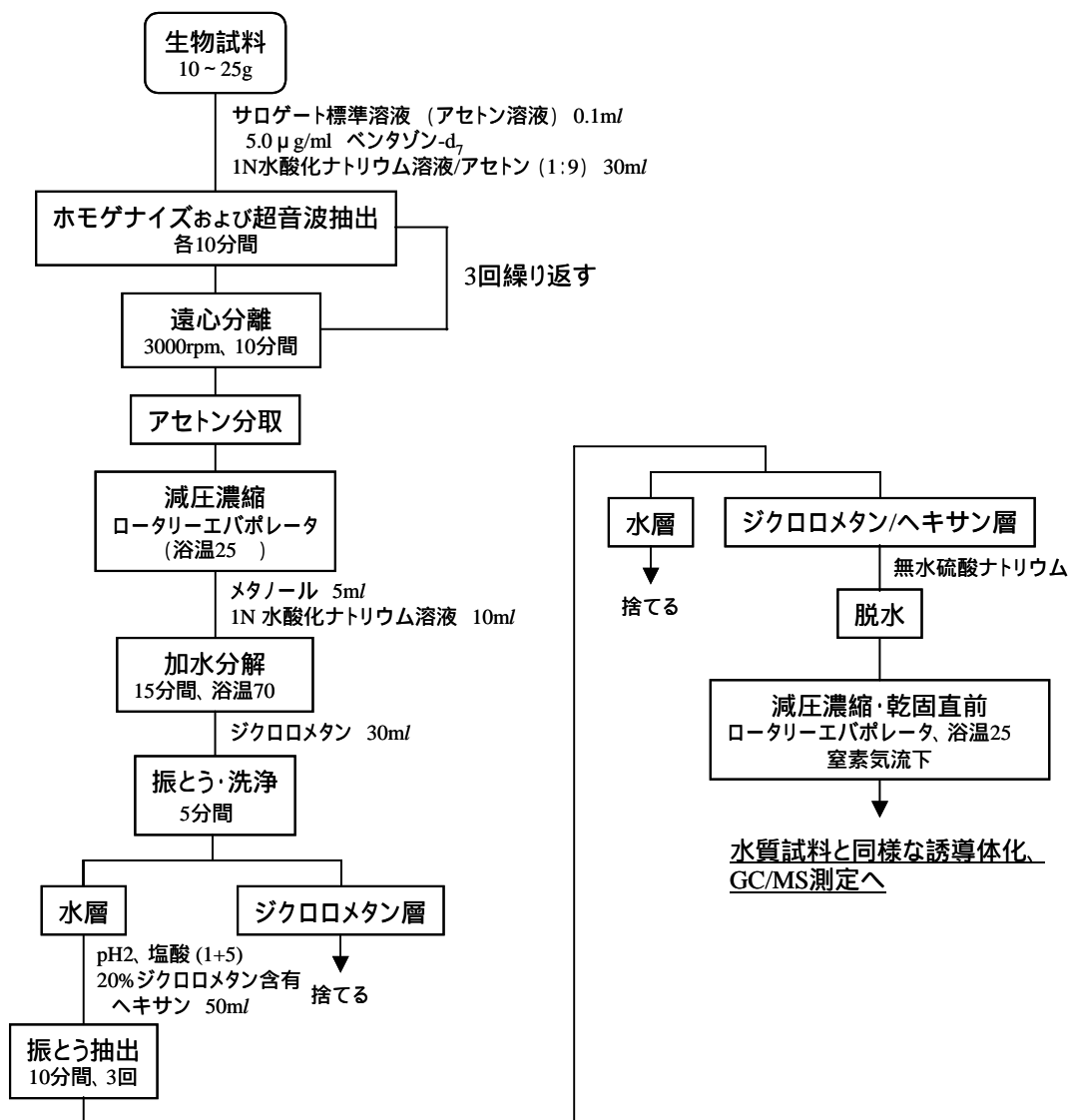


図3 生物試料におけるトリクロピルおよびペンタゾン分析の操作手順

グリホサートの分析法

1 対象物質

グリホサート(図1、表1)は、グリシンとホスホノメチルで構成される弱い有機酸であり、農業および非農業の双方で非選択的除草剤の用途をもつ。水への溶解度は 11,600 mg/L、オクタノール/水分配係数(logKow)は -2.8 であり、pH によってイオン種が異なる両性を示す。土壌中や水中では主にアミノメチルホスホン酸(AMPA: aminomethylphosphonic acid)に代謝される。

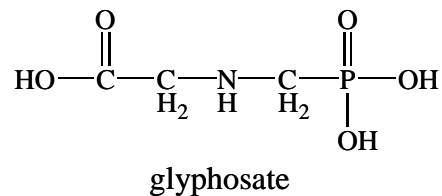


図1 グリホサートの化学構造

表1 対象物質

項目番号	物質名	化学名	分子式 (分子量)	CAS NO.
67	グリホサート glyphosate	<i>N</i> -(phosphonomethyl) glycine	C ₃ H ₈ NO ₅ P (169.0737)	1071-83-6

2 目標検出下限値及び定量下限値

本法が目標とする検出下限値は表2の通りであり、定量下限値はその3倍値となる。

表2 目標とする検出下限値

物質名	水質 (μg/L)	底質 (μg/kg)
グリホサート	0.1	4

3 分析法の概要

水質および底質試料中のグリホサートの定量に適用する。分析法の概要は図 2、3 の通りである。

水試料は、ほう酸塩緩衝液で pH 9.5 に調整して 9-フルオレニルメチルクロロホルメート (FMOC-Cl) を加え蛍光誘導体化を行う。その後、硫酸で pH 1 付近として酢酸エチルで振とう抽出し、さらにホウ酸緩衝液で逆抽出して試料液を得る。試料液は高速液体クロマトグラフ (HPLC) に導入して、グリホサート-FMOC を蛍光検出する (注 1)。

底質試料は、0.6M 水酸化カリウム溶液を加えて 80 °C で 30 分間超音波処理する (注 5)。続いて、室温で 30 分間振とう抽出し、上澄み液をガラス繊維ろ紙でろ過を行う。ろ液は pH 6 に調整して、珪藻土カラムクロマトグラフィーで精製の後、水質試料と同様に誘導体化、酢酸エチル抽出、緩衝液による逆抽出操作を行い試料液を得る。

なお、本法により、代謝産物の AMPA を同時検出することができる (注 2)。

4 試薬・器具・装置

(1) 試薬

グリホサート (*N*-[phosphonomethyl]glycine): 標準物質または既知濃度の標準溶液
アセトン、酢酸エチル、アセトニトリル: 残留農薬試験用

塩化ナトリウム、リン酸二水素カリウム、リン酸、硫酸、炭酸ナトリウム、四ほう酸ナトリウム、水酸化カリウム: 試薬特級または同等品

9-フルオレニルメチルクロロホルメート (クロロギ酸 9-フルオレニルメチル)
〔FMOC-Cl: 9-fluorenylmethyl-chloroformate〕: 2.6 g をアセトン 1 L に溶かし、0.01 mol/L のアセトン溶液に調製

ほう酸塩緩衝液 (pH 9.5): 四ほう酸ナトリウム 9.5 g と炭酸ナトリウム 10.6 g を精製水 1 L に溶解したもの

0.1 mol/L リン酸二水素カリウム緩衝液: リン酸二水素カリウム 13.6 g を精製水 800 mL に溶かし、リン酸で pH 2.5 として、精製水で 1 L としたもの

(2) 器具及び装置

ガラス器具: 硬質ガラス瓶、メスシリンダー、メスフラスコ、分液ロート、褐色目盛り付き試験管、共栓付き遠心分離管など

遠心分離器、振とう機、超音波発振器

ガラス繊維ろ紙

珪藻土カラム：(注3)

高速液体クロマトグラフ (HPLC、蛍光検出器付)

- a) カラム：内径 3～5 mm、長さ 150～250 mm のステンレス製カラムに、アミノプロピル基結合型シリカ (粒径 5～10 μm) を充填したもの、またはこれと同等の分離性能をもつもの (注4)
- b) 溶離液：0.1 mol/L リン酸二水素カリウム緩衝液とアセトニトリルを体積比で 7:3 の割合で混合し、超音波処理で十分に脱気する
- c) 蛍光検出器：励起波長 270 nm、測定波長 315 nm に設定

5 試料の採取・運搬

予めアセトン、ヘキサン等によく洗浄した容量 1 L 程度の共栓またはねじ栓つき硬質ガラス瓶を試料瓶とする。試料水は、2、3 回共洗いした後、満水に入れ、氷冷・遮光して、実験室へ持ち帰る。分析操作は可能な限り速やかに行う。やむを得ず保管が必要な場合は、1～2 日を限度として冷暗所 (4) に置く。

底質試料は、エクマンバージ型採泥器等によって表層泥 (0～10 cm) を採取し、目視できる夾雑物を除いて、硬質ガラス瓶、ポリエチレン製袋または箱等に入れ、氷冷・遮光状態で実験室へ持ち帰る。この試料は、孔径 2 mm 目の篩に通した後、20 分間の遠心分離 (3,000rpm) で間隙水を除き、均質に混合したものを分析に供する。底質試料の保存は、調製試料を -4 で凍結させる。

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「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

(ア) 水質試料

試料水 50 mL を 100 mL 容の分液ロートにとり、塩化ナトリウム 2.5 g、pH 9.5 のほう酸塩緩衝液 5 mL および 0.01M の FMOC-Cl アセトン溶液 10 mL を加えて振りまぜ、30 分間室温に置いて蛍光誘導体化を行う。その後、試料水に硫酸 (1+2) で pH が 1 付近になるよう調整し、酢酸エチル 40 mL を加えて 10 分間振とうする。有機層と水層が充分に分離し

た後、水層を捨て、酢酸エチル層にほう酸塩緩衝液 4 mL を加え 10 分間振り混ぜる。静置し分離後、水層をとり前処理液とする。

(イ) 底質試料

試料 10 g を 100 mL 容の共栓付き遠心分離管にとり、0.6M の水酸化カリウム溶液 40 mL を加えて 80 で 30 分間超音波処理を行う（注 5）。続いて、室温、2,500 rpm で 30 分間振とうする。その後、上澄液をガラス繊維ろ紙でろ過し、硫酸（1+1）でろ液を pH 6 付近に調整して、精製水で 60 mL に定容する。このうちの 20 mL を珪藻土カラムに負荷して 30 分間放置する。この珪藻土カラムクロマトグラフィーは、酢酸エチル 50 mL、飽和塩化ナトリウム水溶液 50 mL で順次洗浄し、さらに 5% 塩化ナトリウム含有 0.2M 水酸化カリウム溶液 20 mL で前捨てを行った後に、同液 80 mL で被検物質を溶出させる。溶出液は pH 9.5 程度に調整後、精製水で 100 mL に定容する。このうちの 50 mL について、水質試料と同様に誘導体化、酢酸エチル抽出、緩衝液による逆抽出操作を行い前処理液を得る。

(2) 試料液の調製

水質および底質試料から得られた前処理液は、その 20 μ L を HPLC に導入する。

(3) 空試験液の調製

水質試料は精製水 50 mL を、底質試料については精製水 10 mL を用いて、試験操作の「前処理」および「試料液の調製」と同様な操作を行って得られた試験液を空試験に用いる。

(4) 添加回収試験液の調製

任意の水質試料 50 mL および底質試料 10 g に定量下限値の 5~10 倍になるよう検量線作成用標準液のアセトン溶液を加え、試験操作の「前処理」および「試料液の調製」と同様な操作を行って添加回収試験液を得る。

(5) 標準液の調製

グリホサート 100 mg を精秤し、精製水 100 mL に溶解して 1,000 μ g/L の標準原液を調製する。既知濃度の標準用液を標準原液とすることもできる。標準原液は精製水で順次希釈して、0 および 0.1~2.0 μ g/L の範囲で 5 段階以上の標準列を調製して、検量線作成用の標

準液とする。この標準液は使用の都度調製する。

(6) 測定 (注6)

(ア) HPLC 測定条件

測定条件の一例を示す。

- ・カラム：アミノプロピル基結合型シリカカラム (4.6 mm i.d. × 251 mm、5 μm)
- ・溶離液：0.1 mol/L リン酸二水素カリウム緩衝液：アセトニトリル (7:3)
- ・流速：1 mL/min
- ・カラム温度：40
- ・蛍光検出：励起波長 270 nm、測定波長 315 nm

(イ) 検量線

検量線作成用標準液の各々50 mLを100 mL容分液ロートに採り、試料の「前処理」と同様の操作で得た試料液の20 μLをHPLCへ導入し、ピーク面積またはピーク高さから検量線を作成する。

(ウ) 試料前処理液の測定

試料前処理液の20 μLをHPLCに導入し、ピーク面積またはピーク高さを求める。

7 同定、定量及び計算

(1) 同定

標準物質の保持時間との一致により同定する。

(2) 定量

試料前処理液および空試験液のピーク面積またはピーク高さから検量線によりグリホサート濃度 (μg/mL) を求め、次式により水質および底質試料中濃度に換算する。

$$C(\mu\text{g}/\text{l}, \mu\text{g}/\text{kg}) = (S_{\text{conc}} - B_{\text{conc}}) \times \frac{V_{\text{conc}}}{V_{\text{spl}}} \times 1000$$

ここで、C： 試料中のグリホサート濃度 ($\mu\text{g/L}$ 、 $\mu\text{g/kg}$)

S_{conc} ： 検量線から求めた試料液中濃度 ($\mu\text{g/mL}$)

B_{conc} ： 検量線から求めた空試験液中 ($\mu\text{g/mL}$)

V_{conc} ： 試料前処理液の最終液量 (mL)

V_{spl} ： 試料量 (mL、g)

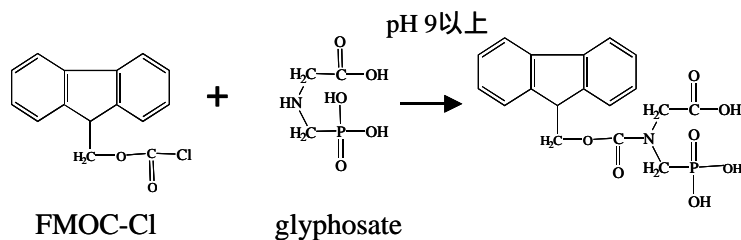
8 分析精度管理

本調査マニュアルの 章“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。

9 注意事項

(注1) FMOC-Cl はグリホサートなどの二級アミン類と反応し、蛍光物質を生成する。

この反応は pH 9 以上で一定し、20 分程度で完了する。



(注2) 代謝産物のAMPA ($\text{CH}_6\text{NO}_3\text{P}$) もFMOC-Clによって蛍光物質を生成し、グリホサートと同時分析が可能である。検量線作成用の標準液もグリホサートと同様に調製できる。

(注3) Extrelut-20 または同等品 (備考1)

(注4) Nucleosil 100-5NH₂、Lichrospher 100NH₂などがあるが、一般にアミノプロピル基結合シリカはカラム寿命が短いため、使用後はメタノールやアセトニトリルで十分に置換しておく。

(注5) グリホサートと底質は強固に結合しているが、温度を 80 に設定することで、回収率は改善できる。

(注6) 試料前処理液のバックグラウンドが高く測定に支障がある場合は、一夜程度放置して測定する。

(備考 1)ここに示す商品は、このマニュアル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。

参考文献

- 1) 月岡忠、中山隆、丸山正人：「グリホサート：平成 4 年度化学物質分析法開発調査報告書」、環境庁環境保健部環境安全課， pp28-38， 平成 5 年 6 月.
- 2) Sancho, J.V., Hidalgo, C., Hernandez, F., Lopez, F.J., Hogendoorn, E.A. and Dukman, E.: Rapid determination of glyphosate residues and its main metabolite AMPA in soil samples by liquid chromatography. *Intern. J. Environ Anal. Chem.* **62**, 53-63 (1996)
- 3) Fur, E.L., Colin, R., Charreteur, C., Dufau, C., and Peron, J. -J : Determination of glyphosate herbicide and aminomethylphosphonic acid in natural waters by liquid chromatography using pre-column fluorogenic labeling. Part 1: Direct determination at the 0.1mg/L level using FMOC, *Analusis* **28**, 813-818 (2000)

分析法フローチャート

水質試料

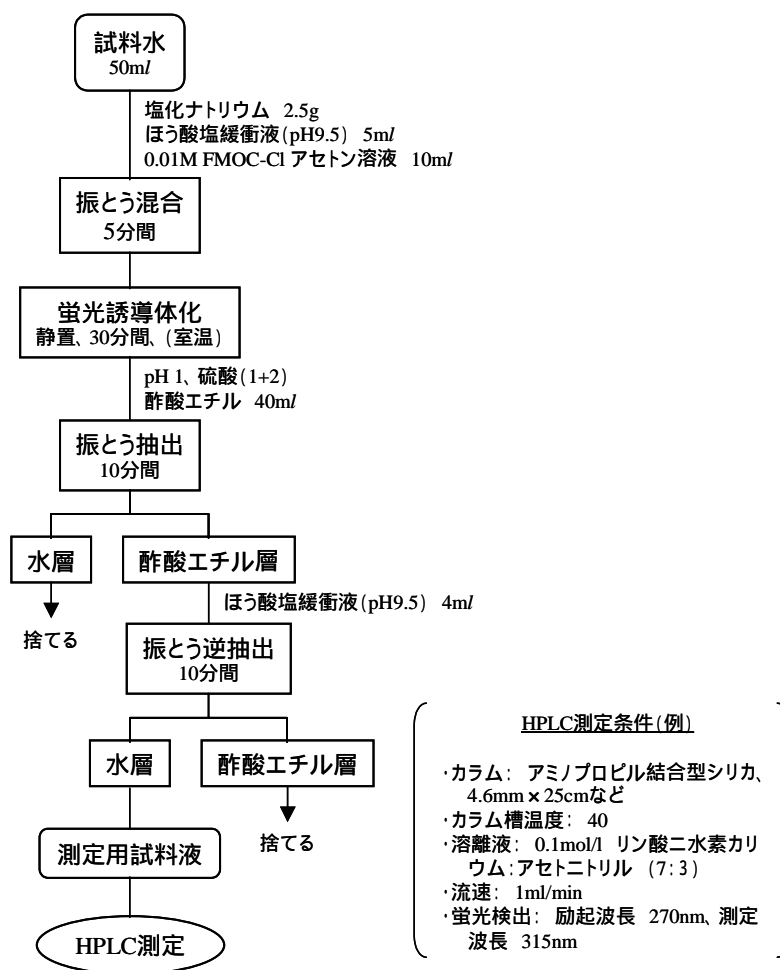


図2 グリホサートの分析操作手順(水質)

底質試料

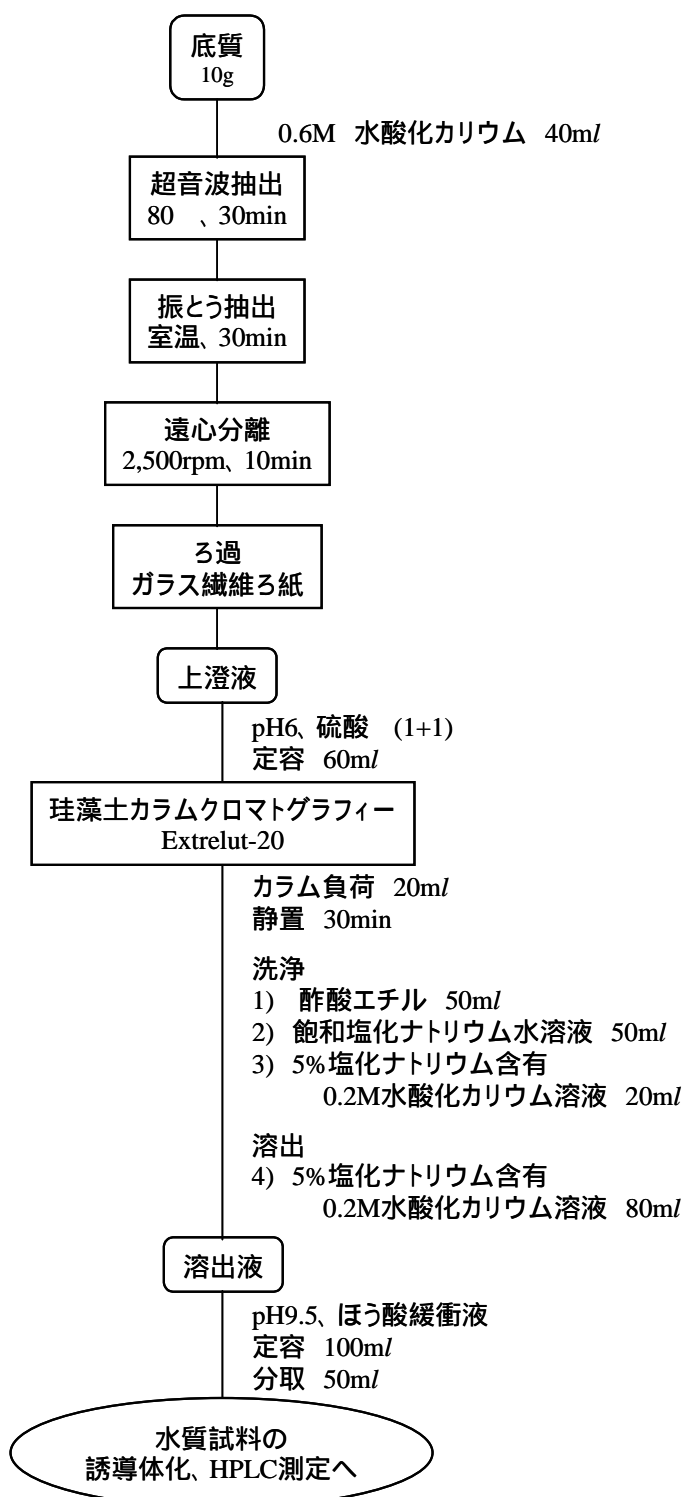


図3 グリホサートの分析操作手順（底質）

アセフェートの分析法

1 対象物質

アセフェート

2 目標検出下限値及び定量下限値

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 目標とする検出下限値及び定量下限値

水質(μg/L)		底質(μg/kg)		生物(μg/kg)	
目標検出下限	目標定量下限	目標検出下限	目標定量下限	目標検出下限	目標定量下限
0.02	0.05	5	20	10	30

3 分析法の概要

対象物質の水試料からの抽出は、活性炭吸着により行う。水試料にサロゲート物質を添加し、活性炭カートリッジカラムに通水して対象物質を捕集し、ジクロロメタンで溶出する。溶出液を濃縮して前処理液を得る。

底質試料、生物試料は精製水で振とう抽出（生物試料はホモジナイズ抽出）し、その抽出液をヘキサンで洗浄したあと、水試料と同様に対象物質を捕集し、以下同様にして前処理液を得る。

各試料前処理液にポリエチレングリコールを添加して、GC/MS で同定・定量を行う。

なお、濃度の算出はサロゲート物質との相対検量線に基づく。

4 試薬、器具及び装置

(1) 試薬

- ・アセフェート：純度 97%以上の市販標準品。必要量を精秤して、アセトンで 1,000 ~ 2,000 μg/mL の標準原液を調製する。
- ・アセフェート_{d₆}：純度 97%以上の市販標準品。必要量を精秤して、標準物質と同様にアセトンで 1,000 ~ 2,000 μg/mLの標準原液を調製する。
- ・試薬、溶媒類：ヘキサン、アセトン、ジクロロメタンなどの溶媒類は、原則として残留農薬試験用の純度を用い、あらかじめ測定を妨害する成分が無いことを確認する。

なお、ポリエチレングリコールは試薬特級（平均分子量 200）を使用した。

- ・精製水：超高純度水（蒸留水を超純水製造装置で精製したもの）であって、妨害成分を含まないもの。必要に応じて、ジクロロメタンで洗浄して用いる。
- ・窒素ガス：高純度窒素 1 級（純度 99.999% 以上）を用い、配管に活性炭や水分吸収剤を装着する。
- ・固相抽出用活性炭カートリッジカラム（注 1）

（ 2 ） 器具及び装置

- ・ガラス器具：試料瓶、分液ロート、共栓付試験管、濃縮フラスコ、遠沈管、メスシリンダー、メスフラスコ、ホールピペット、駒込ピペット、パスツールピペットなど。使用に先立ち、精製水や有機溶媒で十分に洗浄する。
- ・振とう機。
- ・固相抽出装置：加圧型。（注 2）
- ・濃縮器（注 3）
- ・ホモジナイザー：（注 4）
- ・超音波抽出器：超音波洗浄器または同等品。
- ・ガスクロマトグラフ/質量分析計（GC/MS）
- ・マイクロシリンジ：内部標準液の添加あるいは GC/MS の注入に用いる。

5 試料の採取・運搬

（ 1 ） 水質試料

水質試料は、あらかじめアセトン、ヘキサン等によく洗浄したもので、容量 1 L 程度の共栓またはねじ栓つき褐色硬質ガラス瓶を用い、氷冷して実験室へ持ち帰る。分析操作は可能な限り速やかに行う。やむを得ず保管が必要な場合は、1~2 日を限度として冷暗所（ 4 ）に置く。

（ 2 ） 底質試料

底質試料は、エクマンバージ型採泥器等によって表層泥（0~10 cm）を採取し、目視できる夾雑物を除いて、硬質ガラス瓶、ポリエチレン製袋または箱等に入れ、氷冷・遮光状態で実験室へ持ち帰る。この試料は、孔径 2 mm 目の篩に通した後、20 分間の遠心分離（3,000

rpm) で間隙水を除き、均質に混合したものを分析に供する。底質試料の保存は、調製試料を -4 で凍結させる。

(3) 生物試料

採捕した生物試料は、ポリエチレン製袋に入れ、氷またはドライアイスで保冷したクーラーボックスに収納して、実験室に持ち帰る。生物試料の分析部位は、原則として筋肉組織(可食部)である。生物試料の保存は -4 での凍結による。

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「 . 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

(ア) 水質試料

活性炭カートリッジカラムは、あらかじめジクロロメタン、アセトン、精製水の各 10 mL でコンディショニング(注5)する。試料水 1 L にサロゲート標準溶液(0.5 µg/mL のアセトン溶液) 0.5 mL を添加して振とうし、十分に混合する。これを 10 mL/min の速度で活性炭カートリッジカラムに通水し対象物質を捕集する。通水終了後、精製水 50 mL を同様の速度で通水してカラムを洗浄したのち、カラムに高純度窒素を通気(注6)して乾燥させる。ジクロロメタン 5 mL で対象物質を溶出(注5)させ、ロータリーエバポレーターまたは窒素気流下で 1 mL まで濃縮して前処理液とする。

(イ) 底質試料

湿泥 20 g を共栓付遠心沈殿管に採り、サロゲート標準溶液(0.5 µg/mL のアセトン溶液)を 0.5 mL 添加、少量の精製水を添加して十分に攪拌する。これに精製水 50 mL を加え密栓して 10 分間振とうした後、遠心分離(3,000 rpm、10 分)して 200 mL 容分液ロートに分取する。遠心分離の残渣には精製水 50 mL を加えて 10 分間振とうして、遠心分離を行い、抽出液を先の分液ロートに併せる。抽出液を入れた分液ロートにヘキサン 20 mL を加えて 10 分間振とうする。静置後、ヘキサン層を捨て、水層に再度ヘキサン 20 mL を加えて、ヘキサン洗浄を繰り返し、水層を水試料と同様に処理して前処理液とする。

(ウ) 生物試料

細切し均一化した湿組織 20 g にサロゲート標準溶液(0.5 µg/mL のアセトン溶液)0.5 mL を添加しホモジナイザーで攪拌する。これに精製水 50 mL を加え、10 分間ホモジナイザーで攪拌し対象物質を抽出する。攪拌後、3,000 rpm で 10 分間遠心分離して、抽出液を 200 mL 容分液ロートに分取する。遠心分離の残渣には精製水 50 mL を加えて、同様の操作を行い、抽出液を併せる。以下、底質試料と同様にヘキサン洗浄を行い、水層を水試料と同様に処理して前処理液とする。

(2) 試料液の調製

(ア) 水質試料

前処理液はポリエチレングリコールの 1% アセトン溶液 10 µL (注 7) を添加し、窒素気流下で 1.0 mL に定容して GC/MS 測定する。

(イ) 底質試料

前処理液は水質試料と同様に調製し、GC/MS 測定する。

(ウ) 生物試料

前処理液は水質試料と同様に調製し、GC/MS 測定する。

(3) 空試験液の調製

水試料はそれと同量の精製水、底質および生物試料は精製水 10 mL を用い、試験操作の「前処理」および「試料液の調製」と同様な操作を行って得られた試験液を空試験に用いる。

(4) 添加回収試験液の調製

任意の水試料 1,000 mL、底質と生物試料の 20 g に定量下限値の 5 ~ 10 倍になるよう検量線作成用標準液を加え、試験操作の「前処理」および「試料液の調製」と同様な操作を行って添加回収試験液を得る。

(5) 標準液の調製

検量線作成用標準液、サロゲート標準液を調製する。検量線作成用標準液は、その原液をジクロロメタンで希釈して0~2.0 µg/mLの範囲で5段階以上個別に調製する。サロゲート標準液は、アセフェートの重水素標識標準物質をアセトンで希釈して5 µg/mLの濃度に調製する。

(6) 測定

(ア) GC/MS 測定条件

GC/MS 測定条件の一例を参考として示す。これを参考にして適宜設定する。

(a) ガスクロマトグラフ部

- ・試料注入部：スプリットレス、オンカラム、昇温気化方式などの非分割方式のもの。
- ・キャピラリーカラム：50%フェニルメチルシリコン系、内径0.2~0.3 mm、長さ20~30 m、膜厚0.2~0.3 µm (注8)
- ・キャリアーガス：純度99.999%以上の高純度ヘリウム、流速1 mL/min、線速度35~42 cm/sec。
- ・カラム恒温槽：70 (1 min) (30 /min) 200 (10 /min) 250。(注9)
- ・注入口温度：250。

(b) 質量分析部

イオン化法：電子衝撃イオン化 (EI) 法、イオン化電圧70 eV。

イオン源温度：230。

インタフェース温度：250。

イオン検出法：選択イオンまたは全イオン検出。

(c) 測定イオン

対象物質およびサロゲート物質の測定イオンを表2に示す。

表 2 対象物質およびサロゲート物質の測定イオン

項目番号	物質名	質量数	モニタ - イオン m/z		
			定量	確認	
IS-2	アセフェート-d ₆	189.17	139	-	-
13	アセフェート	183.17	136	94	96

(イ) 検量線

(a) 標準液の測定

各濃度段階の検量線作成用標準液 (0 ~ 2.0 µg/mL の範囲で 5 段階以上) 0.5 mL にサロゲート標準液 (0.5 µg/L) 0.5 mL を添加し、さらにポリエチレングリコールの 1% アセトン溶液 10 µL を添加する。この標準液系列は、各標準物質を 0 ~ 1.0 µg/mL、サロゲート物質を 2.5 µg/mL の濃度で含み、1 濃度段階の 1 または 2 µL の一定量を最低 3 回 GC/MS に注入し、全濃度域で計 15 点以上のデータを得る。

(b) ピーク面積 (または高さ) の強度比の確認

得られたクロマトグラムから、定量用と確認用質量のイオン強度比が、対応するマススペクトル上の強度比とほぼ一致することを確認する。

(c) 検量線の作成

表 2 の通り、標準物質とサロゲート物質の濃度比と強度比の関係を XY プロットし、検量線を作成する。この時、各濃度段階における標準物質の強度比の変動が 5% 以内であることを確認する。

次式により相対感度係数 (RRF: Relative Response Factor) を求め、定量値の算出にあててもよい。

$$RRF = \frac{C_{is}}{C_t} \times \frac{A_t}{A_{is}}$$

ここで、C_{is}: 標準液中のサロゲート標準物質の濃度、C_t: 標準溶液中の対象物質の濃度、A_t: 標準溶液中の対象物質のピーク面積 (または高さ)、A_{is}: 標準溶液中のサロゲート標準物質のピーク面積 (または高さ) である。

(ウ) 試料液の測定

実試料、空試験あるいは添加回収試験から得られた試料液をそのまま GC/MS 注入用の試料液とする。注入量は検量線作成用の標準液と同量であって 1 または 2 μL である。検出されたクロマトグラム上のピークについて、同定確認の後、サロゲート物質のピーク強度（面積または高さ）に対する対象物質のピーク強度の比から、検量線または相対感度係数により定量する。

7 同定、定量及び計算

(1) 同定

測定対象物質およびサロゲート物質の定量イオンと確認イオンのピークが、検量線に用いた標準物質などの保持時間の ± 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検量線作成に用いた標準物質などの強度比の $\pm 20\%$ 以内で一致していればその物質が存在しているとみなす。

(2) 定量及び計算

得られた対象物質とサロゲート物質とのピーク強度比から、検量線により濃度比を求め、次式により試料中の対象物質の濃度を算出する。

$$C_t(\mu\text{g}/\text{l}, \mu\text{g}/\text{kg}) = \frac{RF_t \times Q_{is}(\mu\text{g})}{V_s(\text{l}, \text{kg})}$$

ここで、 C_t ：対象物質の試料中濃度 ($\mu\text{g}/\text{L}$ または $\mu\text{g}/\text{kg}$)、 RF_t ：濃度比、 Q_{is} ：内標準物質の添加量 (μg)、分析への試料採取量： V_s (L または kg)、

または、あらかじめ求めた対象物質のサロゲート標準物質に対する相対感度係数 (RRF) を用いて、次式により試料中の対象物質の濃度を算出する。

$$C_t(\mu\text{g}/\text{l}, \mu\text{g}/\text{kg}) = \frac{A_s}{A_{is}} \times \frac{Q_{is}(\mu\text{g})}{RRF} \times \frac{1}{V_s(\text{l}, \text{kg})}$$

ここで、 C_t ：試料抽出液全量中の対象物質の量 ($\mu\text{g}/\text{L}$ または $\mu\text{g}/\text{kg}$)、 A_s ：試料液中の対象物質のピーク強度、 A_{is} ：試料液中のサロゲート標準物質のピーク強度、 Q_{is} ：内標準物質の総添加量 (μg)、RRF：サロゲート物質に対する対象物質の相対感度係数、分析への試料採取量： V_s (L または kg)。なお、底質の試料量は乾燥試料量とする。

8 分析精度管理

本調査マニュアルの「 . 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。

9 注意事項

- (注1) ウォーターズ社製セップパック AC-2 または同等の性能を持つもの。ここでは、ウォーターズ社製 AC-2 カートリッジカラムを用いたが、この他にも各社からカートリッジ型、シリンジ型、ディスク型などが発売されている。固相吸着法では、コンディショニングの条件、試料の吸着速度、乾燥条件、溶出溶液の種類と量などにより回収率が異なるので、これらの諸条件も含めてあらかじめ添加回収テストを行ったのち使用する必要がある(備考1)。
- (注2) ウォーターズ社製セップパックコンセントレーターまたは同等の性能を持つ流量コントロールの可能なもの(備考1)。
- (注3) ロータリーエバポレータ(恒温槽付き)または Turbo Vap 、 Turbo Vap LV などの窒素吹き付けによるものまたは同等の性能を有するもの(備考1)。
- (注4) 万能ホモジナイザー(ポリトロン)、超高速万能ホモジナイザー(ヒスコトロン)、攪拌分散器(ウルトララックス)または同等品。
- (注5) コンディショニング及び対象物質の溶出は 1~2 mL/min (1~2 滴/sec) の流速で行う。
- (注6) 高純度窒素は 0.5~1 L/min の流速で約 15 分間通気する。乾燥が不十分な場合は、カートリッジカラムからジクロロメタンとともに水が溶出し、脱水が必要となる。また、過剰に通気しすぎると吸着していたアセフェート及びサロゲート物質が失われる可能性がある。
- (注7) アセフェートは GC の注入口に吸着する。これを防止するため、ポリエチレングリコール(平均分子量 200)の 1%アセトン溶液 10 μ L を添加する。
- (注8) アセフェートは無極性や微極性カラムではテーリングを起し、定量値に影響するので 50%フェニルメチルシリコン系カラムを用いる。
- (注9) アセフェートはカラムコンディションによりピークが著しくテーリングを起すことがあり、場合によってはほとんどピークが出ないことがある。したがって、

連続測定する場合は、測定終了後カラムの最高使用温度付近まで温度を上げて 5 から 10 分間程度エージングを行うことが望ましい。また、あらかじめ検量線作成用標準液の最高濃度のものを数回注入し、ピーク面積が安定していることを確認してから一連の測定にとりかかること。

(備考 1) ここに示す商品は、このマニュアルの使用者の便宜のために、一般に入手できるものとして掲げたが、これ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。

参考文献

- 1) 西野茂幸, 小田達也:「アセフェート:平成 4 年度化学物質分析法開発調査報告書」, 環境庁 環境保健部 保健調査室, p122-130 (平成 5 年 6 月)
- 2) 奥村為男:「水中のアセフェートのガスクロマトグラフィー質量分析法による定量」, 環境化学, 2, 31-35 (1992)
- 3) 倉田泰人, 杉崎三男:「水中のアセフェートのガスクロマトグラフィーによる定量」, 環境化学, 2, 533-539 (1992)
- 4) 環境庁 水質保全局 水質管理課:「置換ベンゼン類、有機酸エステル類、有機リン酸エステル類及び農薬類の分析法: 要調査項目等調査マニュアル」, p81-99 (平成 12 年 12 月)

分析法フローチャート
水質試料

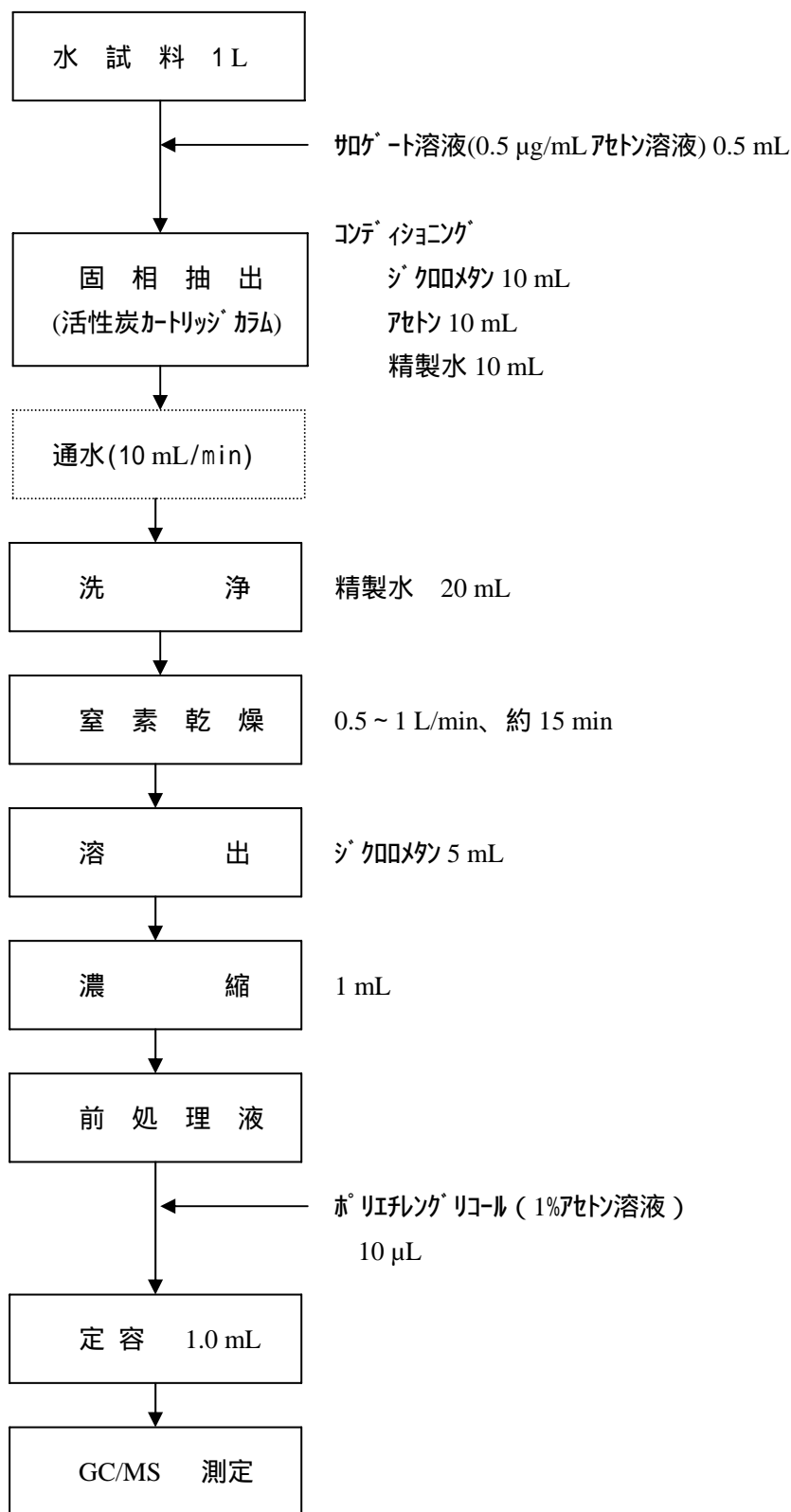


図1 水試料の分析操作手順

底質試料

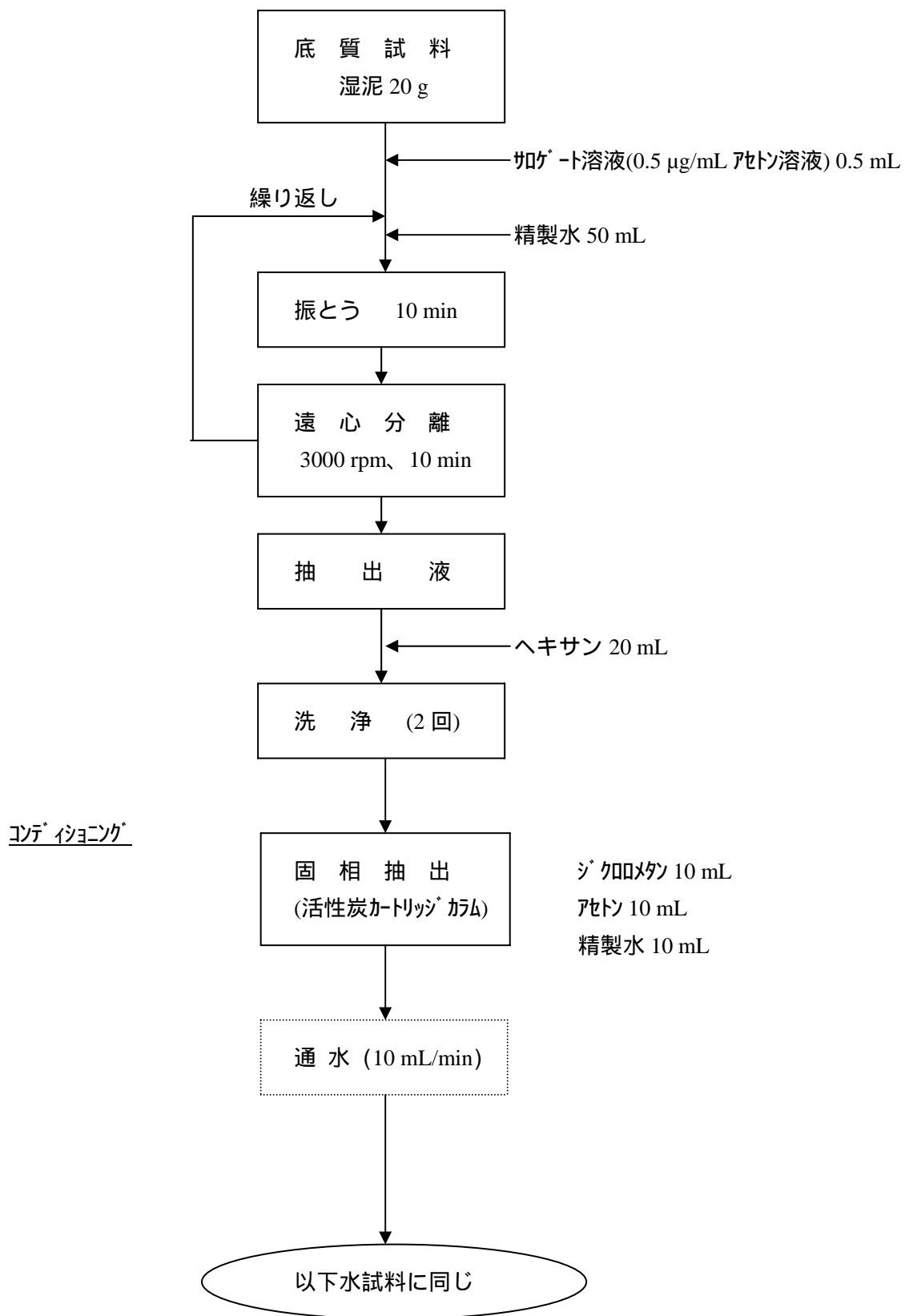


図2 底質試料の分析操作手順

生物試料

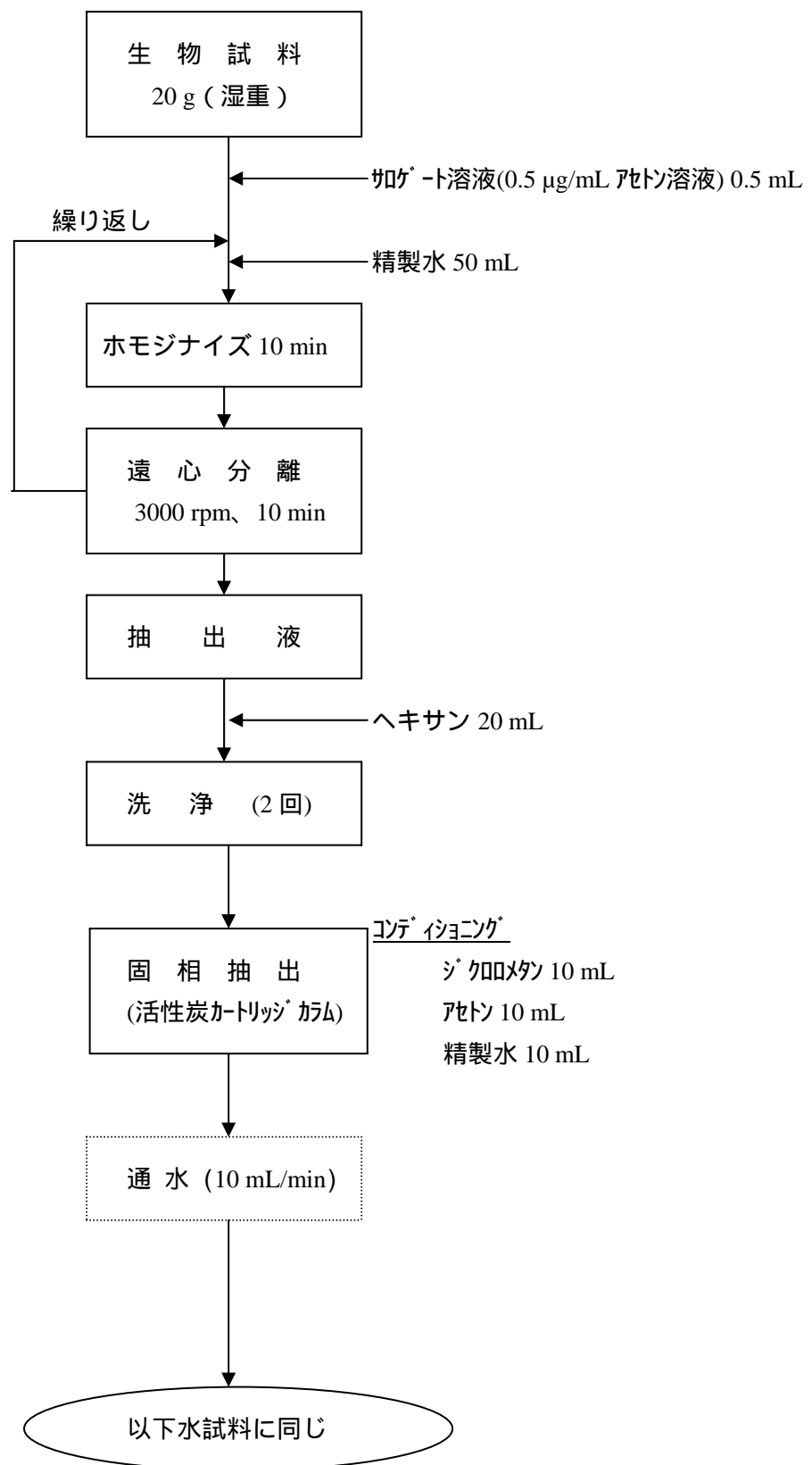


図3 生物試料の分析操作手順

x . トリクロロホン (DEP) の分析法

1 対象物質

トリクロロホン (DEP)

2 目標検出下限及び定量下限

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 目標とする検出下限値及び定量下限値

水質 (µg/L)		底質 (µg/kg)		生物 (µg/kg)	
目標検出下限	目標定量下限	目標検出下限	目標定量下限	目標検出下限	目標定量下限
0.03	0.1	3	10	3	10

3 分析法の概要

対象物質の水試料からの抽出は、サロゲート物質を添加し、塩酸酸性下で塩化ナトリウムを飽和させ、ジクロロメタンで振とう抽出し、脱水、濃縮して前処理液を得る。

底質試料、生物試料はサロゲート物質を添加し、アセトンで振とう抽出 (生物試料はホモジナイズ抽出) する。精製水で希釈し、ヘキサンで洗浄したあと、水試料と同様に対象物質を捕集し、以下同様にして前処理液を得る。

各試料前処理液に無水酢酸を添加してアセチル化したのち、GC/MS で同定・定量を行う。

なお、濃度の算出はサロゲート物質との相対検量線に基づく。

4 試薬、器具及び装置

(1) 試薬

- ・トリクロロホン (DEP): 純度 97%以上の試薬であって測定の妨害となる成分を含有しないもの、または既知濃度に調製した標準液。純品は必要量を精秤して、少量をアセトンに溶解させた後、ヘキサンで 1,000 ~ 2,000 µg/mL の標準原液を調製する。
- ・トリクロロホン (DEP) -d₆: 純度 97%以上の市販標準品。必要量を精秤して、標準物質と同様にアセトンで 1,000 ~ 2,000 µg/mLの標準原液を調製する。
- ・試薬、溶媒類: 無水硫酸ナトリウム、塩化ナトリウムなどの試薬類、ヘキサン、アセトン、ジクロロメタンなどの溶媒類は、原則として残留農薬試験用の純度を用い、あ

あらかじめ測定を妨害する成分が無いことを確認する。

- ・精製水：超高純度水（蒸留水を超純水製造装置で精製したもの）であって、妨害成分を含まないもの。必要に応じて、ジクロロメタンで洗浄して用いる。
- ・窒素ガス：高純度窒素 1 級（純度 99.999% 以上）を用い、配管に活性炭や水分吸収剤を装着する。

（ 2 ）器具及び装置

- ・ガラス器具：試料瓶、分液ロート、共栓付試験管、濃縮フラスコ、遠沈管、メスシリンダー、メスフラスコ、ホールピペット、駒込ピペット、パスツールピペットなど。使用に先立ち、精製水や有機溶媒で十分に洗浄する。
- ・振とう機。
- ・濃縮器（注 1）
- ・ホモジナイザー（注 2）
- ・超音波抽出器：超音波洗浄器または同等品。
- ・ガスクロマトグラフ/質量分析計（GC/MS）
- ・マイクロシリンジ：内部標準液の添加あるいは GC/MS の注入に用いる。

5 試料の採取・運搬

（ 1 ）水質試料

水質試料は、あらかじめアセトン、ヘキサン等でよく洗浄したもので、容量 1 L 程度の共栓またはねじ栓つき褐色硬質ガラス瓶を用いる。採取した試料に 0.1M 塩酸 2 mL を加えて（注 3）酸性状態にし、氷冷して実験室へ持ち帰る。分析操作は可能な限り速やかに行う。やむを得ず保管が必要な場合は、1～2 日を限度として冷暗所（ 4 ）に置く。

（ 2 ）底質試料

底質試料は、エクマンバージ型採泥器等によって表層泥（0～10 cm）を採取し、目視でできる夾雑物を除いて、硬質ガラス瓶、ポリエチレン製袋または箱等に入れ、氷冷・遮光状態で実験室へ持ち帰る。この試料は、孔径 2 mm 目の篩に通した後、20 分間の遠心分離（3,000 rpm）で間隙水を除き、均質に混合したものを分析に供する。底質試料の保存は、調製試料を -4 で凍結させる。

(3) 生物試料

採捕した生物試料は、ポリエチレン製袋に入れ、氷またはドライアイスで保冷したクーラーボックスに収納して、実験室に持ち帰る。生物試料の分析部位は、原則として筋肉組織（可食部）である。生物試料の保存は -4 ℃ での凍結による。

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「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

(ア) 水質試料

試料水 1 L にサロゲート標準溶液(1.0 µg/mL のアセトン溶液)0.2 mL を添加したのち、0.1M 塩酸を加え pH を 3.5 に調整する。これに 300 g の塩化ナトリウム（注 4）と 100 mL のジクロロメタンを加えて 10 分間振とうする。ジクロロメタン抽出液を分取して、さらに 100 mL のジクロロメタンで振とう抽出を繰り返す。抽出液にヘキサン 100 mL を加えて無水硫酸ナトリウムで脱水する。脱水した抽出液は、ロータリーエバポレーターまたは窒素気流下 40 ℃ 以下で 1 mL まで濃縮して前処理液とする。

(イ) 底質試料

湿泥 20 g を共栓付遠心沈殿管に採り、サロゲート標準溶液(1.0 µg/mL のアセトン溶液)を 0.2 mL 添加、少量の精製水を添加して十分に攪拌する。これにアセトン 50 mL を加え密栓して 10 分間振とうした後、遠心分離（3,000 rpm、10 分）して抽出液を 1 L 容分液ロートに分取する。この分液ロートにはあらかじめ精製水 500 mL を入れておく。遠心分離の残渣にはアセトン 50 mL を加えて 10 分間振とうして、遠心分離を行い、抽出液を先の分液ロートに併せる。抽出液を入れた分液ロートにヘキサン 50 mL を加えて 10 分間振とうする。静置後、ヘキサン層を捨て、水層に再度ヘキサン 50 mL を加えて、ヘキサン洗浄を繰り返す。水層を水試料と同様に pH 調整し、塩化ナトリウム 300 g、ジクロロメタン 100 mL を加えて 10 分間振とう抽出する。ジクロロメタン抽出液を分取して、さらに 100 mL のジクロロメタンで振とう抽出を繰り返す。抽出液にヘキサン 100 mL を加えて水試料と同様に脱水、濃縮して前処理液とする。

(ウ) 生物試料

細切し均一化した湿組織 20 g にサロゲート標準溶液(1.0 µg/mL のアセトン溶液)0.2 mL を添加しホモジナイザーで攪拌する。これにアセトン 50 mL を加え、10 分間ホモジナイザーで攪拌し対象物質を抽出する。攪拌後、3,000 rpm で 10 分間遠心分離して、抽出液を 1 L 容分液ロートに分取する。この分液ロートにはあらかじめ精製水 500 mL を入れておく。遠心分離の残渣にはアセトン 50 mL を加えて、同様の操作を行い、抽出液を併せる。以降、底質試料と同様にヘキサン洗浄を行い、pH 調整、ジクロロメタン抽出、脱水、濃縮して前処理液とする。

(2) 試料液の調製

(ア) 水質試料

前処理液に無水酢酸 0.1 mL を加え、窒素気流下で 1.0 µL に定容して GC/MS 測定する(注 5)。

(イ) 底質試料

前処理液は水質試料と同様に調製し、GC/MS 測定する。

(ウ) 生物試料

前処理液は水質試料と同様に調製し、GC/MS 測定する。

(3) 空試験液の調製

水試料はそれと同量の精製水、底質および生物試料は精製水 10 mL を用い、試験操作の「前処理」および「試料液の調製」と同様な操作を行って得られた試験液を空試験に用いる。

(4) 添加回収試験液の調製

任意の水試料 1,000 mL、底質と生物試料の 20 g に定量下限値の 5 ~ 10 倍になるよう検量線作成用標準液のアセトン溶液を加え、試験操作の「前処理」および「試料液の調製」と同様な操作を行って添加回収試験液を得る。

(5) 標準液の調製

検量線作成用標準液、サロゲート標準液を調製する。検量線作成用標準液は、その原液をジクロロメタンで希釈して0~1.0 µg/mLの範囲で5段階以上個別に調製する。サロゲート標準液は、トリクロロホン（DEP）の重水素標識標準物質をジクロロメタンで希釈して10 µg/mLの濃度に調製する。

(6) 測定

(ア) GC/MS 測定条件

GC/MS 測定条件の一例を参考として示す。これを参考にして適宜設定する。(注6)

(a) ガスクロマトグラフ部

試料注入部：スプリットレス、オンカラム、昇温気化方式などの非分割方式のもの。

キャピラリーカラム：5%フェニルメチルシリコン系、内径0.25~0.32 mm、長さ20~30 m、膜厚0.2~0.3 µm。

キャリアーガス：純度99.999%以上の高純度ヘリウム、流速1 mL/min、線速度41~35 cm/sec。

カラム恒温槽：50 (1 min) (30 /min) 170 (5 /min) 250 。

(b) 質量分析部

イオン化法：電子衝撃イオン化（EI）法、イオン化電圧70 eV。

イオン源温度：230 。

インタフェース温度：250 。

イオン検出法：選択イオンまたは全イオン検出。

(c) 測定イオン

対象物質および内部標準物質の検出に設定する測定イオンを表2にまとめた。

表 2 5%フェニルメチルシリコン系カラムの溶出順位とモニターイオン質量

項目 番号	物質名	質量数	モニターイオン m/z		
			定量	確認	
IS	トリクロロホンアセチル-d ₆	305.93	116	-	-
165	トリクロロホンアセチル	299.93	110	109	124

(イ) 検量線

(a) 標準液の測定

各濃度段階の検量線作成用標準液 (0~2.0 µg/mL の範囲で 5 段階以上) 0.5 mL にサロゲート標準液 (1.0 µg/L) 0.2 mL を添加し、さらに無水酢酸 0.1 mL を加えて 1.0 mL に定容する。この標準液系列は、標準物質を 0~1.0 µg/mL、サロゲート物質を 0.2 µg/mL の濃度で含み、1 濃度段階の 1 または 2 µL の一定量を最低 3 回 GC/MS に注入し、全濃度域で計 15 点以上のデータを得る。

(b) ピーク面積 (または高さ) の強度比の確認

得られたクロマトグラムから、定量用と確認用質量のイオン強度比が、対応するマススペクトル上の強度比とほぼ一致することを確認する。

(c) 検量線の作成

表 2 の通り、各標準物質と対応する測定用内標準物質の濃度比と強度比の関係を XY プロットし、検量線を作成する。この時、各濃度段階における標準物質毎の強度比の変動が 5% 以内であることを確認する。

(ウ) 試料液の測定

実試料、空試験あるいは添加回収試験から得られた試料液に測定用内標準混合溶液 (10 µg/mL) を 10 µL 添加したのち 1.0 mL に定容して、GC/MS 注入用の試料液とする。注入量は検量線作成用の混合標準液と同量であって 1 または 2 µL である。検出されたクロマトグラム上のピークについて、同定確認の後、対応する測定用内部標準物質のピーク強度 (面積または高さ) に対する対象物質のピーク強度の比から、検量線または相対感度係数により定量する。

7 同定、定量及び計算

(1) 同定

測定対象物質および内標準物質の定量イオンと確認イオンのピークが、検量線に用いた標準物質などの保持時間の±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検量線作成に用いた標準物質などの強度比の±20%以内で一致していればその物質が存在しているとみなす。

(2) 定量

内標準物質と対象物質のピークの強度比から、検量線から濃度比を求め、次式により試料中の対象物質の濃度を算出する。

$$Ct(\mu\text{g}/\text{l}, \mu\text{g}/\text{kg}) = \frac{RFt \times Qis(\mu\text{g})}{Vs(\text{l}, \text{kg})}$$

ここで、Ct：対象物質の試料中濃度（ $\mu\text{g}/\text{L}$ または $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）、RFt：濃度比、Qis：内標準物質の添加量（ μg ）、分析への試料採取量：Vs（L または kg）。なお、底質の試料量は乾燥試料量とする。

8 分析精度管理

本調査マニュアルの 章“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。

9 注意事項

(注1) ロータリーエバポレータ（恒温槽付き）または Turbo Vap 、 Turbo Vap LV などの窒素吹き付けによるものまたは同等の性能を有するもの（備考1）。

(注2) 万能ホモジナイザー（ポリトロン）、超高速万能ホモジナイザー（ヒスコトロン）、攪拌分散器（ウルトラターラックス）または同等品（備考1）。

(注3) トリクロロホンは加水分解と脱塩素を受けやすく、 $\text{pH} = 6$ 以上または加熱により促進され、アルカリでジクロロボス（DDVP）に変化するため、試料採取後ただちに pH 調整を行う。

(注4) 塩化ナトリウム飽和状態で抽出する。

(注5) 無水酢酸は、測定直前に添加する。

(注6) 注入口ライナーの汚れは定量値に大きく影響するので注意を要する。また、測定前に標準物質を数回注入し面積値等が安定してから本測定する必要がある。

(備考1) ここに示す商品は、このマニュアルの使用者の便宜上、一般に入手できるもの及び本分析法開発に使用したものを例示したが、これを推奨するものではない。これと同等または同等以上の品質・性能のものを用いても良い。

10 参考

参考文献

- 1) 環境庁 水質保全局 水質管理課：「置換ベンゼン類、有機酸エステル類、有機リン酸エステル類及び農薬類の分析法」，要調査項目等調査マニュアル，p81-99（平成12年12月）
- 2) 岡本寛、大橋則雄、笹野英雄：「トリクロロホン（DEP）：平成4年度化学物質分析法開発調査報告書」，環境庁 環境保健部 保健調査室，1-14（平成5年6月）

分析法フローチャート
水試料

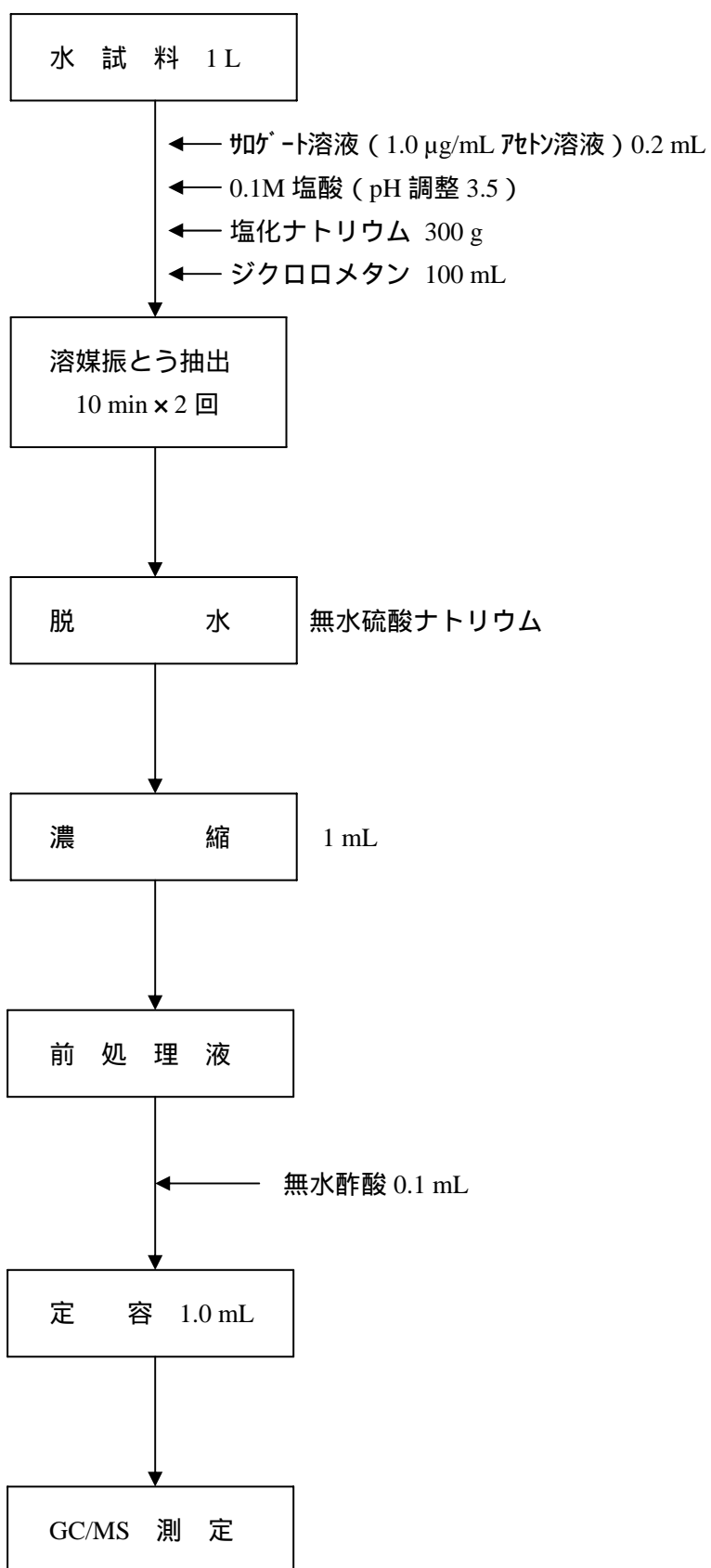


図 1 水試料の分析操作手順

底質試料

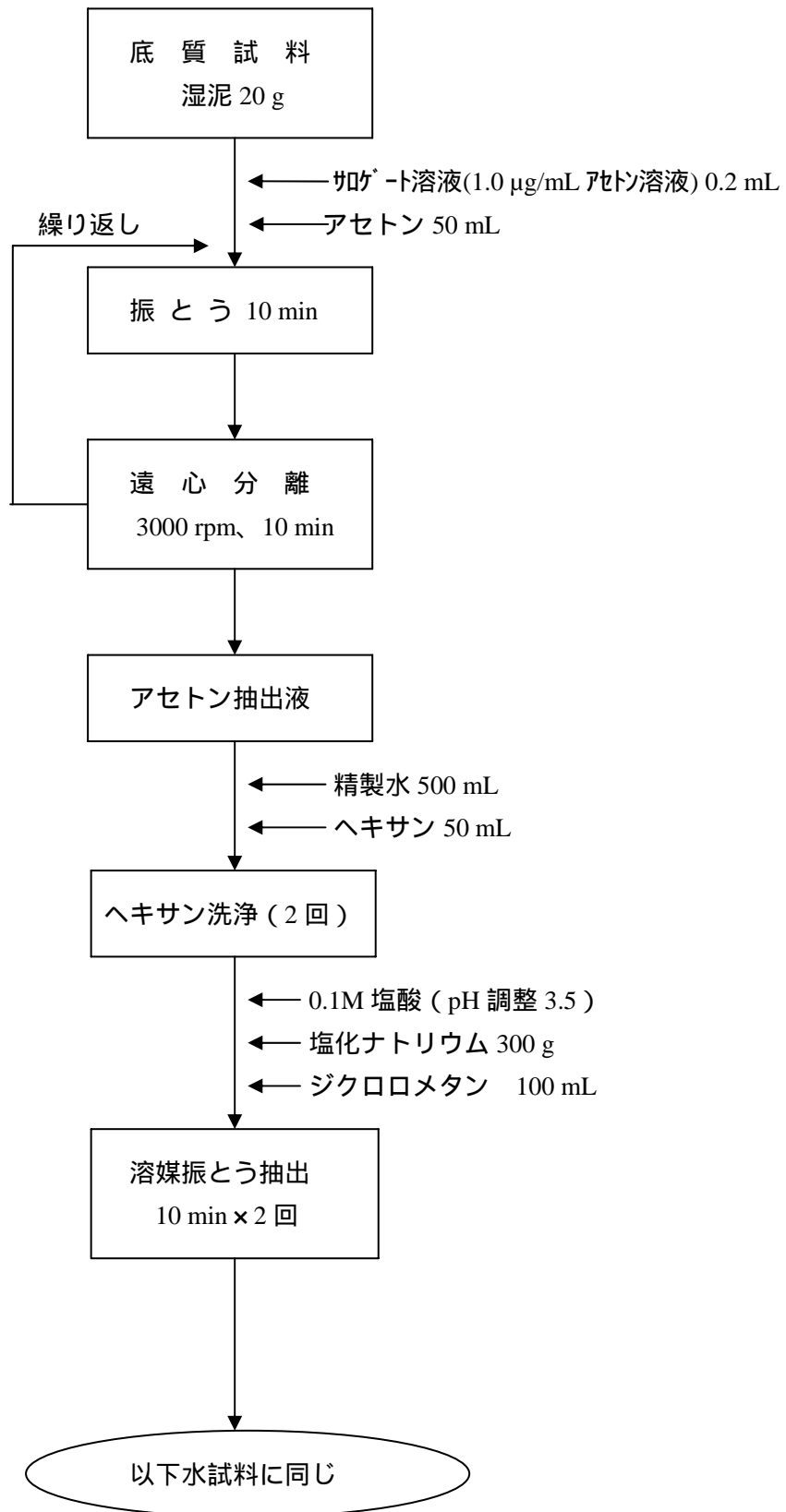


図2 底質試料の分析操作手順

生物試料

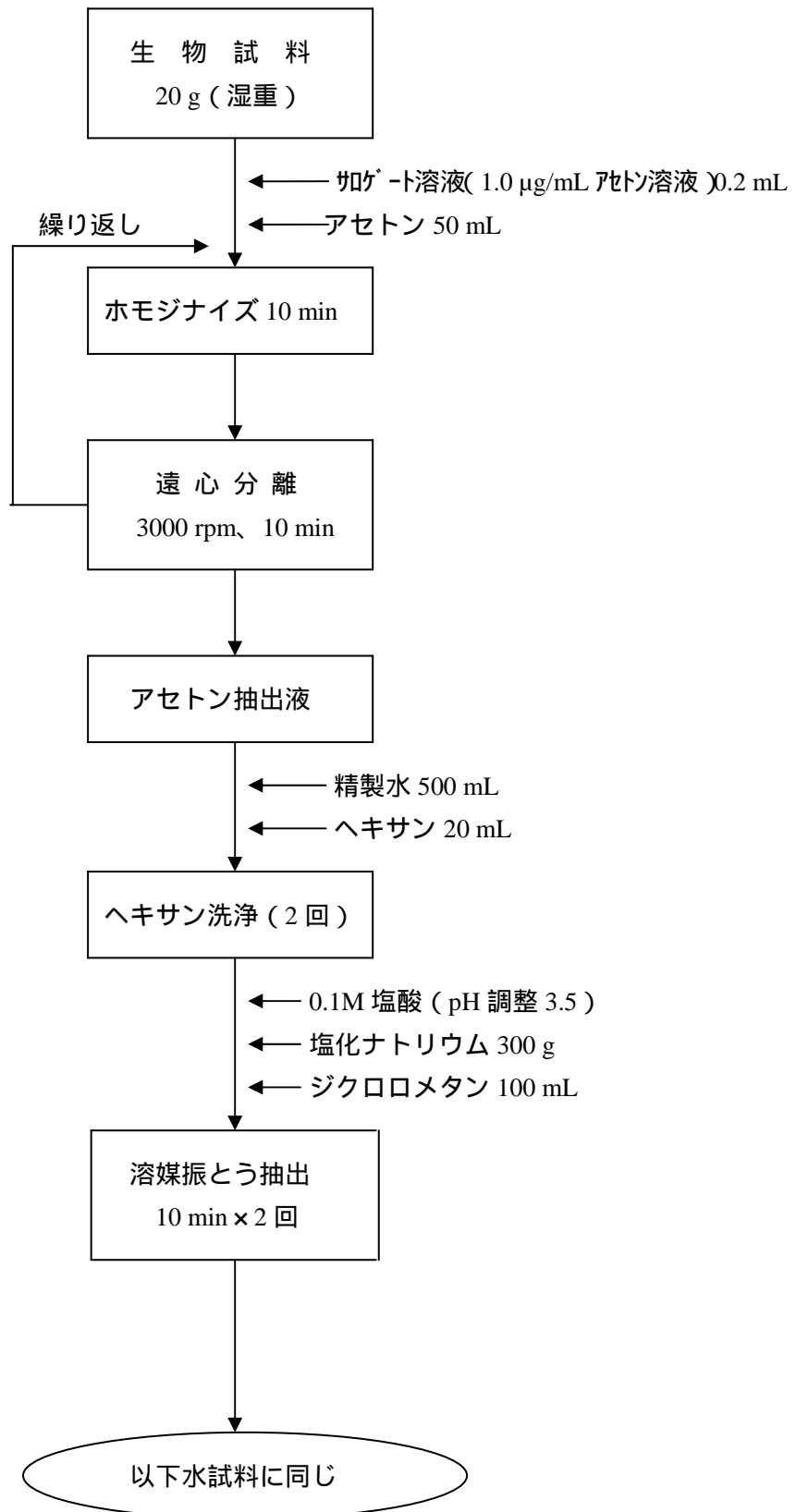


図3 生物試料の分析操作手順

．農薬類及びニトロベンゼン類の分析法

1 対象物質

本分析法の対象物質を表 1 に示す。

表 1 対象物質

項目番号	物質名	Cas.No.	水溶解度 ($\mu\text{g/mL}$)	Log Pow
65	キントゼン (PNCB)	82-68-8	0.44	4.64
75	1-クロロ-2,4-ジニトロベンゼン	97-00-7	8	2.17
86	シアナジン	21725-46-2	170	2.22
99	1,4-ジクロロ-2-ニトロベンゼン	89-61-2	14	3.09
108	ジチオピル	97886-45-8	1.4	4.75
207	ピリプチカルブ	88678-67-5	0.32	5.18
219	ブタミホス	36335-67-8	6.19	4.62
258	ペンディメタリン	40487-42-1	0.275	5.18
271	メタラキシル	57837-19-1	8400	1.65

2 目標検出下限値及び定量下限値

本分析法の目標検出下限値を表 2 に示す。目標定量下限値はその 3 倍である。

表 2 目標とする検出下限値

項目番号	物質名	水質 ($\mu\text{g/L}$)	底質 ($\mu\text{g/kg}$)	生物 ($\mu\text{g/kg}$)
65	キントゼン (PNCB)	0.01	3	5
75	1-クロロ-2,4-ジニトロベンゼン	0.01	3	5
86	シアナジン	0.02	5	10
99	1,4-ジクロロ-2-ニトロベンゼン	0.01	3	5
108	ジチオピル	0.01	3	5
207	ピリプチカルブ	0.01	3	5
219	ブタミホス	0.01	3	5
258	ペンディメタリン	0.01	3	5
271	メタラキシル	0.02	5	10

3 分析法の概要

対象物質の水試料からの抽出は、固相抽出法または溶媒抽出法による。固相抽出法では 10~20 mL/min の速度で通水して対象物質を捕集し、ジクロロメタンで溶離、脱水、濃縮して前処理液を得る。溶媒振とう法では塩析条件下ジクロロメタンで振とう抽出し、脱水、濃縮して前処理液を得る。

底質試料はアセトンで振とう抽出し、その抽出液を塩化ナトリウム水溶液で希釈した後、ジクロロメタンによる振とう抽出を行い、脱水、濃縮して前処理液を得る。

生物試料は、メタノールによる攪拌抽出を行い、メタノール/ヘキサン分配による脂質除去の操作を行った後、ジクロロメタンによる振とう抽出をし、脱水、濃縮して前処理液を得る。

前処理液は、必要に応じてフロリジルカラムクロマトグラフィー、シリカゲルカラムクロマトグラフィー、非孔性グラファイトカーボンカラムクロマトグラフィーによる精製を行い、測定用の内標準物質混合溶液を添加して、GC/MS で同定・定量を行う。

なお、濃度の算出は測定用内標準物質との相対検量線に基づく。

4 試薬、器具及び装置

(1) 試薬

- ・標準物質：純度 97%以上の試薬であって測定の妨害となる成分を含有しないもの、または既知濃度に調製した標準液。純品は個別に必要量を精秤して、アセトンで 1,000 ~ 2,000 µg/mL の標準原液を調製する。
- ・内標準物質：ナフタレン-d₈、フェナンスレン-d₁₀、フルオランテン-d₁₀の重水素標識標準物質、または同様の用途に供することができる標準物質。これらは個別に必要量を精秤し、ヘキサンに溶解して 1,000 ~ 2,000 µg/mLの標準原液を調製する。
- ・試薬、溶媒類：無水硫酸ナトリウム、塩化ナトリウムなどの試薬類、ヘキサン、アセトン、ジクロロメタン、メタノールなどの溶媒類は、原則として残留農薬試験用の純度を用い、あらかじめ測定を妨害する成分が無いことを確認する。
- ・精製水：超高純度水（蒸留水を超純水製造装置で精製したもの）であって、妨害成分を含まないもの。必要に応じて、ジクロロメタンで洗浄して用いる。
- ・窒素ガス：高純度窒素 1 級（純度 99.999%以上）を用い、配管に活性炭や水分吸収剤を装着する。
- ・固相抽出用カートリッジカラム（注 1）。
- ・5%含水シリカゲル：カラムクロマト用シリカゲル（注 2）を 130 °C で 15 時間加熱活性化した後、95 g を 300 mL の共栓（透明摺）付き三角フラスコにステンレス製ロートを用いて秤量し、密栓して室温まで冷却する。シリカゲルを攪拌しながら、5 mL のホールピペットを用いて精製水を滴下して含水させ、密栓して発熱が終了するまで静か

に混合する。更に、振とう器で 30 分間振とうした後、デシケータ（乾燥剤:シリカゲル）中に 15 時間以上保存したものを使用する。

- ・フロリジル：130 で 12 時間程度加熱処理する。
- ・グラファイトカーボンカートリッジカラム：容量 3 mL 程度のカラムに非孔性グラファイトカーボンを 0.2~0.3 g 充てんしたもの（注 3）または同等品。使用に先立ち、トルエン、アセトン、ジクロロメタン、ヘキサンによる洗浄が不可欠である。
- ・シリカゲルカートリッジカラム、フロリジルカートリッジカラム：充てんカラムの代替として利用することができるが、あらかじめ操作条件の検討を要する。

（ 2 ） 器具及び装置

- ・ガラス器具：試料瓶、分液ロート、共栓付試験管、クロマトグラフ管、濃縮フラスコ、遠沈管、メスシリンダー、メスフラスコ、ホールピペット、駒込ピペット、パスツールピペットなど。使用に先立ち、精製水や有機溶媒で十分に洗浄する。
- ・振とう機。
- ・固相抽出装置：加圧型。（注 4）
- ・濃縮器：ロータリーエバポレータ（恒温槽付き）。（注 5）
- ・ホモジナイザー（注 6）
- ・超音波抽出器：超音波洗浄器または同等品。
- ・ガスクロマトグラフ/質量分析計（GC/MS）
- ・マイクロシリンジ：内部標準液の添加あるいは GC/MS の注入に用いる。

5 試料の採取・運搬

（ 1 ） 水質試料

水質試料は、あらかじめアセトン、ヘキサン等によく洗浄したもので、容量 1 L 程度の共栓またはねじ栓つき褐色硬質ガラス瓶を用い、氷冷して実験室へ持ち帰る。分析操作は可能な限り速やかに行う。やむを得ず保管が必要な場合は、1~2 日を限度として冷暗所（ 4 ）に置く。

（ 2 ） 底質試料

底質試料は、エクマンバージ型採泥器等によって表層泥（0~10 cm）を採取し、目視で

きる夾雑物を除いて、硬質ガラス瓶、ポリエチレン製袋または箱等に入れ、氷冷・遮光状態で実験室へ持ち帰る。この試料は、孔径2 mm目の篩に通した後、20分間の遠心分離(3,000 rpm)で間隙水を除き、均質に混合したものを分析に供する。底質試料の保存は、調製試料を -4 で凍結させる。

(3) 生物試料

採捕した生物試料は、ポリエチレン製袋に入れ、氷またはドライアイスで保冷したクーラーボックスに収納して、実験室に持ち帰る。生物試料の分析部位は、原則として筋肉組織(可食部)である。生物試料の保存は -4 での凍結による。

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「 . 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

(ア) 水質試料

固相抽出法(注1)

固相抽出カラムは、あらかじめジクロロメタン、メタノール、精製水の各10 mLでコンディショニング(注7)する。試料水500 mLを10~20 mL/minの速度で通水し対象物質を捕集する。通水終了後、固相抽出カラムに高純度窒素を通気して乾燥させる(注8)。ジクロロメタン5 mLで対象物質を溶出させ(注7)、無水硫酸ナトリウムで脱水した後(注9)、窒素気流下で0.5 mLまで濃縮して前処理液とする(注10)。

溶媒抽出法

試料水1Lに50gの塩化ナトリウムと100 mLのジクロロメタンを加えて10分間振とうする。ジクロロメタン抽出液を分取して、さらに100 mLのジクロロメタンで振とう抽出を繰り返す。抽出液にヘキサン100 mLを加えて無水硫酸ナトリウムで脱水する。脱水した抽出液は、ロータリーエバポレーターまたは窒素気流下40 以下で1 mLまで濃縮して前処理液とする(注10)。

(イ) 底質試料

湿泥 20 g を共栓付遠心沈殿管に採り、アセトン 50 mL を加え密栓して 10 分間振とうする。アセトン抽出液は、遠心分離 (3,000 rpm、10 分) して 1 L 容分液ロートに分取する。この分液ロートにはあらかじめ塩化ナトリウム 25 g、精製水 500 mL を入れておく。遠心分離の残渣にはアセトン 50 mL を加えて 10 分間振とうして、遠心分離を行い、アセトン抽出液を先の分液ロートに併せる。アセトン抽出液を入れた分液ロートにジクロロメタン 100 mL を加えて 10 分間振とうする。静置後、ジクロロメタン層を分取、水層にジクロロメタン 100 mL を加えて、振とう抽出を繰り返し、抽出液を併せる。ジクロロメタン抽出液には、ヘキサン 100 mL を加え、無水硫酸ナトリウムで脱水、ロータリーエバポレーターまたは窒素気流下 40 以下で 1 mL まで濃縮して前処理液とする (注 10)。

(ウ) 生物試料

細切し均一化した湿組織 20 g にメタノール 50 mL を加え、10 分間ホモジナイザーで攪拌し対象物質を抽出する。攪拌後、3,000 rpm で 15 分間遠心分離して、メタノール抽出液を 1 L 容分液ロートに分取する。遠心分離の残渣にはメタノール 50 mL を加えて、同様の操作を行い、抽出液を併せる。

次いで、メタノール/ヘキサン分配によって抽出液から脂質成分を除く操作を行う。メタノール抽出液を入れた 1 L 容の分液ロートにメタノール飽和ヘキサン 100 mL を加え、5 分間激しく振とうする。静置後、下層のメタノール層は別の 1 L 容分液ロートに移し、ヘキサン層は捨てる。メタノール層は、メタノール飽和ヘキサン 50 mL を加え、5 分間激しく振とうして静置し、下層のメタノール層を先の 1 L 容分液ロートに移す。この分液ロートに精製水 5 mL を加えて、緩やかに攪拌、暫時静置する。メタノール層の上部にヘキサンが分離した後、メタノール層を別の 1 L 容分液ロートに移し、5% 塩化ナトリウム水溶液 500 mL を加えて混合、さらにジクロロメタン 100 mL を加え 10 分間振とうする。静置後、ジクロロメタン層を分取し、水層にジクロロメタン 100 mL を加えて振とう抽出を繰り返し、ジクロロメタン層を先の抽出液に併せる。ジクロロメタン抽出液には、ヘキサン 100 mL を加えて無水硫酸ナトリウムで脱水し、ロータリーエバポレーターまたは窒素気流下 40 以下で 1 mL に濃縮し、前処理液を得る (注 10)。

(2) 試料液の調製

(ア) 水質試料

前処理液は測定用内標準溶液(ナフタレン-d₈、フェナンスレン-d₁₀、フルオランテン-d₁₀の各標識物質を10 µg/mLの濃度に調製したヘキサン溶液)を20 µL(固相抽出法の場合は10 µL)を添加し、窒素気流下で1.0 mLに定容(固相抽出法の場合は0.5 mL)してGC/MS測定する。測定を妨害する物質が共存する場合は、前処理液を後述するフロリジルまたはシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製して、溶出液に測定用内標準溶液を添加してGC/MS測定する。

(イ) 底質試料

前処理液はフロリジルまたは5%含水シリカゲルクロマトグラフィー法で精製する(注11)。フロリジルまたは5%含水シリカゲルの5 gをクロマトグラフ管にヘキサンで湿式充てんし、頂部に少量の無水硫酸ナトリウムを積層する。これに前処理液の全量を負荷して成分を吸着させる。その後、ヘキサン10 mLを1滴/秒程度の速度で通し、カラムを洗浄する(注12)。次いで5%アセトン含有ヘキサン30 mLを同様の速度で流下させる。この画分にメタラキシルとシアナジンを除くすべての成分が含まれる。次いで30%アセトン含有ヘキサン20 mLでメタラキシルとシアナジンを流出させる。これらの溶出液において、なお着色が著しく、不揮発性夾雑物が測定の妨害となる恐れがある場合は、非孔性グラファイトカーボン(注13)を0.2~0.3 g充てんしたカートリッジカラムで精製を行う。このカラムは使用直前に20%アセトン含有ヘキサン10 mLでコンディショニングする。その後、溶出濃縮液を負荷して、50%アセトン/ヘキサン5 mLで溶出し、この間の溶出液は全量を試験管に受ける。これらの溶出液は合せ、ロータリーエバポレーターまたは窒素気流下40以下で1 mLまで濃縮する。この濃縮液に測定用内標準混合溶液(各10 µg/mLヘキサン溶液)を20 µL添加し、1.0 mLに定容してGC/MS測定を行う。

(ウ) 生物試料

生物試料の前処理液はカラムクロマトグラフィーによる精製を行う。精製操作は底質と同様であり、溶出液は濃縮して、測定用内標準溶液(各10 µg/mLヘキサン溶液)を20 µL添加後1.0 mLに定容して、GC/MS測定を行う。

(3) 空試験液の調製

水試料はそれと同量の精製水、底質および生物試料は精製水 10 mL を用い、試験操作の「前処理」および「試料液の調製」と同様な操作を行って得られた試験液を空試験に用いる。

(4) 添加回収試験液の調製

任意の水試料 1,000 mL、底質と生物試料の 20 g に定量下限値の 5 ~ 10 倍になるよう検量線作成用標準液のアセトン溶液を加え、試験操作の「前処理」および「試料液の調製」と同様な操作を行って添加回収試験液を得る。

(5) 標準液の調製

検量線作成用混合標準液、測定用内標準混合溶液を調製する。検量線作成用混合標準液は、その原液をヘキサンで希釈して 0 ~ 1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の範囲で 5 段階以上個別に調製する。測定用内標準混合溶液は、ナフタレン- d_8 、フェナンスレン- d_{10} 、フルオランテン- d_{10} の各重水素標識標準物質を混合し、ヘキサンで希釈してそれぞれ 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の濃度に調製する。

(6) 測定

(ア) GC/MS 測定条件

GC/MS 測定条件の一例を参考として示す。これを参考にして適宜設定する。

(a) ガスクロマトグラフ部

- ・試料注入部：スプリットレス、オンカラム、昇温気化方式などの非分割方式のもの。
- ・キャピラリーカラム：5%フェニルメチルシリコン系、内径 0.2 ~ 0.3 mm、長さ 20 ~ 30 m、膜厚 0.2 ~ 0.3 μm 。
- ・キャリアーガス：純度 99.999% 以上の高純度ヘリウム、流速 1 mL/min、線速度 35 cm/sec。
- ・カラム恒温槽：50 (1 min) (30 /min) 180 (5 /min) 280 。
- ・注入口温度：220 。

(b) 質量分析部

イオン化法：電子衝撃イオン化 (EI) 法、イオン化電圧 70 eV

イオン源温度：230

インタフェース温度：250

イオン検出法：選択イオンまたは全イオン検出

(c) 測定イオン

対象物質および内部標準物質の検出に設定する測定イオンを表 3 にまとめた。

表 3 5%フェニルメチルシリコン系 GC カラムの溶出順位と測定イオン

項目 番号	物質名	質量数	モニタ - イオン m/z			参照 内標準
			定量	確認		
IS-1	ナフタレン-d ₈	136.17	136	-	-	-
99	1,4-ジクロロ-2-ニトロベンゼン	192.00	191	145	109	IS-1
75	1-クロロ-2,4-ジニトロベンゼン	202.55	202	110	75	IS-1
65	キントゼン (PNCB)	295.33	295	265	237	IS-2
IS-2	フェナンスレン-d ₁₀	188.14	188	-	-	-
271	メタラキシル	279.34	206	249	279	IS-2
108	ジチオピル	401.42	354	306	286	IS-2
86	シアナジン	240.70	212	214	240	IS-3
258	ペンディメタリン	281.31	252	162	281	IS-3
IS-3	フルオランテン-d ₁₀	212.14	212	-	-	-
219	ブタミホス	332.36	286	200	232	IS-3
207	ピリプチカルブ	330.45	165	181	108	IS-3

(イ) 検量線

(a) 標準液の測定

各濃度段階の検量線作成用混合標準液 (0 ~ 1.0 µg/mL の範囲で 5 段階以上) の 1.0 mL にそれぞれに測定用内標準混合溶液 (10 µg/mL) を 20 µL 添加する。この標準液系列は、各標準物質を 0 ~ 1.0 µg/mL、各測定用内標準物質を 0.2 µg/mL の濃度で含み、1 濃度段階の 1 または 2 µL の一定量を最低 3 回 GC/MS に注入し、全濃度域で計 15 点以上のデータを得る。

(b) ピーク面積 (または高さ) の強度比の確認

得られたクロマトグラムから、定量用と確認用質量のイオン強度比が、対応するマススペクトル上の強度比とほぼ一致することを確認する。

(c) 検量線の作成

表 3 の通り、各標準物質と対応する測定用内標準物質の濃度比と強度比の関係を XY プロットし、検量線を作成する。この時、各濃度段階における標準物質毎の強度比の変動が

5%以内であることを確認する。

(ウ) 試料液の測定

実試料、空試験あるいは添加回収試験から得られた試料液に測定用内標準混合溶液（10 µg/mL）を 20 µL 添加して 1.0 mL に定容し、GC/MS 注入用の試料液とする。注入量は検量線作成用の混合標準液と同量であって 1 または 2 µL である。検出されたクロマトグラム上のピークについて、同定確認の後、対応する測定用内部標準物質のピーク強度（面積または高さ）に対する対象物質のピーク強度の比から、検量線により定量する。

7 同定、定量及び計算

(1) 同定

測定対象物質および内標準物質の定量イオンと確認イオンのピークが、検量線に用いた標準物質などの保持時間の ±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検量線作成に用いた標準物質などの強度比の ±20% 以内で一致していればその物質が存在しているとみなす。

(2) 定量

内標準物質と対象物質のピークの強度比から、検量線から濃度比を求め、次式により試料中の対象物質の濃度を算出する。

$$Ct(\mu\text{g}/\text{l}, \mu\text{g}/\text{kg}) = \frac{RFt \times Qis(\mu\text{g})}{Vs(\text{l}, \text{kg})}$$

ここで、Ct：対象物質の試料中濃度（µg/L または µg/kg）、RFt：濃度比、Qis：内標準物質の添加量（µg）、分析への試料採取量：Vs（L または kg）。なお、底質の試料量は乾燥試料量とする。

8 分析精度管理

本調査マニュアルの「 . 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。

9 注意事項

- (注1) ウォーターズ社製セップパック PS-2 または同等の性能を持つもの。ここでは、ポリマー系(スチレンジビニルベンゼン共重合体)であるウォーターズ社製 PS-2 カートリッジカラムを用いたがこの他にも充填剤としては C18 系など、形状としてはシリンジ型、ディスク型など多数の固相吸着剤がある。固相吸着法では、コンディショニングの条件、試料の吸着速度、カラムの乾燥条件、溶出溶媒の種類や量などにより回収率が異なることがあるので、これらの諸条件も含めてあらかじめ添加回収テストを行ったのち使用する必要がある(備考1)。
- (注2) 和光純薬社製ワコーゲル C-200(備考1)。
- (注3) ENVI-Carb、250 mg/6 mL、スペルコ社製(備考1)。
- (注4) ウォーターズ社製セップパックコンセントレーターまたは同等の性能を持つ流量コントロールの可能なもの(備考1)。
- (注5) Turbo Vap 、Turbo Vap LV などの窒素吹き付けによるものまたは同等の性能を有するもの(備考1)。
- (注6) 万能ホモジナイザー(ポリトロン)、超高速万能ホモジナイザー(ヒスコトロン)、攪拌分散器(ウルトララックス)または同等品(備考1)。
- (注7) コンディショニング及び対象物質の溶出は 1~2 mL/min (1~2 滴/sec) の流速で行う。
- (注8) 高純度窒素は 0.5~1 L/min の流速で約 15 分間通気した。乾燥が不十分な場合は、カートリッジカラムからジクロロメタンとともに水が溶出し、脱水が必要となる。また、過剰に通気しすぎると吸着していた対象物質が失われる可能性がある。
- (注9) 硫酸ナトリウムを充填したカートリッジカラム(セップパックスドライ)を吸着カラムに直結して溶出する方法もある。この場合、あらかじめジクロロメタン 5 mL でコンディショニングが必要。吸着カラムの乾燥が十分な場合はこの操作を省略してもよい(備考1)。
- (注10) 乾固しないよう注意する。乾固した場合、クロロニトロベンゼン類は特に減少しやすい。
- (注11) ここに示すカラムクロマトグラフィーによる精製条件は一例である。充てん剤の活性度や前処理液の性状等によって溶離パターンが異なるので、必ず事前に分画試験を行い、操作条件を決定する。また、本法では充てんカラムを基本としたが、カートリッジカラムの利用も効果が期待できる。

(注 12) キントゼンはヘキサン 20 mL で溶出するので、これ以上多量のヘキサンを用いてはならない。

(注 13) Envi-Carb など(備考 1)。

(備考 1) ここに示す商品は、このマニュアル使用者の便宜のために、一般に入手できるものとして掲げたが、これ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。

参考文献

- 1) 環境庁 水質保全局 水質管理課：「置換ベンゼン類、有機酸エステル類、有機リン酸エステル類及び農薬類の分析法」，要調査項目等調査マニュアル，p81-99（平成 12 年 12 月）
- 2) 水野勝，角脇怜：「キントゼン」，平成 2 年度化学物質分析法開発調査報告書，環境庁環境保健部保健調査室，p100-109（平成 3 年 6 月）
- 3) 花田喜文，佐藤健司，門上希和夫：「2,4-ジクロロロニトロベンゼン」，平成 5 年度化学物質分析法開発調査報告書，環境庁環境保健部保健調査室，192-218（平成 6 年 6 月）

分析法フローチャート

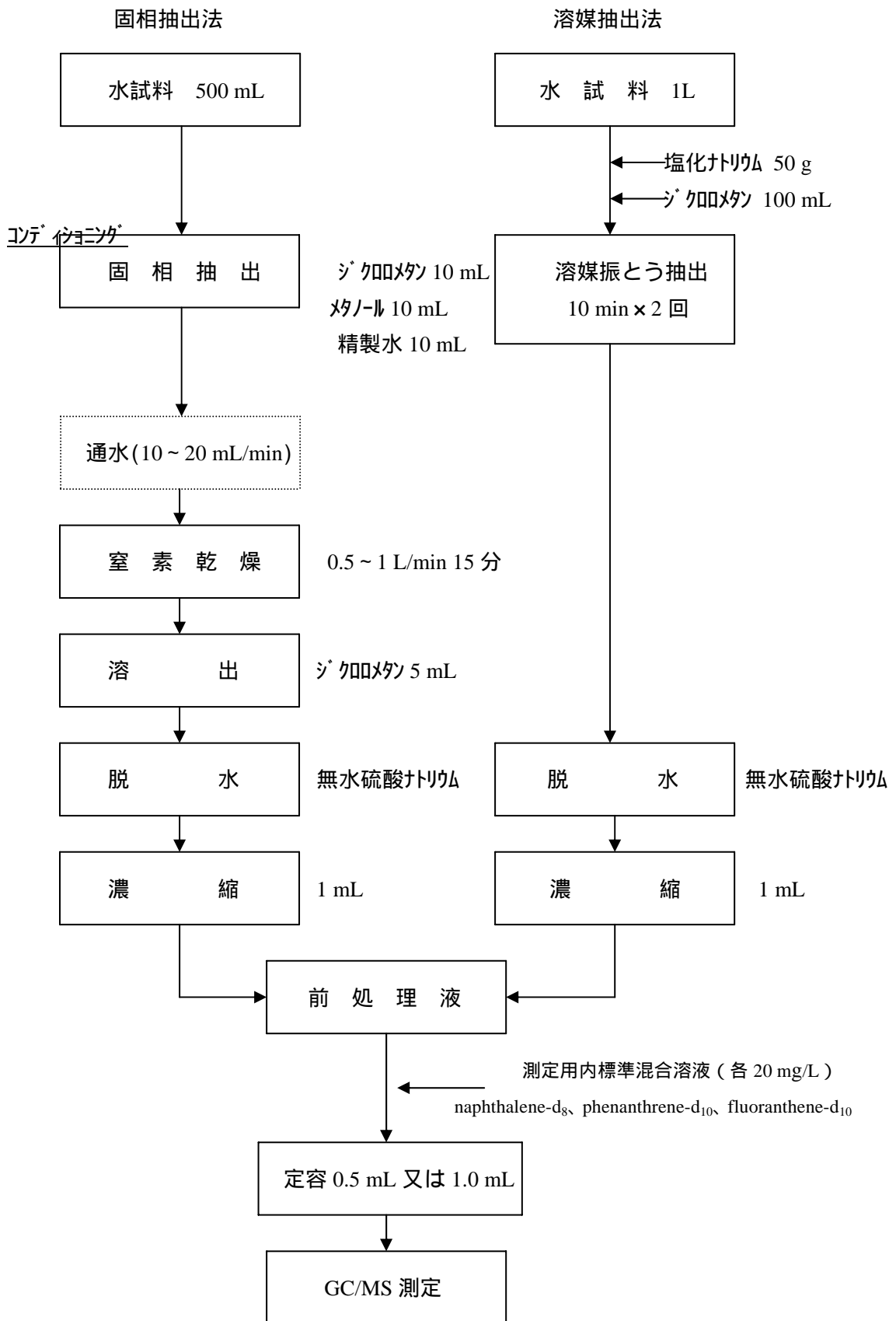


図1 水試料の分析操作手順

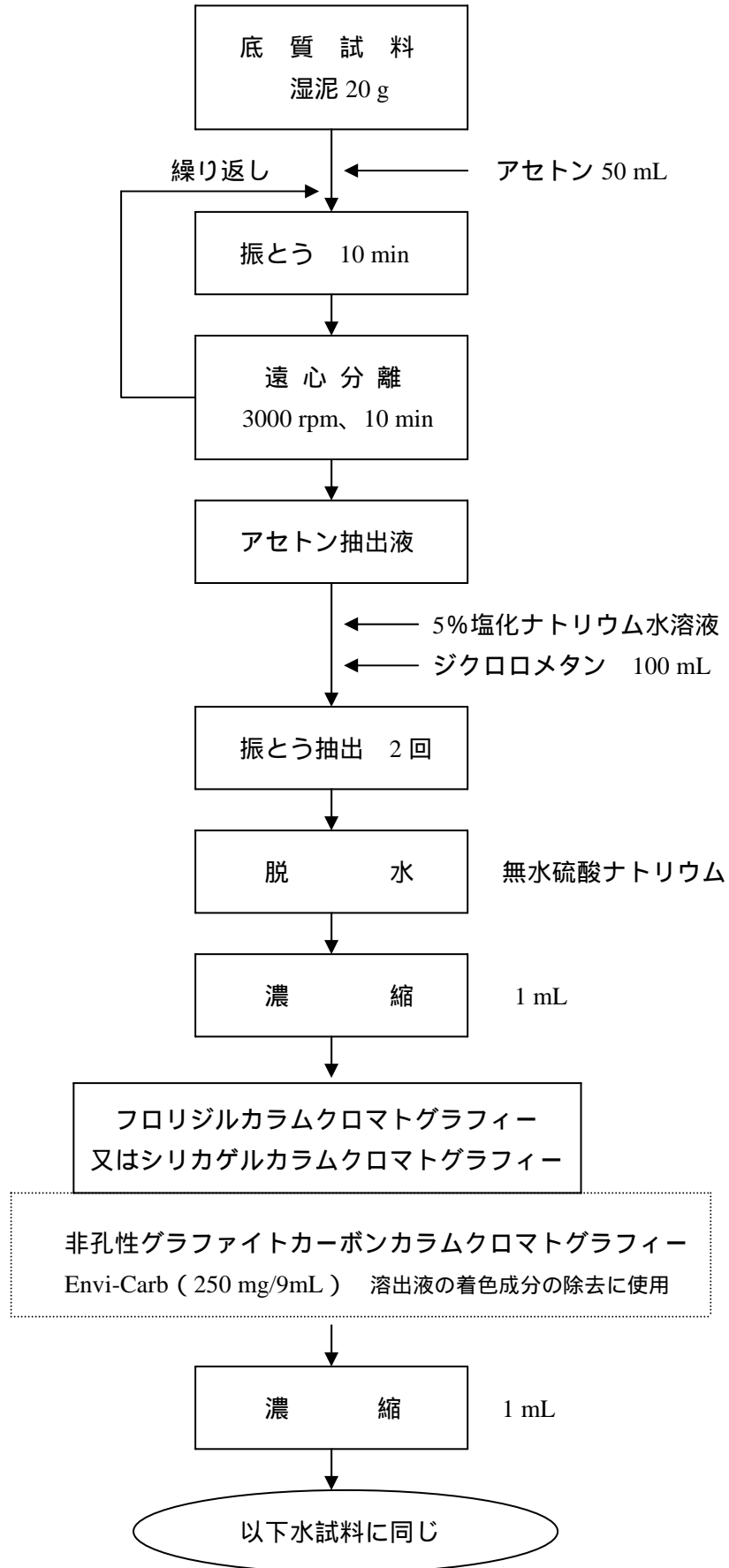


図 2 底質試料の分析操作手順

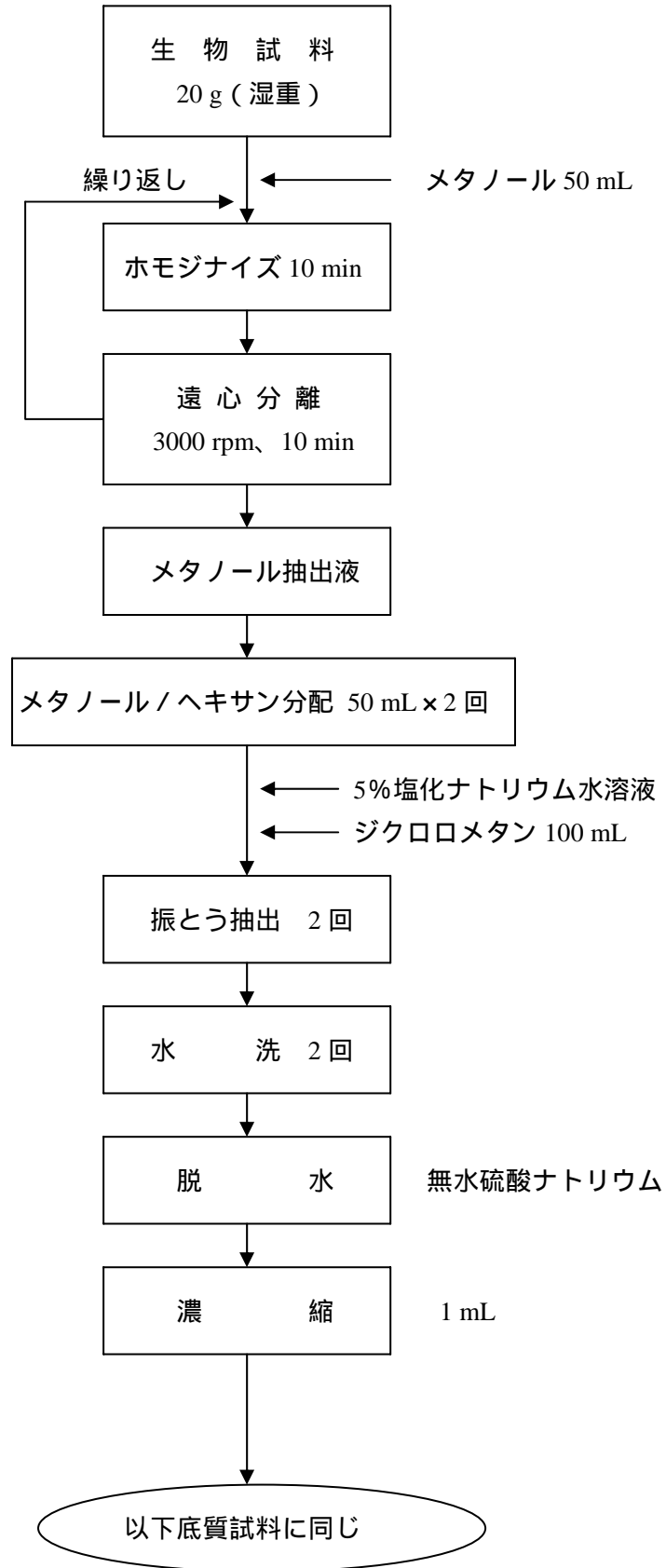


図3 生物試料の分析操作手順