

環境測定分析における留意点 及び精度管理について

(平成25年度ブロック会議資料)

はじめに

分析結果に影響する要因(分析条件等)、分析実施上の問題点等について、下記の結果等のうち、主なものを紹介しています。

1. 要因別の解析結果 (外れ値等を棄却後の分析結果が対象)
 2. 外れ値等の原因 (外れ値等が対象)
 3. 参加機関からのコメント
- 等

試料順に「 . 土壌(農用地土壌)試料(重金属類の分析)」
「 . 底質試料1(PCBの分析)」
「 . 底質試料2(有機塩素化合物の分析)」

となっています。

例えば、「土壌(農用地土壌)試料(重金属類の分析)」では、「1. カドミウム及び銅、2. 砒素」の分析項目順となっています。

目次

- ・ 土壌(農用地土壌)試料
(重金属類の分析)
- ・ 底質試料1
(PCBの分析)
- ・ 底質試料2
(有機塩素化合物の分析)

・ 土壌 (農用地土壌) 試料 (重金屬類の分析)

- 1 . カドミウム及び銅
(Cd & Cu)
- 2 . 砒素
(As)

1. カドミウム及び銅 (Cd & Cu)

1.1 試料液の調製

1.2 検定の方法

1.1 試料液の調製 (Cd&Cu) (1)

(1)解析結果では、試料液の調製 (0.1mol/L塩酸による溶出液) は分析結果に影響はみられなかった

容器の材質 (ポリエチレン、ポリプロピレン、ガラス)、
0.1mol/L塩酸の調製方法 (市販品、希釈して調製)
振とうまでの時間
ろ過までの時間
ろ過の方法 (自然ろ過、吸引ろ過)
ろ過後の液の保管 (保管時間、保管方法) など

また、不適な操作は若干みられたが、結果への影響はわからなかった
(下記のような基本的な条件は守る必要がある)

・試料10g(溶媒50mL)となっていない例

試料	g	溶媒	100mL
30		150	
50		250	
5		25	

・振とう時間1時間となっていない例

3時間

・ろ過材がろ紙(5B)又はメンブランフィルター(孔径0.45 μ m)
(ICP/AES、ICP/MSで可能)となっていない例

GFP

ろ紙(5C)

1.1 試料液の調製 (Cd&Cu) (2)

(2)参加機関からのコメント等

- ・振とう回数、振とう幅が明示されていない
- ・振とう幅が10 cmに調整できない * :Asにおいて約10cmとなっている
- ・約30 での振とうは難しい
約30 での振とうに疑問がある
- ・振とうからろ過までの時間に留意する(なるべく時間を置かないよう留意する)

1.2 検定の方法 (Cd) (1)

(1)電気加熱原子吸光法では共存物質の影響に留意(標準添加法の適用等)

(例)共存物質の影響により、電気加熱原子吸光法の9回答中で4(44.4%)が外れ値となっており、外れ値の割合は他の方法より多い。

(9回答中で1が標準添加法であり、外れ値の4回答を含めて8回答は絶対検量線法である)。

- ・「JIS K 0102」では電気加熱原子吸光法の適用に関して、
「この方法は、共存する酸、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に適用する」となっており、カドミウムでは標準添加法による測定となっている。
- ・「農用地土壌汚染防止法に規定されている農用地土壌汚染対策地域の指定要件に係る検定の方法」では、カドミウム、銅(砒素も含めて)とも電気加熱原子吸光法は適用されていない。

分析方法別の回答数 (Cd)

分析方法	回答数	棄却された回答数					計
		n 3	ND等	Grubbs		室内精度 大きな値	
				小さな値	大きな値		
1. フルム原子吸光法	125	0	0	1	2	0	3
2. 電気加熱原子吸光法	9	0	0	1	2	1	4
3. ICP発光分光分析法	165	2	0	3	0	0	5
4. ICP質量分析法	79	0	0	2	1	0	3
5. その他	0	-	-	-	-	-	-
合計	378	2	0	7	5	1	15

1.2 検定の方法(Cd)(2)

(2)ICP発光分光分析法では共存物質の影響に留意

(例)共存物質の影響のためか、
フレイム原子吸光法等に比べて、ICP発光分光分析法は平均値が小さく、ばらつきがある

分析方法	回答数	平均値 (mg/kg)	室間精度	
			S.D. (mg/kg)	CV %
1.フレイム原子吸光法	122	1.49	0.147	9.9
2.電気加熱原子吸光法	5	1.37	0.100	7.3
3.ICP発光分光分析法	160	1.36	0.214	15.7
4.ICP質量分析法	76	1.43	0.176	12.3
5.その他	0	-	-	-

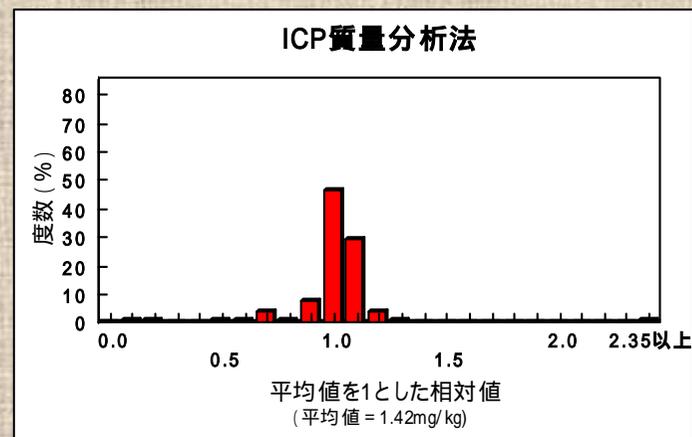
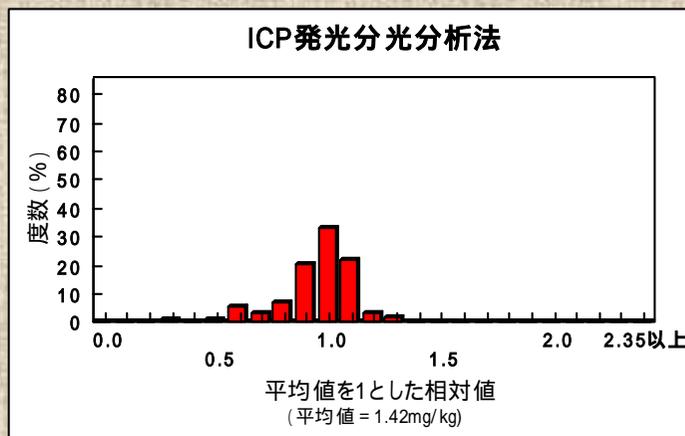
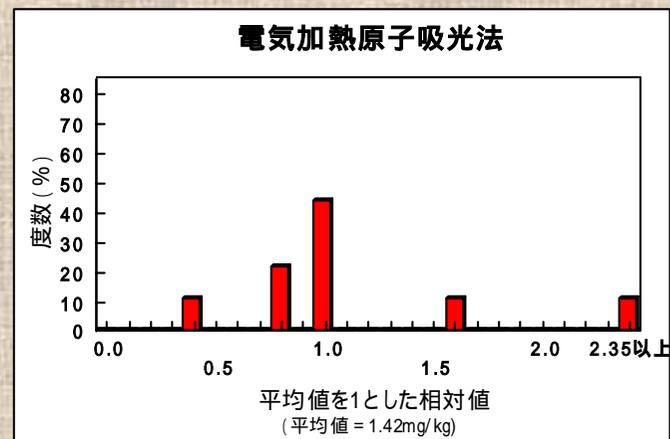
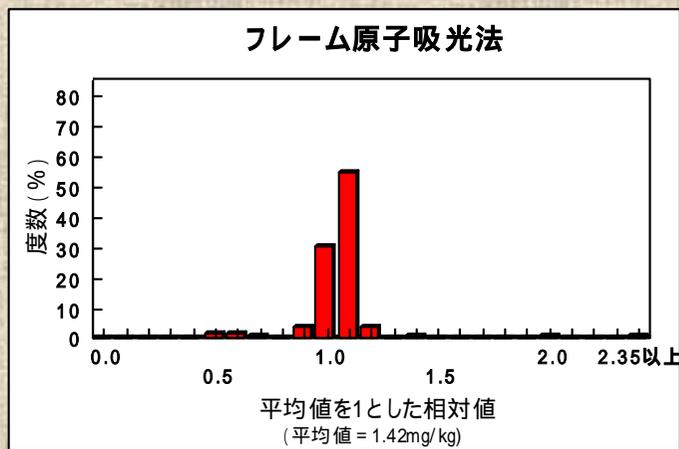
(注) 偏り(平均値の差)及び精度の違いは以下の水準間に認められる(危険率5%)。

平均値: 1と3

精度: 1と3

1.2 検定の方法(Cd)(1)(2)

分析方法別の比較



1.2 検定の方法(Cd)(2)

(例) 共存物質の影響のためか、溶媒抽出を実施しないと低値となっている。
特に、ICP発光分光分析法は平均値が小さい。

溶媒抽出 *	回答数	平均値 (mg/kg)	室間精度	
			S.D.(mg/kg)	CV %
フレイム原子吸光法				
1 実施する	14	1.56	0.144	9.2
2 実施しない	107	1.48	0.145	9.8
電気加熱原子吸光法				
1 実施する	0	-	-	-
2 実施しない	5	1.37	0.100	7.3
ICP発光分光分析法				
1 実施する	12	1.42	0.301	21.2
2 実施しない	144	1.36	0.208	15.3
ICP質量分析法				
1 実施する	1	1.32	-	-
2 実施しない	74	1.44	0.168	11.7

(注1) 精度の違いは水準間にみられないが、偏り(平均値の差)は以下の水準間に認められる(危険率5%)。

平均値：フレイム原子吸光法1と2

(注2) 検定は同じ方法間で行っている。

(注3) *：不明の場合には、「実施しない」に区分している。

1.2 検定の方法(Cu)(1)(2)

(1)電気加熱原子吸光法では共存物質の影響に留意
(標準添加法の適用等)

外れ値を除いてもばらつき大きい。

(外れ値の1回答を含めて5回答は絶対検量線法である)。

(2)カドミウムと異なり、ICP発光分光分析法では共存物質の影響はみられていない
(フレーム原子吸光法とICP発光分光分析法の平均値には差がない)。

分析方法	回答数	平均値 (mg/kg)	室間精度	
			S.D. (mg/kg)	CV %
1. フレーム原子吸光法	132	12.1	2.26	18.7
2. 電気加熱原子吸光法	4	16.0	4.58	28.6
3. ICP発光分光分析法	157	12.0	2.68	22.3
4. ICP質量分析法	64	11.7	3.09	26.3
5. ジェルゲルチカハミド酸吸光光度法	0	-	-	-
6. その他	0	-	-	-

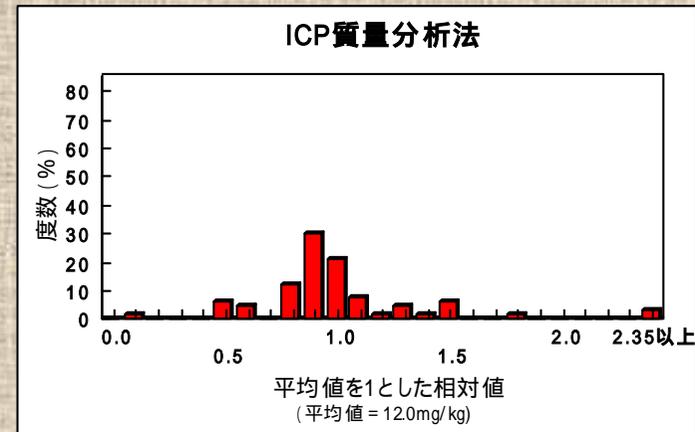
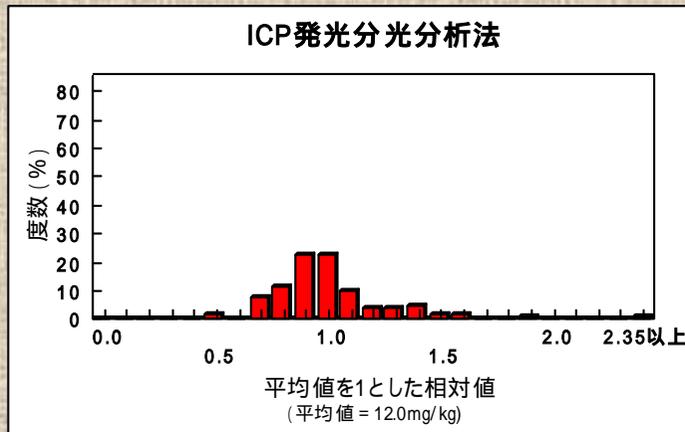
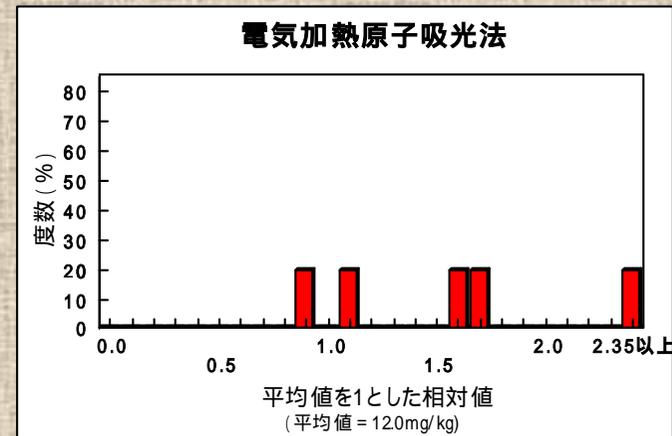
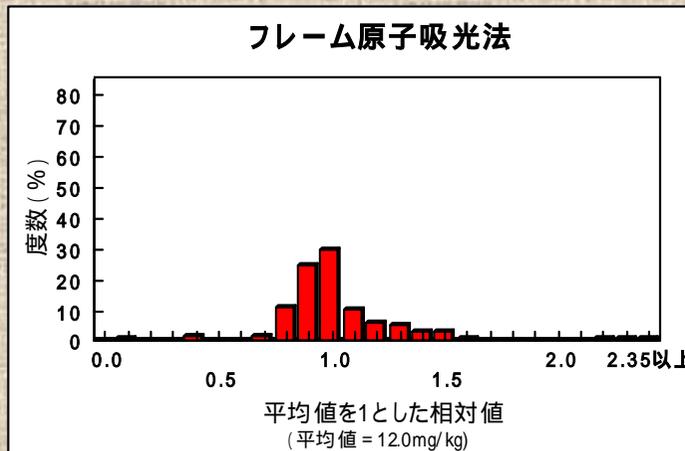
(注) 偏り(平均値の差)及び精度の違いは以下の水準間に認められる(危険率5%)。

平均値: 1と2、2と3、2と4

精度: 1と4

1.2 検定の方法(Cu)(1)(2)

分析方法別の比較



1.2 検定の方法(Cu)(3)

(3)ICP質量分析法では共存物質の影響に留意

(例)Cuでは、共存物質の影響のためか、ICP質量分析法での定量方法別に関する解析結果では、絶対検量線法の平均値が内標準法の平均値に比べて小さい

定量方法	回答数	平均値 (mg/kg)	室間精度	
			S.D. (mg/kg)	CV %
ル-μ原子吸光法				
1. 絶対検量線	130	12.2	2.26	18.6
電気加熱原子吸光法				
1. 絶対検量線	4	16.0	4.58	28.6
ICP発光分光分析法				
1. 絶対検量線	71	11.7	2.62	22.5
2. 標準添加	6	10.9	2.82	25.8
3. 内標準	78	12.4	2.72	21.9
ICP質量分析法				
1. 絶対検量線	3	9.73	2.22	22.8
3. 内標準	60	11.8	3.13	26.5

回答数が2以下の方法は省略している

1.2 検定の方法 (Cd&Cu) (4)(5)

(4)参加機関からのコメント等

- ・器具等からの汚染を減らす
前処理での汚染に注意する
- ・検量線の濃度範囲と試料の濃度の関係に留意する
- ・マトリックスの影響に留意する
特に、ICP発光分光分析法で多い(希釈する、干渉に留意する、など)
- ・内標準に留意する (ICP発光分光分析法、ICP質量分析法)
例: Yb、Y、Bi、Coが試料中に含まれていた
Inを使用する
内標準を使用しない (ICP発光分光分析法)
- ・コリジョン・リアクションセルは有効である (ICP質量分析法)

(5)外れ値の原因等 (注意点)

- ・計算間違い : 希釈倍率の間違い
標準液濃度の間違い
土壌濃度に換算していない等
- ・CdとCuを取り違えて報告する
など

2 . 砒素 (As)

- 2 . 1 試料液の調製
- 2 . 2 検定の方法
- 2 . 3 今後の課題等

2.1 試料液の調製 (As) (1)(2)

(1)解析結果では、試料液の調製 (1mol/L塩酸による溶出液)は分析結果に影響はみられなかった

Cd&Cuと同じ

また、不適な操作は若干みられたが、結果への影響はわからなかった
(基本的な条件は守る必要がある)

Cd&Cuと同じ

(2)参加機関からのコメント等

Cd&Cuと同じ

2.2 検定の方法(As)(1)

(1)水素化物発生法とICP質量分析法で平均値に差

水素化物発生法(水素化物発生原子吸光法及び水素化物発生ICP発光分光分析法)の平均値とICP質量分析法の平均値では、ICP質量分析法の方が大きい。前処理(酸分解)、水素化物発生法における予備還元と測定(原子吸光法、ICP発光分光分析法)、ICP質量分析法による測定等の各操作を精査したが、平均値が異なる原因ははっきりわからなかった。

分析方法	回答数	平均値 (mg/kg)	室間精度	
			S.D. (mg/kg)	CV %
1. 水素化物発生原子吸光法	170	0.774	0.208	26.9
2. 水素化物発生ICP発光分光分析法	64	0.726	0.220	30.3
3. ICP質量分析法	66	1.00	0.281	28.0
4. ジェルゼリチン酸銀吸光光度法	1	0.839	-	-
5. その他 ICP発光分光分析法	1	1.74	-	-

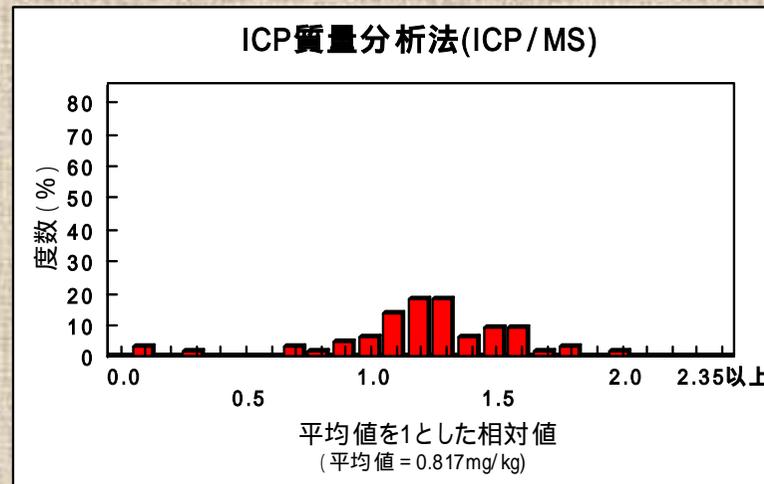
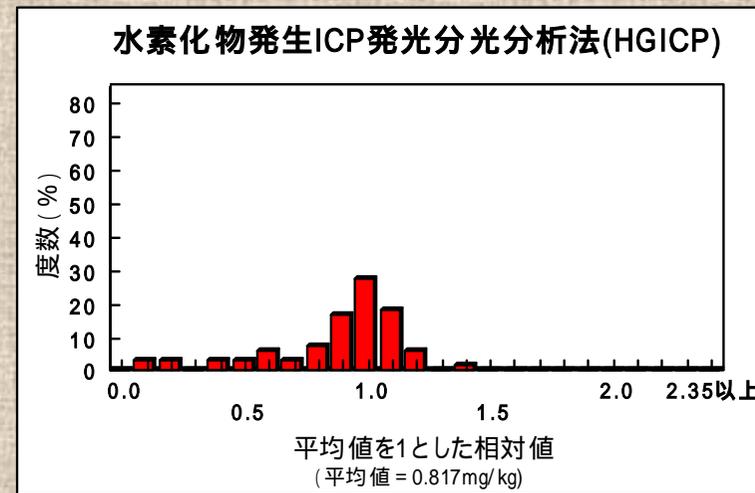
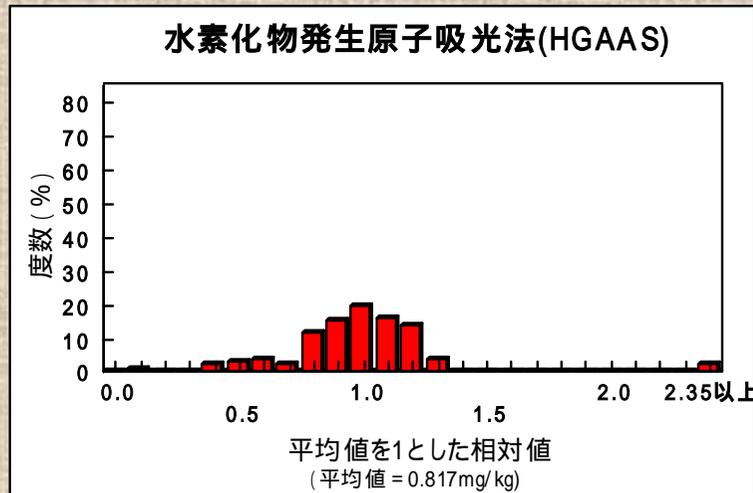
(注) 偏り(平均値の差)及び精度の違いは以下の水準間に認められる(危険率5%)。

平均値: 1と3、2と3

精度: 1と3

2.2 検定の方法(As)(1)

分析方法別の比較



2.2 検定の方法(As)(2)

(2)予備還元は必要(水素化物発生法)

予備還元をしないと低値となっている

予備還元等に用いた試薬	回答数	平均値 (mg/kg)	室間精度	
			S.D.(mg/kg)	CV %
水素化物発生原子吸光法				
1.よう化加ム	150	0.779	0.203	26.0
2.よう化加ム、アスコルビ`ン酸	14	0.791	0.195	24.7
3.よう化加ム、塩化すず()	1	0.825	-	-
4.なし(不明を含む)	5	0.543	0.330	60.8
水素化物発生ICP発光分光分析法				
1.よう化加ム	62	0.734	0.217	29.6
2.よう化加ム、アスコルビ`ン酸	2	0.469	-	-
3.よう化加ム、塩化すず()	0	-	-	-
4.なし(不明を含む)	0	-	-	-

(注1) 精度の違いは水準間にみられないが、偏り(平均値の差)は以下の水準間に認められる(危険率5%)。

平均値：水素化物発生原子吸光法1と4

(注2) 検定については、同じ分析方法中の定量方法間で行っている。

2.2 検定の方法(As)(3)

(3)コリジョン・リアクションセルの使用は効果(ICP質量分析法)

コリジョン・リアクションセルを使用しないとばらつきが大きい

スペクトル干渉の低減又は補正等	回答数	平均値 (mg/kg)	室間精度	
			S.D.(mg/kg)	CV %
質量分析計				
1.四重極	65	1.01	0.283	28.2
2.二重収束	0	-	-	-
コリジョン・リアクションセル				
1.行わない	3	0.888	0.767	86.4
2.行う	62	1.01	0.253	25.1
水素化物発生				
1.行わない	65	1.01	0.283	28.2
2.行う	0	-	-	-
補正式による補正				
1.行わない	63	1.02	0.272	26.8
2.行う	0	-	-	-

(注1) 偏り(平均値の差)の違いは認められないが、精度の違いは以下の水準間に認められる(危険率5%)。

精度: コリジョン・リアクションセル1と2

(注2) 検定については、同じスペクトル干渉の低減又は補正等の方法間で行っている。

2.2 検定の方法(As)(4)(5)

(4)参加機関からのコメント等

水素化物発生法

- ・硫酸の白煙を十分に発生させ、硝酸の除去に留意する
- ・予備還元時間を長くする
- ・酸濃度を合わせる

ICP質量分析法

- ・内標準に留意する
例: Y、Bi、Ga、Scが試料中に含まれていた
Inを使用する
Rhを使用する
- ・多原子イオン(ArCl)の干渉に留意する

(5)外れ値の原因等(注意点)

- ・計算間違い
エクセルでの単純な計算間違い
土壌濃度に換算していない
など

2.3 今後の課題等 (As)

HGAASとICPMSの偏り要因

- HGAAS(HGICP)
 - 前処理 (硫酸分解) に採取する溶出液の量 (Asとして0.1 ~ 1 μg) : 多すぎると↓ (採取量は<5mL)
 - 予備還元 (反応時間、還元剤組成、還元剤濃度) : 不足すると↓
- ICPMS
 - スペクトル干渉 (ArCl, CaCl, 希土類の2価イオン : すべて↑)
 - 非スペクトル干渉 (共存元素↓、炭素↑)

2.3 今後の課題等 (As)

ICPMSに見られた問題点

前処理 回答の大部分は、「硝酸を使用した処理」又は「前処理しない」であった

前処理に用いた酸等	回答数	平均値 (mg/kg)	室間精度	
			S. D. (mg/kg)	CV %
11. 硝酸、硫酸	14	0.876	0.330	37.6
17. 硝酸	19	1.04	0.335	32.4
20. なし (前処理しない)	30	1.04	0.217	20.9

測定

塩素等を多量に含む

多原子イオン ($\text{Ar}^{40}\text{Cl}^{36}$ $\text{Ca}^{40}\text{Cl}^{36}$ 等) のスペクトル干渉を補正又は低減

・ 補正する方法

Cl^{36} と Cl^{37} との同位体比が一定であること利用した補正式等 ×

・ 低減する方法

二重収束 (高分解能) 質量分析の使用 ×

コリジョン・リアクションセルの使用 ○

水素化物発生による導入 ×

× : 回答なかった (実施なし)

○ : ほとんどが実施していた (後記参照)

この結果は溶出液 (1M HCl) を硫酸白煙まで前処理して塩素を飛ばすと低い値となり、飛ばさないと高い値になっていることから、塩素によるスペクトル干渉がうまくコントロールできていないことを示す結果。コリジョン・リアクションガスの流量最適化、CaClの干渉見積もりと差引が必要。(cf 溶出液中Ca濃度: 1300 ppm)

今後の課題等 (As)

今後の検討 (例)

・今年度の土壌試料による検討

水素化物発生法とICP質量分析法による慎重な分析を通して、この試料中の正確なAsの値を求めることで、どちらの分析方法が偏った回答をもたらしたか、調べる。

→ この結果は次ページ以降

・今後の砒素に関する調査(追跡調査)による検討

土壌試料(又は類似したマトリックスを持つ試料)が調査対象の場合、砒素を対象項目として調査する。

土壌試料で再度調査(追跡調査)することが望ましいが、本調査では各種の試料・項目を対象としており、直ちに土壌試料中のAsとしての対応は難しいと考えられる。

→ H25では底質試料中のAsを調査する予定

今年度の土壌試料による検討 (As)

- HGAAS

- 現JIS K 0102(2010)準拠

- 1M塩酸、KI、反応時間30分

- 新JIS K 0102(2013; 予定)準拠

- 2M塩酸、KI+アスコルビン酸、反応時間60分

- ICPMS

- リアクションセル(H_2 5mL/min)

- 標準添加法

- スペクトル干渉補正 ($CaCl$, $^{150}Nd^{2+}$, $^{150}Sm^{2+}$)

参考情報: 溶出液の共存元素濃度(約)

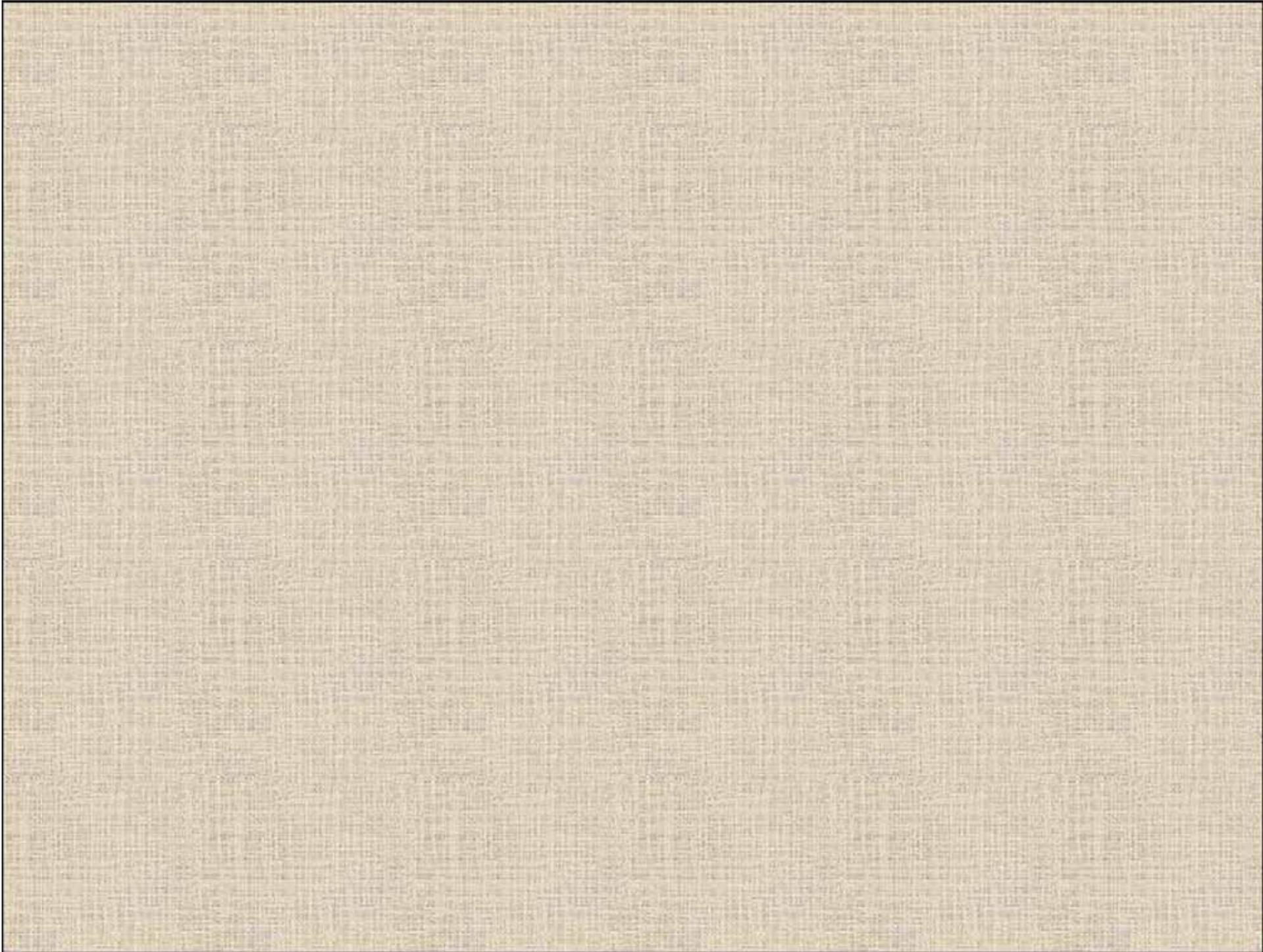
Al 3900 ppm; Ca 1300 ppm; Fe 1100 ppm

Nd 2 ppm; Sm 0.04 ppm

今年度の土壌試料による検討 (As)

追加検討の結果 (mg/kg)

	現JIS HGAAS	新JIS HGAAS	ICPMS
追加検討	新JISよりも低 値となる (0.707 ± 0.076)	H24調査結果より も高値となる (0.897 ± 0.023)	H24調査結果よりも低値と なる (0.939 ± 0.018)
H24調査結果	0.774 ± 0.208		1.00 ± 0.281
備考 (課題等)	追加検討においても、HG法はICPMSより低い値となっている。 新JISで多くの回答が得られる調査が望まれる (H24での新JISに類 似する回答「KI + アスコルビン酸による予備還元」は少なかった)		



. 底質試料1 (PCBの分析)

- 1 . 要因別の解析
- 2 . 外れ値の原因
- 3 . クロマトグラムの例
- 4 . 追跡調査

1. 要因別の解析

外れ値等を棄却後の解析

(分析結果に影響のあった要因の例)

(操作順に記載)

- ・ 分析方法 (抽出操作)
- ・ 分析方法 (クリーンアップ操作)
- ・ 分析方法 (測定操作)
- ・ サロゲート及びシリンジスパイクの添加
- ・ 標準物質の種類
- ・ 定量方法
- ・ 分析カラム

分析方法（測定操作）に関する解析

分析方法（測定操作）	回答数	平均値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	室間精度	
			S.D. ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	CV %
1.パット・カラム-GC/ECD	97	123	56.3	45.9
2.キャピラリーカラム-GC/ECD	53	115	46.3	40.4
3.キャピラリーカラム-GC/QMS	2	109	-	-
4.キャピラリーカラム-GC/HRMS	9	136	18.5	13.6
5,その他	0	-	-	-
全体	161	121	51.6	42.8

(注) 偏り（平均値の差）はみられないが、精度の違いは下記の水準間に認められる
（危険率5%）。

精度：1と4、2と4

分析方法別の要因解析の結果の概要1

分析方法(測定操作)	パッド・カラム	キャピラリー・カラム		
	ECD	ECD	QMS(四重極)	HRMS(高分解能)
分析方法(抽出操作)	アルカリ分解-ヘキサン抽出			トルエン(ソックスレー等)抽出
	アルカリ分解-ヘキサン抽出の方が室間精度良くない。			
分析方法(クリーンアップ操作)	「硫酸処理-シリカゲル」又は「シリカゲル」			「硫酸処理-多層シリカゲル」又は「多層シリカゲル」
	「硫酸処理-シリカゲル」又は「シリカゲル」の方が室間精度良くない。			

分析方法別の要因解析の結果の概要2

分析方法(測定操作)	パッドカラム	キャピラリーカラム	
	ECD	ECD	QMS(四重極) HRMS(高分解能)
サロゲートの添加	なし		あり
	サロゲート添加なしの方が室間精度良くない。		
シリンジスパイクの添加	なし		あり
	シリンジスパイク添加なしの方が室間精度良くない。		
標準物質の種類	KC-300 ~ KC-600の等量混合物		1 ~ 10塩素化物を各ひとつ以上含む混合物
	KC-300 ~ KC-600の等量混合物の方が室間精度良くない。		
定量方法	検量線法(係数法)		内標準法
	検量線法(係数法)の方が室間精度良くない。		
分析カラム	OV-1、OV-17	DB1、DB5(MS)、HP1、HP5、Rtx5(MS)、Rtx-1	HT8(PCB)
	OV-1、OV-17、DB1、DB5(MS)の室間精度良くない。		

分析方法(抽出操作)に関する解析

分析方法(抽出操作)	回答数	平均値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	室間精度	
			S.D. ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	CV %
1. 刃加分解へ抽出	151	119	52.6	44.3
2. その他 HPLC(ツクルー等)抽出	6	149	19.8	13.3
3. ASE抽出	2	156	-	-
4. アトシ HPLC(ツクルー)抽出	1	147	-	-
5. アトシへ抽出(振とう、超音波)抽出	1	111	-	-

(注) 偏り(平均値の差)は水準間みられなく、精度の違いは以下の水準間に認められる
(危険率5%)。

精度:1と2

分析方法(主なクリーンアップ操作)に関する解析

分析方法 (クリーンアップ 操作)	回答 数	平均値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	室間精度	
			S.D. ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	CV %
1. 硫酸処理	4	123	27.3	22.1
2. 硫酸処理、シガール	99	120	55.9	46.5
3. 硫酸処理、分配、シガール	2	89.7	-	-
4. 硫酸処理、シガール、硫黄処理	15	122	43.4	35.5
5. シガール	14	114	66.2	58.0
6. 硫酸処理、多層	4	148	19.5	13.2
7. 硫酸処理、シガール、ワジール	5	135	38.6	28.6
10. 硫黄処理、多層	3	138	15.8	11.4
14. 多層	3	136	32.0	23.6

スパイクの添加に関する解析

サロゲートの使用	回答数	平均値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	室間精度	
			S.D. ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	CV %
1.あり	11	131	26.3	20.1
2.なし	150	120	53.0	44.2

(注) 偏り (平均値の差) は水準間にみられないが、精度の違いは以下の水準間に認められる (危険率5%)。

精度：1と2

シリンジスパイクの使用	回答数	平均値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	室間精度	
			S.D. ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	CV %
1.あり	11	131	26.3	20.1
2.なし	150	120	53.0	44.2

(注) 偏り (平均値の差) は水準間にみられないが、精度の違いは以下の水準間に認められる (危険率5%)。

精度：1と2

標準物質の種類に関する解析

標準物質	回答数	平均値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	室間精度	
			S.D. ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	CV %
1.KC-300 ~KC-600の等量混合物	135	124	51.4	41.4
2.1 ~10塩素化物を各ひとつ以上含む混合物	11	131	26.3	20.1
3.その他	0	-	-	-

(注) 偏り (平均値の差) は水準間みられなく、精度の違いは以下の水準間に認められる (危険率5%)。

精度: 1と2

定量方法の種類に関する解析

定量方法	回答数	平均値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	室間精度	
			S.D. ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	CV %
1. 絶対検量線法(係数法を含む)	124	124	51.4	39.7
2. 標準添加法	0	-	-	-
3. 内標準法	0	-	-	-
4. ガーメントを用いた内標準法	11	131	26.3	20.1

(注) 偏り(平均値の差)は水準間にみられないが、精度の違いは以下の水準間に認められる(危険率5%)。

精度: 1と4

分析カラムに関する解析

カラム	回答数	平均値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	室間精度	
			S.D. ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	CV %
(パックドカラム)				
1.0V-1	61	120	58.7	48.7
2.0V-17	33	127	55.0	43.3
(キャピラリーカラム)				
6.DB1	6	87.6	40.7	46.4
7.DB5(MS)	21	111	57.3	51.6
8.HP1	3	130	29.0	22.4
9.HP5(MS)	5	143	51.7	36.3
10.HT8(PCB)	7	139	19.8	14.3
13.Rtx5(MS)	11	108	30.3	27.9
15.Rtx1	3	135	30.6	22.6

HT8(PCB) : GC/HRMSで使用

2. 外れ値の原因

外れ値等の原因

外れ値等7回答のうち、

3回答は単純な間違い(単位間違い又は記載間違い)である。

残りの4回答の原因は明確とならなかった。

(平均値からの離れが大きいことから、単純な間違いの可能性はある)

3. クロマトグラムの例

クロマトグラムの例 パックドカラム (OV-1)

(JIS K 0093:2006) より引用

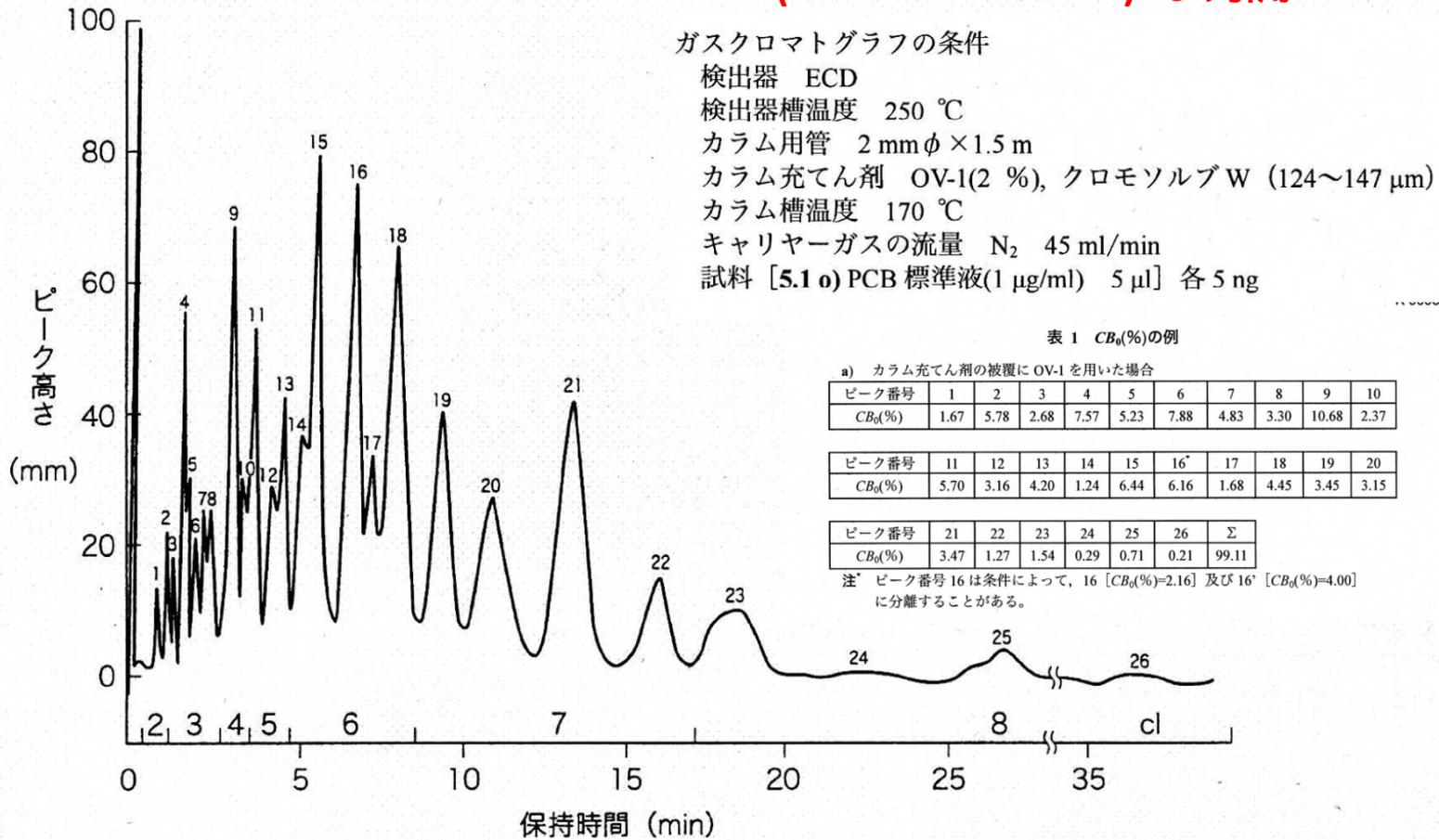


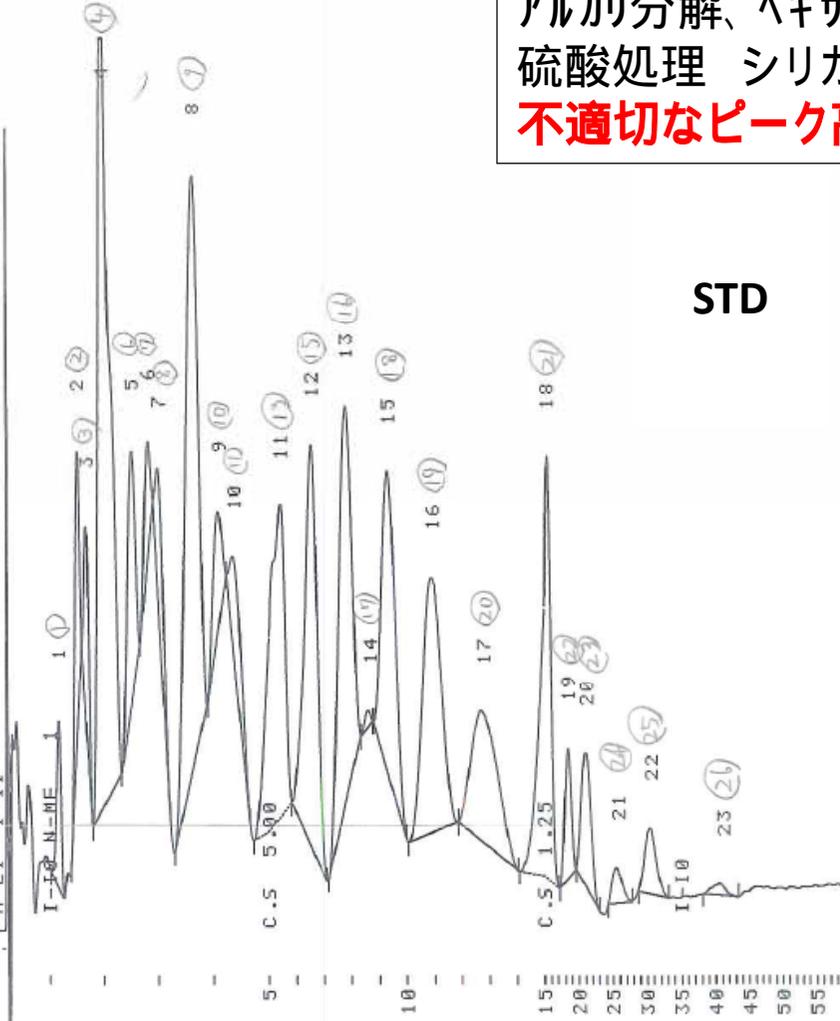
図1 カラム充てん剤の被覆に OV-1 を用いたときのクロマトグラムの例

クロマトグラムの例 OV-1

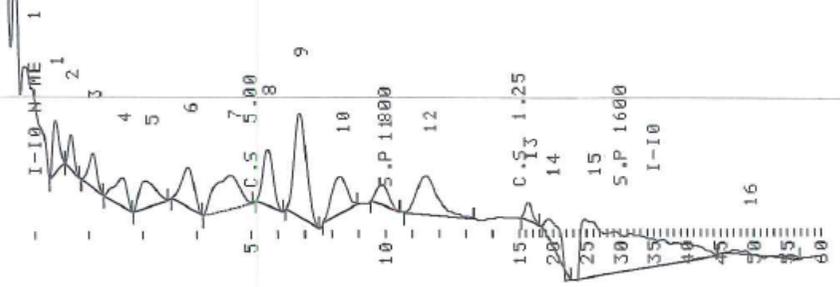
試料量 2g
アルカリ分解、ヘキサン抽出
硫酸処理 シリカゲル OV-1
不適切なピーク高さの取り方

P.

CH. 1 C.S 10.00 ATT 3 OFFS 0 11/09/12 08:31
I-10 N-ME I-11



CH. 1 C.S 10.00 ATT 3 OFFS 0 11/09/12 16:06
I-10 N-ME I-11



クロマトグラムの例 OV-1

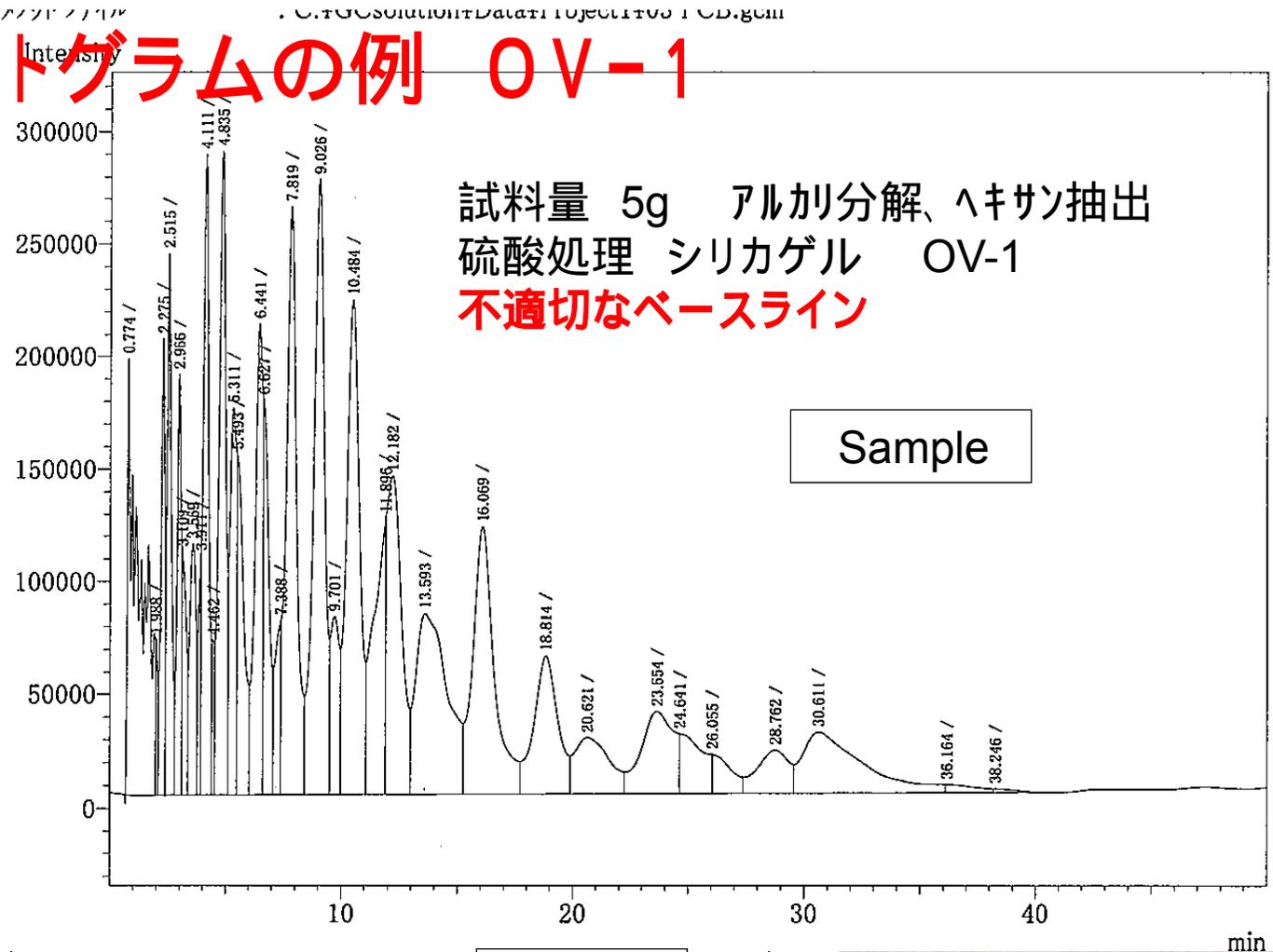
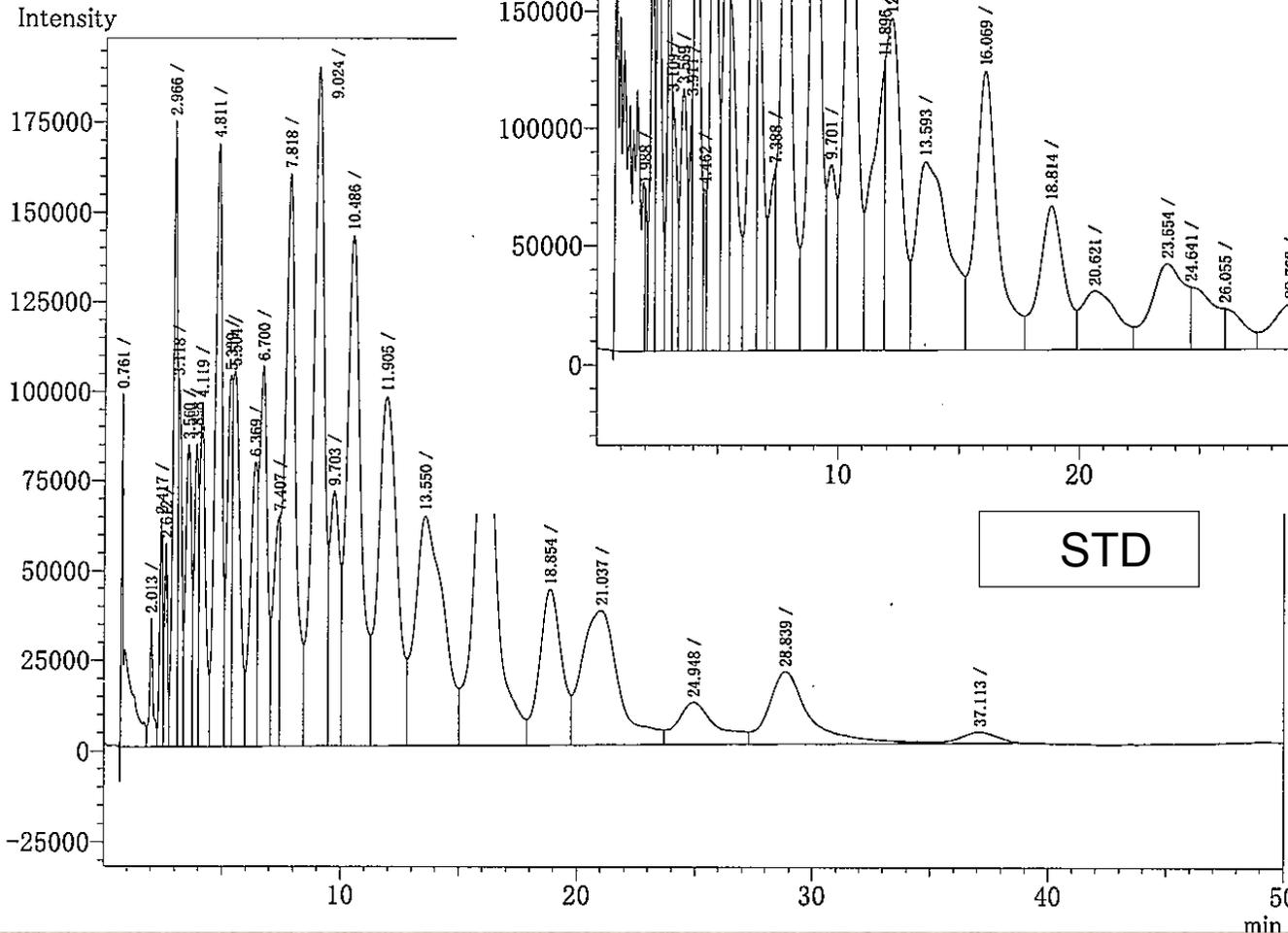
試料量 5g アルカリ分解、ヘキサン抽出
硫酸処理 シリカゲル OV-1
不適切なベースライン

Sample

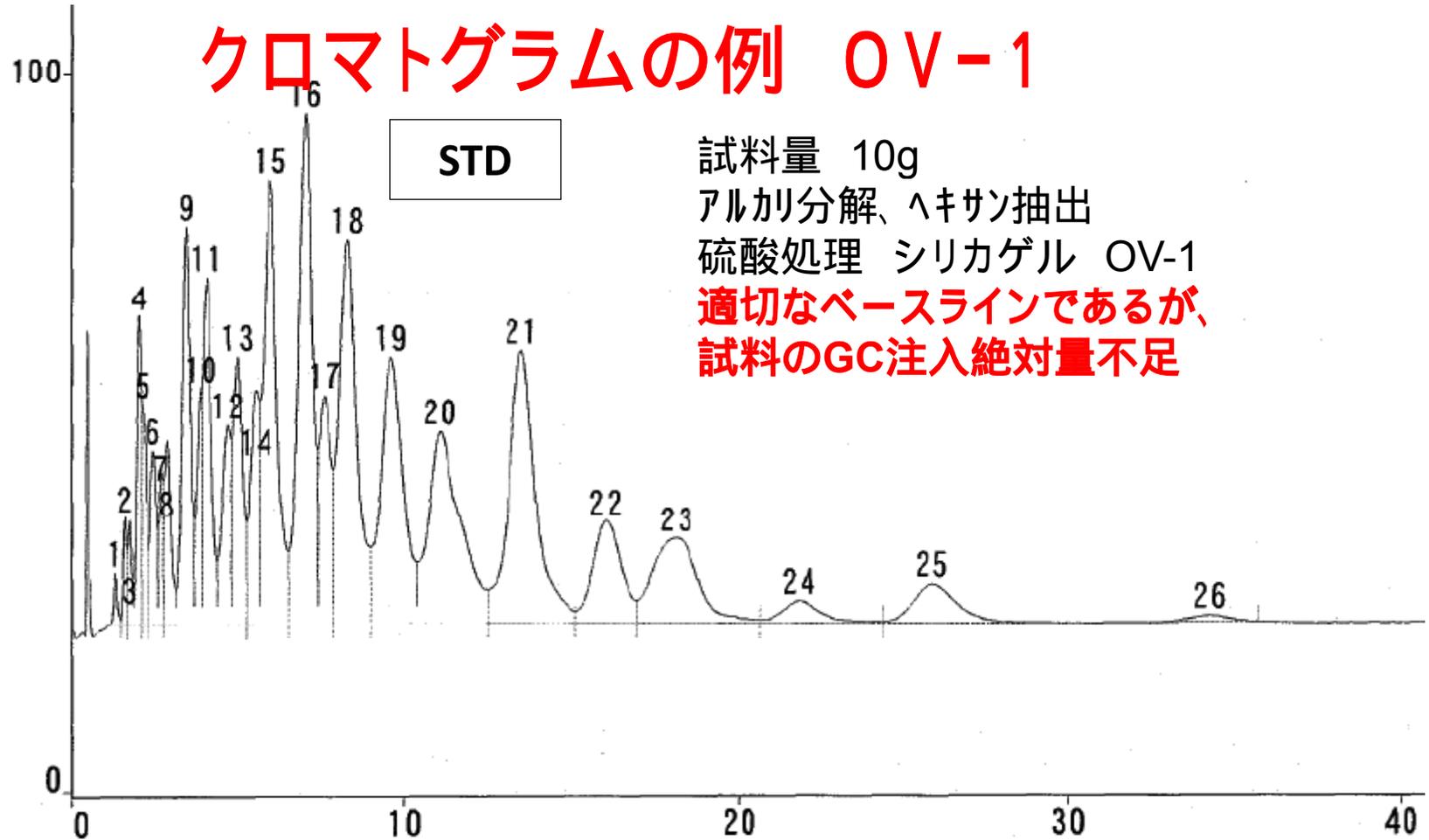
STD

min

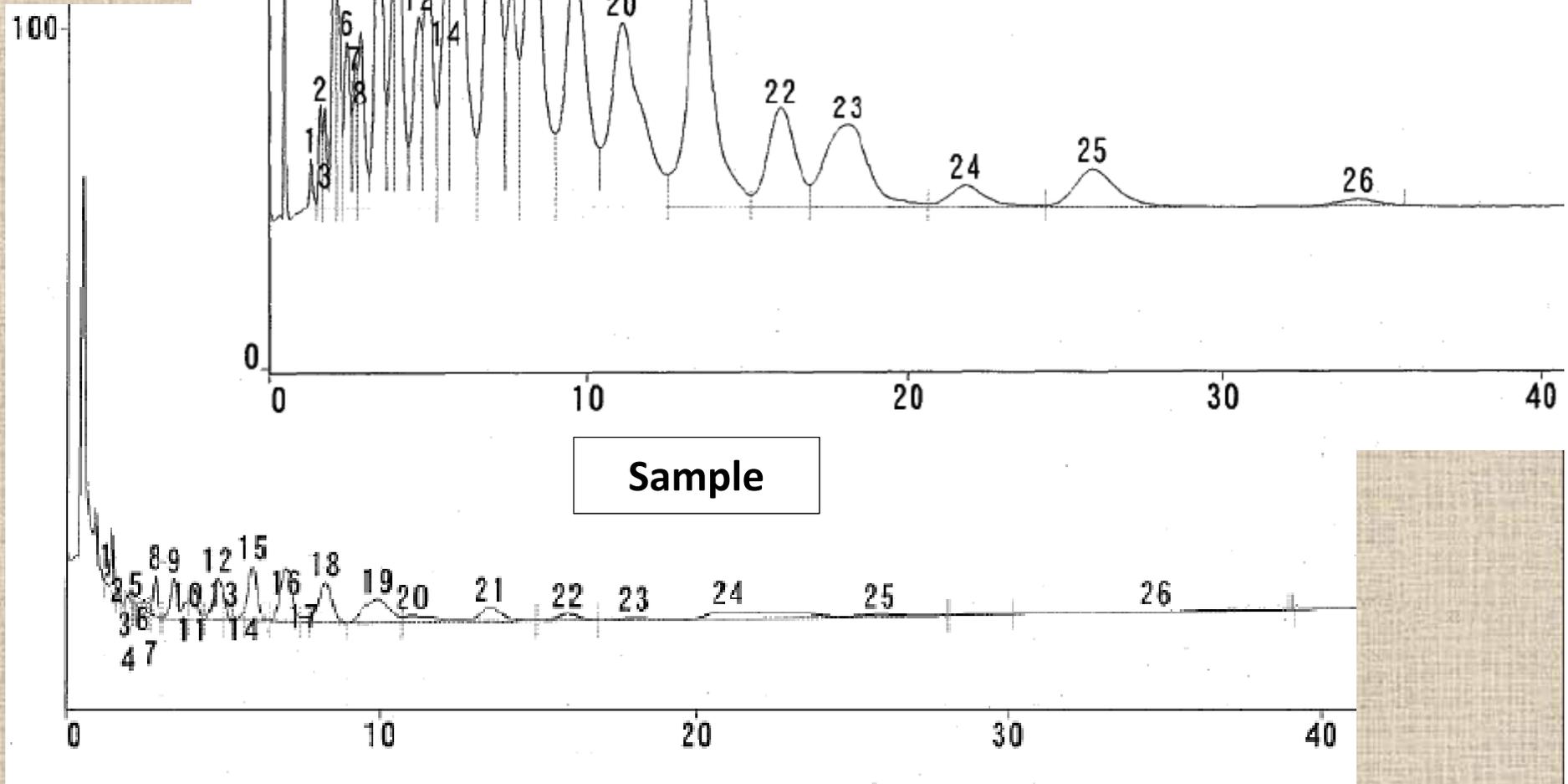
min



クロマトグラムの例 OV-1



試料量 10g
アルカリ分解、ヘキサン抽出
硫酸処理 シリカゲル OV-1
**適切なベースラインであるが、
試料のGC注入絶対量不足**



クロマトグラムの例 パックドカラム(OV-17)

(JIS K 0093:2006) より引用

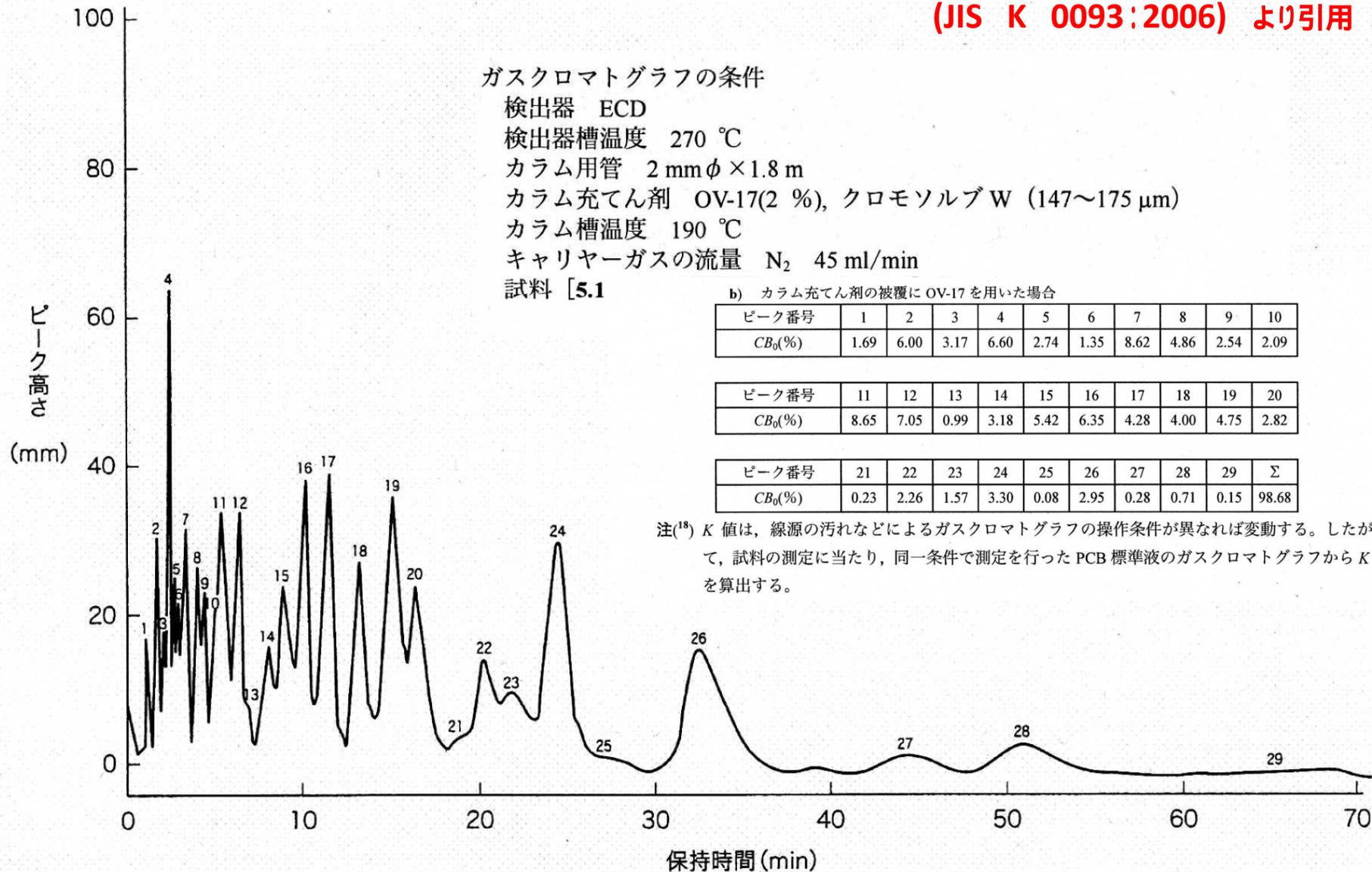


図2 カラム充てん剤の被覆に OV-17 を用いたときのクロマトグラムの例

クロマトグラムの例 OV-17

メソッドファイル

: D:\METHOD\12-10月\121022C.gcm

Intensity

50000

試料量 5 g アルカリ分解、ヘキサン抽出
硫酸処理 シリカゲル OV-17

← 試料1と2の抽出内容が異なる

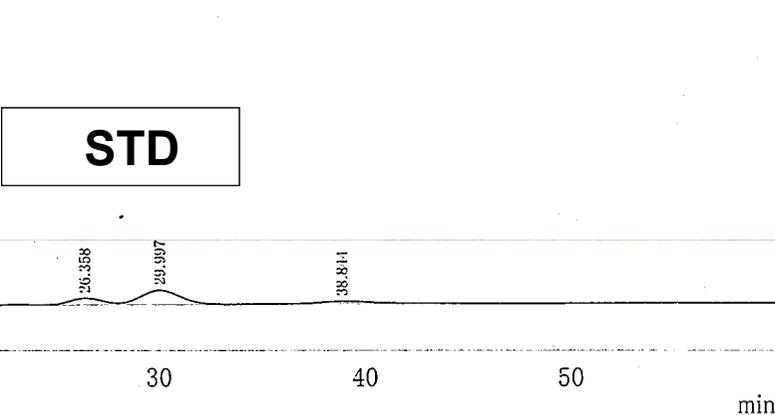
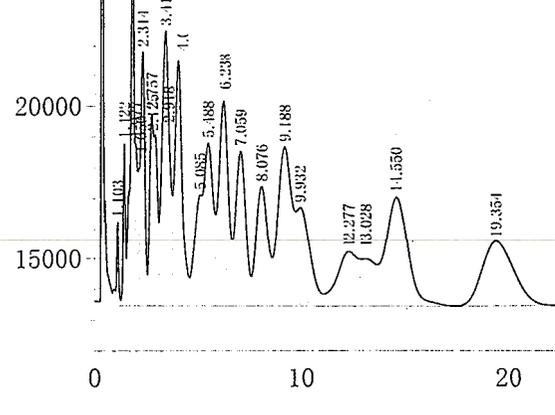
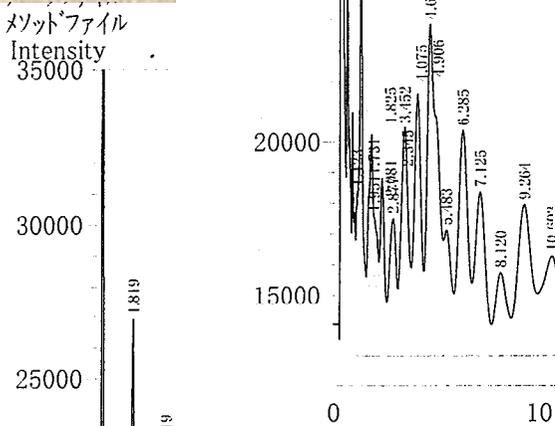
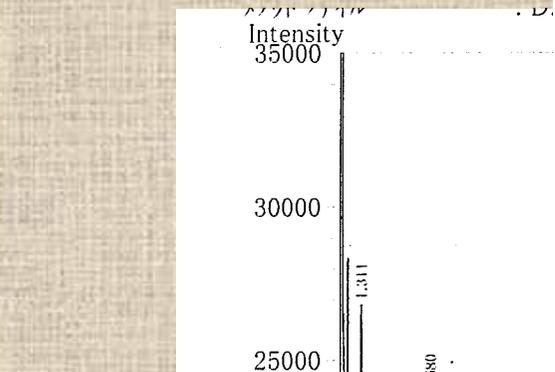
クロマト全体形状は似るが、抽出の度合いが
違っていると考えられる。

ピーク高さの取り方は不明

Sample 2

Sample 1

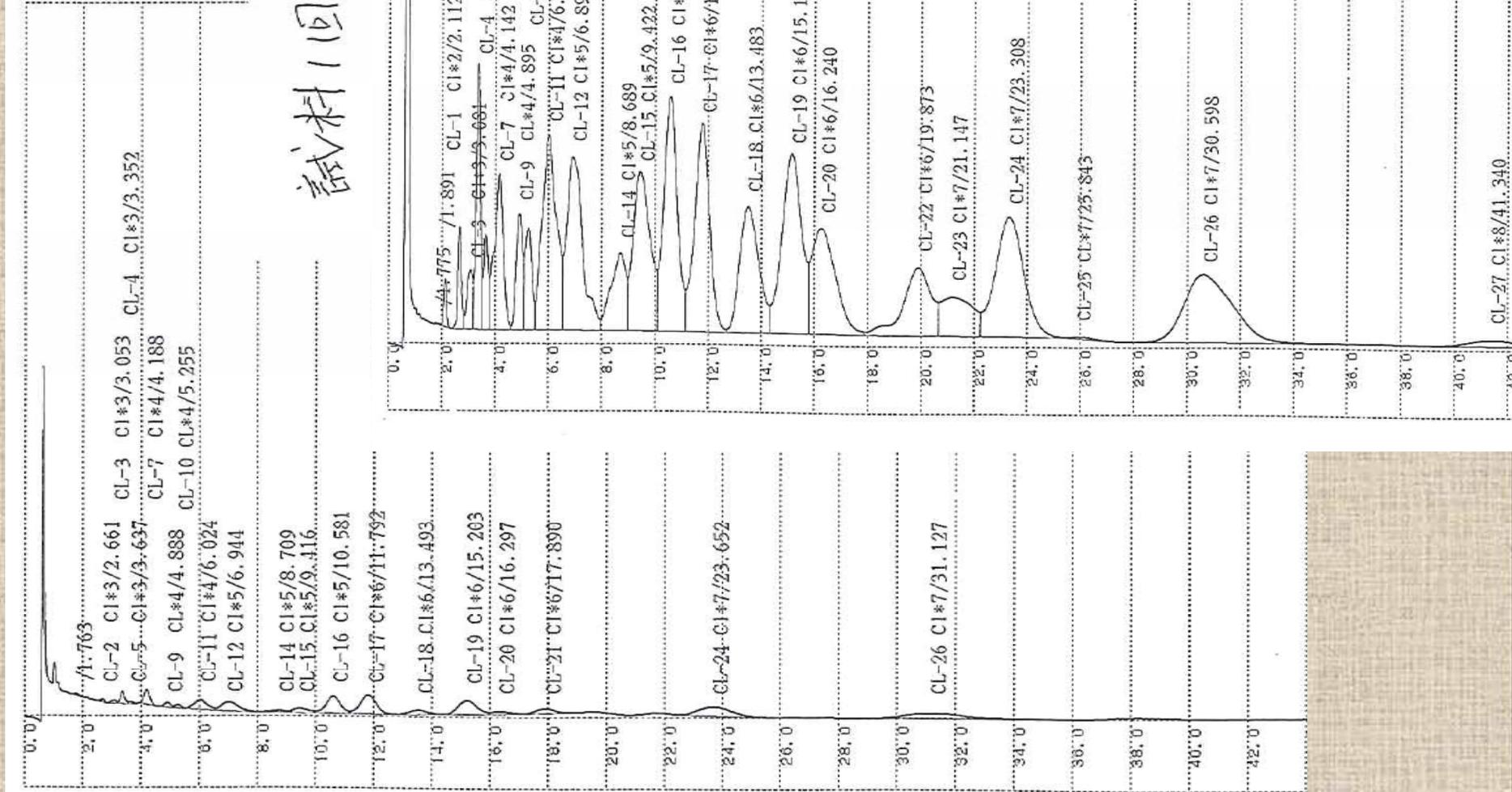
STD



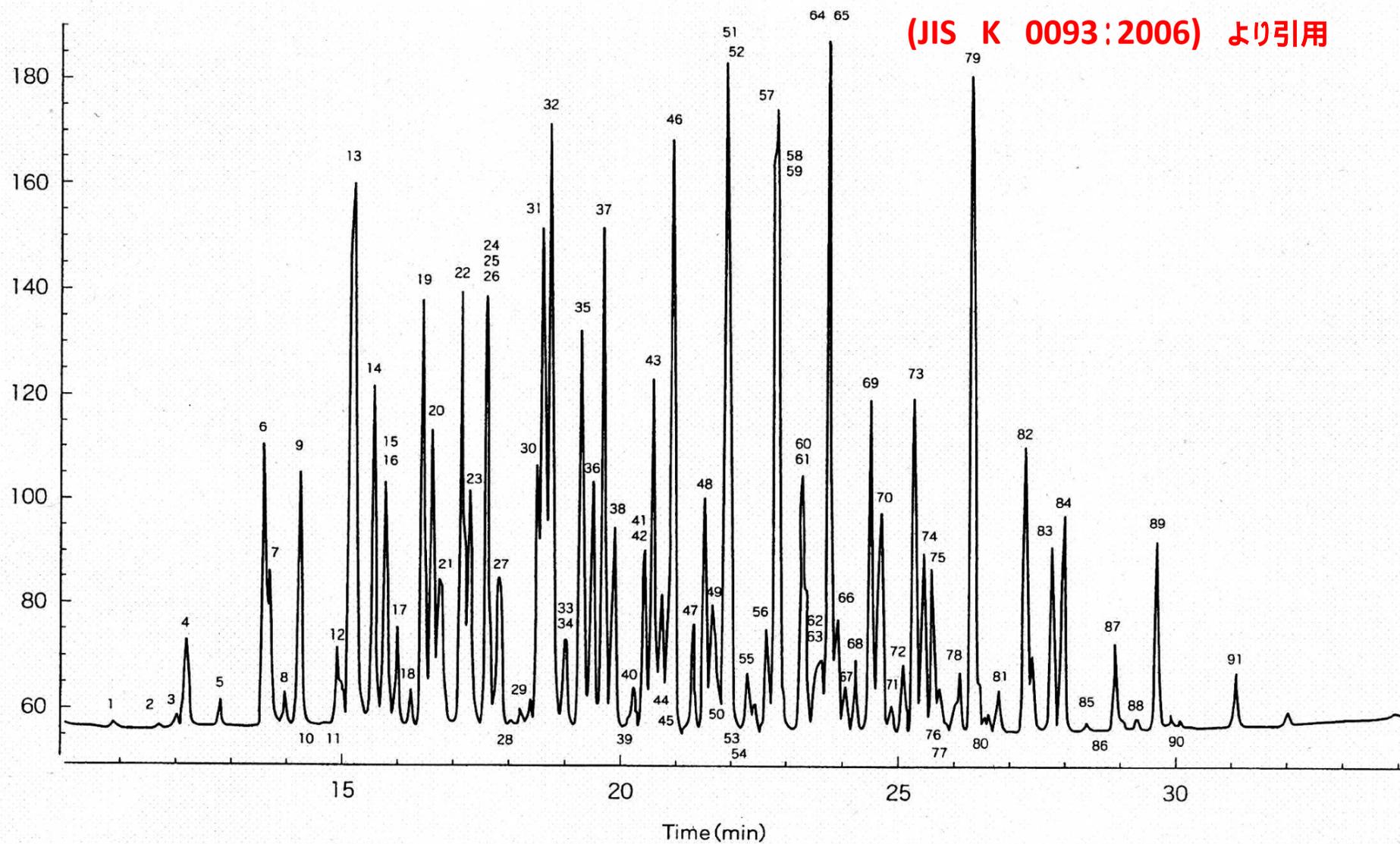
クロマトグラムの例 OV-17

検体

試料量 4g アルカリ分解、ヘキサン抽出
 硫酸処理 シリカゲル OV-17
GC注入絶対量が少ない
STDと同程度の量が好ましい



クロマトグラムの例 キャピラリーカラム

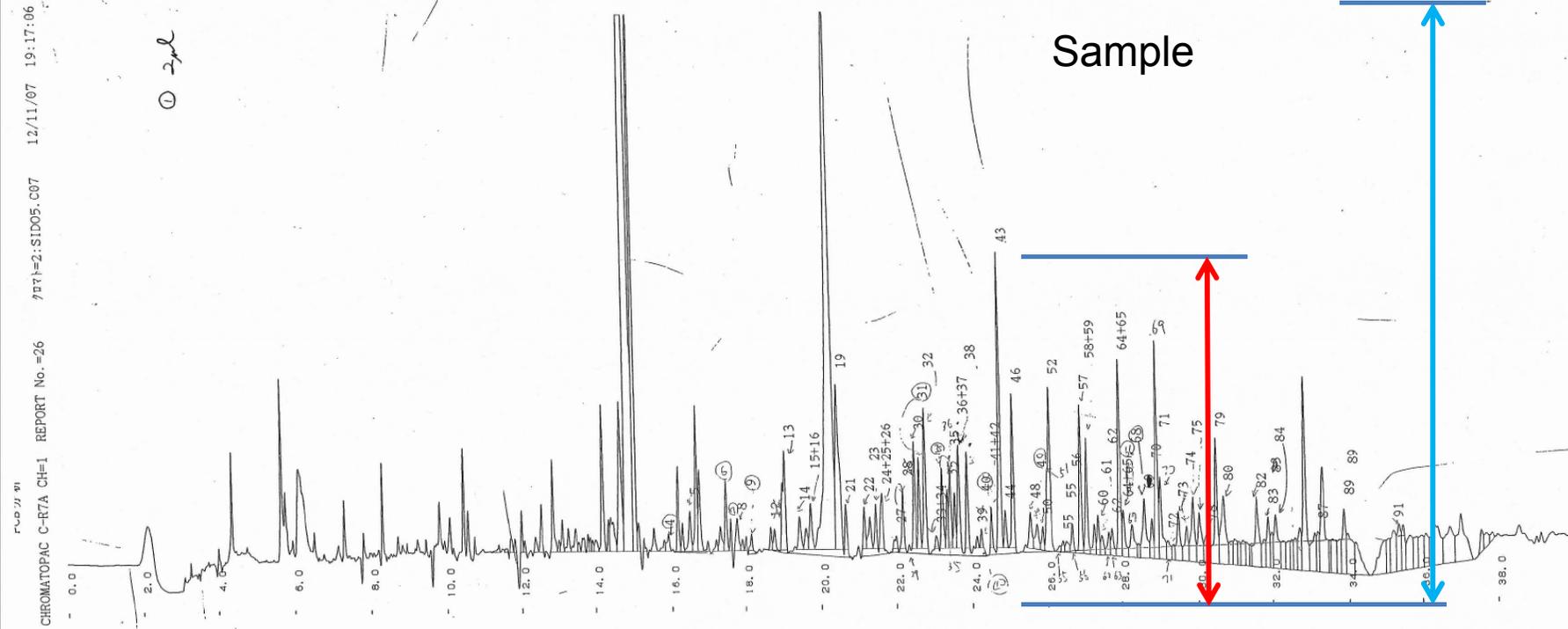


附属書 2 図 1 キャピラリーカラム (5 %フェニルメチルシリコーン) を用いた場合のクロマトグラムの例

クロマトグラムの例 キャピラリーカラム

試料量 3g アルカリ分解、ヘキサン抽出
硫黄処理 硫酸シリカゲル RH12(MS)

**ECD汚れあり(マイナスピーク)。
検出レンジ幅を有効に使う必要あり。**

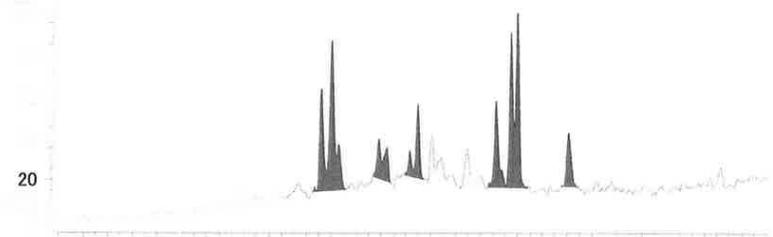
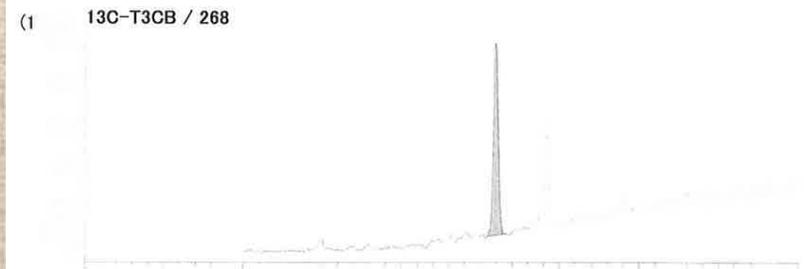
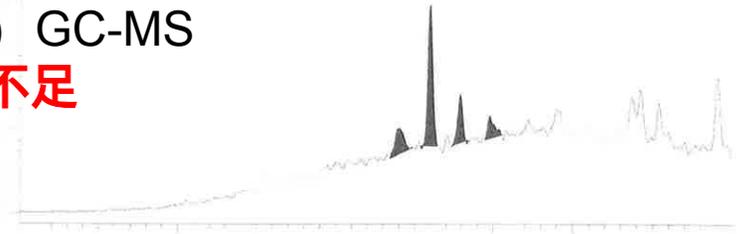
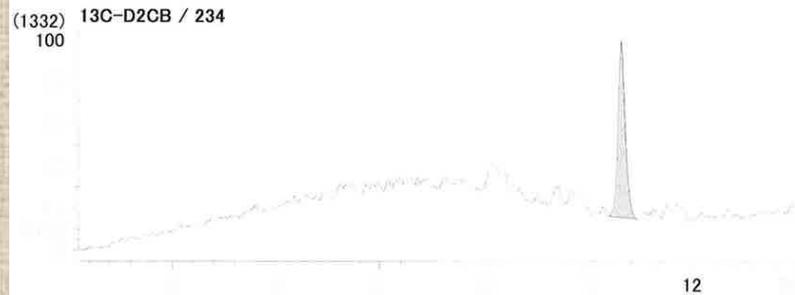
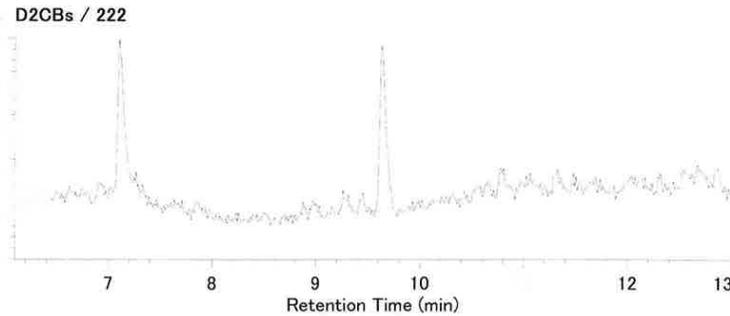
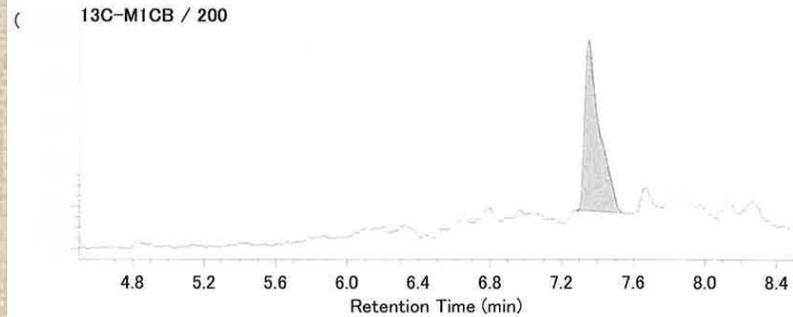
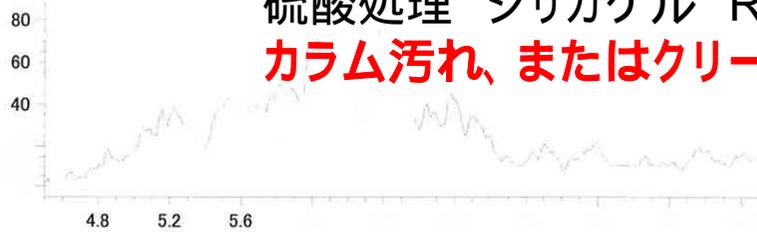


クロマトグラムの例 キャピラリーカラム

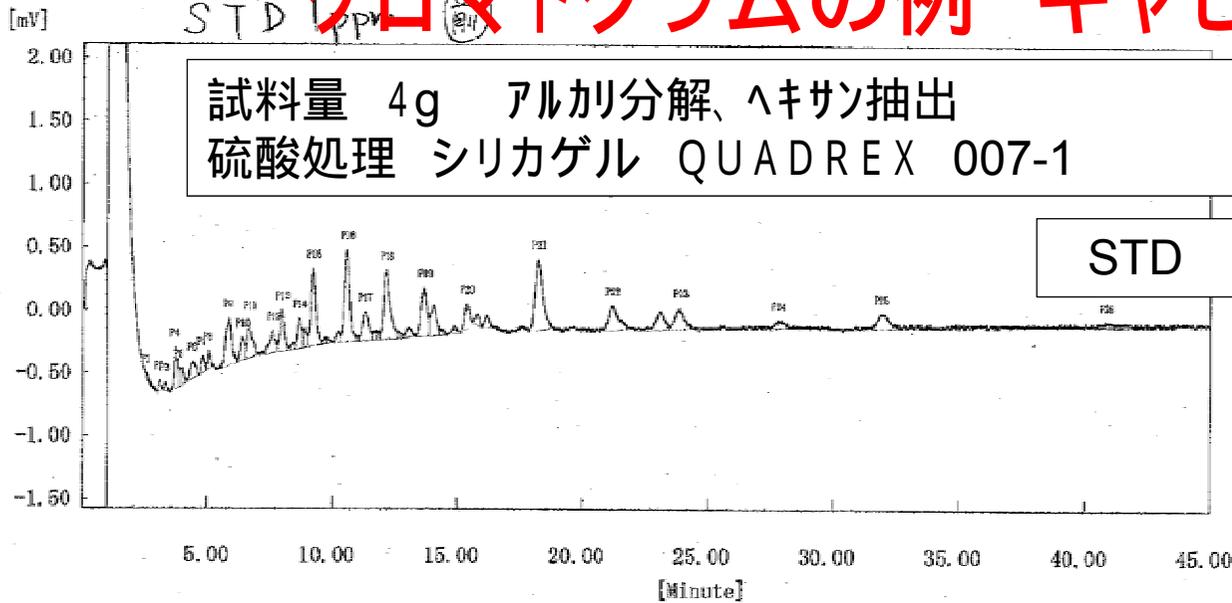
試料量 3 g アルカリ分解、ヘキサン抽出

硫酸処理 シリカゲル RH12(MS) GC-MS

カラム汚れ、またはクリーンアップ不足



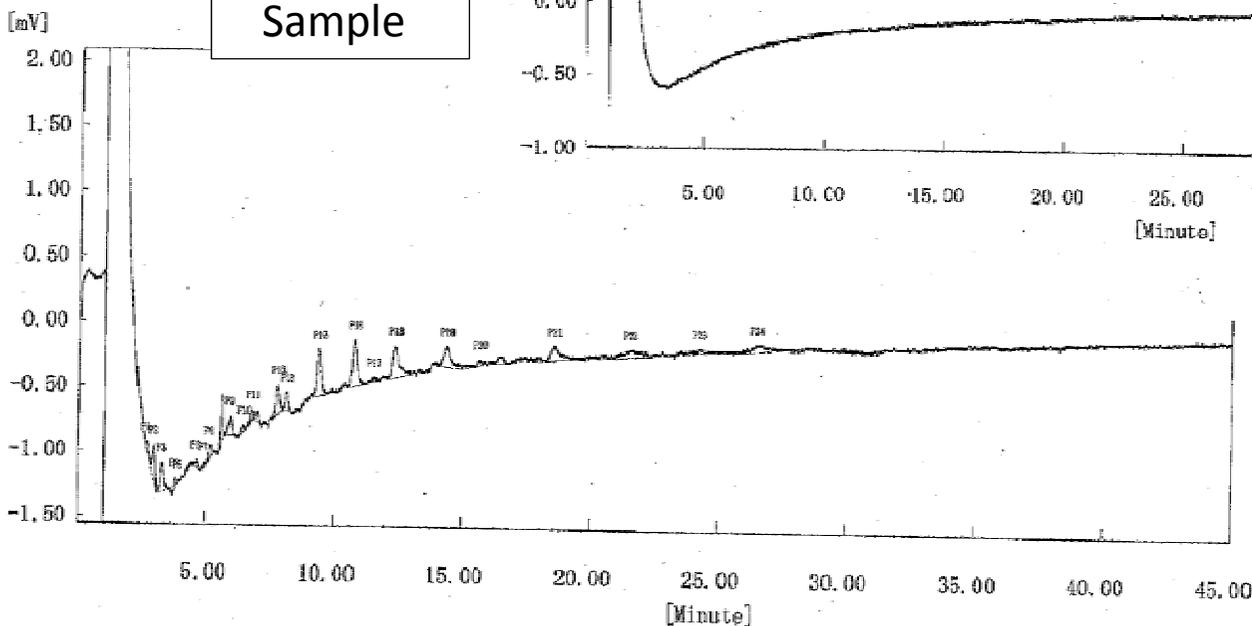
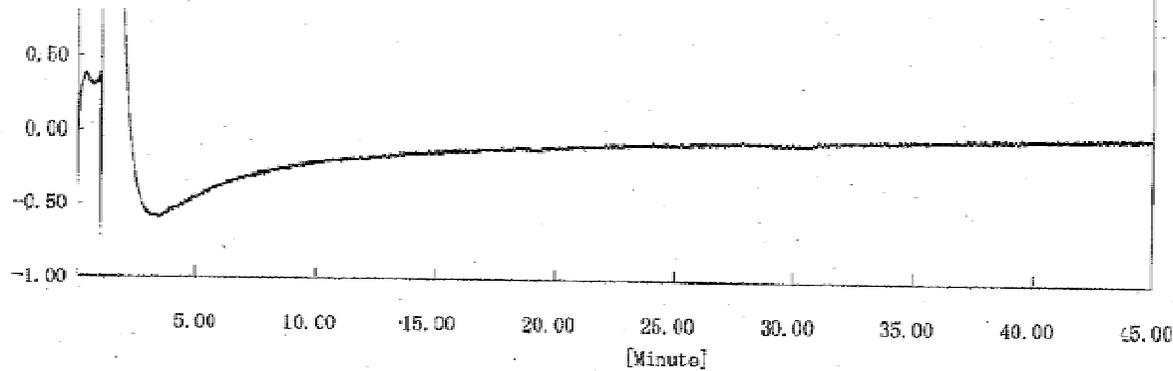
クロマトグラムの例 キャピラリーカラム



外れ値 大

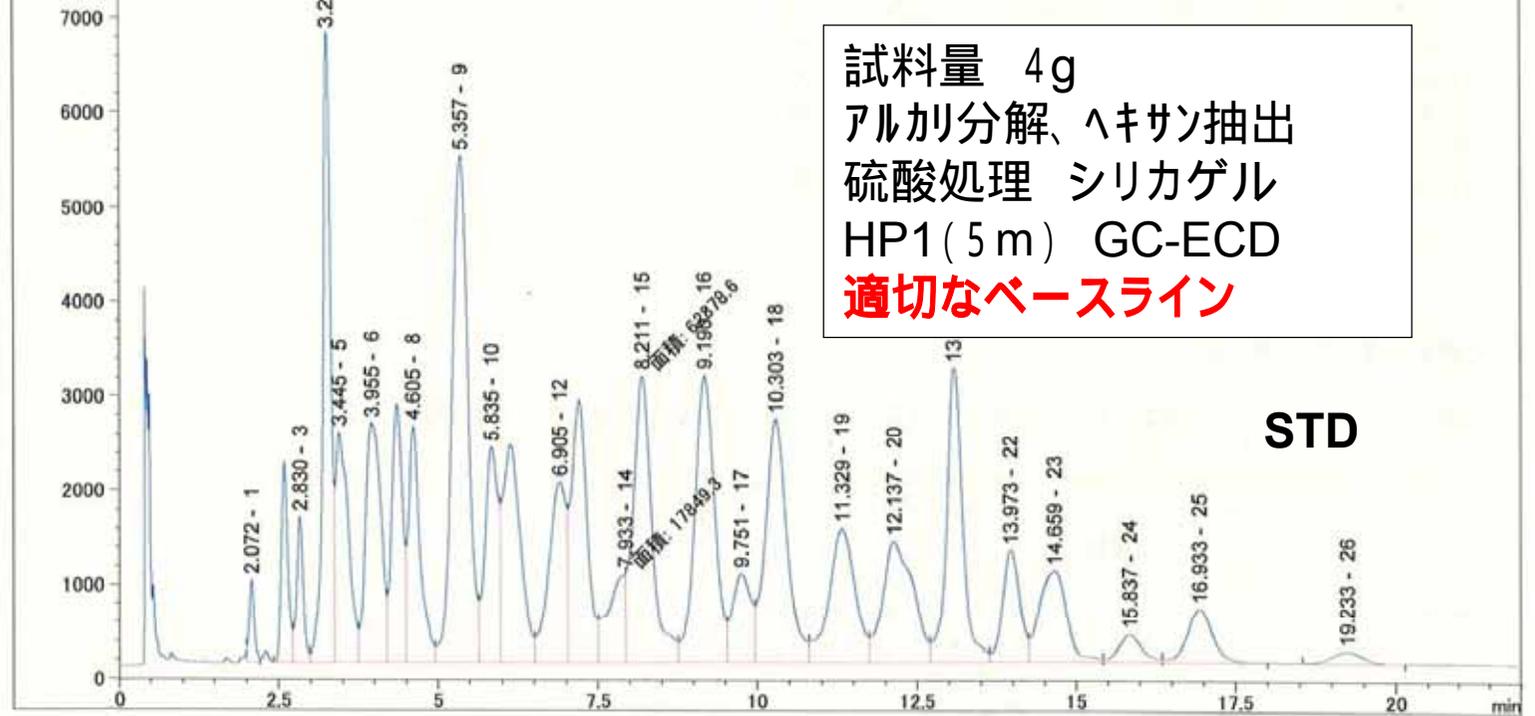
クロマトグラムの
検出ピークが小さい
STD, sample共に
GC注入絶対量不足

Blank

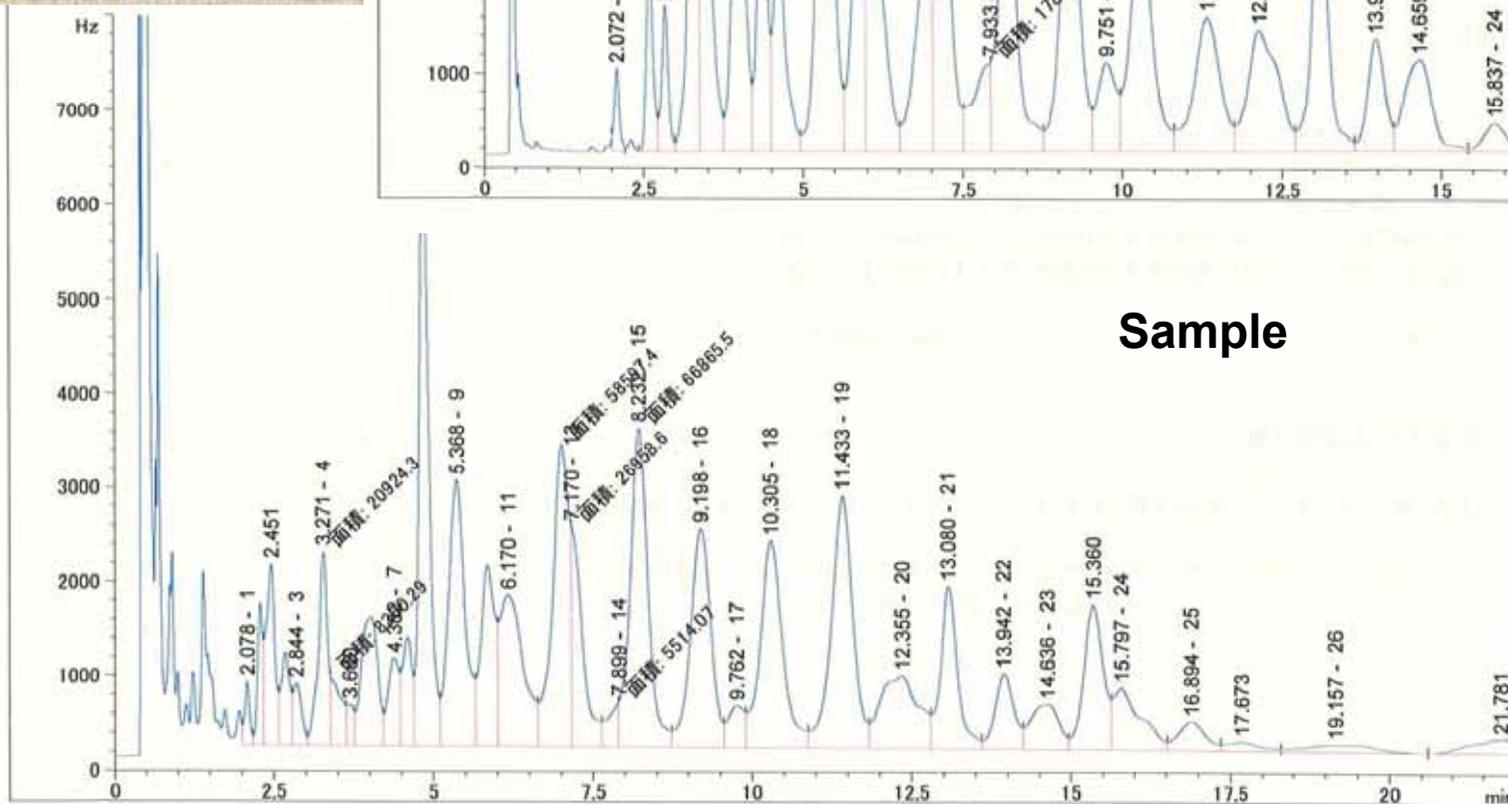


クロマトグラム の例 キャピラリーカラム

試料量 4g
アルカリ分解、ヘキサン抽出
硫酸処理 シリカゲル
HP1(5m) GC-ECD
適切なベースライン



STD



Sample

4. 追跡調査

平成22年度の追跡調査（その概要）

年度	H22	H24
概要	分析方法によって精度の違いがみられた (パッドカラム-GC/ECDの精度は良くなかった)	同左の確認を行う
試料	海域底質 水分 :2.1% 強熱減量:12.8%、 PCB :140 µg/kg	海域底質(H22と類似した底質を採取し、同様に調製する) 水分 :1.1% 強熱減量:10.1% PCB :121 µg/kg
分析方法 (推奨方法)	底質調査方法 又は 外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル	同左

過去との比較

(底質試料：海域底質の乾燥試料)

分析方法		測定	年度	回答数 (外れ値 棄却後)	平均値 μg/kg	室間 精度 CV%
前処理						
抽出	クレンジング					
大部分は、 アルカリ分解- ヘキサン抽出	大部分は、「硫酸処理-シリカゲルマト」又は「シリカゲルマト」 H22、H24 若干異なる	パッド・カラム-GC/ECD (係数法) S59、H22、H24 同様な結果	S59	57	98.6	50.5
			H22	92	140	43.7
			H24	97	123	45.9
		キャピラリーカラム-GC/ECD (係数法)	H22	46	134	28.3
			H24	53	115	40.9
		キャピラリーカラム-GC/QMS (四重極型)	H22	2	136	-
	H24	2	109	-		
大部分は、 ソックスレー抽出	大部分は、「硫酸処理-多層シリカゲルマト」又は「多層シリカゲルマト」	キャピラリーカラム-GC/HRMS (高分解能型) H22、H24 同様な結果	H22	15	154	17.3
			H24	9	136	13.6
全体			S59	57	98.6	50.5
			H22	155	140	37.5
			H24	161	121	42.8

過去との比較

追跡調査 (H22とH24の比較)

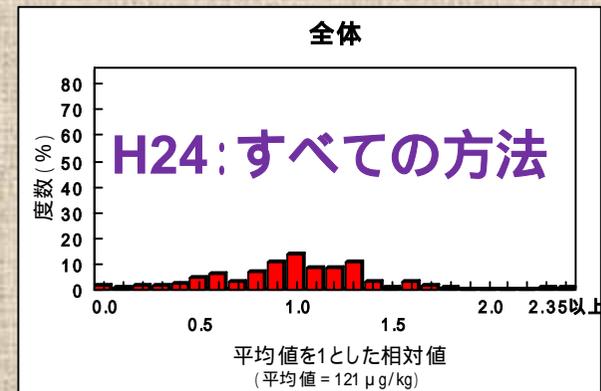
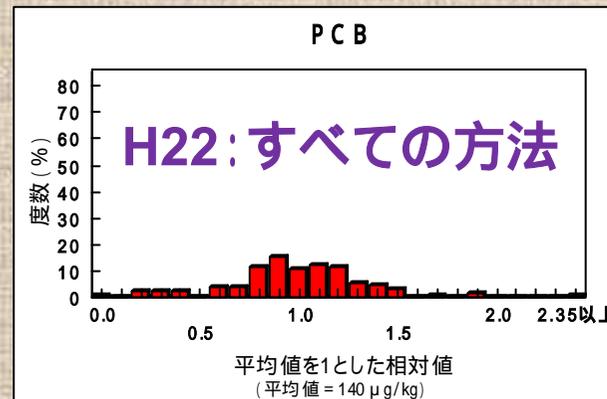
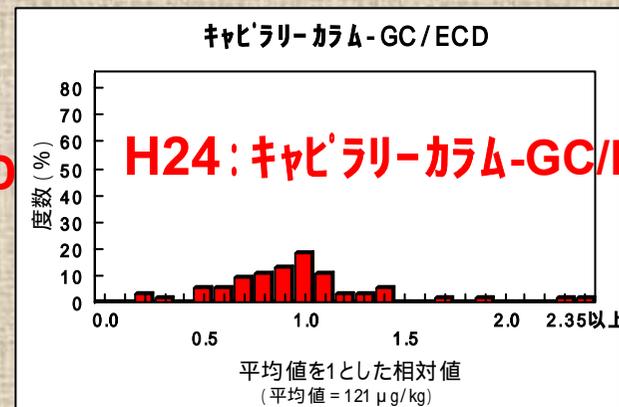
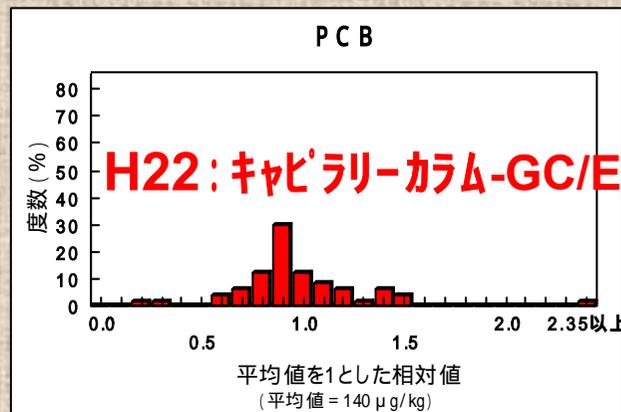
パックドカラム-GC/ECD・・・(H22とH24)同様な結果である

キャピラリーカラム-GC/ECD・・・(H22よりもH24は)室間精度悪くなる・・・下図参照

キャピラリーカラム-GC/QMS・・・(H22、H24)回答が少なく、わからない

キャピラリーカラム-GC/HRMS・・・(H22とH24)同様な結果である

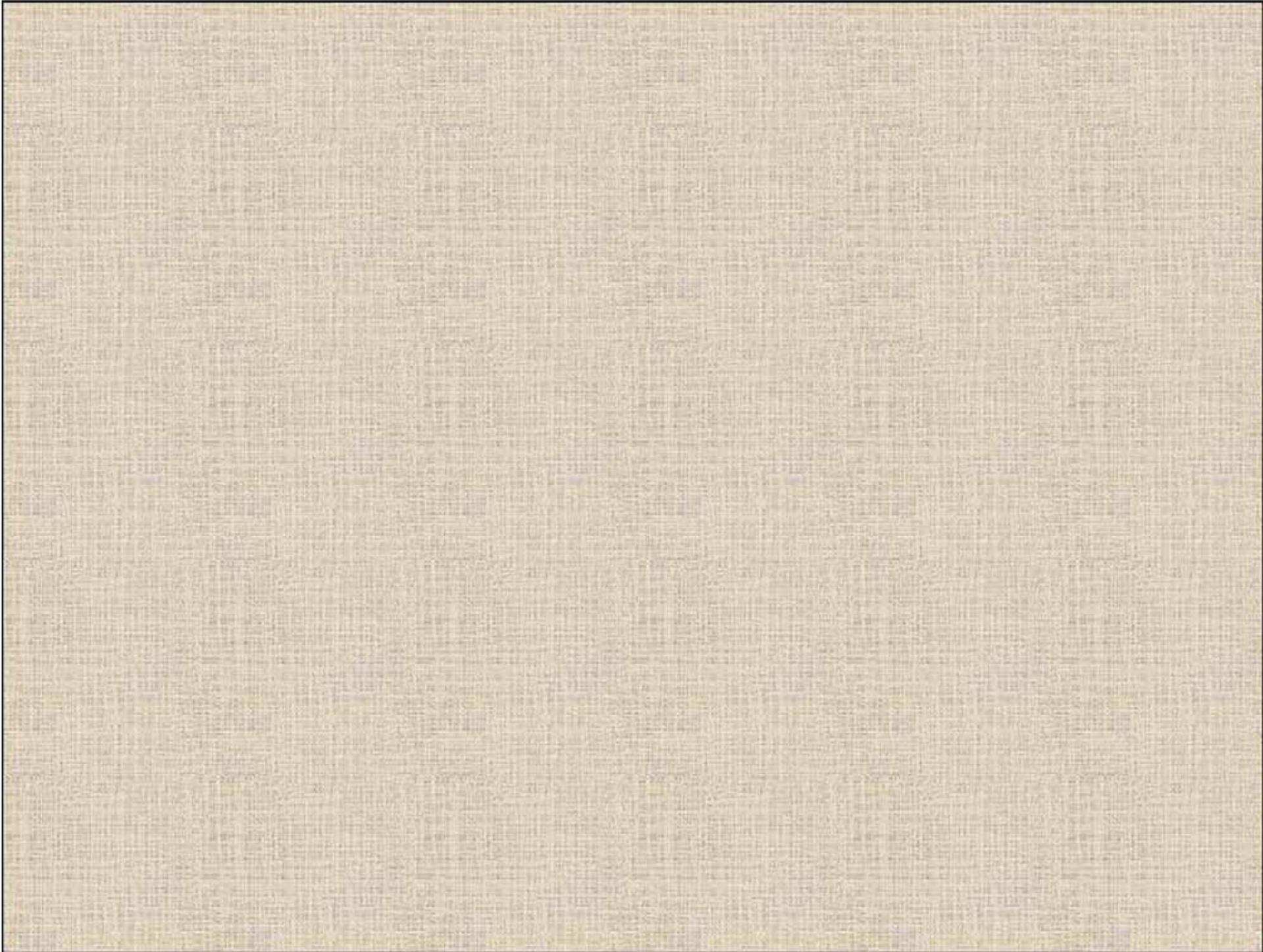
全体(すべての方法)・・・(H22とH24)同様な結果である・・・下図参照



過去との比較

(模擬試料：有機溶媒の試料)

年 度	分析方法	回答数 (外れ値 棄却後)	平均値	室間 精度	平均値と調 製濃度の比	(参考) 調製濃度
			A mg/L	CV%	A/B	B mg/L
S50	パケットカラム-GC/ECD(係数法)	33	0.87	17	0.87	1.0
	パケットカラム-GC/ECD(パターン合わせ法)	76	0.90	13	0.90	
S51	パケットカラム-GC/ECD(係数法)	67	0.577	12.0	0.96	0.60
	パケットカラム-GC/ECD(パターン合わせ法)	54	0.562	11.0	0.94	



・底質試料2 (有機塩素化合物の分析)

- 1 . 要因別の解析(詳細項目)
- 2 . 外れ値の原因(詳細項目)
- 3 . 回答数、室間精度等(参照項目)
- 4 . クロマトグラム等の例
- 5 . 参加機関からの主なコメント等
- 6 . 今後の課題等

1. 要因別の解析(詳細項目)

外れ値等を棄却後の解析
(分析結果に影響のあった要因の例)

- ・ 分析方法
- ・ クリーンアップ方法
- ・ サロゲートの使用と種類

分析方法に関する解析

(分析結果に影響のあった要因の例)

(p,p'-DDT)

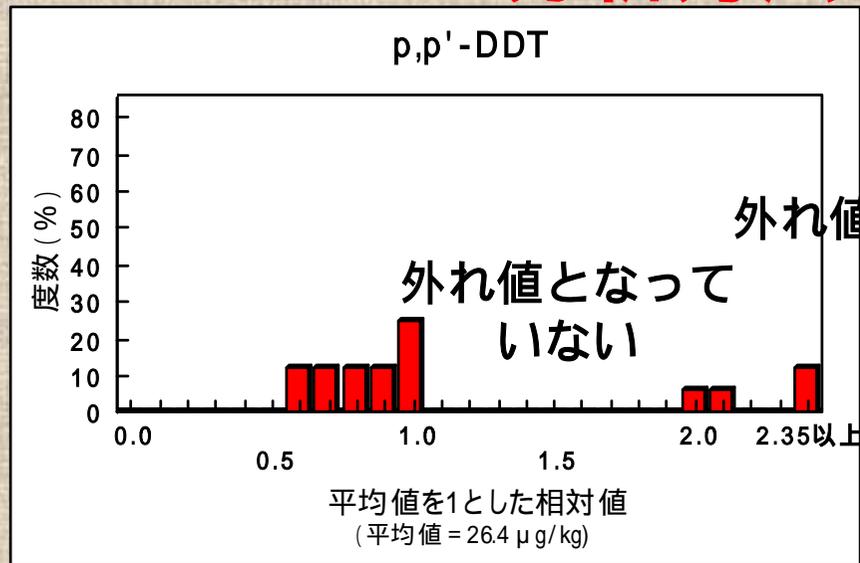
分析方法	回答数	平均値 ($\mu\text{g/kg}$)	室間精度	
			S.D. ($\mu\text{g/kg}$)	CV %
1. 溶媒抽出-GC/QMS	7	30.9	16.2	52.4
2. 溶媒抽出-GC/HRMS	6	23.1	3.25	14.1
3. その他 溶媒抽出-GC/MS/MS	1	14.8	-	-

(注) 偏り (平均値の差) は水準間にみられないが、精度の違いは以下の水準間に認められる (危険率5%)。

精度: 1と2

(p,p'-DDE、p,p'-DDDでは、GC/QMSとGC/HRMSの間に有意差はみられていない)

分析方法に関する解析



(分析結果に影響のあった要因の例)

回答数が少ないため、平均値の2倍程度の2回答は、外れ値となっていない
2回答を除くと、分析方法間に違いはみられない

回答数が少ない 実態把握は難しい?

分析方法	回答数	平均値 (μg/kg)	室間精度	
			S.D. (μg/kg)	CV %
1. 溶媒抽出-GC/QMS	7	30.9	16.2	52.4
溶媒抽出-GC/QMS (外れ値となっていない2回答を除く)	5	21.7	4.80	22.1
2. 溶媒抽出-GC/HRMS	6	23.1	3.25	14.1
3. その他 溶媒抽出-GC/MS/MS	1	14.8	-	-
全体	14	26.4	12.2	46.5
全体 (外れ値となっていない2回答を除く)	12	21.8	4.32	19.8

クリーンアップ方法に関する解析

(p,p'-DDT)

(分析結果に影響のあった要因の例)

クリーンアップの方法	回答数	平均値 ($\mu\text{g/kg}$)	室間精度	
			S.D. ($\mu\text{g/kg}$)	CV %
1. フロリジルカラム	7	31.7	15.8	50.0
2. シリカゲルカラム	1	19.0	-	-
3. その他	6	21.5	3.70	17.2
4. 実施しない	0	-	-	-

(注) 有意 (危険率5%)、精度: 1と3

「その他」には
GC/HRMSの
方法が多い

(p,p'-DDE)

1. フロリジルカラム	11	31.5	10.2	32.5
2. シリカゲルカラム	2	22.1	-	-
3. その他	10	32.2	6.38	19.8
4. 実施しない	0	-	-	-

(注) 有意 (危険率5%) なし

(p,p'-DDD)

1. フロリジルカラム	9	22.3	10.2	45.7
2. シリカゲルカラム	2	18.0	-	-
3. その他	8	17.0	4.08	24.0
4. 実施しない	0	-	-	-

(注) 有意 (危険率5%)、精度: 1と3

(注) 「その他」とは、1及び2以外の処理及び複数の処理の組み合わせを示す。

サロゲートの使用に関する解析

(分析結果に影響のあった要因の例)

(p,p'-DDT)

サロゲート物質	回答数	平均値 ($\mu\text{g/kg}$)	室間精度	
			S.D. ($\mu\text{g/kg}$)	CV %
1.使用する	7	23.6	3.28	13.9
2.使用しない	7	29.3	17.2	58.9

(注) 有意 (危険率5%)、精度: 1と2

(p,p'-DDE)

1.使用する	8	29.2	10.5	36.1
2.使用しない	15	32.0	7.48	23.4

(注) 有意 (危険率5%) なし

(p,p'-DDD)

1.使用する	8	20.8	8.01	38.5
2.使用しない	11	18.7	7.74	41.3

(注) 有意 (危険率5%) なし

サロゲート物質別の
解析結果は
次ページ参照

サロゲート物質(種類)に関する解析

(分析結果に影響のあった要因の例)

(p, p' - DDT)

サロゲート物質	回答数	平均値 (μ g/kg)	室間精度	
			S.D. (μ g/kg)	CV %
1. p, p' - DDT - 13C12	7	23.6	3.28	13.9
2. p, p' - DDT - d8	0	-	-	-
3. p, p' - DDE - 13C12	0	-	-	-
4. p, p' - DDE - d8	0	-	-	-
5. p, p' - DDD - 13C12	0	-	-	-

(p, p' - DDE)

1. p, p' - DDT - 13C12	3	31.4	17.5	55.5
2. p, p' - DDT - d8	0	-	-	-
3. p, p' - DDE - 13C12	4	28.7	6.53	22.8
4. p, p' - DDE - d8	1	24.4	-	-
5. p, p' - DDD - 13C12	0	-	-	-

(注) 有意(危険率5%)なし

(p, p' - DDD)

1. p, p' - DDT - 13C12	3	24.1	13.9	57.7
2. p, p' - DDT - d8	0	-	-	-
3. p, p' - DDE - 13C12	0	-	-	-
4. p, p' - DDE - d8	1	16.8	-	-
5. p, p' - DDD - 13C12	4	19.0	1.59	8.4

(注) 有意(危険率5%)、精度: 1と5

2. 外れ値の原因(詳細項目)

p,p'-DDT

外れ値等 5回答

・ND 3回答

共存物質の影響を受けて、検出されなかった等が考えられる
(いずれも、**クリーンアップ不足の可能性**が大きい)

・外れ値(大きい値) 2回答

共存物質の影響として、下記が原因と考えられる
(いずれも、**クリーンアップ不足**と考えられる)

ピークの同定が困難である

ピークの分離ができていない

p,p'-DDE

・外れ値(大きい値) 1回答

計算間違い

($\mu\text{g}/\text{kg}$ の単位に直していない、サロゲートの添加量を間違えて計算する)

p,p'-DDD

外れ値なし

3. 回答数、室間精度等(参照項目)

項目	回答数	外れ値等による棄却数			平均値 (外れ値を除く) μg/kg	室間精度(CV) (外れ値を除く) %
		ND等	Grubbs	計		
-HCH	7	2	2	4	0.611	14.6
-HCH	7	2	2	4	0.897	22.7
-HCH(リンデン)	7	2	2	4	0.706	29.9
-HCH	7	2	2	4	0.130	20.1
アルドリン	6	5	0	5	-	-
デルタリン	7	2	1	3	2.82	15.0
エンドリン	6	5	0	5	-	-
cis-カルデソ	7	2	1	3	5.39	13.5
trans-カルデソ	7	1	1	2	6.37	10.5
オキサカルデソ	5	3	0	3	-	-
cis-ナカール	7	2	2	4	3.02	2.1
trans-ナカール	7	2	1	3	4.61	13.5
ヘキサカロヘンゲン(HCB)	9	1	1	2	12.2	43.9
o,p'-DDT	8	1	1	2	2.18	9.8
o,p'-DDE	8	1	2	3	1.91	21.3
o,p'-DDD	7	0	1	1	8.10	12.7

(注) アルドリン、エンドリン及びオキサカルデソについては、大部分の回答が「ND」であり、平均値及び室間精度は示していない。

回答数、室間精度等

回答数は分析対象項目により異なっている

(5~9回答)

いずれの項目とも、回答数は少ない

室間精度は分析対象項目により大きく異なる

(CV2.1~43.9%)

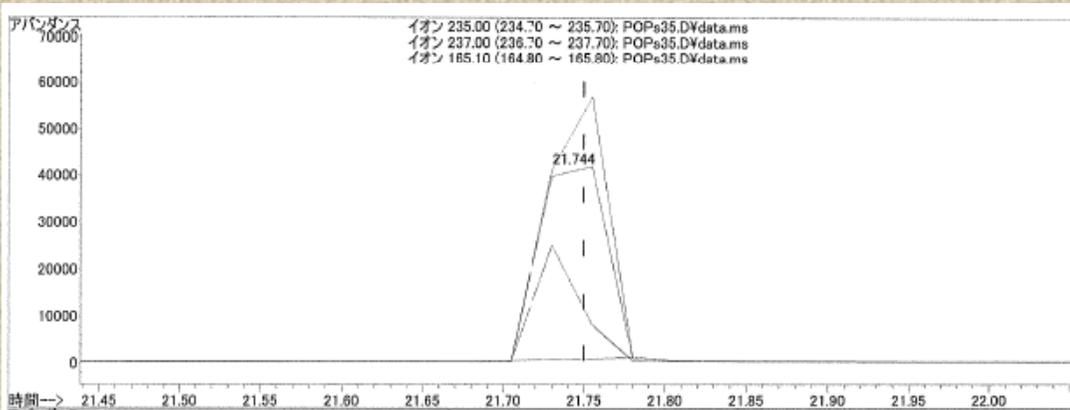


精度の実態把握は難しいと考えられる

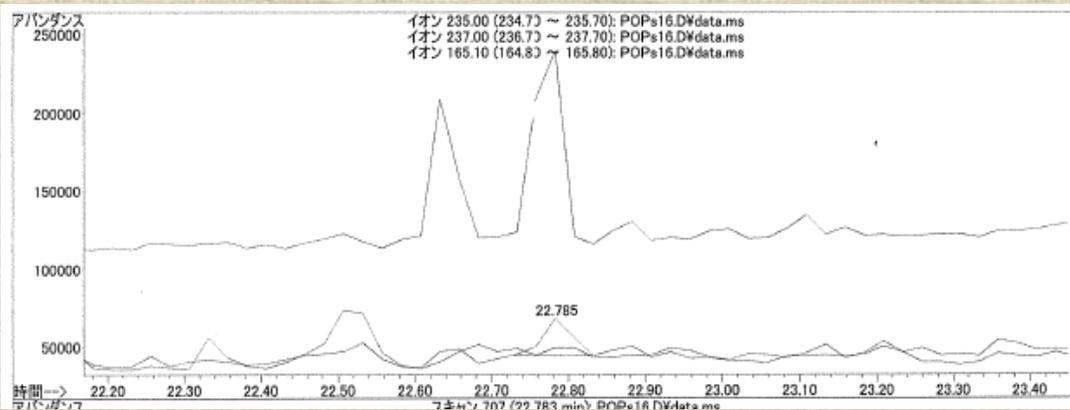
(室間精度等は実態を反映していない可能性も考えられる)

4. クロマトグラム等の例1 (QMS)

p,p'-DDT



標準液



精度管理試料

外れ値 G大

- 標準液と精度管理試料で保持時間が異なる
- 1ピーク当たりの測定点が少なく、ピーク形状が良好でない
- 試料でのベースラインが高い

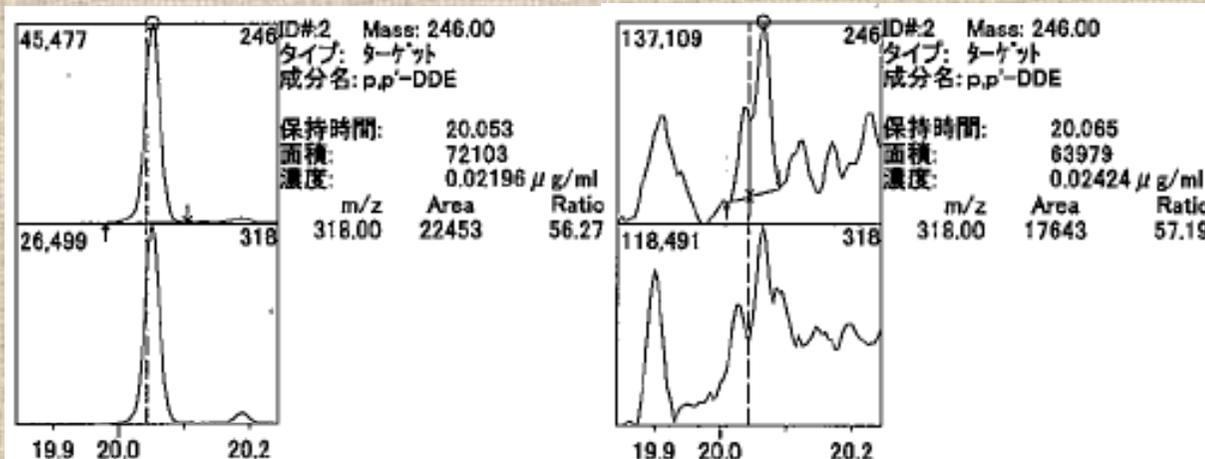
クリーンアップ方法

フロリジルカラムクロマトグラフィーのみ

カラム: HP-5 (MS) (0.25mm × 30m, 0.25μm)
昇温条件: 50 (1 min)-10 /min-280 (5 min)
流量: 1.2 mL/min
注入量: 1 μL (スプリットレス)
注入口温度: 250

クロマトグラム等の例2 (QMS)

p,p'-DDE



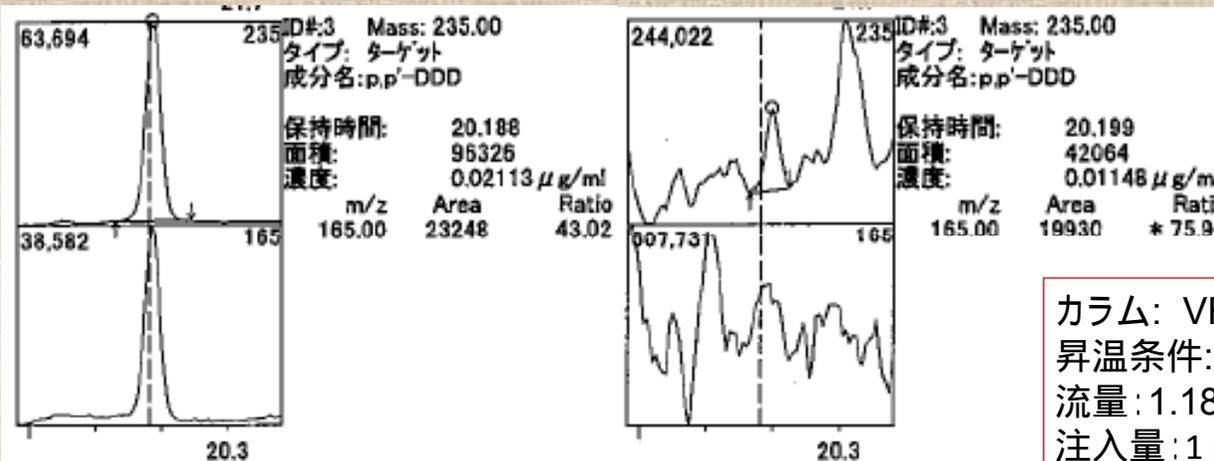
外れ値ではない
(p,p'-DDTはND)

・妨害ピークとの分離ができていない

クリーンアップ方法

シリカゲル及びGC-NH₂カラムクロマトグラフィー→還元銅処理

p,p'-DDD



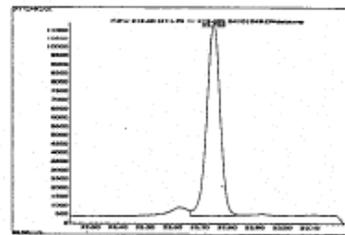
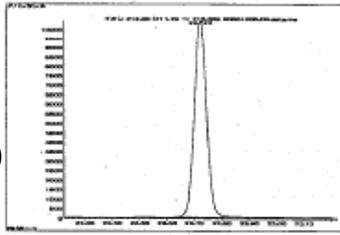
標準液

精度管理試料

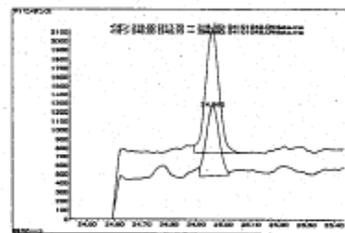
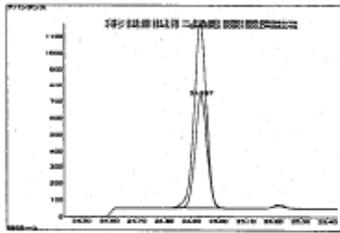
カラム: VF5MS (0.25mm x 30m, 0.25μm)
 昇温条件: 50 (1 min)-10 /min-280 (5 min)
 流量: 1.18 mL/min
 注入量: 1 μL (スプリットレス)
 注入口温度: 250

クロマトグラム等の例3 (良い例QMS)

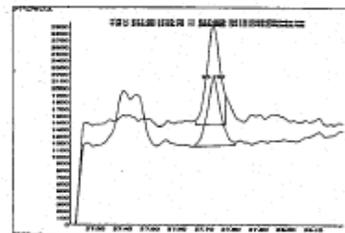
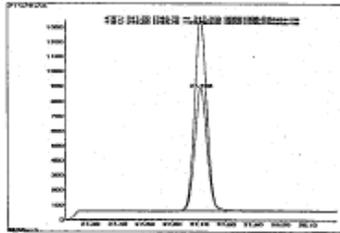
フルオラ
ンテン-d₁₀
(シリンジスパ
イク)



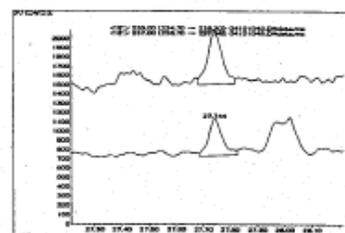
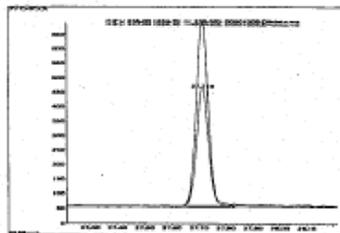
p,p'-DDE



¹³C₁₂-
p,p'-DDT
(サロゲート)



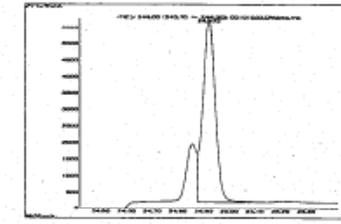
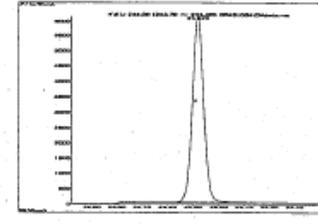
p,p'-DDT



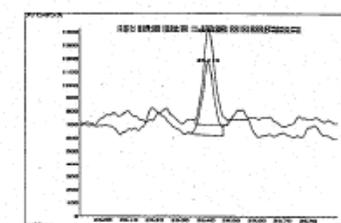
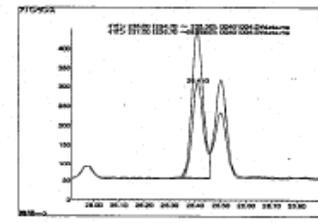
標準液

精度管理試料

p-ターフェ
ニル-d₁₄
(シリンジスパ
イク)



p,p'-DDD



標準液

精度管理試料

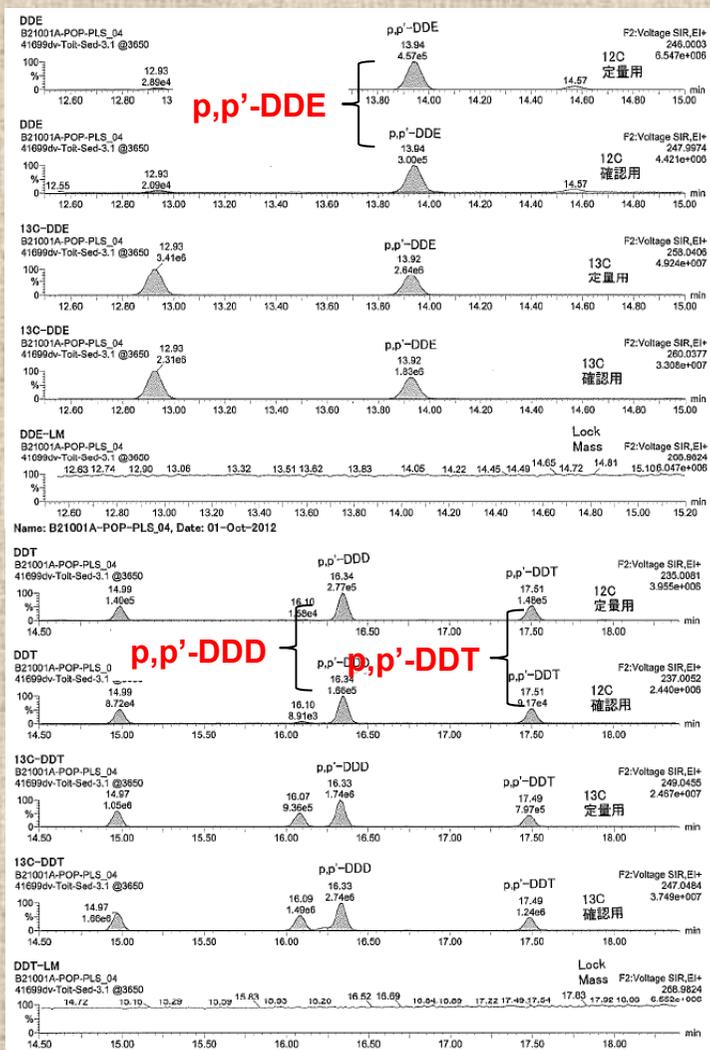
クリーンアップ方法

フロリジルオープンカラム→還元銅処理→固相
カートリッジ3連(活性炭+フロリジル+NH₂)

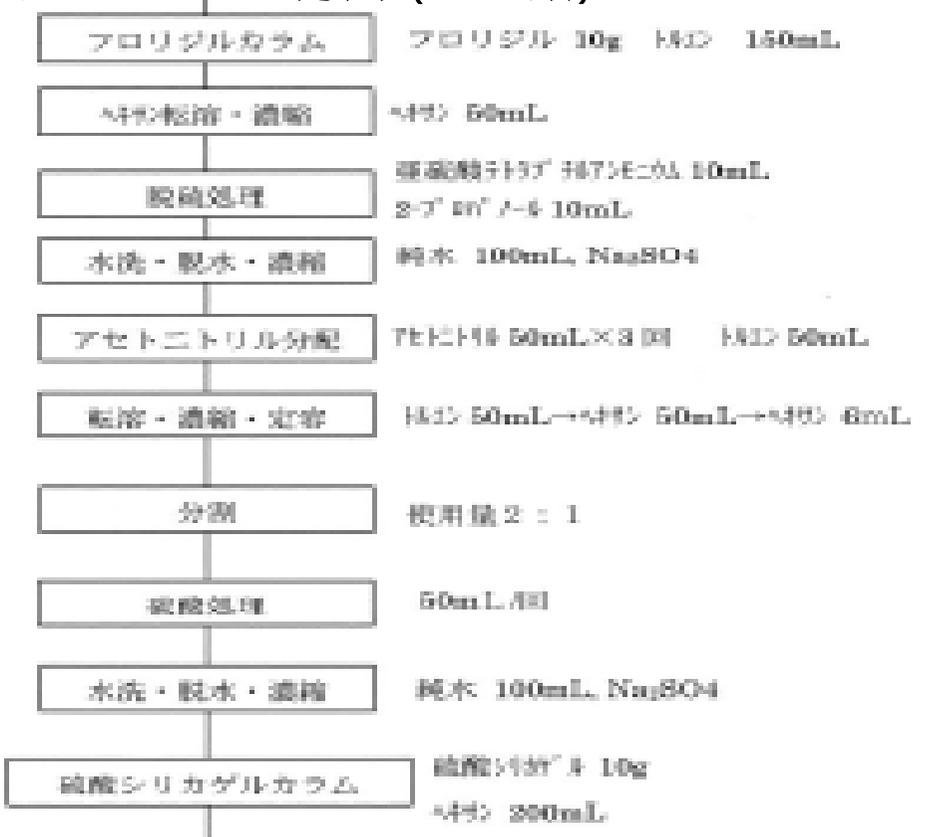
カラム: HP-5 (MS) (0.25mm × 30m, 0.25μm)
昇温条件: 50 (1 min)-10 /min-150 (0 min) -
5 /min-260 (0 min) -30 /min-300 (2 min)
流量: 1 mL/min
注入量: 1 μL (パルスドスプリットレス)
注入口温度: 250

クロマトグラム等の例4 (良い例HRMS)

クリーンアップ方法 (DDT類)



精度管理試料



カラム: RH12 (MS) (0.25mm × 30m)
 昇温条件: 130 (1 min)-15 /min-180 (0 min)-4 /min-
 250 (0 min)-15 /min-330 (0 min)
 流量: 25.4 psi
 注入量: 1.5μL (スプリットレス)
 注入口温度: 250

5. 参加機関からの主なコメント等

参加機関からのコメントとしては、
大部分は
GC/QMSでの「クリーンアップ操作」と「測定」
に関するものであった。

これらを次ページ以降に示す。

なお、
「抽出」に関するもの、
GC/HRMSでの「クリーンアップ操作」と「測定」
に関するものはほとんどなかった。

参加機関からの主なコメント等

GC/QMSでの「クリーンアップ操作」

硫黄分の除去等

- 硫黄分が含まれていたため、還元銅を入れて硫黄分を除去した。
- 硫黄分及び油分と考えられる夾雑物の影響が大きいため、参照項目のうちHCB以外の物質の定量が困難であった。
- 硫黄分の除去には還元銅が有効であったが、反応時間の見極めが難しかった。
- 硫黄、夾雑物の除去が難しい。
- カラム処理後の濃縮過程において、多量の析出物(硫黄?)があった。濃縮を中止し5 mLに定容して、GC/MS定性分析したところ多量の硫黄と鉱物油が検出された。定容5mLのうち1 mLを分取し、定量分析を行い、残りの4 mLを再度カラム処理して、1 mLに濃縮し、定量分析した。

参加機関からの主なコメント等

GC/QMSでの「クリーンアップ操作」

フロリジルカラム又はシリカゲルカラムによる処理

- フロリジルでクリーンアップした検液に着色がみられ、また針状結晶が析出したことから、クリーンナップに問題があると感じた。
- フロリジルカラムからの溶出パターン確認が難しく、DDEとDDTの分離はかなり難しいと感じた。また、フロリジルカラムだけでは精製が不十分と考える。
- シリカゲル又はフロリジルカラムによる分画操作では、サロゲート付近の妨害ピークが除去できず定量が困難であったため、シリカゲルによるヘキサン分画後、フロリジルに通すことで妨害成分を除去した。
- シリカゲルカラムによる精製において、アセトンの濃度勾配だけで落とすと夾雑も大きく引っ張ってくる印象を受けた。

参加機関からの主なコメント等

GC/QMSでの「クリーンアップ操作」

その他の処理

- 精製は、フロリジルオープンカラム精製後に還元銅処理を行い、さらに固相カートリッジ3連(活性炭 + フロリジル + NH₂)で精製したため、1試料につきフラクションが6つに分かれた。詳細項目のうちp,p'-DDDは、p,p'-DDT、13C12-p,p'-DDT及びp,p'-DDEとは別フラクションに溶出するため回収率はみていない。
- 夾雑物が多く、マニュアルの方法によるクリーンアップでは不十分であったため、異なる方法で前処理を行った。
- クリーンアップに留意した。

参加機関からの主なコメント等

GC/QMSでの「測定操作」

- ・内標準物質としては、フェナントレン-d₁₀だけでなく、フルオランテン-d₁₀も検討したが、夾雑物のピークと重なったため使用しなかった。
- ・DDTの測定を実施しなかったこともあり、¹³C₁₂-DDTは使用しなかった。
- ・バックグラウンドに妨害物質とみられるピークが多数みられ、定量が困難だった。
- ・DDTは夾雑物の影響が大きく、SN比が低いため報告しないこととした。

6. 今後の課題等

問題点等

回答数は全体で27、分析対象項目により異なっている
いずれの項目も、回答数は少ない(5~24回答)

回答数が少ないため、平均値から離れた値でも外れ値とならないことがあり、離れた値を除くと室間精度は大きく異なった結果になることがある
また、室間精度は分析項目により大きく異なる(CVとして2.1~46.5%)
今回の結果は、精度の実態を適切に把握していない可能性がある

共存物質の影響を受けて、「検出されない」、「ピークの同定が困難である」、「ピークの分離ができていない」等の外れ値の例がみられ、いずれもクリーンアップ不足の可能性が大きい
また、外れ値でなくても、共存物質の影響を受けた結果が含まれている可能性がある
(参加機関のコメントの大部分は、クリーンアップ操作に関することである)

クリーンアップ方法が難しく、結果を回答しなかった機関があったと考えられる

標準液、サロゲート等の購入期間が不足し、結果を回答しなかった機関があったと考えられる

今後の課題等

追跡調査等

適切な分析操作で多くの回答数となる調査が望まれ、H25に再度調査(追跡調査)を行う。追跡調査として対応する主な点は、以下のとおりである。

クリーンアップ方法の操作

- ・クリーンアップ操作例及び留意する点等を平成24年度の調査結果に示す
- ・事前(平成24年度調査結果説明会等)に追跡調査の実施及びクリーンアップ操作例等について説明し、クリーンアップ操作の検討を可能とする
- ・参加機関での分析期間を長くし、クリーンアップ操作の検討や適切なクリーンアップ操作等を可能とする

適切なサロゲート等の使用

- ・事前(平成24年度調査結果説明会等)に追跡調査の実施について説明し、標準液、サロゲート等の購入を可能とする

その他

- ・抽出操作としては、これまでのアセトン抽出とともに、ソックスレー抽出を加える(「モニタリング調査マニュアル」を推奨方法に追加する)。

等