

平成19年度環境測定分析統一精度管理調査 結果説明会

底質試料
(芳香族化合物の分析)

平成20年7月 8日	岡山
平成20年7月15日	東京
平成20年7月22日	大阪
平成20年7月29日	札幌
平成20年8月 5日	福岡

試料

- ・高等精度管理調査
- ・分析対象項目
芳香族化合物 (ベンゾ(a)ピレン)
- ・共通試料3
海域において底質を採取
50℃において乾燥後、夾雑物を除去
100メッシュのふるいを通過した部分を集める
混合・均質化
100mlのガラス製の瓶に約50g分注

分析方法 (推奨方法)

- ・「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)」
(平成10年環境庁水質保全局水質管理課)

分析方法	芳香族化合物
溶媒抽出-ガスクロマトグラフィー質量分析法	○

注) ○：外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル

分析方法 (推奨方法)

・追跡調査 昨年度 (18年度) に引き続き実施

追跡調査の概要

- ・昨年度よりも低濃度である。(注1)
- ・分析方法は、ガスクロマトグラフ質量分析法とする。(注2)
- ・クリーンアップ操作を必ず行う。(注3)

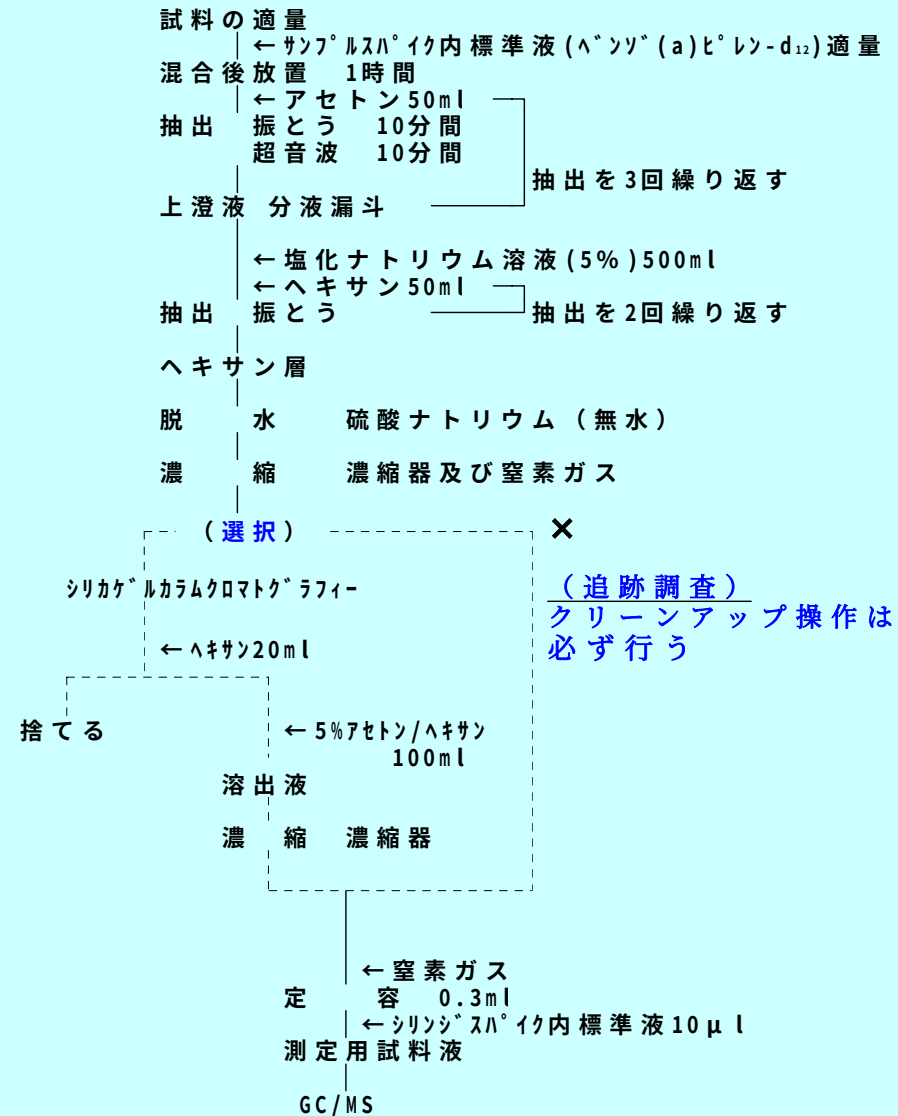
(注1) 昨年度は高濃度であった(昨年度の参加機関の平均値は1660 $\mu\text{g/kg}$)。

(注2) 昨年度での回答は、すべてガスクロマトグラフ質量分析法であった。

(注3) 昨年度の試料は高濃度であったためか、クリーンアップ操作を省略している回答もあったが、今回は必ず行うこととする。

分析方法 (推奨方法)

溶媒抽出-ガスクロマトグラフ質量分析法



回答数等

外れ値等により棄却した回答数（底質試料1）

分析項目	回答数	棄却数			棄却率 %
		N D等	Grubbs	計	
ベンゾ(a)ピレン	65	0	1	1	1.5(1.5)

（注）棄却率＝（棄却数÷回答数）×100。

（ ）内は統計的外れ値（Grubbsの検定による外れ値）の棄却率を示す。

棄却限界値と平均値

棄却限界値（底質試料1）

分析項目	Grubbsの検定		（参考）
	下限値	上限値	外れ値棄却後の平均値
ベンゾ（a）ピレン	74.6	569	322

（注）単位は「 $\mu\text{g/kg}$ 」である。

室間精度等

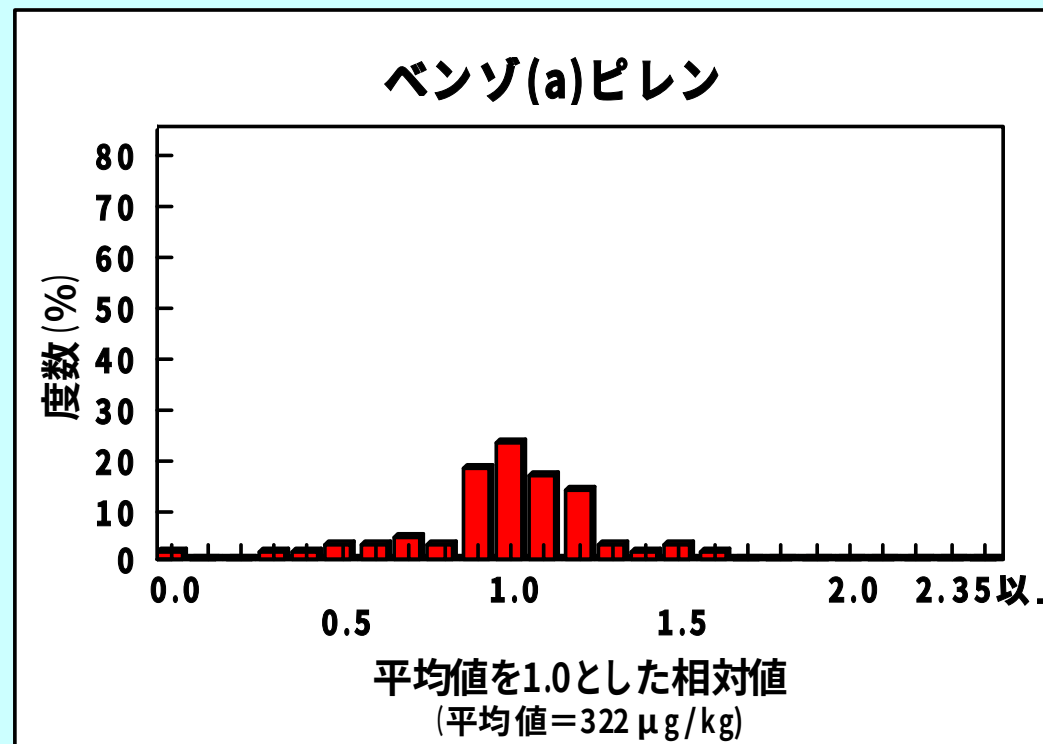
外れ値棄却前後の平均値及び精度等（底質試料１）

分析項目	棄却 *	回答数	平均値 ($\mu\text{g/kg}$)	室間精度		最小値 ($\mu\text{g/kg}$)	最大値 ($\mu\text{g/kg}$)	中央値 ($\mu\text{g/kg}$)
				S.D. ($\mu\text{g/kg}$)	CV %			
ベンゾ(a)ピレン	前	65	317	85.9	27.1	0.376	520	327
	後	64	322	76.7	23.8	96.1	520	327
ベンゾ(a)ピレン **	前	64	318	86.0	27.0	0.376	520	327
	後	63	323	76.5	23.7	96.1	520	327

（注１）＊：「棄却前」には統計的外れ値は含むが、結果が「ND等」で示されているものは含まない。

（注２）**：「追跡調査」とおりでない1回答（クリーンアップ操作を行っていない結果）を除いている。

ヒストグラム



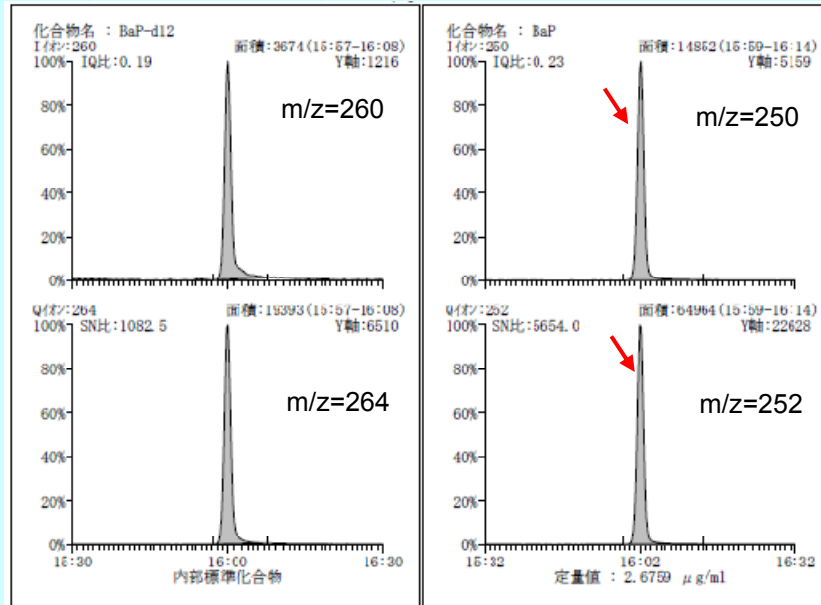
分析方法別回答数

分析方法	回答数	棄却された回答数			
		N D 等	Grubbs		計
			小さな値	大きな値	
1. 溶媒抽出 - G C / M S	65	0	1	0	1
2. その他	0	0	0	0	0
合計	65	0	1	0	1

外れ値等の原因

機 関	棄却理由	アンケート調査での当該機関の 棄却原因に関する回答	添付資料等から推定できる棄却原因
A	Grubbs(小さい値)	計算シートでの表示単位は $\mu\text{g}/\text{kg}$ になっていたが、実際には $\mu\text{g}/\text{g}$ で計算していた。	添付資料から計算したところ、約350 $\mu\text{g}/\text{kg}$ と平均値に近い値であった。報告時の単位間違いか、濃度を求める際の計算ミスによると考えられる。

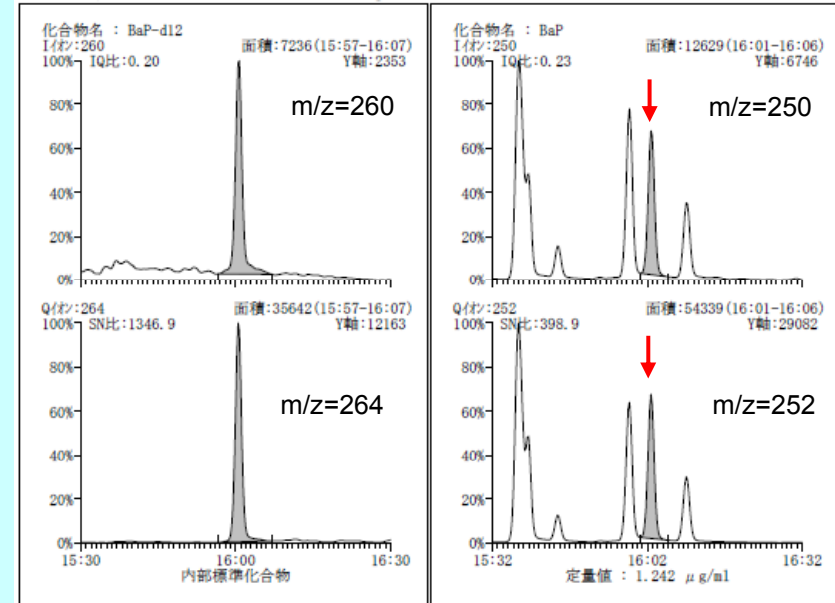
良好なクロマトグラム の例



ベンゾ(a)ピレン-d₁₂
(サンプルスパイク)

ベンゾ(a)ピレン

標準溶液(2.5µg/ml)



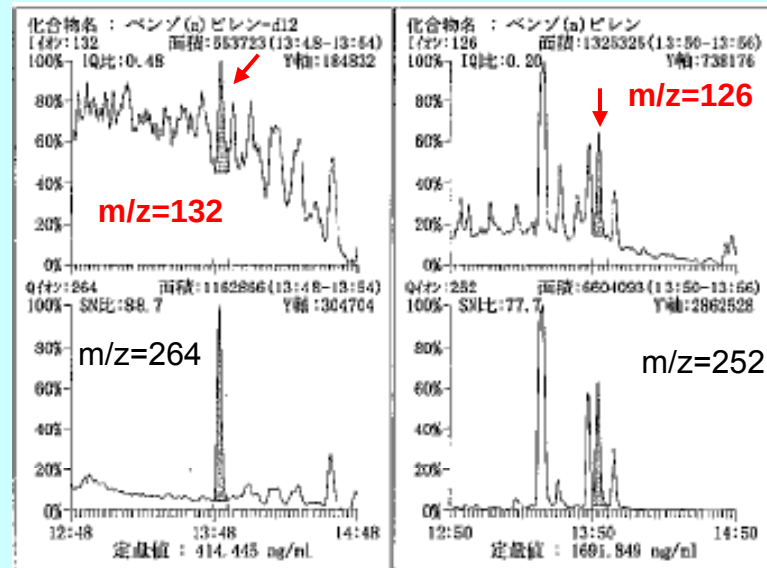
ベンゾ(a)ピレン-d₁₂
(サンプルスパイク)

ベンゾ(a)ピレン

試料溶液

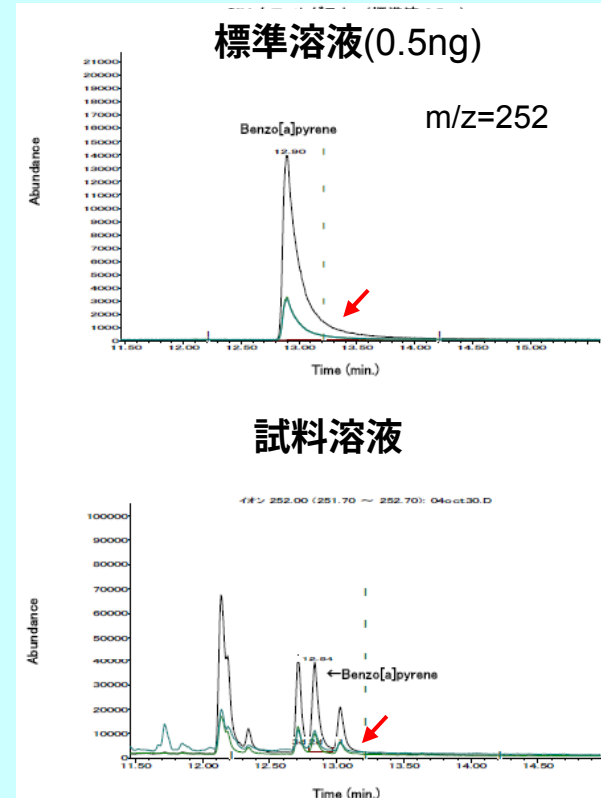
- ピーク形状がシャープでテーリングがない
- 実試料においてピークが良好である

良好でないクロマトグラムの場合



ベンゾ(a)ピレン-d₁₂
(サンプルスパイク)

ベンゾ(a)ピレン



- 確認用イオンに妨害がある(左)→妨害のないモニターイオンを選択する
- 標準溶液、試料溶液ともにピークのテーリングが見られる(中)→注入口、カラムの劣化が疑われるので、適切なメンテナンスを行う
- 標準溶液でピークのリーディングが見られる(右)→GC測定条件を見直すか注入口のメンテナンスが必要

要因別の解析 (ベンゾ(a)ピレン)

外れ値等を棄却後の解析

分析結果に影響がみられた要因

- ・分析機関区分
- ・分析者の経験度：昨年度分析を行った試料数、分析業務経験年数
- ・分析に要した日数
- ・室内測定回数
- ・**試料量**
- ・クリーンアップの方法
- ・**測定用試料液の調製方法**
- ・イオン検出法 (GC / MS)
- ・分析方法別の定量方法
- ・測定質量数
- ・**試料と標準液の最高濃度の指示値の比**
- ・シリンジスパイク内標準物質の使用
- ・**サンプルスパイク内標準物質**：使用、**回収率**
- ・分析機関の国際的な認証等の取得
- ・**室内測定精度 (CV %)**
- ・分析方法
- ・抽出溶媒の種類
- ・濃縮方法
- ・装置の型式 (GC / MS)
- ・測定用試料液のGCへの注入量
- ・標準原液
- ・空試験と試料の指示値の比

(注)「外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル」では「サロゲート物質」と表記されているが、ここでは「サンプルスパイク内標準物質」とする。

室内測定精度に関する解析

外れ値等棄却後の解析

C V (%)	回答数	平均値 ($\mu\text{g/kg}$)	室間精度	
			S.D. ($\mu\text{g/kg}$)	CV %
1. 2未満	14	317	54.9	17.3
2. 2以上 5未満	19	326	72.2	22.1
3. 5以上10未満	10	346	82.3	23.8
4. 10以上	3	195	88.0	45.0

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

平均値：1と4、2と4

試料量に関する解析

外れ値等棄却後の解析

試料量 (g)	回答数	平均値 ($\mu\text{g/kg}$)	室間精度	
			S.D. ($\mu\text{g/kg}$)	CV %
1. 0.5未満	6	372	57.8	15.5
2. 0.5～1.0	3	289	49.0	16.9
3. 1.0～2.5	26	337	70.7	21.0
4. 2.5～5.0	14	319	76.5	24.0
5. 5.0～10	12	303	70.6	23.3
6. 10以上	3	210	115	55.0

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

平均値：1と6、3と6

測定用試料液の調製方法に関する解析

外れ値等棄却後の解析

試料液1ml中の 試料g数	回答 数	平均値 ($\mu\text{g/kg}$)	室間精度	
			S.D. ($\mu\text{g/kg}$)	CV %
1. 0.10未満	0	-	-	-
2. 0.10～0.25	5	360	54.4	15.1
3. 0.25～0.50	3	320	85.1	26.6
4. 0.50～ 1.0	2	318	-	-
5. 1.0～2.5	27	320	69.6	21.8
6. 2.5～5.0	15	358	70.0	19.6
7. 5.0～10	7	257	102	39.8
8. 10以上	4	279	79.7	28.6

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 (両側危険率 5%)。

平均値 : 6と7

試料と標準液の最高濃度の指示値の比に関する解析

外れ値等棄却後の解析

指示値の比 (試料/標準液の最高濃度)	回答 数	平均値 ($\mu\text{g/kg}$)	室間精度	
			S.D. ($\mu\text{g/kg}$)	CV %
1. 0.25未満	17	285	97.1	34.1
2. 0.25以上0.50未満	24	343	60.6	17.6
3. 0.50以上0.75未満	14	337	68.1	20.2
4. 0.75以上1.0 未満	5	314	70.9	22.6
5. 1.0 以上1.25未満	1	375	-	-
6. 1.25以上1.5 未満	2	315	-	-
7. 1.5 以上	1	206	-	-

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
(両側危険率 5%)。

平均値：1と2

精度：1と2

サンプルスパイク内標準物質の 回収率に関する解析

外れ値等棄却後の解析

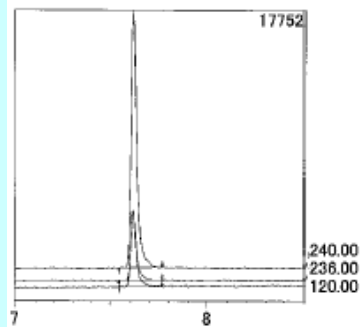
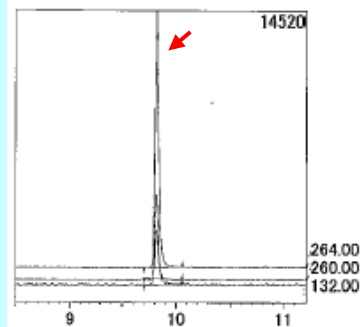
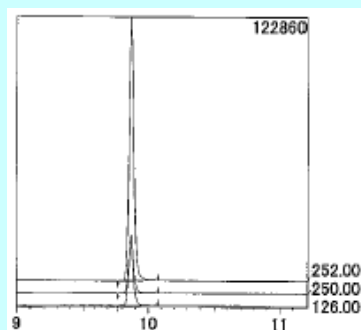
回収率（％）	回答 数	平均値 （ $\mu\text{g/kg}$ ）	室間精度	
			S.D.（ $\mu\text{g/kg}$ ）	CV %
1. 70未満	2	264	—	—
2. 70～80	5	381	90.9	23.9
3. 80～90	11	293	64.2	21.9
4. 90～100	12	294	75.9	25.8
5. 100～110	10	338	45.5	13.5
6. 110～120	10	328	56.9	17.3
7. 120以上	4	389	74.4	19.1

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

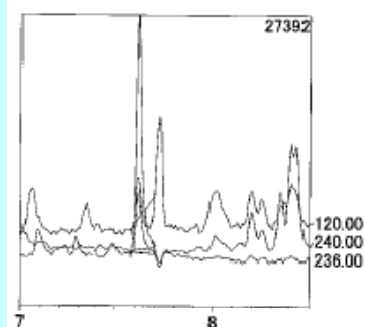
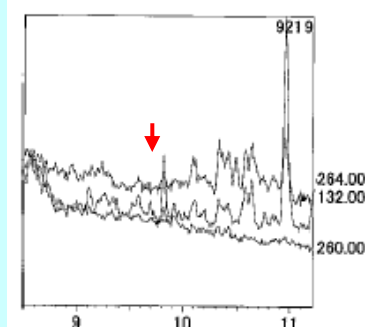
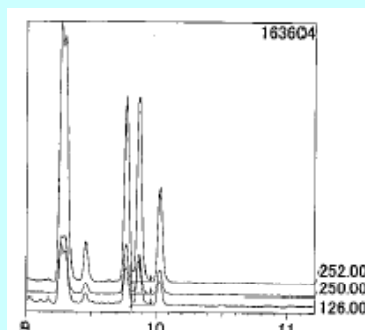
平均値：2と3、3と7、4と7

注2）「外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル」では「サロゲート物質」と表記されているが、ここでは「サンプルスパイク内標準物質」とする。

サンプルスパイク内標準物質が回収されていない試料の例



標準溶液(400pg)



試料溶液

ベンゾ(a)ピレン

ベンゾ(a)ピレン-d₁₂
(サンプルスパイク)

クリセン-d₁₂

- 実試料ではサンプルスパイクが回収できていない
→ サンプルスパイクが回収できる抽出、クリーンアップ条件とする

過去との比較

(芳香族化合物:水質&底質)

項目 試料	年度	棄却後 回答数	平均値	C V %	設定値 ($\mu\text{g/l}$)	%設定 値	設定値 濃度比	目標検出下 限との比
ベンゾ(a)ピレン 模擬水質	16	83	0.317	14.6	0.33	96.1	1.0	33
	17	80	0.0305	23.0	0.032	95.3	0.0970	3.2
ベンゾフェノン 模擬水質	16	78	0.231	13.8	0.25	92.4	1.0	25
	17	81	0.0245	28.3	0.024	102.1	0.0960	2.4
4-ニトロトルエン 模擬水質	16	75	0.431	33.1	0.46	93.7	1.0	46
	17	82	0.0877 ($\mu\text{g/l}$)	30.4	0.096 ($\mu\text{g/l}$)	91.4	0.209	9.6
ベンゾ(a)ピレン 底質	18	71	1660 ($\mu\text{g/kg}$)	37.4	実試料の ためなし	なし	なし	332
ベンゾ(a)ピレン 底質	19	64	322 ($\mu\text{g/kg}$)	23.4	実試料の ためなし	なし	なし	64.4

過去との比較

(フタル酸エステル類:水質 & 底質)

調査対象	試料	棄却後 回答数	平均値	CV%	%設定値
フタル酸ジ-2-エチルヘキシル (11年度)	模擬水質	107	4.38 ($\mu\text{g/l}$)	34.7	87.6
フタル酸ジ-n-ブチル (13年度)	模擬水質	103	5.51 ($\mu\text{g/l}$)	21.5	91.8
フタル酸ジ-n-ブチル (14年度)	模擬水質	66	5.10 ($\mu\text{g/l}$)	13.2	92.7
フタル酸ジエチルヘキシル (15年度)	実底質	85	10.4 ($\mu\text{g/g}$)	40.2	実試料の ためなし
フタル酸ジエチルヘキシル (16年度)	実底質	83	6.43 ($\mu\text{g/g}$)	32.6	実試料の ためなし

代表的な分析実施上の留意点等

参加機関のコメント

[汚染等]

- ・試薬、器具からの汚染に注意した。
- ・使用器具はすべて250℃で焼き出した。
- ・使用試薬はすべて未開封のフレッシュなものを使用した。

[試料]

- ・試料が微粒子であったため採取には十分飛散に注意した。

[抽出]

- ・液々抽出の際エマルジョンができないようにあまり激しく振とうしなかった。
- ・抽出時に十分な試料量を確保するため多めに採取し、液液抽出以降の操作を抽出液量2 分の1として行った。

代表的な分析実施上の留意点等

参加機関のコメント

[クリーンアップ]

- ・シリカゲルカラムによるクリーンアップ前に還元銅を一晩入れた。
- ・クリーンアップの再現性をよくするために、ヘキサン転溶後に5%NaCl50mLで1回洗浄した。
- ・フロリジルによるクリーンアップがうまくいかず、シリカゲルで行った。
- ・抽出液が黄色となり、クリーンアップを実施したので、回収率が低下しないように慎重に実施した。
- ・クリーンアップをミニカラムで行ったが、回収率が悪かった。したがって、クリーンアップを省略してGC/MSに注入した。

[濃縮]

- ・濃縮操作をする時、揮散しやすい物質なので注意を払った
- ・ロータリーエバポレータで濃縮する時は、温度を30度程度に保つようにした。
- ・分析方法で最終液の定容量は0.3mLとなっているが、なぜ0.5mLや1.0mLではないか。

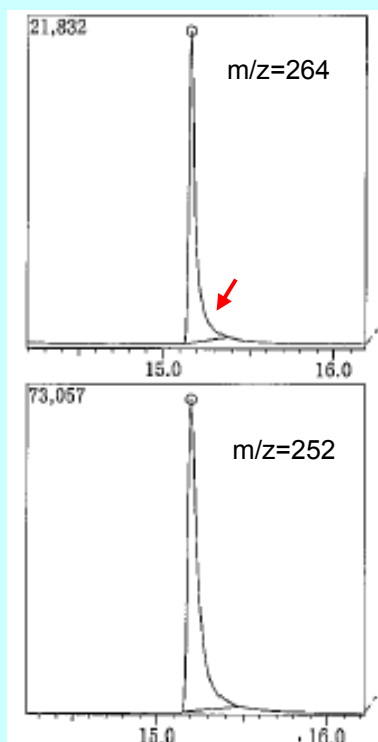
代表的な分析実施上の留意点等

参加機関のコメント

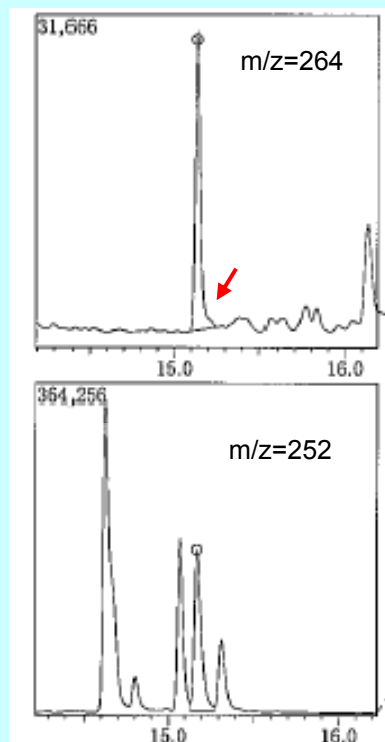
〔測定〕

- ・標準液と試料のピーク形状に大きな差があった。試料のピーク形状が良好であった。マトリックス効果と考えられるが、標準液にPEG (ポリエチレングリコール) 等の添加は行わなかった。
- ・GC/MS測定時にPEG (ポリエチレングリコール) を添加した。
- ・ベンゾ(a)ピレン以外の多環芳香族化合物も検出されたことから同定を間違わないように留意した。
- ・クリンアップ後は早めにGC/MSにかけるよう努力した。
- ・マトリックス効果の影響により、検量線最高濃度の指示値より試料の指示値が大きくなったが、面積比では検量線の範囲内であったのでそのまま定量した。
- ・試料に含まれる夾雑物が多く、GC/MS測定でマトリックス効果による感度変動が見られたことから、この影響をできるだけ無くすように注意したが、注入口やカラムの汚染が防げなかったのが問題であった。

マトリックス効果の例

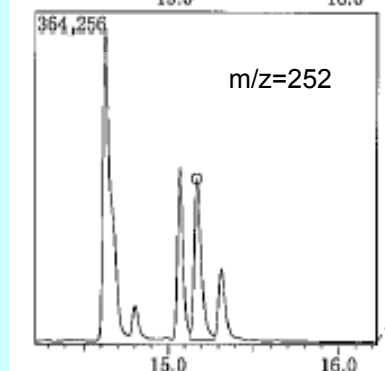
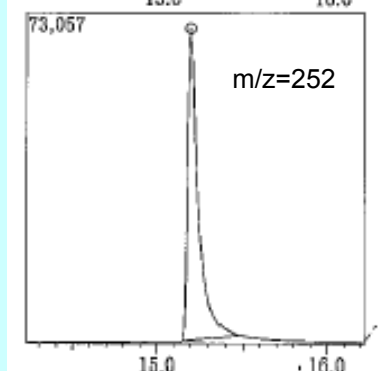


標準溶液(500pg)



試料溶液

ベンゾ(a)ピレン- d_{12}
(サンプルスパイク)



ベンゾ(a)ピレン

- マトリックスのない標準溶液では測定対象物質が注入口やカラムへ吸着してピーク形状が悪化するが、マトリックスのある試料溶液では吸着が抑制されてピーク形状が改善される→標準溶液をポリエチレングリコール溶液と共注入することで改善が可能

代表的な分析実施上の留意点等

参加機関のコメント

[分解、回収率]

- ・遮光に注意して、分析操作を行った。(6)
- ・操作は、光分解しないように注意して実施した。(3)
- ・光分解を避けるため、分液漏斗はアルミホイルで被い、使用器具は褐色瓶を用いた。
- ・試料の遮光と器具の洗浄に留意した。
- ・一連の操作でサロゲートの損失及び分解が起こらないようにガラス器具にアルミホイルを巻き遮光に配慮した。
- ・光分解に注意し、標準液、試料抽出液、測定バイアル容器ともに褐色ガラスまたは遮光を行った。
- ・抽出中、放置時間等も出来る限り遮光を行い操作を進めた。
- ・光による目的物質の分解を避けるため、アルミホイルなどで遮光した。
- ・光による分解を考慮し、すばやく前処理等を行った。
- ・どの程度(期間等)光による分解が生ずるのか解らなかった。
- ・分解防ぐため、ガラス器具をアルミホイルで遮光して操作を行った。
- ・光分解しやすい物質のため、アルミ箔等をまき、できる限り遮光に努めた。
- ・回収率のバラツキを検討するため、試料量を変えて分析を行った。

代表的な分析実施上の留意点等

参加機関のコメント

[内標準]

・サンプルスパイクに目的物質の安定同位体化物を使用する場合は、シリンジスパイクとしても使用するため、通常、シリンジスパイク添加は行わないが、今回は回収率が必要だったため、添加した。シリンジスパイクには、なるべく保持時間が近い化合物を選択し、1%PEG (ポリエチレングリコール) 含有アセトン溶液として調製し、10 μ Lを添加した。

[その他]

- ・クリーンアップ以降の試料溶液作成は有害大気汚染物質測定マニュアルに従った。
- ・濃縮の際、底質由来の硫黄と思われる成分が多量に析出した。マニュアルには処理手順が記載されていないため、そのまま実施しました。底質試料には硫黄が含まれる可能性が高いので、硫黄除去処理 (銅による処理など) を加えてはいかがでしょうか。
- ・検量線、試料、空試験の指示値はピーク面積値を記載した。