

平成27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
(フタル酸エステル類の分析)

平成28年7月21日 東京
平成28年7月27日 大阪
平成28年8月 2日 福岡

概要

調査対象

- ・高等精度管理調査

測定回数1～2回

- ・分析対象項目

(詳細項目)

フタル酸ジ-n-ブチル、フタル酸ジ-2-エチルヘキシル、フタル酸ジシクロヘキシル、フタル酸ブチルベンジル

(参照項目)

フタル酸ジエチル、ブタル酸ジプロピル、フタル酸ジイソブチル、ブタル酸ジ-n-ペンチル、フタル酸ジ-n-ヘキシル

- ・共通試料3

底質試料

試料

○底質試料(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
 - 混合・均質化
 - 100mLのガラス製の瓶に約50g
- ・参加機関へは瓶を1個送付
- ・別途、乾燥減量を測定し、乾燥試料あたりの濃度で報告

分析方法(推奨方法)

- ・「底質調査方法」

(平成24年8月環水大水120725002号、水・大気環境局)

- ・「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10月環境庁水質保全局水質管理課)

- ・フタル酸ジ-2-エチルヘキシルについては、「底質調査法」等により試験液を調製した後に、「水質汚濁に係る人の健康の保護に関する環境基準の測定方法及び要監視項目の測定方法について」(平成5年4月 環水規121号、環水管69号) に定めるGC/ECD法

も適用できる

分析方法(推奨方法)

分析方法	フタル酸エステル類
溶媒抽出-ガスクロマトグラフ質量分析法 (GC/MS)	○1 ○2
(参考:水質の要監視項目)ガスクロマトグラフ質量分析法 (GC/MS)	○3
ガスクロマトグラフ法 (GC/ECD)	○3

(注)○1:「底質調査方法(平成24年8月 環水大水120725002号、水・大気環境局)に規定する方法

○2:「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10月環境庁水質保全局水質管理課)に規定する方法

○3:「水質汚濁に係る人の健康の保護に関する環境基準の測定方法及び要監視項目の測定方法について」(平成5年4月 環水規121号、環水管69号)に規定する方法(フタル酸ジ-2-エチルヘキシル)

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)

試料 適量、遠沈管

↓ ← (サロゲート物質)

↓ ← アセトニトリル 30 mL

抽出 振とう5 min、超音波10 mi

2回抽出

↓
遠心分離 3000rpm、10 min

↓
上澄液 (アセトニトリル抽出液)

↓
アセトニトリル抽出液の1/4を分取

↓
クリーンアップ
(GPC分画又は溶媒抽出)

↓
脱水・濃縮

↓ ← (内標準液)
GC/MS測定用試験液

↓
GC/MS

回答数等

分析方法			回答数	割合%
抽出方法(注1)	クリーンアップの方法（注2）	測定方法(注3)		
アセトリルによる抽出	1. GPCによる処理	ガスクロマトグラフ質量分析法	3	11.1
	2. 溶媒抽出による処理		20	74.1
	3. その他の処理		2	7.4
	4. 行わない		2	7.4
合計			27	100.0

(注1)抽出方法については、すべて「アセトリルによる抽出(振とう/超音波)」であり、他の方法はなかった。

(注2)クリーンアップの方法については、「溶媒抽出による処理(ヘキサンによる抽出とフロリジラムによる処理)」が多かった。「3. その他の処理」としては、「1. GPC」後に「2. 含水フロリジラム」の操作等であった。

(注3)測定方法については、すべて「ガスクロマトグラフ質量分析法(GC/MS)」であり、他の方法はなかった。

全体の回答数は、上表のとおり27である。

分析対象項目ごとの回答数は、18～25である。

(分析対象項目により回答数は異なる)

詳細項目の結果

回答数等(詳細項目)

分析項目	回答数	棄却数			棄却率 %
		ND等	Grubbs	計	
(詳細項目)					
フタル酸ジ-n-ブチル	22	0	2	2	9.1(9.1)
フタル酸ジ-2-エチルヘキシル	25	0	0	0	0.0(0.0)
<u>* (参考)</u>	<u>25</u>	<u>0</u>	<u>5</u>	<u>5</u>	-
フタル酸ジシクロヘキシル	18	12	0	12	66.7(0.0)
フタル酸ブチルベンゼン	21	2	1	3	14.3(4.8)
<u>* (参考)</u>	<u>21</u>	<u>2</u>	<u>4</u>	<u>6</u>	-

(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。

半数以上の分析結果がND等の場合にはGrubbsの検定を行っていない (棄却率等は示してない)。

* (参考) Grubbsの検定では外れ値とならなかったが、ヒストグラムから判断して離れた分析結果があり、これらを外れ値扱いにした場合の結果を (参考) として示す (棄却率は示してない)。該当する回答数については、フタル酸ジ-2-エチルヘキシルが5 (大きい値3、小さい値2)、フタル酸ブチルベンゼンが3 (いずれも大きい値) である。

棄却限界値と平均値（詳細項目）

分析項目	Grubbsの検定		（参考）
	下限値 (μ g/kg)	上限値 (μ g/kg)	外れ値等棄却 後の平均値 (μ g/kg)
フタル酸ジ-n-ブチル	146	349	248
フタル酸ジ-2-エチルヘキシル	0	2020	895
<u>（参考）（注2）</u>	<u>494</u>	<u>974</u>	<u>840</u>
フタル酸ジシクロヘキシル（注1）	2.40	4.79	3.59
フタル酸ブチルベンジル	1.02	43.7	22.3
<u>（参考）（注2）</u>	<u>12.0</u>	<u>25.5</u>	<u>19.3</u>

（注1）大部分の分析結果がND等の場合にはGrubbsの検定を行っていない。

（注2）フタル酸ジ-2-エチルヘキシル、フタル酸ブチルベンジルの2項目については、Grubbsの検定では外れ値とならなかったが、ヒストグラムから判断して離れた分析結果があり、これらを外れ値扱いにした場合の結果を（参考）として示す（Grubbsの検定の下限值欄には分析結果の最小値、上限値欄には最大値を示す）。

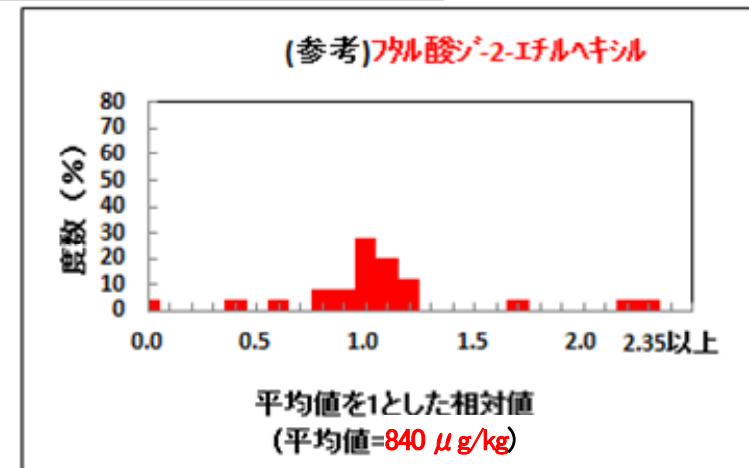
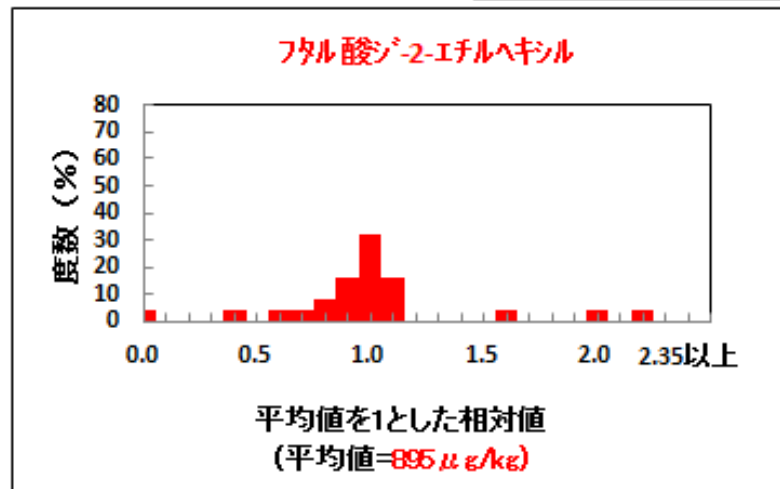
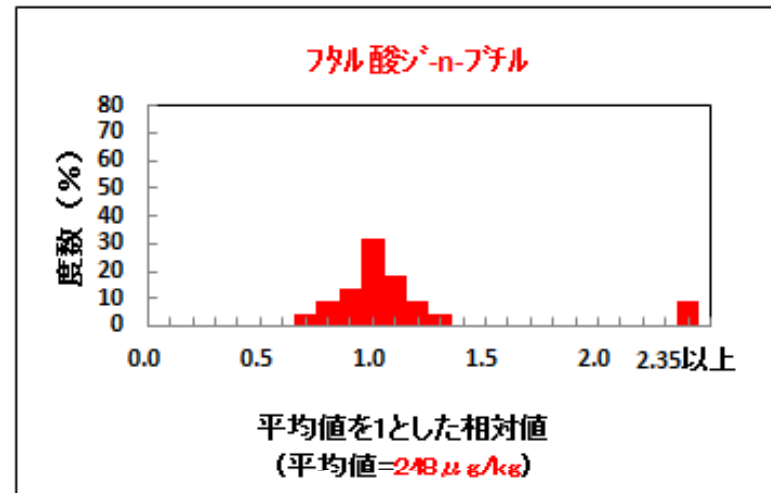
室間精度等(詳細項目)

分析項目	棄却 (注1)	回答数	平均値 (μ g/kg)	室間精度		最小値 (μ g/kg)	最大値 (μ g/kg)	中央値 (μ g/kg)
				S. D. (μ g/kg)	CV %			
フタル酸ジ-n-ブチル	前	22	290	144	49.6	181	798	246
	後	20	248	37.3	15.1	181	334	243
フタル酸ジ-2-エチルヘキシル	前	25	895	397	44.3	6.17	1970	861
	後	25	895	397	44.3	6.17	1970	861
(参考)(注2)	後	20	840	119	14.1	494	974	858
フタル酸ジシクロヘキシル	前	6	3.59	0.632	17.6	2.47	4.33	3.77
	後	6	3.59	0.632	17.6	2.47	4.33	3.77
フタル酸ブチルベンジル	前	19	69.3	205	296	12.0	915	22.7
	後	18	22.3	8.05	36.0	12.0	39.0	22.3
(参考)(注2)	後	15	19.3	4.50	23.3	12.0	25.5	20.9

(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。

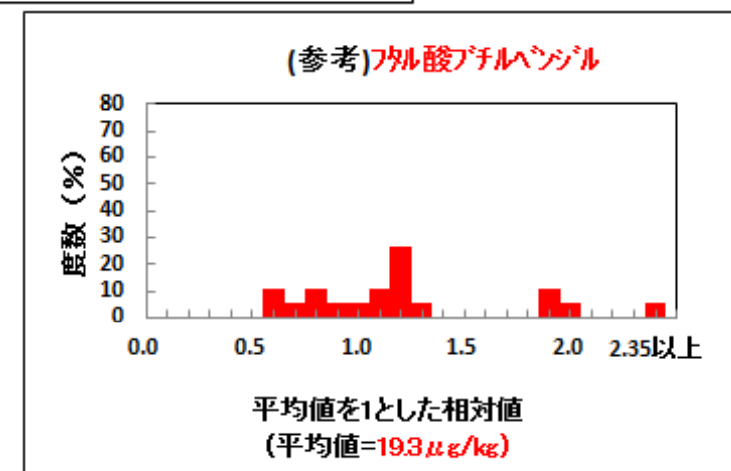
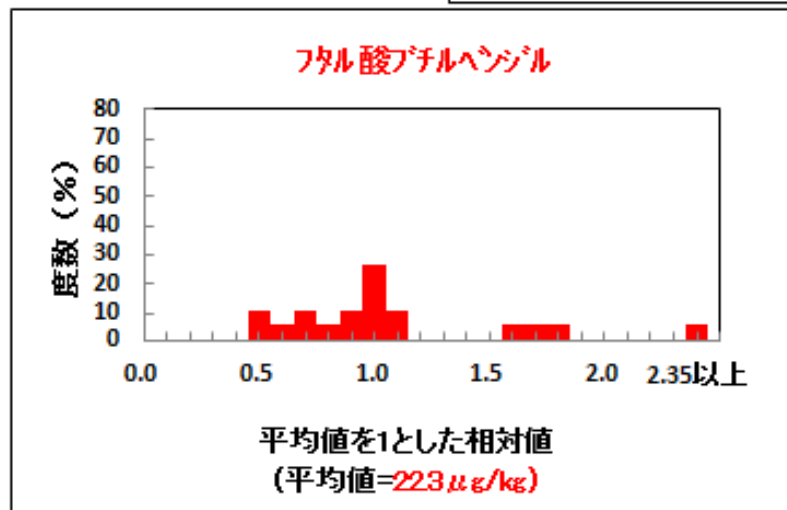
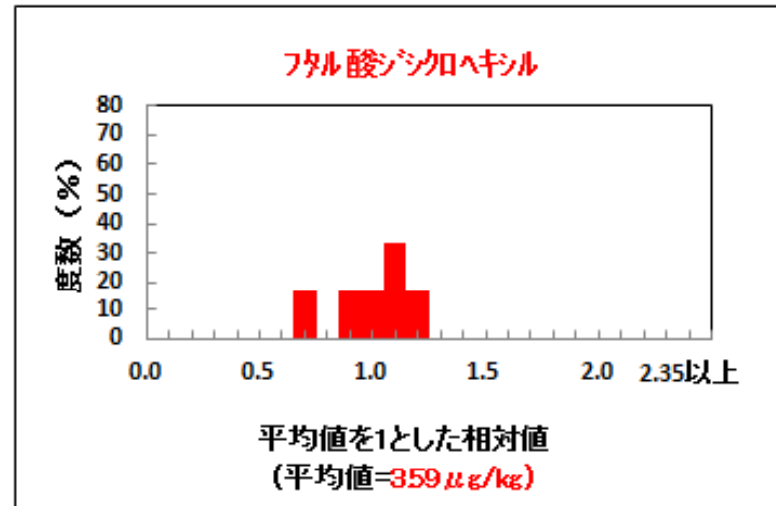
(注2)フタル酸ジ-2-エチルヘキシル、フタル酸ブチルベンジルの2項目については、Grubbsの検定では外れ値とならなかったが、ヒストグラムから判断して離れた分析結果があり、これらを外れ値扱いにした場合の結果を示す(フタル酸ジ-2-エチルヘキシルは高値と低値があり、室間精度CVは小さな値となったが、平均値は大きく変わらなかった。フタル酸ブチルベンジルは室間精度CV、平均値とも小さな値となったが、他の2項目に比べて大きく離れた高値でなかったため、室間精度CV、平均値とも他の2項目に比べて変化は小さかった。)

ヒストグラム(詳細項目)



(注)フタル酸ジ-2-エチルヘキシルについては、左図のようにGrubbsの検定では外れ値とならなかったが、大きく離れた5回答(高値の分析結果3回答、低値2回答)があった。これらを外れ値扱いにし平均値を算出して作成したヒストグラム(参考)を右図に示す。

ヒストグラム(詳細項目)



(注)フタル酸ブチルベンジルについては、左図のように大きく離れた高値の分析結果1回答はGrubbsの検定で外れ値となったが、少し離れた3回答は外れ値とならなかった。これらを外れ値扱いにし平均値を算出して作成したヒストグラム(参考)を右図に示す。

分析方法別回答数(詳細項目)

(フタル酸ジ-n-ブチル)

分析方法			回答 数	棄却された回答数			
抽出方法 (注1)	クリーンアップ ^o の方法 (注2)	測定方法 (注3)		ND等	Grubbs		計
					小さな値	大きな値	
アセトニトリル による抽出	1. GPCによる処理	ガスクロマト グラフ質量 分析法	2	0	0	0	0
	2. 溶媒抽出 による処理		16	0	0	1	1
	3. その他の処理		2	0	0	0	0
	4. 行わない		2	0	0	1	1
合計			22	0	0	2	2

(フタル酸ジ-2-エチルヘキシル)

分析方法			回答 数	棄却された回答数(注4)			
抽出方法 (注1)	クリーンアップ ^o の方法 (注2)	測定方法 (注3)		ND等	Grubbs		計
					小さな値	大きな値	
アセトニトリル による抽出	1. GPCによる処理	ガスクロマト グラフ質量 分析法	3	0	0 (1)	0	0 (1)
	2. 溶媒抽出 による処理		18	0	0	0 (3)	0 (3)
	3. その他の処理		2	0	0	0	0
	4. 行わない		2	0	0 (1)	0	0 (1)
合計			25	0	0	0	0

(注1)抽出方法については、すべて「アセトニトリルによる抽出(振とう/超音波)」であり、他の方法はなかった。

(注2)クリーンアップの方法については、「溶媒抽出による処理(ヘキサンによる抽出と含水フロリジウムによる処理)」が多かった。「3. その他の処理」としては、「1. GPC」後に「2. 含水フロリジウム」の操作等であった。

(注3)測定方法については、すべて「ガスクロマトグラフ質量分析法(GC/MS)」であり、他の方法はなかった。

(注4)Grubbsの検定では外れ値とならなかったが、ヒストグラムから判断して離れた分析結果があり、これらを外れ値扱いにした場合の結果を () として示す。

分析方法別回答数(詳細項目)

(フタル酸ジシクロヘキシル)

分析方法			回答 数	棄却された回答数			
抽出方法 (注1)	クリーンアップの方法 (注2)	測定方法 (注3)		ND等	Grubbs		計
					小さな値	大きな値	
アセトニトリルに よる抽出	1. GPCによる処理	ガスクロマトグ ラフ質量分 析法	2	1	0	0	1
	2. 溶媒抽出 による処理		13	9	0	0	9
	3. その他の処理		2	1	0	0	1
	4. 行わない		1	1	0	0	1
合計			18	12	0	0	12

(フタル酸ブチルベンジル)

分析方法			回答 数	棄却された回答数(注4)			
抽出方法 (注1)	クリーンアップの方法 (注2)	測定方法 (注3)		ND等	Grubbs		計
					小さな値	大きな値	
アセトニトリルに よる抽出	1. GPCによる処理	ガスクロマトグ ラフ質量分 析法	3	0	0	1	1
	2. 溶媒抽出 による処理		15	2	0	0	2
	3. その他の処理		2	0	0	0(2)	0(2)
	4. 行わない		1	0	0	0(1)	0(1)
合計			21	2	0	1	3

(注1)抽出方法については、すべて「アセトリルによる抽出(振とう/超音波)」であり、他の方法はなかった。

(注2)クリーンアップの方法については、「溶媒抽出による処理(ヘキサンによる抽出とフロリジウムによる処理)」が多かった。「3. その他の処理」としては、「1. GPC」後に「2. 含水フロリジウム」の操作等であった。

(注3)測定方法については、すべて「ガスクロマトグラフ質量分析法(GC/MS)」であり、他の方法はなかった。

(注4)Grubbsの検定では外れ値とならなかったが、ヒストグラムから判断して離れた分析結果があり、これらを外れ値扱いにした場合の結果を()として示す。

外れ値等の原因(詳細項目)

フタル酸ジ-n-ブチル、フタル酸ジ-2-エチルヘキシル、フタル酸ブチルベンジルの場合

分析項目	分析結果	アンケート調査での当該機関の回答	添付資料などから推測された外れ値の原因・理由
フタル酸ジ-n-ブチル フタル酸ジ-2-エチルヘキシル	Grubbs (大きい値) ヒストグラム (小さい値)	記載間違いの確認漏れ (フタル酸ジ-n-ブチル、フタル酸ジ-2-エチルヘキシルの値を取り違えて記載)。	サゲートを添加していなかったため、報告データを基に前処理においてミスのあったかどうかを判定することが難しく、推測になるが、繰り返し分析(n=3)の再現精度がよかったこと、操作ブランク試料から検出されたフタル酸エステル類のレスポンスが底質試料に比べて1/10未満だったことから、前処理操作において外れ値を引き起こすようなミスはなかったと判断する。したがって、回答の内容の他に、標準液の調製ミスあるいは濃度計算のミスが疑われる。
フタル酸ジ-2-エチルヘキシル フタル酸ブチルベンジル	平均値の 0.113倍以下ヒストグラム (小さい値) Grubbs (大きい値)	フタル酸ジ-2-エチルヘキシル、フタル酸ブチルベンジルの測定結果を誤って入力してしまった。	外れ値アンケートで回答しているように、フタル酸ブチルベンジルの報告値が他機関に比べて高く、反対にフタル酸エチルヘキシルの報告値が低い外れ値になっており、分析対象物質の定量結果を取り違えたことを確認できた。フタル酸ジメチル以外のフタル酸エステル類は定量イオンがm/z=149で共通しているので、確認イオン及び保持時間をセットにしてデータ処理を行うこと、さらに一般環境底質試料のフタル酸エステル類の組成を理解しておくことで、分析対象物質の定量結果の取り違えを回避することができる。

外れ値等の原因(詳細項目)

フタル酸ジ-n-ブチル、フタル酸ジ-2-エチルヘキシル、フタル酸ブチルベンジルの場合

分析項目	分析結果	アンケート調査での当該機関の回答	添付資料などから推測された外れ値の原因・理由
フタル酸ジ-n-ブチル フタル酸ジ-2-エチルヘキシル	Grubbs (大きい値) ヒストグラム (大きい値)	前処理(クレンジング)が不十分で、共存物質の影響を受けている可能性がある。前処理に汚染を受けている可能性がある。	報告データにおいて試料に添加した各サゲートの相対強度が、サゲートを添加した標準試料における相対強度とほぼ一致しており、前処理操作においてミスをしやすいクレンジング操作に問題はなかったと推察される。また、試料のフタル酸ジ-n-ブチル、フタル酸ジ-2-エチルヘキシル及びサゲートの各イオンクロマトグラムにピーク積分を妨害するような妨害認められず、夾雑物の干渉はなかったと推測される。報告データにおいて認められた問題点は、 ブランク値が高かったこと である。濃度計算式で、ブランク値の減算を行ったと報告されているが、 操作ブランク値が大きく変動していた可能性もあり 、外れ値の原因になった可能性が疑われる。定量確度を担保するには、最低でもブランクレベルが測定する物質の応答値の一割未満になるように心がける必要がある。
フタル酸ジブチルベンジル	ND	前処理時に目的成分を回収できている(回収できていない)可能性がある。	原因不明

外れ値等の原因(詳細項目)

フタル酸ジ-n-ブチル、フタル酸ジ-2-エチルヘキシル、フタル酸ブチルベンジルの場合

分析項目	分析結果	アンケート調査での 当該機関の回答	添付資料などから推測された外れ値の原因・理由
フタル酸ジ-2-エチルヘキシル	ヒストグラム (大きい値)	カラム等の洗浄不良が原因と考えられる。	報告された計算式において内部標準物質(サゲート)を使った濃度計算手順の誤りが疑われる。抽出液の分取工程は、最終の試料液のサゲートのロスに反映されるので、分取割合をサゲートを使って算出した測定対象フタル酸エステル類の濃度計算に用いる必要はなかったと考えられる。一方、分析工程におけるロスを評価するためのサゲート自体の回収率を計算する場合には、分取割合で最終の試料液サゲートのピーク濃度を補正しなくてはならない。
フタル酸ジ-2-エチルヘキシル	ヒストグラム (大きい値)	使用器具等の加熱不足、保管が不適切だったのではと思われる。	空試験/試料値が0.283で大きな値であったので、操作ブランク値の低減に努める必要がある。

外れ値等の原因(詳細項目)

フタル酸ジ-n-ブチル、フタル酸ジ-2-エチルヘキシル、フタル酸ブチルベンジルの場合

分析項目	分析結果	アンケート調査での当該機関の回答	添付資料などから推測された外れ値の原因・理由
フタル酸ブチルベンジル	ND	回答なし	原因不明
フタル酸ブチルベンジル	ヒストグラム (大きい値)	対象項目に対する試料分取量が少なかったため。	報告データにおいて試料に添加した各サゲートの相対強度が、サゲートを添加した標準試料における相対強度とほぼ一致しており、前処理操作においてミをしやすいクリーンアップ操作に問題はなかったと推察される。また、試料のフタル酸ジ-n-ブチル、フタル酸ジ-2-エチルヘキシル及びサゲートの各イオンクロマトグラムにピーク積分を妨害するような妨害認められず、夾雑物の干渉はなかったと推測される。報告データにおいて認められた問題点は、 ブランク値が高かったこと である。濃度計算式で、ブランク値の減算を行ったと報告されているが、 操作ブランク値が大きく変動していた可能性もあり 、外れ値の原因になった可能性が疑われる。定量確度を担保するには、最低でもブランクレベルが測定する物質の応答値の一割未満になるように心がける必要がある。
フタル酸ブチルベンジル	ヒストグラム (大きい値)	絶対検量線法による誤差が原因と考えられる。	原因不明
フタル酸ブチルベンジル	ヒストグラム (大きい値)	サゲートの回収率が70%以下であったため、抽出、クリーンアップで 回収不足 があったと考えられた。	原因不明

外れ値等の原因(詳細項目)

フタル酸ジシクロヘキシルの場合

分析結果 (検出下限値mg/kg)	アンケート調査での当該機関の回答
ND	サゲートの回収率が70~130%の範囲に入らないことが多くあり、GPCの工程に何らかの原因があるように感じるが、明確な原因は不明である。
ND (20)	対象項目に対する試料分取量が少なかったため。
ND (10)	下限値に指定がなかったため、外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアルに示された目標定量下限値10 μ g/kgに従って分析を行った。
ND (10)	実施要領に目標下限値等の記載がないため。
ND (9)	回答なし
ND (10)	回答なし
ND	回収率エラー(内標を入れていなかった)。
ND (10)	指定の方法(外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル)で実施した。この方法の要求下限は10 μ g/kgであり、報告下限値はこれを満たしていたが、設定値はこれを下回る濃度値(3.6 μ g/kg)であったため、不検出と報告した。
ND (3)	前処理時に目的成分を吸している(回収できていない)可能性がある。
ND (10)	回答なし
ND (10)	外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアルの目標検出限界10 μ g/kgを検出下限値としたため。実際の測定値は3.42 μ g/kgであり、測定自体には問題はない。
ND (3)	サゲートの回収率が70%以下であったため、抽出、クレンジアップで回収不足があったと考えられた。

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）

フタル酸ジ-n-ブチル

- ・ 昨年度の試料数
- ・ 室内測定（回数）
- ・ 空試験と試料の指示値の比
- ・ シリンジスパイク内標準物質（種類）
- ・ サロゲート物質の回収率

フタル酸ジ-2-エチルヘキシル

- ・ 昨年度の試料数
- ・ 室内測定（精度）
- ・ 試料量
- ・ クリーンアップの方法
- ・ GC/MSの測定条件（注入方式）
- ・ 標準原液
- ・ 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（種類）
- ・ サロゲート物質の回収率

フタル酸ブチルベンジル

- ・ 室内測定（回数）
- ・ サロゲート物質の回収率

添付書類の例1-1

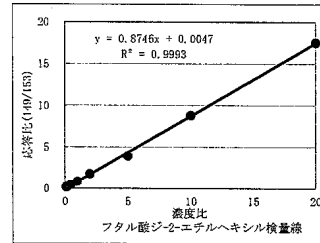
分析結果

試料名:環境省統一精度管理試料(3底質試料:フタル酸エステル類)
検査項目:フタル酸ジ-2-エチルヘキシル

検量線用標準液

濃度	濃度比	フタル酸ジ-2-エチルヘキシル(Area)			フタル酸ジ-2-エチルヘキシル-3,4,5,6-d4(Area)		フルオランテン-d10 (Area)	応答比	面積比
(mg/L)		定量(149)	確認(167)	167/149	定量(153)		定量(212)	149/153	153/212
2	20	111724638	111723424	1.00	6365883		43749273	17.5505	0.1465
1	10	44811693	44672347	1.00	5075428		44963303	8.8291	0.1129
0.5	5	20018515	19972228	1.00	5036580		42296549	3.9746	0.1191
0.2	2	8979718	9055888	1.01	4999552		43300967	1.7961	0.1155
0.1	1	5375329	5375329	1.00	6184280		55913171	0.8692	0.1106
0.05	0.5	1633229	1628519	1.00	3202751		42474650	0.5099	0.0754
0.02	0.2	1058153	1055461	1.00	4303102		58270969	0.2459	0.0738
0.01	0.1	886079	880932	0.99	4545726		49638881	0.1949	0.0916

注)サロゲート内標準物質濃度(フタル酸ジ-2-エチルヘキシル-3,4,5,6-d4):100ng/mL 平均 0.1055
シリジスバイク内標準物質濃度(フルオランテン-d10):100ng/mL



フタル酸ジ-2-エチルヘキシル測定用試料

試料名	フタル酸ジ-2-エチルヘキシル(Area)			フタル酸ジ-2-エチルヘキシル-3,4,5,6-d4(Area)	フルオランテン-d10 (Area)	応答比	面積比	試験液		
	定量(149)	確認(167)	167/149					濃度比	濃度	サロゲート回収率
空試験用試料1	2340413	2333451	1.00	3746990	49724943	0.625	0.0754	0.709	0.0709	71
空試験用試料2	3154151	3171332	1.01	3648396	48389943	0.865	0.0754	0.983	0.0983	71
試料1	28425708	28363686	1.00	6213305	56448333	4.575	0.1101	5.226	0.5226	104
試料2	33674791	33611239	1.00	7476210	59409221	4.504	0.1258	5.145	0.5145	119

注)サロゲート内標準物質濃度(フタル酸ジ-2-エチルヘキシル-3,4,5,6-d4):100ng/mL
シリジスバイク内標準物質濃度(フルオランテン-d10):100ng/mL

乾燥減量測定用試料

	分取した試料量(g)	乾燥した試料量(g)	乾燥減量(%)
乾燥減量測定用試料①	2.92484	2.85773	2.294
乾燥減量測定用試料②	3.00048	2.93319	2.243
		平均(%)	2.269

操作ブランク試験液からの検出量(平均値ng)
(0.0709+0.0983)/2=0.0846 (ng)

ブランク補正後の試験液の検出量(ng)
試料1 0.5226-0.0846=0.4380 (ng)
試料2 0.5145-0.0846=0.4299 (ng)

試料濃度(μ g/kg)=検出量(ng)*試験液量(mL)/注入量(μ L)*(60/15)/試料量(g)*1000
乾燥試料の濃度(μ g/kg)=試料濃度(μ g/kg)×100/(100-乾燥減量(%))
試料1 0.4380*(1/1)*(60/15)/2.0089*100/(100-2.269)*1000=892.4 (μ g/kg)
試料2 0.4299*(1/1)*(60/15)/2.0146*100/(100-2.269)*1000=873.4 (μ g/kg)

結果

	採取した試料量(g)	試料濃度(μ g/kg)	乾燥試料の濃度(μ g/kg)
試料1	2.0089	872.1	892.3
試料2	2.0146	853.6	873.4

適切な添付書類の例 I の1

別添:クロマトグラム

検量線(0.01~2.0ppm)8段階

底質試料 1、2

空試験用試料 1、2

標準液の測定値及び検量線

空試験用試料 1、2

底質試料 1、2 の測定値

濃度計算式

最終濃度

添付書類の例1-2

Peak Integration Report

Friday, October 23, 2015,
14:18:42

Data File: 93
Original Data Path: C:\Xcalibur\Data\Miyasaka_DATA\151016
Current Data Path: C:\Xcalibur\data\Miyasaka_DATA\151016\SM-s
Instrument Method: futaru150917_db5
Processing Method: C:\Xcalibur\data\Miyasaka_DATA\151016\1510
_futaru
Comments:
Sample Name: 2-sample_2g-
Calibration File: N/A
Operator:
Sample Type: Unknown
Sample ID: 1
Dilution Factor: 1.00
Sample Volume(μl): 0.00

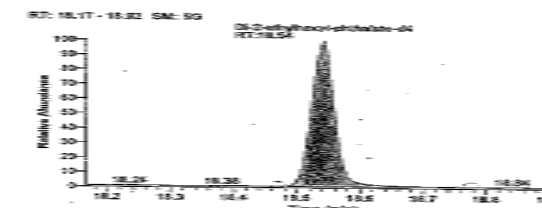
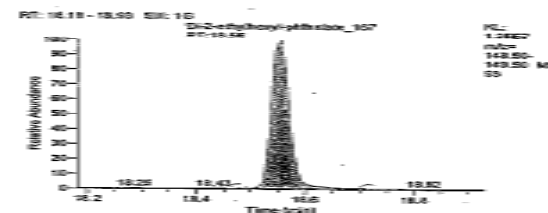
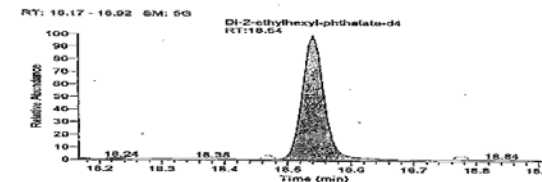
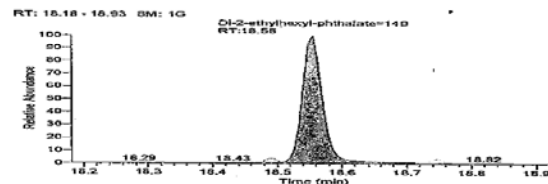
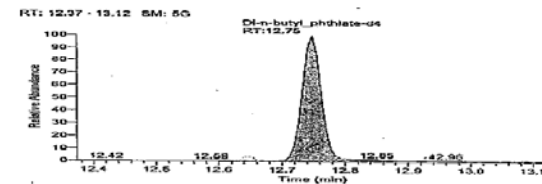
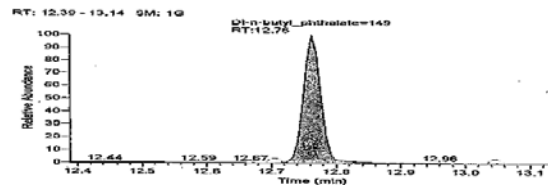
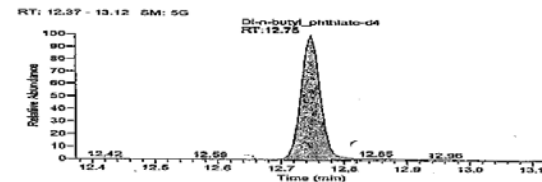
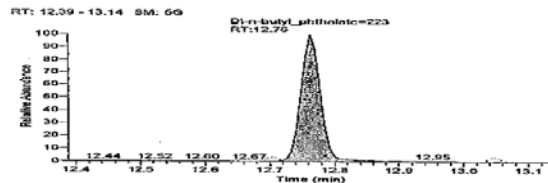
Acquisition Date: 10/20/15
04:32:44 PM

適切な添付書類の例 I の2

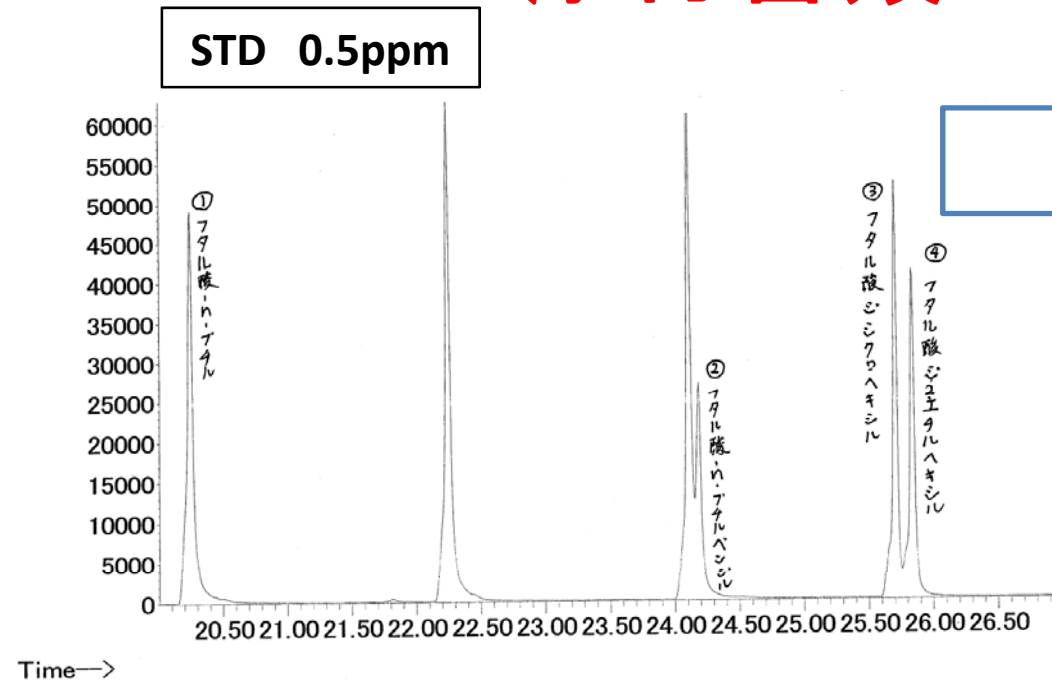
底質試料 1

Vial: 152
Injection Volume(μl): 1.00
Sample Weight: 0.00

Quan Peak Table							
Component Name	RT	Area	ISTD Area	Area Ratio	Spec. Amt	Calc. Amt	Units
Di-n-butyl_phthalate-d4	12.75	15124012	N/A	N/A	100.000	N/A	ppb
Di-n-butyl_phthalate=223	12.70	47845808	15124012	3.164	0.000	254.456	ppb
Di-n-butyl_phthalate=149	12.76	47855912	15124012	3.164	0.000	254.155	ppb
fluoranthene-d10	13.85	56448333	N/A	N/A	100.000	N/A	ppb
Di-2-ethylhexyl-phthalate-d4	18.54	6213305	N/A	N/A	100.000	N/A	ppb
Di-2-ethylhexyl-phthalate=149	18.56	28425708	6213305	4.575	0.000	522.582	ppb
Di-2-ethylhexyl-phthalate_167	18.56	28363686	6213305	4.565	0.000	521.817	ppb

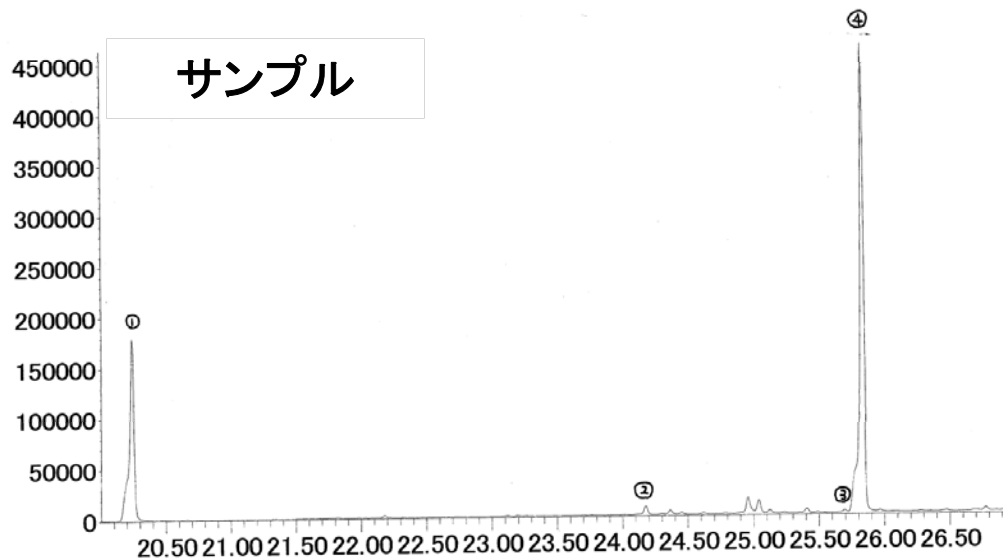


添付書類の例2



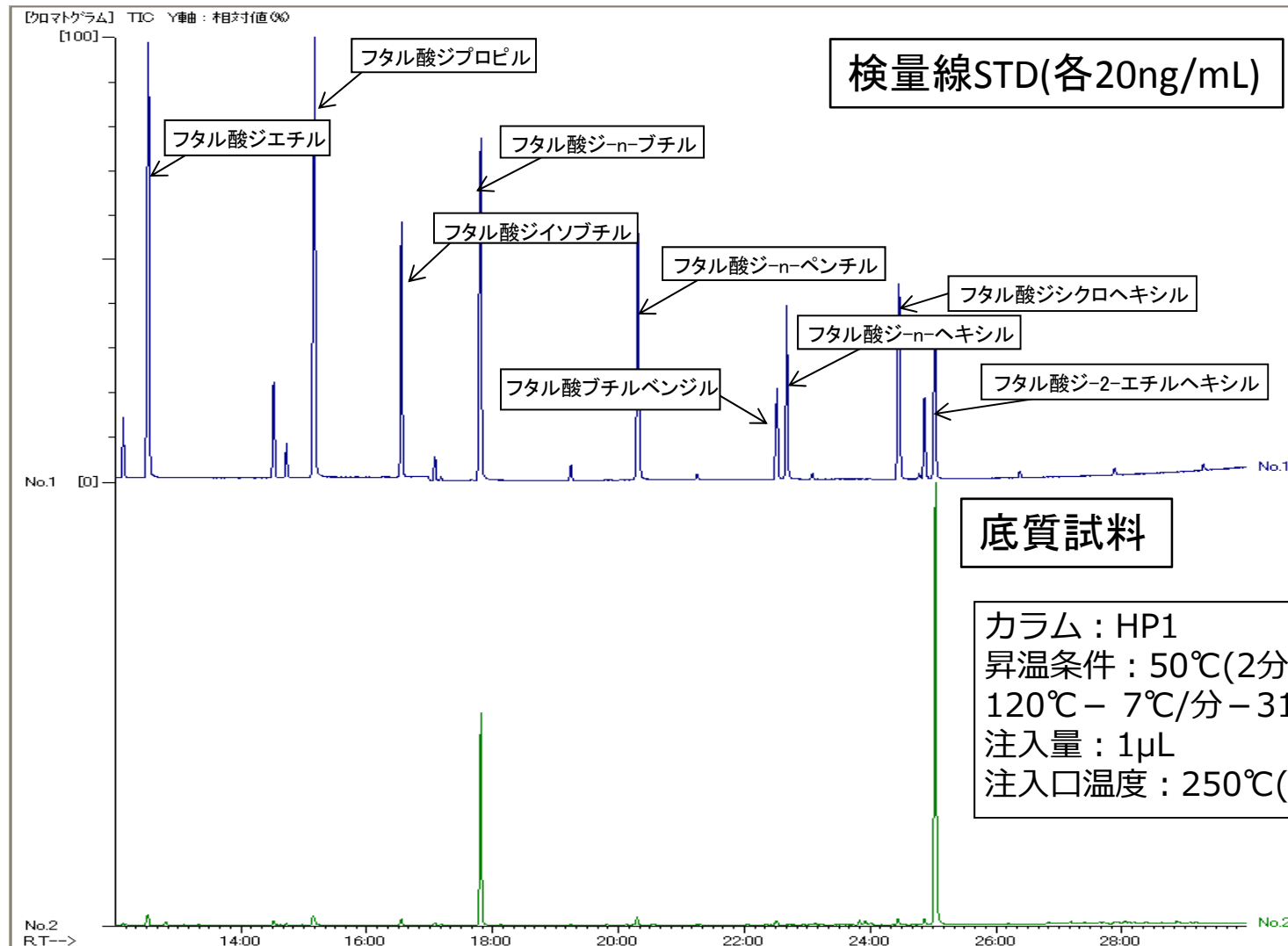
不適切な添付書類の例

添付書類不足
検量線不明
計算式不明
フローシート不明
ピーク関連情報
(保持時間、エリ
ア、 m/z 等)不明



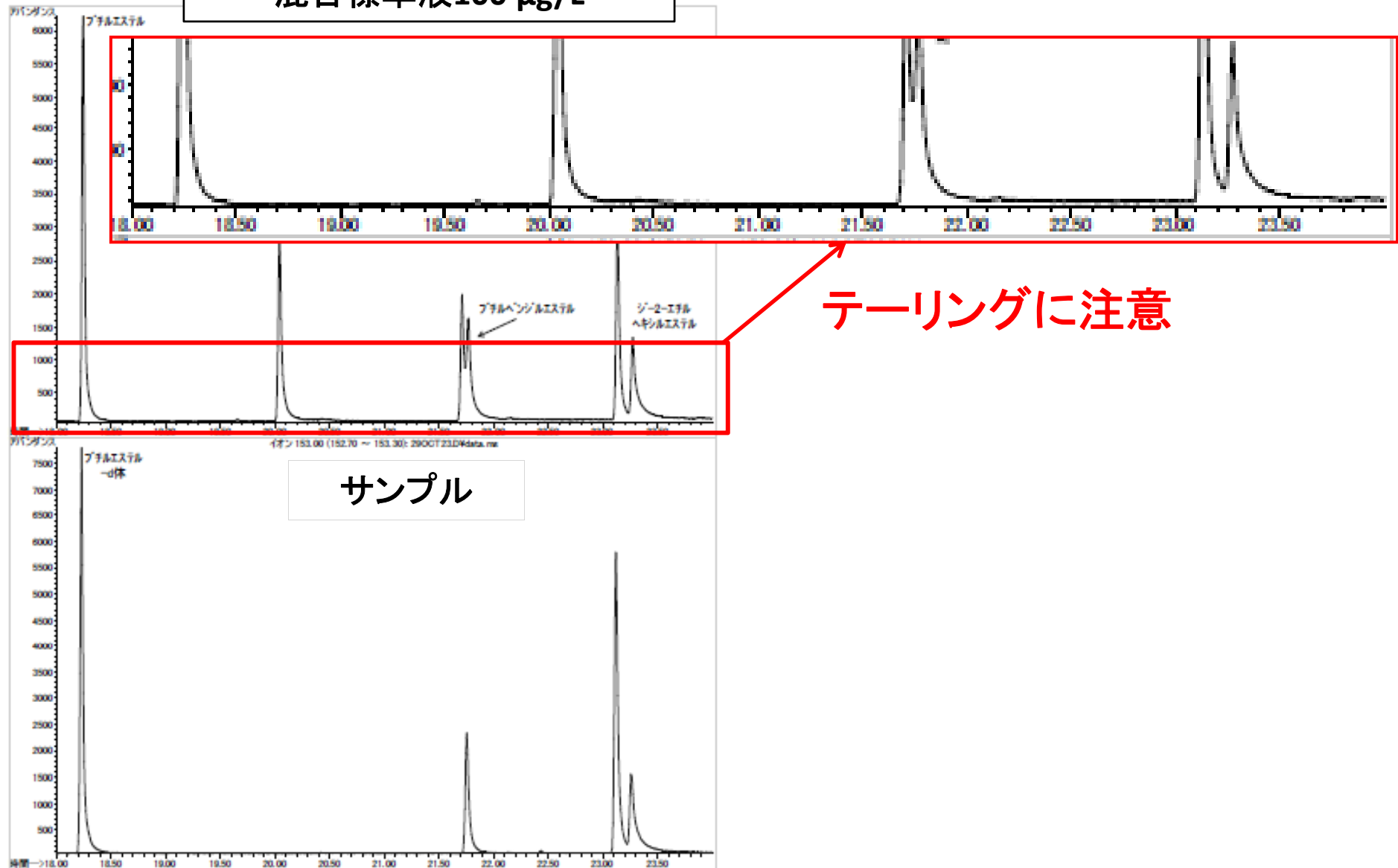
クロマトグラム等の例1

良い例(フタル酸エステル類(TIC))



クロマトグラム等の例2

混合標準液100 µg/L



まとめ1

○前処理方法について

参加機関が実施した抽出方法については、すべてがアセトニトリルを用いた振とうと超音波による抽出であり、各機関での違いはなかった。

クリーンアップ方法としては、アセトニトリル抽出液の液/液分配によるヘキサンへの転溶、GPC、フロリジルカラムクリーンアップがあり、27の回答数のうち2回答を除きこれらのいずれかの方法、または組み合わせてクリーンアップを実施していた。各クリーンアップ方法と分析結果との関係を調べたが、両者の間に関連を認めることができなかった。

各機関が定量に用いた底質試料のフタル酸ジ-n-ブチル及びフタル酸ジ-2-エチルヘキシルのクロマトグラムからは、夾雑ピークがピーク面積積分に干渉した様子は観察されなかった。大部分の回答で実施したフロリジルカラムクロマトグラフでは、アセトニトリル抽出液を液/液分配して、カラムに負荷する抽出液からアセトニトリルを除去する操作が分析精度に影響する。報告されたサロゲートの回収率は、ほぼ6割を超えていたことから、アセトニトリル除去操作を含めてフロリジルカラムクロマトは適正に実施されたと推察される。これらのことは、クリーンアップ方法と測定結果の関係性が認められなかったことと整合性がある。

まとめ2

○定量方法について

回答の多く(19回答)は、測定対象物質のd体をサロゲートとして定量していた。定量方法と報告濃度との間に関係性は認められなかった。

一般に、農薬等の半揮発性物質のGC分析では、測定対象物質の物性とGC注入口・カラムの不活性度により検量線が下に凸の二次の関係を示すことが知られている。報告されたフタル酸エステル類の濃度とピーク面積との間の一部で、同様の関係が認められた。また、検量線作成用標準試料測定データセットからは、フタル酸エステル類のd体のレスポンスが、ネイティブのフタル酸エステル類の濃度が高くなるにつれて増加する傾向があったのに対して、シリンジスパイクとして使用されていた多環芳香族炭化水素類のd体又は¹³Cラベル有機塩素農薬のレスポンスは、ネイティブのフタル酸エステル類の濃度と無関係だった。これらのことから、本測定の確度を確保するには、サロゲート物質を使った補正、あるいは検量線濃度範囲を狭くすることが有効だったと推察されるが、こうした効果は、回答数が限られていた(少なかった)ため確認できなかった。

参照項目の結果

回答数等(参照項目)

分析項目	回答数	棄却数			棄却率 %
		ND等	Grubbs	計	
(参照項目)					
フタル酸ジエチル	13	2	0	2	15.4 (0.0)
<u>* (参考)</u>	<u>13</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>5</u>	—
フタル酸ジプロピル	9	8	—	—	—
フタル酸ジイソブチル	8	0	2	2	25.0 (25.0)
フタル酸ジ-n-ヘキシル	10	9	—	—	—
フタル酸ジ-n-ヘキシル	9	8	—	—	—

(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。

大部分の分析結果がND等の場合にはGrubbsの検定を行っていない (棄却率等は示していない)。

* (参考) : Grubbsの検定では外れ値とならなかったが、ヒストグラムから判断して離れた分析結果があり、これらを外れ値扱いにした場合の結果を (参考) として示す (棄却率は示していない)。該当する回答数については、フタル酸ジエチルが3 (いずれも大きい値) である。

棄却限界値と平均値(参照項目)

分析項目	Grubbsの検定		(参考)
	下限値 (μ g/kg)	上限値 (μ g/kg)	外れ値等棄却 後の平均値 (μ g/kg)
フタル酸ジエチル	0	154	36.3
<u>* (参考)</u>	<u>11.5</u>	<u>14.0</u>	<u>13.1</u>
フタル酸ジプロピル	—	—	—
フタル酸ジイソブチル	8.76	17.1	12.9
フタル酸ジ-n-ヘンチル	—	—	—
フタル酸ジ-n-ヘキシル	—	—	—

(注) 大部分の分析結果がND等の場合にはGrubbsの検定を行っていない。

* (参考) フタル酸ジエチルについては、Grubbsの検定では外れ値とならなかったが、ヒストグラムから判断して離れた分析結果があり、これらを外れ値扱いにした場合の結果を(参考)として示す (Grubbsの検定の下限値欄には分析結果の最小値、上限値欄には最大値を示す)。

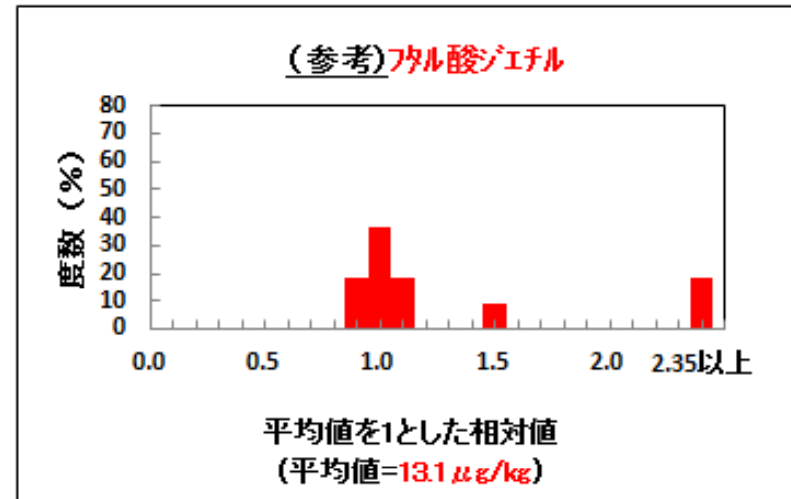
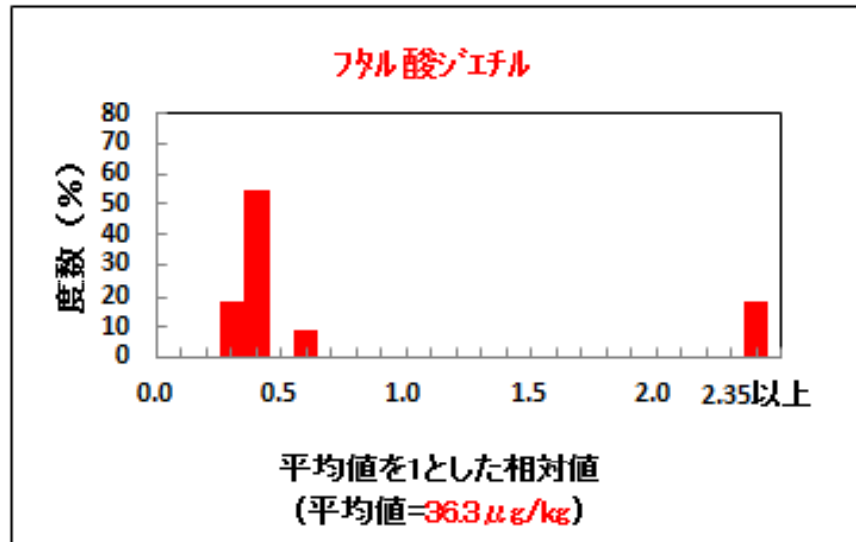
室間精度等(参照項目)

分析項目	棄却	回答数	平均値 (μ g/kg)	室間精度		最小値 (μ g/kg)	最大値 (μ g/kg)	中央値 (μ g/kg)
				S. D. (μ g/kg)	CV %			
フタル酸ジエチル	前	11	36.3	49.9	138	11.5	139	13.6
	後	11	36.3	49.9	138	11.5	139	13.6
*(参考)	後	8	13.1	0.901	6.9	11.5	14.0	13.3
フタル酸ジプロピル	前	1	1.30	—	—	—	—	—
フタル酸ジイソブチル	前	8	28.7	35.3	123	9.92	113	13.4
	後	6	12.9	2.22	17.1	9.92	16.5	12.4
フタル酸ジ-n-ヘンチル	前	1	0.239	—	—	—	—	—
フタル酸ジ-n-ヘキシル	前	1	7.44	—	—	—	—	—

(注)「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。

*(参考)フタル酸ジエチルについては、Grubbsの検定では外れ値とならなかったが、ヒストグラムから判断して離れた分析結果があり、これらを外れ値扱いにした場合の結果を示す(フタル酸ジエチルは大きく離れた高値があり、室間精度CV、平均値とも小さくなった)。

ヒストグラム(参照項目)

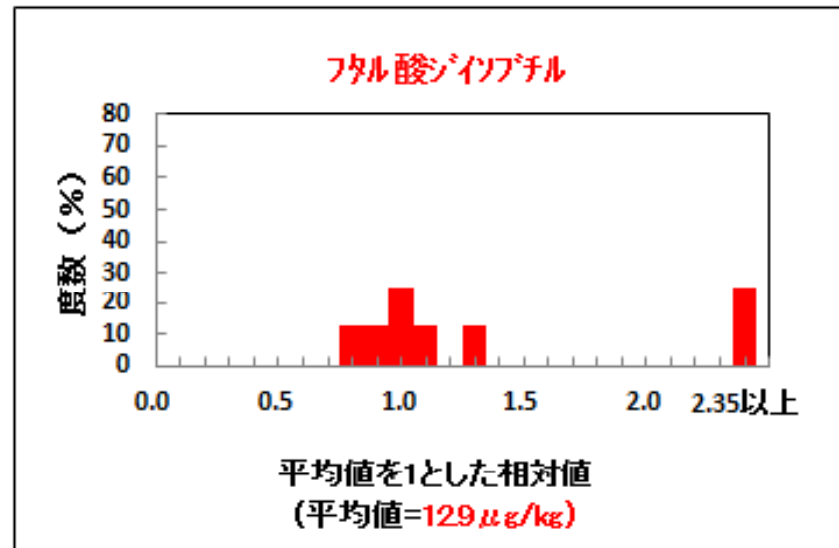


(注)フタル酸ジエチルについては、左図のようにGrubbsの検定では外れ値とならなかったが、大きく離れた高値の分析結果としては2回答(少し離れた分析結果を合わせると3回答)がある。これらを外れ値扱いにし平均値を算出して作成したヒストグラム(参考)を右図に示す。

フタル酸ジプロピル

- ・大部分の分析結果がND等(9回答中で8がND等)であり、ヒストグラムは省略する。

ヒストグラム(参照項目)



フタル酸ジ-n-ペンチル

- ・大部分の分析結果がND等(10回答中で9がND等)であり、ヒストグラムは省略する。

フタル酸ジ-n-ヘキシル

- ・大部分の分析結果がND等(9回答中で8がND等)であり、ヒストグラムは省略する。

回答数、室間精度等(参照項目)

回答数は分析対象項目により異なっている

(8～13回答)

いずれの項目とも、回答数は少ない



十分な統計学的な解析を行うに足る回答数が確保できたとは言いがたい
(各機関において原因等を自主的に検討されることが望まれる。)

外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル(平成10年10月)

IV. フタル酸エステルの分析法 3 分析法概要 より

試験方法では試薬、溶媒類、器具類からの汚染、操作中及び空気中からの汚染がフタル酸エステルの測定結果に大きく影響を及ぼすので、細心の注意が必要である。操作中及び空気中からの汚染を避ける為、また試薬、溶媒類、器具類の管理上、クリーンルームで試験を行うことが望ましい。多くの試験室ではクリーンルームはないので、試薬量、溶媒量を最小に、また空気との接触量、接触時間を最小にする必要がある。

上記の指示内容を考慮して、多くの機関がフタル酸エステルの汚染防止、ブランク値の低減に留意していた。

代表的な分析実施上の留意点等

コンタミ防止(ブランクの低減化)

- ・使用器具について

焼出し洗浄、溶媒による洗浄

試料バイアル瓶, シリンジ洗浄瓶の中蓋には加熱アルミホイルを使用

ガラス器具の保管方法(場所、アルミニウムホイル等でカバー)に注意

- ・試薬について

グレードに気を付け、未開封、又は、開封直後のものを使用

塩化ナトリウム及び硫酸ナトリウムの加熱焼出し

フロリジルカラム作成時に0.5%アセトニトリル-ヘキサン溶液での洗浄

溶媒抽出に用いる水はあらかじめヘキサン抽出したものを使用

- ・雰囲気

手のこまめな手洗い

プラスチック製品に触れない配慮

実験台の清掃