

スライド 1

(所要時間:約42分)

次

開始

令和元年度環境測定分析 統一精度管理調査 模擬水質試料

農薬 (詳細項目及び参照項目)

各説明項目の後ろに括弧で本編の関連ページを記載しました
(追加資料)としているものは本編に記載のない資料です

1

ここでは令和元年度環境測定分析統一精度管理調査結果のうち、模擬排水試料、農薬の分析について説明します。

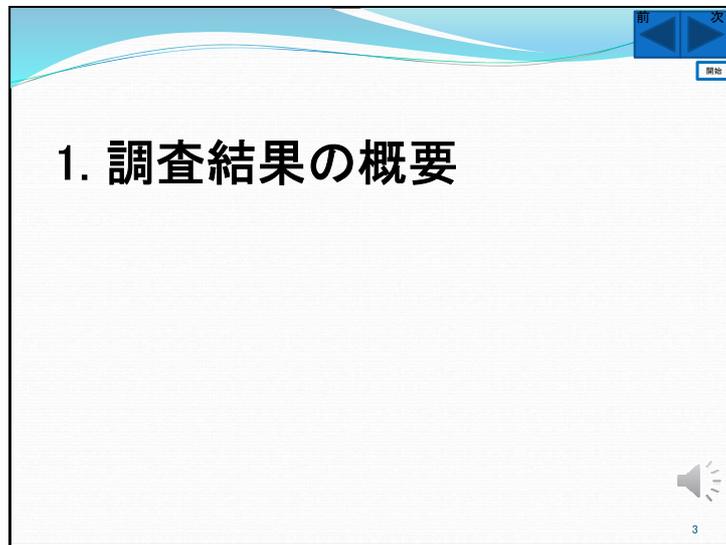


目次

- 1. 調査結果の概要 3
- 2. 分析方法 14
- 3. 外れ値の原因 24
- 4. 要因別の解析 35
- 5. 過去の結果との比較 . . . 49
- 6. まとめ・主な留意点 . . . 51

2

スライド 3



調査結果の概要について説明します。

1. 調査結果の概要

1.1 調査対象

- 高等精度管理調査(本編9頁)
測定回数1~5回
- 共通試料2: 模擬水質資料(本編3頁)
各参加機関において、配布試料を水で1000倍に希釈して測定用試料を調製(配布した試料はアセトン溶液)
- 分析対象項目(本編2頁)
各種モニタリングにおける検出状況やリスク評価の状況等を勘案して選定

詳細項目: イプロベンホス、フェントロチオン
✓ 分析結果と共に分析条件、クロマトグラムなども提出

参照項目: シマジン、イソプロチオラン、フェノブカルブ、アセタミプリド、グリホサート、クロチアニジン、ジノテフラン、フィプロニル
✓ 分析結果の提出のみ

4

共通試料2農薬分析用、模擬水質試料の調査について説明します。

この調査は高等精度管理調査としています。

基本精度管理調査とは異なり、測定回数は1~5回です。

試料はアセトン溶液として配布した試料を、各参加機関において水で1000倍に希釈して濃度報告用試料を調製していただきました。

分析対象項目は、各種モニタリング情報やリスク評価の状況を勘案して選定した、ここに上げた詳細項目と参照項目との計10成分の農薬です。

詳細項目では測定値だけでなく、提出された分析条件とクロマトグラムとを付合わせて検討委員が精査し、測定精度の現状や分析法に関する課題、参加機関の分析技能の課題などを見つけ出します。

そして、そこから導き出された課題や提言などを、モニタリングデータを使って環境の状況を解析している機関、公定法を策定している環境省、あるいは環境モニタリングを実施している機関である参加機関にフィードバックすることがこの調査の目的です。参照項目では分析条件等の詳細は検討しません。分析値のばらつきや、設定値からのずれなどから判断して、分析法になんらかの課題があるか、次年度以降に詳細項目としてさらなる調査を行うべきか、などを幅広く調査します。

1.2 試料(本編4頁)

物質名	設定値	基準値・指針値	基準名	過年度調査の設定値
(詳細項目)				
	(mg/L)	(mg/L)		(mg/L)
イプロベンホス	0.005	0.008	要監視項目	(H10) 0.011
フェントロチオン	0.002	0.003	要監視項目	(H10) 0.0040
(参照項目)				
シマジン	0.002	0.003 0.03	環境基準 排水基準	(H6) 0.0050 (H7) 0.024(模範排水) (H23) 0.0020(添加のみ)
イソプロチオラン	0.005	0.04	要監視項目	(H10) 0.040
フェノカルブ	0.002	0.03	要監視項目	(H22) 0.0042 (H23) 0.0033
アセタミプリド	0.003	0.0025 0.18	農薬登録(水域) ^{*1} 農薬登録(汚濁) ^{*2}	(該当なし)
グリホサート	0.002	6.2 2.66	農薬登録(水域) ^{*1} 農薬登録(汚濁) ^{*2}	(該当なし)
クロチアニジン	0.003	0.0028 0.25	農薬登録(水域) ^{*1} 農薬登録(汚濁) ^{*2}	(該当なし)
ジノテフラン	0.005	0.012 0.58	農薬登録(水域) ^{*1} 農薬登録(汚濁) ^{*2}	(該当なし)
フィボニル	0.0004	0.000024 0.0005	農薬登録(水域) ^{*1} 農薬登録(汚濁) ^{*2}	(該当なし)

*1: 水域の生活環境動植物の被害防止に係る農薬登録基準
*2: 水質汚濁に係る農薬登録基準

設定値について説明します。

詳細項目であるイプロベンホスとフェントロチオンの設定値については、要監視項目の指針値に対して、0.6倍程度としました。

その他の農薬については、設定濃度を基準値、指針値、あるいは水質汚濁に係る農薬登録基準値の、1から10分の1の範囲としました。

グリホサートの設定値については、農薬登録基準値が数mg/Lミ程度と、装置の検出上限よりもかなり大きくなると予想されたため、農薬登録基準値の1000分の1程度としました。

本調査の、推奨分析法は、少なくとも基準値、あるいは指針値の10分の1を定量可能となるように設計されているので、測定結果には、分析技能、使用する分析機器の操作条件やコンディション状態が反映されると考えられました。

前 次

1.3 分析方法

1.3.1 (イプロベンホス) (本編24頁)

分析方法	回答数	ND等	Grubbus		平均値の0.113 倍以下	計
			小さい値	大きい値		
1. 溶媒抽出又は固相抽出によるガスクロマトグラフ質量分析法	137	0	0	2	0	2
2. 溶媒抽出又は固相抽出ガスクロマトグラフ質量分析法	0	0	0	0	0	0
3. 固相抽出-液体クロマトグラフ-タンデム型質量分析法	0	0	0	0	0	0
4. 液体クロマトグラフ質量分析法(直接注入法)	5	0	0	1	0	1
5. (その他)固相抽出又は溶媒抽出-ガスクロマトグラフ-タンデム型質量分析法	22	0	0	0	0	0

分析方法	回答数	平均値 ($\mu\text{g/L}$)	室内精度	
			SD($\mu\text{g/L}$)	CV%
1. 溶媒抽出又は固相抽出によるガスクロマトグラフ質量分析法	135	4.25	0.733	17.3
2. 溶媒抽出又は固相抽出ガスクロマトグラフ	0	—	—	—
3. 固相抽出-液体クロマトグラフ-タンデム型質量分析法	0	4.38	—	—
4. 液体クロマトグラフ質量分析法(直接注入法)	4	4.80	0.151	3.16
5. (その他)固相抽出又は溶媒抽出-ガスクロマトグラフ-タンデム型質量分析法	22	4.48	0.717	16.0

分析方法間に、統計的な平均値の偏りや精度の違いは見られなかった

6

イプロベンホスの測定について、分析方法別回答数ですが、多くの機関は溶媒抽出または固相抽出によるガスクロマトグラフ質量分析法を用いていました。分析方法間に統計的な平均値の偏りや精度の違いは見られませんでした。

**1.3.2 分析方法-2(フェニトロチオン)
(本編25頁)**

分析方法	回答数	ND等	Grubbus		平均値の0.113 倍以下	計
			小さい値	大きい値		
1. 溶媒抽出又は固相抽出によるガスクロマトグラフ質量分析法	143	1	1	3	0	5
2. 溶媒抽出又は固相抽出ガスクロマトグラフ質量分析法	2	0	0	0	0	0
3. 固相抽出-液体クロマトグラフ-タンデム型質量分析法	2	0	0	0	0	0
4. 液体クロマトグラフ質量分析法(直接注入法)	2	0	0	0	0	0
5. (その他)固相抽出又は溶媒抽出-ガスクロマトグラフ-タンデム型質量分析法	23	0	0	0	0	0

分析方法	回答数	平均値 ($\mu\text{g/L}$)	室内精度	
			SD($\mu\text{g/L}$)	CV%
1. 溶媒抽出又は固相抽出によるガスクロマトグラフ質量分析法	138	1.72	0.308	17.9
2. 溶媒抽出又は固相抽出ガスクロマトグラフ質量分析法	2	2.06	—	—
3. 固相抽出-液体クロマトグラフ-タンデム型質量分析法	2	1.91	—	—
4. 液体クロマトグラフ質量分析法(直接注入法)	2	1.92	—	—
5. (その他)固相抽出又は溶媒抽出-ガスクロマトグラフ-タンデム型質量分析法	23	1.73	0.264	15.3

分析方法間に、統計的な平均値の偏りや精度の違いは見られなかった

フェニトロチオンの測定について、分析方法別回答数ですが、多くの機関は、溶媒抽出または固相抽出によるガスクロマトグラフ質量分析法を用いていました。分析方法間に統計的な平均値の偏りや精度の違いは見られませんでした。

1.4 回答数等(本編14頁)

分析項目	回答数	棄却数			棄却率 %
		ND等	Grubbs	計	
イプロベンホス	164	0	3	3	1.83
フェニトロチオン	172	1	4	5	2.91
シマジン	143	1	2	3	2.10
イソプロチオラン	115	0	0	0	0.00
フェノカルブ	109	0	2	2	1.83
アセタミプリド	29	0	0	0	0.00
グリホサート	14	0	0	0	0.00
クロチアニジン	29	0	1	1	3.45
ジノテフラン	21	0	0	0	0.00
フィプロニル	23	0	1	1	4.35

令和元年度の共通試料2、の模擬環境水中の農薬の結果です。
環境基準、排水基準、あるいは要監視項目となっている農薬の参加機関数はいずれも100機関を超えていますが、それ以外の農薬については20前後の参加数となりました。

棄却率が最も高かったのはフィプロニルの4.35%でした。

これはフィプロニルの設定値が、ほかの農薬の10分の1程度とかなり低濃度であったことが関係しているかもしれません。

前 次

1.5 棄却限界値と平均値(本編14頁)

分析項目	Grubbsの検定		上限値 / 下限値	(参考)外れ値等 棄却後の平均値 (μ g/L)
	下限値 (μ g/L)	上限値 (μ g/L)		
イブロベンホス	1.71	6.87	4.02	4.29
フェニトロチオン	0.614	2.85	4.64	1.73
シマジン	0.930	2.85	3.06	1.89
イソプロチオラン	1.59	7.46	4.69	4.52
フェノプカルブ	0.824	3.00	3.64	1.91
アセタミプリド	2.05	3.84	1.87	2.95
グリホサート	1.19	2.92	2.45	2.06
クロチアジジン	2.13	3.64	1.71	2.89
ジノテフラン	3.64	6.05	1.66	4.85
フィプロニル	0.124	0.479	3.86	0.301

9

Grubbsの検定の上限値と下限値の比は、同一試料を異なる分析機関が測定した場合に、この比で表される程度の開きがあることを意味しています。この値の程度は、後述するND及び外れ値を除いて算出する室間CV%値と同じような意味をもちますが、分析機関による測定値の違いの大きさをより直感的に把握できると考えて示してあります。

1.6 室間精度等(本編17頁)

分析項目	棄却*1	回答数*2	平均値 ($\mu\text{g/L}$)	室間精度		最小値 ($\mu\text{g/L}$)	最大値 ($\mu\text{g/L}$)	中央値 ($\mu\text{g/L}$)	調製濃度 (設定値) ($\mu\text{g/L}$)
				SD ($\mu\text{g/L}$)	CV%				
イプロベンホス	前	164	11.7	94.3	80.7	1.74	1213	4.40	5.00
	後	161	4.29	0.729	17.0	1.74	6.10	4.40	
フェントロチオン	前	171	4.37	34.4	786	0.00672	451	1.77	2.00
	後	167	1.73	0.315	18.2	0.760	2.52	1.77	
シマジン	前	142	1.87	0.325	17.4	0.0482	2.74	1.88	2.00
	後	140	1.89	0.275	14.5	1.14	2.74	1.89	
イソプロチオラン	前	115	4.52	0.857	18.9	1.65	6.45	4.69	5.00
	後	115	4.52	0.857	18.9	1.65	6.45	4.69	
フェノカルブ	前	109	1.93	0.448	23.3	0.710	4.99	1.93	2.00
	後	107	1.91	0.319	16.7	0.913	2.98	1.93	
アセタミプリド	前	29	2.95	0.310	10.5	2.06	3.66	2.95	3.00
	後	29	2.95	0.310	10.5	2.06	3.66	2.95	
グリホサート	前	14	2.06	0.344	16.7	1.42	2.89	1.98	2.00
	後	14	2.06	0.344	16.7	1.42	2.89	1.98	
クロチアニジン	前	29	2.92	0.317	10.9	2.15	3.89	2.92	3.00
	後	28	2.89	0.261	9.06	2.15	3.40	2.91	
ジノテフラン	前	21	4.85	0.441	9.11	3.76	5.67	4.83	5.00
	後	21	4.85	0.441	9.11	3.76	5.67	4.83	
フィプロニル	前	23	0.317	0.0972	30.7	0.135	0.656	0.315	0.400
	後	22	0.301	0.0645	21.4	0.135	0.384	0.312	

*1:Grubbs検定によるもの。「棄却前」には統計的外れ値は含むが、分析結果が「ND等」であるものは含まない。
*2:測定結果の入力が無かった回答を棄却前の回答数から除外している。

表中ボールドで表記した、外れ値を除いて計算した平均値は、フィプロニルの75.3%を除けば設定濃度に対して85.8%~103%であり、設定値とほぼ一致していました。

詳細項目の2種の農薬で、外れ値を除いた後の、結果の平均値と中央値が設定値に比べて一割以上低くなった原因に関して、配布試料の調製手順を検証してみました。が、瑕疵を見つけることはできませんでした。

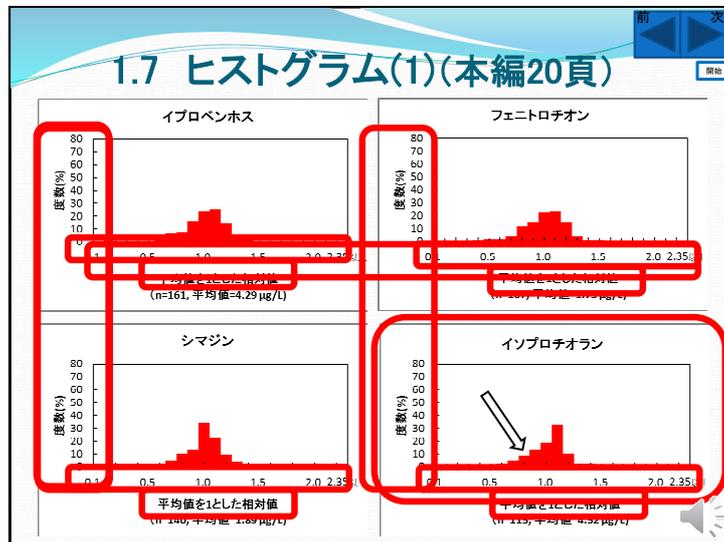
フィプロニルの設定値については他の農薬と比べて、概ね10分の1程度の濃度となっていますので、このことが室間CV%を大きくした可能性があります。

ただし、農薬登録基準は設定値の10分の1以下であり、より低い濃度レベルで、より高い測定精度が求められています。

フィプロニルは、アセタミプリド、クロチアニジン、ジノテフランとともに、LC/MS/MSで一斉分析されているものと思われます。

この中でフィプロニルだけはポジティブモードでは感度が悪いためネガティブモードで測定法が作られているのですが、可能性としてポジティブモードで測定していた機関があったかもしれません。

後述しますが、フィプロニルのヒストグラムが、2峰性を示しているようにみえるのもこのことが影響しているかもしれません。



各ヒストグラムは、分析項目間の比較を容易にするために、横軸・縦軸とも同じスケールで表示しています。

具体的には横軸は、分析結果の外れ値など棄却後の平均値を「1」とした場合の相対値を示しています。

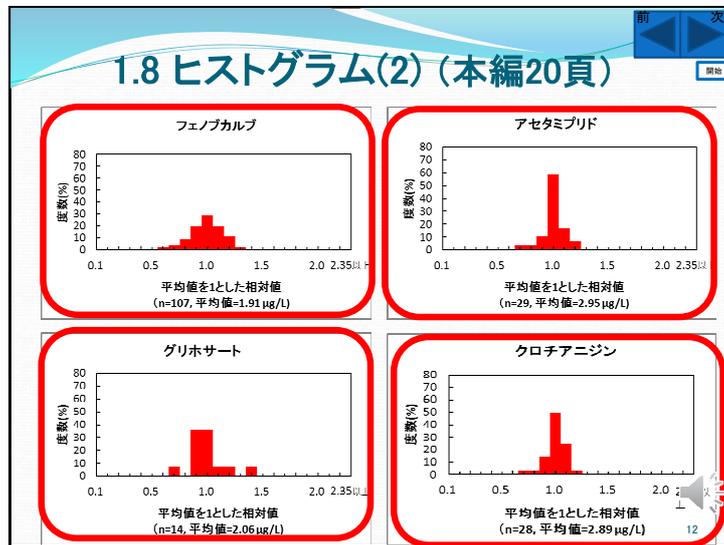
各級は、相対値「0.05未満」、「0.05～0.15」、「0.15～0.25」、といった刻みで区分し、級の幅は「0.1」としました。

縦軸は、各級の度数の全回答数(外れ値等を含めた回答数)に対する割合(%)、いわゆる相対度数%を示します。

いずれのヒストグラムとも、縦軸、相対度数の最大値は80%としました。

なお、ヒストグラムの作成にあたっては、分析結果のうち、数値でない結果(「ND等」)は除きました。

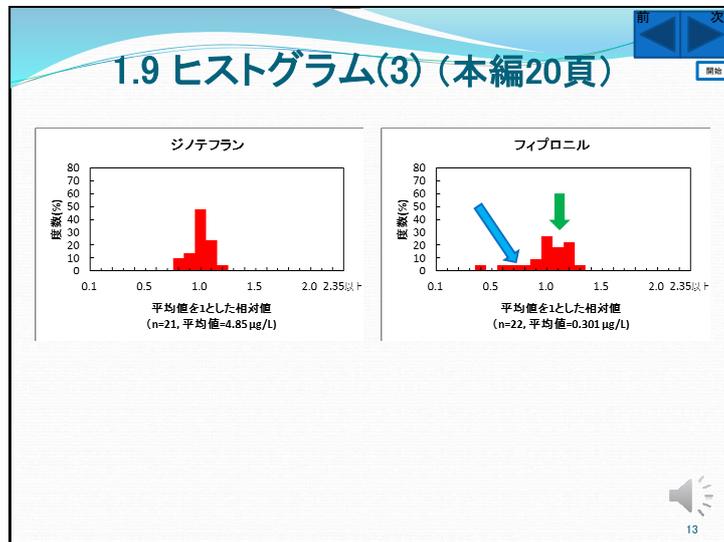
この中でもイソプロチオランにつきましては、低濃度側にすそ野が長く伸びている、歪んだ形状を示しています。



ヒストグラムのつづきです。

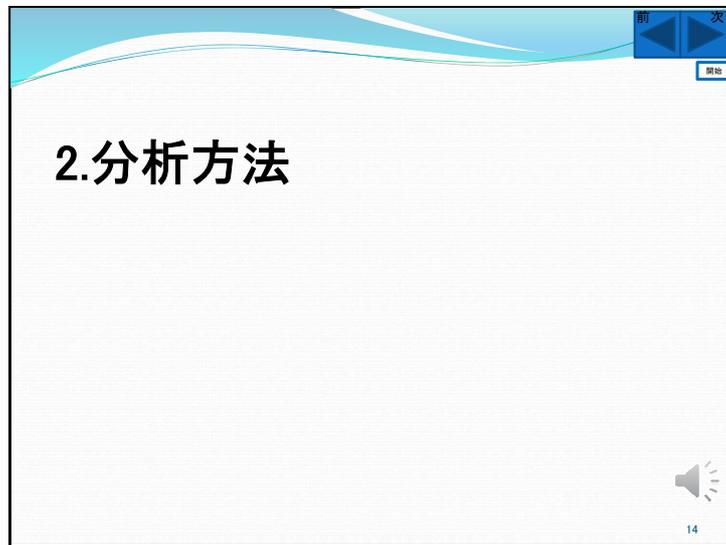
グリホサートにつきましては回答数が20より少なく、正規分布から逸脱しているかどうかについて判断は出来ません。

主に、LC/MS/MS法で測定されたアセタミプリド、グリホサート、クロチアニジン、ジノテフラン、フィプロニルのうち、グリホサートとフィプロニルを除く、3種の農薬の報告値のヒストグラムは、相互に似た形状を示しており、これら3種の農薬は同程度の精度で分析されていたと推察されます。



フィプロニルについては低濃度側に長いすそ野が見られ、二峰性を示しているようにも見える形状をしており、分析精度に問題がある可能性を示唆しています。

スライド 14



つづいて、分析方法について説明します。

2.1 推奨分析方法の概要(1)
(本編6～7頁)

分析方法	イプロベン ホス	フェニトロ チオン	シマジン	イソプロ チオラン	フェノ カルブ
溶媒抽出又は 固相抽出+ GC/MS(/MS)	○ 91, 204	○ 109, 125, 260, 277	○ 201, 196, 173	○ 118, 189, 290	○ 121, 208, 150
溶媒抽出又は 固相抽出+ GC	○	○	○	○	○
固相抽出+ LC/MS/MS	—	○ +278>125, 246,104,216	○ +202>68, 124	○ +291>231, 189	○ +208>95, 152
(直接注入) LC/MS/MS	□ +289>91, 205	□ +278>125, 246,104,216	□ +202>68, 124	□ +291>231, 189	□ +208>95, 152

○: 環境水への適用あり □: 上水への適用あり —: 適用なし
下段は主な定量用イオン(m/z)

本調査で推奨した分析方法のうち、主要なものについて、概略をとりまとめて表に示しました。

イプロベンホスが固相抽出-LC/MS/MSでの測定の対象に入っていない以外は、いずれの方法でも測定が可能と考えられました。

詳細項目のイプロベンホス、フェニトロチオン、及び参照項目のフェノカルブの測定法については、公布日平成5年4月28日、環水規121号、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、に規定されています。

2.2 推奨分析方法の概要(2) (本編6~7頁)

分析方法	アセタミ プリド	グリホサート	クロ チアニジン	ジノテフラン	フィプロニル
溶媒抽出又は 固相抽出＋ GC/MS/MS	—	—	—	—	○ 367, 351, 420
溶媒抽出又は 固相抽出＋ GC	—	—	—	—	—
固相抽出＋ LC/MS/MS	○ +223>126, 56	—	○ +250>169, 132	○ +203>129, 87	○ - 435>330, 250
(直接注入) LC/MS/MS	□ +223>126, 56	—	□ +250>169, 132	□ +203>129, 87	□ - 435>330, 250
誘導体化＋液 液抽出(2種) ＋LC/MS/MS	—	○ - 390>150, 168	—	—	—

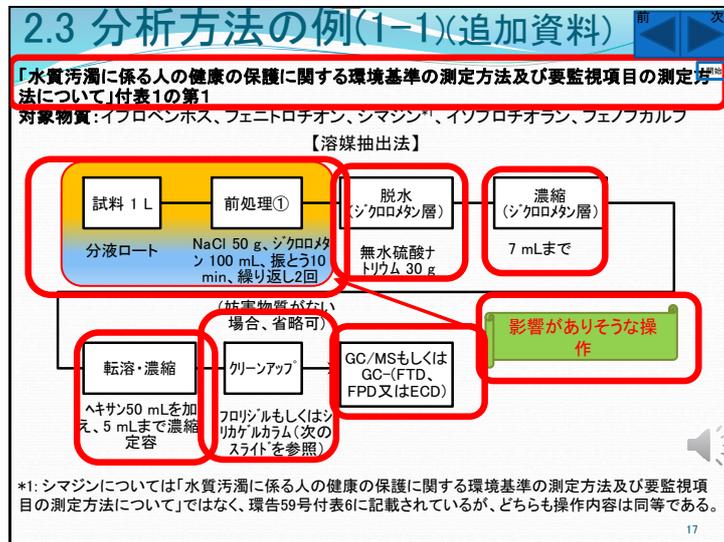
○: 環境水への適用あり口上水への適用ありー: 適用なし
下段は主な定量用イオン(m/z)

本調査で推奨した分析方法の、概略の続きです。

アセタミプリド、クロチアニジン、ジノテフラン、といったネオニコチノイド系の農薬はおもにLC/MS/MSを用いた測定法となっています。

グリホサートについては、他の項目とは異なり、誘導体化をおこなった後に、2種類の液液抽出を行い、LC/MS/MSで測定する方法となっています。

今年度の調査では、測定に用いる方法は前述の方法と同等以上の方法でもよいとしており、LC/MS/MSや、GC/MS/MSでの報告もかなりの回答数となり、LC/MS/MSを用いている割合は全体の3%程度、GC/MS/MSを用いている割合は全体の13%程度となりました。

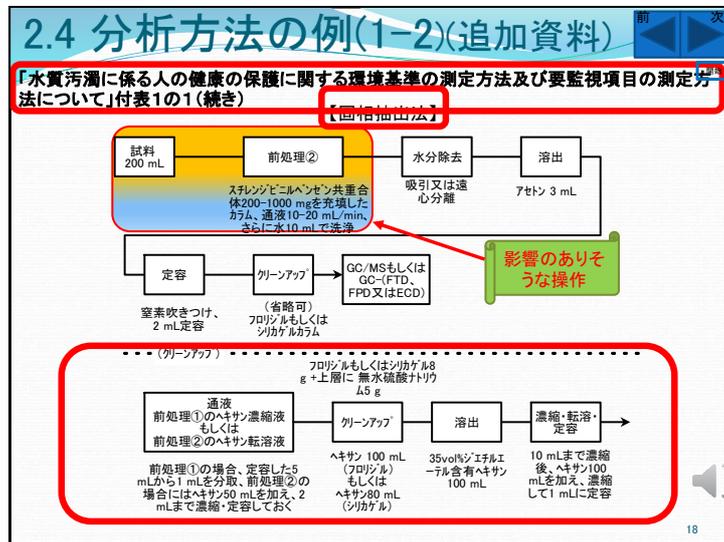


水質汚濁に係る人の健康の保護に関する環境基準の測定方法及び要監視項目の測定方法について、付表1の第1のフローチャートです。

この分析方法では、試料1 リットルにNaCl 50 gを加えジクロロメタン100 mLで2回液-液抽出して、脱水、濃縮、ヘキサン転溶後にGC/MSもしくはGC-FTD等により分析します。

試料のマトリックスが問題になる場合は、クリーンアップを実施します。

この一連の操作の中に、精度に影響を及ぼしている可能性のある操作がありますので、後ほど説明します。



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付表1の第1のフローチャート続きで、固相抽出を用いる方法です。カラムクロマトグラフ用充填剤の量に関してと、クリーンアップの部分を追記しています。

2.5 農薬分析法適用農薬(追加資料)

ゴルフ場で使用される農薬による水質汚濁の防止及び水域の生活環境動植物の被害防止に係る指導指針(令和2年3月27日)で規定されている農薬分析法適用農薬

排水水に係る標準分析法

調査農薬	適用分析法
イプロベンホス	対象外
フェントロチオン	1, 2-1, 2-2
シマジン	1, 2-1, 2-2
イソプロチオラン	1, 2-1, 2-2
フェノカルブ	対象外
アセタミプリド	2-1
グリホサート	対象外
クロチアニジン	2-1
ジノテフラン	対象外
フィプロニル	対象外

1. 個別分析法
 2. 多成分同時分析法①
 1. LC/MS/MS対象
 2. GC/MS対象
 3. 多成分同時分析法②
 4. 多成分同時分析法③
 5. 多成分同時分析法④

2-1と2-2の分析法について次のスライドで説明します。

こちらは、ゴルフ場で使用される農薬による水質汚濁の防止及び水域の生活環境動植物の被害防止に係る指導指針(令和2年3月27日)で規定されている農薬分析法です。

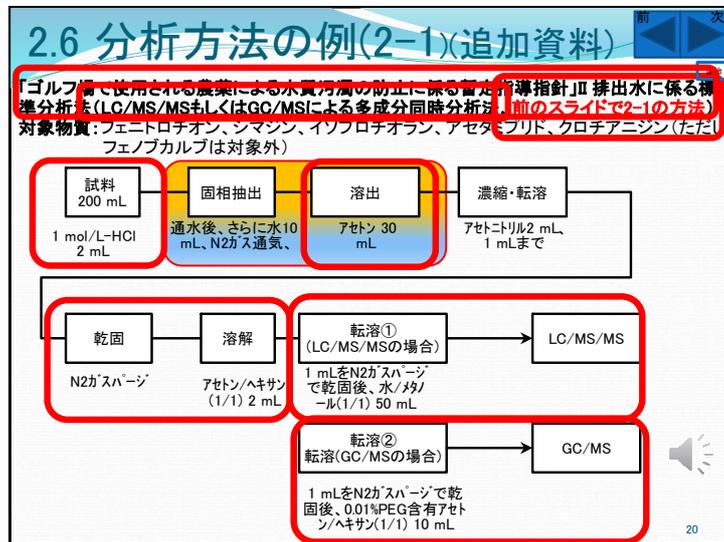
この指針の中には多数の測定法が規定されています。

1.の個別分析法では対象とする農薬1項目に対して一つの測定法が規定されています。

また、複数の農薬を同時に測定する多成分分析法は4つ規定されています。

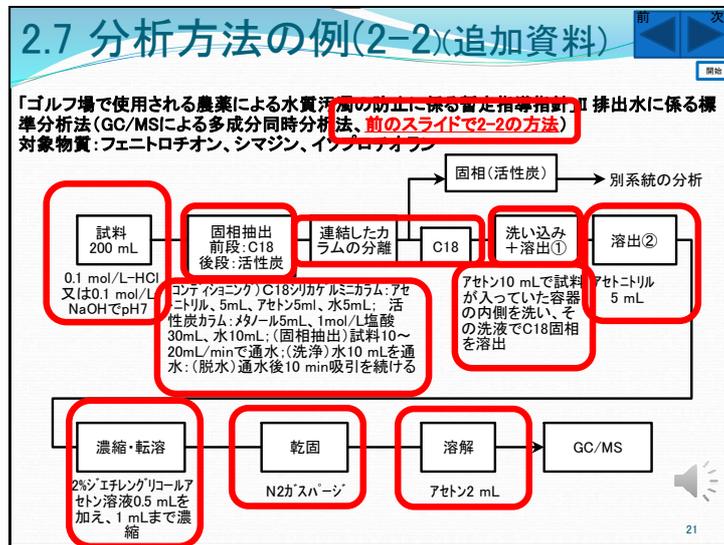
今回の調査で測定対象とした農薬のうち、フェントロチオン、シマジン、イソプロチオランについては個別分析法のほか、多成分同時分析法の①の対象となっています。

そのほかに、アセタミプリドとクロチアニジンが多成分同時分析法の①の対象となっています。



こちらは、前のスライドで2の1の、多成分同時分析法で、LC/MS/MSあるいはGC/MSを用いる方法です。

ゴルフ場で使用される農薬による水質汚濁の防止に係る暫定指導指針II 排水水に係る標準分析法のゴルフ場の固相抽出方法の特徴は、試料に塩酸水溶液を加え酸性とすること、固相に捕集した後の溶出溶媒のアセトン量が30mLと多いこと、溶出液を乾固し溶媒を変えて溶解しあと、LC/MS/MS測定用とGC/MS測定用に分けてそれぞれの測定に適した溶媒に転溶する操作が加わっていることです。

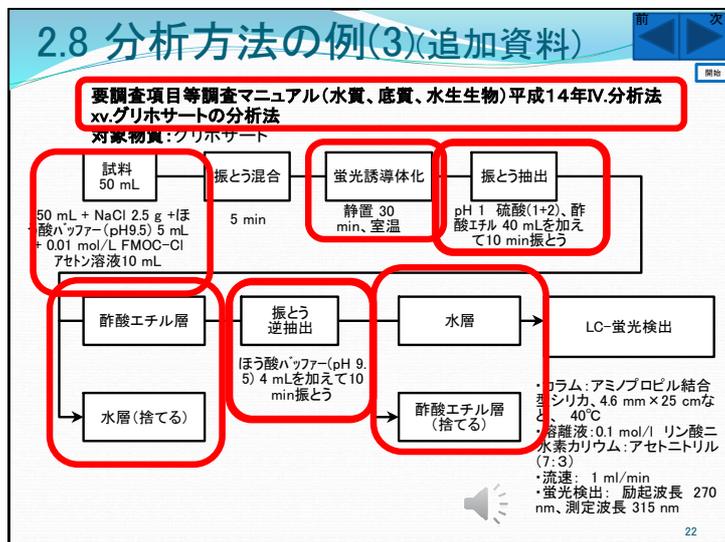


多成分同時分析法2の2の方法では、試料200mLを500mLの三角フラスコに量り取り、0.1mol/L塩酸又は0.1mol/L水酸化ナトリウム溶液を加え、pHを7に調整します。あらかじめC18シリカゲルミニカラムにアセトニトリル5mL、アセトン5mL次いで水5mLを流し入れ、活性炭カラムにメタノール5mL、1mol/L塩酸30mL、次いで水10mLを流し入れコンデショニングしておきます。

C18シリカゲルミニカラムの下に活性炭カラムを連結し、pHを調整した試料を毎分10～20mLの流速で流し入れ、次いで水10mLを流し、流出液を捨てた後、約10分間吸引を続け水分を除去します。

次に連結した固相抽出カラムを分離する。アセトン10mLで試料が入っていた容器の内壁を洗い、その洗液でC18シリカゲルミニカラムを展開します。次いでアセトニトリルでC18シリカゲルミニカラムを展開します。

全溶出液を100mLのナス型フラスコに取り、2%ジエチレングリコールアセトン溶液0.5mLを加え、すり合わせ減圧濃縮器を用いて40℃以下で約1mLまで溶媒を留去し、窒素ガス気流下で乾固する。この残留物にアセトン2mLを加えて溶解し、試験溶液とします。



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、四、分析法 十四、に記載されていますグリホサートの分析法です。

この分析条件ではクロロギ酸9フルオレニルメチル、FMOCを用いて蛍光誘導体化を行います。

この測定法では2種類の振とう抽出を行っています。

前段の振とう抽出では酢酸エチルを用いて、通常の液液抽出と同じく有機溶媒層である酢酸エチルを次の操作にもっていきます。

一方、後段の振とう抽出はいわゆる逆抽出となっており、有機溶媒層を捨てて、水層を機器分析用に供試する試料として分取します。

2.9 分析方法の例(4)(追加資料)

「水質管理目標設定項目の検査方法」別添方法20の2液体クロマトグラフー質量分析計による一斉分析法

対象物質:イプロベンホス、フェニトロチオン、シマジン、イソプロチオラン、フェノブカルブ、アセタミプリド、クロチアニジン、フィプロニル

```
graph LR; A[試料 100 mL] --> B[前処理 (ろ過)]; B --> C[LC/MS/MS];
```

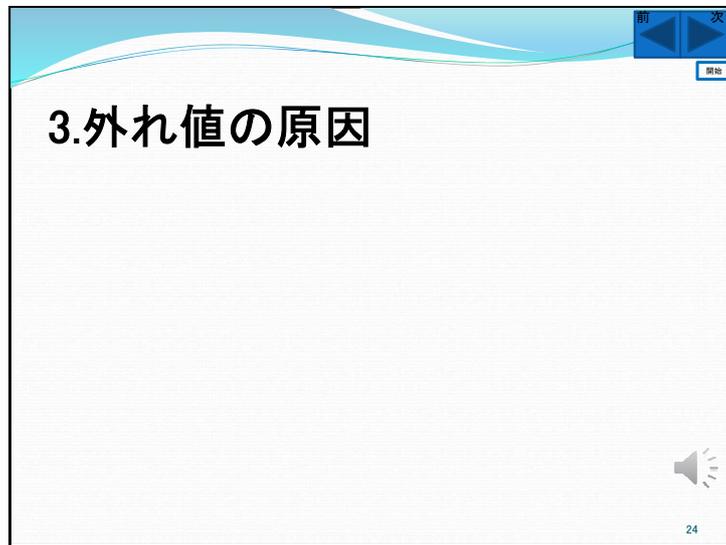
メンブランフィルター、初めの10 mLを捨て、次のろ液を試験溶液とする

23

水質管理目標設定項目の検査方法、別添方法20の2、液体クロマトグラフ、質量分析計による一斉分析法です。

この方法では、試料はフィルターろ過するだけで直接、LC/MS/MS装置に注入されます。

例えば上水のように、試料中に妨害となるマトリックスがあまり入っていない場合に有効です。



つづいて、はずれ値の原因について説明します。

3.1 外れ値の原因(イプロベンホス-1)
(本編51~52頁)

分析結果	分析方法	アンケート調査での当該機種の回答	分析条件等から推測された外れ値の原因・理由
Grubbs大	前処理無し -LC/MS/MS	通常は調製された市販の標準原液を使用しているが、今回は標準原液を自家調製しており、秤量時のミスが考えられる。調製した一連の標準液は廃棄しており検証はできない。	当該機関は、希釈した試料を直接LC/MS/MSで分析していることから、原因は標準液調製操作、もしくはLC-MS-MSのコンディションが考えられる。当該機関は、標準液を標品から用時調製しており、報告値が平均値の1.7倍であることから調製標準原液の濃度が実際よりも高かった可能性が強く疑われた。当該機関の装置コンディションに関しては、クロマトグラムの形状、検量線の直線性他の精度管理に関するデータに問題は認められなかった。
Grubbs大	固相抽出 -GC/MS	固相カラムの乾燥時間が長かった(約60分)。短い時間で乾燥したら、対象ピークの近傍に妨害ピークが出現したため、水分除去不足と考え、乾燥時間を増やした。	当該機関が報告した固相抽出操作の各工程のパラメータからは、定量値が過大評価になる原因を見つけることができなかった。アンケートにある固相カートリッジの乾燥時間についても、室温下で通気ガス流速が1 L/分程度であれば(流速については報告書に記載を求めていなかった)60分間乾燥でイプロベンホスの揮散ロスが起きたとは経験的に考えられない。さらに、ロスがあった場合は、定量値は過小評価になる。このことは、外れ値の原因にならない。当該機関は標準液に関して、標品から用時調製しており、調製標準原液の濃度が実際よりも高かった可能性が考えられる。当該機関の装置コンディションに関しては、クロマトグラムがリーディングピークになっていたものの、検量線の直線性他の精度管理に関するデータに問題は認められなかった。

以下、イプロベンホス分析における、外れ値の原因について述べます。
表示した2回答は、Grubbsの検定で大きな値として棄却されており、標準液調製のミスの可能性が非常に疑われました。

3.2 外れ値の原因(イプロベンホス-2)
(本編52頁)

分析結果	分析方法	アンケート調査での当該検査員の回答	分析条件等から推測された外れ値の原因・理由
Grubbs大	固相抽出-GC/MS	処理した試料のヘキサン溶液の濃度を報告してしまった。	報告された検査値に試料の指示値を代入して導出した濃度が報告されていた。試料濃度に変換するには、最終検液の濃度を前処理での濃縮率(250倍)で除する必要があったが、当該機関はこの処理をしなかったと推測された。ちなみに報告値を250で除すると4.85 $\mu\text{g/L}$ で、平均値の1.1倍に相当する。

26

分析担当者以外の第三者が分析工程及び濃度計算手順を、トレース可能である、言い換えると、分析担当者がトレース可能なフォーマットで結果を報告しているということが前提になりますが、第三者が分析結果をチェックするラボの体制が整備されていれば、この種のミスは回避できたと考えられます。

3.3 外れ値の原因(フェニトロチオン-1) (本編59～60頁)

分析結果	分析方法	アンケート調査での当該機	分析条件等から推測された外れ値の原因・理由
Grubbs大	GC/MS	(回答なし)	検量線を5、10、15 $\mu\text{g/L}$ の3点で作成しており、今回の試料の濃度は検量線の下限濃度以下であるため、正確な定量値を算出できなかったと考えられる。必ず検量線の濃度範囲内で定量する必要がある。また、農業の検量線は濃度範囲が広いと2次曲線となる場合が多いため、直線性が確保できる範囲内に4点以上の濃度点を設定することが望ましい。
Grubbs大	GC/MS	m/z 125の定量イオンにコンタミした物質のピークが	添付されたクロマトグラムでは、明らかに妨害ピークが重なっており、二山のピーク形状が確認できる。このような場合重なったことが原因であり、は、カラム昇温条件の変更によって、ピークが分離できる分析条件を検討するか、妨害を受けない他のモニターイオンを質が混入したと考えられる。用いて定量するべきである。
Grubbs大	GC/MS	処理した試料のヘキサン溶液の濃度を報告してしま	前処理方法は固相抽出により200mLを1 mLに濃縮しており(250倍濃縮)、抽出後のヘキサン溶液を試料中の濃度に換算すると1.804 $\mu\text{g/L}$ となり、中央値に近い値であることから計算ミスによるものと考えられる。

以下、フェニトロチオン分析における、外れ値の原因について述べます。

表示した3回答は、いずれもGrubbsの外れ値検定で大きな値として棄却されました。一つ目の回答については、検量線作成用標準液の濃度段階数が不足していたことと、濃度設定が検液濃度をカバーしていなかったことが、原因として考えられました。2つ目の回答については、コンタミによる妨害ピークの影響があったことが、考えられました。

3つ目の回答については、GC/MSの供試液の濃度を報告したケアレスミスが考えられました。

表示した事例からは、検量線作成用濃度段階数、濃度範囲の適正について分析担当者と測定結果チェックの担当者が理解すること、質量分析計を用いる分析においては、定量イオン、トランジション、と確認イオン、トランジションの強度比をつかってピーク同定の確度を確保する事、測定結果チェックの担当者が、濃度計算過程を把握しやすい分析工程の記録方法の確立が、精度管理に不可欠であるといえると考えます。

3.4 外れ値の原因(フェニトロチオン-2)
(本編60頁)

ND	分析方法	アンケート調査での当該機器の回答	分析条件等から推測された外れ値の原因・理由
Grubbs大	GC/MS	検出器の汚れなどにより、感度低下が考えられる。	アンケート調査への回答がないため前処理方法等の詳細が不明。仮に2 μg/Lの試料を500倍濃縮後にGC/MSに2 μL注入した場合の機器への注入量は2 ngになるが、添付資料では50 ng、100 ngの注入量の検量線データ(原点を含む3点検量)しか示されておらず、装置の検出感度が不明である。添付された100 ng注入時のクロマトグラムにおいても、テーリングが酷く、十分な感度が得られていないことから、水質検査が不可能な装置状態であると考えられる。

28

このスライドの例は、装置の感度が悪いことが原因であると考えられたケースです。ここまでに表示した事例からは、検量線作成用濃度段階数、濃度範囲の適正について分析担当者と測定結果チェックの担当者が理解すること、質量分析計を用いる分析においては、定量イオン(トランジション)と確認イオン(トランジション)の強度比をつかってピーク同定の確度を確保する事、測定結果チェックの担当者が、濃度計算過程を把握しやすい分析工程の記録様式の確立、分析装置のコンディションの評価ポイントを決めておいて、それらを満足しないときにはメンテナンスを行い、再度コンディションを評価し合格した場合に機器分析を実施する体制を確立しておくことが、精度管理において重要な要素であると言える、と考えます。

3.5 外れ値の原因(参照項目-1)
(本編65頁)

物質名	分析結果	添付資料等から推測された外れ値の原因・理由
シマジン	ND等	調製濃度は環境基準値の1/10を上回っていることに加え、測定にはLC/MS/MS法を用いており、添加濃度においてピークが検出されないとは考えにくい。前処理法が不明であり、添付資料もなかったため原因は不明。
シマジン	Grubbs小	添付されたクロマトグラムはややテーリングしていたが、検量線の直線性、検量点の間隔は良好であった。測定試料液の濃度は検量線の最低濃度よりも低く、検量線濃度範囲外であったことが原因の一つと考えられるが、前処理条件及び測定条件が不明なため、解析することができなかった。
シマジン	Grubbs小	当該機関はGC-FTD法での測定結果を報告している。感度変動の原因として、カラム、インサート、セプタムの状態の他、キャリアガスの汚染、検出器の状態(ジェット詰まりや検出器ビードの劣化)が考えられるが、添付資料がなかったため特定には至らなかった。
フェノブカルブ	Grubbs小	詳細項目に添付されていたクロマトグラムは、2項目ともピークのテーリングが見られ、検量線の繰り返し測定結果もばらついていた。詳細項目と一斉分析したと仮定すると、分析機器の調整不足が一因と考えられる。当該機関は、フェントロチオンについて外れ値を出しており、そこの回答ではGC/MS検出器の汚れ等による感度低下と回答しており、加えてGC側(カラム、インサートライナー)の汚れまたは劣化)の要因も大きいと考えられた。

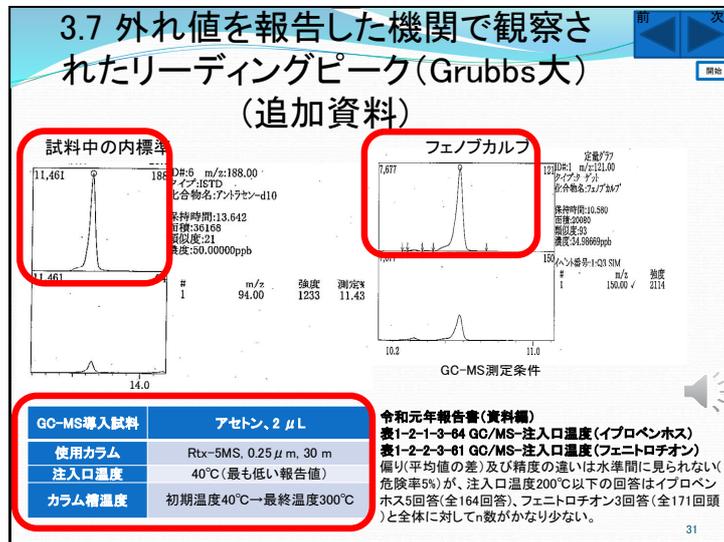
参照項目については、外れ値を報告した機関に対してのアンケート調査は実施していません。

詳細項目に添付されたクロマトグラムあるいは報告された条件を基に考察していますが、情報が不足しており、原因の特定には至らないものがほとんどでした。

3.6 外れ値の原因(参照項目-2)
(本編66頁)

物質名	分析結果	添付資料等から推測された外れ値の原因・理由
フェノブカルブ	Grubbs大	詳細項目の操作ブランク及び試料のクロマトグラムに妨害ピークが見られており、詳細項目との一斉分析を行っていたとすると、器具または装置の汚染による測定時のピーク面積の増大が疑われる。
クロチアニジン	Grubbs大	添付資料がなく詳細は不明であるが、5回測定の結果のうち、1データのみ他の4データの約1/2の値であり、計算間違いまたは転記ミスの可能性が考えられた。ただし、低い方の値は調製濃度の約75%で棄却下限値付近、高い方の値は調製濃度の約1.3倍であり、棄却上限値を超える。
フィプロニル	Grubbs大	報告値が外れ値除外後の平均値の約2.2倍であり、計算間違いの可能性はある。しかし、報告値の室内精度CVが約20%と高く、他の要因も存在すると考えられるが、添付資料がなく詳細は不明。

こちらのスライドの例でも、情報が不足しており、原因の特定には至らないものがほとんどでした。



続いて、外れ値の原因と考えられた事例について、具体的なチャートなどを用いて紹介します。

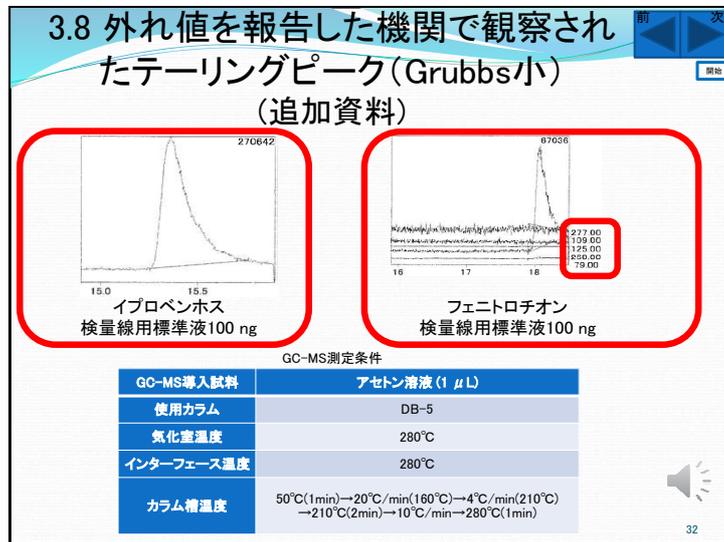
当該機関は、GC注入方法をスプリットレス注入、注入口温度を40°Cと報告していましたが、この温度では、農薬を定量的に注入口で気化させてカラムに移送できないと推測されます。

また、注入口の加熱温度が不足する条件で測定すると、クロマトピークの形状はテーリングします。

表示したようなリーディングピークは、注入こう温度が低かったことが原因の結果とは考えられません。

おそらく、注入口の初期温度40°Cでも測定可能なクールオンカラムが大量注入法の記入ミス、もしくは注入口温度の記入ミスが疑われます。

クロマトピークの形状が非対称だと、精度よくピークを積分することが難しくなるということを念頭において、左右対称でシャープなピークが得られるように、カラムを含めたGC/MSのコンディションを調整し、測定条件を設定するように、心がけてください。



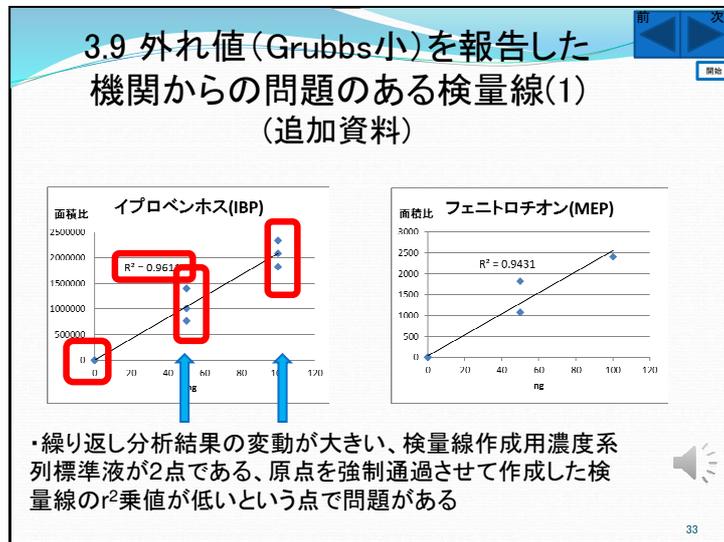
この測定では、2項目ともピークのテーリングが見られ、検量線の繰り返し測定結果もばらついてました。

フェニトロチオンのピークに関しては、ベースイオンのm/z 125のピークの位置に分子イオンのm/z 277のピークが認められず、別成分を誤同定している可能性が考えられます。

当該機関は、13種農薬混合標準液を希釈調製して検量線を作成し、5%フェニル95%ジメチルポリシロキサン系カラムを使用したと報告しています。

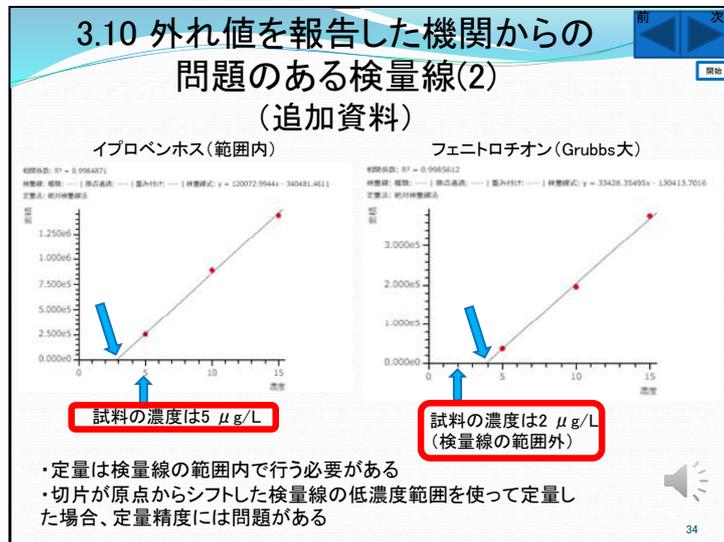
このカラムを使って13種農薬混合標準液を測定した場合、フェニトロチオンのピークの前にチオベンカルブ由来のm/z 125のピークが認められるはずなので、それをフェニトロチオンとして誤同定したことが疑われます。

MS測定方法において、ピーク同定の間違いを防ぐ、加えて妨害成分の干渉をチェックするために、定量イオンと確認イオンを測定し、それらの強度比を使って定性することは、精度管理において重要な要素であると言える、と考えます。



このスライドに示した検量線は、繰り返し分析結果の変動が大きい、検量線作成用濃度系列標準液が2点である、原点を強制通過させて作成した検量線の r^2 乗値が低いという点で問題があると言えます。

検量線の適性を評価する基準は、ラボごとに規定しておけばいいのですが、最低限の目安としては、同一濃度標準液の繰り返し測定結果の最高レスポンスと最小レスポンスの比が20%以上の違いがない、検量線の濃度が5段階以上、 r^2 乗値は0.995以上である、検量線の切片が原点の近くである、というのが一般的だと考えられます。また、イブプロフェンの定量イオン m/z 91とフェニトロチオンの定量イオン m/z 277)のレスポンスに800倍の違いがあり、GC/MSによる両農薬の通常の結果から見ると異常です。標準液のマス クロマトグラムを見て、マス コンディションの異常、ピーク同定のミスを疑うことができるように、GC/MSによる農薬分析の経験を蓄積するように心がけてほしいと思います。



こちらの検量線は検量線の範囲を外れてしまっているものです。

X切片も大きいことから、吸着の影響が出ている可能性があり、より低濃度範囲も含めて検量線を引くと、2次曲線になっているかもしれません。

検量線は、標準液の濃度範囲内で使用し、範囲外での使用は原則許されません。

当該機関は、フェニトロチオンの定量においてこのルールに従っておらず、定量方法に問題があったと言わざるを得ません。

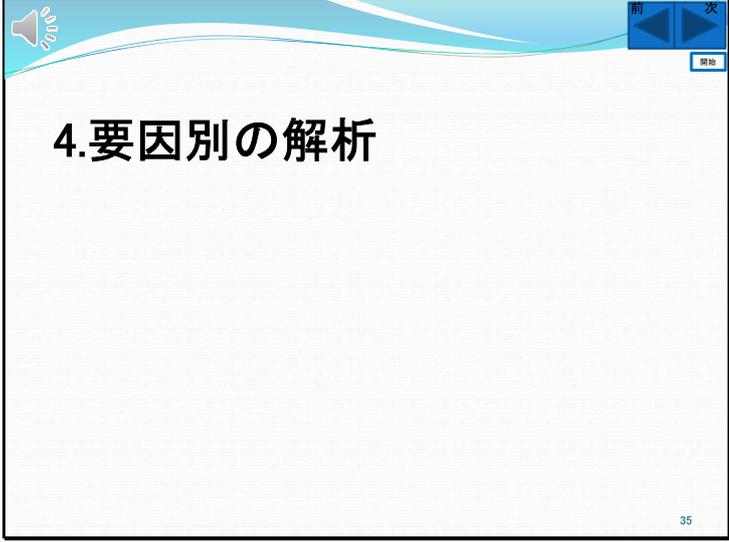
また、両検量線は、切片が原点から明らかにシフトしており、検量線の低濃度範囲を使って定量した場合の定量精度には問題があると考えます。

「要調査項目等調査マニュアル」II章精度管理、3測定信頼性の評価、(2)検量線(環境省平成20年)には、検量線データから最小自乗法で一次回帰直線を求め、その傾きを基準の RRF とすることができるが、切片が限りなく 0(ゼロ)に近いことを確認する、との記述がみられます。

切片の原点からのシフトについて、定量的に言及はしていないので、分析者が自主的に許容範囲を設定し、精度管理を行う必要があります。

本スライドのような検量線が得られたときは、切片がプラス側にシフトしている場合も同様ですが、切片のずれ幅が許与範囲に収まるように、GC/MSを調製して、検量線の再構築を行うようにしていただくようお願いいたします。

スライド 35



4. 要因別の解析

35

次に、要因別の解析について説明します。

4.1 定量下限値(資料編107,147頁)

分析法定量下限値(イプロベンホス) 指針値は0.008 mg/L 報告書資料編 表1-2-1-3-121

μg/L	回答数	平均値(μg/L)	室間精度	
			SD(μg/L)	CV%
1. 0.1未満	20	4.15	0.574	13.8
2. 0.1以上1.0未満	55	4.28	0.642	15.0
3. 1.0以上10未満	3	4.62	1.09	23.6
4. 10以上	7	4.29	0.610	14.2

(注)偏り(平均値の差)及び精度の違いは水準間に見られない(危険率5%)。

分析法定量下限値(フェニトロチオン) 指針値は0.003 mg/L 報告書資料編 表1-2-2-3-116

μg/L	回答数	平均値(μg/L)	室間精度	
			SD(μg/L)	CV%
1. 0.1未満	19	1.66	0.302	18.1
2. 0.1以上1.0未満	56	1.74	0.286	16.4
3. 1.0以上10未満	5	1.88	0.404	21.5
4. 10以上	7	1.64	0.423	25.8

(注)偏り(平均値の差)及び精度の違いは水準間に見られない(危険率5%)。

分析法定量下限値の引用・算出方法(回答数)

項目	指針値の1/10を引用	水質管理目標を引用	JIS K 0128を引用	10σから算出	その他
イプロベンホス	35	4	4	34	12
フェニトロチオン	32	5	4	34	15

(注)偏り(平均値の差)及び精度の違いは水準間に見られない(危険率5%)。

以下、要因別の解析結果について述べます。

分析法定量下限値の算出試験法は、複数の方法が提案されており、個々の測定データが同じでも、算出方法によって見積もった定量下限値には違いがあるので、参加機関の回答を単純に比較して解析するのは適当ではありませんが、この結果から言えることは、分析法定量下限値が指針値の1/10を満たしていない、あるいは指針値以上としている機関があり、改善する必要があると考えられます。

4.2 国際的認証の取得状況 (資料編7, 44, 77, 116, 166, 338頁)

分析項目	ISO9001-9003		ISO/IEC 17025		MLAP		環境省 受注資格		QMSのみ	
	平均	室間CV%	平均	室間CV%	平均	室間CV%	平均	室間CV%	平均	室間CV%
共通試料1(土壌)										
鉛	x	x	x	○	-	-	-	-	x	x
砒素	x	○	x	x	-	-	-	-	x	x
共通試料2(農薬)										
イプロベンホス	x	x	x	○	x	○	x	○	x	x
フェニトロチオン	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
共通試料3(底質)										
PCB	x	○	x	x	x	○	x	x	x	○
総水銀	x	x	x	x	-	-	x	x	x	x

○有無で有意差(危険率5%)が認められる。
 ×有無で有意差(危険率5%)は認められない。
 -:該当なし。

国際的認証の有無は平均値には影響を及ぼしていませんが、室間CV%には影響があると考えられます。

4.3 要因別解析結果の一覧-1
(本編68頁)

要因と水準	イプロベンホス	フェニトロチオン	評価
環境媒体の農薬成分の分析経験の有無	室間精度CV: 「有」<「無」	室間精度CV: 有意差なし、イプロベンホスと同様の傾向はみられる。	両農薬で回答数「無」が4しかなく、該当する機関の結果が偶発的に影響した可能性が考えられる。
食品の農薬成分の分析経験の有無	室間精度CV: 「有」<「無」	室間精度CV: 「有」<「無」	食品中農薬分析の経験は水中農薬分析の精度向上に効果があった可能性がある。
試料中有機溶媒濃度(%)	室間精度CV: 「0.1以上0.5未満」< 「0.5以上5未満」	室間精度CV: 有意差なし、イプロベンホスと同様の傾向はみられる。	対象農薬と同程度の疎水性を有する農薬では制御が重要な要因と考えられる。
希釈後保存日数(日)	室間精度CV: 「7未満」<「21以上」	室間精度CV: 有意差なし、イプロベンホスと同様の傾向はみられる。	

以下、要因別の解析結果について述べます。

環境媒体の農薬成分の分析経験の有無、の解析の結果に関しましては、イプロベンホスでは有の方が室間精度CVが有意に小さくなり、フェニトロチオンについても同様な傾向が見られましたが、両農薬で、無の回答数が4しかなく、該当する機関の結果が偶発的に影響した可能性も考えられます。

食品の農薬成分の分析経験の有無、の解析の結果に関しましては、両農薬とも有の方が室間精度CVが有意に小さく、食品中農薬分析の経験は、水中農薬分析の精度向上に効果があった可能性があります。

試料中有機溶媒濃度(%)、および希釈後保存日数については、対象農薬と同程度の疎水性を有する農薬では制御が重要な要因と考えられました。

4.4 要因別解析結果の一覧-2 (本編68～69頁)			
要因と水準	イプロベンホス	フェニトロチオン	評価
抽出操作 実施の有無	平均値: 「有」<「無」	平均値: 有意差なし、イプロベン ホスと同様の傾向はみら れない。	前処理「無」は機器測定を LC/MS/MSで行ったことを意 味するが、無の回答数が一 桁であり、有意差は偶発的 に起こった可能性が考えら れる。
固相抽出法、 前処理-試料 量	平均値: 「300 mL以上1000 mL未満」< 「100～200 mL未 満」	平均値: 「300 mL以上1000 mL 未満」 < 「100～200 mL未満」・ 「200 mL以上300 mL未 満」	有意差が見られた水準の回 答数は25を超えており、低い 濃度あるいは高い濃度を報 告した機関が各水準に偶発 的に含まれたとは考えにくい が、固相抽出の原理及び操 作性の視点からは説明でき ない現象である。

抽出操作実施の有無、の解析の結果に関しましては、前処理なし、は機器測定をLC/MS/MSでおこなったことを意味しますが、なし、の回答数が一桁であり、有意差は偶発的に起こった可能性も考えられました。

固相抽出法、前処理と試料量の解析の結果に関しましては、有意差が見られた水準の回答数は25を超えており、低い濃度あるいは高い濃度を報告した機関が各水準に偶発的に含まれたとは考えにくいのですが、固相抽出の原理及び操作性の視点からは説明できない現象でした。

4.5 要因別解析結果の一覧-3
(本編69頁)

要因と水準	イプロベンホス	フェニトロチオン	評価
溶媒抽出法: 前処理-溶媒抽出 溶媒量(2回目)	平均値: 有意差なし、 溶媒量を多くすると 低くなる傾向が見られる	平均値: 「100 mL以上500 mL未 満」<「50 mL未 満」	この結果は、水試料と無極性有機溶媒の体積比及び回数 が抽出効率に影響することの 証左と考えられる。
溶媒抽出前処理 洗い込み回数	室間精度CV: 「2」>「3」	室間精度CV: 有意差なし、回数を増 やすと小さくなる傾向 が見られる	

溶媒抽出法の前処理、溶媒抽出、溶媒量(2回目)と溶媒抽出前処理洗い込み回数の解析の結果に関しましては、水試料と、無極性有機溶媒の体積比及び回数が抽出効率に影響すると考えられました。

4.6 要因別解析結果の一覧-5
(本編69頁)

要因と水準	イプロベンホス	フェントロチオン	評価
固相抽出前処理 固相乾燥 遠心分離時間 (hr)	室間精度CV: 「0.1未満」> 「0.3以上0.5未満」	室間精度CV: 有意差なし、イプロベンホスと同様の傾向が見られる	固相抽出法では、通液後の固相カートリッジの乾燥が精度管理上重要なことの証左と考える。とくに通気乾燥時間では「0.5以上」の室間精度CVが最も小さかったことは精度向上のヒントになる。
固相抽出前処理-固相乾燥 通気時間 (hr)	室間精度CV: 「0.1以上0.2未満」> 「0.5以上」	室間精度CV: 有意差なし、イプロベンホスと同様の傾向が見られる	

固相抽出前処理の、固相乾燥、遠心分離の時間と、通気乾燥の時間の解析の結果、にしましては、固相抽出法では、通液後の固相カートリッジの乾燥が精度管理上、重要と考えられました。

とくに通気乾燥時間では「0.5以上」での室間精度CVが最も小さかったことは、精度向上のヒントになると考えます。

4.7 要因別解析結果の一覧-6
(本編69頁)

要因と水準	イプロベンホス	フェントロチオン	評価
前処理-固相抽出 抽出溶媒の種類	室間精度CV: 有意差なし、フェントロチオンと同様の傾向が見られる	室間精度CV: 「その他」<「アセトン」	2種類の抽出溶媒を用いることで抽出効率が安定した可能性が考えられる。
GC/MS 注入量	平均値: 有意差なし、フェントロチオンで見られる傾向は見られない	平均値: 「5 μL以上」<「1 μL以上2.5 μL未満」	合理的な説明ができない。
GC/MS 注入方式	平均値: 「スプリットレス」<「パルスドスプリットレス」 室間精度CV: 「スプリットレス」>「パルスドスプリットレス」	平均値: 有意差なし、平均値・室間精度CV共にイプロベンホスと同じ傾向が認められる	イプロベンホスがフェントロチオン以上に注入口汚染の影響を受けやすい農薬であることとの関連が疑われる。

前処理、固相抽出の抽出溶媒の種類の結果、に関しましては、2種類の抽出溶媒を用いることで抽出効率が安定した可能性が考えられます。

農薬類のGC分析で一般的に採用されるスプリットレス注入法では、注入口に装着したガラス製ライナーの容量が1 mL以下であり、試料溶媒の種類によって大小があるものの最大注入量は5 μL 未満といってよいと考えます。

注入量と平均値との関係がイプロベンホスとフェントロチオンとで違っていたので合理的な説明はできませんが、5 μL 以上の注入の定量精度には問題が生じていた可能性も考えられました。

GC/MSの注入方式の結果に関しては、経験上イプロベンホスがフェントロチオン以上に注入口汚染の影響を受けやすい農薬であることとの関連が疑われます。

4.8 要因別解析結果の一覧-7
(本編69～70頁)

要因と水準	イプロベンホ	フェントロチオ	評価
定量用イオン (m/z) 及びトランジション	平均値: 有意差なし	平均値: 「109」<が「277 > 109」を除く他種のイオン及びトランジション	設定濃度のちがいが夾雑ピークの影響の受け方のちがいとして現れた可能性が考えられる。
確認用イオン (m/z) 及びトランジション	室間精度CV: 有意差なし、フェントロチオンと同様に「LC/MS/MS: 289>91」<「他のイオン」という傾向が見られた	室間精度CV: 「LC/MS/MS: 278>125」<「他のトランジション及びイオン」	定量イオンに関してもLC/MS/MS法の室間精度CVが小さい傾向が両農薬で認められた。分析方法の種類に関して行った解析でLC/MS/MS法の室間精度CVに関する優位性が認められず、ここでトランジション又はイオンについて設けた水準間で認められた理由は、分析法についての回答に実際に行った分析法と異なる回答があったためと考えられる(添付データから確認できた)。

定量用イオン及びトランジションで設けた水準は、前者がGC/MSで定量した水準を、後者がLC/MS/MSで定量した水準であると考えてよいです。

平均濃度に関しては、両農薬の設定濃度の違いが、夾雑ピークの影響の受け方の違いとして現れた可能性が考えられました。

室間精度に関しては、LC/MS/MSで測定したほうが室間CV%値が小さい傾向が両農薬で認められました。

分析方法の種類に関して行った解析で、参照項目を除くと、LC/MS/MS法の室間精度CVに関する優位性が認められず、ここでトランジション又はイオンについて設けた水準間で認められた理由は、分析法についての回答に実際におこなった分析法と異なる回答があったためと考えられます。

これは添付データから確認できました。

4.9 要因別解析結果の一覧-8
(本編70頁)

要因と水準	イプロベンホス	フェニトロチオン	評価
標準液の作製 標準原液-調製方法	平均値: 有意差なし、フェニトロチオンと同様の傾向が見られる	平均値: 「混合標準液を購入」<「単品標準液を購入」および「原体を購入」	「混合標準液を購入」では原液の調製、保管状態の影響を受けにくいことの結果が表れた可能性がある
標準原液調製 溶媒の種類	室間精度CV: 「ヘキサン」<「ジクロロメタン」;「ヘキサン」<「アセトン」	室間精度CV: 有意差なし、イプロベンホスと同様の傾向はみられない	合理的な説明はできなかった。
検量線作成用標準液 混合種類数	平均値: 「10未満」>「50以上100未満」、他水準間の大小関係はフェニトロチオンと同様	平均値: 「10未満」>「10以上50未満」および「50以上100未満」;「10以上50未満」>「50以上100未満」	この解析結果は、標準液中の農薬相互のマトリックス効果が発生し定量結果に影響したことを暗示している。この種のマトリックス効果を回避、あるいは補正可能な定量方法の確立が望まれる。

標準液の作製の標準原液調製方法の、解析の結果に関しましては、混合標準液を購入、では原液の調製、保管状態の影響を受けにくいことの結果が表れた可能性があります。

標準原液調製の溶媒の種類解析の結果に関しましては、合理的な説明はできませんでした。

検量線作成用標準液の混合種類数の解析の結果に関しましては、標準液中の農薬相互のマトリックス効果が発生し、定量結果に影響したことを暗示しており、この種のマトリックス効果を回避、あるいは補正可能な定量方法の確立が望まれます。

このことについては、後で行うQ&Aのセッションにおける設定濃度と回答の中央値とのズレに関する回答の中で触れますのでここでは説明を省略させていただきます。

4.10 要因別解析結果の一覧-9 (本編70頁)			
要因と水準	イプロベンホス	フェントロチオン	評価
検量線作成用標準液調製溶媒	室間精度CV: 有意差なし、フェントロチオンと同様の傾向	室間精度CV: 「ヘキサン」>「ジクロロメタン」;「ジクロロメタン」<「アセトン」	検量線作成用標準液と検体試料の溶媒種類を同じにすること室間精度向上に有効である。
内標準調製からの経過日数(日)	平均値: 「30未満」<「180以上」	平均値: 有意差なし、イプロベンホスと同様の傾向なし	内標準調製からの経過日数と定量値の算出には直接的な関係がなく、偶発的な統計解析結果と思われる
検量線検出下限値算出方法	平均値: 有意差なし、フェントロチオンの傾向とは逆の関係がみられた	平均値: 「標準液の繰り返し測定値の標準偏差σを用いた方法」<「装置ブランク試料繰り返し測定値の標準偏差σを用いた方法」	定量下限値の算出方法と定量値の算出には直接的な関係がなく、「装置ブランク試料繰り返し測定値の標準偏差σを用いた方法」の回答数も3と十分ではないことから、偶発的な統計解析結果と思われる

検量線作成用標準液の調製溶媒の解析の結果に関しましては、検量線作成用標準液と検体試料の溶媒種類を同じにすることが、室間精度向上に有効であると考えられました。

内標準調製からの経過日数の解析の結果に関しましては、内標準調製からの経過日数と定量値の算出には直接的な関係がなく、偶発的な統計解析結果と思われました。

検量線検出下限値の算出方法の解析の結果に関しましては、偶発的な統計解析結果と思われました。

4.11 要因別解析結果の一覧-10 (本編70～71頁)			
要因と水準	イプロベンホス	フェントロチオン	評価
定量方法	室間精度CV: 有意差なし、フェントロチオンと同様の関係がみられた	室間精度CV: 「内部標準法」<「絶対検量線法」	内標準使用のメリット(注入量変化の補正、GC/MS感度変動補正)が発揮されたと推察される。
内標準の使用の有無	室間精度CV: 有意差なし、フェントロチオンと同様の傾向が認められた	室間精度CV: 「有」<「無」	この解析結果は、定量方法で認められた傾向を支持する。
内標準添加量	室間精度CV: 有意差なし、フェントロチオンと同様の傾向が認められた	室間精度CV: 「1.0 ng未満」および「10 ng以上100 ng未満」<「1000 ng以上」	両農薬で「1.0 ng以上10 ng未満」では「1.0 ng未満」および「10 ng以上100 ng未満」よりも室間精度CVは大きく、明確な傾向はみられなかった。

定量方法の解析の結果に関しましては、内標準使用のメリット(注入量変化の補正、ジーシーマス感度変動補正)が発揮されたと推察されます。

内標準の使用の解析の結果に関しましては、定量方法で認められた傾向を支持しています。

内標準添加量の解析の結果に関しましては、明確な傾向はみられませんでした。

4.12 要因別解析結果の一覧-11
(本編71頁)

要因と水準	イプロベンホス	フェントロチオン	評価
試料の指示値と検量線最高濃度の指示値の比	平均値: 「0.75～1」>「0.25 未 満」 室間精度CV: 「0.25未満」、「0.25以上 0.5未満」、「0.5以上0.75 未満」及び「1以上」> 「0.75～1未満」	平均値: 有意差なし、イプロベ ンホスで見られた傾 向は認められなかつ た 室間精度CV: 有意差なし、イプロベ ンホスで見られた傾 向は認められなかつ た	本要因に対して2種の農 薬で異なる傾向が認めら れた原因は不明。検量線 作成に用いた近似方法 (一次、二次、重みづけの 有無)で試料の指示値を 分けて検定すれば、この 比と精度との関係が見え てくる可能性がある。

試料の指示値と検量線最高濃度の指示値の比の解析の結果に関しましては、本要因に対して2種の農薬で異なる傾向が認められた原因は不明です。検量線作成に用いた近似方法(一次、二次、重みづけの有無)で試料の指示値を分けて検定すれば、この比と精度との関係が見えてくる可能性があります。

4.13 前処理で影響が出る可能性のある操作
 (試料量:溶媒抽出) 追加資料

資料編表1-2-1-3-18前処理-試料量(イプロベンホス)溶媒抽出-GC/MS法

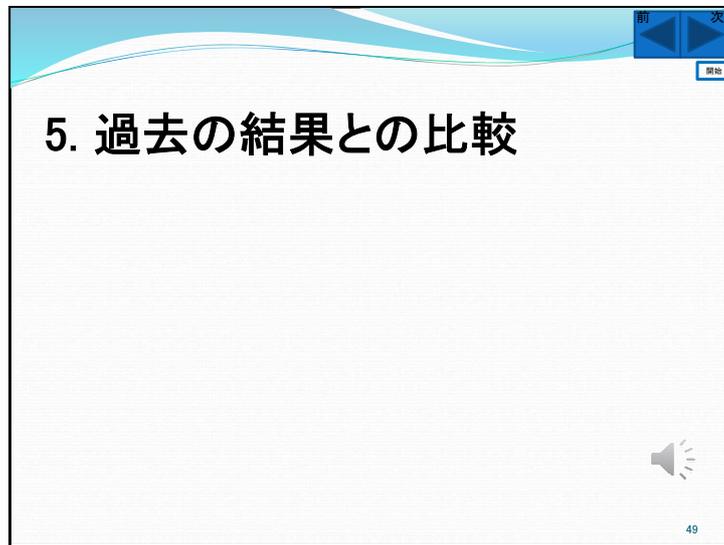
抽出法	試料量 (mL)	回答数	平均値 ($\mu\text{g/L}$)	室間精度	
				SD ($\mu\text{g/L}$)	CV%
1. 溶媒抽出法	1. 200以下	4	4.52	0.242	5.35
	2. 500	4	4.67	0.469	10.0
	3. 1000	4	4.11	0.717	17.4

資料編表1-2-2-3-18前処理-試料量(フェニトロチオン)溶媒抽出-GC/MS法

抽出法	試料量 (mL)	回答数	平均値 ($\mu\text{g/L}$)	室間精度	
				SD ($\mu\text{g/L}$)	CV%
1. 溶媒抽出法	1. 200以下	4	2.00	0.301	15.1
	2. 500	4	1.85	0.189	10.2
	3. 1000	4	1.47	0.214	14.6

試料と抽出溶媒の体積比の大小が、試料量自体の大小よりも回収率に影響
 改善策1: 抽出溶媒の量を試料の量と比較して多くする
 改善策2: 抽出回数を増やす等を検討

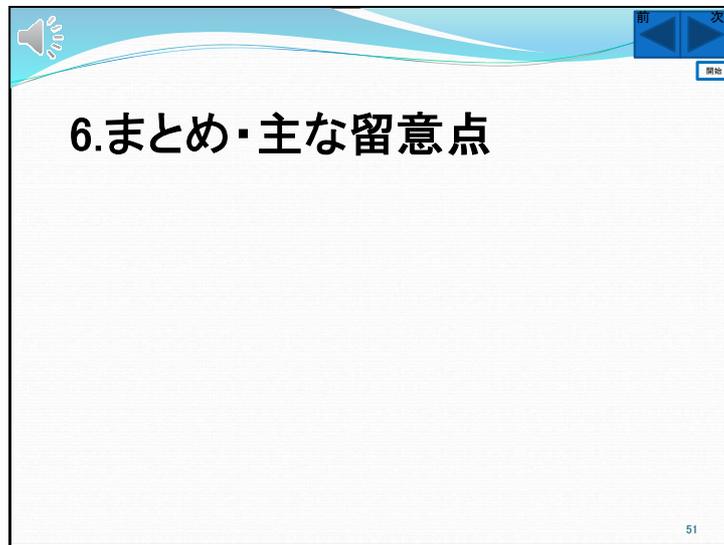
これは液液抽出の場合で、測定に用いた試料量について解析したものです。統計的な有意差が出せているわけではないのですが、試料量が多くなるに従って平均濃度が低下し、さらに室間CV%が大きくなる傾向があるように見えます。このことは溶媒抽出が十分にできていない可能性があることを示唆しています。公定法である水質汚濁に係る人の健康の保護に関する環境基準の測定方法及び要監視項目の測定方法について付表1の第1の規定では、試料は1 L使い、抽出は2回行うことになっていますが、試料と抽出溶媒の体積比の大小が、試料量自体の大小よりも、回収率に影響すると考えられますので、抽出溶媒の量を試料の量と比較して多くする、あるいは抽出回数を増やす等を検討した方が良いかもしれません。



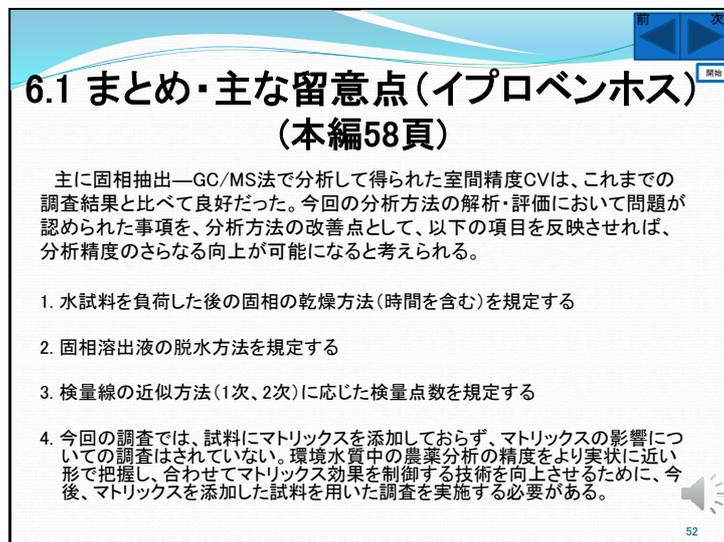
過去の結果との比較について説明します。

模擬水質試料中の農薬について、過年度調査との比較について説明します。
フェノカルブを除き、近年、室間精度に改善の傾向がみられています。本調査の結果から示唆される測定上の注意点を参照していただき、さらなる室間精度の改善に向けた取り組みを続けていただければと思います。

スライド 51



最後に、全体のまとめと、主な留意点について説明します。

A presentation slide with a blue header and footer. The title is '6.1 まとめ・主な留意点(イプロベンホス) (本編58頁)'. The main text discusses the accuracy of the GC/MS method and lists four key points for improvement. There are navigation arrows in the top right and a speaker icon in the bottom right.

6.1 まとめ・主な留意点(イプロベンホス)
(本編58頁)

主に固相抽出—GC/MS法で分析して得られた室間精度CVは、これまでの調査結果と比べて良好だった。今回の分析方法の解析・評価において問題が認められた事項を、分析方法の改善点として、以下の項目を反映させれば、分析精度のさらなる向上が可能になると考えられる。

1. 水試料を負荷した後の固相の乾燥方法(時間を含む)を規定する
2. 固相溶出液の脱水方法を規定する
3. 検量線の近似方法(1次、2次)に応じた検量点数を規定する
4. 今回の調査では、試料にマトリックスを添加しておらず、マトリックスの影響についての調査はされていない。環境水質中の農薬分析の精度をより実状に近い形で把握し、合わせてマトリックス効果を制御する技術を向上させるために、今後、マトリックスを添加した試料を用いた調査を実施する必要がある。

イプロベンホスの分析に関しまして、今後の課題は以下の通りです。

主に固相抽出—GC/MS法で分析して得られた室間精度CVは、これまでに実施してきた農薬対象の調査と比べて良好でした。

今回の分析方法の解析・評価において問題が認められた事項を、分析方法の改善点として、以下の項目を反映させれば、分析精度のさらなる向上が可能になると考えられます。

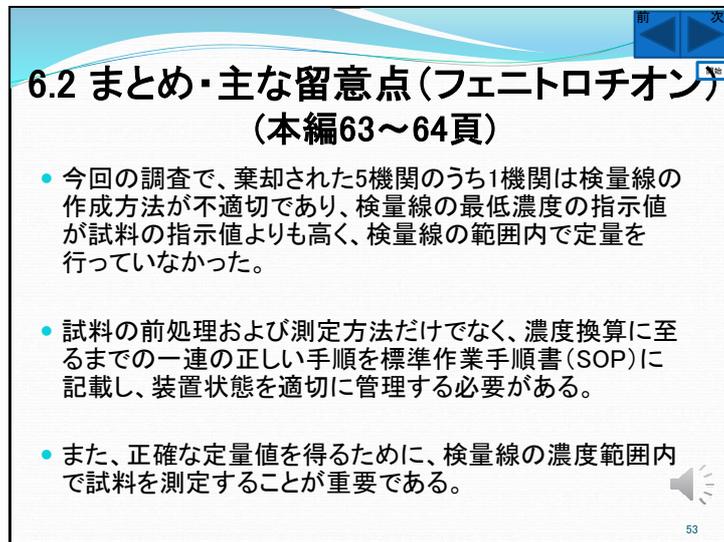
1番目として、水試料を負荷した後の固相の乾燥方法(時間を含む)を規定する。

2番目として、固相溶出液の脱水方法を規定する。

3番目として、検量線の近似方法(1次、2次)に応じた検量点数を規定する。

4番目として、今回の調査では、試料にマトリックスを添加しておらず、マトリックスの影響についての調査はされていません。

環境水質中の農薬分析の精度をより実状に近い形で把握し、合わせてマトリックス効果を制御する技術を向上させるために、今後、マトリックスを添加した試料を用いた調査を実施する必要があります。

A presentation slide with a blue header and a white body. The title is '6.2 まとめ・主な留意点(フェニトロチオン) (本編63~64頁)'. There are three bullet points. In the top right corner, there are navigation arrows labeled '前' and '次'. In the bottom right corner, there is a speaker icon and the number '53'.

6.2 まとめ・主な留意点(フェニトロチオン)
(本編63~64頁)

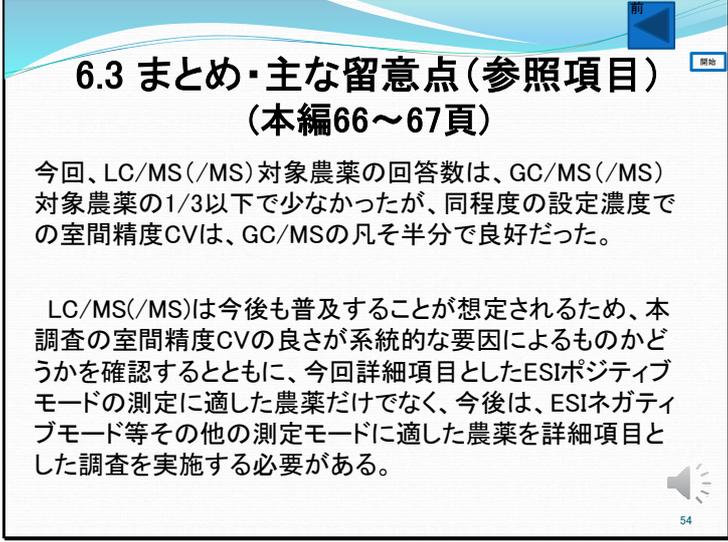
- 今回の調査で、棄却された5機関のうち1機関は検量線の作成方法が不適切であり、検量線の最低濃度の指示値が試料の指示値よりも高く、検量線の範囲内で定量を行っていなかった。
- 試料の前処理および測定方法だけでなく、濃度換算に至るまでの一連の正しい手順を標準作業手順書(SOP)に記載し、装置状態を適切に管理する必要がある。
- また、正確な定量値を得るために、検量線の濃度範囲内で試料を測定することが重要である。

フェニトロチオンの分析に関しまして、今後の課題・注意点は以下の3点です。

1番目としまして、今回の調査で、棄却された5機関のうち1機関は検量線の作成方法が不適切であり、検量線の最低濃度の指示値が試料の指示値よりも高く、検量線の範囲内で定量をおこなっていませんでした。

2番目として、試料の前処理および測定方法だけでなく、濃度換算に至るまでの一連の正しい手順を標準作業手順書(SOP)に記載し、装置状態を適切に管理する必要があります。

3番目として、正確な定量値をえるために、検量線の濃度範囲内で試料を測定することが重要です。



6.3 まとめ・主な留意点(参照項目)
(本編66～67頁)

今回、LC/MS(/MS)対象農薬の回答数は、GC/MS(/MS)対象農薬の1/3以下で少なかったが、同程度の設定濃度での空間精度CVは、GC/MSの凡そ半分で良好だった。

LC/MS(/MS)は今後も普及することが想定されるため、本調査の空間精度CVの良さが系統的な要因によるものかどうかを確認するとともに、今回詳細項目としたESIポジティブモードの測定に適した農薬だけでなく、今後は、ESIネガティブモード等その他の測定モードに適した農薬を詳細項目とした調査を実施する必要がある。

参照項目に関する今後の課題、留意点は次の通りです。

今回、LC/MS、あるいはLC/MS/MS対象農薬の回答数は、GC/MSあるいはGC/MS/MS対象農薬の1/3以下で少なかったのですが、設定濃度が同レベルであれば、空間精度CVはGC/MSの凡そ半分で良好でした。

LC/MS、あるいはLC/MS/MSは今後も普及することが想定されるため、本調査の空間精度CVの良さが系統的な要因によるものかどうかを確認することが必要と思われます。

また、今回、詳細項目の対象だったイプロベンホスとフェニトロチオンはイーエスアイポジティブモードでの測定に適しており、今後は、ESIネガティブモードに適した農薬を詳細項目として調査を実施する必要があると思われます。