

要調査項目等調査マニュアル
(水質、底質、水生生物)

平成20年3月
環境省水・大気環境局水環境課

要調査項目等調査マニュアルの制定に当たって

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

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

そこで、これら要調査項目等に係る測定方法等について、平成11年12月に「要調査項目等調査マニュアル（水質、底質、水生生物）」としてとりまとめ、以後順次、対象項目を変えてマニュアルを策定してきており、今般、新たな項目について知見の集積や測定方法の検討を進めた結果を本マニュアルとしてとりまとめた。

本マニュアルの作成にあたっては、以下の有識者及び行政担当者等からなる委員会を設置し、ご指導、ご助言をいただいた。

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

平成20年 3月
環境省水・大気環境局水環境課

- 座長 ○森田 昌敏 愛媛大学農学部生物資源学科 教授
有馬 郷司 独立行政法人水産総合研究センター 瀬戸内海区水産研究所
化学環境部長
- 石井 康雄 財団法人日本植物調節剤研究協会 技術顧問
○石川 精一 北九州市立大学大学院 国際環境工学研究科 准教授
大島 輝夫 化学品安全管理研究所長
○角脇 怜 愛知県環境調査センター 応用化学部 主任
○彼谷 邦光 東北大学大学院 環境科学研究科 教授
国包 章一 国立保健医療科学院 水道工学部長
○柴田 康行 独立行政法人国立環境研究所 化学環境研究領域長
○白石 寛明 独立行政法人国立環境研究所 化学物質環境リスク研究センター長
○高橋 保雄 東京都健康安全研究センター 環境保健部水質研究科 主任研究員
○田辺 顕子 新潟薬科大学大学院 薬学研究科 准教授
中杉 修身 上智大学 地球環境学研究科 教授
西村 哲治 国立医薬品食品衛生研究所 環境衛生化学部 第三室長
○福嶋 実 大阪市立環境科学研究所 研究副主幹
○藤森 一男 兵庫県立健康環境科学研究所 水質環境部 研究主幹
益永 茂樹 横浜国立大学大学院 環境情報学府 教授
吉岡 義正 大分大学 教育福祉科学部 教授
○吉永 淳 東京大学大学院 新領域創成科学研究科 環境学研究系 准教授

分析法に係るワーキンググループオブザーバー

岡本 拓 広島県立総合技術研究所保健環境センター 主任研究員

○：分析法に係るワーキンググループ委員

目 次

I. 調査対象物質一覧表.....	1
II. 分析精度管理.....	3
III. 試料の採取、運搬、調製にかかわる一般事項.....	21
IV. 分析法	
i. ジニトロフェノール類、ニトロフェノール類の分析法.....	28
ii. 塩化アルキルジメチルベンジルアンモニウムの分析法.....	39
iii. 安息香酸、 <i>p-t</i> -ブチル安息香酸の分析法.....	48
iv. ペルフルオロオクタンスルホン酸 (PFOS) 及びペルフルオロオクタン酸 (PFOA) の分析法.....	58
v. アジピン酸の分析法.....	67
vi. 2-メルカプトイミダゾリンの分析法.....	76
vii. ジニトロベンゼン類、ニトロアニソール類、ペンタクロロベンゼン、アントラ キノン及び1-フェニル-1-(ジメチルフェニル)エタン類の分析法..	83
viii. 塩素酸、過塩素酸、臭素酸の分析法.....	93

I. 調査対象物質一覧表

1 調査対象物質及びその分析法

番号	目数	要調査項目	目別番号	要調査項目	物質名	分析法
1. ジニトロフェノール類、ニトロフェノール類						
1	1		111		2,4-ジニトロフェノール ⁱ	水質：固相抽出、LC/MS/MS 底質：還元菌の死活化後溶媒抽出、LC/MS/MS
2	2		191		ニトロフェノール類	
2. 塩化アルキルジメチルベンジルアンモニウム						
3	3		46		塩化アルキルジメチルベンジルアンモニウム	水質：固相抽出、LC/MS又はLC/MS/MS 底質：高圧液体抽出、LC/MS又はLC/MS/MS
3. 安息香酸、 <i>p-t</i> -ブチル安息香酸						
4	4		27		安息香酸	水質：固相抽出、GC/MS 底質：溶媒抽出、固相抽出、GC/MS
5	5		223		<i>p-t</i> -ブチル安息香酸	
4. PFOS、PFOA						
6					ペルフルオロオクタンスルホン酸(PFOS)	水質：固相抽出、LC/MS又はLC/MS/MS 底質：溶媒抽出、LC/MS又はLC/MS/MS
7					ペルフルオロオktan酸(PFOA)	
5. アジピン酸						
8	6		6		アジピン酸	水質：固相抽出、GC/MS 底質：水抽出、固相抽出、GC/MS
6. 2-メルカプトイミダゾリン						
9	7		284		2-メルカプトイミダゾリン	水質：固相ろ過精製、LC/MS
7. ジニトロベンゼン類、ニトロアニソール類、ペンタクロロベンゼン、アントラキノン、1-フェニル-1-(ジメチルフェニル)エタン類						
10	8		112		ジニトロベンゼン類	水質：固液相抽出、GC/MS 底質：溶媒抽出、GC/MS
11	9		188		ニトロアニソール類	
12	10		256		ペンタクロロベンゼン	
13	11		28		アントラキノン	
14	12		209		1-フェニル-1-(3,4-ジメチルフェニル)エタン ⁱⁱ	
8. 塩素酸、過塩素酸、臭素酸						
15					塩素酸	水質：固相抽出、LC/MSまたはIC/MS/MS
16					過塩素酸	
17					臭素酸	

ⁱ ジニトロフェノール類として実施

ⁱⁱ 1-フェニル-1-(ジメチルフェニル)エタン類として実施

2 測定可能項目

	分類	番号	水質	底質	水生生物
1	ジニトロフェノール類、ニトロフェノール類	1~2	○	○	×
2	塩化アルキルジメチルベンジルアンモニウム	3	○	○	×
3	安息香酸、 <i>p-t</i> -ブチル安息香酸	4~5	○	○	×
4	PFOS、PFOA	6~7	○	○	×
5	アジピン酸	8	○	○	×
6	2-メルカプトイミダゾリン	9	○*	×	×
7	ジニトロベンゼン類、ニトロアニソール類、ペンタクロロベンゼン、アントラキノン、1-フェニル-1-(ジメチルフェニル)エタン類	10~14	○	○	×
8	塩素酸、過塩素酸、臭素酸	15~17	○	×	×

*：海水以外

II. 分析精度管理

要調査項目等は、化学物質の環境リスク対策を系統的かつ効率的に進めるにあたって、水環境中での検出状況や複合影響等に関する知見を優先的に集積すべき物質（群）として選定されたものである。本報告書は、これらの物質を対象として既に開発され実績のある測定方法のうち、検証試験等によってその基本的性能が確認できたものを中心に提示している。実際の水質、底質および生物試料への適用に際しては、各試験機関において事前に分析能力の評価を行うとともに、試料採取から前処理、測定、報告に至る過程で適切な精度管理を実施し、測定値の信頼性の確保に努めなければならない。分析精度の管理は、「1 標準作業手順（SOP：Standard Operating Procedure）」、「2 分析方法の妥当性、器具、装置の性能の評価と維持管理」および「3 測定値の信頼性の評価」によって行われ、基本的な留意事項を以下に示す。個々の測定対象物質に応じた具体的な留意事項は各分析方法に従う。

1 標準作業手順（SOP）

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

- ① 試料採取・運搬用器具等の準備、メンテナンス、保管および取扱い方法
- ② 前処理用試薬類の準備、精製、保管および取扱い方法
- ③ 分析用試薬、標準物質等の準備、標準溶液の調製、保管および取扱い方法
- ④ 水質、底質および生物試料における前処理操作の手順
- ⑤ 分析装置の測定条件の設定、調整、操作手順
- ⑥ 分析方法全工程の記録（使用するコンピュータのハードおよびソフトを含む）

2 分析方法の妥当性、器具、装置の性能の評価と維持管理

（1）試料採取と運搬、保管

具体的には、本マニュアルの「Ⅲ. 試料の採取、運搬、調製にかかわる一般事項」に従うが、試料採取に必要な器具類、材料および試薬等については、予め測定対象物質や測定に妨害を及ぼす物質が検出されないことを確認する。これらの物質が検出される場合は、その原因を究明し、各分析方法の目標検出下限値に相当する量を超えないように対処する。

また、常に同一の品質を維持するために、器具類、材料および試薬等の管理方法を規格化しておき、その規格について説明ができるようにしておく。

試料の採取に当たっては、調査の目的に対して適切な精度を保ち、かつ代表性のある試料を採取し、試料間相互の汚染（クロスコンタミネーション）に留意しながら、必要に応じて混合、固定化、異物除去等の処理を行う。

運搬と保管に際しては、外部からの汚染や分解、吸着等に留意し、試料品質の維持に努めなければならない。

（２）分析室内環境と器具・機材、試薬類

（ア）分析室内環境

測定対象物質によっては、野外環境よりも室内の濃度が高い場合があり、測定に重大な影響を及ぼす可能性がある。器具・機材の洗浄、乾燥、保管、試料調製、前処理、計測等を行う室内については、事前に空気中の対象物質濃度を実測することなどによって、室内環境の汚染が試料の測定に支障を及ぼさないことを確認しておく。支障があれば、その原因を追求し、回避する対策をとらなければならない。

（イ）器具・機材類

器具・機材類は、破損しがたいもので、測定を妨害する成分の溶出がなく、揮散、付着・吸着、分解等による損失がない、もしくはそれが洗浄等によって回避できる品質・形状のものを選択する。例えば、容器内壁に付着しやすい物質に対しては、有機溶媒や酸による洗浄で付着の回収が容易にできるよう、凹凸が少なく平滑な面を持つ品質・形状が望ましい。揮発性物質では蓋や接合部の気密性、光分解性物質では遮光性への配慮が不可欠である。また、洗浄後の保管にあつては、測定対象物質に応じた適切な管理を行う。

（ウ）試薬類

試薬類は、適切な品質・純度をもつものを準備し、後述の操作ブランク試験や添加回収試験を通じて、妨害成分の有無を確認する。共存する不純物、分解物、添加物等が測定を妨害する可能性は高いため、製造ロットや使用履歴を記録しておくとともに、保管中、とりわけ開封後の品質の劣化に注意する必要がある。また、洗浄、蒸留、再結晶化などの精製を行う場合は、精製のたびに、その品質や純度を確認しなければならない。

(エ) 標準物質（溶液）

測定値は標準溶液の濃度に基づいて決定されるので、その信頼性の確保のために、可能な限りトレーサビリティの保証された標準物質、標準溶液を用いることが望ましい。入手できなければ、純度が98%以上の高純度分析用試薬や試薬特級等で代用する。これらの標準物質、標準溶液については、製造メーカー、ロット、供給元、調製方法と日時などの記録を適切に行う。標準溶液を保管する場合は、有効期限を明確にするとともに、使用前に濃度に変化がないことを確認する。

(オ) 内標準物質、サロゲート物質

内標準法に用いる添加用標準物質である。内標準物質は装置測定直前の試験液に添加して試料注入誤差や分析装置の変動を補正、サロゲート物質は試料採取または前処理段階の試料に添加して添加位置以降から測定に至る分析操作の変動を補正するために利用する。これらの標準物質の選定、添加の位置と量は、個々の分析方法に従うが、選定にあっては測定対象物質と区別できること、試料マトリックス中に存在しないこと、分析操作の過程で安定であり、可能な限り対象物質と似た挙動をとること、検出感度が高いことが条件となる。GC/MS、LC/MSを分析装置とする場合は、 ^2H または ^{13}C をラベルした安定同位体標識物質の利用が多い。しかし、未反応のまま残存する非標識体は、その量が多いと測定値に重大な影響を及ぼすことになるので、可能な限り純度の高い標準物質を用い、併せて製造メーカー、ロット、供給元、調製方法とその日時などの記録を適切に行い、調製した標準溶液の有効期限を明確にしておく。

(3) 試料調製と前処理

(ア) 試料調製

乾燥、混合、均一化、解剖等の試料調製にあたっては、クロスコンタミネーションに十分に注意するとともに、室内や器材に起因する外部からの汚染にも配慮しなければならない。

(イ) 前処理操作

抽出、精製、濃縮、誘導體化などの前処理は、操作に知識や熟練を要するため人為的な

誤差の要因となり易い。本マニュアルの「IV. 分析法」の章にある個別分析法の操作手順と留意事項を理解し、適切に操作しなければならない。各操作の適否は操作ブランク試験と添加回収率試験で確認する。

(4) 分析装置の調整

使用する分析装置は、SOPに従い、試料の測定が可能になるよう測定条件を設定し、調整する。この際、感度、直線性、安定性等に問題がないことを確認するほか、干渉の有無や大きさ、その補正機能等が正常に機能するかどうかを確認しておく。

3 測定の信頼性の評価

(1) 装置の変動

1日に1回以上、定期的に検量線の間程度濃度の標準溶液を測定して、測定対象物質または内標準物質の感度が検量線作成時に比べ大きく変動していないことを確認する。測定対象物質と内標準物質との強度比である相対感度でみると、検量線作成時に比較して±20%の範囲を超えて変動する場合には、その原因を取り除き、それ以前の試料の再測定を行う。GCやLCを用いる分析装置において、分離カラムの劣化等によって保持時間が変動する場合には、必要に応じて対応をとればよいが、比較的短い期間の変動（通常、1日に保持時間が±5%以上、内標準物質との保持比が±2%以上）に対しては、その原因を取り除き、それ以前の試料の再測定を行う。分離カラムの劣化等によって長期にわたり徐々に保持時間が変動する場合には、必要に応じて対応をとればよい。

(2) 検量線（作成と直線性の確認）

検量線は通常5段階以上の濃度の標準溶液を分析し作成する。

内標準法による分析方法の場合、予め使用する分析装置固有の相対感度係数（RRF：Relative Response Factor）を求める。各検量線作成用標準溶液を3回以上繰り返して分析し、対象物質とそれに対応させる内標準物質（またはサロゲート物質）の濃度比と応答比（ピーク面積比など）の関係から、次式によりRRFを算出する。

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

ここで、Cis：標準溶液中の内標準物質の濃度、Cs：標準溶液中の測定対象物質の濃度、As：標準溶液中の測定対象物質の応答値、Ais：標準溶液中の内標準物質の応答値である。

各検量線作成用標準溶液の分析で得られた RRF の平均値が、実試料分析時の検量線確認の基準となるが、RRF の平均値を指標にして相対標準偏差が 5%以内の変動におさまるよう装置等の設定条件をあらかじめ検討する必要がある。また、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。なお、維持管理等による分析装置の動作状況の変化、あるいは新たな標準溶液の調製などがあつた場合には、同様の標準溶液の繰り返し分析によって基準となる RRF を新たに算出しなければならない

実試料の分析開始時には、2～3 濃度の検量線作成用標準溶液を分析して RRF を求め、その値が基準の RRF に対して 20%以内の変動であることを確認する。これを超えて変動する場合は、原因を取り除き、再度標準溶液を分析して RRF を確認する。

実試料の分析開始後は、想定される試験溶液中の濃度と同程度の標準溶液を定期的に測定し、RRF が 20%以内の変動であることを確認する。GC/MS や LC/MS の利用にあつては、内標準物質との保持比の変化が±0.5%以内であることを確認する。

分析装置の基準となる RRF を算出しない場合は、実試料の分析の都度、併行して 5 段階以上の検量線作成用標準溶液を分析し、濃度比と応答比の関係から検量線を作成しなければならない。この検量線の作成は、一連の分析の開始、中間および終了時に実施することが望ましく、一次回帰直線の傾きの変動が 20%以内であることを確認して、定量に用いる。

内標準物質またはサロゲート物質を用いない分析方法にあつては、実試料の分析の都度、上述と同様に標準溶液の分析を行い、対象物質の濃度と応答値の関係、すなわち絶対検量線法の検量線を作成する。作成頻度は、一連の試料分析に対して 3 回以上が望ましく、一次回帰直線の傾きの変動が 20%以内であることを確認する。

（3）操作ブランク試験

操作ブランク試験は空試験ともいい、試験液の調製または分析装置への導入操作等に起因する汚染を確認して、試料の分析に支障がない測定環境に設定し、分析値の信頼性を確保するために行う。試験の手順は各分析法に記載の通りであるが、試料マトリックスのみがない状態で調製した試験液について、測定対象成分が検出されるか否か、検出されればその濃度を、併せて他の妨害成分の有無を十分把握しておき、必要に応じてその値を提示できるようにしておく。

操作ブランク値が大きいと検出下限・定量下限が高なるばかりでなく、人為的な原因に

よる異常値が出現する可能性が高くなり、分析値の信頼性が低下する。したがって、操作ブランク値は分析値に影響がないよう極力低減を図り、試料濃度への換算値が目標定量下限値以下になるよう管理する。試験頻度は、10 試料ごとに 1 回、または 1 日に 1 回（測定試料が 10 試料以下）が目安である。

（４）検出下限値および定量下限値

検出下限値および定量下限値は、装置と分析方法については繰り返し分析で得られる測定値の標準偏差に基づき算出し、試料測定時の検出下限値と定量下限値は実測時のシグナル/ノイズ比（S/N 比）から推定する。

（ア）装置の検出下限値（IDL: Instrument Detection Limit）および定量下限値（IQL: Instrument Quantification Limit）

分析に用いる測定装置が、分析方法に記載されている検出下限値や定量下限値を満足するか否かは、装置検出下限値（IDL）を算出することで判断する。

IDL は標準溶液の繰り返しによる分析値のバラツキに基づき算出する。検量線作成用標準溶液の最低濃度（定量下限値付近）、もしくはシグナル/ノイズ（S/N）比が 5～15 程度に相当する標準溶液を通常 7 回、可能であればそれ以上繰り返し測定し、得られた分析値から標準偏差（s）を求め、次式より装置検出下限値を求める。

$$IDL = 2 \times s \times t(n-1, 0.05)$$

ここで、IDL は装置検出下限値、 $t(n-1, 0.05)$ は危険率 5%、自由度 $n-1$ の t 値（片側）、s は標準偏差である（次項表参照）。

標準溶液の繰り返し分析の値は正規性を示していることが前提となるので、繰り返しの分析値の中にはずれ値など異常値と判定される値が得られた場合は、装置の再調整を行い、測定し直さなければならない。

試料採取量、最終試験液量、分析装置への導入量等から、IDL の試料換算濃度を求め、この値が各分析方法の目標検出下限値以下であることを確認する。もし、これを満足しなければ、装置の再調整等などによって原因を解消する。また、装置の感度が改善しない場合は、試料の供試量を増やす、試料濃縮率を高めるなどによって、目標検出下限値の達成が可能か否かを検討する。

装置定量下限値（IQL）は、IDL の算出に用いた標準偏差 s の 10 倍値とする。

$$IQL=10 \times s$$

(イ) 分析方法の検出下限値 (MDL : Method Detection Limit) および定量下限値 (MQL : Method Quantification Limit)

定量下限値付近の濃度をもつ試料を用いて、所定の操作により分析し、得られた分析値を試料濃度に換算する。この操作を7回以上繰り返して、その時の標準偏差から次式により分析方法の検出下限値を求める。

$$MDL=2 \times s \times t(n-1, 0.05)$$

ここで、MDL は分析方法の検出下限値、 $t(n-1, 0.05)$ は次表に示す通り、危険率 5%、自由度 $n-1$ の t 値 (片側)、 s は標準偏差である。

表 Student の t 分布におけるパーセント点 (危険率 5%、片側)

繰り返し回数(n)	自由度(n-1)	$t(0.05, n-1)$ 、片側
7回	6	1.943
8回	7	1.895
9回	8	1.860
10回	9	1.833

ここで求めた MDL が各分析方法の目標検出下限値を満足していることを確認する。満足できない場合は、分析装置の再調整を行う。また、試料量を増やしたり、測定用試料液をより濃縮することなどで対応してもよいが、その手順を記録しておく。

MDL は、使用する分析装置やその操作条件により異なるため、これらに変更があった時など必要に応じて、MDL を求め、目標検出下限値を満足していることを確認する。

また、試料中の含有濃度が高すぎたり、低すぎる場合は適切な MDL が算出できないので、試料の選定や試料調製は以下に従う。

① MDL 算出用試料の選定

MDL の算出に用いる試料は可能な限り対象物質や妨害物質を含まないものから選定する。含有量が不明の場合は、実試料と同量の試料を供試して、所定の前処理、試験液の調製を行い、実測で確認する。操作ブランク値も含め、含有濃度が目標検出下限値の 5 倍以内であり、妨害物質も不検出であれば、MDL 算出用の試料とすることができる。

② 試料の調製

操作ブランク試験および MDL 算出用試料の分析結果に応じ、次のいずれかで試料を調製する。

- ・ 操作ブランク試験および MDL 算出用試料の分析の結果、対象物質が検出されない（目標検出下限値以下）場合

選定した試料に対象物質を目標検出下限値の 5 倍程度の濃度となるよう添加し、必要に応じて所定量のサロゲート物質を添加して、十分に混合し均一化させ、所定の前処理、試験液の調製を行い、分析値を求める。MDL の算出は 7 回以上の繰り返し分析の結果が根拠となるので、調製試料の均一性が重要となり、一連の繰り返し分析に供試できる充分量を、一時期に調製することが望ましい。

- ・ 操作ブランク試験または MDL 算出用試料に対象物質が検出され、その濃度が目標検出下限値の 5 倍を超えない場合

選定した試料に対象物質を添加するが、添加後の分析値が目標検出下限値の 5 倍程度の濃度となるよう添加量を調整する。添加後は上記の通りとする。但し、対象物質の添加により人為的なバイアスが生じる可能性が高いと判断される場合には、対象物質の添加は行わず、選定した試料をそのまま繰り返し分析に供してもよい。

なお、操作ブランク試験などにおいて対象物質が検出され、その濃度が目標検出下限値の 5 倍を超える場合は、MDL の算出は行わず、溶媒、試薬、器具類の見直し等により、その原因を取り除く。

③ 調製試料の分析

調製試料は所定の方法で抽出から前処理、試料液調製、測定に至る全操作を行い、分析値を求める。1 回の分析に供試する調製試料の量は実試料と同じとし、繰り返しは最低 7 回行い、MDL 算出の基礎データとする。

分析方法の定量下限値（MQL）は MDL の算出に用いた標準偏差 s の 10 倍値とする。

$$MDL=10 \times s$$

この MDL、MQL は、前処理や測定条件によって変動するため、ある一定の周期で確認し、常に MQL が目標定量下限以下であるよう管理しなければならない。また、試料濃縮率を考慮した MDL、MQL は、試料量、前処理操作（濃縮比）により異なるため、試料ごとに算出する必要がある。

分析方法以外の、例えばリスク情報を根拠として目標定量下限が設定されている場合など、目標検出下現値よりもはるかに低いレベルの検出が可能な方法においては、目標定量下限値に関係なく、分析方法がもつ感度性能を最大限発揮して低濃度域まで測定することによって、将来的な濃度変化の解析に役立つ。

(ウ) 試料測定時の検出下限値（PDL : Practice Detection Limit）および定量下限値（PQL : Practice Quantification Limit）

実試料の分析において、MDL 未満でピークが認識される場合は、そのクロマトグラム上（クロマトグラフィー法以外では、実試料を連続して測定する間のベースラインの変動）の S/N 比から試料測定時の検出下限値（PDL）と定量下限値（PQL）を推定する。PDL は S/N=3 程度のピーク、PQL は S/N=10 程度のピークの面積を概算して、それぞれを濃度の算出式に代入して求める。

ピークが検出されない場合は、ピーク近傍（ピークの半値幅の 10 倍程度の範囲）のベースラインのノイズを計測し、その標準偏差の 2 倍をノイズ幅（N）とする。経験的には、計測範囲のノイズの最大値と最小値の幅は標準偏差の約 5 倍となるので、最大値と最小値の差の 2/5 を N としてもよい。次いで、ノイズの中央値をベースラインとし、N の 3 倍の高さ（S）のピークを想定し、標準液から得られる該当ピークの半値幅をあてて、そのピーク面積を概算し、濃度の算出式に代入して PDL を求める。一方、PQL は S/N=10 のピークを想定して、PDL と同様に求める。

PDL と PQL はそれぞれ MDL、MQL 未満になるよう管理しなければならない。この確保ができない場合は、前処理操作、測定方法等に問題があったか否かを確認し、必要に応じ再分析や再測定を行う。また、MDL の算出に用いた試料の性状、あるいは分析法が対象とする試料の性状が実試料のそれと大きく異なっている可能性もあるので、実試料に近い性

状をもつ試料での MDL の再測定や他の分析法の採用も考慮する。

(5) 添加回収率試験

基本的には、試験液中の濃度が定量下限値の 10 倍程度となるよう測定対象の標準物質及び必要に応じ所定量のサロゲート物質を試料に添加して、分析方法と同じ前処理、試料液の調製、測定を行い、添加量と分析値から回収率を算出する。ここで、操作ブランク値が大きかったり、試料中に対象物質が含まれる場合は、その濃度が回収率の測定に影響しない程度に標準物質の添加量を増やして試験する。回収率の許容範囲の目安は 70～120%であり、同位体希釈法ではサロゲート物質の回収率は 50～120%の範囲を目標とする。

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

回収率の測定は実試料の測定に先だって行う。また、用いる器具・試薬類の製造メーカーあるいはロットの変更が回収率に影響する可能性がある時には、添加回収率試験を行い回収率を確認する必要がある。

(6) 二重測定

試料採取、前処理操作および装置分析における総合的な信頼性を確保するために、同一条件で採取した 2 つ以上の試料について同様に分析する。頻度は 10 試料ごとに 1 回が目安であり、定量下限値以上の濃度の被検物質に対して 2 つ以上の測定値の差が平均値に比べて 30%以下であることを確認する。測定値の差が大きい場合は、その原因を精査して取り除き、再測定する。

(7) トラベルブランク試験

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

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

4 データの管理及び評価

(1) 異常値、欠測値の取扱い

操作ブランク値が大きい、二重測定の結果が大きく異なる、トラベルブランク値が大きいなど、精度管理上の基準を満たさない場合は、測定値の信頼性に問題があると考えられるため、欠測扱いとして再測定を行う。再測定には、多大な労力、時間、コストがかかるだけでなく、試料の採取時期が異なることから解析上の支障も生じ、調査全体の評価に影響することになる。したがって、事前のチェックを十分に行い、異常値や欠測値を出さないように注意する。また、異常値や欠測値が出現した経緯を十分に検討し、記録に残して、以後の再発防止に役立てることが重要である。

(2) 測定操作の記録

試料採取・運搬から試料調製、抽出、測定に至る過程の操作に関し、以下のデータを記録し、整理・保管しておき、報告要請があれば提出できる準備をしておく。

① 試料採取、保管、運搬の方法

- ・装置や器具の特定、調整および操作の状況
- ・採取対象の条件及び状況（採取方法、採取地点、採取日時など）
- ・気象条件
- ・容器等の取扱い及び保管の状況
- ・運搬の方法

② 試料に関する付加情報

- ・水質：pH、有機物濃度、懸濁物質質量など
- ・底質：外観、臭気、夾雑物、水分含量、強熱減量など
- ・生物：種、生物計測データ、生育段階、脂質含量など

③ 試料調整の条件と方法

- ・水質：ろ過の有無とその方法など
- ・底質：間隙水除去とその方法、乾燥の有無とその方法など
- ・生物：試料採取部位とその方法など

④ 試料の前処理法

- ・変更、改良、改善点とその検証結果

- ・その他特記事項
- ⑤ 前処理・分析装置の操作条件と校正記録
 - ・製造メーカー、製品番号、動作状況など
 - ・維持管理記録
- ⑥ 測定値を得るまでの各種の数値
 - ・試料供給量、抽出液量、濃縮率など
 - ・各装置の設定条件など

5 精度管理に関する報告

精度管理に関する以下の情報を記録し、データと共に報告する。

- ① 試料採取と運搬、保管の履歴
- ② 分析操作の記録（前処理・分析に関する記録）
- ③ 装置の検出下限値および定量下限値
- ④ 分析方法の検出下限値および定量下限値
- ⑤ 試料測定時における検出下限値および定量下限値
- ⑥ 操作ブランク試験結果
- ⑦ 添加回収試験結果
- ⑧ 二重測定結果
- ⑨ トラベルブランク試験結果
- ⑩ SOPに規定されていること
 - ・ 分析装置の種類と測定条件
 - ・ 日常的点検、調整（装置の校正等）の記録
 - ・ 標準物質・標準溶液等の履歴・調整・保管方法
 - ・ 分析装置の感度変動の記録

解説) 検出下限値の算出方法の経緯

要調査項目等調査マニュアルでは、調査データの信頼性を確保する観点から、平成 12 年度版以降検出下限値とその算出方法を示してきた。提示に際しては、検出下限値が調査の目的に適っていること、根拠が明確なこと（科学的に立証が可能なこと）、国内的あるいは国際的な動向に調和していること、調査担当者に過大な負担がかからないことに留意しながら検討会での議論を重ね、結果的に表 1 のように算出方法が変わってきた。そこで、検出下限値への理解の一助として、変更の経緯についてまとめる。

表 1 IDL および MDL の算出式

発行年月	IDL	MDL
2000（平成 12）年 12 月	$t(n-1,0.05) \times 2s$	$t(n-1,0.05) \times s$
2002（平成 14）年 3 月	$t(n-1,0.05) \times 2s$	$t(n-1,0.05) \times s$
2003（平成 15）年 3 月	$t(n-1,0.01) \times s$	$t(n-1,0.01) \times s$
2004（平成 16）年 3 月	$t(n-1,0.05) \times 2s$	$t(n-1,0.05) \times 2s$

注) IDL：装置検出下限値、MDL：分析方法の検出下限値

s：繰り返し測定（併行測定）で得られた測定値の標準偏差

$t(n-1, \alpha)$ ：自由度 $n-1$ 、危険率 α に対応する student の t 分布のパーセント点
(片側確率)

1. 基本方針

本報告書の検出下限値の算出方法は次の 3 点を基本とする。

- ・ 検出下限値は、公定法等にデフォルト的に用いられている“ 3σ ”を受けて、「標準偏差に基づく方法」を採用する。
- ・ 従来の“ 3σ ”は、その根拠が必ずしも明確となっていない問題がある。
- ・ この解決も含めて、JIS、日本分析化学会、ISO、IUPAC、EPA 等の考え方を参考に、検出下限値の算出方法を決める。

冒頭にも記したように、併せて次に留意する。

- ・ 検出下限値が調査の目的に適っていること
- ・ 根拠が明確なこと（科学的に立証が可能なこと）
- ・ 国内的あるいは国際的な動向に調和していること
- ・ 調査担当者に過大な負担がかからないこと

2. 主な論点と課題

検出下限値を併行測定の結果から推定される母標準偏差に基づいて設定する際に、想定される論点や課題について整理する。

1) “検出できる最小の濃度（量）”と定義される検出限界値に対し、“検出”と“最小”をどのように規定するか？

① “検出”の特性（図1）

- ・ 検出下限値に誤差要因を考慮するか否か。Kaiser と Currie のいずれの考え方に。
- ・ Currie は、ブランク試料と低濃度の試料溶液の併行測定値の確率分布はほぼ等しい、すなわち標準偏差は同じと仮定して検出下限値の誤差を見積もること。

② “最小”の表現

- ・ “最小”は誤認の危険率で規定することになるが、推奨の1~5%の間でどの値に。

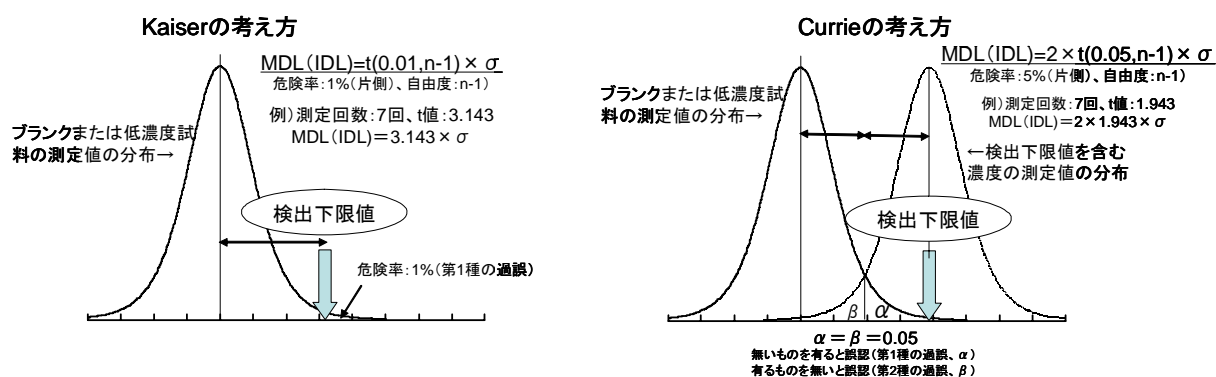


図1 検出下限値の考え方（Kaiser と Currie）

2) “3 σ ”の根拠は何処に？

- ・ 「JISK0124-2002：高速液体クロマトグラフィー通則」では、検出下限値は、“95%の確率 [誤りの確率（危険率 5%）] でブランク信号と区別できる信号を与える分析対象成分の濃度（量）”と規定して、20回以上の併行測定で標準偏差 σ を求めて、3.29を乗じた値とし、20回に満たない場合はその自由度と危険度に応じたt分布のパーセント点（片側）を乗じるとしている。基本的には、Currieで危険率を5%としたものであるが、20回の繰り返しは現実的か。
- ・ 他に、根拠を明示した例は少なく、“3 σ ”あるいは“3.3 σ ”のみを規定。これは、

測定値はランダム誤差のみを含み正規分布すると仮定し、Currie で危険率 5%を根拠とした値とみなせるが、仮定した測定値の正規分布は？

- その一方、Kaiser でも説明でき、危険率 1%の t 分布のパーセント点は自由度 5~22 の範囲で 3.4~2.5 の値をとり、丸めると“3”。より現実的な繰り返しで、“3”を導くことが可能。

3) 経過と現状

- わが国では、検出下限の定義について、歴史的には Kaiser の意見に近いものから Currie の意見に近いものへ変化
- IUPAC と ISO は、デフォルト値として $\alpha = \beta = 0.05$ 、すなわち Currie で危険率を 5% とすることを勧告しつつ、「特定の分野においては、その分野の状況にあわせて使うことができる」としている
- EPA は検出下限値を Kaiser の定義を採用して危険率 1%で統一するよう提案

3. 変更の経緯

本報告書では、上記の方針、論点、課題等を踏まえたき台の議論の結果、検出下限値は表 1 の経過をたどってきた。

1) 平成 12 年度

$$\text{IDL} = t(n-1, 0.05) \times 2s \quad \text{MDL} = t(n-1, 0.05) \times s$$

検出下限値を検討した初年度にあたり、最も認知度が高い Currie で危険率 5%とする案をたたき台として検討が行われた。一つの論点は、一般的な“ $\text{MDL} = 3\sigma$ ”との整合性である。

上記の案で“3”を導くには 20 回以上の繰り返しが必要で現実性に欠ける。また、測定値の確率分布が Student の t 分布でなく正規分布と仮定するには問題が多い。一方で、数回の繰り返しで t 分布の 95%点をあてると、標準偏差を 4 倍することになり、“3”との乖離が大きくなって、“問題発掘型”という要調査項目の調査目的からも適切でない。

これらを踏まえて、測定値の取得が比較的容易な IDL については、Currie で危険率を 5%、MDL は Kaiser で危険率を 5%、すなわち標準偏差の 2 倍を検出限界値として検出データの確保を優先する方向でまとまった。

2) 平成 13 年度

$$\underline{IDL=t(n-1,0.05)\times 2s} \quad \underline{MDL=t(n-1,0.05)\times s}$$

平成 12 年度を踏襲した結果になっているが、低く見積もりすぎている MDL について、次式をたたき台とした議論が継続された。しかし、年次報告書への掲載には至っていない。

.....

$$MDL= [2\times t(0.05,n-1)\times (1+1/n)^{1/2}\times sB]$$

ここで、MDL は分析方法の検出下限値、 $t(0.05,n-1)$ は表 1 の危険率 5%、自由度 $n-1$ の t 値（片側）で $\alpha=\beta=0.05$ とし、 n は試験の繰り返し回数、 sB は測定値の標準偏差である。 $(1+1/n)^{1/2}$ 項は、真値と平均値の誤差の上限を考慮したもので、繰り返し回数が多くなるにつれて 1 に近づく。

.....

また、従来の MDL の算出方法で、試料測定時の検出下限値が管理できるか？の懸念も浮上し、抜本的な見直しも必要となった。

3) 平成 14 年度

$$\underline{IDL=t(n-1,0.01)\times s} \quad \underline{MDL=t(n-1,0.01)\times s}$$

検出下限値の抜本的見直しに、偶然時を同じくして、EPA は検出下限値の設定方法をレビューして、Kaiser で危険率 1%をあてる方向で検出下限値を統一する提案を行った(2003.3)。併せて、パブリックコメントを収集する告示も行っている。

これを受けて、要調査項目等調査マニュアルの検出下限値も EPA の提案に整合するよう修正することになり、標準偏差に t 分布の 99% 値を乗じて検出下限値を算出する方法に変更した。

また、EPA のレビューを参考に、MDL の算出を実試料に近づけるために、試料マトリックスに添加して併行測定する方法に変更した。さらに、試料測定時の検出下限値 (PDL) も新たに設定し、PDL はシグナル/ノイズ (S/N) 比から求め、常に PDL が MDL 以下の状態で測定するよう規定した。

4) 平成 15 年度

$$\underline{IDL=t(n-1,0.05)\times 2s} \quad \underline{MDL=t(n-1,0.05)\times 2s}$$

EPA はパブリックコメントを受けて、2004 年 10 月に検出下限値・定量下限値設定のガ

イドラインの修正版を公表し、同年 11 月に Kaiser の危険率 1%で検出下限値を統一する 2003 年の提案を取り下げる公示を行った。これにより、Kaiser や Currie などの考え方が共存する従来の状況に戻る結果となった。これを受けて、要調査項目等調査マニュアルにおいても他の公定法等との整合性をはかるために Currie の考え方に戻し、危険率 5%を定義どおりに適用する方法に変更することになった。

4. 定量下限値の算出方法

定量下限値に関しては、平成 12 年度以降変更なく検出下限値の 3 倍値で規定してきた。しかし、検出下限値を Currie の危険率 5%に戻し、かつ定義どおりに適用することに変更したのを契機とし、平成 15 年次報告書から“定量下限値は標準偏差の 10 倍”に変更した。これも他の公定法等と整合性を図るためである。

5. 主な参考資料

- 1) Currie, L.A.: Detection and quantification limits: origins and historical overview. *Anal. Chim. Act.*, **391**, 127-134 (1999)
- 2) 尾関徹: 検出限界と定量限界, *ぶんせき*, **2001.2**, 56-61 (2001)
- 3) 日本規格協会: 「JIS K0124 高速液体クロマトグラフィー通則」(2002)
- 4) US EPA: Guidelines Establishing Test Procedures for the Analysis of Pollutants; Procedures for Detection and Quantitation. Federal Register Vol.68, No.48, pp11770-11790, Wed., Mar. 12, 2003 / Proposed Rules (2003)
- 5) US EPA: Technical Support Document for the Assessment of Detection and Quantitation Concepts. Federal Register Vol.68, No.48, pp11791-11793, Wed., Mar. 12, 2003 / Proposed Rules (2003)
- 6) US EPA: Technical Support Document for the Assessment of Detection and Quantitation Approaches. EPA-821-R-03-005, Feb. 2003, Engineering and Analysis Division Office of Science and Technology U.S. Environmental Protection Agency Washington, DC 20460 (2003)
- 7) US EPA: Revised Assessment of Detection and Quantitation Approaches. <http://yosemite.epa.gov/water/owrccatalog.nsf/0/34a67b4c6ef0197d85256f4200527cbd?OpenDocument>, <http://www.epa.gov/waterscience/methods/det/rad/rad.pdf> (2004)
- 8) US EPA: Federal Register Pollutants analysis test procedures; guidelines--Detection and

quantitation approaches assessment; technical support document, 64704-64707,
<http://www.epa.gov/fedrgstr/EPA-WATER/2004/November/Day-08/w24824.htm>,

http://frwebgate.access.gpo.gov/cgi-bin/getdoc.cgi?dbname=2004_register&docid=fr08no04-23.pdf (2004)

9) US EPA: Detection and quantitation procedures; withdrawn, 64707-64710,
<http://www.epa.gov/fedrgstr/EPA-WATER/2004/November/Day-08/w24823.htm>,

http://frwebgate.access.gpo.gov/cgi-bin/getdoc.cgi?dbname=2004_register&docid=fr08no04-24.pdf (2004)

Ⅲ. 試料の採取、運搬、調製にかかわる一般事項

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

1 試料採取地点の選定

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

2 試料採取

(1) 水質

(ア) 採水時期

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

(イ) 採水部位

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

(ウ) 採水器

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

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

なお、試料容器で直接試料水を採ることもできる。

(エ) 試料容器

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

基本的には、揮発性有機物質の場合は、四フッ化エチレン樹脂でコーティングしたシリコンゴムセプタム等で密封できる無色または褐色のガラス製ネジ口瓶または同等以上の容器を用い、水洗、有機溶媒洗浄したものを使用直前に 105℃で 3 時間程度加熱し、デシケータなどに入れて室内空気からの再汚染がないよう配慮して放冷した容器を用いる。

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

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

(オ) 採水操作

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

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

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

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

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

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

（２）底質

（ア）採泥時期

水質と底質は同時に採取することを原則とする。

（イ）採泥場所

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

（ウ）採泥器

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

（エ）試料容器

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

下限値が確保できるものを用いる。

(オ) 採泥操作

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

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

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

(3) 生物

(ア) 生物種の選定

魚類、甲殻類および貝類の水生生物を調査対象生物とする。生物種は調査目的によって決まるが、要調査項目物質の生物への蓄積の有無を知る観点から、次の条件を満たすことが望まれる。①物質を蓄積する性質があり、体内濃度が比較的速やかに平衡に達すること。②年齢と成長の関係および食性に関する知見が得られていること。③全生活史にわたる生活領域が明確であり、それが比較的狭いこと。④日本各地に広く分布し、採捕が容易なこと。

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

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

・海産貝類：ムラサキイガイ、マガキ、アサリ

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

（イ）採捕時期

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

（ウ）試料容器

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

（エ）採捕器具と方法

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

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

3 運搬・保存方法

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

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

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

4 試料調製

水質試料は、原則として懸濁物質を含む試料を分析する。

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

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

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

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

5 野外および試料に関するデータの記録

(1) 野外データ

次の事項を参考に、試料採取に先立ち様式を決めて、野外データを記録する。

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

(2) 試料データ

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

データは試料調製に併せて測定、整理し、記録することが望まれる。

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

6 参考資料

- 1) 環境庁水質保全局：「水質調査方法」（昭和 46 年 9 月）
- 2) 日本規格協会：「JIS K 0094 工業用水・工場排水の試料採取方法」（1994）
- 3) 環境庁水質保全局：「底質調査方法」（昭和 63 年 9 月）
- 4) 環境庁環境保健部：「生物モニタリング調査マニュアル」（昭和 62 年 5 月）

IV. 分析法

i. ジニトロフェノール類、ニトロフェノール類の分析法

1 対象物質

2-ニトロフェノール、3-ニトロフェノール、4-ニトロフェノール、3-メチル-2-ニトロフェノール、2,4-ジニトロフェノール、2,5-ジニトロフェノール、2,6-ジニトロフェノール、2,6-ジニトロ-4-クレゾール、4,6-ジニトロ-4-クレゾール、ニトロフェノールナトリウム塩

2 目標検出下限値及び定量下限値（注1）

目標検出・定量下限値	水質 (µg/L) 50mL		底質 (µg/L) 2g	
	検出	定量	検出	定量
<u>2-ニトロフェノール</u>	0.0003	0.001	0.015	0.050
3-ニトロフェノール	0.0008	0.002	0.040	0.120
4-ニトロフェノール	0.0003	0.001	0.015	0.050
<u>3-メチル-2-ニトロフェノール</u>	0.0005	0.002	0.030	0.100
2,4-ジニトロフェノール	0.0003	0.001	0.015	0.050
<u>2,5-ジニトロフェノール</u>	0.0008	0.002	0.040	0.120
2,6-ジニトロフェノール	0.0003	0.001	0.015	0.050
2,6-ジニトロ-4-クレゾール	0.0008	0.002	0.040	0.120
4,6-ジニトロ-4-クレゾール	0.0003	0.001	0.015	0.050

水質試料、底質試料中のニトロフェノールナトリウム塩は解離して、ニトロフェノールになっている。ニトロフェノールナトリウム塩の目標検出下限値、定量下限値はニトロフェノールと同値である。

表中下線を付した3物質については底質の測定において参考値とする（注2）。

3 分析法の概要

水質試料は pH 3.0~3.5 に調整し、固相抽出する。通水後、脱水しアセトンで溶出させる。このアセトン溶出液を、メタノールに転溶し、濃縮し、LC/MS-MS で定量する。

底質試料は塩酸酸性で還元菌を死活後、0.1 N 水酸化カリウム/メタノール溶液で振とう抽出を行う。この抽出液をジクロロメタンで洗浄した後、塩酸で pH 3.0~3.5 に調整し、ジクロロメタン抽出を行う。このジクロロメタン抽出液をメタノールに転溶し、LC/MS-SIM で定量する。

4 試薬、器具及び装置

(1) 試薬

- ・対象物質：市販特級品・一級品
- ・サロゲート物質：2-ニトロフェノール-d₄、4-ニトロフェノール-d₄、2,4-ジニトロフェノール-d₃ が市販されている。（炭素の同位体）
- ・アセトン、メタノール、ジクロロメタン：残留農薬試験用。
- ・無水硫酸ナトリウム：残留農薬試験用。
- ・塩酸：試薬特級品。
- ・固相カートリッジカラム（注3）
- ・1 N 塩酸：濃塩酸 1 容を精製水 11 容に入れて希釈したもの。
- ・0.1 N 塩酸：濃塩酸 1 容を精製水 110 容に入れて希釈したもの。
- ・0.1 N 水酸化カリウム/メタノール：300 mL のメタノールに水酸化カリウム 2.8 g を入れ、完全に溶解させた後、メタノールで 500 mL に定容する。
- ・精製水、またはミネラルウォーター：目的物質の分析に影響のないもの。

(2) 器具及び装置

- ・ねじ口瓶：水質試料には、容量 100~200mL で、ポリテトラフルオロエチレン張りのねじ口キャップをしたガラス瓶を用いる（注4）。
- ・摺り合わせの広口ガラスビン：底質試料に用いる。
- ・透明摺り合わせまたは SPC 共栓付試験管：容量 10mL のもの。
- ・透明摺り合わせまたは SPC 共栓付分液漏斗：容量 100 mL、及び 1L のもの。
- ・透明摺り合わせまたは SPC 共栓付遠沈管：容量 200 mL のもの。

- ・透明摺り合わせまたは SPC ナス型フラスコ：容量 100 mL、及び 300 mL のもの。
- ・透明摺り合わせまたは SPC 共栓付三角フラスコ：容量 100 mL、及び 300 mL のもの。
- ・乾燥器：ガラス器具等の乾燥に使用する。
- ・ロータリーエバポレーター濃縮装置：抽出液の濃縮に用いる
- ・振とう器：底質試料からの抽出に用いる。
- ・超音波照射器（または超音波洗浄器）：底質試料からの抽出に用いる。
- ・遠心分離器：底質試料の固液分離に使用する。
- ・電気炉：塩化ナトリウムの焼成に使用する。
- ・LC/MS-MS：APCI のネカティブモードでプリカーサーイオンを生成し、これのプロダクトイオンをモニターできるもの。及び ESI のネカティブモードでプリカーサーイオンを生成し、これのプロダクトイオンをモニターできるもの。

5 試料の採取・運搬

(1) 水質試料

水質試料については、洗剤、水、アセトンで洗浄したねじ口瓶を試料水で 2~3 回共洗いした後、試料水を泡立てないように採水し、満水にして直ちに密栓し、直ちに試験を行う。直ちに試験できないときは、冷暗所（4℃）に保存し、速やかに試験する。

なお、残留塩素が含まれている場合は、採水時に残留塩素 1 mg に対してアスコルビン酸ナトリウムを 0.01 ないし 0.02 g の割合で加える。

(2) 底質試料

底質試料については、水質試料と同様の方法で洗浄した摺り合わせの広口ガラスビンに入れ密栓し、直ちに試験を行う。直ちに試験できないときは、-20℃以下で保存し、速やかに試験する。

なお、試料採取、運搬、調製にかかわる手順等の詳細は、本報告書の「1. 2. 3 試料の採取、運搬、調製にかかわる一般事項」に従う。

6 試験操作

(1) 測定試料液の調製

(ア) 水質試料

試料水 50mL (注 5) を採取し、サロゲート混合標準液 (2-ニトロフェノール-d₄、4-ニトロフェノール-d₄、2,4-ジニトロフェノール-d₃ を各 0.020μg) を添加し、更に 1 N 塩酸 0.1mL 加え、pH 3.0~3.5 (注 6) に調整後、固相カートリッジカラム (注 3、注 7) に通水 (5~10mL/分) する。精製水約 10mL を固相カートリッジカラムに通し、更に吸引操作等で固相カートリッジカラム中の水分を除去 (注 8) した後、アセトン (注 9) 10mL を 1~2mL/分の通液速度で目的物質を透明摺り合わせ試験管 10ml に溶出させる。このアセトン溶出液に、窒素ガスを吹き付けて約 1mL に濃縮 (注 10) 後、メタノール約 8mL を加え窒素ガスを吹き付けて 1.0mL に転溶・濃縮する (注 10)。この転溶・濃縮液を測定試料液とする。

[参考：溶媒抽出法]

試料水 50mL を透明摺り合わせ分液漏斗 100mL に採取し、サロゲート混合標準液 (2-ニトロフェノール-d₄、4-ニトロフェノール-d₄、2,4-ジニトロフェノール-d₃ を各 0.020μg) を添加し、更に塩化ナトリウム 2.5g 加え十分混合し、溶解する。その後、1 N 塩酸 0.1mL 加え、pH 3.0~3.5 (注 6) に調整する。ジクロロメタン 10mL を加えて約 10 分間振とうした後、十分に静置したジクロロメタン層を透明摺り合わせ三角フラスコ 100ml に採取する。水相に再度ジクロロメタン 10mL を加え同様な振とう抽出を行い、ジクロロメタン層を先の透明摺り合わせ三角フラスコに合わせる。

このジクロロメタン抽出液を無水硫酸ナトリウムで脱水した後、透明摺り合わせナス型フラスコ 100mL に移し、ロータリーエバポレーターを用いて、水浴を加熱せずに約 10mL 弱 (注 11) まで減圧濃縮する。このジクロロメタン濃縮液を透明摺り合わせ試験管 10mL に移し、窒素ガスを吹き付けて約 1mL に濃縮 (注 10) する。このジクロロメタン濃縮液に、メタノール約 8mL を加え窒素ガスを吹き付けて 1.0mL に転溶・濃縮する (注 10)。この転溶・濃縮液を測定試料液とする。

(イ) 底質試料

底質試料 2g を透明摺り合わせ遠沈管 200ml に採取し、0.1N HCl 20ml を加え、十二分に混合し、さらに振とう・超音波を行った後、一昼夜放置する。この底質試料に、サロゲート混合標準液 (2-ニトロフェノール-d₄、4-ニトロフェノール-d₄、2,4-ジニトロフェノール-d₃ を各 0.020μg) を加え、0.1 N 水酸化カリウム/メタノール溶液 70 mL を加え、10 分間振とうする。更に超音波照射を 10 分間行う。遠心分離 (3,000 rpm、10 分間) により、上澄みのメタノール層を透明摺り合せ

分液漏斗 1 L に入れる。残渣に、更に 0.1 N 水酸化カリウム/メタノール 50 mL を加え、同様の操作を行い、上澄みのメタノール層を先の分液漏斗に合わせる。

このメタノール層の入った分液漏斗に精製水 500 mL を入れ、ジクロロメタン 100 mL を加え、15 分間振とうし、ジクロロメタン層（注 12）を捨てる。水相に再度ジクロロメタン 100 mL を加え洗浄し、ジクロロメタン層（注 12）を捨てる。この水相に塩化ナトリウム 50 g を加え、更に 1 N と 0.1 N の塩酸で pH 3.0~3.5（注 6）に調整した後、ジクロロメタン 100 mL を加えて、10 分間振とうする。静置後、ジクロロメタン層を透明摺り合わせ三角フラスコ 300 mL に採取し、水相に再度ジクロロメタン 100 mL を加えて、同様な操作を行い、ジクロロメタン層を先の透明摺り合わせ三角フラスコに合わせる。

このジクロロメタン抽出液を無水硫酸ナトリウムで脱水した後、透明摺り合わせナス型フラスコ 300 mL に移し、ロータリーエバポレーターを用いて、水浴を加熱せずに約 10 mL 弱（注 11）まで減圧濃縮する。このジクロロメタン濃縮液を透明摺り合わせ試験管 10 mL に移し、窒素ガスを吹き付けて約 1 mL に濃縮した後、メタノール約 8 mL を加え、窒素ガスを吹き付けて 1.0 mL（注 10）に転溶・濃縮する。この転溶・濃縮液を測定試料液とする。

（2）空試験液の調製

水質試料は精製水 50 mL、底質試料は精製水 2 mL を用いて「（1）測定試料液の調製」に従って操作を行い、得られた試料液を空試験液とする。

（3）添加回収試験液の調製

水質試料では任意の試料水 50 mL に、底質試料では塩酸酸性で還元菌死活後の任意の試料 2 g に検出下限の 10 倍量の混合標準液を添加し、充分混合する。検出下限の 10 倍量の混合標準液を添加し、充分混合する。60 分以上放置した後、「（1）測定試料液の調製」に従って操作を行い、得られた試料液を添加回収試験液とする。

（4）標準液の調製

各標準物質、サロゲート物質（2-ニトロフェノール-d₄、4-ニトロフェノール-d₄、2,4-ジニトロフェノール-d₃）はそれぞれ 50 mg を精秤してアセトンで正確に 50 mL とし、1,000 µg/mL の各標準原液、サロゲート標準原液を調製する。

混合標準液は各標準原液をメタノールで段階的に希釈し、0.002~0.1 µg /mL の範囲で 5

点以上調製する。サロゲート混合標準液は各サロゲート原液をメタノールで希釈して、0.4 μ g/mLに調製する。これらの標準原液及び標準液は暗所-20 $^{\circ}$ Cで保存する。

(5) 測定

(ア) 2-ニトロフェノール、3-ニトロフェノール、4-ニトロフェノール、3-メチル-2-ニトロフェノールのLC/MS-MSの測定条件の例

LC部

- ・使用カラム：L-カラム ODS (内径 2.1mm, 長さ 150 mm)
- ・移動相： A ; 0.1% 蟻酸アンモニウム水溶液 B ; エタノール
- ・グラジエント：A70%B30% (2分) - 8分 - A5% B95% (2分) - 0.1分 - A70% B30% (9.9分)
- ・流速：0.2ml/分
- ・カラム温度：30 $^{\circ}$ C
- ・注入量：10 μ L

MS部

- ・イオン化法：APeI $^{-}$
- ・コロナ電流：15 μ A
- ・イオン源温度：100 $^{\circ}$ C
- ・プローブ温度：250 $^{\circ}$ C
- ・モニターイオン (M/Z)、コリジョンエネルギー (eV)、コーン電圧 (V)

2-ニトロフェノール	M/Z : 138, 108	13eV	80V
3-ニトロフェノール	M/Z : 138, 108	13eV	80V
4-ニトロフェノール	M/Z : 138, 108	13eV	80V
3-メチル-4-ニトロフェノール	M/Z : 152, 122	12eV	80V

サロゲートイオン (M/Z)、コリジョンエネルギー (eV)、コーン電圧 (V)

2-ニトロフェノール-d ₄	M/Z : 142, 112	13eV	80V
4-ニトロフェノール-d ₄	M/Z : 142, 112	13eV	80V

なお、モニターイオンの前半 (左側) はプリカーサーイオン、後半 (右側) はプロダクトイオンである。

(イ) 2,4-ジニトロフェノール、2,5-ジニトロフェノール、2,6-ジニトロフェノール、2,6-ジニトロ-4-クレゾール、4,6-ジニトロ-4-クレゾールの LC/MS-MS の測定条件の例

LC部

- ・使用カラム：L-カラム ODS（内径 2.1mm, 長さ 150 mm）
- ・移動相：A；30%アセトニトリル水溶液（0.1%蟻酸） B；アセトニトリル（0.1%蟻酸）
- ・グラジエント：A100%（1分）－5分－A8%B92%（2分）－1分－A70%（11分）
- ・流速：0.2ml/分
- ・カラム温度：30℃
- ・注入量：10μL

MS部

- ・イオン化法：ESI⁻
- ・キャピラリ電圧：0.5 kV
- ・イオン源温度：100℃
- ・解離温度：300℃
- ・モニターイオン（M/Z）、コリジョンエネルギー（eV）、コーン電圧（V）

2,4-ジニトロフェノール M/Z：183, 109 20eV 35V

2,5-ジニトロフェノール M/Z：183, 123 15eV 35V

2,6-ジニトロフェノール M/Z：183, 107 16eV 35V

2,6-ジニトロ-4-クレゾール M/Z：197, 167 14eV 35V

4,6-ジニトロ-4-クレゾール M/Z：197, 180 16eV 35V

サロゲートイオン（M/Z）、コリジョンエネルギー（eV）、コーン電圧（V）

2,4-ジニトロフェノール-d₃ M/Z：186, 112 20eV 35V

なお、モニターイオンの前半（左側）はプリカーサーイオン、後半（右側）はプロダクトイオンである。

2,4-ジニトロフェノールと 2,6-ジニトロフェノールは、どちらもプロダクトイオンとして、M/Z：153 が主に生じるが、分離しなかったため、それぞれの特異的なプロダクトイオン 109、107 をモニターして、定量する。

(ウ) 検量線の作成

検量線は水質試料では、混合標準液（0.02～1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）100 μL 、サロゲート混合標準液（0.4 $\mu\text{g}/\text{L}$ ）50 μL を精製水50mLに入れ、底質試料でも、混合標準液（0.02～1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）100 μL 、サロゲート混合標準液（0.4 $\mu\text{g}/\text{L}$ ）50 μL を精製水2mLの入った透明摺り合わせ遠沈管に入れ、以下「（1）測定試料液の調製」に従って操作を行い、検量線の試料液を調製する。検量線の試料液10 μL をLC/MS-MSに注入し、2-ニトロフェノール、4-ニトロフェノール、2,4-ジニトロフェノールは2-ニトロフェノール、4-ニトロフェノール、2,4-ジニトロフェノールの示すピーク面積（又は高さ）と2-ニトロフェノール- d_4 、4-ニトロフェノール- d_4 、2,4-ジニトロフェノール- d_3 のピーク面積（又は高さ）の比から、同様にそれら以外のフェノール類は標準物質の示すピーク面積（又は高さ）とそれぞれの標準物質濃度から検量線を作成する。

なお、現在同位体が未市販のフェノール類は同位体が市販されたら、その同位体を使用したサロゲート法に切り替えること。

（エ）試料液の測定

検量線作成後、空試験液、測定用試料液及び添加回収試験液を注入して測定を行う。一定時間毎に検量線用の中間濃度の試料液を注入し、期待値の20%以内の変動であることを確認する。もし、20%を越えていればLC/MS-MSを再調製後、検量線を作成し直して測定を行う。

7 同定、定量及び計算

（1）同定

対象物質のプロダクトイオンピークが予想保持時間の ± 5 秒以内に出現する場合、そのピークを対象物質が存在すると見なす。

（2）定量及び計算

試料液10 μL をLC/MS-MSに注入し、各物質の示すピーク面積（又は高さ）から検量線により検出量を求める。次に検出量、分析した試料量等から、次式により試料中の濃度を計算する。なお、底質の試料量は乾燥試料量とする。

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

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

(ここでの検出量とは試料液中に存在する対象物質の全量である。)

8 分析精度管理

本マニュアルの「Ⅱ. 分析精度管理」に従い、標準作業手順を設定し、器具・装置の性能評価と維持管理を徹底し、その結果を記録しなければならない。

9 注意事項

- (注 1) 使用する LC/MS-MS 及び試料中の狭雑物により、検出下限値が異なる。
- (注 2) 水質試料では、対象物質全ての回収率がほぼ 100% である。底質試料では、対象物質 3 種類、2-ニトロフェノール、3-メチル-2-ニトロフェノール、2,5-ジニトロフェノール (表中アンダーラインを付す) の回収率は 20~40% 以下であるが、残りの対象物質 6 種類の回収率は 60~80% である。従って、2-ニトロフェノール、3-メチル-2-ニトロフェノール、2,5-ジニトロフェノールについては、参考値とする。
- (注 3) 逆相系固相カートリッジカラムとして、ウオーターズ社製のセップパックプラス PS-2、HLB 等がある (備考 1)。
- (注 4) 一例として、水質分析用の空き瓶 200mL を加熱乾燥して使用。
- (注 5) マトリックス等を考慮すると、試料水の量は最大 500mL 以下である。
- (注 6) pH を下げすぎると、回収率が変動する対象物質もあるので、pH 3.0~3.5 の範囲に調整する。pH の微量調整は 1 N と 0.1 N の塩酸及び 0.1 N の水酸化カリウムで行う。
- (注 7) 固相カートリッジカラムは使用直前アセトン 10mL、精製水 10mL でコンデショニングを行う。
- (注 8) アスピレーターの引きの強さに関係するが、約 30 分引く。または 3,000 rpm で 10 分間強遠心分離することで脱水する。
- (注 9) 溶出液として、アセトンの代わりにジクロロメタン、メタノールを用いても良い。ジクロロメタン使用の場合には、固相カートリッジカラムは使用直前にジクロロメタン 10mL、メタノール 10mL、精製水 10mL でコンデショニングを行う。同様にメタノール使用の場合には、メタノール 10mL、精製水 10mL でコンデショニン

グを行う。

(注 10) 窒素ガス吹き付けで濃縮する時、乾固させないこと。乾固すると、水質試料ではキーパー量が少ないので、顕著に損失する。

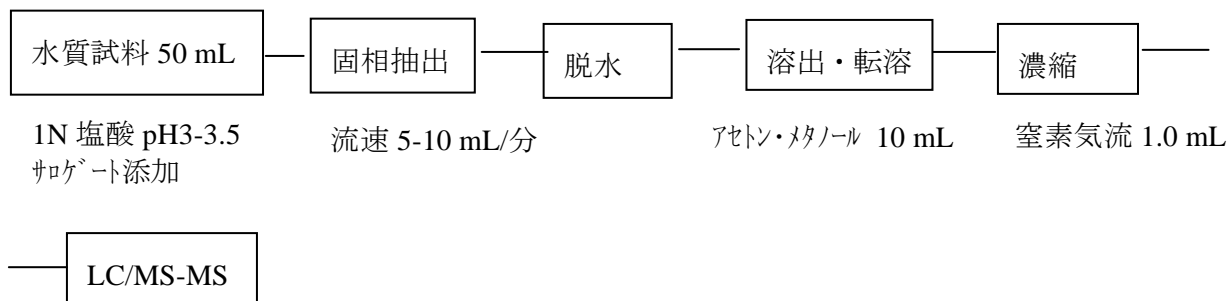
(注 11) 濃縮を 5mL 以下にすると、損失することがあるので、5mL 以下にしないこと。

(注 12) 分離しない場合には、冷凍凍結法、又は遠心分離で分離する。

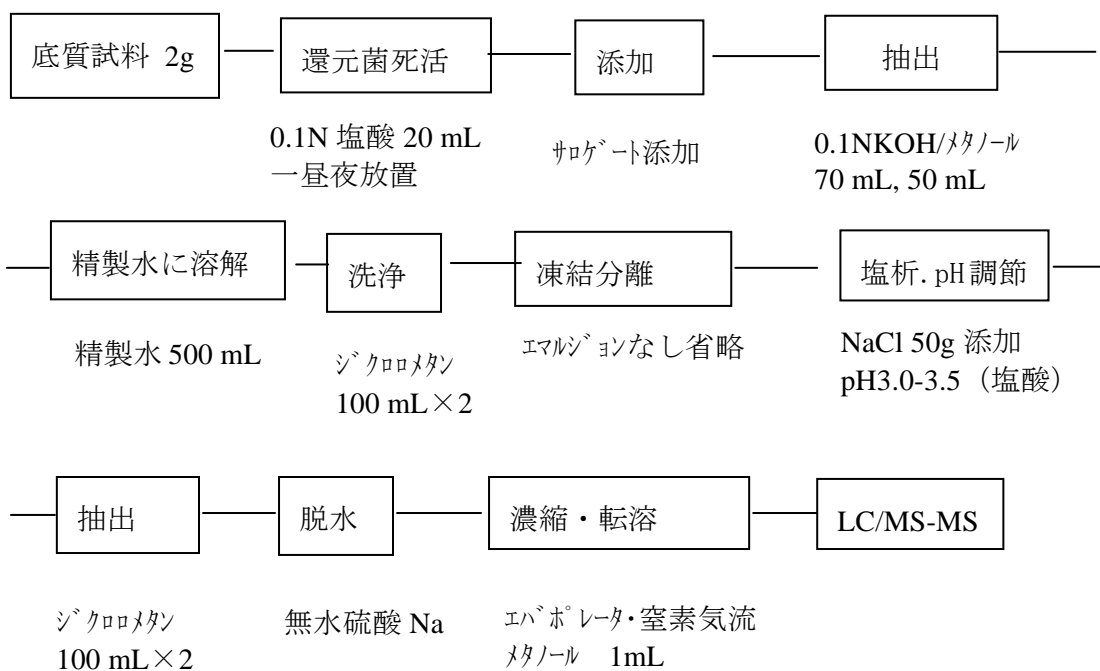
(備考 1) ここに示す商品は、このマニュアル使用者の便宜のために、一般に入手できるものとして例示したが、これを推奨するものではない。これと同等以上の品質、性能のものを用いてもよい。

分析フローチャート

水質試料



底質試料



ii. 塩化アルキルジメチルベンジルアンモニウムの分析法

1 対象物質

水質、底質試料中の塩化アルキルジメチルベンジルアンモニウム(BAC)の分析に適用する。本物質は塩化ベンザルコニウムという別名で知られ、陽イオン界面活性剤、殺菌剤、ヘアリンス基剤などに用いられている。一般に使用されているものはアルキル基の炭素数が 12、14、16 のものが大部分をしめており、本法もこの 3 物質を対象とし、個別に定量して、その総和を塩化アルキルジメチルベンジルアンモニウム濃度とする（注 1）。

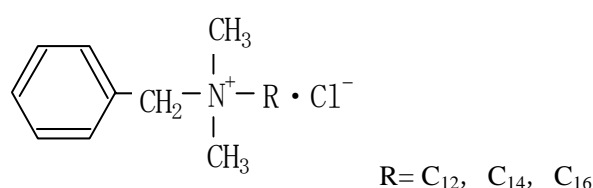


表 1 対象物質及びその物理化学的性質

アルキル基 R	分子式	分子量	融点(°C)	溶解度(水, W/V%)
C ₁₂ H ₂₅	C ₂₁ H ₃₈ NCl	339	44.9-46.8	50-75
C ₁₄ H ₂₉	C ₂₃ H ₄₂ NCl	367	50.5-52.5	26.7
C ₁₆ H ₃₃	C ₂₅ H ₄₆ NCl	395	54.0-56.8	0.85

2 目標検出下限値及び定量下限値

本分析法のアルキル基が C₁₂、C₁₄、C₁₆ の BAC それぞれの目標検出下限値及び目標定量下限値を表 2 に示す。

表 2 目標検出下限値及び目標定量下限値

	試料量	目標検出下限値	目標定量下限値
水質試料	100mL	0.01 µg/L	0.03 µg/L
底質試料	5g	1 µg/kg	3 µg/kg

3 分析法の概要

水質試料についてはカートリッジカラムを用いて固相抽出し、捕集された対象物質をアセトニトリルで溶出後 1mL に定容し、LC/MS-SIM または LC/MS/MS-MRM により定量する。底質試料についてはアセトニトリル/水(70:30)で高圧液体抽出(PLE)した後、残さをさらに超音波抽出して抽出液を合わせ、ジクロロメタンに転溶した後、カートリッジ固相カ

ラムで精製し、溶出液を LC/MS-SIM または LC/MS/MS-MRM により定量する。

4 試薬、器具及び装置

(1) 試薬

- ・標準物質：塩化ドデシルジメチルベンジルアンモニウム (C₁₂BAC) (注2)
塩化テトラデシルジメチルベンジルアンモニウム (C₁₄BAC) (注2)
塩化ヘキサデシルジメチルベンジルアンモニウム (C₁₆BAC) (注2)
- ・アセトニトリル：高速液体クロマトグラフ用
- ・ジクロロメタン：残留農薬試験用
- ・ギ酸アンモニウム：特級試薬
- ・精製水：対象物質を含まないもの
- ・固相カートリッジ：ポリマー系の固相カートリッジを水質試料の抽出に用いる(注3)。
また陰イオン交換カートリッジを底質試料の精製に用いる(注4)。
- ・珪藻土：底質の高圧液体抽出の際に用いる(注5)。

(2) 器具及び装置

- ・固相抽出用器具：水質試料から BAC の抽出に用いる。
- ・高圧液体抽出装置(PLE)：底質試料から BAC の抽出に用いる(注6)。
- ・超音波抽出装置：底質試料から BAC の抽出に用いる。
- ・ロータリーエバポレータ：試料液の濃縮に用いる。
- ・窒素ガス吹き付け装置：試料液の濃縮に用いる。
- ・液体クロマトグラフ/質量分析計 (LC/MS あるいは LC/MS/MS) (注7) (注8)

5 試料の採取・運搬

試料の採取、運搬、調製にかかわる手順等の詳細は、本報告書の「1. 2. 3 試料の採取、運搬、調製にかかわる一般事項」に従う。前処理操作は試料採取後速やかに行う。

なお、BAC はガラス、ポリプロピレン、テフロン容器のいずれも低濃度で内壁に吸着するといわれている。本法では水質については 100mL 程度の小型のガラスびんを容器として使用し、採取した試料は全量を使用することとする。

6 試験操作

(1) 前処理及び試料液の調製

(ア) 水質試料

100mL 程度の容器に入った試料全量を pH3.5 に調整した後、アセトニトリル 10mL、精製水 10mL×2 回でコンディショニングした固相抽出用カートリッジに 10mL/min 以下の流速で通水して BAC を吸着させる（注 9）。精製水 5mL で固相抽出カートリッジを洗浄後、窒素気流により乾燥し、次に試料通液方向とは逆向きに、アセトニトリルを流すバックフラッシュ法にて対象物質を溶出させる。このときの溶出溶媒は試料容器を洗浄したアセトニトリルを用い、十分な洗いこみを行う。溶出液に窒素ガスを吹き付けて、いったん溶出液の量を 0.5mL 以下まで濃縮したのち、アセトニトリルを加えて 1mL 定容とし、LC/MS 分析用の試料液を調製する（注 10）。

(イ) 底質試料

湿試料 5g を 50mL 遠沈管に取り、珪藻土約 2g と混合する（注 5）。高圧液体抽出（PLE）用セルに先に珪藻土 3g を入れておき、試料と混同した珪藻土をつめ、最後に容器に空隙ができないように再び珪藻土を詰める。PLE による抽出はアセトニトリル/水=70/30 で行い、下に示すような条件で運転する。

抽出液はあらかじめ 10g の塩化ナトリウムと精製水 200mL を入れておいた 500mL 分液漏斗に入れ、容器を約 1mL のアセトニトリル/水=70/30 で 3 回洗浄し、洗浄液も加える。抽出後の珪藻土及び試料は、試料調整に使用した 50mL 遠沈管に戻す。アセトニトリル/水=70/30 に酢酸を加え pH4 とした溶液を 25mL 加え（加える際 PLE の抽出セルの内壁を洗いこんで加える）、10 分間超音波抽出した後、3000rpm で 10 分間遠心分離して上澄みを 500mL 分液漏斗に加える。抽出溶液を 20mL 加え、同様に抽出する工程を 2 回繰り返し、分液漏斗に加える。ジクロロメタン 60mL を加え、10 分間振とう抽出を行う工程を 2 回繰り返し、抽出液をロータリーエバポレーターで濃縮する。濃縮液は乾固直前でアセトニトリル 10mL 加え、約 1mL まで濃縮する。

次いで陰イオン交換系の固相を用いて精製する（注 4）。対象物質が固相に保持されず、通過することを利用して精製する。アセトニトリルでコンディショニングしたカートリッジに試料濃縮液を負荷し、容器洗浄液を加えてさらにアセトニトリル 8mL で溶出させ 10mL とする。これを窒素気流下で濃縮して 1mL とし、LC/MS 測定用試料液を調製する。

高圧液体抽出(PLE)条件の例 (注5)

- ・抽出セル：33mL ステンレス製
- ・抽出溶媒：アセトニトリル／水=70／30
- ・設定圧力：1500psi
- ・加熱温度：120℃
- ・設定時間：プレヒート 0min, 加熱 6min, スタティック 10min
- ・フラッシュ：50%
- ・窒素ガスパーズ時間：60sec
- ・サイクル数：3 サイクル

(2) 空試験液の調製

試料と同じ量の精製水を用いて、「(1) 前処理及び試料液の調製」の項と同様の操作を行って得られる液を空試験液とする。

(3) 添加回収試験液の調整

任意の水質試料 100mL 及び底質試料 5g に検出下限値の 5～10 倍(水質試料で 0.05 μ g/L, 底質試料で 4ng/g 相当) になるようにアセトニトリルで希釈調製した標準液を加え、十分に混合した後、「(1) 前処理及び試料液の調製」の項と同様の操作を行って得られる液を添加回収試験液とする (注 11)。

(4) 標準液の調製

アルキル鎖長 C₁₂, C₁₄, C₁₆ の塩化アルキルジメチルベンジルアンモニウムの標準品をそれぞれ 50 mg 正確にはかりとり、アセトニトリルを加えて正確に 50 mL とし、標準原液を作成する (1,000 μ g/mL)。この標準原液から等量ずつとって 1 本のメスフラスコに入れ、混合標準溶液とし、アセトニトリルで順次希釈して段階的にそれぞれ 0.001～0.05 μ g/mL の溶液を作成する。

(5) 測定

(ア) LC/MS, LC/MS/MS 測定条件の例

(a) HPLC (注7)

・カラム：C₁₈ シリカ系充填剤の LC カラム (i.d. 2.1 x 150 mm 5μm)

・移動相：A 液 10mM ギ酸アンモニウム

B 液 アセトニトリル

A : B = 50 : 50(0min) - 0:100(15min), 10min 保持

・流速：0.2 mL/min

・カラム温度：40℃

・注入量：5μL

(b) MS

・イオン化法：エレクトロスプレーイオン化 (ESI)

・ポラリティ：ポジティブ

・フラグメンター電圧：150V

・ネブライザーガス：N₂, 50psi

・SIM 測定イオン(m/z) : 304 (C₁₂BAC), 332 (C₁₄BAC), 360 (C₁₆BAC)

(c) MS/MS (注8)

・イオンスプレー電圧：3000 V

・ターボガス温度 : 300 °C

・MRM イオン

対象物質	プレカーサ イオン(m/z)	プロダクト イオン(m/z)	デクラスタ ポテンシャル(V)	コリジョン エネルギー(V)
C ₁₂ BAC	304	212	55	33
C ₁₄ BAC	332	240	55	33
C ₁₆ BAC	360	268	55	33

(イ) 検量線

標準液 5μL を LC/MS に注入し、C₁₂、C₁₄、C₁₆ として検出したピークの強度（面積または高さ）とそれぞれの濃度から検量線を作成する。

(ウ) 試験液の測定

検量線作成後、空試験液、測定用試料液及び添加回収用試験液の一部を LC/MS(MS/MS) に注入し、対象物質の各測定イオンの強度を求める。一定時間毎に検量線用の中間濃度

の試料液を注入し、期待値の 20%以内の変動であることを確認する。もし 20%を超えていれば LC/MS(MS/MS)を再調整後、検量線を作成し直して測定を再開する。

7 同定、定量及び計算

(1) 同定

定量用モニターイオンにおけるピークが、標準物質の当該保持時間に観察されたものについて、定量及び計算を行う。

(2) 定量及び計算

試料液における LC/MS(MS) ピーク強度から検量線により、C₁₂, C₁₄, C₁₆BAC、3 成分の検出量を求め、次式により試料中の濃度を算出する。なお、底質の試料量は乾燥試料量とする（注1）。

$$\text{水質試料中濃度 (}\mu\text{g/L)} = (\text{C}_{12}\text{BAC の検出量 (}\mu\text{g)} + \text{C}_{14}\text{ BAC の検出量 (}\mu\text{g)} + \text{C}_{16}\text{BAC の検出量 (}\mu\text{g)}) / \text{試料量 (L)}$$

$$\text{底質試料中濃度 (}\mu\text{g/kg)} = (\text{C}_{12}\text{BAC の検出量 (}\mu\text{g)} + \text{C}_{14}\text{ BAC の検出量 (}\mu\text{g)} + \text{C}_{16}\text{BAC の検出量 (}\mu\text{g)}) / \text{試料量 (kg)}$$

8 分析精度管理

本マニュアルの「II. 分析精度管理」に従い、標準作業手順を設定し、器具、装置の性能評価と維持管理を徹底し、その結果を記録しなければならない。

9 注意事項

(注1) 塩化ベンザルコニウム液等として市販されている製品の組成について調査した結果、アルキル鎖長 C₁₂, C₁₄, C₁₆ の BAC が大部分を占め、それ以外のものは 1%以下であった。しかし、製品によって組成パターンが異なるものがあるため、定量は C₁₂, C₁₄, C₁₆ の個別標準品を用いて行い、その総和を塩化アルキルジメチルアンモニウム濃度とすることにした。

(注2) 分析法の検討にはフルカ社(C₁₂BAC)、シグマ社(C₁₄, C₁₆BAC)の標品を用いた。

(注3) ウォーターズ社製 Oasis HLB Plus、ジーエルサイエンス社製 PLS-3 などのポリマ

一系固相を用いる（備考 1）。固相吸着法では、コンディショニングの条件、試料の吸着速度、カラムの乾燥条件、溶出溶媒の種類や量などにより回収率が異なることがあるので、これらの諸条件も含めてあらかじめ添加回収試験を行ったのちに使用する必要がある。

（注4） 底質試料の精製の検討には陰イオン交換カートリッジであるウォーターズ社製の Accell Plus QMA を用いた（備考 1）。

（注5） 珪藻土としてはバリアン社の ChemTube-Hydromatrix を用いた（備考 1）。

（注6） 検討にはダイオネックス社製の高速溶媒抽出装置 ASE-200 を用いた（備考 1）。

（注7） ここでは、アジレント・テクノロジー社製 1100MSD SL を用いた（備考 1）。

（注8） LC/MS/MS-MRM を用いると同定の精度を向上させることができるとともに、さらに一桁程度検出下限値を下げるができる。条件検討には、ABI 社製 API3000 を用いた（備考 1）。

（注9） BAC は吸着が起りやすいため留意すること。加圧型固相抽出装置ではシリンジポンプやラインへの吸着が大きいと予想して、検討では減圧タイプを用いた。SS の多い試料では pH を 3.5 付近に調整することにより回収率を改善できる。

（注10） LC/MS 供試液中のアセトニトリル比が減少すると BAC がバイアル壁面へ吸着する傾向が見られた。特に C₁₂ よりも C₁₄, C₁₆ と炭素数が増加するに従い、ピーク面積が減少する度合いが大きいため、供試液中の残存水分に注意が必要である。

（注11） 水質試料の回収率は河川水の場合 63～77%、海水の場合 72～84%であった。底質試料では泥質の場合 70%以上の回収率を示したが、砂質の場合は 53～58%と低くなる傾向があった。

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

参考文献

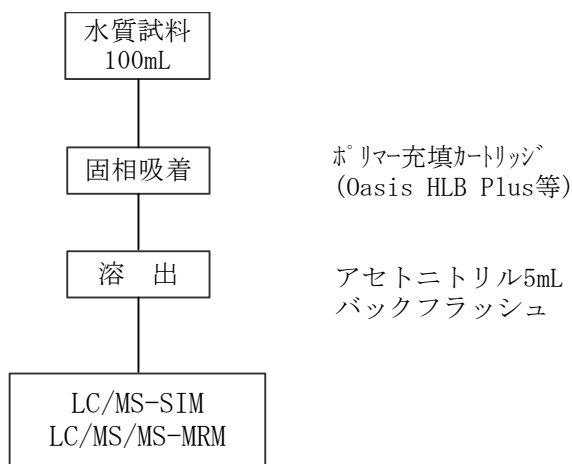
- 1) 昭和 58 年度分析法開発調査報告書 p280-285, 昭和 59 年 5 月, 環境庁環境保健部保健調査室
- 2) Imma Ferrer and Edward T. Furlong: Identification of Alkyl Dimethylbenzylammonium

Surfactants in Water Samples by Solid-Phase Extraction Followed by Ion Trap LC/MS and LC/MS/MS, *ES&T*, **35**,2583-2588(2001)

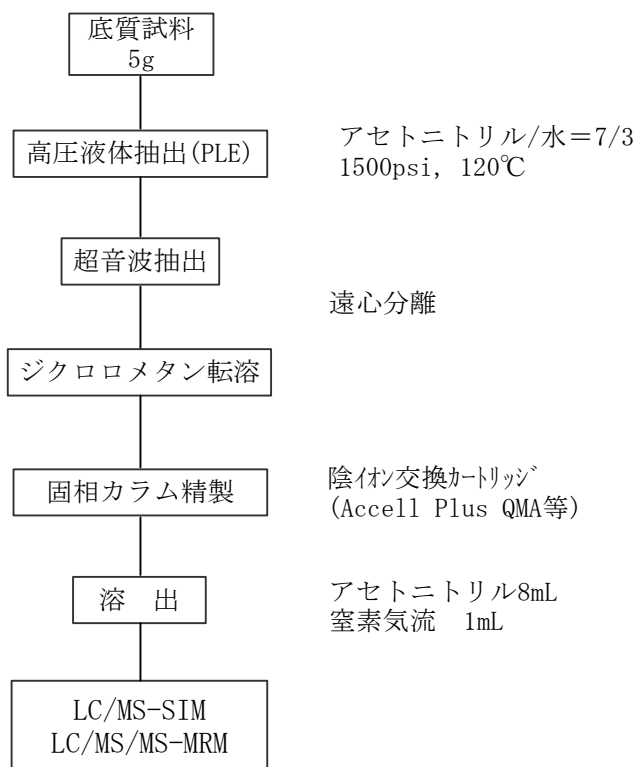
- 3) Imma Ferrer and Edward T. Furlong: Accelerated Solvent Extraction Followed by On-Line Solid-Phase Extraction Coupled to Ion Trap LC/MS/MS for Analysis of Benzalkonium Chlorides in Sediment Samples, *Anal.Chem.*, **74**,1275-1280,(2002)

分析法フローチャート

水質試料



底質試料

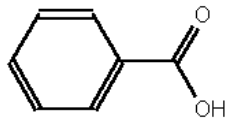


iii. 安息香酸、*p-t*-ブチル安息香酸の分析法

1 対象物質

本法は、水および底質中の安息香酸、*p-t*-ブチル安息香酸の分析に適用する。

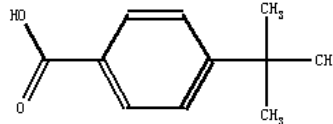
安息香酸



benzoic acid

CAS No. 65-85-0
MF: C₇H₆O₂
MW: 122.12
WS: 3400mg/l
LogPow: 1.87

p-t-ブチル安息香酸



4-*tert*-butylbenzoic acid

CAS No. 98-73-7
MF: C₁₁H₁₄O₂
MW: 178.23
WS: 28mg/l
LogPow: 3.85

2 目標検出限界値及び定量下限値

本法が目標とする検出下限値および定量下限値は次表の通りである。

物質名	検出下限値 (MDL)		定量下限値 (MQL)	
	水質	底質	水質	底質
	μg/L	μg /kg-dry	μg /L	μg /kg-dry
安息香酸	0.02	2	0.06	6
<i>p-t</i> -ブチル安息香酸	0.01	1	0.03	3

3 分析法の概要

水試料は1mol/l塩酸でpH3.5に調整して固相抽出を行い、メチル化して、フロリジルカラムで精製した後、GC/MS-SIMで定量する。底質試料は、濃塩酸で混和してアセトンで抽出し、これを精製水で希釈してpHを9に調整し、疎水系と活性炭系を連結した固相抽出カートリッジに通して固相抽出を行い、メチル化して、GC/MS-SIMで定量する(注1)。

4 試薬、器具及び装置

(1) 試薬

・安息香酸：純度98%以上の試薬であって測定妨害となる成分を含有しないもの。アセ

トンで2,000 μ g/mLの標準原液を調製する。

- p-tert-ブチル安息香酸：純度98%以上の試薬であって測定妨害となる成分を含有しないもの。アセトンで2,000 μ g/mLの標準原液を調製する。
- 内標準物質：フェナンスレン-d₁₀、重水素標識標準物質、または同様の用途に供することができる標準物質。1,000 μ g/mLの標準原液を調製し、ヘキサンで順次希釈して、10 μ g/mLの添加用標準液を調製する。
- メチルエステル化剤：トリメチルシリルジアゾメタン（10%ヘキサン溶液）または同等試薬（注2）。
- 有機溶剤（アセトン、ヘキサン、ジクロロメタン、アセトニトリル）：原則として、残留農薬分析用の純度を用い、予め測定を妨害する成分が無いことを確認する。
- 試薬類（塩酸、水酸化ナトリウム、無水硫酸ナトリウム）：残留農薬分析用または同等試薬。予め測定を妨害する成分が無いことを確認する。
- 精製水：超高純度水（蒸留水を超純水製造装置で精製したもの）であって、予め測定を妨害する成分が無いことを確認する。
- 窒素ガス：高純度窒素1級（純度99.999%以上）。
- 疎水系固相抽出カートリッジ：ポリスチレンなどを充填したもので、測定を妨害する成分を含まないもの（注3）。
- 活性炭系固相抽出カートリッジ：活性炭または同等の吸着剤を充填したもので、測定を妨害する成分を含まないもの（注3）。
- シリカゲルカートリッジカラム：シリカゲルまたは同等の精製効果が得られるもので、測定を妨害する成分を含まないもの。使用に先立って、分画試験を行い操作条件を最適化すること（注3）。

（2）器具及び装置

- ガラス器具：分液ロート、共栓付試験管、遠沈管、メスシリンダー、メスフラスコ、ホールピペット、駒込ピペット、パストゥールピペットなど。使用に先立ち、精製水や有機溶媒で十分に洗浄する。
- 振とう機：抽出用
- 固相抽出装置：加圧型
- 濃縮器：ロータリーエバポレーター（恒温槽付き）、窒素吹き付けができる濃縮装置ま

たは同等の性能を有するもの。

- ・超音波抽出器：超音波洗浄器または同等品。
- ・ガスクロマトグラフ/質量分析計（GC/MS）
- ・マイクロシリンジ：内部標準液の添加およびGC/MSへの注入に用いる。

5 試料の採取・運搬

（1）水質試料

予めアセトン、ヘキサン等によく洗浄したもので、容量1 L程度の共栓またはねじ口褐色硬質ガラス瓶を試料瓶に用いる。試料水は可能な限り速やかに分析に供し、やむを得ず保存が必要な場合は1～2日を限度として冷暗所（4℃）に置く。

（2）底質試料

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

6 試験操作

（1）前処理

（ア）水質試料

塩酸酸性下で固相抽出法により抽出する。通水に先立って、固相抽出カートリッジは、アセトニトリル、メタノール、精製水の各10mLでコンディショニングする。試料水500mLを1mol/L塩酸でpH3.5に調整し、固相カートリッジに10mL/minの一定速度で通水し対象物質を捕集する。通水後、精製水10mLを通して洗浄し、高純度窒素を10分間通気して乾燥する。乾燥後、アセトニトリル5mLで対象物質を溶出し、無水硫酸ナトリウムで脱水した後、窒素気流下で乾固直前まで濃縮して前処理液とする（注4）。

（イ）底質試料

湿泥20gを100mL共栓付遠沈管にとって濃塩酸5mLを入れ、ガラス棒で十分に混合する。

これにアセトン50mLを加えて10分間振とう抽出し、さらに10分間超音波抽出する。抽出後、3000rpmで10分間遠心分離して上澄みのアセトン抽出液を、精製水500mLを入れた1L容分液ロートに移す分取する。この抽出操作を3回繰り返してアセトン抽出液を合わせて、10mol/L水酸化ナトリウム水溶液でpH9に調整する。これを上流に疎水系、下流側に活性炭を連結した固相抽出カートリッジに通して抽出する。通水に先立って、連結固相抽出カートリッジはアセトンと精製水の各10mLでコンディショニングする。試料は10mL/minの一定速度を通し、通水後下流側の活性炭固相抽出カートリッジのみを精製水10mLで洗浄し、高純度窒素を10分間通して乾燥する。通水方向の逆からアセトン5mLを流して溶出し、窒素気流下で乾固直前まで濃縮して前処理液とする（注4、5）。

（2） 試料液の調製

（ア） 水質試料

前処理液はメチル誘導体化の処理を行う。各試料に10%トリメチルシリル(TMS)ジアゾメタン/ヘキサン溶液1mLを加え密栓して1時間室温で反応さす。誘導体化の後、反応液をシリカゲル固相カートリッジに負荷して精製の処理を行う（注6）。試験管を1mLヘキサンで洗って、この洗液もシリカゲル固相カートリッジ負荷した後、ヘキサン5mLで洗浄して、1%アセトン含有ジクロロメタン5mLで溶出する。この溶出液は、緩やかに窒素を吹付けて濃縮し、ヘキサンで0.5mLに定容する（注7）。

（イ） 底質試料

前処理液は水質試料と同様に10% TMSジアゾメタン/ヘキサン溶液1mLを加え誘導体化の処理を行い、反応液はヘキサンで0.5mLに定容する（注7、8）。

（3） 空試験液の調製

水試料はそれと同量の精製水、底質は精製水10mLを用い、「（1）前処理」および「（2）試料液の調製」と同様な操作を行って得られた試験液を空試験に用いる。

（4） 添加回収試験液の調製

任意の水試料500mL、底質20gに定量下限値の5～10倍になるよう検量線作成用標準液のアセトン溶液を加え、「（1）前処理」および「（2）試料液の調製」と同様な操作を行

って添加回収試験液を得る。

(5) 標準液の調製

安息香酸および*p-t*-ブチル安息香酸の100mgを正確に量り、これを各々50mLのアセトンに溶かして2,000 μ g/mLの標準原液を調製する。これの1mLを等量混合し、ヘキサンで順次希釈して、0.1~1 μ g/mLの範囲で5段階の検量線作成用の標準混合溶液を調製する。

(6) 測定

(ア) GC/MS測定条件

GC/MS測定条件の一例を示す。これを参考にして適宜設定する。

(a) ガスクロマトグラフ部

- ・ 試料注入部：スプリットレス
- ・ キャピラリーカラム：5%フェニルメチルシリコン系、内径0.2~0.3 mm、長さ30m、膜厚0.2~0.3 μ m
- ・ キャリヤーガス：純度99.999%以上の高純度ヘリウム、流速1mL/min、線速度35cm/sec
- ・ カラム恒温槽：60 $^{\circ}$ C(1min) \rightarrow (20 $^{\circ}$ C/min) \rightarrow 280 $^{\circ}$ C(3min)
- ・ 注入口温度：250 $^{\circ}$ C

(b) 質量分析部

- ・ イオン化法：電子衝撃イオン化 (EI) 法、イオン化電圧70eV
- ・ イオン源温度：230 $^{\circ}$ C
- ・ インタフェース温度：250 $^{\circ}$ C
- ・ イオン検出法：選択イオン検出 (SIM)
- ・ モニターイオン：安息香酸メチル m/z105 (定量)、136 (確認)
p-t-ブチル安息香酸 m/z177 (定量)、192 (確認)
フェナンスレン-d₁₀ m/z188

(イ) 標準液

標準混合系列の各 0.5mL を試験管にとり窒素気流下で穏やかに乾固直前まで濃縮する。ゼロ 0) を含む計 6 段階の検量線作製用標準溶液にそれぞれ 1mL の 10%TMS ジアゾメタン/ヘキサン溶液を加え密栓して室温で 1 時間メチル誘導体化を行う。反応後、窒素気流を

穏やかに吹き付けて 0.5mL に定容し、内標準として 10 μ L/mL フェナントレン-d₁₀/ヘキサン溶液 5 μ L 添加する。これをそれぞれ GC/MS-SIM で測定する。得られたクロマトグラムから、定量用と確認用質量のイオン強度比が、対応するマススペクトル上の強度比と一致することを確認し、内標準のフェナントレン-d₁₀ とのピーク強度（面積または高さ）比および濃度比から検量線を作成する。

(ウ) 試料液の測定

水および底質の実試料、空試験、添加回収試験から得られた試料液0.5mLに10%TMSジアゾメタン/ヘキサン溶液を加え密栓して室温で1時間メチル誘導体化を行う。反応後、窒素気流を穏やかに吹き付けて0.5mLに定容し（注7）、内標準として10 μ L/mLフェナントレン-d₁₀/ヘキサン溶液5 μ L添加する。試料液をGC/MS-SIM測定する。

7 同定、定量及び計算

(1) 同定

測定対象物質および内標準物質の定量イオンと確認イオンのピークが、検量線に用いた標準物質などの保持時間の ± 5 秒以内に出現し、定量イオンと確認イオンのピーク強度比が検量線作成に用いた標準物質などの強度比の $\pm 20\%$ 以内で一致していればその物質が存在しているとみなす。

(2) 定量及び計算

検量線から求めた検出量により、次式で濃度を算出する。

$$\begin{aligned} \text{水質試料濃度 (}\mu\text{g/L)} \\ &= \{ \text{検出量(ng)} / \text{試料量(L)} \} \times \{ \text{最終試験液量(mL)} / \text{注入量}(\mu\text{L)} \} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{底質試料濃度 (}\mu\text{g/kg 湿泥、乾泥)} \\ &= \{ \text{検出量(ng)} / \text{試料量(kg)} \} \times \{ \text{最終試験液量(mL)} / \text{注入量}(\mu\text{L)} \} \end{aligned}$$

8 分析精度管理

本マニュアルの「II. 分析精度管理」に従い、標準作業手順を設定し、器具・装置の性能評価と維持管理を徹底し、その結果を記録しなければならない。

9 注意事項

- (注 1) とくに安息香酸については、有機溶剤、試薬、あるいは分析室の状況によっては無視できない（目標検出下限値ないしそれ以上）ブランクが検出される可能性がある。必ず、事前に操作ブランク試験を行うとともに、原因を特定して試薬類の焼き出しや洗浄など、効果的なブランク低減化の対策をとる。
- (注 2) N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジンなどのジアゾメタン発生試薬を使用しても良い。但し、ジアゾメタンは毒性が極めて高いため、発生と吸収の操作は必ずドラフト内で行う。
- (注 3) 溶出溶媒やその液量など操作の詳細は製品によって異なる可能性があるため、事前に回収率試験などを行い、最適条件を確認して使用する。
- (注 4) 揮散の恐れがあるので乾固させない。
- (注 5) 不揮発性の着色物質が残存すれば疎水系の固相カートリッジ追加することができる。また、黄色の固形物が目視されれば活性銅などでイオウの除去操作を行う。
- (注 6) GC/MS-SIM 測定において、夾雑物の妨害が無い場合は、クロマトグラフィーによる精製の操作は省くことができる。
- (注 7) 窒素を強く当てたり乾固すると、揮散による損失が大きいため注意する。
- (注 8) GC/MS-SIM 測定において、夾雑物の妨害が大きい場合は、水質と同様にシリカゲルカラムによる精製を行う。

(備考 1) ここに示す商品は、このマニュアルの使用者の便宜のために、一般に入手できるものとして掲げたが、これを推奨するものでない。これと同等以上の品質、性能のものをを用いても良い。

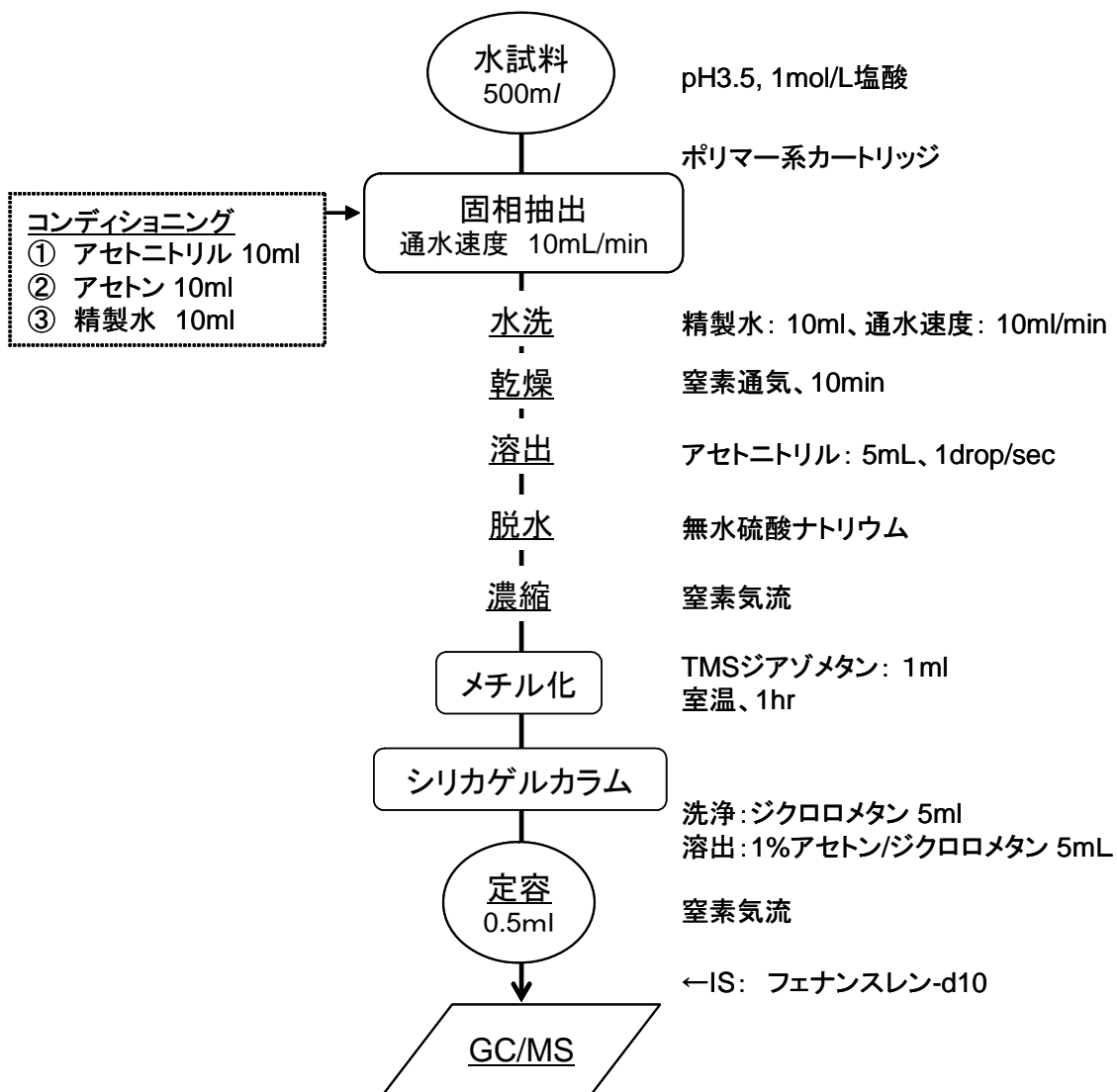
参考文献

- 1) 北九州市環境衛生研究所：安息香酸、4-t-ブチル安息香酸、化学物質分析法開発調査報告書（昭和59年度）、pp153-157（1984）
- 2) 大阪府公害監視センター：p-tert-ブチルフェノール、6-tert-ブチル2,4-キシレノール、ノニルフェノール、化学物質分析法開発調査報告書（平成8年度）、pp58-77（1997）
- 3) 安部明美：固相抽出-GC/MSによる1,4-ジオキサンの分析法と環境水への適用、環境化学、7、95-100(1997)

- 4) 環境庁水質保全局水質管理課：Ⅲ．フェノール類の分析法、外因性内分泌攪乱化学物質マニュアル（水質、底質、生物）、平成10年10月（1998）

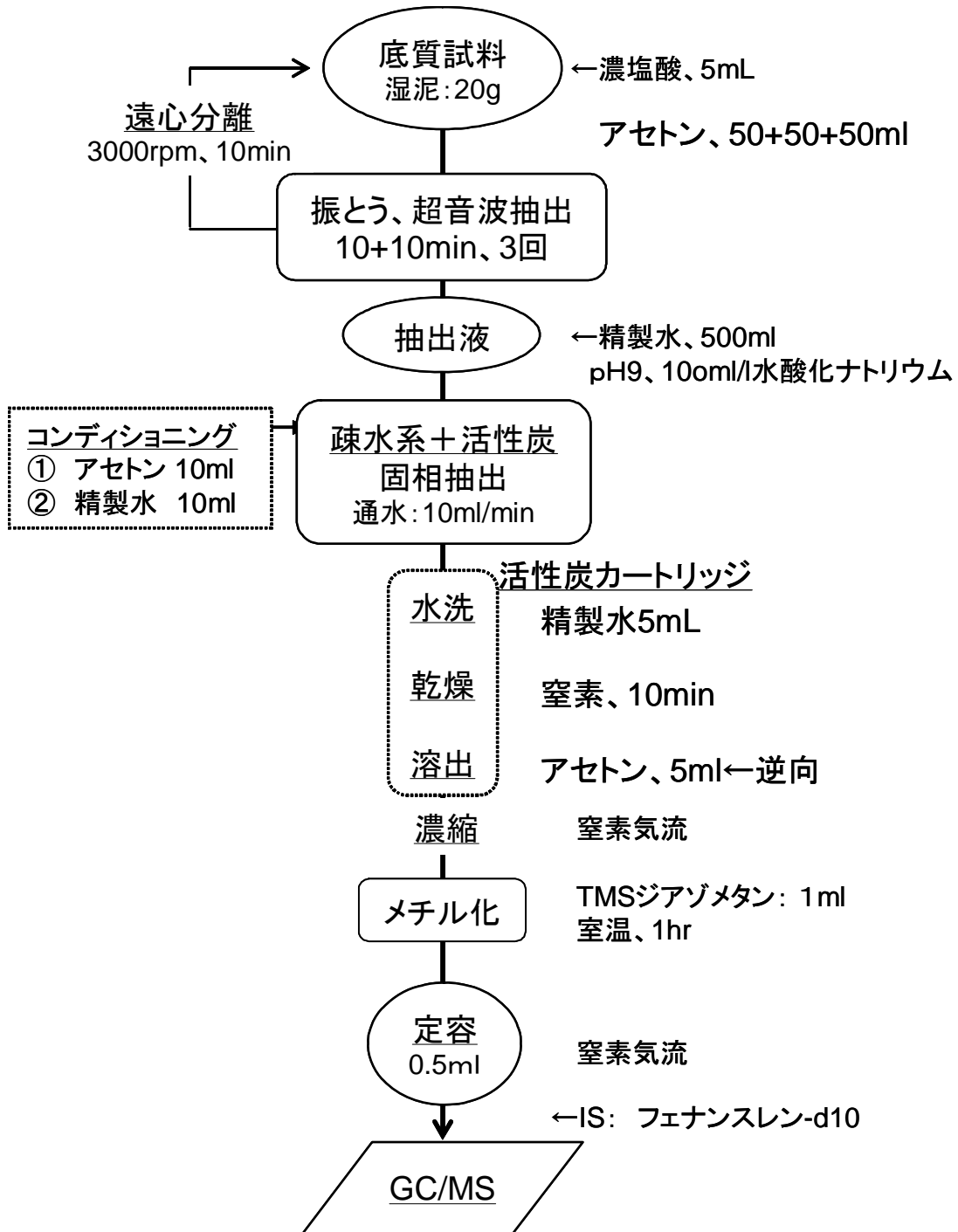
分析法フローチャート

<水質試料>



水質試料の安息香酸、*p-t*-ブチル安息香酸の分析法

<底質試料>

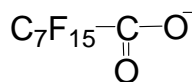
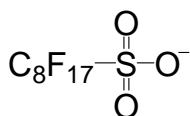


底質試料の安息香酸、*p-t*-ブチル安息香酸の分析法

iv. ペルフルオロオクタンスルホン酸（PFOS）及びペルフルオロオクタン酸（PFOA）の分析法

1 対象物質

本法は、水質及び底質中のペルフルオロオクタンスルホン酸(PFOS)およびペルフルオロオクタン酸(PFOA)の分析に適用する（注1）。



PFOS (Perfluorooctane sulfonate) **PFOA** (Perfluorooctanate)

2 目標検出下限値及び定量検出下限値

本分析法の目標検出下限値を水質試料では PFOS 0.04ng/L、PFOA 0.07ng/L、底質試料では PFOS 0.04µg/kg-dry、PFOA 0.07µg/kg-dry とする。また、目標定量下限値を水質試料では PFOS 0.1ng/L、PFOA 0.2ng/L、底質試料では PFOS 0.1µg/kg-dry、PFOA 0.2µg/kg-dry とする。

表1 LC/MS/MS による検出下限値及び目標定量下限値

水質(ng/L)			
PFOS		PFOA	
目標検出下限値	目標定量下限値	目標検出下限値	目標定量下限値
0.04	0.1	0.07	0.2

底質(µg/kg-dry)			
PFOS		PFOA	
目標検出下限値	目標定量下限値	目標検出下限値	目標定量下限値
0.04	0.1	0.07	0.2

3 分析法の概要

(1) 水質試料

水質試料 1L にペルフルオロオクタンスルホン酸- $^{13}\text{C}_4$ (PFOS- $^{13}\text{C}_4$)およびペルフルオロオクタンスルホン酸- $^{13}\text{C}_2$ (PFOA- $^{13}\text{C}_2$)をサロゲート物質として添加後、酸性下固相抽出し、メタノールで溶出させる。メタノール溶液を窒素ガスにより 100 μL 程度まで蒸発させた後、メタノール/水 (1:1 v/v) で 500 μL に定容し、試験液とする。試験液を LC/MS-SIM または LC/MS/MS-MRM で分離・定量する。

(2) 底質試料

底質試料 1g にペルフルオロオクタンスルホン酸- $^{13}\text{C}_4$ (PFOS- $^{13}\text{C}_4$)およびペルフルオロオクタンスルホン酸- $^{13}\text{C}_2$ (PFOA- $^{13}\text{C}_2$)をサロゲート物質として添加後、メタノールで超音波抽出し、遠心分離した抽出液を固相抽出用カートリッジでクリーンアップする。溶出液を窒素ガスにより 100 μL 程度まで蒸発させた後、メタノール/水 (1:1 v/v) で 500 μL に定容し、試験液とする。試験液を LC/MS-SIM または LC/MS/MS-MRM で分離・定量する。

4 試薬、器具及び装置

(1) 試薬

- ・ メタノール：残留農薬試験用試薬
- ・ アセトニトリル：HPLC 用
- ・ 固相抽出用カートリッジ：ODS カートリッジ (注 2)。
- ・ 酢酸アンモニウム：試薬特級以上のもの。
- ・ PFOS 標準品：本品は PFOS を 98%以上含む (注 3)。
- ・ PFOA 標準品：本品は PFOA を 95%以上含む (注 4)。
- ・ ペルフルオロオクタンスルホン酸- $^{13}\text{C}_4$ (PFOS- $^{13}\text{C}_4$) 標準液：本品は[1,2,3,4- $^{13}\text{C}_4$]-PFOS を 97%以上含む。(注 5)
- ・ ペルフルオロオクタンスルホン酸- $^{13}\text{C}_2$ (PFOA- $^{13}\text{C}_2$) 標準品：本品は[1,2- $^{13}\text{C}_2$]-PFOA を 98%以上含む
- ・ 水：ミリQ水と同等以上で PFOS、PFOA、PFOS- $^{13}\text{C}_4$ 及び PFOA- $^{13}\text{C}_2$ の保持時間に相当する位置にピークのないもの。

(2) 器具及び装置

- ・ 固相抽出用器具（カートリッジ、ろ過・濃縮装置、注射器など）
- ・ 高速液体クロマトグラフィー質量分析計(LC/MS または LC/MS/MS)
- ・ 超音波抽出装置
- ・ ロータリーエバポレーター

5 試料の採取・運搬

(1) 水質試料

試料は、精製水及びメタノールで充分洗浄したガラス瓶またはポリプロピレン瓶に採取し、速やかに試験する。

(2) 底質試料

試料は、精製水及びメタノールで充分洗浄したガラス容器またはポリプロピレン容器に採取し、速やかに試験する。

なお、試料採取、運搬、調製にかかわる手順等の詳細は、本マニュアルの「Ⅲ.試料の採取、運搬、調製にかかわる一般事項」に従う。

6 試験操作

(1) 前処理及び試料液の調製

(ア) 水質試料

水質試料 1L を正確に計り取り（注 6）10ng/mL サロゲート溶液 100 μ L、4M 塩酸 500 μ L 加えて充分混合した後（注 7）、メタノール 10mL、水 5mL でコンディショニングした固相抽出用カートリッジに通水する。水 5mL、メタノール/水（1:4 v/v）5mL で洗浄した後、メタノール 10mL で固相から溶出させる。メタノール溶液は窒素ガスを吹き付けることにより 100 μ L 程度まで濃縮した後、メタノール/水（1:1 v/v）で 500 μ L に定容し、試験液とする。

(イ) 底質試料

試料 1g（乾泥相当）を正確に遠沈管にはかりとり、10ng/mL サロゲート溶液 100 μ L を加えて十分に混合する。これに、メタノール 20ml を加えて 20 分間超音波抽出を行った後、3000rpm で 10 分間遠心分離を行い、メタノール層を分取する。この抽出操作を、さらに 2 回繰り返す。これらのメタノール層をあわせ、エバポレーターで 40 $^{\circ}$ C 以下約 1mL 程度ま

で濃縮し、さらに窒素ガスを吹き付けることにより 200 μ L 程度まで濃縮する。これに精製水 10mL と 4M 塩酸 20 μ L を加えよく混合した後（注 7）、メタノール 10mL、水 5mL でコンディショニングした固相抽出用カートリッジに負荷する。水 5mL、メタノール/水（1:4 v/v）5mL で洗浄した後、メタノール 10mL で固相から溶出させる。メタノール溶液は窒素ガスを吹き付けることにより 100 μ L 程度まで濃縮した後、メタノール/水（1:1 v/v）で 500 μ L に定容し、試験液とする。

（2）空試験液の調製

水質試料については、試料と同量の水を用いて、また、底質試料については、試料と同量のメタノールを用いて、前項の操作を行い、空試験液を調製する。

（3）添加回収試験液の調製

水質試料中および底質試料中の被検物質の濃度が、それぞれ 10ng/L および 1ng/g となるように標準混合溶液を添加し十分に混合した後、「（1）前処理と試料溶液の調製」の操作により得られた試料液を添加回収試験液とする。

（4）標準液の調製

PFOS 及び PFOA をそれぞれ 10mg（注 8）正確にはかりとり、メタノールでそれぞれ正確に 100mL とし、100 μ g/mL の標準原液を調製する。標準原液からそれぞれ 1mL を正確に分取し、メタノールで 100mL としてそれぞれを 1 μ g/mL 含む標準混合溶液を調製する。さらに、標準混合溶液(1 μ g/mL)から 1mL を正確に分取し、メタノールで 100mL としてそれぞれを 10ng/mL 含む標準混合溶液を調製する。

サロゲート物質(PFOA-¹³C₂)を 10mg 正確にはかりとり、メタノールで正確に 100mL とし、100 μ g/mL のサロゲート原液(PFOA-¹³C₂)を調製する。サロゲート原液(PFOA-¹³C₂, 100 μ g/mL) から 1mL、PFOS-¹³C₄ 標準液(PFOS-¹³C₄, 50 μ g/mL) から 2mL を正確に分取し、メタノールで 100mL としてそれぞれを 1 μ g/mL 含むサロゲート混合溶液を調製する。さらに、サロゲート混合溶液(1 μ g/mL)から 1mL を正確に分取し、メタノールで 100mL としてそれぞれを 10ng/mL 含むサロゲート混合溶液を調製する。

（5）測定

(ア) LC/MS 測定条件の例

(a)HPLC

- ・ カラム : ODS (150×2.1mm i.d., 3.5 μm)
- ・ 流速 : 0.2mL/min
- ・ 移動相 : A 液 10mM 酢酸アンモニウム水溶液
B 液 アセトニトリル
- ・ グラジエント : アセトニトリル 45(3min)~80% (10min)
- ・ カラム恒温槽 : 35°C
- ・ 注入量 : 10 μL

(b)MS

- ・ イオン化法 : ESI negative
- ・ 検出モード : SIM
- ・ キャピラリー電圧 : 2.8kV
- ・ コーン電圧
PFOS : 90V
PFOA : 35V
サロゲート((PFOS-¹³C₄) : 90V
サロゲート((PFOA-¹³C₂) : 35V
- ・ 測定イオン
PFOS : m/z499
PFOA : m/z413
サロゲート((PFOS-¹³C₄) : m/z503
サロゲート((PFOA-¹³C₂) : m/z415

(イ) LC/MS/MS 測定条件の例

(a)HPLC

LC/MS 測定条件の例と同様

(b)MS

- ・ イオン化法 : ESI negative
- ・ 検出モード : MRM

- キャピラリー電圧：2.8kV
- コーン電圧
 - PFOS：90V
 - PFOA：35V
 - サロゲート((PFOS-¹³C₄)：90V
 - サロゲート((PFOA-¹³C₂)：35V
- コリジョンエネルギー
 - PFOS：40eV
 - PFOA：10eV
 - サロゲート((PFOS-¹³C₄)：40eV
 - サロゲート((PFOA-¹³C₂)：10eV
- 測定イオン
 - PFOS：m/z499→m/z 99
 - PFOA：m/z413→m/z 369
 - サロゲート((PFOS-¹³C₄)：m/z503→m/z 99
 - サロゲート((PFOA-¹³C₂)：m/z415→m/z 370

(ウ) 検量線

対象物質が0.2～400ngとなるように、混合標準液(10ng/mL)を20～400 μL、混合標準液(1μg/mL)を10～2mLの範囲で段階的にとり、それぞれにサロゲート溶液(1μg/mL)を20μL(20ng)ずつ正確に添加した後、メタノール/水(1:1 v/v)を加えて10mL定容にする(注9)。

この溶液10μLをLC/MSまたはLC/MS/MSに注入し、各対象物質とサロゲート物質とのピーク面積比を縦軸、対象物質とサロゲート物質の濃度比を横軸に用いて検量線を作成する(注10)。

(エ) 試料液の測定

検量線作成後、測定試料溶液、空試験液及び添加回収試験液の各10μLをLC/MSまたはLC/MS/MSに注入して測定を行う。一定時間ごとに、検量線の間濃度の標準液を測定し、期待値の20%以内の変動であることを確認する。もし、この範囲をはずれた場合は、LC/MS

または LC/MS/MS を再調整後、検量線を作成し直して、測定を再開する。

7 同定、定量及び計算

(1) 同定

対象物質とサロゲートのピークが検量線作成で用いた標準物質の保持時間の±10 秒以内に出現すれば、対象物質が存在すると見なす。

(2) 定量及び計算

サロゲート物質と対象物質のピーク面積比から、試料中の対象物質の検出量を求める(注 7)。次に検出量、分析した試料量から、次式により試料中の対象物質の濃度を計算する。なお、底質の試料量は乾燥試料量とする。

水質試料濃度(ng/L)=検出量(ng)/試料量(L)

底質試料濃度(µg/kg)=検出量(ng)/試料量(g)

8 分析精度管理

本マニュアルの「Ⅱ. 分析精度管理」に従い、標準作業手順を設定し、器具・装置の性能評価と維持管理を徹底し、その結果を記録しなければならない。

9 注意事項

(注 1) PFOS 及び PFOA はテフロンから溶出する可能性があるため、実験操作において、できる限りテフロン製品を使用しない。また、熱、酸に対して非常に安定であるので、高温で処理しても残存する。このため、使用器具等はメタノールで充分洗浄し対象物質のピークが出ない事を確認して使用する。

(注 2) ODS カートリッジ (例えばボンドエリユート C₁₈Varian など) やポリマー系カートリッジ (例えば Presep-C Agri 和光純薬など) が利用できるが、あらかじめ抽出効率を確認する必要がある。

(注 3) PFOS 標準品はペルフルオロオクタンスルホン酸およびそのカリウム塩、テトラエチルアンモニウム塩、テトラブチルアンモニウム塩等で市販されている。

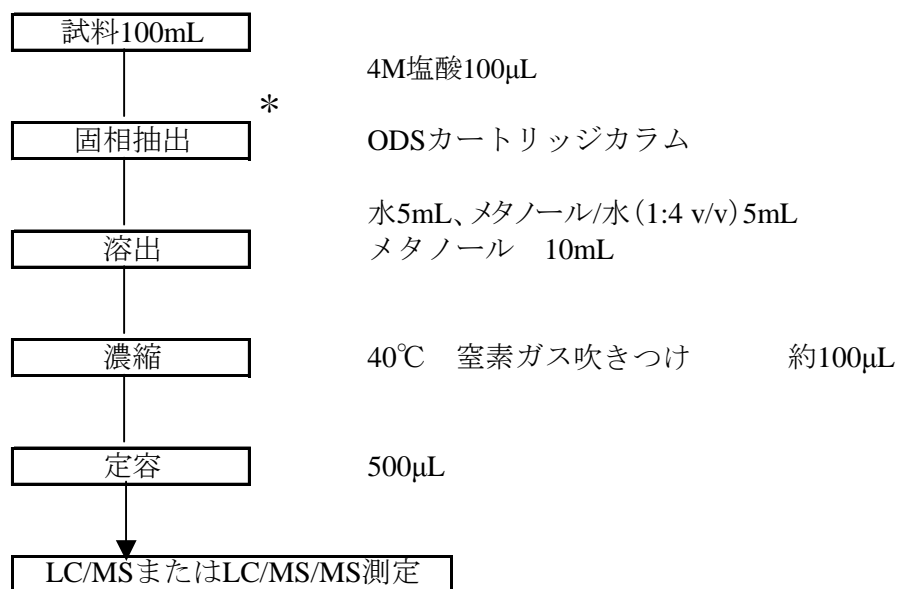
- (注 4) PFOA 標準品はペルフルオロオクタン酸およびそのカリウム塩、アンモニウム塩等で市販されている。
- (注 5) PFOS-¹³C₄ 標準液は メタノール溶液(50μg±2.5μg /mL)で市販されている。また、PFOA-¹³C₄ 標準液も市販されサロゲートとして用いることが可能であるが、その際には測定条件の変更が必要となる。
- (注 6) 浮遊物質(SS)が多い場合は、ガラス繊維ろ紙(孔径 1 μm) でろ過する。ろ紙に捕集した SS は、メタノール 10ml を用いて 3 回抽出(超音波利用)し、1mL 程度に濃縮した後ろ液にあわせる。
- (注 7) 4M 塩酸を添加し pH3.5 程度とする。試料により、添加量を調整する必要がある。
- (注 8) 標準液を調製する際は、ペルフルオロオクタンスルホン酸アニオン(C₈F₁₇SO₃⁻)濃度に換算する。PFOA も同様にペルフルオロオクタン酸アニオン(C₇F₁₅COO⁻)濃度^(注 5)に換算する。
- (注 9) 水質試料として 0.01~100ng/L、底質試料として 0.01~100μg /kg に相当する。また、サロゲート(PFOA-¹³C₂ および PFOS-¹³C₄)のみを含む溶液(1μg/mL)を検量線用溶液と同様に調製し測定して、ブランクの確認を行う。
- (注 10) PFOS は複数の異性体を持つ混合物であるが、各異性体の標準品の入手が現時点では困難であるため、LC/MS-SIM 及び LC/MS/MS-MRM における各異性体の感度は同等であると仮定した。
- (備考 1) ここに示す商品は、このマニュアルの使用者の便宜のために、一般に入手できるものとして掲げたが、これを推奨するものではない。これと同等以上の品質、性能のものを用いてもよい。

参考文献

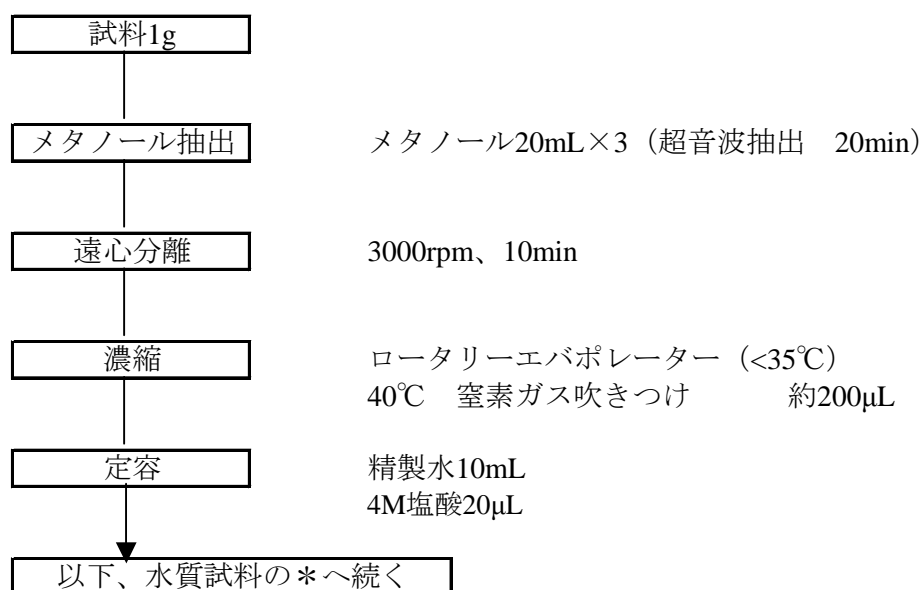
- 1) 「平成 14 年度化学物質分析法開発調査報告書」、環境庁環境保健部環境安全課

1.1 分析法フローチャート

水質試料



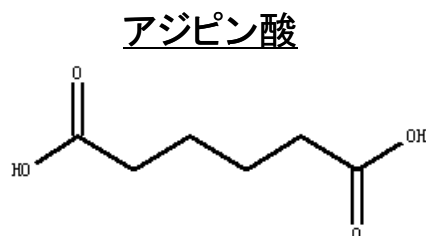
底質試料



v. アジピン酸の分析法

1 対象物質

本法は、水質および底質中のアジピン酸の分析に適用する。



adipic acid

CAS No. 124-04-9

MF: C₆H₁₀O₄

MW: 146.14

WS: 14400mg/l

LogPow: -0.28

2 目標検出限界値及び定量下限値

本法が目標とする検出下限値および定量下限値は次表の通りである。

物質名	検出下限値 (MDL)		定量下限値 (MQL)	
	水質	底質	水質	底質
	μg/L	μg /kg-dry	μg /L	μg /kg-dry
アジピン酸	0.1	1	0.3	3

3 分析法の概要

水試料は、疎水系と活性炭系を直列に連結した固相抽出カートリッジで精製と抽出を行い、溶出液はメチル誘導体化して、GC/MS-SIMで定量する。底質試料は精製水で振とうと超音波による抽出を行い、以降は水試料と同様に精製、抽出、メチル化、GC/MS-SIMの操作を辿る（注1）。

4 試薬、器具及び装置

(1) 試薬

・アジピン酸：純度99%以上の試薬であって測定妨害となる成分を含有しないもの。ア

セトンで2,000 μ g/mLの標準原液を調製する。

- ・内標準物質：ナフタレン-d₈、重水素標識標準物質、または同様の用途に供することができる標準物質。1,000 μ g/mLの標準原液を調製し、ヘキサンで順次希釈して、10 μ g/mLの添加用標準液を調製する。
- ・メチルエステル化剤：トリメチルシリルジアゾメタン（10%ヘキサン溶液）または同等試薬（注2）。
- ・有機溶剤（アセトン、ヘキサン）：原則として、残留農薬分析用の純度を用い、予め測定を妨害する成分が無いことを確認する。
- ・精製水：超高純度水（蒸留水を超純水製造装置で精製したもの）であって、予め測定を妨害する成分が無いことを確認する。
- ・窒素ガス：高純度窒素1級（純度99.999%以上）。
- ・疎水系固相抽出カートリッジ：ポリスチレンなどを充填したもので、測定を妨害する成分を含まないもの。（注3）
- ・活性炭系固相抽出カートリッジ：活性炭または同等の吸着剤を充填したもので、測定を妨害する成分を含まないもの（注3）。

（2）器具及び装置

- ・ガラス器具：分液ロート、共栓付試験管、遠沈管、メスシリンダー、メスフラスコ、ホールピペット、駒込ピペット、パスツールピペットなど。使用に先立ち、精製水や有機溶媒で十分に洗浄する。
- ・振とう機：抽出用
- ・固相抽出装置：加圧型
- ・濃縮器：ロータリーエバポレーター（恒温槽付き）、窒素吹き付けができる濃縮装置または同等の性能を有するもの。
- ・超音波抽出器：超音波洗浄器または同等品。
- ・ガスクロマトグラフ/質量分析計（GC/MS）
- ・マイクロシリンジ：内部標準液の添加およびGC/MSへの注入に用いる。

5 試料の採取・運搬

(1) 水質試料

予めアセトン、ヘキサン等によく洗浄したもので、容量1 L程度の共栓またはねじ口褐色硬質ガラス瓶を試料瓶に用いる。試料水は可能な限り速やかに分析に供し、やむを得ず保存が必要な場合は1~2日を限度として冷暗所（4℃）に置く。

(2) 底質試料

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

6 試験操作

(1) 前処理

(ア) 水質試料

固相抽出カートリッジで精製と抽出を同時に行う。連結固相抽出カートリッジは、上流に疎水系、下流側に活性炭系を直列につなぎ、アセトンと精製水を各10mL通してコンディショニングする。これに試料水500mLを10mL/minで通す。通水後、下流側の活性炭固相抽出カートリッジを精製水10mLで洗浄し、高純度窒素を10分間通して乾燥する。通水方向の逆からアセトン5mLを流して溶出し、窒素気流下で乾固直前まで濃縮して前処理液とする。

(イ) 底質試料

湿泥20gを100mL共栓付遠沈管にとってアセトン50mLを入れガラス棒でほぐし、10分間振とう、さらに10分間超音波抽出する。抽出後、3000rpmで10分間遠心分離して上澄みの水層別の清浄なガラス容器に分取する。この抽出操作を3回繰り返して水抽出液を合わせて、上流に疎水系、下流側に活性炭を連結した固相抽出カートリッジに通して抽出する。通水に先立って、連結固相抽出カートリッジはアセトンと精製水の各10mLでコンディショニングする。試料は10mL/minの一定速度で通し、通水後精製水10mLで洗浄し、高純度窒素を下流側の活性炭固相抽出カートリッジに10分間通して乾燥する。次いで、通水方向の逆か

らアセトン5mLを流して溶出し、窒素気流下で乾固直前まで濃縮して前処理液とする(注5)。

(2) 試料液の調製

水質と底質から抽出して得られた前処理液はメチル誘導体化の処理を行う。各前処理液に10%トリメチルシリル(TMS) ジアゾメタン/ヘキサン溶液1mLを加え密栓して1時間室温で反応さす。誘導体化の後、窒素気流下で0.5mLまで濃縮する。

(3) 空試験液の調製

水試料はそれと同量の精製水、底質は精製水10mLを用い、「前処理」および「試料液の調製」の操作を行い得られた試験液を空試験に用いる。

(4) 添加回収試験液の調製

任意の水試料500mL、底質20gに定量下限値の5~10倍になるよう検量線作成用標準液のアセトン溶液を加え、「(1) 前処理」および「(2) 試料液の調製」の操作を行い添加回収試験液とする。

(5) 標準液の調製

アジピン酸の100mgを正確に量り、アセトン50mLに溶かして2,000 μ g/mLの標準原液を調製する。これをアセトンで順次希釈して、0~5 μ g/mLの範囲で検量線作成用の標準液を調製する。

(6) 測定

(ア) GC/MS測定条件

GC/MS測定条件の一例を示す。これを参考にして適宜設定する。

(a) ガスクロマトグラフ部

- ・ 試料注入部：スプリットレス
- ・ キャピラリーカラム：5%フェニルメチルシリコン系、内径0.2~0.3 mm、長さ30m、膜厚0.2~0.3 μ m
- ・ キャリヤーガス：純度99.999%以上の高純度ヘリウム、流速1mL/min、線速度35cm/sec
- ・ カラム恒温槽：60°C(1min)→(20°C/min)→280°C(3min)

・注入口温度：250℃

(b) 質量分析部

・イオン化法：電子衝撃イオン化 (EI) 法、イオン化電圧70eV

・イオン源温度：230℃

・インタフェース温度：250℃

・イオン検出法：選択イオン検出 (SIM)

・モニターイオン：アジピン酸ジメチル m/z143 (定量)、111 (確認)

ナフタレン-d₁₀ m/z136

(イ) 標準液

標準系列の各 0.5mL を試験管にとり窒素気流下で乾固直前まで濃縮し、10%TMS ジアゾメタン/ヘキサン溶液 1mL を加え密栓して室温で 1 時間メチル誘導体化を行う。反応後、窒素気流下で 0.5mL まで濃縮し、内標準として 10 μ L/mL ナフタレン-d₈/ヘキサン溶液 5 μ L 添加する。これをそれぞれ GC/MS-SIM で測定する。得られたクロマトグラムから、定量用と確認用質量のイオン強度比が、対応するマスペクトル上の強度比と一致することを確認し、内標準のナフタレン-d₈ とのピーク強度 (面積または高さ) 比および濃度比から検量線を作成する。

(ウ) 試料液の測定

水および底質の実試料、空試験、添加回収試験から得られた試料液0.5mLに10%TMSジアゾメタン/ヘキサン溶液を加え密栓して室温で1時間メチル誘導体化を行う。反応後、窒素気流下で0.5mLに定容し、内標準として10 μ L/mLナフタレン-d₈/ヘキサン溶液5 μ L添加する。試料液をGC/MS-SIM測定する。

7 同定、定量及び計算

(1) 同定

測定対象物質および内標準物質の定量イオンと確認イオンのピークが、検量線に用いた標準物質などの保持時間の±5秒以内に出現し、定量イオンと確認イオンのピーク強度比が検量線作成に用いた標準物質などの強度比の±20%以内で一致していればその物質が存在しているとみなす。

(2) 定量及び計算

検量線から求めた検出量により、次式で濃度を算出する。

$$\begin{aligned} \text{水質試料濃度 (}\mu\text{g/L)} \\ &= \{ \text{検出量(ng)} / \text{試料量(L)} \} \times \{ \text{最終試験液量(mL)} / \text{注入量}(\mu\text{L)} \} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{底質試料濃度 (}\mu\text{g/kg 湿泥、乾泥)} \\ &= \{ \text{検出量(ng)} / \text{試料量(kg)} \} \times \{ \text{最終試験液量(mL)} / \text{注入量}(\mu\text{L)} \} \end{aligned}$$

8 分析精度管理

本マニュアルの「II. 分析精度管理」に従い、標準作業手順を設定し、器具・装置の性能評価と維持管理を徹底し、その結果を記録しなければならない。

9 注意事項

- (注 1) アジピン酸をメチル誘導体してGC/MS-SIMで測定する方法を示したが、アジピン酸はLC/MSでの測定も可能である。LC/MS測定では誘導体化の操作は不要である。測定条件の一例を示す。カラム：Inertsil ODS-3 5 μ m;2.1 \times 150mm、移動相：
A:0.1%CH₃COOH/H₂O B:CH₃CN、(B.Conc(10%) \rightarrow 10min \rightarrow B.Conc(80%)(5min))、
流量：0.2mL/min、注入量：5 μ L、オープン温度：40 $^{\circ}$ C、イオン化：ESI、Negative、
モニターイオン：アジピン酸 (m/z) 145
- (注 2) N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジンなどのジアゾメタン発生試薬を使用しても良い。但し、ジアゾメタンは毒性が極めて高いため、発生と吸収の操作は必ずドラフト内で行う。
- (注 3) 溶出溶媒やその液量など操作の詳細は製品によって異なる可能性があるため、事前に回収率試験などによって最適条件を確認して使用する。
- (注 4) 底質試料の一般的な調製法を示したが、アジピン酸は水溶解度が高いため、間隙水中に分布する可能性がある。間隙水を含んだ試料を供試しても差し支えないが、調査の目的に応じて試料調製法を決めること。
- (注 5) 前処理液の着色など、精製が不十分との懸念がある場合は、疎水性固相抽出カートリッジの容量か、数を増やして検討する。

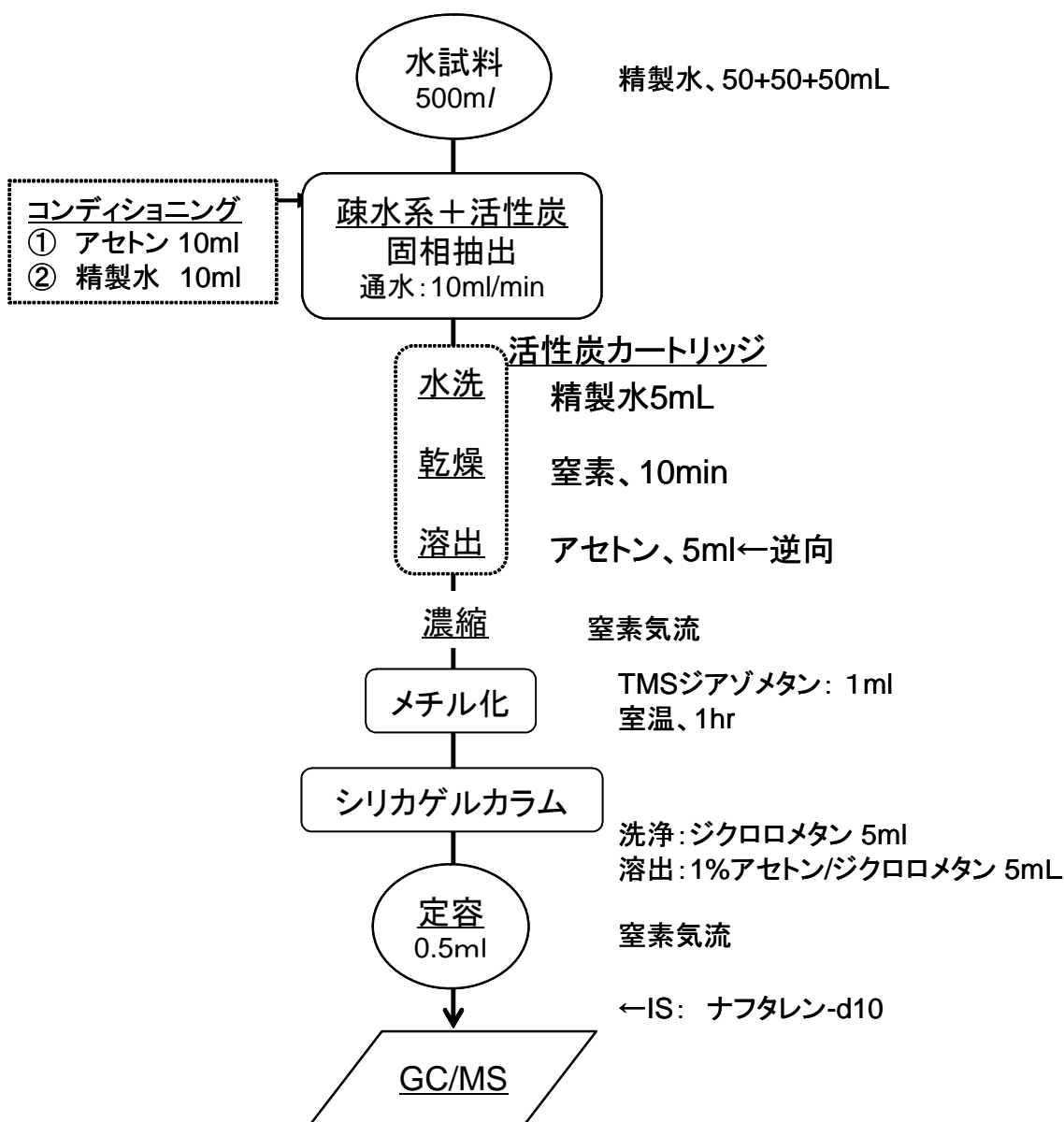
(備考1) ここに示す商品は、このマニュアルの使用者の便宜のために、一般に入手できるものとして掲げたが、これを推奨するものでない。これと同等以上の品質、性能のものを用いても良い。

参考文献

- 1) 北海道公害防止研究所：安息香酸、4-t-ブチル安息香酸、化学物質分析法開発調査報告書（昭和59年度）、pp1-11（1984）
- 2) 安部明美：固相抽出-GC/MSによる1,4-ジオキサンの分析法と環境水への適用、環境化学、7、95-100(1997)

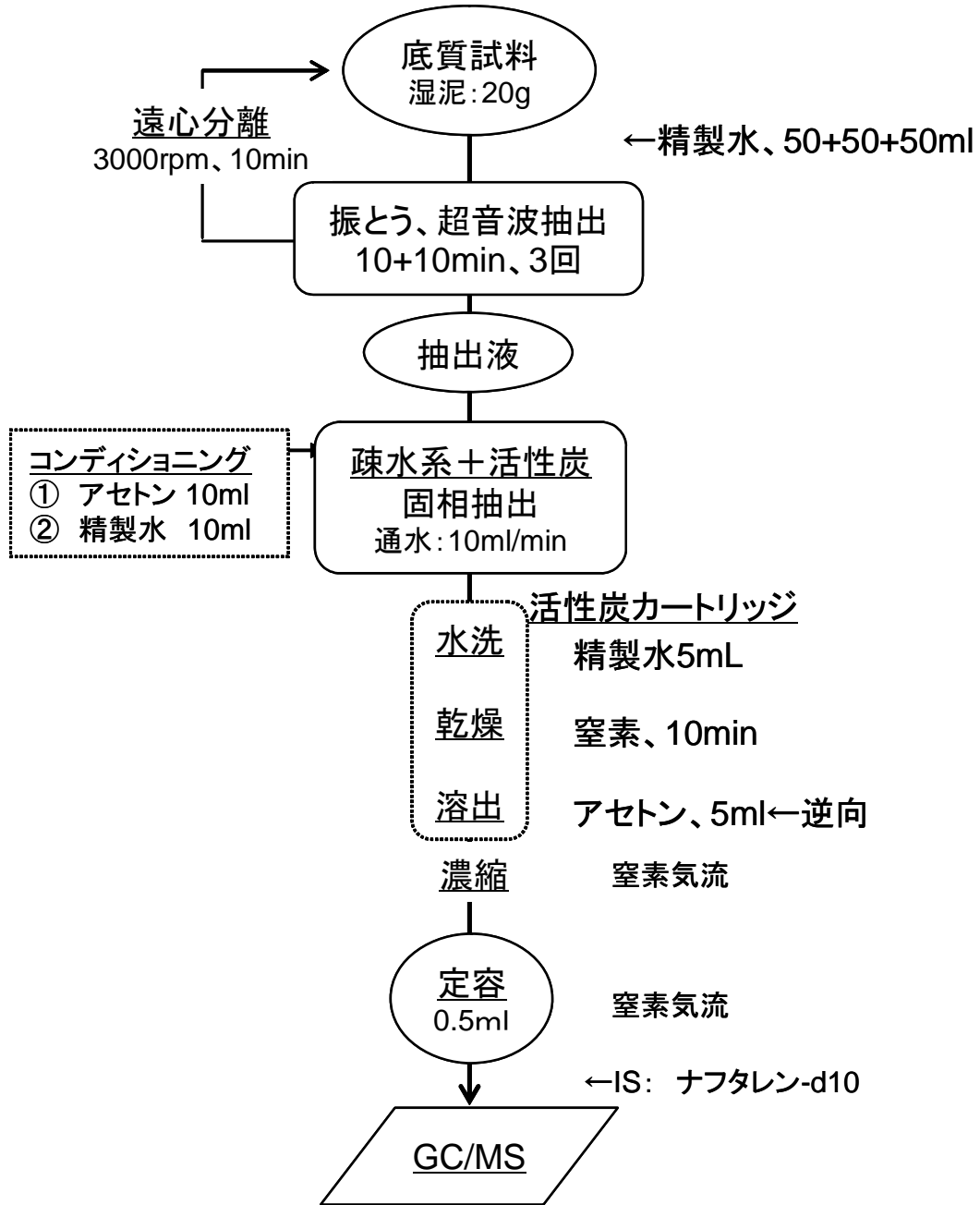
分析法フローチャート

<水質試料>



水質試料のアジピン酸の分析法

<底質試料>



底質試料のアジピン酸の分析法

vi. 2-メルカプトイミダゾリンの分析法

1 対象物質

2-メルカプトイミダゾリン

表1 対象物質及びその物理化学的性質

物質名	分子式	分子量	融点(°C)	水溶解度(mg/L)
2-メルカプトイミダゾリン	C ₃ H ₆ N ₂ S	102.2	203~204	20,000 (30°C)

2 目標検出下限値及び定量下限値

本分析法の目標検出下限値及び目標定量下限値を表2に示す。

表2 目標検出下限値及び目標定量下限値

物質名	水質（淡水）(µg/L)	
	目標検出下限値	目標定量下限値
2-メルカプトイミダゾリン	0.06	0.2

3 分析法の概要

水質（淡水）試料は、2-メルカプトイミダゾリンを ODS 系カートリッジに通してクリーンアップを行い、濃縮せずそのまま LC/MS で定量する（注1）。

4 試薬、器具及び装置

(1) 試薬

- ・2-メルカプトイミダゾリン標準品：市販標準品
- ・メチルアルコール：残留農薬試験用で被験物質の測定を妨害しないもの。
- ・酢酸アンモニウム：試薬特級
- ・精製水：(注2)
- ・ODS系カートリッジ（注3）：使用前に、メチルアルコール5 mL、精製水10 mLの順でコンディショニングを行っておく。

(2) 器具及び装置

- ・ 針なし注射筒：20 mL
- ・ 共栓付試験管：10 mL

(これらのガラス器具は、メチルアルコールで十分洗浄し、乾燥後使用する。)

5 試料の採取・運搬

水質（淡水）試料

洗剤、水、メチルアルコールで洗浄したねじ口瓶を試料水で2～3回共洗いした後、試料水を泡立てないように採水し、満水にして密栓し、直ちに試験を行う。直ちに試験できないときは、冷暗所（4℃）に保存し、速やかに試験を行う。

なお、試料採取、運搬、調製にかかわる手順等の詳細は、本報告書の「1. 2. 3 試料の採取、運搬、調製にかかわる一般事項」に従う。

6 試験操作

(1) 前処理及び試験液の調製

水質（淡水）試料

試料 10 mL を注射筒に取り、ODS 系カートリッジに通水する。最初の 5 mL は捨て、残りの 5 mL を共栓試験管に取り、試料前処理液とする。前処理液を LC/MS 測定用試料液とする。

(2) 空試験液の調製

試料と同じ量の精製水を用い、「(1) 前処理及び試料液の調製」と同様に操作して得られたものを空試験液とする（注4）。

(3) 添加回収試験液の調製

任意の水質（淡水）試料 10 mL に検出下限値の 5～10 倍になるように検量線作成用標準液の水溶液を加え、十分に混合した後、「(1) 前処理及び試料液の調製」に従って操作を行い、得られた試料液を添加回収試験液とする（注5）。

(4) 標準液の調製

2-メルカプトイミダゾリン 50 mg を精秤し、精製水に溶解させて正確に 50 mL とし、1,000 µg/mL の標準原液とする。標準原液を精製水で希釈し 10 µg/mL の標準溶液を調製する。検量線作成用の標準系列は、LC/MS 移動相で適宜希釈して 0.0001~0.004 µg/mL の範囲で調製する。

(5) 測定

(ア) LC/MS 測定条件の例

(a) 液体クロマトグラフ部

- ・ LC : (注 6)
- ・ カラム : ODS カラム (5 µm × φ 2 mm × 150 mm) (注 7)
- ・ 移動相 : 2 mM 酢酸アンモニウム (注 8)
- ・ カラム温度 : 40°C
- ・ 流量 : 0.2 mL/min
- ・ 注入量 : 20 µL

(b) 質量分析部

- ・ MS : (注 9)
- ・ イオン化法 : EI (正イオンモード)
- ・ フラグメンター電圧 : 100 V
- ・ ネブライザーガス : 窒素 30 psig
- ・ 乾燥ガス : 窒素 10 L/min (350°C)
- ・ キャピラリー電圧 : 2,500 V

(c) 測定イオン

・ m/z	(定量用)	(確認用)
2-メルカプトイミダゾリン	103.1	125.0 (注 10)

(イ) 検量線

標準液 20 µL を LC/MS に注入し、2-メルカプトイミダゾリンのピーク高から検量線を作成する。

(ウ) 試料液の測定

検量線作成後、空試験液、測定用試料液及び添加回収試験液の各 20 µL を LC/MS に注

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

7 同定、定量及び計算

(1) 同定

LC/MS の測定結果から、定量用及び確認用モニターイオンのピークが予想保持時間の±5 秒以内に出現し、定量用と確認用モニターイオンのピーク強度比が予想値と±50% (注 11) 以内で一致した場合、対象物質が存在しているを見なす。

(2) 定量及び計算

2-メルカプトイミダズリンのピーク高を求め、上記の検量線に照らして検出量を求める。次に、検出量と分析試料量から、次式により試料中の濃度を計算する。

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

8 分析精度管理

本マニュアルの「Ⅱ. 分析精度管理」に従い、標準作業手順を設定し、器具・装置の性能評価と維持管理を徹底し、その結果を記録しなければならない。

9 注意事項

(注 1) 本法は淡水試料のみ適用する。海水では夾雑物のため、0.2 $\mu\text{g/L}$ での測定が困難であり、効果的な精製法も見つかっていない。ベンジル化後 GC/MS 及び LC/MS 測定法や EPA の方法 (水試料→ $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_5$ 及び炭酸カリウム添加後減圧濃縮→5%アセトにトリル/ジクロロメタン抽出→減圧濃縮→アンモニア水添加→LC/MS/MS 測定) も検討したが、感度の向上や塩類対策の課題は解決できなかった。

(注 2) 蒸留水を超純水製造装置で精製したものであって、妨害成分を含まないもの。

(注 3) ウォーターズ社製セップパックプラス C18 (360 mg) またはこれらと同等以上の性能を有するもの (備考 1)。活性炭カラムやイオン交換カラム、珪藻土カラム等数種のカートリッジカラムを用いて濃縮操作を行ったが、2-メルカプトイミダズリンがカラムに保持しない、または低濃度レベルにおいてカラム溶出液の濃縮時

にロスがあるなどの理由から、C18 カートリッジカラムによるろ過精製操作のみを行った。

(注 4) 精製水を用いて分析操作を行ったが、2-メルカプトイミダゾリンの測定に影響を与えるピーク等は認められなかった。

(注 5) 精製水及び河川水に 2 µg/L 添加したときの回収率は、それぞれ 93、97%で、河川水においても妨害ピークは認められなかった。

(注 6) ここでは、アジレント・テクノロジー社製 1100 Series を用いた (備考 1)。

(注 7) 分離カラムには、水 100%の溶離液でも使用可能な ODS カラムを使用した。ここでは、関東化学社製 Mightysil RP-18 GP Aqua を用いた (備考 1)。

(注 8) 移動相に 2 mM 酢酸アンモニウムを用い、キャピラリー電圧を 2,500 V に設定することにより、プロトン付加の擬分子イオン (m/z 103.1) で感度よく測定することができた。

(注 9) ここでは、アジレント・テクノロジー社製 G1946D を用いた (備考 1)。2-メルカプトイミダゾリンは、分子量が小さいこともあって、LC/MS/MS でも LC/MS 以上の感度向上は得られなかった。

(注 10) LC/MS ではソフトなイオン化のため、メインピーク以外のピークが得にくい。確認イオン (m/z 125.0) のイオン強度は、定量イオン (m/z 103.1) に比べて非常に小さいため、検出下限値付近濃度ではピークが検出されない。

(注 11) 2-メルカプトイミダゾリンの場合、確認イオンのイオン強度が定量イオンに比べて非常に小さいため、相対強度比の許容範囲としては±50%程度とするのが妥当と考えられる。

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

10 参考

(1) 分析試料の送付方法

(ア) 試料の前処理を行わない場合

水質試料

メチルアルコールで十分洗浄し、乾燥させたガラス瓶に、ヘッドスペースが残らないように試料を採取し、梱包して送付する。

(イ) 試料の前処理を行う場合

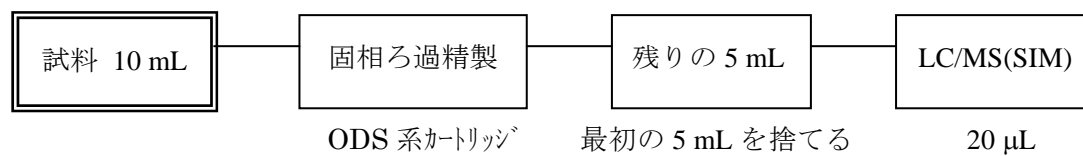
分析法に示した「6 (1) 前処理及び試料液の調製」の要領に従って得られた約 5 mL 程度の水溶液を、アンプルまたはバイアル瓶に密封して送付する。

参考文献

- 1) 宇野正清, 上田栄次, 岡田作, 陰地義樹: 農作物に残留する農薬分解生成物に関する研究 (第1報), 食品衛生学会誌, **18**, 53-56 (1977)
- 2) 陰地義樹, 宇野正清, 岡田作, 大前利隆, 西川喜孝: メタンスルホニル誘導体によるエチレンチオウレアの定量, 食品衛生学会誌, **20**, 467-470 (1979)
- 3) 北九州市環境衛生研究所: 2-メルカプトイミダゾリン, pp263-266, 「昭和 57 年度化学物質分析法開発調査報告書」, 環境庁環境保健部保健調査室, 東京 (1982)

分析法フローチャート

水質（淡水）試料



vii. ジニトロベンゼン類、ニトロアニソール類、ペンタクロロベンゼン、アントラキノン及び1-フェニル-1-（ジメチルフェニル）エタン類の分析法

1 対象物質

表1に示すジニトロベンゼン類、ニトロアニソール類、ペンタクロロベンゼン、アントラキノン及び1-フェニル-1-（ジメチルフェニル）エタン類*

2 目標検出下限値及び定量下限値

本分析法の目標検出下限値及び目標定量下限値を表1に示す。

表1 対象物質の目標検出下限値及び目標定量下限値

物質名	水質 (µg/L)		底質 (µg/kg)	
	目標検出 下限値	目標定量 下限値	目標検出 下限値	目標定量 下限値
1,4-ジニトロベンゼン	0.02	0.05	2	5
1,2-ジニトロベンゼン	0.02	0.05	2	5
1,3-ジニトロベンゼン	0.02	0.05	2	5
0-ニトロアニソール [#]	0.02	0.05	2	5
m-ニトロアニソール	0.02	0.05	2	5
p-ニトロアニソール	0.02	0.05	2	5
ペンタクロロベンゼン	0.01	0.03	1	3
1-フェニル-1-（ジメチルフェニル）エタン ^{##}	0.01	0.03	2	5
アントラキノン	0.02	0.05	2	5

[#]メトキシニトロベンゼン ^{##}6種の異性体がある

3 分析法の概要

水質試料はサロゲートを添加し、塩化ナトリウムを加えて固相ディスクを用いた固液抽出を行う。アセトン及びジクロロメタンで溶出し、溶出液を脱水・濃縮後、得られた溶液をGC/MSで定量する。底質試料はサロゲートを添加し、硫酸銅溶液を加えてアセトン抽出後、抽出液に塩化ナトリウム水溶液を加え、ジクロロメタンで抽出する。ジクロロメタン層を脱水・濃縮後へキサンに転溶し、濃縮する。濃縮液をフロリジルカートリッジカラムでクリーンアップし、GC/MSで定量する。

* : 1-フェニル-1-（3,4-ジメチルフェニル）エタンについては、現在のところ標準物質として異性体混合物（工業製品）しか入手できないことから、本報告書では対象物質を1-フェニル-1-（ジメチルフェニル）エタン類とする。

4 試薬、器具及び装置

(1) 試薬

- ・ 塩酸：精密分析用、またはこれと同等以上のもの。
- ・ ジクロロメタン、アセトン：残留農薬分析用またはこれと同等以上のもの（注1）。
- ・ 無水硫酸ナトリウム、塩化ナトリウム：残留農薬分析用またはこれと同等以上のもの（注2）。
- ・ 10%硫酸銅水溶液：5水和物を精製水に溶解し、ジクロロメタンで2回洗浄したもの。
- ・ 標準品：試験に支障のない純度のもの（注3）。
- ・ サロゲート：1,3-ジニトロベンゼン- d_4 、ペンタクロロベンゼン- $^{13}C_6$ 、アントラキノン- d_8 （注4）
- ・ 内標準：ナフタレン- d_8 、フルオレン- d_{10} 、フェナントレン- d_{10} 、ヘキサクロロベンゼン- $^{13}C_6$ 、クリセン- d_{12} （注5）
- ・ 標準原液：標準物質 10 mg を各々別の 100 mL メスフラスコに精秤し、*n*-ヘキサン又はアセトン又はジクロロメタンを加えて正確に 100 mL とし、これを 100 μ g/mL の標準原液とする。各標準原液 10 mL を 100 mL メスフラスコに正確にとり、ジクロロメタンで 100 mL とし、これを標準混合原液とする。標準混合原液は 1 mL 中に各標準物質 10 μ g を含む（注6）。
- ・ 内標準溶液：各内標準 100 mg を各々別の 100 mL メスフラスコに精秤し、アセトンを加えて正確に 100 mL とし、これを 1000 μ g/mL の内標準原液とする。各内標準原液 10 mL を 100 mL メスフラスコに正確にとり、アセトンで 100 mL とし、これを内標準溶液とする。内標準溶液は 1 mL 中に各内標準 100 μ g を含む。
- ・ 固相ディスク：ポリマーゲル、またはこれと同等の性能を有する基材を成型したもの（注7）
- ・ フロリジルカートリッジ：市販のフロリジルカートリッジ（注8）。
- ・ 水：対象及びその妨害物質を含まないもの（注9）。

(2) 器具及び装置

- ・ 試料採取容器：水質試料用は、ガラス製共栓付き褐色ガラス瓶（容量 1L）、又は、四フッ化エチレン樹脂張りシリコーンゴム栓付きスクリューキャップ用ネジ口褐色ガラス瓶（容量 1L）又はこれと同等以上のもの。底質試料用はガラス製共栓付き褐色

広口ガラス瓶（容量 100～300 mL）、又は、四フッ化エチレン樹脂張りシリコーンゴム栓付きスクリューキャップ用ネジ口褐色広口ガラス瓶（容量 100～300 mL）又はこれと同等以上のもの。洗浄後、水ですすぎ、乾燥する。アセトン及び *n*-ヘキサンで洗浄し、乾燥する。キャップを堅くしめ、汚染のない場所に保管する。

- ・ガラス器具：洗浄後、水ですすぎ、乾燥する。さらに、アセトン及び *n*-ヘキサンで洗浄し、乾燥する。
- ・試験管ミキサー
- ・GC/MS：キャピラリーカラムの取付可能な GC 付き四重極型、二重収束型又はこれらと同等以上の性能を有する MS。

5 試料採取

(1) 水質試料

試料採取容器を試料で数回共洗いしてから、試料を泡立たないように静かに採取容器に満たし、直ちに密栓する。このとき、瓶内に空気層を残さないよう注意する。試料は遮光して運搬し、試験操作は試料採取後直ちに行う（注 10）。

(2) 底質試料

平成 15 年度の「要調査項目等調査マニュアル」の「Ⅲ. 試料の採取、運搬、調製にかかわる一般事項」に従い試料を採取後、すみやかに孔径 2 mm（8.6 メッシュ）のフルイで篩別し、20 分間の遠心分離（3,000 rpm）で間隙水を除き、直ちに試験操作を行う（注 10）。直ちに操作を行えない場合には、間隙水を除いた試料に 0.1N 塩酸を添加（試料 100g に対し 50ml の割合）して混合後、保存容器に 8 割程度採り、キャップをして汚染のない冷暗所で凍結保存する。なお、試料の運搬時は遮光する。

6 試験操作

(1) 前処理

(ア) 水質試料

試料 1 L に塩化ナトリウム 30 g を添加して混合し、固相ディスクに 50~100 mL/分で通水する。固相ディスクを水 10 mL で洗浄し、アスピレーターで 3 分間吸引して脱水する。固相ディスクをアセトン 2mL で溶出し、続いてジクロロメタン 10 mL で溶出する。なお、

試料中の浮遊物が多い場合は、予め試料をガラス繊維ろ紙でろ過し、得られたろ液を固相に通水する。浮遊物はアセトン/ジクロロメタン（1+2）20ml で超音波抽出を 15 分間行い、得られた抽出液の遠心上澄をろ液の溶出液にあわせる。溶出液 を無水硫酸ナトリウムで脱水した後、清浄な窒素ガスを穏やかに吹き付けて約 1 mL としたものを試料前処理液とする。なお、試料中の夾雑物が少ない場合はこれを 1ml に定容し、内標準を加えて測定用試料液とする。

（イ）底質試料

5（2）により試料採取後速やかに間隙水を除いた試料20gを遠沈管に秤量し、0.1N塩酸10mlを加えて混和する（ただし、5（2）で凍結保存した試料の場合はこの操作を省略する）。3000rpmで遠心分離（20分間）を行い、上澄を除いた試料にサロゲート溶液を添加する。硫酸銅溶液50mlを加えて5分間振とうする。アセトン50mlを加えて密栓し、10分間振とう抽出後、3000rpmで遠心分離（10分間）を行い上澄を分取する。残さにアセトン50mlを加えて抽出操作を繰り返し、上澄みを分取してあわせ、5%塩化ナトリウム水溶液500mLを加える。得られた溶液をジクロロメタン（100ml、次いで50ml）で2回振とう抽出し、ジクロロメタン層を分取する。これを無水硫酸ナトリウムで脱水し、ロータリーエバポレータで約3mlまで濃縮する。濃縮液にヘキサン20mlを加え、ロータリーエバポレータ及び窒素吹き付けにより約1mlに濃縮したものを試料前処理液とする。

（2）試料液の調製

試料前処理液をフロリジルカートリッジに負荷する。ヘキサン 30ml で溶出し、負荷時のものも含めて溶出液を分取する（溶出液 1；ペンタクロロベンゼン及び 1-フェニル-（1-ジメチルフェニル）-エタン類の画分）。次に 5%アセトン/ヘキサン 30ml で溶出する（溶出液 2；ニトロアニソール、ジニトロベンゼン及びアントラキノンの画分）。溶出液にそれぞれ窒素を吹き付けて濃縮し、1ml に定容後、内標準を加えたものを測定用試料液とする。

（3）空試料液の調製

水質試料は試料と同量の水、底質試料は硫酸銅溶液 50ml を用い、それぞれ「6. 試験操作」に従って試料と同様の処理をして得た試料液を空試料液とする（注 11）。

(4) 添加回収試験液の調製

水質試料 1 L または底質試料 20 g に、各対象物質を検出下限の 5~10 倍量添加し、十分混合した後、試料の前処理及び試料液の調製の項に従って得られた試料液を添加回収試験液とする。

(5) 標準液の調製

標準混合原液を順次 ヘキサンで希釈し、0.01~0.5 µg/mL 程度の濃度の標準溶液を作製する (注 12)。

(6) 測定

(ア) GC/MS 条件の例 (注 13)

(a) GC

- ・カラム：50%フェニルメチルシリコン化学結合型カラム (注 14) または 14% シアノプロピルフェニルメチルシリコン化学結合型カラム (注 15) または 5%フェニルメチルシリコン化学結合型カラム (注 16) で内径 0.2~0.75 mm、長さ 15~30 m、膜厚 0.1~3µm 程度のもの、または同等以上の分離性能をもつもの
- ・カラム温度：50 °C (1分) →20 °C/分→250 °C→10 °C/分→300 °C (10分)
- ・注入口温度：280°C
- ・キャリアガス：ヘリウム (線速度 40 cm/秒)
- ・注入法：スプリットレス (1分後パーズ開始)

(b) MS

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

(c) 定量イオンの例 (注 17、18)

・1,4-ジニトロベンゼン	168	(122)
・1,2-ジニトロベンゼン	168	(120)
・1,3-ジニトロベンゼン	168	(122)
・0-ニトロアニソール	153	(106, 123)
・m-ニトロアニソール	153	(107, 92)
・p-ニトロアニソール	153	(123, 92)

・ペンタクロロベンゼン	250	(252, 215)
・1-フェニル- (1-ジメチルフェニル) エタン	195	(210)
・アントラキノン	208	(180, 152)
・1,3-ジニトロベンゼン-d ₄	172	
・ペンタクロロベンゼン- ¹³ C ₆	256	
・アントラキノン-d ₈	216	
・ニトロベンゼン-d ₅	128	
・ナフタレン-d ₈	136	
・フルオレン-d ₁₀	176	
・フェナントレン-d ₁₀	188	
・ヘキサクロロベンゼン- ¹³ C ₆	290	
・クリセン-d ₁₂	240	

() のイオンは確認用に用いる。

(イ) 検量線

各標準液 1 mL に内標準を添加し、その一部を GC/MS に注入する (注 19)。内標準と対象物質の面積比を求め、検量線を作製する (注 20)。

(ウ) 試料液の測定

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

7 同定、定量及び計算

(1) 同定

対象物質、サロゲート及び内標準について、定量イオン及び確認イオンが、検量線作成に用いた標準物質などの保持時間の±5 秒以内に出現し (注 21)、確認イオンの強度比が検量線作成に用いた標準物質などにおける強度比の±20 %以下であれば、対象物質などが存在していると見なす。

(2) 定量及び計算

測定用試料液及び空試料液について内標準と対象物質の面積比を求め、対象物質の濃度を内標準法で求める。次式で試料中の各対象物質濃度を計算する (注 22)

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

$$\text{底質：濃度 } (\mu\text{g/kg}) = (\text{検出量 } (\text{ng}) - \text{空試料液の検出量 } (\text{ng})) \times \text{測定用試料液量 } (\text{mL}) \\ \div \text{注入量 } (\mu\text{L}) \div \text{試料量 } (\text{g}) \times 1000$$

8 分析精度管理

本マニュアルの「Ⅱ. 分析精度管理」に従い、標準作業手順を設定し、器具・装置の性能評価と維持管理を徹底し、その結果を記載しなければならない。

9 注意事項

- (注 1) 使用前に空試験を行い、使用の適否を確認すること。
- (注 2) 妨害が認められる場合は、500～700℃で8時間程度加熱後、汚染のない場所で冷却して用いる。
- (注 3) 純度を確認した工業製品を用いてもよい。
- (注 4) これらのうち、適当なものを使用する。他に適当な物質があればサロゲートとして用いてよい。
- (注 5) サロゲートとして示した物質のうちの一部を内標準として用いてもよい。他に適当な物質があれば内標準として用いてよい。
- (注 6) 長期の保存はさける。保存した標準原液は、純度を確認してから使用する。
- (注 7) 例えば SDB-XD など。使用前にジクロロメタン 10ml、メタノール 10ml 及び水 20ml でコンディショニングする。(備考1)。
- (注 8) 例えば Sep-Pak Plus フロリジルなど(備考1)。フロリジルは、カートリッジ中の微量な水分の違い等により溶出パターンが大きく異なる場合があることから、一連の試験操作では必ずロットや保管条件などが同一のものを用い、予め溶出パターンを確認しておく。
- (注 9) 使用前に空試験を行い、使用の適否を確認すること。
- (注 10) ニトロベンゼン及びニトロアニソール類は試料(特に底質試料)中の微生物活性により分解(ニトロ基の還元)を受けやすいことから、試験操作は採取後速やかに行う。また、底質試料は間隙水を除いた後、直ちに塩酸処理を行い、微生物活性を抑制する。アントラキノン(Anthracene)は光により分解するという報告があるため、運搬時は遮光に留意する。
- (注 11) 空試験値については可能な限り低減化を図る。特に、対象物質のうち1-フェニル

- (1-ジメチルフェニル) -エタン類はブランクが検出され易いことから、予め空試験値を確認するとともに使用する器具、試薬、装置及び実験室内空気等に十分留意し、ブランク値及びその変動の低減化に努める。

(注 12) 試料中の対象物質濃度や試験操作条件に応じて適切な濃度範囲とする。

(注 13) 共存する他の物質の影響を受けないよう GC 条件を十分検討する。対象物質のうちジニトロベンゼン類の測定では、50 % フェニルメチルシリコン化学結合型カラムまたは 14 % シアノプロピルフェニルメチルシリコン化学結合型カラムを用いることが望ましい。また、試料注入部やカラムなどに対象物質が吸着することがあるので、材質や汚れなどに注意する。

(注 14) 例えば DB-17、HP-50+、SPB-50 など (備考 1)。

(注 15) 例えば DB-1701、Rtx-1701 など (備考 1)。

(注 16) 例えば DB-5、HP-5、SPB-5 など (備考 1)。

(注 17) ここに示す測定イオン例を参考にして、最適な定量用イオンを選定する。定量用イオンと異なる質量数のイオンを対象物質の確認用イオンとする。

(注 18) 定量に用いる内標準は、原則として対象化合物の保持時間に最も近いものを用いる。

(注 19) GC/MS への注入量は装置に応じて適切な量とする。

(注 20) サロゲートを用いた場合は、内標準のかわりにサロゲートを用いて定量を行い、内標準をサロゲートの回収率の確認に用いてもよい。

(注 21) 測定用試料中に夾雑物が多い場合には、保持時間が変わることがあるので注意する。

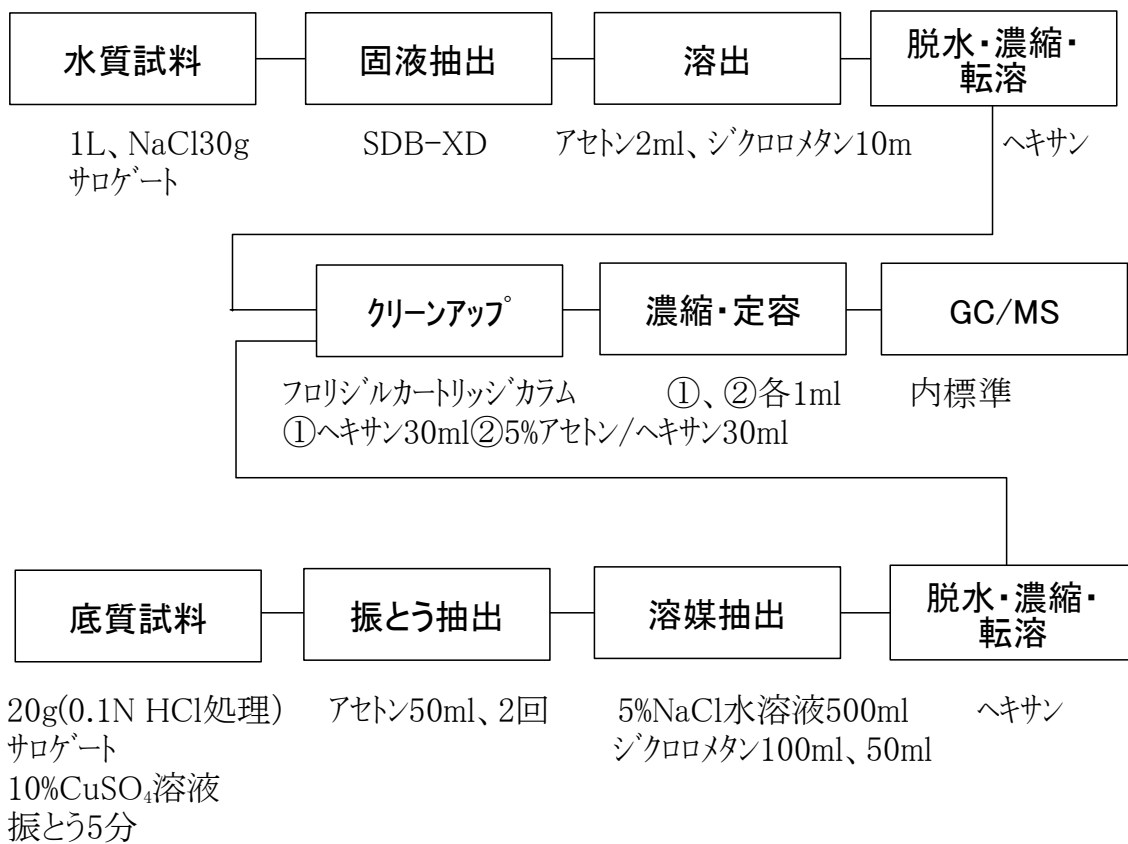
(注 22) GC/MS への注入量は装置に応じて適切な量とする。

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

参考文献

- 1) 北九州市環境科学研究所：平成 5 年度化学物質分析法開発調査報告書 p.192、環境庁環境保健部環境安全課（平成 6 年）
- 2) 岡山県環境保健センター：平成 2 年度化学物質分析法開発調査報告書、p.60、環境庁環境保健部環境安全課（平成 3 年）
- 3) 大阪府公害監視センター：平成 2 年度化学物質分析法開発調査報告書、p.44、環境庁環境保健部環境安全課（平成 3 年）
- 4) 長野県衛生公害研究所：昭和 62 年度化学物質分析法開発調査報告書、p.18、環境庁環境保健部環境安全課（昭和 63 年）
- 5) 愛知県公害調査センター：昭和 57 年度化学物質分析法開発調査報告書、p.75、環境庁環境保健部環境安全課（昭和 58 年）

分析法フローチャート



viii. 塩素酸、過塩素酸、臭素酸の分析法

1 対象物質

水質試料中の溶存体の塩素酸、過塩素酸、臭素酸各イオン

2 目標定量下限値（装置に依存する） (μg/L)

	IC/MSMS (注 1)	LC/MS
塩素酸イオン (ClO_3^-)	0.5	1
過塩素酸イオン (ClO_4^-)	0.5	1
臭素酸イオン (BrO_3^-)	0.5	1

3 分析法の概要

必要に応じて異なる種類の固相カートリッジ処理を行って共存妨害物質を除去した上で、イオンクロマトグラフ IC あるいは高速液体クロマトグラフ LC を分離手段とし、質量分析計 (MS 或いは MSMS) を検出手段とする IC(LC)/MS ないし IC(LC)/MSMS 法で定量する。

4 試薬、器具及び装置

(1) 試薬

- ・ 対象物質：対象イオン種を含む塩の市販特級品（例えば塩素酸カリウム、過塩素酸カリウム、臭素酸カリウム（注 2）；臭素酸カリウムは純度 99.8%以上、それ以外は純度 99.5%以上のものが入手可能）。
- ・ 内標準物質（サロゲート）：市販の入手可能なもの
- ・ メタノール：市販の HPLC グレード品
- ・ ギ酸：市販の HPLC グレード品
- ・ 精製水：市販の HPLC グレード品、または蒸留操作ないし超純水製造装置等で製造した同等レベルのもの。

(2) 器具及び装置

- ・ 固相カートリッジ（注 3）：OnGuard II H（ダイオネクス；内容積 1ml）、OnGuard II Ba（ダイオネクス；同 1ml）、OnGuard II Ag（ダイオネクス；同 1ml）。
- ・ その他ガラス器具、プラスチック類は丁寧に洗浄し、汚染のブランクのないもの。

5 試料の採取・運搬

採水は一般的なモニタリング手法に準じて行う。代表性の確保に留意しながら実施する。採取容器は、ポリプロピレンなどのプラスチック製或いは硬質ガラス製で、検出可能なブランクのないことをあらかじめ確認したものを用いる。採水にあたっては、手、手袋、ロープなど、採水、保存容器以外の器具類が水に触れないよう、また周辺の土壌や植物などが混入することのないよう十分注意して操作する。あらかじめ洗ってブランクのないことを確認した容器を採取した水でも洗いした後、あふれるまで注ぎ入れて表面の浮遊物を除いた後、ふたをして密閉状態で持ち帰る。微生物作用などで化学形態が変化することを避けるため、採取後できるだけ迅速に、できればその日のうちに測定を実施する（注 4）。低温下（凍らせないこと）で輸送、並びに分析までの保管を行う。その際、温度変化にともなう体積変化で割れることがあるため、大型のガラス容器は使用を避けた方がよい。

6 試験操作

(1) 前処理並びに試験液の調製

前処理直前にコンディショニング（精製水 10 mL を通水）を行った OnGuard II カートリッジにポリプロピレン製注射筒を用いて毎分 2 mL 程度の速度で試料水を通水させる。通水させた試料水のうちの最初の 6 mL 分は廃棄し、つぎの 1 mL 分を測定用ガラス製バイアルに直接分取する。なお、清浄な水質試料でベースラインのうねりなどが認められない場合、直接採水容器から試料水の一部を分取して測定してもよい。

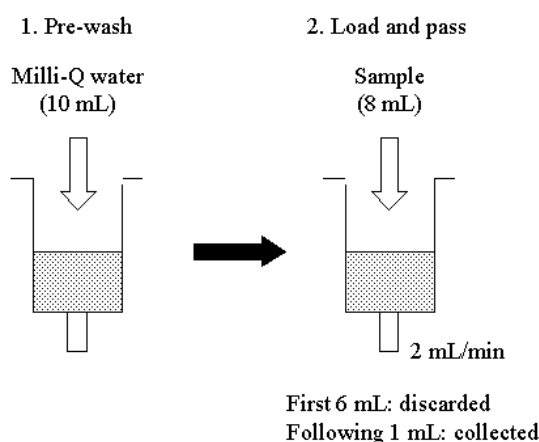


図 1 カートリッジを用いた前処理

なお、OnGuard II H と OnGuard II Ba を連結させる場合には、Ba が上段（試料水がはじ

めに通水されるカートリッジ) となるように配置する。或いはあらかじめ組み合わせたタイプの市販カートリッジを用いても良い。

汽水域或いは海水の混ざった工業排水を含む水など塩素イオンを多量に含む水質試料の場合は、OnGuard II Ag を用いてあらかじめ塩素イオンを除いてから前処理、測定を実施する。また、懸濁体が多く、固相カートリッジが目詰まりをおこして前処理に困難をきたすような場合には、清浄な遠沈管に試料を採取して遠心操作を行うか、あらかじめ十分に洗浄したガラスファイバーフィルターでろ過するなどして沈殿の大部分を除去してから前処理操作を実施する。

(2) 空試験液の調製

精製水を用いて試料と同じ前処理操作を行い、操作ブランク測定用の空試験液とする。なお、精製水をあらかじめ充填した輸送容器を現地に送り、採水時にふたをとってまた閉じる操作を行って実試料と一緒に持ち帰り、試料と同じ前処理を実施して、トラベルブランク測定用の空試験液とする。

(3) 添加回収試験液の調製

精製水、並びに実試料に対して一定濃度(注5)になるよう標準液を添加し、添加回収試験液とする。具体的には目標濃度の100倍濃度の標準液を試験水100に対して1(体積比)の割合で加えてよく混合する。あわせて、比較対象として純水を同じく体積比で1/100加えた溶液を作成する。それぞれ前処理操作を行い、試験液とする。

(4) 標準液の調製

99.5%以上の純度を有する塩素酸カリウム、過塩素酸カリウム、臭素酸カリウムをそれぞれ146.9mg、139.3mg、130.6mg 精秤し、水1リットルに溶解する(塩素酸、過塩素酸、臭素酸イオンそれぞれ100 μ g/L)。これを適宜希釈して検量線用標準液を作成する。なお、これらはいずれも有害性をもち(塩素酸カリウムは劇-Ⅲ)、また酸化性を持つ(いずれも危1-I)物質で、その取り扱いには十分注意すること。

(5) 測定

(ア) IC/MSMS の例

IC 条件

- ・ 装置 ICS-3000 (ダイオネクス)
- ・ カラム IonPac AG20 (φ 2mm)+AS20 (φ 2mm)
- ・ 溶離液 水酸化カリウム水溶液 10~80mM (0~22 分グラディエント)
- ・ 溶離液流量 0.25ml/min
- ・ カラム温度 35 度
- ・ サプレッサー ASRS ULTRA II (2mm)
- ・ 電流 55mA
- ・ 注入量 100μL
- ・ ポストカラム 0.2mL/min 注入 (90%アセトニトリル : 10%精製水)

MSMS 条件

- ・ 装置 3200 Q TRAP (アプライドバイオンシステムズ)
 - ・ イオン化法 エレクトロスプレーイオン化 (ネガティブ)
 - ・ 温度 700 度
 - ・ Ion Spray 電圧 -4500V
 - ・ 測定モード MRM (注 6)
 - ・ 測定質量数 (m/z) 並びに MSMS 条件
 - 塩素酸イオン 83 (M) / 67 (M-O) (定量用) ; -45V (DP)、-28V (CE)
85 (M) / 69 (M-O) (確認用) ; -40V (DP)、-28V (CE)
 - 過塩素酸イオン 99 (M) / 83 (M-O) (定量用) ; -55V (DP)、-34V (CE)
101 (M) / 85 (M-O) (確認用) ; -40V (DP)、-32V (CE)
107 (M) / 89 (M-O) (安定同位体ラベルサロゲート)
; -55V (DP)、-38V (CE)
 - 臭素酸イオン 129 (M) / 113 (M-O) (定量用) ; -45V (DP)、-30V (CE)
127 (M) / 111 (M-O) (確認用) (注 7)
; -40V (DP)、-28V (CE)

(イ) LC/MS 測定条件の例

LC 条件

- ・ 装置 アジレント 1200

- ・ カラム IonPac AG21 (2×50mm) +AS21 (2×250mm)
- ・ 溶離液 A, 73mM 炭酸アンモニウム・20mM 水酸化アンモニウム溶液
B, アセトニトリル
- ・ 溶離液流速 0.2 mL/min (A:B=55:45)
- ・ 注入量 100 μL
- ・ カラムオープン温度 35 度

MS 条件

- ・ 装置 アジレント 6130 SQ
- ・ イオン化法 エレクトロスプレーイオン化 (ネガティブ)
- ・ 測定モード SIM
- ・ フラグメンター電圧 125 V
- ・ キャピラリ電圧 4200 V
- ・ ネブライザー圧力 N₂ (50 psi)
- ・ 乾燥ガス流量 N₂ (10.0 L/min)
- ・ 測定質量数 (括弧内は確認用) (m/z)
 - 塩素酸イオン 83 (85)
 - 過塩素酸イオン 99 (101)
 - 107 (安定同位体ラベルサロゲート)
 - 臭素酸イオン 129 (127) (注 7)

(ウ) 検量線

作成した標準液 (いずれも 100μg/L) を適宜希釈して、0.1~10μg/L 前後の範囲で数点標準溶液を作成し、検量線を作成する。なお、検量線の範囲については実際に利用するそれぞれの装置の定量下限にあわせて最低濃度を設定し、検量線の直線範囲を確認した上で、その範囲内に最高濃度を設定する (注 8)。また、安定同位体ラベルの内標準物質 (サロゲート) が利用できる物質については、検量線標準液並びに試料液のすべてに最終溶液濃度が一定濃度 (IC/MSMS では 1 μg/L、LC/MS では 10 μg/L 前後を目安とする) になるようサロゲートを加え、同位体希釈法に基づき定量を実施する。

(エ) 試料液の測定

6. (1) 前処理並びに試験液の調製の記載に基づき作成された試料液を用いて、6. (5) 測定の記載に基づき測定し、以下の手順に従って同定、定量を行う。

7 同定、定量及び計算

(1) 同定

各イオンの同定はその保持時間並びに定量イオン、確認イオンの強度比（注9）をもとに行う。なお、条件によっては試料中の共存イオンの影響などで保持時間が変動する可能性がある。そのため、保持時間が多少ずれても定量イオンと確認イオンの強度比が許容範囲内に入る試料については、念のためそのピークに相当する濃度の100倍程度の標準液を1/100量添加して再度測定を行い、添加試料のピーク位置が当初のものと一致するかどうかで判定を行う。

(2) 定量及び計算

定量操作は測定結果と検量線を比較して行う。検量線の範囲を超えたために希釈操作を行った試料については、希釈倍率を補正して元の試料中濃度を求める。

なお、サロゲートが利用可能な場合は、サロゲートを試料液並びに検量線標準液のすべてに同じ濃度となるよう添加し、サロゲートとのピークの比をとって作成した検量線と実試料の測定結果の比とを比較して同位体希釈法によって定量を行う。

8 分析精度管理

以下の項目の測定を行い、データの精度管理のための基礎資料としてデータの採否の判定ならびに評価を実施する。

(1) 操作ブランク、トラベルブランクの測定

空試験液を用いてあらかじめ操作ブランクを測定し、定量可能な操作ブランクのないことを確認した上で実試料の測定を進める。実試料測定中も間に適当な間隔（注10）で操作ブランクを確認する。また、一定比率（注10）でトラベルブランクの測定を実施する。

定量可能な操作ブランクまたはトラベルブランクが検出された場合は、その原因究明並びに排除に努める。どうしてもブランクが残る場合、その繰り返し再現性をもとに定量下限値の計算を行い、それ以下のデータは採用しない。また、ブランクの平均値を計算して実試料の測定結果とならべて表示し、データの信頼性の評価を行う。

(2) 回収率の測定

サロゲートを利用した同位体希釈測定を行う場合、実試料におけるサロゲートのピーク面積と標準液とを比較して、見かけのサロゲート回収率を計算する。半分以下、或いは5割増し以上などの極端にずれた回収率が得られた場合はその原因究明に努め、必要に応じて前処理操作を追加するなどの作業を行って、信頼性の高い測定の実施に努める（注 11）。

(3) 二重測定

測定試料の総数にもよるが、総数の数%程度の実試料について二重測定を実施し、結果を比較する。同程度の濃度の標準液の繰り返し測定に比較して有意に再現性が悪い場合は、その原因究明に努める（注 12）。

(4) 標準添加試験

測定試料の総数にもよるが、総数の数%程度の実試料を選んで標準添加試験を実施し、添加回収率を確認する（サロゲート添加による同位体希釈測定を行っているイオンの場合は省略してよい）。添加回収率が 100%から大きくずれる場合は、原因の究明に努め、必要に応じて前処理操作を追加するなどして、信頼性の高い測定の実施に努める（注 11）。前処理操作によってもよい添加回収率が得られない場合は、回収率補正をおこなう（標準添加法）。

(5) 定量下限値の確認

装置のノイズレベルに対して、 $S/N=10$ 程度の低濃度の標準液を繰り返し測定し、その変動から装置の検出下限値 (IDL: Instrument Detection Limit) 並びに定量下限値 (IQL: Instrument Quantification Limit) を算出する（注 13）。IQL と同程度の濃度の標準液について前処理操作を行い、測定を繰り返し実施して、得られた測定値の変動に基づき分析方法の検出下限値 (MDL: Method Detection Limit) を算出する（注 14）。MDL を求める測定において得られる標本標準偏差 ($\sigma_{n-1,M}$) を 10 倍して得られる数値を分析方法の定量下限値 (MQL: Method Quantification Limit) とし、それ以上の実測値を定量値として採用する。また、MQL 未満、MDL 以上の値を参考値として表示し、MDL 未満は検出下限以下 (ND) と表示する。

なお、どうしても操作ブランクないしトラベルブランクが検出される場合は、これらの

変動を元に上記の MDL、MQL を決定し、実試料のデータを上記に基づき扱う。

(6) 検量線の直線範囲の確認

上記の定量下限値を最低濃度として、様々な濃度の標準液を作成し、測定を行う。結果を表示し、濃度とピーク面積が直線の範囲を確認し、その範囲内で検量線を作成して定量を行う。

(7) 内部精度管理用試料の作成と定期的な分析の実施

装置の安定性の確認、検量線用の標準液の信頼性の確認など、長期にわたる測定結果の信頼性評価のために、基準となる標準液を大量に作成して保存しておき、定期的に測定を行って値をチェックする。また、外部の認証機関が実施する適当な精度管理事業があれば定期的に参加して値を確認するなど、なんらかの外部精度管理も定期的の実施することが望ましい。

9 注意事項

- (注 1) ここでは目標下限値を 0.5ppb としたが、装置によっては、さらに低い値も達成可能である。使用するそれぞれの装置について上記の手法で MQL を求め、この値を含む検量線を作成してその直線性が確認できれば、その値を実際の定量下限値として検量線の直線範囲で定量操作を進めることができる。
- (注 2) これらの塩はいずれも酸化性、有害性を持つため、取り扱いに注意する。あらかじめそれぞれの物質の MSDS（化学物質等安全データシート）を確認して取り扱い上の注意点を確認し、法令に則った扱いをするとともに、万一の事故時の対応体制を取った上で分析作業を行うこと。
- (注 3) OnGuard II H はアルカリ金属、アルカリ土類金属等のカチオンの除去、OnGuard II Ba は硫酸イオンの除去、OnGuard II Ag はハロゲンイオンの除去に用いる。これらを複数組み合わせたタイプもある。なお、必要に応じて用いるカラムの種類のほか、容量や数を調節する。
- (注 4) 嫌気性微生物の影響を受けやすいとの報告があり、実試料の場合は試料によって安定性が大きく異なってくる可能性がある（参考文献 4）。特に、臭素酸は実試料において濃度低下を引き起こしやすく、採取した当日にできるだけ速やかに分析

することが望ましい。なお、過塩素酸は安定で、標準液は冷蔵庫で少なくとも1ヶ月以上安定であった（参考文献4）。また、実試料でも3ヶ月は安定であったと報告されている（参考文献3）。

- (注5) IC/MSMS の場合は1 $\mu\text{g/L}$ 程度となるよう、また LC/MS の場合はその10倍程度を目安として添加量を決める。なお、実試料中の濃度がこれらの値を越える場合は、実試料と同程度の添加量になるよう調製する。その際、添加試料の総濃度が検量線の範囲を超えないよう注意し、越える場合は他の適当な試料水を選ぶ。
- (注6) MRM の Q1/Q3 の数値、各種電圧値は、機器によって最適な値が異なるため、使用する機器によって最適な条件を用いる。
- (注7) 臭素の2つの安定同位体 ^{79}Br と ^{81}Br はほぼ1 : 1の割合で存在するため、臭素酸イオンの定量、確認イオンは逆でもかまわない。
- (注8) 定量は検量線の範囲内で行う。それを越える試料については、精製水で適宜希釈して検量線の範囲内に入るよう調整した上で、定量を行う。
- (注9) それぞれのイオンについて、ピーク位置、ピーク形状ともに標準と差がなく目視で重なる妨害ピークがないと判断され、定量、確認各イオンのピークの面積比が標準液の場合の比率の $\pm 20\%$ 以内に入るものを定量対象とする。
- (注10) これらの測定対象イオン種は操作過程での汚染の恐れが少ないものであるが、多数の試料測定を行う場合は、例えば10~20試料に1回程度の割合で定期的に操作ブランク、トラベルブランクを測定し、問題がないことを確認しておくことが望ましい。なお、固相カートリッジ処理を行う場合は、あらかじめ数個をランダムに選んで操作ブランクのないことを確認する。また、カートリッジや用いる試薬のバッチが変わるたびに、操作ブランクのでないことをあらかじめ確認しておく。
- (注11) LC/MS、LC/MSMS 法では、共存イオンの影響でイオン化効率が大きく変動して、見かけの回収率がかわることがある。回収率の結果が大きくずれる場合、最終試験液に対して標準添加試験を実施することで、イオン化効率の変動が原因かどうかの判断ができる（この場合、添加後は前処理操作は行わない）。適当な固相カートリッジによる前処理操作を追加することにより、原因となる共存イオンを除き、正常なイオン化効率、回収率が得られることが期待される。また、測定対象イオンの濃度が十分高い場合は、試験液を精製水で希釈することにより、共存イオンの影響を無視できるところまで濃度を下げられる可能性もある。

(注 12) 再現性が実試料で悪くなる原因としては、突発的なブランクの発生、或いは試料溶液におけるなんらかの不均一性が考えられる。操作ブランクの確認、或いは試料溶液の丁寧な攪拌、懸濁体のろ過などの前処理を追加して二重測定を再度実施し、結果を確認する。

(注 13) 得られた分析値から標本標準偏差($\sigma_{n-1,I}$)を求め、次式より装置検出下限値を求める。

$$IDL = t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1,I} \times 2$$

IDL : 装置検出下限値

$t(n-1, 0.05)$: 危険率 5%、自由度 $n-1$ の t 値 (片側)

$\sigma_{n-1,I}$: IDL 算出のための測定値の標本標準偏差

なお、危険率 5% の t 値は下表の通りである。

表 Student の t 分布で危険率 5% での各自由度における t 値

繰り返し回数(n)	自由度(n-1)	$t(n-1, 0.05)$ 、片側
3 回	2	2.9200
4 回	3	2.3534
5 回	4	2.1318
6 回	5	2.0150
7 回	6	1.9432
8 回	7	1.8946
9 回	8	1.8595
10 回	9	1.8331

標準溶液の繰り返し分析の値は正規性を示していることが前提となるので、繰り返しの分析値に外れ値など異常値と判定される値が得られた場合は、装置の再調整を行い、再測定しなければならない。なお、IDL を求める測定において得られる標本標準偏差($\sigma_{n-1,I}$)を 10 倍して得られる数値を装置定量下限値 (IQL) と呼ぶ。

(注 14) 定量下限値 IQL 付近の濃度を持つ試料を用いて、所定の操作により分析を行い、得られた分析値を試料濃度に換算する。この操作を 7 回以上繰り返して、そのときの標本標準偏差($\sigma_{n-1,M}$)から次式により分析方法の検出下限値を求める。

$$MDL = t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1,M} \times 2$$

MDL : 測定方法の検出下限値

$t(n-1, 0.05)$: 危険率 5%、自由度 $n-1$ の t 値 (片側)

$\sigma_{n-1,M}$: MDL算出のための測定値の標準偏差

MDLは、使用する分析装置やその操作条件により異なるため、どのような装置を使用し、どのような操作条件であったかを併せて記載する。

参考文献

1. Snyder, S. A.; Vanderford, B. J.; Rexing, D. J. Trace analysis of bromate, chlorate, iodate, and perchlorate in natural and bottled waters. *Environ. Sci. Technol.* **2005**, *39*, 4586 - 4593.
2. Li, Y.; George, E. J. Analysis of perchlorate in water by reversed-phase LC/ESI-MS/MS using an internal standard technique. *Anal. Chem.* **2005**, *77*, 4453 - 4458.
3. Stetson S. J. et al. Stability of low levels of perchlorate in drinking water and natural water samples, *Anal. Chim. Acta*, **2006**, *567*, 108-113.
4. 浅見真理、小坂浩司、私信。
5. 浅見真理、小坂浩司、松岡雪子、鴨志田公洋：第9回日本水環境学会シンポジウム講演集、IC/MS/MS法を用いた環境水及び水道水中のハロゲン酸分析法と過塩素酸の検出、pp54、東京(2006)
6. 小坂浩司、浅見真理、松岡雪子、鴨志田公洋、国包章一：IC/MS/MSを用いた利根川流域の過塩素酸イオンの実態調査、環境システム計測制御学会誌、3、215-218(2006)

分析法フローチャート

