

要調査項目等調査マニュアル
(水質、底質、水生生物)

平成12年12月

環境庁水質保全局水質管理課

目 次

I. 調査対象物質一覧表.....	1
II. 分析精度管理	7
III. 試料の採取、運搬、調製にかかわる一般事項	13
IV. 分析法	
i. 金属類の分析法.....	20
ii. 揮発性有機物質の分析法（パージトラップ GC/MS 法）	36
iii. 揮発性有機物質の分析法（ヘッドスペース GC/MS 法）	49
iv. 水溶性物質の分析法（固相マイクロ抽出法、SPME 法）	61
v. 水溶性物質の分析法（活性炭抽出法）	71
vi. 置換ベンゼン類、有機酸エステル類、有機リン酸エステル類及び農薬類の分 析法.....	81
vii. フェノール類の分析法.....	100
viii. アニリン類の分析法.....	108
ix. 2,4-ジアミノトルエンの分析法.....	118
x. 4,4'-メチレンジアニリンの分析法.....	127
x i. エチレンジアミン四酢酸（EDTA）の分析法	136
x ii. クロロ酢酸類の分析法.....	146
x iii. アルデヒド類の分析法.....	163
x iv. 直鎖アルキルベンゼンスルホン酸（LAS）の分析法	172
x v. ニトロソアミン類の分析法.....	181
x vi. アクリルアミドの分析法	188
x vii. ポリオキシエチレン型非イオン界面活性剤の分析法.....	197

I. 調査対象物質一覧表

1 調査対象物質及びその分析法

分類	番号	目別番号 要調査項	物質名	分析法
金属	1	1	亜鉛及びその化合物（または総亜鉛）	電気加熱原子吸光法または ICP発光分析法または ICP質量分析法
	2	157	銅及びその化合物（または総銅）	
	3	246	ベリリウム及びその化合物（または総ベリリウム）	
揮発性有機物質	4	3	アクリル酸メチル	パーティックトラップGC/MSまたは ヘッドスペースGC/MSまたは 活性炭抽出法または 固相マイクロ抽出法(SPME法)
	5	3	アクリル酸エチル	
	6	3	アクリル酸ブチル	
	7	44	エピクロロヒドリン	パーティックトラップGC/MSまたは ヘッドスペースGC/MSまたは 固相マイクロ抽出法(SPME法)
	8	33	イソプレン	パーティックトラップGC/MSまたは ヘッドスペースGC/MS
	9	34	イソプロピルベンゼン（クメン）	
	10	50	塩化ベンジル（ベンジルクロライド）	
	11	56	1-オクテン	
	12	73	クロロ酢酸エチル（エチルクロロアセテート）	
	13	76	p-クロロトルエン	
	14	82	酢酸ビニル	
	15	85	酸化プロピレン（プロピレンオキシド, 1,2-エポキシプロパン）	
	16	91	1,2-ジエチルベンゼン	
	17	91	1,3-ジエチルベンゼン	
	18	91	1,4-ジエチルベンゼン	
	19	104	1,2-ジクロロベンゼン	
	20	104	1,3-ジクロロベンゼン	
	21	169	1,2,3-トリクロロベンゼン	
	22	169	1,2,4-トリクロロベンゼン	
	23	169	1,3,5-トリクロロベンゼン	
	24	194	二硫化炭素	
	25	240	ヘキサクロロブタジエン	
	26	254	ペンタクロロエタン	

注) パーティックトラップ GC/MS 法とヘッドスペース GC/MS 法では、一般的にパーティックトラップ GC/MS 法が検出限界値を低く得ることができる。調査目的に応じ、分析法を選択することが望ましい。

分類	番号	要調査項目 目別番号	物質名	分析法
水溶性物質	27	4	アクリロニトリル	活性炭抽出法または 固相マイクロ抽出法(SPME法)
	28	42	エチレングリコールモノメチルエーテル (2-メトキシエタノール)	
	29	42	エチレングリコールモノエチルエーテル (2-エトキシエタノール)	
	30	42	エチレングリコールモノブチルエーテル (2-ブトキシエタノール)	
	31	42	エチレングリコールモノエチルエーテルア セテート (2-エトキシエチルアセテート)	
	32	93	1,4-ジオキサン	
	33	206	ピリジン	
	34	3	アクリル酸2-ヒドロキシエチル	
	35	10	アセトニトリル	
	36	21	アリルアルコール	
	37	22	アリルグリシジルエーテル	
	38	127	ジメチルスルホキシド	
	39	130	<i>N,N</i> -ジメチルホルムアミド	
	40	217	1-ブタノール	
	41	230	1-プロパノール (ノルマルプロピルアル コール)	
	42	231	2-プロパノール (イソプロピルアルコー ル)	
	43	277	2-メチルピリジン (α -ピコリン, 2-ピコリ ン)	
	44	277	3-メチルピリジン (β -ピコリン, 3-ピコリ ン)	
	45	277	4-メチルピリジン (γ -ピコリン, 4-ピコリ ン)	

分類	番号	要調査 目別 番号	物質名	分析法
置換ベンゼン類 有機酸エステル類 有機リン酸エステル類 農薬類	46	77	<i>o</i> -クロロニトロベンゼン	溶媒抽出GC/MS
	47	77	<i>p</i> -クロロニトロベンゼン	
	48	110	2,4-ジニトロトルエン	
	49	110	2,6-ジニトロトルエン	
	50	3	アクリル酸2-エチルヘキシル	
	51	220	フタル酸ジアリル	
	52	220	フタル酸ジ- <i>i</i> -ヘプチル	
	53	220	フタル酸ジメチル (DMP)	
	54	220	フタル酸ジ(<i>n</i> -オクチル) (DNOP)	
	55	220	フタル酸ジ- <i>i</i> -ブチル	
	56	220	フタル酸ジ- <i>n</i> -ヘプチル (DHP)	
	57	299	リン酸トリキシレニル	
	58	299	リン酸トリクレシル (TCP)	
	59	299	リン酸トリス(イソプロピルフェニル)	
	60	299	リン酸トリス(2-エチルヘキシル)	
	61	299	リン酸トリス(2-クロロエチル)	
	62	299	リン酸トリフェニル	
	63	299	リン酸トリブチル (TBP)	
	64	60	カルボフラン	
	65	71	クロルピリホス	
66	131	シメトリン		
67	229	プレチラクロール		
68	290	モリネート		

分類	番号	要調査項目別番号	物質名	分析法
フェノール類	69	69	<i>o</i> -クレゾール	ペンタフルオロベンジル誘導体化GC/MS (EIまたはNCI)
	70	69	<i>m</i> -クレゾール	
	71	69	<i>p</i> -クレゾール	
	72	213	フェノール	
アニリン類	73	16	アニリン	アルカリ性で溶媒抽出GC/MS
	74	72	<i>o</i> -クロロアニリン	
	75	72	<i>m</i> -クロロアニリン	
	76	72	<i>p</i> -クロロアニリン	
	77	114	ジフェニルアミン	
	78	274	<i>N</i> -メチルアニリン	
	79	88	2,4-ジアミノトルエン (<i>m</i> -トルイレンジアミン)	ヘptaフルオロブチル誘導体化GC/MS
80	279	4,4'-メチレンジアニリン (4,4'-ジアミノジフェニルメタン)	トリフルオロアセチル誘導体化GC/MS	
エチレンジアミン四酢酸	81	43	エチレンジアミン四酢酸 (EDTA)	メチルエステル誘導体化GC/MS
クロロ酢酸類	82	74	モノクロロ酢酸	メチル誘導体化GC/MS 水質試料は メチル誘導体化GC/ECDも可
	83	74	ジクロロ酢酸	
	84	74	トリクロロ酢酸 (TCA)	
アルデヒド類	85	5	アクロレイン	PFBOA誘導体化GC/MS
	86	9	アセトアルデヒド	
	87	68	グルタルアルデヒド	
	88	249	ベンズアルデヒド	
	89	66	グリオキサール	
直鎖アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム (LAS)	90	24	直鎖アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム (LAS)	LC/蛍光またはLC/MS
ニトロソアミン類	91	189	<i>N</i> -ニトロソジフェニルアミン	溶媒抽出GC/MS (HR/MS)
	92	189	<i>N</i> -ニトロソジ- <i>n</i> -プロピルアミン (ジ- <i>n</i> -プロピルニトロソアミン)	
	93	189	<i>N</i> -ニトロソジメチルアミン	
	94	189	<i>N</i> -ニトロソモルホリン	
アクリルアミド	95	2	アクリルアミド	キサンチル誘導体化GC/MC
ポリオキシエチレン型非イオン界面活性剤	96	261	ポリオキシエチレン型非イオン界面活性剤	臭化エチレン化GC/MS

2 測定可能項目

(1) 分類ごとの測定可能項目

分類	番号	水質	底質	水生生物
金属	1～3	○	○	○
揮発性有機物質	4～26	○	○	○
水溶性物質(揮発性有機物質以外のもの)	27～45	○	○	×
置換ベンゼン類、有機酸エステル類、有機リン酸エステル類、農薬類	46～68	○	○	○
フェノール類	69～72	○	○	×
アニリン類	73～80	○	○	×
エチレンジアミン四酢酸	81	○*	○	○
クロロ酢酸類	82～84	○	○	○
アルデヒド類	85～89	○	○	×
直鎖アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム	90	○	○	×
ニトロソアミン類	91～94	○	×	×
アクリルアミド	95	○	○	×
ポリオキシエチレン型非イオン界面活性剤	96	○	○	×

注：複数の分析法が示されているものについては、いずれかの分析法で測定が可能であれば「○」とした。

*：海水以外

(2) 分析法ごとの測定可能項目

分類	分析法		番号	水質	底質	水生生物
金属	IV-i	電気加熱原子吸光法 ICP発光分析法 ICP質量分析法	1~3	○	○	○
揮発性有機物質	IV-ii IV-iii	パーティックトラップGC/MS ヘッドスペースGC/MS	4~26	○	○	○
	IV-iv	固層マイクロ抽出法	4~7 27~45	○	○	×
水溶性物質	IV-v	活性炭抽出法	4~6	○	×	×
			27~34	○	○	×
置換ベンゼン類、有機酸エステル類、有機リン酸エステル類、農薬類	IV-vi	溶媒抽出GC/MS	46~68	○	○	○
フェノール類	IV-vii	ヘンタフルオロベンゼン誘導体化GC/MS(EIまたはNCI)	69~72	○	○	×
アニリン類	IV-viii	アルカリ性で溶媒抽出GC/MS	73~78	○	○	×
	IV-ix	ヘプタフルオロブチル誘導体化GC/MS	79	○	○	×
	IV-x	トリフルオロアセチル誘導体化GC/MS	80	○	○	×
エチレンジアミン四酢酸	IV-x i	メチルエステル誘導体化GC/MS	81	○*	○	○
クロロ酢酸類	IV-x ii	メチル誘導体化GC/ECD メチル誘導体化GC/MS	82~84	○	×	×
				○	○	○
アルデヒド類	IV-x iii	PFBOA誘導体化GC/MS	85~89	○	○	×
直鎖アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム	IV-x iv	LC/蛍光またはLC/MS	90	○	○	×
ニトロソアミン類	IV-x v	溶媒抽出GC/MS(HR/MS)	91~94	○	×	×
アクリルアミド	IV-x vi	キサンチル誘導体化GC/MS	95	○	○	×
ポリオキシエチレン型非イオン界面活性剤	IV-x vii	臭化エチレン化GC/MS	96	○	○	×

* : 海水以外

II. 分析精度管理

要調査項目は、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）として設定されたものであり、水環境の汚染に起因する環境リスク対策を系統のかつ効率的に進めるうえで信頼性の高い環境測定データが不可欠となる。環境測定データの信頼性を確保するためには、適切な精度管理が必要となり、標準作業手順（SOP：Standard Operation Procedure）を作成するとともに、試料採取と分析操作に用いる器具・装置および測定値の評価と管理を適切に行わなければならない。

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 分析機器の測定条件の設定、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 器具・装置の性能評価と維持管理

（1）試料採取と運搬

本調査マニュアルの「Ⅲ. 試料の採取、運搬、調製にかかわる一般事項」に従い、予め測定に妨害を及ぼすことがないことを確認するとともに、操作ブランク値を可能な限り低減させるよう配慮する。試料は調査目的に応じた代表性を有するものであって、品質を維持するために器具類、材料および試薬類等を適切に管理し、その方法について説明ができるようにしておく。

（2）前処理操作と機器測定

（ア）標準溶液

測定値は、採取試料と標準物質の分析結果を比較することによって得られるため、結果

の信頼性を確保するためには、可能な限りトレーサビリティの保証された標準物質を用いる必要がある。

(イ) 前処理操作

試料を分析するに際して、適切な抽出、精製、濃縮といった前処理操作が必要であり、これらの操作の出来不出来が結果に大きく影響するので、予め、「IV. 分析法」のそれぞれの方法に記載された添加回収試験液を用いて試験を行い、回収率とその再現性を確認しておく。添加回収試験における回収率は 80～120%程度、サロゲート標準物質の回収率は 50～120%程度が望ましく、この範囲を大きく逸脱する場合はその原因を究明する。また、操作ブランクの有無と程度を確認し、その改善に努める。

(ウ) 分析装置の最適化

使用する分析装置は、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、感度とその直線性、安定性等の他、測定の誤差となる干渉の有無や大きさ、その補正機能等、十分信頼できる分析が可能かどうかを確認しておく。

感度は装置検出下限値 (IDL : Instrument Detection Limit) で評価する。最低濃度の検量線作成用標準液、もしくはシグナル/ノイズ (S/N) 比 5～15 程度の濃度の標準液を 5 回以上繰り返して測定し、得られた測定値から標準偏差を求め、その 2 倍 (t 検定片側、危険率 5%) を IDL とする。試料量、最終前処理液量、装置導入量等から、IDL の試料換算値を求め、この値が目標とする検出下限値以下であることを確認する。

(3) 測定値の品質管理と評価

(ア) 検出下限値 (MDL)

試料の分析に先立ち、次の試験を行って分析法の検出下限値 (MDL : Method Detection Limit) を求め、各分析法の目標とする MDL が達成できることを確認する。達成できない場合は、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、報告書にその手順を記載しておく。

① 空試験において対象物質が検出される場合

各分析法に示した空試験を 5 回以上繰り返す。個々の測定値を試料中濃度に換算し、標

標準偏差(s)から、次式により MDL を算出する。

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

ここで、 $t(n-1,0.05)$ は自由度 $n-1$ の危険率 5% (片側) の t 値であり、次表を与える。

繰り返し回数とその $t(n-1,0.05)$

繰り返し回数(n)	自由度(n-1)	$t(n-1,0.05)$ 、片側
5回	4	2.132
6回	5	2.015
7回	6	1.943

但し、空試験の測定値が高すぎたり、バラツキが大きければ、適切な MDL が算出できない。したがって、本法による MDL の算出は、次の事項の確認が前提となる。

- ・ 後述の「エ 操作ブランク試験」に示したように、汚染の原因を究明して操作ブランク値を可能な限り低減させておくこと。
- ・ 操作ブランク試験の繰り返し測定において、各測定値間のバラツキを十分に小さくし、安定化させておくこと。許容できるバラツキの目安は、“操作ブランク値の平均値±(目標 MDL の 1/2)” 以内である。

② 空試験において対象物質が検出されない場合

検量線の最低濃度の 2~5 倍 (又は IDL の 2~5 倍) になるように水質試料にあつては精製水に、底質および生物試料にあつては各分析法に記載の抽出溶媒に対象物質を添加して、所定の前処理、試料液の調製、測定の実行を行い、個々の測定値を求める。これらの値を試料中濃度に換算し、標準偏差(s)から、次式により MDL を算出する。

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

ここで、 $t(n-1,0.05)$ は自由度 $n-1$ の危険率 5% (片側) の t 値である。

(イ) 定量下限値

MDL の 3 倍値を測定方法の定量下限値とする。

(ウ) 装置の感度変動の日常チェック

1 日に 1 回以上、または 10 試料に 1 回以上、定期的に検量線の間程度程度の標準液を測定

して、装置感度が検量線作成時に比べて±20%以内であることを確認する。これを超えて変動する場合はその原因を精査して取り除いた後、それ以前の試料について再測定する。

(エ) 操作ブランク試験

操作ブランク試験は、試験液の調製または分析機器への導入操作等に起因する汚染を確認し、試料の分析に支障がない測定環境に設定するために行うものである。

操作ブランク値が大きいと測定感度が悪くなるばかりでなく、定量下限値が大きくなり測定値の信頼性が低下する。したがって、操作ブランク値は極力低減を図り、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。

(オ) 回収率測定

添加回収試験では、試料液中の濃度が定量下限値の 10 倍量程度となるよう測定対象の標準物質を試料マトリックスに添加して、所定の前処理、試料液の調製、測定を行い、回収率が概ね 80～120%の範囲にあることを確認する。同位体希釈法を用いた方法では、サロゲート標準物質の回収率は 50～120%の範囲である。但し、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てて行う。また、一連の試料の測定にあつて、前処理や試料液の調製に用いる試薬の製造メーカーあるいはロットが異なるなど、回収率が変化する可能性がある時には、回収率を再確認する必要がある。

(カ) 二重測定

試料採取、前処理操作および機器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。

(キ) トラベルブランク値の測定

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管理しておけば毎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しておく。

(ク) 異常値、欠測値の取扱い

分析装置の感度の変動が大きい場合、二重測定の結果が大きく異なる場合、トラベルブランク値が大きく試料の汚染の問題がある場合などは、測定値の信頼性に問題があるため、再測定を行ったり、欠測扱いとして再測定することなどを示した。このような問題が起こると、多大な労力、時間、コストがかかるだけでなく、異常値や欠測値が多くなると、調査結果全体の評価に影響するため、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。

(ケ) 測定操作の記録

以下の情報を記録し、整理・保管しておく。

- ・ 試料採取に使用する装置や器具の調整、校正及び操作。
- ・ 容器等の取り扱い及び保管の状況。
- ・ 採取対象の条件及び状況（採取方法、採取地点、採取日時）
- ・ 試料に関する調査項目（水質：pH、有機物濃度、懸濁物質量など、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）。
- ・ 試料調製条件。
- ・ 分析装置の校正及び操作。
- ・ 測定値を得るまでの各種の数値。

(4) 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 SOPに規定されていること
 - ・日常的点検、調整の記録（装置の校正等）。
 - ・標準物質等のメーカー及びトレーサビリティ、分析機器の測定条件の設定と結果。
- ② 検出下限値及び定量下限値の測定結果。
- ③ 操作ブランク試験およびトラベルブランク試験の結果。
- ④ 試料採取、前処理操作等の回収試験の結果。
- ⑤ 分析装置の感度の変動。
- ⑥ 分析操作の記録（試料採取から前処理・分析に関する記録）。

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、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ロ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、デシケータなどで再汚染の汚染のないよう放冷した容器とする。

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ロ試薬瓶を用いる。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）または珉瑯引き（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、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」
- 3) 環境庁水質保全局：「底質調査法」（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. 金属類の分析法

1 対象物質

ベリリウム、銅、亜鉛

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 目標検出下限値及び目標定量下限値

	水質 (µg/L)		底質 (mg/kg)		生物 (mg/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	目標検出 下限値	目標定量 下限値
ベリリウム	0.1	0.3	0.1	0.3	0.1	0.3
銅	0.5	1.5	0.5	1.5	0.5	1.5
亜鉛	5	15	5	15	5	15

3 分析法の概要

表2のいずれかの方法により単元素測定あるいは多元素同時測定を行う。

表2 分析法の一覧表

	単元素測定	多元素同時測定
ベリリウム	電気加熱原子吸光法	ICP 発光分析法
銅	電気加熱原子吸光法	
亜鉛	電気加熱原子吸光法	ICP 質量分析法

- ・電気加熱炉原子吸光法：試料を前処理した後、電気加熱炉で原子化し各元素による原子吸光を測定して定量する。
- ・ICP 発光分析法：試料を前処理した後、試料導入部を通して誘導結合プラズマ中に噴霧し、各元素による発光を測定して定量する（注1）。
- ・ICP 質量分析法：試料を前処理した後、内標準物質を加え、試料導入部を通して誘導結合プラズマ中に噴霧し、各元素と内標準物質のそれぞれの質量／荷電数におけるイオンの電流を測定し、各元素のイオンの電流と内標準物質のイオンの電流との比を求めて定量する。

4 試薬、器具及び装置

(1) 試薬

- ・ベリリウム：定量分析用標準物質または標準物質標準液
- ・銅：定量分析用標準物質または標準物質標準液
- ・亜鉛：定量分析用標準物質または標準物質標準液
- ・水：定量する元素について空試験を行なって使用に支障のないことを確認しておく。
- ・硝酸：有害金属測定用又は同等品
- ・塩酸：有害金属測定用又は同等品
- ・過塩素酸：有害金属測定用又は同等品
- ・硫酸：有害金属測定用又は同等品

(2) 器具及び装置

電気加熱原子吸光法

- ・電気加熱原子吸光分析装置：電気加熱炉方式でバックグラウンド補正が可能なもの
- ・ベリリウム中空陰極ランプ
- ・銅中空陰極ランプ
- ・亜鉛中空陰極ランプ
- ・プッシュボタン式液体用微量体積計または自動注入装置

ICP 発光分析法

- ・同時多元素分析型 ICP 発光分析装置またはシーケンシャル型 ICP 発光分析装置：バックグラウンド補正が可能なもの

ICP 質量分析法

- ・ICP 質量分析計

5 試料の採取・運搬

(1) 水質試料

水質試料は、予め水洗、硝酸（1+10）または塩酸（1+5）による酸洗浄を行い、精製水で濯いだポリエチレン、ポリカーボネートなどの合成樹脂製容器を用い、氷冷・遮光して、実験室へ持ち帰る。分析操作は可能な限り速やかに行い、試料容器中の全量を分析に供試する。やむを得ず保管が必要な場合は、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、硬質プラスチック製広口試薬瓶、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-20℃で凍結させる。保存する試料は乾燥試料・風乾試料が望ま
しい。

(3) 生物試料

採捕した生物試料は、ポリエチレン製袋に入れ、氷またはドライアイスで保冷したクー
ラーボックスに収納して、実験室に持ち帰る。生物試料の分析部位は、原則として筋肉組
織（可食部）である。生物試料の保存は-20℃での凍結による。保存試料は凍結乾燥試料
が望ましい。

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 試験操作及び同定、定量

(1) 前処理

(ア) 水質試料

河川水

共存物質により妨害を除去するための前処理方法として、工場排水試験公定法には、元
素定量のための前処理方法が記載されている。これらは共存する無機、有機物質の分解が
目的であり、元素によらずほぼ共通の方法である。検水の性状によって以下(a)～(d)の方法
があげられている。なお、溶存状態の成分のみを分析する場合には、採水直後にろ紙（た
とえば 5 種 C）、メンブランフィルターなどで濾過し、最初の約 50 mL を捨て、その後の
濾液を試料として分析する。

(a) 塩酸または硝酸酸性で煮沸

有機物や懸濁物質がきわめて少ない試料に適用する。

①試料 100 mL につき塩酸 5 mL または硝酸 5 mL の割合で加える。

- ②加熱して約 10 分間沸騰させる。
- ③放冷後、必要に応じて蒸留水で一定量にする。

(b)塩酸または硝酸による分解

有機物が少なく、懸濁物質として水酸化物、酸化物、硫化物、リン酸塩などを含む試料に適用する。

- ①試料をよく振り混ぜた後、直ちに分取し、試料 100 mL につき塩酸 5 mL または硝酸 5 mL の割合で加える。
- ②加熱して液量が約 15 mL になるまで濃縮する。
- ③不溶解物が残った場合は濾過し、蒸留水でよく洗浄する。
- ④濾液と洗液を合せて一定量にする。

(c)硝酸と過塩素酸による分解

酸化されにくい有機物を含む試料に適用する。

- ①試料をよく振り混ぜた後、適量をビーカー等にとり、硝酸 5～10 mL を加える。
- ②ホットプレート上で加熱濃縮し、液量が 10 mL 程度になったら放冷し、硝酸 5 mL を加え、過塩素酸（60%）10 mL を少量ずつ加える。
- ③過塩素酸の白煙を生ずるまで加熱を続け、その後時計皿などで覆いをして加熱を続ける。
- ④有機物の分解が完全に終了するまで②、③を繰り返し行う。
- ⑤放冷後、蒸留水を加え、不溶解物が残った場合は濾過後よく洗浄し、濾液と洗液を合せて一定量とする。

(d)硝酸と硫酸による分解

この方法は多種類の試料の前処理として適用できる。

- ①試料をよく振り混ぜた後、適量をビーカー等にとり、硝酸 5～10 mL を加える。
- ②ホットプレート上で加熱濃縮し、液量が 10 mL 程度になったら放冷し、硝酸 5 mL と硫酸（1+1）10 mL を加える。
- ③硫酸の白煙を生ずるまで加熱を続ける。
- ④有機物の分解が完全に終了するまで②、③を繰り返し行う。
- ⑤放冷後、蒸留水を加え、不溶解物が残った場合は濾過後よく洗浄し、濾液と洗液を合わせて一定量とする。

試料に含まれている有機物及び懸濁物の量、その存在状態及び適用しようとする分析法

を考慮して上記(a)～(d)のうち最も適当なものを選択して前処理を行う（注2）。調製した試料をそのまま噴霧する ICP 発光分析法を適用する場合には、特に断らない限り試料は塩酸または硝酸酸性（注3）、電気加熱原子吸光法及び ICP 質量分析法を適用する場合には硝酸酸性とし、適当な濃度に調節する。

海水

硝酸または塩酸で分解した後、ベリリウムは溶媒抽出法、亜鉛、銅は溶媒抽出法またはイオン交換法により分離する。

・ベリリウム

試料 500 mL をビーカーにとり、塩酸または硝酸 10 mL を加え約 10 分間煮沸する。放冷後、エチレンジアミン四酢酸・四ナトリウム (EDTA・4Na) 35 g、アセチルアセトン 3.5 mL を加え、アンモニア水で pH 8 に調製する。この溶液を分液ロートに移し、酢酸ブチル 50 mL で抽出分離した後、さらに水層を酢酸ブチル 30 mL で抽出分離する。有機層をテフロンビーカーへ移し蒸発乾固させ、硝酸 5 mL を加えてさらに 2 mL まで濃縮した後、蒸留水で定容する。

・銅、亜鉛

①溶媒抽出法

試料 500 mL をビーカーにとり、塩酸または硝酸 10 mL を加え、約 5 分間煮沸する。放冷後、分液ロートに移し、クエン酸水素ニアンモニウム溶液 (100 g/L) 10 mL 及び指示薬としてメタクレゾールパープル溶液 (1 g/L) 2、3 滴を加えた後、アンモニア水 (1+1) を色がわずかに紫になるまで加える。ジエチルジチオカルバミド酸ナトリウム溶液 (10 g/L) 5 mL を加えて振り混ぜた後、酢酸ブチル 10 mL で抽出し、さらに水層を酢酸ブチル 5 mL で抽出分離する。有機層をテフロンビーカーへ移し蒸発乾固させ、硝酸 2 mL、過塩素酸 2 mL を加えて加熱し、有機物を分解する。ほとんど乾固させた後、放冷し、残留物を硝酸 (1+15) で定容する（注4）。

②イオン交換法

試料 500 mL を硝酸分解した後、酢酸アンモニウム 3.8 g を加えた後、硝酸で pH 5.6 に調整する。この溶液をメタノール 2 mL、3N 硝酸 20 mL、精製水 50 mL×2 回、0.1 M 酢酸アンモニウム溶液でコンディショニングしたキレートディスクに通す。キレートディスクを精製水 20 mL で洗浄した後、3N 硝酸 10 mL でディスクに捕集された金属を溶出させる。

(イ) 底質試料

乾燥試料約 0.1 g を密閉式のテフロン容器に 1 mg の桁まではかり取る。硝酸 5 mL、塩酸 2 mL を加え、密閉して加熱装置に入れ、加圧分解する（注 5）。放冷後、溶液が淡黄色から白色になっていることを確認した後（注 6）、100 mL のテフロンビーカーに移し入れる。容器及びふたを少量の水で洗い、硝酸 2 mL を加え加熱溶解後、水 50 mL を加えて静かに加熱した後、不溶解物が沈降するのを待って、ろ紙 5 種 B でろ過し、ろ液を全量フラスコ 100 mL に受ける。ビーカー中の不溶解物を少量の水で洗浄し、洗液を先のろ紙上に移し入れる。この操作を 2～3 回繰り返す。ろ液を受けた全量フラスコ 100 mL に水を標線まで加える。

元素の濃度が低い場合、塩類の影響がある場合には、海水の前処理法の項に示された溶媒抽出法、イオン交換法を併用する。

(ウ) 生物試料

試料約 0.1 g を密閉式のテフロン容器に 1 mg の桁まではかり取る。硝酸 3 mL、純水 3 mL を加え、密閉して加熱装置に入れ、加圧分解する（注 5）。分解液を 100 mL のテフロンビーカーに移し入れ、容器及びふたを少量の水で洗い、この洗液もビーカーに入れる。これを蒸発乾固させた後、1%硝酸で定容する。

(2) 電気加熱炉原子吸光分析法

(ア) ベリリウムの電気加熱炉原子吸光分析法

(a) 概要

試料を前処理した後、電気加熱炉で原子化し、ベリリウムによる原子吸光を波長 234.9 nm で測定して、ベリリウムを定量する。この方法は共存する酸や塩の種類及び濃度の影響を受けやすいので、これらの影響の少ない試料、またはこれらを前処理で分離した試料に適用する。

定量範囲：5～50 $\mu\text{g/L}$

繰り返し分析精度：変動係数で 2～10%（装置、測定条件によって異なる）

(b) 標準液の調製

ベリリウム標準液（1 $\mu\text{g Be/mL}$ ）：ベリリウム標準液（10 $\mu\text{g Be/mL}$ ）10 mL を全量フラ

スコ 100 mL にとり、硝酸 (1+1) 2 mL を加え、水を標線まで加える。

(c)操作

試料を前処理法 (1) に従い処理し、JIS K0121 (原子吸光分析のための通則) の操作方に従い、プッシュボタン式液体用微量体積計または自動注入装置を用いて電気加熱炉に導入し、乾燥、灰化、原子化を行い、波長 234.9 nm の指示値を読む (注 7)。

(d)空試験

試料と同量の精製水を用いて、試料と同様に前処理、測定を行い、試料について得られた指示値を補正する。

(e)検量線

ベリリウム標準液 (1 $\mu\text{g Be/mL}$) 0.5~10 mL を全量フラスコ 100 mL に段階的にとり試料と同じ条件になるように酸を加えた後、水を標線まで加える。この溶液について(c)の測定操作を行い、ベリリウム (Be) の量と指示値との関係線を作成する。

(f)同定・定量

検量線からベリリウムの量を求め、試料中のベリリウムの濃度を算出する。なお、底質の試料量は乾燥試料量とする。

(イ) 銅の電気加熱炉原子吸光分析法

(a)概要

試料を前処理した後、電気加熱炉で原子化し、銅による原子吸光を波長 324.8 nm で測定して銅を定量する。この方法は共存する酸や塩の種類及び濃度の影響を受けやすいのでこれらの影響の少ない試料、またはこれらを前処理で分離した試料に適用する。

定量範囲 : 5~100 $\mu\text{g/L}$

繰り返し分析精度 : 変動係数で 2~10% (装置、測定条件によって異なる)

(b)標準液の調製

銅標準液 (1 $\mu\text{g Cu/mL}$) : 銅標準液 (0.1 mg Cu/mL) 10 mL を全量フラスコ 1000 mL にとり、硝酸 (1+1) 20 mL を加え、水を標線まで加える。

(c)操作

試料を前処理法 (1) に従い処理し、JIS K 0121 (原子吸光分析のための通則) の操作方に従い、プッシュボタン式液体用微量体積計または自動注入装置を用いて電気加熱炉に導入し、乾燥、灰化、原子化を行い、波長 324.8 nm の指示値を読む (注 7)。

(d)空試験

試料と同量の精製水を用いて、試料と同様に前処理、測定を行い、試料について得られた指示値を補正する。

(e)検量線

銅標準液 (1 μ g Cu/mL) 0.5~10 mL を全量フラスコ 100 mL に段階的にとり試料と同じ条件になるように酸を加えた後、水を標線まで加える。この溶液について(c)の測定操作を行い、銅 (Cu) の量と指示値との関係線を作成する。

(f)同定・定量

検量線から銅の量を求め、試料中の銅の濃度を算出する。なお、底質の試料量は乾燥試料量とする。

(ウ) 亜鉛の電気加熱炉原子吸光分析法

(a)概要

試料を前処理した後、電気加熱炉で原子化し、亜鉛による原子吸光を波長 213.9nm で測定して亜鉛を定量する。この方法は共存する酸や塩の種類及び濃度の影響を受けやすいのでこれらの影響の少ない試料またはこれらを前処理で分離した試料に適用する。

定量範囲：1~20 μ g/L

繰り返し分析精度：変動係数で2~10% (装置、測定条件によって異なる)

(b)標準液の調製

亜鉛標準液 (10 μ g Zn/mL)：亜鉛標準液 (0.1 mg Zn/mL) 50 mL を全量フラスコ 500 mL にとり、硝酸 (1+1) 10 mL を加え、水を標線まで加える。

亜鉛標準液 (1 μ g Zn/mL)：亜鉛標準液 (10 μ g Zn/mL) 10 mL を全量フラスコ 100 mL にとり、硝酸 (1+1) 2 mL を加え、水を標線まで加える。使用時に調製する。

(c)操作

試料を前処理法 (1) に従い処理し、JIS K 0121 (原子吸光分析のための通則) の操作方法に従い、プッシュボタン式液体用微量体積計または自動注入装置を用いて電気加熱炉に導入し、乾燥、灰化、原子化を行い、波長 213.9 nm の指示値を読む (注7)。

(d)空試験

試料と同量の精製水を用いて、試料と同様に前処理、測定を行い、試料について得られた指示値を補正する。

(e)検量線

亜鉛標準液（1 μ g Zn/mL）0.1～2 mL を全量フラスコ 100 mL に段階的にとり試料と同じ条件になるように酸を加えた後、水を標線まで加える。この溶液について(c)の測定操作を行い、亜鉛（Zn）の量と指示値との関係線を作成する。

(f)同定・定量

検量線から亜鉛の量を求め、試料中の亜鉛の濃度を算出する。なお、底質の試料量は乾燥試料量とする。

(3) ICP 発光分光分析法を用いた多元素同時分析法

通常使用する装置は、マルチチャンネル型の分光器を使用した ICP 発光分析装置による同時多元素分析法とモノクロメータをコンピュータで制御した ICP 発光分析装置によるシーケンシャル分析法の2種類がある。

以下に、ベリリウム、銅、亜鉛等の元素を含む多元素同時分析法を示す。

(ア) 概要

試料を前処理した後、試料導入部を通して誘導結合プラズマ中に噴霧し、元素による発光を定量する。

(イ) 標準液の調製

混合標準原液 I [(10 μ g B、10 μ g Be、20 μ g Mo、10 μ g V) /mL]

混合標準原液 II [(5 μ g Cd、20 μ g Ni、50 μ g Pb、20 μ g Zn、20 μ g Cu) /mL]

いずれも使用時に調製する。例えば 100 mL の全量フラスコを用いる場合は、予め水約 20 mL と硝酸 1 mL を全量フラスコに入れておき、そこに各標準液を上記の濃度になるように添加し、水を標線まで加える。

(ウ) 操作

試料を前処理法（1）に従い処理し（注8）、JIS K 0116 の 7.3（ICP 発光分析）に従って、プラズマ中に噴霧し（注9）、各元素の波長（Cu 324.754 nm、Zn 213.856 nm、Be 313.042 nm、B 249.773 nm（注10）、Pb 220.351 nm、Cd 214.438 nm、Ni 221.647 nm、Mo 202.030 nm、V 309.311 nm）の発光強度を測定する（注11、注12、注13）。

(エ) 空試験

試料と同量の精製水を用いて、試料と同様に前処理、測定を行い、試料について得られた発光強度を補正する。

(オ) 検量線

混合標準液 [(10 µg B、10 µg Be、20 µg Mo、10 µg V) /mL] 0.1~20 mL を全量フラスコ 100 mL に段階的にとる。同じように混合標準溶液 II [(5 µg Cd、20 µg Ni、50 µg Pb、20 µg Zn、20 µg Cu) /mL] 0.1~20 mL を各々別の全量フラスコ 100 mL に段階的にとる。(3)

(ウ) の準備操作を行った試料と同じ条件になるように酸を加えた後、水を標線まで加える。この溶液について(3)(ウ)の操作を行う。別に空試験として水について検量線の作成に用いた標準液と同じ条件になるように酸を加えた後、(3)(ウ)の操作を行って、標準液について得た発光強度を補正し、各元素の量と発光強度との関係線を作成する。検量線の作成は、試料測定時に行う。

(カ) 同定・定量

検量線から各元素の量を求め、試料中の各元素の濃度を算出する。なお、底質の試料量は乾燥試料量とする。

(4) ICP 質量分析法を用いた多元素同時分析法

本法は、試料中の元素を高周波誘導結合プラズマでイオン化した後、質量分析計に導入し、各被測定元素の測定質量でイオンカウント値を測定して、試料中の被測定元素を定量する方法である。ICP 質量分析法の特徴としては、他の一般的な元素分析法と比較し、①検出下限値が 100~1000 倍低い、②スペクトルが単純で定性分析、半定量分析が容易、③同位体の測定が可能、④他元素同時測定が可能、等が挙げられる。

以下に、ベリリウム、銅、亜鉛等の元素を含む多元素同時分析法を示す。

(ア) 概要

試料を前処理した後、内標準物質を加え、試料導入部を通して誘導結合プラズマ中に噴霧し、元素と内標準物質のそれぞれの質量/荷電数におけるイオンの電流を測定し、元素イ

オンの電流と内標準物質のイオンの電流との比を求め定量する。

(イ) 標準液の調製

混合標準液 [(1 µg Cd、1 µg Pb、1 µg Cu、1 µg Zn、1 µg Mn、1 µg Ni、1 µg Be) /mL] :
カドミウム標準液 (0.1 mg Cd/mL)、鉛標準液 (0.1 mg Pb/mL)、銅標準液 (0.1 mg Cu/mL)、
亜鉛標準液 (0.1 mg Zn/mL)、マンガン標準液 (0.1 mg Mn/mL)、ニッケル標準液 (0.1 mg
Ni/mL) のそれぞれ 1 mL とベリリウム標準液 (0.1 mg Be/mL) 1 mL をあらかじめ硝酸 (1
+1) 3 mL を入れた全量フラスコ 100 mL にとり、水を標線まで加える。使用時に調製す
る。

(ウ) 操作

試料を前処理法 (1) に従い処理し、試料中の被測定元素の濃度が 0.5 µg/L 以下となる
ように水で希釈する。また試料中のナトリウム、カリウム、マグネシウム、カルシウムな
どの濃度が高い場合には、試料中の全塩濃度が 0.1% 以下になるよう純水で希釈した後定量
操作を行う。この試料をプラズマトーチ中に噴霧し、各元素の質量数 (m/z) (Cd : 111、
114、Pb : 206、207、208、Cu : 63、65、Zn : 64、66、Mn : 55、Ni : 58、60、Be : 9) にお
けるイオンカウント値を測定する (注 1 4、注 1 5、注 1 6、注 1 7)。

(エ) 空試験

試料と同量の精製水を用いて、試料と同様に前処理、測定を行い、試料について得られ
たイオンカウント値を補正する。

(オ) 検量線

混合標準液 [(1 µg Cd、1 µg Pb、1 µg Cu、1 µg Zn、1 µg Mn、1 µg Ni、1 µg Be) /mL]
0.05~5 mL を別の全量フラスコ 100 mL に段階的にとる。(4) (ウ) の試料と同じ条件に
なるように酸を加えた後、水を標線まで加える。この溶液について (4) (ウ) の操作を行
う。別に空試験として水について検量線の作成に用いた標準液と同じ条件になるように酸
を加えた後、(4) (ウ) の操作を行って、標準液について得たイオンカウント値を補正し、
各元素の量とイオンカウント値との関係線を作成し検量線を作成する。検量線の作成は、
試料測定時に行う。

(カ) 同定・定量

検量線から各元素の量を求め、試料中の試料中の各元素の濃度を算出する。なお、底質の試料量は乾燥試料量とする。

7 分析精度管理

本調査マニュアルの「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。

8 注意事項

(注1) 亜鉛については、自然界での存在量に対して電気加熱炉原子吸光法の測定感度が高いため、かなり希釈する必要がある場合が多い。希釈する場合には、希釈水にも十分注意し、亜鉛の定量に支障のない水を用いる必要がある。

(注2) ICP 発光分析法に先だって溶媒抽出を適用する場合の前処理は、原則として各項目のとおりとし、妨害する可能性のある有機物その他の妨害物質を十分に分解する。ICP 質量分析法の場合は、酸の種類と濃度によって空試験値が無視できないことがあるので、測定する元素についてあらかじめ酸の種類と濃度の影響について調べておく。

(注3) ICP 発光分析法の場合、硫酸酸性では試料導入量が少なく感度が悪くなることもあるため、(d)の適用はやむを得ない場合のみとする。

(注4) 他に、キレート剤として1-ピロリジンカルボジチオ酸アンモニウム (APDC)、溶媒としてメチルイソブチルケトン (MIBK) などを用いてもよい。以下に一例を示す。

試料 500 mL をとり、塩酸または硝酸 10 mL を加え、約 5 分間煮沸する。放冷後、pH を 3.5~4.0 に調節し分液ロートに移す。硫酸アンモニウム溶液 (飽和) 20 mL を加える。1-ピロリジンカルボジチオ酸アンモニウム (ピロリジン-*N*-ジチオカルバミン酸アンモニウム) (APDC) 溶液 (10 g/L) 5 mL を加え、静かに振り混ぜた後、約 3 分間放置する。次にメチルイソブチルケトン (MIBK) 10 mL で抽出した後、さらに水層をメチルイソブチルケトン (MIBK) 5 mL で抽出分離する。有機層をテフロンビーカーへ移し蒸発乾固させ、硝酸 2 mL、過塩素酸 2 mL を加

えて加熱し、有機物を分解する。ほとんど乾固させた後、放冷する。残留物を硝酸（1+15）で定容する。

（注5） 分解条件は機種や試料の採取量により異なる。

（注6） 液がまだ茶褐色を呈していたら、再び分解を継続する。

（注7） 吸光度またはその比例値

（注8） 前処理を行なった試料のナトリウム、カリウム、マグネシウムなどの濃度が高く、測定対象とする元素の濃度が低い場合には、次のように操作する。

試料 500 mL をビーカーにとり、塩酸 5 mL を加え、約 5 分間煮沸する。放冷後、酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液（pH 5）（酢酸ナトリウム三水和物 19.2 g と酢酸 3.4 mL を水に溶かして 1 L とする）10 mL を加え、アンモニア水（1+1）または硝酸（1+10）で pH を 5.2 に調節する。この溶液を分液ロートに移し、1-ピロリジンカルボジチオ酸アンモニウム溶液（20 g/L）2 mL、ヘキサメチレンアンモニウム-ヘキサメチレンカルバモジチオ酸（ヘキサメチレンアンモニウム-ヘキサメチレンカルバミド酸）のメタノール溶液（20 g/L）2 mL を加えて混合した後、キシレンの一定量（5～20 mL）を加えて約 5 分間激しく振り混ぜて静置する。水層を捨てキシレン層を共栓試験管に入れる。なお、この操作に用いる酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液（pH 5）は使用前に 1-ピロリジンカルボジチオ酸アンモニウム溶液、ヘキサメチレンアンモニウム-ヘキサメチレンカルバモジチオ酸のメタノール溶液及びキシレンを加えて振り混ぜ、精製したものとする。

（注9） 前処理を行った試料のナトリウム、カリウム、カルシウムやマグネシウムなどの濃度の総量が約 1 mg/L を超えることが無い場合は、超音波ネブライザーを使用することができる。その場合、ホウ素はメモリー効果により測定できない。また（注 1 1）に記載する内標準法を用いることが望ましい。

（注 1 0） ホウ酸はろ過のみで測定可能な試料について、多元素分析が適用できる。

（注 1 1） 波長の異なる 2 本以上のスペクトル線の同時またはシーケンシャル測定が可能な装置では、内標準法によることができる。内標準法を用いるときは、前処理した試料の適量を全量フラスコ 100 mL にとり、イットリウム溶液（50 µg Y/mL）〔酸化イットリウム（III）0.318 g をとり高純度試薬硝酸 5 mL を加え加熱して溶かし、窒素酸化物を追い出し、冷却後、全量フラスコ 250 mL に移し入れ、水を標線まで加える。この溶液 10 mL を全量フラスコ 200 mL にとり、水を標線まで加える。〕

10 mL を加え、(3) (ウ) の試料と同じ条件になるように酸を加えた後、水を標線まで加える。この溶液について(3) (ウ) の噴霧操作を行って各元素の波長と同時または逐次に 371.029 nm (イットリウム) の発光強度を測定し、各元素とイットリウムの発光強度の比を求める。

別に混合標準原液 I [(10 µg B、10 µg Be、20 µg Mo、10 µg V) /mL] 0.1~20 mL を全量フラスコ 100 mL に段階的にとる。同じように混合標準原液 II [(5 µg Cd、20 µg Ni、50 µg Pb、20 µg Zn、20 µg Cu) /mL] 0.1~20 mL を各々別の全量フラスコ 100 mL に段階的にとる。イットリウム溶液 (50 µg Y/mL) 10 mL をそれぞれ加えた後、水を標線まで加える。この溶液について(3) (ウ) の噴霧操作を行って各元素の波長と同時または逐次に 371.029 nm の発光強度を測定し、各元素の濃度に対する各元素とイットリウムとの発光強度比の関係線を作成し、検量線とする。この検量線から、試料について得た発光強度比に相当する各元素の量を求め、試料中の各元素の濃度を算出する。

(注 1 2) 塩濃度が高いため、検量線法が適用できない試料の場合には、JIS K 0116 の 5.8.3(2)に規定する標準添加法をもちいるとよい。ただし、この場合は試料の種類によらずバックグラウンド補正を行う必要がある。

(注 1 3) 高次のスペクトル線が使用可能な装置では、高次のスペクトル線を用いて測定してもよい。また、精度、正確さを確認してあれば、他の波長を用いてもよい。

(注 1 4) 亜鉛、銅の測定には硝酸と硫酸による前処理を行わない。

(注 1 5) 内標準法を用いる。前処理した試料の適量を全量フラスコ 100 mL にとり、イットリウム溶液 (5 µg Y/mL) [(注 1 1) のイットリウム溶液 (50 µg Y/mL) 100 mL を全量フラスコ 1000 mL にとり硝酸 (1+1) を 3 mL を加え水を標線まで加える] 1 mL を加え、(4) (ウ) の試料と同じ条件になるように硝酸を加えた後、水を標線まで加える。この溶液について(4) (ウ) の噴霧操作を行って各元素の質量数 (m/z) (Cd : 111、114、Pb : 206、207、208、Cu : 63、65、Zn : 64、66、Mn : 55、Ni : 58、60、Be : 9) と同時に 89 (イットリウム) のイオンカウント値を測定し、各元素とイットリウムのイオンカウント値の比を求める。別に混合標準液混合標準液 [(2 µg Cd、1 µg Pb、1 µg Cu、1 µg Zn、1 µg Mn、1 µg Ni、1 µg Be) /mL] 0.05~5 mL を全量フラスコ 100 mL に段階的にとる。イットリウム溶液 (5 µg Y/mL) 1 mL をそれぞれ加えた後、水を標線まで加える。この溶液について(4)

(ウ) の噴霧操作を行って各元素の質量数 (m/z) (Cd : 111、114、Pb : 206、207、208、Cu : 63、65、Zn : 64、66、Mn : 55、Ni : 58、60、Be : 9) と同時に 89 (イットリウム) のイオンカウント値を測定し、各元素の濃度に対する各元素とイットリウムとのイオンカウント値比の関係線を作成し、検量線とする。この検量線から、試料について得たイオンカウント値比に相当する各元素の量を求め、試料中の各元素の濃度 (mg/L) を算出する。

内部標準元素としてはイットリウムを用いるが、マトリックスによる減感が広い質量範囲で生じる恐れがある場合には、被測定元素に最適な内部標準元素を追加して、複数の内部標準元素を用いる必要がある。

(注 16) 試料中のマトリックスの影響が大きく検量線法が適用できない場合には、JIS K 0133 に規定する標準添加法を用いるとよい。

(注 17) 複数の質量数 (m/z) を用いて測定を行うことにより、その同位体比から分子イオンによる妨害を確認することができる。試料の希釈によっても分子イオンによる影響を無視できない場合には、適当な分離法を用いて妨害となるマトリックスを除去した後、測定を行う必要がある。

(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。

9 参考

原子スペクトル分析に関しては、「原子吸光分析通則（JIS K 0121: 1993）」と「発光分光分析通則（JIS K 0116: 1995）」が定められている。

また、誘導結合プラズマ質量分析法（ICP 質量分析法）については、ICP 質量分析法が広く一般に普及するようになってきたことから、1998年4月に改正された「工業用水試験方法（JIS K 0101: 1998）」、「工業排水試験法（JIS K 0102: 1998）」に、銅、亜鉛、鉛、マンガ、クロムの分析法として ICP 質量分析法が新たに採用された。また、今般、2000年7月に「高周波プラズマ質量分析通則（JIS K 0133: 2000）」が規定された。詳細については、これらの通則を参考にして頂きたい。

ii. 揮発性有機物質の分析法
(パーティトラップGC/MS法)

1 対象物質

表1に示す23物質。

表1 対象物質、サロゲート物質と定量イオンの例 (注1)

物質名	測定イオンの例	サロゲート物質の例	測定イオンの例
アクリル酸エステル類			
アクリル酸メチル	55 85	2,3,3-d ₃ -アクリル酸メチル	58 87
アクリル酸エチル	55 73 99		
アクリル酸ブチル	55 73 85		
イソプレン	53 67 68		
イソプロピルベンゼン (クメン)	105 120		
エピクロロヒドリン	49 57	エピクロロヒドリン-d ₅	62
塩化ベンジル	91 126	塩化ベンジル-d ₇	98 133
1-オクテン	55 70 83 112		
クロロ酢酸エチル	49 77		
p-クロロトルエン	91 126	p-クロロトルエン-d ₄	95 130
酢酸ビニル	43 86	¹³ C ₂ -酢酸ビニル	88
酸化プロピレン	57 58	1,2-酸化プロピレン-d ₆	64
ジエチルベンゼン類			
1,2-ジエチルベンゼン	105 119 134		
1,3-ジエチルベンゼン	105 119 134		
1,4-ジエチルベンゼン	105 119 134		
ジクロロベンゼン類			
1,2-ジクロロベンゼン	75 111 146 148	1,2-ジクロロベンゼン-d ₄	115 150 152
1,3-ジクロロベンゼン	75 111 146 148	1,3-ジクロロベンゼン-d ₄	115 150 152
トリクロロベンゼン類			
1,2,3-トリクロロベンゼン	109 145 180 182	1,2,3-トリクロロベンゼン-d ₃	148 183 185
1,2,4-トリクロロベンゼン	109 145 180 182	1,2,4-トリクロロベンゼン-d ₃	148 183 185
1,3,5-トリクロロベンゼン	109 145 180 182	1,3,5-トリクロロベンゼン-d ₃	148 183 185
二硫化炭素	44 76 78		77
ヘキサクロロブタジエン	190 224 225 260	¹³ C ₄ -ヘキサクロロ-1,3-ブタジエン	194 229 264
ペンタクロロエタン	117 119 165 167		

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。

3 分析法の概要

水質試料については、サロゲートを添加し、試料液中に不活性ガスを通気して対象物質を気相中に移動させてトラップ管に捕集し、次にトラップ管を加熱し対象物質を脱着して、冷却凝縮装置でクライオフォーカスさせ、GC/MS-SIMに導入して測定する。底質及び生

表2 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)		生物 (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	目標検出 下限値	目標定量 下限値
アクリル酸メチル	0.01	0.03	1	3	1	3
アクリル酸エチル	0.01	0.03	1	3	1	3
アクリル酸ブチル	0.01	0.03	1	3	1	3
イソプレン	0.01	0.03	1	3	1	3
イソプロピルベンゼン (クメン)	0.01	0.03	1	3	1	3
エピクロロヒドリン	0.01	0.03	1	3	1	3
塩化ベンジル	0.01	0.03	1	3	1	3
1-オクテン	0.01	0.03	1	3	1	3
クロロ酢酸エチル	0.02	0.06	2	6	2	6
p-クロロトルエン	0.01	0.03	1	3	1	3
酢酸ビニル	0.01	0.03	1	3	1	3
酸化プロピレン	0.05	0.15	5	15	5	15
1,2-ジエチルベンゼン	0.01	0.03	1	3	1	3
1,3-ジエチルベンゼン	0.01	0.03	1	3	1	3
1,4-ジエチルベンゼン	0.01	0.03	1	3	1	3
1,2-ジクロロベンゼン	0.01	0.03	1	3	1	3
1,3-ジクロロベンゼン	0.01	0.03	1	3	1	3
1,2,3-トリクロロベンゼン	0.01	0.03	1	3	1	3
1,2,4-トリクロロベンゼン	0.01	0.03	1	3	1	3
1,3,5-トリクロロベンゼン	0.01	0.03	1	3	1	3
二硫化炭素	0.01	0.03	1	3	1	3
ヘキサクロロブタジエン	0.01	0.03	1	3	1	3
ペンタクロロエタン	0.01	0.03	1	3	1	3

物試料については、サロゲートを添加し、試料中の対象物質をメタノールで抽出後、抽出液の一部に水を加えたものに不活性ガスを通気することにより、水質試料と同様に測定する（注1、注2、注3）。

4 試薬、器具及び装置

(1) 試薬

- ・メタノール：対象物質の分析に影響のないもの（注4）
- ・塩化ナトリウム：対象物質の分析に影響のないもの（注5）
- ・水：対象物質の分析に影響のないもの（注6）
- ・対象物質：試験に支障のない純度のもの（注7）
- ・標準原液：メタノールを30～50 mL入れた100 mLメスフラスコに、対象物質の標準品各100 mgを精秤し、メタノールで100 mLとし標準混合原液（1000 µg/mL）とする（注8）。

- ・サロゲート原液：メタノールを 50～90 mL 入れた 100 mL メスフラスコに、サロゲート物質各 10 mg を秤量し、メタノールで 100 mL とし、サロゲート原液（100 µg/mL）とする（注 9）。
- ・サロゲート溶液：メタノールを 50～80 mL 程度入れた 100 mL メスフラスコに、サロゲート原液 1 mL をとり、メタノールで 100 mL としサロゲート溶液（1 µg/mL）とする（注 10）。
- ・内標準原液：メタノールを 50～90 mL 入れた 100 mL メスフラスコに、内標準物質（フルオロベンゼン及び 4-ブロモフルオロベンゼン）各 10 mg を秤量し、メタノールで 100 mL とする（注 9）。
- ・内標準溶液：メタノールを 50～90 mL 程度入れた 100 mL メスフラスコに、内標準原液 1 mL をとり、メタノールで 100 mL とし内標準溶液（1 µg/mL）とする（注 10）。

（2）器具及び装置

- ・試料採取容器：水質試料用は、容量 50～250 mL 程度の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ロガラス瓶。底質試料用は、容量 50～250 mL 程度の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広口ネジロガラス瓶、またはこれと同等以上の瓶。洗浄後、水ですすぎ、乾燥する。約 105 °C の電気乾燥器内で 3 時間程度放置し、汚染のない場所で冷却する。冷却後、キャップを堅くしめ、汚染のない場所に保管する。
- ・遠心管：容量 50 mL の共栓付きガラス製のもの。洗浄し、水ですすぎ、メタノールで洗浄後、乾燥する。約 105°C の電気乾燥器内で 3 時間程度放置し、汚染のない場所で冷却する。冷却後、キャップを堅くしめ、汚染のない場所に保管する。
- ・ページ容器：試料 5～50 mL のページが可能なガラス製容器またはそれに試料導入部を有するもので、試験操作中に加温、冷却しても容器の機密性が保たれるもの（注 11）。洗浄後、水ですすぎ、乾燥する。約 105°C の電気乾燥器内で 3 時間程度放置し、汚染のない場所で冷却する。
- ・ページトラップ装置（注 12）。
- ・GC/MS：キャピラリーカラムの取付可能な GC 付き四重極型、または二重収束型 MS（注 2）。

5 試料の採取・運搬

(1) 水質試料

試料採取容器を採取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、マイクロシリンジでサロゲート溶液を添加し（注13）、直ちにキャップをする。このとき、瓶内に空気層を残さないよう注意する。試料を運搬する場合には、汚染のない運搬用容器を用いて遮光・冷蔵する。前処理操作は試料採取後直ちに行う。直ちに行えない場合には、試料は汚染のない冷暗所（4℃以下）で凍結しないように保存する。

(2) 底質試料

試料は採泥器で採取後、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に直ちに密栓する。試料を運搬する場合には、汚染のない運搬用容器を用いて遮光・冷蔵する。試験操作は試料採取後直ちに行う。直ちに行えない場合には、試料は汚染のない冷暗所（4℃以下）で凍結しないように保存する（注16）。試料はフルイを通さず、容器内の表層の水を捨て、表層部をかき取った下層とし、固形物を含まないものを試験する。

(3) 生物試料

試料を運搬する場合には、汚染のない運搬用容器を用いて遮光・冷蔵する。試験操作は試料採取後直ちに行う。直ちに行えない場合は、汚染のない冷暗所（4℃以下）で凍結しないように保存する（注16）。試験操作の直前に、汚染のない冷所で試験する部位を速やかに分け取る。

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

(ア) 水質試料

試料 5～50 mL の適量を静かに泡立たないようにパージ容器にホールピペットで入れ、内標準溶液を添加し（注15）、測定用試料とする（注16）。

(イ) 底質試料

試料 20 g を遠心管に採り、3000 rpm で 20 分間遠心分離し、上澄みは捨てる。試料にサロゲート溶液を添加し（注 1 5）、メタノール 10 mL を加え、10 分間超音波抽出を行う。3000 rpm で 10 分間遠心分離し、液層を全量フラスコに入れる。残さにメタノール 10 mL を加え、10 分間超音波抽出を行う。3000 rpm で 10 分間遠心分離し、液層を全量フラスコに加え、定容（25～50 mL）とし、試料液とする。

パージ容器に、水 9.8 mL に対して試料液 0.2 mL の割合となるように、水 4.9～49 mL 及び試料液 0.1～1 mL を静かに泡立てないように入れ（注 1 8）、内標準溶液を添加し（注 1 5）、測定用試料とする（注 1 9）。

(ウ) 生物試料

試料 20 g を遠心管に採り、3000 rpm で 20 分間遠心分離し、上澄みは捨てる。試料にサロゲート溶液（注 1 3）を添加し、メタノール 10 mL を加え、3 分間ホモジナイズする（注 1 7）。3000 rpm で 10 分間遠心分離し、液層を全量フラスコに入れる。残さにメタノール 10 mL を加え、10 分間超音波抽出を行う。3000 rpm で 10 分間遠心分離し、液層を全量フラスコに加え、定容（25～50 mL）とし、試料液とする。

パージ容器に、水 9.8 mL に対して試料液 0.2 mL の割合となるように、水 4.9～49 mL 及び試料液 0.1～1 mL を静かに泡立てないように入れ（注 1 8）、内標準溶液を添加し（注 1 5）、測定用試料とする（注 1 9）。

(2) 空試料液の調製

水質試料については、試料と同量の水を用いて、また、底質及び生物試料については、試料と同量の水及びメタノールを用いて、「6 試験操作（1）前処理」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。

(3) 添加回収試験液の調製

「6 試験操作（1）前処理」に従って、水質試料の場合はパージ容器中の試料に、また、底質及び生物試料の場合は遠心管に採った試料に、各々、標準溶液を添加して 0.01～1 µg/L とする（注 2 0）。

(4) 標準液の調製

標準原液をメタノールで希釈し、0.05～50 µg/mL の標準溶液を調製する。

(5) 測定

(ア) パージトラップ測定条件の例 (注 2 1、注 2 2、注 2 3)

- ・パージ時間：4 分
- ・パージ温度：室温
- ・ドライパージ時間：3 分
- ・トラップ温度：-150°C
- ・トラップ管加熱時間：2 分
- ・トラップ管加熱温度：180°C
- ・注入時間：3 分
- ・注入温度：180°C
- ・トラップ管焼きだし時間：20 分
- ・トラップ管焼きだし温度：200°C

(イ) GC-MS 測定条件の例

(a) ガスクロマトグラフ部 (注 2 4)

- ・カラム：フェニルメチルシリコン化学結合型 (内径 0.2～0.75 mm、長さ 25～120 m、膜厚 0.1～3.0 µm 程度) カラムまたは同等以上の分離性能をもつもの (注 2 5)
- ・カラム温度：40°C (1 分) →3°C/分→80°C→10°C/min→200°C (15 分)
- ・キャリアガス：ヘリウム (線速度 40 cm/秒)

(b) 質量分析部 (注 2 6)

- ・イオン化法：EI
- ・イオン化エネルギー：70eV
- ・イオン化電流：300 µA
- ・イオン源温度：210°C

(c) 測定イオン (注 2 7)

- ・塩化ベンジル：91、126 など (表 1 参照)
- ・フルオロベンゼン：96、70

・4-ブロモフルオロベンゼン：174、176、95

(ウ) 検量線

「6 試験操作（1）前処理」に従って、水質試料の場合は試料と同量の水に、また、底質及び生物試料の場合は、試料と同量の水及びメタノールに、標準溶液を添加して0.01～1 µg/Lとする（注20）。これをパージトラップ装置のトラップ部に接続する（注28）。パージガスを一定量通気して対象物質を気相中に移動させてトラップ管に捕集し、次にトラップ管を加熱し対象物質を脱着して、冷却凝縮装置でクライオフォーカスさせ、GC/MSに導入して測定する（注21、注22、注23）。サロゲート物質又は内標準物質と対象物質の面積比を求め、検量線を作成する。

(エ) 試料液の測定

「6 試験操作（1）前処理」により得られた測定用試料をパージトラップ装置のトラップ部に接続する（注28）。パージガスを一定量通気して対象物質を気相中に移動させてトラップ管に捕集し、次にトラップ管を加熱し対象物質を脱着して、冷却凝縮装置でクライオフォーカスさせ、GC/MSに導入して測定する（注21、注22、注23）。サロゲート物質又は内標準物質と対象物質の面積比から、試料中の対象物質の検出量を求める（注29）。

7 同定、定量及び計算

(1) 同定

対象物質、サロゲート物質及び内標準物質について、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30）、定量イオンと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の強度比の±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

サロゲート物質又は内標準物質と対象物質の面積比から、試料中の対象物質の検出量を求める。次式で試料中の各対象物質濃度を計算する。なお、底質の試料量は乾燥試料量とする。

水質:濃度 (μg/L) = 検出量 (ng) / 試料量 (mL)

底質:濃度 (μg/kg) = 検出量 (ng) × 試料液量 (mL) / パージ容器への分取量 (mL) / 試料量 (g)

生物:濃度 (μg/kg) = 検出量 (ng) × 試料液量 (mL) / パージ容器への分取量 (mL) / 試料量 (g)

8 分析精度管理

本調査マニュアルの「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) 分析操作において揮散しやすい物質が多いことから、安定同位体をサロゲート物質として用いることが望ましい。表1に例示した以外に適当な物質があればサロゲート物質として用いてもよい。GC/MS測定においては最適なイオンを選定する。対象物質の測定イオンがサロゲート物質のマススペクトルに存在する場合には、両者のピークが十分分離することを確認する。

(注2) 十分な感度が得られればSIM測定の代わりにスキャン測定などでもよい。

(注3) 本法において適当なモニターイオンを用いてGC/MS測定することにより、1,2-ジブロモ-3-クロロプロパン、スチレン、*n*-ブチルベンゼン、ジクロロメタン、ジブロモクロロメタン、テトラクロロメタン、トリクロロメタン (クロロホルム)、トリブロモメタン (ブロモホルム)、1,2-ジクロロエタン、1,1,1-トリクロロエタン、1,1,2-トリクロロエタン、1,1-ジクロロエチレン、*cis*-1,2-ジクロロエチレン、*trans*-1,2-ジクロロエチレン、テトラクロロエチレン、トリクロロエチレン、1,2-ジクロロプロパン、1,3-ジクロロ-1-プロペン、1,4-ジクロロベンゼン、キシレン、ベンゼン、トルエン、エチルベンゼン、プロピルベンゼン、塩化アリル (アリルクロライド)、塩化エチル (クロロエタン)、塩化ビニル、塩化メチル、ジシクロペンタジエン、シクロペンタン、1,1-ジクロロエタン、ジブロモクロロメタン、臭化メチル、1,1,1,2-テトラクロロエタン、1,1,2,2-テトラクロロエタン、1,2,3-トリクロロプロパン、1,3-ブタジエン、ブロモクロロメタン、ブロモジクロロメタン、1-ブロモプロパン、2-ブロモプロパン、*n*-ヘキサン、メチル *t*-ブチルエーテル、クロロベンゼンなどの分析が可能である。

- (注4) 例えば、水質試験用、トリハロメタン測定用など(備考1)。使用前に空試験を行い、使用の適否を確認する。
- (注5) 例えば、試薬特級品を約105~200℃の電気乾燥器内で3~6時間程度放置し、汚染のない場所で冷却したもの。使用前に空試験を行い、使用の適否を確認する。
- (注6) 蒸留水またはイオン交換水1~3Lを三角フラスコにとり、これをガスコンロなどで強く加熱して、液量が約1/3になるまで煮沸する。直ちに環境からの汚染がない場所に静置して冷却する。蒸留水またはイオン交換水を炭素系吸着剤を充填したカラムで精製したもの、市販の揮発性有機物質試験用の水、市販のミネラルウォーターなどを用いても良い。使用前に空試験を行い、使用の適否を確認する。市販のミネラルウォーターなどを用いる場合、パージトラップ装置の経路にアルカリ土類金属塩などが析出することがある。
- (注7) 市販の標準メタノール溶液などを用いても良い。
- (注8) 標準原液は使用時に調製する。ただし、調製した標準品を直ちに液体窒素で冷却し、液体窒素またはメタノール・ドライアイスなどの冷媒を用いた冷却条件下でアンプルに移し、溶封して冷暗所に保存すれば1~3カ月は保存できる。それ以上の期間を経過したものは純度を確認してから使用する。なお、使用する装置の感度などにあわせて各物質の濃度比を変えても良い。
- (注9) 標準原液と同様にアンプルに封入し、冷暗所に保存すれば1~3カ月は保存できる。それ以上の期間を経過したものは純度を確認してから使用する。例示した以外に適切な物質があれば内標準物質として用いてもよい。
- (注10) サロゲート溶液や内標準溶液の濃度は対象物質濃度や試験操作条件などに応じて適切な濃度となるように調製する。
- (注11) 使用するパージトラップ装置によってはバイアルを用いる。バイアルは、ネジ口のもので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を用いることにより加温、冷却しても容器の機密性が保たれるもの、又は四フッ化エチレン樹脂フィルム、シリコーンゴム栓、アルミニウムキャップをキャップ締め器で固定でき、加温、冷却しても容器の機密性が保たれるものを用いる。
- パージ容器やバイアルによっては、多少の誤差があるので、測定結果に影響が考えられる場合は、使用前に容量を確認し、誤差が大きいものは除いて使用する。
- (注12) あらかじめパージトラップ装置の取り扱い説明書などに従って洗浄し、試験操

作に支障のある妨害などが無いことを確認する。

(注13) 単位体積（または重量）あたりのサロゲートの添加量は、試料の前処理において添加する単位体積（または重量）あたりの内標準物質の量と同程度を目安とする。

(注14) 保存中は試料体積の変動にともない汚染されることがあるので、この場合は、試料採取容器をチャック付きポリエチレン製袋などに入れて密封し、試料採取容器の口を下にした状態で保存する。

(注15) 内標準の添加量は対象物質濃度や試験操作条件などに応じて適切な量とする。

(注16) 装置によっては、試料を泡立たないように静かにバイアルに満たし、内標準溶液を添加後、直ちにキャップをし、測定用試料とする。このとき、バイアル内に空気層を残さないよう注意する。バイアルは、洗浄後、水ですすぎ、乾燥し、使用直前に約 105℃の電気乾燥器内で 3 時間程度放置し、汚染のない場所で冷却して使用する。

(注17) 良好な結果が得られれば振とう抽出やホモジナイズしてもよい。抽出操作で損失が考えられるので、必要に応じてメタノール・ドライアイスなどの冷媒で冷却しながら抽出する。

(注18) または、あらかじめ、全量フラスコに容量の 90%程度の水を入れ、水 9.8 mL に対して試料液 0.2 mL の割合となるように静かに泡立たないように加え、水で標線までメスアップする。泡立たないように静かに混和後、その 5~50 mL を採り、パージ容器に静かに泡立たないように入れる。GC/MS 測定において、メタノールが影響する場合もあるので注意する。

(注19) 装置によっては、水 9.8 mL に対して試料液 0.2 mL の割合となるように静かにバイアルに満たし、内標準溶液を添加後、直ちにキャップをし、測定用試料とする。このとき、バイアル内に空気層を残さないよう注意する。

(注20) 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。装置によっては、パージ容器の代わりにバイアル中に作成する。

(注21) パージトラップ装置の取り扱い説明書などに従って操作する。

(注22) クライオフォーカスを行わない場合は、対象物質をトラップ管に捕集後、トラップ管を加熱して、そのまま GC/MS に導入する。

(注23) パージトラップの最適条件は使用する吸着剤の種類、量などによって異なるた

め、あらかじめ十分な回収結果のえられる条件を求めておく。パージ条件はトラップ管の破過容量を超えないよう注意する。トラップ管の例として、ポリマー (Tenax TA) を充填したもの、ポリマー (Tenax TA など)、シリカゲル、及び活性炭を3層に充填したものなどがある(備考1)。

(注24) GC 分離条件によっては、*p*-クロロトルエンのピークが *o*-クロロトルエンのピークと重なることがあるので注意する。

(注25) 例えば、Aquatic、DB-1、DB-1301、DB-624、DB-WAX、VOCOL など(備考1)。

(注26) GC/MS 装置により、最適な条件を設定する。

(注27) 表1に示す測定イオン例を参考に、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28) 測定用試料をパージ容器の代わりにバイアル中に調製した場合は、バイアルをパージトラップ装置にセットする。パージトラップ装置の取り扱い説明書などに従って操作し、測定用試料の一部又は全量をパージ容器に移し入れる。

(注29) 内標準を用いて検量線を作成する場合は、原則として対象化合物の保持時間に最も近い保持時間を有する内標準を用いる。

(注30) 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。

(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、これら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) 環境庁環境保健部保健調査室：「昭和 61 年度 化学物質分析法開発調査報告書」(1987)
- 2) 環境庁水質保全局水質規制課：「環境水質分析マニュアル」、環境化学研究会 (1993)
- 3) 環境庁水質保全局水質規制課：「新しい排水基準とその分析」、環境化学研究会 (1994)
- 4) 日本規格協会：JIS K 0125 「用水・排水中の揮発性有機化合物試験方法」(1995)

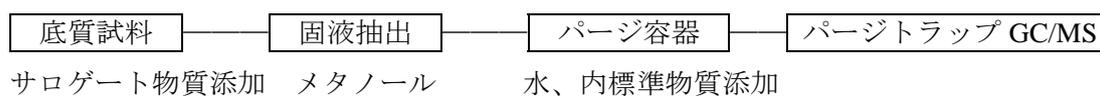
- 5) EPA: Method 524.2, Measurement of Purgeable Organic Compounds in Water by Capillary Column Gas Chromatography/Mass Spectrometry, US EPA (1995)
- 6) EPA: Method 624, Methods for Organic Chemical Analysis of Municipal and Industrial Wastewater-Purgeables, US EPA (1997)
- 7) 城山二郎, 松浦洋文: パージ&トラップ-GC/MS 法による水試料中の揮発性有機化合物 60 物質の一斉分析, 環境化学, **6**, 583-592 (1996)
- 8) 環境庁環境保健部環境安全課: 「平成 8 年度 化学物質分析法開発調査報告書」、p.22 (1997)
- 9) 環境庁水質保全局水質管理課: 「外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル (水質、底質、水生生物)」、p.VI-1 (1998)
- 10) 環境庁水質保全局水質管理課: 「要調査項目等調査マニュアル (水質、底質、水生生物)」、p.2 (1999)

分析法フローチャート

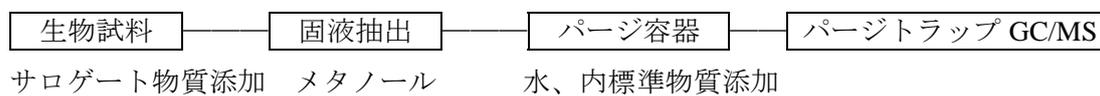
水質試料



底質試料



生物試料



iii. 揮発性有機物質の分析法
(ヘッドスペースGC/MS法)

1 対象物質

表1に示す23物質。

表1 対象物質、サロゲート物質と定量イオンの例 (注1)

物質名	測定イオンの例	サロゲート物質の例	測定イオンの例
アクリル酸エステル類			
アクリル酸メチル	55 85	2,3,3-d ₃ -アクリル酸メチル	58 87
アクリル酸エチル	55 73 99		
アクリル酸ブチル	55 73 85		
イソプレン	53 67 68		
イソプロピルベンゼン (クメン)	105 120		
エピクロロヒドリン	49 57	エピクロロヒドリン-d ₅	62
塩化ベンジル	91 126	塩化ベンジル-d ₇	98 133
1-オクテン	55 70 83 112		
クロロ酢酸エチル	49 77		
p-クロロトルエン	91 126	p-クロロトルエン-d ₄	95 130
酢酸ビニル	43 86	¹³ C ₂ -酢酸ビニル	88
酸化プロピレン	57 58	1,2-酸化プロピレン-d ₆	64
ジエチルベンゼン類			
1,2-ジエチルベンゼン	105 119 134		
1,3-ジエチルベンゼン	105 119 134		
1,4-ジエチルベンゼン	105 119 134		
ジクロロベンゼン類			
1,2-ジクロロベンゼン	75 111 146 148	1,2-ジクロロベンゼン-d ₄	115 150 152
1,3-ジクロロベンゼン	75 111 146 148	1,3-ジクロロベンゼン-d ₄	115 150 152
トリクロロベンゼン類			
1,2,3-トリクロロベンゼン	109 145 180 182	1,2,3-トリクロロベンゼン-d ₃	148 183 185
1,2,4-トリクロロベンゼン	109 145 180 182	1,2,4-トリクロロベンゼン-d ₃	148 183 185
1,3,5-トリクロロベンゼン	109 145 180 182	1,3,5-トリクロロベンゼン-d ₃	148 183 185
二硫化炭素	44 76 78		77
ヘキサクロロブタジエン	190 224 225 260	¹³ C ₄ -ヘキサクロロ-1,3-ブタジエン	194 229 264
ペンタクロロエタン	117 119 165 167		

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。

3 分析法の概要

水質試料については、サロゲート物質を添加し、塩化ナトリウムを入れたバイアルに採り内標準物質を加えて密栓して混和する。底質及び生物試料については、サロゲート物質を添加し、試料中の対象物質をメタノールで抽出する。抽出液の一部を水及び塩化ナトリ

表2 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)		生物 (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	目標検出 下限値	目標定量 下限値
アクリル酸メチル	0.05	0.2	5	20	5	20
アクリル酸エチル	0.1	0.3	10	30	10	30
アクリル酸ブチル	0.1	0.3	10	30	10	30
イソプレン	0.1	0.3	10	30	10	30
イソプロピルベンゼン (クメン)	0.1	0.3	10	30	10	30
エピクロロヒドリン	0.05	0.2	5	20	5	20
塩化ベンジル	0.05	0.2	5	20	5	20
1-オクテン	0.1	0.3	10	30	10	30
クロロ酢酸エチル	0.2	0.7	20	70	20	70
p-クロロトルエン	0.1	0.3	10	30	10	30
酢酸ビニル	0.05	0.2	5	20	5	20
酸化プロピレン	1	3.3	100	330	100	330
1,2-ジエチルベンゼン	0.05	0.2	5	20	5	20
1,3-ジエチルベンゼン	0.1	0.3	10	30	10	30
1,4-ジエチルベンゼン	0.05	0.2	5	20	5	20
1,2-ジクロロベンゼン	0.1	0.3	10	30	10	30
1,3-ジクロロベンゼン	0.1	0.3	10	30	10	30
1,2,3-トリクロロベンゼン	0.05	0.2	5	20	5	20
1,2,4-トリクロロベンゼン	0.05	0.2	5	20	5	20
1,3,5-トリクロロベンゼン	0.05	0.2	5	20	5	20
二硫化炭素	0.05	0.2	5	20	5	20
ヘキサクロロブタジエン	0.05	0.2	5	20	5	20
ペンタクロロエタン	0.05	0.2	5	20	5	20

ウムを入れたバイアルにとり、内標準物質を加えて密栓して混和する。これらのバイアルは一定温度で保持し、対象物質を気液平衡状態とし、気相の一部を GC/MS-SIM で定量する（注1、注2、注3）。

4 試薬、器具及び装置

(1) 試薬

- ・メタノール：対象物質の分析に影響のないもの（注4）。
- ・塩化ナトリウム：対象物質の分析に影響のないもの（注5）。
- ・水：対象物質の分析に影響のないもの（注6）。
- ・対象物質：試験に支障のない純度のもの（注7）。
- ・標準原液：メタノールを 30~50 mL 入れた 100 mL メスフラスコに、対象物質の標準品各 100 mg を精秤し、メタノールで 100 mL とし標準混合原液（1000 µg/mL）とする（注8）。

- ・サロゲート原液：メタノールを 50～90 mL 入れた 100 mL メスフラスコに、サロゲート物質各 10 mg を秤量し、メタノールで 100 mL とし、サロゲート原液（100 µg/mL）とする（注 9）。
- ・サロゲート溶液：メタノールを 50～80 mL 程度入れた 100 mL メスフラスコに、サロゲート原液 10 mL をとり、メタノールで 100 mL としサロゲート溶液（10 µg/mL）とする（注 10）。
- ・内標準原液：メタノールを 50～90 mL 入れた 100 mL メスフラスコに、内標準物質（フルオロベンゼン及び 4-ブロモフルオロベンゼン）各 100 mg を秤量し、メタノールで 100 mL とする（注 9）。
- ・内標準溶液：メタノールを 50～90 mL 程度入れた 100 mL メスフラスコに、内標準原液 1 mL をとり、メタノールで 100 mL とし内標準溶液（10 µg/mL）とする（注 10）。

（2）器具及び装置

- ・試料採取容器：水質試料用は、容量 50～250 mL 程度の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ロガラス瓶。底質試料用は、容量 50～250 mL 程度の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広口ネジロガラス瓶、またはこれと同等以上の瓶。洗浄後、水ですすぎ、乾燥する。約 105℃の電気乾燥器内で 3 時間程度放置し、汚染のない場所で冷却する。冷却後、キャップを堅くしめ、汚染のない場所に保管する。
- ・遠心管：容量 50 mL の共栓付きガラス製のもの。洗浄し、水ですすぎ、メタノールで洗浄後、乾燥する。約 105℃の電気乾燥器内で 3 時間程度放置し、汚染のない場所で冷却する。冷却後、キャップを堅くしめ、汚染のない場所に保管する。
- ・バイアル：試料（10～100 mL）を入れた時に、試料量の 10～30%の空間が残るガラス製容器で、その上部の口に四フッ化エチレン樹脂フィルム、シリコーンゴム栓（注 11）、アルミニウムキャップをキャップ締め器で固定し、加温、冷却しても容器の機密性が保たれるもの（注 12）。洗浄後、水ですすぎ、乾燥する。約 105℃の電気乾燥器内で 3 時間程度放置し、汚染のない場所で冷却する。
- ・ヘッドスペースサンプラー（注 13、注 14）
- ・GC/MS：キャピラリーカラムの取付可能な GC 付き四重極型、または二重収束型 MS

(注2)。

5 試料の採取・運搬

(1) 水質試料

試料採取容器を採取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、マイクロシリンジでサロゲート溶液を添加し(注15)、直ちにキャップをする。このとき、瓶内に空気層を残さないよう注意する。試料を運搬する場合には、汚染のない運搬用容器を用いて遮光・冷蔵する。前処理操作は試料採取後直ちに行う。直ちに行えない場合には、試料は汚染のない冷暗所(4℃以下)で凍結しないように保存する。

(2) 底質試料

試料は採泥器で採取後、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に直ちに密栓する。試料を運搬する場合には、汚染のない運搬用容器を用いて遮光・冷蔵する。試験操作は試料採取後直ちに行う。直ちに行えない場合には、試料は汚染のない冷暗所(4℃以下)で凍結しないように保存する(注16)。試料はフルイを通さず、容器内の表層の水を捨て、表層部をかき取った下層とし、固形物を含まないものを試験する。

(3) 生物試料

試料を運搬する場合には、汚染のない運搬用容器を用いて遮光・冷蔵する。試験操作は試料採取後直ちに行う。直ちに行えない場合は、汚染のない冷暗所(4℃以下)で凍結しないように保存する(注16)。試験操作の直前に、汚染のない冷所で試験する部位を速やかに分け取る。

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

(ア) 水質試料

塩化ナトリウムをバイアルに入れる（注17）。試料 10～100 mL の適量を静かに泡立てないようにバイアルにホールピペットで入れ、内標準溶液を添加する（注18）。四フッ化エチレン樹脂フィルム、シリコーンゴム栓及びアルミシールで直ちに密栓してふりませ、測定用試料とする。

（イ）底質試料

試料 20 g を遠心管に採り、3000 rpm で 20 分間遠心分離し、上澄みは捨てる。試料にサロゲート溶液を添加し（注15）、メタノール 10 mL を加え、10 分間超音波抽出を行う。3000 rpm で 10 分間遠心分離し、液層を全量フラスコに入れる。残さにメタノール 10 mL を加え、10 分間超音波抽出を行う（注19）。3000 rpm で 10 分間遠心分離し、液層を全量フラスコに加え、定容（25～50 mL）とし、試料液とする。

塩化ナトリウムをバイアルに入れる（注17）。バイアルに、水 9.4 mL に対して試料液 0.6 mL の割合となるように、水 9.4～94 mL 及び試料液 0.6～6 mL を静かに泡立てないように入れ（注20）、内標準溶液を添加する（注18）。四フッ化エチレン樹脂フィルム、シリコーンゴム栓及びアルミシールで直ちに密栓してふりませ、測定用試料とする。

（ウ）生物試料

試料 20 g を遠心管に採り、3000 rpm で 20 分間遠心分離し、上澄みは捨てる。試料にサロゲート溶液（注15）を添加し、メタノール 10 mL を加え、3 分間ホモジナイズする（注19）。3000 rpm で 10 分間遠心分離し、液層を全量フラスコに入れる。残さにメタノール 10 mL を加え、10 分間超音波抽出を行う。3000 rpm で 10 分間遠心分離し、液層を全量フラスコに加え、定容（25～50 mL）とし、試料液とする。

塩化ナトリウムをバイアルに入れる（注17）。バイアルに、水 9.4 mL に対して試料液 0.6 mL の割合となるように、水 9.4～94 mL 及び試料液 0.6～6 mL を静かに泡立てないように入れ（注20）、内標準溶液を添加する（注18）。四フッ化エチレン樹脂フィルム、シリコーンゴム栓及びアルミシールで直ちに密栓してふりませ、測定用試料とする。

（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、底質及び生物試料については、試料と同量の水及びメタノールを用いて、「6 試験操作（1）前処理」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。

(3) 添加回収試験液の調製

「6 試験操作(1) 前処理」に従って、水質試料の場合はバイアル中の試料に、また、底質及び生物試料の場合は遠心管に採った試料に、各々、標準溶液を添加して 0.01～50 µg/L とする(注2 1)。

(4) 標準液の調製

標準原液をメタノールで希釈し、0.1～50 µg/mL の標準溶液を調製する。

(5) 測定

(ア) ヘッドスペース測定条件の例(注2 2)

- ・ 注入圧：10 psi
- ・ ループ温度：140℃
- ・ トランスファーライン温度：150℃
- ・ ループ充填時間：0.01 分
- ・ ループ平衡時間：0.05 分
- ・ 注入時間：0.1 分

(イ) GC-MS 測定条件の例

(a) ガスクロマトグラフ部(注2 3)

- ・ カラム：フェニルメチルシリコン化学結合型(内径 0.2～0.75 mm、長さ 25～120 m、膜厚 0.1～3.0 µm 程度) カラムまたは同等以上の分離性能をもつもの(注2 4)
- ・ カラム温度：40℃(1 分) → 3℃/分 → 60℃ → 10℃/分 → 130℃ → 15℃/分 → 210℃(15 分)
- ・ 注入口温度：200℃
- ・ 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)

(b) 質量分析部(注2 5)

- ・ イオン化法：EI

- ・イオン化エネルギー：70eV

- ・イオン化電流：300 μ A

- ・イオン源温度：230°C

(c)測定イオン（注26）

- ・塩化ベンジル：91、126 など（表1参照）

- ・フルオロベンゼン：96、70

- ・4-ブロモフルオロベンゼン：174、176、95

(ウ) 検量線

「6 試験操作（1）前処理」に従って、水質試料の場合は試料と同量の水に、また、底質及び生物試料の場合は、試料と同量の水及びメタノールに、標準溶液を添加して0.01～50 μ g/L とする（注20）。これをヘッドスペースサンプラーにより20～70°Cの範囲の一定温度で、20～120分の範囲で一定時間放置する。ヘッドスペースガスの一定量を採取し、GC/MS に注入して測定する（注27）。サロゲート物質又は内標準物質と対象物質の面積比を求め、検量線を作成する。

(エ) 試料液の測定

「6 試験操作（1）前処理」により得られた測定用試料は、ヘッドスペースサンプラーにより20～70°Cの範囲の一定温度で、20～120分の範囲で一定時間放置する。ヘッドスペースガスの一定量を採取し、GC/MS に注入して測定する（注27）。サロゲート物質又は内標準物質と対象物質の面積比から、試料中の対象物質の検出量を求める（注28）。

7 同定、定量及び計算

(1) 同定

対象物質、サロゲート物質及び内標準物質について、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29）、定量イオンと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の強度比の $\pm 20\%$ 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

サロゲート物質又は内標準物質と対象物質の面積比から、試料中の対象物質の検出量を求める。次式で試料中の各対象物質濃度を計算する。なお、底質の試料量は乾燥試料量とする。

水質:濃度 (µg/L) = 検出量 (ng) / 試料量 (mL)

底質:濃度 (µg/kg) = 検出量 (ng) × 試料液量 (mL) / バイアルへの分取量 (mL) / 試料量 (g)

生物:濃度 (µg/kg) = 検出量 (ng) × 試料液量 (mL) / バイアルへの分取量 (mL) / 試料量 (g)

8 分析精度管理

本調査マニュアルの「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) 分析操作において揮散しやすい物質が多いことから、安定同位体をサロゲート物質として用いることが望ましい。表1に例示した以外に適当な物質があればサロゲート物質として用いてもよい。GC/MS測定においては最適なイオンを選定する。対象物質の測定イオンがサロゲート物質のマスペクトルに存在する場合には、両者のピークが十分分離することを確認する。

(注2) 十分な感度が得られればSIM測定の代わりにスキャン測定などでもよい。本法において適当なモニターイオンを用いてGC/MS測定することにより、1,2-ジブromo-3-クロロプロパン、スチレン、*n*-ブチルベンゼン、ジクロロメタン、ジブromokクロロメタン、テトラクロロメタン、トリクロロメタン(クロロホルム)、トリブromometan(ブromホルム)、1,2-ジクロロエタン、1,1,1-トリクロロエタン、1,1,2-トリクロロエタン、1,1-ジクロロエチレン、*cis*-1,2-ジクロロエチレン、*trans*-1,2-ジクロロエチレン、テトラクロロエチレン、トリクロロエチレン、1,2-ジクロロプロパン、1,3-ジクロロ-1-プロペン、1,4-ジクロロベンゼン、キシレン、ベンゼン、トルエン、エチルベンゼン、プロピルベンゼン、塩化アリル(アリルクロライド)、塩化エチル(クロロエタン)、塩化ビニル、塩化メチル、ジシクロペンタジエン、シクロペンタン、1,1-ジクロロエタン、ジブromokクロロメタン、臭化メチル、1,1,1,2-テトラクロロエタン、1,1,2,2-テトラクロロエタン、1,2,3-ト

リクロロプロパン、1,3-ブタジエン、ブロモクロロメタン、ブロモジクロロメタン、1-ブロモプロパン、2-ブロモプロパン、*n*-ヘキサン、メチル *t*-ブチルエーテル、クロロベンゼンなどの分析が可能である。

(注3) 底質試料を直接バイアルにとり、水及び塩化ナトリウムを加えてヘッドスペース GC/MS 法で測定した場合の回収率は、対象物質や底質の性状などにより異なるが、イソプロピルベンゼン、*p*-クロロトルエン及びヘキサクロブタジエンでは 6.5～52 %程度である。

(注4) 例えば、水質試験用、トリハロメタン測定用など（備考1）。使用前に空試験を行い、使用の適否を確認する。

(注5) 例えば、試薬特級品を約 105～200℃の電気乾燥器内で 3～6 時間程度放置し、汚染のない場所で冷却したもの。使用前に空試験を行い、使用の適否を確認する。

(注6) 蒸留水またはイオン交換水 1～3 L を三角フラスコにとり、これをガスコンロなどで強く加熱して、液量が約 1/3 になるまで煮沸する。直ちに環境からの汚染がない場所に静置して冷却する。蒸留水またはイオン交換水を炭素系吸着剤を充填したカラムで精製したもの、市販の揮発性有機物質試験用の水、市販のミネラルウォーターなどを用いても良い。使用前に空試験を行い、使用の適否を確認する。

(注7) 市販の標準メタノール溶液などを用いても良い。

(注8) 標準原液及びサロゲート原液は使用時に調製する。ただし、調製した標準品を直ちに液体窒素で冷却し、液体窒素またはメタノール・ドライアイスなどの冷媒を用いた冷却条件下でアンプルに移し、溶封して冷暗所に保存すれば 1～3 カ月は保存できる。それ以上の期間を経過したものは純度を確認してから使用する。なお、使用する装置の感度などにあわせて各物質の濃度比を変えても良い。

(注9) 標準原液と同様にアンプルに封入し、冷暗所に保存すれば 1～3 カ月は保存できる。それ以上の期間を経過したものは純度を確認してから使用する。例示した以外に適当な物質があれば内標準物質として用いてもよい。

(注10) サロゲート溶液や内標準溶液の濃度は対象物質濃度や試験操作条件などに応じて適切な濃度となるように調製する。

(注11) 四フッ化エチレン樹脂張りシリコーンゴム栓を用いてもよい。

(注12) バイアルによっては多少の誤差があるので、使用前に容量を確認し、誤差が大きいバイアルは除いて使用する。

- (注13) ヘッドスペースサンプラーの取り扱い説明書などに従って洗浄し、試験操作に支障のある妨害などが無いことを確認する。
- (注14) ヘッドスペースサンプラーを用いない場合は、0.02～5 mL 程度の容量を正確に採取できるガスタイトシリンジと 20～60℃程度の範囲で±0.5℃に調節可能な恒温水槽を用いる。
- (注15) 単位体積（又は重量）あたりのサロゲートの添加量は、試料の前処理において添加する単位体積（又は重量）あたりの内標準物質の量と同程度を目安とする。
- (注16) 保存中は試料体積の変動にともない汚染されることがあるので、この場合は、試料採取容器をチャック付きポリエチレン製袋などに入れて密封し、試料採取容器の口を下にした状態で保存する。
- (注17) 塩化ナトリウムは試料量に対し、濃度が30%程度となるように加える。
- (注18) 内標準の添加量は対象物質濃度や試験操作条件などに応じて適切な量とする。
- (注19) 良好な結果がえられれば振とう抽出やホモジナイズしてもよい。抽出操作で損失が考えられるので、必要に応じてメタノール・ドライアイスなどの冷媒で冷却しながら抽出する。
- (注20) または、あらかじめ、全量フラスコに容量の90%程度の水を入れ、水9.4 mLに対して試料液0.6 mLの割合となるように静かに泡立てないように加え、水で標線までメスアップする。泡立てないように静かに混和後、その10～100 mLをとり、塩化ナトリウムを入れたバイアルに静かに泡立てないように入れる。
GC/MS測定において、メタノールが影響する場合もあるので注意する。
- (注21) 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22) ヘッドスペースサンプラーの構造などにより、最適な条件を設定する。
- (注23) GC分離条件によっては、*p*-クロロトルエンのピークが*o*-クロロトルエンのピークと重なることがあるので注意する。
- (注24) 例えば、Aquatic、DB-1、DB-1301、DB-624、DB-WAX、VOCOL など（備考1）。
- (注25) GC/MS装置により、最適な条件を設定する。
- (注26) 表1に示す測定イオン例を参考に、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27) ヘッドスペースサンプラーの取り扱い説明書などに従って操作する。ヘッドス

ペースサンプラーを用いない場合は、一定温度に保った恒温水槽中にバイアルをくびまで入れ、一定時間放置する。シリコーンゴム栓を通じて、バイアル瓶の気相の一定量をガスタイトシリンジで採取し、GC/MS に注入する。

(注 2 8) 内標準を用いて検量線を作成する場合は、原則として対象化合物の保持時間に最も近い保持時間を有する内標準を用いる。

(注 2 9) 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。

(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

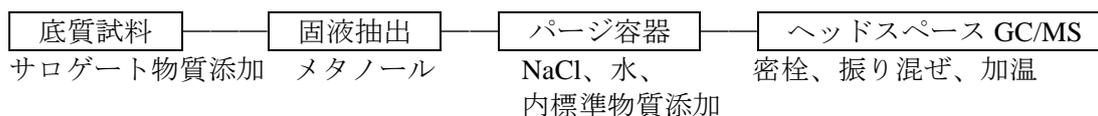
- 1) 環境庁水質保全局水質規制課：「環境水質分析マニュアル」、環境化学研究会（1993）
- 2) 環境庁水質保全局水質規制課：「新しい排水基準とその分析」、環境化学研究会（1994）
- 3) 日本規格協会： JIS K 0125 「用水・排水中の揮発性有機化合物試験方法」（1995）
- 4) EPA: Method 524.2, Measurement of Purgeable Organic Compounds in Water by Capillary Column Gas Chromatography/Mass Spectrometry, US EPA (1995)
- 5) 田辺顕子, 川田邦明, 水戸部英子, 坂井正昭：ヘッドスペース GC/MS による河川水中の揮発性有機化合物類のスクリーニング, 環境化学, 7, 69-79 (1997)
- 6) 環境庁環境保健部環境安全課：「平成 8 年度 化学物質分析法開発調査報告書」、p.1 (1997)
- 7) 環境庁環境保健部環境安全課：「平成 8 年度 化学物質分析法開発調査報告書」、p.22 (1997)
- 8) 環境庁水質保全局水質管理課：「外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル（水質、底質、水生生物）」、p.VI-1 (1998)
- 9) 環境庁水質保全局水質管理課：「要調査項目等調査マニュアル（水質、底質、水生生物）」、p.2 (1999)

分析法フローチャート

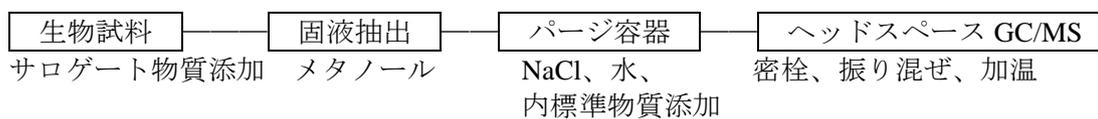
水質試料



底質試料



生物試料



iv. 水溶性物質の分析法（固相マイクロ抽出法、SPME法）

1 対象物質

本分析法の対象物質及びその物理化学的性質を表1に示す。

表1 対象物質及びその物理化学的性質

物質名	CAS RN	分子式	沸点℃	蒸気圧 mmHg	水溶解度	Log Pow
アセトニトリル	75-05-8	C ₂ H ₃ N	82	87	混合	-0.34
アクリロニトリル	107-13-1	C ₃ H ₃ N	77.3	100	7.5%	0.25
メタクリロニトリル*	126-98-7	C ₄ H ₅ N	90	71.2	2.6%	—
1-プロパノール	71-23-8	C ₃ H ₈ O	97	20.8	混合	0.25
2-プロパノール	67-63-0	C ₃ H ₈ O	82.5	44	10%以上	0.05
1-ブタノール	71-36-3	C ₄ H ₁₀ O	117	5.5	9.1%	0.88
アリルアルコール	107-18-6	C ₃ H ₆ O	96	23.8	10%以上	0.17
2-メトキシエタノール	109-86-4	C ₃ H ₈ O ₂	125	6.2	混合	-0.77
2-エトキシエタノール	110-80-5	C ₄ H ₁₀ O ₂	135	5.31	混合	-0.32
2-ブトキシエタノール	111-76-2	C ₆ H ₁₄ O ₂	171	0.88	混合	0.83
2-エトキシエチルアセテート	111-15-9	C ₆ H ₁₂ O ₃	156	2.34	22.9%	—
2-メトキシエチルアセテート*	110-49-6	C ₅ H ₁₀ O ₃	144	2	混合	—
N,N-ジメチルホルムアミド	68-12-2	C ₄ H ₇ NO	153	3.7	混合	-0.01
アリルグリシジルエーテル	106-92-3	C ₆ H ₁₀ O ₂	154	4.7	14.1%	—
1,4-ジオキサン	123-91-1	C ₄ H ₈ O ₂	101.1	37	混合	-0.27
ピリジン	110-86-1	C ₅ H ₅ N	115	20	混合	0.62 - 0.78
アクリル酸メチル	96-33-3	C ₄ H ₆ O ₂	80.5	86.6	4.94%	0.80
アクリル酸エチル	140-88-5	C ₅ H ₈ O ₂	99.4	38.6	1.5%	1.32
アクリル酸ブチル	141-32-2	C ₇ H ₁₂ O ₂	145	5.45	0.14%	2.36
アクリル酸2-ヒドロキシエチル	818-61-1	C ₅ H ₈ O ₃	191	0.0523	混合	-0.21
エピクロロヒドリン	106-89-8	C ₃ H ₅ ClO	116.5	10	6.5%	0.26
ジメチルスルホオキシド	67-68-5	C ₂ H ₆ OS	189	0.42	混合	-2.03
アジポニトリル*	111-69-3	C ₆ H ₈ N ₂	295	0.00068	8%	-0.32
α-ピコリン	109-06-8	C ₆ H ₇ N	128	11.2	混合	1.11
β-ピコリン	108-99-6	C ₆ H ₇ N	143	6.05	混合	1.2
γ-ピコリン	108-89-4	C ₆ H ₇ N	145	5.77	混合	1.22

*は、PRTR 対象物質。

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（注1）。

表2 目標検出下限値及び目標定量下限値

水質 (µg/L)		底質 (µg/kg dry)	
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
0.05	0.15	1	3

3 分析法の概要

水質試料は、サロゲート物質及び塩析剤を飽和量加えて溶解後、固相マイクロ抽出を行い、キャピラリーGC/MS-SIM で定量する。底質試料は、サロゲート物質及び精製水を加えて超音波抽出後、遠心分離により水層を回収し、以下水質試料と同様に操作して定量する。

4 試薬、器具及び装置

(1) 試薬

- ・対象物質：特級試薬
- ・サロゲート物質（アセトニトリル-d₃、アクリロニトリル-d₃、1,4-ジオキサン-d₈、1-ブタノール-d₉及びピリジン-d₅）：市販標準試薬
- ・アセトン：残留農薬試験用
- ・精製水：市販のミネラルウォーター。対象物質を含まないものが望ましいが、現実には入手が困難であるため、できるだけ汚染の少ない水を購入する（注2）。
- ・塩化ナトリウム、炭酸カリウム（注3）：特級試薬を500℃で8時間焼いたもの。
- ・ODS又はポリスチレン樹脂充填カートリッジカラム：市販カートリッジカラム

(2) 器具及び装置

- ・GC/MS：キャピラリーカラム対応 GC に四重極型、磁場型またはイオントラップ型 MS を連結したもの
- ・SPME ユニット（注4）
- ・SPME ファイバー：Carboxen/ポリジメチルシロキサン 75 µm タイプ。購入後は GC インジェクションポートに挿入して、280℃で 30 分加熱してコンディショニングし、GC/MS 測定において妨害ピークがでないことを確認して使用する。空気中に放置するときは、セプタムに突き刺して空気からの汚染を防止する（注5）。
- ・プレドリル型 GC セプタム（注6）
- ・SPME 用 GC インサート（注7）

- ・バイアル瓶（注8）：テフロン/シリコン製薄型セプタム付きバイアル（容量40 mL）
- ・ODS 又はポリスチレン樹脂充填カートリッジカラム：使用前にアセトン 10 mL と精製水 20 mL で洗浄したもの。

5 試料の採取・運搬

（1）水質試料

水質試料は、500 mL をガラス瓶にいれ、冷蔵状態で梱包して送付する。または、現場で SPME 用バイアル瓶に試料 36 mL を取り（注9）、冷蔵状態で梱包して送付する。

（2）底質試料

底質試料は、40 g 以上（2回分析ができるよう）をガラス瓶にいれ、冷蔵状態でドライアイスとともに梱包して送付する。

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

（ア）水質試料

試料水 36 mL（注10）をセプタム付きバイアル瓶（40 mL）に取り、サロゲート物質及び塩析剤（注11）を添加してスターラーで十分混合溶解する（注12）。次に、SPME ファイバーをバイアル瓶に差し込み、試料中にファイバーを露出させて（注13）スターラーで攪拌しながら1時間抽出する（注14）。抽出後、バイアル瓶からファイバーを抜き精製水で軽く洗浄後（注15）、速やかに GC/MS に導入して2分間以上加熱脱着する。

（イ）底質試料

試料 20 g（湿泥）を 50 mL 共栓付遠沈管にとり、サロゲート物質及び精製水 20 mL を加えて10分間超音波抽出する。抽出後、2000 rpm で10分遠心分離を行い、水層を回収する。同様の抽出操作を計3回を行い、抽出液を合わせ 80 mL 定容にする（注16）。次に、36 mL を分取して、以下水質試料と同様に SPME で抽出後、GC/MS 測定する。

(2) 空試験液の調製

水質及び底質とも精製水 36 mL を用いて試料の前処理に従って操作し、得られた試料を空試験液とする。

(3) 標準液の調製

・対象物質及びサロゲート物質

正確に 100 mg 秤り取り、アセトン（注 1 7）を加えて正確に 100 mL として標準原液とする（1000 mg/L 原液）。検量線作成用混合標準液及び試料添加用サロゲート混合標準液（10 mg/L）は、各標準原液を混合後、精製水で希釈して用時調整する。なお、アセトンで調整した標準原液は暗所-20℃以下、精製水で調製した標準混合液は暗所 4℃で保存する。

(4) 測定

(ア) GC/MS 測定条件の例

- ・カラム：化学結合型溶融シリカキャピラリーカラム 60 m×0.32 mm i.d.（注 1 8）
- ・液相：ポリエチレングリコール 1.0 μm
- ・カラム温度：35℃（5 min）～160℃、10℃/min～240℃、25℃/min（6 min）
- ・注入法：スプリットレス パージオフ時間：2分
- ・注入口温度：240℃
- ・キャリアーガス：He 流量：1.3 mL（定流量モード）
- ・測定イオン：表 3 参照

表 3 測定イオン

物質名	定量イオン (確認イオン)	内標準（注 1 9）
アセトニトリル	41 (40)	アセトニトリル-d ₃
アクリロニトリル	53 (52)	アクリロニトリル-d ₃
メタクリロニトリル	67 (41)	アセトニトリル-d ₃
1-プロパノール	31 (59)	1,4-ジオキサン-d ₈
2-プロパノール	45 (59)	アセトニトリル-d ₃
1-ブタノール	56 (41)	1-ブタノール-d ₉
アリルアルコール	57 (31)	1-ブタノール-d ₉
2-メトキシエタノール	45 (76)	1-ブタノール-d ₉
2-エトキシエタノール	59 (72)	1-ブタノール-d ₉
2-プトキシエタノール	57 (87)	1-ブタノール-d ₉
2-エトキシエチルアセテート	43 (72)	1,4-ジオキサン-d ₈

2-メトキシエチルアセテート	43 (58)	1,4-ジオキサン-d ₈
N,N-ジメチルホルムアミド	73 (44)	1-ブタノール-d ₉
アリルグリシジルエーテル	57 (41)	1-ブタノール-d ₉
1,4-ジオキサン	88 (58)	1,4-ジオキサン-d ₈
ピリジン	79 (52)	ピリジン-d ₅
アクリル酸メチル	55 (85)	アセトニトリル-d ₃
アクリル酸エチル	55 (99)	アセトニトリル-d ₃
アクリル酸ブチル	55 (73)	1,4-ジオキサン-d ₈
アクリル酸 2-ヒドロキシエチル	55 (86)	1-ブタノール-d ₉
エピクロロヒドリン	57 (49)	1-ブタノール-d ₉
ジメチルスルホオキシド	63 (87)	1-ブタノール-d ₉
アジポニトリル	41 (68)	1-ブタノール-d ₉
α-ピコリン	93 (66)	ピリジン-d ₅
β-ピコリン	93 (66)	ピリジン-d ₅
γ-ピコリン	93 (66)	ピリジン-d ₅

(イ) 検量線

精製水にサロゲート混合標準液の一定量と対象物質の混合標準液を段階的に加えて全量を 36 mL とし、以下水質試料と同様に操作して得られた対象物質とサロゲート物質のピーク面積の比から検量線を作成する。

(ウ) 試料液の測定

検量線作成後、空試験液及び測定用試料液の SPME 測定を行う。なお、一定時間毎に検量線の間濃度の標準液を SPME 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、20%を越えていれば、GC/MS を再調整後、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（またはサロゲート物質）の定量イオン及び確認イオンのピークが、予想保持時間の±5秒以内に出現し、定量イオンと確認イオンのピーク強度比が予想値と±20%以内で一致した場合、物質が存在していると見なす。

(2) 定量及び計算

得られた各対象物質とサロゲート物質とのピーク面積から検量線により検出量を求める。次に、検出量や分析試料量等から、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。

水質試料濃度 (μg/L) = 検出量 (μg) / 試料量 (36 mL) × 1000

底質中濃度 (μg/kg) = (検出量 (μg) × 2.22 (注 80mL 定容として、その内 36 mL を SPME 分析した場合)) / 試料量 (g・乾泥) × 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、その結果を記録しなければならない。

9 注意事項

(注1) 水質試料の添加回収試験結果及び分析法検出下限値

市販のミネラルウォーター (Volvic) 36 mL に対象物質及びサロゲート物質を添加し、塩析剤として食塩及び炭酸カリウムを用いた時の添加回収試験結果を次表に示す。また、次式を用いて求めた分析法検出下限値 (MDL) を表 4 に合わせて示す。

$$MDL = St_{(n-1, 1-\alpha=0.95)}$$

ここで、S は繰り返し試験の標準偏差、n は繰り返し試験回数、 $t_{(n-1, 1-\alpha=0.95)}$ は n-1 における 95%信頼限界でのスチューデント t 値である。

表 4 水質試料の添加回収試験結果及び分析法検出下限値

物質名	添加濃度 μg/L	食塩	炭酸カリウム
		MDL, μg/L	MDL, μg/L
アセトニトリル	5	2.1	0.62
アクリロニトリル	0.1	0.07	0.03
メタクリロニトリル	0.1	0.05	0.06
1-プロパノール	1	0.19	0.67
2-プロパノール	5	1.4	2.2
1-ブタノール	1	0.17	0.35
アリアルアルコール	0.1	0.05	0.07
2-メトキシエタノール	5	1.9	1.6
2-エトキシエタノール	5	1.4	1.4
2-ブトキシエタノール	0.1	0.04	0.10
2-エトキシエチルアセテート	0.1	0.03	NR
2-メトキシエチルアセテート	0.1	0.02	NR
N,N-ジメチルホルムアミド	5	1.9	1.6
アリルグリシジルエーテル	1	0.23	0.37
1,4-ジオキサン	5	0.84	1.1
ピリジン	0.1	0.02	0.03

アクリル酸メチル	0.1	0.05	NR
アクリル酸エチル	0.1	0.04	NR
アクリル酸ブチル	0.01	0.002	NR
アクリル酸 2-ヒドロキシエチル	5	2.0	NR
エピクロロヒドリン	1	0.19	0.50
ジメチルスルホオキシド	1	0.88	0.61
アジポニトリル	5	1.3	2.3
α -ピコリン	0.1	0.02	0.04
β -ピコリン	0.1	0.02	0.04
γ -ピコリン	0.1	0.02	0.04

NR：回収せず

*：アリルアルコールは、SPME ファイバーから妨害ピークがでるため、微量分析が困難な恐れがある。

(注2) 例 Volvic。Volvic からは、アクリル酸エチル、アクリロニトリル、アセトニトリル、アリルアルコール、1-ブタノール、2-メトキシエタノール、ピリジン、 α - β - γ -ピコリン、2-エトキシアセテート、2-ブトキシエタノール及びアジポニトリルが検出された。

(注3) 炭酸カリウムの抽出率は、一部の物質で食塩に比較して数～数十倍良いが、アルカリ性であるためにエステル類などアルカリで不安定な物質の測定はできない。また、内標準を用いれば補正は可能であるが、抽出率が不安定なため、絶対検量線の作成は困難である。

(注4) シグマアルドリッチジャパン社製 SPME ユニット (備考2)。使用法の詳細は、シグマアルドリッチジャパン社のマニュアルを参照すること。

(注5) シグマアルドリッチジャパン社製 Carboxen/ポリジメチルシロキサン (75 μ m) ファイバー (備考2)。使用法の詳細は、シグマアルドリッチジャパン社のマニュアルを参照すること。ファイバーの使用可能回数は、塩析剤により異なる。食塩では数十回使用できるが、炭酸カリウムでは10～20回程度しか使用できない。ターゲット物質のピーク強度を確認しておき、ピーク強度が大きく低下し出したらファイバーを交換する。

(注6) シグマアルドリッチジャパン社製のサーモグリーンセプタム (備考2)。SPMEの針をGC注入口に挿入する時に、セプタムくずが針穴に巻き込まれないよう予め下穴を開けたセプタム。穴からキャリアガスが漏れることがあるので注意が必要である。

(注7) 使用するGC機種用にシグマアルドリッチジャパン社から販売されているインサ

ート（備考2）。SPME法において、シャープなピークが得られるよう内径をせばめたインサート。

（注8）試料量が多いほど感度が向上する。

（注9）塩析剤は、予めバイアル瓶に塩を入れておく。また、トラベルブランクを取ること。

（注10）通常はODSカートリッジカラム等に通水する必要はないが、疎水性物質等が大量に含まれている場合などは、通水して除去するとよい。無機質の懸濁物質が多い試料では、ガラス繊維フィルターでろ過しても良い。

（注11）食塩、炭酸カリウムなどが使用できる。炭酸カリウム溶液はアルカリ性であるため、アクリル酸エステルや酢酸エステルなどアルカリで不安定な物質は測定できないが、DMSOなどでは食塩に比べて抽出量が数～10倍程度増加する。

（注12）スターラーの回転数は、抽出量に影響を与えるため、検量線を含め回転数を同一にする。

（注13）ファイバーホルダーが試料に浸からないようにする。試料に浸かった場合は、塩が析出してファイバーを破損することがある。

（注14）抽出量は抽出時間に比例するため、濃度が高いことが予想される場合は、抽出時間を短縮してもよい。その場合は、検量線も同一抽出時間で作成する。

（注15）炭酸カリウムを用いる場合は、超音波洗浄器を用いて10～20秒洗浄する。但し、超音波振動の激しい機種は、固相がはがれる恐れがあるため使用しない。

（注16）抽出回数が増す毎に遠心分離でも沈殿しない微粒子が増えるが、SPME抽出の障害とはならない。

（注17）精製水で調製しても良い。但し、アセトン中より分解が速いので注意が必要である。

（注18）プレカラムとして不活性処理済みの溶融シリカカラム 1 m×0.25 mm i.d.を接続する。

（注19）使用するサロゲートの中で検量線の直線性がさらに良い物質があれば、ここに示す内標準の代わりに内標準として使用しても良い。

（備考1）実際の河川水及び海水を用いた添加回収試験の結果は次の通りである。

表5 河川水及び海水の添加回収試験結果

物質名	添加濃度 µg/L	河川水			海水		
		無添加	添加1	添加2	無添加	添加1	添加2
2-プロパノール	5	ND	9.04	8.12	0.43	6.98	9.90
アクリル酸メチル	0.1	0.04	0.19	0.15	0.05	0.10	0.20
メタクロニトリル	0.1	ND	0.14	0.11	ND	0.08	0.13
アクリル酸エチル	0.1	0.01	0.14	0.12	0.01	0.08	0.13
アクリロニトリル	0.1	0.26	0.38	0.46	0.47	0.52	0.49
アセトニトリル	5	2.96	9.11	9.94	4.25	9.52	11.90
1-プロパノール	無添加	ND	-	-	ND	-	-
1,4-ジオキサン	5	ND	5.97	4.69	ND	4.81	5.57
アリアルコール	無添加	ND	-	-	ND	-	-
1-ブタノール	1	7.04	5.23	5.42	5.77	4.95	6.51
アクリル酸ブチル	0.01	ND	0.01	0.01	ND	0.01	0.01
2-メキシエタノール	無添加	検出	-	-	検出	-	-
ピリジン	0.1	0.13	0.28	0.28	0.19	0.34	0.46
エピクロヒトリン	1	ND	1.04	0.88	ND	0.90	0.90
2-エトキシエタノール	無添加	ND	-	-	ND	-	-
α-ピコリン	0.1	ND	0.13	0.13	0.01	0.13	0.11
β-ピコリン	0.1	0.01	0.12	0.11	0.02	0.11	0.10
γ-ピコリン	0.1	ND	0.11	0.10	0.01	0.10	0.08
2-メキシエチルアセテート	0.1	ND	0.10	0.18	ND	0.16	0.16
2-エトキシエチルアセテート	0.1	ND	0.13	0.21	ND	0.16	0.20
アリルグリシジルエーテル	1	ND	0.90	0.83	ND	0.89	0.88
N,N-ジメチルホルムアミド	5	1.28	4.94	4.56	1.57	5.13	4.63
2-プロトキシエタノール	0.1	0.16	0.10	0.10	0.21	0.17	0.22
DMSO	無添加	検出	-	-	検出	-	-
アクリル酸 2-ヒドロキシエチル	5	ND	3.43	3.44	ND	4.09	3.92
アジポニトリル	無添加	検出	-	-	検出	-	-

(備考2) ここに示す商品は、SPME に関するものを除き、本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掲げたものであり、これを推奨するものではない。これと同等以上の品質、性能を用いるものを用いてもよい。

参考文献

- 1) 門上希和夫, 佐藤健司, 岩村幸美, 花田喜文: 固相マイクロ抽出/ガスクロマトグラフィー/質量分析法による水環境中の水溶性アルコールの定量, 分析化学, **45**, 1013-1018 (1996)
- 2) シグマアルドリッチジャパン(株): SUPELCO クロマトグラフィー製品カタログ GC・LC 用試料調製 (1999)

分析法フローチャート

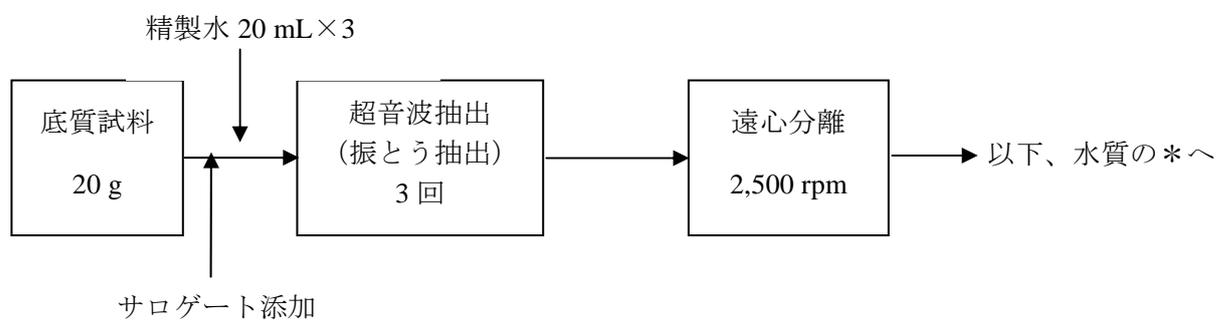
水質試料



塩析剤, サロゲート添加^注

注：底質試料では、サロゲートは底質に添加する。

底質試料



v. 水溶性物質の分析法（活性炭抽出法）

1 対象物質

本分析法の対象物質及びその物理化学的性質を表1に示す。但し、底質中のアクリル酸メチル、アクリル酸エチル及びアクリル酸ブチルには、本分析法は適用できない。

表1 対象物質及びその物理化学的性質

物質名	CAS RN	分子式	沸点℃	蒸気圧 mmHg	水溶解度	Log Pow
アクリロニトリル	107-13-1	C ₃ H ₃ N	77.3	100	7.5%	0.25
1,4-ジオキサン	123-91-1	C ₄ H ₈ O ₂	101.1	37	混合	-0.27
2-メトキシエタノール	109-86-4	C ₃ H ₈ O ₂	125	6.2	混合	-0.77
2-エトキシエタノール	110-80-5	C ₄ H ₁₀ O ₂	135	5.31	混合	-0.32
2-プトキシエタノール	111-76-2	C ₆ H ₁₄ O ₂	171	0.88	混合	0.83
2-エトキシエチルアセテート	111-15-9	C ₆ H ₁₂ O ₃	156	2.34	22.9%	—
ピリジン	110-86-1	C ₅ H ₅ N	115	20	混合	0.62 - 0.78
アクリル酸メチル	96-33-3	C ₄ H ₆ O ₂	80.5	86.6	4.94%	0.80
アクリル酸エチル	140-88-5	C ₅ H ₈ O ₂	99.4	38.6	1.5%	1.32
アクリル酸ブチル	141-32-2	C ₇ H ₁₂ O ₂	145	5.45	0.14%	2.36
アクリル酸 2-ヒドロキシエチル	818-61-1	C ₅ H ₈ O ₃	191	0.0523	混合	-0.21

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（注1）。

表2 目標検出下限値及び目標定量下限値

水質 (µg/L)		底質 (µg/kg dry)	
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
0.05	0.15	10	30

3 分析法の概要

水試料は、サロゲート物質を添加し、活性炭カラムに通水吸着後、アセトン及びジクロロメタンで抽出する。抽出液を脱水・濃縮し、キャピラリーGC/MS-SIMで定量する。底質試料は、サロゲートを添加後、精製水で抽出し、以後水試料と同様に操作する。

4 試薬、器具及び装置

(1) 試薬

- ・対象物質（アクリロニトリル、1,4-ジオキサン、2-メトキシエタノール、2-エトキシエタノール、2-ブトキシエタノール、2-エトキシエチルアセテート、ピリジン、アクリル酸メチル、アクリル酸エチル、アクリル酸ブチル、アクリル酸 2-ヒドロキシエチル）：特級試薬
- ・サロゲート物質（アクリロニトリル-d₃、1,4-ジオキサン-d₈、ピリジン-d₅及びアクリル酸メチル-d₃）：市販標準試薬
- ・内標準物質（*p*-ブロモフルオロベンゼン）：VOC 用標準液
- ・アセトン及びジクロロメタン：残留農薬試験用
- ・活性炭：（注2）
- ・精製水：市販のミネラルウォーター（注3）。対象物質を含まないものが望ましいが、現実には入手が困難であるため、できるだけ汚染の少ない水を手に入れる。
- ・無水硫酸ナトリウム：特級試薬を 700℃で 8 時間焼いたもの。
- ・ODS 又はポリスチレン樹脂充填カートリッジカラム（注4）：市販カートリッジカラム

（2）器具及び装置

- ・活性炭カラム：あらかじめ精製水中に保存した活性炭を内径 5 mm のテフロンチューブに長さ 400 mm 充填したもの。軽くアスピレーターで引きながら、先端を切り取った駒込ピペットで活性炭を取り、テフロンチューブに入れると良い。
活性炭カートリッジカラムを使用する場合は、ジクロロメタン 10 mL、アセトン 20 mL 及び精製水 40 mL を順に通水してコンディショニングしたもの。
- ・ODS 又はポリスチレン樹脂充填カートリッジカラム：使用前にアセトン 10 mL と精製水 20 mL で洗浄したもの。
- ・GC/MS：キャピラリーカラム対応 GC に四重極型、磁場型またはイオントラップ型 MS を連結したもの
- ・活性炭カラムを用いた濃縮器具：図 1 参照。なお、活性炭カートリッジカラムを使用する場合は、市販の固相抽出装置を利用する。

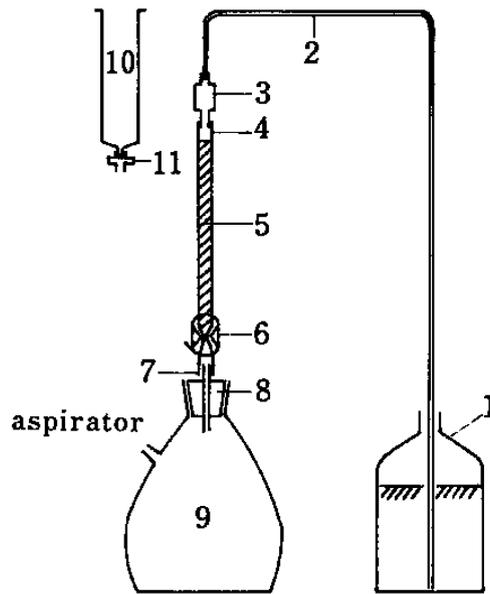


図1 活性炭カラムを用いた濃縮器具

1、試料ビン；2、テフロンチューブ；3、ODS カートリッジカラム；4、テフロンチューブ；5、活性炭；6、チューブストッパー；7、ガラス管；8、シリコンゴム栓；9、吸引ビン；10、リザーバー；11、アダプター

5 試料の採取・運搬

(1) 水質試料

水質試料は、2 L 以上(2 回分析ができるよう)をガラス瓶にいれ、冷蔵状態で梱包して送付する。

(2) 底質試料

底質試料は、40 g 以上(2 回分析ができるよう)をガラス瓶にいれ、冷蔵状態でドライアイスとともに梱包して送付する。

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

(ア) 水質試料

自作活性炭カラム：試料水 1 L に 10 mg/L のサロゲート混合液を 100 μ L 添加して十分混合後、活性炭カラムに毎分 10 mL 以下で通過させる。次にアダプター（注 5）でリザーバーと活性炭カラムを接続し、精製水 20 mL でカラムを水洗後、アスピレーターで吸引脱水する。次に、アセトン 3 mL 続いてジクロロメタン 70 mL を活性炭カラムに流して（自然流下）対象物質を溶出し、無水硫酸ナトリウムで脱水して試料処理液とする。

市販の活性炭カートリッジ：試料水 500 mL に 10 mg/L のサロゲート混合液を 100 μ L 添加して十分混合後、カートリッジを直列に 2 本もしくは 3 本接続（注 6）したものに、毎分 10 mL 以下で通過させる。次に、精製水 10 mL でカートリッジを洗浄後、アスピレーターで 2 分間吸引し、さらに 3000 rpm で 10 分間遠心分離して脱水する。溶出は、通水と逆方向にアセトン 5 mL を 0.5 mL/min で流して行い、得られた溶出液を試料処理液とする。

(イ) 底質試料

試料 20 g（湿泥）を正確に秤取り、50 mL 共栓付遠沈管に入れて 10 mg/L のサロゲート混合液 100 μ L を添加して混合後、精製水 20 mL を加える。十分に混合した後、超音波洗浄器中（または振とう機）で 10 分間懸濁（振とう）し、2500 rpm で 5 分間遠心分離して上澄液を取る（注 7）。この抽出操作を 3 回繰り返して、抽出液を合わせ、以後水試料と同様に操作し、試料処理液を得る。

(2) 試料液の調製

(ア) 水質試料

自作活性炭カラムの場合は、試料処理液を KD 濃縮装置を用い常圧で 4~5 mL に濃縮し（注 8）、カートリッジカラムの場合は、窒素気流で 2~3 mL に濃縮し、共に内標準物質の *p*-ブロモフルオロベンゼンの一定量を加えて試料液とする。

(イ) 底質試料

自作活性炭カラムの場合は、試料処理液を KD 濃縮装置を用い常圧で 4~5 mL に濃縮し（注 8）、カートリッジカラムの場合は、窒素気流で 2~3 mL に濃縮し、共に内標準物質の *p*-ブロモフルオロベンゼンの一定量を加えて試料液とする。

(3) 空試験液の調製

(ア) 水質試料

少量の精製水に 10 mg/L のサロゲート混合液 100 μ L を添加して「前処理」及び「試料液の調製」と同様に操作して得られる液を空試料液とする。

(イ) 底質試料

精製水 60 mL に 10 mg/L のサロゲート混合液 100 μ L を添加して、水質試料の「前処理」及び「試料液の調製」と同様にして得られる液を空試料液とする。

(4) 添加回収試験液の調製

水質試料では任意の試料水 (1 L または 500 mL)、底質試料では任意の試料 20 g (湿泥) に対象物質の混合標準液を検出下限値の 10 倍量 (注 9) 加え、さらに 10 mg/L のサロゲート混合液 100 μ L を添加して十分混合後、60 分放置して「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。

(5) 標準液の調製

・対象物質及びサロゲート物質

正確に 100 mg 秤り取り、アセトンを加えて正確に 100 mL として標準原液とする (1000 mg/L 原液)。試料添加用サロゲート混合標準液 (10 mg/L) は、各標準原液を混合後、アセトンで希釈して作成する。

・内標準溶液

市販の VOC 用の *p*-ブロモフルオロベンゼン (1000 mg/L メタノール溶液) を標準原液とする。

なお、全ての標準原液及び混合標準液は、暗所-20 $^{\circ}$ C 以下で保存する。

・検量線用標準液

検量線作成用の標準液は、対象物質を 0~数 μ g の範囲で、またサロゲート物質を 0~1 μ g の範囲で 5 段階以上とり、それらに *p*-ブロモフルオロベンゼンの一定量を添加し、ジクロロメタンで 5 mL に希釈して (カートリッジカラムの場合は、アセトンで 2.5 mL に希釈) 作成する。検量線用標準液は、用時調製する。

(6) 測定

(ア) GC/MS 測定条件の例

- ・ カラム：化学結合型溶融シリカキャピラリーカラム 30m×0.32 mm i.d.
- ・ 液相：ポリエチレングリコール 1.0 μm (例 Supelco-Wax 10)
- ・ カラム温度：40 °C (1 min) ~180 °C、5 °C/min
- ・ 注入法：スプリットレス パージオフ時間：2分
- ・ 注入口温度：200 °C
- ・ キャリヤーガス：He 流量：1.3 mL (定流量モード)
- ・ 測定イオン：表 3 参照

表 3 測定イオン

物質名	定量イオン (確認イオン)
アクリロニトリル	53 (52)
アクリロニトリル-d ₃	56 (54)
1,4-ジオキサン	88 (58)
1,4-ジオキサン-d ₈	96 (64)
2-メトキシエタノール	45 (76)
2-エトキシエタノール	59 (72)
2-ブトキシエタノール	57 (87)
2-エトキシエチルアセテート	72 (43)
ピリジン	79 (52)
ピリジン-d ₅	84 (56)
アクリル酸メチル	55 (85)
アクリル酸メチル-d ₃	58 (88)
アクリル酸エチル	55 (99)
アクリル酸ブチル	55 (73)
アクリル酸 2-ヒドロキシエチル	55 (73)
<i>p</i> -ブロモフルオロベンゼン (IS)	174 (95)

(イ) 検量線

標準液 1~2 μL をガスクロマトグラフに注入し、対象物質及びサロゲート物質と内標準物質 (*p*-ブロモフルオロベンゼン) のピーク面積の比により検量線を作成する。

(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を注入して測定を行う。なお、一定時間毎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、20% を越えていれば、GC/MS を再調整後、検量線を作成し直して測定を行う。

7 同定、定量及び計算

(ア) 同定

対象物質、サロゲート物質及び内標準物質の定量イオン及び確認イオンのピークが、予想保持時間の±5 秒以内に出現し、定量イオンと確認イオンのピーク強度比が予想値と±20%以内で一致した場合、物質が存在しているを見なす。

(イ) 定量及び計算

得られた各対象物質とサロゲート物質あるいは内標準物質とのピーク面積から検量線により検出量を求める。次に、検出量や分析試料量等から、次式により試料中の濃度を計算する。

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

$$\text{底質中濃度 (}\mu\text{g/kg}\cdot\text{乾泥)} = \text{検出量 (}\mu\text{g)} \text{ / 試料量 (kg}\cdot\text{乾泥)}$$

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) 添加回収試験結果及び分析法検出下限値（自作の活性炭カラムを使用した場合）

市販のミネラルウォーター（Volvic）1 L 及び東京湾底質 20 g（湿重量、乾重量 7.86g）に対象物質（サロゲート物質）をそれぞれ 1 μg 添加し、自作の活性炭カラムを用いて全操作を行って得た回収率を表 4 に示す。また、次式を用いて求めた分析法検出下限（MDL）を合わせて示す。

$$\text{MDL} = S t_{(n-1, 1-\alpha=0.95)}$$

ここで、S は繰り返し試験の標準偏差、n は繰り返し試験回数、t (n-1, 1- α =0.95) は n-1 における 95 %信頼限界でのスチューデント t 値である。本添加回収試験では、添加量が 1 μg と装置検出下限値から予測される値より相当に大きかったため、MDL は目標検出下限値と比べて大きな値となった。添加回収後の最終試料液中濃度が、試料装置検出下限値の 10 倍程度になるように濃度を設定して添加回収試験を実施すれば、さらに低い MDL が得られることが期待される。

なお、ミネラルウォーター（Volvic）から 2-エトキシエタノール及び 2-ブトキシエタノールが、また底質からは 2-メトキシエタノール、2-エトキシエタノール、2-ブトキシエタノール及びピリジンが数十～100 ng 検出された。

表 4 添加回収試験結果及び分析法検出下限値

物質名	水質 (n=8)			底質 (n=7)		
	回収率 %	RSD %	MDL µg/L	回収率 %	RSD %	MDL µg/kg dry
アクリロニトリル	97 (51)	8.8 (7.9)	0.13	117 (25)	3.6 (8.3)	8.3
1,4-ジオキサン	107 (90)	1.6 (1.9)	0.031	107 (76)	2.3 (4.3)	6.0
2-メトキシエタノール	30	3.8	0.022	54	10.1	13
2-エトキシエタノール	84	1.9	0.028	75	6.5	11
2-ブトキシエタノール	90	5.3	0.080	55	6.2	7.5
2-エトキシエチルアセテート	88	2.7	0.043	46	7.5	8.4
ピリジン	104 (45)	4.4 (10.2)	0.081	108 (6)	6.2 (28.9)	16
アクリル酸メチル	7.5	4.9	0.007	NR	-	-
アクリル酸エチル	77	4.0	0.053	NR	-	-
アクリル酸ブチル	72	4.7	0.060	NR	-	-

() は、サロゲート物質が存在する場合でも、サロゲートによる補正を行わない時の結果を示す。

NR：回収せず

(注 2) GL サイエンス製の Activated Carbon Beads M。開封後、直ちに精製水中に保存する。または、市販の活性炭カートリッジカラム（例えば、Waters AC-2, 昭和電工製活性炭素繊維カートリッジなど）。市販の活性炭カートリッジを用いる場合は、必ず添加回収試験を行い、回収率、相対標準偏差及び分析法検出下限値を求めること（備考 1）。

(注 3) 例 Volvic（備考 1）。

(注 4) 疎水性物質による妨害が認められた場合は、活性炭カラムの上部に装着することにより妨害を取り除くことができる。また、市販の活性炭カートリッジを用いる場合は、浮遊物質による目詰まり防止に有効である。

(注 5) 例 Analytichem International 製ボンドエリート用（備考 1）。

(注 6) 添加回収試験を行って、回収率や通水速度などから直列に接続するカートリッジの本数を決定する。

(注 7) 抽出回数が増す毎に遠心分離でも沈殿しない微粒子が増えるが、そのまま活性炭

カラムに通しても特に問題はない。

(注8) KD濃縮で1~2 mLまで濃縮すると、一部揮散する物質があるため、最終液量は4~5 mLとする。なお、検出下限値の向上などの目的で、さらに濃縮する必要があるときは、窒素気流濃縮を行う。

(注9) 対象物質が添加回収用試料に添加量と比べて無視できない量含まれている場合は、同程度の濃度になるよう対象物質の添加量を増やして試験を行う。

(備考1) ここに示す商品は、本マニュアル使用者の便宜のために、一般に入手可能な製品を掲げたものであり、これを推奨するものではない。これと同等以上の品質、性能を用いるものを用いてもよい。

参考文献

- 1) 門上希和夫, 山本理香 : *p*-ジオキサン, pp105-114, 「平成元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 (1990)
- 2) 山口之彦, 先山孝則 : 1-ノナノール, 3-メトキシ-1-ブタノール, 2-ブトキシエタノール, 1,3-ジクロロ-2-プロパノール, 2-エチルヘキサノール, 2-オクタノール, pp33-65, 「平成6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, 東京 (1995)
- 3) 薩摩林光, 笹井春雄, 林弘道, 横川利則 : ピリジン, pp99-114, 「平成9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, 東京 (1998)
- 4) Kadokami, K., Koga, M., and Otsuki, A.: Gas Chromatography/Mass Spectrometric Determination of Traces of Hydrophilic and Volatile Organic Compounds in Water after Preconcentration with Activated Carbon. *Anal. Sci.*, **6**, 843-849 (1990)
- 5) 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)
- 6) 川田邦明, 茨木剛, 田辺顕子, 家合浩明, 篠田晶子, 鈴木廣志, 坂井正昭 : 環境水中における水溶性有機化合物の固相抽出を目的とした活性炭系捕集剤の評価, 第61回分析化学討論会講演要旨集, 159 (2000)

vi. 置換ベンゼン類、有機酸エステル類、有機リン酸エステル類
及び農薬類の分析法

1 対象物質

水、底質および生物（原則として淡水・海産魚類、甲殻類、貝類）試料中の置換ベンゼン類、有機酸エステル類、有機リン酸エステル類および農薬類の分析に適用する。具体的な対象物質は表 1 である。なお、本法は広範な中揮発性化学物質の多成分一斉分析への適用も意図している。

表 1 対象物質

項目番号	物質名	略称	CAS No.	水溶解度 (µg/mL)	Log Pow
77.1	<i>o</i> -クロロニトロベンゼン	<i>o</i> -CNBz	88-73-3	441	2.24
77.2	<i>p</i> -クロロニトロベンゼン	<i>p</i> -CNBz	100-00-5	225	2.39
110.2	2,4-ジニトロトルエン	2,4-DNT	121-14-2	270	1.98
110.4	2,6-ジニトロトルエン	2,6-DNT	606-20-2	182	2.10
3.4	アクリル酸 2-エチルヘキシル	EHAc	103-11-7	100	4.09
220.01	フタル酸ジアリル	DAP	131-17-9	182	3.23
220.02	フタル酸ジ- <i>i</i> -ヘプチル ^{注1)}	DIHP	41451-28-9 (71888-89-6) ^{注2)}	—	—
220.04	フタル酸ジメチル	DMP	131-11-3	4,000	1.60
220.07	フタル酸ジ- <i>n</i> -オクチル	DNOP	117-84-0	0.02	8.10
220.10	フタル酸ジ- <i>i</i> -ブチル	DIBP	84-69-5	6.2	4.11
220.13	フタル酸ジ- <i>n</i> -ヘプチル	DNHP	3648-21-3	0.002	7.56
299.1	リン酸トリキシレニル ^{注1)}	TXP	25155-23-1	0.89	5.63
299.2	リン酸トリクレシル ^{注1)}	TCP	1330-78-5	0.36	5.11
299.3	リン酸トリス (<i>i</i> -プロピルフェニル) ^{注1)}	TIPP	26967-76-0	—	—
299.4	リン酸トリス (2-エチルヘキシル)	TEHP	78-42-2	0.6	9.49
299.5	リン酸トリス (2-クロロエチル)	TCEP	115-96-8	7,000	1.44
299.6	リン酸トリフェニル	TPP	115-86-6	1.9	4.59
299.7	リン酸トリブチル	TBP	126-73-8	280	4.00
60	カルボフラン	—	1563-66-2	320	2.32
71	クロルピリホス	—	2921-88-2	1.12	4.96
131	シメトリン	—	1014-70-6	450	2.80
229	プレチラクロール	—	51218-49-6	50	4.08
290	モリネート	—	2212-67-1	970	3.21

注 1) : 複数の異性体の混合物として検出されるが、化学構造は特定されていないものが多い。
測定対象は原則として DIHP は主要 3 成分 (ピーク)、TCP は 4 成分となる。TXP と TIPP については存在実態に関する知見がまだ十分でない。

注 2) : ()内の CAS 登録番号は、炭素数 7 の側鎖炭化水素を主成分とする炭素数 6~8 のフタル酸エステルの混合物を特定する。

2 目標検出下限値及び定量下限値

本法が目標とする検出下限値は表2の通りであり、定量下限値はその3倍値となる。

表2 目標とする検出下限値

項目番号	物質名	水質 ($\mu\text{g/L}$)	底質 ($\mu\text{g/kg}$)	生物 ($\mu\text{g/kg}$)
77.1	<i>o</i> -クロロニトロベンゼン (<i>o</i> -CNBz)	0.01	1	3
77.2	<i>p</i> -クロロニトロベンゼン (<i>p</i> -CNBz)	0.01	1	3
110.2	2,4-ジニトロトルエン (2,4-DNT)	0.01	3	5
110.4	2,6-ジニトロトルエン (2,6-DNT)	0.01	3	5
3.4	アクリル酸2-エチルヘキシル (EHAc)	0.01	2	5
220.01	フタル酸ジアリル (DAP)	0.01	2	5
220.02	フタル酸ジ- <i>i</i> -ヘプチル ^{注)} (DIHP)	0.01	3	5
220.04	フタル酸ジメチル (DMP)	0.01	2	5
220.07	フタル酸ジ- <i>n</i> -オクチル (DNOP)	0.01	5	20
220.10	フタル酸ジ- <i>i</i> -ブチル (DIBP)	0.01	3	10
220.13	フタル酸ジ- <i>n</i> -ヘプチル (DNHP)	0.01	5	20
299.1	リン酸トリキシレニル ^{注)} (TXP)	0.01	5	15
299.2	リン酸トリクレシル ^{注)} (TCP)	0.03	8	15
299.3	リン酸トリス (<i>i</i> -プロピルフェニル) ^{注)} (TIPP)	0.01	4	15
299.4	リン酸トリス (2-エチルヘキシル) (TEHP)	0.02	4	10
299.5	リン酸トリス (2-クロロエチル) (TCEP)	0.02	7	10
299.6	リン酸トリフェニル (TPP)	0.01	4	10
299.7	リン酸トリブチル (TBP)	0.01	7	10
60	カルボフラン	0.01	5	10
71	クロルピリホス	0.01	3	5
131	シメトリン	0.02	3	5
229	プレチラクロール	0.01	3	5
290	モリネート	0.01	3	5

注) DIHP、TXP、TCP および TIPP については、それぞれ定量用の標準物質としたフタル酸ジ-2-メチルヘキシル(2-DIHP)、リン酸トリス (3,5-ジメチルフェニル) [3,5-TXP]、TCP (複数の異性体の混合物、純度 98%以上)、リン酸トリス (3-イソプロピルフェニル) [3-TIPP] で推定。

3 分析法の概要

本法は同位体希釈質量分析を基本とする。安定同位体標識標準物質の混合溶液であるサロゲート標準溶液を各供試試料に添加して 1~2 時間攪拌または振とうして十分に均一混合した後、抽出操作を行う。

対象物質の水試料からの抽出は、固相ディスク法または溶媒振とう法による。固相ディスク法では 50~100 mL/min の速度で通水して対象物質を捕集し、ジクロロメタンとヘキサンの溶離、脱水、濃縮して前処理液を得る。溶媒振とう法では塩析条件下ジクロロメタン

で2回振とう抽出し、脱水、濃縮して前処理液を得る。

底質試料はアセトンで2回振とう抽出を繰り返し、その抽出液を塩化ナトリウム水溶液で希釈した後、ジクロロメタンによる振とう抽出を行い、脱水、濃縮して前処理液を得る。

生物試料は、メタノールによる攪拌抽出を2回繰り返し、メタノール/ヘキサン分配による脂質除去の操作を行った後、ジクロロメタンによる振とう抽出を行い、脱水、濃縮して前処理液を得る。

前処理液は、必要に応じてフロリジルカラムクロマトグラフィー、シリカゲルカラムクロマトグラフィーあるいは非孔性グラファイトカーボンカラムクロマトグラフィーによる精製を行い、測定用の内標準物質混合溶液を添加して、GC/MSで同定・定量を行う。

なお、入手可能な安定同位体標識標準物質に限りがあるため、濃度の算出は置換ベンゼン類、有機リン酸エステル類および有機リン酸エステル類についてはサロゲート標準物質との相対検量線、農薬類については測定用内標準物質との相対検量線に基づく。

4 試薬、器具及び装置

(1) 試薬

- ・標準物質：純度 97%以上の試薬であって測定の妨害となる成分を含有しないもの、または既知濃度に調製した標準液。置換ベンゼン類、有機酸エステル類および有機リン酸エステル類について、現在入手可能な標準物質を表3にまとめた。DIHP、TCP、TIPP および TXP は異性体あるいは同属体の混合物として存在するが、その全ての成分について標準物質を入手することができない。したがって、本法では DIHP はフタル酸ジ-2-メチルヘキシル（フタル酸ジ-2-イソヘプチル）(2-DIHP)、TCP は TCP としての純度が 98%以上の試薬（4 種類以上の TCP 異性体を主成分とする）、TIPP はリン酸トリス（3-イソプロピルフェニル）(3-TIPP)、TXP はリン酸トリス（3,5-ジメチルフェニル）(3,5-TXP)を標準物質に代表させる（注1）。純品は個別に必要量を精秤して、少量をアセトンに溶解させた後、ヘキサンで 1,000~2,000 µg/mL の標準原液を調製する。
- ・サロゲート標準物質：純度 97%以上の試薬であって測定の妨害となる成分を含有しない安定同位体標識物。現在入手可能な物質を表3にまとめた。これらは個別に必要量を正確に秤りとり、標準物質と同様に 1,000~2,000 µg/mL の標準原液を調製する。

表3 置換ベンゼン類、有機酸エステル類および有機リン酸エステル類の標準物質

対象物質	標準物質 物質名 [略称] ・ 分子式	サロゲート標準物質 物質名 [略称] ・ 分子式
<i>o</i> -CNBz	<i>o</i> -Chloronitrobenzene C ₆ H ₄ NO ₂ Cl	
<i>p</i> -CNBz	<i>p</i> -Chloronitrobenzene C ₆ H ₄ NO ₂ Cl	<i>p</i> -Chloronitrobenzene (¹³ C ₆) [<i>p</i> -CNBz- ¹³ C ₆] *C ₆ H ₄ NO ₂ Cl
2,4-DNT	2,4-Dinitrotoluene CH ₃ C ₆ H ₃ (NO ₂) ₂	2,4-Dinitrotoluene (ring-d ₃) [2,4-DNT-d ₃] CH ₃ C ₆ D ₃ (NO ₂) ₂
2,6-DNT	2,6-Dinitrotoluene CH ₃ C ₆ H ₃ (NO ₂) ₂	2,6-Dinitrotoluene (alkyl-d ₃) [2,6-DNT-d ₃] CD ₃ C ₆ H ₃ (NO ₂) ₂
EHAc	2-Ethylhexyl acrylate CH ₂ CHCO ₂ (C ₂ H ₅)C ₆ H ₁₂	
DAP	Diallyl phthalate C ₆ H ₄ -1,2-(CO ₂ C ₂ H ₃ =CH ₂) ₂	Diallyl phthalate (ring-d ₄) [DAP-d ₄] C ₆ D ₄ -1,2-(CO ₂ C ₂ H ₃ =CH ₂) ₂
DIHP	Di-2-methylhexyl phthalate [2-DIHP] C ₆ H ₄ -1,2-(CO ₂ CH ₃ C ₆ H ₁₂) ₂	Di-2-methylhexyl phthalate (ring-d ₄) [2-DIHP-d ₄] C ₆ D ₄ -1,2-(CO ₂ CH ₃ C ₆ H ₁₂) ₂
DMP	Dimethyl phthalate C ₆ H ₄ -1,2-(CO ₂ CH ₃) ₂	Dimethyl phthalate (ring-D ₄) [DMP-d ₄] C ₆ D ₄ -1,2-(CO ₂ CH ₃) ₂
DNOP	Di- <i>n</i> -octyl phthalate C ₆ H ₄ -1,2-(CO ₂ C ₈ H ₁₇) ₂	Di- <i>n</i> -octyl phthalate (ring-d ₄) [DNOP-d ₄] C ₆ D ₄ -1,2-(CO ₂ C ₈ H ₁₇) ₂
DIBP	Di- <i>i</i> -butyl phthalate C ₆ H ₄ -1,2-(CO ₂ C ₄ H ₉) ₂	Di- <i>i</i> -butyl phthalate (ring-d ₄) [DIBP-d ₄] C ₆ D ₄ -1,2-(CO ₂ C ₄ H ₉) ₂
DNHP	Di- <i>n</i> -heptyl phthalate C ₆ H ₄ -1,2-(CO ₂ C ₇ H ₁₅) ₂	Di- <i>n</i> -heptyl phthalate (ring-d ₄) [DNHP-d ₄] C ₆ D ₄ -1,2-(CO ₂ C ₇ H ₁₅) ₂
TXP	Tris (3,5-dimethyl phenyl) phosphate [3,5-TXP] [(CH ₃) ₂ C ₆ H ₃ O] ₃ P=O	Tris (3,5-dimethyl phenyl) phosphate (ring-d ₉) [3,5-TXP-d ₉] [(CH ₃) ₂ C ₆ D ₃ O] ₃ P=O
TCP	Tri- <i>p</i> -cresyl phosphate (d ₂₁) (CH ₃ C ₆ H ₄ O) ₃ P=O	Tri- <i>p</i> -cresyl phosphate (alkyl-d ₉ , ring-d ₁₂) [TpCP-d ₂₁] (CD ₃ C ₆ D ₄ O) ₃ P=O
TIPP	Tris (3-isopropylphenyl) phosphate [(CH ₃) ₂ CHC ₆ H ₄ O] ₃ P=O	Tris (3-isopropylphenyl) phosphate (alkyl-d ₂₁ , ring-d ₁₂) [3-TIPP-d ₃₃] [(CD ₃) ₂ CD ₆ D ₄ O] ₃ P=O
TEHP	Tris (2-ethylhexyl) phosphate [(C ₂ H ₅)C ₆ H ₁₂] ₃ P=O	Tris (2-ethylhexyl) phosphate (alkyl-d ₅₁) [TEHP-d ₅₁] [(C ₂ D ₅)C ₆ D ₁₂] ₃ P=O
TCEP	Tris (2-chloroethyl) phosphate (CClH ₂ CH ₂ O) ₃ P=O	Tris (2-chloroethyl) phosphate (alkyl-d ₁₂) [TCEP-d ₁₂] (CClD ₂ CD ₂ O) ₃ P=O
TPP	Triphenyl phosphate (C ₆ H ₅ O) ₃ P=O	Triphenyl phosphate (ring-d ₁₅) [TPP-d ₁₅] (C ₆ D ₅ O) ₃ P=O
TBP	Tributyl phosphate [CH ₃ (CH ₂) ₃ O] ₃ P=O	Tributyl phosphate (alkyl-d ₂₇) [TBP-d ₂₇] [CD ₃ (CD ₂) ₃ O] ₃ P=O

- ・ 内標準物質：ナフタレン-d₈、アセナフテン-d₁₀、フェナンスレン-d₁₀、フルオランテン-d₁₀、クリセン-d₁₂、ベンゾ-[*e*]-ピレン-d₁₂の重水素標識標準物質、または同様の用途にすることができる標準物質。これらは個別に必要量を精秤し、ヘキサンに溶解して200 μg/mLの標準原液を調製する。
- ・ 試薬、溶媒類：無水硫酸ナトリウム、塩化ナトリウムなどの試薬類、ヘキサン、アセトン、ジクロロメタン、メタノールなどの溶媒類は、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（注2）。

- ・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、妨害成分を含まないもの。必要に応じて、ジクロロメタンで洗浄して用いる。
- ・窒素ガス：高純度窒素 1 級（純度 99.999%以上）を用い、配管に活性炭や水分吸収剤を装着する。
- ・固相ディスク：(注3)
- ・5%含水シリカゲル：カラムクロマト用シリカゲル（注4）を 130℃で 15 時間加熱活性化した後、95 g を 300 mL の共栓（透明摺）付き三角フラスコにステンレス製ロートを用いて秤量し、密栓して室温まで冷却する。シリカゲルを攪拌しながら、5 mL のホールピペットを用いて精製水を滴下して含水させ、密栓して発熱が終了するまで静かに混合する。更に、振とう器で 30 分間振とうした後、デシゲータ（乾燥剤：シリカゲル）中に 15 時間以上保存したものを使用する。
- ・フロリジル：130℃で 12 時間程度加熱処理する。
- ・グラファイトカーボンカートリッジカラム：容量 3 mL 程度のカラムに非孔性グラファイトカーボンを 0.2~0.3 g 充てんしたもの（注5）、または同等品。使用に先立ち、トルエン、アセトン、ジクロロメタン、ヘキサンによる洗浄が不可欠である。
- ・シリカゲルカートリッジカラム、フロリジルカートリッジカラム：充てんカラムの代替として利用することができるが、予め操作条件の検討を要する。

(2) 器具及び装置

- ・ガラス器具：試料瓶、分液ロート、共栓付試験管、クロマトグラフ管、濃縮フラスコ、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（注2）。
- ・振とう機。
- ・固相抽出装置：吸引型。吸引マニホールド、ガラス製減圧ろ過装置など。
- ・濃縮器：ロータリーエバポレータ(恒温槽付き)。
- ・ホモジナイザー：万能ホモジナイザー（ポリトロン）、超高速万能ホモジナイザー（ヒスコトロン）、攪拌分散器（ウルトラターラックス）または同等品。
- ・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：内部標準液の添加あるいは GC/MS の注入に用いる。

5 試料の採取・運搬

(1) 水質試料

水質試料は、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栓つき硬質ガラス瓶に満水に入れ、氷冷・遮光して、実験室へ持ち帰る。分析操作は可能な限り速やかに行い、試料容器中の全量を分析に供試する。やむを得ず保管が必要な場合は、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。底質試料の保存は、調製試料を -4℃ で凍結さす。

(3) 生物試料

採捕した生物試料は、ポリエチレン製袋に入れ、氷またはドライアイスで保冷したクーラーボックスに収納して、実験室に持ち帰る。生物試料の分析部位は、原則として筋肉組織 (可食部) である。生物試料の保存は -4℃ での凍結による。

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

(ア) 水質試料

1 L 容試料瓶中の試水の全量を秤量して分液ロートに移す。試料瓶は内壁を 10 mL 程度のメタノールで 2~3 回洗い、試水に併せる (注 6)。これにサロゲート標準混合溶液 (各物質 0.5 µg/mL の混合アセトン溶液) を 0.5 mL 添加して 1~2 時間振とうし、十分に溶解混合さす。抽出は固相ディスク (注 3) またはジクロロメタンによる振とう法で行う。

《固相ディスク法》

固相ディスクをフィルターホルダーのベースにのせ、少量のメタノールを垂らして、ヘッドを装着する（注7）。固相ディスクは、予めジクロロメタン、メタノール、精製水の各10 mLでコンディショニングして、精製水がなくなる直前に試水の通水を開始する（注8）。通水は50~100 mL/minの速度で行う（注9）。通水終了後、ヘッドと固相ディスクを精製水20 mLで2回洗浄した後、2~3回減圧と常圧に戻す操作を繰り返して、フィルターホルダーと固相ディスクに付着した水滴を除去する。残存する水分は実験用ティッシュペーパーあるいはろ紙等で拭き取った後に、ヘッドの内壁を洗いながらジクロロメタン3 mLを加え弱い減圧により対象物質を溶出させる。さらに、ジクロロメタン3 mL、ヘキサン3 mLを順次加え、自然落下で溶出を続ける。溶出液は、無水硫酸ナトリウムで脱水した後、窒素気流下で1 mLまで濃縮して前処理液とする（注10）。

《溶媒振とう法》

サロゲート標準混合溶液を溶解混合させた試水に30 gの塩化ナトリウムと150 mLのジクロロメタンを加えて10分間振とうする。ジクロロメタン抽出液を分取して、さらに100 mLのジクロロメタンで振とう抽出を繰り返す。抽出液にヘキサン100 mLを加えて無水硫酸ナトリウムで脱水する。脱水した抽出液は、ロータリーエバポレータを用いて30℃以下で1 mLまで濃縮して前処理液とする（注10）。

(イ) 底質試料

湿泥20 gを共栓付遠心分離管に採り、0.5 µg/mLのサロゲート標準混合溶液0.5 mLを添加、少量（2~3 mL）の精製水を加えてガラス棒でスラリー状になるまで十分に攪拌して、15分超音波振とうする。その後、アセトン50 mLを加え密栓して10分間振とうする。アセトン抽出液は、遠心分離（3,000 rpm、10分）して1 L容分液ロートに分取する。この分液ロートには予め塩化ナトリウム15 g、精製水500 mLを入れておく。遠心分離の残渣にはアセトン50 mLを加えて10分間振とうして、遠心分離を行い、アセトン抽出液を先の分液ロートに併せる。アセトン抽出液を入れた分液ロートにジクロロメタン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分取、水層にジクロロメタン50 mLを加えて、振とう抽出を繰り返し、抽出液を併せる。ジクロロメタン抽出液には、ヘキサン100 mLを加え、無水硫酸ナトリウムで脱水、ロータリーエバポレータを用いて30℃以下で1 mLまで濃縮して前処理液とする（注10）。

(ウ) 生物試料

細切し均一化した湿組織 20 g にサロゲート標準物質混合溶液（各 0.5 µg/mL アセトン溶液）0.5 mL を添加して、ワーリングブレンダーまたはポリトロンホモジナイザーで 10 分間程度攪拌する。これにメタノール 50 mL を加え、10 分間ホモジナイザーで攪拌し対象物質を抽出する。攪拌後、3,000 rpm で 15 分間遠心分離して、メタノール抽出液を 1 L 容分液ロートに分取する。遠心分離の残渣にはメタノール 50 mL を加えて、同様の操作を行い、抽出液を併せる。

次いで、メタノール/ヘキサン分配によって抽出液から脂質成分を除く操作を行う。メタノール抽出液を入れた 1 L 容の分液ロートにメタノール飽和ヘキサン 100 mL を加え、5 分間激しく振とうする。静置後、下層のメタノール層は別の 1 L 容分液ロートに移し、ヘキサン層は捨てる。メタノール層は、メタノール飽和ヘキサン 50 mL を加え、5 分間激しく振とうして静置し、下層のメタノール層を先の 1 L 容分液ロートに移す。この分液ロートに精製水 5 mL を加えて、緩やかに攪拌、暫時静置する。メタノール層の上部にヘキサンが分離した後、メタノール層を別の 1 L 容分液ロートに移し、5%塩化ナトリウム水溶液 500 mL を加えて混合、さらにジクロロメタン 1000 mL を加え 10 分間振とうする。静置後、ジクロロメタン層を分取し、水層にジクロロメタン 50 mL を加えて振とう抽出を繰り返し、ジクロロメタン層を先の抽出液に併せる。ジクロロメタン抽出液には、ヘキサン 50 mL を加えて無水硫酸ナトリウムで脱水し、浴温 30°C 以下でロータリーエバポレータにより 1 mL に濃縮し、前処理液を得る（注 10）。

(2) 試料液の調製

(ア) 水質試料

前処理液は測定用内標準混合溶液（ナフタレン-d₈、フェナンスレン-d₁₀、フルオランテン-d₁₀、クリセン-d₁₂ およびベンゾ-[e]-ピレン-d₁₂ の各標識物質を 20 µg/mL の濃度に調製したヘキサン溶液）を 5 µL 添加し、窒素気流下で 0.5 mL 定容として GC/MS 測定する。測定を妨害する物質が共存する場合は、前処理液を後述するフロリジルまたはシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製して、溶出液に測定用内標準溶液を添加して GC/MS 測定する。

(イ) 底質試料

前処理液はフロリジルまたは 5%含水シリカゲルクロマトグラフィー法で精製する（注 1 1）。フロリジルまたは 5%含水シリカゲルの 5 g をクロマトグラフ管にヘキサンで湿式充てんし、頂部に少量の無水硫酸ナトリウムを積層する。これに前処理液の全量を負荷して成分を吸着させる。その後、ヘキサン 50 mL を 1 滴/秒程度の速度で通し、カラム内を洗浄する（注 1 2）。次いで、10%アセトン含有ヘキサン 100 mL を 1 滴/秒程度で流下させる。この画分に、シメトリンと TCEP を除く、全ての成分が含まれる。シメトリンと TCEP は 30%ベンゼン 5%エタノール含有ヘキサン 50 mL で溶出する。これらの溶出液において、なお着色が著しく、不揮発性夾雑物が測定の妨害となる恐れがある場合は、非孔性グラフアイトカーボンを 0.2~0.3 g 充てんしたカートリッジカラム（注 5）で精製を行う。このカラムは使用直前に 20%アセトン含有ヘキサン 10 mL でコンディショニングする。その後、溶出濃縮液を負荷して、50%アセトン/ヘキサン 5 mL で溶出し、この間の溶出液は全量を試験管に受ける。これらの溶出液は合せ、ロータリーエバポレータを用い 30°C以下で 1 mL まで濃縮する。この濃縮液に測定用内標準混合溶液（各 20 µg/mL ヘキサン溶液）を 5 µL 添加し、1.0 mL 定容として GC/MS 測定を行う。

(ウ) 生物試料

生物試料の前処理液はフロリジルカラムクロマトグラフィーによる精製を行う。精製操作は底質と同様であり、溶出液は濃縮して、測定用内標準混合溶液（各 20 µg/mL ヘキサン溶液）を 5 µL 添加、1.0 mL 定容として、GC/MS 測定を行う。

(3) 空試験液の調製

水試料はそれと同量の精製水、底質および生物試料は精製水 10 mL に、サロゲート標準物質混合溶液（各 0.5 µg/mL アセトン溶液）0.5 mL を添加し、試験操作の「前処理」および「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 1,000 mL、底質と生物試料の 20 g に検出下限値の 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、サロゲート標準物質混合溶液（各 0.5 µg/mL アセトン溶液）0.5 mL を添加して、試験操作の「前処理」および「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。添加した標準物質の試料換算濃度は、TCPを除いて水試料では0.25 µg/L、底質と生物試料では10 µg/kg程度が目安となる。TCPは他の物質の5倍量を添加する。

(5) 標準液の調製

検量線作成用混合標準液、サロゲート標準物質混合溶液、測定用内標準混合溶液を調製する。検量線作成用混合標準液は、その原液をヘキサンで希釈して0~2.0 µg/mLの範囲で5段階以上個別に調製する。但し、TCPは0~10 µg/mLの濃度範囲とする。サロゲート標準物質混合溶液は、対象物質の安定同位体標識標準物質を混合したアセトン溶液であり、各物質の濃度が0.5 µg/mLとなるよう調製する。測定用内標準混合溶液は、ナフタレン-d₈、フェナンスレン-d₁₀、フルオランテン-d₁₀、クリセン-d₁₂およびベンゾ-[e]-ピレン-d₁₂の各重水素標識標準物質を混合し、ヘキサンで希釈してそれぞれ20 µg/mLの濃度に調製する。なお、検量線作成用混合標準液とサロゲート標準物質混合溶液の原液を混合し、アセトンで希釈して各物質の濃度が0.2 µg/mL（但し、TCPは1.0 µg/mL）とした溶液は、回収率測定用の添加用標準液に用いることができる。

(6) 測定

(ア) GC/MS 測定条件の例

GC/MS 測定条件の一例を参考として示す。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、オンカラム、昇温気化方式などの非分割方式のもの。
- ・ キャピラリーカラム：メチルシリコン系、内径0.2~0.3 mm、長さ20~30 m、膜厚0.2~0.3 µm。
- ・ キャリヤーガス：純度99.999%以上の高純度ヘリウム、流速1 mL/min、線速度35 cm/sec。
- ・ カラム恒温槽：50°C(2 min)→(20°C/min)→180°C→(5°C/min)→280°C(10 min)。
- ・ 注入口温度：260°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70 eV。
- ・ イオン源温度：250°C。
- ・ インタフェース部：ダイレクトカップリング (250°C)。

- ・イオン検出法：選択イオンまたは全イオン検出。

(c)GC/MS の調整

本法が測定対象とする物質は、沸点や蒸気圧、あるいは吸着性などの物理化学的性状が大きく異なり、またカルボフランのように装置内での分解がみられる物質も含まれる。

したがって、一回の測定で対象物質の全てを最適に検出することはかなりの無理があるが、GC の注入口、キャピラリーカラム性能、イオン源等を清浄に保ち、装置が正常に作動している状態で、操作条件の最適化と質量校正を行い、マススペクトルパターンや分解能の確認を行い、感度、応答性、再現性などの基本的なチェックを行う。もし、装置感度が目標とする検出下限値を達成する見込みがないと判断されれば、対象物質（群）毎に測定条件を変えるなどの対処を要する。

(d)測定イオン

対象物質および標準物質の検出に設定するモニターイオンの質量を表 4 にまとめた。

(イ) 検量線

(a)標準液の測定

各濃度段階の検量線作成用混合標準液（0～2.0 $\mu\text{g/mL}$ の範囲で 5 段階以上、TCP は 0～10 $\mu\text{g/mL}$ ）の 0.5 mL にサロゲート標準物質混合溶液（0.5 $\mu\text{g/mL}$ ）を 0.5 mL 加え、それぞれに測定用内標準混合溶液（20 $\mu\text{g/mL}$ ）を 5 μL 添加する。この標準液系列は、各標準物質を 0～1.0 $\mu\text{g/mL}$ （TCP は 0～5.0 $\mu\text{g/mL}$ ）、サロゲート標準物質をそれぞれ 0.25 $\mu\text{g/mL}$ 、各測定用標準物質を 0.1 $\mu\text{g/mL}$ の濃度で含み、1 濃度段階の 1 または 2 μL の一定量を最低 3 回 GC/MS に注入し、全濃度域で計 15 点以上のデータを得る。

(b)ピーク面積（または高さ）の強度比の確認

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ほぼ一致することを確認する。

(c)検量線の作成と相対感度係数の算出

表 4 の通り、各標準物質と対応するサロゲート標準物質または測定用内標準物質の濃度比と強度比の関係を XY プロットし、検量線を作成する。この時、各濃度段階における標準物質毎の強度比の変動が 5%以内であることを確認する。なお、TCP は 4 つのピークに分離するので、個々のピークに対して検量線を作成する。

表4 メチルシリコン系GCカラムの溶出順位とモニターイオン質量

項目 番号	物質名	質量数	モニターイオン m/z			参照 サロ ゲート	参照 内標準
			定量	確認			
IS1	naphthalene-d ₈	136.11	136	—	—	—	—
SR1	<i>p</i> -CNBz- ¹³ C ₆	163.01	163	—	—	—	IS1
77.2	<i>p</i> -CNBz	156.99	157	111	127	SR1	IS1
77.1	<i>o</i> -CNBz	156.99	157	111	127	SR1	IS1
3.4	EHAc	184.15	112	70	55	SR3	IS1
SR2	2,6-DNT-d ₃	185.04	167	—	—	—	IS2
110.4	2,6-DNT	182.03	165	99	182	SR2	IS2
SR3	DMP-d ₄	198.08	167	—	—	—	IS2
220.04	DMP	194.06	163	194	135	SR3	IS2
IS2	Acenaphthene-d ₁₀	164.14	164	—	—	—	—
SR4	2,4-DNT-d ₃	185.04	168	—	—	—	IS2
110.2	2,4-DNT	182.03	165	99	182	SR4	IS2
290	Morinate	187.1	126	187	158	—	IS2
SR5	TBP-d ₂₇	293.33	103	—	—	—	IS3
299.7	TBP	266.16	99	155	211	SR5	IS3
60	Carbofuran	221.11	164	149	221	—	IS3
SR6	TCEP-d ₁₂	296.03	261	—	—	—	IS3
299.5	TCEP	283.95	249	251	205	SR6	IS3
SR7	DAP-d ₄	250.11	153	—	—	—	IS3
220.01	DAP	246.09	149	189	235	SR7	IS3
IS3	Phenanthrene-d ₁₀	188.14	188	—	—	—	—
SR8	DIBP-d ₄	282.18	153	—	—	—	IS3
220.1	DIBP	278.15	149	223	205	SR8	IS3
131	Simetryn	213.1	213	170	155	—	IS4
71	Chlorpyrifos	348.93	197	314	349	—	IS4
IS4	Fluoranthene-d ₁₀	212.14	212	—	—	—	—
229	Pretilachlor	311.17	262	238	176	—	IS4
SR9	TPP-d ₁₅	341.16	341	—	—	—	IS5
299.6	TPP	326.07	326	326	170	SR9	IS5
IS5	Chrysene-d ₁₂	240.17	240	—	—	—	—
SR10	2-DIHP-d ₄	366.27	153	—	—	—	IS5
220.1	2-DIHP	362.25	149	265	167	SR10	IS5
SR11	TEHP-d ₅₁	485.67	103	—	—	—	IS5
299.4	TEHP	434.35	99	113	211	SR11	IS5
SR12	DNHP-d ₄	366.27	153	—	—	—	IS5
220.13	DNHP	362.25	149	265	207	SR12	IS5
299.2	TCP	368.12	368	367	165	SR13	IS6
SR13	TpCP-d ₂₁	389.25	389	—	—	—	IS6
SR14	3,5-TXP-d ₉	419.22	419	—	—	—	IS6
299.1	3,5-TXP	410.16	410	193	305	SR14	IS6
SR15	3-TIPP-d ₃₃	485.41	485	—	—	—	IS6
299.3	3-TIPP	452.21	452	437	281	SR15	IS6
SR16	DNOP-d ₄	394.3	153	—	—	—	IS6
220.07	DNOP	390.28	149	279	261	SR16	IS6
IS6	Benzo[<i>e</i>]pylene-d ₁₂	264.17	264	—	—	—	—

サロゲート標準物質と対比する物質については、次式により相対感度係数 (RRF: Relative Response Factor) を求め、定量値の算出にあてる。

$$RRF = \frac{C_{is}}{C_t} \times \frac{A_t}{A_{is}}$$

ここで、 C_{is} : 標準液中のサロゲート標準物質の濃度、 C_t : 標準溶液中の対象物質の濃度、 A_t : 標準溶液中の対象物質のピーク面積（または高さ）、 A_{is} : 標準溶液中のサロゲート標準物質のピーク面積（または高さ）である。

RRF は、強度比の変動係数が 5%以内であれば、濃度段階毎に求め平均した値である。また、検量線から最小二乗法で一次回帰直線を求め、その傾きを RRF としてもよい。この場合、直線性が十分であるとともに回帰式の切片がほぼ 0 でなければならない。

(ウ) 試料液の測定 (注 1 3)

実試料、空試験あるいは添加回収試験から得られた試料液を 1 mL 定容とし、測定用内標準混合溶液 (20 $\mu\text{g/mL}$) を 5 μL 添加して、GC/MS 注入用の試料液とする。注入量は検量線作成用の混合標準液と同量であって 1 または 2 μL である。検出されたクロマトグラム上のピークについて、同定確認の後、対応するサロゲート標準物質または測定用内部標準物質のピーク強度（面積または高さ）に対する対象物質のピーク強度の比から、検量線または相対感度係数により定量する。

7 同定、定量及び計算

(1) 同定

測定対象物質、サロゲート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。

但し、DIHP、TIPP および TXP については複数の異性体を 1 種の異性体で定量するので、検量線に用いた標準物質と測定対象物質の保持時間は異なる (注 1 4)。また、これらの物質は異性体によって MS におけるフラグメントイオンの相対強度も異なることから、保持時間は異なっても定量イオンと確認イオンが検出されれば測定対象物質とみなすことになる。この場合、標準物質とした特定の異性体について予めマススペクトルを確認し、可能な限り多くの確認イオンを設定することによって同定の確度を高める。

(2) 定量及び計算

サロゲート標準物質または内標準物質と対象物質のピークの強度比から、検量線から濃度比を求め、次式により試料中の対象物質の濃度を算出する。

$$C_t(\mu\text{g}/\text{l}, \mu\text{g}/\text{kg}) = \frac{RF_t \times Q_{is}(\mu\text{g})}{V_s(\text{l}, \text{kg})}$$

ここで、 C_t ：対象物質の試料中濃度 ($\mu\text{g}/\text{L}$ または $\mu\text{g}/\text{kg}$)、 RF_t ：濃度比、 Q_{is} ：サロゲート標準物質または内標準物質の添加量 (μg)、分析への試料採取量： V_s (L または kg)。

または、予め求めた対象物質のサロゲート標準物質に対する相対感度係数 (RRF) を用いて、次式により試料中の対象物質の濃度を算出する。

$$C_t(\mu\text{g}/\text{l}, \mu\text{g}/\text{kg}) = \frac{A_s}{A_{is}} \times \frac{Q_{is}(\mu\text{g})}{RRF} \times \frac{1}{V_s(\text{l}, \text{kg})}$$

ここで、 C_t ：試料抽出液全量中の対象物質の量 ($\mu\text{g}/\text{L}$ または $\mu\text{g}/\text{kg}$)、 A_s ：試料液中の対象物質のピーク強度、 A_{is} ：試料液中のサロゲート標準物質のピーク強度、 Q_{is} ：内標準物質の総添加量 (μg)、RRF：サロゲート物質に対する対象物質の相対感度係数、分析への試料採取量： V_s (L または kg)。なお、底質の試料採取量は乾燥重量とする。

DIHP、TIPP、TCP および TXP は複数の異性体について定量するが、標準物質は TCP については異性体の混合物を、DIHP、TIPP および TXP は特定の 1 異性体を用いている。したがって、これらの物質 (群) の濃度は、TCP は定量した各ピークの濃度の平均、DIHP、TIPP および TXP は総和となることに注意する。

8 分析精度管理

本調査マニュアルの「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) 対象となる農薬類の標準物質は広く流通している分析用純度の標準品または標準溶液を用いる。また、フタル酸エステル類と有機リン酸エステル類に関して、標

準物質の準備の都合上、DIHPは2-DIHP、TIPPは3-TIPP、TXPは3,5-TXPに代表させ定量することとしている。TIPPは異性体の中でGCの保持時間が中位の3-TIPPを標準としたが、検出状況に合わせて2-TIPPあるいは4-TIPPの異性体を用いることができる。さらに、今後DIHPの3-DIHP、4-DIHP、TXPの2,6-TXPなどの標準物質も準備される予定であり、適宜利用する。

- (注2) 対象物質のなかで、置換ベンゼン類の2,4-DNT、有機酸エステル類のEHAc、DMP、DIBP、DIHP、有機リン酸エステル類のTBP、TCEPはブランクの影響を受け易い。必要に応じて、再蒸留、溶媒洗浄、硫酸洗浄、焼きだし(600°Cで4時間以上加熱)等の除去処理を行う。
- (注3) 3M社製エムポアディスク(SDB-XD, 47 mm)、または同等の性能を持つもの(備考1)。DNHP、DNOP、TXP、TCPなど極めて疎水性が高い物質が対象となっている。これらは、操作過程で器具の壁面に付着し、回収率の低下につながる可能性が高い。そのため、壁面の洗浄処理が最も容易な固相ディスク法の利用を基本とした。この問題が回避できれば、カートリッジやシリンジ型の固相材を利用して差し支えない。
- (注4) 和光純薬社製ワコーゲルC-200(備考1)。
- (注5) ENVI-Carb、250 mg/6 mL、スペルコ社製など(備考1)。
- (注6) 懸濁物質へ吸着したり、容器内壁に付着した疎水性物質を残すことなく分析するよう全量を供試し、さらに容器壁面を洗う。
- (注7) 固相ディスクはメタノールを吸収して膨潤するため、予め膨潤させてヘッドを装着する。
- (注8) ディスク内部に空気が入ると通水が困難となる。
- (注9) 通水は100 mL/min以下で行い、懸濁物質などで通水が困難な試料の場合は、塩酸でpH3程度にすると改善できる。
- (注10) 沸点が低いCNB、DNT、DMP、モリネートなどは濃縮時の揮散損失が著しいことから、絶対に乾固は避ける。
- (注11) ここに示すカラムクロマトグラフィーによる精製条件は一例である。充てん剤の活性度や前処理液の性状等によって溶離パターンが異なるので、必ず事前に分画試験を行い、操作条件を決定する。また、本法では充てんカラムを基本としたが、カートリッジカラムの利用も効果が期待できる。

(注12) この溶出液(第1画分)には、直鎖炭化水素、分子状イオウ、PCB等の無極性物質が溶出する。但し、濃縮過程でのヘキサンへの溶媒置換を不十分な場合、対象物質のCNBなどが第1画分に溶出する可能性があり、注意を要す。

(注13) サロゲート物質による補正では問題ないが、有機リン酸エステル類や農薬には同一濃度であっても標準液と試料試験液ではクロマトグラム上のピーク形状や強度が異なることがある。マトリックス効果と呼ばれる現象であって、一般に試料試験液で良好なピーク形状が得られる。この場合には、1%ポリエチレングリコール200と300の1%アセトン溶液を調製し、両者の混合溶液10 μ Lを検量線作成用標準液と試料試験液に加えて測定する。

(注14) TCPも複数の異性体をもつ混合物であるが、環境中に存在するTCPと定量用標準物質としたTCPのピーク形状はほぼ同じであり、両者の保持時間も一致している。

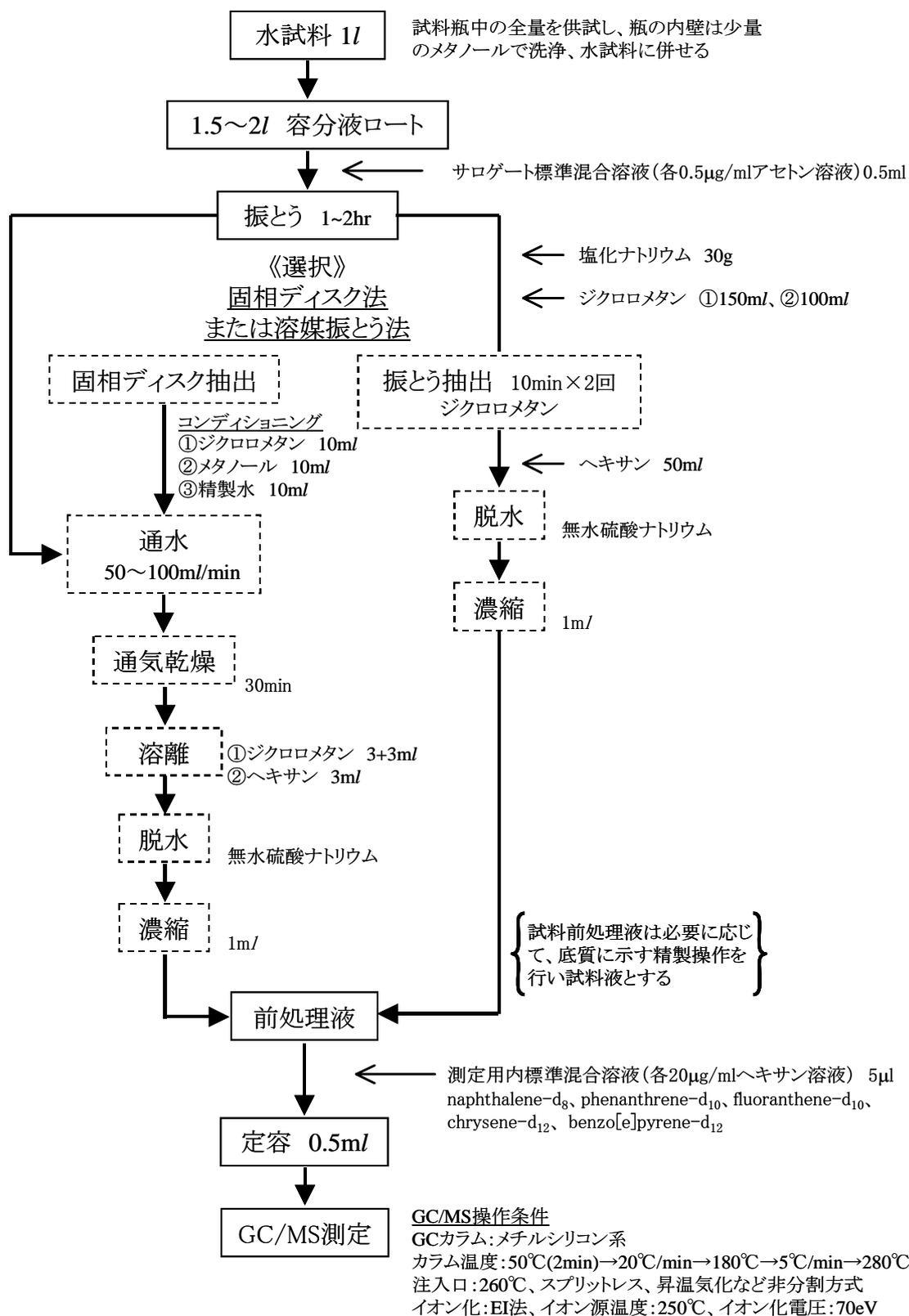
(備考1) ここに示す商品は、このマニュアルの使用者の便宜のために、一般に入手できるものとして掲げたが、これを推奨するものではない。これと同等以上の品質、性能のものを用いてもよい。

参考文献

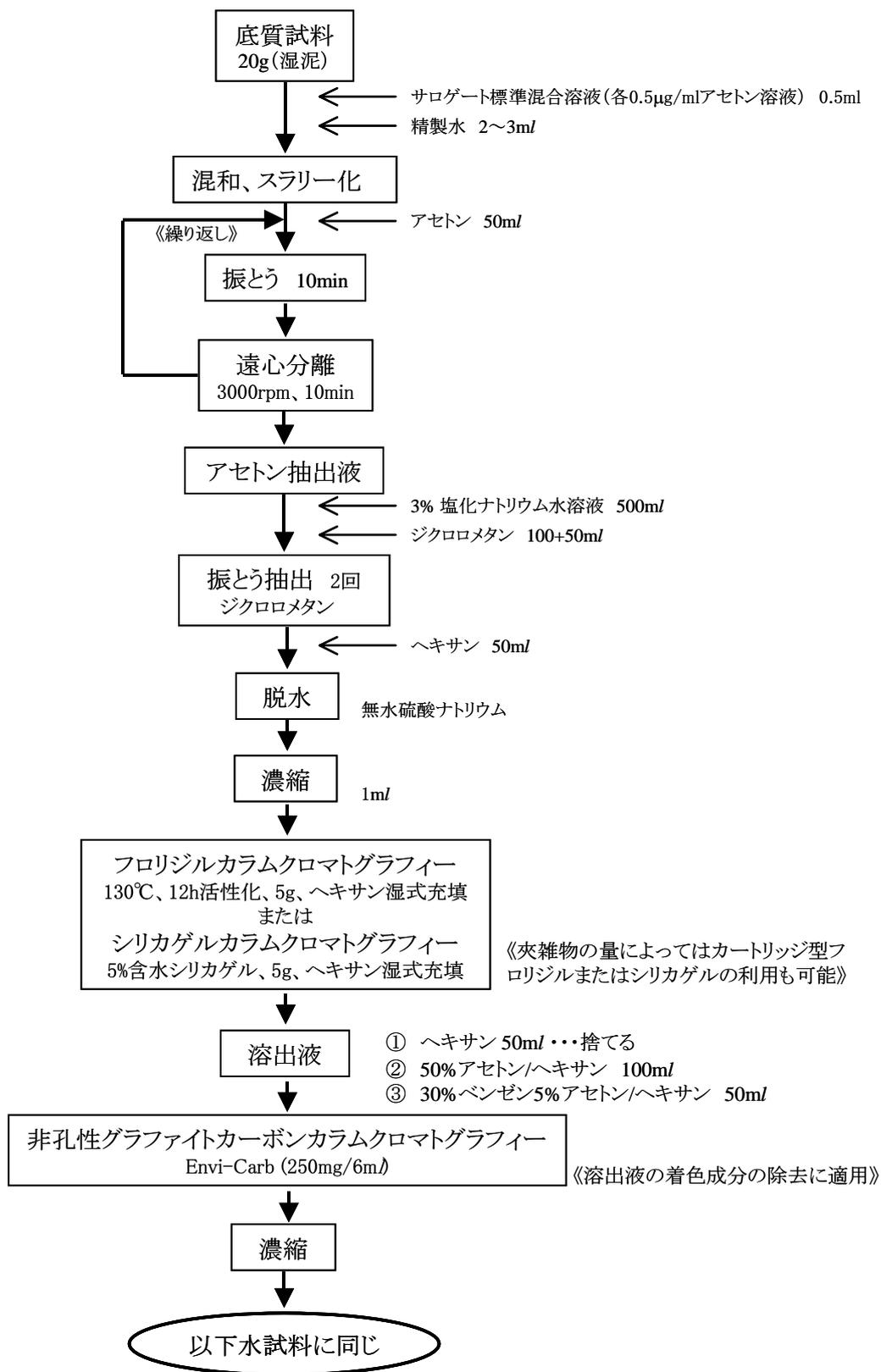
- 1) 劔持堅志：有機リン酸トリエステル類の(OPEs)の分析法、pp71-114、「平成10年度化学物質分析法開発調査報告書(その2)」、環境庁環境保健部環境安全課(平成12年1月)
- 2) 角脇怜、内藤宏孝：モリネート、pp22-34、「平成4年度化学物質分析法開発調査報告書」、環境庁環境保健部保健調査室(平成4年6月)
- 3) 橋本浩一、高橋幸治、西川嘉範、服部幸和：シメトリン、トリシクラゾール、プロベナゾール、イソプロチオラン、ベンチオカーブ、キャプタン、カルボスルファン、ベントゾン、カルボフラン、pp35-54、「平成4年度化学物質分析法開発調査報告書」、環境庁環境保健部保健調査室(平成4年6月)

分析法フローチャート

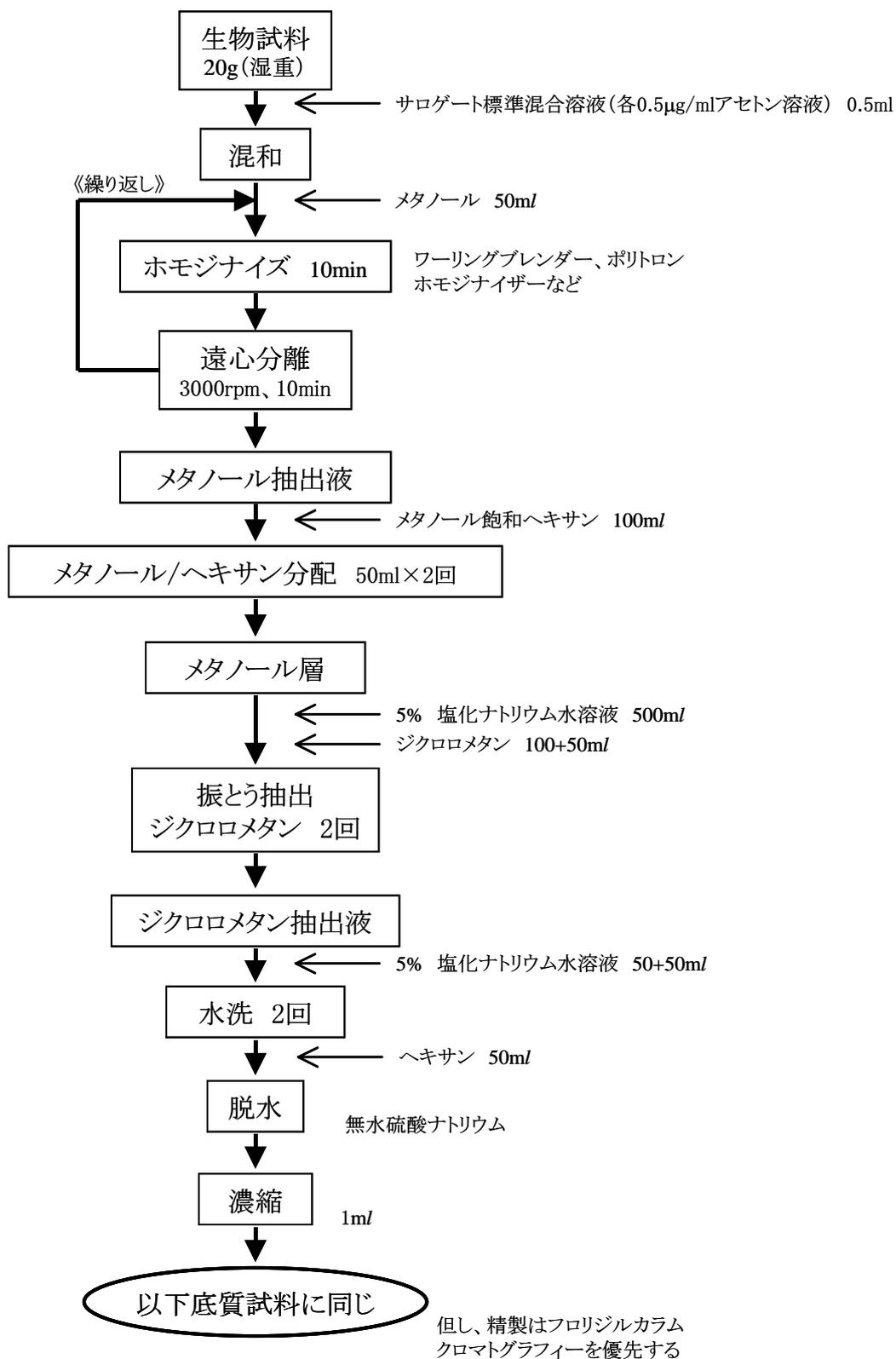
水質試料



底質試料



生物試料



vii. フェノール類の分析法

1 対象物質

フェノール、*o*-クレゾール、*m*-クレゾール、*p*-クレゾール

2 目標検出下限値及び定量下限値

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
0.03	0.1	2	5

3 分析法の概要

水質試料は、サロゲート物質を加え、固相抽出法またはジクロロメタンにより抽出を行なう。固相抽出では捕集された対象物質を、メタノールで溶出する。濃縮後、臭化ペンタフルオロベンジル (PFBB) で誘導体化を行いガスクロマトグラフ-質量分析法 (GC/MS : 負イオン化学イオン化法 : NCI、または電子衝撃イオン化法 : EI) により定量する。底質試料は、塩酸酸性メタノールで抽出後、水を加えアルカリ条件下でヘキサン洗浄を行う。水層を分取し、6M塩酸でpH 3以下とし、水質と同様の操作を行う。

4 試薬、器具及び装置

(1) 試薬

- ・ *o*-クレゾール- d_8 (注1)
- ・ *m*-クレゾール- d_8 (注1)
- ・ *p*-クレゾール- d_8 (注1)
- ・ フェノール-2,3,4,5,6- d_5 (注1)
- ・ 2-プロパノール (試薬特級)
- ・ ヘキサン、メタノール (残留農薬分析用)
- ・ 無水硫酸ナトリウム、塩化ナトリウム (残留農薬分析用)
- ・ 精製水 : 対象物質を含まないもの
- ・ 6M 塩酸
- ・ PFBB 溶液 : 臭化ペンタフルオロベンジル 1 g、18-クラウン 6-エーテル 1 g を 2-プロパノールで溶かし 50 mL としたもの (この溶液は冷暗所保存で 1 週間安定である) (注

2)

- ・ シリカゲルミニカラム：(注3)
- ・ 固相抽出カラム：(注4)
- ・ グラスファイバー濾紙：試料水の濾過に用いる（注5）。

(2) 器具及び装置

- ・ ガスクロマトグラフ質量分析計（負イオン化学イオン化法で測定が可能なものが望ましい）
- ・ ろ過器
- ・ パスツールピペット
- ・ コンセントレーター：固相抽出カラムによる水質試料からの捕集に用いる。
- ・ 遠心分離器：底質及び生物試料の液固分離に用いる。
- ・ 窒素吹き付け装置：試料液の濃縮・乾固及びアルカリ分解に用いる。

5 試料の採取・運搬

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。前処理操作は試料採取後速やかに行う。

6 試験操作

(1) 前処理

(ア) 水質試料

固相抽出：試料水500 mLを正確に計り取り、グラスファイバー濾紙で濾過をする。サロゲート100 ng（2 µg/mLメタノール溶液50 µL、200 ppt相当）塩化ナトリウム100 gを加え、よく振り混ぜて混合する。6M塩酸でpH 3以下とし、固相抽出カラムに通水する。精製水10 mLでカートリッジカラムを洗浄後、メタノール5 mLで溶出し、10 mLの遠心管に受ける。この溶出液に2-プロパノールを1 mL加え、窒素を吹き付け1 mLに濃縮する。

溶媒抽出：試料水500 mLを正確に計り取り、サロゲート100 ng（2 µg/mLメタノール溶液50 µL、200 ppt相当）と塩化ナトリウム15 gを加える。6M塩酸でpH 3以下とし、ジクロロメタン100 mLで2回抽出する。これを脱水、濃縮した溶液に2-プロパノールを1 mL加え、窒素を吹き付け1 mLに濃縮する。

(イ) 底質試料

試料10 gを50 mLの遠心管にとり、サロゲート100 ng (2 µg/mLメタノール溶液50 µL、10 ppb相当)と1N塩酸-メタノール30 mLを加えて10 分間振盪する。2000 rpmで10分間遠心し、上澄みを分取する。残った底質にさらに1M塩酸-メタノール20 mLを加えて、同様の操作を繰り返す。450 mLの精製水を加えた1 Lの分液ロートに合わせ、1M水酸化ナトリウム溶液50 mL、塩化ナトリウム100 gを加え、ヘキサン100 mLで10分間振盪する。

水層を分取し以下水質試料と同様に、6M塩酸でpH 3以下とし固相抽出カラムに通水、または、ジクロロメタン抽出以下の操作をする。

(2) 試料液の調製

(ア) 水質試料

水の前処理液に、PFBB 誘導体化試薬 0.5 mL 及び炭酸カリウム約 3 mg を加えた後、密栓をし、80°Cで 30 分間加熱する。冷却後、20%塩化ナトリウム溶液水 6 mL、ヘキサン 2 mL を加え、激しく振り混ぜて静置する。パスツールピペットを用いてヘキサン層を採取し、抽出を再度繰り返す。ヘキサンを少量の無水硫酸ナトリウムをつめたカラムに通じ乾燥し、容器とカラムをヘキサン 5 mL で洗浄し、抽出液とあわせ、窒素を吹き付け 1 mL とする。

(イ) 底質試料

底質の前処理液に、PFBB 誘導体化試薬 0.5 mL 及び炭酸カリウム約 3 mg を加えた後、密栓をし、80°Cで 30 分間加熱する。冷却後、20%塩化ナトリウム溶液 6 mL、ヘキサン 2 mL を加え、激しく振り混ぜて静置する。パスツールピペットを用いてヘキサン層を採取し、抽出を再度繰り返す。ヘキサンを少量の無水硫酸ナトリウムをつめたカラムに通じ乾燥し、容器とカラムをヘキサン 5 mL で洗浄し、抽出液とあわせ、窒素を吹き付け 1 mL とする。妨害物質が認められる試料は、シリカゲルミニカラムに添加し、ヘキサン 5 mL で洗浄、ついで10%エーテル含有ヘキサン 10 mL で溶出する。これに窒素を吹き付け 1 mL とする。

(3) 空試験液の調製

試料と同量の対象物質を含まない精製水を用い、試料の前処理と試料液の調製と同様の操作をしたものを空試験液とする (注6)。

(4) 添加回収試験液の調製

試料と同量の各標準物質100 ngを添加した精製水を用い、試料の前処理と試料液の調製と同様の操作をしたものを添加回収試験液とする（注7）。

(5) 標準液の調製

各標準物質 50 mg を精秤してメタノールで正確に 50 mL とし、1 mg/mL の標準原液とする。各標準液から、1 mL を正確に計り取り混合する。2-プロパノールで 50 mL とし 20 µg/mL の 1 次希釈混合標準液とする。1 次希釈混合標準液を 2-プロパノールで希釈し、各対象物質濃度を 0.01 µg/mL から 1 µg/mL の範囲で数点の希釈混合標準液を作成する。

フェノール-2,3,4,5,6-d₅、*o*-クレゾール-d₈、*m*-クレゾール-d₈、*p*-クレゾール-d₈ の 1000 µg/mL メタノール溶液を調製する。これを 2 µg/mL となるようにメタノールで希釈したものを、サロゲート溶液とする。

2-プロパノール（ゼロ点とする）および各濃度の希釈混合標準液 1 mL をとり、サロゲート 100 ng (2 µg/mL メタノール溶液 50 µL) を加えよく混合する。PFBB 誘導体化試薬 0.5 mL 及び炭酸カリウム約 3 mg を加えた後、密栓をし、80°C で 30 分間加熱する。冷却後、精製水 6 mL、ヘキサン 2 mL を加え、激しく振り混ぜて静置する。パスツールピペットを用いてヘキサン層を採取し、抽出を再度繰り返す。ヘキサンを少量の無水硫酸ナトリウムをつめたカラムに通じ乾燥し、容器とカラムをヘキサン 5 mL で洗浄し、抽出液とあわせ、窒素を吹き付け 1 mL とする（注8）。

(6) 測定

(ア) GC/MS測定条件

(a) ガスクロマトグラフ部

- ・カラム：溶融シリカキャピラリーカラム (25m×0.25mm I.D., df=0.25 µm)
- ・液相：5%フェニルメチルシリコン
- ・カラム温度：50°C (1分) → 10°C/分 → 260°C (5分)
- ・注入口温度：260°C
- ・注入法：スプリットレス法 (1分後ページ、2 µL 注入)
- ・キャリアガス：He カラムヘッド圧 15 psi

・インターフェース温度：260℃

(b)質量分析部

・イオン化法：NCI または EI (10 pg の対象物質が十分に検出できるように、装置条件を設定する)

・CI 反応ガス：メタンまたはイソブタン

・イオン源温度：150℃～250℃

・検出モード：SIM

(c)測定イオン

対象物質、サロゲート物質及び内標準物質の測定イオンを表 1 に示す。

表 1 対象物質、サロゲート物質及び内標準物質の測定イオン

化合物名	測定イオン		
	定量イオン (EI)	確認イオン (EI)	定量イオン (NCI)
フェノール-d ₅ -PFB	279	181	98
<i>o</i> -, <i>m</i> -, <i>p</i> -クレゾール-d ₇ -PFB	295	181	114
フェノール-PFB	274	181	93
<i>o</i> -, <i>m</i> -, <i>p</i> -クレゾール-PFB	288	181	107
フェナントレン-d ₁₀	188	—	—

(イ) 検量線

標準液（ゼロ点を含む）をそれぞれ一定量（1 μL から 2 μL）を注入し、対象物質及びサロゲート物質とのピーク面積比より検量線を作成する。

(ウ) 試料液の測定

検量線作成後、空試験駅および測定用試験液を注入して行う。なお、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、20%を越えていれば、装置を再調整後、検量線を作成しなおして測定を行う。

7 同定、定量及び計算

(1) 同定

試料における保持時間が標準のそれと±0.1 分以内であり、EI 法においては定量イオンと確認用イオンとの比が標準のそれの±20%以内であること。

(2) 定量及び計算

試料中の濃度 ($\mu\text{g/L}$ または kg)

=検量線から求めた濃度比×サロゲート添加量 (μg) /試料量 (L または kg)

なお、底質の試料量は乾燥試料量とする。

8 分析精度管理

本調査マニュアルの「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) ここでは C/D/N Isotopes 社製のものをを用いた (備考1)。

(注2) PFBB は毒性が不明であり、また催涙性が強いいため、必ず手袋を着用し、ドラフト内で扱うこと。また、使用済の器具は、付着した試薬をアルカリ液で分解後、洗浄すること。標準試薬の秤量操作などもドラフト内で行い、実験者への化学物質の曝露を出来るだけ避けること。

(注3) ここではウォータズ社製セップパックシリカゲルを用いた (備考1)。

(注4) ここでは Shodex EDS-1 をを用いた (備考1)。固相カラムを用いるときはフェノール、クレゾールの抽出効率を確認すること。あらかじめ、メタノール 15 mL、精製水 15 mL でコンディショニングした EDS-1 (備考1) でのフェノール及びクレゾールの回収率は、水質ではおおむね 80%、底質では 60%程度である。

(注5) ここではワットマン GF/C (47 mm) をを用いた (備考1)。

(注6) 対象物質を含まない精製水を調製することが困難な場合は、試薬ブランクをもって空試験とする。2-プロパノールは標準液の希釈に用いた溶媒を空試験に用いる。フェノール類は空試験でしばしば検出されることが知られているため、汚染をできるだけ減らすように努めること。

(注7) 添加回収試験時には、無添加の精製水を用いた試験液を試料の前処理と試料液の調製と同様の操作をしたものをブランクとし、ブランク値を差し引いたものを添加回収試験結果とする。

(注8) 装置の感度にあわせて希釈してもよい。特に、NCI 法を用いる場合、高濃度側で検量線が飽和する場合がある。また、EI 法による場合は、フェナントレン- d_{10} を

内部標準物質として一定量加えること。

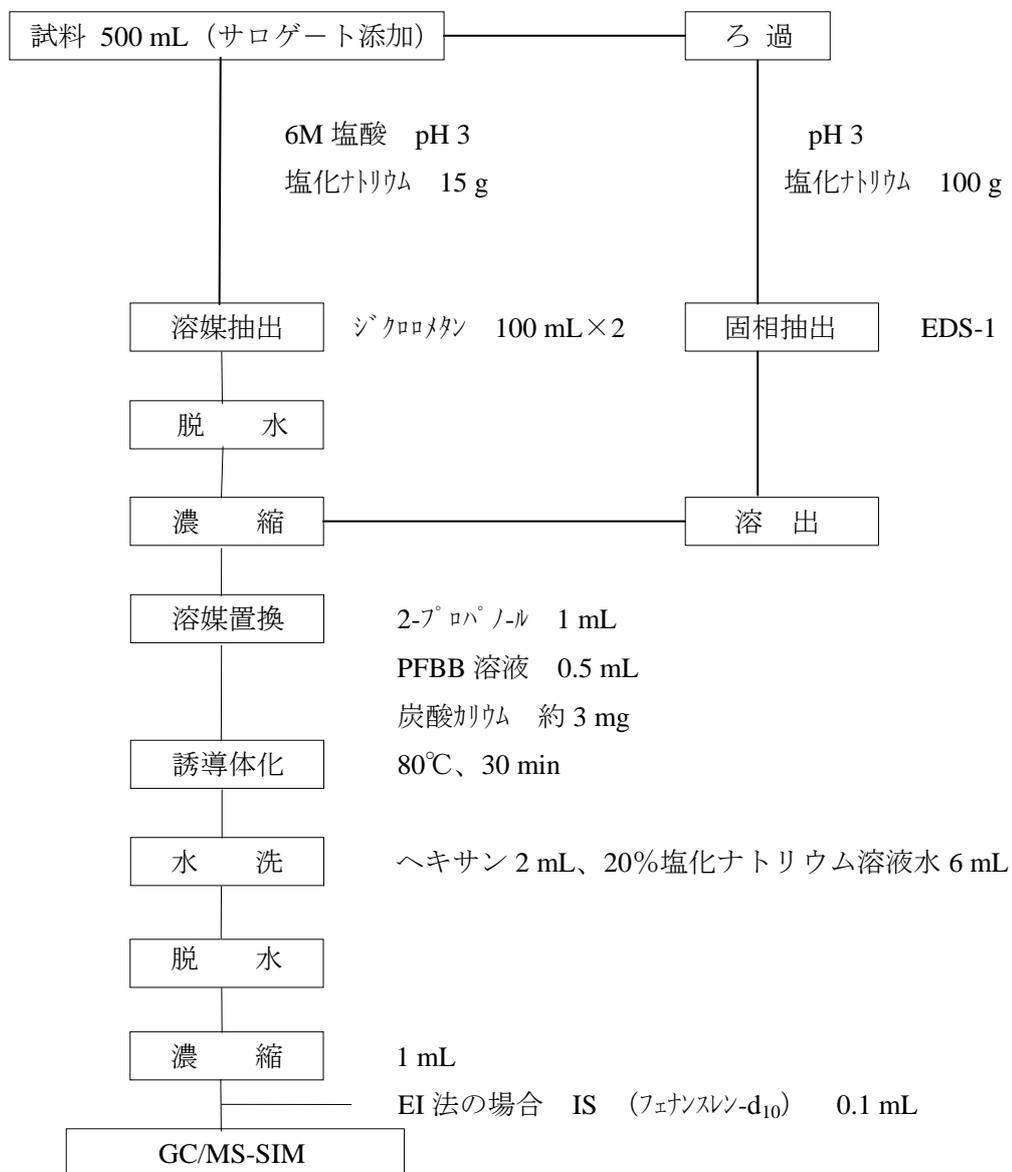
(備考1) ここに示す商品は、このマニュアルの使用者の便宜のために、一般に入手できるものとして掲げたが、これを推奨するものではない。これと同等以上の品質、性能のものを用いてもよい。

参考文献

- 1) 環境庁環境保健部保健調査室：昭和 56 年化学物質分析法開発調査報告書
- 2) 環境庁環境保健部保健調査室：昭和 60 年化学物質分析法開発調査報告書
- 3) 環境庁環境保健部環境安全課：平成 10 年化学物質分析法開発調査報告書

分析法フローチャート

水質試料



viii. アニリン類の分析法

1 対象物質

アニリン、*N*-メチルアニリン、*o*-クロロアニリン、*m*-クロロアニリン、*p*-クロロアニリン、ジフェニルアミン

2 目標検出下限値及び定量下限値

	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
アニリン	0.02	0.06	1.0
<i>N</i> -メチルアニリン	0.02	0.06	1.0
<i>o</i> -クロロアニリン	0.02	0.06	1.0
<i>m</i> -クロロアニリン	0.02	0.06	1.0
<i>p</i> -クロロアニリン	0.02	0.06	1.0
ジフェニルアミン	0.02	0.06	1.0

3 分析法の概要

水質試料は、水酸化ナトリウムで液性をアルカリ性とした後、サロゲート物質を添加し、固相抽出を行う。酢酸メチルで溶出し、窒素気流で濃縮し、内標準のヘキサン溶液を加え、無水硫酸ナトリウムで脱水後、GC/MS-SIM で定量する。

底質試料は、水酸化ナトリウムで液性をアルカリ性とした後、サロゲート物質を添加し、水蒸気蒸留を行う。流出液に水酸化ナトリウムを加え固相抽出を行い、以下水質試料と同じ操作を行う。

4 試薬、器具及び装置

(1) 試薬

- ・アニリン、*N*-メチルアニリン、*o*-クロロアニリン、*m*-クロロアニリン、*p*-クロロアニリン、ジフェニルアミン：市販特級品
- ・サロゲート物質 (アニリン- d_5)：市販標準品
- ・内標準物質 (ナフタレン- d_8 、アセナフテン- d_{10} 、フェナンスレン- d_{10})：市販標準品

- ・酢酸メチル：試薬 1 級
- ・ヘキサン、アセトン、メタノール、ジクロロメタン：市販残留農薬試験用
- ・無水硫酸ナトリウム：市販残留農薬試験用
- ・水酸化ナトリウム：市販特級品
- ・水：市販ミネラルウォーター（注 1）
- ・固相カートリッジ：（注 2）
- ・標準混合溶液：各 10 µg/mL 酢酸メチル溶液を調製する。
- ・内標準混合溶液：ナフタレン-d₈、アセナフテン-d₁₀、フェナンスレン-d₁₀ の各 0.5 µg/mL ヘキサン溶液を調製する。
- ・サロゲート溶液：アニリン-d₅ の 100 µg/mL 酢酸メチル溶液を調製する。

（2）器具及び装置

- ・カートリッジ通水装置：（注 3）
- ・水蒸気蒸留装置：全ガラス製（底質試料の水蒸気蒸留に用いる。）

5 試料の採取・運搬

（1）水質試料

洗剤、水、アセトンの順で洗浄し、最後は蒸留水で 5 回程度すすいだ 1 L の共栓付きガラスビン（注 4）に試料水を採取し、冷暗所（4℃以下）で保存し、氷冷輸送すること。搬入されたサンプルは出来るだけすみやかに抽出すること。（保存の目的で塩酸を絶対に添加してはならない。）

（2）底質試料

底質は、湿重量約 100 g の底質を採取し、夾雑物を除去した後、遠心分離して水分を出来るだけ除いたのち、冷凍保存する。

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

(ア) 水質試料

試料 500 mL (注 5) にサロゲート溶液 (100 µg/mL 酢酸メチル溶液) 5 µL (注 6) 及び水酸化ナトリウム 1 g を添加し、よく攪拌して溶解させる (注 7)。あらかじめ洗浄とコンディショニング (注 8) をしたセップパックプラス PS-2 に 20 mL/min の流速で通水する (注 9)。通水終了後、シリンジで約 10 mL の空気を送り間隙水を除去し (注 10)、酢酸メチル 4 mL で溶出し、10 mL 容 KD 濃縮管に受ける (注 11)。次いで窒素ガスを吹き付けて 1 mL の標線まで濃縮する (注 12)。

(イ) 底質試料

試料 20 g を約 40 mL の水を用いて 1 L 容水蒸気蒸留用丸底フラスコに入れ、サロゲート溶液 (100 µg/mL 酢酸メチル溶液) 5 µL 及び水酸化ナトリウム 1 g を添加する (注 13)。水蒸気蒸留を行い、留出液 500 mL を採取する (注 14)。留出液に水酸化ナトリウム 1 g を加え、固相カートリッジに通水し、以下水質試料と同様にする。

(2) 試料液の調製

(ア) 水質試料

濃縮液に内標準溶液 1 mL (注 15) を加え、栓をして激しく振り混ぜる。無水硫酸ナトリウム 3 g を加えて脱水したものを試料液とする。

(イ) 底質試料

水質試料と同じ。

(3) 空試験液の調製

(ア) 水質試料

精製水 (またはミネラルウォーター) 500 mL に水酸化ナトリウム 1 g 及びサロゲート物質を添加し、以下水質試料の前処理及び試料液の調製に従って操作する (注 16)。

(イ) 底質試料

精製水 (又はミネラルウォーター) 40 mL に水酸化ナトリウム 1 g 及びサロゲート物質を

添加しよく混和し（注 1 7）、以下底質試料の前処理及び試料液の調製に従って操作する。

（4）添加回収試験液の調製

水質試料 500 mL、底質試料 20 g に各対象物質を検出限界の 5～10 倍量を酢酸メチル溶液で添加し、充分混合した後、「（1）前処理」及び「（2）試料液の調製」に従って操作を行い、得られた試験液を添加回収試験液とする。

（5）標準液の調製（注 1 8）

各対象物質の 10 µg/mL 酢酸メチル溶液を調製する（注 1 8）。

（6）測定

（ア）GC/MS 測定条件

（a）ガスクロマトグラフ部

- ・カラム：熔融シリカキャピラリーカラム（25 m×0.2 mm 0.1µm film thickness）
- ・液相：ポリエチレングリコール（注 1 9）
- ・カラム温度：60°C（1分）→ 5°C/分 → 240°C（10分）
- ・注入口温度：250°C
- ・注入法：スプリットレス法（1分後パージ、2 µL 注入）
- ・キャリアーガス：He カラムヘッド圧 7.5 psi
- ・インターフェース温度：250°C

（b）質量分析部

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

（c）測定イオン

対象物質、サロゲート物質及び内標準物質の測定イオンを表 1 に示す。

（イ）検量線

混合標準液を 0~100 μL の範囲で段階的に採り（注 2 0）、サロゲート溶液 5 μL 及び内標準溶液 1 mL を加え、窒素気流で 1 mL にする。この 2 μL を GC/MS に注入し、対象物質のピーク面積と、サロゲート物質又は内標準物質とのピーク面積比から検量線を作成する。

表 1 対象物質、サロゲート物質及び内標準物質の測定イオン

化合物名	測定イオン	
	定量用	確認用
アニリン	93	66
<i>N</i> -メチルアニリン	106	107
<i>o</i> -クロロアニリン	127	129
<i>m</i> -クロロアニリン	127	129
<i>p</i> -クロロアニリン	127	129
ジフェニルアミン	169	167
アニリン- d_5	98	
ナフタレン- d_8	136	
アセナフテン- d_{10}	164	
フェナンスレン- d_{10}	188	

アニリンはアニリン- d_5 を、*N*-メチルアニリンと *o*-、*m*-及び *p*-クロロアニリンはアセナフテン- d_{10} を、ジフェニルアミンはフェナンスレン- d_{10} を内標準として定量する（注 2 1）。

（ウ） 試料液の測定

検量線作成後、空試験液、測定用試験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 GC/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

対象物質の定量イオン及び確認イオンのピークが予想保持時間と ± 5 秒以内に出現し、確認イオンと定量イオンのピーク強度比が予想値と $\pm 20\%$ 以内の差で合っておれば、物質

が存在しているを見なす。

(2) 定量及び計算

得られた各対象物質とサロゲート又は内標準とのピーク面積比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。

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

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

(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

本調査マニュアルの「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) ここでは南アルプスの天然水(サントリー社製)を用いた(備考1)。

(注2) ここではセップパックプラス PS-2(ウォーターズ社製)を用いた(備考1)。

(注3) ここではセップパックコンセントレーター(ウォーターズ社製)を用いた(備考1)。

(注4) 蒸留水でよく濯ぐこと。水道水で濡れた容器を使用してはならない。

(注5) 試料水に SS があってもろ過操作を行ってはいけない。吸引ろ過により試料水が減圧状態に置かれることにより対象物質(特にアニリン、*N*-メチルアニリン)が揮散し、回収率が低下する。

(注6) 本分析法ではアニリンは定量的に回収されないのでサロゲート物質(アニリン-*d*₅)は必ず添加する。また、*o*-、*m*-、*p*-クロロアニリン及びジフェニルアミンはサロ

ゲート（重水素置換体）が市販されているので、これらを添加することにより精度を高めることが出来るが、無くても十分な精度で分析は出来る。

また、サロゲート物質の添加量は、使用する GC/MS の感度に応じて適宜変更してもかまわない。

(注7) 試料によっては水酸化ナトリウムを溶解させたとき、モロモロ様の物質が生成することがある。30分～1時間程度静置して沈降させる。

アニリン以外の対象物質は中性でも PS-2 により定量的に捕集されるが、アニリンは破過する。液性をアルカリ性にするによりアニリンの捕集効率が向上する。(破過は起きるが。)

(注8) 使用直前にメタノール 5 mL で洗浄し、次いで水 10 mL を通水して使用する。

(注9) コンセントレーターの吸水口を試料容器の底部から 2～3 cm の位置にセットし、試料液の 90%程度まで通水する間に出来るだけ SS 分を吸引しないようにする。最後には SS 分を吸入してもよいが、吸引されずに容器に残っても差し支え無い。沈降した SS 部での対象物質の量は無視出来る程度である。

(注10) アスピレータによる通気脱水は絶対にしてはいけない。著しい回収率の低下の原因となる。ここでは完全に脱水しなくても間隙水を除く程度でよい。

(注11) 溶出液の底部に約 0.3 mL の水層が出来るが、差し支えない。

(注12) 約 0.7 mL の酢酸メチルが残る様にすること。酢酸メチルが無くなると、内標準のヘキサン溶液 1 mL と 3 g の無水硫酸ナトリウムを添加して脱水したときに対象物質が定量的に有機溶媒層に移行しない。

(注13) 液性が中性でも対象物質は水蒸気蒸留されるが、水酸化ナトリウムを添加することにより酸性物質の留出が抑制されることと硫黄が留出してこないという長所がある。

(注14) 受器（500 mL 容 三角フラスコ）に少量（20 mL 程度）の水を入れておき、留出口の先端をこの水面下にセットし、受器を氷水で冷却しておく。

(注15) ここでは 0.5 µg/mL ヘキサン溶液を用いたが、使用する GC/MS の感度により濃度は適宜変更してもかまわない。

(注16) 水質試料の空試験は、本来なら洗浄とコンディショニングをした PS-2 を酢酸メチル 4 mL で溶出するところから行えばよい。精製水（ミネラルウォーター）500 mL を通水すれば、精製水を分析していることになるからである。しかし、ここでは

通水することとした。理由は、コンセントレータの汚染をチェック出来るからである。この方法で空試験を行えば、ジフェニルアミンのピークが認められる場合がある。これは前回に添加回収実験に使用したコンセントレータの経路にジフェニルアミンが僅かながら残留しているためである。コンセントレータの経路をアセトンで十分洗浄すればジフェニルアミンのピークは認められなくなった。従って、添加回収実験、底質分析に使用した場合はアセトン 200 mL、次いで水 200 mL で経路を洗浄すること。他の対象物質は経路への残留は認められなかった。

(注 17) 静置しておく必要は無い。

(注 18) 標準液の調製用溶媒にアセトンを使用しないこと。アミン類のアセトン溶液を GC に注入すると、注入口の温度のためアセトンとの縮合反応が起こり Siff 塩基を生成するものがある。

(注 19) ここでは HP-20M を使用した (備考 1)。

(注 20) 検量線の濃度レベルは使用する GC/MS の感度により変更してもよい。

(注 21) ナフタレン- d_8 はアニリンの真の回収率を求めるために使用する。

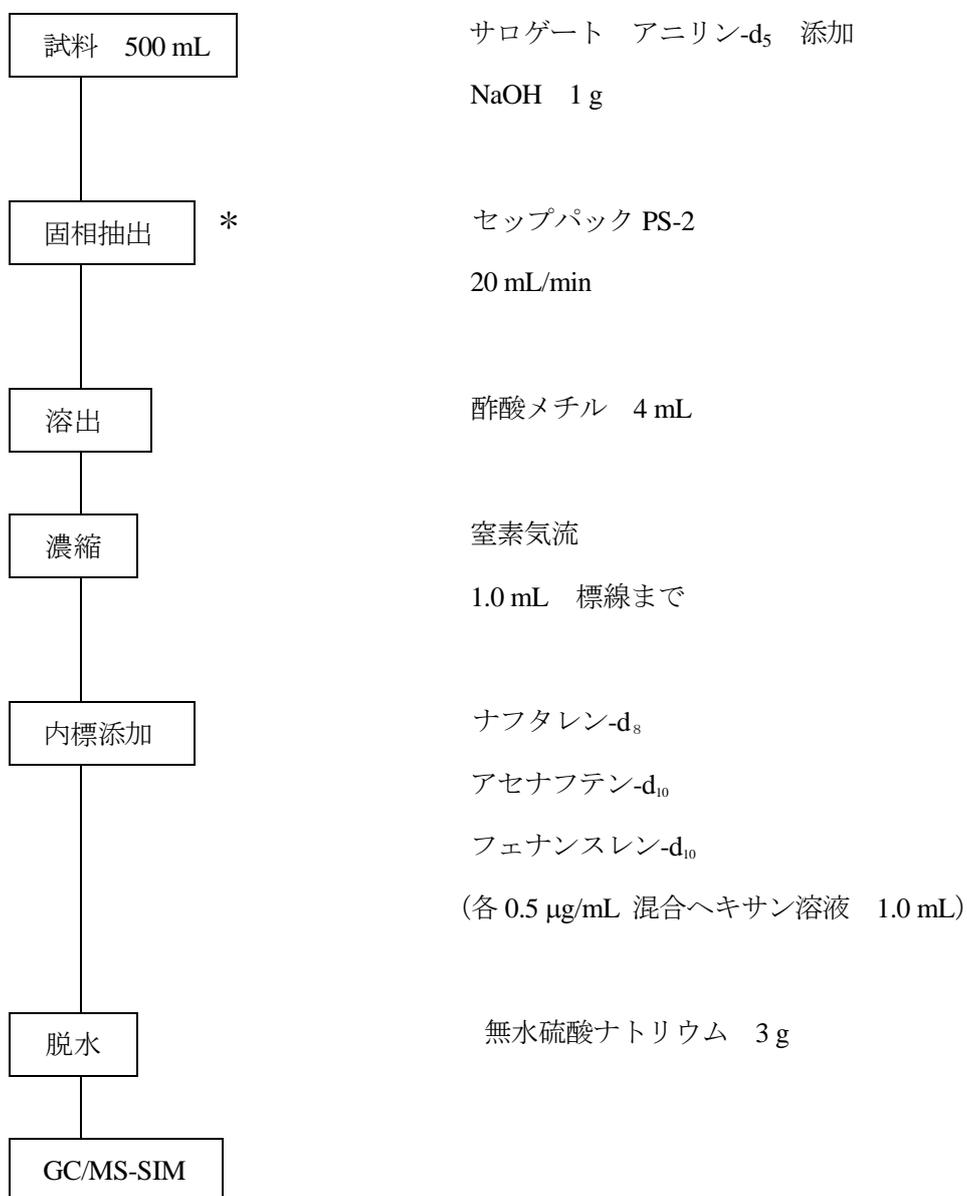
(備考 1) ここに示す商品は、このマニュアルの使用者の便宜のために、一般に入手できるものとして揚げたが、これを推奨するものではない。これと同等以上の品質、性能のものを用いてもよい。

参考文献

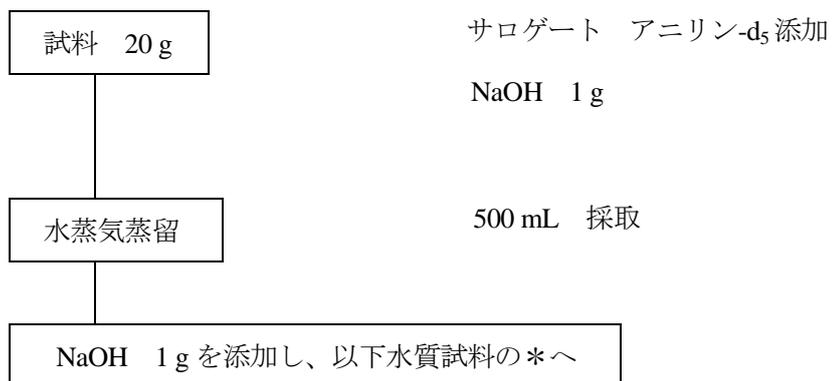
- 1) 環境庁環境保健部環境安全課：「平成 9 年度化学物質分析法開発報告書」、pp.34-77 (平成 10 年 7 月)

分析法フローチャート

水質試料



底質試料



ix. 2,4-ジアミノトルエンの分析法

1 対象物質

2,4-ジアミノトルエン

2 目標検出下限値及び定量下限値

	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
2,4-ジアミノトルエン	0.02	0.06	1.0

3 分析法の概要

水質試料は、酸性下でジクロロメタン洗浄後、EDTA 存在下アルカリ性としジクロロメタン抽出を行い、脱水し、無水ヘptaフルオロ酪酸で HFB 誘導体化を行い、過剰の誘導体化試薬を除いた後、脱水・濃縮し、内標準を添加後、GC/MS (SIM) で定量する。

底質試料は、EDTA 存在下アルカリ性でジクロロメタン抽出を行い、HCl による逆抽出によりクリンアップを行ったのち、アルカリ性下ジクロロメタンで抽出、脱水した後、以下 HFB 誘導体化から水質と同様に操作する。

4 試薬、器具及び装置

(1) 試薬

- ・2,4-ジアミノトルエン：市販品
- ・フェナンスレン-d₁₀ (内標準)：市販標準品
- ・内標準溶液：10.0 µg/mL ジクロロメタン溶液を調製する。
- ・アセトン、ジクロロメタン：市販残留農薬試験用
- ・無水硫酸ナトリウム：市販残留農薬試験用
- ・水酸化ナトリウム：市販特級品
- ・水：蒸留水又は市販ミネラルウォーター
- ・塩酸：市販精密分析用
- ・エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム (EDTA)：市販特級品
- ・無水ヘptaフルオロ酪酸：市販ガスクロ分析用

(2) 器具及び装置

- ・KD 濃縮装置又はロータリーエバポレーター：試料液の濃縮に用いる。
- ・吸引ろ過器（桐山ロート、吸引鐘）：底質試料のろ過に用いる。
- ・遠沈管（共栓付き）：底質試料の遠心分離に用いる。

5 試料の採取・運搬

(1) 水質試料

洗剤、水、アセトンの順で洗浄したガラスビン（注1）に試料水を採取し、冷暗所（4℃以下）で保存し、氷冷輸送すること。搬入されたサンプルは出来るだけすみやかに抽出すること（注2）。（保存の目的で塩酸を絶対に添加してはならない。）

(2) 底質試料

底質は、湿重量約 100 g の底質を採取し、夾雑物を除去した後、遠心分離して水分を出来るだけ除いたのち、冷凍保存する。

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

(ア) 水質試料

試料 500 mL を 1 L 容分液ロートにとり、0.4M-塩酸 4 mL を加えて酸性とし（pH 2 以下）、ジクロロメタン 50 mL を加えて 5 分間振とう洗浄する。静置後、水層を分取し、10% EDTA 含有 1M-水酸化ナトリウム溶液 20 mL を加えアルカリ性（pH 10 以上）とする（注3）。これに塩化ナトリウム 40 g 及びジクロロメタン 100 mL を加え、5 分間振とうする。静置後、ジクロロメタン層を分取し、水層にはジクロロメタン 100 mL を加え振とうする。ジクロロメタン層を合わせ、無水硫酸ナトリウムで脱水し（注4）、これを試料前処理液とする。

(イ) 底質試料

試料 10 g にジクロロメタン 50 mL、精製水 20 mL 及び 10% EDTA 含有 1M-水酸化ナトリ

ウム溶液を 10 mL (pH 10 以上) を加え、10 分間振とう抽出する。3000 rpm で 10 分間遠心分離後、上澄液をガラス繊維濾紙を用いて吸引ろ過する。残さにジクロロメタン 50 mL、精製水 20 mL 及び 10% EDTA 含有 1M-水酸化ナトリウム溶液を 10 mL を加え、同様の操作を繰り返す。ろ過液を合わせ、塩化ナトリウム 10 g を加え、5 分間振とうする。静置後、ジクロロメタン層を分取し、水層にはジクロロメタン 100 mL を加えて 5 分間振とう抽出する。ジクロロメタン抽出液を合わせ、精製水 20 mL 及び 0.4M-塩酸 5 mL (pH 2 以下) を加え、5 分間振とうする。静置後、水層を分取し、ジクロロメタン層には精製水 20 mL 及び 0.4M-塩酸 5 mL を加え、同様の操作を繰り返す。水槽を合わせ、10% EDTA 含有 1M-水酸化ナトリウム溶液を 20 mL (pH 10 以上)、塩化ナトリウム 20 g 及びジクロロメタン 100 mL を加え、を加え 5 分間振とう抽出する。ジクロロメタン層を分取し、水層にはさらにジクロロメタン 100 mL を加え、同様な操作を繰り返す。ジクロロメタン層を合わせ、無水硫酸ナトリウムで脱水し (注 4)、試料の前処理液とする。

(2) 試料液の調製

(ア) 水質試料

試料前処理液に無水ヘptaフルオロ酪酸 25 μ L を加え、室温で 5 分間以上放置した後、1%炭酸水素ナトリウム水溶液 50 mL を加え (注 5)、30 秒間振とうする。ジクロロメタン層を分取し、無水硫酸ナトリウムで脱水後、ロータリーエバポレーター (40°C 以下) を用いて、約 3 mL になるまで濃縮し、さらに窒素気流下で 1 mL まで濃縮し、内標準物質として、フェナンスレン- d_{10} を 500 ng 添加 (10 μ g/mL 溶液を 50 μ L 添加) し (注 6)、これを試料液とする。

(イ) 底質試料

水質試料に同じ。

(3) 空試験液の調製

(ア) 水質試料

精製水 (またはミネラルウォーター) 500 mL を用いて、以下水質試料の前処理及び試料液の調製に従って操作をして得られたものを空試料液とする。

(イ) 底質試料

精製水（またはミネラルウォーター）10 mL を用いて、以下底質試料の前処理及び試料液の調製に従って操作をして得られたものを空試料液とする。

(4) 添加回収試験液の調製

水質試量 500 mL、底質試料 10 g に対象物質を検出限界の 5~10 倍量をアセトン溶液で添加し、充分混合した後、「前処理法」及び「試料液の調製」に従って操作を行い、得られた試験液を添加回収試験液とする。

(5) 標準液の調製

2,4-ジアミノトルエンの 1.0 µg/mL ジクロロメタン溶液を調製する。添加回収実験用標準液は同濃度のアセトン溶液を調製する。

内標準溶液（フェナンスレン-d₁₀）は 10 µg/mL ジクロロメタン溶液を調製する。

(6) 測定

(ア) GC/MS 測定条件

(a) ガスクロマトグラフ部

- ・ カラム：溶融シリカキャピラリーカラム（30 m×0.25 mm 0.25 µm film thickness）
- ・ 液相：5% フェニルメチルシリコン
- ・ カラム温度：90°C（1分）→ 15°C/分 → 240°C（5分）
- ・ 注入口温度：250°C
- ・ 注入法：スプリットレス法（1分後ページ、1 µL 注入）
- ・ キャリアーガス：He カラムヘッド圧 1.0 Kg/cm² （線速度 45 cm/秒）
- ・ インターフェース温度：250°C

(b) 質量分析部

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

(c)測定イオン

対象物質及び内標準物質の測定イオンを表 1 に示す。

(イ) 検量線

標準液 (1.0 µg/mL ジクロロメタン溶液) を 0~1.0 mL の範囲で段階的に採り (注 7)、ジクロロメタンで 10 mL にする。無水ヘプタフルオロ酪酸 10 µL を加えて、よく振り混ぜた後 5 分間以上放置して誘導体化し、1%炭酸水素ナトリウム水溶液 5 mL を用いてジクロロメタン層を洗浄する。ジクロロメタン層 1.0 mL を分取し、フェナンスレン-d₁₀ 500 ng (10 µg/mL ジクロロメタン溶液 50 µL) を添加し (注 6)、少量の無水硫酸ナトリウムを加えて検量線作成用標準溶液とする。これの 1 µL を GC/MS に注入し、対象物質のピーク面積と内標準物質とのピーク面積比から検量線を作成する。

表 1 対象物質及び内標準物質の測定イオン

化合物名	測定イオン	
	定量用	確認用
2,4-ジアミノトルエン	345	514
<i>p</i> -フェナンスレン-d ₁₀	188	

(ウ) 試料液の測定

検量線作成後、空試験液、測定用試験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 GC/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

対象物質の定量イオン及び確認イオンのピークが予想保持時間と ±5 秒以内に出現し、確認イオンと定量イオンのピーク強度比が予想値と ±20% 以内の差で合っておれば、物質が存在しているを見なす。

(2) 定量及び計算

得られた対象物質と内標準とのピーク面積比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。

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

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

(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) 蒸留水でよく濯ぐこと。水道水で濡れた容器を使用してはならない。

(注2) やむを得ず保存する場合は弱アルカリ性 (pH 8 程度) にし、冷蔵庫内に保存し、1 週間以内に分析に供すること。

(注3) 海水試料の場合、アルカリ性になると沈殿が生じ回収率が低下するが、EDTA を加えることにより改善される。

(注4) 脱水が不十分だと誘導体化の反応が完全に進行しないので、時々振り混ぜながら30 分間程度をかけて脱水する。無水硫酸ナトリウムへの吸着は認められない。

(注5) 過剰の無水ヘプタフルオロ酪酸を分解するために加える。

(注6) 内標準物質の添加量は、使用する GC/MS の感度に応じて適宜変更してもよい。

(注7) 検量線の濃度範囲は、使用する GC/MS の感度に応じて適宜変更してもよい。

(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

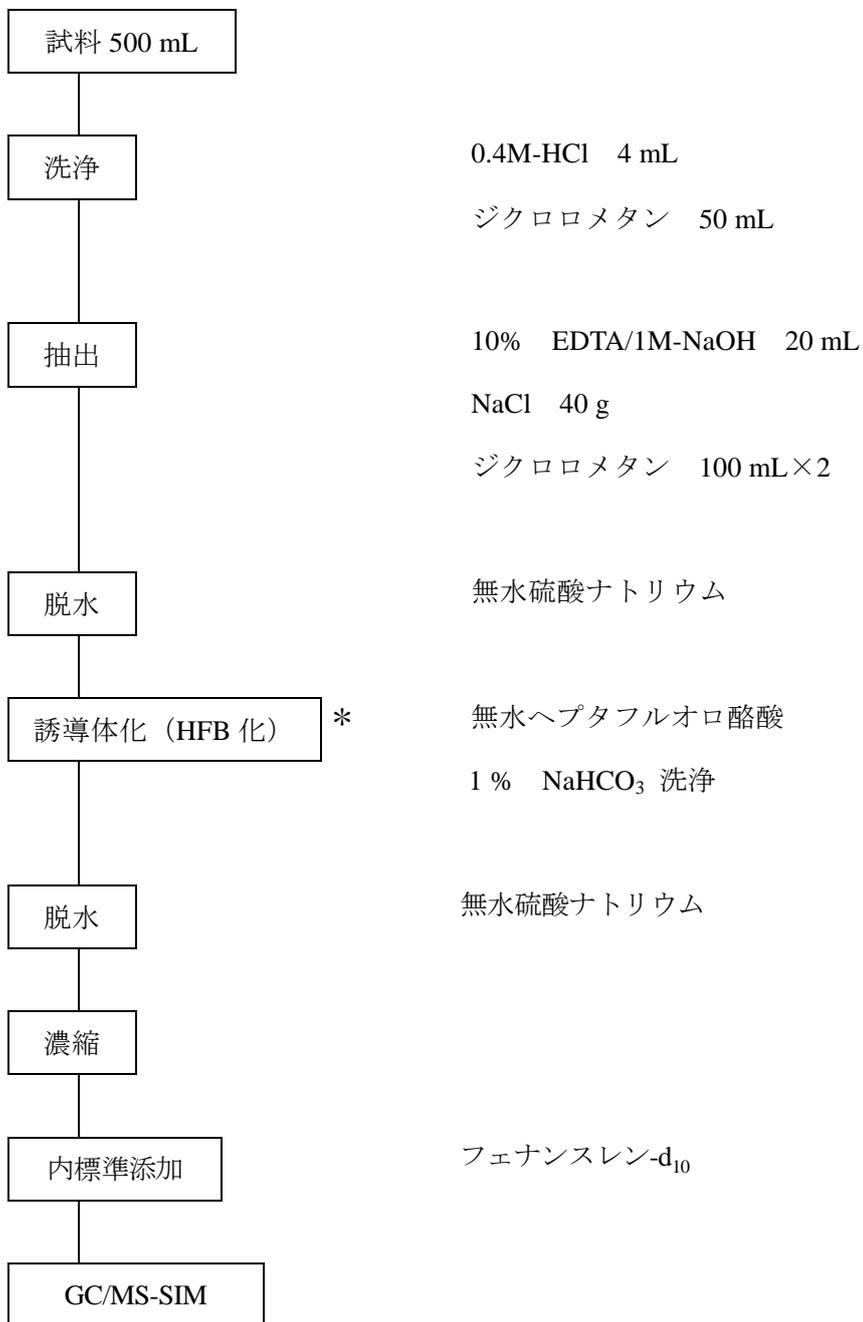
- 1) 環境庁環境保健部保健調査室：「平成4年度化学物質分析法開発報告書」、pp148-160
(平成5年6月)

(追記)

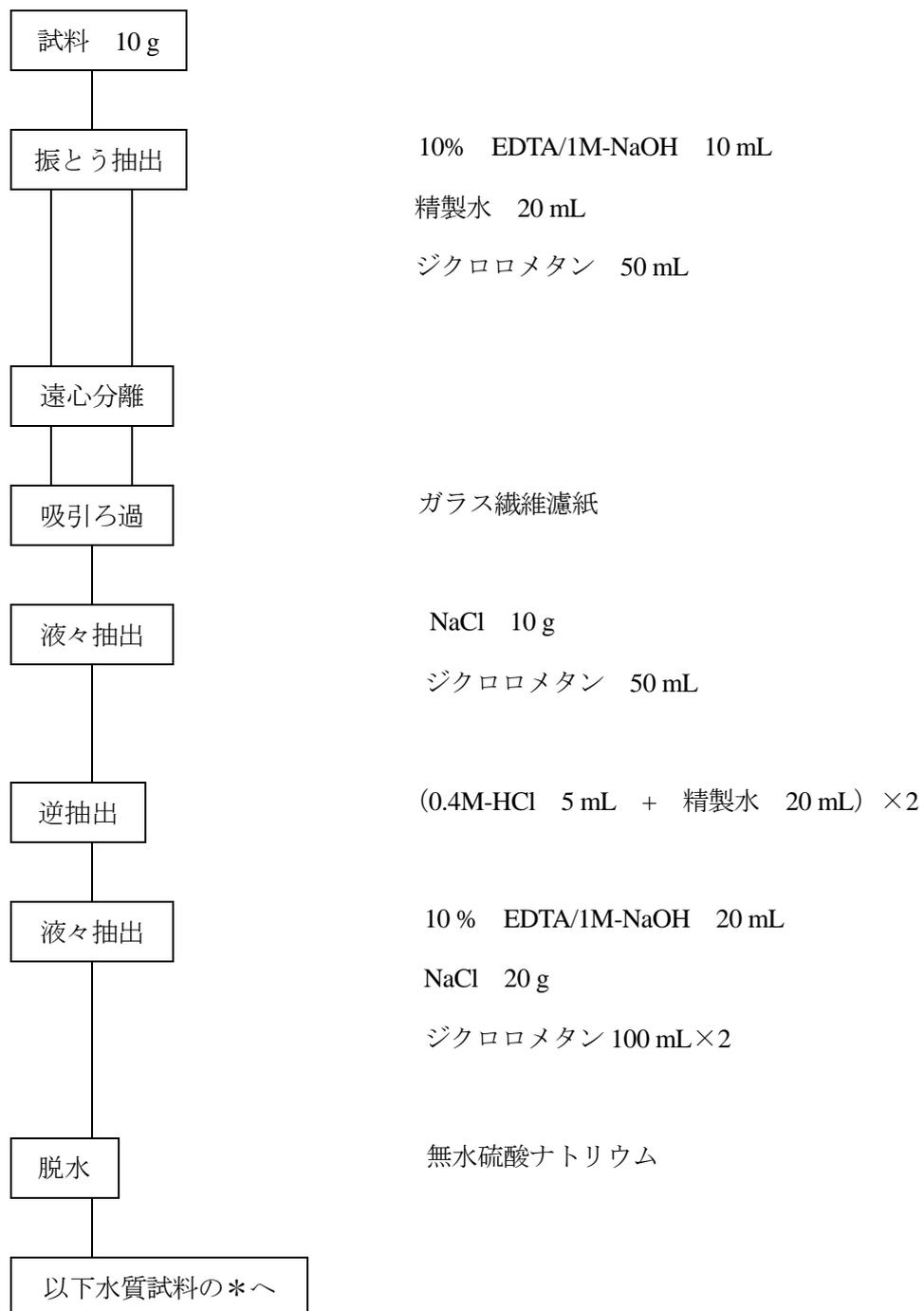
本法ではサロゲートを使用しなかったが、サロゲート物質 (2,4-ジアミノトルエン-d₃) が国内試薬メーカーから入手できることがわかったので、サロゲートを使用することによりさらに精度の向上が期待出来る。

分析法フローチャート

水質試料



底質試料



x. 4,4'-メチレンジアニリンの分析法

1 対象物質

4,4'-メチレンジアニリン (4,4'-ジアミノジフェニルメタン)

2 目標検出下限値及び定量下限値

	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
4,4'-メチレンジアニリン	0.04	0.12	1.6

3 分析法の概要

水質試料は、ジクロロメタンで抽出後、脱水濃縮し *N*-メチルビストリフルオロアセトアミド (MBTFA) により TFA 化を行い、GC/MS (SIM) で定量する。

底質試料は、1M-KOH/エタノール溶液でアルカリ分解と抽出を行い、水を加えてジクロロメタンに転溶する。塩酸による逆抽出によりクリンアップを行い、再度アルカリ下でジクロロメタン抽出を行い、脱水濃縮後水質試料と同様に操作する。

4 試薬、器具及び装置

(1) 試薬

- ・ 4,4'-メチレンジアニリン (4,4'-ジアミノジフェニルメタン) : 市販特級品
- ・ *p*-ターフェニル- d_{14} (内標準) : 市販標準品
- ・ 内標準溶液 : 10 µL/mL ジクロロメタン溶液を調製する。
- ・ アセトン、エタノール、ジクロロメタン : 市販残留農薬試験用
- ・ 無水硫酸ナトリウム、塩化ナトリウム : 市販残留農薬試験用
- ・ 水酸化ナトリウム、水酸化カリウム : 市販特級品
- ・ 水 : 市販ミネラルウォーター (注1)
- ・ 塩酸 : 市販精密分析用
- ・ *N*-メチルビストリフルオロアセトアミド (MBTFA) : 市販ガスクロマト用

(2) 器具及び装置

- ・ KD 濃縮装置：試料液の濃縮に用いる。
- ・ 環流冷却器：底質試料のアルカリ分解に用いる。
- ・ 桐山ロート：底質のアルカリ分解物の吸引ろ過に用いる。
- ・ 湯浴：底質試料のアルカリ分解に用いる。

5 試料の採取・運搬

(1) 水質試料

洗剤、水、アセトンの順で洗浄したガラスビン（注2）に試料水を採取し、冷暗所（4℃以下）で保存し、氷冷輸送すること。搬入されたサンプルは出来るだけすみやかに抽出すること。（保存の目的で塩酸を絶対に添加してはならない。）

(2) 底質試料

底質は、湿重量約 100 g の底質を採取し、夾雑物を除去した後、遠心分離して水分を出来るだけ除いたのち、冷凍保存する。

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

(ア) 水質試料

試料 1 L（注3）を分液ロートにとり、塩化ナトリウム 30 g（注4）及びジクロロメタン 100 mL を加え、5 分間振とう抽出する。静置後、ジクロロメタン層を分取し、水層には再度ジクロロメタン 50 mL を加え、同様の操作を行う。

ジクロロメタン層を合わせて、無水硫酸ナトリウムで脱水し、KD 濃縮器で 3~5 mL に濃縮し、窒素ガスを吹き付けて 2 mL とし試料前処理液とする。

(イ) 底質試料

試料 10 g を、1M-KOH/エタノール溶液 50 mL で解きほぐしながら 100 mL 容丸型フラス

コに入れる。環流冷却器にセットし1時間加熱環流を行う。室温に放冷後、桐山ロートで吸引ろ過し(注5)、容器中の残さはエタノール30 mLで洗浄し、ロート内に入れ(注6)、濾液を合わせる。濾液を500 mL容分液ロートに入れ、5%塩化ナトリウム水溶液200 mLとジクロロメタン50 mLを加え、5分間振とう抽出を行い、静置後ジクロロメタン層を分取し、水層には再度ジクロロメタン50 mLを加え、同様の操作をしてジクロロメタン層を合わせる。

ジクロロメタン層に2M-HCl 50 mLを加え5分間振とう抽出を行い、静置後水層を分取する。ジクロロメタン層は再度2M-HCl 50 mLで抽出し、水層を合わせる。水層に3M-NaOH 100 mLを加え、アルカリ性とし(注7)、ジクロロメタン 50 mLずつで2回振とう抽出を行い(注8)、ジクロロメタン層を合わせる。ジクロロメタン層を水50 mLで振とう洗浄を行い、無水硫酸ナトリウムで脱水濃縮し、KD濃縮器で3~5 mLに濃縮し、窒素ガスを吹き付けて乾固する(注9)。乾固した試料にジクロロメタン2 mLを加えたものを試料の前処理液とする。

(2) 試料液の調製

(ア) 水質試料

試料前処理液にMBTFA 100 µLを加え(注10)、すばやく栓をしてよく振り混ぜた後、室温で30分間放置させ、誘導体化を行う。ヘアードライヤーで加温しながら窒素ガスを吹き付け乾固し、内標準溶液20 µLを加え(注11)、ジクロロメタンで1 mLとしたものを試料処理液とする。

(イ) 底質試料

水質試料に同じ。

(3) 空試験液の調製

(ア) 水質試料

精製水(又はミネラルウォーター)1 Lに塩化ナトリウム30 gを添加し、以下水質試料の「前処理」及び「試料液の調製」に従って操作する。

(イ) 底質試料

精製水（又はミネラルウォーター）10 mL を用いて、以下底質試料の「前処理」及び「試料液」の調製に従って操作する。

（４）添加回収試験液の調製

水質試料 1 L、底質試料 10 g に各対象物質を検出限界の 5～10 倍量をアセトン溶液で添加し、充分混合した後、「（１）前処理」及び「（２）試料液の調製」に従って操作を行い、得られた試験液を添加回収試験液とする。

（５）標準液の調製

メチレンジアニリンの 10 µg/mL ジクロロメタン溶液を調製する。添加回収実験用標準液は同濃度のアセトン溶液を調製する。

（６）測定

（ア）GC/MS 測定条件の例

（a）ガスクロマトグラフ部

- ・カラム：熔融シリカキャピラリーカラム（25 m×0.32 mm 0.52 µm film thickness）
- ・液相：5% フェニルメチルシリコン
- ・カラム温度：60℃（1分）→ 10℃/分 → 280℃（5分）
- ・注入口温度：260℃
- ・注入法：スプリットレス法（1分後パージ、1 µL 注入）
- ・キャリアーガス：He カラムヘッド圧 8.0 psi （線速度 31 cm/秒）
- ・インターフェース温度：250℃

（b）質量分析部

- ・イオン化法：EI
- ・イオン化エネルギー：70 eV
- ・イオン源温度：250℃
- ・イオン化電流：300 µA
- ・検出モード：SIM

（c）測定イオン

対象物質及び内標準物質の測定イオンを表 1 に示す。

(イ) 検量線

標準液（ジクロロメタン溶液）を 0～50 μL の範囲（注 1 2）で段階的に採り、ジクロロメタンで 2 mL にする。以下「試料液の調製」の項に従って操作し得られた試料液 1 μL を GC/MS に注入し、対象物質のピーク面積と内標準物質とのピーク面積比から検量線を作成する（注 1 3）。

表 1 対象物質、サロゲート物質及び内標準物質の測定イオン

	測定イオン	
	定量用	確認用
4,4'-メチレンジアニリン	390	293
<i>p</i> -ターフェニル- d_{14}	244	

(ウ) 試料液の測定

検量線作成後、空試験液、測定用試験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 GC/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

対象物質の定量イオン及び確認イオンのピークが予想保持時間と ± 5 秒以内に出現し、確認イオンと定量イオンのピーク強度比が予想値と $\pm 20\%$ 以内の差で合っておれば、物質が存在しているを見なす。

(2) 定量及び計算

得られた対象物質と内標準とのピーク面積比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。

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

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

(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

本調査マニュアルの「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) ここでは南アルプスの天然水（サントリー社製）を用いた（備考1）。
- (注2) 蒸留水でよく濯ぐこと。水道水で濡れた容器を使用してはならない。
- (注3) 試料水の pH が 5～8 の間にあることを確認すること。もしこの範囲外であれば、HCl 又は NaOH でこの範囲になるように調整する。pH が 5 以上であれば定量的に抽出されるが、あまり pH が大きくなると抽出時にエマルジョンを生成しやすいので 5～8 の範囲とした。
- (注4) 海水の場合は添加しなくてよい。
- (注5) ろ過に使用するガラス繊維濾紙はエタノールで洗浄して使用する。
- (注6) 洗浄液をロート内に入れる場合は、ロート内のエタノールがろ過されて無くなる直前に入れる。完全にろ過されて濾紙上の底質にひび割れが生じている状態では洗浄液による抽出効果が低い。
- (注7) 静かに加え、pH 試験紙でアルカリ性であることを確認する。
- (注8) 中和熱で発熱しているから、冷めるのを待ってから抽出を行う。
- (注9) 試料中にエタノールが残っていると誘導体化反応が阻害されるのでエタノールを完全に除去するために乾固する。
- (注10) 誘導体化試薬である MBTFA を取り扱う際は、ドラフト内でゴム手袋等をして

注意深く取り扱う。

(注1 1) 内標準の添加量は、使用する GC/MS の感度によって適宜変更してもよい。

(注1 2) 検量線の濃度範囲は、使用する GC/MS の感度によって適宜変更してもよい。

(注1 3) 本対象物質（誘導体）は、キャピラリーカラムの劣化状態にもよるが、カラムに吸着されることがある。このような場合、同一標準液を数回注入した時の対象物質のピーク面積と内標準のピーク面積の比の相対変動係数が 20%程度にもなることがあり、相対感度（RF 値）が大きくなっていく現象が観測される。また、検量線が曲線（低濃度側から注入した場合が特に著しい。）になる。対策としては、高濃度の試料液（10～20 µg/mL）を注入して吸着部位をブロックすると効果がある。高濃度注入後、ジクロロメタンを注入しても対象物質のピークが出ることは無い。

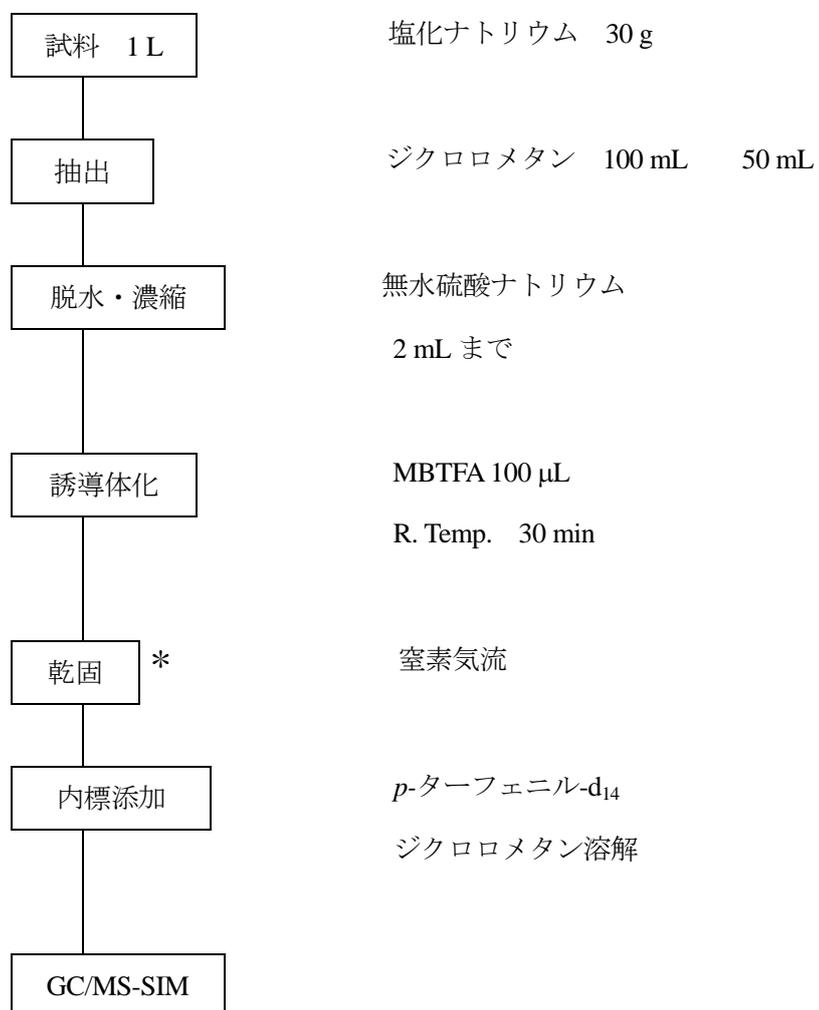
(備考1) ここに示す商品は、このマニュアルの使用者の便宜のために、一般に入手できるものとして掲げたが、これを推奨するものではない。これと同等以上の品質、性能のものを用いてもよい。

参考文献

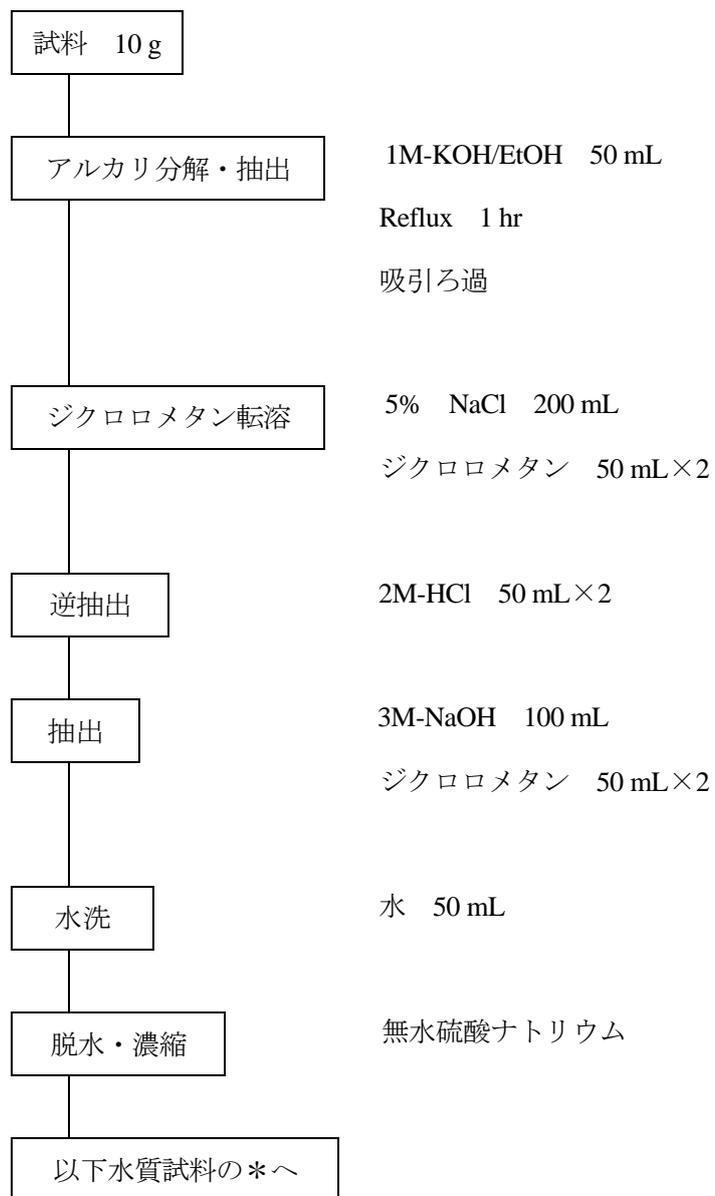
- 1) 環境庁環境保健部環境安全課：「平成 6 年度化学物質分析法開発報告書」、pp220-234（平成 7 年 6 月）

分析法フローチャート

水質試料



底質試料



x i . エチレンジアミン四酢酸 (EDTA) の分析法

1 対象物質

エチレンジアミン四酢酸 (EDTA)

2 目標検出下限値及び定量下限値

	水質 (µg/L)		底質 (µg/kg)	生物 (µg/kg)
	目標検出下限値	目標定量下限値	目標検出下限値	目標検出下限値
EDTA	0.2	0.6	5	10

3 分析法の概要

水質試料は、試料を濃縮乾固し、三フッ化ホウ素メタノール錯体 (BF₃-MeOH)メタノール溶液でメチルエステル誘導体化し、GC/MS-SIM で定量する。なお、本法は海水には適用できない。

底質試料は、超音波で水抽出 (pH 9-12) し、遠心分離後水層を分取、蟻酸で酸性にし、再遠沈後、水質試料と同様に操作する。

生物試料については、ホモジナイザーで水抽出 (pH 9-12) し、遠心分離後水層を分取、蟻酸で酸性にし、底質試料と同様に操作する。

4 試薬、器具及び装置

(1) 試薬

- ・ エチレンジアミン四酢酸・2Na・2H₂O : 市販特級品
- ・ *trans*-1,2-シクロヘキサンジアミン-*N,N,N',N'*-四酢酸 (CYDTA)・H₂O : 市販特級品
- ・ CYDTA 溶液 : CYDTA 一水和物 10 mg を 1M-NaOH 100 mL に溶解して調製する。
- ・ 内標準物質 (フェナンスレン-d₁₀、フルオランテン-d₁₀) : 市販標準品
- ・ 内標準溶液 : 1.0 µg/mL ジクロロメタン溶液を調製する。
- ・ 三フッ化ホウ素メタノール錯体メタノール溶液 (BF₃ abt. 14% ガスクロマトグラフ用) : 市販品
- ・ 水 : 蒸留水又はミネラルウォーター (注1)
- ・ 緩衝溶液 (pH 7) : 1M-KH₂PO₄ を調製し、10M-NaOH を加えて pH を 7 に調整する。

- ・ジクロロメタン、アセトン：残留農薬試験用
- ・無水硫酸ナトリウム：残留農薬試験用
- ・蟻酸、水酸化ナトリウム：試薬特級

(2) 器具及び装置

- ・超音波洗浄器：底質試料の抽出に用いる。
- ・ホモジナイザー：魚試料の抽出に用いる。
- ・遠心分離器：底質及び魚試料の抽出液の分離に用いる。
- ・ロータリーエバポレーター：試料液の濃縮に用いる（注2）。
- ・ヘアードライヤー：窒素気流による試料の乾固に使用。集中的に加温出来るのでフード付きのものが好ましい。

5 試料の採取・運搬

(1) 水質試料

洗剤、水、アセトンの順で洗浄し、最後は蒸留水で5回程度すすいだ（注3）1 Lの共栓付きガラスビンに試料水を採取し、冷暗所（4℃以下）で保存し、氷冷輸送すること。搬入されたサンプルは出来るだけすみやかに分析すること。

(2) 底質試料

底質は、湿重量約100 gの底質を採取し、夾雑物を除去した後、遠心分離して水分を出るだけ除いたのち、冷凍保存する。

(3) 生物試料

魚試料は、分析部位をホモジナイズした後、冷凍保存する。分析時は自然解凍して用いる。

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

(ア) 水質試料

試料 100 mL を 300 mL の丸型フラスコにとり、CYDTA 溶液 50 μ L を添加し (注 4)、ロータリーエバポレーターで 2 mL 程度まで濃縮し (注 5)、10 mL 共栓付き試験管に移しかえ、加熱しながら窒素ガスを吹き付け蒸発乾固する (注 6)。

(イ) 底質試料

試料 10 g を 50 mL 容遠沈管にとり、精製水 30 mL、CYDTA 溶液 50 μ L (注 4)、4M-NaOH を数滴添加し、スパーテルでよくかき混ぜ、超音波抽出を 10 分間行った後、3000 rpm で 10 分間遠心分離を行う。水層を分取し、4M-蟻酸で pH を 2.5 付近に調整した後 (注 7)、再度遠心分離を行う。水層を分取し、水質試料と同様に処理する。

(ウ) 生物試料

試料 1 g を 200 mL のビーカーにとり、CYDTA 溶液 50 μ L (注 4)、精製水 30 mL 及び 4M-NaOH を数滴加え、ホモジナイザーで抽出する。50 mL 遠沈管に移し替え遠心分離する。水層を分取し (注 8)、4M-蟻酸で pH 2.5 付近に調整した後、底質試料と同様に処理する (注 9)。

(2) 試料液の調製

(ア) 水質試料、底質試料及び生物試料

乾固した試料に $\text{BF}_3\text{-MeOH}$ 溶液 1 mL を加え、強く栓をしてストッパーで止め (注 10)、80°C で 30 分間誘導体化反応を行う。室温に放冷後、内標準液 0.2 mL 及び緩衝液 (pH 7) 3 mL を加え、50 mL 分液ロートに移した後、ジクロロメタン 3 mL ずつで 2 回抽出する。無水硫酸ナトリウムで脱水し、窒素ガスを吹き付けて 0.5 mL まで濃縮したものを試料液とする。

(3) 空試験液の調製

(ア) 水質試料、底質試料及び生物試料

試料と同量の精製水を用いて「(1) 前処理」及び「(2) 試料液の調製」の項に従って操作をして得られた試料液を空試験液とする。

(4) 添加回収試験液の調製

水質試料 100 mL、底質試料 10 g 及び生物試料 1 g に各対象物質を検出下限値の 5~10 倍量の水溶液で添加し、充分混合した後、「(1) 前処理」及び「(2) 試料液の調製」に従って操作を行い、得られた試験液を添加回収試験液とする。

(5) 標準液の調製

EDTA・2Na・2H₂O の 100 µg/mL 水溶液を調製する。

(6) 測定

(ア) GC/MS 測定条件

(a) ガスクロマトグラフ部

- ・ カラム：溶融シリカキャピラリーカラム (25 m×0.32 mm 0.52 µm film thickness)
- ・ 液相：5%フェニルメチルシリコン
- ・ カラム温度：70°C (2分) → 15°C/分 → 300°C (10分)
- ・ 注入口温度：250°C
- ・ 注入法：スプリットレス法 (2分後パージ、2 µL 注入)
- ・ キャリアーガス：He カラムヘッド圧 7.5 psi
- ・ インターフェース温度：250°C

(b) 質量分析部

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

(c) 測定イオン

対象物質、CYDTA 及び内標準物質の測定イオンを表 1 に示す (注 1 1)。

(イ) 検量線

標準液 (10 µg/mL 水溶液) を 0~500 µL の範囲で段階的に採り (注 1 2)、CYDTA 溶液

50 μ L (注4) を加え、加熱しながら窒素ガスをふきつけて蒸発乾固する。以下「試料液の調製」の項に従って操作をして得た試料液を GC/MS に注入し、標準物質と内標準とのピーク面積比から検量線を作成する。

表1 対象物質、サロゲート物質及び内標準物質の測定イオン

	測定イオン	
	定量用	確認用
EDTA	174	289 348
CYDTA	402	
(EDTA-d ₁₂)	360	
フェナンスレン-d ₁₀	188	
フルオランテン-d ₁₀	212	

(ウ) 試料液の測定

検量線作成後、空試験液、測定用試験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 GC/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

対象物質の定量イオン及び確認イオンのピークが予想保持時間と ± 5 秒以内に出現し、確認イオンと定量イオンのピーク強度比が予想値と $\pm 20\%$ 以内の差で合っておれば、物質が存在しているを見なす。

(2) 定量及び計算

得られた対象物質と内標準(注1 3)とのピーク面積比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(注1 4)。なお、底質の試料量は乾燥試料量とする。

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

$$\text{底質・生物試料濃度 (}\mu\text{g/kg)} = \text{検出量 (}\mu\text{g)} \times \frac{1}{\text{試料量 (kg)}} \times \text{換算係数}$$

$$\text{フリー体への換算係数} = \frac{\text{EDTA (292.3)}}{\text{EDTA} \cdot 2\text{Na} \cdot 2\text{H}_2\text{O (372.2)}} = 0.785$$

(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

本調査マニュアルの「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(注15)。

9 注意事項

本法はサロゲートを使用しないことを前提にして記載した。サロゲート物質の EDTA-d₁₂ が市販されており、使用が可能である。(但し、入手に日数がかかる場合がある。)

サロゲート物質がナトリウム塩の場合は水に溶解するが、遊離体で水に溶解しにくい場合は 1M-NaOH 水溶液で溶解させて調製する。

(注1) 使用する水については本分析法により定量を行い、使用の可否について検討しておくこと。

(注2) ロータリーエバポレーターには必ず逆流止めを付けること。また、前使用者が有機溶媒の濃縮に使用し、溶媒溜に有機溶媒が入っている場合は蒸気圧のため、水の濃縮が困難となる。必ず残っている有機溶媒を除去して使用すること。

(注3) 実験室で使用している洗剤には EDTA が配合されているものが有り、洗浄後は充

分蒸留水で洗浄すること。事前に 0.1 mL の洗剤を乾固し、本法の誘導体化を行い EDTA 添加の有無を確認しておくが良い。

(注 4) サロゲート (EDTA-d₁₂) を使用する場合は添加しなくてよい。またその場合、定量はサロゲートを内標準として行う。サロゲートを使用しない場合は、CYDTA は分析がうまくいっているかの判断に使う。

(注 5) ロータリーエバポレーターの湯浴の温度はコントロールする必要は無い。可能な限り高くして濃縮速度を速めること。但し突沸しない程度の温度にすること。

検体数が多く時間がかかる場合は、試料水を 200 mL 容ビーカーに入れホットプレート上で濃縮してもよい。(ホットプレートの温度にもよるが 2.5 時間程度で濃縮できる。)水が無くなった状態で加熱を続け焦げ付かさないように注意すること。

なお、本法は海水については適用出来ない。塩が大量に析出し分析が困難である。

(注 6) 乾固は充分に行う。水分が残っていると誘導体化反応が完全に進行しない。また窒素の吹き付けを続けても EDTA が揮散する心配は無い。

検体数が多い場合は、濃縮した試料水を 10 mL 容 KD 濃縮管に入れ、130°C 程度にセットされた恒温乾燥器内にセットすれば 3 時間程度で乾固できる。一夜放置して置いても揮散により回収率が低下することは無い。

(注 7) アルカリ性で遠心分離しても水層はわずかに濁っている場合がある。酸性にして再度遠心分離を行うと透明になる。

(注 8) 移し替える時、静かにすること。沈殿物を入れないようにすること。

(注 9) 生物試料の乾固は、ヘアードライヤーで加熱しながら、残さが褐色になるまで完全に行う。この乾固が不十分な場合、誘導体化反応が完全に進行しない。また、ジクロロメタン抽出時に水層と分離しにくい。

(注 10) 圧力がかかるので堅く栓をし、ストッパーで止めておくこと。

(注 11) EDTA の定量にはピーク強度の大きい m/z 174 を使用したが、妨害があれば他の m/z 289 または 348 を使用する。

CYDTA を内標準としての定量もできるが、添加回収実験の結果回収率が 100% を越える結果が得られたのでフルオランテン-d₁₀ を内標準として定量することとした。また、生物試料ではフルオランテン-d₁₀ (m/z 212) に妨害ピークが認めら

れたので、フェナンスレン-d₁₀ (m/z 188) で定量することとした。

(注 1 2) 検量線の濃度範囲は、使用する GC/MS の感度に応じて適宜変更してもよい。

(注 1 3) サロゲートを使用した場合は対象物質とサロゲートのピーク面積比から検量線により定量する。

(注 1 4) EDTA の標準液に EDTA・2Na・2H₂O を使用しているため、遊離体の無水物濃度に換算するため、換算係数を乗じる。

(注 1 5) 本法に於ける底質からの回収率はやや悪く 60%程度であった。サロゲートを使用すれば問題はない。

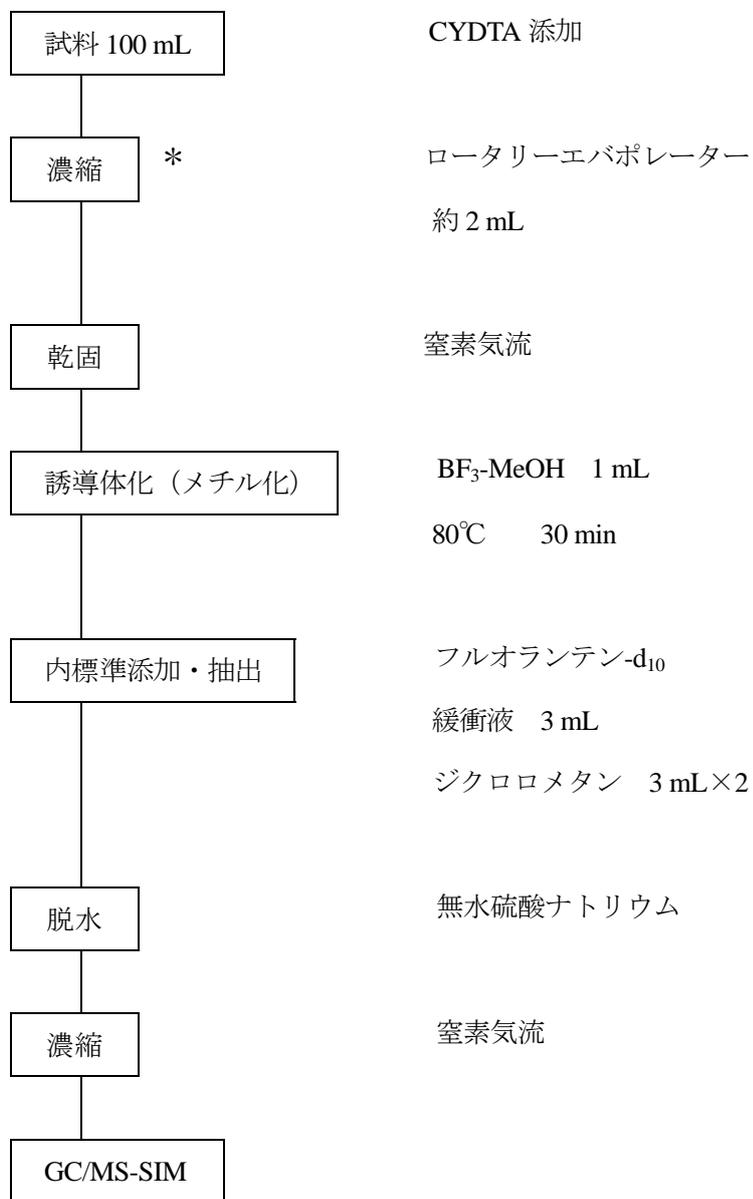
(備考 1) ここに示す商品は、このマニュアルの使用者の便宜のために、一般に入手できるものとして掲げたが、これを推奨するものではない。これと同等以上の品質、性能のものを用いてもよい。

参考文献

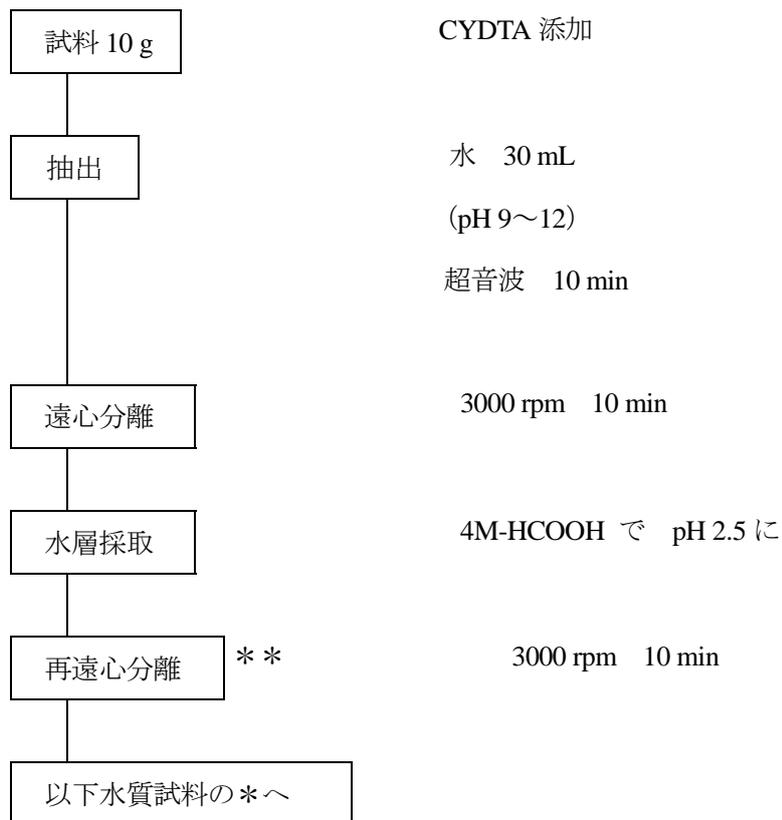
- 1) 環境庁環境保健部保健調査室：「平成 5 年度化学物質分析法開発報告書」、pp88-99 (平成 6 年 6 月)
- 2) Rudlig, L.: *Water Research* , **6**, 871-876 (1972)

分析法フローチャート

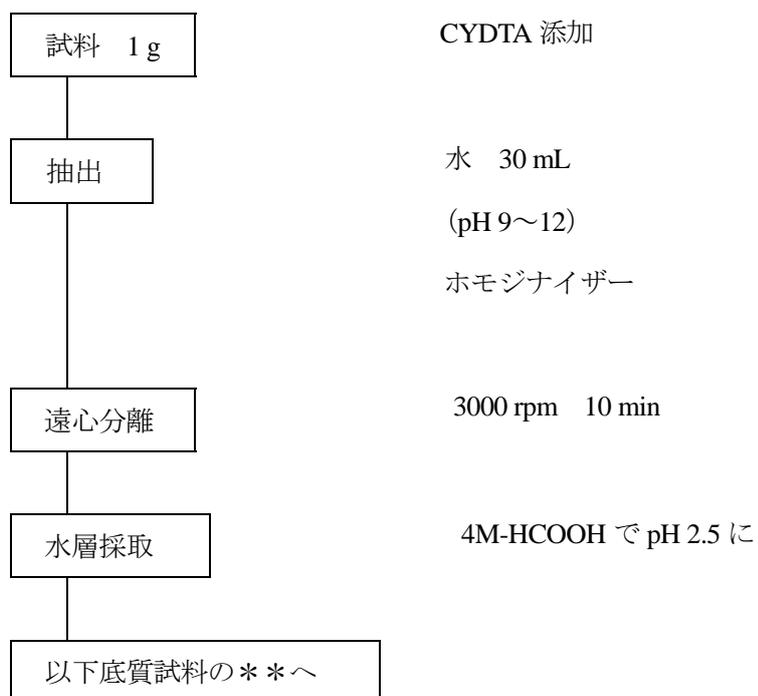
水質試料



底質試料



生物試料



x ii . クロロ酢酸類の分析法

1 対象物質

モノクロロ酢酸、ジクロロ酢酸、トリクロロ酢酸

2 目標検出下限値及び定量下限値（注1）

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 目標検出下限値及び目標定量下限値

		水質 (µg/L)		底質 (µg/kg)		生物 (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	目標検出 下限値	目標定量 下限値
GC/E CD	モノクロ酢酸	0.1	0.5				
	ジクロ酢酸	0.03	0.1	—	—	—	—
	トリクロ酢酸	0.01	0.1				
GC/ MS	モノクロ酢酸	0.3	2.0	20	50	20	50
	ジクロ酢酸	0.1	0.5	3.0	10	3.0	10
	トリクロ酢酸	0.1	0.5	2.0	10	2.0	10

3 分析法の概要

水質試料については、試料水にサロゲート物質を加え、硫酸酸性下で、塩化ナトリウムを飽和量以上添加し、*tert*-ブチル-メチル-エーテル (MTBE) で抽出し、ジアゾメタンによるメチル化を行い、電子捕獲型検出器 (ECD) を用いたガスクロマトグラフ法、またはガスクロマトグラフィー質量分析計を用いたイオン選択検出法 (SIM) 法あるいはマスクロマトグラフ法で測定し、クロロ酢酸類の濃度を求める方法である。

底質及び生物試料については、試料にサロゲート物質を加え、底質試料では精製水で振とう抽出し、遠心分離で得られた上澄み液を得る。一方、生物試料でも精製水を用いてホモジナイズ抽出し、遠心分離で得られた上澄み液を、更にヘキサンで脱脂する。これら底質及び生物試料の上澄み液を硫酸酸性下で、塩化ナトリウムを飽和量以上添加し、MTBEで抽出し、ジアゾメタンでメチル化を行い、これを含水シリカゲルでクリンアップし、濃縮して、ガスクロマトグラフィー質量分析法で測定し、クロロ酢酸類の濃度を求める方法である。

なお、水質試料は GC/ECD 法では絶対検量線法、内標準法、サロゲート法のどれか、

GC/MS 法では内標準法またはサロゲート法のどちらか、底質及び生物試料は GC/MS 法のみでサロゲート法で定量する。サロゲート法でない場合、即ち絶対検量線法または内標準法ではサロゲート物質を添加しないが、添加することにより回収率を試料毎に確認できる。

4 試薬、器具及び装置

(1) 試薬

- ・対象物質：市販標準品、または市販特級品
- ・サロゲート物質 (GC/ECD 法では 2,3-ジブロモプロピオン酸)：市販標準試薬、または市販特級品
- ・サロゲート物質 (GC/MS 法ではクロロ酢酸-d₃、ジクロロ酢酸-d₂、トリクロロ酢酸-¹³C₁)：市販標準品
- ・内標準物質 (1,2,3-トリクロロプロパン、4-クロロトルエン-d₄)：市販標準品
- ・MTBE：高速液体クロマトグラフ用 (注 2)。MTBE を濃縮し、その一定量を GC/ECD (または GC/MS) に注入したとき、目的物質の保持時間にピークを生じないもの。
- ・アセトン、ジクロロメタン、ヘキサン：残留農薬試験用。
- ・無水硫酸ナトリウム：残留農薬試験用。
- ・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。
- ・塩化ナトリウム、硫酸、水酸化ナトリウム：特級品。
- ・塩化ナトリウム：塩化ナトリウムを 300℃で 2 時間強加熱後、汚染のないところで冷却したもの。
- ・硫酸 (1+1)：純硫酸 1 容を精製水 1 容に入れて希釈したもの。
- ・水酸化ナトリウム溶液 (20 w/v%)：水酸化ナトリウム 20 g を精製水 80 mL に溶かしたもの。
- ・*N*-メチル-*N'*-ニトロ-*N*-ニトロソグアニジン：ジアゾメタン溶液調製用 (注 3)。
- ・ジアゾメタン溶液：市販のジアゾメタン発生装置を用い、*N*-メチル-*N'*-ニトロ-*N*-ニトロソグアニジン 0.2 g に精製水 0.5 mL と水酸化ナトリウム溶液 (20 w/v%) 0.6 mL とを加え、発生したジアゾメタンを水冷した MTBE 3 mL に黄色を呈するまで捕集し、この MTBE ジアゾメタン溶液とする (注 4)。この溶液は使用時、直前に調製する。
なお、この操作は必ずドラフト内で行う。
- ・シリカゲル：カラムクロマトグラフ用

- ・含水シリカゲル：透明摺り合わせ共栓付き三角フラスコにカラムクロマトグラフ用シリカゲルを入れ、130°Cで16時間加熱後、密栓して室温まで放冷する。このシリカゲルを攪拌しながら、シリカゲル95 gに対して精製水5 mLを滴下する。密栓し、発熱が終了するまで、静かに混合する。更に振とう器で30分振とう後、乾燥剤としてシリカゲルを入れたデシケーター中で15時間以上放置する。

(2) 器具及び装置

- ・ねじ口瓶：容量100～250 mL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（注5）。
- ・パストゥールピペット：容量2 mL強のもの。
- ・透明摺り合わせまたは同等以上（注6）の共栓付分液ロート：容量100 mL、及び300 mLのもの。
- ・透明摺り合わせまたは同等以上（注6）の共栓付遠沈管：容量100 mLのもの。
- ・透明摺り合わせまたは同等以上（注6）の共栓付試験管：容量10 mL、及び30 mLのもの。
- ・透明摺り合わせまたは同等以上（注6）の共栓付ナス型フラスコ：容量250 mLのもの。
- ・透明摺り合わせまたは同等以上（注6）の共栓付三角フラスコ：容量100 mL、及び200 mLのもの。
- ・乾燥器：シリカゲルの活性化、及びガラス器具等の乾燥に使用する。
- ・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）：底質及び生物試料からの抽出に用いる。
- ・ポリトロン型ホモジナイザー：生物試料からの抽出に用いる。
- ・遠心分離器：底質及び生物試料の固液分離に使用する。
- ・ジアゾメタン発生装置：ジアゾメタン溶液を調整する装置。
- ・5%含水シリカゲルカラム：長さ30 cm、内径1.5 cmのガラスカラムに5%含水シリカゲル10 g（注7）をヘキサンを用いて湿式充填し、この上部に無水硫酸ナトリウムを1 cm積層したもの。
- ・ロータリーエバポレーター、またはKD濃縮装置：抽出液の濃縮に用いる。
- ・電気炉：塩化ナトリウムの焼成に使用する。

- ・GC/ECD：GCはキャピラリーカラム対応のもの。ECDは電子捕獲型検出器のもの。
- ・GC/MS：GCはキャピラリーカラム対応のもの。MSは二重収束型もしくは四重極型のもの。

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回共洗った後、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) 底質試料及び生物試料

底質試料及び生物試料については、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、-20℃以下で保存する。

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（注8）

(ア) 水質試料

透明摺り合わせ分液ロート 100 mL に塩化ナトリウム 20 g、試料水 50 mL を採り、所定量のサロゲート（注9）、硫酸（1+1）3 mL（注10）を加えて軽く振り混ぜる。これに MTBE 15 mL（注11）を加えて5分間振り混ぜ、静置後、MTBE層を共栓付試験管（注6）30 mL に分取（注12）する。再び水層に MTBE 15 mL を加えて同様に抽出し、分離した MTBE 層を前の MTBE 層に合わせる。

(イ) 底質試料

底質試料 20 g（湿重量）を透明摺り合わせ共栓付遠心管 100 mL に採取し、所定量のサ

ロゲート（注9）、ミネラルウォーター45 mLを加えて10分間振とうする。次に3000 rpmで10分間遠心分離を行い、上澄み液を塩化ナトリウム30 gが入っている透明摺り合わせ分液ロート300 mLに入れる。残渣にミネラルウォーター45 mLを加えて、同様の操作を行い、上澄み液を先の分液ロートに合わせる。この分液ロートに硫酸（1+1）10 mL（注10）、MTBE 25 mLを加えて5分間振り混ぜ、静置後、MTBE層を共栓付三角フラスコ（注6）100 mLに分取（注12）する。再び水層にMTBE 25 mLを加えて同様に抽出し、分離したMTBE層を前のMTBE層に合わせる。

（ウ）生物試料

生物試料20 g（湿重量）を透明摺り合わせ共栓付遠心管100 mLに採取し、所定量のサロゲート（注9）、ミネラルウォーター45 mLを加えてホモジナイザーで10分間抽出を行う。次に3000 rpmで10分間遠心分離を行い、上澄み液を透明摺り合わせ分液ロート300 mLに入れる。残渣にミネラルウォーター45 mLを加えて、同様の操作を行い、上澄み液を先に分液ロートに合わせる。この分液ロートにヘキサン25 mLを加えて5分間振り混ぜ、静置後、上層にあるヘキサン層を破棄する。再び水層にヘキサン25 mLを加えて同様に振り混ぜ、静置後、ヘキサン層を破棄し、脱脂する。この分液ロートに塩化ナトリウム30 g、硫酸（1+1）10 mL（注10）、MTBE 25 mLを加えての以降の操作は底質と同じ。

（2）試料液の調製

（ア）水質試料

MTBE抽出液を無水硫酸ナトリウムで脱水（注13）した後、窒素ガスを穏やかに吹き付けて1 mL弱迄（注14）濃縮し、MTBEで1 mLに定容する。このMTBE液にジアゾメタン溶液0.1 mL（注15）を加え、60分間静置してクロロ酢酸類をメチル化し、次いで30～40℃に加熱し、未反応のジアゾメタンを分解させる。その後、絶対検量線法以外では更に内標準液を正確に添加し、試料液とする。

（イ）底質試料及び生物試料

MTBE抽出液を無水硫酸ナトリウムで脱水（注13）した後、ロータリーエバポレーターまたはKD濃縮装置（注16）で、約10 mL（注17）に濃縮し、この濃縮液を共栓付き試験管（注6）に採り、窒素ガスを穏やかに吹き付けて1 mL（注14）に濃縮する。こ

の濃縮液にジアゾメタン溶液 0.5 mL (注 1 5) を加え、60 分間静置してクロロ酢酸類をメチル化し、次いで 30~40°C に加温し、未反応のジアゾメタンを分解させる。このメチル化液にヘキサン約 6 mL 加え、窒素ガスを穏やかに吹き付けて 1 mL 迄濃縮し、ヘキサンに転溶する。このメチル化液を予め用意した含水シリカゲルカラム (注 1 8) に負荷する。受器を設置し、1 mL 強/分の速度で液面をカラムヘッド面まで下げてから、ヘキサン 30 mL を同速度で流す。このヘキサン溶出液は捨てる。再び、受器を変えてヘキサンが断続しないようにジクロロメタン/ヘキサン (50 : 50) 100 mL を用いて、1 mL 強/分の速度で溶出させる。この溶出液を無水硫酸ナトリウムで脱水後、ロータリーエバポレーターまたは KD 濃縮装置 (注 1 6) を用いて、約 10 mL 弱 (注 1 7) まで濃縮する。この濃縮液を SPC 共栓付き試験管に採り、窒素ガスを穏やかに吹き付けて 0.1 mL (注 1 4) まで濃縮し、MTBE (注 1 9) で 1 mL に定容し、内標準液を正確に添加し、試料液とする。

(3) 空試験液の調製

水質、底質及び生物試料別に、試料を用いずに「前処理」及び「試料液の調製」に従って操作を行い、得られた試料液を空試験液とする。

(4) 添加回収試験液の調製 (注 2 0)

水質試料では任意の試料水 100 mL、底質試料及び生物試料では任意の試料 20 g に各クロロ酢酸類のアセトン標準溶液を検出下限値の 10 倍量と一定量のサロゲートのアセトン標準液を添加し、十分に混合した後、60 分以上放置してから、「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。

(5) 標準液の調製 (注 2 1)

各対象物質の標準品または特級試薬を 30%MTBE 含んだヘキサンの、1000 mg/L 標準原液を調製する。水質試料の場合には、この標準原液を MTBE で希釈混合して所定濃度の混合標準液を 5 段階以上作製し、また底質・生物試料の場合にも、この標準原液をヘキサンで希釈混合して所定濃度の混合標準液 (注 2 2) を 5 段階以上作製する。

サロゲート物質も各測定対象物質と同様に 30%MTBE 含んだヘキサンの、100 mg/L 標準原液を調製し、この標準原液をアセトンに溶解して、所定濃度 (通常、0.1 mg/L) の混合標準液 (注 2 2) を調製する。

内標準物質はヘキサンに溶解し 1000 mg/L 標準原液を調製し、この標準原液をアセトンに溶解して、所定濃度（通常、1～10 mg/L）の混合標準液を調製する。

全ての標準原液及び混合標準液は暗所-20℃以下で保存（注 2 3）する。

（6）測定

（ア）測定条件

GC/ECD 測定条件の例（注 2 4）

- ・カラム：溶融シリカキャピラリーカラム（内径 0.20～0.25 mm、長さ 30 m 程度）
- ・液相：ジメチルポリシロキサン、膜厚は 0.10～0.25 μm。またはこれと同等の分離性能を有するもの（注 2 5）。
- ・カラム温度：一例として、45℃（12 分）→8℃/分→ 150℃（2 分）→ 20℃/分→210℃（5 分）（注 2 6）
- ・注入口温度：200～250 °C
- ・注入法：スプリットレス方式（1 分後パージ、1 μL 注入）
- ・キャリアーガス：純度 99.999 v/v%以上のヘリウムガスで、平均線速度：30～60 cm/秒
- ・メイクアップガス：純度 99.999 v/v%以上の窒素ガス
- ・検出器：電子捕獲検出器（ECD）で、その温度を 250～280℃。

なお、サロゲートとして、2,3-ジブロモプロピオン酸を、内標準物質として、1,2,3-トリクロロプロパンを用いることを推奨する。

GC/MS 測定条件の例

- ・イオン化法：EI
- ・イオン化電圧：70 eV
- ・イオン化電流：300 μA
- ・イオン源温度：150～250℃（機種により異なる）
- ・MS インターフェース温度（またはデテクター温度）：250℃
- ・検出モード：SIM または同等のもの（注 2 7）。
- ・測定イオン：クロロ酢酸類、サロゲート及び内標準物質の測定質量数を表 1 に示す。
- ・その他：GC/ECD 測定条件の内、メイクアップガス、検出器以外は同一。

表 1 クロロ酢酸類、サロゲート及び内標準物質の測定質量数

化合物名	測定質量数(m/z)
クロロ酢酸 (メチル化物)	108、110、77
ジクロロ酢酸 (メチル化物)	83、85
トリクロロ酢酸 (メチル化物)	117、119
クロロ酢酸-d ₃ (メチル化物)	111、113
ジクロロ酢酸-d ₂ (メチル化物)	84、86
トリクロロ酢酸- ¹³ C ₁ (メチル化物)	118、120
1,2,3-トリクロロプロパン	147
4-クロロトルエン-d ₄	130

(イ) 検量線 (注 2 8)

GC/ECD 法

絶対検量線法を用いる場合は、所定濃度の各対象物質の混合標準液(水質試料では MTBE 溶液、底質及び生物試料ではジクロロメタン溶液) 1 mL にジアゾメタン溶液 0.1 mL を加えて、メチル化する。それぞれのメチル化液 1 μL を GC/ECD に注入し、得られた各対象物質のピーク面積値 (高さ) から対象物質毎に検量線を作成する。検量線の濃度範囲は、分析法の検出下限値付近と予想される検出濃度レベルを含む 5 段階以上とする。

内標準法を用いる場合は、所定濃度の各対象物質の混合標準液 (同上) 1 mL にジアゾメタン溶液 0.1 mL を加えて、メチル化する。それぞれのメチル化液に所定量の内標準物質 (通常、1 ppm、10 μL) を加え、その 1 μL を GC/ECD に注入し、各対象物質と内標準とのピーク面積値 (高さ) の比から対象物質毎の検量線を作成する。検量線の濃度範囲は、分析法の検出下限値付近と予想される検出濃度レベルを含む 5 段階以上とする。

サロゲート法を用いる場合は、試料を用いずに所定量の各対象物質と一定量のサロゲート物質を加え、「前処理」及び「試料液の調製」に従って操作を行う。このメチル化液 1 μL を GC/ECD に注入し、各対象物質とサロゲート物質とのピーク面積値 (高さ) の比から対象物質毎の検量線を作成する。検量線の濃度範囲は、分析法の検出下限値付近と予想される検出濃度レベルを含む 5 段階以上とする。

GC/MS 法

内標準法を用いる場合は、所定濃度の各対象物質の混合標準液（同上）1 mL にジアゾメタン溶液 0.1 mL を加えて、メチル化する。それぞれのメチル化液に一定量の内標準物質（通常、10 ppm、10 μ L）を加え、その 1 μ L を GC/MS に注入し、各対象物質と内標準物質とのピーク面積値（高さ）の比から対象物質毎の検量線を作成する。検量線の濃度範囲は、分析法の検出下限値付近と予想される検出濃度レベルを含む 5 段階以上とする。

サロゲート法を用いる場合は、試料を用いずに所定量の各対象物質と一定量のサロゲート物質を加え、「前処理」及び「試料液の調製」に従って操作を行う。このメチル化液 1 μ L を GC/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値（高さ）の比から対象物質毎の検量線を作成する。検量線の濃度範囲は、分析法の検出下限値付近と予想される検出濃度レベルを含む 5 段階以上とする。

（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、GC/ECD（あるいは GC/MS）を再調整後、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

GC/ECD では、対象物質のピークが検量線作成で用いた標準物質の保持時間の ± 5 秒以内に出現すれば、対象物質が存在すると見なす。

GC/MS でも、対象物質（メチル化物）とサロゲート（メチル化物）の定量イオン及び確認イオンのピークが検量線作成で用いた標準物質の保持時間の ± 5 秒以内に出現し、また定量イオンと確認イオンのピーク強度比が検量線作成で用いた標準物質の強度比の $\pm 20\%$ 以下であれば、対象物質が存在すると見なす。

（2）定量及び計算

内標準物質またはサロゲート物質と対象物質のピーク面積比（高さ）から、試料中の対

象物質の検出量を求める。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。

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

$$\text{底質及び生物試料濃度 (}\mu\text{g/kg)} = \text{検出量 (ng)} / \text{試料量 (g)}$$

8 分析精度管理

本調査マニュアルの「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（注15）。

9 注意事項

（注1）長い集中ガス配管であると、汚れ等により感度が低下する場合がある。ガスを GC、GC/MS に直接配管すると感度が上がる人が多い。目標検出下限値を 2～5 倍下げることが可能である。

（注2）今回の対象としたクロロ酢酸類の定量には、どのメーカーの MTBE でも問題はないが、対象外のハロ酢酸類、ハロ二塩基酸類の定量にはナカライテスクを推奨する。

（注3）今回の対象としたクロロ酢酸類の定量には、GC/MS ではどのメーカーの *N*-メチル-*N'*-ニトロ-*N*-ニトロソグアニジンでも問題はない。しかし、GC/ECD による測定及び対象外のクロロ酢酸類、ハロ二塩基酸の定量にはナカライテスク社製のものを推奨する。

（注4）*N*-メチル-*N'*-ニトロ-*N*-ニトロソグアニジンは強い変異原性があるので、取り扱いには保護手袋を使用するなど十分注意すること。使用後のジアゾメタン溶液はドラフト内に放置して分解させた後、破棄する。

なお、ジアゾメタン溶液の黄色が 2～3 時間で消える場合は、新しい *N*-メチル-*N'*-ニトロ-*N*-ニトロソグアニジンで再度調製し直す。

（注5）一例として、トリハロメタン測定用の空き瓶 200 mL を加熱処理して使用。

（注6）ここでは SPC 透明ジョイントガラス器具（柴田科学社製）を用いた（備考1）。

（注7）狭雑物及び分解できず残留するジアゾメタンの影響で、破過することがあるので、

フロリジルを 10 g にした。

(注 8) 妨害物の影響で定量困難である場合、硫酸 (1+1) を添加する前に水質試料ではヘキサン 10 mL 抽出を 1~2 回、底質試料でもヘキサン 20 mL 抽出を 1~2 回行う。

このヘキサン抽出液には揮発性ハロゲン化消毒副生成物等が含まれている。

(注 9) サロゲートの添加量は測定装置の感度及び回収率により異なる。目安として、水質試料では GC/ECD 法は 2,3-ジブromopropion酸 50~100 ng の一定量、GC/MS 法はモノクロロ酢酸 d 体 400~2000 ng、ジクロロ酢酸 d 体とトリクロロ酢酸 ¹³C 100~500 ng の一定量を添加する。底質及び生物試料では GC/MS 法のみであるが、モノクロロ酢酸 d 体 4~20 µg、ジクロロ酢酸 d 体とトリクロロ酢酸 ¹³C 1~10 µg の一定量を添加する。2,3-ジブromopropion酸はクロロ酢酸類に比較して MTBE 抽出率が劣るので、今後サロゲート物質として使用されなくなる可能性がある。

なお、底質及び生物試料ではサロゲート法のみであるが、水質試料では、回収率が 80% 以上の場合にはサロゲート法でなくても良い。その場合にはサロゲートを添加する必要はない。

(注 10) 強酸性溶液であるので、分液ロートを振り混ぜる時、注意すること。

なお、残留塩素除去済の水道水では、硫酸 (1+1) の添加量を増やすとハロ酢酸量が増加することがあるので、一定量添加する。

(注 11) ハロ酢酸の 0.04 mg/L 濃度における MTBE 10 mL の抽出率は、モノクロロ酢酸 53%、ジクロロ酢酸 80%、トリクロロ酢酸 84% である。今回 MTBE 15 mL を 2 回抽出し、抽出率の悪いモノクロロ酢酸も 80% 以上にした。

なお、GC/ECD でサロゲートとして用いている 2,3-ジブromopropion酸の MTBE 抽出率はモノクロロ酢酸より高く、ジクロロ酢酸・トリクロロ酢酸より低い。

(注 12) 過剰の塩化ナトリウムを添加しているので、分液ロートの下部に沈殿が生じ、MTBE 層を分取するときは慎重に行う。また、MTBE 層と試料水の境が鮮明でないため、分取するときは慎重に行う。

(注 13) MTBE は水をかなり溶解させるので、脱水を十分に行うこと。脱水が不十分であるとメチル化が不完全になりるので、特に注意する。

(注 14) 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、水質試料ではキパー量が少ないので、顕著に損失する。

- (注15) GC/ECD 及び GC/MS のクロマトグラム上で、クロロ酢酸類のピークとジアゾメタン及び MTBE 由来のピークが使用するキャピラリーカラムにより、隣接する場合があるので、キャピラリーカラムの選択と同時に、ジアゾメタン溶液は少ない方が望ましい。
- (注16) 水浴温度が高いと、クロロ酢酸類のメチル化は損失するので、空気浴中で行うことを薦める。
- (注17) 濃縮を 5 mL 以下にすると、損失することがあるので、5 mL 以下にしないこと。
- (注18) 予め含水フロリジルカラムクロマトグラフィーにおける溶出パターンと回収率を確認しておく。
- (注19) 感度を考慮して、ヘキサンでなく、MTBE に置換した。
- (注20) 内標準法及び絶対検量線法の場合には、サロゲートを添加しない。
- なお、任意の試料からクロロ酢酸類が検出される場合には、任意の試料にクロロ酢酸類のアセトン標準液を添加しない試験液（添加回収試験液のブランク）も調製する。
- (注21) GC/MS のクロロ酢酸類の感度差は GC/ECD に比較して小さい。GC/ECD のモノクロロ酢酸:ジクロロ酢酸:トリクロロ酢酸の感度差は測定装置により異なるが、目安として 60 : 10 : 4 である。
- (注22) 希薄標準液程、使用毎に調製すること。今回対象でないブロモ化合物は特に顕著である。
- (注23) MTBE 溶液は揮発性が非常に高いので、冷凍庫がない場合には、アンプルに保存した方が望ましい。
- (注24) 不活性化したガラスインサート、または石英インサートを使用すること。未処理のインサートを用いると、十分なピークの分離が得られず感度も低下する。
- (注25) 例えば、DB-17、Ultra-2、HP-1 等の名称で市販されている。対象外のハロ酢酸類、ハロ二塩基酸類も同時測定する場合には、SPB-20 カラムで昇温条件を検討する必要がある。
- (注26) 特に GC/ECD の場合には、キャピラリーカラム内に残留している物質が次の試料液のガスクロマトグラフ上に現れることがあるので、210°C (5分) まで温度を上げることを推奨する。
- (注27) 十分な感度が得られる場合には SIM 測定の代わりにスキャン測定でもよい。

(注 2 8) GC/ECD では安定・再現性・回収率良好である場合には絶対検量線法を使用しても良い。また測定機器が不安定であるが、回収率が良好である場合には内標準法、あるいはサロゲート法のどちらかを使用する。GC/MS 法では絶対検量線法の定量値はバラツキが大きいので、使用しない。

1 0 参考

(1) 参考文献の分析法骨格

EPA method 552 は水中のモノクロロ酢酸、ジクロロ酢酸、トリクロロ酢酸、モノブromo酢酸、ブromoクロロ酢酸、ジブromo酢酸を MTBE で抽出し、ジアゾメタンでメチル化後、GC/ECD で定量している。この試験法では、内標準物質は 1,2,3-トリクロロプロパンを、サロゲート物質は 3,5-ジクロロ安息香酸を用いている。

EPA method 552.1 はディスク型固相で抽出し、メチル化後、GC/ECD で定量している。この試験法の特徴は MTBE 抽出の代わりに、ディスク型固相抽出を用いていることである。この試験法では、内標準物質は 1,2,3-トリクロロプロパンを、サロゲート物質は 2-ブromoプロピオン酸を用いている。

EPA method 552.2 は更にブromoジクロロ酢酸、クロロジブromo酢酸、トリブromo酢酸も対象物質としているが、MTBE で抽出し、硫酸/メタノールでメチル化後、中和した後、GC/ECD で定量している。この試験法では、内標準物質は 1,2,3-トリクロロプロパンを、サロゲート物質は 2,3-ジブromoプロピオン酸を用いている。この EPA method はハロ酢酸だけでなく、農薬 Dalapon も測定できる。この試験法の特徴は有毒であるジアゾメタンの代わりに、硫酸/メタノールを用いてメチル化していることである。最近、日本では硫酸/メタノールの代わりに硫酸/エタノールでメチル化する方法が検討されている。

上水試験方法と衛生試験法・注解は EPA method 552 に基づき作成されたので、対象物質及び分析法も同一である。しかし、検出器を GC/ECD だけでなく、GC/MS も採用している。

高橋らの確立した「水道水中のハロゲン化消毒副生成物の多成分系統分析法」はハロゲン化消毒副生成物(34 種類)を測定する分析法である。この分析法のハロ酢酸の測定では、対象物質は EPA method 552.2 と同じであるが、分析法骨格は EPA method 552 とほぼ同一である。

最近、国立公衆衛生院の関口らはハロ酢酸を誘導体化せず、直接イオンクロマトグラフ

一質量分析法（IC/MS）で、定量する方法を提案してきている。なお、上水試験方法、高橋らの確立した試験法、関口らの提案している IC/MS 法は内標準物質、サロゲート物質を用いていない。

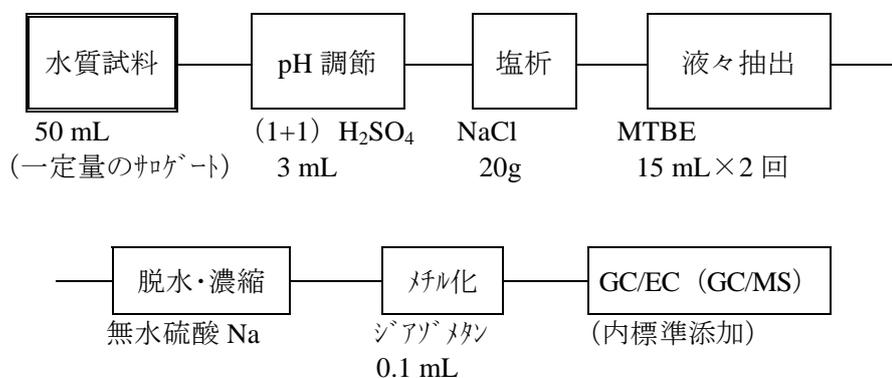
以上の対象試料は水質であるが、昭和 57 年度科学物質分析法開発調査報告書では水質及び底質試料中のクロロ酢酸類の分析法を開発している。この分析法骨格はエーテル抽出、ベンジル化誘導体、シリカゲルクロマト、パックドカラム GC/ECD の組み合わせで、クロロ酢酸類を定量している。

参考文献

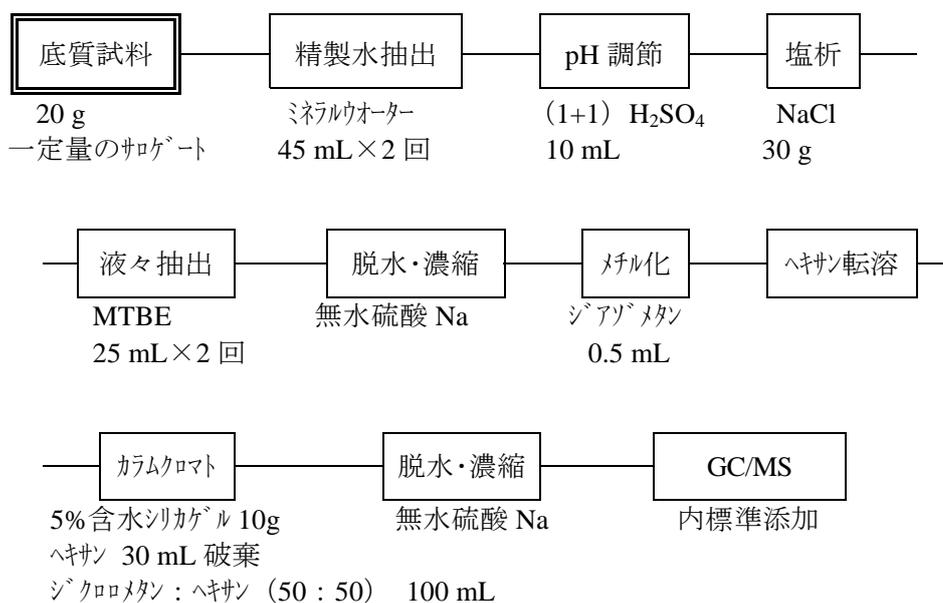
- 1) EPA method 552: Determination of haloacetic acids in drinking water by liquid-liquid extraction, derivatization, and gas chromatography with electron capture detection, 201-232 (1990)
- 2) EPA method 552.1: Determination of haloacetic acids and dalapon in drinking water by ion-exchange liquid-solid extraction and gas chromatography with electron capture detection, 1-30 (1992)
- 3) EPA method 552.2: Determination of haloacetic acids and dalapon in drinking water by liquid-liquid extraction, derivatization and gas chromatography with electron capture detection, 1-32 (1995)
- 4) 園田要, 伊藤正義, 田辺智子, 川畑浩一: 硫酸/エタノール溶液によるハロ酢酸のメチル誘導体のヘッドスペース-GC/MS を利用した分析の検討, 第 51 回全国水道研究発表会, 544-545 (2000)
- 5) 上水試験方法 (1993 年版): ハロ酢酸, pp380-384, 「日本水道協会」, 東京 (1993)
- 6) 衛生試験法・注解 (1990): ハロ酢酸, pp1795-1798, 「日本薬学学会」, 東京 (1995)
- 7) 高橋保雄, 森田昌敏: 水道水中のハロゲン化消毒副生成物の多成分系統分析法, 環境化学, 7, 495-506 (1997)
- 8) 関口益男, 浅見真理, 相澤貴子: イオンクロマトグラフィー質量分析法による親水性消毒副生成物の測定, 第 51 回全国水道研究発表会, 542-543 (2000)
- 9) 環境庁環境保健部保健調査室 (長野県衛生公害研究所 鹿角孝男): 「クロロ酢酸、ジクロロ酢酸、トリクロロ酢酸, 昭和 57 年度化学物質分析法開発調査報告書」, 2015-2020 (1980) sy

分析法フローチャート

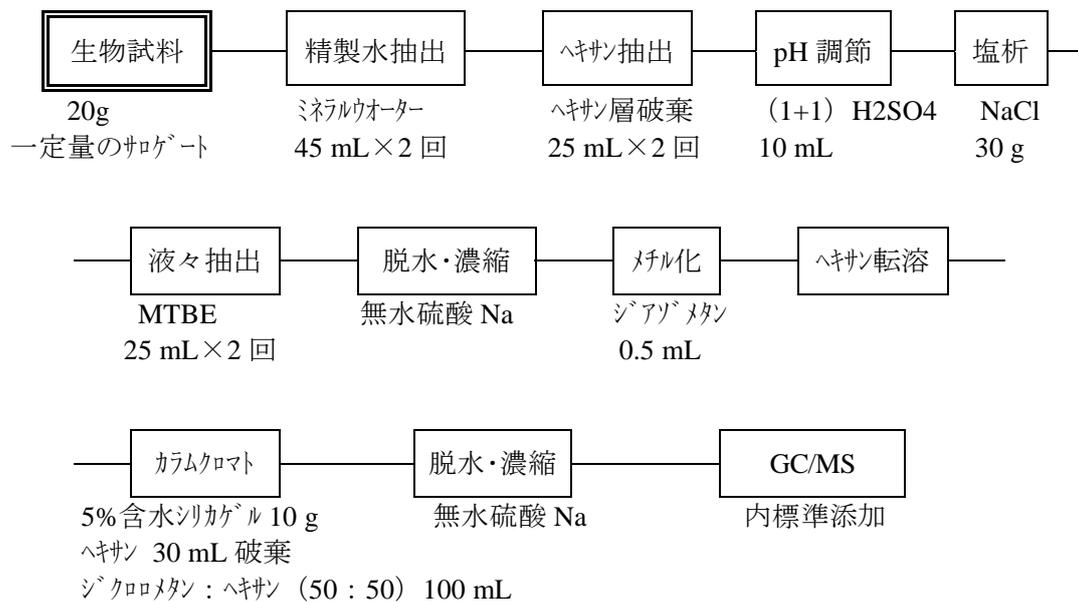
水質試料



底質試料



生物試料



x iii. アルデヒド類の分析法

1 対象物質

アセトアルデヒド、アクロレイン、ベンズアルデヒド、グリオキサール、グルタルアルデヒド

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。目標検出下限値及び目標定量下限値の求め方は「II. 分析精度管理」に従う。

表 1 目標検出下限値及び目標定量下限値

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
0.3	1.0	7.0	20

3 分析法の概要

水質試料については、酸性にした水質試料に直接ペンタフルオロベンジルヒドロキシルアミン塩酸塩 (PFBOA) を加えて誘導体化し、過剰の PFBOA を硫酸で分解後、ヘキサンで抽出する。底質試料については蒸留水で振とう抽出後、水質試料と同様に処理する。抽出液を脱水後、GC/MS で定量する。

ここで対象とするアルデヒド類は遊離状態のもので、結合状態のものは対象としない。

4 試薬、器具及び装置

(1) 試薬

- ・アセトアルデヒド、アクロレイン、ベンズアルデヒド、グリオキサール、グルタルアルデヒド：市販化学用（注 1）
- ・内標準物質（ナフタレン-d₈）：市販標準品
- ・ペンタフルオロベンジルヒドロキシルアミン塩酸塩（PFBOA）：市販標準品
- ・メタノール、ヘキサン：残留農薬試験用試薬
- ・無水硫酸ナトリウム：残留農薬試験用試薬
- ・その他の試薬：特級試薬を用いる

- ・ 1M 塩酸：市販のもの
- ・ 蒸留水：市販のもの
- ・ ブランク水：アルデヒド類のブランク値が低い水（注2）
- ・ 硫酸（1+1）：純硫酸 1 容をブランク水 1 容に入れて希釈したもの。
- ・ ペンタフルオロベンジルヒドロキシルアミン塩酸塩（PFBOA）溶液：PFBOA 600 mg をメスフラスコ（100 mL）に採り、ブランク水で溶かして全量を 100 mL とする。本溶液は冷暗所に保存する。

（2）器具及び装置

- ・ ガラス器具類（分液ロート、メスシリンダー、ピペットなど）
- ・ 試料採取容器（細口褐色ガラス瓶、広口褐色ガラス瓶）
- ・ pH メーター
- ・ 振とう機
- ・ 遠心分離機
- ・ ガスクロマトグラフ／質量分析計（GC/MS）：GC はキャピラリーカラム対応のもの。MS は二重収束型もしくは四重極型のもの。

5 試料の採取・運搬

（1）水質試料

水質試料は細口褐色ガラス瓶（内容積は 500～1000 mL 程度。金属キャップ付き）に、試料水で内部を共洗い後、空気が入らないように口一杯に試料水を満たし、冷蔵状態で試験室まで運び、すみやかに分析する。

（2）底質試料

底質試料は採取後、広口褐色ガラス瓶に入れ、冷蔵状態で試験室まで運び、冷凍保管し、すみやかに分析する。

試料容器は純水で十分洗浄後、200℃程度のオーブンで 6 時間ほど加熱し、冷却後密栓して清浄な場所に保管する。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 (注3)

(1) 前処理

(ア) 水質試料

水質試料 100 mL を取り出し、1M 塩酸で pH 3.6~5.4 に調整後、必要ならばフィルターでろ過してけん濁物を除き、密栓付き分液ロート (200 mL) に入れる。

(イ) 底質試料

底質試料 10 g (湿重量) を 100 mL 共栓付き遠沈管に秤取し、ブランク水 50 mL を加え 20 分間振とう抽出する。次に 2500 rpm で 20 分間遠心分離し、上澄み液を取り出す。残渣にブランク水 50 mL を加えて、同様の操作をし、上澄み液を合わせ、密栓付き分液ロート (200 mL) に入れる。

(2) 試料液の調製

(ア) 水質試料

前処理法で得られた液に PFBOA 溶液 8 mL を加えて密栓し緩やかに振とうした後、3 時間放置する。硫酸 (1+1) 2 mL を加えてよくかき混ぜ、5 分間おく。次いで塩化ナトリウム 25 g を溶かし、ヘキサン 10 mL を加えた後、振とう機で 10 分間振とう抽出する。分液したヘキサン溶液を試験管 (内容積 20~25 mL) に入れ、内標準液 1 mL を加えてよく混合した後、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水したもの (注4) を試料液とする。

(イ) 底質試料

前処理法で得られた液に PFBOA 溶液 8 mL を加えて密栓し緩やかに振とうした後、3 時間放置する。硫酸 (1+1) 2 mL を加えてよくかき混ぜ、5 分間おく。次いで塩化ナトリウム 25 g を溶かし、ヘキサン 10 mL を加えた後、振とう機で 10 分間振とう抽出する。分液したヘキサン溶液を試験管 (内容積 20~25 mL) に入れ、内標準液 1 mL を加えてよく混合した後、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水したもの (注4) を試料液とする。

(3) 空試験液の調製 (注5)

水質試料の場合は、PFBOA 溶液 8 mL に硫酸 (1+1) 2 mL を加えてよくかき混ぜ、ブラ

ンク水 100 mL を加えて 5 分間おく。次いで塩化ナトリウム 25 g を溶かし、ヘキサン 10 mL で 10 分間抽出する。内標準液 1 mL を添加して、無水硫酸ナトリウムで脱水したものを空試験液とする。

底質試料の場合は、ブランク水 100 mL のみを試料として、「前処理法」ならびに「試料液の調製」に従って操作を行い、得られた試験液を空試験液とする。

(4) 添加回収試験液の調製

水質試料 100 mL に各アルデヒド類 1~3 µg、あるいは任意の底質試料 10 g に各アルデヒド類を添加し、十分に混合した後、「前処理法」ならびに「試料液の調製」に従って操作を行い、得られた試験液を添加回収試験液とする。

(5) 標準液の調製

- ・各アルデヒド標準原液 (1 mg/mL) : 各アルデヒド 100 mg を正確にメスフラスコ (100 mL) に採り、メタノールを加えて全量を 100 mL とする。本溶液は、褐色ガラス瓶に入れて冷凍保存する。
- ・内標準原液 : 内標準 (ナフタレン-d₈) を褐色メスフラスコ (100 mL) に正確に 100 mg 採り、ヘキサンに溶かして 100 mL とする。
- ・内標準液 : 内標準原液 1 mL を褐色メスフラスコ (100 mL) に採り、ヘキサンに溶かして 100 mL とする。本溶液 1 mL は内標準を 0.010 mg 含む。

(6) 測定

(ア) GC/MS 測定条件の例

- ・カラム : 熔融シリカキャピラリーカラム (内径 0.2~0.25 mm、長さ 30 m 程度)
- ・液相 : 5%フェニルメチルシリコン、膜厚は 0.25 µm 程度
- ・カラム温度 : 一例として、60°C (2 分) → 10°C/分 → 200°C → 5°C/分 → 250°C
- ・注入口温度 : 250°C
- ・注入法 : スプリットレス (1 分後パージ開始)
- ・キャリアガス : ヘリウム (カラム流速は 1 mL/分)
- ・MS インターフェース温度 : 250°C
- ・イオン化法 : EI

- ・イオン化エネルギー：70 eV
- ・イオン源温度：200°C位
- ・検出モード：SIM。モニターイオン及び保持時間（一例）は表2の通りである。

表2 分析対象物質のモニターイオン及び保持時間の例

物質名	定量用イオン	確認用イオン	保持時間(分)
PFBOA アセトアルドキシム (シン)	181	209	7.18
PFBOA アセトアルドキシム (アンチ)	181	209	7.29
PFBOA アクロレインアルドキシム (シン)	181	251	8.39
PFBOA アクロレインアルドキシム (アンチ)	181	251	8.60
PFBOA ベンズアルドキシム (シン/アンチ)	181	301	14.63
PFBOA グルタルアルドキシム (アンチ/アンチ)	181	279	20.68
PFBOA グルタルアルドキシム (シン/アンチ)	181	279	20.70
PFBOA グルタルアルドキシム (シン/シン)	181	279	20.74
PFBOA グリオキサールアルドキシム (シン)	181	195	8.69
PFBOA グリオキサールアルドキシム (シン/アンチ)	181	195	17.33
PFBOA グリオキサールアルドキシム (アンチ/アンチ)	181	195	17.44
PFBOA グリオキサールアルドキシム (シン/シン)	181	195	17.42
ナフタレン-d ₈ (内標準)	136		

(イ) 検量線 (注6)

毎測定時に検量線を作成する。検量線用標準液は下記の方法で調製する。各アルデヒド標準原液をメタノールで希釈して、100 ng/mL～5000 ng/mL 濃度のアルデヒド標準液を調製する。各アルデヒド 100 ng～5000 ng を純水 100 mL に添加し、「試料液の調製」に従って操作を行い、得られたヘキサン溶液を検量線用標準液とする。各検量線用標準液の 1 μL を GC/MS に注入し、横軸に対象アルデヒドの重量を、縦軸に対象物質と内標準とのピーク面積比（またはピーク高さ比）をとり、検量線を作成する。この検量線を用いて試料液を定量する。検量線の濃度範囲は、検出下限値及び定量上限と予想される濃度を含む 5 段階とする。

(ウ) 試料液の測定

検量線作成後、測定用試料液、空試験液及び添加回収試験液の各 1 μL を GC/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、GC/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

GC/MS の測定結果から、定量用及び確認用モニターイオンが当該保持時間に観察されたものについて、定量と計算を行う（注6）。

(2) 定量及び計算

試料液のピーク面積比を上記の検量線に照らして各アルデヒドの量 (A、 μg) を求める。
各試料中のアルデヒドの濃度は

$$\text{アルデヒドの濃度 } (\mu\text{g/L, } \mu\text{g/kg}) = A \times (1000/V)$$

ここで、V は試料量 (mL あるいは g) で、このマニュアルに従った場合には 100 (水質試料の場合) あるいは乾燥試料量 (底質試料の場合) となる。

8 分析精度管理

本調査マニュアルの「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) グリオキサール及びグルタルアルデヒドは水溶液として販売されており、正確な濃度は製造メーカーに問い合わせる。開封後は濃度が変動する可能性があるため、冷蔵保管するなどの注意が必要である。

(注2) 空試験で 100 mL 当たり、アルデヒドとして 30 ng 程度以下のレベルが望ましい。試薬メーカーの純水やミネラルウォーターなどから適切なものを選ぶのが便利である。

(注3) 実験室内の大気中アセトアルデヒド濃度が高い場合は、窓を開けて外気を通気しながら分析操作する必要がある。

(注4) 濃度が低い場合には注意して濃縮してもよいが、決して乾固してはならない。

(注5) 水質試料では PFBOA 溶液 1 mL からブランクが入り込むので、空試験ではこの部

分に焦点をあてている。

(注6) PFBOA 誘導体はシン型とアンチ型の幾何異性体の混合物となるため、それぞれの異性体のピーク面積（またはピーク高さ）の和を使う。異なったアルデヒドの誘導体のピークが重なる場合には、キャピラリーカラムの液相を変えるなどして、ピークの分離を図る。

10 参考

- (1) 微量のアセトアルデヒドはいたるところに存在しているために、低ブランクの水、試薬を入手することが不可欠である。
- (2) アルデヒドの種類や存在量によって PFBOA 誘導体化の反応率が大きく変化することが分っているために、PFBOA アルドキシム（標準品）で検量線を作成する方法ではなく、アルデヒド標準液を PFBOA 誘導体化する方法を採用した。
- (3) 誘導体化試薬である PFBOA は硫酸（1+1）で容易に分解されるため、試料中のアルデヒド類を誘導体化した後、残りの PFBOA を適量の硫酸（1+1）で分解することにより、他からのコンタミネーションを完全に無視できることになる。但し、過剰量の硫酸（1+1）は PFBOA 誘導体を分解する場合もある。
- (4) 生物試料については、添加回収率が悪いため記載していない。
- (5) 誘導体化する時の pH の影響を調べた結果では、アクロレインやベンズアルデヒド、グリオキサールは pH 6 以上で誘導体化収率が急激に低下する一方、強酸性では誘導体化試薬が分解するため、1M 塩酸で pH を 3.6~5.4 の間に調整することが必要である。
- (6) 誘導体化収率は試料液の温度にほとんど依存しない。
- (7) 反応時間については、3 時間の方が高い反応収率を示したので、このマニュアルでは反応時間を 3 時間とした。
- (8) 残存する誘導体化試薬を分解するために使用する硫酸（1+1）の最適量を調べた結果、約 2 mL を使用するのが最適となった。硫酸の量を多くしすぎると、生成したアルドキシムが一部分解することがある。
- (9) PFBOA グルタルアルドキシムは GC の注入口で熱分解する可能性が指摘されており、オンカラム注入などを使用するのが望ましい。

参考文献

- 1) 環境庁環境保健部保健調査室：「平成6年度化学物質分析法開発調査報告書」、pp.1-14、
(広島県保健環境センター)、(1995)
- 2) 山本圭吾，梅林清志，松浦洋文，伊藤重美，城山二郎，佐々木美智子：奈良県衛生研究所年報，第29号，148-150 (1995)
- 3) 上水試験法
- 4) Choudhury, T. K., Kotiaho, T. and Cooks, R. G.: *Talanta*, **39**, 1113-1120 (1992)
- 5) 馬場謙三，石川精一，花田喜文，内村 豊，末田新太郎，城戸浩三：分析化学，**37**，519-523
(1988)
- 6) Yang, L., Alben, K. T., Briggs, R., Regan, J. and Aldous, K. M.: *Proc. AWWA Water Qual. Technol. Conf.*, No.1995, Pt.2, 1287-1296 (1996)

分析法フローチャート

水質試料

水質試料 (100 mL)

- ↓ 1M 塩酸で pH 3.6~5.4 に調整
- ↓ PFBOA 溶液 (0.6%、8 mL) 添加、3 時間放置
- ↓ [1+1]硫酸 (2 mL) 添加、5 分間放置
- ↓ 塩化ナトリウム (25 g) を溶かす
- ↓ ヘキサン (10 mL) で振とう抽出 (10 分間)

ヘキサン抽出液

- ↓ 内標準液 (ナフタレン-d₈、10 µg/mL) 1 mL を添加
- ↓ 無水硫酸ナトリウムで脱水

GC/MS-SIM 測定

底質試料

底質試料 (10 g)

- ↓ 水 (50mL) を添加
- ↓ 20 分間振とう抽出
- ↓ 2500rpm で 20 分間遠心分離
- ↓ 上澄み液を取り出す
- ↓ 上記の操作をもう 1 回繰り返す

上澄み液

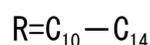
- ↓
- ↓

以下、水質試料と同じ

x iv. 直鎖アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム（LAS）の分析法

1 対象物質

本法は、アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム（アルキル基が直鎖型のもの、LAS）の分析に適用する。アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウムはアルキル基の炭素数が 10～14 の混合物である。



2 目標検出下限値及び定量下限値

本分析法の C_{10} ～ C_{14} までの目標検出下限値を水質試料ではそれぞれ 0.2 $\mu\text{g/L}$ 、底質試料ではそれぞれ 10 $\mu\text{g/kg}$ とする。また、 C_{10} ～ C_{14} までの目標定量下限値を水質試料ではそれぞれ 0.6 $\mu\text{g/L}$ 、底質試料ではそれぞれ 30 $\mu\text{g/kg}$ とする（表 1）。

表 1 目標検出下限値及び目標定量下限値

水質 ($\mu\text{g/L}$)		底質 ($\mu\text{g/kg}$)	
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
0.2	0.6	10	30

3 分析法の概要

(1) 水質試料

水質試料 1 L を固相抽出し、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蒸発乾固させた後、アセトニトリル/水（65 : 35）で 2 mL に定容し、試験液とする。試験液を HPLC で分離し、蛍光検出器もしくは質量分析計で定量する。

(2) 底質試料

底質試料 10 g をメタノールで超音波抽出し、遠心分離した抽出液をグラファイトカーボンブラックカートリッジ（GCB）でクリーンアップする。溶出液を窒素ガスにより蒸発乾

固させた後、アセトニトリル/水 (65 : 35) で 1 mL に定容し、試験液とする。試験液を HPLC で分離し、蛍光検出器もしくは質量分析計で定量する。

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 1)
- ・GCB カートリッジ：充填量 1 g のもの
- ・水酸化テトラメチルアンモニウム：特級
- ・C₁₂-LAS 標準原液 (1000 mg/mL)：ドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム 100 mg をアセトニトリル/水 (65 : 35) (注 2) で溶かして 100 mL にする。
- ・C₁₂-LAS 標準液 (10 mg/mL)：C₁₂-LAS 標準原液 10 mL をアセトニトリル/水 (65 : 35) で溶かして 1000 mL にする。
- ・LAS (C₁₀～₁₄ の混合物) 標準原液 (注 3)：ドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム (ソフト型) 100 mg をアセトニトリル/水 (65 : 35) で溶かして 100 mL にする。
- ・LAS (C₁₀～₁₄ の混合物) 標準液：LAS (C₁₀～₁₄ の混合物) 標準原液を段階的にアセトニトリル/水 (65 : 35) で希釈して検量線用標準液とする。

(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 (HPLC)：蛍光検出器もしくは質量分析計を備えたもの
- ・超音波抽出装置

5 試料の採取・運搬

(1) 水質試料

試料は、精製水で洗浄したガラス瓶またはポリエチレン瓶に採取し、速やかに試験する。

(2) 底質試料

試料は、ガラス容器またはプラスチック容器に採取し、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 1 L (注 4) を、メタノール 10 mL、水 5 mL でコンディショニングした固相抽出カートリッジ (注 5) に通し、20 mL/min の流速で通水する。水 5 mL で洗浄後、カートリッジに 10 mL 容シリンジを取り付け、軽く空気を送りカートリッジ内の間隙水を取り除く。次にメタノール 5 mL で固相から溶出させる。メタノール溶液は、窒素ガスを吹きつけることにより蒸発乾固させる (注 6)。アセトニトリル/水 (65 : 35) で 2 mL に定容し、HPLC 試験液とする。

(イ) 底質試料

遠心分離した底質試料 10 g を 50 mL 遠沈管に取り、それにメタノール 30 mL を加える。

ガラス棒等を用いて、底質を分散させた後、15 分間超音波抽出を行う。次に 3000 rpm で 10 分間遠心分離を行う。この操作を 2 回繰り返す。60 mL に定容した後、その一部を分取し、ロータリーエバポレーターで 5 mL 以下になるまで濃縮する。これに精製水 15 mL を加え、あらかじめコンディショニング (注 7) をした GCB カートリッジ (注 8) に通す。少量のメタノールで洗浄し、GCB カートリッジに通す (2 回)。次にジクロロメタン/メタノール (70 : 30) 7 mL (注 9)、さらに 25 mM のギ酸を含んだジクロロメタン/メタノール (90 : 10) 7 mL (注 10) で洗浄する。これらの溶出液は廃棄する。次に 10 mM 水酸化テトラメチルアンモニウムを含むジクロロメタン/メタノール (90 : 10) 7 mL で LAS を溶出させる。溶出液を窒素ガスを吹きつけることにより乾固させる。アセトニトリル/水 (65 : 35) で 1 mL に定容し、HPLC 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 1 L に LAS (C₁₀~C₁₄ の混合物) 標準液 10 µg、底質試料に LAS (C₁₀~C₁₄ の混合物) 標準液 100 µg 添加して、十分に混合した後、「前処理と試料液の調製」の操作を行い、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

【混合標準液中の C₁₀~C₁₄-LAS 濃度の決定】

C₁₂-LAS 標準液と LAS (C₁₀~C₁₄ の混合物) 標準液を HPLC/蛍光検出器で測定し、それぞれのピーク面積を求める。既知の C₁₂-LAS 標準液のモル濃度と各ピーク面積値から C₁₀, C₁₁, C₁₃, C₁₄-LAS のモル濃度を計算し (注 1 1)、分子量をかけて単位を mg/L などに変換する。計算例を表 1 に示す。

表 1 LAS (C₁₀~C₁₄ の混合物) 標準液の濃度計算の例

	C ₁₀	C ₁₁	C ₁₂	C ₁₃	C ₁₄
C ₁₂ -LAS (10 mg/L) のピーク面積			273.4		
LAS 標準液(100 mg/L)のピーク面積	306.6	1017.3	896.7	480.4	156.5
LAS 標準液の濃度 (m mol/L)	0.0322	0.1069	0.0942	0.0505	0.0164
LAS 標準液の濃度 (mg/L)	10.3	35.7	32.8	18.3	6.2

(5) 測定

(ア) LC/蛍光検出器測定条件の例

(a)HPLC

- ・ カラム : ODS (250×3.0 mm、5 µm)
- ・ 流速 : 0.5 mL/min
- ・ 移動相 : 0.1M-NaClO₄ (アセトニトリル/水=65 : 35)
- ・ カラム恒温槽 : 40°C
- ・ 注入量 : 10 µL

(b)蛍光検出器

- ・ 検出器 : 励起波長 (225 nm)、蛍光波長 (300 nm)

(イ) LC/MS 測定条件の例

(a)HPLC

- ・ カラム : C₈ (250×3.0 mm、5 μm)
- ・ 流速 : 0.5 mL/min
- ・ 移動相 :
A 液 10 mM 酢酸アンモニウム水溶液
B 液 アセトニトリル
A / B = 35 : 65
- ・ カラム恒温槽 : 40°C
- ・ 注入量 : 10 μL

(b)質量分析部

- ・ 検出モード : ESI negative
- ・ 乾燥ガス : N₂ (300°C、10 L/min)
- ・ ネブライザー圧 : 40 psi
- ・ フラグメンター電圧 : 100 V
- ・ キャピラリー電圧 : 4000 V
- ・ 測定質量数 : 297、311、325、339、353

(ウ) 検量線

LAS (C₁₀~C₁₄の混合物) 標準液 10 μL を LC または LC/MS に注入し、C₁₀、C₁₁、C₁₂、C₁₃ 及び C₁₄ 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。

LC/蛍光検出器では、C₁₀~C₁₄それぞれが、多成分混合されているので、ピークは複雑である。クロマトグラムを参考にピーク強度を算出する。

LC/MS では、C₁₀~C₁₄それぞれ 1 ピークのクロマトグラムとなる。

(エ) 試料液の測定

検量線作成後、空試験液、添加回収試験液、試料試験液の 10 μL を LC または LC/MS に注入して測定を行う。10 試料に 1 回以上、検量線の中位程度の濃度の標準液を注入して、その感度変動が検量線作成時の 20% 以内であることを確認する。もし、超えていれば、原因を取り除き、検量線を作成し直して、試料液の再測定を行う。

7 同定、定量及び計算

(1) 同定

標準物質の LC における保持時間が一致すれば、試料液中に LAS が存在していることを示す。

(2) 定量及び計算

試料液における強度から、検量線により検出量を求め、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。

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

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

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) Accu Bond 6 mL 500 mg (J&W Scientific 社製) や PS-2 カートリッジセップパック バック 6 cc 500 mg (ウォーターズ社製) など (備考1)。

(注2) HPLC/蛍光検出では、メタノールで希釈すると低濃度域で LAS のシグナル位置にピークが現れることがある。

(注3) 標準アニオン界面活性剤 (東京化成) を用いる。市販品の中には、アルキル基が 1 位でベンゼン環に結合したもののみからなる混合標準液も市販されている。しかしこれらは実際に使用されている LAS とは組成が異なるため、HPLC の分離において保持時間が確認できない。

(注4) 浮遊物質 (SS) が多い場合は、ガラス繊維ろ紙 (孔径 1 mm) でろ過する。ろ紙に捕集した SS は、メタノール 5mL を用いて 2 回抽出 (超音波利用) し、ろ液に

合わせる。

(注5) C₁₈カートリッジやポリマー系の捕集剤 (PS-2) が利用できる。また、グラファイトカーボンブラックカートリッジ (GCB) を用いると、非イオン界面活性剤との分離が可能である。詳細は底質の前処理を参照されたい。

(注6) 0.3 mL 程度の水分が残るが差し支えない。

(注7) ジクロロメタン 10 mL、メタノール 10 mL、水 10 mL を通して、コンディショニングを行う。

(注8) GCB カートリッジを利用する方法は、水質試料の前処理において、海外では非常にポピュラーな方法である。この方法は非イオン界面活性剤、そのカルボン酸体、LAS を分画できる簡便で優れた方法である。

(注9) この溶液中には、非イオン界面活性剤が含まれる。

(注10) この溶液中には、非イオン界面活性剤のカルボン酸体が含まれる。

(注11) ここでは C₁₀~C₁₄ の各 LAS において、アルキル基の長さで結合位置の違いによるベンゼン環への電子供与効果が等しいと仮定している。

(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

添加回収試験の結果

(1) 水質試料

水質試料の添加回収試験の結果を表2に示す。

表2 水質添加回収試験の結果

	C ₁₀	C ₁₁	C ₁₂	C ₁₃	C ₁₄
添加濃度 (μg/L)	1.03	3.57	3.28	1.83	0.62
回収率 (%)	100.6	98.1	94.7	99.5	98.0

注) 添加濃度の欄に設定した 1 L の試料を、500 倍に濃縮し、HPLC/蛍光検出器で定量した場合の結果。

(2) 底質試料

底質試料の添加回収試験の結果を表3に示す。

表 3 底質添加回収試験の結果

	C ₁₀	C ₁₁	C ₁₂	C ₁₃	C ₁₄
回収率(%)	91.0	85.4	86.3	100.0	64.0

注) 10 g の底質試料に、100 µg 添加し、メタノール抽出液の 1/6 を分取し、1 mL に定容し、HPLC/蛍光検出器で測定したときの結果。分取した割合が少なかったため、C₁₄-LAS で回収結果が低くなっている可能性がある。

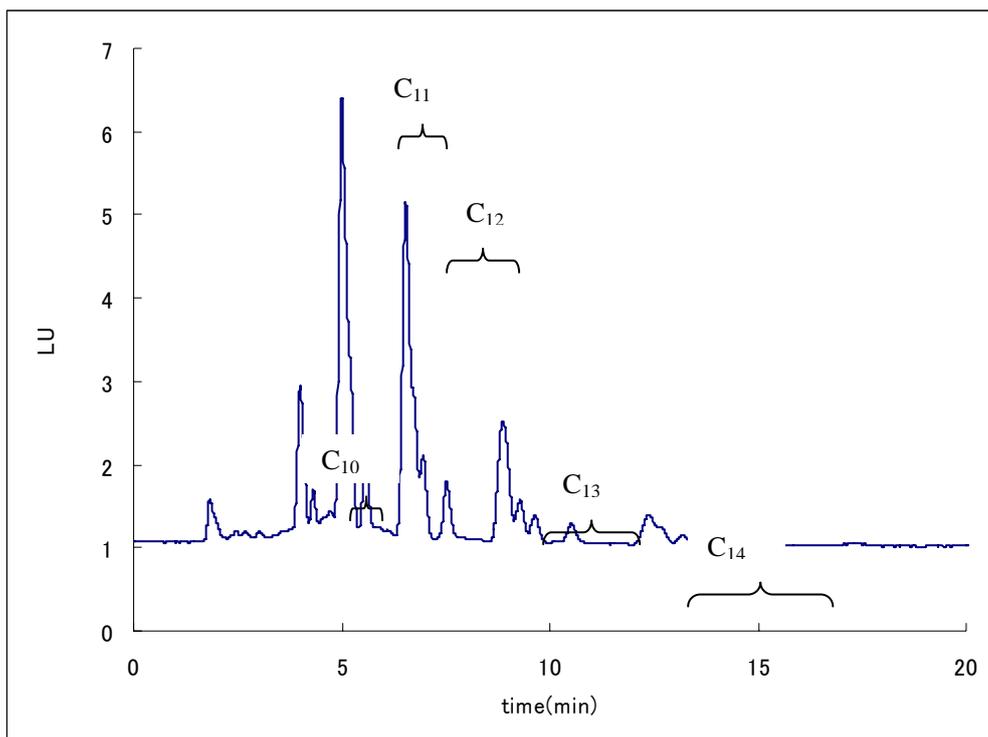


図1 LC/蛍光検出測定によるクロマトグラム

(測定条件：本分析方法条件どおり)

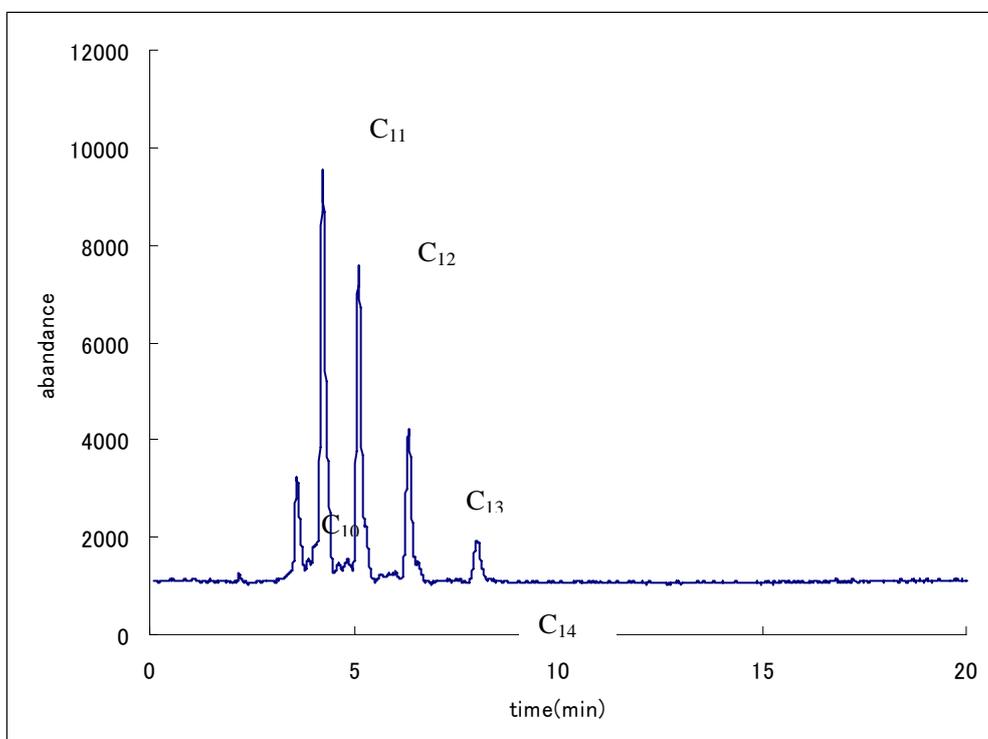


図2 LC/MS 測定によるクロマトグラム

(測定条件：本分析方法条件どおり)

x v. ニトロソアミン類の分析法

1 対象物質

N-ニトロソジフェニルアミン、*N*-ニトロソジ-*n*-プロピルアミン、*N*-ニトロソジメチルアミン、*N*-ニトロソモルホリン

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 目標検出限界値及び目標定量下限値

	水 質 (µg/L)	
	目標検出下限値	目標定量下限値
<i>N</i> -ニトロソジフェニルアミン	0.02	0.06
<i>N</i> -ニトロソジ- <i>n</i> -プロピルアミン	0.01	0.03
<i>N</i> -ニトロソジメチルアミン	0.02	0.06
<i>N</i> -ニトロソモルホリン	0.01	0.03

3 分析法の概要

水質試料 1 L をジクロロメタンを用いて液々抽出し、抽出液は塩酸で洗浄し、アミン類を除去する（注 1）。抽出液を脱水濃縮後、GC/MS で測定する。

4 試薬、器具及び装置

(1) 試薬

- ・*N*-ニトロソジフェニルアミン：市販標準品
- ・*N*-ニトロソジ-*n*-プロピルアミン：市販標準品
- ・*N*-ニトロソジメチルアミン：市販標準品
- ・*N*-ニトロソモルホリン：市販標準品
- ・内標準物質（ナフタレン-*d*₈）：市販標準品
- ・ジクロロメタン：残留農薬試験用試薬（1000 以上）
- ・塩酸：有害金属測定用試薬
- ・無水硫酸ナトリウム：残留農薬試験用試薬
- ・その他の試薬：特級試薬を用いる
- ・精製水：（注 2）

(2) 器具及び装置

- ・ガラス器具：試薬瓶、分液ロート、共栓付試験管、濃縮フラスコ、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
- ・濃縮器
- ・ロータリーエバポレーター（恒温槽付き）
- ・ガスクロマトグラフ／質量分析計（GC/MS）：GC はキャピラリーカラム対応のもの。MS は二重収束型のもの。
- ・マイクロシリンジ：内部標準液の添加あるいは GC/MS の注入に用いる。

5 試料の採取・運搬

(1) 水質試料

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。ニトロソアミン類は光分解性が知られているので、褐色瓶を用いるか遮光する。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

(ア) 水質試料

試料水 1 L を 2 L 容分液ロートに入れ、0.18%のアスコルビン酸を含む 1M-リン酸溶液を 10 mL 加える。これに 100 g の塩化ナトリウムを加えて溶解後、ジクロロメタン 100 mL を加えて約 3 分間振とうする。約 10 分間放置した後、ジクロロメタン層を分取する。さらに 100 mL のジクロロメタンで振とう抽出を 2 回繰り返す。分取したジクロロメタン層を合わせ、0.1N-塩酸 50 mL で洗浄する（注1）。ジクロロメタン層を分取し無水硫酸ナトリウムで脱水し、試料前処理液とする。

(2) 試料液の調製

(ア) 水質試料

試料前処理液を 35℃の湯浴中でロータリーエバポレーターを用いて約 5 mL 程度まで濃縮する。これを濃縮用受器に移し、20 µg/mL の内標準溶液（ナフタレン-d₈ のヘキサン溶液）を正確に 5 µL 添加した後、窒素ガスを吹きつけ 1 mL の定容とし試料液とする。

(3) 空試験液の調製

(ア) 水質試料

1 L の精製水を用い、「前処理」及び「試料液の調製」と同様に操作して得られる液を空試験液とする。

(4) 添加回収試験液の調製

任意の試料水 1 L 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メタノール溶液を加え、十分に混合した後、「前処理」及び「試料液の調製」に従って操作を行ない、得られた試料液を添加回収試験液とする（注 3）。

(5) 標準液の調製

標準原液は市販されている標準物質あるいは濃度が保証された標準物質溶液から調製することが可能である。各ニトロソアミンの標準品 10 mg を正確にメスフラスコ（100 mL）に秤り取り、メタノールを加えて全量を 100 mL とし、標準品原液（100 µg/mL）を調製する。標準原液の容器は遮光する。

標準品原液をメタノールで希釈して検出下限値付近と予想される検出濃度レベルを含む範囲で 5 段階以上個別に調製する。

内標準物質（ナフタレン-d₈）10 mg をメスフラスコ（100 mL）に正確に秤り取り、ヘキサンを加えて 100 mL とし、内標準原液とする。内標準原液をヘキサンで希釈し、20 µg/mL の内標準溶液を調製する。

(6) 測定

(ア) GC/MS 測定条件の例（注 4）

- ・カラム：溶融シリカキャピラリーカラム（内径 0.25 mm、長さ 30 m）
- ・液相：ポリエチレングリコール、膜厚は 0.5 μm
- ・カラム温度：40°C（3分） \rightarrow 10°C/分 \rightarrow 280°C（3分）
- ・注入口温度：200°C
- ・注入法：スプリットレス（1分後パージ）、1 μL 注入
- ・キャリアガス：ヘリウム（1 mL/分）
- ・MS インターフェース温度：260°C
- ・イオン化法：EI
- ・イオン化電圧：70 eV
- ・イオン源温度：240°C
- ・イオン化電流：300 μA
- ・検出モード：SIM
- ・測定イオン
 - ・*N*-ニトロソジフェニルアミン：GC の注入口で完全に分解（注1）し、生成したジフェニルアミンを定量する。：m/z 169、168
 - ・*N*-ニトロソジ-*n*-プロピルアミン：m/z 70、130
 - ・*N*-ニトロソジメチルアミン：m/z 74、42
 - ・*N*-ニトロソモルホリン：m/z 56、116、86
- ・内標準（ナフタレン- d_8 ）：m/z 136

（イ）検量線

各標準液（内標準濃度：100 ng/mL）1 μL を GC/MS に注入し、標準品誘導体と内標準物質のピーク面積比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 1 μL を GC/MS に注入して測定を行う。一定時間ごとに、検量線の間中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、GC/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

GC/MS の測定結果から、定量用及び確認用モニターイオンが予想保持時間に観察されたものについて、定量と計算を行う。誘導体と内標準物質のピーク面積比を求め、上記の検量線に照らして各ニトロソアミンの検出量を求める。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。

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

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) *N*-ニトロソジフェニルアミンは通常の GC 注入口温度である 200°C~250°C で完全に分解しジフェニルアミンになることから、MS の検出はジフェニルアミンで行なう。そのため、あらかじめアミン類を除去する必要がある。
- (注2) Milli-Q SP.TOC.超純水製造装置（ミリポア社製）による精製水と同等以上の精製水（備考1）。
- (注3) 添加回収試験は、試料と同じあるいは類似の試料に対象物質であるニトロソアミン類標準液を検出限界の 5~10 倍量添加して行なう。但し、対象物質が添加回収用試料に添加量と比べて無視できない量含まれている場合は、同程度の濃度になるよう対象物質の添加量を増やして試験を行なう。
- (注4) 参考までに 5%フェニルメチルシリコン溶融シリカキャピラリーカラムの GC 条件を示す。本文中に記載したポリエチレングリコール溶融シリカキャピラリーカラムの GC 条件の方が *N*-ニトロソジメチルアミンの分離が良い。
- ・カラム：溶融シリカキャピラリーカラム（内径 0.25 mm、長さ 30 m）
 - ・液相：5%フェニルメチルシリコン、膜厚は 0.25 μm
 - ・カラム温度：40°C（3分）→15°C/分 → 300°C（8分）
 - ・注入口温度：250°C
 - ・注入法：スプリットレス（1分後ページ）、1 μL 注入

- ・キャリアガス：ヘリウム（1 mL/分）
 - ・MS インターフェース温度：280°C
 - ・イオン化法：EI
 - ・イオン化電圧：70 eV
 - ・イオン源温度：260°C
 - ・イオン化電流：300 μ A
 - ・検出モード：SIM
- （この条件での内標準物質はフェナンスレン-d₁₀が良好である）

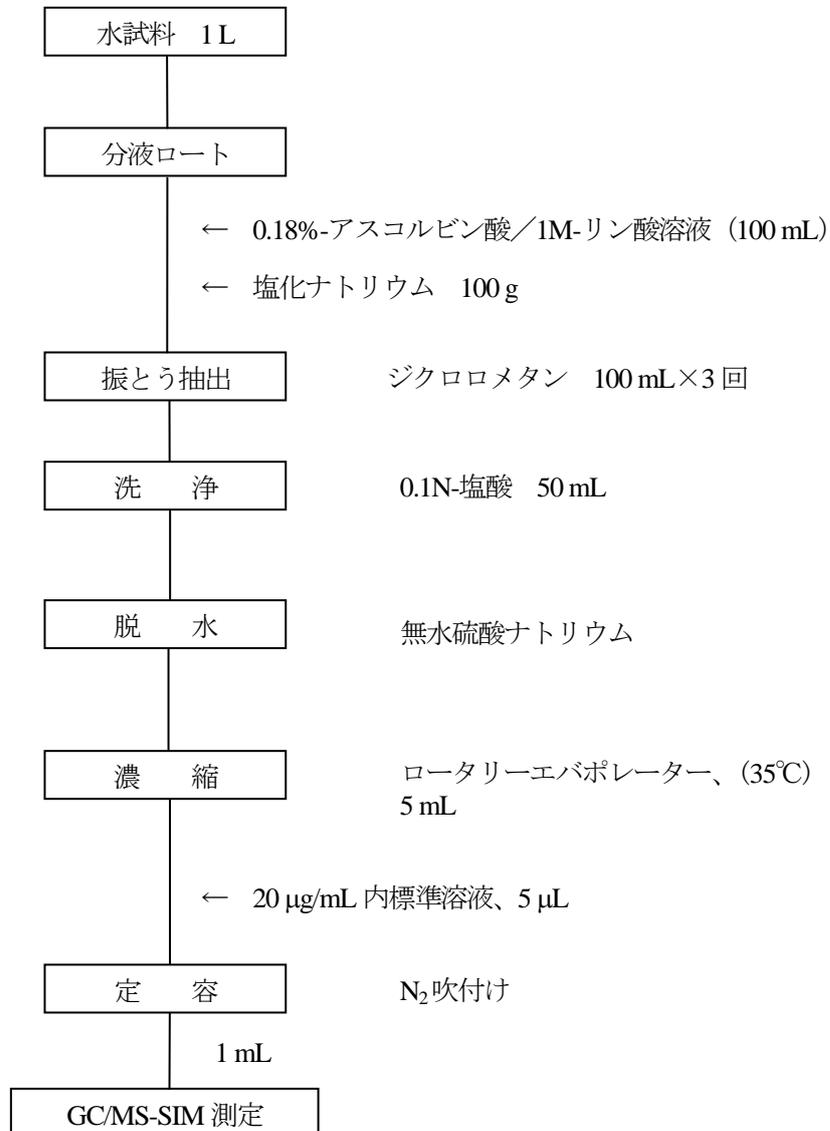
（備考1）ここに示す商品は、本マニュアル使用者の便宜のために、一般に入手できるものとして掲げたが、これを推奨するものではない。これと同等以上の品質、性能のものを用いてもよい。

参考文献

- 1) EPA: Method 607, Methods for Organic Chemical Analysis of Municipal and Industrial Waste Water- Nitrosoamines, U.S.EPA (revised as of July 1st, 1995)

分析法フローチャート

水質試料



x vi. アクリルアミドの分析法

1 対象物質

アクリルアミド

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 目標検出限界値及び目標定量下限値

	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
アクリルアミド	0.02	0.06	0.5

3 分析法の概要

水質試料は、プレカラムとして C₁₈ カートリッジカラムを取りつけた活性炭カートリッジカラムに通水吸着後、メタノールで溶出させる。溶出液を濃縮後、キサントヒドロールを加えて誘導体化し、ジクロロメタンで抽出する。抽出液を脱水・濃縮し、GC/MS-SIM で定量する。底質試料は精製水で抽出し、以下水試料と同じ操作を行う。

4 試薬、器具及び装置

(1) 試薬

- ・アクリルアミド (モノマー) : 市販化学用
- ・内標準物質 (クリセン-d₁₂) : 市販標準品
- ・キサントヒドロール (10%メタノール溶液) : 市販化学用
- ・メタノール、ヘキサン、ジクロロメタン : 残留農薬試験用試薬 (1000 以上)
- ・塩酸 : 有害金属測定用試薬
- ・無水硫酸ナトリウム : 残留農薬試験用試薬
- ・その他の試薬 : 特級試薬を用いる
- ・精製水 : (注 1)
- ・C₁₈ カートリッジカラム : 市販カートリッジカラム (注 2)。
- ・活性炭カートリッジカラム : 市販カートリッジカラム (注 3)。

- ・ガラス繊維ろ紙：市販ろ紙（注4）。

（2）器具及び装置

- ・吸引鐘：固相抽出時及びろ過時の吸引に用いる。
- ・真空計：固相抽出時の流速制御用
- ・ニードルバルブ：固相抽出時の流速制御用
- ・振とう器：生成誘導体の溶媒抽出用
- ・超音波洗浄機：試料の水抽出用
- ・遠心分離機：水抽出液の分離用
- ・ロータリーエバポレーター：抽出溶媒の濃縮用
- ・恒温水槽：誘導体化反応の温度制御用
- ・ガスクロマトグラフ／質量分析計（GC/MS）：GC はキャピラリーカラム対応のもの。
MS は二重収束型もしくは四重極型のもの。

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回共洗った後、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、速やかに試験を行う。

（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すり合わせの広口ガラスビンに入れ密栓し、-20℃以下で冷凍保存する。

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

（ア）水質試料

精製水で十分に洗浄したガラス繊維ろ紙を用い、試料 500 mL をろ過する。得られた試料ろ液を、プレカラムとして C₁₈ カートリッジカラム（注 5）を取り付けた活性炭カートリッジカラム（注 6）に流速 5 mL/min（注 7）で通過させる。活性炭カートリッジカラムを取り出し、精製水 10 mL を流速 5 mL/min 程度で通過させて洗浄する。通気して脱水した後、メタノール 5 mL を流速 5 mL/min 程度で通過させアクリルアミドを溶出させる。溶出液を 10 mL の共栓付き試験管にとり 40℃に加熱しながら窒素を吹きつけ 1 mL に濃縮する。これに 10%キサントヒドロール/メタノール溶液 100 μL と 3M 塩酸 1 滴を加えて密栓し、よく振り混ぜる（注 8）。この試験管を 40℃の恒温水槽中に入れ、時々振り混ぜながら 2 時間放置する。誘導体化終了後、精製水 10 mL を反応溶液に加えて振り混ぜ、精製水 70 mL を入れた分液ロートに流し込む。反応容器を精製水 10 mL で洗浄、次に 10 mL のジクロロメタンで 2 度洗浄し、これらの洗液も分液ロートに入れる。分液ロートを 5 分間激しく振とうし、静置後、ジクロロメタン層を分取する。水層に再度ジクロロメタン 20 mL を加えて抽出を行う。ジクロロメタン層を合わせ、無水硫酸ナトリウムで脱水し、試料前処理液とする。

（イ）底質試料

底質試料 20 g（湿重量）を 200 mL 遠沈管に採取し、精製水 150 mL を加え、スパチュラで試料を十分に分散させた後、15 分間超音波抽出を行う。これを 2500 rpm で 10 分間遠心分離し、上澄み液を水抽出液として分取する。以下、水質試料と同様に操作し、試料前処理液を得る。

（2）試料液の調製

（ア）水質試料

試料前処理液を 35℃の湯浴中でロータリーエバポレーターを用いて約 5 mL 程度まで濃縮する。これを濃縮用受器に移し、10 μg/mL の内標準溶液（クリセン-d₁₂ のヘキサン溶液）を正確に 25 μL 添加した後、窒素ガスを吹きつけ 1 mL の定容とし試料液とする。

（イ）底質試料

水質試料と同様の操作を行い試料液を得る。

(3) 空試験液の調製

(ア) 水質試料

500 mL の精製水を用い、「前処理」及び「試料液の調製」と同様に操作して得られる液を空試料液とする。

(イ) 底質試料

150 mL の精製水を用い、「前処理」及び「試料液の調製」と同様に操作して得られる液を空試料液とする。

(4) 添加回収試験液の調製

水質試料では任意の試料水 500 mL、底質試料では任意の試料 20 g (湿泥) にアクリルアミドの標準液 (水溶液) を検出限界の 5~10 倍量加え、十分に混合した後、「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 9)。

(5) 標準液の調製

アクリルアミドの標準品 10 mg を正確にメスフラスコ (100 mL) に秤り取り、精製水を加えて全量を 100 mL とし、アクリルアミド標準品原液 (100 µg/mL) を調製する。標準品原液を精製水で希釈し、25 µg/mL の標準品溶液を調製する。

内標準物質 (クリセン-d₁₂) 10 mg をメスフラスコ (100 mL) に正確に秤り取り、ヘキサンを加えて 100 mL とし、内標準原液とする。内標準原液をヘキサンで希釈し、10 µg/mL の内標準溶液を調製する。

メタノール 1 mL を入れた、容量 10 mL の共栓付き試験管を調製する標準液の個数分用意し、標準溶液 10~40 µL を段階的にそれぞれ添加する。次いで、10%キサントヒドロール/メタノール溶液 100 µL と 3M 塩酸 1 滴を加えて密栓してよく振り混ぜる。以下、「前処理」の該当部分及び「試料液の調製」と同様の操作を行い、各標準液を得る。

(6) 測定

(ア) GC/MS 測定条件の例

- ・カラム：溶融シリカキャピラリーカラム (内径 0.25 mm、長さ 30 m)
- ・液相：5%フェニルメチルシリコン、膜厚は 0.25 µm

- ・ カラム温度：40℃（2分）→ 20℃/分 → 300℃（5分）
- ・ 注入口温度：250℃
- ・ 注入法：スプリットレス（1.5分後パージ），1 μL 注入
- ・ キャリアガス：ヘリウム（カラム流速は 2.1 mL/分）
- ・ MS インターフェース温度：250℃
- ・ イオン化法：EI
- ・ イオン化電圧：70 eV
- ・ イオン源温度：250℃
- ・ イオン化電流：300 μA
- ・ 検出モード：SIM
- ・ 測定イオン

定量用：m/z 251、確認用：m/z 207、m/z 234

内標準（クリセン-d₁₂）：m/z 240

（イ） 検量線

各標準液（内標準濃度：250 ng/mL）1 μL を GC/MS に注入し、標準品誘導体と内標準物質のピーク面積比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 1 μL を GC/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、GC/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

GC/MS の測定結果から、定量用及び確認用モニターイオンが予想保持時間に観察されたものについて、定量と計算を行う。

（2） 定量及び計算

誘導体と内標準物質のピーク面積比を求め、上記の検量線に照らしてアクリルアミドの検出量を求める。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。なお、底質の試料量は乾燥試料量とする。

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

$$\text{底質中濃度 (}\mu\text{g/L)} = \text{検出量 (}\mu\text{g)} \div \text{試料量 (kg)}$$

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) Milli-Q SP.TOC.超純水製造装置（ミリポア社製）による精製水と同等以上の精製水（備考1）。
- (注2) ここでは、ウォーターズ社製セップパックプラス C₁₈（充填剤量 360 mg）を用いた（備考1）。
- (注3) ここでは、ウォーターズ社製セップパック AC-2（充填剤量 400 mg）を用いた（備考1）。
- (注4) ここでは、アドバンテック東洋社製 GA100（55 mm φ）を用いた（備考1）。
- (注5) 使用直前にメタノール 5 mL、次いで精製水 10 mL でコンディショニングする。
- (注6) 使用直前にアセトン 10 mL、次いで精製水 10 mL でコンディショニングする。
- (注7) 固相抽出時のカートリッジカラム内の流速は、厳密に 5±0.5 mL/min とする。
- (注8) 密栓が不完全であると反応中に反応溶液の損失が生じ測定値が低くなる。
- (注9) 添加回収試験は、試料と同じあるいは類似の試料に対象物質であるアクリルアミドの水標準液を検出限界の 5～10 倍量添加して行う。但し、対象物質が添加回収用試料に添加量と比べて無視できない量含まれている場合は、同程度の濃度になるよう対象物質の添加量を増やして試験を行う。

(備考1) ここに示す商品は、本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

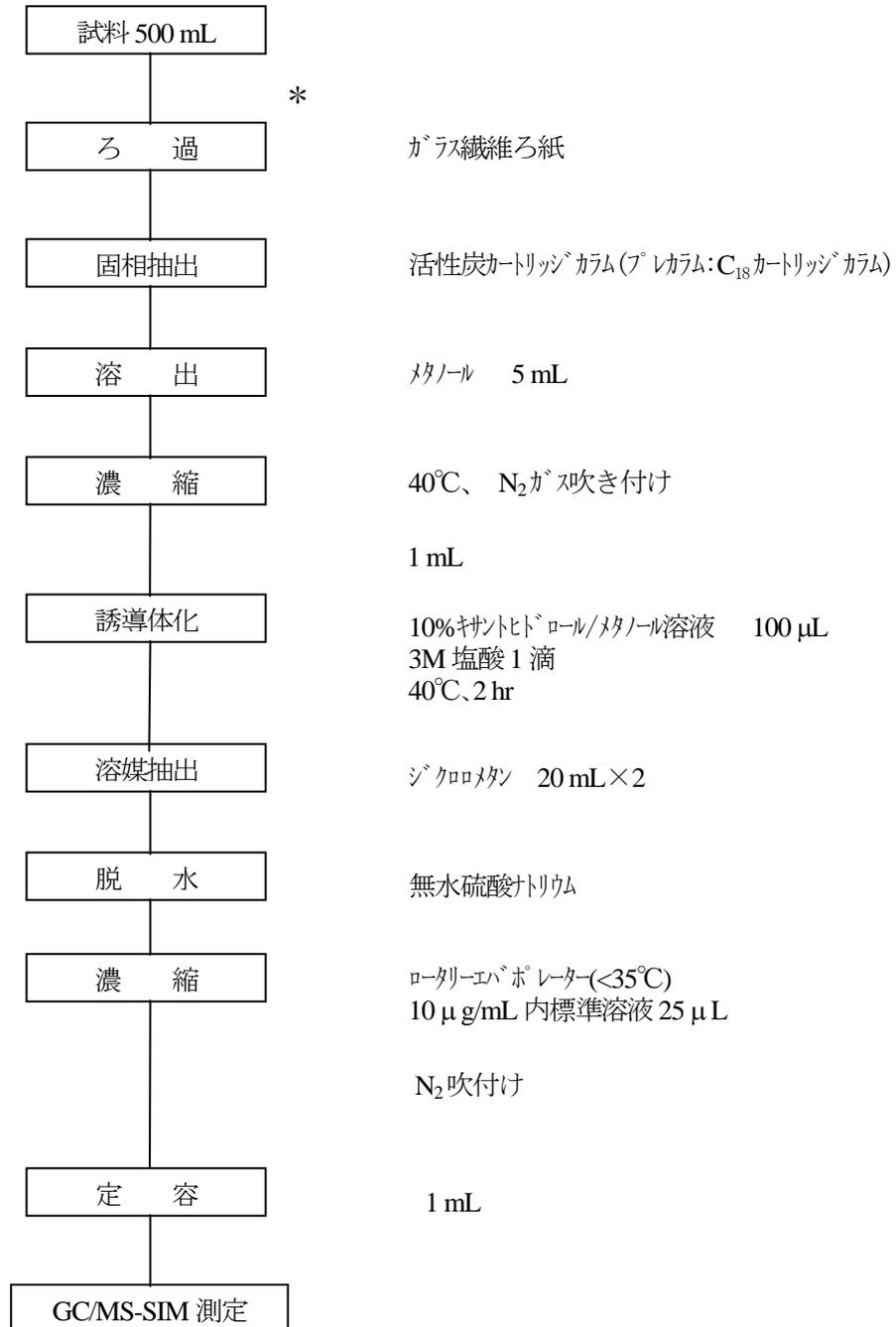
のものを用いてもよい。

参考文献

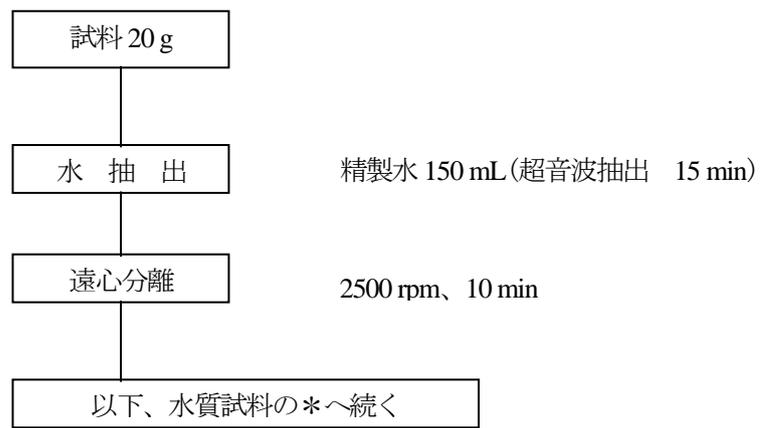
- 1) 環境庁環境保健部保健調査室：「平成9年度化学物質分析法開発調査報告書」、pp78-97、
(愛知県環境調査センター) (1998)

分析法フローチャート

水質試料



底質試料



x vii. ポリオキシエチレン型非イオン界面活性剤の分析法

1 対象物質

ポリオキシエチレンアルキルエーテル、ポリオキシエチレンアルキルフェニルエーテル、ポリオキシエチレンアルキルアミン、ポリオキシエチレンアルキルアミド、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル

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 目標検出限界値及び目標定量下限値

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
2.5	8.2	38

3 分析法の概要

水質試料は酢酸エチル抽出を行い、脱水後、濃縮乾固し、水/メタノール (1:1) に溶解して陽イオン交換樹脂カートリッジカラム、陰イオン交換樹脂カートリッジカラム、C₁₈ カートリッジカラムで精製し、臭化水素酸を反応させ生成した臭化エチレンを GC/MS-SIM で定量し、標準物質のヘプタオキシエチレンドデシルエーテルとして表示する。底質試料は、メタノール抽出し、*n*-ヘキサン洗浄、精製水を添加した後、ガラスろ紙でろ過し、以下水試料と同じ操作を行う。

4 試薬、器具及び装置

(1) 試薬

- ・ヘプタエチレングリコールモノドデシルエーテル：特級試薬（注 1）
- ・内標準物質 (*p*-キシレン-*d*₁₀)：市販標準品
- ・メタノール、酢酸エチル、ヘキサン：残留農薬試験用試薬（1000）
- ・無水硫酸ナトリウム、塩化ナトリウム：残留農薬試験用試薬（1000）
- ・臭化水素酸、酢酸：特級試薬
- ・精製水：超純水製造装置による精製水（注 2）。妨害が生じる場合には、ヘキサンで 2

回洗浄して用いる。

- ・陽イオン交換樹脂カートリッジカラム：市販カートリッジカラム（注3）
- ・陰イオン交換樹脂カートリッジカラム：市販カートリッジカラム（注4）
- ・C₁₈カートリッジカラム：市販カートリッジカラム（注5）
- ・ガラス繊維ろ紙：市販ろ紙（注6）

（2）器具及び装置

- ・ロータリーエバポレーター（恒温槽付き）
- ・振とう器
- ・マイクロシリンジ
- ・注射筒
- ・分液ロート、ビーカー、ナス型フラスコ、スピッツ型共栓付き試験管、共栓付き試験管、遠沈管、アンプル管、パスツールピペット：アセトンで洗浄し、乾燥して用いる。
- ・減圧ろ過装置
- ・簡易型アンプル熔閉器
- ・乾燥器
- ・ガスクロマトグラフ／質量分析計（GC/MS）：GC はキャピラリーカラム対応のもの。MS は二重収束型もしくは四重極型のもの。

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回共洗った後、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、速やかに試験を行う。

（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すり合わせの広口ガラスビンに入れ密栓し、-20℃以下で冷凍保存する。

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

(ア) 水質試料

試料 1 L を 2 L の分液ロートに採取し、塩化ナトリウム 100 g (注 7) を加えて十分混合・溶解した後、酢酸エチル 120 mL を加えて約 10 分間振とう抽出し、十分静置して酢酸エチル層を採取する。水層は酢酸エチル 100 mL を用いて振とう抽出操作を更に 1 回繰り返す、得られた酢酸エチル抽出液を合わせ、無水硫酸ナトリウムで脱水し、ロータリーエバポレーターを用いて 30°C で減圧濃縮乾固し、精製水/メタノール (1 : 1) 10 mL に溶解する。

(イ) 底質試料

底質試料 20 g (湿重量) (注 8) を 100 mL 遠沈管に採取し、メタノール 40 mL を加えた後、振とう機で約 10 分間振とう抽出し、3000 rpm で約 5 分間遠心分離し、メタノール層を分液ロートに移す。メタノール 40 mL で振とう抽出操作を更に 1 回行い、遠振分離後メタノール層を分液ロートに合わせる。分液ロートにヘキサン 30 mL を加えて振とうし、ヘキサン層を捨てる。この操作を更に 1 回繰り返す (注 9)。メタノール層に精製水約 70 mL を加えて振とうし、ガラス繊維ろ紙でろ過をする (注 10)。ろ紙を水/メタノール (1 : 1) 5 mL で 2 回洗浄する。

(2) 試料液の調製

(ア) 水質試料

あらかじめメタノール 20 mL で洗浄した陽イオン交換樹脂、陰イオン交換樹脂、C₁₈ カートリッジカラム (3 本連結) に前処理した試料液を負荷する。少量の水/メタノール (1 : 1) で数回濃縮容器を洗浄しながら洗液もカートリッジカラムに負荷する。C₁₈ カートリッジカラムを取り外し、C₁₈ カートリッジカラムに硬質アンプルをセットした後、メタノール 4 mL で目的物質を溶出させる。溶出液に窒素ガスを吹き付けて濃縮乾固させる。臭化水素酸/酢酸 (1 : 1) 0.5 mL (注 11) を添加し、アンプルをガスバーナーで熔閉し (注 12)、150°C の乾燥器中で 2 時間反応させる。冷却後、アンプル管内の試料液を 20 mL 共栓付き試験管に少量の水で洗浄しながら移し替え、5 mL に定容する。ヘキサン 1 mL、内部標準

溶液 (10 µg/mL) 20 µL を加えて振とう抽出し、十分静置してヘキサン層をパスツールピペットで採取する。

(イ) 底質試料

水質試料と同様の操作を行い試料液を得る。

(3) 空試験液の調製

(ア) 水質試料

1 L の精製水を用い、「前処理」及び「試料液の調製」と同様に操作して得られる液を空試料液とする。

(イ) 底質試料

20 mL の精製水を用い、「前処理」及び「試料液の調製」と同様に操作して得られる液を空試料液とする。

(4) 添加回収試験液の調製

水質試料では任意の試料水 1 L、底質試料では任意の試料 20 g (湿泥) にヘプタエチレングリコールモノドデシルエーテルを検出限界の 5~10 倍量を水溶液で添加し、十分に混合した後、「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 1 3)。

(5) 標準液の調製

ヘプタエチレングリコールモノドデシルエーテル 10 mg を正確にメスフラスコ (100 mL) に秤り取り、メタノールを加えて全量を 100 mL とし、標準原液 (100 µg/mL) を調製する。

内標準物質 (*p*-キシレン- d_{10}) 10mg をメスフラスコ (100 mL) に正確に秤り取り、ヘキサンを加えて 100 mL とし、内標準原液 (100 µg/mL) とする。内標準原液をヘキサンで希釈し、10 µg/mL の内標準溶液を調製する。

(6) 測定

(ア) GC/MS 測定条件の例

- ・カラム：溶融シリカキャピラリーカラム（内径 0.32 mm、長さ 60 m）
- ・液相：（20%ジフェニル／80%ジメチル）ポリシロキサン、膜厚は 3.0 μm（注 1 4）
- ・カラム温度：50℃（2分）→ 10℃/分 → 200℃
- ・注入口温度：150℃
- ・注入法：スプリットレス（1.5分後パージ）、1 mL 注入
- ・キャリアガス：ヘリウム（カラム流速は 2 mL/分）
- ・MS インターフェース温度：200℃
- ・イオン化法：EI
- ・イオン化電圧：70 eV
- ・イオン源温度：210℃
- ・検出モード：SIM
- ・測定イオン

定量用（臭化エチレン）：m/z 107、確認用：m/z 109

内標準（*p*-キシレン-*d*₁₀）：m/z 116

（イ）検量線

検量線用標準液は下記の方法で作成する。標準原液をメタノールで 0.05 μg/mL から 5.0 μg/mL の範囲に段階的に希釈し、5 点以上の希釈標準液を調製する。これらの希釈標準液を「試料液の調製」の臭化水素酸での反応以降の操作を同様に行い、検量線標準液とする。

各標準液 1 μL を GC/MS に注入し、臭化エチレンと内標準物質のピーク面積比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 1 μL を GC/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、GC/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

GC/MS の測定結果から、定量用及び確認用モニターイオンが予想保持時間に観察されたものについて、定量と計算を行う。

(2) 定量及び計算

誘導体と内標準物質のピーク面積比を求め、上記の検量線に照らしてヘプタエチレングリコールモノドデシルエーテル濃度に換算したポリオキシエチレン型非イオン界面活性剤の検出量を求める。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。なお、底質の試料量は乾燥試料量とする。

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

$$\text{底質中濃度 (}\mu\text{g/L)} = \text{検出量 (}\mu\text{g)} / \text{試料量 (kg)}$$

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) 例えば和光純薬工業社製品等がある(備考1)。

(注2) Milli-Q SP.TOC.超純水製造装置(ミリポア社製)による精製水(備考1)。妨害が生じる場合には、ヘキサソで2回洗浄して用いる。

(注3) ここでは、ウォーターズ社製セップパックプラス Accell CM カートリッジ(充填剤量 360 mg)を用いた(備考1)。

(注4) ここでは、ウォーターズ社製セップパックプラス Accell QMA カートリッジ(充填剤量 360 mg)を用いた(備考1)。

(注5) ここでは、ウォーターズ社製セップパックプラス C₁₈(充填剤量 360 mg)を用いた(備考1)。

(注6) ここでは、ワットマン GF/F(ワットマン社製)を用いた(備考1)。

(注7) 海水試料の場合は加えない。

(注8) 遠心分離により間隙水を必ず除去する。

(注9) メタノール層をヘキサンで洗浄し、中性成分を除去する。なお、メタノール層に精製水を添加した後、ヘキサン洗浄すると回収率が若干低下する。

(注10) 精製水 70mL を添加すると、水に不溶性の成分が生成するためろ過を行う。

(注11) 酢酸由来のブランクがあるため、開封後時間の経過した試薬には注意が必要である。

(注12) 密封が不十分だと乾燥器中で揮散してしまう恐れがあるので、密封できたかどうかを十分確認する。

(注13) 添加回収試験は、試料と同じあるいは類似の試料にヘプタエチレングリコールモノデシルエーテル水溶液を検出限界の 5~10 倍量添加して行う。但し、対象物質が添加回収用試料に添加量と比べて無視できない量含まれている場合は、同程度の濃度になるよう対象物質の添加量を増やして試験を行う。

(注14) ここでは、スペルコ社製 VOCOL を用いた。

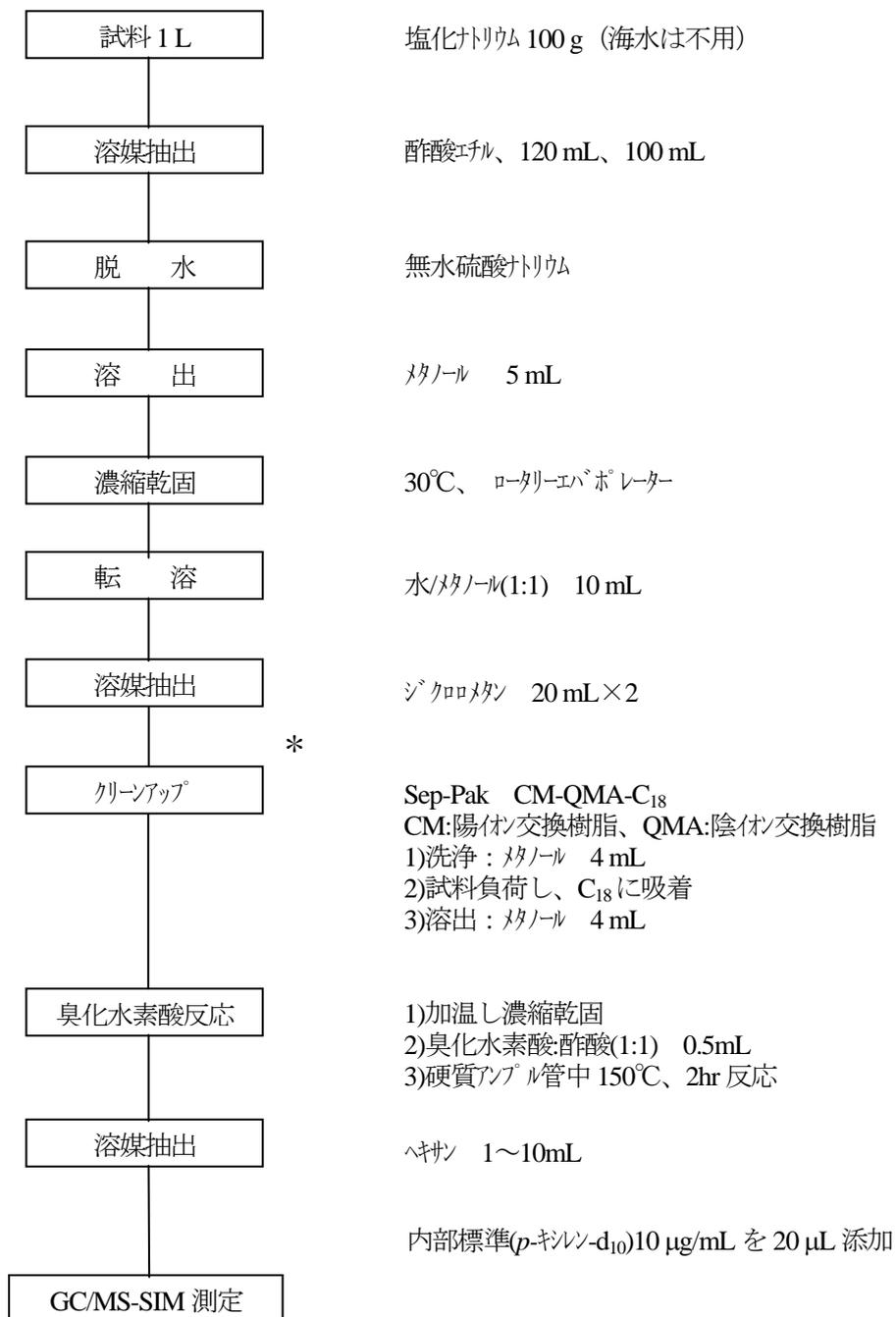
(備考1) ここに示す商品は、本マニュアル使用者の便宜のために、一般に入手できるものとして掲げたが、これを推奨するものではない。これと同等以上の品質、性能のものを用いてもよい。

参考文献

- 1) 環境庁環境保健部環境安全課：「平成9年度化学物質分析法開発調査報告書」、pp228-241、(岡山県環境保健センター)、(1998)

分析法フローチャート

水質試料



底質試料

