

-メチルスチレン、ニトロベンゼンの分析法

1 対象物質

-メチルスチレン（イソプロペニルベンゼン）及びニトロベンゼン（表1）。

表1 対象物質、サロゲートと定量イオンの例（注1）

物質名	測定イオンの例	サロゲートの例	測定イオンの例
-メチルスチレン	103 117 118	<i>p</i> -クロロトルエン-d ₄	95 130
ニトロベンゼン	77 123	ニトロベンゼン-d ₅	82 128

2 目標検出下限値及び定量下限値

本分析法の目標検出下限値及び目標定量下限値を表2に示す。

表2 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
-メチルスチレン	0.01	0.03	1	3	1	3
ニトロベンゼン	0.01	0.03	1	3	1	3

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、注4、注5）。

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6）
- ・塩化ナトリウム：対象物質の分析に影響のないもの（注7）

- ・水：対象物質の分析に影響のないもの（注 8）
- ・対象物質：試験に支障のない純度のもの（注 9）
- ・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（1,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）とする（注 10）。
- ・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 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）とする（注 11）。
- ・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 を採り、メタノールで 100 mL としサロゲート溶液（1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）とする（注 12）。
- ・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（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 11）。
- ・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 を採り、メタノールで 100 mL とし内標準溶液（1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）とする（注 12）。

（ 2 ） 器具及び装置

- ・パージ容器：試料 5～50 mL のパ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 13）。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。
- ・パージトラップ装置（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、二重収束型又はこれらと同等以上の性能を有する MS。

5 試料の採取・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、試料を汚染のない冷暗所（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、試料を汚染のない冷暗所（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「[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て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 17）、測定用試料とする（注 18）。

（イ）底質試料

試料 20 g を遠心管に採り、3,000 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 17）、メタノール 10 mL を加え、10 分間超音波抽出を行う

(注 19)。3,000 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。3,000 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 20)、内標準溶液を添加し (注 17)、測定用試料とする (注 21)。

(ウ) 生物試料

試料 20 g にサロゲート溶液 (注 17) 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)。3,000 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。3,000 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 20)、内標準溶液を添加し (注 17)、測定用試料とする (注 21)。

(2) 空試料の調製

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ものを空試料とする (注 22)。

(3) 添加回収試験用試料の調製

「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 (注 23)、添加回収試験用試料とする。

(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 24、注 25、注 26)

- ・ パージ時間：8 分
- ・ パージ温度：40
- ・ ドライパージ時間：3 分
- ・ トラップ温度：室温
- ・ トラップ管加熱時間：2 分
- ・ トラップ管加熱温度：200
- ・ 注入時間：6 分
- ・ トラップ管焼きだし時間：20 分
- ・ トラップ管焼きだし温度：210

(イ) GC-MS 測定条件の例

(a) ガスクロマトグラフ部 (注 27)

- ・ 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 28)
- ・ カラム温度：40 (1 分) 3 /分 80 10 /min 200 (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 29)

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

(c) 測定イオンの例 (注 30)

- ・ -メチルスチレン：103, 117, 118
- ・ ニトロベンゼン：77, 123
- ・ *p*-クロロトルエン- d_4 ：130
- ・ ニトロベンゼン- d_5 ：128

(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 23)。これをパージトラップ装置のトラップ部に接続する(注 29)。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 24、注 25、注 26)。サロゲート又は内標準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 31)。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 24、注 25、注 26)。サロゲート又は内標準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 32)。

7 同定、定量及び計算

(1) 同定

対象物質、サロゲート及び内標準について、定量イオン及び確認イオンが、検量線作成に用いた標準物質などの保持時間の±5秒以内に出現し(注 33)、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

測定用試料及び空試料について、サロゲート又は内標準と対象物質の面積比から、対象物質の検出量を求める(注 34)。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。

$$\text{水質:濃度 (}\mu\text{g/L)} = (\text{検出量 (ng)} - \text{空試料の検出量 (ng)}) / \text{試料量 (mL)}$$

底質濃度 (μg/kg) = (検出量 (ng) - 空試料の検出量 (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) - 空試料の検出量 (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「 . 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ことから、安定同位体をサロゲート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。

(注2) あらかじめ使用する機器における諸条件を検討し、表 2 に示す目標検出下限値及び目標定量下限値まで分析できるよう調整する。GC/MS 測定においては、十分な感度を得られれば SIM 測定の代わりにスキャン測定などでもよい。

(注3) 十分な感度を得られればパージトラップ GC/MS 法にかえて参考法 1 に示すヘッドスペース GC/MS 法を用いてもよい。

(注4) ニトロベンゼンについては、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)」(1998)の「VI. ベンゾ[*a*]ピレン、ベンゾフェノン、4-ニトロトルエン、スチレン 2 量体及びスチレン 3 量体の分析法」に示された方法のうち、4-ニトロトルエンに係る分析方法でも定量可能である。なお、サロゲートとして、ニトロベンゼン-*d*₅を用いることが望ましい。

硫黄分の多い底質試料などでは、ニトロベンゼンが還元されやすいため回収率が低下することがあるので注意する。

(注5) 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rom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romクロロメタン、ブromジクロロメタン、1-ブromプロパン、2-ブrom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、アクリル酸メチル、アクリル酸エチル、アクリル酸ブチル、イソプレン、イソプロピルベンゼン（クメン）、エピクロロヒドリン、塩化ベンジル、1-オクテン、クロロ酢酸エチル、*p*-クロロトルエン、酢酸ビニル、1,2-ジエチルベンゼン、1,3-ジエチルベンゼン、1,4-ジエチルベンゼン、1,2-ジクロロベンゼン、1,3-ジクロロベンゼン、1,2,3-トリクロロベンゼン、1,2,4-トリクロロベンゼン、1,3,5-トリクロロベンゼン、二硫化炭素、ヘキサクロロブタジエン、ペンタクロロエタンなどの分析が可能である。

（注6） 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7） 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8） 蒸留水またはイオン交換水 1～3 L を三角フラスコに採り、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9） 市販の標準メタノール溶液などを用いても良い。

（注10） 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 11) 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として用いてもよい。

(注 12) 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 13) 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ウ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 14) 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 15) 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。可能な限り速やかに測定すること。

(注 17) 内標準やサロゲート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 18) 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。試料に塩化ナトリウムなどを添加することによりパーズの効率を上げることができる。塩類を加える場合は装置の経路などに不具合が生じないように注意する。

- (注 19) 良好な結果が得られれば超音波抽出に代えて振とう抽出やホモジナイズを、また、ホモジナイズに代えて振とう抽出等を行ってもよい。なお、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 9.8 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 5~50 mL を採り、パーズ容器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。水に塩化ナトリウムなどを添加することによりパーズの効率を上げることができる。塩類を加える場合は装置の経路などに不具合が生じないように注意する。
- (注 21) 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 22) 空試験値については可能な限り低減化を図る。
- (注 23) 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、パーズ容器の代わりにバイアル中に作成する。
- (注 24) パーゾ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 25) 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 26) パーゾトラップの最適条件は使用する試料量、吸着剤の種類や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得られる条件を求めておく。パーズ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、ポリマー及びグラファイトカーボンを配合したポリマー (Tenax GR) を 2 層に充填したものなどがある (備考 1)。
- (注 27) 共存する他の物質の影響を受けないよう GC 分離条件を十分検討する。

(注 28) 例えば、Aquatic、DB-1、DB-1301、DB-624、DB-WAX、VOCOL など(備考 1)。

(注 29) GC/MS 装置により、最適な条件を設定する。

(注 30) 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 31) 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 32) 複数の内標準を添加した場合、定量に用いる内標準の選定にあたっては、原則として対象物質の保持時間に最も近いものを用いる。

(注 33) 測定用試料中に夾雑物が多い場合には、保持時間が変わることがあるので注意する。

(注 34) 空試料の検出値が空試験に用いた水に由来する場合は、空試料の検出量は差し引かない。

(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。

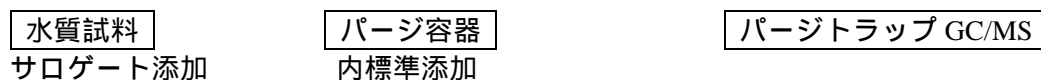
参考文献

- 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」(1996)
- 5) EPA: Method 524.2, US EPA
- 6) EPA: Method 609, US EPA
- 7) EPA: Method 624, US EPA
- 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)

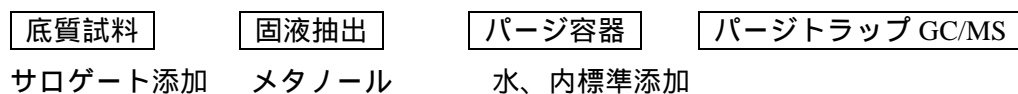
- 9) 環境庁水質保全局水質管理課：「外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル（水質、底質、水生生物）」、p.VI-1（1998）
- 10) 環境庁水質保全局水質管理課：「要調査項目等調査マニュアル（水質、底質、水生生物）」、p.2（1999）
- 11) 環境庁水質保全局水質管理課：「要調査項目等調査マニュアル（水質、底質、水生生物）」、p.36（2000）
- 12) 環境庁環境保健部環境安全課：「平成 8 年度 化学物質分析法開発調査報告書」、p.1（1997）
- 13) 環境庁環境保健部環境安全課：「平成 12 年度 化学物質分析法開発調査報告書（その 1）」、p.1（2001）

分析法フローチャート

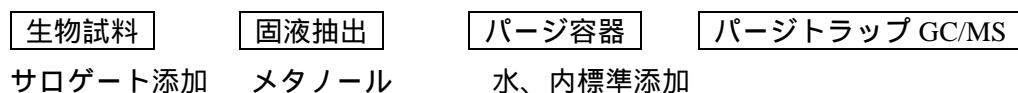
水質試料



底質試料



生物試料



参考法 1 ヘッドスペース GC/MS 法による -メチルスチレン、 ニトロベンゼンの分析法（注 1）

1 対象物質

-メチルスチレン（イソプロペニルベンゼン）及びニトロベンゼン（表 1）。

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、塩化ナトリウムを入れたバイアルに採り内標準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ウムを入れたバイアルに採り、内標準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 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（1,000 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 を採り、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 (フルオロベンゼン及び 4-ブromo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 を採り、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ンゴム栓付きスクリューキャップ用ネジ口ガラス瓶。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ンゴム栓付きスクリューキャップ用広口ネジ口ガラス瓶、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、キャップを強く締め、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、キャップを強く締め、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 °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。
- ・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、二重収束型又はこれらと同等以上の性能を有する MS。

5 試料の採取・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「[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た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、3,000 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。3,000 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）。3,000 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、シリコンゴム栓及びアルミシールで直ちに密栓して振り混ぜ、測定用試料とする。

（ウ）生物試料

試料 20 g を遠心管に採り、3,000 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）。3,000 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。3,000 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、シリコンゴム栓及びアルミシールで直ちに密栓してふりまぜ、測定用試料とする。

（2）空試料の調製

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ものを空試料とする（注 21）。

（3）添加回収試験用試料の調製

「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（注 22）、添加回収試験用試料とする。

(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 23)

- ・ 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 24)

- ・ 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 25)
- ・ 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 分後パージ)

(b) 質量分析部 (注 26)

- ・ イオン化法 : EI
- ・ イオン化エネルギー : 70 eV
- ・ イオン化電流 : 300 µA
- ・ イオン源温度 : 230

(c) 測定イオン (注 27)

- ・ -メチルスチレン：103、117、118
- ・ ニトロベンゼン：77、123
- ・ *p*-クロロトルエン- d_4 ：130
- ・ ニトロベンゼン- d_5 ：128

(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 µg/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 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28)。サロゲート又は内標準と対象物質の面積比を求め、検量線を作成する(注29)。

(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 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28)。サロゲート又は内標準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、サロゲート及び内標準について、定量イオン及び確認イオンが、検量線作成に用いた標準物質などの保持時間の ± 5 秒以内に出現し(注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 $\pm 20\%$ 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

測定用試料及び空試料について、サロゲート又は内標準と対象物質の面積比から、対象物質の検出量を求める(注31)。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) - 空試料の検出量 (ng)) / 試料量 (mL)

底質:濃度 (μg/kg) = (検出量 (ng) - 空試料の検出量 (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) - 空試料の検出量 (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「 . 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*-メチルスチレン (イソプロペニルベンゼン) 及びニトロベンゼンの分析方法として示したパージトラップ GC/MS 法と同等以上の感度が得られれば、本参考法を代用してもよい。
- (注2) 分析操作において揮散しやすいことから、安定同位体をサロゲート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。
- (注3) GC/MS 測定において、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。本参考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、プロモクロロメタン、プロモジクロロメタン、1-プロモプロパン、2-プロモプロパン、*n*-ヘキサン、メチル *t*-ブチルエーテル、クロロベンゼン、アクリル酸メチル、アクリル酸エチル、アクリル酸ブチル、イソプレン、イソプロピルベンゼン（クメン）、エピクロロヒドリン、塩化ベンジル、1-オクテン、クロロ酢酸エチル、*p*-クロロトルエン、酢酸ビニル、1,2-ジエチルベンゼン、1,3-ジエチルベンゼン、1,4-ジエチルベンゼン、1,2-ジクロロベンゼン、1,3-ジクロロベンゼン、1,2,3-トリクロロベンゼン、1,2,4-トリクロロベンゼン、1,3,5-トリクロロベンゼン、二硫化炭素、ヘキサクロロブタジエン、ペンタクロロエタ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 1～3 L を三角フラスコに採り、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ないことを確認する。
- (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。可能な限り速やかに測定すること。
- (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) 内標準やサロゲート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) 良好な結果が得られれば超音波抽出に代えて振とう抽出やホモジナイズを、また、ホモジナイズに代えて振とう抽出等を行ってもよい。なお、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 を採り、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) 空試験値については可能な限り低減化を図る。
- (注 22) 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 23) 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 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) 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 29) 定量に用いる内標準は、原則として対象化合物の保持時間に最も近いものを用いる。

(注 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。

(注 31) 空試料の検出値が空試験に用いた水に由来する場合は、空試料の検出量は差し引かない。

(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」(1996)
- 4) EPA: Method 524.2, US EPA.
- 5) 田辺顕子ほか：環境化学, 7, 69 (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)

- 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.49 (2000)

分析法フローチャート

水質試料

水質試料

サロゲート添加

パイアル

NaCl、内標準添加

ヘッドスペース GC/MS

密栓、振り混ぜ、加温

底質試料

底質試料

サロゲート添加

固液抽出

メタノール

パージ容器

NaCl、水、
内標準添加

ヘッドスペース GC/MS

密栓、振り混ぜ、加温

生物試料

生物試料

サロゲート添加

固液抽出

メタノール

パージ容器

NaCl、水、
内標準添加

ヘッドスペース GC/MS

密栓、振り混ぜ、加温