

# 要調査項目等調査マニュアル

平成22年10月

環境省 水・大気環境局 水環境課

## 要調査項目等調査マニュアルの策定に当たって

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

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

そこで、これら要調査項目等に係る測定方法等について、平成11年12月以降順次、対象項目を変えてマニュアルを策定してきており、今般、知見の集積や測定方法の検討を進めた結果を本マニュアルとしてとりまとめた。

本マニュアルの作成にあたっては、以下の有識者等からなる検討会を設け、ご指導、ご助言をいただいた。

平成22年10月

環境省水・大気環境局水環境課

座長	森田 昌敏	愛媛大学 農学部生物資源学科 教授
	小泉 義彦	大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部生活環境課 主任研究員
	小森 行也	独立行政法人土木研究所 水環境研究グループ水質チーム 総括主任研究員
	佐々木 裕子	明治薬科大学 客員研究員
	柴田 康行	独立行政法人国立環境研究所 化学環境研究領域 領域長
	田尾 博明	独立行政法人産業技術総合研究所 環境管理研究部門 部門長
	西村 哲治	国立医薬品食品衛生研究所 環境衛生化学部 部長
	福嶋 実	特定非営利活動法人 環境測定品質管理センター 主幹
	吉永 淳	東京大学大学院 新領域創成科学研究科 環境学専攻 准教授

※要調査項目について <http://www.env.go.jp/water/chosa/index.html>

## 目 次

I. 調査対象物質一覧表.....	1
II. 分析法	
i. アセトンの分析法.....	2
ii. 4- <i>t</i> -オクチルフェノール及びノニルフェノールの分析法.....	8
iii. 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.....	18
iv. ポリブロモジフェニルエーテルの分析法.....	25
<付録：技術的参考情報>	
低濃度のカドミウム分析のための前処理方法.....	41

## I. 調査対象物質一覧表

### 調査対象物質及びその分析法

番号	要調査項目 別番号	物質名	分析法
----	--------------	-----	-----

#### 1. アセトン

1	11	アセトン	水質：パージ・トラップGC/MS
---	----	------	------------------

#### 2. 4-t-オクチルフェノール及びノニルフェノール

2	23	4-t-オクチルフェノール及びノニルフェノール（要調査項目におけるアルキルフェノールの一部）	水質：固相抽出GC/MS
---	----	--	--------------

#### 3. 直鎖アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム（LAS）

3	24	直鎖アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム（LAS）	水質：LC/MS/MS
---	----	---------------------------	-------------

#### 4. ポリブロモジフェニルエーテル

4	149	ポリブロモジフェニルエーテル （要調査項目ではデカブロモジフェニルエーテル）	水質：高分解能GC/MS
---	-----	---	--------------

#### <技術的参考情報>

低濃度のカドミウム分析のための前処理方法

-	-	カドミウム（前処理方法）	水質：固相抽出法
---	---	--------------	----------

## II. 分析法

### i. アセトンの分析法

#### 1 対象物質

アセトン

#### 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 目標検出下限値及び定量下限値

	水質 (mg/L)	
	目標検出下限値	目標定量下限値
アセトン	0.01	0.05

#### 3 分析法の概要

分析法は、パージ・トラップGC/MS法である。水質試料中のアセトンの分析に適用する。試料に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、GC/MSに導入して測定する。(注1)(注2)

#### 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3)。
- ・ 水：対象物質の分析に影響のないもの(注4)。
- ・ アセトン：試験に支障のない純度のもの(注5)。
- ・ 標準原液：メタノールを15～25 mL 入れた50 mL 全量フラスコに、アセトンの標準品500 mg を精秤し、メタノールで50 mL とし標準原液(10 mg/mL)とする(注6)。
- ・ サロゲート溶液：メタノールを15～25 mL 入れた50 mL 全量フラスコに、サロゲート物質(アセトン- $d_6$ ) 500 mg を秤量し、メタノールで50 mL とし、サロゲート原液(10 mg/mL)とする(注7)。メタノールを15～25 mL 程度入れた50 mL 全量フラスコに、サロゲート原液5 mL をとり、メタノールで50 mL としサロゲート溶液(1 mg/mL)とする。

##### (2) 器具・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、冷却しても容器の気密性が保たれるもの(注8)。洗浄後、水で

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9）。
- ・ ガスクロマトグラフ／質量分析計：キャピラリーカラムが取付可能なGC付き四重極型、または二重収束型MS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

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10）、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。

## 6 試験操作

### （1）前処理

水質試料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、サロゲート溶液を添加し（注11）、測定用試料とする（注12）。

### （2）空試料液の調製

試料と同量の水を用いて、「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（注13）。

### （3）添加回収試験液の調製

「6 試験操作（1）前処理」に従って、パージ容器中の試料に、各々、標準溶液を添加して、0.05～2 mg/L の試験液を調製する（注14）。

### （4）標準溶液の調製

標準原液をメタノールで希釈し、測定するときに、対象物質の妨害にならないメタノール量になる濃度（例えば1000倍の濃度）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15）（注16）

- ・ パージ時間：8分
- ・ パージ温度：室温
- ・ パージ流量：40 mL/分
- ・ ドライパージ時間：3分
- ・ トラップ管：（Tenax TA + Tenax GR）等
- ・ トラップ温度：室温

- ・ トラップ管加熱時間：6分
- ・ トラップ管加熱温度：220 °C
- ・ トラップ管焼きだし時間：10分
- ・ トラップ管焼きだし温度：220 °C

(イ) GC/MS 測定条件の例

(a) GC部 (注17)

- ・ 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18）
- ・ カラム温度：35.0 °C（5分）→（6 °C/分）→ 90.0 °C →（10 °C/分）→ 200.0 °C（1分）
- ・ キャリヤーガス：ヘリウム（圧力100 kPa）

(b) MS部 (注19)

- ・ イオン化法：電子衝撃イオン化法（EI法）
- ・ 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：200 °C

(c) 測定イオンの例 (注20)

- ・ アセトン：43、58
- ・ アセトン- $d_6$ ：46、64

(ウ) 検量線

「6 試験操作（1）前処理」に従って、水質試料と同量の水に、標準溶液を添加して0.05～5 mg/Lとする（注14）。これをパージ・トラップ装置のトラップ部に接続する（注19）。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、GC/MS に導入して測定する（注15）（注16）。サロゲート物質と対象物質の面積比を求め、検量線を作成する。

(エ) 測定用試料の測定

「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21）。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、GC/MS に導入して測定する（注15）（注16）。サロゲート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。

## 7 同定、定量及び計算

### (1) 同定

対象物質及びサロゲート物質について、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22）、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23）。次式で試料中の対象物質濃度を計算する。

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

## 8 分析精度管理

要調査項目等調査マニュアル（水質、底質、水生生物）平成20年3月の「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。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1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
- (注3) 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4) 蒸留水又はイオン交換水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。蒸留水又はイオン交換水を炭素系吸着剤充填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、ページ・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5) 市販の標準メタノール溶液などを用いても良い。
- (注6) 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、液体窒素又はメタノール・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 か月は保存できる。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。
- (注7) 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 か月は保存できる。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。特に、例示したアセトン- $d_6$ には、不純物としてアセトンが含まれているので、使用前に空試験を行い、使用の適否を確認する。アセトン- $d_6$ 以外に適当なサロゲート物質があれば内標準物質として用いてもよい。



- (注8) 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、ネジロのもので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ウキャップを用いることにより加温、冷却しても容器の気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、冷却しても容器の気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9) 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10) 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11) 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12) 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、サロゲート溶液を添加後、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13) 空試験値については可能な限り低減化を図る。
- (注14) 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15) 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16) 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得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、室温で捕集する場合はポリマー（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17) 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18) 例えば、Aquatic、DB-1、DB-1301、DB-624、DB-WAX、VOCOLなど（備考1）。
- (注19) GC/MS 装置により、最適な条件を設定する。
- (注20) 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21) 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22) 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23) 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。

(備考2) この測定方法における用語の定義その他でこの測定方法に定めのない事項については、日本工業規格に定めるところによる。

## 参考文献

- 1) 環境庁環境保健部保健調査室 (1987) : 「昭和61年度 化学物質分析法開発調査報告書」
- 2) 環境庁水質保全局水質規制課 (1993) : 「環境水質分析マニュアル」、環境化学研究会
- 3) 環境庁水質保全局水質規制課 (1994) : 「新しい排水基準とその分析」、環境化学研究会
- 4) 環境省水環境部企画課 (2002) : 「要調査項目等調査マニュアル (水質、底質、水生生物)、平成14年3月」 x.  $\alpha$ -メチルスチレン、ニトロベンゼンの分析法、p106-128
- 5) 環境省水・大気環境局水環境課 (2008) : 「要調査項目等調査マニュアル (水質、底質、水生生物) 平成20年3月」 II. 分析精度管理、p3-20
- 6) 日本規格協会 (1995) : JIS K 0125 「用水・排水中の揮発性有機化合物試験方法」
- 7) EPA: Method 524.2, US EPA.
- 8) EPA: Method 1624, US EPA.

## ii. 4-*t*-オクチルフェノール及びノニルフェノールの分析法

### 1 対象物質

4-*t*-オクチルフェノール、及びノニルフェノール（4-ノニルフェノール異性体のうち表1に示すもの）

表1 4-ノニルフェノール異性体

ピーク番号	異性体名
NP1	4-(2,4-ジメチルヘプタン-4-イル)フェノール 4-(2,4-dimethylheptan-4-yl)phenol
NP2	4-(2,4-ジメチルヘプタン-2-イル)フェノール 4-(2,4-dimethylheptan-2-yl)phenol
NP3	4-(3,6-ジメチルヘプタン-3-イル)フェノール 4-(3,6-dimethylheptan-3-yl)phenol
NP4	4-(3,5-ジメチルヘプタン-3-イル)フェノール 4-(3,5-dimethylheptan-3-yl)phenol
NP5	4-(2,5-ジメチルヘプタン-2-イル)フェノール 4-(2,5-dimethylheptan-2-yl)phenol
NP6	4-(3,5-ジメチルヘプタン-3-イル)フェノール 4-(3,5-dimethylheptan-3-yl)phenol
NP7	4-(3-エチル-2-メチルヘキサン-2-イル)フェノール 4-(3-ethyl-2-methylhexane-2-yl)phenol
NP8	4-(3,4-ジメチルヘプタン-4-イル)フェノール 4-(3,4-dimethylheptan-4-yl)phenol
NP9	4-(3,4-ジメチルヘプタン-3-イル)フェノール 4-(3,4-dimethylheptan-3-yl)phenol
NP10	4-(3,4-ジメチルヘプタン-4-イル)フェノール 4-(3,4-dimethylheptan-4-yl)phenol
NP11	4-(2,3-ジメチルヘプタン-2-イル)フェノール 4-(2,3-dimethylheptan-2-yl)phenol
NP12	4-(3-メチルオクタン-3-イル)フェノール 4-(3-methyloctan-3-yl)phenol
NP13	4-(3,4-ジメチルヘプタン-3-イル)フェノール 4-(3,4-dimethylheptan-3-yl)phenol

※4-ノニルフェノール異性体とは、フェノールの4位（*p*-位）が、ノナン [CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>CH<sub>3</sub>] の異性体（直鎖と側鎖との炭素数の和が9）で置換されたものである。ピーク番号は保持時間の順である。

※NP4-NP6、NP8-NP10、NP9-NP13は、それぞれ立体異性体である。

## 2 目標検出下限値及び定量下限値

本分析法の目標検出下限値及び目標定量下限値を表2に示す。

表2 目標検出下限値及び定量下限値

	水質 ( $\mu\text{g/L}$ )	
	目標検出下限値	目標定量下限値
4-t-オクチルフェノール	0.01	0.03
ノニルフェノール	0.02	0.06

## 3 分析法の概要

分析法は、固相抽出GC/MS法である。水質試料中の4-t-オクチルフェノール及びノニルフェノールの分析に適用する。試料にサロゲートを添加し、塩酸を加えてpHを約3.5に調整し、固相抽出を行う。アセトンで溶出した後、濃縮してジクロロメタンへの転溶を行う。シリカゲルカラムクロマトグラフで精製後、内部標準液を添加したものを検液として、GC/MSで定量する。

## 4 試薬、器具及び装置

### (1) 試薬

- ・ 水：日本工業規格 K 0557に規定するA1～A4の水（注1）
- ・ アセトン：日本工業規格 K 8040に規定する濃縮300以上のもの（注2）
- ・ ヘキサン：日本工業規格 K 8825に規定する濃縮300以上のもの（注2）
- ・ ジクロロメタン：日本工業規格 K 8117に規定する濃縮300以上のもの（注2）
- ・ 固相抽出カラム：内径 10 mm、長さ 30～50 mmのカートリッジ（注3）。カラム充填剤は、シリカゲルに逆相系化合物を化学結合したもの又は合成吸着剤を充填したもの。合成吸着剤は、多孔性のスチレンジビニルベンゼン共重合体又はこれと同等の性能をもつもの。使用前に、アセトン約10 mL、次いで水約10 mLを通して洗浄する。
- ・ 硫酸ナトリウム：残留農薬試験用。対象物質の分析に影響がないもの
- ・ 4-t-オクチルフェノール標準原液（100  $\mu\text{g/mL}$ ）：4-t-オクチルフェノール標準品10 mgを全量フラスコ100 mLに採り、アセトンを標線まで加えたもの
- ・ ノニルフェノール標準原液（100  $\mu\text{g/mL}$ ）：ノニルフェノール標準品10 mgを全量フラスコ100 mLに採り、アセトンを標線まで加えたもの
- ・ 混合標準液（1  $\mu\text{g/mL}$ ）：4-t-オクチルフェノール標準原液（100  $\mu\text{g/mL}$ ）及びノニルフェノール標準原液（100  $\mu\text{g/mL}$ ）各1 mLを全量フラスコ100 mLに採り、ジクロロメタンを標線まで加えたもの。
- ・  $^{13}\text{C}$ ラベル化4-t-オクチルフェノールサロゲート溶液（10  $\mu\text{g/mL}$ ）：市販品
- ・  $^{13}\text{C}$ ラベル化4-(3,6-ジメチル-3-ヘプチル)フェノールサロゲート溶液（10  $\mu\text{g/mL}$ ）：市販品（注

4)

- 混合サロゲート溶液 (0.1  $\mu\text{g/mL}$ ) :  $^{13}\text{C}$ ラベル化4-*t*-オクチルフェノールサロゲート溶液 (10  $\mu\text{g/mL}$ ) 及び $^{13}\text{C}$ ラベル化4-(3,6-ジメチル-3-ヘプチル)フェノールサロゲート溶液 (10  $\mu\text{g/mL}$ ) 各1 mLを全量フラスコ100 mLに採り、アセトンを標線まで加えたもの。
- 内標準原液 (1 mg/mL) : 4-*n*-ノニルフェノール- $d_8$ の標準品10 mgを全量フラスコ100 mLに採り、ジクロロメタンを標線まで加えたもの。
- 内標準液 (0.1  $\mu\text{g/mL}$ ) : 内標準原液 (1 mg/mL) 1 mLを全量フラスコ100 mLに採り、ジクロロメタンを標線まで加えたものから、1 mLを全量フラスコ100 mLに採り、ジクロロメタンを標線まで加えたもの
- シリカゲル : ガスクロマトグラフ用のシリカゲル (粒径 : 150~250  $\mu\text{m}$ )

## (2) 器具・装置 (注5)

- ガラス器具類 : 使用前に水で洗浄した後、さらにアセトンで洗浄・放置してアセトンを揮散させる。その後、約200  $^{\circ}\text{C}$ で約2時間加熱し、汚染のない場所で放冷する。
- 固相抽出用器具 : カートリッジ、ろ過・濃縮装置、注射器など
- ガスクロマトグラフ/質量分析計 : 水素炎イオン検出器を備えたもの
- カラムクロマトグラフ管 : 内径約20 mm、長さ約200 mmのコック付きガラス管

### ※カラムクロマトグラフ管の作り方 (注6)

- カラム充てん剤 カラムクロマトグラフ用のシリカゲル (粒径150~250  $\mu\text{m}$ ) を約130  $^{\circ}\text{C}$ で15時間以上加熱した後、デシケーター中で放冷する。その95 gを共栓三角フラスコにとり、かき混ぜながら、水5 mLを滴加する。軽く栓をし、発熱が終了するまで静かに混合する。さらに、振とう器で約30分間振り混ぜる。
- カラムクロマトグラフ管 (内径約20 mm、長さ約200 mmのコック付きガラス管) の底部にガラスウール (あらかじめヘキサンで洗浄したもの) を詰め、少量のヘキサンを加えてガラスウール間の気泡を除去する。次いで、カラム充てん剤約15 gをビーカーにとり、ヘキサンを加えてスラリー状にし、これを気泡が入らないようにカラム用管に流し込む。その上部に硫酸ナトリウムを約2 cmになるように積層した後、コックを操作し、ヘキサンが硫酸ナトリウム層よりわずかに上部になるようにする。カラム用管に流し込む場合、カラム用管にカラム充てん剤を均一に充填するために、充填剤を流し込んだ後、カラム用管に縦横の振動を与えるとよい。

## 5 試験操作

### (1) 前処理及び試験液の調製

- (a) 試料を振り混ぜて均一化した後、500 mLをとり、塩酸 (1 mol/L) を加えてpH約3.5に調節し、混合サロゲート溶液 (0.1  $\mu\text{g/mL}$ ) 0.5 mLを加えた後、固相カラムに加圧法又は減圧法によって、試料を5~10 mL/分で通す。

なお、試料中に懸濁物が多量に含まれる場合には、ろ過操作 (注7) を行い、これらの溶

液を合わせて、塩酸 (1 mol/L) を加える以降の操作を行う。

- (b) 試料容器を水10 mLで洗い込んだ後、その水を固相カラムに通水し、約30分間窒素ガスを通気して水分を分離して除去する。長時間通気すると、回収率が低下する恐れがあるので注意する。
- (c) 固相カラムの上端からアセトン4 mLを緩やかに通して対象物質を溶出させ、目盛付き共栓試験管に受ける。なお、アセトンの量は、あらかじめ対象物質を溶出するのに十分な量であることを確認しておく。また、溶出流量は、カラムからの溶出液の液滴が連続しない程度とする。
- (d) この目盛付き共栓試験管を約40 °Cの水浴中で加熱しながら、溶出液に窒素を緩やかに吹き付け、濃縮後ジクロロメタンに転溶し約1 mLにする。続いて、硫酸ナトリウム約0.3 gを加えて脱水する。ただし、硫酸ナトリウムはろ別しない。  
なお、直ちに (e) の操作を行わない場合は、この濃縮液を、-20 °Cの暗所に保存する。窒素を吹き付ける操作では、濃縮液が飛散しないように注意する。濃縮液の表面が動いているのがようやく見える程度に窒素の流量を調節する。また、乾固させると窒素の吹き付けによって対象物質が揮散することがあるので注意する。
- (e) 全量をカラムクロマトグラフ管の上部から流し込み、コックを操作して液面を硫酸ナトリウム層よりわずかに上部になるようにする。濃縮液が入っていた目盛付き共栓試験管の内壁をジクロロメタン0.5~1 mLで洗い、洗液はカラムクロマトグラフ管に流し込む。
- (f) カラムクロマトグラフ管の上部に円筒形滴下漏斗を装着し、ジクロロメタン-ヘキサン混合液 (3+7) 50 mLを入れ、約1 mL/分で流下し、ジクロロメタン-ヘキサン混合液 (3+7) が硫酸ナトリウム層のわずかに上部にある状態でコックを閉め、流出液は捨てる。
- (g) 引き続きカラムクロマトグラフ管の上部の円筒形滴下漏斗から、ジクロロメタン-ヘキサン溶離液 (3+2) 100 mLを約1 mL/分で流下し、対象物質を溶出させ、溶出液を濃縮器用フラスコに受ける。  
なお、あらかじめ溶出パターン及び回収率を確認しておくといよい。
- (h) 濃縮器を用いて、約40 °Cの水浴中で加熱しながら、ジクロロメタン溶液を約5 mLになるまで濃縮する。  
なお、濃縮器にロータリーエバポレーターを用いる場合は、約40 °Cの水浴中で減圧濃縮し、乾固しないように注意する。ケデルナーダニッシュ濃縮器を用いる場合は、減圧方式ではなく、大気圧下で75 °C以下で加熱して濃縮する。濃縮終了後、スニーダーカラムを濃縮部に付けたまま装置からとり外し、スニーダーカラムの上部から少量のジクロロメタンを加えて洗浄し、スニーダーカラムを付けたまま放冷する。
- (i) この濃縮液を目盛付き共栓試験管に移す。濃縮に用いた濃縮器用フラスコをジクロロメタン2~3 mLで洗浄し、その洗液も目盛付き共栓試験管に合わせる。続いて内部標準液 (0.1 μg/mL) 0.5 mLを加えた後、約40 °Cの水浴中で加熱しながら、窒素を緩やかに吹き付け、約0.5 mLになるまで濃縮し、測定用溶液とする。  
なお、直ちに分析を行わない場合は、この濃縮液を-20 °Cの暗所に保存する。窒素を吹き付ける操作では、濃縮液が飛散しないように注意する。濃縮液の表面が動いているのがようやく見える程度に窒素の流量を調節する。また、乾固させると窒素の吹き付

けによって対象物質が揮散することがあるので注意する。

## (2) 空試料液の調製

試料と同量の水を用いて、「5 試験操作(1) 前処理及び試験液の調製」に従って試料と同様の処理をして得た試料液を空試料液とする(注8)。

## (3) 検量線用標準溶液の調製

混合標準液(1 µg/mL) 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500 µLを目盛り付き共栓試験管に段階的にとり、それぞれに混合サロゲート溶液(0.1 µg/mL) 0.5 mL及び混合内標準液(0.1 µg/mL) 0.5 mLを加え、目盛り付き共栓試験管を、約40 °Cの水浴中で加熱しながら、窒素を緩やかに吹き付け、約0.5 mLになるまで濃縮する。

これを検量線作成用標準液とし、それぞれの一定量(試料と同量。例えば、1 µL)をGC/MSに注入する。

## (4) 測定

(ア) GC-MS 測定条件の例(注9)

- ・ カラム : DB-5MS (内径0.25 mm、長さ30 m、膜厚0.25 µm程度) 又は同等以上の分離性能をもつもの
- ・ カラム温度 : 50.0 °C (1分) → (8 °C/分) → 300.0 °C
- ・ キャリヤーガス : ヘリウム (1 mL/分)
- ・ 注入口温度 : 250 °C
- ・ 注入量 : 1 µL
- ・ 注入方法 : スプリットレス
- ・ インターフェース温度 : 280 °C
- ・ イオン源温度 : 230 °C

表2 対象物質及び内標準物質の選択イオン(注10)

No.	異性体名	定量イオン	確認イオン
	4-t-オクチルフェノール	135	107
NP1	4-(2,4-ジメチルヘプタン-4-イル)フェノール	121	163
NP2	4-(2,4-ジメチルヘプタン-2-イル)フェノール	135	220
NP3	4-(3,6-ジメチルヘプタン-3-イル)フェノール	135	107
NP4	4-(3,5-ジメチルヘプタン-3-イル)フェノール	149	191
NP5	4-(2,5-ジメチルヘプタン-2-イル)フェノール	135	163
NP6	4-(3,5-ジメチルヘプタン-3-イル)フェノール	149	191
NP7	4-(3-エチル-2-メチルヘキサン-2-イル)フェノール	135	220
NP8	4-(3,4-ジメチルヘプタン-4-イル)フェノール	163	121
NP9	4-(3,4-ジメチルヘプタン-3-イル)フェノール	149	107

NP10	4-(3,4-ジメチルヘプタン-4-イル)フェノール	163	121
NP11	4-(2,3-ジメチルヘプタン-2-イル)フェノール	135	220
NP12	4-(3-メチルオクタン-3-イル)フェノール	191	163
NP13	4-(3,4-ジメチルヘプタン-3-イル)フェノール	149	107
	<sup>13</sup> Cラベル化4-t-オクチルフェノール	141	113
	<sup>13</sup> Cラベル化4-(3,6-ジメチル-3-ヘプチル)フェノール	155	113
	フェナントレン-d <sub>10</sub>	188	186
	4-n-ノニルフェノール-d <sub>4</sub>	111	224
※ NP4-NP6、NP8-NP10、NP9-NP13：立体異性体			

#### (イ) 検量線

検量線作成用標準液中の4-t-オクチルフェノールの濃度 (Cs) と<sup>13</sup>Cラベル化4-t-オクチルフェノールの濃度 (Ci) との比 (Cs/Ci) を横軸にとり、4-t-オクチルフェノールの選択イオンにおける指示値 (ピーク面積) (As) と<sup>13</sup>Cラベル化4-t-オクチルフェノールの選択イオンにおける指示値 (Ai) との比 (As/Ai) を縦軸にとって、4-t-オクチルフェノールの関係線を作成する。

同様に、ノニルフェノールの異性体それぞれの指示値と<sup>13</sup>Cラベル化4-(3,6-ジメチル-3-ヘプチル)フェノールの指示値との比から、ノニルフェノールの異性体それぞれの関係線を作成する。検量線の作成は、試料測定時に行う。

#### (ウ) 測定用試料の測定

- (a) 測定用溶液1 μLをマイクロシリンジでとり、検量線作成用標準液の各測定対象物質の保持時間と一致していることを確認し、保持時間に相当する位置のピークについて、指示値としてピーク面積を読み取る。

試料中の測定対象化合物の定量イオンと確認イオンとのフラグメントピーク強度比、及び標準液中の各測定対象化合物の定量イオンと確認イオンとのフラグメントピーク強度比が±20%以内であれば、同じ物質が存在しているものとみなす。

- (b) 測定対象化合物の選択イオンにおける指示値と対応するサロゲートの指示値との比を求める。また、これとは別に対応するサロゲートの指示値と4-n-ノニルフェノール-d<sub>4</sub>の指示値との比を求める。
- (c) 空試験として、空試験溶液を分析し、4-t-オクチルフェノール及びノニルフェノールの各異性体の保持時間に相当する位置にピークが検出された場合は、測定対象化合物の選択イオンにおける指示値と対応するサロゲートの指示値との比を求める。
- (d) 検量線を用い、測定対象化合物の指示値と対応するサロゲートとの指示値との比から、各標準とサロゲートとの濃度比 (a及びb) を求める。各異性体の組成比 (f) (注11) を用い、次の式によって試料中のノニルフェノール類の異性体ごとの濃度 (μg/L) を算出する。4-t-オクチルフェノールは組成比 (f) を1として計算する。



$$x = (a - b) \times f \times n \times (1000 / v)$$

ここで、 $x$ ：試料中の測定対象物質の濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )

$a$ ：検量線から求めた対象物質と対応するサロゲートとの濃度比

$b$ ：空試験について検量線から求めた、対象物質と対応するサロゲートとの濃度比

$f$ ：ノニルフェノール各異性体の組成比

$n$ ：添加した対応するサロゲートの質量 ( $\mu\text{g}$ )

$v$ ：試料 (mL)

1000：試料1 Lに換算する係数 (mL/L)

(e) 試料中の測定対象物質の濃度を算出するときは、試料に添加したサロゲートの回収率が50～120 %にあることを確認しておく。確認操作は、次による。

- 1) 検量線の作成において段階的にとった検量線作成用標準液中の、サロゲートの選択イオンによる指示値と4-n-ノニルフェノール- $d_4$ の選択イオンによる指示値との比をそれぞれ求め、その平均値を算出する。
- 2) 試料中の、対応するサロゲートと4-n-ノニルフェノール- $d_4$ との指示値の比、及び1) で求めた比の平均値との比を求め、その百分率を回収率とする。

## 6 分析精度管理

要調査項目等調査マニュアル(水質、底質、水生生物)平成20年3月の「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。

## 7 結果の表示

結果には、用いた試験方法、試料量、濃縮条件(例えば、濃縮量、カラムクロマトグラフ分離の有無など。)、ガスクロマトグラフ質量分析計の測定条件、ガスクロマトグラフへの導入量、4-t-オクチルフェノールの測定結果、ノニルフェノール異性体ごとの測定結果、ノニルフェノール合計値、サロゲート回収率などを記載する。

## 8 注意事項

- (注1) 使用前に空試験を行い、対象物質の分析に影響がないことを確認する。ミネラルウォーターを用いても良い。
- (注2) 使用前に濃縮液(アセトン：10倍、ヘキサン・ジクロロメタン：100倍)をGC/MSに導入し、対象物質の分析に影響がないことを確認する。開封後は、汚染のない場所に保存する。
- (注3) 固相は、市販品にディスク形のものもあり、これを用いてもよい。この場合、試料の流

量及び溶出溶媒の必要量は、あらかじめ確認しておく。固相カラムには、次のようなものがある。Aquisis PLS-3, Excelpak SPE-ENV/124, InertSep RP-1, Oasis™HLB, Sep-Pak PS-2カートリッジ形など。

(注4) ノニルフェノールのサロゲートとしては、分岐鎖型の<sup>13</sup>Cラベル化4-(3,6-ジメチル-3-ヘプチル)フェノールを使用することが望ましい。ただし、予備試験等でノニルフェノールとの挙動が同じと確認がされた場合には、直鎖型の<sup>13</sup>Cラベル化4-n-ノニルフェノールをサロゲートとして使用しても良い。

(注5) 本法における定量下限値を満足するためには、分析操作中の測定対象物質の汚染を最小限にすることが必要不可欠であるため、使用するガラス器具等は十分な洗浄を行い、汚染がないことを確認してから使用する。また、全分析操作を通じた測定対象物質の空試験値が、定量下限値以下であり、かつ安定していることを適正に管理しなければならない。

(注6) 事前に既知量の標準物質を添加したものをを用いて、対象物質の溶出パターンを確認し、カラムクロマトグラム操作に必要なジクロロメタン-ヘキサン混合液(3+7)及びジクロロメタン-ヘキサン溶離液(3+2)の量を求めておく。

(注7) ろ過操作は次のとおりである。

試料を振り混ぜ、懸濁物を均一に分散した後、その500 mLをとり、アセトンで洗浄したろ過材(孔径1 μmのガラス繊維ろ紙)を用いて吸引ろ過する。ろ過材上の懸濁物は、ろ過材ごとビーカーに移してアセトン約10 mLを加え、超音波洗浄器を用いて溶出操作を2回又は3回行う。溶出液を合わせ、濃縮器を用いて減圧濃縮を行い、約5 mLにする。

(注8) 空試験値については可能な限り低減化を図る。

(注9) GC/MS 装置により、最適な条件を設定する。

(注10) 表2に示す選択イオン例を参考に、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11) ノニルフェノール各異性体の組成比はGCの条件を(4)(ア)と同じにしたGC-FIDを使用して次のように行う。

①ノニルフェノール標準原液(100 μg/mL) 1 μLをマイクロシリンジでとり、ガスクロマトグラフに導入し、FID検出器によって測定してそのクロマトグラムを記録する。ノニルフェノールの異性体(NP1~NP13)ごとの保持時間に相当するピークの位置を確認し、その指示値からピーク面積を読み取る。

②得られた面積を合計し、ピークの総面積に対する各異性体の面積比からNP1~NP13の組成比を求める。

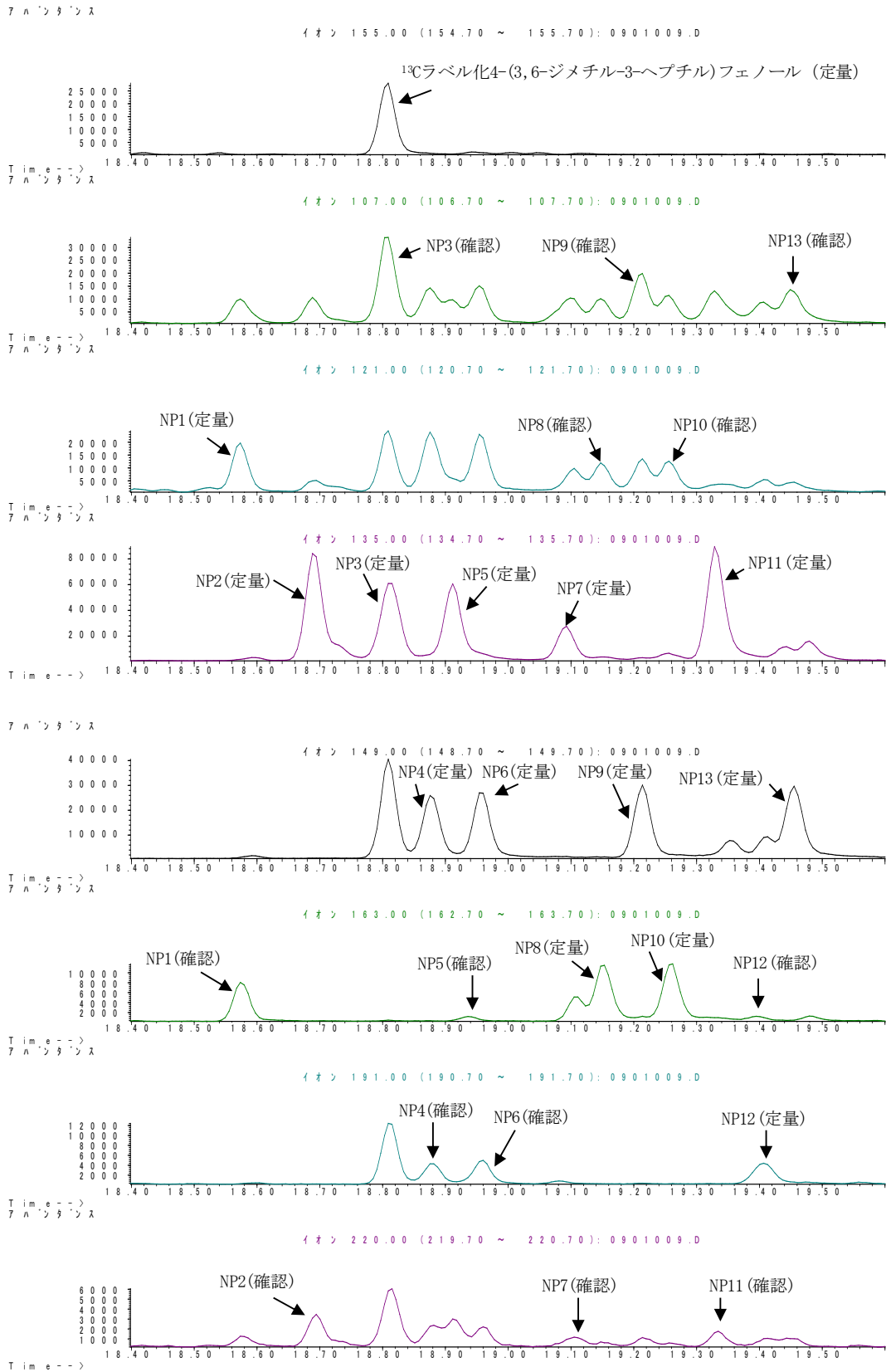
(備考1) ここに示す商品は、このマニュアル使用者の便宜のために、一般に入手できるものとして例示したが、これらを推奨するものではない。これと同等以上の品質、性能のものを用いてもよい。

(備考2) この測定方法における用語の定義その他でこの測定方法に定めのない事項については、日本工業規格に定めるところによる。

## 参考文献

- 1) 環境省水環境部企画課 (1998) : 「外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル (水質、底質、水生生物) 平成10年10月」、Ⅲ. フェノール類の分析法、pⅢ-1 - Ⅲ-25
- 2) 日本規格協会 (2002) : JIS K 0450-20-10 「工業用水・工場排水中のアルキルフェノール類試験方法」
- 3) 日本規格協会 (2007) : JIS K 0450-20-10 「工業用水・工場排水中の4-ノニルフェノールの異性体別試験方法」
- 4) 環境省水・大気環境局水環境課 (2008) : 「要調査項目等調査マニュアル (水質、底質、水生生物) 平成20年3月」、Ⅱ. 分析精度管理、p3-20
- 5) ISO 24293 (Water quality—Determination of individual isomers of nonylphenol—Method using solid phase extraction(SPE) and gas chromatography/mass spectrometry(GC/MS))

# 参考資料：ノニルフェノールのクロマトグラム



### iii. 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

直鎖アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム（以下、「LAS」という。）。  
アルキル基が直鎖型のものであり、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定量下限値

	水質 ( $\mu\text{g/L}$ )	
	目標検出下限値	目標定量下限値
直鎖アルキルベンゼンスルホン酸 ナトリウム (総LAS濃度として)	0.03	0.1

#### 3 分析法の概要

分析法は、LC/MS/MS法である。水質試料中のLASの分析に適用する。試料を固相抽出し、メタノールで対象物質を溶出させる。そのメタノール溶液を窒素ガスで蒸発乾固させた後に、内部標準液を添加してアセトニトリル/水で定容し、これを検液としてLC/MS/MSで定量する。

「要調査項目等調査マニュアル（平成12年12月）」にある「直鎖アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウムの分析法」を改定したものである。

#### 4 試薬、器具及び装置

##### (1) 試薬

- ・ 精製水：対象物質の分析に影響のないもの（注1）
- ・ メタノール：日本工業規格 K 8891に規定する濃縮300以上のもの（注2）
- ・ アセトニトリル：日本工業規格 K 8039に規定する濃縮300以上のもの（注2）
- ・ ギ酸：特級
- ・ ギ酸アンモニウム：特級
- ・ 0.1 %ギ酸+50 mMギ酸アンモニウム水溶液：ギ酸アンモニウム1.57 gを水500 mLに溶かして、ギ酸0.5 mLを加える。
- ・ 陰イオン界面活性剤混合標準原液（各1 mg/mL）：市販品。メタノール溶液1 mL中にLAS（C10～C14）がそれぞれ1 mg含まれる。
- ・ LAS標準液（各10 mg/mL）：陰イオン界面活性剤混合標準原液（各1 mg/mL）1 mLを全量フラスコ100 mLに採り、アセトニトリル/水（65：35）を標線まで加えたもの

- ・ LAS標準液（各0.1 mg/mL）：LAS標準液（各10 mg/mL）1 mLを全量フラスコ100 mLに採り、アセトニトリル／水（65：35）を標線まで加えたもの
- ・ C8-LAS標準原液（1000 mg/L）：オクチルベンゼンスルホン酸ナトリウム100 mgを全量フラスコ100 mLに採り、メタノールを標線まで加えたもの
- ・ C8-LAS標準液（1 mg/L）：C8-LAS標準原液（1000 mg/L）0.1 mLを全量フラスコ100 mLに採り、アセトニトリル／水（65：35）を標線まで加えたもの

## （2）器具・装置（注3）

- ・ ガラス器具類：使用前に水で洗浄した後、さらにアセトンで洗浄・放置してアセトンを揮散させる。その後、アセトンとメタノールで2回ずつ洗浄する。
- ・ 固相抽出用器具：カートリッジ（注4）、ろ過・濃縮装置、注射器など
- ・ 高速液体クロマトグラフ／質量分析計：タンデム型の質量分析計を備えたもの

## 5 試料の採取・運搬

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

## 6 試験操作

### （1）前処理及び試料液の調製

水質試料500 mL（注5）を、メタノール10 mL、精製水5 mLでコンディショニングした固相抽出用カートリッジに通水し、約20 mL/分の流速で通水する。精製水5 mLで試料容器を洗い込んだ後、その水を固相カートリッジに通水し、窒素ガスを2分間通気して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）。C8-LAS標準液を50  $\mu$ L添加した後、アセトニトリル／水（65：35）で1 mLに定容し、試験液とする。

### （2）空試料液の調製

試料と同量の水を用いて、「6 試験操作（1）前処理及び試料液の調製」に従って試料と同様の処理をして得た試料液を空試料液とする（注13）。

### （3）検量線用標準溶液の調製

LAS標準液（各0.1 mg/L）を0, 50, 100, 200, 500  $\mu$ L及びLAS標準液（各10 mg/L）を10, 20, 50, 100  $\mu$ Lずつ目盛り付試験管に取り、さらに、C8-LAS標準液を50  $\mu$ Lずつ添加してアセトニトリル／水（65：35）で1 mLに定容する。各LASの測定濃度として0～1000  $\mu$ g/Lの範囲に相当する。

これを検量線作成用標準液とし、一定量をLC/MS/MSに注入する。

#### (4) 測定

(ア) LC/MS/MS 測定条件の例 (注7)

(a) LC部

- ・ カラム : C18 (長さ : 150 mm、内径 : 2 mm、粒径 : 3  $\mu$ m)
- ・ カラム恒温槽 : 40  $^{\circ}$ C
- ・ 移動相 : アセトニトリル/0.1%ギ酸+50mMギ酸アンモニウム水溶液 (65 : 35)
- ・ 流速 : 0.2 mL/分
- ・ 注入量 : 5  $\mu$ L

(b) MS部

- ・ 検出モード : ESI negative
- ・ フラグメンター電圧 : 180 V
- ・ コリジョンエネルギー : 35 V
- ・ 測定質量数(MRM) : C10-LAS 297 $\rightarrow$ 183、C11-LAS 311 $\rightarrow$ 183、C12-LAS 325 $\rightarrow$ 183、C13-LAS 339 $\rightarrow$ 183、C14-LAS 353 $\rightarrow$ 183、C8-LAS(IS) 269 $\rightarrow$ 183

(ウ) 検量線

調製した検量線溶液の一定量をLC/MS/MSに注入し、各LAS (C10、C11、C12、C13及びC14) として検出したピーク面積及びC8-LASのピーク面積を記録する。検量線溶液中の各LAS (C10~C14) 濃度とC8-LASの濃度との比を横軸にとり、各LAS (C10~C14) のピーク面積の合計とC8-LASのピーク面積との比を縦軸にとって、関係線を作成する。検量線の作成は、試料測定時に行う。

各LAS (C10~C14) は多成分混合されているので、クロマトグラムを参考にピーク面積を算出する。

(エ) 測定用試料の測定

検量線作成後、空試験液、添加回収試験液、試料試験液の一定量をLC/MS/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

標準物質のクロマトグラム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

試料液における各LAS (C10~C14) のピーク面積の合計とC8-LASのピーク面積との強度比から、検量線により各LAS (C10~C14) 濃度を求め、次式により水試料中の濃度を算出する。

各LAS (C10~C14) の水試料中濃度 ( $\mu$ g/L)

$$= (\text{測定濃度} (\mu\text{g/L}) - \text{空試験濃度} (\mu\text{g/L})) \times \text{定容量} (\text{mL}) / \text{試料量} (\text{mL})$$

各LAS (C10～C14) の水質試料中濃度をすべて加算したものを総LAS濃度とする。

## 8 分析精度管理

要調査項目等調査マニュアル(水質、底質、水生生物)平成20年3月の「Ⅱ. 分析精度管理」に従い、標準作業手順を設定し、器具・装置の性能評価と維持管理を徹底し、その結果を記録しなければならない。

## 9 注意事項

- (注1) 使用前に空試験を行い、対象物質の分析に影響がないことを確認する。ミネラルウォーターを用いても良い。
  - (注2) 使用前に濃縮液(10倍)をLC/MS/MSに導入し、対象物質の分析に影響がないことを確認する。開封後は、汚染のない場所に保存する。
  - (注3) 本法における定量下限値を満足するためには、分析操作中の測定対象物質の汚染を最小にすることが必要不可欠であるため、使用するガラス器具等は十分な洗浄を行い、汚染がないことを確認してから使用する。また、全分析操作を通じた測定対象物質の空試験値が、定量下限値以下であり、かつ安定していることを適正に管理しなければならない。
  - (注4) Sep Pak Plus C18、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) やAccu Bond 6 mL 500 mg (J&W Scientific 社製) など。
  - (注5) 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5 mLを用いて2回抽出(超音波利用)し、ろ液に合わせる。
  - (注6) 0.3 mL程度の水分が残るが差し支えない。
  - (注7) LC/MS/MS装置により、最適な条件を設定する。
- (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。
- (備考2) この測定方法における用語の定義その他でこの測定方法に定めのない事項については、日本工業規格に定めるところによる。



## 参考文献

- 1) 環境省水環境部企画課（2000）：「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」、x iv. 直鎖アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウムの分析法、p172-180
- 2) 環境省水・大気環境局水環境課（2008）：「要調査項目等調査マニュアル（水質、底質、水生生物）平成20年3月」、II. 分析精度管理、p3-20

## 参考資料 : LASのクロマトグラム

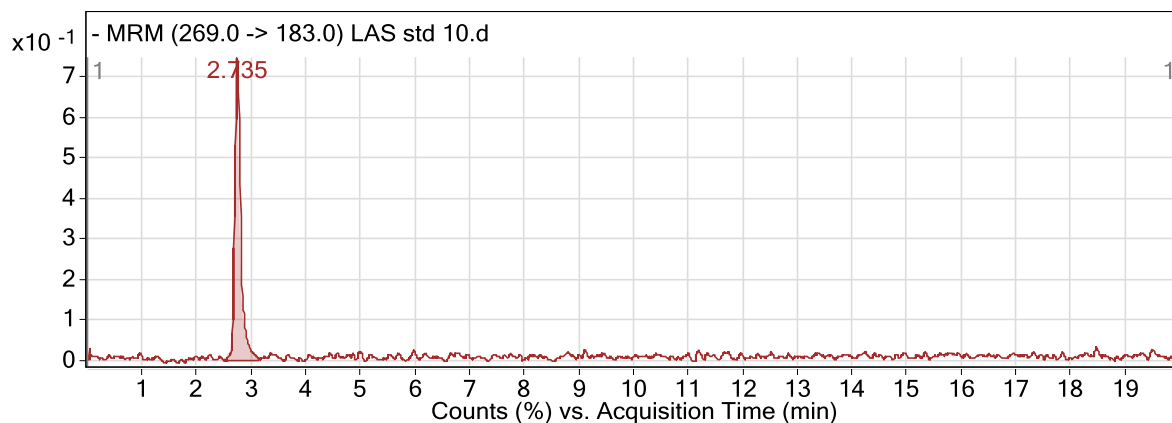


図1 内標準 (C8-LAS) のクロマトグラム

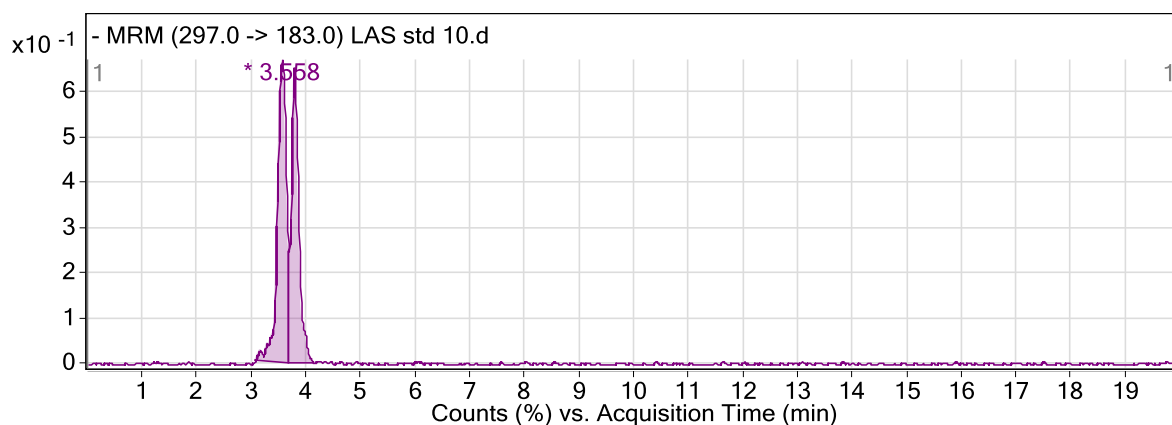


図2 C10-LASのクロマトグラム

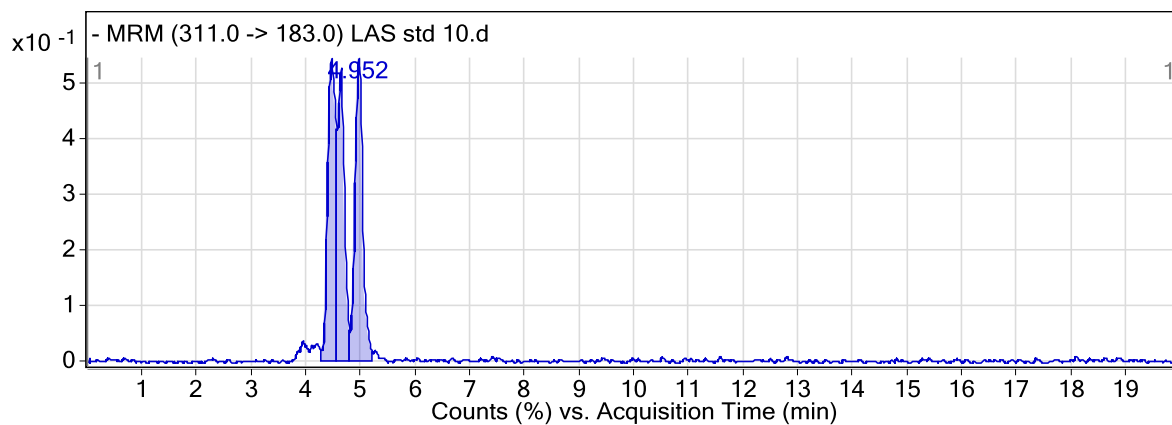


図3 C11-LASのクロマトグラム

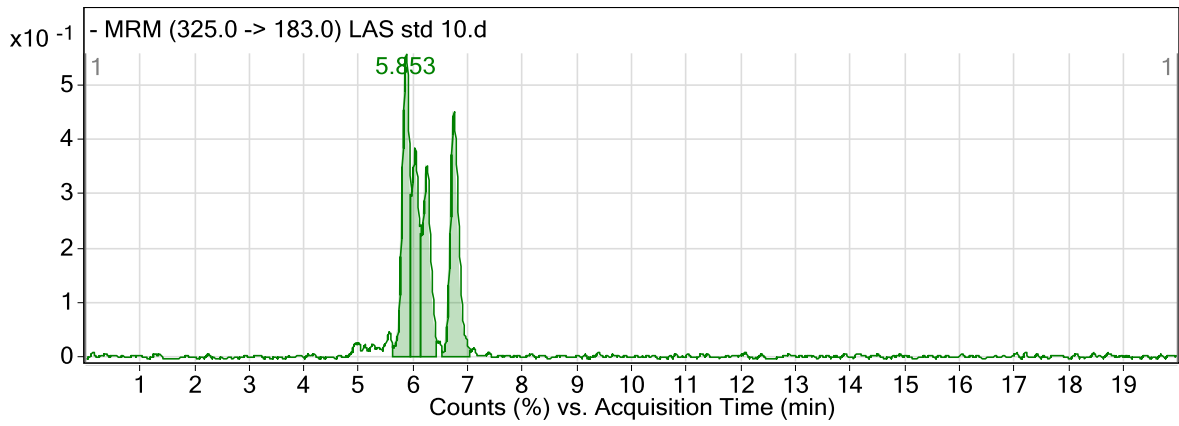


図4 C12-LASのクロマトグラム

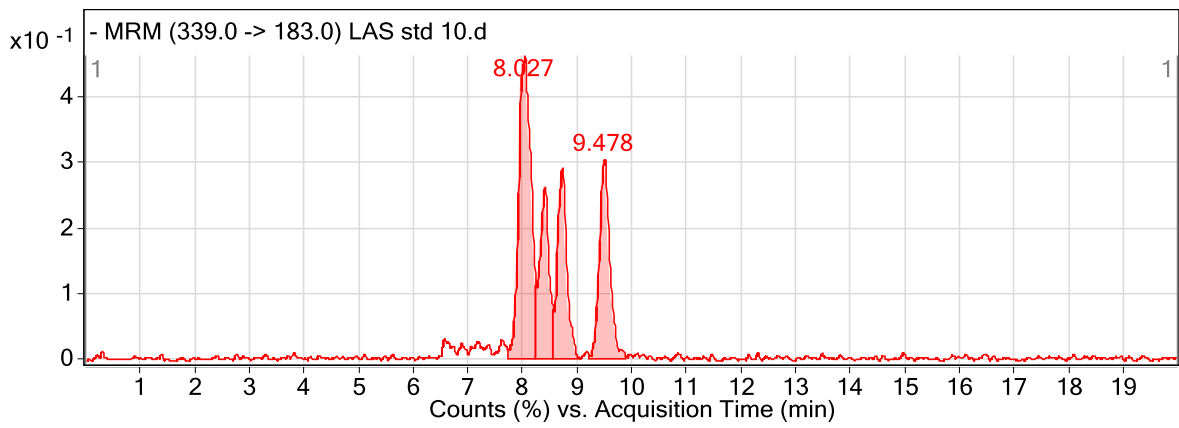


図5 C13-LASのクロマトグラム

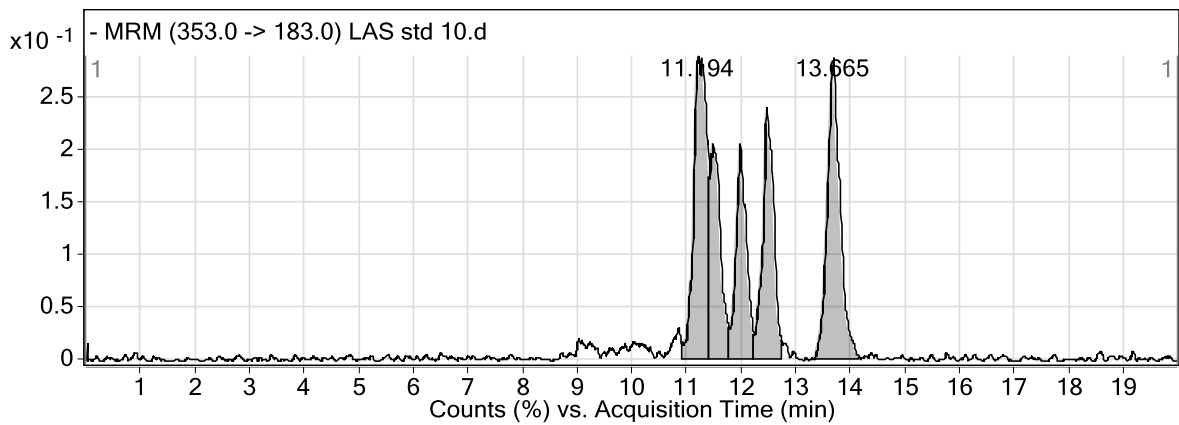


図6 C14-LASのクロマトグラム

## iv. ポリブロモジフェニルエーテルの分析法

### 1 対象物質

トリブロモジフェニルエーテル (TriBDE) ～デカブロモジフェニルエーテル (DeBDE) (表 1)

### 2 目標検出下限値

目標検出下限値 (注 1) を表 1 に示す。

表 1 目標検出下限値

対象物質	水質 (ng/L)
TriBDE	0.1
TeBDE	0.1
PeBDE	0.1
HxBDE	0.1
HpBDE	0.2
OcBDE	0.4
NoBDE	3
DeBDE	5

### 3 分析法の概要

水質試料中のポリブロモジフェニルエーテル (PBDEs) の分析に適用する。測定対象物質としては、トリブロモジフェニルエーテル (TriBDE) ～デカブロモジフェニルエーテル (DeBDE) となる (表 1)。本調査対象物質は、環境中において極めて微量かつ多数の異性体を有することから、同位体希釈法を基礎とした高分解能 GC/MS による分析法を採用している。

本分析法は同位体内標準質量分析を基本とすることより、均一になるように処理を行った各試料に対して、サロゲート標準混合溶液を添加した後、前処理操作を開始する (注 2)。

水質試料からの抽出は、ジクロロメタンで液-液分配抽出するか、または固相カートリッジ等で抽出して脱水、濃縮し、前処理液を調製する。

調製した各試料の前処理液は、多層シリカゲルカラムクロマトグラフィー及び活性炭カラムクロマトグラフィー等にて精製を行った後、高分解能 GC/MS を用いて EI-SIM 法で測定する。

「要調査項目等調査マニュアル (平成 14 年 3 月)」にある「ポリブロモジフェニルエーテルの分析法」を改定したものである。

### 4 試薬、器具及び装置

#### (1) 試薬等

- ・ヘキサン、ノナン、ジクロロメタン及びアセトン等は、残留農薬分析用 (1000 倍濃縮検定品) 以上の溶媒または同等品を使用する。

- ・ 無水硫酸ナトリウムはPCB分析用、水酸化カリウムと硝酸銀は特級品を、硫酸は精密分析用を使用する。また、その他の試薬は全て特級品以上のものを使用する。
- ・ 分析用精製水は蒸留水をヘキサンで十分に洗浄したものを使用する。
- ・ 多層シリカゲルカラムクロマトグラフィーに使用される各種シリカゲル充填剤は、ダイオキシン類精製時に汎用されているものと同等品を使用（以下①～⑤に調製法を記載）する。また、市販されているダイオキシン類精製の各シリカゲル充填剤を用いてもよい。
  - ① シリカゲル（注3）を残留農薬試験用（1000倍濃縮検定品）メタノール（注4）で洗浄後、減圧乾燥したものを使用する。
  - ② 10%硝酸銀シリカゲルはシリカゲルに対し、硝酸銀が10（w/w）%の割合になるようにシリカゲルに40（w/w）%硝酸銀水溶液を加え、よく攪拌し減圧下乾燥したものを使用する。
  - ③ 22%及び44%硫酸シリカゲルはシリカゲルに対し、硫酸が22（w/w）%及び44（w/w）%の割合になるようにシリカゲルに加えて、よく攪拌し減圧下乾燥したものを使用する。
  - ④ 2%水酸化カリウムシリカゲルはシリカゲルに対し、水酸化カリウムが2（w/w）%の割合になるようにシリカゲルに1 mol/L水酸化カリウム水溶液を加えて、よく攪拌し、減圧下乾燥したものを使用する。
  - ⑤ 調製した各充填剤は、遮光して保存する。
- ・ 標準物質は「残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約」における指標異性体を含むこととする（注5）（参照；表2）。サロゲート物質の例を表3に示す（注6）。

表2 PBDEsの標準物質

PBDEs congener	IUPAC #
2, 4, 4'-Tribromodiphenyl ether	28
2, 2', 4, 4'-Tetrabromodiphenyl ether	47
2, 2', 4, 4', 5-Pentabromodiphenyl ether	99
2, 2', 4, 4', 5, 5'-Hexabromodiphenyl ether	153
2, 2', 4, 4', 5, 6'-Hexabromodiphenyl ether	154
2, 2', 3, 4, 4', 5', 6-Heptabromodiphenyl ether	183
2, 2', 3, 3', 4, 4', 6, 6'-Octabromodiphenyl ether	197
2, 2', 3, 3', 4, 4', 5, 6, 6'-Nonabromodiphenyl ether	207
Decabromodiphenyl ether	209

表3 <sup>13</sup>Cラベル化PBDEsサロゲート物質の例

PBDEs congener	IUPAC #
2, 4, 4'-Tribromodiphenyl ether	28
2, 2', 4, 4'-Tetrabromodiphenyl ether	47
2, 2', 4, 4', 5-Pentabromodiphenyl ether	99
2, 2', 4, 4', 5, 5'-Hexabromodiphenyl ether	153
2, 2', 4, 4', 5, 6'-Hexabromodiphenyl ether	154

2, 2', 3, 4, 4', 5', 6-Heptabromodiphenyl ether	183
2, 2', 3, 3', 4, 4', 6, 6'-Octabromodiphenyl ether	197
2, 2', 3, 3', 4, 4', 5, 6, 6'-Nonabromodiphenyl ether	207
Decabromodiphenyl ether	209

- ・ 活性炭カラムクロマトグラフィーに用いる充填剤としては、市販のダイオキシン類分析用又は同等品を使用する（注7）。

## (2) 器具及び装置等

- ・ 多層シリカゲルカラム：ガラスカラム管（内径15 mm×長さ30 cm）に各シリカゲル充填剤を湿式充填する。充填方法は水質、土壌等のダイオキシン類分析マニュアルに準じた方法で充填する（注7、注8）。
- ・ ロータリーエバポレーター又はクデルナダニッシュ（K. D.）濃縮器
- ・ ガスクロマトグラフ／質量分析計（磁場型GC/MS）：GCは、キャピラリーカラム対応のもの。MSは、高分解能MS。

## 5 試料の前処理（注9）

水質試料1 L（注10）を2 Lの分液ロートに採取し、採取試料水の保存容器（ガラス製）はアセトン10 mL、次にジクロロメタン10 mLで洗浄後、この洗浄液を分液ロート内の試料水に合わせる。そして、塩化ナトリウム30 g（海水の場合は無添加）及びサロゲート物質（TriBDE～HpBDE：1 ng, OcBDE：2 ng, NoBDE：5 ng, DeBDE：5 ng）を加えて十分混合し（注11）、ジクロロメタン200 mLを加えて10分間振とう抽出し静置した後、ジクロロメタン層を採取する。さらに上記水層にジクロロメタン100 mLを添加し、同様に振とう抽出しジクロロメタン層を回収する。回収されたジクロロメタン抽出液を500 mLの分液ロートに取り、無水硫酸ナトリウム20gを加えて15分間振とうし、脱水処理を行う。最後に、無水硫酸ナトリウムを充填したガラスロートでろ過を行い、ロータリーエバポレーター又はK. D.濃縮器で約10 mLに濃縮し、前処理液とする（注12）。

## 6 試料液の調製

PBDEsの精製には、ダイオキシン類の精製時に汎用されている多層シリカゲルカラムクロマトグラフィーと活性炭シリカゲルカラムクロマトグラフィーを組み合わせた精製法を採用する（注7、注8）。ただし、試料の差異により、共存する夾雑物の種類や量が著しく異なるため、試料毎にカラムサイズ、充填シリカゲル量及び溶出溶媒量等を適宜最適化して行う。

図1は、多層シリカゲルカラムクロマトの一例を示したものであるが、ガラスカラム（内径15 mm×長さ30 cm）に各種シリカゲル {下からシリカゲル（0.4 g）、2%水酸化カリウムシリカゲル（1.5 g）、シリカゲル（0.4 g）、44%硫酸シリカゲル（2.2 g）、22%硫酸シリカゲル（2.5 g）、シリカゲル（0.4 g）、10%硝酸銀シリカゲル（3.0 g）を順次積層}を湿式充填した後（注13）、ヘキサン50 mLで洗浄を行う。次に、注射筒等を用いて前処理液（注14）をカラムに負荷して液面をカラムヘッドまで下げる。少量のヘキサンで注射筒を洗浄しながら、カラムに負荷した後、80 mL

のヘキサン（充填シリカゲル量の約8倍量）で夾雑物を溶出させる。そして、10%ジクロロメタン／ヘキサン100 mL（充填シリカゲル量の約10倍量）により、測定対象物質であるPBDEsを溶出させる（注15）。このPBDEs精製画分をロータリーエバポレーター又はK.D.濃縮器により数mLにまで濃縮した後、窒素気流下で、約100  $\mu$ Lまで濃縮する（注16）。さらに、ガラスカラム（内径10 mm×長さ30 cm）に活性炭シリカゲル（1.0 g）を乾式充填した後、注射筒等を用いて、濃縮液をカラムに負荷した後、25%ジクロロメタン／ヘキサン150 mLにより、測定対象物質であるPBDEsを溶出させる。最後に、この溶出液を上記と同様な操作で数mLまで濃縮後、シリンジスパイク（注17）及びノナンを添加し、ジクロロメタンでの洗い込みと窒素気流下での濃縮を繰り返しながら一定量（20～100  $\mu$ L）になるまで濃縮する。濃縮したものをサンプルバイアルに移し、最終試料液とする。

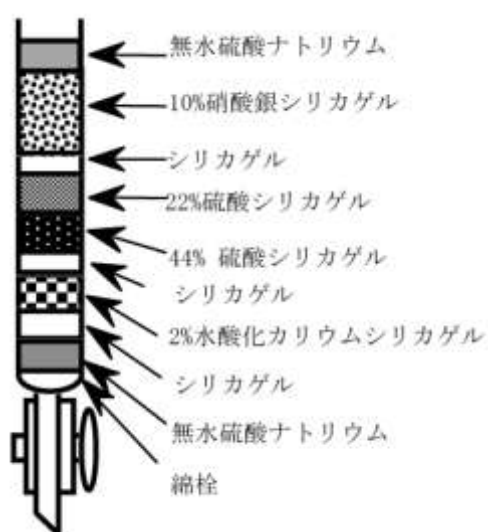


図1 多層シリカゲルカラムの一例

## 7 空試験液の調製

試料を用いずに「5 試料の前処理」及び「6 試料液の調製」の実験操作に準じて行って得られた試料液を空試験液とする。空試験液から対象物質が検出された場合は、空試験値を差し引いて検出値とする（注18）。

## 8 標準液の調製

標準原液をノナン等で適宜希釈混合して所定の濃度の混合標準液を調製する。全ての標準原液及び標準液は、暗所-20℃以下で保存し、有効使用期間は分解が認められない場合は開封後1年間とする。

## 9 測定

本測定法においては、高分解能GC/MS (EI-SIM法) を用いてPBDEsの定量を行う。また、測定対象物質としてはTriBDE (分子量: 406.89) ~ DeBDE (分子量: 959.17) までの、かなり物性の異なる同族体・異性体を含んでいることから、測定条件を3~6臭素化体 (測定法A) 及び7~10臭素化体 (測定法B) に分けてタイムグルーピング法を採用し、定量操作を行う (参照; 表4~6)。

### (1) 高分解能GC/MSの測定条件の例 (注19)

- ・ 使用カラム: キャピラリーカラム (注20)  
測定法A: TriBDE~HxBDE; 長さ30 m, 内径0.25 mm, 膜厚0.15  $\mu$ m  
測定法B: HpBDE~DeBDE; 長さ15 m, 内径0.25 mm, 膜厚0.25  $\mu$ m
- ・ 液相  
測定法A: TriBDE~HxBDE; 50%フェニルメチルシリコン等 (注21)  
測定法B: HpBDE~DeBDE; 5%フェニルメチルシリコン等 (注22)
- ・ カラム温度  
測定法A: TriBDE~HxBDE; 180°C (2分)  $\rightarrow$  (3°C/分)  $\rightarrow$  240°C  $\rightarrow$  (20°C/分)  $\rightarrow$  340°C (10分)  
測定法B: HpBDE~DeBDE; 180°C (2分)  $\rightarrow$  (20°C/分)  $\rightarrow$  340°C (10分)
- ・ タイムグルーピング  
測定法A: TriBDE~HxBDE; 3,4臭素化体 (0~24.5分)、5,6臭素化体 (24.5~37分)  
測定法B: HpBDE~DeBDE; 7,8臭素化体 (0~10分)、9,10臭素化体 (10~20分)
- ・ 注入法: スプリットレス法、パージ開始時間 90秒 (注20)
- ・ キャリヤーガス: ヘリウム カラム流量: 1.2 mL/分
- ・ 注入口温度: 280°C
- ・ イオン源温度: 280°C
- ・ イオン化電圧: 45 eV
- ・ 注入量: 1  $\mu$ L
- ・ 試料導入法: Capillary
- ・ イオン化法: 電子衝撃イオン化法 (EI法) (Positive)
- ・ 加速電圧: 10 kV
- ・ 磁場コイル  
測定法A: TriBDE~HxBDE; HS  
測定法B: HpBDE~DeBDE; HF
- ・ 質量分解能: 10,000
- ・ SIM検出法: Fix
- ・ 質量幅: 300 ppm
- ・ 制御場: Electric Field
- ・ スイッチング時間  
測定法A: TriBDE~HxBDE; 90 m秒  
測定法B: HpBDE~DeBDE; 150 m秒



- ・ 質量微調整法 : Lock & Check Method
- ・ 質量校正用物質 : PFK EIpos

表4 対象物質の測定イオンの例 (注23)

対象物質	定量イオン	確認イオン
TriBDE	405.8027 [M+2] <sup>+</sup>	407.8007 [M+4] <sup>+</sup> , 403.8047 [M] <sup>+</sup>
TeBDE	485.7112 [M+4] <sup>+</sup>	483.7132 [M+2] <sup>+</sup> , 487.7092 [M+6] <sup>+</sup>
PeBDE	563.6217 [M+4] <sup>+</sup>	565.6197 [M+6] <sup>+</sup> , 561.6237 [M+2] <sup>+</sup>
HxBDE	643.5302 [M+6] <sup>+</sup>	641.5322 [M+4] <sup>+</sup> , 645.5282 [M+8] <sup>+</sup>
HpBDE	561.6060 [M+4] <sup>+</sup> -2Br	563.6040 [M+6] <sup>+</sup> -2Br , 559.6080 [M+2] <sup>+</sup> -2Br
OcBDE	641.5145 [M+6] <sup>+</sup> -2Br	639.5165 [M+4] <sup>+</sup> -2Br , 643.5125 [M+8] <sup>+</sup> -2Br
NoBDE	719.4250 [M+6] <sup>+</sup> -2Br	721.4230 [M+8] <sup>+</sup> -2Br , 717.4270 [M+4] <sup>+</sup> -2Br
DeBDE	799.3335 [M+8] <sup>+</sup> -2Br	797.3355 [M+6] <sup>+</sup> -2Br , 801.3315 [M+10] <sup>+</sup> -2Br

表5 サロゲート物質の測定イオンの例 (注23)

サロゲート物質	定量イオン	確認イオン
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -TriBDE	417.8429 [M+2] <sup>+</sup>	419.8409 [M+4] <sup>+</sup>
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -TeBDE	497.7514 [M+4] <sup>+</sup>	495.7534 [M+2] <sup>+</sup>
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -PeBDE	575.6619 [M+4] <sup>+</sup>	577.6598 [M+6] <sup>+</sup>
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -HxBDE	655.5704 [M+6] <sup>+</sup>	653.5724 [M+4] <sup>+</sup>
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -HpBDE	573.6462 [M+4] <sup>+</sup> -2Br	575.6442 [M+6] <sup>+</sup> -2Br
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -OcBDE	653.5546 [M+6] <sup>+</sup> -2Br	651.5567 [M+4] <sup>+</sup> -2Br
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -NoBDE	731.4651 [M+6] <sup>+</sup> -2Br	733.4631 [M+8] <sup>+</sup> -2Br
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -DeBDE	811.3737 [M+8] <sup>+</sup> -2Br	809.3757 [M+6] <sup>+</sup> -2Br

表6 タイムグループ測定時におけるロックマスの例

TriBDE~HxBDEの測定 (測定法A)		HpBDE~DeBDEの測定 (測定法B)	
ロックマス (3, 4臭素化体)	454.9729	ロックマス (7, 8臭素化体)	604.9633
ロックマス (5, 6臭素化体)	604.9633	ロックマス (9, 10臭素化体)	754.9537

## (2) 検量線

ダイオキシン類の測定法と同様に感度係数 (RF) を用いて試料中のPBDEsを定量する。使用する高分解能GC/MSの検出下限付近と予想される濃度レベルを含む 5段階以上の標準液 1 μL を 3回以上測定し、次式からRFを求める。RFの相対標準偏差が10%以下の場合は平均RFを用いて試料を定量する。毎回の試料測定前に、検量線の間濃度の標準液を測定して感度係数法で定量し、得られた定量値が注入標準液濃度の±20%以内であるなら、平均RFをそのまま用いて試料を定量する。一方、その濃度が±20%を外れた場合には、全ての標準液の再測定を行い、新たな平均RFを

求めて試料の定量を行う。

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

ここで、 As : 対象物質の測定イオンのピーク面積  
Ais : サロゲート物質の測定イオンのピーク面積  
Cis : 検量線標準液中のサロゲート物質量 (pg)  
Cs : 検量線標準液中の対象物質量 (pg)

### (3) 試料の測定

測定用最終試料液 1  $\mu$ L をGC/MSに注入して測定を行う(注24)。ただし、測定時においては、注入試料数の10%程度の割合で検量線の間濃度の標準液についても測定し、その濃度の値を確認する。もし、調製した検量線用標準液の濃度の $\pm 20\%$ を外れた場合は、測定を中止し、GC/MSを再調整する。そして、RFを確認後、測定を再開する。

## 10 同定、定量及び計算

測定対象物質の存在の確認及び同定作業を行った後、存在する場合は定量を行う。

### (1) 同定

#### (ア) PBDEsの同定

対象物質の定量イオン及び確認イオンのピークの保持時間と標準品のそれと比較して $\pm 5\%$ 以内に出現すること(注25)、並びに対象物質の確認イオンのピークと定量イオンのピークとの相対強度比が標準品のそれと比較して $\pm 20\%$ 以下であれば、PBDEsとして同定する。

#### (イ) サロゲート物質の同定

サロゲート物質の定量イオン及び確認イオンのピークの保持時間と標準品のそれと比較して $\pm 5\%$ 以内に出現すること(注25)、並びに対象物質の確認イオンのピークと定量イオンのピークとの相対強度が標準品のそれと比較して $\pm 20\%$ 以下であれば、サロゲート物質として同定する。

### (2) 定量(注26)

下記の計算式を用いて各異性体濃度を算出する。

$$\text{検出量(pg)} = (As \times Cis) / (Ais \times RF)$$

ここで、 As : 対象物質の測定イオンのピーク面積  
Ais : サロゲート物質の測定イオンのピーク面積  
Cis : 試料に添加したサロゲート物質量 (pg)

### (3) 回収率の確認

以下に示す計算式でサロゲート物質の正確な回収率を確認する。この回収率が50%以上120%以下の範囲から外れるときは前処理操作から再分析を行う。

$$R_c = (A_{csi} / A_{rsi}) \times (Q_{rsi} / RRFrs) \times (100 / Q_{csi})$$

ここで、 $R_c$  : サロゲート物質の回収率

$A_{csi}$  : サロゲート物質のピーク面積

$A_{rsi}$  : シリンジスパイクのピーク面積

$Q_{rsi}$  : シリンジスパイクの添加量 (pg)

$Q_{csi}$  : サロゲートの添加量 (pg)

$RRFrs$  : サロゲート物質のシリンジスパイクに対する相対感度

$$RRFrs = (Q_{rs} / Q_{cs}) \times (A_{cs} / A_{rs})$$

ここで、 $Q_{rs}$  : 標準液中のシリンジスパイクの量 (pg)

$Q_{cs}$  : 標準液中のサロゲート物質の量 (pg)

$A_{cs}$  : 標準液中のサロゲート物質のピーク面積

$A_{rs}$  : 標準液中のシリンジスパイクのピーク面積

## 1 1 分析精度管理

PBDEs の測定は、極めて低濃度の測定であるため、測定精度の管理を十分に行う必要がある。測定データの品質管理は、次による。

### (1) 測定データの信頼性の確保

#### (ア) 内標準物質の回収率

サロゲート物質の回収率を確認し、各サロゲート物質の回収率が 50~120 % の範囲内でない場合には、再度抽出液からクリーンアップをやり直す。

#### (イ) 検出下限及び定量下限の確認

##### (a) 装置の検出下限及び定量下限

最低濃度 (各標準物質をそれぞれ 3 臭素化物~7 臭素化物で 0.1~0.5 pg、8 臭素化物で 0.2~1.0 pg、9 臭素化物及び 10 臭素化物で 0.5~2.5 pg) の検量線作成用標準液を GC/MS で測定し、各異性体を定量する。この操作を 5 回以上繰り返し、得られた測定値から標準偏差を求め、以下の計算式により算出した値を、検出下限 (IDL) 及び定量下限 (IQL) とする。

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

$$IQL = 10 \times \sigma_{n-1, I}$$

ここで、IDL : Instrument Detection Limit (装置検出下限値)

IQL : Instrument Quantification Limit (装置定量下限値)

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

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

この装置の検出下限及び定量下限は、使用する GC/MS の状態などによって変動するため、ある一定の周期で確認し、常に十分な値が得られるよう管理する。また、使用する GC/MS 及び測定条件を変更した場合などには必ず確認する。

(b) 測定方法の検出下限及び定量下限

測定に用いるのと同量の抽出溶媒を濃縮した抽出液に GC/MS への注入量が装置の定量下限と同じ量になるように標準物質を添加し、前処理、測定、同定及び定量を行う。これを 5 回以上行い、得られた測定値の標準偏差を求め、以下の計算式により算出した値を、測定方法の検出下限 (MDL) 及び定量下限 (MQL) とする。

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

$$MQL = 10 \times \sigma_{n-1, M}$$

ここで、MDL : Method Detection Limit (分析法の検出下限値)

MQL : Method Quantification Limit (分析法の定量下限値)

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

$\sigma_{n-1, M}$  : MDL 算出のための測定値の標準偏差

さらに、得られた結果から試料における検出下限及び定量下限を算出し、その試料における検出下限が評価しなければならない濃度の 1/30 以下になるようにする。

この測定方法の検出下限及び定量下限は、前処理操作及び測定条件によって変動するため、ある一定の周期で確認し、常に十分な値が得られるように管理する。また、前処理操作及び測定条件を変更した場合などには必ず確認する。

試料における検出下限及び定量下限は、試料の採取量などによって異なってくるため、試料ごとに求める。

(c) 試料測定時の検出下限及び定量下限の確認

実際の試料の測定において、少なくとも検量線作成用標準液に含まれる異性体の中でピークが検出されなかったものについては、そのクロマトグラム上において、ピーク近傍のベースラインのノイズ幅と標準液のクロマトグラムから、試料測定時の検出下限値及び定量下限を算出し、算出されたそれぞれの値が測定方法の検出下限及び定量下限以下でなければならない。

それぞれの測定方法の検出下限及び定量下限を超える場合は、前処理操作、測定操作に問題がなかったかどうかを確認し、再測定、少なくとも試料測定時の検出下限及び定量下限から算出される試料における検出下限及び定量下限が最初に設定した値以下になるようにする。

(ウ) 空試験 (注 27)

空試験は、試料の前処理及び GC/MS への導入操作などに起因する汚染を確認し、測定に支障のない測定環境を設定するために行うもので、試料の前処理に用いるのと同じ試薬を同じ量用いて前処理操作を試料と同様に行う。

この試験は、前処理操作などの際の汚染に対して十分管理がなされていれば毎行わなくてもよいが、次の場合に試料の測定に先立って行い、空試験を十分に低くなるようにしておくことが望ましい。

- (a) 新しい試薬や機器を使用したり、修理した機器を使用するなどの前処理操作に大きな変更があった場合。
- (b) 試料間汚染が予想されるような高い濃度の試料を測定した場合。

### (エ) 二重測定

試料採取、前処理操作及び測定操作における総合的な信頼性を確保するために、同一試料から二つ以上の測定試料について、その平均値を求め、個々の測定値が平均値の±30%以内であることを確認する。

差が大きい場合には、測定操作を細かく確認して原因を究明し、改善した後、再度測定を行う。

二重測定は、特に断らない限り一連の試料採取において試料数の10%程度の頻度で行わなければならない。しかし、二重測定用の試料採取が不十分な場合には、十分な検討をしておき、必要があればそのデータが提示できるようにしてあれば省略してもよい。

### (オ) 標準物質

測定値は、採取試料と標準物質の測定結果を比較することによって得られるため、測定値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。また、これらの標準液は、溶媒の揮散などによって濃度変化がないようにガラス製の密閉容器に入れて冷暗所にて保管する。

## (2) 測定操作における留意事項

### (ア) 試料の採取

試料採取においては、次の点に注意する。

#### (a) 採水器、試料容器の準備と保管

使用する採水器は、必要に応じてメタノール（又はアセトン）及びトルエン（又はジクロロメタン）を用いて前もって十分に洗浄を行ってから使用する。また洗浄後、外部からの汚染を受けないように保管する。

#### (b) 試料の保管・運搬

採取後の試料は、外部からの混入及び分解などを防ぐため、密封・遮光できる容器に入れ、保管・運搬する。

#### (c) 試料の代表性の確保

目的とする調査対象に対して代表試料の採取が適切に行わなければならない。

### (イ) 前処理操作

前処理操作においては、次の点に注意する。

#### (a) 試料からの抽出

液-液抽出においては、目的の溶媒層への抽出が十分に行われぬように溶媒の選択及び抽

出条件を確認する。

(b) 多層シリカゲルクロマトグラフ及び活性炭シリカゲルカラムクロマトグラフ操作

カラムクロマトグラフ操作においては、分画条件は使用する充填剤の種類及び活性度、又は溶媒の種類及び量によって異なるので、あらかじめ商用難燃剤を数種混合した溶液を用いて、分画試験を行って条件を確認しておく。

(ウ) 同定及び定量

同定及び定量においては、次の点に注意する。

(a) GC/MS

使用する GC/MS は目的に応じて測定条件を設定し、試料の測定が可能なように機器を調整する。この際、応答の直線性、安定性などのほか、測定の誤差となる干渉の有無及びその大きさ、その補正法など、十分信頼できる測定ができるかどうか確認しておく。

1) GC の調整

カラム槽温度、注入口温度、キャリアガス流量などの条件を設定し、応答が安定していること、各臭素化物の保持時間が適切な範囲にあり、かつ、ピークが十分に分離されていることなどを確認する。スプリットレスの時間、パージガス流量など適切な値に設定する。

キャピラリーカラムは、測定対象成分と他成分との分離が十分でない場合には新品と交換する。ただし、キャピラリーカラムを 300 mm 程度切断（両端又は片端）することによって測定対象物質と他成分との分離に問題なければ交換しなくてもよい。

2) MS の調整

MS に質量校正用標準物質（ペルフルオロケロセン；PFK など）を導入し、質量分析計の質量校正プログラムなどによってマスパターン及び分解能（10,000 以上）などの校正を行うとともに、装置の感度などの基本的な確認を行う。この調整の結果を記録して保管する。

3) GC/MS の操作条件

キャピラリーカラムによって得られるピーク幅は、5～10 秒程度であるが、一つのピーク当たりの測定点を十分確保するためには選択イオン検出のサンプリングの周期は 1 秒以下にしなければならない。1 回の測定で設定可能なモニターチャンネルの数は、要求される感度との兼ね合いとなるので、十分に検討したうえで設定する必要がある。

クロマトグラム上の各ピークの保持時間を考慮して、時間分割によるグルーピング方式によって測定を行うが、この場合にはグループごとに、適切な内標準物質ピークが出現するように条件の設定を行う必要がある。

4) 装置の維持管理

ガスクロマトグラフ質量分析計の性能を維持するには、日常的な保守管理を欠かしてはならない。特に、GC とのインターフェース及びイオン化室内の汚れは、感度及び分解能、測定精度の低下に大きく影響するので、適宜洗浄する必要がある。

(b) 装置の感度変動

1 日 1 回以上、定期的に検量線の中間程度の濃度の標準液を測定して、サロゲート物質の感度が検量線作成時に比べ大きく変動していないことを確認する。

また、各異性体とサロゲート物質の相対感度の変動が、検量線作成時の相対感度に比べて

±20%以内にあることを確認し、この範囲を超えて変動する場合には、その原因を取り除き、それ以前の試料の再測定を行う。

さらに、保持時間については、分離カラムの劣化などの場合のように徐々に保持時間が変動する場合には、必要に応じて対応をとればよいが、比較的短い間に変動（通常、1日に保持時間が±5%の範囲外、サロゲート物質との相対保持比が±2%の範囲外）する場合には、その原因を取り除き、それ以前の試料の再測定を行う。

### **(エ) 異常値の取扱い**

測定機器の感度の変動が大きい、空試験値が大きい、二重測定の結果が大きく異なるなどの場合には、測定値の信頼性に問題があるため、再測定を行ったり、再度試料の採取を行わなければならない。このような問題が起これると、多大な労力、時間、経費がかかるだけでなく、調査結果全体の評価に影響を及ぼすことになるため、事前の確認などを十分に行い、異常値を出さないように注意しなければならない。また、異常値が出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。

### **(3) 測定操作の記録**

次の情報を記録し、整理、保管する。

- (a) 採水器の状況
- (b) 試料の採取地点の状況
- (c) 試料の採取方法
- (d) 試料の状況
- (e) 測定装置の校正及び操作
- (f) 前処理から測定に至るまでの操作記録
- (g) 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**

精度管理に関する次の情報を記録し、必要があればデータとともに報告する。

- (a) GC/MSの日常的点検、調整の記録（装置の校正など）
- (b) 測定機器の測定条件の設定と結果
- (c) 標準物質などの製造業者及びトレーサビリティ
- (d) 検出下限及び定量下限の測定結果
- (e) 空試験及び二重測定の結果
- (f) 前処理操作の回収試験の検証結果
- (g) 測定機器の感度の変動
- (h) 測定操作の記録（試料採取から前処理及び測定に関する記録）

## **1.2 注意事項**

(注1) 試料の分析を開始する前に、記載した検出下限値を達成できることを確認しておく。達

成できない場合は、試料量を増やすなどの対策を講じる。ただし、本測定は高分解能GC/MSを使用するため、表1に記載した検出下限値は十分達成できることから、もし達成できない場合には、機器の性能等を再点検する。

- (注2) PBDEsは光分解を受けやすい性質を有するために、直射日光等の強光下での操作は避け、可能な限り遮光された条件下で前処理操作を行う。操作過程で得られるPBDEs含有試料液等は、褐色あるいは遮光した容器に入れて低温で保管する。
- (注3) 例 メルク社製 kieselgel 60 (60~230 mesh、Art 7734) (備考1)。
- (注4) 例 関東化学社製の残留農薬試験用メタノール (1000倍濃縮検定品) (備考1)。
- (注5) 指標異性体である 2, 2', 3, 3', 4, 5', 6-HpBDE (#175) は、現在市販されている検量線用標準液に含まれておらず、また記載したカラム条件では2, 2', 3, 4, 4', 5', 6-HpBDE (#183) と分離、定量することが出来ないため、表2の異性体には含めていない。
- (注6) 現在までにPBDEsのnative標準品として、TriBDE (23異性体)、TeBDE (37異性体)、PeBDE (37異性体)、HxBDE (37異性体)、HpBDE (20異性体)、OcBDE (12異性体) 及びNoBDE (3異性体)、DeBDEの計170異性体が市販されている。従って、精度管理上問題がなければ適宜測定対象異性体を追加してもかまわない。
- (注7) 例 和光純薬社製の活性炭混合シリカゲル (ダイオキシン類分析用) 等 (備考1)。
- (注8) ここに記載しているガラスカラムクロマト管とは、本体部分がガラス製のものであるならば、コック部分等の一部部品がテフロン製のものであっても使用してよい。また、多層シリカゲルカラムクロマトの調製法の詳細は、ダイオキシン類分析マニュアル等を参照する (参考例：ダイオキシン類に係る土壌調査測定マニュアル 平成21年3月 環境省 水・大気環境局土壌環境課)。
- (注9) ODSやポリマーなどを充填した固相抽出カートリッジや固相ディスクを用いることで、ジクロロメタン抽出の場合と同等の抽出率が得られる場合は、固相抽出を用いることができる。ただし、使用前に、ブランクの確認をし、十分洗浄したものを使用する。また、共存有機物の多い試料については、破過が起らないように固相への通水量を確認する。
- (注10) 水質試料は、採取後、冷暗所に保管し、出来るだけ早く抽出操作に着手する。長期間保存することで微生物等によるフロックが形成しないように注意する。また、試料の前処理時に試料中に多量の浮遊物質が存在する場合には、抽出する前にガラス繊維ろ紙で試料をろ過する。そして、このろ紙を少量のジクロロメタンで超音波抽出 (15分; 2回) し、この抽出液をろ液に合わせた後、抽出操作に移る。ただし、サロゲート物質は、ろ過する前に添加しておく。
- (注11) 同族体毎に最低1種類のサロゲート物質を添加し、添加量については、装置、測定条件等により適宜変更しても構わない。
- 7臭素化体以上の高臭素化体の場合、測定時に著しい感度低下が観察されることより、分析機器の感度性能と各試料中の実測濃度を十分に考慮した上で、適切なサロゲート物質の添加濃度を決定する。
- (注12) ジクロロメタンは沸点が低いため、その濃縮時においては、試料が乾固しないように注意する。また、乾固する前に、少量のヘキサンを数回添加しながら完全にヘキサンに溶媒転溶する。ロータリーエバポレーターやK. D. 濃縮器での操作時に、ノナン100  $\mu$ L を



予め添加しておくこと、試料の乾固を未然に防ぐことができ便利である。

- (注13) ガラスカラムに各シリカゲルを湿式充填する際には、カラムに弱い振動を与えながら均一に充填できるように注意する。また、ヘキサン洗浄時においてカラム内に気泡等が観察された場合は、窒素ガス等でカラム内を加圧して気泡が無くなるようにする。また、PBDEsの光分解を防ぐ目的で、精製時には、ガラスカラムをアルミホイル等で遮光したり、あるいは褐色のガラスカラムを用いることを推奨する。
- (注14) 固相抽出カートリッジ等を用いて抽出を行った時に、その溶離液等にアセトンやジクロロメタン等の比較的極性をもつ溶媒が含まれている場合には、ヘキサンに溶媒転溶してからカラムに負荷する。
- (注15) 事前に標準混合液を用いて多層シリカゲルカラムクロマトにおけるPBDEsの溶出パターンを確認する。
- (注16) 本分析法では、全試料の精製の第1段階で多層シリカゲルカラムクロマト法を採用している。その他の方法としては、ダイオキシン類の精製時に汎用されている、硫酸処理法とシリカゲルカラムクロマト法を組み合わせた精製法が想定されるが、その場合には、上記の精製法に対する最適条件等を詳細に検討し、同等の結果が得られることを確認してから行う必要がある。
- (注17) サロゲート物質として使用していない他の<sup>13</sup>Cラベル化体をシリンジスパイクとして用いる(例：4臭素化体；<sup>13</sup>C-3,3',4,4'-TeBDE (#77)、6臭素化体；<sup>13</sup>C-2,2',3,4,4',5'-HxBDE (#138)、<sup>13</sup>C-2,2',3,4,4',6'-HxBDE (#139)、7臭素化体；<sup>13</sup>C-2,2',3,4,4',5,5'-HpBDE (#180)、9臭素化体；<sup>13</sup>C-2,2',3,3',4,4',5,5',6'-NoBDE (#206))。
- (注18) 空試験試料中に検出された各異性体の実測値が、試料中のその10%以上である場合には、原則的にその値を採用しないと共に、汚染の原因を究明した後、再分析を行う必要がある。
- (注19) 高精度なDeBDEの定量分析を行うには、四重極型MSでは定量イオンのモニターが、GC-ECDでは、サロゲート物質を使用できないことから、本測定法では二重収束型MSによる測定法を採用している。ただし、DeBDEは熱や光等に対して不安定であるため、260°C以上でGC注入口部やカラムオープン内で熱分解を起こす可能性があることより、必ずサロゲート物質として<sup>13</sup>C-DeBDEを使用しなければならない。また、その使用によって、定量性等への阻害的影響は殆どなくなるものと推察される。ただし、その様な懸念を完全に払拭することを考慮して、クールオンカラムによるGCへの注入方式を採用することも考慮される。
- (注20) 将来的により分離能や定量性が高い分析条件やキャピラリーカラム等に関する研究例が報告された場合には、それらの再現性や性能を十分確認した後、新規に採用しても構わない。すなわち、本分析法は、現時点までの多くの研究報告で採用されているPBDEsの分析条件を基礎として、そのカラムやGC/MS条件等を記載しているためであり、例えば、高臭素化体(7臭素化体以上、特にDeBDE)を定量する場合には、カラムオープン内での熱分解や感度低下を防ぐ目的で、より膜圧が薄く(0.1 μm)、またその分離に問題がなければより短いカラムの使用が推奨されるといった報告があるためである。
- (注21) 例 J&W社製 DB-17ht等(備考1)。

- (注22) 例 J&W社製 DB-5等 (備考1)。
- (注23) 定量イオンが妨害を受ける場合は、妨害を受けていない確認イオンを用いて定量を行う。
- (注24) 試料間のクロスコンタミネーションを防止するため、高濃度の試料測定後は、溶媒を測定するなどしてキャリアオーバーが無いことを確認する。
- (注25) クリーンアップが不十分で最終試料液中に夾雑物が多い場合には、保持時間が遅くなることもある。
- (注26) 同族体において複数のサロゲート物質を使用した場合、臭素化物ごとにRFの平均値を用いて同族体の定量を行う。また、2,3',4-TriBDE (#33) と3,3',4-TriBDE (#35)、及び2,2',3,3',4,5',6-HpBDE (#175) と2,2',3,4,4',5',6-HpBDE (#183) は、記載したカラム条件では分離、定量することが出来ないため、この2種のピーク面積を合わせた形式で、算出、定量する。また、この両異性体の分離に関する報告は、現時点では見あたらない。
- (注27) 空試験値が大きいと測定感度が悪くなるばかりではなく、測定値の信頼性が低下するため、空試験値は極力低減を図らなければならない。そのため、必要に応じてクリーンドラフトの中で前処理操作を行うことが望ましい。
- (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、性能のものであれば用いてもよい。
- (備考2) この測定方法における用語の定義その他でこの測定方法に定めのない事項については、日本工業規格に定めるところによる。

## 参考文献

- 1) Persistent Organic Pollutants Review Committee, Fourth meeting Geneva, 13- 17 October 2008, Report of the Persistent Organic Pollutants Review Committee on the work of its fourth meeting
- 2) 中川礼子、厚生労働科学研究費補助金(食品の安全性高度化推進研究事業) 分担研究報告書、ダイオキシン類による食品汚染実態の把握に関する研究、分担研究課題(3) 食品中臭素化ダイオキシン及びその関連化合物汚染調査  
[http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/iyaku/syoku-anzen/dioxin/sessyu07/dl/sessyu07i\\_0001.pdf](http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/iyaku/syoku-anzen/dioxin/sessyu07/dl/sessyu07i_0001.pdf)
- 3) 環境省水環境部企画課(2002):「要調査項目等調査マニュアル(水質、底質、水生生物)、平成14年3月」ix. ポリブロモジフェニルエーテルの分析法、p129-148
- 4) 環境省水・大気環境局水環境課(2008):「要調査項目等調査マニュアル(水質、底質、水生生物)平成20年3月」II. 分析精度管理、p3-20
- 5) 日本規格協会(2005): JIS K 0312「工業用水・工場排水中のダイオキシン類の測定方法」

## 分析法フローチャート

### 試料 1 L

- | 採取試料水の保存容器をアセトン 10 mL、ジクロロメタン 10 mL で洗い込む
- | 塩化ナトリウム 30 g
- | サロゲート物質  $^{13}\text{C}$ -TriBDE~HpBDE; 1 ng, 0cBDE ; 2 ng, NoBDE ; 5 ng, DeBDE; 5 ng
- ↓ 同族体毎に $^{13}\text{C}$ ラベル化体を最低 1 種類添加

### 液-液分配

- | ジクロロメタン 200 mL (1 回目)
- ↓ ジクロロメタン 100 mL (2 回目)

### ジクロロメタン抽出液

- | 無水硫酸ナトリウム 20 g (15 分振とう)、脱水
- ↓ ろ過

### ろ液

- | ロータリーエバポレーターあるいは K.D. 濃縮器で 10 mL に濃縮
- ↓ ヘキサンに溶媒転溶

### 前処理液

↓

### 多層シリカゲルカラムクロマトグラフィー

- | 下からシリカゲル (0.4 g)、2 %水酸化カリウムシリカゲル (1.5 g)、
- | シリカゲル (0.4 g)、44 %硫酸シリカゲル (2.2 g)、
- | 22 %硫酸シリカゲル (2.5 g)、
- | シリカゲル (0.4 g)、
- | 10 %硝酸銀シリカゲル (3.0 g) を順次積層
- | Fr. 1 : ヘキサン 80 mL
- ↓ Fr. 2 : 10 %ジクロロメタン/ヘキサン 100 mL → PBDE 溶出

### 溶出液 (Fr. 2)

↓

### 活性炭シリカゲルカラムクロマトグラフィー

- | 活性炭混合シリカゲル (1.0 g)
- ↓ Fr. 1 : 25 %ジクロロメタン/ヘキサン 150 mL → PBDEs 溶出

### 溶出液 (Fr. 2)

- | K.D. 濃縮器等で数 mL まで濃縮
- ↓ シリンジスパイク、ノナン添加後  $\text{N}_2$  下、40°C で濃縮

### 試験液 (20~100 $\mu\text{L}$ )

↓

### GC/MS 定量

## <付録：技術的参考情報>

### 低濃度のカドミウム分析のための前処理方法

#### 1 対象物質

カドミウム

#### 2 方法の概要

水質試料中の低濃度のカドミウムを分析するために、キレート樹脂を用いた固相抽出を行い、カドミウムを濃縮（50倍）させる前処理方法である。

#### 3 試薬及び器具

##### (1) 試薬（注1）

- ・ メタノール：日本工業規格 K 8891に定めるもの
- ・ 超純水：日本工業規格 K 0211に定めるもの
- ・ 2 mol/L 硝酸：日本工業規格 K 9901に規定する硝酸（注2）に超純水を加え調整したもの
- ・ 酢酸アンモニウム：日本工業規格 K 8359に定めるもの
- ・ アンモニア水：日本工業規格 K 8085に定めるもの
- ・ 酢酸アンモニウム溶液（0.1 mol/L）：酢酸アンモニウム7.708 gを超純水900 mLで溶かし、硝酸もしくはアンモニア水によりpH5.5に調整した後、超純水を加えて全量1000 mLとする。（注3）
- ・ 酢酸アンモニウム溶液（0.5 mol/L）：酢酸アンモニウム38.54 gを超純水900 mLで溶かし、硝酸もしくはアンモニア水によりpH5.5に調整した後、超純水を加えて全量1000 mLとする。（注3）
- ・ 酢酸アンモニウム溶液（5.0 mol/L）：酢酸アンモニウム385.4gを超純水900 mLで溶かし、硝酸もしくはアンモニア水によりpH5.5に調整した後、超純水を加えて全量1000 mLとする。（注3）

（注1）測定対象となるカドミウムの汚染が測定を妨害することのないことが確認されているもの。

（注2）市販の高純度硝酸を用いてもよい。

（注3）測定に影響がある場合は、キレート樹脂に通水し精製する。

##### (2) 器具（注4）

- ・ キレート樹脂（注5）：イミノ二酢酸キレート樹脂を固定したディスクまたはカートリッジで、使用前にメタノール1 mL程度を滴下して膨潤させた後、2 mol/L 硝酸50 mLを1回（注6）、超

純水50 mLを2回、順次流下して洗浄する。その後、0.1 mol/L酢酸アンモニウム溶液50 mLを50～100 mL/分で通液（注7）し、活性化を行ったもの。

- ・ ガラス製ビーカー又はテフロン製ビーカー：容量1000 mL以上のもの。容量2000 mLのものが望ましい。
- ・ 固相抽出器具：マニホールド、ガラスファンネル、ガラスサポートベースなど
- ・ 受器：容量20 mL以上のもの
- ・ 全量フラスコ：20 mLのもの

（注4）器具は日本工業規格 K 0094の3.2によって洗浄し、測定対象となるカドミウムの溶出が測定を妨害することのないことが確認されているもの。

（注5）市販のものでもよい。また、イミノ二酢酸キレート樹脂（200-400メッシュ）1 gをポリプロピレン製固相カートリッジ（8 mL容）に充填した、あるいは同等の吸着容量をもつ固相カラムでもよい。ただし、市販のものを用いる場合は、カラムの活性化に使用する溶媒や通液速度が異なるので、取り扱い説明書などに従う。

（注6）2 mol/L 硝酸を加え、わずかに減圧して2 mol/L 硝酸を樹脂に1分程度馴染ませる。その後、ゆっくりと滴下させる。

（注7）0.1 mol/L酢酸アンモニウム溶液は、完全には引き切らず、数mL程度残した状態にしておく。

## 4 操作

- ・ 試料1 L又はその適量（注8）を日本工業規格 K 0102 5.5によって処理する。
- ・ 5.0 mol/L酢酸アンモニウム溶液20 mL又はその適量（注9）を加える。
- ・ アンモニア水でこの溶液をpH5.5に調整した後、この試料をキレート樹脂に加圧又は吸引により流速50～100 mL/分（注10）で流下させる。
- ・ 0.5 mol/L酢酸アンモニウム溶液50 mL、超純水50 mLを順次流下させて、キレート樹脂を洗浄する。
- ・ 受器を固相抽出器具にセットし、2 mol/L 硝酸5 mLを2回、緩やかに通してカドミウムを溶出させる。さらに超純水5 mLを通液して洗浄を行う。
- ・ 得られた液を全量フラスコ20 mLに移し入れ、超純水を加えて20 mLに定容したものを検液とする。

（注8）日本工業規格 K 0102 55.2の操作を行う場合はカドミウムとして0.01～0.2  $\mu$ g、55.3の操作を行う場合はカドミウムとして0.2～40  $\mu$ g、55.4の操作を行う場合はカドミウムとして0.01～10  $\mu$ gを含む量とすること。

（注9）試料の量にあわせ酢酸アンモニウム溶液として約0.1 mol/Lになるよう酢酸アンモニウム溶液を加える。

（注10）固相カラムの場合は10～20 mL/分とする。

- 備考1 この前処理を行った後、カドミウムの測定は、日本工業規格 K 0102 55.2（電気加熱原子吸光法）、55.3（ICP発光分光分析法）又は55.4（ICP質量分析法）により行う。海水等のモリブデンの濃度が、比較的高い試料に対して55.4の操作を行う場合は、酸化モリブデン（MoO<sub>3</sub>）等のスペクトル干渉の程度を確認し、必要に応じて補正する。
- 備考2 この方法における用語の定義その他でこの方法に定めのない事項については、日本工業規格に定めるところによる。

## 参考文献

- 1) 三富潤一 ほか (1998) : 「環境と測定技術」 Vol. 25, No. 1, p28-31
- 2) 伊藤彰英 ほか (1998) : 「分析化学」 Vol. 47, No. 2, p109-117
- 3) 欧陽通 ほか (1999) : 「環境化学」 Vol. 9, No. 2, p347-357
- 4) 李啓 ほか (2000) : 「分析化学」 Vol. 49, No. 7, p529-536
- 5) Tomoki YABUTANI ほか (2001) : 「Analytical Sciences」 Vol. 17, p399-405
- 6) 澄田和歌子 ほか (2002) : 「山口県環境研所報」 第45号, p80-82
- 7) 隅田隆 ほか (2003) : 「分析化学」 Vol. 52, No. 8, p619-626
- 8) 平田静子 ほか (2003) : 「分析化学」 Vol. 52, No. 12, p1091-1104
- 9) 栗山清治 (2004) : 「環境と測定技術」 Vol. 31, No. 5, p37-45
- 10) 山崎正夫 ほか (2005) : 「東京都立産業技術研究所研究報告」 第8号, p11-15
- 11) 坂元秀之 ほか (2006) : 「分析化学」 Vol. 55, No. 2, p133-139
- 12) 中島孝幸 ほか (2007) : 「水環境学会誌」 Vol. 30, No. 1, p45-47
- 13) 放射能医学総合研究所 (2008) : 「放射性核種生物圏移行評価高度化調査」
- 14) 伊藤彰英 ほか (2009) : 「分析化学」 Vol. 58, No. 4, p257-263
- 15) 金華 ほか (2009) : 「分析化学」 Vol. 58, No. 8, p699-706
- 16) 新垣輝生 ほか (2009) : 「分析化学」 Vol. 58, No. 8, p707-714
- 17) 山崎美香 ほか (2009) : 「三重保環研年報」 第11号 (通巻第54号) , p108-116