

## はじめに

最近の環境問題の深刻化により環境分析分野ではさらなる極微量分析の要望が増加し、日に日に、より難しい化学分析が求められるようになってきている。こうした化学分析の結果は環境基準を満たしているか否かの判断の根拠となるほか、環境問題は場所や時間を超えて評価することを求められるため、分析結果の共通化が必要である。また、国際的な計量標準の相互承認の流れの中で、試験所認定制度などにおいても試験結果の共通化が求められている。すなわち、得られた結果である分析値の信頼性の評価が従来にもまして重要であり、標準物質の果たす役割はますます大きくなりつつある。

環境分析用組成標準物質は、環境試料に類似した試料中の成分濃度を認証した標準物質であり、分析法のバリデーションや精度管理に用いられる。通常環境分析で扱う試料は、土壌、底質など複雑なマトリックスを有しており、マトリックス効果や妨害など分析上の問題を生ずる場合が多い。また、分析機器で測定するためには、その前段階として分解・抽出といった試料処理が必要である場合が多く、この前処理段階の操作の良し悪しが結果に大きく影響することがしばしば起こる。組成標準物質を用いることは、このような前処理を含めた分析方法の評価に直接的かつ有効な手段である。

産総研計量標準総合センター（NMIJ）では、標準物質整備計画に従って標準物質の整備を進めているが、環境分野の標準物質の必要性がますます大きくなりつつあることから、環境分析用組成標準物質の開発に取り組むことになり、その最初の標準物質として、「NMIJ CRM 7301-a 海底質（プチルスズ分析用）」の開発を行った。開発は平成12年度より開始されたミレニアムプロジェクト「ダイオキシン類・環境ホルモンの適正管理、無害化の促進」事業において行われ、2002年3月25日開催の産総研計量標準総合センター標準物質認証委員会において認証された。

本報告は、「NMIJ CRM 7301-a 海底質（プチルスズ分析用）」の開発における、候補標準物質の調製、均質性評価、分析法の詳細、認証値の決定方法などの技術的内容を記した技術報告書である。一般の読者にとっては、組成標準物質開発の流れを知る手がかりに、また、本標準物質の利用者にとっては、その技術的背景の理解に役立てていただき、利用の際の参考にしていただければ幸いである。なお、本報告は、本標準物質の認証にあたって提出した技術報告書を加筆修正して作成した。

# 「NMIJ CRM 7301-a 海底質（ブチルスズ分析用）」の開発

## 目 次

### Summary

|  |    |
|--|----|
| 第1章 開発の背景と開発方針   | 1  |
| 1.1 有機スズによる環境汚染と分析法  | 1  |
| 1.2 環境分析用組成標準物質の役割とその開発  | 1  |
| 1.3 有機スズ分析用底質標準物質の開発方針   | 2  |
| 1.3.1 濃度レベルと認証項目の検討  | 2  |
| 1.3.2 値付けに用いる分析方法の選択   | 2  |
| 第2章 開発の概要  | 4  |
| 2.1 試料採取および調製  | 4  |
| 2.2 均質性試験  | 5  |
| 2.3 安定性に関する考察  | 5  |
| 2.4 値付け測定  | 6  |
| 2.4.1 測定の概略  | 6  |
| 2.4.2 標準液の原料の純度評価  | 6  |
| 2.4.3 スパイクの合成  | 6  |
| 2.4.4 その他の試薬類  | 7  |
| 2.4.5 装置および器具  | 8  |
| 2.4.6 乾燥質量の補正  | 8  |
| 2.4.7 分析試料の調製（抽出・誘導体化・クリーンアップ）   | 8  |
| 2.4.8 測定   | 9  |
| 2.4.8.1 同位体希釈 - GC-ICP質量分析法  | 9  |
| 2.4.8.2 同位体希釈 - GC/MS  | 9  |
| 2.5 測定結果および不確かさの見積もり   | 10 |
| 2.5.1 同位体希釈 GC-ICP質量分析法  | 10 |
| 2.5.2 同位体希釈 GC/MS  | 11 |
| 2.6 認証値およびその不確かさの決定  | 11 |
| 2.7 外部機関による測定の実施   | 13 |
| 2.8 参考値  | 13 |
| 第3章 開発した標準物質の評価と国際相互承認   | 14 |
| 3.1 本標準物質の位置づけ   | 14 |
| 3.2 国際相互承認へ向けて   | 14 |
| 補足   | 16 |
| 参考論文   |    |
| Species-specific isotope dilution analysis of mono-,di,and tri-butyltin compounds in sediment using gas chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry with synthesized <sup>118</sup> Sn-enriched butyltins  | 18 |
| Certification of mono-,di,and tributyltin compounds in marine sediment certified reference material by species-specific isotope dilution mass spectrometric analysis using synthesized <sup>118</sup> Sn-labeled butyltins | 26 |

## Summary

This report describes the certification of a marine sediment reference material for butyltins analysis, NMIJ CRM 7301-a (Butyltins in Marine Sediment). This CRM is intended for use in evaluating or validating analytical methods and instruments used for the determination of butyltins in sediments or similar matrices.

The original material of the sediment was collected at a bay near industrial activities in Japan. The sediment material was air-dried, sieved, homogenized, and packaged into 1000 glass bottles. Certification was carried out at NMIJ using two different types of species-specific isotope dilution mass spectrometry: isotope dilution-ethylation-gas chromatography (GC)-inductively coupled plasma mass spectrometry (ICPMS) and isotope dilution-ethylation-gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS). Certified values are given for tributyltin ( $0.044 \pm 0.004$  mg/kg as Sn), dibutyltin ( $0.056 \pm 0.006$  mg/kg as Sn), and monobutyltin ( $0.058 \pm 0.013$  mg/kg as Sn).

This report contains all the results and gives the methods used for certification.

# 第1章 開発の背景と開発方針

## 1.1 有機スズによる環境汚染と分析法

有機スズ化合物とは、Sn-C結合を持つ化合物の総称である。工業的には、ジブチルスズ、ジオクチルスズなどのジアルキルスズ化合物がポリ塩化ビニル（PVC）の安定剤として多く使用されているほか、触媒などとしても使用されてきた。また、トリブチルスズ（TBT）、トリフェニルスズ（TPT）、トリシクロヘキシルスズなどのトリアルキルスズやトリアリルスズは、その生物学的活性から農業用殺菌剤、殺虫剤、防カビ剤、船底防汚塗料などとして広く用いられてきた。

このうち、特に、船底塗料や養殖用の魚網の防汚剤として用いられてきたトリブチルスズやトリフェニルスズについては、毒性影響が養殖カキなど一部の海洋生物に顕在化したことをきっかけに世界的な汚染が指摘され、1980年代に一部の国においてはこれらの物質は規制されることになった。さらに、これらの化合物には巻き貝のインボセックスの誘発などの内分泌攪乱（環境ホルモン）作用が指摘されたことにより、さらに環境ホルモン問題に発展している<sup>1)</sup>。

日本においては、トリブチルスズ化合物の中のピストリブチルスズオキシド（TBTO）が1989年に「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律」（化審法）に基づく第1種特定化学物質に指定され、使用が原則禁止された。また、TBT関連化合物13種とTPT関連化合物7種が第2種特定化学物質に指定されている。このような規制により、国内の環境中の有機スズ濃度は減少したものの、未規制国・地域の存在に伴う汚染も考えられることなどもあり、依然として環境中には残留していることが指摘されている。近年さらにこれらの有機スズ化合物は内分泌攪乱物質として生物に大きな影響を及ぼすことが判明し、その汚染状況の把握はさらに重要である。環境省においては、底質・生物などに関する定期的なモニタリングが行われており、現状に関しては、「トリブチルスズ化合物は、依然として底質での検出率が高く環境中に広範囲に残留しており、その汚染レベルは近年では概ね横ばいである。」<sup>2)</sup>としている。

このように、有機スズによる環境汚染については、世界的な規模で、長期にわたるモニタリングが不可欠である。そのためには、分析データの互換性の確保がより重

要であるということができる。

環境あるいは生物試料中のトリブチルスズをはじめとする有機スズ化合物の分析法にはこれまで種々の方法が報告されてきた。分離方法として水素化物気化導入法、ガスクロマトグラフ法および液体クロマトグラフ法などが用いられてきた。このうちガスクロマトグラフ法は塩化物、水素化物、テトラアルキル化合物などの誘導体を生成させることが必要であり、生成させる誘導体に応じて電子捕獲検出器（ECD）、炎光光度検出器（FPD）および質量分析計（MS）などを用いて検出される。最近ではガスクロマトグラフ-誘導結合プラズマ質量分析装置が開発され、高感度かつ選択性の高い検出法として注目を集めている。

公定分析法に準じるものとしては、環境省の定めた「外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル」があり、その中では底質・生物試料中のトリブチルスズ、トリフェニルスズを酸性条件下で有機溶媒を用いて抽出し、グリニヤール試薬を用いてプロピル化した後、GC-FPDあるいはGC/MSで測定する方法が採用されている。

## 1.2 環境分析用組成標準物質の役割とその開発

環境試料中の微量汚染物質の分析は、まず試料が土壌、底質など複雑なマトリックスを有していることから、マトリックス効果や妨害あるいは分析対象物質とマトリックスとの相互作用により生ずる分析上の問題などが多々見られる。また、分析機器で測定するためには、その前段階として分解・抽出といった試料処理が必要である場合が多く、この前処理段階の操作の良し悪しが結果に大きく影響することがしばしば起こる。このような前処理を含めた分析方法の評価に直接的かつ有効な手段は、組成標準物質を用いることである。環境分析用組成標準物質は、環境試料に類似した試料中の成分濃度を認証した標準物質であり、分析法のバリデーションや精度管理に用いられる。

環境試料との類似性の観点から、環境組成標準物質は自然の試料から調製することが多く、またそのことが望まれる。このようにして調製された環境組成標準物質には調製値といったものはないため、分析値をもとに認証値を決定していく必要がある。従って、いかに正確な分

析方法を用いるかが開発要素の一つである。こうした点から、可能な限り国際度量衡委員会/物質質量諮問委員会（CIPM/CCQM）で定義されたSI単位に直接結びつけることのできる一次標準測定法<sup>3)</sup>を用いることが理想的である。産総研計量標準総合センター（NMIJ）では、一次標準測定法である同位体希釈質量分析法を中心とした環境試料の信頼性の高い値付け方法の確立を目指している。これらは、また、計量標準の国際相互承認（Global MRA）に対応するため、可能な限りCCQM国際比較でその国際整合性を確認することにしている。

ただし、一次標準測定法といえども十分な分析技術と検討が必要であり、特に極微量成分を分析する環境分析では、分解、抽出といった試料前処理段階の不完全さや、汚染などの問題があるため、完全という保証はない。すなわち、値の信頼性といった観点からは、複数の方法を用いることが必要と考えられる。従って、NMIJでの認証に当たっては、複数の方法での測定を用いることを基本にしている。すなわち、認証値を決定する方法としては、（1）NMIJによる複数（条件）の一次標準測定法によるもの、（2）NMIJによる一次標準測定法を基本とし、NMIJでの精確さが確認された他の方法を確認方法として用いたもの、（3）精確さが確認された複数の方法（NMIJでの測定を必ず含む）によるものの3つのいずれかによることにしている。

### 1.3 有機スズ分析用底質標準物質の開発方針

以上の有機スズによる環境汚染状況や標準物質開発についての要望などを考慮し、ブチルスズ分析用底質標準物質の開発を計画した。開発に当たっては、国際相互承認のスキームに合致したものとすることとし、開発に先立ち、認証項目や開発する標準物質の濃度レベル、値付けに用いる測定方法について検討を行った。

#### 1.3.1 濃度レベルと認証項目の検討

平成13年度に環境省が実施した環境モニタリングの報告<sup>2)</sup>によれば、トリブチルスズ化合物の底質からの検出範囲は0.8~211 ng/g-dry（TBTO換算値）、検出頻度は102検体中83検体、地点別検出頻度は34地点中30地点であったとされている。実際の分析においては、濃度レベルによって分析操作上の問題点が多いため、標準物質の開発にあたっては、現在の日本の環境レベルと近い濃度レベルの試料を調製することを目標とした。すなわち、原料には、特に汚染源のある場所などではなく通常の場所で採取した底質を用いることにした。

次に認証項目については、通常の分析においては、トリブチルスズ（TBT）のみではなく、その分解生成物であるジブチルスズ（DBT）、モノブチルスズ（MBT）についても同時に分析される事が多く、実際、環境中で分解がおこることから、有機スズの挙動の解明といった観点からはこれらの分解生成物を同時に測定することは望ましい。従って、今回の標準物質開発においても3種類のブチルスズを認証することとした。特に、モノブチルスズについては、底質マトリックスからの抽出などが比較的難しく、例えばNRC（National Research Council of Canada, カナダ）が認証しているPACS-2においては、過去に何度か認証値が改訂されたという経緯がある。すなわち、分析が比較的難しく、世界的に見てもモノブチルスズの含有率まで認証した組成標準物質は少数であるため、これらの濃度を認証することには意義があると考えた。

#### 1.3.2 値付けに用いる分析方法の選択

ブチルスズ化合物は、有機金属化合物であることもあり、分析のアプローチとしては一般の有機化合物と同様なものやスズに着目したものなど種々のものが考えられる。値付けに関しては、上述の通り、同位体希釈質量分析法を可能な限り採用するといった観点から、有機スズ化合物をマトリックスから分離（抽出）した後、化合物ごとに分離し、質量分析法で測定する方法が基本的な分析プロセスである。

化合物ごとの分離法としては、ガスクロマトグラフ（GC）法および液体クロマトグラフ（HPLC）法があるが、HPLC法ではブチルスズ化合物は一般に吸着性が高く、特に、極性の高いモノブチルスズ化合物については、溶出が難しい。これに対して、GC法では、揮発性化合物に変換するための誘導体化が必要であるものの、誘導体化は比較的単純であり、いったん誘導体化してしまえば、GCカラムでの分離は容易である。従って、3種類のブチルスズ化合物を同時に検出するといった観点からも、GC法を分離法として採用した。

GC分析のための誘導体としては、安定性の高いアルキル化を採用することにした。反応にはグリニヤール試薬を用いる方法とテトラエチルホウ酸ナトリウムを用いる方法があるが、水や極性溶媒があると反応がうまく進行しないグリニヤール試薬を用いる方法は操作が煩雑なため、より簡便なテトラエチルホウ酸ナトリウムを用いるエチル化を行うことにした<sup>4)</sup>。

検出に用いる質量分析法として、有機化合物の質量分析法としてはEI（電子衝撃）イオン化質量分析法が一般

的である。ただし、テトラアルキルスズ化合物のEI質量分析では、アルキル基の脱離がおりやすく、高質量数のイオンが生成しにくいいため、共存する有機化合物の妨害に注意が必要と考えられた。一方、金属元素の高感度な質量分析が可能なICP（誘導結合プラズマ）質量分析法においては、近年はGCとのインターフェースも市販されるようになり、GC/ICP質量分析法も身近に使用できるようになった。GC/ICP質量分析法では、スズイオンを選択的に検出できるため、ブチルスズについても高感度で選択性の高い検出が可能である<sup>4)</sup>。従って、GC/ICPMSシステムを導入し、ブチルスズの同位体希釈質量分析法を試みることにした。認証値の決定にあたっては、2種類以上の方法を用いて測定のパイアスを検出するという観点から、GC分離後の検出法としてICP（誘導結合プラズマ）質量分析法と通常のEI（電子衝撃）イオン化質量分析法の2種類の方法を用いることにし、詳細な分析条件の検討を行った。

さらに、同位体希釈法を実現するために必須の条件として、スパイクとする安定同位体標識ブチルスズ化合物が必要である。標識に用いる安定同位体としては、炭素（<sup>13</sup>C）、重水素（D）、スズ（質量数112から124まで10種類の安定同位体が存在し、天然では120が一番存在割合が大きい）の可能性が考えられる。今回、スズイオンを検出するICP質量分析法で測定するため、スズが同位体標識されたブチルスズが必須であるが、このような化合物は市販されていない。そこで、<sup>118</sup>Snが濃縮されたスズ金属からモノ、ジ、トリブチルスズ化合物の合成を行い、スパイクとして用いることにした。

スズ同位体を用いる同位体希釈質量ICP分析法および同位体希釈質量分析法によるブチルスズの定量は、高感度で精確な分析法として注目されるもので、欧州の大学などいくつかの機関でも同じ頃にちょうど取り組みがなされはじめたところであり<sup>5)7)</sup>、NMIJでも特徴のある分析法の開発が可能であると考えた。また、ブチルスズ分析用底質標準物質については、すでにいくつか開発例があるが、このような一次標準測定法のみを用いる値付けのアプローチは世界的に見ても例が無く、トレーサビリティを確保した、質の高い標準物質の開発が可能であると結論づけられた。

#### 第1章の参考文献

- 1) 堀口敏宏、ぶんせき1997, 70 (1997)。
- 2) 平成14年度(2002年度)版「化学物質と環境」 環境省 総合環境政策局 環境保健部 環境安全課 (平成15年3月)。
- 3) M. J. T. Milton, and T. J. Quinn, *Metrologia*, 38, 289 (2001)。
- 4) 田尾博明 分析化学 46, 239 (1997)。
- 5) J. Ruiz Encinar, J. I. Garcia Alonso, and A. Sanz-Medel, *J. Anal. At. Spectrom.*, 15, 1233 (2000)。
- 6) J. Ruiz Encinar, M. I. Monterde Villar, V. Gotor Santamaria, J. I. Garcia Alonso, and A. Sanz-Medel, *Anal. Chem.*, 73, 3174 (2001)。
- 7) C. Bancon-Montigny, P Maxwell, L. Yang, Z. Mester, and R. E. Sturgeon, *Anal. Chem.*, 74, 5606 (2002)。

## 第2章 開発の概要

### 2.1 試料採取および調製

試料採取場所は、九州北部地方の都市部の工業地帯に位置する湾内である。過去のモニタリング調査などによれば、この湾内ではあるレベルでのトリブチルスズが検出され続けていた。採取地点としては、湾内の航路に近い場所を選んだ。なお、底質の採取および調製・予備分析は環境テクノス株式会社にて行われた。

ダイバーが潜水し、スコップで採取し、船上に引き上げた底質は、環境テクノスひびき研究所に輸送し、重力脱水ののち、28℃の室内で風乾した。乾燥した底質試料は、ふるいをかけながら粗粉碎し、2 mmでの篩下をアルミナ製のボールミルで粉碎し、SUS製104 μmのふるいを通してものを製品とした。篩上のもも、250 μmのふるいを通してのものについては再度ボールミルにかけた。さらに、攪拌翼式パン型混合機（パワーフルミキサー）で1.5時間混合し、4検体についての粒度分布測定を行い、混合の度合いを確認した（粒度測定データについてはFig. 1参照）。混合を終了した試料については、混合機より移した容器の各部分から10試料をサンプリングし、含水率、強熱減量、およびMn, Ni, Cu, Zn濃度測定をICP発光分析法にて行い、RSD 3%以下であることを確認した（Table 1参照）。その後、約60 gずつ褐色ガ

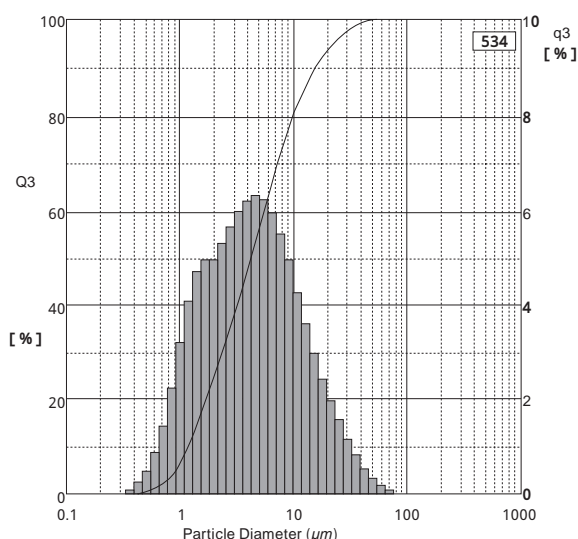


Fig. 1 Particle size distribution of the candidate reference material.

ラス瓶に瓶詰めし、産総研（当時は物質研）に納品された。

納品後、試料は -30℃ のフリーザーにて保管している。滅菌操作による有機スズ化合物の分解が懸念されるため<sup>1)</sup>、本試料は滅菌操作を行っていない。産総研においてICP発光分析法を用いて行った主成分の分析結果をTable 2に示す。

Table 1 Results of preliminary homogeneity study for the candidate reference material

|        | Mn    | Ni    | Cu    | Zn    | Moisture content | Ignition loss |
|--------|-------|-------|-------|-------|------------------|---------------|
|        | mg/kg | mg/kg | mg/kg | mg/kg | %                | %             |
| 1      | 761   | 30.3  | 133   | 1050  | 4.04             | 13.4          |
| 2      | 772   | 30.4  | 134   | 1050  | 4.05             | 14.0          |
| 3      | 749   | 30.8  | 125   | 1070  | 4.03             | 14.2          |
| 4      | 763   | 30.4  | 135   | 1060  | 4.05             | 14.0          |
| 5      | 753   | 30.6  | 134   | 1080  | 4.12             | 13.6          |
| 6      | 770   | 30.3  | 134   | 1050  | 4.09             | 13.8          |
| 7      | 768   | 29.6  | 129   | 1080  | 4.05             | 14.0          |
| 8      | 731   | 30.2  | 128   | 1030  | 4.13             | 14.0          |
| 9      | 753   | 30.4  | 132   | 1070  | 4.01             | 14.1          |
| 10     | 768   | 30.7  | 136   | 1080  | 4.08             | 13.4          |
| Mean   | 759   | 30.4  | 132   | 1062  | 4.06             | 13.8          |
| SD     | 12.7  | 0.33  | 3.4   | 16.9  | 0.039            | 0.27          |
| CV (%) | 1.7   | 1.1   | 2.6   | 1.6   | 1.0              | 1.9           |

SD : Standard deviation

CV : Coefficient of variation

Table 2 Major elements in the candidate reference material

| Element | Mass fraction (%) |
|---------|-------------------|
| Na      | 2.0               |
| Mg      | 1.4               |
| Al      | 7.65              |
| K       | 1.5               |
| Ca      | 3.5               |
| Fe      | 5.6               |
| Ti      | 0.43              |

2.2 均質性試験

均質性の観点から1回の分析に用いる試料量は0.5 g以上を推奨することにした。ボトル間の均質性は、調製された1000本から11本を選び、それらから4~8個の試料をマイクロ波抽出し、モノブチルスズ(MBT)、ジブチルスズ(DBT)、トリブチルスズ(TBT)の3種類のブチルスズ化合物濃度を同位体希釈-GC(ガスクロマトグラフィー)-ICP(誘導結合プラズマ)質量分析法(値付けに用いた方法の一つ)により測定した。得られた結果を分散分析した結果をTable 3に示す。これより、ボトル間の変動は、ボトル間平均平方:  $MS_{among}$ 、ボトル内(残差)平均平方:  $MS_{within}$ 、ボトル内繰り返し数:  $n$ を用いて

$$s_{bb} = \sqrt{\frac{MS_{among} \quad MS_{within}}{n}}$$

で表すことができる。

ボトル内変動は、測定のばらつきの範囲内であった。また、ボトル間有意とされたもの(MBT)も、ボトル間差は後述の値付けの不確かさと比べて特に大きくないため、実用上問題のないレベルと判断した。均質性の試験結果としては得られたボトル間変動( $s_{bb}$ )を均質性に由来する不確かさとして加えることにした。測定のばらつきが大きく、この試験からボトル間変動が得られな

ったDBT及びTBTは、

$$u_{bb} = \sqrt{\frac{MS_{within}}{n} \sqrt{\frac{2}{MS_{within}}}}$$

を均質性の不確かさとした<sup>2)</sup>。(ここで、 $MS_{within}$ はボトル内変動の自由度。)

Table 4に、それぞれの化合物について得られた $s_{bb}$ と $u_{bb}$ の値を示した。

Table 4 Results of homogeneity study ( $s_{bb}$ ,  $u_{bb}$ : see in the text.)

| Compound | $s_{bb}$ | $u_{bb}$ |
|----------|----------|----------|
| MBT      | 7.13%    | 1.31%    |
| DBT      | -        | 2.19%    |
| TBT      | -        | 1.44%    |

2.3 安定性に関する考察

有機スズ分析用底質標準物質の安定性については、欧州BCR(Community Bureau of Reference(European Commission(Belgium)))標準物質について詳細に検討されている<sup>3)</sup>。その結果、室温保存では分解がおこることが指摘されており、長期の保存温度は-20以下が望ましいとされている。そこで、本標準物質についても現在-30で保管しており、頒布後も保存温度は-20

Table 3 Analysis of variance (ANOVA) tables for butyltins in homogeneity study

| MBT             |                    |                |             |       |         |
|-----------------|--------------------|----------------|-------------|-------|---------|
|                 | Degrees of Freedom | Sum of Squares | Mean Square | F     | p-value |
| Between bottles | 6                  | 0.001          | 0.0001002   | 8.922 | <.0001  |
| Within bottles  | 28                 | 0.0003145      | 0.00001123  |       |         |
| DBT             |                    |                |             |       |         |
|                 | Degrees of Freedom | Sum of Squares | Mean Square | F     | p-value |
| Between bottles | 9                  | 0.00001957     | 0.00002174  | 0.921 | 0.5192  |
| Within bottles  | 34                 | 0.001          | 0.0000236   |       |         |
| TBT             |                    |                |             |       |         |
|                 | Degrees of Freedom | Sum of Squares | Mean Square | F     | p-value |
| Between bottles | 10                 | 0.00007505     | 0.000007505 | 0.928 | 0.5172  |
| Within bottles  | 43                 | 0.0003476      | 0.000008085 |       |         |



(通常の冷凍庫)を指定する。この温度では、安定性について問題はないとされている。なお、認証後に行った、1年後の安定性評価においては、特に問題は見られなかった。認証の有効期限の間は1年1回の確認を行っていく。

## 2.4 値付け測定

### 2.4.1 測定の概略

認証値を決定する方法としては、NMIJにおける複数条件の一次標準測定法によった。具体的には、合成したブチルスズ<sup>118</sup>Sn標識化合物(モノブチル、ジブチル、トリブチル化合物の混合物)を用いて、同位体希釈-GC-ICP質量分析法および同位体希釈-GC/MS(ガスクロマトグラフィー/質量分析法)の2つの一次標準測定法を開発し、認証値決定に用いた。

### 2.4.2 標準液の原料の純度評価

同位体希釈質量分析法は一次標準測定法であるが、現実にはスパイクとして用いる同位体化合物の純度を正確に決定することが困難であるため、濃度既知の標準液を使用する。現在、トレーサビリティの確保されたブチルスズ化合物の認証標準物質や標準液は入手できないため、各ブチルスズの標準液調製に用いた市販試薬(純物質)の純度評価を行った。

今回用いた標準液調製用の試薬は、三塩化モノブチルスズ(MBTCl<sub>3</sub>, Aldrich)、二塩化ジブチルスズ(DBTCl<sub>2</sub>, 和光純薬)、塩化トリブチルスズ(TBTCl, 和光純薬)である。

測定法としては、国際比較CCQM-P20a(トリブチルスズの純度)に用いた方法の中から液体クロマトグラフィー-ICP質量分析法によるブチルスズ化合物のスズ換算による定量、GC-ICP質量分析法による無機及び有機スズ不純物含有率測定、カールフィッシャー法(電量滴定法)による水分量の測定、GC-FID(水素イオン炎検出器)による有機不純物含有率測定をそれぞれ検討した。このうち、液体クロマトグラフィー-ICP質量分析法によるブチルスズ化合物の定量値は、装置状態の不調等により再現性の良い結果が得られなかったため、今回の評価には使用しなかった。

三塩化モノブチルスズ(MBTCl<sub>3</sub>, Aldrich)及び二塩化ジブチルスズ(DBTCl<sub>2</sub>, 和光純薬)は、使用ロットのメーカー検査成績(GC-FIDによる)が、ともに純度として99.9%であったが、検査内容に水分が含まれていない。そこで、カールフィッシャー法による水分量の測

定を行った結果、それぞれ、MBTCl<sub>3</sub>: 0.450 ± 0.019% (n = 5)、DBTCl<sub>2</sub>: 0.132 ± 0.011%であった。また、GC-ICP質量分析法による無機及び有機スズ不純物含有率測定については、クロマトグラムをFig. 2に示したが、MBTCl<sub>3</sub>、DBTCl<sub>2</sub>ともにスズ不純物の含有率は<0.1%であった。以上より、GCによって検出できない不純物の存在を考えても、MBTCl<sub>3</sub>、DBTCl<sub>2</sub>とも純度を>99%として問題ないと考えられた。そこで、純度値としては、99.5 ± 0.5%とした。

塩化トリブチルスズ(TBTCl, 和光純薬)は、同様に検査成績が97.8%であったが、検査内容に水分が含まれていない。そこで、カールフィッシャー法による水分量の測定を行った結果、0.0283 ± 0.0012%であり、さらにGC-FIDで有機不純物含有率測定を行った結果、0.03374 ± 0.0012% (n = 6)であった。また、GC-ICP質量分析法による無機及び有機スズ不純物含有率測定では、Fig. 2のクロマトグラムに示すとおり、いくつかの不純物ピークが検出され、その総量は2.2%と計算された。以上の結果より、TBTClの純度を97.5 ± 0.5%とした。なお、TBTClについては、精製を試みたが、有意な純度向上はできなかった。

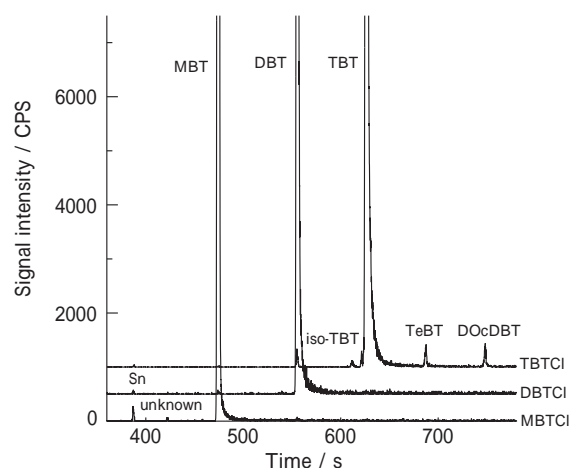


Fig. 2 GC/ICPMS chromatograms of <sup>118</sup>Sn obtained for the butyltin chloride reagents.

The chromatograms for DBTCl and TBTCl were shifted 500 cps and 1000 cps for clarity, respectively.

### 2.4.3 スパイクの合成

一次標準測定法である同位体希釈法を用いるためには、スパイクとする安定同位体標識ブチルスズ化合物が必要である。今回、スズイオンを検出するICP質量分析法で測定するため、スズが同位体標識されたブチルスズ化合物が必須であるが、このような化合物は市販されて

いないため、 $^{118}\text{Sn}$ が濃縮された金属スズからモノ、ジ、トリブチルスズ化合物の合成を行った。原料とした安定同位体 $^{118}\text{Sn}$ が濃縮されたスズ金属はTrace Science社 (Ontario, Canada) より入手したものをを使用した。合成の概略を以下に述べると共にFig. 3 にまとめる。

$^{118}\text{Sn}$ 濃縮同位体ラベル化ブチルスズ (MBT、DBT、TBT) は文献<sup>4)5)</sup>で述べられている方法をもとに、MBT、DBT、TBTの混合物が得られる条件で合成した。50 mL の二口フラスコ中、アルゴン雰囲気下で、金属スズ (0.501 g、4.25 mmol)、金属リチウム (0.0046 g、0.66 mmol)、ヨウ化 $n$ -ブチル (1.786 g、9.60 mmol)、および  $n$ -ブタノール (0.086 g、1.16 mmol) を混合する。反応混合物を 8 時間還流 (165 °C) させその後数時間放置して室温まで冷却させる。この混合物にペンタンを加える過し、未反応スズ金属と不溶の固体を除く。このろ液のペンタンを減圧下で蒸発させると、オレンジ色の油状液体が得られる。

この油状液体をフッ化カリウムのエタノール水溶液で処理すると、有機スズ化合物のフッ化塩が沈殿する。粗生成物は黄色の固体であるが、ろ過で生成物を回収し、五酸化リン上<sup>55</sup> で乾燥させると、白色もしくは淡黄色の固体が得られる。

得られたフッ化塩を10 mLのアルミ箔で遮光したフラスコに移し、窒素雰囲気下で濃塩酸を滴下し、24時間放置する。ジエチルエーテルで抽出し、エーテル層を取り出した後、無水硫酸ナトリウムで乾燥させる。ジエチルエーテルを減圧下で蒸発させると、 $^{118}\text{Sn}$ 濃縮同位体でラベル化されたMBT、DBT、TBTが混合物の状態で見られる。

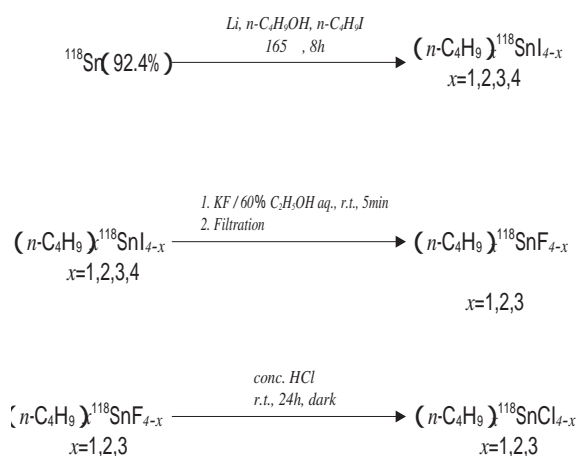


Fig. 3 Scheme for synthesis of  $^{118}\text{Sn}$ -enriched butyltin compounds.<sup>4)5)</sup>

得られた $^{118}\text{Sn}$ 濃縮ブチルスズ混合物は、誘導体化 - GC-ICP質量分析法を用いて評価した。Fig. 4 に混合物のクロマトグラムを示す。MBT:DBT:TBTの割合は7:10:5と計算された。無機スズの含有量は1%以下であった。それぞれの化合物の同位体比 ( $^{120}\text{Sn} / ^{118}\text{Sn}$ ) は0.0623 ± 0.00084 (MBT)、0.06055 ± 0.00083 (DBT)、0.05960 ± 0.00078 (TBT) であった。

#### 2.4.4 その他の試薬類

GC-ICP質量分析法における質量差別効果補正用の内標準として、塩化トリプロピルスズ (TPrTCl, 和光純薬) を用いた。

溶液調製及び前処理等に使用した試薬は、塩酸は和光純薬工業製有害金属測定用グレードを、トルエンは関東化学製残留農薬-PCB分析用300倍濃縮グレード、ヘキサンは関東化学製残留農薬-PCB分析用3000倍濃縮グレード、メタノールは関東化学製HPLC用グレードをそれぞれ用いた。その他の試薬については、特級グレードの試薬を用いた。試料溶液の希釈、容器の洗浄等に用いた超純水は、ミリポア社製milli-Q製造装置にて製造したものをを使用した。

用いた測定方法の条件検討および妥当性確認のために、ブチルスズについて認証値を有する既存の認証標準物質であるPACS-2 (NRC (National Research Council of Canada, カナダ)) とBCR-462および646 (IRMM (Institute for Reference Materials and Measurements, EU)) を用いた。

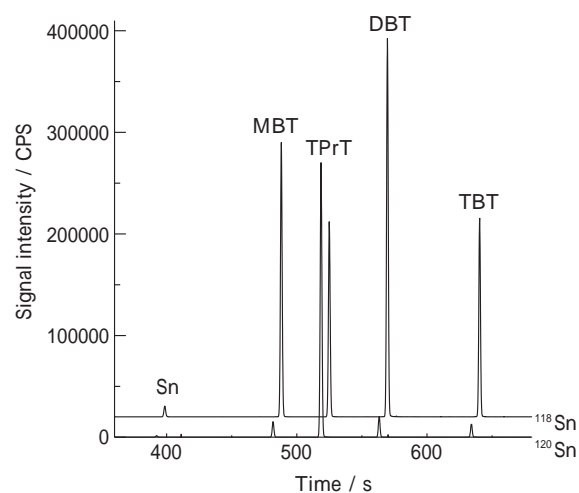


Fig. 4 GC/ICPMS chromatograms of  $^{118}\text{Sn}$  and  $^{120}\text{Sn}$  obtained for the  $^{118}\text{Sn}$ -enriched butyltins mixture. (TPrT: internal standard) The chromatogram of  $^{118}\text{Sn}$  was shifted 7s and 20000 cps for clarity.

#### 2.4.5 装置および器具

本実験で用いた測定装置は、以下のとおりである。

ガスクロマトグラフ質量分析（GC/MS）装置：  
Agilent 6890GC/5983MSD

ガスクロマトグラフ誘導結合プラズマ（ICP）質量分析装置：Agilent 6890GCとHP4500（ICPMS）を専用インターフェースで接続したもの

器具は、すべてガラス製もしくはフッ素樹脂製のものを用いた。使用器具は、弱アルカリ洗剤で超音波洗浄後、弱アルカリ溶液に浸した。超純水で十分洗浄後、クリーンデシケーター内で乾燥させ、使用した。

#### 2.4.6 乾燥質量の補正

認証値は、乾燥質量あたりの成分濃度で表示するため、乾燥質量を求めるための試料の乾燥方法についての検討を行った。本実験に先立ち、乾燥温度110 °Cでの恒量時間を検討した結果、約5時間でほぼ恒量に達することが確認できた。

乾燥質量補正係数を求めるため、分解操作開始と同時に、試料約1gを秤量瓶に分取し乾燥機にて乾燥させ、水分減量を求めた。上記の結果を踏まえ温度は110 °C、乾燥時間を6時間とした。値付け測定時の試料の乾燥補正係数は、非常に安定しており、各ボトル間で0.9594 ± 0.0013 (n=11)であった。

#### 2.4.7 分析試料の調製（抽出・誘導体化・クリーンアップ）

同位体希釈法を用いても、もし抽出が不完全であれば結果にバイアスを生じる。底質からのブチルスズの抽出においては、特に、モノブチルスズ（MBT）については抽出の困難さが報告されている。そこで、抽出法としては一般に抽出効率の高いマイクロウェーブ抽出法を採用し、抽出条件は慎重に決定した。トロポロンの添加が、MBTの抽出には有効であった。また、マイクロウェーブ抽出法では、抽出条件によっては、例えばジブチルスズ（DBT）からブチル基の脱離によりモノブチルスズ（MBT）を生成する可能性が指摘されている。そこで、よりマイルドな振とう抽出法（酢酸 - トルエン - トロポロン）を併せて行い、マイクロウェーブ抽出法によるMBTの測定結果と有意差が無いことを確認した。

本実験で行った前処理（抽出・誘導体化・クリーンアップ）操作概略を、Fig. 5に示すとともに、以下にまとめる。

マイクロウェーブ抽出装置はMars X（CEM, USA）を用いた。使用した溶媒は、0.1%トロポロン含有トルエ

ン及び、（1+1）酢酸である。試料約0.4~0.5gに、スパイク溶液を添加、15分放置する。（1+1）酢酸10mLを添加後、超音波浴槽に1分かける。0.1%トロポロン含有トルエン10mLを添加、NaCl 2gを加え、マイクロウェーブ照射を行った。照射条件は、ramp. Temp.（120 °C 10分昇温、10分ホールド）である。照射後、有機層をテフロン遠沈管に分取した。

この溶液を酢酸-アンモニウム緩衝溶液でpH 5に調整し、5%テトラエチルホウ酸ナトリウムを加え、エチル誘導体化を行った。有機層を分取後、硫酸ナトリウムによる脱水を行い、これをGC-ICP質量分析法の測定試料としたGC/MS測定では、さらにクリーンアップと濃縮操作を行った。すなわち、窒素を穏やかに吹き付け2mL程度まで濃縮した液を、あらかじめヘキサン10mLを流してコンディショニングした試料前処理用カートリッジ Presep-C Florisil（和光純薬製）に流し、流出液を共栓沈でん管に回収した。更にカートリッジに5%（v/v）ジエチルエーテル含有ヘキサン6mLを流し、回収した。この溶出液に窒素ガスを穏やかに吹き付け0.2mLまで濃縮し、GC/MS測定用試料とした。

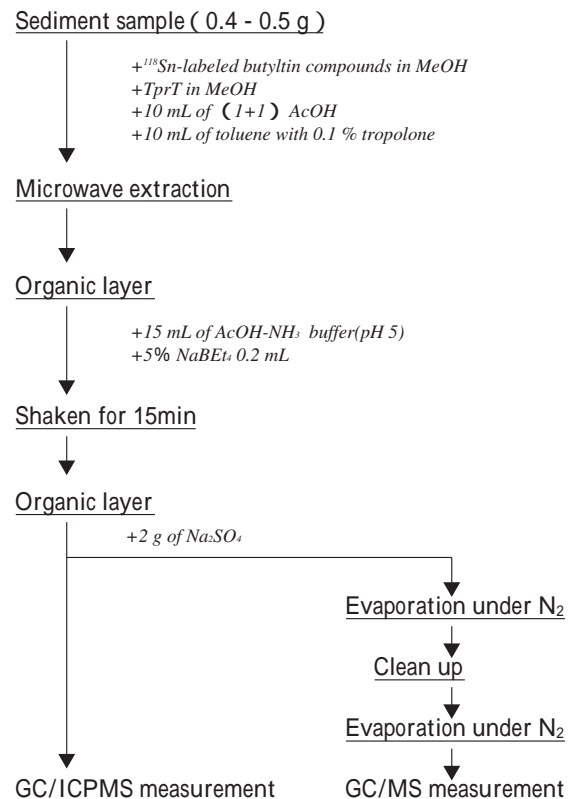


Fig. 5 Analytical procedure for determination of butyltins in sediment.

2.4.8 測定

2.4.8.1 同位体希釈 - GC-ICP質量分析法

GC-ICP質量分析装置の測定条件をTable 5 にまとめた。測定は、 $m/z$  118と120で行った。本底質試料の測定の際に得られたクロマトグラムをFig. 6 に示す。2つのクロマトグラムのそれぞれの化合物のピーク面積から同位体比測定値を求めた。

測定結果は以下の式(1)により算出した。質量差別補正係数は、測定溶液にあらかじめ添加しておいたTPrTの $^{120}\text{Sn}/^{118}\text{Sn}$ より算出し、測定ごとに補正係数をかけることにした。この補正方法により、より正確な補正が可能であった。

$$C_x = \left[ C_z \cdot E \cdot \frac{m_y}{w \cdot m_x} \cdot \frac{m_z}{m'_y} \cdot \frac{K_y \cdot R_y}{(K_b \cdot R_b)n} \cdot \frac{K_y \cdot R_y}{(K_b \cdot R_b)n} \cdot \frac{R_z}{K_y \cdot R_y \cdot (K_b \cdot R_b)n} \right] B \quad (1)$$

$C_x$ : 試料中濃度 (mol/g)

$C_z$ : 標準溶液濃度 (mol/g)

$m_x$ : 試料量 (g)

$m_y$ : 同位体希釈用スパイク量 (g)

$m'_y$ : 逆同位体希釈用スパイク量 (g)

$m_z$ : 標準溶液量 (g)

$R_b$ : 試料スパイク混合溶液中同位体比測定値

$R_b'$ : スパイク-標準溶液中同位体比測定値

$R_x$ : 試料溶液中同位体比

$R_y$ : スパイク溶液中同位体比測定値

$R_z$ : 標準溶液中同位体比

Table 5 Instrumental composition and operating conditions of GC/ICPMS

|                                 |  |
|---------------------------------|--|
| <i>Gas Chromatograph</i> HP6890 |  |
| Column                          | HP-1 (30 m x 0.32 mm i.d. 0.25 μm film thickness)      |
| Injection mode                  | Splitless  |
| Injection port temp.            | 260  |
| Sample volume                   | 1 μL   |
| Column flow                     | He: 1.0 mL/min   |
| Oven program                    | 70 (1 min) 190 (10 /min)<br>270 (15 /min) hold (4 min) |
| <i>GC-ICP interface</i>         |  |
| Transfer-line temp.             | 250  |
| <i>ICP-MS</i> HP4500            |  |
| Rf power                        | 1300 W   |
| Plasma gas flow rate            | Ar 15 L/min  |
| Auxiliary gas flow rate         | Ar 1.0 L/min   |
| Makeup gas flow rate            | Ar 0.89 L/min  |
| Sampling depth                  | 5.5 mm   |
| Measured amu                    | 118, 120   |
| Dwell time                      | 50 ms  |

$K_b, K_b'$  及び  $K_y$ : 各同位体比測定値に対する質量差別効果補正係数

$w$ : 乾重量補正係数

$E$ : 抽出の不確かさ補正項

$B$ : 前処理操作の空試験値 (g/g)

$n$ : 繰り返し測定回数

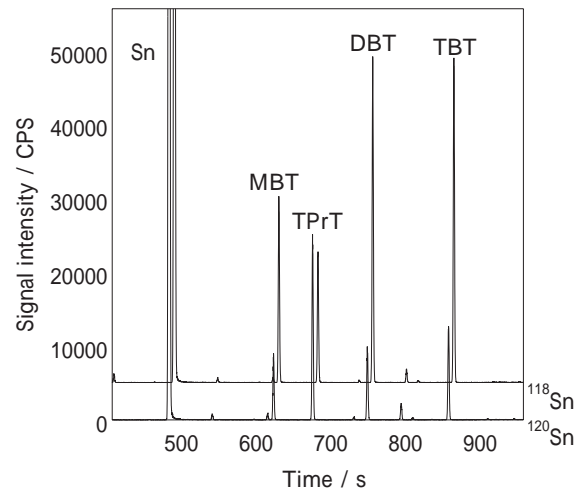


Fig. 6 GC/ICPMS chromatograms of  $^{118}\text{Sn}$  and  $^{120}\text{Sn}$  obtained for the sediment sample spiked with  $^{118}\text{Sn}$ -enriched butyltin mixture. (TPrT: internal standard) The chromatogram of  $^{118}\text{Sn}$  was shifted 7s and 5000 cps for clarity.

2.4.8.2 同位体希釈 - GC/MS

GC/MS装置の測定条件をTable 6 にまとめた。本底質試料の測定の際に得られたクロマトグラムをFig. 7 に示す。2つの質量数でのクロマトグラムのそれぞれの化合

Table 6 Instrumental composition and operating conditions of GC/MS

|                                 |  |
|---------------------------------|--|
| <i>Gas Chromatograph</i> HP6890 |  |
| Column                          | HP-5 (30 m x 0.32 mm i.d. 0.25 μm film thickness)              |
| Injection mode                  | Splitless  |
| Injection port temp.            | 260  |
| Sample volume                   | 1 μL   |
| Column flow                     | He: 1.0 mL/min   |
| Oven program                    | 70 (2 min) 280 (10 /min)<br>hold (2 min)                       |
| <i>GC/MS interface</i>          |  |
| Interface temp.                 | 280  |
| <i>MS</i> 5973MSD               |  |
| Ion source temp.                | 230  |
| Measured mass                   | MBT $m/z$ 233, 235<br>DBT $m/z$ 261, 263<br>TBT $m/z$ 261, 263 |

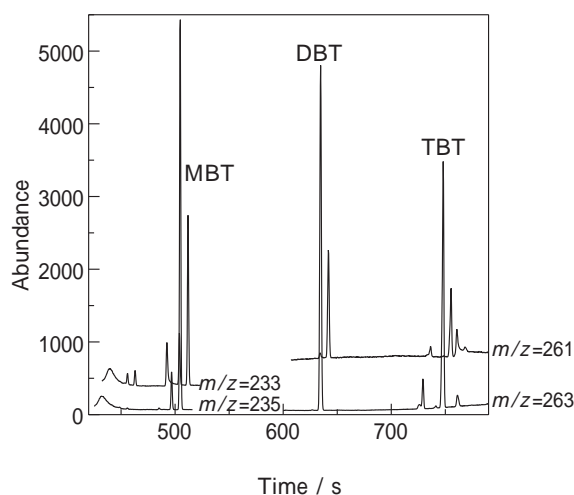


Fig. 7 GC/MS chromatograms of each measured mass obtained for the sediment sample spiked with  $^{118}\text{Sn}$ -enriched butyltin mixture. The chromatogram of  $^{118}\text{Sn}$  was shifted 7s and 500 of abundance for clarity.

物のピーク面積から、同位体比測定値を求めた。

結果の算出は、以下のように行った。標準液とスパイク溶液の混合比 ( $RW$ ) 既知の溶液 (混合比  $RW_H$ ,  $RW_L$ ) について、測定された同位体比 ( $RI$ ) がそれぞれ  $RI_H$ ,  $RI_L$  であったとする。このとき、測定比が  $RI$  である試料の混合比  $Rw$  は、 $RW$  と  $RI$  の関係が直線であるとして、

$$Rw = (RI - RI_L) \times (RW_H - RW_L) / (RI_H - RI_L) + RW_L \quad (2)$$

である。 $RW$  の範囲をせまくすることで、 $RW$  と  $RI$  の直線関係は成立すると考えられる。

求める試料中濃度  $C$  は、 $M^*$  を同位体の量、 $M$  をはじめにはかりとった試料の質量とすると、

$$C = M^* / M / Rw \quad (3)$$

で求まる。

## 2.5 測定結果および不確かさの見積もり

### 2.5.1 同位体希釈 - GC-ICP質量分析法

測定結果は上記の式 (1) により算出したため、この式をもとに、各項の不確かさを見積もった。なお、2つの測定方法 (GC-ICP質量分析法およびGC/MS) で同一の試薬を用いた標準液を使用しているため、標準液濃度の不確かさは認証値算出の際に合成することにし、ここでは入れていない。抽出の不確かさの補正項  $E$  の値 (抽出率) は、1 とし、標準不確かさ  $u(E)$  は、同一試料ボトルの分析値の相対標準偏差を  $n$  で割った値を用いた。スプレッドシート法を用いて不確かさを合成した。ブチルスズの測定値の不確かさ見積もりのバジェットシートの例を Table 7 に示す。

Table 8 に各ブチルスズ化合物のGC-ICP質量分析法による測定結果と最終結果 (平均値) とその標準不確かさを示す。

Table 7 Uncertainty budget for the analytical results of butyltins by ID-GC/ICPMS

| Parameter             | type | TBT      |                     |         | DBT      |                     |         | MBT      |                     |         |
|-----------------------|------|----------|---------------------|---------|----------|---------------------|---------|----------|---------------------|---------|
|                       |      | value    | unit                | u       | value    | unit                | u       | value    | unit                | u       |
| $(Kb \cdot Rb) / n$   | A    | 0.27199  |                     | 0.00082 | 0.27405  |                     | 0.00321 | 0.26900  |                     | 0.00140 |
| $(Kb' \cdot Rb') / n$ | A    | 0.27328  |                     | 0.00082 | 0.46103  |                     | 0.00203 | 0.41365  |                     | 0.00250 |
| $R_x$                 | B    | 1.3452   |                     | 0.0019  | 1.3452   |                     | 0.0040  | 1.3452   |                     | 0.0019  |
| $R_z$                 | B    | 1.3452   |                     | 0.0019  | 1.3452   |                     | 0.0040  | 1.3452   |                     | 0.0019  |
| $C_z$                 |      | 0.002229 | $\mu\text{ mol/kg}$ |         | 0.002700 | $\mu\text{ mol/kg}$ |         | 0.002800 | $\mu\text{ mol/kg}$ |         |
| $R_y$                 | A    | 0.06000  |                     | 0.00030 | 0.06055  |                     | 0.00083 | 0.06000  |                     | 0.00084 |
| $K_y$                 | A    | 1.0000   |                     | 0.0041  | 1.0000   |                     | 0.0000  | 1.0000   |                     | 0.0000  |
| $m_x$                 | B    | 0.5043   | g                   | 0.0002  | 0.4591   | g                   | 0.0002  | 0.4689   | g                   | 0.0002  |
| $m_y$                 | B    | 0.1873   | g                   | 0.0002  | 0.1772   | g                   | 0.0002  | 0.1652   | g                   | 0.0002  |
| $m'_y$                | B    | 0.4990   | g                   | 0.0002  | 0.2309   | g                   | 0.0002  | 0.2657   | g                   | 0.0002  |
| $m_z$                 | B    | 0.2167   | g                   | 0.0002  | 0.2163   | g                   | 0.0002  | 0.2540   | g                   | 0.0002  |
| $w$                   | A    | 0.9607   |                     | 0.0002  | 0.9607   |                     | 0.0002  | 0.9607   |                     | 0.0002  |
| $E$                   | A    | 1.000    |                     | 0.031   | 1.000    |                     | 0.028   | 1.000    |                     | 0.044   |
| $B$                   | A    | 0.0018   | $\mu\text{ mol/kg}$ | 0.0012  | 0.0014   | $\mu\text{ mol/kg}$ | 0.0012  | 0.0051   | $\mu\text{ mol/kg}$ | 0.0032  |
| <b>Results</b>        |      |          |                     |         |          |                     |         |          |                     |         |
| $C_x$                 |      | 0.372    | $\mu\text{ mol/kg}$ |         | 0.455    | $\mu\text{ mol/kg}$ |         | 0.499    | $\mu\text{ mol/kg}$ |         |
| $u_c$                 |      | 0.012    | $\mu\text{ mol/kg}$ |         | 0.014    | $\mu\text{ mol/kg}$ |         | 0.026    | $\mu\text{ mol/kg}$ |         |

## 第2章 開発の概要

Table 8 Analytical results of butyltins by ID-GC/ICPMS (mg/kg as Sn)

|           | MBT    |             |        | DBT    |        |             | TBT    |   |        |             |  |
|-----------|--------|-------------|--------|--------|--------|-------------|--------|---|--------|-------------|--|
|           | Mean   | ±           | SD     | Mean   | ±      | SD          | Mean   | ± | SD     |             |  |
| Bottle 1  | 0.0678 | ±           | 0.0016 | 0.0525 | ±      | 0.0088      | 0.0439 | ± | 0.0028 |             |  |
| Bottle 2  | 0.0623 | ±           | 0.0023 | 0.0583 | ±      | 0.0006      | 0.0410 | ± | 0.0032 |             |  |
| Bottle 3  | 0.0622 | ±           | 0.0020 | 0.0617 | ±      | 0.0092      | 0.0450 | ± | 0.0048 |             |  |
| Bottle 4  | 0.0566 | ±           | 0.0050 | 0.0556 | ±      | 0.0042      | 0.0452 | ± | 0.0036 |             |  |
| Bottle 5  | 0.0560 | ±           | 0.0023 | 0.0569 | ±      | 0.0036      | 0.0425 | ± | 0.0025 |             |  |
| Bottle 6  | 0.0596 | ±           | 0.0043 | 0.0567 | ±      | 0.0017      | 0.0433 | ± | 0.0025 |             |  |
| Bottle 7  | 0.0602 | ±           | 0.0022 | 0.0536 | ±      | 0.0010      | 0.0421 | ± | 0.0021 |             |  |
| Bottle 8  |        |             |        | 0.0570 | ±      | 0.0029      | 0.0436 | ± | 0.0019 |             |  |
| Bottle 9  |        |             |        | 0.0573 | ±      | 0.0034      | 0.0414 | ± | 0.0013 |             |  |
| Bottle 10 |        |             |        | 0.0544 | ±      | 0.0042      | 0.0423 | ± | 0.0018 |             |  |
| Bottle 11 |        |             |        | 0.0551 | ±      | 0.0058      | 0.0437 | ± | 0.0033 |             |  |
| Mean      | 0.0607 | mg/kg as Sn |        |        | 0.0563 | mg/kg as Sn |        |   | 0.0432 | mg/kg as Sn |  |
| <i>u</i>  | 0.0031 |             |        |        | 0.0017 |             |        |   | 0.0015 |             |  |

*n* = 4-8

### 2.5.2 同位体希釈 - GC/MS

上記の式(2)、(3)をもとに、各項の不確かさを見積もった。なお、ここでも用いた標準液濃度の不確かさは入れていない。

不確かさの要因としては、上記 $RW_H$ 、 $RW_L$ 、 $M^*$ 、 $M$ に影響するはかりとりの他、GC/MSの測定のはらつき、直線近似による不確かさなどを考慮した。また、分析試料調製に関する不確かさとして、分析試料調製ごとのばらつきが約5%、1回の調製における抽出操作のばらつきが10%と算出された。これらについては、試料処理回数の平方根で割ったものをそれぞれ不確かさとして加えた。以上より、Table 9に示すとおり不確かさの要因の一覧表が得られ、合成標準不確かさを求めた。Table 10には、各ブチルスズ化合物のGC/MSによる測定結果と最終結果(平均値)とその標準不確かさを示す。

### 2.6 認証値およびその不確かさの決定

以上2つのIDMS(同位体希釈 - GC-ICP質量分析法および同位体希釈 - GC/MS)で得られた測定結果をTable 11にまとめた。モノブチルスズ(MBT)についてのみ、

Table 9 Uncertainty budget for the analytical results of butyltins by ID-GC/MS

| Parameter                              | Type | Standard uncertainty<br>(relative ; %) |       |       |
|--|------|--|-------|-------|
|  |      | TBT                                    | DBT   | MBT   |
| GC/MS precision                        | A    | 0.2                                    | 0.2   | 0.2   |
| Sample preparation<br>(between run)    | A    | 2.5                                    | 2.5   | 3.5   |
| Sample preparation<br>(within run)     | A    | 3.7                                    | 3.7   | 4     |
| Assumption of linearity                | B    | 2                                      | 2     | 2     |
| Preparation of calibration<br>solution | B    | 0.1                                    | 0.1   | 0.1   |
| Weighing, calibration solution         | B    | 0.05                                   | 0.05  | 0.05  |
| Weighing, sample spike ( $M^*$ )       | B    | 0.05                                   | 0.05  | 0.05  |
| Weighing, calibration spike            | B    | 0.05                                   | 0.05  | 0.05  |
| Weighing, sample mass ( $M$ )          | B    | 0.005                                  | 0.005 | 0.005 |
| Combined uncertainty (Rel; %)          |      | 4.9                                    | 4.9   | 5.7   |

やや差が大きかったが、いずれも不確かさの範囲内で一致している。これら2つの測定値を、不確かさの逆数で重み付けして平均して得られた値を認証値とした。

なお、ブチル基には*n*-ブチル基、*iso*-ブチル基、*tert*-ブチル基があり、ブチルスズとしても異性体が存在する。本値付けには、GC法を用いており、GCカラム上ではこれらの異性体のブチルスズ化合物は分離されるため、認証した化合物は*n*-ブチルスズに限られる。実際の環境分析においては、使用されていたものはほとんど*n*-ブチルスズであるため、ブチルスズと呼ばれているのは、*n*-ブチルスズであると考えて差し支えない。

認証値の不確かさの要因としては、値付け測定の不確かさ、試料の均質性、安定性を考慮する必要がある。このうち、値付け測定の不確かさとしては、各測定方法の不確かさを合成したものと、方法による測定結果の違いの2つを考慮した。2つの測定結果が非常によく一致していれば、結果的に各測定方法の不確かさを合成したもののみが値付け測定の不確かさとなる。

各測定方法の不確かさの合成は、認証値が各測定値を

Table 10 Analytical results of butyltins by ID-GC/MS (mg/kg as Sn)

|          | MBT             | DBT             | TBT             |
|----------|-----------------|-----------------|-----------------|
|          | Mean ± SD       | Mean ± SD       | Mean ± SD       |
| Bottle 1 | 0.0573 ± 0.0041 | 0.0536 ± 0.0048 | 0.0391 ± 0.0065 |
| Bottle 2 |                 | 0.0561 ± 0.0039 | 0.0467 ± 0.0026 |
| Bottle 3 |                 | 0.0607 ± 0.0068 | 0.0464 ± 0.0033 |
| Bottle 4 | 0.0541 ± 0.0035 | 0.0564 ± 0.0027 | 0.0437 ± 0.0035 |
| Mean     | 0.0557          | 0.0567          | 0.0440          |
| <i>u</i> | 0.0032          | 0.0027          | 0.0021          |

Table 11 Analytical results obtained by ID-GC/ICPMS and ID-GC/MS for NMIJ CRM 7301-a (mean ± standard uncertainty)

| Compound | Analytical technique | Result<br>(mg/kg as Sn) |
|----------|----------------------|-------------------------|
| TBT      | GC/ICPMS             | 0.0432 ± 0.0015         |
|          | GCMS                 | 0.0440 ± 0.0021         |
| DBT      | GC/ICPMS             | 0.0563 ± 0.0017         |
|          | GCMS                 | 0.0567 ± 0.0027         |
| MBT      | GC/ICPMS             | 0.0607 ± 0.0031         |
|          | GCMS                 | 0.0557 ± 0.0032         |

重み付け平均したものであることから、各測定値の不確かさ ( $u(x_{GC/MS})$ ,  $u(x_{ICPMS})$ ) と重み ( $w_{GC/MS}$ ,  $w_{ICPMS}$ ) を用いて、

$$u(x) = w_{GC/MS}^2 u(x_{GC/MS}) + w_{ICPMS}^2 u(x_{ICPMS})$$

により算出した。(先に述べたとおり  $u(x_{GC/MS})$ ,  $u(x_{ICPMS})$  には標準液の不確かさを入れていない。)これに、共通に測定に用いた標準液の不確かさを加えて測定結果の不確かさとした。方法による測定結果の違いについては、2つの手法での測定結果に対する分散分析により得られた方法間変動を不確かさとしたが、TBT、DBTでは違いは認められなかったため方法による測定結果の違いの項目は無視し、MBTのみこの項目を加えた。

試料の均質性に関する項目は、均質性試験の項目に記述した方法により得られた不確かさを加えた。

試料の安定性に関する項目は、1年間の安定性試験では特に変化の傾向は見られていないことから、不確かさとしては加えていない。

不確かさの要因ごとにまとめてTable 12に示す。これらを合成し、包含係数  $k=2$  を用いて拡張不確かさを算出し、認証値の不確かさとした。

以上により得られた認証値とその不確かさをTable 13

Table 12 Uncertainty budgets of certified values for mass fraction of butyltins in NMIJ CRM 7301-a

|  | TBT    | DBT    | MBT    |
|--|--------|--------|--------|
| Certified value (Mass fraction, mg/kg as Sn) | 0.044  | 0.056  | 0.058  |
| Relative standard uncertainty (%)            |        |        |        |
| Calibration solution                         | 0.5    | 0.28   | 0.28   |
| Analytical results                           | 3.7    | 4.3    | 4.8    |
| Between method                               | -      | -      | 6.8    |
| Inhomogeneity                                | 1.4    | 2.2    | 7.1    |
| Combined uncertainty (Rel, %)                | 4.2    | 4.9    | 11     |
| (mg/kg as Sn)                                | 0.0018 | 0.0028 | 0.0064 |
| Expanded uncertainty ( $k=2$ )(mg/kg as Sn)  | 0.004  | 0.006  | 0.013  |

Table 13 Certified values and their uncertainties for mass fraction of butyltin compounds in NMIJ CRM 7301-a

|                          | Certified value<br>(mg/kg as Sn) | Expanded uncertainty<br>(mg/kg as Sn) |
|--------------------------|----------------------------------|---------------------------------------|
| Tri- <i>n</i> -butyltin  | 0.044                            | 0.004                                 |
| Di- <i>n</i> -butyltin   | 0.056                            | 0.006                                 |
| Mono- <i>n</i> -butyltin | 0.058                            | 0.013                                 |

にまとめた。

### 2.7 外部機関による測定の実施

NMIJの測定値から算出した認証値の妥当性および本標準物質の一般の試験所での有効性の確認のために、4箇所の外部機関に試料(1本)を送付し、分析を依頼した。各機関が用いた方法をTable 14にまとめたが、抽出条件および測定方法もGC-FPD、GC/MS、GC/ICPMSなど様々であり、通常モニタリング分析等で用いられる方法を含んでいる。グラブズ検定によりはずれ値を

Table 14 Analytical methods used for determination of butyltins in collaborating laboratories

| Laboratory | Extraction                                      | Derivatization | Analytical method |
|------------|---|----------------|-------------------|
| 01         | HBr/methanol-ethyl acetate/ethyl acetate-hexane | ethyl          | GC/MS             |
| 02         | HCl/acetone/benzene                             | propyl         | GC-FPD            |
| 03         | HCl/hexane-methanol-ethyl acetate               | -              | GC-FPD            |
| 04         | HCl/methanol-toluene                            | ethyl          | GC/ICPMS          |

GC-FPD: Gas chromatography/flame photometric detection  
 GC/MS: Gas chromatography/mass spectrometry  
 GC/ICPMS: Gas chromatography/inductively coupled plasma mass spectrometry

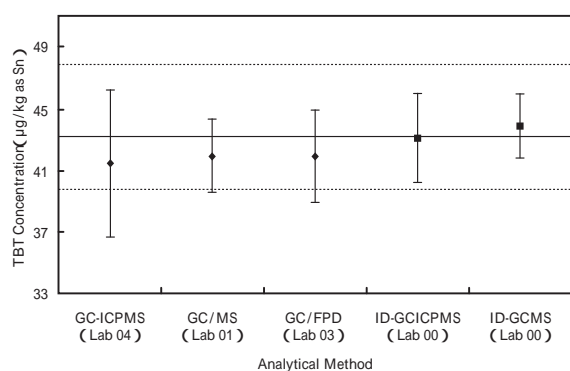


Fig. 8 Results for TBT in NMIJ CRM 7301-a from collaborating laboratories (Lab 01-04) and NMIJ (Lab 00). Horizontal lines represent certified value and its uncertainty.

除外したあとのTBTの結果をNMIJの結果と共にFig. 8に示す。各機関の値は報告された値であり、エラーバーは独立な測定の繰り返しから求めて報告された標準偏差、横の線は認証値とその不確かさを示す。DBT (Lab.04: 51.2±2.1 µg/kg) およびMBT (Lab.04: 50.7±1.9 µg/kg Lab.01: 53±2 µg/kg) についても、データの数多くはないが、全体として認証値とも良い一致を示しており、本標準物質が一般の分析所でも有効に活用できることを示している。

### 2.8 参考値

本標準物質の性状を知る上で有用な情報となる主成分元素濃度は参考値として認証書に記載することにした。参考値とした元素はTable 15に示した7元素である。

Table 15 Information values for mass fraction of major elements in NMIJ CRM-7301a

| Element | Mass Fraction (%) | Analytical method |
|---------|-------------------|-------------------|
| Al      | 7.7               | ICP-AES           |
| Ca      | 3.5               | ICP-AES           |
| Fe      | 5.6               | ICP-AES           |
| Mg      | 1.4               | ICP-AES           |
| K       | 1.5               | ICP-AES           |
| Na      | 2.0               | ICP-AES           |
| Ti      | 0.43              | ICP-AES           |

ICP-AES: Inductively coupled plasma atomic emission spectrometry

### 第2章の参考文献

- 1) J. Yoshinaga, H. Kon, T. Horiguchi, M. Morita, and K. Okamoto, *Anal. Sci.*, 14, 1121-1125 (1998).
- 2) T. P. Linsinger, J. Pauwels, A.M. H. van der Veen, H. Schimmel, and A. Lamberty, *Accred. Qual. Assur.*, 6, 20 (2001).
- 3) Ph. Quevauviller, and F. Ariese, *Trends in Anal. Chem.*, 20, 207 (2001).
- 4) V. Oakes and R. E. Hutton, *J. Organometal. Chem.*, 3, 472 (1965).
- 5) P. G. Sutton, C. F. Harrington, B. Fairman, E. H. Evans, L. Epton, and T. Catterick, *Appl. Organometal. Chem.*, 14, 1 (2000).



## 第3章 開発した標準物質の評価と国際相互承認

### 3.1 本標準物質の位置づけ

トリブチルスズについて認証値を有する標準物質としては、国内では国立環境研究所のNIES No.12<sup>1)</sup>、外国ではNRC (National Research Council of Canada, カナダ) のPACS-2、欧州のIRMM (Institute for Reference Materials and Measurements, EU) が頒布しているBCR-462, 646<sup>2)3)</sup>、ごく最近NRCとLGC (Laboratory of the Government Chemist, 英国) がCCQM国際比較 (CCQM-P18) の結果を基に開発したHIPA-1<sup>4)</sup>などがある。それらの認証値についてはTable 16にまとめた。BCR-462は濃度レベルが最も低い<sup>5)</sup>が、MBTは認証されておらず、3種類のブチルスズ (TBT, DBT, MBT) が認証されているもののうち、NMIJ CRM 7301-aは濃度レベルが最も低い。日本の環境モニタリングにおけるブチルスズの濃度はそれほど高くないため<sup>6)</sup>、こうした濃度レベルの分析に適した標準物質であると位置づけられる。

値付け方法の特徴としては、例えば、欧州BCR標準物質の認証値決定には同位体希釈法-ICP質量分析法、GC/MSなどの測定も含まれているが、これらの標準物質は共同分析方式による値付けであるため、認証値の算出においてはその値に大きな比重はおかれていない。それに対して、NMIJ CRM 7301-aは一次標準測定法のみで認証値決定した、トレーサビリティを確保した認証標準

物質であるということができる。このような値付けのアプローチは世界的に見ても例が無い。

国内でのブチルスズのモニタリングは値付けに用いた方法とは異なるの種々の方法が用いられている。本標準物質に関する外部機関による共同分析 (第2章7節) における種々の方法での測定結果が一致していることは、本標準物質が分析所における日常的な分析の精度管理に十分用いることができることを示している。

### 3.2 国際相互承認へ向けて

底質中トリブチルスズについてのCCQM国際比較としては、2001年に各国標準研究所および主要な大学や民間研究所が参加してパイロットスタディCCQM-P18が行われた<sup>6)</sup>。NMIJは本標準物質の値付け法の一つであるGC-ICP質量分析法を用いて参加し良好な結果を得、全体としても良好な結果が得られた。結果は論文として公表されている<sup>4)</sup>。この結果を踏まえ、2003年に底質中トリブチルスズについて基幹比較CCQM-K28が、ジブチルスズについてのパイロットスタディ (CCQM-P43) と同時に行われた。NMIJもGC-ICP質量分析法を用いて参加し、結果の報告はすでに終了しており、基幹比較参照値の決定および報告書の作成を待つところである。

NMIJは、2002年10月に標準物質生産に関して、外国

Table 16 Certified values for butyltins in NMIJ CRM 7301-a and other sediment reference materials

| Compound | NMIJ CRM 7301-a | PACS-2          | BCR-646             | BCR-462          | NIES No.12      | HIPA-1               |
|----------|-----------------|-----------------|---------------------|------------------|-----------------|----------------------|
|          | Marine Sediment | Habour Sediment | Freshwater Sediment | Coastal Sediment | Marine Sediment | Marine Sediment      |
|          | (mg/kg as Sn)   | (mg/kg as Sn)   | (mg/kg)             | (mg/kg)          | (mg/kg)         | (mmol/ kg as Sn)     |
| TBT      | 0.044 ± 0.004   | 0.98 ± 0.13     | 0.48 ± 0.08         | 0.054 ± 0.015    | 0.19 ± 0.03     | 0.679 ± 0.089        |
|          |                 |                 | (0.20 as Sn)        | (0.022 as Sn)    | (0.078 as Sn)   | (0.0805 mg/kg as Sn) |
| DBT      | 0.056 ± 0.006   | 1.09 ± 0.15     | 0.77 ± 0.09         | 0.068 ± 0.012    |                 |                      |
|          |                 |                 | (0.39 as Sn)        | (0.035 as Sn)    |                 |                      |
| MBT      | 0.058 ± 0.013   | 0.45 ± 0.05     | 0.61 ± 0.12         |                  |                 |                      |
|          |                 |                 | (0.41 as Sn)        |                  |                 |                      |

標準研究所のレビューによるピアレビューを受けたが、その際に本標準物質に関するレビューを受け、値付けについても特に大きな問題点は指摘されなかった。

以上のことから、国際相互承認データベース Appendix Cについては、2003年1月現在日本はトリブチルスズに関する校正測定能力（Measurement Capability）がすでに登録されている。ジブチルスズ、モノブチルスズの測定能力および本認証標準物質の認証値については、現在審査が行われているところであり、近い将来登録が完了するであろう。

### 第3章の参考文献

- 1 ) J. Yoshinaga, H. Kon, T. Horiguchi, M. Morita, and K. Okamoto, *Anal. Sci.*, 14, 1121 (1998).
- 2 ) Ph. Quevauviller, M. Astruc, L. Ebdon, V. Desauziers, P. M. Sarradin, A. Astruc, G. N. Kramer, and B. Griepink, *Appl. Organomet. Chem.*, 8 629 (1994).
- 3 ) Ph. Quevauviller, and F. Ariese, *Trends in Anal. Chem.*, 20, 207 (2001).
- 4 ) R.E. Sturgeon, R. Wahlen, T. Randsch, B. Fairman, C. Wolf-Briche, J.I. Garcia Alonso, P. Rodriguez Gonzales, J Ruiz Encinar, A. Sanz-Medel, K. Inagaki, A. Takatsu, B. Lalere, M. Monperrus, O. Zuloaga, E. Krupp, D. Amouroux, O.F. X. Donard, H. Schimmel, B. Sejerroe-Olsen, P. Konieczka, P. Schultze, P. Taylor, R. Hearn, L. Mackay, R. Myors, T. Win, A. Liebich, R. Philipp, L. Yang, and S. Willie, *Anal. Bioanal. Chem.*, 376, 780 (2003).
- 5 ) 平成14年度(2002年度)版「化学物質と環境」 環境省 総合環境政策局 環境保健部 環境安全課 (平成15年3月).
- 6 ) R. Sturgeon, and R. Wahlen; *Metrologia*, 39, Tech. Suppl., 08003 (2002).

### 付記

本標準物質はミレニアムプロジェクト「ダイオキシン類・環境ホルモンの適正管理、無害化の促進」事業の研究成果に基づくものである。

## 補足

### 本標準物質生産に関する協力機関

#### 【試料調製機関】

環境テクノス株式会社

#### 【分析参加機関】

下記の方々分析データを参考のため使わせていただきました。厚く御礼申し上げます。

共同分析者（順不同、敬称略）

田尾博明（産業技術総合研究所 環境管理研究部門）

棚田京子（北九州市環境科学研究所）

張野宏也（大阪市立環境科学研究所）

水石和子（東京都立衛生研究所）

#### 【分析協力機関】

堀場製作所

### 本標準物質開発に関連する研究発表等

#### 論文発表

- 1) Species-specific Isotope Dilution Analysis of Mono-, Di-, and Tri-butyltin Compounds in Sediment Using Gas Chromatography - Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry with Synthesized <sup>118</sup>Sn-enriched Butyltins, K. Inagaki, A. Takatsu, T. Watanabe, Y. Aoyagi, K. Okamoto, *The Analyst*, 128 (3), pp.265-272 (2003).
- 2) Certification of Mono-, Di-, Tri-butyltin Compounds in Marine Sediment Certified Reference Material by Species-specific Isotope Dilution Mass Spectrometric Analysis Using Synthesized <sup>118</sup>Sn-labeled butyltins, K. Inagaki, A. Takatsu, T. Watanabe, T. Kuroiwa, Y. Aoyagi, K. Okamoto, *Anal. Bioanal. Chem.*, 378 (5), pp.1265-1270 (2004).

#### 口頭発表

- 1) 同位体希釈質量分析法による有機スズ化合物の分析（その1）：Sn-118標識化合物の合成およびその評価，渡邊卓朗、稲垣和三、高津章子、青柳嘉枝、岡本研作、加藤健次，日本分析化学会第50年会，熊本、2001/11.
- 2) 同位体希釈質量分析法による有機スズ化合物の分析（その2）：<sup>118</sup>Sn標識化合物を用いたGC-ICP-MSによるブチルスズ化合物の分析，稲垣和三、渡邊卓朗、高津章子、青柳嘉枝、岡本研作，日本分析化学

50年会，熊本、2001/11.

- 3) 同位体希釈質量分析法による有機スズ化合物の分析（その3）-GC-MSによる堆積物中トリブチルスズ及びジブチルスズ分析，青柳嘉枝、稲垣和三、渡邊卓朗、高津章子、岡本研作，日本分析化学会第50年会，熊本、2001/11.
- 4) LC/ICP-MSを用いた有機スズ化合物標準液の濃度測定，黒岩貴芳、稲垣和三、渡邊卓朗、高津章子，日本分析化学会第50年会，熊本、2001/11.
- 5) Sn-118標識ブチルスズ化合物を用いた同位体希釈質量分析法による底質中ブチルスズ化合物抽出法の評価，稲垣和三、高津章子、渡邊卓朗、青柳嘉枝、岡本研作，第63回分析化学討論会，姫路、2002/05.
- 6) ブチルスズ分析用海底質標準物質（NMIJ CRM 7301-a）の開発，高津章子、稲垣和三、黒岩貴芳、渡邊卓朗、青柳嘉枝、岡本研作，日本分析化学会第51年会，札幌、2002/09.
- 7) Certification of Mono-, Di-, Tri-butyltin Compounds in Marine Sediment Certified Reference Material by Species-specific Isotope Dilution Mass Spectrometric Analysis Using Synthesized <sup>118</sup>Sn-labeled butyltins, K. Inagaki, A. Takatsu, T. Watanabe, T. Kuroiwa, Y. Aoyagi, K. Okamoto, Ninth International Symposium on Biological and Environmental Reference Materials, Berlin/Germany, 2003/06.

#### 用語説明

##### 国際度量衡委員会 / 物質質量諮問委員会 (CIPM/CCQM)

メートル条約の決定事項に関する代執行機関である国際度量衡委員会は、標準に関する研究課題を具体的に検討するために諮問機関を設けている。このうち、化学（物質質量）に関する課題を受け持つのが物質質量諮問委員会である。各委員は、主要加盟国の国家計量機関を中心に構成されている。CCQMとは、仏語のComité Consultatif pour la Quantité de Matièreの頭字（英語ではConsultative Committee on Amount of Substance）である。

##### 一次標準測定法

SI単位にトレーサブルな結果を与える測定方法で、重量分析法、滴定法、電量分析法、同位体希釈質量分析法、凝固点降下法が該当する。

##### 国際相互承認

メートル条約加盟国間において署名された、グローバ

ルMRA (Global Mutual Recognition Arrangement = 国際相互承認協定) に基づき、国家計量機関による国家計量標準の同等性の承認及び校正証明書を相互に承認すること。

#### CCQM国際比較

国際相互承認の技術的な同等性の裏付けとして行われる国際比較のうち、CCQMが行うもの。通常、第一段階のパイロットスタディと第二段階の基幹比較 (key comparison) の順に行われる。このうち、基幹比較は正式に国際相互承認の技術的裏付けとして用いられるもので、国家計量機関のみが参加し、提出した分析結果は、機関名と共に国際度量衡局 (BIPM) のホームページで公表される。

#### スプレッドシート法

$y=f(x_1, x_2, \dots, x_n)$  において、入力量が独立である場合、合成標準不確かさは、 $u(y) = \sqrt{\sum_{k=1}^n \left(\frac{\partial f}{\partial x_k}\right)^2 u(x_k)}$  で計算される。この計算を、近似式  $\frac{\partial f}{\partial x_1} = \frac{f(x_1+u(x_1)) - f(x_1)}{u(x_1)}$  に基づき、表計算ソフトなどを用いて簡便に行う方法。

#### パイロットスタディ

CCQM国際比較などにおいて、基幹比較の前段階として行われる比較。(CCQM国際比較を参照のこと。) CCQMのパイロットスタディでは、CCQM-Pxx (xxは数字) という番号が割り振られる。

#### 基幹比較

国際相互承認の技術的な同等性の裏付けとして行われる国際比較。(CCQM国際比較を参照のこと。) CCQMの基幹比較では、CCQM-Kxx (xxは数字) という番号が割り振られる。

#### ピアレビュー

国際相互承認においては、国外の同等な国家計量機関の専門家による技術審査を受ける必要があり、これをピアレビューと呼ぶ。

#### 国際相互承認データベース Appendix C

国際相互承認についてのデータベースのうち、相互承認された標準が記載されたリスト。標準物質においては、各国の測定の実力を示す校正測定能力 (Measurement Capability) と実際に供給している標準物質の値 (Certified Values in Reference Materials) の2つのデータが記載される。

#### 校正測定能力 (Measurement Capability)

国際相互承認において、各国の測定の実力を示すものを校正測定能力と呼んでいる。相互に実力があると認められた校正や測定の範囲は、国際相互承認データベースで公表される。