

有害化学物質の環境分析法の標準化

— 最先端の分析技術を用いた国際的化学品管理への貢献 —

谷保 佐知¹、羽成 修康²、堀井 勇一³、山下 信義^{1*}

有害化学物質の環境負荷量の把握、安全性評価、国際条約有効性の評価および政策立案を行ううえで、質の高い分析データの蓄積が重要であるが、そのためには信頼性の高い分析法と標準物質の開発・普及が必要である。我々は、特定の国や業界団体に限定したニーズが顕在化する前に、化学物質の有害性、使用量、環境残留性等に関する最新データを基に、必要とされる環境分析技術を予想することで国際的有害化学物質規制条約に先んじて国際規格を提供した。この論文では有害化学物質の環境挙動解明から分析法開発、そして2件のISO規格と2件のJIS規格の標準化に至るまでの研究過程とその意義について述べる。

キーワード: ISO 25101、PFOS、環境分析、ストックホルム (POPs) 条約、有害化学物質

Standardization of environmental analysis methods of hazardous chemicals

– Contribution to international control of hazardous chemicals by using advanced technologies –

Sachi TANIYASU¹, Nobuyasu HANARI², Yuichi HORII³ and Nobuyoshi YAMASHITA^{1*}

The development and dissemination of reliable analysis methods and reference materials, and the accumulation of high-quality analytical data are important to: (1) understand the environmental impact of hazardous chemicals; (2) evaluate the safety and effectiveness of international treaties regarding these chemicals; and (3) formulate policies accordingly. We published an international standard method for analysis of hazardous chemicals, using recent data on hazardous chemical usage and environmental persistence, before international regulations came into force. Here, we describe the development of our method, its adoption as ISO and JIS standards, and the significance of these achievements.

Keywords: ISO 25101, PFOS, environmental analysis, Stockholm convention on persistent organic pollutants (POPs), hazardous chemicals

1 はじめに

現在、我々の身の回りには、豊かで便利な生活を支えるために、数多くの化学物質が製造・使用されている。しかし、これらの化学物質には、環境中に存在する濃度は微量であっても、人や生態系に影響を及ぼす場合がある。この研究で対象としているノニルフェノール (NP、図1) やペルフルオロオクタンスルホン酸 (PFOS、図2) およびペルフルオロオクタン酸 (PFOA、図2) もそれぞれ内分泌かく乱物質や残留性有機汚染物質 (POPs) と認識されており、ノニルフェノールに関しては、2012年に水生生物への影響を考慮して水質環境基準が制定されている。これらの化学物質による環境問題に適切な対策を打ち出すためには、環境負荷量の把握や地球環境動態を解明することが必須である。すなわち、これら化学物質による環境汚染の拡大を未然に防止するために、高感度かつ高精度で検出可能

な分析技術を開発させ、汚染を早期検出することが求められている。特に、極微量物質の測定においては、誤った測定値はいたずらに社会不安を高め、また誤った対策の実施にもつながることから、信頼性が確保された環境中の有害化学物質濃度分析データの蓄積が極めて重要となる。

しかし実際には、例えば残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約 (以後 POPs 条約) を議論する根拠となる有害物質のリスクプロファイル評価書 (リスクの概要をとりまとめた文書) においても、多数の文献・報告書がとり

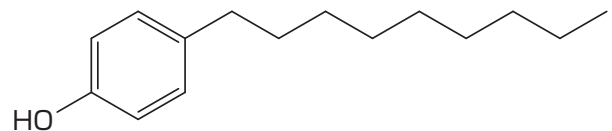


図1 直鎖型4-ノニルフェノール (NP) の構造式

1 産業技術総合研究所 環境管理技術研究部門 〒305-8569 つくば市小野川16-1 つくば西、2 産業技術総合研究所 計測標準研究部門 〒305-8563 つくば市梅園1-1-1 中央第3、3 埼玉県環境科学国際センター 化学物質担当 〒347-0115 加須市上種足914

1. Research Institute for Environmental Management Technology, AIST, 16-1 Onogawa Tsukuba 305-8569, Japan * E-mail: nob.yamashita@aist.go.jp, 2. National Metrology Institute of Japan, AIST Tsukuba Central 3, 1-1-1 Umezono, Tsukuba 305-8563, Japan, 3. Center for Environmental Science in Saitama, 914 Kamitanadare, Kazo 347-0115, Japan

Original manuscript received June 27, 2012, Revisions received September 21, 2012, Accepted September 25, 2012

まとめられるが、個々の分析法とそのQA/QC（精度保証／精度管理：Quality Assurance and Quality Control）まで厳密に議論されることはまれで、分析精度・信頼性まで考慮されていないのが現状である。

地球環境問題では、CO₂による温暖化でみられるように、世界の何処で測定された値であっても相互に比較可能な等しい信頼性を有することが不可欠である。このため我々は、まず分析法として信頼性の高い方法を開発すること、次に分析法を国際標準化することによって世界の環境研究者・分析従事者がこの方法ののちって信頼性の高いデータを出すこと、さらに分析値をSI単位にトレーサビリティのとれたものにするため認証標準物質を作成することを目指した。なお、環境分析法の標準化について読者の参考とするため、ISOとJISの環境分析の体系について、以下、簡単に紹介する。

ISOの規格化は各分野の専門委員会（TC: Technical Committee）のもとで行われ、環境測定のISOには、TC146（大気）とTC147（水質）がある。それぞれのTCはさらに分科委員会（SC: Sub-Committee）、作業部会（WG: Working Group）に分かれ、各WGには国際会議の調整や規格原案の作成を行うコンピナーが決められている。この研究で規格化したノニルフェノール（ISO 24293:2009^[1]）およびPFOS/PFOA（ISO 25101:2009^[2]）はいずれもISO/TC147（水質）/SC2（物理的・化学的・生物的方法）の分科委員会に属し、それぞれWG17（フェノール類）およびWG56（PFOS/PFOA）の作業部会で議論し規格化された。

また、環境測定のJISには、環境指標や無機イオン、金属等を対象としたK 0101やK 0102、揮発性有機化合物を対象としたK 0125、農薬類を対象としたK 0128、ダイオキシン類を対象としたK 0312等がある。この研究で規

格化したノニルフェノール（K 0450-60-10:2007^[3]）およびPFOS/PFOA（K 0450-70-10:2011^[4]）はいずれもK 0450シリーズとして制定された。そもそもK 0450シリーズは、内分泌かく乱物質が世間で注目されていた1998年に、用水・排水中で微量で人および生態系に影響を及ぼす有機化学物質の測定の標準化を行うことを目的として規格化が始まり、一連の規格として、ビスフェノールA（K 0450-10-10）、アルキルフェノール類（K 0450-20-10^[5]）、フタル酸エステル（K 0450-30-10）、アジピン酸ビス（2-エチルヘキシル）（K 0450-40-10）、ベンゾフェノン（K 0450-50-10）が制定されている。なお、ノニルフェノールのJIS規格化はISO規格化とおよそ同時に開始し、PFOS/PFOAのJIS規格はISO規格の制定後に、MOD（一部修正規格）として規格化を開始した。

この報告では、有害化学物質の環境挙動解明から分析法開発、2件のISO規格^{[1][2]}と2件のJIS規格^{[3][4]}を具体例として、標準化に至るまでの研究過程とその意義について述べる。

2 国際的有害化学物質規制に対応した環境分析技術の必要性と標準化

地球環境問題に関する国際標準化は、国際機関や国立研究機関等の公的セクターの果たす役割が重要であり、我々もこの観点から国際標準化活動を行ってきた。一方で、環境分析法は公的な国際貢献の他にも、国内の産業界の排出実態の把握や、適切な環境対策の実施に有用であり、特に、化学物質の国際規制への対応が企業の存続にとっても必須となってきたことから、国内においても標準化の要望があり、JIS化を行った。

2.1 ノニルフェノールの環境分析技術の必要性と標準化

4-ノニルフェノール（NP、図1）は、ノニルフェノールエトキシレート（非イオン界面活性剤としてゴム・プラスチック工業、繊維工業、金属加工工業等さまざまな産業分野で使用）の工業原料として使用される一方で、内分泌かく乱作用が強く推察されている。また、NPは、下水処理や水環境中で好気・嫌気分解により、ノニルフェノールエトキシレートのエトキシ基が順次分解されて生成することが知られている。このため、工業界の自主規制によりノニルフェノールエトキシレートの家庭用品への使用は禁止されている。これらを鑑みて、2012年8月には水質汚濁に係る環境基準が改正され、水生生物の保全に係る水質環境基準として新たにNPが追加された。我々は、NPについて、外洋海水鉛直分布を1998年に初めて報告^[6]し、また、NP異性体について、分析法の開発と各異性体のエストロゲン様活性を明らかにする研究^{[7][8]}を開始するなど、分析法の開発、

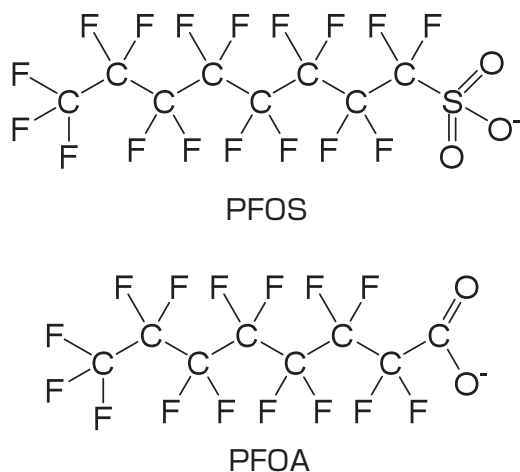


図2 ペルフルオロオクタンスルホン酸（PFOS）とペルフルオロオクタン酸（PFOA）の構造式

環境動態や毒性の解明に努めてきた。その後、2002年に、NPの水分析法の国際規格化の必要性を経済産業省へ説明し、基準認証事業（2002-2004年）「ノニルフェノール分析法の標準化」として採択され、分析法のISOおよびJIS提案を目指した研究を開始するに至った。

NPはアルキルフェノール類の一種であり、2002年当時は、JIS K 0450-20-10:2002^[5]があり、ISOもISO/CD 18857-1（現ISO 18857-1^[9]）として、ドイツがコンビナーとして策定中であった。両分析法とも、NPを単一の化合物として総量測定していて、異性体組成に関する情報はなかった。しかし、この研究で分析法を開発し規格化したISO 24293は、NPを内分泌かく乱作用が異なる13種類の異性体に分離し測定することを初めて可能にした分析法である。これは、ダイオキシン類（ポリ塩素化ジベンゾ-*p*-ジオキシンおよびポリ塩素化ジベンゾフランの総称）の分析において、210種類存在する異性体の中でも有害性が高くかつ有害性が異なる17種類の異性体を選別して個別に測定していることに相当する。NP異性体はそれぞれ異なるエストロゲン様活性を示すため、正確なリスク評価のためには、環境中における異性体別濃度を把握することが重要であり、環境試料中の異性体別濃度データの蓄積が重要であった。

開発した分析法をISOとして規格化するためには、すでにISO/TC147/SC2/WG17（フェノール類）においてNPの総量測定法を策定中（ISO 18857-1^[9]）であったコンビナーを務めるドイツとの調整が必要であった。そこで、ISO/TC147の議長（ドイツ）とWG17のコンビナー（ドイツ）と事前打ち合わせする場を設け、有害性の正確な評価を可能にする異性体別詳細分析の必要性を説明した結果、その意義が共有され、2003年のISO/TC147総会において、異性体別分析法の日本側の新規提案が承認された。結果として、国内JIS規格化^[3]を開始する前に、ISO新業務項目提案（NWIP: New Work Item Proposal）として2005年に採択され、フェノール類のワーキンググループWG17において国際標準化を開始した。ISO策定において、日本側の提案した分析法は専門委員との議論の過程でおよそ受け入れられたが、環境水試料中の懸濁物質（SS）の量と標準物質については議論があった。SSについては、環境水試料中に含まれるSS量の違いにより、分析精度への影響が焦点となったため、異なるSS量の環境水試料を用いて精度管理試験を行い、この結果をAnnex (informative)に掲載することで合意した。また標準物質については、市販の混合物を測定者自らが値付けする必要があったため、市販の5つのメーカーの混合物について測定した結果をAnnex (informative)に掲載することで合意に至っ

た。詳細は3.1章および4.1章に記載する。以上の議論のもと、2005年に作業原案（WD: Working Draft）、2006年に委員会原案（CD: Committee Draft）、2009年に国際規格原案（DIS: Draft International Standard）、同年に最終国際規格原案（FDIS: Final Draft International Standard）を経て、2009年7月に国際規格としてISO 24293が発行された。

2.2 PFOS/PFOAの環境分析技術の必要性和標準化

PFOSおよびPFOAは、図2に示すようにフッ素化アルキル基を有するペルフルオロアルキル化合物（PFASs）の一種である。PFOS/PFOA関連物質は、炭素-フッ素のとても強い共有結合を有するため、また、一分子中に疎水基（フッ素化アルキル基）と親水基（スルホン酸基やカルボキシル基等）を有するため、耐熱性、耐薬品性、界面活性、光透過性、イオン透過性等の多様な物理的・化学的性質に優れている。そのため、フッ素樹脂産業、先端電子機器材料、半導体、メッキ、エッチング、写真技術、乳化剤、撥水剤、防汚加工剤、消火剤あるいはそれらの中間原料等、機能性工業材料として多岐にわたり使用されてきた。図3にPFOS/PFOA関連物質に関係する社会動向および研究動向を示す。PFOS/PFOA関連物質は1940年代に製造法が開発され、1950年代から市販されてきた。しかし、2000年2月に野生生物からPFOSが高濃度で検出され、同年5月には米国3M社がPFOS関連物質の事業からの撤退を報告し、これを契機にPFOS関連物質による環境問題が一般に広く知られるようになった。その後、極域の野生生物からも高濃度で検出される等PFOS関連物質の環境残留性、生物への蓄積性の高さや長距離移動性、人や生物への影響の懸念が明らかになってきた^[10]。このような状況を受けて、国際的に使用や排出に関する規制が検討され、我が国ではPFOSとPFOAは2002年12月に化学物質の審査および製造等の規制に関する法律（化審法）の第二種監視化学物質となった。また、2006年1月には、米国環境保護庁（USEPA）が世界の主要製造メーカーに2015年までのPFOAおよびPFOA前駆体の自主的削減および撤廃を要請し、工場周辺の飲料水についてもガイドラインを設ける等、排出削減に向けた取り組みが始まった。PFOSは2005年6月以降、POPs条約による規制の検討が開始され、2010年にはPFOSとその原料となるペルフルオロオクタンスルホンフルオリド（PFOSF）が、POPs条約対象物質として、日本国内では化審法第一種特定化学物質として、一部のエッセンシャルユースを除き生産・使用が世界的に禁止されることとなった。しかし、規制が開始されてから分析法を標準化するのでは対応が後手に回ることになる。産業界および社会における対策を効率的

に行うためには、新規化学物質の危険性が一般に認識される前に、信頼性の高い分析法を確立し、適切なリスクプロファイル作成を可能にする必要がある。図4にPFOS/PFOAの分析法の標準化のシナリオについてまとめた。以下、標準化に至るまでの経緯を説明したい。

産総研環境管理技術研究部門の未規制物質研究グループでは、高度な機器分析技術と多数の国際共同研究体制から得られた知見・研究成果をもとに、さまざまな潜在的有害化学物質 (potential pollutants) について基礎研究を行ってきたが、PFOS についても国際規制が行われる以前から研究を行ってきた。当グループでは1995年より開始した米国ワズワースセンターとの国際共同研究の一環として、PFOS および PFOA の分析法開発を1999年より開始、2000年度には(独)新エネルギー・産業技術総合開発機構 (NEDO) 産業技術研究助成事業として国内初のPFOS プロジェクトをスタートした。

2001年には、PFOS および PFOA の国内の環境残留濃度を、表層水および魚類について調査し、リスク評価を行ううえで重要な因子の一つである生物濃縮係数(水から生物への濃縮のされ易さをみる指標)を実環境において世界で初めて報告した^[11]。しかし、長距離輸送等、環境

動態を明らかにするためには、沿岸水や生物等の高濃度試料に比べ1000倍以上低濃度の外洋大気や外洋海水等の分析が必須であった。極低濃度レベルの分析法を確立するうえで、最大の課題はコンタミネーションの低減である。対象成分は撥水剤・汚れ防止剤・樹脂添加剤等として身の回りのあらゆる製品に使用されているためである。そこで、コンタミネーションを低減させるため実験環境・分析器具・機器・標準物質に至るまで系統的に汚染源を特定し、定量化することにより、そのレベルを1,000倍以上低減させ^[12]、また、世界で初めて弱陰イオン交換固相抽出カラム (Oasis[®]WAX) を抽出法に採用し、高精度・高回収率で抽出できる方法を開発してきた^[13]。その結果、外洋海水にも適用可能な、数pg/Lレベルの分析技術を確立した。

この分析技術をもとに、外洋表層海水・深層水の測定を開始した。我々は、PFOS/PFOA 研究を有害化学物質としての観点からのみ行ってきたこれまでの方法とは異なり、難分解性、水溶性で、超微量分析が可能であるという、3つの要件を有する地球規模の物質循環の化学トレーサーとしての有用性に着目し研究を行ってきた。2004年には世界で初めて外洋海水調査データを報告して、深層5,000mの海水にも残留することを明らかにした^[12]。この研究の重

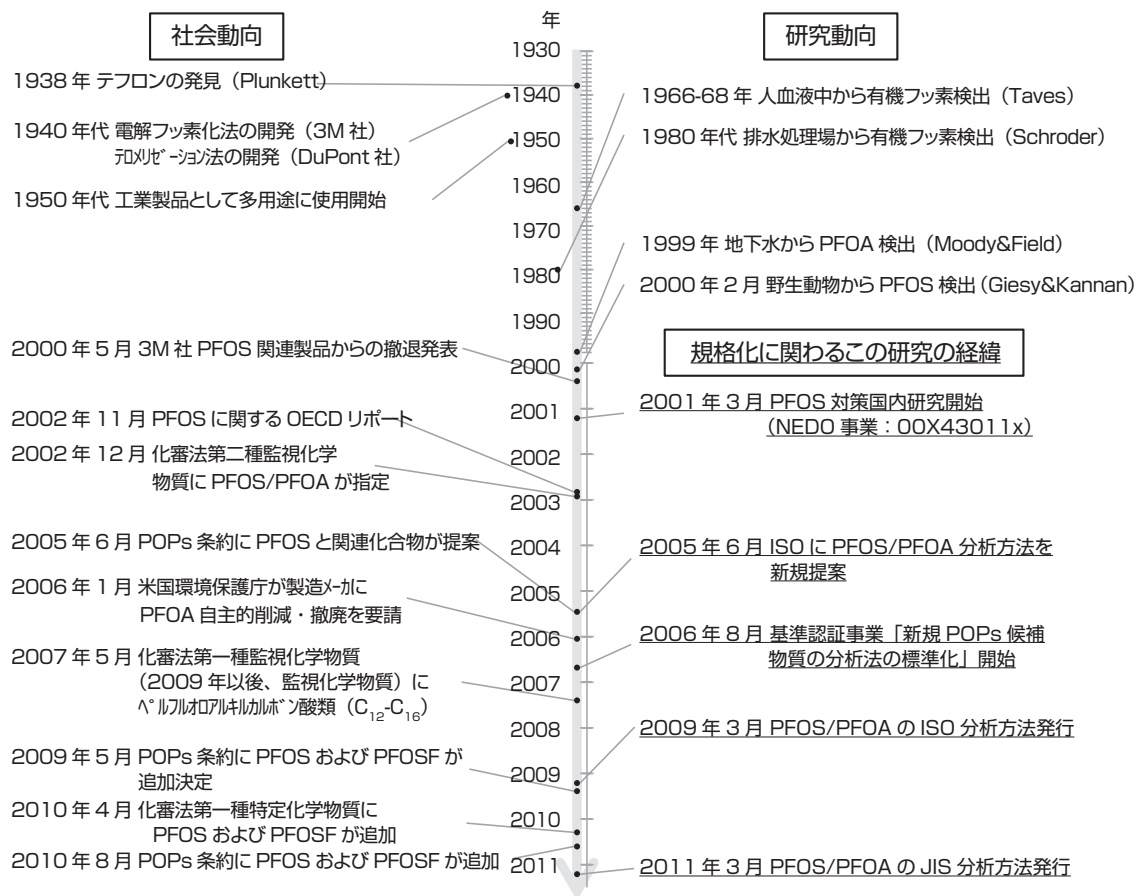


図3 PFOS/PFOA関連物質の社会動向および研究動向とこの研究の関わり

要性に注目したドイツ・ライプニッツ研究所、米国ワズワースセンター等、世界トップレベル研究機関との共同研究により、数度にわたり国際合同調査航海を行い、日本海、大西洋、南太平洋、ラブラドル海の表層から深層までの鉛直分布を測定し、各海域で鉛直分布濃度が異なることを発見した。特に、表層水が深層に一気に潜り込み、表層水と深層水がよく混合している北大西洋において、表層から深層まで一定濃度の鉛直分布を観測し、熱塩対流による地球規模外洋海水大循環メカニズムにより、PFOS 類の深層海水への供給が行われていることを発見した^{[14][15]}。これにより、大気経由輸送メカニズムしか議論されてこなかったこれまでの POPs 遠距離輸送メカニズムにおいて、海流による地球規模長距離輸送メカニズムの重要性を指摘した。現在では欧米の海洋学者を中心に、このメカニズムに関する調査が行われている。2012 年にカナダ PFOS/PFOA 研究の中心研究機関であるカナダ環境省等と産総研の連名で大西洋全域の表層海水分布を報告する^[16]等、産総研が開発した外洋調査研究手法が世界的に利用されている。

分析法の国際標準化において、これらの研究実績が高く評価され、2005 年 6 月に開催された ISO/TC147 総会において、日本がコンビナーとして作業部会 WG56 (PFOS/PFOA) を立ち上げ国際規格化を開始した。同年には PFOS とその 96 の関連物質が POPs 条約対象物質として提案されている。規格化に際し、基準認証研究開発事業（2006-2008 年）「新規 POPs 候補物質の分析法の標準化」により、研究開発（分析法の開発、分析性能の向上および精度管理試験による信頼性の確保等）や規格原案

の作成を行った。日本側が提案した分析技術についてはおよそすべて受け入れられたが、専門委員との議論に挙げられた課題についていくつか触れたい。まずは、使用する分析機器の選定である。PFOS および PFOA の環境測定が始まったごく初期には、今日一般に用いられている液体クロマトグラフ/タンデム質量分析計 (LC-MS/MS) ではなく、液体クロマトグラフ/質量分析計 (LC-MS) いわゆるシングル MS を用いた分析も行われていたため、LC-MS の使用の適否が議論された。原案策定過程において LC-MS を規定に入れるようイギリスの専門委員より提案があったが、LC-MS は LC-MS/MS に比べ、選択性が低く、試料により妨害物質との分離が不十分な場合があり、国際精度管理試験でも 23 機関中 1 機関しか使用していなかったことから、Annex (Informative) に記載するに留めた。また、分析試料としては、排水試料も対象試料として検討されていたが、国際精度管理試験では分析値のばらつきが大きいことから対象試料から外すことになった。PFOS および PFOA 以外の関連物質については、同じ分析法を用いて測定できる点を指摘されたが、ISO 策定当初は PFOS および PFOA のみを対象に進められており、後からその他関連物質を加えると、規格化が大幅に遅れるため、早急な規格化が求められていた状況を鑑み、対象成分は PFOS および PFOA に限定することになった。以上の検討により、2005 年に作業原案 (WD: Working Draft)、2006 年に委員会原案 (CD: Committee Draft)、2007 年に国際規格原案 (DIS: Draft International Standard)、2008 年に最終国際規格原案 (FDIS: Final Draft International

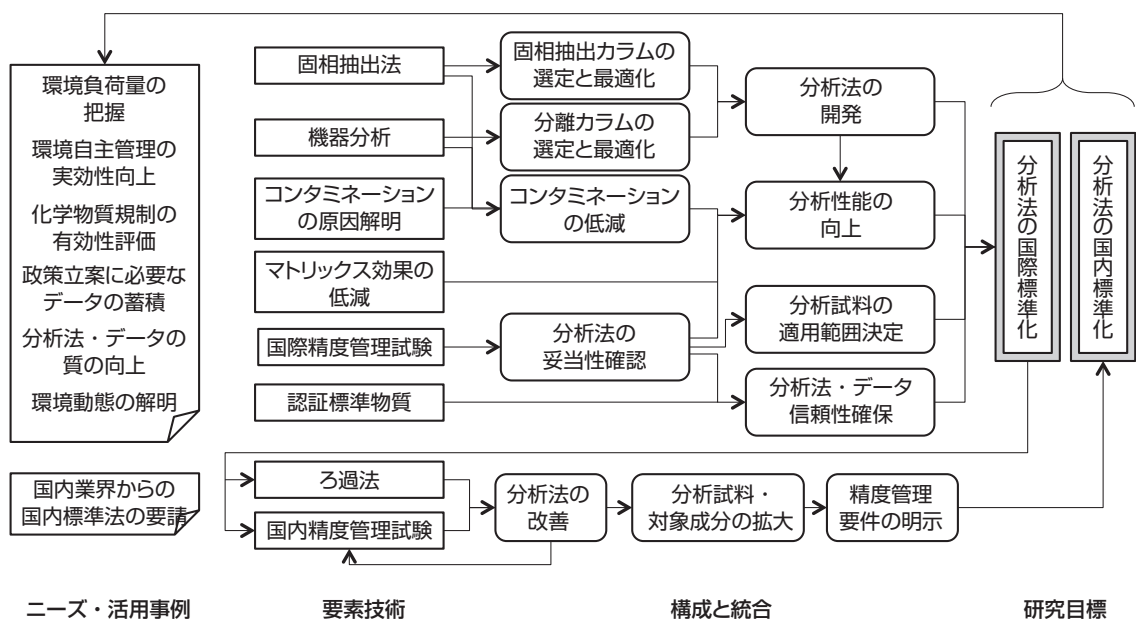


図4 PFOS/PFOA分析法の標準化のシナリオ

Standard) を経て、2009年3月に国際規格としてISO 25101^[2]が発行された。PFOSが国際的にPOPs条約に追加され、国内では化審法第一種特定化学物質に追加されたのはどちらも2010年であり、有害化学物質規制に先んじて国際規格を制定することができた。

また、ISO規格が確立したことにより、国際規格を基礎とした国内規格策定の原則(WTO/TBT協定)による国際整合化や、国内分析事業者からの国内規格の確立の要望を受け、国内連携体制・分析事業者への精度管理の普及を目的としてJIS規格化を行った(2011年3月22日発行^[4])。JIS規格はISO規格を基礎として、規定の追加、削除および変更して制定した(MOD)規格である。ISO規格からの変更点としては、LC-MSを使用しないことにした点(ISO 25101ではAnnex (Informative)に記載されていた)、SSの多い排水試料にも適用できるよう、試料のろ過操作を付属書(規定)に加えた点、またPFOSやPFOA以外の関連物質についても付属書(参考)にて測定できるよう記載した点等が挙げられる。これらの変更の際には、精度管理試験を2度行い、新しい分析法の妥当性について確認を行った。

2.3 標準化のタイミング

ISO 24293、ISO 25101に共通するのは、いずれも環境挙動に関する科学研究からスタートし、新しい分析法を開発することにより国際的に認められる成果を多数公表し、研究者コミュニティの間でデファクトスタンダードとしてコンセンサスができた段階で国際標準規格化を開始した点である。これは、経済・社会ニーズが顕現化してから国内規格化を行い、次に国際規格とのすりあわせを行うこれまでの流れとは逆の方向である。言い換えると、公的なセクターとしての地球環境保全・国際的な化学物質の適正使用を踏まえたグローバルな視点から求められる環境分析技術を判断し、国際的化学品規制が実効的に行われることを保証するために、できるだけ早く研究成果を発信することによって研究者コミュニティでの認知を高めながら、規制の発効と同時に国際規格を提供することで、国際的に信頼性の高い分析結果を得るよう努めた。特に、「有害化学物質管理には、信頼できる分析値とそれを可能にする標準分析技術が必須である」という考え方で研究を展開してきた。

3 分析法開発

3.1 ノニルフェノール分析法開発

NPは2002年当時、JIS K 0450-20-10としてすでに総量分析法が存在し、一般的な水試料の分析は可能であった^{[5][9]}。しかし、図1に示した直鎖型の4-NP以外にも、

NPは側鎖・置換位置の違いにより理論上211種類の異性体が存在し^[17]、環境試料からは環境分解性と有害性に差がある十数種類の異性体が検出されていた^{[18][19]}。したがって、信頼性の高いリスク評価を行うためには異性体ごとに正確に定量する方法を開発する必要がある。当時国内ではほとんど実績がなかったガスクロマトグラフ/preparative fraction collector (GC-PFC)^{用語1}を用い、混合物であるNP異性体を分離精製し、個々の異性体を液体窒素で冷却したガラスチューブへ捕集し、この操作を約100回繰り返してホルモン活性試験に必要な量を確保した6つの画分について、異性体ごとに内分泌かく乱作用が大きく異なることを確認した^{[6][7][18]}。次に市販されている多様なキャピラリーカラムを比較しNP異性体の高度分離に最適な分析条件を確立した。複雑な混合物であるNPを二次元ガスクロマトグラフ^{用語2}質量分析法(GC×GC-MS)を用いて、可能な限り分離分析する方法を検討し、NP製品中の102成分を分離することに成功した^[20]。

このように最新の分析技術を使用すれば、NPを相当数の成分に分離できるが、精度管理の観点からは大多数のユーザーが同じデータを得られる標準規格が必要である。そのためISO規格のNP異性体別分析法は、一般的なGCで分離可能な13種のNP異性体を分析の対象とした。抽出法には水分析において汎用性の高いスチレンジビニルベンゼン固相抽出法を用いた。NPは非イオン界面活性剤であるノニルフェノールエトキシレートの原料として使用され、ほとんどの水環境から検出されることから、コンタミネーションのコントロールには細心の注意が必要である。シリカゲルカラムカートリッジや固相抽出の目詰まり防止剤(ガラスビーズ)にもNPが含まれている可能性があった。

定量にはガスクロマトグラフ質量分析計(GC-MS)の選択イオン検出法(SIM)を使用し、異性体ごとに分離および感度の良いイオンを用いて定量した(図5)。これまでは、 m/z 135 (m/z : 質量電荷比、すなわち質量 m を電荷数 z で割った値) で検出される5~6本のピークを用いるが、この分析法では13異性体についてそれぞれ最適なモニターイオンを選択し、各NP異性体と内標準物質^{用語3}の相対感度係数(RRF)を求めることで、異性体別の評価が可能となった。NP異性体の選定イオンの検討については、堀井ら(2004)^[21]を参照されたい。NP異性体別の定量法が多少煩雑になってしまうのは、NPが複雑な混合物であること、異性体の市販標準品に限られること、さらに異性体によりフラグメントパターン^{用語4}が大きく変わることにある。個別の異性体標準品が供給されていない当時の状況では、定量にNP混合物を標準品として用いるしかなく、事前にNP混合物中の異性体組成をガスクロマトグラフ水素

る。これを解決するために、測定に必須ではないパーツ、脱ガス装置やスイッチングバルブ等を液体クロマトグラフ/タンデム質量分析計から除くことにより、システムブランクを数十 fg ($1 \text{ fg} = 10^{-15} \text{ g}$) に低減した。また既存のオクタデシル基 (C18) を有する SPE カートリッジ^[23] は、コンタミネーションが高く低濃度の分析には使用できなかったため、親水性・親油性基を併せ持つ Waters 製 Oasis[®]HLB カートリッジを用いた PFOS/PFOA 分析法を開発し、オクタデシル基 (C18) を有する SPE カートリッジに比べコンタミネーションが低く外洋海水などの低濃度試料に適用できることを確認した^{[26][28]}。しかし、Oasis[®]HLB カートリッジは、PFOS/PFOA の測定に限定すれば高回収率で低コンタミネーションの優れた SPE カートリッジであるが、PFBA (ペルフルオロブタン酸) 等の短鎖化合物の抽出には適していない。そこで、我々は PFOS/PFOA の有機酸としての性質に注目し、酸性物質の吸着捕集に適した陰イオン交換能を有する Waters 製 Oasis[®]WAX カートリッジを用いることで、コンタミネーションを最小限に抑え、しかも PFOS や PFOA だけではなく、炭素鎖長が 2 から 18 までのカルボン酸、2 から 10 までのスルホン酸のすべてを一度に吸着回収できる分析条件を開発した (図 6)^{[13][30]}。使用する器具や試薬のコンタミネーションやシステムブランクの低減^[12]^{[24][25]} とその重要性については、ISO 25101 でも規定している。

液体クロマトグラフの分離カラムに、一般的な化学結合型シリカゲルを充填剤として用いると、短鎖から長鎖の順で溶出し、PFBA 等の短鎖化合物はピーク形状が悪く、

夾雑物質との分離も不十分である (図 7a)。一方、イオン交換能をもつ分離カラムでは、溶出順番が逆転し、長鎖から短鎖の順で溶出するため、ピーク形状と夾雑物質との分離が改善される (図 7b)^[30]。特に、異なった分離原理をもつ 2 種類の分離カラムによるクロスチェックは測定質量イオン強度比の確認と併用することで、これまでのシングルカラム測定と比較して大幅な信頼性向上につながる事が明らかとなった。ISO 25101 では、PFOS と PFOA のみを分析対象としているため、化学結合型シリカゲルカラムを分離カラムに使用している。一方、JIS 法も規定では PFOS と PFOA のみを対象としているため、ISO 25101 と同様に化学結合型シリカゲルカラムを分離カラムとして規定しているが、付属書 (参考) において、短鎖化合物を含む PFOS と PFOA 以外の関連化学物質の測定も可能で、そのためのカラムとして、化学結合型シリカゲル分離カラムとイオン交換能をもつ分離カラムを併記し、解説の中で 2 種類の分離カラムによるクロスチェックの重要性を説いている。

さらに重要な点は、検出感度が足りない場合、一般に試料量を増やすのに対し、我々は逆に試料量を減らすことで共存物による分析感度への影響 (マトリックス効果) を低減させ^[12]、結果として測定感度を向上させたことである。これにより、装置感度としては一世代前の機械であっても、コンタミネーションを低く抑えることで定量下限値を向上できる。フッ素樹脂を多用している最新の測定装置の方が一般に装置のシステムブランクが高いため、現状では PFOS 類の方法検出限界および精確さを決めているのは装置感度ではなく、いかに厳密な QA/QC を行っているかである。もともと、国内モニタリングの対象である一般河川・沿岸水についてはそれほど高感度の分析法は不要であるが、全球動態を理解するための外洋環境モニタリングでは高感度性に加えて、高度に厳密な QA/QC が必須となる。ISO 25101 はこれらの研究論文が骨子となっている。

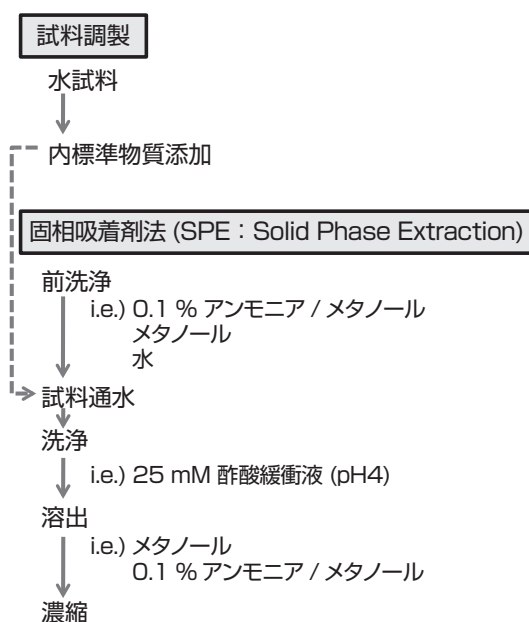


図6 弱陰イオン交換カートリッジ (Oasis[®]WAX) を用いた固相吸着剤法

4 開発した分析法の信頼性確保

ISO/TC147 (水質) / SC2 (物理的・化学的・生物的方法) では、規格となる分析法について、標準操作手順書 (SOP) を用いて複数の試験室で精度管理試験 (使用する分析法が妥当かどうか判断するための試験) を行い、得られた妥当性確認結果 (performance data) を規格内に含めることが必須となっている。一方、過去の国内規格では分析法の妥当性確認結果は必ずしも公表されていない。これに対して、社会ニーズ対応型基準創成調査研究事業「環境保全と産業競争力の強化に資する環境測定 JIS 体系の構築戦略事業」では水質と大気測定に関わる旧来の JIS 体系見直しの一環として、規格化された分析法の妥当性確認結果

の記載が必須である ISO 規格との整合性の観点から、精度管理試験による試験結果を記述する必要性が指摘されている。

4.1 ノニルフェノールに係わる精度管理試験

NP については、2008 年 7 月から 2008 年 9 月にかけて ISO/TC147/SC2/WG17（フェノール類）で日本のプロジェクトリーダー主催のもと、水試料中 NP 異性体分析の精度管理試験への参加を募集し、国内外 17 機関から応募があった。試験結果について統計処理を行った後に、結果を取りまとめて中間報告として各参加機関に通知し、同年 12 月に ISO/DIS 24293（規格原案）の妥当性確認結果として ISO/TC147/SC2/WG17 に報告書を提出した。同一の試験室内における分析値のばらつきをみる室内再現精度変動係数 (CV_P) は平均 10 %（最小値 4.4 %～最大値 21.6 %）で試料の種類、異性体組成の違いによる室内分析精度に差は認められなかった。一方で、異なる試験室間において測定する場合の分析値のばらつきをみる室間再現精度変動係数 (CV_R) はおおむね 30 % 以下であったが、異性体によっては 50 % を超えるものがみられた。特に NP 混合物中で組成の小さい異性体 (NP8 および NP12、図 5 参照) の試験室間のばらつきが大きく室間再現性が悪い傾向にあった。その原因として、同等の分離カラムを用いた場合でもメーカーが異なる場合や、カラムの劣化等により、異性体

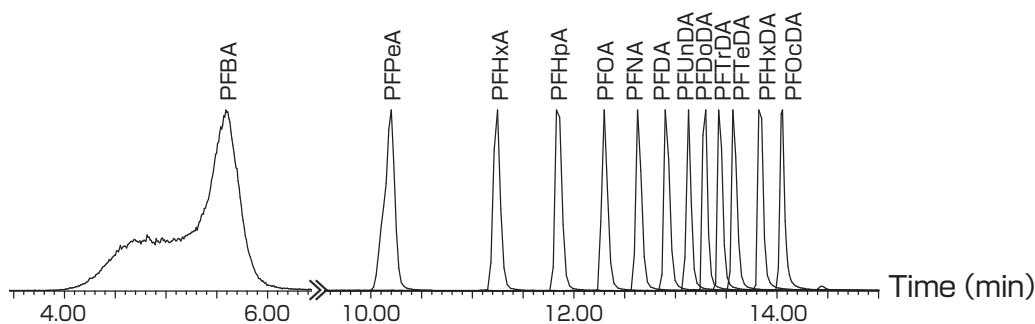
の分離に若干の差があることが報告されている。このように NP 混合物を定量標準品として用いる本分析法では、一部の異性体について若干のピーク分離能の差が定量値に影響を与えることを避けられなかった^[22]。

また、SS 量の差による分析精度への影響を確認するため、精度管理試験試料には、河川水 (SS 量 13 mg/L) と、SS を大量に含む下水処理施設の流入水 (SS 量 140 mg/L) を用いた。上述のように、一部の異性体 (NP8 および NP12、図 5 参照) について室間再現性が悪い傾向が見られたが、その他の異性体については CV_R 30 % 以内の良好な結果が得られている^[22]。

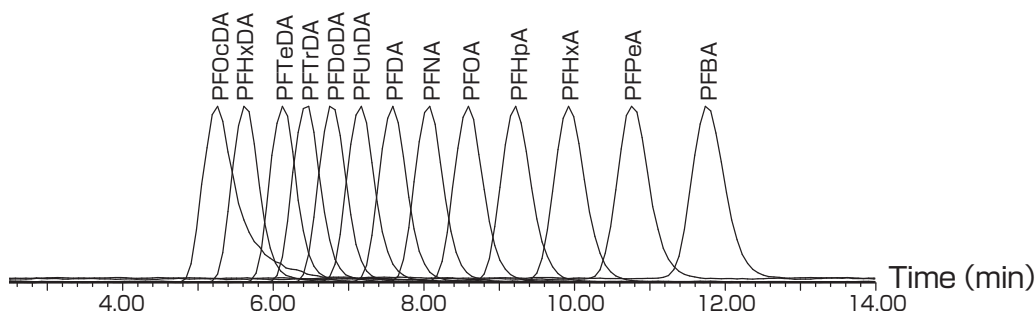
この分析法は、最終投票において 17 カ国中 15 票の賛成を得て 2009 年 7 月に ISO 24293:2009^[1] として発行された。この分析法が ISO 規格として立案されたのは 2005 年 2 月である。当時は NP 個別異性体の標準品はほとんど市販されていなかったが、ISO 24293 の確立により異性体分析の必要性が世界的に認められた結果、今日では ¹³C ラベル化体を含む複数の分岐異性体が試薬メーカーから販売されている。このため、次期改訂の際には市販標準物質を用いた信頼性の向上が期待できる。

4.2 PFOS/PFOAに係わる精度管理試験

この研究で実施した精度管理試験について説明する前に、2005 年に初めて行われた PFOS/PFOA 関連物質に



a) 化学結合型シリカゲル分析用カラム (Betasil C18) を用いた分離例 (短鎖から長鎖の順番で溶出)



b) マルチモード (逆相+陰イオン交換) 用カラム (JJ50 2D カラム) を用いた分離例 (長鎖から短鎖の順番で溶出)

図7 パルフルオロアルキルカルボン酸のクロマトグラムの分離例

関するインターラボラトリー試験について説明したい。インターラボラトリー試験では、参加者がそれぞれ選択したインハウスメソッド（規格として確立していない方法）を用いて行われる。精度管理試験とインターラボラトリー試験との違いは、前者は分析法の評価を行うことが目的のため、共通のSOPを用いて試験を行うのに対し、後者は分析値のばらつきや分析（事業）者の技術の評価することを目的としているため、使用する分析法の指定がない点である。2005年のインターラボラトリー試験は、Netherlands Institute for Fisheries Research、Örebro University、Water Services Corporationの3機関合同により企画・運営され、PFOS問題の初期から分析技術開発に取り組んできた37の国際的研究機関が参加、日本からは5機関（産総研、民間2、大学2）が参加した。この試験の結果、 CV_R が100%を超える分析値のばらつきが認められ、その原因としては純度の低い標準品の使用、試料容器によるコンタミネーション、測定機器の感度・検量線の差異による誤差等が指摘され、インハウスメソッドから得られる分析値の相互比較が困難であり、標準分析法規格化の必要性が明らかになった^[31]。当グループは、この試験において世界で初めて炭素数4のPFBAの測定データを提供している。

ISO 25101の妥当性確認のための精度管理試験は、産総研主催のもと2006年11月から2007年2月にかけて行われ、9ヶ国23機関が参加した。精度管理試験は分析法の妥当性を確認するための試験であるため、参加者は指定されたISO 25101の原案をSOPとして使用し、分析を行った。試験試料として、河川水、海水、低濃度標準品添加水、高濃度標準品添加水および標準品の分析が行われ、実試料中濃度がPFOSについて2.6-470 ng/L、PFOAについて9.4-4400 ng/Lの範囲で、それぞれの試料において CV_R が27%以下の精度を得ることに成功している（図8a）。排水試料についても同様に精度管理試験を行ったが、PFOSについて CV_R が40%になり、ISOが妥当性

の目安として設けている30%よりもばらつきが大きくなったことから、ISO 25101では排水試料を分析対象試料から外すことになった。

ISO 25101の制定により、国際規格を基礎とした国内規格策定の原則や国内事業者からの国内規格の要望を受け、JIS規格化を行うため、産総研主催のもと2回精度管理試験が行われた。2008年3月から7月に行われた第一回試験ではISO 25101と同一の分析法を用いて水道水、海水、河川水、低濃度標準品添加水、高濃度標準品添加水および標準品について試験を行った。参加機関は13機関であり、内11機関から提出された報告を基に試験結果の解析を行った。ほとんどの試料において、PFOS/PFOAおよびこれら関連物質の CV_R は30%以内と良好な結果が得られ（図8b）、ISO 25101が国内分析事業者においても使用可能なことが明らかになったが、低濃度水試料試験結果のばらつきや長鎖の化合物の低回収率等、いくつかの検点も認められた。2009年9月から2010年1月にかけて行われた第二回精度管理試験ではJIS規格化のために工業用水・工場排水を主な測定対象とした。参加機関は30機関であり、内23機関から提出された報告を基に試験結果の解析を行った。この試験でもPFOS/PFOAについてはすべての試料で満足の結果（ $CV_R < 30\%$ ）が得られ（図8c）、これは検量線作成用標準液も含めて、SOPを整備することでインハウスメソッドの違いによる分析誤差が抑えられたものと考えられる。

5 ISO規格を用いた国際的有害化学物質規制取り組みへのフィードバック

これらの国際規格はどのように役立てられているのだろうか。

まずISO 24293では、ノニルフェノール異性体別分析の必要性が国際的に周知され、試薬メーカーで異性体別標準品の販売が開始された。これにより、ドイツはISO 18857-1^[9]（ノニルフェノールを含むアルキルフェノール類を

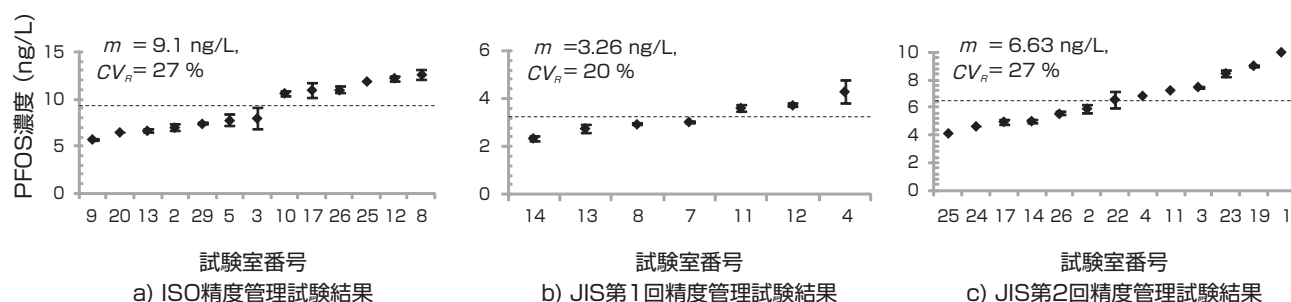


図8 ISOおよびJIS精度管理試験におけるPFOSの河川水試料結果
注) m = 測定平均値、 CV_R = 室間再現精度変動係数

液液抽出方法を用いて分析する方法で、ノニルフェノールは総量測定)のパート2となるISO 18857-2^[32](ノニルフェノールを含むアルキルフェノール類について固相抽出方法および誘導体化法を用いて分析する方法)を規格化する際に異性体別測定を加えた。

ISO 25101については、国内半導体およびセットメーカーであるS社から、2003年より自社工場で使われていたPFOSについて、使用薬剤中のPFOS含有割合の調査や周辺への環境負荷の評価を産総研に依頼された。このように、まだ規制についての動きがない中、S社は他の企業に先駆けてPFOS問題対応を行い、2006年時点でそれまでのPFOS使用量や環境への負荷量等の情報の把握や代替物質への移行等を行い、2008年に行われた経済産業省からの聞き取り調査等においても十分な安全性確保を達成していた。一方で、2009年までPFOS問題に対応していなかった企業は使用量の把握や代替物質への移行等、規制へのカウントダウンをにらみつつ短期間での対応に苦慮することになった。また、精度管理データのない民間分析事業者の場合は、その報告値の信頼性に疑義が残る場合もあるが、国際規格であるISO 25101に準じた調査結果は所管の要請にも受け入れられ易く、化審法の適用除外・エッセンシャルユースの検討にも貢献している。

分析においては、測定値を決定するために正確に値付けされた標準物質が必要になる。これまでは試薬メーカーが保証する値を使うしか選択の余地がなかったが、産総研計量標準総合センター(NMIJ)において、ISO 25101にふさわしい、国際単位系(SI)へのトレーサビリティが確保された認証標準物質(certified reference material: CRM)^{用語6}を作製した。可能な限り国内外規格と標準物質の連携を強化するため、PFOSについては国際規格策定時から標準物質開発を併行し、その結果、PFOS関連CRMに関しては迅速な供給が実現した。CRM開発に関してNMIJは、標準物質の生産に関する規格である、ISO Guide 34^[33]およびISO/IEC 17025^[34]に適合したマネジメントシステムを運用しており、本CRMもこれにしたがって生産を行っている。SI単位へのトレーサビリティ確保には、一次標準測定法^{用語7}^[35]の適用が推奨されている。その一つである凝固点降下法は、一般に有機標準物質の純度測定に利用されている。ただし、今回確保した原料は精製操作が容易なPFOSカリウム塩(K-PFOS)であったため、融点がとても高く(約300℃)、これまでのNMIJが培った凝固点降下法^[36]^[39](150℃程度以下)による純度測定では正確な結果を得ることが困難であった。そこで、高温高压耐用の試料測定容器および高温の融解温度校正用の標準物質を凝固点降下法に適用することで、測定の再現精度が向上

表1 ペルフルオロオクタンスルホン酸カリウム標準液における不確かさ要因

不確かさ要因	相対標準不確かさ(%)
純度評価	0.059
標準液調製	0.515
均質性	0.474
安定性	0.066
溶媒ブランク	0.001

注) 相対標準不確かさ：標準偏差などで表される測定結果の不確かさ(いわゆる標準不確かさ)を、測定結果で割った相対量。

し、K-PFOS等の高融点物質のSI単位へのトレーサビリティを確保した純度決定が可能となった(図9)。このため、これまでの方法とこの方法との組み合わせにより、より多くの有害物質の純度評価が期待できる^[40]。一方、標準液の調製は、質量比混合法(国家計量標準機関等に頻繁に用いられている調製法の一つ^[41])を使用しており、標準液の濃度はK-PFOSの希釈率と純度を乗じることで算出された。この濃度(認証値)は、SI単位へのトレーサビリティを確保している。以上のように、認証値および不確かさ(表1)を決定したPFOS標準液の開発を2009年度に完了した^[42](図10)。これによりPFOSのPOPs条約追加(2010年8

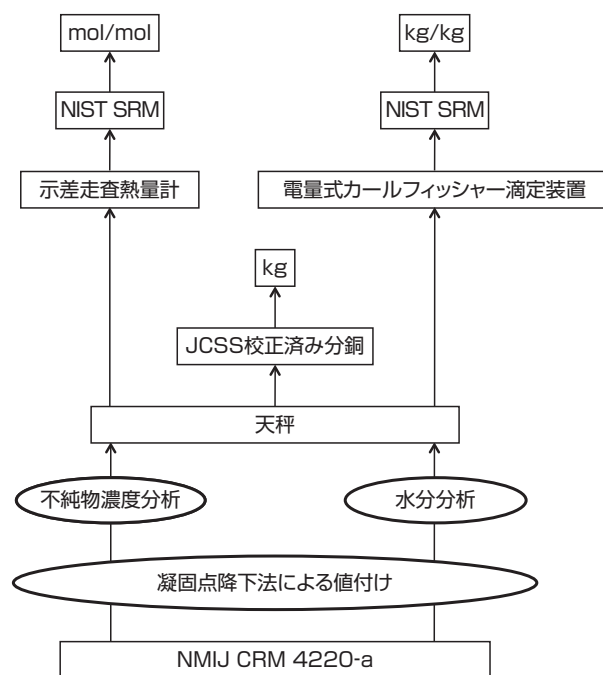


図9 ペルフルオロオクタンスルホン酸カリウム標準液(NMIJ CRM 4220-a)に関するトレーサビリティ体系図(原料)
注) JCSS: 校正事業者登録制度の略称、NIST SRM: 米国立標準技術研究所製認証標準物質の略称

月）とおよそ同時に、ISO 国際標準分析法（2009年3月）と世界初のCRM（2010年）が使用可能になった。

一方で、規格化したことで間接的に発生する弊害として、Oasis[®] WAX カートリッジの使用について指摘したい。ISO 25101によるPFOS/PFOA関連物質の分析は、分析法に関する基礎的な知見やISO 25101の基となる厳密な精度管理条件を前提としており、それらが不十分な場合には、分析値の信頼性・再現性の低下がみられることがある。SPEとして多用されるOasis[®] WAXカートリッジは、ISO 25101およびJIS K 0450-70やその基本技術となった原著論文^[13]に記載したように、低濃度試料について洗浄液として適切な緩衝溶液を用いればC2からC18までの多様なPFOS/PFOA関連物質について優れた結果が得られる。しかし、ギ酸等を用いる簡易溶出法(PFOS含有廃棄物ガイドライン(2010)等に記載されている)を適用すると、マトリックスにより回収率が大きく変動することを我々は確認している。このため、ギ酸を用いる場合には、溶出条件の最適化を十分行わなければ信頼性は確保できない。Oasis[®] WAXカートリッジと類似の性質を有するSPEカートリッジを用いた場合、短鎖(PFBA)の回収率や再現性の低下が起きる原因は同じである。さらに、最近の研究ではこのSPEカートリッジを海水分析に使用する場合には特に厳密な脱塩操作・溶出条件管理が必要なことを確認している。高濃度試料中の炭素鎖8のPFOS/PFOAの測定に限定すれば、むしろ単純なC18系あるいはポリマー系のSPEの方が、コンタミネーションやPFOS/PFOA以外の関連化合物の低回収率などの問題はあがるが、初心者には使い易い。なお、ISO 25101およびJIS K 0450-70には、Oasis[®] WAXカートリッジ以外にも使用可能なSPEカートリッジ例として、

C18系^[23]やポリマー系SPE(Oasis[®] HLBカートリッジ^[26]^[28]など)について、それぞれAnnex(informative)および附属書(参考)として記載されている。

現状では、ISO 25101の基本概念である「固相抽出法と液体クロマトグラフ/タンデム質量分析計を用いたPFOS類分析技術」の信頼性をどのように確認するかという、最も重要なQA/QCの本質が十分理解されていない例も多い。ISOの問題点としては、JISのように巻末に「解説」がなく、その分析操作を行う理由や背景等の詳細な説明が少ないことである。JISでは、妥当性確認結果だけでなく、JIS策定審議中に議論された事項、規定の理由や背景を詳細に解説し、ユーザーが操作の一つ一つを十分理解できるようにした。分析化学の基礎に立ち返り、高水準の試験データを作成し、各国・各試験室間の試験データの相互受け入れを可能とする同水準の試験データを得るための優良試験所基準(Good laboratory Practice: GLP)^{用語8}を充実させることが必要である。

6 おわりに

近年、化審法が環境省・経済産業省・厚生労働省の3省管轄になり、POPs条約検討委員会も同様の枠組みで進められている。省庁間で適切な情報共有と領域横断的な国際規格のサポートが実現できれば、日本の有する環境汚染科学に関する貴重な知見・技術を元に多数の国際規格の確立が環境分析分野で期待できる。これは狭い意味での環境だけではなく、製品中に含まれる有害物質や越境汚染、バーゼル条約等、有害化学物質問題の国際的解決を可能にするための基礎でもあり、リスク・動態モデルや政策策定には、これらの実測値の信頼性を客観的に確保することが必要不可欠である。

また、日本がコンビナーとして最近確立した水質測定に関するISO国際規格には、ここで述べたISO 24293^[1]とISO 25101^[2]、加えてISO 22719^[43]の3件がある。さらに現在、海水のpH測定法の国際規格化も進行中であり、これらはすべて地球汚染・温暖化等、現在の国際社会の最重要課題の一つである地球環境問題に密接に関係する国際規格であることは注目に値する。これは、ISOの主目的である「国際規格を用いて国際問題を解決する」という概念を地球環境問題へ拡大し、国内産業・環境政策と国際経済問題の解決へ向けて動き出した一例と考えられる。今後、数多くの環境測定国際規格化を省庁の枠組みを超えて実現し、環境問題の解決策をいち早く見いだすことにより国際的な貢献を行うことは、「環境問題先進国」としての我が国の責務であると考えられる。また、近年においては環境問題等の課題解決技術の先行



図10 ペルフルオロオクタンスルホン酸カリウム標準液(NMIJ CRM 4220-a)

取得による産業競争力の強化のための標準化活動が求められており、今後は産業界とも緊密に連携した標準化が重要となる。

謝辞

この研究開発において、ISO/TC147 国内委員長の宮崎章氏、ISO/TC147 国内委員、ノニルフェノールおよびPFOS/PFOAの標準化運営委員会委員および委員長の土屋悦輝氏、ノニルフェノールおよびPFOS/PFOAの標準化運営委員会委員の中川順一氏、社団法人産業環境管理協会、財団法人日本環境測定分析協会および精度管理試験参加機関をはじめとする関係者の皆様のご協力およびご指導をいただいたことに深く感謝いたします。

用語の説明

用語1: GC-PFC: GC キャピラリーカラムの高分離能を利用して、複雑なマトリックス中に含まれる微量目的物質を集め、濃縮・精製する分取 GC システム。

用語2: 二次元ガスクロマトグラフ: 二つのキャピラリーカラムを用い、共溶出する対象化合物、または妨害物質を分離・精製する方法。その分離能は使用するキャピラリーカラムの長さ、径および液相の組み合わせにより決まる。この方法は化合物同士の高度分離を可能にするだけでなく、分析対象以外の有機化合物を分析ラインから除去することにより、検出器のバックグラウンドを低減し、その結果高感度な分析を可能にする。

用語3: 内標準物質: 試料の前処理操作、分析操作の段階における収率の補正、回収率の確認等のために添加される。目的成分と化学構造が類似した物質を用いる。

用語4: フラグメントパターン: 分子イオン等の開裂によって生成したイオンのパターンのこと。フラグメントパターンは化合物の化学構造を反映したものとなる。

用語5: 水素炎イオン化検出器 (FID): ガスクロマトグラフで用いられる標準的な検出器。水素の燃焼熱によって有機化合物の骨格炭素をイオン化し、そのイオン電流の変化を測定する検出器。

用語6: 認証標準物質 (certified reference material: CRM): トレーサビリティを確立した手順によって、一つ以上の特性値が認証された標準物質のこと (認証書が付属)。各認証値には、ある信頼水準での不確かさが付いている。

用語7: 一次標準測定法: “最高の質を有し、その操作が完全に記述され、理解され、かつ不確かさがSI単位を用いて完全に記述される方法で、その量についての他の標準を参照せずに測定結果を標準として使用で

きる方法”と定義されている手法。化学分析での一次標準測定法は、重量法、滴定法、電量滴定法、同位体希釈質量分析法、凝固点降下法である。

用語8: 優良試験所基準 (good laboratory practice: GLP): 各種安全性試験において、水準の試験データ作成を促進し、試験成績の信頼性や質を確保することを目的とし、計画、実施、監査、記録、資料保管および報告される際の組織的な手順およびその条件に関する品質システムである。1981年に経済協力開発機構(OECD)で制定、1997年に改訂され、化審法では1984年3月にGLP制度を導入し、OECDのGLP原則に整合している。

参考文献

- [1] ISO 24293:2009, Water quality -- Determination of individual isomers of nonylphenol -- Method using solid phase extraction (SPE) and gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) (2009).
- [2] ISO 25101:2009, Water quality -- Determination of perfluorooctanesulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA) -- Method for unfiltered samples using solid phase extraction and liquid chromatography/mass spectrometry (2009).
- [3] 日本工業規格: JIS K 0450-60-10:2007, 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 (2007).
- [4] 日本工業規格: JIS K 0450-70-10:2011, 工業用水・工場排水中のペルフルオロオクタンスルホン酸およびペルフルオロオクタノ酸試験法 (2011).
- [5] 日本工業規格: JIS K 0450-20-10:2005, 工業用水・工場排水中のアルキルフェノール類試験方法 (2005).
- [6] N. Kannan, N. Yamashita, G. Petrick and J.C. Duinker: Polychlorinated biphenyls and nonylphenols in the Sea of Japan, *Environ. Sci. Technol.*, 32(12), 1747-1753 (1998).
- [7] N. Yamashita, K. Kannan, S. Hashimoto, A. Miyazaki and J.P. Giesy: Estrogenic potency of individual nonylphenol congeners isolated from technical mixtures, *Organohalogen Compd.*, 42, 121-125 (1999).
- [8] Y-S Kim, T. Katase, T. Inoue, S. Sekine, Y. Fujimoto and N. Yamashita: Variation of estrogenic activity in a commercial nonylphenol preparation fractionated by HPLC, *Organohalogen Compd.*, 53, 61-64 (2001).
- [9] ISO 18857-1:2005, Water quality -- Determination of selected alkylphenols -- Part 1: Method for non-filtered samples using liquid-liquid extraction and gas chromatography with mass selective detection (2005).
- [10] J. P. Giesy and K. Kannan: Global distribution of perfluorooctane sulfonate in wildlife, *Environ. Sci. Technol.*, 35(7), 1339-1342 (2001).
- [11] S. Taniyasu, K. Kannan, Y. Horii, N. Hanari and N. Yamashita: A survey of perfluorooctane sulfonate and related perfluorinated organic compounds in water, fish, birds, and humans from Japan, *Environ. Sci. Technol.*, 37(12), 2634-2639 (2003).
- [12] N. Yamashita, K. Kannan, S. Taniyasu, Y. Horii, T. Okazawa, G. Petrick and T. Gamo: Analysis of perfluorinated acids at parts-per-quadrillion levels in seawater using liquid chromatography-tandem mass spectrometry, *Environ. Sci. Technol.*, 38(21), 5522-5528 (2004).

- [13] S. Taniyasu, K. Kannan, M. K. So, A. Gulkowska, E. Sinclair, T. Okazawa and N. Yamashita: Analysis of fluorotelomer alcohols, fluorotelomer acids, and short- and long-chain perfluorinated acids in water and biota, *J. Chromatogr. A*, 1093(1-2), 89-97 (2005).
- [14] N. Yamashita, K. Kannan, S. Taniyasu, Y. Horii, G. Petrick and T. Gamo: A global survey of perfluorinated acids in oceans, *Mar. Pollut. Bull.*, 51(8-12), 658-668 (2005).
- [15] N. Yamashita, S. Taniyasu, G. Petrick, S. Wei, T. Gamo, P. K. S. Lam and K. Kannan: Perfluorinated acids as novel chemical tracers of global circulation of ocean waters, *Chemosphere*, 70(7), 1247-1255 (2008).
- [16] J.P. Benskin, D.C.G. Muir, B.F. Scott, C. Spencer, A.O. De Silva, H. Kylin, J.W. Martin, A. Morris, R. Lohmann, G. Tomy, B. Rosenberg, S. Taniyasu and N. Yamashita: Perfluoroalkyl acids in the Atlantic and Canadian Arctic Oceans, *Environ. Sci. Technol.*, 46(11), 5815-5823 (2012).
- [17] K. Guenther, E. Kleist and B. Thiele: Estrogen-active nonylphenols from an isomer-specific viewpoint: a systematic numbering system and future trends, *Anal. Bioanal. Chem.*, 384(2), 542-546 (2005).
- [18] Y.-S. Kim, T. Katase, M. Makino, T. Uchiyama, Y. Fujimoto, T. Inoue and N. Yamashita: Separation, structural elucidation and estrogenic activity studies of the structural isomers of 4-nonylphenol by GC-PFC coupled with MS and NMR, *Aust. J. Ecotoxicol.*, 11, 137-148 (2005).
- [19] M. Makino, T. Uchiyama, H. Saito, S. Ogawa, T. Iida, T. Katase and Y. Fujimoto: Separation, synthesis and estrogenic activity of 4-nonylphenols: two sets of new diastereomeric isomers in a commercial mixture, *Chemosphere*, 73(8), 1188-1193 (2008).
- [20] T. Ieda, Y. Horii, G. Petrick, N. Yamashita, N. Ochiai and K. Kannan: Analysis of nonylphenol isomers in a technical mixture and in water by comprehensive two-dimensional gas chromatography-mass spectrometry, *Environ. Sci. Technol.*, 39(18), 7202-7207 (2005).
- [21] 堀井勇一, 片瀬隆雄, 金倫碩, 山下信義: 相対感度係数を用いるノニルフェノール異性体測定法の開発と検証, *分析化学*, 53(10), 1139-1147 (2004).
- [22] 堀井勇一, 谷保佐知, 土屋悦輝, 中川順一, 高菅卓三, 山下信義, 宮崎章: ISO 24293:2009に基づく水試料中ノニルフェノール異性体分析の試験所間比較, *分析化学*, 59(4), 319-327 (2010).
- [23] K. J. Hansen, H. O. Johnson, J. S. Eldridge, J. L. Butenhoff and L. A. Dick: Quantitative characterization of trace levels of PFOS and PFOA in the Tennessee River, *Environ. Sci. Technol.*, 36(8), 1681-1685 (2002).
- [24] S. Taniyasu, K. Kannan, Y. Horii and N. Yamashita: The first environmental survey of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and related compounds in Japan, *Organohalogen Compd.*, 59, 311-314, (2002).
- [25] S. Taniyasu, N. Yamashita, Y. Horii, K. Kannan and T. Gamo: Perfluorooctane sulfonate and related compounds in the South China Sea, Sulu Sea and Japanese environmental samples, *Organohalogen Compd.*, 62, 339-342, (2003).
- [26] M. K. So, S. Taniyasu, N. Yamashita, J. P. Giesy, J. Zheng, Z. Fang, S. H. Im and P. K. S. Lam, Perfluorinated compounds in coastal waters of Hong Kong, South China, and Korea, *Environ. Sci. Technol.*, 38(15) 4056-4063 (2004).
- [27] N. Yamashita, K. Kannan, S. Taniyasu, Y. Horii, N. Hanari, T. Okazawa and G. Petrick: Environmental contamination by perfluorinated carboxylates and sulfonates following the use of fire-fighting foam in Tomakomai, Japan, *Organohalogen Compd.*, 66, 4013-4018 (2004).
- [28] E. Sinclair, S. Taniyasu, N. Yamashita and K. Kannan: Perfluorooctanoic acid and perfluorooctane sulfonate in Michigan and New York waters, *Organohalogen Compd.*, 66, 4019-4023 (2004).
- [29] K. S. Guruge, S. Taniyasu, N. Yamashita, S. Wijeratna, K. M. Mohotti, H. R. Seneviratne, K. Kannan, N. Yamanaka and S. Miyazaki: Perfluorinated organic compounds in human blood serum and seminal plasma: a study of urban and rural tea worker populations in Sri Lanka, *J. Environ. Monit.*, 7(4), 371-377 (2005).
- [30] S. Taniyasu, K. Kannan, L. W. Y. Yeung, K. Y. Kwok, P. K. S. Lam and N. Yamashita: Analysis of trifluoroacetic acid and other short-chain perfluorinated acids (C2-C4) in precipitation by liquid chromatography-tandem mass spectrometry: comparison to patterns of long-chain perfluorinated acids (C5-C18), *Anal. Chim. Acta*, 619(2), 221-230 (2008).
- [31] S. P. J. van Leeuwen, A. Karrman, B. van Bavel, J. de Boer and G. Lindstrom: Struggle for quality in determination of perfluorinated contaminants in environmental and human samples, *Environ. Sci. Technol.*, 40(24), 7854-7860 (2006).
- [32] ISO18857-2:2009, Water quality -- Determination of selected alkylphenols -- Part 2: Gas chromatographic-mass spectrometric determination of alkylphenols, their ethoxylates and bisphenol A in non-filtered samples following solid-phase extraction and derivatisation (2009).
- [33] ISO Guide 34:2009, General requirements for the competence of reference material producers (2009).
- [34] ISO/IEC 17025:2005, General requirements for the competence of testing and calibration laboratories (2005).
- [35] M. J. T. Milton and T. J. Quinn: Primary methods for the measurement of amount of substance, *Metrologia*, 38(4), 289-296 (2001).
- [36] Y. Shimizu, Y. Ohte, X. Bao, S. Otsuka, Y. Kitamaki, K. Ishikawa, T. Ihara and K. Kato: Development of certified reference materials of high-purity volatile organic compounds: purity assay by the freezing-point depression method, *Accred. Qual. Assur.*, 13(7), 389-396 (2008).
- [37] N. Hanari, K. Ishikawa, Y. Shimizu, R. Iwasawa, S. Otsuka and T. Yarita: Certified reference material for determination of *p*-*n*-nonylphenol and *p*-*n*-heptylphenol from the National Metrology Institute of Japan, *Organohalogen Compd.*, 70, 1349-1352 (2008).
- [38] N. Hanari, K. Ishikawa, Y. Shimizu, R. Iwasawa, S. Otsuka, N. Fujiki, X. Bao, T. Yarita, K. Kato and N. Yamashita: Certified reference materials for determination of phthalates and alkylphenols from the National Metrology Institute of Japan, *Organohalogen Compd.*, 71, 1605-1609 (2009).
- [39] N. Hanari, K. Ishikawa, S. Otsuka, K. Higuchi, R. Iwasawa and T. Yarita: Certified calibration solution reference material for the determination of benzo[a]pyrene from the National Metrology Institute of Japan (NMIJ), *Polycyclic Aromat. Compd.*, 28(4-5), 302-319 (2008).
- [40] N. Hanari, N. Itoh, R. Iwasawa, M. Numata, S. Taniyasu and N. Yamashita: Purity evaluation of potassium perfluoroalkylsulfonate using differential scanning calorimetry, *Organohalogen Compd.*, 72, 271-274 (2010).
- [41] ISO 6142:2001, Gas analysis -- Preparation of calibration gas mixtures -- Gravimetric method (2001).
- [42] 独立行政法人産業技術総合研究所計量標準総合センター: NMIJ 認証標準物質 (NMIJ CRM), <http://www.nmij.jp/service/C/>
- [43] ISO 22719:2008, Water quality -- Determination of total alkalinity in sea water using high precision potentiometric titration (2008).

執筆者略歴

谷保 佐知（たにやす さち）

2006年3月金沢大学大学院自然科学研究科博士後期課程修了。同年4月産業技術総合研究所環境管理技術研究部門未規制物質研究グループに入所し、残留性有機ハロゲン化合物の分析法開発および環境動態解明に従事。この研究ではペルフルオロオクタンスルホン酸およびペルフルオロオクタン酸類の分析法開発およびISO規格およびJIS規格化に携わった。



羽成 修康（はなり のぶやす）

2001年3月筑波大学大学院博士課程農学研究科修了。2004年7月産業技術総合研究所環境管理技術研究部門未規制物質研究グループに入所し、ダイオキシン類似物質の分析法開発に従事。2005年10月計測標準研究部門有機分析科に配属。有機標準物質（特に残留性有機汚染物質）の国家標準（NMIJ CRM）開発に従事。トレーサビリティ確保のため、一般供給のCRMだけでなく、JCSS運営には欠かせない基準物質も開発している。この論文では、ペルフルオロオクタンスルホン酸カリウム標準液（NMIJ CRM 4220-a）の開発を担当した。



堀井 勇一（ほりい ゆういち）

2006年3月茨城大学大学院理工学研究科博士後期課程修了。同年5月より2年間 New York State Department of Health (Wadsworth Center) にポスドクとして在籍。2008年10月より現所属である埼玉県環境科学国際センターに入所し、残留性有機汚染物質の環境モニタリングや動態解析に従事している。現在の興味はカオリン粘土に関するダイオキシンの天然生成について。この研究ではノニルフェノール異性体別分析法の開発を担当した。



山下 信義（やました のぶよし）

1992年、愛媛大学連合農学研究科環境化学博士課程修了。同年、旧工業技術院資源環境技術総合研究所（現産総研）入所。一貫して環境分析化学分野における新規技術の開発とその応用研究に携わっている。多くの標準規格検討委員、TC147/SC2/WG56 コンビナー等、国内外の分析化学技術の信頼性向上のためにさまざまな国際的精度管理試験・研究の統括を行うとともに、多数の国外研究機関と連携し、地球規模の化学物質問題について幅広い応用研究を展開している。新規 POPs 等検討会委員等、化学物質管理政策諮問会議にも貢献。2010年 Highly Cited Author Award 受賞（2件）。この研究では総括を担当した。



査読者との議論

議論1 全体評価

コメント（小野 晃：産業技術総合研究所）

この研究は、環境中の有害化学物質の分析技術に関する著者らの優れた研究成果をもとにして、国際共同作業をおして国際規格に結実させたものです。国際標準化を目指した明確なシナリオのもとに、構成的・統合的に研究が行われたことがよく分かる記述になっており、シンセシオロジー誌の論文にふさわしいものです。

この論文では、著者らが研究と標準化を一體的に進めてきたこと

も注目されます。また国際規格が発行された後、この規格が社会の多くの人たちから利用されていることも高く評価されます。

議論2 一般読者を意識した記述

コメント（小野 晃）

シンセシオロジー誌の研究論文は、特定の技術分野の専門家に読んでもらうだけでなく、広く他分野の研究者・技術者にも読んでもらうことを期待しています。今回の論文の趣旨は、幅広い読者に環境分析における国際標準化の考え方と進め方の事例を紹介し、それらを共有してもらうと考えます。

そのような観点からしますと、分析化学を専門にしない人には分かりづらい表現が散見されますので、文章表現の工夫をお願いします。

回答（谷保 佐知）

ご指摘のように、環境分析技術の専門外の研究者・技術者には、分かりづらい専門用語や表現があり、理解の妨げとなっていました。これら専門的な内容については、この研究で行った標準化プロセスの理解を深められるよう、本文または「用語説明」において説明を追加しました。

議論3 論文の構成（1）

コメント（小野 晃）

シンセシオロジー誌では以下のような論文の構成を要請していますので、ご検討をお願いします。

- ① まず研究目標が「社会的な価値」にどのように結びついているかを説明していただき、
- ② 次に研究目標を達成するための著者らの「研究シナリオ」を描いていただき、
- ③ さらに要素技術をどのように統合して研究目標を達成していったかという、「構成（シンセシス）のプロセス」を記述していただきます。

なお、上記②の「研究シナリオ」を1枚の図にまとめて全体を俯瞰していただくと、読者にとって分かりやすいと思います。査読者がこの論文を読んで理解した範囲で「研究シナリオ」の図（案）を作ってみましたので、参考にしてください。

回答（谷保 佐知）

- ① この論文の研究目標は「分析方法の標準化」です。したがって、産総研の開発した技術シーズを用いてISO、JIS等、国内外標準規格を確立した4件の事例の解説が主目的です。この研究で対象としている化学物質は、研究を開始した当時、環境有害化学物質として認識され始めていたものの、信頼性が確保された分析法がなく、適切な環境対策を行ううえで重要となる環境負荷量の把握が困難でした。このような環境分析における分析法の規格化の必要性と、各対象化合物の社会的背景について、1章および2章で具体的に記載しました。また、環境分析にかかわるISOやJISの体系と、今回の報告の位置付けについても記載し、よりこの研究の背景が理解できるよう加筆しました。
- ② 標準化の達成にあたり、この研究では、通常の標準化に多い、「業界のニーズ→分析法開発→精度管理→JIS化→ISO化」の流れと異なり、「化学物質を管理するために必要となる環境挙動の解明や環境負荷量の把握が出发点となり→分析法開発→精度管理→業界ニーズ→JIS化」の流れで研究を進めてきました。ご提案いただいた図を参考に、この研究のシナリオとして図4を作成しました。
- ③ ISO化やJIS化の過程において議論になった課題点や、それに対してどのような対処を行ったか分かるように、詳細に記載しました。また、これに対応して、どの点を規格のNormative（準拠すべき規範的）な事項とInformative（参考にするべき情報提供的）な事項として対応したのかについて記載しました。

議論4 論文の構成 (2)

コメント (田尾 博明・産業技術総合研究所環境管理技術研究部門)

論文の構成ですが、緒言、分析法開発、標準化、化学物質管理への貢献、結言となっていますが、環境挙動の解明の部分が抜けています。今回、標準化が成功したことの理由として、環境挙動解明に関して論文を発表し、国際的に優れた研究をしてきたと評価されてきたことが挙げられると思いますので、環境挙動の解明に関する章を設けたほうがよいと思います。

回答 (谷保 佐知)

第2章の「国際的有害化学物質規制に対応した環境分析技術の必要性とその標準化」の中で、研究要素やシナリオを説明する過程で、環境挙動の解明について大幅に加筆し、環境挙動解明においてこの研究で達成した成果について説明しました。

議論5 標準化の必要性

コメント (田尾 博明)

各化合物 (例えばノニルフェノール) の化学式、物性、用途、どのような環境問題を起しているかを説明し、この問題解決に既存の標準法では対応できない理由、今回の標準化提案を行った理由を記述すると、理解しやすくなると思います。

回答 (谷保 佐知)

環境分析技術の必要性を説明するうえで重要となる、各化合物の用途、環境問題や環境動態についての背景情報を追記し、「標準化」の経緯をより理解していただけるように修正しました。

議論6 規格の内容

コメント (小野 晃)

この論文では国際規格を作成したことが述べられていますが、規格の内容が詳細には述べられていません。国際規格の中で、「Normative な事項」には何を選択したのか、「Informative な事項」には何を選択したのかを記載してください。そしてその選択の理由や背景も記載してください。

回答 (谷保 佐知)

議論3のコメント③への対応と合わせて、規格の内容と制定の経緯や背景を記載しました。

議論7 標準化の必要性と標準化プロセス

コメント (田尾 博明)

国際標準化において、基準認証研究開発事業が果たした役割を説明すると、今後、同制度を利用して標準化を目指す人の参考になります。また、今回はISO化が先行し、後からJIS化していますが、その経緯と問題点を説明すると、通常とは逆のプロセスで標準化を実施する人の参考になると思います。

回答 (谷保 佐知)

基準認証研究開発事業で行った内容について追記しました。またご指摘のとおり、この研究では、ISO化がJIS化よりも先にスタートしたため、また、ノニルフェノールのISO化ではすでにドイツが類似の分析方法の規格の策定中であったことから、幹事国との事前調整等が必要でした。これらの調整についても、規格化において重要な過程ですので、その経緯について加筆しました。また、ISO化やJIS化の過程において議論になった課題点やどのような対処を行ったか分かるように記載しました。

議論8 標準化に対する公的研究機関と民間企業の関係 (1)

質問 (小野 晃)

環境分野ではありがちと思われるが、ある種の規格の作成に対して、関係する民間企業 (あるいは関連業界団体) の関心が高くな

いという現実があります。査読者は、民間企業が関心をもたない分野 (あるいは、もてない分野) では公的研究機関が率先して積極的に動くべきであり、国民が公的研究機関に期待しているのはその点だと考えます。このような公的研究機関の役割を踏まえたうえで、環境分野の規格作成における公的研究機関と民間企業との関係に関して、著者の見解はいかがでしょうか。

回答 (谷保 佐知)

地球環境問題に密接に関係する環境分野の標準化では、産業界からの支援が得られにくいこともあり、ご指摘のように公的研究機関が果たすべき役割は大きいと筆者も考え、この観点から標準化活動を行ってきました。一方で、環境問題等の課題について、いち早く解決技術を見出すことは、産業競争力の強化に繋がるとも考えています。したがって、環境保全の観点だけでなく、産業界の発展に貢献するためにも、今後は産業界とより緊密に連携して標準化を進めていくことが重要と考えています。

議論9 標準化に対する公的研究機関と民間企業の関係 (2)

コメント (田尾 博明)

産業界の支援が得られにくい原因の一つは、環境分析法の開発によって新たな環境汚染防止対策を求められる、すなわち産業界にとって負担増となることだと思います。しかし、最近では、環境問題の解決策をいち早く見出すことが産業競争力の維持にとって重要となっています。この課題解決技術の先行取得による産業競争力強化のための標準化は、環境分析法の標準化に産業界からの支援を得るための希望となると思います。この点についても記述するとよいのではないのでしょうか。

回答 (谷保 佐知)

ご指摘のように、規格化により新たな対策の採用というイメージから業界団体からの支援が得られにくい状況にありました。しかし、社会的に大きな問題となる前に、早急に対策を施すことが、環境問題の解決策をいち早く見出すことになり、長期的には産業競争力の強化や産業の健全な育成に繋がるため、今後、産業界と連携した標準化が重要であることを記述しました。

議論10 規格作成の効果

コメント (小野 晃)

5章の冒頭にある、「これらの国際規格はどのように役立てられているのだろうか」という問題設定は重要と思います。規格は作ることで自体が目的ではなく、どう使われるかが重要だからです。

この規格が成立し、国際社会で使われるようになって以後、社会の何がどう変わったのか、その効果は当初狙っていたものと比べてどうだったかを検証することは重要です。規格発行後に実際の効果がどうであったかに言及していただきたいと思います。

回答 (谷保 佐知)

ノニルフェノールの規格は、現時点でドイツ提案により2件、日本提案より1件のISO規格が制定されていますが、ドイツ提案の最初の規格 (ISO 18857-1) では総量測定で、ノニルフェノールの各異性体の測定は記載されていませんでした。しかし、日本提案の規格 (ISO 24293) において、異性体別分析の必要性が国際的に広く認識されたことから、試薬メーカーで異性体別標準品の販売が開始されました。ドイツ提案のパート2の規格 (ISO 18857-2) では、当初パート1と同様に総量測定が想定されていましたが、異性体別標準品が利用可能になったこと、また異性体別分析の重要性から、異性体別測定が加わることになり、より詳細なリスク評価を可能にする分析法になりました。また、近年PFOS/PFOAの依頼分析を受託するほとんどの民間分析事業者は、ISO 25101やJIS K0450-70-10に準じた分析を提供しており、質が高く、相互比較が可能なデータの提供を可能にしている等、この規格により一定の成果を挙げられたと思います。