

国立研究開発法人国立環境研究所

環境標準物質認証書

NIES CRM No. 26 アオコ (Water Bloom)

本環境標準物質は、アオコ（藍藻の異常増殖による水の華）を形成する主な藍藻 *Microcystis* 中の有毒物質ミクロシスチンおよび組成元素を対象としており、アオコに含まれるミクロシスチンの化学分析や藻類の化学組成分析を行う際の精度管理や分析機器の校正に使われることを目的として、国立環境研究所 (NIES, National Institute for Environmental Studies) において研究開発された認証標準物質 (CRM, Certified Reference Material) である。

認証値

化合物	質量分率			分析方法
	単位	認証値	不確かさ	
ミクロシスチン	mg/g	4.5	0.4	a, b

ミクロシスチンの分析方法は、環境省の要調査項目等調査マニュアル（2003年3月）に従った。試料を酸化分解後、生成した MMPB (3-methoxy-2-methyl-4-phenyl-butylic acid) を高速液体クロマトグラフ質量分析法 (a)、および MMPB をメチルエステル化しガスクロマトグラフ質量分析法 (b) で測定した<sup>1-3)</sup>。

参考文献

- 1) T. Sano, K. Nohara, F. Shiraishi, and K. Kaya, (1992). Intern. J. Environ. Anal. Chem. 49, 163-170.
- 2) K. Kaya and T. Sano, (1999). Anal. Chim. Acta 386, 107-112.
- 3) H. Takagi, M. Shirai, T. Sano, and K. Kaya, (2004). J. Environ. Chem. 14, 587-596 (in Japanese).

元素	質量分率			分析方法*
	単位	認証値	不確かさ	
Calcium (Ca)	%	0.56	0.02	AAS, ICP-OES, INAA, XRF
Iron (Fe)	%	0.086	0.006	ICP-OES, ID-ICP-MS, INAA
Magnesium (Mg)	%	0.44	0.03	AAS, ICP-OES, XRF
Potassium (K)	%	0.90	0.05	AAS, ICP-OES, INAA, XRF
Sodium (Na)	%	0.12	0.02	AAS, ICP-OES, INAA
Manganese (Mn)	mg/kg	39	3	HR-ICP-MS, ICP-MS, ICP-OES, INAA
Strontium (Sr)	mg/kg	4.5	0.3	ICP-MS, ICP-OES, ID-ICP-MS

Zinc (Zn)	mg/kg	13	2	HR-ICP-MS, ICP-MS, ICP-OES, ID-ICP-MS, INAA
-----------	-------	----	---	---

\* AAS : 原子吸光分析法

HR-ICP-MS : 高分解能誘導結合プラズマ質量分析法

ICP-MS : 誘導結合プラズマ質量分析法

ICP-OES : 誘導結合プラズマ発光分析法

ID-ICP-MS : 同位体希釈誘導結合プラズマ質量分析法

INAA : 機器中性子放射化分析法

XRF : 蛍光 X 線分析法

### 参考値

元素	質量分率		分析方法*
	単位	参考値	
Phosphorus (P)	%	0.89	ICP-OES, Molybdenum blue-FIA, XRF
Sulfur (S)	%	0.82	ICP-OES, XRF
Cobalt (Co)	mg/kg	0.75	ICP-MS, ICP-OES, INAA
Copper (Cu)	mg/kg	2.3	GFAAS, ICP-MS, ICP-OES, ID-ICP-MS, INAA, XRF
Nickel (Ni)	mg/kg	2.2	ICP-MS, ICP-OES, ID-ICP-MS
Lead (Pb)	mg/kg	4.3	ICP-MS, ICP-OES, ID-ICP-MS

\* GFAAS : 電気加熱原子吸光分析法

ICP-MS : 誘導結合プラズマ質量分析法

ICP-OES : 誘導結合プラズマ発光分析法

ID-ICP-MS : 同位体希釈誘導結合プラズマ発光分析法

INAA : 機器中性子放射化分析法

Molybdenum blue-FIA : モリブデン青吸光光度分析法

XRF : 蛍光 X 線分析法

### 認証値と参考値の決定法

報告された 14 機関の測定結果について、ロバスト法で  $z$  スコアが 2 以上のものは棄却した。認証値は、ミクロシチンおよび Ca、Fe、K、Mg、Mn、Na、Sr、Zn を対象とし、ISO Guide 35 に則して決定された。認証値に付けた不確かさは、包含係数  $k = 2$  の拡張不確かさであり、約 95 % の信頼区間の半分の幅に相当する。S、P、Co、Cu、Ni、Pb に参考値を付した。

### 原料および作製法

本標準物質の原料は、NIES 内の藻類培養管理施設において藍藻 *Microcystis aeruginosa* の 2 株をもとに純粋培養し、それを凍結乾燥したものである。目開き 63  $\mu\text{m}$  の篩分操作によって微粉化した乾燥藻体 (約 40 g) を均質処理し、酸洗浄・滅菌処理をした褐色ビン (636 本) に 54 mg ずつ詰めた。そのビンごと真空乾燥後、不活性ガス (Ar) を充填し、乾燥剤入りのアルミパックに密封した。

## 均質性

無作為に抽出した5本の試料ビンを対象として均質性試験を行った。マイクロシスチンについて、溶媒抽出後、酸化分解し、生成した MMPB を高速液体クロマトグラフ質量分析法で測定した。藍藻中の主要成分である Ca、Fe、K、Mg、Mn、Na については、ICP-OES により定量した。分析値を分散分析した結果、いずれも相対標準偏差は4%以下であり、ビン間のばらつきは認証値の不確かさの範囲内にあった。本物質は標準物質として十分に均質であると判断された。

## 使用上の注意事項

1. 認証値および参考値はすべて真空乾燥基準の含有量である。試料の性質上、加熱乾燥できないため、吸湿には十分な注意を払うこと。
2. 本物質は有毒物質を含むため、微粉末を吸引したり、皮膚に付いたり、目に入ったりしないように注意すること。
3. 試料の採取などにおいて汚染しないように注意すること。
4. 分析に供する量は、10 mg 以上を使用することが望ましい。
5. 本物質は吸湿性があるので、開封後、できるだけ速やかに使い切ることが望ましい。やむを得ず保存する場合は、残量の入った配布容器を密栓し、デンケータ中で室温保存すること。長期保存した試料を分析に供する場合は、使用直前に改めて真空乾燥処理することが望ましい。
6. 研究目的以外で使用しないこと。試料の廃棄の際は、廃棄物の処理および清掃に関する法律を遵守すること。

## 有効期限

本標準物質の認証値の有効期限は、上記条件が守られることを前提として、2032年8月とする。有効期限内に特性値の変化が認められた成分については、国立環境研究所ホームページにおいて公表する。

<http://www.nies.go.jp/labo/crm/index.html>

## 分析協力機関

本標準物質の認証値および参考値は、次の機関の分析値をもとに決定された。

国立環境研究所、東北大学大学院、奈良県保健環境研究センター、(公財)環境科学技術研究所、東北ニュークリア(株)、(株)環境管理センター、(株)環境研究センター、(株)島津テクニクス、(株)住化分析センター、(株)地球科学研究所、内藤環境管理(株)、(公財)日本分析センター、中国国家分析試験中心、中国原子能科学研究院

## 技術情報

本標準物質に関連する技術情報と最新の研究報告についてはホームページから入手可能である。

<http://www.nies.go.jp/labo/crm/index.html>

その他、本標準物質に関する質問は下記問い合わせ先にご連絡ください。

2007年7月1日

独立行政法人国立環境研究所

環境研究基盤技術ラボラトリー長 植弘 崇嗣

問い合わせ先

〒305-8506 茨城県つくば市小野川 16-2

国立研究開発法人国立環境研究所

環境リスク・健康領域 基盤計測センター 環境標準物質担当

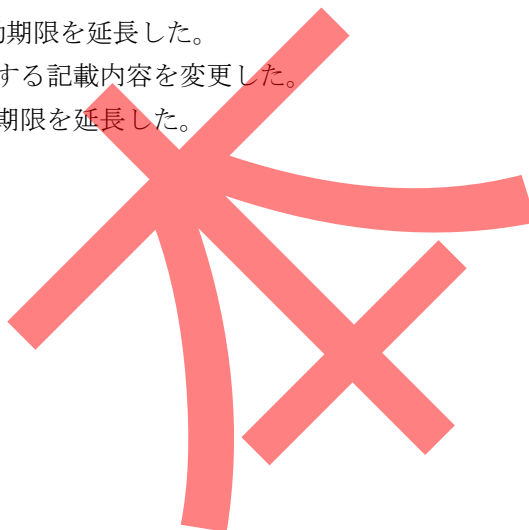
TEL: 029-850-2945 FAX: 029-850-2900 E-mail: nies.crm@nies.go.jp

認証日 2007年7月1日

改訂日 2012年7月25日 安定性試験の結果に基づき有効期限を延長した。

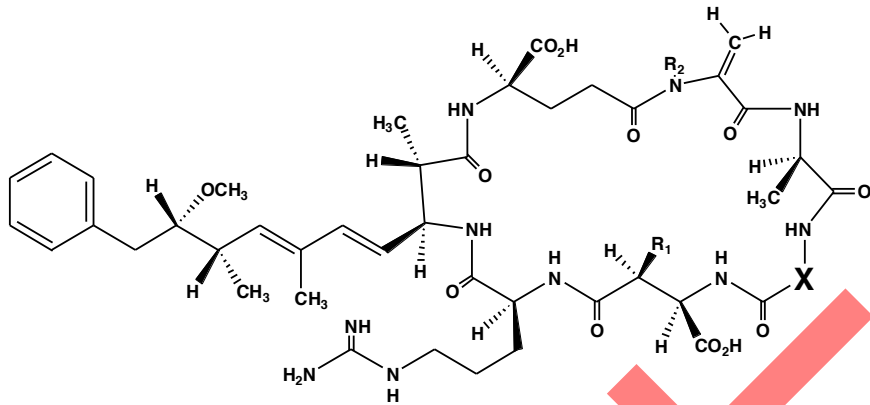
改訂日 2021年4月1日 組織名称等の変更に伴い、関連する記載内容を変更した。

改訂日 2022年7月1日 安定性試験の結果に基づき有効期限を延長した。



付録

本標準物質の使用にあたり有益な情報を付録として提供する。なお、ここに示す値は認証値ではない。



- |  |                      |
|--|----------------------|
| MC1: [D-Asp <sup>3</sup> , Dha <sup>7</sup> ]microcystin-RR: | R1=R2=H, X=Arg       |
| MC2: [Dha <sup>7</sup> ]microcystin-RR:                      | R1=Me, R2=H, X=Arg   |
| MC3: [Dha <sup>7</sup> ]microcystin-ThTyrR:                  | R1=Me, R2=H, X=ThTyr |
| MC4: [Dha <sup>7</sup> ]microcystin-YR:                      | R1=Me, R2=H, X=Tyr   |
| MC5: [Dha <sup>7</sup> ]microcystin-LR:                      | R1=Me, R2=H, X=Leu   |
| MC6: [D-Asp <sup>3</sup> , Dha <sup>7</sup> ]microcystin-LR: | R1=R2=H, X=Leu       |
| MC7: [Dha <sup>7</sup> ]microcystin-HilR:                    | R1=Me, R2=H, X=Hil   |
| Microcystin-LR:  | R1=R2=Me, X=Leu      |

図 A1 NIES CRM No. 26 に含まれるミクロシスチン類の構造

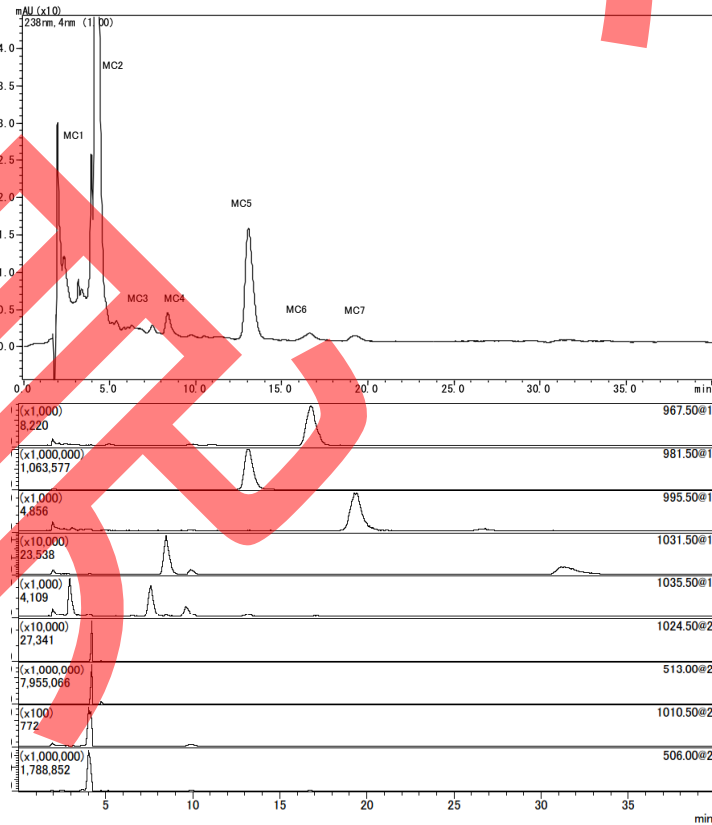


図 A2 NIES CRM No. 26 の LC-MS クロマトグラム例

カラム : Zorbax XDB Eclipse C-18 2.1x150 mm、溶媒 : 55 % MeOH in 0.1 % ギ酸、流速 : 0.2 ml/min、温度 : 40 °C、 検出波長 : 238 nm

表 A1 NIES CRM No. 26 に含まれるマイクロシスチン類の相対保持時間比の例

Column	MC1	MC2	MC3	MC4	MC5	MC6	MC7
Mightysil RP-18	0.164	0.190	0.653	0.751	1.223	1.540	1.803
Super ODS	0.475	0.513	0.720	0.808	1.221	1.591	1.766
Zorbax XDB C18	0.232	0.264	0.605	0.701	1.211	1.573	1.882
SunFire C18	0.022	0.022	0.606	0.710	1.253	1.587	1.933

相対保持時間比：マイクロシスチン類の保持時間/マイクロシスチン-LR の保持時間、HPLC の溶媒：55 % MeOH in 0.1 % ギ酸

