

## 11. 有機塩素系農薬，ポリ臭化ビフェニル及びベンゾ（a）ピレンの分析法

### 1 対象物質

HCH,  $\gamma$ -HCH,  $\delta$ -HCH (リンデン),  $\alpha$ -HCH, p,p'-DDT, p,p'-DDE, p,p'-DDD, メトキシクロル, ケルセン (ディコホル), アルドリン, ディルドリン, エンドリン, エンドサルファン,  $\gamma$ -エンドサルファン, ヘプタクロル, ヘプタクロルエポキシサイド, trans-クロルデン, cis-クロルデン, オキシクロルデン, trans-ノナクロル, cis-ノナクロル, ヘキサクロロベンゼン (HCB), オクタクロロスチレン, ポリ臭化ビフェニル (PBB), ベンゾ (a) ピレン (BaP)

### 2 目標検出限界

本分析法の目標検出限界 (注1) は, 水質が 25ng/L, 底質及び生物試料が 5 $\mu$ g/kg である。

### 3 分析法概要

水質試料は, ヘキサンで液液抽出 (または固相抽出カートリッジで抽出) 後, 脱水, 濃縮して GC/MS-SIM で測定する。

底質試料は, アセトンで抽出後, 食塩水を加えてヘキサンで抽出する。ヘキサン相を脱水, 濃縮後, フロリジルカラムクロマトグラフィーでクリーンアップして GC/MS-SIM で測定する。

生物試料は, アセトン - ヘキサン混合溶媒で抽出後, 水洗して有機塩素系農薬・BaP 用とポリ臭化ビフェニル用試料に2分する。次に, 有機塩素系農薬用試料は, アセトニトリル - ヘキサン分配で脂質を除き, フロリジルカラムクロマトグラフィーで分画して GC/MS-SIM で測定する。ポリ臭化ビフェニル用試料は, 硫酸洗浄後フロリジルカラムクロマトグラフィーで分画して GC/MS-SIM で測定する。

### 4 試薬・器具

#### (1) 試薬

- ・ 対象物質：有機塩素系農薬は市販標準試薬。ポリ臭化ビフェニルは, 臭化ビフェニル (2-, 3-, 4-体) 及び二臭化ビフェニル (4,4'-体) が現在市販されている。今後, 三臭化ビフェニル, 四臭化ビフェニル, 五臭化ビフェニル, 六臭化ビフェニル及び十臭化ビフェニルが, 市販の予定である。
- ・ サロゲート物質 (p,p'-DDT- $^{13}\text{C}_{12}$ , HCB- $^{13}\text{C}_6$ , BaP-d $_{12}$ ): 市販標準試薬
- ・ 内標準物質 (フェナンソレン-d $_{10}$ , フルオランテン-d $_{10}$ , p-ターフェニル-d $_{14}$ ): 市販標準試薬
- ・ 有機溶媒：残留農薬分析用 (1000 倍濃縮保証)

- ・ ガラス繊維ろ紙：保留粒子径 1  $\mu\text{m}$  のバインダーを含まないもの。使用前にアセトン及び精製水で十分に洗浄する。
- ・ 無水硫酸ナトリウム，塩化ナトリウム：残留農薬試験用，または試薬特級を 700 で 8 時間加熱後，放冷したもの。
- ・ 精製水及び 5 % 塩化ナトリウム水：蒸留水など化学分析用の水（5 % 塩化ナトリウム水）をヘキサンで 2 回洗浄したもの。
- ・ フロリジル：残留農薬分析用（60/100 メッシュ）を 130 で 16 時間加熱し，デシケーター中で放冷・保存する。加熱後 2 日以上経ったものは，再加熱して使用する。また，フロリジルは，バッチ毎に活性が異なるので，バッチ毎に溶出パターンを確認する（注 2）。なお，市販の大容量フロリジルカートリッジを用いてもよい。
- ・ 5%含水シリカゲル：カラムクロマト用シリカゲル（和光純薬社製ワコーゲル C-200）を 130 で 15 時間加熱活性化した後，95g を 300ml の褐色共栓（透明摺）付き三角フラスコに秤取り，密栓して室温まで冷却する。シリカゲルを攪拌しながら，ホールピペットを用いて精製水 5ml を滴下して含水させ，密栓して発熱が終了するまで静かに混合する。更に，振とう器で 30 分間振とうした後，デシケータ（乾燥剤：シリカゲル）中に密栓して 15 時間以上保存したものを使用する。
- ・ 精製活性炭：ダルコ G 活性炭(Atlas Powder Co. 和光純薬)100g を 2L の分液ロートに取り，ベンゼン 1L で 30 分振とう洗浄する。静置後，沈降した活性炭を別の分液ロートに移し，アセトン 1L，続いてベンゼン 1L で洗浄する。沈降した活性炭をガラス繊維ろ紙でろ過し，少量のアセトンでさらに洗浄ろ過する。次に，活性炭を風乾し，さらに 130 で乾燥後，乳鉢で粉碎する。これを 130 で乾燥して三角フラスコに移し，シリカゲル入りのデシケータ中に保存する。
- ・ 2.5%活性炭含有無水硫酸ナトリウム：精製活性炭 25g と無水硫酸ナトリウム 75g を三角フラスコにはかり取り，振とう機で 30 分振とう混合後，シリカゲル入りのデシケータ中に保存する。
- ・ ODS 又はポリスチレン系樹脂などを充填した固液抽出用カートリッジまたはディスク：使用前に溶出溶媒及び精製水で十分に洗浄する。
- ・ シリカゲルカートリッジカラム（注 3）：例，Sep-Pak Plus Silica Cartridge (690 mg) (Waters 社製)，使用直前にパックを開封し，ヘキサン 10ml で洗浄する。
- ・ 還元銅：有機元素分析用還元銅（60～80 メッシュ）。使用直前に使用する溶媒で洗浄する。ヘキサン中で保存する。
- ・ 硫酸：特級硫酸（96%）
- ・ その他の試薬：試薬特級

## (2) 器具及び装置

- ・ フロリジルカラム：テフロンコック付きの長さ 30cm，内径 15mm のガラスカラムにフロリジル 10g をヘキサンを用いて湿式充填し，上部に無水硫酸ナトリウムを 2cm 積層したもの。使用前に，ヘキサン 100ml で洗浄する。なお，市販の大容量フロリジルカートリッジを用いてもよい。
- ・ シリカゲルカラム：テフロンコック付きの長さ 30cm，内径 10mm のガラスカラムに 5%含水シリカゲル 5g をヘキサンを用いて湿式充填し，上部に無水硫酸ナトリウムを 2cm 積層したもの。使用前に，ヘキサン 40ml で洗浄する。なお，市販の大容量シリカゲルカートリッジを使用してもよい。
- ・ 活性炭カラム：テフロンコック付きの長さ 30cm，内径 10mm のガラスカラムに 2.5%活性炭含有無水硫酸ナトリウム 10g を 30%アセトン含有ヘキサンで湿式充填し，上部に無水硫酸ナトリウムを 2cm 積層したもの。使用前に，30%アセトン含有ヘキサン 30ml で洗浄する。
- ・ ロータリーエバポレーター（またはクデルナダニッシュ(KD)濃縮装置）
- ・ 分液漏斗
- ・ ホモジナイザー：万能ホモジナイザー（ポリトロン），超高速万能ホモジナイザー（ヒスコトロン），攪拌分散器（ウルトラターラックス）または同等品
- ・ 超音波照射器（超音波洗浄器でもよい）
- ・ 遠心分離器
- ・ ガスクロマトグラフ/質量分析計（GC/MS）：GCは，キャピラリーカラム対応のもの。MSは，四重極型もしくは二重収束型のもの。

## 5 試験操作（注4）

### (1) 前処理法

#### (ア) 水質試料（注5）

試料水 1L（注6）を 2L 分液ロートに入れ，塩化ナトリウム 30g（海水は無添加）及びサロゲート物質（10ng～100ng，測定装置の感度による）を加え十分混合して溶解後，ヘキサン 50ml を加え 10 分間振とう抽出する。この抽出を計 2 回行い，ヘキサン層を合わせ，無水硫酸ナトリウムで脱水後，ロータリーエバポレーター（又は KD 濃縮）で約 5ml まで濃縮し，更に窒素気流で 1ml として前処理液とする。

#### (イ) 底質試料

湿泥 20g を 100ml 共栓付遠沈管にとり，サロゲート物質（10ng～100ng）を添加し十分混合して 1 時間放置後，アセトン 50ml を加えて 10 分間振とう抽出する。さらに，超音波洗浄器を用いて 10 分間超音波抽出を行った後，3000rpm で 10 分間遠心分離し，上澄みを回収する。この抽出分離操作を計 3 回行い，抽出液を合わせて 5%塩化ナトリウム

溶液 500ml を入れた 1L 分液ロートに加える。これにヘキサン 50ml を加え 5 分間振とう抽出する。この抽出操作を計 2 回行い、ヘキサン層を合わせて無水硫酸ナトリウムで脱水後、ロータリーエバポレーター（又は KD 濃縮装置）で 5ml まで濃縮して前処理液とする。

#### (ウ) 生物試料

##### a. 有機塩素系農薬及び BaP

均一化しペースト状にした試料 40g にサロゲート物質（20ng～200ng）を添加し十分混合して 1 時間放置後、アセトン 40ml とヘキサン 80ml を加えてホモジナイザーを用い 2 分間ホモジナイズする。これを 3000rpm で 10 分間遠心分離し、上澄みを回収する。この抽出分離操作を計 2 回行い、抽出液を 500ml 分液ロートに合わせて、精製水 200ml を加えて回転するように緩やかに揺り動かす（注 7）。静置後（注 8）、水層を捨て、同様の水洗浄を繰り返して、無水硫酸ナトリウムで脱水後、ロータリーエバポレーター（又は KD 濃縮装置）で 50ml 以下まで濃縮し、50ml メスフラスコに移してヘキサンで定容とし、その内 25ml を有機塩素系農薬用前処理液とする。

濃縮液 25ml を 100ml 分液ロートに取り、ヘキサン飽和アセトニトリル 50ml を加えて 1 分間振とう後、静置して（注 8）アセトニトリル層を分取する。残ったヘキサン層にヘキサン飽和アセトニトリル 50ml を加えて同様に振とう・静置して、アセトニトリル層を回収する。アセトニトリル層を合わせ、水 5ml を加えて緩やかに揺り動かし、静置して（注 8）ヘキサンを浮上させアセトニトリル層と分離する。

アセトニトリル層を 5% 塩化ナトリウム溶液 500ml を入れた 1L 分液ロートに入れ、ヘキサン 50ml を加えて 5 分間振とう抽出する。この抽出操作を計 2 回行い、ヘキサン層を 300ml 分液ロートに合わせて、精製水 100ml で振とう洗浄する。次に、無水硫酸ナトリウムで脱水後、ロータリーエバポレーター（又は KD 濃縮）で 5ml まで濃縮して前処理液とする。

##### b. ポリ臭化ビフェニル

有機塩素系農薬用前処理液を分取した残りの濃縮液 25ml を 50ml 分液ロートに移し、濃硫酸 10ml を加えて振とう洗浄する（注 9）。この硫酸洗浄を硫酸相がきれいになるまで繰り返した後、ヘキサン相を精製水で 3 回洗浄して無水硫酸ナトリウムで脱水し、50ml のナス型フラスコに移して、ロータリーエバポレーター（又は KD 濃縮）で 5ml まで濃縮して前処理液とする。

#### (2) 試料液の調製

##### (ア) 水質（注 10）

シリカゲルカラムカートリッジ（注 3）に前処理液（注 11）を負荷し、事前に求めていた量の 2%アセトン含有ヘキサンを流して対象物質を溶出する（注 12）。溶出液を

数 ml までロータリーエバポレーター(又は KD 濃縮)で濃縮後、内標準を添加して(100ng ~ 1000ng, 測定装置の感度による), 窒素気流で 1ml まで濃縮して測定試料液とする。

#### (イ) 底質

前処理液をフロリジルカラム(注 1 3)に負荷し, 事前に「フロリジルの溶出パターンの確認」で求めていた量のヘキサン(Fr. 1)(注 2)(注 1 4), 4%エチルエーテル含有ヘキサン 100ml(Fr. 2), 15%エチルエーテル含有ヘキサン 150ml(Fr. 3)を毎分 5ml の流速で順次流して対象物質を溶出する。次に, Fr. 1 に還元銅 5 ~ 10g を加え, 1 分間激しくかき混ぜて, 無水硫酸ナトリウム 10g を充填したガラスカラム(内径 10mm, 長さ 300mm)に通してろ過する。各分画は, ロータリーエバポレーター(又は KD 濃縮)により数 ml とし, 内標準を添加(100ng ~ 1000ng)して窒素気流で 1ml まで濃縮し測定試料液とする。(注 1 5)。

#### (ウ) 生物

##### a. 有機塩素系農薬

前処理液をフロリジルカラム(注 1 3)に負荷し, 事前に「フロリジルの溶出パターンの確認」で求めていた量のヘキサン(Fr. 1)(注 2), 4%エチルエーテル含有ヘキサン 100ml(Fr. 2), 15%エチルエーテル含有ヘキサン 150ml(Fr. 3)を毎分 5ml の流速で順次流して対象物質を溶出する。各分画は, ロータリーエバポレーター(又は KD 濃縮)により数 ml とし, 内標準を添加(100ng ~ 1000ng)して窒素気流で 1ml まで濃縮し測定試料液とする。(注 1 5)。

##### b. ポリ臭化ビフェニル

前処理液をフロリジルカラム(注 1 3)に負荷し, 事前に「フロリジルの溶出パターンの確認」で求めていた量のヘキサンを毎分 5ml の流速で順次流して対象物質を溶出する。次に, ロータリーエバポレーター(又は KD 濃縮)により数 ml とし, 内標準を添加して窒素気流で 1ml まで濃縮し測定試料液とする。

#### (3) 空試験液の調製

試料を用いずに「試料の前処理」及び「試料液の調製」に従って操作を行い, 得られた試料液を空試験液とする。空試験液から対象物質が検出された場合は, 空試験値を差し引いて検出値とする。

#### (4) 標準液の調製

各測定対象物質の標準品を正確に 10mg 取り, ヘキサンを加えて正確に 100mg/L 標準原液を調製する。これを, 適宜ヘキサンで希釈混合して所定の濃度の混合標準液を作製する。サロゲート物質(p,p'-DDT-<sup>13</sup>C<sub>12</sub>, HCB-<sup>13</sup>C<sub>6</sub>, BaP-d<sub>12</sub>)及び内標準物質(フェナンソレン-d<sub>10</sub>, フルオランテン-d<sub>10</sub>, p-ターフェニル-d<sub>14</sub>)の標準原液及び混合標準液の調製も, 対象物質と同様に行う。但し, 試料に添加するサロゲート物質や混合標準液は,

アセトンで調製する（注16）。

全ての標準原液及び標準液は、暗所 - 20℃以下で保存し、有効使用期間は分解が認められない場合1年間とする。

(5) 測定

(ア) GC/MS 測定条件

(a) GC

有機塩素系農薬

- ・ カラム：溶融シリカキャピラリーカラム（30m×0.25mmi.d.，0.25 μm）
- ・ 液相は、メチルシリコンまたは5%フェニルメチルシリコン
- ・ カラム温度：50（1分）- 10℃/分 - 280（5分）
- ・ 注入口温度：250
- ・ 注入法：スプリットレス法（1分後パーズ），1 μL 注入
- ・ キャリアーガス：He，平均線速度：40cm/秒
- ・ インレット温度：280

ポリ臭化ビフェニル

- ・ カラム：溶融シリカキャピラリーカラム（15m×0.25mmi.d.，0.10 μm），イオン源の真空が不十分な時は、カラムの先端に不活性フューズドシリカ管（15m×0.25mmi.d.）を付ける。
- ・ 液相：メチルシリコン
- ・ カラム温度：50（1分）- 10℃/分 - 300（十臭化ビフェニルが流出するまで）
- ・ 注入口温度：250
- ・ 注入法：スプリットレス法（1分後パーズ），1 μL 注入
- ・ キャリアーガス：He，平均線速度：40cm/秒
- ・ インレット温度：280

(b) MS

- ・ イオン化法：EI
- ・ イオン化電圧：70eV
- ・ イオン源温度：使用機器による
- ・ 検出モード：SIM

(c) 定量イオン

対象物質，サロゲート物質及び内標準物質の定量イオンと確認イオンを表1及び表2

に示す(注17)。

表1-1 有機塩素系農薬の測定イオン及び保持指標(PTRI, Programmed Temperature Retention Index)

No.	物質名	CAS RN	PTRI*	測定イオン		
				定量用	確認用	確認用
1	-ヘキサクロロシクロヘキサ( H C H )	319-84-6	1700	180.9	218.9	182.9
2	- H C H	319-85-7	1748	180.9	218.9	182.9
3	- H C H (リンデン)	58-89-9	1767	180.9	218.9	182.9
4	- H C H	319-86-8	1822	180.9	218.9	182.9
5	p,p'-DDT	50-29-3	2361	235.0	237.0	165.1
6	p,p'-DDE	72-55-9	2185	246.0	317.9	316.9
7	p,p'-DDD	72-54-8	2275	235.0	237.0	165.1
8	メトキシクロル	72-43-5	2487	227.1	228.1	
9	ケルセン(ディコホル)	115-32-2	2473	139.0	250.0	111.0
10	アルドリン	309-00-2	1983	262.9	264.9	66.0
11	ディルドリン	60-57-1	2200	79.0	262.9	276.8
12	エンドリン	72-20-8	2245	262.9	81.0	264.9
13	エンドサルファン	959-98-8	2142	195.0	240.9	338.9
14	エンドサルファン	33213-65-9	2270	195.0	240.9	338.9
15	ヘプタクロル	76-44-8	1910	271.8	100.0	273.8
16	ヘプタクロルエポキサイド(異性体B)	1024-57-3	2064	352.8	354.8	81.0
17	trans-クロルデン	5103-74-2	2113	374.8	372.8	236.8
18	cis-クロルデン	5103-71-9	2140	374.8	372.8	236.8
19	オキシクロルデン	27304-13-8		115.0	386.8	236.8
20	trans-ノナクロル	39765-80-5	2146	408.8	406.8	410.8
21	cis-ノナクロル	5103-73-1	2302	408.8	406.8	410.8
22	ヘキサクロロベンゼン(HCB)	118-74-1	1705	283.8	285.8	248.8
23	オクタクロロスチレン	29082-74-4		379.7	377.7	381.7
24	ベンゾ(a)ピレン	50-32-8	2920	252.1		

\*: PTRI は, n-アルカンを基準物質とし, 液相として 5%フェニルメチルシリコンを用いた時の値である。

表1-2 ポリ臭化ビフェニルの測定イオン(注17)

対象物質	定量イオン	確認イオン
臭化ビフェニル	234.0	152.1, 232.0
二臭化ビフェニル	311.9	309.9, 313.9
三臭化ビフェニル	389.8	391.8, 230.0
四臭化ビフェニル	469.7	467.7, 471.7
五臭化フェニル	547.6	549.6, 387.8
六臭化ビフェニル	627.5	625.5, 629.5
十臭化ビフェニル	623.5	621.5, 625.5

表2 サロゲート物質及び内標準物質の測定イオン

No .	物質名	測定イオン		
		定量用	確認用	確認用
1	p,p'-DDT- <sup>13</sup> C <sub>12</sub>	247.0	249.0	177.1
2	HCB- <sup>13</sup> C <sub>6</sub>	289.8	291.8	283.8
3	ベンゾ( a )ピレン-d <sub>12</sub>	264.2		
4	フェナンソレン-d <sub>10</sub>	188.1		
5	フルオランテン-d <sub>10</sub>	212.1		
6	p-ターフェニル-d <sub>14</sub>	244.2		

( 6 ) GC/MS 性能評価試験

測定開始前に GC/MS 性能評価を行い、基準を満足することを確認した後、測定を行う。

(ア) GC の性能評価

・ p,p'-DDT , デカフロロトリフェニルホスフィン(DFTPP) , ベンジジン及びペンタクロロフェノールの 1mg/L 混合標準液(ヘキサン溶液)の 1μL を GC/MS に注入してスキャンニングモードで測定し、次の確認を行う。

・ インサートの不活性性及びカラムの性能評価

DDT の DDD 及び DDE への分解が、20%を越えないこと、及びベンジジンとペンタクロロフェノールが著しくテーリングしないことを確認する。これらを満足しない場合(特に DDT の 20%以上が分解した場合は、インサートを交換し、カラムの先端を数十 cm 切断除去するか、またはカラムを交換する。

(イ) MS の性能評価

DFTPP のマススペクトルが表 3 を満足すること。

表3 DFTPP のマススペクトル評価

51	m/z 198 の 15 ~ 75%
68	m/z 69 の 2%以下
70	m/z 69 の 2%以下
127	m/z 198 の 15 ~ 60%
197	m/z 69 の 1%以下
198	ベースピークかまたは第二のピーク
199	m/z 198 の 4.5 ~ 9%
275	m/z 198 の 10 ~ 60%
365	m/z 198 の 0.5%以上
442	m/z 198 がベースピークの時は、 その 40%以上、またはベースピーク
443	m/z 442 の 15 ~ 24%

(ウ) SIM の感度確認

検量線の最下限濃度を測定し、必要な感度を得られることを確認する。

## (7) 検量線

感度係数法(RF)または内標準を用いた検量線により試料を定量する(注18)。

### (ア) 感度係数法(RF)

分析法の検出限界付近と予想される検出濃度レベルを含む5段階以上の標準液を測定し、次式からRFを求める。RFの相対標準偏差が15%以下の場合は、平均RFを用いて試料を定量する。毎測定時の試料測定前に、検量線の間濃度の標準液を測定して感度係数法で定量し、得られた定量値が注入標準液濃度の±15%以内であるなら、平均RFをそのまま用いて試料を定量する。±15%を外れた場合は、全ての標準液を測定し直して新たな平均RFを求めて試料の定量を行う。

$$RF=(A_s \times C_{is})/(A_{is} \times C_s)$$

ここで、 $A_s$ ：対象物質(サロゲート物質)の測定イオンのピーク面積(高さ)

$A_{is}$ ：内標準物質の測定イオンのピーク面積(高さ)

$C_{is}$ ：検量線標準液中の内標準物質質量(ng)

$C_s$ ：検量線標準液中の対象物質(サロゲート物質)量(ng)

### (イ) 検量線法(注19)

毎測定時に検量線を作成する。混合標準液に所定量の内標準を加え、その1 $\mu$ lをGCに注入し、各対象物質と内標準とのピーク面積値(高さ)の比から対象物質毎の検量線を作成し、それを用いて試料を定量する。検量線の濃度範囲は、分析法の検出限界付近と予想される検出濃度レベルを含む5段階以上とする。

## (8) 試料の測定

GC/MS性能評価、SIMの感度確認及びRF確認(または、検量線作成)後、測定用試料液1 $\mu$ lをGCに注入して測定を行う(注20)。なお、試料の測定に当たっては、サロゲート物質のp,p'-DDT-<sup>13</sup>C<sub>12</sub>のDDD及びDDEへの分解が、20%を越えないことを確認する。20%以上分解した場合は、クリーンアップが不十分な可能性があるため、クリーンアップを検討して再分析する。測定時8時間毎に検量線の間濃度の標準液を測定し、そのRFが平均RFの±15%以内であることを確認する。もし、この範囲を外れた場合は、GC/MSを再調整後、RFを確認して測定を再開する。

## (9) 同定、定量及び計算

対象物質(サロゲート物質)の有無の確認後、存在する場合は定量を行う(注21)。

### (ア) 同定

対象物質(サロゲート物質)の定量イオン及び確認イオンのピークが、検量線に登録された保持時間の±5秒以内に出現し、確認イオンのピーク強度が検量線に登録された定量イオンとの相対強度と±20%以下であれば、物質が存在していると見なす。

(イ) 定量

(a) RF 法

RF を用いる場合は、次式から検出量(ng)を求める。次に、検出量、分析した試料量及び分取量などから試料中の対象物質(サロゲート物質)の濃度を計算する。

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

ここで、As：対象物質及びサロゲート物質の測定イオンのピーク面積(高さ)

Ais：内標準物質の測定イオンのピーク面積(高さ)

Cis：測定試料液中の内標準物質質量(ng)

(b) 検量線法

検量線法を用いる場合は、得られた各対象物質と内標準とのピーク面積値(高さ)の比から検量線により検出量を求める。次に、検出量、分析した試料量及び分取量などから試料中の対象物質(サロゲート物質)の濃度を計算する。

## 6 分析精度管理

正確な分析値が得られていることを保証するために以下の作業を行い、その結果を記録・保存する。

(1) 内部精度管理

(ア) 10 検体又は 1 バッチ試験毎に全操作ブランク、二重分析及び添加回収試験(注 2 2)を各 1 検体以上行う。

- ・ 操作ブランクが通常の値を超えた場合は、原因を究明して対策を講じた後、全ての試料の再試験を行う。
- ・ 二重分析の結果が許容差(注 2 3)を超えた場合は、その試料について再試験を行う。
- ・ 回収率は、80%～120%であることが望ましい。この範囲を大きく逸脱した場合は、原因を究明して全ての試料の再試験を行う。

(イ) サロゲート物質は、80%～120%の回収率が得られることが望ましい。この範囲を大きく逸脱した場合は、原因を究明してその試料について再試験を行う。

(ウ) 標準物質の確認

標準原液の調製時に、異なる供給元の標準物質を用いて使用する標準物質を検定する。異なる試薬会社から購入する方法もあるが、米国 NIST や EU 標準局 BCR が販売している CRM が最適である。

(エ) 保証標準試料(CRM)の分析(注 2 4)

CRM を入手して、半年に 1 回以上の頻度で分析精度と正確さを確認する。

## 7 注意事項

### 注1：検出限界の算出法

試料の分析を開始する前に、次の試験を行い検出限界値を達成できることを確認しておく。検出限界値は、対象物質や使用装置の感度により異なるが、できるだけ低い値を目標とする。達成できない場合は、試料量を増やすなどの対策を講じる。但し、高臭素化ビフェニルの検出限界が目標を満足しなくても問題ない。

#### (ア) 操作ブランクから対象物質が検出される場合

操作ブランクを7回行い、ブランク値の平均(x)及び標準偏差(s)を得て、次式から検出限界値(DL)を得る。

$$DL = x + 1.943 s$$

#### (イ) 操作ブランクから対象物質が検出されない場合

検量線の最下限の2~5倍(又は目標検出限界の2~5倍)になるよう精製水に対象物質を加えて、添加回収試験を行う。7回の添加回収試験の結果から、検出値の標準偏差(s)を求めて、次式から検出限界値(DL)を得る。

$$DL = 1.943 s$$

### 注2：フロリジルの溶出パターンの確認法

オープンカラムの場合は、分析試料と類似の試料を用いてカラムクリーンアップまでの前処理を行って得た濃縮液(5ml)に全対象物質の混合標準溶液(2µg, ヘキサン溶液)を添加する。これをフロリジルカラムに負荷し、最初にヘキサンを毎分5mlの流速で流して、その溶出液を20mlずつ分取して、GC/MSで測定してp,p'-DDEが溶出し終わり、p,p'-DDTが溶出してこないヘキサン量を求める。p,p'-DDEの溶出終了後、溶離液を4%エーテル含有ヘキサンに替えて100ml流してp,p'-DDTとヘプタクロルエポキシドが溶出し、さらに溶離液を15%エーテル含有ヘキサンに替えて、その150mlで残った物質が全て溶出することを確認する。なお、市販のカートリッジを用いる場合も、オープンカラムと同様に溶出パターンを確認する。

注3：フロリジルカートリッジカラムを用いてもよい。

注4：BaPは光分解しやすいため、使用するガラス器具は褐色ガラスを用いるか、遮光して分析する。さらに、太陽光などにさらさないよう注意して、短時間で処理する。

注5：ODSやポリマーなどを充填した固相抽出カートリッジや固相抽出ディスクにより、ヘキサン抽出と同等の抽出率が得られる場合は、固液抽出を用いることができる。

注6：液液抽出または固液抽出のいずれの場合でも、排水など浮遊物質が多量に存在する試料では、抽出する前にガラス繊維ろ紙で試料をろ過する。次に、浮遊物質をろ紙と共に少量のアセトンで2回超音波抽出し、抽出液をろ液に合わせた後、抽出操作に移る。なお、この場合、サロゲート物質はろ過する前に添加し、十分に混合した後にろ過を行う。

注7：強く振とうするとエマルジョンができる場合がある。ここでは、軽く水洗する程度でよい。

注8：15～30分静置する。静置時間が短いと分配効果が十分でなく、回収率低下の恐れがある。

注9：硫酸洗浄では、分液ロートに残った水と硫酸とで発熱するため注意が必要である。

注10：GC/MS測定において妨害を受けない場合は、カラムクロマトグラフィーを省略できる。

注11：固液抽出の溶離液としてアセトンなどの極性を持つ溶媒を用いた場合は、ヘキサンに溶媒転溶してカラムに負荷する。

注12：カラムクロマトグラフィーにおける各物質の溶出パターンと回収率を確認しておく。

注13：シリカゲルカラムクロマトグラフィーでクリーンアップしても良い。5%含水シリカゲル(5g)での対象物質(一部)の溶出パターンの例を表4に示す。底質の30%アセトン-ヘキサンフラクションには、大量の色素等が溶出するため、Fr.3は濃縮後、活性炭カラムクリーンアップが必要である。但し、Fr.3の最初に溶出するエンドサルファンは、5%アセトン-ヘキサンを10ml追加すれば、溶出可能と思われる。

表4 5%含水シリカゲル(5g)の溶出パターン(一例) フラクション容積: 10ml

対象物質	Hexane				5% Acetone-Hexane				30% Acetone-Hexane			
	Fr.1-1	Fr.1-2	Fr.1-3	Total	Fr.2-1	Fr.2-2	Fr.2-3	Total	Fr.3-1	Fr.3-2	Fr.3-3	Total
ヘキサクロロベンゼン	74	25	1	99	1	0	0	1	0	0	0	0
BaP	0	0	1	1	86	12	0	99	0	0	0	0
α-HCH	0	0	0	0	2	71	27	100	0	0	0	0
β-HCH	0	0	0	0	0	0	99	99	1	0	0	1
γ-HCH	0	0	0	0	0	0	100	100	0	0	0	0
δ-HCH	0	0	0	0	0	0	98	98	2	0	0	2
ヘプタクロル	0	97	2	99	1	0	0	1	0	0	0	0
アルドリン	0	99	1	99	1	0	0	1	0	0	0	0
ヘプタクロルエポキシド	0	0	0	0	0	0	100	100	0	0	0	0
trans-クロルデン	0	0	3	3	82	14	0	97	0	0	0	0
cis-クロルデン	0	0	33	33	65	2	0	67	0	0	0	0
エンドサルファン I	0	0	0	0	0	1	99	100	0	0	0	0
trans-ノカロル	0	1	91	92	7	0	0	8	0	0	0	0
4,4'-DDE	0	98	1	99	1	0	0	1	0	0	0	0
ディルドリン	0	0	0	0	0	0	100	100	0	0	0	0
エンドリン	0	0	0	0	0	0	100	100	0	0	0	0
エンドサルファン II	0	0	0	0	0	0	87	87	13	0	0	13
4,4'-DDD	0	0	1	1	29	59	11	99	0	0	0	0
4,4'-DDT	0	19	79	98	2	0	0	2	0	0	0	0
メトキシクロル	0	0	0	0	0	0	100	100	0	0	0	0

注14：フロリジル(シリカゲル)カラムクロマトグラフィーのヘキサン分画(Fr.1)には、分子状硫黄が溶出してくる。

注15：各分画を合わせても妨害を受けずに分析できる場合は，合わせて測定してもよい。その場合，最初から15%エチルエーテル含有ヘキサン150mlを流して溶出できる。また，内標準物質は合わせた試料に添加する。

注16：ヘキサンに溶解しにくい内標準物質は，少量のベンゼンに溶解後，ヘキサンで希釈して定容とする。

注17：定量イオンが妨害を受ける場合は，妨害を受けていない確認イオンを用いて定量を行う。

注18：ポリ臭化ビフェニルには209種の異性体が存在するが，標準品が入手できた異性体のみを定量する。

注19：RFの%RSDが，15%以上である場合に用いるとよい。

注20：試料間のクロスコンタミを防止するため，高濃度の試料測定後は，溶媒を測定するなどしてキャリーオーバーが無いことを確認する。

注21：サロゲート物質としてDDT，HCBの<sup>13</sup>Cラベル化合物及び，BaPの重水素化合物を用いる。80%～120%の回収率が得られることが望ましい。この範囲を大きく逸脱した場合は，原因を究明してその試料について再試験を行う。

注22：添加回収試験は，試料と同じあるいは類似の試料に対象物質のアセトン標準液を検出限界の5～10倍量程度添加して行う。

注23：許容差の求め方は，JIS Z8402，分析・試験の許容差通則，1974を参照

注24：有機塩素系農薬の土壌及び魚のCRMは販売されていないが，性状が似ているものとしてタラの肝油(米国NIST SRM 1588)，粉ミルク(EU標準局BCR CRM 187, CRM 188)及び豚の脂肪(EU標準局BCR CRM 430)などが入手可能である。また，ヘキサンなどの溶媒に溶解したCRMも販売されている。

## 8 添加回収試験結果及び検出限界値

精製水1L及び洞海湾底質20gを用いて対象物質の一部について添加回収試験を行った。その結果及び注1に従って求めた検出限界値を表5に示す。

表5 添加回収試験結果及び検出限界

Compound	水質, 100ng添加			底質, 20ng又は120ng添加		
	回収率%	RSD%	検出限界 µg/L	回収率%	RSD%	検出限界 µg/kg
Hexachlorobenzene	96	6.2	0.019	*		
alpha-HCH	83.0	6.0	0.019	48	0.57	1.9
beta-HCH	85.6	6.9	0.022	55	0.87	2.9
gamma-HCH	85.4	7.2	0.022			
delta-HCH	84.1	6.5	0.021			
Heptachlor	91.1	6.6	0.021			
Aldrin	83.6	6.1	0.019			
Heptachlor epoxide	92.9	6.8	0.021			
Oxychlordene	91.9	9.2	0.029			
trans-Chlordane	93.6	6.9	0.022	60	0.1	0.34
cis-Chlordane	94.4	5.4	0.017	152	0.15	0.49
Endosulfan I	84.3	7.1	0.022			
trans-Nonachlor	92.4	6.9	0.022	139	0.2	0.7
4,4'-DDE	86.4	5.7	0.018	58	0.6	2
Dieldrin	92.9	7.4	0.023	74	1.4	4.8
Endrin	97.6	5.9	0.019			
4,4'-DDD	75.7	6.7	0.021	*		
cis-Nonachlor	84.9	5.8	0.018			
Endosulfan sulfate	77.6	6.3	0.020			
4,4'-DDT	81.0	5.2	0.016	*		
Endrin ketone	71.7	6.9	0.022			
Methoxychlor	82.1	5.4	0.017			
Benzo(a)pyrene	98.4	8.3	0.026	*		

空白及び生物試料は、未実施。

\* : 添加量の10倍以上が検出されたため計算を行わなかった。

#### 参考文献

- 1 水質・底質モニタリング調査マニュアル(1991年版), 環境庁環境保健部保健調査室, 1991.
- 2 生物モニタリング調査マニュアル, 環境庁環境保健部保健調査室, 1987.
- 3 Standard Methods 19th ed. American Public Health Association, 1995.
- 4 EPA Method 8270B, US EPA, 1994.
- 5 Official Methods of Analysis of The Association of Official Analytical Chemists 15th ed. Vol. 1, Association of Official Analytical Chemists, Inc., 1990.

- 6 4,4'-ジブロモビフェニル，平成 8 年度化学物質分析法開発報告書，環境庁環境保健部環境安全課，1997．
- 7 テトラブロモビフェニル，ヘキサブロモビフェニル，デカブロモビフェニル，昭和 63 年度化学物質分析法開発報告書，環境庁環境保健部保健調査室，1989．
- 8 環境中有害化学物質のマススペクトルデータベース(1996 年版)，日本環境化学会，1996．
- 9 JIS Z8402，分析・試験の許容差通則，1974．
- 10 有機質量分析法，J.R. Chapman 著，土屋正彦ら訳，丸善・Wiley，1995．
- 11 WHO 環境保健クライテリア 152 ポリ臭化ビフェニル，日本化学物質安全・情報センター，1995．

## 有機塩素系農薬及びポリ臭化ビフェニールの分析フローチャート

### 《水質試料》



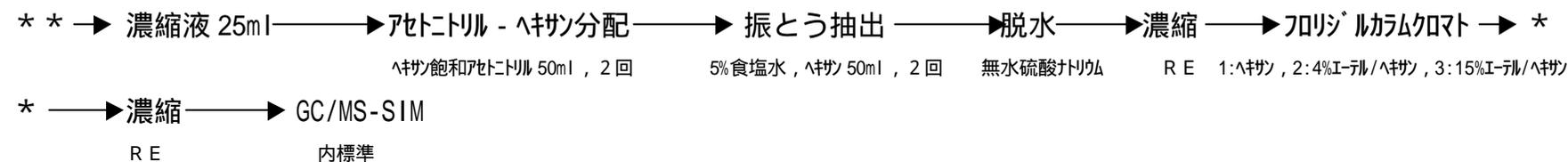
### 《底質試料》



### 《生物試料》



### 〔有機塩素系農薬〕



### 〔ポリ臭化ビフェニール〕

