

## 5．生物中の POPs モニタリング調査

### 5.1 基本的な考え方

ここでは、POPs12 物質（注 1）のうちダイオキシン類特別措置法に基づいて国内で別途モニタリングが実施されているダイオキシン類、フラン類を除き、以下の 10 物質の分析法を定める。また、あわせて  $\gamma$ -HCH、 $\delta$ -HCH も測定するものとする。

なお、実際の実験操作にあたっては、法律にのっとり、また健康被害等が出ることはないよう十分注意する必要がある。

### 5.2 測定対象物質

- (1) PCB 類
- (2) DDT 類
- (3) HCB
- (4) アルドリン
- (5) デルドリン
- (6) エンドリン
- (7) クロルデン類
- (8) ヘプタクロルおよびヘプタクロルエポキシサイド
- (9) マイレックス
- (10) トキサフェン
- (11) HCH 類

上記物質を、PCB 類とそれ以外の有機塩素系剤 10 物質の 2 つに大別し、それぞれについて分析法を定めて測定を行う。

### 5.3 分析方法の概要

#### (1) PCB 類

環境省の定める方法（注 2）に従うものとし、1 から 10 塩素化体までの塩素数ごとに  $^{13}\text{C}$  ラベルの内部標準物質（サロゲート標準物質）を 1 種類づつ加えて回収率を補正しながら全異性体についての濃度をガスクロマトグラフ/高分解能質量分析計（GC/HRMS）を用いて定量し、それらを足し合わせて PCB 総濃度と定義する。

#### (2) DDT 類

$o,p'$ -DDT、 $p,p'$ -DDT、 $o,p'$ -DDE、 $p,p'$ -DDE、 $o,p'$ -DDD、 $p,p'$ -DDD の 6 種類について同位体ラベルのサロゲート標準物質を加えて回収率を補正しながら定量を行い、その総濃度を DDT 類総濃度と定義する（注 3）。

#### (3) クロルデン類

$trans$ -クロルデン、 $cis$ -クロルデン、 $trans$ -ノナクロル、 $cis$ -ノナクロル、オキシクロルデンを含む 5 種類について  $^{13}\text{C}$  ラベルのサロゲート標準物質を加えて回収率を補正しながら定量を行い、その総濃度をクロルデン類総濃度と定義する（注 4）。

#### (4) トキサフェン（暫定版）

特に環境残留性が高いとされる 2 つの異性体、2-exo,3-endo,5-exo,6-endo,8,8,10,10-オクタクロロボルナン（B8-1413、T2、Parlar 26 (P26)とも呼ばれる）と 2-exo,3-endo,5-exo,6-endo,8,8,9,10,10-ノナクロロボルナン（B9-1619、T12、P50とも呼ばれる）について標準物質を用意し、<sup>13</sup>C ラベルのクロルデンをサロゲートとして加えて定量を行う。その他の標準物質が入手可能な異性体についても、可能であれば測定対象とする。

#### (5) その他の POPs

HCB、アルドリン、ディルドリン、エンドリン、マイレックス、ヘプタクロルにヘプタクロルエポキサイドを加えた 7 物質（注 5）については、いずれも <sup>13</sup>C ラベル化合物をサロゲート標準物質として加え、前処理操作過程での回収率を補正しながら定量を行う。

以上の物質は基本的に国内製造も輸入もすでに原則禁止されているもの、あるいはこれまでに国内登録・使用実績のないものである。これまでの黒本調査等の結果を見ても、現在の環境中濃度は一般に極めて低いと想定される。したがって、定量に際しては特に高感度かつ選択性の高い検出方法を採用する必要がある。高分離能のキャピラリーガスクロマトグラフの使用を前提とした上で、トキサフェンを除く POPs 全般に対して二重収束型の大型質量分析計を用いて質量分解能 10,000 以上に設定して高分解能選択イオン検出法（GC/HRMS-SIM）測定を行う（注 6）。なお、トキサフェンについては負化学イオン化（NCI；ECNI または電子捕獲負イオン化とも呼ばれる）をイオン化法とする GC/NCI-MS を用いる。NCI は選択性が高いため、この場合は四重極型質量分析計を用いてもよい。また、トキサフェン以外の POPs 化合物についても感度、選択性ともに十分と判断されれば GC/NCI-MS を適用することもできるものとする。

なお、非意図的生成物質であるダイオキシン類、フラン類を除く POPs はいずれも「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律」（「化審法」）の第一種特定化学物質に指定されていることに十分留意し、法律にのっとり安全に十分配慮した取り扱いを行うこと。また、ヘキサン等溶媒の毒性や可燃性に留意し、ドラフトの利用など良好な作業環境の確保を図ること。

### 5.4 試料採取および分析方法の分類

#### 5.4.1 試料の輸送と保管

試料採取から採取後実験室まで輸送し、分析に供するまでの時間をなるべく短くするとともに、その間できるだけ密閉された状態で冷暗所に保存する。生物試料の場合、一旦冷凍してから解凍すると氷の結晶成長のために組織が破壊され、体液、組織液の喪失が免れないことから、可能な限り採取後凍らせずにその日の内に剥き身あるいは切り身を作成し、密閉できる清浄な容器に移す。以後、その容器内でホモジナイズした上で、その一部を使って分析操作を進める。その他試料調整方法や一般的な試料の測定、判別項目については、基本的にモニタリング調査マニュアルに従って実施する。

## 5.4.2 試料採取

### (1) 魚類

採取方法等の概要は表 - 5.1 を参照。なお、魚類については基本的にこれまでの黒本調査事業を継続する。

### (2) 貝類

採取方法等の概要は表 - 5.1 を参照。なお、表 - 5.1 には未記載だが、これまで用いられてきたムラサキイガイ (*Mytilus galloprovincialis*) とイガイ (*Mytilus coruscum*) に加え、これらが得られない場所ではミドリイガイ (*Perna viridis*) とムラサキイコ (*Septifer virgatus*) の 2 種類のイガイ科の二枚貝を新たに対象種として含める。また、以上 4 種類のイガイ科の二枚貝が得られない南の暖かい地域ではマガキかオハグロガキを、また砂地が続きこれらの得られない場所ではアサリ、コタマガイ、シジミ等を対象種としてもよい。違う種類を混ぜることはせず、個々の場所では毎年同じ種類を採取することを原則とする。ただし、継続採取種が一斉にはがれ落ちて採取場所近傍で必要量がとれない年に限り、例外として生物学的になるべく近い種類で量の多いもので代替することができるものとする。

貝類のサンプリングはできるだけ採取時期を統一して実施する。採取後、純水による洗浄と軟体部の摘出を速やかに行って、分析に供することが望ましい。なお、採取にあたってはプラスチック製品の使用をなるべく控える。

### (3) 鳥類

採取方法等の概要は表 - 5.1 を参照。なお、鳥類については基本的にこれまでの黒本調査事業を継続する。

表 - 5.1 生物採取方法等の概要

	生物種	各生物体の大きさ等 <sup>1)</sup>	採取部位	採取地域	検体数	採取時期	採取方法	備考(平成10年度) <sup>2)</sup>
1	サンマ	2kg程度を1検体とする。 (1尾 100g程度)	筋肉 (可食部)	常磐沖	5	10~12月	棒受網	10月
2	オオサガ	4~5kg程度のものを1検体とする。	筋肉 (可食部)	北海道根室沖	5	冬季	定置網等	2月(平成9年度)
3	アイナメ	700g程度以下のもの3~4尾を1検体とする。	筋肉 (可食部)	岩手県山田湾 北海道釧路沖 北海道留萌沖	5	9~11月	定置網等	10~11月
4	スズキ	20~30cm程度(1~2歳)のもの (セイゴ)数尾を1検体とする。	筋肉 (可食部)	仙台湾 東京湾内 大阪湾内 瀬戸内海 山陰沖 四万十川河口 薩摩半島西岸 祝言島地先	5	10月前後	定置網等	9月 8月 10月 10~11月 10月 12~1月 10月
5	ミナミクロダイ	1kg程度のもの3尾を1検体とする。	筋肉 (可食部)	沖縄県中城湾	5	12月~翌1月	建千網、三枚網、底延縄等	12~1月
6	ウグイ	300g程度以下のもの数尾を1検体とする。	筋肉 (可食部)	琵琶湖	5	3~4月	ヤナ	4月
7	ムラサキガイ	3kg程度を1検体とする。	むき身	山田湾内 三浦半島久里浜地先 能登半島 伊勢湾名古屋港 島根半島笠浦漁港 洞海湾	5		付着物よりかき取り	11月 9月 12月 7月 9月
8	イガイ	3kg程度を1検体とする。 (1個100~500g程度)	むき身	鳴門海峡付近	5		付着物よりかき取り	10月
9	ムクドリ	5羽程度を1検体とする。(巣箱内の雛または巣立ちまもない時期の幼鳥)	全身(羽毛と食道内などの内容物を取り除く)	盛岡市郊外	5	繁殖期 (5~6月)	手捕りまたは銃	
10	ウミネコ	数羽程度を1検体とする。(なるべく当歳の幼鳥を検体とする。)	胸筋	八戸市蕪島	5		斃死個体の拾得	6~7月

注1) 検体は分析用(100g程度)のほか、環境省保存用(500g)を含むため、表に示す重量が必要となる。

2) 平成10年度の採取時期(ただし、オオサガは平成9年度)

### 5.4.3 各手法の概要説明

#### (1) PCB 類測定法

1 塩素化体から 10 塩素化体まで各 1 種類ずつ、合計 10 種類の  $^{13}\text{C}$  ラベル PCBs 標準物質を内標準物質（サロゲート物質）として加え、GC/HRMS を用いて定量する。

サロゲート物質を試料採取前に添加し、捕集後、抽出して脱水・濃縮し、濃縮液をフロリジルカラムでクリーンアップして、GC/HRMS-SIM で測定する。状況に応じてジメチルスルホキシド（DMSO）分配、硫酸処理などを組み合わせてもよい。

#### (2) 有機塩素系剤測定法

HCB、クロルデン類、DDT 類、ディルドリン、HCH 類、アルドリン、エンドリン、ヘプタクロル、ヘプタクロルエポキシサイド、マイレックス、トキサフェンの測定を行う。

サロゲート物質を添加しながら捕集し、抽出後フロリジルカラムでクリーンアップし、GC/HRMS-SIM または GC/NCI-MS-SIM で測定する。そのほか、必要に応じて DMSO 分配、シリカゲルカラム等を組み合わせてもよい。

なお、トキサフェンを除き、サロゲート物質としては  $^{13}\text{C}$  ラベル化した測定対象物質を使用することとする。DDD に関しては  $^{13}\text{C}$  ラベル化体が市販されておらず、当面は  $\text{d}_8$  ラベル化体を使用するが、入手可能になった時点で  $^{13}\text{C}$  ラベル化体に変更することにする。

### 5.4.4 分析精度管理

分析精度管理の考え方、進め方については、モニタリング調査マニュアル（第 部第 2 章）（環境省環境保健部環境安全課）に従う。

## 5.5 分析方法

### 5.5.1 PCB 類および有機塩素系剤の分析法

#### (1) 試料の採取および保存

環境省「化学物質環境調査における試料採取にあたっての留意事項」、ならびに別項の生物試料捕集方法（第 部第 1 章）に従う。前処理操作は試料採取後、速やかに行うこととし、やむをえずしばらく保存する場合は、粗抽出液の状態で清浄な密閉容器に入れて冷凍庫に保存することとする。なおその場合はあらかじめ同一条件で対象物質の保存性に問題がないことを標準添加法などで確かめておきデータを提出すること。また、一連の保管試料に対して最低一つの割合で抽出溶媒について同一条件で保管し、保存の間の汚染が起きないことを確認できるようにする。

#### (2) 前処理法

試料の採取は別途記載されている方法に従う。抽出に際してあらかじめサロゲート物質標準溶液を所定量試料に添加し、前処理過程を通じた回収率（捕集効率を含めた）を求めて測定データを補正する。各データにはサロゲートの回収率を明記する。

##### PCB 類単独測定法

湿重量約 20g を精密に秤り取り、200mL ナス型フラスコに採取する。サロゲート標準物質を添加後、1.2mol/L の水酸化カリウムエタノール溶液 50mL を加えて、室温で約 12 時間、

または水浴中（80℃）で1時間アルカリ分解を行う。分解終了後（温度を上げた場合は室温に戻るまで還流冷却を続けた後）、ガラス繊維ろ紙（GF/A）を用いて減圧ろ過し、ナス型フラスコ内の残さをエタノール・ヘキサン（1：1）20mL およびヘキサン 30mL、50mL を用いてろ過装置に洗いこむ。ろ液を少量のヘキサンを用いて 500mL の分液ロートに移し、精製水 100mL を加えた後、10 分間振とうし、十分静置する。

ヘキサン層を 300mL の分液ロートに移し、水層はヘキサン 50mL を用いて再度振とう抽出し、得られたヘキサン抽出液は 300mL の分液ロートに合わせる。得られたヘキサン溶液に濃硫酸 50mL を加えて振とうし、静置後硫酸層を除く。この操作を、ヘキサン層の着色が薄れ硫酸層がきれいになるまで繰り返す。

硫酸洗浄が終了したヘキサン溶液にヘキサンと同等量の飽和塩化ナトリウム溶液を加え、振とう後静置し、水層を除去する。この操作を 3 回繰り返す。ガラス製ロート下部にグラスウールをつめ、無水硫酸ナトリウムを積層したもので脱水後、200mL のナス型フラスコに移して、ロータリーエバポレータを用いて 30℃以下で約 3mL まで減圧濃縮する。

別に操作ブランク試験用、トラベルブランク試験用、二重測定用試料も同様に操作して抽出する。

#### PCB 類ならびに有機塩素系剤前処理法

湿重量約 20g の生物試料を 50mL の遠沈管に精秤し、サロゲート物質標準溶液を添加し混合する。アセトン/ヘキサン混合液（1：2(v/v)）80mL を加え、ホモジナイザーを用いて 2 分間攪拌抽出する。ついで 100mL の遠沈管にアセトン・ヘキサン混合溶液（1：2）20mL を入れ、ホモジナイザーのシャフトを回転させて洗浄する。この洗液を先の 200mL 遠沈管に合わせ、遠心分離（2,500rpm、5 分間）を行い得られた抽出液を 500mL の分液ロートに移す。残さにアセトン・ヘキサン混合溶液（1：2）100mL を加え、抽出・遠心分離操作を繰り返す。得られた抽出液は先の抽出液と合わせる。この抽出液に精製水 200mL を加えて穏やかに揺り動かし静置後、水層を捨てる。残ったヘキサン層に精製水 100mL を加えて同様の操作を繰り返す。得られたヘキサン層を無水硫酸ナトリウムで脱水後、200mL ナス型フラスコに移し、ロータリーエバポレータで乾固しないよう注意しながら約 5mL まで濃縮する。

なお、装置が使える場合には生物試料を同様の溶媒を用いてソックスレー抽出あるいは高速溶媒抽出にかけて抽出液を得ても良い。その場合は、必要に応じて 1 種類の試料に対して複数の抽出を合わせるなどして、出発試料量の確保に努める。

内径 22～25mm 程度、長さ 50～70cm 程度のストップコック付ガラス管またはテフロン管にゲルろ過樹脂（BioBeads S-X3 または同等品）50g をジクロロメタンに懸濁して充填した後、ジクロロメタン・シクロヘキサン混合溶液（1：1(v/v)）100mL を流して安定させる（注 7）。カラムベッド上面まで液面を下げた後、濃縮した試料抽出溶液をカラムベッドを乱さないようそっとのせ、ジクロロメタン・シクロヘキサン混合溶液（1：1）20mL を使って試料容器ならびにカラム壁面を洗い込む。ひき続いて同じ混合溶液 100mL を 5mL/分程度の速度で流してカラムを洗う（溶離液は捨てる）。カラムの出口に 200mL のナス型フラスコを置き、さらに同じ混合溶液 150mL を 5mL/分程度の速度で流し、溶離液をフラスコにためる（画分 1）。画分 1 をロータリーエバポレータで乾固させないよう注意しながら約 5mL まで濃縮し前処理液とする。以上の操作は市販の自動ゲルろ過装置ならびに付属のカラムで行っても良

い。その場合、樹脂量やカラムの大きさ、溶離液の種類、確保する溶離液の溶出位置などは装置の付属品ならびに推薦条件に合わせるものとする。

なお、上記のゲルろ過法に代わって、アセトニトリル分配法を使って脂肪の除去を行う方法も適用できる。ただし、アセトニトリル分配では HCB など一部の物質について回収率が悪くなる恐れがあり、<sup>13</sup>C ラベルのサロゲート標準物質の回収率に注意する。回収率が 50% を大きく割り込む事態が頻発するような場合は、アセトニトリル分配の採用を差し控えてゲルろ過法による脂肪の除去を進める。先に濃縮した抽出液約 5mL を 100mL の分液ロートに移し、ヘキサン 5mL を用いて濃縮容器を洗い込む。これにヘキサン飽和アセトニトリル 50mL を加えて 5 分間振とうする。5 分間静置した後アセトニトリル層を分取し、ヘキサン層にヘキサン飽和アセトニトリル 50mL を加えて振とう・分取操作を繰り返す。得られたアセトニトリル層を 1L の分液ロートに合わせ、2%塩化ナトリウム水溶液 500mL およびヘキサン 50mL を加えて 5 分間振とうする。5 分間静置した後、ヘキサン層を分取し、水層にヘキサン 50mL を加えて振とう・分取の操作を繰り返す。得られたヘキサン層を 200mL のナス型フラスコに合わせ、無水硫酸ナトリウムで脱水後、ロータリーエバポレータで乾固しないよう注意しながら約 5mL まで濃縮し前処理液とする。

以上の脂肪除去を終えた前処理液について、フロリジルカラムクリーンアップを行う。あらかじめ活性化（200℃、約 18 時間乾燥）したフロリジル 10g（注 8）と無水硫酸ナトリウム 2g をそれぞれ 5%ジエチルエーテル含有ヘキサンに懸濁し、カラムクロマト管（内径 1cm 長さ 30cm ガラス製；ストップコック付き）の上下に硫酸ナトリウムをはさんでフロリジルを湿式充填する。同溶液でカラムを洗浄した後、300mL のナス型フラスコをセットし、試料液をカラムに負荷する。クロマト管の液面を無水硫酸ナトリウム層の上端まで下げてから、少量の 5%ジエチルエーテル含有ヘキサンで数回濃縮容器およびカラムの壁面を洗いながら試料をカラムに負荷する。5%ジエチルエーテル含有ヘキサン 100mL で目的成分を溶出する（画分 1）。ナス型フラスコを取り替え、さらに 20%ジエチルエーテル含有ヘキサン 100mL で溶出を継続する（画分 2）。画分 2 はロータリーエバポレータを用いて 30℃で約 5mL まで濃縮し、さらにヘキサンを用いてスピッツ管に移し、シリンジスパイクを加えてから乾燥窒素で 500μL まで濃縮する。この操作により、ディルドリンとエンドリンは画分 2 に、これら以外は画分 1 に分配される。

画分 1 は濃縮、ヘキサン溶解を繰り返した後最終液量約 5mL に濃縮し、さらにシリカゲルカラムを用いて分離する。あらかじめ活性化（130℃、約 18 時間乾燥）したシリカゲル 5g（注 8）と無水硫酸ナトリウム 2g をそれぞれヘキサンに懸濁し、カラムクロマト管の上下に硫酸ナトリウムをはさんでフロリジルカラムを湿式充填する。同溶液でカラムを洗浄した後、100mL のナス型フラスコをセットし、試料液をカラムに負荷する。上記と同様試料を洗いこんだ後、ヘキサン 30mL で目的成分を溶出する（画分 3）。ナス型フラスコを取り替え、さらに 25%ジエチルエーテル含有ヘキサン 30mL でさらに溶出する（画分 4）。それぞれの溶出液をロータリーエバポレータを用いて 30℃で約 5mL まで濃縮し、さらにヘキサンを用いてスピッツ管に移し、シリンジスパイクを加えてから乾燥窒素で 500μL まで濃縮する。この操作により、PCB 類と HCB、アルドリン、マイレックスは画分 3 に、残りは画分 4 に分配される。なお、これらの分離状況は使用するフロリジル、シリカゲル等の製品やロットによっても変化しうることに留意する。PCB 類とトキサフェンの分離が定量的でない場合には、

画分 4 を再び濃縮してシリカゲルカラム処理を繰り返すか、シリカゲルの量を増やすことにより対処可能である。ただし、シリカゲルの量を増加させた場合にはあらかじめ標準物質等を用いた分画試験を行ってから実施すること。

GC/MS による測定で 5%フェニルメチルポリシロキサン相当のカラムを用いる場合はオキシクロルデンとヘプタクロールエポキサイドが互いに分離しないため、前処理操作でこれらを別々の画分に分ける必要がある。その場合は、フロリジルカラムクロマトグラフィーの展開溶媒を以下のように変更する。画分 1 として 20%ジクロロメタン (v/v) を含むヘキサン溶液、画分 2 としてジクロロメタン溶液を用いて展開させ、その後、それらを濃縮し GC/MS 分析用試料とする。この操作によりディルドリン、エンドリンとヘプタクロールエポキサイドは画分 2 に、それ以外はすべて画分 1 に分配される。

また、フロリジルカラムクロマトグラフィーの代わりにシリカゲルカラムクロマトグラフィーを用いて、DMSO/ヘキサン分配と組み合わせることも可能である。ただし、分画条件は使用する充填剤の種類や活性度、あるいは溶媒の種類および量によって異なるので、あらかじめ標準物質等の分画試験を行って条件を決めなければならない。なお、サロゲートを用いて良好な回収率が示され、ガスクロマトグラフのピーク形状や目的物質ピーク周辺の妨害ピークの状態、SIM における定量イオンと確認イオンの比などから妨害なく測定できていると判断できる場合は、その他の前処理方法で測定することも可能とする。

PCB 類だけを測定する場合は、フロリジルカラムクリーンアップの代わりに多層シリカゲルカラムクリーンアップを用いても良い。活性化したシリカゲル 0.9g、2%水酸化カリウムシリカゲル 3g、活性化したシリカゲル 0.9g、44%硫酸シリカゲル 4.5g、22%硫酸シリカゲル 6g、活性化したシリカゲル 0.9g、10%硝酸銀シリカゲル 3g および無水硫酸ナトリウム 6g をカラムクロマト管 (内径 1.5cm 長さ 30cm ガラス製; ストップコック付き) に順次湿式充填する。ヘキサンでカラムを洗浄した後、200mL のナス型フラスコをセットし、試料液をカラムに負荷する。液面をカラム無水硫酸ナトリウム層の上端まで下げてから少量のヘキサンで数回濃縮容器およびカラムの壁面を洗いながら試料をカラムに負荷する。ヘキサン 120mL で目的成分を溶出する。市販の大容量シリカゲルカートリッジカラムや多層シリカゲルカラムを用いる場合には、あらかじめ標準物質を用いて溶出に必要な最小限のヘキサン溶液の量を決めておく。

### (3) 空試験液の調製

試料を用いずに試料と同様の操作を行い、得られた試験溶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) PCB の測定

#### 標準液および内標準液の調製

標準液については、市販の PCBs 標準溶液の中から、1 塩素化体から 10 塩素化体までの複数の PCB 異性体を含む適当なものを選ぶ (例えば、Wellington Laboratories の BP-MS 標準溶液あるいは Cambridge Isotope Laboratories の EC-4976、EC-4989 など)。内標準液についても、市販品の中で 1 塩素化体から 10 塩素化体までの各 1 種類ずつの異性体を含む <sup>13</sup>C ラベル標準物質の混合溶液を選択する (例えば Wellington Laboratories の MBP-CG、CIL



の EC-4189 など)。なお、シリンジスパイクとしては  $^{13}\text{C}$  ラベル化 PCBs を 3 種類程度 (例えば  $^{13}\text{C}_{12}$ -2,3',4',5'-TeCB、 $^{13}\text{C}_{12}$ -2,3,3',5,5'-PeCB、 $^{13}\text{C}_{12}$ -2,2',3,4,4',5'-HxCB) を含む標準溶液を用いる。

なお、これらの内標準物質は、質量分析計の設定分解能によっては分析に妨害を与える場合があるので、その使用に際しては妨害しない条件を十分に検討し確認を行うこと。

なお、商品名については便宜のために、一般に入手できるものから記載したが、これらに限定されるものではなく、同等以上の性能を有すると判断されるものを他から選んでもよい。

#### GC/HRMS

GC/HRMS の条件の一例、ならびに測定イオンを以下に示す。キャピラリーカラムは、内径 0.25 ~ 0.32mm、長さ 25 ~ 60m の溶融シリカ製のものであって、メチルシリコン系無極性カラムや微極性カラムが一般的で、最近ではシロキサン・カルボランをベースにしたカラムも用いられている。特に PCBs については分離が良好で、それらの異性体のクロマトグラム上における溶出順位の判明しているカラムの使用を標準とする。DB-1、DB-5、DB-5MS (J&W 社製)、Ultra#1、Ultra#2 (Agilent 社製)、SPB-1、SPB-5 (Supelco 社製)、HT8 (SGE 社製) 等が利用できる。

なお、商品名については便宜のために、一般に入手できるものから記載したが、これらに限定されるものではなく、同等以上の性能を有すると判断されるものを他から選んでもよい。

#### 【GC】

使用機器 : Agilent 6890 (Agilent Technologies 社製)  
注入口温度 : 280  
注入方法 : スプリットレス  
試料注入量 : 1.5 $\mu\text{L}$   
恒温槽温度 : 130 (1分) (20 /分) 220 (0分) (5 /分) 320 (hold)  
分離カラム : HT8 (SGE 社製)、50m (長さ)  $\times$  0.22mm (内径) 0.25 $\mu\text{m}$  (膜厚)

#### 【MS】

使用機器 : Autospec Ultima (Micromass 社製)  
測定方法 : 選択イオン検出法 (SIM)  
インターフェース温度 : 290  
イオン源温度 : 320  
イオン化電流 : 500 $\mu\text{A}$   
イオン化電圧 : 30 ~ 40V  
分解能 (M/ M) : 10,000 以上 (10% Valley)  
加速電圧 : 8kV  
質量数補正 : ロックマス方式 (PFK 使用)

表 - 5.2 対象物質の測定イオン

	対象物質		サロゲート物質	
	定量イオン	確認イオン	定量イオン	確認イオン
1 塩素化体	188.0393	190.0364	200.0795	202.0766
2 塩素化体	222.0003	223.9974	234.0406	236.0376
3 塩素化体	255.9613	257.9587	268.0016	269.9986
4 塩素化体	289.9224	291.9195	301.9626	303.9597
5 塩素化体	323.8834	325.8805	335.9237	337.9207
6 塩素化体	359.8415	361.8386	371.8817	373.8788
7 塩素化体	393.8025	395.7996	405.8428	407.8398
8 塩素化体	427.7636	429.7606	439.8038	441.8008
9 塩素化体	461.7246	463.7216	473.7648	475.7619
10 塩素化体	497.6826	499.6797	509.7229	511.7199
HCB	283.8102	285.8072	289.8303 ( $^{13}\text{C}_6$ )	
アルドリン	262.8570	264.8540	269.8804 ( $^{13}\text{C}_{12}$ )	
マイレックス	271.8102	273.8072	276.8269 ( $^{13}\text{C}_{10}$ )	

( 画分 3 を一斉分析する場合は下段 3 化合物を対象に加える )

#### (5) 有機塩素系剤の測定

##### 標準液および内標準液の調製

標準溶液の作製においては、各標準物質、サロゲート物質および測定用内標準物質を正確に秤り取り、上記のいずれかの溶媒に溶解し、500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$  および 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$  を調製する。これを同じ溶媒を用いて適宜混合・希釈し、検量線用標準溶液を数点調製する。GC/HRMS-SIM 測定用の検量線としては、例えば 0.0001 ~ 0.01 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ( *o,p'*-DDE、*p,p'*-DDE、ヘプタクロール、ヘプタクロールエポキサイド、ディルドリン、 $\gamma$ -HCH、 $\delta$ -HCH、 $\delta$ -HCH ) 0.00005 ~ 0.005 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ( HCB、*trans*-クロルデン、*cis*-クロルデン、*trans*-ノナクロール、*cis*-ノナクロール ) 0.0005 ~ 0.05 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ( *o,p'*-DDT、*p,p'*-DDT、*o,p'*-DDD、*p,p'*-DDD、オキシクロルデン、アルドリン、エンドリン ) が挙げられる。なお、すべての検量線用標準溶液には  $^{13}\text{C}$  ラベルのサロゲート物質が 0.0005 $\mu\text{g}/\text{mL}$  ( HCB ) 0.005 $\mu\text{g}/\text{mL}$  ( *o,p'*-DDE、*p,p'*-DDE、ヘプタクロール、ヘプタクロールエポキサイド、ディルドリン、 $\gamma$ -HCH、 $\delta$ -HCH、 $\delta$ -HCH、*trans*-クロルデン、*trans*-ノナクロール、*cis*-ノナクロール ) 0.025 $\mu\text{g}/\text{mL}$  ( *o,p'*-DDT、*p,p'*-DDT、オキシクロルデン、アルドリン、エンドリン ) 測定用内標準物質が 0.005 $\mu\text{g}/\text{mL}$  (  $^{13}\text{C}_{12}$ -2,2',4,4',5,5'-HxCB ( IUPAC #153 ) ) 含まれている。

一方、GC/NCI-LRMS-SIM 測定用の検量線としては、例えば 0.001 ~ 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ( *o,p'*-DDT、*p,p'*-DDT、*o,p'*-DDE、*p,p'*-DDE、*o,p'*-DDD、*p,p'*-DDD、オキシクロルデン、ヘプタクロール、アルドリン、ディルドリン、エンドリン、ヘプタクロールエポキサイド、 $\gamma$ -HCH、 $\delta$ -HCH、 $\delta$ -HCH ) 0.0001 ~ 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$  ( HCB、*trans*-クロルデン、*cis*-クロルデン、*trans*-ノナクロール、*cis*-ノナクロール ) 0.05 $\mu\text{g}/\text{mL}$  (  $^{13}\text{C}$  ラベルの各サロゲート物質 ) 測定用内標準物質が 0.005 $\mu\text{g}/\text{mL}$  (  $^{13}\text{C}_{12}$ -2,2',4,4',5,5'-HxCB ( IUPAC #153 ) ) 含まれている。サロゲートと内標準の添加量も上記の濃度を目標として定められている。なお、NCI-LRMS の場合、特

に DDT、DDD の感度が低めに出る傾向がある。使用装置の感度にあわせてこれらの濃度を適宜調節する。

#### GC/HRMS

GC/MS の条件の一例、ならびに測定イオンを以下に示す。キャピラリーカラムは、内径 0.25 ~ 0.32mm、長さ 25 ~ 60m の溶融シリカ製のものであって、内面に微極性または中極性の液体を被覆したものが用いられている。HT8、BPX-5、BPX-5Q (SGE 社製)、DB-5、DB-5MS、DB-17 (J&W 社製) 等が利用できる。

なお、商品名については便宜のために、一般に入手できるものから記載したが、これらに限定されるものではなく、同等以上の性能を有すると判断されるものを他から選んでもよい。

#### 【GC】

使用機器 : Agilent 6890 (Agilent Technologies 社製)  
注入口温度 : 260  
注入方法 : スプリットレス  
試料注入量 : 1.0 $\mu$ L  
恒温槽温度 : 40 (1分) (10 /分) 280 (hold)  
分離カラム : BPX-5 (SGE 社製)、60m (長さ)  $\times$  0.25mm (内径)、0.25 $\mu$ m (膜厚)

#### 【HRMS】

使用機器 : Autospec Ultima (Micromass 社製)  
測定方法 : 選択イオン検出法 (SIM)  
インターフェース温度 : 290  
イオン源温度 : 320  
イオン化電流 : 500 $\mu$ A  
イオン化電圧 : 30 ~ 40V  
分解能 (M/ M) : 10,000 以上 (10% Valley)  
加速電圧 : 8kV  
質量数補正 : ロックマス方式 (PFK 使用)

表 - 5.3 GC/HRMS-SIM による測定イオン

物質	測定イオン		サロゲート
	定量イオン	確認イオン	定量イオン
$\alpha$ -、 $\beta$ -、 $\gamma$ -、 $\delta$ -HCH	218.9116	216.9145	224.9317 ( $^{13}\text{C}_6$ )
<i>o,p'</i> -、 <i>p,p'</i> -DDT	235.0081	237.0058	247.0484 ( $^{13}\text{C}_{12}$ )
<i>o,p'</i> -、 <i>p,p'</i> -DDD	235.0081	237.0058	
<i>o,p'</i> -、 <i>p,p'</i> -DDE	246.0003	247.9974	258.0406 ( $^{13}\text{C}_{12}$ )
ヘプタクロル	271.8102	273.8072	276.8269 ( $^{13}\text{C}_{10}$ )
ヘプタクロルエポキサイド*	352.8442	354.8413	362.8778 ( $^{13}\text{C}_{10}$ )
<i>trans</i> -、 <i>cis</i> -クロルデン	372.8260	374.8230	382.8595 ( $^{13}\text{C}_{10}$ )
<i>trans</i> -、 <i>cis</i> -ノナクロル	406.7870	408.7840	416.8205 ( $^{13}\text{C}_{10}$ )
ディルドリン	262.8570	264.8540	269.8804 ( $^{13}\text{C}_{12}$ )
エンドリン	262.8570	264.8540	269.8804 ( $^{13}\text{C}_{12}$ )
オキシクロルデン	386.8052	388.8023	396.8388 ( $^{13}\text{C}_{10}$ )
HCB	283.8102	285.8072	289.8303 ( $^{13}\text{C}_6$ )
アルドリン	262.8570	264.8540	269.8804 ( $^{13}\text{C}_{12}$ )
マイレックス	271.8102	273.8072	276.8269 ( $^{13}\text{C}_{10}$ )

\* : ヘプタクロルエポキサイドとオキシクロルデンは GC 分離が難しい (特に 5%フェニルメチルポリシロキサン系のカラムの場合)。HT8 では両者は分離する。

: 下段 3 化合物は、場合によっては PCB 類とともに別に定量する。

#### GC/NCI-LRMS

GC/NCI-LRMS-SIM による測定では、アルドリンならびにヘプタクロルについては近傍に、あるいは重なって妨害ピークの見られる場合がある。したがって、これを検出法として用いる場合は前処理工程における相互分離が必要であるため、シリカゲルカラムを用いたクリーンアップをフロリジルカラムに続いて行い、画分ごとに測定を行うことを原則とする。また、必要に応じて異なる種類のキャピラリーカラムを採用して妨害ピークの重なりを除去する。なお、使用可能なキャピラリーカラムは 5.5.1 (4) GC/HRMS の場合と同様である。

#### 【GC/NCI-LRMS】

使用機器 : Agilent 6890 + 5973N MSD (Agilent Technologies 社製)  
 注入口温度 : 260  
 注入方法 : スプリットレス  
 試料注入量 : 1.0 $\mu$ L  
 恒温槽温度 : 40 (0.3 分) (20 /分) 200 (2.5 /分) 280 (hold)  
 分離カラム : HT8 (SGE 社製) 50m (長さ)  $\times$  0.22mm (内径) 0.25 $\mu$ m (膜厚)  
 イオン化法 : NCI 法  
 反応ガス : メタン  
 イオン源温度 : 150  
 四重極温度 : 110

表 - 5.4 対象物質の測定イオン

	定量	確認	サロゲート
ヘプタクロル	300	266	310 ( <sup>13</sup> C <sub>10</sub> )
ヘプタクロルエポキサイド	388	282	398 ( <sup>13</sup> C <sub>10</sub> )
アルドリン	330	237	342 ( <sup>13</sup> C <sub>12</sub> )
エンドリン	380	346	392 ( <sup>13</sup> C <sub>12</sub> )
マイレックス	368	403	378 ( <sup>13</sup> C <sub>10</sub> )
トキサフェン			
$\alpha$ -トキサフェン ( B8-1413 )	377	375	
$\beta$ -トキサフェン ( B9-1619 )	413	411	
<sup>13</sup> C-PCB 153 ( SS )			372 ( <sup>13</sup> C <sub>12</sub> )

< その他の有機塩素化合物の測定イオン >

	定量	確認	サロゲート
$\alpha$ -、 $\beta$ -、 $\gamma$ -、 $\delta$ -HCH	255	71	261 ( <sup>13</sup> C <sub>6</sub> )
ディルドリン	380	346	392 ( <sup>13</sup> C <sub>12</sub> )
HCB	284	250	290 ( <sup>13</sup> C <sub>6</sub> )
<i>trans</i> -、 <i>cis</i> -クロルデン	410	374	420 ( <sup>13</sup> C <sub>10</sub> )
<i>trans</i> -、 <i>cis</i> -ノナクロル	444	300	454 ( <sup>13</sup> C <sub>10</sub> )
オキシクロルデン	424	352	434 ( <sup>13</sup> C <sub>10</sub> )
<i>o,p'</i> -、 <i>p,p'</i> -DDT	283	318	295 ( <sup>13</sup> C <sub>12</sub> )
<i>o,p'</i> -、 <i>p,p'</i> -DDD	248	320	256 ( <i>d<sub>8</sub></i> )
<i>o,p'</i> -、 <i>p,p'</i> -DDE	318	281	330 ( <sup>13</sup> C <sub>12</sub> )

### 5.6 ブランク試験および二重測定

試料分析に先立ち、また分析操作中適当な頻度で、試料を加えずに一連の操作を実施するブランク試験を実施し、その結果を記録する。各試料の分析結果の算出にあたっては、このブランクの平均値を差し引いて表示する。なお、測定法の検出下限については別途定める手法に従い計算する（第 部 2 . 分析精度管理 参照）。

試料採取、前処理操作および機器分析における総合的な信頼性を確保するために、同一条件で採取した 2 つ以上の試料について同様に分析し、算出した 2 つの試料の濃度差が平均値の 30% 以下であることを確認する。この判定基準（30%）より大きい時には測定値の信頼性に問題があるため、原則として欠測扱いとする。

管理基準を超した場合に、測定試料があれば前処理を含めて各々もう 1 回測定を繰り返す。再測定の結果が判定基準値以内であればその値を使用する。しかし、再測定でも判定基準を超えた場合には、試料採取に問題がある恐れが高い。

このような場合には、分析機器の安定性等の必要事項について確認、改善した後、再度試料採取を行う。

ブランク試験、二重測定ともに毎回測定は困難であるため、一連の試料採取において試料数

の数～10%程度の頻度で行う。

なお、以上を含む分析精度管理について、より詳しくは 第 部 2 .分析精度管理 を参照されたい。

### 5.7 測定操作の記録

以下の情報を記録し、整理・保管しておく。

- 試料採取時に得られた重量、大きさ等の情報（試料採取マニュアル参照）。
- 測定に用いた試料の水分含有量、脂肪含有量（分析結果を湿重量ベース、乾燥重量ベース、脂肪ベースの3通りの方法で表示できるようにする）。
- 試料採取に使用する装置や器具の調整、校正および操作。
- 容器等の準備、取り扱いおよび保管の状況。
- 調査地点に関する詳細な情報（採取方法、採取地点の緯度と経度、採取日時）。
- 試料採取の条件。
- 分析装置の校正および操作。
- 測定値を得るまでの各種の数値。
- 試料採取地点の写真撮影。

## 【注解】

- (1) 2001年5月22日に採択された「POPs(残留性有機汚染物質)に関するストックホルム条約」において、アルドリン、クロルデン、ディルドリン、エンドリン、ヘプタクロル、DDT、ヘキサクロロベンゼン、PCB、マイレックス、トキサフェン、ダイオキシン類、フラン類の12物質がPOPs条約対象物質として指定され、環境負荷の状況および対策の効果を把握するための環境モニタリング手法の確立が求められた。なお、本条約ではPOPs化合物の追加に関する事項も定められており、今後対象物質がさらに増える可能性がある。
- (2) 「モニタリング調査マニュアル」(環境省環境安全課)
- (3) DDT類については、POPs条約に関するUNEP専門家会合で *p,p'*-DDT、*p,p'*-DDE、*p,p'*-DDDの少なくとも3種類を測定対象に含むことが提案されている。これらに加えてこれまでの黒本調査とのデータの継続性に配慮し、*o,p'*-体のDDT、DDE、DDDもあわせて計6物質を測定対象とする。なお、DDDについては<sup>13</sup>Cラベル体が製造されていないため、当面サロゲート物質には含めない。
- (4) クロルデン類については、POPs条約に関するUNEP専門家会合で *trans*-クロルデン、*cis*-クロルデン、*trans*-ノナクロル、オキシクロルデンの名前が具体的に挙げられている。これらに加えてこれまでの黒本調査とのデータの継続性に配慮し、*cis*-ノナクロルを加えた5物質を測定対象とする。
- (5) 国内法である「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律」においては、ヘプタクロルはクロルデンの1成分としてクロルデンに含めて考えられているが、ここではストックホルム条約に規定されるPOPsの定義に従い、ヘプタクロルをクロルデンの他の成分と分けて、単独で測定を行い値を報告する。また、ヘプタクロルの測定にあたってその代謝産物であるヘプタクロルエポキシサイドの分析を同時に行うことがUNEPで開催された専門家会合で提案されており、ここではヘプタクロルエポキシサイドも測定対象とする。
- (6) これらの測定対象についてはPOPsに関するストックホルム条約への対応、国内関連法における指定、国内でのこれまでの関連調査との継続性、国連環境計画(UNEP)における分析法の議論などを踏まえて選定されているが、今後の国際的な動きなどに対応して改訂される可能性がある。また、分析法についても今後の改訂の可能性あるほか、データの信頼性について一定の基準を満たすことが具体的に示されれば、ここに記載された方法に完全に準拠しなくてもよいものとする。
- (7) 一度使ったゲルろ過樹脂を再利用する際は、カラム上部の着色部分を除去後、ビーカーに取り出してジクロロメタン(樹脂全体を浸してスパチュラ等で攪拌するのに足りる程度の量)を加え、樹脂を壊さないよう注意しながらゆっくり攪拌後、プフナーロート等で溶媒を吸引ろ過する。その際吸引しすぎて樹脂を乾固させないように注意すること。この操作を5回以上繰り返したあと、溶媒をジクロロメタン：シクロヘキサン(1:1、v/v)にかえて懸濁、吸引ろ過を2回繰り返し、同じ溶媒に懸濁してカラムに充填し、再び脂肪除去に用いる。
- (8) 夾雑物の量に応じて増減したり、市販の大容量カートリッジなどを利用してもかまわな

い。その場合は溶出液量も適宜増減すること。