

4 野生生物中のダイオキシン類の分析方法

濱田典明・橋本俊次

4-1 概要

本マニュアルでは、試料中のダイオキシン類を、抽出後、各種のクリーンアップ処理を行い、高分解能ガスクロマトグラフ - 高分解能質量分析計 (HRGC-HRMS) を用いて定性・定量する方法について示した。

しかし、本マニュアルに示した以外の手法であっても、実証試験等を行い、本マニュアルに示した手法と同等あるいはそれ以上の性能を有することが、客観的に証明されたものであれば、その採用を妨げるものではない。

4-2 測定対象物質

本マニュアルでは、野生生物中のポリ塩化ジベンゾ-パラ-ジオキシン (PCDDs)、ポリ塩化ジベンゾフラン (PCDFs) 及びコプラナーポリ塩化ビフェニル (Co-PCBs) を測定対象物質としている。(注1)

4-3 用語の定義

ダイオキシン類：狭義にはポリ塩化ジベンゾ-パラ-ジオキシンとポリ塩化ジベンゾフランを指すが、本マニュアルでは、更にコプラナーポリ塩化ビフェニルをも合わせた総称とする。

異性体：塩素の置換した数と位置によって PCDDs は 75 種類、PCDFs は 135 種類、PCBs は 209 種類の異なった分子構造の化合物が存在する。(isomer)

同族体：それぞれの異性体のうち、塩素置換数が同じ化合物を指す。(homologue または congener)

PCDDs：ポリ塩化ジベンゾ-パラ-ジオキシン。(polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins)

PCDFs	: ポリ塩化ジベンゾフラン。(polychlorinated dibenzofurans)
TeCDDs	: 四塩化ジベンゾ-パラ-ジオキシン。(tetrachlorodibenzo- <i>p</i> -dioxins)
PeCDDs	: 五塩化ジベンゾ-パラ-ジオキシン。(pentachlorodibenzo- <i>p</i> -dioxins)
HxCDDs	: 六塩化ジベンゾ-パラ-ジオキシン。(hexachlorodibenzo- <i>p</i> -dioxins)
HpCDDs	: 七塩化ジベンゾ-パラ-ジオキシン。(heptachlorodibenzo- <i>p</i> -dioxins)
OCDD	: 八塩化ジベンゾ-パラ-ジオキシン。(octachlorodibenzo- <i>p</i> -dioxin)
TeCDFs	: 四塩化ジベンゾフラン。(tetrachlorodibenzofurans)
PeCDFs	: 五塩化ジベンゾフラン。(pentachlorodibenzofurans)
HxCDFs	: 六塩化ジベンゾフラン。(hexachlorodibenzofurans)
HpCDFs	: 七塩化ジベンゾフラン。(heptachlorodibenzofurans)
OCDF	: 八塩化ジベンゾフラン。(octachlorodibenzofuran)
PCBs	: ポリ塩化ビフェニル。(polychlorobiphenyls)
TeCBs	: 四塩化ビフェニル。(tetrachlorobiphenyls)
PeCBs	: 五塩化ビフェニル。(pentachlorobiphenyls)
HxCBs	: 六塩化ビフェニル。(hexachlorobiphenyls)
HpCBs	: 七塩化ビフェニル。(heptachlorobiphenyls)
Co-PCBs	: コプラナーPCBs。共平面構造型塩化ビフェニルで、オルト位に塩素が配位していないもの、1 つあるいは 2 つ配位しているものを指す。 (coplanar PCBs)
ノンオルト PCBs	: オルト位非塩素置換型塩化ビフェニル。(non- <i>ortho</i> PCBs)
モノオルト PCBs	: オルト位 1 塩素置換型塩化ビフェニル。(mono- <i>ortho</i> PCBs)
ジオルト PCBs	: オルト位 2 塩素置換型塩化ビフェニル。(di- <i>ortho</i> PCBs)
TEF	: 毒性等価係数。(2,3,7,8-TeCDD toxicity equivalency factor)
TEQ	: 毒性当量。PCDDs、PCDFs とコプラナーPCBs の量をダイオキシン類の中で最強の毒性を有する 2,3,7,8-四塩化ジベンゾ-パラ-ジオキシンの量に換算した量として表していることを示す記号。(2,3,7,8-TeCDD toxicity equivalency quantity)
PFK	: ペルフルオロケロセン。(perfluorokerosene)
HRGC	: 高分離能ガスクロマトグラフィ(high resolution gas chromatography) または 高分離能ガスクロマトグラフ (high resolution gas chromatograph)
HRMS	: 高分解能質量分析法 (high resolution mass spectrometry) または高分解能質量分析計 (high resolution mass spectrometer)
HRGC-HRMS	: 高分解能ガスクロマトグラフ質量分析法または高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計
SIM	: 選択イオン検出法。(selected ion monitoring)

RRF	: 相対感度係数。(relative response factor)
QA/QC	: 品質保証 / 品質管理。(quality assurance / quality control)
vol%	: 体積百分率。(volume per unit volume)
mass%	: 質量百分率。(weight per unit weight)
ppm	: 100 万分の 1。(parts per million; 10^{-6})
ppb	: 10 億分の 1。(parts per billion; 10^{-9})
ppt	: 1 兆分の 1。(parts per trillion; 10^{-12})
ppq	: 1000 兆分の 1。(parts per quadrillion; 10^{-15})
µg	: マイクログラム。(microgram; 100 万分の 1 g; 10^{-6} g)
ng	: ナノグラム。(nanogram; 10 億分の 1 g; 10^{-9} g)
pg	: ピコグラム。(picogram; 1 兆分の 1 g; 10^{-12} g)
ss	: サンプルングスパイク。(sampling spike)
cs	: クリーンアップスパイク。(clean-up spike)
rs	: シリンジスパイク。(syringe spike)
DL	: 検出下限値。ブランク値と識別できる最小値；測定の標準偏差の 3 倍または SN 比が 3 の強度を示す量。(detection limit)
QL	: 定量下限値。定量値が信頼できる最小値；測定の標準偏差の 10 倍または SN 比が 10 の強度を示す量。(quantification limit)

なお、本マニュアルに記載されている商品名は、マニュアル使用者の便宜のために、マニュアル作成に伴い行われた検証試験等に使用し、かつ、一般に入手できるものを示したものであり、これを推奨するものではない。これと同等の品質、性能のものを用いてもよい。

4-4 試料

ダイオキシン類は脂溶性が高いため、野生生物の場合、その体内負荷量の大部分は脂肪組織に蓄積している。このため分析試料としては、イルカ・アザラシのような海棲哺乳動物の場合は脂皮を用い、その他の生物でも脂肪組織を選択することが望ましい。一方、十分な量の脂肪組織の確保が難しい小型の鳥類などは、脂肪含量の高い肝臓や腎臓等の器官を複数個体用いて分析する。

採取後の試料は、試料の変質（腐敗、脱水、酸化等）や分析対象物質の分解やコンタミネーションを避ける為、密閉できる容器に入れ、遮光し、高温を避け、運搬する。また、すぐに分析できない場合は、20 °C 以下で冷凍保管する。

4-5 試薬及び材料

分析に用いる試薬及び材料はブランク試験を行い、ダイオキシン類の分析に影響を及ぼす妨害成分が含まれていないことを確認してから使用する。カラムクロマトグラフィの条件は、随時、確認しておく必要がある。

ヘキサン、メタノール、アセトン、トルエン、ジクロロメタン

残留農薬試験用、PCB 試験用あるいはダイオキシン類分析用。

ノナン、デカン、イソオクタン

試薬特級または同等以上のもの。

純水

イオン交換水、蒸留水等でダイオキシン類の測定に支障をきたさないもの。

硫酸、塩酸

試薬特級または同等以上のもの。

硫酸ナトリウム

残留農薬試験用、PCB 試験用あるいはダイオキシン類分析用。

水酸化カリウム、硝酸銀、ピロガロール

試薬特級または同等以上のもの。

シリカゲル(注2)

カラムクロマトグラフィ用シリカゲル(0.063~0.210 mm、70~230 mesh)をビーカーに入れてメタノールで洗浄し、メタノールを十分揮散させる。これを層の厚さを10 mm以下にして、130 °Cで5時間以上乾燥して活性化した後、デシケータ内で約30分間放冷したもの。

2 mass% 水酸化カリウム被覆シリカゲル(以後水酸化カリウムシリカゲルと略称)(注3)

シリカゲルに50 g/l 水酸化カリウム水溶液を2 mass%になるように加え、ロータリーエバポレータで約50 °Cで減圧脱水し、水分のほとんどが除去された後、80 °Cに上げてさらに1時間続けて粉末状にしたもの。調製後、密閉できる試薬瓶に入れデシケータ中に保存する。または、これと同等の性能を有するもの。

44 mass% 及び 22 mass% 硫酸被覆シリカゲル(以後硫酸シリカゲルと略称)(注3)

シリカゲルに硫酸を44 mass%及び22 mass%になるように添加後、十分振とうし粉末状にしたもの。調製後、密閉できる試薬瓶に入れデシケータ中に保存する。または、これと同等の性能を有するもの。

10 mass% 硝酸銀被覆シリカゲル(以後硝酸銀シリカゲルと略称)(注3)

シリカゲルに400 g/l 硝酸銀水溶液を10 mass%になるように加えた後、ロータリーエバポレータで水分を完全に除去したもの。調製中は褐色フラスコを使用し、極力遮光すること。調製後、密閉できる褐色瓶に入れデシケータ中に保存する。または、

これと同等の性能を有するもの。

アルミナ（注4）

カラムクロマトグラフィ用アルミナ（0.063～0.210 mm、70～230 mesh）。あらかじめ活性化したものが入手できる場合は、そのまま使用してもよい。保存期間や保存状態により活性度が著しく異なる場合には、次のように活性化する。ビーカーに層の厚さを10 mm以下にして入れ130℃で約18時間加熱、もしくは、シャーレに層の厚さを約5 mm程度にして入れ500℃で約8時間加熱処理した後、デシケータ内で室温まで放冷する。調製後、密閉できる試薬瓶に入れデシケータ中に保存する。

活性炭（シリカゲル）（注5）

市販のダイオキシン類分析用活性炭埋蔵シリカゲル、活性炭分散シリカゲル。または、これと同等の性能を有するもの。

標準物質（注6）

ダイオキシン類の同定及び定量に使用する標準物質の種類を例を表4-5-1に示す。

表4-5-1 ダイオキシン類の同定及び定量に使用する標準物質の種類を例

種類	PCDDs	PCDFs	コプラナーPCBs (IUPAC 番号)
TEQ 算出に係る異性体	2,3,7,8-TeCDD 1,2,3,7,8-PeCDD 1,2,3,4,7,8-HxCDD 1,2,3,6,7,8-HxCDD 1,2,3,7,8,9-HxCDD 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD OCDD	2,3,7,8-TeCDF 1,2,3,7,8-PeCDF 2,3,4,7,8-PeCDF 1,2,3,4,7,8-HxCDF 1,2,3,6,7,8-HxCDF 1,2,3,7,8,9-HxCDF 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF 1,2,3,4,7,8,9-HpCDF OCDF	(ノンオルト) 3,3',4,4'-TeCB (77) 3,4,4',5-TeCB (81) 3,3',4,4',5-PeCB (126) 3,3',4,4',5,5'-HxCB (169) (モノオルト) 2,3,3',4,4'-PeCB (105) 2,3,4,4',5-PeCB (114) 2,3',4,4',5-PeCB (118) 2',3,4,4',5-PeCB (123) 2,3,3',4,4',5-HxCB (156) 2,3,3',4,4',5'-HxCB (157) 2,3',4,4',5,5'-HxCB (167) 2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (189)
その他の異性体 (分画確認用等, 使用は任意)	1,3,6,8-TeCDD	1,3,6,8-TeCDF	

標準液（注7）

市販の混合溶液等を用いて、検量線作成に応じて希釈したものを用意する。

内標準物質（注8）

安定同位体元素（¹³C や ³⁷Cl）で標識化された PCDDs、PCDFs やコプラナーPCBs を用いる（表 4-5-2）。

内標準液（注7）

市販の混合溶液等を用いて、内標準として添加する量及び検量線作成に応じて希釈

したものを用意する。

検量線作成用標準液（注9）

GC-MS に注入される各異性体の絶対量として、PCDDs、PCDFs が 0.1 ~ 1,000 pg 程度、コプラナーPCBs が 0.5 ~ 1,000 pg 程度の範囲に入る 5 段階程度の標準溶液を調製する。また、この液には、クリーンアップスパイク及びシリンジスパイクに用いたものと同じ内標準物質を、PCDDs、PCDFs が 10 ~ 20 pg 程度、コプラナーPCBs が 50 pg 程度となるように添加しておく（注10）。一例を表 4-5-3 に示す。

質量校正用標準物質

ペルフルオロケロセン等。

表4-5-2 ダイオキシン類の同定及び定量に使用する内標準物質の種類例

種類	PCDDs	PCDFs	コプラナーPCBs (IUPAC 番号)
① （クリーンアップスパイク用） ② 算出に係る異性体	$^{13}\text{C}_{12}$ -2,3,7,8-TeCDD $^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,7,8-PeCDD $^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,4,7,8-HxCDD $^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,6,7,8-HxCDD $^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,7,8,9-HxCDD $^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,4,6,7,8-HpCDD $^{13}\text{C}_{12}$ -OCDD	$^{13}\text{C}_{12}$ -2,3,7,8-TeCDF $^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,7,8-PeCDF $^{13}\text{C}_{12}$ -2,3,4,7,8-PeCDF $^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,4,7,8-HxCDF $^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,6,7,8-HxCDF $^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,7,8,9-HxCDF $^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,7,8,9-HxCDF $^{13}\text{C}_{12}$ -2,3,4,6,7,8-HxCDF $^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,4,6,7,8-HpCDF $^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,4,7,8,9-HpCDF $^{13}\text{C}_{12}$ -OCDF	(ノンオルト) $^{13}\text{C}_{12}$ -3,3',4,4'-TeCB (77) $^{13}\text{C}_{12}$ -3,4,4',5'-TeCB (81) $^{13}\text{C}_{12}$ -3,3',4,4',5'-PeCB (126) $^{13}\text{C}_{12}$ -3,3',4,4',5,5'-HxCB (169) (モノオルト) $^{13}\text{C}_{12}$ -2,3,3',4,4'-PeCB (105) $^{13}\text{C}_{12}$ -2,3,4,4',5'-PeCB (114) $^{13}\text{C}_{12}$ -2,3',4,4',5'-PeCB (118) $^{13}\text{C}_{12}$ -2',3,4,4',5'-PeCB (123) $^{13}\text{C}_{12}$ -2,3,3',4,4',5'-HxCB (156) $^{13}\text{C}_{12}$ -2,3,3',4,4',5'-HxCB (157) $^{13}\text{C}_{12}$ -2,3',4,4',5,5'-HxCB (167) $^{13}\text{C}_{12}$ -2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (189)
③ （シリンジスパイク用） その他の異性体	$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,4-TeCDD $^{37}\text{Cl}_4$ -2,3,7,8-TeCDD	$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,4-TeCDF $^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,4,6-PeCDF $^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,4,6,9-HxCDF $^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,4,6,8,9-HpCDF	$^{13}\text{C}_{12}$ -2,3',4',5'-TeCB (70) $^{13}\text{C}_{12}$ -2,3,3',5,5'-PeCB (111) $^{13}\text{C}_{12}$ -2,2',3,4,4',5'-HxCB (138)

表4-5-3 検量線作成用標準液における各異性体の濃度範囲の例 (GC-MS 注入絶対量として表記)

化合物	異性体	濃度範囲 (pg) (この範囲で 5段階 程度)	異性体	濃度 (pg)	
PCDDs	2,3,7,8-TeCDD	0.1 ~ 200	¹³ C ₁₂ -2,3,7,8-TeCDD	10	
	1,2,3,7,8-PeCDD	0.1 ~ 200	¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8-PeCDD	10	
	1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.2 ~ 400	¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8-HxCDD	10	
	1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.2 ~ 400	¹³ C ₁₂ -1,2,3,6,7,8-HxCDD	10	
	1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.2 ~ 400	¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8,9-HxCDD	10	
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.2 ~ 400	¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	10	
	OCDD	0.5 ~ 1,000*	¹³ C ₁₂ -OCDD	20*	
			¹³ C ₁₂ -1,2,3,4-TeCDD	10	
PCDFs	2,3,7,8-TeCDF	0.1 ~ 200	¹³ C ₁₂ -2,3,7,8-TeCDF	10	
	1,2,3,7,8-PeCDF	0.1 ~ 200	¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8-PeCDF	10	
	2,3,4,7,8-PeCDF	0.1 ~ 200	¹³ C ₁₂ -2,3,4,7,8-PeCDF	10	
	1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.2 ~ 400	¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8-HxCDF	10	
	1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.2 ~ 400	¹³ C ₁₂ -1,2,3,6,7,8-HxCDF	10	
	1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.2 ~ 400	¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8,9-HxCDF	10	
	2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.2 ~ 400	¹³ C ₁₂ -2,3,4,6,7,8-HxCDF	10	
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.2 ~ 400	¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	10	
	1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.2 ~ 400	¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	10	
	OCDF	0.5 ~ 1,000	¹³ C ₁₂ -OCDF	20	
			¹³ C ₁₂ -1,2,3,4-TeCDF	10	
			¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6-PeCDF	10	
		¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6,9-HxCDF	10		
		¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6,8,9-HpCDF	10		
コプラナ -PCBs	ノンオ ルト	3,3',4,4'-TeCB (77)	0.5 ~ 1,000	¹³ C ₁₂ -3,3',4,4' -TeCB (77)	50
		3,4,4',5-TeCB (81)	0.5 ~ 1,000	¹³ C ₁₂ -3,4,4',5-TeCB (81)	50
		3,3',4,4',5-PeCB (126)	0.5 ~ 1,000	¹³ C ₁₂ -3,3',4,4',5-PeCB (126)	50
		3,3',4,4',5,5'-HxCB (169)	0.5 ~ 1,000	¹³ C ₁₂ -3,3',4,4',5,5'-HxCB (169)	50
	モノオ ルト	2,3,3',4,4'-PeCB (105)	0.5 ~ 1,000	¹³ C ₁₂ -2,3,3',4,4'-PeCB (105)	50
		2,3,4,4',5-PeCB (114)	0.5 ~ 1,000	¹³ C ₁₂ -2,3,4,4',5-PeCB (114)	50
		2,3',4,4',5-PeCB (118)	0.5 ~ 1,000	¹³ C ₁₂ -2,3',4,4',5-PeCB (118)	50
		2',3,4,4',5-PeCB (123)	0.5 ~ 1,000	¹³ C ₁₂ -2',3,4,4',5-PeCB (123)	50
		2,3,3',4,4',5-HxCB (156)	0.5 ~ 1,000	¹³ C ₁₂ -2,3,3',4,4',5-HxCB (156)	50
		2,3,3',4,4',5'-HxCB (157)	0.5 ~ 1,000	¹³ C ₁₂ -2,3,3',4,4',5'-HxCB (157)	50
		2,3',4,4',5,5'-HxCB (167)	0.5 ~ 1,000	¹³ C ₁₂ -2,3',4,4',5,5'-HxCB (167)	50
		2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (189)	0.5 ~ 1,000	¹³ C ₁₂ -2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (189)	50
	その他			¹³ C ₁₂ -2,3',4',5-TeCB (70)	50
				¹³ C ₁₂ -2,3,3',5,5'-PeCB (111)	50
				¹³ C ₁₂ -2,2',3,4,4',5'-HxCB (138)	50

*野生生物には、OCDD 濃度が高いものが多いので、これを他の PCDDs より高くするのもよい。

4-6 器具及び装置

分析に用いる器具及び装置類はブランク試験を行い、ダイオキシン類の分析に影響を及ぼす妨害成分が含まれていないことを確認してから使用する。

(1) 前処理用器具

シリカゲルクロマトカラム

内径 10 mm、長さ 300 mm のカラムクロマト管に活性化したシリカゲル 3 g をヘキサンで湿式充てんし、その上に硫酸ナトリウムを約 10 mm 積層したもの(注11)。ヘキサンで充てん物を十分洗浄する。

硫酸シリカゲルクロマトカラム

内径 20 mm、長さ 300 mm のカラムクロマト管にシリカゲル 1 g 及び 44 %硫酸シリカゲル 5 g、22 %硫酸シリカゲル 8 g を順次充てんし、その上に硫酸ナトリウムを約 10 mm 積層したもの(注11)。ヘキサンで充てん物を十分洗浄する。

硝酸銀シリカゲルクロマトカラム

内径 10 mm、長さ 300 mm のカラムクロマト管にシリカゲル 1 g 及び 10 %硝酸銀シリカゲル 3 g を順次充てんし、その上に硫酸ナトリウムを約 10 mm 積層したもの(注11)。ヘキサンで充てん物を十分洗浄する。

多層シリカゲルクロマトカラム

図 4-6-1のように内径 20 mm、長さ 300 mm のカラムクロマト管にシリカゲル 0.9 g、2 %水酸化カリウムシリカゲル 3 g、シリカゲル 0.9 g、44 %硫酸シリカゲル 4.5 g、22 %硫酸シリカゲル 6 g、シリカゲル 0.9 g、10 %硝酸銀シリカゲル 3 g 及び硫酸ナトリウム 6 g を順次充てんして積層したもの(注11)。ヘキサンで充てん物を十分洗浄する。

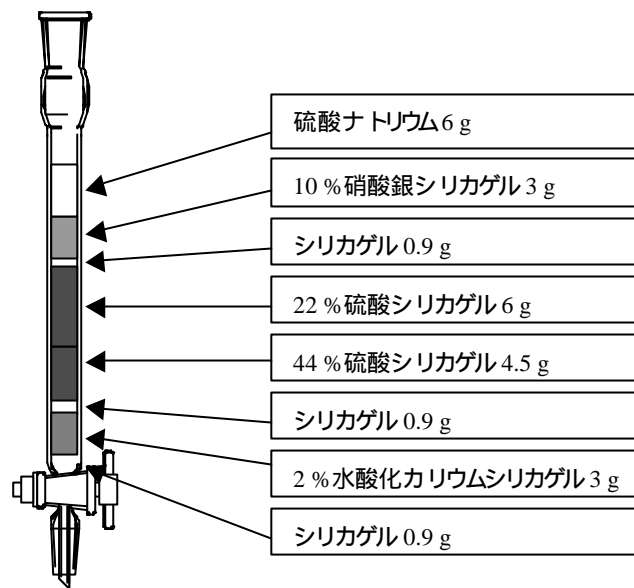


図4-6-1 多層シリカゲルクロマトカラムの作製例

アルミナクロマトカラム

内径 10 mm、長さ 300 mm のカラムクロマト管に活性化したアルミナ 10 g をヘキサンで湿式充てんし、その上に硫酸ナトリウムを約 10 mm 積層したもの（注11）。ヘキサンで充てん物を十分洗浄する。

活性炭（シリカゲル）クロマトカラム

内径 10 mm、長さ 300 mm のカラムクロマト管に、硫酸ナトリウム 10 mm、活性炭（シリカゲル）1 g、硫酸ナトリウム 10 mm を積層したもの（注11）。

濃縮器

クデルナ - ダニッシュ (KD) 濃縮器、ロータリーエバポレータ等。（注12）

(2) ガスクロマトグラフ質量分析計

高分解能ガスクロマトグラフ高分解能質量分析計で、四～五塩化物で 0.1 pg、六～七塩化物で 0.2 pg、八塩化物で 0.5 pg、コプラナーPCBs で 0.2 pg 以下までの測定感度を有するもの（4-8 (3) 1) 参照）。

1) ガスクロマトグラフ

試料導入部

試料液を再現性良く導入できるもの（スプリットレス、大量導入装置またはオンカラム方式）で、最高使用温度が 250～280 °C 程度であるもの。

カラム恒温槽

恒温槽の温度制御範囲が 50～350 °C であり、測定対象物質の最適分離条件の温度にできるような昇温プログラムの可能なもの。

キャピラリーカラム

内径 0.22～0.32 mm、長さ 25～60 m の溶融シリカ製のものであって、全ての異性体についてそれぞれ分離が良好で、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。様々な要因を考慮し、2 種以上の極性の異なるキャピラリーカラムの併用が望ましい（注13）。

キャリアーガス

高純度ヘリウム（純度 99.999 %以上）。

2) 質量分析計

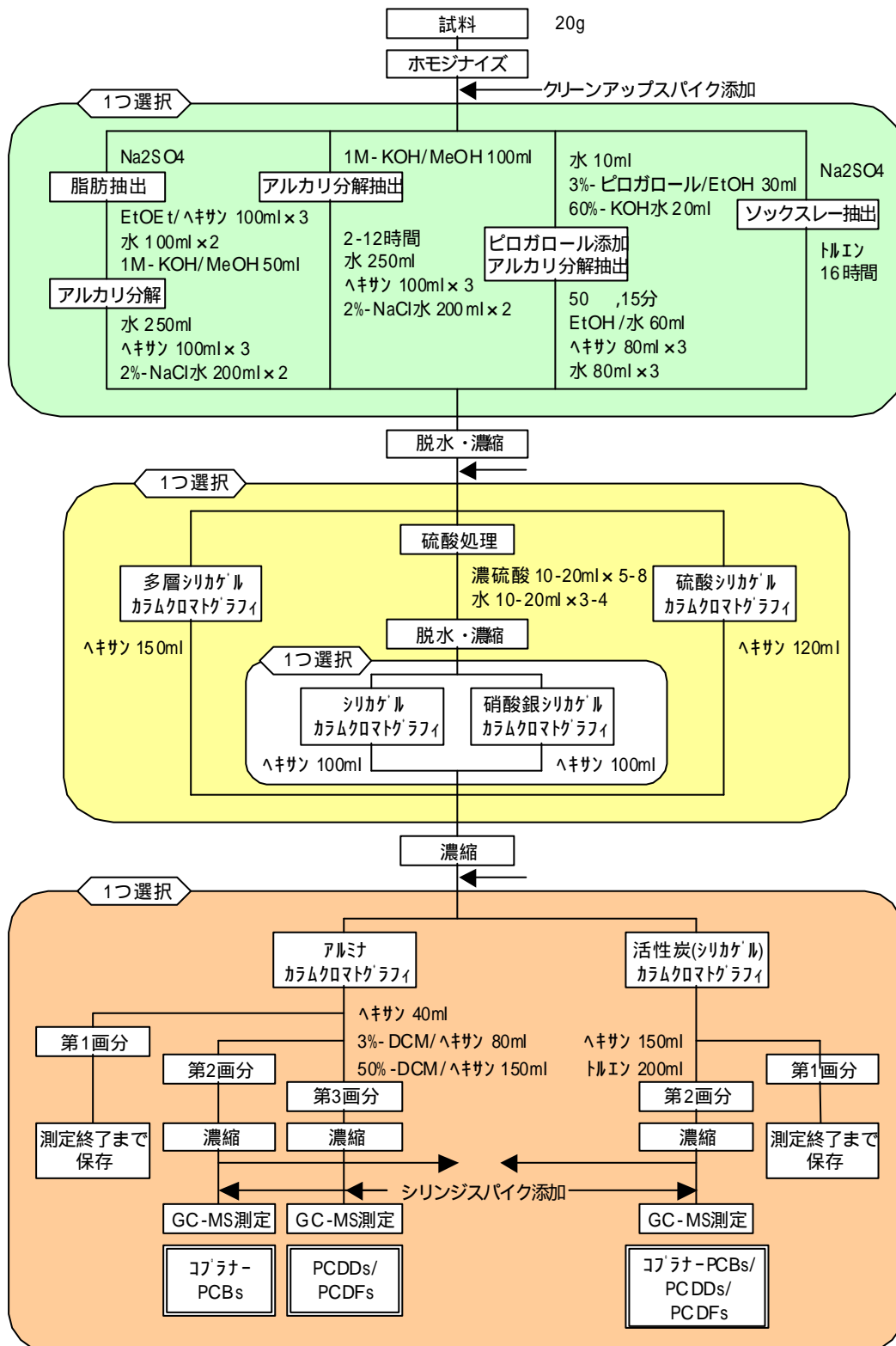
分解能（ m/m ）10,000 以上の高分解能で測定できるもの。

イオン源は、温度を 250～350 °C に保つことができ、電子衝撃イオン化法（以後 EI 法と略称）が可能で、イオン化電圧が 30～70 V 程度のもの。

検出法として選択イオン検出法（以後 SIM 法と略称）で定量できるもの。SIM 法における周期を最大 1 秒以下にでき、ロックマス方式が可能なもの。

4-7 試料の前処理

分析時には、実試料の試験と並行して操作ブランク試験を実施する。（注14）
試料の分析方法のフロー図を図 4-7-1 に示す。



必要があればグリーンアップを繰り返す

図4-7-1 試料の分析方法のフロー図

(1) 試料の均一化

試料はホモジナイザー等を用いて均一化した後(注15)、一定量を秤量する(注16)。

(2) 脂肪含量

脂肪含量の測定は、エーテル/ヘキサン抽出法またはクロロホルム/メタノール抽出法から選択する。

1) エーテル/ヘキサン抽出法

細碎均一化した試料 5 g を乳鉢に量り取り、約 10 倍量の硫酸ナトリウムを加え、よく粉砕，すり潰しながら脱水、粉末状にする。

これを円筒ろ紙に入れ、ソックスレー抽出管に装着する。

ジエチルエーテル/ヘキサン(3:1(v/v))混液 400 ml を入れたフラスコ上部にソックスレー抽出管を装着し、冷却管をつなぎ、80~90 °C のウォーターバス上で7時間以上の抽出を行う。

抽出液を予め恒量を求めた濃縮用の容器に移し、濃縮器で有機溶媒を留去する。

さらに 30 °C 以下で、乾燥器あるいはデシケータ中で乾燥し、恒量となった抽出物(粗脂肪)の重量を測定する。

元の試料の重量と抽出物の重量から脂肪含量(%)を求める。

2) クロロホルム/メタノール抽出法

細碎均一化した試料 5 g をビーカーに量り取り、これにクロロホルム 20 ml、メタノール 40 ml を加え、高速ホモジナイザー等で 2 分間攪拌する。さらにクロロホルム 20 ml を加え、2 分間攪拌する。

これを、プフナーロート等を用いてガラス繊維ろ紙等でろ過し、残さは再びクロロホルム/メタノール(1:1(v/v)) 80 ml を加えて攪拌後、ろ過する。

有機層を合わせて分液ロートに移し、純水 60 ml を加えて穏やかに振り混ぜる。

下層のクロロホルム層を回収して硫酸ナトリウム等で脱水し、予め恒量を求めた濃縮用の容器に移し、濃縮器で有機溶媒を留去する。

さらに 30 °C 以下で、乾燥器あるいはデシケータ中で乾燥し、恒量となった抽出物(粗脂肪)の重量を測定する。

元の試料の重量と抽出物の重量から脂肪含量(%)を求める。

(3) 内標準物質の添加（クリーンアップスパイク）

抽出操作前の試料に、内標準物質を添加する。内標準物質の添加量は、GC-MS 測定試料溶液中の濃度が検量線作成用標準溶液中の濃度と同程度になるようにする（注17）。

例を示せば、注入割合が 1/50 とすれば、PCDDs 及び PCDFs の各異性体がそれぞれ 500 ~ 1,000 pg 程度、コプラナーPCBs の各異性体がそれぞれ 2,500 pg 程度添加する。

(4) 抽出

抽出は試料の量、共存有機物の量などを考慮し、アルカリ分解抽出法、ピロガロール添加アルカリ分解抽出法、ソックスレー抽出法、脂肪抽出・アルカリ分解法等から選択する（注18）。なお、溶媒及び試薬の量は、試料量に応じ、適宜増減させる。（注19）

1) アルカリ分解抽出

細碎均一化した試料 20 g をトールピーカーに量り取り、これに 1 mol/l 水酸化カリウム/メタノール溶液 100 ml を加え、高速ホモジナイザー等で攪拌後、室温でマグネチックスターラー等で穏やかに 2 ~ 12 時間攪拌する。（注20）

このアルカリ分解液を分液ロートに移し、これに純水 250 ml とヘキサン 100 ml を加え、10 分間振とう抽出する。

静置後ヘキサン層を分取し、水層にヘキサン 100 ml を加え同様の操作を 2 回行う。（注21）

ヘキサン層を合わせ、2 %塩化ナトリウム水溶液 200 ml を加えて回転するように緩やかに揺り動かし、静置後水層を取り除き、同様の操作を繰り返す。（注21）

水層を除いた後、ヘキサン抽出液を硫酸ナトリウム等で脱水し、濃縮器を用いて、約 3 ml に濃縮する。

2) ピロガロール添加アルカリ分解抽出

細碎均一化した試料 20 g をネジ付き三角フラスコに量り取り、これに純水 10 ml を加え、よく混ぜて試料を分散させる。

30 g/l ピロガロール/エタノール溶液 30 ml を加え、直ちに 600 g/l 水酸化カリウム水溶液 20 ml を加え、直ちにふたを閉めてよく攪拌する。（注22）

50 °C の湯浴中で 15 分間振とう後（注23）、直ちに 5 分間水冷する。

このアルカリ分解液を分液ロートに移し、エタノール/水（1 : 1 (v/v)）混液 60 ml を数回に分けて三角フラスコを洗いこむ。

ヘキサン 80 ml を加え（注24）、10 分間振とう抽出する。
静置後ヘキサン層を分取し、水層にヘキサン 80 ml を加え同様の操作を 2 回行う。
ヘキサン抽出液を合わせ、純水 80 ml で数回、中性になるまで洗浄する。（注25）
水層を除いた後、ヘキサン抽出液を硫酸ナトリウム等で脱水し、濃縮器を用いて、
約 3 ml に濃縮する。

3) 脂肪抽出・アルカリ分解

a) 脂肪抽出

細碎均一化した試料 20 g を容器に取り、約 4～10 倍量の硫酸ナトリウムを加え、よく攪拌しながら脱水、粉末状にする。

これを分液ロートに入れ、ジエチルエーテル/ヘキサン（1：2（v/v））混液 100 ml を加え、10 分間振とう抽出する。

抽出液をガラス繊維ろ紙等でろ過し、別の分液ロートに移す。

、 の操作をさらに 2 回繰り返す。

合わせた抽出液に純水 100 ml を加え、緩やかに振とうする。この操作をもう 1 度繰り返す。

抽出液を硫酸ナトリウムで脱水した後、濃縮器で有機溶媒を留去し、脂肪を得る。

b) アルカリ分解

a)で抽出された脂肪をビーカーに取り、1 mol/l 水酸化カリウム/メタノール溶液 50 ml を加え、室温でマグネチックスターラー等で緩やかに 2 時間攪拌する。（注20）

このアルカリ分解液を分液ロートに移し、これに純水 100 ml とヘキサン 50 ml を加え、10 分間振とう抽出する。

静置後ヘキサン層を分取し、水層にヘキサン 50 ml を加え同様の操作を 2 回行う。

ヘキサン層を合わせ、2 %塩化ナトリウム水溶液 100 ml を加えて回転するように緩やかに揺り動かし、静置後水層を取り除き、同様の操作を繰り返す。

水層を除いた後、ヘキサン抽出液を硫酸ナトリウム等で脱水し、濃縮器を用いて、約 3 ml に濃縮する。

4) ソックスレー抽出（注26）

細碎均一化した試料 20 g を容器に取り、約 4～10 倍量の硫酸ナトリウムを加え、よく攪拌しながら脱水、粉末状にする。

これを円筒ろ紙（注27）に入れ、ソックスレー抽出管に装着する。

下部にトルエン（注28）を入れたフラスコ上部にソックスレー抽出管を装着し、冷

却管をつなぎ 16 時間以上の抽出を行う。

この抽出液を濃縮器を用いて 3 ml 程度に濃縮する。水分が残る場合には、硫酸ナトリウム等で脱水する。次に、硫酸処理のクリーンアップを行う場合は、有機溶媒を除去し、ヘキサン数 ml に溶解させる。

5) 高速溶媒抽出 (参考)

細碎均一化した試料 20 g を容器に取り、約 3 ~ 10 倍量の珪藻土を加え、よく攪拌しながら脱水、粉末状にする。(注29)

抽出容器に、少量の珪藻土、の試料の順で入れ、高速溶媒抽出装置にセットする。150 ~ 180 °C、1500 ~ 2000 psi の条件下で、トルエン(注28)で 2 ~ 3 回(15 分/回)、試料を抽出する。(注30)

この抽出液を濃縮器を用いて 3 ml 程度に濃縮する。水分が残る場合には、硫酸ナトリウム等で脱水する。次に、硫酸処理のクリーンアップを行う場合は、有機溶媒を除去し、ヘキサン数 ml に溶解させる。

(5) クリーンアップ (注31)

クリーンアップは硫酸処理、シリカゲルカラムクロマトグラフィ、多層シリカゲルカラムクロマトグラフィ、硫酸シリカゲルカラムクロマトグラフィ、硝酸銀シリカゲルカラムクロマトグラフィ、アルミナカラムクロマトグラフィ、活性炭(シリカゲル)カラムクロマトグラフィ等の中から選択して、組み合わせて行う。(注32)

代表的なクリーンアップの組合せ例としては、試料抽出液を硫酸処理した後、シリカゲルカラム若しくは硝酸銀シリカゲルカラム処理を行う、試料抽出液を直接多層シリカゲルカラム処理する、試料抽出液を直接硫酸シリカゲルカラム処理する方法がある。その後、アルミナカラムによってPCBs、コプラナーPCBs、PCDDs/PCDFs に分離する方法あるいは活性炭(シリカゲル)カラムによりPCDDs/PCDFs 及びコプラナーPCBs とその他の PCBs に分離する方法がある。ダイオキシン、フラン及びノンオルト PCBs 画分をさらにクリーンアップする必要がある時は、さらに活性炭(シリカゲル)カラムあるいはアルミナカラム処理等を行う。図 4-7-1参照。(注33)

1) 硫酸処理

抽出液を分液ロートにヘキサン 50 ~ 100 ml で洗い込みながら移し入れ、濃硫酸を 10 ~ 20 ml 加え、穏やかに振とうし、静置後、硫酸層を除去する。この操作を硫酸層の着色が薄くなるまで繰り返す(注34)。

ヘキサン層を純水 50 ml で 3~4 回洗浄し、ほぼ中性になったら、硫酸ナトリウムで脱水後、濃縮器で約 3 ml に濃縮し、次のカラムクロマトグラフィの試験液とする。

2) シリカゲルカラムクロマトグラフィ

シリカゲルカラムの充てん物をヘキサンで洗浄後、液面を硫酸ナトリウムの上面まで下げる。

試験液をパスツールピペット等でカラムに静かに注ぎ入れ、液面を硫酸ナトリウムの上面まで下げる。

ヘキサン約 3 ml で濃縮器を洗浄し、洗液はカラム内壁を洗いながら入れる。この洗浄操作をもう 2 回繰り返す。

ヘキサン 100 ml の入った滴下用分液ロートをクロマト管の上部に装着し、ヘキサンを約 2.5 ml/min (毎秒 1 滴程度) の速度 (注35) で流下させる。

溶出液を濃縮器で約 3 ml に濃縮する。

3) 硫酸シリカゲルカラムクロマトグラフィ (注36)

硫酸シリカゲルカラムの充てん物をヘキサンで洗浄後、液面を硫酸ナトリウムの上面まで下げる。

試験液をパスツールピペット等でカラムに静かに注ぎ入れ、液面を硫酸ナトリウムの上面まで下げる。

ヘキサン約 3 ml で濃縮器を洗浄し、洗液はカラム内壁を洗いながら入れる。この洗浄操作をもう 2 回繰り返す。

ヘキサン 120 ml の入った滴下用分液ロートをクロマト管の上部に装着し、ヘキサンを約 2.5 ml/min (毎秒 1 滴程度) の速度 (注35) で流下させる。

溶出液を濃縮器で約 3 ml に濃縮する。

4) 硝酸銀シリカゲルカラムクロマトグラフィ

硝酸銀シリカゲルカラムの充てん物をヘキサンで洗浄後、液面を硫酸ナトリウムの上面まで下げる。

試験液をパスツールピペット等でカラムに静かに注ぎ入れ、液面を硫酸ナトリウムの上面まで下げる。

ヘキサン約 3 ml で濃縮器を洗浄し、洗液はカラム内壁を洗いながら入れる。この洗浄操作をもう 2 回繰り返す。

ヘキサン 100 ml の入った滴下用分液ロートをクロマト管の上部に装着し、ヘキサン

を約 2.5 ml/min（毎秒 1 滴程度）の速度（注35）で流下させる。
溶出液を濃縮器で約 3 ml に濃縮する。

5) 多層シリカゲルカラムクロマトグラフィ（注36）

多層シリカゲルカラムの充てん物をヘキサンで洗浄後、液面を硫酸ナトリウムの上面まで下げる。

試験液をパスツールピペット等でカラムに静かに注ぎ入れ、液面を硫酸ナトリウムの上面まで下げる。

ヘキサン約 3 ml で濃縮器を洗浄し、洗液はカラム内壁を洗いながら入れる。この洗浄操作をもう 2 回繰り返す。

ヘキサン 150 ml の入った滴下用分液ロートをクロマト管の上部に装着し、ヘキサンを約 2.5 ml/min（毎秒 1 滴程度）の速度（注35）で流下させる。

溶出液を濃縮器で約 3 ml に濃縮する。

6) アルミナカラムクロマトグラフィ（注37）

アルミナカラムの充てん物をヘキサンで洗浄後、液面を硫酸ナトリウムの上面まで下げる。

試験液をパスツールピペット等でカラムに静かに注ぎ入れ、液面を硫酸ナトリウムの上面まで下げる。

ヘキサン約 3 ml で濃縮器を洗浄し、洗液はカラム内壁を洗いながら入れる。この洗浄操作をもう 2 回繰り返す。

ヘキサン 40 ml の入った滴下用分液ロートをクロマト管の上部に装着し、ヘキサンを約 2.5 ml/min（毎秒 1 滴程度）の速度（注35）で流下させ、コプラナーPCBs 以外の PCBs を溶出する（PCBs 画分）。（注38）

次いで 3 % (v/v) ジクロロメタン/ヘキサン 80 ml の入った滴下用分液ロートをクロマト管の上部に装着し、約 2.5 ml/min（毎秒 1 滴程度）の速度（注35）で流下させ、コプラナーPCBs を溶出する（コプラナーPCBs 画分）。（注39）

続いて 50 % (v/v) ジクロロメタン/ヘキサン 150 ml の入った滴下用分液ロートをクロマト管の上部に装着し、約 2.5 ml/min（毎秒 1 滴程度）の速度（注35）で流下させ、PCDDs 及び PCDFs を溶出する（PCDDs/PCDFs 画分）。（注40）

各溶出液を濃縮器で約 3 ml に濃縮する。

7) 活性炭（シリカゲル）カラムクロマトグラフィ

活性炭（シリカゲル）カラムの充てん物をヘキサンで洗浄後、液面を硫酸ナトリウムの上面まで下げる。（注41）

試験液をパスツールピペット等でカラムに静かに注ぎ入れ、液面を硫酸ナトリウムの上面まで下げる。（注42）

少量のヘキサンで濃縮器を洗浄し、カラムに入れる。この洗浄操作をもう1、2回繰り返した後、しばらく放置する。（注43）

ヘキサン 150 ml の入った滴下用分液ロートをクロマト管の上部に装着し、約 2.5 ml/min（毎秒1滴程度）の速度（注35）で流下させ、PCBs を溶出する（PCBs 画分）。（注44）

続いてトルエン 200 ml の入った滴下用分液ロートをクロマト管の上部に装着し、約 2.5 ml/min（毎秒1滴程度）の速度（注35）で流下させ、ダイオキシン、フランとノンオルト PCBs を溶出する（コプラナーPCBs 及び PCDDs/PCDFs 画分）。（注45）

各溶出液を濃縮器で約 3 ml に濃縮する。

(6) 試料溶液の調製と内標準物質の添加（シリンジスパイク）

クリーンアップ後、PCDDs/PCDFs 及びコプラナーPCBs が溶出する各画分を濃縮器で約 1 ml に濃縮する。

濃縮液を試験管等に移し、元の容器をヘキサン 1~2 ml で、3回洗浄し、洗液を濃縮用試験管に合わせた後、窒素気流下で極少量の溶媒が残る程度まで濃縮する。（注46）

シリンジスパイク用内標準物質を任意の量（注47）添加し、GC-MS 測定試料溶液とする。測定試料溶液量は、装置の検出下限、注入量、試料量を考慮し、決定する。（注48）

4-8 同定及び定量

ダイオキシン類の同定及び定量には、高分解能ガスクロマトグラフ - 高分解能質量分析

計（HRGC-HRMS）を用いる。質量校正用標準物質を測定用試料と同時にイオン源に導入し、選択イオンに近い質量のイオンをモニターして質量の微小な変動を補正するロックマス方式による選択イオン検出法（SIM 法）で検出し、保持時間及びイオン強度比を標準物質と比較し、分析対象化合物であることを確認した後、クロマトグラム上のピーク面積から内標準法（相対検量線法）によって定量を行う。

（1）測定操作

1) ガスクロマトグラフ - 質量分析計の測定条件の設定

ガスクロマトグラフ（GC）

各異性体のクロマトグラム上でのピーク形状が良好で、他の異性体のピークと良好に分離し、なおかつ安定した応答が得られるように、カラム恒温槽温度、注入口温度、キャリアーガス流量等を設定する。設定例を表 4-8-1 に示す。

表4-8-1 GC 条件の設定例

例 1	四～八塩素化 PCDDs 及び PCDFs (異性体別測定)
注入法	大量導入装置 OPTIC2 (ATUS) & At-Column (ジーエルサイエンス)
使用カラム	SP-2331 (スペルコ) 60 m, 0.25 mm, 0.20 μm (長さ, 内径, 膜厚)
使用ガス	He (高純度, 99.999 %以上)
注入口温度及び圧力	OPTIC2 によって制御
オープン温度	140 °C (1.5 分保持) 20 °C/分 200 °C (0 分保持) 3 °C/分 240 °C (0 分保持) 20 °C/分 270 °C (保持)
例 2	四～八塩素化 PCDDs 及び PCDFs (2,3,7,8 位塩素置換体測定) コプラナーPCBs
注入法	スプリットレス
使用カラム	CP-SIL8CB-MS (バリアン, クロモパック) 30 m, 0.25 mm, 0.25 μm (長さ, 内径, 膜厚)
使用ガス	He (高純度, 99.999 %以上)
注入口温度及び圧力	280 °C, 1.2 ml/分 (コンスタントフロー)
オープン温度	120 °C (1.5 分保持) 30 °C/分 200 °C (0 分保持) 5 °C/分 240 °C (0 分保持) 30 °C/分 290 °C (保持)
例 3	コプラナーPCBs
注入法	スプリットレス
使用カラム	HT-8 (SGE) 50 m, 0.22 mm, 0.25 μm (長さ, 内径, 膜厚)
使用ガス	He (高純度, 99.999 %以上)
注入口温度及び圧力	280 °C, 1.2 ml/分 (コンスタントフロー)
オープン温度	130 °C (1 分保持) 20 °C/分 220 °C (0 分保持) 5 °C/分 320 °C (保持)

質量分析計 (MS)

分解能は 10,000 以上に設定する。測定方式は、質量校正用標準物質を用いたロックマス方式で、選択イオン検出法 (SIM 法) とする。測定質量数は、同族体ごとに、対象物質については 2 つ以上、内標準物質については 1 つ以上の選択イオンとロックマス用の選択イオンを設定する (注 49)。PCDDs 及び PCDFs の設定質量数の例を表 4-8-2 に、コプラナーPCBs の設定質量数の例を表 4-8-3 に示す。

表4-8-2 PCDDs 及び PCDFs の設定質量数の例

	モニターイオン	M ⁺	(M+2) ⁺	(M+4) ⁺
PCDDs	TeCDDs	319.897	321.894	
	PeCDDs	353.858	355.855	357.852*
	HxCDDs		389.816	391.813*
	HpCDDs		423.777	425.774
	OCDD		457.738	459.735
PCDFs	TeCDFs	303.902	305.899	
	PeCDFs	337.863	339.860	341.857
	HxCDFs		373.821	375.818
	HpCDFs		407.782	409.779
	OCDF		441.743	443.740
¹³ C ₁₂ -PCDDs	TeCDDs	331.937	333.934	
	PeCDDs	365.898	367.895	369.892**
	HxCDDs	399.859	401.856	403.853**
	HpCDDs		435.817	437.814
	OCDD		469.778	471.775
¹³ C ₁₂ -PCDFs	TeCDFs	315.942	317.939	
	PeCDFs	349.903	351.900	353.897***
	HxCDFs		385.861	387.858***
	HpCDFs		419.822	421.819***
	OCDF		453.783	455.780***
質量校正用	四，五塩素化物用	330.979		
標準物質（PFK）	五，六塩素化物用	380.976		
	六，七塩素化物用	430.973		
	七，八塩素化物用	442.973		

*塩素置換数が1つ多いPCBsの影響を受ける可能性がある。

**塩素置換数が1つ多い¹³C₁₂-PCBsの影響を受ける可能性がある。

***同塩素置換数のPCDDsの影響を受ける可能性がある。

表4-8-3 コプラナーPCBs の設定質量数の例

	モニターイオン	M ⁺	(M+2) ⁺	(M+4) ⁺
PCBs	TeCBs	289.922	291.919*	
	PeCBs		325.880*	327.877*
	HxCBs		359.841*	361.839*
	HpCBs		393.802*	395.800*
¹³ C ₁₂ -PCBs	TeCBs	301.963	303.960**	
	PeCBs		337.921**	339.918**
	HxCBs		371.882**	373.879**
	HpCBs		405.843**	407.840**
質量校正用		330.979		
標準物質 (PFK)		380.976		

*塩素置換数が1つ少ないPCDDsの影響を受ける可能性がある。

**塩素置換数が1つ少ない¹³C₁₂-PCDDsの影響を受ける可能性がある。

2) GC-MS の調整

測定目的に応じて分析条件を設定し、試料の分析が可能なように調整する。この際、感度、直線性、安定性等のほか、分析の誤差となる干渉の有無の大きさ、その補正法等、十分信頼できる分析ができるかどうか確認しておく。

ガスクロマトグラフ (GC)

応答が安定していること、各同族体の保持時間が適切な範囲にあり、かつ、ピークが十分に分離されていること等を確認する。スプリットレスの時間、ページガス流量等を適切な値に調整する。

キャピラリーカラムの劣化により、測定対象物質と他の物質との分離が十分でない場合には、洗浄、交換等の対処をする(注50)。

質量分析計 (MS)

質量分析計の調整は、必要な条件を設定した後、質量校正用標準物質を導入し、質量校正プログラムによって行う。質量目盛、分解能等を測定目的に応じて所定の値に校正する。通常、一連の測定の最初に行い、校正結果は保存しておく。(注51)

3) SIM 測定操作

GC-MS を所定の条件に設定する。

質量校正標準物質を導入し、そのモニターチャンネルの応答が安定したら、試料の測定を行う。

測定したデータを記録する。

測定終了後、個々の試料ごとに質量校正用標準物質のモニターチャンネル、妨害成分の有無、測定対象物質のピークの分離と感度の確認を行う。(注52)

4) 相対検量線の作成 (RRFcs と RRFrs (注53) の算出)

初めてダイオキシンを測定する時、GC-MS に係る測定条件等に変更が生じた時には、必ず検量線を作成する。

検量線作成用標準液を 1 濃度に対して最低 3 回 GC-MS に注入し、SIM 測定を行い、全濃度領域で合計 15 点程度のデータを得る。

得られたクロマトグラムから、各測定対象物質の対応する二つ以上のモニターチャンネルのピーク面積比を求め、構成原子の同位体存在比から推定されるイオン強度比とほぼ一致することを確認する(表 4-8-4参照)。

表4-8-4 構成原子の同位体存在比から推定されるイオン強度比

	M*	M+2	M+4	M+6	M+8	M+10	M+12	M+14
TeCDDs	0.764	1.000	0.494	0.110	0.010			
PeCDDs	0.613	1.000	0.655	0.216	0.036	0.003		
HxCDDs	0.511	1.000	0.817	0.358	0.089	0.012	0.001	
HpCDDs	0.439	1.000	0.979	0.534	0.176	0.035	0.004	
OCDD	0.337	0.877	1.000	0.653	0.268	0.071	0.012	0.001
TeCDFs	0.775	1.000	0.492	0.109	0.010			
PeCDFs	0.613	1.000	0.654	0.215	0.036	0.002		
HxCDFs	0.516	1.000	0.816	0.356	0.088	0.012	0.001	
HpCDFs	0.439	1.000	0.978	0.533	0.175	0.035	0.004	
OCDF	0.337	0.877	1.000	0.652	0.267	0.070	0.012	0.001
TeCBs	0.767	1.000	0.491	0.108	0.009			
PeCBs	0.614	1.000	0.653	0.214	0.036	0.003		
HxCBs	0.512	1.000	0.815	0.355	0.087	0.012	0.001	
HpCBs	0.439	1.000	0.977	0.531	0.174	0.034	0.004	

*M は、最低質量数の同位体を示す。

各分析対象物質の対応するクリーンアップスパイクに対するピーク面積の比と、注入した標準溶液中の各測定対象物質とクリーンアップスパイクの濃度の比を用いて相対検量線を作成し、直線性があるとともに回帰式の切片がほぼ 0 であることを確認したうえで、相対感度係数 (RRFcs) を算出する。

RRFcs は、式 (1) によって各測定ごとに求めたものを平均する。この場合、データの変動係数が 10 % 以内でなければならない。

$$RRF_{cs} = \frac{Q_{cs}}{Q_s} \times \frac{A_s}{A_{cs}} \dots\dots\dots (1)$$

- RRF_{cs} : 測定対象物質のクリーンアップスパイクとの相対感度係数
- Q_{cs} : 標準液中のクリーンアップスパイクの量 (pg)
- Q_s : 標準液中の測定対象物質の量 (pg)
- A_s : 標準液中の測定対象物質のピーク面積
- A_{cs} : 標準液中のクリーンアップスパイクのピーク面積

同様に、 で得られたデータのうち RRF_{rs} 算出に係るものから、クリーンアップスパイクのシリンジスパイクに対する相対感度係数 (RRF_{rs}) を算出する。RRF_{rs} は、式 (2) によって各測定ごとに求めたものを平均する。この場合、データの変動係数が 10 %以内 (注54) でなければならない。(注55)

$$RRF_{rs} = \frac{Q_{rs}}{Q_{cs}} \times \frac{A_{cs}}{A_{rs}} \dots\dots\dots (2)$$

- RRF_{rs} : クリーンアップスパイクのシリンジスパイクとの相対感度係数
- Q_{rs} : 標準液中のシリンジスパイクの量 (pg)
- Q_{cs} : 標準液中のクリーンアップスパイクの量 (pg)
- A_{cs} : 標準液中のクリーンアップスパイクのピーク面積
- A_{rs} : 標準液中のシリンジスパイクのピーク面積

5) 試料の測定

検量線の確認

最低濃度を含む数段の検量線作成用標準液を 1 濃度に対して最低 1 回 GC-MS に注入し、SIM 測定を行い、RRF_{cs} 及び RRF_{rs} を求める。これらの相対感度係数が4-8 (1) 4) で求めた検量線作成時の相対感度係数に対して ±20 %以内であることを確認し (注56)、これを超えて変動がある場合には、その原因を取り除き、再測定を行う。

試料の測定

4-7 (6) で調整した測定用試料及び操作ブランクを SIM 測定し、各測定対象物質のクロマトグラムを記録する。

変動の確認

試料測定開始後、随時、低～中濃度の検量線作成用標準液を選び SIM 測定し、RRFcs を求める。これらの相対感度係数が4-8(1)4)で求めた検量線作成時の相対感度係数に対して $\pm 20\%$ 以内であることを確認し(注56) これを超えて変動がある場合には、その原因を取り除き、それ以前の一連の試料につき再測定を行う。

また、保持時間についてもその変動を調べ、保持時間が一日に $\pm 5\%$ 以上または内標準物質との相対保持比が $\pm 2\%$ 以上変動する場合には、その原因を取り除き、それ以前の一連の試料につき再測定を行う。

(2) 同定及び定量

1) ピークの検出

クロマトグラム上において、ベースラインのノイズ幅(N、高さ方向)に対して3倍以上の高さ(S)であるピーク、すなわちピーク高さでシグナルノイズ比(S/N)=3以上のピークについて、同定及び定量操作を行う。ここで、ノイズ幅及びピーク高さは、一般に次のようにして求める。

ノイズ幅は、対象ピーク近傍のノイズとみなせるベースライン部分の強度を、ピーク半値幅の10倍程度の範囲にわたって計測し、その標準偏差の2倍をノイズ幅とするか、ベースラインノイズの最大値(最も高い山部の頂点)と最小値(最も深い谷部の頂(谷)点)の差の2/5をノイズ幅とみなす。ピーク高さは、ノイズ幅の中央値をベースラインとした時の、ピーク頂点とベースラインの高さ方向の差として求める。(注57)

2) ピーク面積の算出

4-8(2)1)で検出されたピークについて、クロマトグラム処理ソフトウェア等により、そのピーク面積を算出する。

3) 回収率の確認

試料におけるクリーンアップスパイクのピーク面積とシリンジスパイクのピーク面積の比と対応する相対感度係数(RRFrs)を用いて式(3)によって回収率を計算する。

この回収率が40%以上120%以下の範囲から外れるときは、再度分析を行い再測定する。

$$R_c = \frac{A_{csi}}{A_{rsi}} \times \frac{Q_{rsi}}{RRF_{rs}} \times \frac{100}{Q_{csi}} \dots\dots\dots (3)$$

- R_c : 回収率 (%)
- A_{csi} : 試料中クリーンアップスパイクのピーク面積
- A_{rsi} : 試料中の対応するシリンジスパイクのピーク面積
- Q_{rsi} : 対応するシリンジスパイクの添加量 (pg)
- RRF_{rs} : 標準液における相対感度係数
- Q_{csi} : 対応するクリーンアップスパイクの添加量 (pg) (注58)

4) ダイオキシン類ピークの同定

得られたクロマトグラムから、各測定対象物質の対応する二つ以上のモニターチャンネルのピーク面積比を求め、構成原子の同位体存在比から推定されるイオン強度比(表 4-8-4) に対して ±15 % (シグナルノイズ比 (S/N) = 10 以下のピークについては ±25 %) 以内であるものであって、さらに内標準物質の GC 保持時間と一致するか、文献(注59)などから予想される使用カラムでの GC 保持時間と一致するものをダイオキシン類とみなす。(注 60)

5) ダイオキシン類の定量

各異性体の定量

抽出液全量中のダイオキシン類各異性体の量は、それに対応するクリーンアップスパイクの添加量を基準にした内標準法で式(4)によって計算する(注61)

$$Q_i = \frac{A_i}{A_{csi}} \times \frac{Q_{csi}}{RRF_{cs}} \dots\dots\dots (4)$$

- Q_i : 抽出液全量中の各異性体の量 (pg)
- A_i : 異性体のピーク面積
- A_{csi} : 対応するクリーンアップスパイクのピーク面積
- Q_{csi} : 対応するクリーンアップスパイクの添加量 (pg)
- RRF_{cs} : 標準液における相対感度係数

濃度の算出

得られた各異性体の量から、試料中の濃度を式(5)によって算出する。

$$C_i = (Q_i - Q_t) \times \frac{1}{W} \dots\dots\dots (5)$$

- C_i : 試料中の各異性体濃度 (pg/g)
- Q_i : 試料抽出液全量中の各異性体の量 (pg)
- Q_t : 操作ブランク抽出液全量中の各異性体の量 (pg)
- W : 試料量 (g)

(3) 検出下限及び定量下限

1) 装置の検出下限 (EDL) 及び定量下限 (EQL)

最低濃度の検量線作成用標準液を SIM 測定し、各測定対象物質を定量する。この操作を 5 回繰り返して、得られた測定値から式 (6) によって標準偏差を求め、その 3 倍を装置の検出下限、10 倍を装置の定量下限とする。

ここで得られた装置の検出下限が、PCDDs、PCDFs の四、五塩素化物で 0.1 pg、六、七塩素化物で 0.2 pg、八塩素化物で 0.5 pg、コプラナー-PCBs で 0.2 pg を超える場合には、装置の調整及び測定条件の変更などを行い、これらの値以下になるようにする。

この装置の検出下限及び定量下限は、時々確認し、常に十分な感度が得られるように管理する。また、使用する設定を変更した場合には、必ず確認する。

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \dots\dots\dots (6)$$

- s : 測定値の標準偏差 (pg)
- x_i : 各測定対象物質の測定値 (pg)
- \bar{x} : 測定値の平均 (pg)
- n : 測定回数

2) 分析方法の検出下限 (MDL) 及び定量下限 (MQL)

試料測定に用いるのと同量の抽出液に、式 (7) によって算出した量の標準物質と通常量

のクリーンアップスパイクを添加し、前処理、GC-MSでの測定、同定及び定量を行う。これを5回行い、得られた測定値の標準偏差を式(6)によって求め、その3倍を分析方法の検出下限、10倍を分析方法の定量下限とする。

この分析方法の検出下限及び定量下限は、時々確認し、常に十分な値が得られるように管理する。また、分析方法を変更した場合には、必ず確認する。

$$Q = EQL \times \frac{v}{v_i} \dots\dots\dots (7)$$

- Q : 標準物質の添加量 (pg)
- EQL : 装置の定量下限 (pg)
- v : 測定用試料の液量 (μl)
- v_i : GC-MS 注入量 (μl)

3) 試料における検出下限 (SDL) 及び定量下限 (SQL)

分析方法の検出下限及び定量下限をもとに式(8)及び(9)によって試料における検出下限及び定量下限を算出する(注58)

ここで得られる試料における検出下限及び定量下限が、目的を達成するのに充分かどうか検討し、それを上回るようであれば、試料量や分析方法の変更などを行い、それらの値以下になるようにする(注62)

$$SDL = MDL \times \frac{v}{v_i} \times \frac{1}{W} \dots\dots\dots (8)$$

$$SQL = MQL \times \frac{v}{v_i} \times \frac{1}{W} \dots\dots\dots (9)$$

- SDL : 試料における検出下限 (pg/g)
- SQL : 試料における定量下限 (pg/g)
- MDL : 分析方法の検出下限 (pg)
- MQL : 分析方法の定量下限 (pg)
- v : 測定用試料の液量 (μl)
- v_i : GC-MS 注入量 (μl)
- W : 試料量 (g)

4) 測定時における検出下限 (ADL) 及び定量下限 (AQL)

対象ピークあるいは対象ピーク出現予定保持時間の近傍のノイズ幅 (4-8 (2) 1) 参照) をもとに、その 3 倍の高さに相当するピークの面積を標準液のクロマトグラムから推定し、その面積を用いて式 (4) からその量を算出する。続いて式 (5) により試料中濃度に換算し、これを測定時における検出下限とする。同様にしてノイズ幅の 10 倍の高さに相当するピーク的面積から測定時における定量下限を算出する。

測定時における検出下限及び定量下限は、試料における検出下限及び定量下限以下であることが望ましい。大きく超える場合には、問題を取り除き、再測定あるいは再分析を行う。

4-9 結果の報告

(1) 結果の表示方法

特に指定がない場合は、以下による。

PCDDs 及び PCDFs については、最低限、2,3,7,8-位塩素置換異性体の 17 種類の濃度を記載する。追加項目として、同族体ごとの合計濃度、PCDDs 濃度の総和、PCDFs 濃度の総和を記載する。必要に応じて、その他の異性体濃度も記載する (注63)。

コプラナーPCBs については、最低限表 4-5-1に示した 12 種の異性体の濃度を記載する。追加項目として、コプラナーPCBs 濃度の総和を記載する。必要に応じてその他の異性体濃度も記載する。

各異性体の濃度は、試料における定量下限 (SQL) 以上の値は、そのまま記載し、試料における検出下限 (SDL) 以上で定量下限 (SQL) 未満の値は、定量下限以上の値と同等の精度が保証できない値であることが分かるような表示を加えて記載する。試料における検出下限 (SDL) を下回ったものは、不検出を示す表示を記載する。また、全ての異性体について試料における定量下限 (SQL) 及び検出下限 (SDL) の値を別途記載する。

様式の例を表 4-9-1及び表 4-9-2に示す。

表4-9-1 測定結果の記載例（最小限の項目）(WHO,2006TEF)

化合物名称	実測濃度 (pg/g-wet)	毒性等価係数 TEF (哺乳類)	毒性当量 (pg-TEQ/g-wet)	試料における 定量下限	試料における 検出下限
2,3,7,8-TeCDD		1			
1,2,3,7,8-PeCDD		1			
1,2,3,4,7,8-HxCDD		0.1			
1,2,3,6,7,8-HxCDD		0.1			
1,2,3,7,8,9-HxCDD		0.1			
1,2,3,4,6,7,8,-HpCDD		0.01			
OCDD		0.0003			
2,3,7,8-TeCDF		0.1			
1,2,3,7,8-PeCDF		0.03			
2,3,4,7,8-PeCDF		0.3			
1,2,3,4,7,8-HxCDF		0.1			
1,2,3,6,7,8-HxCDF		0.1			
1,2,3,7,8,9-HxCDF		0.1			
2,3,4,6,7,8-HxCDF		0.1			
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF		0.01			
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF		0.01			
OCDF		0.0003			
3,3',4,4'-TeCB (77)		0.0001			
3,4,4',5'-TeCB (81)		0.0003			
3,3',4,4',5'-PeCB (126)		0.1			
3,3',4,4',5,5'-HxCB (169)		0.03			
2,3,3',4,4'-PeCB (105)		0.00003			
2,3,4,4',5'-PeCB (114)		0.00003			
2,3',4,4',5'-PeCB (118)		0.00003			
2',3,4,4',5'-PeCB (123)		0.00003			
2,3,3',4,4',5-HxCB (156)		0.00003			
2,3,3',4,4',5'-HxCB (157)		0.00003			
2,3',4,4',5,5'-HxCB (167)		0.00003			
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (189)		0.00003			

合計

表4-9-2 測定結果の記載例（多項目）(WHO,2006TEF)

化合物名称	実測濃度 (pg/g-wet)	毒性等価係数 TEF (哺乳類)	毒性当量 (pg-TEQ/g-wet)	試料における 定量下限	試料におけ る検出下限
2,3,7,8-TeCDD		1			
1,2,3,7,8-PeCDD		1			
1,2,3,4,7,8-HxCDD		0.1			
1,2,3,6,7,8-HxCDD		0.1			
1,2,3,7,8,9-HxCDD		0.1			
1,2,3,4,6,7,8,-HpCDD		0.01			
OCDD		0.0003			
2,3,7,8-TeCDF		0.1			
1,2,3,7,8-PeCDF		0.03			
2,3,4,7,8-PeCDF		0.3			
1,2,3,4,7,8-HxCDF		0.1			
1,2,3,6,7,8-HxCDF		0.1			
1,2,3,7,8,9-HxCDF		0.1			
2,3,4,6,7,8-HxCDF		0.1			
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF		0.01			
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF		0.01			
OCDF		0.0003			
3,3',4,4'-TeCB (77)		0.0001			
3,4,4',5-TeCB (81)		0.0003			
3,3',4,4',5-PeCB (126)		0.1			
3,3',4,4',5,5'-HxCB (169)		0.03			
2,3,3',4,4'-PeCB (105)		0.00003			
2,3,4,4',5-PeCB (114)		0.00003			
2,3',4,4',5-PeCB (118)		0.00003			
2',3,4,4',5-PeCB (123)		0.00003			
2,3,3',4,4',5-HxCB (156)		0.00003			
2,3,3',4,4',5'-HxCB (157)		0.00003			
2,3',4,4',5,5'-HxCB (167)		0.00003			
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (189)		0.00003			
1,3,6,8-TeCDD					
1,3,7,9-TeCDD					
1,2,3,4-TeCDD					
1,2,3,6,8-PeCDD					
2,4,6,8-TeCDF					
1,2,7,8-TeCDF					
1,2,4,6,8-PeCDF					
1,2,4,6,8,9-HxCDF					
1,2,3,4,6,8,9-HpCDF					
TeCDDs					
PeCDDs					
HxCDDs					
HpCDDs					
TeCDFs					
PeCDFs					
HxCDFs					
HpCDFs					
PCDDs					
PCDFs					
コプラナー-PCBs					
合計					

(2) 濃度の単位

濃度は、湿重量当りおよび脂肪重量当り（注64）の pg/g で表示する。

(3) 毒性当量（TEQ）への換算

4-9(1)の各異性体濃度に、表 4-9-3に示す毒性等価係数（TEF）を乗じて pg-TEQ/g として表示する。この場合も、湿重量当りあるいは脂肪重量当りのどちらか、また何れの TEF を用いたかが分かるように明記する。

算出した各異性体の毒性当量を合計し、試料の毒性当量とする。

合計しようとする異性体の中に試料における定量下限（SQL）未満の値が含まれる場合には、試料における定量下限（SQL）未満のものは0（ゼロ）として合計する。

試料における検出下限（SDL）未満のものは SDL の値に TEF を乗じ、それ以外のものは TEF をそのまま乗じて合計する。試料における検出下限（SDL）未満のものは SDL の 1/2 に TEF を乗じ、それ以外のものは TEF をそのまま乗じて合計する。の何れかの方法で算出し、どちらの方法で毒性当量を算出したかを明記する。

表4-9-3 ダイオキシン類の毒性等価係数 (WHO,2006TEF,1998TEF,1998TEF)

		人, 哺乳類	鳥類	魚類
PCDDs	2,3,7,8-TeCDD	1	1	1
	1,2,3,7,8-PeCDD	1	1	1
	1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.1	0.05	0.5
	1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.1	0.01	0.01
	1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.1	0.1	0.01
	1,2,3,4,6,7,8,-HpCDD	0.01	<0.001	0.001
	OCDD	0.0003	0.0001	<0.0001
PCDFs	2,3,7,8-TeCDF	0.1	1	0.05
	1,2,3,7,8-PeCDF	0.03	0.	0.05
	2,3,4,7,8-PeCDF	0.3	1	0.5
	1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.1	0.1	0.1
	1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.1	0.1	0.1
	1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.1	0.1	0.1
	2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.1	0.1	0.1
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.01	0.01	0.01
	1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.01	0.01	0.01
	OCDF	0.0003	0.0001	<0.0001
コプラナー PCBs	3,3',4,4'-TeCB (77)	0.0001	0.05	0.0001
	3,4,4',5-TeCB (81)	0.0003	0.	0.0005
	3,3',4,4',5-PeCB (126)	0.1	0.1	0.005
	3,3',4,4',5,5'-HxCB (169)	0.03	0.00	0.00005
	2,3,3',4,4'-PeCB (105)	0.00003	0.0001	<0.000005
	2,3,4,4',5-PeCB (114)	0.00003	0.000	<0.000005
	2,3',4,4',5-PeCB (118)	0.00003	0.00001	<0.000005
	2',3,4,4',5-PeCB (123)	0.00003	0.0000	<0.000005
	2,3,3',4,4',5-HxCB (156)	0.00003	0.0001	<0.000005
	2,3,3',4,4',5'-HxCB (157)	0.00003	0.0001	<0.000005
	2,3',4,4',5,5'-HxCB (167)	0.00003	0.00001	<0.000005
	2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (189)	0.00003	<0.0000	<0.000005
	その他のダイオキシン類	0	0	0

(4) 数値の取り扱い

特に指定がない場合は、以下による。

試料の検出下限 (SDL) は JIS Z 8401 の規定によって数値を丸め、有効数字 1 桁で表示する。定量下限 (SQL) は JIS Z 8401 の規定によって数値を丸め、検出下限 (SDL) の桁まで表示する。

各異性体の実測濃度、同族体ごとの合計濃度及び各化合物の濃度の総和は、JIS Z 8401 の規定によって数値を丸め、有効数字 2 桁で表示する。ただし、各異性体の実測濃度は検出下限 (SDL) の桁までとし、それより下の桁は表示しない。また、合計の計算を行うものについては、合計される数値のうちの最大の有効桁までとし、それより下の桁は表示しない。

個々の毒性当量は JIS Z 8401 の規定によって、実測濃度と同じ有効数字で丸める。それぞれの合計値は JIS Z 8401 の規定によって数値を丸め、有効数字 2 桁で表示す

る。ただし、合計される数値のうちの最大の有効桁までとし、それより下の桁は表示しない。

“ < ” の表示のある TEF を持つ異性体は、毒性当量に “ < ” を付けて表示し、合計の計算にはそのままの値を用い、合計の値には “ < ” を付けて表示する。また、毒性等価係数を 0 とした場合の合計の値を括弧付きで表示する。

なお、計算過程のいずれの段階においても丸めの操作は行わず、表示のときのみ丸めの操作を行う。

4-10 測定データの品質管理

ダイオキシン類の分析にあたっては、超高感度分析が要求されるばかりでなく、多数の異性体を分離・定量するので、極めて高度な精度が要求されるため、精度の管理を十分に行う必要がある。測定依頼者の品質管理規定を遵守するよう注意されたい。
(図 4-10-1 参照。)

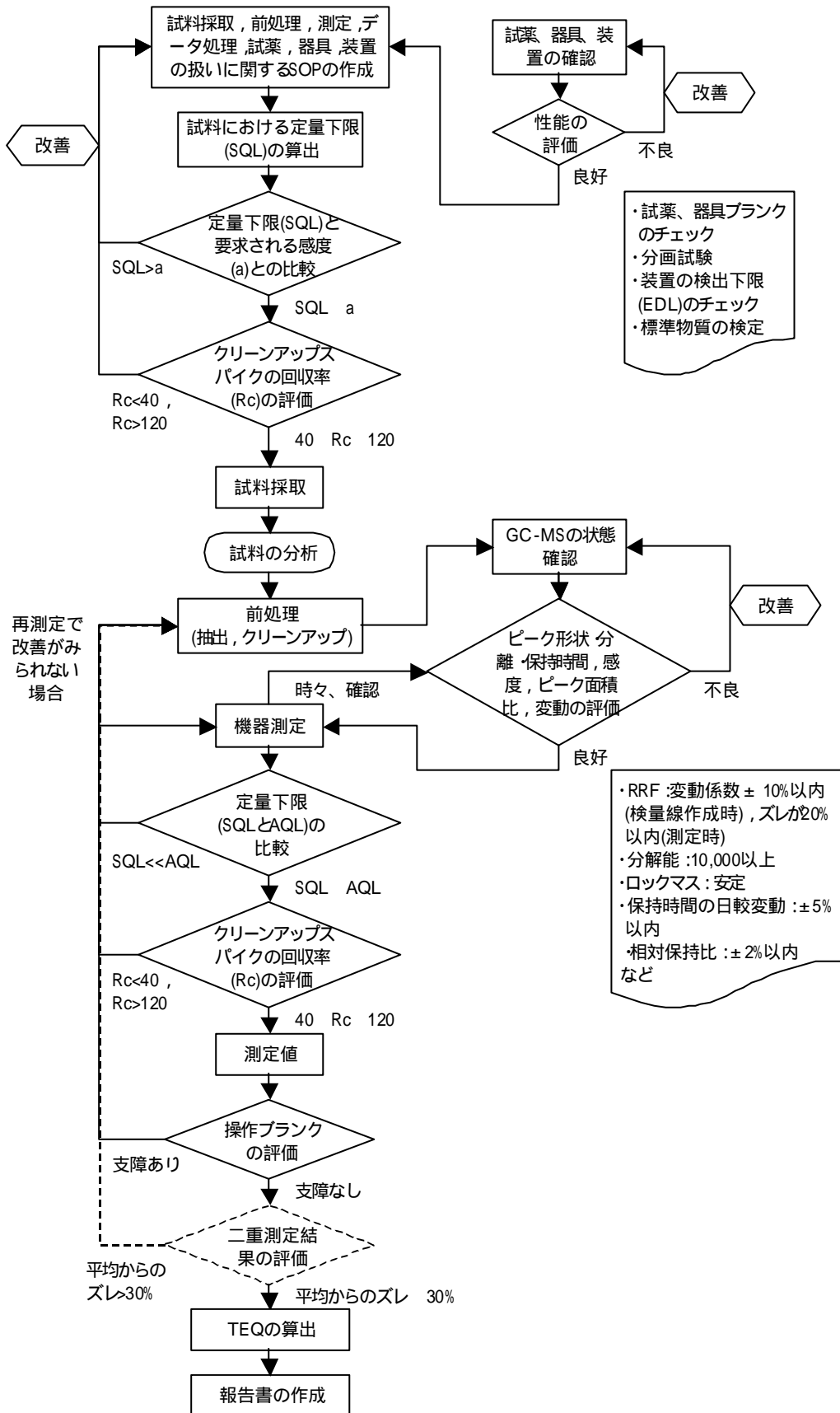


図4-10-1 精度管理の概要

測定データの品質管理は、標準作業手順（SOP； Standard Operation Procedure）の作成、分析方法の妥当性の評価及び分析時の信頼性の評価によって行われる。これらの作業は、実際の分析に先立って行う。

（1）標準作業手順（SOP）の作成

試験機関においては、次の項目等について作業手順を設定しておく。この作業手順は、具体的で分かりやすいこと及び関係者に周知徹底しておくことが必要である。

試料採取用器具等の準備、メンテナンス、保管及び取り扱い方法。

前処理用試薬類の準備、精製、保管及び取り扱い方法。

分析用試薬、標準物質等の準備、標準溶液の調製、保管及び取り扱い方法。

分析機器の分析条件の設定、調整、操作手順、維持管理の記録（注65）。

分析方法全行程の記録（使用するコンピュータのハード及びソフトを含む）。

異常値（基準を超えた値）が出た場合の対処方法及びその基準。

（2）分析方法の妥当性の評価

本マニュアルは、ダイオキシン類に対してすでに開発された実績のある測定方法のうち、検証試験によってその基本的性能が確認できた測定方法を提示したものである。しかし、新規に開発されたり、本マニュアルには採用されていないが一般に用いられており、本マニュアルに示した測定方法と同等の性能を有する方法は有効に活用されるべきである。

しかし、今後採用される方法としては、以下に示す事項について十分な検討がなされる必要がある。

1) 前処理（抽出）

- a) 様々な状況に応じて抽出効率が良く、安定した方法であるか。
- b) 添加した内標準物質（クリーンアップスパイク）の回収は十分か、また実際の試料中に存在する測定対象成分の抽出効率は十分か。

2) 前処理 (クリーンアップ)

- a) 試薬・器具のブランク値の確認。
- b) 各クロマトグラフィの分画条件の確認。
- c) 確実に効果的にクリーンアップできるか。
- d) 実試料で確認される可能性のある妨害成分の影響を分離・除去できるか。

3) GC-MS 分析

- a) 異性体分離能は良いか。異性体・同族体の重なりに対して対処できるか。
- b) GC-MS の校正、試料の濃度範囲と定量可能範囲 (検量線) の応答性の確認。
- c) 装置の検出感度とその変動 (ドリフト) の確認。
- d) 質量分析計の使用分解能が $m/z > 10,000$ であるか。
- e) ダイナミックレンジの確認。

4) 同定・定量

- a) 操作ブランク値の確認。
- b) 検出下限及び定量下限は、目的を果たすのに充分であるか。
- c) 同一試料についての再現性は良好か。

また、本マニュアルに示す分析精度の各管理目標を満たし、かつ、システム全体として 50% 以内の誤差で精度が確保される必要がある。更に複数の機関による検証試験の結果が公表され、ダイオキシン類に対する測定方法として広く認められることが望ましい。

(3) 分析時の信頼性の評価

1) 標準物質及び内標準物質

測定値は、採取試料と標準物質の測定結果を比較することによって得られるため、測定値の信頼性を確保するためには、可能な限りトレーサビリティの保障された標準物質を用いる必要がある。またこれらの標準物質は、溶媒の揮散等によって濃度変化がないようにガラス製の密閉容器に入れ、冷暗所にて厳重に保管し、保管・使用の記録をつける。

内標準物質は以下の操作を確認するために用いる。

前処理操作の結果を確認するために用いるクリーンアップスパイク。

GC-MS への試料液の注入を確認するために用いるシリンジスパイク。

したがって、クリーンアップスパイク、シリンジスパイクはそれぞれ別の安定同位体標識の異性体を用いる。また、クリーンアップスパイクとして全ての種類の分析対象物質に対してその安定同位体標識化合物を用いることが望ましい。

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・確認しておく。

2) 前処理時の信頼性の評価

試料の保管・運搬

試料保管に使用する器具等は洗浄し、器具等からの汚染を十分に低減する。試料の保管は周囲空気からの汚染や、周囲への漏洩を防ぐために密閉する。また、試料の保管・運搬時も遮光する。

試料調整

試料調整に必要な器具類、材料及び試薬等は、あらかじめ測定に妨害を及ぼすことがないことを確認するとともに、ブランク値を可能な限り低減するように配慮する。

試料調整に当たっては、常に同一の品質を維持するために、器具類、材料及び試薬等の管理方法について規格化しておき、その規格についての説明ができるようにしておく。

前処理操作の信頼性の確保

前処理終了後、試料溶液に着色がなく、不溶性成分が目視で確認できない状態まで十分にクリーンアップを行う。着色や残さが認められる場合には、キャピラリーカラムにおける成分の分離能の低下、装置のイオン源の汚染に伴う感度変動等による精度の低下、さらに質量校正用標準物質による正確なチューニングの妨害等の原因となる。

a) クリーンアップスパイク

クリーンアップスパイクは、予想される対象物質濃度と同程度になるように添加することが望ましい。しかし、通常、試料に含まれる量は未知であるので、報告のある類似の試料からその濃度を類推する。特に、添加量が対象物質に対して多すぎる場合には、クリーンアップスパイク自身が、測定の妨害になる恐れがあるので注意が必要である。また、本マニュアルでは、抽出を含めた全ての操作におけるダイオキシン類の損失をトレースするために、試料抽出前にクリーンアップスパイクを添加する。

b) アルカリ分解

ある条件下では、アルカリ分解処理によって、置換塩素数の多いダイオキシン類の脱

塩素反応が起きることが知られている。処理中、高温や強烈な光の照射は避けるべきである。また、エマルジョンの発生は、回収率の低下を招くおそれがあるので、極力予防しなければならない。

c) カラムクロマトグラフィ

カラムクロマトグラフィにおいて、分画条件は使用する充てん剤の種類や活性度、あるいは溶媒の種類及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。特にアルミナカラムクロマトグラフィについては、アルミナの吸着性能は製造ロットや開封後の保存状態及び保存期間によってかなり変化が認められる。活性の低下したものでは、3,4,4',5-TeCB (81)、1,3,6,8-TeCDD 及び 1,3,6,8-TeCDF 等が先に溶出する場合がある。また OCDD や OCDF は規定量の溶媒では溶出しきらない場合もあり、これらについても分画試験で確認する。

3) 測定の信頼性の評価

GC-MS の感度及び安定性の評価

GC-MS 測定時には以下の項目に注意し、問題があれば、それを取り除き、常に良好な状態で試料の測定を行わなければならない(注66)。各設定条件、測定試料情報、保守作業及び異常時対処内容を記録し保存しておく。

- a) 装置の検出下限 (EDL) が、PCDDs、PCDFs の四、五塩素化物で 0.1 pg、六、七塩素化物で 0.2 pg、八塩素化物で 0.5 pg、コプラナーPCBs で 0.2 pg 以下であるか。
- b) 全ての測定質量範囲で、分解能 10,000 以上が維持できているか。
- c) ロックマスが安定か (ゆらぎや落ち込みがないか)。
- d) 検量線に直線性があるか。予想される試料液濃度範囲に対して充分か。
- e) RRFcs 及び RRFrs の変動係数は、10%以下か (検量線作成時) (注54)。試料測定時の各 RRF の変化は、検量線作成時に対して $\pm 20\%$ 以内か。(注56)
- f) 測定対象物質のピーク形状は良好か。また、他の異性体との分離は充分か。
- g) 測定対象物質のピークの GC 保持時間の一日の間の変化量は $\pm 5\%$ 以内か。または内標準物質との相対保持比が $\pm 2\%$ 以内か。

操作ブランク値の測定

操作ブランク試験は、試料の調製及び測定操作に起因する汚染を確認し、試料の分析に支障のない測定環境を設定するために行うものである。

操作ブランク値が高いと試料における定量下限が上がるだけでなく、測定値の信頼性を低下させる。したがって、極力、操作ブランク値の低減をはかり、そのレベルを維持管理することが大切である。

二重測定

試料数の 10 % 程度の頻度で二重測定を行うことが望ましい。しかし、二重測定用の試料が得られない場合は、十分な検討をしておき、必要に応じデータを提示できるようにしてあれば省略してもよい。

前処理操作及び機器分析における総合的な信頼性を確保するために、十分に均一化した試料から同程度の量を秤量した 2 つ以上の試料について同様に分析し、2,3,7,8 位塩素置換 PCDDs 及び PCDFs (17 種) とコプラナー PCBs の定量下限以上の測定値について、その平均値を求め、個々の測定値が平均値の $\pm 30\%$ 以内であることを確認する。この判定基準値 (30 %) を超えた場合は、再測定、再分析の順で行う。その何れも判定基準を超えた場合は、原則として欠測扱いとする。

回収率の評価

クリーンアップスパイクの回収率を確認し、各クリーンアップスパイクの回収率が 40 ~ 120 % の範囲内でない場合には、再度、試料の抽出からやり直す必要がある。

その結果、回収率が規定の範囲に達しない場合は、分析方法に問題があるとみなし、原則として欠測扱いとする。その場合、原因を究明し、問題を取り除く必要がある。

4) 異常値、欠測値の取り扱い

分析機器の感度の変動が大きい場合、試料に二次汚染が認められる場合、二重測定の結果が大きく異なる場合等は、測定値の信頼性に問題があるため、再測定や再分析を行ったり、欠測扱いとして再度試料の採取を行うこと等を示した。このような問題が起こると、多大な労力、時間、コストがかかるだけでなく、異常値や欠測値が多くなると、調査結果全体の評価に影響するため、事前のチェックを十分に行う等、異常値や欠測値を出さないように注意する。また、異常値や欠測値が出た経緯を十分に検討し、記録に残して、以後の再発防止に役立てることが重要である。

5) 測定操作の記録

以下の情報を記録し、整理・保管しておく。

試料の保管、調整及び前処理に使用する装置や器具の調整及び操作。

試料容器の準備、取り扱い及び保管の状況。

分析装置の調整、校正及び操作。

測定値を得るまでの各種の数値。

6) 精度管理に関する報告

精度管理に関する以下の情報を記録し、データと共に報告する。

SOPに規定されていること。

- a) 日常的点検、調整の記録(装置の校正等)
- b) 標準物質等のメーカ及びトレーサビリティ、分析機器の測定条件の設定と結果。

検出下限及び定量下限の測定結果。

操作ブランク試験の結果。

前処理操作等の回収試験の検証結果。

分析機器の感度の変動。

測定操作記録(試料採取から前処理・分析に関する記録)

4-11 安全管理

(1) 管理区域

ダイオキシン類は非常に有害であるので、全てその取り扱いは下記に示す実験室を有する管理区域内で行い、吸引や直接皮膚への接触を避け、かつ前処理室や分析室の換気及び廃液や廃棄物の管理は十分に行う。

実験室

実験室は、前室、前処理室、測定室等のように役割毎に2~3のエリアに仕切っていることが望ましい。各エリアは、室内圧力を-20~-50 Pa程度の負圧に保ち、室内の空気が外部に漏れないようにすることが望ましい。

実験室への出入

実験室への出入は、関係者に限定し、実験室のドアに関係者以外立入禁止の表示を行う。

実験室の排気、排水

実験室の換気は、排気装置やドラフトチャンバー等により行い、排気された空気は活性炭フィルター等の処理装置により処理した後、排出する。実験室からの排水は、活性炭処理槽等を通して有害物質を除去した後、排出する。

(2) 安全作業基準

ダイオキシン類の分析だけでなく、分析に使用する薬品、溶媒等は吸引や飲み込みにより分析者の健康を損なうものがあるので、取り扱いは慎重に行う。

実験室での業務

実験室内では専用の実験衣を着用し、作業中は手袋や安全眼鏡等を用いる。

標準物質の取り扱い

全ての標準物質、標準溶液の目録を作成し、全ての標準物質、標準溶液は二重栓容器に入れ、冷蔵庫に保管する。

試料の取り扱い

分析用試料は密封して保管し、濃縮した抽出液は密閉できる容器に入れて冷蔵保管する。

廃棄物の処理・保管

有害化学物質測定に伴い発生する廃棄物は、安全の確認されているものを除いて管理区域外に持ち出さない。有害固形廃棄物（手袋、マスク、紙タオル、活性炭フィルター等）は、密封可能な容器に入れて保管し、有害液体廃棄物（廃溶剤や真空ポンプの廃オイル等）は専用の密封容器に入れて保管する。

作業記録

a)実験室立入者の記録、 b)分析従事者の作業時間等の作業日報への記録、 c)標準溶液について物質名、数量、濃度、入手先、供与先及び使用状況の記録、 d)廃棄物の保管状況や処理状況の記録、 e)その他必要と考えられる事項の記録を行う。

健康診断

有機溶媒等を使用するため労働安全衛生法に定められた特定化学物質に係る定期的健康診断の実施とダイオキシン類等の影響に対する、血清中のトリグリセライド、コレステロール等についての診断を実施する。

(注1) 生物種により、ダイオキシン類に対する蓄積性には大きな違いがあるため、対象とする生物種の選定には、注意が必要である。例えば、イカ、タコ、貝類、甲殻類、昆虫等の無脊椎動物は、一般にダイオキシン類を代謝せず、環境中の異性体濃度を比較的直接反映する。一方、哺乳類、鳥類をはじめとする脊椎動物の多くは、ダイオキシン類を代謝排泄する能力を有しているものの、異性体によりその程度が異なるため、環境中の異性体濃度をそのまま反映するとはいえない。通常、それらの高

等生物からは2,3,7,8-位塩素置換PCDDsやPCDFsとコプラナーPCBsが多く検出され、その他のダイオキシン類が検出されることは稀である。さらに、それらから検出されるコプラナーPCBsの濃度は、PCDDs、PCDFsよりも1~3桁高いことが普通である。

(注2) シリカゲルカラムクロマトグラフィ用として、ワコーゲル-S1(和光純薬)、シリカゲル60(メルク)等がある。硫酸シリカゲル、硝酸銀シリカゲル等の担体用としては、ワコーゲルDX(和光純薬)、シリカゲル60(メルク)等が適している。

(注3) 各社から調整済みの化学被膜シリカゲルが販売されている。

(注4) アルミナカラムクロマトグラフィ用として、中性アルミナ(和光純薬)、酸化アルミニウム90塩基性活性度I(メルク)、アルミナB-Super I(ICN)等がある。

(注5) 活性炭(シリカゲル)カラムクロマトグラフィ用として、活性炭埋蔵シリカゲル(和光純薬)、活性炭分散シリカゲル(関東化学)、Carboxen 1000、1016(スペルコ)等がある。

(注6) ケンブリッジ・アイソトープ・ラボラトリ(CIL)やウェリントンより入手可能である。

(注7) 各種の希釈済み混合溶液が、ケンブリッジ・アイソトープ・ラボラトリ(CIL)やウェリントンより販売されている。

分析者が自分で希釈する場合は、誤差の少ない定容器具を使い、希釈回数を3回以下にすることが望ましい。作業中、被爆や汚染事故を起こさないよう十分に配慮する。希釈に使用する溶媒は、トルエン、ノナン、デカン、イソオクタンなどが一般的である。

(注8) クリーンアップスパイク、シリンジスパイクはそれぞれ別の安定同位体標識の異性体を用いる。クリーンアップ用の内標準物質として、全ての化合物に対してその安定同位体標識化合物を用いることが望ましい。一方、コプラナーPCBsについては分析対象全てに対応する安定同位体標識化合物を使用することが望ましい。シリンジスパイクには、クリーンアップスパイクで使用した以外の内標準物質を用いる。

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・確認しておく必要がある。

(注9) PCDDs及びPCDDs測定用とコプラナーPCB測定用は別に調整することが望ましい。一般に高等野生生物から検出されるダイオキシン類の中ではコプラナーPCBsがPCDDs、PCDFsよりも1~3桁程度高濃度であることから、検量線作成用標準液の濃度段階は、コプラナーPCBsの方をPCDDs、PCDFsより高く設定した方がよい。

(注10) シリンジスパイクは、全ての濃度段階の検量線作成用標準液に入れる必要はない。

-
- (注11)カラムクロマトグラフィにおいて使用する充てん剤や溶媒の種類及び量は標準物質の分画試験を行って決めなければならない。また、試料量や妨害成分の量に応じて、カラムサイズや試薬の充てん量を調節する必要がある。活性を保つために、各クロマトカラムは、処理の直前に作成することが望ましい。
- (注12)この他の多検体同時濃縮器として、ターボバップシリーズ（ツァイマーク（Zymark））やシンコア（Syncore）シリーズ（ビュッヒ）等がある。
- (注13)PCDDs、PCDFsについては内面にシアノプロピル系の強極性の液相を被覆したものの。コプラナーPCBsでは、メチル（フェニル）シロキサン系無極性カラムや微極性カラムが一般的で、最近ではカルボラン-シロキサンをベースにしたカラムも用いられる。
- シアノプロピル系カラムとして、SP-2331（スペルコ）、CP-SIL 88（クロモパック、バリアン）等がある。メチル・フェニルシロキサン系カラムとして、DB-5、DB-5ms、DB-17（J&W）、PTE-5（スペルコ）、BPX-5、BPX-50（SGE）等がある。また、カルボラン-シロキサン系カラムとして、HT-8（SGE）等がある。
- (注14)操作ブランク試験は、試験液の調整または分析機器への導入操作等に起因する汚染を確認し、試料の分析に支障のない環境を設定し、分析値の信頼性を確保するために行うものであり、試料の分析と同時に行う。
- 操作ブランクの確認は、検出下限を超える場合には、器具の再洗浄や機器の調整を行い、操作ブランク値の低減に努める。
- (注15)清浄なハサミ、ナイフ、フードカッター等である程度細かくした後、ポリトロン、ヒスコトロン、ウルトラタックス等で均一化するとよい。
- (注16)測定装置の検出下限及び注入割合等により、試料量を調整する必要がある。例えば、本マニュアルにおいて要求している装置の検出下限は、四、五塩素化PCDDs、PCDFsで0.1 pgであるが、注入割合を1/50、回収率を100%とすると、1gの試料量では、5 pg/gの検出下限（SDL）、20gでは0.25 pg/gの検出下限（SDL）になる。
- (注17)クリーンアップスパイクは、予想される対象物質濃度と同程度になるように添加することが望ましい。しかし、通常、試料に含まれる量は未知であるので、報告のある類似の試料からその濃度を類推する。特に、添加量が対象物質に対して多すぎると場合には、クリーンアップスパイク自身が、測定の妨害になる恐れがあるので注意が必要である。また、本マニュアルでは、抽出を含めた全ての操作におけるダイオキシン類の損失をトレースするために、試料抽出前にクリーンアップスパイクを添加する。
- (注18)アルカリ分解抽出法は従来多用されてきた方法である。しかしながら、アルカリ・アルコール分解によって、高塩素化合物で脱塩素反応が起こることが知られているので、高塩素化合物の回収率が低い場合や、穏やかな条件ではアルカリ分解が不十分でエマルジョンが生成したり、精製に多大な労力を要するような試料では、ピロ

-
- ガロール添加アルカリ分解抽出法を用いるとよい。また、農薬等でアルカリ分解を行えない他の化合物も同時に測定する必要がある場合は、脂肪抽出・アルカリ分解法やソックスレー抽出法を採用するとよい。その他の抽出法として、高速溶媒抽出装置（ダイオネクス ASE シリーズ、アプライドセパレーション PSE シリーズ）、自動ソックスレー（ピュッヒ B-811、B-815、ゲルハルト Soxtherm シリーズ）等の機器を用いた手法も利用可能である。使用溶媒の削減、所要時間の短縮、省力化の観点から、機器による分析の自動化も検討されるべきである。
- (注19) 本マニュアルでは、試料量を 20 g として、試薬量及び条件を設定してある。試料量に合わせてそれらを変える必要がある。
- (注20) アルカリ・アルコール分解によって、高塩素置換化合物で脱塩素反応が起こることが知られているので、アルカリ分解の時間や温度等の条件に注意する。
- (注21) エマルジョンが生成しないように注意する。エマルジョンが生成した場合には、塩濃度を上げる、加温する、遠心分離する等して対処する。メタノールの添加はエマルジョンの除去に有効であるが、脱水操作時には、水層にメタノールが残留しないようにする必要がある。
- (注22) ピロガロールは酸素と反応するので、密栓後はアルカリ分解液を分液ロートに移すまでふたを開けてはいけない。
- (注23) 細切が十分であれば、10 分経過時には固体はほとんど存在しない。脂肪の多い試料では、脂肪が分離することがあるので、時々激しく攪拌して、分解液と十分に混合する必要がある。
- (注24) 三角フラスコに着色が残る場合は、少量の純水で着色がなくなるまで洗い込む。その後、80 ml のヘキサンのうちの少量で数回洗い込む。
- (注25) ピロガロールはダイオキシン類の分解を遅延させることはできても、分解を完全に抑制できるわけではないので、水洗の操作までは手順どおり速やかに行う。たんばく質の多い試料で、エマルジョンが発生する場合は 2 % 塩化ナトリウム水溶液を用いて水洗する。水洗の 1、2 回目は振とうしないように、回転するように穏やかに揺り動かすようにして行い、3 回目以降は軽く混ぜて行う。
- (注26) 自動ソックスレー（ピュッヒ B-811、B-815、ゲルハルト Soxtherm シリーズ）等の機器を用いた手法も利用可能である。
- (注27) ガラス繊維あるいは石英繊維製のものを使用し、使用に先立ち、アセトン及びトルエンで洗浄するか、電気炉で数時間加熱しておく。
- (注28) 他の溶媒の使用に関して、検討の余地がある。
- (注29) 1 本の抽出容器（セル）に入りきらない場合は、数本に分け、全量が抽出セルに入るように調製する。珪藻土（ハイドロマトリクス）の量は、試料の水分量に応じて調製する。
- (注30) 溶媒量や各条件は、装置の仕様によって異なる。

-
- (注31) ここで示す各処理における試薬及び溶媒の量は、一つの目安であり、各条件は使用者が最適に設定することが望ましい。特に、カラムクロマトグラフィの分画条件は、吸着剤の製品差、ロット差、環境条件によって変化するので、適宜確認しておくことが望ましい。
- (注32) 試料液中の有機物（夾雑物）量が少ない場合には、カラムクロマトグラフィに市販のカートリッジカラムも利用可能である。各社から様々なものが入手できる。ただし、この場合、カラム基材等からの溶出成分が、GC-MS 測定時に、妨害ピークとして現れたり、ベースラインの上昇をもたらすことがあるので、事前にそれらの問題を解消しておかなくてはならない。
- (注33) 多層カラムと活性炭（シリカゲル）カラム、あるいは硫酸カラムと活性炭（シリカゲル）カラムを連結して行う方法もある。この場合、上に多層カラムか硫酸カラム、下に活性炭（シリカゲル）カラムという構成になる。ヘキサンを規定量流下した後、上側のカラムを取り除き、活性炭（シリカゲル）カラムにトルエン等を流下し、コプラナーPCBs 及び PCDDs/PCDFs を回収する。
- (注34) 1、2 回目の硫酸処理時には、エマルジョンが生成するので、振とうしてはならない。有機物濃度が低くなってから振とうする。エマルジョンが生成した場合は、遠心分離を行うか、長時間（一晚程度）放置する。
- (注35) チャネリング、ひび割れ等の問題がなく、分画が正常に行われるのであれば、この速度である必要はない。カラム上端側から加圧する、あるいは下側から吸引し、流下速度を速め、溶出時間を短縮する方法もある。
- (注36) 硫酸シリカゲルカラムあるいは多層シリカゲルカラム処理では、有機物含量が多い場合、反応物によってカラムが詰まる恐れがあるので、カラム内径を大きくする、硫酸濃度を下げ充てん量を増やす等の対応が必要となる。
- (注37) アルミナの吸着性能は製造ロットや開封後の保存状態及び保存期間によってかなり変化が認められる。
- (注38) この画分にモノオルト PCBs が溶出してくることがあるので、測定が完了するまでこの画分を保存しておくことが望ましい。
- (注39) GC キャピラリーカラムでコプラナーPCBs 異性体とその他の PCBs 異性体の分離が可能であれば、先の PCBs 画分と合わせて測定してもよい。
- (注40) 活性の低下したものでは、1,3,6,8-TeCDD 及び 1,3,6,8- TeCDF 等が先のコプラナーPCBs 画分に溶出する場合がある。また OCDD や OCDF は規定量の溶媒では溶出しきらない場合もあり、これらについても分画試験で確認する。
- (注41) 乾式充てんの場合は、ヘキサンで洗浄する必要はない。
- (注42) 活性炭（シリカゲル）カラムクロマトグラフィ処理の前に、試験液量を 0.5～1 ml 程度まで濃縮しておく。試験液をカラムに入れる際には、カラム内壁に液がつかないようにする。

-
- (注43) 試験液を活性炭(シリカゲル)に充分保持させるためには、洗い込みに使用するヘキサンの量は極力少なくする必要がある。放置時間は、活性炭埋蔵シリカゲル(和光純薬)で数分程度、活性炭分散シリカゲル(関東化学)で15分程度。Carboxenシリーズ(カートリッジカラム、スペルコ)では、特に放置の必要はない。
- (注44) この画分にモノオルト PCBs が溶出してくることがあるので、測定が完了するまでこの画分を保存しておくことが望ましい。
- (注45) トルエン流下前にカラムを上下倒置し、逆方向よりトルエンを流下させたり、40~50℃に加熱したトルエンを流下させることによって、PCDDs、PCDFsの溶出を促進する方法がある。ただし、後者の場合、作業者がトルエン蒸気を吸い込む恐れがあるので、ドラフト中で行うなどの対応が必要である。
- (注46) ダイオキシン類が揮発する可能性があるので、窒素の流量や温度には気をつける。
- (注47) クリーンアップスパイク用内標準物質と同じ量に合わせれば、計算が容易である。
(注17参照)
- (注48) 大量試料導入法では、10 µl以上のGC-MS注入が可能であるので、その比率に合わせ測定試料用液を希釈することが可能である。例えば、測定試料用液20 µlのうちスプリットレス注入法等により1 µl注入しているものは、大量試料導入法で50 µl注入するならば、測定試料用液量1 mlで同等の注入絶対量となる。(測定試料用液量を減らし、注入量を増やせば、注入絶対量は増える。ただし、その場合、注入される不純物の量も比例するので、カラムの劣化やイオン源の汚れを招きやすくなる。)
- (注49) 複数の質量数をモニターした場合、原則として、強度比が高い方の一つのモニターイオンを定量に用い、他方を確認用とする。定量に用いるモニターイオンは、検量線作成用標準液と試料で常に同じものでなければならない。
キャピラリーカラムによって得られるピークの幅は、5~10秒程度であるが、ピークを構成するデータポイントを確保するためには、SIM法における周期は、最大でも1秒以下にしなければならない。1回の分析で設定可能なモニターチャンネルの数は、要求される感度との兼ね合いとなるので、十分に検討した上で設定する必要がある。
また、クロマトグラム上の各ピークの保持時間を考慮して、時間分割によるグルーピング方式によって分析しても良いが、この場合には各グループごとに、適切な内標準物質ピークが出現するように、条件の設定を行う必要がある。
- (注50) キャピラリーカラムの両端または片端(注入口側)300 mm程度切断することにより、分析対象物質と他物質との分離が回復することもある。
- (注51) 二重収束型質量分析計の場合、モニターイオンの質量範囲によっては、イオン加速電圧の変化が大きくなり、装置分解能が変化する場合があるため、測定質量範囲内全体での分解能を確認する必要がある。

-
- (注52) 質量校正用標準物質のモニターチャンネル(ロックマスチャンネル)のクロマトグラムが波打つ等の変動があった場合で、特に測定対象物質の出現位置においてこの現象が認められた場合に、正確にピークを捕らえていない可能性があるため、その成分については定量してはならない。主な原因として、試料の前処理が不十分であることが考えられる。
- (注53) syringe spike の略称から本来 RRF_{ss} とすべきであるが、他マニュアルにある sampling spike に係る RRF_{ss} との混同を避ける為に RRF_{rs} とした。
- (注54) クリーンアップスパイクとシリンジスパイクのモニターチャンネルが、同一測定グループ内にある場合は、変動係数 10 %以内に収まるべきであるが、それらが異なる測定グループにある場合は、変動係数 15 %以内とする。
- (注55) 検量線作成用標準液調整の都合上、1点検量線としても構わない。ただし、クリーンアップスパイクとシリンジスパイクの添加量は、等量にしなければならない。
- (注56) クリーンアップスパイクとシリンジスパイクのモニターチャンネルが、異なる測定グループにある場合の RRF_{rs} は、±30 %以内とする。
- (注57) クロマトグラムのベースラインを正しく計測するためには、ノイズの山と谷が定量に係る範囲全域で読み取れるように、オフセットをあらかじめ調整しておく必要がある。また、スムージングやオフセット等を調整することによって、故意にノイズ幅を小さくしてはならない。
- (注58) 試料を抽出後いったん定容し、分取して測定を行った場合はその補正をする。
- (注59) Ryan ら(*J. Chromatography*, **541**, 131-183, 1991) が、DB-1、DB-5、DB-17、DB-210、DB-225、CPS-1、SP-2331、CP-Sil 88、Smetic における四～六塩素化 PCDDs 及び PCDFs の GC 保持時間を報告している。また、PCBs については、DB-5(高菅ら、*環境化学*, **5**, 647-675, 1995)、DB-5ms、SP-2331、Ultra-2(中野ら、第10回環境化学討論会要旨、572-573, 2001)、HT-8(Matsumura ら、*Organohalogen compounds*, **31**, 14-19, 1997) が報告されている。
- (注60) ダイオキシン類異性体を全て含む試料(フライアッシュ、都市域沿岸表層底質など)の抽出液をクリーンアップしたものを、ダイオキシン類同定用試料液として用意しておき、カラムの種類や GC 条件等を変えた場合などには、これを測定し、文献値と比較するなどして各異性体の保持時間を確認しておく。
- (注61) 対応するクリーンアップスパイクが無い異性体については、各同族体ごとにクリーンアップスパイクのピーク面積及び相対感度の平均値を用いる。
- (注62) 目的によって、要求される試料における検出下限(SDL)及び定量下限(SQL)は異なる。分析方法の検出下限が 0.1 pg の場合、試料量 20 g、測定用試料液の量 20 µl、GC-MS 注入量 1 µl の時、理想的には 0.1 pg/g の SDL (SQL は約 0.33 pg/g) となる。
- (注63) 無脊椎動物からは、2,3,7,8-位塩素置換以外の異性体も検出可能であることから、

汚染源推定のために、1,3,6,8-TeCDD、1,3,7,9-TeCDD、1,2,3,4-TeCDD、1,2,3,6,8-PeCDD、2,4,6,8-TeCDF、1,2,7,8-TeCDF、1,2,4,6,8-PeCDF、1,2,4,6,8,9-HxCDF、1,2,3,4,6,8,9-HpCDFを追加することは有効である。

(注64) 脂肪含量は4-7(2)に示す方法で測定する。

(注65) GC-MSの性能を維持するには、日常的なメンテナンスを欠かしてはならない。特に、GCとのインターフェイスやイオン化室内の汚れは、感度や分解能、定量精度の低下に大きく影響するので、適宜洗浄する必要がある。

(注66) GC-MSの性能を維持するための具体的なハードウェア的作業例としては、ピーク形状の改善及び分離の改善、ベースラインの低減のためには、注入口の洗浄、ライナー等の交換、カラムの交換、洗浄、先端の切除等が効果があり、感度の向上のためには、イオン源の洗浄、フィラメントの交換、検出器の交換等が効果がある。また、分解能の向上のためには、イオン源の洗浄、スリットの洗浄、交換が効果がある。