

# ダイオキシン類に係る水生生物調査暫定マニュアル

平成10年9月

環境庁水質保全局水質管理課

## マニュアル制定に当たって

ダイオキシン類は、環境汚染物質の中でも社会的関心が高く、また、超微量測定を要求され、高度な測定設備及び測定技術が必要な物質である。しかし、水生生物については、これまで測定方法の詳細について標準化されておらず、測定方法の確立に対する社会的要請が高かった。

本マニュアルは、環境庁が新日本気象海洋株式会社に委託して原案を作成し、底質分析方法等検討会において御審議いただいた上で、マニュアルとしてとりまとめたものである。

コプラナーPCBについては、WHOにおいて毒性等価係数の検討が行われ、測定方法の確立が必要と考えられることから、本マニュアルに参考として調査方法を記載した。

本マニュアルにより、ダイオキシン類の分析方法が標準化され、測定値の信頼性向上等に寄与し、環境保全活動の一助になれば幸いである。

平成10年9月

環境庁水質保全局水質管理課

(底質分析方法等検討会委員)

(敬称略、五十音順)

- 江原 仁 (社)底質浄化協会 技術委員会幹事  
岡本 研作 物質工学工業技術研究所 首席研究官  
小倉 光夫 神奈川県環境科学センター 水質環境部  
川田 邦明 新潟県保健環境科学研究所 水質科学科  
白石 寛明 国立環境研究所 化学研究部計測管理研究室 室長  
福島 武彦 広島大学工学部地域環境工学講座 教授  
福島 実 大阪市立環境科学研究所生活衛生課 研究主任  
細見 正明 東京農工大学工学部応用化学科 教授  
松村 光夫 土壌環境センター代表  
○森田 昌敏 国立環境研究所地域環境研究グループ 統括研究官

(○印：座長)

# 目 次

はじめに	1
1. 調査対象物質	1
2. 用語・略語の定義	1
3. 調査方法	4
3.1 調査対象生物	4
3.2 調査時期	5
3.3 採捕方法	5
3.4 分析検体	5
3.5 測定及び運搬	5
4. 測定分析方法	7
4.1 測定方法の概要	7
4.2 試薬類	7
4.3 器具及び装置	10
4.4 抽出操作	12
4.5 精製	12
4.6 試験操作	14
ダイオキシン類の測定分析に関わる精度管理	
1. 標準作業手順 (SOPs)	24
2. 器具・装置の性能の評価と維持管理	24
2.1 試料採取・調製	24
2.2 機器測定	25
3. 測定の信頼性の評価	26
3.1 装置の感度変動	26
3.2 検量線の検定	26
3.3 操作ブランク値の測定	27
3.4 2重測定	27
3.5 回収率測定	27
4. データの管理及び評価	27
4.1 試料採取に関する留意事項	27
4.2 異常値、欠測値の取り扱い	27
4.3 測定操作の記録	28
5. 精度管理に関する報告	28

（参考－Ⅰ）コプラナ PCBs の測定分析方法	
1. 用語・略語の定義	29
2. 標準物質及び内標準物質	30
3. アルミナカラムクロマトグラフィー	31
4. GC/MS の分析条件の設定と機器の調整	31
5. 試料の測定（SIM 検出）	32
6. 濃度の算出	33
7. 定量下限値	35
（参考－Ⅱ）調査対象生物の生態的特徴	36

はじめに

本マニュアルは、水生生物中のダイオキシン類濃度に関して調査を行う場合に、参考として活用されることを目的として、一般的な技術手法を示したものである。調査に当たっては、本マニュアルに示す手法を参考に、調査対象水域及びその周辺の状況・調査対象試料の種類等に応じて計画を策定することが望ましい。なお、調査対象水域及びその周辺の状況・調査対象試料の種類等によっては、本マニュアルの示す以外の適当な手法を用いることは差し支えない。また、今後、科学的知見の集積等によって、必要に応じ本マニュアルの改定があり得るものである。

## 1. 調査対象物質

本マニュアルでは、ポリ塩化ジベンゾ-パラ-ジオキシン (PCDDs) とポリ塩化ジベンゾフラン (PCDFs) の内、4, 5, 6, 7 及び 8 塩素化合物を調査対象物質としたものである。また、参考として 14 種のコプラナー PCB に関するものもあわせて記す。

## 2. 用語・略語の定義

本マニュアル中で記載する用語・略語の定義を次のように定める。

### (1) ダイオキシン類

ポリ塩化ジベンゾ-パラ-ジオキシン (PCDDs : polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins) とポリ塩化ジベンゾフラン (PCDFs : polychlorinated dibenzofurans) の両方を合わせた総称。

### (2) 異性体 (isomer)

異性の関係にある化合物。ここでは、同一の化学式を持ち、塩素の置換位置が異なる化合物を指す。

### (3) 同族体 (congener または homologue)

塩素の置換だけを異にする一群の化合物の系列を指す。ここでは、塩素の置換数だけを異にする一群の化合物を指す。

### (4) PCDDs (polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins)

ポリ塩化ジベンゾ-パラ-ジオキシン

### (5) PCDFs (polychlorinated dibenzofurans)

ポリ塩化ジベンゾフラン

### (6) T<sub>4</sub>CDDs (tetrachlorodibenzo-*p*-dioxins)

四塩化ジベンゾ-パラ-ジオキシン

### (7) P<sub>5</sub>CDDs (pentachlorodibenzo-*p*-dioxins)

五塩化ジベンゾ-パラ-ジオキシン

### (8) H<sub>6</sub>CDDs (hexachlorodibenzo-*p*-dioxins)

六塩化ジベンゾ-パラ-ジオキシン

- (9)H<sub>7</sub>CDDs (heptachlorodibenzo-*p*-dioxins)  
七塩化ジベンゾ-パラ-ジオキシン
- (10)O<sub>8</sub>CDD (octachlorodibenzo-*p*-dioxin)  
八塩化ジベンゾ-パラ-ジオキシン
- (11)T<sub>4</sub>CDFs (tetrachlorodibenzofurans)  
四塩化ジベンゾフラン
- (12)P<sub>5</sub>CDFs (pentachlorodibenzofurans)  
五塩化ジベンゾフラン
- (13)H<sub>6</sub>CDFs (hexachlorodibenzofurans)  
六塩化ジベンゾフラン
- (14)H<sub>7</sub>CDFs (heptachlorodibenzofurans)  
七塩化ジベンゾフラン
- (15)O<sub>8</sub>CDF (octachlorodibenzofuran)  
八塩化ジベンゾフラン
- (16)PFK (perfluorokerosene)  
ペルフルオロケロセン
- (17)TEF (2, 3, 7, 8-T<sub>4</sub>CDD Toxicity Equivalency Factor)  
毒性等価係数
- (18)TEQ (2, 3, 7, 8-T<sub>4</sub>CDD Toxicity Equivalency Quantity)  
毒性等量
- (19)GC/MS  
ガスクロマトグラフ質量分析計
- (20)HRGC (High Resolution Gas Chromatography  
またはHigh Resolution Gas Chromatograph)  
高分離能ガスクロマトグラフィーまたは高分離能ガスクロマトグラフ
- (21)HRMS (High Resolution Mass Spectrometry  
または High Resolution Mass Spectrometer)  
高分解能質量分析法または高分解能質量分析計
- (22)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
- (23)SIM (Selected Ion Monitoring)  
選択イオン検出法. 機器によってはSIR (Selected Ion Recording), あるいはSID (Selected Ion Detection) という呼称が用いられることがある.
- (24)RRF (Relative Response Factor)  
相対感度係数

(25)SOPs (Standard Operation Procedures)

標準操作手順

(26)QA/QC (Quality Assurance/Quality Control)

品質保証/品質管理

(27)ng(nanogram)

ナノグラム (10億分の1g ;  $10^{-9}$ g)

(28)pg(picogram)

ピコグラム (1兆分の1g ;  $10^{-12}$ g)

(29)cs (clean-up spike)

クリーンアップスパイク

(30)ss (syringe spike)

シリンジスパイク

(31)検出下限値

ブランク値ではないと識別できる最小値 (検量線作成時の最低濃度での測定を5回以上行った場合又は操作ブランク試験を5回以上行った場合、その標準偏差の大きい方の値の3倍の値)

(32)定量下限値

定量値が信頼できる最小値 (検量線作成時の最低濃度での測定を5回以上行った場合又は操作ブランク試験を5回以上行った場合、その標準偏差の大きい方の値の10倍の値)



### 3. 調査方法

現地における調査方法を以下に示す。

調査地点を設定する際には、工場又は下水処理場等の排水口付近のような人為的影響を強く受けると考えられるような場所は避けるものとする。

また、地域によっては、河川、湖沼及び海域で生物を捕獲することは、都道府県別に定められた漁業調整規則で禁止されている場合があるため、調査を行う前に水産部局などの関係機関に特別採捕許可の申請を行う必要がある。なお、分析結果を評価するうえで、参考となるデータが把握できる地点を優先的に選定する。

#### 3. 1 調査対象生物

調査対象生物は、原則として表-1に示す水生生物から選定する。ただし、表-1に示す調査対象生物が採捕不可能な場合は、表-参考-8、9の代替種をもって分析検体としてもよい。調査対象生物の生態的特徴を表-参考-8、9に示す。

表-1. ダイオキシン類調査対象生物.

調査場所	分類群	生物種
淡水域	魚類	イカリ
		ウグイ
		コイ
		フナ類
		オクチハス
		チチブ
	甲殻類	アメリカザリガニ
		スジエビ
	貝類	カワナ
		ヤマトシジミ
海域	魚類	コシロ
		ホウ
		スズキ
		マハゼ
		マコガレイ
	甲殻類	カサミ
		シヤコ
	貝類	ムラサキガイ
		マガキ
		アサリ
	頭足類	スズメバ
		マダコ

注) 表中のフナ類は、外部形態からの同定が難しいため、キブナ、オクチハス、ニゴロブナ、チチブナ、ゲンゴロウブナ、ギョウブナの計6種を調査対象とする。

### 3. 2 調査時期

調査は、一般的に水生生物の活動が活発である4月～11月に行う。

### 3. 3 採捕方法

魚類の採捕には投網及び刺網等を、甲殻類はタモ網（手網）やカニ籠等を用いる。ムラサキイガイやマガキのような付着性の貝類は金属性のへら等を用い、殻を壊さないよう注意しながら剥ぎ採る。その他の貝類はタモ網等を用いて採捕する。頭足類は釣り（イカ類）や専用漁具（タコ類）等を用いる。

また、当該調査地点で採捕されたものであると確認できる場合に限り、漁業者が採捕したものを購入し、分析検体としてもよい。ただし、その際も「3. 5 測定及び運搬」に示す事項を遵守するとともに採捕日時を必ず確認し、腐敗や組織に自己消化の形跡がみられるものは分析検体としない。

### 3. 4 分析検体

分析部位は、魚類及び頭足類が筋肉部、甲殻類及び貝類は軟体部（＝殻を除いた部分）とする。1検体は同一地点で採捕されたもののうち、同程度の大きさのものを少なくとも3個体以上を混合し、分析に必要な量（250g以上）を確保することとする。ただし、底生性の二枚貝（マツジミ・アサリ）は、餌料とともに周辺の底質を取り込むため、これらの生物を分析検体とする場合は、3%程度の食塩水に一晩浸け置き、消化管中の底質を体外に排出させる。

なお、ダイオキシン類は内分泌攪乱作用をもつことが懸念されており、併せてその影響を調査するため、魚類については表-参考-8、9を参考に成熟サイズの個体を確保し、必要に応じて組織学的検査等を行うことが望ましい。

### 3. 5 測定及び運搬

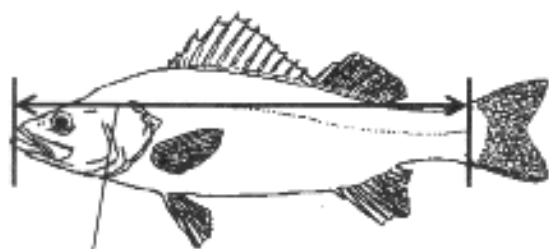
種を同定した後、採捕した生物は図-1に示す項目をそれぞれ測定する（小数第一位まで）。採捕した生物は調査日、調査地点、調査者及び標準和名等を明記した清浄な容器に入れ、氷又はドライアイスの入ったクーラーボックスに収容し、保冷した状態で速やかに分析機関に運搬する。搬入後は速やかに分析を行う。保管の必要がある場合は-20℃以下で冷凍保管する。

---

\*参考として、種同定に関する文献を以下に示す。

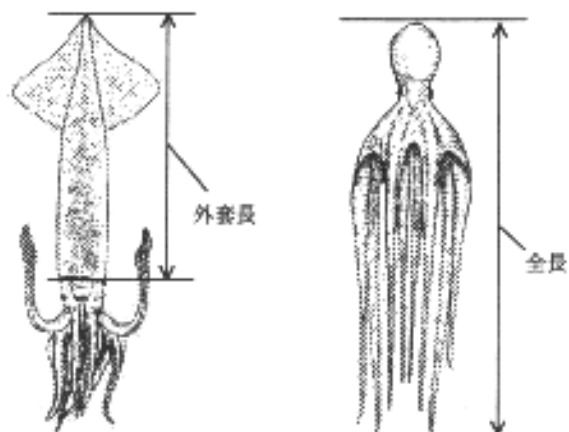
- ・川那部浩哉・水野信彦(1989)、日本の淡水魚 第2版、山と溪谷社、東京、719pp.
- ・益田 一・尼岡邦夫・荒賀忠一・上野輝彌・吉野哲夫(1984)、日本産魚類大図鑑 第2版、東海大学出版会、東京、plate378+466pp.
- ・中坊徹次(1993)、日本産魚類検索-全種の同定-、東海大学出版会、東京、1474pp.
- ・上田常一(1970)、日本産淡水エビ類の研究 改訂増補版、園山書店、松江、213pp.
- ・三宅貞祥(1982)、原色日本大型甲殻類図鑑(I)、保育社、大阪、plate56+261pp.
- ・三宅貞祥(1983)、原色日本大型甲殻類図鑑(II)、保育社、大阪、plate64+277pp.
- ・奥谷喬司(1986)、決定版生物大図鑑 貝類、世界文化社、東京、399pp.

魚類：標準体長，体重

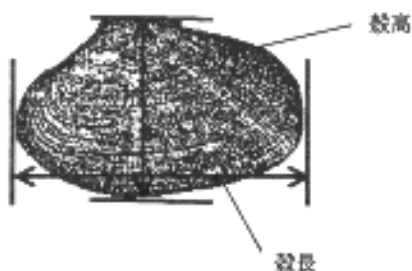


標準体長：上あごの先端から尾びれを曲げた時にできるしわの所までの長さ

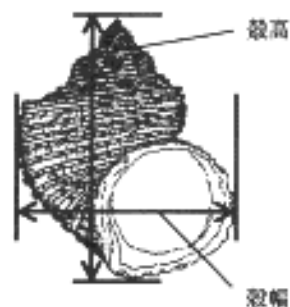
頭足類：外套長(㊦)，全長(㊧)，体重



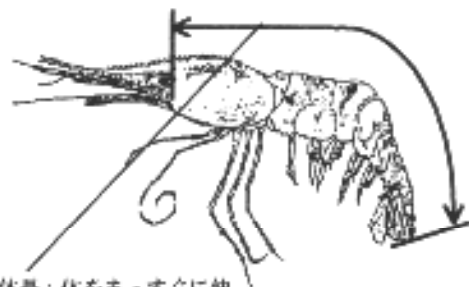
二枚貝：殻高，殻長，重量



巻貝：殻高，殻幅，重量

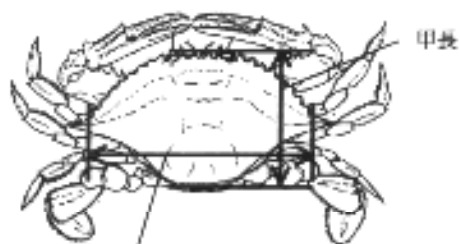


エビ・ザリガニ・シロコ類：体長，体重



体長：体をまっすぐに伸ばした時の眼の後ろから尾節の先端までの長さ

か類：甲長，甲幅，体重



甲幅：甲羅の左右にある外側に大きく突出したとげの基部間の長さ

図-1. 分析検体測定項目.

#### 4. 測定分析方法

##### 4.1 測定方法の概要

試料から有機溶媒によってダイオキシン類を抽出し、各種カラムクロマトグラフィーにて精製し、高分解能ガスクロマトグラフ/高分解能質量分析計を用いて定量する。

##### 4.2 試薬類

全ての試薬類にはダイオキシン類の測定分析に影響を及ぼす妨害成分が含まれていないことが要求される。使用に先立って確認試験を行うこと<sup>1)</sup>。

###### 4.2.1 メタノール

残留農薬試験用、残留PCB試験用、ダイオキシン類分析用またはそれと同等以上のもの。

###### 4.2.2 アセトン

残留農薬試験用、残留PCB試験用、ダイオキシン類分析用またはそれと同等以上のもの。

###### 4.2.3 n-ヘキサン

残留農薬試験用、残留PCB試験用、ダイオキシン類分析用またはそれと同等以上のもの。

###### 4.2.4 トルエン

残留農薬試験用、残留PCB試験用、ダイオキシン類分析用またはそれと同等以上のもの。

###### 4.2.5 ジクロロメタン

残留農薬試験用、残留PCB試験用、ダイオキシン類分析用またはそれと同等以上のもの。

###### 4.2.6 エタノール

残留農薬試験用、残留PCB試験用、ダイオキシン類分析用またはそれと同等以上のもの。

###### 4.2.7 デカン

試薬特級またはそれと同等以上のもの。

###### 4.2.8 イソオクタン

試薬特級またはそれと同等以上のもの。

###### 4.2.9 ノナン

試薬特級またはそれと同等以上のもの。

###### 4.2.10 水

必要であればn-ヘキサンで洗浄する。

###### 4.2.11 硫酸

試薬特級またはそれと同等以上のもの。

###### 4.2.12 無水硫酸ナトリウム

残留農薬試験用、残留PCB試験用、またはそれと同等以上のもの。使用前に400℃にて数時間加熱処理すると良い。

###### 4.2.13 水酸化カリウム

試薬特級または同等以上のもの。

<sup>1)</sup> ここで示す等級以外の試薬でも、精製によりダイオキシン類の測定分析に影響を及ぼす成分が含まれていないことが確認されれば使用できる。

#### 4.2.14 硝酸銀

試薬特級または同等以上のもの。

#### 4.2.15 塩化ナトリウム

残留農薬試験用、残留PCB試験用、またはそれと同等以上のもの、使用前に400℃にて数時間加熱処理すると良い。

#### 4.2.16 シリカゲル

カラムクロマトグラフィー用シリカゲルをメタノール及びトルエンにて順次洗浄を行った後、ロータリーエバポレーターで減圧乾燥し、ガラス製ビーカー等に入れ、層の厚さを10mm以下にして130℃で約18時間乾燥した後、デシケータ内で放冷し保存する。

#### 4.2.17 2%水酸化カリウム含有シリカゲル

1mol/L水酸化カリウム溶液を『4.2.16 シリカゲル』で準備したシリカゲルに水酸化カリウムがシリカゲルに対して2%(w/w)となるように加え、十分攪拌混合した後、ロータリーエバポレーターにて50℃以下で減圧乾燥させ、密閉可能な容器に入れ、デシケータ内で保管する。

#### 4.2.18 22%及び44%硫酸含有シリカゲル

硫酸を『4.2.16 シリカゲル』で準備したシリカゲルに硫酸がシリカゲルに対して22%(w/w)及び44%(w/w)となるように加え、十分攪拌混合し、密閉可能な容器に入れ、デシケータ内で保管する。

#### 4.2.19 10%硝酸銀含有シリカゲル

40%(w/w)硝酸銀溶液を『4.2.16 シリカゲル』で準備したシリカゲルに硝酸銀がシリカゲルに対して10%(w/w)となるように加え、十分攪拌混合した後ロータリーエバポレーターで乾燥させ、密閉可能な容器に入れ、デシケータ内で保存する。調製及び保管は遮光した状態で行う。

#### 4.2.20 アルミナ

塩基性または中性のカラムクロマトグラフィー用アルミナをガラス製ビーカー等に入れ、層の厚さを10mm以下にして130℃で約18時間乾燥した後、デシケータ内で放冷し保存する<sup>2</sup>。

#### 4.2.21 銅粉または銅チップ

あらかじめアセトン及びトルエンで洗浄する。

#### 4.2.22 活性炭シリカゲル

活性炭シリカゲルをトルエンで十分洗浄後、ロータリーエバポレーターで乾燥させ、密閉可能な容器に入れ、デシケータ内で保存する。

#### 4.2.23 標準物質

同定及び定量に使用する標準物質を表-2に示す。

#### 4.2.24 標準溶液

市販の標準溶液をn-デカン等で希釈、混合して調製する。

<sup>2</sup> 予め活性化されたアルミナを用いても良い。アルミナは製造ロットや保存状態により活性度が著しく異なるので溶出条件を確認すること。

#### 4.2.25 内標準物質

内部標準物質の例を表-3に示す。

#### 4.2.26 内標準溶液

市販の溶液をトルエン等で希釈、混合して調製する。

#### 4.2.27 円筒濾紙

セルロース製のものを使用する場合、使用に先立ってアセトン洗浄し、さらにジクロロメタンでソックスレー抽出器を用いて、予備洗浄する。ガラスまたは石英繊維製のものを使用する場合は同様に予備洗浄するか、または400℃で数時間加熱処理し用いる。

表-2. 測定に用いる標準物質。

#### ダイオキシン類

同族体	PCDD 化合物名	PCDF 化合物名
Tetra	$^{12}\text{C}_{12}$ -2, 3, 7, 8- $\text{T}_4\text{CDD}$	$^{12}\text{C}_{12}$ -2, 3, 7, 8- $\text{T}_4\text{CDF}$
Penta	$^{12}\text{C}_{12}$ -1, 2, 3, 7, 8- $\text{P}_5\text{CDD}$	$^{12}\text{C}_{12}$ -1, 2, 3, 7, 8- $\text{P}_5\text{CDF}$ $^{12}\text{C}_{12}$ -2, 3, 4, 7, 8- $\text{P}_5\text{CDF}$
Hexa	$^{12}\text{C}_{12}$ -1, 2, 3, 4, 7, 8- $\text{H}_6\text{CDD}$ $^{12}\text{C}_{12}$ -1, 2, 3, 6, 7, 8- $\text{H}_6\text{CDD}$ $^{12}\text{C}_{12}$ -1, 2, 3, 7, 8, 9- $\text{H}_6\text{CDD}$	$^{12}\text{C}_{12}$ -1, 2, 3, 4, 7, 8- $\text{H}_6\text{CDF}$ $^{12}\text{C}_{12}$ -1, 2, 3, 6, 7, 8- $\text{H}_6\text{CDF}$ $^{12}\text{C}_{12}$ -1, 2, 3, 7, 8, 9- $\text{H}_6\text{CDF}$ $^{12}\text{C}_{12}$ -2, 3, 4, 6, 7, 8- $\text{H}_6\text{CDF}$
Hepta	$^{12}\text{C}_{12}$ -1, 2, 3, 4, 6, 7, 8- $\text{H}_7\text{CDD}$	$^{12}\text{C}_{12}$ -1, 2, 3, 4, 6, 7, 8- $\text{H}_7\text{CDF}$ $^{12}\text{C}_{12}$ -1, 2, 3, 4, 7, 8, 9- $\text{H}_7\text{CDF}$
Octa	$^{12}\text{C}_{12}$ -1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9- $\text{O}_8\text{CDD}$	$^{12}\text{C}_{12}$ -1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9- $\text{O}_8\text{CDF}$

表-3. 内標準物質の例.

ダイオキシン類

同族体	PCDD	PCDF
Tetra	$^{13}\text{C}_{12}$ -1, 2, 3, 4- $\text{T}_4\text{CDD}$ $^{12}\text{C}_9^{13}\text{C}_3$ -1, 2, 3, 4- $\text{T}_4\text{CDD}$ $^{13}\text{C}_{12}$ -1, 3, 6, 8- $\text{T}_4\text{CDD}$ $^{13}\text{C}_{12}$ -2, 3, 7, 8- $\text{T}_4\text{CDD}^*$ $^{37}\text{Cl}_4$ -2, 3, 7, 8- $\text{T}_4\text{CDD}$	$^{13}\text{C}_{12}$ -2, 3, 7, 8- $\text{T}_4\text{CDF}^*$ $^{12}\text{C}_9^{13}\text{C}_3$ -2, 3, 7, 8- $\text{T}_4\text{CDF}$ $^{13}\text{C}_{12}$ -1, 2, 3, 4- $\text{T}_4\text{CDF}$ $^{13}\text{C}_{12}$ -1, 2, 7, 8- $\text{T}_4\text{CDF}$
Penta	$^{13}\text{C}_{12}$ -1, 2, 3, 7, 8- $\text{P}_5\text{CDD}^*$ $^{13}\text{C}_{12}$ -1, 2, 3, 4, 7- $\text{P}_5\text{CDD}$	$^{13}\text{C}_{12}$ -1, 2, 3, 7, 8- $\text{P}_5\text{CDF}^*$ $^{13}\text{C}_{12}$ -2, 3, 4, 7, 8- $\text{P}_5\text{CDF}^*$ $^{12}\text{C}_9^{13}\text{C}_3$ -2, 3, 4, 7, 8- $\text{P}_5\text{CDF}$
Hexa	$^{13}\text{C}_{12}$ -1, 2, 3, 4, 7, 8- $\text{H}_6\text{CDD}^*$ $^{13}\text{C}_{12}$ -1, 2, 3, 6, 7, 8- $\text{H}_6\text{CDD}^*$ $^{13}\text{C}_{12}$ -1, 2, 3, 7, 8, 9- $\text{H}_6\text{CDD}^*$ $^{13}\text{C}_{12}$ -1, 2, 3, 4, 6, 7- $\text{H}_6\text{CDD}$ $^{13}\text{C}_{12}$ -1, 2, 3, 4, 7, 8- $\text{H}_6\text{CDD}$	$^{13}\text{C}_{12}$ -1, 2, 3, 4, 7, 8- $\text{H}_6\text{CDF}^*$ $^{12}\text{C}_9^{13}\text{C}_3$ -1, 2, 3, 4, 7, 8- $\text{H}_6\text{CDF}$ $^{13}\text{C}_{12}$ -1, 2, 3, 6, 7, 8- $\text{H}_6\text{CDF}^*$ $^{13}\text{C}_{12}$ -1, 2, 3, 7, 8, 9- $\text{H}_6\text{CDF}^*$ $^{13}\text{C}_{12}$ -2, 3, 4, 6, 7, 8- $\text{H}_6\text{CDF}^*$
Hepta	$^{13}\text{C}_{12}$ -1, 2, 3, 4, 6, 7, 8- $\text{H}_7\text{CDD}^*$	$^{13}\text{C}_{12}$ -1, 2, 3, 4, 6, 7, 8- $\text{H}_7\text{CDF}^*$ $^{12}\text{C}_9^{13}\text{C}_3$ -1, 2, 3, 4, 6, 7, 8- $\text{H}_7\text{CDF}$ $^{13}\text{C}_{12}$ -1, 2, 3, 4, 7, 8, 9- $\text{H}_7\text{CDF}^*$
Octa	$^{13}\text{C}_{12}$ -1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9- $\text{O}_8\text{CDD}^*$	$^{13}\text{C}_{12}$ -1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9- $\text{O}_8\text{CDF}^*$

\*で示した2, 3, 7, 8位置置換異性体の中から各塩素数毎に1種類以上を選択すること.

### 4.3 器具及び装置

使用する全ての器具及び装置にはダイオキシン類の測定分析に影響を及ぼす妨害成分が含まれていないことが要求される。使用に先立って確認試験を行うこと。

#### 4.3.1 抽出用器具

##### 4.3.1.1 ガラス器具

洗剤で洗浄し、水洗した後、アセトン及びトルエンで洗浄する。

##### 4.3.1.2 ソックスレー抽出装置

必要な試料量が入るものを選択する。

##### 4.3.1.3 ロータリーエバポレーター

大気開放コックを通しての汚染に注意すること。大気開放コックの先に活性炭カラム、エアフィルターなどを装着すると良い。

#### 4.3.2 精製用器具

##### 4.3.2.1 シリカゲルカラムクロマト管

内径10mm、長さ300mmのガラス製カラムクロマト管にシリカゲル3g、無水硫酸ナトリウム6gをn-ヘキサンで湿式充てんしたもの。n-ヘキサン200mLを流速2.5mL/minで流し、充

てん物を洗浄する<sup>3</sup>。

#### 4.3.2.2 多層シリカゲルカラムクロマト管

内径10mm、長さ300mmのガラス製カラムクロマト管にシリカゲル0.9g、2%水酸化カリウム-シリカゲル3g、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、シリカゲル0.9g、10%硝酸銀-シリカゲル3g、無水硫酸ナトリウム6g、銅粉または銅チップ1gを順次n-ヘキサンで湿式充てんしたもの、n-ヘキサン200mLを流速2.5mL/minで流し、充てん物を洗浄する。

#### 4.3.2.3 活性炭シリカゲルカラムクロマト管

内径10mm、長さ100mmのガラス製カラムクロマト管にまず無水硫酸ナトリウム3g、次いで活性炭シリカゲル1g、最後に無水硫酸ナトリウム3gを乾式充てんしたもの。

#### 4.3.2.4 アルミナカラムクロマト管

内径10mm、長さ300mmのガラス製カラムクロマト管にアルミナ10g、無水硫酸ナトリウム6gをn-ヘキサンで湿式充てんしたもの、n-ヘキサン200mLを流速2.5mL/minで流し、充てん物を洗浄する<sup>3</sup>。

### 4.3.3 ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC/MS)

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。質量分析計の質量分離方式は二重収束型とする。

#### 4.3.3.1 カラムオープン

カラムオープンの温度制御範囲が50~350℃であり、測定対象物質の最適分離条件を設定・制御できるような昇温プログラムが可能なもの。

#### 4.3.3.2 キャピラリーカラム

内径0.25~0.32mm、長さ25~60mの熔融シリカ製のものであって、内面に液相を塗布したもの<sup>4</sup>。

#### 4.3.3.3 検出器 (MS)

二重収束形のもので、ロックマス方式により分解能10,000以上で測定可能なもの。また分解能10,000以上の測定条件で2,3,7,8-T4CDD 0.2pgが検出可能な感度を有するもの。イオン源は、温度を160~300℃に保つことができ、電子衝撃イオン化法 (Electron Ionization:以後EI法) が可能で、イオン化電圧を25~70eV程度に制御可能なもの。検出法として選択イオン検出法 (Selected Ion Monitoring:以後SIM法) が可能であり、必要な測定質量数のチャンネル数と感度の関係から考えてSIM法における周期を最大1秒以下にできるもの。

<sup>3</sup> カラムクロマトグラフィー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や実試料を用いた分画試験を行って決めること。

<sup>4</sup> 各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。また、2,3,7,8-位塩素置換異性体が他の異性体と良好に分離されることが必要である。4~6塩化物の測定分析には通常、シアノプロピル系の強極性の液相が用いられる。



#### 4.3.3.4 試料導入部

スプリットレスまたはオンカラム方式等、試料の全量を分離カラム内に導入可能なもの。

#### 4.3.3.5 キャリアーガス

高純度ヘリウム（純度99.999%以上）<sup>5</sup>

### 4.4 抽出操作

#### 4.4.1 抽出（アルカリ分解-n-ヘキサン抽出法）

試料<sup>6</sup>をブレンダー等で粉碎均一化し、100g程度をフラスコに秤り取り、内標準物質を添加する<sup>7</sup>。これに1mol/L水酸化カリウムエタノール溶液を200mL加え、1夜室温で放置する。この溶液に水400mL添加し、n-ヘキサン100mLで10分間3回振とう抽出を行う。生物の種類によってはアルカリで完全に分解不可能な部位があるので、この場合、ガラス繊維濾紙で濾過を行う。濾紙上の物質はヘキサンで洗浄し、洗浄液は濾液と合わせこれに対してn-ヘキサンによる振とう抽出を行う。n-ヘキサン溶液中の水分を無水硫酸ナトリウムで除去した後ロータリーエバポレーターを用いて濃縮する。

### 4.5 精製

#### 4.5.1 硫酸処理

本操作及び『4.5.2.1 シリカゲルカラムクロマトグラフィー』の代わりに『4.5.2.2 多層シリカゲルカラムクロマトグラフィー』を行っても良い。硫酸処理を行った後『4.5.2.2 多層シリカゲルカラムクロマトグラフィー』を行っても良い。

(1)『4.4.1 抽出』によって得られたn-ヘキサン溶液にn-ヘキサンの1/5量程度の濃硫酸を加え、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<sup>8</sup>。

(2)硫酸洗浄が終了したn-ヘキサン溶液にn-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

<sup>5</sup> ガス供給源からGCまでの距離が離れている場合、GC直前にガス精製装置などを装着するとよい。

<sup>6</sup> 凍結乾燥で前処理をしてもよい。この場合、試料の種類によっては凍結乾燥した試料をn-ヘキサンによるソックスレー抽出を行うことが出来る。

<sup>7</sup> 定量用の内標準物質は全ての化合物を用いることが望ましいが、少なくとも各塩素数ごとに最低1種類ずつ添加する。これらすべての内標準物質は、質量分析計の設定分解能によって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。

<sup>8</sup> <sup>13</sup>C<sub>12</sub>-1, 2, 3, 4-T<sub>4</sub>CDD あるいは <sup>37</sup>Cl<sub>4</sub>-2, 3, 7, 8-T<sub>4</sub>CDD は、ダイオキシン類の前処理操作における回収率の確認に、<sup>13</sup>C<sub>12</sub>-1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9-O<sub>4</sub>CDD は定量用内標準物質として用いる一方、<sup>14</sup>C<sub>12</sub>-1, 3, 6, 8-T<sub>4</sub>CDD と共にカラムクロマト処理におけるダイオキシン類の分取が適切に行われているかを確認するために有効である。

<sup>9</sup> 硫酸処理によってヘキサン層と硫酸層の分離が良好でない場合、遠心分離による分離が有効である。ガラス製遠沈管に試料を入れ、硫酸を加え、激しく振とうした後遠心分離(3,000rpm, 10min)を行う。遠心分離後、硫酸層をパスツールピペットなどで除去する。ガラス製毛管にフルラン製チューブを接続し、ポンプ吸引を行うと便利である。

にガラスウールを詰め、無水硫酸ナトリウムを積層したもので脱水後、ロータリーエボポレーターを用いて約2mlまで濃縮し、シリカゲルカラムクロマトグラフィーに供する。

#### 4.5.2 カラムクロマトグラフィー

硫酸処理の終了した試料をカラムクロマトグラフィーによって更に精製する。ここで示すカラムクロマトグラフィーの展開溶媒の量は参考のため示したものであり、確認試験を十分行って決定することが必要である。

##### 4.5.2.1 シリカゲルカラムクロマトグラフィー

(1)シリカゲルクロマト管の液面を無水硫酸ナトリウム層まで下げ、『4.5.1 硫酸処理』で調製した試験溶液を静かに移し入れ、少量のn-ヘキサンで洗い込み、液面を無水硫酸ナトリウム層まで下げる。n-ヘキサン150mlを流速2.5mL/minで流し展開溶出させる。

(2)得られた溶出液をロータリーエボポレーターにて約2mlまで濃縮し、活性炭シリカゲルカラムクロマトグラフィーまたはアルミナカラムクロマトグラフィーに供する。

##### 4.5.2.2 多層シリカゲルカラムクロマトグラフィー

(1)多層シリカゲルクロマト管の液面まで下げ、『4.4.1 抽出』で調製した試験溶液を静かに移し入れ、少量のn-ヘキサンで洗い込み、液面を無水硫酸ナトリウム層まで下げる。n-ヘキサン120mlを流速2.5mL/minで流し展開溶出させる。

(2)得られた溶出液をロータリーエボポレーターにて約2mlまで濃縮し、活性炭シリカゲルカラムクロマトグラフィーまたはアルミナカラムクロマトグラフィーに供する。

#### 4.5.3 活性炭シリカゲルカラムクロマトグラフィーまたはアルミナカラムクロマトグラフィー

『4.5.2 カラムクロマトグラフィー』で調製した試験溶液に対して活性炭シリカゲルカラムクロマトグラフィーまたはアルミナカラムクロマトグラフィーを行う。試料を更に精製する目的で、アルミナカラムクロマトグラフィーを行った試料に対して活性炭シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行っても良い。

##### 4.5.3.1 活性炭シリカゲルカラムクロマトグラフィー

(1)活性炭シリカゲルクロマト管に『4.5.2 カラムクロマトグラフィー』で調製した試料を静かに移し入れ、n-ヘキサンで洗い込む。

(2)ジクロロメタン-n-ヘキサン(1:3v/v)溶液150mlを流速2.5mL/minで流し展開溶出させる。

(3)次いで、トルエン200mlで溶出する。

(4)トルエン溶離液をロータリーエボポレーターで濃縮し、更に窒素吹き付けにより濃縮し、n-デカン<sup>9</sup>20~100 $\mu$ Lに転溶してGC/MS分析用溶液とする<sup>10</sup>。

##### 4.5.3.2 アルミナカラムクロマトグラフィー

(1)アルミナカラムクロマト管のn-ヘキサン液面を硫酸ナトリウム層まで下げ、『4.5.2

<sup>9</sup> n-ノナンまたはイソオクタンでも良い。

<sup>10</sup> 注入量の補正を行うためシリンジスパイクを行う。シリンジスパイクには、サンプルスパイクで使用した以外の内標準物質を用いる。シリンジスパイクはGC/MS測定における各測定グループ毎に1種類以上使用することが望ましい。

- カラムクロマトグラフィー』で調製した試料を静かに移し入れ、少量のn-ヘキサンで洗い込み、液面を無水硫酸ナトリウム層まで下げる。
- (2)2%ジクロロメタン含有n-ヘキサン溶液100mlを流速2.5mL/minで流し、第1画分を得る。更にジクロロメタン-n-ヘキサン(1:1v/v)溶液150mlを流速2.5mL/minで流し、第2画分を得る。第2画分にダイオキシン類及びノンオルトPCBsが含まれる。
- (3)第2画分をロータリーエバポレーターで濃縮し、更に窒素吹き付けにより濃縮し、n-デカン<sup>9</sup>20~100 $\mu$ Lに転溶してGC/MS分析用溶液とする<sup>10</sup>。

#### 4.6 試験操作

##### 4.6.1 GC/MSの分析条件の設定と機器の調整

GC/MS分析条件の一例を参考として示す。これを参考にして適宜設定する。

##### (1)ガスクロマトグラフ(GC)

a)測定対象物質：T<sub>1</sub>CDDs, T<sub>4</sub>CDFs, P<sub>3</sub>CDFsの同族体及び2, 3, 7, 8-位塩素置換異性体

溶融シリカキャピラリーカラム：SP-2331等

内径：0.32mm, 長さ：60m, 液層膜厚 0.20 $\mu$ m等

カラム温度：100℃(1.5min間保持)→(20℃/min, 昇温)→

→180℃(0min間保持)→(3℃/min昇温)→260℃(保持)

注入口温度：260℃

注入方法：スプリットレス(スプリット保持時間：60-90sec)

b)測定対象物質：P<sub>3</sub>CDDs, H<sub>4</sub>CDFs, H<sub>6</sub>CDFsの同族体及び2, 3, 7, 8-位塩素置換異性体

溶融シリカキャピラリーカラム：SP-2331等

内径：0.32mm, 長さ：60m, 液層膜厚 0.20 $\mu$ m等

カラム温度：100℃(1.5min間保持)→(20℃/min昇温)→

→180℃(0min間保持)→(3℃/min昇温)→260℃(保持)

注入口温度：260℃

注入方法：スプリットレス(スプリット保持時間：60-90sec)

c)測定対象物質：H<sub>7</sub>CDDs, H<sub>7</sub>CDFs, O<sub>8</sub>CDD, O<sub>8</sub>CDFの同族体及び2, 3, 7, 8-位塩素置換異性体

溶融シリカキャピラリーカラム：DB-5, DB-17, BPX-50等

内径：0.32mm, 長さ：30m, 液層膜厚 0.15 $\mu$ m等

カラム温度：100℃(1.5min間保持)→(20℃/min昇温)→

→200℃(0min間保持)→(10℃/min昇温)→280℃(保持)

注入口温度：280℃

注入方法：スプリットレス(スプリット保持時間：60-90sec)

##### (2)質量分析計(MS)

分解能：10,000以上(10%谷)

イオン化法 : 電子衝撃イオン化(EI)法  
イオン化電圧 : 25-70eV  
イオン化電流 : 500-1000  $\mu$ A  
イオン源温度 : 280-300°C<sup>11</sup>

(3)キャリアーガス : ヘリウム(25psi)

(4)検出法 : ロックマス方式によるSIM検出法

#### 4.6.2 質量数校正

(1)質量分析計に質量校正用標準物質(PFK)を導入し、質量校正用プログラムにより、マススペクトルパターン、分解能(10,000以上、10%谷)等を測定目的に応じて所定の値に校正<sup>12</sup>する。質量校正結果を測定結果と共に保存する。

---

<sup>11</sup> 使用するキャピラリーカラムの使用上限温度に注意する。

<sup>12</sup> ロックマスに使用する PFK の質量数における分解能のみでなく、測定する全質量数の範囲における分解能を確認すること。また実際の測定質量数における加速電圧における分解能も確認すること。

#### 4.6.3 試料の測定 (SIM検出)

- (1)各塩素化物のモニターイオン(表-4に示す質量数)を1つの塩化物について2つ以上設定する。
- (2)4.5で調製したGC/MS分析用試料液の0.5~2.5 $\mu$ LをGC/MSに注入して、測定を行う。
- (3)(1)で設定した各塩素化物の定量用質量数と確認用質量数についてクロマトグラムを記録し、2つ以上のモニターイオンのピーク面積比を計算する<sup>13</sup>。
- (4)測定終了後、定量作業に入る前に個々の試料毎にロックマスモニターチャンネルのレスポンスを確認する<sup>14</sup>。また、各塩素化物の定量用質量数及び内標準物質のピーク面積を求める<sup>15</sup>。

<sup>13</sup> SIM クロマトグラム上の2つ以上のモニターイオンピーク面積比が標準物質のそれとほぼ同じであり、同位体の理論天然存在比に対して $\pm 15\%$  (定量下限値付近の濃度によっては $\pm 25\%$ ) 以内であれば定量する (表-5 参照)。標準物質の2つ以上のモニターイオンピーク面積比が同位体の理論天然存在比と比較して大きく異なっていた場合は、特定の質量数に関して GC カラム等からのバックグラウンドが存在するか、MS のチューニングに問題がある可能性がある。2, 3, 7, 8-位塩素置換異性体に関しては、得られた SIM クロマトグラム上のピークの良い分離と共に保持時間が標準物質とほぼ同じであり、対応する内標準物質との相対保持時間も標準物質と一致することで同定を行う。また標準物質のない異性体の同定については、文献などを参照して同定するが、クロマトパターンの判明している試料溶液を参考にすると便利である。

<sup>14</sup> ロックマスチャンネルのクロマトグラムが波を打つ、あるいは感度が急激に変動するなどの現象があった場合、特に分析対象成分の溶出時間付近においてこの現象が認められた場合には、正確にロックマスピークを捕らえていない可能性がある。その成分については定量してはならない。主な要因として、試料の前処理が不十分であることが考えられるので、試料の前処理を再度十分にを行い、ロックマスの変動を最小限に抑える必要がある。

<sup>15</sup> サンプルスパイクの回収率が50%以上120%以下の範囲から外れるときは、再度試料から前処理を行い再測定する。2, 3, 7, 8-位塩素置換異性体の定量は、対応する標準物質を用いて行う。その他の異性体の定量については、各塩素化物毎に存在する2, 3, 7, 8-位塩素置換異性体の平均を基準として行う。

表-4. 測定質量数の例.

ここで示した質量数に関する有効桁数は本方法で設定する質量分析計の分解能と意味ある関係を持つものではない。

塩素置換体	M	M+2	M+4
T <sub>4</sub> CDDs	319.8965**	321.8936*	323.8906
P <sub>5</sub> CDDs	353.8576	355.8546*	357.8516**(1)
H <sub>6</sub> CDDs	387.8186	389.8157*	391.8127**(2)
H <sub>7</sub> CDDs	421.7796	423.7766*	425.7737**
O <sub>8</sub> CDD	455.7407	457.7377**	459.7348*
T <sub>4</sub> CDFs	303.9016**	305.8987*	307.8957
P <sub>5</sub> CDFs	337.8627	339.8597*	341.8567**
H <sub>6</sub> CDFs	371.8237	373.8208*	375.8178**
H <sub>7</sub> CDFs	405.7847	407.7818*	409.7789**
O <sub>8</sub> CDF	439.7457	441.7428**	443.7399*
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -T <sub>4</sub> CDDs	331.9368**	333.9339*	335.9309
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -P <sub>5</sub> CDDs	365.8978	367.8949*	369.8919**
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -H <sub>6</sub> CDDs	399.8589	401.8559*	403.8530**
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -H <sub>7</sub> CDDs	433.8199	435.8169*	437.8140**
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -O <sub>8</sub> CDD	467.7809	469.7779	471.7750*
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -T <sub>4</sub> CDFs	315.9419**	317.9389*	319.9360
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -P <sub>5</sub> CDFs	349.9029	351.9000*	353.8970**
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -H <sub>6</sub> CDFs	383.8639	385.8610*	387.8580**
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -H <sub>7</sub> CDFs	417.8250	419.8220*	421.8191**
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -O <sub>8</sub> CDF	451.7860	453.7830**	455.7801*

\* : 存在比が最も高い塩素同位体の質量数

\*\* : 存在比が2番目に高い塩素同位体の質量数

(1)及び(2): 試料中のPCB濃度が高い場合、この質量数は妨害を受ける可能性があるため注意が必要である。

表-5. ダイオキシン類の塩素同位体の理論天然存在比.

各塩素数毎に存在比が最も高い質量数の存在比を100として示してある.

塩素置換体	M	M+2	M+4	M+6	M+8	M+10	M+12	M+14
T <sub>4</sub> CDDs	77.43	100.00	48.74	10.72	0.94	0.01		
P <sub>5</sub> CDDs	62.06	100.00	64.69	21.08	3.50	0.25		
H <sub>6</sub> CDDs	51.79	100.00	80.66	34.85	8.54	1.14	0.07	
H <sub>7</sub> CDDs	44.43	100.00	96.64	52.03	16.89	3.32	0.37	0.02
O <sub>8</sub> CDD	34.54	88.80	100.00	64.48	26.07	6.78	1.11	0.11
T <sub>4</sub> CDFs	77.55	100.00	48.61	10.64	0.92			
P <sub>5</sub> CDFs	62.14	100.00	64.57	20.98	3.46	0.24		
H <sub>6</sub> CDFs	51.84	100.00	80.54	34.72	8.48	1.12	0.07	
H <sub>7</sub> CDFs	44.47	100.00	96.52	51.88	16.80	3.29	0.37	0.02
O <sub>8</sub> CDF	34.61	88.89	100.00	64.39	25.98	6.74	1.10	0.11

#### 4.6.4 検量線の作成

- (1)標準溶液中の各化合物に対して0.5~1000pg/ $\mu$ L程度の濃度範囲で0を含めて5段階程度の標準濃度系列を調製する<sup>16</sup>. この標準濃度系列には内標準溶液を添加しておく.
- (2)(1)で調製した標準濃度系列の0.5~2.5 $\mu$ LをGC/MSに注入<sup>17</sup>し, 4.6.3の操作を行って, 各塩化物に関する質量数のクロマトグラムを記録する.
- (3)(2)で測定した検量線用標準濃度系列の各塩素化物毎に定量用質量数と確認用質量数のピーク面積比を算出する.
- (4)(3)で求めた各塩素化物のピーク面積比が表-5の天然存在比とほぼ一致することを確認する<sup>18</sup>.
- (5)各塩素化物の定量用質量数及び内標準物質のピーク面積を求め, それらのピーク面積比と注入した標準溶液中の各塩素化物の質量から検量線を作成する<sup>18</sup>.
- (6)相対感度係数(RRF)を求める. RRFは次式によって算出する.

$$RRF = (A_S \times C_{IS}) / (A_{IS} \times C_S)$$

A<sub>S</sub> : 分析対象物質のモニターイオンのレスポンス (ピーク面積値)

A<sub>IS</sub> : 内標準物質のモニターイオンのレスポンス (ピーク面積値)

C<sub>S</sub> : 標準溶液中の分析対象物質の濃度

C<sub>IS</sub> : 標準溶液中の内標準物質の濃度

<sup>16</sup> この濃度範囲は検出下限の値に近い低濃度を含み, 予想される濃度の最高値または GC/MS のダイナミックレンジ内でなければならない.

<sup>17</sup> 注入量に関しては GC の注入口ライナーの内容積を考慮すること.

<sup>18</sup> RRF や既知濃度の試料を測定し, 検量線の検定を行う.

#### 4.6.5 濃度の算出

次式によって濃度を算出する。

$$C = ((A_s \times I_s) / (A_{IS} \times RRF)) \times (1 / W)$$

C : 分析対象物質の濃度(pg/g)

A<sub>s</sub> : 分析対象物質のモニターイオンのレスポンス (ピーク面積値)

A<sub>IS</sub> : 内標準物質のモニターイオンのレスポンス (ピーク面積値)

I<sub>s</sub> : 分析試料中の内標準物質の添加量(pg)

RRF : 相対感度係数

W : 試料採取重量 (乾燥重量)

定量は定量下限値以上のピークについてのみ行う<sup>19</sup>。同位体濃度は、四塩素化物から八塩素化物の各同位体とその総和を表示する。また、同位体濃度は、2,3,7,8-位塩素置換異性体濃度及びその他の異性体濃度の総和で表示し、異性体濃度は、2,3,7,8-位塩素置換異性体 (17異性体) の各濃度について表示する。2,3,7,8-位塩素置換異性体 (17異性体) の各濃度は使用した標準物質の測定分析値を用いて定量する。また、それ以外の異性体の濃度 (総和濃度) は、使用した各塩素数毎の標準物質の測定値の平均値を用いて定量する。

定量された実測濃度にダイオキシン類の毒性等価係数 (表-6 : 2,3,7,8-TCDD Toxicity Equivalency Factor : TEF) を乗じて毒性等量を算出し、その合計を求める<sup>20</sup>。定量結果の表示方法の例を表-7に示す。

<sup>19</sup>各化合物毎の濃度及び各塩素化物の総和濃度は有効数字2桁で表す。このとき有効数字の1桁下以降を計算し、有効数字の1桁下の数字を四捨五入することによって数値の丸めを行う。

<sup>20</sup>毒性等量算出に当たっては、各異性体の毒性等量を計算し、その合計を以て有効数字2桁で数値を丸める。すなわち個々の異性体の毒性等量については丸めの操作は行わない。実測値に定量下限値未満の値が存在する場合、最大見積もり濃度として毒性換算係数を持つ各化合物の定量下限値を用いて毒性等量を算出し、括弧内に表示する。



表-6. ダイオキシン類の毒性等価係数(I-TEF ; WHO/IPCS, 1988).

PCDD 化合物名	毒性等価係数	PCDF 化合物名	毒性等価係数
2, 3, 7, 8-T <sub>4</sub> CDD	1	2, 3, 7, 8-T <sub>4</sub> CDF	0.1
1, 2, 3, 7, 8-P <sub>5</sub> CDD	0.5	1, 2, 3, 7, 8-P <sub>5</sub> CDF	0.05
		2, 3, 4, 7, 8-P <sub>5</sub> CDF	0.5
1, 2, 3, 4, 7, 8-H <sub>6</sub> CDD	0.1	1, 2, 3, 6, 7, 8-H <sub>6</sub> CDF	0.1
1, 2, 3, 6, 7, 8-H <sub>6</sub> CDD	0.1	1, 2, 3, 7, 8, 9-H <sub>6</sub> CDF	0.1
1, 2, 3, 7, 8, 9-H <sub>6</sub> CDD	0.1	2, 3, 4, 6, 7, 8-H <sub>6</sub> CDF	0.1
		1, 2, 3, 4, 7, 8-H <sub>6</sub> CDF	0.1
1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-H <sub>7</sub> CDD	0.01	1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-H <sub>7</sub> CDF	0.01
		1, 2, 3, 4, 7, 8, 9-H <sub>7</sub> CDF	0.01
1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9-O <sub>8</sub> CDD	0.001	1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9-O <sub>8</sub> CDF	0.001
その他のCDD	0	その他のCDF	0

I-TEF : International-Toxicity Equivalency Factor

表-7. ダイオキシン類測定分析結果の表記例.

化合物の名称等	実測濃度 (pg/g)	毒性等量 (pg-TEQ/g)
P C D D s	(1, 3, 6, 8-T <sub>4</sub> CDD)*	x 0
	(1, 3, 7, 9-T <sub>4</sub> CDD)*	x 0
	2, 3, 7, 8-T <sub>4</sub> CDD	x 1
	T <sub>4</sub> CDDs	—
	1, 2, 3, 7, 8-P <sub>5</sub> CDD	x 0.5
	P <sub>5</sub> CDDs	—
	1, 2, 3, 4, 7, 8-H <sub>6</sub> CDD	x 0.1
	1, 2, 3, 6, 7, 8-H <sub>6</sub> CDD	x 0.1
	1, 2, 3, 7, 8, 9-H <sub>6</sub> CDD	x 0.1
	H <sub>6</sub> CDDs	—
	1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-H <sub>7</sub> CDD	x 0.01
	H <sub>7</sub> CDDs	—
	O <sub>8</sub> CDD	x 0.001
	Total PCDDs	
P C D F s	(1, 2, 7, 8-T <sub>4</sub> CDF)*	x 0
	2, 3, 7, 8-T <sub>4</sub> CDF	x 0.1
	T <sub>4</sub> CFs	—
	1, 2, 3, 7, 8-P <sub>5</sub> CDF	x 0.05
	2, 3, 4, 7, 8-P <sub>5</sub> CDF	x 0.5
	P <sub>5</sub> CFs	—
	1, 2, 3, 4, 7, 8-H <sub>6</sub> CDF	x 0.1
	1, 2, 3, 6, 7, 8-H <sub>6</sub> CDF	x 0.1
	1, 2, 3, 7, 8, 9-H <sub>6</sub> CDF	x 0.1
	2, 3, 4, 6, 7, 8-H <sub>6</sub> CDF	x 0.1
	H <sub>6</sub> CFs	—
	1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-H <sub>7</sub> CDF	x 0.01
	1, 2, 3, 4, 7, 8, 9-H <sub>7</sub> CDF	x 0.01
	H <sub>7</sub> CFs	—
O <sub>8</sub> CDF	x 0.001	
Total PCDFs		
Total PCDDs + Total PCDFs		

- 備考 1. N.D. : 定量下限値未満を示す.  
 2. 定量下限値 : T<sub>4</sub>CDD : 0.05pg/g , T<sub>4</sub>CDF : 0.05pg/g  
 P<sub>5</sub>CDD : 0.05pg/g , P<sub>5</sub>CDF : 0.05pg/g  
 H<sub>6</sub>CDD : 0.1 pg/g , H<sub>6</sub>CDF : 0.1 pg/g  
 H<sub>7</sub>CDD : 0.1 pg/g , H<sub>7</sub>CDF : 0.1 pg/g  
 O<sub>8</sub>CDD : 0.25pg/g , O<sub>8</sub>CDF : 0.25pg/g  
 \* : これら3化合物に関しては、汚染源の推定を行う場合表示する.

#### 4.6.6 定量下限値

定量下限値は表-8のとおりとする。

表-8. ダイオキシン類の定量下限値。単位は湿重量あたり。

	T <sub>4</sub> CDD, T <sub>4</sub> CDF, P <sub>3</sub> CDD, P <sub>3</sub> CDF	H <sub>6</sub> CDD, H <sub>6</sub> CDF, H <sub>7</sub> CDD, H <sub>7</sub> CDF	O <sub>8</sub> CDD, O <sub>8</sub> CDF
定量下限値	0.05pg/g	0.1pg/g	0.25pg/g

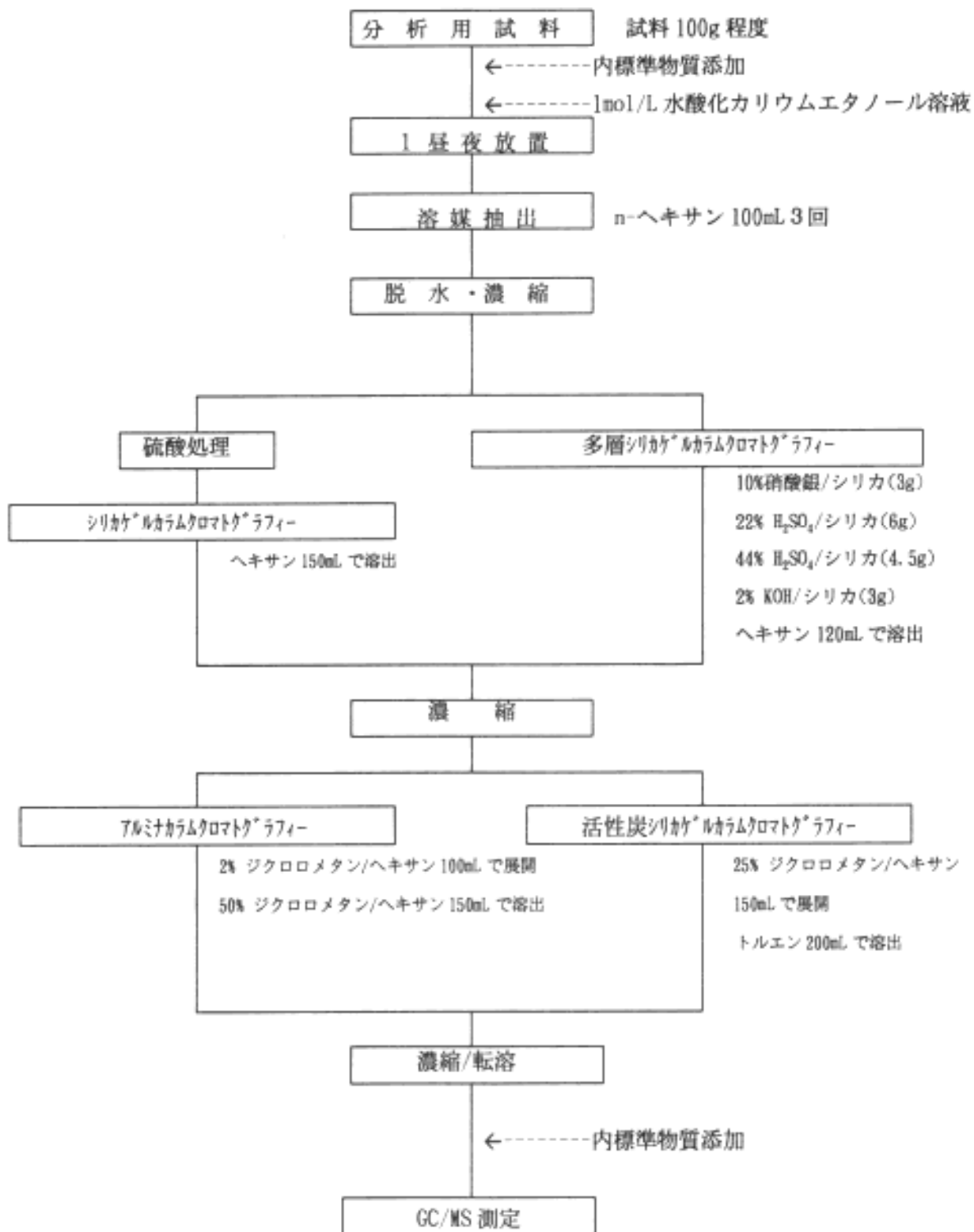


図-2. 水生生物試料の分析フロー.

## ダイオキシン類の測定分析に関わる精度管理

本マニュアルで対象とするダイオキシン類の測定分析は、高感度分析が要求されるばかりでなく、塩素置換異性体の多数の同族体を分離・定量するので、極めて高度な精度・確度が要求される。したがって、分析精度の管理を十分に行う必要がある。

分析精度の管理は、標準作業手順、器具、装置の性能の評価と維持管理及び測定値の信頼性の評価によって行われ、実際のモニタリングに先立ってその妥当性について検証しておくことが望まれる。

### 1 標準作業手順 (SOPs)

試験機関においては以下の項目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。

- (1) 試料採取及び前処理用試薬類の準備、精製、保管及び取り扱い方法
- (2) 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
- (3) 試料採取装置の組み立てや、機器、器具の校正、調整、操作方法
- (4) 分析機器の測定条件の設定、調整、操作手順
- (5) 測定方法全工程の記録（使用するコンピュータのハード及びソフトを含む）

### 2 器具・装置の性能の評価と維持管理

#### 2.1 試料採取・調製

試料採取・調製方法は試料の状態によって異なるため、必要な器具類、材料及び試薬等も変わってくるが、いずれの場合にも、あらかじめ測定妨害をおよ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。

試料採取・調製にあたっては、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は、規格化しておく。

#### (1) 試料採取・調製用機材の準備と保管

試料採取・調製用容器は原則としてガラス瓶を用い、使用前にメタノール及びジクロロメタン等で十分洗浄したものを使用する。試料採取後、外部からの汚染を受けないような状態で保管・輸送する。

#### (2) 試料採取・調製の信頼性の確保

試料採取・調製においては、目的とする試料に対して代表サンプルの採取や調製が適切に行われるものでなければならない。

試料の採取は、分析結果を評価する上で参考となるデータが把握できる地点を優先的に選定する。

また、予備試料（冷凍保存）を用意しておくことが望ましい。

(3) 試料採取・調製装置と試料の保管・運搬

各試料採取・調製用に使用する器具・部品等は洗浄し、器具等からの汚染を十分に低減する。また、試料の保管・運搬時も冷蔵・遮光する。

試料調製に当たっては、器具等による汚染や吸着を十分に小さくする。

(4) 前処理操作の信頼性の確保

前処理終了後、試料溶液に着色が無く不揮発性成分が目視で確認できない状態まで十分に精製を行う。着色していたり、残渣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解能の低下、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P F K等の校正物質による調整の妨害等の原因となる。

(a) 溶媒抽出

添加回収試験の結果が良好でも、実試料中のダイオキシン類の抽出率は不明であるため、最も抽出率の高い方法を用いる。

(b) 硫酸処理

着色が薄くなるまで繰り返す。本処理が不十分な時には測定段階で妨害を受けることがある。

(c) 多層シリカゲルカラムクロマトグラフィー

カラムクロマトグラフィーにおいて、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う。

(d) 活性炭シリカゲルカラムクロマトグラフィー

ジクロロメタン-ヘキサンによる妨害物質の除去及びトルエンによるダイオキシン類の溶離が確実にに行われているかどうかを確認する。

(e) アルミナカラムクロマトグラフィー

ジクロロメタン-ヘキサンによる妨害物質の除去及びダイオキシン類の溶離が確実にに行われているかどうかを確認する。

## 2.2 機器測定

ダイオキシン類の測定には多数の同族体を分離する必要があるため、高分解能質量分析計を用いて測定する。

(1) 標準物質

ダイオキシン類の測定値は、標準物質を用いた比較法である。したがって、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。

(2) 分析機器の調整

使用する分析機器は目的に応じて測定条件を設定し、試料の測定が可能となるように調整する。この際、感度の直線性、安定性等の他、測定の誤差となる干渉の有無、及びその大きさ、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。

(a) 質量分析計の調整

質量分析計に質量校正用標準物質（P F K）を導入し、装置の質量校正用プログラム等

によりマススペクトルパターン及び分解能（10,000 以上、10%谷）等の校正を行うと共に、装置の感度等の基本的なチェックを行う。この際、調整の結果を記録・保管する。

#### (b) GC の調整

カラム槽温度、注入口温度、キャリアガス流量等の条件を設定し、応答が安定していること、各塩素化物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、パージガス流量等を適切な値に設定する。キャピラリーカラムは、分析対象物質と他成分との分離が十分でない場合には新品と交換する。ただし、キャピラリーカラムの両端または片端を切断する事により分析対象物質と他成分との分離に問題がなければ交換しなくても良い。

#### (c) GC/MS 装置の操作条件

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。再現性の良いピーク面積を得るためには、1 ピークあたり構成するデータポイントを 10 点以上確保することが望ましい。したがって SIM 法における周期は 1 秒以下にする。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。

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毎に、定量するピークが出現するように条件の設定を行う必要がある。またスイッチングによる磁場の履歴効果が測定に影響を与えないよう注意する。

### 3 測定の信頼性の評価

#### 3.1 装置の感度変動

測定検体数に対して 10%以上の割合で、検量線における中間程度の濃度の標準溶液を測定して、感度が検量線作成時に比べて大きく変動していないことを確認する。また、ダイオキシン類の各塩素置換体と内標準物質の相対感度の変動が、検量線作成時の相対感度に比べて±20%以内であることを確認し、この範囲を超えて変動する場合には、その原因を取り除き、それ以前の試料の再測定を行う。更に保持時間については、分離カラムの劣化等の場合等、徐々に保持時間が変動する場合には、必要に応じて対応をとればよいが、比較的短い間に変動（通常、1日に保持時間が±5%以上、内標準物質との相対保持比が±2%以上）する場合には、その原因を取り除き、それ以前の試料の再測定を行う。

#### 3.2 検量線の検定

各標準物質の量とピーク面積について内標準物質との比の関係から検量線を作成し、相対感度係数（RRF：Relative Response Factor）を次式により算出する。

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

ここで、

- $A_s$  : 分析対象物質のモニターイオンの応答  
 $C_{is}$  : 標準溶液中の内標準物質の濃度  
 $C_s$  : 標準溶液中の分析対象物質の濃度  
 $A_{is}$  : 内標準物質のモニターイオンの応答

検量線は、濃度 0 を含め、5 つ程度のデータを得る。これらのデータから算出される RRF は、分析した全ての濃度でばらつきがない、すなわち、変動係数が 5 % 以内に収まるように、装置等の設定条件をあらかじめ検討する必要がある。

定常的な検量線の検定は、検量線作成時に実試料を同時に分析して得た試料を標準として常に同時に分析して行う。もしその定量結果に誤差が生じるときには装置の調整に問題があるので検討し、再度検量線の検定及び試料を分析する。

### 3.3 操作ブランク値の測定

操作ブランク試験は、試料採取、試験液の調製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。

操作ブランク値が大きいと測定感度が悪くなるばかりでなく、定量下限値が大きくなって測定値の信頼性が低下する。したがって、操作ブランク値は極力低減をはかる。

### 3.4 2重測定

試料採取及び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、定量下限値以上の濃度の測定対象物質について両者の差が 30 % 以下であることを確認する。差が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。このような場合には、前処理、分析機器の安定性等種々の必要事項についてチェック、改善した後、再度試料採取を行う。

2重測定は一連の試料採取において試料数の 10% の頻度で行う。

### 3.5 回収率測定

回収率が 50 ~ 120 % の範囲内でない場合には、試料から測定分析をやり直す。

GC/MS 分析の直前に回収率測定のためのシリジスパイクを既知量添加した場合は、これをもとに内標準法で使用したサンプルスパイクを定量し回収率を求める。

## 4 データの管理及び評価

### 4.1 試料採取に関する留意事項

採取された試料が調査目的に合致し、測定する試料の環境を代表するものである必要がある。

### 4.2 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、2重測定の結果が大きく異なる場合等は、測定値の信



頼性に問題があると判断される。したがって、再測定を行ったり、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。

#### 4.3 測定操作の記録

以下の情報を記録し、整理・保管しておく

- (1) 試料採取に使用する装置や器具の調整、校正及び操作
- (2) 容器等の取り扱い及び保管の状況
- (3) 採取対象の条件及び状況（採取方法、採取地点、採取日時）
- (4) 試料に関する調査項目
- (5) 試料調製条件
- (6) 分析装置の校正及び操作
- (7) 測定値を得るまでの各種の数値

#### 5 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。

- (1) SOPs 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
- (2) 検出下限値及び定量下限値の測定結果
- (3) 操作ブランク試験の結果
- (4) 試料採取、前処理操作等の回収試験の検査結果
- (5) 分析機器の感度の変動
- (6) 測定操作記録（試料採取から前処理・分析に関する記録）

## (参考-1) コプラナPCBsの測定分析方法

本法を一部変更することにより、コプラナPCBsの測定分析が可能である。マニュアル本文と異なる部分あるいは追加部分を次に示す。(以下、参考以外のマニュアル部分を「本文」と称する。)

### 1. 用語・略語の定義

(1)PCBs (polychlorinated biphenyls)

ポリ塩化ビフェニル

(2)CBs (chlorinated biphenyls)

塩化ビフェニル

(3) $T_4$ CB (tetrachlorobiphenyl)

四塩化ビフェニル

(4) $P_5$ CB (pentachlorobiphenyl)

五塩化ビフェニル

(5) $H_6$ CB (hexachlorobiphenyl)

六塩化ビフェニル

(6) $H_7$ CB (heptachlorobiphenyl)

七塩化ビフェニル

(7)Co-PCB (coplanar PCB, コプラナPCB)

共平面構造型塩化ビフェニル。ここでは塩化ビフェニルのオルト位に塩素が配位していないか、または1つあるいは2つ配位している化合物の内、14種を規定する。

(8)non-ortho CB

オルト位非塩素置換型塩化ビフェニル。ここでは塩化ビフェニルのオルト位に塩素が配位していない化合物の内、4種を規定する。

(9)mono-ortho CB

オルト位1塩素置換型塩化ビフェニル。ここでは塩化ビフェニルのオルト位に塩素が1つ配位している化合物の内、8種を規定する。

(10)di-ortho CB

オルト位2塩素置換型塩化ビフェニル。ここでは塩化ビフェニルのオルト位に塩素が2つ配位している化合物の内、2種を規定する。

2. 標準物質及び内標準物質（本文4.2.23及び4.2.25に該当，p8及び9）

表-参考-1及び2に示す標準物質及び内標準物質から目的に応じて使用する。

表-参考-1. 測定に用いる標準物質。（本文 表-2. に該当p9）

<i>ortho</i> 位置	PCBs 化合物名	IUPAC No. (BZ No.)
<i>non-ortho</i> CBs	<sup>12</sup> C <sub>12</sub> -3, 3', 4, 4'-T <sub>4</sub> CB	77
	<sup>12</sup> C <sub>12</sub> -3, 4, 4', 5-T <sub>4</sub> CB	81
	<sup>12</sup> C <sub>12</sub> -3, 3', 4, 4', 5-P <sub>5</sub> CB	126
	<sup>12</sup> C <sub>12</sub> -3, 3', 4, 4', 5, 5'-H <sub>6</sub> CB	169
<i>mono-ortho</i> CBs	<sup>12</sup> C <sub>12</sub> -2, 3, 3', 4, 4'-P <sub>5</sub> CB	105
	<sup>12</sup> C <sub>12</sub> -2, 3, 4, 4', 5-P <sub>5</sub> CB	114
	<sup>12</sup> C <sub>12</sub> -2, 3', 4, 4', 5-P <sub>5</sub> CB	118
	<sup>12</sup> C <sub>12</sub> -2', 3, 4, 4', 5-P <sub>5</sub> CB	123
	<sup>12</sup> C <sub>12</sub> -2, 3, 3', 4, 4', 5-H <sub>6</sub> CB	156
	<sup>12</sup> C <sub>12</sub> -2, 3, 3', 4, 4', 5'-H <sub>6</sub> CB	157
	<sup>12</sup> C <sub>12</sub> -2, 3', 4, 4', 5, 5'-H <sub>6</sub> CB	167
	<sup>12</sup> C <sub>12</sub> -2, 3, 3', 4, 4', 5, 5'-H <sub>7</sub> CB	189
<i>di-ortho</i> CBs	<sup>12</sup> C <sub>12</sub> -2, 2', 3, 3', 4, 4', 5-H <sub>7</sub> CB	170
	<sup>12</sup> C <sub>12</sub> -2, 2', 3, 4, 4', 5, 5'-H <sub>7</sub> CB	180

表-参考-2. 内標準物質の例。（本文 表-3. に該当p10）

<i>ortho</i> 位置	PCBs 化合物名
<i>non-ortho</i> CBs	<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -3, 3', 4, 4'-T <sub>4</sub> CB
	<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -3, 4, 4', 5-T <sub>4</sub> CB
	<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -3, 3', 4, 4', 5-P <sub>5</sub> CB
	<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -3, 3', 4, 4', 5, 5'-H <sub>6</sub> CB
<i>mono-ortho</i> CBs	<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -2, 3, 3', 4, 4'-P <sub>5</sub> CB
	<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -2, 3, 4, 4', 5-P <sub>5</sub> CB
	<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -2, 3', 4, 4', 5-P <sub>5</sub> CB
	<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -2', 3, 4, 4', 5-P <sub>5</sub> CB
	<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -2, 3, 3', 4, 4', 5-H <sub>6</sub> CB
	<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -2, 3, 3', 4, 4', 5'-H <sub>6</sub> CB
	<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -2, 3', 4, 4', 5, 5'-H <sub>6</sub> CB
	<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -2, 3, 3', 4, 4', 5, 5'-H <sub>7</sub> CB
<i>di-ortho</i> CBs	<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -2, 2', 3, 3', 4, 4', 5-H <sub>7</sub> CB
	<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -2, 2', 3, 4, 4', 5, 5'-H <sub>7</sub> CB

(注) *non-ortho* CBsについては4種全てを用いること。

*mono-ortho* CBs, *di-ortho* CBsについては各塩素数毎に1種類以上を選択すること。

### 3. アルミナカラムクロマトグラフィー（本文4.5.3.2に該当p13）

- (1)アルミナカラムクロマト管のn-ヘキサン液面を硫酸ナトリウム層まで下げ、本文『4.5.2 カラムクロマトグラフィー』で調製した試料を静かに移し入れ、少量のn-ヘキサンで洗い込み、液面を無水硫酸ナトリウム層まで下げる。
- (2)2%ジクロロメタン含有n-ヘキサン溶液100mlを流速2.5mL/minで流し、第1画分を得る。更にジクロロメタン-n-ヘキサン（1:1v/v）溶液150mlを流速2.5mL/minで流し、第2画分を得る。第2画分にダイオキシン類及びノンオルトPCBsが含まれる<sup>21</sup>。
- (3)第2画分をロータリーエバポレーターで濃縮し、更に窒素吹き付けにより濃縮し、n-デカン20～100μLに転溶してGC/MS分析用溶液とする。

### 4. GC/MSの分析条件の設定と機器の調整（本文4.6.1に該当p14）

#### (1)ガスクロマトグラフ（GC）

測定対象物質：コプラナ-PCB

溶融シリカキャピラリーカラム：DB-5、HT8等

内径：0.22mm、長さ：50m、液層膜厚 0.25μm等

カラム温度：130℃(1.0min間保持)→(20℃/min昇温)→

→220℃(0min間保持)→(5℃/min昇温)→300℃(保持)

注入口温度：280℃

注入方法：スプリットレス(スプリット保持時間：60-90sec)

#### (2)質量分析計（MS）

分解能：10,000以上(10%谷)

イオン化法：電子衝撃イオン化(EI)法

イオン化電圧：25-70eV

イオン化電流：500-1000μA

イオン源温度：280-300℃<sup>22</sup>

(3)キャリアーガス：ヘリウム(25psi)

(4)検出法：ロックマス方式によるSIM検出法

<sup>21</sup> モノオルト及びジオルトPCBsはアルミナカラムに試料を移し入れた後、n-ヘキサン30～40mLで洗浄し、5%(V/V)ジクロロメタン含有n-ヘキサン120mLにて溶出する。

<sup>22</sup> 使用するキャピラリーカラムの使用上限温度に注意する。

5. 試料の測定 (SIM検出) (本文4.6.3に該当p16)

表-参考-3に測定質量数の例を示す。また、表-参考-4にPCBsの塩素同位体の理論天然存在比を示す。これらを参考に、適宜決定する。

表-参考-3. 測定質量数の例. (本文 表-4. に該当p17)

ここで示した質量数に関する有効桁数は本方法で設定する質量分析計の分解能と意味ある関係を持つものではない。

塩素置換体	M	M+2	M+4
T <sub>4</sub> CBs	289.9224**	291.9194*	293.9165
P <sub>5</sub> CBs	323.8834	325.8804*	327.8775**
H <sub>6</sub> CBs	357.8444	359.8415*	361.8385**
H <sub>7</sub> CBs	391.8054	393.8025*	395.7995**
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -T <sub>4</sub> CBs	301.9626**	303.9597*	305.9567
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -P <sub>5</sub> CBs	335.9236	337.9207*	339.9177**
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -H <sub>6</sub> CBs	369.8847	371.8817*	373.8788**
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -H <sub>7</sub> CBs	403.8457	405.8428*	407.8398**

\* : 存在比が最も高い塩素同位体の質量数

\*\* : 存在比が2番目に高い塩素同位体の質量数

表-参考-4. コプラナPCBsの塩素同位体の理論天然存在比. (本文 表-5. に該当p18)

各塩素数毎に存在比が最も高い質量数の存在比を100として示してある。

塩素置換体	M	M+2	M+4	M+6	M+8	M+10
T <sub>4</sub> CBs	76.67	100.00	49.11	10.83	0.93	
P <sub>5</sub> CBs	61.42	100.00	65.29	21.43	3.56	
H <sub>6</sub> CBs	51.22	100.00	81.48	35.51	8.75	1.17
H <sub>7</sub> CBs	43.93	100.00	97.67	53.09	17.38	3.43

6. 濃度の算出 (本文4.6.5に該当p19)

濃度の算出は表-参考-5に示す毒性等価係数を利用し、毒性等量を算出する。コプラナ PCBs測定分析結果の表記例を表-参考-6に示す。

表-参考-5(1) 毒性等価係数  
(TEF WHO/IPCS, 1993)

コプラナPCBs	IUPAC No.	WHO-TEF
3,3',4,4'-T <sub>4</sub> CB	# 77	0.0005
3,3',4,4',5-P <sub>5</sub> CB	#126	0.1
3,3',4,4',5,5'-H <sub>6</sub> CB	#169	0.01
2,3,3',4,4'-P <sub>5</sub> CB	#105	0.0001
2,3,4,4',5-P <sub>5</sub> CB	#114	0.0005
2,3',4,4',5-P <sub>5</sub> CB	#118	0.0001
2',3,4,4',5-P <sub>5</sub> CB	#123	0.0001
2,3,3',4,4',5-H <sub>6</sub> CB	#156	0.0005
2,3,3',4,4',5'-H <sub>6</sub> CB	#157	0.0005
2,3',4,4',5,5'-H <sub>6</sub> CB	#167	0.00001
2,3,3',4,4',5,5'-H <sub>7</sub> CB	#189	0.0001
2,2',3,3',4,4',5-H <sub>7</sub> CB	#170	0.0001
2,2',3,4,4',5,5'-H <sub>7</sub> CB	#180	0.00001

表-参考-5(2) (参考) 毒性等価係数  
(TEF WHO, 1997)

コプラナPCBs	IUPAC No.	WHO-TEF
3,3',4,4'-T <sub>4</sub> CB	# 77	0.0001
3,4,4',5-T <sub>4</sub> CB	# 81	0.0001
3,3',4,4',5-P <sub>5</sub> CB	#126	0.1
3,3',4,4',5,5'-H <sub>6</sub> CB	#169	0.01
2,3,3',4,4'-P <sub>5</sub> CB	#105	0.0001
2,3,4,4',5-P <sub>5</sub> CB	#114	0.0005
2,3',4,4',5-P <sub>5</sub> CB	#118	0.0001
2',3,4,4',5-P <sub>5</sub> CB	#123	0.0001
2,3,3',4,4',5-H <sub>6</sub> CB	#156	0.0005
2,3,3',4,4',5'-H <sub>6</sub> CB	#157	0.0005
2,3',4,4',5,5'-H <sub>6</sub> CB	#167	0.00001
2,3,3',4,4',5,5'-H <sub>7</sub> CB	#189	0.0001

表-参考-6(1). コプラナPCBs測定分析結果の表記例. (TEF:WHO/IPCS, 1993に対応)

	化合物の名称等 IUPAC No.	実測濃度 (pg/g-dry)	毒性等量 (pg-TEQ/g-dry)	
C o p l a n a r C B s	3, 3', 4, 4'-T <sub>4</sub> CB #77		x 0.0005	
	3, 3', 4, 4', 5-P <sub>5</sub> CB #126		x 0.1	
	3, 3', 4, 4', 5, 5'-H <sub>6</sub> CB #169		x 0.01	
	non-ortho CBs		—	
	2, 3, 3', 4, 4'-P <sub>5</sub> CB #105		x 0.0001	
	2, 3, 4, 4', 5-P <sub>5</sub> CB #114		x 0.0005	
	2, 3', 4, 4', 5-P <sub>5</sub> CB #118		x 0.0001	
	2', 3, 4, 4', 5-P <sub>5</sub> CB #123		x 0.0001	
	2, 3, 3', 4, 4', 5-H <sub>6</sub> CB #156		x 0.0005	
	2, 3, 3', 4, 4', 5'-H <sub>6</sub> CB #157		x 0.0005	
	2, 3', 4, 4', 5, 5'-H <sub>6</sub> CB #167		x 0.00001	
	2, 3, 3', 4, 4', 5, 5'-H <sub>7</sub> CB #189		x 0.0001	
	mono-ortho CBs		—	
	2, 2', 3, 3', 4, 4', 5-H <sub>7</sub> CB #170		x 0.0001	
	2, 2', 3, 4, 4', 5, 5'-H <sub>7</sub> CB #180		x 0.00001	
	di-ortho CBs		—	
	Total Coplanar CBs			

備考 1. N. D. : 定量下限値未満を示す.

2. 定量下限値 : T<sub>4</sub>CB ; 0.1pg/g, P<sub>5</sub>CB ; 0.1pg/g, H<sub>6</sub>CB ; 0.1pg/g, H<sub>7</sub>CB ; 0.1pg/g

表-参考-6(2). (参考) コプラナPCBs測定分析結果の表記例. (TEF:WHO/IPCS, 1997に対応)

	化合物の名称等 IUPAC No.	実測濃度 (pg/g-dry)	毒性等量 (pg-TEQ/g-dry)
C o p l a n a r	3, 3', 4, 4'-T <sub>4</sub> CB #77		x 0.0001
	3, 4, 4', 5-T <sub>4</sub> CB #81		x 0.0001
	3, 3', 4, 4', 5-P <sub>5</sub> CB #126		x 0.1
	3, 3', 4, 4', 5, 5'-H <sub>6</sub> CB #169		x 0.01
	non-ortho CBs		-
	2, 3, 3', 4, 4'-P <sub>5</sub> CB #105		x 0.0001
	2, 3, 4, 4', 5-P <sub>5</sub> CB #114		x 0.0005
	2, 3', 4, 4', 5-P <sub>5</sub> CB #118		x 0.0001
	2', 3, 4, 4', 5-P <sub>5</sub> CB #123		x 0.0001
	2, 3, 3', 4, 4', 5-H <sub>6</sub> CB #156		x 0.0005
2, 3, 3', 4, 4', 5'-H <sub>6</sub> CB #157		x 0.0005	
2, 3', 4, 4', 5, 5'-H <sub>6</sub> CB #167		x 0.00001	
2, 3, 3', 4, 4', 5, 5'-H <sub>7</sub> CB #189		x 0.0001	
mono-ortho CBs		-	
Total Coplanar CBs			

備考 1. N. D. : 定量下限値未滿を示す.

2. 定量下限値: T<sub>4</sub>CB ; 0.1pg/g, P<sub>5</sub>CB ; 0.1pg/g, H<sub>6</sub>CB ; 0.1pg/g, H<sub>7</sub>CB ; 0.1pg/g

7. 定量下限値 (本文4.6.6に該当p22)

表-参考-7にコプラナPCBsの定量下限値を示す. 単位は乾燥重量あたりとする.

表-参考-7. コプラナPCBsの定量下限値.

(本文 表-8. に該当p22)

単位は湿重量あたり.

	T <sub>4</sub> CB, P <sub>5</sub> CB, H <sub>6</sub> CB, H <sub>7</sub> CB
定量下限値	0.1pg/g



## (参考-Ⅱ) 調査対象生物の生態的特徴

調査対象生物としては本文表-1に示す種類が適していると考えられる。水生植物や海藻類等の一次生産者については、ダイオキシンの蓄積機構、体内濃度等がほとんど研究されていないため、今回の調査対象生物の選定からは除外した。

それぞれの調査対象生物の生態的特徴を表-参考-8及び9に示す。なお、調査対象種が採捕できなかった場合は、表-参考-8及び9に示す代替種をもって分析検体としてもよい。

表-参考-8. 河川及び湖沼の調査対象生物の生態的特徴.

分類群	生物名	分布	生息域				湖沼	食性	寿命	成熟サイズ	代替種
			上流	中流	下流	河口					
魚類	カハク	北海道・沖縄を除く日本各地		○	○		○	付着藻類, 水生昆虫, 底生動物	3年	12cm <	カハク
	ウグイ	沖縄を除く日本各地	○	○	○	○	水生昆虫, 底生動物, 魚類, 付着藻類, 生物遺骸	4年以上	12cm <	カハク, エビ, ウグイ	
	コイ	日本各地		○	○	○	底生動物, 付着藻類, 水生植物	20年	25cm <		
	サケ類	日本各地		○	○		底生動物, 付着藻類, 動物プランクトン	10年	15cm <		
甲殻類	カサガサ	日本各地			○	○	魚類, 甲殻類	15年	30cm <		
	サマ	日本各地		○	○	○	底生動物, 付着藻類	1~2年	3cm <	サマ, サマノリ	
	アサギ	北海道を除く日本各地		○	○	○	底生動物, 生物遺骸, 魚類	2年以上	6cm <	アサギ	
貝類	カサガサ	日本各地	○	○	○	○	付着藻類, 生物遺骸	1~2年	-	カサガサ, カサガサ	
	カサガサ	日本各地	○	○	○	○	付着藻類	-	-	カサガサ	
貝類	カサガサ	日本各地			○	○	植物プランクトン	-	12mm <	カサガサ	

注) 成熟サイズの数値は、魚類は標準体長、甲殻類(ガサミを除く)は体長、ガサミは甲幅、貝類は殻長を示す。

表-参考-9. 海域の調査対象生物の生態的特徴.

分類群	生物名	分布	生息域			食性	寿命	成熟サイズ	代替種
			河口	内湾	外洋				
魚類	コノロ	北海道, 沖縄を除く日本各地	○	○		動物プランクトン	3年	15cm<	サハハ, トロコイ, リウキョウトロコイ
	ボラ	日本各地	○	○	○	底生藻類, 底生動物	6年	50cm<	セズボラ, メナダ, フウライボラ, タイソメナダ
	スズキ	日本各地	○	○	○	魚類, 甲殻類, 底生動物	8年以上	40cm<	ヒラスズキ
	マサト	沖縄を除く日本各地	○	○		底生動物, 甲殻類	2年以上	8cm<	
	マコサレイ	沖縄を除く日本各地	○	○	○	底生動物, 甲殻類	3年以上	20cm<	マカレイ, イシカレイ
甲殻類	ガザミ	日本各地	○	○	○	生物遺骸, 魚類	2~3年	13cm<	ノコギリガザミ, シャンノガザミ, タイソガザミ, イシガニ
	シロコ	日本各地		○		生物遺骸, 底生動物	2~3年	10cm<	セズシロコ, スズメシロコ, 林ナリシロコ
貝類	ムラサキガイ	沖縄を除く日本各地		○	○	植物プランクトン	5年以上	18mm<	
	マガキ	沖縄を除く日本各地		○	○	植物プランクトン	-	-	イワガキ, オホダロガキ
	アサリ	沖縄を除く日本各地	○	○		植物プランクトン	-	15mm<	ヒメアサリ
頭足類	スサガイ	沖縄を除く日本各地			○	動物プランクトン, 甲殻類, 魚類	1年	25cm<	ササガイ, アサガイ
	マダコ	福島・富山以南		○		甲殻類, 魚類, 貝類	2~3年	-	ミスダコ

注) 成熟サイズの数値は、魚類は標準体長、甲殻類（ガザミを除く）は体長、ガザミは甲幅、貝類は殻長、頭足類は外套長を示す。