

平成10年度環境測定分析統一精度管理調査
実施要領

- ダイオキシン類 -

1. 調査目的

本調査は、環境測定分析に従事する諸機関が、均一に調製された環境試料を指定された方法又は、任意の方法により分析することによって得られる結果と前処理条件、測定機器の使用条件等との関係その他分析実施上の具体的な問題点等の調査を行うことにより、全国の分析機関におけるデータのばらつきの程度に関する実態を把握し、参加機関の分析者が自己の技術を客観的に認識して、環境測定分析技術の一層の向上を図る契機とするとともに、各分析法についての得失を明らかにして、分析手法、分析技術の改善を図り、もって、環境測定分析の精度の向上を図り、環境測定データの信頼性の確保に資することを目的とする。

2. 分析対象項目

試料中のダイオキシン類を測定対象とし、次に示す異性体と同族体を測定する。

・異性体については、2,3,7,8-位塩素置換異性体(17異性体)とする。

・同族体については、四塩化物から八塩化物の各同族体とそれらの総和とする。

なお、2,3,7,8-位塩素置換異性体(17異性体)とは、PCDDs 7項目(2,3,7,8-T₄CDD、1,2,3,7,8-P₅CDD、1,2,3,4,7,8-H₆CDD、1,2,3,6,7,8-H₆CDD、1,2,3,7,8,9-H₆CDD、1,2,3,4,6,7,8-H₇CDD及び1,2,3,4,6,7,8,9-0₈CDD)及びPCDFs 10項目(2,3,7,8-T₄CDF、1,2,3,7,8-P₅CDF、2,3,4,7,8-P₅CDF、1,2,3,4,7,8-H₆CDF、1,2,3,6,7,8-H₆CDF、1,2,3,7,8,9-H₆CDF、2,3,4,6,7,8-H₆CDF、1,2,3,4,6,7,8-H₇CDF、1,2,3,4,7,8,9-H₇CDF及び1,2,3,4,6,7,8,9-0₈CDF)である。

3 . 共通試料の概要

区分	名 称	送付量	容 器	個数	備 考
共通試料 1	ばいじん試料	約 10 g	ガラスビン (27 × 55mm)	1	焼却炉 E P 灰で、 100meshのふるい を通過したもの
共通試料 2	底質試料	約 30 g	ガラスビン (35 × 78mm)	1	乾燥した底質 で、100meshのふ るいを通過した もの

4 . 分析方法

共通試料 1 については、「有害大気汚染物質測定方法マニュアル」(平成 9 年 10 月。以下、「大気測定マニュアル」という)等に準じて分析する。

共通試料 2 については、「ダイオキシン類に係る底質調査暫定マニュアル」(平成 10 年 7 月。以下、「底質測定マニュアル」という)等に準じて分析する。

なお、以上の方法から作成した添付の「平成 10 年度環境測定分析統一精度管理調査参考方法」により分析して報告してもよい。

【分析方法の概要】

分析方法	ダイオキシン類
溶媒抽出-ガスクロマトグラフ質量分析法	

注) : 大気測定マニュアル又は底質測定マニュアルの方法

5 . 分析実施上の注意

(1) 試料到着後、直ちに測定できない場合は、シリカゲル・デシケータ等の乾燥条件で保存し、はかり取り量の有効数字が 3 桁保証できる天秤を用いて分析用の試料

をはかり取る。共通試料1（ばいじん試料）中のダイオキシン類濃度は数～百ng-TEQ/g、共通試料2（底質試料）は数十～数百pg-TEQ/gと想定されます。送付した試料量には限りがあるので、試料のはかり取り量については、共通試料1は1g程度以下、共通試料2は10g程度以下とすると良い。

なお、試料は均一として乾燥状態で送付しているため、均質化の操作及び乾燥の操作は行わない。

(2) 分析結果は、「大気測定マニュアル」及び「底質測定マニュアル」に準じて、次のとおり報告する。

ばいじんについては、試料1g当たりのng (ng/g)として報告する。なお、分析結果は、水分補正を行わない。

底質については、試料1g当たりのpg (pg/g)として報告する。なお、分析結果は、水分補正を行わない。

(3) 分析にあたっては、試薬、器具等からの汚染に十分注意して行う。

6. 報告書記入にあたっての留意点

(以下に示す番号、 、 、 、 、 、 は報告書中の回答欄番号)

- ・ *印の欄には記入しない。
- ・ 添付のフロシート例を参考として、次の点に留意して報告書[1]～報告書[4]に記入すること。

ISO9001等の認証を得ているかどうか、平成10年7月1日時点で記入する。

「分析主担当者氏名」欄は、実際にその項目の分析を手がけた人の氏名（複数で分析を行った場合は主として実施した人の氏名）を記入する。また、「分析に関わった人数」欄は、分析用試料の計り取りからGC/MSの測定までの一連の操作を手がけた人数を記入する。

「分析主担当者の経験年数」欄には分析主担当者のダイオキシン類の分析業務経験年数を記入する。

「分析主担当者の実績（検体数）」欄は、分析主担当者が昨年度（平成9年度）に分析を行ったダイオキシン類のおよその検体数を記入する。

「測定回数」はn（整数）を記入する。「測定回数」とは、分析用試料の計り取りからGC/MSの測定までの一連の操作を行った回数である。

「分析結果」は、有効数字2桁（有効数字3桁目を四捨五入する）で表

示する。2回以上の測定を行った場合には、平均値を記入する。

(ただし、不検出の場合は検出限界値(例：<)を示すこと)

3回以上の測定を行った場合には「標準偏差」欄に次式で計算した結果を有効数字2桁で表示する。

$$\text{標準偏差} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

ただし、 x_i は分析結果

\bar{x} は平均値

n は測定回数

以降は、2回以上の測定を行った場合には、それらの中から代表となる一例を選び、その測定について必要事項を記入欄に記入する。

- ① 抽出等の前処理操作の条件について、記入する。
- ② クリーンアップ操作の条件について、記入する。
- ③ GC/MSの分析の条件について、記入する。
- ④⑤ 使用した内標準物質について、添加量 (ng) 及び回収率 (%) をサンプルスパイク又はクリーンアップスパイク、シリンジスパイク別に別紙1に記入する。
- ⑥ 空試験値 (操作ブランク) について、別紙2に記入する。ばいじんについては分析結果と同様に、試料1g当たりのng (ng/g) として記入する。底質については分析結果と同様に、試料1g当たりのpg (pg/g) として記入する。
- ⑦⑧ 定量下限値及び検出下限値について別紙2に記入する。ばいじんについては分析結果と同様に、試料1g当たりのng (ng/g) として記入する。底質については分析結果と同様に、試料1g当たりのpg (pg/g) として記入する。
- ⑨ 相対感度係数を求め、別紙2に記入する。

・ 質問のうち、番号はそのうちのひとつを選び、()内には具体的に記入する。

- ・ 分析フローシート及び報告書用紙は、「参考方法」の内容を考慮して作成してあるので、それ以外の方法を用いる場合には報告書[1]～報告書[4]とは別に、フローシートを作成する(添付のフローシートを参考として、作成する)。

7. 提出報告書等

報告書[1](ばいじん試料の分析結果) 1枚
報告書[2](ばいじん試料の分析条件等①～④) 5枚
報告書[3](底質試料の分析結果) 1枚
報告書[4](底質試料の分析条件等①～④) 5枚
代表的なSIMクロマトグラム
検量線
分析フローシート(「参考方法」と異なる方法を用いた場合)

8. 報告書の提出期限

平成11年2月15日(月)(必着)

9. 提出書類の送り先及び本調査に対する問合せ先

〒210-0828 川崎市川崎区四谷上町10-6
(財)日本環境衛生センター 環境科学部環境対策課
TEL 044(288)5132 担当者 柏平、西尾

(底質試料に関する分析フローシートの例)

< ① 前処理 >

試料の分取

内標準 (クリーンアップ°スパイク) ①
トルエン

ソックレ-抽出 16時間

ろ過

抽出液

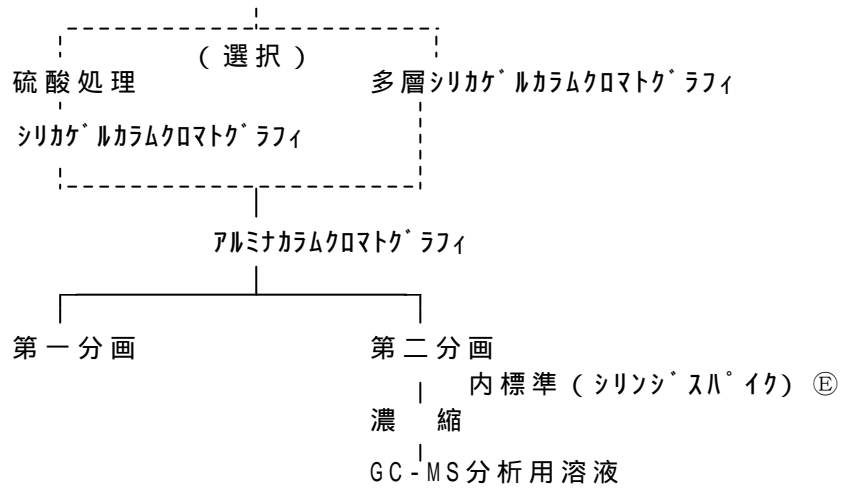
定容

分取

濃縮

< ② クリーンアップ >

濃縮液 (抽出液)



< ③ 分析 >

GC-MS分析用溶液

定量

平成10年度環境測定分析統一精度管理調査参考方法

- ダイオキシン類 -

1. ばいじん試料

(1) 試薬

【ヘキサン、メタノール、アセトン、トルエン、ジクロロメタン】

残留農薬試験用又は残留PCB試験用に用いるもの。分析時の濃縮倍数に応じて濃縮したものの1 μ lをGC-MSに注入したとき、ダイオキシン類の標準物質及び内標準物質のクロマトグラムに妨害を生じないもの。

【ノナン、デカン、イソオクタン】

試薬特級。分析時の濃縮倍数に応じて濃縮したものの1 μ lをGC-MSに注入したとき、ダイオキシン類の標準物質及び内標準物質のクロマトグラムに妨害を生じないもの。

【ヘキサン洗浄水】

蒸留水をヘキサンの十分洗浄したもの。

【硫酸、塩酸】

試薬特級又は同等以上のもの。

【無水硫酸ナトリウム】

残留農薬試験用又は残留PCB試験用に用いるもの。

【水酸化カリウム、硝酸銀】

試薬特級。

【シリカゲル】

カラムクロマトグラフィ用シリカゲル(ワコーゲルS-1(PCB分析用)0.063~0.200mm、70~100mesh)(和光純薬工業)(備考1)をメタノール洗浄後、ビーカーに入れ、層の厚さを10mm以下にして130 $^{\circ}$ Cで約18時間乾燥した後、デシケータ内で30分放冷したもの。

【2%水酸化カリウム被覆シリカゲル】(以下、水酸化カリウムシリカゲルという)

シリカゲルに1mol/l水酸化カリウム水溶液を2%(w/w)になるように加え、ロータリーエバポレータで約50 $^{\circ}$ Cで減圧脱水し、水分のほとんどが除去された後、80 $^{\circ}$ Cでさらに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。

【44%及び22%硫酸被覆シリカゲル】(以下、硫酸シリカゲルという)

シリカゲルに硫酸を44%及び22%(w/w)になるように添加後、十分振とうし粉末にしたもの。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。

【10%硝酸銀被覆シリカゲル】(以下、硝酸銀シリカゲルという)

シリカゲル1gあたりに40%(w/w)硝酸銀(試薬特級)水溶液を0.25mℓ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。

【アルミナ】

カラムクロマトグラフィ用アルミナ(Aluminium oxide 90(塩基性、活性度1)70~230mesh(メルク製)(備考1)。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が、保存期間や保存状態により活性度が著しく異なるので、活性化した方がよい。活性化する場合には、ピーカーに層の厚さを10mm以下にして入れ130で約18時間乾燥、もしくは、シャーレに層の厚さを約5mm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中に保存する。

【標準物質】

内標準法によるダイオキシン類の同定及び定量に使用する標準物質は、表1のものを使用する。

【標準溶液】

市販の混合溶液を用いて検量線作成に応じてトルエンで希釈したものを用意する。

【内標準物質】

$^{13}\text{C}_{12}$ 又は $^{37}\text{Cl}_4$ でラベルされたPCDDs又はPCDFsを用いる(表2を参照)⁽¹⁾。

【内標準溶液】

市販の混合溶液を用いて、内標準として添加する量及び検量線作成に応じてトルエンで希釈したものを用意する。

表 1 ダイオキシン類の標準物質

	P C D D s	P C D F s
四塩化物	2,3,7,8-T ₄ CDD	2,3,7,8-T ₄ CDF
五塩化物	1,2,3,7,8-P ₅ CDD	1,2,3,7,8-P ₅ CDF 2,3,4,7,8-P ₅ CDF
六塩化物	1,2,3,4,7,8-H ₆ CDD 1,2,3,6,7,8-H ₆ CDD 1,2,3,7,8,9-H ₆ CDD	1,2,3,4,7,8-H ₆ CDF 1,2,3,6,7,8-H ₆ CDF 1,2,3,7,8,9-H ₆ CDF 2,3,4,6,7,8-H ₆ CDF
七塩化物	1,2,3,4,6,7,8-H ₇ CDD	1,2,3,4,6,7,8-H ₇ CDF 1,2,3,4,7,8,9-H ₇ CDF
八塩化物	1,2,3,4,6,7,8,9-O ₈ CDD	1,2,3,4,6,7,8,9-O ₈ CDF

表 2 ダイオキシン類の内標準物質の例

	P C D D s	P C D F s
四塩化物	¹³ C ₁₂ -1,2,3,4-T ₄ CDD ¹³ C ₁₂ -2,3,7,8-T ₄ CDD ³⁷ Cl ₄ -2,3,7,8-T ₄ CDD	¹³ C ₁₂ -2,3,7,8-T ₄ CDF
五塩化物	¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8-P ₅ CDD	¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8-P ₅ CDF ¹³ C ₁₂ -2,3,4,7,8-P ₅ CDF
六塩化物	¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8-H ₆ CDD ¹³ C ₁₂ -1,2,3,6,7,8-H ₆ CDD ¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8,9-H ₆ CDD	¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8-H ₆ CDF ¹³ C ₁₂ -1,2,3,6,7,8-H ₆ CDF ¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8,9-H ₆ CDF ¹³ C ₁₂ -2,3,4,6,7,8-H ₆ CDF
七塩化物	¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6,7,8-H ₇ CDD	¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6,7,8-H ₇ CDF ¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8,9-H ₇ CDF
八塩化物	¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6,7,8,9-O ₈ CDD	¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6,7,8,9-O ₈ CDF

注(1)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異性体を用いる。
定量用の内標準物質としてすべ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が、少なくとも各塩素数ごとに最低1種類ずつ添加する。

しかし、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。

(備考1)ここに示す商品は、このマニュアルの使用者の便宜のために、一般に入手できるものとして掲げたが、これを推奨するものではない。これと同等以上の品質、性能のものを用いてもよい。

(2) 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。器具の組み立てにはグリースを使用してはならない。

【シリカゲルカラムクロマト管】

内径10mm、長さ300mmのカラムクロマト管に活性化したシリカゲル3gをヘキサンで湿式充てんし、その上に無水硫酸ナトリウムを約10mm積層したもの⁽²⁾。ヘキサンで充てん物を十分洗浄する。

【多層シリカゲルカラムクロマト管】

内径15mm、長さ300mmの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及び無水硫酸ナトリウム6gを順次充てんし、多層シリカゲルカラムを作製する⁽²⁾。ヘキサンで充てん物を十分洗浄する。

【アルミナカラムクロマト管】

内径10mm、長さ300mmのカラムクロマト管に活性化済みアルミナ10gをヘキサンで湿式充てんし、その上に無水硫酸ナトリウムを約10mm積層したもの⁽²⁾。ヘキサンで充てん物を十分洗浄する。

【濃縮器】

クデルナ-ダニッシュ(KD)濃縮器又はロータリーエバポレーター。

【ガスクロマトグラフ質量分析装置(GC-MS)】

二重収束形の質量分析計を用いる高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計(HRGC-HRMS)で、2,3,7,8-TCDD 0.2pg以下までの測定感度を有するもの。

(a)カラム恒温槽

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

(b)キャピラリーカラム

内径0.25~0.32mm、長さ25~60mの溶融シリカ製のものであって、内面にシア

ノプロピル系の強極性の液体を被覆したものの、又はこれと同等の分離性能を有するもの⁽³⁾。

(c)検出器 (MS)

二重収束形のもので分解能(10000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 に保つことができ、電子衝撃イオン化法(以下、EI法という)が可能で、イオン化電圧が35~70V程度のものである。

検出法として選択イオン検出法(以下、SIM法という)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。

(d)試料導入部

試料の全量を再現性良く導入できるもの(スプリットレス又はオンカラム方式)。

(e)キャリアーガス

高純度ヘリウム(純度99.999%以上)

注(2)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分画試験を行って決めなければならない。

注(3)2,3,7,8-位塩素置換異性体を含む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。SP-2331(スペルコ社製)、HP-5(HP社製)、DB-17(J&W社製)等がある(備考1)。

(3) 操作

1) 前処理

試料の適量をはかりとり、20mmol-H⁺/g-sample以上の2mol/l塩酸を加え、時々かくはんしながら発泡を確認しつつ約1時間放置する。次に、ブフナー漏斗等でろ過し、ヘキサン洗浄水で十分に洗浄後、水分をさらに少量のメタノール⁽⁴⁾で除き、これをシャーレー等に移し風乾する⁽⁵⁾。乾燥した固形物は、トルエンで16時間以上ソックスレ抽出を行う⁽⁶⁾。塩酸溶液及びメタノール洗浄液は、ジクロロメタンによる液・液振とう抽出を行い、ソックスレ抽出液と合わせた後、定容とする。

その適量を分取して、クリーンアップスパイクとして内標準物質⁽⁷⁾をT₄CDD~H₇CDD及びT₄CDF~H₇CDFでは0.2~1 ng、O₈CDD及びO₈CDFでは0.4~2 ng添加し、濃縮器で5ml程度に濃縮する。次いで窒素気流⁽⁸⁾によりトルエンを除去し、最終液量0.5ml程度にしたものを硫酸処理又は多層シリカゲルカラムクロマトグラフィの試

料とする。

別に、空試験も同様に操作して抽出する。

注(4)アセトンを用いても良い。

注(5)風乾の操作においては、試料中のダイオキシン類の揮散や汚染を最小限に抑えよう注意深く行う。

注(6)ソックスレ抽出においては試料中に残存する水分の影響で抽出効率が悪くなる恐れがあるので、水分の適切な除去を行い抽出すること。また、ソックスレ/ディーンスターク型抽出器を用いる方法(EPA Method 1613等参照)も推奨される。

注(7)クリーンアップスパイクの内標準物質は、少なくとも各塩素数ごとに2,3,7,8-塩素置換体を最低1種類ずつ添加する。シリンジスパイクとは別の異性体を用いる。

注(8)窒素気流による濃縮作業によって溶液が飛散しないように、また、完全に乾固させないように注意する。

2) クリーンアップ

(1) 硫酸処理

(ア)1)の抽出液を分液漏斗(300mℓ)にヘキサン50~150mℓで洗い込みながら移し入れ、濃硫酸を適量加え、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3~4回繰り返す⁽⁹⁾。

(イ)ヘキサン層をヘキサン洗浄水50mℓで3~4回洗浄し、ほぼ中性になったら、無水硫酸ナトリウムで脱水後、濃縮器で約5mℓに濃縮し、窒素気流により最終溶液100μℓとし、これにヘキサン約2mℓ加えたものをシリカゲルカラムクロマトグラフィの試料液とする。

(ウ)空試験用の抽出液も同様に操作してシリカゲルカラムクロマトグラフィの試料液とする。

(2) シリカゲルカラムクロマトグラフィ

(ア)シリカゲルクロマト管の液面を無水硫酸ナトリウムまで下げ、(1)で調製した試料液を静かに移し入れ、少量のヘキサンで洗い込み、液面を無水硫酸ナトリウムまで下げ、ヘキサン150mℓで2.5mℓ/min(每秒1滴程度)の速度でゆっくり溶出する。

(イ)溶出液は濃縮器で約5mℓに濃縮し、アルミナカラムクロマトグラフィの試料液とする。

(ウ)空試験用の試料液も同様に操作してアルミナカラムクロマトグラフィの試料液とする。

(3)多層シリカゲルカラムクロマトグラフィ⁽¹⁰⁾

- (ア)多層シリカゲルカラムをヘキサンで洗浄後、液面を無水硫酸ナトリウムの上
面まで下げる。
- (イ)1)の抽出液をパスツールピペット等でカラムに静かに注ぎ入れ、液面をカ
ラム上端まで下げる。
- (ウ)ヘキサン5mℓ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一度繰り返す。
- (エ)ヘキサン3mℓをカラムに流入した後、ヘキサン120mℓの入った滴下用分液
漏斗をクロマト管の上部に装着し、ヘキサンを2.5mℓ/min(每秒1滴程度)の
速度で流下させる。
- (オ)溶出液を濃縮器で濃縮し、アルミナカラムクロマトグラフィ用の試料液とす
る。充てん部の着色がひどい場合は、同様の操作を繰り返す。
- (カ)空試験用の抽出液も同様に操作してアルミナカラムクロマトグラフィ用の試
料液とする。

(4)アルミナカラムクロマトグラフィ⁽¹¹⁾⁽¹²⁾

- (ア)アルミナカラムクロマト管の液面を無水硫酸ナトリウムまで下げ、(2)又は
(3)で調製した試料液を静かに移し入れ、少量のヘキサンで洗い込み、液面を
無水硫酸ナトリウムまで下げた後、2%(v/v)ジクロロメタン含有ヘキサン
100mℓを2.5mℓ/min(每秒1滴程度)で流して第1画分を得る。この画分にはP C B s
が含まれる。念のためこの画分を保管する。
- (イ)更に50%(v/v)ジクロロメタン含有ヘキサン150mℓを2.5mℓ/minで流して第
2画分を得る。この画分にダイオキシン類が含まれる。
- (ウ)第2画分にシリンジスパイクを検量線作成時と同量添加⁽¹³⁾したものを濃縮
器で約5mℓに濃縮し、更に窒素気流により溶媒を揮散除去した後、ノナン⁽¹⁴⁾
を加え一定量(20~100μℓ)にしたものをGC-M S分析用溶液とする。
- (エ)(2)又は(3)の空試験用の試料液も同様に操作してGC-M S分析用溶液とす
る。

注(9)濃硫酸の添加作業は硫酸と有機物の反応による溶媒の突沸に十分注意し、数
mℓ程度から始め、着色の度合いにより徐々に添加する。また、必ず手袋やマスク
等の保護具を使用すること。

注(10)硫酸処理と同様な効果は硫酸シリカゲルのみを用いた処理で得られるため、
試料によっては多層シリカゲルカラムクロマトグラフィの代わりに22%硫酸シリ

カゲルでも構わない。

注(11)アルミナカラムクロマトグラフィによる方法でGC-M S分析に妨害等の支障をきたす場合には、更にクリーンアップを目的として高速液体クロマトグラフィによる方法、活性炭埋蔵シリカゲルカラムクロマトグラフィによる方法を用いる。

注(12)アルミナの極性は製造ロットや開封後の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、1,3,6,8-T₄CDD及び1,3,6,8-T₄CDF等が第1分画に溶出する。また八塩化物が50%(v/v)ジクロロメタン含有ヘキサンの規定量では第2画分に溶出しない場合もあり、これについても分画試験で確認する。

注(13)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、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。例えば、¹³C₁₂-1,2,3,4-T₄CDD、³⁷Cl₄-2,3,7,8-T₄CDD、¹³C₁₂-1,2,3,4,7,8,9-H₇CDF。

注(14)トルエン、デカン又はイソオクタンを用いてもよい。

3) 分析

(1) GC-M Sの分析条件の設定と機器の調整

GC-M Sの分析条件例。

(ア) ガスクロマトグラフ (GC)

(a) 分析対象物質：T₄CDDs、T₄CDFs、P₅CDFsの同族体及び2,3,7,8-位塩素置換異性体

使用カラム：SP-2331 0.32mm i.d. × 60m、0.2 μm(film)

カラム温度：100 (1.5分保持) (20 /分昇温) 180 (3 /分昇温)
260 (25分保持)

注入口温度：260

注入方法：スプリットレス(90秒)

(b) 分析対象物質：P₅CDDs、H₆CDDs、H₆CDFsの同族体及び2,3,7,8-位塩素置換異性体

使用カラム：SP-2331 0.32mm i.d. × 60m、0.2 μm(film)

カラム温度：100 (1.5分保持) (20 /分昇温) 210 (3 /分昇温)
260 (25分保持)

注入口温度：260

注入方法：スプリットレス(90秒)

(c) 分析対象物質：H₇CDDs、H₇CDFs、O₈CDD、O₈CDFの同族体及び2,3,7,8-位塩素置換異性体

使用カラム：DB-17 0.32mm i.d. × 30m、0.15 μm(film)

カラム温度 : 100 (1.5分保持) (20 /分昇温) 200 (10 /分昇温)
280 (5分保持)

注入口温度 : 280

注入方法 : スプリットレス(90秒)

(イ)質量分析計(MS)

分解能 : 10000以上

イオン化電圧 : 70V

イオン化電流 : 1000 μA

イオン源温度 : 260

(ウ)検出法

SIM検出法(ロックマス方式)

MSに質量校正用標準物質(PFK(ペルフルオロケトン))を導入し、質量校正用プログラムにより、マスパターン、分解能(10,000以上、10% Valley)等を測定目的に応じて所定の値に校正する。質量校正結果は保存する必要がある。

(2)試料の測定(SIM検出)

(ア) 試料と内標準物質の各塩化物毎のモニターイオン及びロックマス用の質量数を設定する(表3参照)。

(イ) PFKガスを流しながらロックマスの応答が安定したら、2)で調製したGC-MS分析用試料液の1~2 μlをGC-MSに注入して、測定を行う。

(ウ) (ア)で設定した各塩化物の質量数についてクロマトグラムを記録し、2つのモニターイオンのピーク面積の比を計算する⁽¹⁵⁾。

(イ) 分析終了後、定量作業に入る前に個々の試料毎にロックマスのモニターチャンネルの確認を行う⁽¹⁶⁾。

(オ) 各塩化物の質量数とそれに対応する内標準物質(クリーンアップスパイク: cs)の質量数のイオンのピーク面積の比を計算し、(3)で求めた対応する相対感度係数(RRFcs)を用いて次式により試料抽出液全量中の各対象塩化物の量(Qs; ng)を算出する⁽¹⁷⁾。

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

Qs : 試料抽出液全量中の各分析対象塩化物の量 (ng)

As : 試料液中の分析対象塩化物のピーク面積

Ai(cs) : 試料液中の内標準物質(クリーンアップスパイク)のピーク面積

Qi(cs) : 内標準物質(クリーンアップスパイク)の添加量 (ng)

(カ) 内標準物質（クリーンアップスパイク）のピーク面積と内標準物質（シリンジスパイク：s s）のピーク面積の比及び対応する相対感度係数（RRFss）を用いて次式により回収率を計算し、クリーンアップの回収率を確認する⁽¹⁸⁾。

$$\text{回収率 (\%)} = \frac{A_i(\text{cs})}{A_i(\text{ss})} \times \frac{Q_i(\text{ss})}{\text{RRFss}} \times \frac{100}{Q_i(\text{cs})}$$

$A_i(\text{ss})$: 試料液中の内標準物質（シリンジスパイク）のピーク面積

$Q_i(\text{ss})$: 内標準物質（シリンジスパイク）の添加量 (ng)

表 3 設定質量数（モニターイオン）の例

	塩素置換体	M^+	$(M+2)^+$	$(M+4)^+$
試料	T ₄ CDDs	319.8965	321.8936	
	P ₅ CDDs	353.8576	355.8546	357.8516*
	H ₆ CDDs		389.8157	391.8127*
	H ₇ CDDs		423.7766	425.7737
	O ₈ CDD		457.7377	459.7348
	T ₄ CDFs	303.9016	305.8987	
	P ₅ CDFs		339.8597	341.8567
	H ₆ CDFs		373.8207	375.8178
	H ₇ CDFs		407.7818	409.7789
	O ₈ CDF		441.7428	443.7399
内標準物質	¹³ C ₁₂ T ₄ CDDs	331.9368	333.9339	
	¹³ C ₁₂ P ₅ CDDs	365.8978	367.8949	369.8919
	¹³ C ₁₂ H ₆ CDDs		401.8559	403.8530
	¹³ C ₁₂ H ₇ CDDs		435.8169	
	¹³ C ₁₂ O ₈ CDD		469.7779	471.7750
	¹³ C ₁₂ T ₄ CDFs	315.9419	317.9389	
	¹³ C ₁₂ P ₅ CDFs		351.9000	353.8970
	¹³ C ₁₂ H ₆ CDFs		385.8610	387.8580
	¹³ C ₁₂ H ₇ CDFs		419.8220	421.8191
	¹³ C ₁₂ O ₈ CDF		453.7830	455.7801
ロックマス用		330.9792	(4,5-塩化物定量用)	
		380.9760	(5,6-塩化物定量用)	
		430.9729	(7,8-塩化物定量用)	
		442.9729	(7,8-塩化物定量用)	

* PCBの妨害を受ける可能性あり

(3) 検量線の作成

(ア)各塩化物に対して0.2ng/ml ~ 1µg/ml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⁽¹⁹⁾。この標準濃度系列には定容前にあらかじめクリーンアップスパイク及びシリンジスパイクとして内標準物質をT₄CDD ~ H₇CDD及びT₄CDF ~ H₇CDFでは0.2 ~ 1 ng、O₈CDD及びO₈CDFでは0.4 ~ 2 ng添加しておく。

(イ)(ア)で調製した標準濃度系列の1 µlをGC-MSに注入し、(2)の操作を行って、各塩化物のクロマトグラムを記録する。

(ウ)標準濃度系列毎に各塩化物の2つの質量数のイオンのピーク面積の強度比を求め、天然存在比とほぼ一致することを確認する⁽¹⁵⁾。

(エ)各塩化物の質量数及び内標準物質の質量数のイオンのピーク面積を求め、各塩化物の対応する内標準物質(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塩化物と内標準物質(クリーンアップスパイク)の濃度の比を用いて検量線を作成し、相対感度係数(RRFcs)を算出する。

また、内標準物質(クリーンアップスパイク)の内標準物質(シリンジスパイク)に対する濃度の比とピーク面積の比を用いて相対感度係数(RRFss)を算出する。

$$R R F = \frac{C_{is}}{C_s} \times \frac{A_s}{A_{is}}$$

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_s : 標準溶液中の分析対象物質のピーク面積

A_{is} : 標準溶液中の内標準物質のピーク面積

(4) 空試験液の測定

2)で調製した空試験用の分析用溶液について(2)の操作を行って、各塩化物の空試験値を測定する。

注(15)SIMクロマトグラム上の2つ以上のモニタイオンのピーク面積比が標準物質のものとほぼ同じであり、同位体の天然存在比に対して±15% (定量下限値近の濃度によっては±25%)以内であれば定量する(表4参照)。

特に2, 3, 7, 8-位塩素置換異性体は、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。

表 4 塩素原子数による同位体ピークの天然存在比

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

Mは最低質量数の同位体

各塩素数毎にそれぞれ最大強度を示すイオンを100%とした値

注(16)ロックマスチャンネルのクロマトグラムが波を打つなどの変動があった場合で、特に分析対象成分の出現位置においてこの現象が認められた場合には、正確にピークを捕らえていない可能性があり大きな精度低下が生じているため、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行い、ロックマスの変動を最小限に抑える必要がある。

注(17)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、各塩化物毎に存在する2,3,7,8-位塩素置換異性体と同じ感度を持つものとして計算する。

注(18)クリーンアップ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粗抽出液から前処理を行い再測定する。

注(19)この濃度範囲は検出下限の値に近い低濃度を含み、GC-MSのダイナミックレンジ内でなければならない。

4) 濃度の表示

(1) 濃度の算出

3) の (2) 及び (4) で得られた結果から、試料中のダイオキシン類の濃度を次式によって算出する。

$$C = \frac{(Qs - Qb)}{W}$$

C : 試料中の各塩素化物の濃度 (ng / g)

Qs : 抽出液全量中の各塩化物の重量 (ng)

Qb : 空試験用の抽出液全量中の各塩化物の重量 (ng)

W : 試料量 (g)

同族体濃度は、四塩化物から八塩化物の各同族体とその総和を表示する。また、各同族体濃度は、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。表示方法は表 5 のとおりである⁽²⁰⁾。

注(20)濃度については有効数字は原則として2桁で表す。このとき有効数字の1桁以降を計算し、有効数字1桁下の数字を四捨五入によって丸める。原則として数値の丸めの操作は最小限にする。

表 5 ダイオキシン類の表示方法

塩素置換体	P C D D s		P C D F s	
	同族体	異性体	同族体	異性体
四塩化物	T ₄ CDDs	2,3,7,8-	T ₄ CDFs	2,3,7,8-
五塩化物	P ₅ CDDs	1,2,3,7,8-	P ₅ CDFs	1,2,3,7,8- 2,3,4,7,8-
六塩化物	H ₆ CDDs	1,2,3,4,7,8- 1,2,3,6,7,8- 1,2,3,7,8,9-	H ₆ CDFs	1,2,3,4,7,8- 1,2,3,6,7,8- 1,2,3,7,8,9- 2,3,4,6,7,8-
七塩化物	H ₇ CDDs	1,2,3,4,6,7,8-	H ₇ CDFs	1,2,3,4,6,7,8- 1,2,3,4,7,8,9-
八塩化物	O ₈ CDD	1,2,3,4,6,7,8,9-	O ₈ CDF	1,2,3,4,6,7,8,9-
(四塩化物～八塩化物)	PCDDs	—————	PCDFs	—————

5) 検出下限値、定量下限値

定量下限値付近の標準溶液(0.2～0.5ng/ml)の1μlをGC-MSに注入し、2)の(2)の操作を行って分析値(Qs:ng)を求め、4)の(1)の濃度の算出式に代入して、試料中のダイオキシン濃度を算出する(ただし、濃度算出に用いる数値は、試料と同じものを使用する)。同一試料を5回以上分析して求めた標準偏差(s)から、次式によりダイオキシン類の検出下限値及び定量下限値を算出する。ただし、操作ブランク値(空試験値)がある場合には、標準溶液と操作ブランク値分析のうち、大きい方の標準偏差を用いて算出する。

$$\text{検出限界値} = 3s \text{ (ng/g)}$$

$$\text{定量限界値} = 10s \text{ (ng/g)}$$

2 . 底質試料

(1) 試薬

1 . (1) に準ずる。

(2) 器具及び装置

1 . (2) に準ずる。

(3) 操作

1) 前処理

試料の適量をはかりとり、円筒ろ紙⁽⁴⁾に入れ、内標準物質⁽⁵⁾を添加し、トルエンで16時間以上ソックスレ抽出を行う。このソックスレ抽出液を濃縮後、ヘキサンに転溶する。この溶液を硫酸処理又は多層シリカゲルカラムクロマトグラフィの試料とする。

別に、空試験も同様に操作して抽出する。

注(4)セルロース製の円筒ろ紙を使用する場合は、使用に先立ってアセトン洗浄し、更にトルエンでソックスレ抽出器を用いて予備洗浄する。ガラス又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、又は400℃で数時間加熱処理を行う。

注(5)サンプルスパイク(前処理及びクリーンアップ)の内標準物質は、少なくとも各塩素数ごとに2,3,7,8-塩素置換体を最低1種類ずつ添加する。シリンジスパイクとは別の異性体を用いる。

2) クリーンアップ

1 . (3) の 2) に準ずる。

3) 分析

1 . (3) の 3) に準ずる。

4) 濃度の表示

(1) 濃度の算出

3) の(2)及び(4)で得られた結果から、試料中のダイオキシン類の濃度を次式によって算出する。

$$C = \frac{(Qs - Qb) \times 1000}{W}$$

C : 試料中の各塩素化物の濃度 (pg/g)

Qs : 抽出液全量中の各塩化物の重量 (ng)

Qb : 空試験用の抽出液全量中の各塩化物の重量 (ng)

W : 試料量 (g)

同族体濃度は、四塩化物から八塩化物の各同族体とその総和を表示する。また、各同族体濃度は、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。表示方法は表5のとおりである。

5) 検出下限値、定量下限値

1.(3)の5)に同じ。ただし、算出式は、次のとおりとする。

検出限界値 = 3s (pg/g)

定量限界値 = 10s (pg/g)

