

平成23年度環境測定分析統一精度管理調査 実施要領

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検討して、分析手法、分析技術の改善に貢献し、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

(1) 基本精度管理調査（注）

a. 模擬排水試料（一般項目分析用）

試料中のCOD、BOD、ふっ素及びTOCの4項目を測定対象とする。

参加機関は最低1項目以上を選択し、分析を行う。ただし、CODを分析した場合にはBODも分析し、可能であればTOCも分析する。

(2) 高等精度管理調査（注）

a. 模擬水質試料（農薬等分析用）

試料中の農薬（ジクロロポス及びフェノブカルブの2項目）並びにその他の物質（ペルフルオロオクタンスルホン酸（PFOS）及びペルフルオロオクタン酸（PFOA）の2項目）の4項目を測定対象とする。

参加機関は最低1項目以上を選択し、分析を行う。

b. 土壌試料（ダイオキシン類分析用）

試料中のダイオキシン類を測定対象とし、次に示すポリクロロジベンゾ-パラ-ジオキシン（PCDDs）及びポリクロロジベンゾフラン（PCDFs）の異性体、ダイオキシン様PCB（DL-PCBs、"コプラナーPCBs（Co-PCBs）とも呼ばれる"）の異性体及び毒性当量（TEQ）を分析する。

・PCDDs及びPCDFsの異性体

2,3,7,8-位塩素置換異性体（17異性体）とする。17異性体とは、PCDDs7項目（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及びOCDD）及びPCDFs10項目（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、2,3,4,6,7,8-HxCDF、1,2,3,4,6,7,8-HpCDF、1,2,3,4,7,8,9-HpCDF及びOCDF）である。

- ・ DL-PCBsの異性体

ノンオルト及びモノオルト異性体（全体で12異性体）とする。12異性体とは、ノンオルト4項目（3,3',4,4'-TeCB、3,4,4',5-TeCB、3,3',4,4',5-PeCB及び3,3',4,4',5,5'-HxCB）及びモノオルト8項目（2',3,4,4',5-PeCB、2,3',4,4',5-PeCB、2,3,3',4,4'-PeCB、2,3,4,4',5-PeCB、2,3',4,4',5,5'-HxCB、2,3,3',4,4',5-HxCB、2,3,3',4,4',5'-HxCB及び2,3,3',4,4',5,5'-HpCB）である。

- ・ TEQ

PCDDs及びPCDFs、DL-PCBs並びにそれらの和とする。なお、TEQの算出に当たっては、毒性等価係数（TEF）としてWHO/IPCS（2006年）に提案されたものを用いる。なお、分析方法（後記4．参照）には、「**「土壤のダイオキシン類簡易測定法マニュアル」**（簡易測定法マニュアル）と「**「ダイオキシン類に係る土壤調査マニュアル」**（土壤マニュアル）があり、「**「土壤マニュアル」**の方法では、次に示す同族体等も分析する。

- ・ PCDDs及びPCDFsの同族体とそれらの総和

四塩素化物から八塩素化物の各同族体とそれらの和とする。

- ・ DL-PCBsの異性体の総和

ノンオルト体、モノオルト体とそれらの和とする。

（注）平成23年度の調査に関しては、平成23年度環境測定分析検討会において策定した「今後の環境測定分析統一精度管理調査のあり方について」（平成23年5月23日）に基づいて、基準値、公的な分析方法等が規定されている測定項目に関して調査する「基本精度管理調査」と、基準値、公的な分析方法等が確立されていない（又は規定されて間もない）又は高度な分析技術を要する等測定項目に対して調査する「高等精度管理調査」に基づいて実施する。

主な選定理由は次の表のとおりである。

項目	主な選択理由
「基本精度管理調査」 排水試料 ：一般項目 COD BOD ふっ素 TOC	・参加機関からの要望の多い試料・項目である。 ・COD、BOD及びふっ素については、排水基準値が設定され、「排水基準を定める省令の規定に基づく環境大臣が定める排水基準に係る検定方法」に規定されている。 ・TOCについては、JIS K 0102（工場排水試験方法）等に分析方法が規定されており、分析されることが多い。
「高等精度管理調査」 水質試料 ：農薬 ジクロロピス フェノカルブ その他 ペルフルオロオクタンスルホン酸(PFOS) ペルフルオロオクタン酸(PFOA)	・昨年度の調査結果を踏まえた追跡調査とする。 ・農薬（ジクロロピス及びフェノカルブ）については「要監視項目」として規定され、指針値が設定されている。 ・PFOS及びPFOAについては「要調査項目等」となっている。また、PFOSについては「化学物質審査規制法」に基づく第一種特定化学物質となっている。
土壌試料 ：ダイオキシン類	・簡易測定法でのばらつきの程度を把握する。 ・環境基準については、「ダイオキシン類による大気汚染、水質の汚濁（水底の底質の汚染を含む。）及び土壌の汚染に係る環境基準」に規定されている。 ・測定方法としては、「簡易測定法マニュアル」及び「土壌調査マニュアル」に規定されている。

3. 共通試料の概要

区分	名称	容器(内容量)	個数	備考
共通試料 1	模擬排水試料 (一般項目分析用)	ポリエチレン瓶 (約500mL)	1	水溶液
共通試料 2	模擬水質試料 (農薬等分析用) (注1)	2-1 ガラス製アンプル (約5mL)	2	アセトン溶液(注2) 農薬分析用
		2-2 ガラス製アンプル (約5mL)	1	メタノール溶液(注2) PFOS及びPFOA分析用
共通試料 3	土壌試料 (ダイオキシン類分析用)	ガラス製瓶 (約30g)	1	乾燥した土壌で100メッシュのふるいを通したものの

(注1) 共通試料2（模擬水質試料）は、高濃度に調製しているため、分析に際しては、必ず5(1)に示す希釈方法に従って分析用試料を作成する。

(注2) 共通試料2（模擬水質試料）は、ふたつの試料があり、農薬（ジクロロピス及びフェノカルブ）分析では試料2-1、その他の物質（PFOS及びPFOA）分析では試料2-2を使用する。

4 . 分析方法

共通試料 1 については、「排水基準を定める省令の規定に基づく環境大臣が定める排水基準に係る検定方法」(平成 4 9 年環境省告示第 6 4 号。以下、「排水基準告示」という)に定める方法により分析する。ただし、TOC については、JIS K 0102 (工場排水試験方法)に定める方法により分析する (TOC は、「排水基準告示」に規定されていない)。

共通試料 2 については、農薬 (ジクロロボス及びフェノカルブ) は「水質汚濁に係る人の健康の保護に関する環境基準の測定方法及び要監視項目の測定方法について」(平成 5 年 4 月、環水規第 1 2 1 号、環境庁水質保全局水質規制課)に定める方法により分析する (ただし、追跡調査であり、ガスクロマトグラフ質量分析法に限る)。その他の物質 (ペルフルオロオクタンスルホン酸 (PFOS) 及びペルフルオロオクタン酸 (PFOA)) は「要調査項目等調査マニュアル (水質、底質、水生生物)」(平成 2 0 年 3 月、環境省水・大気環境局水環境課)に定める方法により分析する。

共通試料 3 については、「ダイオキシン類による大気汚染、水質汚濁 (水底の底質の汚染を含む。) 及び土壌の汚染に係る環境基準」(平成 1 1 年環境庁告示第 6 8 号)により分析する (詳細は、「土壌のダイオキシン類簡易測定法マニュアル」(平成 2 1 年 3 月、環境省水・大気環境局土壌環境課。以下、「簡易測定法マニュアル」という)又は「ダイオキシン類に係る土壌調査マニュアル」(平成 2 1 年 3 月、環境省水・大気環境局土壌環境課。以下、「土壌マニュアル」という)に定める方法による)。

なお、以上の方法に基づき作成した「推奨方法」を添付している。

【分析方法の概要】

(1)排水試料(一般項目分析用)

分析方法	C O D	B O D (溶存酸素の測定)	ふっ素	T O C
滴定法		(: よう素滴定法 : ミラー変法)		
吸光光度法				
イオン電極法		(: 隔膜電極法)		
イオンクロマトグラフ法				
燃焼酸化-赤外線式 TOC分析法				1
燃焼酸化-赤外線式 TOC自動計測法				1

(注) : 排水基準告示に規定する方法

1 : JIS K 0102 に規定する方法

(2)水質試料（農薬等分析用）

分析方法	農薬		その他
	ジクロロボス	フェノブカルブ	PFOS、PFOA
溶媒抽出法又は固相抽出法 ガスクロマトグラフ質量分析法 ガスクロマトグラフ法(FTD) ガスクロマトグラフ法(FPD) ガスクロマトグラフ法(ECD)	*	*	
固相抽出法 液体クロマトグラフ質量分析法(LC/MS) 液体クロマトグラフ質量分析法(LC/MS/MS)			1 1

(注) : 要監視項目の測定方法に規定する方法

*: 要監視項目の測定方法に規定する方法であるが、今回の調査では適用しない。

1: 要調査項目等調査マニュアルに規定する方法

(3)土壌試料（ダイオキシン類分析用）

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 「簡易測定法マニュアル」 ソックスレー抽出 - GC/HRMS法(1種類のカラムで測定) ソックスレー抽出 - GC/QMS法 ソックスレー抽出 - GC/ITMS/MS法 高圧流体抽出 - GC/HRMS法(2種類以上のカラムで測定) 高圧流体抽出 - GC/HRMS法(1種類のカラムで測定) 高圧流体抽出 - GC/QMS法 高圧流体抽出 - GC/ITMS/MS法 「土壌マニュアル」 ソックスレー抽出 - GC/HRMS法(2種類以上のカラムで測定)	1 1 1 1 1 1 1 2

(注) 1: 「簡易測定法マニュアル」に規定する方法。高圧流体抽出とは、高速溶媒抽出、高圧液体抽出又は加圧液体抽出とも呼ばれる。

2: 「土壌マニュアル」に規定する方法

【基準値及び測定方法】

項目	基準値等	測定方法	備考
排水試料 C O D B O D ふっ素 T O C	160mg/L (日間平均 120mg/L) 160mg/L (日間平均 120mg/L) 8mg/L(海域以外) 15mg/L(海域) (排水基準) -	排水基準告示	-
水質試料 ジクlorボス フェノカルブ	0.008mg/L (8µg/L) 0.03 mg/L (30µg/L) (指針値)	水質汚濁に係る人の健康の保護に関する環境基準の測定方法及び要監視項目の測定方法について	-
PFOS PFOA	- -	要調査項目等調査マニュアル	目標検出下限値 PFOS 0.04ng/L PFOA 0.07ng/L
土壌試料 ダイオキシン類	1000pg/g (環境基準) 250pg/g (必要な調査を実施)	ダイオキシン類による大気の汚染、水質の汚濁(水底の底質の汚染を含む。)及び土壌の汚染に係る環境基準	「簡易測定法マニュアル」又は「土壌マニュアル」

5 . 分析実施上の注意

(1)分析用試料の作成方法等

共通試料 1 (一般項目分析用、模擬排水試料)

試料到着後直ちに分析できない場合は、冷蔵庫内等の冷暗所に保存する。

共通試料 2 (農薬等分析用、模擬水質試料)

試料到着後直ちに分析できない場合は、冷蔵庫内等の冷暗所に保存する。

試料を水で正確に1000倍に希釈し、分析用試料を調製する(下記の調製例を参照する)。分析用試料を調製後、直ちに分析する。

例えば、農薬(ジクlorボス及びフェノカルブ)分析では、水の入った全量フラスコ1000mLに試料2-1を1mLを添加した後、水を標線まで加えて混合する。また、PFOS及びPFOA分析では、水の入った全量フラスコ1000mLに試料2-2を1mLを添加した後、水を標線まで加えて混合する。

共通試料 3 (ダイオキシン類分析用、土壌試料)

試料到着後直ちに測定できない場合は、冷暗所に保存する。

(2)分析結果の表示

共通試料 1については、試料 1 Lあたりのmg (mg/L)とし、JIS Z 8401によって数値を丸めて有効数字3桁で報告する。

共通試料 2については、農薬（ジクロロボス及びフェノブカルブ）は上記(1)で希釈して調製した分析用試料 1 リットルあたりの μg ($\mu\text{g/L}$)とする。PFOS及びPFOAは上記(1)で希釈して調製した分析用試料 1 リットルあたりのng (ng/L)とする。いずれも、JIS Z 8401によって数値を丸めて有効数字3桁で報告する（注）。

共通試料 3については、試料 1 gあたりのpg (pg/g)とし、JIS Z 8401によって数値を丸めて有効数字2桁で報告する。なお、分析結果は水分補正を行わない。

(注)PFOSについては、ペルフルオロオクタンスルホン酸アニオン($\text{C}_8\text{F}_{17}\text{SO}_3^-$)濃度とし、PFOAはペルフルオロオクタン酸アニオン($\text{C}_7\text{F}_{15}\text{COO}^-$)濃度とする。

(3)測定回数（注）

共通試料 1の分析については、測定回数 3 回とする。すなわち、同量の試料を 3 個採り、併行測定を行い、必ず 3 個の分析結果を報告する。

共通試料 2 ~ 3の分析については、測定回数 1 回以上 5 回以内とし、5 個以内の併行測定の分析結果を報告する。ただし、複数回測定において併行測定でなく、分析担当者、分析方法、分析条件が異なった場合には、別途報告する。

(注)「測定回数」とは、分析用試料のはかり取りから吸光度等の測定までの一連の操作を行った回数とする。

(4)試料のはかり取り

共通試料 3 について、はかり取り量の有効数字 3 桁を保證できる天秤を用いて分析用の試料をはかり取る。試料は均一として乾燥状態で送付しているが、試料を振り混ぜた後にはかり取る（乾燥の操作は行わない）。ただし、送付した試料量には限りがあるので注意する。

(5)一般項目の分析方法（共通試料 1）

共通試料 1（模擬排水試料）については、上記(3)に示したように同量の試料を 3 個採り、併行測定を行い、必ず 3 個の分析結果を報告する。なお、分析対象項目は、COD、BOD、ふっ素、TOCの4項目であり、試料量には限りがあるため、多くの試料量が必要な分析方法を適用する場合には、注意する。

この試料は、試薬を用いて排水を想定して調製したもので、分析対象項目については一般環境水よりも高濃度であり（10倍程度の希釈を行っても分析可能と考えられる）、また微生物が含んでいないと想定されるので、分析時には注意する。

(6)農薬等の分析方法（共通試料 2）

共通試料 2（模擬水質試料）には、試料2-1及び試料2-2のふたつの試料があり、農薬（ジクロロボス及びフェノブカルブ）分析では試料2-1、PFOS及びPFOA分析では試料2-2を

使用する。

共通試料については試料2-1、試料2-2とも、上記(1) に示したように水で1000倍に希釈して分析用試料を調製するが、その操作において汚染に十分注意する。希釈試料の調製後は、直ちに分析する(直ちに抽出等の操作を行う)。また、分析結果については、ジクロロボス及びフェノブカルブは上記(2)に示したように希釈して調製した分析用試料1リットル当たりの μg ($\mu\text{g/L}$)とし、PFOS及びPF0Aは(2)に示したように希釈して調製した分析用試料1リットル当たりの ng (ng/L)とする。ただし、PFOSについてはペルフルオロオクタンスルホン酸アニオン($\text{C}_8\text{F}_{17}\text{SO}_3^-$)の濃度 (ng/L)、PF0Aはペルフルオロオクタン酸アニオン($\text{C}_7\text{F}_{15}\text{COO}^-$)の濃度 (ng/L)とする。

これらの農薬等は昨年度に調査した項目であり、昨年度の調査結果を踏まえ、追跡調査として実施する。

【追跡調査の概要】

試料	項目	追跡調査の概要
模擬水質試料	農薬等	<ul style="list-style-type: none">・ 試料中に共存物質を添加する(昨年度は添加していない)。・ 使用した標準液(標準原液)に関して、詳細な報告内容とする(昨年度結果では、使用した標準液による分析結果への影響の可能性が考えられた)。・ 農薬(ジクロロボス及びフェノブカルブ)の分析方法は、ガスクロマトグラフ質量分析法に限る(ガスクロマトグラフ法は適用しない)(昨年度結果では、ガスクロマトグラフ法の適用はひとつの回答であった)。

なお、試料2-2には分析対象のPFOSが含まれており、この物質は「化学物質審査規制法」に基づく第一種特定化学物質として指定されているため、試料の保管、使用、廃棄等は適正に行う。また、この試料は全量使用することが前提であるため、多くの量を送付していない。

(7)ダイオキシン類の分析方法(共通試料3)

共通試料3(土壌試料)は、採取した土壌を乾燥して調製したものである。

分析方法には、「簡易測定法マニュアル」及び「土壌マニュアル」があり、いずれも溶媒抽出-ガスクロマトグラフ質量分析法であり、その詳細は推奨方法を参照する。

「簡易測定法」では、抽出方法としてソックスレー抽出の他に高圧流体抽出も可能であり、ガスクロマトグラフ質量分析法では以下の3つの方法が選択できる。

- ・ 高分解能ガスクロマトグラフ質量分析法(GC/HRMS)(ソックスレー抽出では1種類のカラムで測定)
- ・ ガスクロマトグラフ四重極形質量分析法(GC/QMS)
- ・ ガスクロマトグラフ三次元四重極形質量分析法(GC/ITMS/MS)

「土壌マニュアル」では、ソックスレー抽出し、高分解能ガスクロマトグラフ質量分析法(GC/HRMS)(2種類以上のカラム)で測定する。

- ・ 高分解能ガスクロマトグラフ質量分析法(GC/HRMS)(ソックスレー抽出で2種類のカラムで測定)

なお、分析対象項目はPCDDs及びPCDFsの異性体、DL-PCBsの異性体及び毒性当量（TEQ）であり、「土壌マニュアル」の方法では更に、PCDDs及びPCDFsの同族体及びDL-PCBsの異性体の総和（ノンオルト体、モノオルト体とそれらの和）も対象とする。毒性当量（TEQ）の算出に当たっては、異性体の濃度については定量下限以上の値はそのままの値を用い、定量下限未満で検出下限以上の値及び検出下限未満のものはゼロ（0）とし、毒性等価係数（TEF）についてはWHO/IPCS（2006年）に提案されたものを用いる。

(8)その他

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。また、分析実施にあたっては、廃溶剤、廃液、排水、排出ガス等に関して適正な処理等に注意する。

6．報告書記入に当たっての留意点

分析結果等については、「分析結果報告書」に記入する。

記入は、別添の「ホームページによる分析結果報告書の作成方法」を参照して、ホームページへ記入する。

ホームページへの記入が難しい場合には、用紙へ記入する。この場合も、ホームページへの記入方法を参考として記入する。

また、ホームページに記入した方法と分析担当者、分析方法、分析条件が異なった場合（複数の分析方法で実施した場合等）には、用紙へ記入する。ただし、ダイオキシン類については、「簡易測定法」と「土壌マニュアル」の2方法の結果報告を可能としている。

7．提出書類（注1）

(1) 分析結果報告書

分析結果報告書 [1] 排水試料（COD）

分析結果報告書 [2] 排水試料（BOD）

分析結果報告書 [3] 排水試料（ふっ素）

分析結果報告書 [4] 排水試料（TOC）

分析結果報告書 [5] 水質試料（農薬：ジクロロボス及びフェノカルブ）

分析結果報告書 [6] 水質試料（PFOS及びPFOA）

分析結果報告書 [7] 土壌試料（ダイオキシン類）

（簡易測定法マニュアルによる方法-GC/HRMS法-）（注2）

分析結果報告書 [8] 土壌試料（ダイオキシン類）

（簡易測定法マニュアルによる方法-GC/QMS法又はGC/ITMS/MS法-）（注2）

分析結果報告書 [9] 土壌試料（ダイオキシン類）

（土壌マニュアルによる方法-GC/HRMS法-）（注2）

(2) チャート類（GC/MSのSIMクロマトグラム等）

試料と標準液の両方を提出する。

・試料については、1回目のチャート類（SIMクロマトグラム等）を提出する。

- ・標準液について、繰り返し測定している場合には、1回目を提出する。
- ・クロマトグラムについては、ピーク面積（又は高さ）の読み取り方がわかりやすいものを提出する。特に、PFOS及びPFOAについては、ピーク面積の読み取り方のわかるクロマトグラムとする（異性体等の扱いがわかるものとする）。
- ・ダイオキシン類のうち高分解能ガスクロマトグラフ質量分析法（GC/HRMS）を適用した場合には、ロックマスを含めて1回目のSIMクロマトグラムを提出する。

(3) 検量線

(4) 分析フローシート

「推奨方法」と異なる方法を用いた場合は、必ず提出する。

(注1)(1)分析結果報告書をホームページで作成した場合にも、(2)～(4)を提出する。(2)～(4)は、ホームページから提出できる。(2)～(4)とも「A4サイズ」とする。ホームページからは、「PDF」、「エクセル」、「ワード」、「一太郎」、「JPEG」等として提出できる。

(注2)ダイオキシン類については、「簡易測定法」と「土壤マニュアル」の2方法の結果報告を可能としており、「簡易測定法」は分析結果報告書[7]又は分析結果報告書[8]に、「土壤マニュアル」は分析結果報告書[9]に記入する。

8. 提出期限 (注)

(1) 排水試料、水質試料及び土壌試料（ダイオキシン類：簡易測定法マニュアル）

ホームページへ記入：平成23年10月21日（金）

用紙へ記入：平成23年10月14日（金）（消印有効）

(2) 土壌試料（ダイオキシン類：土壤マニュアル）

ホームページへ記入：平成23年11月16日（水）

用紙へ記入：平成23年11月9日（水）（消印有効）

(注)分析結果報告書をホームページで作成した場合には、チャート類、検量線等の提出期限は提出方法（ホームページ、郵送等）に関わらず、上記の「ホームページへ記入」の期日となる。

9. 提出書類の送り先及び本調査に関する問合せ先

(1) 提出書類の送り先

〒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

担当者 西尾

TEL 044(288)5130

(2) 問合せ先

本調査に関する問い合わせは、上記の提出書類の送り先又は本調査のホームページ

「<http://www.seidokanri.go.jp/>」の「お問い合わせ」からeメールでお願いします。

10．その他

- (1) 各機関の分析結果は公表（結果と機関名が対比できる表等を作成の上、公表）します。
- (2) 一旦受領した報告については、計算間違いや記入間違い等による訂正の申し出があっても受け付けませんので、ご了承ください。
- (3) ホームページにより報告書を作成してください。ホームページからの作成が難しい場合には用紙による記入も可能ですが、ホームページと用紙へ記入する場合の報告書等の書類の提出期限が異なりますのでご注意ください。
- (4) 極端な分析結果を報告された場合には、その原因究明のためのアンケート調査を実施しますので、ご了承ください。
- (5) ホームページ（アドレス「<http://www.seidokanri.go.jp/>」）は、分析結果報告書の作成の他、本調査に関することや関連事項を掲載していますので、ご利用ください。

平成23年度環境測定分析統一精度管理調査推奨方法

1. 排水試料

試料中のCOD、BOD、ふっ素及びTOCを測定する。

1.1 COD

JIS K 0102の17による。

1.2 BOD

JIS K 0102の21による。

1.3 ふっ素

(1) ランタン - アリザリンコンプレキソン吸光光度法

JIS K 0102の34.1による。

(2) イオン電極法

JIS K 0102の34.2による。

(3) イオンクロマトグラフ法

JIS K 0102の34.1c)(注(6)第3文を除く。)に定める方法及び水質環境基準告示付表6に掲げる方法

1.4 TOC

(1) 燃焼酸化-赤外線式TOC分析法

JIS K 0102の22.1による。

(2) 燃焼酸化-赤外線式TOC自動計測法

JIS K 0102の22.2による。

2. 水質試料

2.1 農業

試料中のジクロロボス及びフェノブカルブを溶媒抽出又は固相抽出を行った後、ガスク

ロマトグラフ質量分析法(注)により測定する。

(注)「水質汚濁に係る人の健康の保護に関する環境基準の測定方法及び要監視項目の測定方法について」(平成5年4月、環水規第121号、環境庁水質保全局水質規制課)では、ガスクロマトグラフ質量分析法又はガスクロマトグラフ法が適用可能であるが、昨年度結果ではガスクロマトグラフ法の適用がひとつの回答と少なかったため、今回の追跡調査はガスクロマトグラフ質量分析法に限っている。

(1) 溶媒抽出又は固相抽出によるガスクロマトグラフ質量分析法

1) 試薬

【水】JIS K 0102の2の(11)の(a)に定めるもの

【ヘキサン】JIS K 8848に定めるもの

【アセトン】JIS K 8034に定めるもの

【ジクロロメタン】JIS K 8161に定めるもの

【エチルエーテル】JIS K 8103に定めるもの

【硫酸ナトリウム(無水)】JIS K 8987に定めるもの

【塩化ナトリウム】JIS K 8150に定める塩化ナトリウムを250～450 で2～6時間加熱し、デシケーター中で放冷したもの

【ジクロロボス〔DDVP〕標準原液(1mg/mL)】全量フラスコ100mLにアセトン約10mLを採り、これにジクロロボス標準品0.1gを加え、ヘキサンを標線まで加えたもの(この原液は調製後、直ちに冷凍保存する。保存期間は180日を限度とする。)

【ジクロロボス標準液(0.05mg/mL)】ジクロロボス標準原液5mLを全量フラスコ100mLに採り、ヘキサンを標線まで加えたもの(この溶液は使用時に調製する。)

【フェノブカルブ〔BPMC〕標準原液(1mg/mL)】全量フラスコ100mLにアセトン約10mLを採り、これにフェノブカルブ標準品0.1gを加え、ヘキサンを標線まで加えたもの(この原液は調製後、直ちに冷凍保存する。保存期間は180日を限度とする。)

【フェノブカルブ標準液(0.05mg/mL)】フェノブカルブ標準原液5mLを全量フラスコ100mLに採り、ヘキサンを標線まで加えたもの(この溶液は使用時に調製する。)

【混合標準原液(ジクロロボス0.5µg/mL、フェノブカルブ1.5µg/mL)】全量フラスコ100mLにジクロロボス標準液1mL、フェノブカルブ標準液3mLを採り、ヘキサンを標線まで加えたもの(同様にアセトンを標線まで加えたものも作る。)

【35vol%ジエチルエーテル含有ヘキサン溶離液】ジエチルエーテルとヘキサンを体積比35:65で混合する。

2) 器具及び装置

【分液漏斗】容量2Lのものであって、あらかじめ水及びアセトンで洗浄したもの

【試験管】容量10～20mLのものであって、あらかじめ水及びアセトンで洗浄したもの

【三角フラスコ(共栓)】容量500mLのものであって、あらかじめ水及びアセトンで洗浄したもの

【マイクロシリンジ】容量1～10µLのもの

【固相カラム】スチレンジビニルベンゼン共重合体(ポリスチレン系ゲル)又はこれと同等の性能を有するもの200~1,000mgを充てんしたものに、アセトン5mL及び水5mLを順次緩やかに通し、調製したもの

【クロマトグラフ管】

(a)カラム用管

内径10mm、長さ300mmのコック付ガラス管

(b)カラム充てん剤

・フロリジル

粒径80~150 μ mのものを130 $^{\circ}$ Cで16時間加熱した後、デシケーター中で約1時間放冷したものであって、分析対象農薬の保持時間にピークを生じないもの

・シリカゲル

残留農薬試験用で粒径150~250 μ mのものを130 $^{\circ}$ Cで16時間加熱した後、約1時間デシケーター中で放冷したものであって、分析対象農薬の保持時間にピークを生じないもの

(c)クロマトグラフ管

カラム充てん剤8gをヘキサンでかゆ状にしてカラム用管に流し込み、更にカラム用管に縦横の振動を与え、カラム充てん剤を均一に充てんし、上層に硫酸ナトリウム(無水)5gを積層したもの

【ガスクロマトグラフ質量分析計】

(a)キャピラリーカラム

内径0.2~約0.7mm、長さ10~30mの熔融シリカ若しくは硬質ガラス製のものであって、内面にジメチルポリシロキサンを0.1~1.0 μ mの厚さで被覆したもの又はこれと同等の分離性能を有するもの

(b)検出器

電子衝撃イオン化法(EI法)が可能で、選択イオン検出法又はこれと同等の性能を有する方法でクロマトグラム測定が可能なもの

(c)キャリアーガス

ヘリウム(99.9999vol%以上)であって、線速度を毎秒20~40cmとしたもの

(d)インターフェース部

温度を200~270 $^{\circ}$ Cに保つことができるもの

(e)イオン源

温度を150 $^{\circ}$ Cに保つことができるもの

(f)カラム槽昇温プログラム

溶媒がヘキサンの場合は、50~60 $^{\circ}$ Cで2分保ち、50(60)~約260 $^{\circ}$ Cの範囲で毎分2~20の昇温を行うことができるもの、溶媒がアセトンの場合は、40~50 $^{\circ}$ Cで2分保ち、40(50)~約208 $^{\circ}$ Cの範囲で毎分2~20の昇温を行うことができるもの

(g)試料導入部

温度をスプリットレス方式の場合は200~270 $^{\circ}$ C、コールドオンカラム方式の場合は50~100 $^{\circ}$ Cに保つことができるもの

【振とう機】

【濃縮器】クデルナダニッシュ濃縮器又はロータリーエバポレーターであって、濃縮時における試料溶媒に接触する部分のガラス器具類をあらかじめ水及びアセトンで洗浄したもの

3) 操作

(1) 前処理

(a) 溶媒抽出

(ア) 試料（実施要領5.(1) のとおり試料2-1を用いて作成した分析用試料）の適量（例えば1000mL）を分液漏斗に採り、塩化ナトリウム50g及びジクロロメタン100mLを加え、振とう機を用いて約10分間振とうする。

(イ) 放置後、ジクロロメタン層を三角フラスコ500mLに移す。分液漏斗の水層にジクロロメタン100mLを加え、再び振とう機を用いて約10分間振とうし、放置後、ジクロロメタン層を先の三角フラスコに合わせる。

(ウ) ジクロロメタン層に硫酸ナトリウム(無水)約30gを用いて脱水した後、濃縮器を用いて約7mLに濃縮する。

(エ) 濃縮液にヘキサン約50mLを加え、濃縮器を用いて、5mLに定容する。

(オ) 空試験として水1Lを分液漏斗に採り、(ア)から(エ)までの操作を行う。

(b) 固相抽出(注1)

(ア) 試料（実施要領5.(1) のとおり試料2-1を用いて作成した分析用試料）の適量（例えば200mL）を固相カラムに毎分10～20mLで流下させる。

(イ) 水10mLを流し、カラムを洗浄した後、約10分間吸引又は遠心分離等で水分を分離除去する。

(ウ) 固相カラムの上端からアセトン3mLを緩やかに通し、分析対象農薬を溶出させ、試験管に受ける。

(エ) 溶出液に窒素ガスを緩やかに吹き付けて2mLに定容する。

(オ) 次のカラムクロマトグラフ法によるクリーンアップ操作が必要な時には、(エ)の濃縮液2mLにヘキサン約50mLを加え、濃縮器を用いて、溶液を約7mLになるまで濃縮する。

(カ) 濃縮液に窒素ガスを緩やかに吹き付けて2mLに定容する。

(キ) 空試験として、水200mLを用いて、(ア)から(カ)まで(クリーンアップ操作省略の時には(ア)から(エ)まで)の操作を行う。

(2) クリーンアップ

妨害物質がない時は、次のクリーンアップ操作を省略して(3)の操作に移る。カラムクロマトの選択は妨害物質の内容から決める。ただし、ジクロロボスはフロリジルから溶出しないので、フロリジルカラムクロマトグラフ法を使用できない。なお、充てん剤の粒径、活性化時間、活性化温度、ロット等により分析対象農薬の流出範囲が変わるので、流出範囲を確認するものとする。

(a) フロリジルカラムクロマトグラフ法

(ア) 溶媒抽出では(1)の(a)の(エ)のヘキサン濃縮液1mLを、固相抽出では(1)の(b)の(カ)のヘキサン転溶液1mLをフロリジルクロマトグラフ管に注ぎ流下させる。

(イ)ヘキサン溶離液100mLを流下させ、ヘキサン溶出液を捨てる。引き続き、35vol%ジエチルエーテル含有ヘキサン溶離液100mLを毎分約1mLで流下させ、フェノブカルブ、プロピザミド、ダイアジノン、クロロタロニル、フェニトロチオン、イソキサチオン、クロルニトロフェン及びEPNを溶出させる。更にアセトン溶離液100mLを毎分約1mLで流下させ、イプロベンホス及びイソプロチオランを溶出させる。

(b)シリカゲルカラムクロマトグラフ法

(ア)溶媒抽出では(1)の(a)の(I)のヘキサン濃縮液1mLを、固相抽出では(1)の(b)の(カ)のヘキサン転溶液1mLをシリカゲルクロマトグラフ管に注ぎ流下させる。

(イ)ヘキサン溶離液80mLを流下させ、ヘキサン溶出液を捨てる。引き続き、35vol%ジエチルエーテル含有ヘキサン溶離液100mLを毎分約1mLで流下させ、フェノブカルブ、プロピザミド、ダイアジノン、クロロタロニル、フェニトロチオン、イソキサチオン、クロルニトロフェン及びEPNを溶出させる。更にアセトン溶離液100mLを毎分約1mLで流下させ、ジクロロルボス、イプロベンホス及びイソプロチオランを溶出させる。

(c)濃縮器を用いて、約40 の水浴上で(a)及び(b)の35vol%ジエチルエーテル含有ヘキサン溶出液並びに(b)のアセトン溶出液をそれぞれ約10mLになるまで濃縮し、更にそれぞれにヘキサン約100mLを加えた後、濃縮器及び窒素ガスを用いて1mLに定容する。

(d)空試験として、(1)の(a)の(オ)及び(1)の(b)の(キ)で得たヘキサン濃縮液についても、(a)から(c)までの操作を行う。

(3)分析

(a)混合標準原液1 μ Lをマイクロシリンジを用いて採り、スプリットレス又はコールドオンカラム方式でガスクロマトグラフに注入し、選択イオン検出法又はこれと同等の性能を有する方法を用いて、表2-1に示す特有の質量数をモニターする。クロマトグラムを記録し、分析対象農薬の保持時間に相当するピークの位置を確認しておく。

(b)(2)の(c)で得たヘキサン濃縮液(クリーンアップ操作省略の時には、溶媒抽出では(1)の(a)の(I)で得たヘキサン濃縮液、固相抽出では(1)の(b)の(I)で得たアセトン濃縮液)1 μ Lを(a)と同じ操作を行って、クロマトグラムを記録し、保持時間が標準物質と一致していることを確認し、保持時間に相当する位置のピークについて、ピーク面積又はピーク高さを測定する。

(c)あらかじめ作成した検量線を用いて分析対象農薬の量を求め、試料中の濃度を算出する。

(d)空試験として、(2)の(d)で得たヘキサン濃縮液(クリーンアップ操作省略の時には、溶媒抽出では(1)の(a)の(オ)で得たヘキサン濃縮液、固相抽出では(1)の(b)の(キ)で得たアセトン濃縮液)についても(b)の操作を行って、分析対象農薬の保持時間に相当するピークが検出され、そのピーク面積又はピーク高さが定量限界値の0.20以上である場合には、前処理から再度操作を行う。

(4)検量線の作成

(a)混合標準原液0.5~20mLを全量フラスコ100mLに段階的に採り、それぞれ分析に用する溶媒を標線まで加える。この混合標準液1 μ Lをガスクロマトグラフに注入し、クロマトグラ

ムを記録し、分析対象農薬の量とピーク面積又はピーク高さとの関係線を作成する。
(b)検量線の作成は試料測定時に行う。

(注1)浮遊物が多いときはあらかじめ過する。浮遊物はアセトンで洗い、この洗液を固相カラムの溶出液に合わせる。

表 2 - 1 化合物と測定質量数

化合物名	測定質量数
ジクロルボス	109、185*、79、145*、220
フェノブカルブ	121、150、91、77、103

(注2)*：塩素による同位体の質量数がある。

(注3)実試料で妨害する質量数は避ける。

(注4)質量数100以下の使用はなるべく避ける。

4) その他

この方法は、「水質汚濁に係る人の健康の保護に関する環境基準の測定方法及び要監視項目の測定方法について」(平成5年4月、環水規第121号、環境庁水質保全局水質規制課)に基づき作成している。

2.2 ペルフルオロオクタンスルホン酸及びペルフルオロオクタン酸

試料中のペルフルオロオクタンスルホン酸(PFOS)及びペルフルオロオクタン酸(PFOA)を固相抽出後、液体クロマトグラフ質量分析法により測定する。

(1) 固相抽出による液体クロマトグラフ質量分析法

1) 試薬

【メタノール】残留農薬分析用又はこれと同等以上のもの。

【アセトニトリル】HPLC用。

【酢酸アンモニウム】試薬特級以上のもの。

【PFOS標準品】本品はPFOSを98%以上含む(注1)。

【PFOA標準品】本品はPFOAを95%以上含む(注2)。

【ペルフルオロオクタンスルホン酸-¹³C₄ (PFOS-¹³C₄) 標準品】本品は1,2,3,4-¹³C₄-PFOSを97%以上含む(注3)。

【ペルフルオロオクタン酸-³C₂ (PFOA-³C₂) 標準品】本品は[1,2-¹³C₄]-PFOAを98%以上含む(注3)。

【PFOS及びPFOA標準原液】PFOS及びPFOAをそれぞれ10mg(注4)正確にはかりとり、メタノールでそれぞれ正確に100mLとし、100µg/mLの標準原液を調製する。

【PFOS及びPFOA混合標準液】PFOS及びPFOA標準原液からそれぞれ1mLを正確に分取し、メタノールで100mLとしてそれぞれを1µg/mL含む混合標準液を調製する。さらに、混合標準液

(1 µg/mL)から1mLを正確に分取し、メタノールで100mLとしてそれぞれを10ng/mL含む混合標準液を調製する。

【サロゲート標準原液】サロゲート物質(PFOA-¹³C₂)及び(PFOS-¹³C₄)をそれぞれ10mg、5mg正確にはかりとり、メタノールで正確に100mLとし、100 µg/mL、50 µg/mLのサロゲート標準原液を調製する。

【サロゲート混合標準液】サロゲート標準原液(PFOA-¹³C₂、100 µg/mL)から1mL、標準原液(PFOS-¹³C₄、50 µg/mL)から2mLを正確に分取し、メタノールで100mLとしてそれぞれを1 µg/mL含むサロゲート混合標準液を調製する。さらに、サロゲート混合標準液(1 µg/mL)から1mLを正確に分取し、メタノールで100mLとしてそれぞれを10ng/mL含むサロゲート混合標準液を調製する。

【水】ミリQ水と同等以上でPFOS、PFOA、PFOS-¹³C₄及びPFOA-¹³C₂の保持時間に相当する位置にピークのないもの。

(注1) PFOS標準品はペルフルオロオクタンスルホン酸及びそのカリウム塩、テトラエチルアンモニウム塩、テトラブチルアンモニウム塩等で市販されている。

(注2) PFOA標準品はペルフルオロオクタン酸及びそのカリウム塩、アンモニウム塩等で市販されている。

(注3) PFOS-¹³C₄標準液はメタノール溶液(50 µg ± 2.5 µg/mL)で市販されている。また、PFOA-¹³C₂標準液も市販されサロゲートとして用いることが可能であるが、その際には測定条件の変更が必要となる。

(注4) PFOS標準液を調製する際は、ペルフルオロオクタンスルホン酸アニオン(C₈F₁₇SO₃⁻)濃度に換算する。PFOAも同様にペルフルオロオクタン酸アニオン(C₇F₁₅COO⁻)濃度に換算する。

2) 器具及び装置(注5)

【固相抽出用カートリッジ】ODSカートリッジ(注6)。

【固相抽出用器具(ろ過・濃縮装置、注射器等)】

【高速液体クロマトグラフィー質量分析計(LC/MS又はLC/MS/MS)】

【超音波抽出装置】

【ロータリーエバポレーター】

(注5) PFOS及びPFOAはテフロンから溶出する可能性があるため、実験操作において、できる限りテフロン製品を使用しない。また、熱、酸に対して非常に安定であるので、高温で処理しても残存する。このため、使用器具等はメタノールで充分洗浄し対象物質のピークが出ない事を確認して使用する。

(注6) ODSカートリッジ(例えばボンドエリユートC18Varianなど)やポリマー系カートリッジ(例えばPresep-C Agri 和光純薬など)が利用できるが、あらかじめ抽出効率を確認する必要がある。

3) 操作

(1) 前処理及び試料液の調製

試料(実施要領5.(1)のとおり試料2-2を用いて作成した分析用試料)の適量(例え

ば1000mL)を正確にはかり取り(注7)サロゲート溶液(10ng/mL)100 μ L、4mol/L塩酸500 μ L加えて充分混合した後(注8)、メタノール10mL、水5mLでコンディショニングした固相抽出用カートリッジに通水する。水5mL、メタノール/水(1:4v/v)5mLで洗浄した後、メタノール10mLで固相から溶出させる。メタノール溶液は窒素ガスを吹き付けることにより100 μ L程度まで濃縮した後、メタノール/水(1:1v/v)で500 μ Lに定容し、試料液とする。

(2)空試料液の調製

試料と同量の水を用いて、(1)の操作を行い、空試料液を調製する。

(3)測定

(a)LC/MS測定条件の例

・ HPLC

カラム : ODS (150 \times 2.1mm i.d.、3.5 μ m)

流速 : 0.2mL/min

移動相 : A 液 10mM酢酸アンモニウム水溶液

B 液 アセトニトリル

グラジエント : アセトニトリル 45(3min)~80% (10min)

カラム恒温槽 : 35

注入量 : 10 μ L

・ MS

イオン化法 : ESI negative

検出モード : SIM

キャピラリー電圧 : 2.8kV

コーン電圧

PFOS : 90V

PFOA : 35V

サロゲート((PFOS-¹³C₄) : 90V

サロゲート((PFOA-¹³C₂) : 35V

測定イオン

PFOS : m/z499

PFOA : m/z413

サロゲート((PFOS-¹³C₄) : m/z503

サロゲート((PFOA-¹³C₂) : m/z415

(b)LC/MS/MS測定条件の例

・ HPLC

LC/MS測定条件の例と同様

・ MS

イオン化法 : ESI negative

検出モード : MRM

キャピラリー電圧：2.8kV

コーン電圧

PFOS：90V

PFOA：35V

サロゲート((PFOS-¹³C₄)：90V

サロゲート((PFOA-¹³C₂)：35V

コリジョンエネルギー

PFOS：40eV

PFOA：10eV

サロゲート((PFOS-¹³C₄)：40eV

サロゲート((PFOA-¹³C₂)：10eV

測定イオン

PFOS：m/z499 m/z 99

PFOA：m/z413 m/z 369

サロゲート((PFOS-¹³C₄)：m/z503 m/z 99

サロゲート((PFOA-¹³C₂)：m/z415 m/z 370

(c) 検量線

混合標準液(10ng/mL)を20~400μL、混合標準液(1μg/mL)を10μL~2mLの範囲で段階的にとり、それぞれにサロゲート溶液(1μg/mL)を20μL(20ng)ずつ正確に添加した後、メタノール/水(1:1v/v)を加えて10mL定容にする(注9)。

この溶液10μLをLC/MS又はLC/MS/MSに注入し、各対象物質とサロゲート物質とのピーク面積比を縦軸、対象物質とサロゲート物質の濃度比を横軸に用いて検量線を作成する(注10)。

(d) 試料液の測定

検量線作成後、試料液及び空試料液の各10μLをLC/MS又はLC/MS/MSに注入して測定を行う。一定時間ごとに、検量線の間濃度の標準液を測定し、期待値の20%以内の変動であることを確認する。もし、この範囲をはずれた場合は、LC/MS又はLC/MS/MSを再調整後、検量線を作成し直して、測定を再開する。

(e) 同定、定量及び計算

・同定

対象物質とサロゲートのピークが検量線作成で用いた標準物質の保持時間の±10秒以内に出現すれば、対象物質が存在すると見なす。

・定量及び計算

サロゲート物質と対象物質のピーク面積比から、試料中の対象物質の検出量を求める。次に検出量、分析した試料量から、次式により試料中の対象物質の濃度を計算する。

試料濃度(ng/L) = 検出量(ng) / 試料量(L)

(注7) 浮遊物質(SS)が多い場合は、ガラス繊維ろ紙(孔径1 μ m)でろ過する。ろ紙に捕集したSSは、メタノール10mLを用いて3回抽出(超音波利用)し、1mL程度に濃縮した後ろ液にあわせる。

(注8) 4mol/L塩酸を添加しpH3.5程度とする。試料により添加量を調整する必要がある。

(注9) 試料として0.01~100ng/Lに相当する。また、サロゲート(PFOA-¹³C₂及びPFOS-¹³C₄)のみを含む溶液(1 μ g/mL)を検量線用溶液と同様に調製し測定して、ブランクの確認を行う。

(注10) PFOSは複数の異性体を持つ混合物であるが、各異性体の標準品の入手が現時点では困難であるため、LC/MS-SIM及びLC/MS/MS-MRMにおける各異性体の感度は同等であると仮定した。

4) その他

この方法は、「要調査項目等調査マニュアル(水質、底質、水生生物)」(平成20年3月、環境省水・大気環境局水環境課)に基づき作成している。

3. 土壌試料(ダイオキシン類分析用)

試料中のダイオキシン類を溶媒抽出し、ガスクロマトグラフ質量分析法により測定する。測定方法には、「土壌のダイオキシン類簡易測定法マニュアル(平成21年3月、以下「簡易測定法マニュアル」という)及び「ダイオキシン類に係る土壌調査測定マニュアル(平成21年3月、以下「土壌マニュアル」という)がある。

3.1 ダイオキシン類(簡易測定法マニュアルの方法)

試料からダイオキシン類を抽出後、クリーンアップし、ガスクロマトグラフ質量分析計(GC/MS)で同定・定量する。

「簡易測定法」としての同定・定量は、高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計(GC/HRMS)、ガスクロマトグラフ四重極形質量分析計(GC/QMS)又はガスクロマトグラフ三次元四重極形質量分析計(GC/ITMS/MS)を用いることができる。

(1) 高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計(GC/HRMS)法

試料からの抽出及びクリーンアップは、「3.2 土壌マニュアルの方法」に準じて行う。抽出は「3.2 土壌マニュアルの方法」で定めている方法に加え、高圧流体抽出(注1)を用いることができる。

調製されたPCDDs・PCDFs測定試料、DL-PCBs測定試料のそれぞれをGC/HRMS法で測定、あるいは、PCDDs・PCDFs・DL-PCBsの混合測定試料をGC/HRMS法で測定する。

1) 抽出及びクリーンアップ

1)-1 抽出

「3.2 土壌マニュアルの方法」で定められている抽出法のほか、高圧流体抽出(注1)も抽出法として選択できる。高圧流体抽出(注1)の操作等を以下に示す。

(1) 試薬

以下に示す試薬以外は、「3.2 土壤マニュアルの方法」と同様のものを使用する。
【珪藻土】測定に支障のない品質のもの。
【ガラスビーズ】測定に支障のない品質のもの。

(2) 器具及び装置

以下に示す装置以外は、「3.2 土壤マニュアルの方法」と同様のものを使用する。
【高圧流体抽出装置】高温、高圧下で溶媒による抽出ができる装置。

(3) 試料の抽出

(a) 内標準物質の添加

内標準物質は「3.2 土壤マニュアルの方法」と同様に添加する。

(b) 高圧流体抽出(注1)

試料の適量をはかり取り、内標準物質を添加し、抽出容器に入れ(注2)、高圧流体抽出装置に装着し、抽出を行う。高圧流体抽出装置の抽出条件を次に示す。

〔高圧流体抽出装置の抽出条件〕

容器 : 33mL又は99mL

溶媒(注3) : アセトン及びトルエン

温度 : アセトン120、トルエン160

加熱時間 : アセトン6min、トルエン8min

圧力 : 10.3MPa (1500psi)

静置時間 : 20min

抽出サイクル : アセトン1回及びトルエン2回

溶媒置換総量 : 抽出容器の50%

窒素パージ : 0.9MPa for 150sec

(注1)高速溶媒抽出、高圧液体抽出又は加圧流体抽出とも呼ばれている。

(注2)抽出容器の下部に紙を敷き、次に試料を入れ、空隙が生じる場合には、ガラスビーズを充てんする。

(注3)乾燥試料では、抽出溶媒はトルエンだけでもよい。この場合、抽出サイクルはトルエン2回でよい。

1) -2 クリーンアップ

クリーンアップは、「3.2 土壤マニュアルの方法」と同様の操作を行う。

ただし、高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計(GC/HRMS)法の場合は、「土壤マニュアル」で定められている試料調製のほか、以下の操作により試料を調製してもよい。

・「3.2 土壤マニュアルの方法」の活性炭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において、PCDDs・PCDFs画分とDL-PCBs画分をそれぞれ一定量とし、その一部を正確に分取・混合・濃縮し、PCDDs・PCDFs・DL-PCBsの混合測定試料を調製する。

・「3.2 土壤マニュアルの方法」の活性炭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において、PCDDs・PCDFs画分及びDL-PCBs画分を同時に溶出する条件で溶出し、濃縮してPCDDs・PCDFs・DL-PCBsの混合測定試料を調製する。

・混合測定試料には、「3.2 土壤マニュアルの方法」と同様にシリンジスパイクを添加する。

2) 高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC/HRMS) 法による測定

調製されたPCDDs・PCDFs測定試料、DL-PCBs測定試料のそれぞれをGC/HRMS法で測定、あるいは、PCDDs・PCDFs・DL-PCBsの混合測定試料をGC/HRMS法で測定する。

2) -1 試薬

測定に用いる試薬は、次による。

【質量校正用標準物質】ペルフルオロケロセン(PFK)、ペルフルオロトリブチルアミン(PFTBA)等の質量分析用高沸点成分を使用する。質量校正用標準物質は使用する質量分析計に適切なものを用いる。

【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を表3-1に示す。

【内標準物質】クリーンアップスパイク及びシリンジスパイクに用いる内標準物質。炭素又は塩素原子が¹³C又は³⁷ClでラベルされたPCDDs、PCDFs及びDL-PCBsのうち適正な種類及び濃度のものを用いる。表3-2に内標準物質の一例を示す。

【検量線作成用標準液】GC/MSの定量範囲内で、4段階以上(範囲は機器の感度、測定対象の濃度範囲によるが、概ね0.2ng/mL～1,000ng/mL程度)を調製する。検量線作成用標準液には、1)「抽出及びクリーンアップ」で用いたクリーンアップスパイク及びシリンジスパイクの内標準物質(TeCDDs～HpCDDs、TeCDFs～HpCDFs及びDL-PCBsを50～100ng/mL、OCDD及びOCDFでは100～200ng/mLの濃度程度になるように)を混合する。

表3-1 測定に用いる標準物質
(Co-PCBsはDL-PCBsを示す)

		PCDDs		PCDFs	
PCDDs, PCDFs	TeCDDs	2,3,7,8-TeCDD		TeCDFs	2,3,7,8-TeCDF
	PeCDDs	1,2,3,7,8-PeCDD		PeCDFs	1,2,3,7,8-PeCDF
	HxCDDs	1,2,3,4,7,8-HxCDD		HxCDFs	2,3,4,7,8-PeCDF
		1,2,3,6,7,8-HxCDD			1,2,3,4,7,8-HxCDF
		1,2,3,7,8,9-HxCDD			1,2,3,6,7,8-HxCDF
HpCDDs	1,2,3,4,6,7,8-HpCDD		HpCDFs	1,2,3,7,8,9-HxCDF	
OCDD	1,2,3,4,6,7,8,9-OCDD		OCDF	2,3,4,6,7,8-HxCDF	
Co-PCBs					
Co-PCBs	TeCBs	3,3',4,4'-TeCB(#77)*			
		3,4,4',5'-TeCB(#81)*			
	PeCBs	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)**			
		3,3',4,4',5'-PeCB(#126)*			
	HxCBs	2,3,3',4,4',5'-HxCB(#156)**			
		2,3,3',4,4',5'-HxCB(#157)**			
		2,3',4,4',5,5'-HxCB(#167)**			
		3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)*			
HpCBs	2,3,3',4,4',5,5'-HpCB(#189)**				

注* ノンオルト体を示す。

注** モノオルト体を示す。

表3 - 2 測定に用いる内標準物質の例
(Co-PCBsはDL-PCBsを示す)

		PCDDs		PCDFs	
PCDDs, PCDFs	TeCDDs	¹³ C ₁₂ -1,2,3,4-TeCDD ¹² C ₆ ¹³ C ₆ -1,2,3,4-TeCDD ¹³ C ₁₂ -1,3,6,8-TeCDD ¹³ C ₁₂ -2,3,7,8-TeCDD ³⁷ Cl ₄ -2,3,7,8-TeCDD	TeCDFs	¹³ C ₁₂ -2,3,7,8-TeCDF ¹² C ₆ ¹³ C ₆ -2,3,7,8-TeCDF ¹³ C ₁₂ -1,2,3,4-TeCDF ¹³ C ₁₂ -1,2,7,8-TeCDF ¹³ C ₁₂ -1,3,6,8-TeCDF	
	PeCDDs	¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8-PeCDD ¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7-PeCDD	PeCDFs	¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8-PeCDF ¹³ C ₁₂ -2,3,4,7,8-PeCDF ¹² C ₆ ¹³ C ₆ -2,3,4,7,8-PeCDF	
	HxCDDs	¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8-HxCDD ¹³ C ₁₂ -1,2,3,6,7,8-HxCDD ¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8,9-HxCDD ¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6,7-HxCDD	HxCDFs	¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8-HxCDF ¹² C ₆ ¹³ C ₆ -1,2,3,4,7,8-HxCDF ¹³ C ₁₂ -1,2,3,6,7,8-HxCDF ¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8,9-HxCDF ¹³ C ₁₂ -2,3,4,6,7,8-HxCDF	
	HpCDDs	¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	HpCDFs	¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6,7,8-HpCDF ¹² C ₆ ¹³ C ₆ -1,2,3,4,6,7,8-HpCDF ¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	
	OCDD	¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6,7,8,9-OCDD	OCDF	¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6,7,8,9-OCDF	
Co-PCBs					
Co-PCBs	TeCBs	¹³ C ₁₂ -2,2',5,5'-TeCB(#52)			
		¹³ C ₁₂ -2,3',4',5'-TeCB(#70)			
		¹³ C ₁₂ -3,3',4,4'-TeCB(#77)			
		¹³ C ₁₂ -3,4,4',5'-TeCB(#81)			
	PeCBs	¹³ C ₁₂ -2,3,3',4,4'-PeCB(#105)			
		¹³ C ₁₂ -2,3,4,4',5'-PeCB(#114)			
		¹³ C ₁₂ -2,3',4,4',5'-PeCB(#118)			
		¹³ C ₁₂ -2',3,4,4',5'-PeCB(#123)			
		¹³ C ₁₂ -3,3',4,4',5'-PeCB(#126)			
	HxCBs	¹³ C ₁₂ -2,3,3',4,4',5'-HxCB(#156)			
		¹³ C ₁₂ -2,3,3',4,4',5'-HxCB(#157)			
		¹³ C ₁₂ -2,3',4,4',5,5'-HxCB(#167)			
		¹³ C ₁₂ -3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)			
HpCBs	¹³ C ₁₂ -2,3,3',4,4',5,5'-HpCB(#189)				

2) -2 器具及び装置

測定に用いる器具及び装置は、以下による。

(1) ガスクロマトグラフ (GC)

(a) 試料導入部

スプリットレス方式、オンカラム方式又は大量注入方式（温度プログラム気化注入方式、カラムスイッチング-クライオフォーカス方式等）で、注入口温度が250～280℃で使用可能なもの。採用する装置と注入法の組合せから支障なく測定できることをあらかじめ確認しておくこと。

(b) カラム

内径0.25～0.30mm、長さ30m以上の溶融シリカ製のキャピラリーカラムを使用する。

GCカラムは次の要件を満足すること。

PCDDs及びPCDFsの測定では、使用する温度条件において、2,3,7,8-位塩素置換体が可能な限り単離でき、かつ、すべての化合物について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であること。

DL-PCBsの測定では、使用する温度条件において、12種類のDL-PCBsが他のPCBs化合物と可能な限り単離でき、かつ、4塩化物から10塩化物のすべてのPCBs化合物について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であること。

無極性の液相でないこと。

PCDDs及びPCDFsの測定において、すべての2,3,7,8-位塩素置換体を他の異性体と完全に分離できるカラムは報告されていないので、「土壌マニュアル」では溶出順位の異なる2種以上のカラムを併用することとしているが、「簡易測定法」では と の要件を満たす1種類のカラムを用いてもよい。また、PCDDs及びPCDFsとDL-PCBsの混合測定試料をGC/HRMS法で測定する場合には、 ~ の要件を満たすカラムを選択すること。なお、これらの場合には、重なる化合物の影響が小さいカラムを選択すること。

(c) キャリヤーガス

純度99.999%(v/v)以上の高純度ヘリウム。

(d) カラム恒温槽

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調節できるような昇温プログラムの可能なもの。

(2) 質量分析計 (MS)

(a) 方式：二重収束方式

(b) 分解能：10000 以上 (10%谷)

(c) イオン検出方法：質量校正用標準物質を用いたロックマス方式による選択イオン検出 (SIM)法

(d) イオン化方法：電子衝撃イオン化 (EI) 法

(e) イオン源温度：250～340

(f) イオン化電流：500～1000 μ A

(g) 電子加速電圧：30～70V

(h) イオン加速電圧：5～10kV

2) -3 測定操作

(1) 高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計の分析条件の設定

(a) ガスクロマトグラフ (GC)

PCDDs及びPCDFs、DL-PCBs のガスクロマトグラフの操作条件は、次による (表3 - 3 参照)。

PCDDs及びPCDFs

PCDDs及びPCDFsの測定においては、クロマトグラム上における2,3,7,8-位塩素置換体のピークが他の化合物のものと良好な分離が得られ、各塩化物の保持時間が適切な範囲にあり、安定した応答が得られるようにガスクロマトグラフの条件を設定する。設定した条件における各化合物の分離状況を飛灰等の抽出液の試料を測定して確認しておく。

DL-PCBs

DL-PCBsにおいては、DL-PCBsのクロマトグラム上でのピークが他の化合物のものと良好な分離が得られ、各塩化物の保持時間が適切な範囲にあり、安定した応答が得られるようにガスクロマトグラフの条件を設定する。設定した条件における各化合物の分離状況を飛灰等の抽出液の試料を測定して確認しておく。

なお、PCDDs及びPCDFsとDL-PCBsの混合測定試料を測定する場合には、 と を満

足する条件とする。

(b)質量分析計(MS)

質量分析計は、次のことを満足する条件に設定する。

分解能

分解能は10000以上とする。

検出方法

選択イオン検出(SIM)法を用いる。

測定質量数

試料及び内標準物質の塩化物ごとに、2つ以上の選択イオンの質量数とロックマス用の選択イオンの質量数を設定する(注4)。PCDDs及びPCDFsとDL-PCBsの設定質量数の例を表3-4に示す。

(注4)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秒間程度であるが、1つのピークに対して十分な測定点を確保するため、クロマトグラムにおける単独成分のピークの最も幅の狭いピークであってもそのピークを構成する測定点が7点以上となるように選択イオン検出のサンプリングの周期を設定しなければならない。1回の測定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。

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測定してもよいが、この場合にはグループごとに、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。

表 3 - 3 ダイオキシン類分析用ガスクロマトグラフ測定条件の例

カラム	長さ (m)	内径 (mm)	膜厚 (μ m)	昇温条件	測定対象物質
BPX-DXN (SGE)	60	0.25	非公開	130°C (1min) \rightarrow (15°C/min) \rightarrow 210°C \rightarrow (3°C/min) \rightarrow 310°C \rightarrow (5°C/min) \rightarrow 320°C	TeCDDs, PeCDDs, HxCDDs, HpCDDs, OCDD, TeCDFs, PeCDFs, HxCDFs, HpCDFs, OCDF, TeCBs, PeCBs, HxCBs, HpCBs
CPS-1 (Quadrex)	50	0.25	0.25	120°C (1min) \rightarrow (30°C/min) \rightarrow 180°C \rightarrow (2°C/min) \rightarrow 230°C	TeCDDs, PeCDDs, HxCDDs, TeCDFs, PeCDFs, HxCDFs
CP-Sil 88 (Chrompack)	50	0.22	0.20	150°C (0min) \rightarrow (30°C/min) \rightarrow 180°C \rightarrow (2°C/min) \rightarrow 230°C	TeCDDs, PeCDDs, HxCDDs, TeCDFs, PeCDFs, HxCDFs
DB-17 (J&W)	30	0.32	0.25	120°C (1min) \rightarrow (20°C/min) \rightarrow 160°C \rightarrow (3°C/min) \rightarrow 280°C	TeCDDs, PeCDDs, HxCDDs, TeCDFs, PeCDFs, HxCDFs
DB-210 (J&W)	30	0.32	0.25	120°C (0min) \rightarrow (20°C/min) \rightarrow 160°C \rightarrow (2°C/min) \rightarrow 240°C	TeCDDs, PeCDDs, HxCDDs, TeCDFs, PeCDFs, HxCDFs
DB-225 (J&W)	30	0.32	0.25	120°C (0min) \rightarrow (20°C/min) \rightarrow 160°C \rightarrow (2°C/min) \rightarrow 240°C	TeCDDs, PeCDDs, HxCDDs, TeCDFs, PeCDFs, HxCDFs
DB-5 (J&W)	30	0.32	0.25	120°C (1min) \rightarrow (50°C/min) \rightarrow 180°C \rightarrow (3°C/min) \rightarrow 280°C	TeCDDs, PeCDDs, HxCDDs, TeCDFs, PeCDFs, HxCDFs
DB-5ms (J&W)	60	0.32	0.25	150°C (1min) \rightarrow (20°C/min) \rightarrow 185°C (3min) \rightarrow (2°C/min) \rightarrow 245°C (3min) \rightarrow (6°C/min) \rightarrow 290°C	TeCBs, PeCBs, HxCBs, HpCBs
HT8 (SGE)	50	0.22	0.25	130°C (1min) \rightarrow (20°C/min) \rightarrow 220°C \rightarrow (5°C/min) \rightarrow 320°C	TeCBs, PeCBs, HxCBs, HpCBs
HT8-PCB (SGE)	60	0.25	非公開	130°C (1min) \rightarrow (20°C/min) \rightarrow 220°C \rightarrow (5°C/min) \rightarrow 320°C \rightarrow (5°C/min) \rightarrow 320°C	TeCBs, PeCBs, HxCBs, HpCBs TeCBs, PeCBs, HxCBs, HpCBs TeCBs, PeCBs, HxCBs, HpCBs
SP-2331 (Supelco)	60	0.25	0.20	120°C (1min) \rightarrow (50°C/min) \rightarrow 200°C \rightarrow (2°C/min) \rightarrow 260°C	TeCDDs, PeCDDs, HxCDDs, TeCDFs, PeCDFs, HxCDFs

表3-4 設定質量数(質量数、モニターイオン)の例
(Co-PCBsはDL-PCBsを示す)

塩素置換体	M ⁺	(M+2) ⁺	(M+4) ⁺
TeCDDs	319.8965	321.8936	
PeCDDs	353.8576	355.8546	357.8517**
HxCDDs	387.8186	389.8156	391.8127**
HpCDDs		423.7767	425.7737
OCDD		457.7377	459.7348
TeCDFs	303.9016	305.8987	
PeCDFs		339.8597	341.8568
HxCDFs		373.8207	375.8178
HpCDFs		407.7818	409.7788
OCDF	439.7457	441.7428	443.7398
¹³ C ₁₂ -TeCDDs	331.9368	333.9339	
³⁷ Cl ₄ -PeCDDs	327.8847		
¹³ C ₁₂ -PeCDDs	365.8978	367.8949	369.8919
¹³ C ₁₂ -HxCDDs	399.8589	401.8559	403.8530
¹³ C ₁₂ -HpCDDs		435.8169	437.8140
¹³ C ₁₂ -OCDD		469.7780	471.7750
¹³ C ₁₂ -TeCDFs	315.9419	317.9389	
¹³ C ₁₂ -PeCDFs		351.9000	353.8970
¹³ C ₁₂ -HxCDFs		385.8610	387.8580
¹³ C ₁₂ -HpCDFs		419.8220	421.8191
¹³ C ₁₂ -OCDF	451.7860	453.7830	455.7801
TeCBs	289.9224	291.9194	293.9165
PeCBs	323.8834	325.8804	327.8775
HxCBs	357.8444	359.8415	361.8385
HpCBs	391.8054	393.8025	395.7995
¹³ C ₁₂ -TeCBs	301.9626	303.9597	305.9567
¹³ C ₁₂ -PeCBs	335.9237	337.9207	339.9178
¹³ C ₁₂ -HxCBs	369.8847	371.8817	373.8788
¹³ C ₁₂ -HpCBs	403.8457	405.8428	407.8398
Co-PCBs			
	292.9824	(TeCBs 測定用)	
	304.9824	(TeCBs 測定用)	
	330.9792	(PeCBs 測定用)	
	380.9760	(HxCBs 測定用, HpCBs 測定用)	

(注)**: この測定質量数はPCBによる質量妨害を受ける。試料中のPCBs濃度が高い場合で、カラムクロマトグラフィによるGC/HRMS測定溶液の調製方法、測定時間分割によるGC/HRMS測定におけるグルーピング方式及びガスクロマトグラフのカラムの選択の組合せによってはこの質量数を用いてはならない。

(2)質量分析計の調整

質量分析計の調整は、装置が作動している状態で必要な項目の条件を設定した後、質量校正用標準物質(PFK等)を導入し、質量校正用プログラムにより行う。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。特に、分解能は測定する全試料が測定質量範囲全域で所定の条件以上となるように調整しなければならない。通常、一連の測定の最初に行う。

(3)SIM測定操作

GC/HRMSを「(1)高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計の分析条件の設定」の条件に設定し、「(2)質量分析計の調整」の調整を行う。

質量校正用標準物質を導入し、そのロックマスの応答を確認する。ロックマスは、ロックマスチャンネルとロックマスモニターチャンネル(精度確認チャンネル)を設定する(注5)。

ロックマスの応答が安定したら、標準物質を測定し、装置の感度、保持時間の範囲、測定対象物質の分離及びピーク形状等の基本的な確認を行う。確認条件に問題がなければ、試料の測定を行う。

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する。

測定終了後、データ処理作業に入る前に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、2,3,7,8-位塩素置換体及びDL-PCBsの分離の確認を行う(注6)。

(注5)質量校正用標準物質は導入量が多いとノイズの原因になる。

(注6)質量校正用標準物質のモニターチャンネルのクロマトグラム上で、定量対象化合物の出現時間において応答に $\pm 20\%$ 以上の変動が認められた場合には、その化合物については定量してはならない。原因としては、試料の精製が不十分であったり、質量校正用標準物質のモニターチャンネルの質量数の選択が適切でないこと等が考えられる。試料の精製を再度行う、あるいは質量校正用標準物質のモニターチャンネルの質量数を変更する等して、質量校正用標準物質のモニターチャンネルのクロマトグラムの応答の変動を範囲内に抑える必要がある。

2) -4 検量線の作成

(1)標準液の測定

各検量線作成用標準液を1濃度に対して最低3回GC/HRMSに注入し、「2) -3(3)SIM測定操作」の測定操作を行って、全濃度領域で合計12点以上のデータを得る。

(2)ピーク面積の強度比の確認

得られたクロマトグラムから、各標準物質の対応する2つの質量数のイオンのピーク面積の強度比を求め、塩素原子の同位体存在比から推定されるイオン強度比と $\pm 25\%$ 以内で一致することを確認する。

(3)相対感度係数の算出

(a)各標準物質及び内標準物質のピーク面積を求め、各標準物質の対応するクリーンアップスパイク内標準物質に対するピーク面積の比と注入した標準液中のその標準物質と内標準物質の濃度の比を用いて検量線を作成し、検量線が原点付近を通る直線になっていることを確認する。

相対感度係数（RRFcs）は、下式によって測定ごとに求め、得られたデータを平均する。この場合、データの変動係数が15%を超える化合物があってはならない。変動係数が15%を超える場合は、GC/MSの状態を確認して必要ならば再調整し直したり、直線性のある範囲に定量範囲を狭める等の処置を行って検量線を作成し直す。

ここで用いるピーク面積は、一方の測定チャンネルのピーク面積、両測定チャンネルのピーク面積の合計値又は両測定チャンネルのピーク面積の平均値のいずれかとし、試料の測定までのすべての測定において同じものを用いなければならない。

$$RRFcs=(Qcs/Qs) \times (As/Acs)$$

ここに、RRFcs：測定対象物質のクリーンアップスパイク内標準物質との相対感度係数

Qcs：標準液中のクリーンアップスパイク内標準物質の量 (pg)

Qs：標準液中の測定対象物質の量 (pg)

As：標準液中の測定対象物質のピーク面積

Acs：標準液中のクリーンアップスパイク内標準物質のピーク面積

(b)同様にして、クリーンアップスパイク内標準物質のシリンジスパイク内標準物質に対する相対感度係数（RRFrs）を下式により算出する。クリーンアップスパイク内標準物質とシリンジスパイク内標準物質との対応の例を表3 - 5に示す。

$$RRFrs=(Qrs/Qcs) \times (Ass/Ars)$$

ここに、RRFrs：クリーンアップスパイク内標準物質のシリンジスパイク内標準物質との相対感度係数

Qrs：標準液中のシリンジスパイク内標準物質の量 (pg)

Qcs：標準液中のクリーンアップスパイク内標準物質の量 (pg)

Acs：標準液中のクリーンアップスパイク内標準物質のピーク面積

Ars：標準液中のシリンジスパイク内標準物質のピーク面積

表3 - 5 クリーンアップスパイク内標準物質とシリンジスパイク内標準物質との対応例

クリーンアップスパイク内標準物質	対応するシリンジスパイク内標準物質
¹³ C ₁₂ -2,3,7,8-TeCDD ¹³ C ₁₂ -2,3,7,8-TeCDF ¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8-PeCDD ¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8-PeCDF ¹³ C ₁₂ -2,3,4,7,8-PeCDF	¹³ C ₁₂ -1,2,3,4-TeCDF 又は ¹³ C ₁₂ -1,3,6,8-TeCDF
¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8-HxCDD ¹³ C ₁₂ -1,2,3,6,7,8-HxCDD ¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8,9-HxCDD ¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8-HxCDF ¹³ C ₁₂ -1,2,3,6,7,8-HxCDF ¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8,9-HxCDF ¹³ C ₁₂ -2,3,4,6,7,8-HxCDF ¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6,7,8-HpCDD ¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6,7,8-HpCDF ¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8,9-HpCDF ¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6,7,8,9-OCDD ¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6,7,8,9-OCDF	¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6,7-HxCDD 又は ¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6,8,9-HpCDF
¹³ C ₁₂ -3,3',4,4'-TeCB(#77) ¹³ C ₁₂ -3,4,4',5-TeCB(#81) ¹³ C ₁₂ -2,3,3',4,4'-PeCB(#105) ¹³ C ₁₂ -2,3,4,4',5-PeCB(#114) ¹³ C ₁₂ -2,3',4,4',5-PeCB(#118) ¹³ C ₁₂ -2',3,4,4',5-PeCB(#123) ¹³ C ₁₂ -3,3',4,4',5-PeCB(#126) ¹³ C ₁₂ -2,3,3',4,4',5-HxCB(#156) ¹³ C ₁₂ -2,3,3',4,4',5'-HxCB(#157) ¹³ C ₁₂ -2,3',4,4',5,5'-HxCB(#167) ¹³ C ₁₂ -3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169) ¹³ C ₁₂ -2,3,3',4,4',5,5'-HpCB(#169)	¹³ C ₁₂ -2,2',5,5'-TeCB(#52) 又は ¹³ C ₁₂ -2,3',4',5-TeCB(#70)

2) -5 試料の測定

(1)検量線の確認

ある一定の周期（1日に1回以上）で、検量線作成用標準液の中から中間程度の濃度のものを選び、「2) -3(3)SIM測定操作」に従って測定し、各化合物のそれに対応したクリーンアップスパイク内標準物質に対する相対感度係数(RRFcs)を求める。さらに、クリーンアップスパイク内標準物質のそれに対応したシリンジスパイク内標準物質に対する相対感度係数(RRFrs)を求める。

これらの相対感度係数が、「2) -4(3)相対感度係数の算出」で求めた検量線作成時の相対感度係数(RRFcs及びRRFrs)に対して $\pm 20\%$ 以内であれば、「2) -4(3)相対感度係数の算出」で求めた相対感度係数を用いて測定を行う。これを超えて相対感度係数が変動する場合は、その原因を取り除き、試料の再測定を行うか、再度検量線を作成する。

さらに、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、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、その直前に行った一連の試料の再測定を行う。

(2)試料測定

調製したGC/MS測定用試料を「2) -3(3)SIM測定操作」に従って測定し、各塩化物の質量数についてクロマトグラムを得る。

3) 同定及び定量

3) -1 ピークの検出

(1)シリンジスパイク内標準物質の確認

測定用試料中のシリンジスパイク内標準物質のピーク面積が標準液におけるシリンジスパイク内標準物質のピーク面積の70%以上であることを確認する(注7)。

(注7)GC/MSへの注入が正常に行われていることを確認することが目的であるので、測定溶液を希釈した場合など、割合に応じて注入されていることが確認できればよい。

(2)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)に対して3倍以上のピーク高さ(S)であるピーク、すなわち、ピーク高さで $S/N=3$ 以上となるピークについて、次の同定及び定量の操作を行う。

3) -2 ピーク面積の算出

検出されたピークについて、そのピーク面積を算出する。

3) -3 ダイオキシン類の同定

次の条件を満足することによって検出されたクロマトグラム上のピークをダイオキシン類と同定する。

- (a)クロマトグラム上のピークの保持時間が標準物質とほぼ同じであること。
 (b)対応する内標準物質との相対保持時間が標準物質と一致すること。
 (c)モニターした2つ以上のイオンにおけるクロマトグラム上のピーク面積の比が標準物質のものとはほぼ同じであり、表3 - 6 に示す塩素原子の同位体存在比から推定されるイオン強度比に対して±25%以内(注8)であること。

(注8)GC/QMS法においては±25%を超過しても実測濃度を算出するが、±25%超過した化合物の実測濃度にTEFを乗じて算出した毒性等量の合計がトータルの毒性当量に対し50%を超えた場合には、クリーンアップをやり直す。

表3 - 6 塩素原子の同位体存在比から推定されるイオン強度比
 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。

	M	M+2	M+4	M+6	M+8	M+10	M+12	M+14
TeCDDs	77.43	100.00	48.74	10.72	0.94	0.01		
PeCDDs	62.06	100.00	64.69	21.08	3.50	0.25		
HxCDDs	51.79	100.00	80.66	34.85	8.54	1.14	0.07	
HpCDDs	44.43	100.00	96.64	52.03	16.89	3.32	0.37	0.02
OCDD	34.54	88.80	100.00	64.48	26.07	6.78	1.11	0.11
TeCDFs	77.55	100.00	48.61	10.64	0.92			
PeCDFs	62.14	100.00	64.57	20.98	3.46	0.24		
HxCDFs	51.84	100.00	80.54	34.72	8.48	1.12	0.07	
HpCDFs	44.47	100.00	96.52	51.88	16.80	3.29	0.37	0.02
OCDF	34.61	88.89	100.00	64.39	25.98	6.74	1.10	0.11
TeCBs	76.67	100.00	49.11	10.83	0.93			
PeCBs	61.42	100.00	65.29	21.43	3.56			
HxCBs	51.22	100.00	81.48	35.51	8.75	1.17		
HpCBs	43.93	100.00	97.67	53.09	17.38	3.43		

3) -4 ダイオキシン類の定量

全抽出液中の同定された2,3,7,8 - 位塩素置換体又はDL-PCBsの量(Qi)は、その化合物に対応するクリーンアップスパイク内標準物質の添加量を基準にして、内標準法で次式によって求める。

$$Q_i = (A_i / A_{csi}) \times (Q_{csi} / RRF_{cs})$$

ここに、 Qi : 全抽出液中の化合物の量 (pg)

Ai : クロマトグラム上の化合物のピーク面積

Acsi : 対応するクリーンアップスパイク内標準物質のピーク面積

Qcsi : 対応するクリーンアップスパイク内標準物質の添加量(注9)(pg)

RRFcs : 対応するクリーンアップスパイク内標準物質との相対感度係数

(注9)試料を抽出後、分取し、内標準物質を添加した場合はその補正をする。

3) -5 濃度の算出

得られた各化合物の量から、試料中の濃度を次式によって算出し、JIS Z 8401の規定によって数値を丸め、有効数字を2桁とする。

$$C_i = (Q_i - Q_t) \times (1/W)$$

ここに、 C_i : 試料中の化合物の濃度 (pg/g)

Q_i : 全抽出液中の化合物の量 (pg)

Q_t : ブランク試験での化合物の量 (pg)

W : 試料量 (g)

4) 定量下限

(1) 装置の定量下限

最低濃度の検量線作成用標準液をGC/MSで測定し、各2,3,7,8-位塩素置換体及びDL-PCBsを定量する。この操作を5回以上繰り返し、得られた測定値から標準偏差を求め、その10倍を装置の定量下限とする。ここでは、測定値の丸めは行わずに標準偏差を算出し、得られた定量下限は有効数字1桁とする。

この装置の定量下限は、使用するGC/MSの状態等によって変動するため、ある一定の周期で確認し、常に十分な値が得られるように管理する。また、使用するGC/MSや測定条件を変更した場合等には必ず確認する。

(2) 試料の定量下限

実際の試料の測定において、2,3,7,8 - 位塩素置換体及びDL-PCBsに対応するピークの近傍のベースラインのノイズを計測し、ノイズ幅の10倍 ($S/N=10$) に相当する高さのピーク面積を推定し、そのピーク面積から定量下限を算出する。

5) 回収率の確認

クリーンアップスパイク内標準物質のピーク面積とシリンジスパイク内標準物質のピーク面積の比及び対応する相対感度係数(RRFrs)を用いて、次式によって回収率を計算し、クリーンアップの回収率を確認する。

クリーンアップの回収率が40～130%の範囲内でない場合には、クリーンアップをやり直す。

$$R_c = (A_{csi} / A_{rsi}) \times (Q_{rsi} / RRFrs) \times (100 / Q_{csi})$$

ここに、 R_c : クリーンアップ回収率 (%)

A_{csi} : クリーンアップスパイク内標準物質のピーク面積

A_{rsi} : 対応するシリンジスパイク内標準物質のピーク面積

Q_{rsi} : 対応するシリンジスパイク内標準物質の添加量 (pg)

RRFrs : 対応するシリンジスパイク内標準物質との相対感度係数

Q_{csi} : 対応するクリーンアップスパイク内標準物質の添加量 (pg)

6) 結果の報告

(1) 結果の表示方法(注10)

(a) PCDDs・PCDFs

PCDDs・PCDFsの結果には、2,3,7,8-位塩素置換異性体(17異性体)の濃度を記載する。

各異性体の濃度は、試料における定量下限以上の値はそのまま記載し、試料の定量下限

値未満の値は別の欄に記載する。また、試料の定量下限値未満の値は、定量下限値未満であることがわかるように記載する。

(b)DL-PCBs

DL-PCBsの結果は、各異性体（12異性体）の濃度を(a)と同様に記載する。

(c)毒性当量（TEQ）

ダイオキシン類の濃度を毒性当量に換算する場合には、異性体の濃度に毒性等価係数（TEF、2,3,7,8-TeCDD Toxicity Equivalency Factor）を乗じて算出する。

・毒性等価係数（TEF）

毒性等価係数（TEF）は、表3-7に示す。

・毒性当量（TEQ）の算出

各異性体の濃度については「定量下限以上の値」はそのままの値を用い、「定量下限未満の値」はゼロ(0)として、各異性体の毒性当量を算出し、それらを合計して毒性当量（TEQ）を算出する(注11)。

「毒性当量（PCDDs及びPCDFs）」はPCDDs及びPCDFs異性体の濃度、「毒性当量（DL-PCBs）」はDL-PCBs異性体の濃度で算出し、「毒性当量」は毒性当量（PCDDs及びPCDFs）と毒性当量（DL-PCBs）の合計として算出する。

(2)濃度の単位

pg/gで表示する。

(注10)分析結果は、JIS Z 8401によって数値を丸め、有効数字2桁として表示する。

(注11)毒性当量の算出に当たっては、各異性体の毒性当量を計算し、その合計値をもって有効数字2桁に(注10)と同様に数値を丸める。つまり、個々の異性体の毒性当量については丸めの操作は行わない。

7) その他

この方法は、「土壌のダイオキシン類簡易測定法マニュアル」（平成21年3月環境省水・大気環境局土壌環境課）に基づき作成している。

表 3 - 7 ダイオキシン類の毒性等価係数 (TEF)

区分	項目 (異性体) +	TEF(2006) **
PCDDs異性体	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
PCDFs異性体	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
DL-PCBs異性体 (ノンオルト体)	3,4,4',5-TeCB (# 81)	0.0003
	3,3',4,4'-TeCB (# 77)	0.0001
	3,3',4,4',5-PeCB (#126)	0.1
	3,3',4,4',5,5'-HxCB (#169)	0.03
DL-PCBs異性体 (モノオルト体)	2',3,4,4',5-PeCB (#123)	0.00003
	2,3',4,4',5-PeCB (#118)	0.00003
	2,3,3',4,4'-PeCB (#105)	0.00003
	2,3,4,4',5-PeCB (#114)	0.00003
	2,3',4,4',5,5'-HxCB (#167)	0.00003
	2,3,3',4,4',5-HxCB (#156)	0.00003
	2,3,3',4,4',5'-HxCB (#157)	0.00003
	2,3,3',4,4',5,5'-HpCB(#189)	0.00003

* : ()内の数値は、IUPAC No.を示す。

** : TEF(2006)は、2006年にWHO/IPCSから提案されたものを表す。

(2) ガスクロマトグラフ四重極形質量分析計 (GC/QMS) 法

試料からの抽出及びクリーンアップは「3.2 土壌マニュアルの方法」に準じて行う。
抽出は「3.2 土壌マニュアルの方法」に加え、高圧流体抽出を用いることができる。

調製したPCDDs・PCDFs測定試料、DL-PCBs測定試料のそれぞれを測定する。

1) 抽出及びクリーンアップ

「(1) 高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC/HRMS) 法」と同様に行う。

2) ガスクロマトグラフ四重極形質量分析計 (GC/QMS) 法による測定

調製したPCDDs・PCDFs測定試料、DL-PCBs測定試料のそれぞれをGC/QMS法で測定する。

2) -1 試薬

測定に用いる試薬は、(1)の2)-1と同様のものを使用する。

2) -2 器具及び装置

測定に用いる器具及び装置は、以下による。

(1)ガスクロマトグラフ(GC)

ガスクロマトグラフは、「(1)の2)-2(1)ガスクロマトグラフ(GC)」と同様のものを使用する。

(2)質量分析計(MS)

(a)方式：四重極方式

(b)イオン検出方法：選択イオン検出(SIM)法

(c)イオン化方法：電子衝撃イオン化(EI)法

(d)イオン源温度：機器の最適条件にする。

(e)電子加速電圧：70V

2) -3 測定操作

(1)ガスクロマトグラフ四重極形質量分析計の分析条件の設定

(a)ガスクロマトグラフ(GC)

PCDDs及びPCDFs、DL-PCBsのガスクロマトグラフの操作条件は、「(1)の2)-3(1)(a)」及び「(1)の2)-3(1)(a)」と同じである。

(b)質量分析計(MS)

質量分析計は、次のことを満足する条件に設定する。

検出方法

選択イオン検出(SIM)法を用いる。

測定質量数

試料及び内標準物質の塩化物ごとに、2つ以上の選択イオンの質量数とロックマス用の選択イオンの質量数を設定する(注1)。PCDDs及びPCDFsとDL-PCBsの設定質量数の例を表3-8に示す。

(注1) 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秒間程度であるが、1つのピークに対して十分な測定点を確保するため、クロマトグラムにおける単独成分のピークの最も幅の狭いピークであってもそのピークを構成する測定点が7点以上となるように選択イオン検出のサンプリングの周期を設定しなければならない。1回の測定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。

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測定してもよいが、この場合にはグループごとに、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。

(2)質量分析計の調整

質量分析計の調整は、装置が作動している状態で必要な項目の条件を設定した後、質量校正用標準物質を導入し、質量校正用プログラムにより行う。通常、一連の測定の最初に行う。

(3)SIM測定操作

測定操作は、次による。

(a)GC/QMSを「2)-3(1)ガスクロマトグラフ四重極形質量分析計の分析条件の設定」の条件に設定し、「2)-3(2)質量分析計の調整」の調整を行う。

(b)設定した各塩化物に対応する質量数(表3-8参照)について、クロマトグラムを記録する。

(c)測定終了後、データ処理作業に入る前に個々の試料ごとに妨害成分の有無、2,3,7,8-位塩素置換体及びDL-PCBsの分離状況の確認を行う。

表3-8 GC/QMS測定における設定質量数(モニターイオン)の例

塩素置換体	M+	(M+2)+	(M+4)+
TeCDDs	320	322	—
PeCDDs	354	356	358
HxCDDs	388	390	392
HpCDDs	—	424	426
OCDD	—	458	460
TeCDFs	304	306	—
PeCDFs	—	340	342
HxCDFs	—	374	376
HpCDFs	—	408	410
OCDF	440	442	444
¹³ C ₁₂ -TeCDDs	332	334	—
³⁷ Cl ₄ -PeCDDs	328	—	—
¹³ C ₁₂ -PeCDDs	366	368	370
¹³ C ₁₂ -HxCDDs	400	402	404
¹³ C ₁₂ -HpCDDs	—	436	438
¹³ C ₁₂ -OCDD	—	470	472
¹³ C ₁₂ -TeCDFs	316	318	—
¹³ C ₁₂ -PeCDFs	—	352	354
¹³ C ₁₂ -HxCDFs	—	386	388
¹³ C ₁₂ -HpCDFs	—	420	422
¹³ C ₁₂ -OCDF	452	454	456
TeCBs	290	292	294
PeCBs	324	326	328
HxCBs	358	360	362
HpCBs	392	394	396
¹³ C ₁₂ -TeCBs	302	304	306
¹³ C ₁₂ -PeCBs	336	338	340
¹³ C ₁₂ -HxCBs	370	372	374
¹³ C ₁₂ -HpCBs	404	406	408

2) -4 検量線の作成

(1)標準液の測定

各検量線作成用標準液を1濃度に対して最低3回GC/QMSに注入し、「2) -3(3)SIM測定操作」の測定操作を行って、全濃度領域で合計12点以上のデータを得る。

(2)ピーク面積の強度比の確認

得られたクロマトグラムから、各標準物質の対応する2つの質量数のイオンのピーク面積の強度比を求め、塩素原子の同位体存在比から推定されるイオン強度比と $\pm 25\%$ 以内で一致することを確認する。

(3)相対感度係数の算出

相対感度係数は、「(1) 2) -4(3)相対感度係数の算出」と同様に算出する。

2) -5 試料の測定

(1)検量線の確認

ある一定の周期(1日に1回以上)で、検量線作成用標準液の中から中間程度の濃度のものを選び、「2) -3(3)SIM測定操作」に従って測定し、各化合物のそれに対応したクリーンアップスパイク内標準物質に対する相対感度係数(RRFcs)を求める。さらに、クリーンアップスパイク内標準物質のそれに対応したシリジスパイク内標準物質に対する相対感度係数(RRFrs)を求める。

これらの相対感度係数が、「2) -4(3)相対感度係数の算出」で求めた検量線作成時の相対感度係数(RRFcs及びRRFrs)に対して $\pm 20\%$ 以内であれば、「2) -4(3)相対感度係数の算出」で求めた相対感度係数を用いて測定を行う。これを超えて相対感度係数が変動する場合は、その原因を取り除き、試料の再測定を行うか、再度検量線を作成する。

さらに、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、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、その直前に行った一連の試料の再測定を行う。

(2)試料測定

調製したGC/MS測定用試料を「2) -3(3)SIM測定操作」に従って測定し、各塩化物の質量数についてクロマトグラムを得る。

3) 同定及び定量

「(1) 高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計(GC/HRMS)法」と同様に行う。

4) 定量下限

「(1) 高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計(GC/HRMS)法」と同様に行う。

5) 回収率の確認

「(1) 高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計(GC/HRMS)法」と同様に行う(注2)。

(注2)GC/QMS法については、すべての化合物が40～130%の範囲に入ることが基本であるが、回収率の平均が40～130%の範囲外の場合、クリーンアップをやり直す。

6) 結果の報告

「(1) 高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC/HRMS) 法」と同様に行う。

7) その他

この方法は、「土壤のダイオキシン類簡易測定法マニュアル」(平成21年3月環境省水・大気環境局土壤環境課)に基づき作成している。

(3) ガスクロマトグラフ三次元四重極形質量分析計 (GC/ITMS/MS) 法

試料からの抽出及びクリーンアップは「3.2 土壤マニュアルの方法」に準じて行う。抽出は「3.2 土壤マニュアルの方法」に加え、高圧流体抽出を用いることができる。

調製したPCDDs・PCDFs測定試料、DL-PCBs測定試料のそれぞれを測定する。

1) 抽出及びクリーンアップ

「(1) 高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC/HRMS) 法」と同様に行う。

2) ガスクロマトグラフ三次元四重極形質量分析計 (GC/ITMS/MS) 法による測定

調製したPCDDs・PCDFs測定試料、DL-PCBs測定試料のそれぞれをGC/ITMS/MS法で測定する。

2)-1 試薬

測定に用いる試薬は、(1)の2)-1と同様のものを使用する。

2)-2 器具及び装置

測定に用いる器具及び装置は、以下による。

(1)ガスクロマトグラフ(GC)

ガスクロマトグラフは、「(1)の2)-2(1)ガスクロマトグラフ(GC)」と同様のものを使用する。

(2)質量分析計(MS)

(a)方式：三次元四重極形(イオントラップ形)質量分析計(ITMS/MS)

(b)イオン検出方法：選択反応検出(SRM)法

(c)イオン化方法：電子衝撃イオン化(EI)法を用い、前駆イオンの分解では、衝突誘起解離(CID)(注1)を用いる。

(d)イオン源温度：機器の最適条件にする。

(e)電子加速電圧：70V

(注1)衝突誘起解離(CID)とは、運動エネルギーを持ったイオンがターゲットガスと衝突し、衝突エネルギーの一部が内部エネルギーに変換され励起することでイオンの解離が起こる現象。

2) -3 測定操作

(1)ガスクロマトグラフ三次元四重極形質量分析計の分析条件の設定

(a)ガスクロマトグラフ(GC)

PCDDs及びPCDFs、DL-PCBsのガスクロマトグラフの操作条件は、「(1)の2)-3(1)(a)」及び「(1)の2)-3(1)(a)」と同じである。

(b)質量分析計(MS)

質量分析計は、次のことを満足する条件に設定する。

検出方法

選択反応検出(SRM)法を用いる。

測定質量数

定量対象化合物及び内標準物質の塩素化物ごとに、先駆イオンを選択し、先駆イオンに対応する2つ以上の生成イオンを設定する(注2)。PCDDs及びPCDFsの設定質量数の例を表3-9に、DL-PCBsの設定質量数の例を表3-10にそれぞれ示す。

(注2)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秒間程度であるが、1つのピークに対して十分な測定点を確保するため、クロマトグラムにおける単独成分のピークの最も幅の狭いピークであってもそのピークを構成する測定点が7点以上となるように選択反応検出のサンプリングの周期を設定しなければならない。1回の測定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。

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測定してもよいが、この場合にはグループごとに、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。

(2)質量分析計の調整

質量分析計の調整は、装置が作動している状態で必要な項目の条件を設定した後、質量校正用標準物質を導入し、質量校正用プログラムにより行う。通常、一連の測定の最初に行う。

(3)SRM測定操作

測定操作は、次による。

(a)GC/ITMS/MSを「(1)ガスクロマトグラフ三次元四重極形質量分析計の分析条件の設定」の条件に設定し、「(2)質量分析計の調整」の調整を行う。

(b)設定した各塩化物に対応する質量数について、クロマトグラムを記録する。

(c)測定終了後、データ処理作業に入る前に個々の試料ごとに妨害成分の有無、2,3,7,8-位塩素置換体及びDL-PCBsの分離状況の確認を行う。

表 3 - 9 GC/ITMS/MS測定における設定質量数（モニターイオン）の例（PCDDs/PCDFs）

	塩素置換体	先駆イオン	生成イオン		
分析対象物質	TeCDDs	322	257	259	
	PeCDDs	356	291	293	
	HxCDDs	390	325	327	
	HpCDDs	424	359	361	
	OCDD	460	395	397	
	TeCDFs	306	241	243	
	PeCDFs	340	275	277	
	HxCDFs	374	309	311	
	HpCDFs	408	343	345	
	OCDF	444	379	381	
	内標準物質	¹³ C ₁₂ -TeCDDs	334	268	270
		¹³ C ₁₂ -PeCDDs	368	302	304
¹³ C ₁₂ -HxCDDs		402	336	338	
¹³ C ₁₂ -HpCDDs		436	370	372	
¹³ C ₁₂ -OCDD		472	406	408	
¹³ C ₁₂ -TeCDFs		318	252	254	
¹³ C ₁₂ -PeCDFs		352	286	288	
¹³ C ₁₂ -HxCDFs		386	320	322	
¹³ C ₁₂ -HpCDFs		420	354	356	
¹³ C ₁₂ -OCDF		456	390	392	

表 3 - 10 GC/ITMS/MS 測定における設定質量数（モニターイオン）の例（DL-PCBs）

	塩素置換体	先駆イオン	生成イオン	
分析対象物質 物質	TeCBs	292	220	222
	PeCBs	326	254	256
	HxCBs	360	288	290
	HpCBs	394	322	324
	¹³ C ₁₂ -HxCBs	372	300	302
	¹³ C ₁₂ -HpCBs	406	334	336

2) -4 検量線の作成

(1) 標準液の測定

各検量線作成用標準液を1濃度に対して最低3回GC/ITMS/MS に注入し、「2) -3(3)SRM測定操作」の測定操作を行って、全濃度領域で合計12点以上のデータを得る。

(2) 相対感度係数の算出

相対感度係数は、「(1) の 2) -4(3)相対感度係数の算出」と同様に算出する。

2) -5 試料の測定

(1) 検量線の確認

ある一定の周期（1日に1回以上）で、検量線作成用標準液の中から中間程度の濃度のものを選び、「2) -3(3)SRM測定操作」に従って測定し、各化合物のそれに対応したクリーンアップスパイク内標準物質に対する相対感度係数（RRFcs）を求める。さらに、クリーンア

ップスパイク内標準物質のそれに対応したシリンジスパイク内標準物質に対する相対感度係数（RRFr_s）を求める。

これらの相対感度係数が、「2）-4(2)相対感度係数の算出」で求めた検量線作成時の相対感度係数（RRFc_s及びRRFr_s）に対して±20%以内であれば、「2）-4(2)相対感度係数の算出」で求めた相対感度係数を用いて測定を行う。これを超えて相対感度係数が変動する場合は、その原因を取り除き、試料の再測定を行うか、再度検量線を作成する。

さらに、保持時間についても、その変動を調べ、保持時間が一日に±5%以上、内標準物質との相対保持比が±2%以上変動する場合には、その原因を取り除き、その直前に行った一連の試料の再測定を行う。

(2) 試料測定

調製したGC/MS測定用試料を「2）-3(3)SRM測定操作」に従って測定し、各塩化物の質量数についてクロマトグラムを得る。

3) 同定及び定量

3)-1 ピークの検出

「(1) 高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計（GC/HRMS）法」と同様に行う。

3)-2 ピーク面積の算出

「(1) 高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計（GC/HRMS）法」と同様に行う。

3)-3 ダイオキシン類の同定

次の条件を満足することによって検出されたクロマトグラム上のピークをダイオキシン類と同定する。

(a)クロマトグラム上のピークの保持時間が標準物質とほぼ同じであること。

(b)対応する内標準物質との相対保持時間が標準物質と一致すること。

3)-4 ダイオキシン類の定量

「(1) 高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計（GC/HRMS）法」と同様に行う。

3)-5 濃度の算出

「(1) 高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計（GC/HRMS）法」と同様に行う。

4) 定量下限

「(1) 高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計（GC/HRMS）法」と同様に行う。

5) 回収率の確認

「(1) 高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計（GC/HRMS）法」と同様に行う(注3)。

(注3)GC/ITMS/MS法については、すべての化合物が40～130%の範囲に入ることが基本であるが、回収

率の平均が40～130%の範囲外のと看に、クリーンアップをやり直す。

6) 結果の報告

「(1) 高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC/HRMS) 法」と同様に行う。

7) その他

この方法は、「土壤のダイオキシン類簡易測定法マニュアル」(平成21年3月環境省水・大気環境局土壤環境課)に基づき作成している。

3.2 ダイオキシン類(土壤マニュアルの方法)

試料中のダイオキシン類をソックスレー抽出を行う。

その後、クリーンアップとして、硫酸処理-シリカゲルカラムクロマトグラフィ又は多層シリカゲルカラムクロマトグラフィを行い、活性炭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のいずれか又はこれらを組合せたクリーンアップを行う。試料中に鉱物油等の油分が多いとき等は、必要に応じてゲル浸透クロマトグラフィ (GPC) 又はヘキサン・ジメチルスルホキシド (DMSO) 分配を加えてもよい。

これらの操作によってクリーンアップされた試料を高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC/HRMS) によって測定する (2種類以上のカラムで測定する)。

ダイオキシン類の同定及び定量は、キャピラリーカラムを用いるガスクロマトグラフ (GC) と二重収束型質量分析計 (MS) を用いる高分解能ガスクロマトグラフ質量分析 (GC/HRMS) 法によって行う。分解能は10000以上が要求されるが、使用する内標準物質によっては12000が必要である。10000以上の高分解能での測定を維持するため、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いて測定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からダイオキシン類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によって定量を行う。

(1) 試薬

すべ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(注1)。

【水】JIS K 0557に規定するA4 (又はA3) の水。

【メタノール】JIS K 8891に規定するもの、又は同等の品質のもの。

【アセトン】JIS K 8040に規定するもの、又は同等の品質のもの。

【ヘキサン】JIS K 8825に規定するもの、又は同等の品質のもの。

【トルエン】JIS K 8680に規定するもの、又は同等の品質のもの。

【ジクロロメタン】JIS K 8117に規定するもの、又は同等の品質のもの。

【ジメチルスルホキシド (DMSO)】JIS K 9702に規定するもの、又は同等の品質のもの。

【シクロヘキサン】JIS K 8464に規定するもの、又は同等の品質のもの。

【デカン】測定に支障のない品質のもの。

【イソオクタン】測定に支障のない品質のもの。

【ノナン】測定に支障のない品質のもの。

【硫酸】JIS K 8951に規定するもの、又は同等の品質のもの。

【硫酸ナトリウム】JIS K 8987に規定するもの、又は同等の品質のもの。使用前にヘキサンで洗浄するか、450 にて数時間加熱処理する。

【水酸化カリウム】JIS K 8574に規定するもの、又は同等の品質のもの。

【硝酸銀】JIS K 8550に規定するもの、又は同等の品質のもの。

【ヘキサン洗浄水】水をヘキサンで十分洗浄したもの。

【25%(v/v) ジクロロメタン・ヘキサン混合液】ジクロロメタンとヘキサンを体積比25:75でよく混合したもの。

【2%(v/v) ジクロロメタン・ヘキサン混合液】ジクロロメタンとヘキサンを体積比2:98でよく混合したもの。

【50%(v/v) ジクロロメタン・ヘキサン混合液】ジクロロメタンとヘキサンを体積比50:50でよく混合したもの。

【5%(v/v) ジクロロメタン・ヘキサン混合液】ジクロロメタンとヘキサンを体積比5:95でよく混合したもの。

【30%(v/v) トルエン・ヘキサン混合液】トルエンとヘキサンを体積比30:70 でよく混合したもの。

【50%(v/v) ジクロロメタン・シクロヘキサン混合液】ジクロロメタンとシクロヘキサンを体積比50:50でよく混合したもの。

【活性化シリカゲル】カラムクロマトグラフ用シリカゲル（粒子径60～220 μm ）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10mm以下になるように蒸発皿又はビーカーに入れ、一定の条件で活性化させる（例：130 で約18時間加熱した後、デシケーター中で約30分間放冷等）。調製後、密閉できる容器に入れ、デシケーター中に保存する。シリカゲルの活性化条件及び保存条件はカラムクロマトグラフの分画パターンに影響するため、あらかじめ使用する活性化・保存条件にて分画試験を行うこと。

【2%水酸化カリウムシリカゲル】活性化シリカゲル100gに対して、水酸化カリウムで調製した水酸化カリウム溶液（50g/L）40mLを加えた後、ロータリーエバポレーターを用いて約50 で減圧脱水し、水分のほとんどを除去した後、温度を50 から80 に上げてさらに約1時間減圧脱水を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、デシケーター内で保存する。

【22%硫酸シリカゲル】活性化シリカゲル100gに対して、硫酸28.2gを添加後、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ー内で保存する。

【44%硫酸シリカゲル】活性化シリカゲル100gに対して、硫酸78.6gを添加後、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ー内で保存する。

【10%硝酸銀シリカゲル】活性化シリカゲル100gに対して、硝酸銀で調製した硝酸銀溶液（400g/L）28mLを加えた後、ロータリーエバポレーターで水分を完全に除去したもの。硝酸銀シリカゲルは褐色フラスコを使用して極力遮光して調製し、調製後は、密閉できる褐色瓶に入れ、デシケーター内で保存する。

【活性化アルミナ】カラムクロマトグラフ用アルミナ（塩基性、活性度 ）は、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。活性化する必要がある場合には、ピーカーに層の厚さを10mm以下にして入れ、一定の条件で活性化させる（例：130 で約18時間乾燥、ペトリ皿に層の厚さを約5mm程度にして入れて500 で約8時間加熱処理した後、デシケーター内で約30分間の放冷等）。活性化後は、速やかに使用する。

【銅粉又は銅チップ】銅粉はあらかじめアセトン及びトルエンで洗浄する。銅チップは濃塩酸で表面の酸化皮膜を洗浄した後、水、アセトン、トルエンの順で洗浄する。

【液体クロマトグラフ用活性炭カラム】液体クロマトグラフ用のグラファイトカーボンカラム。又はそれと同等の分離性能をもつもの。

【活性炭カラム充てん剤】活性炭を含浸又は分散させたシリカゲル、又はこれと同等の分離性能をもつもの。

【質量校正用標準物質】ペルフルオロケロセン（PFK）等の質量分析用高沸点成分を使用する。

【標準物質】内標準法による同定及び定量に使用する標準物質は表3 - 1に示す。

【内標準物質】炭素又は塩素原子が¹³C又は³⁷ClでラベルされたPCDDs、PCDFs及びDL-PCBsのうち適正な種類及び濃度のものを用いる。表3 - 2に内標準物質の一例を示す。内標準物質には、以下の2種類があり、それぞれ別の化合物を用いる。

a) クリーンアップスパイク用内標準物質：試料の抽出からクリーンアップまでの前処理操作全体の結果を確認し、PCDDs・PCDFs及びDL-PCBsを定量するための基準となるために添加する内標準物質である。ノナン(注2)又はトルエン溶液のものを添加する。

b) シリンジスパイク用内標準物質：GC/HRMSへの試料液の注入を確認するために添加する内標準物質で、クリーンアップスパイク用で使用したもの以外の内標準物質を用いる。ノナン(注2)又はトルエン溶液のものを添加する。

【検量線作成用標準液】標準物質とクリーンアップスパイク及びシリンジスパイクの内標準物質（TeCDDs～HpCDDs、TeCDFs～HpCDFs及びDL-PCBsを50～100ng/mL、OCDD及びOCDFでは100～200ng/mLの濃度程度になるように）を混合して、GC/HRMSの定量範囲内で、GC/HRMSの検出下限の3倍程度の低濃度から5段階以上（範囲は機器の感度、測定対象の濃度範囲によるが、概ね0.2ng/mL～1000ng/mL程度）をノナン(注2)又はトルエンで希釈して調製する。

(注1)精製によりPCDDs・PCDFs及びDL-PCBs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できれば使用できる。

(注2)デカン又はイソオクタンでもよい。

（2）器具及び装置

試料の前処理に用いる器具及び装置は、メタノール（アセトン）及びトルエン（ヘキサン）で十分洗浄するか、さらに450 で数時間加熱処理し用いる。これらの手順は操作ブランク試験によって測定に支障がないことを確認する。

1) 前処理用器具

【ガラス器具】JIS R 3503及びJIS R3505に規定するもの又はそれと同等の性能のもの。コ

ックの部分がフッ素樹脂製のものも用いてよい。

【ソックスレー抽出装置】JIS R 3503に規定するもの又はそれと同等の性能のもので、接続部にグリースを使用してはならない。必要な試料量が入るものを選択する。

【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で、接続部にグリースを使用してはならない。

【乾燥器】ガラス器具及び試薬類を加熱処理する。450 程度で連続使用可能なもの。

【電気炉】セラミック製品（主にGC/HRMSのイオン源部品等）を加熱処理する。1000 程度で連続使用可能なもの。

【カラムクロマトグラフ管】内径10～15mm、長さ100～300mmのカラムクロマトグラフ管、ダイオキシン類の吸着及び混入、妨害物質の溶出等がないガラス製又はこれと同等の材質を用いる。

【活性炭カラムクロマトグラフ器具】内径10～15mm、長さ100mmの直管、及び管と溶離液の投入用分液漏斗とその連結器具。ダイオキシン類の吸着及び混入、妨害物質の溶出等がないガラス製又はこれと同等の材質を用いる。溶液が流れやすいよう両端が斜めに切断されたものがよい。

市販されている活性炭シリカゲル及び硫酸ナトリウムを充てんしたのものを用いてもよい。

【高速液体クロマトグラフ】流路切替えバルブを装備したもので、溶離液の捕集が可能なもの。

【円筒ろ紙】ガラス又は石英繊維製のものを使用する。使用に先立ってアセトン洗浄し、さらにトルエンでソックスレー抽出器を用いて、予備洗浄する。石英繊維製の場合は、450 で数時間加熱処理し用いてもよい。

2) 高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計（GC/HRMS）

【ガスクロマトグラフ（GC）】

(a) 試料導入部：スプリットレス方式、オンカラム方式又は大量注入方式（温度プログラム気化注入方式、カラムスイッチング - クライオフォーカス方式等）（注3）で、250～280 で使用可能なもの。

(b) カラム：内径0.1～0.52mm、長さ25～60mの熔融シリカ製のキャピラリーカラム。PCDDs及びPCDFsの測定では、使用する温度条件において2,3,7,8-位塩素置換体が可能な限り単離でき、かつ、すべての化合物について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を使用し、2,3,7,8-位塩素置換体すべてを単独に定量することが望ましい。すべての2,3,7,8-位塩素置換体を他の異性体と完全に分離できるカラムは報告されていないので、溶出順位の異なる2種以上のカラムを併用することとする。単独に定量できない2,3,7,8-位塩素置換体がある場合、重なっている異性体の影響が無視できず、測定結果に大きく影響することがあるので注意する。DL-PCBsの測定では、使用する温度条件において、12種類のDL-PCBsが他のPCBs化合物と可能な限り単離でき、かつ、4塩素化物から10塩素化物のすべてのPCBs化合物について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を使用する。

(c) キャリヤーガス：純度99.999%（v/v）以上の高純度ヘリウム。

(d) カラム恒温槽：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

に調節できるような昇温プログラムが可能なもの。

【質量分析計 (MS)】

(a)方式：二重収束方式

(b)分解能：10000以上 (10%谷)。ただし、内標準物質として¹³C₁₂-OCDFを使用する場合、キャピラリーカラムの選択によっては12000程度が必要となる。

(c)イオン検出方法：質量校正用標準物質を用いたロックマス方式による選択イオン検出 (SIM) 法

(d)イオン化法：電子衝撃イオン化 (EI) 法

(e)イオン源温度：250 ~ 340

(f)イオン化電流：500 ~ 1000 μA

(g)電子加速電圧：30 ~ 70V

(h)イオン加速電圧：5 ~ 10kV

(注3)大量注入方式の場合、GC注入部の設定条件によっては、例えばOCDDとHpCDDsの濃度差が非常に大きい場合OCDDの脱塩素がHpCDDsの定量値に影響を与えることがあるのでGC注入部の設定条件は十分に検討した上で設定する必要がある。

(3) 操作

1) 抽出

1) -1 内標準物質の添加 (クリーンアップスパイク)

抽出前の試料に、クリーンアップスパイクとして内標準物質(注4)を一定量添加する。添加量は、通常、四から七塩素化物では0.4 ~ 2ng、八塩素化物では0.8 ~ 4ng、DL-PCBsでは0.4 ~ 2ngである。試料中のPCDDs・PCDFs又はDL-PCBsの濃度が非常に高く、通常の内標準物質の添加量では定量範囲を超えてしまうことが予想される場合には、この範囲の上限以上に添加してもよい。

ただし、試料中のPCDDs・PCDFs又はDL-PCBsの濃度が予想できず、内標準物質の添加から再度行う可能性が考えられる場合には、試料からの抽出操作によって得られた抽出液を一定量にした後、その適量を正確に分取してから(注5)、クリーンアップスパイク用内標準物質を添加してもよい。

(注4)クリーンアップスパイク用内標準物質は、PCDDs・PCDFsについては2,3,7,8-位塩素置換体17種類、DL-PCBsについてはノンオルト体及びモノオルト体の12種類をそれぞれ添加する。添加する内標準物質は、シリンジスパイクとは別の化合物を用いるが、内標準物質によっては、GC/HRMSの測定条件により測定に妨害を与える場合があるので、その使用に際しては、十分に検討・確認しておく。

クリーンアップスパイクで添加した内標準物質の回収率は、シリンジスパイクとした内標準物質を基準にして求め、50 ~ 120%の範囲内でなければならない。その範囲内でない場合には、再度前処理をやり直す。

(注5)残りの抽出液は、再測定をする場合に備えて一定期間冷暗所に保存する。

1) -2 抽出

試料の適量を円筒ろ紙にはかり取り、内標準物質を添加し、トルエンを用いて16時間以上ソックスレー抽出(注6)を行う。この抽出液を濃縮器で濃縮し、10～50mLの全量フラスコに入れ、トルエンを標線まで加えて一定量とする。

(注6)風乾をせずに試料からの抽出を行う場合、次の方法を用いることもできる。

ソックスレー・ディーンスターク形抽出器を用いる方法

試料の適量を円筒ろ紙にはかり取り、内標準物質を添加する。試料をソックスレー・ディーンスターク形抽出器に入れ、トルエンを用いて16時間以上抽出を行う。この抽出液を濃縮器で濃縮し、10～50mLの全量フラスコに入れ、トルエンを標線まで加えて一定量とする。

2) クリーンアップ

抽出液は(1)硫酸処理-シリカゲルカラムクロマトグラフィ又は多層シリカゲルカラムクロマトグラフィの後、(2)活性炭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のいずれか又はこれらを組合せたクリーンアップを行う。必要に応じて、(3)ゲル浸透クロマトグラフィ(GPC)又はヘキサン・ジメチルスルホキシド(DMSO)分配を加えてもよい。

(1) 硫酸処理-シリカゲルカラムクロマトグラフィ又は多層シリカゲルカラムクロマトグラフィ

硫酸処理-シリカゲルカラムクロマトグラフィの代わりに、多層シリカゲルカラムクロマトグラフィ又は硫酸処理-多層シリカゲルカラムクロマトグラフィを行ってもよい。なお、ここに示す手順は標準的なものを記載しており、カラムクロマトグラフィで十分な精製効果を得ることが可能であれば、本マニュアルの溶離条件通りにしなくてもよい。ただし、あらかじめ飛灰等の抽出液を用いて分画試験を行い確認しておく。

(1)-1 硫酸処理

- (a) 1) によって得られた抽出液の適量を分取して(注7)、濃縮器で約5mL程度に濃縮し、次いで窒素気流によりトルエンを除去し(注8)、約500 μ Lとする。
- (b) この溶液を分液漏斗(300mL)にヘキサン50～150mLで洗い込みながら移し入れ、硫酸10～20mLを加え、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(注9)。
- (c) ヘキサン層をヘキサン洗浄水50mLで洗浄後の洗浄水がほぼ中性になるまで繰り返し洗浄し、硫酸ナトリウムで脱水後、濃縮器で約2mLに濃縮し、シリカゲルカラムクロマトグラフィ又は多層シリカゲルカラムクロマトグラフィに供する。

(注7)再測定の必要な場合があるため、抽出液の一部を保存しておくことが望ましい。

(注8)窒素気流による濃縮操作によって目的物質の損失を招かないように、溶液の表面が動いているのがようやく見える程度に窒素気流を調節して溶液が飛散しないように注意し、また、完全に乾固させてはならない。溶液に大きな渦ができるほど窒素を吹きつけたり、完全に乾固させると、目的物質の損失を招くことがある。

(注9)濃硫酸の添加は、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。

(1)-2 シリカゲルカラムクロマトグラフィ(注10)

- (a)内径10mm、長さ300mmのカラムクロマトグラフ管の底部に石英ウールを詰め(注11)、ヘキサン10mLで管内を洗浄し、石英ウール上部までヘキサンを残す。硫酸ナトリウムを約10mmの厚さになるようにのせ、少量のヘキサンで管壁に付着している硫酸ナトリウムを洗い落とす。硫酸ナトリウム層上部までヘキサンを入れ、カラムクロマトグラフ管を揺らす、弱くたたく等して硫酸ナトリウム層中の空気を除く。活性化シリカゲル3gをヘキサン10mLを入れたビーカーにはかり取り、ガラス棒でゆるやかにかき混ぜて気泡を除き、カラムクロマトグラフ管に充てんする。ヘキサンを流下させ、シリカゲル層を安定させた後、その上に硫酸ナトリウムを約10mmの厚さになるようにのせ、ヘキサン数mLで管壁に付着している硫酸ナトリウムを洗い落とす。
- (b)ヘキサン50mLを流し、充てん物を洗浄し、液面を硫酸ナトリウムの上面まで下げ、(1)-1で調製した溶液をカラムに静かに移し入れ、ヘキサン1mLで数回洗い込み、液面を硫酸ナトリウム面まで下げる。ヘキサン150mLの入った滴下用分液漏斗をカラムクロマトグラフ管の上部に装着し、約2.5mL/min(每秒1滴程度)の速度で展開溶出させる(注12)。
- (c)溶出液を濃縮器で約2mLに濃縮し、活性炭カラムクロマトグラフィ又はアルミナカラムクロマトグラフィに供する。充てん部の着色がひどい場合は、同様の操作を繰り返す。

(注10)試料に硫黄分が多量に含まれる場合は、抽出液(ヘキサン溶液)中に銅チップ(塩酸処理した銅線を細かく切ったもの)を黒色の硫化銅が生成しなくなるまで加え、ろ過する等の硫黄分除去を硫酸処理の後に行う。あるいは硝酸銀シリカゲル又は銅チップをカラムに詰めて試料液を通過させる。硝酸銀シリカゲル又は銅チップのカラム全体が着色した場合は、再度やり直す。

(注11)底部にガラスフィルターがあるカラムクロマトグラフ管の場合、石英ウールを詰める必要はない。ガラスフィルターのあるカラムクロマトグラフ管を使用する場合、フィルター部に試料液が残り、二次汚染を引き起こすことがあるので、アセトン及びヘキサン等で超音波洗浄を行う等、器具による操作ブランク値の上昇を起こさない洗浄を行うこと。

(注12)カラムクロマトグラフィにおけるPCDDs・PCDFs及びDL-PCBsの溶出条件は、飛灰等の抽出液を用いて分画試験を行って確認しなければならない。

(1)-3 多層シリカゲルカラムクロマトグラフィ

- (a)1)あるいは(1)-1によって得られた溶液の適量を分取して(注7)、濃縮器で約2mL程度に濃縮する。溶液がトルエンであった場合、次いでヘキサン約100mLを追加してさらに濃縮器で約2mL程度に濃縮する。
- (b)内径12~15mm、長さ300mmのカラムクロマトグラフ管の底部に石英ウールを詰め(注11)、石英ウール上部までヘキサンを残す。硫酸ナトリウムを約10mmの厚さになるようにのせ、少量のヘキサンで管壁に付着している硫酸ナトリウムを洗い落とす。硫酸ナトリウム層上部までヘキサンを入れ、カラムクロマトグラフ管を揺らす、弱くたたく等して硫酸ナトリウム層中の空気を除く。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及び硫酸ナトリウム6g、銅粉又は銅チップ1gを順次充てんする(注13)。

(c)ヘキサン50mLを流し、充てん物を洗浄し、液面を銅粉の上面まで下げる。

(d)(a)で調製した溶液をカラムに静かに移し入れ、ヘキサン1mLで数回洗い込み、液面を銅粉面まで下げる。

(e)ヘキサン1mLで抽出液の容器を洗浄し、洗液はカラム内壁を洗いながら入れる。この洗浄操作を2～3回繰り返す。

(f)ヘキサン120mLの入った滴下用分液漏斗をカラムクロマトグラフ管の上部に装着し、ヘキサンを約2.5mL/min(毎秒1滴程度)の速度で展開溶出させる(注12)。

(g)溶出液を濃縮器で約2mLに濃縮し、活性炭カラムクロマトグラフィ又はアルミナカラムクロマトグラフィに供する。充てん部の着色がひどい場合は、同様の操作を繰り返す。

(注13)硫酸処理と同様な効果は硫酸シリカゲルだけを用いた処理で得られるため、試料によっては硫酸シリカゲルカラムクロマトグラフィを用いてもよい。また硫黄分の多い試料に対してはさらに硝酸銀シリカゲル、または、銅粉又は銅チップ1gをカラム上部に置く。

(2)活性炭カラムクロマトグラフィ又はアルミナカラムクロマトグラフィ

(1)で調製した試験溶液に対して活性炭シリカゲル、高速液体クロマトグラフ用活性炭カラムのいずれかを用いた活性炭カラムクロマトグラフィ又はアルミナカラムクロマトグラフィあるいはそれらの組合せで精製を行い、PCDDs及びPCDFs測定用並びにDL-PCBs測定用の濃縮液を調製する。

なお、ここに示す手順は標準的なものを記載しており、カラムクロマトグラフィで十分な精製効果を得ることが可能であれば、本マニュアルの溶離条件通りにしなくてもよい。ただし、あらかじめ飛灰等の抽出液を用いて分画試験を行い確認しておく。

(2)-1 活性炭カラムクロマトグラフィ

(2)-1-1 活性炭シリカゲルを使用する場合

(a)内径10mm、長さ100mmのカラムクロマトグラフ管の底部に石英ウールを詰め、その上に硫酸ナトリウムを3g、活性炭シリカゲルを1g、硫酸ナトリウム3gを積層し、上部に石英ウールを充てんする。

(b)(1)で調製した試料をカラムに静かに移し入れ、少量のヘキサンで洗い込み、液面を硫酸ナトリウム面まで下げた状態で約15分静置する。ヘキサン30mLの入った滴下用分液漏斗とアダプターをカラムクロマトグラフ管の上部に装着し、約2.5mL/min(毎秒1滴程度)の速度で展開溶出させる(第1画分)(注12)。この画分は測定が終了するまで保管する。

(c)25%(v/v)ジクロロメタン・ヘキサン混合液40mLの入った滴下用分液漏斗とアダプターをカラムクロマトグラフ管の上部に装着し、約2.5mL/min(毎秒1滴程度)の速度で展開溶出させる(注12)。この第2画分にはノンオルト体以外のPCBsが含まれる。

(d)滴下用分液漏斗及びアダプターを取り外し、カラムの上下を逆転させる(注14)、トルエ

ン60mLの入った滴下用分液漏斗及びアダプターを装着し、溶出する(注12)。この第3画分にはPCDDs・PCDFs及びノンオルト体PCBsが含まれる。

- (e)25%(v/v)ジクロロメタン・ヘキサン混合液(第2画分)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ものを、GC/HRMS測定用溶液とする。
- (f)トルエン溶離液(第3画分)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ものを、GC/HRMS測定用溶液とする。
- (g)第2画分と第3画分の濃縮液の一部を正確に分取混合してDL-PCBs測定試料とする。第3画分の濃縮液の一部を分取してPCDDs・PCDFs測定試料とする。

(注14)適切にPCDDs、PCDFs、及びDL-PCBsの画分が得られるのであれば、カラムを逆転させなくてもよい。この場合、トルエン溶離液(第3画分)の量がより多く必要になることが多い。あらかじめ飛灰等の抽出液を用いて分画試験を行い確認しておく。カラムを逆転させないのであればカラム上部の石英ウールは必要ない。

(2)-1-2 高速液体クロマトグラフ用活性炭カラムを使用する場合

高速液体クロマトグラフィは、次の手順による。ここで示す操作条件は、使用する機器、カラム等によって若干異なってくるので、あらかじめ飛灰等の抽出液を用いて分画試験を行って確認しなければならない。

- (a)流路切替えバルブを装着した高速液体クロマトグラフに活性炭カラムを移動相の流れの向きが切り替えられるように装着し、溶離液流量を2mL/minに設定する。検出器として吸光光度検出器を接続し、検出器出口から溶出液を分取できるようにしておく。
- (b)溶離液をトルエンとして通常の流れの向きで流し、十分にカラムを洗浄した後、溶離液をヘキサンに代えてカラム及び装置の流路内をヘキサンで置換する。検出器の指示値の変化でヘキサンに置換したかどうかを判断するのがよい。
- (c)(1)で調製した試料を濃縮し、0.1~0.5mLのヘキサン溶液としておく。濃縮液を更に窒素気流によって100 μ L程度に濃縮する。この液を高速液体クロマトグラフに注入し、溶離液をヘキサンのままで4分間流し、溶出液8mLを分取して第1画分とする。ここには、DL-PCBs以外のPCBsが含まれている。
- (d)次いで、溶離液を50%(v/v)ジクロロメタン・ヘキサン混合液として20分間流し、溶出液40mLを分取して第2画分とする。ここには、DL-PCBsのモノオルト体が含まれている。
- (e)さらに、溶離液を30%(v/v)トルエン・ヘキサン混合液として20分間流し、溶出液40mLを分取して第3画分とする。ここには、DL-PCBsのノンオルト体が含まれている。
- (f)最後に、オーブンを50 $^{\circ}$ Cに加熱し、カラムでの溶離液の流れの向きを逆にしてトルエンを15分間流し、溶出液30mLを分取して第4画分とする。ここには、PCDDs及びPCDFsが含まれている。
- (g)第1~第4までの画分をそれぞれ濃縮器で約1mLに濃縮し、これをGC/HRMS測定用溶液とする。第2画分と第3画分とを1つにし、DL-PCBs測定用として濃縮器で約2mLに濃縮し、第4画分をPCDDs及びPCDFs測定用として同様に濃縮する。

(2)-2 アルミナカラムクロマトグラフィ

(1)で調製した試料を2分割し、PCDDs・PCDFsとDL-PCBs用測定試料をそれぞれ調製する(注15)。

(a)PCDDs・PCDFs用測定試料

i)内径10mm、長さ300mmのガラス製カラムクロマトグラフ管の底部に石英ウールを詰め(注11)、ヘキサン10mLで管内を洗浄し、石英ウール上部までヘキサンを残す。硫酸ナトリウムを約10mmの厚さになるようにのせ、少量のヘキサンで管壁に付着している硫酸ナトリウムを洗い落とす。硫酸ナトリウム層上部までヘキサンを入れ、カラムクロマトグラフ管を揺らす、弱くたたき等して硫酸ナトリウム層中の空気を除く。活性化アルミナ(注16)10gをヘキサン10mLを入れたビーカーにはかり取り、ガラス棒でゆるやかにかき混ぜて気泡を除き、カラムクロマトグラフ管に充てんする。ヘキサンを流下させ、アルミナ層を安定させた後、その上に硫酸ナトリウムを約10mmの厚さになるようにのせ、ヘキサン数mLで管壁に付着している硫酸ナトリウムを洗い落とす。ヘキサン50mLを流し、充てん物を洗浄し、液面を硫酸ナトリウムの上面まで下げる。

ii)(1)で調製した試料液の適量を静かに移し入れ、ヘキサン1mLで数回洗い込み、液面を硫酸ナトリウム面まで下げる。2%(v/v)ジクロロメタン・ヘキサン混合液100mLの入った滴下用分液漏斗をカラムクロマトグラフ管の上部に装着し、約2.5mL/min(毎秒1滴程度)の速度で展開溶出させ、第1画分を得る(注12)。この画分は測定が終了するまで保管する。

iii)さらに、50%(v/v)ジクロロメタン・ヘキサン混合液150mLを約2.5mL/min(毎秒1滴程度)で流し、第2画分を得る(注12)。

iv)第2画分を濃縮器で約5mLに濃縮し、GC/HRMS測定用溶液とする。

(b)DL-PCBs用測定試料

i)内径10mm、長さ300mmのガラス製カラムクロマトグラフ管の底部に石英ウールを詰め(注11)、ヘキサン10mLで管内を洗浄し、石英ウール上部までヘキサンを残す。硫酸ナトリウムを約10mmの厚さになるようにのせ、少量のヘキサンで管壁に付着している硫酸ナトリウムを洗い落とす。硫酸ナトリウム層上部までヘキサンを入れ、カラムクロマトグラフ管を揺らす、弱くたたき等して硫酸ナトリウム層中の空気を除く。活性化アルミナ(注16)10gをヘキサン10mLを入れたビーカーにはかり取り、ガラス棒でゆるやかにかき混ぜて気泡を除き、カラムクロマトグラフ管に充てんする。ヘキサンを流下させ、アルミナ層を安定させた後、その上に硫酸ナトリウムを約10mmの厚さになるようにのせ、ヘキサン数mLで管壁に付着している硫酸ナトリウムを洗い落とす。ヘキサン50mLを流し、充てん物を洗浄し、液面を硫酸ナトリウムの上面まで下げる。

ii)(1)で調製した試料液の適量を静かに移し入れ、ヘキサン1mLで数回洗い込み、液面を硫酸ナトリウム面まで下げる。ヘキサン40mLの入った滴下用分液漏斗をカラムクロマトグラフ管の上部に装着し、約2.5mL/min(毎秒1滴程度)の速度で展開溶出させ、鎖状炭化水素等を溶出させる(注12)。

iii)5%(v/v)ジクロロメタン・ヘキサン混合液120mLを約2.5mL/min(毎秒1滴程度)で流し、第1画分を得る。第1画分にDL-PCBsが含まれる(注12)。

iv)更に50%(v/v)ジクロロメタン・ヘキサン混合液150mLを約2.5mL/min(毎秒1滴程度)で流し、第2画分を得る(注12)。第2画分にPCDDs・PCDFsが含まれる。原則としてこの

画分は測定しないが、分析終了まで保管する。

v) 第1画分を濃縮器で約5mLに濃縮し、GC/HRMS測定用溶液とする。

(注15) 同定及び定量の操作条件によっては、濃縮液を分けないで行うことも可能である。その場合の手順はこの限りではない。(ただし、飛灰等の抽出液を用いて分画試験を行って確認する。)

(注16) アルミナの活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-TeCDD及び1,3,6,8-TeCDF等が第1画分に溶出する。また、八塩素化物が50%(v/v)ジクロロメタン・ヘキサン混合液の規定量では第2画分に溶出しえない場合もあるため、飛灰等の抽出液を用いた分画試験で活性度を確認する。

(3) その他のクリーンアップ

(3)-1 ゲル浸透クロマトグラフィ (GPC)

ゲル浸透クロマトグラフィ (GPC) は、次の手順による。この操作は、脂質、鉱物油、その他高分子化合物の除去を目的として行うものであり、PCDDs及びPCDFs測定用、DL-PCBs測定用に分けることはできないので、他の精製操作と組み合わせて行う。なお、ここに示す手順は標準的なものを記載しており、カラムクロマトグラフィで十分な精製効果を得ることが可能であれば、本マニュアルの溶離条件通りにしなくてもよい。ただし、あらかじめ飛灰等の抽出液を用いて分画試験を行い確認しておく。

(a) 内径25～30mm、長さ50～70cmのガラス製カラムクロマトグラフ管の底部に石英ウールを詰め(注11)、ヘキサン10mLで管内を洗浄し、石英ウール上部までヘキサンを残す。ゲル浸透クロマトグラフ用カラム充てん剤50gをジクロロメタン100mLを入れたビーカーにはかり取り、ガラス棒でゆるやかにかき混ぜて気泡を除き、カラムクロマトグラフ管に充てんする。ジクロロメタンを流下させ、ゲル浸透クロマトグラフ用カラム充てん剤を安定させた後、50%(v/v)ジクロロメタン・シクロヘキサン混合液100mLを流し、充てん物を洗浄し、液面をゲル浸透クロマトグラフ用カラム充てん剤の上面まで下げる(注17)。

(b) 試料液の適量を静かに移し入れ、50%(v/v)ジクロロメタン・シクロヘキサン混合液20mLで試料容器ならびにカラム壁面を洗い込み、液面をゲル浸透クロマトグラフ用カラム充てん剤の上面まで下げる。50%(v/v)ジクロロメタン・シクロヘキサン混合液20mLの入った滴下用分液漏斗をカラムクロマトグラフ管の上部に装着し、約5mL/min(毎秒2滴程度)で流してカラムを洗う(溶離液は捨てる)。

(c) 50%(v/v)ジクロロメタン・シクロヘキサン混合液150mLを約5mL/min(毎秒2滴程度)で流し、溶離液を得る。溶離液を濃縮器で乾固させないよう注意しながら約5mLまで濃縮し前処理液とする。

以上の操作は市販の液体クロマトグラフ装置ならびに専用のカラムで行ってもよい。その場合、樹脂量やカラムの大きさ、溶離液の種類、確保する溶離液の溶出位置等は装置の付属品ならびに推薦条件に合わせるものとする。

(注17) 一度使ったゲル浸透クロマトグラフ用カラム充てん剤を再利用する際は、カラム上部の着色部分を除去後、ビーカーに取り出してジクロロメタン(樹脂全体を浸して薬さじ等で攪拌するのに足りる程度の量)を加え、樹脂を壊さないよう注意しながらゆっくり攪拌後、ブフナー漏斗等で溶媒を吸

引る過する。その際吸引しすぎて樹脂を乾固させないように注意すること。この操作を5回以上繰り返したあと、溶媒を50%(v/v)ジクロロメタン・シクロヘキサン混合液にかえて懸濁、吸引る過を2回繰り返し、同じ溶媒に懸濁してカラムに充てんし、再びクリーンアップ操作に用いる。再使用前に、懸濁、ろ過した液を濃縮して測定する、あるいは充てんしたカラムのブランク試験を行う等、充てん剤からの汚染がないことを確認する。

(3)-2 ヘキサン・ジメチルスルホキシド (DMSO) 分配

ヘキサン・ジメチルスルホキシド (DMSO) 分配は、次の手順による。この操作は、脂肪族炭化水素等の低極性物質の除去を目的として行うものであり、PCDDs及びPCDFs測定用、DL-PCBs測定用に分けることはできないので、他の精製操作と組み合わせて行う。

- (a) 分液漏斗にヘキサン飽和のDMSO25mLを入れ、これに濃縮液をヘキサンで洗浄しながら移し入れ、振とう抽出を4回行って得られた合計約100mLのDMSO抽出液に、ヘキサン40mLを加え、洗浄する。
- (b) 分液漏斗にヘキサン75mL及びヘキサン洗浄水100mLを入れ、(a)の操作で得られたDMSO抽出液約100mLを加え、振とう抽出を3回行う。ヘキサン抽出液約225mLを得る。
- (c) 得られた合計約225mLのヘキサン抽出液を分液漏斗に入れ、2mol/L水酸化カリウム水溶液10mLによる洗浄を行う。さらに、水25mLで2回洗浄し、硫酸ナトリウムで脱水した後、濃縮器で2mLに濃縮する。

3) シリンジスパイクの添加、GC/HRMS測定用試料の調製

2)におけるクリーンアップ操作が終了したならば、シリンジスパイク用内標準物質(注18)を検量線作成用標準液と同濃度になるように添加して、ノナン(注2)を加え、窒素気流等で一定量(20~100 μ L)になるまで濃縮する。濃縮したものをGC/HRMS測定用容器に移し、GC/HRMS測定用溶液とする。

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。シリンジスパイクはGC/HRMS測定において測定毎に最低1種類使用する。

(注18)注入量の補正を行うためにシリンジスパイクを行う。

4) ガスクロマトグラフ質量分析計による分析操作

(1)GC/HRMS の分析条件の設定と機器の調整

GC/HRMS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。

(a)ガスクロマトグラフ (GC)

PCDDs及びPCDFs、DL-PCBs のガスクロマトグラフの操作条件は、次による(表3-3参照)。

PCDDs及びPCDFsの測定においては、クロマトグラム上における2,3,7,8-位塩素置換体のピークが他の化合物のものと良好な分離が得られ、各塩素化物の保持時間が適切な範囲にあり、安定した応答が得られるようにガスクロマトグラフの条件を設定する。設定した条件における各化合物の分離状況を飛灰等の抽出液の試料を測定して確認しておく。DL-PCBsにおいては、DL-PCBsのクロマトグラム上でのピークが他の化合物のものと良好

な分離が得られ、各塩素化物の保持時間が適切な範囲にあり、安定した応答が得られるようにガスクロマトグラフの条件を設定する。設定した条件における各化合物の分離状況を飛灰等の抽出液の試料を測定して確認しておく。

(b)質量分析計 (HRMS)

質量分析計は、次を満足するような条件に設定する。

分解能

分解能は10000以上とする。ただし、内標準物質として¹³C₁₂-OCDFを使用する場合、ガスクロマトグラフのカラムの選択によっては12000程度が必要になる。

検出方法

質量校正用標準物質を用いたロックマス方式による選択イオン検出 (SIM) 法を用いる。

測定数

試料及び内標準物質の塩素化物ごとに、2つ以上の選択イオンの質量数とロックマス用の選択イオンの質量数を設定する(注19)。設定質量数の例を表3 - 4に示す。

(注19)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秒間程度であるが、1つのピークに対して十分な測定点を確保するため、クロマトグラムにおける単独成分のピークの最も幅の狭いピークであってもそのピークを構成する測定点が7点以上となるように選択イオン検出のサンプリングの周期を設定しなければならない。

1回の測定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。

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測定してもよいが、この場合にはグループごとに、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)**：この測定質量数はPCBによる質量妨害を受ける。試料中のPCBs濃度が高い場合で、カラムクロマトグラフィによるGC/HRMS測定溶液の調製方法、測定時間分割によるGC/HRMS測定におけるグルーピング方式及びガスクロマトグラフのカラムの選択の組合せによってはこの質量数を用いてはならない。

(c)質量分析計の調整

質量分析計の調整は、装置が作動している状態で必要な項目の条件を設定した後、質量校正用標準物質 (PFK等) を導入し、質量校正用プログラムにより行う。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。特に、分解能は測定する全試料が測定質量範囲全域で所定の条件以上となるように調整しなければならない。通常、一連の測定の最初に行う。

(d)SIM測定操作

GC/HRMSを所定の条件に設定する。

質量校正用標準物質を導入し、そのロックマスの応答を確認する。ロックマスは、ロッ

クマスチャンネルとロックマスモニターチャンネル（精度確認チャンネル）を設定する（注20）。

ロックマスの応答が安定したら、標準物質を測定し、装置の感度、保持時間の範囲、測定対象物質の分離、ピーク形状等の基本的な確認を行う。確認条件に問題がなければ、試料の測定を行う。

設定した各塩素化物の質量数についてクロマトグラムを記録する。

測定終了後、データ処理作業に入る前に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、2,3,7,8-位塩素置換体及びDL-PCBsの分離の確認を行う（注21）。

（注20）質量校正用標準物質は導入量が多いとノイズの原因になる。

（注21）質量校正用標準物質のモニターチャンネルのクロマトグラム上で、定量対象化合物の出現時間において応答に $\pm 20\%$ 以上の変動が認められた場合には、その化合物については定量してはならない。原因としては、試料の精製が不十分であったり、質量校正用標準物質のモニターチャンネルの質量数の選択が適切でないこと等が考えられる。試料の精製を再度行う、あるいは質量校正用標準物質のモニターチャンネルの質量数を変更する等して、質量校正用標準物質のモニターチャンネルのクロマトグラムの応答の変動を範囲内に抑える必要がある。

(2) 検量線の作成

(a) 標準液の測定

各検量線作成用標準液を1濃度に対して最低3回GC/HRMSに注入し、SIM測定操作を行って、全濃度領域で合計15点以上のデータを得る。

(b) ピーク面積の強度比の確認

得られたクロマトグラムから、各標準物質の対応する2つの質量数のイオンのピーク面積の強度比を求め、塩素原子の同位体存在比から推定されるイオン強度比と $\pm 15\%$ 以内で一致することを確認する。

(c) 相対感度係数の算出

各標準物質及び内標準物質のピーク面積を求め、各標準物質の対応するクリーンアップスパイク内標準物質に対するピーク面積の比及び注入した標準液中のその標準物質と内標準物質の濃度の比を用いて検量線を作成し、検量線が原点付近を通る直線になっていることを確認する。

相対感度係数（RRFcs）は、下式によって測定ごとに求め、得られた全濃度域合計15点以上のデータを平均する。この場合、データの変動係数が5%を目安に可能な限り小さくなるようにし、変動係数が10%を超える化合物があってはならない。変動係数が10%を超える場合は、GC/HRMSの状態を確認して必要ならば再調整し直したり、直線性のある範囲に定量範囲を狭める等の処置を行って検量線を作成し直す。

ここで用いるピーク面積は、一方の測定チャンネルのピーク面積、両測定チャンネルのピーク面積の合計値、又は両測定チャンネルのピーク面積の平均値のいずれかとし、試料

の測定までのすべての測定において同じものを用いなければならない。

$$RRFcs=(Qcs/Qs) \times (As/Acs)$$

ここに、RRFcs：測定対象物質のクリーンアップスパイク内標準物質との相対感度係数

Qcs：標準液中のクリーンアップスパイク内標準物質の量(pg)

Qs：標準液中の測定対象物質の量(pg)

As：標準液中の測定対象物質のピーク面積

Acs：標準液中のクリーンアップスパイク内標準物質のピーク面積

同様にして、クリーンアップスパイク内標準物質のシリンジスパイク内標準物質に対する相対感度係数(RRFrs)を下式により算出する。クリーンアップスパイク内標準物質とシリンジスパイク内標準物質との対応の例を表3-5に示す。

$$RRFrs=(Qrs/Qcs) \times (Ass/Ars)$$

ここに、RRFrs：クリーンアップスパイク内標準物質のシリンジスパイク内標準物質との相対感度係数

Qrs：標準液中のシリンジスパイク内標準物質の量(pg)

Qcs：標準液中のクリーンアップスパイク内標準物質の量(pg)

Acs：標準液中のクリーンアップスパイク内標準物質のピーク面積

Ars：標準液中のシリンジスパイク内標準物質のピーク面積

(3) 試料の測定

(a) 検量線の確認

ある一定の周期(1日に1回以上)で、検量線作成用標準液の中から中間程度の濃度のものを選び、(1)(d)のSIM測定操作に従って測定し、(2)と同様にして各化合物のそれに対応したクリーンアップスパイク内標準物質に対する相対感度係数(RRFcs)を求める。さらに、クリーンアップスパイク内標準物質のそれに対応したシリンジスパイク内標準物質に対する相対感度係数(RRFrs)を求める。

これらの相対感度係数が、(2)で求めた検量線作成時の相対感度係数(RRFcs及びRRFrs)に対してRRFcsについては±10%以内、RRFrs±20%以内であれば、(2)(c)で求めた相対感度係数を用いて測定を行う。これを超えて相対感度係数が変動する場合は、その原因を取り除き、試料の再測定を行うか、再度検量線を作成する。

さらに、保持時間についても、その変動を調べ、保持時間が一日に±5%以上、内標準物質との相対保持比が±2%以上変動する場合には、その原因を取り除き、その直前に行った一連の試料の再測定を行う。

(b) 試料の測定

3)で調製したGC/HRMS測定用試料を(1)(d)のSIM測定操作に従って測定し、各塩素化物の質量数についてクロマトグラムを得る(注22)。

(注22)試料によっては、化合物の濃度が大きく異なる場合があるので、検量線の最高濃度の応答を超えないようにする。

5) 同定及び定量

(1) ピークの検出

(a) 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)に対して3倍以上のピーク高さ(S)であるピーク、すなわち、ピーク高さで $S/N=3$ 以上となるピークについて、次の同定・定量の操作を行う(注23)。

なお、得られたクロマトグラムのベースラインは、必ず装置のゼロ点よりも高くならなければノイズを計測することはできないので、測定に先立ってベースラインを確認、必要に応じてオフセット等を適切に調節しなければならない。

(b) ピーク面積の算出

(a)で検出されたピークについて、そのピーク面積を求める。調製した測定用試料中のシリンジスパイク内標準物質のピーク面積が標準液におけるシリンジスパイク内標準物質のピーク面積の70%以上であることを確認する。この範囲から外れた場合は、原因を調査し、その原因を取り除いて再度測定する。

(注23)ここで、ノイズ幅(N)及びピーク高さ(S)は、一般に次のようにして求める。

まず、ピークの近傍(ピークの半値幅の10倍程度の範囲)のノイズを計測し、その標準偏差の2倍をノイズ幅(N)とするか、経験的にノイズの最大値と最小値との幅はおよそ標準偏差の5倍となるため、その幅の2/5をノイズ幅(N)とする。一方、ノイズの中央値をベースラインとし、ベースラインのノイズを基にピークトップを決めてこの幅をピーク高さ(S)とする。

(2) PCDDs・PCDFs及びDL-PCBsの同定

(a) PCDDs・PCDFsの同定

モニターした2つ以上のイオンにおけるクロマトグラム上のピーク面積の比が標準物質のものと同様であり、表3-6に示す塩素原子の同位体存在比から推定されるイオン強度比に対して $\pm 15\%$ 以内(定量下限以下の濃度では $\pm 25\%$)であれば、そのピークはPCDDs・PCDFsによるものであるとする。2,3,7,8-位塩素置換体以外の化合物の同定は、文献等を参考にして行う。

(b) 2,3,7,8-位塩素置換体の同定

2,3,7,8-位塩素置換体は、クロマトグラム上のピークの保持時間が標準物質と同様であり、対応する内標準物質との相対保持時間が標準物質と一致することで同定する。

(c) DL-PCBsの同定

DL-PCBsの各化合物は、モニターした2つ以上のイオンにおけるクロマトグラム上のピーク面積の比が標準物質のものと同様であり、表3-6に示す塩素原子の同位体存在比から推定されるイオン強度比に対して $\pm 15\%$ 以内(定量下限以下の濃度では $\pm 25\%$)であり、さらにピークの保持時間が標準物質と同様であり、対応する内標準物質との相対保持時間が標準物質と一致することで同定する。

(3) PCDDs・PCDFs及びDL-PCBsの定量

(a) 各化合物の定量

2,3,7,8-位塩素置換体又はDL-PCBsの量(Qi)は、それに対応するクリーンアップスパイク内標準物質の添加量を基準にして、内標準法で下式によって全抽出液中の量として求める。他の化合物についても同様にして求める。測定対象の標準物質とそれに対応する内標準物質の例を表3-11に示す。

$$Q_i = (A_i / A_{csi}) \times (Q_{csi} / RRF_{cs})$$

ここに、Qi：全抽出液中の化合物の量(pg)

Ai：クロマトグラム上の化合物のピーク面積

Acsi：対応するクリーンアップスパイク内標準物質のピーク面積

Qcsi：対応するクリーンアップスパイク内標準物質の添加量(注24)(pg)

RRFcs：対応するクリーンアップスパイク内標準物質との相対感度係数(注25)

(注24)試料を抽出後、分取し、内標準物質を添加した場合はその補正をする。

(注25)2,3,7,8-位塩素置換体以外の化合物については、各塩素化物毎に2,3,7,8-位塩素置換体の相対感度係数の平均値を用いる。

表3-11 各化合物の定量における測定対象物質、標準物質及びクリーンアップスパイク内標準物質の対応例

測定対象物質	標準物質	対応するクリーンアップスパイク内標準物質
2,3,7,8-TeCDD その他の TeCDD	2,3,7,8-TeCDD	¹³ C ₁₂ -2,3,7,8-TeCDD
2,3,7,8-TeCDF その他の TeCDF	2,3,7,8-TeCDF	¹³ C ₁₂ -2,3,7,8-TeCDF
1,2,3,7,8-PeCDD その他の PeCDD	1,2,3,7,8-PeCDD	¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8-PeCDD
1,2,3,7,8-PeCDF 2,3,4,7,8-PeCDF その他の PeCDF	1,2,3,7,8-PeCDF 2,3,4,7,8-PeCDF 1,2,3,7,8-PeCDF と 2,3,4,7,8-PeCDF の相対感度係数の平均値	¹³ C ₁₂ -2,3,4,7,8-PeCDF
1,2,3,4,7,8-HxCDD 1,2,3,6,7,8-HxCDD 1,2,3,7,8,9-HxCDD その他の HxCDD	1,2,3,4,7,8-HxCDD 1,2,3,6,7,8-HxCDD 1,2,3,7,8,9-HxCDD 1,2,3,4,7,8-HxCDD ~ 1,2,3,7,8,9-HxCDD の相対感度係数の平均値	¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8-HxCDD ¹³ C ₁₂ -1,2,3,6,7,8-HxCDD ¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8,9-HxCDD
1,2,3,4,7,8-HxCDF 1,2,3,6,7,8-HxCDF 1,2,3,7,8,9-HxCDF 2,3,4,6,7,8-HxCDF その他の HxCDF	1,2,3,4,7,8-HxCDF 1,2,3,6,7,8-HxCDF 1,2,3,7,8,9-HxCDF 2,3,4,6,7,8-HxCDF 1,2,3,4,7,8-HxCDF ~ 2,3,4,6,7,8-HxCDF の相対感度係数の平均値	¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8-HxCDF ¹³ C ₁₂ -1,2,3,6,7,8-HxCDF ¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8,9-HxCDF ¹³ C ₁₂ -2,3,4,6,7,8-HxCDF
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD その他の HpCDD	1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6,7,8-HpCDD
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF 1,2,3,4,7,8,9-HpCDF その他の HpCDF	1,2,3,4,6,7,8-HpCDF 1,2,3,4,7,8,9-HpCDF 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF と 1,2,3,4,7,8,9-HpCDF の相対感度係数の平均値	¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6,7,8-HpCDF ¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8,9-HpCDF
1,2,3,4,6,7,8,9-OCDD 1,2,3,4,6,7,8,9-OCDF	1,2,3,4,6,7,8,9-OCDD 1,2,3,4,6,7,8,9-OCDF	¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6,7,8,9-OCDD ¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6,7,8,9-OCDF
3,3',4,4'-TeCB(#77) 3,4,4',5'-TeCB(#81)	3,3',4,4'-TeCB(#77) 3,4,4',5'-TeCB(#81)	¹³ C ₁₂ -3,3',4,4'-TeCB(#77) ¹³ C ₁₂ -3,4,4',5'-TeCB(#81)
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) 3,3',4,4',5'-PeCB(#126)	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) 3,3',4,4',5'-PeCB(#126)	¹³ C ₁₂ -2,3,3',4,4'-PeCB(#105) ¹³ C ₁₂ -2,3,4,4',5'-PeCB(#114) ¹³ C ₁₂ -2,3',4,4',5'-PeCB(#118) ¹³ C ₁₂ -2',3,4,4',5'-PeCB(#123) ¹³ C ₁₂ -3,3',4,4',5'-PeCB(#126)
2,3,3',4,4',5'-HxCB(#156) 2,3,3',4,4',5'-HxCB(#157) 2,3',4,4',5,5'-HxCB(#167) 3,3,4,4',5,5'-HxCB(#169)	2,3,3',4,4',5'-HxCB(#156) 2,3,3',4,4',5'-HxCB(#157) 2,3',4,4',5,5'-HxCB(#167) 3,3,4,4',5,5'-HxCB(#169)	¹³ C ₁₂ -2,3,3',4,4',5'-HxCB(#156) ¹³ C ₁₂ -2,3,3',4,4',5'-HxCB(#157) ¹³ C ₁₂ -2,3',4,4',5,5'-HxCB(#167) ¹³ C ₁₂ -3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB(#189)	2,3,3',4,4',5,5'-HpCB(#189)	¹³ C ₁₂ -2,3,3',4,4',5,5'-HpCB(#189)

注) 2,3,7,8-位塩素置換体以外の化合物の定量において、各塩化物毎に2,3,7,8-位塩素置換体の相対感度係数の平均値を用いる。

(b)濃度の算出

得られた各化合物の量から、試料中の濃度を下式によって算出し、JIS Z 8401の規定によって数値を丸め、有効数字を2桁とする。

$$C_i = (Q_i - Q_t) \times (1/W)$$

ここに、 C_i ：試料中の化合物の濃度 (pg/g)

Q_i ：全抽出液中の化合物の量 (pg)

Q_t ：ブランク試験での化合物の量 (pg)

W ：試料量 (g)

6) 検出下限及び定量下限、回収率の確認

(1)装置の検出下限及び定量下限

最低濃度（各標準物質をそれぞれ四塩素化物及び五塩素化物で0.1～0.5pg、六塩素化物及び七塩素化物で0.2～1.0pg、八塩素化物で0.5～2.5pg、DL-PCBsで0.2～1.0pg含む）の検量線作成用標準液をGC/HRMSで測定し、各2,3,7,8-位塩素置換体を定量する。この操作を5回以上繰り返し、得られた測定値から標準偏差を求め、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。ここでは、測定値の丸めは行わずに標準偏差を算出し、得られた検出下限は有効数字1桁とし、定量下限は、検出下限と同じ桁までで丸める。

ここで得られた装置の検出下限が、四塩素化物及び五塩素化物で0.1pg、六塩素化物及び七塩素化物で0.2pg、八塩素化物で0.5pg、DL-PCBsで0.2pgより大きいときには、器具、機器等をチェックして、これらの値以下になるように調整する。

この装置の検出下限及び定量下限は、使用するGC/HRMSの状態等によって変動するため、ある一定の周期で確認し、常に十分な値が得られるように管理する。また、使用するGC/HRMSや測定条件を変更した場合等には必ず確認する。

(2)測定方法の検出下限及び定量下限

測定に用いるのと同量の抽出溶媒の濃縮液に下式により算出した量の標準物質を添加し、前処理、GC/HRMS測定及び同定・定量を行う。これを5回以上行い、得られた測定値の標準偏差を求め、その3倍を測定方法の検出下限、10倍を測定方法の定量下限とする。ここでは測定値の丸めは行わずに標準偏差を算出し、得られた検出下限は有効数字1桁とし、定量下限は検出下限と同じ桁までで丸める。

$$Q = QL' \times (v/v_i)$$

ここに、 Q ：標準物質の添加量 (pg)

QL' ：装置の定量下限 (pg)

v ：測定用試料の液量 (μ L)

v_i ：GC/HRMS注入量 (μ L)

この測定方法の検出下限及び定量下限は、前処理操作や測定条件により変動するため、ある一定の周期で確認し、常に十分な値が得られるように管理する。また、前処理操作や測定条件を変更した場合等には必ず確認する。

(3) 試料における検出下限及び定量下限

試料における検出下限及び定量下限は、試料採取量等により、異なってくるため、下式によって試料ごとに求める。

$$CDL=DL \times (v/v_i) \times (VE/V'E) \times 1/W$$

$$CQL=QL \times (v/v_i) \times (VE/V'E) \times 1/W$$

ここに、 CDL：試料における検出下限 (pg/g)

CQL：試料における定量下限 (pg/g)

DL：測定方法の検出下限 (pg)

QL：測定方法の定量下限 (pg)

v_i ：GC/HRMS 注入量 (μ L)

v ：測定用試料の液量 (μ L)

W：試料量 (g)

VE：抽出液量 (mL)

V'E：抽出液の分取量 (mL)

(4) 試料測定時の検出下限及び定量下限の確認

実際の試料の測定において、2,3,7,8-塩素置換体及びDL-PCBsの中でピークが検出されなかったものについては、そのクロマトグラム上において、検出下限を以下の手順で求める。試料測定のコロマトグラム上において、ピークの近傍（ピークの半値幅の10倍程度の範囲）のベースラインのノイズを計測し、その標準偏差の2倍をノイズ幅（N）とするか、経験的にノイズの最大値と最小値との幅はおよそ標準偏差の5倍となるため、その幅の2/5をノイズ幅（N）とする。一方、ノイズの中央値をベースラインとし、ベースラインのノイズを基にピークトップを決めてこの幅をピーク高さ（S）とする。ノイズ幅に対して3倍（S/N=3）に相当する高さに相当するピークの面積を標準液のコロマトグラムから推定する。そのピーク面積を用いて定量式より Q_i を求め、試料測定時の検出下限を算出する（ $Q_t=0$ とする）。

同様にしてノイズ幅の10倍（S/N=10）に相当する高さのピーク面積を推定し、そのピーク面積から試料測定時の定量下限を算出する。

ここで算出されたそれぞれの値は、試料における検出下限及び定量下限以下でなければならない。それぞれの値が試料における検出下限及び定量下限を超える場合は、前処理操作、測定操作に問題がなかったかどうかを確認し、再測定する。

(5) 回収率の確認

クリーンアップスパイク内標準物質のピーク面積とシリンジスパイク内標準物質のピーク面積の比及び対応する相対感度係数（RRFs）を用いて下式によって回収率を計算し、クリーンアップの回収率を確認する。

このクリーンアップの回収率が50%以上120%以下の範囲からはずれるときは再度前処理を行い、再測定する。

$$R_c=(A_{csi}/A_{rsi}) \times (Q_{rsi}/RRFs) \times (100/Q_{csi})$$

ここに、 R_c ：クリーンアップ回収率 (%)

Acsi : クリーンアップスパイク内標準物質のピーク面積
Arsi : 対応するシリンジスパイク内標準物質のピーク面積
Qrsi : 対応するシリンジスパイク内標準物質の添加量 (pg)
RRFrS : 対応するシリンジスパイク内標準物質との相対感度係数
Qcsi : 対応するクリーンアップスパイク内標準物質の添加量 (注26) (pg)

(注26)内標準物質添加後の分取・分割の補正をする。

7) 結果の報告

(1) 結果の表示方法 (注27)

(a) PCDDs・PCDFs

PCDDs・PCDFsの結果には、2,3,7,8-位塩素置換異性体(17異性体)の濃度、四塩素化物から八塩素化物の同族体、その総和を記載する。

各異性体の濃度は、試料における定量下限以上の値はそのまま記載し、試料における検出下限値以上で定量下限値未満の値は別の欄に記載する。また、試料における検出下限値未満の値は、検出下限値未満であることがわかるように記載する。

(b) DL-PCBs

DL-PCBsの結果は、各異性体(12異性体)の濃度とそれらの総和(ノンオルト体、モノオルト体、DL-PCBs)を(a)と同様に記載する。

ノンオルト体はノンオルト4異性体濃度の合計、モノオルト体はモノオルト8異性体濃度の合計、DL-PCBsはノンオルト体とモノオルト体の合計として算出する。

(c) 毒性当量 (TEQ)

ダイオキシン類の濃度を毒性当量に換算する場合には、異性体の濃度に毒性等価係数(TEF、2,3,7,8-TeCDD Toxicity Equivalency Factor)を乗じて算出する。

・ 毒性等価係数 (TEF)

毒性等価係数 (TEF) は、表 3 - 7 に示す。

・ 毒性当量 (TEQ) の算出

各異性体の濃度については「定量下限以上の値」はそのままの値を用い、「定量下限未満で検出下限以上の値」と「検出下限未満のもの」はゼロ(0)として、各異性体の毒性当量を算出し、それらを合計して毒性当量 (TEQ) を算出する(注28)。

「毒性当量 (PCDDs及びPCDFs)」はPCDDs及びPCDFs異性体の濃度、「毒性当量 (DL-PCBs)」はDL-PCBs異性体の濃度で算出し、「毒性当量」は毒性当量 (PCDDs及びPCDFs) と毒性当量 (DL-PCBs) の合計として算出する。

(注27)分析結果は、JIS Z 8401によって数値を丸め、有効数字2桁として表示する。

(注28)毒性当量の算出に当たっては、各異性体の毒性当量を計算し、その合計値をもって有効数字2桁に(注27)と同様に数値を丸める。つまり、個々の異性体の毒性当量については丸めの操作は行わない。

(2)濃度の単位

pg/gで表示する。

(4)その他

この方法は、土壌マニュアル(「ダイオキシン類に係る土壌調査マニュアル」)(平成21年3月環環境省水・大気環境局土壌環境課)に基づき作成している。