

臍帯のダイオキシン類分析に関する
暫定マニュアル

平成 14 年 10 月

環境省環境保健部 環境安全課
環境リスク評価室

目次

1 臍帯採取の手順	1
1 事前診査.....	1
1.1 問診.....	1
1.2 採取前の注意事項.....	1
2 臍帯採取の手順.....	1
2.1 採取を行うにあたって.....	1
2.2 臍帯採取.....	1
3 採取作業の流れ.....	5
2 臍帯中のダイオキシン類の測定分析方法	6
1 はじめに.....	6
2 用語の定義.....	6
3 略語の定義.....	7
4 調査対象物質.....	8
5 目標検出下限値.....	8
6 分析に必要な施設・試薬・器具等.....	9
6.1 試料前処理室.....	9
6.2 試薬類.....	9
6.3 器具・機材.....	10
7 測定分析.....	12
7.1 測定方法の概要.....	12
7.2 前処理.....	12
7.3 カラムクロマトグラフィー.....	13
7.4 測定準備.....	14
7.5 測定.....	14
7.6 計算.....	14
7.7 測定結果の表記方法.....	15
8 安全管理.....	16
8.1 試料前処理室及びGC-MS室の構造.....	16
8.2 試料前処理室への出入り.....	16
8.3 試薬の管理.....	16
8.4 標準物質の管理.....	16
8.5 分析者.....	16
8.6 測定分析機関の義務.....	16
8.7 GC-MS.....	16
8.8 臍帯の付着したガラス器具の洗浄.....	16
8.9 臍帯に直接接触した廃棄物の管理.....	17

8.10	その他の廃棄物の管理	17
9	品質保証 / 品質管理・内部精度管理	17
9.1	調査	17
9.2	測定分析	17
9.3	計算	18
9.4	ブランク試験	19
9.5	2重測定（試料の前処理から）	19
9.6	2重測定（GC-MS測定）	19
9.7	品質管理チェック試料（QCCS）の測定	19

図表等

図-1	臍帯試料中のダイオキシン類分析フロー	20
表-1	定量する化合物の名称等	21
表-2	本マニュアルで規定するPCDDs, PCDFs 及びCo-PCBs各化合物の目標検出下限値	22
表-3	測定に用いる標準物質	23
表-4	測定に用いる同位体スパイク	24
表-5	測定質量数の例	25
表-6	PCDDs, PCDFs及びCo-PCBsの塩素同位体の理論天然存在比	26
表-7	TEQ算出の為のTEF	27
表-8	PCDDs, PCDFs及びCo-PCBs測定分析結果の表記例	28
別紙1	平成13年度ヒト臍帯中におけるダイオキシン類等 化学物質蓄積・暴露状況調査の説明書	29
別紙2	同意書	32
別紙3	協力者問診票	34
別紙4	事前診査票（協力者調査票）	36
別紙5	検体採取記録 兼 受領証 兼 検査依頼書	37
別紙6	解説	38

1 臍帯採取の手順について

1 事前診査

臍帯中ダイオキシン類を測定するためには臍帯1～2本が必要である。調査対象者については、あらかじめ、一般妊婦検診において臍帯採取に支障がないと判断された妊婦を対象とする。

1.1 問診

協力者について予め問診（自覚症状，現病歴，既往歴，妊娠歴，分娩歴，身長，体重，年齢，別紙3）・一般妊婦検診（採取協力施設において通常の妊娠・出産の為に必要と判断され，一般の妊婦に行われている検査全般）を実施する。

1.2 採取前の注意事項

1.2.1 施設内の同意

協力施設においては，事前に調査の内容を倫理委員会に諮り臍帯採取について合意を得る。

1.2.2 協力者の同意

協力者に対しては，文書（別紙1）または口頭により調査の目的，内容を説明し，分娩時の協力を求める。同意が得られた場合は，同意書（別紙2）を作成する。

1.2.3 臍帯採取の適否の判定

診察した医師により，事前審査結果を総合的に判断し，臍帯採取の適否について「適」の場合は事前診査票（別紙4）に記入する。

2 臍帯採取の手順

2.1 採取を行うにあたって

2.1.1 採取対象者

同意書のある協力者から医師の指示に従って採取する。

2.1.2 採取担当者

医師，看護婦または看護師（助産婦を含む。以下同じ）とする。

2.1.3 留意すべき事項

協力者の安全性を確保するため，下記の事項に留意し採取を実施する。

- ・採取に対する協力者の不安をやわらげるよう努める。
- ・採取中に起きた身体の異常，変調には適切に対処できるよう実施者の間で連携体制の確保を図る。また，異常が発生した際には，必ず医師に報告し，指示を受ける。

2.2 臍帯採取

2.2.1 器具，衛生材料，消毒薬等の準備

2.2.1.1 採取容器

ガラス製容器とし洗剤で洗浄後，蒸留水および残留農薬用アセトン

で洗浄し，400℃で4時間以上乾熱し，放冷後密栓したもの．1試料に1個，ブランク用は10試料に1個を用意し，容器の密栓状況，有効期限・番号を確認する．

2.2.1.2 採取用番号ラベルシート

試料番号を記載，ブランク用の場合はブランクと記載．水浸・擦過等により，はがれない材質のものを用意する．

2.2.1.3 その他

はさみ，秤，鉗子，固定用テープ類，滅菌ガーゼ等，各記録紙類、筆記用具等

2.2.2 採取前の医師による診察

2.2.2.1 本人の確認

同意書に署名した本人であることを確認の上，医師による問診と診察を行う．

2.2.2.2 採取の適否の最終確認

事前診査票の医師記入欄が漏れなく記載されていること（署名を含む）を確認し，採取の適否の最終確認を行う．適の場合には，以下の採取手順に従う．否の場合には協力者に採取を行わないことを通知する．

2.2.3 採取容器のチェック

採取を行うまでに，使用する．容器を必要数揃え，以下の点について確認等をしておくこと．

- ・採取容器の損傷，異物混，外装，表示事項等の異常
なお，容器の密栓状態が悪い時，容器の内面の湿気が多いときは，採取容器に損傷の可能性があるので使用してはならない．
- ・採取容器は用事開封とし，不明なものは使用しないこと．
- ・採取容器が著しく汚れていないこと．
- ・採取容器の内部に異物がないこと．
- ・容器の栓がずれていないこと．

2.2.4 採取部位の決定

一般に臍帯は50cm程度の長さである．分娩時に胎児側より5～10cmの部分をクランプし極力長く20cm以上を採取する．

2.2.5 採取

2.2.5.1 容器の選択

点検済みの採取容器を選択する．あらかじめラベルシートに試料番号・ブランクの別を記載したものを貼付し，容器の風袋重量を測定しておく．

2.2.5.2 分娩時

分娩時は母子の安全を最優先とし、採取後の臍帯は速やかに膿盆等にとり置く。

2.2.5.3 採取容器

容器は試料の封入直前に開封し、ブランク試料容器がある場合はブランク試料容器も同時に開封する。ブランク試料容器が同時に開封できない場合は容器の開封・閉栓の順番を同じにする。などして極力同じ条件で開封されているようにする。

2.2.5.4 臍帯の切離と臍帯血の除去

臍帯は胎盤より5～10cmの部分で切離した後、臍帯血を最大限除去する。

2.2.5.5 臍帯の封入

採取した臍帯を採取容器に封入し密栓する。ブランク用採取容器があれば同時に密栓する。

2.2.5.6 採取容器の一時保存

試料を封入した採取容器は直ちに冷凍庫（-20℃以下）に輸送まで保存する。

2.2.5.7 検体採取記録への記入

検体採取記録に採取容器と同一の試料番号のラベルを貼付し、必要事項を記入し、採取担当者の署名又は捺印をする。

2.2.6 採取後の処理

2.2.6.1 胎盤の処理

胎盤は協力施設内の基準に準じ処分する。

2.2.6.2 器具の処理

採取に用いた器具は協力施設の基準により処分する。

2.2.6.3 試料番号同一性の最終確認

協力者調査表に記載された試料番号と貼付されているラベルに記載されている番号が同一であることを厳重に確認する。

2.2.6.4 特記すべき採取時情報

試料の封入された容器の重量を測定し2.2.5.1で測定した風袋重量より採取した試料の重量を求める。出産週数、産児体重、産児性別、採取時の情報（採取量の過不足など）を協力者調査表に記録する。

2.2.6.5 記録

採取担当者は協力者調査表に署名又は捺印し、次の担当者に正確に伝達する。

2.2.7 試料の保存

臍帯を採取容器に入れ密栓する。採取用、ブランク用の各容器を冷凍保存状態で保管し、分析担当施設に連絡する。

2.2.8 試料の運搬

運搬者は試料および採取容器は分析担当施設まで冷凍状態で運搬する

為に以下の点に留意する．

2.2.8.1 送付箱の用意

送付箱は十分な断熱性を持ち，外部が補強されたものを用意しドライアイスを十分量充填する．

2.2.8.2 試料の受領

受領の際は試料保管庫より試料と容器を取出し速やかに状態を確認し採取記録票と照合する．

)試料の破損・溶融が無いか

)容器の破損が無いか，密封されているか

)容器，ラベルの試料情報が確認できるか，記録帳票に不一致が無いか
容器・試料の破損などの問題がある場合は記録帳票に記載し，試料情報・記録帳票との不一致は直ちに確認の上追加訂正を行う．担当者は署名または捺印する．

2.2.8.4 各記録紙，試料の収納

試料は記録帳票と照合しながら，必要に応じて緩衝材を用い送付箱内に整然と並べる．各記録紙はポリ袋に入れて送付箱内に同梱する．

2.2.8.5 受領証の発行

試料情報に基づき試料の受領証を作成し，調査終了まで協力施設が保管する．

2.2.8.6 運搬

試料の受領は分析担当施設の担当者が行うか，協力施設または分析担当施設の委託を受けたものを行う．

2.2.8.7 搬入・引渡し

引渡し時においては運搬担当者，受付担当者への引継ぎを記録する．

2.2.9 試料の受付・保存

2.2.9.1 開梱

送付箱の開梱時，ドライアイスの残量または温度を確認する．

受付の際は送付箱より試料と容器を取出し速やかに状態を確認し照合する．

)試料の破損・溶融が無いか

)容器の破損が無いか，密封されているか

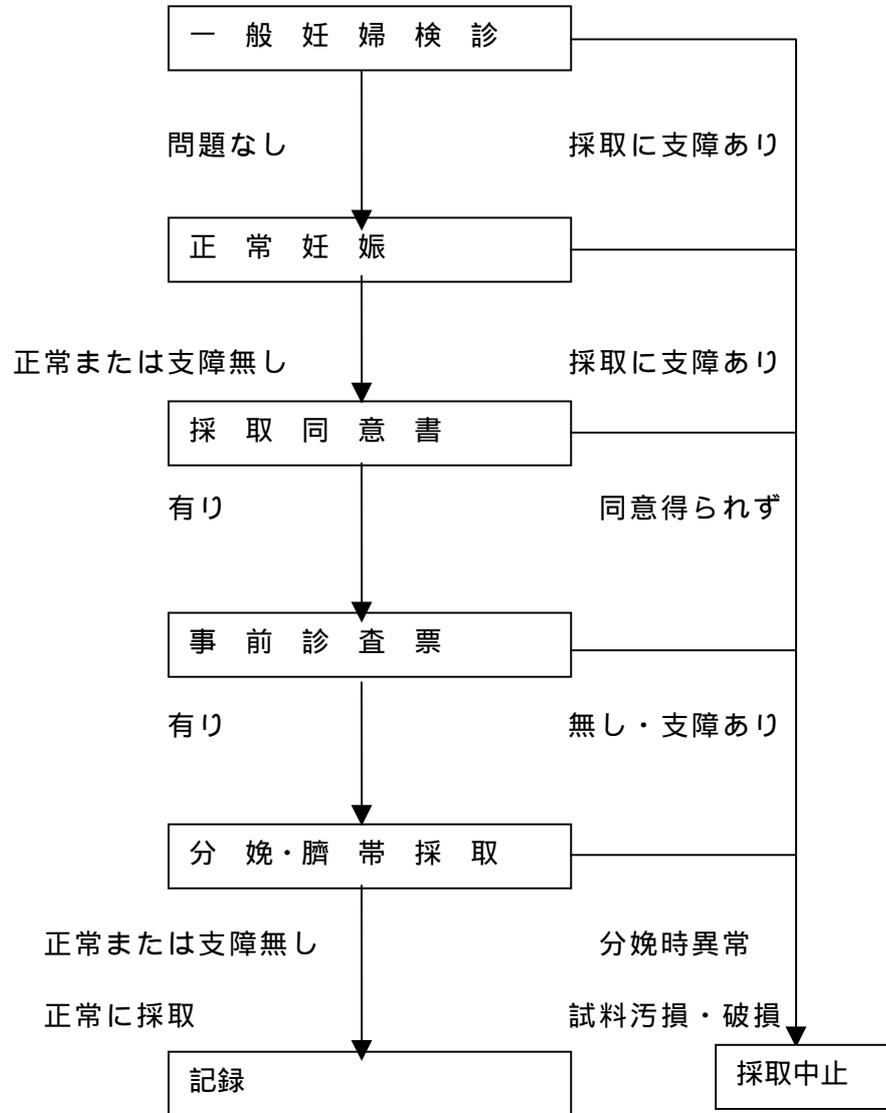
)容器，ラベルの試料情報が確認できるか，記録帳票に不一致が無いか
容器・試料の破損などの問題がある場合は記録帳票に記載し，試料情報・記録帳票との不一致は直ちに確認の上追加訂正を行う．担当者は署名または捺印する．

2.2.9.2 各記録紙，試料の保管

試料は記録帳票と照合し，測定まで凍結(-20)にて保存する．

記録帳票，測定データは測定機関が一括して最低5年間保管し，管理する．

3 採取作業の流れ



2 臍帯中のダイオキシン類の測定分析方法

1 はじめに

ダイオキシン類は、健康影響の未然防止の観点からの対策が必要な物質であり、環境汚染物質の中でも社会的関心の高い物質である。

これらの物質に係る健康影響調査を推進するためには、さまざまなヒト由来組織における濃度の把握が重要であるが、そのためには信頼できる測定分析マニュアルが不可欠である。

本マニュアルは臍帯中のダイオキシン類を測定するためのものであるが、臍帯中のダイオキシン類の濃度は低濃度であり、現在の科学技術レベルで考えられる範囲において確からしい値を得る為には、一定の分析実験設備や測定分析に関わる一定水準以上の技術が要求される。そこで、臍帯中のダイオキシン類の濃度を決定する為の参考となるように技術的内容をまとめた。なお、ここで示した以外の方法であっても本方法と同等以上の性能を持つことが確認されればその方法を採用しても良い。

2 用語の定義

本マニュアル中で記載する用語の定義を次のように定める。

2.1 ダイオキシン類

ポリクロロジベンゾ - パラ - ジオキシン、ポリクロロジベンゾフランおよびコプラナ PCBs^{iv}で表される化合物の総称。ただし、本マニュアルではテトラ、ペンタ、ヘキサ、ヘプタ及びオクタクロロジベンゾ - パラ - ジオキシン、テトラ、ペンタ、ヘキサ、ヘプタ及びオクタクロロジベンゾフラン、及び 2.3 に示したコプラナ PCBs を指す。

2.2 ダイオキシン類 2,3,7,8-位塩素置換異性体

ダイオキシン類の内、化学構造上 2, 3, 7 及び 8 で表記される位置に塩素が配位している化合物の総称。PCDDs 7 化合物, PCDFs 10 化合物, 合計 17 化合物が存在する。

2.3 コプラナ PCBs

ポリクロロビフェニル^{iv}で表される化合物であって、化学構造上 2, 2', 6 及び 6' で表記されるオルト位ⁱⁱⁱに配位する塩素数が 2 以下である化合物の総称。ただし、本マニュアルではこの化合物の内、『表-1. 定量する化合物の名称等。(p.21)』の Co-PCBs の欄に示す 12 種類の化合物を示す。

2.4 ノンオルトコプラナ PCBs

ポリクロロビフェニルで表される化合物であって、化学構造上 2, 2', 6 及び 6' で表記されるオルト位に塩素が配位しない化合物の総称。ただし、本マニュアルではこの化合物の内、『表-1. 定量する化合物の名称等。(p.21)』の中で Co-PCBs の non-ortho の欄に示す 4 種類の化合物を示す。

2.5 モノオルトコプラナ PCBs

ポリクロロビフェニルで表される化合物であって、化学構造上 2, 2', 6 及び 6' で表記されるオルト位に塩素が 1 つ配位する化合物の総称。ただし、本マニュアルではこの化合物の内、『表-1. 定量する化合物の名称等。(p.21)』の中で Co-PCBs の mono-ortho の欄に示す 8 種類の化合物を示す。

2.6 異性体^v

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。

2.7 同族体^v

塩素の配位数が同じであって置換位置を異にする一群の化合物。

2.8 目標検出下限値

本マニュアルで規定する『定量する下限値』。

2.9 検出下限値

2.9.1 装置の検出下限値

分析化学的な見地における検出下限値 .標準物質を測定したときのクロマトグラムピーク高さが $S/N=3$ に相当する標準物質の絶対量を装置 (GC-MS) の検出下限値とする^{vi} .あるいは GC-MS で検出できる低濃度標準溶液(各化合物の絶対量で 10~50fg 程度)を 5 回以上繰り返し測定し,その標準偏差の 3 倍を検出下限値としても良い.

2.9.2 試料の検出下限値

実際の試料を測定し,そのときの測定試料中の目的化合物クロマトグラムピーク高さを標準物質のピーク高さと比較し,測定試料中のピーク高さが $S/N=3$ に相当する標準物質濃度と,採取試料量等から計算した値を測定分析方法の検出下限値とする.実試料でピークが出現しない化合物に関しては, $S/N=3$ に相当するピーク高さを標準物質を測定したときのピーク高さから予測し,それに等しいピーク高さに相当する標準物質濃度と採取試料量等から計算した値を測定分析方法の検出下限値とする.

なお,試料の検出下限値は目標検出下限値を満足していなければならない.

3 略語の定義

本マニュアル中で記載する用語の定義を次のように定める.

- 3.1 PCDDs : ポリクロロジベンゾ - パラ - ジオキシン^{vii}
- 3.2 PCDFs : ポリクロロジベンゾフラン^{viii}
- 3.3 Co-PCBs : コプラナ PCBs
- 3.4 non-ortho PCBs : ノンオルト PCBs
- 3.5 mono-ortho PCBs : モノオルト PCBs
- 3.6 TeCDDs : テトラクロロジベンゾ - パラ - ジオキシン^{ix}
- 3.7 PeCDDs : ペンタクロロジベンゾ - パラ - ジオキシン^x
- 3.8 HxCDDs : ヘキサクロロジベンゾ - パラ - ジオキシン^{xi}
- 3.9 HpCDDs : ヘプタクロロジベンゾ - パラ - ジオキシン^{xii}
- 3.10 OCDD : オクタクロロジベンゾ - パラ - ジオキシン^{xiii}
- 3.11 TeCDFs : テトラクロロジベンゾフラン^{xiv}
- 3.12 PeCDFs : ペンタクロロジベンゾフラン^{xv}
- 3.13 HxCDFs : ヘキサクロロジベンゾフラン^{xvi}
- 3.14 HpCDFs : ヘプタクロロジベンゾフラン^{xvii}
- 3.15 OCDF : オクタクロロジベンゾフラン^{xviii}
- 3.16 TeCBs : テトラクロロビフェニル^{xix}
- 3.17 PeCBs : ペンタクロロビフェニル^{xx}
- 3.18 HxCBs : ヘキサクロロビフェニル^{xxi}
- 3.19 HpCBs : ヘプタクロロビフェニル^{xxii}
- 3.20 2,3,7,8-TeCDD : 2,3,7,8-テトラクロロジベンゾ-パラ-ジオキシン
- 3.21 1,2,3,7,8-PeCDD : 1,2,3,7,8-ペンタクロロジベンゾ-パラ-ジオキシン
- 3.22 1,2,3,4,7,8-HxCDD : 1,2,3,4,7,8-ヘキサクロロジベンゾ-パラ-ジオキシン
- 3.23 1,2,3,6,7,8-HxCDD : 1,2,3,6,7,8-ヘキサクロロジベンゾ-パラ-ジオキシン
- 3.24 1,2,3,7,8,9-HxCDD : 1,2,3,7,8,9-ヘキサクロロジベンゾ-パラ-ジオキシン
- 3.25 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD : 1,2,3,4,6,7,8-ヘプタクロロジベンゾ-パラ-ジオキシン
- 3.26 2,3,7,8-TeCDF : 2,3,7,8-テトラクロロジベンゾフラン

- 3.27 1,2,3,7,8-PeCDF : 1,2,3,7,8-ペンタクロロジベンゾフラン
- 3.28 2,3,4,7,8-PeCDF : 2,3,4,7,8-ペンタクロロジベンゾフラン
- 3.29 1,2,3,4,7,8-HxCDF : 1,2,3,4,7,8-ヘキサクロロジベンゾフラン
- 3.30 1,2,3,6,7,8-HxCDF : 1,2,3,6,7,8-ヘキサクロロジベンゾフラン
- 3.31 1,2,3,7,8,9-HxCDF : 1,2,3,7,8,9-ヘキサクロロジベンゾフラン
- 3.32 2,3,4,6,7,8-HxCDF : 2,3,4,6,7,8-ヘキサクロロジベンゾフラン
- 3.33 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF : 1,2,3,4,6,7,8-ヘプタクロロジベンゾフラン
- 3.34 1,2,3,4,7,8,9-HpCDF : 1,2,3,4,7,8,9-ヘプタクロロジベンゾフラン
- 3.35 3,3',4,4'-TeCB : 3,3',4,4'-テトラクロロビフェニル ; IUPAC77
- 3.36 3,4,4',5'-TeCB : 3,4,4',5'-テトラクロロビフェニル ; IUPAC81
- 3.37 3,3',4,4',5'-PeCB : 3,3',4,4',5'-ペンタクロロビフェニル ; IUPAC126
- 3.38 3,3',4,4',5,5'-HxCB : 3,3',4,4',5,5'-ヘキサクロロビフェニル ; IUPAC169
- 3.39 2,3,3',4,4'-PeCB : 2,3,3',4,4'-ペンタクロロビフェニル ; IUPAC105
- 3.40 2,3,4,4',5'-PeCB : 2,3,4,4',5'-ペンタクロロビフェニル ; IUPAC114
- 3.41 2,3',4,4',5'-PeCB : 2,3',4,4',5'-ペンタクロロビフェニル ; IUPAC118
- 3.42 2',3,4,4',5'-PeCB : 2',3,4,4',5'-ペンタクロロビフェニル ; IUPAC123
- 3.43 2,3,3',4,4',5'-HxCB : 2,3,3',4,4',5'-ヘキサクロロビフェニル ; IUPAC156
- 3.44 2,3,3',4,4',5'-HxCB : 2,3,3',4,4',5'-ヘキサクロロビフェニル ; IUPAC157
- 3.45 2,3',4,4',5,5'-HxCB : 2,3',4,4',5,5'-ヘキサクロロビフェニル ; IUPAC167
- 3.46 2,3,3',4,4',5,5'-HpCB : 2,3,3',4,4',5,5'-ヘプタクロロビフェニル ; IUPAC189
- 3.47 TEF : 毒性等価係数^{xxiii}
- 3.48 TEQ : 毒性等量^{xxiv}
- 3.49 IDMS : 同位体希釈質量分析法^{xxv}
- 3.50 GC-MS : ガスクロマトグラフ質量分析法^{xxvi}またはガスクロマトグラフ質量分析計^{xxvii}
- 3.51 HRGC : 高分解能ガスクロマトグラフィ-^{xxviii}または高分解能ガスクロマトグラフ^{xxix}
- 3.52 HRMS : 高分解能質量分析法^{xxx}または高分解能質量分析計^{xxxi}
- 3.53 HRGC-HRMS : 高分解能ガスクロマトグラフ/高分解能質量分析法^{xxxii}または高分解能ガスクロマトグラフ/高分解質量分析計^{xxxiii}
- 3.54 SIM : 選択イオン検出法^{xxxiv} .
- 3.55 RRF : 相対感度係数^{xxxv}
- 3.56 N.D. : 目標検出下限値未満^{xxxvi}
- 3.57 EI 法 : 電子衝撃イオン化^{xxxvii}法
- 3.58 IUPAC : 国際純正及び応用化学連合^{xxxviii}
- 3.59 WHO : 国連世界保健機関^{xxxix}
- 3.60 QA/QC : 品質保証・品質管理^{xl}
- 3.61 QCCS : 品質管理チェック試料^{xli}

4 調査対象物質

本マニュアルでは PCDDs , PCDFs 及び Co-PCB の内 , 『表-1 . 定量する化合物の名称等 . (p.21)』 に示す化合物を調査対象とする . また , 必要に応じて脂肪量を測定する .

5 目標検出下限値

本マニュアルでは 『表-2 . 本マニュアルで規定する PCDDs , PCDFs 及び Co-PCBs 各化合物の目標検出下限値 . (p.22)』 に示す目標検出下限値を設定する . 通常 , 目標検出下限値は分

析化学的な検出下限値を満足していなければならない。

6 分析に必要な施設・試薬・器具等

ここでは、分析を行うに当たって必要な施設・器具・試薬等に関して必要とされるまたは望ましい要求事項を示す。

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

6.1 試料前処理室

器具や試薬の準備、抽出・濃縮・精製等の最終試料調製までの各作業を行う試料前処理室は試料の汚染を極力防ぐような構造とする^{xiii}。

6.2 試薬類^{xiii}

試薬類は、必要に応じて可能なものは蒸留、加熱処理、洗浄等の精製操作を行う等して、本方法によって使用する量が、PCDDs、PCDFs 及び Co-PCBs の定量に影響を及ぼさないことを確認した後使用する。

6.2.1 アセトン

6.2.2 エタノール

6.2.3 ヘキサン

6.2.4 トルエン

6.2.5 ジクロロメタン

6.2.6 デカン

6.2.7 精製水

精製水製造器等で得られるもの。必要に応じてヘキサンで洗浄する等して精製する。

6.2.8 硫酸

市販の試薬をヘキサンで洗浄する。

6.2.9 無水硫酸ナトリウム

市販の試薬を 450 で 4hrs 以上加熱処理する。

6.2.10 水酸化カリウム水溶液

水酸化カリウム適当量を精製水適当量に溶かす。必要に応じてヘキサンで洗浄する。等して精製する。

6.2.11 40%(w/w)硝酸銀水溶液

硝酸銀適当量を精製水適当量に溶かす。必要に応じてヘキサンで洗浄する等して精製する。

6.2.12 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にて超音波洗浄を行った後、減圧乾燥し、ガラス製ビーカーに入れ、層の厚さを 10mm 以下にして 130 で約 18hrs 乾燥した後、密閉可能な容器に入れ、デシケーター内で保管する。

6.2.13 22%硫酸含有シリカゲル

硫酸をシリカゲルに、硫酸がシリカゲルに対して 22%(w/w)となるように加え、攪拌混合し、密閉可能な容器に入れ、デシケーター内で保管する^{xiv}。

6.2.14 44%硫酸含有シリカゲル

硫酸をシリカゲルに、硫酸がシリカゲルに対して 44%(w/w)となるように加え、攪拌

- 混合し，密閉可能な容器に入れ，デシケーター内で保管する^{xlv}。
- 6.2.15 10%硝酸銀含有シリカゲル
硝酸銀溶液を，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，攪拌混合した後ロータリーエバポレーター等で減圧乾燥させ，密閉可能な容器に入れ，デシケーター内で保存する．調製及び保管は遮光した状態で行う．
- 6.2.16 塩基性アルミナ
- 6.2.17 活性炭シリカゲル
活性炭シリカゲルをアセトンで超音波洗浄し濾過した後，トルエンでソックスレー洗浄し^{xvi}，ロータリーエバポレーターで減圧乾燥させ，密閉可能な容器に入れ，デシケーター内で保存する．
- 6.2.18 標準物質
『表-3．測定に用いる標準物質．(p.23)』を用いる．
- 6.2.19 標準溶液
市販の標準溶液をデカン^{xvii}で希釈，混合して調製する．
- 6.2.20 同位体スパイク
『表-4．測定に用いる同位体スパイク．(p.24)』を用いる．
- 6.2.21 同位体スパイク溶液
市販の溶液をデカン^{xviii}で希釈，混合して調製する．
- 6.3 器具・機材
- 6.3.1 分析前処理器具・機材
使用する全ての器具及び装置には PCDDs，PCDFs 及び Co-PCBs の測定分析に影響を及ぼさないことが要求される．分析途中の試料の汚染を防ぐ観点から使用する全ての器具等は臍帯等の極めて低濃度である試料分析専用とすることが望ましい．GC-MS も超微量ダイオキシン類専用のものを用いる．
- 6.3.1.1 乾燥機
ガラス製品及び試薬類を加熱処理するもの(450 程度で連続使用可能なもの)．
- 6.3.1.2 マッフル炉
セラミック製品を加熱処理するもの(1000 程度で連続使用可能なもの)．
- 6.3.1.3 ロータリーエバポレーター
大気開放コックの先に活性炭カラム，エアフィルターを装着したり，また，トラップ球を使用する等して汚染を防ぐようにすることが望ましい^{xlix}．
- 6.3.1.4 ロータリーエバポレーター用真空ポンプ
有機溶媒の排気に内部が耐えられるもの．排気側にガス冷却管等を接続し，有機溶媒の回収を行う．
- 6.3.1.5 冷却水循環装置
ソックスレー抽出器，ロータリーエバポレーターの冷却管(コンデンサー) に使用する．
- 6.3.1.6 ガス吹き付け装置
抽出精製試料を濃縮する為に使用する．
- 6.3.1.7 シリカゲルカラムクロマト管
内径約 10mm，長さ約 300mm のガラス製カラムクロマト管にシリカゲル 3.0g，無水硫酸ナトリウム 6.0g をヘキサンで湿式充填する．ヘキサン 200mL を流速 2.5mL/min で流し，充填物を洗浄する^l．

- 6.3.1.8 多層シリカゲルカラムクロマト管
 内径約 10mm，長さ約 300mm のガラス製カラムクロマト管にシリカゲル 0.9g，44%硫酸シリカゲル 4.5g，22%硫酸シリカゲル 6.0g，シリカゲル 0.9g，10%硝酸銀-シリカゲル 3.0g，無水硫酸ナトリウム 6.0g を順次ヘキサンで湿式充填する。ヘキサン 200mL を流速 2.5mL/min で流し，充填物を洗浄する。
- 6.3.1.9 活性炭シリカゲルカラムクロマト管
 内径約 10mm，長さ約 150mm のガラス製カラムクロマト管に，無水硫酸ナトリウム 3.0g，活性炭シリカゲル 0.5g，最後に無水硫酸ナトリウム 3.0g を乾式充填する。
- 6.3.2 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。
- 6.3.2.1 ガスクロマトグラフカラムオープン
 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。
- 6.3.2.2 ガスクロマトグラフキャピラリーカラム
 内径 0.22 ~ 0.32mm，長さ 30 ~ 60m の溶融シリカ製のものであって，内面に液相を塗布したもの。通常，微極性 (5%フェニルメチルシリコン系) のものを用いるが必要に応じて中極性 (25%フェニルメチルシリコン系)，強極性 (シアノプロピル系) のものを用いる。ここで，使用するカラムはダイオキシン類が不用意に吸着することなく，また，ダイオキシン類 2,3,7,8-位塩素置換異性体およびコプラナ PCBs の他の異性体との分離が良好なものを選択する必要がある，そのため事前に本マニュアルで要求される目標検出下限等を満足していることを確認することが望ましい。
 例) BPX5 (長さ: 30m，内径: 0.25mm，膜厚: 0.25 μm，SGE 社製)
 CP-SIL 8 CB-MS (長さ: 30m，内径: 0.25mm，膜厚: 0.25 μm，Varian 社製)
 なお，ここで示した製品は参考のために表記したものであってこれらを使用しなければならない訳ではない。
- 6.3.2.3 質量分析計 (MS)
 二重収束型のもので，ロックマス方式ⁱⁱ⁾により分解能 10,000 以上で測定可能なもの。イオン源は，温度を 160 ~ 300 に保つことができ，EI 法が可能で，イオン化電圧を 25 ~ 70V 程度に制御可能なもの。検出法として SIM 法が可能であり，磁場スイッチング使用時の必要な測定質量数のチャンネル数，感度，安定性の関係から SIM 法における周期を最大でも 1 sec 未満にできるものⁱⁱⁱ⁾。実際に試料を測定するときと同一の条件において，標準物質の 2,3,7,8-TeCDD 10fg で SN>5，OCDD 50fg で SN>5 の検出感度を得られるもの。
- 6.3.2.4 試料導入部
 本マニュアルで要求する定量を満足する方式のもの。感度を稼ぐ目的で大量注入方式やマルチディメンジョン方式を採用してもよい。
- 6.3.2.5 キャリアーガス
 高純度ヘリウムガスⁱⁱⁱⁱ⁾。

7 測定分析

7.1 測定方法の概要

同位体希釈質量分析法 (IDMS) による。すなわち、試料に内部標準物質として定量する。目的化合物の ^{13}C 同位体をスパイクし、有機溶媒によって PCDDs, PCDFs 及び Co-PCBs を抽出し、精製し、GC-MS を用いて同位体比を測定する。分析方法のフローを図-1(p.20) に示す。

なお、PCDDs, PCDFs 及び Co-PCBs 濃度を脂肪あたりで表記する場合は、後述の方法によって脂肪量を測定する。

7.2 前処理

本測定においては、臍帯試料中の脂肪重量も併せて測定する必要があるが、試料量が限られているため、1本の臍帯を用いて脂肪重量及びダイオキシン類濃度の両方について測定しなければならない。

7.2.1 試料

採取した試料は精秤したのち、臍帯 1 本あたり 100mL の 25%エタノール/ヘキサンと 50g の無水硫酸ナトリウムおよび同位体スパイクを加えて毎分 10,000 回転で約 5 分間ホモジネートする。ここで十分にホモジナイズされた試料の全量を測定に用いる。なお、同位体スパイクの添加量は各化合物 50 ~ 200pg 程度とする^{iv}。

7.2.2 脂肪抽出

7.2.1 で得られた試料を、桐山ロートにてグラスフィルターを用い吸引濾過を行い、脂肪やダイオキシン類などを抽出する。

7.2.3 水洗・脱水

7.2.2 で得られたエタノール/ヘキサン抽出液を、ヘキサン洗浄蒸留水で洗浄した後、無水硫酸ナトリウムを加え含まれている水分を吸収させる。

7.2.4 脂肪重量測定

7.2.3 で得られた抽出液をロータリーエバポレーターで濃縮後、あらかじめ重量を測定した秤量皿に可能な限り損失がないように移した後、静置させ溶媒を揮発させる。秤量皿を秤量し、前後の重量差から試料中の脂肪重量を測定する。

7.2.5 アルカリ分解

脂肪重量を測定した後の抽出物に 2mol/L-水酸化カリウム/エタノール溶液 30mL、さらに、蒸留水 50mL を加え攪拌後室温にて一夜放置する。

7.2.6 抽出

エタノール 10mL、精製水 20mL、ヘキサン 30mL を添加し、30 分間振盪抽出を行う。ヘキサン層を分画後、水層にヘキサン 30mL を添加し、さらに 30 分間振盪抽出を行う。3 回の抽出によるヘキサン分画を混合する。

7.2.7 硫酸処理

得られたヘキサン分画を精製水 20mL で 1 回洗浄した後、水層を捨て、濃硫酸を 20mL 加え穏やかに振とうし、静置後硫酸層を除去する。この操作を硫酸層の着色が薄くなるまで繰り返す。

7.2.8 水洗・濃縮

硫酸処理が終了したヘキサン分画を精製水 20mL で 2 回洗浄する。ガラス製ロート下部にグラスウールを詰め、無水硫酸ナトリウムを積層したもので脱水後、ロータリーエバ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。

7.3 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為示したものであり、分画試験を行って決定する。

7.3.1 シリカゲルカラムクロマトグラフィー

次に示すシリカゲルカラムクロマトグラフィーあるいは多層シリカゲルカラムクロマトグラフィーのどちらかを行う。

7.3.1.1 シリカゲルカラムクロマトグラフィー

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、調製した試料を静かに移し入れ、少量のヘキサンで洗い込み、液面を無水硫酸ナトリウム層まで下げる。ヘキサン 150ml を流速 2.5mL/min で流し展開溶出させる。得られた溶出液をロータリーエバポレーターにて約 2ml まで濃縮し、アルミナカラムクロマトグラフィーに供する。

7.3.1.2 多層シリカゲルカラムクロマトグラフィー

多層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、調製した試験溶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層まで下げる。ヘキサン 200ml を流速 2.5mL/min で流し展開溶出させる。得られた溶出液をロータリーエバポレーターにて約 2ml まで濃縮し、アルミナカラムクロマトグラフィーに供する^{b)}。

7.3.2 アルミナカラムクロマトグラフィー

アルミナクロマト管の液面を無水硫酸ナトリウム層まで下げ、調製した試験溶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層まで下げる。ヘキサン 100ml を流速 2.5mL/min で洗浄を行う。次いで 50%ジクロロメタン含有ヘキサン 100mL を流速 2.5mL/min で流し展開溶出させる。得られた溶出液をロータリーエバポレーターにて約 2ml まで濃縮し、活性炭カラムクロマトグラフィーに供する。

7.3.3 活性炭カラムクロマトグラフィー

次に示す活性炭シリカゲルカラムクロマトグラフィーあるいは液体クロマトグラフィーのどちらかを行う。

7.3.3.1 活性炭シリカゲルカラムクロマトグラフィー

活性炭シリカゲルクロマト管に調製した試験溶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層まで下げる。これに 25%ジクロロメタン含有ヘキサン溶液 100ml を流速 2.5mL/min で流し展開溶出させる。この画分には mono-*ortho*-CBs が含まれる。次いで、トルエン 100ml で溶出する。この画分には PCDDs, PCDFs 及び non-*ortho*-CBs が含まれる。25%ジクロロメタン含有ヘキサン画分及びトルエン画分をロータリーエバポレーターで濃縮し、更にゆるやかに窒素を吹き付け^{h)}、濃縮した後、各画分に測定に必要なシリンジスパイク^{h)}を添加して 10 μ L に定容し、GC-MS 分析用溶液とする。なお、GC の注入方式が 10 μ L 以上注入できる場合は、最終試料液量を適切な量に変更することは妨げない。

トルエン画分から 1~2 μ L 分取し 25%ジクロロメタン含有ヘキサン画分に加え、トルエン画分と同様の方法で濃縮し、測定に必要なシリンジスパイクを添加し 10 μ L に定容し、GC-MS 分析用溶液としても良い。最終試料液量については前述と同様である。

7.3.3.2 液体クロマトグラフィー

LC に活性炭カラムを装着し、予めトルエンで十分にカラムを洗浄した後、十分量のヘキサンで置換しておく。調製した試験溶液を注入後、移動層としてヘキサン 60mL で洗浄し、30%トルエン含有ヘキサン 75mL で溶出させる。この画分には Co-PCBs が含まれる。次いで、reverse flow でトルエン 120ml で溶出する。この画分には PCDDs, PCDFs が含まれる。30%トルエン含有ヘキサンヘキサン画分及びトルエン画分をロータリーエバポレーターで濃縮し、更にゆるやかに窒素を吹き付け^{hiii}、濃縮した後、各画分に測定に必要なシリンジスパイク^{lx}を添加して 10 μL に定容し、GC-MS 分析用溶液とする。なお、GC の注入方式が 10 μL 以上注入できる場合は、最終試料液量を適切な量に変更することは妨げない。

なお、活性炭カラムは発売メーカー、サイズによりダイオキシン類の挙動が異なることが予想されるため、予め、標準品等を用いて溶出条件の確認を行っておく。

7.4 測定準備

7.4.1 検量線の作成

標準溶液中の PCDDs, PCDFs 及び Co-PCBs 各化合物に対して 0.01 ~ 50pg/μL 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。この標準濃度系列には同位体スパイクを添加しておく^{lx}。

7.4.2 GC-MS 状態の確認

GC-MS が本法に対して適切な状態であることを確認する (QA・QC 参照)。

7.5 測定

標準溶液及び試料の適当量を GC-MS に注入^{li}し、各同族体につき『表-5.測定質量数の例。(p.25)』から任意の 2 つ以上の質量数のクロマトグラムを記録する。

7.6 計算

次式によって濃度を算出する。

$$C_{\text{Sample}} = ((A_{\text{Sample}} \times C_{\text{Sample-IS}}) / (A_{\text{Sample-IS}} \times \text{RRF})) \times (1 / V)$$

C_{Sample} : 分析対象物質の濃度 (pg/g)

A_{Sample} : 分析試料中の各化合物のクロマトグラムピーク面積値

$A_{\text{Sample-IS}}$: 分析試料中の各同位体スパイクのクロマトグラムピーク面積値

$C_{\text{Sample-IS}}$: 分析試料への同位体スパイクの量 (pg)

V : 試料採取量 (g)

$$\text{RRF} = (A_{\text{STD}} \times C_{\text{STD-IS}}) / (A_{\text{STD-IS}} \times C_{\text{STD}})$$

A_{STD} : 標準溶液中の分析対象物質のクロマトグラムピーク面積値

$A_{\text{STD-IS}}$: 標準溶液中の同位体スパイクのクロマトグラムピーク面積値

C_{STD} : 標準溶液中の各化合物の量 (pg)

$C_{\text{STD-IS}}$: 標準溶液中の各同位体スパイクの量 (pg)

PCDDs 及び PCDFs 2,3,7,8-位塩素置換異性体はそれぞれ対応する。17 種類の 2,3,7,8-位塩素置換異性体の標準物質及び同位体スパイクの濃度、添加量及びレスポンスを用いて濃度を算出する。Co-PCB に関してはそれぞれ対応する。12 種類の Co-PCB の標準物質及び同位体スパイクの濃度、添加量及びレスポンスを用いて濃度を算出する。

7.7 測定結果の表記方法

臍帯中の PCDDs , PCDFs 及び Co-PCBs は通常低濃度であると考えられ、本マニュアルの方法をもってしても目標検出下限値付近あるいは目標検出下限値未満の数値が出現する場合もある。数値の取り扱い方法が異なることにより、得られる最終結果に差異が生じることがないように数値の取り扱い方法を定める。なお、有効数字の取り扱い方法は JIS Z 8401 にしたがう。

7.7.1 PCDDs , PCDFs 及び Co-PCBs の同定

PCDDs 及び PCDFs 各異性体は、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はほぼ同じであり、『表-6 . PCDDs , PCDFs 及び Co-PCBs の塩素同位体の理論天然存在比 . (p.26)』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 $\pm 30\%$ 以内であり、更にピークの保持時間が標準物質とはほぼ同じであり、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。

7.7.2 実測濃度の表記

- ・ N.D.表記となっている異性体に関しては、数値は 0 (ゼロ)として計算する。
- ・ 2,3,7,8-位塩素置換異性体 (17 化合物) 及びコプラナ PCB (12 化合物) の各実測濃度は有効数字 2 桁にまるめて表記する。
- ・ 2,3,7,8-位塩素置換異性体 (17 化合物) 及びコプラナ PCB (12 化合物) の各実測濃度が目標検出下限値未満であった場合、2,3,7,8-置換位置異性体 (17 化合物) 及びコプラナ PCB (12 化合物) の各実測濃度は N.D.と表記する。
- ・ 2,3,7,8-位塩素置換異性体 (17 化合物) の濃度の総和を Total(PCDDs+PCDFs)として有効数字 2 桁で表記する^{bii}。
- ・ PCDDs に含まれる全ての化合物が目標検出下限値未満であった場合、PCDDs の実測濃度は N.D.と表記する。
- ・ PCDFs に含まれる全ての化合物が目標検出下限値未満であった場合、PCDFs の実測濃度は N.D.と表記する。
- ・ PCDDs と PCDFs が共に N.D.であった場合、Total (PCDDs+PCDFs)の実測濃度は N.D.と表記する。
- ・ IUPAC #77 , # 81 , #126 , #169 の実測濃度を積算し、non-ortho PCBs 実測濃度として有効数字 2 桁で表す。
- ・ IUPAC#105 , #114 , #118 , #123 , #156 , #157 , #167 , #189 の実測濃度を積算し、mono-ortho PCBs 実測濃度として有効数字 2 桁で表す。
- ・ IUPAC #77 , # 81 , #126 , #169 , #105 , #114 , #118 , #123 , #156 , #157 , #167 , #189 の濃度を積算し、Total Co-PCBs 実測濃度として有効数字 2 桁で表す^{biii}。

7.7.3 TEQ の算出

- ・ 有効数字 2 桁でまるめた 2,3,7,8-位塩素置換異性体 (17 化合物) 及びコプラナ PCB (12 化合物) の各実測濃度に TEF を乗じ、TEQ を算出する。一例として WHO-1997 による TEF を『表-7 . TEQ 算出の為の TEF . (p.27)』に示す。各 2,3,7,8-位塩素置換異性体及び Co-PCBs の TEQ は 2 桁表記とする。
- ・ 2,3,7,8-位塩素置換異性体及び Co-PCBs 濃度が目標検出下限値未満であった場合、毒性等量は 0 (ゼロ)として表記し、その右横にカッコ書きで最大見積 TEQ を記載する。最大見積 TEQ は各化合物の目標検出下限値の 1/2 に TEF を乗じたものとする^{biv}。
- ・ 実測濃度に N.D.が表記された場合(最大見積 TEQ が表記された場合)、Total PCDDs ,

Total PCDFs , Total(PCDDs+PCDFs) , non-ortho PCBs , mono-ortho PCBs , Total Co-PCBs ,Total (PCDDs+PCDFs+Co-PCBs)にもカッコ書きで最大見積 TEQ を記載する。この最大見積 TEQ は各化合物の TEQ と最大見積 TEQ との積算で表す。

- ・ Total PCDDs(TEQ)及び Total PCDFs(TEQ)は 2 桁表記とする。
- ・ Total PCDDs(TEQ)+Total PCDFs(TEQ)は 2 桁表記とする。
- ・ non-ortho PCBs の TEQ は 2 桁表記とする。
- ・ mono-ortho PCBs の TEQ は 2 桁表記とする。
- ・ Co-PCB の Total TEQ は 2 桁表記とする。
- ・ PCDDs , PCDFs , Co-PCBs の Total TEQ は 2 桁表記とする。
- ・ 各実測濃度から PCDDs , PCDFs , Co-PCBs の Total TEQ を算出する。までの過程で数値のまるめは行わない。

7.7.4 測定結果の表記方法

測定結果の表記方法の例を『表-8 . PCDDs , PCDFs 及び Co-PCBs 測定分析結果の表記例 . (p.28)』に示す。

8 安全管理

ここでは、測定分析に係る者の安全や、区域外への化学物質の漏洩防御の観点から留意すべき事柄をまとめた。

8.1 試料前処理室及び GC-MS 室の構造

試料前処理室及び GC-MS 室内の空気は活性炭フィルターと HEPA フィルター等を通じた後屋外へ排気する構造とすることが望ましい。

8.2 試料前処理室への出入り

PCDDs , PCDFs 及び Co-PCBs の測定分析に関わる区域には許可なしに関係者以外の者が立ち入ることを禁止すること、また、区域入り口にはその旨表記すること。一時的に許可を与えられ、区域内に入ることが許された者がいる場合はその記録を取ること。区域内への入り口は施錠可能な構造でなければならない。

8.3 試薬の管理

測定分析に使用する有機溶媒の管理を行うこと。各有機溶媒毎に購入量と廃棄量の記録を取ること。有機溶媒が揮散することを可能な限り防御するように工夫し、さらに試料前処理室内の換気を十分とれるようにすること。

8.4 標準物質の管理

標準物質は施錠可能な冷蔵庫に保管し、購入及び使用の記録を取ること。

8.5 分析者

区域内では専用の実験衣及び靴を着用すること。試料前処理室内では常に耐溶剤製の不浸透手袋等及び安全眼鏡を装着すること。

8.6 測定分析機関の義務

試料前処理室に立ち入る許可を持っている者に関しては労働安全衛生法に定められた特定化学物質に関わる定期的健康診断を年 2 回実施すること。

8.7 GC-MS

GC-MS ロータリーポンプの排気、GC のパージガスは、活性炭フィルターを通じた後排気されるようにすること。

8.8 臍帯の付着したガラス器具の洗浄

滅菌した後洗浄する。

8.9 臍帯に直接接触した廃棄物の管理

臍帯採取及び搬入時に用いられた容器や作業中に臍帯の付着した布等はオートクレーブバッグに入れた後高圧蒸気滅菌し、医療廃棄物として廃棄する。

8.10 その他の廃棄物の管理

上記以外に試料前処理室・検査室及び GC-MS 測定室内で生じた各種廃棄物は種別に分類し、廃棄物処理業者までトレース可能なように管理すること。

9 品質保証 / 品質管理・内部精度管理

有形の工業製品と異なり、PCDDs、PCDFs 及び Co-PCBs の測定データに関しては、最終測定値のみでは結果の確からしさを確認することは困難である場合も多い。そこで、品質保証(QA)/品質管理(QC)・精度管理^{kw}について記述した。本記述は PCDDs、PCDFs 及び Co-PCBs に係る調査を行う機関が、一定水準以上の測定分析結果を報告することが可能となるように、調査に直接的に関わる事項に対して、記録として要求される項目について記述したものである。PCDDs、PCDFs 及び Co-PCBs に係る調査を行う全機関は、少なくともここで述べる項目に関する情報を記録・保管しなければならない。なお、本マニュアルでは PCDDs、PCDFs 及び Co-PCBs の測定分析結果の報告までを対象としており、得られたデータを用いた考察や解析等の部分に関しては含まない。

なお、ここで示した各項目が満足されていない場合、その原因を明らかにし、取り除いた後、再分析、再測定等適切な処置をおこなう。

9.1 調査

9.1.1 試料採取の記録

出産週数、産児体重、産児性別、採取時の情報（採取量の過不足など）を記録する。

9.1.2 試料確認の記録

試料採取後、試験機関に試料が入る段階（試料の受付）における試料の確認を記録する。試料確認の日時、確認した人の所属・氏名、試料の試料前処理室まで搬送された手段・状態、試料の媒体、試料の入っていた容器の種類・サイズ、保管する。場合その保管場所、保管方法、試料番号を記録する。運送業者を利用した場合、その配送伝票の複製を保管する。

9.2 測定分析

9.2.1 使用器具・機材・装置

使用した器具に関して、メーカー、準備方法（必要であれば洗浄方法）を記録する。

9.2.2 使用試薬

分析に用いた試薬のメーカー名、製品名、等級、精製方法等を記録する。

9.2.3 標準物質・標準溶液

分析に用いた試薬のメーカー名、製品名等を記録する。

9.2.4 標準溶液調製記録

標準溶液を調製した状況を記録する。

9.2.5 試料前処理室等の清浄度の記録

測定分析が行われた雰囲気客観的に判断可能なような記録（例えば試料前処理室及び GC-MS 室の温度・清浄度の記録等）を取る。

9.2.6 分析前処理記録

分析者の所属、氏名、試料の状態、分析の各段階における操作日時、試料量（分析に供した量）、各試薬使用量、試料前処理室雰囲気等一連の前処理において、必要な情報を記録する。

9.2.7 GC-MS の記録

9.2.7.1 GC-MS 日常点検記録

GC-MS の日常点検結果 (冷却水, 真空ポンプ, 真空度等の基本的な事項) を記録する。

9.2.7.2 GC-MS メンテナンス記録

GC-MS に関して日常点検の範疇を超える点検・調整事項 (修理、磁場調整等日常的には発生しない事柄) があれば記録する。

9.2.7.3 GC-MS 使用状況記録

GC-MS の使用状態 (各種消耗品の交換, イオン源の交換, GC カラムの交換, GC カラムエージング, フライトチューブベーキング, イオン源ベーキング, 測定検体数等, どのような状況で使用されたか) を記録する。

9.2.7.4 MS 調整の記録

GC-MS 測定分析条件を記録する。

9.2.7.5 透過率の記録

設定分解能時のイオン透過率を記録する。

9.2.7.6 GC 分離能の記録

測定時に必要な GC カラム分離能が得られていることを確認できるクロマトグラムを記録する。

9.2.7.7 感度の記録

測定時に必要な感度が得られていることを確認できる記録 (クロマトグラム等)。

9.2.7.8 標準物質の同位体比の確認

測定した標準物質中の各化合物に関して, 2 つのモニターイオンのレスポンス比が理論値とずれていないことを確認できる記録。理論塩素同位体存在比と実測同位体比の採用範囲は 30% 以内とする。『参照: 表-6. PCDDs, PCDFs 及び Co-PCBs の塩素同位体の理論天然存在比。(p.26)』

9.2.7.9 RRF

RRF の変動は前回の測定時と比較して $\pm 20\%$ 以内であることとする。

9.2.7.10 測定順の記録

GC-MS による測定の順番の記録。標準溶液, 最終溶媒ブランク, 全操作ブランク, 試料, 2 重測定 (同一測定バイアルからの GC-MS 測定), 2 重測定 (試料採取からの 2 重測定) 等試料の測定順番を記録する。

9.2.7.11 クロマトグラムの記録

標準溶液, 最終溶媒ブランク, 全操作ブランク, 試料に関する各測定質量数のクロマトグラムの記録。

9.3 計算

9.3.1 計算工程の記録

標準溶液の濃度, 内部標準の添加量, GC-MS 測定面積値, 試料採取量から最終濃度までの計算過程がトレース可能である記録。

9.3.2 同位体比の確認記録

測定に用いた同位体の理論比との差が判明する。記録上記計算の工程に含まれていれば良い。

9.3.3 回収率の確認記録

シリンジスパイクを用いて計算した回収率の記録上記計算の工程に含まれていれば良い。回収率は、17種類のPCDDs及びPCDFs各2,3,7,8-位塩素置換異性体及び12種類のCo-PCBsにおいて大量注入方式を採用した場合、各々50-120%の範囲であること。

9.4 ブランク試験

9.4.1 臍帯試料容器ブランク

臍帯試料容器のブランク試験を行い、その結果を記録する。容器ロットが変わる毎に行う。

9.4.2 全操作ブランク

試料に対して行う分析方法と同一の方法で操作を行う全操作ブランクの試験の記録。全操作ブランクは分析試料数10に対して1以上の頻度で行う。

9.4.3 同位体スパイクの検査

同位体スパイク中に存在する¹²C化合物が、用いる添加量で定量に影響を与えないことを確認した記録。

9.5 2重測定（試料の前処理から）

可能であれば試料採取の段階で2つの試料を採取し個々に測定分析を行うことが望ましい。この操作は分析試料数10に対して1以上の頻度で行う。この2重測定の結果は各2,3,7,8-位塩素置換異性体の実測濃度と実測濃度の平均値との差で50%以内であることが要求される（実測濃度が目標検出下限値の10倍以下の化合物に関しては規定しない）。試料採取日時が異なっても同一のプロジェクト内で発生する分析試料数10に対して1以上の頻度で行えば良い。

9.6 2重測定（GC-MS測定）

可能な場合GC-MSによる2重測定を測定試料に対し、分析試料数10に対して1以上の頻度で行う。この2重測定の結果は各2,3,7,8-位塩素置換異性体の実測濃度の差で30%以内であることが要求される（実測濃度が目標検出下限値の10倍以下の化合物に関しては規定しない）。同一のプロジェクト内における総試料数が10未満の場合、あるいはGC-MS測定のバッチが同一プロジェクトで10試料未満であるような場合、2重測定（GC-MS測定）の結果は他のプロジェクトの結果と共用でもよい。

9.7 品質管理チェック試料（QCCS）の測定

定期的にQCCSを測定し、その結果を記録する^{bvi}。

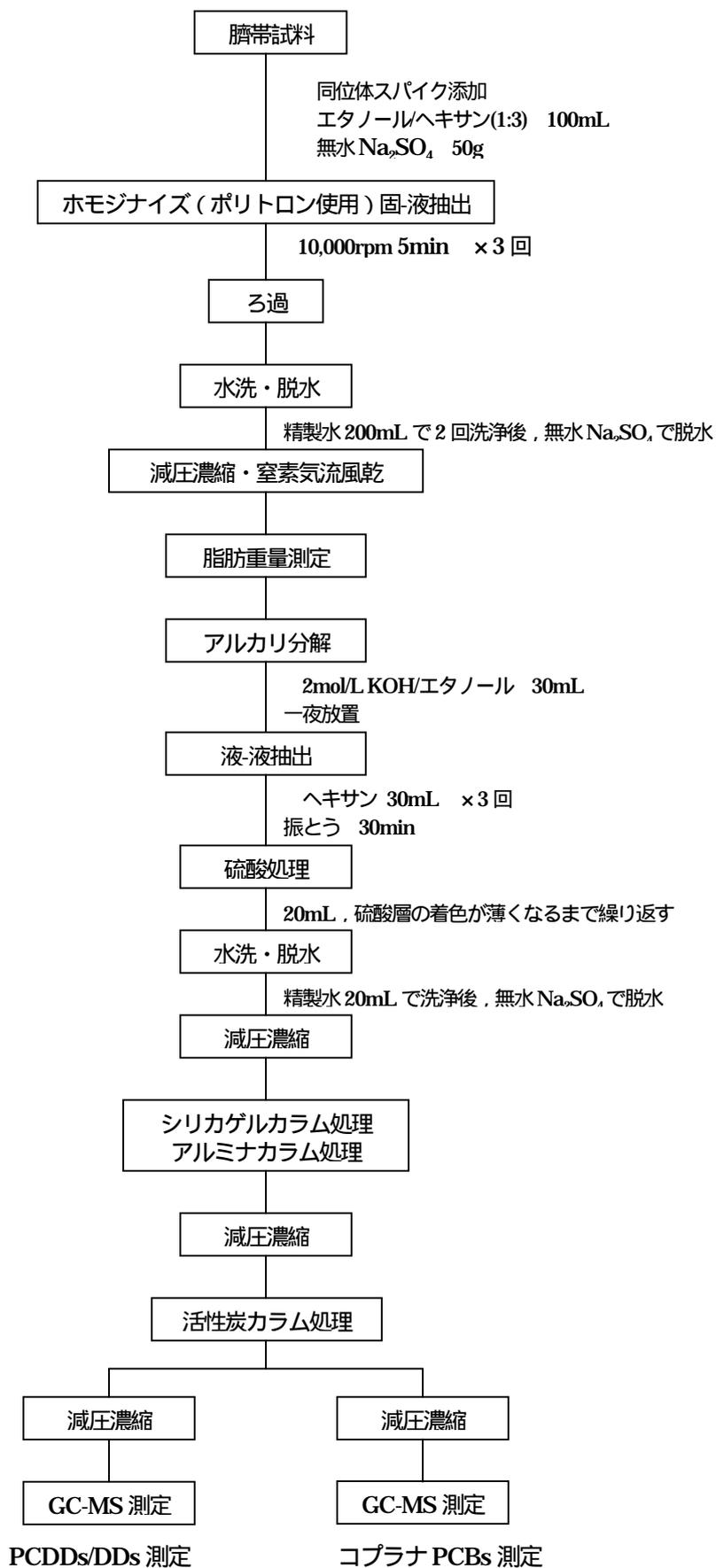


図-1 臍帯試料中のダイオキシン類分析フロー

表-1 . 定量する化合物の名称等 .

		化合物の名称等	CAS Registry Number	IUPAC Number
PCDDs		2,3,7,8-TeCDD	1746-01-6	-
		1,2,3,7,8-PeCDD	40321-76-4	-
		1,2,3,4,7,8-HCDD	39227-28-6	-
		1,2,3,6,7,8-HxCDD	57653-85-7	-
		1,2,3,7,8,9-HxCDD	19408-74-3	-
		1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	35822-39-4	-
		OCDD	3268-87-9	-
PCDFs		2,3,7,8-TeCDF	51207-31-9	-
		1,2,3,7,8-PeCDF	57117-41-6	-
		2,3,4,7,8-PeCDF	57117-31-4	-
		1,2,3,4,7,8-HxCDF	70648-26-9	-
		1,2,3,6,7,8-HxCDF	57117-44-9	-
		1,2,3,7,8,9-HxCDF	72918-21-9	-
		2,3,4,6,7,8-HxCDF	60851-34-5	-
		1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	67562-39-4	-
		1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	55673-89-7	-
		OCDF	39001-02-0	-
Co-PCBs	<i>non-ortho</i>	3,3',4,4'-TeCB	32598-13-3	# 77
		3,4,4',5'-TeCB	70362-50-4	# 81
		3,3',4,4',5'-PeCB	57465-28-8	#126
		3,3',4,4',5,5'-HxCB	32774-16-6	#169
	<i>mono-ortho</i>	2,3,3',4,4'-PeCB	32598-14-4	#105
		2,3,4,4',5'-PeCB	74472-37-0	#114
		2,3',4,4',5'-PeCB	31508-00-6	#118
		2',3,4,4',5'-PeCB	65510-44-3	#123
		2,3,3',4,4',5'-HxCB	38380-08-4	#156
		2,3,3',4,4',5'-HxCB	69782-90-7	#157
		2,3',4,4',5,5'-HxCB	52663-72-6	#167
		2,3,3',4,4',5,5'-HpCB	39635-31-9	#189

表-2 . 本マニュアルで規定するPCDDs , PCDFs及びCo-PCBs各化合物の目標検出下限値 .

化合物の名称等		IUPAC Number	目標検出下限値		
			(pg/g-fat)	(pg/g または mL)	
PCDDs	2,3,7,8-TeCDD	-	3	0.003	
	1,2,3,7,8-PeCDD	-	3	0.003	
	1,2,3,4,7,8-HxCDD	-	5	0.005	
	1,2,3,6,7,8-HxCDD	-	5	0.005	
	1,2,3,7,8,9-HxCDD	-	5	0.005	
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	-	5	0.005	
	OCDD	-	10	0.01	
PCDFs	2,3,7,8-TeCDF	-	3	0.003	
	1,2,3,7,8-PeCDF	-	3	0.003	
	2,3,4,7,8-PeCDF	-	3	0.003	
	1,2,3,4,7,8-HxCDF	-	5	0.005	
	1,2,3,6,7,8-HxCDF	-	5	0.005	
	1,2,3,7,8,9-HxCDF	-	5	0.005	
	2,3,4,6,7,8-HxCDF	-	5	0.005	
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	-	5	0.005	
	1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	-	5	0.005	
	OCDF	-	10	0.01	
Co-PCBs	<i>non-ortho</i>	3,3',4,4'-TeCB	# 77	30	0.03
		3,4,4',5'-TeCB	# 81	30	0.03
		3,3',4,4',5'-PeCB	#126	30	0.03
		3,3',4,4',5,5'-HxCB	#169	30	0.03
	<i>mono-ortho</i>	2,3,3',4,4'-PeCB	#105	30	0.03
		2,3,4,4',5'-PeCB	#114	30	0.03
		2,3',4,4',5'-PeCB	#118	30	0.03
		2',3,4,4',5'-PeCB	#123	30	0.03
		2,3,3',4,4',5'-HxCB	#156	30	0.03
		2,3,3',4,4',5',5'-HxCB	#157	30	0.03
		2,3',4,4',5,5'-HxCB	#167	30	0.03
		2,3,3',4,4',5,5'-HpCB	#189	30	0.03

pg/g-fat : 脂肪重量あたりの濃度

pg/gまたはmL : 試料全量あたりの濃度

表-3 . 測定に用いる標準物質 .

化合物の名称等		IUPAC Number	
PCDDs	2,3,7,8-TeCDD	-	
	1,2,3,7,8-PeCDD	-	
	1,2,3,4,7,8-HCDD	-	
	1,2,3,6,7,8-HxCDD	-	
	1,2,3,7,8,9-HxCDD	-	
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	-	
	OCDD	-	
PCDFs	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	-	
	OCDF	-	
Co-PCBs	<i>non-ortho</i>	3,3',4,4'-TeCB	# 77
		3,4,4',5'-TeCB	# 81
		3,3',4,4',5'-PeCB	#126
		3,3',4,4',5,5'-HxCB	#169
	<i>mono-ortho</i>	2,3,3',4,4'-PeCB	#105
		2,3,4,4',5'-PeCB	#114
		2,3',4,4',5'-PeCB	#118
		2',3,4,4',5'-PeCB	#123
		2,3,3',4,4',5'-HxCB	#156
		2,3,3',4,4',5'-HxCB	#157
		2,3',4,4',5,5'-HxCB	#167
		2,3,3',4,4',5,5'-HpCB	#189

表-4 . 測定に用いる同位体スパイク .

		化合物の名称等
PCDDs		$^{13}\text{C}_{12}$ -2,3,7,8-TeCDD
		$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,7,8-PeCDD
		$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,4,7,8-HxCDD
		$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,6,7,8-HxCDD
		$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,7,8,9-HxCDD
		$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,4,6,7,8-HpCDD
		$^{13}\text{C}_{12}$ -OCDD
PCDFs		$^{13}\text{C}_{12}$ -2,3,7,8-TeCDF
		$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,7,8-PeCDF
		$^{13}\text{C}_{12}$ -2,3,4,7,8-PeCDF
		$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,4,7,8-HxCDF
		$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,6,7,8-HxCDF
		$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,7,8,9-HxCDF
		$^{13}\text{C}_{12}$ -2,3,4,6,7,8-HxCDF
		$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,4,6,7,8-HpCDF
		$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,4,7,8,9-HpCDF
		$^{13}\text{C}_{12}$ -OCDF
Co-PCBs	<i>non-ortho</i>	$^{13}\text{C}_{12}$ -3,3',4',4'-TeCB
		$^{13}\text{C}_{12}$ -3,4,4',5'-TeCB
		$^{13}\text{C}_{12}$ -3,3',4',4'5'-PeCB
		$^{13}\text{C}_{12}$ -3,3',4',4',5,5'-HxCB
	<i>mono-ortho</i>	$^{13}\text{C}_{12}$ -2,3,3',4,4'-PeCB
		$^{13}\text{C}_{12}$ -2,3,4,4'5'-PeCB
		$^{13}\text{C}_{12}$ -2,3',4,4'5'-PeCB
		$^{13}\text{C}_{12}$ -2',3,4,4',5'-PeCB
		$^{13}\text{C}_{12}$ -2,3,3',4,4',5'-HxCB
		$^{13}\text{C}_{12}$ -2,3,3',4,4',5'-HxCB
		$^{13}\text{C}_{12}$ -2,3',4,4'5,5'-HxCB
		$^{13}\text{C}_{12}$ -2,3,3',4,4',5,5'-HpCB

表-5 . 測定質量数の例 .

化合物の名称等			測定質量数		
			M	M+2	M+4
PCDDs	¹² C ₁₂	¹² C ₁₂ -TeCDDs	319.8965**	321.8936*	323.8906
		¹² C ₁₂ -PeCDDs	353.8576	355.8546*	357.8516**(1)
		¹² C ₁₂ -HxCDDs	387.8186	389.8157*	391.8127**(2)
		¹² C ₁₂ -HpCDDs	421.7796	423.7766*	425.7737**
		¹² C ₁₂ -OCDD	455.7407	457.7377**	459.7348*
	¹³ C ₁₂	¹³ C ₁₂ -TeCDDs	331.9368**	333.9339*	335.9309
		¹³ C ₁₂ -PeCDDs	365.8978	367.8949*	369.8919**
		¹³ C ₁₂ -HxCDDs	399.8589	401.8559*	403.8530**
		¹³ C ₁₂ -HpCDDs	433.8199	435.8169*	437.8140**
		¹³ C ₁₂ -OCDD	467.7809	469.7779	471.7750*
PCDFs	¹² C ₁₂	¹² C ₁₂ -TeCDFs	303.9016**	305.8987*	307.8957
		¹² C ₁₂ -PeCDFs	337.8627	339.8597*	341.8567**
		¹² C ₁₂ -HxCDFs	371.8237	373.8208*	375.8178**
		¹² C ₁₂ -HpCDFs	405.7847	407.7818*	409.7789**
		¹² C ₁₂ -OCDF	439.7457	441.7428**	443.7399*
	¹³ C ₁₂	¹³ C ₁₂ -TeCDFs	315.9419**	317.9389*	319.9360
		¹³ C ₁₂ -PeCDFs	349.9029	351.9000*	353.8970**
		¹³ C ₁₂ -HxCDFs	383.8639	385.8610*	387.8580**
		¹³ C ₁₂ -HpCDFs	417.8250	419.8220*	421.8191**
		¹³ C ₁₂ -OCDF	451.7860	453.7830**	455.7801*
Co-PCBs	¹² C ₁₂	¹² C ₁₂ -TeCBs	289.9224**	291.9194*	293.9165
		¹² C ₁₂ -PeCBs	323.8834	325.8804*	327.8775**
		¹² C ₁₂ -HxCBs	357.8444	359.8415*	361.8385**
		¹² C ₁₂ -HpCBs	391.8054	393.8025*	395.7995**
	¹³ C ₁₂	¹³ C ₁₂ -TeCBs	301.9626**	303.9597*	305.9567
		¹³ C ₁₂ -PeCBs	335.9236	337.9207*	339.9177**
		¹³ C ₁₂ -HxCBs	369.8847	371.8817*	373.8788**
		¹³ C ₁₂ -HpCBs	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

(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 .

表-6 . PCDDs , PCDFs及びCo-PCBsの塩素同位体の理論天然存在比 .

化合物の名称等		理論天然存在比				
		M	M+2	M+4	M+6	M+8
PCDDs	TeCDDs	77.43	100.00	48.74	10.72	0.94
	PeCDDs	62.06	100.00	64.69	21.08	3.50
	HxCDDs	51.79	100.00	80.66	34.85	8.54
	HpCDDs	44.43	100.00	96.64	52.03	16.89
	OCDDs	34.54	88.80	100.00	64.48	26.07
PCDFs	TeCDDs	77.55	100.00	48.61	10.64	0.92
	PeCDDs	62.14	100.00	64.57	20.98	3.46
	HxCDDs	51.84	100.00	80.54	34.72	8.48
	HpCDDs	44.47	100.00	96.52	51.88	16.80
	OCDDs	34.61	88.89	100.00	64.39	25.98
Co-PCBs	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
	HpCBs	43.93	100.00	97.67	53.09	17.38

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 .

表-7 . TEQ算出の為のTEF .

化合物の名称等		IUPAC Number	WHO,1997-TEF	
PCDDs	2,3,7,8-TeCDD	-	1	
	1,2,3,7,8-PeCDD	-	1	
	1,2,3,4,7,8-HCDD	-	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- HxCDD	-	0.01	
	OCDD	-	0.0001	
PCDFs	2,3,7,8-TeCDF	-	0	
	1,2,3,7,8-PeCDF	-	0.05	
	2,3,4,7,8-PeCDF	-	0.5	
	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- HxCDF	-	0.01	
	1,2,3,4,7,8,9- HxCDF	-	0.01	
	OCDF	-	0.0001	
Co-PCBs	non-	3,3'4,4'-TeCB	# 77	0.0001
		3,4,4',5-TeCB	# 81	0.0001
		3,3'4,4'5-PeCB	#126	0.1
		3,3',4,4',5,5'-HxCB	#169	0.01
	mono-	2,3,3',4,4'-PeCB	#105	0.0001
		2,3,4,4'5-PeCB	#114	0.001
		2,3',4,4'5-PeCB	#118	0.0001
		2',3,4,4',5-PeCB	#123	0.0001
		2,3,3',4,4',5-HxCB	#156	0.001
		2,3,3',4,4',5'-HxCB	#157	0.001
		2,3',4,4'5,5'-HxCB	#167	0.00001
		2,3,3',4,4',5,5'- HxCB	#189	0.0001

表-8 . PCDDs , PCDFs及びCo-PCBs測定分析結果の表記例 .

化合物の名称等	IUPAC Number	実測濃度 (pg/g-fat)	WHO,1997-TEF	
			毒性係数 TEF	毒性等量 TEQ (pg-TEQ/g-fat)
P C D D s	2,3,7,8-TeCDD	-	1	
	1,2,3,7,8-PeCDD	-	1	
	1,2,3,4,7,8-HCDD	-	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	-	0.0001	
	Total PCDDs	-	-	
P C D F s	2,3,7,8-TeCDF	-	0	
	1,2,3,7,8-PeCDF	-	0.05	
	2,3,4,7,8-PeCDF	-	0.5	
	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	-	0.0001	
Total PCDFs	-	-		
Total (PCDDs+PCDFs)		-	-	-
コ ブ ラ ン ナ ー P C B s	3,3',4,4'-TeCB	# 77	0.0001	
	3,4,4',5'-TeCB	# 81	0.0001	
	3,3',4,4',5'-PeCB	#126	0.1	
	3,3',4,4',5,5'-HxCB	#169	0.01	
	Total non-ortho PCBs	-	-	
	2,3,3',4,4'-PeCB	#105	0.0001	
	2,3,4,4',5'-PeCB	#114	0.001	
	2,3',4,4',5'-PeCB	#118	0.0001	
	2',3,4,4',5'-PeCB	#123	0.0001	
	2,3,3',4,4',5'-HxCB	#156	0.001	
	2,3,3',4,4',5'-HxCB	#157	0.001	
	2,3',4,4',5,5'-HxCB	#167	0.00001	
	2,3,3',4,4',5,5'-HpCB	#189	0.0001	
Total mono-ortho PCBs	-	-		
Total Co-PCBs		-	-	
Total(PCDDs+PCDFs+Co-PCBs)		-	-	-

[注]

- 1.実測濃度 : ダイオキシン類濃度 (pg/g-fat)
 - 2.毒性等量 : 2,3,7,8-TeCDD 毒性等量 (pg-TEQ/g-fat)
- カッコ内の数値は実測濃度が目標検出下限値未満であった場合 , 目標検出下限値の 1/2 を用いて算出した最大見積もり濃度を表す .
- 3.表中 『N.D.』 は目標検出下限値未満を表す .
 - 4.Total PCDDs 及び Total PCDFs は PCDD 及び PCDF それぞれにおける各 2,3,7,8-位塩素置換異性体の合計を表す (その他の化合物は含んでいない) .
 - 5.Total (PCDDs+PCDFs) は各 2,3,7,8-位塩素置換異性体の合計を表す (その他の化合物は含んでいない) .
 - 6.Total non-ortho PCBs 及び Total mono-ortho PCBs はそれぞれ各 non-ortho CB 及び mono-ortho CB の合計を表す .
 - 7.Total Co-PCBsはCo-PCBs各化合物の合計を表す .

別紙 1

調査への協力依頼文書は協力者へ同意を求める為に以下の内容を記載する。

- 1、 題名：調査の名称，文書の目的などが明瞭に判るものとする。
- 2、 調査の目的：臍帯を採取し調査する背景・目的について平易に記載する。
- 3、 調査方法：臍帯を採取することを明瞭に記載し，同時に採取するものについてもわかりやすく記載する。
- 4、 予想される不利益（協力者が了解する事項）：調査に協力することで協力者母子が受けることが予想される不利益について記載する。
- 5、 予想される結果：調査によって明らかにされると予想される結果について記載する。
- 6、 調査の任意性：協力者は任意で調査に参加し不参加により不利益を被ることが無いことを保障する。
- 7、 人権の保護について：調査結果により個人情報が開示されることが無いことを保障する。
- 8、 検体に対する権利について：調査協力により協力者は検体に関する権利が調査者に帰属する旨を明記する。

平成13年度ヒト臍帯中におけるダイオキシン類等 化学物質蓄積・暴露状況調査調査の説明書

調査の目的

近年、ダイオキシン類(コプラナーPCBを含む、以下同じ)による人や生態系に対する影響が社会的関心事となっています。特に、人に対しては、ごく微量で人に健康影響が生じるのではないかと、母体を通じて次世代へ影響が生じているのではないかと、精子の減少等の生殖異常を生じているのではないかと、との不安が国民の中に生じています。

しかしながら、我が国においてはこれらの物質の人体への蓄積状況や生殖器への影響などについてまとまった調査がなされておらず、環境省では平成10年度より、ダイオキシン類に関して

- ・ 日本人(成人)の臓器における平均的な蓄積状況
- ・ 生殖に対する影響に関して精子形成状況

について実態調査を実施し、ダイオキシン類対策を行う上での基礎資料とする為の調査を行っています。この調査は臍帯中のダイオキシン類の蓄積状況を把握する為の継続調査です。

調査の内容

臍帯(血)、お母さまの血液を採取させて頂き、調査に用います。臍帯(血)は、妊娠中は赤ちゃんを栄養する大切な役割を担っておりますが、お産の後は役目を終え体外へ出されます。臍帯(血)の採取は赤ちゃんが産まれた後に臍帯が閉じられてから行いますので、赤ちゃんに害が及ぶ事はありません。また、臍帯(血)・血液はすべて無記名で保存され研究に用いられます。出産歴、既往歴、妊娠週数、出生児体重などを記録いたしますが、個人の生活習慣などのプライバシーを著しく侵害するような調査項目はありません。従って、プライバシーに関わる心配もありません。

ご了解頂く事項

お母さまからは採血をさせて頂きます。(調査内容により採血の無い場合もございます)この調査では無記名で臍帯(血)・母体血の保存を行いますので、個人情報が開示される事はありません。また、測定の結果については、現在のところ内分泌攪乱化学物質(環境ホルモン)と個人の健康への影響の間には明確な判断基準が無いことと、技術上の問題により数名様分の臍帯を混合して分析している為に、協力者個人宛の結果の通知はできませんのでご了承願います。

予想される結果

現在，内分泌攪乱物質（環境ホルモン）のヒトに対する影響を検出及び予測する．方法は無く，この研究によりヒト臍帯における内分泌攪乱物質（環境ホルモン）の蓄積状況を把握できる事になれば，社会的に重要な意味を持つ事が予想されます．

調査に同意されない場合

調査にご協力頂けない場合でも，何ら不利益を被ることはありません．

途中で同意を撤回された場合

一度調査に同意された場合も，その同意を取り消すことができます．その場合もなんら不利益を被ることはありません．

人権の保護に関して必要な事項

調査結果は調査終了後一般に公開されますが，協力者のプライバシーは厳密に守られます．今回の調査に参加されるかどうかは，あくまでもあなたの自由意志によるものですから，あなたの自由意志が最も尊重されます．従って，何か説明を求めることや必要なことがありましたら，いつでも遠慮なくお申し出ください．

検体に関する．権利の放棄について

今回の調査に提供して頂いた検体についてはすべての権利について放棄して頂きます．

以上をお読みにになり，臍帯（血）・お母さまの血液の採取にご同意を頂ける場合には，同意書へのご記入もあわせてお願いできればと存じます．

以上

別紙 2

同意書においては文書により別紙 1 に示す内容が協力者への説明がなされたことを記録する。同意書には以下の内容を記載する。

協力施設の責任者名

説明内容

研究目的

臍帯血・母体血の採取について

予想される結果

予想される不利益（了解頂く事項）

研究に同意しない場合でも不利益を受けないこと

研究に同意した後もいつでも同意を撤回できること

プライバシーの保護について

検体に関する権利を放棄すること

同意した日付欄

同意者または対象者の署名捺印欄と署名捺印日欄

担当医師署名捺印欄と署名捺印日欄

これについては協力者用と医師用 2 通を作成し，協力者用は協力者へ渡し医師用は医師が保管し，調査検体と共に厳封の上分析機関へ送付し，分析機関にて保管する。

同 意 書

大学医学部附属病院病院長殿

私は、
以下の説明を文書及び口頭により受け、内容について十分理解しました。この書面をもって、私がこの研究に自由意志で決定したことを示すものとします。

研究目的

臍帯血・母体血の採取について

予想される結果

了解頂く事項

研究に同意しない場合でも不利益を受けないこと

研究に同意した後もいつでも同意を撤回できること

プライバシーの保護について

検体に関する権利を放棄すること

同意した日付

平成 年 月 日

同意者または
対象者の署名

印

署名捺印日

平成 年 月 日

担当医師

印

署名捺印日

平成 年 月 日

別紙 3 問診票は協力施設において通常使用するものを代用しても良い。
協力者問診票

1, 協力者氏名または協力番号 _____ 2, 年齢 _____

3, 身長 _____ cm 4, 体重 _____ kg

5, 既往歴

現在治療中の病気はありますか。診断された病気すべてに をつけてください。
アレルギーをお持ちの方は対象となるものを () の中にお書きください。

1, ない 2, ある

【「ある」と回答の方】

1, 糖尿病 2, 高血圧 3, 脳卒中 4, 腎臓病 5, 心筋梗塞

6, 高脂血症 7, 喘息 8, 痛風 9, 慢性肝炎 10, 肝硬変

11, 肝臓癌 12, 胃潰瘍 13, 胃癌 14, 肺気腫

15, 肺癌 16, 大腸癌 17, その他の癌

()

18, アトピー (歳頃から) 19, 甲状腺疾患

20, アレルギー ()

21, その他 ()

過去に大きな病気にかかりましたか。

1, ない 2, ある

【「ある」と回答の方】

疾患名 ()

いまから 年くらい前

現在服用中の薬はありますか。

1, ない 2, ある

【「ある」と回答の方】

薬剤名 ()

服用期間 (日目・カ月・年目)

過去に服用した薬はありますか。

1, ない 2, ある

【「ある」と回答の方】

薬剤名 ()

服用期間 (カ月前・年前に ヶ月間)

ご両親, ご家族の方で何らかの病気はありますか。

1, 高血圧 2, 糖尿病 3, 脳卒中 4, 胃癌 5, アレルギー 6, 高脂血症

7, その他 ()

2, 妊娠歴等

今までに「子宮内膜症」と診断されたことがありますか。

1, ある 2, ない

今までに「乳腺炎」と診断されたことがありますか。

1, ある 2, ない

今までに妊娠したことがありますか。

1, ある () 回 2, ない

今までに出産したことがありますか。

1, ある () 回 2, ない

お子さんは何人ですか。

() 人 男 () 人 女 () 人

お子さんの生育歴をおしえてください。

	性別	授乳期			出生児体重	出生時異常
第1子	男・女	母乳保育 ()カ月	混合保育 ()カ月	人工乳のみ	()g	有・無
第2子	男・女	母乳保育 ()カ月	混合保育 ()カ月	人工乳のみ	()g	有・無
第3子	男・女	母乳保育 ()カ月	混合保育 ()カ月	人工乳のみ	()g	有・無
第4子	男・女	母乳保育 ()カ月	混合保育 ()カ月	人工乳のみ	()g	有・無
第5子	男・女	母乳保育 ()カ月	混合保育 ()カ月	人工乳のみ	()g	有・無

(健康調査票回答日) 20 年 月 日

(健康調査票回答者)

(健康調査票代理回答者)

以上です。誠にありがとうございました。

(ご質問などがありましたらお書きください)

(お問い合わせ先)

(主催者名・主催者所在地・連絡先・担当者)

別紙4 事前診査票については協力施設において、診察時に使用される書式等を準用しても良い。

(案)

事前診査票

試料番号貼付欄

協力者氏名 _____

分娩予定日 _____ 年 _____ 月 _____ 日

事前説明

同意書

初診時妊婦検診所見

経過

分娩前検診所見

特記事項

上記により当該協力者の臍帯採取は **適** ・ **不適** と判定します。

判定日 _____ 年 _____ 月 _____ 日

判定者 _____

別紙 5 検体採取記録 兼 受領証 兼 検査依頼書

ダイオキシン類専用依頼書 兼
検体採取記録

氏名 (カタカナ)
氏名 (漢字)

カルテ
No.

その他
No.

Dr.
ID

提出医
(必ず入力)

科名(○で囲む)
内・1育・2内・3内
外・1外・2外・児
産婦・皮・産・耳
眼・整・脚・美
.

()

入院・外来
病棟

依頼 月 日

男・女

採取 月 日

時間 時 分

採取場所

採取時間

採取場所

採取時間

採取場所

病院控
受領証

材料

血液

血清

尿

髄液

乳汁

コメント

検査項目	検体量 (g)・容器	実施料
ダイオキシン類 (PCDD+PCDF+CoPCBs)	臍帯 20cm以上	凍結保存 専用容器あり
<p>注意事項</p> <p>コンタミ防止のため採取容器は直前まで開封しないでください。</p> <p>臍帯血は最大限抜き出してください。</p> <p>採取後は密封の上冷凍保存してください。</p>		
項目	記載事項	備考
出産週数	週	
産児体重	g	
産児性別	男 女	
臍帯	g	
採取時の情報 (採取量の過不足など)		
採取担当者		
分析機関受領者		
委託者または分析機関の連絡先		

-
- ⁱ coplaner-PCBs
 - ⁱⁱ polychlorobiphenyl または polychlorinated biphenyl
 - ⁱⁱⁱ *ortho*-position
 - ^{iv} isomer
 - ^v congener または homologue
 - ^{vi} 検出器の信号をスムージング等の処理によって取り込んでいる装置の場合、S/N の取り扱いに注意する。
 - ^{vii} polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins
 - ^{viii} polychlorinated dibenzofurans
 - ^{ix} tetrachlorodibenzo-*p*-dioxins
 - ^x pentachlorodibenzo-*p*-dioxins
 - ^{xi} hexachlorodibenzo-*p*-dioxins
 - ^{xii} heptachlorodibenzo-*p*-dioxins
 - ^{xiii} octachlorodibenzo-*p*-dioxin
 - ^{xiv} tetrachlorodibenzofurans
 - ^{xv} pentachlorodibenzofurans
 - ^{xvi} hexachlorodibenzofurans
 - ^{xvii} heptachlorodibenzofurans
 - ^{xviii} octachlorodibenzofuran
 - ^{xix} tetrachlorobiphenyls
 - ^{xx} pentachlorobiphenyls
 - ^{xxi} hexachlorobiphenyls
 - ^{xxii} heptachlorobiphenyls
 - ^{xxiii} 2,3,7,8-TeCDD toxicity equivalency factor
 - ^{xxiv} 2,3,7,8-TeCDD toxicity equivalency quantity
 - ^{xxv} isotope dilution mass spectrometry . 定量する目的物質と同一の化学構造を持ち、特定の元素が天然の元素同位体組成と異なっている濃縮同位体スパイクを試料に添加し、最終的に試料中の同位体組成のずれから目的物質の濃度を定量する方法。PCDDs, PCDFs, Co-PCBs の場合、構成する炭素あるいは塩素の一部あるいは全部を ¹³C または ³⁷Cl に置き換えた安定同位体スパイクを用いる。¹³C の天然存在比は無視できるほど小さいので定量計算は簡単である。この方法は分析途中に同位体分離が起こらないことが条件となる。定量結果が回収率によらないという利点がある。
 - ^{xxvi} gas chromatograph/mass spectrometry
 - ^{xxvii} gas chromatograph/mass spectrometer
 - ^{xxviii} high resolution gas chromatography
 - ^{xxix} high resolution gas chromatograph
 - ^{xxx} high resolution mass spectrometry
 - ^{xxxi} high resolution mass spectrometer
 - ^{xxxii} high resolution gas chromatograph/high resolution mass spectrometry
 - ^{xxxiii} high resolution gas chromatograph/high resolution mass spectrometer
 - ^{xxxiv} selected ion monitoring . 磁場を固定し、加速電圧を変化させることによって指定した質量数のイオンをモニターする方法。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。
 - ^{xxxv} relative response factor
 - ^{xxxvi} not determined
 - ^{xxxvii} electron ionization
 - ^{xxxviii} International Union of Pure and Applied Chemistry
 - ^{xxxix} World Health Organization
 - ^{xl} Quality Assurance / Quality Control
 - ^{xli} Quality Control Check Sample
 - ^{xlii} 試料前処理室は前室を含む 2 重扉構造としたり、試料前処理室内への給気・排気はプレフィルター、活性炭フィルター、HEPA フィルターを通じた後行う構造とする等して試料前処理室雰囲気

気由来の汚染を防ぐよう留意することが望ましい。試料前処理室の給気側に活性炭フィルター及び HEPA フィルターを設置し、目安としては米国連邦規格 (Federal Standard) FS 209E クラス 1,000 ~ 10,000、あるいは JIS B 9920 クラス 6 ~ 7 程度とするとブランク値低減に有効であると考えられる。試料前処理室は加圧型、陰圧型どちらでも良いが、クリーン度の観点から考えれば加圧型の試料前処理室の方が有利である。加圧型、陰圧型共に試料前処理室外に空気が漏洩しないような構造が必要であり、また、試料前処理室内作業者の安全の観点から十分な空気供給量を確保することもある。この試料前処理室内では極力排ガス、灰、排水、土壌、堆積物等の試料を扱わないようにする。GC-MS は可能であれば血液専用のものを用意する等し試料の二次汚染に十分留意する。GC-MS を設置する部屋は試料前処理室とは別にする。GC-MS 室内空気の屋外への排気はプレフィルター、活性炭フィルター、HEPA フィルターを通じた後行う構造とする。試料前処理室の清浄度や温度をモニターする等して試料前処理室及び GC-MS 室の室内空気が正常に管理されていることを確認することが望ましい。

xliii 試薬類の管理を行うこと。例えば有機溶媒に関しては購入した量と廃棄した量の記録を取り収支を把握すること。試料前処理室内では有機溶媒を回収するような装置、例えばロータリーエバポレーターの減圧用ポンプの排気先にはガス冷却管等の回収装置を設けること。

xliv ロータリーエバポレーター等で減圧乾固させてはならない。

xlv ロータリーエバポレーター等で減圧乾固させてはならない。

xlvi 活性炭シリカゲルは十分洗浄しないと測定に影響を与えるような妨害が出る場合が多い。

xlvii デカンの代わりにノナンあるいはイソオクタン等でも良い。溶媒の種類によって GC 注入可能量が異なるので注意すること。

xlviii デカンの代わりにノナンあるいはイソオクタンでも良い。

xlix トラップ球を使用することによりロータリーエバポレーター内での還流による接続部からの汚染を防ぐことができる。

l 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。

li ロックマス、質量校正に使用する。化合物は規定しない。

lii 例えば同位体スパイク、ロックマスモニターの測定質量数のデータ取込時間を短くする。等し、極力 1 ピークあたりのデータポイント数が多くなるようにする。

liii 集中配管等でキャリアガスのボンベが GC と離れている場合、GC 入口にガス精製装置を装着すると良い。

liv 同位体スパイクとして使用する。¹³C 化合物中には不純物として ¹²C 化合物が存在する。内部標準物質の添加量が多いと ¹²C 化合物の定量に妨害を与えるので、使用する ¹³C 化合物中の ¹²C 化合物濃度を確認すること。最終的に GC-MS で定量する試料中の各化合物濃度レベルと同程度の濃度レベルとなるように内部標準物質を添加するが、極度に低濃度レベルであると正確な定量が行えないので注意する。

lv 使用する GC 分離カラムの種類によってはこの溶出展開液を濃縮し、GC-MS 測定試料としても良い。

lvi 窒素吹き付け操作に関しては窒素流量が多い、あるいは温度が高すぎると回収率が低下する場合があるので注意する。また、試料を完全に蒸発乾固させてしまうと回収率が低下する場合があるので注意する。

lvii シリンジスパイクには、試料に添加した同位体スパイク以外のものを用いる。シリンジスパイクには GC-MS 測定における各測定毎に (1 injection に付) 1 種類以上使用する。

lviii 窒素吹き付け操作に関しては窒素流量が多い、あるいは温度が高すぎると回収率が低下する。場合があるので注意する。また、試料を完全に蒸発乾固させてしまうと回収率が低下する場合があるので注意する。

lix シリンジスパイクには、試料に添加した同位体スパイク以外のものを用いる。シリンジスパイクには GC-MS 測定における各測定毎に (1 injection に付) 1 種類以上使用する。

lx 検量線用標準溶液の測定は毎回行う必要はない。検量線に使用する濃度範囲で 1 種類の標準溶液を試料と共に測定する。

lxi GC 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。使用する注入口ライナーと溶媒の種類によって注入可能な容量が異なる。

lxii Total (PCDDs+PCDFs) 実測濃度を有効数字 2 桁でまるめた Total PCDDs 実測濃度と Total PCDFs 実測濃度の和で表してはならない。

lxiii Total Co-PCBs 実測濃度を有効数字 2 桁でまるめた non-ortho PCBs 実測濃度と mono-ortho PCBs 実測濃度の和で表してはならない。

^{lxiv} 1/2 以外にも 0 あるいは 1 を用いて計算する場合もある。

^{lxv} 精度管理には内部精度管理と外部精度管理がある。ここではこの内、内部精度管理について示したものである。内部精度管理は調査から分析値の結果作成までの QA/QC に直接あるいは間接的に関係する事項に関して、調査機関が機関内で自主的に行う管理事項であり、基本的には、『いつ』・『誰が』・『どこで』・『何のために』・『何を』・『どのように』行ったかが判明し、保管した記録から関係する全ての情報をトレースできることが条件となる。

^{lxvi} 可能であれば臍帯 QCCS を用いるべきであるが、やむを得ない場合は血液 QCCS を準備し、用いる。