

絶縁油中の微量PCBに関する
簡易測定法マニュアル
(第1版)

平成22年1月

環境省廃棄物・リサイクル対策部産業廃棄物課

目 次

はじめに	1
1 絶縁油中の微量 PCB の簡易測定法の概論	4
1.1 絶縁油中の微量 PCB とは	5
1.2 PCB 標準物質および異性体構成	9
1.3 分析法の選択について	20
1.4 試料の採取	24
1.5 精度管理について	26
1.6 数値の取り扱い	35
1.7 参考文献	36
2 絶縁油中の PCB 簡易定量法	37
2.1 ガスクロマトグラフ/電子捕獲型検出器(GC/ECD)を適用した簡易定量法	38
2.1.1 高濃度硫酸処理/シリカゲルカラム分画/キャピラリーガスクロマトグラフ/電子捕獲型検出器(GC/ECD)法	38
2.1.2 加熱多層シリカゲルカラム/アルミナカラム/キャピラリーガスクロマトグラフ/電子捕獲型検出器(GC/ECD)法	54
2.2 ガスクロマトグラフ/高分解能質量分析計(GC/HRMS)を適用した簡易定量法	64
2.2.1 溶媒希釈/ガスクロマトグラフ/高分解能質量分析(GC/HRMS)法	64
2.3 トリプルステージ型ガスクロマトグラフ質量分析計(GC/MS/MS)を適用した簡易定量法	76
2.3.1 加熱多層シリカゲルカラム/アルミナカラム/トリプルステージ型ガスクロマトグラフ質量分析(GC/MS/MS)法	76
2.4 ガスクロマトグラフ/四重極型質量分析計(GC/QMS)を適用した簡易定量法	86
2.4.1 加熱多層シリカゲルカラム/アルミナカラム/ガスクロマトグラフ/四重極型質量分析(GC/QMS)法	86
2.5 PCB の一部の化合物濃度から全 PCB 濃度を計算する簡易定量法	95
2.5.1 PCB の一部の化合物濃度から全 PCB 濃度を計算する簡易定量法	95
2.6 生化学的方法による簡易定量法	102
2.6.1 加熱多層シリカゲルカラム/アルミナカラム/フロー式イムノセンサー法	102

はじめに

ポリ塩化ビフェニル（PCB）については昭和 47 年から新たな製造がなくなったが、それまでに製造された高圧トランス及び高圧コンデンサ等が廃棄物となったものの処理体制の整備が著しく停滞していたため、長期にわたり処分がなされずに事業者において保管されてきた。このような状況において、これらの廃棄物の紛失等による環境汚染についての懸念を踏まえ、平成 13 年にポリ塩化ビフェニル廃棄物の適正な処理の推進に関する特別措置法（平成 13 年法律第 65 号。以下「PCB 特別措置法」という。）が制定され、環境事業団（後の日本環境安全事業株式会社）による拠点的広域処理施設での処理体制が整備されてきた。

一方、PCB を使用していないとする電気機器又は OF ケーブル（以下「電気機器等」という。）に、微量（その大部分は数 mg/kg から数十 mg/kg 程度と推計）の PCB に汚染された絶縁油を含むものが存在し、その量は、電気機器が約 450 万台（柱上トランス以外の電気機器が約 120 万台、柱上トランスが約 330 万台）、OF ケーブルが約 1,400km に上ると推計されている。このような微量の PCB に汚染された電気機器等が廃棄物となったもの（以下「微量 PCB 汚染廃電気機器等」という。）について、技術的に安全・確実で、かつ廃棄物の特性を踏まえた処理を推進する必要がある。

PCB 汚染廃電気機器等は PCB 廃棄物（特別管理産業廃棄物）に該当し^{注1}、保管事業者は、廃棄物の処理及び清掃に関する法律（昭和 45 年法律第 137 号。以下「廃棄物処理法」という。）及び PCB 特別措置法に基づき、保管及び処分等の状況に関する届出を行うとともに、処理基準に従い適正に保管し、期間内に自らの責任において確実かつ適正に処分するか廃棄物処理法に基づく都道府県知事の許可又は環境大臣の無害化処理認定を受けた処分業者に委託して、適正に処分しなければならない。

微量の PCB によって汚染された又はその可能性がある電気機器等が廃棄物となったもの（以下「廃電気機器等」という。）の保管事業者（又は当該電気機器等を使用している事業者）は、当該電気機器等が PCB により汚染されているか否か、即ち、微量 PCB 汚染廃電気機器等であるか否かを確認する必要がある。しかしながら、微量 PCB 汚染廃電気機器等は、PCB が使用されていた電気機器等と異なり、銘板等では PCB の含有の有無を判断することができず、多くの電気機器等について絶縁油に含まれる PCB 濃度の測定を行う必要がある。

絶縁油中に含まれる PCB 濃度の測定に現在用いられている方法として、「特別管理一般廃棄物及び特別管理産業廃棄物に係る基準の検定の方法」（平成 4 年厚生省告示第 192 号）の別表第 2 で定められている高分解能ガスクロマトグラフィー高分解能質量分析計による方法などがあるが、複雑な分離操作と高額な分析機器を必要としており、分析に必要な費用が高額でかつ分析に時間を要する。

^{注1} 廃電気機器等について、機器毎に測定した当該廃電気機器等に封入された絶縁油中の PCB 濃度が処理の目標基準である 0.5mg/kg 以下であるときは、当該廃電気機器等は、PCB 廃棄物（特別管理産業廃棄物）に該当しないものであるとして取り扱われている。

このことから、微量 PCB 汚染廃電気機器等の効率的かつ確実な処理を進めるためには、短時間にかつ低廉な費用で絶縁油に含まれる微量の PCB 濃度を測定できる方法（以下「簡易測定法という。」）を確立する必要がある。本マニュアルは、このような背景のもと、廃電気機器等に使用された絶縁油中の微量の PCB 濃度の測定に活用できるよう、作成されたものである。

絶縁油中の微量 PCB 濃度の測定方法として活用するためには、測定方法に関する技術水準の現状を踏まえつつ、測定値の信頼性の確保に必要な精度を有することが求められる。

そこで、本マニュアルでは、「特別管理一般廃棄物及び特別管理産業廃棄物に係る基準の検定の方法」（平成 4 年 7 月 3 日厚生省告示第 192 号）の別表第 2 に定める方法と同等の精度^{注 2}で測定できると考えられるものとして、真値と測定値の差が±20%以内、繰り返し測定の変動係数が 15%未満及び検出下限値が 0.15mg/kg 以下である方法を念頭に、「簡易定量法」（絶縁油中の微量 PCB 濃度を簡易に確定することができる測定方法）として活用可能なものから順次、掲載することとしている^{注 3}。

また、上記より精度が劣るものの中にも、基準値（0.5mg/kg）以下であることの判定を、判定値を基準値より引き下げて行うことにより、絶縁油中の微量 PCB 濃度の測定に活用できるものもあると考えられることから、本マニュアルでは、簡易定量法に加えて、変動係数 30%未満及び偽陰性率 1%未満である測定方法を念頭に、「迅速判定法」（絶縁油中の微量 PCB 濃度が基準値以下であることを迅速に判定できる測定方法）として活用可能なものについても順次、掲載することとしている^{注 4}。

PCB が多数の異性体から成り立っていること、又、主要成分である油成分が分析を妨害すること、PCB は普遍的に存在する物質であるため、実験室での汚染を受けやすいこと、更には分析機器によっては感度の変動が起りやすいことなど誤差を引き起こす要因が多い。このため、絶縁油中の微量の PCB の濃度の分析には熟練が必要である。又、試料によっては、妨害物質のため本マニュアルに従っても尚、分析の困難な試料が存在することが考えられる。このような試料については、平成 4 年厚生省告示第 192 号別表第 2 で定める方法に従って分析することとなる。

又、今回評価した測定技術は、微量の PCB 製品そのもの（例えば KC-300、KC-400、KC-500、KC-600）に汚染された絶縁油を測定対象とした技術であることから、PCB 製品と組成が異なった試料の測定には適用できないことに留意しておかなければならない。

注 2 一般的な意味での精度であり、正確さ及び繰り返し精度の概念を含んでいる。

注 3 本マニュアル（第 1 版）では、現時点で活用可能と判断された簡易定量法を掲載している。今後、新たに活用可能と判断される方法が確認された時点で、本マニュアルに順次追加掲載する予定である。

注 4 本マニュアル（第 1 版）では、迅速判定法については掲載していない。今後、新たに活用可能と判断される方法が確認された時点で、本マニュアルに順次追加掲載する予定である。

今後多数の分析が行われるようになると思われるが、分析精度の管理は極めて重要である。分析機関においては、分析精度を確保するため、内部精度管理システムを整備すると共に、外部精度管理の実施や分析技術者の教育などを通じて、技術向上に向けて不断の努力が求められる。又、PCB により汚染された又はその可能性がある廃電気機器等を保管する事業者においては、当該廃電気機器等に使用された絶縁油中の微量 PCB 濃度の測定を分析機関に依頼する場合は、当該分析機関における外部精度管理等の実施等の確認等を通じて、当該分析の信頼性の把握等に努める必要がある。

1 絶縁油中の微量 PCB の 簡易測定法の概論

1.1 絶縁油中の微量 PCB とは

ポリ塩化ビフェニル (PCB) については昭和 47 年から新たな製造がなくなったが、それまでに製造された高圧トランス及び高圧コンデンサ等が廃棄物となったものの処理体制の整備が著しく停滞していたため、長期にわたり処分がなされずに事業者において保管されてきた。このような状況において、これらの廃棄物の紛失等による環境汚染についての懸念を踏まえ、平成 13 年に PCB 特別措置法が制定され、環境事業団（後の日本環境安全事業株式会社）による拠点的広域処理施設での処理体制が整備されてきた。

一方、PCB を使用していないとする電気機器等に、微量（その大部分は数 mg/kg から数十 mg/kg 程度と推計）の PCB に汚染された絶縁油を含むものが多数存在し、その量は、電気機器が約 450 万台（柱状トランス以外の電気機器が約 120 万台、柱状トランスが約 330 万台）、OF ケーブルが約 1,400km に上ると推計されている。

このような汚染に関わる PCB は、かつて絶縁油に使われた KC-300 および KC-500 等の絶縁油用途等の工業的に利用された PCB に由来すると考えられる。

PCB は英語名の Polychlorinated Biphenyl の名に示されるようにビフェニルを塩素化して生成する多数の塩素化ビフェニルの総称であり、一塩化ビフェニルから十塩化ビフェニルまで 209 種の異性体があるとされる。工業用 PCB としては、鐘淵化学社製のカネクロールシリーズが我国で主として用いられた。鐘淵化学で国産化される以前は外国から輸入されてきたので、一部には米国モンサント社製 Aroclor も汚染にかかわった可能性も否定できない。両社ともに類似の製品としてビフェニル骨格の平均塩素置換数 3 のもの (KC-300、Aroclor1242)、平均塩素置換数 4 のもの (KC-400、Aroclor1248)、平均塩素置換数 5 のもの (KC-500、Aroclor1254)、および平均塩素置換数 6 のもの (KC-600、Aroclor1260) を主力製品として生産・出荷しており、PCB の性状等は類似している。これらの工業的に生産された PCB は主に二塩化ビフェニルから八塩化ビフェニルを含んでおり、分析対象としてはこれらの PCB 製品に含まれる異性体（群）を扱うこととするのが適当と思われる。即ち、一塩化ビフェニルや十塩化ビフェニルなどはこれらの工業用 PCB にはほとんど含まれておらず、今回の絶縁油中の微量分析では分析対象とする必要はないと思われる。

PCB 汚染油の主構成成分（マトリックス）の絶縁油としては、表 1.1.1 に示すものが用いられてきた。電力会社の柱上トランスには主として脂肪族炭化水素系の鉱油が用いられている。一方、コンデンサ類には、誘電率の高い芳香族系の化合物も良く用いられている。微量の PCB の分析において主成分はその分析の妨害となるため、多くの場合クリーンアップ操作により主成分を除去したのち分析機器にかける。このとき主成分の物理化学的性状が PCB とかけ離れている場合、分離精製は容易であるが、PCB と類似しているときは分離精製が容易ではない。このように主成分の差異により分離精度の難易度が異なるため、マトリックスがどのような物質であるかについて注意して分析法を選択する必要がある。又、絶縁油によっては、長期間の使用により酸化を受けて変化をしているものがあり、そのような酸化物を除去する必要がある。又、かつて絶縁油として用いられたこともあるポリ塩

化ナフタレン(PCN)により汚染されているケースもあり、PCNはPCBと物理化学的性質が類似しており、電子捕獲型検出器(ECD)に、PCBと同様高感度で応答するため、分析を困難とする夾雑物である。このように、主成分、副成分などが実際に分析するにあたっての妨害となる。

表 1.1.1 電気絶縁油の規格

(JIS C 2320 より引用)

種類		主な成分			主な用途	動粘度 (mm ² /s) @40°C
1 種	1号	鉱油			主として油入コンデンサ、油入りケーブル、遮断器	13 以下
	2号					
	3号					
	4号					
2 種	1号	アルキル ベンゼン	分岐鎖 型	低粘度	主として油入コンデンサ、油入ケーブル	10 未満
	2号			高粘度		10 以上 50 未満
	3号		直鎖型	低粘度		5 未満
	4号			高粘度		5 以上 50 未満
3 種	1号	ポリブテン		低粘度	主として油入コンデンサ、油入ケーブル	300 未満
	2号			中粘度		300 以上
	3号			高粘度		—
4 種	1号	アルキル ナフタレン		低粘度	主として油入コンデンサ	8 以下
	2号			高粘度		12 以上 15 以下
5 種	1号	アルキルジフェニ ルアルカン		低粘度	主として油入コンデンサ	4 未満
	2号			高粘度		4 以上 7 未満
6 種		シリコーン油			主として油入変圧器	36 以上 42 以下
7 種	1号	鉱油、アルキルベンゼン			主として油入変圧器	13 以下
	2号					
	3号					
	4号					

注記) JIS C 2320 に定義されていないが、フタル酸ジ-2-エチルヘキシル(以下 DOP と表記)が使用されていた事例がある。

1 種(鉱油系絶縁油)は、石油の蒸留と精製とによって得られるもので、添加剤を含む油及び含まない油ともに JIS C 2320 1 種に含む。

2 種(アルキルベンゼン)は、ベンゼン環とアルキル基からなる絶縁油であり、アルキル基は直鎖形又は分岐鎖形である。

3 種(ポリブテン)は、ポリイソブチレンからなる絶縁油である。

4 種(アルキルナフタレン)は、置換基をもったナフタレン構造からなる絶縁油である。

5種(アルキルジフェニルベンゼン)は、ジフェニルエタン誘導体からなる絶縁油である。
6種(シリコン油)は、液状のジメチルポリシロキサンからなる絶縁油である。
7種(鉱油、アルキルベンゼン)は、鉱油とアルキルベンゼンとが混合された絶縁油である。

DOPは、フタル酸ジ-2-エチルヘキシルであり、主に可塑剤として使用され、JIS C 2320には定義されていないが、コンデンサ油として使用されていた事例がある。

測定方法の活用にあたっては、このような共存する妨害物質の存在に留意することが必要である。特に、3種のポリブテンは除去しにくいマトリックスである。この物質は著しく粘度が高いことから、外観的に判断することが可能である。ポリブテンの場合は、それを意識して分析法を選択することが必要である。

微量PCB汚染油と呼ばれる油においても、その濃度はまちまちであり、数千mg/kgにのぼる比較的濃度の高い油もあれば、ほとんどPCBを含まない油まで存在する。基準値である0.5mg/kg付近の分析にあたっては、高濃度試料を取り扱ったことによる実験室の汚染や、試料間のクロスコンタミネーションに気をつける必要がある。分析実験室が、高濃度のPCB汚染を一度受けてしまうと、クリーンアップして再開することが困難な場合もある。従って、試料の採取、実験室での分析にあたり、高濃度であるかどうかの事前試験を行なうことも選択肢の一つである。

1.2 PCB 標準物質および異性体構成

1.2.1 PCB 異性体の構成について

PCB は、一塩化ビフェニルから十塩化ビフェニルまでの 10 種類の同族体があり、塩素の置換数・位置により理論的に 209 種類の異性体が存在する。PCB の IUPAC 名は塩素置換位置-塩素数 biphenyl (例: 2,2',4,4',5,5'-hexachlorobiphenyl) で名前が長くなることから、それぞれの異性体をナンバリングし、その番号で表示することが多い。しかしながら、このナンバリングに関しては、Ballschmitter と Zell (1980) (通称: BZ 番号; K. Ballschmitter and M. Zell (1980) Fresenius J Anal Chem, 302, 20-31) と

表 1.2.1 PCB 異性体の IUPAC 番号と IUPAC 名の一覧

IUPAC番号	CAS番号	IUPAC名	IUPAC番号	CAS番号	IUPAC名
1	2051-60-7	2-Chlorobiphenyl	54	15968-05-5	2,2',6,6'-Tetrachlorobiphenyl
2	2051-61-8	3-Chlorobiphenyl	55	74338-24-2	2,3,3',4'-Tetrachlorobiphenyl
3	2051-62-9	4-Chlorobiphenyl	56	41464-43-1	2,3,3',4'-Tetrachlorobiphenyl
4	13029-08-8	2,2'-Dichlorobiphenyl	57	70424-67-8	2,3,3',5'-Tetrachlorobiphenyl
5	16605-91-7	2,3-Dichlorobiphenyl	58	41464-49-7	2,3,3',5'-Tetrachlorobiphenyl
6	25569-80-6	2,3'-Dichlorobiphenyl	59	74472-33-6	2,3,3',6'-Tetrachlorobiphenyl
7	33284-50-3	2,4-Dichlorobiphenyl	60	33025-41-1	2,3,4,4'-Tetrachlorobiphenyl
8	34883-43-7	2,4'-Dichlorobiphenyl	61	33284-53-6	2,3,4,5-Tetrachlorobiphenyl
9	34883-39-1	2,5-Dichlorobiphenyl	62	54230-22-7	2,3,4,6-Tetrachlorobiphenyl
10	33146-45-1	2,6-Dichlorobiphenyl	63	74472-34-7	2,3,4',5-Tetrachlorobiphenyl
11	2050-67-1	3,3'-Dichlorobiphenyl	64	52663-58-8	2,3,4',6-Tetrachlorobiphenyl
12	2974-92-7	3,4-Dichlorobiphenyl	65	33284-54-7	2,3,5,6-Tetrachlorobiphenyl
13	2974-90-5	3,4'-Dichlorobiphenyl	66	32598-10-0	2,3',4,4'-Tetrachlorobiphenyl
14	34883-41-5	3,5-Dichlorobiphenyl	67	73575-53-8	2,3',4,5-Tetrachlorobiphenyl
15	2050-68-2	4,4'-Dichlorobiphenyl	68	73575-52-7	2,3',4,5'-Tetrachlorobiphenyl
16	38444-78-9	2,2',3-Trichlorobiphenyl	69	60233-24-1	2,3',4,6-Tetrachlorobiphenyl
17	37680-66-3	2,2',4-Trichlorobiphenyl	70	32598-11-1	2,3',4',5-Tetrachlorobiphenyl
18	37680-65-2	2,2',5-Trichlorobiphenyl	71	41464-46-4	2,3',4',6-Tetrachlorobiphenyl
19	38444-73-4	2,2',6-Trichlorobiphenyl	72	41464-42-0	2,3',5,5'-Tetrachlorobiphenyl
20	38444-84-7	2,3,3'-Trichlorobiphenyl	73	74338-23-1	2,3',5',6-Tetrachlorobiphenyl
21	55702-46-0	2,3,4-Trichlorobiphenyl	74	32690-93-0	2,4,4',5-Tetrachlorobiphenyl
22	38444-85-8	2,3,4'-Trichlorobiphenyl	75	32598-12-2	2,4,4',6-Tetrachlorobiphenyl
23	55720-44-0	2,3,5-Trichlorobiphenyl	76	70362-48-0	2,3',4',5'-Tetrachlorobiphenyl
24	55702-45-9	2,3,6-Trichlorobiphenyl	77	32598-13-3	3,3',4,4'-Tetrachlorobiphenyl
25	55712-37-3	2,3',4-Trichlorobiphenyl	78	70362-49-1	3,3',4,5-Tetrachlorobiphenyl
26	38444-81-4	2,3',5-Trichlorobiphenyl	79	41464-48-6	3,3',4,5'-Tetrachlorobiphenyl
27	38444-76-7	2,3',6-Trichlorobiphenyl	80	33284-52-5	3,3',5,5'-Tetrachlorobiphenyl
28	7012-37-5	2,4,4'-Trichlorobiphenyl	81	70362-50-4	3,4,4',5-Tetrachlorobiphenyl
29	15862-07-4	2,4,5-Trichlorobiphenyl	82	52663-62-4	2,2',3,3',4-Pentachlorobiphenyl
30	35693-92-6	2,4,6-Trichlorobiphenyl	83	60145-20-2	2,2',3,3',5-Pentachlorobiphenyl
31	16606-02-3	2,4',5-Trichlorobiphenyl	84	52663-60-2	2,2',3,3',6-Pentachlorobiphenyl
32	38444-77-8	2,4',6-Trichlorobiphenyl	85	65510-45-4	2,2',3,4,4'-Pentachlorobiphenyl
33	38444-86-9	2,3',4'-Trichlorobiphenyl	86	55312-69-1	2,2',3,4,5-Pentachlorobiphenyl
34	37680-68-5	2,3',5'-Trichlorobiphenyl	87	38380-02-8	2,2',3,4,5'-Pentachlorobiphenyl
35	37680-69-6	3,3',4-Trichlorobiphenyl	88	55215-17-3	2,2',3,4,6-Pentachlorobiphenyl
36	38444-87-0	3,3',5-Trichlorobiphenyl	89	73575-57-2	2,2',3,4,6'-Pentachlorobiphenyl
37	38444-90-5	3,4,4'-Trichlorobiphenyl	90	68194-07-0	2,2',3,4',5-Pentachlorobiphenyl
38	53555-66-1	3,4,5-Trichlorobiphenyl	91	68194-05-8	2,2',3,4',6-Pentachlorobiphenyl
39	38444-88-1	3,4',5-Trichlorobiphenyl	92	52663-61-3	2,2',3,5,5'-Pentachlorobiphenyl
40	38444-93-8	2,2',3,3'-Tetrachlorobiphenyl	93	73575-56-1	2,2',3,5,6-Pentachlorobiphenyl
41	52663-59-9	2,2',3,4-Tetrachlorobiphenyl	94	73575-55-0	2,2',3,5,6'-Pentachlorobiphenyl
42	36559-22-5	2,2',3,4'-Tetrachlorobiphenyl	95	38379-99-6	2,2',3,5',6-Pentachlorobiphenyl
43	70362-46-8	2,2',3,5-Tetrachlorobiphenyl	96	73575-54-9	2,2',3,6,6'-Pentachlorobiphenyl
44	41464-39-5	2,2',3,5'-Tetrachlorobiphenyl	97	41464-51-1	2,2',3,4',5'-Pentachlorobiphenyl
45	70362-45-7	2,2',3,6-Tetrachlorobiphenyl	98	60233-25-2	2,2',3,4',6'-Pentachlorobiphenyl
46	41464-47-5	2,2',3,6'-Tetrachlorobiphenyl	99	38380-01-7	2,2',4,4',5-Pentachlorobiphenyl
47	2437-79-8	2,2',4,4'-Tetrachlorobiphenyl	100	39485-83-1	2,2',4,4',6-Pentachlorobiphenyl
48	70362-47-9	2,2',4,5-Tetrachlorobiphenyl	101	37680-73-2	2,2',4,5,5'-Pentachlorobiphenyl
49	41464-40-8	2,2',4,5'-Tetrachlorobiphenyl	102	68194-06-9	2,2',4,5,6'-Pentachlorobiphenyl
50	62796-65-0	2,2',4,6-Tetrachlorobiphenyl	103	60145-21-3	2,2',4,5',6-Pentachlorobiphenyl
51	68194-04-7	2,2',4,6'-Tetrachlorobiphenyl	104	56558-16-8	2,2',4,6,6'-Pentachlorobiphenyl
52	35693-99-3	2,2',5,5'-Tetrachlorobiphenyl	105	32598-14-4	2,3,3',4,4'-Pentachlorobiphenyl
53	41464-41-9	2,2',5,6'-Tetrachlorobiphenyl	106	70424-69-0	2,3,3',4,5-Pentachlorobiphenyl

表1.2.1 続き

IUPAC番号	CAS番号	IUPAC名	IUPAC番号	CAS番号	IUPAC名
107*	70424-68-9	2,3,3',4',5'-Pentachlorobiphenyl	160	41411-62-5	2,3,3',4,5,6-Hexachlorobiphenyl
108*	70362-41-3	2,3,3',4,5'-Pentachlorobiphenyl	161	74472-43-8	2,3,3',4,5',6-Hexachlorobiphenyl
109*	74472-35-8	2,3,3',4,6'-Pentachlorobiphenyl	162	39635-34-2	2,3,3',4',5,5'-Hexachlorobiphenyl
110	38380-03-9	2,3,3',4',6'-Pentachlorobiphenyl	163	74472-44-9	2,3,3',4',5,6-Hexachlorobiphenyl
111	39635-32-0	2,3,3',5,5'-Pentachlorobiphenyl	164	74472-45-0	2,3,3',4',5',6-Hexachlorobiphenyl
112	74472-36-9	2,3,3',5,6'-Pentachlorobiphenyl	165	74472-46-1	2,3,3',5,5',6-Hexachlorobiphenyl
113	68194-10-5	2,3,3',5',6'-Pentachlorobiphenyl	166	41411-63-6	2,3,4,4',5,6-Hexachlorobiphenyl
114	74472-37-0	2,3,4,4',5'-Pentachlorobiphenyl	167	52663-72-6	2,3',4,4',5,5'-Hexachlorobiphenyl
115	74472-38-1	2,3,4,4',6'-Pentachlorobiphenyl	168	59291-65-5	2,3',4,4',5',6-Hexachlorobiphenyl
116	18259-05-7	2,3,4,5,6'-Pentachlorobiphenyl	169	32774-16-6	3,3',4,4',5,5'-Hexachlorobiphenyl
117	68194-11-6	2,3,4',5,6'-Pentachlorobiphenyl	170	35065-30-6	2,2',3,3',4,4',5-Heptachlorobiphenyl
118	31508-00-6	2,3',4,4',5'-Pentachlorobiphenyl	171	52663-71-5	2,2',3,3',4,4',6-Heptachlorobiphenyl
119	56558-17-9	2,3',4,4',6'-Pentachlorobiphenyl	172	52663-74-8	2,2',3,3',4,5,5'-Heptachlorobiphenyl
120	68194-12-7	2,3',4,5,5'-Pentachlorobiphenyl	173	68194-16-1	2,2',3,3',4,5,6-Heptachlorobiphenyl
121	56558-18-0	2,3',4,5',6'-Pentachlorobiphenyl	174	38411-25-5	2,2',3,3',4,5,6'-Heptachlorobiphenyl
122	76842-07-4	2,3,3',4',5'-Pentachlorobiphenyl	175	40186-70-7	2,2',3,3',4,5',6-Heptachlorobiphenyl
123	65510-44-3	2,3',4,4',5'-Pentachlorobiphenyl	176	52663-65-7	2,2',3,3',4,5,6'-Heptachlorobiphenyl
124	70424-70-3	2,3',4',5,5'-Pentachlorobiphenyl	177	52663-70-4	2,2',3,3',4,5',6'-Heptachlorobiphenyl
125	74472-39-2	2,3',4',5',6'-Pentachlorobiphenyl	178	52663-67-9	2,2',3,3',5,5',6-Heptachlorobiphenyl
126	57465-28-8	3,3',4,4',5'-Pentachlorobiphenyl	179	52663-64-6	2,2',3,3',5,5,6'-Heptachlorobiphenyl
127	39635-33-1	3,3',4,5,5'-Pentachlorobiphenyl	180	35065-29-3	2,2',3,4,4',5,5'-Heptachlorobiphenyl
128	38380-07-3	2,2',3,3',4,4'-Hexachlorobiphenyl	181	74472-47-2	2,2',3,4,4',5,6-Heptachlorobiphenyl
129	55215-18-4	2,2',3,3',4,5'-Hexachlorobiphenyl	182	60145-23-5	2,2',3,4,4',5,6'-Heptachlorobiphenyl
130	52663-66-8	2,2',3,3',4,5'-Hexachlorobiphenyl	183	52663-69-1	2,2',3,4,4',5,6'-Heptachlorobiphenyl
131	61798-70-7	2,2',3,3',4,6'-Hexachlorobiphenyl	184	74472-48-3	2,2',3,4,4',6,6'-Heptachlorobiphenyl
132	38380-05-1	2,2',3,3',4,6'-Hexachlorobiphenyl	185	52712-05-7	2,2',3,4,5,5',6-Heptachlorobiphenyl
133	35694-04-3	2,2',3,3',5,5'-Hexachlorobiphenyl	186	74472-49-4	2,2',3,4,5,6,6'-Heptachlorobiphenyl
134	52704-70-8	2,2',3,3',5,6'-Hexachlorobiphenyl	187	52663-68-0	2,2',3,4',5,5',6-Heptachlorobiphenyl
135	52744-13-5	2,2',3,3',5,6'-Hexachlorobiphenyl	188	74487-85-7	2,2',3,4',5,5,6'-Heptachlorobiphenyl
136	38411-22-2	2,2',3,3',6,6'-Hexachlorobiphenyl	189	39635-31-9	2,3,3',4,4',5,5'-Heptachlorobiphenyl
137	35694-06-5	2,2',3,4,4',5'-Hexachlorobiphenyl	190	41411-64-7	2,3,3',4,4',5,6-Heptachlorobiphenyl
138	35065-28-2	2,2',3,4,4',5'-Hexachlorobiphenyl	191	74472-50-7	2,3,3',4,4',5',6-Heptachlorobiphenyl
139	56030-56-9	2,2',3,4,4',6'-Hexachlorobiphenyl	192	74472-51-8	2,3,3',4,5,5',6-Heptachlorobiphenyl
140	59291-64-4	2,2',3,4,4',6'-Hexachlorobiphenyl	193	69782-91-8	2,3,3',4',5,5',6-Heptachlorobiphenyl
141	52712-04-6	2,2',3,4,5,5'-Hexachlorobiphenyl	194	35694-08-7	2,2',3,3',4,4',5,5'-Octachlorobiphenyl
142	41411-61-4	2,2',3,4,5,6'-Hexachlorobiphenyl	195	52663-78-2	2,2',3,3',4,4',5,6-Octachlorobiphenyl
143	68194-15-0	2,2',3,4,5,6'-Hexachlorobiphenyl	196	42740-50-1	2,2',3,3',4,4',5,6'-Octachlorobiphenyl
144	68194-14-9	2,2',3,4,5',6'-Hexachlorobiphenyl	197	33091-17-7	2,2',3,3',4,4',6,6'-Octachlorobiphenyl
145	74472-40-5	2,2',3,4,6,6'-Hexachlorobiphenyl	198	68194-17-2	2,2',3,3',4,5,5',6-Octachlorobiphenyl
146	51908-16-8	2,2',3,4',5,5'-Hexachlorobiphenyl	199*	52663-75-9	2,2',3,3',4,5,5',6-Octachlorobiphenyl
147	68194-13-8	2,2',3,4',5,6'-Hexachlorobiphenyl	200*	52663-73-7	2,2',3,3',4,5,5',6-Octachlorobiphenyl
148	74472-41-6	2,2',3,4',5,6'-Hexachlorobiphenyl	201*	40186-71-8	2,2',3,3',4,5',6,6'-Octachlorobiphenyl
149	38380-04-0	2,2',3,4',5',6'-Hexachlorobiphenyl	202	2136-99-4	2,2',3,3',5,5',6'-Octachlorobiphenyl
150	68194-08-1	2,2',3,4',6,6'-Hexachlorobiphenyl	203	52663-76-0	2,2',3,4,4',5,5',6-Octachlorobiphenyl
151	52663-63-5	2,2',3,5,5',6'-Hexachlorobiphenyl	204	74472-52-9	2,2',3,4,4',5,5',6-Octachlorobiphenyl
152	68194-09-2	2,2',3,5,6,6'-Hexachlorobiphenyl	205	74472-53-0	2,3,3',4,4',5,5',6-Octachlorobiphenyl
153	35065-27-1	2,2',4,4',5,5'-Hexachlorobiphenyl	206	40186-72-9	2,2',3,3',4,4',5,5',6-Nonachlorobiphenyl
154	60145-22-4	2,2',4,4',5,6'-Hexachlorobiphenyl	207	52663-79-3	2,2',3,3',4,4',5,5',6-Nonachlorobiphenyl
155	33979-03-2	2,2',4,4',6,6'-Hexachlorobiphenyl	208	52663-77-1	2,2',3,3',4,4',5,5',6,6'-Nonachlorobiphenyl
156	38380-08-4	2,3,3',4,4',5'-Hexachlorobiphenyl	209	2051-24-3	2,2',3,3',4,4',5,5',6,6'-Decachlorobiphenyl
157	69782-90-7	2,3,3',4,4',5'-Hexachlorobiphenyl			
158	74472-42-7	2,3,3',4,4',6'-Hexachlorobiphenyl			
159	39635-35-3	2,3,3',4,5,5'-Hexachlorobiphenyl			

*:ナンバリングシステムにより異なる異性体になるので注意を要する。
米国環境保護庁の対応表を引用した。

IUPAC によるものがある。現在、市販されている PCB 異性体のナンバリングは、アメリカ合衆国環境保護庁 (US EPA) の 2003 年版が使われており、ここに IUPAC 番号としても使用されているものを本マニュアルで使用している (表 1.2.1)。

絶縁油中の PCB は工業用 PCB 製品そのもの (例えば KC-300, KC-400, KC-500, KC-600) であることが多いため、マニュアル内の分析法は、これら工業 PCB 製品で含有量が少ない同族体 (一塩化ビフェニルや九塩化ビフェニル、十塩化ビフェニルなど) を定量しない方向でとりまとめられている。又、PCB 製品に含まれる主要 13 異性体のみを定量し、各 PCB 製品中のこれら異性体の存在割合から、総 PCB 濃度を算出する手法もある。しかしながら、風化や 2 種類以上の PCB 製品の混合などにより、測定対象絶縁油中の PCB 同族体組成が PCB 製品と異なる場合もある。このため、同族体や異性体の存在割合が PCB

製品と著しく異なる場合は、定量しなかった PCB 同族体（異性体）も確認する必要がある。

日本において絶縁油に使用された（もしくは汚染された）主要な工業用 PCB 製品は、カネクロールシリーズである（若干ではあるが、アロクロールシリーズも使用されていた）。カネクロールシリーズの内、KC-300 は、三塩化ビフェニルから四塩化ビフェニル同族体を、KC-400 は四塩化ビフェニルを中心に三塩化ビフェニル同族体と五塩化ビフェニル同族体を、KC-500 及び KC-1000 は五塩化ビフェニルから六塩化ビフェニル同族体を、KC-600 は六塩化ビフェニルから七塩化ビフェニル同族体を中心に構成されている（表 1.2.2）。又、これらカネクロールシリーズは約 80 から 150 異性体で構成されている（表 1.2.3、図 1.2.1）。

表 1.2.2 カネクロールシリーズにおける PCB 同族体存在比（%）の一例

	KC-300	KC-400	KC-500	KC-600
MoCBs	0.18	0.092	0.009	0.011
DiCBs	16	0.77	0.35	0.19
TriCBs	53	18	1.8	0.97
TetraCBs	27	57	11	2.0
PentaCBs	3.6	20	48	7.2
HexaCBs	0.98	2.5	33	36
HeptaCBs	0.24	0.52	5.0	42
OctaCBs	0.072	0.11	0.45	11
NonaCBs	0.007	0.012	0.035	0.70
DecaCB	-*	-*	-*	0.006

*:すべての異性体が 0.001%未満
存在比は、カネクロール製品のロットなどで若干異なる。

1.2.2 PCB 標準物質について

PCB には多数の異性体が存在することから、測定時に標準物質として使用する異性体やその組成比は、分析・測定手法で使いわける必要がある。以下に、それぞれの測定手法時における PCB 標準物質選択の一例を示す。

尚、PCB は、「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律（化審法）」の第一種特定化学物質であるため、その購入などに関しては化審法に基づく手続き（確約書の提出等）が必要である。

表 1.2.3 カネクロールシリーズにおける各 PCB 異性体の存在比 (%) の一例

IUPAC No.	KC-300	KC-400	KC-500	KC-600	IUPAC No.	KC-300	KC-400	KC-500	KC-600	IUPAC No.	KC-300	KC-400	KC-500	KC-600
1	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	71	1.1	1.7	0.093	0.031	141	<0.020	0.055	1.2	2
2	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	72	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	142	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020
3	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	73	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	143	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020
4	1.8	0.14	0.083	0.11	74	1.7	3.9	0.48	0.073	144	<0.020	<0.020	0.24	0.4
5	0.022	<0.020	<0.020	<0.020	75	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	145	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020
6	0.62	0.039	0.024	0.026	76	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	146	<0.020	0.043	0.91	0.9
7	0.031	<0.020	<0.020	<0.020	77	0.2	0.44	0.079	<0.020	147	<0.020	<0.020	0.19	<0.020
8	4.7	0.36	0.17	0.17	78	<0.020	0.07	0.11	<0.020	148	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020
9	0.14	<0.020	<0.020	<0.020	79	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	149	0.06	0.29	6.1	10
10	0.03	<0.020	<0.020	<0.020	80	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	150	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020
11	<0.0020	<0.020	<0.020	<0.020	81	<0.020	0.023	<0.020	<0.020	151	<0.020	0.042	0.91	3
12	0.33	0.11	<0.020	<0.020	82	0.1	0.82	0.78	0.11	152	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020
13	0.13	0.025	<0.020	<0.020	83	0.029	0.24	0.38	<0.020	153	0.044	0.22	5.3	8.5
14	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	84	0.17	1.1	1.8	0.096	154	<0.020	<0.020	0.044	<0.020
15	1.3	0.094	0.04	0.028	85	0.12	1	0.83	0.044	155	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020
16	4.5	0.85	0.15	0.1	86	<0.020	0.082	<0.020	<0.020	156	<0.020	0.053	0.94	0.3
17	3.6	0.8	0.12	0.11	87	0.19	1.4	3.6	0.24	157	<0.020	<0.020	0.19	0.034
18	11	3.3	0.37	0.3	88	<0.020	0.03	<0.020	<0.020	158	<0.020	0.039	0.98	0.46
19	0.99	0.14	0.04	0.032	89	<0.020	0.092	<0.020	<0.020	159	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020
20	0.69	0.074	0.025	<0.020	90	0.046	0.31	0.65	0.18	160	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020
21	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	91	0.12	0.77	0.75	0.032	161	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020
22	3.7	1.1	0.15	0.066	92	0.061	0.43	1.5	0.17	162	<0.020	<0.020	0.024	<0.020
23	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	93	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	163	<0.020	0.042	1.4	1.9
24	0.12	<0.020	<0.020	<0.020	94	<0.020	0.044	<0.020	<0.020	164	<0.020	0.021	0.5	0.41
25	0.66	<0.020	0.023	<0.020	95	0.17	1	3.3	0.82	165	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020
26	1.7	0.31	0.063	0.033	96	<0.020	0.047	<0.020	<0.020	166	<0.020	<0.020	0.042	<0.020
27	0.53	0.08	<0.020	<0.020	97	0.17	1.4	2.5	0.12	167	<0.020	<0.020	0.33	0.092
28	7.9	3	0.29	0.15	98	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	168	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020
29	0.07	<0.020	<0.020	<0.020	99	0.19	1.7	2.4	0.1	169	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020
30	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	100	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	170	<0.020	<0.020	0.75	3.6
31	8.6	4.3	0.32	0.18	101	0.31	2.4	8.6	2.1	171	<0.020	<0.020	0.24	1.1
32	2.6	0.75	0.085	0.056	102	0.041	0.26	0.097	<0.020	172	<0.020	<0.020	0.097	0.68
33	5.9	1.7	0.22	0.11	103	<0.020	0.029	0.025	<0.020	173	<0.020	<0.020	0.029	0.077
34	0.037	<0.020	<0.020	<0.020	104	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	174	<0.020	<0.020	0.5	5.5
35	0.077	<0.020	<0.020	<0.020	105	0.12	1.4	2.1	0.14	175	<0.020	<0.020	0.026	0.18
36	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	106	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	176	<0.020	<0.020	0.081	0.73
37	2.3	0.62	0.16	0.046	107	0.022	0.21	0.47	<0.020	177	<0.020	<0.020	0.31	2.7
38	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	108	<0.020	<0.020	0.12	0.29	178	<0.020	<0.020	0.063	0.89
39	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	109	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	179	<0.020	<0.020	0.16	2.4
40	0.91	1.2	0.093	0.026	110	0.32	3	8.7	0.84	180	0.021	<0.020	0.97	11
41	0.88	0.94	0.048	0.023	111	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	181	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020
42	1.4	2	0.1	0.037	112	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	182	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020
43	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	113	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	183	<0.020	<0.020	0.31	2.9
44	4.1	6.8	1.6	0.16	114	<0.020	0.13	0.11	<0.020	184	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020
45	1.2	1.3	0.048	0.029	115	<0.020	0.13	0.16	<0.020	185	<0.020	<0.020	0.042	0.74
46	0.63	0.63	0.03	<0.020	116	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	186	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020
47	1.2	2	0.09	0.037	117	<0.020	0.14	0.14	0.41	187	<0.020	<0.020	0.36	6
48	1.4	1.8	0.073	0.036	118	0.21	2.3	6.8	<0.020	188	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020
49	2.9	4.8	0.67	0.097	119	<0.020	0.077	0.073	<0.020	189	<0.020	<0.020	0.03	0.095
50	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	120	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	190	<0.020	<0.020	0.14	1
51	0.27	0.32	<0.020	<0.020	121	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	191	<0.020	<0.020	0.027	0.15
52	3.9	7.7	4.7	0.32	122	<0.020	0.063	0.042	<0.020	192	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020
53	0.9	1.2	0.064	0.025	123	<0.020	0.075	0.064	<0.020	193	<0.020	<0.020	0.038	0.46
54	0.02	<0.020	<0.020	<0.020	124	<0.020	0.11	0.34	<0.020	194	<0.020	<0.020	0.05	3
55	0.11	0.049	<0.020	<0.020	125	<0.020	0.022	<0.020	<0.020	195	<0.020	<0.020	0.03	1.3
56	1.6	2.9	0.32	0.067	126	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	196	<0.020	<0.020	<0.020	1.2
57	0.028	0.021	<0.020	<0.020	127	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	197	<0.020	<0.020	<0.020	0.11
58	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	128	<0.020	0.094	1.4	0.62	198	<0.020	<0.020	<0.020	0.17
59	0.31	0.29	<0.020	<0.020	129	<0.020	0.044	0.58	0.076	199	<0.020	<0.020	0.038	2.9
60	0.89	2	0.13	0.033	130	<0.020	0.035	0.51	0.12	200	<0.020	<0.020	<0.020	0.43
61	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	131	<0.020	<0.020	0.15	0.026	201	<0.020	<0.020	<0.020	0.39
62	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	132	0.022	0.18	2.9	1.7	202	<0.020	<0.020	<0.020	0.58
63	0.14	0.31	0.026	<0.020	133	<0.020	<0.020	0.085	0.047	203	<0.020	<0.020	0.039	2.2
64	2.1	4.1	0.39	0.07	134	<0.020	0.028	0.49	0.21	204	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020
65	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	135	<0.020	0.048	0.88	1.1	205	<0.020	<0.020	<0.020	0.13
66	2.9	6.2	0.58	0.11	136	<0.020	0.054	1.1	1.6	206	<0.020	<0.020	<0.020	0.58
67	0.19	0.12	<0.020	<0.020	137	<0.020	0.037	0.47	0.028	207	<0.020	<0.020	<0.020	0.049
68	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	138	0.039	0.38	6.5	4.4	208	<0.020	<0.020	<0.020	0.091
69	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	139	<0.020	<0.020	0.16	<0.020	209	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020
70	2.7	6.7	2.3	0.22	140	<0.020	<0.020	0.028	<0.020					

増崎ら(2003)第12回環境化学討論会講演要旨集、686-687(改訂版)から引用
異性体の存在割合は、カネクロールのロットや測定条件により若干異なる。

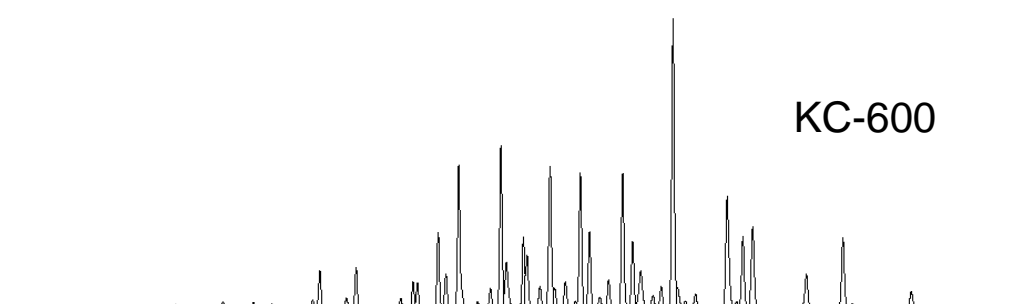
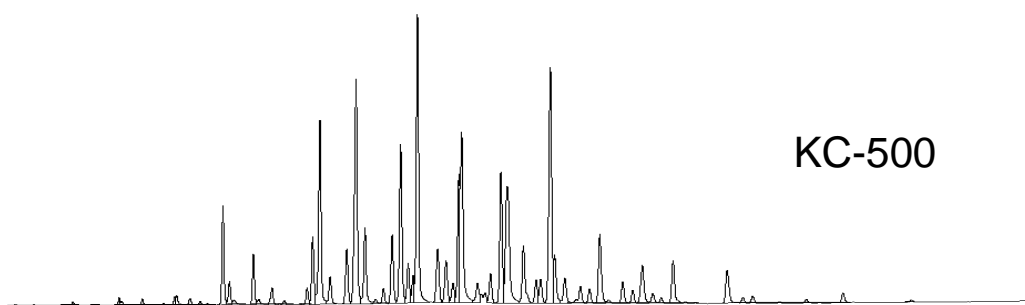
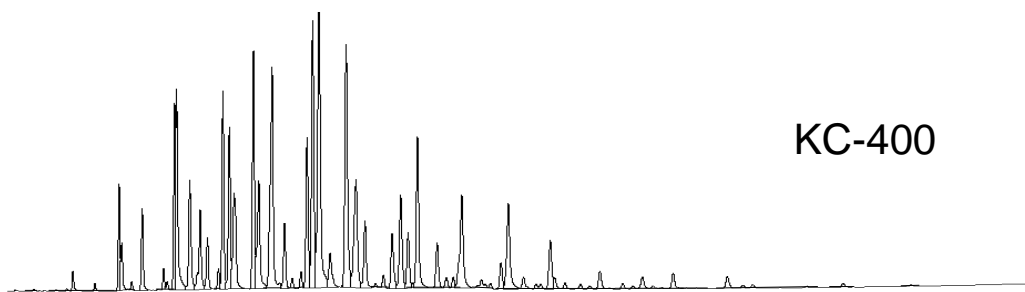
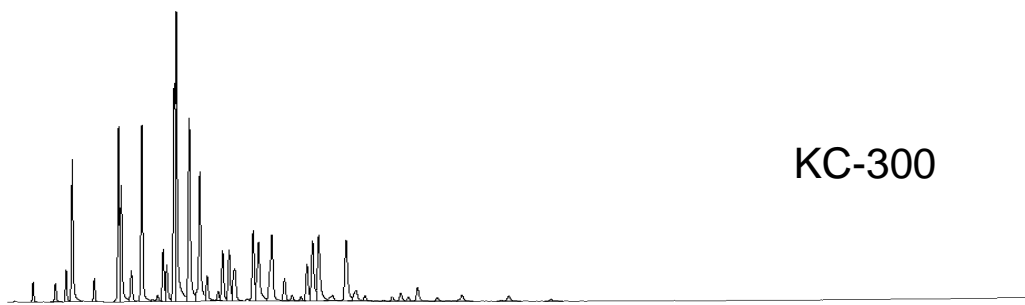


図 1.2.1 カネクロールシリーズにおける GC クロマトグラムの例

(1) GC/MS 測定法（電子イオン化法（EI 法）及び化学負イオン化法（NCI 法））

工業用 PCB 製品中の主要な PCB 異性体を含む混合溶液を使用する。この際、平成 4 年厚生省告示第 192 号別表第 2 で定められている高分離能ガスクロマトグラフー高分解能質量分析計による方法に記載されている主要 12 異性体の内、工業用 PCB 製品中の存在割合が少なく分析上測定対象としない同族体（例えば、一塩化ビフェニルや九塩化ビフェニル、十塩化ビフェニルなど）の異性体以外は最低限含まれるようにする。工業用 PCB 製剤中の主要な異性体は、表 1.2.3 を参考にしてほしい。主要な異性体を選択する理由は、MS 測定時に同族体内においても各異性体によって感度が異なるためであり、より正確な濃度を算出するため、工業用 PCB 製品中の主要異性体は、同一の異性体を標準物質として用い、異性体による MS 測定時の感度差による誤差を小さくするためである。このように PCB 異性体による感度差があることから、標準物質中の異性体数は多い方が望ましい。

又、KC-300、KC-400、KC-500、KC-600 の等量混合溶液（以下、KC-mix と呼ぶ）や、JIS K0093:2006「工業用水・工場排水中のポリクロロビフェニル（PCB）試験方法」の表 3 に示すような溶出範囲確認用 PCB 混合標準液を用い、各異性体の GC カラムにおける保持時間を明らかにし、各同族体の溶出範囲を予め確認しておくことが必要である。又、各同族体の保持時間の遅いところでは、測定対象同族体の m/z に塩素置換数の多い同族体のフラグメントイオンが現れることから、このピークを測定対象異性体と間違わないように、事前に確認を行っておく必要がある。

(2) GC/ECD 測定法および GC/NCI/MS 測定法

GC/ECD 測定時及び m/z 35、37 をモニターする GC/NCI/MS 測定時には、標準物質として KC-mix を使用し、各ピークにおける CB_0 (%) をもとに濃度計算を行う。尚、GC カラムの長さや内径や液相の種類、膜厚、劣化具合、GC オープンの昇温条件、キャリアガスの種類や流速、メイクアップガスの流量、使用する機器などにより、PCB 異性体の溶出パターン（ピークの出現状態）は異なり、結果として各ピークの CB_0 (%) が変化する。このため、実試料の測定前に、それぞれの測定条件で KC-mix を用い、各ピークの CB_0 (%) を求めておく必要がある。

パックドカラムやワイドボアキャピラリーカラムを用いた GC/ECD 測定時のクロマトグラムや CB_0 (%) は、一例が JIS K0093:2006「工業用水・工場排水中のポリクロロビフェニル（PCB）試験方法」の表 1 に記されている。しかしながら、これらは、あくまでも一例であって、上記のように諸条件でピークの出現状態が変わることも多いため、実試料の測定の前に実測のクロマトと JIS K0093:2006 の図表との一致性を確認する必要がある。

キャピラリーカラム（内径 0.10 から 0.32mm）を用いた高分解能 GC/ECD 測定或いは

m/z35、37 をモニターする GC/NCI/MS 測定時も、各ピークの CB_0 (%) をもとに濃度計算を行う。高分離能 GC/ECD 測定時における KC-mix のクロマトグラムと CB_0 (%) の一例を図 1.2.2 及び表 1.2.4 に示す。これらは、あくまでも一例であって、上記で述べたように諸条件でピークの出現状態が変わるため、再現できない場合もある。とくに、キャピラリーカラム（内径 0.10 から 0.32mm、高分離能 GC）を使用した際は、PCB が数十本のピークに分離されることから、各ピークの異性体組成や CB_0 (%) は測定の諸条件の影響を受けやすい。再度述べるが、同一の液相で同じサイズ（長さ、内径、膜厚）のカラムを使用しても、カラムの劣化状態やキャリアガス流速、メイクアップガスの流量、オーブンの昇温条件、場合によってはカラムの製造ロットによっても、PCB 異性体の溶出パターンが変化する場合がある。このため、必ず各自の測定条件で KC-mix を用い、各ピークの CB_0 (%) を求めておく必要がある。

尚、JIS K0093:2006「工業用水・工場排水中のポリクロロビフェニル（PCB）試験方法」の付属書 2 表 1 の PCB 異性体溶出パターンと CB_0 (%) は同付属書 2 図 1 と合致しないため、この表を参照するのを避けるようにする。

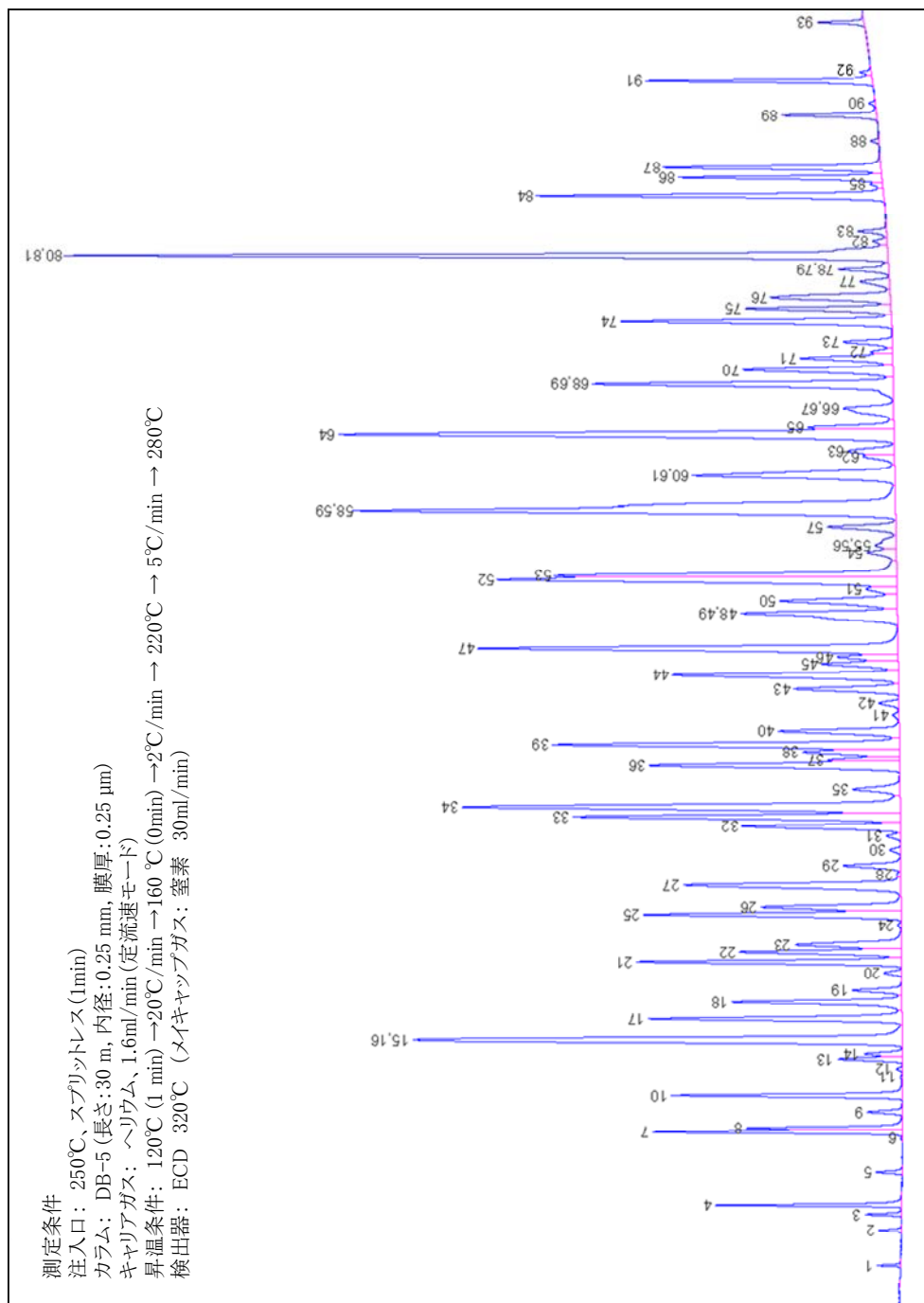


図 1.2.2 キャピラリーカラムを用いた場合の KC-mix のクロマトグラフの例

表 1.2.4 キャピラリーカラムを用いた場合のKC-mixにおけるCB₀(%)の例*

ピークNo.	CB ₀ (%)	IUPAC番号	ピークNo.	CB ₀ (%)	IUPAC番号
1	0.928	#10, #4	48	0.338	#82
2	0.131	#7, #9	49	1.086	#151
3	0.371	#6	50	0.802	#135, #144, #124
4	2.145	#8, #5	51	0.195	#147, #107, #108
5	0.341	#19	52	3.409	#123, #139, #149
6	0.034	#12, #13	53	2.350	#118
7	3.597	#18	54	0.170	#134
8	1.762	#15, #17	55	0.091	#114
9	0.262	#24, #27	56	0.077	#131, #133, #122
10	2.160	#16, #32	57	0.437	#146
11	0.015	#34	58	3.786	#153
12	0.033	#29, #54	59	2.033	#105, #132
13	0.518	#26	60	0.847	#141
14	0.224	#25	61	0.848	#179
15	3.165	#31	62	0.129	#137
16	2.904	#28	63	0.408	#176, #130
17	2.710	#20, #33, #53	64	3.874	#164, #163, #138
18	1.306	#22, #51	65	0.430	#158
19	0.467	#45	66	0.135	#129
20	0.189	#46	67	0.275	#178
21	3.692	#52	68	0.066	#175, #166
22	1.948	#49	69	1.775	#187
23	1.330	#47, #48	70	0.848	#162, #183
24	0.030	#35	71	0.458	#128
25	2.604	#44	72	0.119	#167
26	1.738	#59, #37, #42	73	0.198	#185
27	2.521	#41, #64, #71	74	1.511	#174
28	0.029	#96	75	0.739	#177
29	0.442	#40, #103, #57	76	0.820	#156, #202, #171
30	0.089	#67	77	0.209	#173, #157, #201
31	0.110	#63	78	0.182	#172
32	1.535	#74, #94	79	0.033	#197
33	3.678	#70	80	2.952	#180
34	5.437	#102, #66, #95	81	0.153	#193
35	0.414	#91, #55	82	0.047	#191
36	2.189	#56, #60	83	0.122	#200
37	0.504	#92	84	1.271	#170, #190
38	0.809	#84	85	0.032	#198
39	3.490	#101, #90	86	0.656	#199
40	1.077	#99	87	0.790	#196, #203
41	0.037	#119	88	0.027	#189
42	0.142	#83, #78	89	0.276	#208, #195
43	0.887	#86, #97	90	0.020	#207
44	1.614	#87, #115, #117	91	0.546	#194
45	0.459	#85	92	0.024	#205
46	0.656	#136	93	0.111	#206
47	3.453	#77, #110, #154	合計	99.881	

*: 図1.2.2における測定条件での分離状況

(3) 生物検定法

KCmix(KC300, 400, 500 及び KC600 等量混合物) を使用する。尚、PCB をふくむ絶縁油試料を用いる場合には、PCB を含まないことが判明している絶縁油にカネクロールを溶解したものや、メーカーで濃度保証のされた PCB 異性体の混合溶液（若しくは単一異性体の溶液）などを混和して使用する。

1.2.3 内標準物質について

PCB の機器測定においては、前処理が多段階に及ぶことや機器測定時の誤差補正などから、内標準物質を使用することが望ましい。とくに、GC/MS による測定は、GC/ECD に比べ機器測定による誤差が大きくなりやすいことから、必ず内標準物質を試料に添加し、回収率補正を行う。尚、使用する内標準物質は、クリーンアップスパイクの場合、前処理過程や機器測定時に測定対象とする PCB と類似の挙動を示し、測定対象 PCB の妨害とならないものを選択する必要がある。又、シリンジスパイクに関しても、機器測定時に測定対象 PCB の妨害とならないこと、クリーンアップスパイクとの相対感度が安定している物質を選択する必要がある。

GC/MS 測定手法（EI 化法及び下記を除く NCI 化法）の場合は、 $^{13}\text{C}_{12}$ でラベルした PCB 異性体を用いる。内標準物質として使用する PCB 異性体は、平成 4 年厚生省告示第 192 号別表第 2 で定められている高分解能ガスクロマトグラフ-高分解能質量分析計による方法に記載されている主要 12 異性体の内、測定対象の同族体の異性体を最低限含むようにする。又、上記の 12 異性体以外の PCB 異性体を追加で内標準物質として加えても良い。

m/z:35、37 をモニターする GC/NCI/MS 測定手法の場合は、上記の内標準物質では分離できないため、ポリブロモビフェニルなどの PCB に構造の類似した臭素化合物を内標準物質として使用し、臭素のフラグメントイオンの m/z も合わせてモニターする。

キャピラリーカラム（内径 0.10 から 0.32mm）を用いた GC/ECD による測定手法には、PCB 製品中に含まれない若しくは極めて含有率の低い異性体で、使用する GC の測定条件（カラムの条件も含む）において、PCB 製剤中に含まれる主要な異性体と分離できる（主要な異性体の定量に影響しない）異性体を使用する。この際、使用する GC の測定条件において保持時間の短い異性体と長い異性体の 2 異性体を内標準物質として使用することが望ましい。

1.2.4 PCB の認証標準物質について

現在、日本の国家計量標準機関（独立行政法人産業技術総合研究所 計量標準総合センター：NMIJ）から頒布される PCB 異性体の認証標準物質は、IUPAC 番号#28（NMIJ CRM4206-a）、#70（NMIJ CRM4210-a）、#105（NMIJ CRM4211-a）、#153（NMIJ CRM4207-a）、#170（NMIJ CRM4208-a）、#194（NMIJ CRM4209-a）の 6 異性体である。又、Wellington Laboratories, Inc. 及び Cambridge Isotope Laboratories, Inc. が製造するダイオキシ

ン様 PCB12 異性体は、NMIJ によりトレーサビリティ体系の評価を行い、その妥当性を確認され、JIS K 0311:2008「排ガス中のダイオキシン類の測定方法」並びに JIS K 0312:2008 における「国家計量標準機関が認めた標準物質」として示されている。しかしながら、これらは、PCB 製品の主要異性体を網羅できていないため、認証されている異性体のみで今回の絶縁油中 PCB 測定の標準物質として使用するのには限界がある。現在、機器測定で使用する PCB 標準物質及び内標準物質は、市販の PCB 異性体混合標準物質（標準溶液）やカネクロールシリーズを使用しているが、これらは、すべて各メーカーによる保証がついている訳ではないのが現状である。今後、国家標準の作成が求められる。

NMIJ から頒布される絶縁油中 PCB 分析用の認証標準物質（絶縁油）は、絶縁油（ポリクロロビフェニル分析用-高濃度）（NMIJ CRM7902-a）及び絶縁油（ポリクロロビフェニル分析用-低濃度）（NMIJ CRM7903-a）がある。これらの絶縁油における PCB の認証値は 11 異性体のみであるが、参考値として、平成 4 年厚生省告示第 192 号別表第 2 で定められている高分解能ガスクロマトグラフ-高分解能質量分析計による方法による同族体の濃度が示されている。これらの値から PCB 濃度 0.5mg/kg 前後の絶縁油を作成し、内部精度管理試料（分析の精度確認、分析方法や装置の妥当性確認）として使用しても良い。

1.2.5 PCB 標準物質の維持・管理について

内標準物質を含む PCB 標準物質の濃度は、定量値に最も影響する要因である。又、PCB は化審法第一種特定化学物質であることから、その標準物質の維持・管理は、厳重かつ慎重に行う必要がある。

標準物質の内、通常分析する濃度のもの（例えば、GC にインジェクションする標準物質や試料に添加する濃度の内標準物質）は、二重栓ビンなど気密性の高い容器に入れ、冷暗所（できれば 4℃以下）に保存する。又、購入原液や一次希釈液など高濃度で通常使用しないものは、二重栓ビンなど気密性の高い容器に入れ、冷暗所（できれば-10℃以下）に保存するのが望ましい。いずれの標準物質も施錠可能な場所に保管し、使用前後で重量による管理を行う必要がある。

1.3 分析法の選択について

1.3.1 はじめに

「特別管理一般廃棄物及び特別管理産業廃棄物に係る基準の検定の方法」(平成4年7月3日厚生省告示第192号)の別表第2に定める高分離能ガスクロマトグラフー高分解能質量分析計による方法は、PCB処理施設において処理した後の油中のPCB分析に適用されている精密な分析法である。この方法は微量PCB汚染廃電気機器等に含まれるPCBについても適用可能な精度の高い精密分析法であり、現在までも油中のPCB分析法として準用されてきた。一方で本法は精緻なクリーンアップと高額な高分解能質量分析計を用いるものであり、分析にかかるコストが高く、又、分析に要する時間も長い。分析対象となる機器等の数が多いことを考慮したとき、正確さを持ちながら簡易かつ低コストの分析法の活用が必要である。このため、「簡易定量法」(絶縁油中の微量PCB濃度を簡易に確定することができる測定方法)と「迅速判定法」(絶縁油中の微量PCB濃度が基準値以下であることを迅速に判定できる測定方法)の併用が考えられ、これに対応して本マニュアルはまとめられている(本マニュアル冒頭「はじめに」を参照)。

以上の考え方を踏まえ、廃電気機器等に封入された絶縁油中の微量PCBの測定方法の活用の考え方を図1.3.1にまとめて示した。即ち、定量分析法では、平成4年厚生省告示第192号別表第2に定める方法、あるいは、当該方法とほぼ同等の精度を有する簡易定量法で絶縁油を測定し、廃電気機器等がPCB廃棄物に該当するか否かを判定する。迅速判定法はPCB廃棄物に該当しないものを選別するためのものであり、迅速判定法で検出された場合は、さらに定量分析法で分析しPCB廃棄物に該当するか否かを判定する。

これらの方法は、整備すべき前処理装置や測定機器のほか、正確性、迅速性、簡易性、汎用性、測定費用等が異なるため、ここではどの方法を選択して分析すれば良いかの参考となるよう、簡易測定法の特徴と留意点を述べた。

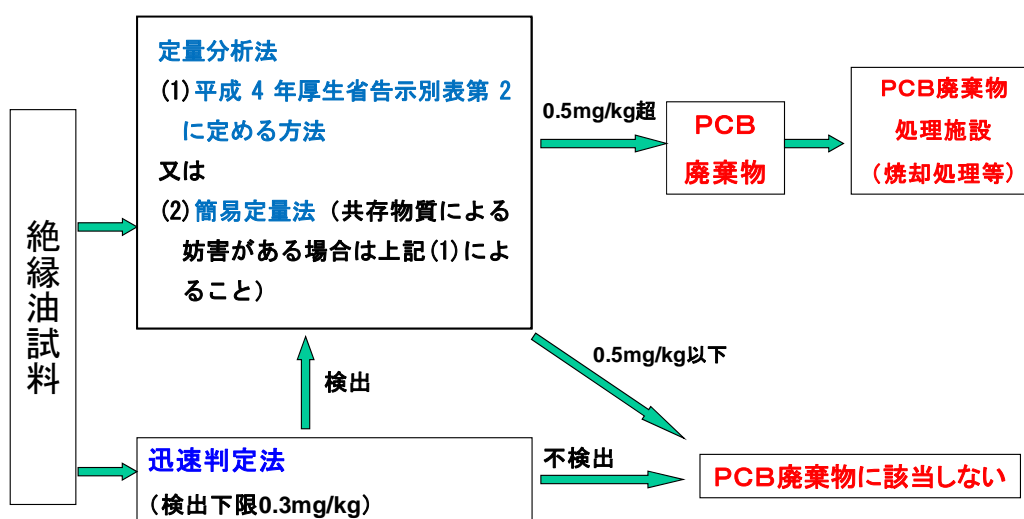


図 1.3.1 廃電気機器等に封入された絶縁油中の微量PCB測定法活用の考え方

1.3.2 機器分析法と生化学的分析法

簡易測定法には、機器分析法と生化学的分析法がある。

(1) 機器分析法

GC/ECD や GC/MS を使用した方法であり、定量法として優れているため、公定法にも採用され汎用されてきた。しかしクリーンアップに多大な時間を要することから多くの工夫がなされてきた結果、様々な前処理法が提案されてきた。迅速性や簡易性を優先するもの、完全なクリーンアップを優先するもの、測定機器の選択性を優先するものなど多くの方法が開発されてきた。固相カートリッジの使用、GPC による分画、HPLC による分画、多段のカラムクロマトグラフの併用、測定時間を短縮する方法、定量操作を簡易にする方法、検出器の選択性をあげる方法 (GC/NCI 法、GC/MS/MS 法) などである。又、カネクロール中の主要異性体のみを測定し、各異性体の存在割合から算出した換算係数より PCB 総量を推定する方法 (推定法) もある。

1) 分離精製 (クリーンアップ) 法

PCB と油成分の性状が類似しているため、油中に微量に含有している PCB を測定することは非常に難しい。油成分が残存していると検出感度低下などにより測定値が低めに出ることもあり、又、逆に夾雑ピークを PCB のピークと誤ってカウントして測定値が高めに出ることもある。基準値である 0.5mg/kg 付近の PCB を測定するには、PCB 以外の物質が定量操作の妨害となるため、PCB を夾雑物質から分離、精製する操作が重要である。精密分析法におけるクリーンアップでは、DMSO/ヘキサン分配、濃硫酸処理、シリカゲルカラムクロマトグラフ等を用いている。油成分の除去には DMSO 分配が非常に効果的である。PCB がヘキサンと DMSO の間で分配され、DMSO 側に移行することを利用した方法である。しかし、分配操作であるため、DMSO とヘキサンが充分分離するまでの静置時間が長く、又、1回の分配での回収率が悪いため回数を増やす必要がある。そのため多くの時間を要し、分析の未熟な者では回収率低下の原因となる。硫酸処理は油成分を硫酸で分解、或いは硫酸相への分配スルホン化する方法であり効果があるが、油が非常に大量に存在するため、処理回数が多くなることもある。シリカゲルカラムクロマトグラフでは、油成分である炭化水素類と PCB が類似した溶出傾向を示すため分離は困難であるが、僅かに炭化水素類の方が早く溶出するので、精度良くカラムコンディショニングを行い、厳密に分画を行い、正確に前捨て操作を行った後、PCB 画分を分取することにより効果が現れる。この他にゲルパーメーションクロマトグラフを用いる方法、DMSO 処理の代わりに固相への吸着剤利用なども工夫されている。

2) 測定方法

測定については、GC に使用されるカラムと検出器の種類により、現在 4 種類の方法、

①低分離能ガスクロマトグラフ LRGC/ECD 法：低分離能のパックドカラム装着の GC と

ECD、②高分離能ガスクロマトグラフ HRGC/ECD 法：高分離能のキャピラリーカラム装着の GC と ECD、③HRGC/LRMS 法：高分離能のキャピラリーカラム装着の GC と低分解能の質量分析法、④HRGC/HRMS 法：高分離能のキャピラリーカラム装着の GC と高分解能の MS が用いられている。

HRGC/HRMS 法は、処理済油の検定方法に用いられているように、最も高感度・高精度な測定法である。質量分析においては、油成分と PCB の質量分離には 5,000 以上の分解能が必要である。分解能の低い HRGC/LRMS 法では、同一の整数質量を持っている多くのフラグメントの影響により廃油試料への適用は極めて困難である。ECD 検出器は塩素に対する選択性が大きい、この選択性の差によっても残存する油成分の影響を受けるため、クリーンアップにより油成分をほぼ完全に除去された場合のみ測定が可能となっている。検出器の選択性は、HRMS 法>ECD 法>LRMS 法であり、クリーンアップは LRMS 法>ECD 法>HRMS 法の順に多段の組合せが必要となる。測定機器に応じたクリーンアップ法の選択が重要である。

(2) 生化学的分析法

クリーンアップを行い、夾雑物から PCB を分離精製し、抗原抗体反応を利用し、PCB と抗体の反応の度合いを吸光又は蛍光として計測し、PCB 濃度を求める方法である。

1.3.3 分析法選択に対する留意点

分析実験室における分析機器や器具類の整備状況、マトリックスの油組成、クリーンアップのコスト等を考えつつ、又、信頼性の高い分析にむけて分析法の選択が行われる。マトリックスの油組成と各分析法との対応は各分析法のところに示されている。

分析誤差に関わる要因について考察すると、以下のような点が精度に影響を与えていると考えられる。

(1) 前処理による試料中の夾雑成分の除去の程度

PCB を測定する際には、測定の妨害要因となる油成分を前処理操作で除去することが必要となる。前処理方法と測定機器との組合せが重要であり、油成分を前処理により完全に除去するか、測定機器に検出器の選択性を持たせることで定量可能となる。

(2) 検出装置の選択性と感度

HRGC/HRMS 法やガスクロマトグラフータンデム質量分析計による方法 (GC/MS/MS 法) では、検出器が高い選択性を有することにより油成分の影響を受けにくく、又、感度の高い検出器を用いることは、精度の高い結果が得られる傾向が確認されている。

(3) 技術者の熟練度

GC/ECD 法や四重極型質量分析計を用いた方法 (QMS 法) では、前処理操作の熟練度や測定データの確認処理能力の点で、十分な経験と知識を持たない技術者が行った測定について、精度の悪い結果が得られる傾向が確認されている。

以上述べたように、絶縁油中の PCB を高い精度で測定するために最も重要なことはクリーンアップ法と測定方法の組合せである。正確性の高い測定法は、迅速性、簡易性および汎用性が犠牲にされ、又、逆に迅速性や簡易性を求めると正確性に問題が残ることが多い。正確性が高く、迅速性があり、汎用的であり、安価な測定法が望まれているが、測定時間や測定費用、又、測定機器や前処理装置等の整備状況のみならず、分析者がその技術に習熟していることも必要である。

1.4 試料の採取

1.4.1 採取の概要

微量 PCB 含有を判定するために、電気機器類などから絶縁油を採取する方法については、JIS 又は公的な分析マニュアルはないが、試料が含まれる電気機器の構造及び大きさに適した方法を用いて、代表性のある試料を分析に必要な量だけ採取するようにする。密閉空間において混合が十分行われていることを考慮して試料の代表性に注意して採取する。

採取にあたっては、試料の種類、採取場所、採取方法などに留意する。電荷の残留の有無（コンデンサ類）など必要に応じて電気主任技術者の判断、指導を求めるものとする。尚、試料採取の一般事項は、JIS C 2101 を参考とする。

1.4.2 サンプリング器具及び装置並びに適用

採取する絶縁油試料には PCB が含まれる可能性があるため、採取に使用する器具類は簡素でかつディスポーザブルであることが望ましく、二次汚染を防止するためにも一つの器具を繰り返し利用することをできるだけ避けるように配慮する。

又、試料が密閉形容器又は機器において、試料の排出口が設けられている場合には、排出口から直接試料の採取を行う。さらに、循環ラインなどに排出口が設けられている場合も直接試料の採取ができる。一部のコンデンサのように完全に密閉されている場合には、油の採取のための孔を開け、すばやく試料を採取する。採取後の孔は油が漏出しないよう十分に栓等をして塞ぐ。

採取した油を入れるための容器はガラス瓶などの洗浄が可能で油中の PCB が付着しにくい材質のものを用い、ふたも試料を汚染せず、PCB の付着性が低い材質のものを用い、容器を密栓して外気と遮断できるものとする。

尚、試料採取時に使用し、油分が付着した採取用具や手袋、ウエスなどは PCB 結果が判明するまで保管事業者が安全に保管し、測定結果に応じて処分方法を決定する。

1.4.3 試料採取時の記録及び試料の識別

絶縁油の試料採取にあたっては、JIS C 2101 の 5.1.3（ラベルの表示）に規定している事項に基づき、a) 試料の名称及び種類、b) ロット番号又は試料番号、c) 試料採取日、時刻及び場所、d) 試料採取者名、e) 製品容器の名称及び番号、f) 消防法で定める危険物の品名（例えば、第 3 石油類又は第 4 石油類）などの記録を保管する。又、保管事業者は分析を実施するにあたり必要となる情報（過去の分析値、試料の由来、油種など）は分析機関の求めに応じ、できるだけ提供することとする。分析後の測定結果を報告する際の試料名称と保管試料を関連付けることができるように記録を残しておく。

1.4.4 試料の取り扱い

分析のために採取した試料を運搬する行為は、廃棄物処理法及び PCB 特別措置法の適用を受けない。しかしながら、漏洩等がないように十分に配慮したパッキングを行う必要がある。又、分析のための試料の採取は分析に必要な必要最小限の量とし、分析後に余った試料は、保管事業者に戻却することとなる（平成 16 年 2 月 17 日付環廃産発第 040217005 号産業廃棄物課長通知）。

1.4.5 作業者の PCB 曝露を避けるために

試料採取、及び分析を行う作業者は、手袋、簡易型マスク等を使用して PCB に曝露される機会を小さくすることに留意する。

1.5 精度管理について

1.5.1 はじめに

基準である 0.5mg/kg の濃度の PCB を測定することは、良く整備された実験室、測定機器、そして訓練された技術者を必要としており、正確な分析結果を得るためには十分な精度管理が必要である。

1.5.2 分析精度管理の概要と分析データの品質保証

分析精度管理は、内部精度管理と外部精度管理とに分けることができる。内部精度管理には、標準作業手順書の作成及び履行、分析性能試験が含まれる。SOPs は、分析法マニュアルを、環境、装置の整備状況、分析者の技術力に応じて具体化したものである。実試料の分析開始前の分析性能試験は、分析法の性能、分析者のパフォーマンスを評価し、改善するために行う。実試料の分析と並行して行う性能試験は、同じバッチの測定データを棄却して再分析を行うかどうかを判定するために実施する。

現在実施可能な分析データの品質保証として、SOPs の外部認証、データ管理者による SOPs で定めた分析・定量等記録の確認、内部精度管理結果の評価及び外部精度管理結果の評価がある。

1.5.3 内部精度管理

(1) 標準作業手順書(SOPs)

SOPs は、器具取り扱い、標準液取り扱い、試料分取方法、前処理法、分析機器取り扱い及び各工程の記録方法など全分析作業に係る手順をテキスト化したものである。SOPs の記述には、分析者が SOPs に従って分析工程を進めれば、得られたデータの品質をぶれさせない程度の細かさが求められる。この意味において、分析者の技術レベルが高ければ記述が簡略化されることもあり得る。

絶縁油中の PCBs の分析に特徴的であり、SOPs で記載する必要があると考えられる事項を以下に列記する。

- 1) 標準液の管理に関して、定量用標準溶液を長期間使用することが予想されるので、濃度変化（溶媒の気化による PCB の濃縮）を防ぐ保管方法（標準物質の入手方法及び二次標準溶液の調製方法は、1.2 を参照。）
- 2) 前処理に関して、高濃度試料と基準値以下の試料間のクロスコンタミネーションを避ける方法（例えば、試料と使用するガラス器具番号及び GC への注入順序を管理し、同番号のガラス器具を使用して処理した試料、又は連続して GC 注入した試料の測定濃度が 1000 倍程度の差があった場合は、PCB 組成を比較し類似する場合は再測定する。）
- 3) カラムクロマトグラフィークリーンアップに関して、充填剤及び溶離液の品質管理、保管方法、さらに分析者の技術の個人差の管理方法（例えば、この処理を行う分析者は、絶縁油中 PCB の溶出試験を定期的実施する。）

- 4) 定性分析に関して、同定するピーク数が多いので、ピーク同定におけるヒューマンエラーを避けるための方法（例えば、10 検体に 1 検体の割合で別の分析者がピーク同定し、定性結果が一致することを確認する。）
- 5) 定量分析に関して、ピーク積分が適正に行われていることを確認する方法（例えば、目でベースラインを確認できるような拡大クロマトグラムを添付する。）
- 6) 定量分析に関して、定量した PCB 化合物名（又はピーク番号）を濃度順に確認できる方法（例えば、PCB 化合物名（又はピーク番号）を保持時間、濃度順にソートでき、濃度を棒グラフで表示できるスプレッドシートデータファイルを添付する。）
- 7) 自動濃度計算ソフトウェアに誤りがないことを確認する方法

(2) GC 性能試験

GC/ECD 及び GC/MS の装置性能評価は、適当な濃度の PCB 標準液および空試料（溶媒）を測定して得られるクロマトグラム及び指示値を使って行う。下記の性能評価項目の内、1. ～9. は、GC の初期性能評価項目として実試料測定前に実施する。10. は、一連の試料を測定期間中定期的に実施する。

1) ピーク形状

1 種類の PCB 化合物で構成されるピークについて、リーディング、テーリングを起こしていないことを確認する。又、ピーク幅が、PCB の定性分析（ピーク同定）において参照するクロマトグラムとほぼ同等であることを確認する。図 1.2.2 の ECD クロマトグラムでは、ピーク番号 3, 57, 93 他が 1 種類の PCB 化合物で構成されている。

2) ベースライン

PCB 等量混合標準液又は空試料を測定し、ベースラインがドリフト（カラムオープンを昇温することでベースラインが上昇する）していないことを確認する。

3) ゴーストピーク

空試料および PCB 等量混合標準液測定し、空試料のクロマトグラムにおいて PCB 化合物が溶出する範囲に PCB ピークとオーバーラップするピークが存在しないことを確認する。

4) 分離度

PCB 等量混合標準液を測定して得られるピークの実験値と、PCB の定性分析（ピーク同定）で参照するクロマトグラムと同等であることを確認する。参照クロマトグラム以上に分離している、逆に分離していないクロマトグラムが得られた測定で、ピークの CB%値を使って定量する場合（ECD による定量等）は、対応する参照クロマトグラムピークを構成する PCB 化合物の CB%を正しく割り振る必要がある。この方法は、本マニュアル 1.2 の方法を参考にする。

5) 保持時間

PCB 等量混合標準液を繰り返し測定し、保持時間の変動幅を把握する。定性分析の

ための保持時間幅の指標の一つに、保持時間窓 (Retention window, 以下 RW) がある。RW は、標準液を 1 日 1 回、3 日間にわたって測定して得られる保持時間の平均値±標準偏差の 3 倍に相当する。試料を測定して得られた一つのピークの保持時間が PCB 標準ピークの RW の範囲内であれば、対応していると判定する。

PCB 等量混合標準のクロマトグラムピークの中には、複数の PCB 化合物で構成されるピークが多数存在する。それら PCB 化合物の保持時間に差 (当然ピーク幅よりは短い) があって、絶縁油試料において構成成分の一つが含まれないとピークの保持時間が変化することがあるので、保持時間に基づくピーク同定およびピーク形状の変化についての評価には注意を要する。

6) 標準液濃度に対する指示値の直線性

RRF の算出用又は検量線作成用標準液の濃度は、全ての試料の GC 検液 PCB 濃度をカバーしていることが望ましい。一方で、最小二乗法で求める検量線の r^2 値は、ある濃度までは濃度範囲を広く取ると 1 に近づく傾向があるので、濃度範囲を広く取りすぎると GC の応答値の直線性を、 r^2 値を使って評価することに意味がなくなってしまう。そこで、適正な検量濃度範囲で定量する必要がある。

カネクロール等量混合標準 (KC-mix) を用いる検量濃度範囲の下限は、検出下限値 (0.15mg/kg) 相当の絶縁油試料を分析法で定めた前処理をして得られる GC 検液の濃度とする。上限は機器のダイナミックレンジによるが、下限は数百倍程度が目安になる。

個別 PCB 化合物を用いる検量濃度範囲の下限は、それらを測定して得られるイオンクロマトグラムピークの S/N 比が 3 程度になる濃度とする。上限は機器のダイナミックレンジによるが、下限は数百倍程度が目安になる。

これらの濃度範囲の中で、5 段階程度の標準濃度系列を調製する。

RRF 算出方法及び検量線の作成方法は、各分析法を参照する。

RRF を用いて定量する場合の、標準液濃度に対する指示値の直線性の基準は、CV%が 20%以下であることを目安とする。最小二乗法で求めた回帰直線については、 r^2 値が 0.99 以上あることを目安とする。

7) ダイナミックレンジ

本マニュアルにある測定法の適用目的は、絶縁油中の PCB 濃度が 0.5mg/kg を超過しているかどうかを判定することにあるが、基準値以上の濃度の正確さを担保する必要条件として、試料検液は装置のダイナミックレンジ内で定量される必要がある。ECD 及び MS のダイナミックレンジは機種及び装置のコンディションによって異なることから、使用する装置毎にダイナミックレンジを求めておく必要がある。

ダイナミックレンジは、測定対象成分の応答値の検量線からのズレ (乖離度) が ±10% 以内の範囲と示されている (Introduction to Gas Chromatography CGC-10 8. Detector(1999))。ダイナミックレンジの上限は次の手順で算出する。

検量線作成用 PCB 標準を測定し検量線を作成する（又は RRF を求める）。この濃度範囲より高濃度(C_n)の標準試料を同じ条件で測定し、作成しておいた検量線（又は RRF）を使って定量値 (C_c) を計算し、次式で乖離度%(Dev.)を計算する。

$$\text{Dev.} = (C_c - C_n) / C_n \times 100$$

乖離度が±10%を超える濃度領域での測定は測定誤差が大きくなり好ましくない。この場合、試料を適当な濃度に希釈して再定量する。

8) 装置検出下限値 (Instrument Detection Limit, IDL)

ECD の感度の安定性が、質量分析計に比べて優れていることから、ECD の IDL は S/N 比を、質量分析計の IDL は繰り返し分析による定量値の標準偏差をそれぞれ使って算出する。

ECD の IDL は、①採用した試験方法の GC/ECD 条件に従って、0.15mg/kg×分析法の濃縮率相当濃度の KC 等量混合標準液を測定し、得られたクロマトグラムピークを同定する、②同定したピークの S/N 比（シグナル高さ/ノイズ高さで評価する）を求める、③ S/N 比が 3 以上のピークの CB%を KC 等量混合標準の CB%表を使って合計した時に 80%以上となる濃度とする。例えば、KC 等量混合標準の GC/ECD クロマトグラム (図 1.2.2) において総 PCB 濃度の 80%を構成するピーク番号は、4, 7, 8, 10, 15, 16, 17, 18, 21, 22, 23, 25, 26, 27, 32, 33, 34, 36, 39, 40, 43, 44, 47, 49, 52, 53, 58, 59, 64, 69, 74, 80, 84 であり、これらのピークの中で 43 番 (CB% : 0.887%) が 80%の境目に当たる。ノイズレベルを計測する場合、ピーク間隔が詰まっているためにピーク近傍（目安としてピークの半値幅の 10 倍程度）で計測できない場合は、ピークの前後双方に計測位置の選択を広げて 2 点のノイズの平均値を用いて S/N 比を計算する。

質量分析計の IDL は、0.15mg/kg×濃縮率 (kg/L) の濃度に相当する KC 等量混合標準液を 7 回程度繰り返し測定し、一連の分析値の標準偏差 ($\sigma_{n-1, I}$) を求め、次式により算出する。

$$\text{IDL} = t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1, I} \times 2$$

尚、 $t(n-1, 0.05)$ は危険率 5%、自由度 $n-1$ の t 値 (片側) を示し、 $n=7$ の場合は 1.9432 である。

IDL の算出 は、GC 注入口消耗品及びカラムを交換した場合、検出器のメンテナンスを実施した場合に行う。

9) キャリーオーバー

連続測定において注入試料により注入口が汚染され、次の試料の指示値が変化することをキャリーオーバーと呼ぶ。キャリーオーバーは、前後の試料の濃度差が大きけれ

ば、影響が大きくなる。絶縁油試料の中には高濃度試料と低濃度試料が混在すると予想されることから、キャリーオーバーが問題になる濃度差を把握しておくことが望ましい。

10) 感度の時間変動

GC の感度は、時間変動する。上述の通り、質量分析計の感度の時間変動は ECD よりも激しい。濃度を正確に定量するには、一定濃度の標準液を定期的に測定して検出器の感度をモニターし、許容範囲以上の変動が認められる場合は、濃度系列標準液を再測定し、RRF を再計算もしくは検量線を再作成する必要がある。

感度チェックのために、濃度系列中間濃度の標準液を、1 日 1 回測定する。

(3) 分析性能試験

分析性能評価試験は、試薬の純度、分析者の分析レベルを含めた各試験法の妥当性を確認するため、計画的に実施する必要がある。絶縁油中の PCB 分析において基本と推察される実施項目を列記する。

1) 添加回収試験

本マニュアルの適用目的から考えて、適当な回収試験濃度は、0.5mg/kg 前後と考えられる。回収率試料は、標準試料もしくは PCB で汚染されていない絶縁油に PCB 等量混合標準液（ヘキサン）を添加して調製する。分析操作手順は、採用する分析マニュアルに基づいて自主作成した SOPs に従う。添加回収試験は、実試料の測定を開始以前に行う。回収率の評価は、70～120% (GC/ECD) または 50～120% (GC/QMS、GC/MS/MS) を合格とする。

2) ピーク形状・ベースライン・ゴーストピーク・保持時間

絶縁油の PCB 分析性能として重要な性能の一つは、絶縁油（マトリックス）と PCB との分離性能である。ただし、この性能は、2.2 GC/HRMS 法を適用した簡易定量法にあつては必要条件にならない。絶縁油との分離が不十分な試料を GC 測定して得られるガスクロマトグラムでは、ピーク形状の悪化、ベースラインのドリフトや波打ち、ゴーストピークの出現、保持時間の変化（通常遅れ）が見られる場合が多い。そこで、自主的に評価基準を設けて、全検体の測定結果を管理する。

3) 操作ブランク

操作ブランク試料から PCB が 0.05mg/kg 以上の濃度で検出された場合は、原因を解消した後、同じバッチの基準値超過検体を再分析する。ただし、操作ブランク試料の定量においては、ピーク面積値が装置の検量範囲以下になることが多く、そのために定量値が不正確になりやすいので、定量方法を工夫する必要がある。

4) 分析法検出下限値

MDL 算出方法は、平成 20 年度版化学物質環境実態調査実施の手引き（平成 21 年 3 月環境省総合環境政策局環境保健部環境安全課）に従う。試験試料は、濃度 0.45～

0.5mg/kg（トータルPCB濃度）になるようにKC等量混合標準液（ヘキサン）を絶縁油に添加して調製する。ECDと質量分析計とで低塩化ビフェニルと高塩化ビフェニルに対する感度の高低が異なる。こうした検出器の特性がMDLに及ぼす影響を軽減するために、KC等量混合標準を添加する。絶縁油の種類によって、前処理後のGC検液に残存する定量を妨害する夾雑物の量がちがうと予想されるので、MDLの算出は、各分析法の適用が認められている絶縁油の種類毎に行う。繰り返し試験の回数は、7回程度とする。MDLは、一連の分析値の標準偏差（ $\sigma_{n-1, M}$ ）を使って、次式により算出する。

$$MDL_{\text{method}} = t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1, \text{method}} \times 2$$

5) クリーンアップスパイク内部標準回収率

全検体にクリーンアップスパイク内部標準物質を添加して測定し、回収率を調べることは、今のところ最も有効な分析操作精度（確度）管理方法といえる。

GC/MSを用いる分析を行う場合は、ラベル化PCB化合物をクリーンアップスパイク内部標準として使用できるが、それらをGC/ECDを用いる分析法に適用することは難しい。GC/ECDを用いる分析法に用いるクリーンアップスパイク内部標準は、PCB製品に含まれない成分であり、かつPCB製品に含まれる成分とクロマト分離することが必須条件になる。さらに油成分とPCB成分をカラムクロマト分離する分析法にあっては、そこのPCB化合物の挙動を代表する成分であることが求められる。このために、クリーンアップスパイク内部標準物質の選定は難しい。各分析法が推奨するクリーンアップスパイク内部標準物質の種類、添加量は、第2章を参照する。

クリーンアップスパイク添加内部標準の回収率の評価基準は、ECDで70%から120%、質量分析計で50%から120%とする。基準範囲内に入らない試料については、原因を解消した後で再分析する。

6) 二重測定

一連の検体の中から一定の割合の検体について、二重測定をおこない、定量濃度に有意な差がないことを確認する。試験は、分析者が自主的に行う場合と分析データ管理者等が分析者にその旨を知らせないで実施する場合がある。結果の客観性は、後者の方法が高いといえる。

試験を実施する頻度に関して、有害大気汚染物質測定方法マニュアルではバッチ当たり最低でも1組、検体数が多い場合はその10%で行うこととされているが、多数の分析を行う絶縁油中のPCB測定においては5%で良いと考えられる。

濃度レベルによってデータの精度が異なるので、異なる濃度レベルで求めた濃度差の評価に同じ基準を当てはめることは適当ではない。評価基準として、MDLの3倍以上の濃度の試料について、20%（2検体の濃度差/2検体の濃度の平均値×100）とする。これを超えた時は、当該ロットの分析は再測定とする。二重測定試験の有効性を確保

するため、履歴等から MDL 以下の汚染濃度が予想される検体を供試しないようにする。

絶縁油中の PCB 分析において基本と推察される実施頻度及び評価基準を表 1.5.1 にまとめ示す。分析データの管理者と協議し、採用する項目、その実施頻度、評価基準を決定する。

表 1.5.1 分析における内部精度管理の実施方法

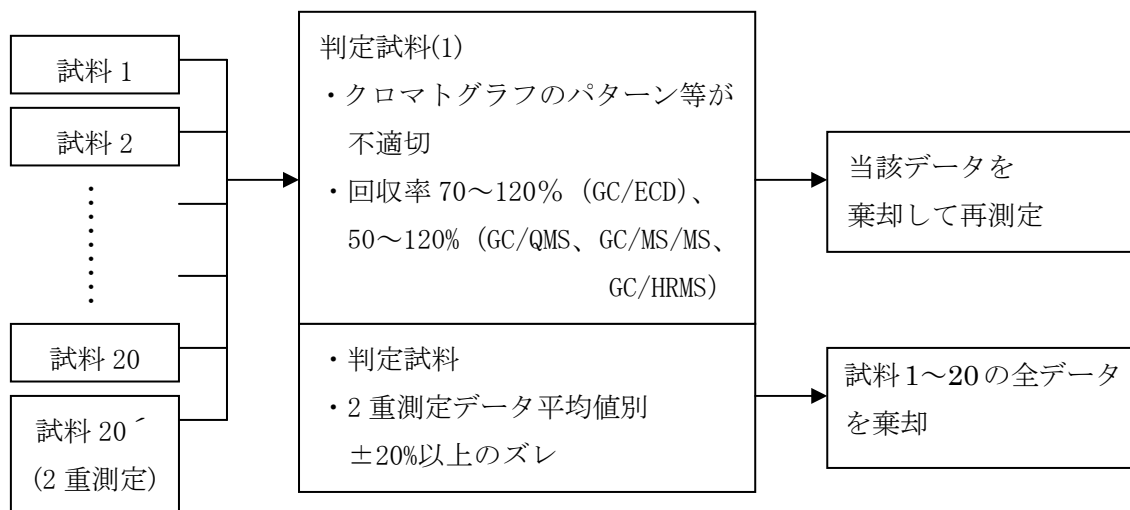
項目	実施頻度	評価基準
操作ブランク試験	測定バッチ毎に1検体	濃度換算して、0.05mg/kg 以下であること。
機器の感度確認	一連の測定の前	必要な感度を満たし、大きな変動がないこと
クリーンアップスパイク 内部標準の回収率算出	同種の絶縁油試料の 内1検体以上	70%<回収率<120% (GC/ECD) 50%<回収率<120% (GC/QMS、GC/MS/MS、 GC/HRMS)
試料の二重測定	全検体数の5%以上	定量値が0.5mg/kg 以上の試料について再分析を行い、2回の定量値が平均値に対して±20%以内
分析法検出下限値の測定	絶縁油試料分析開始	0.15mg/kg 以下
標準試料（濃度既知絶縁油）測定（回収試験）	前、分析者、機材等の変更があった時点、年1回以上	PCB濃度0.5mg/kg 付近の試料で誤差が±20%以内

7) 測定値の棄却と再測定

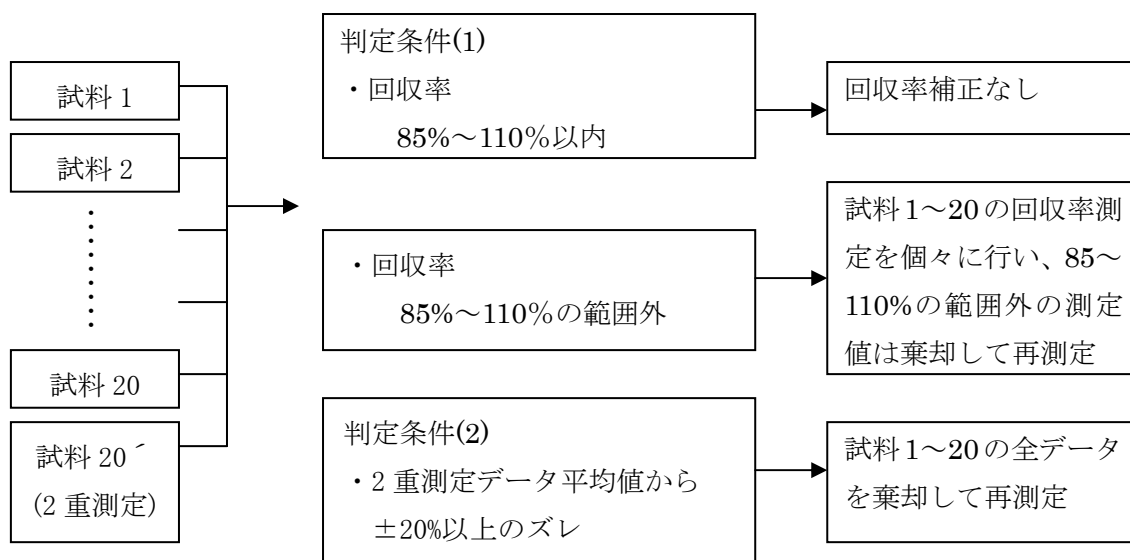
実際の測定において、分析の精度が良くないと判断される場合、当該の測定データを棄却し、再測定をすることとする。

具体例を例示すると次のようになる。

1. 機器分析法による場合 (1ロット 20 検体)



2. 生化学的分析法による場合 (1ロット 20 検体)



(4) 分析法の修正方法

装置の感度がIDLを満たさない場合、GC注入量を増やす、あるいはGC検液の濃縮倍率を上げることで理論的には感度不足を補うことができる。しかしながら、これらの方法は、GCへ注入する夾雑物の量が増えることを意味する。したがって、こうした分析法の修正を行う前には、増えた夾雑物によって定性・定量が妨害されないことを確認する必要がある。確認には、(3)分析性能試験をおこなえば良い。

逆に、GC検液の濃縮倍率を下げる場合は、夾雑物による妨害の影響が軽減されるので、(3)の分析性能試験を行う必要はないが、シグナル応答が小さくなるため、検出下限を満たすことを確認することが必要となる。

(5) データの品質保証

日本では、SOPsの外部機関による検証はほとんど行われていないが、微量化学物質分析に関する知識をもった外部機関に認証を委託することが望ましい。認証は、SOPs作成時及びSOPsを変更した時に行う。分析手順は、分析性能評価試験結果に応じて改善されていくものなので、SOPsも随時更新されなければならない。この一連の作業を円滑に進めるために、更新の手順を章立てしておくが良い。

分析・定量記録の確認は、データ管理者に分析データが提出された時点で行う。SOPsで定めた分析ステップの記録が全て揃っていることが大切である。

内部精度管理結果については、管理項目の実施頻度及び結果の値を評価するだけでなく、操作ブランク試験等で問題があったケースにおいて、原因の解消が論理的に進められ、再分析や場合によってはSOPsの改訂等が適正に行われていることを確認する必要がある。

又、以下の現象が発生した場合には再分析、或いは告示192号による分析を行うかどうかの判断を行う。

- 1) PCBパターンの不一致、ピーク形状（ブロードニング、テーリング等）の異常
- 2) ベースラインの変動
- 3) 異常なピークの出現
- 4) 保持時間の変動、標準との乖離

1.5.4 外部精度管理

PCBの汚染油を所有する事業者は、適法に処理するに当たり、PCB分析値の信頼性にも留意しておく必要があり、分析機関の外側から精度管理を行うことが求められる。即ち、外部精度管理は、信頼性のある分析データを得るために、分析依頼者（或いは行政機関等の関連機関）が、分析を監督し、或いは、分析機関を指導するプロセスである。

具体的には、分析機関での分析プロセスのチェック、トレーサビリティの確認、ブラインドサンプルを用いた分析値の評価、劣悪なデータの廃棄などがある。

1.6 数値の取り扱い

PCB 濃度は、原則定量値の 3 桁目を四捨五入して 2 桁で報告する。単位は mg/kg とする。

報告下限値は、1.5.3 で規定する方法で算出した MDL とする。ただし、MDL は絶縁油種毎に求めているところから、採用する MDL を以下のように定める。試料の履歴から油種が明白な場合は、同種の絶縁油を用いて添加回収試験を行った結果から算出した MDL を用いる。試料の粘性から 3 種絶縁油（ポリブテン）と判定できる場合は、同絶縁油について算出した MDL を用いる。試料の油種を判定できない場合は、各油種について算出した MDL の最高値を使用する。試料濃度と MDL との比較は、それぞれ 3 桁の濃度を使って行う。MDL 未満の濃度は、MDL の値を使って（<数値（有効数字二桁））、又は検出下限値未満（ND）と表記し、後者の場合は、濃度一覧表の欄外等に MDL の値を見易く記載する。

検量線濃度範囲以上の試料濃度は、1.5.3 で規定する方法で GC のダイナミックレンジを確認して RRF 値（又は検量線）を使って定量した値であることを確認して報告する。

採用した分析法で測定した結果、夾雑物の影響でクロマトグラムのベースラインが乱れる等して定量不能だった試料については定量不能とし、平成 4 年厚生省告示第 192 号別表第 2 による分析に供して測定した場合、それが判るように表記する。

1.7 参考文献

- K. Ballschmiter, M. Zell (1980) Analysis of polychlorinated biphenyls (PCBs) by glass capillary gas chromatography.、Fresenius J Anal Chem、302、20-31.
- 増崎優子、松村徹、森田昌敏、伊藤裕康 (2003) カネクロール中の PCB 全異性体組成、第 12 回環境化学討論会講演要旨集、686-687.
- 姉崎克典、山口勝透、岩田理樹 (2008) HT8-PCB キャピラリーカラムを用いたカネクロール中の PCB 異性体組成の検討、北海道環境科学研究センター所報、34、46-53.

2 絶縁油中の PCB 簡易定量法

2.1 ガスクロマトグラフ/電子捕獲型検出器(GC/ECD)を適用した簡易定量法

本マニュアルでは、GC/ECD法を適用した簡易定量法として以下の技術を定める。

2.1.1 高濃度硫酸処理/シリカゲルカラム分画/キャピラリーガスクロマトグラフ/電子捕獲型検出器(GC/ECD)法

(1) 概要(適用範囲)

ここに定める方法は、キャピラリーガスクロマトグラフ/電子捕獲型検出器(以下GC/ECD)を用いた、変圧器やコンデンサ等の重電機器に使用される電気絶縁油中のポリ塩化ビフェニル(PCB)について適用する。

(2) 測定の概要

1) 測定の概要

本方法は、硫酸添加による前処理の後、5vol% ジクロロメタン含有ヘキサンで抽出し、分離カラムにより絶縁油成分を分離除去する精製を行い、そのPCB画分をGC/ECDにより測定を行う。尚、コンデンサで用いられる合成油では、その種類により前処理での化学的性質が大きく異なるため、油種の判別と効果的な前処理方法を選択する必要がある。

2) 測定操作の選択

本測定における測定操作をA,B,Cの3グループに大別し行う。各機器あるいは各絶縁油種での測定操作の選択を図2.1.1.1に示す。変圧器(遮断機含む)より採取された試料はAグループ、コンデンサ(ケーブル含む)より採取された試料はBグループに該当する。尚、油種が1及び7種、およびDOPと判明した場合には、変圧器絶縁油と同様のAグループでの分析操作で行い、ポリブテンはCグループでの測定操作を行う。

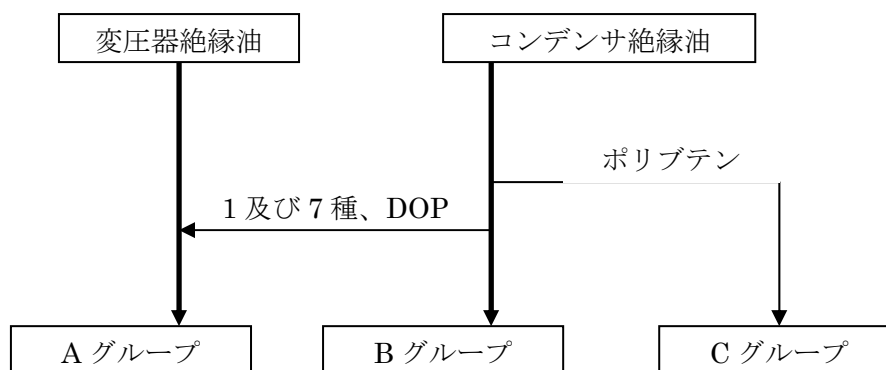


図 2.1.1.1 測定操作の選択

a. Aグループ（変圧器絶縁油）測定フロー

1種（鉍油）、6種（シリコーン油）、7種（1種と2種の混合）、DOP に対し行う。

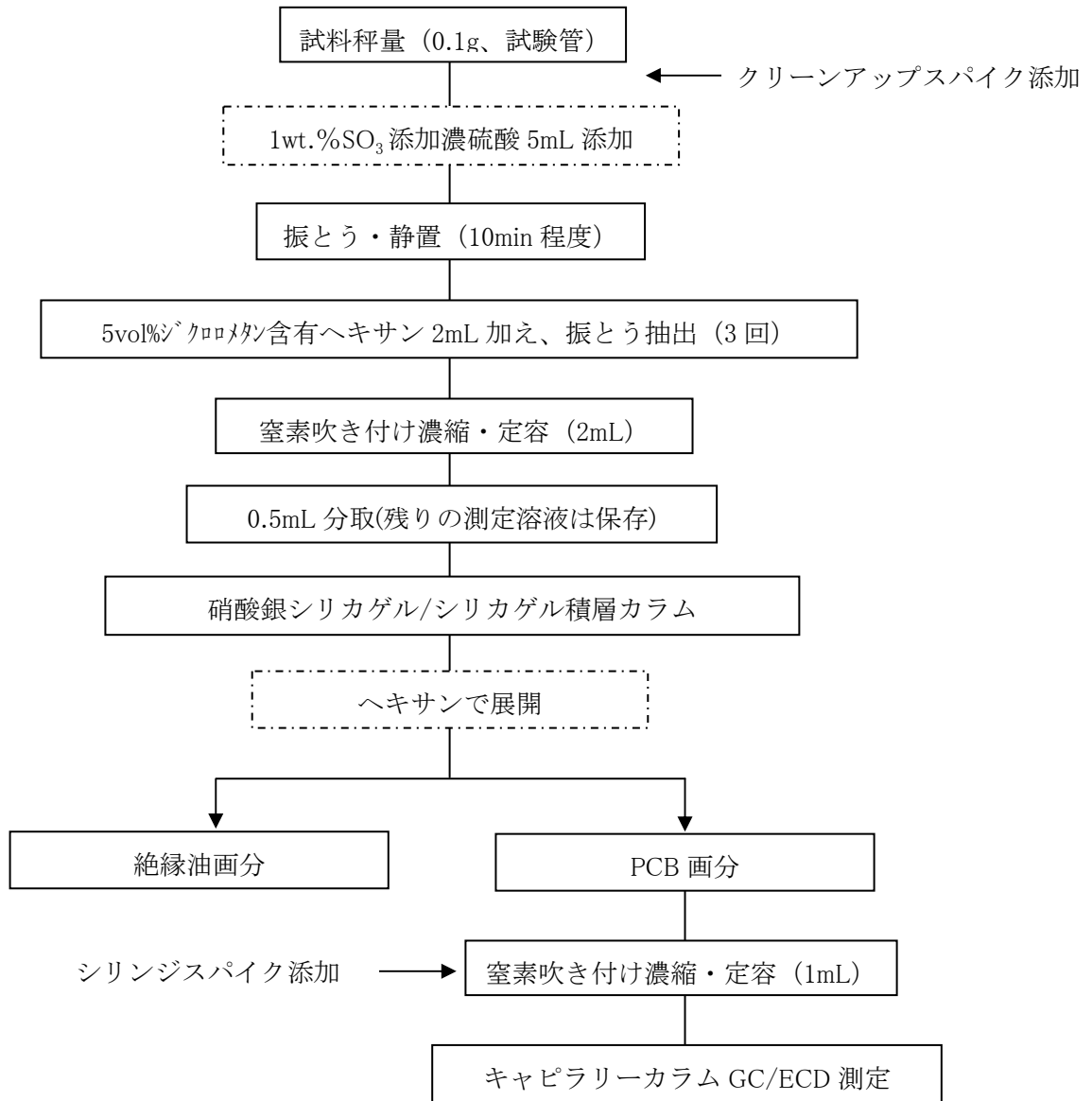


図 2.1.1.2 Aグループ 測定フロー

b. Bグループ測定フロー

2種（アルキルベンゼン）、4種（アルキルナフタレン）、5種（アルキルジフェニルアルカン）に対し行う。

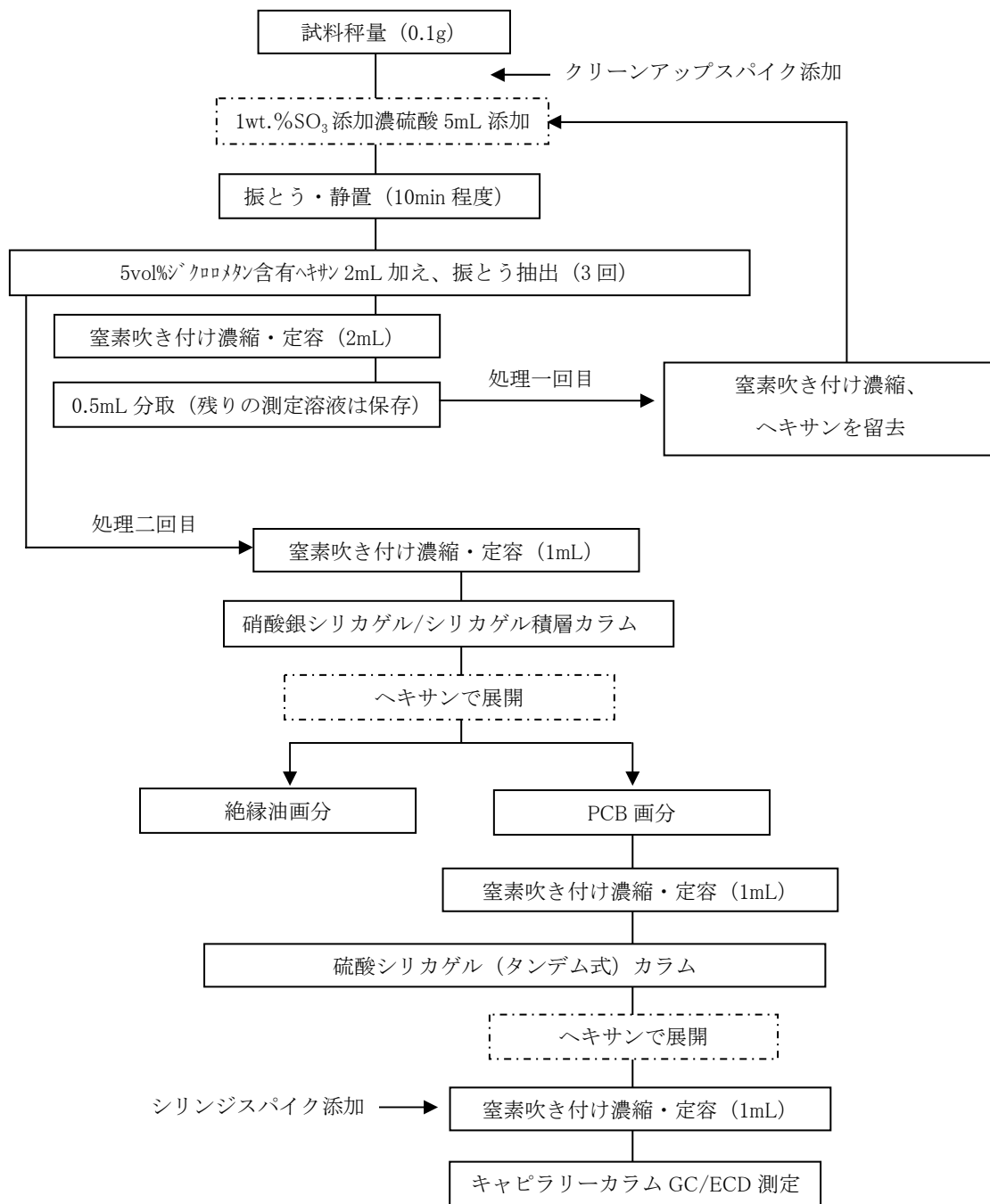


図 2.1.1.3 Bグループ 測定フロー

c. C グループ測定フロー

3種（ポリブテン）に対し行う。ポリブテンは、クリーンアップでの PCB 画分の位置を変化させる。最終液に残存するとガスクロマトグラフ測定を困難とする。

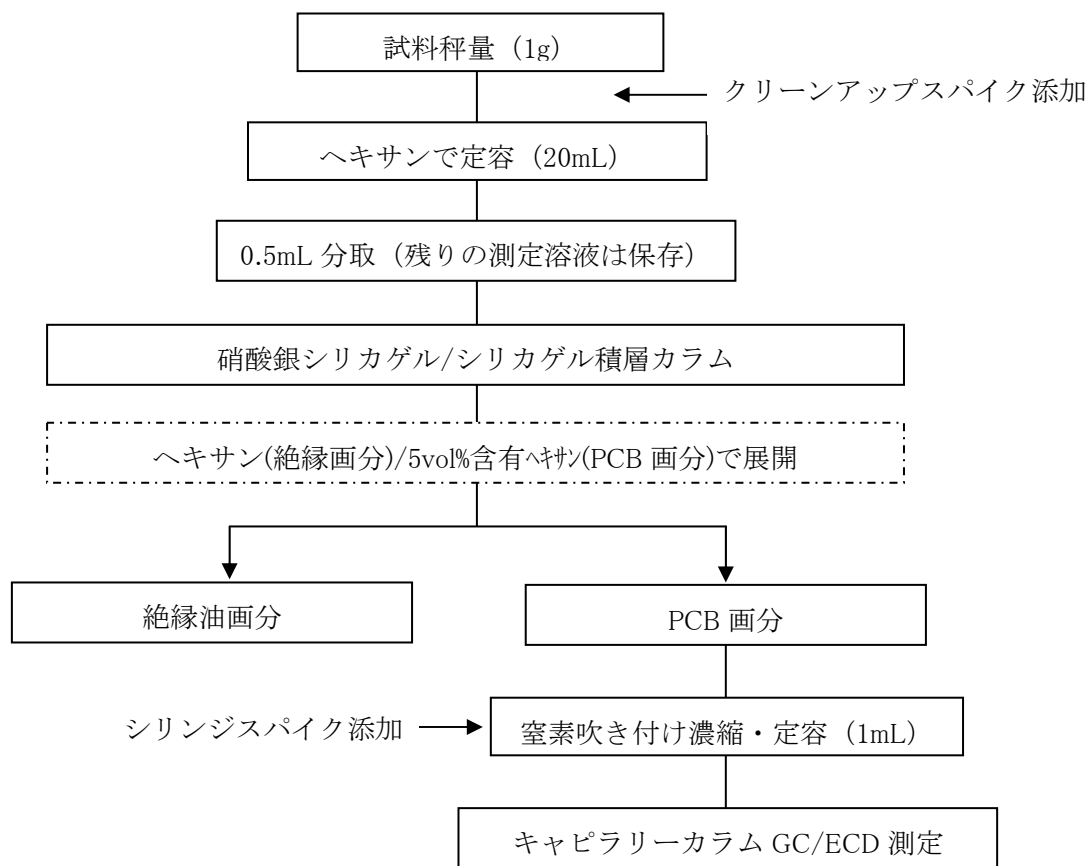


図 2.1.1.4 C グループ 測定フロー

(3) 試薬、器具及び装置

1) 試薬

測定に使用する試薬は次による。これらの試薬は、空試験などによって測定に支障のないことを確認しておく。又、記述以外の試薬を使用する場合も同等の試験を行い、測定に支障のないことを確認しておく。

a. **ヘキサン** JIS K 8825 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

b. **5vol%ジクロロメタン含有ヘキサン** 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) にヘキサンを加え、ジクロロメタンの 20 倍容 (5vol%) としたもの。

c. **1wt.%SO₃添加濃硫酸** 濃硫酸（精密分析用など、硫酸濃度 96 から 98%）500g に対し、発煙硫酸（30%）を 20mL 程度加えよく混ぜ合わせたもの。発煙硫酸の取扱いには、酸用のドラフト内で作業を行うと同時に、適宜保護具を用いる。

d. **シリカゲル** 絶縁油（鉱油分）と PCB の分画を確認したもの。粒径 50 から 250 μm 程度のカラムクロマト用のもの。シリカゲルの活性化及び活性の調整は JIS K0093 に詳しいが、処理方法の例を以下に示す。

シリカゲルをガラス製のビーカーなど、PCB 測定に影響を与えない容器に層が 1cm を超えないように敷き詰め、120℃に設定した乾燥器で 3 時間乾燥し活性化する。活性化したシリカゲルはデシケータで放冷した後に、密閉できる容器に移し、デシケータで保存する。尚、空試験においてシリカゲルで試料を精製した際に、測定を妨害する成分が確認される場合は、乾燥器による活性化の前にメタノールにより洗浄することが望ましい。但し、乾燥器による活性化の前には十分にメタノールを留去させること（引火・爆発の危険に注意）。

シリカゲルの調製に際しては、活性化の条件及びメタノールによる洗浄の有無等により、作成した分離カラムでの PCB の分離挙動が異なる。調製の条件を変更する場合のみではなく、活性化を行ったバッチごとにおいても、PCB の溶出する範囲を確認すること※¹⁾。

e. **10%硝酸銀シリカゲル** 平成 4 年厚生省告示第 192 号別表第 2 に示される方法で調製をする。又、これに準ずる既製品などでも代用できる。

f. **硝酸銀シリカゲル/シリカゲル積層カラム**※²⁾ 清浄なガラス管（内径 8mm※³⁾）の下端に脱脂綿をつめシリカゲルが流れ落ちないようにし、シリカゲル 3g、10%硝酸銀シリカゲル 0.5g を正確に量りとり、順にクロマト管に乾式充填する。各々のシリカゲルを充填する際には、クロマト管を軽く叩くことにより密に充填するようにする。

g. **44%硫酸シリカゲル** 平成 4 年厚生省告示第 192 号別表第 2 に示される方法で調製をする。又、これに準ずる既製品などでも代用できる。

h. **PCB 標準液** KC-300、KC-400、KC-500 及び KC-600 を重量比 1:1:1:1 の割合で混合したものを、100ng/mL に調整したもの※⁴⁾。

i. **クリーンアップスパイク溶液** 2, 3, 3', 4, 4', 5, 5' -H7CB (IUPAC No. 189) 等の測定に影響が少ない異性体を用いる※⁵⁾。2000ng/mL のデカン溶液。

j. **シリンジスパイク溶液** 2, 2', 3, 3', 4, 4', 5, 5', 6, 6' -D10CB (IUPAC No. 209) 等の測定に影響が少ない異性体を用いる※⁶⁾。500ng/mL のデカン溶液。

2) 器具

測定に使用する器具は次による。これらの器具は、空試験などによって測定に支障のないことを確認しておく。

- a. **脱脂綿** ヘキサンで洗浄したもの等、測定に妨害を与えないことを確認したもの。
- b. **試験管** 容量 10mL 程度のもの。ねじりかつ表面がテトラフルオロエチレンで被覆されたパッキンの付いたキャップのものが望ましい。
- c. **クロマト管** 内径が 8mm のもの。クロマト管の内径は重要な要因である。
- d. **ホールピペット** 0.5mL を正確に分取できるもの。
- e. **全量フラスコ** 1mL 及び 2mL を正確に定容できるもの。尚、1mL 及び 2mL を定容できるもので、誤差精度 3%以内程度の精度を確保できる標線入りの試験管等の器具で代用可能である。

3) 装置

測定に使用する装置は次による。

a. ガスクロマトグラフ-電子捕獲検出器

- i 試料導入部 スプリット^{※7)}・スプリットレス方式^{※8)、※9)}、又は全量（オンカラム）注入方式で、温度を 220℃から 300℃で使用可能なもの
- ii 分離カラム 内径 0.10mm 以上 0.32mm 以下及び長さ 10m 以上のキャピラリーカラム。使用する GC カラムは、図 1.2.2 の例と同等の分離性能をもつもので、PCB 全 209 各化合物の溶出位置が実際の測定に採用する GC 条件において判明していなければならない。
- iii キャリアーガス 純度 99.999%以上のヘリウム、窒素又は水素を用いる。
- iv 付加ガス（メイクアップガス） 純度 99.999%以上の窒素を用いる。
- v カラム槽温度 室温+15℃から 300℃の間で温度を一定に保つことができ、1分間に 10℃以上ので昇温ができるもの。
- vi 電子捕獲型検出器 KC-300, KC-400, KC-500, KC-600 の各々のヘキサン溶液で 3.75ng/mL が検出できるもの。検出器槽温度が 250 から 320℃の範囲で使用可能なもの。

(4) 前処理

1) 試料の調製（粗精製試料溶液の作成）

本方法においては、絶縁油試料重量に対し、ヘキサンにて重量体積比で 10 から 20 倍になるように調製した物を用いる。

a. 試料の秤量及び内標準物質の添加

清浄な試験管に、絶縁油試料約 0.1g を正確に秤量する。

量り取った量を有効数字 3 桁以上で記録する。

試料にクリーンアップスパイク溶液を 40ng (20 μ L) 添加する^{*10)}。

b. 粗精製試料溶液の作成

i. 濃硫酸処理による粗精製

a. の試験管に 1wt. %SO₃ 添加硫酸 5mL 程度を入れ、十分に振り混ぜる。その後、10 分から長くとも 15 分程度静置する^{*11)}。

ii. 溶媒による抽出操作

i. の試験管に 5vol. %ジクロロメタン含有ヘキサン 2mL を加え^{*12)}、十分に振り混ぜる。i. の作業での静置時間終了後直ちに行う。その後硫酸層とヘキサン層が分離するまで静置し、ヘキサンをパストゥールピペットなどを用いて別の試験管に取り出す。同様の操作を 3 回以上繰返し、得られたヘキサン層 6mL を窒素吹き付け濃縮し^{*13)}、ヘキサンで 2mL に定容し、粗精製試料溶液とする。尚、抽出の際に加える溶媒量は多いほうが抽出溶媒をほかの試験管に移し変えやすく、又、抽出回数が多いほうがより回収率の低下を抑えられる。しかし、抽出溶媒量が増えることにより、濃縮工程でより多くの時間を要する。

2) 機器（油種）ごとによる精製工程

a. 油種の判定方法

油種の判定は、(4). 1). b. i. の操作過程において着色などの視覚的特徴により行うことが新油においては可能である^{*14)}。長期使用された絶縁油においては明確に判断できないこともあり、油の由来（変圧器に用いられたものか、コンデンサーに用いられたものか等）の情報も含めて判断するが、判定方法を(6)留意事項※1に示す。油種ごとでの処理方法は、基本は硫酸処理及びシリカゲルカラム処理であるが、詳細には 3 グループに分かれる。それぞれのグループに含まれる絶縁油を下記に示す。

- ・A グループ（変圧器）：1 種、6 種、7 種（変圧器用絶縁油）及び DOP
- ・B グループ（コンデンサ）：2 種、4 種、5 種（芳香族炭化水素類）
- ・C グループ：3 種（ポリマー分子）

3) 油種グループごとでの必要となる追加粗精製操作方法

油種により、(4).1)における工程に加え、シリカゲルクロマトグラフ等の異なる前処理が必要である。各油種グループでの前処理方法を示す。

a. Aグループでの精製操作

試料がトランス由来であることが判明して、かつ鉱油由来であることが事前に判明している場合には、試料をヘキサンで重量体積比 10 から 20 倍程度に希釈（例として、試料 1 g をヘキサンで 10 から 20mL に定容）し、試験管にその一部（1mL 程度）を 1wt. %SO₃ 添加濃硫酸 5mL 程度と共に入れ、よく振とうすることにより処理を行うことができる。この場合、次工程ではヘキサン層より 0.5mL を正確に分取することになる。

i. 硝酸銀シリカゲル/シリカゲルによる精製操作

- ① ヘキサンをクロマト管上部に注ぎ、自然流下で充填したシリカゲル全体にヘキサンを展開させ洗浄する。その後、注射筒などを用いてヘキサンを加圧注入する等してシリカゲルの気泡を除き（気泡の除かれたシリカゲルは半透明になる）、コンディショニングを行う。(4).1)で硫酸により粗精製した試料溶液（ヘキサン層）2mL よりホールピペット等で 0.5mL 正確に分取し、コンディショニングを行った硝酸銀シリカゲル/シリカゲル積層カラムの上端に添加する。試料溶液がカラム内へ展開した後、鉱油溶出範囲分（当分析例では添加した試料溶液との合計で 6.5mL）のヘキサンを数 mL ずつ数回に分けてカラム上端に添加して、試料溶液を展開する。
- ② 鉱油画分のヘキサンが全て流下した後、回収用の試験管をカラム下端に置き、展開溶媒を回収できるようにする（PCB の画分）。PCB 溶出範囲分のヘキサン（当分析例では 16mL）をカラム上端に添加し、溶出液を回収する。

ii. 精製試料の濃縮操作

窒素吹き付けにより、試料溶液を 0.5mL 程度まで濃縮する。濃縮後の試料は、500ng/mL のシリンジスバイク溶液 20 μ L を添加し、ヘキサンで正確に 1mL に定容する。又、GC 測定の際に、フタル酸エステル類等により測定が妨害される場合は、硫酸を少量添加し振とうすることにより除かれることがある^{*15)}。

b. Bグループでの精製操作

i. 1wt. %SO₃ 添加濃硫酸での追加処理

Bグループに該当する油種については、粗精製試料溶液より 0.5mL を試験管に分取し、窒素吹き付け濃縮によりヘキサンを留去する。ヘキサンを留去した試験管に 1wt. %SO₃ 添加濃硫酸 5mL 程度を入れ、(4).1).b.i. 及び ii. の操作を行う。抽出した試料溶液は窒素吹き付け濃縮の後、1mL に定容し粗精製試料溶液とする。

ii. 硝酸銀シリカゲル/シリカゲルによる精製操作

- ① (4).2)での溶液 1mL をカラム上端に添加した後、試験管内をヘキサン 1mL で洗い込み、さらにカラム上端に添加する。このとき、先に添加した試料溶液がカラム内へ展開した後に添加することにより、カラム内での試料の広がりを抑えられる。同様に数回洗い込みを行った後、残りの鉱油画分のヘキサン（添加した試料溶液および洗い込みヘキサンとの合計で 6.5mL）をカラム上端に添加する。
- ② 鉱油画分のヘキサンが全て流下した後、回収用の試験管をカラム下端に置き、展開溶媒を回収できるようにする。（PCB の画分）PCB 溶出範囲分のヘキサン（当分析例では 16mL）をカラム上端に添加し、溶出液を回収する^{*16)}。

iii. 硫酸シリカゲルによる精製操作

B グループ試料は、その大部分が芳香族化合物であり、ここまでの精製操作では特に基準値近傍の低濃度試料での定量が困難な場合がある。

ここでは、シリカゲルおよび硫酸シリカゲルを用いたカラムクロマトグラフィーでの方法を以下に示す。尚、PCB の分画に関しては、使用する試薬やロットなどにより確認する必要がある。使用するシリカゲルでの分画（PCB の溶出範囲）の確認を事前に行うこと。

① 硫酸シリカゲル（タンデム式）カラムの作成

硝酸銀シリカゲル/シリカゲル積層カラムと同様に内径 8mm のガラス管を用いた場合の例を示す。

まず、清浄なガラス管（内径 8mm）の下端に脱脂綿をつめシリカゲルが流れ落ちないようにする。次に、シリカゲル 0.5g、44%硫酸シリカゲル 1.0g を正確に量りとり、順にクロマト管に乾式充填する。充填材の内容と順序は、シリカゲル 0.5g、硫酸シリカゲル 1.0g、シリカゲル 0.5g、硫酸シリカゲル 1.0g、シリカゲル 0.5g、硫酸シリカゲル 1.0g、シリカゲル 0.5g の計 7 層である。各々のシリカゲルを充填する際には、クロマト管を軽く叩くことにより密に充填するようにする。

② 試料の精製操作

ヘキサンをクロマト管上部に注ぎ、自然流下で充填したシリカゲル全体にヘキサンを展開させ洗浄する。その後、加圧等してシリカゲルの気泡を除く（気泡の除かれたシリカゲルは半透明になる）。(4).3).b. ii で濃縮・定容した試料溶液 1mL をカラム上端に添加する。添加した試料溶液がカラム内へ展開した後、試験管内をヘキサン 1mL で洗い込み、洗液をカラム上端に添加する。同様の操作を数回行う。その後、PCB 溶出範囲分のヘキサンをカラム上端に添加し、溶出液を回収する。（当測定例では試料溶液、洗液を併せ、ヘキサン 5mL から 15mL の範囲で PCB が溶出する）

iv. 精製試料の濃縮操作

窒素吹き付けにより、試料溶液を 0.5mL 程度まで濃縮する。その際、試料溶液が乾固しないように注意する。濃縮後の試料は、500ng/mL のシリンジスパイク溶液 20 μ L を添加しヘキサンで正確に 1mL に定容する。又、GC 測定の際に、フタル酸エス

テル類等により測定が妨害される場合は、硫酸を少量添加し振とうすることにより除かれることがある。

c. Cグループでの精製操作

他の油種グループと異なり、Cグループ試料では(4).1).b.ii.工程での抽出操作は行えない。試料重量に対して、10から20倍容のヘキサンで希釈調製（試料1gを量り取り、ヘキサンで20mLに定容）し、粗精製試料溶液とする^{*17)}。

i. 硝酸銀シリカゲル/シリカゲルによる精製操作

① ヘキサンをクロマト管上部に注ぎ^{*18)}、自然流下で充填したシリカゲル全体にヘキサンを展開させ洗浄する。その後、注射筒などを用いてヘキサンを加圧注入する等してシリカゲルの気泡を除き（気泡の除かれたシリカゲルは半透明になる）、コンディショニングを行う。(4).3).c.で希釈調製した試料溶液よりホールピペット等で0.5mL正確に分取し、(3).1).f.で作成したカラムの上端に添加する。試料溶液がカラム内へ展開した後、鉱油溶出範囲分（添加した試料溶液との合計で6.5mL）のヘキサンを数mLずつ数回に分けてカラム上端に添加して、試料溶液を展開する。鉱油画分のヘキサンが全て流下した後、回収用の試験管をカラム下端に置き、展開溶媒を回収できるようにする。

② PCB溶出範囲分の5vol.%ジクロロメタン含有ヘキサン（当分析例では16mL）をカラム上端に添加し、溶出液を回収する。

ii. 精製試料の濃縮操作

窒素吹き付けにより、試料溶液を0.5mL程度まで濃縮する。その際、試料溶液が乾固しないように注意する。濃縮後の試料は、500ng/mLのシリンジスパイク溶液20 μ Lを添加しヘキサンで正確に1mLに定容する。又、GC測定の際に、フタル酸エステル類等により測定が妨害される場合は、硫酸を少量添加し振とうすることにより除かれることがある。

(5) 機器測定

1) GC/ECD の測定

JIS K0093 の附属書 2 図 1 の例と同等の分離性能が得られ、各ピークの保持時間が適切な範囲にあり、試料中の PCB 濃度で 0.15mg/kg 以下の検出下限値が満たされ、安定した応答が得られるように、適切に設定された GC/ECD で測定を行う。又、あらかじめ電子捕獲検出器の感度の直線性が得られる範囲を確認しておく。

2) 試料の測定及び定性（ピーク同定）方法

a. 検量線の作成

- i K 値の算出: PCB 標準溶液を測定し、得られたクロマトグラムのピークに、例として図 1.2.2 をもとにして番号（以下、ピーク番号という）を付け、ピークごとに、ピーク面積（ A_1 ）を読み取り、その面積と当該ピークのピーク番号に対応する CB_0 （%）により次の式によって K 値を算出する^{*19)}。

$$K = \frac{CB_0(\%)}{A_1}$$

- ii 相対感度係数の算出: 10 ng/mL のクリーンアップスパイク溶液及びシリンジスパイク溶液の同量を GC/ECD に注入して測定し、各内標準物質のピーク面積を読み取り、次に掲げる式によって相対感度係数（以下「RRF」という）を算出する^{*19)}。

$$RRF = \frac{\text{クリーンアップスパイクのピーク面積}}{\text{シリンジスパイクの面積}}$$

b. 試料の測定

PCB 標準溶液と同量の測定溶液をガスクロマトグラフに注入して測定し、得られたクロマトグラムのピークに、その位置に相当する PCB 標準溶液で得られたクロマトグラムの位置のピークのピーク番号と同一のピーク番号を付ける。次に、そのピークごとに、ピーク面積（ A_2 ）を読み取り、その面積と当該ピークのピーク番号にかかる K 値から次の式によって CB_2 （%）を算出する^{*19)}。

$$CB_2 (\%) = K \times A_2$$

測定溶液の PCB 濃度が電子捕獲型検出器の感度の直線性が得られる範囲を超える場合は、測定溶液をヘキサンで希釈し、直線性が得られる範囲内で再測定する。

c. 回収率の確認

次に掲げる式によってクリーンアップスパイクの回収率を算出する^{*19)}。

$$\text{クリーンアップスパイクの回収率 (\%)} = \frac{\text{クリーンアップスパイクのピーク面積}}{\text{シリンジスパイクのピーク面積}} \times \frac{100}{\text{RRF}}$$

クリーンアップスパイクの回収率が70%以上120%以下の範囲から外れるときは再度前処理を行い、再測定する。

3) 定量法

a. PCB 濃度の定量

次に掲げる式によって試料の PCB 濃度 (mg/kg) を求める^{*20)}。

$$\begin{aligned} \text{PCB 濃度 (mg/kg)} = & \text{PCB 標準溶液の濃度 } (\mu \text{ g/mL}) \times \frac{\sum \text{CB}_2(\%)}{\sum \text{CB}_0(\%)} \\ & \times \frac{\text{測定溶液の量 (mL)}}{\text{試料量 (g)}} \times \frac{100}{\text{クリーンアップスパイクの回収率 (\%)}} \end{aligned}$$

(6) 留意事項

測定操作において留意すべき点を以下に示す。

※1 以下に PCB 溶出範囲の確認方法の例を示す。

- i. (3).1).f で示す分離カラムを作成し、PCB 標準液 0.5mL を正確に量り取り分離カラム上端に添加する。このとき用いる PCB 標準溶液は、GC 測定に用いるものに比べ高い濃度 (概ね 10 μ g/mL) とすることで、溶出する PCB 化合物の確認がとりやすくなる。
- ii. カラム上端にヘキサンを 1mL 添加し、その溶出液を試験管に回収する。
- iii. 使用するシリカゲルにより変化するが、PCB 化合物が全て溶出する為には 25mL 程度が必要である。十分に PCB 化合物が溶出する量として 25 から 30mL まで ii. の工程を繰り返す。
- iv. iii. で回収した各溶出液を GC/ECD により測定し、PCB の溶出範囲を確認する。
- v. 既に PCB の溶出範囲が判明しているシリカゲルでの製造ロットや調製毎の溶出確認方法としては、i. の工程後、絶縁油溶出画分 (前捨て) ・ PCB 溶出画分 ・ PCB 溶出後の画分の 3 分画を回収し、GC/ECD で測定することで、簡易的に PCB 化合物の確認が出来る。この際、PCB 溶出画分以外に PCB が検出された場合には、i. から iv. の工程により確認を行う。

尚、グループによって添加方法や溶出方法が異なるため、分画条件の確認も油種あるいはグループごとに行う必要がある。

一方、絶縁油の溶出範囲の確認方法は、以上の操作において PCB に換えて絶縁油を添加し、得られた溶液を GC/FID により確認することが出来る。

- ※2 硝酸銀シリカゲル/シリカゲル積層カラムは、自製しても良い。尚、商品化された製品もある。
- ※3 分離管の形状により PCB と絶縁油の分離挙動が異なる。分離管内径が細いほど分離（理論段高さ、HETP）は良くなる（小さくなる）が、移動相であるヘキサンが大気圧下で流れにくくなる。
- ※4 内標準物質溶液を混合した PCB 標準溶液を調製して測定しても良い。
- ※5 クリーンアップスパイクは、工業製品において主要な異性体を避け、定量値に影響を与えないピークであり、前処理操作において PCB 工業製品と挙動の似た異性体を選択することが重要である。濃度及び添加量は、分析装置の感度等から判断し決定すれば良い。
- ※6 シリンジスパイクに用いる異性体は、クリーンアップスパイクに用いていない異性体から選択する。濃度及び添加量は、分析装置の感度等から判断し決定すれば良い。
- ※7 キャリアーガス流量を電子制御により調節する機器においては、電子制御部で各機器に固有の誤差を持つ場合がある。通常スプリット分析を行う上で影響は極少ないものであっても、この分析条件でのキャリアーガスの総流量は 8.88mL と非常に小さく、各機器固有の誤差の影響が相対的に大きくなり、スプリット比が設定値と実際の比が異なる場合がある。結果として、同じ機種を使用した場合でも見かけ感度が異なる場合がある。使用する機器により必要な感度性能が得られるよう、スプリット比を調節することが必要となる場合がある。
- ※8 カラム槽の初期温度を下げスプリットレス注入法とすることで、ほぼ同じ測定時間での分析も可能である。この場合、試料注入量は $1\mu\text{L}$ 又は $2\mu\text{L}$ とし、試料注入から 1min 後にスプリット出口を解放する。その際のスプリット比は 1:15 程度とする。この場合のカラムに導入される試験液の量はスプリット注入法での分析条件に対して 2 倍又は 4 倍となる。
- ※9 スプリット注入法とスプリット注入法では、使用するインサート（ライナ）の形状が異なる。注入方法に合ったインサート（ライナ）の選択が必要である。
- ※10 これと異なる濃度を用いても良い。但し、クリーンアップスパイクとシリンジスパイクの最終溶液中の濃度が同じになるようにする。
- ※11 1wt%SO₃ 添加濃硫酸 5mL 添加し、全体が良く混ざる程度（手で 20 から 30 回程度）振とうする。その後の静置時間は 10min 程度、長くとも 15min 程度の内、抽出溶媒を添加し振とうを行う。これは、低塩素化物がスルホン化により試料溶液から失われることを防ぐためである。
- ※12 抽出溶媒は、ヘキサンに 5 容量%程度のジクロロメタンを加えることにより、抽出効率（回収率）が向上する。
- ※13 窒素吹き付け濃縮の際、試料溶液への加熱は行わないほうが回収率の観点か

ら望ましい。

※1 4 油種判別方法の一例

硫酸処理時での色合い及び抽出溶媒を添加、振り混ぜた後の色合いにより、油種を判別できる場合がある。各油種での色合いの特徴は下記のとおりであり、例を写真 2.1.1.1 及び写真 2.1.1.2 に示す。尚、油の酸化状態等により、このような判定ができないこともあるので、注意する必要がある。クリーンアップが充分機能せず、ガスクロマトグラフ分析での PCB の性状パターンが乱れ等が生じた場合には、平成 4 年厚生省告示第 192 号別表第 2 で定める方法によるものとする。

- ・1 種及び 7 種：オレンジ色から濃い褐色に呈色（写真は新油での例）する。硫酸表面に油膜が見られる。
- ・2 種：硫酸層が白濁。振とうにより非常に泡立つ（アルキルベンゼンスルホン酸の影響）。油層（アルキルベンゼンスルホン酸層）が生じる。
- ・3 種：他の油種に比べ非常に粘性が強い特徴がある。硫酸処理後に抽出溶媒を加え振とうすると、全体が乳化した状態になる。しばらく静置すると、溶媒層-エマルジョン層-硫酸層の 3 層に分離する。
- ・4 種：硫酸添加後は明るい黄色からやや緑掛かった黄色。その後数分で深い赤紫色に呈色。
- ・5 種：鮮やかな黄色からオレンジ色。試験管表面にも着色が付く点が 1 種及び 7 種と大きく異なる。
- ・6 種：硫酸層が透明からやや白濁。
- ・DOP：硫酸添加直後は透明から白濁。時間と共に薄い黄色に呈色。2 種に比べ泡立ちは少ない。



1 種 2 種 3 種 4 種 5 種 6 種 7 種 DOP

写真 2.1.1.1 硫酸処理時での各油種での色合い



1 種 2 種 3 種 4 種 5 種 6 種 7 種 DOP

写真 2.1.1.2 抽出溶媒添加・振とう後での各油種での色合いの例

ただし、絶縁油が経時的に変化している場合などは、判別できないことも想定される。

※1 5 GC 測定の際、妨害ピークがみられ、又、その後の GC 測定時にも残存する場

合がある。GC 測定検液に少量 (1mL 程度) の濃硫酸を加え振とうすることにより、これらの影響を抑えることが出来る。特に 3 種 (ポリブテン) では、前処理工程に硫酸処理がないため、当該処理を行うことが望ましい。ポリブテンが除去されずに GC に注入されると、連続測定に支障をきたす場合がある。

※16 2, 4, 5 種では試料溶液 (1mL) を加えた後、ヘキサン 1mL で 2 回洗い込みを行う (ここまでのカラムへの添加量の合計は 3mL)。その後、前捨て画分の残りの溶媒を加える。

※17 測定に使用する試料溶液は、試料重量に対し 10 から 20 倍容となるようにヘキサンで希釈調製する。ここでは試料 1g に対し試料溶液が 20mL とする場合を例とした。又、その他油種についても、天秤精度により 0.1g の秤量が困難である場合などでは、同様の希釈溶液を作成し、試料 0.1g 相当の試料溶液を分取、窒素吹き付け濃縮によりヘキサンを留去することで必要試料量を量り取ることが出来る。

※18 3 種 (ポリブテン) では、前捨て分の溶媒を展開した後に添加する PCB 画分の溶媒は、5vol% のジクロロメタンを加えたヘキサン (5vol% ジクロロメタン含有ヘキサン) を用いる。PCB 画分をヘキサンのみで溶出した場合、充填材に残存するポリブテンポリマー分子に PCB が保持され、回収率が著しく低下する。

※19 K 値、CB₂(%)、回収率の算出に、高さを使用しても良い。尚、PCB 濃度が高い試料を分析した時は、その中に含まれるクリーンアップスパイク (#189) が加えて測定されているため、回収率が高く求められる。このような時は分析試料を希釈して測定する必要がある。

※20 用いた PCB 内標準物質を ΣCB_0 (%) 及び ΣCB_2 (%) の計算から除く。

付属書 2.1.1 測定条件の例

a. 測定条件

使用したカラムの液相は、5%ジフェニルーメチルシリコンである。

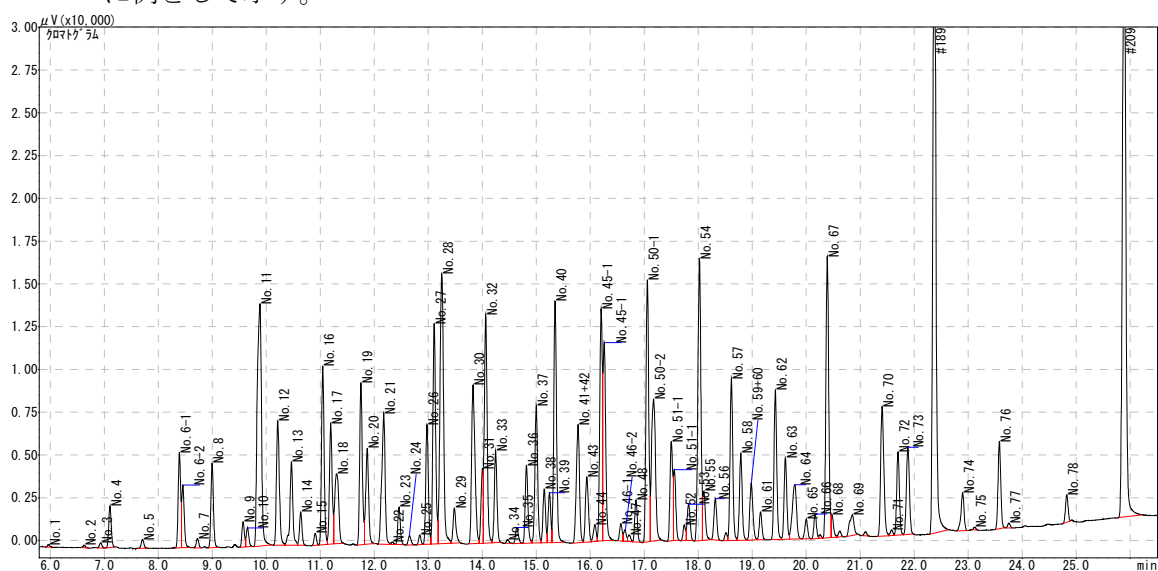
装置	GC-2010、スプリット注入法(スプリット比 1:3)
カラム	Rtx-5MS (0.32mm×30m×0.25 μm)
試料注入量	2 μL
カラム槽温度	150°C (1min) →5°C/min→270°C
気化室温度	250°C
検出器温度	320°C
キャリアーガス	He、2.22mL/min (42cm/min、線速度一定)
メイクアップガス	N ₂ 、40mL/min

又、スプレットレス注入法でのカラム槽温度条件の例を以下に示す。

試料注入方法	スプリットレス注入法 (スプリット出口解放: 1min 後、スプリット比 1:15)
試料注入量	1 μL 又は 2 μL
カラム槽温度	100°C(1min)→30°C/min → 160 °C → 5°C/min → 5°C/min→270°C

b. 定性法

PCB 標準液(100ng/mL) 2 μL を GC/ECD へ注入した時のクロマトグラムを付図 2.1.1.1 に例として示す。



付図 2.1.1.1 キャピラリーカラム((内径 0.32mm のもの)でのクロマトグラムの例

(PCB 標準液濃度: 100ng/mL、#189 及び #209 添加量: 10ng/mL)

2.1.2 加熱多層シリカゲルカラム/アルミナカラム/キャピラリーガスクロマトグラフ/電子捕獲型検出器 (GC/ECD) 法

(1) 概要 (適用範囲)

ここに定める方法は、キャピラリーガスクロマトグラフ電子捕獲型検出器 (GC/ECD) を用いた、変圧器やコンデンサ等の重電機器に使用される電気絶縁油中のポリ塩素化ビフェニル (PCB) の前処理及び機器測定について適用する。

(2) 測定の概要

1) 測定の概要

一般に使用される絶縁油は主に鉱油を原料としている (JIS 1 種絶縁油)。主な成分はパラフィン、ナフテンといった鎖状又は環状の飽和炭化水素類や芳香族炭化水素等であり、PCB 測定においてこれら成分の除去に簡易で迅速な前処理方法として、試料を加熱固相カラム (多層シリカゲルカラム及びアルミナカラム) を使用しクリーンアップする。

測定は、キャピラリーGC/ECD を用いる。

2) 測定操作フロー

測定フローを図 2.1.2.1 に示す。尚、フロー図に記載された条件は一例である。

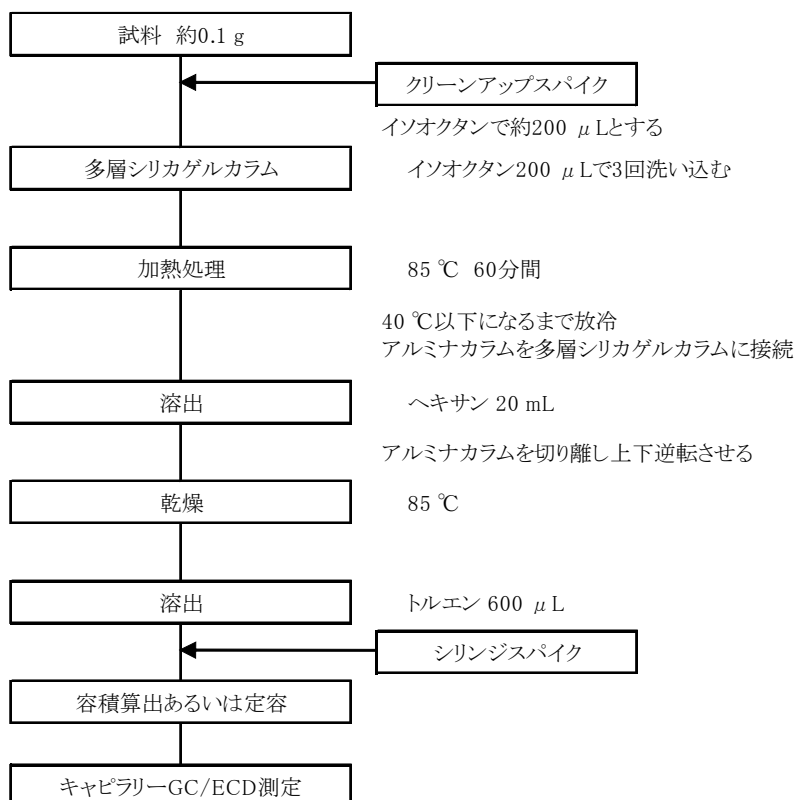


図 2.1.2.1 測定フロー

(3) 試薬、器具及び装置

1) 試薬

測定に使用する試薬は次による。これらの試薬は、空試験などによって測定に支障のないことを確認しておく。又、記述以外の試薬を使用する場合も同等の試験を行い、測定に支障のないことを確認しておく。

- a. **ヘキサン** JIS K8825 に規定するもの、又は同等のもの。
- b. **トルエン** JIS K8680 に規定するもの、又は同等のもの。
- c. **イソオクタン** JIS K9703 に規定するもの。
- d. **多層シリカゲルカラム及びアルミナカラム** 44%硫酸被覆シリカゲル 3.8g、15%硝酸銀 15%硝酸銅被覆シリカゲル 1.4g を充填したカラム、並びに、活性化を施したアルミナ 0.6g を充填したカラム^{※1)}。図 2.1.2.2 にカラムの一例を示す。
- e. **PCB 標準溶液** KC-300、KC-400、KC-500 及び KC-600 を重量比 1:1:1:1 の割合で混合したものを、200ng/mL^{※2)} のトルエン溶液としたもの。
- f. **クリーンアップスパイク溶液** 3,3',4,4',5,5'-H6CB(IUPAC No. 169)、2,3,3',4,4',5,5'-H7CB(IUPAC No. 189)、2,3,3',4,4',5,5',6-08CB(IUPAC No. 205) のいずれかの 100ng/mL^{※3)} のイソオクタン溶液及び 10ng/mL のトルエン溶液。
- g. **シリンジスパイク溶液** 2,2',3,3',4,4',5,5',6,6'-D10CB(IUPAC No. 209) の 100^{※3)} 及び 10ng/mL のトルエン溶液。

多層シリカゲルカラム
(内径φ13mm, 長さ7cm)

アルミナカラム
(内径φ4.6mm, 長さ10cm)

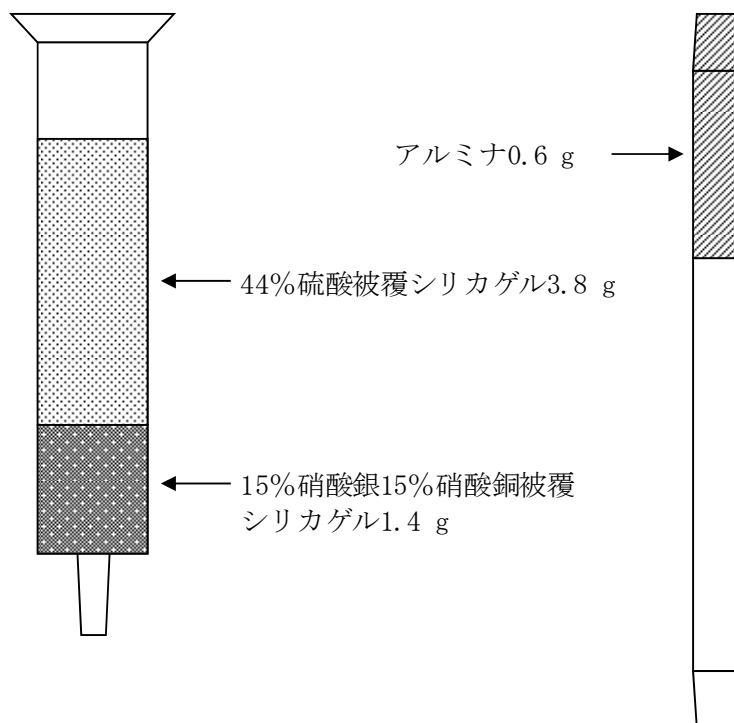


図 2.1.2.2 多層シリカゲルカラム及びアルミナカラムの例

2) 器具

測定に使用する器具は次による。これらの器具は、空試験などによって測定に支障のないことを確認しておく。

- a. **試験管** 試料の秤量に使用する。容量は約 1.5mL 程度が好ましい。
- b. **ガラスバイアル** 口内径 6mm 以上で容量が約 2mL のもの。

3) 装置

測定に使用する装置は次による。尚、GC/ECD の満たすべき条件は、装置、測定条件によって異なる。

- a. **多層シリカゲルカラム加熱用ヒーター** 温度調節機能を備えたもので、多層シリカゲルカラムに充填した硫酸被覆シリカゲルの上層 3cm を目的温度で持続的に加熱できるもの。
- b. **アルミナカラム加熱用ヒーター** 温度調節機能を備えたもので、アルミナカラムに充填したアルミナを目的温度で持続的に加熱できるもの。
- c. **ガスクロマトグラフ-電子捕獲型検出器**
 - i. 試料導入部: スプリットレス方式で温度を 220°C 以上 300°C 以下にできるもの、又

- はクールオンカラム方式で温度を 100℃以上 300℃以下にできるもの。
- ii. カラム： 内径 0.10mm 以上 0.32mm 以下及び長さ 10m 以上のキャピラリーカラムで、図 1.2.2 の例と同等の分離性能をもつもので、使用する GC カラムは PCB 全 209 各化合物の溶出位置が実際の測定に採用する GC 条件において判明していなければならない。
 - iii. キャリヤーガス： 純度 99.999%以上のヘリウム、窒素又は水素を用いる。いずれも適切な線速度、流量に調節する。
 - iv. 付加ガス（メイクアップガス）： 純度 99.999%以上の窒素を用いる。
 - v. カラム温度： 60℃以上 320℃以下の間で温度を一定に保つことができ、1 分間に 20℃以上の昇温ができるもの。
 - vi. 検出器： 電子捕獲型検出器、PCB 標準溶液 0.05mg/mL が検出でき、検出器温度が 250 から 320℃の範囲で使用可能なもの。

(4) 前処理

1) 試料の調製

- a. 試料約 0.1g^{※4)}を試験管に秤量し、100ng/mL のクリーンアップスパイク溶液 20 μ L^{※3)}を添加した後、イソオクタンを加えて全量を約 200 μ L とする。

2) 加熱固相カラム前処理

- a. (4).1).a の操作で調製した溶液を多層シリカゲルカラムに移し入れ、試験管をイソオクタン 200 μ L で 3 回洗い込んだ後、イソオクタン 200 μ L にて多層シリカゲルカラムの内壁を洗浄する^{※5)}。
- b. 多層シリカゲルカラムに移し入れた溶液が展開している部分^{※6)}を多層シリカゲルカラム加熱用ヒーターで 85℃にて 60 分間^{※7)}加熱した後、多層シリカゲルカラムを 40℃以下になるまで放冷する。
- c. アルミナカラムを多層シリカゲルカラム下端に接続した後、ヘキサン 20mL^{※8)}を流下させる。
- d. アルミナカラムを多層シリカゲルカラムと切り離し、アルミナカラム加熱用ヒーターで 85℃^{※9)}に加熱しながら、清浄な空気もしくは窒素をアルミナカラムに吹き込み、アルミナカラムに残留しているヘキサンを乾燥する。
- e. 上下逆転させたアルミナカラムをアルミナカラム加熱用ヒーターで 85℃に加熱しながらトルエン 600 μ L^{※10)}を添加し、アルミナカラム下端にガラスバイアルを置いて、約 200 から 300 μ L の溶出液を得る。100ng/mL のシリンジスパイク溶液 20 μ L^{※3)}を添加してよく攪拌後、溶出液の重量を測定して、トルエンの密度から容量を算出したものを測定溶液とする^{※11)}。

(5) 機器測定

1) 測定条件

a. GC/ECD の設定

図 1. 2. 2 の例と同等の分離性能が得られ、各ピークの保持時間が適切な範囲にあり、総 PCB 濃度で 0. 15mg/kg 以下の検出下限値が満たされ、安定した応答が得られるように、GC/ECD を適切に設定する。又、あらかじめ電子捕獲型検出器の感度の直線性が得られる範囲を確認しておく。測定条件例を付表 2. 1. 2. 1 に、クロマトグラムを付図 2. 1. 2. 1 及び付図 2. 1. 2. 2 に示す。

b. 検量線の作成

i K 値の算出: PCB 標準溶液を測定し、得られたクロマトグラムのピークをもとにして番号 (以下、ピーク番号という) を付け、ピークごとに、ピーク高さ (H_1) を読み取り、その高さと当該ピークのピーク番号に対応する CB_0 (%) から次の式によって K 値を算出する^{※1 2)}。

$$K = \frac{CB_0(\%)}{H_1}$$

ii 相対感度係数の算出: 10 ng/mL のクリーンアップスパイク溶液及びシリンジスパイク溶液^{※1 3)} の同量を GC/ECD に注入して測定し、各内標準物質のピーク高さを読み取り、次に掲げる式によって相対感度係数 (以下「RRF」という) を算出する^{※1 2)}。

$$RRF = \frac{\text{クリーンアップスパイクのピーク高さ}}{\text{シリンジスパイクのピーク高さ}}$$

2) 試料の測定及び定性 (ピーク同定) 方法

a. 試料の測定

PCB 標準溶液と同量の測定溶液をガスクロマトグラフに注入して測定し、得られたクロマトグラムのピークに、その位置に相当する PCB 標準溶液で得られたクロマトグラムの位置のピークのピーク番号と同一のピーク番号を付ける。次に、そのピークごとに、ピーク高さ (H_2) を読み取り、その高さと当該ピークのピーク番号にかかる K 値から次の式によって CB_2 (%) を算出する^{※1 2)}。

$$CB_2(\%) = K \times H_2$$

測定溶液の PCB 濃度が電子捕獲型検出器の感度の直線性が得られる範囲を超える場合は、測定溶液をトルエンで希釈し、直線性が得られる範囲内で再測定する。

b. 回収率の確認

次に掲げる式によってクリーンアップスパイクの回収率を算出する^{※1 3)}。

$$\text{クリーンアップスパイクの回収率 (\%)} = \frac{\text{クリーンアップスパイクのピーク高さ}}{\text{シリンジスパイクのピーク高さ}} \times \frac{100}{\text{RRF}}$$

クリーンアップスパイクの回収率が 70%以上 120%以下の範囲から外れるときは再度前処理を行い、再測定する^{※14)}。

3) 定量法

a. PCB 濃度の定量

次に掲げる式によって試料の PCB 濃度 (mg/kg) を求める^{※15)}。

$$\begin{aligned} \text{PCB 濃度 (mg/kg)} &= \text{PCB 標準溶液の濃度 } (\mu\text{g/mL}) \times \frac{\Sigma \text{CB}_2(\%)}{\Sigma \text{CB}_0(\%)} \\ &\times \frac{\text{測定溶液の量 (mL)}}{\text{試料量 (g)}} \times \frac{100}{\text{クリーンアップスパイクの回収率 (\%)}} \end{aligned}$$

(6) 留意事項

測定操作において留意すべき点を以下に示す。

- ※1 これらのカラムは実験室内で自製しても良い。自製した場合は、十分な精製効果及び回収率が得られることを確認しておくこと。尚、商品化された製品もあり、又カラムを装着して試料の前処理を行う装置もあるので、便利に用いることができる。これらのカラムは、洗浄された状態で販売されているカラムを用いる時は、特に使用前の洗浄は行わなく済む。
- ※2 試料濃度が 0.5mg/kg より高いか低いかを判定することを目的にしている分析法において、一点検量線法で定量する場合の標準濃度の設定は、0.5mg/kg の試料を前処理した検液程度とする。試料中 PCB 濃度が 0.5mg/kg、供試量 0.1g、測定溶液量 250 μ L であった場合、測定溶液の PCB 濃度は 200ng/mL となる。
- ※3 これと異なる濃度を用いても良い。但し、添加量は 50 μ L 以下とし、クリーンアップスパイクとシリンジスパイクの添加量が同じになるようにする。
- ※4 試料量は減量しても良いが、秤量に用いる天秤の精度と PCB の測定における感度が確保されることを確認すること。
- ※5 多層シリカゲルカラムに移し入れる溶液及び洗浄液量は合計でほぼ 1mL とする。この液量以下あるいは以上であると精製効率が低下することがある。
- ※6 硫酸被覆シリカゲルの上層約 3cm に相当する。この部分以外を加熱すると精製効率の低下及び PCB の回収率低下が発生することがある。尚、加熱範囲にあるカラム中心部分の温度が設定温度になるように、予め加熱条件を検討しておくこと。
- ※7 加熱温度は 60 から 90 $^{\circ}$ C の範囲で、加熱時間は任意の範囲で変化させても良いが、85 $^{\circ}$ C にて 60 分間加熱する場合と同等の精製効果が得られること。
- ※8 ヘキサンの液量を変化させても良いが、PCB の回収率が確保されることを確認す

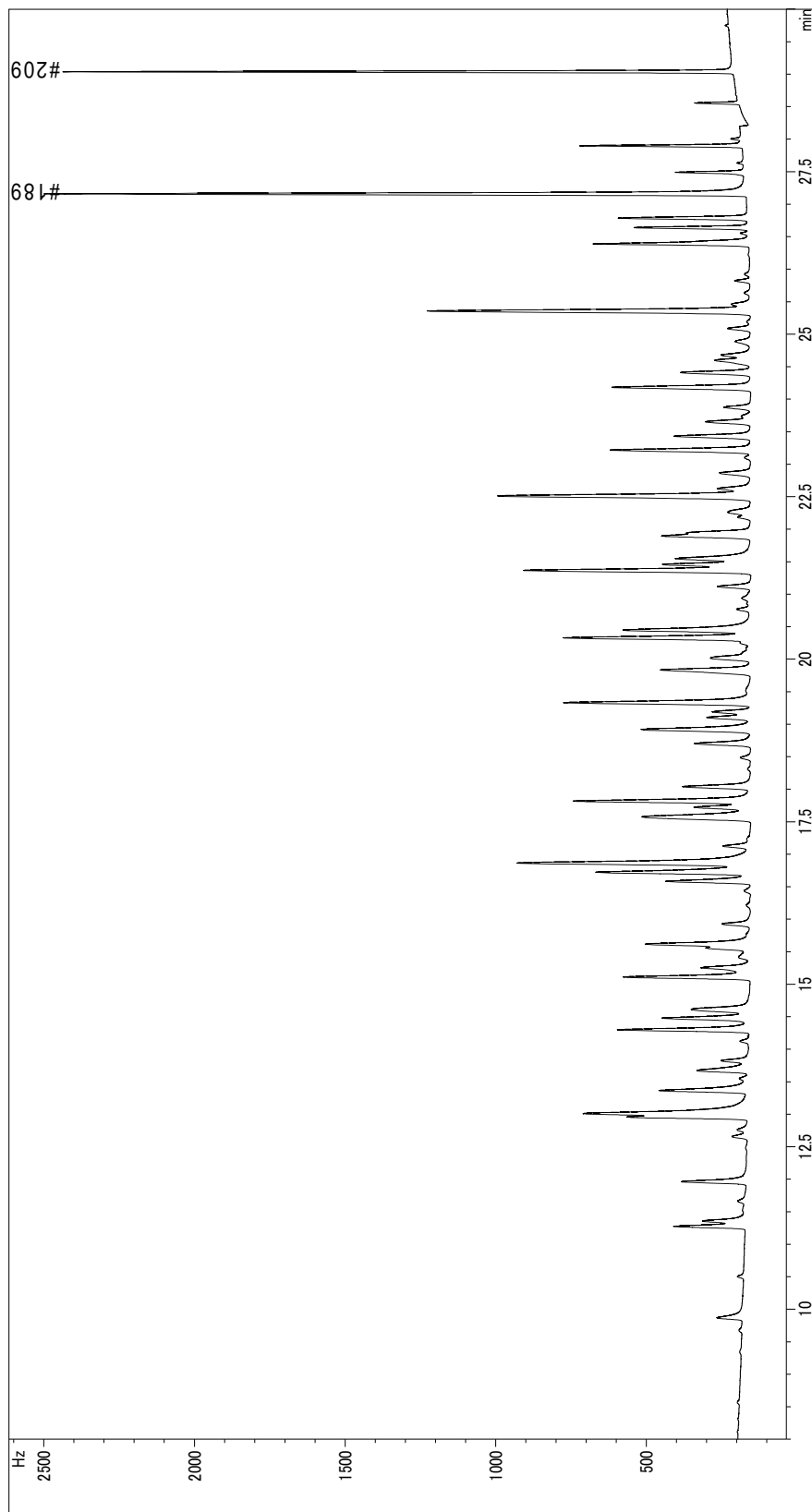
ること。

- ※9 加熱温度を変化させても良いが、PCBの回収率が確保されることを確認すること。
- ※10 トルエンの液量を変化させても良いが、PCBの回収率と測定における感度が確保されることを確認すること。
- ※11 溶出液を濃縮あるいは希釈により定容しても良い。
- ※12 K値、相対感度係数、 $CB_2(\%)$ 、回収率の算出に、面積値を使用しても良い。尚、PCB濃度が高い試料を分析した時は、その中に含まれるクリーンアップスパイク(#189)が加えて測定されているため、回収率が高く求められる。このような時は分析試料を希釈して測定する必要がある。
- ※13 クリーンアップスパイクとシリンジスパイクを混合した標準溶液を調製して測定しても良い。
- ※14 PCB濃度が高い試料を分析した時は、その中に含まれるクリーンアップスパイク(#189)が加えて測定されているため、回収率が高く求められる。このような時は分析試料を希釈して測定する必要がある。
- ※15 用いたPCB内標準物質を $\Sigma CB_0(\%)$ 及び $\Sigma CB_2(\%)$ の計算から除く。

附属書 2.1.2 測定条件の例

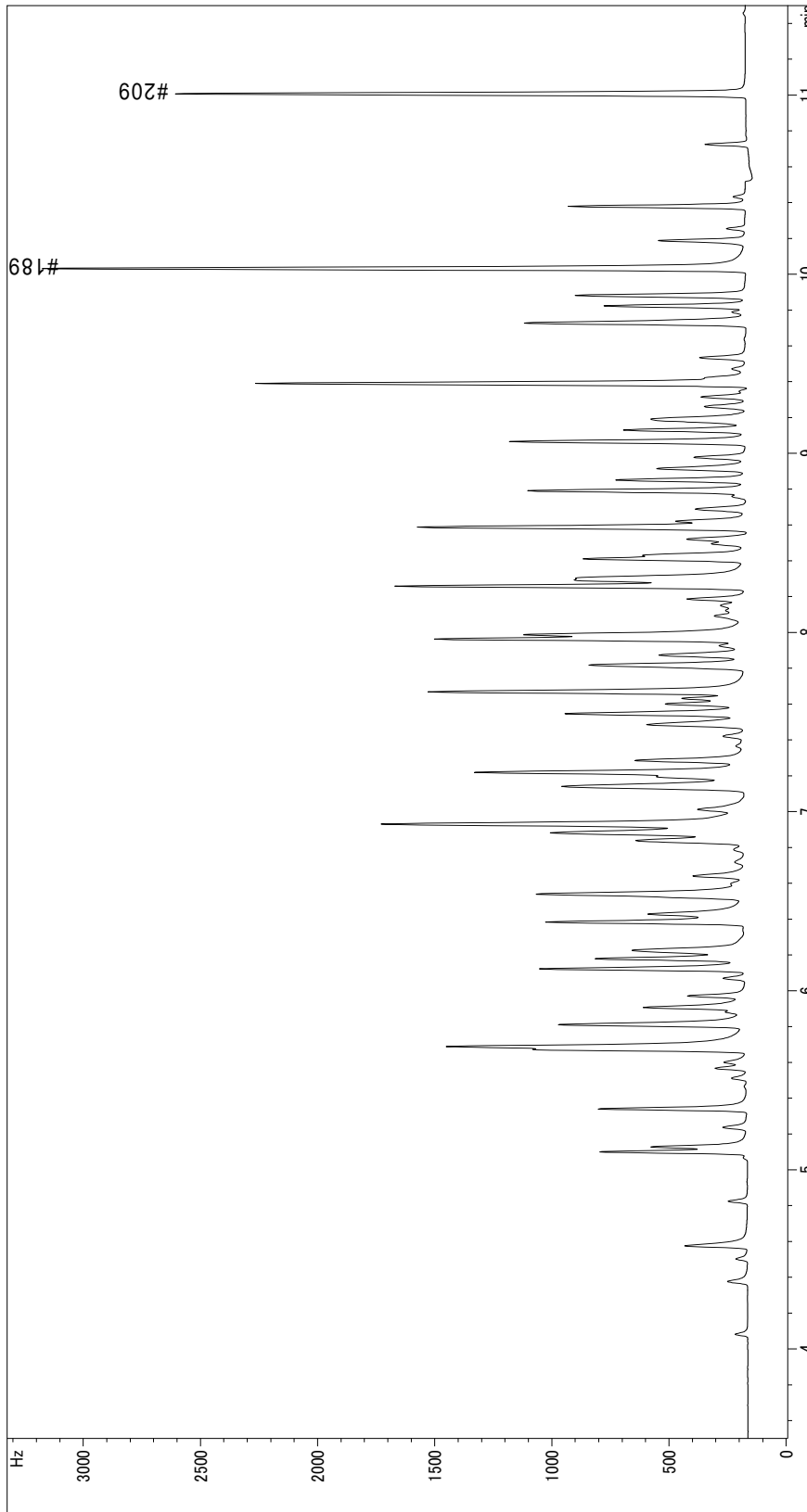
付表 2.1.2.1 測定条件例

項目	測定条件例1	測定条件例2
カラム	DB-5 30 m × 0.25 mm I.D. df = 0.25 μm	DB-5 20 m × 0.18 mm I.D. df = 0.18 μm
カラム温度	100 °C(1 min) ~30 °C/min ~160 °C ~4 °C/min ~250 °C ~20 °C/min ~300 °C	100 °C(1 min) ~50 °C/min ~160 °C ~10 °C/min ~180 °C ~15 °C/min ~260 °C ~25 °C/min ~290 °C
キャリアーガス	ヘリウム	水素
初期注入口圧力	132 kPa(36 cm/s, 1.47 ml/min) コンスタントフロー	142 kPa(66 cm/s, 1.4 ml/min) コンスタントフロー
注入口温度	250 °C	250 °C
注入方法	スプリットレス(2 min)	スプリットレス(1 min)
注入量	2 μl	2 μl
検出器温度	320 °C	320 °C
メイクアップガス	窒素(30 ml/min)	窒素(30 ml/min)



付図 2.1.2.1 測定条件例 1 によるクロマトグラム の例

PCB 標準溶液(200 ng/mL) + #189(10 ng/mL) + #209(10 ng/mL), 注入量: 2 μ L



付図 2.1.2.2 測定条件例 2 によるクロマトグラムの例
 PCB 標準溶液(200 ng/mL) + #189(10 ng/mL) + #209(10 ng/mL), 注入量: 2 μ L

2.2 ガスクロマトグラフ/高分解能質量分析計(GC/HRMS)を適用した簡易定量法

2.2.1 溶媒希釈/ガスクロマトグラフ/高分解能質量分析(GC/HRMS)法

(1) 概要 (適用範囲)

ここに定める方法は、ガスクロマトグラフ (GC) のカラムにキャピラリーカラムを用い、高分解能二重収束型質量分析計 (HRMS) を用いて、絶縁油中における PCB 工業製品の主要成分 (同族体) を溶媒で希釈して測定するもので、二、三、四、五、六及び七塩素化 PCB を測定対象とする^{*1)}。絶縁油全般に適用する。

(2) 測定の概要

1) 測定の概要

試料を揮発性溶媒で約 1000 倍 (W/V) に希釈し、分解能 8,000 から 10,000 以上で高分解能質量分析計の高選択性を利用し測定する方法^{*2)} である。

2) 測定操作フロー

測定フローを図 2.2.1.1 に示す。

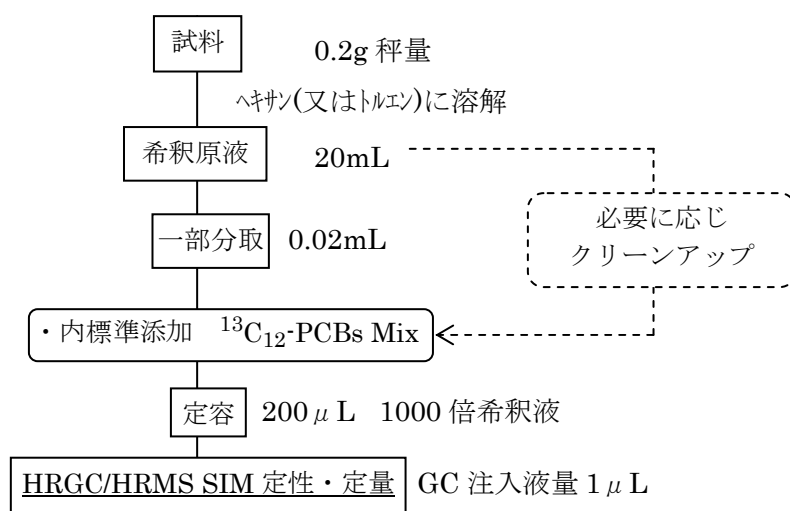


図 2.2.1.1 本測定法の基本フロー図

(3) 試薬、器具及び装置

1) 試薬

測定に使用する試薬は次による。これらの試薬は、空試験などによって測定に支障のないことを確認しておく。また、記述以外の試薬を使用する場合も同等の試験を行い、測定に支障のないことを確認しておく。

- トルエン JIS K 8680 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
- 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

- d. **硫酸ナトリウム** JIS K 8951 に規定するもの、又は同等の品質のもの
- e. **ノナン** 測定に支障のない品質のもの
- f. **硫酸** JIS K 8574 に規定するもの、又は同等の品質のもの
- g. **アルミナ** カラムクロマトグラフ用塩基性アルミナ（塩基性、活性度 I）
- h. **シリカゲル** カラムクロマトグラフ用シリカゲル（粒径 0.063-0.2mm）をメタノール洗浄後、乾燥させたもの
- i. **PCB 標準物質** 塩素化合物のうち少なくとも 2,4'-D2CB(IUPAC No. 8)、2,4,4'-T3CB(IUPAC No. 28)、2,2',5,5'-T4CB(IUPAC No. 52)、2,2',4,5,5'-P5CB(IUPAC No. 101)、2,3',4,4',5-P5CB(IUPAC No. 118)、2,2',3,4,4',5'-H6CB(IUPAC No. 138)、2,2',4,4',5,5'-H6CB(IUPAC No. 153)、2,2',3,4,4',5,5'-H7CB(IUPAC No. 180)の PCB 標準物質を含むこと。
- j. **内標準物質** すべての炭素原子が ^{13}C で標識された PCB で、塩素化合物のうち少なくとも 2,4'-D2CB(IUPAC No. 8)、2,4,4'-T3CB(IUPAC No. 28)、2,2',5,5'-T4CB(IUPAC No. 52)、2,2',4,5,5'-P5CB(IUPAC No. 101)、2,3',4,4',5-P5CB(IUPAC No. 118)、2,2',3,4,4',5'-H6CB(IUPAC No. 138)、2,2',4,4',5,5'-H6CB(IUPAC No. 153)、2,2',3,4,4',5,5'-H7CB(IUPAC No. 180)の PCB 標準物質を含むこと。
- k. **PCB 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を混合して、GC/HRMS の検出下限の 3 倍程度の低濃度から 5 段階程度をデカンもしくはノナンで希釈して調製する。もしくは、市販の調製済み検量線溶液を使用する。
- l. **質量校正標準物質** ペルフルオロケロセン（P F K）等の質量分析用校正標準物質を使用する

2) 器具

測定に使用する器具は次による。これらの器具は、空試験などによって測定に支障のないことを確認しておく。

- a. **ネジ口瓶** 20mL を秤量できるもの（秤線が記載されているもの。再使用禁止・使い捨てで行うこと）。
- b. **ネジ口試験管** 容量が 10mL のもの。テフロンパッキング製のライナーであること。
- c. **マイクロピペット** 0.02mL を採取できるもの。0.25mL を採取できるもの。
- d. **マイクロシリンジ** 0.25mL を採取できるもの。
- e. **クロマト管** 内径 10mm のもの。

3) 装置

a. ガスクロマトグラフ

- i 試料導入部： スプリットレス方式、又はオンカラム注入方式で、250 から 280°C で使用可能なもの

- ii キャピラリーカラム： PCB 工業製品において主要な異性体の溶出順位が判明しているもの。使用する GC カラムは PCB 全 209 各化合物の溶出位置が実際の測定に採用する GC 条件において判明していなければならない。
- iii キャリアーガス： 純度 99.999%以上のヘリウム
- iv カラム温度： 50℃以上 300℃以下の間で温度を一定に保つ事ができるもの

b. 高分解能質量分析計

- i 二重収束型で、10,000 以上の分解能で測定できるものであって、ロックマス方式による選択イオンモニタリング (SIM) 法で測定できるもの
- ii イオン源温度を 250℃以上に保つことができ、電子イオン化方式 (EI) が可能であるもの
- iii 検出されるピークにおいて、十分なデータ採取が可能なサイクルタイムが確保できること
- iv 標準物質を分析した際の感度が、2,2',5,5'-T4CB(IUPAC No. 52) 注入量 10fg あたり S/N 比が 10 以上の感度を有していること^{※3)}。
- v 試料マトリックスを含む検液において、求められる検出下限である 0.15mg/kg が検出できる感度を有していること

(4) 前処理

1) 試料の調製

- a. 20mL ネジ口瓶にマイクロピペットを用いて、試料 0.25mL (重量にすると約 0.2g) を秤量する。
- b. 試料をはかり取った 20mL ネジ口瓶にトルエンを 2 から 3mL 加えて馴染ませた後、ヘキサン (又はトルエン) を加えて秤線に合わせて 20mL に定容する。これを試料の希釈原液とし、重量を記録する
- c. 試料採取時に、試料種類が特定できる場合は、(4).2). 記載の精製方法を実施しても良い。
- d. 0.3mL バイアル瓶に内標準物質 (付表 2.2.1.3 に例示) 0.25ng (一部異性体は 0.5ng) 相当程度を添加する。これに、マイクロピペットを用いて、上記希釈液を 20 μ L 分取する。これに溶媒を添加し最終液量を 200 μ L として測定溶液とする。

2) 追加精製操作 (必要に応じて)

希釈のみでの分析で測定困難な場合がある (図 2.2.1.2)。その際には、告示 192 号による分析を行うか、硫酸処理又は硫酸シリカゲルクロマトグラフィー、シリカゲルカラムクロマトグラフィー、アルミナカラムクロマトグラフィー、DMSO 分配など他の分析法で用いられているクリーンアップ法を実施することにより改善する。

追加精製実施が必要な場合として次のようなケースがある。

- ① 試料マトリックスの影響により、ピーク形状が正常ではない時（ブロード化、テーリング等）
- ② 試料マトリックスの影響によりロックマスの大きな落ち込み(30%以上)が見られ、その落ち込みが内標準物質及び検出ピークに影響を与えており、かつ影響を受けた同族体が分析試料の PCB 組成において主要な（総量で約 10%以上の存在比を占める同族体）場合

例として硫酸シリカゲルクロマトグラフィーの精製操作を示す。

a. 硫酸シリカゲルカラムクロマトグラフィーによる精製の例

- i. (4).1)の希釈原液を 0.2mL マイクロピペットで試験管に分取し、PCB 内標準物質 0.25ng(一部異性体は 0.5ng)相当程度を、マイクロシリンジを用いて 0.25mL 添加する。
- ii. クロマトグラフ管（上から無水硫酸ナトリウム 0.5 g、シリカゲル 0.5g、44%硫酸シリカゲル 1g、シリカゲル 0.5g、44%硫酸シリカゲル 1g、シリカゲル 0.5g、44%硫酸シリカゲル 1g、シリカゲル 0.5g、無水硫酸ナトリウム 0.5 g の順に乾式充填し、事前にヘキサン 10mL で予備洗浄済みのもの）にのせ、ヘキサン 10mL 流速 2.5mL/分程度で溶出する。溶出液を濃縮する。
- iii. 上記に最終溶媒であるトルエンもしくはノナンを添加し、200 μ L 定容とし測定溶液とする。

(5) 機器測定

1) 測定条件

測定する装置は、あらかじめ下記の条件を満たすことを確認しておく。

- a. 各標準品を分析した際に直線性を確認できる事（平成4年厚生省告示第192号に準拠する）。
- b. グルーピングの切り替えが適切で、主要なピークの欠落がない事
- c. 試料マトリックスを含む検液において、要求された検出下限である0.15 mg/kgが十分検出できる感度を有する事

2) 定性法

PCB 化合物の同定に当たっては、209 異性体の混合標準品や KC 製品の標準溶液で溶出範囲及び相対溶出時間を確認し、PCB 工業製品で異性体パターンを予め確認しておく。分析毎の標準品と試料検出ピークにおいての保持時間の変動が 2%以内であること、内標準物質との相対保持比との変動が 2%以内であることを目安に定性を行う。また、質量分析計においては、測定対象より高塩素体のフラグメントピークを検出することがあるので、分解能の保持とピークのアサインに注意が必要である。

(フラグメントピークの一例)

- HpCB のフラグメントイオン (M-2Cl) が、PeCB に影響
- HpCB のフラグメントイオン (M-Cl) が、HxCB に影響

3) 定量法 (1)

PCB検量線作成用標準液をGC/HRMSに注入し、得られたクロマトグラムから、PCB化合物の種類ごとに、次に掲げる式によって相対感度係数(以下「RRF」という)を算出する。塩素数ごとの同族体濃度は、それぞれの標準物質のクロマトグラムから算出されたRRFの平均値を用い算出する。

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

- A_s PCB標準物質のクロマトグラムのピーク面積
- C_{is} PCB標準溶液中のPCB内標準物質の濃度
- A_{is} PCB内標準物質のクロマトグラムのピーク面積
- C_s PCB標準溶液中のPCB標準物質の濃度

(4)の操作で得られた測定溶液を高分離能ガスクロマトグラフに注入し、得られたクロマトグラムから、PCB化合物の種類ごとに、次に掲げる式によって試料中の濃度を算出する。定量に用いる PCB 内標準物質のピーク面積は、同族体ごとで複数のピークがある場合、平均したピーク面積値で定量操作を行う。

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

- C 当該塩素化合物の濃度 (mg/kg)
- A_s 当該塩素化合物のクロマトグラムのピーク面積
- I_s 試料に添加したPCB内標準物質の量 (μ g)
- A_{is} 当該塩素化合物に対応するPCB内標準物質のクロマトグラムのピーク面積
- W 試料量 (g)

絶縁油中のPCB濃度は、得られた塩素化合物の濃度の総和とする。

また、絶縁油中のPCB濃度の算出に当たっては、同様の試験操作を行った空試験の結果が試料の測定値に影響しないレベルであることを確認すること。

また、下記のような状況が観察された場合は、再分析等を行い改善した後に定量操作を行う。

- ロックマスが試料マトリックスの影響により、落ち込みや傾きが大きく (30%以上の変動) 見られ、それが PCB の主要な成分に影響すると判断される場合。
- 試料マトリックスの影響などにより、評価すべき濃度 (0.15mg/kgm) を達成できていない場合
- 回収率の確認 クリーンアップスパイクの回収率が、測定対象成分の二塩化ビフェ

ニルから七塩化ビフェニルにおいて 50%以上 120%以下の評価基準から逸脱する場合

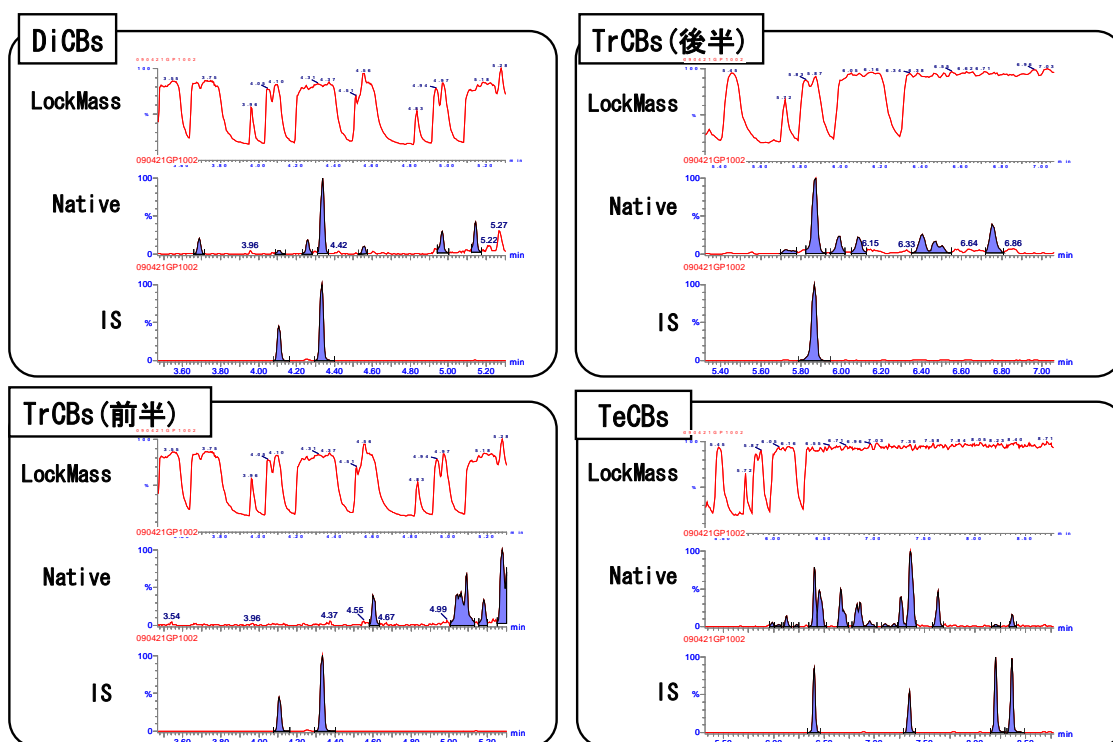


図 2.2.1.2 2 種絶縁油における追加精製を必要とする分析クロマトの例

4) 定量法 (2)

本法では、簡易定量法として 13 異性体を測定して、PCB 量に換算する方法も採用することができる。この計算法については後述の「2.5 PCB の一部の化合物濃度から全 PCB 濃度を計算する簡易定量法」を参照すること。

(6) 留意事項

測定操作において留意すべき点を以下に示す。

- ※1 今回の分析対象となる絶縁油においては、ほとんど存在しないとされるが同族体検出パターンで KC-600 と見られる試料については、八塩素体についても定量操作を行う必要がある。
- ※2 試料マトリックスの影響によりピーク形状が悪く、定量値に影響があると判断される場合は、硫酸シリカゲルクロマトグラフィーによる追加精製を行う場合がある。
- ※3 測定装置の感度が不足する場合は、希釈倍率及び GCMS への注入液量を測定に影響の無い範囲で調整を行うことが可能である。

(装置条件)

GC 部 操作条件

分離カラム 5%ジフェニルメチルシリコン 15m×0.25mm(id), 0.10μm
カラム温度 150°C————→ 250°C
(1min) (10°C/min)

MS 部 操作条件

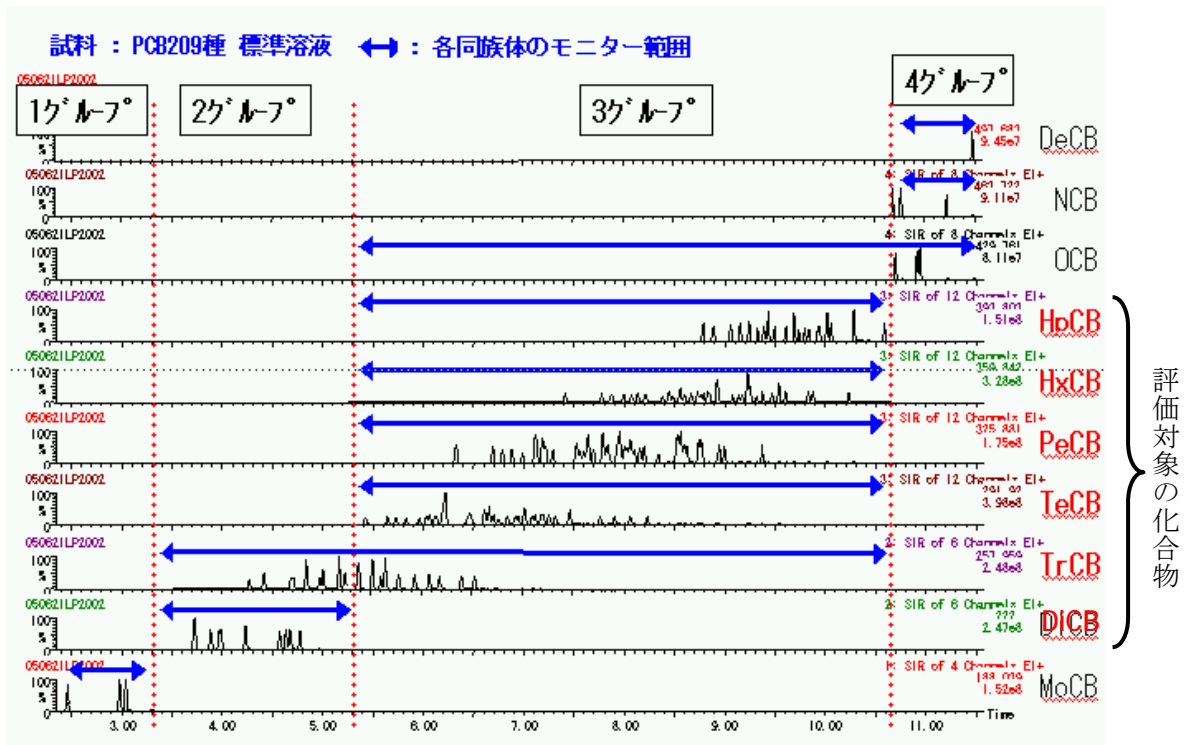
イオン化方法 EI
イオン化電圧 40V
イオン化電流 500μA
加速電圧 8kV
インターフェース温度 300°C
イオン源温度 300°C
分解能 10,000
設定質量数 付表 2.2.1.1 に示す。

	(M) ⁺	(M+2) ⁺	(M+4) ⁺
MoCBs	188.0393		
DiCBs	222.0003		
TrCBs		257.9585	
TeCBs		291.9195	
PeCBs		325.8805	
HxCBs		359.8415	
HpCBs		393.8025	
OCBs			429.7606
NCBs			463.7216
DeCB			497.6826
¹³ C ₁₂ -MoCBs	200.0795		
¹³ C ₁₂ -DiCBs	234.0406		
¹³ C ₁₂ -TrCBs		269.9987	
¹³ C ₁₂ -TeCBs		303.9597	
¹³ C ₁₂ -PeCBs		337.9207	
¹³ C ₁₂ -HxCB		371.8817	
¹³ C ₁₂ -HpCBs		405.8428	
¹³ C ₁₂ -OCBs			441.8008
¹³ C ₁₂ -NCBs			475.7619
¹³ C ₁₂ -DeCB			509.7229

各グループの測定対象成分例を付表 2.2.1.2 に、測定時のクロマトグラフィー例を付図 2.2.1.1 及び付図 2.2.1.2 に示す。同定、定量に用いる標準物質の一例を付表 2.2.1.3 に示す。

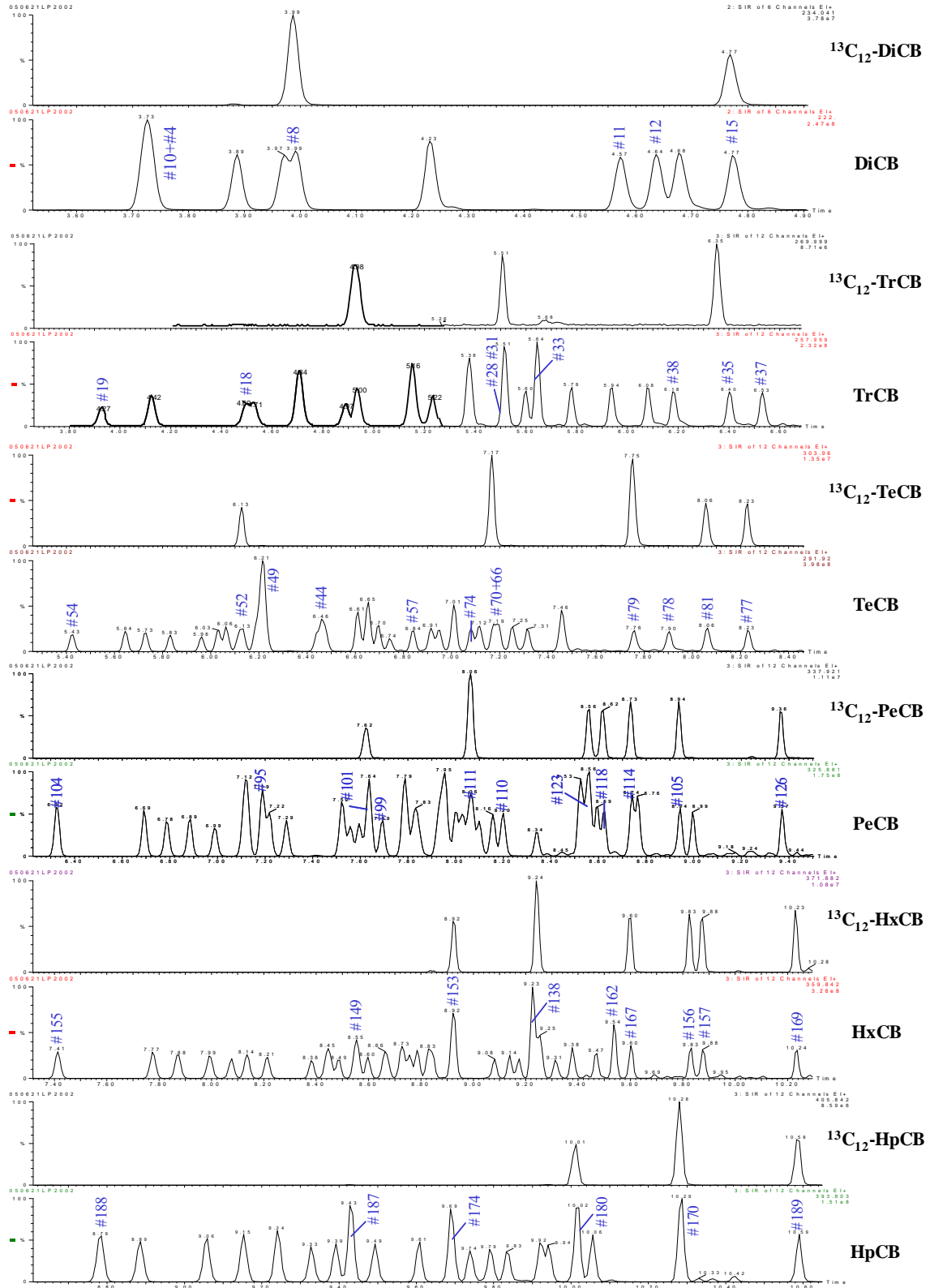
付表 2.2.1.2 各グループの測定対象成分の一例

1 グループ	MoCBs					
2 グループ	DiCBs	TrCBs (前半)				
3 グループ	TrCBs (後半)	TeCBs	PeCBs	HxCBs	HpCBs	OCBs (前半)
4 グループ	OCBs (後半)	NCBs	DeCBs			



付図 2.2.1.1 測定時のクロマトグラフィー例 (PCB209 種標準溶液)

試料：PCB209種 標準溶液



付図 2.2.1.2 測定時のクロマトグラフィー例 (主要異性体について異性体表記)

付表 2.2.1.3 同定、定量に用いる標準物質の一例

標準物質		内標準物質	
IUPAC No.		IUPAC No.	
# 1	2-MCB		
# 3	4-MCB	# 3	$^{13}\text{C}_{12}$ -4-MCB
# 10	2,6-DiCB		
# 4	2,2'-DiCB		
# 8**	2,4'-DiCB	# 8**	$^{13}\text{C}_{12}$ -2,4'-DiCB
# 11	3,3'-DiCB		
# 12	3,4-DiCB		
# 15	4,4'-DiCB		
# 19	2,2',6-TrCB		
# 18	2,2',5-TrCB		
# 31	2,4',5-TrCB	# 31	$^{13}\text{C}_{12}$ -2,4',5-TrCB
# 28**	2,4,4'-TrCB	# 28**	$^{13}\text{C}_{12}$ -2,4,4'-TrCB
# 33	2',3,4-TrCB		
# 38	3,4,5-TrCB		
# 35	3,3',4-TrCB		
# 37	3,4,4'-TrCB		
# 54	2,2',6,6'-TeCB		
# 52**	2,2',5,5'-TeCB	# 52**	$^{13}\text{C}_{12}$ -2,2',5,5'-TeCB
# 49	2,2',4,5'-TeCB		
# 44	2,2',3,5'-TeCB		
# 57	2,3,3',5'-TeCB		
# 74	2,4,4',5'-TeCB		
# 70	2,3',4',5'-TeCB		
# 66	2,3',4,4'-TeCB		
# 79	3,3',4,5'-TeCB		
# 78	3,3',4,5'-TeCB		
# 81	3,4,4',5'-TeCB★	# 81	$^{13}\text{C}_{12}$ -3,4,4',5'-TeCB★
# 77	3,3',4,4'-TeCB★	# 77	$^{13}\text{C}_{12}$ -3,3',4,4'-TeCB★
# 104	2,2',4,6,6'-PeCB		
# 95	2,2',3,5',6-PeCB		
# 101**	2,2',4,5,5'-PeCB	# 101**	$^{13}\text{C}_{12}$ -2,2',4,5,5'-PeCB
# 99	2,2',4,4',5-PeCB		

付表 2.2.1.3 同定、定量に用いる標準物質の一例(続き)

標準物質		内標準物質	
IUPAC No.		IUPAC No.	
# 87	2,2',3,4,5'-PeCB		
# 110	2,3,3',4',6'-PeCB		
# 105	2,3,3',4,4'-PeCB★★	# 105	¹³ C ₁₂ -2,3,3',4,4'-PeCB★★
# 114	2,3,4,4',5'-PeCB★★	# 114	¹³ C ₁₂ -2,3,4,4',5'-PeCB★★
# 118**	2,3',4,4',5'-PeCB★★	# 118**	¹³ C ₁₂ -2,3',4,4',5'-PeCB★★
# 123	2',3,4,4',5'-PeCB★★	# 123	¹³ C ₁₂ -2',3,4,4',5'-PeCB★★
# 126	3,3',4,4',5'-PeCB★	# 126	¹³ C ₁₂ -3,3',4,4',5'-PeCB★
# 155	2,2',4,4',6,6'-HxCB		
# 149	2,2',3,4',5',6'-HxCB		
# 153**	2,2',4,4',5,5'-HxCB	# 153**	¹³ C ₁₂ -2,2',4,4',5,5'-HxCB
# 138**	2,2',3,4,4',5'-HxCB		
# 162	2,3,3',4',5,5'-HxCB		
# 156	2,3,3',4,4',5'-HxCB★★	# 156	¹³ C ₁₂ -2,3,3',4,4',5'-HxCB★★
# 157	2,3,3',4,4',5'-HxCB★★	# 157	¹³ C ₁₂ -2,3,3',4,4',5'-HxCB★★
# 167	2,3',4,4',5,5'-HxCB★★	# 167	¹³ C ₁₂ -2,3',4,4',5,5'-HxCB★★
# 169	3,3',4,4',5,5'-HxCB★	# 169	¹³ C ₁₂ -3,3',4,4',5,5'-HxCB★
# 188	2,2',3,4',5,6,6'-HpCB		
# 187**	2,2',3,4',5,5',6'-HpCB		
# 174**	2,2',3,3',4,5,6'-HpCB		
# 180**	2,2',3,4,4',5,5'-HpCB★★★	# 180**	¹³ C ₁₂ -2,2',3,4,4',5,5'-HpCB★★★
# 170	2,2',3,3',4,4',5'-HpCB★★★	# 170	¹³ C ₁₂ -2,2',3,3',4,4',5'-HpCB★★★
# 189	2,3,3',4,4',5,5'-HpCB★★	# 189	¹³ C ₁₂ -2,3,3',4,4',5,5'-HpCB★★
# 202	2,2',3,3',5,5',6,6'-OCB		
# 200	2,2',3,3',4,5,6,6'-OCB		
# 203	2,2',3,4,4',5,5',6'-OCB		
# 195	2,2',3,3',4,4',5,6'-OCB		
# 194	2,2',3,3',4,4',5,5'-OCB	# 194	¹³ C ₁₂ -2,2',3,3',4,4',5,5'-OCB
# 205	2,3,3',4,4',5,5',6'-OCB		
# 208	2,2',3,3',4,5,5',6,6'-NCB		
# 206	2,2',3,3',4,4',5,5',6'-NCB	# 206	¹³ C ₁₂ -2,2',3,3',4,4',5,5',6'-NCB
# 209	2,2',3,3',4,4',5,5',6,6'-DeCB	# 209	¹³ C ₁₂ -2,2',3,3',4,4',5,5',6,6'-DeCB

★ : non-*ortho*-PCBs ★★ : mono-*ortho*-PCBs ★★★ : di-*ortho*-PCBs **:major-PCBs

2.3 トリプルステージ型ガスクロマトグラフ質量分析計(GC/MS/MS)を適用した簡易定量法

2.3.1 加熱多層シリカゲルカラム/アルミナカラム/トリプルステージ型ガスクロマトグラフ質量分析 (GC/MS/MS) 法

(1) 概要 (適用範囲)

ここに定める方法は、トリプルステージ(タンデム、三連四重極)型ガスクロマトグラフ質量分析計 (以下 GC/MS/MS) を用いた測定方法である。

(2) 測定の概要

1) 測定の概要

試料を加熱固相カラム (多層シリカゲルカラム及びアルミナカラム) によりクリーンアップし、GC/MS/MS を用いて定量する方法である。

2) 測定操作フロー

測定フローを図 2.3.1.1 に示す。尚、フロー図に記載された条件は一例である。

クリーンアップ方法は、2.1.2 記載のクリーンアップ方法と同じ操作である。

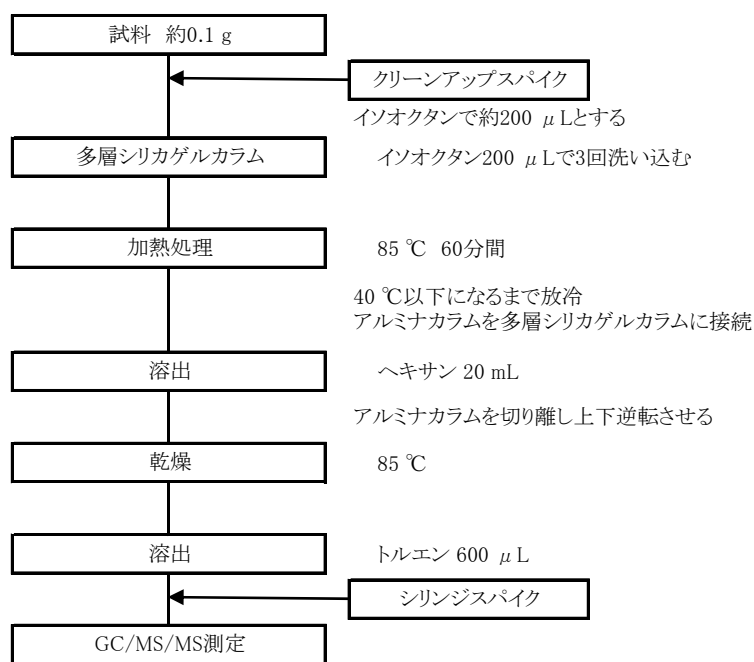


図 2.3.1.1 測定フロー例

(3) 試薬及び使用器具

1) 試薬

測定に使用する試薬は次による。これらの試薬は、空試験などによって測定に支障のないことを確認しておく。又、記述以外の試薬を使用する場合も同等の試験を行い、測定に支障のないことを確認しておく。

- a. **ヘキサン** JIS K8825 に規定するもの、又は同等のもの。
- b. **トルエン** JIS K8680 に規定するもの、又は同等のもの。
- c. **イソオクタン** JIS K9703 に規定するもの、又は同等のもの。
- d. **デカンもしくはノナン** 測定に支障のない品質のもの。
- e. **多層シリカゲルカラム及びアルミナカラム** 44%硫酸被覆シリカゲル 3.8g、15%硝酸銀 15%硝酸銅被覆シリカゲル 1.4g を充填したカラム、並びに、活性化を施したアルミナ 0.5g を充填したカラム^{※1)}。2.1.2 の図 2.1.2.2 にカラムの一例を示す。
- f. **PCB 標準溶液** 塩素化合物の内 2,4'-D2CB (IUPAC No. 8)、2,4,4'-T3CB (IUPAC No. 28)、2,2',5,5'-T4CB (IUPAC No. 52)、2,2',4,5,5'-P5CB (IUPAC No. 101)、2,3',4,4',5-P5CB (IUPAC No. 118)、2,2',3,4,4',5'-H6CB (IUPAC No. 138)、2,2',4,4',5,5'-H6CB (IUPAC No. 153)、2,2',3,4,4',5,5'-H7CB (IUPAC No. 180)、2,2',3,3',4,4',5,5'-O8CB (IUPAC No. 194) の PCB 標準物質を含んだ混合標準溶液。
- g. **クリーンアップスパイク溶液** PCB 標準物質の ¹³C₁₂ 標識化 PCB を含んだ混合標準溶液を、使用する質量分析計に最適な濃度に調製したイソオクタン溶液。
- h. **シリンジスパイク溶液** 1 種類以上の ¹³C₁₂ 標識化 PCB を含んだ混合標準溶液を、使用する質量分析計に最適な濃度に調製したトルエン溶液。
- i. **検量線用 PCB 標準溶液** PCB 標準物質、PCB 内標準物質及び回収率算出用内標準物質をトルエン又はノナン、イソオクタン、デカンに溶かしたもの。PCB 内標準物質及び回収率算出用内標準物質の濃度が、使用する質量分析計に最適な濃度で一定であり、PCB 標準物質の濃度が使用する質量分析計の測定可能範囲内で 4 ないし 5 段階以上となるように設定したもの。約 PCB 標準物質が 1 から 20ng/mL 程度に調製する。尚、希釈する溶媒はダイオキシン分析用又は市販の試薬特級又は同等以上のもので測定に支障をきたさないもの。
- j. **質量校正用標準物質** ペルフルオロトリブチルアミン (PFTBA) 等の質量分析計用を使用する。

2) 器具

測定に使用する器具は次による。これらの器具は、空試験などによって測定に支障のないことを確認しておく。

- a. **試験管** 試料の秤量に使用する。容量は約 1.5mL 程度が好ましい。
- b. **ガラスバイアル** 口内径 6mm 以上で容量が約 2mL のもの。

3) 使用装置

測定に使用する装置は次による。尚、GC/MS/MS の満たすべき条件は、装置、測定条件によって異なる。

a. **多層シリカゲルカラム加熱用ヒーター** 温度調節機能を備えたもので、多層シリカゲルカラムに充填した硫酸被覆シリカゲルの上層 3cm を目的温度で持続的に加熱できるもの。

b. **アルミナカラム加熱用ヒーター** 温度調節機能を備えたもので、アルミナカラムに充填したアルミナを目的温度で持続的に加熱できるもの。

c. ガスクロマトグラフ

i 試料導入部： スプリットレス方式で温度を 220°C 以上 300°C 以下にできるもの、又はクールドオンカラム方式で温度を 100°C 以上 300°C 以下にできるもの。

ii カラム： 0.53mm 長さ 10m のキャピラリーカラムで、前段に内径 0.1mm 長さ 0.6m の液相を使用していないキャピラリーカラムを接続したもの。使用する GC カラムは PCB 全 209 各化合物の溶出位置が実際の測定に採用する GC 条件において判明していなければならない。

iii キャリヤーストックガス： 純度 99.999% 以上のヘリウムを用いる。いずれも適切な線速度に調節する。

iv カラム恒温槽温度： 60°C 以上 320°C 以下の間で温度を一定に保つことができ、1 分間に 20°C 以上の昇温ができるもの。

d. 質量分析計

i トリプルステージ (タンデム、三連四重極) 型質量分析計であって、前駆イオンをアルゴンガスにより衝突誘起解離させて生じた生成イオンを測定できるもの。

ii 接続部温度： 220 から 300°C で使用可能なもの。

iii イオン源： 電子イオン化 (EI) 方式が可能で、温度を 200°C 以上に保てるもの。

iv 電子加速電圧： 20 から 70V で使用可能なもの。

(4) 前処理

1) 試料の調製

a. 試料約 0.1g^{※2)} を試験管に秤量し、100ng/ μ L のクリーンアップスパイク溶液 20 μ L^{※3)} を添加した後、イソオクタンを加えて全量を約 200 μ L とする。

b. (4).1.a で調製した溶液を多層シリカゲルカラムに移し入れ、試験管をイソオクタン 200 μ L で 3 回洗い込んだ後、イソオクタン 200 μ L にて多層シリカゲルカラムの内壁を洗浄する^{※4)}。

c. 多層シリカゲルカラムに移し入れた溶液が展開している部分^{※5)} を多層シリカゲルカラム加熱用ヒーターで 85°C にて 60 分間^{※6)} 加熱した後、多層シリカゲルカラムを

40°C以下になるまで放冷する。

- d. アルミナカラムを多層シリカゲルカラム下端に接続した後、ヘキサン 20mL^{*7)} を流下させる。
- e. アルミナカラムを多層シリカゲルカラムと切り離し、アルミナカラム加熱用ヒーターで 85°C^{*8)} に加熱しながら、清浄な空気もしくは窒素をアルミナカラムに吹き込み、アルミナカラムに残留しているヘキサンを乾燥する。
- f. 上下逆転させたアルミナカラムをアルミナカラム加熱用ヒーターで 85°C に加熱しながらトルエン 600 μL^{*9)} を添加し、アルミナカラム下端にガラスバイアルを置いて、約 200 から 300 μL の溶出液を得る。100ng/mL のシリンジスパイク溶液 20 μL^{*3)} を添加してよく攪拌したものを測定溶液とする。

(5) 機器測定

1) 測定条件

測定条件例、各塩素のクロマトグラフ例を附属書 2.3.1 に示す。

2) 定量法 (1)

- a. 測定質量数の設定 対象物質及びクリーンアップスパイクそれぞれのプリカーサーイオン及びプロダクトイオン(m/z) (付表 2.3.1.1) を設定し、各ピークの保持時間が適切な範囲にあり、要求される下限値は約 1ng/mL が満たされ、安定した応答が得られるように、装置を適切に設定する^{*10)}。
- b. 質量分析計の調整 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って行う。
- c. 検量線の作成 検量線用 PCB 標準溶液を用いて、JIS K0093 の 6.5 に従って検量線を作成する。
- d. 相対感度の算出 各標準物質及びクリーンアップスパイクのピーク面積を求め、各標準物質の対応する内標準物質に対するピーク面積の比と注入した標準溶液中のその標準物質とクリーンアップスパイクの濃度の比を求めて検量線を作成し、相対感度係数 (以下 RRF) を算出する。同一塩素数に 2 種類以上の標準物質がある場合は、それぞれから算出された RRF の平均値とする。

$$RRF = \frac{\text{標準物質のピーク面積} \times \text{標準溶液中のクリーンアップスパイクの濃度}}{\text{クリーンアップスパイクのピーク面積} \times \text{標準溶液中の標準物質の濃度}}$$

- e. 試料の測定 前処理操作で得られた測定溶液を GC/MS/MS に注入し、得られたクロマトグラムから PCB 化合物の種類ごとに、次に掲げる式によって試料中の濃度を算出する。尚、PCB 化合物の同定に当たっては、相対溶出時間およびピークにおけるイオン強度比が PCB 標準物質および PCB 同定用物質のものとはほぼ同等であること。

当該塩素化合物の濃度 (ng/g) =

$$\frac{\text{当該塩素化合物のピーク面積} \times \text{試料に添加した内標準物質の量 (ng)}}{\text{当該塩素化合物に対応する内標準物質のピーク面積} \times \text{RRF}} \times \frac{1}{\text{試料量 (g)}}$$

- f. PCB 濃度の算出 (5).2). e で算出した個々の PCB 濃度の総和を、試料中の PCB 濃度とする。
- g. 回収率の確認 クリーンアップスパイクの回収率は、JIS K0093 の 6.4 i) に従って算出し、二塩化ビフェニルから八塩化ビフェニルにおいていずれも 50 %以上 120 %以下であることを確認しておく。

3) 定量法 (2)

本法では、簡易定量法として 13 異性体を測定して、PCB 量に換算する方法も採用することができる。この計算法については後述の 2.5 PCB の一部の化合物濃度から全 PCB 濃度を計算する簡易定量法を参照すること。尚、13 異性体の分析のためには、ガスクロマトグラフの分離を良くすることが望ましい。

(6) 留意事項

測定操作において留意すべき点を以下に示す。

- ※1 これらのカラムは実験室内で自製しても良い。自製した場合は、十分な精製効果及び回収率が得られることを確認しておくこと。尚、商品化された製品もあり、又、カラムを装着して試料の前処理を行う装置もあるので、便利に用いることができる。これらのカラムは、洗浄された状態で販売されているカラムを用いる時は、特に使用前の洗浄は行わなく済む。
- ※2 試料量は減量しても良いが、秤量に用いる天秤の精度と PCB の測定における感度が確保されることを確認すること。
- ※3 これと異なる濃度を用いても良い。但し、添加量は 50 μ L 以下とすること。
- ※4 多層シリカゲルカラムに移し入れる溶液及び洗浄液量は合計でほぼ 1mL とする。この液量以下あるいは以上であると精製効率が低下することがある。
- ※5 硫酸被覆シリカゲルの上層約 3cm に相当する。この部分以外を加熱すると精製効率の低下及び PCB の回収率低下が発生することがある。尚、加熱範囲にあるカラム中心部分の温度が設定温度になるように、予め加熱条件を検討しておくこと。
- ※6 加熱温度は 60°C から 90°C の範囲で、加熱時間は任意の範囲で変化させても良いが、85°C にて 60 分間加熱する場合と同等の精製効果が得られること。
- ※7 ヘキサンの液量を変化させても良いが、PCB の回収率が確保されることを確認す

ること。

※8 加熱温度を変化させても良いが、PCBの回収率が確保されることを確認すること。

※9 トルエンの液量を変化させても良いが、PCBの回収率と測定における感度が確保されることを確認すること。

※10 質量取込時間を長くしたり、グルーピングを行っても良い。又、四重極の配置やコリジョンガスが異なる装置において感度が取れない場合には設定質量やコリジョンエネルギーを調整する。

附属書 2.3.1 測定条件の例

測定カラム：VF Rapid-MS for PCB 0.6m x 0.1mm I.D. + 10m x 0.53mm I.D.

測定条件：カラム流量：ヘリウム 1.5mL/min パルス 30psi (1min)

カラム温度：85 °C (1 min) - 40 °C/min - 305 °C (0.5 min)

注入口温度：300 °C

注入方法：スプリットレス (スプリットレスタイム 0.75 min)

注入量：2 μ L

MS 温度：イオン源 220°C

アナライザー 40°C

GC/MS/MS 接続部温度 300°C

イオン化法：EI 70eV

イオン検出方法：MS/MS (MRM) 法 (コリジョンガス：アルゴン圧力 2mTorr)

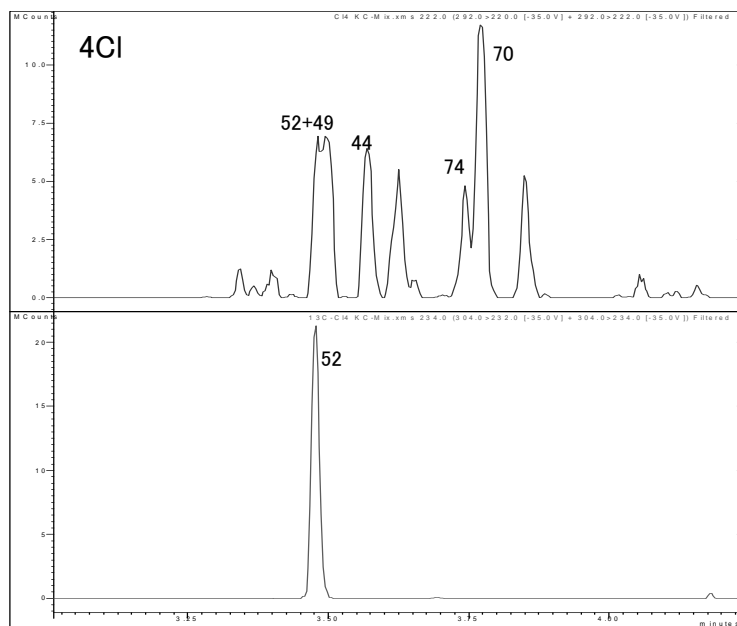
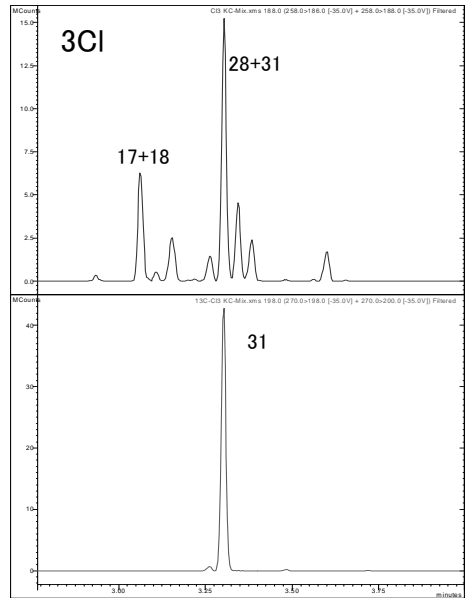
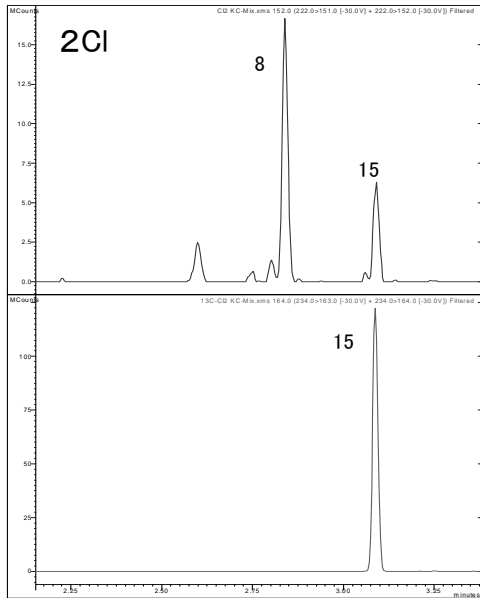
付表 2.3.1.1 トリプルステージ形 GC/MS/MS における PCB 化合物の測定条件

Native の場合

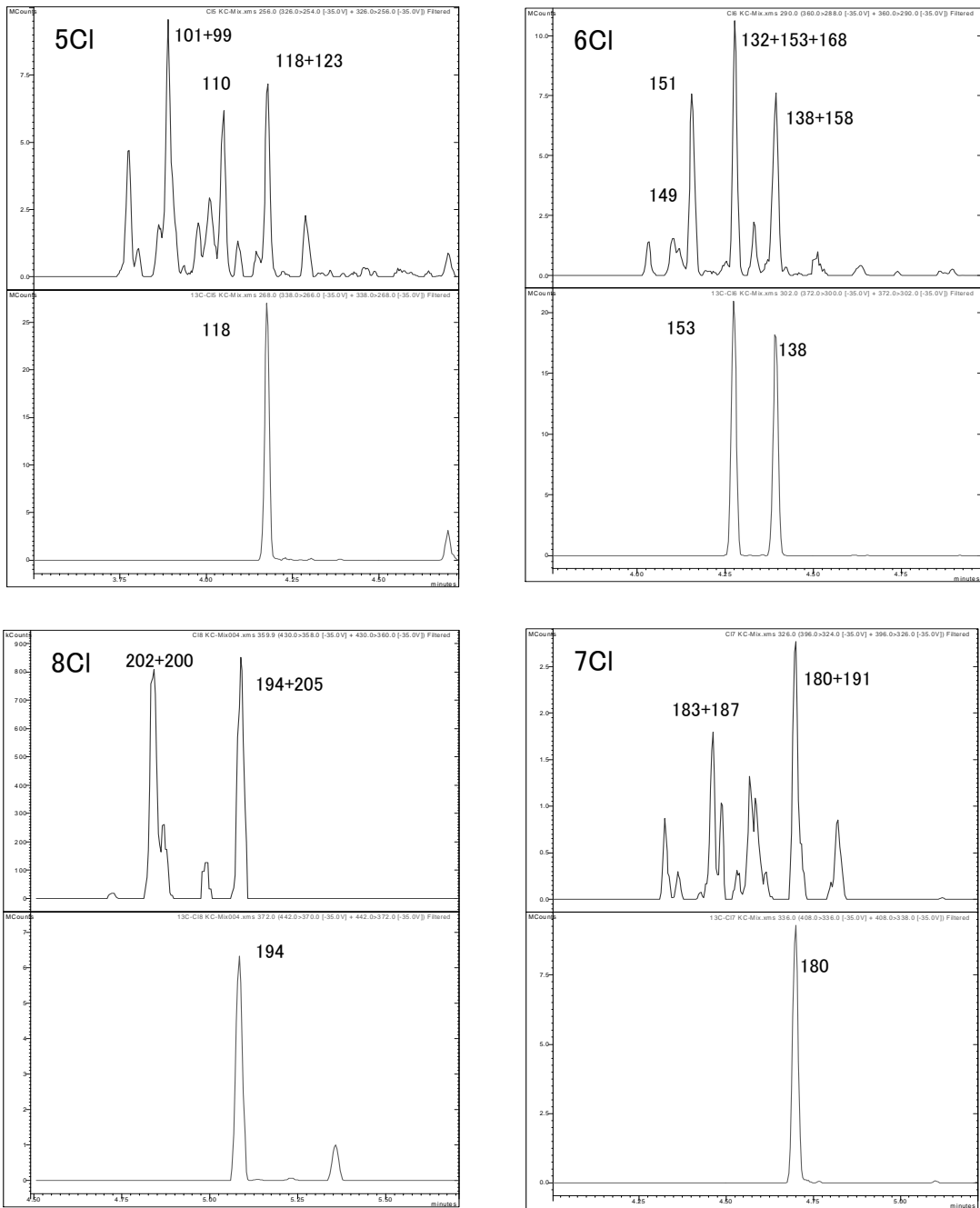
	分子量 (M)	Q1 の設定	Q3 の設定		コリジョン エネルギー	質量取込時間 (msec)
			モニター1	モニター2		
1 塩素ビフェニル	188	188(M)	152	153	-20	10
2 塩素ビフェニル	222	222(M)	152	151	-30	10
3 塩素ビフェニル	256	258 (M+2)	186	188	-35	10
4 塩素ビフェニル	290	292 (M+2)	222	220	-35	10
5 塩素ビフェニル	324	326 (M+2)	256	254	-35	10
6 塩素ビフェニル	358	360 (M+2)	290	288	-35	10
7 塩素ビフェニル	392	396 (M+4)	326	324	-35	10
8 塩素ビフェニル	426	430 (M+4)	360	358	-35	10
9 塩素ビフェニル	460	464 (M+4)	394	392	-35	10
10 塩素ビフェニル	494	498 (M+4)	428	426	-35	10

¹³C ラベル体の場合

	分子量 (M)	Q1 の設定	Q3 の設定		コリジョン エネルギー	質量取込時間 (msec)
			モニター1	モニター2		
1 塩素ビフェニル	200	200(M)	164	165	-20	10
2 塩素ビフェニル	234	234(M)	164	163	-30	10
3 塩素ビフェニル	268	270 (M+2)	198	200	-35	10
4 塩素ビフェニル	302	304 (M+2)	234	232	-35	10
5 塩素ビフェニル	336	338 (M+2)	268	266	-35	10
6 塩素ビフェニル	370	372 (M+2)	302	300	-35	10
7 塩素ビフェニル	404	408 (M+4)	338	336	-35	10
8 塩素ビフェニル	438	442 (M+4)	372	370	-35	10
9 塩素ビフェニル	472	476 (M+4)	406	404	-35	10
10 塩素ビフェニル	506	510 (M+4)	440	438	-35	10



付図 2.3.1.1 GC/MS/MS による各塩素のクロマトグラム
 (上段：ネイティブ PCB 下段： ^{13}C 標識化 PCB)



付図 2.3.1.1 GC/MS/MSによる各塩素のクロマトグラム
 (上段：ネイティブ PCB 下段：¹³C 標識化 PCB)

2.4 ガスクロマトグラフ/四重極型質量分析計(GC/QMS)を適用した簡易定量法

2.4.1 加熱多層シリカゲルカラム/アルミナカラム/ガスクロマトグラフ/四重極型質量分析計(GC/QMS)法

(1) 概要 (適用範囲)

ここに定める方法は、ガスクロマトグラフ四重極型質量分析計 (GC/QMS) を用いた、測定方法である。

(2) 測定の概要

1) 測定の概要

試料を加熱固相カラム (多層シリカゲルカラム及びアルミナカラム) によりクリーンアップし、GC/QMS を用いて定量する方法である。

2) 測定操作フロー

測定フローを図 2.4.1.1 に示す。尚、フロー図に記載された条件は一例である。クリーンアップ方法は、2.1.2 記載のクリーンアップ方法と同じ操作である。

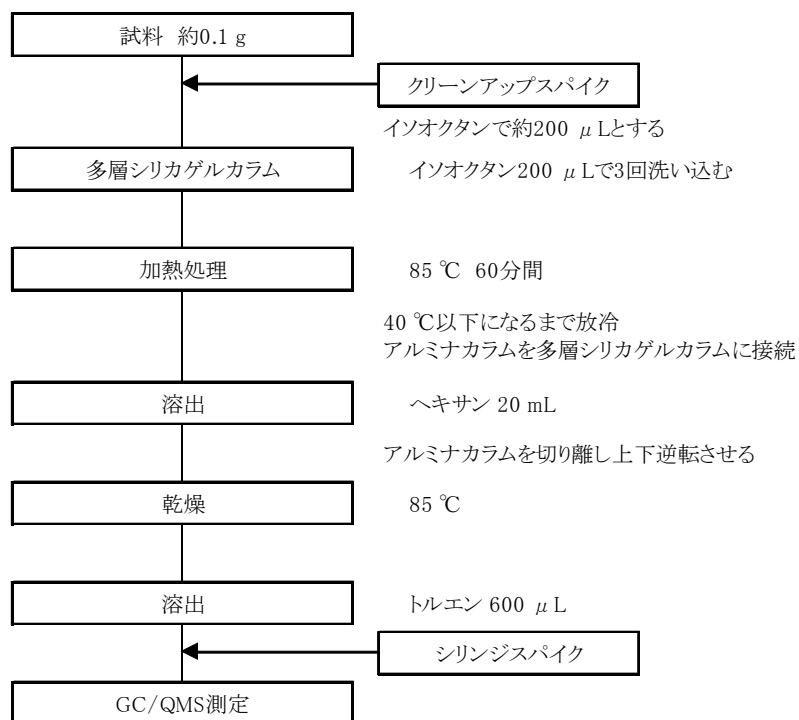


図 2.4.1.1 測定フロー

(3) 試薬、器具及び装置

1) 試薬

測定に使用する試薬は次による。これらの試薬は、空試験などによって測定に支障のないことを確認しておく。又、記述以外の試薬を使用する場合も同等の試験を行い、測定に支障のないことを確認しておく。

- a. **ヘキサン** JIS K8825 に規定するもの、又は同等のもの。
- b. **トルエン** JIS K8680 に規定するもの、又は同等のもの。
- c. **イソオクタン** JIS K9703 に規定するもの。
- d. **多層シリカゲルカラム及びアルミナカラム** 44%硫酸被覆シリカゲル 3.8g、15%硝酸銀 15%硝酸銅被覆シリカゲル 1.4g を充填したカラム、並びに、活性化を施したアルミナ 0.6g を充填したカラム^{※1)}。2.1.2 の図 2.1.2.2 にカラムの一例を示す。
- e. **PCB 標準溶液** 塩素化合物の内 2,4'-D2CB(IUPAC No. 8)、2,4,4'-T3CB(IUPAC No. 28)、2,2',5,5'-T4CB(IUPAC No. 52)、2,2',4,5,5'-P5CB(IUPAC No. 101)、2,3',4,4',5-P5CB(IUPAC No. 118)、2,2',3,4,4',5'-H6CB(IUPAC No. 138)、2,2',4,4',5,5'-H6CB(IUPAC No. 153)、2,2',3,4,4',5,5'-H7CB(IUPAC No. 180)、2,2',3,3',4,4',5,5'-O8CB(IUPAC No. 194) の PCB 標準物質を含んだ混合標準溶液。
- f. **クリーンアップスパイク溶液^{※2)}** PCB 標準物質の ¹³C₁₂ 標識化 PCB を含んだ混合標準溶液を、使用する質量分析計に最適な濃度に調製したイソオクタン溶液。
- g. **シリンジスパイク溶液^{※2) ※3)}** 1 種類以上の ¹³C₁₂ 標識化 PCB を含んだ混合標準溶液を、使用する質量分析計に最適な濃度に調製したトルエン溶液。
- h. **検量線用 PCB 標準溶液** PCB 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をトルエンに溶かしたもの。クリーンアップスパイク及びシリンジスパイクの濃度が、使用する質量分析計に最適な濃度で一定であり、PCB 標準物質の濃度が使用する質量分析計の測定可能範囲内で 4 ないし 5 段階以上となるように設定したもの。約 PCB 標準物質が 0.001 から 1 mg/L 程度に調製する。
- i. **質量校正用標準物質** ペルフルオロトリブチルアミン(PFTBA)等の質量分析計用を使用する。

2) 器具

測定に使用する器具は次による。これらの器具は、空試験などによって測定に支障のないことを確認しておく。

- a. **試験管** 試料の秤量に使用する。容量は約 1.5mL 程度が好ましい。
- b. **ガラスバイアル** 口内径 6mm 以上で容量が約 2mL のもの。

3) 装置

測定に用いる装置は次による。尚、GC/QMS の満たすべき条件は、装置、測定条件によ

って異なる。

- a. **多層シリカゲルカラム加熱用ヒーター** 温度調節機能を備えたもので、多層シリカゲルカラムに充填した硫酸被覆シリカゲルの上層 3cm を目的温度で持続的に加熱できるもの。
- b. **アルミナカラム加熱用ヒーター** 温度調節機能を備えたもので、アルミナカラムに充填したアルミナを目的温度で持続的に加熱できるもの。
- c. **ガスクロマトグラフ**
 - i 試料導入部： スプリットレス方式で温度を 220℃以上 300℃以下にできるもの、又はクールオンカラム方式で温度を 100℃以上 300℃以下にできるもの。
 - ii カラム： 内径 0.10mm 以上 0.32mm 以下及び長さ 10m 以上のキャピラリーカラムで、図 1.2.2 の例と同等の分離性能をもつもので、使用する GC カラムは PCB 全 209 各化合物の溶出位置が実際の測定に採用する GC 条件において判明していなければならない^{※4)}。
 - iii キャリヤースガス： 純度 99.999%以上のヘリウム又は水素を用いる。いずれも適切な線速度に調節する。
 - iv カラム温度： 60℃以上 320℃以下の間で温度を一定に保つことができ、1 分間に 20℃以上の昇温ができるもの。
- d. **質量分析計**
 - i 検出器： 選択イオン検出法 (SIM 法) が行えるもの。
 - ii GC/MS 接続部温度： 220 から 300℃で使用可能なもの。
 - iii イオン源： 電子イオン化 (EI) 方式が可能で、温度を 230 から 280℃に保てるもの。
 - iv 電子加速電圧： 40 から 70V で使用可能なもの。
 - v 測定イオン： 対象物質とクリーンアップスパイクの選択イオンの例をそれぞれ表 2.4.1.2 と表 2.4.1.3 に示す。定量用の選択イオンが妨害を受ける場合は、妨害を受けていない確認用の選択イオンを用いて定量を行う。

表 2.4.1.2 対象物質選択イオンの例

対象物質	選択イオン (m/z)		
	定量用	確認用	
二塩化ビフェニル	222.0	224.0	—
三塩化ビフェニル	256.0	258.0	260.0
四塩化ビフェニル	289.9	291.9	293.9
五塩化ビフェニル	325.9	323.9	327.9
六塩化ビフェニル	359.8	361.8	357.8
七塩化ビフェニル	393.8	395.8	397.8
八塩化ビフェニル	429.8	427.8	431.8

表 2.4.1.3 クリーンアップスパイク物質選択イオンの例

対象物質	選択イオン(m/z)	
	定量用	確認用
二塩化[¹³ C ₁₂]ビフェニル	234.0	236.0
三塩化[¹³ C ₁₂]ビフェニル	268.0	270.0
四塩化[¹³ C ₁₂]ビフェニル	302.0	304.0
五塩化[¹³ C ₁₂]ビフェニル	335.9	337.9
六塩化[¹³ C ₁₂]ビフェニル	371.9	373.9
七塩化[¹³ C ₁₂]ビフェニル	405.8	407.8
八塩化[¹³ C ₁₂]ビフェニル	439.8	441.8

(4) 前処理

1) 試料の調製

- a. 試料約 0.1g^{*5)} を試験管に秤量し、100ng/mL のクリーンアップスパイク溶液 20 μL^{*6)} を添加した後、イソオクタンを加えて全量を約 200 μL とする。

2) 加熱固相カラム前処理

- a. (4).1) の操作で調製した溶液を多層シリカゲルカラムに移し入れ、試験管をイソオクタン 200 μL で 3 回洗い込んだ後、イソオクタン 200 μL にて多層シリカゲルカラムの内壁を洗浄する^{*7)}。
- b. 多層シリカゲルカラムに移し入れた溶液が展開している部分^{*8)} を多層シリカゲルカラム加熱用ヒーターで 85°C にて 60 分間^{*9)} 加熱した後、多層シリカゲルカラムを 40°C 以下になるまで放冷する。
- c. アルミナカラムを多層シリカゲルカラム下端に接続した後、ヘキサン 20mL^{*10)} を流下させる。
- d. アルミナカラムを多層シリカゲルカラムと切り離し、アルミナカラム加熱用ヒーターで 85°C^{*11)} に加熱しながら、清浄な空気もしくは窒素をアルミナカラムに吹き込み、アルミナカラムに残留しているヘキサンを乾燥する。
- e. 上下逆転させたアルミナカラムをアルミナカラム加熱用ヒーターで 85°C に加熱しながらトルエン 600 μL^{*12)} を添加し、アルミナカラム下端にガラスバイアルを置いて、約 200 から 300 μL の溶出液を得る。100ng/mL のシリンジスパイク溶液 20 μL^{*6)} を添加してよく攪拌したものを測定溶液とする。

(5) 機器測定

1) 測定条件

a. GC/QMS の設定

あらかじめ GC/QMS に、対象物質及びクリーンアップスパイクの各フラグメントイオンの選択イオン(m/z) (表 2.4.1.1、表 2.4.1.2 を参照) を設定し、各ピークの保持時間が適切な範囲にあり、総 PCB 濃度で 0.15 mg/kg 以下の検出下限値が満たされ、安定した応答が得られるように、GC/QMS を適切に設定する。測定条件例を付表 2.4.1.1 に示す。

b. 相対感度係数の算出

段階的に作製した検量線用 PCB 標準溶液を測定し、それぞれの濃度段階について、各 PCB 標準物質及び各クリーンアップスパイクのピーク面積をそれぞれ求める。各 PCB 標準物質の対応するクリーンアップスパイクに対するピーク面積の比と、注入した PCB 標準溶液中のその PCB 標準物質とクリーンアップスパイクの濃度の比を求め、次に掲げる式によって相対感度係数 (RRF) を算出する。同一塩素数に 2 種類以上の PCB 標準物質がある場合は、それぞれから算出された RRF の平均値とする。

$$\text{RRF} = \frac{\text{標準物質のピーク面積} \times \text{標準溶液中のクリーンアップスパイクの濃度}}{\text{クリーンアップスパイクのピーク面積} \times \text{標準溶液中の標準物質の濃度}}$$

2) 試料の測定及び定性 (ピーク同定) 方法

KC-300、KC-400、KC-500 及び KC-600 を重量比 1:1:1:1 の割合で混合したトルエン溶液を測定し、測定対象物質の保持時間を確認する。(4).2).e で得られた測定溶液を測定し、各対象物質について定量用及び確認用として設定した選択イオンのピークイオン強度の比が、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±20%以内であることを確認してピーク面積を求める。クロマトグラム の例 (二塩化ビフェニルから八塩化ビフェニル) を付図 2.4.1.1 に示す。

個々の PCB の検出量は次の式によって求める。ここで、 A_s は対象物質の測定イオンによる面積を、 A_{is} はクリーンアップスパイクの測定イオンによる面積を表し、 C_{is} は試料に添加したクリーンアップスパイクの量を表す。尚、同一塩素数に 2 種類以上のクリーンアップスパイクがある場合、 A_{is} はそれぞれの面積の平均値とする。

$$\text{PCB 検出量 (ng)} = \frac{A_s \times C_{is}(\text{ng})}{A_{is} \times \text{RRF}}$$

3) 定量法 (1)

a. PCB 濃度の定量

次に掲げる式によって試料中の PCB 濃度 (mg/kg) を求める。

$$\text{PCB濃度 (mg/kg)} = \text{PCB検出量の総和}(\mu\text{g}) \times \frac{1}{\text{試料量 (g)}}$$

b. 回収率の確認

段階的にとった検量線用 PCB 標準溶液中のクリーンアップスパイクの選択イオンによる面積とシリンジスパイクの選択イオンの面積とのそれぞれの比を求め、その平均値を算出する。(5).2) で求めた試料に添加したクリーンアップスパイクとシリンジスパイクとの面積の比及び上記で求めた比の平均値との比を求め、その百分率を回収率とする。回収率は、二塩化ビフェニルから八塩化ビフェニルにおいていずれも 50%以上 120%以下であることを確認する。この範囲から外れるときは再度前処理を行い、再測定する。

4) 定量法 (2)

本法では、簡易定量法として 13 異性体を測定して、PCB 量に換算する方法も採用することができる。この計算法については後述の 2.5 PCB の一部の化合物濃度から全 PCB 濃度を計算する簡易定量法を参照すること。尚、13 異性体の分析のためには、ガスクロマトグラフの分離を良くすることが望ましい。

(6) 留意事項

測定操作において留意すべき点を以下に示す。

- ※1 これらのカラムは実験室内で自製しても良い。自製した場合は、十分な精製効果及び回収率が得られることを確認しておくこと。尚、商品化された製品もあり、又、カラムを装着して試料の前処理を行う装置もあるので、便利に用いることができる。これらのカラムは、洗浄された状態で販売されているカラムを用いる時は、特に使用前の洗浄は行わなく済む。
- ※2 クリーンアップスパイクによっては、GC/QMS の測定条件によって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・確認をしておく。
- ※3 GC/QMS において PCB 化合物のピークと重ならない PCB 以外の化合物、例えば重水素等で標識化した PAH 等をシリンジスパイクとして使用しても良い。
- ※4 0.32mm より大きな内径のカラムであっても、カラムの前段に内径 0.32mm 以下のカラムを接続すること等によって、同等の分離性能をもち、PCB 化合物の溶出順位の判明しているものは使用できる。
- ※5 試料量は減量しても良いが、秤量に用いる天秤の精度と PCB の測定における感度が確保されることを確認すること。

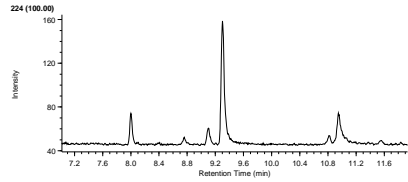
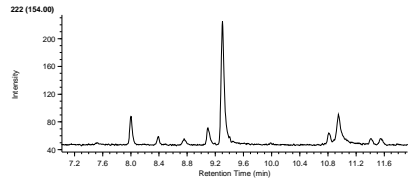
- ※6 これと異なる濃度を用いても良い。但し、添加量は 50 μ L 以下とすること。
- ※7 多層シリカゲルカラムに移し入れる溶液及び洗浄液量は合計でほぼ 1mL とする。
この液量以下あるいは以上であると精製効率が低下することがある。
- ※8 硫酸被覆シリカゲルの上層約 3cm に相当する。この部分以外を加熱すると精製効率が低下及び PCB の回収率が低下することがある。尚、加熱範囲にあるカラム中心部分の温度が設定温度になるように、予め加熱条件を検討しておくこと。
- ※9 加熱温度は 60 から 90°C の範囲で、加熱時間は任意の範囲で変化させても良いが、85°C にて 60 分間加熱する場合と同等の精製効果が得られること。
- ※10 ヘキサンの液量を変化させても良いが、PCB の回収率が確保されることを確認すること。
- ※11 加熱温度を変化させても良いが、PCB の回収率が確保されることを確認すること。
- ※12 トルエンの液量を変化させても良いが、PCB の回収率と測定における感度が確保されることを確認すること。

附属書 2.4.1 測定条件の例

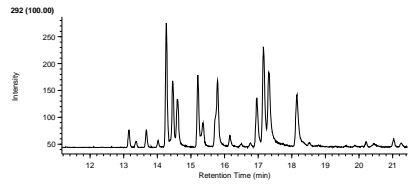
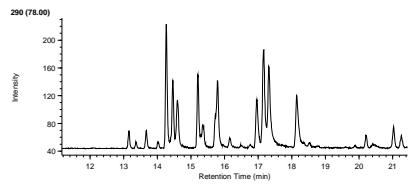
付表 2.4.1.1 測定条件の例

項目	測定条件例1	測定条件例2	測定条件例3
カラム	DB-5MS 30 m × 0.25 mmI.D. df = 0.25 μm	DB-5MS 20 m × 0.18 mmI.D. df = 0.18 μm	VF Rapid-MS PCB 0.6 m × 0.10 mmI.D. + 10 m × 0.53 mmI.D. df = 0.25 μm
カラム温度	100 °C(1 min) ~20 °C/min~160 °C ~3 °C/min~ 220 °C(3 min) ~6 °C/min~295 °C	100 °C(1 min) ~50 °C/min~160 °C ~10 °C/min~180 °C ~15 °C/min~260 °C ~25 °C/min~290 °C	100 °C(1 min) ~40 °C/min~170 °C ~10 °C/min~220 °C ~40 °C/min~280 °C
キャリアーガス	ヘリウム	水素	ヘリウム
初期注入口圧力	89 kPa 40 cm/s, 1.2 ml/min コンスタントフロー	78 kPa 66 cm/s, 1.0 ml/min コンスタントフロー	79 kPa 64 cm/s, 1.0 ml/min コンスタントフロー
注入口温度	250 °C	250 °C	250 °C
注入方法	スプリットレス(2 min)	スプリットレス(1 min)	スプリットレス(1 min)
注入量	2 μl	2 μl	2 μl
インターフェイス温度	280 °C	280 °C	280 °C
イオン化電流	35 μA	35 μA	35 μA
イオン化電圧	70 V	70 V	70 V
イオン源温度	230 °C	230 °C	230 °C
四重極温度	150 °C	150 °C	150 °C

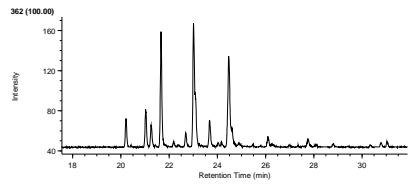
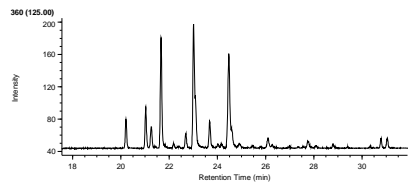
D2CB



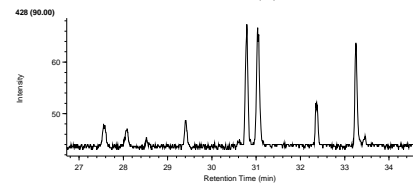
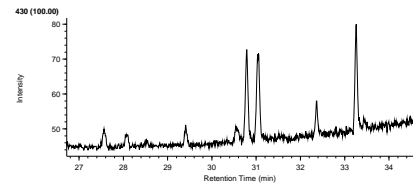
T4CB



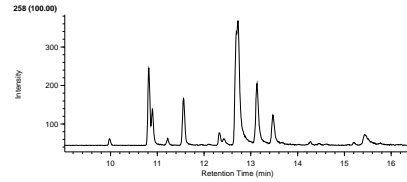
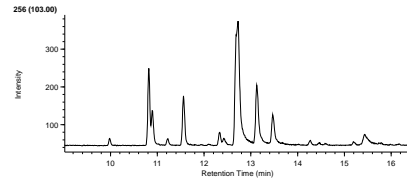
H6CB



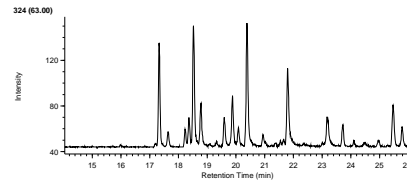
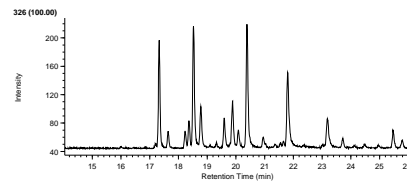
O8CB



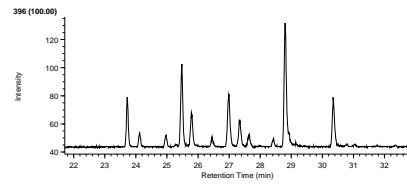
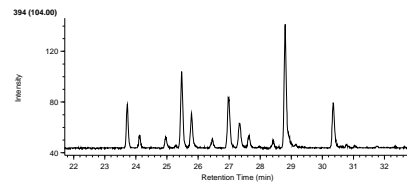
T3CB



P5CB



H7CB



付図 2.4.1.1 測定条件例 1 によるクロマトグラムの例

2.5 PCBの一部の化合物濃度から全PCB濃度を計算する簡易定量法

2.5.1 PCBの一部の化合物濃度から全PCB濃度を計算する簡易定量法

(1) 概要（適用範囲）

ここに定める方法は、PCB全209化合物のうち、一部の化合物を測定、同定、定量し、その結果を利用し重回帰分析を行い、複数の「説明変数」に対する「回帰係数」を求め、それぞれの「回帰係数」に既知のあるいは別途求めた「定数」を乗じて全PCB濃度を算出する計算方法について適用する。

尚、本法には「溶媒希釈/ガスクロマトグラフ/高分解能質量分析(GC/HRMS)法」及び「トリプルステージ(タンデム、三連四重極)型ガスクロマトグラフ質量分析計」、「ガスクロマトグラフ四重極型質量分析計」にて得られた結果を適用可能である。また、平成4年厚生省告示第192号別表第2に定める方法にて得られた結果も適用可能である。

(2) 測定の概要

本方法はPCB209化合物の内、一部の化合物を測定、同定、定量し、その結果を利用し重回帰分析を行い、複数の「説明変数」に対する「回帰係数」を求め、それぞれの「回帰係数」に既知のあるいは別途求めた「定数」を乗じて全PCB濃度を算出するものである。

「説明変数」の種類としては、カネクロール300、カネクロール400、カネクロール500及びカネクロール600（以降KC-300、KC-400、KC-500及びKC-600とそれぞれ表記）等が例として理解しやすい。

本マニュアルでは説明のため、表2.5.1.1に示す特定の13成分（表2.5.1.1「成分番号」）を測定・定量し（「目的変数」）、KC-300、KC-400、KC-500及びKC-600の4種を「説明変数」として用いる内容を記述する。尚、この場合、KC-300、KC-400、KC-500及びKC-600に対応するPCB組成を持つアロクロール等他の商品名のものが存在していても良い。採用する前処理方法、測定方法によって計算方法は適宜変更する検証を必要とする。

本方法は次の特徴を持つ。

- 1) 13成分のみの定量値が得られれば良いので、次の点で特徴付けられる。
 - a. GC測定時間は全PCB測定の場合より短くなる。表2.5.1.1に示す化合物では、例えば#180、#191、#193等が定量に必要な最も溶出時間の遅い化合物であり、これ以降の時間帯に溶出する七塩化ビフェニル異性体及び八塩化ビフェニル、九塩化ビフェニル及び十塩化ビフェニルの測定は不要である。
 - b. 前処理において13成分以外のPCB化合物を回収する必要がない。したがって回収が困難で測定も不安定である一塩化ビフェニル及び二塩化ビフェニルを前処理及び測定で考慮する必要がない。又、前処理におけるPCBと油分等夾雑物の分離にも有利である。
 - c. 全PCB測定に比較してGC/MS及びGC/MS/MSによる測定に際してグルーピング（1

チャンネルで測定する m/z の組合せ) が行いやすい。全 PCB 測定の場合よりも感度及び S/N 比を高くすることが可能 (質量取込時間を長くする)、あるいは、1 サイクルあたりのデータポイント数を多く設定するようにチャンネル数を設定 (精確さ、精度の向上) することができる。

- d. 同定、定量計算の手間が全 PCB 測定に比較して非常に少なく、同定、定量計算におけるミスを低減できる。
- 2) 13 成分は溶出時間帯、質量妨害等の観点から定量しやすい化合物を選択可能である。
 - 3) 13 成分はある程度存在比の高い化合物を選択可能であり、測定感度の観点から有利である。
 - 4) 各「説明変数」と 13 成分との「換算係数」を別途、試料測定時の下限値より低い領域まで求めておけば、全 PCB の定量下限値は試料測定時の下限値に制限されない。
 - 5) 13 成分の組成比を用いて統計計算を行うので、PCB 各化合物の測定精度 (ばらつき) が相互補完され全 PCB 濃度が算出される。
 - 6) 前処理、測定に異常がなかったかどうか、各種統計値から判断可能な場合があり、測定データの信頼性確保 (精度管理) の観点から有利である。

表 2.5.1.1 計算に使用する 13 成分と各成分に含まれる PCB 化合物の例

同族体の種別	成分番号	含まれる主な PCB 化合物の IUPAC 番号						
三塩化 ビフェニル	1	17	18					
	2	28	31					
四塩化 ビフェニル	3	49	52					
	4	44						
	5	<u>58</u>	<u>61</u>	63	66	70	74	<u>76</u>
五塩化 ビフェニル	6	<u>89</u>	90	101	<u>113</u>			
	7	85	110	<u>120</u>				
	8	107	118	123				
六塩化 ビフェニル	9	139	<u>140</u>	147	149			
	10	132	153	<u>168</u>				
	11	130	138	158	<u>160</u>	163	164	
七塩化 ビフェニル	12	175	<u>182</u>	183	187			
	13	172	180	191	193			

参考 1) 成分番号：クロマトグラム上における複数のピークの積算でも良い。

参考 2) 表中、太字斜体の化合物は絶縁油中の PCB 組成として存在画分が比較的大きい (KC の種類にもよるが、全 PCB の約 1%以上) 化合物を示す。

参考 3) 表中、下線の化合物は絶縁油中の PCB 組成として存在画分が非常に小さい (KC の種類にもよるが、全 PCB の約 0.1%未満) 化合物を示す。

(3) 機器測定

1) 測定条件

トリプルステージ(タンデム、三連四重極)型ガスクロマトグラフ質量分析計、又はガスクロマトグラフ四重極型質量分析計、又は、二重収束型質量分析計による。使用する GC カラムは PCB 全 209 各化合物の溶出位置が実際の測定に採用する GC 条件において判明していなければならない。

- a. 検量線の作成 検量線用の標準物質には、表 2.5.1.1 に示す 13 各成分に含まれる主な異性体(表中、太字斜体の化合物)の内、1 種類以上含まれていること。又、三塩化ビフェニルから七塩化ビフェニルの各同族体にはクリーンアップスパイクが最低 1 種類含まれていること。シリンジスパイクが複数含まれていること。適切な検量線用標準物質の例を付表 2.5.1.1 に示す。

2) 定性法

表 2.5.1.1 に示す 13 成分を同定する^{※1)}。これ以外の成分は測定、同定、定量する必要はない。

3) 定量法

a. 重回帰分析

ここでは、KC-300、KC-400、KC-500 及び KC-600 に対応して、「説明変数 A」、「説明変数 B」、「説明変数 C」及び「説明変数 D」を設定するものとして説明する。

- i KC-300、KC-400、KC-500 及び KC-600 中の PCB 組成比(全 PCB 存在量に対する表 2.5.1.1 に示す 13 成分の組成比)を準備する^{注2)}。この 209 化合物の中で表 2.5.1.1 に示す 13 成分の組成比は、重回帰分析に用いる「説明変数 A」、「説明変数 B」、「説明変数 C」及び「説明変数 D」に対応する。
- ii 定量した試料中の 13 成分の組成比を「目的変数」として「定数項を含まない線形重回帰分析」を行い、「説明変数 A」、「説明変数 B」、「説明変数 C」及び「説明変数 D」に対応する「回帰係数 A」、「回帰係数 B」、「回帰係数 C」及び「回帰係数 D」をそれぞれ算出する。

具体的には、

重回帰分析における予測値(試料中の 13 成分の個々の組成比) \underline{Y} は、一般的には式-1 に示すように、定数項 β_0 、 p 個の独立変数 X_i ($i = 1, 2, \dots, p$) で表すことができる。

$$\underline{Y} = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \dots + \beta_p X_p \quad \langle \text{式-1} \rangle$$

ここでは、独立変数(説明変数)は KC-300、KC-400、KC-500 及び KC-600 である

ので、 $i = 1, 2, 3, 4$ となる。また、 \underline{Y} は13成分個々について存在するので、式-1は13存在することになる。なお、本法では「定数項を含まない線形重回帰分析」を行うので、 $\beta_0 \rightarrow 0$ (ゼロ)となる。

実測値(Y_i)と \underline{Y}_i の差、すなわち、残差は正負の符号を持つので、2乗和(Q)が最小となるように、式-2によって独立変数に回帰係数(β_i)を定める。nは「試料中の13成分の個々の組成比」であるので13である。

$$Q = \sum_{i=1}^n e_i^2 = \sum_{i=1}^n (Y_i - \underline{Y}_i)^2$$

$$= \sum_{i=1}^n \{Y_i - (\beta_0 + \beta_1 X_{i1} + \beta_2 X_{i2} + \beta_3 X_{i3} + \beta_4 X_{i4})\}^2 \quad \langle\langle \text{式-2} \rangle\rangle$$

式-2を偏微分し、0(ゼロ)とする。

$$\partial Q / \partial \beta_1 = -2 \sum_{i=1}^n X_{i1} \{Y_i - (\beta_0 + \beta_1 X_{i1} + \beta_2 X_{i2} + \beta_3 X_{i3} + \beta_4 X_{i4})\} = 0$$

$$\partial Q / \partial \beta_2 = -2 \sum_{i=1}^n X_{i2} \{Y_i - (\beta_0 + \beta_1 X_{i1} + \beta_2 X_{i2} + \beta_3 X_{i3} + \beta_4 X_{i4})\} = 0$$

$$\partial Q / \partial \beta_3 = -2 \sum_{i=1}^n X_{i3} \{Y_i - (\beta_0 + \beta_1 X_{i1} + \beta_2 X_{i2} + \beta_3 X_{i3} + \beta_4 X_{i4})\} = 0$$

$$\partial Q / \partial \beta_4 = -2 \sum_{i=1}^n X_{i4} \{Y_i - (\beta_0 + \beta_1 X_{i1} + \beta_2 X_{i2} + \beta_3 X_{i3} + \beta_4 X_{i4})\} = 0 \quad \langle\langle \text{式-3} \rangle\rangle$$

式-3に、独立変数 X_i, X_j 間の変動・共変動(式-4)、および、独立変数 X_i と従属変数 Y の共変動(式-5)を代入し、 $\beta_0 = 0$ として(式-6)を得る。

$$S_{ij} = \sum_{k=1}^n (X_{ki})(X_{kj}) \quad \langle\langle \text{式-4} \rangle\rangle$$

$$S_{iy} = \sum_{k=1}^n (X_{ki})(Y_k) \quad \langle\langle \text{式-5} \rangle\rangle$$

$$\beta_1 S_{11} + \beta_2 S_{12} + \beta_3 S_{13} + \beta_4 S_{14} = S_{1y}$$

$$\beta_1 S_{21} + \beta_2 S_{22} + \beta_3 S_{23} + \beta_4 S_{24} = S_{2y}$$

$$\begin{aligned}\beta_1 S_{31} + \beta_2 S_{32} + \beta_3 S_{33} + \beta_4 S_{34} &= S_{3y} \\ \beta_1 S_{41} + \beta_2 S_{42} + \beta_3 S_{43} + \beta_4 S_{44} &= S_{4y}\end{aligned}\quad \langle\langle \text{式-6} \rangle\rangle$$

この連立方程式を解き、回帰係数 β_1 , β_2 , β_3 及び β_4 を求める。

4つの回帰係数 β_1 , β_2 , β_3 及び β_4 は、「説明変数 A」、「説明変数 B」、「説明変数 C」及び「説明変数 D」に対応する「回帰係数 A」、「回帰係数 B」、「回帰係数 C」及び「回帰係数 D」である。

b. 全 PCB 濃度の算出

i 換算係数の算出^{*3)}

KC-300、KC-400、KC-500 及び KC-600 に対応する「換算係数 A」、「換算係数 B」、「換算係数 C」及び「換算係数 D」を式-7、8、9 及び 10 にて計算する。

$$\text{換算係数 A} = \text{KC-300 中の 209 成分濃度の合計} / \text{KC-300 中の 13 成分濃度の合計} \quad \langle\langle \text{式-7} \rangle\rangle$$

$$\text{換算係数 B} = \text{KC-400 中の 209 成分濃度の合計} / \text{KC-400 中の 13 成分濃度の合計} \quad \langle\langle \text{式-8} \rangle\rangle$$

$$\text{換算係数 C} = \text{KC-500 中の 209 成分濃度の合計} / \text{KC-500 中の 13 成分濃度の合計} \quad \langle\langle \text{式-9} \rangle\rangle$$

$$\text{換算係数 D} = \text{KC-600 中の 209 成分濃度の合計} / \text{KC-600 中の 13 成分濃度の合計} \quad \langle\langle \text{式-10} \rangle\rangle$$

ii 全 PCB 濃度の算出

式-11 によって全 PCB 濃度を算出する。

$$\begin{aligned}\text{全 PCB 濃度} &= (\text{PCB13 成分の積算濃度}) \times (\text{説明変数 A の回帰係数}) \times (\text{換算係数 A}) \\ &+ (\text{PCB13 成分の積算濃度}) \times (\text{説明変数 B の回帰係数}) \times (\text{換算係数 B}) \\ &+ (\text{PCB13 成分の積算濃度}) \times (\text{説明変数 C の回帰係数}) \times (\text{換算係数 C}) \\ &+ (\text{PCB13 成分の積算濃度}) \times (\text{説明変数 D の回帰係数}) \times (\text{換算係数 D})\end{aligned}\quad \langle\langle \text{式-11} \rangle\rangle$$

(4) 品質管理（精度管理）

- 1) 重回帰分析によって得られた回帰係数や KC 組成が既知の知見と異なる場合、前処理、測定、同定等の段階（本計算法にデータを供する前の段階）で何らかのミスが生じている可能性が高いので、データの確認を行う。重回帰分析によって得られる統計値、すなわち、標準偏差、相関係数、標準誤差、F 値、自由度、回帰平方和、残差平方和も測定結果の妥当性確認に用いる。
- 2) 定期的に QCM(品質管理試料)、あるいは既知濃度の KC 等を用いて手法の妥当性確認試験を行う。

(5) 留意事項

※1 本法では特定の化合物のみの結果を利用するので、前処理、測定、同定、定量の手法は本法に適合するように変更して良い。なお、表 2.5.1.1 に示す「含まれる主な異性体の IUPAC#」以外の組合せを使用する場合、事前にその組合せが各説明変数に対応する目的変数として使用可能であることを検証しなければならない。

※2 方法としては次の 2 通りがある。

①既存の報告を参考として、各説明変数における各目的変数を求める方法

この方法を用いる場合、報告されている各 PCB 化合物の分離状態と実際に使用する測定条件の組合せが妥当であるかの検証を行う。例えば同一の GC カラムを用いて同一の GC 条件で測定を行った場合でも、質量分析計が異なっている場合、質量分離能の違いによるフラグメントの影響も組成比に影響を与えるので注意が必要である。

②実際の測定に使用する装置、測定条件で KC の組成データを得て使用する

具体的には KC-300、KC-400、KC-500 及び KC-600 に対して実際の測定に使用する装置、測定条件で測定を行い、この結果を利用して各説明変数を求める。

※3 使用する GC/MS 種類、カラム等の条件によるが、通常、「換算係数 A」、「換算係数 B」、「換算係数 C」及び「換算係数 D」は、1.5 から 2.5 の範囲である。

附属書 2.5.1 標準物質の例

付表 2.5.1.1 13 成分測定のための標準物質の例 (EC-5448, CIL)

種別	化合物の名称	IUPAC#	
Native	2,2',5-TriCB	18	
	2,4,4'-TriCB	28	
	2,2',3,5'-TetraCB	44	
	2,2',5,5'-TetraCB	52	
	2,3'4',5-TetraCB	70	
	2,2',4,5,5'-PentaCB	101	
	2,3,3',4',6-PentaCB	110	
	2,3',4,4',5-PentaCB	118	
	2,2',3,4,4',5'-HexaCB	138	
	2,2',3,4',5',6-HexaCB	149	
	2,2',4,4',5,5'-HexaCB	153	
	2,2',3,4,4',5,5'-HeptaCB	180	
	2,2',3,4',5,5',6-HeptaCB	187	
Labeled	Clean-up Spike (EC-5379,CIL)	¹³ C ₁₂ -2,4,4'-TriCB	28
		¹³ C ₁₂ -2,2',5,5'-TetraCB	52
		¹³ C ₁₂ -2,2',4,5,5'-PentaCB	101
		¹³ C ₁₂ -2,2',3,4,4',5'-HexaCB	138
		¹³ C ₁₂ -2,2',4,4',5,5'-HexaCB	153
		¹³ C ₁₂ -2,2',3,4,4',5,5'-HeptaCB	180
	Syringe Spike (EC-5450,CIL)	¹³ C ₁₂ -2,3'4',5-TetraCB	70
		¹³ C ₁₂ -2,3',4,4',5-PentaCB	118
		¹³ C ₁₂ -2,2',3,4,5,5'-HexaCB	141

CIL: Cambridge Isotope Laboratories

2.6 生化学的方法による簡易定量法

2.6.1 加熱多層シリカゲルカラム/アルミナカラム/フロー式イムノセンサー法

(1) 概要（適用範囲）

ここに定める方法は、前処理に多層シリカゲルカラム及びアルミナカラムを使用してクリーンアップを行い測定に抗 PCB モノクローナル抗体と抗原固相化ビーズを用いたフロー式イムノセンサー（結合平衡除外法）を利用して行うもので、絶縁油中の PCB 濃度の簡易定量について適用する。クロマトグラフのような試料特徴を示す分析データが残らないので、トレーサビリティを確保できるシステムで分析することが必要。

(2) 測定の概要

1) 測定の概要

試料を硫酸シリカゲルカラム硝酸銀シリカゲルカラムおよびアルミナカラムを用いて分画を行い、ジメチルスルホキシド(DMSO)で溶出させ、測定には抗 PCB モノクローナル抗体と抗原固相化ビーズを用いたフロー式イムノセンサー（結合平衡除外法）を利用して PCB 濃度を簡易に定量する。又、回収率測定は PCB#169 を用いて行う。

2) 測定操作フロー

本方法での試料調製に関するフロー図を図 2.6.1.1、測定に関するフロー図を図 2.6.1.2 に示す。

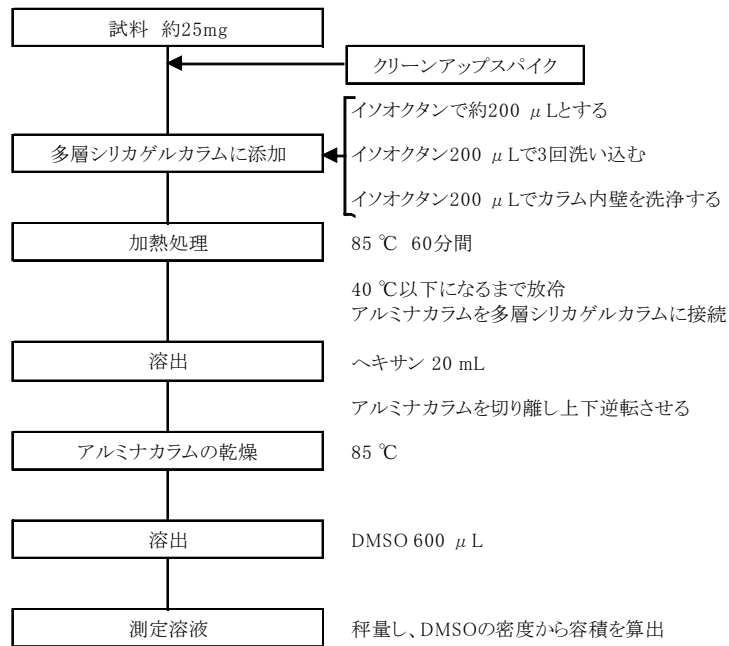


図 2.6.1.1 試料調製のフロー図

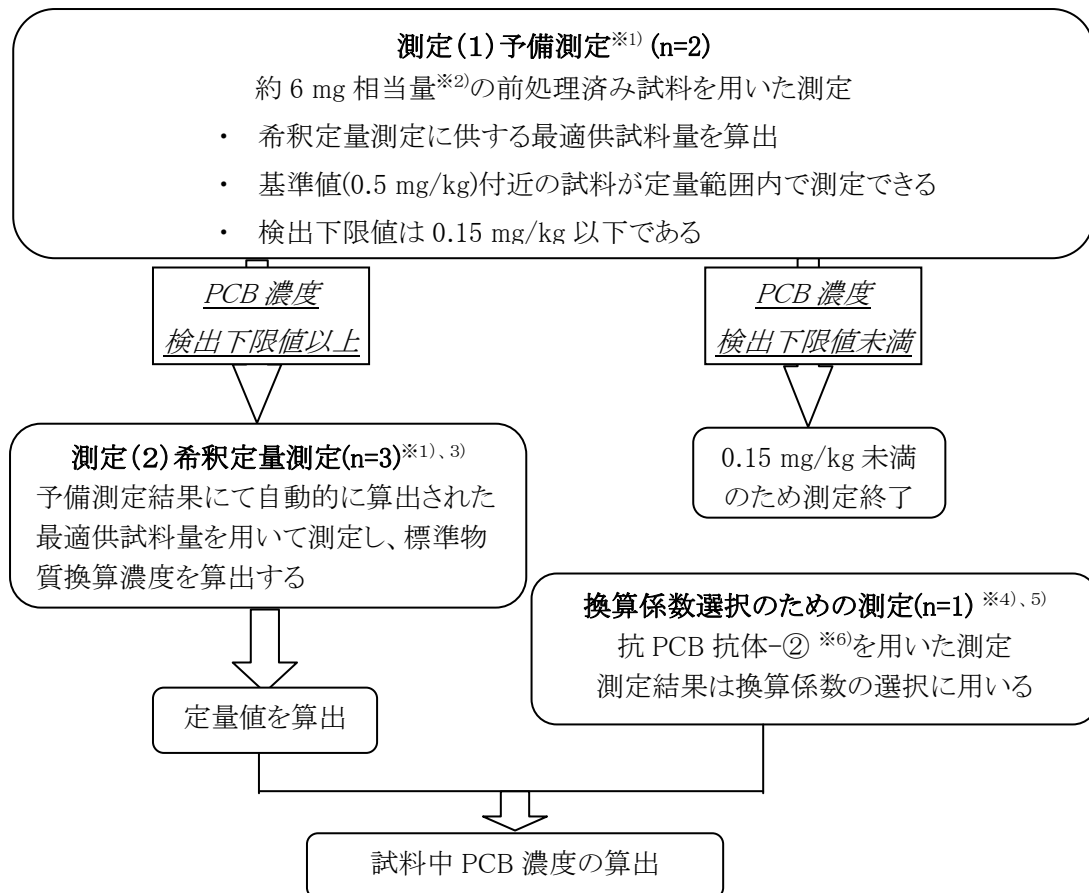


図 2.6.1.2 フロー式イムノセンサー（結合平衡除外法）による測定方法のフロー図

(3) 試薬、器具及び装置

1) 試薬

測定に使用する試薬^{*7)}は次による。これらの試薬は、空試験などによって測定に支障のないことを確認しておく。又、記述以外の試薬を使用する場合も同等の試験を行い、測定に支障のないことを確認しておく。

- a. **ヘキサン** JIS K8825 に規定するもの、又は同等の品質のもの。
- b. **ジメチルスルホキシド(DMSO)** JIS K9702 に規定するもの、又は同等の品質のもの。
- c. **イソオクタン** JIS K9703 に規定するもの、又は同等の品質のもの。
- d. **多層シリカゲルカラム及びアルミナカラム** 44%硫酸シリカゲル 4.7g、20%硝酸銀シリカゲル 0.59g を充填したカラム、並びに、活性化を施したアルミナ 0.6g を充填したカラム。これらのカラムは、市販されている。これらのカラムは、洗浄された状態で入手できるので、特に使用前の洗浄は行わなくて良い。
- e. **クリーンアップスパイク溶液** 3,3',4,4',5,5'-Hexachlorobiphenyl (IUPAC No. 169:以下PCB169)の 200 ng/mL のイソオクタン溶液。
- f. **水** JIS K0557 に規定する A4(又は A3)の水又は同等の品質のもの。
- g. **リン酸水素二ナトリウム十二水和物** JIS K8001 に規定するもの、又は同等の品質のもの。
- h. **塩化ナトリウム** JIS K8001 に規定するもの、又は同等の品質のもの。
- i. **リン酸二水素カリウム** JIS K8001 に規定するもの、又は同等の品質のもの。
- j. **塩化カリウム** JIS K8001 に規定するもの、又は同等の品質のもの。
- k. **リン酸緩衝生理食塩液 (PBS (-))** JIS K0461 に規定するもの、又は同等の品質のもの。
- l. **ウシ血清アルブミン (BSA)** JIS L1902 で使用されている生化学試験用のもの。
- m. **水酸化ナトリウム (NaOH)** JIS K8576 に規定するもの、又は同等の品質のもの。
- n. **アジ化ナトリウム (NaN₃)** JIS K9501 に規定するもの、又は同等の品質のもの。
- o. **エタノール** JIS K8101 に規定するもの、又は同等の品質のもの。
- p. **試料調製用緩衝液** 1000 mL の水にリン酸水素二ナトリウム十二水和物 2.79 g、塩化ナトリウム 7.60 g、リン酸二水素カリウム 0.20 g、塩化カリウム 0.20g、アジ化ナトリウム 0.20 g、ウシ血清アルブミン 1.0 g を十分に溶解させた後、孔径 0.45 μm のフィルターでろ過したもの。
- q. **測定用緩衝液** 800 mL の水にリン酸水素二ナトリウム十二水和物 2.79 g、塩化ナトリウム 7.60 g、リン酸二水素カリウム 0.20 g、塩化カリウム 0.20 g、アジ化ナトリウム 0.20 g、ウシ血清アルブミン 1.0 g を十分に溶解させた後、DMSO 50 mL を加え攪拌する。水を用いて全量を 1000 mL とし、再度攪拌した後、孔径 0.45 μm のフィルターを用いてろ過したもの。

- r. **再生液** 95 mLの水に水酸化ナトリウム 0.10 gを溶解させた後、5 mLのDMSOを加え攪拌溶解させたもの。
- s. **校正液-①** DMSOにより 2,4,5-トリクロロフェノキシヘキサノイルアミノプロピオン酸(TCPHA)を濃度約 30 μ g/mLに調製したもの。校正液-①^{※8)}は使用する蛍光検出装置に適切なものを用いる。
- t. **校正液-②(換算係数選択のための測定用)** DMSOにより TCPHAを濃度約 5 ng/mLに調製したもの。
- u. **校正液-③(分析における回収率確認のための測定用)** DMSOにより PCB169を濃度 1.2 ng/mLに調製したもの。
- v. **検量線作成用標準液** 定量範囲内で5段階以上となるようにDMSOによりカネクロール混合物質(KC-300、KC-400、KC-500、KC-600当量混合物、以下KCmix)標準溶液(約1から1000 ng/mL程度)を調製する。
- w. **換算係数選択のための測定試薬類** 換算係数を選択するために行う測定に使用する試薬類。(3).2).aで用いる抗PCB抗体-①とは特異性の異なる本法で使用する蛍光検出装置により検出可能な蛍光色素により標識された抗PCB抗体-②^{※4)} ^{※5)}と、抗原固相化ビーズを使用する。
- x. **抗PCB抗体-①** 特許生物寄託センター受託番号 FERM P-20845で寄託されたハイブリドーマにより産生されるモノクローナル抗体(特許出願番号:特開 2007-284392)、又は同等の反応性並びに感度を有するもの。
- y. **抗PCB抗体-②** KC600に特異性が高いモノクローナル抗体であり、KC600を1とした時の交差反応性は、KC500が約0.6~0.8、KC300およびKC400が約0.4以下である抗体。
- z. **抗PCB169抗体(抗PCB抗体-③)** 分析における回収率の確認のための測定に用いるPCB169に特異的に反応する抗体であり、特許生物寄託センター受託番号 FERM P-17099で寄託されたハイブリドーマにより産生されるモノクローナル抗体^{※9)}(特許 JP3969878)、又は同等の反応性並びに感度を有するもの。

2) 器具

測定に使用する器具は次による。これらの器具は、空試験などによって測定に支障のないことを確認しておく。

- a. **PCB バイオセンサ測定キット^{※1)}** フロー式イムノセンサー用キット(抗PCBモノクローナル抗体には、抗PCB抗体-①を、抗原固相化ビーズには、2,4,5-トリクロロフェノール誘導体及び高分子担体から合成したものを使用する)。
- b. **マイクロチューブ** 容量が約1.5 mLのもの。
- c. **マイクロピペット** JIS K0970に規定するもの、又は同等の品質のもの。
- d. **マイクロピペット用チップ** JIS K0970に規定するもの、又は同等の品質のもの。

- e. フィルター(0.45 μm) JIS K3802に規定するもの、又は同等の品質のもの。
- f. 試料瓶(ガラス製) 5~10 mL程度の遮光の出来る褐色瓶。

3) 装置

測定に使用する装置^{*7)}、^{*10)}は次による。

- a. 多層シリカゲルカラム加熱用ヒーター 温度調節機能を備えたもので、多層シリカゲルカラム中で試料が浸透している領域を目的温度で持続的に加熱できるもの。
- b. アルミナカラム加熱用ヒーター 温度調節機能を備えたもので、アルミナカラムに充填したアルミナを目的温度で持続的に加熱できるもの。
- c. 蛍光検出装置 励起波長 650 nmを発光でき、得られる蛍光波長 665 nmの蛍光強度を精度良く検出できる装置。
- d. 送液システム 3種類以上の溶液(反応液、緩衝液、再生液等)を正確かつ、精密な流量、流速で送液できるシステム。

(4) 前処理

1) 試料の調製

試料約 25 mg^{*11)}をマイクロチューブに秤量し、200 ng/mLのクリーンアップスパイク溶液 40 μL を添加した後、イソオクタンを加えて全量を約 200 μL の均一溶液とする。

2) 加熱多層カラム前処理

- a. 試料調製の操作で調製した溶液を多層シリカゲルカラム^{*12)}に移し入れ、マイクロチューブをイソオクタン 200 μL で3回洗い込んだ後、イソオクタン 200 μL にて多層シリカゲルカラムの内壁を洗浄する^{*13)}。
- b. 多層シリカゲルカラムに移し入れた溶液が展開している部分^{*14)}を多層シリカゲルカラム加熱用ヒーターで 85 $^{\circ}\text{C}$ にて 60 分間^{*15)}加熱した後、多層シリカゲルカラムを 40 $^{\circ}\text{C}$ 以下になるまで放冷する。
- c. アルミナカラムを多層シリカゲルカラム下端に連結した後、ヘキサン 20 mL^{*16)}を流下させる^{*17)}。
- d. アルミナカラムを多層シリカゲルカラムと切り離し、アルミナカラム加熱用ヒーターで 85 $^{\circ}\text{C}$ ^{*18)}に加熱しながら清浄な空気もしくは窒素をアルミナカラムに吹き込み、アルミナカラムに残留しているヘキサンを乾燥する。
- e. 上下逆転させたアルミナカラムを 85 $^{\circ}\text{C}$ に維持しながら DMSO 600 μL ^{*19)}を添加し、アルミナカラム下端にマイクロチューブを置いて、約 200 から 300 μL の溶出液を得る。秤量し、風袋との差分を重量測定し、DMSOの密度から容積を求め測定溶液とする。

3) ブランク試料溶液(B0液)の調製

試料瓶に DMSO 300 μL 、試料調製用緩衝液 4200 μL を加え泡立てないように攪拌混合

後、抗 PCB 抗体液(抗 PCB 抗体-①液、抗 PCB 抗体-②液又は抗 PCB 抗体-③液) 1500 μ L を追加し、穏やかに攪拌混合し、ブランク試料溶液(B0 液)とする。

4) 校正試料溶液の調製

試料瓶に各測定に適した校正液(校正液-①、校正液-②又は校正液-③) 150 μ L^{*20)}、試料調製用緩衝液 2100 μ L を試料瓶に加え泡立てないように攪拌混合後、抗 PCB 抗体液(抗 PCB 抗体-①液、抗 PCB 抗体-②液又は抗 PCB 抗体-③液) 750 μ L を追加し、穏やかに攪拌混合し、校正試料溶液とする。

5) 測定試料溶液(予備測定用)の調製

試料瓶に DMSO 90 μ L、試料溶液 60 μ L^{*21)} を加え軽く混合後、試料調製用緩衝液 2100 μ L を追加し、泡立てないように攪拌混合する。抗 PCB 抗体液(抗 PCB 抗体-①液) 750 μ L を追加し、再度泡立てないよう穏やかに攪拌混合し、測定試料溶液(予備測定用)とする。

6) 測定試料溶液(希釈定量測定用)の調製

試料瓶に DMSO (150-X) μ L を加え、試料 X^{*22)} μ L を加え軽く混合後、試料調製用緩衝液 2100 μ L を追加し、泡立てないように攪拌混合する。抗 PCB 抗体-①液 750 μ L を追加し、再度泡立てないよう穏やかに攪拌混合し、測定試料溶液(希釈定量測定用)とする。測定試料溶液(希釈定量測定用)の調製における各試薬の添加量を表 2.6.1.1 に示す。

表 2.6.1.1 測定試料溶液(希釈定量測定用)の調製における試薬の添加量

	校正試料-①溶液 (1 本)	試料溶液 (3 本)	B0 液 (1 本)
DMSO	-	(150-X) μ L	300 μ L
試料	150 μ L	X μ L	-
試料調製用 バッファー液	2100 μ L	2100 μ L	4200 μ L
抗 PCB 抗体-①液量	750 μ L	750 μ L	1500 μ L
測定時の調製 試料量	3000 μ L	3000 μ L	6000 μ L
セットするポート ^{*23)}	ポート 1	ポート 2 から 4	B0 ポート

7) 測定試料溶液(試料の精製度確認のための測定用)の調製

試料瓶 3 本にそれぞれ DMSO (150-A^{*24)}), (150-B^{*24)}), (150-C^{*24)}) μ L を加え、試料 A μ L, B μ L, C μ L をそれぞれ加え軽く混合後、試料調製用緩衝液 2100 μ L を追加し、泡立てないように攪拌混合する。抗 PCB 抗体-①液 750 μ L を追加し、再度泡立てないよう穏やかに攪拌混合し、測定試料溶液の調製(希釈評価測定用)とする。測定試料溶液(試料の精製度確認のための測定用)の調製における各試薬の添加量を表

2.6.1.2 に示す。

表 2.6.1.2 測定試料溶液(試料の精製度確認のための測定用)の調製における試薬の添加量

	校正試料-① 溶液(1本)	精製度確 認試料 1	精製度確 認試料 2	精製度確 認試料 3	B0 液(1本)
DMSO	-	(150-A) μ L	(150-B) μ L	(150-C) μ L	300 μ L
試料	150 μ L	A μ L	B μ L	C μ L	-
試料調製用 バッファー液	2100 μ L	2100 μ L	2100 μ L	2100 μ L	4200 μ L
抗 PCB 抗体-① 液量	750 μ L	750 μ L	750 μ L	750 μ L	1500 μ L
測定時の調製 試料量	3000 μ L	3000 μ L	3000 μ L	3000 μ L	6000 μ L
セットするポート ※23)	ポート 1	ポート 2	ポート 3	ポート 4	B0 ポート

8) 測定試料溶液(換算係数選択のための測定用)の調製

試料瓶に DMSO ($75-1.5 \times a^{*2.5}$) μ L を加え、試料 ($1.5 \times a$) μ L を加え軽く混合後、試料調製用緩衝液 1050 μ L を追加し、泡立てないように攪拌混合する。抗 PCB 抗体-②液 375 μ L を追加し、再度泡立てないよう穏やかに攪拌混合し、測定試料溶液(換算係数選択のための測定用)とする。抗 PCB 抗体-①と抗 PCB 抗体-②とで算出された実測値 (μ g/g) の比率より、PCB 濃度へ換算するために用いる換算係数を選択する。測定試料溶液(換算係数選択のための測定用)の調製における各試薬の添加量を表 2.6.1.3 に示す。

表 2.6.1.3 測定試料溶液(換算係数選択のための測定用)の調製における各薬の添加量

	校正試料-② 溶液(1本)	試料溶液 (最大 3 本)	B0 液 (1本)
DMSO	-	($75-1.5 \times a$) μ L	300 μ L
試料	75 μ L	($1.5 \times a$) μ L	-
試料調製用 バッファー液	1050 μ L	1050 μ L	4200 μ L
抗 PCB 抗体-②液量	375 μ L	375 μ L	1500 μ L
測定時の調製 試料量	1500 μ L	1500 μ L	6000 μ L
セットするポート※23)	ポート 1	ポート 2 から 4	B0 ポート

測定値の比率の計算

実測値の比率 = 抗 PCB 抗体-②での実測値 / 抗 PCB 抗体-①での実測値

備考 比率および換算係数は提供する試薬の Lot 毎に異なる場合がある。(6).2) 換算係数を参照。

9) 分析における回収率確認

試料瓶に DMSO(150-Z^{*26)} μL を加え、試料 Z μL を加え軽く混合した後、試料調製用緩衝液 2100 μL を追加し、泡立てないように攪拌混合する。抗 PCB 抗体-③液 750 μL を追加し、再度泡立てないよう穏やかに攪拌混合し、測定試料溶液とする。測定試料溶液(前処理回収率確認のための測定用)の調製における各試薬の添加量を表 2.6.1.4 に示す。

表 2.6.1.4 測定試料溶液(分析における回収率確認のための測定用)の調製における試薬の添加量

	校正試料-③溶液 (1本)	試料溶液 (最大3本)	B0液 (1本)
DMSO	-	(150-Z) μL	300 μL
試料	150 μL	Z μL	-
試料調製用 バッファー液	2100 μL	2100 μL	4200 μL
抗 PCB 抗体-③液量	750 μL	750 μL	1500 μL
測定時の調製 試料量	3000 μL	3000 μL	6000 μL
セットするポート ^{*23)}	ポート1	ポート2から4	B0ポート

備考 絶縁油約 25 mg に PCB169 をクリーンアップスパイクとして 8 ng 添加し前処理を行い、得られた約 250 μL の調製試料の内、1/50 倍量(約 5 μL) を測定した場合、測定系における絶縁油量は約 0.5 mg、クリーンアップスパイクとして用いた PCB169 の終濃度(定量値)は 0.060 ng/mL となる。

(5) 測定

1) 測定条件

a. 標準液の測定

概ね 1 から 1000 ng/mL 程度の濃度域において、5 段階以上の希釈系列として調製された検量線作成用標準液は、全濃度域において最低 5 回以上、合計 25 点以上のデータを得る。

表 2.6.1.5 に検量線作成用測定試料溶液の調製例を示す。まず、8 つの試料瓶に濃度ごとの標準溶液を 150 μL ずつ添加する。その後、試料調製用緩衝液 2100 μL を追加し、泡立てないように攪拌混合した後、さらに抗 PCB 抗体液-① 750 μL を追加し、再度泡立てないように穏やかに攪拌混合し調製する。測定試料溶液の濃度は試料調製用緩衝液と抗 PCB 抗体-①を添加することにより標準溶液を 20 倍希釈したことになる。尚、標準溶液を含まない DMSO 150 μL を用い調製した測定試料溶液をブランクとする。測定環境やキットの Lot 変更など、測定条件が異なる毎に標準液の測定を行うこと。

表 2.6.1.5 各検量線作成用標準液の調製例

溶液	単位	ブランク	STD1	STD2	STD3	STD4	STD5	STD6	STD7	STD8
KCmix標準液濃度	ng/mL	0	1	4	10	20	40	100	400	600
KCmix標準液終濃度	ng/mL	0	0.05	0.2	0.5	1	2	5	20	30

b. 4-パラメーターの算出

JIS K0464「ポリクロロビフェニル (PCB) の免疫測定方法通則」に従い、各検量線作成用標準液の濃度及び蛍光量から、下記に示す 4-パラメーターの式の各係数 (a, b, c, d) を算出する。

$$y = \left(\frac{a-d}{1 + \left(\frac{X}{c} \right)^b} \right) + d$$

ここに、

y : 測定値

d : 曲線における下方漸近値 (最小検出器測定結果)(B/B0)

a : 曲線における上方漸近値 (最大検出器測定結果)(B/B0)

X : 標準物質(KCmix)の質量濃度(ng/mL)

c : IC₅₀における標準物質(KCmix)の質量濃度(ng/mL)

b : 曲線の傾き

標準液の測定結果および検量線作成並びにパラメーターの例を表 2.6.1.6、表 2.6.1.7、図 2.6.1.3 に示す。

表 2.6.1.6 検量線作成に用いた各 KCmix 標準液の測定結果例

KCmix標準液終濃度 ng/mL	B/B ₀ 値
0.05	0.969
0.2	0.916
0.5	0.801
1	0.616
2	0.389
5	0.152
20	0.029
30	0.018

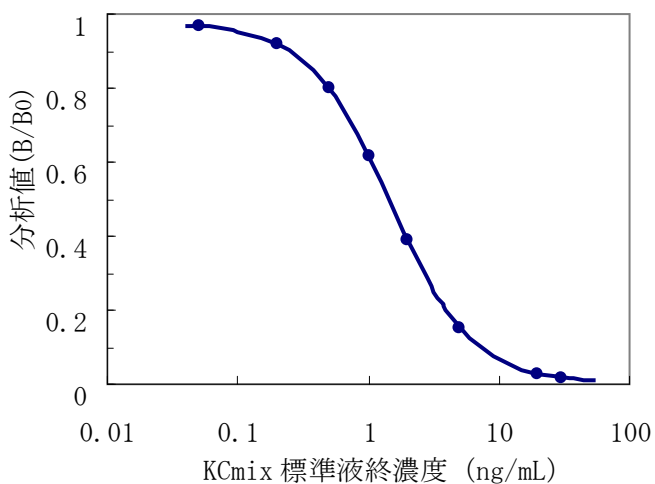


図 2.6.1.3 KCmix 標準液を用いた検量線の例

表 2.6.1.7 検量線より得られたパラメーター例

4-パラメーター式の各係数		
a	最大B/B ₀	0.953
b	曲線の傾き	1.467
c	IC ₅₀ 濃度	1.168
d	最小B/B ₀	-0.004

c. 測定操作のフロー

測定セルを用いた試料溶液測定のプロフローを図 2.6.1.4 に示す。

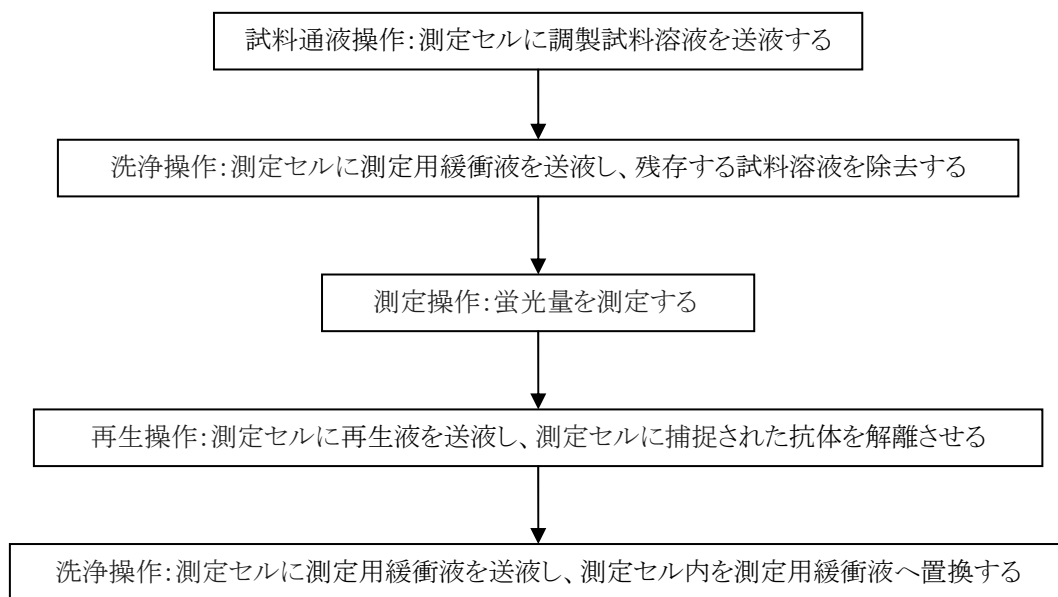


図 2.6.1.4 試料溶液測定のプロフロー

測定（１）

d. 予備測定（n=2）

- i. (4).3から(4).5に従って測定用試料を調製する。
- ii. 測定セルにブランク試料溶液 0.4 mL を最適速度（例えば流速 0.75 mL/min.）で送液する（以下、試料通液操作と称する）。
- iii. 測定用緩衝液 0.75 mL を最適速度（例えば流速 0.75 mL/min.）で送液（以下、洗浄操作と称する）し、測定セル部に残存する試料溶液を洗浄除去する。
- iv. 蛍光量を測定する（以下、測定操作と称する）（B₀ 値）。
- v. 測定セルに再生液 0.75 mL を最適速度（例えば流速 0.75 mL/min.）で送液（以下、再生操作と称する）し、測定セルに結合した抗 PCB 抗体(抗 PCB 抗体-①)を解離させる。
- vi. 洗浄を行い、測定セルを元の状態に復帰させる。
- vii. 測定セルに校正試料-①溶液 0.4 mL を最適速度（例えば流速 0.75 mL/min.）で送液する。次に洗浄操作を行い、蛍光量を測定する。
- viii. 測定セルの再生操作後、洗浄操作を行い、測定セルを元の状態に復帰させる。
- ix. 測定セルに測定試料溶液 0.4 mL を最適速度（例えば流速 0.75 mL/min.）で送液する。次に洗浄操作を行い、蛍光量を測定する（B 値）。
- x. 測定セルの再生操作後、洗浄操作を行い、測定セルを元の状態に復帰させる。
- xi. 1 個の測定セルで検体数に応じ、図 2.6.1.4 に示す操作を繰り返し、測定を行う。次に引き続き、定量下限値以上の場合は希釈定量測定を行い、その後、換算係数選択のための測定を行う。

e. 希釈定量測定（n=3）

- i. 抗 PCB 抗体-①、校正液-①を用いて、(4).3)、(4).4)、(4).6)に従って測定用試料を調製する。
- ii. 図 2.6.1.4 に示すフロー（試料通液操作、洗浄操作、測定操作、再生操作、洗浄操作）に従って測定を行う。

f. 試料の精製度確認のための測定^{※12)}（n=3）

- i. 抗 PCB 抗体-①、校正液-①を用いて、(4).3)、(4).4)、(4).7)に従って測定用試料を調製する。
- ii. 図 2.6.1.4 に示すフロー（試料通液操作、洗浄操作、測定操作、再生操作、洗浄操作）に従って測定を行う。

g. 換算係数選択のための測定（n=1）

- i. 抗 PCB 抗体-②、校正液-②を用いて、(4).3)、(4).4)、(4).8)に従って測定用試料を調製する。
- ii. (5).1). d. ix)における測定試料溶液量を 0.5 mL に変更し、図 2.6.1.4 に示すフロー（試料通液操作、洗浄操作、測定操作、再生操作、洗浄操作）に従って測定を行

う。

h. 分析における回収率確認のための生化学的測定 (n=2)

- i. 抗PCB抗体-③、校正液-③を用いて、(4).3)、(4).4)、(4).9)に従って測定用試料を調製する。
- ii. 図2.6.1.4に示すフロー（試料通液操作、洗浄操作、測定操作、再生操作、洗浄操作）に従って測定を行う。

i. PCB濃度の算出

得られた蛍光強度と検量線（応答曲線）から検液中のPCB濃度が求められ、測定結果より、実測値が下式を用いて算出される。

$$\begin{aligned} \text{実測値：絶縁油中に含まれる KCmix 相当量 } (\mu\text{g/g}) \\ = \text{KCmix 相当濃度 (ng/mL)} \times \text{係数①} \times \text{係数②} / \text{係数③} / 1000 \end{aligned}$$

ここに、

係数① 希釈率 (-) : 調製液量 (μL) / 供試量 (μL)

係数② 調製液量 (mL) : 測定対象とする前処理済み試料溶液の液量

係数③ 処理油重量 (g) : 前処理済み試料溶液に含まれる絶縁油重量

係数④ 換算係数^{*27)} ($\mu\text{g/g} \cdot (\text{mg/kg})$) : 絶縁油中に含まれるPCB濃度へ換算するための係数

$$\text{PCB 濃度：濃度換算値 (mg/kg)} = \text{実測値 } (\mu\text{g/g}) / \text{係数④ } (\mu\text{g/g} \cdot (\text{mg/kg}))$$

これより算出された値をPCB濃度(mg/kg)とする。

j. 分析における回収率確認のための機器分析

GC/ECD、GC/MS、GC/MS/MS法等により確認する事も出来る。

前処理したDMSO試料を、機器分析に供するためにヘキサン溶液に転溶する必要がある。転溶の方法としては、例えば次の通りである。

DMSO試料の30 μL を秤量し、これに転溶効率確認の為のスパイクとして、クリーンアップスパイク (PCB169) とは異なる分析に影響の無いPCB異性体、例えば2,3,3',4,4',5,5'-H7CB (IUPAC No. 189)、2,3,3',4,4',5,5',6-OCB (IUPAC No. 205)のいずれかの100 ng/mlのDMSO溶液を10 μl 添加する。10倍以上の量の水を加え、ヘキサンにて2回抽出し、硫酸ナトリウムで脱水、濃縮等の操作を経て、窒素パーズにより200 μl 程度まで濃縮する。そこに、100 ng/mlの2,2',3,3',4,4',5,5',6,6'-D10CB (IUPAC No. 209)のヘキサン溶液をシリンジスパイクとして10 μl 添加し400 μl となるようヘキサンで定容しこれを分析試料とする。

分析結果より転溶効率を求め、求めた転溶効率(%)は、クリーンアップスパイクであるPCB169の回収率に反映させ、転溶効率を100%としたときの回収率として算出する。

※ 回収率が85%から110%の間にあることを確認すること。バイオアッセイ法では、回収率を個々の試料毎に測定し、補正することは測定数を増大させるため困難である。このため、この確認を(20試料)分析あたり1回程度実施し、その範囲外の回収率が得られたときは当該ロットの全試料について回収率を測定する。回収率が85%~110%の外にある試料についてはその測定値を棄却し、再測定する。

2) 検出下限値・定量範囲

JIS K0464「ポリクロロビフェニル(PCB)の免疫測定方法通則」において規定されている精度プロファイル(定量値の変動係数を標準溶液の濃度に対してプロットした図)を作成し、求める(図2.6.1.5、図2.6.1.6、図2.6.1.7、表2.6.1.8、表2.6.1.9)。ただし、検量線においてCVが30%となる点の濃度におけるB/B₀値が0.9を超える場合、この数値を適用せずにB/B₀値が0.9を示す濃度を検出下限値とする。又、同様にCVが10%となる点の濃度におけるB/B₀値が0.85を超える場合、この数値を適用せずにB/B₀値が0.85を示す濃度を定量下限値とする(図2.6.1.8)。

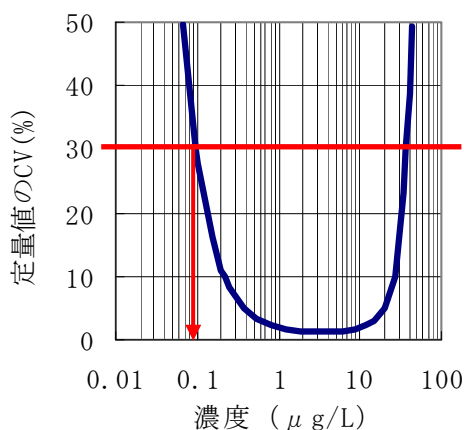


図 2.6.1.5 JIS K0464 における検出下限値の求め方

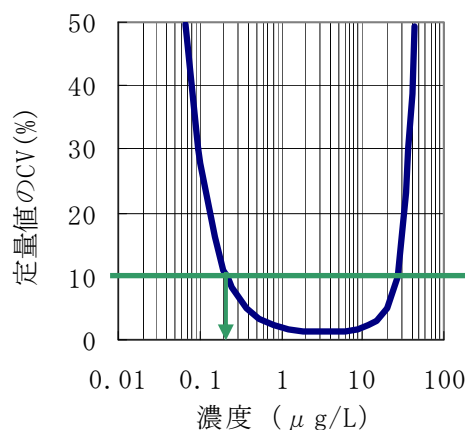


図 2.6.1.6 JIS K0464 における定量下限値の求め方

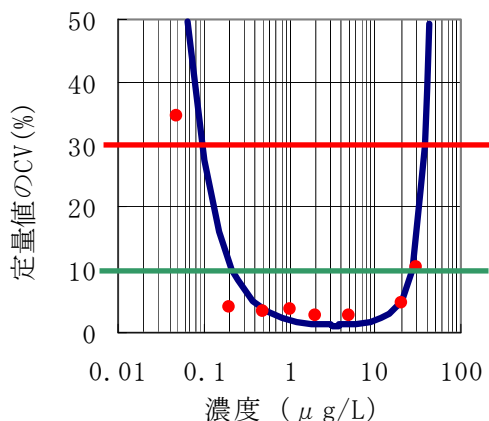


図 2.6.1.7 精度プロファイル

赤丸は表 2.6.1.8 の KCmix 各濃度における定量値の CV(%)

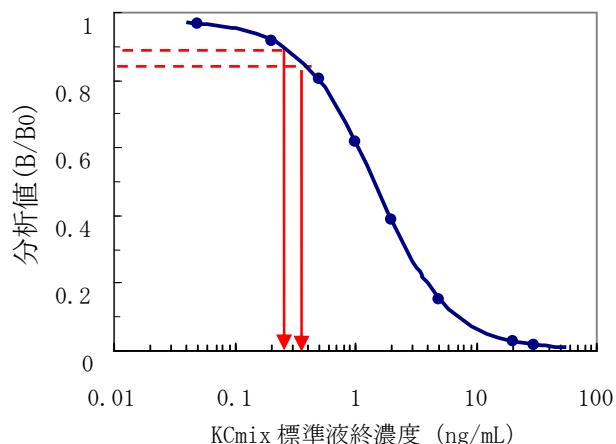


図 2.6.1.8 本測定における検出下限値

及び定量下限値の求め方

表 2.6.1.8 精度プロファイル作成に使用した KCmix 阻害曲線測定結果の一例

濃度 ng/mL	分析値(Y) : B/B0						Ave	YのSD σ	YのCV %
	n=1	n=2	n=3	n=4	n=5	n=6			
0.05	0.971	0.969	0.968	0.965	0.974	0.967	0.969	0.003	0.3%
0.2	0.917	0.913	0.912	0.918	0.920	0.918	0.916	0.003	0.3%
0.5	0.797	0.797	0.796	0.812	0.806	0.801	0.801	0.007	0.8%
1	0.606	0.606	0.607	0.635	0.620	0.622	0.616	0.012	1.9%
2	0.402	0.386	0.377	0.396	0.389	0.382	0.389	0.009	2.3%
5	0.158	0.152	0.144	0.156	0.151	0.151	0.152	0.005	3.1%
20	0.032	0.028	0.027	0.030	0.029	0.027	0.029	0.002	5.8%
30	0.022	0.018	0.017	0.020	0.016	0.017	0.018	0.002	12.3%

濃度 ng/mL	定量値(X) : ng/mL						Ave	XのSD σ	XのCV %
	n=1	n=2	n=3	n=4	n=5	n=6			
0.05	0.033	0.045	0.047	0.059	0.018	0.052	0.042	0.015	34.4%
0.2	0.206	0.218	0.219	0.202	0.199	0.203	0.208	0.008	4.0%
0.5	0.506	0.506	0.509	0.468	0.483	0.496	0.495	0.016	3.3%
1	1.038	1.038	1.033	0.944	0.992	0.986	1.005	0.038	3.8%
2	1.910	2.007	2.064	1.949	1.991	2.031	1.992	0.056	2.8%
5	4.878	5.033	5.267	4.911	5.063	5.079	5.039	0.139	2.8%
20	18.339	20.401	20.798	19.473	19.718	20.743	19.912	0.940	4.7%
30	24.812	30.056	31.179	27.885	32.998	32.286	29.869	3.062	10.3%

表 2.6.1.9 本測定における検出下限及び定量範囲の例

検出下限値	定量下限値	定量上限値
定量値の精度プロファイルより CV値=30 %を示すPCB濃度又は量を検出下限値とすると規定されているが、定量値の CV 値=30 %を示すPCB濃度又は量の下限値を検出下限値とした場合、実測値の精度が低下するため、B/B ₀ 値が0.9を示すPCB濃度又は量を検出下限とする。	定量値の精度プロファイルより算出された定量値のCV値=10 %を示すPCB濃度又は量を下限値とすると規定されているが、定量値のCV値=10 %を示すPCB濃度又は量の下限値を定量下限値とした場合、実測値の精度が低下するため、B/B ₀ 値が0.85を示すPCB濃度又は量を定量下限値とする。	定量値の精度プロファイルより算出された定量値のCV値=10 %を示すPCB濃度又は量を上限値とすると規定されているが、定量値のCV値=10 %を示すPCB濃度又は量の上限値を定量上限値とした場合、実測値の精度が低下するため、B/B ₀ 値が0.2を示すPCB濃度又は量を定量上限値とする。
0.25 ng/mL (KCmix標準品)	0.375 ng/mL (KCmix標準品)	3.94 ng/mL (KCmix標準品)
絶縁油25 mgを前処理し、200 μL溶液として調製された測定試料を50倍希釈して測定した場合 0.25/((25/200)/50)/1000 =0.100 μg/g (実測値)	絶縁油25 mgを前処理し、200 μL溶液として調製された測定試料を50倍希釈して測定した場合 0.375/((25/200)/50)/1000 =0.150 μg/g (実測値)	絶縁油25 mgを前処理し、200 μL溶液として調製された測定試料を50倍希釈して測定した場合 3.94/((25/200)/50)/1000 =1.576 μg/g (実測値)

用いる換算係数により、算出される検出下限値、定量下限値及び定量上限値は異なる。

3) 結果の報告及び評価

- a. 濃度の単位 実測値は絶縁油重量当たりの KCmix 相当量 μg/g で表示する。
- b. PCB 濃度 (mg/kg) への換算 実測値 (KCmix 相当量: μg/g) を PCB 濃度に換算する場合は、実測値を換算係数 (μg/g · (mg/kg)) で除して mg/kg として表示する。
- c. 数値の取り扱い 濃度の表示における取り扱いは、次による。
 - ・濃度については、JIS Z8401 によって数値を丸め、有効数字を 2 桁として表し、検出下限値未満の場合には検出下限値未満であったことを表示する。但し、試料における検出下限値の桁までとし、それより下の桁は表示しない。
 - ・定量下限値については、JIS Z8401 によって数値を丸め、有効数字を 2 桁として表示する。
- d. 結果の評価 判断基準 KCmix 標準品を用いた本測定において、測定値 (B/B₀) が 0.20

$\leq B/B_0 \leq 0.85$ を示す範囲を定量範囲とし、そのときの実測値範囲は $0.15 \sim 1.58 \mu\text{g/g}$ である (表 2.6.1.2)。

- ・実試料において、予備測定における測定値 (B/B_0) が $0.85 < B/B_0$ の試料は定量下限値 ($B/B_0 = 0.85 = 0.15 \text{ mg/kg}$) 未満の PCB 濃度であるため、希釈定量測定、希釈評価測定および換算係数選択のための測定は行わない。

- ・予備測定における測定値 (B/B_0) が推奨定量範囲外 ($0.70 > B/B_0$) の試料は推奨定量範囲 ($0.70 \leq B/B_0 \leq 0.85$) に入るように希釈を行い、希釈定量測定を行う。

- ・希釈定量測定における測定試料溶液の測定値が校正試料-①溶液の測定値の $\pm 5\%$ (例えば校正試料-①溶液の測定値が 0.75 の場合、測定試料溶液の測定値が 0.71 から 0.79) の範囲を外れた場合、この範囲に入る結果が得られるまで希釈定量測定をくり返す^{※28)}。

- ・定量上限値を超える試料であっても、試料を推奨定量範囲内まで希釈することで定量が可能である。

- ・定量範囲内の試料について、定量値のばらつき (CV) が 10% 以内のものについては、平均値を試料の PCB 濃度とする。 10% を超えるものについては、再測定とする。

但し、気泡の混入など明らかな異常が確認できた場合は、異常を示した測定値を排除した $n=2$ のデータより算出された値を定量値として採用しても良い場合がある。

- ・検出下限値未満の試料については、検出下限値及び定量下限値と共に、検出下限値未満と表記する。

e. データの取扱い 次のような現象が生じた場合は、装置が正常な状態に復帰したことを確認の上、再測定を行う。

- ・波形に異常が見られた場合。

- ・測定値が異常な場合。

- ・セル下部配管に気泡が混入した場合。

- ・セル部から液漏れが生じた場合。

- ・ B_0 溶液の測定値の CV が 5% 以上の場合。

- ・校正試料-①、校正試料-②、および校正試料-③溶液の測定値 (B/B_0 値) が異常な場合。

- ・バルブ等の部材の消耗によりリークが発生した場合。

f. 結果の表示例 簡易定量法による測定結果の表示等については(5).3). a から b に示すとおりであり、測定結果の表示例を表 2.6.1.10 に示す。

表 2.6.1.10 絶縁油中微量 PCB 測定結果の表記例

試料名	測定日時	供試料 μL	希釈率	調製液量 μL	採取量 mg	分析値 B/B ₀	KCmix相当量 ng/mL	実測値 μg/g	濃度値換算値 mg/kg	検出下限 mg/kg	定量下限 mg/kg
試料No. 1	2009年3月1日	31.6	190	246.6	25.1	0.741	0.63	0.58	0.53	0.21	0.32
試料No. 2	2009年3月1日	27.0	222	231.3	25.2	0.772	0.62	0.62	0.57	0.24	0.35
試料No. 3	2009年3月1日	33.6	179	230.8	25.4	0.743	0.61	0.49	0.51	0.21	0.32
試料No. 4	2009年3月1日	36.2	166	219.7	24.8	0.728	0.61	0.47	0.48	0.19	0.29
試料No. 5	2009年3月1日	25.6	234	236.7	24.9	0.783	0.61	0.67	0.62	0.26	0.39
試料No. 6	2009年3月1日	44.8	134	249.0	25.6	0.740	0.64	0.42	0.38	0.15	0.23
試料No. 7	2009年3月2日	27.4	219	236.4	25.7	0.739	0.63	0.62	0.57	0.23	0.35
試料No. 8	2009年3月2日	60.0	50	244.0	25.5	0.945	検出下限以下	検出下限以下	検出下限以下	0.03	0.05
試料No. 9	2009年3月2日	35.8	168	237.0	25.2	0.735	0.60	0.46	0.48	0.21	0.31
試料No. 10	2009年3月2日	34.0	176	228.7	25.6	0.755	0.58	0.47	0.49	0.21	0.31

(6) 留意事項

1) 日常精度管理

a. 一般 試料の前処理の精度及び測定の精度を確保していることの確認を行うため、測定試料数に応じ適切な頻度で、JIS K0464「ポリクロロビフェニル (PCB) の免疫測定方法通則」において規定されている管理を行う。

b. 検量線の確認及び感度変動の管理図 定量操作が適切に行われているかどうかを確認するため、測定担当者は、測定毎の感度校正として使用する校正試料-①溶液の測定値 (B/B₀) を管理図に記録し保存する。又、同時に測定時の環境温度を記録する。

管理図による処置基準は、管理限界 ($\mu \pm 3\sigma$) からの逸脱状況及び管理図の傾向に応じて適切に定める (μ : 工程平均、 σ : 定量値の標準偏差)。1点でも管理限界を超えた場合は、原因の究明及び対策を行うとともに、試料を再測定する。改善のために講じた措置及び再測定の結果について、記録を行う。又、警戒限界 ($\mu \pm 2\sigma$) 内であっても基準値に対して、一定の傾向で外れていくような状態又は偏った定量値が続くような状態においても原因の究明を行い、必要に応じ対策を行うとともに、試料を再測定する。

尚、管理限界は、あらかじめ十分なサンプル数から求める。

c. 回収率の確認方法 分析における回収率の確認のための測定より得られた回収率を管理図に記録し保存する。

管理図による処置基準は、管理限界 ($\mu \pm 3\sigma$) からの逸脱状況及び管理図の傾向に応じて適切に定める (μ : 工程平均、 σ : 回収率の標準偏差)。1点でも管理限界を超えた場合は、原因の究明及び対策を行うとともに、管理限界を超えた試料については前処理をやり直す。改善のために講じた措置及び再度前処理試料の分析における回収率の確認のための測定結果で得られた回収率について、記録を行う。又、警戒限界 ($\mu \pm 2\sigma$) 内であっても基準値に対して、一定の傾向で外れていくような状態又は偏った値が続くような状態においても原因の究明を行い、必要に応じ対策を行うとともに、試料の前処理をやり直し、改善のために講じた措置及び再度前処理試料の分析における回収率の確認のための測定結果で得られた回収率について、記録を行う。

尚、管理限界は、あらかじめ十分なサンプル数から求める。

JIS K0464「ポリクロロビフェニル (PCB) の免疫測定方法通則」において規定されている日常精度管理が適切に行われ、試料の前処理の精度および測定の精度が確保されていることが確認できている場合、個々の試料の回収率確認を行う必要は無く、回収率確認のための測定は、適切な頻度（例えば分析群毎）で少なくとも1試料実施する。但し、実施する試料は予備測定結果より算出された絶縁油中 PCB 濃度が 0.5 mg/kg（基準値）以下の試料を用いるのが望ましい。

測定結果が管理限界を外れる場合、分析群の試料については分析における回収率の確認のための測定を行い、処置基準に従い処置する。

2) 換算係数

本測定法においては、抗 PCB 抗体-①の交差反応性に起因し、異性体分布の異なる試料間で適した換算係数を用いる必要がある。試料を分類する手法としては、現測定系で使用する抗 PCB 抗体-①とは特異性の異なる抗 PCB 抗体-②を用いることにより行う。

すなわち、本測定系に使用した抗 PCB 抗体-①と交差反応性が異なる抗 PCB 抗体-②を用いて測定を行い、抗 PCB 抗体-①による実測値に対する抗 PCB 抗体-②による実測値の比率 ($R_{A,b}$) を求め、その比率が 0.3 より大きい場合、換算係数は 1.087 (図 2.6.1.9)、0.3 より小さい場合、換算係数は 0.963 (図 2.6.1.10) を用いる。

備考 比率 ($R_{A,b}$) および換算係数は、提供する試薬の Lot 毎に異なる場合があるため、メーカーの指示情報に基づき PCB 濃度へ換算を行う。換算係数の一例を図 2.6.1.9 および図 2.6.1.10 に示す。

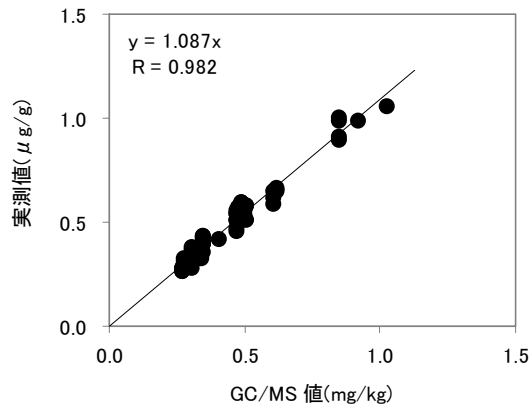


図 2.6.1.9 GC/MS 値と抗 PCB 抗体-①の実測値の相関図 ($R_{A,b} = 0.3$ より大きい試料)

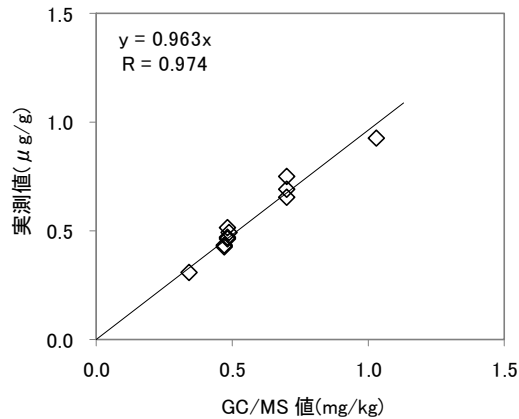


図 2.6.1.10 GC/MS 値と抗 PCB 抗体-①の実測値の相関図 ($R_{A,b} = 0.3$ より小さい試料)

3) 留意事項

※1 PCB バイオセンサ測定キットとしての市販品がある。

内容物は、以下の通りである。

- ①測定セル (抗原固相化ビーズ充填済)
- ②抗 PCB 抗体液-① (×10 濃度)
- ③抗体溶液希釈用バッファー液
- ④校正液-① 2,4,5-トリクロロフェノキシヘキサノイルアミノプロピオン酸 (TCPHA)
- ⑤ キャリーオーバー洗浄液
- ⑥ CD(検量線データ入り)
- ⑦ 添付書類

キットの取り扱いにあたっては、以下の取り扱い上の注点を遵守すること。

- i) 測定セル、抗PCB抗体-①溶液(×10濃度)および抗体溶液希釈用バッファー液は、冷蔵庫(2から8℃)にて保管すること。
 - ii) 抗PCB抗体-①溶液(×10濃度)および抗体溶液希釈用バッファー液の有効期間は、納入より2ヶ月以内。ただし、1×抗PCB抗体-①溶液へ調製後は1ヶ月以内に使い切ること。
 - iii) 測定セルの有効期間は、納入より2ヶ月以内。ただし、開封後は1日以内に使い切ること。
 - iv) 「校正液-①」が凍っている場合があるが、品質に影響しない。ただし、納入後は直ちに常温で解凍し、十分に混合すること。解凍後は必ず常温遮光下で保存すること。
 - v) キットを保管する場合は、保存場所、保存方法、汚染の配慮、温度及び湿度の情報を記録し、保存すること。
- ※2 約25mgの絶縁油を前処理し、250μLのDMSO試料とした場合は約60μL(約6mg相当量)を目安とする(液量の一の位は四捨五入しても良い)。
- ※3 最適供試料量が10μL未満と算出された場合、供試料量が10μL以上となるように希釈し、測定に用いる。希釈の際は精密天秤で重量を量り希釈倍率を計算する。
- ※4 抗PCB抗体を用いた希釈定量測定結果と、抗PCB抗体-②を用いた測定結果の比率より、PCB濃度(mg/kg)を算出するために用いる換算係数を選択する(測定に用いる試料量が足りない場合は、新たに前処理を行い、用いる試料量を確保する)。又、約25mgの絶縁油を前処理した試料且つ低濃度の試料であり、換算係数選択のための測定に用いる試料量が最大量(5%DMSO量)を超える場合は約50mgの絶縁油を再前処理した試料を用いて測定を行う。
- ※5 換算係数選択のための測定キットは市販されている。
- ① 測定セル(抗原固相化ビーズ充填済)
 - ② 抗PCB抗体-②溶液
- ※6 抗PCB抗体-②を用いた測定の場合、希釈定量測定に用いた3倍濃度の試料を使用する。
- ※7 JIS K0461「競合免疫測定方法通則」およびJIS K0464「ポリクロロビフェニル(PCB)の免疫測定方法通則」に規定するもの、又は同等の品質のものを使用する。
- ※8 TCPHA以外にもKCmix標準溶液を校正液(校正液-①、校正液-②)として使用することができる。
- ※9 分析における回収率確認のための測定キットは市販されている。
- 内容物は、以下の通りである。
- ① 測定セル(抗原固相化ビーズ充填済)
 - ② 抗PCB抗体-③溶液
- ※10 その他留意事項

- ・蛍光検出装置は水平な台に設置すること。
 - ・急激な温度変化や直風の当たらない場所に設置し、周囲温度は 22 から 27 °C にする。
 - ・測定温度は 24 ± 1 °C の環境で測定することを推奨する。
 - ・ほこり、振動、強い磁場のある場所は避けること。
 - ・吸引する溶液に気泡が入らないように注意する。
 - ・マイクロピペットによる吸引及び吐出は、気泡が入らないようゆっくりスムーズに行うこと。
 - ・チップは溶液を変更する度に交換することを推奨する。
 - ・市販器具を使用することも可能であるが、測定精度に影響が無い事を確認すること。
 - ・使用する器具などは、試料の吸着が少ない部材を選択すること。
- ※1 1 秤量に用いる天秤は、0.1 mg まで測定できるものを使用すること。
- ※1 2 前処理後の多層シリカゲルカラムについては、測定データの信頼性が確認されるまで現物保存もしくは写真を撮り保存すること。試料の精製度の確認は、試料の精製度確認のための測定を行い判断することができる。精製度が不十分である場合、使用した多層シリカゲルカラムの着色状態などから原因を明らかにした上で試料を減量する等して前処理をやり直す。
- ※1 3 多層シリカゲルカラムに移し入れる溶液及び洗浄液量は合計でほぼ 1 mL とする。この液量以下あるいは以上であると精製効率が低下することがある。
- ※1 4 この部分以外を加熱すると精製効率が低下及び PCB の回収率が低下することがある。
- ※1 5 加熱温度は 60 から 90 °C の範囲で、加熱時間は任意の範囲で変化させても良いが、85 °C にて 60 分間加熱する場合と同等の精製効果が得られること。
- ※1 6 ヘキサンの液量を変化させても良いが、PCB の回収率が確保されることを確認すること。
- ※1 7 着色した部分が片寄ったりしているなど、カラムクロマトの展開が乱れている場合は、やり直すこと。
- ※1 8 加熱温度を変化させても良いが、PCB の回収率が確保されることを確認すること。
- ※1 9 DMSO の液量を変化させても良いが、PCB の回収率と測定における感度が確保されることを確認すること。
- ※2 0 校正液-①濃度はキットのロット等により若干使用する濃度に変更となる場合があるが、分析値(B/B₀ 値)が 0.75 付近の濃度を用いる。キット内容物として提供する校正液-①(TCPHA)濃度は約 30 μg/mL(終濃度は約 1.5 μg/mL)である。又、KCmix を校正液-①として使用する場合は約 12 ng/mL(終濃度は約 0.6 ng/mL)を目安にして分析値(B/B₀ 値)が 0.75 付近となる濃度を設定する。

※2 1 約 25 mg の絶縁油を前処理し、DMSO 試料とした場合は約 60 μ L (約 6 mg 相当量) を目安とする (液量の一の位は四捨五入しても良い)。

※2 2 試料量 $X \mu$ L は予備測定結果より以下の式を用いて、希釈評価測定用最適供試量を求められる (解析シートでは自動計算される)。

$$X = \frac{0.6 \times V}{C}$$

ここに、 X : 希釈評価測定用最適供試量 (μ L)

V : 測定への試料量 (μ L)

C : 標準物質相当量 (KCmix 換算値 ng/mL)

※2 3 本測定で使用している蛍光検出装置には試料をセットする場所として、5 つの場所 (ポート) が用意されており、B0 液をセットする場所を B0 ポート、校正試料溶液 (校正試料-①溶液、校正試料-②溶液、又は校正試料-③溶液) をセットする場所をポート 1、試料溶液をセットする場所をポート 2 から 4 としている。

※2 4 試料量 $A \mu$ L は 9 mg 相当量、 $B \mu$ L は 12 mg 相当量、 $C \mu$ L は 15 mg 相当量である。

※2 5 試料量 $a \mu$ L は希釈定量測定又は希釈評価測定で用いた、供試量を示す。但し、試料量 a は 50 μ L 以下とする。

※2 6 試料量 $Z \mu$ L は 8 ng の PCB169 をクリーンアップスパイクとして加えた試料の前処理を行い調製された調製液量の 1/50 倍量である。

※2 7 抗 PCB 抗体-①と抗 PCB 抗体-②を用いた測定結果より算出された実測値の比率より、使用する換算係数が選択される。

※2 8 推奨定量範囲の測定結果を得るために、測定値 (B/B0) が 0.05 以上から 0.20 未満の試料は 5 から 20 倍希釈、0.05 未満の試料は 30 から 100 倍希釈を目安として希釈を行う。1 度の希釈操作を行うことで、最大 20 mg/kg までの PCB 濃度の試料測定結果を得ることができる (2 度以上の希釈操作を行うことで、500 mg/kg 以上の PCB 濃度試料の測定が可能である)。