

ダイオキシン類に係る水質調査
マニユアル

平成10年7月

環境庁水質保全局水質規制課

マニュアル制定に当たって

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

本マニュアルは、環境庁が帝人エコ・サイエンス(株)に委託して原案を作成したが、原案の作成に当たっては、森田昌敏国立環境研究所地域環境研究グループ統括研究官及び宮崎章資源環境技術総合研究所水圏環境保全部長に御助言をいただいた。さらに、原案について、環境庁水質保全局長の私的諮問機関である水質分析方法検討会において御審議いただいた上で、マニュアルとしてとりまとめたものである。

なお、本マニュアルの作成に当たっては、水質試料の測定を実際に行い、クロスチェックにより測定精度の確認を行うとともに、固相抽出法については、従来主に用いられてきたジクロロメタン等による液-液抽出法との比較検討を行い精度の確認を行った。

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

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

平成10年7月

環境庁水質保全局水質規制課

(水質分析方法検討会委員)

- 石塚 紀夫 新潟大学理学部教授 (自然環境学科)
- 梅崎 芳美 (社)産業環境管理協会名誉参与
- 大槻 晃 東京水産大学教授 (海洋環境学科)
- 岡本 研作 物質工学工業技術研究所首席研究官
- 土屋 悦輝 東京都立衛生研究所参事研究員
- 西村 哲治 国立医薬品食品衛生研究所環境衛生化学部第三室長
- 並木 博 横浜国立大学名誉教授
- 牧野 和夫 国立環境研究所環境研修センター主任教官
- 宮崎 章 資源環境技術総合研究所水圏環境保全部長
- 森田 昌敏 国立環境研究所地域環境研究グループ統括研究官
- 吉田 政治 大阪府公害監視センター水質検査課主査

(○印:座長)

第1章 概論	1
はじめに	1
1. 調査対象	1
2. 目標定量下限値	1
3. 用語・略語の定義	2
4. 調査方法	3
4.1 概要	3
4.2 新たな分析方法の採用	4
5. 表示方法	5
6. 精度管理の概要	7
7. 安全管理	7
第2章 各論	8
第1節 調査計画、採水地点選定	8
1. 河川	8
2. 湖沼	8
3. 海域	8
4. 地下水	9
5. 排水	9
第2節 採水、運搬、保存	10
1. 採水	10
1.1 採水器	10
1.2 試料容器	10
1.3 採水量	10
1.4 採水方法	11
1.5 採水時の記録、測定	12
2. 運搬、保存	12
第3節 分析方法	13
1. 試薬及び材料	13
2. 器具及び装置	17
2.1 前処理用器具	17
2.2 ガスクロマトグラフ質量分析装置(GC-MS)	19
3. 前処理	20
3.1 試料の取扱	20
3.1.1 試料量の記録	20
3.1.2 サンプリングスパイクの添加	20
3.2 抽出	20
3.2.1 固相抽出	20
3.2.2 液-液抽出	21
3.3 クリーンアップ	22
3.3.1 クリーンアップスパイクの添加	22
3.3.2 硫酸処理-シリカカラムクロマトグラフ-又は多層シリカカラムクロマトグラフ-	22
3.3.3 アルミナカラムクロマトグラフ-	23
3.3.4 シリンジスパイクの添加	24
4. ガスクロマトグラフ質量分析計(GC-MS)による分析操作	26
4.1 GC-MSの分析条件の設定と機器の調整	26
4.2 試料の分析(SIM法)	28
4.3 検量線の作成	29
4.4 操作ブランク試験用の試料溶液の分析	30
4.5 二重測定用の試料溶液の分析	30
4.6 GC-MS装置の感度試験	30
5. 数値の取扱い	32
5.1 検出下限値、定量下限値	32
5.2 濃度の表示	32

第4節 調査精度の管理	34
1. 標準作業手順(SOP)	34
2. メソッド・バリデーション	34
2.1 採水	34
2.2 前処理操作の信頼性の確保	35
2.3 機器分析	36
3. システム適合性試験(分析値の信頼性の評価)	38
3.1 装置の安定性	38
3.2 検量線の検定	38
3.3 GCのピークの検出下限と定量下限	38
3.4 検出下限値、定量下限値	39
3.5 操作ブランクの測定	39
3.6 二重測定	39
3.7 回収率測定	40
4. データの管理及び評価	40
4.1 異常値、欠測値の取扱	40
4.2 操作の記録	40
5. 精度管理に関する報告	40
第5節 安全管理	41
1. 施設	41
2. 実験室等の立入規制	41
3. 換気システム	41
4. その他の設備	41
5. 実験室内での業務	41
6. 標準物質の取扱い	41
7. 試料の取扱い	42
8. 実験中の事故の処置	42
9. 廃棄物の保管処分等	42
10. 作業記録	42
11. 健康診断	42
(参考) コプラナPCBsの調査方法	43

第1章 概論

はじめに

ダイオキシン類は、環境汚染物質の中でも社会的関心の高い非意図的生成物質であり、健康影響の未然防止の観点から、早急な対策が必要となっている。

本マニュアルは、水質に係るダイオキシン類の濃度を調査する場合に参考として活用されるよう既存の知見、実地調査結果等を踏まえ、一般的な技術手法を示したものである。なお、コプラナPCBsの調査方法について参考資料として巻末に添付した。

また、今後、科学的知見の集積等によって、必要に応じ本マニュアルの改定があり得るものである。

1. 調査対象

本マニュアルでは、環境水（公共用水域・地下水）及び排水（工場排水等）試料中のポリ塩化ジベンゾパラジオキシン（PCDDs）とポリ塩化ジベンゾフラン（PCDFs）を調査対象物質としている。

2. 目標定量下限値

本マニュアルにおいては、定量下限値や操作ブランク値等の許容性を判断する基準として、「目標定量下限値」を導入した。目標定量下限値は、分析の目的等に照らして決定されるが、本マニュアルにおいては原則として、表1-1に示すとおりとした。

表1-1 ダイオキシン類の目標定量下限値

	ダイオキシン類		
	四～五塩化物	六～七塩化物	八塩化物
環境水	0.1pg/ℓ	0.2pg/ℓ	0.5pg/ℓ
排水	0.5pg/ℓ	1pg/ℓ	2.5pg/ℓ

3. 用語・略語の定義

ダイオキシン類：ポリ塩化ジベンゾパラジオキシン(PCDDs)とポリ塩化ジベンゾフラン(PCDFs)の両方を合わせた総称

コプラナPCBs：ポリ塩化ビフェニル(PCBs)の中で扁平構造を持つものをいい、ここではオルト位(2, 2', 6及び6')に置換塩素を持たない(ノンオルト：non-ortho) 3種類(WHO 1997では4種類)の異性体、オルト位に置換塩素を1個もつ(モノオルト：mono-ortho) 8種類の異性体、又はオルト位に置換塩素を2個もつ(ジオルト：di-ortho) 2種類(WHO 1997では除外)の異性体を指す。

異性体：一般には同一の分子式を持ち、物理的・化学的性質の異なる化合物(Isomer)を指すが、ダイオキシン類はポリ塩化物であるため、ダイオキシン類の異性体としては、塩素の置換数、置換位置の異なる個別の成分(Congener)を総て指す。

同族体：塩素の置換数が同じ一群の化合物を1同族体としてくると、ダイオキシン類では八つの同族体(Homologue)に分けられる。ここでは四～八塩化物を指す。

PCDDs：ポリ塩化ジベンゾパラジオキシン

(Polychlorinated dibenzo-p-dioxins)

PCDFs：ポリ塩化ジベンゾフラン(Polychlorinated dibenzofurans)

PCBs：ポリ塩化ビフェニル(Polychlorinated biphenyl)

T₄CDDs：四塩化ジベンゾパラジオキシン(Tetrachlorodibenzo-p-dioxins)

P₅CDDs：五塩化ジベンゾパラジオキシン(Pentachlorodibenzo-p-dioxins)

H₆CDDs：六塩化ジベンゾパラジオキシン(Hexachlorodibenzo-p-dioxins)

H₇CDDs：七塩化ジベンゾパラジオキシン(Heptachlorodibenzo-p-dioxins)

O₈CDD：八塩化ジベンゾパラジオキシン(Octachlorodibenzo-p-dioxins)

T₄CDFs：四塩化ジベンゾフラン(Tetrachlorodibenzofurans)

P₅CDFs：五塩化ジベンゾフラン(Pentachlorodibenzofurans)

H₆CDFs：六塩化ジベンゾフラン(Hexachlorodibenzofurans)

H₇CDFs：七塩化ジベンゾフラン(Heptachlorodibenzofurans)

O₈CDF：八塩化ジベンゾフラン(Octachlorodibenzofurans)

T₄CBs：四塩化ビフェニル(Tetrachlorobiphenyls)

P₅CBs：五塩化ビフェニル(Pentachlorobiphenyls)

H₆CBs：六塩化ビフェニル(Hexachlorobiphenyls)

H₇CBs：七塩化ビフェニル(Heptachlorobiphenyls)

PFK：ペルフルオロケロセン(Perfluorokerosene)

TEF：毒性等価係数(2, 3, 7, 8-T₄CDD Toxicity Equivalency Factor)

TEQ：毒性等量(2, 3, 7, 8-T₄CDD Toxicity Equivalency Quantity)

HRGC：高分解能ガスクロマトグラフィー(High Resolution Gas Chromatography)

又は高分解能ガスクロマトグラフ(High Resolution Gas Chromatograph)

HRMS：高分解能質量分析法(High Resolution Mass Spectrometry)又は高分解

能質量分析計(High Resolution Mass Spectrometer)

SIM：選択イオン検出法(Selected Ion Monitoring)

RRF：相対感度係数(Relative Response Factor)

QA/QC：品質保証/品質管理(Quality Assurance/Quality Control)

μg：10⁻⁶g

ng：10⁻⁹g

pg：10⁻¹²g

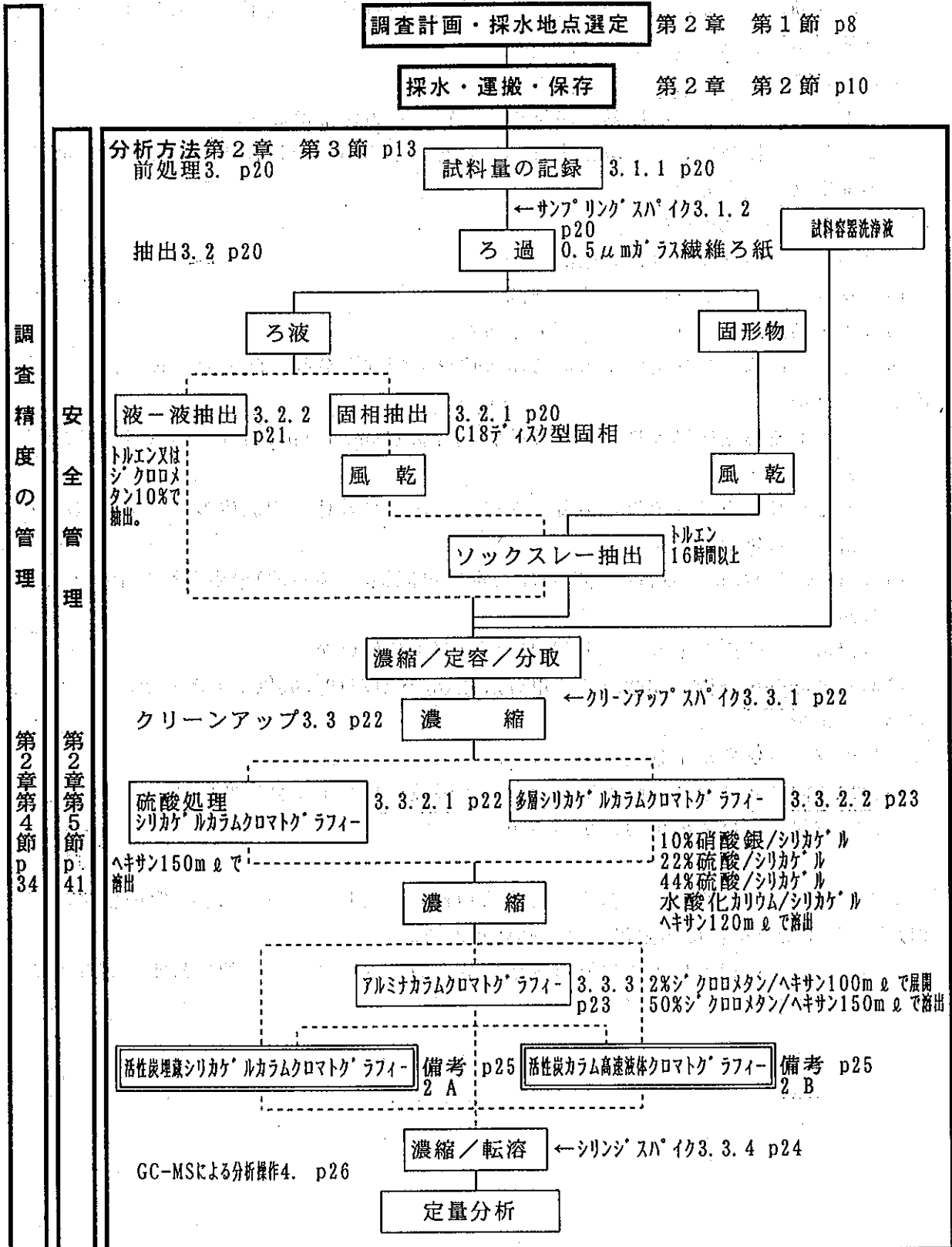
検出下限値：ブランク値と識別できる最小値(検量線作成時の最低濃度での測定を5回以上行った場合又は操作ブランク試験を5回以上行った場合、その標準偏差の大きい方の値の3倍の値)

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

4. 調査方法

4.1 概要

調査のフロー及び本マニュアル中での該当箇所を図1-1に示す。



----- いずれかの方法を選択 必要に応じ実施

図1-1 調査フローと本マニュアルでの記述箇所

4.2 新たな分析方法の採用

新規に開発されたり、本マニュアルには採用されていないが一般に用いられており、実証試験を行い本マニュアルに示した調査方法と同等あるいはそれ以上の性能を有する方法は有効に活用することができる。その際、少なくとも以下に示す事項について十分な検討がなされる必要がある。

①前処理(抽出)

- a) 様々な状況に応じて抽出効率が良く、安定した方法であるか。
- b) 添加した内標準物質の回収は十分か、また実際の試料中に存在する分析対象成分の抽出効率は十分か。

②前処理(クリーンアップ)

- a) 試薬・器具のブランク値の確認。
- b) 各クリーンアップの溶出条件の確認。
- c) 確実に効果的にクリーンアップできるか。
- d) 実試料で確認される可能性のある妨害成分の影響を分離・除去できるか。

③GC-MS分析

- a) 2, 3, 7, 8-位塩素置換異性体の異性体特異分析(Isomer specific analysis)を行うことができるか。
- b) キャピラリーカラムの異性体分離能は良いか。異性体・同族体のピークの重なりに対して対処できるか。
- c) GC-MS装置の校正、試料の濃度範囲と定量可能範囲(検量線)の応答性が十分であるか。
- d) 装置の絶対感度と感度の変動(ドリフト)が十分低いか。
- e) 高分解能質量分析計(HRMS)の使用分解能(M/ Δ M)が10,000以上であるか。

④同定・定量

- a) 操作ブランク値が十分低いか。
- b) 検出下限値及び定量下限値は目標定量下限値に比して十分に低いか。
- c) 同一試料についての再現性があるか。

また、本マニュアルに示す精度の管理の項目を満たし、かつ、二重測定の結果、30%以内の誤差で分析精度が確保される必要がある。

さらに、複数の機関による検証試験が実施され、ダイオキシン類に対する調査方法として充実されていくことが望ましい。

5. 表示方法

定量された濃度は毒性等価係数(2, 3, 7, 8-T₄CDD Toxicity Equivalency Factor; TEF) を乗じて毒性等量(pg-TEQ/ℓ)として表す。ダイオキシン類のTEFは表1-2のI-TEF(WHO/ IPCS, 1988)あるいは表1-3に示すWHO-TEF(WHO, 1997)を用いる。

ダイオキシン類の濃度表示方法は、表1-4あるいは表1-5に示す。

表1-2 毒性等価係数(TEF)

PCDDs	I-TEF
2, 3, 7, 8-T ₄ CDD	1
1, 2, 3, 7, 8-P ₅ CDD	0.5
1, 2, 3, 4, 7, 8-H ₆ CDD	0.1
1, 2, 3, 6, 7, 8-H ₆ CDD	0.1
1, 2, 3, 7, 8, 9-H ₆ CDD	0.1
1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-H ₇ CDD	0.01
1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9-O ₈ CDD	0.001
他のPCDDs	0

表1-3 (参考) 毒性等価係数(TEF) 注)

PCDDs	WHO-TEF
2, 3, 7, 8-T ₄ CDD	1
1, 2, 3, 7, 8-P ₅ CDD	1
1, 2, 3, 4, 7, 8-H ₆ CDD	0.1
1, 2, 3, 6, 7, 8-H ₆ CDD	0.1
1, 2, 3, 7, 8, 9-H ₆ CDD	0.1
1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-H ₇ CDD	0.01
1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9-O ₈ CDD	0.0001
他のPCDDs	0

PCDFs	I-TEF
2, 3, 7, 8-T ₄ CDF	0.1
1, 2, 3, 7, 8-P ₅ CDF	0.05
2, 3, 4, 7, 8-P ₅ CDF	0.5
1, 2, 3, 4, 7, 8-H ₆ CDF	0.1
1, 2, 3, 6, 7, 8-H ₆ CDF	0.1
1, 2, 3, 7, 8, 9-H ₆ CDF	0.1
2, 3, 4, 6, 7, 8-H ₆ CDF	0.1
1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-H ₇ CDF	0.01
1, 2, 3, 4, 7, 8, 9-H ₇ CDF	0.01
1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9-O ₈ CDF	0.001
他のPCDFs	0

PCDFs	WHO-TEF
2, 3, 7, 8-T ₄ CDF	0.1
1, 2, 3, 7, 8-P ₅ CDF	0.05
2, 3, 4, 7, 8-P ₅ CDF	0.5
1, 2, 3, 4, 7, 8-H ₆ CDF	0.1
1, 2, 3, 6, 7, 8-H ₆ CDF	0.1
1, 2, 3, 7, 8, 9-H ₆ CDF	0.1
2, 3, 4, 6, 7, 8-H ₆ CDF	0.1
1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-H ₇ CDF	0.01
1, 2, 3, 4, 7, 8, 9-H ₇ CDF	0.01
1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9-O ₈ CDF	0.0001
他のPCDFs	0

I-TEF:
International-Toxicity Equivalency Factor
(WHO/IPCS, 1988)

WHO-TEF: Toxicity Equivalency Factor
(WHO, 1997)

注) この毒性等価係数(TEF)はコプラナ PCBs (表-参考-1(2) p43) と合わせて利用する。

表1-4 ダイオキシン類の表示方法

	実 測 濃 度 pg/ℓ	毒性等価係数 (TEF)	毒性等量(TEQ) pg-TEQ/ℓ
ダイ オキ シン	2, 3, 7, 8-T ₄ CDD	1	
	T ₄ CDDs	—	
	1, 2, 3, 7, 8-P ₅ CDD	0.5	
	P ₅ CDDs	—	
	1, 2, 3, 4, 7, 8-H ₆ CDD	0.1	
	1, 2, 3, 6, 7, 8-H ₆ CDD	0.1	
	1, 2, 3, 7, 8, 9-H ₆ CDD	0.1	
	H ₆ CDDs	—	
	1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-H ₇ CDD	0.01	
	H ₇ CDDs	—	
	O ₈ CDD	0.001	
Total PCDDs	—		
ジ ベ ン ゾ フ ラ ン	2, 3, 7, 8-T ₄ CDF	0.1	
	T ₄ CDFs	—	
	1, 2, 3, 7, 8-P ₅ CDF	0.05	
	2, 3, 4, 7, 8-P ₅ CDF	0.5	
	P ₅ CDFs	—	
	1, 2, 3, 4, 7, 8-H ₆ CDF	0.1	
	1, 2, 3, 6, 7, 8-H ₆ CDF	0.1	
	1, 2, 3, 7, 8, 9-H ₆ CDF	0.1	
	2, 3, 4, 6, 7, 8-H ₆ CDF	0.1	
	H ₆ CDFs	—	
	1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-H ₇ CDF	0.01	
	1, 2, 3, 4, 7, 8, 9-H ₇ CDF	0.01	
	H ₇ CDFs	—	
	O ₈ CDF	0.001	
Total PCDFs	—		
Total PCDDs+PCDFs	—		

TEF: Toxicity Equivalency Factorは表1-2の値(WHO/IPCS, 1988)

表1-5 (参考) ダイオキシン類の表示方法 TEF(WHO, 1997)に対応

	実測濃度 pg/ℓ	毒性等価係数 (TEF)	毒性等量(TEQ) pg-TEQ/ℓ
ダイオキシン	2, 3, 7, 8-T ₄ CDD	1	
	T ₄ CDDs	—	
	1, 2, 3, 7, 8-P ₅ CDD	1	
	P ₅ CDDs	—	
	1, 2, 3, 4, 7, 8-H ₆ CDD	0.1	
	1, 2, 3, 6, 7, 8-H ₆ CDD	0.1	
	1, 2, 3, 7, 8, 9-H ₆ CDD	0.1	
	H ₆ CDDs	—	
	1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-H ₇ CDD	0.01	
	H ₇ CDDs	—	
	O ₈ CDD	0.0001	
Total PCDDs	—		
ジベンゾフラン	2, 3, 7, 8-T ₄ CDF	0.1	
	T ₄ CDFs	—	
	1, 2, 3, 7, 8-P ₅ CDF	0.05	
	2, 3, 4, 7, 8-P ₅ CDF	0.5	
	P ₅ CDFs	—	
	1, 2, 3, 4, 7, 8-H ₆ CDF	0.1	
	1, 2, 3, 6, 7, 8-H ₆ CDF	0.1	
	1, 2, 3, 7, 8, 9-H ₆ CDF	0.1	
	2, 3, 4, 6, 7, 8-H ₆ CDF	0.1	
	H ₆ CDFs	—	
	1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-H ₇ CDF	0.01	
	1, 2, 3, 4, 7, 8, 9-H ₇ CDF	0.01	
	H ₇ CDFs	—	
	O ₈ CDF	0.0001	
Total PCDFs	—		
Total PCDDs+PCDFs	—		

TEF: Toxicity Equivalency Factorは表1-3の値 (WHO, 1997)

注) この表示方法はコプラナPCBs (表-参考-2(2), p44) と合わせて利用する。

6. 精度管理の概要

調査値の信頼性を確保するためには、適切な精度管理を行う必要がある。試料採取、前処理、各種装置等の事前評価及び標準作業手順(SOP: Standard Operation Procedure)の作成、クリーンアップ回収率の評価、二重測定における分析値との比較及び操作ブランクの管理等を行う必要がある。

7. 安全管理

ダイオキシン類は非常に有害性が高いので、分析操作は全て管理区域内で行い、吸入や直接皮膚への接触を避け、かつ前処理室や分析室の換気及び廃液、廃棄物の管理は十分に行う。

ダイオキシン類だけでなく、分析に使用する薬品等は吸入や誤飲により分析者の健康を損なうものがあるので、取り扱いには慎重に行い、かつ実験室の十分な換気に注意する。

第2章 各論

第1節 調査計画、採水地点選定

1. 河川

(1) 時期

季節による水量・水質の変動に注意し調査目的に合わせて採水時期を設定する。採水日は、原則として採水日前において比較的晴天が続き水質が安定している日を選ぶ。

(2) 採水地点

採水地点は次の地点等を考慮して選定する。

- ① 利水地点
- ② 主要な汚濁水が河川に流入した後十分混合する地点
- ③ 支川が合流後十分混合する地点及び合流前の本川又は支川の地点
- ④ 流水の分流地点

2. 湖沼

(1) 時期

季節による水量・水質の変動に注意し調査目的に合わせて採水時期を設定する。採水日は、原則として採水日前において比較的晴天が続き水質が安定している日を選ぶ。

(2) 採水地点

採水地点は次の地点を考慮して選定する。

- ① 湖心
- ② 利水地点
- ③ 汚濁水が湖沼に流入した後十分混合する地点
- ④ 河川が流入した後十分混合する地点及び流入河川の流入前の地点
- ⑤ 湖沼水の流出地点

3. 海域

(1) 時期

原則として大潮期の雨や風の少ない日を選ぶ。

(2) 採水地点

水域の地形、海潮流、利水状況、主要な汚濁源の位置、河川水の流入状況等を考慮し選定する。

4. 地下水

(1) 時期

自由地下水、湧水では、降雨や生活活動の影響を受けるため、豊水期、渇水期等を考慮し採水時期を決める。

被圧地下水では水質は一般に安定しているため、他の調査等に合わせ適宜採水時期を決める。

(2) 採水地点

地下水の流向（地下水位のこう配）やくみ上げ深度などを考慮に入れ、調査目的に合致した既存の井戸や湧水から採水地点を選定する。

5. 排水

(1) 時期

工場、事業場の業種、操業の状態、季節的な変動等を考慮する。

(2) 採水地点

原則として排水口とする。排水口での採水が困難な場合は、同じ水質の排水が採水できる排水路や排水管路の汚水ます、最終調整槽や排出処理施設の流出口等を採水地点としてもよい。

調査目的に応じ、各工程からの排水を選定する。

第2節 採水、運搬、保存

1. 採水

採水については、下記のとおり行うこととするが、ここに定められていない事項については、「水質調査方法」（昭和46年9月30日付け環水管第30号 環境庁水質保全局）、「工業用水・工場排水の試料採取方法」（JIS K0094）に準じて行うこととする。

1.1 採水器

採水器は、ステンレス鋼など金属製のもの、テフロンコーティングされたものなど、測定対象物質が採水器内壁に吸脱着しないものを用いる。

採水器は、採水地点の数だけ用意することが、前の試料に由来する汚染を防ぐ上で望ましい。

(1) 表面からの採水

ステンレス鋼製のバケツや柄付き採水器を用いる。

(2) 表層、中層、下層からの採水

深度別の採水が可能なおもので、ガラス製、金属製、又はテフロンコーティングされている採水器を用いる。

1.2 試料容器

試料容器は原則としてガラス製のものを用い、使用前にメタノール（又はアセトン）及びトルエン（又はジクロロメタン）でよく洗浄したものを使用する。洗浄に用いた溶媒は容器内に残らないよう注意する。栓は、ゴム製、コルク製を避け、スクリーキャップ等で密栓できるものとする。

1.3 採水量

表1-1に示した目標定量下限値を得るには（GC-MSの検出量を四塩化物で0.2pg、最終検液量を20μℓ、GC-MSへの注入量を2μℓとした場合）、環境水の採水量は20ℓ、排水の採水量は4ℓ程度が目安となる。採水量の目安を表2-1に示す。さらに低い定量下限を得るには採水量を増やすことにより対応する。

表2-1 採水量の目安

	GC-MS 最小検出量 ① pg	最終検液量 ② μℓ	注入量 ③ μℓ	採水量 ④ ℓ	検出可能な 最低濃度 ⑤ pg/ℓ
環境水	0.2	20	2	20	0.1
排水	0.2	20	2	4	0.5

① ≤ ⑤ × ④ × ③ / ② の関係より必要な試料量を求める。

1.4 採水方法

表面からの採水の場合、表面に浮遊ゴミ、浮上油が見られる場合、これらが混入しないよう注意して採水する。

採取した試料は、試料容器に満たして密栓する。

(1) 河川又は水路

採水地点は流心部（流れの最も速い場所）上の表面とするが、汚濁水の偏流が著しい場合、川幅が広い場合等においては、状況によっては右岸部と左岸部を別々の採水地点として設定する。これらの試料は原則として相互に混合しないこととする。

1) 徒渉による採水

浅い河川では、直接水の中に入って採水を行う。採水者の位置より上流側で採水する。

2) 橋上からの採水

ロープなどを付けたステンレス鋼製のバケツを橋上からつり下げて採水する。橋上からの、ごみなどの落下混入に十分注意する。

3) 船上からの採水

ロープなどを付けたステンレス鋼製のバケツを船上からつり下げて採水する。船からの汚染を避けるため、船より上流部分で採水を行う。

(2) 湖沼

循環期には表面から採水する。停滞期に層別サンプリングを行う場合は、1.1(2)に示す採水器を使用する。

1) 橋上からの採水

ロープなどを付けたステンレス鋼製のバケツ又は採水器を橋上からつり下げて採水する。橋上からの、ごみなどの落下混入に十分注意する。

2) 船上からの採水

ロープなどを付けたステンレス鋼製のバケツ又は採水器を船上からつり下げて採水する。船からの汚染を避けるため、風上に向かって微速前進しながら船首の位置で採水する。

(3) 海域

表面から採水する。目的に応じ中層から採水する。中層とは海面下2mの位置とする。水深が5m以浅の地点では表面のみから採水する。ただし、水深が10mを越える地点では必要に応じて下層（海面下10m）からも採水する。

1) 船上からの採水

採水器を船上からつり下げて採水する。船からの汚染を避けるため、風上に向かって微速前進しながら船首の位置で採水する。

(4) 地下水

湧水では流出口で採水する。

井戸での採水では、常時揚水しているものを選定することとし、採水器を入れられる場合、ロープなどを付けたステンレス鋼製のバケツ又は採水器をつり下げて採水する。揚水ポンプのあるものについては無理な吸引を避け、ポンプの出口で採水する。

常時揚水を行っていないものは、井戸内及び揚水管内の滞留水を排除してから採水する。

(5) 排水

各工場、事業所の排出口の状況に合わせ、1.1の採水器を用いて採水する。

1.5 採水時の記録、測定

採水時には以下の項目について記録し、必要に応じて、結果の解釈上参考となる水質項目の測定を行う

①採水日時

②採水時の状況：天候等

③採水地点

④採水地点周辺の状況

⑤採水方法、採水量

⑥河川流量、排水量：河川及び排水の採水時に、「水質調査方法」（昭和46年9月30日付け環水管第30号 環境庁水質保全局）、「工業用水・工場排水の試料採取方法」（JIS K0094）に準じて流量の測定を行う。

⑦参考となる水質項目の測定：水温、pH等は現地で測定を行う。調査対象物質は、大部分が浮遊物に付着して存在していると考えられるため、結果を解釈するにあたっては同時に浮遊物質（SS）の測定を行うことが望ましい。

2. 運搬、保存

採取後、試料容器は、密栓・遮光して運搬し、冷暗所に保存する。

第3節 分析方法

1. 試薬及び材料

分析に用いる試薬及び材料(1)～(13)はブランク試験(3.2.1(4)又は3.2.2(3)参照p21)を行い、ダイオキシン類の分析に影響を及ぼす妨害成分が含まれていないことを確認してから使用する。

(1) ヘキサン、メタノール、アセトン、トルエン、ジクロロメタン

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

(2) ノナン、デカン、イソオクタン

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

(3) ヘキサン洗浄水

蒸留水をヘキサンで十分に洗浄したもの。

(4) 硫酸

市販の試薬特級又は同等以上のもので分析に支障をきたさないもの。

(5) 無水硫酸ナトリウム

残留農薬試験用又は残留PCB試験用のもの。

(6) 水酸化カリウム、硝酸銀

市販の試薬特級又は同等以上のもので分析に支障をきたさないもの。

(7) シリカゲル

カラムクロマトグラフィー用シリカゲル(PCB分析用、粒径0.063～0.200mm)(注1)をメタノール洗浄後、ビーカーに入れ、層の厚さを10mm以下にして130℃で約18時間乾燥して活性化した後、デシケーター内で30分間放冷したもの。

(8) 2%水酸化カリウム被覆シリカゲル(以後、水酸化カリウムシリカゲルと略称)

シリカゲルに1mol/l水酸化カリウム溶液を2wt%になるように加えロータリーエバポレーターで約50℃で減圧脱水し、水分のほとんどが除去された後、80℃でさらに1時間脱水を続けて粉末状にしたもの。調製後、密閉できる試薬瓶に入れデシケーター中に保存する。

(9) 44%及び22%硫酸被覆シリカゲル(以後、硫酸シリカゲルと略称)

シリカゲルに硫酸を44wt%及び22wt%になるように添加後、十分振とうし粉末状にしたもの。調製後、密閉できる試薬瓶に入れデシケーター中に保存する。

(10) 10%硝酸銀被覆シリカゲル(以後、硝酸銀シリカゲルと略称)

シリカゲル1g当たり40wt%硝酸銀溶液を0.25ml加えた後、ロータリーエバポレーターで水分を完全に除去したもの。調製中は褐色フラスコを使用し、極力遮光すること。調製後、密閉できる褐色瓶に入れデシケーター中に保存する。

(11) アルミナ

カラムクロマトグラフィー用アルミナ(塩基性又は中性、活性度I、粒径0.063~0.200mm)(注2)を使用する。あらかじめ活性化したものが入手できる場合は、そのまま使用してもよいが、保存期間や保存状態により活性度が著しく異なるので、カラムからの溶出条件を調べる必要がある。活性化する場合にはビーカーに層の厚さを10mm以下にして入れ130℃で18時間乾燥、もしくは、ペトリ皿に層の厚さを5~10mmにして入れ500~550℃で約8時間加熱処理した後、デシケーター内で室温まで放冷する。調製後密閉できる試薬瓶中に保存する。なお、使用するアルミナによる汚染がないことを調べておくこと。

(12) ろ紙

ガラス繊維製円形ろ紙(保留粒子径0.5 μ m程度)

ガラス繊維又はシリカ繊維製円筒ろ紙

いずれも使用に先立ちアセトン及びトルエンで洗浄を行い真空乾燥させるか、もしくは400℃で数時間加熱処理を行う。

(13) 抽出用固相

ディスク型固相を用いる。(注3)

(14) 標準物質

ダイオキシン類の同定及び定量には、表2-2のものを使用する。

表2-2 ダイオキシン類の標準物質、内標準物質

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

(15) 標準溶液

市販の混合溶液(注4)を用いて検量線の濃度範囲に応じてトルエンで希釈したものを用意する。

(16) 内標準物質

¹³C又は³⁷ClでラベルされたPCDDs、PCDFsを用いる(注5)。表2-2参照。

(17) 内標準溶液

市販の混合溶液(注4)を用いて、内標準として添加する量及び検量線の濃度範囲に応じてトルエンで希釈したものを用意する。

(注1)市販のシリカゲルとしては、ワコーゲルS-1(和光純薬工業)がある。(備考1)

(注2)市販のアルミナとしてはAluminium oxide 90(メルク社)がある。(備考1)

(注3)市販のディスク型固相の例として、エムポアディスクC18オクタデシル

(3M) (径47mm、90mm等)がある。(備考1)

(注4) 標準溶液や内標準溶液として市販の混合溶液がある。

例えば、Cambridge Isotope Laboratories社(CILジャパン)から、

混合標準溶液(50±5 μg/ml ノナン溶液)として、

EDF-949 Native Quantifying Cocktail(2, 3, 7, 8-PCDD/PCDF isomers)

内標準溶液(50±5 μg/ml ノナン溶液)として、

EDF-957 Carbon-13 Quantifying Cocktail(2, 3, 7, 8-PCDD/PCDF isomers)

あるいは、Wellington Laboratories社(関東化学)から

混合標準溶液(CILのEDF-957相当)

NK-LCS-H; Labeled Compound Solution H(Labeled PCDDs&PCDFs)

が入手できる。(備考1)

(注5) サンプリングスパイク、クリーンアップスパイク、シリンジスパイクはそれぞれ別の異性体を用いる。定量用の内標準物質としてすべての化合物に対してその安定同位体標識化合物を用いることが望ましいが、少なくとも各塩素数ごとに最低1種類ずつ添加する。しかし、これらの内標準物質は、質量分析計の設定分解能によっては分析に妨害を与える場合があるので、その使用に際しては妨害しない条件を十分に検討・確認しておく。内標準物質の使用例を表2-3に示す。

表2-3 内標準物質の使用例

内標準物質	例 1			例 2		
	サンプリング スパイク	クリーンアップ スパイク	シリンジ スパイク	サンプリング スパイク	クリーンアップ スパイク	シリンジ スパイク
¹³ C ₁₂ -2, 3, 7, 8-T ₄ CDF		○			○	
¹³ C ₁₂ -1, 2, 3, 4-T ₄ CDD			○	○		
¹³ C ₁₂ -2, 3, 7, 8-T ₄ CDD		○			○	
³⁷ Cl ₄ -2, 3, 7, 8-T ₄ CDD						○
¹³ C ₁₂ -1, 2, 3, 7, 8-P ₅ CDF	○				○	
¹³ C ₁₂ -2, 3, 4, 7, 8-P ₅ CDF		○				
¹³ C ₁₂ -1, 2, 3, 7, 8-P ₅ CDD		○			○	
¹³ C ₁₂ -1, 2, 3, 4, 7, 8-H ₆ CDF		○			○	
¹³ C ₁₂ -1, 2, 3, 6, 7, 8-H ₆ CDF		○				
¹³ C ₁₂ -1, 2, 3, 7, 8, 9-H ₆ CDF	○					
¹³ C ₁₂ -2, 3, 4, 6, 7, 8-H ₆ CDF		○				
¹³ C ₁₂ -1, 2, 3, 4, 7, 8-H ₆ CDD		○				
¹³ C ₁₂ -1, 2, 3, 6, 7, 8-H ₆ CDD		○			○	
¹³ C ₁₂ -1, 2, 3, 7, 8, 9-H ₆ CDD			○			○
¹³ C ₁₂ -1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-H ₇ CDF		○			○	
¹³ C ₁₂ -1, 2, 3, 4, 7, 8, 9-H ₇ CDF	○			○		
¹³ C ₁₂ -1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-H ₇ CDD		○			○	
¹³ C ₁₂ -1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9-O ₈ CDF		○			○	
¹³ C ₁₂ -1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9-O ₈ CDD		○			○	

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

2. 器具及び装置

分析に用いる器具はメタノール（又はアセトン）及びトルエン（又はジクロロメタン）で良く洗浄したものを使用する。特に前の試料からの汚染が懸念される場合には、ブランク試験（3.2.1(4)又は3.2.2(3)参照p21）を行い、ダイオキシン類の分析に影響を及ぼす妨害成分が含まれていないことを確認してから使用する。

2.1 前処理用器具

すり合わせの部分にはグリースを使用してはならない。

(1) 一般的な分析器具

ブフナー漏斗、分液漏斗、ソックスレー抽出器等

(2) 固相抽出装置

固相抽出装置の例を図2-1に示す。

装置は、ディスク型固相、ファンネル、サポートスクリーン、ガスケット、ベース、クランプ、ゴム栓、吸引瓶、吸引ポンプよりなる。

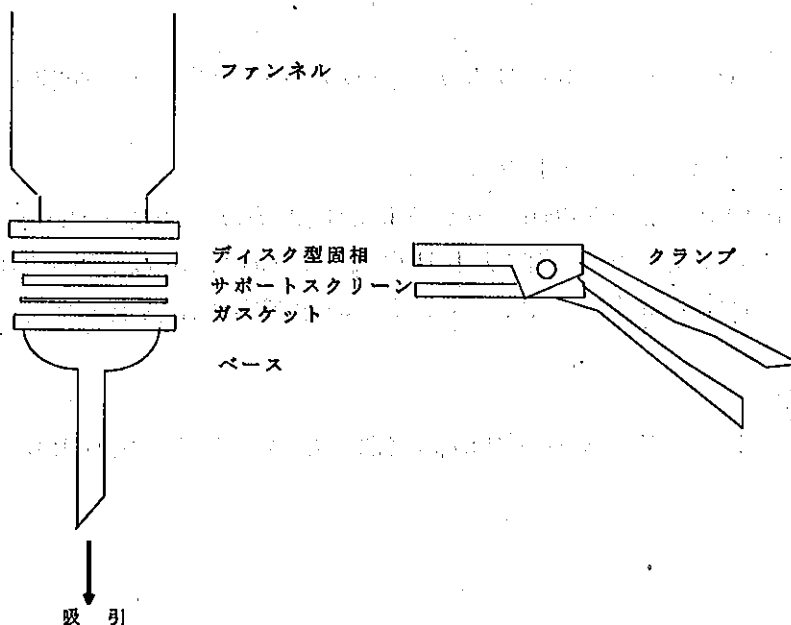


図2-1 ディスク型固相抽出装置（抽出部）

(3) シリカゲルカラムクロマトグラフ管

内径10mm、長さ300mmのカラムに活性化したシリカゲル3gをヘキサンで湿式充てんし、その上に無水硫酸ナトリウムを約10mm積層したもの（注6）。ヘキサンで充てん物を十分洗浄した後、ヘキサン液面が充てん物上部にくるようにしておく。

(4) 多層シリカゲルカラムクロマトグラフ管

図2-2のように内径15mm、長さ300mmのカラムにシリカゲル0.9g、2%水酸化カリウムシリカゲル3g、シリカゲル0.9g、44%硫酸シリカゲル4.5g、22%硫酸シリカゲル6g、シリカゲル0.9g、10%硝酸銀シリカゲル3g及び無水硫酸ナトリウム6gを順次充てんし、多層シリカゲルカラムクロマトグラフ管を作成する(注6)(注7)(注8)。ヘキサンで充てん物を十分洗浄した後、ヘキサン液面が充てん物上部にくるようにしておく。

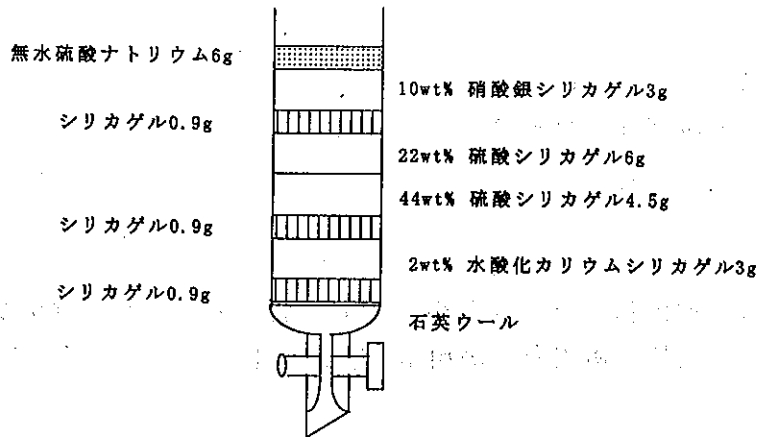


図2-2 多層シリカゲルカラムクロマトグラフ管模式図

(5) アルミナカラムクロマトグラフ管

内径10mm、長さ300mmのカラムに活性化済みアルミナ10gをヘキサンで湿式充てんし、その上に無水硫酸ナトリウムを約10mm積層したもの(注6)。ヘキサンで充てん物を十分洗浄した後、ヘキサン液面が充てん物上部にくるようにしておく。

(6) 濃縮器

クデルナーダニッシュ(KD)濃縮器又はロータリーエバポレーターを使用する。

2.2 ガスクロマトグラフ質量分析装置(GC-MS)

二重収束型の質量分析計を用いる高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計(HRGC-HRMS)で、2, 3, 7, 8- T_4 CDDに対して0.2pg以下までの分析感度を有するもの。

(1) カラム恒温槽

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

(2) キャピラリーカラム

内径0.25~0.32mm、長さ25~60mの熔融シリカ製のものであって、内面にシアノプロピル系の強極性の物質をコーティングしたもの。又はこれと同等の分離性能を有するもの(注9)。

(3) 検出器(MS)

二重収束型のもので分解能(M/ Δ M)10,000以上の高分解能で分析できるもの。イオン源は、温度を250~350℃に保つことができ、電子衝撃イオン化法(以後EI法と略称)が可能で、イオン化電圧が35~70eV程度のもの。

検出法として選択イオン検出法(以後SIM法と略称)で定量できるもので、SIM法における周期を最大1秒以下にでき、ロックマス方式が可能なもの。

(4) 試料導入部

試料の全量を再現性良く導入できるもの(スプリットレス又はオンカラム方式)。

(5) キャリアーガス

高純度ヘリウム(純度99.999%以上)。

(注6)カラムクロマトグラフィーにおいて使用する充てん剤や溶媒の種類及び量はフライアッシュ抽出液等を用いて分画試験を行って決めなければならない。

(注7)硝酸銀シリカゲルは、硫黄化合物が含まれる試料の硫黄分を除去するのに有効である。

(注8)硫酸シリカゲルは、有機化合物が多量に含まれる試料の有機化合物を除去するのに有効である。

(注9)2, 3, 7, 8-位塩素置換異性体を含む全ての異性体についてそれぞれ分離が良好で、それらの異性体のクロマトグラム上における溶出順位の判明しているカラムの使用を標準とする。様々な要因を考慮し、2種以上の極性の異なるキャピラリーカラムの併用が望ましい。SP-2331(スペルコ社製)、HP-5(HP社製)、DB-17(J&W社製)等がある(備考1 p16)。

3. 前処理

3.1 試料の取扱

3.1.1 試料量の記録

採取した試料は、試料容器中の全量を分析に用いる。試料の量は、試料を入れた容器の質量から、空の容器の質量を差し引いて求めるか、又は試料を採取したときに、試料容器の水面の位置に印を付けておき、分析終了時に印のところまで水を入れて、その水の体積を試料の量として記録する。

3.1.2 サンプリグスパイクの添加

(1) ろ過、抽出操作前の試料にサンプリグスパイクとして適正な種類及び量（クリーンアップスパイク及びシリンジスパイクと異なる ^{13}C 又は ^{37}Cl でラベルされた標準品のうちで、四～六塩化のPCDDs又はPCDFsから1種類以上、七～八塩化のPCDDs又はPCDFsから1種類以上）の内標準物質を加える。

(2) 試料を複数の試料容器に採取した場合は、各容器に濃度がほぼ均一となるように内標準物質を加え、合計した添加量を記録する。

3.2 抽出

抽出は試料の容量、共存有機物の量などを考慮し、固相抽出法、液-液抽出法から選択する。液-液抽出法の抽出溶媒は、トルエン、又はジクロロメタン(注10)から選択する。

試料と並行して、操作ブランク試験用（操作ブランク試験を行う場合：第4節3.5参照p39）、二重測定用（二重測定を行う場合：第4節3.6参照p39）についても同様の操作を行う。

3.2.1 固相抽出

試料をろ過し、ろ液について固相抽出を行う。ろ過残留物及び抽出後のディスク型固相をソックスレー抽出する。

(1) ろ過

試料をガラス繊維ろ紙（保留粒子径 $0.5\mu\text{m}$ 程度）（注11）で吸引ろ過し、ろ過残留物とろ液に分ける。

(2) ディスク型固相の準備

ディスク型固相を、ベース上のサポートスクリーンにセット後、トルエンを浸潤させる。図2-1に示したように装置をセット後、トルエン約 $15\text{m}\ell$ を注ぎ、液滴が落ち始めるまでしばらく吸引したのち、1分程度吸引を緩める。再び吸引しトルエンを除く。アセトン約 $15\text{m}\ell$ で2回洗浄する。

メタノール $15\text{m}\ell$ でディスク型固相を1分程度浸潤し、メタノールがディスク型固相に 1mm 程度残るまで吸引する。以後、抽出操作終了までディスク型固相を乾かさないうち注意しながら、ヘキサン洗浄水を $50\text{m}\ell$ ずつ2回通水する。

(3) 抽出

(1)で得たる液を(2)で準備した固相抽出装置のファンネルに注ぎ、吸引ろ過を行う(注12)。通水速度は、100mℓ/min程度とする。

ファンネル内の試料がなくなる前に、試料容器の器壁を少量の水で洗い、ファンネルに注ぐ。同様に、ファンネルの内壁を少量の水で洗浄する。ファンネル内の水がなくなるまで吸引し、水切りが十分に行われるようになってから、ディスク型固相を取り外し、風乾を行う。十分乾燥させた後、(1)で得たガラス繊維ろ紙上の残留物と合わせて、トルエンを用いて16時間以上ソックスレー抽出を行う。試料容器内壁をトルエン又はジクロロメタンで洗浄する。洗浄液は無水硫酸ナトリウムで脱水後、ソックスレー抽出液と合わせる。

(4) 操作ブランク

試料のろ過に用いたのと同数のガラス繊維ろ紙、及び抽出に用いたのと同数のディスク型固相についてソックスレー抽出を行う。ブランク試験用の洗浄済みの試料容器内壁を、(3)で洗浄に使用したのと同量のトルエン又はジクロロメタンで洗浄し、洗浄液は無水硫酸ナトリウムで脱水後、ソックスレー抽出液と合わせる。

3.2.2 液-液抽出

(1) ろ過

試料をガラス繊維ろ紙(保留粒子径0.5μm程度)(注11)でろ過し、ろ過残留物とろ液に分ける。

(2) 抽出

(1)で得たる液を分液漏斗に入れ、ろ液1ℓに対してトルエン又はジクロロメタンを100mℓの割合で添加し、20分間程度振混ぜて抽出する。トルエンについては抽出を10回、ジクロロメタンについては抽出を3回行う。(1)で得たガラス繊維ろ紙上のろ過残留物は風乾後トルエンを用いて16時間以上ソックスレー抽出を行う。試料容器内壁をトルエン又はジクロロメタンで洗浄する。洗浄液は無水硫酸ナトリウムで脱水後、ソックスレー抽出液と合わせる。

(3) 操作ブランク

試料の抽出に用いたのと同数の分液漏斗に、試料の抽出に用いたのと同量のトルエン又はジクロロメタンを添加して20分間程度振混ぜる。トルエンについてはこの操作を10回、ジクロロメタンについてはこの操作を3回行う。試料のろ過に用いたのと同数のガラス繊維ろ紙をトルエンを用いて16時間以上ソックスレー抽出を行う。ブランク試験用の洗浄済みの試料容器内壁を、(2)で洗浄に使用したのと同量のトルエン又はジクロロメタンで洗浄し、抽出液と合わせる。

(注10)ジクロロメタンは、水に対する溶解度が2g/100mℓ (25℃)である。水質汚濁防止法に定めるジクロロメタンの排水基準は0.2mg/ℓと定められている。また、大容量試料に対して液-液抽出法を適用する場合、最終検液量を20μℓとすると濃縮倍数が十万倍を超えるため、試薬ブランクの評価(1. 試薬及び材料参照p13)を十分に行い、必要に応じて蒸留操作により純度向上の操作を行う。

(注11)浮遊物が多く目詰まりしやすい試料では、保留粒子径の大きいろ紙を用いて多段階のろ過を行った後、0.5μmのガラス繊維ろ紙でろ過を行ってもよい。

(注12)吸着破過を起こす通水量の確認ができていない試料については、1枚のディスク型固相(90mmディスクの場合)への通水量を5ℓ程度以下に抑える。

3.3 クリーンアップ

クリーンアップは硫酸処理-カラムクロマトグラフィー又は多層シリカゲルカラムクロマトグラフィーから選択し、さらにアルミナカラムクロマトグラフィーを行う。

3.3.1 クリーンアップスパイクの添加

- (1) 3.2で得た抽出液は、一定体積としたものを粗抽出液とする。
- (2) 適正な種類及び量の内標準物質(クリーンアップスパイク)を加え濃縮器を用いて5mℓ程度に濃縮する。
- (3) ついで窒素気流(注13)によりトルエンを除去し、約500μℓにし、クリーンアップ用の試料とする。
- (4) 操作ブランク試験、又は二重測定を行う場合は試料と同様に(1)~(3)の操作を行う。

3.3.2 硫酸処理-シリカゲルカラムクロマトグラフィー又は多層シリカゲルカラムクロマトグラフィー

硫酸処理-シリカゲルカラムクロマトグラフィー又は多層シリカゲルカラムクロマトグラフィーの操作を行う。

3.3.2.1 硫酸処理-シリカゲルカラムクロマトグラフィー

3.3.2.1.1 硫酸処理 (注14)

- (1) 3.3.1で得たクリーンアップ用試料溶液を分液漏斗(300mℓ)にヘキサン50~150mℓで洗い込みながら移し入れ、濃硫酸を適量加え、穏やかに振とうし、静置後、硫酸層を除去する。この操作を硫酸層の着色が薄くなるまで繰り返す(注15)。

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

- (3) 3.3.1で得た操作ブランク試験用、二重測定用のクリーンアップ用試料溶液も同様に(1)(2)の操作を行いシリカゲルカラムクロマトグラフィーの試料溶液とする。

3.3.2.1.2 シリカゲルカラムクロマトグラフィー

- (1) シリカゲルカラムクロマトグラフ管の液面を無水硫酸ナトリウム層の上端まで下げ、3.3.2.1.1で調製した試料溶液を静かに移し入れ、少量のヘキサンで洗い込み、液面を無水硫酸ナトリウム層の上端まで下げ、ヘキサン150mℓで滴下速度約2.5mℓ/min(毎秒1滴程度)の速度でゆっくり流し溶出する。
- (2) 溶出液は濃縮器で約5mℓに濃縮し、アルミナカラムクロマトグラフィーの試料溶液とする。
- (3) 3.3.2.1.1で得た操作ブランク試験用、二重測定用の試料溶液も同様に(1)(2)の操作を行いアルミナカラムクロマトグラフィーの試料溶液とする。

3.3.2.2 多層シリカゲルカラムクロマトグラフィー

- (1) 多層シリカゲルカラムをヘキサンで洗浄後、液面を無水硫酸ナトリウム層の上端まで下げる。
- (2) 3.3.1で得たクリーンアップ用試料溶液をパスツールピペット等でカラムクロマトグラフ管に静かに注ぎ入れ、液面を無水硫酸ナトリウム層の上端まで下げる。
- (3) ヘキサン5mℓで濃縮器を洗浄し、洗液はカラムクロマトグラフ管内壁を洗いながら入れる。この洗浄操作をもう一度繰り返す。
- (4) ヘキサン3mℓをカラムクロマトグラフ管に流入した後、ヘキサン120mℓの入った滴下用分液漏斗をカラムクロマトグラフ管の上部に装着し、ヘキサンを滴下速度約2.5mℓ/min(毎秒1滴程度)の速度で流し溶出する。
- (5) 溶出液を濃縮器で濃縮し、アルミナカラムクロマトグラフィー用の試料溶液とする。充てん部の着色がひどい場合は、同様の操作を繰り返す。
- (6) 3.3.1で得た操作ブランク試験用、二重測定用のクリーンアップ用試料溶液も同様に(1)～(5)の操作を行いアルミナカラムクロマトグラフィー用の試料溶液とする。

3.3.3 アルミナカラムクロマトグラフィー(注16)(注17)

- (1) アルミナカラムクロマトグラフ管の液面を無水硫酸ナトリウム層の上端まで下げ、3.3.2で調製した試料溶液を静かに移し入れ、少量のヘキサンで洗い込み、液面を無水硫酸ナトリウム層の上端まで下げ、2%(v/v)ジクロロメタン含有ヘキサン100mℓを滴下速度約2.5mℓ/min(毎秒1滴程度)で流して第1画分を得る。この画分にはPCBsが含まれる。念のためこの画分を保管する。

- (2) さらに50%(v/v)ジクロロメタン含有ヘキサン150mℓを滴下速度約2.5mℓ/minで流して第2画分を得る。この画分にはダイオキシン類及びノンオルトPCBSが含まれる。
- (3) 3.3.2で得た操作ブランク試験用、二重測定用の試料溶液も同様に(1)(2)の操作を行う。

3.3.4 シリンジスパイクの添加

- (1) 3.3.3で得た第2画分にシリンジスパイクを検量線作成時と同量添加したものを濃縮器で約5mℓに濃縮する。さらに窒素気流により溶媒を揮散除去した後、ノン(注18)を加え一定量(20~100μℓ)にしたものをGC-MS分析用溶液とする。
- (2) 3.3.3で得た操作ブランク試験用、二重測定用の試料溶液も同様に(1)の操作を行いGC-MS分析用溶液とする。

(注13) 窒素気流による濃縮操作によって溶液が飛散しないように、また完全に乾固させないように注意する。

(注14) 硫黄分除去が必要な場合は、硝酸銀処理又は銅チップ処理を行う。具体的には硝酸銀シリカゲル又は銅チップ(塩酸処理した銅線を細かく切ったもの)をカラムにつめて、試料溶液を通過させる。

(注15) 濃硫酸の添加作業は、硫酸と有機物の反応による発熱のため溶媒の突沸が起こることがあるので十分注意し、数mℓ程度の添加から始め、着色の度合いにより徐々に加える。また、必ず手袋やマスク等の保護具を使用すること。

(注16) アルミナカラムクロマトグラフィーによる方法でGC-MS分析に妨害等の支障をきたす場合には、さらにクリーンアップを目的として活性炭埋蔵シリカゲルカラムクロマトグラフィーによる方法、又は活性炭カラム高速液体クロマトグラフィーによる方法を用いる。あるいは両法をアルミナカラムクロマトグラフィーの代わりに用いてもよい(備考2)。

(注17) アルミナの極性は製造ロットや開封後の保存期間によってかなり変化が認められる。活性の低下したものでは、1,3,6,8-T₄CDD及び1,3,6,8-T₄CDF等が第1画分に溶出する。また八塩化物が50%ジクロロメタン含有ヘキサンの規定量ではすべて第2画分に溶出しきれない場合もあり、これについても分画試験で確認する。

(注18) トルエン、デカン又はイソオクタンを用いてもよい。

(備考2) 活性炭埋蔵シリカゲルクロマトグラフィー及び活性炭カラム高速液体クロマトグラフィー(HPLC)は以下のように行う。

<備考2 A 活性炭埋蔵シリカゲルカラムクロマトグラフィー>

- 1 内径10mm、長さ300mmのカラムに無水硫酸ナトリウム10mm、活性炭埋蔵シリカゲル(注19)1g、無水硫酸ナトリウム10mmを積層して乾式充てんした活性炭カラムをトルエンで十分洗浄した後、ヘキサンで十分に置換する。
- 2 3.3.3で得た第2画分あるいは3.3.2で得た試料溶液をパスツールピペット等でカラムに静かに注ぎ入れ、25%(v/v)ジクロロメタン含有ヘキサン150mℓ~200mℓを滴下速度約2.5mℓ/minで流して溶出する。この画分にはPCBsが含まれる。
- 3 次いで、トルエン200mℓを流して溶出する。この画分にダイオキシン類が含まれる。
- 4 トルエン画分を濃縮器で5mℓに濃縮し、さらに窒素気流で1mℓに濃縮、デカン0.5mℓを加え、再度窒素気流で一定量(20~100μℓ)に濃縮してGC-MS分析用溶液とする。
- 5 3.3.3で得た操作ブランク試験用、二重測定用の第2画分あるいは3.3.2で調製した操作ブランク試験用、二重測定用の試料溶液も同様に操作してGC-MS分析用溶液とする。

<備考2 B 活性炭カラム高速液体クロマトグラフィー(HPLC)>

- 1 HPLCに活性炭カラム(例、内径4.6mm、長さ100mm)(注20)を装着し、あらかじめトルエンで十分にカラムを洗浄した後、十分量のヘキサンで置換する。
- 2 3.3.3で得た第2画分あるいは3.3.2で得た試料溶液をHPLCカラムに注入し、移動層として30%(v/v)トルエン含有ヘキサン40mℓで溶出する。この画分にはPCBsが含まれる。
- 3 次いでオープンを50℃に加温し、流れの向きを逆にして(reverse flow)トルエン30mℓで溶出する。この画分(50℃ reverseトルエンフラクション)にダイオキシン類が含まれる。
- 4 50℃ reverseトルエンフラクションを濃縮器で5mℓに濃縮し、さらに窒素気流で1mℓに濃縮、デカン0.5mℓを加え、再度窒素気流で一定量(20~100μℓ)に濃縮してGC-MS分析用溶液とする。
- 5 3.3.3で得た操作ブランク試験用、二重測定用の第2画分あるいは3.3.2で調製した操作ブランク試験用、二重測定用の試料溶液も同様に操作してGC-MS分析用溶液とする。

(注19)活性炭埋蔵シリカゲルとしては、和光純薬製ダイオキシン分析用がある。

(備考1 p16)

(注20)HPLC用活性炭カラムとしては、Shandon社製Hypercarb S(porous graphitized carbon)がある。(備考1 p16)

4. ガスクロマトグラフ質量分析計(GC-MS)による分析操作

4.1 GC-MSの分析条件の設定と機器の調整

4.1.1 ガスクロマトグラフ(GC)

2.2に示したガスクロマトグラフ質量分析計を用いる。以下にGCの設定条件の例を示す。

(1)例1

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

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

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

注入口温度 :260℃

注入方法 :スプリットレス(スプリット保持時間:90秒)

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

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

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

注入口温度 :260℃

注入方法 :スプリットレス(スプリット保持時間:90秒)

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

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

カラム温度 :100℃(1.5分保持)→(20℃/min昇温)→200℃→(10℃/min昇温)
→280℃(25分保持)

注入口温度 :280℃

注入方法 :スプリットレス(スプリット保持時間:90秒)

(2)例2

1)分析対象物質:T₄CDDs~H₆CDDs、T₄CDFs~H₆CDFsの同族体及び2,3,7,8-位塩素置換異性体

使用カラム :SP-2331 0.25mm i.d.×60m、0.2μm(film)

カラム温度 :100℃(1分保持)→(20℃/min昇温)→200℃→(2℃/min昇温)→260℃

注入口温度 :260℃

注入方法 :スプリットレス(スプリット保持時間:60秒)

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

使用カラム :HP-5 0.20mm i.d.×25m、0.25μm(film)

カラム温度 :100℃(1分保持)→(20℃/min昇温)→200℃→(5℃/min昇温)→300℃

注入口温度 :300℃

注入方法 :スプリットレス(スプリット保持時間:60秒)

4.1.2 質量分析計(MS)

分解能(M/ΔM):10,000以上

イオン化電圧:70eV

イオン化電流:1,000μA

イオン源温度:260℃

質量数設定:試料と内標準物質の各塩化物ごとのモニターイオン及びロックマス用の質量数を設定する(表2-4参照)。

表2-4 設定質量数(モニターイオン)の例

		M ⁺	(M+2) ⁺	(M+4) ⁺
試料	T ₄ CDDs	319.8965	321.8936	
	P ₅ CDDs	353.8576	355.8546	357.8516 *
	H ₆ CDDs		389.8157	391.8127 *
	H ₇ CDDs		423.7766	425.7737
	O ₈ CDD		457.7377	459.7348
	T ₄ CDFs	303.9016	305.8987	
	P ₅ CDFs		339.8597	341.8567
	H ₆ CDFs		373.8208	375.8178
	H ₇ CDFs		407.7818	409.7789
	O ₈ CDF		441.7428	443.7399
内標準物質	¹³ C ₁₂ -T ₄ CDDs	331.9368	333.9339	
	¹³ C ₁₂ -P ₅ CDDs	365.8978	367.8949	369.8919
	¹³ C ₁₂ -H ₆ CDDs	399.8589	401.8559	403.8530
	¹³ C ₁₂ -H ₇ CDDs	433.8199	435.8169	437.8140
	¹³ C ₁₂ -O ₈ CDD	467.7809	469.7779	471.7750
	¹³ C ₁₂ -T ₄ CDFs	315.9419	317.9389	
	¹³ C ₁₂ -P ₅ CDFs	349.9029	351.9000	353.8970
	¹³ C ₁₂ -H ₆ CDFs	383.8639	385.8610	387.8580
	¹³ C ₁₂ -H ₇ CDFs	417.8250	419.8220	421.8191
	¹³ C ₁₂ -O ₈ CDF	451.7860	453.7830	455.7801
³⁷ Cl ₄ -T ₄ CDDs	339.9250			
ロックマス用		330.9792 (4,5-塩化物定量用)		
		380.9760 (5,6-塩化物定量用)		
		430.9729 (7,8-塩化物定量用)		
		442.9729 (7,8-塩化物定量用)		

* PCBの妨害を受ける可能性あり

4.1.3 検出法

<SIM法(ロックマス方式)>

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

4.2 試料の分析 (SIM法)

- (1) PFKガスを流しながらロックマスの応答が安定したら、3.3.4で調製したGC-MS分析用溶液の1~2 μ l をGC-MSに注入して、分析を行う。
- (2) 4.1.2で設定した各塩化物の質量数についてクロマトグラムを記録し、二つのモニターイオンのピーク面積の比を計算する(注21)。
- (3) 分析終了後、定量作業に入る前に個々の試料ごとにロックマスのモニターチャンネルの確認を行う(注22)。
- (4) 各塩化物の質量数とそれに対応する内標準物質(サンプリングスパイク)の質量数のイオンのピーク面積の比を計算し、4.3で求める対応する相対感度係数(RRF)を用いて次式により試料抽出液全量中の各対象塩化物の量(Qs:ng)を算出する(注22)。

$$Q_s = \frac{A_s}{A_i} \times \frac{Q_i}{RRF}$$

Qs : 試料抽出液全量中の各分析対象塩化物の量 (ng)

As : 試料溶液中の分析対象塩化物のピーク面積

Ai : 試料溶液中の内標準物質(サンプリングスパイク)のピーク面積

Qi : 内標準物質(サンプリングスパイク)の添加量 (ng)

RRF : 検量線作成時に求めた相対感度係数(サンプリングスパイク)

- (5) 内標準物質(サンプリングスパイク及びクリーンアップスパイク)のピーク面積と内標準物質(シリンジスパイク:ss)のピーク面積の比及び対応する相対感度係数(RRFss)を用いて次式により回収率を計算し、抽出及びクリーンアップの回収率を確認する(注24)。

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

Ai : 試料溶液中の内標準物質(サンプリングスパイク又はクリーンアップスパイク)のピーク面積

Qi : 内標準物質(サンプリングスパイク又はクリーンアップスパイク)の添加量 (ng)

Ai(ss) : 試料溶液中の内標準物質(シリンジスパイク)のピーク面積

Qi(ss) : 内標準物質(シリンジスパイク)の添加量 (ng)

RRFss : 相対感度係数(シリンジスパイク) : 検量線作成時に求めた内標準物質(サンプリングスパイク又はクリーンアップスパイク)の内標準物質(シリンジスパイク)に対する濃度の比とピーク面積の比の比。次式により算出する。

$$RRF_{ss} = \frac{C_{ss}}{C} \times \frac{A}{A_{ss}}$$

C_{ss} : 標準溶液中の内標準物質（シリンジパイク）の濃度

A_{ss} : 標準溶液中の内標準物質（シリンジパイク）のピーク面積

C : 標準溶液中の内標準物質（サンプリングスパイク又はクリーンアップスパイク）の濃度

A : 標準溶液中の内標準物質（サンプリングスパイク又はクリーンアップスパイク）のピーク面積

4.3 検量線の作成

- (1) 各塩化物に対して0及び0.2ng/ml～1μg/mlの濃度範囲で4段階程度の標準濃度系列（合計5段階程度）を調製する（注25）。この標準濃度系列には定容前にあらかじめ内標準物質をT₄CDDs～H₇CDDs及びT₄CDFs～H₇CDFsでは0.2～1ng、O₈CDD及びO₈CDFでは0.4～2ng添加しておく。
- (2) (1)で調製した標準濃度系列の1μlをGC-MSに注入し、4.2の操作を行って、各塩化物のクロマトグラムを記録する。
- (3) 標準濃度系列ごとに各塩化物の二つの質量数のイオンのピーク面積の強度比を求め、天然存在比とほぼ一致することを確認する（注21）。
- (4) 各塩化物の質量数及び内標準物質の質量数のイオンのピーク面積を求め、各塩化物の対応する内標準物質（サンプリングスパイク又はクリーンアップスパイク）に対するピーク面積の比と注入した標準溶液中の各塩化物と内標準物質（サンプリングスパイク又はクリーンアップスパイク）の濃度の比を用いて検量線を作成し、相対感度係数(RRF)（第4節3.2参照p37）を算出する（注26）。

また、内標準物質（サンプリングスパイク又はクリーンアップスパイク）の内標準物質（シリンジスパイク）に対する濃度の比とピーク面積の比を用いて相対感度係数(RRF_{ss})を算出する。

4.4 操作ブランク試験用の試料溶液の分析

3.3の操作によりクリーンアップを行った操作ブランク試験用の試料溶液について4.2の分析操作を行って、各塩化物の操作ブランク値の測定を行う(注27)(注28)。

4.5 二重測定用の試料溶液の分析

3.3の操作によりクリーンアップした二重測定用の試料溶液について4.2の分析操作を行って、各塩化物の測定を行う(注29)。

4.6 GC-MS装置の感度試験

標準濃度系列の中から中間程度の濃度のものを選び、4.2の分析操作を行って相対感度係数(RRF)の変動を確認する。この確認は一日に一回以上行う(注30)。

(注21)SIMクロマトグラム上の二つ以上のモニターイオンのピーク面積比が標準物質のものとはほぼ同じであり、同位体の天然存在比に対して±15%(定量下限値付近の濃度によっては±25%)以内であれば定量する(表2-5参照)。

特に2,3,7,8-位塩素置換異性体は、得られたSIMクロマトグラム上のピークの良い分離とともに保持時間が標準物質とほぼ同じであり、対応する内標準物質との相対保持時間も標準物質と一致することで同定を行う。また標準物質のない異性体の同定については、文献などを参照して同定する。

表2-5 塩素原子数による同位体ピークの天然存在比

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

Mは最低質量数の同位体

各塩素数ごとにそれぞれ最大強度を示すイオンを100%とした値

- (注22) ロックマスチャンネルのクロマトグラムが波を打つなどの変動があった場合で、特に分析対象物質の出現位置においてこの現象が認められた場合には、正確にピークをとらえていない可能性があり大きな精度低下が生じているため、その成分については定量してはならない。主な要因として、試料の前処理が不十分であることが考えられるので、試料の前処理を再度十分に行い、ロックマスの変動を最小限に抑える必要がある。
- (注23) 2, 3, 7, 8-位塩素置換異性体の定量は、対応する標準物質を用いて行う。その他の異性体の定量については、各塩化物ごとに存在する2, 3, 7, 8-位塩素置換体と同じ感度を持つものとして計算する。
- (注24) クリーンアップスパイクの回収率が50%以上120%以下の範囲から外れるときは再度粗抽出液から前処理を行い再分析する。
- (注25) この濃度範囲は検出下限の値に近い低濃度を含み、GC-MSのダイナミックレンジ内でなければならない。
- (注26) 検量線作成時の試料を分析して、第4節3.2で得られたRRFとの比較を行うとともに、濃度既知の標準試料を同時に分析して検量線の検定を行う。
- (注27) この操作は試料分析に先立って行い、操作ブランク値を水中ダイオキシン類濃度に換算した値が目標定量下限値(表1-1)を超える場合には、再洗浄や機器の調整を行った後、再度分析し、操作ブランク値を十分低減してから試料を分析する。
- (注28) 特定のピークが妨害を受けた時、原則としてそのデータは使用できないが、そのピークの分析値に対して操作ブランク値が30%以下であれば、そのデータを使用してもよい。
- (注29) 二つ以上の分析値(ダイオキシン類の全濃度のTEQ換算値)について平均値を求め、各分析値の差が平均値に比べて30%以内であることを確認する。これより差が大きい場合には、原則として欠測扱いとし、その原因をチェックするとともに、必要に応じて再度試料を調製し、すべての試料について分析を再度行う。
- (注30) 内標準物質との相対感度が検量線作成時の相対感度に対して±20%以内の変動であることを確認し、これを超えて感度が変動する場合はその原因を取り除き、それ以前の試料の再分析を行う。さらに保持時間については、比較的短い間に変動(通常、一日に保持時間が±5%以上、内標準物質との相対保持比が±2%以上)する場合には、その原因を取り除き、それ以前の再分析を行う。

5. 数値の取扱い

5.1 検出下限値、定量下限値

任意の試料採水量 V (ℓ) における検出下限値、定量下限値は、以下のとおり求める。
定量下限値付近の標準溶液 (0.2~0.5ng/ml) の $1\mu\ell$ を GC-MS に注入し、4.2 の操作を行って分析値 (Q_s :ng) を求める。5.2.1 の濃度の算出式に、ここで求めた Q_s 及び V の値を代入して C を算出する (ただし、 Q_i はブランク値が求められている場合はその値を用いる)。同一試料を 5 回以上分析して求めた C の値の標準偏差 (s) から、次式によりダイオキシン類の検出下限値及び定量下限値を算出する。ただし、操作ブランクのある場合には操作ブランク値の測定を行い、標準溶液と操作ブランク値のうち、大きい方の標準偏差を用いて算出する (注31)。

この分析は機器の分析条件を設定した場合など必要に応じて必ず 1 回以上行う。

$$\begin{aligned} \text{検出下限値} &= 3s \text{ (pg/ℓ)} \\ \text{定量下限値} &= 10s \text{ (pg/ℓ)} \end{aligned} \quad s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

(注31) ダイオキシン類の検出下限値が目標定量下限値 (表1-1参照p1) より大きい時には、器具、機器等をチェックして、目標定量下限値以下になるように調整する。

5.2 濃度の表示

5.2.1 濃度の算出

4.2 で得られた結果から、次式を用いて水中のダイオキシン類の濃度を算出する。

$$C = \frac{(Q_s - Q_i) \times 1,000}{V}$$

C : 分析対象物質の濃度 (pg/ℓ)

Q_s : 試料抽出液全量中の各分析対象塩化物の量 (ng)

Q_i : 操作ブランク試験用試料溶液中の各分析対象塩化物の量 (ng)

操作ブランク試験を行わない場合には、前もって管理している操作ブランク値を用いる。

V : 試料採取量 (ℓ)

表示は表1-4又は1-5にしたがって行う (注32)。また汚染源の推定を行う場合、1, 3, 6, 8-T₄CDD、1, 3, 7, 9-T₄CDD、1, 2, 7, 8-T₄CDFの濃度についても定量し、表示する。

5.2.2 毒性等量 (2, 3, 7, 8-TCDD Toxicity Equivalency Quantity; TEQ)

定量された実測濃度にダイオキシン類の毒性等価係数 (2, 3, 7, 8-TCDD Toxicity Equivalency Factor; TEF) (表1-2, 1-3参照p5) を乗じて毒性等量を算出し、その合計を求める (注33)。

(注32) 濃度については有効数字は原則として2けたで表す。このとき有効数字の1けた以降を計算し、有効数字1けた下の数字を四捨五入によって丸める。数値の丸めの操作は最小限にする。

(注33) 毒性等量算出に当たっては、各異性体の毒性等量を計算し、その合計を以て有効数字2けたで上記と同様に数値を丸める。つまり個々の異性体の毒性等量については丸めの操作は行わない。

各異性体の実測値がすべて定量下限値以下の場合には毒性等量は

「 $0 < (\sum 1/2 \times 2, 3, 7, 8\text{-位塩素置換異性体の各定量下限値} \times \text{TEF})$ 」とする。

例えば、定量下限を表1-1(p1)のとおりとし1-TEF (WHO/IPCS, 1988) を用いると環境水では $0 < (0.18 \text{pg-TEQ}/\ell)$ 、排水では $0 < (0.91 \text{pg-TEQ}/\ell)$ と表示される。

第4節 調査精度の管理

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

調査精度の管理は、標準作業手順(SOP:Standard Operation Procedure)の作成、メソッド・バリデーション(試料採取及び分析方法の妥当性、器具・装置の性能の評価と維持管理)及びシステム適合性試験(分析値の信頼性の評価)によって行われ、実際の調査に先立ってその妥当性について検証し、かつ、定期的(通常、毎日)に実施することが望まれる。

1. 標準作業手順(SOP)

試験機関においては次の項目等について作業手順を設定しておく。この作業手順は具体的で分かりやすいこと及び関係者に周知徹底しておくことが必要である。

- (1) 試料採取用器具等の準備、メンテナンス、保管及び取扱方法。
- (2) 前処理用試薬類の準備、精製、保管及び取扱方法。
- (3) 分析用試薬、標準物質等の準備、標準溶液の調製、保管及び取扱方法。
- (4) 分析機器の分析条件の設定、調整、操作手順。
- (5) 分析方法全工程の記録(使用するコンピュータのハード及びソフトを含む)。

2. メソッド・バリデーション

2.1 採水

採水に当たっては、常に同一の精度を維持するために、採水方法の妥当性の検討を行う。

2.1.1 採水器、試料容器の準備と保管

使用する採水器は、必要に応じてメタノール(又はアセトン)及びトルエン(又はジクロロメタン)を用いて前もって十分に洗浄を行ってから使用する。また洗浄後、外部からの汚染を受けないよう保管する。

2.1.2 試料の保管・運搬

採水後の試料は、外部からの混入や分解等を防ぐため、密封・遮光できる容器に入れ、保管・運搬する。また、分析に用いた試料の残りを長期間保存する場合は冷蔵保存する。

2.1.3 試料の代表性の確保

目的とする調査対象に対して代表試料の採水が適切に行われなければならない。

2.2 前処理操作の信頼性の確保

前処理終了後、試料溶液に着色が無く不揮発性成分が目視で確認できない状態まで十分にクリーンアップを行う。着色していたり、残留物が認められる場合には、キャピラリーカラムにおける成分の分離能の低下、装置のイオン源の汚染に伴う感度変動等による精度の低下、さらにPFK等の校正物質による正確なチューニングの妨害等の原因となる。

2.2.1 固相抽出

共存有機物の多い試料では、破過が起こらないようディスク型固相への通水量の検討を行う。

2.2.2 液-液抽出

目的の溶媒層への抽出が十分に行われるように溶媒の選択や抽出条件を検討しておく。

2.2.3 ソックスレー抽出

ソックスレー抽出を行うディスク型固相及びガラス繊維ろ紙は十分に乾いていることを確認する。

2.2.4 硫酸処理

硫酸処理を行った後の試料溶液に着色がないことを確認する。

2.2.5 シリカゲルカラム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において、分画条件は使用する充てん剤の種類や活性度、あるいは溶媒の種類及び量によって異なるので、あらかじめフライアッシュ抽出液等の全同族体を含むものを用いて分画試験を行って条件を決めておく。

2.2.6 多層シリカゲルカラムクロマトグラフィー

フライアッシュ抽出液等を用いて、分画試験を行って溶出位置を確認しておく。

2.2.7 アルミナカラムクロマトグラフィー

アルミナの極性は製造ロットや開封後の保存状態及び保存期間によってかなり変化が認められる。活性の低下したものでは、1, 3, 6, 8-T₄CDD及び1, 3, 6, 8-T₄CDF等が第1分画に溶出する場合がある。また八塩化物が50% (v/v) ジクロロメタン含有ヘキサンの規定量ではすべて溶出しきれない場合もあり、これらについても分画試験で確認する。

2.3 機器分析

ダイオキシン類の分析に当たっては、多数の異性体を分離する必要があることから、高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計(HRGC-HRMS)を用いる。

2.3.1 標準物質

分析値は、採取試料と標準物質の分析結果を比較することによって得られるため、分析値の信頼性を確保するためには、可能な限りトレーサビリティの保証された標準物質を用いる必要がある。

ダイオキシン類を内標準法により同定及び定量する標準物質、内標準物質としては表2-2に示したのものから目的に応じて使用する(注4 参照p16)。

内標準物質は以下の操作を確認するために用いる。

- ① 前処理操作の結果を確認するために用いるサンプリングスパイク、クリーンアップスパイク。
- ② GC-MSへの試料溶液の注入を確認するために用いるシリンジスパイク。

したがって、サンプリングスパイク、クリーンアップスパイク、シリンジスパイクはそれぞれ別の異性体を用いる。

クリーンアップ用の内標準物質として、すべての化合物に対してその安定同位体標識化合物を用いることが望ましいが、少なくとも各塩素数ごとに最低1種類ずつ添加する。しかし、これらの内標準物質は、質量分析計の設定分解能によっては分析に妨害を与える場合があるので、その使用に際しては妨害しない条件を十分に検討・確認しておく。

2.3.2 分析機器の調整

使用する分析機器は目的に応じて分析条件を設定し、試料の分析が可能なように機器を調整する。この際、感度、直線性、安定性等のほか、分析の誤差となる干渉の有無の大きさ、その補正法等、十分信頼できる分析ができるかどうか確認しておく。

(1) 質量分析計(MS)のチューニング

質量分析計(MS)に質量校正用標準物質(ペルフルオロケロセン:PFK)を導入し、MSの質量校正用プログラム等によりマスパターン及び分解能($M/\Delta M$ 10,000以上、10% Valley)等の校正を行うとともに、装置の感度等の基本的なチェックを行う。この際、チューニング結果を記録して保管する。

(2) ガスクロマトグラフ (GC) の調整

カラム槽温度、注入口温度、キャリアーガス流量等の条件を設定し、応答が安定していること、各塩化物の保持時間が適切な範囲にあり、かつ、ピークが十分に分離されていること等を確認する。スプリットレスの時間、パージガス流量等を適切な値に設定する。

キャピラリーカラムの劣化により、分析対象物質と他物質との分離が十分でない場合には新品と交換する。ただし、キャピラリーカラムを300mm程度切断(両端又は片端)することにより分析対象物質と他物質との分離に問題がなければ交換しなくてもよい。

(3) GC-MS装置の操作条件

キャピラリーカラムによって得られるピークの幅は、5~10秒程度であるが、ピークを構成するデータポイントを確保するためにはSIM法における周期は最大でも1秒以下にしなければならない。1回の分析で設定可能なモニターチャンネルの数は、要求される感度との兼ね合いとなるので十分に検討した上で設定する必要がある。

クロマトグラム上の各ピークの保持時間を考慮して、時間分割によるグルーピング方式によって分析しても良いが、この場合には各グループごとに、適切な内標準物質ピークが出現するように条件の設定を行う必要がある。

2.3.3. 装置の維持管理

GC-MSの性能を維持するには、日常的なメンテナンスを欠かしてはならない。特に、GCとのインターフェイスやイオン化室内の汚れは、感度や分解能、定量精度の低下に大きく影響するので、適宜洗浄する必要がある。

3. システム適合性試験(分析値の信頼性の評価)

3.1 装置の安定性

1日1回以上、定期的に検量線の間程度濃度の標準溶液を分析して、ダイオキシン類の各塩素置換体と内標準物質の相対感度の変動が、検量線作成時の相対感度に比べて±20%以内であることを確認し、この範囲を超えて変動する場合には、その原因を取り除き、それ以前の試料の再分析を行う。さらに保持時間については、分離カラムの劣化等の場合のように徐々に保持時間が変動する場合には、必要に応じて対応をとればよいが、比較的短い間に変動(通常、1日に保持時間が±5%以上、内標準物質との相対保持比が±2%以上)する場合には、その原因を取り除き、それ以前の試料の再分析を行う。

3.2 検量線の検定

各塩化物標準物質の濃度とピーク面積について内標準物質との比の関係から検量線を作成し、次式により相対感度係数(RRF:Relative Response Factor)を算出する。

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

C_{is}:標準溶液中の内標準物質の濃度
C_s:標準溶液中の分析対象物質の濃度
A_s:標準溶液中の分析対象物質のピーク面積
A_{is}:標準溶液中の内標準物質のピーク面積

検定用の検量線の作成では、通常5段階以上の濃度を設定し、1つの濃度に対して最低3回の分析を繰り返して行い、全濃度領域では合計で15点以上のデータを得る。これらのデータから算出されるRRFは、分析したすべての濃度でばらつきがない、すなわち、変動係数が±5%以内に収まるように、装置等の設定条件をあらかじめ検討する必要がある。

最小二乗法による一次直線回帰式の切片が限りなく0となるようにする。

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

3.3 GCのピークの検出下限と定量下限

定量に際しては、ピークの検出下限をS/N=3、定量下限をS/N=10、又はそれ以上とし、定量下限以上のピークについてのみを定量する。その時の有効けた数は、S/N=20程度までは1けた、それ以上の強度のピークについては2けたとする。

3.4 検出下限値、定量下限値

検量線作成時の最低濃度(定量下限値付近)の標準溶液を用いて、所定の操作により分析し、得られた分析値を濃度算出式により各試料中のダイオキシン類の濃度に換算する。5回以上分析を行い、その時の標準偏差(s)を算出し、次式のように標準偏差の3倍を検出下限値、10倍を定量下限値とする。操作ブランク値のある場合には、操作ブランク試験用試料溶液を同様に分析して標準偏差を計算し、両方の標準偏差のうち、大きい方を検出下限値及び定量下限値の計算に用いる。

$$\text{検出下限値} = 3s (\text{pg}/\ell)$$

$$\text{定量下限値} = 10s (\text{pg}/\ell)$$

検出下限値や定量下限値は使用する分析機器や分析条件により異なるため、機器の分析条件を設定した場合等、必要に応じて1回以上分析し、検出下限値が目標定量下限値(表1-1参照p1)以下であることを確認する。

3.5 操作ブランクの測定

操作ブランク試験は、試験液の調製又は分析機器への導入操作等に起因する汚染を確認し、試料の分析に支障のない分析環境を設定し、分析値の信頼性を確保するために行うものであり、前もって操作ブランク値について十分把握しておき、必要に応じてそのデータが提示できるようにしておく(注28 p31)。

操作ブランク値が大きいと分析感度が悪くなるばかりでなく、定量下限値が大きくなって分析値の信頼性が低下する。したがって、操作ブランク値は極力低減を図らなければならない。また、実験室空気からのダイオキシン類の汚染を防止するために、必要に応じてクリーンドラフトの中で実験操作を行う。

操作ブランク試験は、操作ブランク値を分析値に影響がないよう十分低くなるように管理しておけば毎回行わなくてもよいが、重要な変更があった場合には、その都度操作ブランク値を確認する。

3.6 二重測定

前処理操作及び機器分析における総合的な信頼性を確保するために、分析用試料について抽出以降の操作を同一条件で2回以上反復して行い、定量下限値以上の濃度の調査対象物質について両者の分析値(ダイオキシン類の全濃度のTEQ換算値)について平均値を求め各々の値の差が平均値に比べて30%以下 $((C_1 - C_2) / (C_1 + C_2) \times 2) \times 100 \leq 30$ であることを確認する。差が大きい時には、分析値の信頼性に問題があるため、原則として欠測扱いとする。このような場合には、前処理操作及び分析機器の安定性等、様々の必要事項についてチェック及び改善した後、調査に係る全試料について再分析を行う。

二重測定は、一連の試料において試料数の10%程度の頻度で行う。

3.7 回収率測定

GC-MS分析の直前に回収率測定のためのシリンジスパイクを既知量添加し、これをもとに内標準法で使用したクリーンアップスパイクを定量し回収率を求める。

回収率が50~120%の範囲内でない場合には、再度粗抽出液からクリーンアップ以降の操作をやり直す必要がある。

4. データの管理及び評価

4.1 異常値、欠測値の取扱

分析機器の感度の変動が大きい場合は、分析値の信頼性に問題があるため、再分析を行ったり、欠測扱いとして再度試料の採取を行う必要がある。このような問題が起これば、多大な労力、時間、コストがかかるだけでなく、異常値や欠測値が多くなると、調査結果全体の評価に影響するため、事前のチェックを十分に行う等、異常値や欠測値を出さないように注意する。また、異常値や欠測値が出た経緯を十分に検討し、記録に残して、以後の再発防止に役立てることが重要である。

4.2 操作の記録

以下の情報を記録し、整理・保管しておく。

- (1) 採水器の状況。
- (2) 採水地点の状況。
- (3) 採水方法。
- (4) 試料の状況。
- (5) 分析装置の校正及び操作。
- (6) 分析値を得るまでの各種の数値。

5. 精度管理に関する報告

精度管理に関する以下の情報を記録し、データと共に報告する。

- (1) SOPに規定されている次の事項。
 - a) 日常的点検、調整の記録(装置の校正等)。
 - b) 標準物質等のメーカー及びトレーサビリティ、分析機器の分析条件の設定と結果。
- (2) 検出下限値及び定量下限値の分析結果。
- (3) 操作ブランク試験の結果。
- (4) 前処理操作等の回収試験の検証結果。
- (5) 分析機器の感度の変動。
- (6) 操作記録(採水から前処理・分析に関する記録)。

第5節 安全管理

当面の管理指針を以下に示す。

1. 施設

(1) 実験室

① 実験室は、専用の実験室とする。

② 高濃度の汚染試料を取扱う実験室は、可能であれば2～3のエリアに仕切った方がよい。その場合の各エリアの役割は下記のとおりである。

ア) 試料の分解、抽出、精製及び濃縮を行うエリア。

イ) ガスクロマトグラフ質量分析装置(GC-MS)による分析を行うエリア。

③ 共用のGC-MSを用いるときは、一定期間をダイオキシン類分析専用とするとともに、本体及び周辺の汚染のないように実験を行う。

2. 実験室等の立入規制

(1) 実験室への立入りは、関係者に限定する。

(2) 実験室のドアには、関係者以外立入らないよう表示を行う。

3. 換気システム

(1) 実験室は、ドラフトチャンバーにより排気を行う。

(2) 排気された空気は、活性炭フィルター等の処理装置により処理したのち排出する。

4. その他の設備

(1) グローブボックス

多量のダイオキシン類を取扱う場合は、グローブボックス内で行う。

(2) 紫外線ランプ

ダイオキシンの汚染部位を照射するために使用する。

(3) 排気

GC-MSに付属するすべてのポンプ排気は、ドラフトチャンバーのダクトのように活性炭フィルター等の処理装置を通じて排気する。

5. 実験室内での業務

(1) 実験室内では、専用の実験衣及び靴を着用する。

(2) 作業中は、手袋、安全眼鏡等を着用する。

(3) 液体の採取は、すべてシリンジ等を使用し、ピペットを用いて口で吸い上げてはならない。

6. 標準物質の取扱い

(1) すべての標準溶液の目録を作成する。

(2) すべての標準溶液は、二重栓式試料瓶に入れ冷蔵庫に保管する。多量の標準物質及び標準溶液は、施錠できる保管庫に保管する。

7. 試料の取扱い

- (1)濃縮した抽出液は、密閉できるミニ試料瓶等に入れ冷蔵庫に保管する。
- (2)長期間の保管が予想されるときは、褐色アンプル中に封入し、破損しないように保護したのち、冷蔵保管する。
- (3)不必要になった試料溶液は、適切に処分する。
- (4)ダイオキシン類を含む試料を運搬する場合は、万一容器が破損した場合でも外部に漏れないよう密閉形のプラスチックコンテナに入れて運ぶ。

8. 実験中の事故の処置

環境試料中のダイオキシン類の分析は、取扱量が微量であることから、特段高い危険があるとは考えられないが、実験中の事故等の場合は、実験室を使用する者に連絡するとともに、以下の処置を行う。

- (1)ダイオキシン類を含む抽出液等を実験中に浴びる等の皮膚接触が起きた時は、直ちに接触部位を石鹸で洗う。
- (2)実験室内で漏洩事故があった場合は、汚染した部位を、水で湿らせた紙タオルでふき、ついでその部位をアルコール又はトルエン等の有機溶媒でふき取る。

9. 廃棄物の保管処分等

- (1)有害固形廃棄物(手袋、マスク、紙タオル、活性炭フィルター等)は、専用ポリバケツに入れて保管する。
- (2)有害液体廃棄物(分析プロセス及び器具の洗浄で生じた廃溶媒並びにガスクロマトグラフ質量分析装置の廃オイル等)は、専用の密閉容器に入れて保管する。
- (3)上記により保管した物は、適切に処分する。
- (4)廃水は、活性炭等により適切に処理した後、排水する。

10. 作業記録

- (1)実験室立入者の記録をする。
- (2)作業日報を作成し、分析従事者の作業時間等を記録する。
- (3)標準溶液は、物質名、数量、濃度、入手先、供与先等を記録し、使用状況も記録する。
- (4)廃棄物の保管状況や処理状況を記録する。
- (5)その他必要と考えられる事項を記録する。

11. 健康診断

本マニュアルに示した分析では、有機溶媒等も使用するため、労働安全衛生法に定められた特定化学物質に係る定期的健康診断を実施すること。ダイオキシン類の影響については、血清中のトリグリセライド、コレステロール等が指標となる。

(参考) コプラナPCBsの調査方法

コプラナPCBsの測定においてマニュアル本文と異なる部分を以下に示す。
(以下、参考以外のマニュアル部分を「本文」と称する。)

1. 目標定量下限値 (本文第1章 2. に該当p1)

コプラナPCBsの目標定量下限値は、環境水で0.2pg/ℓ、排水で1pg/ℓとした。

2. 表示方法 (本文第1章 5. に該当p5)

毒性等価係数(2, 8, 7, 8-T₄CDD Toxicity Equivalency Factor; TEF)を表-参考-1に示す。
コプラナPCBsの濃度表示方法を表-参考-2に示す。

表-参考-1(1) 毒性等価係数
(TEF WHO/IPCS, 1993)

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

表-参考-1(2) (参考) 毒性等価係数 注)
(TEF WHO, 1997)

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

注) この毒性等価係数(TEF)はダイオキシン類(表1-3 p5)と合わせて利用する。

表-参考-2(1) コプラナPCBsの表示方法 (TEF:WHO/IPCS, 1993に対応)

IUPAC No.		実測濃度 pg/ℓ	毒性等価係数 TEF	毒性等量 (TEQ) pg-TEQ/ℓ	
コ プ ラ ナ P C B s	3, 3', 4, 4' - T ₄ CB #77		0.0005		
	3, 3', 4, 4', 5 - P ₅ CB #126		0.1		
	3, 3', 4, 4', 5, 5' - H ₆ CB #169		0.01		
	Non-ortho PCBs			-	
	2, 3, 3', 4, 4' - P ₅ CB #105		0.0001		
	2, 3, 4, 4', 5 - P ₅ CB #114		0.0005		
	2, 3', 4, 4', 5 - P ₅ CB #118		0.0001		
	2', 3, 4, 4', 5 - P ₅ CB #123		0.0001		
	2, 3, 3', 4, 4', 5 - H ₆ CB #156		0.0005		
	2, 3, 3', 4, 4', 5' - H ₆ CB #157		0.0005		
	2, 3', 4, 4', 5, 5' - H ₆ CB #167		0.00001		
	2, 3, 3', 4, 4', 5, 5' - H ₇ CB #189		0.0001		
	Mono-ortho PCBs			-	
	2, 2', 3, 3', 4, 4', 5 - H ₇ CB #170		0.0001		
	2, 2', 3, 4, 4', 5, 5' - H ₇ CB #180		0.00001		
	Di-ortho PCBs			-	
	Total Coplanar PCBs			-	

表-参考-2(2) (参考) コプラナPCBsの表示方法 (TEF:WHO, 1997に対応)

IUPAC No.		実測濃度 pg/ℓ	毒性等価係数 TEF	毒性等量 (TEQ) pg-TEQ/ℓ	
コ プ ラ ナ P C B s	3, 3', 4, 4' - T ₄ CB #77		0.0001		
	3, 4, 4', 5 - T ₄ CB #81		0.0001		
	3, 3', 4, 4', 5 - P ₅ CB #126		0.1		
	3, 3', 4, 4', 5, 5' - H ₆ CB #169		0.01		
	Non-ortho PCBs			-	
	2, 3, 3', 4, 4' - P ₅ CB #105		0.0001		
	2, 3, 4, 4', 5 - P ₅ CB #114		0.0005		
	2, 3', 4, 4', 5 - P ₅ CB #118		0.0001		
	2', 3, 4, 4', 5 - P ₅ CB #123		0.0001		
	2, 3, 3', 4, 4', 5 - H ₆ CB #156		0.0005		
	2, 3, 3', 4, 4', 5' - H ₆ CB #157		0.0005		
	2, 3', 4, 4', 5, 5' - H ₆ CB #167		0.00001		
	2, 3, 3', 4, 4', 5, 5' - H ₇ CB #189		0.0001		
	Mono-ortho PCBs			-	
	Total Coplanar PCBs			-	

注) この表示方法はダイオキシン類 (表1-5 p7) と合わせて利用する。

3. 標準物質（本文第2章第3節 1.に該当p13）

コプラナPCBsを内標準法により同定及び定量する標準物質、内標準物質としては表-参考-3のものから目的に応じて使用する(注)。

表-参考-3(1) コプラナPCBsの標準物質、内標準物質
(TEF(WHO/IPCS, 1993)対応項目) (本文 表2-2に該当p15)

コプラナPCBs		
	標準物質	内標準物質
Non-ortho PCBs		
四塩化物	3, 3', 4, 4' - T ₄ CB #77	¹³ C ₁₁ -3, 3', 4, 4' - T ₄ CB
五塩化物	3, 3', 4, 4', 5 - P ₅ CB #126	¹³ C ₁₂ -3, 3', 4, 4', 5 - P ₅ CB
六塩化物	3, 3', 4, 4', 5, 5' - H ₆ CB #169	¹³ C ₁₃ -3, 3', 4, 4', 5, 5' - H ₆ CB
Mono-ortho PCBs		
五塩化物	2, 3, 3', 4, 4' - P ₅ CB #105	¹³ C ₁₂ -2, 3, 3', 4, 4' - P ₅ CB
	2, 3, 4, 4', 5 - P ₅ CB #114	¹³ C ₁₂ -2, 3, 4, 4', 5 - P ₅ CB
	2, 3', 4, 4', 5 - P ₅ CB #118	¹³ C ₁₂ -2, 3', 4, 4', 5 - P ₅ CB
	2', 3, 4, 4', 5 - P ₅ CB #123	¹³ C ₁₂ -2', 3, 4, 4', 5 - P ₅ CB
六塩化物	2, 3, 3', 4, 4', 5, 5' - H ₆ CB #156	¹³ C ₁₃ -2, 3, 3', 4, 4', 5, 5' - H ₆ CB
	2, 3, 3', 4, 4', 5' - H ₆ CB #157	¹³ C ₁₃ -2, 3, 3', 4, 4', 5' - H ₆ CB
	2, 3', 4, 4', 5, 5' - H ₆ CB #167	¹³ C ₁₃ -2, 3', 4, 4', 5, 5' - H ₆ CB
七塩化物	2, 3, 3', 4, 4', 5, 5' - H ₇ CB#189	¹³ C ₁₄ -2, 3, 3', 4, 4', 5, 5' - H ₇ CB
Di-ortho PCBs		
七塩化物	2, 2', 3, 3', 4, 4', 5 - H ₇ CB#170	¹³ C ₁₄ -2, 2', 3, 3', 4, 4', 5 - H ₇ CB
	2, 2', 3, 4, 4', 5, 5' - H ₇ CB#180	¹³ C ₁₄ -2, 2', 3, 4, 4', 5, 5' - H ₇ CB

表-参考-3(2) コプラナPCBsの標準物質、内標準物質
(TEF(WHO, 1997)対応項目) (本文 表2-2に該当p15)

(参考) コプラナPCBs				
	標準物質		内標準物質	
	Non-ortho PCBs			
四塩化物	3, 3', 4, 4' -T ₄ CB	#77	¹³ C ₁₂ -3, 3', 4, 4' -T ₄ CB	
	3, 4, 4', 5 -T ₄ CB	#81	¹³ C ₁₂ -3, 4, 4', 5 -T ₄ CB	
五塩化物	3, 3', 4, 4', 5 -P ₅ CB	#126	¹³ C ₁₁ -3, 3', 4, 4', 5 -P ₅ CB	
六塩化物	3, 3', 4, 4', 5, 5' -H ₆ CB	#169	¹³ C ₁₁ -3, 3', 4, 4', 5, 5' -H ₆ CB	
	Mono-ortho PCBs			
五塩化物	2, 3, 3', 4, 4' -P ₅ CB	#105	¹³ C ₁₁ -2, 3, 3', 4, 4' -P ₅ CB	
	2, 3, 4, 4', 5 -P ₅ CB	#114	¹³ C ₁₁ -2, 3, 4, 4', 5 -P ₅ CB	
	2, 3', 4, 4', 5 -P ₅ CB	#118	¹³ C ₁₁ -2, 3', 4, 4', 5 -P ₅ CB	
	2', 3, 4, 4', 5 -P ₅ CB	#123	¹³ C ₁₁ -2', 3, 4, 4', 5 -P ₅ CB	
六塩化物	2, 3, 3', 4, 4', 5 -H ₆ CB	#156	¹³ C ₁₁ -2, 3, 3', 4, 4', 5 -H ₆ CB	
	2, 3, 3', 4, 4', 5' -H ₆ CB	#157	¹³ C ₁₁ -2, 3, 3', 4, 4', 5' -H ₆ CB	
	2, 3', 4, 4', 5, 5' -H ₆ CB	#167	¹³ C ₁₁ -2, 3', 4, 4', 5, 5' -H ₆ CB	
七塩化物	2, 3, 3', 4, 4', 5, 5' -H ₇ CB	#189	¹³ C ₁₁ -2, 3, 3', 4, 4', 5, 5' -H ₇ CB	

(注) 標準溶液や内標準溶液として市販の混合溶液がある。

コプラナPCBsに関してはAccuStandard社(関東化学)から各異性体ごとの標準液(100μg/ml イソオクタン溶液)が、またCSL/WELLINGTON社(関東化学)から各異性体ごとの内標準溶液(50μg/ml ノナン溶液)が入手できる。(備考1 p16)

なお、PCBは化審法の第1種特定化学物質に指定されており、購入にあたって通産大臣の許可が必要になるため、入手には数ヶ月を要する。

4. アルミナカラムクロマトグラフィー(注16)(注17)。(注番号は本文と同じ)
(本文第2章第3節3.3.3に該当p23)

4.1 ノンオルトPCBs用

- (1) アルミナカラムクロマトグラフ管の液面を無水硫酸ナトリウム層の上端まで下げ、本文3.3.2で得た試料溶液を静かに移し入れ、少量のヘキサンで洗い込み、液面を無水硫酸ナトリウム層の上端まで下げ、2%(v/v)ジクロロメタン含有ヘキサン100mℓを滴下速度約2.5mℓ/min(毎秒1滴程度)で流して第1画分を得る。この画分にはPCBsが含まれる。念のためこの画分を保管する。
- (2) さらに50%(v/v)ジクロロメタン含有ヘキサン150mℓを滴下速度約2.5mℓ/minで流して第2画分を得る。この画分にはダイオキシン類及びノンオルトPCBsが含まれる。
- (3) 第2画分にシリンジスパイクを検量線作成時と同量添加したものを濃縮器で約5mℓに濃縮し、さらに窒素気流により溶媒を揮散除去した後、ノナン(注18)を加え一定量(20~100μℓ)にしたものをGC-MS分析用溶液とする。
- (4) 本文3.3.2で調製した操作ブランク試験用、二重測定用の試料溶液も同様に操作してGC-MS分析用溶液とする。

4.2 ノンオルトPCBs以外のコプラナPCBs用

- (1) アルミナカラムクロマトグラフ管の液面を無水硫酸ナトリウム層の上端まで下げ、本文3.3.2で得た試料溶液を静かに移し入れ、少量のヘキサンで洗い込み、液面を無水硫酸ナトリウム層の上端まで下げ、ヘキサン約30~40mℓで洗浄後(鎖状炭化水素等画分)、5%(v/v)ジクロロメタン含有ヘキサン120mℓを滴下速度約2.5mℓ/min(毎秒1滴程度)で流す。(PCB画分)
- (2) PCB画分にシリンジスパイクを検量線作成時と同量添加したものを濃縮器で約5mℓに濃縮し、さらに窒素気流により溶媒を揮散除去した後、ノナン(注18)を加え一定量(20~100μℓ)にしたものをGC-MS分析用溶液とする。
- (3) 3.3.2で得た操作ブランク試験用、二重測定用の試料溶液も同様に操作してGC-MS分析用溶液とする。

(注16)アルミナカラムクロマトグラフィーによる方法でGC-MS分析に妨害等の支障をきたす場合には、さらにクリーンアップを目的として活性炭埋蔵シリカゲルカラムクロマトグラフィーによる方法、又は活性炭カラム高速液体クロマトグラフィーによる方法を用いる。あるいは両法をアルミナカラムクロマトグラフィーの代わりに用いてもよい(備考2)。

<備考2 活性炭カラム高速液体クロマトグラフィー (HPLC)>

- 1 HPLCに活性炭カラム(例、内径4.6mm、長さ100mm)(注20)を装着し、あらかじめトルエンで十分にカラムを洗浄した後、十分量のヘキサンで置換する。
- 2 参考4.1で得たPCB画分あるいは本文3.3.2で得た試料溶液をHPLCカラムに注入し、移動層としてヘキサン8mℓ、次いで50%(v/v)ジクロロメタン含有ヘキサン40mℓ(mono-ortho-PCBs画分)を得、次いで30%(v/v)トルエン含有ヘキサン40mℓ(non-ortho-PCBs画分、ただし本文3.3.2で得た試料溶液の場合)を得る。
- 3 各画分を濃縮してGC-MS分析用溶液とする。
- 4 参考4.1で得た操作ブランク試験用、二重測定用の試料のPCB画又は本文3.3.2で得た操作ブランク試験用、二重測定用の試料溶液も同様に操作してGC-MS分析用溶液とする。

5. GC-MSの分析条件の設定と機器の調整

5.1 ガスクロマトグラフ(GC)(本文第2章第3節4.1.1に該当p26)

以下にGCの設定条件の例を示す。

分析対象物質 : T₄CB, P₅CB, H₆CB, H₇CB

使用カラム : DB-5 0.32mm i. d. × 60m

カラム温度 : 150℃(1分保持) → (20℃/min昇温) → 185℃ → (2℃/min昇温)
→ 245℃(3分保持) → (6℃/min昇温) → 290℃

注入口温度 : 290℃

注入方法 : スプリットレス(スプリット保持時間:60秒)

5.2 質量分析計(MS)(本文第2章第3節4.1.2に該当p27)

分解能(M/ΔM): 10,000以上

イオン化電圧 : 30~50eV

イオン化電流 : 500μA

イオン源温度 : 290℃

質量数設定 : 試料と内標準物質の各塩化物ごとのモニターイオン及びロックマス用の質量数を設定する(表-参考-4参照)。

表-参考-4 設定質量数(モニターイオン)の例

		M ⁺	(M+2) ⁺	(M+4) ⁺
試料	T ₄ CBs	289.9224	291.9194	327.8775
	P ₅ CBs		325.8804	
	H ₆ CBs		359.8415	
	H ₇ CBs		393.8025	
内標準物質	¹³ C _{1,2} -T ₄ CBs	301.9626	303.9597	339.9178
	¹³ C _{1,2} -P ₅ CBs		337.9207	
	¹³ C _{1,2} -H ₆ CBs		371.8817	
	¹³ C _{1,2} -H ₇ CBs		405.8428	
ロックマス用		330.9792 (4,5-塩化物定量用)	380.9760 (5,6-塩化物定量用)	430.9729 (7,8-塩化物定量用)
		442.9729 (7,8-塩化物定量用)		

6. 検量線の作成 (本文(注21)表2-5に該当p30)

表-参考-5 塩素原子数による同位体ピークの天然存在比

	M	M+2	M+4	M+6	M+8	M+10	M+12	M+14
T ₄ CBs	76.67	100.00	49.11	10.83	0.93			
P ₅ CBs	61.42	100.00	65.29	21.43	3.56			
H ₆ CBs	51.22	100.00	81.48	35.51	8.75	1.17		
H ₇ CBs	43.93	100.00	97.67	53.09	17.38	3.43		

Mは最低質量数の同位体
各塩素数ごとにそれぞれ最大強度を示すイオンを100%とした値