

る（実測濃度が目標定量下限値の10倍以下の化合物に関しては規定しない）。試料採取日時が異なっても同一のプロジェクト内で発生する分析検体数10に対して1以上の頻度で行えば良い。

11.6 2重測定（GC-MS測定）

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

11.7 品質管理チェック試料（QCCS）の測定

定期的にてQCCSを測定し、その結果を記録する¹⁴。

11.8 外部機関とのインターキャリブレーション

定期的にて外部機関とのインターキャリブレーションを実施し、その結果を記録する。

表-1。定量する化合物の名称等。

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

表-2。本マニュアルで規定するPCDDs, PCDFs及びCo-PCBs各化合物の目標定量下限値。

化合物の名称等		IUPAC Number	目標定量下限値		
			(pg/g-fat)	(pg/gまたはmL)	
PCDDs		2,3,7,8-TeCDD	-	5	0.015
		1,2,3,7,8-PeCDD	-	5	0.015
		1,2,3,4,7,8-HxCDD	-	10	0.025
		1,2,3,6,7,8-HxCDD	-	10	0.025
		1,2,3,7,8,9-HxCDD	-	10	0.025
		1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	-	10	0.025
		OCDD	-	20	0.05
PCDFs		2,3,7,8-TeCDF	-	5	0.015
		1,2,3,7,8-PeCDF	-	5	0.015
		2,3,4,7,8-PeCDF	-	5	0.015
		1,2,3,4,7,8-HxCDF	-	10	0.025
		1,2,3,6,7,8-HxCDF	-	10	0.025
		1,2,3,7,8,9-HxCDF	-	10	0.025
		2,3,4,6,7,8-HxCDF	-	10	0.025
		1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	-	10	0.025
		1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	-	10	0.025
	OCDF	-	20	0.05	
Co-PCBs	<i>non-ortho</i>	3,3',4,4'-TeCB	# 77	50	0.15
		3,4,4',5'-TeCB	# 81	50	0.15
		3,3',4,4',5'-PeCB	#126	50	0.15
		3,3',4,4',5,5'-HxCB	#169	50	0.15
	<i>mono-ortho</i>	2,3,3',4,4'-PeCB	#105	50	0.15
		2,3,4,4',5'-PeCB	#114	50	0.15
		2,3',4,4',5'-PeCB	#118	50	0.15
		2',3,4,4',5'-PeCB	#123	50	0.15
		2,3,3',4,4',5'-HxCB	#156	50	0.15
		2,3,3',4,4',5'-HxCB	#157	50	0.15
		2,3',4,4',5,5'-HxCB	#167	50	0.15
		2,3,3',4,4',5,5'-HpCB	#189	50	0.15

pg/g-fat : 脂肪重量あたりの濃度

pg/gまたはmL : 試料全量あたりの濃度

表-3。測定に用いる標準物質。

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

表-4。測定に用いる同位体スパイク。

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

表-5。測定質量数の例。

化合物の名称等		測定質量数			
		M	M+2	M+4	
PCDDs	¹² C ₁₂	¹² C ₁₂ -TeCDDs	319.8965**	321.8936*	323.8906
		¹² C ₁₂ -PeCDDs	353.8576	355.8546*	357.8516**(1)
		¹² C ₁₂ -HxCDDs	387.8186	389.8157*	391.8127**(2)
		¹² C ₁₂ -HpCDDs	421.7796	423.7766*	425.7737**
		¹² C ₁₂ -OCDD	455.7407	457.7377**	459.7348*
	¹³ C ₁₂	¹³ C ₁₂ -TeCDDs	331.9368**	333.9339*	335.9309
		¹³ C ₁₂ -PeCDDs	365.8978	367.8949*	369.8919**
		¹³ C ₁₂ -HxCDDs	399.8589	401.8559*	403.8530**
		¹³ C ₁₂ -HpCDDs	433.8199	435.8169*	437.8140**
		¹³ C ₁₂ -OCDD	467.7809	469.7779	471.7750*
PCDFs	¹² C ₁₂	¹² C ₁₂ -TeCDFs	303.9016**	305.8987*	307.8957
		¹² C ₁₂ -PeCDFs	337.8627	339.8597*	341.8567**
		¹² C ₁₂ -HxCDFs	371.8237	373.8208*	375.8178**
		¹² C ₁₂ -HpCDFs	405.7847	407.7818*	409.7789**
		¹² C ₁₂ -OCDF	439.7457	441.7428**	443.7399*
	¹³ C ₁₂	¹³ C ₁₂ -TeCDFs	315.9419**	317.9389*	319.9360
		¹³ C ₁₂ -PeCDFs	349.9029	351.9000*	353.8970**
		¹³ C ₁₂ -HxCDFs	383.8639	385.8610*	387.8580**
		¹³ C ₁₂ -HpCDFs	417.8250	419.8220*	421.8191**
		¹³ C ₁₂ -OCDF	451.7860	453.7830**	455.7801*
Co-PCBs	¹² C ₁₂	¹² C ₁₂ -TeCBs	289.9224**	291.9194*	293.9165
		¹² C ₁₂ -PeCBs	323.8834	325.8804*	327.8775**
		¹² C ₁₂ -HxCBs	357.8444	359.8415*	361.8385**
		¹² C ₁₂ -HpCBs	391.8054	393.8025*	395.7995**
	¹³ C ₁₂	¹³ C ₁₂ -TeCBs	301.9626**	303.9597*	305.9567
		¹³ C ₁₂ -PeCBs	335.9236	337.9207*	339.9177**
		¹³ C ₁₂ -HxCBs	369.8847	371.8817*	373.8788**
		¹³ C ₁₂ -HpCBs	403.8457	405.8428*	407.8398**

*: 存在比が最も高い塩素同位体の質量数

** : 存在比が2番目に高い塩素同位体の質量数

(1)及び(2) : 試料中のPCB濃度が高い場合、この質量数は妨害を受ける可能性がある。

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

化合物の名称等		理論天然存在比				
		M	M+2	M+4	M+6	M+8
PCDDs	TeCDDs	77.43	100.00	48.74	10.72	0.94
	PeCDDs	62.06	100.00	64.69	21.08	3.50
	HxCDDs	51.79	100.00	80.66	34.85	8.54
	HpCDDs	44.43	100.00	96.64	52.03	16.89
	OCDDs	34.54	88.80	100.00	64.48	26.07
PCDFs	TeCDDs	77.55	100.00	48.61	10.64	0.92
	PeCDDs	62.14	100.00	64.57	20.98	3.46
	HxCDDs	51.84	100.00	80.54	34.72	8.48
	HpCDDs	44.47	100.00	96.52	51.88	16.80
	OCDDs	34.61	88.89	100.00	64.39	25.98
Co-PCBs	TeCBs	76.67	100.00	49.11	10.83	0.93
	PeCBs	61.42	100.00	65.29	21.43	3.56
	HxCBs	51.22	100.00	81.48	35.51	8.75
	HpCBs	43.93	100.00	97.67	53.09	17.38

各塩素数毎に存在比が最も高い質量数の存在比を100として示してある。

表-7。TEQ算出の為のTEF。

化合物の名称等		IUPAC Numbe r	WHO,1997-TEF	
PCDDs	2,3,7,8-TeCDD	-	1	
	1,2,3,7,8-PeCDD	-	1	
	1,2,3,4,7,8-HxCDD	-	0.1	
	1,2,3,6,7,8-HxCDD	-	0.1	
	1,2,3,7,8,9-HxCDD	-	0.1	
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	-	0.01	
	OCDD	-	0.0001	
PCDFs	2,3,7,8-TeCDF	-	0	
	1,2,3,7,8-PeCDF	-	0.05	
	2,3,4,7,8-PeCDF	-	0.5	
	1,2,3,4,7,8-HxCDF	-	0.1	
	1,2,3,6,7,8-HxCDF	-	0.1	
	1,2,3,7,8,9-HxCDF	-	0.1	
	2,3,4,6,7,8-HxCDF	-	0.1	
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	-	0.01	
	1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	-	0.01	
	OCDF	-	0.0001	
Co-PCBs	<i>non-ortho</i>	3,3',4,4'-TeCB	# 77	0.0001
		3,4,4',5'-TeCB	# 81	0.0001
		3,3',4,4',5'-PeCB	#126	0.1
		3,3',4,4',5,5'-HxCB	#169	0.01
	<i>mono-</i>	2,3,3',4,4'-PeCB	#105	0.0001
		2,3,4,4',5'-PeCB	#114	0.001
		2,3',4,4',5'-PeCB	#118	0.0001
		2',3,4,4',5'-PeCB	#123	0.0001
		2,3,3',4,4',5'-HxCB	#156	0.001
		2,3,3',4,4',5'-HxCB	#157	0.001
		2,3',4,4',5,5'-HxCB	#167	0.00001
		2,3,3',4,4',5,5'-HpCB	#189	0.0001

表-8。 PCDDs, PCDFs及びCo-PCBs測定分析結果の表記例。

	化合物の名称等	IUPAC Number	実測濃度 (pg/g-fat)	WHO,1997-TEF	
				毒性係数 TEF	毒性等量 TEQ (pg-TEQ/g-fat)
P C D D s	2,3,7,8-TeCDD	-		1	
	1,2,3,7,8-PeCDD	-		1	
	1,2,3,4,7,8-HxCDD	-		0.1	
	1,2,3,6,7,8-HxCDD	-		0.1	
	1,2,3,7,8,9-HxCDD	-		0.1	
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	-		0.01	
	OCDD	-		0.0001	
	Total PCDDs	-		-	
P C D F s	2,3,7,8-TeCDF	-		0	
	1,2,3,7,8-PeCDF	-		0.05	
	2,3,4,7,8-PeCDF	-		0.5	
	1,2,3,4,7,8-HxCDF	-		0.1	
	1,2,3,6,7,8-HxCDF	-		0.1	
	1,2,3,7,8,9-HxCDF	-		0.1	
	2,3,4,6,7,8-HxCDF	-		0.1	
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	-		0.01	
	1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	-		0.01	
	OCDF	-		0.0001	
	Total PCDFs	-		-	
Total (PCDDs+PCDFs)		-		-	
C o - P C B s	3,3',4,4'-TeCB	# 77		0.0001	
	3,4,4',5'-TeCB	# 81		0.0001	
	3,3',4,4',5'-PeCB	#126		0.1	
	3,3',4,4',5,5'-HxCB	#169		0.01	
	Total non-ortho PCBs	-		-	
	2,3,3',4,4'-PeCB	#105		0.0001	
	2,3,4,4',5'-PeCB	#114		0.001	
	2,3',4,4',5'-PeCB	#118		0.0001	
	2',3,4,4',5'-PeCB	#123		0.0001	
	2,3,3',4,4',5'-HxCB	#156		0.001	
	2,3,3',4,4',5,5'-HxCB	#157		0.001	
	2,3',4,4',5,5'-HxCB	#167		0.0000	
	2,3,3',4,4',5,5'-HpCB	#189		0.0001	
	Total mono-ortho PCBs	-		-	
Total Co-PCBs		-		-	

Total (PCDDs+PCDFs+Co-PCBs)	-	-	-
-----------------------------	---	---	---

[注]

1.実測濃度 : ダイオキシン類及びコプラナPCB濃度 (pg/g-fat)

2.毒性等量 : 2,3,7,8-TeCDD毒性等量 (pg-TEQ/g-fat)

カッコ内の数値は実測濃度が目標定量下限値未満であった場合、目標定量下限値の1/2を用いて算出した最大見積もり濃度を表す。

3.表中『N.D.』は目標定量下限値未満を表す。

4.Total PCDDs及びTotal PCDFsはPCDD及びPCDFそれぞれにおける各2,3,7,8-位塩素置換異性体の合計を表す(その他の化合物は含んでいない)。

5.Total (PCDDs+PCDFs) は各2,3,7,8-位塩素置換異性体の合計を表す(その他の化合物は含んでいない)。

6.Total non-ortho PCBs及びTotal mono-ortho PCBsはそれぞれ各non-ortho CB及びmono-ortho CBの合計を表す。

7.Total Co-PCBsはCo-PCBs各化合物の合計を表す。

標準的な分析フロー図

分析手順にはいくつかのオプションがありうる。ここでは標準的なフローを図す。

母乳中のDioksinの分析フローチャート

試料 50 g

飽和蓚酸ナトリウム溶液 10ml
エタノール 75ml (エタノール濃度60-70%が良い)
ジエチルエーテル 50ml (エーテル層は元の分液ロートに)
ヘキサン 50ml (×3)

振盪抽出

ヘキサン層を併せる
20%NaCl水 50mlでヘキサン層を洗う (僅かに振るのみ)
10%NaCl水 50mlでヘキサン層を洗う
5%NaCl水 50mlでヘキサン層を洗う
無水硫酸ナトリウム (芒硝) で脱水
溶媒を溜去
(110°C, 1時間加熱後30分放冷)

脂肪秤量

全量をヘキサン(100ml)で溶かし分液ロートに移す

硫酸処理 (25ml×5)

終点は (硫酸層が) 無色となる, 5回目でも有色なら硫酸洗浄を繰り返す

水洗

ヘキサン洗浄水 (30ml×3, うち5ml, 2回は栓を, 10ml, 2回は分液ロート内壁を

洗う)

(水洗で使用する水の量はヘキサンの1/3量, 終点はpH試験紙でチェック)

脱水

無水硫酸ナトリウムで脱水

溶媒濃縮

2-3ml

シリカゲルカラム シリカゲルカラム又は多層シリカゲルカラムヘキサンで溶出濃縮

アルミナカラム 塩基性アルミナジクロロメタンヘキサンで溶出
(オプション)

活性炭カラム 活性炭埋蔵シリカゲル又は活性炭/硫酸ナトリウム, ジクロロメタン
ヘキサン及びトルエンで分画

窒素気流下溶媒溜去

シリンジスパイク含有トルエン10 μ l (両画分) に溶かす

GC/MS

*脂肪抽出は1検体につき分液ロート2つです。別の分液ロートはアセトン, ヘキサンで洗浄後H₂SO₄処理のさい使用

12 解説編

-
- ¹ coplaner-PCBs
 - ² polychlorobiphenylまたはpolychlorinatedbiphenyl
 - ³ *ortho*-position
 - ⁴ isomer
 - ⁵ congenerまたはhomologue
 - ⁶ 検出器の信号をスムージング等の処理によって取り込んでいる装置の場合、S/Nの取り扱いに注意する。
 - ⁷ polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins
 - ⁸ polychlorinated dibenzofurans
 - ⁹ tetrachlorodibenzo-*p*-dioxins
 - ¹⁰ pentachlorodibenzo-*p*-dioxins
 - ¹¹ hexachlorodibenzo-*p*-dioxins
 - ¹² heptachlorodibenzo-*p*-dioxins
 - ¹³ octachlorodibenzo-*p*-dioxin
 - ¹⁴ tetrachlorodibenzofurans
 - ¹⁵ pentachlorodibenzofurans
 - ¹⁶ hexachlorodibenzofurans
 - ¹⁷ heptachlorodibenzofurans
 - ¹⁸ octachlorodibenzofuran
 - ¹⁹ tetrachlorobiphenyls
 - ²⁰ pentachlorobiphenyls
 - ²¹ hexachlorobiphenyls
 - ²² heptachlorobiphenyls
 - ²³ 2,3,7,8-TeCDD toxicity equivalency factor
 - ²⁴ 2,3,7,8-TeCDD toxicity equivalency quantity
 - ²⁵ isotope dilution mass spectrometry. 定量する目的物質と同一の化学構造を持ち、特定の元素が天然の元素同位体組成と異なっている濃縮同位体スパイクを試料に添加し、最終的に試料中の同位体組成のずれから目的物質の濃度を定量する方法。PCDDs, PCDFs, Co-PCBsの場合、構成する炭素あるいは塩素の一部あるいは全部を¹³Cまたは³⁷Clに置き換えた安定同位体スパイクを用いる。¹³Cの天然存在比は無視できるほど小さいので定量計算は簡単である。この方法は分析途中に同位体分離が起こらないことが条件となる。定量結果が回収率によらないという利点がある。
 - ²⁶ gas chromatograph/mass spectrometry

- ²⁷ gas chromatograph/mass spectrometer
- ²⁸ high resolution gas chromatography
- ²⁹ high resolution gas chromatograph
- ³⁰ high resolution mass spectrometry
- ³¹ high resolution mass spectrometer
- ³² high resolution gas chromatograph/high resolution mass spectrometry
- ³³ high resolution gas chromatograph/high resolution mass spectrometer
- ³⁴ selected ion monitoring. 磁場を固定し、加速電圧を変化させることによって指定した質量数のイオンをモニターする方法。機器によってはSIR (selected ion recording), あるいはSID (selected ion detection) という呼称が用いられることがある。
- ³⁵ relative response factor
- ³⁶ not determined
- ³⁷ electron ionization
- ³⁸ International Union of Pure and Applied Chemistry
- ³⁹ World Health Organization
- ⁴⁰ Quality Assurance / Quality Control
- ⁴¹ Quality Control Check Sample
- ⁴² 試料前処理室は前室を含む2重扉構造としたり、試料前処理室内への給気・排気はプレフィルター、活性炭フィルター、HEPAフィルターを通じた後行う構造とする等して試料前処理室雰囲気由来の汚染を防ぐよう留意することが望ましい。試料前処理室の給気側に活性炭フィルター及びHEPAフィルターを設置し、目安としては米国連邦規格 (Federal Standard) FS 209Eクラス1,000~10,000, あるいはJIS B 9920クラス6~7程度するとブランク値低減に有効であると考えられる。試料前処理室は加圧型、陰圧型どちらも良いが、クリーン度の観点から考えれば加圧型の試料前処理室の方が有利である。加圧型、陰圧型共に試料前処理室外に空気が漏洩しないような構造が必要であり、また、試料前処理室内作業者の安全の観点から十分な空気供給量を確保することも必要である。この試料前処理室内では極力排ガス、灰、排水、土壌、堆積物等の試料を扱わないようにする。GC-MSは可能であれば母乳専用のものを用意する等し試料の二次汚染に十分留意する。GC-MSを設置する部屋は試料前処理室とは別にする。GC-MS室内空気の屋外への排気はプレフィルター、活性炭フィルター、HEPAフィルターを通じた後行う構造とする。試料前処理室の清浄度や温度をモニターする等して試料前処理室及びGC-MS室の室内空気が正常に管理されていることを確認することが望ましい。
- ⁴³ 試薬類の管理を行うこと。例えば有機溶媒に関しては購入した量と廃棄した量の記録を取り収支を把握すること。試料前処理室内では有機溶媒を回収するような装置、例えばロータリーエバポレーターの減圧用ポンプの排気先にはガス冷却管等の回収装置を設けること。
- ⁴⁴ ロータリーエバポレーター等で減圧乾燥させてはならない。
- ⁴⁵ ロータリーエバポレーター等で減圧乾燥させてはならない。
- ⁴⁶ 活性炭シリカゲルは十分洗浄しないと測定に影響を与えるような妨害が出る場合が多い。
- ⁴⁷ デカンの代わりにノナンあるいはイソオクタン等でも良い。溶媒の種類によってGC注入可能量が異なるので注意すること。
- ⁴⁸ デカンの代わりにノナンあるいはイソオクタンでも良い。
- ⁴⁹ トラップ球を使用することによりロータリーエバポレーター内での還流による接続部からの汚染を防ぐことができる。
- ⁵⁰ カラムクロマトグラフィーにおいて使用する充てん剤や溶媒の種類及び量は標準物質や実試料を用いた分画試験を行って決めること。
- ⁵¹ ロックマス、質量校正に使用する化合物は規定しない。
- ⁵² 例えば同位体スパイク、ロックマスモニターの測定質量数のデータ取込時間を短くする等し、極力1ピークあたりのデータポイント数が増えるようにする。
- ⁵³ 集中配管等でキャリアーガスのボンベがGCと離れている場合、GC入口にガス精製装置を装着すると良い。
- ⁵⁴ 同位体スパイクとして使用する¹³C化合物中には不純物として¹²C化合物が存在する。内部標準物質の添加量が多いと¹²C化合物の定量に妨害を与えるので、使用する¹³C化合物中の¹²C化合物濃度を確認すること。最終的にGC-MSで定量する試料中の各化合物濃度レベルと同程度の濃度レベルとなるように内部標準物質を添加するが、極度に低濃度レベルであると正確な定量が行えないので注意する。
- ⁵⁵ 使用するGC分離カラムの種類によってはこの溶出展開液を濃縮し、GC-MS測定試料としても良い。
- ⁵⁶ 窒素吹き付け操作に関しては窒素流量が多い、あるいは温度が高すぎると回収率が低下する場合があるので注意する。また、試料を完全に蒸発乾固させてしまうと回収率が低下する場合があるので注意する。
- ⁵⁷ シリンジスパイクには、試料に添加した同位体スパイク以外のものを用いる。シリンジスパイクには

GC-MS測定における各測定毎に（1 injectionに付）1種類以上使用する。

⁵⁸ 検量線用標準溶液の測定は毎回行う必要はない。検量線に使用する濃度範囲で1種類の標準溶液を試料と共に測定する。

⁵⁹ GC注入量に関してはGCの注入口ライナーの内容積を考慮すること。使用する注入口ライナーと溶媒の種類によって注入可能な容量が異なる。

⁶⁰ Total (PCDDs+PCDFs)実測濃度を有効数字2桁でまらめたTotal PCDDs実測濃度とTotal PCDFs実測濃度の和で表してはならない。

⁶¹ Total Co-PCBs実測濃度を有効数字2桁でまらめたnon-ortho PCBs実測濃度とmono-ortho PCBs実測濃度の和で表してはならない。

⁶² 1/2以外にも0あるいは1を用いて計算する場合もある。

⁶³ 精度管理には内部精度管理と外部精度管理がある。ここではこの内、内部精度管理について示したものである。内部精度管理は調査から分析値の結果作成までのQA/QCに直接あるいは間接的に関係する事項に関して、調査機関が機関内で自主的に行う管理事項であり、基本的には、『いつ』・『誰が』・『どこで』・『何のために』・『何を』・『どのように』行ったかが判明し、保管した記録から関係する全ての情報をトレースできることが条件となる。

⁶⁴ 母乳QCCSを準備し、用いる。

平成11年度 厚生科学研究費補助金研究（生活安全総合研究事業）

「ダイオキシン類等の試験・分析の信頼性確保に関する調査研究」

分担研究報告書

Ⅱ. 食品の試験・分析の信頼性確保に関する調査研究

- (1) 精度管理に必要な統計学的処理の手法に関する検討
- (2) 試薬・標準品等のリファレンス・センターに関する検討
- (3) 精度管理用試料における添加物質に対する食品成分による影響に関する検討
- (4) 精度管理調査方法の効率化に関する検討

Ⅱ. 食品の試験・分析の信頼性確保に関する調査研究

- 1. 精度管理に必要な統計学的処理の手法に関する検討
- 2. 試薬・標準品等のリファレンス・センターに関する検討
- 3. 精度管理用試料における添加物質に対する食品成分の影響に関する検討
- 4. 精度管理調査の効率化に関する検討

分担研究者 小野 宏 (財団法人食品薬品安全センター秦野研究所 所長)
協力研究者 内山貞夫、福原克治、大島赴夫、川崎 勝
(財団法人食品薬品安全センター秦野研究所)
大隅 昇 (文部省統計数理研究所 教授)

研究要旨

食品衛生検査の重要性に鑑み、検査の信頼性の確保のために食品衛生検査施設の GLP 規制が実施され、検査体制の充実と精度管理の徹底が求められている。食品衛生検査の精度管理の実態を適切に把握するため、外部精度管理調査が必要である。この研究では外部精度管理調査の適正で実質的なあり方を検討し、調査を効率的に行うための諸問題を検討した。まず、(1) 検査結果の評価のために用いられる各種の統計学的手法の検討を、検査方法と評価指標の関連から再吟味を行った。つぎに、(2) 検査のための適正な試薬や標準品の確保のためのリファレンス・センターの必要性を検討し、市販標準品の問題点を実際の分析も含めて検討した。また、(3) 精度管理調査試料の作製方法の検討を行い、専門家を中心としたヒアリング調査の結果要望の高い、食材により近く、均質性と安定性の高い調査試料を作製すべく、試料の作製方法の検討を行った。理化学的検査用調査試料の作製法については、食材を中心に検討した結果、食品添加物では市販味噌中のソルビン酸の均質性と安定性、重金属では清涼飲料水中鉛及びカドミウムの均質性と安定性、精白米へのカドミウムの浸漬法による均質性。農薬では大豆油中のクロルピリホス及びプロチオホスの均質性と安定性、動物用医薬品ではフルベンダゾールの均質性、安定性が確認された。細菌学的検査用調査試料においては細菌同定の試料作製について検討し、模擬食材としてグリセリン添加のマッシュポテトを培地とする調査試料が大腸菌検査ならびにサルモネラ検査用試料として実用性が高いことが判明した。さらに、(4) 精度管理調査作業の効率化について検討し、調査参加施設の検査結果の電子通信を用いる方法での回収を検討し、地方衛生研究所などの 29 検査機関からの報告値連絡調査によってインターネットおよび E-mail を用いる報告の回収は技術的に充分可能であることが明らかになったが、機種選定と入力法などが今後の課題である。輸送中の温度管理についての調査も行い、通常条件では大きな問題がないことが示唆された。

分担研究報告

II-1. 精度管理に必要な統計学的処理の手法に関する検討

分担研究者 小野 宏 (財団法人食品薬品安全 センター秦野研究所 所長)
研究協力者 大隅 昇 (文部省統計数理研究所 調査実験解析研究系 教授)

A. 研究目的

精度管理を議論するうえで、測定データの取得環境・実験の計画の検討に始まり、具体的に取得した測定データの統計解析やデータ解析を行う際の方法論を一貫した流れの中で研究することが必要とされ、また要請されてきた。統計科学の見地から、精度管理にとっていかなるデータ測定法やデータ解析法が有効であり、またそれらの適用可能性や限界を知ることがきわめて重要である。

昨年度は、平成10年度実施の「平成10年度食品衛生外部精度管理調査報告書」に報告された調査結果のデータセットのうち、残留動物用医薬品調査で用いられたスルファジミジン測定データを例として、この統計的データ処理を進める際の諸問題について考察した。とくに、精度管理にとって適切な測定データの取得環境や統計手法の在り方、精度管理を実施する際の具体的な統計学的諸問題の解決策、結果の解釈と吟味方法等について、基礎的な提案を行うことを試みた。

B. 研究方法

本研究の目的は、外部精度管理調査で取得されるような、一般的なデータ測定環境における取得データを前提としたときに必要となる統計的データ解析の対応法や考慮すべき諸事項を、数値事例を通して検証することにある。

従って、取得データの存在を前提とした議論となるが、断るまでもなく、統計的データ解析を行う上での基本原則は、測定データがいかなる実験計画の下で、いかにして測定されたかという、データ取得環境や取得履歴が

明示的に見えることが必要とされる。

本年度もこの基本姿勢を保ちながら、昨年度の研究内容とデータ解析における体験検証を加味し、研究対象を若干変えて、別の測定項目について考察した。

具体的には、平成11年度実施の「平成11年度食品衛生外部精度管理調査」(以下で「外部精度管理調査」と言う)に報告された調査結果のデータセットのうち、「保存料」調査で用いられたソルビン酸測定データを利用した。

C. 研究結果

外部精度管理調査における測定データ取得の方式は、多数の参加対象機関から体系的にデータ取得を行うことが可能な貴重な調査である。もちろん統計科学の見地から、精度管理における統計的データ解析手法を適用するうえでの問題点や留意事項はいかなるものであるか、とくに「外部精度管理調査」で収集されるデータに解析の諸手法を適用するうえでの特徴(長所、短所)が多々あることは昨年度の報告で指摘した。

しかし、現実には理想的な条件を満たすようなデータ取得法はほとんど不可能に近いわけであるから、どのような制約の中で取得されたデータであるかを周知したうえでデータ解析に望む必要がある。

昨年度は、こうした現実の測定現場と取得データに見られる諸事象を総合的に検証した。例えば、測定値の取得環境のあり方(測定器、人的要因他)、測定データの記録方式、初動探査・事前解析の重要性、 z スコアの特性と適用の限界、正規性との関連、はずれ値への

対処などである。

本年度は研究の対象をやや絞り込んで、以下のような視点から研究を進めた。

(1) 対象とした測定項目とその特徴

今回、解析対象とした理化学検査項目の一つである保存料特性項目（ソルビン酸）の試料形態は、前回調査からさらに複雑な作製方法が採られた。前回調査では、安息香酸およびソルビン酸をシロップ内に混入させた試料からの検出という、比較的操作性の容易な方式を採用した。しかし、今回はより現実の食品形態に近づけるという意味で、試料作製に新たな工夫がなされた。まず、試料形態として食用の味噌を選び、これの実際の製造過程のある工程（仕込混合）において、所定量のソルビン酸を投入し、後は通常の味噌製造と同じ作製工程製品化した対象物をロットとして、ここから検査試料を作製した。

このような方法で試料が作製されたことから、以下のような検討課題が生じることとなった。

- ①より現実に近い試料となったことで、いわゆる添加量に相当する「目標値」（参照値）の算定に若干の困難が生じたこと、
- ②回収率の算定の根拠とすべき添加量の設定に困難を生じたことから、検査機関間の評価に用いる $\bar{X}-R$ 管理図を代用した判定チャートの作成に際して、管理線（中心線、上部管理限界・下部管理限界）の算定に従来とは異なる設定方式が必要となったこと、
- ③従って、従来方式に代わる代替法の検討が必要とされたこと。

ここで、外部精度管理評価で用いてきた方法とは、スクリーニングを終えたデータセットについて、さらにはずれ値の検討を行ったうえで、添加量を中心線に、また回収率を70%、120%と設定して求めた管理限界を利用す

るという方式である。

平成11年度の調査報告では、この問題について慎重な議論がなされた結果、一つの代案として、調査に参加の機関の測定データから求めた平均値を代替値（参照値）として用いること、またこれを基準に回収率に相当する値を求め、管理限界とした。

しかしながら、これが暫定的な案であることには変わりがなく、こうした場面に対応できるような方式を研究課題として検討することも必要と考えた。

しかし、実際に実験計画を組んで、またランダム化を行った、いわゆる統計的な意味での精密な実験計画を行うことはきわめて困難である。

そこでここでは、まず、これに対処するための方策として考えられるいくつかの案について議論する。次に、今回の調査で取得されたデータを用いて、これに関連した情報の取得が可能であるか、限られたデータの中で代案の可能性があるかを検証する。

(2) 目標値・参照値の検討

添加量に代わる目標値の代用特性として、以下のような指標が考えられる。

- (M1)参加機関の全測定データから求めた平均値を代替値（参照値）として用いること
- (M2)検査対象となる試料作製者（検査機関）による事前の均質性チェックで求めた分析測定結果を用いるとき
- (M3)参加機関を何らかの基準（要因）で層化したうえで、その特定の層内に含まれる機関の測定値（の平均値）を用いるとき。その基準としては、参加機関の種別、検査方法の種類、人的要因（経験年数、その技術レベル）等が考えられる。
- (M4)標準検査機関となりうるような特定の機関の測定値から求めた平均値を参照値として用いるとき

(M5)理想的には、測定方法の技術水準が相応に高く、また安定していると見られる複数の機関によるコラボレーションを計画して、それらの機関から得た測定データに基づき、標準的な目標値を設定するとき。

このうち、現在の調査体系の中で適用可能と考えられる方式は、(M1)や(M2)であろう。ただし、(M1)の方式ではデータのスクリーニング、はずれ値の検出を行い、(M2)による取得データとの突合比較（出来得るならば統計的な差の検定操作）を行ったうえで、適用すべきであろう。

現実に、今回の調査分析で用いられた方式は(M1)であり、また(M2)もその適用可能性が検討された。残りの方式については、前述のように、精密に設計された（統計的な）実験計画を設計したうえで、データを取得する必要がある。しかしながら、こうした体系的な実験を計画すること自体にかなりの困難性があるのが現実であるから、何らかの便法なり簡便法を検討せねばならない。とくにランダムマイゼーションを行う要因実験等は、限定された室内実験でないかぎり、ほとんど不可能に近いと思わねばならない（将来的には、上記の(M5)ではこうした要因実験に近い操作が可能となるかもしれないが現状は難しいであろう）。

では、外部精度管理調査で取得の測定データに対し、とりあえず適用可能なデータ処理や検証方法として、何が考えられるであろうか。また既に取得した限定されたデータセットの中で、何ができそうかの検証を試みることを一つの課題としてみる。

(3) 利用データの属性

幸いなことに、今回調査では、ソルビン酸測定データの関連情報（以下「属性情報」という）として「調査参加機関施設の区分」と「検査法の種類」（抽出法、検出法）、「検査者の経験年数」についての記録が得られて

いる。ここで、施設の種別、検査法の種類、経験年数とは、以下のような情報である。

[調査参加機関施設の区分]

2. 食品衛生検査所
3. 保健所
5. 食品衛生検査所
6. 市場検査所
8. 検疫所
9. 地方衛生研究所

（注）ここで先頭の数字は機関種別コードを表している。表や図で用いた番号はこれに相当する。

[検査法の種別]

- ・抽出法 これには「水蒸気蒸留、溶媒抽出、その他」の3種類がある。
- ・検出法 これには「HPLC、GC、その他」の3種類がある。

[検査経験年数]

これは1年未満から29年まで、幅広く分布している。平均年数=5.3（年）、標準偏差=6.03（年）となっている。そこで、これをカテゴリー化して用いる（後述）。

以上の属性情報に注目して、ここではソルビン酸測定データについて、以下の事項の検討を行う。

- ①参加機関の間に何らかの差異があるのか
- ②検査法の間に差異があるのか
- ③経験年数の差異はあるのか

これは、前述の(M3)あるいは(M4)、さらに(M5)に対する回答の手掛かりを提供するものである。もちろん実際に実験計画を組んで、またランダム化を行った、いわゆる統計的な意味での実験計画を行うことは困難であり、従って既得のデータセットで、何か分かり、何が問題であるかを考察することが、ここの課題である。

D. 事例解析とそれに基づく考察

(1) 分析対象としたデータセットの特徴

前述のように、「外部精度管理調査」に関連して取得された複数の検査項目データのうち、保存料調査で用いられたソルビン酸測定データを利用した。これの概要は以下の通りである（詳細は参考文献 [1]）。

回収データ数（施設機関数）：303

有効サンプル数：302

分析対象サンプル数：289

調査報告書では、302 機関を対象に分析を行っているが、 z スコアを用いて分布の特徴を観察し、最終的に「289 機関」を以下の分析対象として利用する。なおこれを「調査参加機関施設の区分」と「検査法の種別」について要約すると表 1、表 2 のようになる。また、2 つの検査法（抽出法、検出法）の間の組み合わせは表 3 のようになっている（詳細は後述）。

(2) 試料の特徴

まず、試料の具体的な調整法であるが、前述のように、今回は現実の食品形態により類似させるため、食品として味噌を選び、これを実際に製造を行っている生産業者に委託して、製造工程中（仕込混合工程）で、ソルビン酸 0.55~0.65 g/kg を混入させ、最終的に得られた製品中から、サンプリングし試料とした。

このように、より現実に近い試料を作製したことで、従来のように、統計的な意味での「真値」と考えてきた添加量の推定が曖昧となり、結果として管理図による判定に、従来法が適用できないという現象に遭遇した。

次に、この調査対象とする味噌のロットから、ソルビン酸濃度の確認作業として、20 試料のサンプリングを行い、これをランダムにそれぞれ 10 試料 2 分割して濃度測定を行い、提供試料間の有意性検定を（1 元配置法で）確認したが、結果は有意でない（つまり 2 群間にはとくに差異がない）ということで試料として適合するとの確認が行われている。

この時（総）平均値 0.545 (g/kg)、標準偏差 0.011 (g/kg)、変動係数 1.97(%) となったと報告されている。そして、これを添加量に代わる一つの「指定値・目標値」とすることが考えられる（前述の(M1)に相当）。

(3) z スコアと各種統計値によるデータの探査

まず、通例の方法に従って、 z スコアと各種の統計値を求めることで、ソルビン酸の測定データの特徴の初動探査を行う。とくにここでは、各検査機関から回収された「試料の大きさ 5」の測定値の機関別平均値を求め、これの集まり（大きさ 302 の観測値）についての機関別 z スコアをスクリーニングのフィルターとして利用して、以下のような操作を試みた。なお、ここで言う z スコアとは、

$$(z \text{ スコア}) = [(\text{各機関の 5 個の測定値の平均値}) \cdot (\text{各機関の 5 個の測定値の平均値の平均値})] \div (\text{各機関の 5 個の測定値の平均値の標準偏差})$$

を言う。

① 全サンプル (302 機関) についての平均値から、諸統計値を求める。また、各機関の z スコアによりその絶対値が「2 以上」（2 シグマ限界）のサンプルを除外（フィルタリング）する。

② この操作で 290 サンプルが残るので、これについて①と同様の操作を行う。

この操作を数回反復したところ、表 5 の結果を得た（一部分を掲載）。この他、探査ツールとして箱髭図等も併用して、観察を行った結果、290 サンプルで、ほぼデータが安定しているので、これを分析対象とした。

しかしながら、属性情報の項目の一つである「検査法」（検出法）に複数の回答コードを含む機関が 1 機関あり、これを除外した。もちろん、現実には 2 つの検出法を併用する場合があるが、後の解析にとって不都合を生じるので、ここでは除外することとした。