

いことから、測定結果の表記方法が重要となる。そこで本研究班で検討したマニュアルでは実測濃度を fat basis で表すことを基本としたが、そのためにはベースとなる脂質量の測定法の基準化が必要とされる。これまでも血液中の脂質抽出法としていくつかの方法が提案されてきたが、抽出法によって使用する溶媒が異なるため、抽出される脂質量が大きく異なることが知られている。検討したマニュアルでは、現在までのところ各検査機関等で普及している標準的な脂質抽出法を示した。

また、血液試料全量を用いて脂質抽出を行い、抽出した脂質からダイオキシン測定する方法と、試料を予め脂質抽出用とダイオキシン測定用とに分けてそれぞれ処理する方法とを併記した。それぞれに一長一短があるため、今回作成したマニュアルでは統一できなかったが、測定データの信頼性を確保するためにも今後更に検討を続けていく必要がある。

クリーンアップ操作および GC/MS 操作等についても、各種の資料を参考にして、方法論として妥当性が高く、且つ、現在の分析技術レベルにおいて普及している標準的な操作法を示した。

定量下限値については、実際に血液中から検出されるレベルおよび現在の機器の感度等を考慮した上で、標準的なヒト血液の測定結果から毒性評価を行うことができるに足る検知レベルを「目標定量下限値」として設定した。その際、実測濃度が fat basis で表記されることを考慮して、目標定量下限値として脂質中当たりの濃度を基本として示し、全量当たりの濃度も参考として併記した。

更に、安全管理や精度管理についても標準的な方法を示すと共に、定期的に外部機関とのインターキャリブレーションを実施することも明記した。これにより、検査機関の技術レベルおよび測定結果に対する信頼性の確保を図ることとした。

2. 精度管理用血液試料の測定

測定マニュアルの妥当性や、問題点の洗い出しを目的にした精度管理用の共通試料を作製し、共通試料のダイオキシン濃度を国内数機関において測定した。結果については、現在、データを取りまとめている作業中である。

D. 考察

測定マニュアルについては、国内外の分析に関する報告や、ダイオキシン測定に関する JIS またはガイドラインなどを考慮して、標準的な方法を示すことが出来た。これにより、これまでは検査機関ごとに異なっていた測定方法手順がある程度統一化され、分析結果のばらつきなどに対して改善が図られてくるものと考えられる。しかし、“血液”と表現される試料としては、全血、血漿および血清などの異なった試料形態があり、それぞれ成分組成も異なるため、血液中のダイオキシン量を評価する際には、これらの試料形態をも考慮しなければ正しい評価をすることは難しいと考える。現在のところ、血清（または血漿）中の脂質当たりの濃度で表すのが最も妥当であると考えられるが、脂質の測定に際しても、本マニュアルで示したような溶媒抽出による脂質重量測定法と、米国疾病予防管理センター(CDC)などで行っているような、血清中

の中性脂肪とコレステロールを生化学的手法で測定する方法との差異（優劣）など、今後検討すべきことは多く残されている。これらについては平成13年度の研究で対応する予定である。

精度管理用の共通試料の測定結果については、現在データをとりまとめ中であるが、ダイオキシンの濃度の測定については分析の各段階で結果に影響する変動要因があるので、測定法の基準を策定して普及させ、精度管理を十分に行う必要がある。今後は、より多くの検査機関の参加を呼びかけると共に、マニュアルの有用性・妥当性を確認し、更により洗練されたものとするためにも、諸外国の中でも生体試料分析において実績のある CDC などと共同で国際間の精度管理を実施することが望ましいと考える。

E. 結論

測定結果の信頼性を確保するために必要な、“血液中のダイオキシン類測定暫定マニュアル”を作成した。作成されたマニュアルは別添の通りである。今後は実試料の測定結果に基づいてフォローアップを行い、更に内部精度管理や外部精度管理のあり方・手法について検討を加えて、より信頼性の高い測定マニュアルとすることが望まれる。

F. 研究業績

なし

血液中のダイオキシン類測定暫定マニュアル

平成12年12月22日

血液中のダイオキシン類測定暫定マニュアル検討協力者

福岡県保健環境研究所保健科学部長

埼玉県衛生研究所ダイオキシン研究グループ 専門研究員

工学院大学講師

星薬科大学薬品分析化学教室教授

大阪府立公衆衛生研究所食品衛生部食品化学課長

東京都立衛生研究所生活科学部乳肉衛生研究科長

摂南大学薬学部教授

国立環境研究所地域環境研究グループ 統括研究官

東京農業大学応用生物科学部教授

飯田 隆夫

斉藤 貢一

土屋 悦輝

中澤 裕之

堀 伸二郎

宮崎 孝之

宮田 秀明

森田 昌敏

渡邊 昌

目次

1	はじめに	1
2	用語の定義	1
3	略語の定義	2
4	調査対象物質	3
5	目標定量下限値	3
6	分析に必要な施設・試薬・器具等	3
6.1	試料前処理室	4
6.2	試薬類	4
6.3	器具・機材	5
7	調査計画	7
8	試料採取及び試料の取り扱い	7
9	測定	7
9.1	測定方法の概要	7
9.2	前処理	7
9.3	カラムクロマトグラフィー	8
9.4	測定準備	9
9.5	測定	9
9.6	計算	10
9.7	PCDDs, PCDFs及びCo-PCBsの同定	10
10	安全管理	11
10.1	試料前処理室及びGC/MS室の構造	11
10.2	試薬の管理	11
10.3	標準物質の管理	11
10.4	分析者	11
10.5	測定分析機関の義務	12
10.6	GC/MS	12
10.7	血液の付着したガラス器具の洗浄	12
10.8	血液の付着した廃棄物の管理	12
10.9	その他の廃棄物の管理	12
11	精度管理及び精度保証	12
11.1	精度管理にかかわる作業とその記録	12
11.2	測定分析の記録	12
11.3	計算	13
11.4	ブランク試験	14
11.5	2重測定（試料の前処理から）	14
11.6	2重測定（GC/MS測定）	14
11.7	品質管理チェック試料（QCCS）の測定	14
11.8	外部機関とのインターキャリブレーション	14

図表等

表-1. 定量する化合物の名称等.	15
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	16
表-3. 測定に用いる標準物質.	17
表-4. 測定に用いる同位体スパイク.	18
表-5. 測定質量数の例	19
表-6. PCDDs, PCDFs 及び Co-PCBs の塩素同位体の理論天然存在比	20
表-7. TEQ 算出のための TEF	21
表-8. PCDDs, PCDFs 及び Co-PCBs 測定分析結果の表記例	22

1 2 解説編 23

図-1. 血液中のダイオキシン分析フロー	25
----------------------	----

血液中のダイオキシン類測定暫定マニュアル

1 はじめに

血液中のダイオキシン類の濃度は低濃度であり、現在の科学技術レベルで考えられる範囲において確からしい値を得るためには、分析実験設備や測定・分析操作等に関わる一定水準以上の技術が要求される。そこで、血液中のダイオキシン類及びコプラナーPCBの濃度を測定するための方法として技術的内容をまとめた。なお、ここで示した以外の方法であっても本方法と同等以上の性能を持つことが認められればその方法を採用しても良い。

2 用語の定義

本マニュアル中で記載する用語の定義を次のように定める。

2.1 ダイオキシン類

平成11年7月16日に公布されたダイオキシン類対策特別措置法において、ダイオキシン類とは、ポリクロロジベンゾーパラージオキシン(PCDDs)とポリクロロジベンゾフラン(PCDFs)及び同様な毒性を示すコプラナーPCBsで表される化合物の総称である。ただし、本マニュアルではテトラ、ペンタ、ヘキサ、ヘプタ及びオクタクロロジベンゾーパラージオキシン(7種)及びテトラ、ペンタ、ヘキサ、ヘプタ及びオクタクロロジベンゾフラン(10種)及びコプラナーPCBs(12種)の化合物を示す。

2.2 2,3,7,8-位塩素置換異性体

PCDDs及びPCDFs類の内、化学構造上2, 3, 7及び8で表記される位置が塩素で置換されている化合物の総称。PCDDs 7化合物, PCDFs 10化合物, 合計17化合物が存在する。

2.3 コプラナーPCBs¹

ポリクロロビフェニル²で表される化合物であって、化学構造上2, 2', 6及び6'で表記されるオルト位³の塩素置換数が1以下である化合物の総称。ただし、本マニュアルではこの化合物の内、『表-1. 定量する化合物の名称等。(p.15)』のCo-PCBsの欄に示す12種類の化合物を示す。

2.4 ノンオルトコプラナーPCBs

ポリクロロビフェニルで表される化合物であって、化学構造上2, 2', 6及び6'で表記されるオルト位が塩素で置換されていない化合物の総称。ただし、本マニュアルではこの化合物の内、『表-1. 定量する化合物の名称等。(p.15)』の中でCo-PCBsのnon-orthoの欄に示す4種類の化合物を示す。

2.5 モノオルトコプラナーPCBs

ポリクロロビフェニルで表される化合物であって、化学構造上2, 2', 6及び6'で表記されるオルト位が塩素で1ヶ所置換されている化合物の総称。ただし、本マニュアルではこの化合物の内、『表-1. 定量する化合物の名称等。(p.15)』の中でCo-PCBsのmono-orthoの欄に示す8種類の化合物を示す。

2.6 異性体⁴

同一の化学式を持ち、塩素の置換位置が異なる化合物を指す。

2.7 同族体⁵

基本骨格は同じで塩素で置換された数を異にする一群の化合物。

2.8 目標定量下限値

本マニュアルで規定する『定量する下限値』。表-2に示す。

2.9 検出下限値

2.9.1 装置の検出下限値

分析化学的な見地における検出下限値。標準物質を測定したときのクロマトグラムピーク高さがSN=3に相当する標準物質の絶対量を装置(GCMS)の検出下限値とする⁶。あるいはGCMSで検出できる低

濃度標準溶液（各化合物の絶対量で10～50 μ g程度）を5回以上繰り返し測定し、その標準偏差の3倍を検出下限値としても良い。

2.9.2 実測定の検出下限値

実際の試料を測定し、そのときの測定試料中の目的化合物クロマトグラムピーク高さを標準物質のピーク高さと比較し、測定試料中のピーク高さが $S/N=3$ に相当する標準物質濃度と、採取試料量等から計算した値を実測定における検出下限値とする。実試料でピークが出現しない化合物に関しては、 $S/N=3$ に相当するピーク高さを標準物質を測定したときのピーク高さから推定し、それに等しいピーク高さに相当する標準物質濃度と採取試料量等から計算した値を実測定の検出下限値とする。なお、試料の検出下限値は目標定量下限値を満足していなければならない。

3 略語の定義

本マニュアル中で記載する用語の定義を次のように定める。

- 3.1 PCDDs : ポリクロロジベンゾーパラージオキシン
- 3.2 PCDFs : ポリクロロジベンゾフラン⁸
- 3.3 Co-PCBs : コプラナーPCBs
- 3.4 non-ortho Co-PCBs : ノンオルトコプラナーPCBs
- 3.5 mono-ortho Co-PCBs : モノオルトコプラナーPCBs
- 3.6 TeCDDs : テトラクロロジベンゾーパラージオキシン⁹
- 3.7 PeCDDs : ペンタクロロジベンゾーパラージオキシン¹⁰
- 3.8 HxCDDs : ヘキサクロロジベンゾーパラージオキシン¹¹
- 3.9 HpCDDs : ヘプタクロロジベンゾーパラージオキシン¹²
- 3.10 OCDD : オクタクロロジベンゾーパラージオキシン¹³
- 3.11 TeCDFs : テトラクロロジベンゾフラン¹⁴
- 3.12 PeCDFs : ペンタクロロジベンゾフラン¹⁵
- 3.13 HxCDFs : ヘキサクロロジベンゾフラン¹⁶
- 3.14 HpCDFs : ヘプタクロロジベンゾフラン¹⁷
- 3.15 OCDF : オクタクロロジベンゾフラン¹⁸
- 3.16 TeCBs : テトラクロロビフェニル¹⁹
- 3.17 PeCBs : ペンタクロロビフェニル²⁰
- 3.18 HxCBs : ヘキサクロロビフェニル²¹
- 3.19 HpCBs : ヘプタクロロビフェニル²²
- 3.20 2,3,7,8-TeCDD : 2,3,7,8-テトラクロロジベンゾーパラ-ジオキシン
- 3.21 1,2,3,7,8-PeCDD : 1,2,3,7,8-ペンタクロロジベンゾーパラ-ジオキシン
- 3.22 1,2,3,4,7,8-HxCDD : 1,2,3,4,7,8-ヘキサクロロジベンゾーパラ-ジオキシン
- 3.23 1,2,3,6,7,8-HxCDD : 1,2,3,6,7,8-ヘキサクロロジベンゾーパラ-ジオキシン
- 3.24 1,2,3,7,8,9-HxCDD : 1,2,3,7,8,9-ヘキサクロロジベンゾーパラ-ジオキシン
- 3.25 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD : 1,2,3,4,6,7,8-ヘプタクロロジベンゾーパラ-ジオキシン
- 3.26 2,3,7,8-TeCDF : 2,3,7,8-テトラクロロジベンゾフラン
- 3.27 1,2,3,7,8-PeCDF : 1,2,3,7,8-ペンタクロロジベンゾフラン
- 3.28 2,3,4,7,8-PeCDF : 2,3,4,7,8-ペンタクロロジベンゾフラン
- 3.29 1,2,3,4,7,8-HxCDF : 1,2,3,4,7,8-ヘキサクロロジベンゾフラン
- 3.30 1,2,3,6,7,8-HxCDF : 1,2,3,6,7,8-ヘキサクロロジベンゾフラン
- 3.31 1,2,3,7,8,9-HxCDF : 1,2,3,7,8,9-ヘキサクロロジベンゾフラン
- 3.32 2,3,4,6,7,8-HxCDF : 2,3,4,6,7,8-ヘキサクロロジベンゾフラン

- 3.33 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF : 1,2,3,4,6,7,8-ヘプタクロロジベンゾフラン
- 3.34 1,2,3,4,7,8,9-HpCDF : 1,2,3,4,7,8,9-ヘプタクロロジベンゾフラン
- 3.35 3,3',4,4'-TeCB : 3,3',4,4'-テトラクロロビフェニル ; IUPAC#77
- 3.36 3,4,4',5'-TeCB : 3,4,4',5'-テトラクロロビフェニル ; IUPAC#81
- 3.37 3,3',4,4',5'-PeCB : 3,3',4,4',5'-ペンタクロロビフェニル ; IUPAC#126
- 3.38 3,3',4,4',5,5'-HxCB : 3,3',4,4',5,5'-ヘキサクロロビフェニル ; IUPAC#169
- 3.39 2,3,3',4,4'-PeCB : 2,3,3',4,4'-ペンタクロロビフェニル ; IUPAC#105
- 3.40 2,3,4,4',5'-PeCB : 2,3,4,4',5'-ペンタクロロビフェニル ; IUPAC#114
- 3.41 2,3',4,4',5'-PeCB : 2,3',4,4',5'-ペンタクロロビフェニル ; IUPAC#118
- 3.42 2',3,4,4',5'-PeCB : 2',3,4,4',5'-ペンタクロロビフェニル ; IUPAC#123
- 3.43 2,3,3',4,4',5'-HxCB : 2,3,3',4,4',5'-ヘキサクロロビフェニル ; IUPAC#156
- 3.44 2,3,3',4,4',5'-HxCB : 2,3,3',4,4',5'-ヘキサクロロビフェニル ; IUPAC#157
- 3.45 2,3',4,4',5,5'-HxCB : 2,3',4,4',5,5'-ヘキサクロロビフェニル ; IUPAC#167
- 3.46 2,3,3',4,4',5,5'-HpCB : 2,3,3',4,4',5,5'-ヘプタクロロビフェニル ; IUPAC#189
- 3.47 TEF : 毒性等価係数²³
- 3.48 TEQ : 毒性等量²⁴
- 3.49 IDMS : 同位体希釈質量分析法²⁵
- 3.50 GC/MS : ガスクロマトグラフィー/質量分析法²⁶またはガスクロマトグラフ/質量分析計²⁷
- 3.51 HRGC : 高分解能ガスクロマトグラフィー²⁸または高分解能ガスクロマトグラフ²⁹
- 3.52 HRMS : 高分解能質量分析法³⁰または高分解能質量分析計³¹
- 3.53 HRGC/HRMS : 高分解能ガスクロマトグラフィー/高分解能質量分析法³²または高分解能ガスクロマトグラフ/高分解能質量分析計³³
- 3.54 SIM : 選択イオン検出法³⁴
- 3.55 RRF : 相対感度係数³⁵
- 3.56 N.D. : 目標定量下限値未満³⁶
- 3.57 EI法 : 電子イオン化法³⁷
- 3.58 IUPAC : 国際純正及び応用化学連合³⁸
- 3.59 WHO : 世界保健機関³⁹
- 3.60 QA/QC : 品質保証・品質管理⁴⁰
- 3.61 QCCS : 品質管理チェック試料⁴¹

4 調査対象物質

本マニュアルではPCDDs, PCDFs 及びCo-PCBs の内、『表-1. 定量する化合物の名称等 (p.15)』に示す化合物を調査対象とする。また、必要に応じて脂肪含有量を測定する。

5 目標定量下限値

本マニュアルでは『表-2. 本マニュアルで規定するPCDDs, PCDFs 及びCo-PCBs 各化合物の目標定量下限値 (p.16)』に示す目標定量下限値を設定する。通常、目標定量下限値は分析化学的な検出下限値を満足していなければならない。

6 分析に必要な施設・試薬・器具等

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

6.1 試料前処理室

器具や試薬の準備、抽出・濃縮・精製等の最終試料調製までの各作業を行う試料前処理室は試料の汚染を極力防ぐような構造とする⁴²。

6.2 試薬類⁴³

試薬類は高純度のものを使用する。必要に応じて蒸留、加熱処理、洗浄等の精製操作を行うこととして、本方法によって使用する量が、PCDDs、PCDFs 及び Co-PCBs の定量に影響を及ぼさないことを確認した後使用する。

6.2.1 アセトン

ダイオキシン分析用、残留農薬試験用等、高純度のものを使用する。必要に応じて蒸留精製する。

6.2.2 エタノール

//

6.2.3 ヘキサン

//

6.2.4 トルエン

//

6.2.5 ジクロロメタン

//

6.2.6 ノナン

//

6.2.7 デカン

//

6.2.8 硫酸アンモニウム

//

6.2.9 精製水

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

6.2.10 硫酸

半導体製造用高純度硫酸等高純度のものを使用する。必要に応じて市販の試薬をヘキサンで洗浄する。

6.2.11 無水硫酸ナトリウム

残留農薬試験用等、高純度の試薬を使用する。必要に応じて市販の試薬を 450°C で 4 時間以上加熱処理する。

6.2.12 2mol/L 水酸化カリウム/エタノール溶液 (KOH/EtOH)

市販されているものの中で高純度の水酸化カリウムを用いてエタノールに溶解する。そのままで溶にくい場合は全量の 1/10 程度の精製水に溶かし、エタノールで定容する。

6.2.13 水酸化カリウム水溶液

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

6.2.14 2%水酸化カリウムシリカゲル

水酸化カリウム水溶液をシリカゲルに添加して作製する。水酸化カリウム水溶液をシリカゲルに、酸化カリウムがシリカゲルに対して 2%(w/w) となるように加え、攪拌混合した後、ロータリーエバレーター等で減圧乾燥させ、密閉可能な容器に入れ、デシケーター内で保存する。ダイオキシン類分析用として市販されているものもある。

6.2.15 40%(w/w)硝酸銀水溶液

高純度の硝酸銀を精製水に溶かす。必要に応じてヘキサンで洗浄する等して精製する。

6.2.16 シリカゲル

カラムクロマトグラフィー用シリカゲルをメタノールにて超音波洗浄を行った後、減圧乾燥し、ガラス製ビーカーに入れ、層の厚さを 10mm 以下にして 130°C で約 18 時間乾燥した後、密閉可能な容器に入れ、デシケーター内で保管する。

6.2.17 22%硫酸含有シリカゲル

硫酸をシリカゲルに、硫酸がシリカゲルに対して 22%(w/w) となるように加え、攪拌混合し、密閉可能な容器に入れ、デシケーター内で保管する⁴⁴。

- 6.2.18 44%硫酸含有シリカゲル
硫酸をシリカゲルに、硫酸がシリカゲルに対して44%(w/w)となるように加え、攪拌混合し、密閉可能な容器に入れ、デシケーター内で保管する⁴⁵。
- 6.2.19 10%硝酸銀含有シリカゲル
硝酸銀溶液を、シリカゲルに硝酸銀がシリカゲルに対して10%(w/w)となるように加え、攪拌混合した後ロータリーエバポレーター等で減圧乾燥させ、密閉可能な容器に入れ、デシケーター内で保存する。調製及び保管は遮光した状態で行う。
- 6.2.20 活性炭シリカゲル
活性炭シリカゲルをアセトンで超音波洗浄し濾過した後、トルエンでソックスレー抽出洗浄し⁴⁶、ロータリーエバポレーターで減圧乾燥させ、密閉可能な容器に入れ、デシケーター内で保存する。同等のものとして活性炭硫酸ナトリウムを使用することが出来る。この場合、活性炭1gに対し無水硫酸ナトリウム1000gを混合し、乳鉢でよくすって均一に分散させたものを使用する。必要に応じてトルエンでソックスレー抽出洗浄した後、ロータリーエバポレーターで減圧乾燥させ、デシケーター内で保存する。
- 6.2.21 アルミナ
カラムクロマトグラフ用塩基性アルミナを開封してそのまま使用する。
- 6.2.22 標準物質
『表3. 測定に用いる標準物質。(p.17)』を用いる。
- 6.2.23 標準溶液
市販の標準溶液をノナン又はデカン⁴⁷で希釈、混合して調製する。
- 6.2.24 同位体スパイク
『表4. 測定に用いる同位体スパイク。(p.18)』を用いる。
- 6.2.25 同位体スパイク溶液
市販の溶液をノナン又はデカン⁴⁷で希釈、混合して調製する。
- 6.3 器具・機材
- 6.3.1 分析前処理器具・機材
使用する全ての器具及び装置にはPCDDs, PCDFs及びCo-PCBsの測定分析に影響を及ぼさないことが要求される⁴⁸。分析途中の試料の汚染を防ぐ観点から使用する全ての器具等は可能な限り血液等低レベルダイオキシン分析専用とすること。GC/MSも可能な限り低レベルダイオキシン類専用のものを用いる。
- 6.3.1.1 乾燥機
ガラス製品及び試薬類を加熱処理するもの。
- 6.3.1.2 マッフル炉
セラミック製品を加熱処理するもの(1000°C程度で連続使用可能なもの)。
- 6.3.1.3 ロータリーエバポレーター
大気開放コックの先に活性炭カラム、エアフィルターを装着したり、また、トラップ球を使用する等して汚染を防ぐようにすることが望ましい⁴⁹。
- 6.3.1.4 ロータリーエバポレーター用真空ポンプ
有機溶媒の排気に内部が耐えられるもの。排気側にガス冷却管等を接続し、有機溶媒の回収を行う。
- 6.3.1.5 クデルナダニッシュ(KD)濃縮器
試料濃縮に用いる。ロータリーエバポレーターの代わりに用いることが出来る。
- 6.3.1.6 冷却水循環装置
ソックスレー抽出器、ロータリーエバポレーター及びKD濃縮器の冷却管(コンデンサー)に使

用する。

6.3.1.7 ガス吹き付け装置

抽出精製試料を濃縮する為に使用する。

6.3.1.8 シリカゲルカラムクロマトグラフ管

内径約10mm,長さ約300mmのガラス製カラムクロマトグラフ管にシリカゲル1.5gをヘキサンで充填し、上部に無水硫酸ナトリウム3.0gを積層する。ヘキサン200mLを流速2.5mL/minで流し、充填物を洗浄する⁵⁰。溶出条件等を事前に調べてあれば同等のシリカゲルカラムを使用することは可能である。

6.3.1.9 多層シリカゲルカラムクロマトグラフ管

内径約15mm,長さ約300mmのガラス製カラムクロマトグラフ管にシリカゲル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6.0g, シリカゲル0.9g, 10%硝酸銀・シリカゲル3.0gを順次ヘキサンで充填する。その上部に無水硫酸ナトリウムを6.0g積層する。ヘキサン200mLを流速2.5mL/minで流し、充填物を洗浄する。

6.3.1.10 アルミナカラムクロマトグラフ管

内径約10mm,長さ約300mmのガラス製カラムクロマトグラフ管に塩基性アルミナ7.5gをヘキサンで充填し、上部に無水硫酸ナトリウム3.0gを積層する。ヘキサン200mLを流速2.5mL/minで流し、充填物を洗浄する。

6.3.1.11 活性炭シリカゲルカラムクロマトグラフ管

内径約10mm,長さ約150mmのガラス製カラムクロマトグラフ管に、無水硫酸ナトリウム3.0g, 活性炭シリカゲル0.5g, 最後に無水硫酸ナトリウム3.0gを乾式充填する。活性炭シリカゲルカラムクロマトグラフ管の代わりに同程度の量の活性炭硫酸ナトリウムを用いることも出来る。

6.3.2 ガスクロマトグラフ/質量分析計 (GC/MS)

高分解能ガスクロマトグラフ/高分解能質量分析計 (HRGC/HRMS) を用いる。質量分析計の質量分離方式は二重収束型とする。

6.3.2.1 ガスクロマトグラフカラムオープン

カラムオープンの温度制御範囲が50~350°Cであり、測定対象物質の最適分離条件を設定・制御できるような昇温プログラムが可能なもの。

6.3.2.2 ガスクロマトグラフキャピラリーカラム

内径0.22~0.32mm,長さ30~60mの熔融シリカ製のものであって、内面に液相を塗布又は結合したもの。通常、微極性(5%フェニルメチルシリコン系)のものを用いるが、必要に応じて中極性(25%フェニルメチルシリコン系),強極性(シアノプロピル系)のものも用いる。

例えばBPX5, DB5-MS, CP-SIL8 CB-MS, HT-8, SP2331等の商品がある。なお、ここで示した製品は参考のために表記したものであってこれら以外でも同等以上の性能を持つものは使用することが出来る。

6.3.2.3 質量分析計 (MS)

二重収束型のもので、ロックマス方式⁵¹により分解能10,000以上で測定可能なもの。イオン源は、温度を160~350°Cに保つことができ、EI法が可能で、電子加速電圧を25~70V程度に制御可能なもの。検出法としてSIM法が可能であり、磁場スイッチング使用時の必要な測定質量数のチャンネル数、感度、安定性の関係からSIM法における周期を最大でも1 sec以下にできるもの⁵²。実際に試料を測定するときと同一の条件において、標準物質の2,3,7,8-TeCDD 10fgでSN>5, OCDD 50fgでSN>5の検出感度を得られることが望ましい。

6.3.2.4 試料導入部

本マニュアルで要求する定量を満足する方式のもの。高感度を得る目的で大量注入方式やマルチ

ディメンジョン方式を採用してもよい。

6.3.2.5 キャリアーガス

高純度ヘリウムガス⁵³。

7 調査計画

採血の実施にあたっては、被験者や協力者に対して十分なインフォームド・コンセントを行う。調査の目 及び背景、実際に協力してもらう内容、実施後のデータの取り扱いなどについて事前に文書で説明し、調査に対する理解を得、文書で同意を得る必要がある。このため調査計画は事前に綿密に作成されなくてはならない。また、採血時の事故を防ぐため、採血現場には医師が立ち会い、必要に応じてアドバイス、問診、健康診断等を行えるような体制を整備すること。研究目的によっては倫理指針等が作成されている場合があるので、その際にはそれらに従うこと。

8 試料採取⁵⁵ 及び試料の取り扱い

採取は、医師、看護婦（保健婦（夫、士））や助産婦を含む）等採血について専門の技術を有するものがう。通常の試料採取には一定量の抗凝固剤を添加した、50～200mlの採血バックあるいはガラス製容器、フッ素樹脂製容器などを使用する。試料は100ml程度を採取し、2回分として小分けし（1回分50ml）、また1部は脂肪酸分析や生化学試験に回せるようにしておくことと便利である。（採取量は重量によって求める）。試料採取に当たっては試料採取に関わる情報を記録する。容器の選択に当たってはブランク試験を行い、汚染のないことを確認する。採取した試料は、変質を避けるため、採取後すぐによく混和し、分析するまで冷凍し暗所に保存する。血液検体は、病原菌等の感染の危険性があるので、感染防止に留意すること。

9 測定

9.1 測定方法の概要

同位体希釈質量分析法（IDMS）による。すなわち、試料（全血）に内部標準物質として定量する目的化合物の¹³C同位体を添加（スパイク）し、有機溶媒によってPCDDs、PCDFs及びCo-PCBsを抽出し、精製し、GCMSを用いて同位体比を測定する。分析方法のフローを図1に示す。血液からダイオキシン類を抽出するにあたり、脂肪抽出から入る場合と、アルカリ分解から入る場合があり、どちらを採用してもよい。なお、PCDDs、PCDFs及びCo-PCBs濃度を脂肪あたりで表記する場合は、後述の方法（9.2.3又は9.2.4）によって脂肪量を測定する。血清、または血しょうも同様に行うことが出来る。脂肪の抽出には現在いくつかの方法が提案されているが、それぞれの方法によって得られる結果は異なるので単位脂肪重量あたりでダイオキシン類濃度を比較する際は注意が必要である。ここではエタノール：ヘキサン：飽和硫酸アンモニウムを用いる方法を採用する⁵⁴。

9.2 前処理

9.2.1 試料

採採した試料は容器内で十分混合した後、ダイオキシン類測定分析用（I）、二重測定用ダイオキシン類測定分析用（必要に応じて）、脂肪量測定用（別個に測定する場合）等2つ又は3つに分けてフッ素樹脂製容器またはガラス製容器に分注する。分注した試料は分析を行うまで冷凍保存する。

9.2.2 同位体スパイクの添加

試料を解凍後、約 50 g の試料を量り取り、同位体スパイクを添加し、攪拌する⁵⁵。なお、同位体スパイクの添加量は各化合物 5~100pg 程度とする。

9.2.3 脂質の抽出及び脂質濃度の測定（脂肪濃度を別個に求める場合）

9.2.1 で分注した脂肪測定用の試料（約 20g）を解凍し、重量を測定後、飽和硫酸アンモニウム 6mL、25%エタノール/n-ヘキサンを 24mL 添加し、30 分間振とう抽出を行う。ヘキサン層を分画後、水層に n-ヘキサン 20mL を添加し更に 30 分間振とう抽出を行う。この操作をもう一度繰り返す。3 回の抽出による n-ヘキサン分画を混合する。得られた n-ヘキサン分画を精製水 20mL で 1 回洗浄する。ガラス製ロート下部にグラスウールを詰め、無水硫酸ナトリウムを積層したもので脱水後、ロータリーエバポレーターを用いて溶媒を 2mL 程度まで留去する⁵⁶。あらかじめ重量を測定し、恒量となったことを確認した秤量瓶に移す。デシケーターもしくは 30℃以下に設定した浴温下での窒素ガスパージで乾燥し、重量を測定する。抽出前後の重量比から血液中の脂肪量を算出する。ただし、試料には抗凝固剤としてヘパリンナトリウム溶液が含まれているのでその重量を考慮しなければならない。

9.2.4 脂質の抽出及び脂肪濃度の測定（脂肪を抽出し、抽出した脂肪を用いてダイオキシン類の分析を行う場合）

9.2.2 で同位体スパイクを添加した血液試料に飽和硫酸アンモニウム 20mL 及び 25%エタノール/n-ヘキサンを 40mL 添加し、30 分間振とう抽出を行う。ヘキサン層を分画後、水層に n-ヘキサン 40mL を添加し更に 30 分間振とう抽出を行う。この操作をもう一度繰り返す。3 回の抽出による n-ヘキサン分画を混合する。得られた n-ヘキサン分画を精製水 20mL で 1 回洗浄する。ガラス製ロート下部にグラスウールを詰め、無水硫酸ナトリウムを積層したもので脱水後、あらかじめ 105℃で 3 時間加熱、放冷し、重量を測定して恒量となったことを確認しておいたナス型フラスコに移し、ロータリーエバポレーターを用いて溶媒を留去する⁵⁶。水及び溶媒が完全にないことを確認し、ナス型フラスコの外側をよくふいた後、重量を測定する。前後の重量比から血液中の脂肪量を算出する。血中含量に換算するにあたって試料には抗凝固剤としてヘパリンナトリウム溶液が含まれているのでその重量を考慮しなければならない。

9.2.5 アルカリ分解処理（この場合、別途 9.2.3 により脂質濃度を求めておく）

試料を解凍後、2mol/L 水酸化カリウム/エタノール溶液 30mL と同位体スパイクを添加し、攪拌した後室温にて一夜放置（2 時間程度の振とうでも可）する。なお、同位体スパイクの添加量は各化合物 5~100pg 程度とする。翌日エタノール 10mL、精製水 20mL 及びヘキサン 30mL を添加し、更に 30 分間振とう抽出を行う。2 回の抽出によるヘキサン分画を混合する。

9.2.6 硫酸処理

秤量した脂肪全量をヘキサン 100mL に溶解し、或いはアルカリ分解後のヘキサン層を合わせたもの（約 60mL）を分液ロートに移す。濃硫酸約 20mL を加え、静置後硫酸層を除去する。新たに濃硫酸約 20mL を加え、2 回目以降は穏やかに振とうし、静置後硫酸層を除去する。この操作を硫酸層がほとんど無色になるまで繰り返す。

9.2.7 水洗・濃縮

硫酸処理が終了したヘキサン分画を精製水 30mL で 2 回洗浄する。無水硫酸ナトリウムを用いて脱水後、ロータリーエバポレーターを用いて約 2mL まで濃縮し、シリカゲルカラムクロマトグラフィーに供する。

9.3 カラムクロマトグラフィー

硫酸処理の終了した試料をカラムクロマトグラフィーによって更に精製する。尚ここでは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、活性炭カラムクロマトグラフィーが示されている。必要に応じてこれらを組み合わせるが、シリカゲルカラム、活性炭カラムの 2

段のクロマトグラフィーが一般的である。ここで示すカラムクロマトグラフィーの展開溶媒の量は参考の為示したものであり、分画試験を行って決定する。

9.3.1 シリカゲルカラムクロマトグラフィー及びアルミナカラムクロマトグラフィー（オプション）

次に示すシリカゲルカラムクロマトグラフィーあるいは多層シリカゲルカラムクロマトグラフィーのどちらかを行う。シリカゲルカラムクロマトグラフィーの後、アルミナカラムクロマトグラフィーを省くことも可能である。

9.3.1.1 シリカゲルカラムクロマトグラフィー

シリカゲルカラムクロマトグラフ管（シリカゲル 1.5g, 130°C, 3時間活性化したもの）の液面を無水硫酸ナトリウム層まで下げ、調製した試料を静かに移し入れ、少量のヘキサンで洗い込み、液面を無水硫酸ナトリウム層まで下げる。ヘキサン 80mL を流速 1mL/min で流し展開溶出させる。得られた溶出液をロータリーエバポレーターにて約 2mL まで濃縮し、活性炭シリカゲルカラムクロマトグラフィーまたはアルミナカラムクロマトグラフィーに供する。

9.3.1.2 多層シリカゲルカラムクロマトグラフィー

多層シリカゲル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まで下げ、調製した試験溶液を静かに移し入れ、少量のヘキサンで洗い込み、液面を無水硫酸ナトリウム層まで下げる。ヘキサン 200mL を流速 2.5mL/min で流し展開溶出させる。得られた溶出液をロータリーエバポレーターにて約 2mL まで濃縮し、活性炭シリカゲルカラムクロマトグラフィーに供する。

9.3.1.3 アルミナ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管の液面を無水硫酸ナトリウム層まで下げ、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで溶出した画分を、クロマトグラフ管に流し込み、ジクロロメタン含有ヘキサン溶液で分画する。最初に 2%ジクロロメタン含有ヘキサン 65mL で溶出させ（第1画分：mono-ortho Co-PCB 画分）次いで 60%ジクロロメタン含有ヘキサン 100mL で溶出する（第2画分：PCDDs, PCDFs 及び non-ortho Co-PCBs）。第2画分を濃縮した後、活性炭カラムにかける。

9.3.2 活性炭カラムクロマトグラフィー

9.3.2.1 活性炭シリカゲルクロマトグラフィー

活性炭シリカゲルクロマトグラフ管に調製した試験溶液を静かに移し入れ、少量のヘキサンで洗い込み、液面を無水硫酸ナトリウム層まで下げる。これに 25%ジクロロメタン含有ヘキサン溶液 100mL を流速 2.5mL/min で流し展開溶出させる。この画分には mono-ortho Co-PCBs が含まれる。次いで、トルエン 100mL で溶出する。この画分には PCDDs, PCDFs 及び non-ortho Co-PCBs が含まれる。25%ジクロロメタン含有ヘキサン画分及びトルエン画分をロータリーエバポレーターで濃縮し、更にゆるやかに窒素を吹き付け⁵⁷、濃縮した後、各画分に測定に必要なシリンジスパイク⁵⁸を添加して 10 μ L に定容し、GC/MS 分析用溶液とする。カラムクロマトグラフィーとして、活性炭/無水硫酸ナトリウムを充填して用いることもできる。市販の活性炭シリカゲルによっては、mono-ortho Co-PCBs もトルエン画分にくるので、この場合は、トルエン画分のみを GC/MS 分析すればよい。

9.4 ガスクロマトグラフ質量分析計の状態確認

9.4.1 GC/MS 測定条件の設定及び状態の確認

GC/MS を目的成分が測定できる条件に設定する。GC/MS が本法に対して適切な状態であることを確認する（QA/QC 参照(P.12)）。

9.4.2 検量線の作成

標準溶液中の PCDDs, PCDFs 及び Co-PCBs 各化合物に対して 0.01~50pg/ μ L 程度の濃度範囲で 0 を含めて 5 段階程度の標準濃度系列を調製する。この標準濃度系列には同位体スパイクを添加しておく⁵⁹。

9.5 測定

標準溶液及び試料の適当量をGC/MSに注入⁵⁹し、各同族体につき『表5. 測定質量数の例. (p.19)』から任意の2つ以上の質量数のクロマトグラムを記録する。

9.6 計算

次式によって濃度を算出する。

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

C_{Sample} : 分析対象物質の濃度 (pg/mL または pg/g)

A_{Sample} : 分析試料中の各化合物のクロマトグラムピーク面積値

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

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

V : 試料採取量 (mL または g)

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

A_{STD} : 標準溶液中の分析対象物質のクロマトグラムピーク面積値

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

C_{STD} : 標準溶液中の各化合物の量 (pg)

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

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

9.7 PCDDs, PCDFs 及び Co-PCBs の同定

PCDDs, PCDFs 及び Co-PCBs 各異性体は、モニターした 2 つ以上のイオンにおけるクロマトグラム上のピーク面積比が標準物質のものとはほぼ同じであり、『表6. PCDDs, PCDFs 及び Co-PCBs の塩素同位体の理論天然存在比』に示す塩素原子の同位体存在比から推定されるイオン強度比に対して±30%以内であり、更にピークの相対保持時間が標準物質及び対応する内標準物質と一致することで同定する。

9.7.1 実測濃度の表記

- 2,3,7,8-位塩素置換異性体 (17 化合物) 及び Co-PCBs (12 化合物) の各実測濃度が目標定量下限値未満であった場合、2,3,7,8-置換位置異性体 (17 化合物) 及び Co-PCBs (12 化合物) の各実測濃度が検出下限未満であったのか検出しなかったのかわかるように表記しておくことが望ましい。これらは実測値に加算する必要はないが最大見積 TEQ 計算の際に参考とする必要がある。• 2,3,7,8-位塩素置換異性体 (17 化合物) 及び Co-PCBs (12 化合物) の各実測濃度は有効数字 2 桁に丸めて表記する。
- 2,3,7,8-位塩素置換異性体 (17 化合物) の濃度の総和を Total(PCDDs+PCDFs) として有効数字 2 桁で表記する⁶⁰。
- PCDDs に含まれる全ての化合物が目標定量下限値未満であった場合、PCDDs の実測濃度は N.D. と表記する。
- PCDFs に含まれる全ての化合物が目標定量下限値未満であった場合、PCDFs の実測濃度は N.D. と表記する。
- PCDDs と PCDFs が共に N.D. であった場合、Total (PCDDs+PCDFs) の実測濃度は N.D. と表記する。
- IUPAC #77, #81, #126, #169 の実測濃度を積算し、non-ortho Co-PCBs 実測濃度として有効数字 2 桁で表す。• IUPAC#105, #114, #118, #123, #156, #157, #167, #189 の実測濃度を積算し、

mono-ortho Co-PCBs 実測濃度として有効数字2桁で表す。

- ・IUPAC #77, #81, #126, #169, #105, #114, #118, #123, #156, #157, #167, #189 の濃度を積算し, Ttotal Co-PCBs 実測濃度として有効数字2桁で表す⁶⁾。
- ・N.D.表記となっている異性体に関しては, 定量下限値の半数も計算しておく。

9.7.2 TEQ の算出

- ・有効数字2桁でまるめた2,3,7,8-位塩素置換異性体(17化合物)及びCo-PCBs(12化合物)の各実測濃度にTEFを乗じ, TEQを算出する。一例としてWHO-1998によるTEFを『表7. TEQ算出のためのTEF. (p.21)』に示す。各2,3,7,8-位塩素置換異性体及びCo-PCBsのTEQは2桁表記とする。
- ・2,3,7,8-位塩素置換異性体及びCo-PCBs濃度が目標定量下限値未満であった場合, 毒性等量は0(ゼロ)として表記し, その右横にカッコ書きで最大見積TEQを記載する。最大見積TEQは各化合物の目標定量下限値の1/2にTEFを乗じたものとする⁶⁾。
- ・実測濃度にN.D.が表記された場合(最大見積TEQが表記された場合), Total PCDDs, Total PCDFs, Total(PCDDs+PCDFs), non-ortho Co-PCBs, mono-ortho Co-PCBs, Total Co-PCBs, Total(PCDDs+PCDFs+Co-PCBs)にもカッコ書きで最大見積TEQを記載する。この最大見積TEQは各化合物のTEQと最大見積TEQとの積算で表す。
- ・Total PCDDs(TEQ)及びTotal PCDFs(TEQ)は2桁表記とする。
- ・Total PCDDs(TEQ)+Total PCDFs(TEQ)は2桁表記とする。
- ・non-ortho Co-PCBsのTEQは2桁表記とする。
- ・mono-ortho Co-PCBsのTEQは2桁表記とする。
- ・Co-PCBsのTotal TEQは2桁表記とする。
- ・PCDDs, PCDFs, Co-PCBsのTotal TEQは2桁表記とする。
- ・各実測濃度からPCDDs, PCDFs, Co-PCBsのTotal TEQを算出するまでの過程で数値のまるめは行わない。

9.7.3 測定結果の表記方法

測定結果の表記方法の例を『表8. PCDDs, PCDFs 及び Co-PCBs 測定分析結果の表記例. (p.22)』に示す。

10 安全管理

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

10.1 試料前処理室及びGC/MS 室の構造

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

10.2 試薬の管理

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

10.3 標準物質の管理

標準物質は施錠可能な冷蔵庫に保管し, 購入及び使用の記録を取ること。

10.4 分析者

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

び安全眼鏡を装着すること。

10.5 測定分析機関の義務

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

10.6 GC/MS

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

10.7 血液の付着したガラス器具の洗浄

滅菌した後洗浄する。

10.8 血液の付着した廃棄物の管理

液採取及び搬入時に用いられた血液バッグや作業中に血液の付着した布等はオートクレーブバッグに入れた後高圧蒸気滅菌し、廃棄する。

10.9 その他の廃棄物の管理

上記以外に試料前処理室検査室及びGC/MS測定室内で生じた各種廃棄物は種別により分類し、廃棄物処理業者までトレース可能なように管理すること。ダイオキシン類を含む廃棄物は高温で分解処理する必要があるため、別途とりまとめて管理すること。

1.1 精度管理及び精度保証

PCDDs, PCDFs 及び Co-PCBs の測定データに関して、最終測定値のみでは結果の確からしさを確認することは困難である場合が多い。そこで、品質保証 (QA) /品質管理 (QC)・精度管理⁶⁾について記述した。本記述はPCDDs, PCDFs 及び Co-PCBs に係る調査を行う機関が、一定水準以上の測定分析結果を報告することが可能となるように、調査に直接的に関わる事項に対して、記録として要求される項目について記述したものである。PCDDs, PCDFs 及び Co-PCBs に係る調査を行う全機関は、少なくともここで述べる項目に関する情報を記録・保管しなければならない。なお、本マニュアルではPCDDs, PCDFs 及び Co-PCBs の測定分析結果の報告までを対象としており、得られたデータを用いた考察や解析等の部分に関しては含まない。

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

11.1 精度管理にかかわる作業とその記録

11.1.1 試料採取の記録

試料の採取方法 (例えばどのような採血方法であったか) を記録する。

11.1.2 試料確認の記録

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

11.2 測定分析の記録

11.2.1 使用器具・機材・装置

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

11.2.2 使用試薬

分析に用いた試薬のメーカー名、製品名、等級、精製方法等を記録する。

- 11.2.3 標準物質・標準溶液
分析に用いた試薬のメーカー名、製品名等を記録する。
- 11.2.4 標準溶液調製記録
標準溶液を調製した状況を記録する。
- 11.2.5 試料前処理室等の清浄度の記録
測定分析が行われた雰囲気客観的に判断可能なような記録（例えば試料前処理室及び GC/MS 室の温度・清浄度の記録等）を取る。
- 11.2.6 分析前処理記録
分析者の所属、氏名、試料の状態、分析の各段階における操作日時、試料量（分析に供した量）、各試薬使用量、試料前処理室雰囲気等一連の前処理において、必要な情報を記録する。
- 11.2.7 GC/MS の記録
- 11.2.7.1 GC/MS 日常点検記録
GC/MS の日常点検結果（冷却水、真空ポンプ、真空度等の基本的な事項）を記録する。
- 11.2.7.2 GC/MS メンテナンス記録
GC/MS に関して日常点検の範疇を超える点検・調整事項（修理、磁場調整等日常的には発生しない事柄）があれば記録する。
- 11.2.7.3 GC/MS 使用状況記録
GC/MS の使用状態（各種消耗品の交換、イオン源の交換、GC カラムの交換、GC カラムエージング、フライトチューブベーキング、イオン源ベーキング、測定検体数等、どのような状況で使用されたか）を記録する。
- 11.2.7.4 MS 調整の記録
GC/MS 測定分析条件を記録する。
- 11.2.7.5 透過率の記録
設定分解能時のイオン透過率の記録
- 11.2.7.6 GC カラム分離能の記録
測定時に必要な GC カラム分離能が得られていることを確認できるクロマトグラムの記録
- 11.2.7.7 感度の記録
測定時に必要な感度が得られていることを確認できる記録（クロマトグラム等）。
- 11.2.7.8 標準物質の同位体比の確認
測定した標準物質中の各化合物に関して、2つのモニターイオンのレスポンス比が理論値とずれていないことを確認できる記録。理論塩素同位体存在比と実測同位体比の採用範囲は 30%以内とする。
『参照：表6. PCDDs, PCDFs 及び Co-PCBs の塩素同位体の理論天然存在比。(p.20)』
- 11.2.7.9 相対感度係数 (RRF)
RRF の変動は前回の測定時と比較して±20%以内であることとする。
- 11.2.7.10 測定順の記録
GC/MS による測定の前順の記録。標準溶液、最終溶媒ブランク、全操作ブランク、試料、2重測定（同一測定バイアルからの GC/MS 測定）、2重測定（試料採取からの2重測定）等試料の測定前順の記録
- 11.2.7.11 クロマトグラムの記録
標準溶液、最終溶媒ブランク、全操作ブランク、試料に関する各測定質量数のクロマトグラムの記録
- 11.3 計算
- 11.3.1 計算工程の記録
標準溶液の濃度、内部標準の添加量、GC/MS 測定面積値、試料採取量から最終濃度までの計算過程

- がトレース可能である記録
- 11.3.2 同位体比の確認記録
測定に用いた同位体の理論比との差が判明する記録。上記計算の工程に含まれていれば良い。
- 11.3.3 回収率の確認記録
シリジンスパイクを用いて計算した回収率の記録。上記計算の工程に含まれていれば良い。回収率は、17種類のPCDDs及びPCDFs各2,3,7,8-位塩素置換異性体及び12種類のCo-PCBsにおいて、各々50-120%の範囲であることが望ましい。25-150%の範囲の外にあるときは再測定を実施する。
- 11.4 ブランク試験
- 11.4.1 採血バッグブランク
採血バッグのブランク試験を行い、その結果を記録する。製品の製造ロットが変わる毎に行う。
- 11.4.2 全操作ブランク
試料に対して行う分析方法と同一の方法で操作を行う。全操作ブランクの試験の記録。全操作ブランクは分析検体数10に対して1以上の頻度で行う。
- 11.4.3 同位体スパイクの検査
同位体スパイク中に存在する¹²C化合物が、用いる添加量で定量に影響を与えないことを確認した記録
- 11.5 2重測定（試料の前処理から）⁶⁴
可能であれば試料採取の段階で2つの試料を採取し個々に測定分析を行うことが望ましい。この操作は分析検体数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と実測濃度の平均値との差で50%以内であることが要求される（実測濃度が目標定量下限値の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⁶⁵。
- 11.8 外部機関とのインターキャリブレーション
定期的に関与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。