

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 pg/mL)			
PCDDs	2,3,7,8-TeCDD	-	1	0.003		
	1,2,3,7,8-PeCDD	-	1	0.003		
	1,2,3,4,7,8-HxCDD	-	2	0.006		
	1,2,3,6,7,8-HxCDD	-	2	0.006		
	1,2,3,7,8,9-HxCDD	-	2	0.006		
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	-	2	0.006		
	OCDD	-	4	0.01		
	PCDFs	2,3,7,8-TeCDF	-	1	0.003	
1,2,3,7,8-PeCDF		-	1	0.003		
2,3,4,7,8-PeCDF		-	1	0.003		
1,2,3,4,7,8-HxCDF		-	2	0.005		
1,2,3,6,7,8-HxCDF		-	2	0.005		
1,2,3,7,8,9-HxCDF		-	2	0.005		
2,3,4,6,7,8-HxCDF		-	2	0.005		
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF		-	2	0.005		
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF		-	2	0.005		
OCDF		-	4	0.01		
Co-PCBs		<i>non-ortho</i>	3,3',4,4'-TeCB	# 77	10	0.03
	3,4,4',5'-TeCB		# 81	10	0.03	
	3,3',4,4',5'-PeCB		#126	10	0.03	
	3,3',4,4',5,5'-HxCB		#169	10	0.03	
	<i>mono-ortho</i>		2,3,3',4,4'-PeCB	#105	10	0.03
		2,3,4,4',5'-PeCB	#114	10	0.03	
		2,3',4,4',5'-PeCB	#118	10	0.03	
		2',3,4,4',5'-PeCB	#123	10	0.03	
		2,3,3',4,4',5'-HxCB	#156	10	0.03	
		2,3,3',4,4',5'-HxCB	#157	10	0.03	
		2,3',4,4',5,5'-HxCB	#167	10	0.03	
		2,3,3',4,4',5,5'-HpCB	#189	10	0.03	
		pg/g-fat	脂肪重量あたりの濃度			
		pg/g または pg/mL	試料全量あたりの濃度 (血液中の脂質濃度を 0.3%として計算している 血液中の脂質濃度は 0.2~0.8%程度変動することに留意する必要がある)			

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-HxCDD	-	
	1,2,3,6,7,8-HxCDD	-	
	1,2,3,7,8,9-HxCDD	-	
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	-	
	OCDD	-	
	PCDFs	2,3,7,8-TeCDF	-
	1,2,3,7,8-PeCDF	-	
	2,3,4,7,8-PeCDF	-	
	1,2,3,4,7,8-HxCDF	-	
	1,2,3,6,7,8-HxCDF	-	
	1,2,3,7,8,9-HxCDF	-	
	2,3,4,6,7,8-HxCDF	-	
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	-	
	1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	-	
	OCDF	-	
Co-PCBs	<i>non-ortho</i>	3,3',4,4'-TeCB	# 77
		3,4,4',5-TeCB	# 81
		3,3',4,4',5-PeCB	#126
		3,3',4,4',5,5'-HxCB	#169
	<i>mono-ortho</i>	2,3,3',4,4'-PeCB	#105
		2,3,4,4',5-PeCB	#114
		2,3',4,4',5-PeCB	#118
		2',3,4,4',5-PeCB	#123
		2,3,3',4,4',5-HxCB	#156
		2,3,3',4,4',5'-HxCB	#157
		2,3',4,4',5,5'-HxCB	#167
		2,3,3',4,4',5,5'-HpCB	#189

表-4 測定に用いる内標準物質。

		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

シリンジスハイクとしては、 $^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,4-TeCDF等(PCDD/PCDF用)、 $^{13}\text{C}_{12}$ -2,3',4',5-TeCB(#70)等(Co-PCB用)を用いる

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**	
Co-PCBs	¹² C ₂	¹² C ₁₂ -TeCBs	289 9224**	291 9194*	293 9165
		¹² C ₁₂ -PeCBs	323 8834	325 8804*	327 8775**
		¹² C ₂ -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 ₂ -HxCBs	369.8847	371 8817*	373 8788**
		¹³ C ₁₂ -HpCBs	403.8457	405 8428*	407.8398**

* 親イオン群の中で存在比が最も高い塩素同位体の質量数

** 親イオン群の中で存在比が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場合がある

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
	OCDD	34 54	88.80	100 00	64 48	26 07
PCDFs	TeCDFs	77 55	100.00	48 61	10 64	0 92
	PeCDFs	62 14	100 00	64.57	20 98	3 46
	HxCDFs	51 84	100 00	80.54	34 72	8.48
	HpCDFs	44 47	100 00	96 52	51 88	16 80
	OCDF	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 算出のための TEF.

化合物の名称等		IUPAC Number	WHO, 1998-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	
	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'-HCB	#169	0.01
	<i>mono-ortho</i>	2,3,3',4,4'-PeCB	#105	0.0001
		2,3,4,4',5'-PeCB	#114	0.0005
		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	0.0005
		2,3,3',4,4',5'-HCB	#157	0.0005
		2,3',4,4',5,5'-HCB	#167	0.00001
		2,3,3',4,4',5,5'-HCB	#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, 1998-TEF	
			毒性係数 TEF	毒性当量 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	
	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 Co-PCBs	-	-	
	2,3,3',4,4'-PeCB	#105	0.0001	
	2,3,4,4',5'-PeCB	#114	0.0005	
	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	0.0005	
	2,3,3',4,4',5'-HxCB	#157	0.0005	
	2,3',4,4',5,5'-HxCB	#167	0.00001	
	2,3,3',4,4',5,5'-HpCB	#189	0.0001	
Total mono-ortho Co-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ーPCB 濃度 (pg/g-fat)
- 2 毒性当量 2,3,7,8-TeCDD 毒性当量 (pg-TEQ/g-fat)
カッコ内の数値は実測濃度か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 PCDDs 及び PCDFs 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 Co-PCBs 及び Total mono-ortho Co-PCBs はそれぞれ各 non-ortho Co-PCB 及び mono-ortho Co-PCB の合計を表す
- 7 Total Co-PCBs は Co-PCBs 各化合物の合計を表す

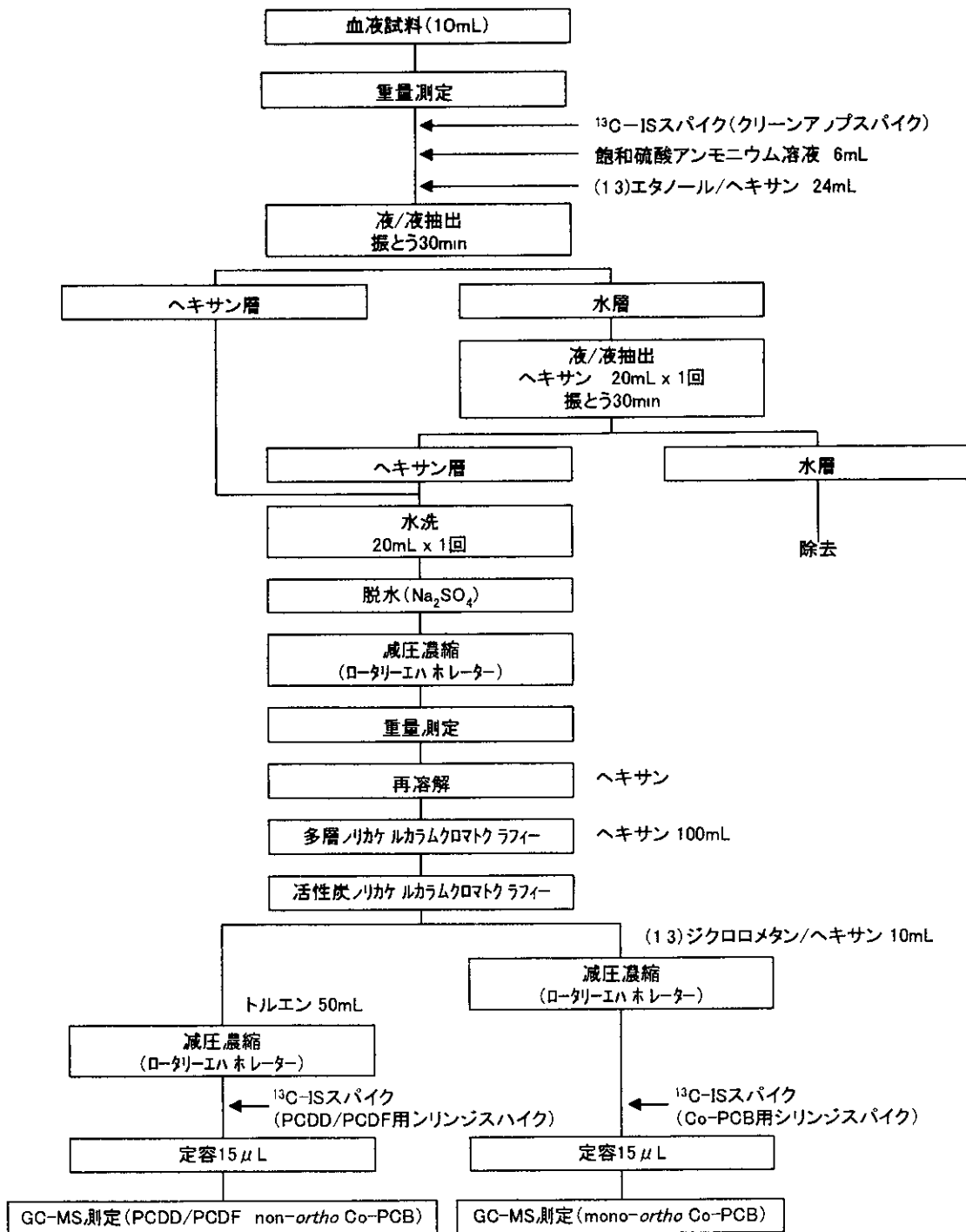


図-1 血液中のダイオキシン類測定分析フロー

12 解説編

- ¹ coplaner-PCBs
- ² polychlorobiphenyl または polychlorinated biphenyl
- 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比の算出に注意する。
- 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 gas chromatography/mass spectrometry
- ²⁶ gas chromatograph/mass spectrometer
- ²⁷ high resolution gas chromatography
- ²⁸ high resolution gas chromatograph
- ²⁹ high resolution mass spectrometry
- ³⁰ high resolution mass spectrometer
- ³¹ high resolution gas chromatography/high resolution mass spectrometry
- ³² high resolution gas chromatograph/high resolution mass spectrometer
- ³³ 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 メーカーによっては 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
- ³⁴ relative response factor
- ³⁵ not determined
- ³⁶ electron ionization
- ³⁷ International Union of Pure and Applied Chemistry
- ³⁸ World Health Organization
- ³⁹ Quality Assurance / Quality Control
- ⁴⁰ Quality Control Check Sample
- ⁴¹ 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か望ましい 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、陰圧型どちらでも良いが、クリーン度の観点から考えれば加圧型の試料前処理室の方が有利である 加圧型、陰圧型共に試料前処理室外に空気が漏洩しないような構造が必要であり、また、試料前処理室内作業者の安全の観点から十分な空気供給量を確保することも必要である この試料前処理室内では極力排ガス、灰、排水、土壌、底質、環境大気等の試料を扱わないようにする GC/MS は可能であれば血液専用のものを用意する等し試料の二次汚染に十分留意する GC/MS を設置する部屋は試料前処理室とは別にする GC/MS 室内空気の屋外への排気はプレフィルター、活性炭フィルター、HEPA フィルターを通じた後行う構造

とする。試料前処理室の清浄度や温度をモニターする等して試料前処理室及び GC/MS 室の室内空気が正常に管理されていることを確認することが望ましい

⁴² 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

⁴³ 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

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 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

⁴⁶ デカンやノナンのかわりに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 ガラス器具等について、合成洗剤を用いた洗浄、水洗浄、有機溶媒洗浄等により汚染がないようにする

⁴⁹ トラップ球の使用は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防御に有効である

⁵⁰ ロックマス、質量校正に使用する化合物は規定しない

⁵¹ 例えば内標準物質、ロックマスモニターの測定質量数のデータ取込時間を短くする等し、極力 1 ピークあたりのデータポイント数が多くなるようにする

⁵² 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

⁵³ 他にアセトン ヘキサン、メタノール クロロホルム、エタノール ジエチルエーテルを用いる方法もある

⁵⁴ 内部標準をデカン溶液として添加したときは、デカンが留去されにくいので、バス温度を高めに設定してデカンを十分に除くことが必要である またバス温度を高くしすぎると回収率が低下するので注意する必要がある

⁵⁵ 脂肪重量との兼ね合いから、使用するナシ型フラスコは 10mL 容とする

⁵⁶ 窒素吹きつ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 シリンジスライクには、試料に添加した内標準物質以外のものを用いる シリンジスライクは GC/MS 測定における各測定ごとに (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ともに測定する。

⁵⁹ 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

⁶⁰ 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

⁶¹ 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

⁶² 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』行ったかが半明し、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

⁶³ 調査計画によって頻度等については変更することが出来る

⁶⁴ 血液 QCCS を準備し、用いる

別添3. 母乳中の臭素化ダイオキシン類の分析法 (案)

1 はじめに

臭素化ダイオキシン類は、ダイオキシン類対策特別措置法附則第2条に調査研究の推進が規定されているが、塩素系ダイオキシン類と比較して、分析が非常に困難とされている物質である。特に母乳中の臭素化ダイオキシン類の濃度は低濃度であると予測され、臭素化ダイオキシン類の人体影響を把握しかつ信頼性のある値を得るためには、極めて高い分析技術が要求される。今回、母乳中の臭素化ダイオキシン類の測定を行うにあたり、現在得られる知見を集積し、測定マニュアル(案)をまとめた。なお、今後の科学的知見の発展、標準試薬類の整備などによって、本調査方法の改訂はありうるものである。また、ここで示した以外の方法であっても本方法と同等以上の性能を持つことが確認されればその方法を採用しても良い。

2 用語の定義

本マニュアル中で記載する用語の定義を次のように定める

2.1 臭素化ダイオキシン類

ポリブロモシベンゾ-ハラージオキシン(PBDDs)とポリブロモジベンゾフラン(PBDFs)とする。ただし、本マニュアルではテトラ、ヘンタ、ヘキサ、ヘプタ及びオクタブロモジベンゾ-ハラージオキシン及びテトラ、ヘンタ、ヘキサ、ヘプタ及びオクタブロモジベンゾフランを示す

2.2 PBDDs 及び PBDFs の 2,3,7,8-位臭素置換異性体

PBDDs 及び PBDFs の内、化学構造上 2, 3, 7 及び 8 で表記される位置に臭素が配位している化合物の総称。PBDDs 7 化合物, PBDFs 10 化合物, 合計 17 化合物が存在する

2.3 異性体¹

同一の化学式を持ち、臭素の置換位置が異なる化合物を指す

2.4 同族体²

臭素の配位数が同じであって置換位置を異にする一群の化合物

2.5 目標定量下限値

前処理から GC/MS による測定までの一連の操作において定量が可能な目標とする最小濃度。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

2.6 検出下限値

2.6.1 装置の検出下限値

分析化学的な見地における検出下限値。標準物質を測定したときのクロマトグラムピーク高さが $S/N=3$ に相当する標準物質の絶対量を装置 (GC-MS) の検出下限値とする³。あるいは GC-MS で検出できる低濃度標準溶液⁴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

2.6.2 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 PBDDs ポリブロモジベンゾーハラーシオキシシ⁵
- 3 2 PBDFs ポリブロモジベンゾフラン⁶
- 3 3 TeBDDs テトラブロモジベンゾーパラージオキシシ⁷
- 3 4 PeBDDs ヘンタブロモジベンゾーハラージオキシシ⁸
- 3 5 HxBDDs ヘキサブロモジベンゾーハラージオキシシ⁹
- 3 6 HpBDDs ヘプタブロモジベンゾーハラージオキシシ¹⁰
- 3 7 OBDD オクタブロモジベンゾーハラージオキシシ¹¹
- 3 8 TeBDFs テトラブロモジベンゾフラン¹²
- 3 9 PeBDFs ペンタブロモジベンゾフラン¹³
- 3 10 HxBDFs ヘキサブロモジベンゾフラン¹⁴
- 3 11 HpBDFs ヘプタブロモジベンゾフラン¹⁵
- 3 12 OBDF オクタブロモジベンゾフラン¹⁶
- 3 13 2,3,7,8-TeBDD 2,3,7,8-テトラブロモジベンゾーパラ-ジオキシシ
- 3 14 1,2,3,7,8-PeBDD 1,2,3,7,8-ペンタブロモジベンゾーパラ-ジオキシシ
- 3 15 1,2,3,4,7,8-HxBDD 1,2,3,4,7,8-ヘキサブロモジベンゾーパラ-ジオキシシ
- 3 16 1,2,3,6,7,8-HxBDD 1,2,3,6,7,8-ヘキサブロモジベンゾーハラー-ジオキシシ
- 3 17 1,2,3,7,8,9-HxBDD 1,2,3,7,8,9-ヘキサブロモジベンゾーパラ-ジオキシシ
- 3 18 1,2,3,4,6,7,8-HpBDD 1,2,3,4,6,7,8-ヘプタブロモジベンゾーハラー-シオキシシ
- 3 19 2,3,7,8-TeBDF 2,3,7,8-テトラブロモジベンゾフラン
- 3 20 1,2,3,7,8-PeBDF 1,2,3,7,8-ヘンタブロモジベンゾフラン
- 3 21 2,3,4,7,8-PeBDF 2,3,4,7,8-ヘンタブロモジベンゾフラン
- 3 22 1,2,3,4,7,8-HxBDF 1,2,3,4,7,8-ヘキサブロモジベンゾフラン
- 3 23 1,2,3,6,7,8-HxBDF 1,2,3,6,7,8-ヘキサブロモジベンゾフラン
- 3 24 1,2,3,7,8,9-HxBDF 1,2,3,7,8,9-ヘキサブロモジベンゾフラン
- 3 25 2,3,4,6,7,8-HxBDF 2,3,4,6,7,8-ヘキサブロモジベンゾフラン
- 3 26 1,2,3,4,6,7,8-HpBDF 1,2,3,4,6,7,8-ヘプタブロモジベンゾフラン
- 3 27 1,2,3,4,7,8,9-HpBDF 1,2,3,4,7,8,9-ヘプタブロモジベンゾフラン
- 3 28 PBDEs 臭素化ジフェニルエーテル¹⁷
- 3 29 TEF 毒性等価係数¹⁸
- 3 30 TEQ 毒性当量¹⁹
- 3 31 IDMS 同位体希釈質量分析法²⁰
- 3 32 GC-MS ガスクロマトグラフ質量分析法²¹またはガスクロマトグラフ質量分析計²²
- 3 33 HRGC 高分解能ガスクロマトグラフィー²³または高分解能ガスクロマトグラフ²⁴
- 3 34 HRMS 高分解能質量分析法²⁵または高分解能質量分析計²⁶
- 3 35 HRGC-HRMS 高分解能ガスクロマトグラフ/高分解能質量分析法²⁷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²⁸
- 3 36 SIM 選択イオン検出法²⁹
- 3 37 RRF 相対感度係数³⁰
- 3 38 ND 目標定量下限値未満³¹
- 3 39 EI 法 電子イオン化³²法
- 3 40 IUPAC 国際純正及び応用化学連合³³
- 3 41 WHO 国連世界保健機関³⁴
- 3 42 QA/QC 品質保証 品質管理³⁵

4 調査対象物質

本マニュアルでは『表-1 測定対象 PBDDs, PBDFs 化合物および目標定量下限値. (p15)』に示す PBDDs および PBDFs の 2,3,7,8-位臭素置換異性体を調査対象とする。ただし、現在標準品が入手不可能な物質については、暫定的に調査対象物質より除外する³⁷。現在標準品が入手可能な物質は、PBDDs 6 種 2,3,7,8 TeBDD, 1,2,3,7,8 PeBDD, 1,2,3,4,7,8 HxBDD, 1,2,3,6,7,8 HxBDD, 1,2,3,7,8,9 HxBDD, OBDD および PBDFs 5 種 2,3,7,8 TeBDF, 1,2,3,7,8 PeBDF, 2,3,4,7,8-PeBDF, 1,2,3,4,7,8 HxBDF, 1,2,3,4,6,7,8 HpBDF である。

5 目標定量下限値

本マニュアルでは『表-1. 測定対象 PBDDs, PBDFs 化合物および目標定量下限値. (p15)』に示す目標定量下限値を設定する。

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³⁸。

6.2 試薬類³⁹

試薬類は、必要に応じて可能なものは蒸留、加熱処理、洗浄等の精製操作を行う等して、本方法によって使用する量が、PBDDs, PBDFs の定量に影響を及ぼさないことを確認した後使用する。以下に使用する試薬とその調整法の一例を示す。

6.2.1 アセトン

6.2.2 エタノール

6.2.3 ジエチルエーテル

6.2.4 ヘキサン

6.2.5 トルエン

6.2.6 シクロロメタン

6.2.7 テカン

6.2.8 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。

6.2.9 飽和シュウ酸ナトリウム水溶液

市販試薬を精製水に溶かす。必要に応じてヘキサンで洗浄する等して精製する。

6.2.10 硫酸

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

市販の試薬を 450°C で 4hrs 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

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。そのままに溶けにくい場合には全体の 1/10 量程度の精製水にとかし、エタノールで定容する。

6.2.13 水酸化カリウム水溶液

市販の試薬の適当量を精製水適当量に溶かす。必要に応じてヘキサンで洗浄する等して精製

- する
- 6 2 14 40%(w/w)硝酸銀水溶液
硝酸銀適当量を精製水適当量に溶かす。必要に応じてヘキサンで洗浄する等して精製する
- 6 2 15 シリカゲル
カラムクロマトグラフ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 18hrs 乾燥した後、密閉可能な容器に入れ、デシケーター内で保管する⁴⁰
- 6 2 16 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^{39 41}
- 6 2 17 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^{39 42}
- 6 2 18 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³⁹
- 6 2 19 2%水酸化カリウム含有シリカゲル
ダイオキシン類用分析用として市販されているもの又は同等のもの。
- 6 2 20 フロリジル
カラムクロマトグラフ用フロリジルを層の厚さを 10mm 以下にして 130°C で 16 時間加熱し、デシケーター内で放冷する このフロリジルを共栓付き三角フラスコにとり、精製水をフロリジルに対し 1%量加えて栓をし、十分振とう後、密閉可能な容器に入れ、デシケーター中で保存する
- 6 2 21 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⁴³、ロータリーエバポレーターで減圧乾燥させ、密閉可能な容器に入れ、デシケーター内で保存する
- 6 2 22 アルミナ
カラムクロマトグラフ用アルミナ(塩基性、活性度 I)は、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 活性化の必要のある場合には、ヘトリ皿に層の厚さを約 5mm 程度にして入れ 500°C で約 8 時間加熱し、デシケーター内で約 30 分間放冷後、密閉できる試薬瓶中で保存する 特に、活性化後は速やかに使用する
- 6 2 23 標準物質
『表-1 測定対象PBDDs, PBDFs化合物および目標定量下限値 (p 15)』に示す測定対象物の市販標準物質を用いる
- 6 2 24 標準溶液
市販の標準溶液をデカン⁴⁴で希釈、混合して調製する
- 6 2 25 同位体スハイク
『表-2 測定に用いる内標準物質. (p 16)』の市販標準物質を用いる
- 6 2 26 同位体スハイク溶液
市販の溶液をデカン⁴⁴で希釈、混合して調製する
- 6 3 器具・機材

631 分析前処理器具・機材

使用する全ての器具及び装置には PBDDs, PBDFs の測定分析に影響を及ぼさないことが要求される。分析途中の試料の汚染を防ぐ観点から使用する全ての器具等は母乳分析専用とすることが望ましい。GC-MS も超微量ダイオキシン類専用のものを用いるのが望ましい。

6311 乾燥機

ガラス製品及び試薬類を加熱処理するもの (450°C程度で連続使用可能なもの)

6312 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)

6313 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⁴⁶。

6314 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

6315 冷却水循環装置

ソックスレー抽出器, ロータリーエバポレーターの冷却管 (コンデンサー) に使用する

6316 ガス吹き付け装置

抽出精製試料を濃縮するために使用する

6317 シリカゲルカラムクロマト管

内径約 10mm, 長さ約 300mm のガラス製カラムクロマト管にシリカゲル 20g, (130°C, 3 時間活性化したもの), 無水硫酸ナトリウム 10g をヘキサンで湿式充填する。ヘキサン 200mL を流速 2.5mL/min で流し, 充填物を洗浄する⁴⁷

6318 フロリジルカラムクロマト管

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フロリジルを 5g(130°C, 3 時間活性化後, 1%の水を加えたもの), 硫酸ナトリウムを 10g をヘキサンで湿式充填する。ヘキサン 100mL を流速 2.5mL/min で流し, 充填物を洗浄する⁴⁸

6319 多層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 0.5g, 2%水酸化カリウム含有シリカゲル 1g, シリカゲル 0.5g, 44%硫酸シリカゲル 5g, 22%硫酸シリカゲル 30g, シリカゲル 0.5g, 10%硝酸銀-シリカゲル 30g, 無水硫酸ナトリウム 20g を順次ヘキサンで湿式充填する⁴⁹。ヘキサン 50mL を流速 2.5mL/min で流し, 充填物を洗浄する⁵¹

63110 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 10g, 活性炭シリカゲル 1g, 最後に無水硫酸ナトリウム 1g を乾式充填する⁵¹

63111 アルミナカラムクロマト管

内径約 10mm, 長さ約 300mm のガラス製カラムクロマトグラフ管にアルミナ 10g をヘキサンで湿式充填する。ヘキサンを流下させ, アルミナ層を安定させた後, その上に硫酸ナトリウムを約 10mm の厚さになるように載せ, ヘキサン 100mL を流速 2.5mL/min で流し, 充填物を洗浄する⁵²

632 カスクロマトグラフ/質量分析計 (GC-MS)

高分解能カスクロマトグラフ/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

6321 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

6322 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 15~60m の溶融シリカ製のものであって、内面に液相を塗布したもの 通常、微極性(5%フェニルメチルシリコン系)のものを用いるが必要に応じて中極性(25%フェニルメチルシリコン系)及び強極性(シアノプロピル系)のものを用いる また、さまざまな要因を考慮し、長さや極性の異なるカラムの併用が望ましい PBDDs 及び PBDFs 測定用のカラムとしては、HP 5(HP 社製)、DB 17,DB 1(J&W 社製)、BPX 5(SGE 社製)、CP Sil88(クロムハック社製)、DB 5MS(J&W 社製)、HT 8(SGE 社製)などがある。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を使用しなければならない訳ではない

6323 質量分析計 (MS)

二重収束型のもので、ロックマス方式⁵³により分解能 10,000 以上⁵⁴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、イオン化電圧を 25~70eV 程度に制御可能なもの 検出法として SIM 法が可能であり、電圧スイッチング使用時の必要な測定質量数のチャンネル数、感度、安定性の関係から SIM 法における周期を最大でも 1 sec 未満にできるもの⁵⁵ 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-TeBDD 20fg で SN>5, OBDD 1000fg で SN>5 の検出感度を得られるものが望ましい

6324 試料導入部

スプリットレス方式又はオンカラム注入方式で最高使用温度が 240~300°C⁵⁶であること 感度を稼ぐ目的で大量注入方式やマルチディメンション方式を採用してもよい

6325 キャリアーガス

純度 99.999%以上の高純度ヘリウム⁵⁷

7 調査計画

目的を明らかにし、調査計画を作成する 調査計画によっては採乳対象者に関して実際に採乳が可能であるかどうか事前に健康診断を行う また、採乳時期と量といった事項に関しても注意を払う必要がある

8 試料採取

採取は、母乳提供者本人あるいは医師、看護師(保健士、助産士を含む)が行う 通常の試料採取には 50~100mL のガラス製容器、フッ素樹脂製容器あるいは採乳ハグなどを使用する 試料は 50~100g 程度を採取する(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、変質や脂肪の分離を避けるため、採取後すぐによく攪拌し、分析するまで冷凍し暗所に保存する。

9 測定分析

91 測定方法の概要

同位体希釈質量分析法 (IDMS) による すなわち、試料に内部標準物質として定量する目的化合物の ^{13}C 同位体を添加 (スハイク) し、有機溶媒によって PBDDs, PBDFs を抽出し、精製し、GC-MS を用いて同位体比を測定する 分析方法のフロー例を図-1 に示す

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

92 前処理

前処理操作にあたって、一切の試料の取り扱い及び操作は照明度の低い環境で実施することが望ましい 抽出及びクリーンアップ時に使用する容器は、褐色のガラス製容器などを用いて遮光する

921 試料

採取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、二重測定ダイオキシン類分析用 (必要に応じて)、2 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

922 同位体スハイクの添加

試料を解凍後、約 50~100 g の試料を量り取り、同位体スハイクを一定量添加し⁸⁾、攪拌する なお、同位体スハイクの添加量は各化合物 100~1000pg 程度とする⁹⁾

923 脂質の抽出

シュウ酸ナトリウム飽和水溶液 10mL, ジエチルエーテル 50mL, エタノール 20mL を順に加え、その都度よく攪拌する 最後にヘキサン 30mL を加え、10 分間振とう抽出を行う ヘキサン層を分画後、残層にヘキサン 30mL を添加し、更に 10 分間振とう抽出を行う この操作をもう 1 回繰り返す、計 3 回の抽出によるヘキサン分画を混合する 得られたヘキサン分画を精製水 50mL で 2 回洗浄した後、水層を捨てる 得られたヘキサン分画を精製水 50mL で 2 回洗浄したもので脱水する

924 脂質濃度の測定

あらかじめ 105°C で 3 時間加熱、放冷し、あらかじめ重量を測定したナス型フラスコに、脂質抽出液を移し、これをロータリーエバポレーターでヘキサンがなくなるまで濃縮する フラスコの外部に付着する水をよく拭いて除いた後、放冷し、重量を測定する ヘキサンの残留や水分の残留のないように十分に留去する 水の残留がある時は、110°C で 1 時間程度加熱すると除くことができる 得られた重量の差を抽出物重量とし、これを脂肪の重量とみなす

925 アルカリ分解

100mL の三角フラスコに正確に秤量した脂肪 (1g 程度) をエタノール 20mL に溶解したものを加える。ここに 2mol/L 水酸化カリウム/エタノール溶液 10mL を加えてよく振とうし、室温で 1~2 時間振とうまたは一夜静置する。この溶液に精製水 60ml を加え、ヘキサン 50ml で振とう抽出を 3 回行う。

926 硫酸処理

秤量した脂肪全量をヘキサン 100mL に溶解し、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 この操作を硫酸層の着色が薄くなるまで繰り返す

927 水洗・濃縮

アルカリ分解で得られたヘキサン抽出液あるいは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

93 カラムクロマトグラフィー

アルカリ分解あるいは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。なお、ここではシリカゲルカラムクロマトグラフ、硝酸銀カラムクロマトグラフ、多層シリカゲルカラムクロマトグラフ、フロリジルカラムクロマトグラフ、活性炭カラムグラフ、アルミナカラムクロマトグラフが示されている。必要に応じてこれらを組み合わせるが、前3者はクリーンアップのために、後3者はクリーンアップおよびPBDDs/PBDFsとPBDEsなど妨害物質とのフラクション分離のために使用される。なお、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ため示したものであり、分画試験を行って決定する⁸⁰また、一般的な臭素化ダイオキシン類の分析フロー図を図-1に示した。

931 シリカゲルカラムクロマトグラフィー

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

9311 シリカゲルクロマトグラフィー

シリカゲルクロマト管の液面を無水硫酸ナトリウム層まで下げ、調製した試料を静かに移し入れ、少量のヘキサンで洗い込み、液面を無水硫酸ナトリウム層まで下げる。ヘキサン 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、フロリジルカラムクロマトグラフィ、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

9312 多層シリカゲルカラムクロマトグラフィー

多層シリカゲルクロマト管の液面を無水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。5%ジクロロメタン含有ヘキサン 100mL を流速 2.5mL/min で流し展開溶出させる。得られた溶出液をロータリーエバポレーターにて約 2mL まで濃縮し、フロリジルカラムクロマトグラフィ、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

932 フロリジルクロマトグラフィー

シリカゲルカラムで得た画分の濃縮液をカラムに注入し、ヘキサン溶液 100ml を 2.5mL/min で流下させ、第1画分を得る。ここには、PBDEs類が含まれている。次いで、60%ジクロロメタン含有ヘキサン溶液 200ml を 2.5mL/min で流下させ、第2画分を得る。ここには、PBDDs/DFs類が含まれている。この第2画分を濃縮し、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

933 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。次いで、トルエン 250ml で溶出する。この画分には PBDDs, PBDFs の他、PCDDs, PCDFs 及び non-ortho-CBs が含まれる。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⁶¹、濃縮した後、各画分に測定に必要なシリンススハイク⁶²を添加して GC-MS 分析用溶液とする

934 アルミナカラムクロマトグラフィ

アルミナカラムクロマト管に調製した試験溶液を静かに移し入れ、ヘキサン 1mL で数回洗い込み、液面を硫酸ナトリウム層まで下げた後、2%ジクロロメタン含有ヘキサン溶液 100mL を約 2.5mL/min で流して第1画分を得る。この画分は測定が終了するまで保管する。更に

50%ジクロロメタン含有ヘキサン溶液 100mL を約 2.5mL/min で流して第 2 画分を得る。この画分には PBDDs 及び PBDFs が含まれる。第 2 画分をロータリーエバポレーターを用いて濃縮し、シリンジスパイクを添加して GC/MS 用溶液とする

94 ガスクロマトグラフ/質量分析計の状態確認

941 GC/MS 測定条件の設定及び状態の確認

測定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出来るかどうか確認しておく。(QA・QC 参照)

942 検量線の作成 (RRF と RRFss の算出)

新たに GC/MS 装置を導入した場合及び標準溶液を変更した場合には、新たに検量線を作成して、RRF (各分析対象物質とそれに対応する同位体スパイク内標準物質との相対感度係数) 及び RRFss (同位体スパイク内標準物質とそれに対応するシリンジスパイク内標準物質との相対感度係数) を求める。各分析対象物質に対して、0.1~500 ng/ml の濃度範囲で 5 段階程度の標準溶液を調整する。この標準溶液には、定容前に、あらかじめ同位体スパイク及びシリンジスパイクに用いたものと同じ内標準物質を、5.50ng/ml となるように添加しておく⁶³。標準溶液の 1μl を GC/MS に注入し、各分析対象物質のクロマトグラムを記録する⁶⁴。各分析対象物質の二つのモニター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。各分析対象物質の対応する内標準物質 (同位体スパイク) に対するピーク面積の比と、注入した標準溶液中の各分析対象物質と内標準物質 (同位体スパイク) の濃度の比を用いて、検量線を作成し、相対感度係数 (RRF) を算出する。各検量線作成用標準液を 1 濃度に対して最低 3 回 GC/MS に注入し全濃度領域で 15 点以上のデータを得る

9421 相対感度係数 (RRF) の算出

$$RRF = (ASTD \times CSTD \text{ IS}) / (ASTD \text{ IS} \times CSTD)$$

ASTD 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

ASTD-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

CSTD 標準溶液中の各化合物の量 (pg)

CSTD IS 標準溶液中の各同位体スパイクの量 (pg)

検量線の作成では、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。その平均値を RRF とする。この時のデータの変動係数は 20% 以内でなければならない。また、検量線データより、最小二乗法で一次回帰直線を求め、その傾きを RRF としてもよい。この場合直線性が十分であるとともに関係式の切片が限りなく 0 (ゼロ) に近いこと。

9422 相対感度係数 (RRFss) の算出

内標準物質 (同位体スパイク) の内標準物質 (シリンジスパイク) に対する相対感度係数 (RRFss) を次式により算出する。

$$RRF_{ss} = (ASTD \text{ IS} \times CSTD \text{ SS}) / (ASTD \text{ SS} \times CSTD \text{ IS})$$

ASTD 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

ASTD SS 標準溶液中のシリンジスパイクのクロマトグラムピーク面積値

CSTD IS 標準溶液中の各同位体スパイクの量 (pg)

CSTD SS 標準溶液中のシリンジスパイクの量 (pg)

95 測定

標準溶液及び試料の適当量を GC/MS に注入⁶⁵し、各同族体につき『表 4 測定質量数の例、(p18)』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。PBDDs 及び PBDFs の測定においては、2,3,7,8-位臭素置換異性体のクロマトグラム上でのピークが他の異性体のものと良好な分離が得られ、

各臭素化物の保持時間が適切な範囲にあり、安定した応答が得られるように、カラム槽温度、注入口温度、キャリアーガス流量などを設定する⁸⁸ 『表 8 PBDDs 及び PBDFs のガスクロマトグラフ質量分析計の測定条件例, (p22)』にその一例を示す ここに示す条件は、参考として示したものである

96 試料中濃度の算出

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)

PBDDs 及び PBDFs 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-位臭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 但し、標準物質が得られない場合は入手可能になるまでに測定対象からはずしておく

961 回収率の算出

内標準物質 (同位体スパイク) のクロマトグラムピーク面積値と内標準物質 (シリンジスハイク) のクロマトグラムピーク面積値の比、及び対応する相対感度係数 (RRF_{SS}) を用いて、次式により、回収率を算出する。

$$R_c = (A_{\text{Sample-IS}} \times C_{\text{Sample-SS}} \times 100) / (A_{\text{Sample-SS}} \times \text{RRF}_{\text{SS}} \times C_{\text{Sample-IS}})$$

$A_{\text{Sample-IS}}$ 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

$C_{\text{Sample-SS}}$ 分析試料中のシリンジスハイクの量 (pg)

$A_{\text{Sample-SS}}$ 分析試料中のシリンジスハイクのクロマトグラムピーク面積値

RRF_{SS} 検量線作成時に求めた内標準物質 (同位体スパイク) の内標準物質 (シリンジスハイク) に対する相対感度係数

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

97 測定結果の表記方法

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

971 PBDDs, PBDFs の同定

PBDDs 及び PBDFs 各異性体は、モニターした 2 つ以上のイオンにおけるクロマトグラム上のピーク面積の比が標準物質のものとはほぼ同じであり、臭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、更にピークの保持時間が標準物質及び対応する内標