

てはディスク型固相抽出法には及ばない。以上よりディスク型は従来法およびカートリッジ型の代替として、精度面を満たした迅速な簡易法であることがわかった。また、これまでに抽出工程がこれだけ短時間で達成できた報告はなく、本法は血液中の HRGC-HRMS を用いた WHO による 29 種のダイオキシン類の分析に関してこれまでのどの前処理法のよりも迅速であると言える。以上より、本法は危急を要する人体汚染スクリーニングの場合の迅速な簡易前処理法として、大きな効果が期待できる。

D. 結論

- 1) 添加回収率においては、ディスク型固相抽出法は従来法に比べて T から PeCB および TCDD/F で約 10%程度低かったが有意差はなく、60%を超えているため、定量上、十分に適用可能であった。
- 2) ディスク型固相抽出法はカートリッジ型固相抽出法並びに従来法の液々抽出法と遜色ない定量値が得られ、その RSD%から再現性も充分であった。
- 3) 固相抽出工程においてディスク型固相抽出法はカートリッジ型固相抽出法に対して試料の通液工程で約 1/10、通液後の固相の乾燥工程に 1/6 の時間しかかからず、結果的に 2 時間以上の作業工程時間の短縮が可能となった。
- 4) ディスク型固相抽出法は従来法およびカートリッジ型固相抽出法の代替として、精度面を満たした迅速な簡易法である上、これまでに抽出工程がこれだけ短時間で達成できた報告はなく、本法は血液中の HRGC-HRMS を用いた WHO による 29 種のダイオキシン類の分析に関してこれまでのどの前処理法のよりも迅速であると言える。本法は危急を要する人体汚染のスクリーニングの場合の迅速な簡易前処理法として、大きな効果が期待できる。

E. 参考文献

- 1) Iida T, Hirakawa H, Matsueda T, Takenaka S, Yu ML, Guo YL, *Chemosphere*, **38**, 981-993 (1999)
- 2) Iida T, Hirakawa H, Matsueda T, Nagayama J, Nagata T., *Chemosphere*, **38**, 2767-2774 (1999)
- 3) Iida T, Hirakawa H, Matsueda T, Takenaka S, Nagayama J., *Chemosphere*, **38**, 3497-3502 (1999)
- 4) Kitamura K, Yoshikawa K, Iwama M, Nagao M. *J. Toxicol. Sci.*, **26**, 163-168 (2001)

- 5) Kitamura K, Nagao M, Yamada T, Sunaga M, Hata J, Watanabe S. *J. Toxicol. Sci.*, **26**, 327-336 (2001)
- 6) Kitamura K, Mochizuki A, Choi JW, Takazawa Y, Hashimoto S, Ito H, Fujimine Y, Morita M. *Analyst*, **129**, 315-322 (2004)
- 7) Chang RR, Jarman WM, King CC, Esperanza CC, Stephens RD. *Chemosphere*, **20**, 881-886 (1990)
- 8) Chang RR, Jarman WM, Hennings JA. *Anal. Chem.*, 1993, **65**, 2420-2427 (1993)
- 9) Chen C-Y, Hass JR, Albro PW. *Environ. Sci. Technol.*, **34**, 5172-5176 (2000)
- 10) Kitamura K, Nagao M, Choi J-W, Hashimoto S, Ito H, Morita M. *Analyst*, **128**, 986-993 (2003)
- 11) 北村公義、高澤嘉一、崔宰源、橋本俊次、伊藤裕康、森田昌敏：第13回環境化学討論会要旨集、(2004)

F.研究業績

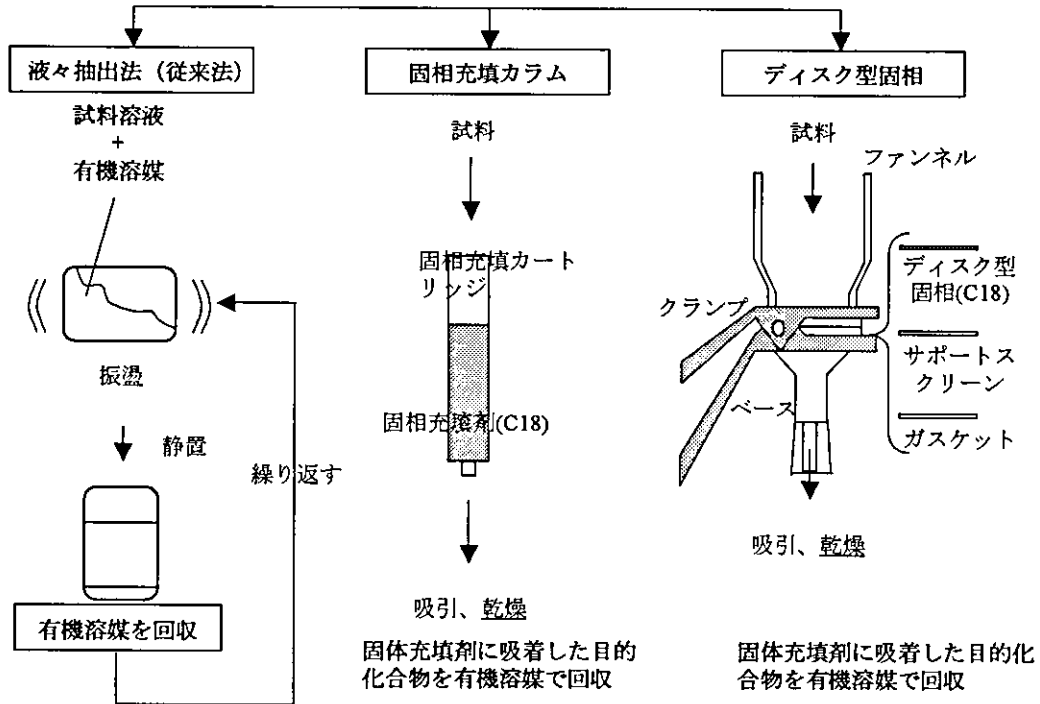
1.論文発表

- 1) Kitamura K, Takazawa Y, Choi JW, Hashimoto S, Ito H and Morita M. Effective pretreatment method for dioxin analysis from serum matrices. (In preparation, 2005)

2.学会発表

- 1) 北村公義、高澤嘉一、崔宰源、橋本俊次、伊藤裕康、森田昌敏：第13回環境化学討論会要旨集、(2004)

検討内容：プール血清試料を用い実測地と回収率で比較する。



研究の背景

メリット

1. 液々抽出法より短時間で実施可能。
2. 使用有機溶媒量が少ない。
3. 下部にカラムを連結できるので抽出液の濃縮なしでカラムクリーンアップが可能。

- 1-3. 固相充填カラム法の全てのメリットに加え、
4. 短時間で試料通液と通液後の抽出ディスクを乾燥できるため従来法に比べると大幅な時間短縮が可能。
5. 廃棄物は少量の有機溶媒とディスクのみ (または充填する手間が不要。)

デメリット

1. 振盪→静置→回収に時間がかかる。(繰り返すが必要)
2. 最も有機溶媒を用いるためその廃棄量も多い。
3. 抽出液をカラムクリーンアップに添加するためにエバポレータなどによる濃縮工程が必要

1. 試料通液後の乾燥に数時間必要。
2. 市販充填済カートリッジ使用の場合はカートリッジ全体が廃棄物となる。(手詰めの場合は充填に手間がかかる。)

ディスクが若干高価。

所要時間：6-8時間

所要時間：3-4時間

所要時間：1時間未満

図1 研究の概要と背景 (従来法の問題点と簡易法の利点)

25 g 血清
汎用されている液々抽出法(対照)
15 ml 飽和硫酸添加、振盪
60 ml エタノール/ヘキサン(v/v, 1:3)添加、30分振盪、上層を収集。
30 ml ヘキサンを添加し、30分振盪、上層を収集。(2回実施)
集めた上層を濃縮、(脂質重量測定時は乾燥)
ヘキサン約2 mlに溶解させ、6層シリカゲルカラム ⁶⁾ に添加、50 mlのヘキサンで溶出後、約0.3 mlに濃縮。
試料液を0.2 g 活性炭分散シリカゲルリバーサラム ¹¹⁾ に添加。操作法は図1に従った。

図2 血清試料における固相抽出法の対照としての液々抽出法

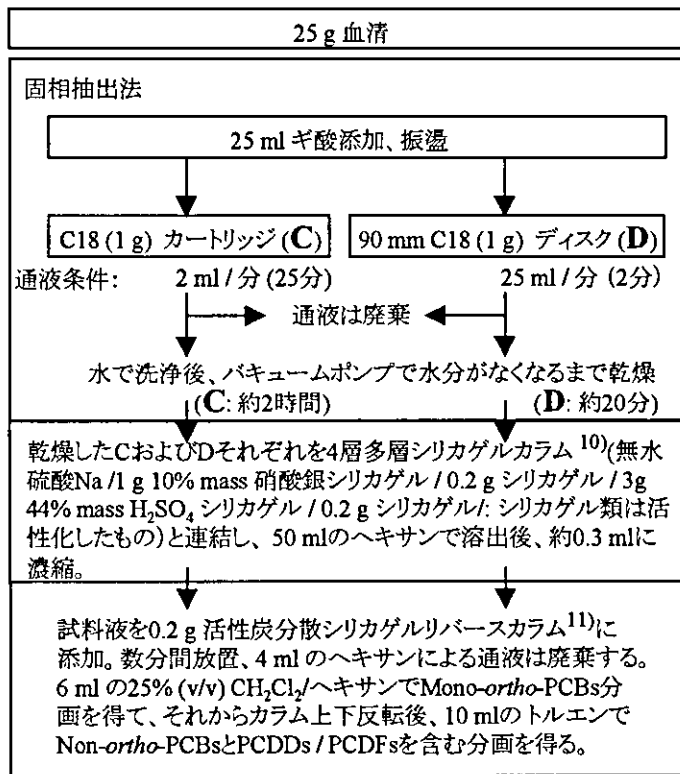


図3 血清試料におけるC18シリカゲルカートリッジおよびディスクによる簡易抽出法

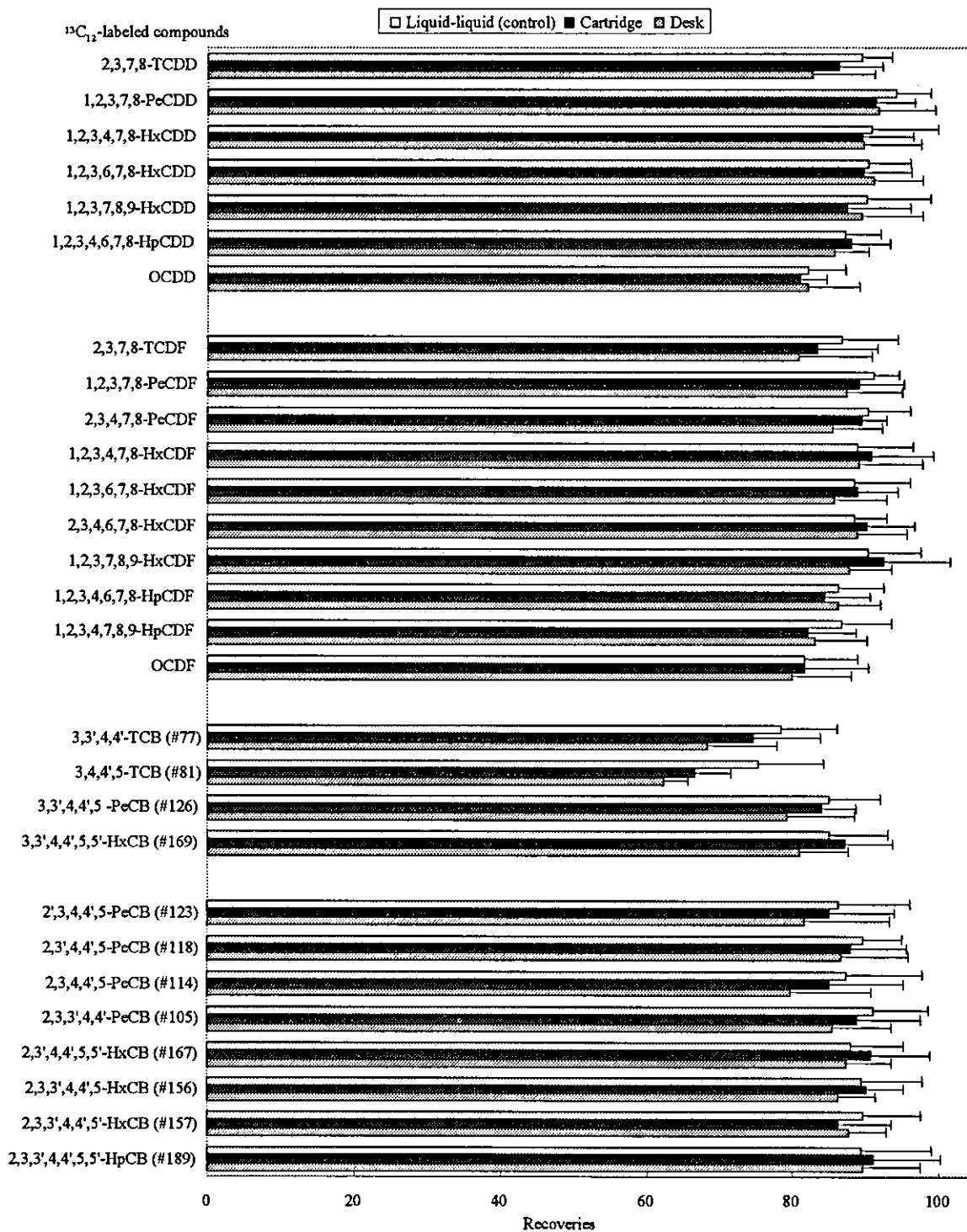


図4 従来法とディスク型並びにカートリッジ型による固相抽出法による血清試料マトリックスでの回収率比較

表1 測定したWHO/IPCS(1997)に基づく29種のダイオキシン類

<ul style="list-style-type: none"> • PCDDs 2,3,7,8-TCDD 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 	<ul style="list-style-type: none"> • PCDFs 2,3,7,8-TCDF 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 	<ul style="list-style-type: none"> • Non-ortho-PCBs 3,3',4,4'-TCB (#77) 3,4,4',5-TCB (#81) 3,3',4,4',5'-PeCB (#126) 3,3',4,4',5,5'-HxCB (#169) • Mono-ortho-PCBs 2',3,4,4',5-PeCB (#123) 2,3',4,4',5-PeCB (#118) 2,3,4,4',5-PeCB (#114) 2,3,3',4,4'-PeCB (#105) 2,3',4,4',5,5'-HxCB (#167) 2,3,3',4,4',5-HxCB (#156) 2,3,3',4,4',5'-HxCB (#157) 2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (#189)
--	---	--

TCDD: tetrachlorinated dibenzo-p-dioxin, PeCDD: pentachlorinated dibenzo-p-dioxin, HxCDD: hexachlorinated dibenzo-p-dioxin, HpCDD: heptachlorinated dibenzo-p-dioxin, OCDD: octachlorinated dibenzo-p-dioxin, TCDF: tetrachlorinated dibenzofuran, PeCDF: pentachlorinated dibenzofuran, HxCDF: hexachlorinated dibenzofuran, HpCDF: heptachlorinated dibenzofuran, OCDF: octachlorinated dibenzofuran, TCB: tetrachlorinated biphenyl, PeCB: pentachlorinated biphenyl, HxCB: hexachlorinated biphenyl, HpCB: heptachlorinated biphenyl

表2 HRGC-HRMS条件

HRGC (6890 series GC system, Agilent, USA)

GC capillary column

Mono-ortho-PCBs: CP-Sil 8 CB low bleed/MS (VARIAN), 30 m × 0.25 mm ID, 0.25 mm film thickness

Non-ortho-PCBs and PCDDs/DFs: CP-Sil 8 CB low bleed/MS (VARIAN), 60 m × 0.25 mm ID, 0.25 mm film thickness

Ramp of oven temp.

Injection Port Temp. (270°C)

Mono-ortho-PCBs: 120°C (1 min)-(30°C min⁻¹)-200°C (0 min)-(5°C min⁻¹)-270°C (1 min)

Non-ortho-PCBs and PCDDs/DFs: 120°C (1.5 min)-(15°C min⁻¹)-200°C (0 min)-(3°C min⁻¹)-300°C (0 min)-(5°C min⁻¹)-310°C (5 min)

Injection mode: Splitless mode

Carrier gas: high-purity helium, above 99.9999%

Gas flow mode: constant flow (1 ml min⁻¹)

HRMS (JMS 700, JEOL, Japan)

Ionizing current: 700 μA

Accelerating voltage: 10 kV

Ionizing energy: 42 eV

Ion multiplier voltage: 1.2 kV

Ion source temperature: 270°C

Resolution: R > 8,000 (10% valley)

Measurement of Mass: Selected Ion Monitor (SIM) * using perfluorokerosene (PFK)

[¹²C₁₂]- and [¹²C₁₂]-TCB, TCDD/F, PeCDD

M+, (M+2)+

[¹²C₁₂]- and [¹²C₁₂]-Pe-HpCB, PeCDF, Hx-OCDD/F

(M+2)+, (M+4)+

* Identification: When the peak area ratio on the chromatogram for two monitored ions is almost equal to that of the standard substance and ion strength ratio is within ±15%, against those of values estimated with the isotopic abundance of chlorine atoms.

表3 従来法とディスク型並びにカートリッジ型による固相抽出法による血清試料中ダイオキシン類分析への適用性の検討結果

Compounds	Means of levels (pg/g wet sample), RSDs (%)					
	Liquid / Liquid-extraction, n=3 (control)		C18-Cartridge-extraction, n=3		C18-Disk-extraction, n=3	
PCDDs						
2,3,7,8-TCDD	9.4	13	9.4	11	9.2	9
1,2,3,7,8-PeCDD	35	7	35	7	34	8
1,2,3,4,7,8-HxCDD	26	16	27	14	26	10
1,2,3,6,7,8-HxCDD	270	7	270	7	270	7
1,2,3,7,8,9-HxCDD	31	12	32	12	31	10
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	220	10	220	9	220	8
OCDD	1800	9	1900	8	1800	6
PCDFs						
2,3,7,8-TCDF	4.1	12	4.2	11	4.2	12
1,2,3,7,8-PeCDF	2.6	11	2.7	14	2.7	14
2,3,4,7,8-PeCDF	34	8	35	9	34	8
1,2,3,4,7,8-HxCDF	41	14	41	12	40	9
1,2,3,6,7,8-HxCDF	30	11	30	8	29	10
2,3,4,6,7,8-HxCDF	5.1	14	5.2	14	5.1	13
1,2,3,7,8,9-HxCDF	nd ^a		nd		nd	
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	92	8	94	9	93	9
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	nd		nd		nd	
OCDF	nd		nd		nd	
Non-ortho-PCBs						
3,3',4,4'-TCB (#77)	48	10	48	9	47	7
3,4,4',5-TCB (#81)	nd		nd		nd	
3,3',4,4',5-PeCB (#126)	130	9	140	7	130	9
3,3',4,4',5,5'-HxCB (#169)	150	9	150	9	150	8
Mono-ortho-PCBs						
2',3,4,4',5-PeCB(#123)	1100	4	1100	5	1100	7
2,3',4,4',5-PeCB(#118)	66000	9	66000	8	63000	5
2,3,4,4',5-PeCB(#114)	8000	10	8100	9	7900	10
2,3,3',4,4'-PeCB(#105)	16000	12	16000	11	15000	9
2,3',4,4',5,5'-HxCB(#167)	13000	7	13000	5	12000	7
2,3,3',4,4',5-HxCB(#156)	46000	10	47000	10	45000	8
2,3,3',4,4',5-HxCB(#157)	11000	4	11000	5	11000	7
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB(#189)	5000	12	5100	11	4900	10
Congener group-TEQ						
PCDDs	79	8	80	8	78	7
PCDFs	26	9	27	9	26	9
Non-ortho-PCBs	15	9	15	7	15	9
Mono-ortho-PCBs	42	9	42	9	41	8
Total dioxins	160	8	160	8	160	8

^a: Not detected

別添2 母乳中の臭素化ダイオキシン類の測定マニュアル (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、本マニュアル(案)は、今後の科学的知見の発展、標準試薬類の整備などを受け、一部改訂されるものである。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

ポリプロモジベンゾ-パラ-ジオキシン (PBDDs) とポリプ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、ペンタ、ヘキサ、ヘプタおよびオクタプロモジベンゾ-パラ-ジオキシンおよびテトラ、ペンタ、ヘキサ、ヘプタおよびオクタプロモジベンゾフランを指す。

2.2 PBDDs および PBDFs の 2,3,7,8-位臭素置換異性体

PBDDs および PBDFs のうち、化学構造上 2, 3, 7 および 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化合物の一群。

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 $SN=3$ 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 $SN=3$ 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、 $SN=3$ 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-パラ-ジオキシン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-パラ-ジオキシン⁷
- 3.4 PeBDDs : ペンタブロモジベンゾ-パラ-ジオキシン⁸
- 3.5 HxBDDs : ヘキサブロモジベンゾ-パラ-ジオキシン⁹
- 3.6 HpBDDs : ヘプタブロモジベンゾ-パラ-ジオキシン¹⁰
- 3.7 OBDD : オクタブロモジベンゾ-パラ-ジオキシン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-パラ-ジオキシン
- 3.14 1,2,3,7,8-PeBDD : 1,2,3,7,8-ペンタブロモジベンゾ-パラ-ジオキシン
- 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-パラ-ジオキシン
- 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-パラ-ジオキシン
- 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-パラ-ジオキシン
- 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-パラ-ジオキシン
- 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-ペ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-ペ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ィー/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ィー/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 N.D. : 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 : 国際純正および応用化学連合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
- 3.43 QCCS：品質管理チェック試料³⁶

4 調査対象物質

本マニュアルでは『表-1. 測定対象 PBDDs および PBDFs 化合物および目標定量下限値 (p.16)』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 6 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, OBDF 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 および PBDFs 化合物および目標定量下限値 (p.16)』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 および PBDFs の定量に影響をおよ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製法の一例を示す。

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 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 ジクロロメタン //

6.2.7 ノナン //

6.2.8 デカン //

6.2.9 塩化ナトリウム

残留農薬用、または同等の純度を有するもの。

6.2.10 精製水

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

6.2.11 シュウ酸カリウム水溶液

高純度の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。

6.2.12 硫酸

高純度の試薬を使用する。必要に応じてヘキサンで洗浄する等して精製する。

- 6.2.13 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。
- 6.2.14 2 mol/L 水酸化カリウム/エタノール溶液
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。そのまままで溶けにくい場合には全体の1/10量程度の精製水に溶かし、エタノールで定容する。
- 6.2.15 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に適量溶かす。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 40% (w/w) 硝酸銀水溶液
高純度の硝酸銀を精製水に適量溶かす。必要に応じてヘキサンで洗浄する等して精製する。
- 6.2.17 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10 mm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、デシケータ内で保管する⁴⁰。
- 6.2.18 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、デシケータ内で保管する^{40, 41}。
- 6.2.19 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、デシケータ内で保管する^{40, 41}。
- 6.2.20 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、デシケータ内で保存する。調製および保管は遮光した状態で行う⁴⁰。
- 6.2.21 2% 水酸化カリウム含有シリカゲル
水酸化カリウム水溶液をシリカゲルに、水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、デシケータ内で保存する⁴⁰。
- 6.2.22 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10 mm以下にして130°Cで16時間加熱し、デシケータ内で放冷する。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、デシケータ中で保存する⁴⁰。
- 6.2.23 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⁴²、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、デシケータ内で保存する⁴⁰。
- 6.2.24 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、ペトリ皿に層の厚さを約5 mm程度にして入れ500°Cで約8時間加熱し、デシケータ内で約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⁴⁰。

- 6.2.25 標準物質
『表-1. 測定対象 PBDDs および PBDFs 化合物および目標定量下限値 (p.16)』に示す測定対象物の市販標準物質を用いる。
- 6.2.26 標準溶液
市販の標準溶液をノナンまたはデカン⁴³で希釈、混合して調製する。
- 6.2.27 内標準物質 (クリーンアップスパイクおよびシリンジスパイク)
『表-3. 標準物質と内部標準物質の対応例 (p.18)』に示す市販標準物質を用いる。
- 6.2.28 内標準物質溶液
市販の溶液をノナンまたはデカン⁴⁵で希釈、混合して調製する。
- 6.3 器具・機材
- 6.3.1 分析前処理解器具・機材
使用する全ての器具および装置には PBDDs および PBDFs の測定分析に影響をおよ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。
- 6.3.1.1 乾燥機
ガラス製品およ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)。
- 6.3.1.2 マッフル炉
セラミック製品 (主に GC-MS のイオン源部品など) 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やエアフィルターを装着したり、また、トラップ球を使用したりする等して汚染を防ぐようにすることが望ましい⁴⁴。
- 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 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。
- 6.3.1.6 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。
- 6.3.1.7 シリカゲルカラムクロマトグラフ管
内径約 10 mm, 長さ約 300 mm のガラス製カラムクロマト管にシリカゲル 2.0 g (130°C, 3 時間活性化したもの)、無水硫酸ナトリウム 1.0 g をヘキサンで湿式充てんする。ヘキサン 200 ml を流速 2.5 ml/min で流し、充てん物を洗浄する⁴⁵。
- 6.3.1.8 フロリジルカラムクロマトグラフ管
内径約 15 mm, 長さ約 300 mm のガラス製カラムクロマト管にフロリジルを 5 g (130°C, 3 時間活性化後、1%の水を加えたもの)、無水硫酸ナトリウム 1.0 g をヘキサンで湿式充てんする。ヘキサン 100 ml を流速 2.5 ml/min で流し、充てん物を洗浄する⁴⁵。
- 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 10 mm, 長さ約 300 mm のガラス製カラムクロマト管にシリカゲル 0.5 g, 2%水酸化カリウム含有シリカゲル 1 g, シリカゲル 0.5 g, 44%硫酸含有シリカゲル 5 g, 22%硫酸含有シリカゲル 3.0 g, シリカゲル 0.5 g, 10%硝酸銀含有シリカゲル 3.0 g, 無水硫酸ナトリウム 2.0 g を順次ヘキサンで湿式充てんする⁴⁶。ヘキサン 50 ml を流速 2.5 ml/min で

- 流し、充てん物を洗浄する⁴⁵
- 6.3.1.10 活性炭シリカゲルカラムクロマトグラフ管
内径約 10 mm, 長さ約 150 mm のガラス製カラムクロマト管に、無水硫酸ナトリウム 1.0 g, 活性炭シリカゲル 1.0 g, 最後に無水硫酸ナトリウム 1.0 g を乾式充てんする⁴⁵。
- 6.3.1.11 アルミナカラムクロマトグラフ管
内径約 10 mm, 長さ約 300 mm のガラス製カラムクロマト管にアルミナ 10 g をヘキサンで湿式充てんする。ヘキサンを流下させ、アルミナ層を安定させた後、その上に無水硫酸ナトリウムを約 10 mm の厚さになるようにのせ、ヘキサン 100 ml を流速 2.5 ml/min で流し、充てん物を洗浄する⁴⁵。
- 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 0.22~0.32 mm, 長さ 15~60 m の熔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、無極性 (100%メチルシリコン系)、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 (50%フェニルメチルシリコン系) 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⁴⁷。
- 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⁴⁸により分解能 10,000 以上⁴⁹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 25~70 eV 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 秒未満にできるもの⁵⁰。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 100 fg で S/N>5, OBDD 5000 fg で S/N>5 の検出感度を得られるものが望ましい。
- 6.3.2.4 試料導入部
スプリットレス方式またはオンカラム注入方式で最高使用温度が 240~300°C⁵¹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ジョン方式を採用してもよい。
- 6.3.2.5 キャリアーガス
純度 99.999% 以上の高純度ヘリウム⁵²。

7 調査計画

採乳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。調査の目的および背景、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、採乳時の事故を防ぐため、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が望ましい。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、その際はそれらに従うこと。

8 試料採取

採取は、母乳提供者本人あるいは医師、看護師（保健師、助産師を含む）、本人が協力を希望するものが行う。通常の試料採取には50~100 mlの採乳バッグ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100 ml程度を採取し、2回分として小分けし（1回50 ml）、また一部は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

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PBDDsおよび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（p.23）に示す。

なお、PBDDsおよび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。

9.2 前処理

前処理操作にあたって、一切の試料の取り扱いおよび操作は照明度の低い環境で実施することが望ましい。抽出およ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。

9.2.1 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。

9.2.2 内標準物質（クリーンアップスパイク）の添加

試料を解凍後、約50~100 gの試料を量り取り、クリーンアップスパイクを一定量添加し⁵³、攪拌する。なお、クリーンアップスパイクの添加量は各化合物100~5000 pg程度とする⁵⁴。

9.2.3 脂質の抽出

25%シユウ酸カリウム水溶液2 ml、エタノール50 ml、ジエチルエーテル25 mlを順に加え、その都度よく攪拌する。最後にヘキサン30 mlを加え、10分間振とう抽出を行う。ヘキサン層を分取後、残層にヘキサン30 ml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2%塩化ナトリウム含有精製水50 mlで2回洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで脱水する。

9.2.4 脂質濃度の測定

あらかじめ105℃で3時間加熱、放冷し、重量を測定し恒量となったことを確認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℃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。

9.2.5 アルカリ分解

100 mlの三角フラスコに正確に秤量した脂肪（1 g程度）をエタノール20 mlに溶解したものを加える。ここに2 mol/L水酸化カリウム/エタノール溶液10 ml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60 mlを加え、ヘキサン50 mlで振とう抽出を3回行う。

9.2.6 硫酸処理

秤量した脂肪全量をヘキサン 100 ml に溶解し、分液ロートに移す。濃硫酸約 20 ml を加え、静置後硫酸層を除去する。新たに濃硫酸約 20 ml 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。

9.2.7 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抽出液を精製水 30 ml 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 2 ml まで濃縮し、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

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ィー、多層シリカゲルカラムクロマトグラフィー、フロリジルカラムクロマトグラフィー、活性炭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 2 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 などの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に示したものであり、分画試験を行って決定する⁶⁵。また、一般的な臭素化ダイオキシン類の分析フロー例を図-1 に示した。

9.3.1 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。

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 200 ml を流速 2.5 ml/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 2 ml まで濃縮し、フロリジルカラムクロマトグラフィー、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

多層シリカゲルクロマトグラフ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 100 ml を流速 2.5 ml/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 2 ml まで濃縮し、フロリジルカラムクロマトグラフィー、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。

9.3.2 フロリジルカラムクロマトグラフィー

フロリジ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、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで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。ヘキサン溶液 100 ml を 2.5 ml/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 200 ml を 2.5 ml/min で流下させ、第 2 画分を得る。ここには、PBDDs および 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、更にゆるやかに窒素を吹き付け⁶⁶、シリンジスパイクを添加し 10 μ l 程度に定容して、GC-MS 分析用溶液とする。必要があれば、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。

9.3.3 活性炭シリカゲルカラム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シリカゲルまたはフロリジルカラムクロマトグラフィーで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2.5 ml/minで流し第1画分を得る。次いで、トルエン250mlを2.5 ml/minで流下させ、第2画分を得る。この画分にはPBDDsおよびPBDFsが含まれる。第2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⁵⁶、濃縮した後、シリンジスパイクを添加し10 µl程度に定容して、GC-MS分析用溶液とする。

9.3.4 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にシリカゲルまたはフロリジルカラムクロマトグラフィーで調製した試験溶液を静かに移し入れ、少量のヘキサンで数回洗い込み、液面を無水硫酸ナトリウムまで下げる。2%ジクロロメタン含有ヘキサン溶液100mlを約2.5 ml/minで流して第1画分を得る。更に50%ジクロロメタン含有ヘキサン溶液100mlを約2.5 ml/minで流して第2画分を得る。この画分にはPBDDsおよび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、更にゆるやかに窒素を吹き付け⁵⁶、シリンジスパイクを添加し10 µl程度に定容して、GC-MS分析用溶液とする。

9.4 検量線の作成

9.4.1 GC-MS 測定条件の設定および状態の確認

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できるかどうか確認しておく（QA・QC参照）。

9.4.2 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およ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クリーンアップスパイク内標準物質との相対感度係数）およびRRFss（クリーンアップ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製する。この標準溶液には、定容前に、あらかじめクリーンアップスパイクおよびシリンジスパイクに用いたものと同じ内標準物質を、10~100 ng/mlとなるように添加しておく⁵⁷。標準溶液の1 µl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⁵⁸。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クリーンアップスパイク内標準物質に対するピーク面積の比と、注入した標準溶液中の各分析対象物質とクリーンアップスパイク内標準物質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。

9.4.2.1 相対感度係数（RRF）の算出

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

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_{STD-IS}：標準溶液中のクリーンアップ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_{STD-IS}：標準溶液中の各クリーンアップスパイクの量（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。

9.4.2.2 相対感度係数（RRF_{ss}）の算出

クリーンアップスパイク内標準物質のシリンジスパイク内標準物質に対する相対感度係数（RRF_{ss}）を次式により算出する。

$$RRF_{ss} = (A_{STD-IS} \times C_{STD-SS}) / (A_{STD-SS} \times C_{STD-IS})$$

A_{STD-IS}：標準溶液中のクリーンアップスパイクのクロマトグラムピーク面積値

A_{STD-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

C_{STD-IS}：標準溶液中の各クリーンアップスパイクの量（pg）

C_{STD-SS}：標準溶液中のシリンジスパイクの量（pg）

9.5 試料の測定

標準溶液および試料の適当量をGC-MSに注入⁵⁹し、各同族体につき『表-4. 測定質量数の例（p.18）』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および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との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⁶⁰。『表-8 PBDDsおよびPBDFsのガスクロマトグラフ質量分析計の測定条件例（p.22）』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。

9.6 濃度の算出

9.6.1 試料中濃度の算出

次式によって濃度を算出する。

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

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_{sample-IS}：分析試料中の各クリーンアップスパイクのクロマトグラムピーク面積値

C_{sample-IS}：分析試料へのクリーンアップスパイクの量（pg）

V：試料採取量（mlまたはg）

PBDDsおよびPBDFsの2,3,7,8-位臭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およびクリーンアップスパイクの濃度、添加量およびレスポンスを用いて濃度を算出する。ただし、標準物質が得られない場合は入手可能になるまで測定対象からはずしておく。

9.6.2 回収率の算出

クリーンアップスパイク内標準物質のクロマトグラムピーク面積値とシリンジスパイク内標準物質のクロマトグラムピーク面積値の比、およ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。

$$Rc = (A_{sample-IS} \times C_{sample-SS} \times 100) / (A_{sample-SS} \times RRF_{ss} \times C_{sample-IS})$$

A_{sample-IS}：分析試料中の各クリーンアップスパイクのクロマトグラムピーク面積値

C_{sample-SS}：分析試料中のシリンジスパイクの量（pg）

A_{sample-SS}：分析試料中のシリンジスパ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クリーンアップスパイク内標準物質のシリンジスパイク内標準物質に対する相対感度係数

C_{sample-IS}：分析試料へのクリーンアップスパイクの量（pg）

9.7 測定結果の表記方法

母乳中のPBDDsおよび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

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。

9.7.1 PBDDs および PBDFs の同定

PBDDs および 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 $\pm 30\%$ 以内であり、更にピークの保持時間が標準物質および対応する内標準物質と一致することで同定する。

9.7.2 実測濃度の表記

- ・ 2,3,7,8-位臭素置換異性体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-位臭素置換異性体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-位臭素置換異性体の各実測濃度は N.D. と表記する。
- ・ 2,3,7,8-位臭素置換異性体の濃度の総和を Total (PBDDs+PBDFs) として有効数字 2 桁で表記する⁴⁾。
- ・ PBDDs 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、PBDDs の実測濃度は N.D. と表記する。
- ・ PBDFs 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、PBDFs の実測濃度は N.D. と表記する。
- ・ PBDDs と PBDFs が共に N.D. であった場合、Total (PBDDs+PBDFs) の実測濃度は N.D. と表記する。

9.7.3 TEQ 相当値の算出

臭素化ダイオキシン類の TEF は公に認められたものはない。暫定的に塩素化ダイオキシン類の相当する異性体の TEF (WHO-1998) を使用する。

- ・ 有効数字 2 桁で丸めた 2,3,7,8-位臭素置換異性体の各実測濃度に TEF を乗じ、TEQ 相当値を算出する。各 2,3,7,8-位臭素置換異性体の TEQ 相当値は 2 桁表記とする。
- ・ 2,3,7,8-位臭素置換異性体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 相当値を記載する。最大見積 TEQ 相当値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。
- ・ 実測濃度に N.D. が表記された場合 (最大見積 TEQ 相当値が表記された場合)、Total PBDDs, Total PBDFs, Total (PBDDs+PBDFs) にもカッコ書きで最大見積 TEQ 相当値を記載する。この最大見積 TEQ 相当値は各化合物の TEQ 相当値と最大見積 TEQ 相当値との積算で表す
- ・ Total PBDDs (TEQ 相当値) および Total PBDFs (TEQ 相当値) は 2 桁表記とする。
- ・ Total PBDDs (TEQ 相当値) + Total PBDFs (TEQ 相当値) は 2 桁表記とする。
- ・ 各実測濃度から PBDDs および PBDFs の Total TEQ 相当値を算出するまでの過程で数値の丸め操作は行わない。

9.7.4 測定結果の表記方法

測定結果の表記方法の例を『表-7. PBDDs および PBDFs 測定分析結果の表記例 (p.21)』に示す。

10 安全管理

ここでは、測定分析に係る者の安全や、区域外への化学物質の漏洩防御の観点から留意すべき事柄をまとめた。PBDDs および PBDFs は非常に有害性が高いので、吸入、誤飲、直接皮膚への接触などをできるだけ避け、前処理室および分析室の換気並びに廃液や廃棄物の管理は十分に行うことが望ましい。また、その他の薬品、溶媒などでも吸入や誤飲によって測定者の健康を損なうものがあるので、取扱いはできるだけ慎重に行い、実験室の十分な換気に注意する。

10.1 試料前処理室およびGC-MS室の構造

試料前処理室および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 試料前処理室への出入り

PBDDsおよびPBDFsの測定分析に関わる区域には許可なしに関係者以外の者が立ち入ることを禁止すること、また、区域入り口にはその旨表記すること。一時的に許可を与えられ、区域内に入ることが許された者がいる場合はその記録を取る。区域内への入り口は施錠可能な構造でなければならない。

10.3 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。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。

10.4 標準物質の管理

標準物質は施錠可能な冷蔵庫に保管し、購入および使用の記録を取る。

10.5 分析者

区域内では専用の実験衣およ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および安全眼鏡を装着すること。

10.6 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。

10.7 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。

10.8 母乳の付着したガラス器具の洗浄

滅菌した後洗浄する。

10.9 母乳の付着した廃棄物の管理

母乳採取および搬入時に用いられた採乳バッグや作業中に母乳の付着した布等は、オートクレーブバッグに入れた後高圧蒸気滅菌し、医療廃棄物として廃棄する。

10.10 その他の廃棄物の管理

上記以外に試料前処理室実験室およびGC-MS測定室内で生じた各種廃棄物は種別に関し、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。

11 品質保証／品質管理・内部精度管理

臭素化ダイオキシン類の測定データに関しては、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も多い。そこで、品質保証(QA)/品質管理(QC)・精度管理²⁾について記述した。本記述はPBDDsおよびPBDFs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。PBDDsおよびPBDFs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PBDDsおよびPBDFs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 調査

11.1.1 試料採取の記録