

表2 トータルダイエイト試料からの有機フッ素化合物 (PFOA/PFOS) 1日摂取量(ND=0)

食品群	関東地区				関西地区				平均					
	PFOA		PFOS		PFOA+PFOS		PFOS		PFOA+PFOS		PFOS		PFOA+PFOS	
	PFOA	PFOS	PFOA+PFOS	PFOS	PFOA	PFOS	PFOA+PFOS	PFOS	PFOA	PFOS	PFOA+PFOS	PFOS	PFOA+PFOS	
1群(米、米加工品)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
2群(米以外の穀類、種実類、芋類)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
3群(砂糖類、菓子類)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
4群(油脂類)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
5群(豆類、豆加工品)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
6群(果実、果汁)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
7群(緑黄色野菜)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
8群(他の野菜類、キノコ類、海藻類)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
9群(酒類、嗜好飲料)	0	48.4	48.4	0	0	0	0	47.2	0	47.2	0	47.8	47.8	
10群(魚介類)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
11群(肉類、卵類)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
12群(乳、乳製品)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
13群(調味料)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
14群(飲料水)	1.1	2.0	3.1	0	4.8	0.5	5.3	0.5	2.9	1.3	4.2	1.3	4.2	
Total(ng/day)	1.1	50.4	51.5	0	4.8	47.7	52.4	47.7	2.9	49.1	52.0	49.1	52.0	
ng/kgbw/day	0.02	1.01	1.03	0	0.10	0.95	1.05	0.95	0.06	0.98	1.04	0.98	1.04	

単位:ng

表3 トータルダイエット試料からの有機フッ素化合物(PFOA/PFOS)1日摂取量(ND=L0D/2)

食品群	関東地区			関西地区			平均		
	PFOA	PFOS	PFOA+PFOS	PFOA	PFOS	PFOA+PFOS	PFOA	PFOS	PFOA+PFOS
	1群(米、米加工品)	95.7	95.7	191.4	145.3	145.3	290.5	120.5	120.5
2群(米以外の穀類、種実類、芋類)	57.1	57.1	114.2	73.9	73.9	147.9	65.5	65.5	131.0
3群(砂糖類、菓子類)	9.0	9.0	18.1	18.2	18.2	36.3	13.6	13.6	27.2
4群(油脂類)	5.5	5.5	11.0	5.3	5.3	10.6	5.4	5.4	10.8
5群(豆類、豆加工品)	14.9	14.9	29.8	25.3	25.3	50.5	20.1	20.1	40.2
6群(果実、果汁)	31.4	31.4	62.7	30.2	30.2	60.4	30.8	30.8	61.6
7群(緑黄色野菜)	23.9	23.9	47.8	20.6	20.6	41.2	22.2	22.2	44.5
8群(他の野菜類、キノコ類、海藻類)	52.6	52.6	105.1	43.0	43.0	85.9	47.8	47.8	95.5
9群(酒類、嗜好飲料)	135.2	135.2	270.4	154.1	154.1	308.2	144.6	144.6	289.3
10群(魚介類)	20.2	48.4	68.6	19.7	47.2	66.8	19.9	47.8	67.7
11群(肉類、卵類)	25.6	25.6	51.2	25.7	25.7	51.3	25.6	25.6	51.2
12群(乳、乳製品)	34.4	34.4	68.9	35.7	35.7	71.5	35.1	35.1	70.2
13群(調味料)	23.6	23.6	47.3	23.2	23.2	46.5	23.4	23.4	46.9
14群(飲料水)	1.1	2.0	3.1	4.8	0.5	5.3	2.9	1.3	4.2
Total(ng/day)	530.1	559.2	1089.3	624.7	648.0	1272.7	577.4	603.6	1181.0
ng/kgbw/day	10.6	11.2	21.8	12.5	13.0	25.5	11.5	12.1	23.6

単位:ng

Ⅱ. 分担研究報告書

1. 食品からの塩素化ダイオキシン類及び有機フッ素化合物の摂取 量調査

1-4. 食品中のダイオキシン類分析法ガイドラインの改正

分担研究者 米谷 民雄

厚生労働科学研究費補助金(食品の安心・安全確保推進研究事業)
分担研究報告書

ダイオキシン類等の有害化学物質による食品汚染実態の把握に関する研究

(1)食品からの塩素化ダイオキシン類及び有機フッ素化合物の摂取量調査

(1-4)食品中のダイオキシン類分析法ガイドラインの改正

分担研究者 米谷 民雄 国立医薬品食品衛生研究所 食品部長

研究要旨

毒性等価係数(TEF)の改訂及び分析技術の進歩等に伴い、“食品中のダイオキシン類及びコプラナーPCBの測定方法暫定ガイドライン”を改正した。TEFについては、WHOより提案された新しいTEF(WHO 2005 TEF)に変更した。前処理操作については、DMSO分配処理操作の追加、及び前処理操作に必要な試薬等を見直した。また、ガスクロマトグラフ分析条件の例示、試料測定時の確認事項(相対感度係数の変動の許容範囲等)も見直した。これらの改正点をとりまとめ、“食品中のダイオキシン類の測定方法暫定ガイドライン”として公表した。

研究協力者

(財)日本食品分析センター

河野洋一

福岡県保健環境研究所

堀 就英

(独)農林水産消費安全技術センター

白井裕治

国立医薬品食品衛生研究所

松田りえ子, 堤 智昭

品のダイオキシン類ガイドライン)が公表されている。しかし、近年、WHO/IPCSによる毒性等価係数(TEF)の見直しが行われた²⁾。最新のTEFに対応するため、我が国でも環境省が「ダイオキシン類対策特別措置法施行規則の一部を改正する省令」を通知し³⁾、平成20年4月1日から本省令を施行予定である。さらにダイオキシン類分析技術の進歩はめざましく、近年、簡便で性能の良い分析技術の開発が進んでいる。そこで以上の点を踏まえて、食品のダイオキシン類ガイドラインの改正を行った。

A.はじめに

我が国では、ダイオキシン類による健康被害を未然に防ぐために、耐容一日摂取量が設定されている。ダイオキシン類の暴露経路としては食品の摂取が主要であることから、食品中のダイオキシン類を測定することは、食品衛生の観点から重要な課題である。食品中のダイオキシン類の分析法については、平成11年に“食品中のダイオキシン類及びコプラナーPCBの測定方法暫定ガイドライン”¹⁾(以下、食

B.食品中のダイオキシン類ガイドラインの改正

改正作業を行うにあたりダイオキシン類分析の専門家より構成される検討会を開催し、検討項目について議論した。検討会の議事録を参考資料1として添付する。検討会で議論した主な改正点として、下記の項目があった。

- 用語・略語の定義

“標準的検出下限”を“目標検出下限”に変更した。ダイオキシン類の定義にコプラナーPCBsを含めた。

- 試料の前処理

DMSO 分配処理操作を記載した。例示されている試薬を適切な例に書き換え、市販の充てん済みカラムについても付け加えた。

- 同定及び定量

最新のGC分析条件に変更した。大量注入法についても記載し、一例としてソルベントカット大量注入のGC分析条件を記載した。また、キャピラリーカラムについても最近使用されている新しいカラムを例示した。

試料測定時に確認する標準溶液の相対感度係数(RRF)の変動を見直し、検量線作成時のRRFに対して10%以内の変動であれば、検量線作成時のRRFを用いて測定を行うこととした。また、ピークを構成するデータポイントに関する記述を追加した。

- 数値の取り扱い

TEFをWHO TEF(2005)に変更した。なお、このTEFは2005年にWHO/IPCSから提案され、2006年に専門誌²⁾に掲載された。WHO TEF(2006)のように表記されることもある。

以上の点を改正した新しいガイドライン“食品中のダイオキシン類の測定方法暫定ガイドライン”を作製した。なお、改正ガイドラインは平成20年2月28日に厚生労働省より通知された(参考資料2)。

C.参考文献

1) 厚生省生活衛生局“食品中のダイオキシン類及びコプラナーPCBの測定方法暫定ガイドライン”平成11年10月

2) Van den Berg, M.; Birnbaum, L.S.; Denison, M.; De Vito, M.; Farland, W.; Feeley, M.; Fiedler, H.; Hakansson, H.; Hanberg, A.; Haws, L.; Rose, M.; Safe, S.; Schrenk, D.; Tohyama, C.; Tritscher, A.; Tuomisto, J.; Tysklind, M.; Walker, N.; Peterson, R.E. The 2005 World Health Organization reevaluation of human and Mammalian toxic equivalency factors for dioxins and dioxin-like compounds. Toxicological Sciences 2006, 93, 223-241.

3) ダイオキシン類対策特別措置法施行規則の一部を改正する省令(環境省令第15号) “平成19年6月11日”

D.研究業績

1.論文発表
なし

2.学会発表
なし

第1回 食品中のダイオキシン類等の測定方法暫定ガイドライン 改訂検討会議事録

日 時：平成19年10月16日（火）

13：30～16：30

場 所：国立医薬品食品衛生研究所

28号館1階セミナー室

出席者：

河野洋一	（財）日本食品分析センター	環境分析課	課長
堀 就英	福岡県保健環境研究所	保健科学部生活化学課	研究員
白井裕治	（独）農林水産消費安全技術センター		主任調査官
米谷民雄	国立医薬品食品衛生研究所		食品部長
堤 智昭	国立医薬品食品衛生研究所		食品部主任研究官
松田りえ子	国立医薬品食品衛生研究所		食品部第3室室長

議 事：

1. 挨拶
2. 委員紹介
3. 本検討会の趣旨説明

WHO-TEF の改正及び分析技術の進歩により、原ガイドライン改正の必要性が生じた旨を説明した。

4. 改正案についての審議

各委員から提案された改正案をまとめた資料（別添資料）を配付し、改正案の審議を行った。約50の改正案について議論を行い、適切であるか否かを判断した。

5. その他

今後の予定について、打ち合わせた。11月中旬をめどに改正マニュアルをまとめ、その後、内容の最終確認を行う。大きな問題点がない場合は、電子メールでやりとりを行う。

以上

食品中のダイオキシン類の測定方法
暫定ガイドライン

平成 20 年 2 月

第1章 概論	3
はじめに	3
1. 分析対象	3
2. 目標検出下限	3
3. 用語・略語の定義	3
4. 分析方法	4
4.1 概要	4
4.2 分析方法の要件	5
第2章 各論	7
第1節 試料採取	7
1. 試料採取量	7
2. 分析に使用する試料量	7
3. 試料の採取及び処理	7
第2節 分析方法	8
1. 試薬及び標準物質	8
2. 器具及び装置	11
2.1 前処理用器具	11
2.2 ガスクロマトグラフ質量分析装置 (GC-MS)	11
3. 試料の前処理	12
3.1 試料の均一化	12
3.2 内標準物質の添加 (クリーンアップスパイク)	12
3.3 抽出	12
3.3.1 溶媒抽出	12
3.3.1.1 アセトン・ヘキサン溶媒抽出	12
3.3.1.2 ジクロロメタン溶媒抽出	12
3.3.2 アルカリ分解・溶媒抽出	13
3.3.3 ソックスレー抽出	13
3.3.4 脂肪抽出・アルカリ分解	13
3.4 クリーンアップ	14
3.4.1 硫酸処理→シリカゲルカラムクロマトグラフィー又は硝酸銀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→活性炭シリカゲルカラムクロマトグラフィーの組合せでのクリーンアップ法	15
3.4.1.1 硫酸処理	15
3.4.1.2 シリカゲルカラムクロマトグラフィー	15
3.4.1.3 硝酸銀シリカゲルカラムクロマトグラフィー	15
3.4.1.4 アルミナカラムクロマトグラフィー	15
3.4.1.5 活性炭シリカゲルカラムクロマトグラフィー	16
3.4.2 多層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→活性炭シリカゲルカラムクロマトグラフィーの組合せでのクリーンアップ法	16
3.4.2.1 多層シリカゲルカラムクロマトグラフィー	16
3.4.3 その他のクリーンアップ法	17
3.4.3.1 ジメチルスルホキシド (DMSO) 分配処理操作	17
3.4.3.2 活性炭カラム高速液体クロマトグラフィー (HPLC)	17
3.5 試料溶液の調製と内標準物質の添加 (シリンジスパイク)	17
4. 同定及び定量	18
4.1 GC-MSの分析条件の設定	18
4.1.1 ガスクロマトグラフ (GC) の操作条件	18
4.1.2 質量分析計 (MS) の操作条件	20

4.2 GC-MSの調整	22
4.2.1 ガスクロマトグラフ (GC) の調整	22
4.2.2 質量分析計 (MS) の調整	22
4.2.3 GC-MSの感度確認	22
4.3 検量線の作成 (RRFとRRFssの算出)	22
4.4 試料の分析	23
4.4.1 検量線の確認	23
4.4.2 試料の同定と定量	23
4.4.3 回収率の算出	24
5. 数値の取扱い	25
5.1 濃度の表示	25
5.1.1 濃度の算出	25
5.1.2 毒性当量 (2,3,7,8-TCDD Toxic Equivalent Quantity; TEQ) への換算	25
6. 表示方法	27
第3節 測定データの品質管理	30
1. 標準作業手順 (SOP) の作成	30
2. 分析法バリデーション	30
2.1 クリーンアップ操作の評価	30
2.2 回収率の評価	30
2.3 操作ブランクの評価	30
2.4 標準試料の分析による真度の確認	30
2.5 検出下限の評価	30
3. 分析時の信頼性の確認	32
3.1 装置の信頼性	32
3.1.1 装置感度の確認	32
3.1.2 検量線 (RRF) の確認	32
3.2 測定値の信頼性	32
3.2.1 操作ブランクの評価	32
3.2.2 注入量の確認	32
3.2.3 回収率の評価	32
3.2.4 検出下限の評価	32
4. データの管理及び評価	32
4.1 異常値、欠測値の取扱い	32
4.2 分析の信頼性に関する記録	33
5. 内部精度管理	33
6. 外部精度管理	33
第4節 安全管理	34
1. 施設	34
2. 実験室等の立入規制	34
3. 換気システム	34
4. その他の設備	34
5. 実験室内での業務	35
6. 標準物質の取扱い	35
7. 試料の取扱い	35
8. 実験中の事故の処置	35
9. 廃棄物の保管処分等	35
10. 作業記録	36
11. 健康診断	36

第1章 概論

はじめに

ダイオキシン類は、食品汚染物質の中でも社会的関心の高い化学物質であり、健康影響の未然防止の観点から、早急な対策が必要となっている。

本ガイドラインは、食品に係るダイオキシン類の検査の信頼性を確保するため、既存の知見を踏まえ、一般的な技術手法を示したものである。

また、今後、科学的知見の集積等によって、本ガイドラインの改定があり得るものである。

1. 分析対象

本ガイドラインでは、食品試料中のポリ塩化ジベンゾパラジオキシン（PCDDs）とポリ塩化ジベンゾフラン（PCDFs）とコプラナーポリ塩化ビフェニル（コプラナーPCBs）を分析対象物質としている。

2. 目標検出下限

本ガイドラインにおいては、検出下限や操作ブランク値等の許容性を判断する基準として、「目標検出下限」を導入した。目標検出下限は、分析の目的、試料の種類及び採取可能な試料量等に照らして決定されるが、本ガイドラインにおいては原則として、表1-1に示すとおりとした。

表 1-1 ダイオキシン類の目標検出下限

	PCDDs及びPCDFs			コプラナーPCBs	
	四～五塩化物	六～七塩化物	八塩化物	ノンオルト体	モノオルト体
食品	0.01pg/g	0.02pg/g	0.05pg/g	0.1pg/g	1pg/g
水（注1）	0.2pg/L	0.5pg/L	1pg/L	1pg/L	10pg/L

3. 用語・略語の定義

ダイオキシン類：ポリ塩化ジベンゾパラジオキシン（PCDDs）とポリ塩化ジベンゾフラン（PCDFs）及びコプラナーポリ塩化ビフェニル（コプラナーPCBs）を合わせた総称。

コプラナーPCBs：PCBsの中で、PCDDs及びPCDFsと同様の毒性をもつ化合物又はその一群をいう。ただし、本ガイドラインでは毒性等価係数が与えられているオルト位（2, 2', 6及び6'）に置換塩素を持たない（ノンオルト：non-ortho）4種類の化合物、オルト位に置換塩素を1個もつ（モノオルト：mono-ortho）8種類の化合物を示す。なお、コプラナーPCBsはダイオキシン様PCBsとも呼ばれる。

異性体：異性の関係にある化合物。ここでは、同一の化学式を持ち、塩素の置換位置が異なった化合物を指す（Isomer）。

同族体：同族列に属する塩素の置換数又は置換位置を異にする一群の化合物を指す (Congener)。

PCDDs：ポリ塩化ジベンゾパラジオキシン (Polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins)

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

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

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

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

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

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

OCDD：八塩化ジベンゾパラジオキシン (Octachlorodibenzo-*p*-dioxin)

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

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

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

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

OCDF：八塩化ジベンゾフラン (Octachlorodibenzofuran)

TCBs：四塩化ビフェニル (Tetrachlorobiphenyls)

PeCBs：五塩化ビフェニル (Pentachlorobiphenyls)

HxCBs：六塩化ビフェニル (Hexachlorobiphenyls)

HpCBs：七塩化ビフェニル (Heptachlorobiphenyls)

PFK：ペルフルオロケロセン (Perfluorokerosenes)

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

TEQ：毒性当量 (2,3,7,8-TCDD Toxic Equivalent Quantity)

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

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

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

又は高分解能質量分析計 (High Resolution Mass Spectrometer)

SIM：選択イオン検出 (Selected Ion Monitoring)

RRF：相対感度係数 (Relative Response Factor)

μg : 10^{-6} g

ng : 10^{-9} g

pg : 10^{-12} g

4. 分析方法

4.1 概要

食品中ダイオキシン類の分析には、①試料採取、②抽出、③クリーンアップ、④同定及び定量の各工程が含まれる。

各工程にはいくつかの手法があるので、本ガイドラインでは、複数の方法を示す。これらの手法は、4.2 分析方法の要件を満たす方法として一般に用いられている方法である。

分析者は、試料の種類等に応じて手法を選択して使用することができる。

また、本ガイドラインに示した以外の手法も、4.2 分析方法の要件を満たしていれば、使用することができる。

本ガイドラインの構成は、図1-1 の通りである。

4.2 分析方法の要件

新規に開発されたり、本ガイドラインには採用されていないが、一般に用いられており、実証試験を行い、本ガイドラインに示した分析方法と同等あるいはそれ以上の性能を有する方法は、有効に活用することができる。その際、少なくとも以下に示す事項について十分に検討し、本ガイドラインに示す分析精度が確保される必要がある。

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

①前処理（抽出）

a) 様々な状況に応じて抽出効率が安定した方法であるか。

②前処理（クリーンアップ）

a) 試薬・器具のブランク値は低い。

b) 各クリーンアップの溶出画分は安定しているか。

c) 確実に効果的にクリーンアップできるか。

d) 実試料で検出される可能性のある妨害成分の影響を、分離・除去できるか。

③GC-MS分析

a) 分析対象物質の異性体特異分析 (Isomer specific analysis) を行うことができるか。

b) キャピラリーカラムの異性体分離能は良いか。

c) GC-MS装置の校正、試料の濃度範囲と定量可能範囲（検量線）の応答性が十分であるか。

d) 装置の検出下限は目標検出下限を達成できるか。

e) 装置の感度の変動（ドリフト）が十分少ないか。

f) 高分解能質量分析計（HRMS）の使用分解能（ $M/\Delta M$, 10%谷）が 10,000 以上であるか。

④同定・定量

a) 操作ブランク値が十分低い。

b) 検出下限は、目標検出下限と同等か。

c) 同一試料についての再現性があるか。

⑤分析法の性能

a) 添加した内標準物質の回収率は40～120%か。

b) 標準試料が正しく分析できるか。

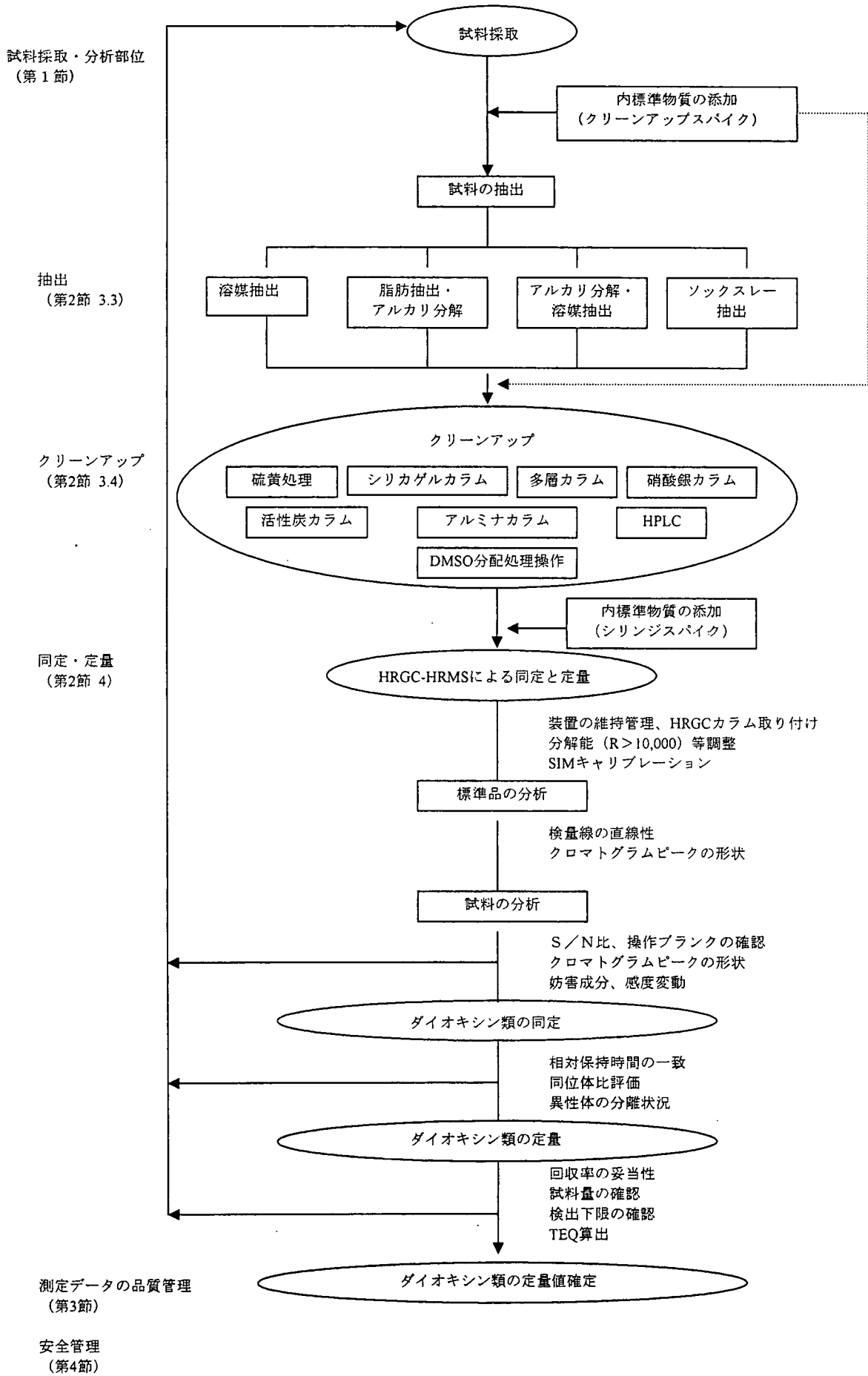


図1-1 分析フローと本ガイドラインでの記述箇所

第2章 各論

第1節 試料採取

1. 試料採取量

試料採取にあたっては、サンプリングの均一性に留意すること。原則として、検査対象ロットの5カ所以上から1kg以上採取する。

目的とする分析対象に対して、代表試料の採取が適切に行われなければならない。採取後の試料は、外部からの混入や分解等を防ぐため、密封・遮光できる容器に入れ、保管・運搬する。また、分析に用いた試料の残りを長期間保存する場合は、冷凍保存する(注2)。

2. 分析に使用する試料量

第1章表1-1に示した目標検出下限を得るには、GC-MSの検出下限を四塩化物で0.05pg、最終検液量を20 μ L、GC-MSへの注入量を1 μ Lとした場合、1回の分析に使用する試料量は、100g程度が目安となる(表2-1)。食品の種類によって、当該試料採取量で目標検出下限を得ることが困難な場合や、さらに低い検出下限を得るには、試料量を増やすことにより対応する(注3)。

表2-1 分析に使用する試料量の目安

	GC-MS検出下限 ①pg	最終検液量 ② μ L	注入量 ③ μ L	採取量 ④g	検出可能な最低濃度 ⑤pg/g
食品	0.05	20	1	100	0.01

① \leq ⑤ \times ④ \times ③ \div ② の関係より必要な試料量を求める。

3. 試料の採取及び処理

- (1) 採取した試料は、必要に応じ、水洗して、泥、塵埃等を除去し、不可食部を除去して可食部を検査に供する。
- (2) 洗浄等を行う場合は、外因性のダイオキシン類による試料汚染が最小限となるように努める。
- (3) 農産物の採取及び処理については、原則として、食品の規格基準(残留農薬基準)の試料に準ずる(注4)。
- (4) 食肉の採取及び処理については、次に留意する(注5)。
可食部全体を均一化する。食鳥肉のもも肉であって、皮を含む場合は、皮の部分を含め均一化する。当該試料中の脂肪含量を併せて測定する。
- (5) 魚介類の採取及び処理については、次に留意する(注5)。

大型魚は、頭部、骨、内臓を除いた可食部を採取し、均一化する。具体的には、三枚におろして両外側を対象とし、混合する。小アジなどの小型魚で、骨や内臓も含め丸ごと食すものは、全体を対象とする。当該試料中の脂肪含量を併せて測定する。

- (6) 乳、乳製品の採取及び処理については、全体を均一化する。当該試料中の脂肪含量を併せて測定する。

第2節 分析方法

1. 試薬及び標準物質

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

- (1) ヘキサン、メタノール、エタノール、アセトン、トルエン、ジクロロメタン、ジエチルエーテル、石油エーテル

ダイオキシン類分析用（注6）、残留農薬試験用又はPCB分析用のもの。分析時の濃縮倍数に応じて濃縮したものをGC-MSに注入したとき、ダイオキシン類の標準物質及び内標準物質のクロマトグラムに妨害を生じないもの。

- (2) ノナン、デカン、イソオクタン

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

- (3) ヘキサン洗浄水

蒸留水をヘキサンで十分に洗浄し、分析に支障をきたさないもの。

- (4) 硫酸

市販の試薬特級又は同等以上のもので、分析に支障をきたさないもの。

- (5) ヘキサン飽和ジメチルスルホキシド（以後、DMSOと略称）

ダイオキシン類分析用、市販の特級試薬又はこれと同等以上のDMSOをヘキサンで飽和したもので、分析に支障をきたさないもの。

- (6) 無水硫酸ナトリウム

ダイオキシン類分析用、残留農薬試験用又はPCB分析用のもので、分析に支障をきたさないもの。

- (7) 水酸化カリウム、硝酸銀、シュウ酸カリウム（ナトリウム）

市販の試薬特級又は同等以上のもので、分析に支障をきたさないもの。

- (8) シリカゲル

ダイオキシン類分析用又はPCB分析用（注7）のものを、必要に応じ以下により洗浄及び活性化する。シリカゲルをガラスカラムにメタノールを用いて湿式充てんしたのち、2倍重量のメタノールを流す。次に内容物を取り出し、ロータリーエバポレーターで、完全にメタノールを留去したのち、ビーカーに入れ、層の厚さを10mm以下にして、130℃で約18時間乾燥して活性化した後、デシケーター中で30分間放冷したもの。

- (9) 2%水酸化カリウム被覆シリカゲル（以後、水酸化カリウムシリカゲルと略称）

メタノール洗浄済みシリカゲル100gに、水酸化カリウム溶液（50g/L）40mLを加え、ロータリーエバポレーターで約50℃で減圧脱水し、水分のほとんどが除去された後、80℃でさらに1時間脱水を続けて粉末状にしたもの（注8）。調製後、密閉できる試薬瓶に入れデシケーター中に保存する。

- (10) 44%及び22%硫酸被覆シリカゲル（以後、硫酸シリカゲルと略称）

メタノール洗浄済みシリカゲル100 gに、硫酸を78.6 g 及び 28.2 g 添加後、十分振とうし粉末状にしたもの(注9)。調製後、密閉できる試薬瓶に入れ、デシケーター中に保存する。

(11)10%硝酸銀被覆シリカゲル(以後、硝酸銀シリカゲルと略称)

未洗浄のシリカゲル1g当たり40%硝酸銀溶液を0.25mL 加えた後、振とう機でよく混合し、使用直前に130℃で約3時間乾燥して活性化したもの(注10)。調製後、密閉できる褐色瓶に入れ、デシケーター中に保存する。

(12)アルミナ

カラムクロマトグラフィー用アルミナ(塩基性又は中性、活性度I、粒径0.063~0.200mm)(注11)を使用する。あらかじめ活性化したものが入手できる場合は、そのまま使用してもよいが、保存期間や保存状態により、活性度が著しく異なるので、カラムからの溶出条件を調べる必要がある。活性化する場合には、ビーカー又はシャーレに層の厚さを10mm以下にして入れ、130℃で18時間乾燥、もしくは500℃で約8時間加熱処理した後、デシケーター中で室温まで放冷する。調製後密閉できる試薬瓶中に保存する。

(13)活性炭シリカゲル

市販のダイオキシン類分析用又は同等以上のもので、妨害物質の溶出等分析に支障をきたさないもの。事前にカラムの溶出条件を確認すること(注12)。

(14)ガラス繊維ろ紙

保留粒子径0.6 μ m程度のもの。ブフナー漏斗に用いる。

(15)標準物質(注13)

ダイオキシン類の同定及び定量に用いる標準物質の例を表2-2及び表2-3に示す。

(16)標準溶液

市販の混合溶液(注14)を用いて検量線の濃度範囲に応じてノナン(注15)で希釈したものを用意する。

(17)内標準物質(注13)

全ての炭素原子又は塩素原子が¹³C又は³⁷ClでラベルされたPCDDs、PCDFs及びコプラナーPCBsをクリーンアップスパイク及びシリンジスパイクに用いる(注16)。表2-2及び表2-3参照。

(18)内標準溶液

市販の混合溶液(注14)を用いて、内標準物質として添加する量及び検量線の濃度範囲に応じて、ノナン(注15)で希釈したものを用意する。

表 2-2 PCDDs及びPCDFsの標準物質、内標準物質の例

PCDDs		
	標準物質	内標準物質
四塩化物	2,3,7,8-TCDD	¹³ C ₁₂ -1,2,3,4-TCDD ¹³ C ₁₂ -2,3,7,8-TCDD ³⁷ Cl ₄ -2,3,7,8-TCDD
五塩化物	1,2,3,7,8-PeCDD	¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8-PeCDD
六塩化物	1,2,3,4,7,8-HxCDD 1,2,3,6,7,8-HxCDD 1,2,3,7,8,9-HxCDD	¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8-HxCDD ¹³ C ₁₂ -1,2,3,6,7,8-HxCDD ¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8,9-HxCDD
七塩化物	1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6,7,8-HpCDD
八塩化物	OCDD	¹³ C ₁₂ -OCDD
PCDFs		
四塩化物	2,3,7,8-TCDF	¹³ C ₁₂ -2,3,7,8-TCDF
五塩化物	1,2,3,7,8-PeCDF 2,3,4,7,8-PeCDF	¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8-PeCDF ¹³ C ₁₂ -2,3,4,7,8-PeCDF
六塩化物	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	¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8-HxCDF ¹³ C ₁₂ -1,2,3,6,7,8-HxCDF ¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8,9-HxCDF ¹³ C ₁₂ -2,3,4,6,7,8-HxCDF
七塩化物	1,2,3,4,6,7,8-HpCDF 1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6,7,8-HpCDF ¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8,9-HpCDF
八塩化物	OCDF	¹³ C ₁₂ -OCDF

表 2-3 コプラナーPCBsの標準物質、内標準物質の例

コプラナーPCBs			
	標準物質		内標準物質
ノンオルトPCBs			
四塩化物	3,3',4,4'-TCB	#77	¹³ C ₁₂ -3,3',4,4'-TCB ¹³ C ₁₂ -3,4,4',5-TCB
	3,4,4',5-TCB	#81	
五塩化物	3,3',4,4',5-PeCB	#126	¹³ C ₁₂ -3,3',4,4',5-PeCB
六塩化物	3,3',4,4',5,5'-HxCB	#169	¹³ C ₁₂ -3,3',4,4',5,5'-HxCB
モノオルトPCBs			
五塩化物	2,3,3',4,4'-PeCB	#105	¹³ C ₁₂ -2,3,3',4,4'-PeCB ¹³ C ₁₂ -2,3,4,4',5-PeCB ¹³ C ₁₂ -2,3',4,4',5-PeCB ¹³ C ₁₂ -2',3,4,4',5-PeCB
	2,3,4,4',5-PeCB	#114	
	2,3',4,4',5-PeCB	#118	
	2',3,4,4',5-PeCB	#123	
六塩化物	2,3,3',4,4',5-HxCB	#156	¹³ C ₁₂ -2,3,3',4,4',5-HxCB ¹³ C ₁₂ -2,3,3',4,4',5'-HxCB ¹³ C ₁₂ -2,3',4,4',5,5'-HxCB
	2,3,3',4,4',5'-HxCB	#157	
	2,3',4,4',5,5'-HxCB	#167	
七塩化物	2,3,3',4,4',5,5'-HpCB	#189	¹³ C ₁₂ -2,3,3',4,4',5,5'-HpCB

#番号は、IUPAC No.を示す。

2. 器具及び装置

分析に用いる器具（試料の保管、輸送用容器を含む）は専用のものを用い、アセトン及びトルエン等で、よく洗浄したものを使用する。特に前の試料からの汚染が懸念される場合には、ブランク試験（第3節参照）を行い、ダイオキシン類の分析に影響を及ぼす妨害成分が含まれていないことを確認してから使用する。

2.1 前処理用器具

すり合わせの部分にはグリースを使用してはならない。

(1) 一般的な分析器具

ブフナー漏斗、分液漏斗、ソックスレー抽出器等。

(2) 濃縮器

クデルナ・ダニッシュ (KD) 濃縮器又はロータリーエバポレーターを使用する。

2.2 ガスクロマトグラフ質量分析装置 (GC-MS)

二重収束型の質量分析計を用いる高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計 (HRGC-HRMS)。

(1) カラム恒温槽

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

(2) キャピラリーカラム

内径0.1~0.32mm、長さ25~60mの熔融シリカ製のものであって、内面に液相をコーティングしたもの（注17）。

(3) 検出器 (MS)

二重収束型のもので、分解能 ($M/\Delta M$, 10%谷) 10,000 以上の高分解能で分析できるもの。

イオン源は、温度を160~350℃に保つことができ、電子イオン化法（以後EI法と略称）が可能で、電子エネルギーが25~70eV程度のもの。

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

(4) 試料導入部

試料の全量を再現性良く導入できるもの（スプリットレス、オンカラム方式又は大量注入方式）。250~280℃にできること。

(5) キャリアーガス

高純度ヘリウム（純度99.999%以上）。

3. 試料の前処理

分析法のバリデーション時及び試料分析時には実試料の試験と併行して操作ブランク試験を実施する（注18）。

3.1 試料の均一化

試料はホモジナイザー等を使用して細碎し均一化したのち、一定量を秤量する。

3.2 内標準物質の添加（クリーンアップスパイク）

抽出操作前の試料に、PCDDs及びPCDFsについては、少なくとも各塩素数ごとに¹³C又は³⁷Clでラベルされた2,3,7,8-塩素置換体を最低1種類ずつ、コプラナーPCBsについては、ノンオルトPCBs、モノオルトPCBsは各塩素数ごとに最低1種類ずつの¹³Cでラベルされた塩素置換体を内標準物質として添加する。内標準物質の添加量は、GC-MS試料溶液中の濃度が検量線作成用標準溶液と同濃度になるようにする。通常はGC-MS試料溶液中のダイオキシン類が、2~10ng/mLとなるように添加する。

3.3 抽出

抽出は試料の量、共存有機物の量などを考慮し、溶媒抽出、脂肪抽出・アルカリ分解、アルカリ分解・溶媒抽出、ソックスレー抽出法等から選択する。なお、溶媒量は、試料量等に応じ、適宜増減させる。

試料と併行して、操作ブランク試験についても、同様の操作を行う。

3.3.1 溶媒抽出

試料の種類による溶媒抽出法の例

米、小麦類、豆、豆加工品、果実、野菜、海藻—アセトン・ヘキサン抽出

水—ジクロロメタン抽出

油脂、魚介類、肉、卵、乳、乳製品—アルカリ分解・溶媒抽出

3.3.1.1 アセトン・ヘキサン溶媒抽出

細碎し均一化した試料100gを1Lの分液漏斗にとり、アセトン—ヘキサン(1:1)混液200mLを加え、1時間振とうする。次に、ガラス繊維ろ紙を用い吸引ろ過し、残留物についてさらにアセトン—ヘキサン(1:1)混液200mLを加え10分間振とうし、同様に吸引ろ過する。全抽出液(ろ過溶液)にヘキサン洗浄水200mLを加え、10分間振とうし、ヘキサン層を分離する。ヘキサン層を2%塩化ナトリウム溶液100mLで2回洗浄する。

3.3.1.2 ジクロロメタン溶媒抽出（注19）

試料10Lを1.25L毎に2L分液漏斗にとり、ジクロロメタン150mLを加え、10分間振とうする。ジクロロメタン層を無水硫酸ナトリウムで脱水する。水層にさらにジクロロメタン150mLを加え同様に処理する。ジクロロメタン層を合わせて約5mLまで濃縮した後、ヘキサン200mLで300mLの分液漏斗に移す。