

別 紙

飼料中のダイオキシン類の定量法暫定ガイドライン（平成16年11月24日付け16消安第5299号農林水産省消費・安全局衛生管理課長通知）新旧対照表

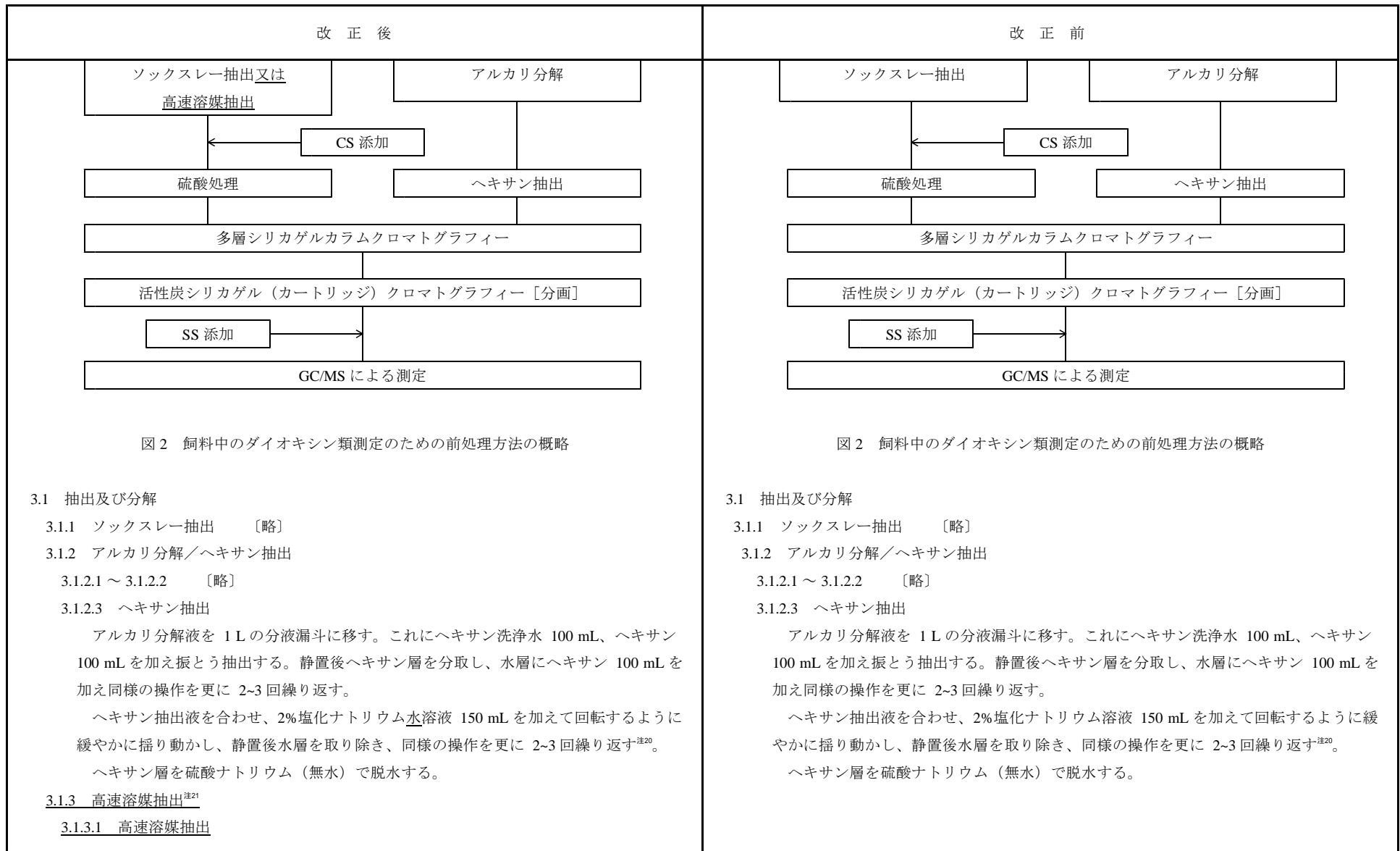
改 正 後	改 正 前
目次	目次
<b>第一章 概論</b> ..... 1 はじめに..... 1 1. 分析対象..... 1 2. 用語・略語の定義..... 1 3. 目標定量下限値..... 2 4. 分析方法..... 3 4.1 概要..... 3 4.2 分析方法の要件..... 3  <b>第二章 各論</b> ..... 5 <b>第1節 試料採取</b> ..... 5 1. 試料採取（サンプリング）..... 5 2. 試料の処理..... 5 3. 分析に使用する試料量..... 5  <b>第2節 分析方法</b> ..... 6 1. 試薬及び標準物質..... 6 2. 器具及び装置..... 8 2.1 前処理用器具..... 8 2.2 ガスクロマトグラフ質量分析装置（GC/MS）..... 9 3. 試料の前処理..... 9 3.1 抽出及び分解..... 10 3.1.1 ソックスレー抽出..... 10 3.1.2 アルカリ分解／ヘキサン抽出..... 11	〔同 左〕

改正後	改正前
3.1.3 高速溶媒抽出・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 11	
3.2 精製及び分画・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 12	3.2 精製及び分画・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 11
3.2.1 硫酸処理・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 12	3.2.1 硫酸処理・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 12
3.2.2 多層シリカゲルカラムクロマトグラフィー・・・・・・・・ 12	3.2.2 多層シリカゲルカラムクロマトグラフィー・・・・・・・・ 12
3.2.3 活性炭シリカゲルカラムクロマトグラフィー・・・・・・・・ 13	3.2.3 活性炭シリカゲルカラムクロマトグラフィー・・・・・・・・ 12
3.2.4 シリカゲルカラムクロマトグラフィー・・・・・・・・ 13	3.2.4 シリカゲルカラムクロマトグラフィー・・・・・・・・ 12
3.2.5 硝酸銀シリカゲルカラムクロマトグラフィー・・・・・・・・ 13	3.2.5 硝酸銀シリカゲルカラムクロマトグラフィー・・・・・・・・ 13
3.2.6 DMSO 抽出／ヘキサン逆抽出・・・・・・・・・・・・・・・・ 13	3.2.6 DMSO 抽出／ヘキサン逆抽出・・・・・・・・・・・・・・・・ 13
3.2.7 アルミナカラムクロマトグラフィー・・・・・・・・ 14	3.2.7 アルミナカラムクロマトグラフィー・・・・・・・・ 13
3.2.8 活性炭カラム高速液体クロマトグラフィー（HPLC） ・・・・・・ 14	3.2.8 活性炭カラム高速液体クロマトグラフィー（HPLC） ・・・・・・ 13
3.2.9 活性炭シリカゲルカートリッジカラムクロマトグラフィー・・・・・・・・ 14	3.2.9 活性炭シリカゲルカートリッジカラムクロマトグラフィー・・・・・・・・ 14
3.3 試料溶液の調製とシリンジスパイク用内標準物質の添加・・・・・・・・ 15	3.3 試料溶液の調製とシリンジスパイク用内標準物質の添加・・・・・・・・ 14
4 同定及び定量・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 15	4 同定及び定量・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 14
4.1 GC/MS の分析条件の設定・・・・・・・・・・・・・・・・ 15	4.1 GC/MS の分析条件の設定・・・・・・・・・・・・・・・・ 14
4.1.1 ガスクロマトグラフ（GC）の操作条件・・・・・・・・ 15	4.1.1 ガスクロマトグラフ（GC）の操作条件・・・・・・・・ 14
4.1.2 質量分析計（MS）の操作条件・・・・・・・・・・・・ 17	4.1.2 質量分析計（MS）の操作条件・・・・・・・・・・・・ 16
4.2 GC/MS の調整・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 19	4.2 GC/MS の調整・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 18
4.2.1 ガスクロマトグラフ（GC）の調整・・・・・・・・・・・・ 19	4.2.1 ガスクロマトグラフ（GC）の調整・・・・・・・・・・・・ 18
4.2.2 質量分析計（MS）の調整・・・・・・・・・・・・・・ 19	4.2.2 質量分析計（MS）の調整・・・・・・・・・・・・・・ 18
4.2.3 GC/MS の感度確認・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 19	4.2.3 GC/MS の感度確認・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 18
4.3 検量線の作成（RRF と RRF <sub>ss</sub> の算出）・・・・・・ 19	4.3 検量線の作成（RRF と RRF <sub>ss</sub> の算出）・・・・・・ 19
4.4 試料の分析・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 21	4.4 試料の分析・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 20
4.4.1 検量線の確認・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 21	4.4.1 検量線の確認・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 20
4.4.2 試料の同定と定量・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 21	4.4.2 試料の同定と定量・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 20
4.4.3 回収率の算出・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 22	4.4.3 回収率の算出・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 21
5 数値の取扱い・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 22	5 数値の取扱い・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 21
5.1 濃度の表示・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 22	5.1 濃度の表示・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 21
5.1.1 濃度の算出・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 22	5.1.1 濃度の算出・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 21

改 正 後	改 正 前
5.1.2 毒性当量への換算..... <u>23</u>	5.1.2 毒性当量への換算..... <u>22</u>
6. 表示方法..... <u>24</u>	6. 表示方法..... <u>23</u>
第3節 測定データの品質管理..... <u>27</u>	第3節 測定データの品質管理..... <u>26</u>
1. 標準作業手順（SOP）の作成..... <u>28</u>	1. 標準作業手順（SOP）の作成..... <u>27</u>
2. 分析法バリデーション..... <u>28</u>	2. 分析法バリデーション..... <u>27</u>
2.1 クリーンアップ操作の評価..... <u>28</u>	2.1 クリーンアップ操作の評価..... <u>27</u>
2.2 回収率の評価..... <u>28</u>	2.2 回収率の評価..... <u>27</u>
2.3 ブランク値の評価..... <u>28</u>	2.3 ブランク値の評価..... <u>27</u>
2.4 標準試料の分析による真度の確認..... <u>28</u>	2.4 標準試料の分析による真度の確認..... <u>27</u>
2.5 定量下限値の評価..... <u>28</u>	2.5 定量下限値の評価..... <u>27</u>
3. 分析時の信頼性の確認..... <u>28</u>	3. 分析時の信頼性の確認..... <u>27</u>
3.1 装置の信頼性..... <u>28</u>	3.1 装置の信頼性..... <u>27</u>
3.1.1 装置感度の確認..... <u>28</u>	3.1.1 装置感度の確認..... <u>27</u>
3.1.2 検量線（RRF）の確認..... <u>29</u>	3.1.2 検量線（RRF）の確認..... <u>28</u>
3.1.3 注入量の確認..... <u>29</u>	3.1.3 注入量の確認..... <u>28</u>
3.2 測定値の信頼性..... <u>29</u>	3.2 測定値の信頼性..... <u>28</u>
3.2.1 ブランク値の評価..... <u>29</u>	3.2.1 ブランク値の評価..... <u>28</u>
3.2.2 回収率の評価..... <u>29</u>	3.2.2 回収率の評価..... <u>28</u>
3.2.3 定量下限値の評価..... <u>29</u>	3.2.3 定量下限値の評価..... <u>28</u>
4. データの管理及び評価..... <u>29</u>	4. データの管理及び評価..... <u>28</u>
4.1 異常値、欠測値の取扱い..... <u>29</u>	4.1 異常値、欠測値の取扱い..... <u>28</u>
4.2 分析の信頼性に関する記録..... <u>30</u>	4.2 分析の信頼性に関する記録..... <u>29</u>
5. 内部精度管理..... <u>30</u>	5. 内部精度管理..... <u>29</u>
5.1 ブランク値の測定..... <u>30</u>	5.1 ブランク値の測定..... <u>29</u>
5.2 二重測定..... <u>30</u>	5.2 二重測定..... <u>29</u>
5.3 品質管理チェック試料の測定..... <u>30</u>	5.3 品質管理チェック試料の測定..... <u>29</u>
6. 外部精度管理..... <u>30</u>	6. 外部精度管理..... <u>29</u>

改正後	改正前
第4節 安全管理..... <u>31</u>	第4節 安全管理..... <u>30</u>
1. 施設..... <u>31</u>	1. 施設..... <u>30</u>
2. 実験室等の立入規制..... <u>31</u>	2. 実験室等の立入規制..... <u>30</u>
3. 換気システム..... <u>31</u>	3. 換気システム..... <u>30</u>
4. その他の設備..... <u>31</u>	4. その他の設備..... <u>30</u>
5. 実験室内での業務..... <u>32</u>	5. 実験室内での業務..... <u>31</u>
6. 標準物質の取扱い..... <u>32</u>	6. 標準物質の取扱い..... <u>31</u>
7. 試料の取扱い..... <u>32</u>	7. 試料の取扱い..... <u>31</u>
8. 実験中の事故の処置..... <u>32</u>	8. 実験中の事故の処置..... <u>31</u>
9. 廃棄物の保管処分等..... <u>32</u>	9. 廃棄物の保管処分等..... <u>31</u>
10. 作業記録..... <u>33</u>	10. 作業記録..... <u>32</u>
11. 健康診断..... <u>33</u>	11. 健康診断..... <u>32</u>

改正後	改正前
<p>第一章 概論 [略]</p> <p>第二章 各論</p> <p>第1節 試料採取 [略]</p> <p>第2節 分析方法</p> <p>1～2. [略]</p> <p>3. 試料の前処理</p> <p>飼料中のダイオキシン類の定量の前処理において、ダイオキシン類の抽出法は試料の種類により2通りの方法に大別される(図2)。</p> <p><b>畜産動物用配合飼料、乾牧草、植物質性原料等</b>、脂質含有量が比較的少ない試料については、ソックスレー抽出又は高速溶媒抽出によりダイオキシン類を抽出し、硫酸処理により有機物を分解する(3.1.1 ソックスレー抽出、3.1.3 高速溶媒抽出、3.2.1 硫酸処理)。</p> <p><b>養殖水産動物用配合飼料、動物質性原料、油脂類等</b>はアルカリ分解により脂質を分解した後、ヘキサンによりダイオキシン類を抽出する(3.1.2 アルカリ分解/ヘキサン抽出)。</p> <p>抽出及び分解処理した試料溶液を、多層シリカゲルカラムクロマトグラフィー(3.2.2)により精製し、更に活性炭シリカゲルカラムクロマトグラフィー(3.2.3)により精製及び分画した後、試料溶液を濃縮(3.3)しGC/MS測定に供する(図2)。</p> <p>本ガイドラインに示す前処理では抽出又は精製が不十分である場合には、適宜抽出法を検討するか、必要な精製工程を追加することで対応する。</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around; margin-top: 20px;"> <div style="text-align: center;"> <p>畜産動物用配合飼料、 乾牧草、植物質性原料</p> <div style="border: 1px solid black; width: 150px; height: 20px; margin: 0 auto; text-align: center;">試料秤量</div> <div style="border: 1px solid black; width: 150px; height: 20px; margin: 5px auto;"></div> </div> <div style="text-align: center;"> <p>養殖水産動物用配合飼料 動物質性原料、油脂類</p> <div style="border: 1px solid black; width: 150px; height: 20px; margin: 0 auto; text-align: center;">試料秤量</div> <div style="border: 1px solid black; width: 150px; height: 20px; margin: 5px auto;"></div> </div> </div> <div style="text-align: center; margin: 10px 0;"> <div style="border: 1px solid black; width: 80px; height: 20px; display: inline-block; text-align: center;">CS 添加</div> <span style="font-size: 24px; vertical-align: middle;">→</span> </div>	<p>第一章 概論 [略]</p> <p>第二章 各論</p> <p>第1節 試料採取 [略]</p> <p>第2節 分析方法</p> <p>1～2. [略]</p> <p>3. 試料の前処理</p> <p>飼料中のダイオキシン類の定量の前処理において、ダイオキシン類の抽出法は試料の種類により2通りの方法に大別される(図2)。</p> <p><b>畜産動物用配合飼料、乾牧草、植物質性原料等</b>、脂質含有量が比較的少ない試料については、ソックスレー抽出によりダイオキシン類を抽出し、硫酸処理により有機物を分解する(3.1.1 ソックスレー抽出、3.2.1 硫酸処理)。</p> <p><b>養殖水産動物用配合飼料、動物質性原料、油脂類等</b>はアルカリ分解により脂質を分解した後、ヘキサンによりダイオキシン類を抽出する(3.1.2 アルカリ分解/ヘキサン抽出)。</p> <p>抽出及び分解処理した試料溶液を、多層シリカゲルカラムクロマトグラフィー(3.2.2)により精製し、更に活性炭シリカゲルカラムクロマトグラフィー(3.2.3)により精製及び分画した後、試料溶液を濃縮(3.3)しGC/MS測定に供する(図2)。</p> <p>本ガイドラインに示す前処理では抽出又は精製が不十分である場合には、適宜抽出法を検討するか、必要な精製工程を追加することで対応する。</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around; margin-top: 20px;"> <div style="text-align: center;"> <p>畜産動物用配合飼料、 乾牧草、植物質性原料</p> <div style="border: 1px solid black; width: 150px; height: 20px; margin: 0 auto; text-align: center;">試料秤量</div> <div style="border: 1px solid black; width: 150px; height: 20px; margin: 5px auto;"></div> </div> <div style="text-align: center;"> <p>養殖水産動物用配合飼料 動物質性原料、油脂類</p> <div style="border: 1px solid black; width: 150px; height: 20px; margin: 0 auto; text-align: center;">試料秤量</div> <div style="border: 1px solid black; width: 150px; height: 20px; margin: 5px auto;"></div> </div> </div> <div style="text-align: center; margin: 10px 0;"> <div style="border: 1px solid black; width: 80px; height: 20px; display: inline-block; text-align: center;">CS 添加</div> <span style="font-size: 24px; vertical-align: middle;">→</span> </div>



改正後	改正前
<p><u>試料<sup>注14</sup> 50 g を抽出容器<sup>注22</sup> に入れ、高速溶媒抽出装置<sup>注23</sup> に装着し、抽出を行う。試料容量が大きくなる場合には、抽出容器<sup>注24</sup> 数本に試料を分割して抽出を行う。</u></p> <p><u>抽出条件 例</u></p> <p><u>抽出溶媒：ヘキサン-アセトン (1+1)</u></p> <p><u>温度：100 °C</u></p> <p><u>加熱時間：5 分</u></p> <p><u>圧力：10.3 MPa<sup>注25</sup></u></p> <p><u>保持時間：5 分</u></p> <p><u>保持回数<sup>注26</sup>：3</u></p> <p><u>溶媒置換総量<sup>注27</sup>：抽出容器の 60%</u></p> <p><u>窒素ガスバージ時間：120~150 秒</u></p> <p>3.1.3.2 クリーンアップスパイク用内標準物質の添加</p> <p><u>3.1.1.2 と同様にクリーンアップスパイク用内標準物質を抽出液に添加する<sup>注28</sup>。この抽出液を 1 L の分液漏斗に移す。試料を分割していた場合は複数の抽出液を先の分液漏斗に合わせる。捕集ピンを少量のヘキサンで数回洗浄し、洗液を先の分液漏斗に合わせる。分液漏斗のヘキサン量が 200 mL 程度となるようにヘキサンを加え、更にアセトン量が 150 mL 程度となるようにアセトンを加える<sup>注29</sup>。2%塩化ナトリウム水溶液 150 mL を加えて振り混ぜ<sup>注29</sup>、静置後水層を取り除く。更に、2%塩化ナトリウム水溶液 150 mL を加えて回転するように緩やかに揺り動かし<sup>注30</sup>、静置後水層を取り除く。</u></p> <p>3.2 精製及び分画<sup>注31</sup></p> <p>[略]</p> <p>3.2.1 硫酸処理</p> <p>試料溶液の入っている分液漏斗に濃硫酸を適量加え、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着色しなくなるまで繰り返す<sup>注32</sup>。ヘキサン層をヘキサン洗浄水 50~100 mL で 3~5 回洗浄し、硫酸ナトリウム（無水）で脱水する。</p> <p>3.2.2 多層シリカゲルカラムクロマトグラフィー</p> <p>内径 15 mm、長さ 300 mm のカラム管に、シリカゲル 0.9 g、2%水酸化カリウムシリカゲル 3.0 g、シリカゲル 0.9 g、44%硫酸シリカゲル 4.5 g、22%硫酸シリカゲル 6.0 g、シリ</p>	<p>3.2 精製及び分画<sup>注31</sup></p> <p>[略]</p> <p>3.2.1 硫酸処理</p> <p>試料溶液の入っている分液漏斗に濃硫酸を適量加え、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着色しなくなるまで繰り返す<sup>注32</sup>。ヘキサン層をヘキサン洗浄水 50~100 mL で 3~5 回洗浄し、硫酸ナトリウム（無水）で脱水する。</p> <p>3.2.2 多層シリカゲルカラムクロマトグラフィー</p> <p>内径 15 mm、長さ 300 mm のカラム管に、シリカゲル 0.9 g、2%水酸化カリウムシリカゲル 3.0 g、シリカゲル 0.9 g、44%硫酸シリカゲル 4.5 g、22%硫酸シリカゲル 6.0 g、シリ</p>

改正後	改正前
<p>カゲル 0.9 g、10%硝酸銀シリカゲル 3.0 g、シリカゲル 2.0 g<sup>注23</sup>及び硫酸ナトリウム（無水）6.0 gを順次乾式充てんする<sup>注24</sup>。</p> <p>ヘキサンでカラムを十分洗浄し、液面がカラムの上面に達するまで流下させた後、5 mL程度に減圧濃縮した試料溶液を入れる。少量のヘキサンで数回洗い込み、ヘキサン 150-200 mLを滴下速度約 2.5 mL/min（毎秒 1 滴程度）で流し、ダイオキシン類を溶出させる<sup>注25</sup>。</p> <p>3.2.3 活性炭シリカゲルカラムクロマトグラフィー</p> <p>〔略〕</p> <p>0.5 mL程度に減圧濃縮した試料溶液を入れる。容器をヘキサン 0.5 mL程度<sup>注26</sup>で洗浄し、洗液を活性炭シリカゲルカラムに加える。この操作を更に 1 回繰り返す。15 分間放置した後、ヘキサン 50 mLを滴下速度約 2.5 mL/min（毎秒 1 滴程度）で流し、液面がカラムの上面に達するまで流下し、カラムを洗浄する。</p> <p>〔略〕</p> <p>3.2.4 シリカゲルカラムクロマトグラフィー<sup>注27</sup></p> <p>〔略〕</p> <p>3.2.5 硝酸銀シリカゲルカラムクロマトグラフィー<sup>注28</sup></p> <p>〔略〕</p> <p>3.2.6 DMSO 抽出／ヘキサン逆抽出<sup>注29</sup></p> <p>3.2.6.1 ～ 3.2.6.2 〔略〕</p> <p>3.2.7 アルミナカラムクロマトグラフィー<sup>注40</sup></p> <p>〔略〕</p> <p>3.2.8 活性炭カラム高速液体クロマトグラフィー（HPLC）</p> <p>HPLCに活性炭カラム（例、内径 4.6 mm、長さ 100 mm）<sup>注41</sup>を装着し、あらかじめトルエンでカラムを十分に洗浄した後、十分量のヘキサンで置換する。調製した試料溶液を HPLCカラムに注入し、移動相としてヘキサン 8 mLを流す。</p> <p>〔略〕</p> <p>3.2.9 活性炭シリカゲルカートリッジカラムクロマトグラフィー</p> <p>0.5 mL程度に減圧濃縮した試料溶液を活性炭シリカゲルカートリッジ<sup>注46</sup>に入れる。容器をヘキサン 0.5 mL程度<sup>注28</sup>で洗浄し、洗液を活性炭シリカゲルカートリッジに加える。この</p>	<p>カゲル 0.9 g、10%硝酸銀シリカゲル 3.0 g、シリカゲル 2.0 g<sup>注24</sup>及び硫酸ナトリウム（無水）6.0 gを順次乾式充てんする<sup>注24</sup>。</p> <p>ヘキサンでカラムを十分洗浄し、液面がカラムの上面に達するまで流下させた後、5 mL程度に減圧濃縮した試料溶液を入れる。少量のヘキサンで数回洗い込み、ヘキサン 150-200 mLを滴下速度約 2.5 mL/min（毎秒 1 滴程度）で流し、ダイオキシン類を溶出させる<sup>注25</sup>。</p> <p>3.2.3 活性炭シリカゲルカラムクロマトグラフィー</p> <p>〔略〕</p> <p>0.5 mL程度に減圧濃縮した試料溶液を入れる。容器をヘキサン 0.5 mL程度<sup>注26</sup>で洗浄し、洗液を活性炭シリカゲルカラムに加える。この操作を更に 1 回繰り返す。15 分間放置した後、ヘキサン 50 mLを滴下速度約 2.5 mL/min（毎秒 1 滴程度）で流し、液面がカラムの上面に達するまで流下し、カラムを洗浄する。</p> <p>〔略〕</p> <p>3.2.4 シリカゲルカラムクロマトグラフィー<sup>注27</sup></p> <p>〔略〕</p> <p>3.2.5 硝酸銀シリカゲルカラムクロマトグラフィー<sup>注28</sup></p> <p>〔略〕</p> <p>3.2.6 DMSO 抽出／ヘキサン逆抽出<sup>注29</sup></p> <p>3.2.6.1 ～ 3.2.6.2 〔略〕</p> <p>3.2.7 アルミナカラムクロマトグラフィー<sup>注30</sup></p> <p>〔略〕</p> <p>3.2.8 活性炭カラム高速液体クロマトグラフィー（HPLC）</p> <p>HPLCに活性炭カラム（例、内径 4.6 mm、長さ 100 mm）<sup>注31</sup>を装着し、あらかじめトルエンでカラムを十分に洗浄した後、十分量のヘキサンで置換する。調製した試料溶液を HPLCカラムに注入し、移動相としてヘキサン 8 mLを流す。</p> <p>〔略〕</p> <p>3.2.9 活性炭シリカゲルカートリッジカラムクロマトグラフィー</p> <p>0.5 mL程度に減圧濃縮した試料溶液を活性炭シリカゲルカートリッジ<sup>注36</sup>に入れる。容器をヘキサン 0.5 mL程度<sup>注28</sup>で洗浄し、洗液を活性炭シリカゲルカートリッジに加える。この</p>



改正後	改正前
<p>操作を更に 1 回繰り返す。15 分間放置した後、ヘキサン 60 mL を同カートリッジに加え、液面がカラムの上面に達するまで流下し、カラムを洗浄する。</p> <p>〔略〕</p> <p>3.3 試料溶液の調製とシリンジスパイク用内標準物質の添加</p> <p>ダイオキシン類の精製及び分画後に、ダイオキシン類が溶出する各画分を約 1 mL に減圧濃縮する。濃縮液をクデルナ・ダニッシュ (KD) 濃縮器に移し、容器をヘキサン 1~2 mL で数回洗浄し、洗液を KD 濃縮器に合わせた後、窒素気流下で約 0.1 mL 以下まで濃縮する<sup>242</sup>。</p> <p>次いで、シリンジスパイク用内標準物質をクリーンアップスパイク用内標準物質と同程度の濃度になるように加え、少量のヘキサンで KD 濃縮器の壁を洗い、更に窒素気流下で極少量の溶媒が残る程度まで濃縮する。次いで、ノナン 0.05~0.1 mL を加え、更に窒素気流下で最終液量まで濃縮<sup>242, 43</sup>し、GC/MS 試料溶液とする<sup>244</sup>。</p> <p>4. 同定及び定量</p> <p>〔略〕</p> <p>4.1 GC/MS の分析条件の設定</p> <p>4.1.1 〔略〕</p> <p>4.1.2 質量分析計 (MS) の操作条件</p> <p>質量校正用標準物質 (PFK) を用いたロックマス方式による選択イオンモニタリング (SIM) による分析を行うために、分解能、電子エネルギー、イオン化電流、イオン源温度、モニターイオン (分析対象物質は各塩素数につき 2 以上のモニターイオン、内標準物質は 1 以上のモニターイオン及び PFK のモニターイオン) 及び SIM の周期<sup>245</sup>を設定する。</p> <p>〔略〕</p> <p>4.2 GC/MS の調整</p> <p>〔略〕</p> <p>4.2.1 ~ 4.2.2 〔略〕</p> <p>4.2.3 GC/MS の感度確認</p> <p>各分析対象物質を注入し SN 比 (S/N=10) から GC/MS の定量下限量を求める<sup>246</sup>。GC/MS の定量下限量から計算した試料における定量下限値が、目標定量下限値を越えないことを確</p>	<p>操作を更に 1 回繰り返す。15 分間放置した後、ヘキサン 60 mL を同カートリッジに加え、液面がカラムの上面に達するまで流下し、カラムを洗浄する。</p> <p>〔略〕</p> <p>3.3 試料溶液の調製とシリンジスパイク用内標準物質の添加</p> <p>ダイオキシン類の精製及び分画後に、ダイオキシン類が溶出する各画分を約 1 mL に減圧濃縮する。濃縮液をクデルナ・ダニッシュ (KD) 濃縮器に移し、容器をヘキサン 1~2 mL で数回洗浄し、洗液を KD 濃縮器に合わせた後、窒素気流下で約 0.1 mL 以下まで濃縮する<sup>242</sup>。</p> <p>次いで、シリンジスパイク用内標準物質をクリーンアップスパイク用内標準物質と同程度の濃度になるように加え、少量のヘキサンで KD 濃縮器の壁を洗い、更に窒素気流下で極少量の溶媒が残る程度まで濃縮する。次いで、ノナン 0.05~0.1 mL を加え、更に窒素気流下で最終液量まで濃縮<sup>242, 33</sup>し、GC/MS 試料溶液とする<sup>244</sup>。</p> <p>4. 同定及び定量</p> <p>〔略〕</p> <p>4.1 GC/MS の分析条件の設定</p> <p>4.1.1 〔略〕</p> <p>4.1.2 質量分析計 (MS) の操作条件</p> <p>質量校正用標準物質 (PFK) を用いたロックマス方式による選択イオンモニタリング (SIM) による分析を行うために、分解能、電子エネルギー、イオン化電流、イオン源温度、モニターイオン (分析対象物質は各塩素数につき 2 以上のモニターイオン、内標準物質は 1 以上のモニターイオン及び PFK のモニターイオン) 及び SIM の周期<sup>245</sup>を設定する。</p> <p>〔略〕</p> <p>4.2 GC/MS の調整</p> <p>〔略〕</p> <p>4.2.1 ~ 4.2.2 〔略〕</p> <p>4.2.3 GC/MS の感度確認</p> <p>各分析対象物質を注入し SN 比 (S/N=10) から GC/MS の定量下限量を求める<sup>246</sup>。GC/MS の定量下限量から計算した試料における定量下限値が、目標定量下限値を越えないことを確</p>

改正後	改正前
<p>認する（第3節 3.2.3 参照）。同様に SN 比（S/N=3）から GC/MS の検出下限量及び試料における検出下限値を求める。</p> <p>4.3 検量線の作成（RRF と RRF<sub>SS</sub> の算出）</p> <p>〔略〕</p> <p>各分析対象物質に対して、0.1 ng/mL~500 ng/mL の濃度範囲で 5 段階程度の標準溶液を調製する<sup>註42</sup>。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、ダイオキシン類が 1~20 ng/mL なるように添加しておく。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。各分析対象物質の 2 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（表 2-6）とほぼ一致することを確認する<sup>註43</sup>。各分析対象物質の対応するクリーンアップスパイク用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用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。</p> <p>〔略〕</p> <p>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<sup>註49</sup>。</p> <p>〔略〕</p> <p>4.4 試料の分析</p> <p>4.4.1 〔略〕</p> <p>4.4.2 試料の同定と定量</p> <p>操作ブランク及び試料溶液の 1~2 μL を GC/MS に注入して分析を行う。4.1.2 で設定した各分析対象物質のクロマトグラムを記録する。測定終了後、個々の試料ごとに、2 つのモニターイオンのピーク面積の比を計算する<sup>註50</sup>。個々の試料ごとにロックマスのモニターチャンネルの確認を行う<sup>註51</sup>。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用内標準物質のピーク面積の比を計算し、あらかじめ 4.3 で求めた対応する相対感度係数（RRF）を用いて、次式により試料抽出中の各分析対象物質の量を算出する<sup>註48,52</sup>。</p> <p>〔略〕</p> <p>4.4.3 回収率の算出</p>	<p>認する（第3節 3.2.3 参照）。同様に SN 比（S/N=3）から GC/MS の検出下限量及び試料における検出下限値を求める。</p> <p>4.3 検量線の作成（RRF と RRF<sub>SS</sub> の算出）</p> <p>〔略〕</p> <p>各分析対象物質に対して、0.1 ng/mL~500 ng/mL の濃度範囲で 5 段階程度の標準溶液を調製する<sup>註42</sup>。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、ダイオキシン類が 1~20 ng/mL なるように添加しておく。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。各分析対象物質の 2 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（表 2-6）とほぼ一致することを確認する<sup>註43</sup>。各分析対象物質の対応するクリーンアップスパイク用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用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。</p> <p>〔略〕</p> <p>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<sup>註39</sup>。</p> <p>〔略〕</p> <p>4.4 試料の分析</p> <p>4.4.1 〔略〕</p> <p>4.4.2 試料の同定と定量</p> <p>操作ブランク及び試料溶液の 1~2 μL を GC/MS に注入して分析を行う。4.1.2 で設定した各分析対象物質のクロマトグラムを記録する。測定終了後、個々の試料ごとに、2 つのモニターイオンのピーク面積の比を計算する<sup>註40</sup>。個々の試料ごとにロックマスのモニターチャンネルの確認を行う<sup>註41</sup>。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用内標準物質のピーク面積の比を計算し、あらかじめ 4.3 で求めた対応する相対感度係数（RRF）を用いて、次式により試料抽出中の各分析対象物質の量を算出する<sup>註38,42</sup>。</p> <p>〔略〕</p> <p>4.4.3 回収率の算出</p>

改正後	改正前
<p>クリーンアップスパイク用内標準物質のピーク面積とシリンジスパイク用内標準物質のピーク面積の比、及び対応する相対感度係数（RRF<sub>ss</sub>、4.3 参照）を用いて、次式により、回収率を計算し、抽出及びクリーンアップの回収率（Rc）を確認する<sup>245</sup>。</p> <p>〔略〕</p> <p>5. 数値の取扱い</p> <p>5.1 濃度の表示</p> <p>5.1.1 濃度の算出</p> <p>4.4.2 で得られた結果から、次式を用いて飼料中のダイオキシン類の濃度を算出する<sup>244</sup>。</p> $C_k = \frac{Q_{s,k} - Q_{B,k}}{W}$ <p>濃度は原則として 3 けた目を四捨五入し、有効数字 2 けたで表す。<u>ただし、4.2.3 で求めた試料における検出下限値の表示けたまでとし、それより下のけたは表示しない。</u></p> <p>〔略〕</p> <p>5.1.2 毒性当量への換算</p> <p>ダイオキシン類の濃度を毒性当量に換算する場合は、5.1.1 で算出した各分析対象物質の濃度（pg/g）に表 2-7 及び表 2-8 に示す毒性等価係数（TEF）を乗じ、その合計を毒性当量（TEQ：pg-TEQ/g）とする。個々の異性体の毒性当量については、丸めの操作は行わず、合計値の 3 けた目を四捨五入し、有効数字 2 けたで表す。なお、実測濃度が定量下限値未満又は検出下限値未満の場合には表 2-9 に示すいずれかの算定法により換算し、いずれの算定法を使用したのかを明記する<sup>245</sup>。</p> <p>〔略〕</p> <p>6. 〔略〕</p> <p>第 3 節 測定データの品質管理</p> <p>〔略〕</p> <p>1. 〔略〕</p>	<p>クリーンアップスパイク用内標準物質のピーク面積とシリンジスパイク用内標準物質のピーク面積の比、及び対応する相対感度係数（RRF<sub>ss</sub>、4.3 参照）を用いて、次式により、回収率を計算し、抽出及びクリーンアップの回収率（Rc）を確認する<sup>245</sup>。</p> <p>〔略〕</p> <p>5. 数値の取扱い</p> <p>5.1 濃度の表示</p> <p>5.1.1 濃度の算出</p> <p>4.4.2 で得られた結果から、次式を用いて飼料中のダイオキシン類の濃度を算出する<sup>244</sup>。</p> $C_k = \frac{Q_{s,k} - Q_{B,k}}{W}$ <p>濃度は原則として 3 けた目を四捨五入し、有効数字 2 けたで表す。</p> <p>〔略〕</p> <p>5.1.2 毒性当量への換算</p> <p>ダイオキシン類の濃度を毒性当量に換算する場合は、5.1.1 で算出した各分析対象物質の濃度（pg/g）に表 2-7 及び表 2-8 に示す毒性等価係数（TEF）を乗じ、その合計を毒性当量（TEQ：pg-TEQ/g）とする。個々の異性体の毒性当量については、丸めの操作は行わず、合計値の 3 けた目を四捨五入し、有効数字 2 けたで表す。なお、実測濃度が定量下限値未満又は検出下限値未満の場合には表 2-9 に示すいずれかの算定法により換算し、いずれの算定法を使用したのかを明記する<sup>245</sup>。</p> <p>〔略〕</p> <p>6. 〔略〕</p> <p>第 3 節 測定データの品質管理</p> <p>〔略〕</p> <p>1. 〔略〕</p>

改正後	改正前
<p>2. 分析法バリデーション 〔略〕</p> <p>2.1 ～ 2.2 〔略〕</p> <p>2.3 ブランク値の評価<sup>注46</sup> 〔略〕</p> <p>2.4 〔略〕</p> <p>2.5 定量下限値の評価 2.3 でブランク値が認められる化合物においては、ブランク値の標準偏差の 10 倍に相当する量を求める。また、クロマトグラム上のノイズと標準溶液から求めたピーク高さから、<math>S/N=10</math> に相当する量を求める<sup>注46</sup>。この 2 つの値の大きい方を定量下限値とする。</p> <p>3. 〔略〕</p> <p>4. データの管理及び評価</p> <p>4.1 〔略〕</p> <p>4.2 分析の信頼性に関する記録 以下のデータを記録し、整理・保管しておき、測定データの信頼性管理に関する報告の要請があった場合に提出する。 (1) ～ (5) 〔略〕 (6) 検量線の RRF、感度、操作ブランク値、回収率、<u>定量下限値</u>。</p> <p>5. ～ 6. 〔略〕</p> <p>第 4 節 安全管理</p> <p>1. 施設 〔略〕</p> <p>1) 実験室 ① 〔略〕</p>	<p>2. 分析法バリデーション 〔略〕</p> <p>2.1 ～ 2.2 〔略〕</p> <p>2.3 ブランク値の評価<sup>注46</sup> 〔略〕</p> <p>2.4 〔略〕</p> <p>2.5 定量下限値の評価 2.3 でブランク値が認められる化合物においては、ブランク値の標準偏差の 10 倍に相当する量を求める。また、クロマトグラム上のノイズと標準溶液から求めたピーク高さから、<math>S/N=10</math> に相当する量を求める<sup>注36</sup>。この 2 つの値の大きい方を定量下限値とする。</p> <p>3. 〔略〕</p> <p>4. データの管理及び評価</p> <p>4.1 〔略〕</p> <p>4.2 分析の信頼性に関する記録 以下のデータを記録し、整理・保管しておき、測定データの信頼性管理に関する報告の要請があった場合に提出する。 (1) ～ (5) 〔略〕 (6) 検量線の RRF、感度、操作ブランク値、回収率、<u>検出下限値</u>。</p> <p>5. ～ 6. 〔略〕</p> <p>第 4 節 安全管理</p> <p>1. 施設 〔略〕</p> <p>1) 実験室 ① 〔略〕</p>

改正後	改正前
<p>②実験室は、可能であれば 2~3 のエリアに仕切った方がよい。その場合の各エリアの役割は、下記のとおりである。</p> <p>ア) 試料の分解、抽出、精製及び濃縮を行うエリア<sup>註</sup>。</p> <p>イ) [略]</p> <p>③ [略]</p> <p>2.~ 11. [略]</p> <p>~注~</p> <p>1 [略]</p> <p>2 粉碎して <u>0.5 ~ 1 mm</u> の網ふるいを通してよく混合する。この際、外部から及び試料間のダイオキシン類の混入がないようにすること。</p> <p>3~17 [略]</p> <p>18 粉碎し <u>0.5 ~ 1 mm</u> のふるいを通過していれば通常必要ない。</p> <p>19~20 [略]</p> <p>21 <u>高压液体抽出、高压流体抽出又は加圧流体抽出とも呼ばれている。</u></p> <p>22 <u>試料採取後、抽出容器に空間がある場合は、ケイソウ土、ガラスビーズを加えてもよい。</u> <u>ケイソウ土としては、ケムチューブーハイドロマトリックス (VARIAN 製) 及び ASE Prep D.E. (DIONEX 製) がある。</u></p> <p>23 <u>高速溶媒抽出装置としては、ASE-100、ASE-200、ASE-300 (DIONEX 製) がある。</u></p> <p>24 <u>33 mL の抽出容器にはおおよそ 10 g の乾牧草又はおおよそ 20 g の穀物を入れることができる。また、99 mL の抽出容器にはおおよそ 30 g の乾牧草又はおおよそ 60 g の穀物を入れることができる。</u></p> <p>25 <u>1,500 psi</u></p> <p>26 <u>サイクル数</u></p> <p>27 <u>保持回数によって、分割して注入される。例えば、「保持回数：3」及び「溶媒置換総量：抽出容器の 60%」の場合、高速溶媒抽出装置の動作は、次のとおりである。</u></p>	<p>②実験室は、可能であれば 2~3 のエリアに仕切った方がよい。その場合の各エリアの役割は、下記のとおりである。</p> <p>ア) 試料の分解、抽出、精製及び濃縮を行うエリア<sup>註</sup>。</p> <p>イ) [略]</p> <p>③ [略]</p> <p>2.~ 11. [略]</p> <p>~注~</p> <p>1 [略]</p> <p>2 粉碎して <u>1 mm</u> の網ふるいを通してよく混合する。この際、外部から及び試料間のダイオキシン類の混入がないようにすること。</p> <p>3~17 [略]</p> <p>18 粉碎し <u>1 mm</u> のふるいを通過していれば通常必要ない。</p> <p>19~20 [略]</p>

改正後	改正前
<p><u>最初に、抽出容器内の圧力が 10.3MPa になるまで抽出溶媒を注入し、抽出容器内を昇温するために 5 分間加熱する。次に、5 分間保持し、抽出容器の 20% の容量の抽出溶媒を同容器に注入し、流出した抽出液を捕集ビンに捕集し、更に、5 分間保持及び 20% 容量の溶媒注入の動作を 2 回繰り返す。3 回目の抽出溶媒注入後直ちに窒素ガスをパージし、流出した抽出液を捕集ビンに捕集する。</u></p> <p><u>28 試料を分割していた場合はいずれか 1 つの抽出液にクリーンアップスパイク用内標準物質を添加してもよい。</u></p> <p><u>29 溶媒容量割合が大幅に異なるとエマルジョンが発生しやすくなる。</u></p> <p><u>30 振り混ぜるとエマルジョンが発生する。</u></p> <p><u>31～57</u>      [略]</p>	<p><u>21～47</u>      [略]</p>