絶縁油中の微量PCBに関する
簡易測定法マニュアル
（第２版）

平成22年6月

環境省廃棄物・リサイクル対策部産業廃棄物課

目　　次

はじめに　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 1

１　絶縁油中の微量 PCB の簡易測定法の概論　・・・・・・・・・・・・・・・・ 4
1.1　絶縁油中の微量 PCB とは　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 5
1.2　PCB 標準物質および異性体構成　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 9
1.3　分析法の選択について　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 20
1.4　試料の採取　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 24
1.5　精度管理について ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 26
1.6　数値の取り扱い　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・35

２　絶縁油中の PCB 簡易定量法 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・36
2.1　ガスクロマトグラフ/電子捕獲型検出器(GC/ECD)を適用した簡易定量法・・・・ 37
2.1.1　高濃度硫酸処理/シリカゲルカラム分画/キャピラリーガスクロマトグラフ/電子捕獲型検出器(GC/ECD)法　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 37
2.1.2　加熱多層シリカゲルカラム/アルミナカラム/キャピラリーガスクロマトグラフ/電子捕獲型検出器(GC/ECD)法　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 53
2.1.3　硫酸処理/ジビニルベンゼン-メタクリレートポリマーカラム分画/キャピラリーガスクロマトグラフ/電子捕獲型検出器 (GC/ECD) 法　・・・・・・・・・・ 63
2.1.4　ゲルパーミエーションクロマトグラフ/多層シリカゲルカラム/キャピラリーガスクロマトグラフ/電子捕獲型検出器 (GC/ECD) 法・・・・・・・・・・・・73
2.2　ガスクロマトグラフ/高分解能質量分析計(GC/HRMS)を適用した簡易定量法・・・81
2.2.1　溶媒希釈/ガスクロマトグラフ/高分解能質量分析(GC/HRMS)法・・・・・・・・ 81
2.3　トリプルステージ型ガスクロマトグラフ質量分析計(GC/MS/MS)を適用した簡易定量法・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 93
2.3.1　加熱多層シリカゲルカラム/アルミナカラム/トリプルステージ型ガスクロマトグラフ質量分析 (GC/MS/MS) 法・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 93
2.4　ガスクロマトグラフ/四重極型質量分析計(GC/QMS)を適用した簡易定量法 ・・・ 103
2.4.1　加熱多層シリカゲルカラム/アルミナカラム/ガスクロマトグラフ/四重極型質量分析(GC/QMS) 法・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 103

2.5　負イオン化学イオン化質量分析計(GC/NICI-MS)を適用した簡易定量法・・・・・ 112
2.5.1　スルホキシドカートリッジ/ガスクロマトグラフ/負イオン化学イオン化質量分析計(GC/NICI-MS)法・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 112
2.6　PCB の一部の化合物濃度から全 PCB 濃度を計算する簡易定量法 ・・・・・・・・ 126
2.6.1　PCB の一部の化合物濃度から全 PCB 濃度を計算する簡易定量法 ・・・・・・126
2.7　生化学的方法による簡易定量法　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・133
2.7.1　加熱多層シリカゲルカラム/アルミナカラム/フロー式イムノセンサー法・・133

3　絶縁油中の PCB 迅速判定法　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・155
3.1　ガスクロマトグラフ/電子捕獲型検出器(GC/ECD)を適用した迅速判定法・・・・156
3.1.1　SO_3 添加濃硫酸多層シリカゲル処理/キャピラリカラムガスクロマトグラフ/電子捕獲型検出器(GC/ECD)法・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・156
3.2　ガスクロマトグラフ/負イオン化学イオン化質量分析計(GC/NICI-MS)を適用した迅速判定法・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・177
3.2.1　ヘキサン希釈/ガスクロマトグラフ/負イオン化学イオン化質量分析計(GC/NICI-MS)法　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・177
3.3　生化学的方法による迅速判定法・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・190
3.3.1　高濃度硫酸シリカゲルカラム/フロースルー式免疫測定法(イムノアッセイ)　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・190
3.3.2　硫酸処理/DMSO 抽出/硝酸銀カラム精製/イムノクロマトグラフ測定法・・・ 213
3.3.3　加熱多層シリカゲルカラム/アルミナカラム/フロー式イムノセンサー法・・239
3.3.4　加熱多層シリカゲルカラム/アルミナカラム/間接競合酵素免疫測定(ELISA)法・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・256

はじめに

ポリ塩化ビフェニル（PCB）については昭和 47 年から新たな製造がなくなったが、それまでに製造された高圧トランス及び高圧コンデンサ等が廃棄物となったものの処理体制の整備が著しく停滞していたため、長期にわたり処分がなされずに事業者において保管されてきた。このような状況において、これらの廃棄物の紛失等による環境汚染についての懸念を踏まえ、平成 13 年に「ポリ塩化ビフェニル廃棄物の適正な処理の推進に関する特別措置法」（PCB 特別措置法）が制定され、環境事業団（後の日本環境安全事業株式会社）による拠点的広域処理施設での処理体制が整備されてきた。

一方、PCB を使用していないとする電気機器又は OF ケーブル（以下「電気機器等」という。）に、微量（その大部分は数 mg/kg から数十 mg/kg 程度と推計）の PCB に汚染された絶縁油を含むものが存在し、その量は、電気機器が約 450 万台（柱上トランス以外の電気機器が約 120 万台、柱上トランスが約 330 万台）、OF ケーブルが約 1,400km に上ると推計されている。このような微量の PCB に汚染された電気機器等が廃棄物となったもの（以下「微量 PCB 汚染廃電気機器等」という。）について、技術的に安全・確実で、かつ廃棄物の特性を踏まえた処理を推進する必要がある。

PCB 汚染廃電気機器等は PCB 廃棄物（特別管理産業廃棄物）に該当し[注1]、保管事業者は、廃棄物の処理及び清掃に関する法律（昭和 45 年法律第 137 号。以下「廃棄物処理法」という。）及びポリ塩化ビフェニル廃棄物の適正な処理の推進に関する特別措置法（平成 13 年法律第 65 号。以下「PCB 特措法」という。）に基づき、保管及び処分等の状況に関する届出を行うとともに、処理基準に従い適正に保管し、期間内に自らの責任において確実かつ適正に処理処分するか廃棄物処理法に基づく都道府県知事の許可又は環境大臣の無害化処理認定を受けた処分業者に委託して、適正に処分しなければならない。

微量の PCB によって汚染された又はその可能性がある電気機器等が廃棄物となったもの（以下「廃電気機器等」という。）の保管事業者（又は当該電気機器等を使用している事業者）は、当該電気機器等が PCB により汚染されているか否か、即ち、微量 PCB 汚染廃電気機器等であるか否かを確認する必要がある。しかしながら、微量 PCB 汚染廃電気機器等は、PCB が使用されていた電気機器等と異なり、銘板等では PCB の含有の有無を判断することができず、多くの電気機器等について絶縁油に含まれる PCB 濃度の測定を行う必要がある。

絶縁油中に含まれる PCB 濃度の測定に現在用いられている方法として、「特別管理一般廃棄物及び特別管理産業廃棄物に係る基準の検定の方法」（平成 4 年厚生省告示第 192 号）の別表第２で定められている高分解能ガスクロマトグラフ－高分解能質量分析計による方法

注1　廃電気機器等について、機器毎に測定した当該廃電気機器等に封入された絶縁油中の PCB 濃度が処理の目標基準である 0.5mg/kg 以下であるときは、当該廃電気機器等は、PCB 廃棄物（特別管理産業廃棄物）に該当しないものであるとして取り扱われている。

などがあるが、複雑な分離操作と高額な分析機器を必要としており、分析に必要な費用が高額でかつ分析に時間を要する。

このことから、微量 PCB 汚染廃電気機器等の効率的かつ確実な処理を進めるためには、短時間にかつ低廉な費用で絶縁油に含まれる微量の PCB 濃度を測定できる方法（以下「簡易測定法という。」）を確立する必要がある。本マニュアルは、このような背景のもと、廃電気機器等に使用された絶縁油中の微量の PCB 濃度の測定に活用できるよう、作成されたものである。

絶縁油中の微量 PCB 濃度の測定方法として活用するためには、測定方法に関する技術水準の現状を踏まえつつ、測定値の信頼性の確保に必要な精度を有することが求められる。

そこで、本マニュアルでは、「特別管理一般廃棄物及び特別管理産業廃棄物に係る基準の検定の方法」（平成４年７月３日厚生省告示第 192 号）の別表第２に定める方法と同等の精度[注2]で測定できると考えられるものとして、真値と測定値の差が±20%以内、繰り返し測定の変動係数が 15%未満及び検出下限値が 0.15mg/kg 以下である方法を念頭に、「簡易定量法」（絶縁油中の微量 PCB 濃度を簡易に確定することができる測定方法）として活用可能なものを掲載している。

また、上記より精度が劣るものの中にも、基準値（0.5mg/kg）以下であることの判定を、判定値を基準値より引き下げて行うことにより、絶縁油中の微量 PCB 濃度の測定に活用できるものもあると考えられることから、本マニュアルでは、簡易定量法に加えて、変動係数 30%未満及び偽陰性率 1%未満である測定方法を念頭に、「迅速判定法」（絶縁油中の微量 PCB 濃度が基準値以下であることを迅速に判定できる測定方法）として活用可能なものを掲載している。

PCB が多数の異性体から成り立っていること、又、主要成分である油成分が分析を妨害すること、PCB は普遍的に存在する物質であるため、実験室での汚染を受けやすいこと、更には分析機器によっては感度の変動が起こりやすいことなど誤差を引き起こす要因が多い。このため、絶縁油中の微量の PCB の濃度の分析には熟練が必要である。又、試料によっては、妨害物質のため本マニュアルに従っても尚、分析の困難な試料が存在することが考えられる。このような試料については、平成 4 年厚生省告示第 192 号別表第 2 で定める方法に従って分析することとなる。

又、今回評価した測定技術は、微量の PCB 製品そのもの（例えば KC-300、KC-400、KC-500、KC-600）に汚染された絶縁油を測定対象とした技術であることから、PCB 製品と組成が異なった試料の測定には適用できないことに留意しておかなければならない。

注2　一般的な意味での精度であり、正確さ及び繰り返し精度の概念を含んでいる。

今後多数の分析が行われるようになると思われるが、分析精度の管理は極めて重要である。分析機関においては、分析精度を確保するため、内部精度管理システムを整備すると共に、外部精度管理の実施や分析技術者の教育などを通じて、技術向上に向けて不断の努力が求められる。又、PCB により汚染された又はその可能性がある廃電気機器等を保管する事業者においては、当該廃電気機器等に使用された絶縁油中の微量 PCB 濃度の測定を分析機関に依頼する場合は、当該分析機関における外部精度管理等の実施等の確認等を通じて、当該分析の信頼性の把握等に努める必要がある。

1　絶縁油中の微量 PCB の簡易測定法の概論

1.1 絶縁油中の微量 PCB とは

ポリ塩化ビフェニル（PCB）については昭和 47 年から新たな製造がなくなったが、それまでに製造された高圧トランス及び高圧コンデンサ等が廃棄物となったものの処理体制の整備が著しく停滞していたため、長期にわたり処分がなされずに事業者において保管されてきた。このような状況において、これらの廃棄物の紛失等による環境汚染についての懸念を踏まえ、平成 13 年に PCB 特別措置法が制定され、環境事業団（後の日本環境安全事業株式会社）による拠点的広域処理施設での処理体制が整備されてきた。

一方、PCB を使用していないとする電気機器等に、微量（その大部分は数 mg/kg から数十 mg/kg 程度と推計）の PCB に汚染された絶縁油を含むものが多数存在し、その量は、電気機器が約 450 万台（柱上トランス以外の電気機器が約 120 万台、柱上トランスが約 330 万台）、OF ケーブルが約 1,400km に上ると推計されている。

このような汚染に関わる PCB は、かつて絶縁油に使われた KC-300 および KC-500 等の絶縁油用途等の工業的に利用された PCB に由来すると考えられる。

PCB は英語名の Polychlorinated Biphenyl の名に示されるようにビフェニルを塩素化して生成する多数の塩素化ビフェニルの総称であり、一塩化ビフェニルから十塩化ビフェニルまで 209 種の異性体があるとされる。工業用 PCB としては、鐘淵化学社製のカネクロールシリーズが我国で主として用いられた。鐘淵化学で国産化される以前は外国から輸入されてきたので、一部には米国モンサント社製 Aroclor も汚染にかかわった可能性も否定できない。両社ともに類似の製品としてビフェニル骨格の平均塩素置換数 3 のもの(KC-300、Aroclor1242)、平均塩素置換数 4 のもの(KC-400、Aroclor1248)、平均塩素置換数 5 のもの(KC-500、Aroclor1254)、および平均塩素置換数 6 のもの(KC-600、Aroclor1260)を主力製品として生産・出荷しており、PCB の性状等は類似している。これらの工業的に生産された PCB は主に二塩化ビフェニルから八塩化ビフェニルを含んでおり、分析対象としてはこれらの PCB 製品に含まれる異性体（群）を扱うこととするのが適当と思われる。即ち、一塩化ビフェニルや十塩化ビフェニルなどはこれらの工業用 PCB にはほとんど含まれておらず、今回の絶縁油中の微量分析では分析対象とする必要はないと思われる。

PCB 汚染油の主構成成分（マトリックス）の絶縁油としては、表 1.1.1 に示すものが用いられてきた。電力会社の柱上トランスには主として脂肪族炭化水素系の鉱油が用いられている。一方、コンデンサ類には、誘電率の高い芳香族系の化合物も良く用いられている。微量の PCB の分析において主成分はその分析の妨害となるため、多くの場合クリーンアップ操作により主成分を除去したのち分析機器にかける。このとき主成分の物理化学的性状が PCB とかけ離れている場合、分離精製は容易であるが、PCB と類似しているときは分離精製が容易ではない。このように主成分の差異により分離精度の難易度が異なるため、マトリックスがどのような物質であるかについて注意して分析法を選択する必要がある。又、絶縁油によっては、長期間の使用により酸化を受けて変化をして

いるものがあり、そのような酸化物を除去する必要がある。又、かつて絶縁油として用いられたこともあるポリ塩化ナフタレン(PCN)により汚染されているケースもあり、PCNはPCBと物理化学的性質が類似しており、電子捕獲型検出器(ECD)に、PCBと同様高感度で応答するため、分析を困難とする夾雑物である。このように、主成分、副成分などが実際に分析するにあたっての妨害となる。

表 1.1.1　電気絶縁油の規格　　（JIS C 2320 より引用）

種類		主な成分			主な用途	動粘度(mm^2/s) @40℃
1 種	1 号	鉱油			主として油入コンデンサ、油入りケーブル、遮断器	13 以下
	2 号				主として油入変圧器、油入遮断器	
	3 号				主として厳寒地以外の場所で用いる油入変圧器、油入遮断器	
	4 号				主として高電圧大容量油入変圧器	
2 種	1 号	アルキルベンゼン	分岐鎖型	低粘度	主として油入コンデンサ、油入ケーブル	10 未満
	2 号			高粘度		10 以上 50 未満
	3 号		直鎖型	低粘度		5 未満
	4 号			高粘度		5 以上 50 未満
3 種	1 号	ポリブテン		低粘度	主として油入コンデンサ、油入ケーブル	300 未満
	2 号			中粘度		300 以上
	3 号			高粘度		―
4 種	1 号	アルキルナフタレン		低粘度	主として油入コンデンサ	8 以下
	2 号			高粘度		12 以上 15 以下
5 種	1 号	アルキルジフェニルアルカン		低粘度	主として油入コンデンサ	4 未満
	2 号			高粘度		4 以上 7 未満
6 種		シリコーン油			主として油入変圧器	36 以上 42 以下
7 種	1 号	鉱油、アルキルベンゼン			主として油入変圧器	13 以下
	2 号				主として油入コンデンサ、油入ケーブル	
	3 号				主として厳寒地以外の場所で用いる油入変圧器、油入遮断器	
	4 号				主として高電圧大容量油入変圧器	

注記）JIS C 2320 に定義されていないが、フタル酸ジ-2-エチルヘキシル(以下 DOP と表記)が使用されていた事例がある。

注記）表 1.1.1 は 1999 年改訂の JIS C 2320 より引用している。1999 年以前の JIS C 2320 は表 1.1.1 と異なる場合もあるため、絶縁油種を確認する際は絶縁油製造年に対応した JIS C 2320 に基づき判断すること。

1 種(鉱油系絶縁油)は、石油の蒸留と精製とによって得られるもので、添加剤を含む油及び含まない油ともに JIS C 2320 1 種に含む。

2 種(アルキルベンゼン)は、ベンゼン環とアルキル基からなる絶縁油であり、アルキル基は直鎖形又は分岐鎖形である。

3 種(ポリブテン)は、ポリイソブチレンからなる絶縁油である。

4 種(アルキルナフタレン)は、置換基をもったナフタレン構造からなる絶縁油である。

5 種(アルキルジフェニルベンゼン)は、ジフェニルエタン誘導体からなる絶縁油である。

6 種(シリコーン油)は、液状のジメチルポリシロキサンからなる絶縁油である。

7 種(鉱油、アルキルベンゼン)は、鉱油とアルキルベンゼンとが混合された絶縁油である。

DOP は、フタル酸ジ-2-エチルヘキシルであり、主に可塑剤として使用され、JIS C 2320 には定義されていないが、コンデンサ油として使用されていた事例がある。

測定方法の活用に当たっては、このような共存する妨害物質の存在に留意することが必要である。特に、3 種のポリブテンは除去しにくいマトリックスである。この物質は著しく粘度が高いことから、外観的に判断することが可能である。ポリブテンの場合は、それを意識して分析法を選択することが必要である。

微量 PCB 汚染油と呼ばれる油においても、その濃度はまちまちであり、数千 mg/kg にのぼる比較的濃度の高い油もあれば、ほとんど PCB を含まない油まで存在する。基準値である 0.5mg/kg 付近の分析にあたっては、高濃度試料を取り扱ったことによる実験室の汚染や、試料間のクロスコンタミネーションに気をつける必要がある。分析実験室が、高濃度の PCB 汚染を一度受けてしまうと、クリーンアップして再開することが困難な場合もある。従って、試料の採取、実験室での分析にあたり、高濃度であるかどうかの事前試験を行なうことも選択肢の一つである。

1.2 PCB 標準物質および異性体構成

1.2.1 PCB 異性体の構成について

PCB は、一塩化ビフェニルから十塩化ビフェニルまでの 10 種類の同族体があり、塩素の置換数・位置により理論的に 209 種類の異性体が存在する。PCB の IUPAC 名は塩素置換位置-塩素数 biphenyl（例：2,2’,4,4’,5,5’-hexachlorobiphenyl）で名前が長くなることから、それぞれの異性体をナンバリングし、その番号で表示することが多い。しかしながら、このナンバリングに関しては、Ballschmiter と Zell (1980)（通

表 1.2.1 PCB 異性体の IUPAC 番号と IUPAC 名の一覧

IUPAC番号	CAS番号	IUPAC名	IUPAC番号	CAS番号	IUPAC名
1	2051-60-7	2-Chlorobiphenyl	54	15968-05-5	2,2’,6,6’-Tetrachlorobiphenyl
2	2051-61-8	3-Chlorobiphenyl	55	74338-24-2	2,3,3’,4-Tetrachlorobiphenyl
3	2051-62-9	4-Chlorobiphenyl	56	41464-43-1	2,3,3’,4’-Tetrachlorobiphenyl
4	13029-08-8	2,2’-Dichlorobiphenyl	57	70424-67-8	2,3,3’,5-Tetrachlorobiphenyl
5	16605-91-7	2,3-Dichlorobiphenyl	58	41464-49-7	2,3,3’,5’-Tetrachlorobiphenyl
6	25569-80-6	2,3’-Dichlorobiphenyl	59	74472-33-6	2,3,3’,6-Tetrachlorobiphenyl
7	33284-50-3	2,4-Dichlorobiphenyl	60	33025-41-1	2,3,4,4’-Tetrachlorobiphenyl
8	34883-43-7	2,4’-Dichlorobiphenyl	61	33284-53-6	2,3,4,5-Tetrachlorobiphenyl
9	34883-39-1	2,5-Dichlorobiphenyl	62	54230-22-7	2,3,4,6-Tetrachlorobiphenyl
10	33146-45-1	2,6-Dichlorobiphenyl	63	74472-34-7	2,3,4’,5-Tetrachlorobiphenyl
11	2050-67-1	3,3’-Dichlorobiphenyl	64	52663-58-8	2,3,4’,6-Tetrachlorobiphenyl
12	2974-92-7	3,4-Dichlorobiphenyl	65	33284-54-7	2,3,5,6-Tetrachlorobiphenyl
13	2974-90-5	3,4’-Dichlorobiphenyl	66	32598-10-0	2,3’,4,4’-Tetrachlorobiphenyl
14	34883-41-5	3,5-Dichlorobiphenyl	67	73575-53-8	2,3’,4,5-Tetrachlorobiphenyl
15	2050-68-2	4,4’-Dichlorobiphenyl	68	73575-52-7	2,3’,4,5’-Tetrachlorobiphenyl
16	38444-78-9	2,2’,3-Trichlorobiphenyl	69	60233-24-1	2,3’,4,6-Tetrachlorobiphenyl
17	37680-66-3	2,2’,4-Trichlorobiphenyl	70	32598-11-1	2,3’,4’,5-Tetrachlorobiphenyl
18	37680-65-2	2,2’,5-Trichlorobiphenyl	71	41464-46-4	2,3’,4’,6-Tetrachlorobiphenyl
19	38444-73-4	2,2’,6-Trichlorobiphenyl	72	41464-42-0	2,3’,5,5’-Tetrachlorobiphenyl
20	38444-84-7	2,3,3’-Trichlorobiphenyl	73	74338-23-1	2,3’,5’,6-Tetrachlorobiphenyl
21	55702-46-0	2,3,4-Trichlorobiphenyl	74	32690-93-0	2,4,4’,5-Tetrachlorobiphenyl
22	38444-85-8	2,3,4’-Trichlorobiphenyl	75	32598-12-2	2,4,4’,6-Tetrachlorobiphenyl
23	55720-44-0	2,3,5-Trichlorobiphenyl	76	70362-48-0	2,3’,4’,5’-Tetrachlorobiphenyl
24	55702-45-9	2,3,6-Trichlorobiphenyl	77	32598-13-3	3,3’,4,4’-Tetrachlorobiphenyl
25	55712-37-3	2,3’,4-Trichlorobiphenyl	78	70362-49-1	3,3’,4,5-Tetrachlorobiphenyl
26	38444-81-4	2,3’,5-Trichlorobiphenyl	79	41464-48-6	3,3’,4,5’-Tetrachlorobiphenyl
27	38444-76-7	2,3’,6-Trichlorobiphenyl	80	33284-52-5	3,3’,5,5’-Tetrachlorobiphenyl
28	7012-37-5	2,4,4’-Trichlorobiphenyl	81	70362-50-4	3,4,4’,5-Tetrachlorobiphenyl
29	15862-07-4	2,4,5-Trichlorobiphenyl	82	52663-62-4	2,2’,3,3’,4-Pentachlorobiphenyl
30	35693-92-6	2,4,6-Trichlorobiphenyl	83	60145-20-2	2,2’,3,3’,5-Pentachlorobiphenyl
31	16606-02-3	2,4’,5-Trichlorobiphenyl	84	52663-60-2	2,2’,3,3’,6-Pentachlorobiphenyl
32	38444-77-8	2,4’,6-Trichlorobiphenyl	85	65510-45-4	2,2’,3,4,4’-Pentachlorobiphenyl
33	38444-86-9	2,3’,4’-Trichlorobiphenyl	86	55312-69-1	2,2’,3,4,5-Pentachlorobiphenyl
34	37680-68-5	2,3’,5’-Trichlorobiphenyl	87	38380-02-8	2,2’,3,4,5’-Pentachlorobiphenyl
35	37680-69-6	3,3’,4-Trichlorobiphenyl	88	55215-17-3	2,2’,3,4,6-Pentachlorobiphenyl
36	38444-87-0	3,3’,5-Trichlorobiphenyl	89	73575-57-2	2,2’,3,4,6’-Pentachlorobiphenyl
37	38444-90-5	3,4,4’-Trichlorobiphenyl	90	68194-07-0	2,2’,3,4’,5-Pentachlorobiphenyl
38	53555-66-1	3,4,5-Trichlorobiphenyl	91	68194-05-8	2,2’,3,4’,6-Pentachlorobiphenyl
39	38444-88-1	3,4’,5-Trichlorobiphenyl	92	52663-61-3	2,2’,3,5,5’-Pentachlorobiphenyl
40	38444-93-8	2,2’,3,3’-Tetrachlorobiphenyl	93	73575-56-1	2,2’,3,5,6-Pentachlorobiphenyl
41	52663-59-9	2,2’,3,4-Tetrachlorobiphenyl	94	73575-55-0	2,2’,3,5,6’-Pentachlorobiphenyl
42	36559-22-5	2,2’,3,4’-Tetrachlorobiphenyl	95	38379-99-6	2,2’,3,5’,6-Pentachlorobiphenyl
43	70362-46-8	2,2’,3,5-Tetrachlorobiphenyl	96	73575-54-9	2,2’,3,6,6’-Pentachlorobiphenyl
44	41464-39-5	2,2’,3,5’-Tetrachlorobiphenyl	97	41464-51-1	2,2’,3,4’,5’-Pentachlorobiphenyl
45	70362-45-7	2,2’,3,6-Tetrachlorobiphenyl	98	60233-25-2	2,2’,3,4’,6’-Pentachlorobiphenyl
46	41464-47-5	2,2’,3,6’-Tetrachlorobiphenyl	99	38380-01-7	2,2’,4,4’,5-Pentachlorobiphenyl
47	2437-79-8	2,2’,4,4’-Tetrachlorobiphenyl	100	39485-83-1	2,2’,4,4’,6-Pentachlorobiphenyl
48	70362-47-9	2,2’,4,5-Tetrachlorobiphenyl	101	37680-73-2	2,2’,4,5,5’-Pentachlorobiphenyl
49	41464-40-8	2,2’,4,5’-Tetrachlorobiphenyl	102	68194-06-9	2,2’,4,5,6’-Pentachlorobiphenyl
50	62796-65-0	2,2’,4,6-Tetrachlorobiphenyl	103	60145-21-3	2,2’,4,5’,6-Pentachlorobiphenyl
51	68194-04-7	2,2’,4,6’-Tetrachlorobiphenyl	104	56558-16-8	2,2’,4,6,6’-Pentachlorobiphenyl
52	35693-99-3	2,2’,5,5’-Tetrachlorobiphenyl	105	32598-14-4	2,3,3’,4,4’-Pentachlorobiphenyl
53	41464-41-9	2,2’,5,6’-Tetrachlorobiphenyl	106	70424-69-0	2,3,3’,4,5-Pentachlorobiphenyl

表1.2.1 続き

IUPAC番号	CAS番号	IUPAC名
107*	70424-68-9	2,3,3',4',5-Pentachlorobiphenyl
108*	70362-41-3	2,3,3',4,5'-Pentachlorobiphenyl
109*	74472-35-8	2,3,3',4,6-Pentachlorobiphenyl
110	38380-03-9	2,3,3',4',6-Pentachlorobiphenyl
111	39635-32-0	2,3,3',5,5'-Pentachlorobiphenyl
112	74472-36-9	2,3,3',5,6-Pentachlorobiphenyl
113	68194-10-5	2,3,3',5',6-Pentachlorobiphenyl
114	74472-37-0	2,3,4,4',5-Pentachlorobiphenyl
115	74472-38-1	2,3,4,4',6-Pentachlorobiphenyl
116	18259-05-7	2,3,4,5,6-Pentachlorobiphenyl
117	68194-11-6	2,3,4',5,6-Pentachlorobiphenyl
118	31508-00-6	2,3',4,4',5-Pentachlorobiphenyl
119	56558-17-9	2,3',4,4',6-Pentachlorobiphenyl
120	68194-12-7	2,3',4,5,5'-Pentachlorobiphenyl
121	56558-18-0	2,3',4,5',6-Pentachlorobiphenyl
122	76842-07-4	2,3,3',4',5'-Pentachlorobiphenyl
123	65510-44-3	2,3',4,4',5'-Pentachlorobiphenyl
124	70424-70-3	2,3',4',5,5'-Pentachlorobiphenyl
125	74472-39-2	2,3',4',5',6-Pentachlorobiphenyl
126	57465-28-8	3,3',4,4',5-Pentachlorobiphenyl
127	39635-33-1	3,3',4,5,5'-Pentachlorobiphenyl
128	38380-07-3	2,2',3,3',4,4'-Hexachlorobiphenyl
129	55215-18-4	2,2',3,3',4,5-Hexachlorobiphenyl
130	52663-66-8	2,2',3,3',4,5'-Hexachlorobiphenyl
131	61798-70-7	2,2',3,3',4,6-Hexachlorobiphenyl
132	38380-05-1	2,2',3,3',4,6'-Hexachlorobiphenyl
133	35694-04-3	2,2',3,3',5,5'-Hexachlorobiphenyl
134	52704-70-8	2,2',3,3',5,6-Hexachlorobiphenyl
135	52744-13-5	2,2',3,3',5,6'-Hexachlorobiphenyl
136	38411-22-2	2,2',3,3',6,6'-Hexachlorobiphenyl
137	35694-06-5	2,2',3,4,4',5-Hexachlorobiphenyl
138	35065-28-2	2,2',3,4,4',5'-Hexachlorobiphenyl
139	56030-56-9	2,2',3,4,4',6-Hexachlorobiphenyl
140	59291-64-4	2,2',3,4,4',6'-Hexachlorobiphenyl
141	52712-04-6	2,2',3,4,5,5'-Hexachlorobiphenyl
142	41411-61-4	2,2',3,4,5,6-Hexachlorobiphenyl
143	68194-15-0	2,2',3,4,5,6'-Hexachlorobiphenyl
144	68194-14-9	2,2',3,4,5',6-Hexachlorobiphenyl
145	74472-40-5	2,2',3,4,6,6'-Hexachlorobiphenyl
146	51908-16-8	2,2',3,4',5,5'-Hexachlorobiphenyl
147	68194-13-8	2,2',3,4',5,6-Hexachlorobiphenyl
148	74472-41-6	2,2',3,4',5,6'-Hexachlorobiphenyl
149	38380-04-0	2,2',3,4',5',6-Hexachlorobiphenyl
150	68194-08-1	2,2',3,4',6,6'-Hexachlorobiphenyl
151	52663-63-5	2,2',3,5,5',6-Hexachlorobiphenyl
152	68194-09-2	2,2',3,5,6,6'-Hexachlorobiphenyl
153	35065-27-1	2,2',4,4',5,5'-Hexachlorobiphenyl
154	60145-22-4	2,2',4,4',5,6'-Hexachlorobiphenyl
155	33979-03-2	2,2',4,4',6,6'-Hexachlorobiphenyl
156	38380-08-4	2,3,3',4,4',5-Hexachlorobiphenyl
157	69782-90-7	2,3,3',4,4',5'-Hexachlorobiphenyl
158	74472-42-7	2,3,3',4,4',6-Hexachlorobiphenyl
159	39635-35-3	2,3,3',4,5,5'-Hexachlorobiphenyl
160	41411-62-5	2,3,3',4,5,6-Hexachlorobiphenyl
161	74472-43-8	2,3,3',4,5',6-Hexachlorobiphenyl
162	39635-34-2	2,3,3',4',5,5'-Hexachlorobiphenyl
163	74472-44-9	2,3,3',4',5,6-Hexachlorobiphenyl
164	74472-45-0	2,3,3',4',5',6-Hexachlorobiphenyl
165	74472-46-1	2,3,3',5,5',6-Hexachlorobiphenyl
166	41411-63-6	2,3,4,4',5,6-Hexachlorobiphenyl
167	52663-72-6	2,3',4,4',5,5'-Hexachlorobiphenyl
168	59291-65-5	2,3',4,4',5',6-Hexachlorobiphenyl
169	32774-16-6	3,3',4,4',5,5'-Hexachlorobiphenyl
170	35065-30-6	2,2',3,3',4,4',5-Heptachlorobiphenyl
171	52663-71-5	2,2',3,3',4,4',6-Heptachlorobiphenyl
172	52663-74-8	2,2',3,3',4,5,5'-Heptachlorobiphenyl
173	68194-16-1	2,2',3,3',4,5,6-Heptachlorobiphenyl
174	38411-25-5	2,2',3,3',4,5,6'-Heptachlorobiphenyl
175	40186-70-7	2,2',3,3',4,5',6-Heptachlorobiphenyl
176	52663-65-7	2,2',3,3',4,6,6'-Heptachlorobiphenyl
177	52663-70-4	2,2',3,3',4,5',6'-Heptachlorobiphenyl
178	52663-67-9	2,2',3,3',5,5',6-Heptachlorobiphenyl
179	52663-64-6	2,2',3,3',5,6,6'-Heptachlorobiphenyl
180	35065-29-3	2,2',3,4,4',5,5'-Heptachlorobiphenyl
181	74472-47-2	2,2',3,4,4',5,6-Heptachlorobiphenyl
182	60145-23-5	2,2',3,4,4',5,6'-Heptachlorobiphenyl
183	52663-69-1	2,2',3,4,4',5',6-Heptachlorobiphenyl
184	74472-48-3	2,2',3,4,4',6,6'-Heptachlorobiphenyl
185	52712-05-7	2,2',3,4,5,5',6-Heptachlorobiphenyl
186	74472-49-4	2,2',3,4,5,6,6'-Heptachlorobiphenyl
187	52663-68-0	2,2',3,4',5,5',6-Heptachlorobiphenyl
188	74487-85-7	2,2',3,4',5,6,6'-Heptachlorobiphenyl
189	39635-31-9	2,3,3',4,4',5,5'-Heptachlorobiphenyl
190	41411-64-7	2,3,3',4,4',5,6-Heptachlorobiphenyl
191	74472-50-7	2,3,3',4,4',5',6-Heptachlorobiphenyl
192	74472-51-8	2,3,3',4,5,5',6-Heptachlorobiphenyl
193	69782-91-8	2,3,3',4',5,5',6-Heptachlorobiphenyl
194	35694-08-7	2,2',3,3',4,4',5,5'-Octachlorobiphenyl
195	52663-78-2	2,2',3,3',4,4',5,6-Octachlorobiphenyl
196	42740-50-1	2,2',3,3',4,4',5,6'-Octachlorobiphenyl
197	33091-17-7	2,2',3,3',4,4',6,6'-Octachlorobiphenyl
198	68194-17-2	2,2',3,3',4,5,5',6-Octachlorobiphenyl
199*	52663-75-9	2,2',3,3',4,5,5',6'-Octachlorobiphenyl
200*	52663-73-7	2,2',3,3',4,5,6,6'-Octachlorobiphenyl
201*	40186-71-8	2,2',3,3',4,5',6,6'-Octachlorobiphenyl
202	2136-99-4	2,2',3,3',5,5',6,6'-Octachlorobiphenyl
203	52663-76-0	2,2',3,4,4',5,5',6-Octachlorobiphenyl
204	74472-52-9	2,2',3,4,4',5,6,6'-Octachlorobiphenyl
205	74472-53-0	2,3,3',4,4',5,5',6-Octachlorobiphenyl
206	40186-72-9	2,2',3,3',4,4',5,5',6-Nonachlorobiphenyl
207	52663-79-3	2,2',3,3',4,4',5,6,6'-Nonachlorobiphenyl
208	52663-77-1	2,2',3,3',4,5,5',6,6'-Nonachlorobiphenyl
209	2051-24-3	2,2',3,3',4,4',5,5',6,6'-Decachlorobiphenyl

*:ナンバリングシステムにより異なる異性体になるので注意を要する。
米国環境保護庁の対応表を引用した。

称：BZ 番号； K. Ballschmiter and M. Zell (1980) Fresenius J Anal Chem、302、20-31）と IUPAC によるものがある。現在、市販されている PCB 異性体のナンバリングは、アメリカ合衆国環境保護庁（US EPA）の 2003 年版が使われており、ここに IUPAC 番号としても使用されているものを本マニュアルで使用している（表 1.2.1)。

絶縁油中の PCB は工業用 PCB 製品そのもの(例えば KC-300, KC-400, KC-500, KC-600)であることが多いため、マニュアル内の分析法は、これら工業 PCB 製品で含有量が少ない同族体（一塩化ビフェニルや九塩化ビフェニル、十塩化ビフェニルなど）を定量しない方向でとりまとめられている。又、PCB 製品に含まれる主要 13 異性体のみを定量し、各 PCB 製品中のこれら異性体の存在割合から、総 PCB 濃度を算出する手法もある。しかしながら、風化や 2 種類以上の PCB 製品の混合などにより、測定対象絶縁油

中の PCB 同族体組成が PCB 製品と異なる場合もある。このため、同族体や異性体の存在割合が PCB 製品と著しく異なる場合は、定量しなかった PCB 同族体（異性体）も確認する必要がある。

日本において絶縁油に使用された（もしくは汚染された）主要な工業用 PCB 製品は、カネクロールシリーズである（若干ではあるが、アロクロールシリーズも使用されていた)。カネクロールシリーズの内、KC-300 は、三塩化ビフェニルから四塩化ビフェニル同族体を、KC-400 は四塩化ビフェニルを中心に三塩化ビフェニル同族体と五塩化ビフェニル同族体を、KC-500 及び KC-1000 は五塩化ビフェニルから六塩化ビフェニル同族体を、KC-600 は六塩化ビフェニルから七塩化ビフェニル同族体を中心に構成されている（表 1.2.2)。又、これらカネクロールシリーズは約 80 から 150 異性体で構成されている（表 1.2.3、図 1.2.1)。

表 1.2.2　カネクロールシリーズにおける PCB 同族体存在比（%）の一例

	KC-300	KC-400	KC-500	KC-600
MoCBs	0.18	0.092	0.009	0.011
DiCBs	16	0.77	0.35	0.19
TriCBs	53	18	1.8	0.97
TetraCBs	27	57	11	2.0
PentaCBs	3.6	20	48	7.2
HexaCBs	0.98	2.5	33	36
HeptaCBs	0.24	0.52	5.0	42
OctaCBs	0.072	0.11	0.45	11
NonaCBs	0.007	0.012	0.035	0.70
DecaCB	-*	-*	-*	0.006

*:すべての異性体が 0.001%未満
存在比は、カネクロール製品のロットなどで若干異なる。

1.2.2 PCB 標準物質について

PCB には多数の異性体が存在することから、測定時に標準物質として使用する異性体やその組成比は、分析・測定手法で使いわける必要がある。以下に、それぞれの測定手法時における PCB 標準物質選択の一例を示す。

尚、PCB は、「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律（化審法)」の第一種特定化学物質であるため、その購入などに関しては化審法に基づく手続き（確約書の提出等）が必要である。

表 1.2.3 カネクロールシリーズにおける各 PCB 異性体の存在比(%)の一例

IUPAC No.	KC-300	KC-400	KC-500	KC-600	IUPAC No.	KC-300	KC-400	KC-500	KC-600	IUPAC No.	KC-300	KC-400	KC-500	KC-600
1	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	71	1.1	1.7	0.093	0.031	141	<0.020	0.055	1.2	2
2	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	72	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	142	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020
3	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	73	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	143	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020
4	1.8	0.14	0.083	0.11	74	1.7	3.9	0.48	0.073	144	<0.020	<0.020	0.24	0.4
5	0.022	<0.020	<0.020	<0.020	75	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	145	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020
6	0.62	0.039	0.024	0.026	76	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	146	<0.020	0.043	0.91	0.9
7	0.031	<0.020	<0.020	<0.020	77	0.2	0.44	0.079	<0.020	147	<0.020	<0.020	0.19	<0.020
8	4.7	0.36	0.17	0.17	78	<0.020	0.07	0.11	<0.020	148	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020
9	0.14	<0.020	<0.020	<0.020	79	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	149	0.06	0.29	6.1	10
10	0.03	<0.020	<0.020	<0.020	80	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	150	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020
11	<0.0020	<0.020	<0.020	<0.020	81	<0.020	0.023	<0.020	<0.020	151	<0.020	0.042	0.91	3
12	0.33	0.11	<0.020	<0.020	82	0.1	0.82	0.78	0.11	152	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020
13	0.13	0.025	<0.020	<0.020	83	0.029	0.24	0.38	<0.020	153	0.044	0.22	5.3	8.5
14	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	84	0.17	1.1	1.8	0.096	154	<0.020	<0.020	0.044	<0.020
15	1.3	0.094	0.04	0.028	85	0.12	1	0.83	0.044	155	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020
16	4.5	0.85	0.15	0.1	86	<0.020	0.082	<0.020	<0.020	156	<0.020	0.053	0.94	0.3
17	3.6	0.8	0.12	0.11	87	0.19	1.4	3.6	0.24	157	<0.020	<0.020	0.19	0.034
18	11	3.3	0.37	0.3	88	<0.020	0.03	<0.020	<0.020	158	<0.020	0.039	0.98	0.46
19	0.99	0.14	0.04	0.032	89	<0.020	0.092	<0.020	<0.020	159	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020
20	0.69	0.074	0.025	<0.020	90	0.046	0.31	0.65	0.18	160	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020
21	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	91	0.12	0.77	0.75	0.032	161	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020
22	3.7	1.1	0.15	0.066	92	0.061	0.43	1.5	0.17	162	<0.020	<0.020	0.024	<0.020
23	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	93	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	163	<0.020	0.042	1.4	1.9
24	0.12	<0.020	<0.020	<0.020	94	<0.020	0.044	<0.020	<0.020	164	<0.020	0.021	0.5	0.41
25	0.66	<0.020	0.023	<0.020	95	0.17	1	3.3	0.82	165	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020
26	1.7	0.31	0.063	0.033	96	<0.020	0.047	<0.020	<0.020	166	<0.020	<0.020	0.042	<0.020
27	0.53	0.08	<0.020	<0.020	97	0.17	1.4	2.5	0.12	167	<0.020	<0.020	0.33	0.092
28	7.9	3	0.29	0.15	98	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	168	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020
29	0.07	<0.020	<0.020	<0.020	99	0.19	1.7	2.4	0.1	169	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020
30	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	100	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	170	<0.020	<0.020	0.75	3.6
31	8.6	4.3	0.32	0.18	101	0.31	2.4	8.6	2.1	171	<0.020	<0.020	0.24	1.1
32	2.6	0.75	0.085	0.056	102	0.041	0.26	0.097	<0.020	172	<0.020	<0.020	0.097	0.68
33	5.9	1.7	0.22	0.11	103	<0.020	0.029	0.025	<0.020	173	<0.020	<0.020	0.029	0.077
34	0.037	<0.020	<0.020	<0.020	104	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	174	<0.020	<0.020	0.5	5.5
35	0.077	<0.020	<0.020	<0.020	105	0.12	1.4	2.1	0.14	175	<0.020	<0.020	0.026	0.18
36	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	106	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	176	<0.020	<0.020	0.081	0.73
37	2.3	0.62	0.16	0.046	107	0.022	0.21	0.47	<0.020	177	<0.020	<0.020	0.31	2.7
38	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	108	<0.020	<0.020	0.12	0.29	178	<0.020	<0.020	0.063	0.89
39	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	109	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	179	<0.020	<0.020	0.16	2.4
40	0.91	1.2	0.093	0.026	110	0.32	3	8.7	0.84	180	0.021	<0.020	0.97	11
41	0.88	0.94	0.048	0.023	111	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	181	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020
42	1.4	2	0.1	0.037	112	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	182	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020
43	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	113	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	183	<0.020	<0.020	0.31	2.9
44	4.1	6.8	1.6	0.16	114	<0.020	0.13	0.11	<0.020	184	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020
45	1.2	1.3	0.048	0.029	115	<0.020	0.13	0.16	<0.020	185	<0.020	<0.020	0.042	0.74
46	0.63	0.63	0.03	<0.020	116	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	186	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020
47	1.2	2	0.09	0.037	117	<0.020	0.14	0.14	0.41	187	<0.020	<0.020	0.36	6
48	1.4	1.8	0.073	0.036	118	0.21	2.3	6.8	<0.020	188	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020
49	2.9	4.8	0.67	0.097	119	<0.020	0.077	0.073	<0.020	189	<0.020	<0.020	0.03	0.095
50	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	120	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	190	<0.020	<0.020	0.14	1
51	0.27	0.32	<0.020	<0.020	121	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	191	<0.020	<0.020	0.027	0.15
52	3.9	7.7	4.7	0.32	122	<0.020	0.063	0.042	<0.020	192	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020
53	0.9	1.2	0.064	0.025	123	<0.020	0.075	0.064	<0.020	193	<0.020	<0.020	0.038	0.46
54	0.02	<0.020	<0.020	<0.020	124	<0.020	0.11	0.34	<0.020	194	<0.020	<0.020	0.05	3
55	0.11	0.049	<0.020	<0.020	125	<0.020	0.022	<0.020	<0.020	195	<0.020	<0.020	0.03	1.3
56	1.6	2.9	0.32	0.067	126	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	196	<0.020	<0.020	<0.020	1.2
57	0.028	0.021	<0.020	<0.020	127	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	197	<0.020	<0.020	<0.020	0.11
58	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	128	<0.020	0.094	1.4	0.62	198	<0.020	<0.020	<0.020	0.17
59	0.31	0.29	<0.020	<0.020	129	<0.020	0.044	0.58	0.076	199	<0.020	<0.020	0.038	2.9
60	0.89	2	0.13	0.033	130	<0.020	0.035	0.51	0.12	200	<0.020	<0.020	<0.020	0.43
61	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	131	<0.020	<0.020	0.15	0.026	201	<0.020	<0.020	<0.020	0.39
62	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	132	0.022	0.18	2.9	1.7	202	<0.020	<0.020	<0.020	0.58
63	0.14	0.31	0.026	<0.020	133	<0.020	<0.020	0.085	0.047	203	<0.020	<0.020	0.039	2.2
64	2.1	4.1	0.39	0.07	134	<0.020	0.028	0.49	0.21	204	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020
65	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	135	<0.020	0.048	0.88	1.1	205	<0.020	<0.020	<0.020	0.13
66	2.9	6.2	0.58	0.11	136	<0.020	0.054	1.1	1.6	206	<0.020	<0.020	<0.020	0.58
67	0.19	0.12	<0.020	<0.020	137	<0.020	0.037	0.47	0.028	207	<0.020	<0.020	<0.020	0.049
68	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	138	0.039	0.38	6.5	4.4	208	<0.020	<0.020	<0.020	0.091
69	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020	139	<0.020	<0.020	0.16	<0.020	209	<0.020	<0.020	<0.020	<0.020
70	2.7	6.7	2.3	0.22	140	<0.020	<0.020	0.028	<0.020					

増崎ら(2003)第12回環境化学討論会講演要旨集、686-687(改訂版)から引用
異性体の存在割合は、カネクロールのロットや測定条件により若干異なる。

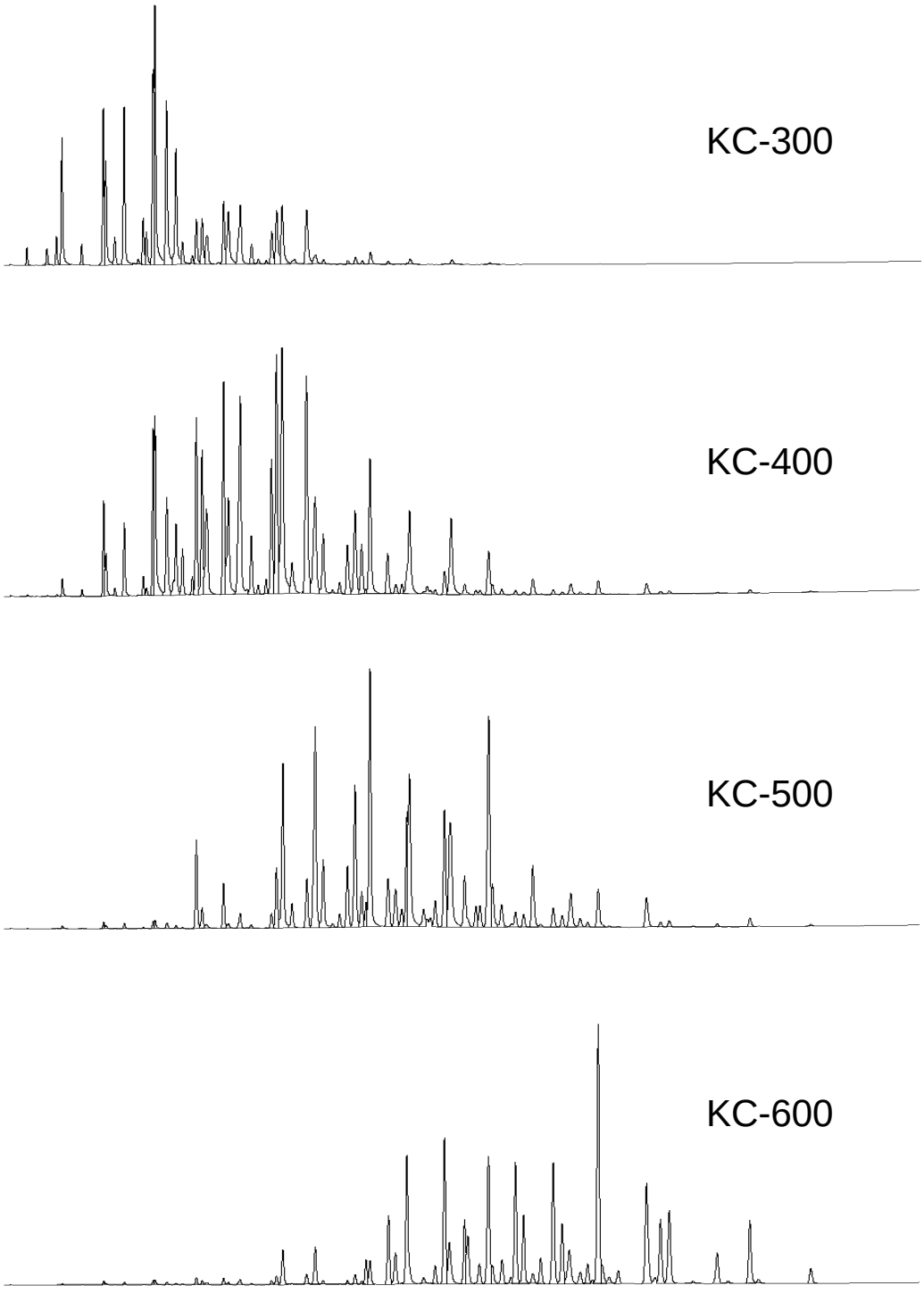


図 1.2.1　カネクロールシリーズにおける GC クロマトグラムの例

(1) GC/MS 測定法（電子イオン化法（EI 法）及び負イオン化学負イオン化法（NICI 法））

工業用 PCB 製品中の主要な PCB 異性体を含む混合溶液を使用する。この際、平成 4 年厚生省告示第 192 号別表第 2 で定められている高分離能ガスクロマトグラフー高分解能質量分析計による方法に記載されている主要 12 異性体の内、工業用 PCB 製品中の存在割合が少なく分析上測定対象としない同族体（例えば、一塩化ビフェニルや九塩化ビフェニル、十塩化ビフェニルなど）の異性体以外は最低限含まれるようにする。工業用 PCB 製品中の主要な異性体は、表 1.2.3 を参考にしてほしい。主要な異性体を選択する理由は、MS 測定時に同族体内においても各異性体によって感度が異なるためであり、より正確な濃度を算出するため、工業用 PCB 製品中の主要異性体は、同一の異性体を標準物質として用い、異性体による MS 測定時の感度差による誤差を小さくするためである。このように PCB 異性体による感度差があることから、標準物質中の異性体数は多い方が望ましい。

又、KC-300、KC-400、KC-500、KC-600 の等量混合溶液（以下、KC-mix と呼ぶ）や、JIS　K0093:2006「工業用水・工場排水中のポリクロロビフェニル（PCB）試験方法」の表 3 に示すような溶出範囲確認用 PCB 混合標準液を用い、各異性体の GC カラムにおける保持時間を明らかにし、各同族体の溶出範囲を予め確認しておくことが必要である。又、各同族体の保持時間の遅いところでは、測定対象同族体の m/z に塩素置換数の多い同族体のフラグメントイオンが現れることから、このピークを測定対象異性体と間違わないように、事前に確認を行っておく必要がある。

(2) GC/ECD 測定法および GC/NICI-MS 測定法

GC/ECD 測定時及び m/z35、37 をモニターする GC/NICI-MS 測定時には、標準物質として KC-mix を使用し、各ピークにおける CB_0（%）をもとに濃度計算を行う。尚、GC カラムの長さや内径や液相の種類、膜厚、劣化具合、GC オーブンの昇温条件、キャリアガスの種類や流速、メイクアップガスの流量、使用する機器などにより、PCB 異性体の溶出パターン（ピークの出現状態）は異なり、結果として各ピークの CB_0(%)が変化する。このため、実試料の測定前に、それぞれの測定条件で KC-mix を用い、各ピークの CB_0(%)を求めておく必要がある。

パックドカラムやワイドボアキャピラリーカラムを用いた GC/ECD 測定時のクロマトグラムや CB_0(%)は、一例が JIS　K0093:2006「工業用水・工場排水中のポリクロロビフェニル（PCB）試験方法」の表 1 に記されている。しかしながら、これらは、あくまでも一例であって、上記のように諸条件でピークの出現状態が変わることも多いため、実試料の測定の前に実測のクロマトと JIS　K0093：2006 の図表との一致性を確認する必要がある。

キャピラリーカラム（内径 0.10 から 0.32mm）を用いた高分解能 GC/ECD 測定或いは

m/z35、37 をモニターする GC/NICI-MS 測定時も、各ピークの CB_0（%）をもとに濃度計算を行う。高分離能 GC/ECD 測定時における KC-mix のクロマトグラムと CB_0（%）の一例を図 1.2.2 及び表 1.2.4 に示す。これらは、あくまでも一例であって、上記で述べたように諸条件でピークの出現状態が変わるため、再現できない場合もある。とくに、キャピラリーカラム（内径 0.10 から 0.32mm、高分離能 GC）を使用した際は、PCB が数十本のピークに分離されることから、各ピークの異性体組成や CB_0（%）は測定の諸条件の影響を受けやすい。再度述べるが、同一の液相で同じサイズ（長さ、内径、膜厚）のカラムを使用しても、カラムの劣化状態やキャリアガス流速、メイクアップガスの流量、オーブンの昇温条件、場合によってはカラムの製造ロットによっても、PCB 異性体の溶出パターンが変化する場合がある。このため、必ず各自の測定条件で KC-mix を用い、各ピークの CB_0(%)を求めておく必要がある。

尚、JIS　K0093:2006「工業用水・工場排水中のポリクロロビフェニル（PCB）試験方法」の附属書２表１の PCB 異性体溶出パターンと CB_0（%）は同附属書２図１と合致しないため、この表を参照するのを避けるようにする。

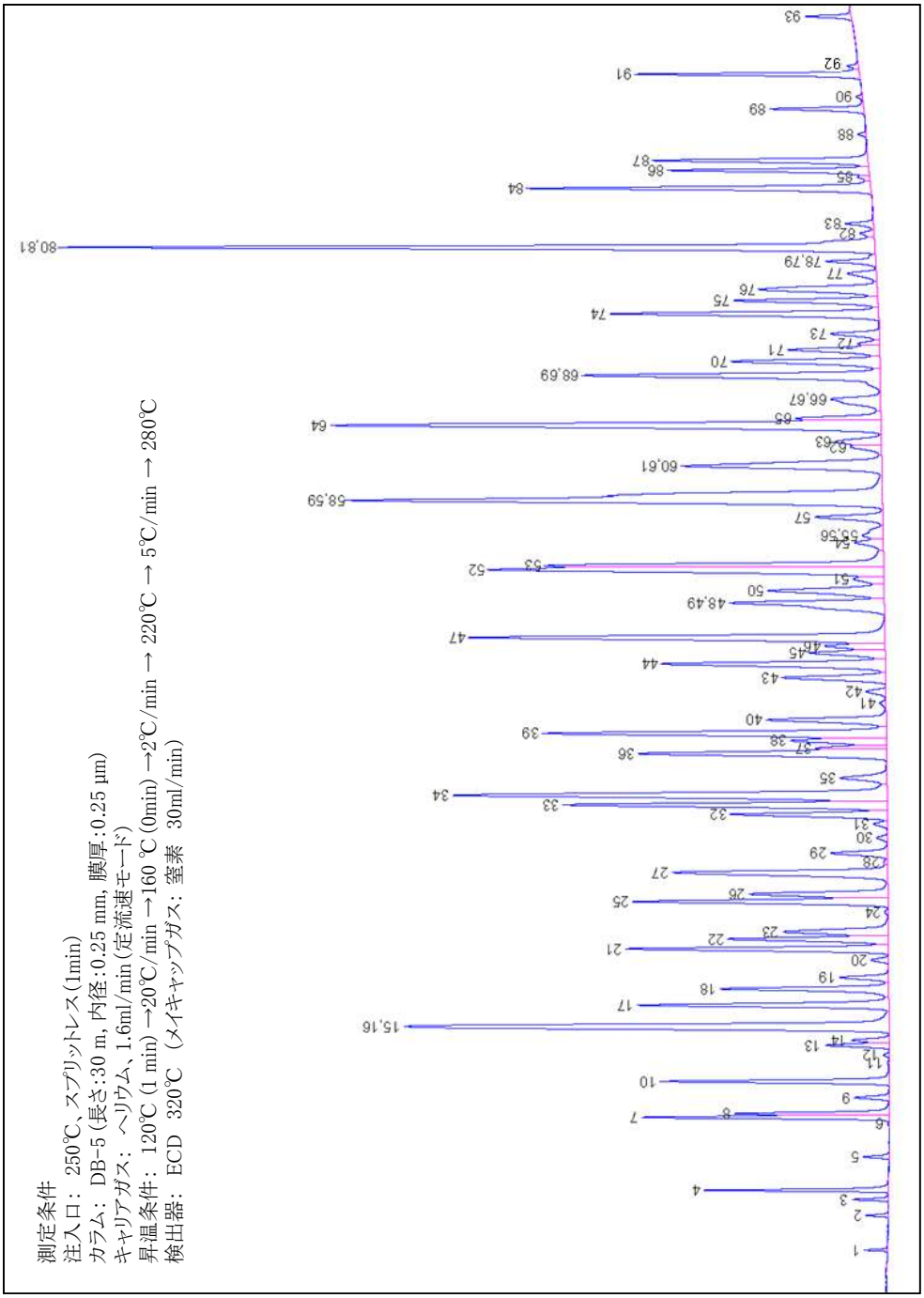


図 1.2.2 キャピラリーカラムを用いた場合の KC-mix のクロマトグラフの例

表 1.2.4 キャピラリーカラムを用いた場合のKC-mixにおけるCB_0(%)の例*

ピークNo.	CB0(%)	IUPAC番号	ピークNo.	CB0(%)	IUPAC番号
1	0.928	#10, #4	48	0.338	#82
2	0.131	#7, #9	49	1.086	#151
3	0.371	#6	50	0.802	#135, #144, #124
4	2.145	#8, #5	51	0.195	#147, #107, #108
5	0.341	#19	52	3.409	#123, #139, #149
6	0.034	#12, #13	53	2.350	#118
7	3.597	#18	54	0.170	#134
8	1.762	#15, #17	55	0.091	#114
9	0.262	#24, #27	56	0.077	#131, #133, #122
10	2.160	#16, #32	57	0.437	#146
11	0.015	#34	58	3.786	#153
12	0.033	#29, #54	59	2.033	#105, #132
13	0.518	#26	60	0.847	#141
14	0.224	#25	61	0.848	#179
15	3.165	#31	62	0.129	#137
16	2.904	#28	63	0.408	#176, #130
17	2.710	#20, #33, #53	64	3.874	#164, #163, #138
18	1.306	#22, #51	65	0.430	#158
19	0.467	#45	66	0.135	#129
20	0.189	#46	67	0.275	#178
21	3.692	#52	68	0.066	#175, #166
22	1.948	#49	69	1.775	#187
23	1.330	#47, #48	70	0.848	#162, #183
24	0.030	#35	71	0.458	#128
25	2.604	#44	72	0.119	#167
26	1.738	#59, #37, #42	73	0.198	#185
27	2.521	#41, #64, #71	74	1.511	#174
28	0.029	#96	75	0.739	#177
29	0.442	#40, #103, #57	76	0.820	#156, #202, #171
30	0.089	#67	77	0.209	#173, #157, #201
31	0.110	#63	78	0.182	#172
32	1.535	#74, #94	79	0.033	#197
33	3.678	#70	80	2.952	#180
34	5.437	#102, #66, #95	81	0.153	#193
35	0.414	#91, #55	82	0.047	#191
36	2.189	#56, #60	83	0.122	#200
37	0.504	#92	84	1.271	#170, #190
38	0.809	#84	85	0.032	#198
39	3.490	#101, #90	86	0.656	#199
40	1.077	#99	87	0.790	#196, #203
41	0.037	#119	88	0.027	#189
42	0.142	#83, #78	89	0.276	#208, #195
43	0.887	#86, #97	90	0.020	#207
44	1.614	#87, #115, #117	91	0.546	#194
45	0.459	#85	92	0.024	#205
46	0.656	#136	93	0.111	#206
47	3.453	#77, #110, #154	合計	99.881	

*:図1.2.2における測定条件での分離状況

(3) 生物検定法

KC-mix(KC-300,400,500 及び KC600 等量混合物）を使用する。尚、PCB をふくむ絶縁油試料を用いる場合には、PCB を含まないことが判明している絶縁油にカネクロールを溶解したものや、メーカーで濃度保証のされた PCB 異性体の混合溶液（若しくは単一異性体の溶液）などを混和して使用する。

1.2.3 内標準物質について

PCB の機器測定においては、前処理が多段階に及ぶことや機器測定時の誤差補正などから、内標準物質を使用することが望ましい。とくに、GC/MS による測定は、GC/ECD に比べ機器測定による誤差が大きくなりやすいことから、必ず内標準物質を試料に添加し、回収率補正を行う。尚、使用する内標準物質は、クリーンアップスパイクの場合、前処理過程や機器測定時に測定対象とする PCB と類似の挙動を示し、測定対象 PCB の妨害とならないものを選択する必要がある。又、シリンジスパイクに関しても、機器測定時に測定対象 PCB の妨害とならないこと、クリーンアップスパイクとの相対感度が安定している物質を選択する必要がある。

GC/MS 測定手法（EI 化法及び下記を除く NICI 化法）の場合は、$^{13}C_{12}$ でラベルした PCB 異性体を用いる。内標準物質として使用する PCB 異性体は、カネクロールにおいて主要な異性体から各同族体の中で 1 異性体以上を選択し使用する。測定対象の同族体の異性体を最低限含むようにする。又、上記の 12 異性体以外の PCB 異性体を追加で内標準物質として加えても良い。

m/z35、37 をモニターする GC/NICI-MS 測定手法の場合は、上記の内標準物質では分離できないため、ポリブロモビフェニルなどの PCB に構造の類似した臭素化合物を内標準物質として使用し、臭素のフラグメントイオンの m/z も合わせてモニターする。

キャピラリーカラム(内径 0.10 から 0.32mm)を用いた GC/ECD による測定手法には、PCB 製品中に含まれない若しくは極めて含有率の低い異性体で、使用する GC の測定条件（カラムの条件も含む）において、PCB 製品中に含まれる主要な異性体と分離できる（主要な異性体の定量に影響しない）異性体を使用する。この際、使用する GC の測定条件において保持時間の短い異性体と長い異性体の 2 異性体を内標準物質として使用することが望ましい。

1.2.4 PCB の認証標準物質について

現在、日本の国家計量標準機関（独立行政法人産業技術総合研究所　計量標準総合センター：NMIJ）から頒布される PCB 異性体の認証標準物質は、IUPAC 番号#28（NMIJ CRM4206-a)、#70（NMIJ CRM4210-a)、#105（NMIJ CRM4211-a)、#153（NMIJ CRM4207-a)、#170（NMIJ CRM4208-a)、#194（NMIJ CRM4209-a）の 6 異性体である。又、Wellington Laboratories, Inc.及び Cambridge Isotope Laboratories, Inc.が製造するダイオキ

シン様 PCB12 異性体は、NMIJ によりトレーサビリティ体系の評価を行い、その妥当性を確認され、JIS K 0311:2008「排ガス中のダイオキシン類の測定方法」並びに JIS K 0312:2008 における「国家計量標準機関が認めた標準物質」として示されている。しかしながら、これらは、PCB 製品の主要異性体を網羅できていないため、認証されている異性体のみで今回の絶縁油中 PCB 測定の標準物質として使用するのは限界がある。現在、機器測定で使用する PCB 標準物質及び内標準物質は、市販の PCB 異性体混合標準物質（標準溶液）やカネクロールシリーズを使用しているが、これらは、すべて各メーカーによる保証がついている訳ではないのが現状である。今後、国家標準の作成が求められる。

NMIJ から頒布される絶縁油中 PCB 分析用の認証標準物質（絶縁油）は、絶縁油（ポリクロロビフェニル分析用-高濃度）（NMIJ CRM7902-a）及び絶縁油（ポリクロロビフェニル分析用-低濃度）（NMIJ CRM7903-a）がある。これらの絶縁油における PCB の認証値は 11 異性体のみであるが、参考値として、平成 4 年厚生省告示第 192 号別表第 2 で定められている高分解能ガスクロマトグラフー高分解能質量分析計による方法による同族体の濃度が示されている。これらの値から PCB 濃度 0.5mg/kg 前後の絶縁油を作成し、内部精度管理試料（分析の精度確認、分析方法や装置の妥当性確認）として使用しても良い。

1.2.5 PCB 標準物質の維持・管理について

内標準物質を含む PCB 標準物質の濃度は、定量値に最も影響する要因である。又、PCB は化審法第一種特定化学物質であることから、その標準物質の維持・管理は、厳重かつ慎重に行う必要がある。

標準物質の内、通常の分析する濃度のもの（例えば、GC にインジェクションする標準物質や試料に添加する濃度の内標準物質）は、二重栓ビンなど気密性の高い容器に入れ、冷暗所（できれば 4℃以下）に保存する。又、購入原液や一次希釈液など高濃度で通常使用しないものは、二重栓ビンなど気密性の高い容器に入れ、冷暗所（できれば-10℃以下）に保存するのが望ましい。いずれの標準物質も施錠可能な場所に保管し、使用前後で重量による管理を行う必要がある。

1.3　分析法の選択について

1.3.1 はじめに

「特別管理一般廃棄物及び特別管理産業廃棄物に係る基準の検定の方法」（平成 4 年 7 月 3 日厚生省告示第 192 号）の別表第 2 に定める高分離能ガスクロマトグラフー高分解能質量分析計による方法は、PCB 処理施設において処理した後の油中の PCB 分析に適用されている精密な分析法である。この方法は微量 PCB 汚染廃電気機器等に含まれる PCB についても適用可能な精度の高い精密分析法であり、現在までも油中の PCB 分析法として準用されてきた。一方で本法は精緻なクリーンアップと高額な高分解能質量分析計を用いるものであり、分析にかかるコストが高く、又、分析に要する時間も長い。分析対象となる機器等の数が多いことを考慮したとき、正確さを持ちながら簡易かつ低コストの分析法の活用が必要である。このため、「簡易定量法」（絶縁油中の微量 PCB 濃度を簡易に確定することができる測定方法）と「迅速判定法」（絶縁油中の微量 PCB 濃度が基準値以下であることを迅速に判定できる測定方法）の併用が考えられ、これに対応して本マニュアルはまとめられている（本マニュアル冒頭「はじめに」を参照）。

以上の考え方を踏まえ、廃電気機器等に封入された絶縁油中の微量 PCB の測定方法の活用の考え方を図 1.3.1 にまとめて示した。即ち、定量分析法では、平成 4 年厚生省告示第 192 号別表第 2 に定める方法、あるいは、当該方法とほぼ同等の精度を有する簡易定量法で絶縁油を測定し、廃電気機器等が PCB 廃棄物に該当するか否かを判定する。迅速判定法は PCB 廃棄物に該当しないものを選別するためのものであり、迅速判定法で検出された場合は、さらに定量分析法で分析し PCB 廃棄物に該当するか否かを判定する。

これらの方法は、整備すべき前処理装置や測定機器のほか、正確性、迅速性、簡易性、汎用性、測定費用等が異なるため、ここではどの方法を選択して分析すれば良いかの参考となるよう、簡易測定法の特徴と留意点を述べた。

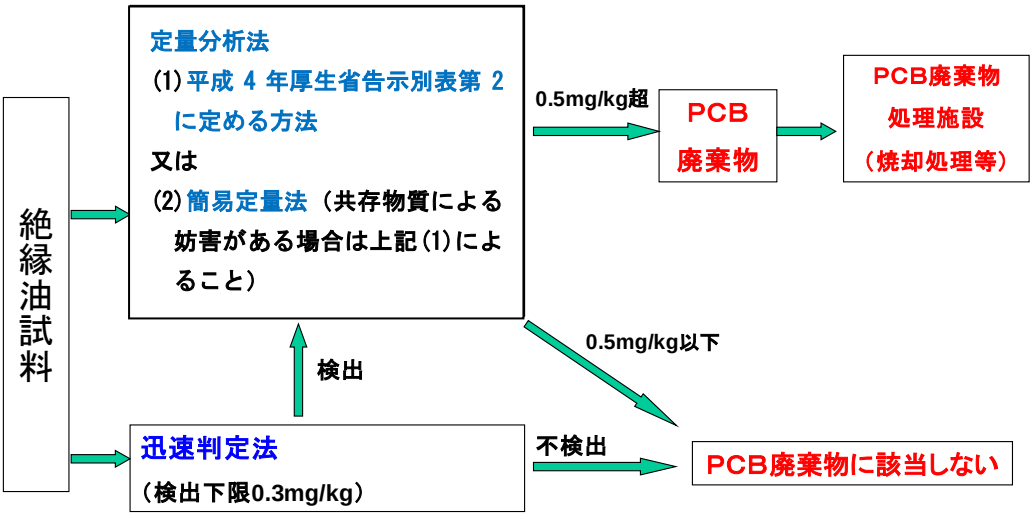


図 1.3.1　廃電気機器等に封入された絶縁油中の微量 PCB 測定法活用の考え方

1.3.2 機器分析法と生化学的分析法

簡易測定法には、機器分析法と生化学的分析法がある。

(1) 機器分析法

GC/ECD や GC/MS を使用した方法であり、定量法として優れているため、公定法にも採用され汎用されてきた。しかしクリーンアップに多大な時間を要することから多くの工夫がなされてきた結果、様々な前処理法が提案されてきた。迅速性や簡易性を優先するもの、完全なクリーンアップを優先するもの、測定機器の選択性を優先するものなど多くの方法が開発されてきた。固相カートリッジの使用、GPC による分画、HPLC による分画、多段のカラムクロマトグラフの併用、測定時間を短縮する方法、定量操作を簡易にする方法、検出器の選択性をあげる方法（GC/NICI 法、GC/MS/MS 法）などである。又、カネクロール中の主要異性体のみを測定し、各異性体の存在割合から算出した換算係数より PCB 総量を推定する方法（推定法）もある。

1）分離精製（クリーンアップ）法

PCB と油成分の性状が類似しているため、油中に微量に含有している PCB を測定することは非常に難しい。油成分が残存していると検出感度低下などにより測定値が低めに出ることもあり、又、逆に夾雑ピークを PCB のピークと誤ってカウントして測定値が高めに出ることもある。基準値である 0.5mg/kg 付近の PCB を測定するには、PCB 以外の物質が定量操作の妨害となるため、PCB を夾雑物質から分離、精製する操作が重要である。精密分析法におけるクリーンアップでは、DMSO/ヘキサン分配、濃硫酸処理、シリカゲルカラムクロマトグラフ等を用いている。油成分の除去には DMSO 分配が非常に効果的である。PCB がヘキサンと DMSO の間で分配され、DMSO 側に移行することを利用した方法である。しかし、分配操作であるため、DMSO とヘキサンが充分分離するまでの静置時間が長く、又、1 回の分配での回収率が悪いため回数を増やす必要がある。そのため多くの時間を要し、分析の未熟な者では回収率低下の原因となる。硫酸処理は油成分を硫酸で分解、或いは硫酸相への分配スルホン化する方法であり効果があるが、油が非常に大量に存在するため、処理回数が多くなることもある。シリカゲルカラムクロマトグラフでは、油成分である炭化水素類と PCB が類似した溶出傾向を示すため分離は困難であるが、僅かに炭化水素類の方が早く溶出するので、精度良くカラムコンディショニングを行い、厳密に分画を行い、正確に前捨て操作を行った後、PCB 画分を分取することにより効果が現れる。この他にゲルパーメイションクロマトグラフを用いる方法、DMSO 処理の代わりの固相への吸着剤利用なども工夫されている。

2）測定方法

測定については、GC に使用されるカラムと検出器の種類により、現在 4 種類の方法、

①低分離能ガスクロマトグラフ LRGC/ECD 法：低分離能のパックドカラム装着の GC と ECD、②高分離能ガスクロマトグラフ HRGC/ECD 法：高分離能のキャピラリーカラム装着の GC と ECD、③HRGC/LRMS 法：高分離能のキャピラリーカラム装着の GC と低分解能の質量分析法、④HRGC/HRMS 法：高分離能のキャピラリーカラム装着の GC と高分解能の MS が用いられている。

HRGC/HRMS 法は、処理済油の検定方法に用いられているように、最も高感度・高精度な測定法である。質量分析においては、油成分と PCB の質量分離には 5,000 以上の分解能が必要である。分解能の低い HRGC/LRMS 法では、同一の整数質量を持っている多くのフラグメントの影響により廃油試料への適用は極めて困難である。ECD 検出器は塩素に対する選択性が大きいが、この選択性の差によっても残存する油成分の影響を受けるため、クリーンアップにより油成分をほぼ完全に除去された場合のみ測定が可能となっている。検出器の選択性は、HRMS 法＞ECD 法＞LRMS 法であり、クリーンアップは LRMS 法＞ECD 法＞HRMS 法の順に多段の組合せが必要となる。測定機器に応じたクリーンアップ法の選択が重要である。

(2) 生化学的分析法

クリーンアップを行い、夾雑物から PCB を分離精製し、抗原抗体反応を利用し、PCB と抗体の反応の度合いを吸光又は蛍光として計測し、PCB 濃度を求める方法である。

1.3.3 分析法選択に対する留意点

分析実験室における分析機器や器具類の整備状況、マトリックスの油組成、クリーンアップのコスト等を考えつつ、又、信頼性の高い分析にむけて分析法の選択が行われる。マトリックスの油組成と各分析法との対応は各分析法のところに示されている。

分析誤差に関わる要因について考察すると、以下のような点が精度に影響を与えていると考えられる。

(1) 前処理による試料中の夾雑成分の除去の程度

PCB を測定する際には、測定の妨害要因となる油成分を前処理操作で除去することが必要となる。前処理方法と測定機器との組合せが重要であり、油成分を前処理により完全に除去するか、測定機器に検出器の選択性を持たせることで定量可能となる。

(2) 検出装置の選択性と感度

HRGC/HRMS 法やガスクロマトグラフータンデム質量分析計による方法(GC/MS/MS 法)では、検出器が高い選択性を有することにより油成分の影響を受けにくく、又、感度の高い検出器を用いることは、精度の高い結果が得られる傾向が確認されている。

(3) 技術者の熟練度

GC/ECD 法や四重極型質量分析計を用いた方法（QMS 法）では、前処理操作の熟練度や測定データの確認処理能力の点で、十分な経験と知識を持たない技術者が行った測

定について、精度の悪い結果が得られる傾向が確認されている。

以上述べたように、絶縁油中の PCB を高い精度で測定するために最も重要なことはクリーンアップ法と測定方法の組合せである。正確性の高い測定法は、迅速性、簡易性および汎用性が犠牲にされ、又、逆に迅速性や簡易性を求めると正確性に問題が残ることが多い。正確性が高く、迅速性があり、汎用的であり、安価な測定法が望まれているが、測定時間や測定費用、又、測定機器や前処理装置等の整備状況のみならず、分析者がその技術に習熟していることも必要である。

1.4　試料の採取

1.4.1 採取の概要

微量 PCB 含有を判定するために、電気機器類などから絶縁油を採取する方法については、JIS 又は公的な分析マニュアルはないが、試料が含まれる電気機器の構造及び大きさに適した方法を用いて、代表性のある試料を分析に必要な量だけ採取するようにする。密閉空間において混合が十分行われていることを考慮して試料の代表性に注意して採取する。

採取にあたっては、試料の種類、採取場所、採取方法などに留意する。電荷の残留の有無（コンデンサ類）など必要に応じて電気主任技術者の判断、指導を求めるものとする。尚、試料採取の一般事項は、JIS C 2101 を参考とする。

1.4.2 サンプリング器具及び装置並びに適用

採取する絶縁油試料には PCB が含まれる可能性があるため、採取に使用する器具類は簡素でかつディスポーザブルであることが望ましく、二次汚染を防止するためにも一つの器具を繰り返し利用することをできるだけ避けるように配慮する。

又、試料が密閉形容器又は機器において、試料の排出口が設けられている場合には、排出口から直接試料の採取を行う。さらに、循環ラインなどに排出口が設けられている場合も直接試料の採取ができる。一部のコンデンサのように完全に密閉されている場合には、油の採取のための孔を開け、すばやく試料を採取する。採取後の孔は油が漏出しないよう十分に栓等をして塞ぐ。

採取した油を入れるための容器はガラス瓶などの洗浄が可能で油中の PCB が付着しにくい材質のものを用い、ふたも試料を汚染せず、PCB の付着性が低い材質のものを用い、容器を密栓して外気と遮断できるものとする。

尚、試料採取時に使用し、油分が付着した採取用具や手袋、ウエスなどは PCB 結果が判明するまで保管事業者が安全に保管し、測定結果に応じて処分方法を決定する。

1.4.3 試料採取時の記録及び試料の識別

絶縁油の試料採取にあたっては、JIS C 2101 の 5.1.3（ラベルの表示）に規定している事項に基づき、a)試料の名称及び種類、b)ロット番号又は試料番号、c)試料採取日、時刻及び場所、d)試料採取者名、e)製品容器の名称及び番号、f)消防法で定める危険物の品名（例えば、第 3 石油類又は第 4 石油類）などの記録を保管する。又、保管事業者は分析を実施するにあたり必要となる情報（過去の分析値、試料の由来、油種など）は分析機関の求めに応じ、できるだけ提供することとする。分析後の測定結果を報告する際の試料名称と保管試料を関連付けることができるように記録を残しておく。

1.4.4 試料の取り扱い

分析のために採取した試料を運搬する行為は、廃棄物処理法及び PCB 特別措置法の適用を受けない。しかしながら、漏洩等がないように充分に配慮したパッキングを行う事が必要である。又、分析のための試料の採取は分析に必要な必要最小限の量とし、分析後に余った試料は、保管事業者に返却することとなる（平成 16 年 2 月 17 日付環廃産発第 040217005 号産業廃棄物課長通知）。

1.4.5 作業者の PCB 曝露を避けるために

試料採取、及び分析を行う作業者は、手袋、簡易型マスク等を使用して PCB に曝露される機会を小さくすることに留意する。

1.5　精度管理について

1.5.1 はじめに

基準である 0.5mg/kg の濃度の PCB を測定することは、良く整備された実験室、測定機器、そして訓練された技術者を必要としており、正確な分析結果を得るためには充分な精度管理が必要である。

1.5.2 分析精度管理の概要と分析データの品質保証

分析精度管理は、内部精度管理と外部精度管理とに分けることができる。内部精度管理には、標準作業手順書の作成及び履行、分析性能試験が含まれる。SOPs は、分析法マニュアルを、環境、装置の整備状況、分析者の技術力に応じて具体化したものである。実試料の分析開始前の分析性能試験は、分析法の性能、分析者のパフォーマンスを評価し、改善するために行う。実試料の分析と並行して行う性能試験は、同じバッチの測定データを棄却して再分析を行うかどうかを判定するために実施する。

現在実施可能な分析データの品質保証として、SOPs の外部認証、データ管理者による SOPs で定めた分析・定量等記録の確認、内部精度管理結果の評価及び外部精度管理結果の評価がある。

1.5.3 内部精度管理

(1) 標準作業手順書(SOPs)

SOPs は、器具取り扱い、標準液取り扱い、試料分取方法、前処理法、分析機器取り扱い及び各工程の記録方法など全分析作業に係る手順をテキスト化したものである。SOPs の記述には、分析者が SOPs に従って分析工程を進めれば、得られたデータの品質をぶれさせない程度の細かさが求められる。この意味において、分析者の技術レベルが高ければ記述が簡略化されることもあり得る。

絶縁油中の PCBs の分析に特徴的であり、SOPs で記載する必要があると考えられる事項を以下に列記する。

1) 標準液の管理に関して、定量用標準溶液を長期間使用することが予想されるので、濃度変化（溶媒の気化による PCB の濃縮）を防ぐ保管方法（標準物質の入手方法及び二次標準溶液の調製方法は、1.2 を参照。）

2) 前処理に関して、高濃度試料と基準値以下の試料間のクロスコンタミネーションを避ける方法(例えば、試料と使用するガラス器具番号及び GC への注入順序を管理し、同番号のガラス器具を使用して処理した試料、又は連続して GC 注入した試料の測定濃度が 1000 倍程度の差があった場合は、PCB 組成を比較し類似する場合は再測定する。)

3) カラムクロマトグラフィークリーンアップに関して、充填剤及び溶離液の品質管理、保管方法、さらに分析者の技術の個人差の管理方法（例えば、この処理を行う分析者

は、絶縁油中 PCB の溶出試験を定期的に実施する。）

4）定性分析に関して、同定するピーク数が多いので、ピーク同定におけるヒューマンエラーを避けるための方法（例えば、10 検体に 1 検体の割合で別の分析者がピーク同定し、定性結果が一致することを確認する。）

5）定量分析に関して、ピーク積分が適正に行われていることを確認する方法(例えば、目でベースラインを確認できるような拡大クロマトグラムを添付する。）

6）定量分析に関して、定量した PCB 化合物名（又はピーク番号）を濃度順に確認できる方法（例えば、PCB 化合物名（又はピーク番号）を保持時間、濃度順にソートでき、濃度を棒グラフで表示できるスプレッドシートデータファイルを添付する。）

7）自動濃度計算ソフトウェアに誤りがないことを確認する方法

(2) GC 性能試験

GC/ECD 及び GC/MS の装置性能評価は、適当な濃度の PCB 標準液および空試料（溶媒）を測定して得られるクロマトグラム及び指示値を使って行う。下記の性能評価項目の内、1).から 9).は、GC の初期性能評価項目として実試料測定前に実施する。10.　は、一連の試料を測定期間中定期的に実施する。

1）ピーク形状

1 種類の PCB 化合物で構成されるピークについて、リーディング、テーリングを起こしていないことを確認する。又、ピーク幅が、PCB の定性分析（ピーク同定）において参照するクロマトグラムとほぼ同等であることを確認する。図 1.2.2 の ECD クロマトグラムでは、ピーク番号 3, 57, 93 他が 1 種類の PCB 化合物で構成されている。

2）ベースライン

PCB 等量混合標準液又は空試料を測定し、ベースラインがドリフト（カラムオーブンを昇温することでベースラインが上昇する）していないことを確認する。

3）ゴーストピーク

空試料および PCB 等量混合標準液測定し、空試料のクロマトグラムにおいて PCB 化合物が溶出する範囲に PCB ピークとオーバーラップするピークが存在しないことを確認する。

4）分離度

PCB 等量混合標準液を測定して得られるピークの分離の程度が、PCB の定性分析（ピーク同定）で参照するクロマトグラムと同等であることを確認する。参照クロマトグラム以上に分離している、逆に分離してないクロマトグラムが得られた測定で、ピークの CB%値を使って定量する場合（ECD による定量等）は、対応する参照クロマトグラムピークを構成する PCB 化合物の CB%を正しく割り振る必要がある。この方法は、本マニュアル 1.2 の方法を参考にする。

5）保持時間

PCB 等量混合標準液を繰り返し測定し、保持時間の変動幅を把握する。定性分析のための保持時間幅の指標の一つに、保持時間窓(Retention window, 以下 RW)がある。RW は、標準液を 1 日 1 回、3 日間にわたって測定して得られる保持時間の平均値±標準偏差の 3 倍に相当する。試料を測定して得られた一つのピークの保持時間が PCB 標準ピークの RW の範囲内であれば、対応していると判定する。

PCB 等量混合標準のクロマトグラムピークの中には、複数の PCB 化合物で構成されるピークが多数存在する。それら PCB 化合物の保持時間に差（当然ピーク幅よりは短い）があって、絶縁油試料において構成成分の一つが含まれないとピークの保持時間が変化することがあるので、保持時間に基づくピーク同定およびピーク形状の変化についての評価には注意を要する。

6) 標準液濃度に対する指示値の直線性

RRF の算出用又は検量線作成用標準液の濃度は、全ての試料の GC 検液 PCB 濃度をカバーしていることが望ましい。一方で、最小二乗法で求める検量線の r^2 値は、ある濃度までは濃度範囲を広く取ると 1 に近づく傾向があるので、濃度範囲を広く取りすぎると GC の応答値の直線性を、r^2 値を使って評価することに意味がなくなってしまう。そこで、適正な検量濃度範囲で定量する必要がある。

カネクロール等量混合標準(KC-mix)を用いる検量濃度範囲の下限は、検出下限値（0.15mg/kg）相当の絶縁油試料を分析法で定めた前処理をして得られる GC 検液の濃度とする。上限は機器のダイナミックレンジによるが、下限は数百倍程度が目安になる。

個別 PCB 化合物を用いる検量濃度範囲の下限は、それらを測定して得られるイオンクロマトグラムピークの S/N 比が 3 程度になる濃度とする。上限は機器のダイナミックレンジによるが、下限は数百倍程度が目安になる。

これらの濃度範囲の中で、5 段階程度の標準濃度系列を調製する。

RRF 算出方法及び検量線の作成方法は、各分析法を参照する。

RRF を用いて定量する場合の、標準液濃度に対する指示値の直線性の基準は、CV%が 20%以下であることを目安とする。最小二乗法で求めた回帰直線については、r^2 値が 0.99 以上あることを目安とする。

7) ダイナミックレンジ

本マニュアルにある測定法の適用目的は、絶縁油中の PCB 濃度が 0.5mg/kg を超過しているかどうかを判定することにあるが、基準値以上の濃度の正確さを担保する必要条件として、試料検液は装置のダイナミックレンジ内で定量される必要がある。ECD 及び MS のダイナミックレンジは機種及び装置のコンディションによって異なることから、使用する装置毎にダイナミックレンジを求めておく必要がある。

ダイナミックレンジは、測定対象成分の応答値の検量線からのズレ（乖離度）が±10%以内の範囲と示されている（Introduction to Gas Chromatography CGC-10

8.Detector(1999))。ダイナミックレンジの上限は次の手順で算出する。

検量線作成用 PCB 標準を測定し検量線を作成する（又は RRF を求める)。この濃度範囲より高濃度(C_n)の標準試料を同じ条件で測定し、作成しておいた検量線（又は RRF）を使って定量値（C_c）を計算し、次式で乖離度%(Dev.)を計算する。

$$Dev. = (C_c - C_n)/C_n \times 100$$

乖離度が±10%を超える濃度領域での測定は測定誤差が大きくなり好ましくない。この場合、試料を適当な濃度に希釈して再定量する。

8）装置検出下限値（Instrument Detection Limit, IDL）

ECD の感度の安定性が、質量分析計に比べて優れていることから、ECD の IDL は S/N 比を、質量分析計の IDL は繰り返し分析による定量値の標準偏差をそれぞれ使って算出する。

ECD の IDL は、①採用した試験方法の GC/ECD 条件に従って、0.15mg/kg×分析法の濃縮率相当濃度の KC 等量混合標準液を測定し、得られたクロマトグラムピークを同定する、②同定したピークの S/N 比（シグナル高さ/ノイズ高さで評価する）を求める、③S/N 比が 3 以上のピークの CB%を KC 等量混合標準の CB%表を使って合計した時に 80%以上となる濃度とする。例えば、KC 等量混合標準の GC/ECD クロマトグラム（図 1.2.2）において総 PCB 濃度の 80%を構成するピーク番号は、4, 7, 8, 10, 15, 16, 17, 18, 21, 22, 23, 25, 26, 27, 32, 33, 34, 36, 39, 40, 43, 44, 47, 49, 52, 53, 58, 59, 64, 69, 74, 80, 84 であり、これらのピークの中で 43 番（CB%：0.887%）が 80%の境目に当たる。ノイズレベルを計測する場合、ピーク間隔が詰まっているためにピーク近傍（目安としてピークの半値幅の 10 倍程度）で計測できない場合は、ピークの前後双方に計測位置の選択を広げて 2 点のノイズの平均値を用いて S/N 比を計算する。

質量分析計の IDL は、0.15mg/kg×濃縮率（kg/L）の濃度に相当する KC 等量混合標準液を 7 回程度繰り返し測定し、一連の分析値の標準偏差（$\sigma_{n-1,I}$）を求め、次式により算出する。

$$IDL = t(n-1,0.05) \times \sigma_{n-1,I} \times 2$$

尚、t(n-1,0.05)は危険率 5%、自由度 n-1 の t 値(片側)を示し、n=7 の場合は 1.9432 である。

IDL の算出 は、GC 注入口消耗品及びカラムを交換した場合、検出器のメンテナンスを実施した場合に行う。

9）キャリーオーバー

連続測定において注入試料により注入口が汚染され、次の試料の指示値が変化することをキャリーオーバーと呼ぶ。キャリーオーバーは、前後の試料の濃度差が大きければ、影響が大きくなる。絶縁油試料の中には高濃度試料と低濃度試料が混在すると予想されることから、キャリーオーバーが問題になる濃度差を把握しておくことが望ましい。

10）感度の時間変動

GC の感度は、時間変動する。上述の通り、質量分析計の感度の時間変動は ECD よりも激しい。濃度を正確に定量するには、一定濃度の標準液を定期的に測定して検出器の感度をモニターし、許容範囲以上の変動が認められる場合は、濃度系列標準液を再測定し、RRF を再計算もしくは検量線を再作成する必要がある。

感度チェックのために、濃度系列中間濃度の標準液を、1 日 1 回測定する。

(3) 分析性能試験

分析性能評価試験は、試薬の純度、分析者の分析レベルを含めた各試験法の妥当性を確認するため、計画的に実施する必要がある。絶縁油中の PCB 分析において基本と推察される実施項目を列記する。

1）添加回収試験

本マニュアルの適用目的から考えて、適当な回収試験濃度は、0.5mg/kg 前後と考えられる。回収率試料は、標準試料もしくは PCB で汚染されていない絶縁油に PCB 等量混合標準液（ヘキサン）を添加して調製する。分析操作手順は、採用する分析マニュアルに基づいて自主作成した SOPs に従う。添加回収試験は、実試料の測定を開始以前に行う。回収率の評価は、70 から 120%（GC/ECD、GC/NICI-MS）または 50 から 120%（GC/QMS、GC/MS/MS）を合格とする。

2）ピーク形状・ベースライン・ゴーストピーク・保持時間

絶縁油の PCB 分析性能として重要な性能の一つは、絶縁油（マトリックス）と PCB との分離性能である。ただし、この性能は、2.2 GC/HRMS 法を適用した簡易定量法にあっては必要条件にならない。絶縁油との分離が不十分な試料を GC 測定して得られるガスクロマトグラムでは、ピーク形状の悪化、ベースラインのドリフトや波打ち、ゴーストピークの出現、保持時間の変化（通常遅れ）が見られる場合が多い。そこで、自主的に評価基準を設けて、全検体の測定結果を管理する。

3）操作ブランク

操作ブランク試料から PCB が 0.05mg/kg 以上の濃度で検出された場合は、原因を解消した後、同じバッチの基準値超過検体を再分析する。ただし、操作ブランク試料の定量においては、ピーク面積値が装置の検量範囲以下になることが多く、そのために定量値が不正確になりやすいので、定量方法を工夫する必要がある。

4）分析法検出下限値

MDL 算出方法は、平成 20 年度版化学物質環境実態調査実施の手引き（平成 21 年３月環境省総合環境政策局環境保健部環境安全課）に従う。試験試料は、濃度 0.45 から 0.5mg/kg（トータル PCB 濃度）になるように KC 等量混合標準液（ヘキサン）を絶縁油に添加して調製する。ECD と質量分析計とで低塩化ビフェニルと高塩化ビフェニルに対する感度の高低が異なる。こうした検出器の特性が MDL に及ぼす影響を軽減するために、KC 等量混合標準を添加する。絶縁油の種類によって、前処理後の GC 検液に残存する定量を妨害する夾雑物の量がちがうと予想されるので、MDL の算出は、各分析法の適用が認められている絶縁油の種類毎に行う。繰り返し試験の回数は、7 回程度とする。MDL は、一連の分析値の標準偏差（$\sigma_{n-1,M}$）を使って、次式により算出する。

$$MDL_{method} = t(n-1,0.05) \times \sigma_{n-1,\ method} \times 2$$

5）クリーンアップスパイク内部標準回収率

全検体にクリーンアップスパイク内部標準物質を添加して測定し、回収率を調べることは、今のところ最も有効な分析操作精度（確度）管理方法といえる。

GC/MS を用いる分析を行う場合は、ラベル化 PCB 化合物をクリーンアップスパイク内部標準として使用できるが、それらを GC/ECD を用いる分析法に適用することは難しい。GC/ECD を用いる分析法に用いるクリーンアップスパイク内部標準は、PCB 製品に含まれない成分であり、かつ PCB 製品に含まれる成分とクロマト分離することが必須条件になる。さらに油成分と PCB 成分をカラムクロマト分離する分析法にあっては、そこでの PCB 化合物の挙動を代表する成分であることが求められる。このために、クリーンアップスパイク内部標準物質の選定は難しい。各分析法が推奨するクリーンアップスパイク内部標準物質の種類、添加量は、第 2 章を参照する。

クリーンアップスパイク添加内部標準の回収率の評価基準は、ECD、NICI で 70%から 120%、質量分析計で 50%から 120%とする。基準範囲内に入らない試料については、原因を解消した後で再分析する。

6）二重測定

一連の検体の中から一定の割合の検体について、二重測定をおこない、定量濃度に有意な差がないことを確認する。試験は、分析者が自主的に行う場合と分析データ管理者等が分析者にその旨を知らせないで実施する場合がある。結果の客観性は、後者の方法が高いといえる。

試験を実施する頻度に関して、有害大気汚染物質測定方法マニュアルではバッチ当たり最低でも 1 組、検体数が多い場合はその 10%で行うこととされているが、多数の分析を行う絶縁油中の PCB 測定においては 5%で良いと考えられる。

濃度レベルによってデータの精度が異なるので、異なる濃度レベルで求めた濃度差の評価に同じ基準を当てはめることは適当ではない。評価基準として、MDL の 3 倍以上の濃度の試料について、20%(2 検体の濃度差/2 検体の濃度の平均値×100)とする。これを超えた時は、当該ロットの分析は再測定とする。二重測定試験の有効性を確保するため、履歴等からMDL以下の汚染濃度が予想される検体を供試しないようにする。

絶縁油中のPCB分析において基本と推察される実施頻度及び評価基準を表1.5.1にまとめて示す。分析データの管理者と協議し、採用する項目、その実施頻度、評価基準を決定する。

表 1.5.1　分析における内部精度管理の実施方法

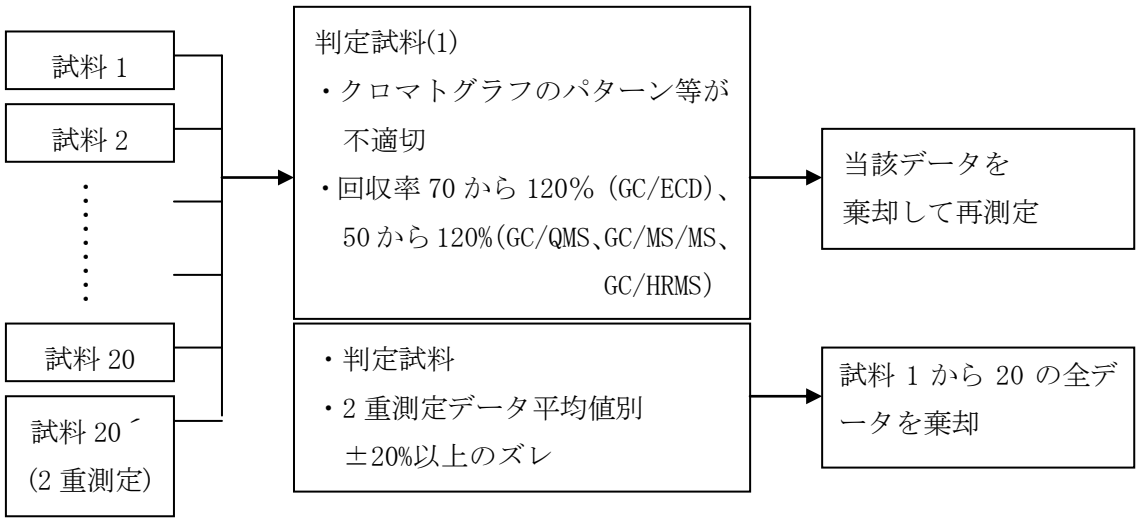
項目	実施頻度	評価基準
操作ブランク試験	測定バッチ毎に1検体	濃度換算して、0.05mg/kg 以下であること。
機器の感度確認	一連の測定の前	必要な感度を満たし、大きな変動がないこと
クリーンアップスパイク内部標準の回収率算出	同種の絶縁油試料の内 1 検体以上	70%<回収率<120%（GC/ECD、GC/NICI-MS） 50%<回収率<120%（GC/QMS、GC/MS/MS、GC/HRMS）
試料の二重測定	全検体数の 5%以上	定量値が 0.5mg/kg 以上の試料について再分析を行い、2 回の定量値が平均値に対して±20%以内
分析法検出下限値の測定	絶縁油試料分析開始前、分析者、機材等の変更があった時点、年 1 回以上	0.15mg/kg 以下
標準試料（濃度既知絶縁油）測定（回収試験）		PCB濃度0.5mg/kg付近の試料で誤差が±20%以内
変動係数の測定		簡易定量法では 15%以内、 迅速判定法では 30%以内

7）測定値の棄却と再測定

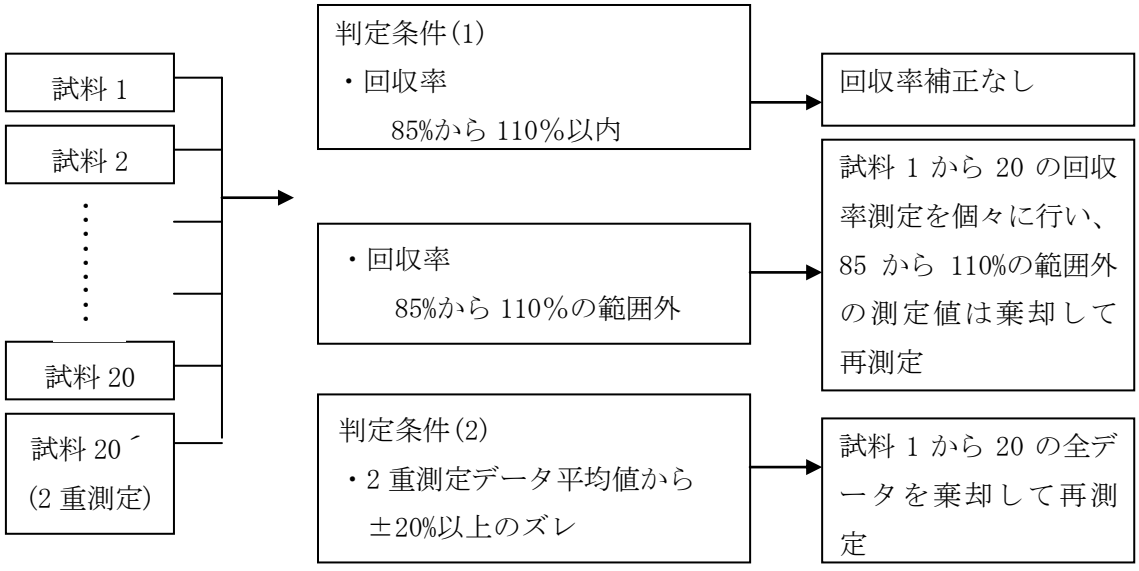
実際の測定において、分析の精度が良くないと判断される場合、当該の測定データを棄却し、再測定をすることとする。

具体例を例示すると次のようになる。

1. 機器分析法による場合（1 ロット 20 検体）



2. 生化学的分析法による場合（1 ロット 20 検体）



(4) 分析法の修正方法

装置の感度が IDL を満たさない場合、GC 注入量を増やす、あるいは GC 検液の濃縮倍率を上げることで理論的には感度不足を補うことができる。しかしながら、これらの方法は、GC へ注入する夾雑物の量が増えることを意味する。したがって、こうした分析法の修正を行う前には、増えた夾雑物によって定性・定量が妨害されないことを確認する必要がある。確認には、(3)分析性能試験をおこなえば良い。

逆に、GC 検液の濃縮倍率を下げる場合は、夾雑物による妨害の影響が軽減されるので、(3)の分析性能試験を行う必要がないが、シグナル応答が小さくなるため、検出下限を満たすことを確認することが必要となる。

(5) データの品質保証

日本では、SOPs の外部機関による検証はほとんど行われていないが、微量化学物質分析に関する知識をもった外部機関に認証を委託することが望ましい。認証は、SOPs 作成時及び SOPs を変更した時に行う。分析手順は、分析性能評価試験結果に応じて改善されてゆくものなので、SOPs も随時更新されなければならない。この一連の作業を円滑に進めるために、更新の手順を章立てしておくと良い。

分析・定量記録の確認は、データ管理者に分析データが提出された時点で行う。SOPs で定めた分析ステップの記録が全て揃っていることが大切である。

内部精度管理結果については、管理項目の実施頻度及び結果の値を評価するだけでなく、操作ブランク試験等で問題があったケースにおいて、原因の解消が論理的に進められ、再分析や場合によっては SOPs の改訂等が適正に行われていることを確認する必要がある。

又、以下の現象が発生した場合には再分析、或いは告示 192 号による分析を行うかどうかの判断を行う。

1) PCB パターンの不一致、ピーク形状（ブロードニング、テーリング等）の異常
2) ベースラインの変動
3) 異常なピークの出現
4) 保持時間の変動、標準との乖離

1.5.4 外部精度管理

PCB の汚染油を所有する事業者は、適法に処理するに当たり、PCB 分析値の信頼性にも留意しておく必要があり、分析機関の外側から精度管理を行うことが求められる。即ち、外部精度管理は、信頼性のある分析データを得るために、分析依頼者（或いは行政機関等の関連機関）が、分析を監督し、或いは、分析機関を指導するプロセスである。具体的には、分析機関での分析プロセスのチェック、トレーサビリティーの確認、ブラインドサンプルを用いた分析値の評価、劣悪なデータの廃棄などがある。

1.6　数値の取り扱い

PCB 濃度は、原則定量値の 3 桁目を四捨五入して 2 桁で報告する。単位は mg/kg とする。

報告下限値は、1.5.3 で規定する方法で算出した MDL とする。ただし、MDL は絶縁油種毎に求めているところから、採用する MDL を以下のように定める。試料の履歴から油種が明白な場合は、同種の絶縁油を用いて添加回収試験を行った結果から算出した MDL を用いる。試料の粘性から 3 種絶縁油（ポリブテン）と判定できる場合は、同絶縁油について算出した MDL を用いる。試料の油種を判定できない場合は、各油種について算出した MDL の最高値を使用する。試料濃度と MDL との比較は、それぞれ 3 桁の濃度を使って行う。MDL 未満の濃度は、MDL の値を使って（<数値（有効数字二桁））、又は検出下限値未満（ND）と表記し、後者の場合は、濃度一覧表の欄外等に MDL の値を見易く記載する。

検量線濃度範囲以上の試料濃度は、1.5.3 で規定する方法で GC のダイナミックレンジを確認して RRF 値（又は検量線）を使って定量した値であることを確認して報告する。

採用した分析法で測定した結果、夾雑物の影響でクロマトグラムのベースラインが乱れる等して定量不能だった試料については定量不能とし、平成 4 年厚生省告示第 192 号別表第 2 による分析に供して測定した場合、それが判るように表記する。

２　絶縁油中の PCB 簡易定量法

2.1 ガスクロマトグラフ/電子捕獲型検出器(GC/ECD)を適用した簡易定量法

本マニュアルでは、GC/ECD 法を適用した簡易定量法として以下の技術を定める。

2.1.1 高濃度硫酸処理/シリカゲルカラム分画/キャピラリーガスクロマトグラフ/電子捕獲型検出器（GC/ECD）法

(1) 概要（適用範囲）

ここに定める方法は、キャピラリーガスクロマトグラフ/電子捕獲型検出器（以下 GC/ECD）を用いた、変圧器やコンデンサ等の重電機器に使用される電気絶縁油中のポリ塩化ビフェニル（PCB）について適用する。

(2) 測定の概要

1) 測定の概要

本方法は、硫酸添加による前処理の後、5vol% ジクロロメタン含有ヘキサンで抽出し、分離カラムにより絶縁油成分を分離除去する精製を行い、その PCB 画分を GC/ECD により測定を行う。尚、コンデンサで用いられる合成油では，その種類により前処理での化学的性質が大きく異なるため、油種の判別と効果的な前処理方法を選択する必要がある。

2) 測定操作の選択

本測定における測定操作を A,B,C の 3 グループに大別し行う。各機器あるいは各絶縁油種での測定操作の選択を図 2.1.1.1 に示す。変圧器(遮断機含む)より採取された試料は A グループ、コンデンサ（ケーブル含む）より採取された試料は B グループに該当する。尚、油種が 1 及び 7 種、および DOP と判明した場合には、変圧器絶縁油と同様の A グループでの分析操作で行い、ポリブテンは C グループでの測定操作を行う。

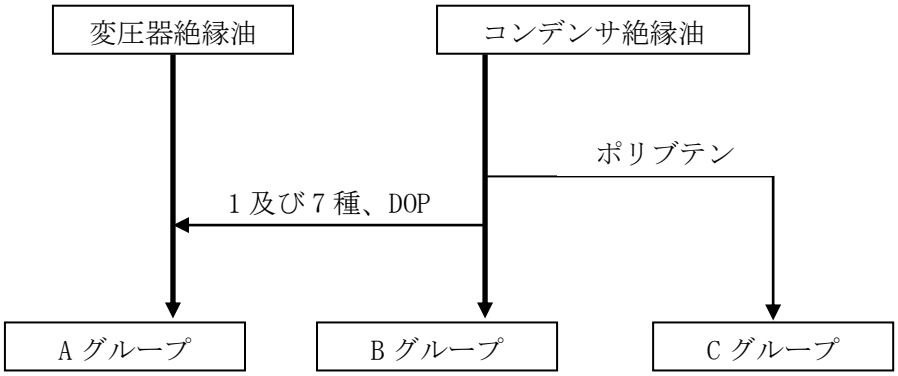


図 2.1.1.1 測定操作の選択

a. Ａグループ（変圧器絶縁油）測定フロー

１種（鉱油)、６種（シリコーン油)、７種（１種と２種の混合)、DOP に対し行う。

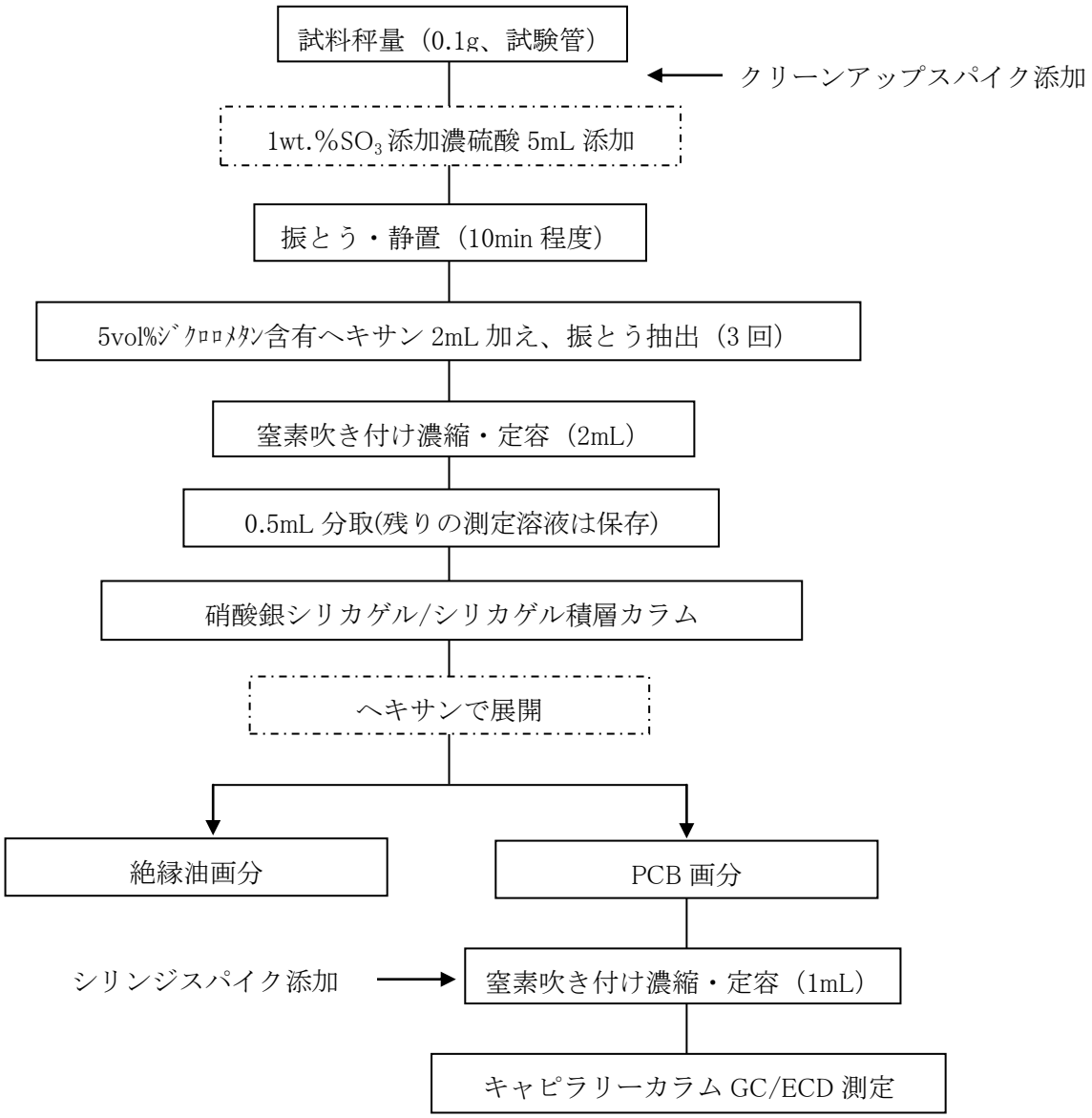


図 2.1.1.2 Ａグループ 測定フロー

b. Ｂグループ測定フロー

2 種（アルキルベンゼン)、4 種（アルキルナフタレン)、5 種（アルキルジフェニルアルカン）に対し行う。

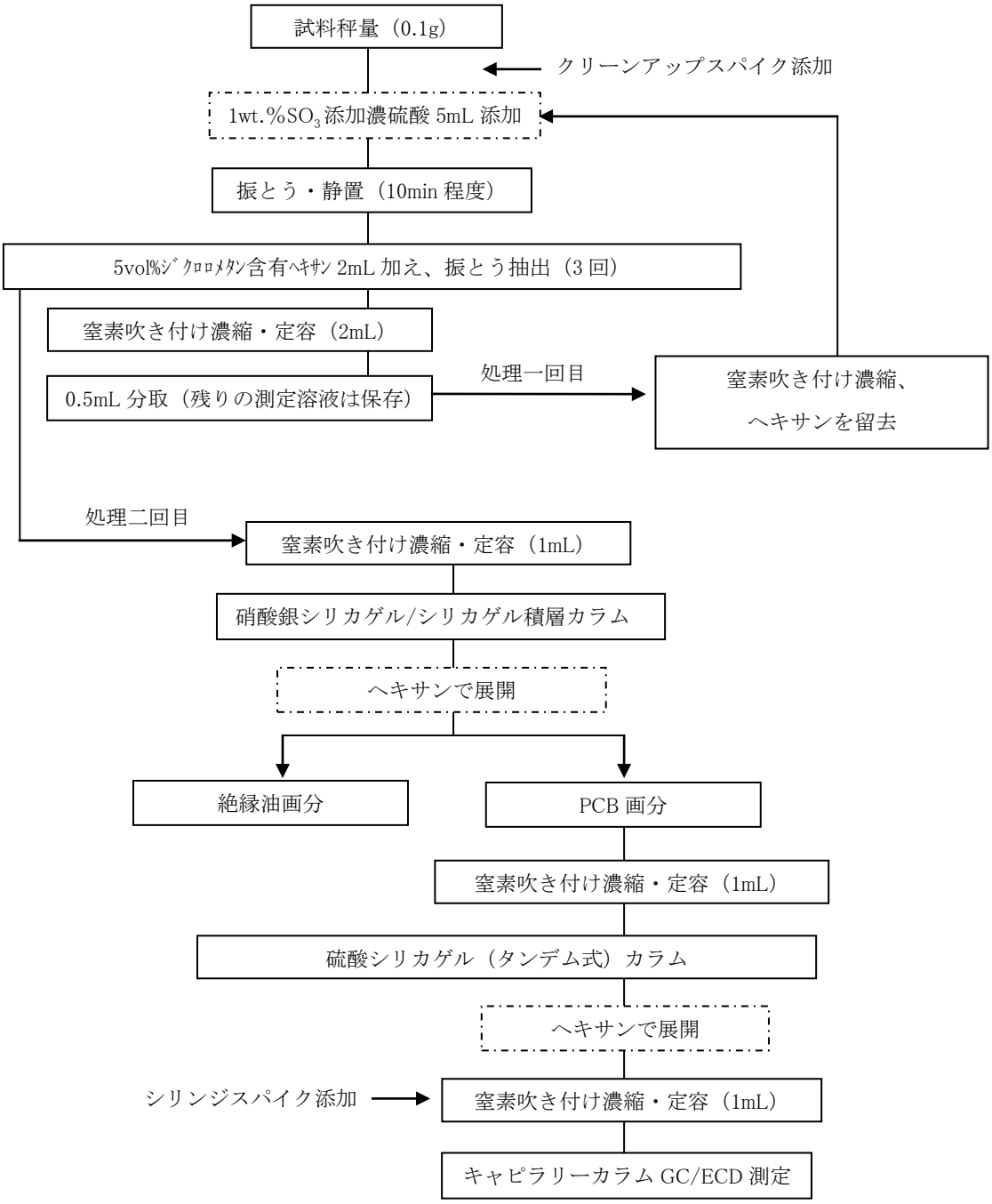


図 2.1.1.3 Ｂグループ 測定フロー

c. C グループ測定フロー

３種（ポリブテン）に対し行う。ポリブテンは、クリーンアップでの PCB 分画の位置を変化させる。最終液に残存するとガスクロマトグラフ測定を困難とする。

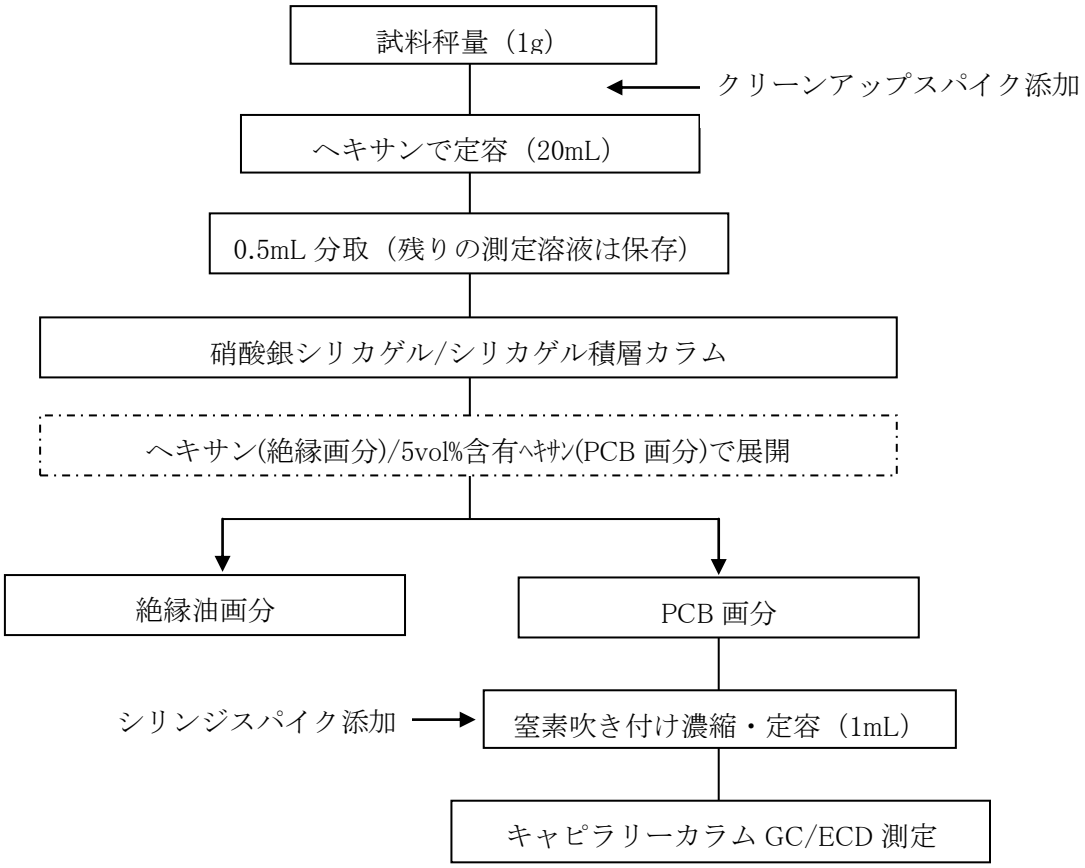


図 2.1.1.4 C グループ 測定フロー

(3) 試薬、器具及び装置

1) 試薬

測定に使用する試薬は次による。これらの試薬は、空試験などによって測定に支障のないことを確認しておく。又、記述以外の試薬を使用する場合も同等の試験を行い、測定に支障のないことを確認しておく。

a. ヘキサン　JIS K 8825 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

b. 5vol%ジクロロメタン含有ヘキサン　ジクロロメタン（JIS K 8117 に規定するもの、又は同等の品質のもの）にヘキサンを加え、ジクロロメタンの 20 倍容（5vol%）としたもの。

c. **1wt.%SO_3添加濃硫酸**　濃硫酸（精密分析用など、硫酸濃度 96 から 98%）500g に対し、発煙硫酸（30%）を 20mL 程度加えよく混ぜ合わせたもの。発煙硫酸の取扱いには、酸用のドラフト内で作業を行うと同時に、適宜保護具を用いる。

d. **シリカゲル**　絶縁油（鉱油分）と PCB の分画を確認したもの。粒径 50 から 250 μm 程度のカラムクロマト用のもの。シリカゲルの活性化及び活性の調整は JIS K0093 に詳しいが、処理方法の例を以下に示す。

シリカゲルをガラス製のビーカーなど、PCB 測定に影響を与えない容器に層が 1cm を超えないように敷き詰め、120℃に設定した乾燥器で 3 時間乾燥し活性化する。活性化したシリカゲルはデシケータで放冷した後に、密閉できる容器に移し、デシケータで保存する。尚、空試験においてシリカゲルで試料を精製した際に、測定を妨害する成分が確認される場合は、乾燥器による活性化の前にメタノールにより洗浄することが望ましい。但し、乾燥器による活性化の前には充分にメタノールを留去させること（引火・爆発の危険に注意）。

シリカゲルの調製に際しては、活性化の条件及びメタノールによる洗浄の有無等により、作成した分離カラムでの PCB の分離挙動が異なる。調製の条件を変更する場合のみではなく、活性化を行ったバッチごとにおいても、PCB の溶出する範囲を確認すること※1)。

e. **10%硝酸銀シリカゲル**　平成 4 年厚生省告示第 192 号別表第 2 に示される方法で調製をする。又、これに準ずる既製品などでも代用できる。

f. **硝酸銀シリカゲル/シリカゲル積層カラム**※2)　清浄なガラス管（内径 8mm※3)）の下端に脱脂綿をつめシリカゲルが流れ落ちないようにし、シリカゲル 3g、10%硝酸銀シリカゲル 0.5g を正確に量りとり、順にクロマト管に乾式充填する。各々のシリカゲルを充填する際には、クロマト管を軽く叩くことにより密に充填するようにする。

g. **44%硫酸シリカゲル**　平成 4 年厚生省告示第 192 号別表第 2 に示される方法で調製をする。又、これに準ずる既製品などでも代用できる。

h. **PCB 標準液**　KC-300、KC-400、KC-500 及び KC-600 を重量比 1:1:1:1 の割合で混合したものを、100ng/mL に調整したもの※4)。

i. **クリーンアップスパイク溶液**　2,3,3',4,4',5,5'-H7CB(IUPAC No.189)等の測定に影響が少ない異性体を用いる※5)。2000ng/mL のデカン溶液。

j. **シリンジスパイク溶液**　2,2',3,3',4,4',5,5',6,6'-D10CB(IUPAC No.209)等の測定に影響が少ない異性体を用いる※6)。500ng/mL のデカン溶液。

2）器具

測定に使用する器具は次による。これらの器具は、空試験などによって測定に支障のないことを確認しておく。

a. **脱脂綿**　ヘキサンで洗浄したもの等、測定に妨害を与えないことを確認したもの。

b. **試験管**　容量 10mL 程度のもの。ねじ口かつ表面がテトラフルオロエチレンで被覆されたパッキンの付いたキャップのものが望ましい。

c. **クロマト管**　内径が 8mm のもの。クロマト管の内径は重要な要因である。

d. **ホールピペット**　0.5mL を正確に分取できるもの。

e. **全量フラスコ**　1mL 及び 2mL を正確に定容できるもの。尚、1mL 及び 2mL を定容できるもので、誤差精度 3%以内程度の精度を確保できる標線入りの試験管等の器具で代用可能である。

3）装置

測定に使用する装置は次による。

a. **ガスクロマトグラフ-電子捕獲検出器**

i 試料導入部　スプリット※7)・スプリットレス方式※8)、※9)、又は全量（オンカラム）注入方式で、温度を 220℃から 300℃で使用可能なもの

ii 分離カラム　内径 0.10mm 以上 0.32mm 以下及び長さ 10m 以上のキャピラリーカラム。使用する GC カラムは、図 1.2.2 の例と同等の分離性能をもつもので、PCB 全 209 各化合物の溶出位置が実際の測定に採用する GC 条件において判明していなければならない。

iii キャリアーガス　純度 99.999%以上のヘリウム、窒素又は水素を用いる。

iv　付加ガス（メイクアップガス）　純度 99.999%以上の窒素を用いる。

v カラム槽温度　室温+15℃から 300℃の間で温度を一定に保つことができ、1 分間に 10℃以上ので昇温ができるもの。

vi 電子捕獲型検出器　KC-300,KC-400,KC-500,KC-600 の各々のヘキサン溶液で 3.75ng/mL が検出できるもの。検出器槽温度が 250 から 320℃の範囲で使用可能なもの。

(4) 前処理

1) 試料の調製（粗精製試料溶液の作成）

本方法においては、絶縁油試料重量に対し、ヘキサンにて重量体積比で 10 から 20 倍になるように調製した物を用いる。

a. 試料の秤量及び内標準物質の添加

清浄な試験管に、絶縁油試料約 0.1g を正確に秤量する。

量り取った量を有効数字 3 桁以上で記録する。

試料にクリーンアップスパイク溶液を 40ng（20μL）添加する※10)。

b. 粗精製試料溶液の作成

i. 濃硫酸処理による粗精製

a.の試験管に 1wt.%SO_3 添加硫酸 5mL 程度を入れ、十分に振り混ぜる。その後、10 分から長くとも 15 分程度静置する※11)。

ⅱ. 溶媒による抽出操作

i.の試験管に 5vol.%ジクロロメタン含有ヘキサン 2mL を加え※12)、十分に振り混ぜる。i.の作業での静置時間終了後直ちに行う。その後硫酸層とヘキサン層が分離するまで静置し、ヘキサンをパスツールピペットなどを用いて別の試験管に取り出す。同様の操作を 3 回以上繰返し、得られたヘキサン層 6mL を窒素吹き付け濃縮し※13)、ヘキサンで 2mL に定容し、粗精製試料溶液とする。尚、抽出の際に加える溶媒量は多いほうが抽出溶媒をほかの試験管に移し変えやすく、又、抽出回数が多いほうがより回収率の低下を抑えられる。しかし、抽出溶媒量が増えることにより、濃縮工程でより多くの時間を要する。

2) 機器（油種）ごとによる精製工程

a. 油種の判定方法

油種の判定は、(4).1).b.i.の操作過程において着色などの視覚的特徴により行うことが新油においては可能である※14)。長期使用された絶縁油においては明確に判断できないこともあり、油の由来（変圧器に用いられたものか、コンデンサーに用いられたものか等）の情報も含めて判断するが、判定方法を(6)留意事項※１に示す。油種ごとでの処理方法は、基本は硫酸処理及びシリカゲルカラム処理であるが、詳細には３グループに分かれる。それぞれのグループに含まれる絶縁油を下記に示す。

・A グループ（変圧器）：1 種、6 種、7 種（変圧器用絶縁油）及び DOP

・B グループ（コンデンサ）：2 種、4 種、5 種（芳香族炭化水素類）

・C グループ：3 種（ポリマー分子）

3）油種グループごとでの必要となる追加粗精製操作方法

油種により、(4).1)における工程に加え、シリカゲルクロマトグラフ等の異なる前処理が必要である。各油種グループでの前処理方法を示す。

a. A グループでの精製操作

試料がトランス由来であることが判明していて､かつ鉱油由来であることが事前に判明している場合には､試料をヘキサンで重量体積比 10 から 20 倍程度に希釈（例として、試料 1 g をヘキサンで 10 から 20mL に定容）し、試験管にその一部（1mL 程度）を 1wt.%SO_3 添加濃硫酸 5mL 程度と共に入れ、よく振とうすることにより処理を行うことができる。この場合､次工程ではヘキサン層より 0.5mL を正確に分取することになる。

i.硝酸銀シリカゲル/シリカゲルによる精製操作

① ヘキサンをクロマト管上部に注ぎ、自然流下で充填したシリカゲル全体にヘキサンを展開させ洗浄する。その後、注射筒などを用いてヘキサンを加圧注入する等してシリカゲルの気泡を除き（気泡の除かれたシリカゲルは半透明になる）、コンディショニングを行う。(4).1)で硫酸により粗精製した試料溶液（ヘキサン層）2mL よりホールピペット等で 0.5mL 正確に分取し、コンディショニングを行った硝酸銀シリカゲル/シリカゲル積層カラムの上端に添加する。試料溶液がカラム内へ展開した後、鉱油溶出範囲分（当分析例では添加した試料溶液との合計で 6.5mL）のヘキサンを数 mL づつ数回に分けてカラム上端に添加して、試料溶液を展開する。

② 鉱油画分のヘキサンが全て流下した後、回収用の試験管をカラム下端に置き、展開溶媒を回収できるようにする（PCB の画分）。PCB 溶出範囲分のヘキサン（当分析例では 16mL）をカラム上端に添加し、溶出液を回収する。

ii.精製試料の濃縮操作

窒素吹き付けにより、試料溶液を 0.5mL 程度まで濃縮する。濃縮後の試料は、500ng/mL のシリンジスパイク溶液 20μL を添加し、ヘキサンで正確に 1mL に定容する。又､GC 測定の際に、フタル酸エステル類等により測定が妨害される場合は、硫酸を少量添加し振とうすることにより除かれることがある※15）。

b. B グループでの精製操作

i.1wt.%SO_3 添加濃硫酸での追加処理

B グループに該当する油種については､粗精製試料溶液より 0.5mL を試験管に分取し、窒素吹き付け濃縮によりヘキサンを留去する。ヘキサンを留去した試験管に 1wt.%SO_3 添加濃硫酸 5mL 程度を入れ、(4).1).b.i.及び ii.の操作を行う。抽出した試料溶液は窒素吹き付け濃縮の後、1mL に定容し粗精製試料溶液とする。

ii.硝酸銀シリカゲル/シリカゲルによる精製操作

① (4).2)での溶液 1mL をカラム上端に添加した後、試験管内をヘキサン 1mL で洗い込み、さらにカラム上端に添加する。このとき、先に添加した試料溶液がカラム内へ展開した後に添加することにより、カラム内での試料の広がりを抑えられる。同様に数回洗い込みを行った後、残りの鉱油画分のヘキサン（添加した試料溶液および洗い込みヘキサンとの合計で 6.5mL）をカラム上端に添加する。

② 鉱油画分のヘキサンが全て流下した後、回収用の試験管をカラム下端に置き、展開溶媒を回収できるようにする。（PCB の画分）PCB 溶出範囲分のヘキサン（当分析例では 16mL）をカラム上端に添加し、溶出液を回収する※16)。

iii.硫酸シリカゲルによる精製操作

B グループ試料は、その大部分が芳香族化合物であり、ここまでの精製操作では特に基準値近傍の低濃度試料での定量が困難な場合がある。

ここでは、シリカゲルおよび硫酸シリカゲルを用いたカラムクロマトグラフィーでの方法を以下に示す。尚、PCB の分画に関しては、使用する試薬やロットなどにより確認する必要がある。使用するシリカゲルでの分画（PCB の溶出範囲）の確認を事前に行うこと。

① 硫酸シリカゲル（タンデム式）カラムの作成

硝酸銀シリカゲル/シリカゲル積層カラムと同様に内径 8㎜のガラス管を用いた場合の例を示す。

まず、清浄なガラス管（内径 8㎜）の下端に脱脂綿をつめシリカゲルが流れ落ちないようにする。次に、シリカゲル 0.5g、44%硫酸シリカゲル 1.0g を正確に量りとり、順にクロマト管に乾式充填する。充填材の内容と順序は、シリカゲル 0.5g、硫酸シリカゲル 1.0g、シリカゲル 0.5g、硫酸シリカゲル 1.0g、シリカゲル 0.5g、硫酸シリカゲル 1.0g、シリカゲル 0.5g の計 7 層である。各々のシリカゲルを充填する際には、クロマト管を軽く叩くことにより密に充填するようにする。

② 試料の精製操作

ヘキサンをクロマト管上部に注ぎ、自然流下で充填したシリカゲル全体にヘキサンを展開させ洗浄する。その後、加圧等してシリカゲルの気泡を除く（気泡の除かれたシリカゲルは半透明になる）。(4).3).b.ⅱで濃縮・定容した試料溶液 1mL をカラム上端に添加する。添加した試料溶液がカラム内へ展開した後、試験管内をヘキサン 1mL で洗い込み、洗液をカラム上端に添加する。同様の操作を数回行う。その後、PCB 溶出範囲分のヘキサンをカラム上端に添加し、溶出液を回収する。（当測定例では試料溶液、洗液を併せ、ヘキサン 5mL から 15mL の範囲で PCB が溶出する）

iv. 精製試料の濃縮操作

窒素吹き付けにより、試料溶液を 0.5mL 程度まで濃縮する。その際、試料溶液が乾固しないように注意する。濃縮後の試料は、500ng/mL のシリンジスパイク溶液 20μL を添加しヘキサンで正確に 1mL に定容する。又、GC 測定の際に、フタル酸エステル類等により測定が妨害される場合は、硫酸を少量添加し振とうすることにより除かれることがある。

c. C グループでの精製操作

他の油種グループと異なり、C グループ試料では(4).1).b.ii.工程での抽出操作は行えない。試料重量に対して、10 から 20 倍容のヘキサンで希釈調製（試料 1g を量り取り、ヘキサンで 20mL に定容）し、粗精製試料溶液とする※17)。

i.硝酸銀シリカゲル/シリカゲルによる精製操作

① ヘキサンをクロマト管上部に注ぎ※18)、自然流下で充填したシリカゲル全体にヘキサンを展開させ洗浄する。その後、注射筒などを用いてヘキサンを加圧注入する等してシリカゲルの気泡を除き（気泡の除かれたシリカゲルは半透明になる）、コンディショニングを行う。(4).3).c.で希釈調製した試料溶液よりホールピペット等で 0.5mL 正確に分取し、(3).1).f.で作成したカラムの上端に添加する。試料溶液がカラム内へ展開した後、鉱油溶出範囲分（添加した試料溶液との合計で 6.5mL）のヘキサンを数 mL づつ数回に分けてカラム上端に添加して、試料溶液を展開する。鉱油画分のヘキサンが全て流下した後、回収用の試験管をカラム下端に置き、展開溶媒を回収できるようにする。

② PCB 溶出範囲分の 5vol.%ジクロロメタン含有ヘキサン（当分析例では 16mL）をカラム上端に添加し、溶出液を回収する。

ii.精製試料の濃縮操作

窒素吹き付けにより、試料溶液を 0.5mL 程度まで濃縮する。その際、試料溶液が乾固しないように注意する。濃縮後の試料は、500ng/mL のシリンジスパイク溶液 20μL を添加しヘキサンで正確に 1mL に定容する。又、GC 測定の際に、フタル酸エステル類等により測定が妨害される場合は、硫酸を少量添加し振とうすることにより除かれることがある。

(5) 機器測定

1) GC/ECD の測定

本マニュアル図 1.2.2 の例と同等の分離性能が得られ、各ピークの保持時間が適切な範囲にあり、試料中の PCB 濃度で 0.15mg/kg 以下の検出下限値が満たされ、安定した応答が得られるように、適切に設定された GC/ECD で測定を行う。又、あらかじめ電子捕獲検出器の感度の直線性が得られる範囲を確認しておく。

2) 試料の測定及び定性（ピーク同定）方法

a. 検量線の作成

ⅰ K 値の算出: PCB 標準溶液を測定し、得られたクロマトグラムのピークに、例として図 1.2.2 をもとにして番号（以下、ピーク番号という）を付け、ピークごとに、ピーク面積（A_1）を読み取り、その面積と当該ピークのピーク番号に対応する CB_0（%）により次の式によって K 値を算出する※19)。

$$K = \frac{CB_0(\%)}{A_1}$$

ⅱ 相対感度係数の算出: 10 ng/mL のクリーンアップスパイク溶液及びシリンジスパイク溶液の同量を GC/ECD に注入して測定し、各内標準物質のピーク面積を読み取り、次に掲げる式によって相対感度係数（以下「RRF」という）を算出する※19)。

$$RRF = \frac{\text{クリーンアップスパイクのピーク面積}}{\text{シリンジスパイクの面積}}$$

b. 試料の測定

PCB 標準溶液と同量の測定溶液をガスクロマトグラフに注入して測定し、得られたクロマトグラムのピークに、その位置に相当する PCB 標準溶液で得られたクロマトグラムの位置のピークのピーク番号と同一のピーク番号を付ける。次に、そのピークごとに、ピーク面積（A_2）を読み取り、その面積と当該ピークのピーク番号にかかる K 値から次の式によって CB_2(%)を算出する※19)。

$$CB_2（\%）＝K \times A_2$$

測定溶液の PCB 濃度が電子捕獲型検出器の感度の直線性が得られる範囲を超える場合は、測定溶液をヘキサンで希釈し、直線性が得られる範囲内で再測定する。

c. 回収率の確認

次に掲げる式によってクリーンアップスパイクの回収率を算出する※19)。

$$\text{クリーンアップスパイクの回収率}(\%) = \frac{\text{クリーンアップスパイクのピーク面積}}{\text{シリンジスパイクのピーク面積}} \times \frac{100}{\text{RRF}}$$

クリーンアップスパイクの回収率が 70%以上 120%以下の範囲から外れるときは再度前処理を行い、再測定する。

3) 定量法

a. PCB 濃度の定量

次に掲げる式によって試料の PCB 濃度 (mg/kg) を求める※20)。

$$\text{PCB濃度}(\text{mg/kg}) = \text{PCB標準溶液の濃度}(\mu\text{g/mL}) \times \frac{\Sigma CB_2(\%)}{\Sigma CB_0(\%)} \times \frac{\text{測定溶液の量}(\text{mL})}{\text{試料量}(\text{g})} \times \frac{100}{\text{クリーンアップスパイクの回収率}(\%)}$$

算出された数値の精度管理に関しては、「1.5 精度管理について」に従うこと。

(6) 留意事項

測定操作において留意すべき点を以下に示す。

※1 以下に PCB 溶出範囲の確認方法の例を示す。

i.(3).1).f で示す分離カラムを作成し、PCB 標準液 0.5mL を正確に量り取り分離カラム上端に添加する。このとき用いる PCB 標準溶液は、GC 測定に用いるものに比べ高い濃度（概ね 10μg/mL）とすることで、溶出する PCB 化合物の確認がとりやすくなる。

ii.カラム上端にヘキサンを 1mL 添加し、その溶出液を試験管に回収する。

iii.使用するシリカゲルにより変化するが、PCB 化合物が全て溶出する為には 25mL 程度が必要である。十分に PCB 化合物が溶出する量として 25 から 30mL まで ii.の工程を繰り返す。

iv.iii.で回収した各溶出液を GC/ECD により測定し、PCB の溶出範囲を確認する。

v.既に PCB の溶出範囲が判明しているシリカゲルでの製造ロットや調製毎の溶出確認方法としては、i.の工程後、絶縁油溶出画分（前捨て）・PCB 溶出画分・PCB 溶出後の画分の 3 分画を回収し、GC/ECD で測定することで、簡易的に PCB 化合物の確認が出来る。この際、PCB 溶出画分以外に PCB が検出された場合には、i.から iv.の工程により確認を行う。

尚、グループによって添加方法や溶出方法が異るため、分画条件の確認も油種あるいはグループごとに行う必要がある。

一方、絶縁油の溶出範囲の確認方法は、以上の操作においてPCBに換えて絶縁油を添加し、得られた溶液をGC/FIDにより確認することが出来る。

※２　硝酸銀シリカゲル/シリカゲル積層カラムは、自製しても良い。尚、商品化された製品もある。

※３　分離管の形状によりPCBと絶縁油の分離挙動が異なる。分離管内径が細いほど分離（理論段高さ、HETP）は良くなる（小さくなる）が、移動相であるヘキサンが大気圧下で流れにくくなる。

※４　内標準物質溶液を混合したPCB標準溶液を調製して測定しても良い。

※５　クリーンアップスパイクは、工業製品において主要な異性体を避け、定量値に影響を与えないピークであり、前処理操作においてPCB工業製品と挙動の似た異性体を選択することが重要である。濃度及び添加量は、分析装置の感度等から判断し決定すれば良い。

※６　シリンジスパイクに用いる異性体は、クリーンアップスパイクに用いていない異性体から選択する。濃度及び添加量は、分析装置の感度等から判断し決定すれば良い。

※７　キャリアーガス流量を電子制御により調節する機器においては、電子制御部で各機器に固有の誤差を持つ場合がある。通常スプリット分析を行う上で影響は極少ないものであっても、この分析条件でのキャリアーガスの総流量は8.88mLと非常に小さく、各機器固有の誤差の影響が相対的に大きくなり、スプリット比が設定値と実際の比が異なる場合がある。結果として、同じ機種を使用した場合でも見かけ感度が異なる場合がある。使用する機器により必要な感度性能が得られるよう、スプリット比を調節することが必要となる場合がある。

※８　カラム槽の初期温度を下げスプリットレス注入法とすることで、ほぼ同じ測定時間での分析も可能である。この場合、試料注入量は1μL又は2μLとし、試料注入から1min後にスプリット出口を解放する。その際のスプリット比は1：15程度とする。この場合のカラムに導入される試験液の量はスプリット注入法での分析条件に対して2倍又は4倍となる。

※９　スプリット注入法とスプリット注入法では、使用するインサート（ライナ）の形状が異なる。注入方法に合ったインサート（ライナ）の選択が必要である。

※１０　これと異なる濃度を用いても良い。但し、クリーンアップスパイクとシリンジスパイクの最終溶液中の濃度が同じになるようにする。

※１１　1wt%SO_3添加濃硫酸5mL添加し、全体が良く混ざる程度（手で20から30回程度）振とうする。その後の静置時間は10min程度、長くとも15min程度の内に、抽出溶媒を添加し振とうを行う。これは、低塩素化物がスルホン化により試料溶液から失われることを防ぐためである。

※１２　抽出溶媒は、ヘキサンに5容量%程度のジクロロメタンを加えることによ

り、抽出効率（回収率）が向上する。

※１３　窒素吹き付け濃縮の際、試料溶液への加熱は行わないほうが回収率の観点から望ましい。

※１４ 油種判別方法の一例

硫酸処理時での色合い及び抽出溶媒を添加、振り混ぜた後の色合いにより、油種を判別できる場合がある。各油種での色合いの特徴は下記のとおりであり、例を写真 2.1.1.1 及び写真 2.1.1.2 に示す。尚、油の酸化状態等により、このような判定ができないこともあるので、注意する必要がある。クリーンアップが充分機能せず、ガスクロマトグラフ分析での PCB の性状パターンが乱れ等が生じた場合には、平成 4 年厚生省告示第 192 号別表第 2 で定める方法によるものとする。

・1 種及び 7 種：オレンジ色から濃い褐色に呈色（写真は新油での例）する。硫酸表面に油膜が見られる。

・2 種：硫酸層が白濁。振とうにより非常に泡立つ（アルキルベンゼンスルホン酸の影響)。油層（アルキルベンゼンスルホン酸層）が生じる。

・3 種：他の油種に比べ非常に粘性が強い特徴がある。硫酸処理後に抽出溶媒を加え振とうすると、全体が乳化した状態になる。しばらく静置すると、溶媒層-エマルジョン層-硫酸層の 3 層に分離する。

・4 種：硫酸添加後は明るい黄色からやや緑掛かった黄色。その後数分で深い赤紫色に呈色。

・5 種：鮮やかな黄色からオレンジ色。試験管表面にも着色が付く点が 1 種及び 7 種と大きく異なる。

・6 種：硫酸層が透明からやや白濁。

・DOP：硫酸添加直後は透明から白濁。時間と共に薄い黄色に呈色。2 種に比べ泡立ちは少ない。

1 種　2 種　3 種　4 種　5 種　6 種　7 種　DOP

写真 2.1.1.1　硫酸処理時での各油種での色合い

1 種　2 種　3 種　4 種　5 種　6 種　7 種　DOP

写真 2.1.1.2　抽出溶媒添加・振とう後での各油種での色合いの例

ただし、絶縁油が経時的に変化している場合などは、判別できないことも想定される。

※１５　GC 測定の際、妨害ピークがみられ、又、その後の GC 測定時にも残存する場合がある。GC 測定検液に少量(1mL 程度)の濃硫酸を加え振とうすることにより、これらの影響を抑えることが出来る。特に 3 種（ポリブテン）では、前処理工程に硫酸処理がないため、当該処理を行うことが望ましい。ポリブテンが除去されずに GC に注入されると、連続測定に支障をきたす場合がある。

※１６　2,4,5 種では試料溶液（1mL）を加えた後、ヘキサン 1mL で 2 回洗い込みを行う（ここまでのカラムへの添加量の合計は 3mL)。その後、前捨て画分の残りの溶媒を加える。

※１７　測定に使用する試料溶液は、試料重量に対し 10 から 20 倍容となるようにヘキサンで希釈調製する。ここでは試料 1g に対し試料溶液が 20mL とする場合を例とした。又、その他油種についても、天秤精度により 0.1g の秤量が困難である場合などでは、同様の希釈溶液を作成し、試料 0.1g 相当の試料溶液を分取、窒素吹き付け濃縮によりヘキサンを留去することで必要試料量を量り取ることが出来る。

※１８　3 種（ポリブテン）では、前捨て分の溶媒を展開した後に添加する PCB 画分の溶媒は、5vol%のジクロロメタンを加えたヘキサン（5vol%ジクロロメタン含有ヘキサン）を用いる。PCB 画分をヘキサンのみで溶出した場合、充填材に残存するポリブテンポリマー分子に PCB が保持され、回収率が著しく低下する。

※１９　K 値、CB_2(%)、回収率の算出に、高さを使用しても良い。尚、PCB 濃度が高い試料を分析した時は、その中に含まれるクリーンアップスパイク(#189)が加えて測定されているため、回収率が高く求められる。このような時は分析試料を希釈して測定する必要がある。

※２０　用いた PCB 内標準物質を ΣCB_0(%)及び ΣCB_2(%)の計算から除く。

附属書 2.1.1　測定条件の例

a. 測定条件

使用したカラムの液相は、5%ジフェニル-メチルシリコンである。

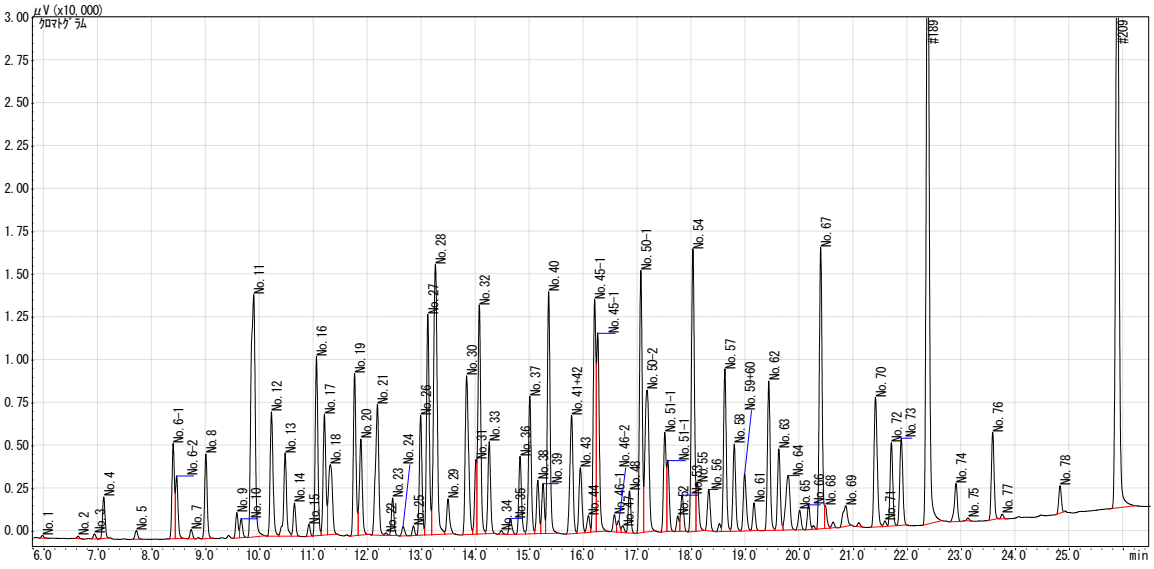
装置	GC-2010、スプリット注入法(ｽﾌﾟﾘｯﾄ比 1:3)
カラム	Rtx-5MS (0.32mm×30m×0.25μm)
試料注入量	2μL
カラム槽温度	150℃ (1min) →5℃/min→270℃
気化室温度	250℃
検出器温度	320℃
キャリアーガス	He、2.22mL/min (42cm/min、線速度一定)
メイクアップガス	N_2、40mL/min

又、スプレットレス注入法でのカラム槽温度条件の例を以下に示す。

試料注入方法	スプリットレス注入法 (スプリット出口解放：1min 後、スプリット比 1：15)
試料注入量	1μL 又は 2μL
カラム槽温度	100℃(1min)→30℃/min → 160 ℃ → 5℃/min → 5℃/min→270℃

b. 定性法

PCB 標準液(100ng/mL) 2μL を GC/ECD へ注入した時のクロマトグラムを付図 2.1.1.1 に例として示す。



付図 2.1.1.1　キャピラリーカラム((内径 0.32mm のもの)でのクロマトグラムの例

(PCB 標準液濃度:100ng/mL、#189 及び#209 添加量:10ng/mL)

2.1.2　加熱多層シリカゲルカラム/アルミナカラム/キャピラリーガスクロマトグラフ/電子捕獲型検出器（GC/ECD）法

(1) 概要（適用範囲）

ここに定める方法は、キャピラリーガスクロマトグラフ電子捕獲型検出器(GC/ECD)を用いた、変圧器やコンデンサ等の重電機器に使用される電気絶縁油中のポリ塩化ビフェニル（PCB）の前処理及び機器測定について適用する。

(2) 測定の概要

1) 測定の概要

一般に使用される絶縁油は主に鉱油を原料としている（JIS 1 種絶縁油)。主な成分はパラフィン、ナフテンといった鎖状又は環状の飽和炭化水素類や芳香族炭化水素等であり、PCB 測定においてこれら成分の除去に簡易で迅速な前処理方法として、試料を加熱固相カラム（多層シリカゲルカラム及びアルミナカラム）を使用しクリーンアップする。

測定は、キャピラリーGC/ECD を用いる。

2) 測定操作フロー

測定フローを図 2.1.2.1 に示す。尚、フロー図に記載された条件は一例である。

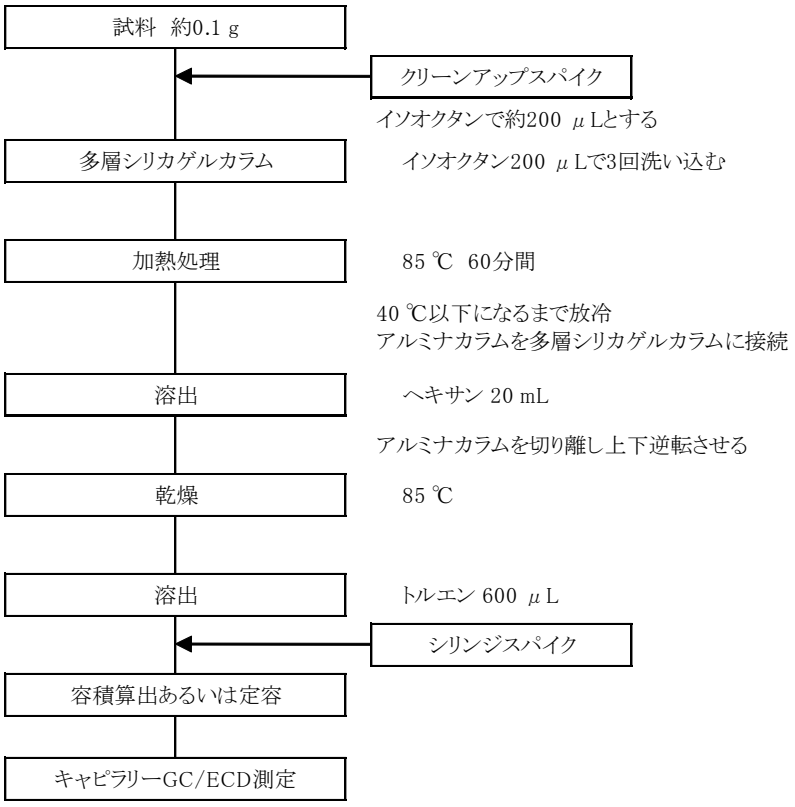


図 2.1.2.1　測定フロー

(3) 試薬、器具及び装置

1) 試薬

測定に使用する試薬は次による。これらの試薬は、空試験などによって測定に支障のないことを確認しておく。又、記述以外の試薬を使用する場合も同等の試験を行い、測定に支障のないことを確認しておく。

a. ヘキサン JIS K8825 に規定するもの、又は同等のもの。

b. トルエン JIS K8680 に規定するもの、又は同等のもの。

c. イソオクタン JIS K9703 に規定するもの。

d. 多層シリカゲルカラム及びアルミナカラム 44%硫酸被覆シリカゲル 3.8g、15%硝酸銀 15%硝酸銅被覆シリカゲル 1.4g を充填したカラム、並びに、活性化を施したアルミナ 0.6g を充填したカラム※1)。図 2.1.2.2 にカラムの一例を示す。

e. PCB 標準溶液 KC-300、KC-400、KC-500 及び KC-600 を重量比 1:1:1:1 の割合で混合したものを、200ng/mL※2) のトルエン溶液としたもの。

f. クリーンアップスパイク溶液 3,3',4,4',5,5'-H6CB(IUPAC No.169)、2,3,3',4,4',5,5' -H7CB(IUPAC No.189)、2,3,3',4,4',5,5',6-O8CB(IUPAC No.205)のいずれかの 100ng/mL※3) のイソオクタン溶液及び 10ng/mL のトルエン溶液。

g. シリンジスパイク溶液 2,2',3,3',4,4',5,5',6,6'-D10CB(IUPAC No.209)の 100※3) 及び 10ng/mL のトルエン溶液。

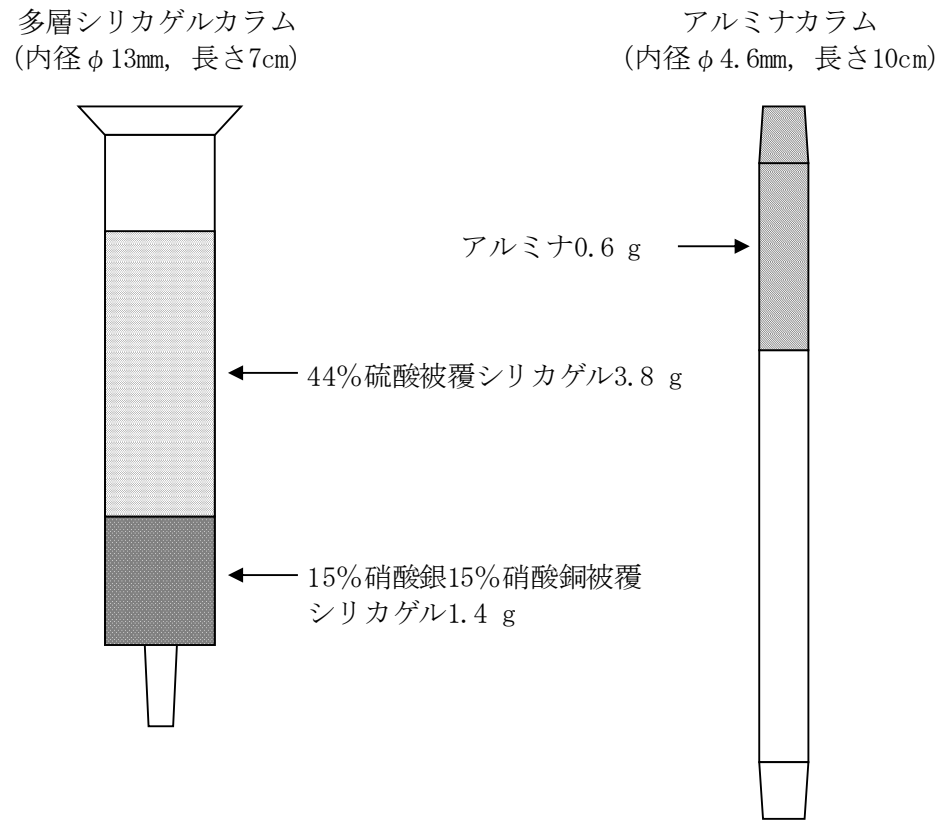


図 2.1.2.2 多層シリカゲルカラム及びアルミナカラムの例

2) 器具

測定に使用する器具は次による。これらの器具は、空試験などによって測定に支障のないことを確認しておく。

a. **試験管** 試料の秤量に使用する。容量は約 1.5mL 程度が好ましい。

b. **ガラスバイアル** 口内径 6mm 以上で容量が約 2mL のもの。

3) 装置

測定に使用する装置は次による。尚、GC/ECD の満たすべき条件は、装置、測定条件によって異なる。

a. **多層シリカゲルカラム加熱用ヒーター** 温度調節機能を備えたもので、多層シリカゲルカラムに充填した硫酸被覆シリカゲルの上層 3cm を目的温度で持続的に加熱できるもの。

b. **アルミナカラム加熱用ヒーター** 温度調節機能を備えたもので、アルミナカラムに充填したアルミナを目的温度で持続的に加熱できるもの。

c. **ガスクロマトグラフ-電子捕獲型検出器**

ⅰ. 試料導入部: スプリットレス方式で温度を 220℃以上 300℃以下にできるもの、又はクールオンカラム方式で温度を 100℃以上 300℃以下にできるもの。

ⅱ.カラム:　内径0.10㎜以上0.32㎜以下及び長さ10m以上のキャピラリーカラムで、図 1.2.2 の例と同等の分離性能をもつもので、使用する GC カラムは PCB 全 209 各化合物の溶出位置が実際の測定に採用する GC 条件において判明していなければならない。

ⅲ.キャリヤーガス:　純度 99.999%以上のヘリウム、窒素又は水素を用いる。いずれも適切な線速度、流量に調節する。

ⅳ.付加ガス（メイクアップガス）:　純度 99.999%以上の窒素を用いる。

ⅴ.カラム温度:　60℃以上 320℃以下の間で温度を一定に保つことができ、1 分間に 20℃以上の昇温ができるもの。

ⅵ.検出器:　電子捕獲型検出器、PCB 標準溶液 0.05mg/mL が検出でき、検出器温度が 250 から 320℃の範囲で使用可能なもの。

(4) 前処理

1) 試料の調製

a. 試料約 0.1g※4) を試験管に秤量し、100ng/mL のクリーンアップスパイク溶液 20μL※3) を添加した後、イソオクタンを加えて全量を約 200μL とする。

2) 加熱固相カラム前処理

a. (4).1).a の操作で調製した溶液を多層シリカゲルカラムに移し入れ、試験管をイソオクタン 200μL で 3 回洗い込んだ後、イソオクタン 200 μL にて多層シリカゲルカラムの内壁を洗浄する※5)。

b. 多層シリカゲルカラムに移し入れた溶液が展開している部分※6) を多層シリカゲルカラム加熱用ヒーターで 85℃にて 60 分間※7) 加熱した後、多層シリカゲルカラムを 40℃以下になるまで放冷する。

c. アルミナカラムを多層シリカゲルカラム下端に接続した後、ヘキサン 20mL※8) を流下させる。

d. アルミナカラムを多層シリカゲルカラムと切り離し、アルミナカラム加熱用ヒーターで 85℃※9) に加熱しながら、清浄な空気もしくは窒素をアルミナカラムに吹き込み、アルミナカラムに残留しているヘキサンを乾燥する。

e. 上下逆転させたアルミナカラムをアルミナカラム加熱用ヒーターで 85℃に加熱しながらトルエン 600μL※10) を添加し、アルミナカラム下端にガラスバイアルを置いて、約 200 から 300μL の溶出液を得る。100ng/mL のシリンジスパイク溶液 20μL※3) を添加してよく攪拌後、溶出液の重量を測定して、トルエンの密度から容量を算出したものを測定溶液とする※11)。

(5) 機器測定

1) 測定条件

a. GC/ECD の設定

図 1.2.2 の例と同等の分離性能が得られ、各ピークの保持時間が適切な範囲にあり、総 PCB 濃度で 0.15mg/kg 以下の検出下限値が満たされ、安定した応答が得られるように、GC/ECD を適切に設定する。又、あらかじめ電子捕獲型検出器の感度の直線性が得られる範囲を確認しておく。測定条件例を付表 2.1.2.1 に、クロマトグラムを付図 2.1.2.1 及び付図 2.1.2.2 に示す。

b．検量線の作成

ⅰ K 値の算出: PCB 標準溶液を測定し、得られたクロマトグラムのピークをもとにして番号（以下、ピーク番号という）を付け、ピークごとに、ピーク高さ（H_1）を読み取り、その高さと当該ピークのピーク番号に対応する CB_0（%）から次の式によって K 値を算出する※12)。

$$K = \frac{CB_0(\%)}{H_1}$$

ⅱ 相対感度係数の算出: 10 ng/mL のクリーンアップスパイク溶液及びシリンジスパイク溶液※13) の同量を GC/ECD に注入して測定し、各内標準物質のピーク高さを読み取り、次に掲げる式によって相対感度係数（以下「RRF」という）を算出する※12)。

$$RRF = \frac{\text{クリーンアップスパイクのピーク高さ}}{\text{シリンジスパイクのピーク高さ}}$$

2) 試料の測定及び定性（ピーク同定）方法

a. 試料の測定

PCB 標準溶液と同量の測定溶液をガスクロマトグラフに注入して測定し、得られたクロマトグラムのピークに、その位置に相当する PCB 標準溶液で得られたクロマトグラムの位置のピークのピーク番号と同一のピーク番号を付ける。次に、そのピークごとに、ピーク高さ（H_2）を読み取り、その高さと当該ピークのピーク番号にかかる K 値から次の式によって CB_2(%)を算出する※12)。

$$CB_2(\%) = K \times H_2$$

測定溶液の PCB 濃度が電子捕獲型検出器の感度の直線性が得られる範囲を超える場合は、測定溶液をトルエンで希釈し、直線性が得られる範囲内で再測定する。

b. 回収率の確認

次に掲げる式によってクリーンアップスパイクの回収率を算出する※13)。

$$\text{クリーンアップスパイクの回収率(\%)} = \frac{\text{クリーンアップスパイクのピーク高さ}}{\text{シリンジスパイクのピーク高さ}} \times \frac{100}{\text{RRF}}$$

クリーンアップスパイクの回収率が70%以上120%以下の範囲から外れるときは再度前処理を行い、再測定する※14)。

3) 定量法

a. PCB 濃度の定量

次に掲げる式によって試料の PCB 濃度 (mg/kg) を求める※15)。

$$\text{PCB濃度(mg/kg)} = \text{PCB標準溶液の濃度(}\mu\text{g/mL)} \times \frac{\Sigma CB_2(\%)}{\Sigma CB_0(\%)} \times \frac{\text{測定溶液の量(mL)}}{\text{試料量(g)}} \times \frac{100}{\text{クリーンアップスパイクの回収率 (\%)}}$$

算出された数値の精度管理に関しては、「1.5 精度管理について」に従うこと。

(6) 留意事項

測定操作において留意すべき点を以下に示す。

※1 これらのカラムは実験室内で自製しても良い。自製した場合は、十分な精製効果及び回収率が得られることを確認しておくこと。尚、商品化された製品もあり、又カラムを装着して試料の前処理を行う装置もあるので、便利に用いることができる。これらのカラムは、洗浄された状態で販売されているカラムを用いる時は、特に使用前の洗浄は行わなく済む。

※2 試料濃度が 0.5mg/kg より高いか低いかを判定することを目的にしている分析法において、一点検量線法で定量する場合の標準濃度の設定は、0.5mg/kg の試料を前処理した検液程度とする。試料中 PCB 濃度が 0.5mg/kg、供試量 0.1g、測定溶液量 250μL であった場合、測定溶液の PCB 濃度は 200ng/mL となる。

※3 これと異なる濃度を用いても良い。但し、添加量は 50μL 以下とし、クリーンアップスパイクとシリンジスパイクの添加量が同じになるようにする。

※4 試料量は減量しても良いが、秤量に用いる天秤の精度と PCB の測定における感度が確保されることを確認すること。

※5 多層シリカゲルカラムに移し入れる溶液及び洗浄液量は合計でほぼ 1mL とする。この液量以下あるいは以上であると精製効率が低下することがある。

※6 硫酸被覆シリカゲルの上層約 3cm に相当する。この部分以外を加熱すると精製効率の低下及び PCB の回収率低下が発生することがある。尚、加熱範囲にあるカラム中心部分の温度が設定温度になるように、予め加熱条件を検討しておくこと。

※7 加熱温度は60から90℃の範囲で、加熱時間は任意の範囲で変化させても良いが、85℃にて 60 分間加熱する場合と同等の精製効果が得られること。

※８　ヘキサンの液量を変化させても良いが、PCB の回収率が確保されることを確認すること。

※９　加熱温度を変化させても良いが、PCB の回収率が確保されることを確認すること。

※１０　トルエンの液量を変化させても良いが、PCB の回収率と測定における感度が確保されることを確認すること。

※１１　溶出液を濃縮あるいは希釈により定容しても良い。

※１２　K 値、相対感度係数、CB_2(%)、回収率の算出に、面積値を使用しても良い。尚、PCB 濃度が高い試料を分析した時は、その中に含まれるクリーンアップスパイク(#189)が加えて測定されているため、回収率が高く求められる。このような時は分析試料を希釈して測定する必要がある。

※１３　クリーンアップスパイクとシリンジスパイクを混合した標準溶液を調製して測定しても良い。

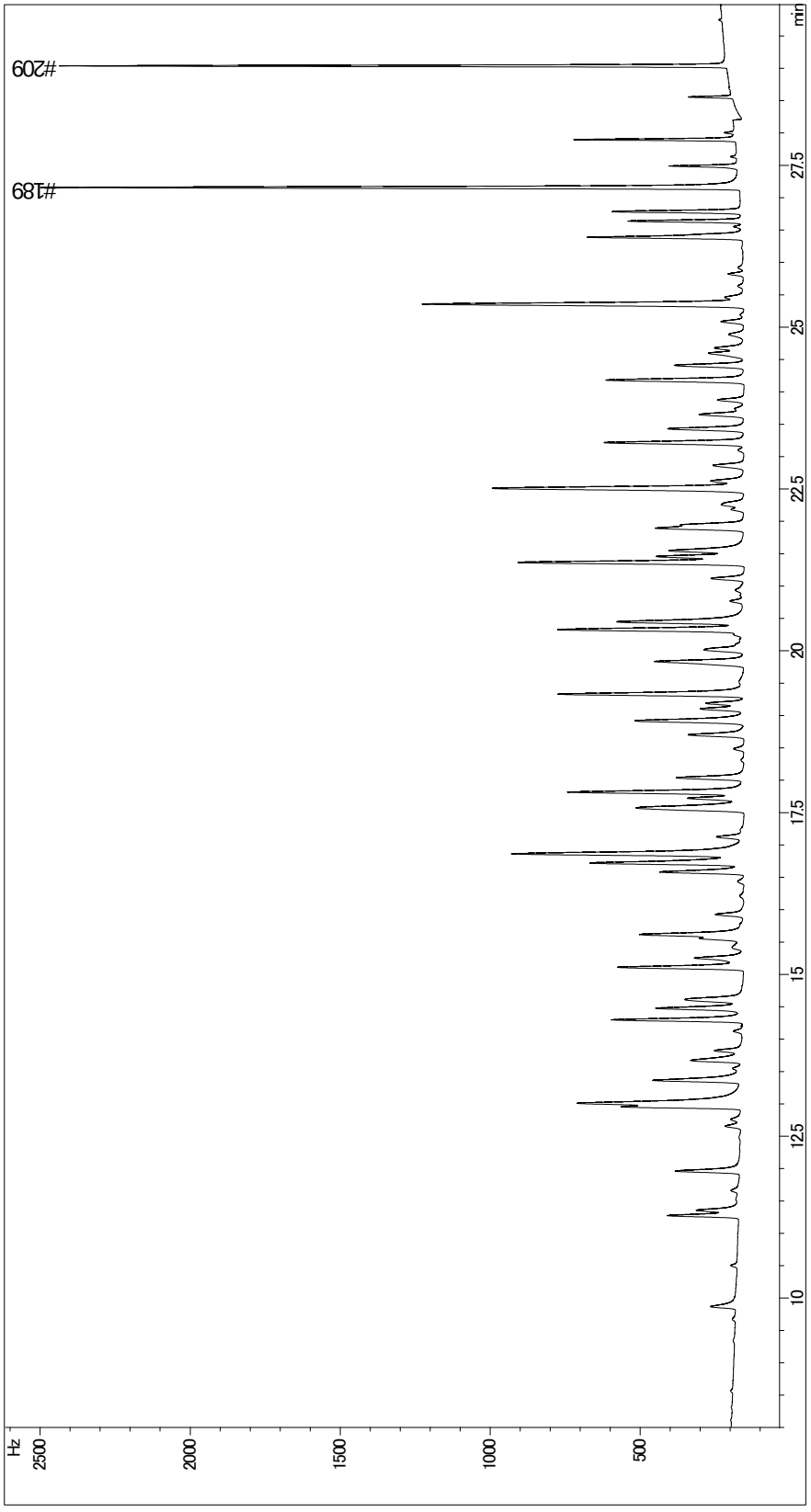
※１４　PCB 濃度が高い試料を分析した時は、その中に含まれるクリーンアップスパイク(#189)が加えて測定されているため、回収率が高く求められる。このような時は分析試料を希釈して測定する必要がある。

※１５　用いた PCB 内標準物質をΣCB_0(%)及びΣCB_2(%)の計算から除く。

附属書 2.1.2　　測定条件の例

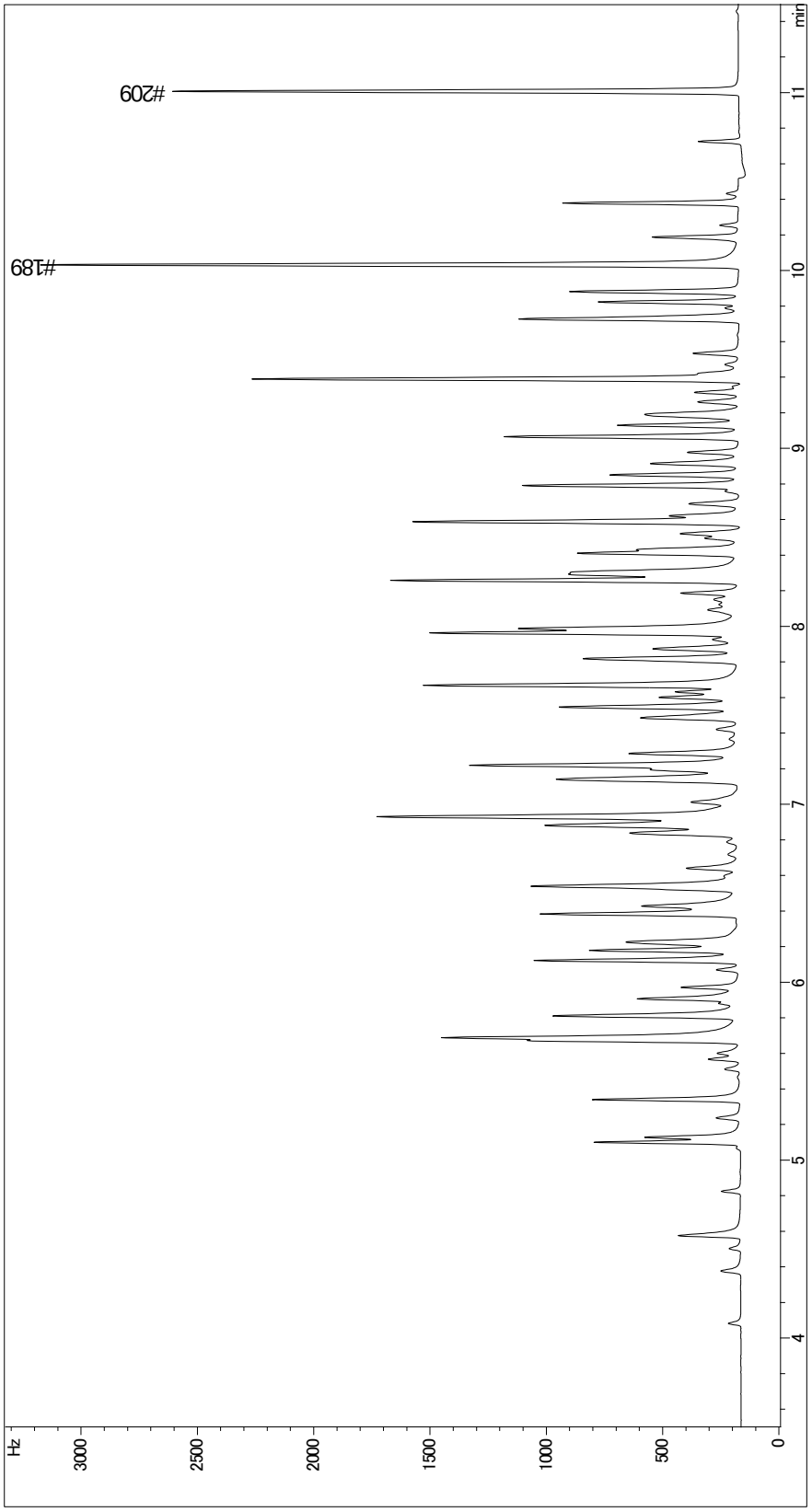
付表 2.1.2.1　測定条件例

項目	測定条件例1	測定条件例2
カラム	DB-5 30 m × 0.25 mmI.D. df = 0.25 μ m	DB-5 20 m × 0.18 mmI.D. df = 0.18 μ m
カラム温度	100 ℃(1 min) ～30 ℃/min～160 ℃ ～4 ℃/min～250 ℃ ～20 ℃/min～300 ℃	100 ℃(1 min) ～50 ℃/min～160 ℃ ～10 ℃/min～180 ℃ ～15 ℃/min～260 ℃ ～25 ℃/min～290 ℃
キャリヤーガス	ヘリウム	水素
初期注入口圧力	132 kPa(36 cm/s, 1.47 ml/min) コンスタントフロー	142 kPa(66 cm/s, 1.4 ml/min) コンスタントフロー
注入口温度	250 ℃	250 ℃
注入方法	スプリットレス(2 min)	スプリットレス(1 min)
注入量	2 μ l	2 μ l
検出器温度	320 ℃	320 ℃
メイクアップガス	窒素(30 ml/min)	窒素(30 ml/min)



付図 2.1.2.1　測定条件例 1 によるクロマトグラムの例

PCB 標準溶液(200 ng/mL) + #189(10 ng/mL) + #209(10 ng/mL), 注入量:2μ L



付図 2.1.2.2　測定条件例 2 によるクロマトグラムの例

PCB 標準溶液(200 ng/mL) + #189(10 ng/mL) + #209(10 ng/mL), 注入量：2μL

2.1.3 硫酸処理/ジビニルベンゼン-メタクリレートポリマーカラム分画/キャピラリーガスクロマトグラフ/電子捕獲型検出器（GC/ECD）法

(1) 概要（適用範囲）

ここに定める方法は、キャピラリーガスクロマトグラフ/電子捕獲型検出器を用いた、変圧器やコンデンサ等の重電機器に使用される電気絶縁油中のポリ塩化ビフェニル（PCB）の前処理及び機器測定について適用する。

(2) 測定の概要

1) 測定の概要

本方法は、硫酸添加による前処理の後、ヘキサンで抽出し、分離カラム（ジビニルベンゼン-メタクリレートポリマーカラム）により絶縁油成分を分離除去する精製を行い、その PCB 分画をキャピラリーGC/ECD により測定を行う。

2）測定操作フロー

測定操作フローを図 2.1.3.1 に示す。尚、フロー図に記載された条件は一例である。

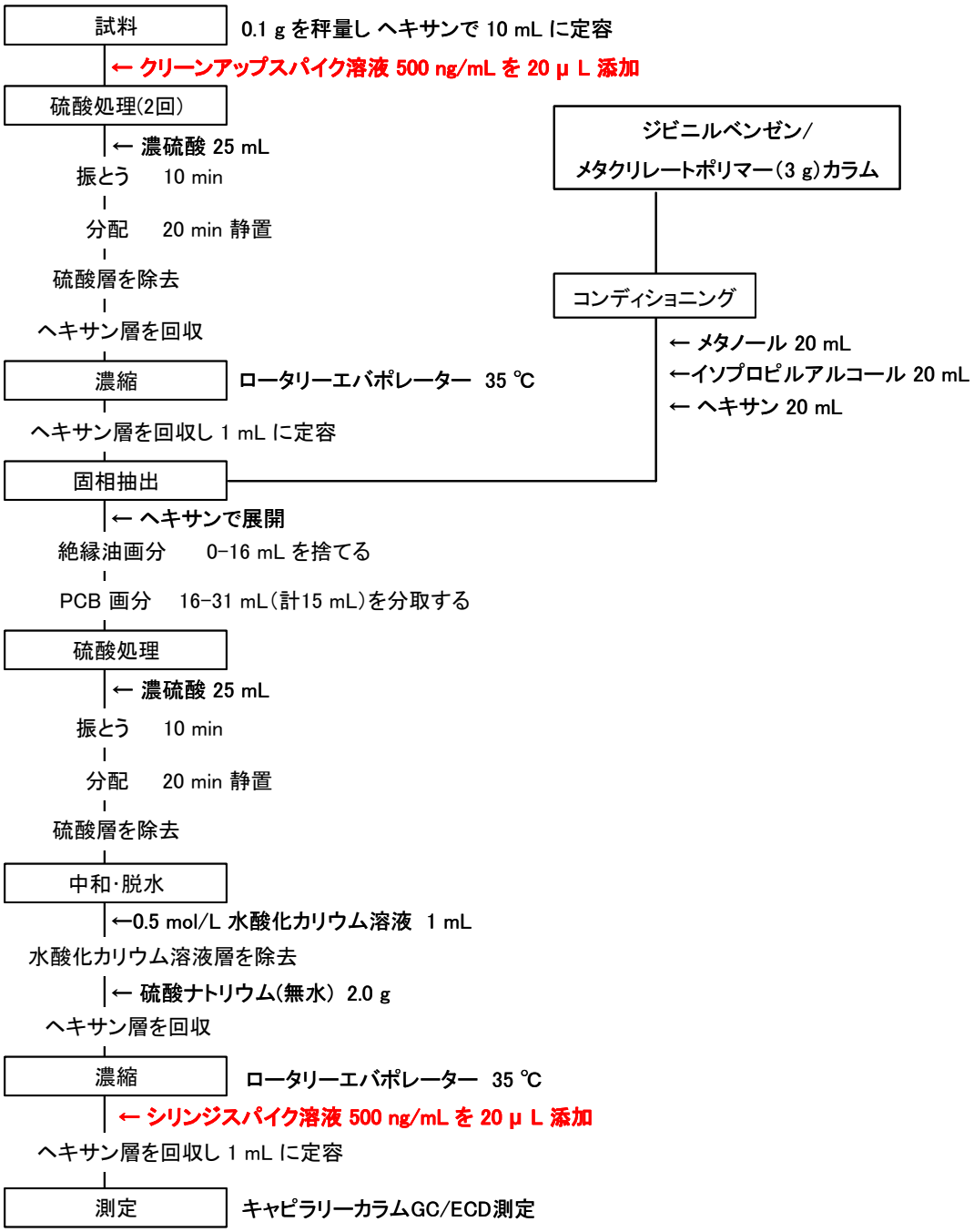


図 2.1.3.1　測定操作フロー

(3) 試薬、器具および装置

1) 試薬

測定に使用する試薬は次による。これらの試薬は、空試験などによって測定に支障のないことを確認しておく。また、記述以外の試薬を使用する場合も同等の試験を行い、測定に支障がないことを確認しておく。

a. **ヘキサン** JIS K 8825 に規定するもの、または同等の品質のもの。

b. **硫酸** JIS K 8974 に規定するもの、または同等の品質のもの。

c. **水酸化カリウム** JIS K 8574 に規定するもの、または同等の品質のもの。

d. **硫酸ナトリウム** JIS K 8951 に規定するもの、または同等の品質のもの。

e. **ジビニルベンゼン-メタクリレートポリマー** ジビニルベンゼン-メタクリレート共重合体であり、末端基にフェニル基、水酸化基を導入するポリマー。図 2.1.3.2 にポリマーの構造図、写真 2.1.3.1 に充填後の固相抽出カラムを示す。

f. **メタノール** JIS K 8891 に規定するもの、または同等の品質のもの。

g. **イソプロピルアルコール (2-プロパノール)** JIS K 8839 に規定するもの、または同等の品質のもの。

h. **PCB 標準溶液** カネクロール (KC) KC-300、KC-400、KC-500 及び、KC-600 を重量比 1:1:1:1 の割合で混合したものを、ヘキサン 100ng/mL に調整したもの。KC 製品の粘性が高いために均一にし難い場合は、総 PCB が 100μg/mL から 400μg/mL 程度のヘキサン溶液を調製して保管する。

i. **検量線用 PCB 標準溶液** PCB 標準溶液を、ヘキサンで段階的に 10 から 100ng/mL の範囲で調整したもの。

j. **窒素** JIS K 1107 に規定する高純度窒素。

k. **クリーンアップスパイク溶液** 2,3,3',4,4'5,5'-H7CB (IUPAC №189) 等の測定に影響が少ない異性体を用いる※1)。500ng/mL のヘキサン溶液等。

l. **シリンジスパイク溶液** 2,2',3,3'4,4',5,5',6,6'-D10CB (IUPAC №209) 等の測定に影響が少ない異性体を用いる※2)。500ng/mL のヘキサン溶液等。

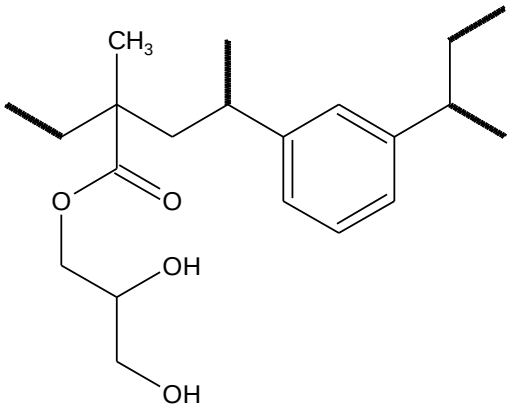


図 2.1.3.2 ジビニルベンゼン-メタクリレートポリマー構造図

写真 2.1.3.1　固相抽出カラム

2）器具

測定に使用する器具は次による。これらの器具は、空試験などによって測定に支障のないことを確認しておく。

a. **全量フラスコ**　容量 5 から 10mL の共通摺り合わせ蓋付きのもので、所定容量を正確に定容できるもの。

b. **ビーカー**　容量 50 から 100mL の適切なもの。

c. **固相抽出用クロマト管**　内径 14mm、長さ 200mm のガラス製クロマト管。

d. **ガラスウール**　不活性処理済みのものであり、あらかじめ測定に妨害を与えないことを確認したもの。

e. **ホールピペット**　容量 1 から 10mL の目盛り付きであり、ガラス製のもの。所定の容量を正確に分取できるもの。

f. **固相抽出マニホールド**　流量調節バルブ及び、減圧機能付きのもの。チューブ類はテトラフルオロエチレン製、または同等の品質ものであり、あらかじめ測定に妨害を与えないこと、PCB 等の吸着が無いことを確認したもの。

g. **分液漏斗**　容量 100mL のもの。ガラス製コック若しくはテトラフルオロエチレン製コックのもの。コック部及びキャップ部にワセリンなどを使用してはならない。

h. **メスシリンダ**　容量 10 から 50mL の目盛り付きであり、ガラス製のもの。容量を正確に分取できるもの。

i. **パスツールピペット**　ガラス製のもので、綿栓のないもの。

j. **共栓試験管**　容量 20mL の目盛り付きであり、誤差精度 3%以内程度の精度で容量を正確に分取できるもの。共栓は透明摺り合せのもの。

k. 共栓試験管　容量 1mL の目盛り付きであり、誤差精度 3%以内程度の精度で容量を正確に分取できるもの。共栓は透明摺り合せのもの。

l. ナシ形フラスコ　容量 25 から 50mL のもの。透明摺り合せのもの。

3）装置

測定に使用する装置は次による。

a. ガスクロマトグラフ-電子捕獲検出器

ⅰ. 試料導入部：スプリット・スプリットレス注入方式で温度を 220℃から 300℃で使用可能なもの。

ⅱ. 分離カラム：内径 0.10mm 以上 0.32mm 以下及び長さ 30m 以上のキャピラリーカラムで、本マニュアル図 1.2.2 の例と同等の分離性能をもつもので、PCB 全 209 各化合物の溶出位置が実際の測定に採用する GC 条件において判明していなければならない。

ⅲ. キャリアーガス：純度 99.999%以上のヘリウム、窒素、または水素を用いる。

ⅳ. 付加ガス（メイクアップガス）：　純度 99.999%以上の窒素を用いる。

ⅴ. カラム槽温度：室温+15℃から 300℃の間で温度を一定に保つことができ、1 分間に 10℃以上の昇温ができるもの。

ⅵ. 検出器：　電子捕獲検出器、PCB 標準溶液 5ng/mL が検出できるもの※3）。検出器槽温度が 250 から 320℃の範囲で使用可能なもの。

b. 濃縮器　ロータリーエバポレーター

(3) 前処理

1）固相抽出カラムの前処理

a. 固相抽出カラムの作製　固相抽出用クロマト管を固相抽出マニホールドに接続する。固相抽出用クロマト管底部にガラスウール約 20mg を詰め、少量のメタノールを加えてガラスウールの気泡を除去する。ビーカーを用いてジビニルベンゼン-メタクリレートポリマー3g を秤量し、メタノール 15mL を入れポリマーをスラリー状にし、これを固相抽出用クロマト管に流し込む。ビーカー内壁に付着したポリマーは、少量のメタノールで数回共洗いする。固相抽出用クロマト管内のポリマーが沈殿し、メタノールの白濁がなくなるまで 20 分程度静置する。その後、固相抽出マニホールドの流量調節バルブを開き、自然流下にてメタノールを全て流す。

b. 固相抽出カラムのコンディショニング　(3).1).a.の操作にて作製した固相抽出カラムにメタノール 20mL を入れ、固相抽出マニホールドの流量調節バルブを開き自然流下にて流し出す。次に、イソプロピルアルコール 20mL、ヘキサン 20mL の順に、メタノールと同様の操作にてコンディショニング※4）を行う。作製した固相抽出カラムは、あらかじめ空試験※5）及び PCB 溶出範囲の確認試験※6）を行う。

2) 試料の前処理

a. 試料の秤量　清浄な試験管に、絶縁油試料約 0.1g を正確に秤量する。量り取った絶縁油試料量は、有効数字 3 桁以上で記録する。この試料にクリーンアップスパイク溶液 500ng/mL を 20μL（10ng）添加する※7)。

b. 硫酸処理（2 回）　硫酸 25mL をメスシリンダにて分取して分液漏斗に入れる。(3).2).a.の絶縁油試料を、ヘキサン 10mL にて試験管の内壁を数回に分け共洗いしながら、洗液を分液漏斗に移し入れる。振とう器を用いて 10 分間振り混ぜ、その後 20 分間静置してヘキサン層と硫酸層を分離させる。分液漏斗のコックを調節しながら、下層の硫酸層を除去する※8)。その後、分液漏斗に新たな硫酸 25mL を加え、振とう 10 分間、静置 20 分間の後、下層の硫酸層を除去する※8)。分液漏斗のヘキサン層を、パスツールピペットを用いて清浄なナシ形フラスコへ全量移す。分液漏斗の内壁は、ヘキサン 5mL にて共洗いし、洗液をナシ形フラスコへ移し入れる。

c. 濃縮　(3).2).b.にてナシ形フラスコへ移したヘキサン溶液は、濃縮器※9)を用いて 1mL 以下まで濃縮し、ヘキサンを加えて 1mL とする。

d. 固相抽出　固相抽出マニホールドの溶出液受け部に、容量 20mL の目盛り付き試験管を取り付ける。(3).1).b.にて作製した固相抽出カラムに、(3).2).c.のヘキサン溶液を、パスツールピペットを用いて全量負荷する。容器の内壁はヘキサン 1mL にて共洗いし、洗液は固相抽出カラムへ全量負荷する。尚、容器内壁の共洗い操作は 3 回行う。固相抽出マニホールド流量調節バルブを開き、自然流下にてヘキサン溶液をポリマーに浸透させる。固相抽出カラム上面に、ヘキサンを静かに加え、固相抽出マニホールド流量調節バルブを操作しながら、自然流下（約 1 滴/秒）にて試験管で絶縁油画分範囲のヘキサン 16mL（0-16mL）を正確に受ける※10)。絶縁油画分のヘキサンを回収した試験管は不要のため取り出す。次に、清浄な容量 20mL の目盛り付き試験管を、固相抽出マニホールドの溶出液受け部に取り付ける。固相抽出マニホールド流量調節バルブを操作しながら、自然流下（約 1 滴/秒）にて試験管で PCB 溶出画分範囲のヘキサン 15mL（16-31mL）を正確に受け PCB 溶出液とする※10)。

e. 硫酸処理　清浄な分液漏斗に、硫酸 25mL をメスシリンダにて分取して入れる。そこへ(3).2).d.の PCB 溶出液を移しいれる。試験管はヘキサン 5mL を用い数回共洗いし、洗液はすべて分液漏斗に移しいれる。振とう器を用いて 10 分間振り混ぜ、その後 20 分間静置して、ヘキサン層と硫酸層を分離させる。分液漏斗のコックを調節しながら、下層の硫酸層を除去する。

f. 中和・脱水　(3).2).e.の分液漏斗のヘキサン溶液に、0.5moL/L 水酸化カリウム溶液を 1mL 加える。分液漏斗の共栓を閉じ、手振りで 20 回程度の振とうによる中和の後、5 分間静置してヘキサン層と水層を分配する。その後、分液漏斗のコックを調節しながら、下層の水層を除去する。分液漏斗のヘキサン溶液に、硫酸ナトリウム

2g※11) を加え脱水する。脱水したヘキサン溶液を、パスツールピペットを用いて清浄なナシ形フラスコへ全量移す。分液漏斗の内壁及び硫酸ナトリウムは、ヘキサン5mL にて数回共洗いし※12)、洗液をナシ形フラスコへ移し入れる。

g. 濃縮　(3).2).f.にてナシ形フラスコへ移した試料溶液を、濃縮器※9)を用いて 1mL 以下まで濃縮する。ナシ形フラスコにヘキサン数 mL を加え内壁を数回共洗いし、洗液はパスツールピペットを用いて清浄な目盛り付き試験管に移す。窒素吹き付けにより、試料容液を濃縮し 0.5mL 程度まで濃縮する。濃縮後の試料はシリンジスパイク溶液 500ng/mL を 20μL（10ng）添加し※7)、ヘキサンで正確に 1mL に定容する。これを測定溶液とする。

(4) 機器測定

1) 測定条件

a. GC/ECD の測定

本マニュアル図 1.2.2 の例と同等の分離性能が得られ、各ピークの保持時間が適切な範囲にあり、試料中の総 PCB 濃度で 0.15mg/kg 以下の検出下限値が満たされ、安定した応答が得られるように、適切に設定された GC/ECD で測定を行う。又、あらかじめ電子捕獲検出器の感度の直線性が得られる範囲を確認しておく。測定条件例を付表 2.1.3.1 に、クロマトグラムを付図 2.1.3.1 に示す。

2) 試料の測定及び定性（ピーク同定）方法

a. 検量線の作成

ⅰ. K値の算出：検量線用 PCB 標準溶液を測定し、得られたクロマトグラムのピークをもとにして番号（以下、ピーク番号という）を付け、ピークごとに、ピーク高さ（H_I）を読み取り、その高さと該当ピークのピーク番号に対応する CB_0（%）から次の式によって K値を算出する※13)。

$$K = \frac{CB_0\ (\%)}{H_1}$$

ⅱ. 相対感度係数の算出：10ng/mL のクリーンアップスパイク溶液及びシリンジスパイク溶液の同量を GC/ECD に注入して測定し、各内標準物質のピーク高さを読み取り、次に掲げる式によって相対感度係数（以下「RRF」という）を算出する※13)。

$$RRF = \frac{\text{クリーンアップスパイクのピーク高さ}}{\text{シリンジスパイクのピーク高さ}}$$

b. 試料の測定：PCB 標準溶液と同量の測定溶液を GC/ECD に注入して測定し、得られたクロマトグラムのピークに、その位置に相当する PCB 標準溶液で得られたクロマトグラムの位置のピークのピーク番号と同一のピーク番号を付ける。次に、そのピークごとに、ピーク高さ（H_2）を読み取り、その高さと当該ピークのピーク番号にかかる K 値から次の式によって CB_2（%）を算出する※13)。

$$CB_2\ (\%) = K \times H_2$$

測定溶液の PCB 濃度が電子捕獲型検出器の感度の直線性が得られる範囲を超える場合は、測定溶液をヘキサンで希釈し、直線性が得られる範囲内で再測定する。

c. 回収率の確認：次に掲げる式によってクリーンアップスパイクの回収率を算出する。

$$\text{クリーンアップの回収率 (\%)} = \frac{\text{クリーンアップスパイクのピーク高さ}}{\text{シリンジスパイクのピーク高さ}} \times \frac{100}{RRF}$$

クリーンアップスパイクの回収率が 70%以上 120%以下の範囲から外れるときは再度前処理を行い、再測定する。

3）定量法

次に掲げる式に次によって試料の PCB 濃度（mg/kg）を求める※14)。算出された数値の精度管理に関しては、本マニュアル「1.5 精度管理について」及び 2.1.3 記載の内容に従うこと。

$$\text{PCB濃度 (mg/kg)} = \text{PCB標準溶液の濃度（}\mu\text{g/mL）} \times \frac{\Sigma CB_2(\%)}{\Sigma CB_0(\%)} \times \frac{\text{測定溶液の量（mL）}}{\text{試料量（g）}} \times \frac{100}{\text{クリーンアップスパイクの回収率（%）}}$$

(5) 留意事項

測定操作において留意すべき点を以下に示す。

※1　クリーンアップスパイクは、工業製品において主要な異性体を避け、定量値に影響を与えないピークであり、前処理操作において PCB 工業製品と挙動の似た異性体を選択する。濃度及び添加量は、分析装置の感度等から判断し決定すれば良い。

※2　シリンジスパイクに用いる異性体は、※1 の条件を満たす異性体でクリーンア

ップスパイクに用いていない異性体から選択する。濃度及び添加量は分析装置の感度等から判断し決定すれば良い。

※３　ピーク番号 43 のピークが S/N 比 3 以上あることを確認する。詳しくは本マニュアル 1.5.3 内部精度管理（2）GC 性能試験（8）装置検出下限値を参照。

※４　(3).1).b.の固相抽出カラムを数時間放置する場合は、ポリマーの乾燥を防ぐため樹脂上層部にヘキサンを少し残した状態にする。使用の際は、固相抽出カラムの樹脂上層部に残ったヘキサンを、自然流下にて樹脂面まで下げてから用いる。

※５　空試験として、試料を添加せずに(3).2).b.から g.の操作を行い、得られたヘキサン溶液をガスクロマトグラフに注入し測定する。空試験試料から PCB の保持時間に相当するピークが検出され、PCB が 0.05mg/kg 以上の濃度で検出された場合は、原因を解明した後、準備操作から再度操作をし直す。

※６　PCB 溶出範囲の確認試験として、PCB 標準溶液（概ね 10μg/mL）1mL を正確に量り取り、(3).1).b.にて作製した固相抽出カラムに全量負荷する。固相抽出マニホールド流量調節バルブを開き、自然流下にて PCB 標準溶液を樹脂に浸透させる。ここにヘキサンを静かに加え、固相抽出マニュホールド流量調節バルブを操作しながら、自然流下にて溶出液を試験管で等量毎に回収する。溶出液は GC/ECD により測定し、PCB 溶出範囲と安定性および回収率を十分に確認する。

※７　これと異なる濃度を用いても良い。但し、クリーンアップスパイクとシリンジスパイクの最終測定溶液中の濃度が同じになるようにする。

※８　(3).2).b.の 2 回目の硫酸処理後、硫酸層の色合いにより油種や油の酸化状態を判別し、硫酸処理を追加する。写真 2.1.3.1 から 2.1.3.4 に、硫酸処理を追加する目安となる油種の判別および硫酸処理追加の目安となる硫酸層の色見本写真を示す。

ⅰ．4 種：硫酸層がピンク色に呈色（写真 2.1.3.1）する場合は、硫酸処理を 2 回以上追加する。

ⅱ．5 種：硫酸層が鮮やかな黄色に呈色（写真 2.1.3.2）し、分液漏斗内面にも着色が付く場合は、硫酸処理を 4 回以上追加する。

ⅲ．硫酸処理追加の目安：硫酸層が薄茶色（写真 2.1.3.3）の状態より濃い場合は、硫酸処理を追加する。

ⅳ．3 種：硫酸層をある程度除去後、ヘキサン層-エマルジョン層-硫酸層の 3 層に分離（写真 2.1.3.4）した場合は、エマルジョン層を全て除去する。

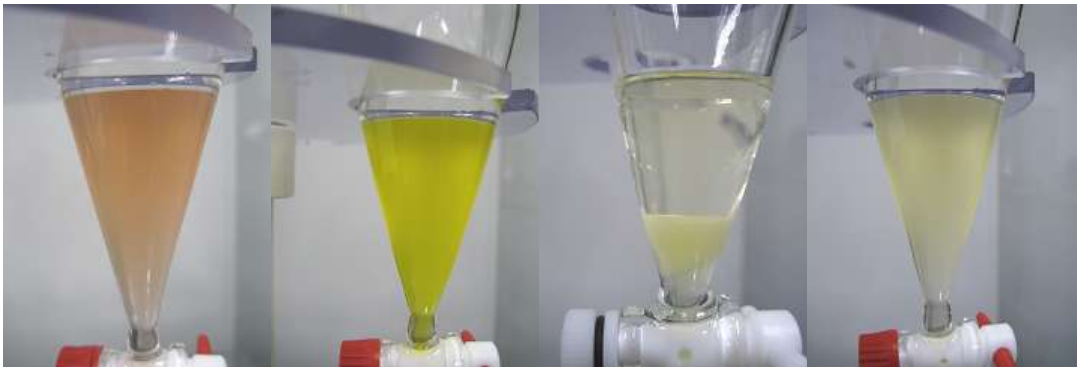


写真 2.1.3.1　写真 2.1.3.2　写真 2.1.3.3　写真 2.1.3.4

※９　乾固させないこと。ロータリーエバポレーターの水浴温度は、40℃以下 200hPa 以上で使用し、突沸させないこと。

※１０　ヘキサンの溶出量はカラムの状況等で変化するため、事前に PCB 標準溶液で溶出量を確認すること。確認方法は※６に従う。

※１１　ヘキサン溶液に添加した硫酸ナトリウム全体が固化した場合は、硫酸ナトリウムを追加し脱水を促進させる。

※１２　硫酸ナトリウムに PCB が残留し易いため、十分に共洗いを行うこと。

※１３　K 値、相対感度係数、CB_2 (%)、回収率の算出に、ピーク面積値を使用しても良い。

※１４　用いた PCB 内標準物質はΣCB0(%)及びΣCB2(%)の計算から除く。

2.1.4　ゲルパーミエーションクロマトグラフ/多層シリカゲルカラム/キャピラリーガスクロマトグラフ/電子捕獲型検出器（GC/ECD）法

(1) 概要（適用範囲）

ここに定める方法は、キャピラリーガスクロマトグラフ電子捕獲型検出器（GC/ECD）を用いた、変圧器に使用される電気絶縁油中（トランス油（JIS1種及びJIS7種）のみに限定）のポリ塩化ビフェニル（PCB）の前処理及び機器測定について適用する※1)。

(2) 測定の概要

1) 測定の概要

ゲルパーミエーションクロマトグラフ（GPC）を使用して、絶縁油中のポリ塩化ビフェニルを分画分取し、得られた PCB 画分について硫酸シリカゲル・硝酸銀シリカゲルカラムで精製した後、キャピラリーGC/ECD で測定する。

2) 測定操作フロー

測定フローを図2.1.4.1 に示す。尚、フロー図に記載された条件は一例である。

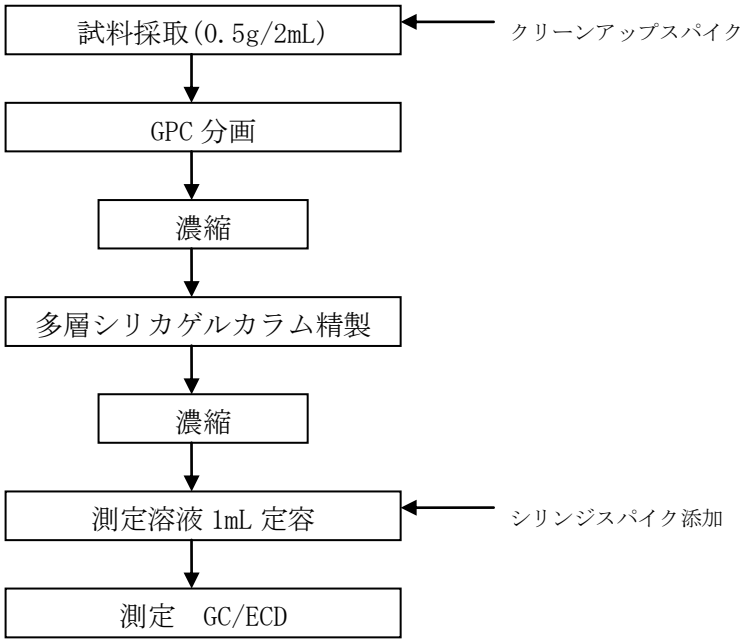


図 2.1.4.1　測定フロー

(3) 試薬、器具及び装置

1) 試薬

測定に使用する試薬は次による。これらの試薬は、空試験などによって測定に支障の

ないことを確認しておく。また、記述以外の試薬を使用する場合も同等の試験を行い、測定に支障のないことを確認しておく。

a. **ヘキサン**　JIS K8825 に規定するもの、または同等のもの。

b. **アセトン**　JIS K8040 に規定するもの、または同等のもの。

c. **シクロヘキサン**　JIS K8464 に規定するもの、または同等のもの。

d. **ノナン**　測定に支障が無いもの。

e. **多層シリカゲルカラム**　　10%硝酸銀シリカゲル　0.2g、シリカゲル0.5g、44%硫酸シリカゲル2g、硫酸ナトリウム（無水）0.5gを充填したカラム。図2.1.4.2 にカラムの一例を示す。

f. **シリカゲル**　平成4年厚生省告示第192号別表第2に示される方法で調製する。またはこれに準ずる既製品などでも代用できる。

g. **10%硝酸銀シリカゲル**　平成4年厚生省告示第192号別表第2に示される方法で調製する。またはこれに準ずる既製品などでも代用できる。

h. **硫酸**　JIS K8951 に規定するもの、または同等のもの。

i. **硫酸ナトリウム（無水）**　JIS K8987 に規定するもの、または同等のもの。

j. **PCB 標準溶液**　KC-300、KC-400、KC-500 及びKC-600 を重量比1:1:1:1 の割合で混合したものを、8μg/mLのノナン溶液としたもの。及び0.2μg/mLのヘキサン溶液としたもの。

k. **クリーンアップスパイク溶液**　2,3,3',4,4',5,5' -H7CB(IUPAC No.189)等の測定に影響が少ない異性体を用いる※2)。10μg/mLのノナン溶液及び1.0μg/mL のヘキサンもしくはノナン溶液。

l. **シリンジスパイク溶液**　2,2',3,3',4,4',5,5',6,6'-D10CB(IUPAC No.209) 等の測定に影響が少ない異性体を用いる※3)。10μg/mLのノナン溶液及び0.5μg/mL のヘキサンもしくはノナン溶液。

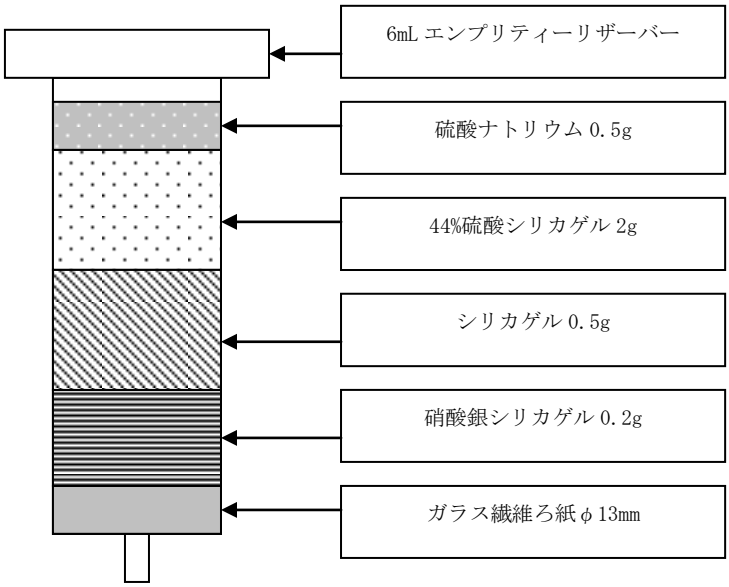


図 2.1.4.2　多層シリカゲルカラム例

2）器具

測定に使用する器具は次による。これらの器具は、空試験などによって測定に支障のないことを確認しておく。

a. **試験管**　試料の秤量に使用する。容量は約1.5mL 程度が好ましい。

b. **ガラスバイアル**　GCのオートサンプラーに適合するもの。

c. **クロマト管**　内径13mmφのもの。

d. **ガラス繊維ろ紙**　13mmφのもの。

e. **スピッチ管**　16.5mmφ×105mmLのもの。

f. **ホールピペット**　1,2,2.5,4及び5mLのガラス製のもの。所定の容量を正確に分取できるもの。

g. **全量フラスコ及びメスフラスコ**　1,2,10,20mL全量フラスコ、50mＬメスフラスコ。ガラス製のもので、所定の容量を正確に分取できるもの。

3）装置

前処理及び測定に使用する装置は次による。

a. **ゲルパーミエーションクロマトグラフ（GPC）分取装置**

各部において、クロスコンタミが発生しないことを事前に確認すること。

ⅰ．試料導入部:　試料注入量が1μL以上1000μL以下が注入できるもの。

ⅱ．送液ポンプ部:　送液流量が0.01mL/min以上10.00 mL/min以下に調整できるもの。

ⅲ．カラム恒温槽部:　温度を30℃以上、100℃以下にできるもの。

ⅳ．画分採取部：　0.1min単位で分取ができ、10mL以上、30mL以下の試験管が設置で

きるもの。

b. ガスクロマトグラフ-電子捕獲型検出器

ⅰ. 試料導入部: スプリットレス方式で温度を220℃以上、300℃以下にできるもの。

ⅱ. カラム: 内径0.10mm 以上0.32mm 以下及び長さ10m 以上のキャピラリーカラムで、本マニュアルの図1.2.2の例と同等の分離性能をもつもので、PCB全209各化合物の溶出位置が実際の測定に採用するGC条件において判明していなければならない。

ⅲ. キャリヤーガス: 純度99.999%以上のヘリウム、窒素または水素を用いる。いずれも適切な線速度、流量に調節する。

ⅳ. 付加ガス（メイクアップガス）: 純度99.999%以上の窒素を用いる。

ⅴ. カラム温度: 60℃以上320℃以下の間で温度を一定に保つことができ、1 分間に10℃以上の昇温ができるもの。

ⅵ. 検出器: 電子捕獲型検出器、PCB 標準溶液0.01mg/mL が検出でき、検出器温度が250から320℃の範囲で使用可能なもの。

(4) 前処理

1) 試料の調製

試料約0.5g※4) を2mLの全量フラスコに秤量し、1μg/mL のクリーンアップスパイク溶液40μL※5) を添加した後、ヘキサンを加えて標線に合わせ、全量を2mLとする。

2) GPC分取

(4).1).の操作で調製した試料溶液を GPC 装置にセットし、PCB 溶出時間の確認及び回収率を確認した条件※6) で PCB 溶出範囲をスピッチ管に分取し、その溶液を窒素濃縮もしくはエバポレーター※7) で、約 0.5mL まで濃縮※8) する。

3) 多層シリカゲルカラム精製

(4).2).で得られた濃縮液※8) を多層シリカゲルカラムに移し入れた後、10mL のヘキサンにて多層シリカゲルカラムの内壁を洗浄しながら約 7mL 溶出液を回収する※9)。この溶出液を窒素濃縮もしくはエバポレーター※7) にて、約 0.5mL まで濃縮する。この濃縮液を 1mL 全量フラスコに移し入れる。次いで、少量のヘキサンで濃縮液の入っていた容器を洗い、これらも全量フラスコに移し入れる。この作業を数回繰り返して 0.5μg/mL のシリンジスパイク溶液を 20μL を添加※5) し、ヘキサンにて全量フラスコの標線を合わせ、よく攪拌したものを測定溶液とする。

(5) 機器測定

1) 測定条件

a. GC/ECD の設定

本マニュアル図1.2.2の例と同等の分離性能が得られ、各ピークの保持時間が適切

な範囲にあり、総PCB 濃度で0.15mg/kg 以下の検出下限値が満たされ、安定した応答が得られるように、GC/ECD を適切に設定する。また、あらかじめ電子捕獲型検出器の感度の直線性が得られる範囲を確認しておく。測定条件例を付表2.1.4.1に示す。

b. 検量線の作成

ⅰ K 値の算出: PCB 標準溶液を測定し、得られたクロマトグラムのピークをもとにして番号（ピーク番号）を付け、ピークごとに、ピーク面積（A1）を読み取り、その面積と当該ピークのピーク番号に対応するCB0（%）から次の式によってK 値を算出する※10)。

$$K = \frac{CB0\%}{A1}$$

ⅱ 相対感度係数の算出: 10 ng/mL のクリーンアップスパイク溶液及びシリンジスパイク溶液の同量をGC/ECD に注入して測定し、各内標準物質のピーク面積を読み取り、次に掲げる式によって相対感度係数（RRF）を算出する。

$$RRF = \frac{\text{クリーンアップスパイクのピーク面積}}{\text{シリンジスパイクのピーク面積}}$$

2）試料の測定及び定性（ピーク同定）方法

a. 試料の測定

PCB 標準溶液と同量の測定溶液をガスクロマトグラフに注入して測定し、得られたクロマトグラムのピークに、その位置に相当するPCB 標準溶液で得られたクロマトグラムの位置のピークのピーク番号と同一のピーク番号を付ける。次に、そのピークごとに、ピーク面積（A2）を読み取り、その面積と当該ピークのピーク番号にかかるK 値から次の式によってCB2(%)を算出する※10)。

$$CB_2\% = K \times A2$$

測定溶液のPCB 濃度が電子捕獲型検出器の感度の直線性が得られる範囲を超える場合は、測定溶液をヘキサンで希釈し、直線性が得られる範囲内で再測定する。

b. 回収率の確認

次に掲げる式によってクリーンアップスパイクの回収率を算出する。

$$\text{クリーンアップスパイクの回収率(\%)} = \frac{\text{クリーンアップスパイクのピーク面積}}{\text{シリンジスパイクのピーク面積}} \times \frac{100}{\text{ＲＲＦ}}$$

クリーンアップスパイクの回収率が70%以上、120%以下の範囲から外れるときは再度前処理を行い、再測定する※11)。

3) 定量法

a. PCB 濃度の定量

次に掲げる式によって試料のPCB 濃度 (mg/kg) を求める※12)。算出された数値の精度管理に関しては、「1.5精度管理について」及び2.1.4記載の内容に従うこと。

$$\text{PCB 濃度(mg/kg)} = \text{PCB 標準溶液の濃度}(\mu\text{g/mL}) \times \frac{\Sigma\text{ＣＢ2(\%)}}{\Sigma\text{ＣＢ0(\%)}} \times \frac{\text{測定溶液濃度(mL)}}{\text{試料量(g)}} \times \frac{100}{\text{クリーンアップスパイクの回収率(\%)}}$$

(6) 留意事項

測定操作において留意すべき点を以下に示す。

※1 本法は、トランス油（JIS1種及び7種）のみに適用でき、それ以外の油種に適用してはならない。

※2 クリーンアップスパイクは、工業製品において主要な異性体を避け、定量値に影響を与えないピークであり、前処理操作においてPCB工業製品と挙動の似た異性体を選択することが重要である。濃度及び添加量は、分析装置の感度等から判断し決定すれば良い。

※3 シリンジスパイクに用いる異性体は、クリーンアップスパイクに用いていない異性体から選択する。濃度及び添加量は、分析装置の感度等から判断し決定すれば良い。

※4 試料量は減量しても良いが、秤量に用いる天秤の精度とPCBの測定における感度が確保されることを確認すること。量り取った量を有効数字3桁以上で記録する。

※5 クリーンアップスパイク及びシリンジスパイクについては、これらと異なる濃度を使用しても良いが、クリーンアップスパイク、シリンジスパイクの添加量が同じになるようにすること。

※6 PCB分画条件については、GPC調整時後及び定期的に回収率を確認すること。GPC

は温度変化を受けてPCB回収率が変化するため、操作環境温度の制御に留意すること。

※７　PCB回収率を事前に確認しておくこと。

※８　濃縮液量はほぼ0.5mL とする。この液量以上であると精製効率が低下することがある。

※９　ヘキサンの溶出量はカラムの状況等で変化するため、事前にPCB標準溶液で溶出量を確認すること。

※１０　ピークにテーリングが無い場合は、K値、CB2(%)、回収率の算出に、ピーク高さを使用しても良い。

※１１　PCB濃度が高い試料を分析した時は、その中に含まれるクリーンアップスパイク(#189)が加えて測定されているため、回収率が高く求められる。このような時は絶縁油試料を希釈して再分析する必要がある。

※１２　用いたPCB内標準物質をΣCB0(%)及びΣCB2(%)の計算から除く。

附属書2.1.4.1　測定条件

付表2.1.4.1　ゲルパーミエーションクロマトグラフ（GPC）分取装置条件例

カラム	ＣＬＮ　ｐａｋ　ＰＡＥ-800　(8mmφ×30cm)　２本連結
カラム温度	40℃
ｷｬﾘｱ液条件	アセトン／シクロヘキサン＝95/5　0.8mL／分
分取範囲	24.5 から 28.0 分※9)
注入量	500μL

2.2　ガスクロマトグラフ／高分解能質量分析計(GC/HRMS)を適用した簡易定量法

2.2.1　溶媒希釈/ガスクロマトグラフ/高分解能質量分析(GC/HRMS)法

(1) 概要（適用範囲）

ここに定める方法は、ガスクロマトグラフ（GC）のカラムにキャピラリーカラムを用い、高分解能二重収束型質量分析計（HRMS）を用いて、絶縁油中における PCB 工業製品の主要成分（同族体）を溶媒で希釈して測定するもので、二、三、四、五、六及び七塩化 PCB を測定対象とする※1)。絶縁油全般に適用する。

(2) 測定の概要

1) 測定の概要

試料を揮発性溶媒で約 1000 倍(W/V)に希釈し、分解能 8,000 から 10,000 以上で高分解能質量分析計の高選択性を利用し測定する方法※2)である。

2) 測定操作フロー

測定フローを図 2.2.1.1 に示す。

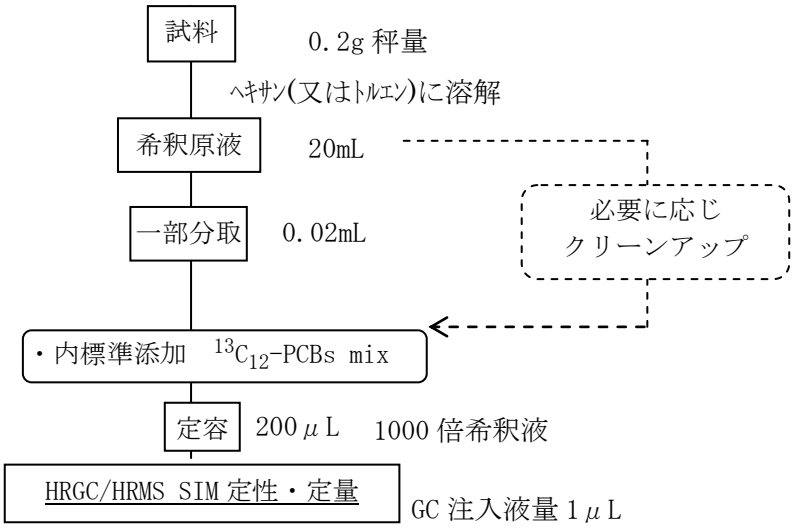


図 2.2.1.1　本測定法の基本フロー図

(3) 試薬、器具及び装置

1) 試薬

測定に使用する試薬は次による。これらの試薬は、空試験などによって測定に支障のないことを確認しておく。また、記述以外の試薬を使用する場合も同等の試験を行い、測定に支障のないことを確認しておく。

a. トルエン　JIS K 8680 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

b. ヘキサン　JIS K 8825 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

c. **ジクロロメタン**　JIS K 8117 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

d. **硫酸ナトリウム**　JIS K 8951 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

e. **ノナン**　測定に支障のない品質のもの。

f. **硫酸**　JIS K 8574 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

g. **アルミナ**　カラムクロマトグラフ用塩基性アルミナ（塩基性、活性度Ⅰ）

h. **シリカゲル**　カラムクロマトグラフ用シリカゲル（粒径 0.063-0.2mm）をメタノール洗浄後、乾燥させたもの。

i. **PCB 標準物質**　塩素化合物のうち少なくとも 2,4’-D2CB(IUPAC No.8)、2,4,4’-T3CB(IUPAC No.28)、2,2’,5,5’-T4CB(IUPAC No.52)、2,2’,4,5,5’-P5CB(IUPAC No.101)、2,3’,4,4’,5-P5CB(IUPAC No.118)、2,2’,3,4,4’,5’-H6CB(IUPAC No.138)、2,2’,4,4’,5,5’-H6CB(IUPAC No.153)、2,2’,3,4,4’,5,5’-H7CB(IUPAC No.180)の PCB 標準物質を含むこと。

j. **内標準物質**　すべての炭素原子が ^{13}C で標識された PCB で、塩素化合物のうち少なくとも 2,4’-D2CB(IUPAC No.8)、2,4,4’-T3CB(IUPAC No.28)、2,2’,5,5’-T4CB(IUPAC No.52)、2,2’,4,5,5’-P5CB(IUPAC No.101)、2,3’,4,4’,5-P5CB(IUPAC No.118)、2,2’,3,4,4’,5’-H6CB(IUPAC No.138)、2,2’,4,4’,5,5’-H6CB(IUPAC No.153)、2,2’,3,4,4’,5,5’-H7CB(IUPAC No.180)の PCB 標準物質を含むこと。

k. **PCB 検量線作成用標準液**　標準物質とクリーンアップスパイクを混合して、GC/HRMS の検出下限の 3 倍程度の低濃度から 5 段階程度をデカンもしくはノナンで希釈して調製する。もしくは、市販の調製済み検量線溶液を使用する。

l. **質量校正標準物質**　ペルフルオロケロセン（ＰＦＫ）等の質量分析用校正標準物質を使用する

2）器具

測定に使用する器具は次による。これらの器具は、空試験などによって測定に支障のないことを確認しておく。

a. **ネジ口瓶**　20mL を秤量できるもの(秤線が記載されているもの。再使用禁止・使い捨てで行うこと)。

b. **ネジ口試験管**　容量が10mLのもの。テフロンパッキング製のライナーであること。

c. **マイクロピペット**　0.02mL を採取できるもの。0.25mL を採取できるもの。

d. **マイクロシリンジ**　0.25mL を採取できるもの。

e. **クロマト管**　内径 10mm のもの。

3）装置

a. ***ガスクロマトグラフ***

ｉ 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、250 から 280℃

で使用可能なもの

ii キャピラリーカラム： PCB 工業製品において主要な異性体の溶出順位が判明しているもの。使用する GC カラムは PCB 全 209 各化合物の溶出位置が実際の測定に採用する GC 条件において判明していなければならない。

iii キャリアーガス： 純度 99.999%以上のヘリウム

iv カラム温度： 50℃以上 300℃以下の間で温度を一定に保つ事ができるもの

b. 高分解能質量分析計

i 二重収束型で、10,000 以上の分解能で測定できるものであって、ロックマス方式による選択イオンモニタリング（SIM）法で測定できるもの

ii イオン源温度を 250℃以上に保つことができ、電子イオン化方式（EI）が可能であるもの

iii 検出されるピークにおいて、十分なデータ採取が可能なサイクルタイムが確保できること

iv 標準物質を分析した際の感度が、2,2’,5,5’ -T4CB(IUPAC No.52)注入量 10fg あたり S/N 比が 10 以上の感度を有していること※3)。

v 試料マトリックスを含む検液において、求められる検出下限である 0.15mg/kg が検出できる感度を有していること

(4) 前処理

1) 試料の調製

a. 20mL ネジ口瓶にマイクロピペットを用いて、試料 0.25mL（重量にすると約 0.2g）を秤量する。

b. 試料をはかり取った 20mL ネジ口瓶にトルエンを 2 から 3mL 加えて馴染ませた後、ヘキサン（又はトルエン）を加えて秤線に合わせて 20mL に定容する。これを試料の希釈原液とし、重量を記録する

c. 試料採取時に、試料種類が特定できる場合は、(4).2).記載の精製方法を実施しても良い。

d. 0.3mL バイアル瓶に内標準物質(付表 2.2.1.3 に例示)0.25ng(一部異性体は 0.5ng)相当程度を添加する。これに、マイクロピペットを用いて、上記希釈液を 20μL 分取する。これに溶媒を添加し最終液量を 200μL として測定溶液とする。

2) 追加精製操作（必要に応じて）

希釈のみでの分析で測定困難な場合がある（図 2.2.1.2)。その際には、告示 192 号による分析を行うか、硫酸処理又は硫酸シリカゲルクロマトグラフィー、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、DMSO 分配など他の分析法で用いられているクリーンアップ法を実施することにより改善する。

追加精製実施が必要な場合として次のようなケースがある。

① 試料マトリックスの影響により、ピーク形状が正常ではない時（ブロード化、テーリング等)

② 試料マトリックスの影響によりロックマスの大きな落ち込み(30%以上)が見られ、その落ち込みが内標準物質及び検出ピークに影響を与えており、かつ影響を受けた同族体が分析試料の PCB 組成において主要な（総量で約 10%以上の存在比を占める同族体)場合

例として硫酸シリカゲルクロマトグラフィーの精製操作を示す。

a. 硫酸シリカゲルカラムクロマトグラフィーによる精製の例

ⅰ.(4).1)の希釈原液を 0.2mL マイクロピペットで試験管に分取し、PCB 内標準物質 0.25ng(一部異性体は 0.5ng)相当程度を、マイクロシリンジを用いて 0.25mL 添加する。

ⅱ.クロマトグラフ管（上から無水硫酸ナトリウム 0.5ｇ、シリカゲル 0.5g、44%硫酸シリカゲル 1g、シリカゲル 0.5g、44%硫酸シリカゲル 1g、シリカゲル 0.5g、44%硫酸シリカゲル 1g、シリカゲル 0.5g、無水硫酸ナトリウム 0.5ｇの順に乾式充填し、事前にヘキサン 10mL で予備洗浄済みのもの)にのせ、ヘキサン 10mL 流速 2.5mL/分程度で溶出する。溶出液を濃縮する。

ⅲ.上記に最終溶媒であるトルエンもしくはノナンを添加し、200μL 定容とし測定溶液とする。

(5) 機器測定

1) 測定条件

測定する装置は、あらかじめ下記の条件を満たすことを確認しておく。

a.各標準品を分析した際に直線性を確認できる事(平成4年厚生省告示第192号に準拠する)。

b.グルーピングの切り替えが適切で、主要なピークの欠落がない事

c.試料マトリックスを含む検液において、要求された検出下限である0.15 mg/kgが十分検出できる感度を有する事

2) 定性法

PCB 化合物の同定に当たっては、209 異性体の混合標準品や KC 製品の標準溶液で溶出範囲及び相対溶出時間を確認し、PCB 工業製品で異性体パターンを予め確認しておく。分析毎の標準品と試料検出ピークにおいての保持時間の変動が 2%以内であること、内標準物質との相対保持比との変動が 2%以内であることを目安に定性を行う。また、質量分析計においては、測定対象より高塩素体のフラグメントピークを検出すること

があるので、分解能の保持とピークのアサインに注意が必要である。

(フラグメントピークの一例)

・HpCB のフラグメントイオン（M-2Cl）が、PeCB に影響

・HpCB のフラグメントイオン（M-Cl）が、HxCB に影響

3) 定量法（１）

PCB検量線作成用標準液をGC/HRMSに注入し、得られたクロマトグラムから、PCB化合物の種類ごとに、次に掲げる式によって相対感度係数(以下「RRF」という)を算出する。塩素数ごとの同族体濃度は、それぞれの標準物質のクロマトグラムから算出されたRRFの平均値を用い算出する。

RRF＝(As×Cis)／(Ais×Cs)

As　PCB標準物質のクロマトグラムのピーク面積

Cis PCB標準溶液中のPCB内標準物質の濃度

Ais PCB内標準物質のクロマトグラムのピーク面積

Cs　PCB標準溶液中のPCB標準物質の濃度)

(4)の操作で得られた測定溶液を高分離能ガスクロマトグラフに注入し、得られたクロマトグラムから、PCB 化合物の種類ごとに、次に掲げる式によって試料中の濃度を算出する。定量に用いる PCB 内標準物質のピーク面積は、同族体ごとで複数のピークがある場合、平均したピーク面積値で定量操作を行う。

C＝(As×Is)／(Ais×RRF)／W

C　当該塩素化合物の濃度(mg/kg)

As　当該塩素化合物のクロマトグラムのピーク面積

Is　試料に添加したPCB内標準物質の量(μg)

Ais 当該塩素化合物に対応するPCB内標準物質のクロマトグラムピーク面積

W　試料量(g)

絶縁油中のPCB濃度は、得られた塩素化合物の濃度の総和とする。

また、絶縁油中のPCB濃度の算出に当たっては、同様の試験操作を行った空試験の結果が試料の測定値に影響しないレベルであることを確認すること。

また、下記のような状況が観察された場合は、再分析等を行い改善した後に定量操作を行う。

a. ロックマスが試料マトリックスの影響により、落ち込みや傾きが大きく（30%以上の変動）見られ、それが PCB の主要な成分に影響すると判断される場合。

b. 試料マトリックスの影響などにより、評価すべき濃度（0.15mg/kgm）を達成できていない場合

c. 回収率の確認　クリーンアップスパイクの回収率が、測定対象成分の二塩化ビフェニルから七塩化ビフェニルにおいて 50%以上 120%以下の評価基準から逸脱する場合算出された数値の精度管理に関しては、「1.5 精度管理について」に従うこと。

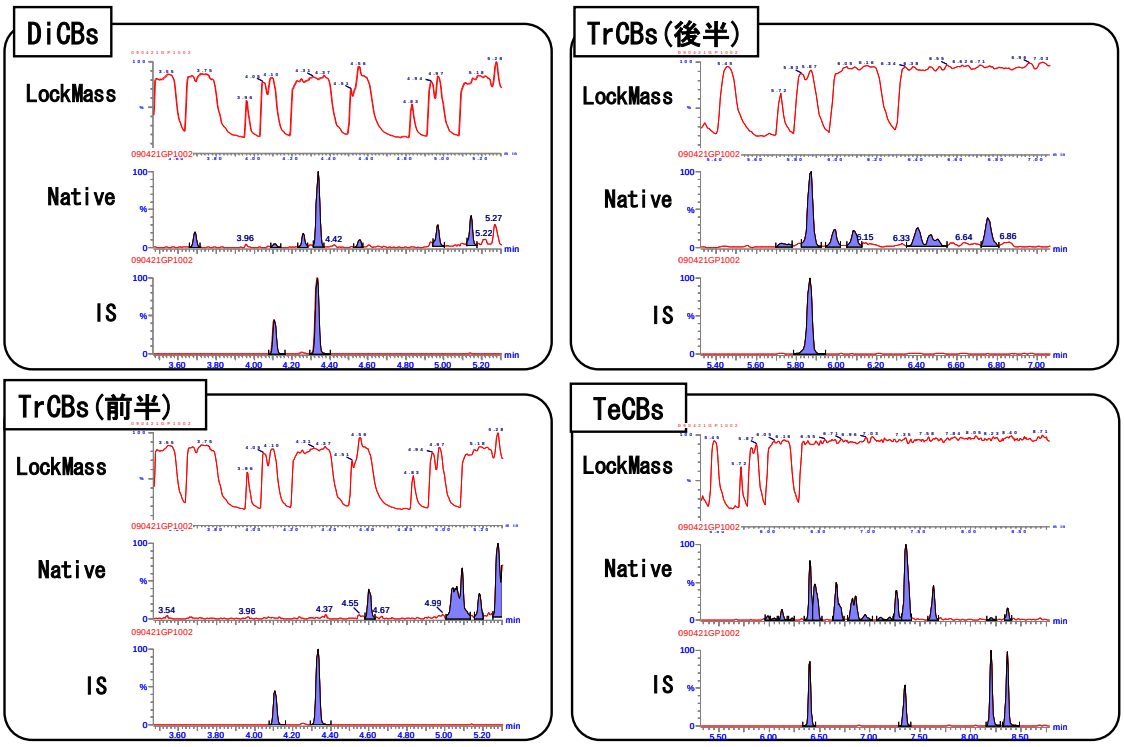


図 2.2.1.2　2 種絶縁油における追加精製を必要とする分析クロマトの例

4) 定量法（2）

本法では、簡易定量法として 13 異性体を測定して、PCB 量に換算する方法も採用することができる。この計算法については後述の「2.6 PCB の一部の化合物濃度から全 PCB 濃度を計算する簡易定量法」を参照すること。

算出された数値の精度管理に関しては、「1.5 精度管理について」に従うこと。

(6) 留意事項

測定操作において留意すべき点を以下に示す。

※1　今回の分析対象となる絶縁油においては、ほとんど存在しないとされるが同族体検出パターンで KC-600 と見られる試料については、八塩素体についても定量操作を行う必要がある。

※2　試料マトリックスの影響によりピーク形状が悪く、定量値に影響があると判断される場合は、硫酸シリカゲルクロマトグラフィーによる追加精製を行う場合がある。

※3　測定装置の感度が不足する場合は、希釈倍率及び GCMS への注入液量を測定に影響の無い範囲で調整を行うことが可能である。

附属書 2.2.1　測定条件の例

(装置条件)

GC部　操作条件

分離カラム　5%ジフェニルーメチルシリコン　15m×0.25mm(id),0.10μm

カラム温度　150℃――――→ 250℃

(1min) (10℃/min)

ＭＳ部　操作条件

イオン化方法	EI
イオン化電圧	40V
イオン化電流	500μA
加速電圧	8kV
インターフェース温度	300℃
イオン源温度	300℃
分解能	10,000
設定質量数	付表 2.2.1.1 に示す。

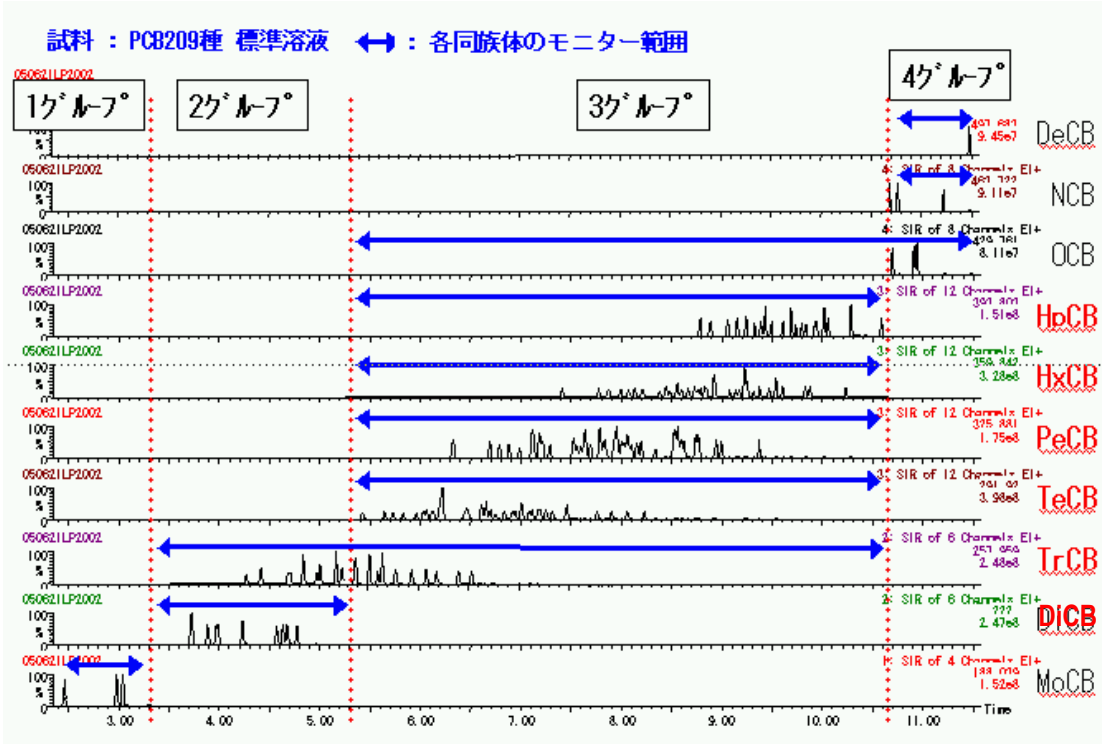
付表 2.2.1.1 設定質量数

	$(M)^+$	$(M+2)^+$	$(M+4)^+$
MoCBs	188.0393		
DiCBs	222.0003		
TrCBs		257.9585	
TeCBs		291.9195	
PeCBs		325.8805	
HxCBs		359.8415	
HpCBs		393.8025	
OCBs			429.7606
NCBs			463.7216
DeCB			497.6826
$^{13}C_{12}$-MoCBs	200.0795		
$^{13}C_{12}$-DiCBs	234.0406		
$^{13}C_{12}$-TrCBs		269.9987	
$^{13}C_{12}$-TeCBs		303.9597	
$^{13}C_{12}$-PeCBs		337.9207	
$^{13}C_{12}$-HxCB		371.8817	
$^{13}C_{12}$-HpCBs		405.8428	
$^{13}C_{12}$-OCBs			441.8008
$^{13}C_{12}$-NCBs			475.7619
$^{13}C_{12}$-DeCB			509.7229

各グループの測定対象成分例を付表 2.2.1.2 に、測定時のクロマトグラフィー例を付図 2.2.1.1 及び付図 2.2.1.2 に示す。同定、定量に用いる標準物質の一例を付表 2.2.1.3 に示す。

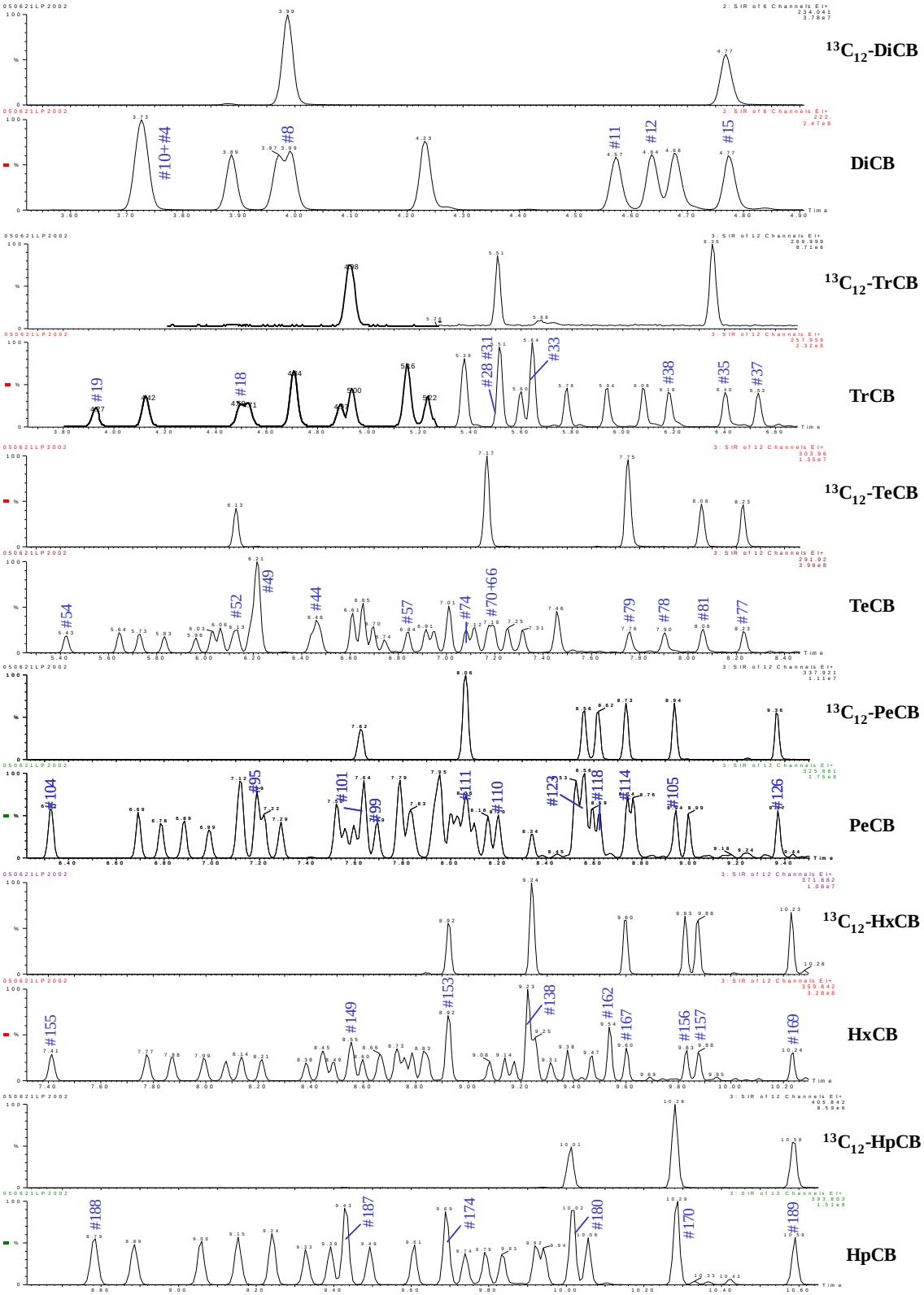
付表 2.2.1.2 各グループの測定対象成分の一例

1 グループ	MoCBs					
2 グループ	DiCBs	TrCBs（前半）				
3 グループ	TrCBs（後半）	TeCBs	PeCBs	HxCBs	HpCBs	OCBs（前半）
4 グループ	OCBs（後半）	NCBs	DeCBs			



付図 2.2.1.1 測定時のクロマトグラフィー例（PCB209 種標準溶液）

試料：PCB209種 標準溶液



付図 2.2.1.2 測定時のクロマトグラフィー例（主要異性体について異性体表記）

付表 2.2.1.3 同定、定量に用いる標準物質の一例

標準物質		内標準物質	
IUPAC No.		IUPAC No.	
# 1	2-MCB		
# 3	4-MCB	# 3	$^{13}C_{12}$-4-MCB
# 10	2,6-DiCB		
# 4	2,2'-DiCB		
# 8**	2,4'-DiCB	# 8**	$^{13}C_{12}$-2,4'-DiCB
# 11	3,3'-DiCB		
# 12	3,4-DiCB		
# 15	4,4'-DiCB		
# 19	2,2',6-TrCB		
# 18	2,2',5-TrCB		
# 31	2,4',5-TrCB	# 31	$^{13}C_{12}$-2,4',5-TrCB
# 28**	2,4,4'-TrCB	# 28**	$^{13}C_{12}$-2,4,4'-TrCB
# 33	2',3,4-TrCB		
# 38	3,4,5-TrCB		
# 35	3,3',4-TrCB		
# 37	3,4,4'-TrCB		
# 54	2,2',6,6'-TeCB		
# 52**	2,2',5,5'-TeCB	# 52**	$^{13}C_{12}$-2,2',5,5'-TeCB
# 49	2,2',4,5'-TeCB		
# 44	2,2',3,5'-TeCB		
# 57	2,3,3',5-TeCB		
# 74	2,4,4',5-TeCB		
# 70	2,3',4',5-TeCB		
# 66	2,3',4,4'-TeCB		
# 79	3,3',4,5'-TeCB		
# 78	3,3',4,5-TeCB		
# 81	3,4,4',5-TeCB★	# 81	$^{13}C_{12}$-3,4,4',5-TeCB★
# 77	3,3',4,4'-TeCB★	# 77	$^{13}C_{12}$-3,3',4,4'-TeCB★
# 104	2,2',4,6,6'-PeCB		
# 95	2,2',3,5',6-PeCB		
# 101**	2,2',4,5,5'-PeCB	# 101**	$^{13}C_{12}$-2,2',4,5,5'-PeCB
# 99	2,2',4,4',5-PeCB		

付表 2.2.1.3 同定、定量に用いる標準物質の一例（続き）

標準物質		内標準物質	
IUPAC No.		IUPAC No.	
# 87	2,2',3,4,5'-PeCB		
# 110	2,3,3',4',6-PeCB		
# 105	2,3,3',4,4'-PeCB★★	# 105	$^{13}C_{12}$-2,3,3',4,4'-PeCB★★
# 114	2,3,4,4',5-PeCB★★	# 114	$^{13}C_{12}$-2,3,4,4',5-PeCB★★
# 118**	2,3',4,4',5-PeCB★★	# 118**	$^{13}C_{12}$-2,3',4,4',5-PeCB★★
# 123	2',3,4,4',5-PeCB★★	# 123	$^{13}C_{12}$-2',3,4,4',5-PeCB★★
# 126	3,3',4,4',5-PeCB★	# 126	$^{13}C_{12}$-3,3',4,4',5-PeCB★
# 155	2,2',4,4',6,6'-HxCB		
# 149	2,2',3,4',5',6-HxCB		
# 153**	2,2',4,4',5,5'-HxCB	# 153**	$^{13}C_{12}$-2,2',4,4',5,5'-HxCB
# 138**	2,2',3,4,4',5'-HxCB		
# 162	2,3,3',4',5,5'-HxCB		
# 156	2,3,3',4,4',5-HxCB★★	# 156	$^{13}C_{12}$-2,3,3',4,4',5-HxCB★★
# 157	2,3,3',4,4',5'-HxCB★★	# 157	$^{13}C_{12}$-2,3,3',4,4',5'-HxCB★★
# 167	2,3',4,4',5,5'-HxCB★★	# 167	$^{13}C_{12}$-2,3',4,4',5,5'-HxCB★★
# 169	3,3',4,4',5,5'-HxCB★	# 169	$^{13}C_{12}$-3,3',4,4',5,5'-HxCB★
# 188	2,2',3,4',5,6,6'-HpCB		
# 187**	2,2',3,4',5,5',6-HpCB		
# 174**	2,2',3,3',4,5,6'-HpCB		
# 180**	2,2',3,4,4',5,5'-HpCB★★★	# 180**	$^{13}C_{12}$-2,2',3,4,4',5,5'-HpCB★★★
# 170	2,2',3,3',4,4',5-HpCB★★★	# 170	$^{13}C_{12}$-2,2',3,3',4,4',5-HpCB★★★
# 189	2,3,3',4,4',5,5'-HpCB★★	# 189	$^{13}C_{12}$-2,3,3',4,4',5,5'-HpCB★★
# 202	2,2',3,3',5,5',6,6'-OCB		
# 200	2,2',3,3',4,5,6,6'-OCB		
# 203	2,2',3,4,4',5,5',6-OCB		
# 195	2,2',3,3',4,4',5,6-OCB		
# 194	2,2'3,3',4,4',5,5'-OCB	# 194	$^{13}C_{12}$-2,2',3,3',4,4',5,5'-OCB
# 205	2,3,3',4,4',5,5',6-OCB		
# 208	2,2',3,3',4,5,5',6,6'-NCB		
# 206	2,2',3,3',4,4',5,5',6-NCB	# 206	$^{13}C_{12}$-2,2',3,3',4,4',5,5',6-NCB
# 209	2,2',3,3',4,4',5,5',6,6'-DeCB	# 209	$^{13}C_{12}$-2,2',3,3',4,4',5,5'6,6'-DeCB

★: non-*ortho*-PCBs ★★: mono-*ortho*-PCBs ★★★: di-*ortho*-PCBs **:major-PCBs

2.3　トリプルステージ型ガスクロマトグラフ質量分析計(GC/MS/MS)を適用した簡易定量法

2.3.1　加熱多層シリカゲルカラム/アルミナカラム/トリプルステージ型ガスクロマトグラフ質量分析（GC/MS/MS）法

(1) 概要（適用範囲）

ここに定める方法は、トリプルステージ(タンデム、三連四重極)型ガスクロマトグラフ質量分析計（以下 GC/MS/MS）を用いた測定方法である。

(2) 測定の概要

1) 測定の概要

試料を加熱固相カラム（多層シリカゲルカラム及びアルミナカラム）によりクリーンアップし、GC/MS/MS を用いて定量する方法である。

2) 測定操作フロー

測定フローを図 2.3.1.1 に示す。尚、フロー図に記載された条件は一例である。

クリーンアップ方法は、2.1.2 記載のクリーンアップ方法と同じ操作である。

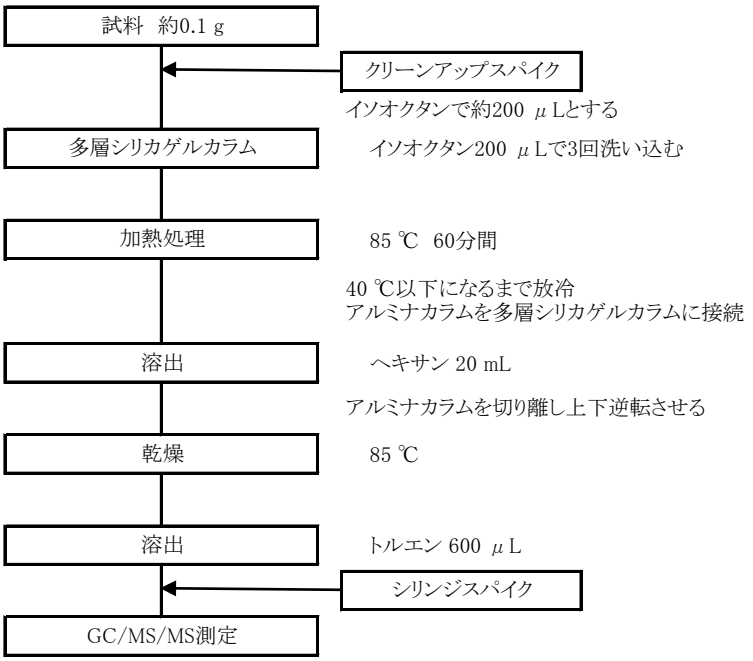


図 2.3.1.1　測定フロー例

(3) 試薬及び使用器具

1) 試薬

測定に使用する試薬は次による。これらの試薬は、空試験などによって測定に支障のないことを確認しておく。又、記述以外の試薬を使用する場合も同等の試験を行い、測定に支障のないことを確認しておく。

a. ヘキサン　JIS K8825 に規定するもの、又は同等のもの。

b. トルエン　JIS K8680 に規定するもの、又は同等のもの。

c. イソオクタン　JIS K9703 に規定するもの、又は同等のもの。

d. デカンもしくはノナン　測定に支障のない品質のもの。

e. 多層シリカゲルカラム及びアルミナカラム　44%硫酸被覆シリカゲル 3.8g、15%硝酸銀 15%硝酸銅被覆シリカゲル 1.4g を充填したカラム、並びに、活性化を施したアルミナ 0.5g を充填したカラム※1)。2.1.2 の図 2.1.2.2 にカラムの一例を示す。

f. PCB 標準溶液　塩素化合物の内 2,4’-D2CB(IUPAC No.8)、2,4,4’-T3CB(IUPAC No.28)、2,2’,5,5’-T4CB(IUPAC No.52)、2,2’,4,5,5’-P5CB(IUPAC No.101)、2,3’,4,4’,5-P5CB(IUPAC No.118)、2,2’,3,4,4’,5’-H6CB(IUPAC No.138)、2,2’,4,4’,5,5’-H6CB(IUPAC No.153)、2,2’,3,4,4’,5,5’-H7CB(IUPAC No.180)、2,2’,3,3’,4,4’,5,5’-O8CB(IUPAC No.194)の PCB 標準物質を含んだ混合標準溶液。

g. クリーンアップスパイク溶液　PCB 標準物質の $^{13}C_{12}$ 標識化 PCB を含んだ混合標準溶液を、使用する質量分析計に最適な濃度に調製したイソオクタン溶液。

h. シリンジスパイク溶液　1 種類以上の $^{13}C_{12}$ 標識化 PCB を含んだ混合標準溶液を、使用する質量分析計に最適な濃度に調製したトルエン溶液。

i. 検量線用 PCB 標準溶液　PCB 標準物質、PCB 内標準物質及び回収率算出用内標準物質をトルエン又はノナン、イソオクタン、デカンに溶かしたもの。PCB 内標準物質及び回収率算出用内標準物質の濃度が、使用する質量分析計に最適な濃度で一定であり、PCB 標準物質の濃度が使用する質量分析計の測定可能範囲内で 4 ないし 5 段階以上となるように設定したもの。約 PCB 標準物質が 1 から 20ng/mL 程度に調製する。尚、希釈する溶媒はダイオキシン分析用又は市販の試薬特級又は同等以上のもので測定に支障をきたさないもの。

j. 質量校正用標準物質　ペルフルオロトリブチルアミン(PFTBA)等の質量分析計用を使用する。

2) 器具

測定に使用する器具は次による。これらの器具は、空試験などによって測定に支障のないことを確認しておく。

a. 試験管　試料の秤量に使用する。容量は約 1.5mL 程度が好ましい。

b. ガラスバイアル　口内径 6mm 以上で容量が約 2mL のもの。

3）使用装置

測定に使用する装置は次による。尚、GC/MS/MS の満たすべき条件は、装置、測定条件によって異なる。

a. 多層シリカゲルカラム加熱用ヒーター　温度調節機能を備えたもので、多層シリカゲルカラムに充填した硫酸被覆シリカゲルの上層 3cm を目的温度で持続的に加熱できるもの。

b. アルミナカラム加熱用ヒーター　温度調節機能を備えたもので、アルミナカラムに充填したアルミナを目的温度で持続的に加熱できるもの。

c. ガスクロマトグラフ

i　試料導入部:　スプリットレス方式で温度を 220℃以上 300℃以下にできるもの、又はクールドオンカラム方式で温度を 100℃以上 300℃以下にできるもの。

ii　カラム:　0.53mm 長さ 10m のキャピラリーカラムで、前段に内径 0.1mm 長さ 0.6m の液相を使用していないキャピラリーカラムを接続したもの。使用する GC カラムは PCB 全 209 各化合物の溶出位置が実際の測定に採用する GC 条件において判明していなければならない。

iii　キャリヤーガス:　純度 99.999%以上のヘリウムを用いる。いずれも適切な線速度に調節する。

iv　カラム恒温槽温度:　60℃以上 320℃以下の間で温度を一定に保つことができ、1 分間に 20℃以上の昇温ができるもの。

d. 質量分析計

i　トリプルステージ（タンデム、三連四重極)型質量分析計であって、前駆イオンをアルゴンガスにより衝突誘起解離させて生じた生成イオンを測定できるもの。

ii　接続部温度:　220 から 300℃で使用可能なもの。

iii　イオン源:　電子イオン化(EI)方式が可能で、温度を 200℃以上に保てるもの。

iv　電子加速電圧:　20 から 70V で使用可能なもの。

(4) 前処理

1）試料の調製

a. 試料約 0.1g※2）を試験管に秤量し、100ng/μL のクリーンアップスパイク溶液 20μL※3）を添加した後、イソオクタンを加えて全量を約 200μL とする。

b. (4).1.a で調製した溶液を多層シリカゲルカラムに移し入れ、試験管をイソオクタン 200μL で 3 回洗い込んだ後、イソオクタン 200μL にて多層シリカゲルカラムの内壁を洗浄する※4）。

c. 多層シリカゲルカラムに移し入れた溶液が展開している部分※5) を多層シリカゲルカラム加熱用ヒーターで 85℃にて 60 分間※6) 加熱した後、多層シリカゲルカラムを 40℃以下になるまで放冷する。

d. アルミナカラムを多層シリカゲルカラム下端に接続した後、ヘキサン 20mL※7) を流下させる。

e. アルミナカラムを多層シリカゲルカラムと切り離し、アルミナカラム加熱用ヒーターで 85℃※8) に加熱しながら、清浄な空気もしくは窒素をアルミナカラムに吹き込み、アルミナカラムに残留しているヘキサンを乾燥する。

f. 上下逆転させたアルミナカラムをアルミナカラム加熱用ヒーターで 85℃に加熱しながらトルエン 600μL※9) を添加し、アルミナカラム下端にガラスバイアルを置いて、約 200 から 300μL の溶出液を得る。100ng/mL のシリンジスパイク溶液 20μL※3) を添加してよく攪拌したものを測定溶液とする。

(5) 機器測定

1) 測定条件

測定条件例、各塩素のクロマトグラフ例を附属書 2.3.1 に示す。

2) 定量法（1）

a. 測定質量数の設定　対象物質及びクリーンアップスパイクそれぞれのプリカーサーイオン及びプロダクトイオン(m/z)（付表 2.3.1.1）を設定し、各ピークの保持時間が適切な範囲にあり、要求される下限値は約 1ng/mL が満たされ、安定した応答が得られるように、装置を適切に設定する※10)。

b. 質量分析計の調整　装置が作動している状態で必要な項目の条件を設定した後、質量校正用標準物質を導入し質量校正用プログラムによって行う。

c. 検量線の作成　検量線用 PCB 標準溶液を用いて、JIS K0093 の 6.5 に従って検量線を作成する。

d. 相対感度の算出　各標準物質及びクリーンアップスパイクのピーク面積を求め、各標準物質の対応する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その標準物質とクリーンアップスパイクの濃度の比を求めて検量線を作成し、相対感度係数（以下 RRF）を算出する。同一塩素数に 2 種類以上の標準物質がある場合は、それぞれから算出された RRF の平均値とする。

$$RRF = \frac{\text{標準物質のピーク面積} \times \text{標準溶液中のクリーンアップスパイクの濃度}}{\text{クリーンアップスパイクのピーク面積} \times \text{標準溶液中の標準物質の濃度}}$$

e. 試料の測定　前処理操作で得られた測定溶液を GC/MS/MS に注入し、得られたクロ

マトグラムから PCB 化合物の種類ごとに、次に掲げる式によって試料中の濃度を算出する。尚、PCB 化合物の同定に当たっては、相対溶出時間およびピークにおけるイオン強度比が PCB 標準物質および PCB 同定用物質のものとほぼ同等であること。

$$\text{当該塩素化合物の濃度（ng/g）} = \frac{\text{当該塩素化合物のピーク面積} \times \text{試料に添加した内標準物質の量（ng）}}{\text{当該塩素化合物に対応する内標準物質のピーク面積} \times \text{RRF}} \times \frac{1}{\text{試料量（g）}}$$

f. PCB 濃度の算出　(5).2).e で算出した個々の PCB 濃度の総和を、試料中の PCB 濃度とする。

g. 回収率の確認　クリーンアップスパイクの回収率は、JIS K0093 の 6.4 i)に従って算出し、二塩化ビフェニルから八塩化ビフェニルにおいていずれも 50％以上 120％以下であることを確認しておく。

算出された数値の精度管理に関しては、「1.5 精度管理について」に従うこと。

3) 定量法（２）

本法では、簡易定量法として 13 異性体を測定して、PCB 量に換算する方法も採用することができる。この計算法については後述の 2.6 PCB の一部の化合物濃度から全 PCB 濃度を計算する簡易定量法を参照すること。尚、13 異性体の分析のためには、ガスクロマトグラフの分離を良くすることが望ましい。

算出された数値の精度管理に関しては、「1.5 精度管理について」に従うこと。

(6) 留意事項

測定操作において留意すべき点を以下に示す。

※１　これらのカラムは実験室内で自製しても良い。自製した場合は、十分な精製効果及び回収率が得られることを確認しておくこと。尚、商品化された製品もあり、又、カラムを装着して試料の前処理を行う装置もあるので、便利に用いることができる。これらのカラムは、洗浄された状態で販売されているカラムを用いる時は、特に使用前の洗浄は行わなく済む。

※２　試料量は減量しても良いが、秤量に用いる天秤の精度と PCB の測定における感度が確保されることを確認すること。

※３　これと異なる濃度を用いても良い。但し、添加量は 50μL 以下とすること。

※４　多層シリカゲルカラムに移し入れる溶液及び洗浄液量は合計でほぼ 1mL とする。この液量以下あるいは以上であると精製効率が低下することがある。

※５　硫酸被覆シリカゲルの上層約 3cm に相当する。この部分以外を加熱すると精製

効率の低下及び PCB の回収率低下が発生することがある。尚、加熱範囲にあるカラム中心部分の温度が設定温度になるように、予め加熱条件を検討しておくこと。

※６　加熱温度は 60℃から 90℃の範囲で、加熱時間は任意の範囲で変化させても良いが、85℃にて 60 分間加熱する場合と同等の精製効果が得られること。

※７　ヘキサンの液量を変化させても良いが、PCB の回収率が確保されることを確認すること。

※８　加熱温度を変化させても良いが、PCB の回収率が確保されることを確認すること。

※９　トルエンの液量を変化させても良いが、PCB の回収率と測定における感度が確保されることを確認すること。

※１０　質量取込時間を長くしたり、グルーピングを行っても良い。又、四重極の配置やコリジョンガスが異なる装置において感度が取れない場合には設定質量やコリジョンエネルギーを調整する。

附属書 2.3.1　測定条件の例

測定カラム：VF Rapid-MS for PCB　0.6m x 0.1mm I.D. + 10m x 0.53mmI.D.

測定条件：カラム流量：ヘリウム 1.5mL/min パルス 30psi(1min)

カラム温度：85 ℃(1 min) - 40 ℃/min - 305 ℃(0.5 min)

注入口温度：300 ℃

注入方法：スプリットレス(スプリットレスタイム 0.75 min)

注入量：2μL

MS 温度：イオン源　220℃

アナライザー　40℃

GC/MS/MS 接続部温度　300℃

イオン化法：EI 70eV

イオン検出方法：MS/MS(MRM)法

(コリジョンガス：アルゴン圧力 2mTorr)

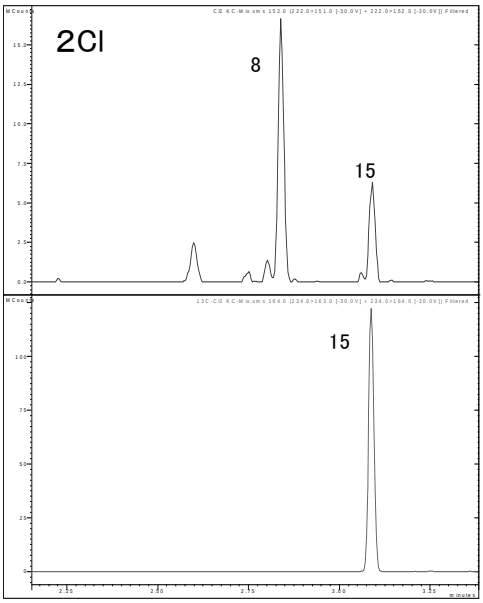
付表 2.3.1.1 トリプルステージ形 GC/MS/MS における PCB 化合物の測定条件

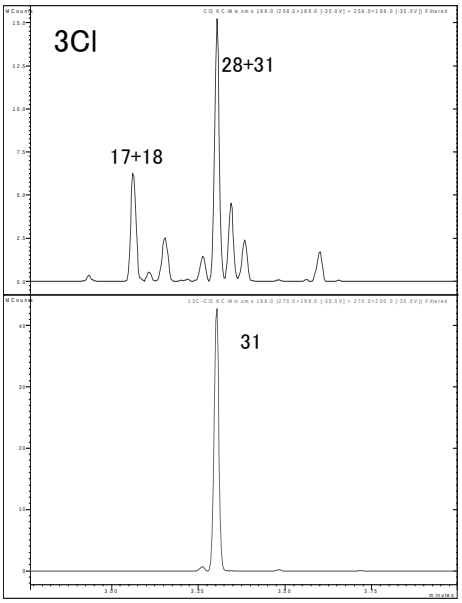
Native の場合

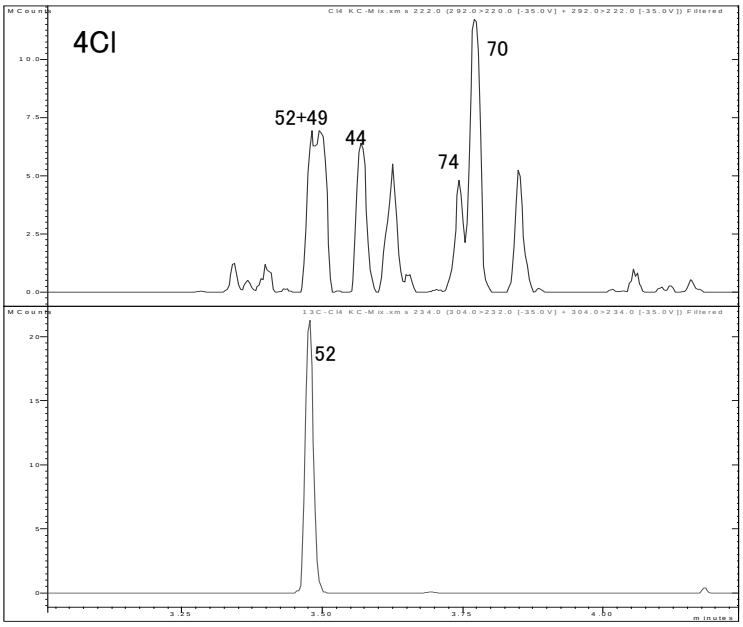
	分子量	Q1 の設定	Q3 の設定		コリジョン	質量取込時間
	(M)		モニター1	モニター2	エネルギー	(msec)
1 塩素ﾋﾞﾌｪﾆﾙ	188	188(M)	152	153	-20	10
2 塩素ﾋﾞﾌｪﾆﾙ	222	222(M)	152	151	-30	10
3 塩素ﾋﾞﾌｪﾆﾙ	256	258 (M+2)	186	188	-35	10
4 塩素ﾋﾞﾌｪﾆﾙ	290	292 (M+2)	222	220	-35	10
5 塩素ﾋﾞﾌｪﾆﾙ	324	326 (M+2)	256	254	-35	10
6 塩素ﾋﾞﾌｪﾆﾙ	358	360 (M+2)	290	288	-35	10
7 塩素ﾋﾞﾌｪﾆﾙ	392	396 (M+4)	326	324	-35	10
8 塩素ﾋﾞﾌｪﾆﾙ	426	430 (M+4)	360	358	-35	10
9 塩素ﾋﾞﾌｪﾆﾙ	460	464 (M+4)	394	392	-35	10
10 塩素ﾋﾞﾌｪﾆﾙ	494	498 (M+4)	428	426	-35	10

^{13}C ラベル体の場合

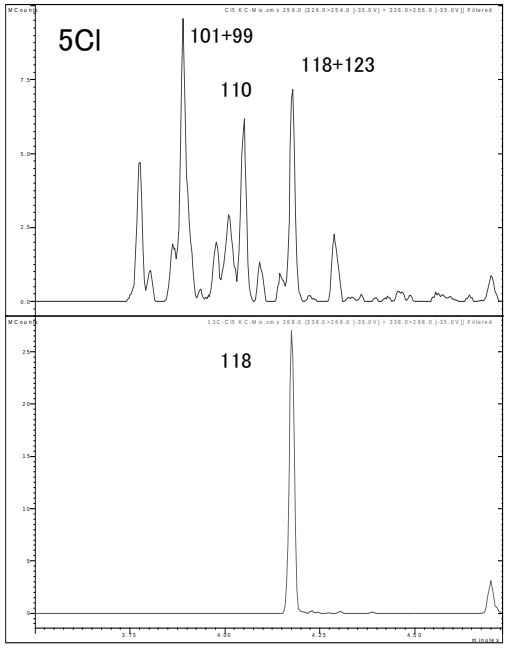
	分子量	Q1 の設定	Q3 の設定		コリジョン	質量取込時間
	(M)		モニター1	モニター2	エネルギー	(msec)
1 塩素ﾋﾞﾌｪﾆﾙ	200	200(M)	164	165	-20	10
2 塩素ﾋﾞﾌｪﾆﾙ	234	234(M)	164	163	-30	10
3 塩素ﾋﾞﾌｪﾆﾙ	268	270 (M+2)	198	200	-35	10
4 塩素ﾋﾞﾌｪﾆﾙ	302	304 (M+2)	234	232	-35	10
5 塩素ﾋﾞﾌｪﾆﾙ	336	338 (M+2)	268	266	-35	10
6 塩素ﾋﾞﾌｪﾆﾙ	370	372 (M+2)	302	300	-35	10
7 塩素ﾋﾞﾌｪﾆﾙ	404	408 (M+4)	338	336	-35	10
8 塩素ﾋﾞﾌｪﾆﾙ	438	442 (M+4)	372	370	-35	10
9 塩素ﾋﾞﾌｪﾆﾙ	472	476 (M+4)	406	404	-35	10
10 塩素ﾋﾞﾌｪﾆﾙ	506	510 (M+4)	440	438	-35	10

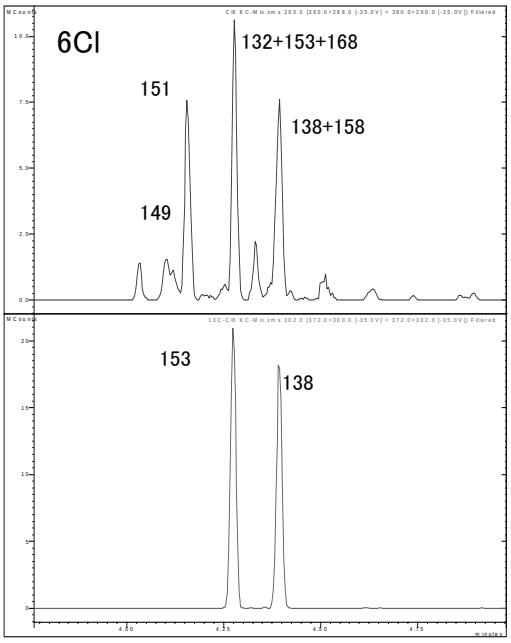


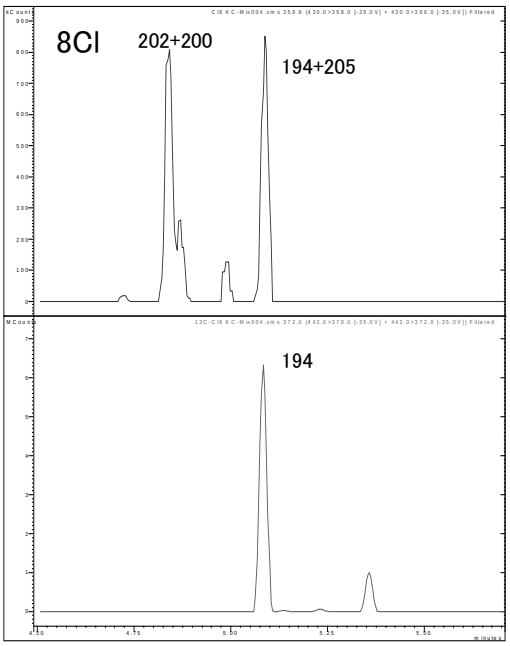


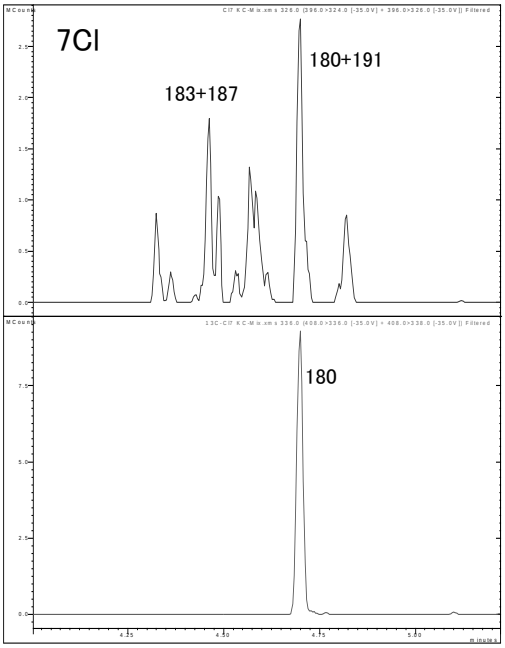


付図 2.3.1.1　GC/MS/MS による各塩素のクロマトグラフラム
（上段：ネイティブ PCB　下段：^{13}C 標識化 PCB）









付図 2.3.1.1　GC/MS/MS による各塩素のクロマトグラム

（上段：ネイティブ PCB　下段：13C 標識化 PCB）

2.4　ガスクロマトグラフ/四重極型質量分析計(GC/QMS)を適用した簡易定量法

2.4.1　加熱多層シリカゲルカラム/アルミナカラム/ガスクロマトグラフ/四重極型質量分析（GC/QMS）法

(1)　概要（適用範囲）

ここに定める方法は、ガスクロマトグラフ四重極型質量分析計（GC/QMS）を用いた、測定方法である。

(2)　測定の概要

1)　測定の概要

試料を加熱固相カラム（多層シリカゲルカラム及びアルミナカラム）によりクリーンアップし、GC/QMS を用いて定量する方法である。

2)　測定操作フロー

測定フローを図 2.4.1.1 に示す。尚、フロー図に記載された条件は一例である。

クリーンアップ方法は、2.1.2 記載のクリーンアップ方法と同じ操作である。

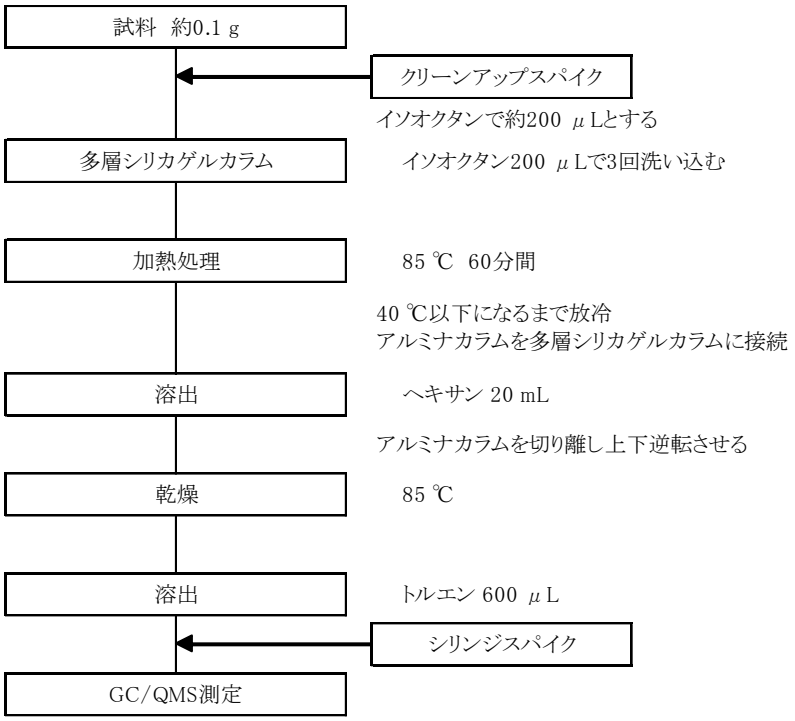


図 2.4.1.1　測定フロー

(3) 試薬、器具及び装置

1) 試薬

測定に使用する試薬は次による。これらの試薬は、空試験などによって測定に支障のないことを確認しておく。又、記述以外の試薬を使用する場合も同等の試験を行い、測定に支障のないことを確認しておく。

a. ヘキサン　JIS K8825 に規定するもの、又は同等のもの。

b. トルエン　JIS K8680 に規定するもの、又は同等のもの。

c. イソオクタン　JIS K9703 に規定するもの。

d. 多層シリカゲルカラム及びアルミナカラム　44%硫酸被覆シリカゲル 3.8g、15%硝酸銀 15%硝酸銅被覆シリカゲル 1.4g を充填したカラム、並びに、活性化を施したアルミナ 0.6g を充填したカラム※1)。2.1.2 の図 2.1.2.2 にカラムの一例を示す。

e. PCB 標準溶液　塩素化合物の内 2,4’-D2CB(IUPAC No.8)、2,4,4’-T3CB(IUPAC No.28)、2,2’,5,5’-T4CB(IUPAC No.52)、2,2’,4,5,5’-P5CB(IUPAC No.101)、2,3’,4,4’,5-P5CB(IUPAC No.118)、2,2’,3,4,4’,5’-H6CB(IUPAC No.138)、2,2’,4,4’,5,5’-H6CB(IUPAC No.153)、2,2’,3,4,4’,5,5’-H7CB(IUPAC No.180)、2,2’,3,3’,4,4’,5,5’-O8CB(IUPAC No.194)の PCB 標準物質を含んだ混合標準溶液。

f. クリーンアップスパイク溶液※2)　PCB 標準物質の $^{13}C_{12}$ 標識化 PCB を含んだ混合標準溶液を、使用する質量分析計に最適な濃度に調製したイソオクタン溶液。

g. シリンジスパイク溶液※2)※3)　1 種類以上の $^{13}C_{12}$ 標識化 PCB を含んだ混合標準溶液を、使用する質量分析計に最適な濃度に調製したトルエン溶液。

h. 検量線用 PCB 標準溶液　PCB 標準物質、クリーンアップスパイク及びシリンジスパイクをトルエンに溶かしたもの。クリーンアップスパイク及びシリンジスパイクの濃度が、使用する質量分析計に最適な濃度で一定であり、PCB 標準物質の濃度が使用する質量分析計の測定可能範囲内で 4 ないし 5 段階以上となるように設定したもの。約 PCB 標準物質が 0.001 から 1 mg/L 程度に調製する。

i. 質量校正用標準物質　ペルフルオロトリブチルアミン(PFTBA)等の質量分析計用を使用する。

2) 器具

測定に使用する器具は次による。これらの器具は、空試験などによって測定に支障のないことを確認しておく。

a. 試験管　試料の秤量に使用する。容量は約 1.5mL 程度が好ましい。

b. ガラスバイアル　口内径 6mm 以上で容量が約 2mL のもの。

3）装置

測定に用いる装置は次による。尚、GC/QMS の満たすべき条件は、装置、測定条件によって異なる。

a. 多層シリカゲルカラム加熱用ヒーター　温度調節機能を備えたもので、多層シリカゲルカラムに充填した硫酸被覆シリカゲルの上層 3cm を目的温度で持続的に加熱できるもの。

b. アルミナカラム加熱用ヒーター　温度調節機能を備えたもので、アルミナカラムに充填したアルミナを目的温度で持続的に加熱できるもの。

c. ガスクロマトグラフ

ⅰ　試料導入部:　スプリットレス方式で温度を220℃以上300℃以下にできるもの、又はクールオンカラム方式で温度を 100℃以上 300℃以下にできるもの。

ⅱ　カラム：　内径 0.10㎜ 以上 0.32㎜ 以下及び長さ 10m 以上のキャピラリーカラムで、図 1.2.2 の例と同等の分離性能をもつもので、使用する GC カラムは PCB 全 209 各化合物の溶出位置が実際の測定に採用する GC 条件において判明していなければならない※4)。

ⅲ　キャリヤーガス：　純度 99.999%以上のヘリウム又は水素を用いる。いずれも適切な線速度に調節する。

ⅳ　カラム温度：　60℃以上 320℃以下の間で温度を一定に保つことができ、1 分間に 20℃以上の昇温ができるもの。

d. 質量分析計

ⅰ　検出器：　選択イオン検出法（SIM 法）が行えるもの。

ⅱ　GC/MS 接続部温度：　220 から 300℃で使用可能なもの。

ⅲ　イオン源：　電子イオン化(EI)方式が可能で、温度を 230 から 280℃に保てるもの。

ⅳ　電子加速電圧：　40 から 70V で使用可能なもの。

ⅴ　測定イオン：　対象物質とクリーンアップスパイクの選択イオンの例をそれぞれ表 2.4.1.2 と表 2.4.1.3 に示す。定量用の選択イオンが妨害を受ける場合は、妨害を受けていない確認用の選択イオンを用いて定量を行う。

表 2.4.1.2 対象物質選択イオンの例

対象物質	選択イオン(m/z)		
	定量用	確認用	
二塩化ビフェニル	222.0	224.0	—
三塩化ビフェニル	256.0	258.0	260.0
四塩化ビフェニル	289.9	291.9	293.9
五塩化ビフェニル	325.9	323.9	327.9
六塩化ビフェニル	359.8	361.8	357.8
七塩化ビフェニル	393.8	395.8	397.8
八塩化ビフェニル	429.8	427.8	431.8

表 2.4.1.3 クリーンアップスパイク物質選択イオンの例

対象物質	選択イオン(m/z)	
	定量用	確認用
二塩化[$^{13}C_{12}$]ビフェニル	234.0	236.0
三塩化[$^{13}C_{12}$]ビフェニル	268.0	270.0
四塩化[$^{13}C_{12}$]ビフェニル	302.0	304.0
五塩化[$^{13}C_{12}$]ビフェニル	335.9	337.9
六塩化[$^{13}C_{12}$]ビフェニル	371.9	373.9
七塩化[$^{13}C_{12}$]ビフェニル	405.8	407.8
八塩化[$^{13}C_{12}$]ビフェニル	439.8	441.8

(4) 前処理

1) 試料の調製

a. 試料約 0.1g※5)を試験管に秤量し、100ng/mL のクリーンアップスパイク溶液 20μL※6) を添加した後、イソオクタンを加えて全量を約 200μL とする。

2) 加熱固相カラム前処理

a. (4).1)の操作で調製した溶液を多層シリカゲルカラムに移し入れ、試験管をイソオクタン 200μL で 3 回洗い込んだ後、イソオクタン 200μL にて多層シリカゲルカラムの内壁を洗浄する※7)。

b. 多層シリカゲルカラムに移し入れた溶液が展開している部分※8) を多層シリカゲルカラム加熱用ヒーターで 85℃にて 60 分間※9) 加熱した後、多層シリカゲルカラムを 40℃以下になるまで放冷する。

c. アルミナカラムを多層シリカゲルカラム下端に接続した後、ヘキサン 20mL※10) を流下させる。

d. アルミナカラムを多層シリカゲルカラムと切り離し、アルミナカラム加熱用ヒーターで 85℃※11) に加熱しながら、清浄な空気もしくは窒素をアルミナカラムに吹き込み、アルミナカラムに残留しているヘキサンを乾燥する。

e. 上下逆転させたアルミナカラムをアルミナカラム加熱用ヒーターで 85℃に加熱しながらトルエン 600μL※12) を添加し、アルミナカラム下端にガラスバイアルを置いて、約 200 から 300μL の溶出液を得る。100ng/mL のシリンジスパイク溶液 20μL※6) を添加してよく攪拌したものを測定溶液とする。

(5) 機器測定

1) 測定条件

a. GC/QMS の設定

あらかじめ GC/QMS に、対象物質及びクリーンアップスパイクの各フラグメントイオンの選択イオン(m/z)（表 2.4.1.1、表 2.4.1.2 を参照）を設定し、各ピークの保持時間が適切な範囲にあり、総 PCB 濃度で 0.15 mg/kg 以下の検出下限値が満たされ、安定した応答が得られるように、GC/QMS を適切に設定する。測定条件例を付表 2.4.1.1 に示す。

b．相対感度係数の算出

段階的に作製した検量線用 PCB 標準溶液を測定し、それぞれの濃度段階について、各 PCB 標準物質及び各クリーンアップスパイクのピーク面積をそれぞれ求める。各 PCB 標準物質の対応するクリーンアップスパイクに対するピーク面積の比と、注入した PCB 標準溶液中のその PCB 標準物質とクリーンアップスパイクの濃度の比を求め、次に掲げる式によって相対感度係数（RRF）を算出する。同一塩素数に 2 種類以上の PCB 標準物質がある場合は、それぞれから算出された RRF の平均値とする。

$$RRF = \frac{\text{標準物質のピーク面積} \times \text{標準溶液中のクリーンアップスパイクの濃度}}{\text{クリーンアップスパイクのピーク面積} \times \text{標準溶液中の標準物質の濃度}}$$

2) 試料の測定及び定性（ピーク同定）方法

KC-300、KC-400、KC-500 及び KC-600 を重量比 1:1:1:1 の割合で混合したトルエン溶液を測定し、測定対象物質の保持時間を確認する。(4).2).e で得られた測定溶液を測定し、各対象物質について定量用及び確認用として設定した選択イオンのピークイオン強度の比が、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±20%以内であることを確認してピーク面積を求める。クロマトグラムの例（二塩化ビフェニルから八塩化ビフェニル）を付図 2.4.1.1 に示す。

個々の PCB の検出量は次の式によって求める。ここで、A_s は対象物質の測定イオン

による面積を、A_{is} はクリーンアップスパイクの測定イオンによる面積を表し、C_{is} は試料に添加したクリーンアップスパイクの量を表す。尚、同一塩素数に 2 種類以上のクリーンアップスパイクがある場合、A_{is} はそれぞれの面積の平均値とする。

$$\text{PCB検出量(ng)} = \frac{\text{As} \times \text{Cis(ng)}}{\text{Ais} \times \text{RRF}}$$

3) 定量法（１）

a. PCB 濃度の定量

次に掲げる式によって試料中の PCB 濃度（mg/kg） を求める。

$$\text{PCB濃度(mg/kg)} = \text{PCB検出量の総和(μg)} \times \frac{1}{\text{試料量(g)}}$$

b. 回収率の確認

段階的にとった検量線用 PCB 標準溶液中のクリーンアップスパイクの選択イオンによる面積とシリンジスパイクの選択イオンの面積とのそれぞれの比を求め、その平均値を算出する。(5).2)で求めた試料に添加したクリーンアップスパイクとシリンジスパイクとの面積の比及び上記で求めた比の平均値との比を求め、その百分率を回収率とする。回収率は、二塩化ビフェニルから八塩化ビフェニルにおいていずれも 50%以上 120%以下であることを確認する。この範囲から外れるときは再度前処理を行い、再測定する。

算出された数値の精度管理に関しては、「1.5 精度管理について」に従うこと。

4) 定量法（２）

本法では、簡易定量法として 13 異性体を測定して、PCB 量に換算する方法も採用することができる。この計算法については後述の 2.6 PCB の一部の化合物濃度から全 PCB 濃度を計算する簡易定量法を参照すること。尚、13 異性体の分析のためには、ガスクロマトグラフの分離を良くすることが望ましい。

算出された数値の精度管理に関しては、「1.5 精度管理について」に従うこと。

(6) 留意事項

測定操作において留意すべき点を以下に示す。

※１　これらのカラムは実験室内で自製しても良い。自製した場合は、十分な精製効果及び回収率が得られることを確認しておくこと。尚、商品化された製品もあり、又、カラムを装着して試料の前処理を行う装置もあるので、便利に用いることができる。これらのカラムは、洗浄された状態で販売されているカラムを用いる時は、特に使用前の洗浄は行わなく済む。

※２　クリーンアップスパイクによっては、GC/QMS の測定条件によって測定に妨害を与える場合があるので、その使用に際しては、十分に検討・確認をしておく。

※３　GC/QMS において PCB 化合物のピークと重ならない PCB 以外の化合物、例えば重水素等で標識化した PAH 等をシリンジスパイクとして使用しても良い。

※４　0.32mm より大きな内径のカラムであっても、カラムの前段に内径 0.32mm 以下のカラムを接続すること等によって、同等の分離性能をもち、PCB 化合物の溶出順位の判明しているものは使用できる。

※５　試料量は減量しても良いが、秤量に用いる天秤の精度と PCB の測定における感度が確保されることを確認すること。

※６　これと異なる濃度を用いても良い。但し、添加量は 50μL 以下とすること。

※７　多層シリカゲルカラムに移し入れる溶液及び洗浄液量は合計でほぼ 1mL とする。この液量以下あるいは以上であると精製効率が低下することがある。

※８　硫酸被覆シリカゲルの上層約 3cm に相当する。この部分以外を加熱すると精製効率が低下及び PCB の回収率が低下することがある。尚、加熱範囲にあるカラム中心部分の温度が設定温度になるように、予め加熱条件を検討しておくこと。

※９　加熱温度は 60 から 90℃の範囲で、加熱時間は任意の範囲で変化させても良いが、85℃にて 60 分間加熱する場合と同等の精製効果が得られること。

※１０　ヘキサンの液量を変化させても良いが、PCB の回収率が確保されることを確認すること。

※１１　加熱温度を変化させても良いが、PCB の回収率が確保されることを確認すること。

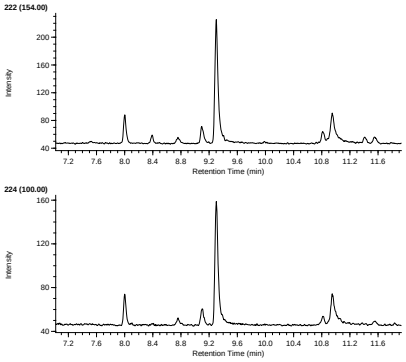
※１２　トルエンの液量を変化させても良いが、PCB の回収率と測定における感度が確保されることを確認すること。

附属書 2.4.1　測定条件の例

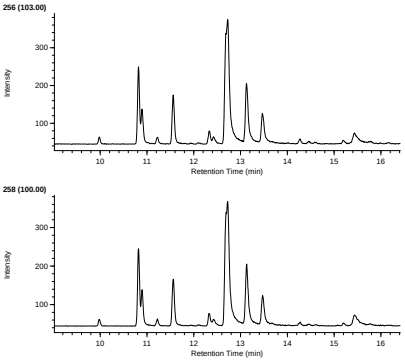
付表 2.4.1.1　測定条件の例

項目	測定条件例1	測定条件例2	測定条件例3
カラム	DB-5MS 30 m×0.25 mmI.D. df = 0.25 μ m	DB-5MS 20 m×0.18 mmI.D. df = 0.18 μ m	VF Rapid-MS PCB 0.6 m×0.10 mmI.D. + 10 m×0.53 mmI.D. df = 0.25 μ m
カラム温度	100 ℃(1 min) ～20 ℃/min～160 ℃ ～3 ℃/min～ 220 ℃(3 min) ～6 ℃/min～295 ℃	100 ℃(1 min) ～50 ℃/min～160 ℃ ～10 ℃/min～180 ℃ ～15 ℃/min～260 ℃ ～25 ℃/min～290 ℃	100 ℃(1 min) ～40 ℃/min～170 ℃ ～10 ℃/min～220 ℃ ～40 ℃/min～280 ℃
キャリヤーガス	ヘリウム	水素	ヘリウム
初期注入口圧力	89 kPa 40 cm/s, 1.2 ml/min コンスタントフロー	78 kPa 66 cm/s, 1.0 ml/min コンスタントフロー	79 kPa 64 cm/s, 1.0 ml/min コンスタントフロー
注入口温度	250 ℃	250 ℃	250 ℃
注入方法	スプリットレス(2 min)	スプリットレス(1 min)	スプリットレス(1 min)
注入量	2 μ l	2 μ l	2 μ l
インターフェイス温度	280 ℃	280 ℃	280 ℃
イオン化電流	35 μ A	35 μ A	35 μ A
イオン化電圧	70 V	70 V	70 V
イオン源温度	230 ℃	230 ℃	230 ℃
四重極温度	150 ℃	150 ℃	150 ℃

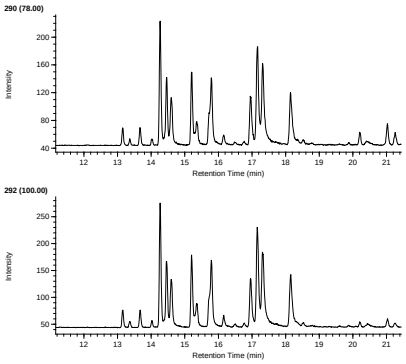
D2CB



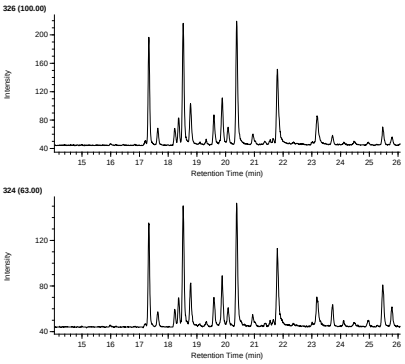
T3CB



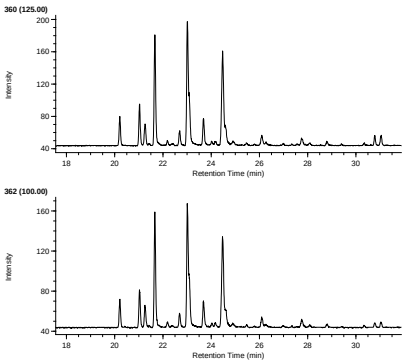
T4CB



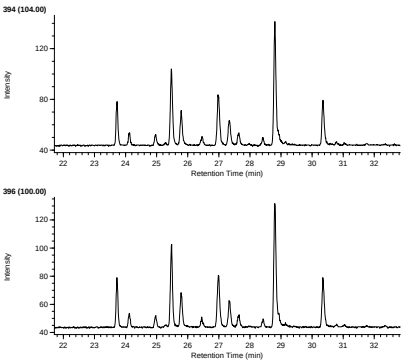
P5CB



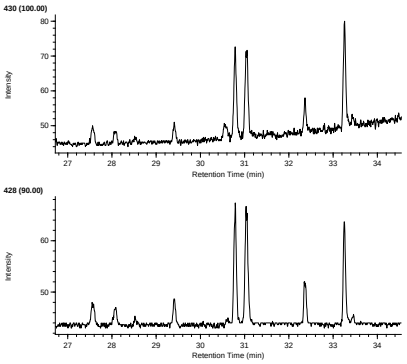
H6CB



H7CB



O8CB



付図 2.4.1.1　測定条件例 1 によるクロマトグラムの例

2.5　負イオン化学イオン化質量分析計(GC/NICI-MS)を適用した簡易定量法

本マニュアルでは、GC/NICI-MS 法を適用した簡易定量法として以下の技術を定める。

2.5.1　スルホキシドカートリッジ/ガスクロマトグラフ/負イオン化学イオン化質量分析計(GC/NICI-MS)法

(1) 概要（適用範囲）

ここに定める方法は、キャピラリーガスクロマトグラフ/負イオン化学イオン化質量分析計(GC/NICI-MS)を用いた、変圧器やコンデンサ等の重電機器に使用される電気絶縁油中のポリ塩化ビフェニル（PCB）の前処理及び機器測定について適用する。

(2) 測定の概要

1)測定の概要

本方法は、硫酸処理及びスルホキシドカラムカートリッジでクリーンアップを行い、その PCB 分画を GC/NICI-MS により測定を行う[※1)]。

2)測定操作フロー

測定操作フローを図 2.5.1.1 に示す。

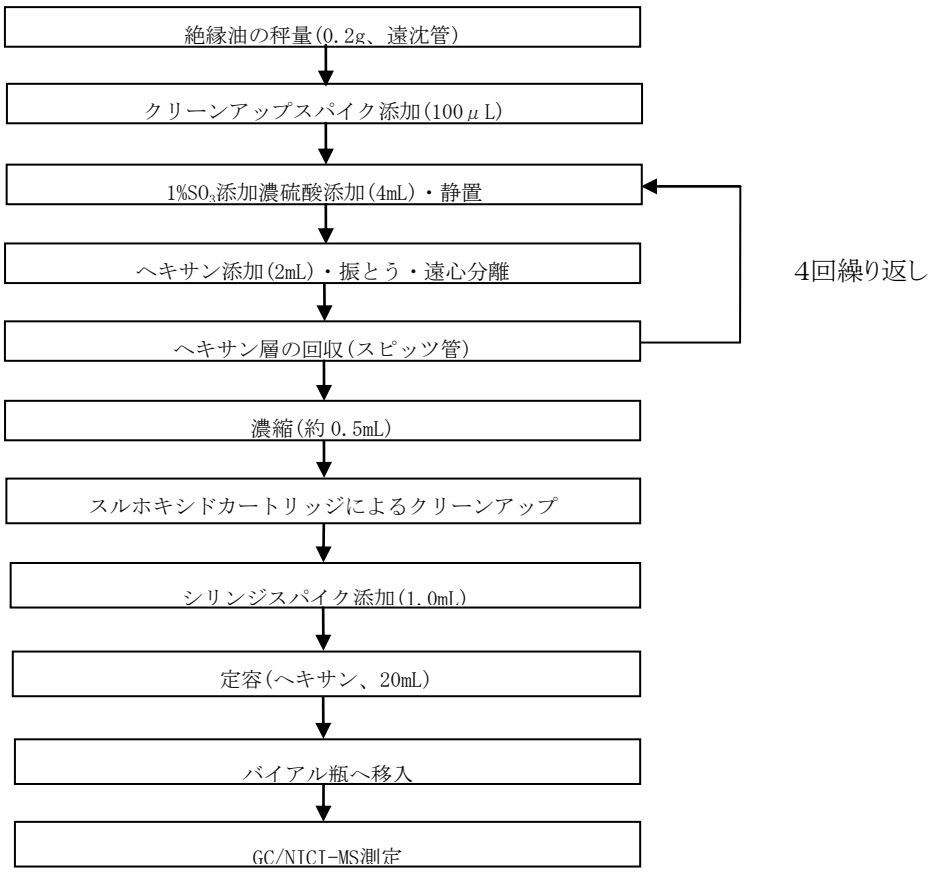


図 2.5.1.1　測定操作フロー

(3) 試薬及び使用器具

1) 試薬

測定に使用する試薬は次による。これらの試薬は、空試験などによって測定に支障のないことを確認しておく。又、記述以外の試薬を使用する場合も同等の試験を行い、測定に支障のないことを確認しておく。

a. **ヘキサン**　JIS K8825 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

b. **アセトン**　JIS K8040 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

c. **スルホキシドカートリッジ**　市販のスルホキサイド基やアンモニウムイオンを固定化したクロマトグラフィー担体をパッキングした固相抽出カートリッジで、PCB と絶縁油の溶出状況が判明し、かつ PCB の回収率が確認出来ているもの※2)。

d. **PCB 標準溶液**　KC-300, KC-400, KC-500 及び KC-600 を重量比 1:1:1:1 の割合で混合し、ヘキサンで 100mg/L に調整したもの。

i　1mg/L PCB 標準溶液：PCB 標準溶液（濃度 100mg/L）をホールピペットで 1mL 分取し、ヘキサンで 100mL とし 1mg/L PCB 標準溶液を調製したもの。

ii　0.1mg/L 標準溶液：1mg/L PCB 標準溶液をホールピペットで 1mL とり、ヘキサンで 10mL とし 0.1mg/L PCB 標準溶液を調製したもの。

e. **クリーンアップスパイク混合標準溶液**　2,3,5-トリクロロビフェニル（IUPAC No.23)、2,4,6-トリクロロビフェニル（IUPAC No.30)、2,3,3',4-テトラクロロビフェニル（IUPAC No.55)、2,2',3,3',4,4',5,6,6'-ノナクロロビフェニル（IUPAC No.207）をヘキサンで各 PCB 異性体が 0.2 mg/L となるように調製したもの※3)。

f. **シリンジスパイク混合標準溶液**　2-モノブロモビフェニル、2, 4-ジブロモビフェニル、2, 4, 6-トリブロモビフェニル、3,3',5,5'-テトラブロモビフェニル、2,2'4,4',6,6'-ヘキサブロモビフェニルをヘキサンで各臭素化ビフェニル異性体が 0.02 mg/L となるように調製する※4)。

g. **検量線用 PCB 標準溶液の調製**　表 2.5.1.1 に従い 10mL メスフラスコにマイクロシリンジやホールピペットを用いて PCB 標準原液を分取し、上記クリーンアップスパイク標準混合液 50μL 及びシリンジスパイク標準混合液 500μL を加え、ヘキサンで定容し、検量線用 PCB 標準溶液とする。

h. **硫酸処理用硫酸**　1wt.%SO_3 添加濃硫酸。

表 2.5.1.1　検量線用 PCB 標準溶液の作成例（例）

検量線用 PCB 標準溶液濃度		PCB 標準原液分取量【mL】	
調製 PCB 濃度【μg/mL】	標準的な試料分取時における絶縁油中 PCB 濃度換算値【mg/kg】	0.1mg/L PCB 標準溶液	1mg/L PCB 標準溶液
0.001	0.1	0.1	－
0.0015	0.15	0.15	－
0.003	0.3	0.3	－
0.005	0.5	0.5	－
0.01	1	1	－
0.03	3	－	0.3
0.05	5	－	0.5
0.1	10	－	1

2）使用器具

測定に使用する器具は次による。これらの器具は、空試験などによって測定に支障のないことを確認しておく。

a. **10mL 及び 100mL 全量フラスコ**　硬質ガラス製透明摺りのもの。所定の容量を正確に定容できるもの。

b. **スピッツ管もしくは共栓付き試験管**　硬質ガラス製で、所定の容量を誤差精度 3%以内程度の精度で定容できるもの。

c. **パスツールピペット**　ホウ珪酸ガラス製 150mm 程度で、綿栓なしのもの。

d. **マイクロシリンジ**　正確に 100 から 500μL が分取可能なもの。

e. **ホールピペット**　0.5mL 及び 1mL を正確に分取できるもの。

3）使用装置

測定に使用する装置は次による。尚、GC/NICI-MS の満たすべき条件は、装置、測定条件によって異なる。

a. ***ガスクロマトグラフ***

ⅰ 試料導入方法：スプリットレス方式で、温度を温度を 220℃から 300℃で使用可能なもの。

ⅱ 分離カラム　内径 0.10mm 以上 0.32mm 以下及び長さ 10m 以上のキャピラリーカラム。使用する GC カラムは、本マニュアルの図 1.2.2 の例と同等の分離性能をもつもので、PCB 全 209 各化合物の溶出位置が実際の測定に採用する GC 条件において判明していなけれ

ばならない。

iii キャリアーガス 純度 99.999%以上のヘリウムを用いる。

iv カラム槽温度 50℃から 300℃の間で温度を一定に保つことができ、1 分間に 10℃以上で昇温ができるもの。

b. 負イオン化学イオン化-質量分析計

ⅰ 検出器：選択イオン検出法(SIM)が可能なもの。

ⅱ GC/MS 接続部（インターフェイス） 温度：220 から 300℃で使用可能なもの。

ⅲ イオン源：電子イオン化(EI)方式、正イオン化学イオン化(PICI)方式、負イオン化学イオン化(NICI)方式が可能なもので、200 から 280℃に保てるもの。

ⅳ CI 反応ガス:99.99%以上の高純度メタンガスを用いる。

(4) 前処理

1) 試料の秤量及び硫酸処理※5)

a. 絶縁油試料約 0.2g を 10mL の共栓付き試験管に正確に秤量する※6)。

b. クリーンアップスパイク混合標準溶液 100μL を、正確に分取した試料に添加する※7)。

c. 1%発煙硫酸含有硫酸 4mL を添加し、よく振とうした後、10 分間静置する。

d. ヘキサン 2mL を添加し、5 分間振とう後、遠心分離を 5 分間行う。分離後、ヘキサン層を新しい 10mL スピッツ管に回収する。

e. (4).1).c.から(4).1).d.の操作を合計 4 回繰り返す。

f. エバポレーター若しくは窒素吹き付けにより、約 0.5mL まで濃縮する。

2) スルホキシドカートリッジのコンディショニング

コンディショニングは、アセトン約 20mL を通液後、ヘキサン 20mL を通液する。

3) スルホキシドカートリッジでの前処理

a. 試料の添加

(4).1).f.の試料溶液を、(4).2)でコンディショニングしたカートリッジ上に添加する。

b. 絶縁油の溶出

a.及び b.で添加した試料の容量を含め、合計ヘキサン 4mL を展開し※2)、絶縁油を溶出させる。この画分は廃棄する。

c. PCB の溶出

(4).3)b.の操作後、ただちにヘキサン 16mL を展開し※2)、PCB を溶出させ溶出液を

20mL 共栓付き試験管で回収する。

4) 測定用試料溶液の準備

a. シリンジスパイクの添加

(4).3).c.で溶出した試料溶液に、シリンジスパイク混合標準溶液 1mL を、ホールピペットを用いて加える※7)。

b. 溶出液の定容

共栓付き試験管の標線までヘキサンを加え定容後※8)、十分に撹拌を行い混合し、その一部を測定用のバイアル瓶に移し入れる。

(5) 機器測定

1) 装置の調整

測定感度を確保するため、装置の最適条件および調整方法を確認しておくこと。

特にイオン源洗浄などの質量分析計のメンテナンスを行った場合、以下の手順でピークの確認を行う。

i 電子衝撃法（EI）での水と空気のチェック

装置への空気の漏れ（エアリーク）と水分の存在を可能な限り抑えておく。

ii 正イオン化学イオン化法（PICI）でのピーク確認

CI 反応の確認、CI 反応ガス量の調整を行う。

iii 負イオン化学イオン化法（NICI）でのチューニング

NICI 条件でチューニングを行う。35 *m/z* のバックグラウンドの強度を測定に支障がないように抑えておく。

2) ピーク分離および検出感度の確認

本マニュアルの図1.2.2の例と同等の分離性能が得られ、各ピークの保持時間が適切な範囲にあり、絶縁油中の総PCB濃度で0.15mg/kg以下の検出下限値が満たされ、安定した応答が得られるように、GC/NICI-MS を調整しておく。また、あらかじめ NICI-MS の感度の直線性が得られる範囲を確認しておく。また、感度が安定していることを確認しておく。参考として、測定条件の例を付表 2.5.1.1 に、クロマトグラムを付図 2.5.1.1 から付図 2.5.1.6 に示す※9)。

3) 検量線用 PCB 標準溶液及び試料の測定

検量線用 PCB 標準溶液と同量の測定溶液をガスクロマトグラフに注入する。NICI-MS は EI-MS に比べ感度変動が大きいため、検量線用 PCB 標準溶液の測定は、試料間で測定を行い濃度算出計算に用いる。測定順番の組み方の一例を表 2.5.1.2 に示す。

表 2.5.1.2　測定順番の組み方（例）

測定順序	測定試料	備考
1	溶媒	
2	操作ブランク	
3	検量線用 PCB 標準溶液　0.5mg/kg	検量線作成用
4	検量線用 PCB 標準溶液　1.0mg/kg	検量線作成用
5	検量線用 PCB 標準溶液　5.0mg/kg	検量線作成用
6	検量線用 PCB 標準溶液　10mg/kg	検量線作成用
7	溶媒	
8から１７	測定試料　（10 検体）	
１８	溶媒	
１９から２８	測定試料　（10 検体）	
２９	溶媒	
３０	検量線用 PCB 標準溶液　0.5mg/kg	感度変動確認用
３１	検量線用 PCB 標準溶液　5.0mg/kg	感度変動確認用
３２	溶媒	

4）定性方法

検量線用 PCB 標準溶液で得られたクロマトグラムのピークに、本マニュアル図 1.2.2 の例などを参考に、ピーク番号を付ける。また、測定溶液測定時に得られたクロマトグラムのピークにも、その位置(保持時間)に相当する PCB 標準溶液で得られたクロマトグラムの位置のピークのピーク番号と同一のピーク番号を付ける。尚、NICI-MS では、EI-MS に比べ反応ガスのイオン源内の圧力等で保持時間が変動し易い。この場合は、内標準物質(クリーンアップスパイクやシリンジスパイク)に対する相対保持時間から該当するピーク番号を付ける。また、付図 2.5.1.7 を参考にシリンジスパイクもピークアサインを行う。

5）回収率の確認

a. 相対感度係数の算出

検量線用 PCB 標準溶液を GC/NICI-MS に注入して測定し、得られたクロマトグラムから各内標準物質のピーク面積を読み取り、次に掲げる式によって相対感度係数(以下「RRF」という)を算出する。

$$RRF = \frac{\text{クリーンアップスパイクのピーク面積}}{\text{シリンジスパイクのピーク面積}}$$

RRF の算出にはクリーンアップスパイクとして 2,4,6-トリクロロビフェニル（IUPAC No.30）、2,3,3',4-テトラクロロビフェニル（IUPAC No.55）、シリンジスパイクに 2,2’4,4’,6,6’-ヘキサブロモビフェニルを用い、それぞれのクリーンアップスパイクについて個別の RRF を算出する。

b. クリーンアップスパイクの回収率の確認

試料溶液を GC/NICI-MS に注入して測定し、各内標準物質のピーク面積を読み取り、次に掲げる式によって、クリーンアップスパイクの回収率を算出する。

$$\text{クリーンアップスパイクの回収率(\%)} = \frac{\text{クリーンアップスパイクのピーク高さ}}{\text{シリンジスパイクのピーク高さ}} \times \frac{100}{RRF}$$

クリーンアップスパイクである 2,4,6-トリクロロビフェニル（IUPAC No.30）、2,3,3',4-テトラクロロビフェニル（IUPAC No.55）それぞれについて回収率を算出し、そのそれぞれの回収率が 70%以上 120%以下の範囲から外れるときは再度前処理を行い、再分析する※10)。

なお、スルホキシドカートリッジは、特徴的な PCB 異性体の溶出パターンを持っている為、IUPAC No.55 と IUPAC No.207 の PCB 異性体などについても(5).5).a.及び(5).5).b.と同じ手法で回収率を求め、前処理での回収状況で判断を行う※11)。

6）定量法

a. K 値の算出

(5).4).でアサインした検量線用 PCB 標準溶液のクロマトグラムのピークごとに、ピーク面積（A1）を読み取り、その面積と当該ピークのピーク番号に対応する CBO（%）から次の式によって K 値を算出する※12)。

$$K = \frac{CB\%}{A1}$$

b. CB_2 (%)の算出

(5).4).でアサインした試料溶液のクロマトグラムのピークごとに、ピーク面積(A2)を読み取り、その面積と当該ピークのピーク番号にかかる K 値から次の式によってCB_2(%)を算出する※12)。

$$CB_2(\%) = K \times A2$$

c. PCB 濃度の定量

次に掲げる式によって試料の PCB 濃度（mg/kg）を求める※12)、※13)。

$$\text{PCB濃度}\ (\text{mg/kg}) = \text{PCB標準溶液の濃度}\ (\ \mu\text{g/mL}) \times \frac{\Sigma CB_2(\%)}{\Sigma CB_0(\%)} \times \frac{\text{測定溶液の量}\ (\text{mL})}{\text{試料量}\ (\text{g})} \times \frac{100}{\text{クリーンアップスパイクの回収率}\ (\ \%)}$$

(6) 留意事項等

測定操作において留意すべき点などを以下に示す。

※１　GC/NICI-MS法は、PCB等ハロゲン化合物に高感度かつ高選択的に検出が可能であり、また、絶縁油の主成分である炭化水素には感度がない利点を有するため、精製操作を簡略化できる可能性があるが、絶縁油成分が多く残っている場合など夾雑成分が多い場合、EI法よりイオン化に夾雑物の影響を受け易い特徴がある。

※２　溶出状況は条件により異なるため、事前にPCB標準溶液や絶縁油で溶出挙動や回収率を確認する。

※３　クリーンアップスパイクは、工業製品において主要な異性体を避け、定量値に影響を与えないピークであり、前処理操作においてPCB工業製品と挙動の似た異性体を選択することが重要である。濃度及び添加量は、分析装置の感度等から判断し決定すれば良い。最終希釈はヘキサンで行うこと。

※４　濃度及び添加量は、分析装置の感度等から判断し決定すれば良い。

※５　本硫酸処理（(4).1) b.から(4).1).f）は試料によって省略して差し支えない場合がある。そのことが明らかな場合は、油試料0.2gを秤り取り、これにクリーンア

ップスパイク混合溶液100μL※7)、ヘキサン200μLを加えて混和して、その全量を用いてスルホキシドカートリッジで処理（(4).2）以降）を行う。但し、この本硫酸処理を省略した前処理を行い、例のクロマトグラム上に以下のような異常が認められる場合は、本硫酸処理を省略してはならない。

・１臭素化ビフェニルのピーク形状の変化（高さ比 1/3 以下のブロード化）。
・２臭素化ビフェニルのピーク形状の変化（高さ比 1/5 以下のブロード化）。
・m/z35 のクロマトグラムの異常（ベースラインの上昇、ピーク分離の変化、ピークのブロード化）。
・特定の時間帯でのピークの感度低下。

なお、一連の硫酸処理を行いスルホキシドカラムカートリッジクリーンアップした試料溶液におけるクリーンアップスパイク（2,3,5-トリクロロビフェニル/IUPAC No.23と2,4,6-トリクロロビフェニル/IUPAC No.30）の回収率が、70%以上120%以下の範囲から外れるときは、再度硫酸処理を実施する。

※６　試料量は減量しても良いが、秤量に用いる天秤の精度とPCBの測定における感度が確保されることを確認すること。量り取った量を有効数字3桁以上で記録する。

※７　クリーンアップスパイク及びシリンジスパイクについては、これらと異なる濃度を使用しても良いが､測定用液中の濃度が検量線用PCB標準溶液と同じ濃度になるようにすること。

※８　定容量は、分析装置の感度や内標準物質の濃度、夾雑物の濃度などの条件を満たせば増減しても良いが、十分に事前検討を行うこと。

※９　感度が良好な場合、附属書添付の例よりも多くのピーク確認できる場合がある。

※１０　PCB濃度が高い試料を分析した時は、その中に含まれるクリーンアップスパイクが加えて測定されているため、回収率が高く求められる。このような時は絶縁油試料を希釈して再分析する必要がある。

※１１　該当異性体の回収が出来ていない場合、スルホキシドカラムの分画条件を再確認後、該当試料の再分析を行う。

※１２　用いたPCB内標準物質をΣCB0(%)及びΣCB2(%)の計算から除く。

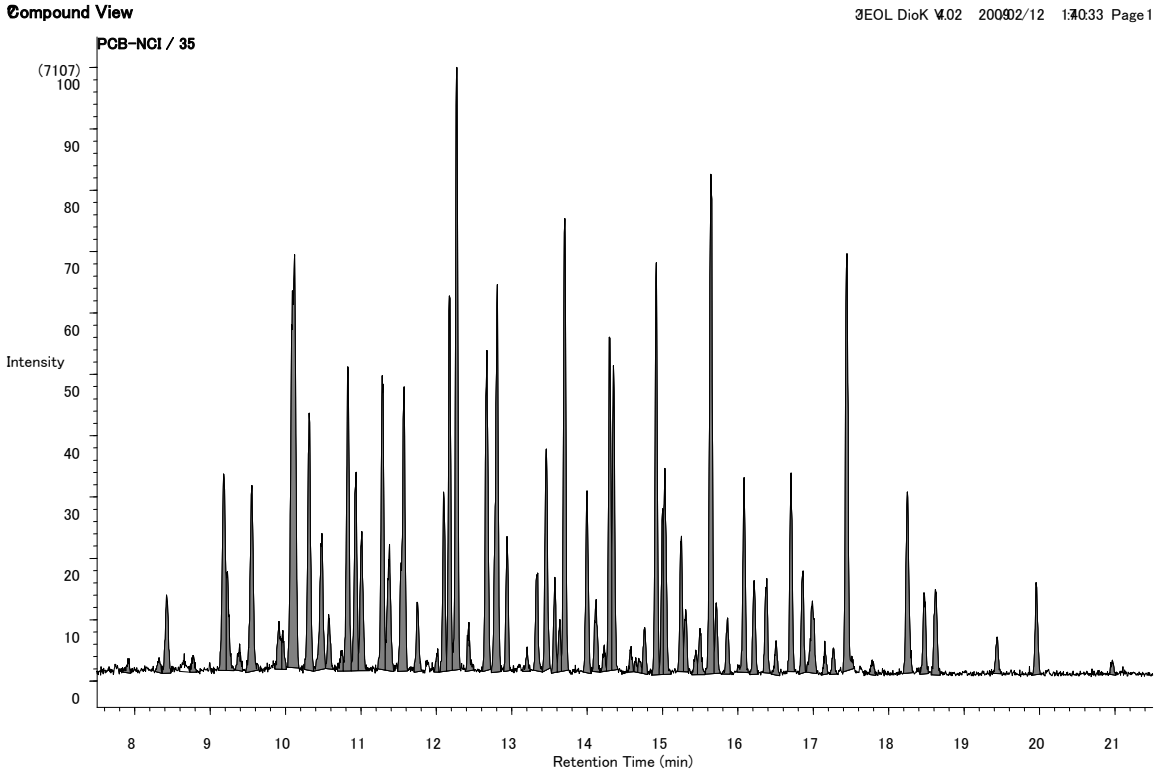
※１３　計算式において、「クリーンアップスパイクの回収率（%)」は2,4,6-トリクロロビフェニル（IUPAC No.30）と2,3,3',4-テトラクロロビフェニル（IUPAC No.55）の平均回収率を採用する。

付属書 2.5.1.1

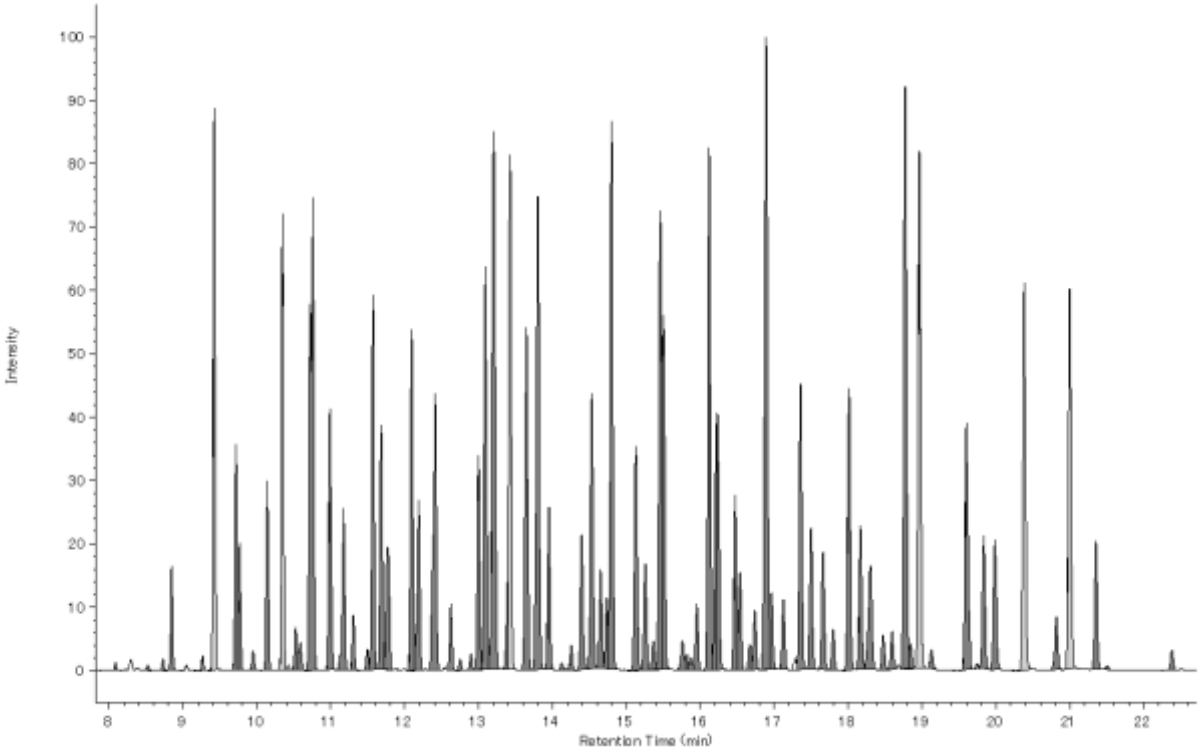
付表 2.5.1.1　ガスクロマトグラフ測定条件(例)

項目	測定条件
GC 条件	
カラム	メチルシリコーン系固定相液体 30m×0.25mm I.D. Df=0.25μm
カラム温度	70℃（1.5 分保持）→30℃/分→185℃→6℃/分→300℃
キャリアーガス	ヘリウム　　1.0mL/min
注入方法	パルスド・スプリットレス（高圧注入法） パージ時間：1.9 分 注入圧力：25.0psi 高圧注入時間：2.0 分 もしくは スプリットレス パージ時間 2.0 分
注入高温度	300℃
注入量	１から３μℓ（測定感度に応じて選択する）
MS 条件	
イオン化方法	負イオン化学イオン化法
イオン源温度	250℃
インタフェース温度	280℃
SIM ﾓﾆﾀｰｲｵﾝ	m/z ： 35（塩素） m/z ： 81（臭素）
反応ガス	メタン

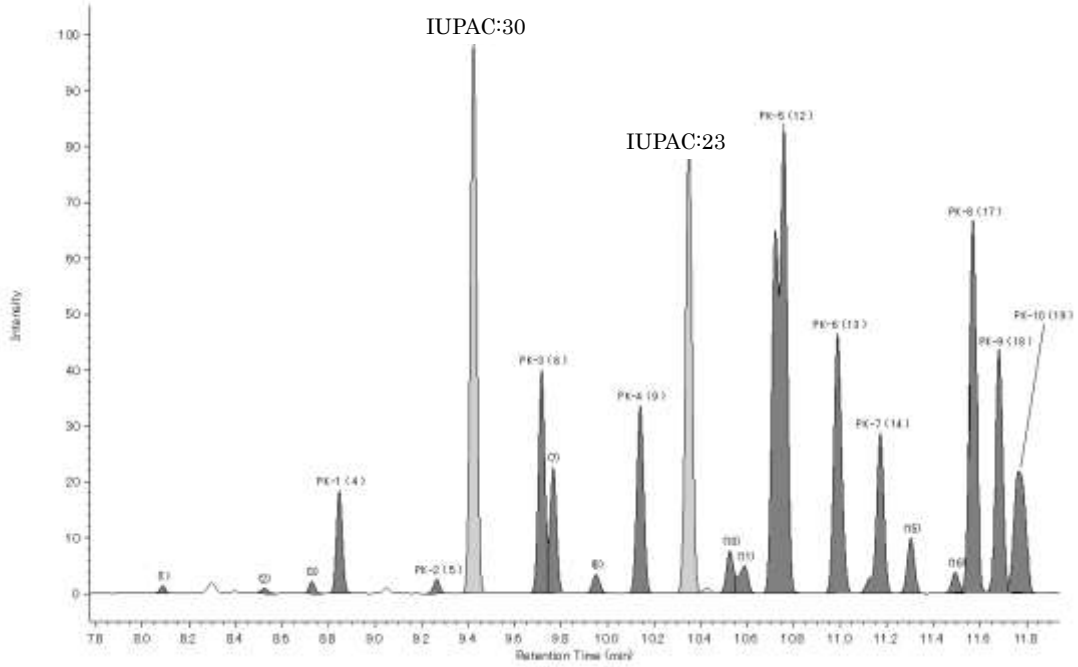
付図 2.5.1.1 から 2.5.1.7　標準溶液のクロマトグラム(例)



付図 2.5.1.1　標準溶液のクロマトグラム(例)　(絶縁油で PCB0.5mg/kg 相当)

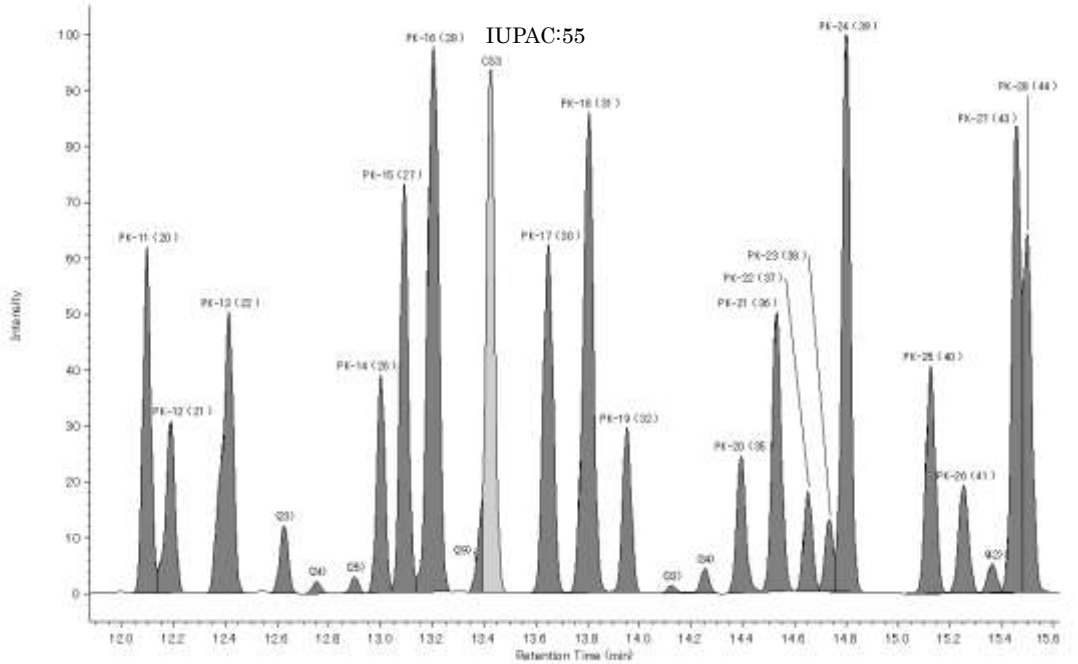


付図 2.5.1.2　標準溶液のクロマトグラム例　(絶縁油で PCB5.0mg/kg 相当)



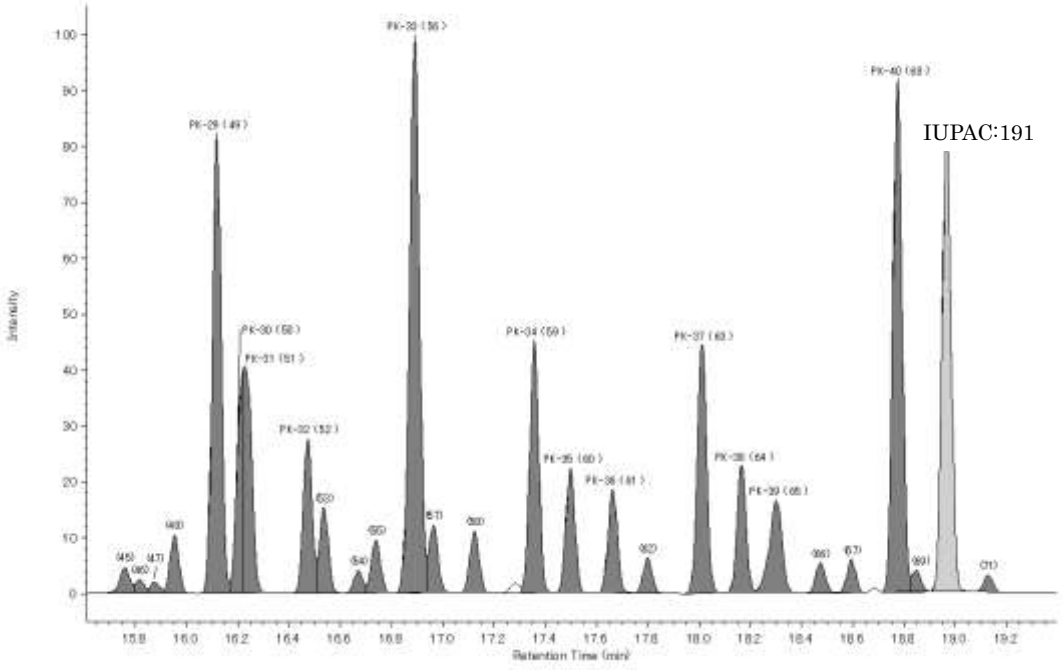
付図 2.5.1.3　標準溶液のクロマトグラム拡大(例)　(絶縁油で PCB5.0mg/kg 相当)

【PK No.1 から 19】



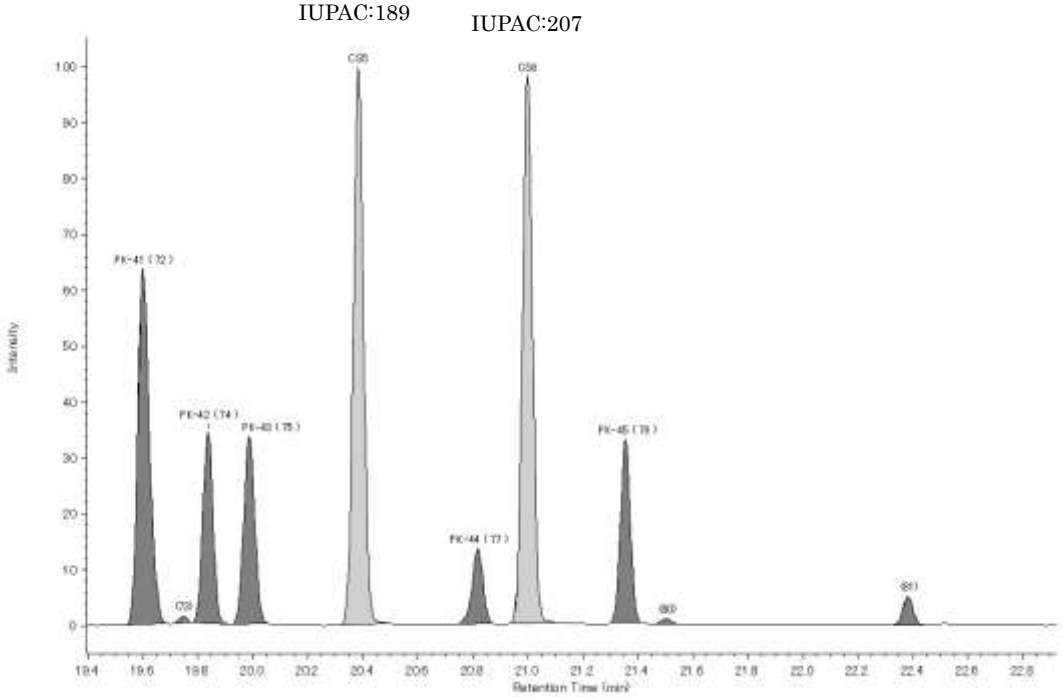
付図 2.5.1.4　標準溶液のクロマトグラム拡大(例)　(絶縁油で PCB5.0mg/kg 相当)

【PK No.20 から 44】



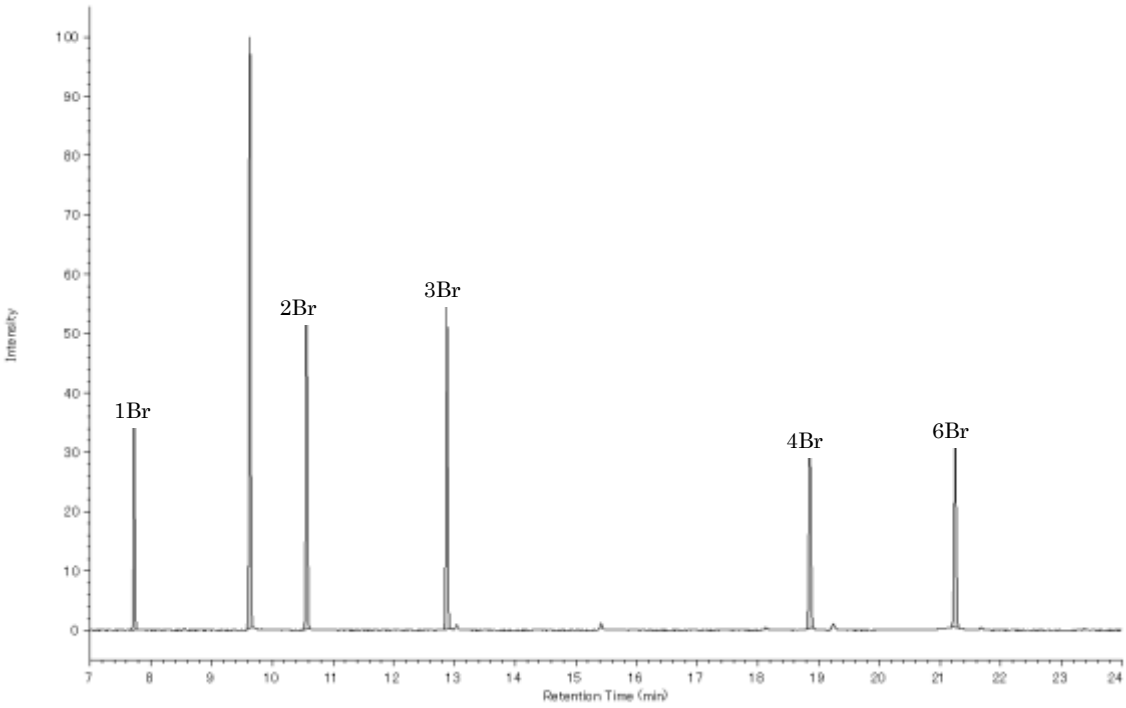
付図 2.5.1.5　標準溶液のクロマトグラム拡大(例)　(絶縁油で PCB5.0mg/kg 相当)

【PK No.45 から 71】



付図 2.5.1.6　標準溶液のクロマトグラム拡大(例)　(絶縁油で PCB5.0mg/kg 相当)

【PK No.72 から 81】



付図 2.5.1.7　標準溶液のクロマトグラム（例）シリンジスパイク

2.6　PCB の一部の化合物濃度から全 PCB 濃度を計算する簡易定量法

2.6.1　PCB の一部の化合物濃度から全 PCB 濃度を計算する簡易定量法

(1) 概要（適用範囲）

ここに定める方法は、PCB 全 209 化合物のうち、一部の化合物を測定、同定、定量し、その結果を利用し重回帰分析を行い、複数の「説明変数」に対する「回帰係数」を求め、それぞれの「回帰係数」に既知のあるいは別途求めた「定数」を乗じて全 PCB 濃度を算出する計算方法について適用する。

尚、本法には「溶媒希釈/ガスクロマトグラフ/高分解能質量分析(GC/HRMS)法」及び「トリプルステージ(タンデム、三連四重極)型ガスクロマトグラフ質量分析計」、「ガスクロマトグラフ四重極型質量分析計」にて得られた結果を適用可能である。また、平成 4 年厚生省告示第 192 号別表第 2 に定める方法にて得られた結果も適用可能である。

(2) 測定の概要

本方法は PCB209 化合物の内、一部の化合物を測定、同定、定量し、その結果を利用し重回帰分析を行い、複数の「説明変数」に対する「回帰係数」を求め、それぞれの「回帰係数」に既知のあるいは別途求めた「定数」を乗じて全 PCB 濃度を算出するものである。

「説明変数」の種類としては、カネクロール 300、カネクロール 400、カネクロール 500 及びカネクロール 600（以降 KC-300、KC-400、KC-500 及び KC-600 とそれぞれ表記）等が例として理解しやすい。

本マニュアルでは説明のため、表 2.6.1.1 に示す特定の 13 成分（表 2.6.1.1「成分番号」）を測定・定量し（「目的変数」）、KC-300、KC-400、KC-500 及び KC-600 の 4 種を「説明変数」として用いる内容を記述する。尚、この場合、KC-300、KC-400、KC-500 及び KC-600 に対応する PCB 組成を持つアロクロール等他の商品名のものが存在していても良い。採用する前処理方法、測定方法によって計算方法は適宜変更する検証を必要とする。

本方法は次の特徴を持つ。

1) 13 成分のみの定量値が得られれば良いので、次の点で特徴付けられる。

a. GC 測定時間は全 PCB 測定の場合より短くなる。表 2.6.1.1 に示す化合物では、例えば#180、#191、#193 等が定量に必要な最も溶出時間の遅い化合物であり、これ以降の時間帯に溶出する七塩化ビフェニル異性体及び八塩化ビフェニル、九塩化ビフェニル及び十塩化ビフェニルの測定は不要である。

b. 前処理において 13 成分以外の PCB 化合物を回収する必要がない。したがって回収が困難で測定も不安定である一塩化ビフェニル及び二塩化ビフェニルを前処理及び測定で考慮する必要がない。又、前処理における PCB と油分等夾雑物の分離にも

有利である。

c. 全 PCB 測定に比較して GC/MS 及び GC/MS/MS による測定に際してグルーピング（1 チャンネルで測定する m/z の組合せ）が行いやすい。全 PCB 測定の場合よりも感度及び S/N 比を高くすることが可能（質量取込時間を長くする）、あるいは、1 サイクルあたりのデータポイント数を多く設定するようにチャンネル数を設定（精確さ、精度の向上）することができる。

d. 同定、定量計算の手間が全 PCB 測定に比較して非常に少なく、同定、定量計算におけるミスを低減できる。

2) 13 成分は溶出時間帯、質量妨害等の観点から定量しやすい化合物を選択可能である。

3) 13 成分はある程度存在比の高い化合物を選択可能であり、測定感度の観点から有利である。

4) 各「説明変数」と 13 成分との「換算係数」を別途、試料測定時の下限値より低い領域まで求めておけば、全 PCB の定量下限値は試料測定時の下限値に制限されない。

5) 13 成分の組成比を用いて統計計算を行うので､PCB 各化合物の測定精度(ばらつき)が相互補完され全 PCB 濃度が算出される。

6) 前処理、測定に異常がなかったかどうか、各種統計値から判断可能な場合があり、測定データの信頼性確保（精度管理）の観点から有利である。

表 2.6.1.1 計算に使用する 13 成分と各成分に含まれる PCB 化合物の例

同族体の種別	成分番号	含まれる主な PCB 化合物の IUPAC 番号						
三塩化ビフェニル	1	***17***	***18***					
	2	***28***	***31***					
四塩化ビフェニル	3	***49***	***52***					
	4	***44***						
	5	58	61	63	***66***	***70***	***74***	76
五塩化ビフェニル	6	89	90	***101***	113			
	7	***85***	***110***	120				
	8	107	***118***	123				
六塩化ビフェニル	9	139	140	147	***149***			
	10	***132***	***153***	168				
	11	130	***138***	***158***	160	***163***	164	
七塩化ビフェニル	12	175	182	***183***	***187***			
	13	172	***180***	191	193			

参考 1) 成分番号：クロマトグラム上における複数のピークの積算でも良い。

参考 2) 表中､太字斜体の化合物は絶縁油中の PCB 組成として存在画分が比較的大きい(KC

の種類にもよるが、全 PCB の約 1%以上）化合物を示す。

参考 3)　表中、下線の化合物は絶縁油中の PCB 組成として存在画分が非常に小さい（KC の種類にもよるが、全 PCB の約 0.1%未満）化合物を示す。

(3) 機器測定

1) 測定条件

トリプルステージ(タンデム、三連四重極)型ガスクロマトグラフ質量分析計、又はガスクロマトグラフ四重極型質量分析計、又は、二重収束型質量分析計による。使用する GC カラムは PCB 全 209 各化合物の溶出位置が実際の測定に採用する GC 条件において判明していなければならない。

a. 検量線の作成　検量線用の標準物質には、表 2.6.1.1 に示す 13 各成分に含まれる主な異性体（表中、太字斜体の化合物）の内、１種類以上含まれていること。又、三塩化ビフェニルから七塩化ビフェニルの各同族体にクリーンアップスパイクが最低１種類含まれていること。シリンジスパイクが複数含まれていること。適切な検量線用標準物質の例を付表 2.6.1.1 に示す。

2) 定性法

表 2.6.1.1 に示す 13 成分を同定する※1)。これ以外の成分は測定、同定、定量する必要はない。

3) 定量法

a. 重回帰分析

ここでは、KC-300、KC-400、KC-500 及び KC-600 に対応して、「説明変数 A」、「説明変数 B」、「説明変数 C」及び「説明変数 D」を設定するものとして説明する。

ⅰ KC-300、KC-400、KC-500 及び KC-600 中の PCB 組成比（全 PCB 存在量に対する表 2.6.1.1 に示す 13 成分の組成比)を準備する注2)。この 209 化合物の中で表 2.6.1.1 に示す 13 成分の組成比は、重回帰分析に用いる「説明変数 A」、「説明変数 B」、「説明変数 C」及び「説明変数 D」に対応する。

ⅱ 定量した試料中の 13 成分の組成比を「目的変数」として「定数項を含まない線形重回帰分析」を行い、「説明変数 A」、「説明変数 B」、「説明変数 C」及び「説明変数 D」に対応する「回帰係数 A」、「回帰係数 B」、「回帰係数 C」及び「回帰係数 D」をそれぞれ算出する。

具体的には、

重回帰分析における予測値（試料中の 13 成分の個々の組成比）$\underline{Y}$は、一般的には式-1 に示すように、定数項 β_0、p 個の独立変数 X_i（$i = 1, 2, \ldots, p$）で表すことができる。

$$\underline{Y} = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \cdots + \beta_p X_p \qquad \text{《 式-1 》}$$

ここでは、独立変数（説明変数）は KC-300、KC-400、KC-500 及び KC-600 であるので、i = 1,2,3,4 となる。また、$\underline{Y}$ は 13 成分個々について存在するので、式-1 は 13 存在することになる。なお、本法では「定数項を含まない線形重回帰分析」を行うので、$\beta_0 \rightarrow 0$(ゼロ)となる。

実測値(Y_i)と $\underline{Y}_i$ の差、すなわち、残差は正負の符号を持つので、２乗和(Q)が最小となるように、式-2 によって独立変数に回帰係数(β_i)を定める。n は「試料中の 13 成分の個々の組成比」であるので 13 である。

$$Q = \sum_{i=1}^{n} e_i^2 = \sum_{i=1}^{n} (Y_i - \underline{Y}_i)^2$$

$$= \sum_{i=1}^{n} \{Y_i - (\beta_0 + \beta_1 X_{i1} + \beta_2 X_{i2} + \beta_3 X_{i3} + \beta_4 X_{i4}\}^2 \qquad \text{《 式-2 》}$$

式-2 を偏微分し、0（ゼロ）とする。

$$\partial Q/\partial \beta_1 = -2\sum_{i=1}^{n} X_{i1}\{Y_i - (\beta_0 + \beta_1 X_{i1} + \beta_2 X_{i2} + \beta_3 X_{i3} + \beta_4 X_{i4}\} = 0$$

$$\partial Q/\partial \beta_2 = -2\sum_{i=1}^{n} X_{i2}\{Y_{i2} - (\beta_0 + \beta_1 X_{i1} + \beta_2 X_{i2} + \beta_3 X_{i3} + \beta_4 X_{i4}\} = 0$$

$$\partial Q/\partial \beta_3 = -2\sum_{i=1}^{n} X_{i3}\{Y_{i3} - (\beta_0 + \beta_1 X_{i1} + \beta_2 X_{i2} + \beta_3 X_{i3} + \beta_4 X_{i4}\} = 0$$

$$\partial Q/\partial \beta_4 = -2\sum_{i=1}^{n} X_{i3}\{Y_{i4} - (\beta_0 + \beta_1 X_{i1} + \beta_2 X_{i2} + \beta_3 X_{i3} + \beta_4 X_{i4}\} = 0 \text{《 式-3 》}$$

式-3 に、独立変数 Xi，Xj 間の変動・共変動（式-4）、および，独立変数 Xi と従属変数 Y の共変動（式-5）を代入し、$\beta_0 = 0$ として(式-6)を得る。

$$Sij = \sum_{k=1}^{n} (Xki)(Xkj) \qquad \text{《式-4》}$$

$$Siy = \sum_{k=1}^{n} (Xki)(Yk) \qquad \text{《式-5》}$$

$$\beta_1 S_{11} + \beta_2 S_{12} + \beta_3 S_{13} + \beta_4 S_{14} = S_{1y}$$
$$\beta_1 S_{21} + \beta_2 S_{22} + \beta_3 S_{23} + \beta_4 S_{24} = S_{2y}$$
$$\beta_1 S_{31} + \beta_2 S_{32} + \beta_3 S_{33} + \beta_4 S_{34} = S_{3y}$$
$$\beta_1 S_{41} + \beta_2 S_{42} + \beta_3 S_{43} + \beta_4 S_{44} = S_{4y} \qquad \text{《式-6》}$$

この連立方程式を解き、回帰係数β_1, β_2, β_3及びβ_4を求める。

４つの回帰係数β_1, β_2, β_3及びβ_4は、「説明変数 A」、「説明変数 B」、「説明変数 C」及び「説明変数 D」に対応する「回帰係数 A」、「回帰係数 B」、「回帰係数 C」及び「回帰係数 D」である。

b. 全 PCB 濃度の算出

ⅰ 換算係数の算出※3)

KC-300、KC-400、KC-500 及び KC-600 に対応する「換算係数 A」、「換算係数 B」、「換算係数 C」及び「換算係数 D」を式-7、8、9 及び 10 にて計算する。

換算係数 A = KC-300 中の 209 成分濃度の合計／KC-300 中の 13 成分濃度の合計
《 式-7 》

換算係数 B = KC-400 中の 209 成分濃度の合計／KC-400 中の 13 成分濃度の合計
《 式-8 》

換算係数 C = KC-500 中の 209 成分濃度の合計／KC-500 中の 13 成分濃度の合計
《 式-9 》

換算係数 D = KC-600 中の 209 成分濃度の合計／KC-600 中の 13 成分濃度の合計
《 式-10 》

ⅱ 全 PCB 濃度の算出

式-11 によって全 PCB 濃度を算出する。

全 PCB 濃度 = (PCB13 成分の積算濃度)×(説明変数 A の回帰係数)×(換算係数 A)
+ (PCB13 成分の積算濃度)×(説明変数 B の回帰係数)×(換算係数 B)
+ (PCB13 成分の積算濃度)×(説明変数 C の回帰係数)×(換算係数 C)
+ (PCB13 成分の積算濃度)×(説明変数 D の回帰係数)×(換算係数 D)
《 式-11 》

(4) 品質管理（精度管理）

精度管理については、「1.5 精度管理について」に従うこと。尚、本測定法に関わる個別事項については、以下に示す。

1) 重回帰分析によって得られた回帰係数や KC 組成が既知の知見と異なる場合、前処理、測定、同定等の段階（本計算法にデータを供する前の段階）で何らかのミスが生じている可能性が高いので、データの確認を行う。重回帰分析によって得られる統計値、すなわち、標準偏差、相関係数、標準誤差、F 値、自由度、回帰平方和、残余平方和も測定結果の妥当性確認に用いる。

2) 定期的に QCM(品質管理試料)、あるいは既知濃度の KC 等を用いて手法の妥当性確認試験を行う。

(5) 留意事項

※１　本法では特定の化合物のみの結果を利用するので、前処理、測定、同定、定量の手法は本法に適合するように変更して良い。なお、表 2.6.1.1 に示す「含まれる主な異性体の IUPAC#」以外の組合せを使用する場合、事前にその組合せが各説明変数に対応する目的変数として使用可能であることを検証しなければならない。

※２　方法としては次の２通りがある。

①既存の報告を参考として、各説明変数における各目的変数を求める方法

この方法を用いる場合、報告されている各 PCB 化合物の分離状態と実際に使用する測定条件の組合せが妥当であるかの検証を行う。例えば同一の GC カラムを用いて同一の GC 条件で測定を行った場合でも、質量分析計が異なっている場合、質量分離能の違いによるフラグメントの影響も組成比に影響を与えるので注意が必要である。

②実際の測定に使用する装置、測定条件で KC の組成データを得て使用する方法

具体的には KC-300、KC-400、KC-500 及び KC-600 に対して実際の測定に使用する装置、測定条件で測定を行い、この結果を利用して各説明変数を求める。

※３　使用する GC/MS 種類、カラム等の条件によるが、通常、「換算係数 A」、「換算係数 B」、「換算係数 C」及び「換算係数 D」は、1.5 から 2.5 の範囲である。

附属書 2.6.1　標準物質の例

付表 2.6.1.1　13 成分測定のための標準物質の例(EC-5448, CIL)

種別		化合物の名称	IUPAC#
Native		2,2',5-TriCB	18
		2,4,4'-TriCB	28
		2,2',3,5'-TetraCB	44
		2,2',5,5'-TetraCB	52
		2,3'4',5-TetraCB	70
		2,2',4,5,5'-PentaCB	101
		2,3,3',4',6-PentaCB	110
		2,3',4,4',5-PentaCB	118
		2,2',3,4,4',5'-HexaCB	138
		2,2',3,4',5',6-HexaCB	149
		2,2',4,4',5,5'-HexaCB	153
		2,2',3,4,4',5,5'-HeptaCB	180
		2,2',3,4',5,5',6-HeptaCB	187
Labeled	Clean-up Spike (EC-5379,CIL)	$^{13}C_{12}$-2,4,4'-TriCB	28
		$^{13}C_{12}$-2,2',5,5'-TetraCB	52
		$^{13}C_{12}$-2,2',4,5,5'-PentaCB	101
		$^{13}C_{12}$-2,2',3,4,4',5'-HexaCB	138
		$^{13}C_{12}$-2,2',4,4',5,5'-HexaCB	153
		$^{13}C_{12}$-2,2',3,4,4',5,5'-HeptaCB	180
	Syringe Spike (EC-5450,CIL)	$^{13}C_{12}$-2,3'4',5-TetraCB	70
		$^{13}C_{12}$-2,3',4,4',5-PentaCB	118
		$^{13}C_{12}$-2,2',3,4,5,5'-HexaCB	141

CIL: Cambridge Isotope Laboratories

2.7　生化学的方法による簡易定量法

2.7.1　加熱多層シリカゲルカラム/アルミナカラム/フロー式イムノセンサー法

(1) 概要（適用範囲）

ここに定める方法は、前処理に多層シリカゲルカラム及びアルミナカラムを使用してクリーンアップを行い測定に抗 PCB モノクローナル抗体と抗原固相化ビーズを用いたフロー式イムノセンサー（結合平衡除外法）を利用して行うもので、絶縁油中の PCB 濃度の簡易定量について適用する。クロマトグラフのような試料特徴を示す分析データが残らないので、トレーサビリティを確保できるシステムで分析することが必要。

(2) 測定の概要

1) 測定の概要

試料を硫酸シリカゲルカラム硝酸銀シリカゲルカラムおよびアルミナカラムを用いて分画を行い、ジメチルスルホキシド(DMSO)で溶出させ、測定には抗 PCB モノクローナル抗体と抗原固相化ビーズを用いたフロー式イムノセンサー（結合平衡除外法）を利用して PCB 濃度を簡易に定量する。又、回収率測定は PCB#169 を用いて行う。

2) 測定操作フロー

本方法での試料調製に関するフロー図を図 2.7.1.1、測定に関するフロー図を図 2.7.1.2 に示す。

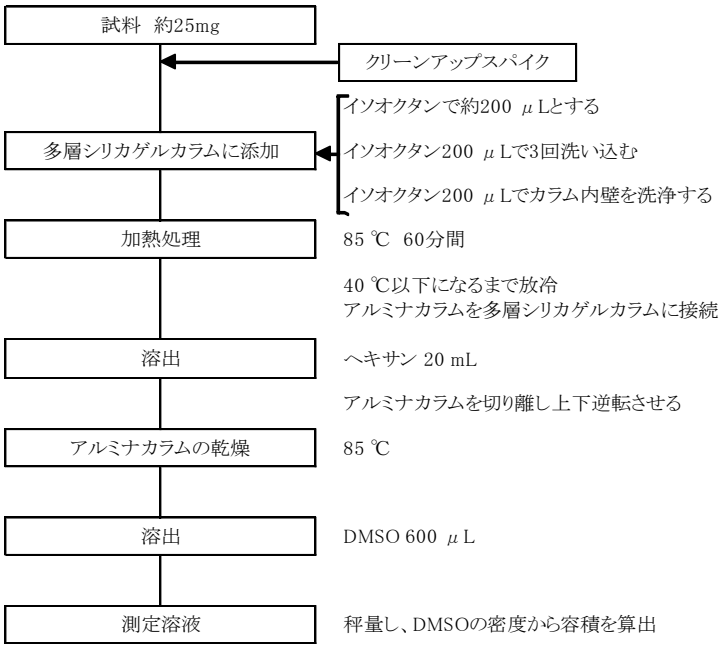


図 2.7.1.1　試料調製のフロー図

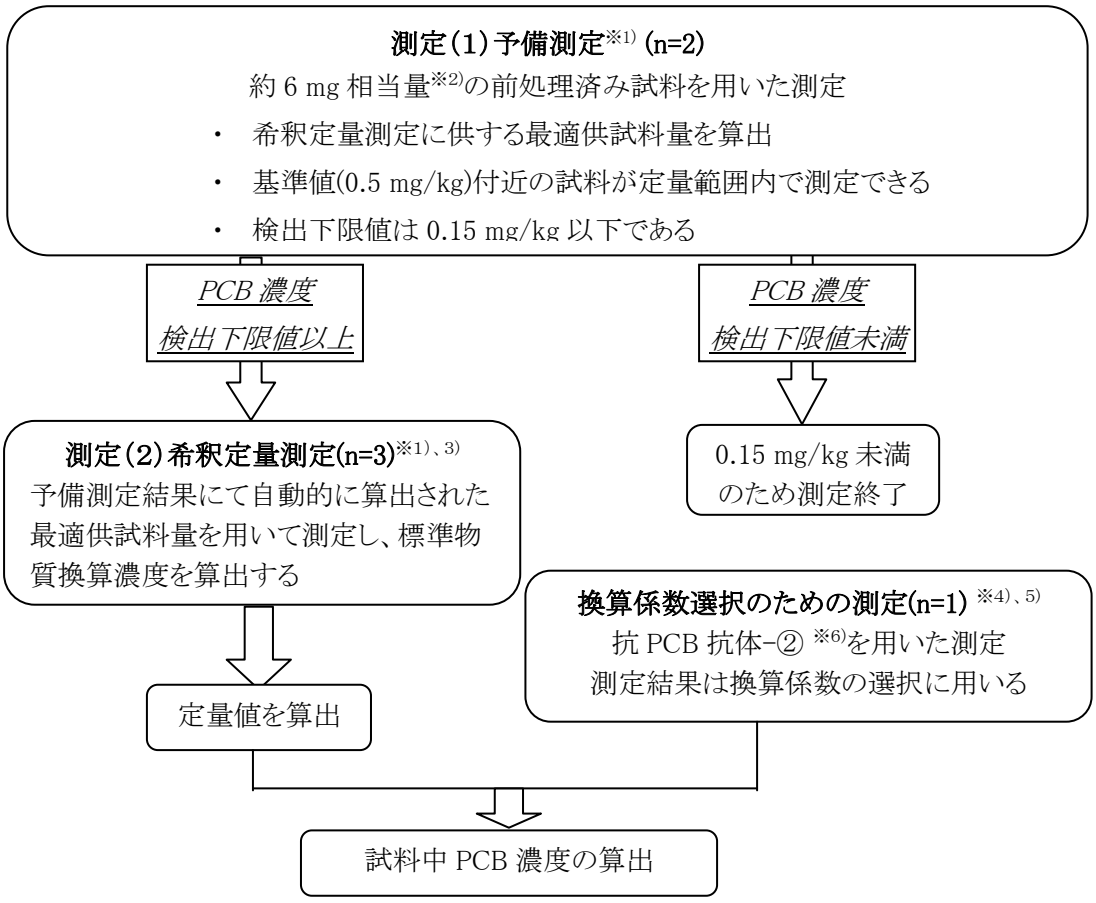


図 2.7.1.2　フロー式イムノセンサー（結合平衡除外法）による測定方法のフロー図

(3) 試薬、器具及び装置

1) 試薬

測定に使用する試薬※7)は次による。これらの試薬は、空試験などによって測定に支障のないことを確認しておく。又、記述以外の試薬を使用する場合も同等の試験を行い、測定に支障のないことを確認しておく。

a. ヘキサン JIS K8825 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

b. ジメチルスルホキシド(DMSO) JIS K9702 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

c. イソオクタン JIS K9703 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

d. 多層シリカゲルカラム及びアルミナカラム 44%硫酸シリカゲル 4.7g、20%硝酸銀シリカゲル 0.59g を充填したカラム、並びに、活性化を施したアルミナ 0.6g を充填したカラム。これらのカラムは、市販されている。これらのカラムは、洗浄された状態で入手できるので、特に使用前の洗浄は行わなくて良い。

e.クリーンアップスパイク溶液 3,3',4,4',5,5'-Hexachlorobiphenyl (IUPAC No. 169:以下 PCB169)の 200 ng/mL のイソオクタン溶液。

f. 水 JIS K0557 に規定する A4(又は A3)の水又は同等の品質のもの。

g. リン酸水素二ナトリウム十二水和物 JIS K8001 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

h. 塩化ナトリウム JIS K8001 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

i. リン酸二水素カリウム JIS K8001 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

j. 塩化カリウム JIS K8001 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

k. リン酸緩衝生理食塩液 (PBS (-)) JIS K0461 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

l. ウシ血清アルブミン (BSA) JIS L1902 で使用されている生化学試験用のもの。

m. 水酸化ナトリウム (NaOH) JIS K8576 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

n. アジ化ナトリウム (NaN_3) JIS K9501 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

o. エタノール JIS K8101 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

p. 試料調製用緩衝液 1000 mL の水にリン酸水素二ナトリウム十二水和物 2.79 g、塩化ナトリウム 7.60 g、リン酸二水素カリウム 0.20 g、塩化カリウム 0.20g、アジ化ナトリウム 0.20 g、ウシ血清アルブミン 1.0 g を十分に溶解させた後、孔径 0.45 μm のフィルターでろ過したもの。

q. 測定用緩衝液 800 mL の水にリン酸水素二ナトリウム十二水和物 2.79 g、塩化ナトリウム 7.60 g、リン酸二水素カリウム 0.20 g、塩化カリウム 0.20 g、アジ化ナトリウム 0.20 g、ウシ血清アルブミン 1.0 g を十分に溶解させた後、DMSO 50 mL を加え攪拌する。水を用いて全量を 1000 mL とし、再度攪拌した後、孔径 0.45μm

のフィルターを用いてろ過したもの。

r. **再生液**　95 mL の水に水酸化ナトリウム 0.10 g を溶解させた後、5 mL の DMSO を加え攪拌溶解させたもの。

s. **校正液-①**　DMSO により 2,4,5-トリクロロフェノキシヘキサノイルアミノプロピオン酸(TCPHA)を濃度約 30μg/mL に調製したもの。校正液-①※8)は使用する蛍光検出装置に適切なものを用いる。

t. **校正液-②(換算係数選択のための測定用)**　DMSO により TCPHA を濃度約 5 ng/mL に調製したもの。

u. **校正液-③(分析における回収率確認のための測定用)**　DMSO により PCB169 を濃度 1.2 ng/mL に調製したもの。

v. **検量線作成用標準液**　定量範囲内で 5 段階以上となるように DMSO によりカネクロール混合物質(KC-300、KC-400、KC-500、KC-600 当量混合物、以下 KC-mix)標準溶液（約 1 から 1000 ng/mL 程度）を調製する。

w. **換算係数選択のための測定試薬類**　換算係数を選択するために行う測定に使用する試薬類。(3).2).a で用いる抗 PCB 抗体-①とは特異性の異なる本法で使用する蛍光検出装置により検出可能な蛍光色素により標識された抗 PCB 抗体-②※4) ※5)と、抗原固相化ビーズを使用する。

x. **抗 PCB 抗体－①**　特許生物寄託センター受託番号 FERM P-20845 で寄託されたハイブリドーマにより産生されるモノクローナル抗体(特許出願番号：特開 2007-284392)、又は同等の反応性並びに感度を有するもの。

y. **抗 PCB 抗体－②**　KC600 に特異性が高いモノクローナル抗体であり、KC600 を 1 とした時の交差反応性は、KC500 が約 0.6 から 0.8、KC300 および KC400 が約 0.4 以下である抗体。

z. **抗 PCB169 抗体(抗 PCB 抗体-③)**　分析における回収率の確認のための測定に用いる PCB169 に特異的に反応する抗体であり、特許生物寄託センター受託番号 FERM P-17099 で寄託されたハイブリドーマにより産生されるモノクローナル抗体※9)(特許 JP3969878)、又は同等の反応性並びに感度を有するもの。

2) 器具

測定に使用する器具は次による。これらの器具は、空試験などによって測定に支障のないことを確認しておく。

a. **PCB バイオセンサ測定キット**※1)　フロー式イムノセンサー用キット（抗 PCB モノクローナル抗体には、抗 PCB 抗体-①を、抗原固相化ビーズには、2,4,5-トリクロロフェノール誘導体及び高分子担体から合成したものを使用する)。

b. **マイクロチューブ**　容量が約 1.5 mL のもの。

c. **マイクロピペット**　JIS K0970 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

d. マイクロピペット用チップ　JIS K0970 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

e. フィルター(0.45μm)　JIS K3802 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

f. 試料瓶(ガラス製)　5 から 10 mL 程度の遮光の出来る褐色瓶。

3)　装置

測定に使用する装置※7)、※10) は次による。

a. 多層シリカゲルカラム加熱用ヒーター　温度調節機能を備えたもので、多層シリカゲルカラム中で試料が浸透している領域を目的温度で持続的に加熱できるもの。

b. アルミナカラム加熱用ヒーター　温度調節機能を備えたもので、アルミナカラムに充填したアルミナを目的温度で持続的に加熱できるもの。

c. 蛍光検出装置　励起波長 650 nm を発光でき、得られる蛍光波長 665 nm の蛍光強度を精度良く検出できる装置。

d. 送液システム　3 種類以上の溶液（反応液、緩衝液、再生液等）を正確かつ、精密な流量、流速で送液できるシステム。

(4) 前処理

1) 試料の調製

試料約 25 mg※11) をマイクロチューブに秤量し、200 ng/mL のクリーンアップスパイク溶液 40 μL を添加した後、イソオクタンを加えて全量を約 200μL の均一溶液とする。

2) 加熱多層カラム前処理

a. 試料調製の操作で調製した溶液を多層シリカゲルカラム※12) に移し入れ、マイクロチューブをイソオクタン 200μL で 3 回洗い込んだ後、イソオクタン 200μL にて多層シリカゲルカラムの内壁を洗浄する※13)。

b. 多層シリカゲルカラムに移し入れた溶液が展開している部分※14) を多層シリカゲルカラム加熱用ヒーターで 85 ℃にて 60 分間※15) 加熱した後、多層シリカゲルカラムを 40 ℃以下になるまで放冷する。

c. アルミナカラムを多層シリカゲルカラム下端に連結した後、ヘキサン 20 mL※16) を流下させる※17)。

d. アルミナカラムを多層シリカゲルカラムと切り離し、アルミナカラム加熱用ヒーターで 85 ℃※18) に加熱しながら清浄な空気もしくは窒素をアルミナカラムに吹き込み、アルミナカラムに残留しているヘキサンを乾燥する。

e. 上下逆転させたアルミナカラムを 85 ℃に維持しながら DMSO 600μL※19) を添加し、アルミナカラム下端にマイクロチューブを置いて、約 200 から 300μL の溶出液を得る。秤量し、風袋との差分を重量測定し、DMSO の密度から容積を求め測定溶液とする。

3) ブランク試料溶液(B0 液)の調製

試料瓶に DMSO 300μL、試料調製用緩衝液 4200μL を加え泡立てないように攪拌混合後、抗 PCB 抗体液(抗 PCB 抗体-①液、抗 PCB 抗体-②液又は抗 PCB 抗体-③液) 1500μL を追加し、穏やかに攪拌混合し、ブランク試料溶液(B0 液)とする。

4) 校正試料溶液の調製

試料瓶に各測定に適した校正液(校正液-①、校正液-②又は校正液-③) 150μL※20)、試料調製用緩衝液 2100μL を試料瓶に加え泡立てないように攪拌混合後、抗 PCB 抗体液(抗 PCB 抗体-①液、抗 PCB 抗体-②液又は抗 PCB 抗体-③液) 750μL を追加し、穏やかに攪拌混合し、校正試料溶液とする。

5) 測定試料溶液 (予備測定用) の調製

試料瓶に DMSO 90μL、試料溶液 60μL※21) を加え軽く混合後、試料調製用緩衝液 2100μL を追加し、泡立てないように攪拌混合する。抗 PCB 抗体液(抗 PCB 抗体-①液) 750μL を追加し、再度泡立てないよう穏やかに攪拌混合し、測定試料溶液 (予備測定用) とする。

6) 測定試料溶液(希釈定量測定用)の調製

試料瓶に DMSO (150-X) μL を加え、試料 X※22) μL を加え軽く混合後、試料調製用緩衝液 2100μL を追加し、泡立てないように攪拌混合する。抗 PCB 抗体-①液 750μL を追加し、再度泡立てないよう穏やかに攪拌混合し、測定試料溶液(希釈定量測定用)とする。測定試料溶液(希釈定量測定用)の調製における各試薬の添加量を表 2.7.1.1 に示す。

表 2.7.1.1　測定試料溶液(希釈定量測定用)の調製における試薬の添加量

	校正試料-①溶液 (1 本)	試料溶液 (3 本)	B0 液 (1 本)
DMSO	-	(150-X)μL	300μL
試料	150μL	XμL	ー
試料調製用 バッファー液	2100μL	2100μL	4200μL
抗PCB抗体-①液量	750μL	750μL	1500μL
測定時の調製 試料量	3000μL	3000μL	6000μL
セットするポート※23)	ポート 1	ポート 2 から 4	B0 ポート

7) 測定試料溶液(試料の精製度確認のための測定用)の調製

試料瓶 3 本にそれぞれ DMSO (150-A※24)), (150-B※24)) , (150-C※24)) μL を加え、試料 AμL, BμL, CμL をそれぞれ加え軽く混合後、試料調製用緩衝液 2100μL を追加し、泡立てないように攪拌混合する。抗 PCB 抗体-①液 750μL を追加し、再

度泡立てないよう穏やかに攪拌混合し、測定試料溶液(希釈評価測定用)とする。測定試料溶液(試料の精製度確認のための測定用)の調製における各試薬の添加量を表 2.7.1.2 に示す。

表 2.7.1.2　測定試料溶液(試料の精製度確認のための測定用)の調製における試薬の添加量

	校正試料-①溶液(1 本)	精製度確認試料 1	精製度確認試料 2	精製度確認試料 3	B0 液(1 本)
DMSO	-	(150-A)μL	(150-B)μL	(150-C)μL	300μL
試料	150μL	AμL	BμL	CμL	―
試料調製用バッファー液	2100μL	2100μL	2100μL	2100μL	4200μL
抗 PCB 抗体-①液量	750μL	750μL	750μL	750μL	1500μL
測定時の調製試料量	3000μL	3000μL	3000μL	3000μL	6000μL
セットするポート※23)	ポート 1	ポート 2	ポート 3	ポート 4	B0 ポート

8) 測定試料溶液(換算係数選択のための測定用)の調製

試料瓶に DMSO (75-1.5×a※25)) μL を加え、試料(1.5×a) μL を加え軽く混合後、試料調製用緩衝液 1050μL を追加し、泡立てないように攪拌混合する。抗 PCB 抗体-②液 375μL を追加し、再度泡立てないよう穏やかに攪拌混合し、測定試料溶液(換算係数選択のための測定用)とする。抗 PCB 抗体-①と抗 PCB 抗体-②とで算出された実測値(μg/g)の比率より、PCB 濃度へ換算するために用いる換算係数を選択する。測定試料溶液(換算係数選択のための測定用)の調製における各試薬の添加量を表 2.7.1.3 に示す。

表 2.7.1.3　測定試料溶液(換算係数選択のための測定用)の調製における各薬の添加量

	校正試料-②溶液(1 本)	試料溶液(最大 3 本)	B0 液(1 本)
DMSO	-	(75-1.5×a)μL	300μL
試料	75μL	(1.5×a)μL	―
試料調製用バッファー液	1050μL	1050μL	4200μL
抗 PCB 抗体-②液量	375μL	375μL	1500μL
測定時の調製試料量	1500μL	1500μL	6000μL
セットするポート※23)	ポート 1	ポート 2 から 4	B0 ポート

測定値の比率の計算

実測値の比率＝抗 PCB 抗体-②での実測値／抗 PCB 抗体-①での実測値

備考　比率および換算係数は提供する試薬の Lot 毎に異なる場合がある。(6).2) 換算係数を参照。

9) 分析における回収率確認

試料瓶に DMSO(150-Z※26)) μL を加え、試料 Zμ L を加え軽く混合した後、試料調製用緩衝液 2100μL を追加し、泡立てないように攪拌混合する。抗 PCB 抗体-③液 750 μL を追加し、再度泡立てないよう穏やかに攪拌混合し、測定試料溶液とする。測定試料溶液(前処理回収率確認のための測定用)の調製における各試薬の添加量を表 2.7.1.4 に示す。

表 2.7.1.4　測定試料溶液(分析における回収率確認のための測定用)の調製における試薬の添加量

	校正試料-③溶液 (1 本)	試料溶液 (最大 3 本)	B0 液 (1 本)
DMSO	-	(150-Z)μL	300μL
試料	150μL	Zμ L	ー
試料調製用 バッファー液	2100μL	2100μL	4200μL
抗 PCB 抗体-③液量	750μL	750μL	1500μL
測定時の調製 試料量	3000μL	3000μL	6000μL
セットするポート※23)	ポート 1	ポート 2 から 4	B0 ポート

備考　絶縁油約 25 mg に PCB169 をクリーンアップスパイクとして 8 ng 添加し前処理を行い、得られた約 250μL の調製試料の内、1/50 倍量（約 5μL）を測定した場合、測定系における絶縁油量は約 0.5 mg、クリーンアップスパイクとして用いた PCB169 の終濃度（定量値）は 0.060 ng/mL となる。

(5) 測定

1) 測定条件

a. 標準液の測定

概ね 1 から 1000 ng/mL 程度の濃度域において、5 段階以上の希釈系列として調製された検量線作成用標準液は、全濃度域において最低 5 回以上、合計 25 点以上のデータを得る。

表 2.7.1.5 に検量線作成用測定試料溶液の調製例を示す。まず、8 つの試料瓶に濃度ごとの標準溶液を 150μL ずつ添加する。その後、試料調製用緩衝液 2100μL を追加し、泡立てないように攪拌混合した後、さらに抗 PCB 抗体液-① 750μL を追加し、再度泡立てないよう穏やかに攪拌混合し調製する。測定試料溶液の濃度は試料調製用緩衝液と抗 PCB 抗体-①を添加することにより標準溶液を 20 倍希釈したことになる。尚、標準溶液を含まない DMSO 150μL を用い調製した測定試料溶液をブランクとする。測定環境やキットの Lot 変更など、測定条件が異なる毎に標準液の測定を行うこと。

表 2.7.1.5 各検量線作成用標準液の調製例

溶液	単位	ﾌﾞﾗﾝｸ	STD1	STD2	STD3	STD4	STD5	STD6	STD7	STD8
KCmix標準液濃度	ng/mL	0	1	4	10	20	40	100	400	600
KCmix標準液終濃度	ng/mL	0	0.05	0.2	0.5	1	2	5	20	30

b. 4-パラメーターの算出

JIS K0464「ポリクロロビフェニル（PCB）の免疫測定方法通則」に従い、各検量線作成用標準液の濃度及び蛍光量から、下記に示す 4-パラメーターの式の各係数 (a, b, c, d) を算出する。

$$y = \left(\frac{a-d}{1+\left(X/c\right)^{b}} \right) + d$$

ここに、 y ： 測定値

d ： 曲線における下方漸近値（最小検出器測定結果)(B/B0)

a ： 曲線における上方漸近値（最大検出器測定結果)(B/B0)

X ： 標準物質(KC-mix)の質量濃度(ng/mL)

c ： IC_{50} における標準物質(KC-mix)の質量濃度(ng/mL)

b ： 曲線の傾き

標準液の測定結果および検量線作成並びにパラメーターの例を表 2.7.1.6、表 2.7.1.7、図 2.7.1.3 に示す。

表 2.7.1.6 検量線作成に用いた各 KC-mix 標準液の測定結果例

KCmix標準液終濃度 ng/mL	B/B0値
0.05	0.969
0.2	0.916
0.5	0.801
1	0.616
2	0.389
5	0.152
20	0.029
30	0.018

表 2.7.1.7 検量線より得られたパラメーター例

4-パラメーター式の各係数		
a	最大B/B0	0.953
b	曲線の傾き	1.467
c	IC_{50}濃度	1.168
d	最小B/B0	-0.004

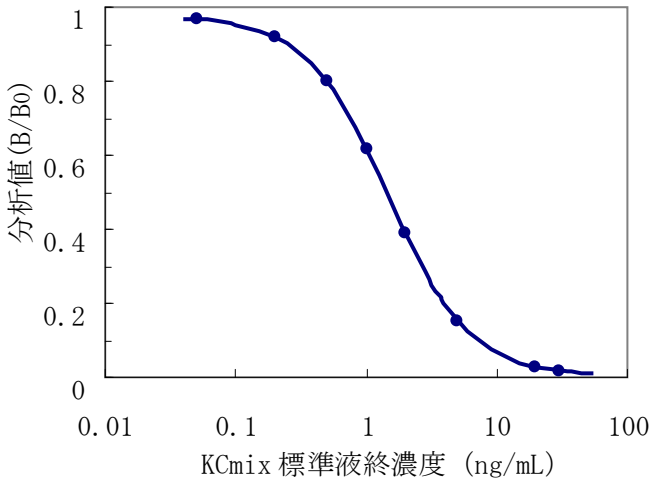


図 2.7.1.3 KCmix 標準液を用いた検量線の例

c. 測定操作のフロー

測定セルを用いた試料溶液測定のフローを図 2.7.1.4 に示す。

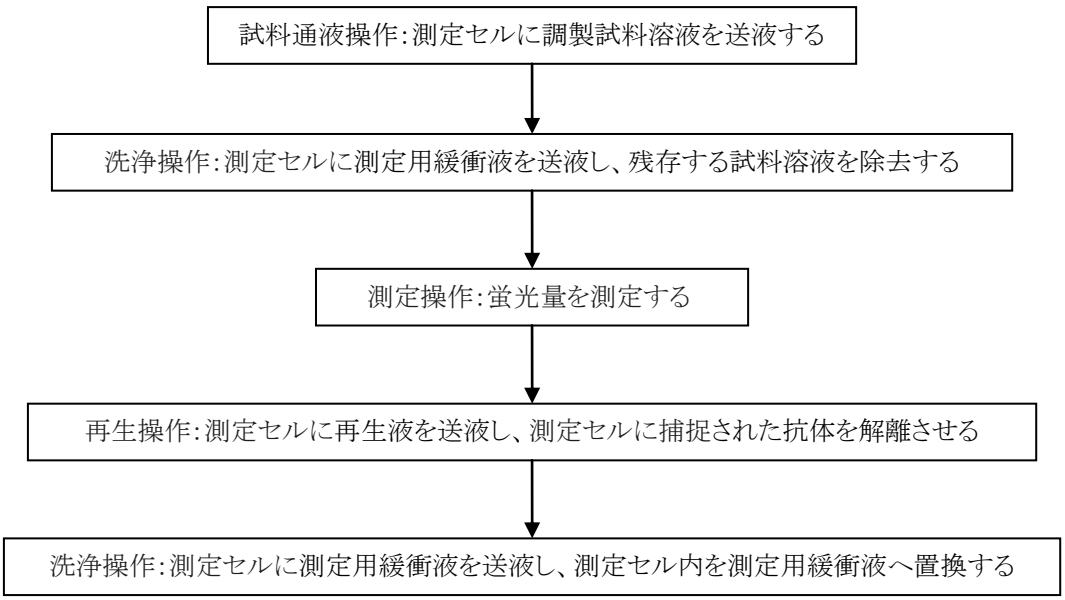


図 2.7.1.4 試料溶液測定のフロー

測定（１）

d. 予備測定 (n=2)

ⅰ. (4).3)から(4).5)に従って測定用試料を調製する。

ⅱ. 測定セルにブランク試料溶液 0.4 mL を最適速度（例えば流速 0.75 mL/min.）で送液する（以下、試料通液操作と称する)。

ⅲ. 測定用緩衝液 0.75 mL を最適速度（例えば流速 0.75 mL/min.）で送液（以下、洗浄操作と称する）し、測定セル部に残存する試料溶液を洗浄除去する。

ⅳ. 蛍光量を測定する（以下、測定操作と称する）(B0 値)。

ⅴ. 測定セルに再生液 0.75 mL を最適速度（例えば流速 0.75 mL/min.）で送液（以下、再生操作と称する）し、測定セルに結合した抗 PCB 抗体(抗 PCB 抗体-①)を解離させる。

ⅵ. 洗浄を行い、測定セルを元の状態に復帰させる。

ⅶ. 測定セルに校正試料-①溶液 0.4 mL を最適速度（例えば流速 0.75 mL/min.）で送液する。次に洗浄操作を行い、蛍光量を測定する。

ⅷ. 測定セルの再生操作後、洗浄操作を行い、測定セルを元の状態に復帰させる。

ⅸ. 測定セルに測定試料溶液 0.4 mL を最適速度（例えば流速 0.75 mL/min.）で送液する。次に洗浄操作を行い、蛍光量を測定する (B 値)。

ⅹ. 測定セルの再生操作後、洗浄操作を行い、測定セルを元の状態に復帰させる。

ⅺ. 1 個の測定セルで検体数に応じ、図 2.7.1.4 に示す操作を繰り返し、測定を行う。次に引き続き、定量下限値以上の場合は希釈定量測定を行い、その後、換算係数選択のための測定を行う。

e. 希釈定量測定(n=3)

ⅰ. 抗 PCB 抗体-①、校正液-①を用いて、(4).3)、(4).4)、(4).6)に従って測定用試料を調製する。

ⅱ. 図 2.7.1.4 に示すフロー（試料通液操作、洗浄操作、測定操作、再生操作、洗浄操作）に従って測定を行う。

f. 試料の精製度確認のための測定[※12)](n=3)

ⅰ. 抗 PCB 抗体-①、校正液-①を用いて、(4).3)、(4).4)、(4).7)に従って測定用試料を調製する。

ⅱ. 図 2.7.1.4 に示すフロー（試料通液操作、洗浄操作、測定操作、再生操作、洗浄操作）に従って測定を行う。

g. 換算係数選択のための測定(n=1)

ⅰ. 抗 PCB 抗体-②、校正液-②を用いて、(4).3)、(4).4)、(4).8)に従って測定用試料を調製する。

ⅱ. (5).1).d.ⅸにおける測定試料溶液量を 0.5 mL に変更し、図 2.7.1.4 に示すフロー（試料通液操作、洗浄操作、測定操作、再生操作、洗浄操作）に従って測定を

行う。

h. 分析における回収率確認のための生化学的測定(n=2)

ⅰ. 抗PCB抗体-③、校正液-③を用いて、(4).3)、(4).4)、(4).9)に従って測定用試料を調製する。

ⅱ. 図2.7.1.4に示すフロー（試料通液操作、洗浄操作、測定操作、再生操作、洗浄操作）に従って測定を行う。

i. PCB濃度の算出

得られた蛍光強度と検量線（応答曲線）から検液中のPCB濃度が求められ、測定結果より、実測値が下式を用いて算出される。

実測値：絶縁油中に含まれるKC-mix相当量（μg/g)

＝KC-mix相当濃度（ng/mL） × 係数①×係数②／係数③／1000

ここに、

係数①　希釈率（-）：調製液量(μL)／供試量(μL)

係数②　調製液量（mL）：測定対象とする前処理済み試料溶液の液量

係数③　処理油重量（g）：前処理済み試料溶液に含まれる絶縁油重量

係数④　換算係数※27)（μg/g・(mg/kg)）：絶縁油中に含まれるPCB濃度へ換算するための係数

PCB濃度：濃度換算値(mg/kg) ＝ 実測値(μg/g)／ 係数④(μg/g・(mg/kg))

これより算出された値をPCB濃度(mg/kg)とする。

精度管理については、「1.5精度管理について」に従うこと。尚、本測定法に関わる個別事項については、2)以降に示す。

j. 分析における回収率確認のための機器分析

GC/ECD、GC/MS、GC/MS/MS法等により確認する事も出来る。

前処理したDMSO試料を、機器分析に供するためにヘキサン溶液に転溶する必要がある。転溶の方法としては、例えば次の通りである。

DMSO試料の30μLを秤量し、これに転溶効率確認の為のスパイクとして、クリーンアップスパイク（PCB169）とは異なる分析に影響の無いPCB異性体、例えば2,3,3',4,4',5,5'-H7CB（IUPACNo.189)、 2,3,3',4,4',5,5',6-OCB(IUPAC No.205)のいずれかの100 ng/mLのDMSO溶液を10μL添加する。10倍以上の量の水を加え、ヘキサンにて2回抽出し、硫酸ナトリウムで脱水、濃縮等の操作を経て、窒素パージにより200μL程度まで濃縮する。そこに、100 ng/mLの2,2',3,3',4,4',5,5',6,6'-D10CB （IUPAC No.209)のヘキサン溶液をシリンジス

パイクとして10μL添加し400μLとなるようヘキサンで定容しこれを分析試料とする。

分析結果より転溶効率を求め、求めた転溶効率(%)は、クリーンアップスパイクであるPCB169の回収率に反映させ、転溶効率を100%としたときの回収率として算出する。

※ 回収率が85%から110%の間にあることを確認すること。バイオアッセイ法では、回収率を個々の試料毎に測定し、補正することは測定数を増大させるため困難である。このため、この確認を（20試料）分析あたり1回程度実施し、その範囲外の回収率が得られたときは当該ロットの全試料について回収率を測定する。回収率が85%から110%の外にある試料についてはその測定値を棄却し、再測定する。

2）検出下限値・定量範囲

JIS K0464「ポリクロロビフェニル（PCB）の免疫測定方法通則」において規定されている精度プロファイル（定量値の変動係数を標準溶液の濃度に対してプロットした図）を作成し、求める(図 2.7.1.5、図 2.7.1.6、図 2.7.1.7、表 2.7.1.8、表 2.7.1.9)。ただし、検量線において CV が 30 %となる点の濃度における B/B0 値が 0.9 を超える場合、この数値を適用せずに B/B0 値が 0.9 を示す濃度を検出下限値とする。又、同様に CV が 10 %となる点の濃度における B/B0 値が 0.85 を超える場合、この数値を適用せずに B/B0 値が 0.85 を示す濃度を定量下限値とする(図 2.7.1.8)。

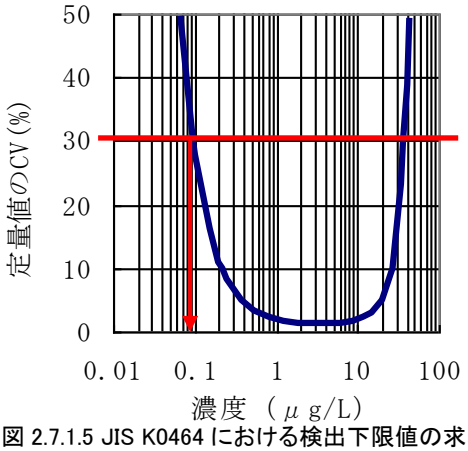


図 2.7.1.5 JIS K0464 における検出下限値の求め方

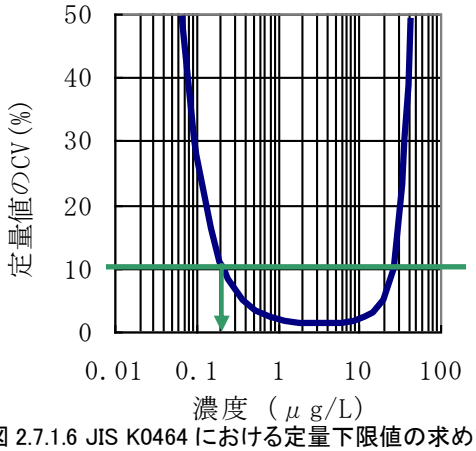


図 2.7.1.6 JIS K0464 における定量下限値の求め方

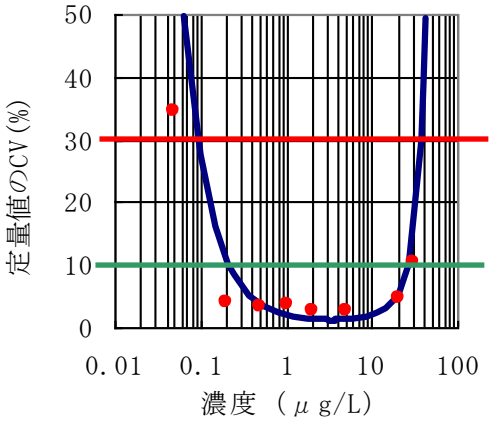


図 2.7.1.7 精度プロファイル

赤丸は表 2.7.1.8.の KC-mix 各濃度における定量値の CV(%)

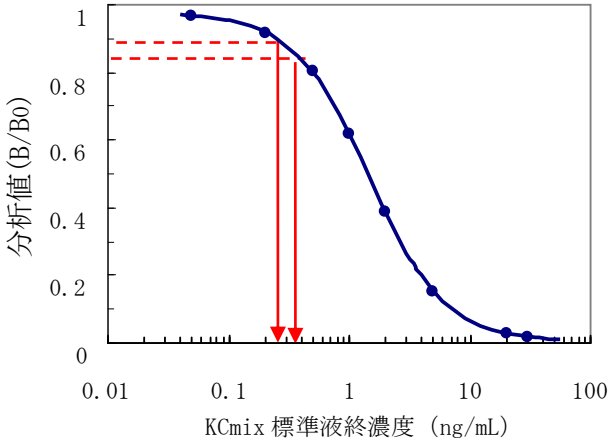


図 2.7.1.8 本測定における検出下限値

及び定量下限値の求め方

表 2.7.1.8 精度プロファイル作成に使用した KC-mix 阻害曲線測定結果の一例

濃度	分析値(Y) : B/Bo							YのSD	YのCV
ng/mL	n=1	n=2	n=3	n=4	n=5	n=6	Ave	σ	%
0.05	0.971	0.969	0.968	0.965	0.974	0.967	0.969	0.003	0.3%
0.2	0.917	0.913	0.912	0.918	0.920	0.918	0.916	0.003	0.3%
0.5	0.797	0.797	0.796	0.812	0.806	0.801	0.801	0.007	0.8%
1	0.606	0.606	0.607	0.635	0.620	0.622	0.616	0.012	1.9%
2	0.402	0.386	0.377	0.396	0.389	0.382	0.389	0.009	2.3%
5	0.158	0.152	0.144	0.156	0.151	0.151	0.152	0.005	3.1%
20	0.032	0.028	0.027	0.030	0.029	0.027	0.029	0.002	5.8%
30	0.022	0.018	0.017	0.020	0.016	0.017	0.018	0.002	12.3%

濃度	定量値(X) : ng/mL							XのSD	XのCV
ng/mL	n=1	n=2	n=3	n=4	n=5	n=6	Ave	σ	%
0.05	0.033	0.045	0.047	0.059	0.018	0.052	0.042	0.015	34.4%
0.2	0.206	0.218	0.219	0.202	0.199	0.203	0.208	0.008	4.0%
0.5	0.506	0.506	0.509	0.468	0.483	0.496	0.495	0.016	3.3%
1	1.038	1.038	1.033	0.944	0.992	0.986	1.005	0.038	3.8%
2	1.910	2.007	2.064	1.949	1.991	2.031	1.992	0.056	2.8%
5	4.878	5.033	5.267	4.911	5.063	5.079	5.039	0.139	2.8%
20	18.339	20.401	20.798	19.473	19.718	20.743	19.912	0.940	4.7%
30	24.812	30.056	31.179	27.885	32.998	32.286	29.869	3.062	10.3%

表 2.7.1.9　本測定における検出下限及び定量範囲の例

検出下限値	定量下限値	定量上限値
定量値の精度プロファイルより CV値=30 %を示すPCB濃度又は量を検出下限値とすると規定されているが、定量値のCV値=30 %を示すPCB濃度又は量の下限値を検出下限値とした場合、実測値の精度が低下するため、B/B0値が0.9を示すPCB濃度又は量を検出下限とする。	定量値の精度プロファイルより算出された定量値のCV値=10 %を示すPCB濃度又は量を下限値とすると規定されているが、定量値のCV値=10 %を示すPCB濃度又は量の下限値を定量下限値とした場合、実測値の精度が低下するため、B/B0値が0.85を示すPCB濃度又は量を定量下限値とする。	定量値の精度プロファイルより算出された定量値のCV値=10 %を示すPCB濃度又は量を上限値とすると規定されているが、定量値のCV値=10 %を示すPCB濃度又は量の上限値を定量上限値とした場合、実測値の精度が低下するため、B/B0値が0.2を示すPCB濃度又は量を定量上限値とする。
0.25 ng/mL (KC-mix標準品)	0.375 ng/mL (KC-mix標準品)	3.94 ng/mL (KC-mix標準品)
絶縁油25 mgを前処理し、200 μL溶液として調製された測定試料を50倍希釈して測定した場合 0.25/((25/200)/50)/1000 =0.100μg/g（実測値）	絶縁油25 mgを前処理し、200 μL溶液として調製された測定試料を50倍希釈して測定した場合 0.375/((25/200)/50)/1000 =0.150μg/g（実測値）	絶縁油25 mgを前処理し、200 μL溶液として調製された測定試料を50倍希釈して測定した場合 3.94/((25/200)/50)/1000 =1.576μg/g（実測値）

用いる換算係数により、算出される検出下限値、定量下限値及び定量上限値は異なる。

3)　結果の報告及び評価

a. 濃度の単位　実測値は絶縁油重量当たりの KC-mix 相当量μg/g で表示する。

b. PCB 濃度(mg/kg)への換算　実測値(KC-mix 相当量：μg/g)を PCB 濃度に換算する場合は、実測値を換算係数（μg/g・(mg/kg)）で除して mg/kg として表示する。

c. 数値の取り扱い　濃度の表示における取り扱いは、次による。

・濃度については、JIS Z8401 によって数値を丸め、有効数字を 2 桁として表し、検出下限値未満の場合には検出下限値未満であったことを表示する。但し、試料における検出下限値の桁までとし、それより下の桁は表示しない。

・定量下限値については、JIS Z8401 によって数値を丸め、有効数字を 2 桁として表示する。

d. 結果の評価　判断基準　KC-mix 標準品を用いた本測定において、測定値(B/B0)が 0.20≦B/B0≦0.85 を示す範囲を定量範囲とし、そのときの実測値範囲は 0.15 から 1.58μg/g である（表 2.7.1.2）。

・実試料において、予備測定における測定値(B/B0)が 0.85＜B/B0 の試料は定量下限値(B/B0=0.85=0.15 mg/kg)未満の PCB 濃度であるため、希釈定量測定、希釈評価測定および換算係数選択のための測定は行わない。

・予備測定における測定値(B/B0)が推奨定量範囲外(0.70＞B/B0)の試料は推奨定量範囲（0.70≦B/B0≦0.85）に入るように希釈を行い、希釈定量測定を行う。

・希釈定量測定における測定試料溶液の測定値が校正試料-①溶液の測定値の±5%(例えば校正試料-①溶液の測定値が 0.75 の場合、測定試料溶液の測定値が 0.71 から 0.79)の範囲を外れた場合、この範囲に入る結果が得られるまで希釈定量測定をくり返す※２８)。

・定量上限値を超える試料であっても、試料を推奨定量範囲内まで希釈することで定量が可能である。

・定量範囲内の試料について、定量値のばらつき（CV）が 10 %以内のものについては、平均値を試料の PCB 濃度とする。10 %を超えるものについては、再測定とする。

但し、気泡の混入など明らかな異常が確認できた場合は、異常を示した測定値を排除した n=2 のデータより算出された値を定量値として採用しても良い場合がある。

・検出下限値未満の試料については、検出下限値及び定量下限値と共に、検出下限値未満と表記する。

e. データの取扱い　次のような現象が生じた場合は、装置が正常な状態に復帰したことを確認の上、再測定を行う。

・波形に異常が見られた場合。

・測定値が異常な場合。

・セル下部配管に気泡が混入した場合。

・セル部から液漏れが生じた場合。

・B0 溶液の測定値の CV が 5 %以上の場合。

・校正試料-①、校正試料-②、および校正試料-③溶液の測定値(B/B0 値)が異常な場合。

・バルブ等の部材の消耗によりリークが発生した場合。

f. 結果の表示例　簡易定量法による測定結果の表示等については(5).3).a から b に示すとおりであり、測定結果の表示例を表 2.7.1.10 に示す。

表 2.7.1.10　絶縁油中微量 PCB 測定結果の表記例

試料名	測定日時	供試料 μL	希釈率 -	調製液量 μL	採取量 mg	分析値 B/B0	KCmix相当量 ng/mL	実測値 μg/g	濃度値換算値 mg/kg	検出下限 mg/kg	定量下限 mg/kg
試料No.1	2009年3月1日	31.6	190	246.6	25.1	0.741	0.63	0.58	0.53	0.21	0.32
試料No.2	2009年3月1日	27.0	222	231.3	25.2	0.772	0.62	0.62	0.57	0.24	0.35
試料No.3	2009年3月1日	33.6	179	230.8	25.4	0.743	0.61	0.49	0.51	0.21	0.32
試料No.4	2009年3月1日	36.2	166	219.7	24.8	0.728	0.61	0.47	0.48	0.19	0.29
試料No.5	2009年3月1日	25.6	234	236.7	24.9	0.783	0.61	0.67	0.62	0.26	0.39
試料No.6	2009年3月1日	44.8	134	249.0	25.6	0.740	0.64	0.42	0.38	0.15	0.23
試料No.7	2009年3月2日	27.4	219	236.4	25.7	0.739	0.63	0.62	0.57	0.23	0.35
試料No.8	2009年3月2日	60.0	50	244.0	25.5	0.945	検出下限以下	検出下限以下	検出下限以下	0.03	0.05
試料No.9	2009年3月2日	35.8	168	237.0	25.2	0.735	0.60	0.46	0.48	0.21	0.31
試料No.10	2009年3月2日	34.0	176	228.7	25.6	0.755	0.58	0.47	0.49	0.21	0.31

(6) 留意事項

1) 日常精度管理

a. 一般　　試料の前処理の精度及び測定の精度を確保していることの確認を行うため、測定試料数に応じ適切な頻度で、JIS K0464「ポリクロロビフェニル（PCB）の免疫測定方法通則」において規定されている管理を行う。

b. 検量線の確認及び感度変動の管理図　　定量操作が適切に行われているかどうかを確認するため、測定担当者は、測定毎の感度校正として使用する校正試料-①溶液の測定値(B/B0)を管理図に記録し保存する。又、同時に測定時の環境温度を記録する。

管理図による処置基準は、管理限界（μ±3σ）からの逸脱状況及び管理図の傾向に応じて適切に定める（μ：工程平均、σ：定量値の標準偏差)。1 点でも管理限界を超えた場合は、原因の究明及び対策を行うとともに、試料を再測定する。改善のために講じた措置及び再測定の結果について、記録を行う。又、警戒限界（μ±2σ）内であっても基準値に対して、一定の傾向で外れていくような状態又は偏った定量値が続くような状態においても原因の究明を行い、必要に応じ対策を行うとともに、試料を再測定する。

尚、管理限界は、あらかじめ十分なサンプル数から求める。

c. 回収率の確認方法　分析における回収率の確認のための測定より得られた回収率を管理図に記録し保存する。

管理図による処置基準は、管理限界（μ±3σ）からの逸脱状況及び管理図の傾向に応じて適切に定める（μ：工程平均、σ：回収率の標準偏差)。1 点でも管理限界を超えた場合は、原因の究明及び対策を行うとともに、管理限界を超えた試料については前処理をやり直す。改善のために講じた措置及び再度前処理試料の分析における回収率の確認のための測定結果で得られた回収率について、記録を行う。又、警戒限界（μ±2σ）内であっても基準値に対して、一定の傾向で外れていくような状態又は偏った値が続くような状態においても原因の究明を行い、必要に応じ対策を行うとともに、試料の前処理をやり直し、改善のために講じた措置及び再度前処

理試料の分析における回収率の確認のための測定結果で得られた回収率について、記録を行う。

尚、管理限界は、あらかじめ十分なサンプル数から求める。

JIS K0464「ポリクロロビフェニル（PCB）の免疫測定方法通則」において規定されている日常精度管理が適切に行われ、試料の前処理の精度および測定の精度が確保されていることが確認できている場合、個々の試料の回収率確認を行う必要は無く、回収率確認のための測定は、適切な頻度（例えば分析群毎）で少なくとも 1 試料実施する。但し、実施する試料は予備測定結果より算出された絶縁油中 PCB 濃度が 0.5　mg/kg（基準値）以下の試料を用いるのが望ましい。

測定結果が管理限界を外れる場合、分析群の試料については分析における回収率の確認のための測定を行い、処置基準に従い処置する。

2）換算係数

本測定法においては、抗 PCB 抗体-①の交差反応性に起因し、異性体分布の異なる試料間で適した換算係数を用いる必要がある。試料を分類する手法としては、現測定系で使用する抗 PCB 抗体-①とは特異性の異なる抗 PCB 抗体-②を用いることにより行う。

すなわち、本測定系に使用した抗 PCB 抗体-①と交差反応性が異なる抗 PCB 抗体-②を用いて測定を行い、抗 PCB 抗体-①による実測値に対する抗 PCB 抗体-②による実測値の比率($R_{A.b}$)を求め、その比率が 0.3 より大きい場合、換算係数は 1.087(図 2.7.1.9)、0.3 より小さい場合、換算係数は 0.963(図 2.7.1.10)を用いる。

備考　比率($R_{A.b}$)および換算係数は、提供する試薬の Lot 毎に異なる場合があるため、メーカーの指示情報に基づき PCB 濃度へ換算を行う。換算係数の一例を図 2.7.1.9 および図 2.7.1.10 に示す。

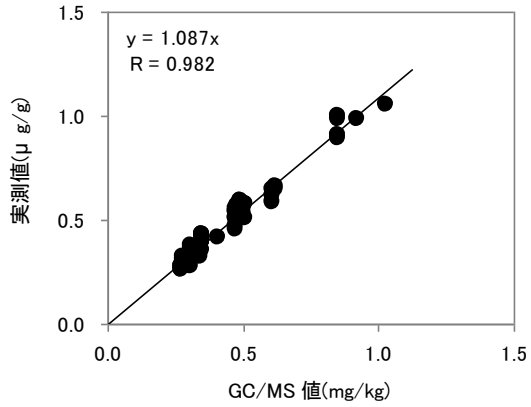


図 2.6.1.9　GC/MS 値と抗 PCB 抗体-①の実測値の相関図($R_{A.b.}$=0.3 より大きい試料)

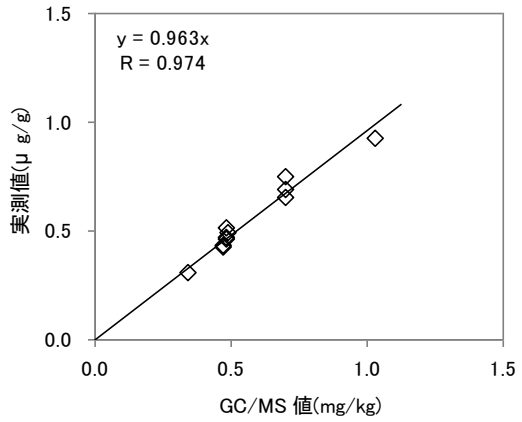


図 2.6.1.10　GC/MS 値と抗 PCB 抗体-①の実測値の相関図($R_{A.b.}$=0.3 より小さい試料)

3) 留意事項

※1　PCB バイオセンサ測定キットとしての市販品がある。

内容物は、以下の通りである。

①測定セル（抗原固相化ビーズ充填済）

②抗 PCB 抗体液-①（×10 濃度）

③抗体溶液希釈用バッファー液

④校正液-①　2,4,5-トリクロロフェノキシヘキサノイルアミノプロピオン酸(TCPHA)

⑤　キャリーオーバー洗浄液

⑥　CD(検量線データ入り)

⑦　添付書類

キットの取り扱いにあたっては、以下の取り扱い上の注点を遵守すること。

ⅰ）測定セル、抗PCB抗体-①溶液（×10濃度）および抗体溶液希釈用バッファー液は、冷蔵庫（2から8 ℃）にて保管すること。

ⅱ）抗PCB抗体-①溶液（×10濃度）および抗体溶液希釈用バッファー液の有効期間は、納入より2ヶ月以内。ただし、1×抗PCB抗体-①溶液へ調製後は1ヶ月以内に使い切ること。

ⅲ）測定セルの有効期間は、納入より2ヶ月以内。ただし、開封後は１日以内に使い切ること。

ⅳ）「校正液-①」が凍っている場合があるが、品質に影響しない。ただし、納入後は直ちに常温で解凍し、十分に混合すること。解凍後は必ず常温遮光下で保存すること。

ⅴ）キットを保管する場合は、保存場所、保存方法、汚染の配慮、温度及び湿度の情報を記録し、保存すること。

※２　約 25 mg の絶縁油を前処理し、250 μL の DMSO 試料とした場合は約 60 μL(約 6 mg 相当量)を目安とする(液量の一の位は四捨五入しても良い)。

※３　最適供試料量が 10 μL 未満と算出された場合、供試料量が 10 μL 以上となるように希釈し、測定に用いる。希釈の際は精密天秤で重量を量り希釈倍率を計算する。

※４　抗 PCB 抗体を用いた希釈定量測定結果と、抗 PCB 抗体-②を用いた測定結果の比率より、PCB 濃度(mg/kg)を算出するために用いる換算係数を選択する(測定に用いる試料量が足りない場合は、新たに前処理を行い、用いる試料量を確保する)。又、約 25 mg の絶縁油を前処理した試料且つ低濃度の試料であり、換算係数選択のための測定に用いる試料量が最大量（5 % DMSO 量）を超える場合は約 50 mg の絶縁油を再前処理した試料を用いて測定を行う。

※５　換算係数選択のための測定キットは市販されている。

①　測定セル（抗原固相化ビーズ充填済）

②　抗 PCB 抗体-②溶液

※６　抗 PCB 抗体-②を用いた測定の場合、希釈定量測定に用いた 3 倍濃度の試料を使用する。

※７　JIS K0461「競合免疫測定方法通則」および JIS K0464「ポリクロロビフェニル(PCB)の免疫測定方法通則」に規定するもの、又は同等の品質のものを使用する。

※８　TCPHA 以外にも KC-mix 標準溶液を校正液(校正液-①、校正液-②)として使用することができる。

※９　分析における回収率確認のための測定キットは市販されている。

内容物は、以下の通りである。

①　測定セル（抗原固相化ビーズ充填済）

②　抗 PCB 抗体-③溶液

※１０　その他留意事項

・蛍光検出装置は水平な台に設置すること。

・急激な温度変化や直風の当たらない場所に設置し、周囲温度は 22℃から 27 ℃にする。

・測定温度は 24±1 ℃の環境で測定することを推奨する。

・ほこり、振動、強い磁場のある場所は避けること。

・吸引する溶液に気泡が入らないように注意する。

・マイクロピペットによる吸引及び吐出は、気泡が入らないようゆっくりスムーズに行うこと。

・チップは溶液を変更する度に交換することを推奨する。

・市販器具を使用することも可能であるが、測定精度に影響が無い事を確認すること。

・使用する器具などは、試料の吸着が少ない部材を選択すること。

※１１　秤量に用いる天秤は、0.1 mgまで測定できるものを使用すること。

※１２　前処理後の多層シリカゲルカラムについては、測定データの信頼性が確認されるまで現物保存もしくは写真を撮り保存すること。試料の精製度の確認は、試料の精製度確認のための測定を行い判断することができる。精製度が不十分である場合、使用した多層シリカゲルカラムの着色状態などから原因を明らかにした上で試料を減量する等して前処理をやり直す。

※１３　多層シリカゲルカラムに移し入れる溶液及び洗浄液量は合計でほぼ 1 mL とする。この液量以下あるいは以上であると精製効率が低下することがある。

※１４　この部分以外を加熱すると精製効率が低下及び PCB の回収率が低下することがある。

※１５　加熱温度は 60℃から 90℃の範囲で、加熱時間は任意の範囲で変化させても良いが、85 ℃にて 60 分間加熱する場合と同等の精製効果が得られること。

※１６　ヘキサンの液量を変化させても良いが、PCB の回収率が確保されることを確認すること。

※１７　着色した部分が片寄ったりしているなど、カラムクロマトの展開が乱れている場合は、やり直すこと。

※１８　加熱温度を変化させても良いが、PCB の回収率が確保されることを確認すること。

※１９　DMSO の液量を変化させても良いが、PCB の回収率と測定における感度が確保されることを確認すること。

※２０　校正液-①濃度はキットのロット等により若干使用する濃度が変更となる場合があるが、分析値(B/B0 値)が 0.75 付近の濃度を用いる。キット内容物として提供する校正液-①(TCPHA)濃度は約 30μg/mL(終濃度は約 1.5μg/mL)である。又、

KC-mix を校正液-①として使用する場合は約 12 ng/mL(終濃度は約 0.6 ng/mL)を目安にして分析値(B/B0 値)が 0.75 付近となる濃度を設定する。

※２１　約 25 mg の絶縁油を前処理し、DMSO 試料とした場合は約 60μL(約 6 mg 相当量) を目安とする(液量の一の位は四捨五入しても良い)。

※２２　試料量 XμL は予備測定結果より以下の式を用いて、希釈評価測定用最適供試量を求められる(解析シートでは自動計算される)。

$$X = \frac{0.6 \times V}{C}$$

ここに、X　：希釈評価測定用最適供試量（μL）

V　：測定への試料量（μL）

C　：標準物質相当量（KC-mix 換算値 ng/mL）

※２３　本測定で使用している蛍光検出装置には試料をセットする場所として、5 つの場所(ポート)が用意されており、B0 液をセットする場所を B0 ポート、校正試料溶液(校正試料-①溶液、校正試料-②溶液、又は校正試料-③溶液)をセットする場所をポート 1、試料溶液をセットする場所をポート 2 から 4 としている。

※２４　試料量 AμL は 9 mg 相当量、 BμL は 12 mg 相当量、 CμL は 15 mg 相当量である。

※２５　試料量 aμL は希釈定量測定又は希釈評価測定で用いた、供試量を示す。但し、試料量 a は 50μL 以下とする。

※２６　試料量 ZμL は 8 ng の PCB169 をクリーンアップスパイクとして加えた試料の前処理を行い調製された調製液量の 1/50 倍量である。

※２７　抗 PCB 抗体-①と抗 PCB 抗体-②を用いた測定結果より算出された実測値の比率より、使用する換算係数が選択される。

※２８　推奨定量範囲の測定結果を得るために、測定値(B/B0)が 0.05 以上から 0.20 未満の試料は 5 から 20 倍希釈、0.05 未満の試料は 30 から 100 倍希釈を目安として希釈を行う。1 度の希釈操作を行うことで、最大 20 mg/kg までの PCB 濃度の試料測定結果を得ることができる(2 度以上の希釈操作を行うことで、500 mg/kg 以上の PCB 濃度試料の測定が可能である)。

３　絶縁油中の PCB 迅速判定法

3.1　ガスクロマトグラフ/電子捕獲型検出器(GC/ECD)を適用した迅速判定法

本マニュアルでは、GC/ECD 法を適用した迅速判定法として以下の技術を定める。

3.1.1　SO_3添加濃硫酸多層シリカゲル処理/キャピラリカラムガスクロマトグラフ/電子捕獲型検出器(GC/ECD)法

(1) 概要（適用範囲）

ここに定める方法は、SO_3添加濃硫酸多層シリカゲル処理/ガスクロマトグラフ/電子捕獲型検出器を用いた、変圧器やコンデンサ等の重電機器に使用される電気絶縁油中の PCB について適用する。

(2) 測定の概要

1) 測定の概要

本方法は、SO_3添加濃硫酸多層シリカゲルとアルミナカラムを連結したミニカラムで精製処理、濃縮後、PCB画分をGC/ECDにより測定を行い、指定した14本のピークの組成と濃度にマッチングするように4種類のカネクロール(KC)製品(KC-300、KC-400、KC-500、KC-600）の混合割合を演繹して、全PCB濃度を算出する。

2) 測定操作フロー

測定操作のフローを図3.1.1.1に示す。

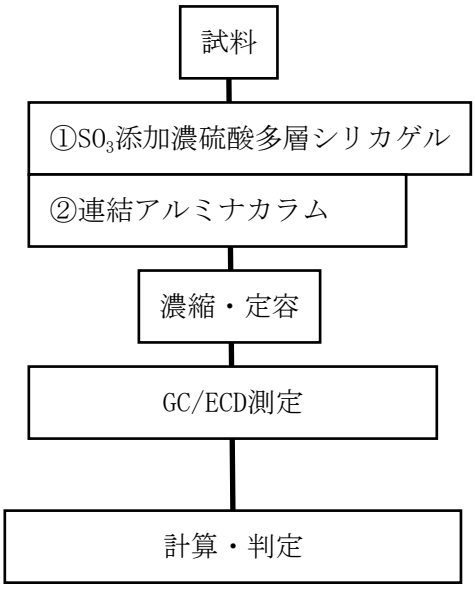


図3.1.1.1 測定操作のフロー

(3) 試薬及び使用器具

1) 試薬

測定に使用する試薬は次による。これらの試薬は、空試験などによって測定に支障のないことを確認しておく。又、記述以外の試薬を使用する場合も同等の試験を行い、測定に支障のないことを確認しておく。

a. ヘキサン　JIS K8825に規定するもの、又は同等の品質のもの。

b. アセトン　JIS K8040に規定するもの、又は同等の品質のもの。

c. ジクロロメタン　JIS K8117に規定するもの、又は同等の品質のもの。

d. ノナン　測定に支障のない品質のもの。

e. SO_3添加濃硫酸含浸シリカゲル　遊離SO_3が3%以上7%未満(質量分率)のもので測定に支障のない品質のもの。遊離SO_3の濃度によって分析の品質に影響するため、(6)分析精度管理の規定を満足しない場合は、SO_3添加濃硫酸含浸シリカゲルの状態（使用前のSO_3添加濃硫酸含浸シリカゲルがガラス製アンプルに密封されていること。変色の無いこと。固まらず粉体状であること。使用後は試料との反応による着色が見られること等）をまず確認する。使用前に、あらかじめ遊離SO_3濃度を確認するか、または濃度が保証されているものを使用する。SO_3添加濃硫酸シリカゲルは、ガラス製アンプルに密封して保管する。

f. アミノプロピルシリカゲル　シリカゲル基材にアミノプロピル基を結合させたもので、細孔径 6nm、粒子径 100μm のもの。

g. 硝酸銀[10%(質量分率)]シリカゲル　平成4 年厚生省告示第192 号別表第2 に示される方法で調製をする。また、これに準ずる既製品などでも代用できる。

h. 無水硫酸ナトリウム　JIS K8987に規定するもの。又は同等の品質のもの。

i. 活性アルミナ　カラムクロマトグラフ用、塩基性 活性度スーパーI 又は同等な品質のもので予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。活性化する必要のある場合には、ビーカーに層の厚さを10㎜以下にして入れて130℃で約18時間加熱、またはペトリ皿に層の厚さを約5㎜程度にして入れて500℃で約8時間加熱処理した後、デシケーター中で約30分間放冷した後、密閉できる試薬瓶中に保存する。

j. ヘリウム　純度99.9999%以上のもの。又はブランク測定時にクロマトへの妨害ピークの検出やPCBの検出が無いもの。

k. 窒素　純度99.9995%以上のもの。又はブランク測定時にクロマトへの妨害ピークの検出やPCBの検出が無いもの。

l. カネクロール混合液　(KC-mix) : KC-300 : KC-400 : KC-500 : KC-600＝1 : 1 : 1 : 1 トータルPCB濃度として400μg/mLとなるようにヘキサンで希釈したもの。(KC-300、KC-400、KC-500およびKC-600の各濃度が、100±10μg/mLである）、または同等な品質のもの。

m. クリーンアップスパイク溶液　2,3,3',4,4',5,5'-H7CB(IUPAC No.189)等、測定に影

響が少ない異性体を用いる。0.1μg/mLのノナン溶液

n. **シリンジスパイク溶液**　2,2',3,3',4,4',5,6,6'-N9CB（IUPAC No.207）等、測定に影響が少ない異性体を用いる。1.0μg/mLのノナン溶液

2）器具

測定に使用する器具は次による。これらの器具は、空試験などによって測定に支障のないことを確認しておく。

a. **ガラス器具**（ナス型フラスコ又はナシ型フラスコ、全量フラスコ）：JIS R3503 及び JIS R3505 に規定するもの、又は同等な品質のもの。

ガラス器具で、試料と接触し、再使用するものは使用前・使用後に洗浄を行う。

・使用前は、アセトンおよびヘキサンで洗浄し、溶媒が揮発してから使用する。

・使用後は再使用に備え、あらかじめブランク測定でクロマトへの妨害ピークの検出やPCBの検出が無い事を確認した方法で洗浄を行う。例えば、アセトンで内壁を洗い流し、洗液は専用廃液入れに回収する。ブラッシングを行い、アセトンでよく洗い流したあと、水道水で水洗し、アルカリ性洗浄剤に1時間以上浸す。その後水道水で充分に水洗し、さらに純水で水洗したのち乾燥する。

b. **注射筒**　プラスチック製またはガラス製。内径16mmおよび13mmのもの 2種類。測定に妨害をきたさないもの。PCBの吸着が無いことを確認しておく。

c. **ガラス繊維ろ紙**　直径16mmφおよび13mmφのもの2種類。測定に妨害をきたさないもの。

d. **GC用バイアル瓶(2mL)およびインサートバイアル**　測定に妨害をきたさないもの。GCで自動注入装置を用いる場合は、装置に適合したもの。

e. **マイクロピペット**　JIS K0970 に規定するもの、又はこれと同等の品質のもの。電動式のものを含む。

f. **ピペットチップ**　測定に妨害をきたさないもの。マイクロピペットに適合した100, 1000μL仕様のもの。

g. **パスツールピペット**　測定に妨害をきたさないもの。

h. **濃縮器**　目的成分の損失や測定妨害が起こらないことを確認した濃縮器で濃縮を行う。接続部にグリースを使用してはならない。例えば、ロータリーエバポレーターを使用する場合、温度や圧力、回転速度の設定、揮散損失を防止するための高沸点溶媒の添加（種類、量）について確認しておく。

i. **窒素濃縮装置**　窒素気流を流下し、GC用バイアル瓶(インサートバイアルを使用する場合は、インサートバイアルを含む)中の溶媒を濃縮することのできる装置。

j. **電子天秤**　0.01gの秤量が可能な性能のもの。

3）使用装置

測定に使用する装置は次による。尚、GC/ECDの満たすべき条件は分離として、PCB等量混合標準液を測定して得られるピークの分離の程度がPCB定性分析（ピーク同定）で参照するクロマトグラムと同等の分離であること。感度として、検量線の中間濃度を測定した際、検量線作成時の感度と比較して大きな変動がないこと。

a. ガスクロマトグラフ：

ⅰ 試料導入部：スプリットレス方式、オンカラム注入方式で250℃から280℃において使用可能なもの。

ⅱ カラム：内径0.1から0.25㎜、長さ30から60mの溶融シリカ製のキャピラリーカラムでKC-mixのクロマトグラムピークのアサインがされているもの。

ⅲ キャリアーガス：ヘリウム 純度99.9999%以上のもの

ⅳ カラム温度：温度制御範囲が50から350℃であり、測定対象物質の最適分離条件の温度に調節できるような昇温プログラムが可能なもの。

ⅴ 検出器：電子捕獲検出器（ECD）

(4) 前処理

前処理に関する操作フローを図3.1.1.2に示す。

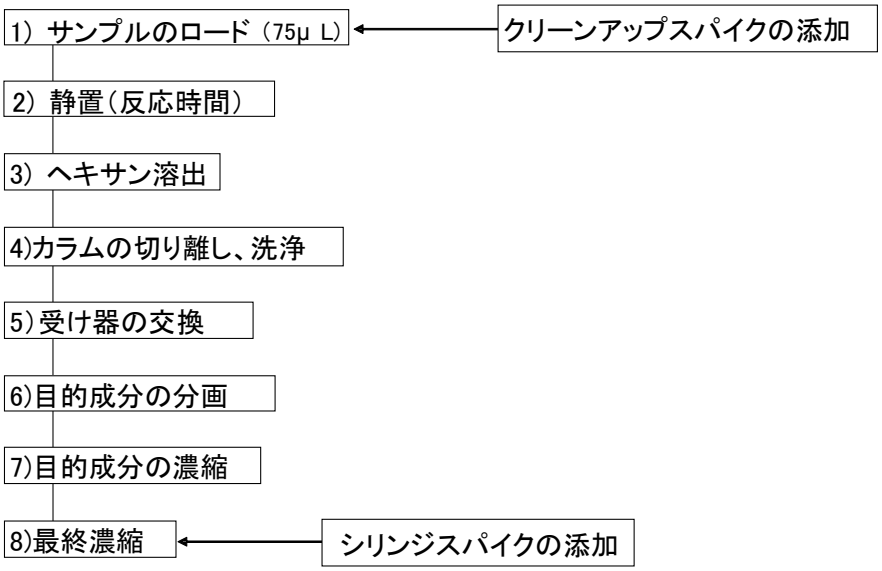


図3.1.1.2　前処理操作フロー

1）精製カラムの作成

a. ガラス繊維ろ紙を詰めたシリンジ(内径16㎜：プラスチック製またはガラス製)に、図3.1.1.3に示すように、下から、硝酸銀[10%(質量分率)]シリカゲル、無水硫酸ナトリウム、アミノプロピルシリカゲル、無水硫酸ナトリウム、SO_3添加濃硫酸含浸シ

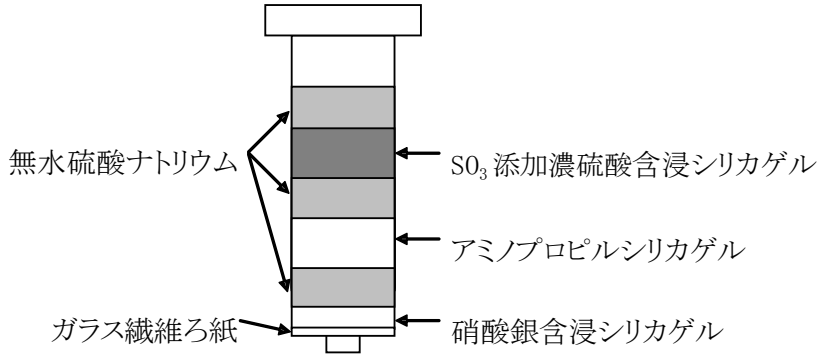
リカゲル、無水硫酸ナトリウムを充填する。各充填剤は、変色などの異常がないことを確認して使用する。

b. ヘキサン15mLを流下し、積層カラムを洗浄する。この工程は、ブランク試験でクロマトグラム上に妨害ピークが出現しないことが確認できた場合は省略または、ヘキサンの流下量を加減できる。カラム内に気泡が見られる場合には、注射筒などを用いてヘキサンを加圧注入する等してシリカゲルの気泡を除く（気泡の除かれたシリカゲルは半透明になる）。

c. 上記とは別のガラス繊維ろ紙を詰めたシリンジ(例：内径13㎜：プラスチック製またはガラス製)に、図3.1.1.4に示すように、下から、活性アルミナ、無水硫酸ナトリウムを充填する。このとき、活性アルミナの充填量は、活性アルミナのロット毎に、20mLのヘキサンに対して目的成分を溶出しない充填量となるように決定する。

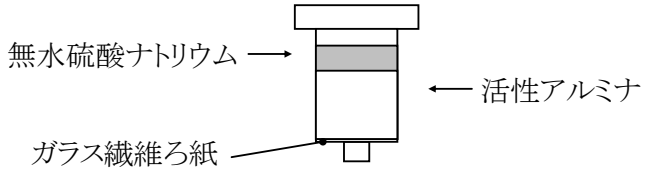
これらのカラムを上下に直列に配置する。カラムの下部には、溶離液（ヘキサン）を受ける容器を設置する。この画分は、測定対象ではない。PCB溶出画分は、この容器とは別の容器で捕集するが、詳細は、2)前処理に記述する。

活性アルミナカラムの充填終了後、速やかに 2)の前処理を行う事。但し、ヘキサンの液面が上部の無水硫酸ナトリウムの上端とほぼ同じかそれ以下まで下がってからサンプルをロードする。時間がたって乾固したカラムは分析に使用しない。



充填剤充填量の例	
無水硫酸ナトリウム	:0.5g
SO_3 添加濃硫酸含浸シリカゲル	:2.0g
無水硫酸ナトリウム	:0.5g
アミノプロピルシリカゲル	:1.5g
無水硫酸ナトリウム	:0.5g
硝酸銀含浸シリカゲル	:0.2g

図3.1.1.3　多層シリカゲルカラムの例



充填量例	
無水硫酸ナトリウム	:0.5g
活性アルミナ	:3g

図3.1.1.4　活性アルミナカラムの例

2）前処理

a. サンプルのロード

(4).1）で準備したカラムの上部に、分析に供する絶縁油をロードする。試料容器内の代表性が損なわれないように注意する。このとき、試料量は 75μL程度を基本とするが、測定装置の感度や目標下限値から適切な量を用いる。通常、試料の量り取りにはマイクロピペットを用いる。粘性が高くマイクロピペットでの量り取りが出来ない試料については、定容フラスコ等に試料を取り、電子天秤で質量を測定し、ヘキサンで定容した溶液を分析試料とする。

サンプル添加後、0.1μg/mLのクリーンアップスパイク溶液を100μL添加し、更にヘキサン100μLを流下する。

b. 反応時間

サンプルロード後、 3分間静置する。その後、再度ヘキサン200μLを流下する。さらに、3分間静置する。

c. ヘキサンによる展開

ヘキサン 15mLをカラム上部から流下し、サンプルをカラムに展開する。ヘキサンの流下量は、充填剤の量やロットなどにより分画条件を別途確認して決定する。このとき、上の多層シリカゲルカラムから流下した液が下の活性アルミナカラムを通過して捕集容器に流下する工程で、液が切れたり、あふれないようにヘキサンの添加のタイミングに注意する。

分画条件の確認は、KC-mixを添加した絶縁油試料に対し、3mL程度ずつの分画試験を5から8画分程度行い、測定の対象となる14ピークの有無をもって判断する。多層シリカゲルカラムからの溶出が十分であり、かつ、活性アルミナカラムから溶出されないヘキサン量を本工程のヘキサン量として設定する※2)。次工程でヘキサン3mLによる活性アルミナカラムの洗浄が必要であるから、この分のヘキサン量も考慮する※3)。

d. カラムの切り離し、洗浄

上段のカラムを切り離し、下段のカラムのみを使用する。

下段のカラムのみに、ヘキサン3mLで内壁を洗うようにして流下する。ヘキサンの流下量は、充填剤の量やロットなどにより分画条件を別途確認して決定する。分画条件の確認は、d.の記載による。

e. 受け器の交換

濃縮工程で使用できる受け器に交換する。濃縮工程は、目的成分の揮散損失や測定妨害が起こらないことを確認した方法を用いる。

ロータリーエバポレーターを使用する場合、受け器は20から30mL容程度の濃縮用フラスコを用いると良い。その場合、濃縮時の目的成分損失予防のため、ノナン等

（測定を妨害しない高沸点溶媒）を最終液量に合わせ100から1000μL程度添加しておく。

f. 目的成分の分画

下段のカラムに、ジクロロメタン5mLを流下し、5)の受け器に目的成分を回収する。このときのジクロロメタンの流下量は、活性アルミナのロット毎に、アルミナカラムにヘキサンを用いて流下・吸着させた目的成分を、充分に溶出させる事が出来る量として予め決定する。

分画条件の確認は、KC-mixを添加した絶縁油試料に対し、e.までの工程を実施した後、ジクロロメタンで1mL程度ずつの分画試験を行い、測定の対象となる代表ピークの有無をもって判断する。活性アルミナカラムからの溶出が終わる液量以上を本工程のジクロロメタン量として設定する。

g. 目的成分の濃縮

目的成分の損失や測定妨害が起こらないことを確認した方法で濃縮を行う。例えば、ロータリーエバポレーターを使用する場合、温度や圧力、回転速度の設定、揮散損失を防止するための高沸点溶媒の添加（種類、量）について確認しておく。

h. 最終濃縮

測定感度に合わせて設定した最終液量への定容を行う。2mLバイアルを用いて、500μLに最終液量調整する場合の例を下記に示す。

i 測定装置に適したバイアル(必要な場合はインサートバイアルを併用）に、定容線を記す※4)。予め定容線のついたバイアルを用いる場合はこの作業は不要である。

ii (4).2).hの濃縮液を、パスツールピペット等で移液する。

iii 移液した後の受け器に、別途ヘキサンを少量添加し、受け器の内面を洗いながら定容線まで移液を数回繰り返して1.0μg/mLのシリンジスパイク溶液を10μL添加する。

iv 定容線を超えた場合は、窒素濃縮装置で弱い気流を当て、濃縮を行う。

v 最後に、パスツールピペット等で、インサートバイアル内の最終濃縮液を撹拌して均一にし、蓋を閉める。すぐに測定をしない場合は冷蔵庫で保管すること。

(5) 機器測定

1) 機器測定

a. KC-mix を GC/ECD 測定に支障の無い有機溶媒で希釈し、検量線用標準溶液を調製する。目安として、0.01 から 1　mg/L で 5 水準程度を作成する。この標準溶液は検量線の確認((6).1)検量線で詳述)で使用するが、このうち、検量線の直線領域にある標準溶液については、そのうちの一水準（0.5mg/kg の試料を前処理して検液として得られる濃度と同水準の標準溶液）を前処理済み試料測定時に同一条件で併せて測定する。

b. 標準溶液を所定の条件で安定した GC/ECD に注入し、得られたクロマトグラムのピ

ークに図 1.2.2 を参考にして番号（1 から 93、以下ピーク番号という）を付ける。装置の状態によっては、ピークの状態が図 1.2.2 の例とは異なる場合がある※5)。

c. 前処理済み試料溶液を所定の条件で GC/ECD に注入し、クロマトグラムを得る。

d. 感度確認として以下の方法がある。PCB 濃度 0.3mg/kg となるように KC-mix を添加した絶縁油を本法に従って処理し、得られる検液を本法の条件に設定した GC に注入して ECD クロマトグラムを得る。このピークのうち、(5).2)で代表ピークとして選出しているピークのうち最も CB%が少ないもの(No.70 CB% = 0.85) の S/N 比が 3 以上あること。

CB%については本マニュアル表 1.2.4 を利用するか、必要に応じて自社で確認したものを用いる。確認には GC/FID 及び GC/MS を用いて、ピーク同定とピーク面積の測定を行い、各ピークの存在割合を定める。

2) 定性法

(5).1).c で得られたクロマトグラムをアサインし、(5).1).b の標準溶液のクロマトグラムのピーク位置に相当する試料溶液のクロマトグラムのピークにピーク番号を付す。この際、あらかじめ選出した 14 本（以下、代表ピーク）についてのみアサインし、そのピークの高さを測定する。

代表ピークは、使用する測定装置の状態などからクロマトグラムの形状を勘案して、(5).1).a で得られる 93 本のピークの内、以下に示す 14 ピークを代表ピークとする。

*代表ピーク：No.6&7、No.8、No.15&16、No.22、No.24&25、No.32、No.34、No.39、No.48&49、No.52、No.58&59、No.64&65、No.70、No.80&81

（ピークが分離していないものは 1 本のピークとして扱う。）

1 日に保持時間が±5%以上変動する場合は、メンテナンスを実施し、再測定する。夾雑ピークが大量に検出され定量困難なときまたは、クロマトグラムにおいてピークトップの確認が困難な状態となった場合には、(4).の工程をはじめから再度実施し、再測定する。それでも改善が見られない場合は、欠測として扱い、簡易定量法など、他法での確認試験を行うこと。

当該ピークの保持時間の±5%の範囲に S/N 比が 3 以上のピークが存在しない場合は、そのピークは不検出として扱ってよい。代表ピークの全てが不検出となった場合は、3)定量法に進まずに検出限界以下と判定して良い。

3) 定量法

事前に a の作業を実施し、計算シートを準備しておく。都度の測定の際には、b から e を実行する。

a. 以下の測定等を事前に行い、計算シートを準備しておく。（計算シートの例を「付

図 3.1.1.1、付図 3.1.1.2」に示す。）

約 1mg/kg に調製した KC-300、KC-400、KC-500 および KC-600 を含む油を、それぞれ HRGC/HRMS 測定(平成 4 年厚生省告示第 192 号)により測定した全 PCB 濃度を C_{300HR}、C_{400HR} 、C_{500HR}、および C_{600HR} とする。上記の 4 つの油を等量ずつ混合した油(KC-mix 油)についても同様に測定し、全 PCB 濃度を C_{mixHR} とする。

同じ油を、それぞれ 3.1.1 (4)前処理の方法で精製し、HRGC/ECD 測定(JIS K0093：2006 附属書 2)により測定する。この際、キャピラリーカラムにより PCB は 93 本のピークに分離されるが、この中から本法で用いる代表ピーク 14 本を使用する。

代表ピーク 14 本の検出量（ピーク高さ）をそれぞれ、以下の通りとする。

$H_{300ECD(1)}$、$H_{300ECD(2)}$、$H_{300ECD(3)}$、… $H_{300ECD(x)}$
$H_{400ECD(1)}$、$H_{400ECD(2)}$、$H_{400ECD(3)}$、… $H_{400ECD(x)}$
$H_{500ECD(1)}$、$H_{500ECD(2)}$、$H_{500ECD(3)}$、… $H_{500ECD(x)}$
$H_{600ECD(1)}$、$H_{600ECD(2)}$、$H_{600ECD(3)}$、… $H_{600ECD(x)}$
$H_{mixECD(1)}$、$H_{mixECD(2)}$、$H_{mixECD(3)}$、… $H_{mixECD(x)}$

本マニュアルの表 1.2.4 に示される CB%のうち、代表ピークに該当するものを以下とする。また、同表に示される CB%の合計は、99.881%である。

$CB\%_{(1)}$、$CB\%_{(2)}$、$CB\%_{(3)}$、… $CB\%_{(x)}$

ここで、式-1 から式-4 により、約 1mg/kg に調製した KC-300、KC-400、KC-500 および KC-600 を含む油における、ピーク存在比 $R_{300(x)}$、$R_{400(x)}$、$R_{500(x)}$、および $R_{600(x)}$ を求める。

$$R_{300(x)} = \frac{\frac{H_{300ECD(x)}}{C_{300HR}}}{\frac{H_{300ECD(x)}}{C_{300HR}}} \times \frac{CB\%_{(x)}}{99.881\%} \qquad \text{《式-1》}$$

$$R_{400(x)} = \frac{\frac{H_{400ECD(x)}}{C_{400HR}}}{\frac{H_{400ECD(x)}}{C_{400HR}}} \times \frac{CB\%_{(x)}}{99.881\%} \qquad \text{《式-2》}$$

$$R_{500(x)} = \frac{\frac{H_{500ECD(x)}}{C_{500HR}}}{\frac{H_{500ECD(x)}}{C_{500HR}}} \times \frac{CB\%_{(x)}}{99.881\%} \qquad \text{《式-3》}$$

$$R_{600(x)} = \frac{\frac{H_{600ECD(x)}}{C_{600HR}}}{\frac{H_{600ECD(x)}}{C_{600HR}}} \times \frac{CB\%_{(x)}}{99.881\%} \qquad \text{《式-4》}$$

b. 日々の試料測定の際には、必ずKC-mixを一連の試料と同一日に測定する。
標準溶液、試料ともに、代表ピークの検出量（ピーク高さ）を求める。
標準溶液の濃度を　C_{STD}　とする。
標準溶液の代表ピークｘ本の検出量（ピーク高さ）をそれぞれ、以下とする。

$H_{STD(1)}$、$H_{STD(2)}$、$H_{STD(3)}$、… $H_{STD(x)}$

試料の代表ピークｘ本の検出量（ピーク高さ）をそれぞれ、以下とする。

$H_{Sam(1)}$、$H_{Sam(2)}$、$H_{Sam(3)}$、… $H_{Sam(x)}$

式⑤により、試料のピーク毎の実測値 $M_{(x)}$を求める。

$$M_{(x)} = C_{STD} \times \frac{CB\%_{(x)}}{99.881\%} \times \frac{H_{Sam(x)}}{H_{STD(x)}} \qquad \text{《式-5》}$$

c. ここで、試料中のKC-300、KC-400、KC-500およびKC-600の濃度をそれぞれ、C_{A300}、C_{A400}、C_{A500}、およびC_{A600}、として仮定する。この仮定の濃度より、式-6を用いて、試料中のピーク毎の推定値$P_{(x)}$を求める。

$$P_{(x)} = R_{300(x)} \times C_{A300} + R_{400(x)} \times C_{A400} + R_{500(x)} \times C_{A500} + R_{600(x)} \times C_{A600} \qquad \text{《式-6》}$$

d. 式-7で求める ピーク毎の 実測値M(x)と推定値P(x)の差(error)が最小となるようにC_{A300}、C_{A400}、C_{A500}、およびC_{A600}を変化させ、C_{A300}、C_{A400}、C_{A500}、およびC_{A600}の合計値として、測定液中の総PCB濃度C_{ASUM}を算出する。

$$error = \sqrt{\sum_{i=1}^{x} \{M_{(x)} - P_{(x)}\}^2} \qquad \text{《式-7》}$$

e. 式-7を最小にする値として求めた測定液中の総PCB濃度C_{ASUM}から、式-8によって、試料質量あたりのPCB濃度Cを算出する。

$$C = \frac{C_{ASUM} \times v}{V \times g} \qquad \text{《式-8》}$$

ここで、v：測定液最終液量(μL)
V:試料供試量(μL)
g：試料比重(g/mL)　とする。
Cが求める試料濃度となる。

4）報告

算出結果は JIS Z8401 に従い、有効数字 2 桁に丸める。ただし、値が測定方法の下限値と同じ位になる場合は、下限値の位までを有効とし、JIS Z8401 に従い、有効数字 1 桁とする。測定方法の下限値未満の場合は、不含として報告する。また、下限値以上であっても、算出結果が 0.3mg/kg 未満となる場合は不含と判定する。算出結果が 0.3mg/kg 以上の場合は、含有と判定する。

5）異常値及び欠測値の取り扱い

異常値及び欠測値については、その原因等を検討し、その結果を記録する。また、異常値及び欠測値について、問題がある場合については、必要な措置を講じる。

(6) 分析精度管理

精度管理については、「1.5 精度管理について」に従うこと。尚、本測定法に関わる個別事項については、以下に示す。

1）検量線（作成と直線性の確認）

a. 検量線の作成

検量線は 5 水準（0.01、0.05、0.1、0.2、0.5mg/L 程度）の濃度※6）の標準溶液を各 3 回測定し、作成する。このとき、各濃度のばらつき(CV%)は、5%以内であることを目標とし、10%を超える濃度水準がある場合には、検量線の作成をやり直す。

得られた測定結果を横軸に濃度、縦軸にピーク高さ（PCB 由来ピークの総和）でプロットし、原点を通る直線を最小二乗法を用いて作成する。

b. 検量線の例

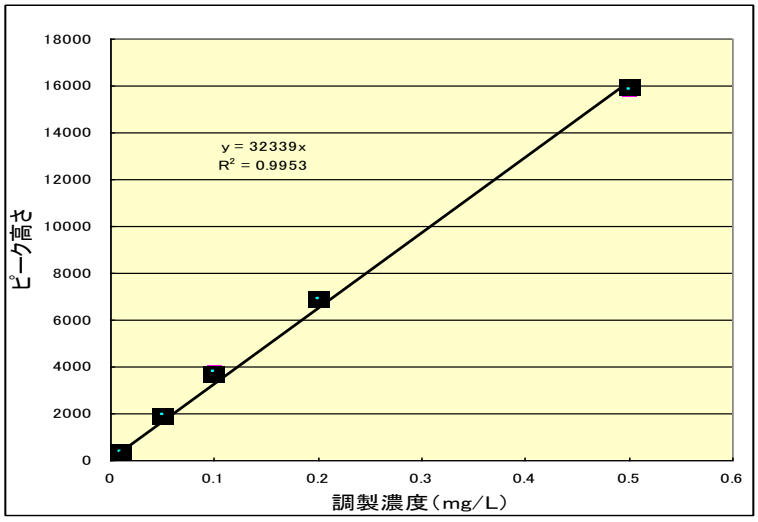


図 3.1.2.5. PCB(KC-mix)検量線の例

2) 検出下限値および定量下限値

a. 装置の検出下限値(IDL：Instrument Detection Limit)

IDL の算出および目標検出下限値 0.3mg/kg との比較

検量線作成用標準溶液の最低濃度：0.01mg/L 程度を 5 回測定し、得られた測定値(ng)から標本標準偏差（s）を求め、次式より算出する。

$$IDL=3\times s \qquad \text{《式-9》}$$

測定試料溶液中の試料量及び測定試料溶液量から IDL の試料換算濃度を求め、目標検出下限値 0.3mg/kg 以下であることを確認する。

目標検出下限値 0.3mg/kg を超過した場合、GC/ECD のメンテナンスを行い再測定する。

b. 装置の定量下限値(IQL：Instrument Quantification Limit)

IQL の算出は、a.の IDL 算出に用いた標準偏差 s の 10 倍値とする。

測定試料溶液中の試料量及び測定試料溶液量から、IQL の試料換算濃度を求める。

$$IQL=10\times s \qquad \text{《式-10》}$$

c. 測定方法の検出下限値(MDL：Method Detection Limit)

MDL の算出は、目標検出下限値付近の濃度となるようにカネクロール標準品を添加した絶縁油を 5 回以上測定し、得られた測定値の標本の標準偏差（s）を求め、その 3 倍を測定方法の検出下限値(MDL)とする。

$$MDL=3\times s \qquad \text{《式-11》}$$

算出した MDL が目標検出下限値 0.3mg/kg 以下であることを確認する。

目標検出下限値 0.3mg/kg を超過した場合、測定操作の見直しを実施し、再度測定をする。改善が見られない場合、最終液量や試料量、注入量などを変更し高感度化を図る。

d. 分析試験法の定量下限値(MQL：Method Quantification Limit)

MQL の算出は c.の MDL 算出に用いた標本の標準偏差 s の 10 倍値とする

$$MQL=10\times s \qquad \text{《式-12》}$$

3）操作ブランク試験

操作ブランクを月に 1 回以上実施し、試料濃度への換算値が目標検出下限値未満であることを確認する。目標検出下限値以上であった場合、測定操作（試薬・器具・資材の汚染等）の見直しを実施し、再度測定をする。

4）濃度既知試料の測定

PCB 不検出油に標準溶液を添加して調製した試料、または、本マニュアルに示す簡易定量法もしくは、平成 4 年 厚生省告示第 192 号別表 2 に定める方法で濃度の確認を行った試料を用意し、これを濃度既知試料とする。濃度既知試料の測定は、ガスクロマトグラフによる一連のシーケンス測定中に 1 回以上の頻度となるように行う。1 つの前処理済み測定液に対するガスクロマトグラフ注入回数は 1 回とする。本法での測定値を既知濃度で除した値が、0.7 から 1.5 であることを確認する。この範囲を外れる場合、原因を調査し、同一シーケンスの試料を再測定する。原因がガスクロマトグラフ工程よりも前にあると考えられる場合には、前処理から再測定する。

5）二重測定

実試料を n=2 以上で測定し、平均値が目標検出下限値以上である場合、すべての測定値が平均値の±30%以内となることを確認する。逸脱する場合は、原因を調査し、再試験する。

6）内部標準物質の添加による回収率確認

前処理時に内部標準物質を添加し、添加量に対する検出量の比から回収率を確認する。内部標準物質としては、GC/ECD 測定時に、代表ピークの測定を妨害せず、かつクロマトグラム上で同時に測定できる物質を選定する。例えば、カネクロールにはほとんど含まれず、前処理時の挙動が目的成分と類似している PCB 成分の中から選出することが望ましい。

回収率の算出は、クリーンアップスパイクおよびシリンジスパイクの同量（10ng）を GC/ECD に注入し、各内標準物質のピーク高さを読み取り、次に掲げる式によって相対感度係数（ＲＲＦ）を求めておき、算出されたＲＲＦを用いて試料のクリーンアップスパイク回収率を算出する。

$$\mathrm{RRF} = \frac{\text{標準液におけるクリーンアップスパイクのピーク高さ}}{\text{標準液におけるシリンジスパイクのピーク高さ}}$$

$$\text{クリーンアップスパイクの回収率(\%)} = \frac{\text{クリーンアップスパイクのピーク高さ}}{\text{シリンジスパイクのピーク高さ}} \times \frac{100}{\mathrm{RRF}}$$

内部標準物質の回収率は、50%から 120%であることを確認する。逸脱する場合は、原因を調査し、再試験する。

本法における前処理時の平均的な回収率に対する補正は、(5).3).において、それぞれ濃度 C_{300HR}、C_{400HR} 、C_{500HR}、および C_{600HR} の KC-300、KC-400、KC-500 および KC-600 を含む油を測定する工程において担保されるものであるため、個々の回収率確認結果からの測定値への補正は行わない。

内部標準物質の添加による回収率確認は、(6).4).添加回収試験をもって代える事が出来る。

7) 分析の妥当性の確認

分析の妥当性を確認するため、分析に先立ち、次の確認試験を実施する。また、分析者、機材等の変更があった時点でも行う。PCBで汚染されていない絶縁油に、PCB濃度0.5mg/kgとなるようにKC-mixを添加した試料を調製する。この試料を7回繰り返し測定し、全ての試料の回収率が60%以上で、変動係数が30%以下であることを確認する。

8) 偽陰性防止

本法で、不含と判断した試料のうち、50試料に1試料以上の頻度で、本マニュアルに示す簡易定量法もしくは、平成4年 厚生省告示第192 号に定める方法で濃度の確認を行い、0.5mg/kgを超える試料を誤って不含と判断していない事を確認する。

(7) 留意事項

※１　例えば、3mL ずつの分画試験を行い、多層シリカゲルカラムから代表ピークに該当する PCB が溶出し終える画分が、第 4 画分（12mL）までであり、アルミナカラムからの溶出が始まるのが第 8 画分(24mL)からという場合、“多層シリカゲルカラムからの溶出が十分であり、かつ、活性アルミナカラムから溶出されないヘキサン量”としては、15 から 21mL が適当である。ただし、※２も参照。より詳細に液量を設定したい場合は、1mL ずつ等、細かく分画試験を行っても良い。

※２　※１で多層カラムに展開するヘキサンの適量を求めているが、下段のアルミナカラムの洗浄用に約 3mL のヘキサンが必要である。これは、上段の多層カラムから流下した液が、下段のアルミナカラムの壁面に付着している可能性があるため、約 3mL のヘキサンで洗浄する事で目的成分のロスを防ぎ、絶縁油からの精製を高めるものである。このため※１で求めた適量の範囲より、3mL 減じた量を多層カラムでの展開量とし、3mL をアルミナカラムの内壁洗浄用とする必要がある。もし、ヘキサンの適量範囲が十分に確保できない場合には、アルミナの活性状態あるいはロットに問題があると考えられる。このため、(3).1).i に従って再活性化を行うか、別のロットを用いて再設定する。

※３　定容線の引き方や液面の読み方に個人差が出ないように注意が必要である。

※４　代表ピークはクロマトグラムにおいて比較的ピーク強度の強いピークである。この代表ピークの同定が困難なほど、図 1.2.2 と状態が異なる場合には、ガスクロマトグラフの設定やカラムの劣化などが無いかを確認し、再測定する。それでも同定ができない場合には、KC-mix を用い、各ピークの CBO%を再設定した上で、代表ピークを再設定する。この際、代表ピークは表 1.2.4 の IUPAC 番号を参考に、(5).2)で指定している代表ピークとなるべく一致するように選定する。

※５　測定装置によっては直線性が保てない場合があるので、その場合は検量線の調製濃度を変更する。

附属書 3.1.1.1　測定条件の例

付表 3.1.1.1　測定条件例

カラム	DB-5ms（内径 0.25mm×長さ 30m×膜圧 0.1μm）
注入口温度	280℃
検出器温度	300℃
カラム温度	60℃（1 分）～20℃/分～170℃（0.5 分）～1℃/分～185℃（0 分）～10℃/分～300℃（1 分）　　（ピークの分離が悪いときは変更可）
ｷｬﾘｱｶﾞｽ条件	Ｈｅ 1mL／分
ﾒｲｸｱｯﾌﾟｶﾞｽ条件	N_2 30mL／分
注入モード	スプリットレス注入, Purge on time 1 分
注入量	1μL

附属書 3.1.1.2　計算シートについて

本シートでは、表計算ソフトの「ソルバー(注 1)」機能を利用する。測定日、試料名、試料量、最終液量等を記入し、ソルバーを実行することで試料質量当りの PCB 濃度が算出できる。

１．使い方

以下の３点を入力し、ソルバーを実行する。(ソルバーの設定は次に示す。)

- 測定日、試料名、試料量、最終液量、サロゲートの有無を入力
- 当日測定の KC-mix のピーク高さ (“STD ﾋﾟｰｸ高さ”)　及び STD 濃度を入力
- 試料前処理済み溶液(試料溶液)のピーク高さ (“試料のﾋﾟｰｸ高さ”) を入力

２．ソルバーの設定(Microsoft Excel の場合の例)

エクセルのメニュー、「ツール」から「ソルバー」を選ぶ。エクセルのメニューからソルバーを選ぶ

「ソルバー」のフォームに設定を行う。ソルバーのフォームに設定を行う

ソルバーには以下の内容を設定する。

「変化させるセル」:“測定液の各 KC 濃度(ソルバー算出値)”の KC-300 から KC-600 の直下の 4 つのセルを指定。制約条件として、正の整数を設定。

「目的セル」:計算シートの例における“合計の√”の直下のセル(マニュアルの式⑦の産出値)を指定。目標値は“最小”に設定。

『実行』を押すことで、「変化させるセル」に指定したセルに、最適な値が書き込まれる。すなわち、各 KC の存在を仮定した際に、実際に測定して得られるピークのうちの代表(“試料ﾋﾟｰｸ高さ”)との矛盾(“合計の√”)が最も少なくなるような解 (“測定液の各 KC 濃度(ソルバー算出値)”) を求めるのが、ソルバーの役割である。

３．シートの説明

「計算シートの例」に示した計算シートの各欄についての説明。数式を入力してあるセルについては、その数式の内容を説明する。

キャピラリーピーク番号：　代表ピークとして選出した 14 本のピークを識別する番号

各 KC 油 ECD 測定値(高さ)：　約 1mg/kg に調製した KC-300、KC-400、KC-500 および KC-600 を含む油と、上記の 4 つの油を等量ずつ混合した油(KC-mix 油)をそれぞれ前処理し、測定した際の ECD 測定値 (高さ)。※装置毎に確認し定期的に見直す。(注 2)

HRMS 測定値(各 KC 油濃度(ng/g)): 上記で用いる各 KC 油等を HRGC/HRMS 測定によって全 PCB 濃度を確認した値。(市販されている各 KC の溶液は、表示されているカネクロール濃度と測定して得られる PCB 濃度に差がある場合がある。)

KC mix CB%: 本マニュアル表 1.2.4 に示される CB%のうち、代表ピークに該当するもの。

各 KC 油ピーク存在比: 式①による、各 KC 油のピークの存在比

$$\frac{\text{“各KC油ECD測定値”のピーク毎の測定値}}{\dfrac{\text{“HRMS測定値(各KC油濃度(ng/g))”のKC毎の測定値}}{\dfrac{\text{“各KC油ECD測定値”のKCmixのピーク毎の測定値}}{\text{“HRMS測定値(各KC油濃度(ng/g))”のKCmixの測定値}}} \times \frac{\text{“KC mix CB%”のCB%(当該ピーク)}}{\text{“KC mix CB%”の全93ピーク総CB%}} \qquad \text{式①}$$

STD ﾋﾟｰｸ高さ: 試料と同時に測定した KC-mix の各ピーク高さ

STD 濃度: 上記の STD の濃度

試料ﾋﾟｰｸ高さ: 試料前処理済み溶液のピーク高さ

実測値 : 式②による、試料溶液のピーク毎の PCB 検出量

$$\text{STDの濃度} \times \frac{\text{“KCmix CB%”の当該ﾋﾟｰｸのCB%}}{\text{“全(93)ﾋﾟｰｸ”のCB%}} \times \frac{\text{“試料ﾋﾟｰｸ高さ”の当該ﾋﾟｰｸの高さ}}{\text{“STDﾋﾟｰｸ高さ”の当該ﾋﾟｰｸの高さ}} \qquad \text{式②}$$

測定液の各 KC 濃度(ソルバー算出値): ソルバーの「変化させるセル」に該当する、測定液の各 KC 濃度。ソルバーを実行することにより、値が決定する。

ピーク当り推定値: ソルバー算出値にしたがって KC が存在する場合に、ピーク毎の PCB 量を式③により算出する。

$$\sum\{\text{“各KC油ピーク存在比”} \times (\text{“測定液の各KC濃度(ソルバー算出値)”})\} \qquad \text{式③}$$

実測値 差^2: ピーク毎に“実測値”と“ピーク当り推定値”の差を 2 乗した値。(注 3)

合計の√: ピーク毎の“実測値 差^2”を合計した値。

試料質量あたり濃度: 式④により、測定液濃度を試料質量あたりとして算出した値。

$$\frac{\text{“測定液の各KC濃度(ソルバー算出値)”の合計} \times \text{最終液量}}{\text{“試料量”} \times \text{“比重”}} \qquad \text{式④}$$

注１　ソルバー

ソルバーは、複数の変数に対して最適な値を導出するための表計算ソフトの機能の一つである。

注２　約 1mg/kg に調製した KC-300、KC-400、KC-500 および KC-600 を含む油と、上記の 4 つの油を等量ずつ混合した油(KC-mix 油)の ECD 測定値の決定。

(5) 3)における、それぞれ濃度 C_{300HR}、C_{400HR} 、C_{500HR}、および C_{600HR} の KC-300、KC-400、KC-500 および KC-600 を含む油、および上記の 4 つの油を等量ずつ混合した油(KC-mix 油)を本法で複数回測定し、ピーク毎に平均値をとったもの。

この値は、試料の測定時に毎回測定する必要はないが、装置毎に測定して決定しておく。また、カラムが変わった際や装置を修理した際など、装置に変化が有った際には確認を行うとともに、検量線作成時等、定期的に見直すことが望ましい。

注３　閾値の設定

通常は閾値「0」(閾値は設定しない) で使用する。

ただし、クロマト解析にオートアサインを使用している場合など、代表ピークの大半が不検出となる場合(すなわち非常に低濃度のサンプルの場合)に、“実測値”と“ピーク当り推定値”とが、かけ離れた状態で“測定液の各 KC 濃度(ソルバー算出値)”が求まってしまう事がある(目安として、“実測値”の合計と“ピーク当り推定値”の合計の比が 2 以上)。この場合には、“ピーク閾値”を定め、“実測値”が閾値未満のピークは、当該ピークの“実測値差^2”に数値が入らないようにして、再度ソルバーを実行する。

閾値の選定方法として以下を例示する。

装置の定量下限 (IQL) 算出の際の検量線最低濃度の繰り返し測定における、ピーク毎の測定値の標準偏差σから、10σを有効数字 1 桁に丸めたものをピーク毎の定量下限(閾値) とする。

閾値は個々の代表ピークそれぞれに設定するか、もしくは代表ピークのうち定量下限が最大となるものを全ピークに共通で使用する。

代表異性体による 絶縁油PCB濃度計算シート

測定日 : 2010/4/15
試料名 : **sample1**

	比重(g/mL)	試料量(g)
試料量(μ L): **75**	0.878	0.066

最終液量(μ L): **500**　　ｻﾛｹﾞｰﾄ: **有**

測定液の各KC濃度(ソルバー算出値)

KC300	KC400	KC500	KC600	Total
0	0	0	0 ng/g	0 ng/g
#####	#####	#####	##### 比率	:

試料質量あたり濃度

0.000 μ g/g

HRMS測定値 (各KC油濃度(ng/g))				
KC 300	KC 400	KC 500	KC 600	KC mix
875	**1219**	**809**	**1077**	**999**

ﾋﾟｰｸ閾値
0
pg/注入

ｷｬﾋﾞﾗﾘｰ ﾋﾟｰｸ番号	各KC油 ECD測定値 (高さ) KC 300	KC 400	KC 500	KC 600	KC mix	KC mix CB%	各KC油 ピーク存在比 KC300	KC400	KC500	KC600	STDﾋﾟｰｸ 高さ(Hz)	試料ﾋﾟｰｸ 高さ(Hz)	実測値 pg (/注入)	ピーク当り 推定値(pg)	実測値差^2 (DS)
6,7	86	44	8	6	38	3.631%	9.3%	3.4%	0.9%	0.5%			#DIV/0!	0.0	#DIV/0!
8	48	16	3	3	19	1.762%	5.1%	1.2%	0.4%	0.2%			#DIV/0!	0.0	#DIV/0!
15,16	215	150	15	13	117	6.069%	12.8%	6.4%	0.9%	0.6%			#DIV/0!	0.0	#DIV/0!
22	31	78	13	2	35	1.948%	2.0%	3.6%	0.9%	0.1%			#DIV/0!	0.0	#DIV/0!
24,25	39	99	23	3	49	2.634%	2.4%	4.3%	1.5%	0.2%			#DIV/0!	0.0	#DIV/0!
32	26	70	10	2	30	1.535%	1.5%	2.9%	0.6%	0.1%			#DIV/0!	0.0	#DIV/0!
34	48	128	78	30	77	5.437%	3.8%	7.4%	6.8%	2.0%			#DIV/0!	0.0	#DIV/0!
39	7	40	91	37	51	3.490%	0.5%	2.2%	7.8%	2.3%			#DIV/0!	0.0	#DIV/0!
48,49	1	2	21	83	30	1.424%	0.1%	0.1%	1.2%	3.7%			#DIV/0!	0.0	#DIV/0!
52	4	13	85	163	78	3.409%	0.2%	0.5%	4.6%	6.6%			#DIV/0!	0.0	#DIV/0!
58,59	11	76	160	261	132	5.819%	0.5%	2.8%	8.7%	10.7%			#DIV/0!	0.0	#DIV/0!
64,65	7	18	182	175	114	4.304%	0.3%	0.6%	8.5%	6.1%			#DIV/0!	0.0	#DIV/0!
70	3	2	16	139	47	0.848%	0.1%	0.0%	0.4%	2.3%			#DIV/0!	0.0	#DIV/0!
80,81	6	2	66	564	185	3.105%	0.1%	0.0%	1.4%	8.8%			#DIV/0!	0.0	#DIV/0!

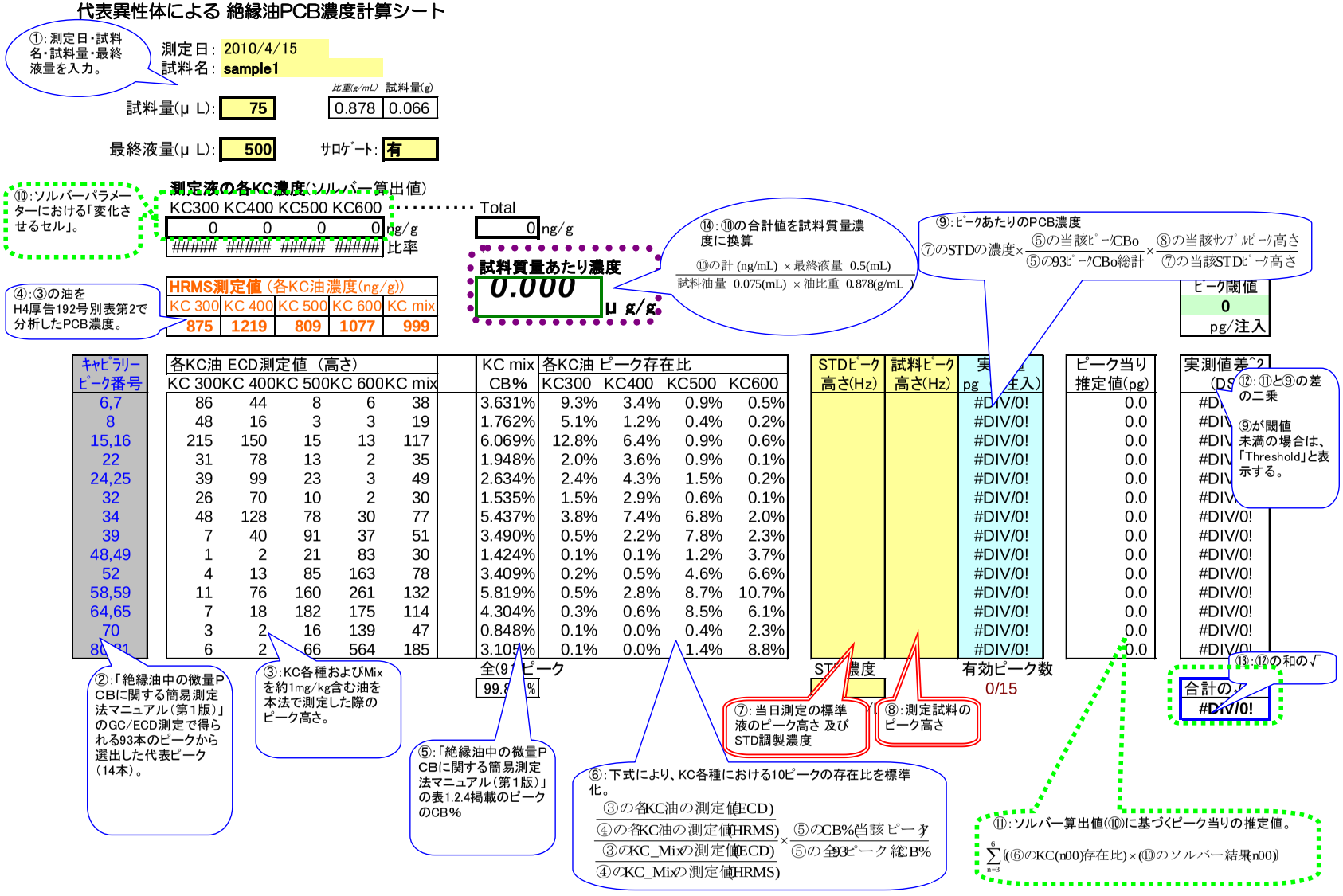
全(91)ピーク
99.881%

STD濃度
μ g/L

有効ピーク数
0/15

合計の√
#DIV/0!

付図 3.1.1.1　計算シートの例


代表異性体による 絶縁油PCB濃度計算シート
①:測定日・試料名・試料量・最終液量を入力。
測定日: 2010/4/15
試料名: sample1
比重(g/mL) 試料量(g)
試料量(μ L): 75 0.878 0.066
最終液量(μ L): 500
サロゲート: 有
⑩:ソルバーパラメーターにおける「変化させるセル」。
測定液の各KC濃度(ソルバー算出値)
KC300 KC400 KC500 KC600
0 0 0 0 ng/g
比率
Total
0 ng/g
試料質量あたり濃度
0.000
μ g/g
⑭:⑩の合計値を試料質量濃度に換算
⑩の計 (ng/mL) × 最終液量 0.5(mL)
試料油量 0.075(mL) × 油比重 0.878(g/mL)
⑨:ピークあたりのPCB濃度
⑦のSTDの濃度× ⑤の当該ピークCBo / ⑤の93ピークCBo総計 × ⑧の当該サンプルピーク高さ / ⑦の当該STDピーク高さ
④:③の油をH4厚告192号別表第2で分析したPCB濃度。
HRMS測定値 (各KC油濃度(ng/g))
KC 300 KC 400 KC 500 KC 600 KC mix
875 1219 809 1077 999
ピーク閾値
0
pg/注入
キャピラリーピーク番号
各KC油 ECD測定値 (高さ)
KC 300 KC 400 KC 500 KC 600 KC mix
KC mix CB%
各KC油 ピーク存在比
KC300 KC400 KC500 KC600
STDピーク高さ(Hz)
試料ピーク高さ(Hz)
実 pg 注入)
ピーク当り推定値(pg)
実測値差^2 (DS
6,7 86 44 8 6 38 3.631% 9.3% 3.4% 0.9% 0.5% #DIV/0! 0.0 #DI
8 48 16 3 3 19 1.762% 5.1% 1.2% 0.4% 0.2% #DIV/0! 0.0 #DIV
15,16 215 150 15 13 117 6.069% 12.8% 6.4% 0.9% 0.6% #DIV/0! 0.0 #DIV
22 31 78 13 2 35 1.948% 2.0% 3.6% 0.9% 0.1% #DIV/0! 0.0 #DIV
24,25 39 99 23 3 49 2.634% 2.4% 4.3% 1.5% 0.2% #DIV/0! 0.0 #DIV
32 26 70 10 2 30 1.535% 1.5% 2.9% 0.6% 0.1% #DIV/0! 0.0 #DIV
34 48 128 78 30 77 5.437% 3.8% 7.4% 6.8% 2.0% #DIV/0! 0.0 #DIV/0!
39 7 40 91 37 51 3.490% 0.5% 2.2% 7.8% 2.3% #DIV/0! 0.0 #DIV/0!
48,49 1 2 21 83 30 1.424% 0.1% 0.1% 1.2% 3.7% #DIV/0! 0.0 #DIV/0!
52 4 13 85 163 78 3.409% 0.2% 0.5% 4.6% 6.6% #DIV/0! 0.0 #DIV/0!
58,59 11 76 160 261 132 5.819% 0.5% 2.8% 8.7% 10.7% #DIV/0! 0.0 #DIV/0!
64,65 7 18 182 175 114 4.304% 0.3% 0.6% 8.5% 6.1% #DIV/0! 0.0 #DIV/0!
70 3 2 16 139 47 0.848% 0.1% 0.0% 0.4% 2.3% #DIV/0! 0.0 #DIV/0!
80,81 6 2 66 564 185 3.105% 0.1% 0.0% 1.4% 8.8% #DIV/0! 0.0 #DIV/0!
全(9 ピーク
99.8 %
ST 濃度
有効ピーク数
0/15
⑫:⑪と⑨の差の二乗
⑨が閾値未満の場合は、「Threshold」と表示する。
⑬:⑫の和の√
合計の
#DIV/0!
②:「絶縁油中の微量PCBに関する簡易測定法マニュアル(第1版)」のGC/ECD測定で得られる93本のピークから選出した代表ピーク(14本)。
③:KC各種およびMixを約1mg/kg含む油を本法で測定した際のピーク高さ。
⑤:「絶縁油中の微量PCBに関する簡易測定法マニュアル(第1版)」の表1.2.4掲載のピークのCB%
⑥:下式により、KC各種における10ピークの存在比を標準化。
③の各KC油の測定値(ECD) / ④の各KC油の測定値(HRMS) × ⑤のCB%(当該ピーク) / ③のKC_Mixの測定値(ECD) × ⑤の全93ピーク総CB% / ④のKC_Mixの測定値(HRMS)
⑦:当日測定の標準液のピーク高さ 及び STD調製濃度
⑧:測定試料のピーク高さ
⑪:ソルバー算出値(⑩)に基づくピーク当りの推定値。
Σ (n=3 to 6) ((⑥のKC(n00)存在比) × (⑩のソルバー結果(n00))

3.2 ガスクロマトグラフ/負イオン化学イオン化質量分析計(GC/NICI-MS)を適用した迅速判定法

本マニュアルでは、GC/NICI-MS 法を適用した迅速判定法として以下の技術を定める。

3.2.1 ヘキサン希釈/ガスクロマトグラフ/負イオン化学イオン化質量分析計(GC/NICI-MS)法

(1) 概要（適用範囲）

ここに定める方法は、ガスクロマトグラフ/負イオン化学イオン化質量分析計(GC/NICI-MS)を用いた、変圧器やコンデンサ等の重電機器に使用される電気絶縁油中のポリ塩化ビフェニル（PCB）の前処理及び機器測定について適用する。

(2) 測定の概要

1) 測定の概要

本方法は、絶縁油中の PCB をヘキサン希釈後、キャピラリーカラムガスクロマトグラフと負イオン化学イオン化（NICI）質量分析計を用いて、PCB を測定するものである。本測定法に使用する GC/NICI-MS については、PCB 等ハロゲン化合物に高感度かつ高選択的に検出が可能であり、また、絶縁油の主成分である炭化水素には感度がないことから、絶縁油との分離除去及び精製操作を省略し、試料をヘキサンで希釈するのみで測定が可能である。

2) 測定操作フロー

測定操作フローを図 3.2.1.1 に示す。

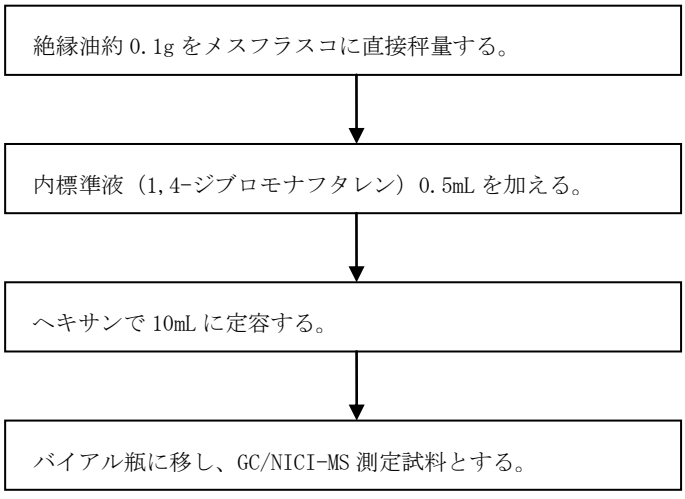


図 3.2.1.1　測定操作フロー

(3) 試薬及び使用器具

1) 試薬

測定に使用する試薬は次による。これらの試薬は、空試験などによって測定に支障のないことを確認しておく。又、記述以外の試薬を使用する場合も同等の試験を行い、測定に支障のないことを確認しておく。

a. ヘキサン　JIS K8825 に規定するもの

b. PCB 標準溶液　カネクロール(KC)-300,KC-400,KC-500 及び KC-600 を重量比 1:1:1:1 の割合で混合し、ヘキサンで 100mg/L に調整したもの。

ⅰ. 1mg/L PCB 標準液：PCB 標準溶液（濃度 100mg/L）をマイクロピペットで 1mL 分取し、ヘキサンで 100mL とし 1mg/L PCB 標準液を調製する。

ⅱ. 10mg/L PCB 標準液：PCB 標準溶液（濃度 100mg/L）をマイクロピペットで 1mL 分取し、ヘキサンで 10mL とし 10mg/L PCB 標準液を調製する。調製した 1, 10mg/L PCB 標準液は、冷暗所にて濃縮が起こらないよう配慮し保存する。

ⅲ. 0.1mg/L 標準液：1mg/L PCB 標準液をマイクロピペットで 1mL とり、ヘキサンで 10mL とし 0.1mg/L PCB 標準液を調製する。0.1mg/L PCB 標準液は、検量線作成の都度、調製する。

c. 1,4-ジブロモナフタレン　純度 97%以上で測定に支障ないもの。内標準液（1,4-ジブロモナフタレン/ヘキサン溶液）はヘキサンで希釈し 0.05mg/L に調製したもの。

d. 電気絶縁油(新油)　PCB を含まないもの。添加用絶縁油溶液は電気絶縁油(新油)10g をヘキサンで溶解し、100mL とし、0.1g/mL 絶縁油溶液を調製する。

e. 検量線用 PCB 標準液　表 3.2.1.1 に従い 10mL メスフラスコにマイクロピペットを用いて PCB 標準液を分取し、先に調製した内標準液 0.5mL 及び添加用絶縁油溶液 1mL を加え、ヘキサンで定容し、検量線用 PCB 標準液とする。

表 3.2.1.1　PCB 標準溶液分取量一覧

検量線用 PCB 標準液濃度		PCB 標準溶液分取量【mL】		
調製 PCB 濃度【mg/L】	絶縁油中 PCB 濃度換算値【mg/kg】	0.1mg/L PCB 標準液	1mg/L PCB 標準液	10mg/L PCB 標準液
0.003	0.3	0.3	-	-
0.005	0.5	0.5		
0.01	1	1	-	-
0.05	5	-	0.5	-
0.1	10	-	1	-
0.5	50	-	-	0.5
1	100	-	-	1

2) 使用機器

測定に使用する器具は次による。これらの器具は、空試験などによって測定に支障のないことを確認しておく。

a. 10mL 及び 100mL フラスコ　硬質ガラス製透明摺りメスフラスコ。

b. パスツールピペット　ホウ珪酸ガラス製 150mm 程度のもの、綿栓なし。

c. マイクロピペット　100μL から 1,000μL

d. 二重ガラス栓試薬保存瓶

e. 有機溶媒保存瓶　褐色瓶、希釈 PCB 標準液の保管用。

f. ミクロスパーテル　平形、ステンレス製。

g. 電子天秤　最小目盛りが 0.0001g のもの。

h. 冷蔵庫　4℃で保存可能。防爆形鍵付きが望ましい。

i. オートサンプラー用バイアル瓶

3) 使用装置

測定に使用する装置は次による。尚 GC/NICI-MS の満たすべき条件は、装置、測定条件によって異なる。

a. ガスクロマトグラフ

ⅰ 試料導入方法：スプリットレス方式で高圧注入が可能なもの。

ⅱ 試料導入部温度：300℃

ⅲ キャピラリーカラム： PCB 成分の溶出順位が確認され、分離した各ピークの CB%が確認されているもの。

ⅳ キャリアーガス：99.999%以上のヘリウムを用いる。

ⅴ カラム温度：70℃から 300℃の間で温度を制御することができ、30℃/分の昇温が可能なもの。

b. 質量分析計

ⅰ 検出器：選択イオン検出法(SIM)が可能なもの。

ⅱ イオン化法：電子イオン化(EI)法、正イオン化学イオン化(PICI)法、負イオン化学イオン化(NICI)法が可能なもの。

ⅲ イオン源温度：250℃

ⅳ インタフェース温度：280℃

ⅴ 試薬ガス:99.99%以上の高純度メタンを用いる。試薬ガス精製管を取付けること。

ⅵ 試薬ガス精製管：水分等が除去可能なトラップ（メタンに使用可能なもの）

c. GC/NICI-MS に使用する消耗品

使用消耗品により感度・ピーク分離に影響があるため、以下のものを使用する。

ⅰ セプタム：低ブリードタイプのもの。

ⅱ ガラスインレットライナー：スプリットレス用で充分な不活性化処理をされたもの。（製品によってライナーの不活性化処理に違いがあるため、試料注入時に吸着等のピーク分離や感度に影響のない製品であることを確認しておく。製品ロットによって、妨害ピークの出現やピーク分離に変化が起こる場合があるので、部品の交換の都度、感度やピーク分離の確認を行う。）

ⅲ インレットシール：ガスリークの発生しにくいもの。

ⅳ 試薬ガス精製管：水分トラップ及び酸素トラップ。

(4) 前処理

1) 試料の調製

a. 試料の秤量： 絶縁油試料約 0.1g を、電子天秤で秤量し 10mL メスフラスコにパスツールピペットを用いて直接はかりとる。試料は、±10%の範囲で秤量し、秤量値を小数点以下 4 桁まで記録する。また、沈殿の有無、水分の混入及び粘度などの観察を行い記録しておく。メスフラスコへ移す際、試料が内壁に付着しないよう注意し操作を進める。特に、共栓の摺り部分へ試料が付着しないよう注意を払う。付着した場合、速やかに可能な限り少量のヘキサンでメスフラスコ内に洗い込む。

b. 内標準液の添加： 内標準液（0.05mg/L 1,4-ジブロモナフタレン/ヘキサン溶液）0.5mL を、マイクロピペットを用いて加える。マイクロピペットでの注液の際、分取した溶液がチップ内でヘキサンの揮発により、逆流し正確に分取できない場合がある。内標準液の分注直前に、２から３回ヘキサンでチップを洗浄すると正確に分取することが出来る。

c. ヘキサンでの定容： メスフラスコの標線までヘキサンを加え定容する。内標準液を加えているため、濃度算出において多少の定容量の差は無視できるが、可能な限り正確に標線に合わせる。

d. 測定用試料溶液の準備： 定容を行ったメスフラスコは、試料絶縁油がヘキサンに溶解するよう、十分に撹拌を行い混合し、その一部を測定用のバイアル瓶に移し入れる。使用するバイアル瓶は、予めヘキサンで洗浄し乾燥したものを用いる。バイアル瓶のセプタムは、妨害物質の溶出が起こる製品があるため、使用する材料の選定に注意する必要がある。また、検量線用 PCB 標準液は、バイアル瓶用のガラスインサートを使うことで、標準液の使用量を抑えることが出来る。この場合、バイアル瓶と同様

に予め洗浄を行ってから測定に用いる。

(5) 機器測定

1) GC/NICI-MS の測定

付図 3.2.1.3 の例と同等の分離能が得られ、各ピークの保持時間が適切な範囲にあり、試料中の PCB 濃度で 0.3 mg/kg以下の検出下限値が満たされ、安定した応答が得られるように、適切に設定された GC/NICI-MS で測定を行う。又、あらかじめ GC/NICI-MS の感度の直線性が得られる範囲を確認しておく。

2) 装置の調整

測定感度を確保する為、装置の最適条件および調整方法を確認しておくこと。特にイオン源洗浄などの質量分析計のメンテナンスを行った場合、以下の手順でピークの確認を行う。

a. 電子衝撃法（EI）での水と空気のチェック
装置への空気の漏れ（エアリーク）と水分の存在を可能な限り抑えておく。

b. 正イオン化学イオン化法（PICI）でのピーク確認
CI 反応の確認を行う。

c. 負イオン化学イオン化法（NICI）でのチューニング
NICI 条件でチューニングを行う。
35 m/z のバックグラウンドの強度を測定に支障がないように抑えておく。

3) ピーク分離および検出感度の確認

a. KC 混合標準液 0.003mg/L（本分析法で処理する絶縁油試料中の濃度換算 0.3 mg/kg）を測定し、ピーク番号 60 番の S/N 比が 3 以上の検出されることを確認する。また絶縁中 PCB 濃度で 0.3 mg/kg以下の検出下限であることを確認する。（付属書 3.2.1.2 付図 3.2.1.2 から 3.2.1.3 参照）

b. KC 混合標準液を測定し、附属書 3.2.1.2 付図 3.2.1.2 から 3.2.1.3 と同じく 81 本のピークを確認する。同付図以上に分離した場合は、分析者が同付図で 1 本であるピークを 2 本以上に分離したものであると判定して、それらのピーク高さの合計を 1 本のピークだった時の CB%に対応させる。感度が良好な場合、附属書添付の例よりも多くのピーク確認できる場合がある。

c. 検量線は最低濃度を含む 3 から 5 点の検量線用 PCB 標準液を測定し直線性のある濃度範囲を確認する。

d. 絶縁油中 PCB 濃度 0.5mg/kg の標準液を繰返し 5 回以上測定し、標本標準偏差（σ）の 10 倍の値を定量下限値（10σ）とし、絶縁油中 PCB 濃度 0.3mg/kg 以下であることを事前に確認をしておくこと。

4）試料の測定

装置の調整、ピーク分離および検出感度の確認後、安定した応答が得られる事を確認しGC/NICIの測定を実施する。

検量線標準液の測定は、試料と同時に測定を行い濃度算出計算に用いること。

5）定性方法

附属書3.2.1.2 付図3.2.1.4から3.2.1.7に示すNo.1からNo.81（計81本）のピークを定量対象とし、ピーク溶出時間で同定を行う。各PCBのピークを積分しピーク面積を求める。合わせて、内標準物質もPCBと同様にピーク面積を求めておく。

PCBのピーク溶出時間は、カラムの劣化、カラムの切断や試料の影響で変動することがあるが、ピーク溶出時間に変化が生じてもピーク分離への影響は少ないため、ピークの溶出順位や前後の面積比（ピークパターン）から判断しピークの同定を行なう。

GC カラムへの絶縁油の負荷量が大きい場合、クロマトピークのリーディングや保持時間のずれが生じる。この場合、GC インジェクション時のインジェクション量を減らし、絶縁油の負荷量を少なくすることでクロマトピークの改善を行う。また、標準液中にも絶縁油が含まれていることから､同様にクロマトピークのリーディングや保持時間のずれがないか確認し、異常があれば改善を行うこと。

また、KC 等量混合もしくは各製品 PCB のピークパターンを参考にし、明らかに一致しないピークは定量の対象から除外する。

積分結果は、のちに表計算ソフトで利用できるように、テキストもしくはCSV形式のファイルに出力し保存する。

6）定量方法

本マニュアルの表1.2.4に示すCB%値と検量線用PCB標準液中PCBのピーク面積値を式-1に代入しK値を求める。CB%値については、使用するカラム、機器の条件により、ピークの出現状態が異なることがあるため、あらかじめ求めておく必要がある。

$$K = \frac{CB\%}{H1}$$ ・・・・ 《式-1》 H1：検量線用PCB標準液中のPCBピーク面積

次に、式-2に、K値と試料のPCBピーク面積値を代入しM値を求める。

$$M = K \times H2$$ ・・・・ 《式-2》 H2：測定試料中PCBのピーク面積

PCB濃度は、式-3より求める。

$$絶縁油中\ PCB\ 濃度(mg/kg) = A \times \frac{\sum M}{\sum CB\%} \times \frac{B}{C} \times \frac{E}{D} \times 10^{-2} \quad ・・・・《式-3》$$

A：検量線用 PCB 標準液の濃度(mg/kg)

B：検量線用 PCB 標準液の内標準ピーク面積

C：試料の内標準ピーク面積

D：試料採取量(g)

E：希釈液定容量(mL)

7）判定

3)で得られた測定値が 0.3mg/kg 未満であった検体を PCB 不検出、0.3mg/kg 以上であった検体を PCB 検出と判定し、報告する。

(6) 精度管理

1）検量線について

a. 標準液について

検量線試料は、(3).1).b から e の通り調製し、濃度算出及び感度確認測定に用いる。また絶縁油の負荷量を変更する場合、検量線用 PCB 標準液と測定試料中の絶縁油濃度を同じにすること。

b. 測定シーケンス

測定シーケンスの一例を、表 3.2.1.2 に示す。シーケンスを作成には、絶縁中 PCB 濃度 0.3mg/kg の検量線用 PCB 標準液を含む 3 から 6 点の標準液の測定（最低 1 回）を、シーケンス開始時に行い、各標準液の PCB ピーク面積（もしくは K 値）と内標準物質ピーク面積の比と、PCB 濃度で検量線を作成し、直線性を有する濃度範囲を確認しておく。また、シーケンスの中間もしくは一定の測定試料数毎に感度変動確認を行えるよう、標準液の測定を行う。

ばらつきの許容範囲については、測定シーケンスの中間及び最後の感度確認用標準液の感度変動割合（式-4 参照）が±10%以内であることを確認する。感度変動割合を満たさない測定区間の値は採用しない。また、同一濃度の標準液の値が、CV±10%以内であることを確認する。ばらつきが許容範囲内に収まらない場合、装置の調整等の対策を講じ問題を取り除いた後、再度、測定を行う。

$$感度変動割合\ (\%) = (Cp - Cb)/Cb \times 100 \quad ・・・・ 《式-4》$$

Cb：定量用 PCB 標準液のトータル PCB 濃度（mg/L）

Cp:一連のバッチ試料測定後に測定した感度変動確認用 PCB 標準液のピーク面積を元に測定してある定量用 PCB 標準液のピーク面積を使って定量したトータル PCB 濃度（mg/L）

表 3.2.1.2　測定シーケンス例

測定順序	測定試料	備考
1	溶媒	
2	操作ブランク	
3	検量線用 PCB 標準液　0.3mg/kg	検量線作成用
4	検量線用 PCB 標準液　0.5mg/kg	検量線作成用
5	検量線用 PCB 標準液　1.0mg/kg	検量線作成用
6	検量線用 PCB 標準液　5.0mg/kg	検量線作成用
7	検量線用 PCB 標準液　10mg/kg	検量線作成用
8	検量線用 PCB 標準液　50mg/kg	検量線作成用
9	溶媒	
１０から２４	測定試料　（15 検体）	
２５	溶媒	
２６	検量線用 PCB 標準液　0.3mg/kg	感度変動確認用
２７	検量線用 PCB 標準液　１.0mg/kg	感度変動確認用
２８	溶媒	
２９から４４	測定試料　（15 検体）	
４５	溶媒	
４６	検量線用 PCB 標準液　0.3mg/kg	感度変動確認用
４７	検量線用 PCB 標準液　１.0mg/kg	感度変動確認用

c．濃度既知試料の測定

検量線及び感度確認に用いる標準液の作製に、試料と同濃度となるよう絶縁油を添加している為、濃度既知試料と同等の性格を有しており、濃度既知試料による精度管理は、1 回のシーケンスで、PCB 濃度 0.5 mg/kg程度の濃度既知試料を測定し、その結果が、0.3 mg/kg以上であることを確認する。

2）偽陰性防止

測定を行った結果で、陰性と判定した試料（ND 試料）の内 2%（50 検体の陰性判定試料から 1 検体の割合)以上の試料数を無作為に選択し､簡易定量法若しくは HR-MS 法(告示 192 号)で測定を行い偽陰性でないことを確認する。

附属書 3.2.1.1　測定設定条件例

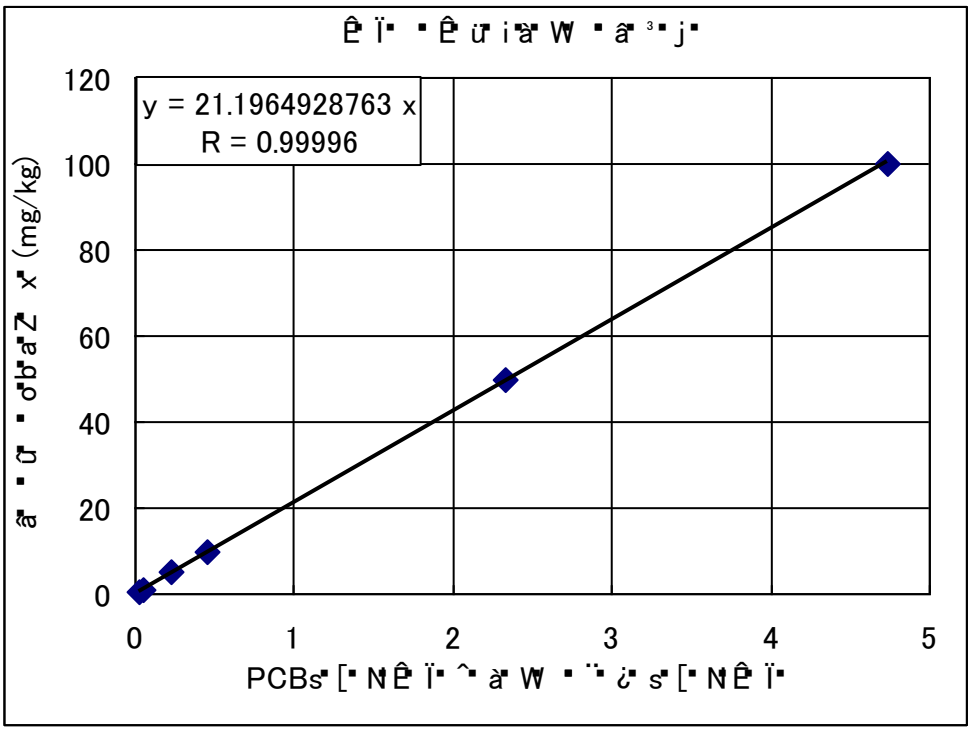
付表 3.2.1.1　測定条件(例)

項目	測定条件例
GC 条件	
カラム	5%フェニルジメチルシロキサン 30m×0.25mm I.D.,　Df=0.25μm
カラム温度	70℃（2.0 分保持）→30℃/分→185℃→6℃→300℃
キャリアーガス	ヘリウム
注入方法	パルスド・スプリットレス（高圧注入法） パージ開始時間：1.9 分 注入圧力：25.0psi 加圧時間：2.0 分 もしくは スプリットレス パージ開始時間 2.0 分　パージ流量　20mL/分
注入高温度	300℃
注入量	１から３μℓ（測定感度に応じて選択する）
MS 条件	
イオン化方法	負イオン化学イオン化法（NICI 法）
イオン源温度	250℃
インタフェース温度	280℃
SIM ﾓﾆﾀｰｲｵﾝ	m/z ： 35（塩化物イオン）　m/z ： 81（臭素化物イオン）
反応ガス	メタン

付表 3.2.1.2　検出限界（参考）

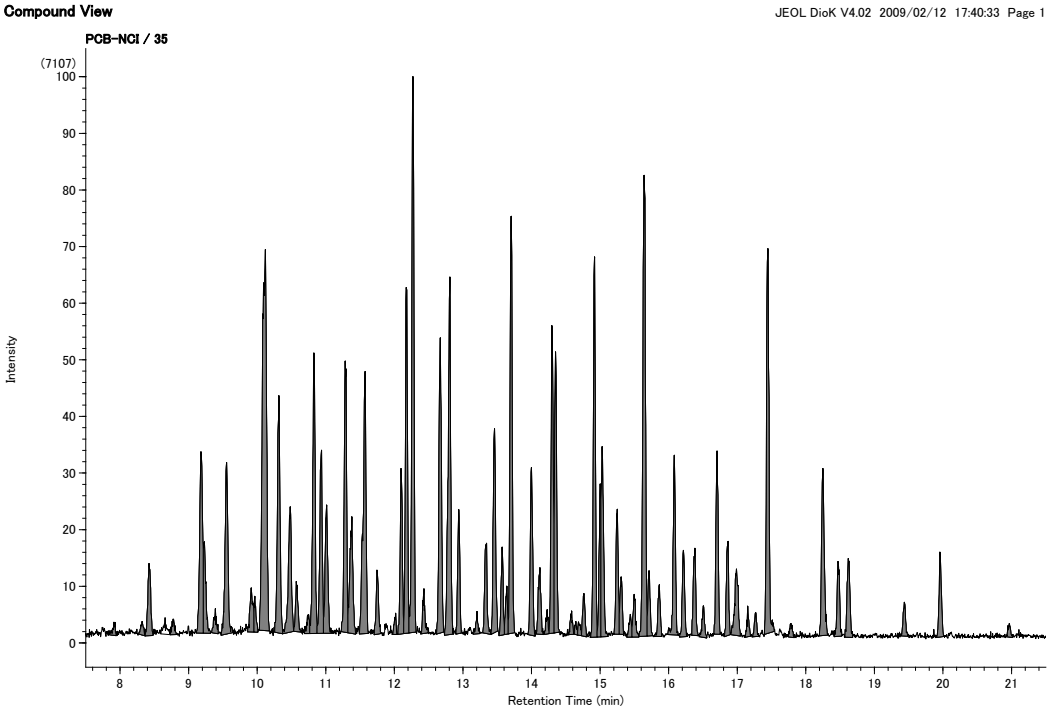
PCB 化合物	検出限界 (mg/kg)
二塩化ビフェニル	0.01
三塩化ビフェニル	0.01
四塩化ビフェニル	0.01
五塩化ビフェニル	0.01
六塩化ビフェニル	0.005
七塩化ビフェニル	0.005
八塩化ビフェニル	0.005
九塩化ビフェニル	0.01

※　各塩素数最強ピークを S/N: 3 で測定した。

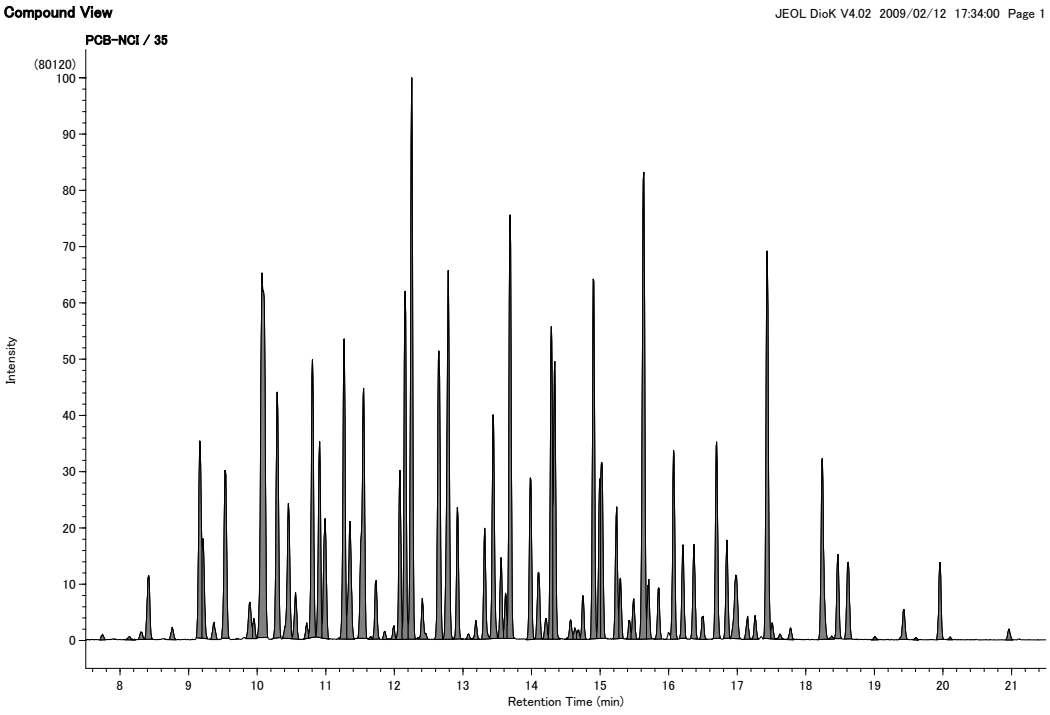


付図 3.2.1.1　検量線用 PCB 標準液 0.5 から 100mg/kg の直線性確認グラフ

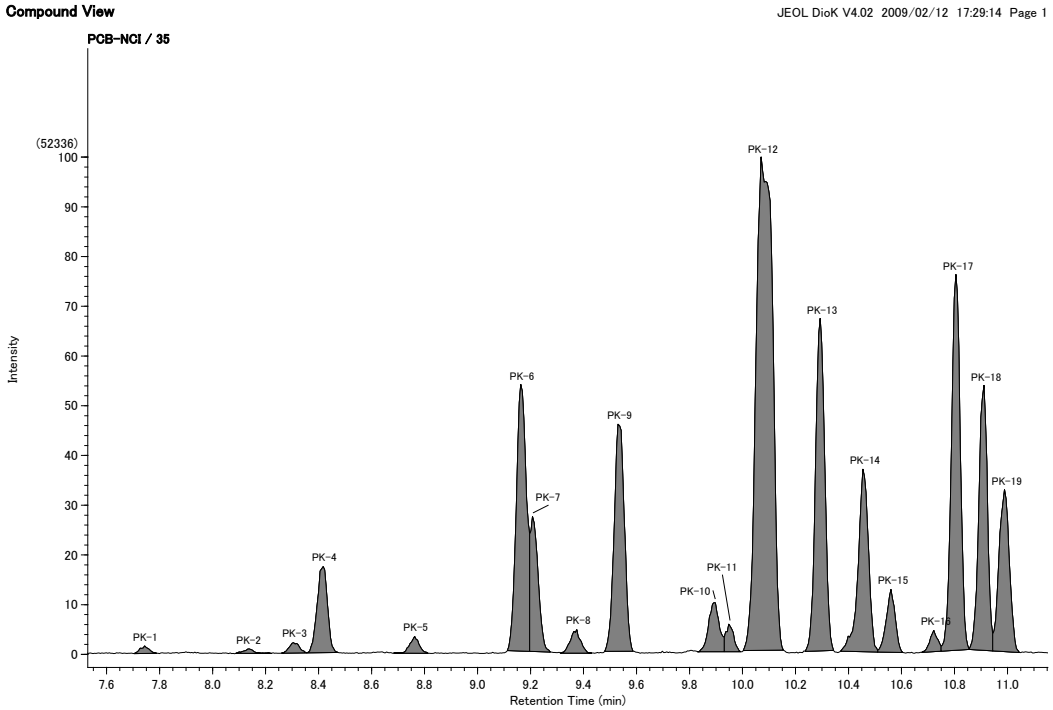
附属書 3.2.1.2　標準液のクロマトグラム(例)



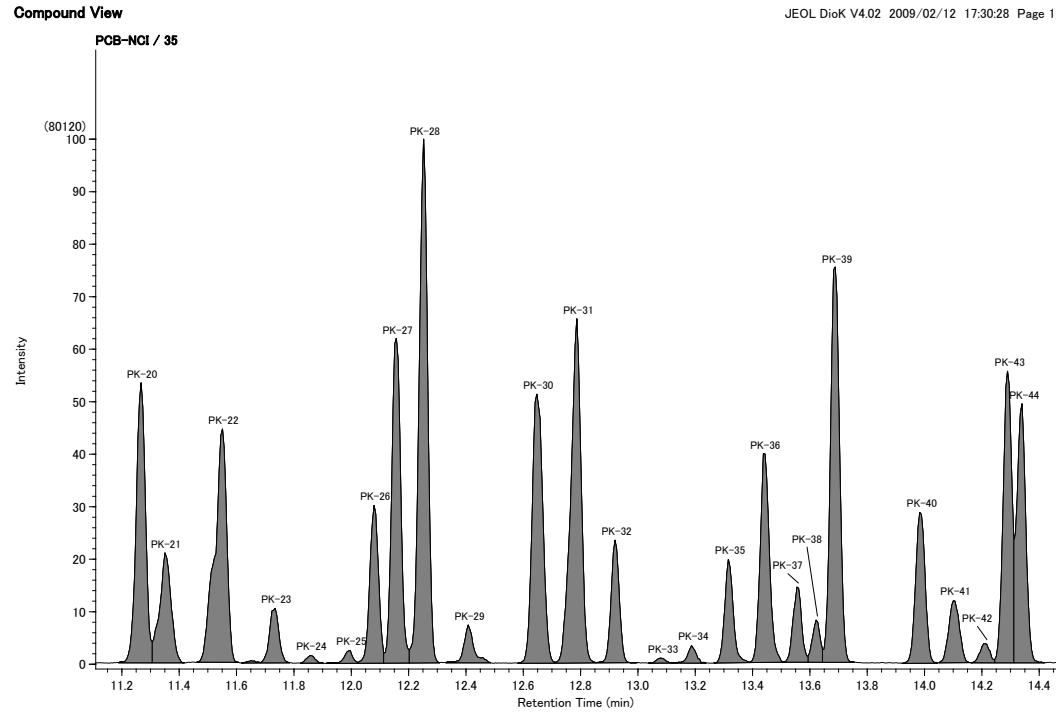
付図 3.2.1.2　標準液のクロマトグラム(例)　(絶縁油濃度 0.5mg/kg)



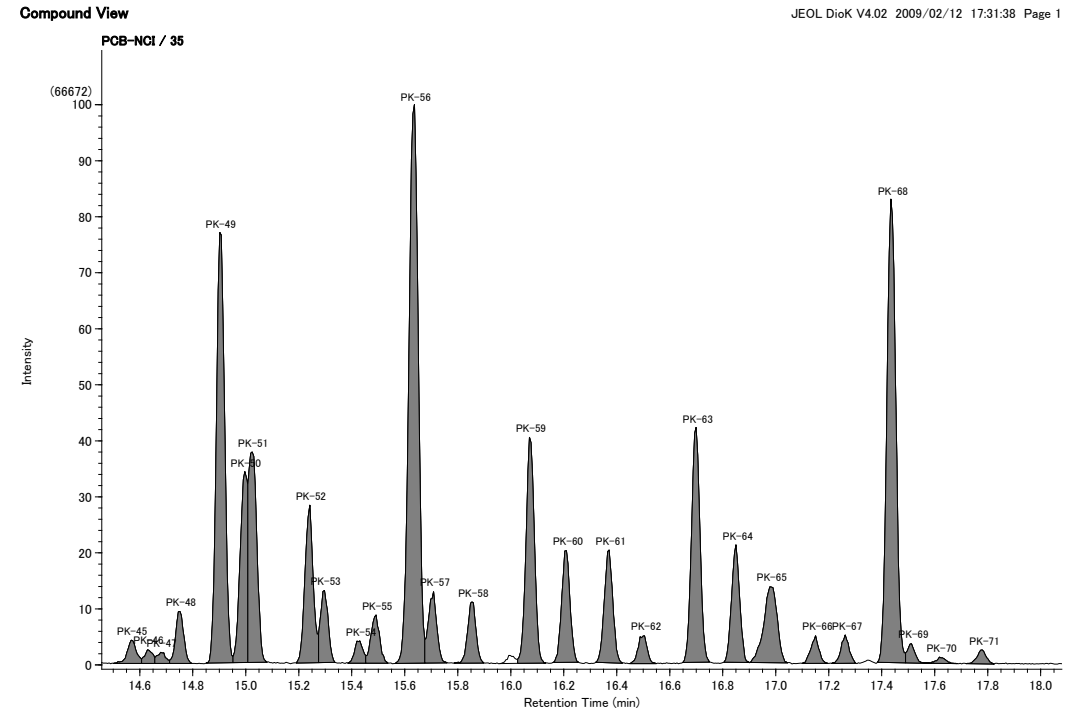
付図 3.2.1.3　標準液のクロマトグラム例　(絶縁油濃度 5.0mg/kg)



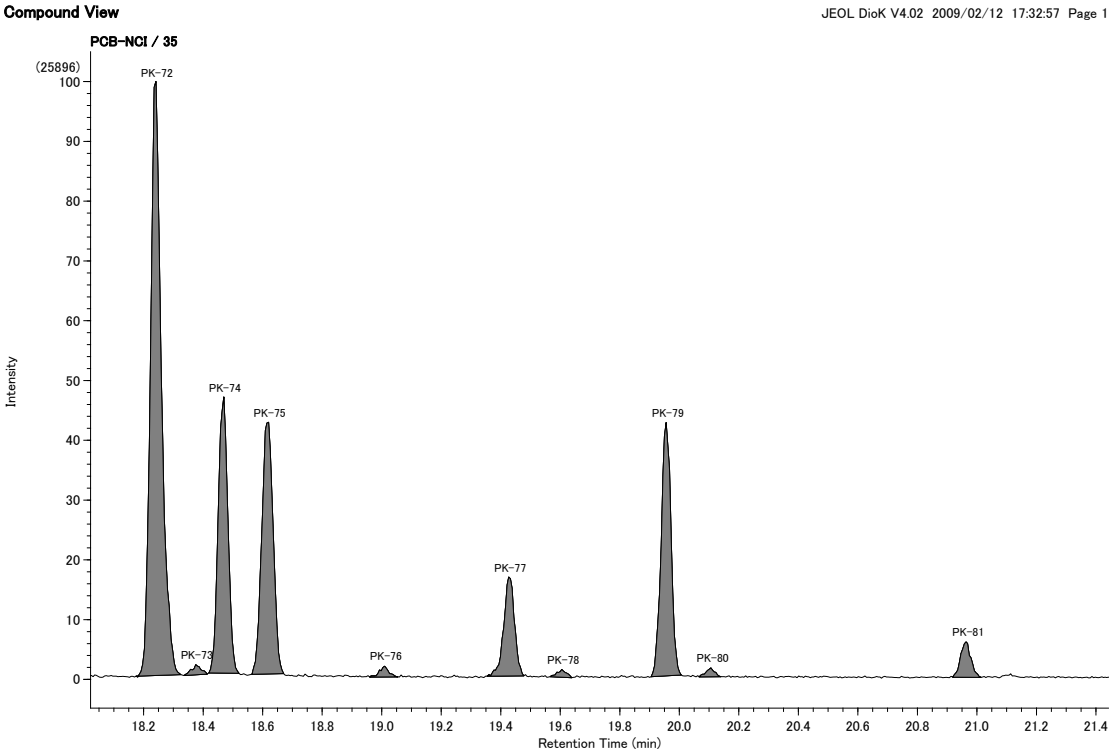
付図 3.2.1.4　標準液のクロマトグラム拡大(例)　(絶縁油濃度 5.0mg/kg)【PK No.1 から 19】



付図 3.2.1.5　標準液のクロマトグラム拡大(例)　(絶縁油濃度 5.0mg/kg)【PK No.20 から 44】



付図 3.2.1.6　標準液のクロマトグラム拡大(例)　(絶縁油 5.0mg/kg)【PK No.45 から 71】



付図 3.2.1.7　標準液のクロマトグラム拡大(例)　(絶縁油 5.0mg/kg)【PK No.72 から 81】

3.3　生化学的方法による迅速判定法

本マニュアルでは、生化学的な方法を適用した迅速判定法として以下の技術を定める。

3.3.1　高濃度硫酸シリカゲル処理/フロースルー式免疫測定法（イムノアッセイ）

(1) 概要（適用範囲）

ここに定める方法は、前処理に高濃度硫酸シリカゲルを使用してクリーンアップを行い、測定に抗体トレーサーを用いたフロースルー式免疫測定法であり、変圧器やコンデンサ等の重電機器に使用される電気絶縁油中のポリ塩化ビフェニル（PCB）について適用する。

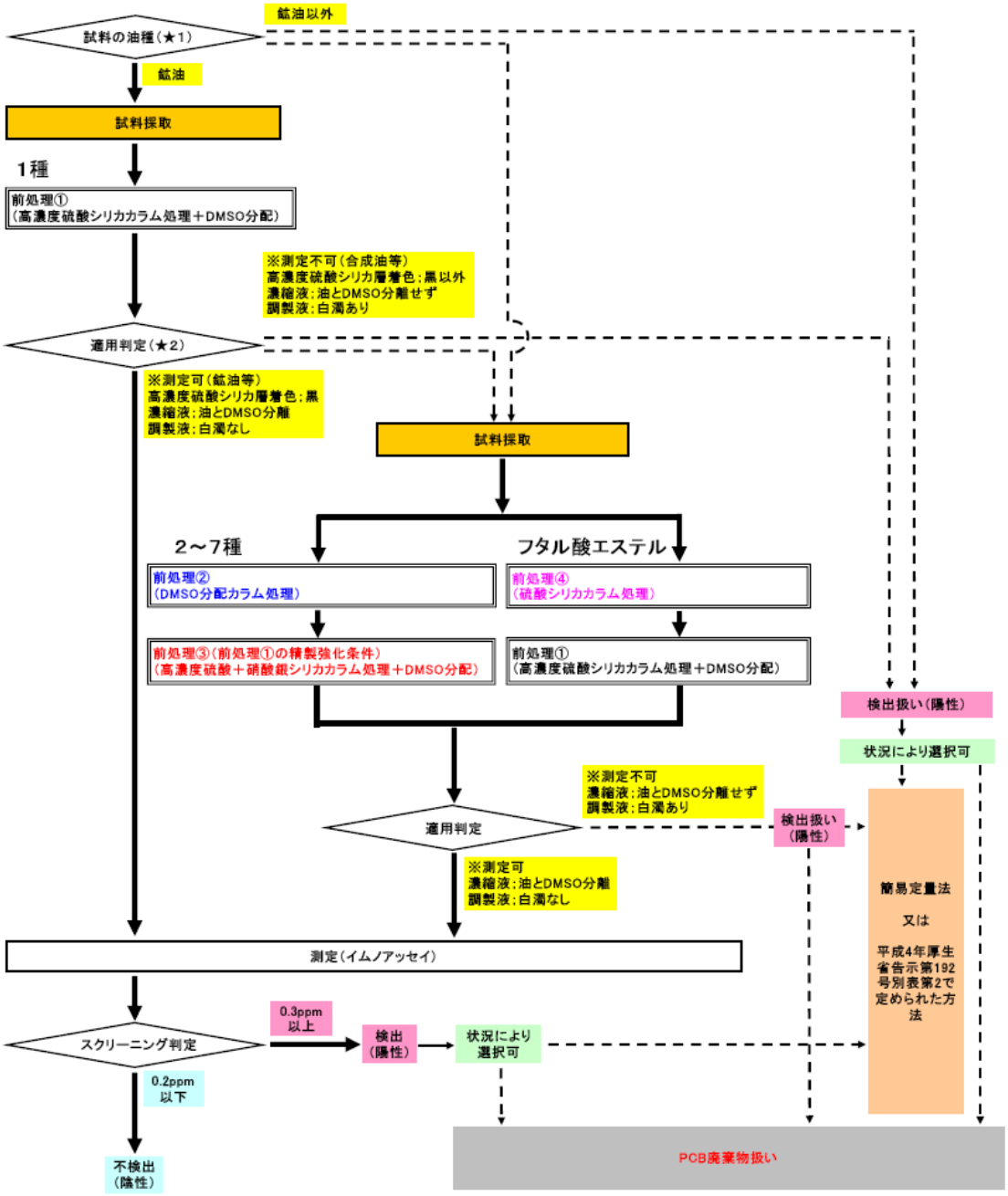
(2) 測定の概要

1) 測定の概要

試料を高濃度硫酸シリカゲルを用いた多層カラムで精製を行ない、ジメチルスルホキシド（DMSO）溶液として回収する。測定は、金コロイド標識化抗 PCB モノクローナル抗体と検出セルを用いたフロースルー式免疫測定法を利用して行い、検出セルの吸光度から PCB 濃度を算出する。なお、油種により追加精製のための前処理方法を選択して行う。

2) 測定操作フロー

本法全体のフローを図 3.3.1.1、前処理操作フローを図 3.3.1.2 から図 3.3.1.4 に示す。



★1　油種確認；GC/FIDで確認する。GC-MS、IR、UV等で確認しても良い。

★2　適用判定（目視）；①高濃度硫酸シリカ層の着色
②濃縮液の状態
③抗原抗体反応液調製時の白濁有無

図 3.3.1.1　本法全体のフロー

3）前処理操作フロー

a. 高濃度硫酸シリカゲルカラム処理（前処理①）及び高濃度硫酸および硝酸銀シリカゲルカラム処理（前処理③）

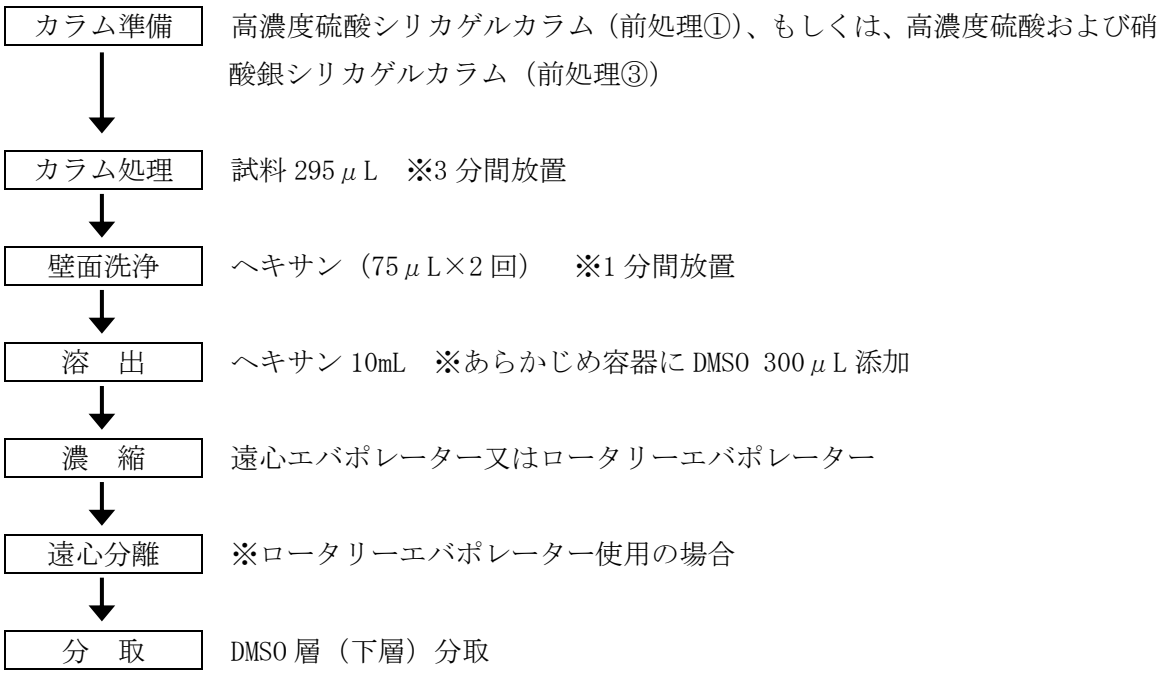


図 3.3.1.2 高濃度硫酸シリカゲルカラム処理（前処理①）及び高濃度硫酸および硝酸銀シリカゲルカラム処理（前処理③）の操作フロー

b. DMSO 分配カラム処理（前処理②）

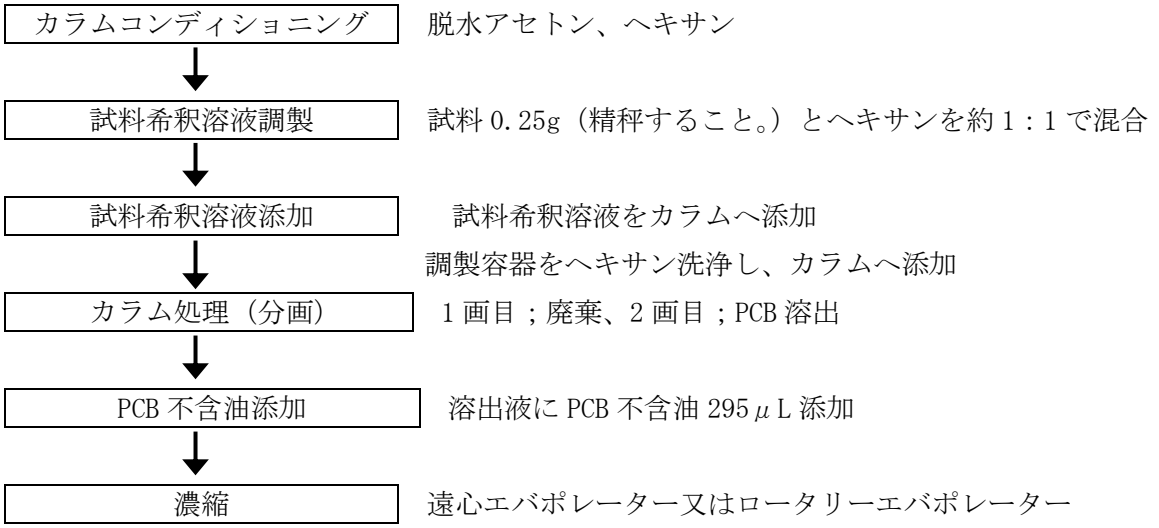


図 3.3.1.3　DMSO 分配カラム処理（前処理②）の操作フロー

c. 硫酸シリカゲルカラム処理（前処理④）

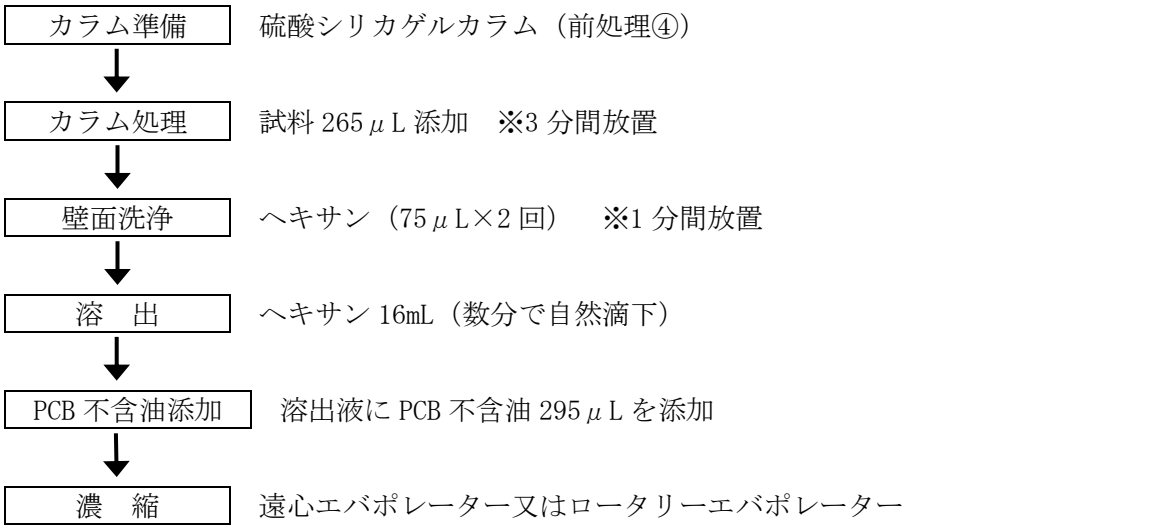


図 3.3.1.4　硫酸シリカゲルカラム処理（前処理④）の操作フロー

(3) 試薬及び使用器具等

1) 試薬

測定に使用する試薬は次による。これらの試薬は、空試験などによって測定に支障のないことを確認しておく。又、記述以外の試薬を使用する場合も同等の試験を行い、測定に支障のないことを確認しておく。

a. **脱水アセトン**　有機合成用、又は同等の品質のもの。

b. **ヘキサン**　JIS K8825 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

c. **ジメチルスルホキシド（DMSO）**　分子生物学用、又は同等の品質のもの。

d. **塩化カリウム**　JIS K8121 に規定する試薬特級、又は同等の品質のもの。

e. **塩化ナトリウム**　残留農薬・PCB 試験用、もしくは JIS K8150 に規定する試薬特級、又は同等の品質のもの。

f. **純水**　JIS K0557 に規定する A4（又は A3）の水。

g. **リン酸二水素カリウム**　JIS K9007 に規定する試薬特級、又は同等の品質のもの。

h. **リン酸水素二ナトリウム・12 水和物**　JIS K9019 に規定する試薬特級、又は同等の品質のもの。

i. **アジ化ナトリウム**　JIS K9501 に規定する試薬特級、又は同等の品質のもの。

j. **BSA**　A9647-50GHeat-shocked fractionate PH7 min 96% (electro-phoresis), Lyophilized powder、又は同等の品質のもの。

k. **PCB 不含油**※1)　JIS C2320 に規定する 1 種に該当するもの。

l. **硝酸銀シリカゲル（10%）**　ダイオキシン類分析用、又は同等の品質のもの。

m. **DMSO 分配カラム**　6g、ガラスカラム※2)

n. **硫酸**　JIS K8951 に規定する試薬特級、又は同等の品質のもの。

o. **シリカゲル**　ダイオキシン類分析用、又は同等の品質のもの。

p. **金コロイド標識化抗 PCB モノクローナル抗体溶液**※3)　金コロイドと PCB 抗体を反応させ、牛血清アルブミンでブロッキング後、分離精製したもの。PCB 抗体は特許生物寄託センターに寄託されたハイブリドーマにより産出されるモノクローナル抗体、又は同等の性質を有するもの。

q. **PCB 混合標準液**　4 種類の PCB 原体（KC-300,400,500,600）を PCB 不含油を用いて等量混合し、0.1 から 5mg/kg の範囲に調製したもの※4)。

r. **緩衝溶液（PBS/BSA）**

ⅰ. 濃 PBS 溶液※5)

ミリQ水 2655g に、塩化ナトリウム 240g、リン酸水素二ナトリウム・12 水和物 87g、塩化カリウム 6g、リン酸二水素カリウム 6g、アジ化ナトリウム 3g を溶かし、3L 調製したもの。

ⅱ. 緩衝溶液（PBS/BSA）※6)

ミリQ水 2700mL に、濃 PBS 溶液 300mL、BSA 0.9g を加え、3L 調製したもの。

s. **高濃度硫酸シリカゲル**※3) 遊離 SO_3 が 15%(質量)以上、20%(質量)未満のもの。使用前に、あらかじめ遊離 SO_3 濃度を確認するか、または濃度が保証されているものを使用する。高濃度硫酸シリカゲルは、ガラス製アンプルに密閉して保管する。

2) 器具及び材料

測定に使用する器具および材料は次による。これらの器具および材料は、空試験などによって測定に支障のないことを確認しておく。又、記述以外のものを使用する場合も測定に支障のないことを確認しておく。

a. **PCB バイオセンサー測定キット**※3)
b. **フラスコ** 25 から 30mL 透明ナス型フラスコ又はナシ型フラスコ
c. **マイクロチューブ** 容量 1.5mL 密栓付きで、6000rpm 以上で遠心分離可能なもの。
d. **シリンジ** 2 から 10mL、PP 製のもの。
e. **手動式マイクロピペッター** JIS K0970 に規定するもの、又は同等の品質のもの※7)。
f. **マイクロピペッター用チップ** JIS K 0970 に規定するもの、又は同等の品質のもの。
g. **ビーカー** PP 製 20 から 30mL のもの。ガラス製試験管やビーカーでも代用可である。
h. **スピッチ管** 容量が約 14mL(内径 1.5cm×10cm)のもの、又は同等の品質のもの※8)。
i. **携帯型吸光光度計点検用検出セル** 携帯型吸光光度計の感度確認が可能な検出セルタイプのもの。
j. **検出セル**※3) 金コロイド標識化抗 PCB モノクローナル抗体を捕捉できる性能を有するもので、PP 製シリンジの先端に装着可能なもの。

3) 装置及び設備

a. **定流量ポンプ（シリンジポンプ）** シリンジで流速 10mL/min、流量 4mL 通液可能なもの。
b. **定流量ポンプ（シリンジポンプ）** シリンジで流速 2mL/min 以上、流量 1mL 以上通液可能なもの。
c. **ロータリーエバポレーター** 一式（循環冷却水装置含む）
d. **遠心エバポレーター** 一式（冷却トラップ含む）
e. **遠心分離機** 6000rpm 以上で容量 1.5mL のマイクロチューブを処理可能なもの。
f. **遠心分離機** 3500rpm 以上で容量 50mL のサンプルチューブを処理可能なもの。
g. **携帯型吸光光度計** RS232C ケーブル、専用データ解析ソフト付き※9)

4) 試験室の環境

操作は十分な換気・空調設備の整った実験室にて、高温・多湿を避けて実施し、携帯型吸光光度計による吸光度測定は 20 から 25℃の範囲の室内で実施する。前処理においても、使用溶媒である DMSO の融点を考慮し、20℃以上の環境にて実施する。一連の測定

は±1℃以内の空調管理を推奨する。

(4) 前処理

1) 試料の油種確認

油種の確認は、試料油の粘性をはじめ、機器分析や赤外・紫外線等による事前判別、前処理時の多層カラム（高濃度硫酸シリカゲル層）の着色※10）による判別および前処理時の濃縮液の状態※10）等により鉱油と合成油の判定が可能である。変圧器等の機器管理情報から油種判別が可能な場合はその情報を利用してもよい。油種確認フローを図 3.3.1.5 に示す。

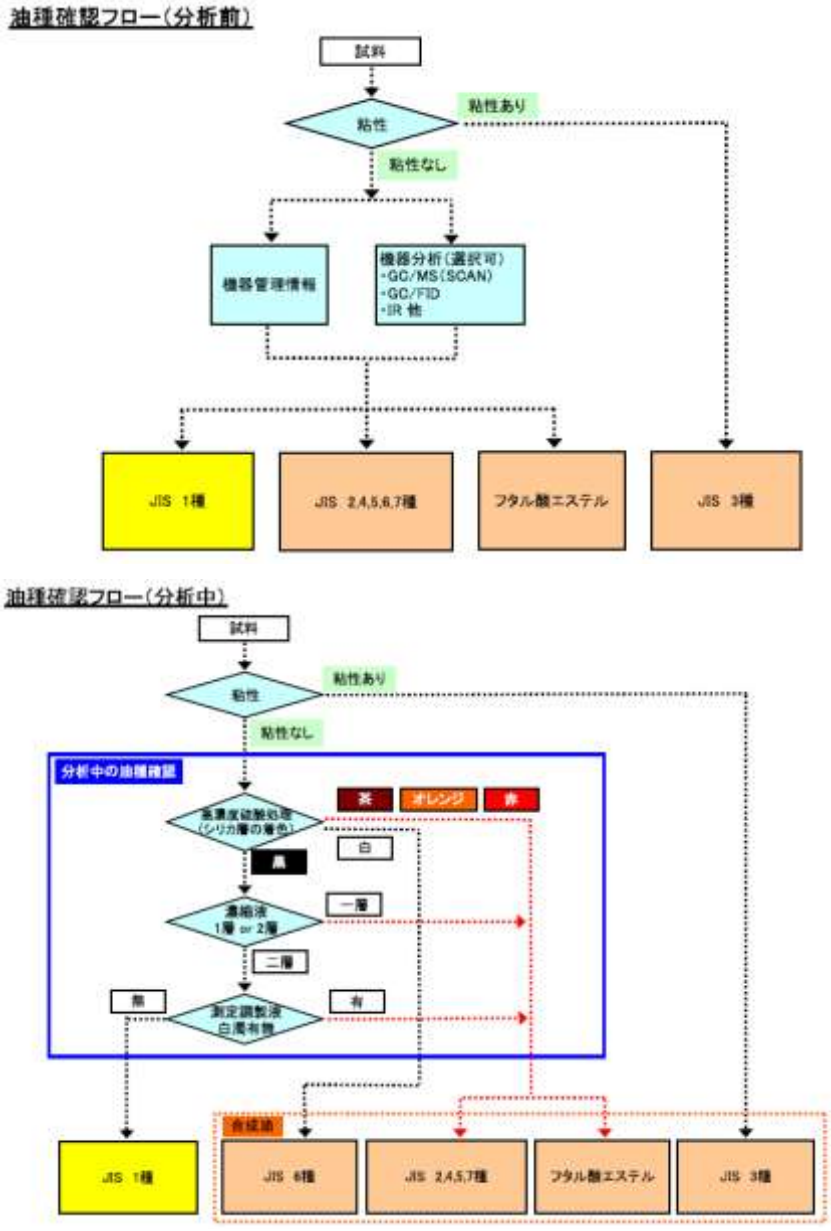


図 3.3.1.5　油種確認フロー

2）高濃度硫酸シリカゲルカラム処理（前処理①）

本前処理は JIS1 種油試料対応の方法である。

a. 多層カラムの準備※11)

カラム構成を図 3.3.1.6 に示す。

ⅰ. ガラス繊維ろ紙を入れたカラムにアミノプロピルシリカゲル 1.5g を入れる。

ⅱ. 無水硫酸ナトリウム 0.5 から 1g を加える。

ⅲ. 高濃度硫酸シリカゲル 2g が封入されているガラス管を開封し、直ちに無水硫酸ナトリウムの上に加える。

ⅳ. 高濃度硫酸シリカゲルを充填したら直ちに無水硫酸ナトリウム 0.5 から 1g を加える。

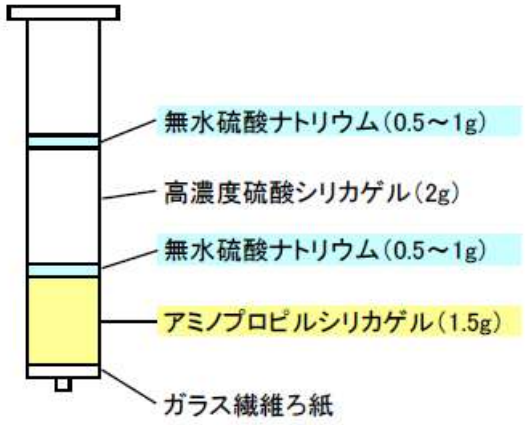


図 3.3.1.6　高濃度硫酸シリカゲルカラム処理（前処理①）のカラム構成

b. 溶出液受器の準備

溶出液を受けるナシ型フラスコ又はスピッチ管に DMSO 300μL を入れる。なお、この操作は a. の操作前に実施しておく。

c. サンプルの添加と夾雑物の分解 1

ⅰ. 多層カラム作成後、直ちに b. で用意したナシ型フラスコ又はスピッチ管をカラムの溶出位置にセットする。

ⅱ. セット後直ちに測定試料 295μL（絶縁油 0.25g）を多層カラムの上部に添着※12)し、3 分間放置する。

d. 夾雑物の分解 2 と PCB の溶出

ⅰ. 3 分間放置後、カラム壁面を洗浄するようにヘキサン 75μL を 2 回添加し、無水硫酸ナトリウム層やカラムの壁面に残存している試料油を高濃度硫酸シリカゲル層に移動させ、1 分間放置する。

ⅱ. 1 分間放置後、ヘキサン 10mL（5mL×2 回）をカラムにゆっくり添加し、自然滴下で溶出させる※13、※14)。

e. 濃縮・分配

遠心エバポレーター※15）もしくは、ロータリーエバポレーター※16）を用いて溶出液を濃縮する※17、※18）。

ⅰ． 遠心エバポレーター

d.の操作で得られた溶液を遠心エバポレーターを用いて濃縮する。次に、DMSO層（下層）を油層（上層）が混入しないよう慎重にマイクロチューブに170から200μL程度分取※19）したものをイムノアッセイ測定用の試料液とする。ここで、DMSO層と油層との界面がはっきりせず、分取が困難な場合は遠心分離により2層の界面を明瞭にする。濃縮液（DMSO溶液と油の2層）約600μL（全量）をマイクロチューブに移し込む。このとき、溶媒等で洗い込む必要はない。次にマイクロチューブを6000rpm以上で30秒以上遠心分離する。

ⅱ． ロータリーエバポレーター

d.の操作で得られた溶液をロータリーエバポレーターを用いて濃縮する。次に濃縮液（DMSO溶液と油の2層）約600μL（全量）をマイクロチューブに移し込む。このとき、溶媒等で洗い込む必要はない。次にマイクロチューブを6000rpm以上で30秒以上遠心分離し、2層の界面を明瞭にしたのち、遠心分離後のDMSO層（下層）を油層（上層）が混入しないよう慎重に別のマイクロチューブに170から200μL程度分取※19）したものをイムノアッセイ測定用の試料液とする。

3）DMSO分配カラム処理（前処理②）

本前処理はJIS 2から7種油試料対応の方法である。

a. 精製カラムの準備

ⅰ．DMSO分配カラムに脱水アセトン20mL、ヘキサン40mLをこの順に添加して自然滴下でカラムのコンディショニングを行う。

ⅱ．スクリュー管等の容器中で、試料0.25g（重量を精秤すること。）をヘキサン295μLで約1:1に希釈し、試料希釈液を調製する。

b. カラム処理

ⅰ．試料希釈溶液全量（約600μL）をカラム充填剤の上部に添着する。

ⅱ．試料希釈液を調製した容器を、ヘキサン2mL（1mL×2回）で洗浄し、カラム内壁を洗浄するようにカラムに添加する。

ⅲ．ヘキサン10mLを添加し自然滴下にて夾雑物を溶出させ、この液は廃棄する。

ⅳ．ヘキサン30mLを添加し自然滴下させ、フラスコ等でPCBが含まれる分画を回収する。

c. 濃縮

ⅰ．溶出液にPCB不含油（295μL）を添加する。

ⅱ．遠心エバポレーター※15）もしくはロータリーエバポレーター※16）で濃縮し、ヘ

キサンを完全除去し、PCB 不含油に転溶する※17、※18)。

4) 高濃度硫酸および硝酸銀シリカゲルカラム処理（前処理③）

本前処理は JIS 2 から 7 種油試料対応の方法であり、DMSO 分配カラム処理（前処理②）と組み合わせて使用する。

a. 多層カラムの準備※11)

カラム構成を図 3.3.1.7 に示す。

ⅰ. ガラス繊維ろ紙を入れたカラムに硝酸銀シリカゲル 0.2g を入れる。

ⅱ. 無水硫酸ナトリウム 0.5 から 1g を加える。

ⅲ. アミノプロピルシリカゲル 1.5g を入れる。

ⅳ. 無水硫酸ナトリウム 0.5 から 1g を加える。

ⅴ. 高濃度硫酸シリカゲル 2g が封入されているガラス管を開封し、直ちに無水硫酸ナトリウムの上に加える。

ⅵ. 高濃度硫酸シリカゲルを充填したら直ちに無水硫酸ナトリウム 0.5 から 1g を加える。

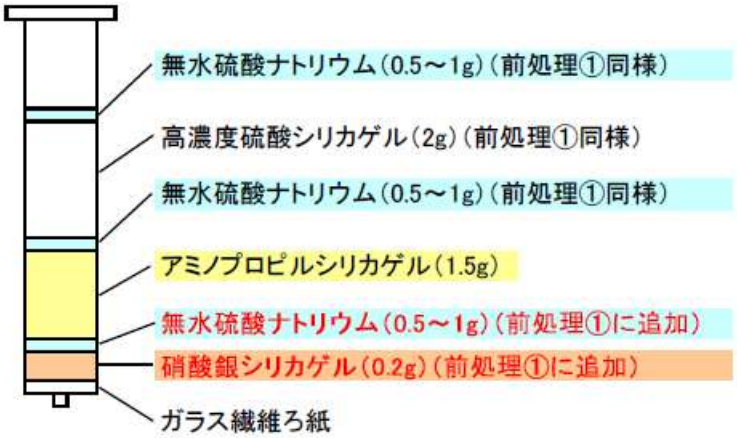


図 3.3.1.7　高濃度硫酸および硝酸銀シリカゲルカラム処理（前処理③）のカラム構成

b. 溶出液受器の準備

高濃度硫酸シリカゲルカラム処理（前処理①）と同様に行う。

c. サンプルの添加と夾雑物の分解 1

高濃度硫酸シリカゲルカラム処理（前処理①）と同様に行う。

d. 夾雑物の分解 2 と PCB の溶出

高濃度硫酸シリカゲルカラム処理（前処理①）と同様に行う。

e. 濃縮・分配

高濃度硫酸シリカゲルカラム処理（前処理①）と同様に行う。

5）硫酸シリカゲルカラム処理（前処理④）

本前処理はフタル酸エステル油試料対応の方法であり、高濃度硫酸シリカゲルカラム処理（前処理①）と組み合わせて使用する。

a. 多層カラムの準備※11）

カラム構成を図 3.3.1.8 に示す。

ⅰ．ガラス繊維ろ紙を入れたカラムにシリカゲル 0.5g を入れる。

ⅱ．44%硫酸シリカゲル 2ｇを加える。

ⅲ．無水硫酸ナトリウム 0.5 から 1g を加える。

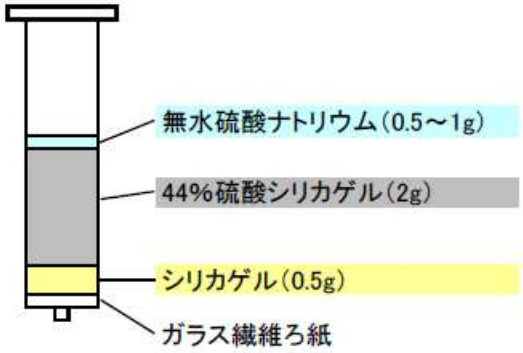


図 3.3.1.8　硫酸シリカゲルカラム処理（前処理④）のカラム構成

b. サンプルの添加と夾雑物の分解 1

ⅰ．フラスコ等をカラムの溶出位置にセットする。

ⅱ．測定試料 265μL（絶縁油 0.25g）をカラムの上部に添着※12）し、3 分間放置する。

c. 夾雑物の分解 2 と PCB の溶出

ⅰ．3 分間放置後、カラム壁面を洗浄するようにヘキサン 75μL を 2 回添加し、無水硫酸ナトリウム層やカラムの壁面に残存している試料油を高濃度硫酸シリカゲル層に移動させ、1 分間放置する。

ⅱ．1 分間放置後、ヘキサン 16mL（4mL×4 回）をカラムにゆっくり添加し、自然滴下で溶出させる※13、※14）。

d. 濃縮・分配

ⅰ．溶出液に PCB 不含油（295μL）を添加する。

ⅱ．遠心エバポレーター※15）もしくはロータリーエバポレーター※16）で濃縮し、PCB 不含油に転溶する※17、※18）。

(5) 測定操作※20)

1) 抗体希釈液の調製

金コロイド標識化抗 PCB モノクローナル抗体溶液原液を、予め室温まで戻した緩衝溶液（PBS/BSA）で 300μL/mL（抗体原液 15μL＋緩衝溶液 35μL/1 検体）に希釈し、抗体希釈液を調製する※21)。

2) 測定（イムノアッセイ）操作

試料液を抗体希釈液と混合し、平衡反応状態とした後、未反応抗体を検出セルで捕捉する。検出セルを洗浄後、乾燥し、吸光度を携帯型の吸光光度計で測定する。

測定操作フローを図 3.3.1.9 に示す。

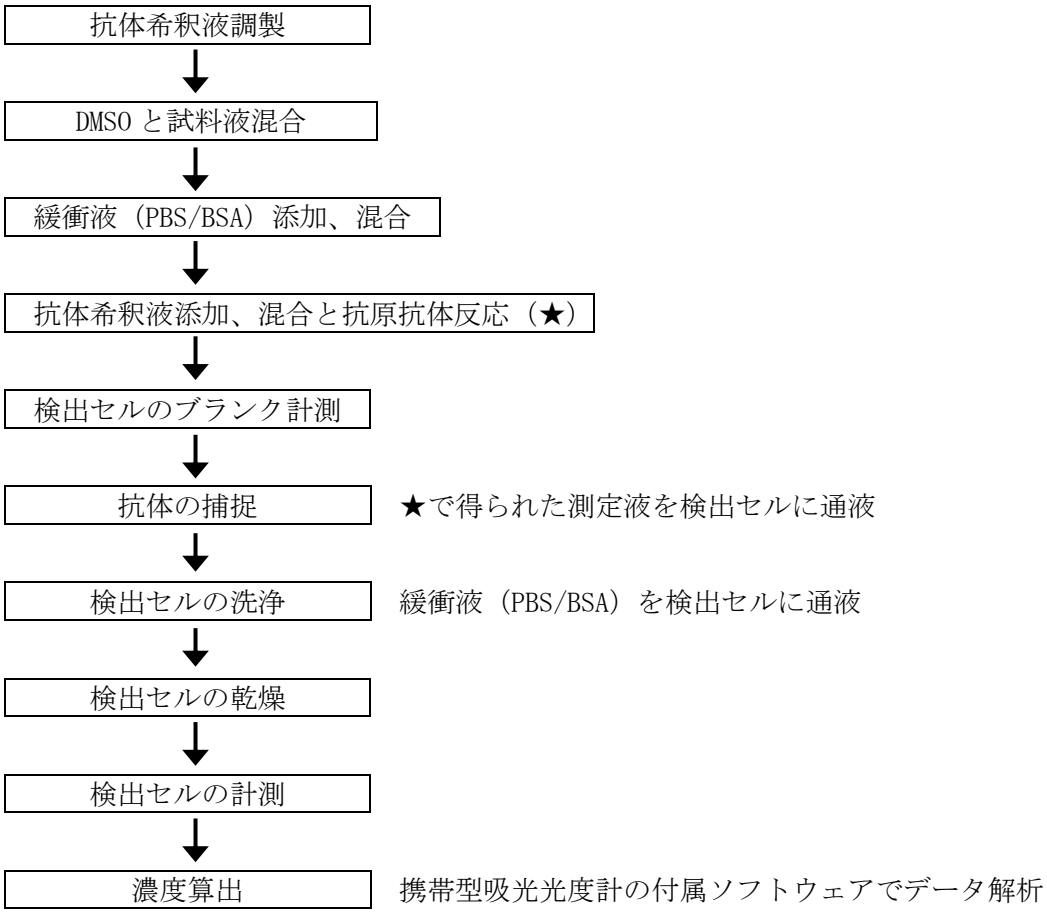


図 3.3.1.9　測定（イムノアッセイ）の操作フロー

a. 測定液の調製（抗原抗体反応）

ⅰ. DMSO 30μL、試料液 70μL、室温まで戻した緩衝溶液（PBS/BSA）4600μL を PP 製ビーカー（20 から 30mL 程度）に添加※10) し、溶液を攪拌、混合する。

ⅱ. 300μL/mL に調製した抗体希釈液 50μL を添加し、抗体希釈液が付着したビーカー

壁面を洗うようにゆっくり回し、溶液を攪拌混合する。

ⅲ. 混合液を 1 から 2 時間程度室温で放置し抗原抗体反応を行う。

b. 検出セルのブランク値（吸光度）計測

未使用の検出セルを吸光光度計にセットし、ブランク値（電圧測定値）を測定する。測定値は携帯型吸光光度計の付属ソフトウェアで読み取る。

c. 未反応抗体の捕捉

反応が完了した a. の溶液を PP 製シリンジにその先端部に空気が入らないように全量採取し、定流量・定流速ポンプを用いて、予めブランク値を計測しておいた検出セルに 10mL/min の一定速度で 4mL 通液する。なお、一連の測定では同一速度で通液する。

d. 検出セルの洗浄

緩衝溶液（PBS/BSA）を PP 製シリンジに約 1 から 2mL 採取し、定流量・定流速ポンプを用いて、反応液を通液後の検出セルに 4 から 10mL/min の範囲で一定速度で 1mL 以上通液する。なお、一連の測定では同一速度で通液する。

e. 遠心分離・乾燥

検出セルに付着した水滴を、膜を傷つけないようにキムワイプ等で十分にふき取った後、遠心分離※22）して脱水する。続いて、湿度が低い環境中で検出セルに埃がつかないように室温で放置し、自然乾燥させる。

検出セルが十分に乾燥していることを目視等で確認する。乾燥が不十分な場合には遠心分離による脱水や自然乾燥時間を延ばす※23）。

f. 検出セルの吸光度計測

検出セルを吸光光度計にセットし、吸光度（電圧測定値）を測定する。測定値は携帯型吸光光度計の付属ソフトウェアで読み取る。予め計測しておいたブランク値と測定値から検量線を用いて PCB 濃度を算出する。

3）濃度算出

a. 濃度換算の原理

吸光光度計を用いる本法では、Lambert-Beer の法則を利用して、式(1)により濃度換算する。C_1、K_d 、A_{bt} は検量線作成時に算出する係数であり、R_G は試料ごとに算出する値である。

$$X=C_1\ (1-R_G)\ (K_d/R_G+A_{bt}) \quad 式(1)$$

X：PCB 濃度、C_1：濃度換算係数、R_G：金コロイド濃度の相対変化率（着色度）

K_d：抗体の平衡解離定数、A_{bt}：抗体濃度

R_G（着色度）は金コロイド標識化抗 PCB モノクローナル抗体を検出セルに送液する前後の光透過率の変化を表し、以下に示す式(2)によって算出する。

$R_G = \log_{10}(I_{S1}/I_{S2}) / \log_{10}(I_{B1}/I_{B2})$　式(2)

I_{S1}：試料を送液する前の検出セルの電圧測定値（試料 Zero 値）

I_{S2}：試料を送液した後の検出セルの電圧測定値（試料 Meas 値）

I_{B1}：ブランク試料を送液する前の検出セルの電圧測定値（ブランク試料 Zero 値）

I_{B2}：ブランク試料を送液した後の検出セルの電圧測定値（ブランク試料 Meas 値）

＊ブランク試料：PCB 不含油

実際の計算では、検出セルの物理的、光学的な特性を考慮して補正した吸光度から算出した着色度 R_G’（式(3),(3’)参照）を使用する。補正は測定バッチ毎に実施して求める補正係数（Cz）を使用する。(式(4)参照)

$R_G' = \log_{10}(I_{S1}/I_{S2}) / (Cz \times (-0.3739 \times I_{S1} + 1.8652))$　式(3)

R_G'：補正着色度

$Cz = \log_{10}(I_{B1}/I_{B2}) / (-0.3739 \times I_{B1} + 1.8652)$　式(4)

Cz：補正係数

$R_G' = R_G \times (-0.3739 \times I_{B1} + 1.8652) / (-0.3739 \times I_{S1} + 1.8652)$　式(3’)

(式(2),(3),(4)より)

b. 検量線の作成

検量線は、複数水準の標準を使用した検量線 1（多点校正）と 1 水準の標準を使用して補正する検量線 2（1 点校正）の 2 種類を併用する。検量線 1 では K_d , A_{bt} を、検量線 2 では C_1 を決定する。検量線 1 を作成した測定と同じバッチ内で測定する試料は C_1 を 1 とでき、検量線 2 の作成を省略する。

検量線 1 は金コロイド標識抗体のロット毎に作成する。

検量線 1 は複数水準の標準の測定を、検量線 2 は 1 水準の標準の測定を、それぞれ測定シリーズの前後で 2 回行い、全ての測定値を利用して検量線を作成する。検量線は PCB 不含油で希釈調製した PCB 標準溶液を用いて、試料と同様に前処理した後にイムノアッセイ法により測定した吸光度を使用する。なお、DMSO 分配カラム処理（前処理②）および硫酸シリカゲルカラム処理（前処理④）を利用する場合は、高濃度硫酸シリカゲルカラム処理（前処理①）から標準溶液の前処理を実施する。

ｉ．検量線１　多点校正

標準溶液の水準と繰り返し測定数を以下に示す。

・水準　0.4 から 2mg/kg の範囲で 4 水準以上（例えば、0.4,0.6,0.8,1.0 mg/kg）

・繰り返し数　各水準、前処理 4 回×測定 1 回

＊各測定の着色度を算出するために、補正係数決定のための試料（0mg/kg、前処理 4 回以上×測定 1 回以上）も測定する。なお、ここで決定した補正係数は同バッチで測定した試料の補正着色度を算出するためにも利用できる。

各測定値（電圧値：I_{S1}，I_{S2}，I_{B1}，I_{B2}）から式(3),(4)を用いて補正係数（Cz）と補正着色度（R_G'）を求め、式(1)において C_1 を 1 として最少二乗法で 2 種類の係数（K_d, A_{bt}）を決定する。補正係数は繰り返し測定した測定値の平均値とする。検量線の一例を図 3.3.1.10 に示す。

補正係数及び校正に使用した各水準の標準試料における換算濃度の CV は全て 20%以下が望ましく、30%を超える場合は、その原因等を検討し、必要な措置後に全て再処理、再測定し、校正を行う。

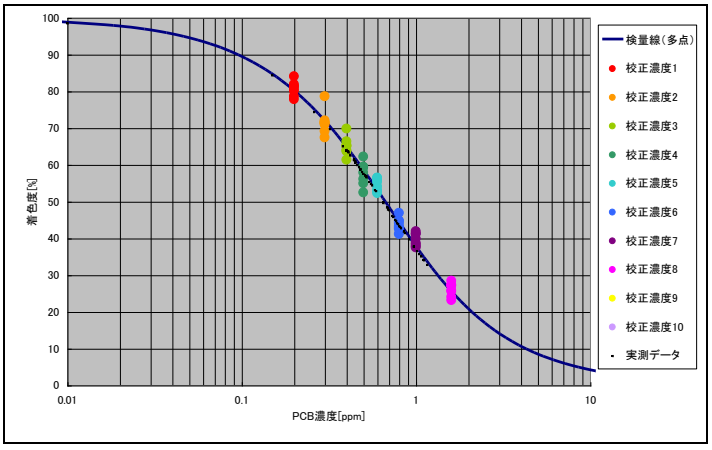


図 3.3.1.10　検量線の一例

ⅱ．検量線２　１点校正（既知濃度校正）※２４）

標準溶液の水準と繰り返し測定数を以下に示す。

・水準　0.4 から 1 mg/kg の範囲で 1 水準

・繰り返し数　前処理 4 回×測定 1 回

＊各測定の着色度を算出するために、補正係数決定のための試料（0mg/kg、前処理 4 回以上×測定 1 回以上）も必要である。なお、ここで決定した補正係数は同バッチで測定した試料の補正着色度を算出するためにも利用できる。

各測定値（電圧値：I_{S1}，I_{S2}，I_{B1}，I_{B2}）から式(3),(4)を用いて補正係数（Cz）と補正着

色度（R_G’）を求め、予め検量線 1 で求めた 2 種類の係数（K_d, A_{bt}）を利用して濃度換算係数（C_1）を決定する（既知濃度校正)。補正係数及び濃度換算係数は繰り返し測定した測定値の平均値とする。補正係数及び校正に使用した標準試料における換算濃度の CV は検量線 1 と同様に全て 20%以下が望ましく、30%を超える場合は、その原因等を検討し、必要な措置後に全て再処理、再測定し、校正を行う。

c. 試料濃度の算出

試料と同バッチで測定した検量線作成時に決定した補正係数（Cz）を利用し、各試料の測定値（電圧値：I_{S1}, I_{S2}）から式(3)を用いて補正着色度（R_G’）を求め、対応した検量線から濃度を算出する。

d. スクリーニングの判定及び報告

算出した濃度は JIS K 0464（ポリクロロビフェニル(PCB)の免疫測定方法通則）に準じて、小数点以下１桁に四捨五入した濃度を使用してスクリーニング判定を行う。判定濃度は 0.3mg/kg とし、四捨五入した濃度が 0.3mg/kg 以上の場合は検出(陽性)、0.2mg/kg 以下の場合は不検出（陰性）として取り扱う。報告は検出もしくは不検出とする。

(6) 精度管理

精度管理については、「1.5 精度管理について」に従うこと。尚、本測定法に関わる個別事項については、以下に示す。

測定データの信頼性確保の為には、適切な内部精度管理の実施と外部精度管理の活用がある。本技術では以下に示す内部精度管理を行うことで総合的な測定値の信頼性を確保する。

1) 妥当性の確認

a. 精度プロファイルの作成

JIS K 0464（ポリクロロビフェニル(PCB)の免疫測定方法通則）に従って、分析値の変動係数（CV）を測定対象成分の濃度に対してプロットした図（精度プロファイル）を作成し、繰り返し再現性を確認する。本法では濃度算出値の CV のプロットを採用する。精度プロファイルは標準試料を前処理から実施した後、イムノアッセイにて測定したデータを使用する。本法では、標準試料の濃度は 0.1 から 5.0mg/kg の範囲で 4 水準以上にて実施することを推奨する。各水準の繰り返し数は 5 回以上とする。CV 算出時の濃度は有効数字 3 桁目を四捨五入して 2 桁にした値を使用する。

b. 検出下限値の設定・確認

検出下限値は JIS K 0464（ポリクロロビフェニル(PCB)の免疫測定方法通則）に従っ

て、濃度算出値の CV が 30%を示す濃度と定義し、本法で設定している 0.3mg/kg 以下であることを確認する。確認は精度プロファイルから実施できるほかに、検出下限値（0.3mg/kg）における標準試料の CV 値のみで評価することも可能である。どちらの確認方法も、標準試料を前処理から実施した後、イムノアッセイにて測定したデータを使用する。各水準の繰り返し数は 5 回以上とし、CV 算出時の濃度は有効数字 3 桁目を四捨五入して 2 桁にした値を使用する。

2）日常管理

a. 繰り返し再現性の確認

測定バッチ毎に補正係数算出のための PCB 不含油及び多点検量線もしくは 1 点検量線作成に必要な標準試料を繰り返し測定（前処理 4 回以上×測定 1 回以上）し、再現性を確認する。再現性は CV に関して 20%以下が望ましく、30%を超える場合はその原因等を検討し、必要な処置後に全て再処理し、校正を行う。なお、後述の傾向管理も併用する。

b. 回収率の確認

生物検定法においては標準物質の添加による回収率の確認は困難であるため、本法は、(5).3).b で規定したように、絶縁油に標準を添加した標準試料（調製標準試料）を用い、一連(1 日)の測定において、最初と最後に実試料と同様に前処理操作から実施して検量線を作成することで、全ての工程を考慮した回収率補正を行っている。なお、個々の試料の回収率の低下が起こらないよう、分離分析操作を慎重に実施する必要がある。

c. 吸光光度計の性能確認

測定バッチ毎に標準試料及び実試料を計測する前に、点検専用の検出セルを用いて、吸光光度計の点検を行う。繰り返し計測回数は 10 回以上とし、計測値の CV が 0.75%以下であることを確認する。0.75%を超える場合は原因究明を行い、その対策後に再計測する。なお、日常管理の一環として、計測値の平均値及び CV 値の傾向を把握することが望ましい。

d. 管理図の作成

日常の精度管理においては、以下の項目について、JIS Z 9021 に規定した管理図を作成する。傾向管理を行うことで異常の発見及びその対策が講じやすくなる。管理図による処置基準は管理限界（$\mu \pm 3\sigma$）からの逸脱状況及び管理図の傾向に応じて適切に定める（μ：工程平均、σ：標準偏差)。

・検量線 2（1 点校正）で決定する補正係数（平均値）とその CV
・検量線 2（1 点校正）で決定する濃度換算係数（平均値）と校正に使用した標準試料の換算濃度の CV

なお、金コロイド標識抗体のロットが変わった場合は、補正係数(平均値)及び濃度

換算係数(平均値)は変化することに留意する。

3) 定期的管理

a. 濃度既知試料の測定

濃度既知試料(GC/HRMS 等定量分析により求めた定量値付試料)をチェックサンプルとして 20 検体に 1 検体の頻度で、GC/HRMS 等定量分析により求められた定量値との比較を行い、本法で得られた数値が±30%以内であることを確認する。

b. トレーサビリティ

分析値が、後に検証可能となるように試料採取から計測、定量に至るまでの秤量等を含めた一連の作業を、記録として残しておく。

c. 偽陰性防止

偽陰性判定試料（ND 試料）を 50 検体に 1 検体の頻度で、簡易定量法、若しくは平成 4 年厚生省告示第 192 号別表第 2 に定める測定方法で測定し、確認する。

4) 試料シーケンス例

本測定時の試料シーケンス例を表 3.3.1.1 に示す。

表 3.3.1.1　試料シーケンス例

事前に、検量線1（多点校正）を作成（マニュアル　3.3.1.(5).3).b. ｉ）	
1	PCB不含油（n=1）
2	PCB不含油（n=2）
3	検量線2（1点校正）作成用標準溶液（n=1）
4	検量線2（1点校正）作成用標準溶液（n=2）
5	Sample1
6	Sample2
7	Sample3
・ ・	
24	Sample20
25	濃度既知試料（n=X）　※以降、20サンプルに1個の割合で入れる
26	Sample21
・ ・	
・	
106	Sample98
107	Sample99
108	Sample100
109	濃度既知試料（n=X）
110	PCB不含油（n=3）
111	PCB不含油（n=4）
112	検量線2（1点校正）作成用標準溶液（n=3）
113	検量線2（1点校正）作成用標準溶液（n=4）
サンプルスループット100	

注）PCB 不含油、検量線作成用標準溶液は、試料と同様に前処理から実施する。

(7)　留意事項

※1　PCB 不含が不明な場合は「特別管理一般廃棄物および特別管理産業廃棄物に係る基準の検定方法 厚生省告示第 192 号別表第二」に規定される方法で確認すること。

※2　DMSO 分配カラムは、シリカゲルにスルホキシド基を化学結合させた DMSO 液液抽出が固層カラムで可能なもので、市販品がある。使用の際は溶出条件を確認しておく。なお、試薬のみを購入し、作業者が作成してもよいが、カラムサイズ、コンディショニング、分画等の条件については、イムノアッセイに影響しないように事前

に確認しておく。

※3　PCB バイオセンサー測定キットとしての市販品がある。内容物は、以下のとおりである。

1）検出セル

2）金コロイド標識化抗 PCB モノクローナル抗体溶液

3）有機不純物分解管（高濃度硫酸シリカゲル）

4）アミノプロピルシリカゲル　シリカゲル基材にアミノプロピル基を結合させたもので、細孔径 6nm、粒子径 100μm のもの、又は同等の品質のもの。

5）無水硫酸ナトリウム　残留農薬・PCB 試験用、又は同等の品質のもの。

6）前処理カラム　PP 製シリンジ、容量 12mL のもの、又は同等の品質のもの。

7）ガラス繊維ろ紙　16mmφ×0.44mm 厚のもの、又は同等の品質のもの。

なお、キットの取り扱いについては、以下の注意点を遵守すること。

ⅰ．検出セル

金コロイド標識化抗 PCB モノクローナル抗体を捕捉できる性能を有するもので、PP 製シリンジの先端に装着可能なもの。検出セルは指定の方法で保存し、埃、日光、湿気、衝撃、熱などの影響を受けないように高温多湿を避けた冷暗所で保存する。汚れ、カビなどを生じると、測定値に異常を生じるので使用前には汚れなどの異常がないことを確認する。

ⅱ．金コロイド標識化抗 PCB モノクローナル抗体溶液

金コロイドと PCB 抗体を反応させ、牛血清アルブミンでブロッキング後、分離精製したもの。PCB 抗体は特許生物寄託センターに寄託されたハイブリドーマにより産出されるモノクローナル抗体、又は同等の性能を有するもの。冷蔵庫（5 から 8℃）で保存し、日光、衝撃、熱、湿気などの影響を受けないようにすること。使用前には、凝集沈殿、固化、腐敗などがないことを確認する（目視・臭い）。短時間で使用し、使用後はすぐに冷蔵庫に保管する。抗体は高分子のタンパク質であり、熱・衝撃・有機溶媒などに弱く化学構造が変化するため、強く振ったり（泡立たせない）、有機溶媒の近くで使用しないこと。なお、異なるロットの金コロイド標識化抗 PCB モノクローナル抗体溶液を組み合わせて使用しないこと。

ⅲ．高濃度硫酸シリカゲル（有機不純物分解管）【医薬用外劇物】

遊離 SO_3 濃度が 15%（質量）以上、20%（質量）未満のもの。使用前に、あらかじめ遊離 SO_3 濃度を確認するか、または濃度が保証されているものを使用する。高濃度硫酸シリカゲルはガラス製アンプルに密封して冷蔵保存し、衝撃、熱などを与えないこと。万一アンプルが破損し、内容物の分解剤が漏洩すると、同剤が持つ強酸性により接触物の腐食、無水硫酸ガスの発生などにより人的・物的災害を生じる。アンプルを開けたときに発生するガスを吸わないように作業の際は必

ず安全マスクを着用し、作業はドラフト内で行う。

※４　検量線作成用標準液の水準例

・Std-1　0.1mg/kg、　・Std-2　0.2mg/kg、　・Std-3　0.3mg/kg

・Std-4　0.4mg/kg、　・Std-5　0.5mg/kg、　・Std-6　0.6mg/kg

・Std-7　0.8mg/kg、　・Std-8　1.0mg/kg、　・Std-9　1.6mg/kg

※５　濃 PBS 溶液の調製は、調製容器（例えば、3L ガロン瓶）に全ての試薬を入れ、湯浴で 50℃程度に温めて混合、溶解させるとよい。調製後は室温にて保存し使用前に沈殿等がないことを確認する。

※６　緩衝溶液（PBS/BSA）の調製は、調製容器（例えば、3L ガロン瓶）に BSA、濃 PBS 溶液、ミリQ水の順に入れ、溶解させる。調製後は冷蔵庫で保管し、使用前に沈殿が無いことを確認する。

※７　手動式マイクロピペッターは、20 から 200μL 可変式、100 から 1000μL 可変式、500 から 5000μL 可変式、500 から 10000μL 可変式を準備しておくとよい。

※８　スピッチ管は、試験管等で代用することも可能である。

※９　吸光光度計は計測する前に専用の検出セル（(3) 2) i.）を用いて性能確認を行う。

※１０

①前処理時の高濃度硫酸シリカゲル層の着色が黒色以外の場合は、合成油の可能性が高い。

②前処理後の濃縮液が、油（上層）と DMSO 溶液（下層）の 2 層に分離しない場合も、試料が合成油の可能性が高い。

③測定液の調製の際、緩衝溶液を添加した直後に混合液が白濁した場合は、合成油の可能性が高い。

①、②および③の場合は、DMSO 分配カラム処理（前処理②）と高濃度硫酸および硝酸銀シリカゲルカラム処理（前処理③）の組み合わせによる再処理、もしくは、硫酸シリカゲルカラム処理（前処理④）と高濃度硫酸シリカゲルカラム処理（前処理①）の組み合わせによる再処理を行う。ここで、再処理ではなく検出（陽性）扱いとして、簡易定量法又は平成 4 年 厚生省告示第 192 号別表 2 に定める方法で分析するか、PCB 廃棄物扱いとすることも可能である。

※１１　精製カラム作成時は、充填層の厚みが均一となるようにカラム側面を軽くたたく。カラム完成後は、カラムヘッドが水平になっていることを確認する。

※１２　カラムへの試料添着時は、カラム壁面に油が付着しないように注意し、カラム面全体に試料液が浸るようにゆっくり添加する。

※１３　カラム溶出の際に試薬が飛散しないように、最上層にガラス繊維ろ紙等のフリットを加えることも可能だが、測定に支障がないことを事前に確認しておく。

※１４　カラム中に残存している空気の影響で自然滴下の速度が遅い場合は、カラム側面をたたいて改善する。

※１５　遠心エバポレーターによる濃縮条件例を以下に示す。

・遠心回転数　1650rpm

・チャンバー温度　75℃

・真空度　75hPa

・冷却トラップ温度　-50℃（エタノール液）

・濃縮時間　15min/16 検体

※１６　ロータリーエバポレーターによる濃縮条件例を以下に示す。

・温浴　30 から 35℃

・冷却温度　5℃以下

・濃縮時間　冷却管内でヘキサンが液化し始めてから 3 分以上

・真空度　0.9MPa

※１７　溶出液を放置すると試料によっては夾雑物が発生し、測定に支障を及ぼす場合があるので溶出後はなるべく早く次の濃縮操作を行う。

※１８　濃縮条件は使用する機器やシステム、ポンプの性能、設置環境等で異なるので事前検討を行い、PCB の回収率やイムノアッセイに影響しないように適宜調整し、確認する。

※１９　カラム処理後の濃縮液から DMSO 溶液を分取する時は、チップの先に入った油を DMSO 層内で押し出してから分取し、マイクロチューブに移す際、油の混入を防ぐためにチップがチューブに触れないように注意し、チップ内に残る液を全て押し出さないようにする。

※２０　イムノアッセイの測定操作は、メーカー指定の方法に従う。また、濃度換算に用いる係数もメーカー指定の値を用いる。

※２１　抗体希釈液は抗体の活性低下を防ぐため、なるべく短時間で使用するので必要な検体数量だけ調製する。なお、抗体原液は冷蔵庫から取り出して、ゆっくりかき混ぜ、容器壁面や底部に付着したコロイド粒子が外れるようにコロイド粒子を均一化した後に使用し、使用後はすぐに冷蔵保管する。

※２２　検出セルの遠心分離の際は、セルと遠沈管の間に空間が確保できるように１個づつセットし、3500 から 5000rpm の範囲で 6 分以上遠心分離（通常条件 3500rpm, 6 分）して脱水する。なお、遠心分離の条件は機種やローターの種類、セットする数等で異なるので事前に確認し、適切な条件に設定する。

※２３　遠心分離による脱水時間を長くすることにより自然乾燥の時間を短縮できる。乾燥時間については、乾燥環境により異なるので、事前に必要な時間を確認する。乾燥方法は遠心分離・自然乾燥に限らず、減圧乾燥等も利用できるが、加熱は不可である。乾燥条件については事前に検討し確認する。

※２４　管理図の作成

日常の精度管理の一環として、以下の項目について、JIS Z 9021 に規定した管理

図を作成することを推奨する。傾向管理を行うことで異常の発見及びその対策が講じやすくなる。管理図による処置基準は管理限界（$\mu \pm 3\sigma$）からの逸脱状況及び管理図の傾向に応じて適切に定める（μ：工程平均、σ：標準偏差)。

・検量線 2（1 点校正）で決定する補正係数（平均値）とその CV

・検量線 2（1 点校正）で決定する濃度換算係数（平均値）と校正に使用した標準試料の換算濃度の CV

3.3.2 硫酸処理/DMSO 抽出/硝酸銀カラム精製/イムノクロマトグラフ測定法

(1) 概要（適用範囲）

ここに定める方法は、変圧器やコンデンサ等の重電機器に使用される電気絶縁油中の PCB を測定するイムノクロマトグラフ測定法について適用する。

(2) 測定の概要

1) 測定の概要

本法は、PCB の含有が疑われる試料について、まず前処理選別テスト（TLC スポット解析を用いて硫酸処理の要否を特定）を行い、必要に応じて硫酸処理を行う。その後、全油種の共通操作として、電気絶縁油からジメチルスルオキシド（DMSO）を用いた PCB 抽出、ヘキサン/食塩水でのヘキサン抽出、硝酸銀シリカゲルカラムによる精製、DMSO 転溶、の順に前処理を行う。反応と解析は汎用的な競合イムノクロマト法にて行う。

2) 測定操作フロー

測定操作フローを図 3.3.2.1 に示す。

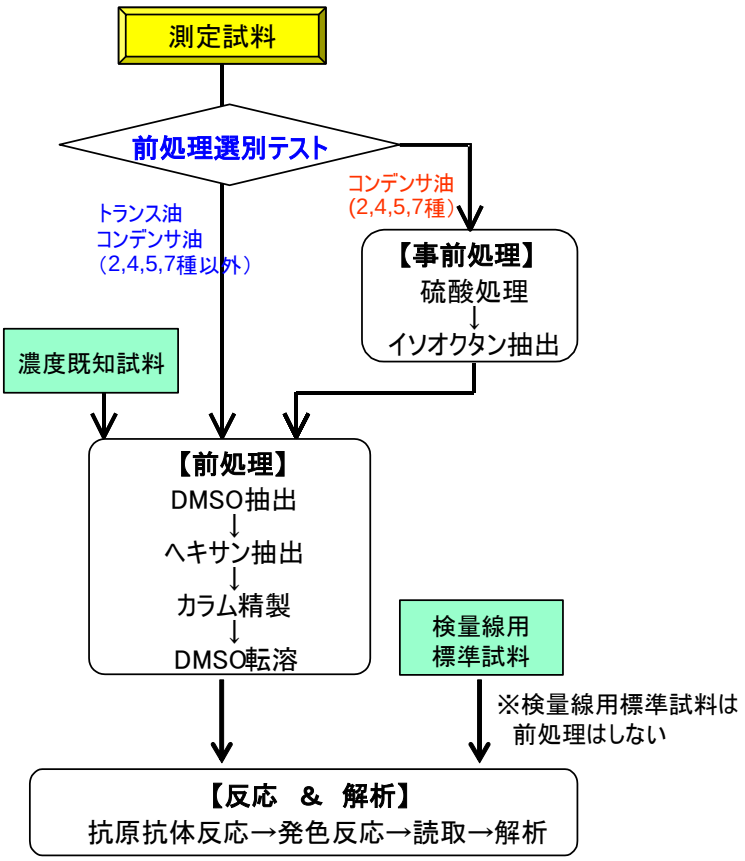


図 3.3.2.1　測定操作フロー

(3) 試薬及び使用器具※1）※2）※3）

1）試薬

測定に使用する試薬は次による。これらの試薬は、空試験などによって測定に支障のないことを確認しておく。また、記述以外の試薬を使用する場合も同等の試験を行い、測定に支障のないことを確認しておく。

a. **水**　JIS K0557 に規定する A4 若しくは A3 の水，又は同等の品質のもの。

b. **DMSO**　JIS K9702 に規定するもの，又は同等の品質のもの。

c. **アルカリホスファターゼ標識抗 PCB 抗体**　PCB と特異的に反応する抗体にヒンジ部のチオール基を介してアルカリホスファターゼを結合させたもの。交差反応性が附属書 3.3.2.7 に記載されたもの※4）※5）。

d. **発色基質 BCIP/NBT**　免疫測定用、又は同等の品質のもの。

e. **検量線用標準試料**　判断基準である 0.5mg/kg をはさむ 4mg/kg から 0.125mg/kg 濃度の含 PCB 絶縁油を、前処理したものと同等になるように調整した PCB を DMSO で溶解したもの。0.5、0.125、0.06、0.03、0.015μg/mL の 5 濃度が必要。

f. **濃度既知試料**　PCB を含む JIS 1 種 2 号絶縁油を平成 4 年厚生省告示第 192 号別表第 2 に定められる測定方法にて測定機関 3 箇所以上で測定し、それらの平均値が求められているもの。PCB 濃度は 0.5mg/kg 付近のものが望ましい。調製方法は附属書 3.3.2.5 に記載。

g. **ヘキサン**　JIS K8825 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

h. **塩化ナトリウム**　残留農薬・PCB 試験用、もしくは JIS K8150 に規定する試薬特級、又は同等の品質のもの。

i. **リン酸二水素カリウム**　JIS K9007 に規定する試薬特級、又は同等の品質のもの.

j. **リン酸水素二ナトリウム**　JIS K9020 に規定する試薬特級、又は同等の品質のもの。

k. **測定用緩衝液**　1000 mL の水に、リン酸水素二ナトリウム 1.2 g、リン酸二水素カリウム 0.2 g、塩化ナトリウム 8.0 g、塩化カリウム 0.2 g、 TritonX100（界面活性剤） 0.1 g、ウシ血清アルブミン 0.1 g、Proclin950(防腐剤)0.5g を十分に溶解させた後、孔径 0.45μm のフィルターでろ過したもの※6）。

l. **ウシ血清アルブミン（BSA）**　A9647-50GHeat-shocked fractionate PH7 min 96%（electro-phoresis），Lyophilized powder、又は同等の品質のもの。

m. **イソオクタン**　JIS K9703 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

n. **10%硝酸銀シリカゲルカラム**　10%硝酸銀を湿潤させたシリカゲルカラム、充填量 1.2g±5%、φ8.8 mm×充填部長さ 38.5±1.0 mm（上下 PE ﾌﾘｯﾄ 2 枚 込み）水分量 1.6 から 1.8 %に調製されたもの。

o. **硫酸**　JIS K8951 に規定する試薬特級、又は同等の品質のもの。

p. **Triton X-100**　免疫測定用、又は同等の品質のもの。

2）使用器具※1）※2）※3）

測定に使用する器具は次による。これらの器具は、空試験などによって測定に支障のないことを確認しておく。

a. **イムノクロマトチップ**　PCB-ハプテン複合体、捕捉抗体が塗布されているもの※4）※5）。

b. **マイクロチューブ**　ポリプロピレン製 1.5mL タイプ

c. **バイアル瓶(8mL)**　カラム精製で適切に使用できるもの。

d. **バイアル瓶(0.6mL)**　抗原抗体反応で適切に使用できるもの。

e. **カラムラック**　10%硝酸銀シリカゲルカラムを垂直に固定できるもの。

f. **マイクロピペット**　JIS K 0970 に規定するもの。

g. **マイクロピペット用チップ**　JIS K0970 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

h. **フィルター(0.45μm)**　JIS K3802 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

3）使用装置

測定に使用する装置は次による。

a. **卓上遠心機**　3,000G 以上でマイクロチューブを遠心できるもの。

b. **攪拌振とう機**　マイクロチューブ中の試料溶液を十分に攪拌できるもの。

c. **イムノクロマトリーダー**　呈色した 2 本のバンドの色強度を数値化できるもの。

d. **ヒーティングブロック**　事前処理でマイクロチューブを 80℃に加熱できるもの、および DMSO に転溶でバイアル瓶を 70℃に加熱できるもの。

e. **局所排気装置**　ヘキサンを使用する際に、化学物質取扱基準をクリアしているもの。

4）試験室の環境

操作は十分な換気・空調設備の整った実験室にて、低温・高温および多湿を避けて実施し、一連の測定操作は 25℃±3℃、湿度 30 から 70%に調節された室内で実施する。なお実験開始前の室温が(冬季など)著しく下回っていた場合や試料が長く 20℃未満の環境に置かれていた場合は試料、使用溶媒、使用容器（チップ含む）を 30℃で 1 時間以上にインキュベートしてから実施する。特に使用溶媒である DMSO は融点を考慮し、保存条件も 25℃以上の環境を維持することが望ましい。一連の測定操作は±1℃以内の空調管理を推奨する。

(4) 前処理操作

前項で記載されているように、本法は手作業を多く含むため、作業の再現性が必要である。必ず事前に同じ測定環境で濃度既知試料を用いて精度を確認（全工程において n=6 で CV20%未満になること）後、実試料の測定を行うこと。

1) 前処理選別テスト

測定試料の油種が不明な場合は、前処理選別テストにて油種を選別する（JIS2,4,5,7種とそれ以外の油種とを選別する）。油種がJIS2,4,5,7種以外と判明している場合は、(4).3)の前処理より操作を行う。以下に前処理選別テストの例を記載する。

a. 例① DMSO分配処理操作を行い、DMSO層の液量変化を確認する。

b. 例② クロマトグラフ分析により種別を同定する。

2) 事前処理

(4).1)でJIS2種、JIS4種、JIS5種、JIS7種に選別した試料は事前処理を行う。それ以外の試料については、(4).3)前処理より作業を行う。

a. マイクロチューブに絶縁油約50mgを分取し、絶縁油量を秤量する。秤量した絶縁油量は測定後補正に必要なため、書き留める。

b. 濃硫酸0.5mLを添加した後、攪拌振とう機にて、30秒以上撹拌する。

c. 80℃加熱下、2分以上（推奨：2分30秒）静置する。

d. 一度30秒間攪拌した後、再度80℃加熱下に2分以上（推奨:2分30秒）静置する。

e. これをもう一度繰り返す（30秒間攪拌、80℃加熱下で2分30秒精置）

f. 30秒以上撹拌した後、3,000 Gで1分間遠心する。

g. イソオクタンを添加（JIS2種：200μL，JIS4種：150μL，JIS5種：150μL，JIS7種：100μL）し、30秒間撹拌した後、80℃加熱下に30秒間静置し、その後再び30秒間撹拌する。

h. 3,000 Gで 5分間遠心した後、上層を回収する（約150μL）。

i. 残液にイソオクタン100μLを添加し、30秒間撹拌した後、80℃加熱下に30秒間静置し、その後再び30秒間撹拌する。

j. 3,000 Gで 5分間遠心した後、上層（約100μL）を回収し、先の回収液と合わせる。

k. 回収液を秤量し、比重から容量を算出し、全体量＝250μLになるようにイソオクタンを添加する。ただし、JIS7種など鉱油が入っている試料は鉱油部分の比重が異なるため、マイクロチューブの250μL線などを参考に10μL前後の追加が必要になる場合がある。

3) 前処理

(4).2)で事前処理した測定試料と(4).1)でJIS 1種、JIS 3種、JIS 6種、DOPと判断した測定試料を併せて前処理を行う。

a. 試料の秤量

①濃度既知試料を準備する。

②マイクロチューブ（マイクロチューブ A とする）を測定試料の本数＋２本分をチューブラックに準備する。

③マイクロチューブ A を電子天秤に乗せ、0g に合わせる。

④濃度既知試料と測定試料 0.2g（約 235μL）マイクロピペットにてマイクロチューブ A に採取し、秤量し、重量を書き留める※7）※8）。

b. DMSO 抽出

①マイクロピペットを使い、DMSO 0.5mL をチューブ A に追加する。

②撹拌振とう機にて、30 秒以上（推奨；60 秒）撹拌する。

③卓上遠心機にて、3,000G で 30 秒以上（推奨：60 秒）遠心する。

④測定試料と DMSO の界面を目視にて分離の確認をする。界面の線が不明瞭な場合は再度遠心し、30 秒毎に確認する。

c. ヘキサン抽出

①マイクロピペットにて、食塩水 0.2mL を別のマイクロチューブ（チューブ B とする）に入れる。ただし、後述にて追加するヘキサンの混入を防止するため、チューブ B の底に排出する。

②マイクロピペットにて、ヘキサンの吸入と排出を繰り返し、マイクロピペット用チップを平衡化した後、各マイクロチューブにヘキサン 0.6mL を追加する。

③チューブ A から下層（ DMSO 層）のうち 0.4mL を分取し、チューブ B に添加する※9）。

④攪拌振とう機にて、30 秒以上（推奨 60 秒） 撹拌する。

⑤卓上遠心機にて、3,000 G で 30 秒以上（推奨 60 秒）遠心する。

⑥蓋にヘキサンが付着しないようにチューブ B を遠心機から静かに抜く。

d. カラム精製

①使用直前に真空パックから 10%硝酸銀シリカゲルカラム（以下、カラムと呼ぶ）を取り出し、カラムラックに垂直に固定する※10）※11）※12）。

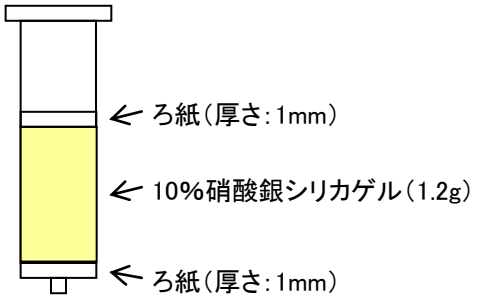


図 3.3.2.2　10%硝酸銀シリカゲルカラム

②バイアル瓶(8mL)（以下、廃棄瓶）をカラムの下に置く。

③チューブBの上層（ヘキサン層）を、マイクロピペットにて 0.4mL 分取し、カラム上部のろ紙に添加する。

④マイクロピペットにて、カラム上部よりヘキサン 2mL を加える※9)。

⑤ヘキサンの流出が止まったら廃液瓶を廃棄する。

⑥予め秤量したバイアル瓶(8mL)（以下、採取瓶）を番号順にカラムの下に置く※8)。

⑦マイクロピペットにて、カラム上部よりヘキサンを 7mL 滴下し、PCB を溶出させる※9)※13)※14)。

⑧ヘキサンの流出が止まったら、採取瓶をカラム下から外す※15)。

⑨各採取瓶に、マイクロピペットにて、DMSO 0.5mL を採取瓶に加える※7)※16)※17)。

e. DMSO 転溶

①ヘキサンを留去するためのヒーティングブロックを 70℃に温めておく※18)。

②採取瓶をアルミブロックに差し込み、ヘキサンが蒸発するまで加熱する（通常 2 時間程度）※19)。

③採取瓶を秤量し、DMSO 含有瓶重量を書き留める※8)。

※この（DMSO＋風袋重量）－風袋重量が 0.55g 以上の場合はヘキサンが完全に揮発していないので加熱留去を継続する。

④この液を前処理済 DMSO 溶液とし、マイクロチューブに移す。

(5) 測定操作

1) 測定操作

a. 反応溶液の準備

PCB 抗体溶液を使用直前に、規定の濃度になるように PCB 凍結乾燥抗体に指定の緩衝液（(3).1）.k.記載の測定用緩衝液）を加えて溶解、調整する。

b. イムノクロマトでの抗原抗体反応※20)※21)

①検量線用標準試料、測定液を用意する。

②バイアル瓶(0.6mL)（以下、反応瓶）をチューブラックに用意する。

③(5).1).a で均一に溶かした抗体溶液を反応瓶に各 200μL 分注する。

④検量線用標準試料および測定液を 10μL ずつ加える。

⑤加えてすぐ撹拌機で十分（3 秒以上）撹拌する。

⑥蓋をして 30 分以上（推奨 1 時間）室温（推奨；25±1℃）に放置する。

⑦この溶液を PCB 反応溶液とする。

⑧PCB 反応溶液 75μL を取り、イムノクロマトチップの試薬滴下窓へ滴下する※10)※11)※22)。複数のイムノクロマトチップへ滴下する際は一定間隔（例；15 秒）で順次滴下する。この一定間隔は後述の発色反応およびリーダー読取も同一にすること。

c. 酵素による発色反応※20)※23)

①発色基質を純水で規定の濃度に溶かす。

②PCB 反応溶液の滴下開始から 20 分後、 発色溶液 75μL を取り、チップの試薬滴下窓に一定間隔（例；15 秒）で順次滴下する。滴下のインターバルが著しく狂ったときはやり直す。

③発色溶液の滴下開始から 15 分後、イムノクロマトリーダーにてライン A およびライン B の発色強度を読み取る（詳細は次項で後述）※24）※25）※26）※27）。

2）濃度算出

イムノクロマトリーダーで読み取ったデータは以下の流れに沿って、絶縁油中の PCB 濃度として換算する。

a. イムノクロマトチップのシグナルを数値化

イムノクロマトチップの 2 本シグナルをスキャンニングし、得られたデンシトメトリに対してベースラインを設定し、各シグナルの（ピーク値）－（バックグラウンド値）からＡおよびＢの発色強度を抽出し、測定値［Ａ／Ｂ］を得る※28）※29）※30）。

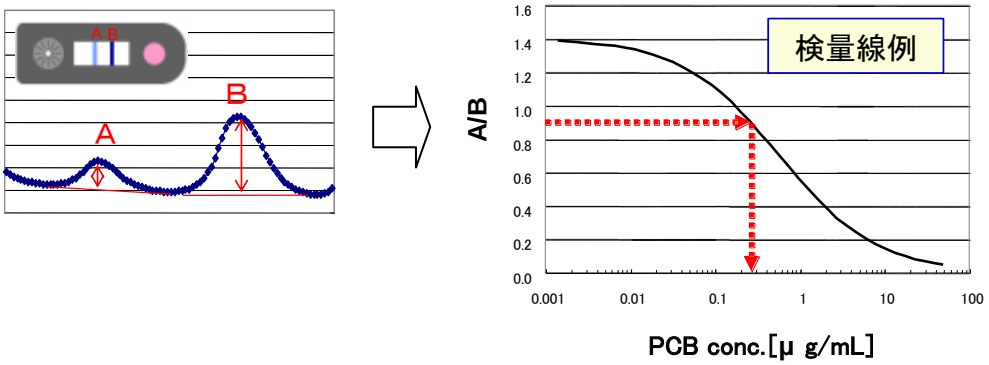


図 3.3.2.3　イムノクロマト結果と検量線の関係

b. 検量線作成

①検量線用試料

本法は検量線を完成させるために以下の 2 種類の試料を用いる。

ｉ　検量線用標準試料：既知濃度の PCB を DMSO に溶解し調製したもの。

Ii　濃度既知試料：既知濃度の PCB 混入絶縁油試料

②検量線作成手順

検量線作成のフローを図 3.3.2.4 に示す。

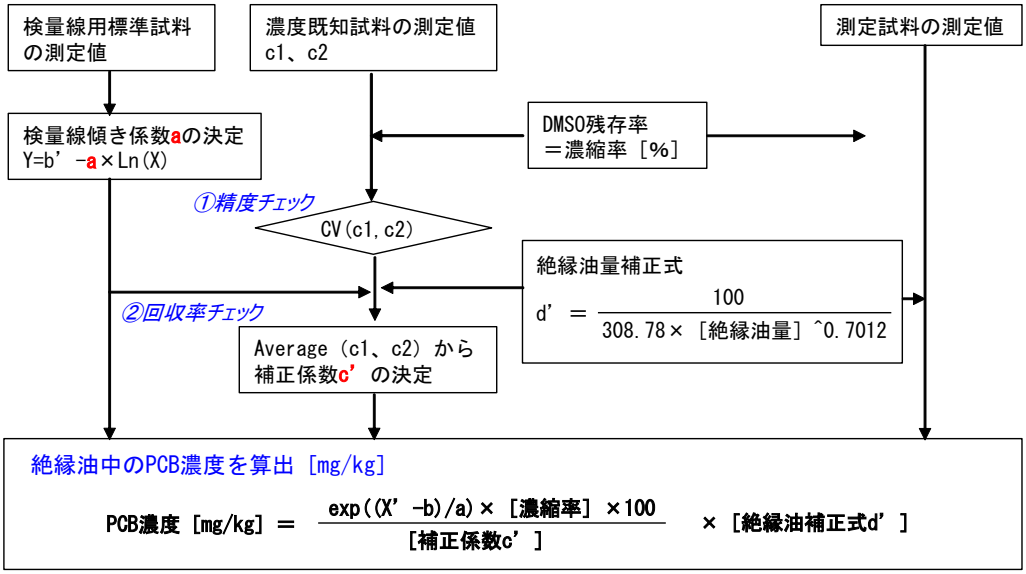
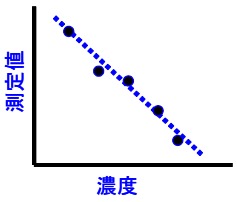


図 3.3.2.4　検量線作成から PCB 濃度算出までのフロー

本法は次のように①の検量線用標準試料を前処理なしで 1 回測定。測定結果から検量線の傾きを得て、②の濃度既知の絶縁油試料（0.5mg/kg 付近）を前処理 2 回＋測定 1 回の平均値から検量線補正係数を得て検量線を確定する。

前処理による回収率が約 30%であり、初期絶縁油量 235μL から前処理後 500μL に希釈されるので、検量線用標準試料の濃度は絶縁油時の約 1/8 倍となり、次の 5 水準で検量線を作成し、実際の換算では 8 倍濃度として算出する。

A1：0.5μg/mL　⇒　絶縁油　4mg/kg 相当
A2：0.125μg/mL　⇒　絶縁油　1mg/kg 相当
A3：0.06μg/mL　⇒　絶縁油　0.5mg/kg 相当
A4：0.03μg/mL　⇒　絶縁油　0.25mg/kg 相当
A5：0.015μg/mL　⇒　絶縁油　0.125mg/kg 相当



検量線用標準試料の測定値［A／B］と上記の絶縁油相当の濃度値をプロットし、最小二乗法などにより検量線の傾き係数 a を特定する。

Y = b－a×Ln(X)　※X軸を片対数にすれば、近似線は直線になる
X：　既知の絶縁油相当 PCB 濃度（4 から 0.125 mg/kg）
Y：　測定値［A／B］
※傾き a は主に作業環境の温度によって変化する。

c. DMSO 共沸に対する補正

本法の前処理最終工程（ヘキサン加熱留去）において、DMSO が共沸するために添加した 0.5mL が減少する＝濃縮されているので、試料毎に残存 DMSO を秤量して濃度補正する必要がある。

具体的な補正式は濃縮された測定濃度に濃縮率をかければ元に戻り、濃縮率は以下のように換算で実行できる。

$$[\text{濃縮率}] = \frac{\text{DMSO含有瓶重量－風袋重量}}{\text{添加したDMSO量}}$$

d. 濃度既知試料 n=2 の測定結果の平均値により検量線補正係数を特定

同一実験ロット内で濃度既知試料 n=2 を同時処理し、その平均値を元に検量線補正係数 c’を特定する。

濃度算出は検量線の X と Y を入れ替えて次の式で表される。

$$\text{算出濃度} = \exp((X'-b)/a) * [\text{濃縮率}] * 100$$

この式により濃度既知試料 n=2 の平均値を求め、真値に対する比率を補正係数とすることができる。

$$\text{補正係数}\ [c'] = \frac{\text{Average}\ (c1、c2)}{\text{真値}}$$

この補正係数により測定試料の濃度算出式は以下のようになる。

$$Y' = \frac{\exp((X'-b)/a) \times [\text{濃縮率}] \times 100}{[\text{補正係数}c']}$$

X’： 測定値［A／B］

Y’： 定量値

e. 秤量時の絶縁油量に対する補正

本法では前処理の回収率が約 30%であることから、処理のスタートとして 0.2g を秤量する点において、秤量精度として±1%以内なら測定値に影響は軽微である。秤量範囲が±1%を超えた場合にも本法では、0.15 から 0.25g であれば以下の補正式で補正できる。補正式は以下の通りである。これは濃度既知試料にも使用できる。

$$d' = \frac{100}{308.78 \times [\text{絶縁油量}]\ \hat{}\ 0.7012}$$

c.から e.までの補正をまとめた濃度算出式は次の式となる。

$$\text{PCB濃度 [mg/kg]} = \frac{\exp((X' - b)/a) \times [\text{濃縮率}] \times 100}{[\text{補正係数c'}]} \times [\text{絶縁油補正式d'}]$$

※別途事前処理を行うコンデンサ試料（JIS2 種、4 種、5 種、7 種）については、附属書 3.3.2.6 に記す。

※コンデンサ 3 種のみイソオクタンで 2 倍希釈して測定するため、PCB 濃度を 2 倍することにより補正を行う。

3）スクリーニングの判定及び報告

算出した濃度の小数点以下 3 桁目を四捨五入し、スクリーニング判定を行う。判定濃度は0.30mg/kg とし、四捨五入した濃度が 0.30mg/kg 以上の場合は検出(陽性)、0.30mg/kg 未満の場合は不検出（陰性）として取り扱う。報告は検出もしくは不検出とする。

(6) 精度管理

精度管理については、「1.5 精度管理について」に従うこと。尚、本測定法に関わる個別事項については、以下に示す。

測定データの信頼性確保の為には、適切な内部精度管理の実施と外部精度管理の活用がある。本技術では以下に示す両面の精度管理を行うことで総合的な測定値の信頼性を確保する。

1） 検量線試料を活用した精度管理

a. イムノクロマト反応部の精度管理

本法では、(5).2).b で定義した検量線　Y = b－a×Ln(X)　を作成する際に 5 水準の各プロットの残差平方和を利用してイムノクロマト反応部の精度管理ができる。これは各プロットが検量線近似式とどれほど乖離しているか＝検量線乖離率（以下、Fitting Rate）を数値化させたものであり、次の計算式で表される。

$$\text{検量線乖離率} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n} (y_i - b + a \times \mathrm{Ln}(x_i))^2}{n}}$$

これはゼロに近づくほど測定精度が安定している事を示している。

b. 測定フロー全体の精度管理

本法では、濃度既知試料 n=2 の測定結果を利用して測定フロー全体の精度管理ができる。測定環境の温湿度によって、前処理の回収率が変化するので、測定バッチ毎に n=2 以上の頻度で濃度既知試料（0.5mg/kg 付近）を測定し、その CV 値が 20%を超えているか否かで測定精度を確認するものである。

CV は(5).2).d で定義された濃度既知試料の測定結果 c1、c2 から計算できる。

$$CV\ [\%] \quad = \quad stdev(c1,c2) / average(c1,c2)$$

c. 精度管理基準

２つの精度管理指標； Fitting Rate と CV の管理水準は以下を推奨とする。

・Fitting Rate＜0.06、CV≦20%の場合

⇒測定精度は確保されており、サンプルの測定結果を有効とする。

・CV＞20%の場合

⇒前処理が不安定といえるので、全工程を再処理し、校正を行う。

・Fitting Rate>0.1、CV≦20%

⇒測定部が不安定なので、測定部から再処理し、校正を行う。

2）妥当性の確認

a. 精度プロファイルの作成

JIS K 0464（ポリクロロビフェニル(PCB)の免疫測定方法通則）に従って、分析値の変動係数（CV）を測定対象成分の濃度に対してプロットした図（精度プロファイル）を作成し、繰り返し再現性を確認する。本法では濃度算出値の CV のプロットを採用する。精度プロファイルは標準試料を前処理から実施した後、イムノアッセイにて測定したデータを使用する。本法では、0.1 から 5.0mg/kg の範囲で 4 水準以上にて実施することを推奨する。各水準の繰り返し数は 5 回以上とする。CV 算出時の濃度は有効数字 3 桁目を四捨五入して 2 桁にした値を使用する。

b. 検出下限値の設定・確認

検出下限値は JIS K 0464（ポリクロロビフェニル(PCB)の免疫測定方法通則）に従って、濃度算出値の CV が 30%を示す濃度と定義し、本法で設定している 0.3mg/kg 以下であることを確認する。確認は精度プロファイルから実施できるほかに、検出下限値（0.3mg/kg）における検量線用標準試料の CV 値のみで評価することも可能である。どちらの確認方法も、標準試料を前処理から実施した後、イムノアッセイにて測定したデータを使用する。各水準の繰り返し数は 5 回以上とし、CV 算出時の濃度は有効数字 3 桁目を四捨五入して 2 桁にした値を使用する。

3）日常管理

a. 前処理工程での繰り返し再現性、測定部での作業安定性の確認

測定バッチ毎に補正係数算出のための濃度既知試料及び多点検量線もしくは 1 点検量線作成に必要な検量線用標準試料を繰り返し測定（前処理 2 回以上×測定 1 回以上）し、再現性を確認する。再現性は CV に関して 20%以下が望ましく、30%を超える場合はその原因等を検討し、必要な処置後に全て再処理し、校正を行う。

具体的な確認方法として、本法は(3).1).f 記載の濃度既知試料、(3)1)e 記載の検量線用標準試料の測定結果から作業精度を評価できるフローになっているので、この２つの精度管理指標によって各分析機関の作業精度が数値として評価でき、信頼性が確認できると共に、精度管理基準外の場合には問題がある工程を推定することも出来る。温度分布など環境条件のばらつきを考え、検量線用試料は次のように測定試料全体をカバー出来るように置くと良い。※31）

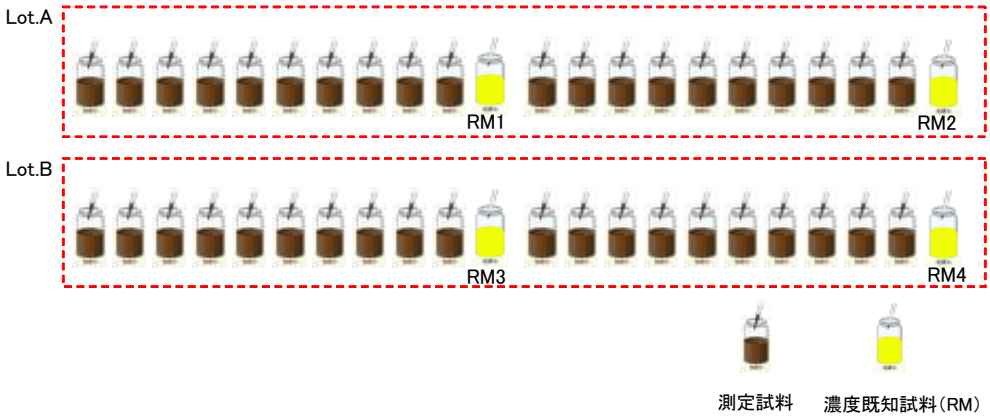


図 3.3.2.5　前処理試料の配置例

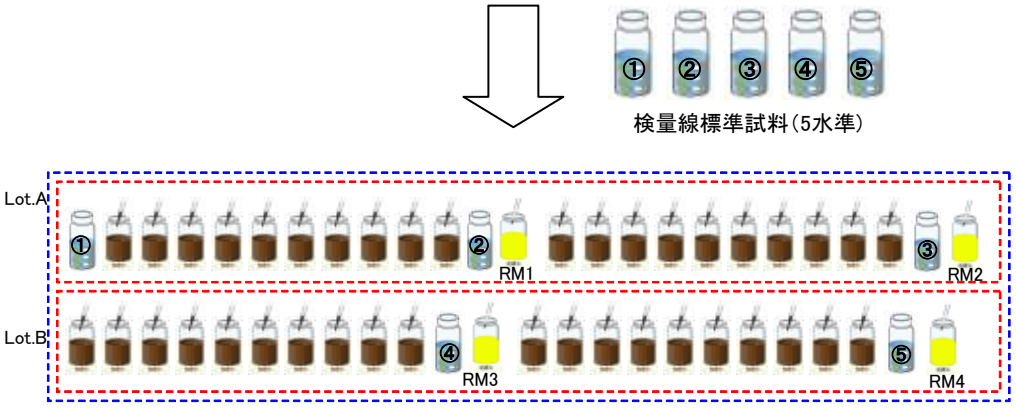


図 3.3.2.6　イムノクロマト反応の配置例

検量線用標準試料 5 水準を測定バッチ毎、すなわち前処理の 2 回分（48 試料）に対して均等に配置して以下の方法で濃度算出を行う。

・検量線標準試料①から⑤と RM1、RM2 を使って Lot.A を解析する。

・検量線標準試料①から⑤と RM3、RM4 を使って Lot.B を解析する。

b. 偽陰性防止

b-1.　濃度既知試料での前処理回収率の確認（内部精度管理）

生物検定法においては標準物質の添加による回収率の確認は困難であるため、本法は、あらかじめ附属書 3.3.2.4 記載のように前処理前後の PCB 濃度を高分解能ガスクロマトグラフ/高分解能質量分析法（以下、HRGC／HRMS）で測定した機器分析値①を得ておく。(5)2)d.で規定したように、絶縁油に PCB を添加した標準試料（0.5mg/kg 付近の真値が保証されている濃度既知試料）を用い、一連(測定バッチ毎)の測定結果②を算出し、機器分析値②／本法測定値①を換算し、70%以上であれば前処理回収率が正常であると判断できる。

b-2. 陰性判定試料に対する確認　（外部精度管理）

個々の試料において回収率低下が起きたか確認すべく、判定結果が陰性（PCB 不検出）になった試料に対して 2%の頻度割合（50 検体の陰性判定試料から 1 検体の割合）で簡易定量法もしくは平成 4 年厚生省告示第 192 号別表第 2 に定める測定方法で測定する。

b-3. 偽陰性の場合の対応

いずれの場合も偽陰性になった場合はその試料を含む測定バッチについて再測定を行うものとする。

c. イムノクロマトリーダの性能確認

測定バッチ毎に点検専用の基準イムノクロマトチップを用いて、イムノクロマトリーダの点検を行う。繰り返し計測回数は 10 回以上とし、計測値の CV が 2.0%以下であることを確認する。2.0%を超える場合は原因究明を行い、その対策後に再計測する。なお、日常管理の一環として、計測値の平均値及び CV 値の傾向を把握することが望ましい。

d. 管理図の作成

日常の精度管理においては、以下の項目について、JIS Z 9021 に規定した管理図を作成する。傾向管理を行うことで異常の発見及びその対策が講じやすくなる。管理図による処置基準は管理限界（$\mu \pm 3\sigma$）からの逸脱状況及び管理図の傾向に応じて適切に定める（μ：工程平均、σ：標準偏差)。

・既知濃度試料の測定で決定する換算濃度の CV

なお、イムノクロマトチップ、抗体、硝酸銀シリカゲルカラムのロットが変わった場合は、補正係数(平均値)が変化することに留意する。

3）定期的管理

a. 濃度既知試料の測定

濃度既知試料(GC/HRMS 等定量分析により求めた定量値付試料、新油および実試料)をチェックサンプルとして月 1 回を目安として測定し、GC/HRMS 等定量分析により求められた定量値との比較を行い、本法で得られた数値が±30%以内であることを確認する。

b. トレーサビリティ

分析値が、後に検証可能となるように試料採取から計測、定量に至るまでの秤量等を含めた一連の作業を、記録として残しておく。

4） 使用実験具の管理

a. マイクロピペットの管理･点検

下記の項目について日常管理を行う。

①汚れの有無　ノーズに汚れや詰まりがある場合は洗浄する。

②ピストンの動き　ピストンの動きがスムーズか確認し、スムーズでない場合はピストンにグリースを塗布し、スムーズに動くことを確認する。

③装着したチップからの漏れ　液を吸入した後、液漏れを起こす場合はピストンとピストンシールを交換する。

④各溶媒に対する採取精度は次の容量でばらつきが±１％以内になることを確認しておく。

水：0.2mL、　DMSO：0.5mL、　ヘキサン：1mL

年 1 回を目安として JIS K 0970 に準ずる測定法により定期的管理を行う。

5）留意事項

※１　試薬および使用器具は JIS K0461「競合免疫測定方法通則」および JIS K0464「ポリクロロビフェニル（PCB）の免疫測定方法通則」に規定するもの、又は同等の品質のものを使用すること。

※２　PCB バイオセンサ測定キットとしての市販品がある。

内容物は、以下の通りである。

①イムノクロマトチップ（PCB 抗原、補足抗体塗布済。塗布精度として CV3％未満であること）

②アルカリホスファターゼ標識抗 PCB 抗体（凍結乾燥品、30 検査分＝6mL の測定用緩衝液で溶解すると規定濃度になるもの）

③測定用緩衝液

④10％硝酸銀シリカゲルカラム（真空パック品、6 本単位、水分量 1.8％未満）

⑤発色試薬（錠剤、冷蔵遮光保存、１錠／10mL の純水で溶解すると規定濃度にな

るもの）

⑥バイアル瓶（ヘキサン採取用 8mL タイプ、PCB 抗体反応用 0.6mL タイプ）

⑦イムノクロマトリーダ＆解析ソフト（検量線作成、Fitting Rate および CV の自動計算機能搭載）

⑧添付書類

一般市販器具を使用することも可能であるが、事前に測定精度に影響がないことを確認してから使用すること。

※３　使用する器具などは、試料の吸着が少ない部材を選択すること。

※４　イムノクロマトチップ、アルカリホスファターゼ標識抗PCB抗体および測定用緩衝液は室温保存だが、直射日光の当たるところや高温高湿な場所での保管は避けること。

※５　イムノクロマトチップ、アルカリホスファターゼ標識抗PCB抗体および測定用緩衝液の有効期間は、納入より６ヶ月以内。ただし、開封後は１日以内に使い切ること。

※６　防腐剤としてアジ化ナトリウムも利用できるが事前に同等の性能が得られることを確認しておくこと。

※７　マイクロピペットによる吸引及び吐出は、気泡が入らないようゆっくりスムーズに行うこと。

※８　秤量に用いる天秤は、0.1 mgまで測定できるものを使用すること。

※９　マイクロピペットによりヘキサンを吸引する際は必ずチップの平衡化（3 回以上吸引⇔排出を繰り返す）を実施すること。

※１０　イムノクロマトチップ、および硝酸銀シリカゲルカラムは測定する試料分だけ開封して使うこと。

※１１　イムノクロマトチップ、および硝酸銀シリカゲルカラムを使用する際は、同一ロットであることを確認すること。

※１２　硝酸銀シリカゲルカラムは湿気を嫌うため、高湿な環境での保存は避け、開封したら30分以内に使い切り、残ったものは絶対使用しないこと。また、硝酸銀シリカゲルカラムは真空アルミパック包装されているので、使用時にピンホールなどでアルミパック内に空気が混入している場合は使用せず、処分すること。(4).3).d.③でヘキサンを注入した際、シリカゲルカラム部分全体が茶色に変色した場合は劣化が疑われるので、測定結果を鑑み、再測定をした方が良い。

※１３　硝酸銀シリカゲルカラムに滴下できる液量は Max1.5 mL であるため、あふれないように注意すること。

※１４　硝酸銀シリカゲルカラムへのヘキサン 7mL 注入において、リザーバー類を使用する場合は事前に安全性と同等の性能が得られることを確認すること。

※１５　前処理の硝酸銀シリカゲルカラムについては、測定データの信頼性が確認されるまで現物保存もしくは写真を撮り保存すること。

※１６ チップは採取瓶を変更する度に交換することを推奨する。

※１７　DMSO の液量を変化させても良いが、PCB の回収率と測定における感度が確保されることを確認すること。

※１８　ヒーティングブロックを使用する際、加熱温度を変化させても良いが、PCB の回収率が確保されることを確認すること。

※１９　ヘキサン加熱留去は窒素パージへの代替も可能だが、その際は本法との性能比較を行い、安定に実施できることを確認すること。

※２０　(5).1).b.の抗体溶液、および(5).1).c.の発色溶液は実験ロット全体量として均一に攪拌し分注すること。

※２１　イムノクロマトチップを使用する際、開封時に、メンブレンの傾きが無いか、開口部への付着物が無いかを十分確認してから使用すること。

※２２　測定操作においてイムノクロマトチップを置く場所の温度分布が±1℃の範囲にあることを事前に確認してから測定すること。エアコンの風が当たったりする場合は風除けのカバーをかぶせることが望ましい。

※２３　発色試薬は必ず冷蔵暗所に保存し、変色したものは使用しないこと。また、純水で溶かした際に溶けにくい場合も使用しないほうが良い。

※２４　キットを保管する場合は、保存場所、保存方法、汚染の配慮、温度及び湿度の情報を記録し、保存すること。

※２５　イムノクロマトリーダは振動、高熱、磁場等が伝わらない水平な台に置いて測定すること。周辺に悪影響を及ぼす設備類がある場合は事前に影響評価で問題ないことを確認しておくこと。

※２６　急激な温湿度変化や直接風の当たらない場所に設置し、周囲温度は 22 から 28 ℃にすること。

※２７　ほこり、振動、強い磁場のある場所は避けること。

※２８　イムノクロマトチャートにおいて、ライン A のシグナル値がゼロに近い（ダイナミックレンジの 1%未満）場合は PCB 濃度が濃すぎるため、定量性の精度が低くなる。定量性を保証したいときは希釈して再測定すること。

※２９　解析ソフトの出力値が目視での判断値（検量線試料との相対的な比較で）と著しく異なる場合は再読取、あるいは検出工程からやり直すこと。

※３０　イムノクロマトチャートにおいてベースラインはフラットであることが好ましく、著しく傾いている試料については再測定すること。

※３１ 大量の試料を一括測定する場合、検量線用標準試料と濃度既知試料の配置（測定順序）と注意点は以下の通りである。

96 試料を一括測定する推奨例

濃度算出は前処理の 1 回分（24 個）単位で実施。

検量線標準試料①から⑤と RM1、RM2 を使って Lot.A を解析する。

検量線標準試料①から⑤と RM3、RM4 を使って Lot.B を解析する。

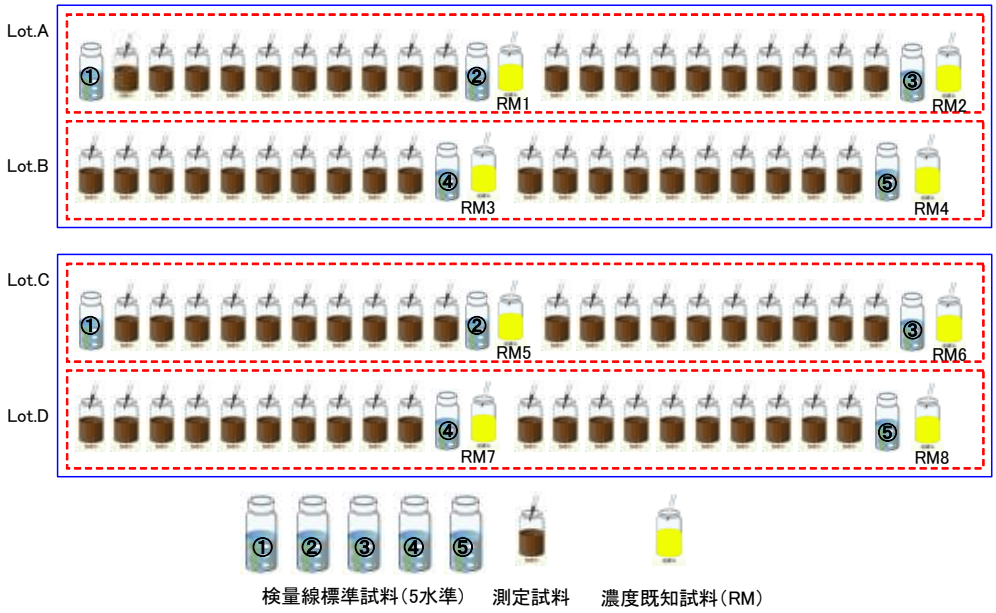


図 3.3.2.7　大量測定時の試料配置例

★注意事例と理由

1)Lot.A&B の検量線用標準試料①から⑤と RM1、RM2 を使って Lot.B を解析することは前処理した環境条件が違い、測定値の信頼性を低下させる。

2)Lot.A&B の検量線用標準試料①から⑤と RM5、RM6 を使って Lot.C を解析することは検量線用標準試料と測定試料の環境条件が違い、測定値の信頼性を低下させる。

3)検量線用標準試料や濃度既知試料 RM1 から RM8 に対する精度確認は環境条件が違い、測定値の信頼性を低下させる。精度評価は測定バッチ内のみ有効である。

附属書 3.3.2.1　前処理における各カネクロール／DMSO 抽出の詳細

PCB を絶縁油から DMSO へ抽出する場合、PCB が双方に溶解性を持つため、絶縁油と DMSO の容積比で抽出効率が決まってくることは周知のことだが、カネクロール毎の違いを LRGC/LRMS で確認した。

測定試料：各カネクロールを 2mg/kg になるように JIS1 種 2 号絶縁油で溶解
※2ppm は LRGC/LRMS での検出安定な感度を考慮して決めた。

測定概要：測定前試料（2ppm 相当）と抽出後の DMSO 溶液を LRGC/LRMS で測定し、絶対量に換算して回収率を算出した。

付表 3.3.2.1　前処理における各カネクロール／DMSO 抽出の詳細

	0.2ｇ
KC-300	64%
KC-400	59%
KC-500	51%
KC-600	46%

附属書 3.3.2.2　前処理における各カネクロール／ヘキサン抽出の詳細

DMSO 抽出と同様に、ヘキサンへの抽出もカネクロール毎で抽出効率が変化するかを LRGC/LRMS で確認した。

測定試料：各カネクロールを 0.5mg/kg になるように DMSO に溶解

測定概要：測定試料の DMSO 溶液とヘキサン／食塩水で抽出したヘキサン溶液を LRGC/LRMS で測定し、絶対量に換算して回収率を算出した。

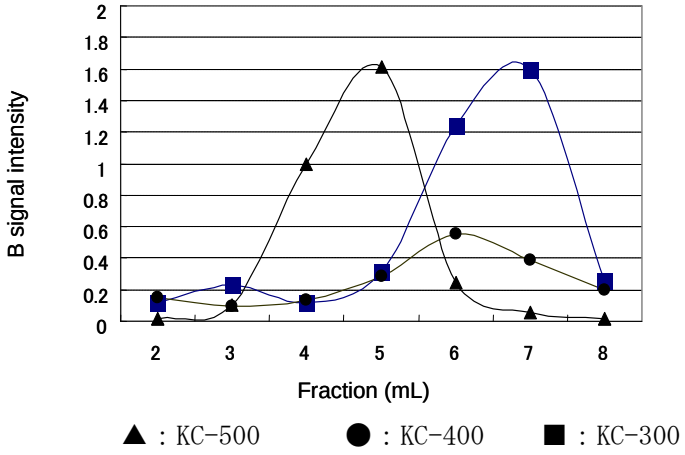
付表 3.3.2.2　前処理における各カネクロール／ヘキサン抽出の詳細

	前試料		逆抽出後		回収率
	LRMS 値（μg/mL）	PCB 量（g）	LRMS 値（μg/mL ）	PCB 量（g）	
KC-300	0.73	0.292	0.31	0.31	106%
KC-400	0.58	0.232	0.25	0.25	108%
KC-500	0.51	0.204	0.21	0.21	103%
KC-600	0.54	0.216	0.22	0.22	102%

測定試料がヘキサンであることから、若干のばらつきは揮発によるものも含まれると推察され、本ヘキサン抽出ではほぼ 100%近くがヘキサン層に移行する。

附属書 3.3.2.3　硝酸銀シリカゲルカラムのフラクションに関して

硝酸銀シリカゲルの分取画分を確認した。各カネクロール 2mg/kg を DMSO 抽出、ヘキサン／食塩水逆抽出後、硝酸銀シリカゲルカラムを使いヘキサンで 1mL ずつ溶出させたフラクションを下に示す。このフラクション分布から 3 から 8 画分を回収すると 95%以上回収出来ている。



付図 3.3.2.1　硝酸銀シリカゲルカラムのフラクション

ここで 2 画分目のフラクションを回収すべきかを検討した。0.7mg/kg 相当の PCB 等量混合（KC-300：KC-400：KC-500：KC-600＝１：１：１：１）溶液を 2 から 8 画分回収分と 3 から 8 画分回収分を n=3 で定量した結果、下表のように 2 画分目を含めると、約 20%の反応阻害が確認され、3 から 8 を分画対象とした。

付表 3.3.2.3　硝酸銀シリカゲルカラムのフラクション

2 から 8 画分	0.58ppm
3 から 8 画分	0.71ppm

また、カラム残留 PCB を確認するために、9 から 15 画分を採取し、濃縮後、HRGC/HRMS による測定を行った結果は、検出下限値以下であった。

附属書 3.3.2.4　各カネクロールの前処理回収率

附属書 3.3.2.1　から附属書 3.3.2.3 を含めた前処理のトータル性能を確認するために、各カネクロールの回収率を低分解能ガスクロマトグラフ/低分解能質量分析法（以下、LRGC/LRMS）で測定した。

測定試料：各カネクロール溶液 2mg/kg 絶縁油（JIS1 種 2 号）

測定概要：測定前試料（2mg/kg 相当）と前処理済みの DMSO 溶液を LRGC/LRMS で測定し、絶対量に換算して回収率を算出した。

前処理法：　0.2g 試料に対して、0.5mL の DMSO を添加→0.45mL を採取。
この DMSO 抽出液で、ヘキサン逆抽出へ移行。
硝酸銀シリカゲル処理。
DMSO 転溶；DMSO 量 0.1mL。

測定結果：以下に示す。

付表 3.3.2.4　各カネクロールの前処理回収率

カネクロール種	KC-300	KC-400	KC-500	KC-600
測定前試料 LRGC/LRMS 値	2.76	2.68	2.55	2.52
前処理後 LRGC/LRMS 値	5.37	5.49	4.26	4.13
回収率	31.2%	33.5%	27.1%	24.8%

回収率は LRGC/LRMS 値を元に、以下の計算式で算出した。

回収率＝初期 PCB 量／前処理後の PCB 量

$$= \frac{\text{絶縁油濃度} \times \text{計量分}}{\text{LRGC/LRMS 値} \times \text{前処理後の DMSO 重量（mL）} \times \text{DMSO 比重}}$$

各カネクロールとも 30%前後の回収率で、前項の DMSO およびヘキサン抽出の回収率から考慮すると理論通りであった。CV に関しては、後述の KC-mix で評価するが、5%以内であることを確認した。

附属書 3.3.2.5　真値試料及びブランク試料の調製方法および確認方法例

a. 濃度既知試料は、カネクロール混合液（GL サイエンス社、400μg/mL 型番 1021-58091、KC-300：KC-400：KC-500：KC-600=1：1：1：1／ヘキサン；HRGC/HRMS で測定品）を原液とし、松村石油絶縁油（JIS1 種 2 号）に希釈するものとする。
b.　カネクロール混合液（2mL/ﾍｷｻﾝ）をアンプルから取り出し、秤量済みガラス瓶に採取。
c.　最終重量 400g になるように電子天秤で松村石油絶縁油をガラス瓶に入れる。
d.　PCB 暫定濃度は 1mg/kg 付近であることを HRGC/HRMS で測定し暫定真値を把握する。
e.　暫定真値から最終濃度が 0.5mg/kg となるように、松村石油絶縁油（JIS1 種 2 号）にて再度希釈する。
f.　これを平成 4 年厚生省告示第 192 号別表第 2 に定める測定方法に従って、HRGC/HRMS を用いて 3 機関で測定し、測定値が CV10％以下であれば、その平均値を『濃度既知試料』用の真値とする。

附属書 3.3.2.6　コンデンサ試料の回収率確認および濃度換算

コンデンサ油（JIS2 種、JIS4 種、JIS5 種、JIS7 種）においては事前処理を実施するに当たり、初期量が通常に比べて約 1/4 となる 50mg 前後での処理となるため、測定後、量的な補正が必要となる。

また事前処理における硫酸処理によってスルホン化され、イソオクタンへの溶出量が油種によって異なるために後述のような濃度が明確な試料を用いて、あらかじめ回収率を算出し、実際に測定する試料に対して相対的に係数補正することで真の PCB 濃度を算出しなければならない。

1）事前処理する試料（JIS2 種、JIS4 種、JIS5 種、JIS7 種）の回収率確認

既知濃度の JIS１種 2 号の絶縁油を基準として算出する。(4)2)j.の事前処理終了時のイソオクタン液量をすべて 0.25mL（228.8mg）に合わせることにより、それ以降の前処理効率は同一と扱えるので、(5)2)d.のように既知濃度の各油種試料を 0.25mL 条件で並行処理し、換算すれば測定値を得ることが出来る。ここで出力された測定値はイソオクタン液中の PCB 濃度になるので、(4)2)a.でメモした絶縁油量を元に以下の式で換算できる。

$$[\text{回収率}] = \frac{[\text{サンプル絶縁油量}]}{[\text{基準液絶縁油量（228.8mg）}]} \times \frac{[\text{測定値}]}{[\text{基準液濃度}]}$$

精度保証のため、n=3 での平均値を用いて、回収率＝平均値÷｛測定値×（228.8÷初期採取量)｝で算出した。

用いる基準絶縁油がイソオクタンと同等の PCB 分配効率であることを確認しておくと良い。

付表 3.3.2.5　コンデンサ試料の回収率確認

					<ppm>			
		①採取量 mg	②調製量 mg	ｲｿｵｸﾀﾝ 添加量	IM測定値	原液換算 濃度	Ave	回収率
2種	0.50	51.8	145.6	42.0	0.092	0.41	0.42	83%
		52.1	149.8	36.0	0.105	0.46		
		52.4	148.2	38.3	0.088	0.38		
4種	0.50	51.9	150.2	35.4	0.035	0.16	0.17	34%
		51.7	152.0	32.9	0.048	0.21		
		51.2	150.9	34.4	0.032	0.14		
STD			228.8		0.570			
5種	0.50	49.8	160.3	21.0	0.129	0.59	0.62	123%
		49.3	160.6	20.6	0.111	0.52		
		49.4	162.5	17.9	0.159	0.74		
7種	0.50	53.0	160.8	20.3	0.158	0.68	0.75	148%
		52.9	161.9	18.7	0.162	0.70		
		52.8	161.1	19.9	0.198	0.86		
STD			228.8		0.570			

各分析機関が実際に測定する際には、事前に既知濃度の試料を用いて、測定環境（試薬、環境など）ごとの回収率を確認しておくほうが良い。

2）事前処理する試料（JIS2 種、JIS4 種、JIS5 種、JIS7 種）の濃度換算

回収率を確認する実験系と同様に処理し、出力される測定値に対して前述の回収率を以下の計算式で換算する。

$$[\text{濃度}] = \frac{[\text{サンプル絶縁油量}]}{[\text{基準液絶縁油量（228.8mg）}]} \times \frac{[\text{測定値}]}{[\text{回収率}]}$$

3）JIS3 種試料の希釈とその補正

JIS3 種（ポリブデン系）試料は粘性が高く、20℃を下回る環境におかれた試料は秤量が難しい場合があるのでイソオクタンなどで一旦希釈してから前処理を実施した方が良い。希釈方法としては一旦 0.2mg 以上の試料を採取･秤量し、イソオクタンの比重を確認しておき、等量のイソオクタンを添加した後、通常の前処理（DMSO 抽出から）から測定を実施する。この 2 倍希釈されている点を踏まえて、PCB 濃度を 2 倍して濃度を換算する。

附属書 3.3.2.7　抗 PCB 抗体の PCB 異性体（カネクロール）との交差反応性

本法は抗体を用いるため、PCB 異性体（最多市販品としてカネクロール）毎の抗体反応性を測定した結果を示す。

本項目では、①測定部のみの交差性、②前処理回収率、③前処理を含めた全体フローでの交差性を評価し、①＋②＝③になることを確認した。

1）各カネクロールの前処理回収率

測定試料：各カネクロール 2ppm／松村石油 JIS1 種 2 号絶縁油を調製

前処理：前処理（DMSO 抽出から DMSO 転溶）を実施

測定概要：測定試料（2mg/kg 相当）と抽出後の DMSO 溶液を LRGC/LRMS で測定し、絶対量に換算して回収率を算出した。n=1

付表 3.3.2.6　各カネクロールの前処理回収率

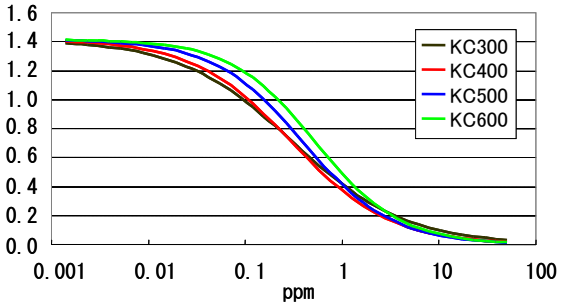
	前処理回収率
KC-300	31.2%
KC-400	33.5%
KC-500	27.1%
KC-600	24.8%

2）測定部のみの交差性

KC-300、KC-400、KC-500、KC-600　それぞれの標準試料を作成。

作成濃度：30、10、3、1、0.5、0.1、0.03、0mg/kg

測定回数：n=3



付図 3.3.2.2　測定部のみの交差性

付表 3.3.2.7　測定部のみの交差性

	IC50	交差性
KC-300	0.310	96.7%
KC-400	0.300	100%
KC-500	0.394	76.1%
KC-600	0.528	56.8%

3）前処理を含めた全体フローでの交差性

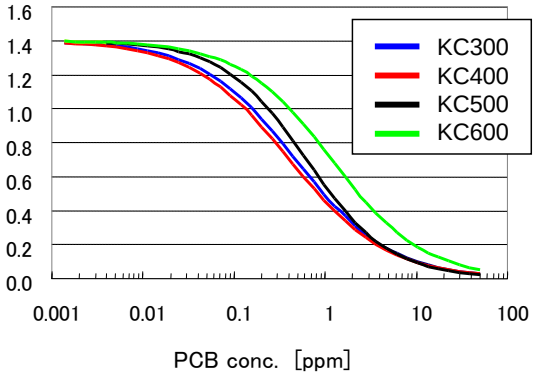
KC-300、KC-400、KC-500、KC-600　それぞれの測定試料を作成。

作成濃度：4、2、1、0.5、0.25、0.12、0.06

測定回数：n=3

前処理法：前処理標準フローを実施した。

初期試料量：0.2g



付表 3.3.2.3　前処理を含めた交差性

付表 3.3.2.8　前処理を含めた交差性

	IC50	交差性
KC-300	0.477	85%
KC-400	0.406	100%
KC-500	0.623	65%
KC-600	1.183	49%

①＋②＝③であることを換算すると、次の表のようになり、整合性を確認した。

付表 3.3.2.9　全フロー交差性

	① 前処理回収率 (%)	② 測定部交差性 (%)	①×② (%)	③ 全フロー交差性 (%)
KC-300	31.2	96.7	90	85
KC-400	33.5	100	100	100
KC-500	27.1	76.1	62	65
KC-600	24.8	56.8	42	49

※交差性は KC-400 を 100 として算出した 。

3.3.3　加熱多層シリカゲルカラム/アルミナカラム/フロー式イムノセンサー法

(1) 概要（適用範囲）

ここに定める方法は、前処理に多層シリカゲルカラム及びアルミナカラムを使用してクリーンアップを行い測定に抗 PCB モノクローナル抗体と抗原固相化ビーズを用いたフロー式イムノセンサー法（結合平衡除外法）を利用して行うもので、絶縁油中の PCB 濃度の迅速判定について適用する。クロマトグラフのような PCB 組成を示す分析データが残らないので、トレーサビリティを確保できるシステムで分析することが必要である。

(2) 測定の概要

1) 測定の概要

試料を硫酸シリカゲルカラム硝酸銀シリカゲルカラムおよびアルミナカラムを用いて分画を行い、ジメチルスルホキシド（DMSO）で溶出させ、測定には抗 PCB モノクローナル抗体と抗原固相化ビーズを用いたフロー式イムノセンサーを利用して PCB 濃度を迅速に推量する。

2) 測定操作フロー

本方法での試料調製に関するフロー図を図 3.3.3.1、測定に関するフロー図を図 3.3.3.2 に示す。

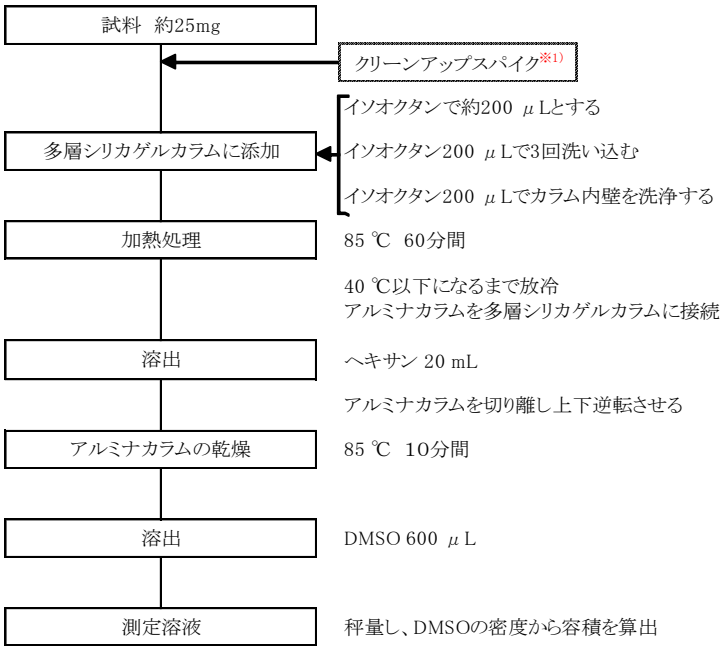


図 3.3.3.1　試料調製のフロー図

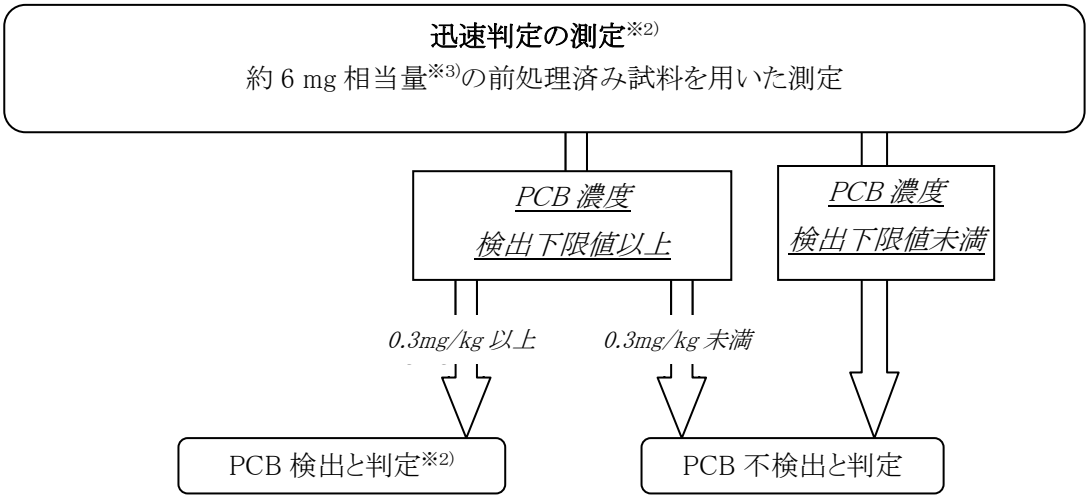


図 3.3.3.2　フロー式イムノセンサー（結合平衡除外法）による迅速判定法のフロー図

(3)　試薬、器具及び装置

1)　試薬

測定に使用する試薬※4) は次による。これらの試薬は、空試験などによって測定に支障のないことを確認しておく。又、記述以外の試薬を使用する場合も同等の試験を行い、測定に支障のないことを確認しておく。

a. **ヘキサン**　JIS K8825 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

b. **ジメチルスルホキシド (DMSO)**　JIS K9702 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

c. **イソオクタン**　JIS K9703 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

d. **多層シリカゲルカラム及びアルミナカラム**　44%硫酸シリカゲル 4.7g、20%硝酸銀シリカゲル 0.59g を充填したカラム、並びに、活性化を施したアルミナ 0.6g を充填したカラム。但し、同等の精製効果が得られるカラムを使用しても良い。これらのカラムは、市販されている。これらのカラムは、洗浄された状態で入手できるので、特に使用前の洗浄は行わなくて良い。

e. **水**　JIS K0557 に規定する A4（又は A3）の水又は同等の品質のもの。

f. **リン酸水素二ナトリウム十二水和物**　JIS K8001 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

g. **塩化ナトリウム**　JIS K8001 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

h. **リン酸二水素カリウム**　JIS K8001 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

i. **塩化カリウム**　JIS K8001 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

j. **リン酸緩衝生理食塩液 (PBS (-))**　JIS K0461 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

k. **ウシ血清アルブミン (BSA)**　JIS L1902 で使用されている生化学試験用のもの。

l. **水酸化ナトリウム（NaOH）**　JIS K8576 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

m. **アジ化ナトリウム（NaN_3）**　JIS K9501 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

n. **エタノール**　JIS K8101 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

o. **試料調製用緩衝液**　1000 mL の水にリン酸水素二ナトリウム十二水和物 2.79 g、塩化ナトリウム 7.60 g、リン酸二水素カリウム 0.20 g、塩化カリウム 0.20g、アジ化ナトリウム 0.20 g、ウシ血清アルブミン 1.0 g を十分に溶解させた後、孔径 0.45μm のフィルターでろ過したもの。

p. **測定用緩衝液**　800 mL の水にリン酸水素二ナトリウム十二水和物 2.79 g、塩化ナトリウム 7.60 g、リン酸二水素カリウム 0.20 g、塩化カリウム 0.20 g、アジ化ナトリウム 0.20 g、ウシ血清アルブミン 1.0 g を十分に溶解させた後、DMSO 50 mL を加え攪拌する。水を用いて全量を 1000 mL とし、再度攪拌した後、孔径 0.45μm のフィルターを用いてろ過したもの。

q. **再生液**　95 mL の水に水酸化ナトリウム 0.10 g を溶解させた後、5 mL の DMSO を加え攪拌溶解させたもの。

r. **校正液-①**　DMSO により 2,4,5-トリクロロフェノキシヘキサノイルアミノプロピオン酸（TCPHA）を濃度約 30μg/mL に調製したもの。校正液-①※5）は使用する蛍光検出装置に適切なものを用いる。

s. **検量線作成用標準液**　定量範囲内で 5 段階以上となるように DMSO によりカネクロール混合物質（KC-300,-400,-500,-600 当量混合物、以下 KC-mix）標準溶液（約 1 から 1000 ng/mL 程度）を調製する。

t. **抗 PCB 抗体－①**　特許生物寄託センター受託番号 FERM P-20845 で寄託されたハイブリドーマにより産生されるモノクローナル抗体（特許出願番号：特開 2007-284392)、又は同等の反応性並びに感度を有するもの。

2）器具

測定に使用する器具は次による。これらの器具は、空試験などによって測定に支障のないことを確認しておく。

a. **PCB バイオセンサ測定キット**※6）　フロー式イムノセンサー用キット（抗 PCB モノクローナル抗体には、抗 PCB 抗体-①を、抗原固相化ビーズには、2,4,5-トリクロロフェノール誘導体及び高分子担体から合成したものを使用する)。

b. **マイクロチューブ**　容量が約 1.5 mL のもの。

c. **マイクロピペット**　JIS K0970 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

d. **マイクロピペット用チップ**　JIS K0970 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

e. **フィルター（0.45μm）**　JIS K3802 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

f. **試料瓶（ガラス製）**　5 から 10 mL 程度の遮光の出来る褐色瓶。

3）装置

測定に使用する装置※4)、※7)は次による。

a. 多層シリカゲルカラム加熱用ヒーター　温度調節機能を備えたもので、多層シリカゲルカラム中で試料が浸透している領域を目的温度で持続的に加熱できるもの。

b. アルミナカラム加熱用ヒーター　温度調節機能を備えたもので、アルミナカラムに充填したアルミナを目的温度で持続的に加熱できるもの。

c. 蛍光検出装置　励起波長 650 nm を発光でき、得られる蛍光波長 665 nm の蛍光強度を精度良く検出できる装置。

d. 送液システム　3 種類以上の溶液（反応液、緩衝液、再生液等）を正確かつ、精密な流量、流速で送液できるシステム。

(4) 前処理

1）試料の調製

試料約 25 mg※8)をマイクロチューブに秤量し、イソオクタンを加えて全量を約 200μL の均一溶液とする。※1)

2）加熱多層カラム前処理

a. 試料調製の操作で調製した溶液を多層シリカゲルカラム※9)に移し入れ、マイクロチューブをイソオクタン 200μL で 3 回洗い込んだ後、イソオクタン 200μL にて多層シリカゲルカラムの内壁を洗浄する※10)。

b. 多層シリカゲルカラムに移し入れた溶液が展開している部分※11)を多層シリカゲルカラム加熱用ヒーターで 85 ℃にて 60 分間※12)加熱した後、多層シリカゲルカラムを 40 ℃以下になるまで放冷する。

c. アルミナカラムを多層シリカゲルカラム下端に連結した後、ヘキサン 20 mL※13)を流下させる※14)。

d. アルミナカラムを多層シリカゲルカラムと切り離し、アルミナカラム加熱用ヒーターで 85 ℃※15)に加熱しながら清浄な空気もしくは窒素をアルミナカラムに吹き込み、アルミナカラムに残留しているヘキサンを乾燥する。

e. 上下逆転させたアルミナカラムを 85 ℃に維持しながら DMSO 600μL※16)を添加し、アルミナカラム下端にマイクロチューブを置いて、約 200 から 300μL の溶出液を得る。秤量し、風袋との差分を重量測定し、DMSO の密度から容積を求め測定溶液とする。

3）ブランク試料溶液（B0 液）の調製

試料瓶に DMSO 300μL、試料調製用緩衝液 4200μL を加え泡立てないように攪拌混合後、抗 PCB 抗体液（抗 PCB 抗体-①液、1500μL を追加し、穏やかに攪拌混合し、ブランク試料溶液（B0 液）とする。

4）校正試料溶液の調製

試料瓶に各測定に適した校正液（校正液-①） 150μL※17)、試料調製用緩衝液 2100μL を試料瓶に加え泡立てないように攪拌混合後、抗 PCB 抗体液（抗 PCB 抗体-①液、）750μL を追加し、穏やかに攪拌混合し、校正試料溶液とする。

5）測定試料溶液の調製

試料瓶に DMSO （150-60）μL、試料溶液 60μL※18) を加え軽く混合後、試料調製用緩衝液 2100μL を追加し、泡立てないように攪拌混合する。抗 PCB 抗体液（抗 PCB 抗体-①液）750μL を追加し、再度泡立てないよう穏やかに攪拌混合し、測定試料溶液とする。

表 3.3.3.1 測定試料溶液の調製における試薬の添加量

	校正試料-①溶液 (1 本)	試料溶液 (3 本)	B0 液 (1 本)
DMSO	-	(150-60) μL	300μL
試料	150μL	60μL	ー
試料調製用 バッファー液	2100μL	2100μL	4200μL
抗PCB抗体-①液量	750μL	750μL	1500μL
測定時の調製 試料量	3000μL	3000μL	6000μL
セットするポート※19)	ポート 1	ポート 2 から 4	B0 ポート

(5) 測定

1）測定条件

a. 検量線用試料

検量線用試料として、前処理を行わない標準品試料を使用する。

b. 検量線の作成

概ね 1 から 1000 ng/mL 程度の濃度域において、5 段階以上の希釈系列として調製された検量線作成用標準液は、全濃度域において最低 5 回以上、合計 25 点以上のデータを得ること。

表 3.3.3.2 に検量線作成用測定試料溶液の調製例を示す※20)。まず、8 つの試料瓶に濃度ごとの標準溶液を 150μL ずつ添加する。その後、試料調製用緩衝液 2100μL を追加し、泡立てないように攪拌混合した後、さらに抗 PCB 抗体液-① 750μL を追加し、再度泡立てないよう穏やかに攪拌混合し調製する。測定試料溶液の濃度は試料調製用緩衝液と抗 PCB 抗体-①を添加することにより標準溶液を 20 倍希釈したことになる。尚、標準溶液を含まない DMSO 150μL を用い調製した測定試料溶液をブランクとする。

結果のばらつきについては、定量範囲にある定量値(STD3, STD4, STD5 の定量値)の 5

点以上の CV が 10%以内を許容範囲とする。

測定環境やキットのLot変更など、測定条件が異なる毎に標準液の測定を行うこと。

表 3.3.3.2 各検量線作成用標準液の調製例

溶液	単位	ﾌﾞﾗﾝｸ	STD1	STD2	STD3	STD4	STD5	STD6	STD7	STD8
KCmix標準液濃度	ng/mL	0	1	4	10	20	40	100	400	600
KCmix標準液終濃度	ng/mL	0	0.05	0.2	0.5	1	2	5	20	30

c. 4-パラメーターの算出

JIS K0464「ポリクロロビフェニル(PCB)の免疫測定方法通則」に従い、各検量線作成用標準液の濃度及び蛍光量から、下記に示す 4-パラメーターの式の各係数(a, b, c, d)を算出する。

$$y = \left(\frac{a-d}{1+\left(X/c\right)^{b}} \right) + d$$

ここに、

y ： 測定値

d ： 曲線における下方漸近値 （最小検出器測定結果）(B/B0)

a ： 曲線における上方漸近値 （最大検出器測定結果）(B/B0)

X ： 標準物質（KC-mix）の質量濃度（ng/mL）

c ： IC_{50}における標準物質（KC-mix）の質量濃度（ng/mL）

b ： 曲線の傾き

標準液の測定結果および検量線作成並びにパラメーターの例を表 3.3.3.3、表 3.3.3.4、図 3.3.3.3 に示す。

表 3.3.3.3 検量線作成に用いた各 KC-mix 標準液の測定結果例

KCmix標準液終濃度 ng/mL	B/B0値
0.05	0.969
0.2	0.916
0.5	0.801
1	0.616
2	0.389
5	0.152
20	0.029
30	0.018

表 3.3.3.4 検量線より得られたパラメーター例

4-パラメーター式の各係数		
a	最大B/B0	0.953
b	曲線の傾き	1.467
c	IC_{50}濃度	1.168
d	最小B/B0	-0.004

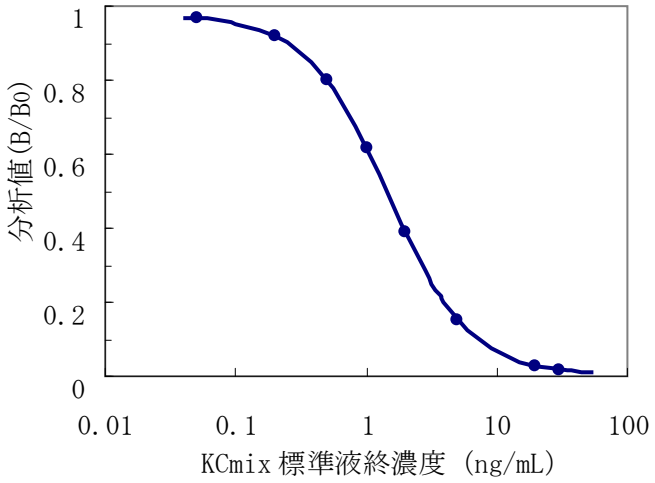


図 3.3.3.3 KC-mix 標準液を用いた検量線の例

d. 測定操作のフロー

測定セルを用いた試料溶液測定のフローを図 3.3.3.4 に示す。

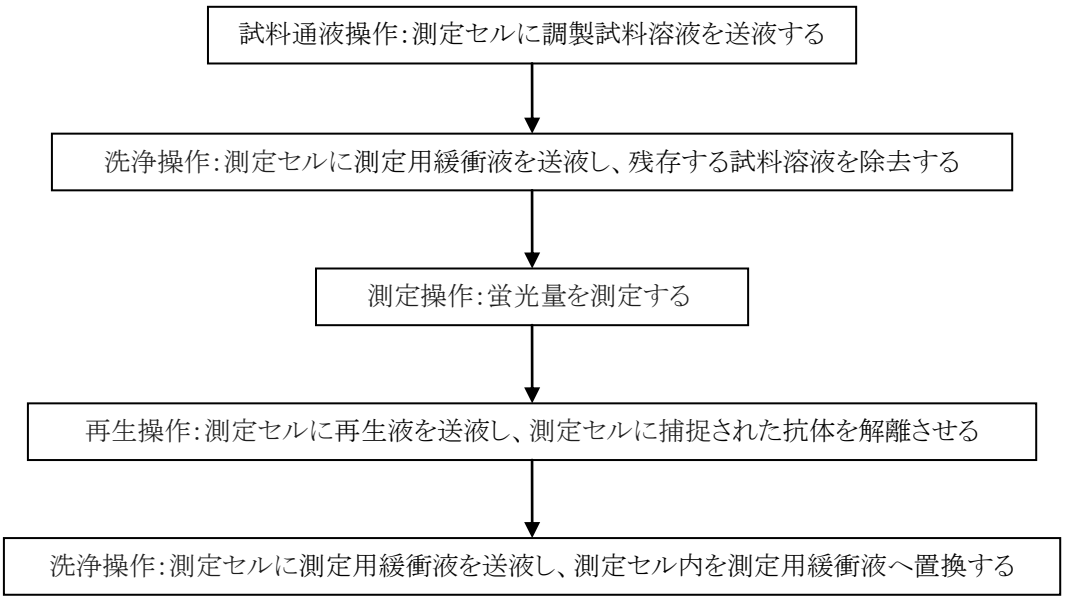


図 3.3.3.4 試料溶液測定のフロー

測定（１）

d. 迅速判定の測定（スクリーニング測定）

ⅰ．(4).3)から(4).5)に従って測定用試料を調製する。

ⅱ．測定セルにブランク試料溶液 0.4 mL を最適速度（例えば流速 0.75 mL/min）で送液する（以下、試料通液操作と称する)。

ⅲ．測定用緩衝液 0.75 mL を最適速度（例えば流速 0.75 mL/min）で送液（以下、洗浄操作と称する）する。

ⅳ．蛍光量を測定する（以下、測定操作と称する）(B0 値)。

ⅴ．測定セルに再生液 0.75 mL を最適速度（例えば流速 0.75 mL/min）で送液（以下、再生操作と称する）し、測定セルに結合した抗 PCB 抗体（抗 PCB 抗体-①）を解離させる。

ⅵ．洗浄を行い、測定セルを元の状態に復帰させる。

ⅶ．測定セルに校正試料-①溶液 0.4 mL を最適速度（例えば流速 0.75 mL/min）で送液する。次に洗浄操作を行い、蛍光量を測定する。

ⅷ．測定セルの再生操作後、洗浄操作を行い、測定セルを元の状態に復帰させる。

ⅸ．測定セルに測定試料溶液 0.4 mL を最適速度（例えば流速 0.75 mL/min）で送液する。次に洗浄操作を行い、蛍光量を測定する (B 値)。

ⅹ．測定セルの再生操作後、洗浄操作を行い、測定セルを元の状態に復帰させる。

ⅺ．1 個の測定セルで検体数に応じ､図 3.3.3.2 に示す操作を繰り返し､測定を行う。

e. PCB 濃度の算出

得られた蛍光強度と検量線（応答曲線）から検液中の PCB 濃度が求められ、測定結果より、実測値が下式を用いて算出される。

実測値：絶縁油中に含まれる KC-mix 相当量（μg/g）

＝KC-mix 相当濃度（ng/mL） × 係数①×係数②／係数③／1000

ここに、

係数①　希釈率（-）：調製液量（μL）／供試量（μL）

係数②　調製液量（mL）：測定対象とする前処理済み試料溶液の液量

係数③　処理油重量（g）：前処理済み試料溶液に含まれる絶縁油重量

係数④　換算係数（μg/g・(mg/kg)）：絶縁油中に含まれる PCB 濃度へ換算するための係数

PCB 濃度：濃度換算値（mg/kg）＝ 実測値（μg/g）／ 係数④（μg/g・(mg/kg)）

これより算出された値を PCB 濃度（mg/kg）とする。精度管理については、「1.5 精度管理について」に従うこと。尚、本測定法に関わる個別事項については、以下に示す。

2）検出下限値・定量範囲

JIS K0464「ポリクロロビフェニル（PCB）の免疫測定方法通則」において規定されている精度プロファイル（定量値の変動係数を標準溶液の濃度に対してプロットした図）を作成し、求める（図 3.3.3.5、図 3.3.3.6、図 3.3.3.7、図 3.3.3.8、表 3.3.3.5）。ただし、検量線においてCVが30 %となる点の濃度におけるB/B0値が0.9を超える場合、この数値を適用せずにB/B0値が0.9を示す濃度を検出下限値とする。又、同様にCVが10 %となる点の濃度におけるB/B0値が0.85を超える場合、この数値を適用せずにB/B0値が0.85を示す濃度を定量下限値とする（図 3.3.3.8）。

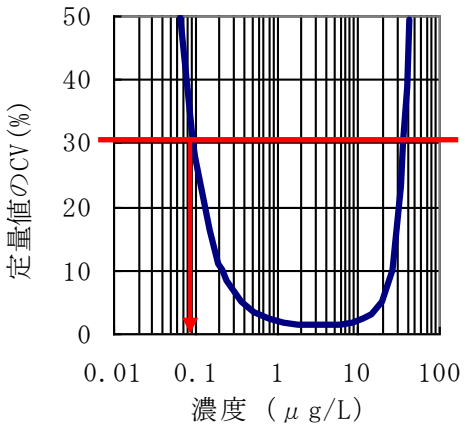


図 3.3.3.5 JIS K0464 の検出下限値の求め方

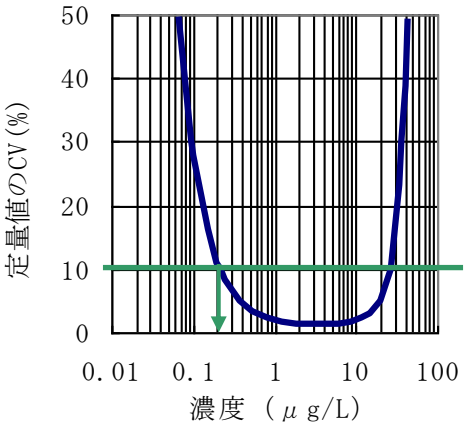


図 3.3.3.6 JIS K0464 の定量下限値の求め方

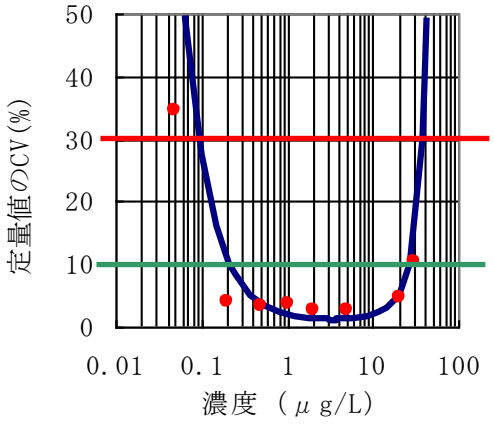


図 3.3.3.7 精度プロファイル

赤丸は表 5 の KC-mix 各濃度における定量値の CV(%)

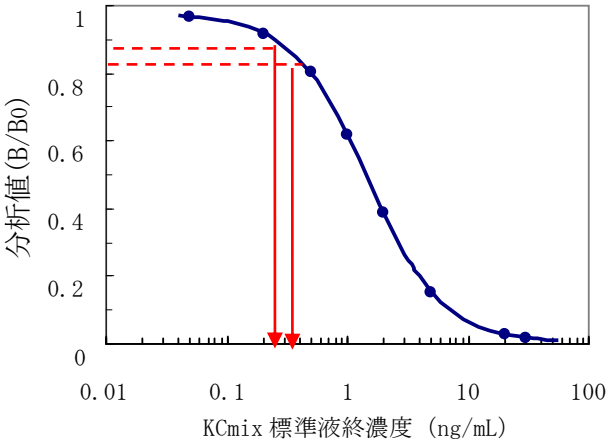


図 3.3.3.8 本測定における検出下限値及び定量下限値の求め方

表 3.3.3.5 精度プロファイル作成に使用した KC-mix 阻害曲線測定結果の一例

濃度	分析値(Y)：B/B0							YのSD	YのCV
ng/mL	n=1	n=2	n=3	n=4	n=5	n=6	Ave	σ	%
0.05	0.971	0.969	0.968	0.965	0.974	0.967	0.969	0.003	0.3%
0.2	0.917	0.913	0.912	0.918	0.920	0.918	0.916	0.003	0.3%
0.5	0.797	0.797	0.796	0.812	0.806	0.801	0.801	0.007	0.8%
1	0.606	0.606	0.607	0.635	0.620	0.622	0.616	0.012	1.9%
2	0.402	0.386	0.377	0.396	0.389	0.382	0.389	0.009	2.3%
5	0.158	0.152	0.144	0.156	0.151	0.151	0.152	0.005	3.1%
20	0.032	0.028	0.027	0.030	0.029	0.027	0.029	0.002	5.8%
30	0.022	0.018	0.017	0.020	0.016	0.017	0.018	0.002	12.3%

濃度	定量値(X)：ng/mL							XのSD	XのCV
ng/mL	n=1	n=2	n=3	n=4	n=5	n=6	Ave	σ	%
0.05	0.033	0.045	0.047	0.059	0.018	0.052	0.042	0.015	34.4%
0.2	0.206	0.218	0.219	0.202	0.199	0.203	0.208	0.008	4.0%
0.5	0.506	0.506	0.509	0.468	0.483	0.496	0.495	0.016	3.3%
1	1.038	1.038	1.033	0.944	0.992	0.986	1.005	0.038	3.8%
2	1.910	2.007	2.064	1.949	1.991	2.031	1.992	0.056	2.8%
5	4.878	5.033	5.267	4.911	5.063	5.079	5.039	0.139	2.8%
20	18.339	20.401	20.798	19.473	19.718	20.743	19.912	0.940	4.7%
30	24.812	30.056	31.179	27.885	32.998	32.286	29.869	3.062	10.3%

表 3.3.3.6　本測定システムにおける検出下限及び定量範囲の例

検出下限値	定量下限値	定量上限値
定量値の精度プロファイルより CV値=30 %を示すPCB濃度又は量を検出下限値とすると規定されているが、定量値のCV値=30 %を示すPCB濃度又は量の下限値を検出下限値とした場合、実測値の精度が低下するため、B/B0値が0.9を示すPCB濃度又は量を検出下限とする。	定量値の精度プロファイルより算出された定量値のCV値=10 %を示すPCB濃度又は量を下限値とすると規定されているが、定量値のCV値=10 %を示すPCB濃度又は量の下限値を定量下限値とした場合、実測値の精度が低下するため、B/B0値が0.85を示すPCB濃度又は量を定量下限値とする。	定量値の精度プロファイルより算出された定量値のCV値=10 %を示すPCB濃度又は量を上限値とすると規定されているが、定量値のCV値=10 %を示すPCB濃度又は量の上限値を定量上限値とした場合、実測値の精度が低下するため､B/B0値が0.2を示すPCB濃度又は量を定量上限値とする。
0.25 ng/mL (KC-mix標準品)	0.375 ng/mL (KC-mix標準品)	3.94 ng/mL (KC-mix標準品)
絶縁油25 mgを前処理し、200μL溶液として調製された測定試料を50倍希釈して測定した場合 0.25/（(25/200) /50) /1000 =0.100μg/g （実測値）	絶縁油25 mgを前処理し、200μL溶液として調製された測定試料を50倍希釈して測定した場合 0.375/（(25/200) /50) /1000 =0.150μg/g （実測値）	絶縁油25 mgを前処理し、200μL溶液として調製された測定試料を50倍希釈して測定した場合 3.94/（(25/200) /50) /1000 =1.576μg/g （実測値）

用いる換算係数により、算出される検出下限値、定量下限値及び定量上限値は異なる。また、迅速判定法では、本測定システムにおける定量上限を検出上限と表記する。

3）結果の報告及び評価

a. 濃度の単位　実測値は絶縁油重量当たりの KC-mix 相当量（μg/g）で表示する。

b. PCB 濃度（mg/kg）への換算　実測値（KC-mix 相当量：μg/g）を PCB 濃度に換算する場合は、実測値を換算係数（μg/g・(mg/kg)）で除して mg/kg として表示する。

c. 数値の取り扱い　濃度の表示における取り扱いは、次による。

・濃度については、JIS Z8401 によって数値を丸め、有効数字を 2 桁として表し、検出下限値未満の場合には検出下限値未満、検出上限値を超える場合には検出上限値を超える試料であったことを表示する。但し、試料における検出下限値の桁までとし、それより下の桁は表示しない。

・検出下限値については、JIS Z8401 によって数値を丸め、有効数字を 2 桁として表示

する。

d. 結果の評価　判断基準　KC-mix 標準品を用いた本測定システムにおいて、測定値(B/B0)が 0.20≦B/B0≦0.90 を示す範囲を検出範囲とし、そのときの実測値範囲は 0.10 から 1.58μg/g である（表 3.3.3.6）。

・検出下限値未満の試料については、検出下限値及び定量下限値と共に、検出下限値未満と表記する。

e. データの取扱い　次のような現象が生じた場合は、装置が正常な状態に復帰したことを確認の上、再測定を行う。

・波形に異常が見られた場合。
・測定値が異常な場合。
・セル下部配管に気泡が混入した場合。
・セル部から液漏れが生じた場合。
・B0 溶液の測定値が異常な場合。
・校正試料-①の測定値（B/B0 値）が異常な場合。
・バルブ等の部材の消耗によりリークが発生した場合。

f. 報告　b で得られた測定値が 0.3mg/kg 未満であった検体を PCB 不検出、0.3mg/kg 以上であった検体を PCB 検出と判定し、報告する。

(6) 留意事項

1) 日常精度管理

a. 一般　　試料の前処理の精度及び測定の精度を確保していることの確認を行うため、測定試料数に応じ適切な頻度で、JIS K0464「ポリクロロビフェニル（PCB）の免疫測定方法通則」において規定されている管理を行う。

b. 検量線の確認及び感度変動の管理図　　定量操作が適切に行われているかどうかを確認するため、測定担当者は、測定毎の感度校正として使用する校正試料-①溶液の測定値(B/B0)を管理図に記録し保存する。又、同時に測定時の環境温度を記録する。

管理図による処置基準は、管理限界（μ±3σ）からの逸脱状況及び管理図の傾向に応じて適切に定める（μ：工程平均、σ：定量値の標準偏差)。1 点でも管理限界を超えた場合は、原因の究明及び対策を行うとともに、試料を再測定する。改善のために講じた措置及び再測定の結果について、記録を行う。又、警戒限界（μ±2σ）内であっても基準値に対して、一定の傾向で外れていくような状態又は偏った定量値が続くような状態においても原因の究明を行い、必要に応じ対策を行うとともに、試料を再測定する。

尚、管理限界は、あらかじめ十分なサンプル数から求める。

JIS K0464「ポリクロロビフェニル（PCB）の免疫測定方法通則」において規定されている日常精度管理が適切に行われ、試料の前処理の精度および測定の精度が確保さ

れていることが確認できている場合、個々の試料の回収率確認を行う必要は無く、回収率確認のための測定は、適切な頻度（例えば分析群毎）で少なくとも 1 試料実施する。但し、実施する試料は予備測定結果より算出された絶縁油中 PCB 濃度が 0.5 mg/kg（基準値）以下の試料を用いるのが望ましい。

測定結果が管理限界を外れる場合、分析群の試料については分析における回収率の確認のための測定を行い、処置基準に従い処置する。

c. 濃度既知試料の測定

標準的な濃度既知試料(濃度既知の絶縁油試料)であり、適切な頻度で、前処理から測定までの工程に精度管理上の問題が発生していないことを、定期的に確認するために用いる試料である。前処理操作における十分な回収率を確認する目的では、通常、定量下限以上の濃度既知試料を用いて測定を行い、検出下限値を超えないことを確認する。また、一連の測定系(前処理から測定)の異常の有無を確認する目的では、通常、濃度既知の前処理済み試料を用いる。※21)

測定の頻度については、PCB 検出と判定された試料の 20 検体ごとに 1 回の濃度既知の前処理済み試料を測定する。例として測定は、Bo 測定：1 回、校正液①測定：1 回、30 検体実試料測定：各 1 回とする（この Bo 測定から 30 検体実試料を各 1 回測定するまでの工程を 1 サイクルとすると、1 セルあたり 2 サイクル、1 日 4 サイクル（120 検体）の測定が可能である)。このサイクルを繰り返し行い、20 検体が PCB 検出と判定された際に濃度既知試料測定：1 回とする※22)。

得られた濃度既知試料測定の結果は、既知濃度に対して±20%以内であること、CV が 15%以内であることを確認する。

PCB 検出と判定された試料については、同機による簡易定量法にて精度管理（二重測定※23)、回収率確認）を行うことができる。

d. 偽陰性防止

陰性判定試料（ND 試料）の 2%(50 検体の陰性判定試料から 1 検体の割合)を簡易定量法もしくは平成 4 年厚生省告示 192 号別表第 2 に定める測定方法にて測定をする。ただし、フロー式イムノセンサ法にて測定を行う場合、本法で行った前処理試料を用いてよい。

2) 換算係数

本測定法においては、抗 PCB 抗体-①の交差反応性に起因し、異性体分布の異なる試料間で反応性が異なってくるため、使用する換算係数はその中で反応性の小さい試料群で算出した換算係数を適用する。よって換算係数は※24)、0.963（図 3.3.3.9）を用いる。

備考　換算係数は、提供する試薬の Lot 毎に異なる場合があるため、メーカーの指示情報に基づき PCB 濃度へ換算を行う。換算係数の一例を図 3.3.3.9 に示す。

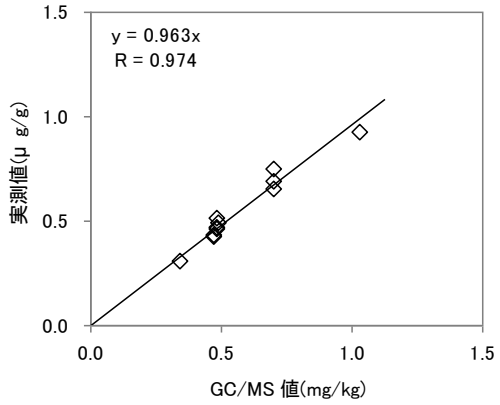


図 3.3.3.9　GC/MS 値と抗 PCB 抗体-①の実測値の相関図

3）留意事項

※１　本迅速判定法での前処理は、『絶縁油中の微量 PCB に関する簡易測定法マニュアル 2.7.1(以下簡易測定マニュアル 2.7.1)』に記載の前処理と同様の原理によること。よって、クリーンアップスパイクを添加しておけば、『簡易測定法マニュアル 2.7.1 (4) と (5)』に従い、回収率を確認することが可能である。

※２　迅速判定の測定は、簡易定量マニュアルの予備測定と同一の測定方法である。

※３　約 25 mg の絶縁油を前処理し、250μL の DMSO 試料とした場合は約 60μL（約 6 mg 相当量）を目安とすることを推奨するが約 40 から 60μL（約 4 から 6 mg 相当量）の範囲であれば液量を変化させても問題は無い（液量の一の位は四捨五入しても良い）。

※４　JIS K0461「競合免疫測定方法通則」および JIS K0464「ポリクロロビフェニル(PCB)の免疫測定方法通則」に規定するもの、又は同等の品質のものを使用する。

※５　TCPHA 以外にも KC-mix 標準溶液を（校正液-①）として使用することができる。

※６　PCB バイオセンサ測定キットとしての市販品がある。

内容物は、以下の通りである。

①測定セル（抗原固相化ビーズ充填済）

②抗 PCB 抗体液-①（×10 濃度）

③抗体溶液希釈用バッファー液

④校正液-①　2,4,5-トリクロロフェノキシヘキサノイルアミノプロピオン酸(TCPHA)

⑤　キャリーオーバー洗浄液

⑥　CD（検量線データ入り）

⑦　添付書類

キットの取り扱いにあたっては、以下の取り扱い上の注点を遵守すること。

ⅰ）　測定セル、抗PCB抗体-①溶液（×10濃度）および抗体溶液希釈用バッファー液は、冷蔵庫（2から8 ℃）にて保管すること。

ⅱ）　抗PCB抗体-①溶液（×10濃度）および抗体溶液希釈用バッファー液の有効期間は、納入より2ヶ月以内。ただし、1×抗PCB抗体-①溶液へ調製後は1ヶ月以内に使い切ること。

ⅲ）　測定セルの有効期間は、納入より2ヶ月以内。ただし、開封後は１日以内に使い切ること。

ⅳ）　「校正液-①」が凍っている場合があるが、品質に影響しない。ただし、納入後は直ちに常温で解凍し、十分に混合すること。解凍後は必ず常温遮光下で保存すること。

ⅴ）　キットを保管する場合は、保存場所、保存方法、汚染の配慮、温度及び湿度の情報を記録し、保存すること。

※７　その他留意事項

・蛍光検出装置は水平な台に設置すること。

・急激な温度変化や直風の当たらない場所に設置し、周囲温度は 22 から 27 ℃にする。

・測定温度は 24±1 ℃の環境で測定することを推奨する。

・ほこり、振動、強い磁場のある場所は避けること。

・吸引する溶液に気泡が入らないように注意する。

・マイクロピペットによる吸引及び吐出は、気泡が入らないようゆっくりスムーズに行うこと。

・チップは溶液を変更する度に交換することを推奨する。

・市販器具を使用することも可能であるが、測定精度に影響が無い事を確認すること。

・使用する器具などは、試料の吸着が少ない部材を選択すること。

※８　秤量に用いる天秤は、0.1 mgまで測定できるものを使用すること。

※９　前処理後の多層シリカゲルカラムについては、測定データの信頼性が確認されるまで現物保存もしくは写真を撮り保存すること。試料の精製度の確認は、試料の精製度確認のための測定を行い判断することができる。方法については、『簡易測定法マニュアル 2.7.1 (4) 7)』に従う。

※１０　多層シリカゲルカラムに移し入れる溶液及び洗浄液量は合計でほぼ 1 mL とする。この液量以下あるいは以上であると精製効率が低下することがある。

※１１　この部分以外を加熱すると精製効率が低下及び PCB の回収率が低下することがある。

※１２　加熱温度は 60℃から 90 ℃の範囲で、加熱時間は任意の範囲で変化させても良いが、85 ℃にて 60 分間加熱する場合と同等の精製効果が得られること。

※１３　ヘキサンの液量を変化させても良いが、PCB の回収率が確保されることを確認すること。

※１４　着色した部分が片寄ったりしているなど、カラムクロマトの展開が乱れている場合は、やり直すこと。

※１５　加熱温度を変化させても良いが、PCB の回収率が確保されることを確認すること。

※１６　DMSO の液量を変化させても良いが、PCB の回収率と測定における感度が確保されることを確認すること。

※１７　校正液-①濃度はキットのロット等により若干使用する濃度が変更となる場合があるが、分析値（B/B0 値）が 0.75 付近の濃度を用いる。キット内容物として提供する校正液-①（TCPHA）濃度は約 30μg/mL（終濃度は約 1.5μg/mL）である。又、KC-mix を校正液-①として使用する場合は約 12 ng/mL（終濃度は約 0.6 ng/mL）を目安にして分析値（B/B0 値）が 0.75 付近となる濃度を設定する。

※１８　試料間での反応性の違いについての選定は、『簡易測定法マニュアル 2.7.1 (6) 2)』に記載のように、異性体分布による反応性の違いについては、異なる抗体を用いることで分類することが可能である。この中で最も小さい換算係数（F=0.963）を適用する。

※１９　本測定で使用している蛍光検出装置には試料をセットする場所として、5 つの場所（ポート）が用意されており、B0 液をセットする場所を B0 ﾎﾟｰﾄ、校正試料溶液（校正試料-①溶液）をセットする場所をポート 1、試料溶液をセットする場所をポート 2 から 4 としている。

※２０　標準溶液の例として KC-mix を用いているが、同等の応答性が確認できていれば他の化合物を用いてもよい。

※２１　実試料にクリーンナップスパイクとして PCB169 を添加することにより濃度既知試料として取り扱うこともできる。

※２２　本測定法での試料シーケンスの例を以下に示す。

※２３　本測定法における定量範囲外の高濃度試料を測定して得られた値は二重測定に用いてはならない。

※２４　試料間での反応性の違いについての選定は、『簡易測定法マニュアル 2.7.1 (6) 2)』に記載のように、異性体分布による反応性の違いについては、異なる抗体を用いることで分類することが可能である。この中で最も小さい換算係数（F=0.963）を適用する。

表 3.3.3.7　試料シーケンスの例

事前に BLANK.ST.1 から 8 で検量線作成（マニュアル　表 3.3.3.2）

試料番号

1	B0
2	ST. A
3	Sample1
4	Sample2
5	Sample3
6	Sample4
7	Sample5
・	
・	
31	Sample29
32	Sample30
33	B0
34	ST A
35	Sample31
36	Sample32
・	
・	
63	Sample59
64	Sample60
65	B0
66	ST A

ST.A：ST1 から 8 ではないが同じ種類、別濃度の標準溶液、又は、同等の応答性が確認できている化合物

B0：ブランク

32×2＝64（内 ST.A×2,B0×2,サンプル 60）

32×4＝128（内 ST.A×4,B0×4,,サンプル 120）

3.3.4 加熱多層シリカゲルカラム/アルミナカラム/間接競合酵素免疫測定(ELISA)法

(1) 概要（適用範囲）

ここに定める方法は、前処理に多層シリカゲルカラム及びアルミナカラムを使用してクリーンアップを行い、測定に抗 PCB モノクローナル抗体と抗原固相化プレートを用いた間接競合酵素免疫測定法（ELISA）を利用して行うもので、絶縁油中の PCB 濃度の迅速判定について適用する。

(2) 測定の概要

1) 測定の概要

試料を加熱固相カラム（多層シリカゲルカラムおよびアルミナカラム）を使用しクリーンアップし、測定には抗 PCB モノクローナル抗体と抗原固相化プレートを用いた間接競合酵素免疫測定法（ELISA）を利用して行う方法である。

2) 測定操作フロー

測定フローを図 3.3.4.1 に示す。なお、フロー図に記載された条件は一例である。

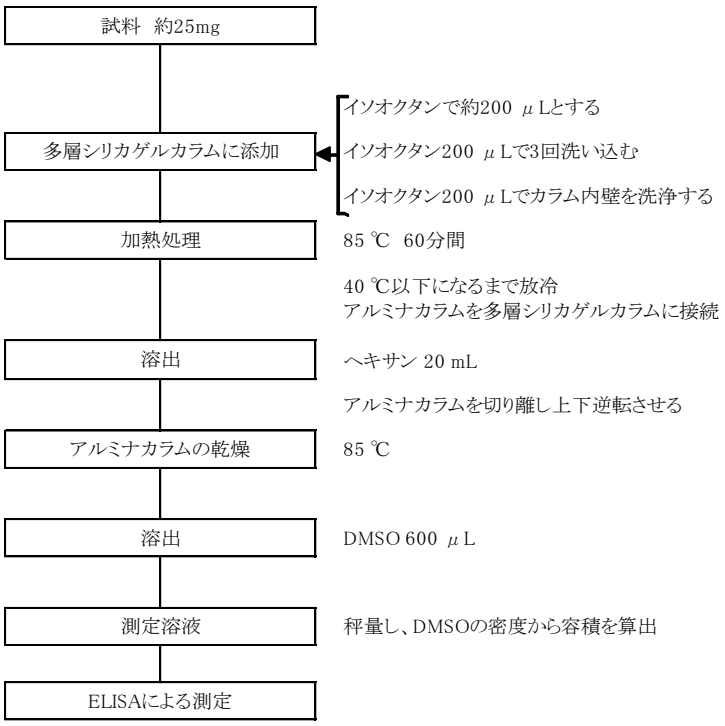


図 3.3.4.1 測定フロー

(3) 試薬、器具及び装置

1) 試薬

測定に使用する試薬は次による。これらの試薬は、空試験などによって測定に支障の

ないことを確認しておく。又、記述以外の試薬を使用する場合も同等の試験を行い、測定に支障のないことを確認しておく。

a. **ヘキサン**　JIS K8825 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

b. **ジメチルスルホキシド(DMSO)**　JIS K9702 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

c. **イソオクタン**　JIS K9703 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

d. **多層シリカゲルカラム及びアルミナカラム**　44%硫酸被覆シリカゲル 4.7g と金属硝酸塩（20%硝酸銀）被覆シリカゲル 0.59g 又は 44%硫酸被覆シリカゲル 3.8g と金属硝酸塩（15%硝酸銀 15%硝酸銅）被覆シリカゲル 1.4g を充填したカラム、並びに、活性化を施したアルミナ 0.6g を充填したカラム。これらのカラムは、市販されている。これらのカラムは、洗浄された状態で入手できるので、特に使用前の洗浄は行わなくて良い。

e. **水**　JIS K0557 に規定する A4(又は A3)の水又は同等の品質のもの。

f. **検量線作成用標準品**　カネクロール標準品、KC-400 標準物質。

2) 器具

測定に使用する器具は次による。これらの器具は、空試験などによって測定に支障のないことを確認しておく。

a. **酵素免疫測定キット**※1)　抗 PCB モノクローナル抗体と抗原固相化プレートには PCB 誘導体が固相化されたものを使用する。

b. **マイクロチューブ**　容量が約 1.5 mL のもの。

c. **マイクロピペット**　JIS K0970 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

d. **マルチチャンネルピペット**　8 チャンネルのもの。

e. **マイクロピペット用チップ**　JIS K0970 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

f. **96 穴 PP プレート U 底**　1 ウェルの容量が 300μL 以上のもの。

3) 装置

測定に使用する装置は次による。

a. **多層シリカゲルカラム加熱用ヒーター**　温度調節機能を備えたもので、多層シリカゲルカラム中で試料が浸透している領域を目的温度で持続的に加熱できるもの。

b. **アルミナカラム加熱用ヒーター**　温度調節機能を備えたもので、アルミナカラムに充填したアルミナを目的温度で持続的に加熱できるもの。

c. **プレートリーダー 分光光度計**　波長 450 nm における吸光度を精度良く検出できる装置。

d. **プレートウォッシャー**　プレートのウェル中の溶液の排出、ウェル中への洗浄液の供給を正確にできる装置。

(4) 前処理

1) 試料の調製

試料約 25 mg※2),※3) をマイクロチューブに秤量し、イソオクタンを加えて全量を約 200μL の均一溶液とする※4)。

2) 加熱多層カラム前処理

a. 試料調製の操作で調製した溶液を多層シリカゲルカラム※5) に移し入れ、マイクロチューブをイソオクタン 200μL で 3 回洗い込んだ後、イソオクタン 200μL にて多層シリカゲルカラムの内壁を洗浄する※6)。

b. 多層シリカゲルカラムに移し入れた溶液が展開している部分※7) を多層シリカゲルカラム加熱用ヒーターで 85 ℃にて 60 分間※8) 加熱した後、多層シリカゲルカラムを 40 ℃以下になるまで放冷する。

c. アルミナカラムを多層シリカゲルカラム下端に連結した後、ヘキサン 20 mL※9) を流下させる※10)。

d. アルミナカラムを多層シリカゲルカラムと切り離し、アルミナカラム加熱用ヒーターで 85 ℃※11) に加熱しながら清浄な空気もしくは窒素をアルミナカラムに吹き込み、アルミナカラムに残留しているヘキサンを乾燥する。

e. 上下逆転させたアルミナカラムを 85 ℃に維持しながら DMSO 600μL※12),※13) を添加し、アルミナカラム下端にマイクロチューブを置いて、約 200 から 300μL の溶出液を得る。秤量し、風袋との差分を重量測定し、DMSO の密度から容積を求め測定溶液とする。

3) 標準溶液の調製

DMSO を用いて KC400 標準物質を希釈し、50、10、5、2、1、0.2ng/mL 濃度になるようにそれぞれガラスバイアルに調製する。順に STD1、STD2、STD3、STD4、STD5、STD6 とする。

4) 試料希釈溶液の調製

DMSO を用いて前処理試料の希釈溶液(約 10μg/μL)をマイクロチューブに調製する。約 25mg の絶縁油を前処理し約 250μL の DMSO 溶液として調製した前処理試料は、DMSO を用いて 10 倍希釈する。

5) 濃度既知の参照試料溶液の調製

前処理に使用する多層シリカゲルカラム及びアルミナカラムに充填する薬剤の製造ロット毎に調整する。0.5mg/kg の絶縁油試料を前処理した後、DMSO を用いて希釈溶液（約 10μg/μL）をマイクロチューブに調製する。約 25mg の絶縁油を前処理し約 250μL の DMSO 溶液として調製した試料は、DMSO を用いて 10 倍希釈する。

(5) 測定

1) 測定条件

検量線作成用標準溶液及び濃度既知の参照試料溶液の測定は、プレート毎に前処理済み試料希釈用液の測定と同時に行う。図 3.3.4.2 に示すように、最多 40 検体の試料に対して、濃度既知の参照試料は 1 回の頻度で行う。

検量線作成用標準溶液、前処理済み試料希釈用液および濃度既知の参照試料溶液の測定は同一プレート上で 2 回ずつ(n=2)行う。

a. 一次抗体液の調製

一次抗体粉末に粉末抗体溶解液（15mL）のうちの 6mL を加えて溶解する。

b. 一次抗原抗体反応※１４)

96 穴 PP プレートU底の各 well を使用し、3.1 及び 3.2 で調製した標準溶液、試料希釈溶液、濃度既知の参照試料（Ref.M）及び濃度 0 ブランク（100%DMSO 溶液）を 50μL/well 添加し、次に、一時反応液 150μL/well を添加し、数回のピペッティング操作により撹拌し、25%DMSO 溶液を作製する。次に、3.3 で調製した一次抗体液 50μL/well を各 well に添加し数回のピペッティング操作により撹拌する。調製した 20%DMSO の試料溶液 100μL を PCB 抗原固相化マイクロプレートの各 well（n=2）に分注し、液面が水平になるように端を軽く叩く。プレートシールを貼り、室温（18 から 25℃）で 60 分間反応させる[注 11)]。

各試料溶液のマイクロプレートへの分注（配置）例を図 3.3.4.2 に示す。マイクロプレートの全 well を使用しなくとも、参照試料（Ref.M）を必ず入れること。

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	DMSO	DMSO	試料 1-#1	試料 1-#2	試料 9-#1	試料 9-#2	試料 17-#1	試料 17-#2	試料 25-#1	試料 25-#2	試料 33-#1	試料 33-#2
B	Ref.M-#1	Ref.M-#2	試料 2-#1	試料 2-#2	試料 10-#1	試料 10-#2	試料 18-#1	試料 18-#2	試料 26-#1	試料 26-#2	試料 34-#1	試料 34-#2
C	STD 6-#1	STD 6-#2	試料 3-#1	試料 3-#2	試料 11-#1	試料 11-#2	試料 19-#1	試料 19-#2	試料 27-#1	試料 27-#2	試料 35-#1	試料 35-#2
D	STD 5-#1	STD 5-#2	試料 4-#1	試料 4-#2	試料 12-#1	試料 12-#2	試料 20-#1	試料 20-#2	試料 28-#1	試料 28-#2	試料 36-#1	試料 36-#2
E	STD 4-#1	STD 4-#2	試料 5-#1	試料 5-#2	試料 13-#1	試料 13-#2	試料 21-#1	試料 21-#2	試料 29-#1	試料 29-#2	試料 37-#1	試料 37-#2
F	STD 3-#1	STD 3-#2	試料 6-#1	試料 6-#2	試料 14-#1	試料 14-#2	試料 22-#1	試料 22-#2	試料 30-#1	試料 30-#2	試料 38-#1	試料 38-#2
G	STD 2-#1	STD 2-#2	試料 7-#1	試料 7-#2	試料 15-#1	試料 15-#2	試料 23-#1	試料 23-#2	試料 31-#1	試料 31-#2	試料 39-#1	試料 39-#2
H	STD 1-#1	STD 1-#2	試料 8-#1	試料 8-#2	試料 16-#1	試料 16-#2	試料 24-#1	試料 24-#2	試料 32-#1	試料 32-#2	試料 40-#1	試料 40-#2

図 3.3.4.2　96well マイクロプレート上での試料の配置例（n=2）

c. 洗浄液の調製及び未反応物の除去

一次抗原抗体反応時間中に、20 倍濃縮洗浄液と蒸留水を 1:20 の割合で混合し、洗浄液を調製する。一次抗原抗体反応終了後、反応液を廃棄する。洗浄液 300μL/well 入れて廃棄する操作を 3 回繰り返し、各ウェルを洗浄する。洗浄後、ペーパータオル上でダイオキシン抗原固相化マイクロプレートをタッピング（軽く叩く）し、洗浄液を完全に除去する。

d. 標識二次抗体液の調製

一次抗原抗体反応時間中に、標識二次抗体粉末に、粉末抗体溶解液を全量（14mL）加えて溶解する。

e. 二次抗原抗体反応※14)

洗浄した PCB 抗原固相化マイクロプレートに 3.6 で調製した標識二次抗体液 100μL/well を添加し、液面が水平になるように端を軽く叩く。プレートシールを再び表面に貼り、室温（18 から 25℃）で 60 分間反応させる。

f. 未反応物の除去

二次抗原抗体反応終了後、反応液を廃棄する。3.5 で調製した洗浄液 300μL/well 入れて廃棄する操作を 4 回繰り返し、各ウェルを洗浄する。洗浄後、ペーパータオル上でダイオキシン抗原固相化マイクロプレートをタッピング（軽く叩く）し、洗浄液を完全に除去する。

g. 発色反応※14), ※15)

洗浄した PCB 抗原固相化マイクロプレートに発色液を 100μL/well 添加し、液面が水平になるように端を軽く叩く。プレートシールを再び表面に貼り、室温(18 から 25℃)で 30 分間反応させた後、発色停止液を 100μL/well 添加する。

h. 吸光度測定

PCB抗原固相マイクロプレート外側の底面に付着した汚れや水分を、柔らかなペーパータオル等できれいに拭き取った後、波長450nm における吸光度をプレートリーダーで測定する※16)。

j. 検量線の作成

各濃度に調製した KC400 標準溶液をキットで測定を行い、プレートリーダーにより波長 450nm における吸光度を測定する。標準物質設定濃度及び測定値（B/B_0）から、下記に示す 4-パラメーターの式の各係数（A から D）を算出（4-パラメーター・ソフトウェアを用いてもよい）する。検量線及び 4-パラメーターの式の例を図 3.3.4.3 に示す。

$$y = \frac{(A-D)}{1+\left(\frac{x}{C}\right)^{B}} + D$$

ここに、 x ： 標準物質の濃度(ng/mL)

y ： 測定値（B/B_0：吸光度/濃度0における吸光度）

A ： 曲線における上方漸近値

B ： IC_{50}における曲線の傾き

C ： IC_{50} における標準物質の濃度(ng/mL)

D ： 曲線における下方漸近値

検量線　式：y=(0.866-0.056)/(1+(x/4.373)^1.064)+0.056

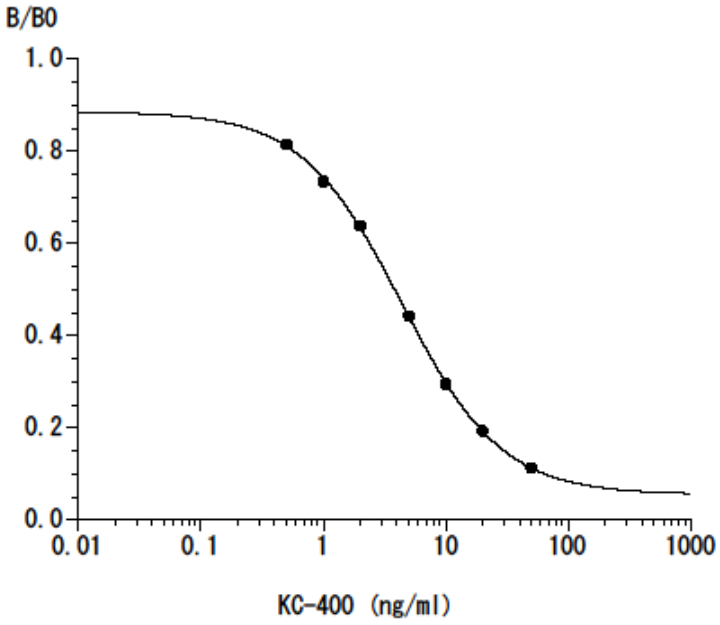


図 3.3.4.3 検量線と 4-パラメーターの式の例

k. 測定試料の定量

各測定試料液から得た測定値（B/B_0 値）を検量線の回帰式に代入し，測定試料液の定量値 C（ng/mL）を算出する。B/B_0 値が 0.3 以下の試料については、試料の希釈割合を変え、再測定する。

試料量当りの定量値 Cs（ng/g など）は，次の式で求める。濃度は，通常，三けた目を四捨五入し，有効数字は二けたで表す。ただし，検出下限の位までとする。

$$Cs = C \times n \times v \times \frac{1}{s}$$

ここに， Cs： 試料量当りの定量値（ng/g など）

C： 測定試料液の希釈液の定量値（ng/mL）

n：　希釈倍数

v：　前処理試料の液量（μL）

S：　試料の採取量（mg）

精度管理については、「1.5 精度管理について」に従うこと。尚、本測定法に関わる個別事項については、以下に示す。

1. 判定報告

k で得られた測定定値が 0.3mg/kg 未満であった検体を PCB 不検出、0.3mg/kg 以上であった検体を PCB 検出と判定し、報告する。

2）検出下限及び定量範囲

a. 標準溶液の調製

DMSO を用いて KC400 標準物質を希釈し、50、20、10、5、2、1、0.5、0.2ng/mL 濃度になるようにそれぞれガラスバイアルに調製する。

b. 標準物質における検出下限及び定量範囲の確認

調製した 8 種類の標準溶液を用い、各濃度 5 回以上の測定を行い、検量線を作成する。JIS K0461「競合免疫測定方法通則」および JIS K0464「ポリクロロビフェニル（PCB）の免疫測定方法通則」において規定されている精度プロファイル（分析値の変動係数を測定対象成分の濃度に対してプロットした図）を作成し、JIS で定義されている検出下限値・定量下限値・定量上限値を求める。

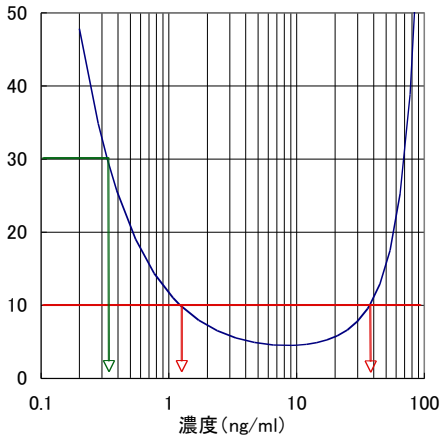


図 3.3.4.4　精度プロファイルの例

上記方法により算出したキットの検出下限及び定量範囲の例を表 3.3.4.1 に示す。

表 3.3.4.1　標準物質における検出下限及び定量範囲の例

検出下限値	定量下限値	定量上限値
定量値の精度プロファイルにおいて、定量値のCVが30%を示す最小濃度	定量値の精度プロファイルにおいて、定量値のCVが10%を示す最小濃度	定量値の精度プロファイルにおいて、定量値のCVが10%を示す最大濃度
KC-400 0.33ng/mL	KC-400 1.22ng/mL	KC-400 37.3ng/mL
絶縁油25mgを前処理し、250μL溶液として調製された測定試料を10倍希釈して測定した場合 0.33/((25/250)/10)) = 33ng/g = 0.033mg/kg	絶縁油25mgを前処理し、250μL溶液として調製された測定試料を10倍希釈して測定した場合 1.22/((25/250)/10)) = 122ng/g = 0.122mg/kg	絶縁油25mgを前処理し、250μL溶液として調製された測定試料を10倍希釈して測定した場合 37.3/((25/250)/10)) = 3730ng/g = 3.73mg/kg

3)　結果の報告及び評価

a. 濃度の単位　実測値（定量値）は絶縁油重量当たりの KC-400 相当量(ng/g)で表示する。

b. PCB 濃度(mg/kg)への換算

絶縁油中の PCB 量は、試料量当たりの定量値（Cs）と換算係数から以下に示す式で求め、mg/kg として表示する。

なお、0.3mg/kg 以下の試料については、陰性判定試料（ND 試料）と表記する。

絶縁油中 PCB 濃度(mg/kg) = Cs(ng/g) / 換算係数 /1000

c. 数値の取り扱い　濃度の表示における取り扱いは、次による。

・濃度については、JIS Z8401 によって数値を丸め、有効数字を 2 桁として表し、検出下限値未満の場合には検出下限値未満であったことを表示する。但し、試料における検出下限値の桁までとし、それより下の桁は表示しない。

・定量下限値については、JIS Z8401 によって数値を丸め、有効数字を 2 桁として表示する。

d. データの取りまとめ

・定量範囲内の試料について、2 つの測定値のばらつきが（CV%）が 20%以内のものに

ついては、平均値を試料の PCB 濃度とする。20%を超えるものについては、再測定とする。

・定量下限値未満の試料については、定量下限値と共に、定量下限値未満と表記する。

・定量上限値を超えるものについては、定量上限値と共に、定量上限値を超過と表記する。

(6) 留意事項

1) 日常精度管理

a. 一般

試料の前処理の精度及び測定の精度を確保していることの確認を行うため、測定試料数に応じ適切な頻度で、JIS K0464「ポリクロロビフェニル（PCB）の免疫測定方法通則」において規定されている管理を行う。

b. 管理図

検量線作成用標準溶液及び濃度既知の参照試料の測定値については、測定操作ごとに JIS Z 9021 に規定した管理図に測定値を記録し保存する。

検量線の確認と感度変動の管理図では、検量線における IC_{50}(B/B_0 で 50%)付近の吸光度から、4-パラメーターの式を用いて標準物質濃度を算出した数値を記録する。

管理図による処置基準は，管理限界（$\mu \pm 3\sigma$）からの逸脱状況及び管理図の傾向に応じて適切に定める（μ:工程平均，σ:定量値の標準偏差)。1 点でも管理限界を超えた場合は、原因の究明及び対策を行うとともに、同一プレート上の全試料を再測定する。改善のために講じた措置及び再測定の結果について、記録を行う。また、警戒限界（$\mu \pm 2\sigma$）内であっても基準値に対して、一定の傾向で外れていくような状態又は偏った定量値が続くような状態においても原因の究明を行い、必要に応じ対策を行うとともに，試料を再測定する。

なお、管理限界は、あらかじめ十分なサンプル数から求める。

c. 偽陰性防止

陰性判定試料（ND 試料）の 2%（50 検体の陰性判定試料から 1 検体の割合）を簡易測定法若しくは平成 4 年厚生省告示第 192 号別表 2 に定める方法にて測定する。

2) 換算係数

JIS K0464「ポリクロロビフェニル（PCB）の免疫測定方法通則」では、定量値は検量線に用いた標準試料量となっている。ELISA においては標準試料を KC400 としていることから、定量値は KC400 相当量で得られる。絶縁油中の PCB 量として求めるには、ダイオキシン生物検定法マニュアルで示されているように、標準試料量（KC400 相当量）と機器分析値との相関から求めた換算係数により換算して PCB 量を算出する。

図 3.3.4.5 に示すように、ELISA で得られた定量値と機器分析値との相関から、換算

係数を求める（この場合、換算係数は 0.789）。

しかしながら、相関から求めた換算係数をそのまま用いた場合、他の PCB 製品（KC300, KC600 等）の PCB 量が低く換算される場合が生じるため、本迅速判定法においては、値が低くなる既知濃度試料を測定し、低くなる度合いを補正した換算係数（40%程度値が低くなる場合、補正した換算係数は　0.789 x 0.6 = 0.473 となる）を全ての試料に対して用いて PCB 量に変換することとする。

測定条件が変わる場合（機器、試薬、キットのロット等）に、反応性の低い既知濃度試料を測定し換算係数を見直す。

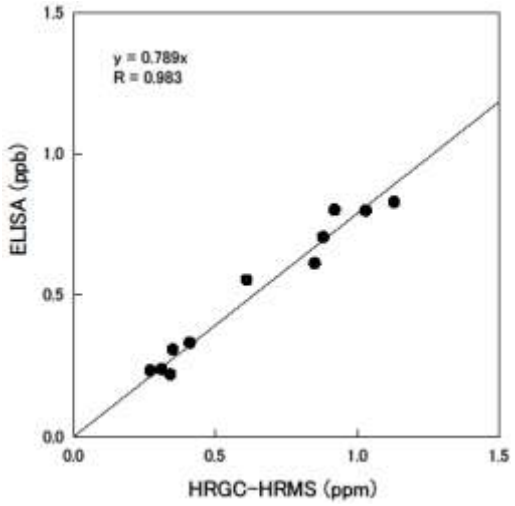


図 3.3.4.5　換算係数作成の例

3）留意事項

※１　酵素免疫測定キットとしての市販品がある。

内容物は、以下の通りである。

a）PCB抗原固相化マイクロプレート 96well 1枚
b）一次反応液 15mL 1本
c）PCB一次抗体粉末 6mL用 1本
d）PCB標識二次抗体粉末 14mL用 1本
e）PCB二次抗体溶解液 14mL
f）20倍濃縮洗浄液 50mL
g）発色液 15mL
h）発色停止液 15mL
i）プレートシール 1枚
j）使用説明書 1部

※２　芳香族系化合物が主体の絶縁油（JIS2 種，4 種，5 種，DOP）以外の JIS1 種，JIS3

種，JIS6 種，JIS7 種の試料では約 100mg まで増量することも可能である。

※３　秤量に用いる天秤は、0.1 mgまで測定できるものを使用すること。

※４　加熱多層シリカゲルカラム/アルミナカラムを前処理に用いる簡易定量法において使用されるクリーンアップスパイクを添加することは可能である。

※５　前処理後の多層シリカゲルカラムについては、測定データの信頼性が確認されるまで現物保存もしくは写真を撮り保存すること。試料の精製度の確認は、試料の精製度確認のための測定を行い判断することができる。精製度が不十分である場合、使用した多層シリカゲルカラムの着色状態などから原因を明らかにした上で試料を減量する等して前処理をやり直す。

※６　多層シリカゲルカラムに移し入れる溶液及び洗浄液量は合計でほぼ 1 mL とする。この液量以下あるいは以上であると精製効率が低下することがある。

※７　この部分以外を加熱すると精製効率が低下及び PCB の回収率が低下することがある。

※８　加熱温度は 60 から 90 ℃の範囲で､加熱時間は任意の範囲で変化させても良いが、85 ℃にて 60 分間加熱する場合と同等の精製効果が得られること。

※９　ヘキサンの液量を変化させても良いが、PCB の回収率が確保されることを確認すること。

※１０　着色した部分が片寄ったりしているなど、カラムクロマトの展開が乱れている場合は、やり直すこと。

※１１　加熱温度を変化させても良いが、PCB の回収率が確保されることを確認すること。

※１２　DMSO の液量を変化させても良いが、PCB の回収率と測定における感度が確保されることを確認すること。

※１３　DMSO の代わりにトルエン 600μL を用いても構わない。その場合、溶出したトルエンの一定量を DMSO に転溶して測定液とすること。

※１４　反応時間及び反応温度は所定の条件で必ず行うこと。

※１５　発色反応の際に異常発色が認められる場合は、二次抗体による非特異反応が考えられる。PCB抗原固相マイクロプレートの洗浄条件を再検討し、ウェル内の二次抗体が十分除去できる洗浄条件に設定すること

※１６　発色停止液を分注した後は、5 分以内に吸光度を測定することが望ましい。