

第2節 試料の前処理

1. 試料の前処理の概要

採取した試料は、内標準物質を添加した(クリーンアップスパイク)後、対象媒体毎に抽出する。抽出液は必要に応じて分取し、多層シリカゲルカラムクロマトグラフ操作または硫酸処理-カラムクロマトグラフ操作を行い、アルミナカラムクロマトグラフ操作または活性炭カラムクロマトグラフ操作を行って精製された試料をガスクロマトグラフ質量分析(GC/MS)法によって測定する。図 12 に試料の分析フローの例を示す。

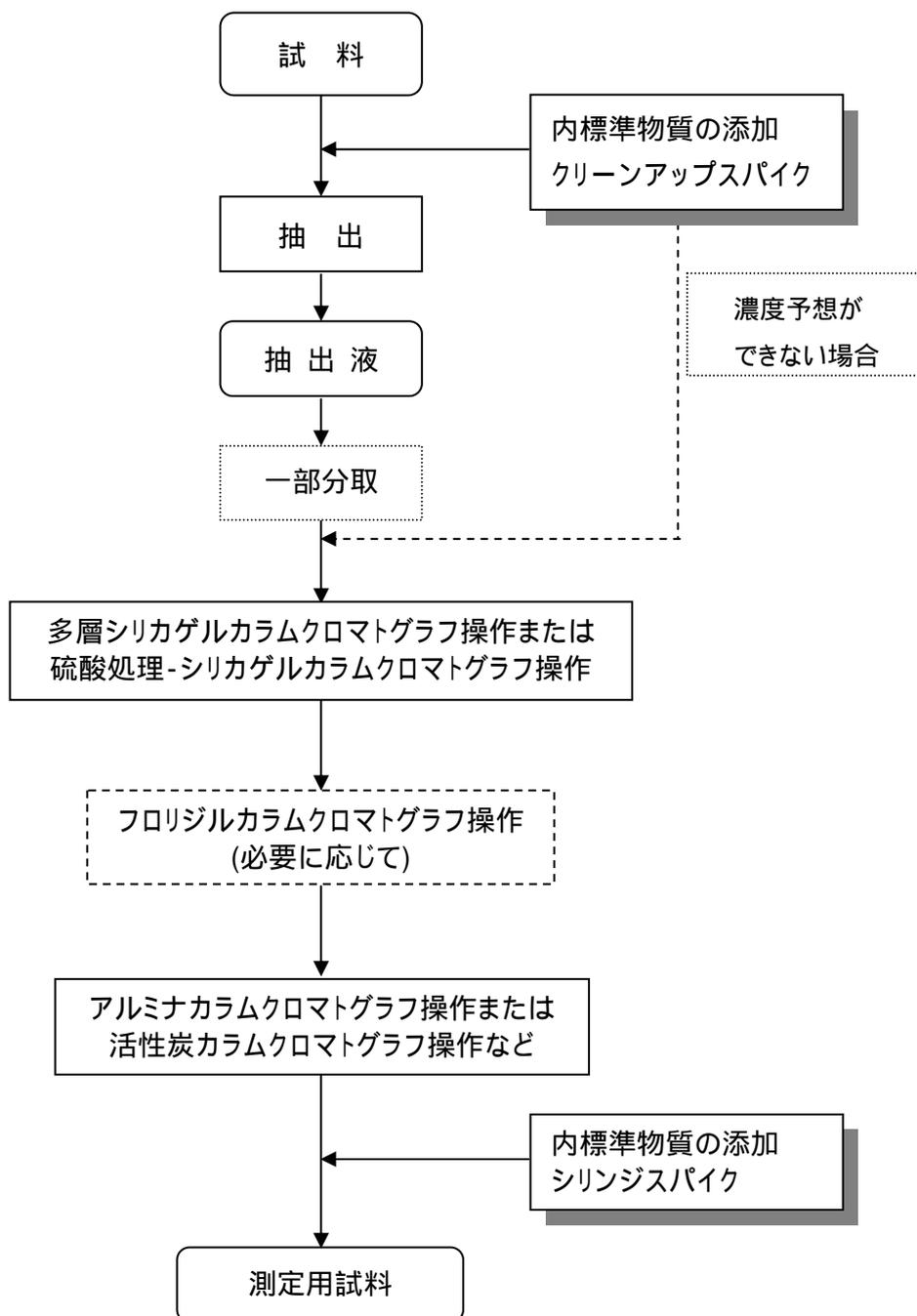


図 12 試料の前処理から測定までのフローの例

2. 試薬

試料の前処理に用いる試薬は、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する。また、ダイオキシン類分析用として市販されているもの、又は同等の品質のものでよい。

2.1. 水

JIS K 0557 に規定する A4(又は A3)の水。

2.2. ヘキサン

JIS K 8825 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

2.3. メタノール

JIS K 8891 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

2.4. アセトン

JIS K 8040 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

2.5. トルエン

JIS K 8680 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

2.6. 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。

2.7. エタノール

JIS K 8093 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

2.8. ノナン

測定に支障をきたさない品質のもの。

2.9. デカン

測定に支障をきたさない品質のもの。

2.10. 2,2,4-トリメチルペンタン

JIS K 9703 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

2.11. ヘキサン洗浄水

2.1 の水を 2.2 のヘキサンで十分に洗浄したもの。

2.12. 硫酸

JIS K 8951 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

2.13. 塩酸

JIS K 8180 に規定する特級、又は同等の品質のもの。

2.14. 硫酸ナトリウム

JIS K 8987 に規定するもの。

2.15. 水酸化カリウム

JIS K 8574 に規定するもの、又は同等の品質のもの。

2.16. 硝酸銀

JIS K 8550 に規定するもの。

2.17. 内標準物質

すべての炭素原子が ^{13}C で標識したダイオキシン類のうち、適正な種類及び濃度のものを用いる。

内標準物質物質には次の2種類があり、それぞれ別の化合物を用いる。

(1) クリーンアップスパイク用内標準物質

抽出からクリーンアップまでの前処理操作全体の結果を確認し、ダイオキシン類を定量するための基準とするために添加する内標準物質である。

(2) シリンジスパイク用内標準物質

GC/MS への測定用試料液の注入を確認するために添加する内標準物質で、クリーンアップスパイク用で使用したもの以外の内標準物質を用いる。ノナンなどの測定用試料と同じものを用いる。

2.18. シリカゲル

カラムクロマトグラフ用シリカゲル(粒径 63 ~ 212 μm)をビーカーに入れてメタノール洗浄し、メタノールを十分揮散させる。これを層の厚さを 10mm 以下になるように蒸発皿又はビーカーに入れ、130 で約 18 時間加熱した後、デシケータ内で 30 分放冷する。調製後、密閉できる試薬瓶に入れ、デシケータ中で保存する。

2.19. 水酸化カリウム[2%(質量分率)]シリカゲル

2.18 のシリカゲル 100g に対して水酸化カリウム溶液(50g/L) (2.15 の水酸化カリウムで調製する。) 40mL を加えた後、ロータリーエバポレーターを用いて約 50 で減圧脱水し、水分のほとんどを除去した後、温度を 50 から 80 に上げて更に約 1 時間減圧脱水を続けて粉末状にする。調製後、密閉できる試薬瓶に入れデシケータ中で保存する。

2.20. 硫酸[22%(質量分率)]シリカゲル

2.18 のシリカゲル 100g に対して 2.12 の硫酸 28.2g を添加後、十分振とうし粉末状にする。調製後、密閉できる試薬瓶に入れデシケータ中で保存する。

2.21. 硫酸[44%(質量分率)]シリカゲル

2.18 のシリカゲル 100g に対して 2.12 の硫酸 78.6g を添加後、十分振とうし粉末状にしたもの。調製後、密閉できる試薬瓶に入れデシケータ中で保存する。

2.22. 硝酸銀[10%(質量分率)]シリカゲル

2.18 のシリカゲル 100g に対して硝酸銀溶液(400g/L) (2.16 の硝酸銀で調製する。) 28mL を加えた後、ロータリーエバポレーターで水分を除去する。硝酸銀シリカゲルは褐色フラスコを使用して極力遮光して調製し、調製後は、密閉できる褐色瓶に入れデシケータ中で保存する。

2.23. アルミナ

カラムクロマトグラフ用アルミナ(塩基性、活性度)は、あらかじめ活性化したものが入手できる場合はそのまま使用してもよい。活性化の必要のある場合には、ペトリ皿に層の厚さを約 5mm 程度にして入れ 500 で約 8 時間加熱、又はビーカーに層の厚さを 10mm 以下にして入れて 130 で約 18 時間加熱処理した後(加熱処理により活性化が十分であることを分画試験で確認しておく)、デシケータ内で約 30 分間の放冷後、密閉できる試薬瓶中で保存する。特に、活性化後は、速やかに使用する。

2.24. フロリジル[1%含水]

カラムクロマトグラフ用フロリジル 100g を 130 で 16 時間加熱し、デシケータ内で放冷する。このフロリジルを共栓付き三角フラスコにとり、精製水 1mL 加えて栓をし、十分振とう後、密閉可能な容器に入れ、デシケータ中で保存する。

2.25. 活性炭カラム充填剤

活性炭を含浸又は分散させた,又これと同等の分離性能をもつもの。例えば、活性炭埋蔵シリカゲル,活性炭分散シリカゲルなどがある。

2.26. ガラス繊維ろ紙

保留粒子径 0.5 μm 程度のもの。ブフナー漏斗に用いる。

2.27. 抽出用固相(水試料の前処理用)

オクタデシル基(ODS)を化学的に結合させたシリカゲルを固定したディスク型固相。又は,これと同等の抽出性能を持つもの。

2.28. 窒素

JIS K 1107 に規定する高純度窒素 2 級。

3. 器具及び装置

試料の前処理に用いる器具及び装置類は、メタノール(アセトン)及びトルエン(ジクロロメタン)で十分洗浄し、空試験によって測定に支障がないことを確認する。

3.1. ガラス器具

JIS R 3503 及び JIS R 3505 に規定するもの。

3.2. 固相抽出装置

装置は、ディスク型固相、ファンネル、サポートスクリーン、ガスケット、ベース、クランプ、ゴム栓、吸引瓶、吸引ポンプよりなる。固相抽出装置の例を図 13 および図 14 に示す。

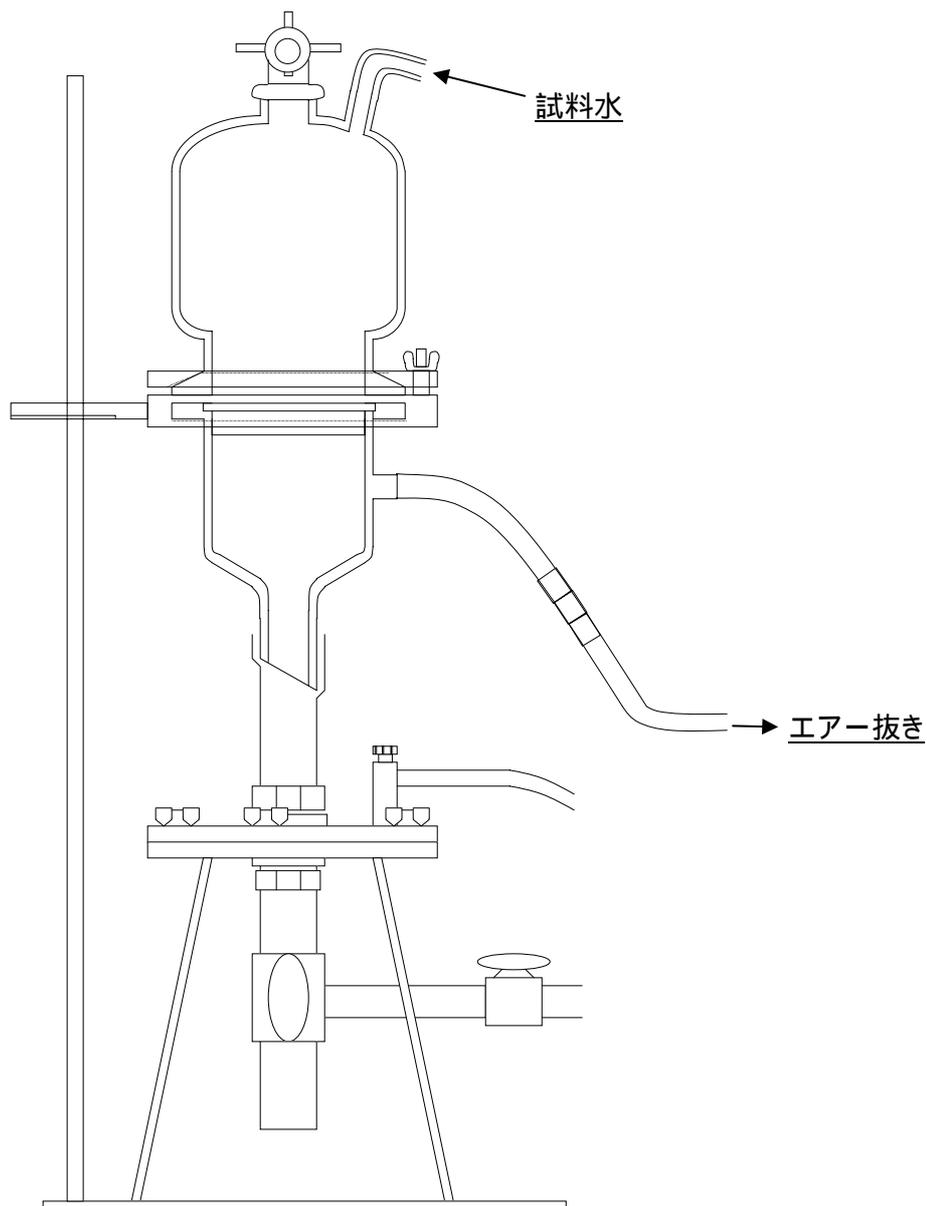


図 13 固相抽出装置(連続吸引型)の一例

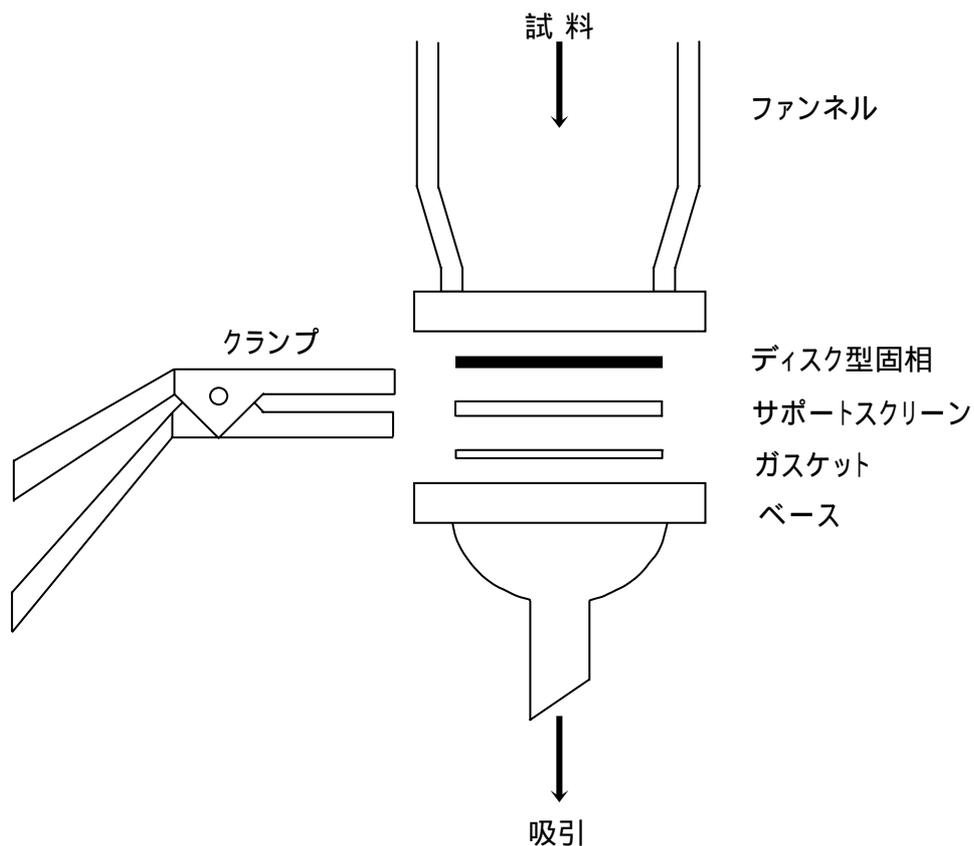


図 14 固相抽出装置(抽出部)の一例

3.3. ソックスレー抽出器

JIS R 3503 に規定するもの又はそれと同等の品質のもので、接続部にグリースを使用してはならない。

3.4. 濃縮器

クデルナ ダニッシュ(KD)濃縮器又はロータリーエバポレーターで、接続部にグリースを使用してはならない。

3.5. カラムクロマトグラフ管

内径 10mm、長さ 300mm(又は内径 15mm、長さ 300mm)のダイオキシン類の吸着及び混入、妨害物質の溶出などがないガラス製又はこれと同等の材質のカラムクロマトグラフ管。

3.6. ブフナー漏斗

4. 前処理操作

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

4.1. 試料量の記録

採取した試料は対象媒体毎に試料の量を記録する。

4.2. 内標準物質の添加 (クリーンアップスパイク)

抽出操作前の試料に、クリーンアップスパイクとして内標準物質⁽¹¹⁾を一定量添加する。添加量は通常、四～八臭素化物で0.1～10ngである。試料中のPBDDs及びPBDFsの濃度が非常に高く、通常の内標準物質の添加量では定量範囲を超えてしまうなどが予想される場合には、この範囲を超えて添加しても良い。又、試料を複数の試料容器に採取した場合は、各容器に濃度がほぼ均一となるように内標準物質を加え、合計した添加量を記録する。

但し、試料中のPBDDs及びPBDFsの濃度が予想できず、内標準物質の添加から再度行う可能性が考えられる場合には、試料からの抽出操作によって得られた抽出液を一定量にした後、必要に応じてその1/2量を分取してから⁽¹²⁾、クリーンアップスパイク用内標準物質を添加する。

注⁽¹¹⁾ クリーンアップスパイクの内標準物質は、少なくとも各臭素数毎に2,3,7,8-位臭素置換体を最低1種類ずつ添加するのが望ましい。添加する内標準物質は、シリンジスパイクとは別の異性体を用いるが、内標準物質によってはGC/MSの測定条件により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・確認しておく。又現在は入手可能な標準物質が少ないが、市販されれば追加する。表4にPBDDs及びPBDFsの内標準物質の使用例を示す。

クリーンアップスパイクで添加した内標準物質の回収率はシリンジスパイクした内標準物質を基準にして求め、基本的に50～120%の範囲とする。

注⁽¹²⁾ 残りの抽出液は、再測定をする場合に備えて一定期間冷暗所に保存する。

表4 PBDDs 及び PBDFs の内標準物質の使用例

内標準物質	クリーンアップスパイク	シリンジスパイク
¹³ C ₁₂ -2,3,7,8-TeBDF		
¹³ C ₁₂ -2,3,7,8- TeBDD		
¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8-PeBDF		
¹³ C ₁₂ -2,3,4,7,8-PeBDF		
¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8-PeBDD		
¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8-HxBDF		
¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8-HxBDD		
¹³ C ₁₂ -1,2,3,6,7,8-HxBDD		
¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8,9-HxBDD		
¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6,7,8-HpBDF		
¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6,7,8,9-OBDF		
¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6,7,8,9-OBDD		

4.3. 抽出

(1) 排ガス

1) 各捕集部からの抽出

各捕集部ごとに遮光下にて抽出操作を行い、それらの抽出液を混合して抽出液とする。排ガス試料の抽出液調製までのフローの例を図 15 に示す。

フィルタ捕集部

ろ過材に捕集されたダスト 1g に対して塩酸が 20mmol/L 以上となるように塩酸(2mol/L)を加え、時々かき混ぜながら発泡を確認しつつ約 1 時間放置し、更に塩酸を加えても発泡が無いことを確認する。次に孔径 0.5 μm 程度のガラス繊維ろ紙を用いてブフナー漏斗などでろ過し、ヘキサン洗浄水で十分に洗浄後、水分を更に少量のメタノール又はアセトンで除き風乾する⁽¹³⁾。又、燃焼由来の固形物(主として灰)が入っている場合には、必ず塩酸による酸処理を行う。乾燥したろ過材は、トルエンで 16 時間以上ソックスレー抽出を行う⁽¹⁴⁾。塩酸溶液及びメタノール洗浄液は、ジクロロメタンによる液 - 液振とう抽出を行い、ソックスレー抽出液と合わせる。

注⁽¹³⁾ 風乾の操作においては、試料中の PBDDs 及び PBDFs の拡散や外部からの汚染を最小限に抑えるように注意深く行う。

注⁽¹⁴⁾ ソックスレー抽出においては試料中に残存する水分の影響で抽出効率が悪くなるおそれがあるので、水分の適切な除去を行い抽出する。又、ソックスレー/ディーンスターク形抽出器を用いる方法(EPA Method 1613 など参照)も推奨される。

液体捕集部()

吸収液と洗浄液は分液漏斗に入れ、溶液 1L に対してジクロロメタン 100mL で 3 回液 - 液振とう抽出を行い、硫酸ナトリウムを用いて脱水する。

吸着捕集部

トルエンで 16 時間以上ソックスレー抽出を行う⁽¹⁴⁾。

液体捕集部()

吸収液と洗浄液は分液漏斗に移し同量のヘキサン洗浄水を加え、1L に対してジクロロメタン 50mL で 3 回液 - 液振とう抽出を行い、硫酸ナトリウムを用いて脱水する。

2) 抽出液の調製

各捕集部から得られた抽出液を合わせて一定量とし、抽出液とする。

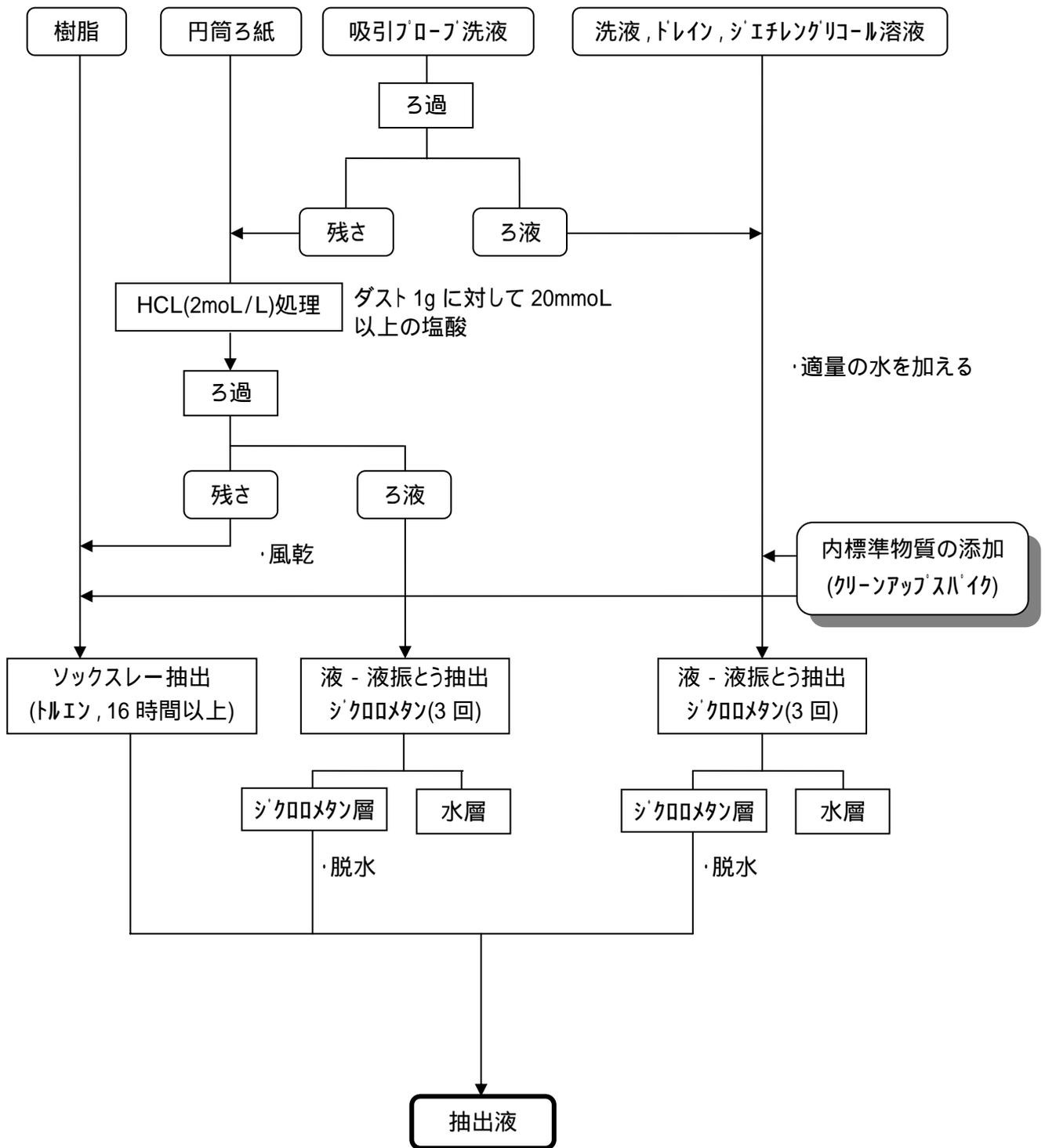


図 15 排ガス試料の抽出液調製までのフローの例

(2) 水質

水質試料の抽出操作は、試料の量、共存有機物の量などを考慮し、固相抽出法、液-液振とう抽出法から選択する。水質試料の抽出液調製までのフローの例を図 16 に示す。

1) 固相抽出法

固相抽出法による抽出操作は、次による。全ての抽出操作を遮光下にて行う。

ろ過

試料をガラス繊維ろ紙(保留粒子径 0.5 μm 程度)⁽¹⁵⁾でろ過し、ろ過残留物とろ液に分ける。

抽出用固相の準備

抽出用固相をベース上のサポートスクリーンの上に置き、トルエンを浸潤させる。その上にファンネルを置き、クランプで固定して固相抽出装置をセットした後、トルエン約 15mL を注ぎ、液滴が落ち始めるまでしばらく吸引した後、1 分程度吸引を緩める。再び吸引してトルエンを除く。アセトン約 15mL を注ぎ、トルエンと同様の操作を行う。これを 2 回繰り返す。メタノール 15mL で抽出用固相を 1 分程度浸潤し、メタノールが抽出用固相に固相表面から 1mm 程度残るまで吸引する。以後、抽出操作終了まで抽出用固相を乾かさないように注意しながら、ヘキサン洗浄水を 50mL ずつ 2 回通水する。

抽出

で得たる液を、で準備した固相抽出装置のファンネルに注ぎ、吸引ろ過を行う⁽¹⁶⁾。通水量は、100mL/min 程度とする。

ファンネル内の試料がなくなる前に、試料容器の器壁を少量の水で洗い、ファンネルに注ぐ。同様に、ファンネルの内壁を少量の水で洗浄する。ファンネル内の水がなくなるまで吸引し、水切りを十分に行ってから、抽出用固相を取り外し、風乾を行う。

十分に乾燥させた後、で得たるろ過残留物と合わせて、トルエンを用いて 16 時間以上ソックスレー抽出を行う。

試料容器内壁をトルエン又はジクロロメタンで洗浄し、洗浄液を硫酸ナトリウムで脱水後、ソックスレー抽出液と合わせる。

この抽出液を濃縮器で濃縮し、全量フラスコ 10mL(又は 50mL)に入れ、トルエンを標線まで加える。

注⁽¹⁵⁾ 浮遊物が多く目詰まりしやすい試料では、保留粒子径の大きいろ紙を用いて多段階のろ過を行った後、保留粒子径 0.5 μm 程度のガラス繊維ろ紙でろ過を行っても良い。

注⁽¹⁶⁾ 吸着破過を起こす通水量の確認ができていない試料については、1 枚の抽出用固相(90mm ディスクの場合)への通水量を 5L 以下とする。

2) 液-液振とう抽出法

液-液振とう抽出法による抽出操作は、次による。全ての抽出操作を遮光下にて行う。

ろ過

試料をガラス繊維ろ紙(保留粒子径 0.5 μm 程度)⁽¹⁵⁾でろ過し、ろ過残留物とろ液に分ける。

抽出

で得たる液を分液漏斗に入れ、ろ液 1L に対してトルエン又はジクロロメタンを 100mL の割合で添加し、約 20 分間振り混ぜて抽出する。トルエンについては抽出を 3 回、ジクロロメタンについては抽出を 3 回行い、硫酸ナトリウムで脱水し、抽出液を合わせる。

で得たガラス繊維ろ紙上のろ過残留物は風乾後、トルエンを用いて 16 時間以上ソックスレー抽出を行い、この抽出液を上記抽出液と合わせる。

試料容器内壁をトルエン又はジクロロメタンで洗浄し、洗液を硫酸ナトリウムで脱水後、上記抽出液と合わせる。

この抽出液を濃縮器で濃縮し、全量フラスコ 10mL(又は 50mL)に入れ、トルエンを標線まで加える。

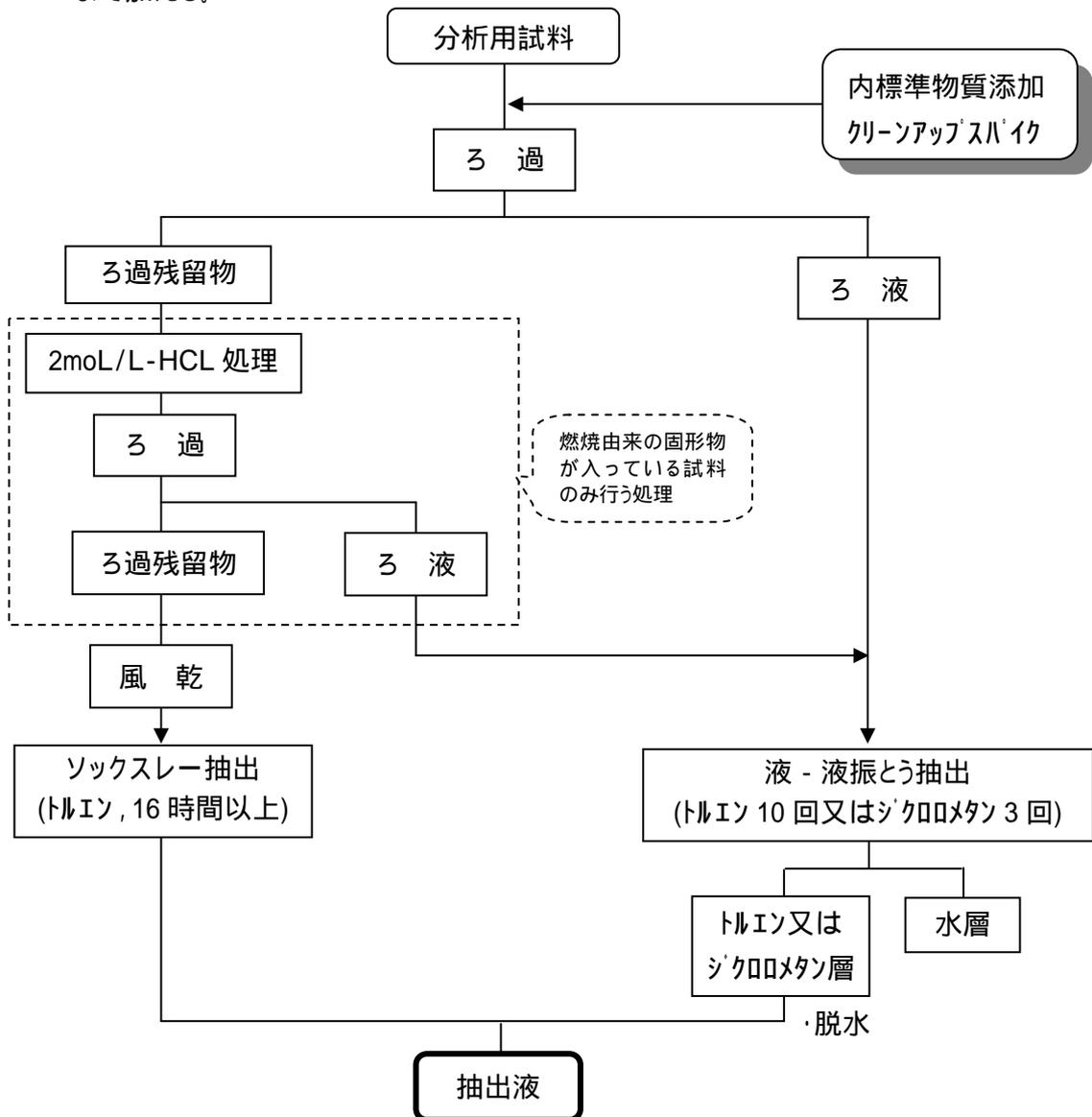


図 16 水質試料の抽出液調製までのフローの例(液-液振とう抽出法)

(3) 環境大気

クリーンアップスパイクとして内標準物質を添加したポリウレタンフォームと石英繊維ろ紙は、それぞれ別々に遮光下にて抽出操作を行う。環境大気試料の抽出液調製までのフローの例を図17に示す。

石英繊維ろ紙は、16～24時間トルエンソックスレー抽出を行う。

試料採取したポリウレタンフォームは16～24時間アセトンソックスレー抽出を行う。

(a)と(b)から得られた抽出液を合わせて一定量まで溶媒を加え抽出液とする。

別に操作ブランク試験用、トラベルブランク試験用、二重測定用のろ紙、ポリウレタンフォームも同様に操作して抽出する⁽⁷⁾⁽⁸⁾。

注⁽⁷⁾は、第1節 3.3(2)の注参照。

注⁽⁸⁾は、第1節 3.3(3)の注参照。

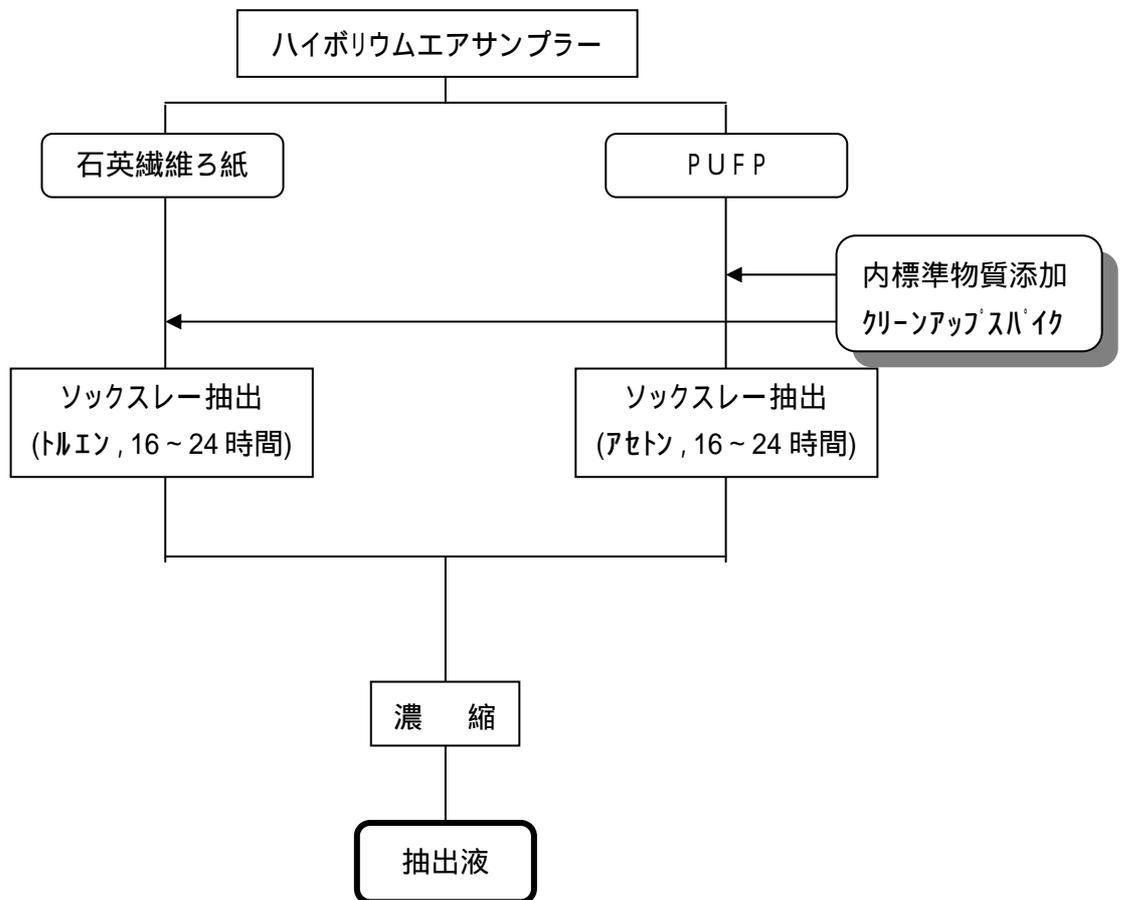


図17 環境大気試料の抽出液調製までのフローの例

(4) 土壌

土壌試料の抽出操作は、全て遮光下にて行う。試料を円筒ろ紙に 10～50g 秤り取り、16 時間以上のトルエンソックスレー⁽¹⁷⁾抽出を行う。得られた抽出液に一定量まで溶媒を加えて抽出液とする。別に操作ブランク試験用、二重測定用試料も同様に操作して抽出する。土壌試料の抽出液調製までのフローの例を図 18 に示す。

注⁽¹⁷⁾ セルロース製の円筒ろ紙を使用する場合は、使用に先立ってアセトン洗浄し、さらにトルエンでソックスレー抽出器を用いて予備洗浄する。ガラスまたは石英繊維製のものを使用する場合は同様に予備洗浄するか、または 400 ℃ で数時間加熱処理を行う。

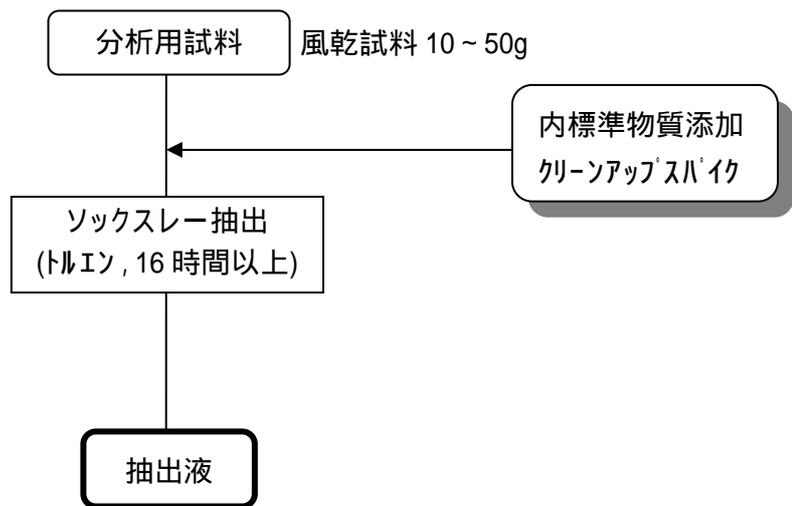


図 18 土壌試料の抽出液調製までのフローの例

(5) 底質

実験室に持ち帰った試料は、小石、貝類、動植物片などの異物を取り除く。その後、汚染を受けないような状態で遮光下で風乾する⁽¹³⁾。乾燥後、孔径 2mm のふるいを通し、さらに磁性乳鉢、ブレンダーなどで粉碎均一化する。これをデシケータ内で十分乾燥させた後、10～50g を円筒ろ紙に秤り取り、16 時間以上のトルエンソックスレー抽出⁽¹⁸⁾ ⁽¹⁹⁾を行う。別に操作ブランク試験用、二重測定用試料も同様に操作して抽出する。底質試料の抽出液調製までのフローの例を図 19 に示す。

注⁽¹³⁾は、第 2 節 4.3 (1) の注参照。

注⁽¹⁸⁾ 次の 2 方法 (湿泥 - n-ヘキサン抽出法、湿泥 - ソックスレー抽出法) を用いることもできる。また、遮光下で抽出操作を行う。

注⁽¹⁹⁾ 硫黄分を除去するため、銅粉または銅チップを入れておく。

1) 湿泥 - n-ヘキサン抽出法

試料を孔径 2mm のふるいを通し、十分混合した後 10～50g をフラスコに秤り取る。これに 1mol/L 水酸化カリウムエタノール溶液を適量入れ、1 昼夜放置する。これをガラス繊維ろ紙でろ過し、ろ液に対し n-ヘキサンによる液 - 液振とう抽出を行う。n-ヘキサン溶液中の水分を硫酸ナトリウムで除去する。

2) 湿泥 - ソックスレー抽出法

試料を孔径 2mm のふるいを通し、十分混合した後 10～50g をフラスコに秤り取る。これにアセトン又はメタノールを適量加え、十分混合した後、ガラス繊維ろ紙でろ過する。ろ紙上の試料はろ紙と共に乾燥させ、乾燥後トルエンを用いて 24 時間以上ソックスレー抽出を行う。ろ液はトルエンで液 - 液振とう抽出操作を行い、溶液中の水分を硫酸ナトリウムで除去した後、ソックスレー抽出液と混合する。

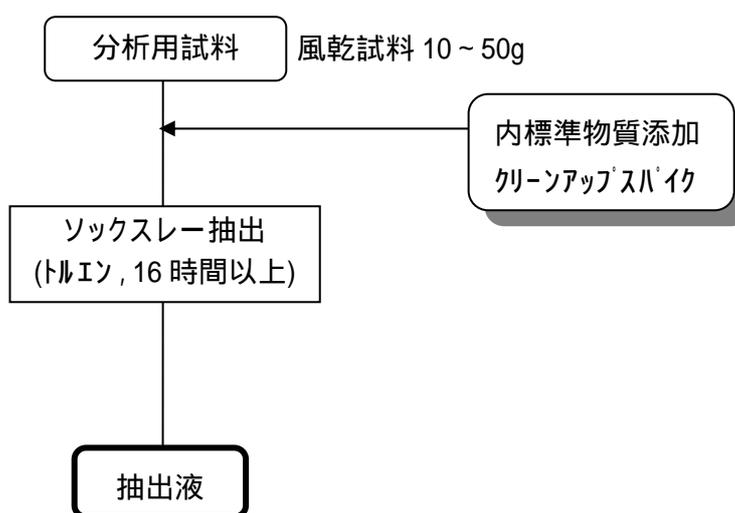


図 19 底質試料の抽出液調製までのフローの例

(6) 水生生物

試料をブレンダーなどで粉碎均一化し、100g程度をフラスコに秤り取り、これに1mol/L水酸化カリウムエタノール溶液を200mL加え、1夜室温で放置する。この溶液に水400mL添加し、n-ヘキサン100mLで10分間3回液-液振とう抽出を行う。生物の種類によってはアルカリで完全に分解不可能な部位があるので、この場合、ガラス繊維ろ紙でろ過を行う。ろ紙上の物質はヘキサンで洗浄し、洗浄液はろ液と合わせこれに対してn-ヘキサンによる液-液振とう抽出を行う。その後n-ヘキサン溶液中の水分を硫酸ナトリウムで除去する。そこへ一定量の溶媒を加えて抽出液とする。別に操作ブランク試験用、二重測定用試料も同様に操作して抽出する。抽出操作は、全て遮光下で行う。水生生物試料の抽出液調製までのフローの例を図20に示す。

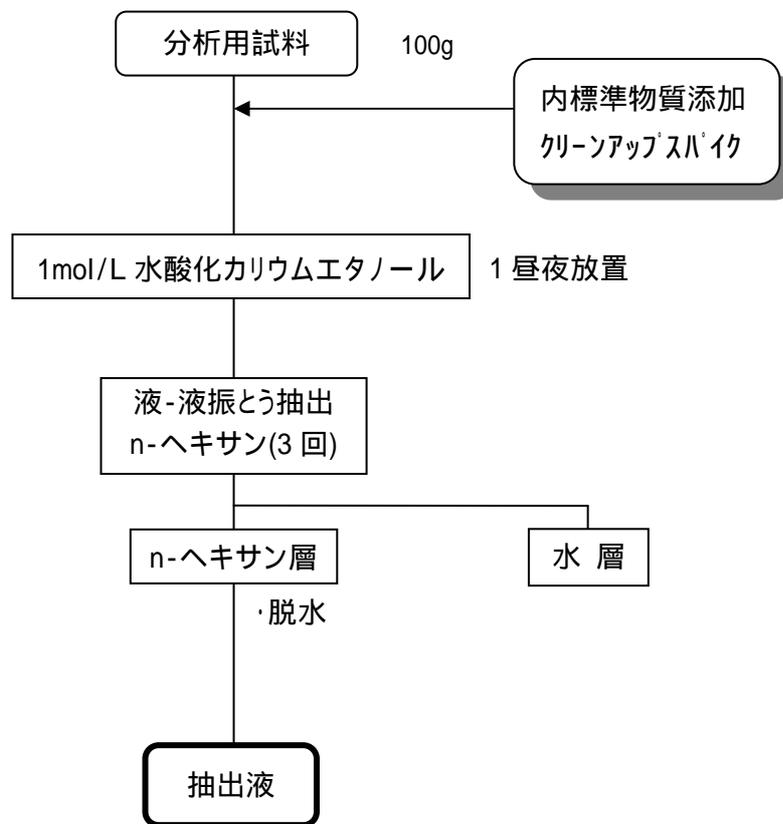


図 20 水生生物試料の抽出液調製までのフローの例

4.4 クリーンアップ

(1) 多層シリカゲルカラムクロマトグラフ操作又は硫酸処理-シリカゲルカラムクロマトグラフ操作

4.3 で得られた抽出液を多層シリカゲルカラムクロマトグラフ操作, または硫酸処理-シリカゲルカラムクロマトグラフ操作のいずれかで妨害物質を取り除く。

1) 多層シリカゲルカラムクロマトグラフ操作⁽²⁰⁾⁽²¹⁾⁽²²⁾

3.5 のカラムクロマトグラフ管(内径は 15mm のもの)の底部に石英ガラスウールを詰め, シリカゲル 0.9g, 水酸化カリウム[2% (質量分率)]シリカゲル 3g, シリカゲル 0.9g, 硫酸[44% (質量分率)]シリカゲル 4.5g, 硫酸[22% (質量分率)]シリカゲル 6g, シリカゲル 0.9g, 硝酸銀[10% (質量分率)]シリカゲル 3g 及び硫酸ナトリウム 6g を順次ヘキサンで湿式充てんする。このカラムの一例を図 21 に示す。

ヘキサン 50mL を流下させた後, 液面を硫酸ナトリウムの上面まで下げる。

4.3 で得られた抽出液の適量を必要に応じて分取し⁽²³⁾, 濃縮器で約 5mL に濃縮し, 次の窒素気流によって抽出溶媒を除去し⁽²⁴⁾, 約 500 μ L とする。この液をカラムに静かに注ぎ入れ, 液面をカラム上端まで下げる。

ヘキサン 1mL で抽出液の容器を洗浄し, 洗液はカラム内壁を洗いながら入れる。この洗浄操作を 2~3 回繰り返す。

ヘキサン 200mL の入った滴下用分液漏斗をカラムクロマトグラフ管の上部に装着し, 約 2.5mL/min(毎秒 1 滴程度)の流量で流下させる⁽²⁵⁾。

溶出液を濃縮器で約 5mL に濃縮し, アルミナカラムクロマトグラフ操作または活性炭カラムクロマトグラフ操作の試料液とする。充てん部の着色が多い場合は, ~ の操作を繰り返す。

注⁽²⁰⁾ 硝酸銀[10% (質量分率)]シリカゲルは特に硫黄分が多い試料に対して用いると効果的である。

注⁽²¹⁾ 底質試料については, 銅粉または銅チップなどを使用して硫黄分を除去する。

注⁽²²⁾ 多層シリカゲルカラムクロマトグラフ操作による方法で妨害成分を十分に除去できないと思われる場合は, 硫酸処理を行ってから多層シリカゲルカラムクロマトグラフ操作を行う。

注⁽²³⁾ 再測定が必要な場合があるため, 抽出液の一部を保存しておくことが望ましい。

注⁽²⁴⁾ 窒素気流による濃縮操作によって目的物質の損失を招かないように, 溶液の表面が動いているのがようやく見える程度に窒素気流を調節して溶液が飛散ないように注意し, また, 完全に乾固させてはならない。溶液に大きな渦ができるほど窒素を吹き付けたり, 完全に乾固させると目的物質の損失を招くことがある。

注⁽²⁵⁾ カラムクロマトグラフ操作における PBDDs 及び PBDFs の溶出条件は, 濃度既知の抽出液や PBDDs, PBDFs の標準液を添加した液などを用いて分画試験を行って確認しなければならない。また, 標準物質の全てを入手する事が困難なため, 分画範囲は塩素化ダイオキシン類の出始めから OBDD の出終わりとする。なお, 多層シリカゲルカラムにおいてヘキサンで溶出しない場合は, ジクロロメタン(2vol%)を含むヘキサン溶液などにより溶出する。

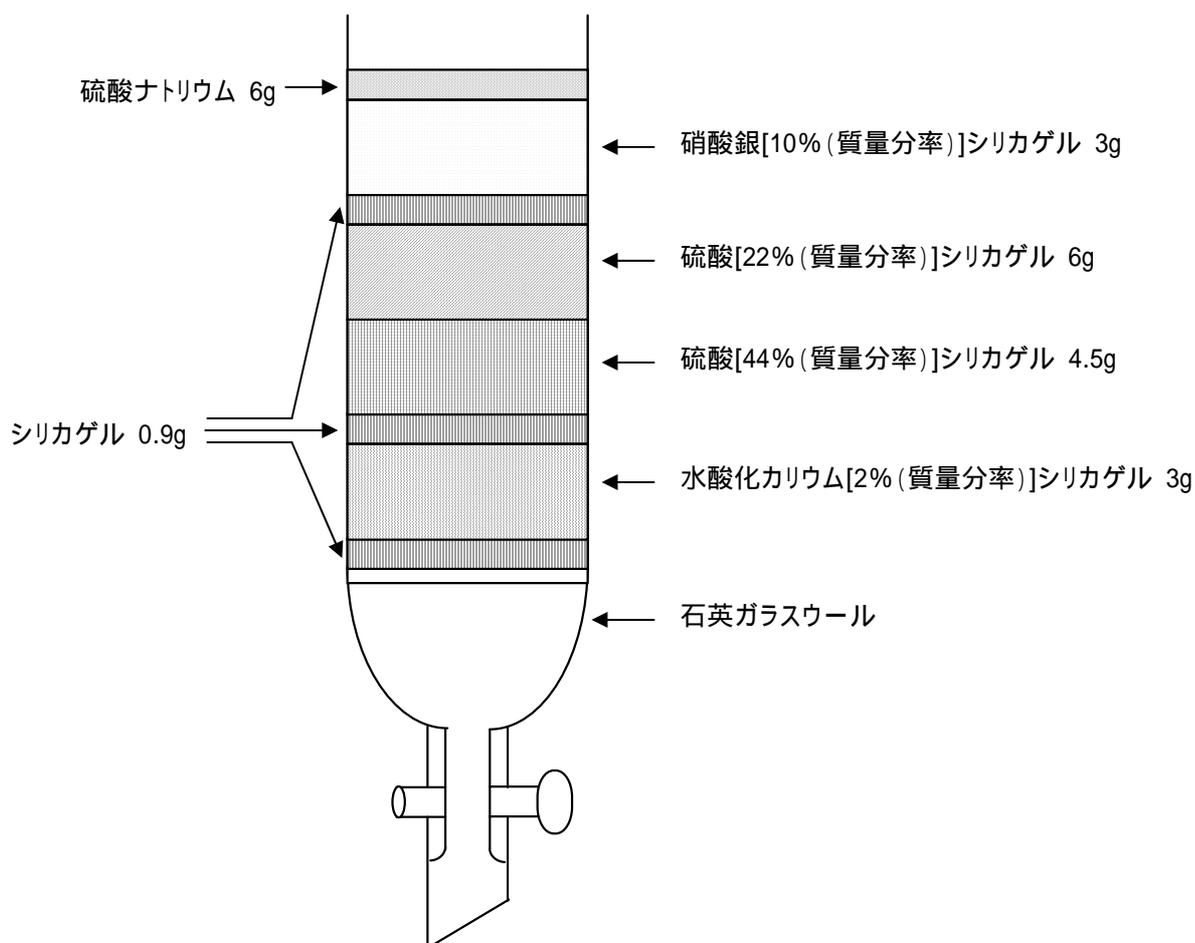


図 21 多層シリカゲルカラムの一例

2) 硫酸処理-シリカゲルカラムクロマトグラフ操作⁽²¹⁾

4.3で得られた抽出液の適量を必要に応じて分取し⁽²³⁾、濃硫酸5mLを加え、穏やかに振とうし、静置後、硫酸層を除去する。この操作を硫酸層の着色が薄くなるまで繰り返す。

ヘキサン層をヘキサン洗浄水 50mL で洗浄し、洗液がほぼ中性になるまで繰り返し洗浄し、ガラス製漏斗下部にガラスウールを詰め、硫酸ナトリウムを積層したもので脱水後、ロータリーエバポレーターを用いて約 2mL まで濃縮する。

3.5 のカラムクロマトグラフ管の底部に石英ガラスウールを詰め、ヘキサン 10mL で管内を洗浄し、石英ガラスウール上部までヘキサンを残す。シリカゲル 3g をヘキサン 10mL を入れたビーカーにはかりとり、ガラス棒で緩やかにかき混ぜて気泡を除き、カラムクロマトグラフ管に充てんする。ヘキサンを流下させ、シリカゲル層を安定させた後、その上に硫酸ナトリウムを約 10mm の厚さになるように載せ、ヘキサン数 mL で管壁に付着している硫酸ナトリウムを洗い落とす。ヘキサン 50mL を流下させた後、液面を硫酸ナトリウムの上面まで下げる。

で調製した試験液を静かに移し入れ、ヘキサン 1mL で数回洗い込み、液面を硫酸ナトリウムまで下げた後、ヘキサン 200mL を約 2.5mL/min(毎秒 1 滴程度)で流下させる。

溶出液は、ロータリーエバポレーターを用いて約 2mL まで濃縮し、アルミナカラムクロマトグラフ操作または活性炭カラムクロマトグラフ操作に供する。

(2) フロリジルカラムクロマトグラフ操作

- 1) 3.5 のカラムクロマトグラフ管の底部に石英ガラスウールを詰め、ヘキサン 10mL で管内を洗浄し、石英ガラスウール上部までヘキサンを残す。フロリジル(1%含水) 5g をヘキサン 10mL を入れたビーカーにはかりとり、ガラス棒で緩やかにかき混ぜて気泡を除き、カラムクロマトグラフ管に充てんする。ヘキサンを流下させ、フロリジル層を安定させた後、その上に硫酸ナトリウムを約 10mm の厚さになるように載せ、ヘキサン数 mL で管壁に付着している硫酸ナトリウムを洗い落とす。ヘキサン 50mL を流下させた後、液面を硫酸ナトリウムの上面まで下げる。
- 2) (1)で調製した試験液を静かに移し入れ、ヘキサン 1mL で数回洗い込み、液面を硫酸ナトリウムまで下げた後、ヘキサン 150mL を約 2.5mL/min(毎秒 1 滴程度)で流下する。
- 3) 更にジクロロメタン(50vol%)を含むヘキサン溶液 200mL を約 2.5mL/min で流して第 2 画分を得る。この画分には PBDDs 及び PBDFs が含まれる。
- 4) 第 2 画分をロータリーエバポレーターを用いて約 2mL まで濃縮し、アルミナカラムクロマトグラフ操作または活性炭カラムクロマトグラフ操作に供する。

(3) アルミナカラムクロマトグラフ操作または活性炭カラムクロマトグラフ操作⁽²⁶⁾

(1)または(2)で調製した試料液について、アルミナカラムクロマトグラフ操作または活性炭カラムクロマトグラフ操作を行い、測定用試料とする。

1) アルミナカラムクロマトグラフ操作

3.5 のカラムクロマトグラフ管の底部に石英ガラスウールを詰め、ヘキサン 10mL で管内を洗浄し、石英ガラスウール上部までヘキサンを残す。アルミナ 10g⁽²⁷⁾をヘキサン 10mL を入れたビーカーにはかりとり、ガラス棒で緩やかにかき混ぜて気泡を除き、カラムクロマトグラフ管に充てんする。ヘキサンを流下させ、アルミナ層を安定させた後、その上に硫酸ナトリウムを約 10mm の厚さになるように載せ、ヘキサン数 mL で管壁に付着している硫酸ナトリウムを洗い落とす。ヘキサン 50mL を流下させた後、液面を硫酸ナトリウムの上面まで下げる。

(1)で得た第 2 画分の濃縮液(または(2)で得た第 2 画分の濃縮液)を静かに移し入れ、ヘキサン 1mL で数回洗い込み、液面を硫酸ナトリウムまで下げた後、ジクロロメタン(2vol%)含むヘキサン溶液 100mL を約 2.5mL/min (毎秒 1 滴程度)で流して第 1 画分を得る。この画分は測定が終了するまで保管する。

更にジクロロメタン(50vol%)を含むヘキサン溶液 150mL を約 2.5mL/min で流して第 2 画分を得る。この画分には PBDDs 及び PBDFs が含まれる⁽²⁵⁾。

第 2 画分をロータリーエバポレーターを用いて約 5mL まで濃縮し、更に窒素気流によって溶媒を揮散除去し⁽²⁴⁾、シリジスパイク用内標準物質を検量線作成用標準液と同等となるように添加し、ノナン⁽²⁸⁾を加え、再度窒素気流で⁽²⁴⁾一定液量(20 ~ 100 μ L)にしたものを測定用試料とする。

注⁽²⁶⁾ 場合によっては、アルミナカラムクロマトグラフ操作及び活性炭カラムクロマトグラフ操作の二つの方法を用いてもよい。

注⁽²⁷⁾ アルミナの活性は製造ロット及び開封後の保存期間によってかなり変化が認められるため、濃度既知の抽出液や PBDDs 及び PBDFs の標準液を添加した液などを用いた分画試験で活性度を確認する必要がある。

注⁽²⁸⁾ トルエン、デカン又は 2,2,4-トリメチルペンタンを用いても良い。

2) 活性炭カラムクロマトグラフ操作

3.5 のカラムクロマトグラフ管の底部に石英ガラスウールを詰め、その上に硫酸ナトリウムを厚さ約 10mm、活性炭を含浸させたシリカゲルを 1g、硫酸ナトリウムを厚さ約 10mm に積層して充填する。トルエンを流下させて十分洗浄した後、ヘキサンを流下させてカラム内をヘキサンに置換する。

参考 活性炭を含浸させたシリカゲルとして、例えば、活性炭埋蔵シリカゲル、活性炭分散シリカゲルなどがある。

(1) で得た第 2 画分の濃縮液(または(2) で得た第 2 画分の濃縮液)をカラムに注入し、ジクロロメタン(25vol%)を含むヘキサン溶液 150 ~ 200mL を約 2.5 mL/min で流下させ、第 1 画分を得る。

次いで、トルエン 300mL で溶出し、第 2 画分を得る。この画分に PBDDs 及び PBDFs が含まれる⁽²⁵⁾。

なお、活性炭リバースカラムを使用する場合は、(1) で得た第 2 画分の濃縮液(または(2) で得た第 2 画分の濃縮液)をカラムに注入し、ヘキサン 60mL、ジクロロメタン(25vol%)を含むヘキサン溶液 60mL を約 2.5 mL/min で流下させ、第 1 画分を得る。次いで、カラムを反転し、トルエン 40mL で溶出し、第 2 画分を得る。この画分に PBDDs 及び PBDFs が含まれる⁽²⁵⁾。

第 2 画分を濃縮器で約 5mL に濃縮し、更に窒素気流によって溶媒を揮散除去し⁽²⁴⁾、シリジスパイク用内標準物質を検量線作成用標準液と同等となるように添加し、ノナン⁽²⁸⁾を加え、一定液量(20 ~ 100 μ L)にしたものを測定用試料とする。