

<p>調製、保管にあたっては極力遮光する。</p> <p>x) <u>液体クロマトグラフ用カーボンカラム</u> 液体クロマトグラフ用のグラファイトカーボンカラム。又は、それと同等の分離性能をもつもの。例えば、<u>Hypersil 社製 Hypercarb</u> (内径 4.6mm, 長さ 100mm) などがある。</p> <p>y) <u>活性炭カラム充てん材</u> 活性炭を含浸又は分散させたシリカゲル, 又は、それと同等の分離性能をもつもの。例えば、<u>活性炭埋蔵シリカゲル</u> (和光純薬工業株式会社), <u>活性炭分散シリカゲル</u> (関東化学株式会社) などがある。</p> <p>z) <u>ガラス繊維ろ紙</u> 孔径 $0.5\mu\text{m}$ 程度のもの。プフナー漏斗に用いる。</p> <p>6.3 器具及び装置 試料の前処理に用いる器具及び装置は、メタノール (又はアセトン) 及びトルエン (又はジクロロメタン) 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。</p> <p>a) <u>ガラス器具</u> JIS R 3503 及び JIS R 3505 に規定するもの。コックの部分がふっ素樹脂製のものも用いてもよい。</p> <p>e) <u>カラムクロマトグラフ管</u> 内径 10mm, 長さ 300mm (又は内径 15mm, 長さ 300mm) の<u>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それと同等の材質のカラムクロマトグラフ管</u>。</p> <p>g) <u>高速液体クロマトグラフ</u></p> <p>6.4 前処理操作</p> <p>6.4.2 内標準物質の添加 (クリーンアップスパイク) ろ過, 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(2)を一定量添加する。添加量は, 通常, 四塩素化物から七塩素化物では $0.1\sim 2\text{ng}$, 八塩素化物では $0.2\sim 4\text{ng}$, <u>DL-PCB</u> では $0.1\sim 2\text{ng}$ である。試料中のダイオキシン類の濃度が非常に</p>	<p>z) <u>ガラス繊維ろ紙</u> 保留粒子径 $0.6\mu\text{m}$ 程度のもの。プフナー漏斗に用いる。</p> <p>6.3 器具及び装置 試料の前処理に用いる器具及び装置は、メタノール (又はアセトン) 及びトルエン (又はジクロロメタン) 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。</p> <p>a) <u>ガラス器具</u> JIS R 3503 及び JIS R 3505 に規定するもの。</p> <p>e) <u>カラムクロマトグラフ管</u> 内径 10mm, 長さ 300mm (又は内径 15mm, 長さ 300mm) のカラムクロマトグラフ管。</p> <p>6.4 前処理操作</p> <p>6.4.2 内標準物質の添加 (クリーンアップスパイク) ろ過, 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(2)を一定量添加する。添加量は, 通常, 四塩素化物から七塩素化物では $0.4\sim 2\text{ng}$, 八塩素化物では $0.8\sim 4\text{ng}$, <u>コプラナーPCB</u> では $0.4\sim 2\text{ng}$ である。試料中のダイオキシン類又はコプラナーPCB の濃度が非常に</p>	<p>ととした</p> <ul style="list-style-type: none"> ●液体クロマトグラフ用カーボンカラムについての規定が追加された。 ●活性炭カラム充てん剤についての規定が追加された。 ●ろ紙の荒さについて、6.4.3 1)との整合をとった (間違いの修正)。 ●特に支障がないため、コック部分がふっ素樹脂のものでもよいこととした。 ●ダイオキシン類の吸着、混入、妨害物質の溶出のないものとの条件が付いた。 ●高速液体クロマトグラフを追加。 ●内標準物質の最低添加量が減った。 (装置の感度が向上したことと添加量が多いと測定に支障を来すため。)
---	---	--

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よい。また、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。

注(2) クリーンアップスパイクの内標準物質は、PCDDs 及び PCDFs については少なくとも塩素数ごとに 2, 3, 7, 8-塩素置換体を最低 1 種類ずつ、PCB についてはノンオルト体の DL-PCB を全種類、モノオルト体の DL-PCB 又はその他の PCB を塩素化物ごとに 1 種類ずつそれぞれ添加する。できれば毒性等価係数のある化合物はすべて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化合物を用いるが、内標準物質によっては、GC/MS 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（附属書 2 参照）。

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、50～120%の範囲内でなければならない。その範囲内でない場合には、再度前処理をやり直す。

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よい。また、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。ただし、試料中のダイオキシン類又はコプラナーPCB 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にした後、その約 1/2 を正確に分取してから(3)、クリーンアップスパイク用内標準物質を添加する。

注(2) クリーンアップスパイクの内標準物質は、ダイオキシン類については少なくとも各塩素数ごとに 2, 3, 7, 8-塩素置換体を最低 1 種類ずつ、コプラナーPCB についてはノンオルト体を全種類、モノオルト体又はジオルト体を各塩素化物ごとに 1 種類ずつそれぞれ添加する。

添加する内標準物質は、シリンジスパイクとは別の化合物を用いるが、内標準物質によっては、GC/MS 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。表 2 にダイオキシン類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、50～120%の範囲内でなければならない。その範囲内でない場合には、再度前処理をやり直す。

●濃度が予測できない試料は現在ほとんどないため、これに関する規定が削除された。

●近年コプラナーPCB 以外の ¹³C ラベル体が合成されるようになってきたため、その他の PCB の内標準物質も追加。

6.4.3 試料からの抽出 内標準物質を添加した試料からの抽出は、試料の量、共存有機物の量などを考慮し、固相抽出法、液-液抽出法から選択する。

a) 試料のろ過 内標準物質を添加した試料をガラス繊維ろ紙（孔径 $0.5\mu\text{m}$ 程度）(3)で吸引ろ過し、ろ過残留物とろ液に分ける。

注(3) 浮遊物が多く目詰まりしやすい試料では、孔径の大きいろ紙を用いて多段階のろ過を行った後、孔径 $0.5\mu\text{m}$ 程度のガラス繊維ろ紙でろ過を行ってもよい。

参考 市販品には孔径の代わりに保留粒子径と表示しているものがある

b) ろ液からの抽出 ろ液からの抽出は、固相抽出法又は液-液抽出法のいずれかで行う。

1) 固相抽出法 抽出用固相には、ディスク型、カラム型及びカートリッジ型のものがあり、次の条件を満足しているものであれば、どれを用いてもよい。

注(3) 残りの抽出液は、再測定する場合に備えて一定期間冷暗所に保存する。

6.4.3 試料からの抽出 内標準物質を添加した試料からの抽出は、試料の量、共存有機物の量などを考慮し、固相抽出法、液-液抽出法から選択する。

a) 固相抽出法 固相抽出法による抽出操作は、次による。

1) ろ過 内標準物質を添加した試料をガラス繊維ろ紙（保留粒子径 $0.5\mu\text{m}$ 程度）(4)で吸引ろ過し、ろ過残留物とろ液に分ける。

2) 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、約 1 分間吸引を緩める。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 で抽出用固相を約 1 分間浸潤し、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う注意し

●K0312:1999 の 6.4.3 a) 1)、6.4.3 b) 1) に対応（固相抽出と液-液抽出の前のろ過手順を共通化）。

●K0312:1999 の 6.4.3 a) 注(4)に対応

●抽出用固相について一定要件を満たすことを前提に複数の種類から選択できることとし、調製方法についても選択した固相の推奨方法に従うこととした。

抽出は、選択した抽出用固相に試料を通水し(4)、通水後、水分を十分除去する。水分を除去した固相をソックスレー抽出などにかけて、溶媒中に抽出する。操作の詳細は、選択した抽出用固相の推奨する方法に従う。

1.1) JIS K 0557 に規定する A3 の水又は水道水に内標準を添加した試料 20L を通水した場合の回収率が 90%以上である。定量下限付近及び定量下限の 10 倍の各濃度で 2 回以上行った平均値で確認する。

1.2) 水道水を 100L 通水しても、ダイオキシン類の損失が認められない。固相にクリーンアップスパイク用内標準を添加した後、水道水 100L を通水して添加した内標準物質の回収率を求め、その回収率が 70~130%の範囲にあることを確認する。

注(4) 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 枚の抽出用固相への通水量を 5L 以下とする。

2) 液-液抽出法 液-液抽出法による抽出操作は、次による。攪拌抽出法などのこの操作方法以外の方法であっても、抽出効率が 90%以上であることが確認できれば、用いてもよい。

ながら、ヘキサン洗浄水を 50ml ずつ 2 回通水する。

3) 抽出 1)で得たる液を 2)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(5)。通水量は、約 100ml/min 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。

十分乾燥させた後、1)で得たガラス繊維ろ紙上の残留物と合わせて、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(4) 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 μ m 程度のガラス繊維ろ紙でろ過を行ってもよい。

(5) 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。

b) 液-液抽出法 液-液抽出法による抽出操作は、次による。

●固相からの抽出方法について、ソックスレー抽出以外に、抽出用固相に応じた方法を認めることとした。

●改正案 6.4.3 a) 注(3)に移動

●液-液抽出法について、一定要件を満たすことを前提に、多様な方法を認めることとした。

<p>2.1) 抽出 a)で得たろ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、振とう幅約 5cm、毎分 100 回以上で約 20 分間振り混ぜて抽出する。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。</p> <p>c) <u>ろ過残渣からの抽出</u> ろ過残渣からの抽出は、風乾後、ソックスレー抽出又はそれと同等の抽出方法で抽出を行い、この抽出液を上記抽出液と合わせる。抽出には長時間要するので、抽出中の光分解に注意する。ソックスレー抽出法と同等かどうかの判定は、飛灰の標準試料を測定して測定結果が標準値と一致しているか、飛灰などの試料をソックスレー抽出法と併行して測定して測定結果が一致するかで判定する。判定には、少なくとも 3 試料 3 回の繰返しの際の計 9 個のデータを用いる。</p> <p>d) <u>抽出液の調製</u> 上記のろ液からの抽出液及びろ過残渣からの抽出液を一つに合わせ、さらに、試料容器内壁をトルエン又はジクロロメタンで洗浄した洗液を硫酸ナトリウムで脱水後、この抽出液に合わせる。これを濃縮器で濃縮し、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。</p> <p>6.4.4 <u>硫酸処理—シリカゲルカラムクロマトグラフ操作又は多層シリカゲルカラムクロマトグラフ操作</u> 6.4.3 で得られた抽出液の適量を分取し(5)、濃縮器で約 5mL に濃縮し、次いで、窒素気流によってトルエンを除去し(6)、</p>	<p>1) <u>ろ過</u> 内標準物質を添加した試料をガラス繊維ろ紙 (保留粒子径 0.5 μm 程度) (4)でろ過し、ろ過残留物とろ液に分ける。</p> <p>2) <u>抽出</u> 1)で得たろ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 10 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。</p> <p>1)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。</p> <p style="text-align: right;">試料容器内壁</p> <p>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。</p> <p>6.4.4 <u>硫酸処理—シリカゲルカラムクロマトグラフ操作又は多層シリカゲルカラムクロマトグラフ操作</u> 6.4.3 で得られた抽出液の適量を硫酸処理—シリカゲルカラムクロマトグラフ操作又は多層シリカゲルカラムクロマト</p>	<p>●改正案 6.4.3 a)に対応 (ろ過手順を固相抽出法と共通化)</p> <p>●抽出に関する詳細な規定が追加、トルエン、ジクロロメタンごとの規定は削除。</p> <p>●ろ過残渣からの抽出手順をメイン抽出とは別途行うこととし、固相抽出法と液—液抽出法で共通化。</p> <p>●ろ過残渣からの抽出について、</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ソックスレーと同等の抽出方法でも使用可能となった。 ・光分解への注意を追加 ・ソックスレーと同等かどうかの判断基準を追加 <p>●K0312:1999 の 6.4.4 a) 1)及び 6.4.4b)3) に対応 (同内容)</p>
--	--	---