

約 500 μ l の濃縮液とする。この濃縮液を、次に示す硫酸処理—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により精製する。

注(5) 再測定の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。

(6) 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しないように注意し、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つけたり、完全に乾固させると、目的物質の損失を招くことがある。

a) 硫酸処理—シリカゲルカラムクロマトグラフ操作
硫酸処理—シリカゲルカラムクロマトグラフ操作の手順は次による。

なお、ここに示す手順は標準的なものであり、精製の効果を十分得ることが可能であれば、必ずしもこのとおりでなくてもよい。

4) シリカゲルカラムにヘキサン 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、3) で調製した溶液をカラムに静かに移し入れ、ヘキサン 1ml で数回洗い込み、液面を硫酸ナトリウム面まで下げ、ヘキサン 150ml を入れ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、ヘキサンを約 2.5ml/min (毎秒 1 滴程度) の流量でゆっくり流下させる (8)。

グラフ操作のいずれかで妨害物質を取り除く。

a) 硫酸処理—シリカゲルカラムクロマトグラフ操作
硫酸処理—シリカゲルカラムクロマトグラフ操作の手順は次による(6)。

1) 6.4.3 で得られた抽出液の適量を分取し(7)、濃縮器で 5ml に濃縮し、次いで、窒素気流によってトルエンを除去し(8)、約 500 μ l とする。

5) シリカゲルカラムにヘキサン 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、3) で調製した溶液をカラムに静かに移し入れ、ヘキサン 1ml で数回洗い込み、液面を硫酸ナトリウム面まで下げ、ヘキサン 150ml を入れ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、ヘキサンを約 2.5ml/min (毎秒 1 滴程度) の流量でゆっくり流下させる (10)。

●K0312:1999 の 6.4.4 a) 注(7)に対応 (同内容)

●K0312:1999 の 6.4.4 a) 注(8)に対応 (同内容)

●操作の手順を例示規定化し、他の方法も認めることとした。

●改正案 6.4.4 に対応 (同内容)

<p>5) 溶出液は濃縮器で約 2mL に濃縮する。</p> <p>注(8) カラムクロマトグラフ操作におけるダイオキシン類の溶出条件は、フライアッシュの抽出液など全てのダイオキシン類を含む試料液を用いて分画試験を行って確認する。<u>分画試験は、少なくとも充てん剤のロットごとに行う。</u></p> <p>b) 多層シリカゲルカラムクロマトグラフ操作 <u>なお、ここに示す手順は標準的なものであり、精製の効果を十分得ることが可能であれば、必ずしもこのとおりでなくてもよい。</u></p> <p>3) 濃縮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。</p> <p>5) ヘキサン 120ml を入れ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、ヘキサンを約 2.5mL/min (毎秒 1 滴程度) の流量で流下させる</p>	<p>6) 溶出液は濃縮器で約 5mL に濃縮し、<u>アルミナカラムクロマトグラフ操作の試料液とする。</u></p> <p>(7) <u>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。</u></p> <p>(8) <u>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しないように注意し、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つけたり、完全に乾固させると、目的物質の損失を招くことがある。</u></p> <p>(10) カラムクロマトグラフ操作におけるダイオキシン類及びコプラナーPCB の溶出条件は、フライアッシュの抽出液など全てのダイオキシン類を含む試料液を用いて分画試験を行って確認しなければならない。</p> <p>b) 多層シリカゲルカラムクロマトグラフ操作</p> <p>3) <u>6.4.3 で得られた抽出液の適量を分取し(7)、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(8)、約 500μl 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。</u></p> <p>5) ヘキサン 120ml 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、ヘキサンを約 2.5ml/min (毎秒 1 滴程度) の流量で流下させる</p>	<p>●次の分離の段階でカラムにチャージする液量を減らすため、濃縮の程度が変更された。</p> <p>●改正案 6.4.4 注(5)に対応 (同内容)</p> <p>●改正案 6.4.4 注(6)に対応 (同内容)</p> <p>●分画試験の程度の規定が追加された</p> <p>●操作の手順を例示規定化した</p> <p>●改正案 6.4.4 に対応 (同内容)</p>
---	--	--

<p>(8)。</p> <p>6) 溶出液を濃縮器で約 2mL に濃縮する。充てん部の着色が多い場合は、1)~6)の操作を繰り返す。</p> <p>6.4.5 その他の精製操作 6.4.4 で得られた濃縮液を、次に示すいずれかの操作又はそれらの組合せで精製を行い、PCDDs 及び PCDFs 測定用と DL-PCB 測定用の濃縮液を調製する。</p> <p>なお、ここに示す手順は標準的なものであり、精製の効果を十分得ることが可能であれば、必ずしもこのとおりでなくてもよい。</p> <p>a) アルミナカラムクロマトグラフ操作 アルミナカラムクロマトグラフ操作は、PCDDs 及び PCDFs 測定用と DL-PCB 測定用とに濃縮液を分けて行う手順を以下に示す。同定及び定量の操作条件によっては、濃縮液を分けないで行うことも可能である。その場合の手順はこの限りではない。</p> <p>1) PCDDs 及び PCDFs 測定用アルミナカラムクロマトグラフ操作 PCDDs 及び PCDFs 測定用のアルミナ</p>	<p>(10)。</p> <p>6) 溶出液を濃縮器で約 5mL に濃縮し、<u>アルミナカラムクロマトグラフ操作の試料液とする</u>。充てん部の着色が多い場合は、1)~6)の操作を繰り返す。</p> <p>6.4.5 アルミナカラムクロマトグラフ操作 6.4.4 で得られた濃縮液について、ダイオキシン類又はコプラナー PCB だけの測定の場合、ダイオキシン類測定用又はコプラナー PCB 測定用のアルミナカラムクロマトグラフ操作を行い、ダイオキシン類及びコプラナー PCB を測定する場合には、ダイオキシン類測定用とコプラナー PCB 測定用を分け、それぞれのアルミナカラムクロマトグラフ操作を行い、測定用試料とする(12)。</p> <p>注(12) <u>アルミナカラムクロマトグラフ操作による方法で GC/MS での測定に妨害などの支障を来す場合には、さらに高速液体クロマトグラフ操作による方法又は活性炭カラムクロマトグラフ操作による方法を用いる。場合によっては、この二つの方法をアルミナカラムクロマトグラフ操作の代わりに用いてもよい (参考参照)。</u></p> <p>a) ダイオキシン類測定用アルミナカラムクロマトグラフ操作 <u>ダイオキシン類測定用のアルミナカラムクロマ</u></p>	<p>●次の分離の段階でカラムにチャージする液量を減らすため、濃縮の程度が変更された。</p> <p>●従来、アルミナカラムクロマトグラフ操作の補完方法とされていた高速液体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を、同等な操作として選択・組合せできるようにした。また同等の効果が得られる他の方法も認めることとした。</p> <p>●PCDDs/PCDFs測定用と DL-PCB 測定用にアルミナカラムクロマトグラフ操作を分けない方法も認めた。</p> <p>●改正案 6.4.5 の概要欄参照。</p>
--	---	---

<p>カラムクロマトグラフ操作は、次の手順による。</p> <p>1.2) <u>濃縮液を正確に二分した後、その一つを窒素気流により約 0.5mL まで濃縮し、1.1)のカラムに静かに移し入れ、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 [2% (体積分率)] を含むヘキサン溶液 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。</u></p> <p>1.3) さらにジクロロメタン [50% (体積分率)] 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 <u>PCDDs 及び PCDFs</u> が含まれる(8)。</p> <p>1.4) 第 2 画分を濃縮器で約 2mL に濃縮する。</p> <p>2) <u>ダイオキシン様 PCB 測定用アルミナカラムクロマトグラフ操作 DL-PCB 測定用のアルミナカラムクロマトグラフ操作は、次の手順による。</u></p> <p>2.2) <u>濃縮液を正確に二分した後、その一つを窒素気流により約 0.5mL まで濃縮して 2.1)のカラムに静かに移し入れ、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 40mL を約 2.5mL/min (毎秒 1 滴程度) で流して鎖状炭化水素な</u></p>	<p>トグラフ操作は、次の手順による。</p> <p>2) 6.4.4 で調整した試料液の適量を静かに移し入れ、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%) を含むヘキサン溶液 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。</p> <p>3) さらにジクロロメタン (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。この画分にダイオキシン類が含まれる(10)。</p> <p>4) 第 2 画分を濃縮器で約 5mL に濃縮し、<u>更に窒素気流によって溶媒を揮散除去し(8)、約 500 μl とした後、シリンジスパイク用内標準物質を検量線作成用標準液と同濃度になるように添加してノナン (14)0.5ml を加え、再度窒素気流で(8)一定液量 (20~100 μl) にしたものをダイオキシン類の測定用試料とする。</u></p> <p>注(14) 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よい。</p> <p>b) <u>コプラナー-PCB 用アルミナカラムクロマトグラフ操作 コプラナー-PCB 用のアルミナカラムクロマトグラフ操作は、次の手順による。</u></p> <p>2) 6.4.4 で調整した試料液の適量を静かに移し入れ、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 40mL を約 2.5mL/min (毎秒 1 滴程度) で流して鎖状炭化水素な</p>	<p>●カラムへのチャージ量を減らすため濃縮の過程が追加された。(濃縮器で最後まで濃縮しないのはダイオキシン類の散逸を防ぐため。)</p> <p>●改正案 6.4.6 に対応</p> <p>●改正案 6.4.6 注(12)に対応 (同内容)</p> <p>●カラムへのチャージ量を減らすため濃縮の過程が追加された。(濃縮器で最後まで濃縮しないのはダイオキシン類の散逸を防ぐため。)</p>
---	--	--

<p>どを溶出させる(9)。</p> <p>2.3) ジクロロメタン (5vol%) を含むヘキサン溶液 120mL を 約 2.5mL/min (毎秒 1 滴程度) で流して 第 1 画分を得る。この画分には <u>DL-PCB</u> が含まれる (9)。</p> <p>2.5) 第 1 画分を濃縮器で約 2mL に濃縮する。</p> <p>b) 高速液体クロマトグラフ操作 高速液体クロマトグラフ操作は次の手順による。ここで示す操作条件は、使用する機器、カラムなどによって若干異なってくるので、あらかじめフライアッシュの抽出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。</p> <p>1) 流路切替えバルブを装着した高速液体クロマトグラフに活性炭カラムを移動相の流れの向きが切り替えられるように装着し、溶離液流量を 2mL/min に設定する。検出器として吸光光度検出器を接続し、検出器出口から溶出液を分取できるようにしておく。</p> <p>3) <u>濃縮液を更に窒素気流によって 100 μl 程度に濃縮</u></p>	<p>どを溶出させる(10)。</p> <p>3) ジクロロメタン (5vol%) を含むヘキサン溶液 120mL を、約 2.5mL/min (毎秒 1 滴程度) で流して 第 1 画分を得る。この画分には <u>コプラナーPCB</u> が含まれる(10)。</p> <p>5) 第 1 画分を濃縮器で約 5mL に濃縮し、<u>更に窒素気流によって溶媒を揮散除去し(8)、約 500 μl とした後、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濃度になるように添加してノナン(14)0.5ml を加え、再度窒素気流で(8)一定液量 (20～100 μl) にしたものをコプラナーPCB の測定用試料とする。</u></p> <p>参考 高速液体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は、次のように行う。</p> <p>A 高速液体クロマトグラフ操作(15) 注(15) ここで示す操作条件は、使用する機器、カラムなどによって若干異なってくるので、あらかじめフライアッシュの抽出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。</p> <p>A.1 ダイオキシン類のための精製方法</p> <p>1) 流路切替えバルブを装着した高速液体クロマトグラフに活性炭 (<u>porous graphitized carbon</u>) カラムを移動相の流れの向きが切り替えられるように装着し、溶離液流量を 2mL/min に設定する。検出器として吸光光度検出器を接続し、検出器出口から溶出液を分取できるようにしておく。</p> <p>参考 活性炭カラムとして、例えば <u>Hypersil 社製 Hypercarb 内径 4.6mm、長さ 100mm</u> がある。</p> <p>3) 本体 6.4.5 の a) の 3) で得た第 2 画分の濃縮液(又は</p>	<p>●改正案 6.4.6 に対応</p> <p>※ ダイオキシン類精製、コプラナー PCB 精製のプロセスを一本化して規定。</p> <p>●6.2 x)に移動。</p> <p>●DL-PCB 以外の PCB を分画</p>
---	---	---