

する。この液を高速液体クロマトグラフに注入し、溶離液をヘキサンのままで4分間流し、溶出液 8mL を分取して第 1 画分とする。ここには、DL-PCB 以外の PCB が含まれている。

4) 次いで、溶離液をジクロロメタン [50% (体積分率)] を含むヘキサン溶液として 20 分間流し、溶出液 40mL を分取して第 2 画分とする。ここには、DL-PCB のモノオルト体が含まれている。

5) さらに、溶離液をトルエン [30% (体積分率)] を含むヘキサン溶液として 20 分間流し、溶出液 40mL を分取して第 3 画分とする。ここには、DL-PCB のノンオルト体が含まれている。

6) 最後に、オープン を 50°C に加熱し、カラムでの移動相の流れの向きを逆にしてトルエンを 15 分間流し、溶出液 30mL を分取して第 4 画分とする。ここには、PCDDs 及び PCDFs が含まれている。

7) 第 2 と第 3 画分を一つにし、DL-PCB 測定用として濃縮器で約 2mL に濃縮し、第 4 画分を PCDDs 及び PCDFs 測定用として同様に濃縮する。

本体 6.4.4 で得た試料液を 100 μ l 程度に濃縮したものを。) を活性炭カラムに注入し、

溶離液をトルエン (30vol%) を含むヘキサン溶液として 20 分間流し、溶出液 40mL を分取して第 1 画分を得る。ここには、PCBs が含まれている。

4) 次いで、オープン を 50°C に加熱し、カラムでの移動相の流れの向きを逆にしてトルエンを 15 分間流し、溶出液 30mL を分取して第 2 画分を得る。ここには、ダイオキシン類が含まれている。

5) 本体 6.4.5 の a) の 4) と同様に第 2 画分を濃縮し、測定用試料とする。

A.2 コプラナーPCBのための精製方法

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 (porous graphitized carbon) 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。

2) 溶離液をトルエンとして通常の流れの向きで流し、十分にカラムを洗浄した後、溶離液をヘキサン

●DL-PCB (モノオルト体) を精製

●DL-PCB (ノンオルト体) を精製

●PCDDs 及び PCDFs (K0312:1999 のダイオキシン類) を精製

●PCDDs 及び PCDFs 測定用試料のみを得ていたところを、改正案では DL-PCB 測定用試料も同時に得ることとした。

●改正案において、PCDDs 及び PCDFs 測定用試料と同時に DL-PCB 測定用試料を精製できることとなったため削除。

	<p>c) <u>活性炭カラムクロマトグラフ操作</u> 活性炭カラム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、使用するカラムによって異なってくるので、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) 本体 6.3 の e) 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</p>	<p>にしてカラム及び装置の流路内をヘキサンで置換する。検出器の指示値の変化でヘキサンに置換したかどうかを判断するのがよい。</p> <p>3) 本体 6.4.5 の b) の 4) で得た第 1 画分の濃縮液(又は本体 6.4.4 で得た試料液を 100 μl 程度に濃縮したものを。)を活性炭カラムに注入し、溶離液をそのまま 4 分間流し、溶出液 8mL を分取して第 1 画分とする。ここには、ジオルト体が含まれている。</p> <p>4) 次に、溶離液をジクロロメタン (50vol%) を含むヘキサン溶液として 20 分間流し、溶出液 40mL を分取して第 2 画分とする。ここには、モノオルト体が含まれている。</p> <p>5) さらに、溶離液をトルエン (30vol%) を含むヘキサン溶液として 20 分間流し、溶出液 40mL を分取して第 3 画分とする。ここには、ノンオルト体が含まれている。</p> <p>6) 最後に、オープン を 50°C に加熱し、カラムでの移動相の流れの向きを逆にしてトルエンを 15 分間流し、溶出液 30mL を分取して第 4 画分とする。ここには、ダイオキシン類が含まれている。</p> <p>7) 本体 6.4.5 の b) の 5) と同様にして第 1~第 3 までの画分を濃縮し、測定用試料とする。</p> <p>B <u>活性炭カラムクロマトグラフ操作(15)</u></p> <p>1) 本体 6.3 の e) 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</p>	<p>●操作条件の確認について記載。</p>
--	--	--	------------------------

	<p>を厚さ約 10mm, <u>活性炭カラム充てん材</u>を 1g, 硫酸ナトリウムを厚さ約 10mm に積層して充てんする。トルエンを流下させて十分洗浄した後, <u>ヘキサン</u>を流下させてカラム内をヘキサンに置換する。</p> <p>2) <u>濃縮液を更に窒素気流で 100μl 程度に濃縮する。</u> この液をカラムに負荷し, <u>ヘキサン 50mL を 2.5mL/min で流下させる。</u></p> <p>3) 次いで, <u>ジクロロメタン [25% (体積分率)] を含むヘキサン溶液 150mL を流下させ, 第 1 画分をとる。</u> <u>ここに, DL-PCB のモノオルト体が含まれている。</u></p> <p>4) 次いで, <u>トルエン 200mL を流下させ, 第 2 画分をとる。</u>ここには, <u>PCDDs, PCDFs 及び DL-PCB のノンオルト体が含まれている。</u></p> <p>5) この第 1 画分及び第 2 画分を<u>濃縮器で約 2mL にそれぞれ濃縮する。</u></p> <p>d) ジメチルスルホキシド (DMSO) 分配処理操作 <u>ジメチルスルホキシド (DMSO) 分配処理操作は, 次の手順による。本操作は, 脂肪族炭化水素などの低極性物質の除去を目的として行うものであり, PCDDs 及び PCDFs 測定用, DL-PCB 測定用に分けることはできないので, 他の精製操作と組合わせて行う。</u></p> <p>1) <u>分液漏斗にヘキサン飽和の DMSO 25mL を入れ, これに濃縮液をヘキサンで洗浄しながら移し入れ, 振とう抽出を 4 回行って得られた合計約 100mL の DMSO 抽出液に, ヘキサン 40mL を加え, 洗浄する。</u></p>	<p>を厚さ約 10mm, <u>活性炭を含浸させたシリカゲル</u>を 1g, 硫酸ナトリウムを厚さ約 10mm に積層して充てんする。トルエンを流下させて十分洗浄した後, <u>ヘキサン</u>を流下させてカラム内をヘキサンに置換する。</p> <p><u>参考</u> <u>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 (和光純薬工業株式会社) がある。</u></p> <p>2) 本体 6.4.5 の a) の 3) で得た第 2 画分の濃縮液 (又は本体 6.4.4 で得た試料液を 100μl 程度に濃縮したものを。) 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 2.5ml/min で流下させ, 第 1 画分を得る。</p> <p>3) 次いで, <u>トルエン 200mL で溶出し, 第 2 画分を得る。</u>ここには<u>ダイオキシン類が含まれている。</u></p> <p>4) 本体 6.4.5 の a) の 4) と同様にしてこの第 2 画分を濃縮し, 測定用試料とする。</p>	<p>●カラム充てん材の選択肢を拡大 (6.2 y)参照)。</p> <p>●6.2 y)に移動。</p> <p>●活性炭カラムクロマトグラフ法で DL-PCB 測定用試料もまとめて得ることができるようになった。</p> <p>●濃縮程度の規定を追加</p> <p>●第 2 段目の分画操作方法に新規追加 (低極性の炭化水素を除去しなければならぬ工場排水の試料がありえるため。6.1 参照。)</p>
--	--	--	--

	<p>2) 分液漏斗にヘキサン 75mL 及びヘキサン洗浄水 100mL を入れ, 1)の操作で得られた DMSO 抽出液約 100mL を加え, 振とう抽出を 3 回行う。ヘキサン抽出液約 225mL を得る。</p> <p>3) 得られた合計約 225mL のヘキサン抽出液を分液漏斗に入れ, 2mol/L 水酸化カリウム水溶液 10mL による洗浄を行う。さらに, 水 25mL で 2 回洗浄し, 硫酸ナトリウムで脱水した後, 濃縮器で 2mL に濃縮する。</p> <p>6.4.6 測定用試料の調製 6.4.5 の精製操作により得られた PCDDs 及び PCDFs 測定用, DL-PCB 測定用の各濃縮液に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程度になるように添加してノナン(12)0.5mL を加え, 再度窒素気流(6)で一定液量 (20~100 μl) にしたものをそれぞれ PCDDs 及び PCDFs 測定用, DL-PCB 測定用試料とする。</p> <p>注(12) 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>●K0312:1999 6.4.5 a) 4)に対応</p> <p>●K0312:1999 6.4.5 a) 注(14)に対応</p>
<p>7. 同定及び定量</p>	<p>7.1 同定及び定量の概要 ダイオキシン類の同定と定量は, キャピラリーカラムを用いるガスクロマトグラフ (GC) と二重収束形質量分析計 (MS) を用いるガスクロマトグラフ質量分析法によって行う。分解能は 10 000 以上が要求されるが, 使用する内標準物質によっては 12 000 が必要である。10 000 以上の高分解能での測定を維持するため, 質量校正用標準物質を測定用試料と同時にイオン源に導いて測定イオンに近い質量のイオンをモニターして質量の微少な変動を補正するロックマス方式による選択イオン検出法 (SIM 法) で検出し, 保持時間及びイオン強度比からダイオキシン</p>	<p>7.1 同定及び定量の概要 ダイオキシン類及びコプラナー-PCB の同定と定量は, キャピラリーカラムを用いるガスクロマトグラフ (GC) と二重収束形質量分析計 (MS) を用いるガスクロマトグラフ質量分析法によって行う。分解能は 10 000 以上が要求されるが, 内標準物質によっては 12 000 が必要である。各同族体を区分するため, 質量校正用標準物質を測定用試料と同時にイオン源に導いて選択イオンに近い質量のイオンをモニターして質量の微少な変動を補正するロックマス方式による選択イオン検出法 (SIM 法) で検出し, 保持時間及びイオン強度比からダイオキシン類</p>	

<p>類であることを確認した後、クロマトグラム上のピーク面積から内標準法によって定量を行う。</p> <p>この規格における GC/MS の検出下限は、装置、測定条件によって変動するが、四塩素化物及び五塩素化物で 0.1pg, 六塩素化物及び七塩素化物で 0.2pg, 八塩素化物で 0.5pg, DL-PCB で 0.2pg 以下である。</p> <p>7.2 試薬及び装置</p> <p>7.2.1 試薬 定量と同定に用いる試薬は、次による。</p> <p>c) 内標準物質 クリーンアップスパイク及びシリンジスパイクに用いた内標準物質 [6.2 の q)及び注(2)参照]。</p> <p>d) 検量線作成用標準液 b)の標準物質とクリーンアップスパイク及びシリンジスパイクの内標準物質を混合して、GC/MS の定量範囲内で GC/MS の検出下限の 3 倍程度の低濃度から 5 段階程度をノナン(12)で希釈して調製する。[検量線作成用標準液の調製例は附属書 2 (参考)を参照。]</p> <p>7.2.2 ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC/MS) 定量と同定に用いるガスクロマトグラフ質量分析計は、次による。</p> <p>a) ガスクロマトグラフ (GC)</p> <p>1) 試料導入部 スプリットレス方式、オンカラム注入方式又は大量注入方式(温度プログラム気化注入方式など) (12)で 250~280℃で使用可能。</p> <p><u>注(12) 大量注入方式の場合、ダイオキシン類の脱塩素により定量に影響を与える可能性がある。例えば、OCDD が HpCDDs の濃度に比較して高濃度である場合、HpCDDs の定量が正確でなくなることが考えられ</u></p>	<p>及びコプラナー-PCB であることを確認した後、クロマトグラム上のピーク面積から内標準法によって定量を行う。</p> <p>この規格における GC/MS の検出下限は、装置、測定条件によって変動するが、四塩素化物及び五塩素化物で 0.1pg, 六塩素化物及び七塩素化物で 0.2pg, 八塩素化物で 0.5pg, コプラナー-PCB で 0.2pg 以下である。</p> <p>7.2 試薬及び装置</p> <p>7.2.1 試薬 定量と同定に用いる試薬は、次による。</p> <p>c) 内標準物質 クリーンアップスパイク及びシリンジスパイクに用いた内標準物質を使用する [6.2 の s)及び注(2)参照]。</p> <p>d) 検量線作成用標準液 b)の標準物質とクリーンアップスパイク及びシリンジスパイクの内標準物質を混合して、GC/MS の定量範囲内で GC/MS の検出下限の 3 倍程度の低濃度から 5 段階程度をノナン(14)で希釈して調製する。表 2 の例 1.の内標準物質使用に対応した検量線作成用標準液の調製例を表 4 に示す。</p> <p>7.2.2 ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC/MS) 定量と同定に用いるガスクロマトグラフ質量分析計は、次による。</p> <p>a) ガスクロマトグラフ (GC)</p> <p>1) 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、最高使用温度が 250~280℃であること。</p>	<p>●濃縮した試料を注入し見かけ上検出感度を向上させることができる大量注入方式を追加。</p>
---	--	--

るので注意する。

2) **カラム** 内径0.1~0.52mm,長さ25~60mの溶融シリカ製のキャピラリーカラム。

PCDDs 及び PCDFs の測定では、2, 3, 7, 8-位塩素置換異性体が可能な限り単離でき、すべての化合物についてクロマトグラム上における溶出順位の判明しているカラムを使用する。すべての2,3,7,8-位塩素置換異性体を他の異性体と完全に分離できるカラムは報告されていないので、溶出順位の異なる2種以上のカラムを併用して2,3,7,8-位塩素置換異性体すべてを単独に定量できるようにすることが望ましい。単独に定量できない2,3,7,8-位塩素置換異性体がある場合、重なっている異性体の影響が無視できず、測定結果に大きく影響することがあるので注意する (8.1のa)参照)。

DL-PCB の測定では、12種類のDL-PCBが他のPCB化合物と可能な限り単離でき、4塩素化から10塩素化のPCB化合物すべてについてクロマトグラム上における溶出順位の判明しているカラムを使用する。

参考 PCDDs 及び PCDFs の溶出順位が報告されているカラムとしては、BPX・・・などがあり、PCBの溶出順位が報告されているカラムとしては、DB-・・・などがある。これらの商品は、一般に入手できるものとして掲げたが、これを推奨するものではない。

7.3 測定操作

7.3.1 **ガスクロマトグラフ質量分析計の測定条件の設定** ガスクロマトグラフ質量分析計の測定条件の設定は、次による。

2) **カラム** 内径0.25~0.32mm,長さ25~60mの溶融シリカ製のキャピラリーカラム。

ダイオキシン類の測定では、2,3,7,8-位塩素置換異性体を含むすべての異性体について、それぞれ分離が良好で、それらの異性体のクロマトグラム上における溶出順位の判明しているカラムを使用する。さまざまな要因を考慮し、2種以上の極性の異なるキャピラリーカラムの併用が望ましい。

コプラナーPCB の測定では、14種類のすべての異性体についてそれぞれ分離が良好で、それらの各異性体のクロマトグラム上における溶出順位の判明しているカラムを使用する。

参考 ダイオキシン類測定用のカラムとしては、SP2331・・・などがあり、コプラナーPCBの測定用としては、DB-・・・などがある。これらの商品は、一般に入手できるものとして掲げたが、これを推奨するものではない。これと同等の品質、性能のものを用品いてもよい。

7.3 測定操作

7.3.1 **ガスクロマトグラフ質量分析計の測定条件の設定** ガスクロマトグラフ質量分析計の測定条件の設定は、次による。

●GCカラムの内径の許容範囲を拡大

●カラムの性能上、1本のカラムでPCDDs 及び PCDFs の異性体全てが分離できなくてもよいこととした。

●2種以上のカラムを併用しPCDDs 及びPCDFsの全ての異性体を単独に定量することを推奨

●コプラナーPCBのうち、ジオルト体を対象外とした。

●分離が良好→可能な限り単離
溶出順位の判明しているカラム：14種類のすべての異性体→4塩素化から10塩素化のPCB化合物すべて