

## 資 料

## ダイオキシン定量のため試料びんに添加された内標準物質の挙動

安田 裕, 村瀬秀也

## 要 旨

水試料中のダイオキシン類を固相吸着法により抽出することを想定し、試料びんに添加されたクリーンアップスパイク用内標準物質と試料中に存在するダイオキシン類が「ろ過材」、「試料びん」、「使用装置」との間でどのように振る舞うのかを確認するための基礎実験を行った。その結果、試料びんに添加されたクリーンアップスパイク用内標準物質は、試料中に存在するダイオキシン類に比して試料びんや使用器具に吸着しやすいことが明らかになった。また、実試料を用いた検証試験の結果、試料びんに添加されたクリーンアップスパイク用内標準物質が回収不足となった場合、挙動の異なる試料中のダイオキシン類の定量値を高く見積もることが推察された。

キーワード：ダイオキシン類, クリーンアップスパイク, 固相吸着, 試料びん

## 1 はじめに

水試料中のダイオキシン類は、JIS K0312<sup>1)</sup>にしたがって測定されることが多く、ダイオキシン類の濃度は、事前に測定濃度を予測して添加されたクリーンアップスパイク用内標準物質のピーク面積を基準に算出される。旧規格<sup>2)</sup>においては、試料中濃度の予想が困難な場合、内標準物質の粗抽出液への添加が容認されていたが、平成17年6月の規格改正により内標準物質の試料びんへの添加が義務付けられた。このことから、水試料中のダイオキシン類を正しく定量するためには、クリーンアップ操作に至るまでの内標準物質の挙動を明らかにしておく必要があると思われる。

そこで、水試料からダイオキシン類を抽出するために広く用いられているディスク型固相を用いた吸着法において、試料びんに添加されたクリーンアップスパイク用内標準物質と試料中に存在するダイオキシン類が「ろ過材」、「試料びん」、「使用器具」との間でどのように振る舞うのかを確認するための基礎実験を行った。

## 2 調査方法

## 2.1 実験方法

## 2.1.1 調査試料

きれいな水とやや汚濁した水におけるクリーンアップスパイク用内部標準物質の挙動を把握するため、県内で採取した地下水と県内南西部を流下する都市河川下流部で採取した河川水を調査対象とした。調査試料の概要については表1に示す。

## 2.1.2 内標準物質の添加と固相吸着処理

表2に示すクリーンアップスパイク用内部標準物質を用いた。OCDDとOCDFはそれぞれ800pgを、その他の標準物質については400pgを含むノナン溶液をアセトン約2mLに溶解したのち、地下水及び河川水を採取した試料びん(褐色ガロンびん)に添加して、均質となるよう十分に攪拌した。

固相吸着装置は、GLサイエンス社の水中ダイオキシン固相抽出キット連続吸引タイプを用いた。装置の上部にガラス繊維ろ紙(アドバンテックGA-100, 以下「GFP」と記述)を、下部にC18ディスク型固相(3M C18-FF, 以下「C18」と記述)を装着した後、各検体について抽出操作を行った。空になった試

表1 調査試料の概要

検体の種別	外観	臭気	SS(mg/L)	EC(mS/m)	ダイオキシン類濃度 (pg/L)	TEQ (pg-TEQ/L)
地下水	無色透明	なし	1未満	39	0.67	0.074
河川水	淡黄色微濁	なし	17	59	700	1.0

表2 添加したクリーンアップスパイク用内標準物質

種類と塩素数	化合物
PCDD	四塩素化物 $^{13}\text{C}_{12}\text{-}1368\text{-TeCDD}$ , $^{13}\text{C}_{12}\text{-}2378\text{-TeCDD}$
	五塩素化物 $^{13}\text{C}_{12}\text{-}12378\text{-PeCDD}$
	六塩素化物 $^{13}\text{C}_{12}\text{-}123478\text{-HxCDD}$ , $^{13}\text{C}_{12}\text{-}123678\text{-HxCDD}$ , $^{13}\text{C}_{12}\text{-}123789\text{-HxCDD}$
	七塩素化物 $^{13}\text{C}_{12}\text{-}1234678\text{-HpCDD}$
	八塩素化物 $^{13}\text{C}_{12}\text{-}12346789\text{-OCDD}$
PCDF	四塩素化物 $^{13}\text{C}_{12}\text{-}1368\text{-TeCDF}$ , $^{13}\text{C}_{12}\text{-}2378\text{-TeCDF}$
	五塩素化物 $^{13}\text{C}_{12}\text{-}12378\text{-PeCDF}$ , $^{13}\text{C}_{12}\text{-}23478\text{-PeCDF}$
	六塩素化物 $^{13}\text{C}_{12}\text{-}123478\text{-HxCDF}$ , $^{13}\text{C}_{12}\text{-}123678\text{-HxCDF}$ , $^{13}\text{C}_{12}\text{-}123789\text{-HxCDF}$ , $^{13}\text{C}_{12}\text{-}234678\text{-HxCDF}$
	七塩素化物 $^{13}\text{C}_{12}\text{-}1234678\text{-HpCDF}$ , $^{13}\text{C}_{12}\text{-}1234789\text{-HpCDF}$
	八塩素化物 $^{13}\text{C}_{12}\text{-}12346789\text{-OCDF}$
DLPCB	四塩素化物 $^{13}\text{C}_{12}\text{-}33'44'\text{-TeCB}(\#77)$ , $^{13}\text{C}_{12}\text{-}344'5'\text{-TeCB}(\#81)$
	五塩素化物 $^{13}\text{C}_{12}\text{-}233'44'\text{-PeCB}(\#105)$ , $^{13}\text{C}_{12}\text{-}2344'5'\text{-PeCB}(\#114)$ , $^{13}\text{C}_{12}\text{-}23'44'5'\text{-PeCB}(\#118)$ , $^{13}\text{C}_{12}\text{-}2'344'5'\text{-PeCB}(\#123)$ , $^{13}\text{C}_{12}\text{-}33'44'5'\text{-PeCB}(\#126)$
	六塩素化物 $^{13}\text{C}_{12}\text{-}233'44'5'\text{-HxCB}(\#156)$ , $^{13}\text{C}_{12}\text{-}233'44'5'\text{-HxCB}(\#157)$ , $^{13}\text{C}_{12}\text{-}23'44'55'\text{-HxCB}(\#167)$ , $^{13}\text{C}_{12}\text{-}33'44'55'\text{-HxCB}(\#169)$
	七塩素化物 $^{13}\text{C}_{12}\text{-}233'44'55'\text{-HpCB}(\#189)$ , $^{13}\text{C}_{12}\text{-}22'344'55'\text{-HpCB}(\#180)$ , $^{13}\text{C}_{12}\text{-}22'33'44'5'\text{-HpCB}(\#170)$

(注) 括弧内の数値は IUPAC No. を示す。

料びんは、n-ヘキサン洗浄水約10mLで3回洗浄を行い、洗液についても固相吸着処理を行った。

### 2.1.3 部位別検体の作成とデータ解析

部位別に、①ろ過材の抽出液 (GFPとC18)、②試料びんとテフロン管の洗液、③ろ過装置の洗液、の3種類の試料を表3にしたがって調製した。各試料は、硫酸処理を行ったのち、硝酸銀シリカゲルカラム及び活性炭カラムを用いてクリーンアップを行った。なお、濃度および回収率の解析にあたっては、GC/MS測定の前に添加した表4に示す7種類のシリジンスパイク用内標準物質を使用した。

## 3 結果及び考察

### 3.1 クリーンアップスパイク用内標準物質の挙動

地下水試料及び河川水試料を固相吸着処理したときのクリーンアップスパイク用内標準物質の存在比率を部位別に解析して図1及び図2に示した。両検体とも「ろ過材」からおおむね50~70%が回収され、PCDD/DFおよびDL-PCBとも高塩素化物であるほど存在比率が低くなる傾向が認められた。また、「試料びん」と「ろ過装置」の存在比率は、地下水では「装置>びん」、河川水では、「びん>装置」であった。河川水における試料びん洗浄時には、地下水では全く認められない黄色い着色物が観察され、この物質がクリーンアップスパイク用内標準物質のびん壁面への吸

表3 分析試料の調製方法

調製した試料の種類	試料の調製 (洗浄) 方法
①ろ過材の抽出液	GFP と C18 を取り外して円筒ろ紙に挿入→ソックスサーモによるトルエン抽出
②試料びん+テフロン管	アセトンで2回+アセトン:トルエン(1:1)で2回+トルエンで2回洗浄 (溶媒使用量: 約35 mL/びん)
③ろ過装置の各部	アセトンで2回+アセトン:トルエン(1:1)で2回+トルエンで2回洗浄 (溶媒使用量: 計約200 mL)

表4 解析に使用したシリンジスパイク用内標準物質

解析対象	使用したシリンジスパイク
TeCDDs, TeCDFs	<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -1278-TeCDF
PeCDDs, PeCDFs	<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -12346-PeCDF
HxCDDs, HxCDFs	<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -123469-HxCDF
HpCDDs, HpCDFs, OCDD, OCDF	<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -1234689-HpCDF
TeCBs	<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -23'4'5'-TeCB(#70)
PeCBs	<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -233'55'-PeCB(#111)
HxCBs, HpCBs	<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -22'344'5'-HxCB(#138)

(注) 括弧内の数値は IUPAC No. を示す。

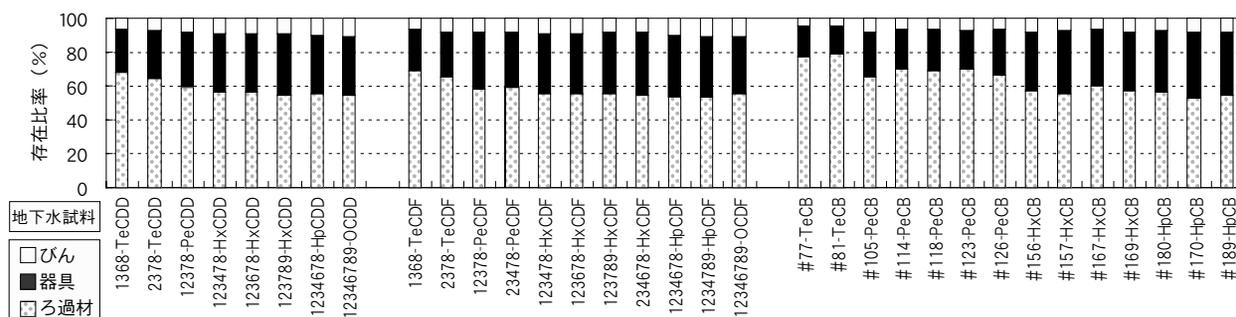


図1 地下水試料に添加したクリーンアップスパイク用内標準物質の存在部位

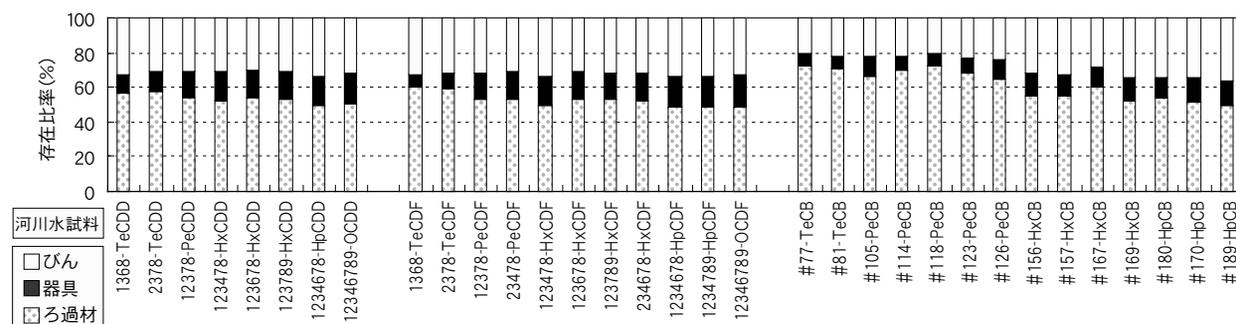


図2 河川水試料に添加したクリーンアップスパイク用内標準物質の存在部位

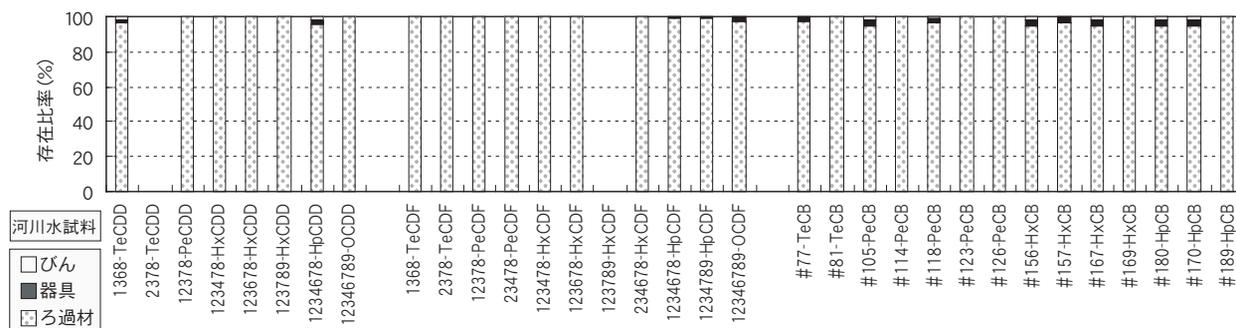


図3 河川水中のダイオキシン類の存在部位 (2378-TeCDD,123789-HxCDF は解析不能)

着に参与していることが窺われた。

3.2 試料中に存在するダイオキシン類の挙動

河川水試料を固相吸着処理したときの試料中の異

性体の部位別存在比率を、表4のシリンジスパイク用内標準物質を用いて解析し、図3に示した。どの異性体についても「試料びん」や「ろ過装置」にはほ

表5 実試料における検証試験結果

びん・器具等の 洗浄溶媒	洗浄効果確認用標準の回収率 (%)		ダイオキシン類の濃度 (pg/L)			TEQ (pg-TEQ/L)
	<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -1234-TeCDD	<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -33'45'-TeCB	PCDDs	PCDFs	DL-PCBs	
ヘキサン洗浄水	66	58	600	41	88	1.5
アセトン	81	74	550	40	81	1.5

表6 クリーンアップスパイク用内標準物質の回収率が定量値に与える影響

スパイク 物質 添加位置	クリーンアップスパイクの平均回収率 (%)			ダイオキシン類の濃度			TEQ (pg-TEQ/L)
	PCDDs (n=9)	PCDFs (n=11)	DL-PCBs (n=14)	PCDDs (pg/L)	PCDFs (pg/L)	DL-PCBs (pg/L)	
びんの中	54	54	54	1,000	60	150	2.2
粗抽出液	92	88	86	600	41	88	1.5

とんど存在せず、ほぼすべてが「ろ過材抽出液」に存在した。試料中に存在する異性体がクリーンアップスパイク用内標準物質と異なる挙動を示した原因については、溶解状態で水試料中に添加された内標準物質が難水溶性であるため、びん等の壁面に吸着しやすいのに対して、もともと微細な粒子に吸着して存在すると考えられる河川水中のダイオキシン類は、固相吸着処理の最後に行うヘキサン洗浄水による洗浄工程で、そのほとんどが洗い出されることによるものと推察された。なお、2378-TeCDDと123789-HxCDFについては、濃度が低いため解析できなかったが、他の異性体と同様の挙動を示すものと考えられた。

### 3.3 実試料を用いた内標準物質挙動の検証

同時採取した河川水2検体を準備し、ヘキサン洗浄水及びアセトンを用いた試料びんや使用器具の洗浄の効果を比較検討した。すなわち、各検体の試料びん中に、クリーンアップ開始までの内標準物質の挙動を把握するために<sup>13</sup>C<sub>12</sub>-1234-TeCDDと<sup>13</sup>C<sub>12</sub>-33'45'-TeCB(#79)を各400pg添加して固相吸着処理を行った。また、試料中のダイオキシン類は、固相抽出後の各試料の粗抽出液に表2のクリーンアップスパイク用内標準物質を添加して定量した。

調査結果を表5に示す。抽出時の洗浄溶媒としてヘキサン洗浄水を用いたときの<sup>13</sup>C<sub>12</sub>-1234-TeCDDと<sup>13</sup>C<sub>12</sub>-33'45'-TeCB(#79)の回収率は、アセトンの場合に比して明らかに低く、試料びんに添加したクリーンアップスパイク用内標準物質の回収不足が危惧された。なお、両検体のダイオキシン類定量値については、洗浄方法が異なってもほぼ等しくなった。この結

果は、河川水中のダイオキシン類がヘキサン洗浄水を用いた洗浄工程でほとんど洗い出せると推定した基礎実験の見解と矛盾しないものであった。

次に、試料びんに添加したクリーンアップスパイク用内標準物質の回収不足が定量値に及ぼす影響についても検討した。同時に採取した河川水2検体を準備し、クリーンアップスパイク用内標準物質をそれぞれ試料びんと粗抽出液に添加してダイオキシン類を定量した。なお、固相吸着処理時の洗浄作業は、アセトンに比して洗浄効果が低いと想定されるヘキサン洗浄水を用いて行った。

調査結果を表6に示す。試料びんに添加したクリーンアップスパイク用内標準物質の回収率は、粗抽出液に添加した場合に比して明らかに低かった。また、ダイオキシン類の定量値は、クリーンアップスパイク用内標準物質の回収率が低い時に高い傾向が明確に認められた。この原因については、濃度算出の基準となる内標準物質の回収不足により、試料びんや器具に吸着し難い試料中のダイオキシン類の定量値が計算上高く見積もられるためと推察された。

## 4 まとめ

JIS K0312に沿って固相吸着処理を行う場合に、試料びんに添加されたクリーンアップスパイク用内標準物質と試料中に存在するダイオキシン類が「ろ過材」、「試料びん」、「使用装置」との間でどのように振る舞うのかを確認するための基礎実験を行った。その結果、添加したクリーンアップスパイク用内標準物質は試料中のダイオキシン類に比してびんや器具

に吸着しやすいことが確認された。また、実試料による検証試験においても、試料びんに添加されたクリーンアップスパイク用内標準物質が回収不足となった場合、試料びんや器具に吸着し難い試料中のダイオキシン類の定量値が高く見積られることなど、基礎実験の知見と矛盾しない結果が得られた。したがって、固相吸着法により水試料中のダイオキシン類を正しく定量するには、使用器具等に吸着しやすいクリーンアップスパイク用内標準物質の完全な回収が必須であり、洗浄効果に留意した分析を行う必要があるものと思われた。

#### 文 献

- 1) 日本規格協会：工業用水・工場排水中のダイオキシン類及びコプラナーPCBの測定方法, 2005.
- 2) 日本規格協会：工業用水・工場排水中のダイオキシン類及びコプラナーPCBの測定方法, 1999.

Behavior of the Internal Standard Isomers Added to the Sample Bottle for Determination of Dioxin

Yutaka YASUDA, Hideya MURASE

*Gifu Prefectural Reserch Institute for Health and Environmental Sciences:  
1-1, Naka-Fudogaoka, Kakamigahara, Gifu 504-0838, Japan*