

# ダイオキシン類に係る底質スクリーニング法マニュアル

平成13年10月30日

神奈川県環境農政部大気水質課

1. 以下に示した方法によって効率的に調査すること

(1) 調査の基本的手順は図1のとおりとする。

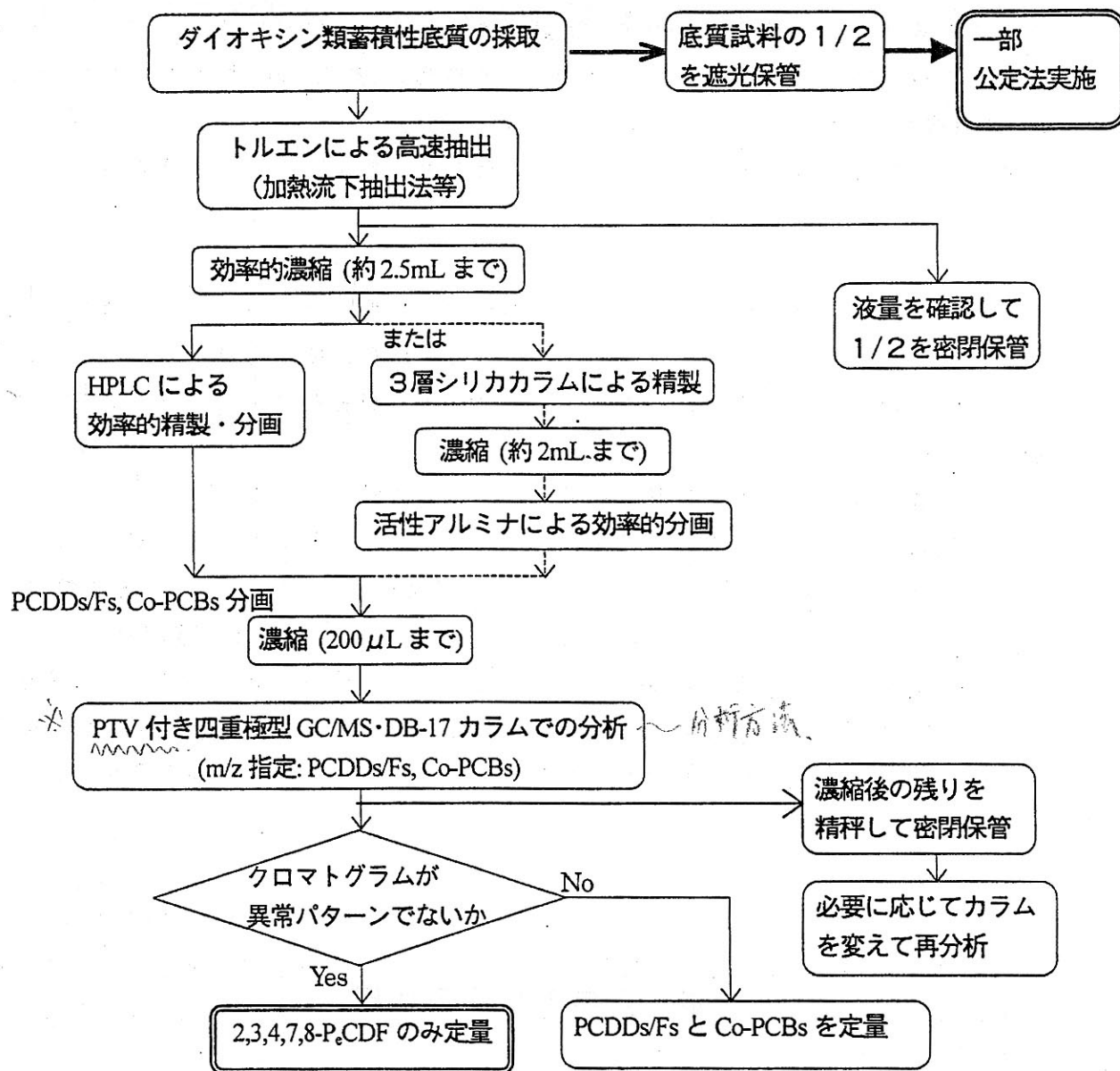


図1 河川汚濁の効率的調査方法の基本フロー

(2) 調査分析の各段階の具体的な方法は以下のとおりとする。

(ア) 底質試料の採取

底質試料は、該当地点で最もダイオキシン類が蓄積していると思われる「ダイオキシン類蓄積性底質」を採取する。

すなわち、各調査地点近くで、河川の曲がっている内側の河川敷きに降りられるところを見つけ、浅瀬のできるだけ微細な底質をスコップ等で静かに、容量500mL程度のガラス製広口ねじロビン(UM サンプル瓶等)に約300mL(乾燥重量で約100g程度)を採取する。

採取した底質試料の半分は、遮光した状態において4℃以下で保管することとする。

(イ) 抽出方法

底質からのダイオキシン類の抽出は、2mm以上の粒子をピンセットで除いた後、あらかじめ少量をとって含水率を測定した底質試料を、乾燥重量で約10～50gに相当するだけ分取し、加熱流下抽出法等の十分な抽出力がある高速抽出方法を用いてトルエンで抽出する。

なお、加熱流下抽出法を利用する場合は、以下の操作による。

湿潤底質試料をガラス繊維ろ紙を付けたブフナーロートに入れ、上部からエタノール100～300mLを約10分間程度かけて数回に分けて繰り返し通液して完全に脱水する。流出したエタノールは、同量の水と10～20mLのトルエンを加えて液液抽出し、無水硫酸ナトリウムで脱水後、固体を抽出したトルエンと混合する。次に、この完全に脱水した底質とピンセットで細かくしたろ紙をガラスカラムに入れ、約80℃に加温したトルエンを試料量に応じて約160～800mL通液し、ダイオキシン類を完全に抽出する。

(ウ) 濃縮方法

抽出液は、ロータリーエバポレーター等によって、約5mLまで予備濃縮し、容器の洗浄液と合わせて正確に液量を求める。ただし、この場合には、適切な機器と温度、回転数、減圧度を選び、あまり長時間かけないこと、乾固させないこと、容器壁を2回以上洗浄して回収率を高めることなどに注意する。

この抽出液の濃縮液は、2本の容器に2分割して1本を公定法等による再分析のために密閉保管する。他の1本を窒素気流で2.5mLまで濃縮し、正確に秤量して液量を求め、高速液体クロマトグラフ(HPLC)精製・分画、または3層シリカカラム精製の試料とする。

3層シリカカラムでの精製液は、同様にロータリーエバポレーター等で約2mLまで濃縮してアルミナカラム分画の試料とする。

HPLC またはアルミナカラムでのダイオキシン類分画液は、ロータリーエバポレーター等で約4mL まで予備濃縮した後、KD 濃縮器受器または目盛り付円沈管に入れ、窒素気流によって200  $\mu$  L まで濃縮して分析試料とする。ただし、KD 濃縮器受器を用いる場合には、必ず先端容量が最終濃縮液量 (200  $\mu$  L) と一致しているものを用いる。また、あらかじめ空の容器重量を正確に測定しておき、濃縮後にも重量を正確に測定し、溶剤の密度から最終濃縮液量を算出する。また、絶対に200  $\mu$  L 以下にしたり、乾固しないように注意する。

#### (エ) 精製と分画

HPLC による場合には、無水硫酸ナトリウム、22%硫酸シリカ、シリカゲルの3層シリカカラムおよび Nitro カラムと PGC カラムを直列につないだ HPLC ダイオキシン類クリーンアップシステム等を用いる。まず、100%ヘキサン18mL 通液してダイオキシン類以外の不要物を除き、次に、100%トルエン18mL を通液して、Co-PCBs、と PCDDs/PCDFs を分取する。この溶出液をエバポレータと窒素パージで200  $\mu$  L まで正確に濃縮し、分析用試料とする。

HPLC が機器の都合で使用できない場合には、3層シリカカラムによる精製とアルミナカラムによる分画を行う。

3層シリカカラムによる精製は、シリカゲルを3g 素早くはかり取り、予めヘキサンを入れたクロマト管に密に充填する。22%硫酸シリカゲル2g も同様に充填し、最後に、無水硫酸ナトリウム約1g を充填する。

このようにして調製したカラムをヘキサン約50mL で洗浄したのち、約2.5mL まで濃縮した液および容器の洗浄液をカラムにのせて自然流下させ、充填層上端まで下げる。次に、ヘキサンを約4mL/min で60mL 通液してダイオキシン類を溶出させる。この液をエバポレータで約2mL まで濃縮してアルミナカラムクロマトグラフィーによる分画の試料とする。

アルミナカラムによる分画は、市販の活性アルミナ充填カラムを用いるか、自分で充填カラムを作成して用いる。自作する場合には、粒径のそろった塩基性活性アルミナを500℃で8時間乾燥した後、含水率を確実に0.5%以下に十分注意して保管する。これを必要時に13g 素早くはかり取り、予めヘキサンを入れたクロマト管に密に充填し、その上に無水硫酸ナトリウム約1g を充填する。

このようにして調製したカラムをヘキサン溶液50mL で洗浄後、約2mL まで濃縮した精製試料と容器の洗浄液をカラムにのせてカラム上端まで下げる。これに、ヘキサンを約4mL/min で40mL 通液してダイオキシン類以外の不要物を除き、次に、50%ジクロロメタン・ヘキサン溶液を約4mL/min で40mL 通して Co-PCBs と PCDDs/PCDFs を分取する。これらのダイオキシン類分取液をロータリーエバポレーター

と窒素気流で200 $\mu$ Lまで正確に濃縮して分析用試料とする。

(オ) PTV 付き四重極 GC/MS による効率的な分析

分離分析は、プログラム昇温気化器(PTV)付きの四重極 GC/MS を用い、表1の条件を参考に行う。なお、分離カラムには、すべてのダイオキシン類が分離検出できる DB-17カラム(60m $\times$ 0.32mmID、膜厚0.25 $\mu$ m)を用いる。

表1 ガスクロマトグラフ分析条件の例

分析機器	島津 QP500A 型 PTV 付き四重極 GC/MS
カラム	J&W 社製 DB-17カラム(60m $\times$ 0.32mmID、膜厚0.25 $\mu$ m)
試料注入量	5 $\sim$ 20 $\mu$ L
注入口温度	65 $^{\circ}$ C 1min $\rightarrow$ 300 $^{\circ}$ C (250 $^{\circ}$ C/min)
カラム温度	50 $^{\circ}$ C 3min $\rightarrow$ 200 $^{\circ}$ C (25 $^{\circ}$ C/min) $\rightarrow$ 300 $^{\circ}$ C (3 $^{\circ}$ C/min)

(カ) 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の定量

塩素を含む廃棄物の焼却や工場等での塩素化合物の高温分解などから発生した底質中のダイオキシン類の異性体パターンは、図2のようになり、毒性等量 TEQ に対して 1,2,3,7,8-PeCDF と 2,3,4,7,8-PeCDF の寄与がそれぞれ約21%と約16%あって大きく、塩素数が7,8の PCDDs/PCDFs や Co-PCBs の寄与率は小さい。一方、工業用 PCB で高濃度汚染されている地域では、特異的に Co-PCBs、とくに non-orthoPCBs 濃度が高くなり、廃棄農薬で高濃度汚染されている地域では、特異的に OCDD の濃度が高くなり、また、特定の化学工場等での反応副生成物によって高濃度汚染されている地域では、何れかのダイオキシン類異性体濃度が特異的に高くなることを利用して、クロマトグラムの各異性体パターンから、工業用 PCBs や廃棄農薬、あるいは化学工場等での反応副生成物質で汚染されていないことを確認する。

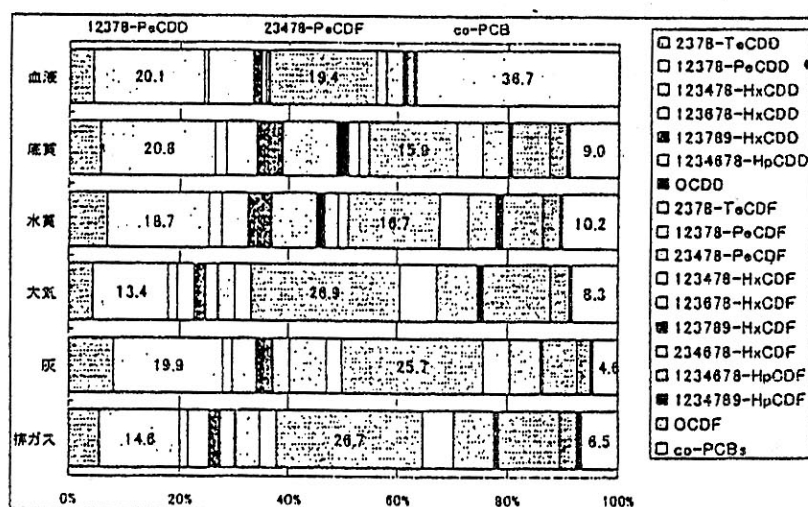


図2 ダイオキシン類の TEQ に対する各異性体の寄与率

工業用 PCBs や廃棄農薬、あるいは化学工場等での反応副生成物質で汚染されていないことが確認された底質については、2,3,4,7,8-PeCDF 濃度のみを正確に定量する。

工業用 PCBs 等で汚染されている可能性がある場合、および2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が2.0pg/g (平均で15pg-TEQ/g に相当)以上の場合には、分析したクロマトグラムから Co-PCBs と2,3,7,8-塩素置換 PCDDs/PCDFs の濃度を定量する。ただし、毒性換算係数 (TEF)が0.01未満の異性体については、クロマトグラムパターンから見て、とくに高濃度と思われる場合外は定量しなくてもよい。

#### (キ) その他

分離が悪く、定量が非常に困難な場合等、必要に応じて秤量して保管した分析用試料をカラムを SP-2331または HT-8等に変えて再分析する。

なお、ダイオキシン類濃度が高い底質試料については、別途県の指示により (約3割程度) 公定法により再分析を行う。