ノート

Jpn. J. Toxicol. Environ. Health
衛生 生 化 学
39 (5) 469-473 (1993)

—Notes—

環境水中微量 PCDD のポリアミドカラムによる濃縮法

中浜隆之

東邦大学 薬学部

Concentration Method of Low Levels of PCDDs in Environmental Waters by Using Polyamide Column

TAKAYUKI NAKAHAMA

School of Pharmaceutical Sciences, Toho University, 2-2-1, Miyama,
Funabashi 274, Japan

(Received December 16, 1992)

A highly sensitive detection method of PCDDs in environmental water was developed by the concentration method using polyamide columns.

PCDDs in water samples were adsorbed first to a polyamide column to which 2-chlorodibenzo-*p*-dioxin (MCDD) and octachlorodibenzo-*p*-dioxin (OCDD) were shown to be adsorbed quantitatively. The PCDDs, then, were eluted from the column by ethanol and dichloromethane containing 1% acetic acid. The eluted MCDD and OCDD were analyzed and quantified by GC-MS-SIM with 97% and 98% of recovery, respectively. By this method, the levels of PCDDs were determined in environmental water taken at four points of Tokyo Bay and four points of river flue into Tokyo Bay. The highest PCDDs levels were obtained from the sample of Arakawa River with a level of about 400 pg/liter. The concentration method using polyamide column could be used in routine work since this method enables to quantify efficiently PCDDs even at ppq levels.

Keywords — PCDD; environmental water; polyamide column; concentration

序 論

近年、河川、^{1,2)}湖沼³⁾及び海域^{4,5)}の魚介類や底質からポリ塩化ジベンゾ-*p*-ジオキシン (PCDD) が検出され、PCDD の環境汚染についての関心が高まっている。

環境水中に見いだされる PCDD の発生源としては埋立地からの溶出、⁶⁾大気からの移行、⁷⁾散布された除草剤に混入している不純物からの溶出、⁸⁾製紙工場等の排水によるもの⁹⁾など多くの要因が考えられる。地域によって発生源が異なることから発生源の追求は困難なこととなっているが、新たな PCDD 汚染を防止するためには、多角的に汚染調査をすることが必要である。

魚介類中 PCDD 濃度は、その緩慢な代謝による生物濃縮の結果を表すものと考えられ、必ずしも試料採取時の環境水そのものの汚染度を示すものではない。また底質中の PCDD は、過去の堆積物が大部分を占め、現在の汚染を直接反映しているとは言えない。その意味では汚染の調査には水試料そのものを用いることが最良の手段であろう。しかしながら一般の環境の試料水から PCDD が検出されたとする報告は極めて少ない。¹⁰⁾この理由として試料水中 PCDD を通常の溶媒抽出で分離する限りでは PCDD レベルが検出限界に極めて近いこと、さらに試料のクリーンアップが不完全なことからその分析結果を不検出とすることなどがある。より正確に環境水の PCDD 汚染の実態を調査するために、より検

出感度の高い分析法が要求されている。

環境水中の超微量 PCDD を検出するためにはできるだけ大量の試料水を用いる必要がある。この場合、抽出法では用いる溶媒の量が増大し、抽出及び抽出液の濃縮にかなりの時間を要し分析法としては適当ではない。また日常の分析を行う場合、高価な装置を用いて検出感度を上げることより、効率の良い濃縮法で濃縮し感度を上げる方法の方がより実際的である。

そこで PCDD に対して XAD-2 より親和性が高いと考えられるポリアミドを用い、PCDD の濃縮法及び定量法について検討を行った。PCDD 同族体の中で最も塩素置換数の少ないモノクロロジベンゾ-*p*-ジオキシン (MCDD) と最も塩素置換数の多いオクタクロロジベンゾ-*p*-ジオキシン (OCDD) についてポリアミドカラムへの両物質の吸着、溶出及び分離法を検討した。さらに本濃縮法を適用して海水及び河川水試料について PCDD の分析を行った。

実験方法

試薬 ポリアミドカラムは和光純薬工業製ポリアミド C-200 を用いた。シリカゲルは Kieselgel 60 reinst (Merck 社) を用い、アルミナは Aluminium-oxid 90 aktiv neutral (Merck 社) を用いた。2-chlorodibenzo-*p*-dioxin (MCDD), octachlorodibenzo-*p*-dioxin (OCDD) はガスクロ工業から購入した。Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD), pentachlorodibenzo-*p*-dioxin (P_5 CDD), hexachlorodibenzo-*p*-dioxin (H_6 CDD), heptachlorodibenzo-*p*-dioxin (H_7 CDD), ^{37}Cl -2, 3, 7, 8-TCDD 及び ^{13}C -OCDD は Cambridge Isotope Laboratories (CIL) から購入した。他の試薬は特級品を用い、すべて和光純薬工業より購入した。

標準カラム ポリアミドカラムは、内径 30 mm, 高さ 300 mm のクロマト管にポリアミドを 200 mm の高さに水で湿式充填した。シリカゲル及びアルミナカラムは内径 10 mm, 高さ 150 mm のクロマト管にシリカゲル又はアルミナを 100 mm の高さにヘキサンで湿式充填した。

装置及び測定条件 ガスクロマトグラフ (GC) は ^{63}Ni -電子捕獲型検出器 (ECD) を装着した島津製作所製 GC-9 A ガスクロマトグラフを用いた。カラムは 3%OV-1 (chromosorb W 80-100 mesh) をガラス製カラム (2.6 mm i.d. $\times$ 1.6 m) に充填したものを用いた。カラム温度は MCDD 分析時には 140°C, OCDD には 250°C であった。キャリアガス

は窒素を用い、50 ml/min の流速とした。

ガスクロマトグラフ-質量分析 (GC-MS) は GC にヒューレットパッカード製 HP 5890 A ガスクロマトグラフ及び日本電子製 JMS-DX 303 質量分析計を用いた。

GC の条件は Supelco 社製キャピラリーカラム SP-2331 (0.25 mm i.d. $\times$ 60 m) を用い、キャリアガスはヘリウム (1 ml/min) を使用した。カラム温度は 100°C で 2 分間保持した後、100°C から 180°C までは 20°C/min, 180°C から 250°C までは 2°C/min で昇温し、250°C で 50 分間保持した。なお試料の注入はスプリットレス法で行った。

MS の条件は加速電圧 3.0 kV, 分解能 1000, イオンマルチ電圧 1.65 kV, イオン化電流 300 μA , イオン源温度 250°C, イオン化法は電子衝撃法 (EI) とし、測定は selected ion monitoring (SIM) で行った。PCDD 異性体のモニターイオンは TCDD については 320 及び 322 (m/z), P_5 CDD は 356 及び 358 (m/z), H_6 CDD は 388 及び 390 (m/z), H_7 CDD は 422 及び 424 (m/z), OCDD は 456 及び 458 (m/z) で測定した。内標準物質の ^{37}Cl -TCDD については 328 (m/z), ^{13}C -OCDD については 470 (m/z) で測定した。

試料水の採取 採水は 1989 年 8 月から 12 月までの期間に行い、Fig. 1 に示すように海水については東京湾の現在埋め立てが進行中の中央防波堤付近の A 地点、東京港の B 地点、荒川河口と江戸川河口との中間点 (C 地点)、及び千葉市幕張海岸の D 地点

Fig. 1. Sampling Points of Water

で採取し、河川水は荒川下流の E 地点、荒川中流の F 地点、江戸川下流の G 地点及び千葉市花見川の H 地点で採取した。試料採取量は 200 l とした。

試料水中 PCDD 分析の標準操作法 試料水中の PCDD の濃縮には標準ポリアミドカラムと浮遊物質を濾取するためにその上部に脱脂綿を詰めた内径 35 mm のガラスカラムを連結したものを用いた。あらかじめ内標準物質として ^{37}Cl -2, 3, 7, 8-TCDD 5 ng, ^{13}C -OCDD 10 ng を含むベンゼン溶液をポリアミドカラム上部に添加した後、試料水を合計 200 l 流し入れた。試料水中の PCDD を捕集したポリアミドカラムは、エタノール 200 ml、ついで 1% 酢酸-ジクロロメタン混液 200 ml で溶出した。一方、浮遊物質を濾取した綿は 0.1 N 水酸化ナトリウム-エタノール溶液中で約一時間還流煮沸し、含まれるプランクトン等を鹼化した。¹¹⁾ ポリアミドカラム溶出液及び浮遊物質から得られた溶液にそれぞれ 9 倍容量の 3% 塩化ナトリウム溶液を加え、ジクロロメタンで 2 回抽出した。両方の抽出液を合わせ水洗した後、1 N 水酸化ナトリウム溶液及び濃硫酸で処理して不純物を除去した。試料溶液は濃縮乾固後、ヘキサンに溶解し、常法¹²⁾ に従いシリカゲル及びアルミナカラムクロマトグラフィーによりクリーンアップを行った。得られた PCDD 分画を濃縮乾固後、トルエンに溶解して、GC-MS-SIM で測定した。

結果及び考察

ポリアミドカラム濃縮法の検討

1) **MCDD と OCDD のポリアミドカラムへの吸着性** PCDD を分析するためには、試料水の濃縮時に PCDD がポリアミドカラムに定量的に吸着する必要がある。試料が海水であることを想定して MCDD 10 μg 及び OCDD 0.1 μg を含むエタノール溶液を 3% 塩化ナトリウム溶液 1 l 中に添加した溶液を調製した後、ポリアミドカラムに流し、流出液中の両物質について調べた。流出液をヘキサンで抽出後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行い、そのヘキサン溶出画分を濃縮乾固し、ヘキサンで 1.0 ml とした溶液について GC-ECD で測定した。その結果ポリアミドカラム流出液のガスクロマトグラム (Fig. 2) には標準の MCDD 又は OCDD の保持時間と一致するピークは全く認められなかった。これは両物質が定量的にポリアミドカラムに吸着されたことを示し、ポリアミドは優れた吸着剤であることが認められた。なお、GC-ECD での MCDD の検出限界は約 100 pg、また OCDD の検出限界は約 1 pg

Fig. 2. Gas Chromatograms of Effluents from Polyamide Column

column: 3% silicon OV-1, chromosorb W glass 2.6 mm i.d. $\times$ 1.6 m, column temp.: MCDD 140°C, OCDD 250°C, carrier gas: N_2 50 ml/min, detector: ECD.

であった。

また、従来汎用されているアンバーライト XAD-2 カラムで同様の実験を行ったところ、OCDD の約 5% が流出液中に検出され、このことから PCDD は XAD-2 よりもポリアミドと強い親和性を有するものと考えられ、水中 PCDD の定量的な濃縮のためには、ポリアミドカラムを用いることがより有効であると考えられる。

2) **ポリアミドカラムに吸着された MCDD と OCDD の溶出** ポリアミドカラムの上部に MCDD 10 μg 及び OCDD 0.1 μg を含む水溶液約 20 ml を添加し、両物質を吸着させた。カラム内の水分を除去した後にこのカラムについてエタノール及び 1% 酢酸-ジクロロメタン溶液で順次溶出した。溶出液は 40 ml ずつ分取した。それぞれに 3% 塩化ナトリウム 300 ml を加え振り混ぜて抽出し、ジクロロメタン層を抽出分離した。各抽出液は濃縮乾固後、ヘキサンで 0.5 ml とし、GC-ECD で測定した。

MCDD と OCDD の溶出パターンを Fig. 3 に示

Fig. 3. Elution Patterns of MCDD and OCDD from Polyamide Column with Ethanol and 1% AcOH/CH₂Cl

column size: 30 mm i.d. × 200 mm, loaded amount: MCDD 10 μg, OCDD 0.1 μg.

す。MCDDはエタノール約200 mlで溶出され、OCDDはエタノールでは溶出されず1%酢酸-ジクロロメタン約160 mlで溶出された。したがってPCDDのカラムからの溶出はエタノール200 ml及び1%酢酸-ジクロロメタン200 mlで行うこととした。

3) ポリアミドカラム溶出液からのMCDD及びOCDDの抽出 ポリアミドカラム溶出液からのMCDD及びOCDDの抽出効率を調べるために、MCDD 10 μg及びOCDD 0.1 μgを含むエタノール溶液100 mlに水を加えてエタノール濃度が10、25及び50%となるようにし、それぞれジクロロメタンで2回抽出した。有機層を濃縮乾固後、これをヘキサンで1.0 mlとし、GC-ECDで測定を行い抽出率を求めた。

エタノール濃度と抽出率との関係をFig. 4に示す。OCDDはどの条件でも良好な抽出率を示したが、MCDDはエタノール濃度が10%以下で良好な抽出率を示した。したがって加える水の量は溶出液のエタノール含量の約9倍容量とし、水のかわりに塩析剤として3%塩化ナトリウム溶液を加えて、抽出することとした。

4) ポリアミドカラムからのMCDD及びOCDDの回収 ポリアミドカラムにMCDD(10 μg)及びOCDD(0.1 μg)を吸着させた後、2)の溶出条件で溶出を行った。この溶出液について前記の標準操作法に従って抽出及びクリーンアップを施しGC-MS及びGC-ECDで測定した結果をTable Iに示す。MCDD及びOCDDはそれぞれ良好な回収率が得られたのでポリアミドカラム濃縮法は実用に耐え得る

Fig. 4. Relationship between Ethanol Concentration and Extraction of MCDD and OCDD in the Samples Eluted from Polyamide Column

TABLE I. Recovery of MCDD and OCDD from Polyamide Column

Compound	GC-ECD		GC-MS	
	Added (μg)	Recovery (%)	Added (ng)	Recovery (%)
MCDD	10.0	97.6	50	97.3
OCDD	0.1	98.3	50	97.5

Column size: 30 mm i. d. × 200 mm.

方法であると考えられる。

ポリアミドカラム濃縮法の環境水への応用

海水及び河川水中のPCDDをGC-MS-SIMで測定した。各採水地点におけるPCDD同族体レベルをFig. 5に示す。

本法によるPCDD同族体の総量は荒川下流のE地点の河川水に最も多く、378 pg/lであった。PCDD同族体レベルはいずれの地点の試料も八塩素化体が最も多く、次に七塩素化体であり、その他の同族体は更に低いレベルであった。アルカリ性条件下において高塩素化体が容易に分解するという報告^{13,14)}を考慮すると、OCDDやH₇CDDは更に高いレベルであることも予想される。

Fig. 5のPCDD同族体のパターンはTownsendが報告した焼却発生源から少し離れた大気中の粒子状物質のパターン¹⁵⁾と比較的よく一致しており、特に東京都内のデータは地理的条件や同族体のパターンが極めて類似していることから焼却飛灰などが空气中に飛散し、水中に移行した可能性も考えられる。いずれの地点においても、流水を試料としたことか

Fig. 5. Level of PCDDs in Water

ら全く過去の汚染であるとは言えず、現在 PCDD の汚染は進行中であるものと考えられる。

今回の調査では総 PCDD レベルは 1 ppt 以下であり、人の健康に直接影響を与えるようなレベルで

はないが、本方法を応用することにより今後も長期的に PCDD 汚染を調査し、新たな汚染に対して監視することが可能であろう。

結 語

環境水中微量 PCDD は大量の試料水中より定量的にポリアミドカラムに吸着され、カラムより MCDD がエタノールで溶出され、引き続き OCDD が 1%酢酸-ジクロロメタンで溶出された。このポリアミドカラムによる濃縮法では MCDD 及び OCDD はそれぞれ高い回収率で回収された。この方法を用いて東京湾の海水及び東京湾に流入する河川水について PCDD の定量を行ってみると荒川下流の総 PCDD は約 400 pg/l で最もレベルが高かった。本法は低レベルの PCDD を分析できたことから一般の環境水中の PCDD の分析法として実用に耐え得ることがわかった。

引 用 文 献

- 1) E.H.G. Evers, K.C.M. Ree, K. Olie, *Chemosphere*, **17**, 2271 (1988).
- 2) 鈴木 滋, 佐藤信俊, 高槻圭悟, 菊地秀明, 牛沢 勇, 食衛誌, **26**, 137 (1985).
- 3) D.L. Stalling, R.J. Norstrom, L.M. Smith, M. Simon, *Chemosphere*, **14**, 627 (1985).
- 4) C. Rappe, P.-A. Berqvist, L.-O. Kjeller, *Chemosphere*, **18**, 651 (1989).
- 5) H. Miyata, K. Takayama, J. Ogaki, T. Kashimoto, S. Fukushima, *Chemosphere*, **16**, 1817 (1987).
- 6) C. Först, L. Stieglitz, G. Zwick, *Chemosphere*, **17**, 1935 (1988).
- 7) J.M. Czuczwa, R.A. Hites, *Chemosphere*, **15**, 1417 (1986).
- 8) H. Hagenmaier, H. Brunner, R. Haag, A. Berchtold, *Chemosphere*, **15**, 1421 (1986).
- 9) G. Amendola, D. Darna, R. Blosser, L. LaFleur, A. McBride, F. Thomas, T. Tiernan, R. Whittemore, *Chemosphere*, **18**, 1181 (1989).
- 10) C. Rappe, L.-O. Kjeller, R. Andersson, *Chemosphere*, **19**, 13 (1989).
- 11) 日本薬学会, “衛生試験法・注解”, 金原出版, 1990, p.620.
- 12) H.R. Buser, H.-P. Bosshart, C. Rappe, *Chemosphere*, **7**, 165 (1978).
- 13) 黒木広明, 原口浩一, 増田義人, 福岡医学雑誌, **78**, 193 (1987).
- 14) J.J. Ryan, R. Lizotte, L.G. Panopio, B.P.-Y. Lau, *Chemosphere*, **18**, 149 (1989).
- 15) D.I. Townsend, *Chemosphere*, **12**, 637 (1983).