

ダイオキシン類の迅速抽出法および前処理法の基礎的検討

— ソックスレー抽出法、高温還流抽出法、高圧液体抽出法の比較と活性炭分散シリカゲルリバーカラムによる分画の検討 —

大塚 英幸 姉崎 克典 山口 勝透 岩田 理樹 藤本 啓*

要 約

ダイオキシン類の抽出方法として、公定法のソックスレー抽出法と、高温還流抽出法及び高圧液体抽出法による抽出効率を比較検討した。また、活性炭分散シリカゲルを用いたリバーカラムとオープンカラムの二つの分画法による回収率の違いについても比較した。その結果、3種類の抽出法は、ほぼ同等の抽出効率であり、高温還流抽出法および高圧液体抽出法がソックスレー抽出法の代替法として採用可能であることが分かった。分画法についてはリバーカラムの方がよい回収率を示した。これらの代替法の採用によりダイオキシン類の分析時間の短縮及び使用溶媒量の減量化が可能である。

Key Words: PCDDs/PCDFs、Co-PCBs、高圧液体抽出、高温還流抽出、活性炭分散シリカゲルリバーカラム

1 はじめに

ダイオキシン類の分析は、(1) 溶媒抽出、(2) クリーンアップ（夾雑物質の除去）、(3) 分画（干渉成分を分離）、(4) GC/MSによる定量という工程を経て行われる。この工程は、通常2週間以上の作業時間を要し、多量の有機溶媒を使用する。さらに、抽出の際に溶媒を加熱するため火災などの危険を伴う。ダイオキシン類の分析を行う上で抽出、前処理の迅速化及び使用溶媒量低減化を図ることは分析従事者にとって大きな課題である。

試料の抽出方法については、公定法としてソックスレー抽出法（Soxhlet Extraction、以下「SE」と略する）が規定されているが、それに代わる方法として、高圧液体抽出法（Pressurized Liquid Extraction、以下「PLE」と略する）及び高温還流抽出法（Hot Extraction、以下「HE」と略する）が着目されている。PLEは、溶媒を用いてセル内において高温高圧条件下で抽出を行う方法であり、使用溶媒量の少ないこと、抽出時間が短いこと及び安全性においてSEよりも優れているという利点がある。これらについて、様々な試料、条件における抽出条件が検討され、試料の性状、水分含有量、抽出温度及び使用溶媒により抽出効率はかなり異なることが報告されており¹⁻⁶⁾、試料に合わせた条件の最適化が望まれる。HEは、SEにおける抽出部を加熱し一定の速度で抽出部の溶媒の一部を溶媒容器に排出する方法であり、抽出時間の短縮及び安全性の面から

有用な代替抽出法であると考えられる。

また、前処理工程のうちPCDDs/PCDFsと非平面構造のPCBsとの分画においては、PCDDs/PCDFsとCo-PCBsの同時処理が可能な活性炭分散シリカゲルカラムを用いる方法が開発され⁷⁾、公定法として広く用いられている。しかしながら、この方法においても通常行われているオープンカラムによる操作の場合は、PCDDs/PCDFsのうち7塩素化物及び8塩素化物が溶出しにくく、回収率が低くなることが確認されている。回収率を上げるために第3画分のトルエンによる溶出に300ml程度を使用する必要があり、溶出時間が長いという問題点があった。これらの問題点を解決するため、活性炭分散シリカゲルカラムをカートリッジ化して、第3画分を逆方向に溶出する試みが報告され⁸⁻¹⁰⁾、2003年より製品化されている。

今回、我々はダイオキシン分析の迅速化及び使用溶媒の減量化を図る目的で、SEに代わる迅速抽出法としてPLEとHEの抽出効率について比較検討するとともに活性炭分散シリカゲルオープンカラムと活性炭分散シリカゲルリバーカラムの回収率について比較検討を行った。

2 方法

2.1 抽出

検討に用いた試料は、平成10年度環境測定分析統一制度管理調査で配布されたばいじん試料である。試料を精秤後1時間塩酸処理し、アセトン処理のち一晚風乾したものについて、3つの抽出法により比較検討した。それぞれの

* 北海道立衛生研究所

操作について3回ずつ繰り返し、平均値と相対標準偏差を算出した。また塩酸処理、アセトン処理及び水洗時に固相から分離した液相は、トルエンにより液液抽出し、抽出液に加えた。

(1) SE

トルエンを溶媒とし、溶媒容器加熱温度130℃で16時間抽出した。

(2) HE

抽出装置にはBüchi社製B-811を使用し、トルエンを溶媒として溶媒容器を130℃で加温し、抽出部を60℃に加温し、抽出部に溜まったトルエンを数mlずつ溶媒容器に排出しながら6時間還流抽出後、抽出部のトルエンを溶媒容器に排出し、抽出部と溶媒容器の連絡管の弁を開き、30分間トルエンを還流させた。

(3) PLE

抽出装置には高圧液体抽出装置ASE300（ダイオネクス社製）を用い、以下の条件により抽出を行った。

抽出溶媒：トルエン、オープン温度：150℃、圧力：1500 psi、設定温圧保持時間：15分、溶媒入れ替え割合（対セル容積）：150%、N2ページ：60秒

また繰り返し抽出回数は、3回目においてなお数%のPCDDs/PCDFsが抽出されるとの報告³⁾を踏まえ、2回と3回の2通りについて検討した。

2.2 クリーンアップ及び分画

クリーンアップスパイクを添加した抽出液を多層シリカゲルカラムでクリーンアップ後、分画は活性炭分散シリカゲルリバースカラム及び活性炭分散シリカゲルオープンカラムにより行い、両者の回収率の違いを検討した。各カラムの条件は次のとおりである。

(1) 多層シリカゲルカラム（充填材は和光純薬社製）

コンディショニング：n-ヘキサン150ml

展開溶媒：n-ヘキサン190ml

(2) 活性炭分散シリカゲルリバースカラム（関東化学社製）

コンディショニング：なし

展開溶媒：

Fr.1 n-ヘキサン40ml

Fr.2 25%(v/v)ジクロロメタン—n-ヘキサン40ml

Fr.3（リバース後）トルエン60ml

(3) 活性炭分散シリカゲルオープンカラム（充填材は関東化学社製、充填量1g、カラム内径6mm）

コンディショニング：なし

展開溶媒：

Fr.1 n-ヘキサン40ml

Fr.2 25% (v/v)ジクロロメタン—n-ヘキサン40ml

Fr.3 トルエン300ml

なお、活性炭分散シリカゲルオープンカラムのFr.3通液

時はカラムを使い捨てカイロにより30℃程度に保温した。

2.3 濃縮

分画後の試料溶液は、濃縮後スピッツ管に移し、0.5ml程度まで濃縮、さらにシリンジスパイク添加後最終的に50μl程度に濃縮し、測定バイアルに移して測定に供した。

2.4 測定

測定はHR-GCにアジレント社製6890plus、HR-MSには日本電子社製JMS-700Dを用い、ロックマス方式の選択イオン検出法により行った。HR-GC/HR-MSの分析条件は表1のとおりである。

3 結果と考察

3.1 SE、HE及びPLEによる定量値の比較

表2に各抽出法による分析値を示す。それぞれの抽出法ごとの相対標準偏差（RSD）の値はSEで1~11%、HEで1~13%、PLE（繰り返し抽出回数3回）で0.1~13%、PLE（繰り返し抽出回数2回）で0.4~10%であり、概ね数%程度の変動であった。

表3及び図1に、HEとPLE（繰り返し抽出回数2回、3回）と、SEによる定量値の比較を示す。HE/SE比は、異性体ごとの比較では0.93~1.14の範囲であり、全体とし

表1 GC/MSの分析条件

	Te~HxCDD/Fs	Hp~OCDD/Fs	Co-PCBs
GC カラム	SP2331 (60m,0.25mm, 0.2μm)	DB17 (30m,0.32mm, 0.25μm)	HT8-PCB (60m,0.25mm)
オープン温度	100℃(1min)- 20℃/min- 200℃(0min)- 2℃/min- 260℃(24min)	100℃(1min)- 20℃/min- 280℃(10min)	120℃(1min)- 20℃/min- 180℃(0min)- 2℃/min- 260℃(0min)- 5℃/min- 300℃(13min)
注入口温度	260℃	280℃	280℃
キャリアガス流量	1.5ml/min	1.5ml/min	1.0ml/min
注入法	スプリットレス	スプリットレス	スプリットレス
分解能	10000以上	10000以上	10000以上
測定モード	EI(電子衝撃型)	EI(電子衝撃型)	EI(電子衝撃型)
ポーラリティ	+	+	+
イオン源温度	260℃	260℃	260℃
イオン化電圧	40V	40V	40V
イオン化電流	500μA	500μA	500μA
加速電圧	10kV	10kV	10kV
GCインターフェース温度	280℃	280℃	280℃
インレットパイプ温度	280℃	280℃	280℃
PFKインレット温度	70℃	70℃	70℃
イオンマルチ電圧	1.2kV	1.05kV	1.2kV
データ採取方法	SIM(ロックマス)	SIM(ロックマス)	SIM(ロックマス)

て±数%の範囲内であった。また、同族体濃度の比較では0.96~1.03とほぼ1に近い値であった。PLE（繰り返し抽出回数2回）/SEは0.87~1.08の範囲であり、Co-PCBsでやや低い傾向にあるが、全体としてみると±数%の違いであった。各抽出法における定量値のばらつきを考え合わせると、HEとSE、並びにPLE（繰り返し抽出回数2回）とSEはそれぞれ概ね良好な一致を示したと言える。PLEとSEを比較した報告^{1~6)}を見ると、水分を含んでいる試料をそのまま抽出した場合、あるいはPLEの抽出温度を高く設定した例ではSEに比べPLEでは高塩素化体で低く、低塩素化体で高くなる傾向が指摘されており、今回のような良好な一致を示していない。これは、PLEでは水分、温度などの影響により高塩素化体が壊れ、低塩素化体にシフトするためと考えられている。今回は、抽出前に塩酸処理を行い、ろ過、水洗後にアセトン処理してから風乾して、水分を十分除いた試料を、比較的穏やかな抽出温度設定でPLE抽出しており、これらの条件下では高塩素化体の分解等がおこりにくく、PLEとSEとの差がほとんど無かったと考えられる。

また、PLE(繰り返し抽出回数3回)/PLE(繰り返し抽出回数2回)は0.95~1.15の範囲で、#189-HpCBを除いたすべての異性体で1以上であり、繰り返し2回の抽出では平均数%が抽出されずに残留している可能性がある。各抽出法における相対標準偏差が数%のレベルであり、全異性体について2回と3回とで有意な差があるとはいえないものの、3回繰り返し抽出を行う方が、全体的により抽出効率が高くなると思われる。

表2 各抽出法による分析値

Compound	SE		HE		PLE(繰り返し抽出回数2回)		PLE(繰り返し抽出回数3回)	
	平均	RSD	平均	RSD	平均	RSD	平均	RSD
	ng/g	%	ng/g	%	ng/g	%	ng/g	%
2378-TeCDD	1.3	9	1.5	1	1.4	13	1.3	9
12378-PeCDD	5.0	10	5.4	6	5.4	7	5.1	5
123478-HxCDD	6.6	1	6.4	13	6.4	1	6.2	8
123678-HxCDD	16	11	15	6	16	0.1	15	7
123789-HxCDD	12	1	12	7	12	2	12	7
2378-TeCDF	4.7	8	4.7	6	5.1	1	4.5	2
12378-PeCDF	12	7	13	3	14	1	13	8
23478-PeCDF	11	2	12	2	13	4	12	6
123478-HxCDF	22	9	21	3	23	6	22	3
123678-HxCDF	20	8	22	3	23	2	22	1
123789-HxCDF	1.9	4	2.0	7	2.0	11	2.0	4
234678-HxCDF	37	4	36	4	39	4	37	6
1234678-HpCDD	210	2	210	2	220	1	210	5
1234678-HpCDF	140	1	140	2	150	2	140	5
1234789-HpCDF	19	6	20	2	22	3	21	6
OCDD	670	3	660	2	700	1	610	9
OCDF	130	5	120	2	120	0.3	120	3
#77-TeCB	1.3	4	1.3	6	1.4	1	1.3	2
#81-TeCB	0.49	4	0.49	3	0.50	2	0.47	3
#105-PeCB	0.68	4	0.70	12	0.68	3	0.67	5
#114-PeCB	N.D.	-	N.D.	-	N.D.	-	N.D.	-
#118-PeCB	N.D.	-	N.D.	-	N.D.	-	N.D.	-
#123-PeCB	N.D.	-	N.D.	-	N.D.	-	N.D.	-
#126-PeCB	1.8	11	1.8	6	1.7	4	1.7	10
#156-HxCB	1.2	4	1.1	6	1.1	3	1.0	5
#157-HxCB	0.72	4	0.75	5	0.7	4	0.64	9
#167-HxCB	0.57	6	0.57	2	0.58	11	0.52	0.4
#169-HxCB	1.2	4	1.2	6	1.1	6	1.1	3
#189-HpCB	1.6	2	1.6	5	1.6	0.1	1.6	7
TeCDDs	20	8	20	5	21	5	19	8
PeCDDs	57	7	55	8	60	5	55	6
HxCDDs	170	7	170	4	180	1	170	7
TeCDFs	130	4	140	1	130	2	120	6
PeCDFs	160	5	170	1	170	2	160	5
HxCDFs	220	5	220	3	230	4	220	3
HpCDDs	390	1	380	2	400	1	380	4
HpCDFs	240	1	230	2	250	2	240	5
TeCBs	1.8	2	1.8	5	1.9	1	1.7	3
PeCBs	3.3	3	3.3	3	3.3	0.4	3.3	4
HxCBs	3.7	1	3.6	4	3.5	2	3.3	3

SE: Soxhlet Extraction, HE: Hot Extraction, PLE: Pressurized Liquid Extraction, RSD: 相対標準偏差, "N.D.": 定量下限値未満

出回数2回)は0.95~1.15の範囲で、#189-HpCBを除いたすべての異性体で1以上であり、繰り返し2回の抽出では平均数%が抽出されずに残留している可能性がある。各抽出法における相対標準偏差が数%のレベルであり、全異性体について2回と3回とで有意な差があるとはいえないものの、3回繰り返し抽出を行う方が、全体的により抽出効率が高くなると思われる。

表3 各抽出法間の濃度比

Compound	HE/SE	PLE(2回)/SE	PLE(3回)/SE	PLE(3回)/PLE(2回)
2378-TeCDD	1.14	1.01	1.07	1.06
12378-PeCDD	1.07	1.02	1.07	1.05
123478-HxCDD	0.97	0.95	0.97	1.02
123678-HxCDD	0.93	0.95	1.01	1.06
123789-HxCDD	1.01	0.98	1.04	1.06
2378-TeCDF	1.00	0.95	1.07	1.12
12378-PeCDF	1.05	1.02	1.09	1.07
23478-PeCDF	1.03	1.03	1.12	1.09
123478-HxCDF	0.97	1.00	1.05	1.06
123678-HxCDF	1.10	1.06	1.12	1.05
123789-HxCDF	1.02	1.03	1.05	1.01
234678-HxCDF	0.96	1.00	1.03	1.04
1234678-HpCDD	0.97	0.99	1.03	1.04
1234678-HpCDF	0.97	1.01	1.03	1.02
1234789-HpCDF	1.00	1.08	1.13	1.05
OCDD	0.98	0.91	1.04	1.15
OCDF	0.93	0.92	0.97	1.06
#77-TeCB	1.00	0.98	1.07	1.09
#81-TeCB	1.02	0.97	1.03	1.06
#105-PeCB	1.04	0.99	1.00	1.01
#126-PeCB	1.01	0.95	0.98	1.02
#156-HxCB	0.96	0.88	0.91	1.04
#157-HxCB	1.04	0.89	0.97	1.09
#167-HxCB	1.01	0.91	1.02	1.11
#169-HxCB	0.96	0.87	0.92	1.05
#189-HpCB	0.99	1.00	0.95	0.95
TeCDDs	0.99	0.95	1.04	1.10
PeCDDs	0.97	0.97	1.06	1.09
HxCDDs	0.96	0.97	1.03	1.06
TeCDFs	1.03	0.94	0.98	1.04
PeCDFs	1.03	0.99	1.08	1.10
HxCDFs	0.99	1.00	1.05	1.05
HpCDDs	0.97	0.98	1.02	1.05
HpCDFs	0.97	1.01	1.05	1.03
TeCBs	1.01	0.98	1.06	1.08
PeCBs	1.01	1.00	1.00	1.00
HxCBs	0.98	0.89	0.94	1.06

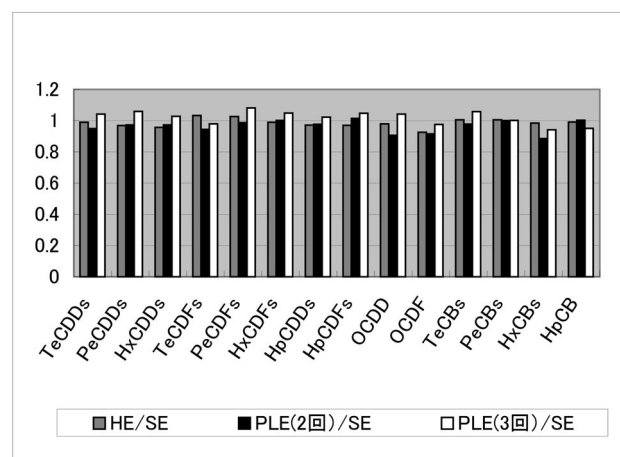


図1 各抽出法間の濃度比

3.2 活性炭分散シリカゲルを用いたリバースカラムとオープンカラムによる回収率の比較

表4に活性炭分散シリカゲルを用いたリバースカラムとオープンカラムによる回収率の比較を示す。いずれの方法もすべての異性体について公定法に定められた回収率50～120%の範囲内であった。オープンカラムではOCDD/OCDFと殆どのCo-PCBs異性体で90%以下となっていたが、一方のリバースカラムでは91～104%と、オープンカラムと比べ同等以上の回収率であり、ここで用いた市販のリバースカラムは十分分画操作に適する性能を有することが確認できた。また、リバースカラムの第3画分に使用したトルエンの量はオープンカラムの5分の1の60mlであり、1検体あたり240ml削減でき、溶出時間も1回につき4時間程度短縮することができた。

表4 活性炭分散シリカゲルリバースカラムとオープンカラムの回収率の比較

Compound	Isomer	リバースカラム 回収率(%)	オープンカラム 回収率(%)
13C-TeCDD	2378	95	95
13C-PeCDD	12378	103	100
13C-HxCDD	123678	103	102
13C-TeCDF	2378	95	101
13C-PeCDF	12378	101	100
13C-HxCDF	123478	100	97
13C-HpCDD	1234678	97	98
13C-HpCDF	1234678	92	92
13C-OCDD	12346789	97	89
13C-OCDF	12346789	94	86
13C-TeCB	#81	91	84
13C-TeCB	#77	92	83
13C-PeCB	#105	96	85
13C-PeCB	#114	98	89
13C-PeCB	#118	101	93
13C-PeCB	#123	98	88
13C-PeCB	#126	97	83
13C-HxCB	#167	100	86
13C-HxCB	#156	100	85
13C-HxCB	#157	100	85
13C-HxCB	#169	104	86
13C-HpCB	#189	102	83

4 まとめ

ダイオキシン類の抽出方法として公定法に指定されているソックスレー抽出法(SE)に代わる方法として、高圧液体抽出法(PLE)が、使用溶媒量の少ないこと、抽出時間が短いこと及び安全性において優れているという理由で着目されている。また、高温還流抽出法(HE)も、抽出時間の短縮の面から有用な代替抽出法であると考えられる。これらの抽出方法を比較検討した結果、PLE及びHEは、SEとほぼ同等の抽出効率であった。これらのことか

ら、今回、十分水分を除去したばいじん試料を用いて検討した結果、HE及びPLEがSEとほぼ同等の抽出効率を得ることができ、SEの代替法として採用可能であることが分かった。

また、活性炭分散シリカゲルを用いたリバースカラムとオープンカラムによる回収率を比較した結果、リバースカラムの方が上回った。さらにリバースカラムではオープンカラムに比べ使用するトルエンの量を減量でき、溶出時間を短縮することができた。

これらの代替法を採用することにより、ダイオキシン分析の効率化及び安全性の向上を図ることが可能である。

参考文献

- 1) 大高広明, 石渡康尊, 西岡信浩, 王効拳, 梅津令士, 高速溶媒抽出(ASE)法によるダイオキシン類迅速抽出法の検討(その1) - 土壌試料の抽出効率についての検討 -, 第11回環境化学討論会講演要旨集, 388-389, 2002
- 2) 岸田真男, 山本仁史, 服部幸和, 高速溶媒抽出装置を用いた底質中のダイオキシン類の分析, 第12回環境化学討論会講演要旨集, 602-603, 2003
- 3) 村山等, 鈴木貴博, 種岡裕, 高井透, 谷中和子, 渋谷信雄, 橋本俊次, 伊藤裕康, ダイオキシン類迅速抽出法の検討 - 1 - 高圧液体抽出による試料に応じた抽出条件の最適化 -, 第12回環境化学討論会講演要旨集, 604-605, 2003
- 4) 半野勝正, 依田彦太郎, 吉澤正, 石渡康尊, 仁平雅子, 中村朋之, 宮崎雅弘, 村山等, 佐々木裕子, 村瀬秀也, 岡本拓, 橋本俊次, 伊藤裕康, ダイオキシン類迅速抽出法の検討 - 2 - 灰試料におけるソックスレー抽出, 高圧液体抽出(PLE), 超音波抽出の比較 -, 第12回環境化学討論会講演要旨集, 606-607, 2003
- 5) 飯村文成, 佐々木裕子, 佐々木啓行, 半野勝正, 橋本俊次, 伊藤裕康, ダイオキシン類迅速抽出法の検討 - 3 - 高圧液体抽出による選択的抽出法の検討 -, 第12回環境化学討論会講演要旨集, 608-609, 2003
- 6) 日浦盛夫, 大原俊彦, 岡本拓, 橋本俊次, 伊藤裕康, ダイオキシン類迅速抽出法の検討 - 4 - 高圧液体抽出による湿泥試料の高効率抽出法の検討 -, 第12回環境化学討論会講演要旨集, 610-611, 2003
- 7) 村山等, 茨木剛, 種岡裕, 高井透, ダイオキシン類及びコプラナーPCB同時定量のための前処理方法の検討, 新潟県保健環境科学研究所年報, Vol.16, 98-103, 2001
- 8) 増崎裕子, 松村徹, 小林幹夫, 活性炭分散シリカゲルによるダイオキシン類分析前処理分画条件の検討, 第

11回環境化学討論会講演要旨集, 139-140, 2002

- 9) 清家伸康, 横石英樹, Hee-Soo Eun, 上垣隆一, 桑原雅彦, 上路雅子, カートリッジ化活性炭分散シリカゲルを用いたダイオキシン類の分析, 第11回環境化学討論会講演要旨集, 648-649, 2002
- 10) 小林幹夫, ダイオキシン類分析用活性炭分散シリカゲルリバースカラム, The Chemical Times, Vol.188, 18-21, 2003

Basic Study of Rapid and Simplified Analysis for Dioxins

OTSUKA Hideyuki, ANEZAKI Katsunori,
YAMAGUCHI Katsuyuki, IWATA Riki,
FUJIMOTO Toru

Abstract

Comparison of the dioxin extraction efficiency of three methods was carried out. Consequently, Soxhlet Extraction, Hot Extraction and Pressurized Liquid Extraction were the almost same extraction efficiency. In these conditions, Hot Extraction and Pressurized Liquid Extraction can adopt as a method of substituting for Soxhlet Extraction. Moreover, as a result of comparing the recovery rate by active carbon-dispersed silica gel reverse column and the open column, reverse column showed good recovery rate. It is possible to reduce the analysis time and the amount of solvents for dioxin analysis by adopting these substitute methods.