

土壌試料中ダイオキシン類迅速抽出法の基礎的検討 — 高温還流抽出法の条件検討とソックスレー抽出法との比較 —

大塚 英幸 姉崎 克典 山口 勝透 岩田 理樹

要 約

土壌試料中のダイオキシン類の抽出方法として、高温還流抽出法による抽出率の経時変化を観察し、公定法のソックスレー抽出法（トルエンにより16時間抽出）との比較検討を行った。また、抽出溶媒にトルエン及びアセトンを用いた場合についても比較検討した。その結果、トルエンを溶媒とした場合、高温還流抽出法では、6時間で公定法と同等以上の抽出率が得られ、より短時間でダイオキシン類を抽出できることが分かった。こ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が可能である。

Key Words: PCDDs、PCDFs、Co-PCBs、高温還流抽出、迅速抽出法

1 はじめに

ダイオキシン類の分析に必要な抽出操作及び前処理は煩雑な上、有機溶媒を加熱する抽出工程に長時間を要し、危険を伴う。ダイオキシン類の抽出工程の迅速化は分析従事者にとって緊急かつ重要な課題である。

土壌試料中ダイオキシン類の抽出方法については、公定法¹⁾として16時間のトルエンソックスレー抽出法（Soxhlet Extraction, 以下「SE法」と略する。）が規定されている。それに代わる方法として、自動ソックスレー抽出法、高圧

液体抽出法、超音波環流抽出法、マイクロ波加熱抽出法などが提案され、検討されている^{2, 3, 4)}。この中で高温還流抽出法（Hot Extraction、以下「HE法」と略する。）は、SE法における抽出部を加温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。

今回、我々は土壌中ダイオキシン類抽出の迅速化を図る目的で、SE法に代わる迅速抽出法としてのHE法の抽出率を、2種類の溶媒を用い、抽出時間を変えることによる変化について比較検討したので報告する。

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, 0.2 μm)	DB17 (30m, 0.32mm, 0.25 μm)	HT8-PCB (60m, 0.25mm)
オープン温度	100°C (1min) - 20°C/min - 200°C (0min) - 2°C/min	100°C (1min) - 20°C/min - 280°C (10min)	120°C (1min) - 20°C/min - 180°C (0min) - 2°C/min - 260°C (0min) - 5°C/min - 300°C (13min)
注入口温度	260°C	280°C	280°C
キャリアガス流量	1.5 ml/min	1.5 ml/min	1.0 ml/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°C	260°C	260°C
イオン化電圧	40V	40V	40V
イオン化電流	500 μA	500 μA	500 μA
加速電圧	10kV	10kV	10kV
GCインターフェース温度	280°C	280°C	280°C
インレットパイプ温度	280°C	280°C	280°C
PFKインレット温度	70°C	70°C	70°C
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)

なお、本稿内でダイオキシン類とはポリ塩素化ダイベンゾダイオキシン（以下「PCDDs」と略する。）、ポリ塩素化ダイベンゾフラン（以下「PCDFs」と略する。）及びコプラナーPCB（以下「Co-PCBs」と略する。）の総称であり、個々の化合物をコンジェナーと呼び、塩素数が同じコンジェナーを総称して同族体と呼ぶ。

抽出操作及び前処理にあたっては、紫外線によるダイオキシン類の分解を避けるため^{5, 6)}、抽出時及び試料を保管する間は抽出容器やフラスコ類の全体をアルミホイルで巻き、分析室内の照明には紫外線カットの蛍光管を用い、窓に紫外線カットフィルムを貼るなど、できる限りの遮光条件下で操作を行った。

2 方法

2.1 抽出

本検討に用いた試料は、平成15年度環境測定分析統一精

表2 HE法による抽出率の経時変化（SE法（トルエンで16時間抽出）に対する百分率）

溶媒		トルエン				アセトン				
抽出時間		2h	4h	6h	12h	2h	4h	6h	12h	
		%	%	%	%	%	%	%	%	
PCDDs	4塩素化物	2,3,7,8-TeCDD	97	107	110	119	41	45	47	52
	5塩素化物	1,2,3,7,8-PeCDD	86	94	97	106	38	42	44	47
	6塩素化物	1,2,3,4,7,8-HxCDD	86	94	97	105	48	52	54	58
		1,2,3,6,7,8-HxCDD	88	95	98	105	53	57	59	62
		1,2,3,7,8,9-HxCDD	88	96	100	108	44	48	50	54
	7塩素化物	1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	90	97	99	105	67	71	73	76
	8塩素化物	OCDD	100	103	104	109	90	97	101	109
	PCDFs	4塩素化物	2,3,7,8-TeCDF	85	91	93	100	51	57	59
5塩素化物		2,3,4,7,8-PeCDF	84	89	92	98	51	55	57	61
6塩素化物		1,2,3,4,7,8-HxCDF	94	100	103	109	57	61	63	67
		1,2,3,6,7,8-HxCDF	92	98	100	106	54	58	60	64
		2,3,4,6,7,8-HxCDF	90	96	98	104	59	62	64	68
7塩素化物		1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	93	99	101	106	62	66	67	71
		1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	96	104	106	112	58	63	65	69
8塩素化物		OCDF	105	109	110	114	67	72	74	78
PCDD同族体	4塩素化物	TeCDDs	98	104	106	113	59	65	67	72
	5塩素化物	PeCDDs	89	96	99	107	48	52	54	58
	6塩素化物	HxCDDs	88	94	97	104	53	57	58	62
	7塩素化物	HpCDDs	91	98	100	106	70	74	76	80
	8塩素化物	OCDD	100	103	104	109	90	97	101	109
	計	PCDDs	98	101	103	108	83	89	92	99
PCDF同族体	4塩素化物	TeCDFs	90	95	98	104	56	62	64	68
	5塩素化物	PeCDFs	85	89	92	97	56	60	62	66
	6塩素化物	HxCDFs	94	99	101	106	60	64	66	70
	7塩素化物	HpCDFs	96	101	103	107	65	69	70	74
	8塩素化物	OCDF	105	109	110	114	67	72	74	78
	計	PCDFs	93	98	100	105	60	64	66	70
同族体の合計		PCDDs+PCDFs	97	101	102	108	78	84	87	93
ノンオルト	4塩素化物	3,4,4',5-TeCB (#81)	97	102	104	110	70	76	79	84
		3,3',4,4'-TeCB (#77)	98	103	105	110	69	74	77	82
	5塩素化物	3,3',4,4',5-PeCB (#126)	91	95	97	102	68	73	75	80
	6塩素化物	3,3',4,4',5,5'-HxCB (#169)	91	94	96	99	72	76	78	82
		Total Non-ortho PCBs	96	100	102	107	69	74	77	82
モノオルト	5塩素化物	2',3,4,4',5-PeCB (#123)	95	98	100	104	76	83	85	90
		2,3',4,4',5-PeCB (#118)	100	104	106	110	84	90	93	98
		2,3,3',4,4'-PeCB (#105)	96	99	101	105	81	87	89	94
		2,3,4,4',5-PeCB (#114)	100	103	105	109	85	90	92	96
	6塩素化物	2,3',4,4',5-HxCB (#167)	94	97	98	101	88	93	96	100
		2,3,3',4,4',5-HxCB (#156)	102	105	106	110	89	94	96	101
		2,3,3',4,4',5'-HxCB (#157)	101	105	106	109	91	96	98	102
	7塩素化物	2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (#189)	93	95	97	99	80	84	86	90
	計	Total Mono-ortho PCBs	98	102	104	108	84	90	92	97
	Co-PCBの合計		Total Coplanar PCBs	98	102	104	108	82	88	90

度管理調査で配布された土壌試料Aである。この試料は、関東ローム土を採取後50℃で乾燥し、100メッシュのふるいを通過したものを、混合・均質化したものである。この試料を精秤後、SE法とHE法の2つの抽出法により抽出した。抽出装置にはBüchi社製B-811を使用し、SE法についてはトルエンを用い、また、HE法については、抽出用溶媒による違いを見るために、トルエンとアセトンを用いた。なお、HE法による抽出に際しては、抽出開始から2時間後、4時間後及び6時間後に一旦抽出を止め、溶媒を新たに交換してさらに抽出を続け、最終的に12時間経過後抽出を終了した。このことにより抽出開始から2時間後まで、2時間経過後から4時間後まで、4時間経過後から6時間まで、6時間経過後から12時間までの4つの抽出液を得、それぞれを分析に供した。これらの試料の分析結果を足し合わせることによって、抽出開始から2時間後、4時間後、6時間後、及び12時間後の抽出率を観察した。それぞれの操作についての繰り返しは試料量に限りがあったため、n = 2とした。

2.1.1 SE法

抽出部は加温せず、溶媒容器のみ加熱し、抽出部上部まで溶媒が溜まるたびにすべて排出するソックスレー抽出モードで、16時間抽出した。

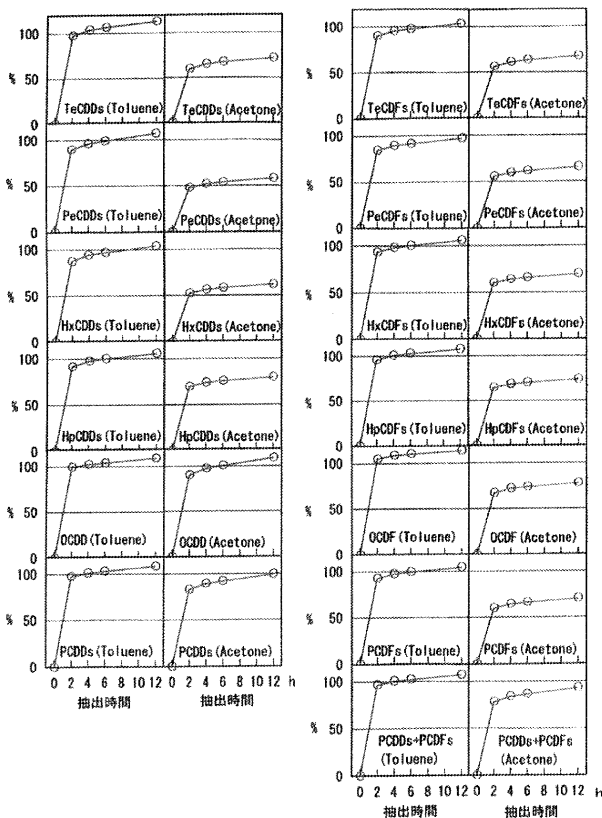


図 1-1 HE法による抽出率の経時変化 (SE法 (トルエンで16時間抽出) に対する百分率)

2.1.2 HE法

溶媒容器及び抽出部を加温して抽出部に溜まった溶媒を数mlずつ溶媒容器に排出しながら一定時間還流抽出した。抽出部の実測温度は、トルエンで約80℃、アセトンで約50℃であった。

2.2 クリーンアップ及び分画

粗抽出液をヘキサンに転溶後、クリーンアップスパイクを添加し、多層シリカゲルカラムでクリーンアップを行った。分画は活性炭分散シリカゲルカラムによって行った。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カラム (充填材は関東化学社製)

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100ml

Fr.3 トルエン250ml

なお、活性炭分散シリカゲルカラムの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程度まで濃縮し、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

測定に際し、高分解能ガスクロマトグラフ (HR-GC) にアジレント社製6890plus、高分解能質量分析計 (HR-MS) には日本電子社製JMS-700Dを用いた。HR-GC/HR-MSの分析条件は表1のとおりである。

なお、今回のカラム条件では1,2,3,7,8-PeCDF と1,2,3,7,

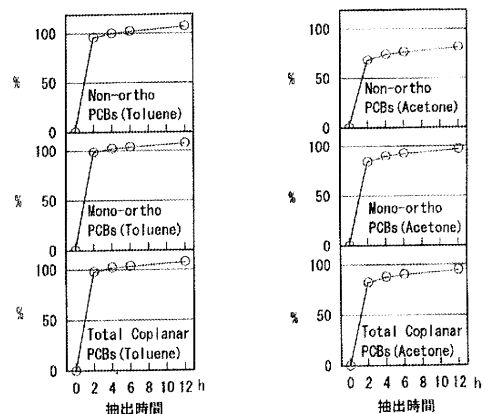


図 1-2 HE法による抽出率の経時変化 (SE法 (トルエンで16時間抽出) に対する百分率)

8,9-HxCDFはピークの分離が不十分であったため欠測とした。

3 結果と考察

3.1 HE法による抽出率の経時変化

表2及び図1に、SE法（トルエンで16時間抽出）により抽出した場合の定量値を基準とした、HE法によるダイオキシン類抽出率の経時変化を示す。

トルエンで抽出した場合、抽出開始から2時間でPCDDs

+PCDFsは97%、トータルCo-PCBsは98%抽出された。4時間抽出では、PCDDs+PCDFsが101%、トータルCo-PCBsが102%であり、概ねSE法と同等の抽出率が観察された。なお、同族体の抽出率を見ると、PeCDFsの抽出率は89%にとどまった。

6時間抽出で個々のコンジェナーについて見るとTe-及びPe-CDFが92~93%と若干低めではあるが、同族体組成は92~110%の範囲であり、さらに全体的に見るとPCDDs+PCDFsが102%、トータルCo-PCBsが104%であり、SE法と同等以上の抽出率が観察された。

表3 SE法とHE法との抽出率比較（土壌試料）

				SE法（トルエン）		HE法（トルエン）	
				16h	6h	SE法(16h)に対する百分率	
				pg/g	pg/g	%	
PCDDs	4塩素化物	2,3,7,8-TeCDD	3.7	4.1	110		
	5塩素化物	1,2,3,7,8-PeCDD	33	32	97		
	6塩素化物	1,2,3,4,7,8-HxCDD	41	40	97		
		1,2,3,6,7,8-HxCDD	62	61	98		
		1,2,3,7,8,9-HxCDD	69	68	100		
	7塩素化物	1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	420	420	99		
	8塩素化物	OCDD	7000	7300	104		
	PCDFs	4塩素化物	2,3,7,8-TeCDF	18	16	93	
5塩素化物		2,3,4,7,8-PeCDF	40	37	92		
6塩素化物		1,2,3,4,7,8-HxCDF	55	57	103		
		1,2,3,6,7,8-HxCDF	57	57	100		
		2,3,4,6,7,8-HxCDF	80	79	98		
7塩素化物		1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	270	270	101		
		1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	33	35	106		
8塩素化物		OCDF	290	320	110		
PCDD同族体	4塩素化物	TeCDDs	280	300	106		
	5塩素化物	PeCDDs	390	380	99		
	6塩素化物	HxCDDs	710	690	97		
	7塩素化物	HpCDDs	750	750	100		
	8塩素化物	OCDD	7000	7300	104		
	計	PCDDs	9200	9400	103		
PCDF同族体	4塩素化物	TeCDFs	480	460	98		
	5塩素化物	PeCDFs	570	520	92		
	6塩素化物	HxCDFs	660	670	101		
	7塩素化物	HpCDFs	510	530	103		
	8塩素化物	OCDF	290	320	110		
	計	PCDFs	2600	2500	100		
同族体の合計		PCDDs+PCDFs	12000	12000	102		
ノンオルト	4塩素化物	3,4,4',5-TeCB (#81)	8.4	8.7	104		
		3,3',4,4'-TeCB (#77)	110	110	105		
	5塩素化物	3,3',4,4',5-PeCB (#126)	48	46	97		
	6塩素化物	3,3',4,4',5,5'-HxCB (#169)	14	13	96		
		Total Non-ortho PCBs	180	180	102		
モノオルト	5塩素化物	2',3,4,4',5-PeCB (#123)	28	28	100		
		2,3',4,4',5-PeCB (#118)	520	550	106		
		2,3,3',4,4'-PeCB (#105)	300	300	101		
		2,3,4,4',5-PeCB (#114)	12	13	105		
	6塩素化物	2,3',4,4',5,5'-HxCB (#167)	75	74	98		
		2,3,3',4,4',5-HxCB (#156)	140	150	106		
		2,3,3',4,4',5'-HxCB (#157)	53	56	106		
	7塩素化物	2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (#189)	30	29	97		
		Total Mono-ortho PCBs	1200	1200	104		
Co-PCBの合計		Total Coplanar PCBs	1300	1400	104		

12時間抽出では、PCDDs + PCDFs が108%、トータルCo-PCBsが108%であった。

抽出時間を延長することによって抽出率が向上したのは、腐植質のような土壌粒子の微細構造中に存在している、抽出されにくいダイオキシン類が少しずつ抽出されていること等が推測されるが、公定法と比較して同等以上という条件は、6時間で十分満たされると思われる。

一方、アセトンを経済とした場合、6時間での抽出率はPCDDs + PCDFs が87%、トータルCo-PCBsが90%であり、12時間でもPCDDs + PCDFs が93%、トータルCo-PCBsが95%にとどまり、SE法と同等の抽出率は得られず、特に低塩素数のPCDDs、PCDFsの抽出率が低かった。これは、抽出部温度がトルエンの約80°Cに比べ、アセトンが約50°Cと低温であること等が要因と考えられる。

3.2 抽出法による比較

SE法（トルエンにより16時間抽出）によるダイオキシン類の定量値と、HE法（トルエンにより6時間抽出）による定量値との比較を表3に示す。SE法による定量値は平成15年度統一精度管理調査結果7)での（平均値）±（標準偏差）の範囲内であった。HE法による定量値のSE法による定量値に対する百分率は、個々のコンジェナーで見ると92から110%の範囲内にあり、前述した全体的な抽出率の比較検討とあわせてSE法と同等以上の抽出率を得られることが確認できた。

4 まとめ

土壤中ダイオキシン類抽出の迅速化を図る目的で、ソックスレー抽出法に代わる迅速抽出法としての高温還流抽出法の抽出率を、2種類の溶媒や抽出時間の観点から比較検討した。その結果、溶媒にトルエンを用いたHE法では6時間抽出することにより、公定法として定められているSE法（16時間）により抽出するのと同等以上の抽出率が得られ、迅速抽出法として採用可能であることを確認した。一方、アセトンを溶媒としたHE法では、多くの同族体について十分な抽出率が得られず、代替法としては難しいと考えられた。

謝 辞

本研究は、宮城県、新潟県、千葉県、東京都、長野県、岐阜県、広島県、統計数理研究所及び国立環境研究所との共同研究の一部として試料の提供及び助言を受けて行いました。関係各位に深謝いたします。

参考文献

- 1) 環境庁水質保全局土壤農薬課, ダイオキシン類に係る土壤調査測定マニュアル (2000)
- 2) 中村朋之, 大塚英幸, 佐々木啓行, 半野勝正, 鈴木貴博, 小澤秀明, 村瀬秀也, 大原俊彦, 柏木宣久, 橋本俊次, ダイオキシン類分析における高圧液体抽出法の問題点と運用方法の最適化, 第31回環境保全・公害防止研究発表会講演要旨集 (2004)
- 3) ダイオキシン類による地域環境汚染の実態とその原因解明に関する研究, 橋本俊次, 伊藤裕康 (環境研), 環境省 総合環境政策局, 環境保全研究成果集, Vol. 2002, No.3, P.84.I.1-84.I.17 (2004)
- 4) 種岡裕, 高井透, 茨木剛, 村山等, 斎藤真一, 自動ソックスレー抽出法, 高速溶媒抽出法のダイオキシン類への適用, 全国環境研究会誌, 27, 154-163 (2002)
- 5) 下田喜則, 山岡誠司, 竹井秀夫, 松木司, 矢野泰正, 今村光徳, 実験室内の蛍光灯によるダイオキシン類の分解傾向及び分解抑制対策, 広島市衛研年報, 22, 79-85 (2003)
- 6) 鈴木慈, 中村朋之, 清野陽子, 加藤謙一, 高橋正弘, 橋本俊次, 伊藤裕康, 森田昌敏, PCDDs, PCDFs分析過程での光分解による内標準法の問題点, 環境化学, Vol.13, 705-718 (2003)
- 7) 環境省環境管理局総務課環境管理技術室, 平成15年度環境測定分析統一精度管理調査結果 (2004) (<http://www.seidokanri.jp/pdf/report15.pdf>)

Basic study on Rapid Extraction of Dioxins in Soil Sample

OTSUKA Hideyuki, ANEZAKI Katsunori,
YAMAGUCHI Katsuyuki, IWATA Riki

Abstract

Comparison of the extraction rate of the Hot Extraction Method (HE Method) as a quick process replaced with the Soxhlet extraction Method (SE Method) was carried out in order to attain speeding up of the dioxin extraction in soil sample. Consequently, the HE Method extracted with toluene for 6 hours showed the rate of extraction more than equivalent compared with the SE Method extracted for 16 hours with toluene. By adoption of this substituting method, shortening of the analysis time of dioxin is possible.