

ダイオキシン類の分析における前処理方法の検討（第3報）

木下誠¹・廣田敏郎¹・廣中博見¹

Study of Pretreatment in Dioxins Analysis

Makoto KINOSHITA, Toshiro HIROTA and Hiromi HIRONAKA

Summary

Ultra high speed homogenizer method for a rapid pretreatment of water samples for dioxins was studied. Sample water which added cleanup spike, was adjusted to pH13 by Potassium hydroxide and kept one night. The portion of precipitate was homogenized 20minute with 26,000RPM and extracted by dichloromethane twice and followed by n-hexane. Extracts from precipitate and supernatant layer was combined and followed usually dioxin analysis procedure. Native dioxins recovery was 73 % by TEQ as compared with freeze-dried method of our former reports.

Key Words : ダイオキシン類 Dioxins , 前処理 Pretreatment , 水試料 Sample water
高速ホモジナイザー Ultra high speed homogenizer

はじめに

水試料中のダイオキシン類分析の前処理は多大の労力と時間を要するため、抽出操作以前の処理方法について短時間で効率的に処理する方法の検討を、平成 11、12 年度と行ってきた。平成 11 年度は試料に凝集沈殿をかけ、上澄水と沈殿物に分けた後固相抽出を行う方法を開発した¹⁾。また平成 12 年度は、凝集沈殿をかけ上澄水と沈殿物に分けた後、沈殿物をさらに遠心分離して得られた沈殿物を凍結乾燥しソックスレー抽出する方法を開発した²⁾。今回はより前処理時間を短縮するため、ソックスレー抽出を行わずに、水試料を高速ホモジナイザーを用いてプランクトン等を破碎した後に、懸濁物と一緒に液液抽出する方法を、前報の凝集沈殿処理法と比較検討した。また、凝集沈殿後の上澄水を抽出する溶媒は有害なジクロロメタンを使用していたが、抽出溶媒をヘキサンで行う方法をジクロロメタンで行う方法と比較検討したので報告する。

実験方法

1. プランクトン破碎時間の検討

水試料 20L を 25L ステンレス缶に入れ、高速ホモジナイザー（Heidolph 製 DIAX-900）で 0, 10, 20, 30 分間破碎を行い（26,000rpm）、顕微鏡観察によってプランクトンの破碎状態を調べた。

2. 高速ホモジナイザー処理法

水試料 20L を 25L ステンレス缶に入れ、高速ホモジナイザーで 20 分間ホモジナイズを行いプランクトン等を破碎した後、クリーンアップスパイクを添加した。その後ヘキサンで 2 回抽出した（図 1）。抽出液は常法に従いクリーンアップ（硫酸処理・シリカゲルカラム）、活性アルミナ分画後高分解能 GC/MS で分析した。水試料は海水 2 検体、河川水 4 検体の計 6 検体を分析した。

3. アルカリ - 高速ホモジナイザー処理法

水試料 20L を 25L ステンレス缶に入れクリーンアップスパイクを添加し、KOH を pH13 になるよう添加した後 NaCl 60g を添加して攪拌を行い、一晩放置して凝集沈殿させた。上澄水のうち 15L を別のステンレス缶

1. 福岡市保健環境研究所 環境科学部門

に移し、残りの沈殿物を含む水を高速ホモジナイザーで20分間ホモジナイズした。別にした上澄水とホモジナイズした沈殿物を含む水をそれぞれ硫酸で中和後、ジクロロメタン(上澄水は800mL、沈殿物を含む水は500mL)で3分間×2回抽出、さらにヘキサン(上澄水は400mL、沈殿物を含む水は200mL)で3分間×1回抽出した(図2)。抽出液は常法に従い、高分解能GC/MSで分析した。水試料は海水1検体、河川水7検体の計8検体を分析した。

4. 凝集沈殿処理法

水試料 20L にクリーンアップスパイク添加後、PACを10mg/Lとなるように添加して凝集沈殿処理した後、上澄水と沈殿物を分けた。沈殿物は遠心分離で上澄水と沈殿物に分け、得られた沈殿物を凍結乾燥し、その乾燥試料をソックスレー抽出した。また上澄水は合わせてジクロロメタン 1L で3分間×2回、ヘキサン 500mL で3分間×1回抽出し、ソックスレー抽出液と合わせた(図3)。抽出液は常法に従い、高分解能GC/MSで分析した。

5. 抽出溶媒の検討

水試料 40L を20Lずつに分け、それぞれ20Lを4の凝集沈殿処理法の方法で上澄水と沈殿物を分けた後、沈殿物は凍結乾燥後ソックスレー抽出を行った。上澄水はジクロロメタン 1L で3分間×2回、ヘキサン 500mL で3分間×1回抽出したものと、ヘキサン 1L で3分間×2回抽出したものを比較した。沈殿物の抽出液と上澄水の抽出液は別々にクリーンアップし、分画後分析を行った。水試料は河川水6検体を分析した。

6. 分析機器及び測定条件

分析機器：HP6890/MStation (日本電子製)

使用カラム及びカラム温度条件 (PCDDs and PCDFs) :

DB-5ms (0.32mm × 60m × 0.25 μm)
130 (2min)-30 /min-200 -5 /min-220 (16min)

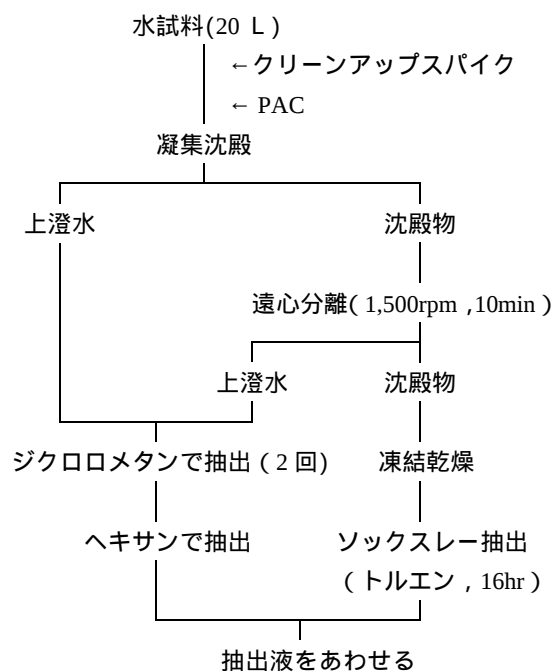
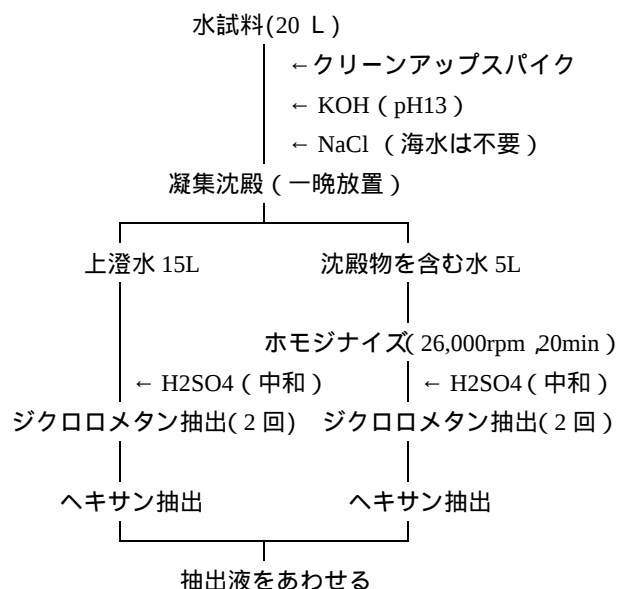
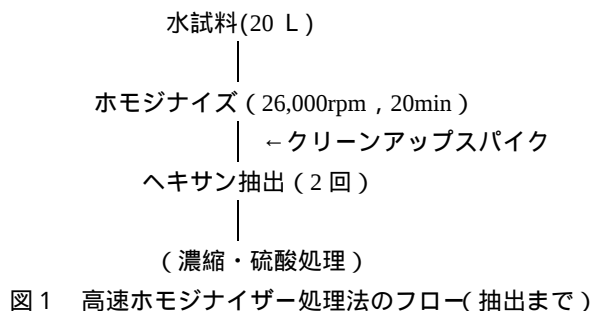
使用カラム及びカラム温度条件 (co-PCBs) :

HT-8 (0.22mm × 50m × 0.25 μm)
130 (1min)-20 /min-220 -5 /min-300 (13min)

結果および考察

1. プラクトン破碎時間の検討

顕微鏡で観察したところ、0、10分間処理ではプラクトンの細胞内に内容物が確認されたが、20分間処理でほとんどのプラクトンが破碎されて細胞壁のみが残



る状態だった。しかし、*Ceratium* 属のような固い殻を持つプランクトンは細胞質が残っていた。30 分間破碎でも 20 分間とほとんど変わらない状態だったので、高速ホモジナイザーによる破碎時間を 20 分間とした。

2. 高速ホモジナイザー処理法

高速ホモジナイザー処理法と凝集沈殿処理法の比較を図 4 に示す。TEQ 換算濃度では、高速ホモジナイザー法は凝集沈殿法の 56 ~ 78 % (平均 63 %) であった。これはプランクトンの破碎が十分でなかったこと、また凝集沈殿処理したものは上澄水の抽出溶媒に親水性の高いジクロロメタンを使用し、沈殿物はトルエンでソックスレー抽出を行ったのに対し、高速ホモジナイズしたものは抽出溶媒にヘキサンを使ったため、細胞内や微粒子に付着したダイオキシン類の抽出効率が低かったためと考えられた。なお抽出までの分析時間は、凝集沈殿処理法は 4 検体当たり 5 日かかるが、高速ホモジナイザー処理法は 4 検体当たり 2 日かかり、分析時間が約 2/5 に短縮された。

3. アルカリ - 高速ホモジナイザー処理法

ダイオキシン類の抽出効率を上げる目的で、水試料中のプランクトンの細胞壁を壊すために溶液の pH を上げ、抽出溶媒として更に親水性の高いジクロロメタンを用いて前処理を行った。その結果と凝集沈殿処理法の比較を表 1 及び図 5 に示す。TEQ 換算濃度では、アルカリ - 高速ホモジナイズした試料は凝集沈殿処理した試料の 70 ~ 81 % (平均 73 %) となり、高速ホモジナイザー処理法に比べ平均で 10 % 上昇したが、凝集沈殿処理法と同程度にはならなかった。特にコプラナ PCB の抽出率が低かった。これはジクロロメタンによる液液抽出では底質等の微粒子に付着したダイオキシン類を十分に抽出できなかったためと考えられた。このことから、底質等の微粒子に付着したダイオキシン類を抽出するには親水性のある溶媒を用いてソックスレー抽出など連続抽出する必要があると考えられた。なお抽出までの分析時間は、凝集沈殿処理法は 4 検体当たり 4 日かかるが、アルカリ - 高速ホモジナイザー処理法は 4 検体当たり 3 日かかり、分析時間が約 3/5 に短縮された。

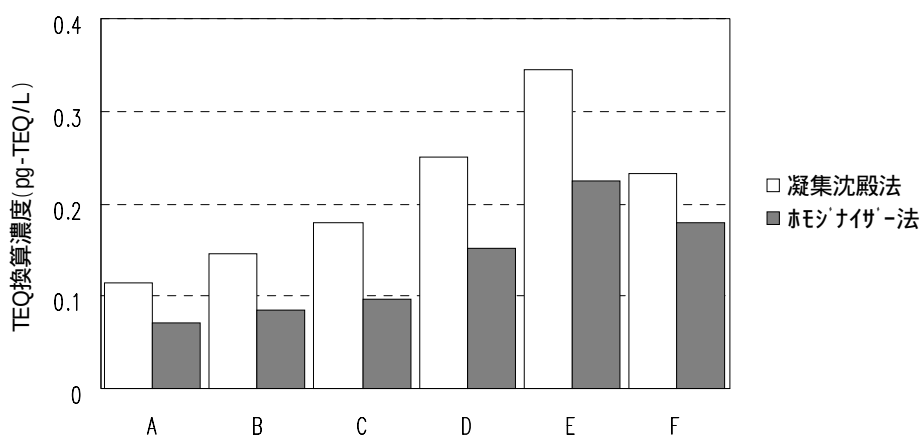


図 4 高速ホモジナイザー処理法と凝集沈殿処理法のダイオキシン類定量結果の比較
(A,B は海水, C ~ F は河川水)

表1 アルカリ - 高速ホモジナイザー処理法と凝集沈殿処理法のダイオキシン類定量結果の比較

(G は海水, H ~ N は河川水, アルカリ - ホモジナイザー法: アルカリ - 高速ホモジナイザー処理法の略)

(単位: pg - TEQ/L)

(a)total				(b)PCDDs+PCDFs				(c)co-PCBs			
凝集沈殿法	アルカリ - ホモジナイザー法	割合		凝集沈殿法	アルカリ - ホモジナイザー法	割合		凝集沈殿法	アルカリ - ホモジナイザー法	割合	
G	0.22	0.15	70 %	G	0.16	0.12	75 %	G	0.056	0.030	54 %
H	0.42	0.32	77 %	H	0.29	0.26	93 %	H	0.13	0.058	44 %
I	0.22	0.15	70 %	I	0.14	0.14	94 %	I	0.078	0.019	24 %
J	0.45	0.31	70 %	J	0.31	0.28	90 %	J	0.14	0.032	24 %
K	0.40	0.28	70 %	K	0.29	0.24	80 %	K	0.11	0.046	42 %
L	0.25	0.20	81 %	L	0.20	0.19	95 %	L	0.055	0.017	30 %
M	0.19	0.15	75 %	M	0.12	0.11	92 %	M	0.078	0.038	49 %
N	0.80	0.61	76 %	N	0.61	0.52	85 %	N	0.20	0.090	46 %

割合: アルカリ - 高速ホモジナイザー処理法の定量結果 / 凝集沈殿処理法の定量結果 × 100

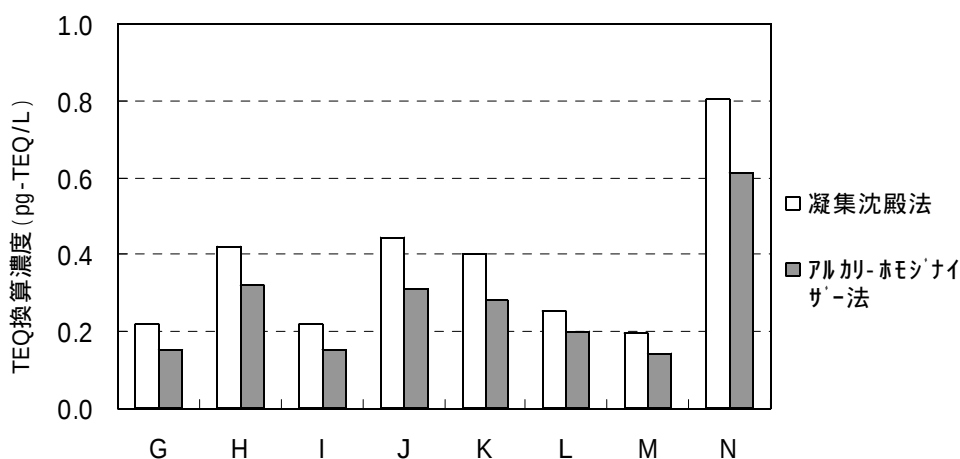


図5 アルカリ - 高速ホモジナイザー処理法と凝集沈殿処理法のダイオキシン類定量結果の比較

(G は海水, H ~ N は河川水)

3. 抽出溶媒の検討

上澄水をジクロロメタンで抽出した場合とヘキサンで抽出した場合の比較を表2及び図6に, 上澄水と沈殿物のダイオキシン類の分布を表3に示す. TEQ換算濃度では, 上澄水をヘキサンで抽出する方法はジクロロメタンで抽出する方法の78 ~ 118 % (平均96 %) となり, 上澄水をジクロロメタンで抽出する場合とヘキサンで抽出する場合とは差がないことがわかった. これは表3に示すように, ダイオキシン類の上澄水に分布する割合が3.1 ~ 17 %であり, ダイオキシン類の約90 %が沈殿物に分布しているので, 上澄水の抽出効率の違いは全体から見ると影響が小さいためであると考えられた. このことから, 上澄水の抽出溶媒は公定法で定められている人体に有害なジクロロメタンでなくとも, ヘキサンで十分であると言える.

表2 ジクロロメタン抽出法とヘキサン抽出法のダイオキシン類定量結果の比較

(単位: pg - TEQ/L)

	ジクロロメタン	ヘキサン	割合
O	0.43	0.34	78 %
P	0.25	0.30	118 %
Q	0.27	0.31	114 %
R	0.31	0.30	97 %
S	0.58	0.52	89 %
T	0.44	0.34	78 %

平均 96 %

割合: ヘキサン抽出法の定量結果 / ジクロロメタン抽出法の定量結果 × 100

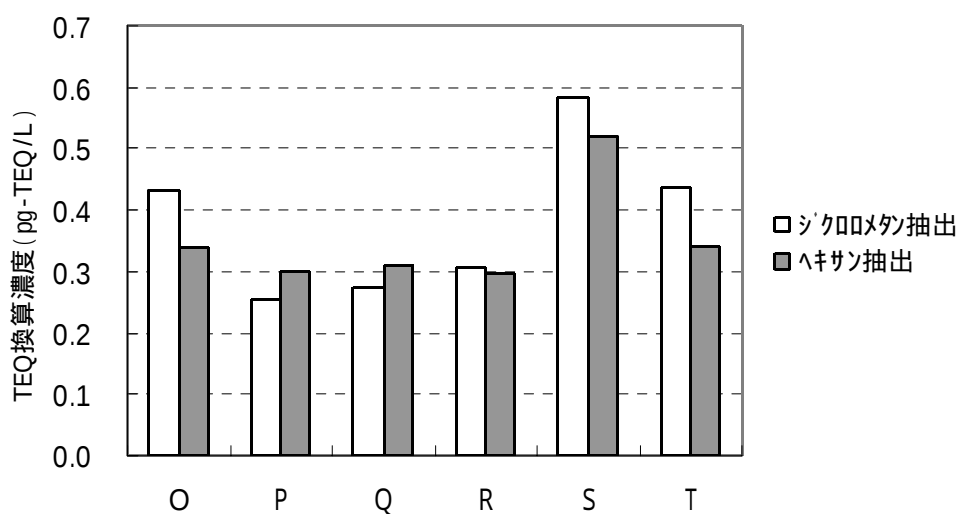


図 6 ジクロロメタン抽出法とヘキサン抽出法のダイオキシン類定量結果の比較

表 3 ダイオキシン類の上澄水と沈殿物の分布割合

(単位：%)

	ジクロロメタン抽出法	
	上澄水	沈殿物
O	5.7	94
P	11	89
Q	13	87
R	14	86
S	3.7	96
T	7.5	92

まとめ

今回、水試料中のダイオキシン類の分析における前処理法の検討として、ソックスレー抽出を行わずに、高速ホモジナイザーを用いて液液抽出を行う方法を検討した。この処理法では凝集沈殿法に比べ TEQ 換算濃度で

63 %と低かったが、アルカリ処理を行うこと（アルカリ - 高速ホモジナイザー処理法）により 73 %に上昇した。アルカリ - 高速ホモジナイザー処理法の PCDDs+PCDFs は凝集沈殿法の 75 ~ 94 %であるが、co-PCBs は 50 %以下であり、その原因を探る必要がある。また、アルカリ - 高速ホモジナイザー処理法は凝集沈殿法に比べ前処理時間が約 3/5 に短縮された。

さらに、凝集沈殿を行った後の上澄水の抽出溶媒を検討した結果、公定法で定められているジクロロメタンでなくヘキサンを用いる方法で十分であることがわかった。

文献

- 1) 福嶋かおる他：ダイオキシン類の分析における前処理方法の検討，福岡市保健環境研究所報，25，156 ~ 157，2000
- 2) 福嶋かおる他：ダイオキシン類の分析における前処理方法の検討（第 2 報），福岡市保健環境研究所報，26，57 ~ 61，2001