

## 7 高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計(HR-GC/MS)法による

### 汚泥肥料及びたい肥中のダイオキシン類測定

—高速溶媒抽出法の適用—

大木純<sup>1,(2)</sup>, 白井裕治<sup>1</sup>, 相澤真理子<sup>1</sup>

キーワード ダイオキシン類, 汚泥肥料, たい肥, 高分解能ガスクロマトグラフ質量分析法, 高速溶媒抽出法

#### 1. はじめに

ダイオキシン類は、主に廃棄物の燃焼・焼却等の過程で非意図的に産生される残留性有機汚染物質であり、また、過去に水田除草剤として使用された PCP 及び CNP 製剤中に不純物として含まれていたもので、ダイオキシン類対策特別措置法(平成 11 年法律第 105 号)において、ポリ塩化ジベンゾフラン(以下、「PCDF」という。), ポリ塩化ジベンゾ-パラ-ジオキシン(以下、「PCDD」という。)及びコプラナーポリ塩化ビフェニル(以下、「Co-PCB」という。)と定義されている<sup>1)</sup>。生体中に摂取されたダイオキシン類は、DNA に対して種々の作用を引き起こすことにより、極めて低用量においても毒性を示すと考えられている<sup>2)</sup> ため、食品及び土壌、大気等の環境試料中のダイオキシン類の調査が行われている。

これらの食品や環境試料中のダイオキシン類分析法としては、「排ガス中のダイオキシン類の測定方法」(JIS 規格)<sup>3)</sup>、「工業用水・工場排水中のダイオキシン類の測定方法」(JIS 規格)<sup>4)</sup>、「食品中のダイオキシン類の測定方法暫定ガイドライン」(厚生労働省)<sup>5)</sup>、「特別管理一般廃棄物及び特別管理産業廃棄物に係る基準の検定方法」(厚生労働省)<sup>6)</sup>、「ダイオキシン類に係る土壌調査測定マニュアル」(環境省)<sup>7)</sup>、「飼料中のダイオキシン類の定量法暫定ガイドライン」(農林水産省)<sup>8)</sup>等が定められているが、肥料中のダイオキシン類の分析法は定められていない。これらの分析法は、測定対象とする試料の種類に応じて前処理過程の一部に違いが見られるものの、同位体標識化した内標準物質を添加し、高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計(以下、「GC/MS」という。)を用いて微量分析を行う点で原理的に相違はない。また、試料からのダイオキシン類の抽出は、従来からトルエンを溶媒とし、ソックスレー抽出を行う方法によっていた。しかし、従来法ではトルエンを 16 時間以上加熱することから、引火の危険性や抽出時間の長さ等が問題となっていた。そのため、最近では従来法に加え、新たに開発された抽出方法の適用も認められてきており、「飼料中のダイオキシン類の定量法暫定ガイドライン」においても、高速溶媒抽出(ASE)装置による抽出方法が採用・収載された<sup>9)</sup>。そこで筆者らは、「飼料中のダイオキシン類の定量法暫定ガイドライン」及び「特別管理一般廃棄物及び特別管理産業廃棄物に係る基準の検定方法」に基づき、高速溶媒抽出(ASE)装置を用いて汚泥肥料及びたい肥中からダイオキシン類を抽出する方法をソックスレー抽出と比較し、適用性の可否を検討した。

<sup>1</sup> 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部

<sup>2</sup> (現)独立行政法人農林水産消費安全技術センター消費安全情報部

## 2. 材料及び方法

### 1) 試料

流通しているし尿汚泥肥料, 下水汚泥肥料, 工業汚泥肥料, 汚泥発酵肥料及びたい肥を採取し, 試験品として冷蔵庫に保管した. 試験品を 65°C で 24 時間以上乾燥し, 目開き 500  $\mu\text{m}$  のふるいを全通するように粉砕して分析用試料を調製し, 試験に供した.

### 2) 試薬

(1) ヘキサン, トルエン, アセトン, ジクロロメタン, ノナン及び硫酸ナトリウム(無水)はダイオキシン類分析用試薬を用いた. 硫酸は精密分析用試薬を用いた. 塩化ナトリウム, 硫酸ナトリウム(無水)は残留農薬試験・PCB 試験用試薬を用いた.

(2) シリカゲルは洗浄済みシリカゲル(ダイオキシン類分析用, SUPELCO 製)を用いた.

(3) ヘキサン洗浄水: Auto Pure WQ501 及び Milli-Q II で精製した後, ヘキサンで洗浄した.

(4) PCDD・PCDF 標準液: NK-CVS-B20 (Wellington Laboratories 製, 組成は表 1 の(1)のとおり.) の 5 種類の標準原液(表中 CS1~CS5)をそれぞれノナンで正確に希釈し, 1 mL 中に各種  $^{13}\text{C}$  標識内標準物質として各 5 ng を含有する各 PCDD・PCDF 標準液を調製した.

(5) PCDD・PCDF クリーンアップスパイク用内標準液: NK-LCS-H (Wellington Laboratories 製, 組成は表 1 の(1)のとおり.) をノナンで正確に希釈し, 1 mL 中に各種  $^{13}\text{C}$  標識内標準物質として各 10 ng (八塩化物については各 20 ng) を含有する PCDD・PCDF クリーンアップスパイク用内標準液を調製した.

(6) PCDD・PCDF シリンジスパイク用内標準液: NK-IS-D (Wellington Laboratories 製, 組成は表 1 の(1)のとおり.) をノナンで正確に希釈し, 1 mL 中に各種  $^{13}\text{C}$  標識内標準物質として各 10 ng を含有する PCDD・PCDF シリンジスパイク用内標準液を調製した.

(7) Co-PCB 標準液: PCB-CVS-JQ (Wellington Laboratories 製, 組成は表 1 の(2)のとおり.) の 5 種類の標準原液(表中 CS1~CS5)をそれぞれノナンで正確に希釈し, 1 mL 中に各種  $^{13}\text{C}$  標識内標準物質として各 5 ng を含有する各 Co-PCB 標準液を調製した.

(8) Co-PCB クリーンアップスパイク用内標準液: MBP-MXS (Wellington Laboratories 製, 組成は表 1 の(2)のとおり.) をノナンで正確に希釈し, 1 mL 中に各種  $^{13}\text{C}$  標識内標準物質として各 10 ng を含有する Co-PCB クリーンアップスパイク用内標準液を調製した.

(9) Co-PCB シリンジスパイク用内標準液: MBP-79-100 (Wellington Laboratories 製, 組成は表 1 の(2)のとおり.) をノナンで正確に希釈し, 1 mL 中に  $^{13}\text{C}$  標識内標準物質として 10 ng を含有する Co-PCB シリンジスパイク用内標準液を調製した.

(10) 質量校正用標準物質: ペルフルオロクロセン (Lancaster Synthesis 製, 以下「PFK」という.) を 50°C で揮発させ GC/MS のイオン化室に直接導入した.

(11) 窒素は高純度窒素ガス(99.999%以上)を用いた. ヘリウムは高純度ヘリウムガス(99.999%以上)を用いた.

表 1 ダイオキシン類の標準液及び内標準液の調製に用いた各標準原液の組成  
(1) NK-CVS-B20, NK-LCS-H 及び NK-IS-D

Compound	Isotope	(ng/mL)						
		NK-CVS-B20					NK-LCS-H	NK-IS-D
		CS1	CS2	CS3	CS4	CS5		
2,3,7,8-TeCDD	native	0.5	2	10	40	200		
1,2,3,7,8-PeCDD	native	2.5	10	50	200	1,000		
1,2,3,4,7,8-HxCDD	native	2.5	10	50	200	1,000		
1,2,3,6,7,8-HxCDD	native	2.5	10	50	200	1,000		
1,2,3,7,8,9-HxCDD	native	2.5	10	50	200	1,000		
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	native	2.5	10	50	200	1,000		
OCDD	native	5.0	20	100	400	2,000		
2,3,7,8-TeCDF	native	0.5	2	10	40	200		
1,2,3,7,8-PeCDF	native	2.5	10	50	200	1,000		
2,3,4,7,8-PeCDF	native	2.5	10	50	200	1,000		
1,2,3,4,7,8-HxCDF	native	2.5	10	50	200	1,000		
1,2,3,6,7,8-HxCDF	native	2.5	10	50	200	1,000		
1,2,3,7,8,9-HxCDF	native	2.5	10	50	200	1,000		
2,3,4,6,7,8-HxCDF	native	2.5	10	50	200	1,000		
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	native	2.5	10	50	200	1,000		
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	native	2.5	10	50	200	1,000		
OCDF	native	5.0	20	100	400	2,000		
2,3,7,8-TeCDD	<sup>13</sup> C <sub>12</sub>	20	20	20	20	20	1,000	
1,2,3,7,8-PeCDD	<sup>13</sup> C <sub>12</sub>	20	20	20	20	20	1,000	
1,2,3,4,7,8-HxCDD	<sup>13</sup> C <sub>12</sub>	20	20	20	20	20		
1,2,3,6,7,8-HxCDD	<sup>13</sup> C <sub>12</sub>	20	20	20	20	20	1,000	
1,2,3,7,8,9-HxCDD	<sup>13</sup> C <sub>12</sub>	20	20	20	20	20		
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	<sup>13</sup> C <sub>12</sub>	20	20	20	20	20	1,000	
OCDD	<sup>13</sup> C <sub>12</sub>	20	20	20	20	20	2,000	
2,3,7,8-TeCDF	<sup>13</sup> C <sub>12</sub>	20	20	20	20	20	1,000	
1,2,3,7,8-PeCDF	<sup>13</sup> C <sub>12</sub>	20	20	20	20	20	1,000	
2,3,4,7,8-PeCDF	<sup>13</sup> C <sub>12</sub>	20	20	20	20	20		
1,2,3,4,7,8-HxCDF	<sup>13</sup> C <sub>12</sub>	20	20	20	20	20	1,000	
1,2,3,6,7,8-HxCDF	<sup>13</sup> C <sub>12</sub>	20	20	20	20	20		
1,2,3,7,8,9-HxCDF	<sup>13</sup> C <sub>12</sub>	20	20	20	20	20		
2,3,4,6,7,8-HxCDF	<sup>13</sup> C <sub>12</sub>	20	20	20	20	20		
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	<sup>13</sup> C <sub>12</sub>	20	20	20	20	20	1,000	
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	<sup>13</sup> C <sub>12</sub>	20	20	20	20	20		1,000
OCDF	<sup>13</sup> C <sub>12</sub>	20	20	20	20	20	2,000	
1,2,3,4-TeCDD	<sup>13</sup> C <sub>12</sub>	20	20	20	20	20		1,000
2,3,7,8-TeCDD	<sup>37</sup> Cl <sub>4</sub>	0.5	2	10	40	200		

## (2) PCB-CVS-JQ, MBP-MXS 及び MBP-79-100

Compound (IUPAC No.)	Isotope	PCB-CVS-JQ					(ng/mL)	
		CS1	CS2	CS3	CS4	CS5	MBP-MXS	MBP-79-100
3,3',4,4'-TeCB (77)	native	0.5	2.0	10	50	250		
3,4,4',5'-TeCB (81)	native	0.5	2.0	10	50	250		
3,3',4,4',5'-PeCB (126)	native	0.5	2.0	10	50	250		
3,3',4,4',5,5'-HxCB (169)	native	0.5	2.0	10	50	250		
2,3,3',4,4'-PeCB (105)	native	0.5	2.0	10	50	250		
2,3,4,4',5'-PeCB (114)	native	0.5	2.0	10	50	250		
2,3',4,4',5'-PeCB (118)	native	0.5	2.0	10	50	250		
2',3,4,4',5'-PeCB (123)	native	0.5	2.0	10	50	250		
2,3,3',4,4',5'-HxCB (156)	native	0.5	2.0	10	50	250		
2,3,3',4,4',5',5'-HxCB (157)	native	0.5	2.0	10	50	250		
2,3',4,4',5,5'-HxCB (167)	native	0.5	2.0	10	50	250		
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (189)	native	0.5	2.0	10	50	250		
2,2',3,3',4,4',5'-HpCB (170)	native	0.5	2.0	10	50	250		
2,2',3,4,4',5,5'-HpCB (180)	native	0.5	2.0	10	50	250		
2,3',4',5'-TeCB (70)	<sup>13</sup> C <sub>12</sub>	10	10	10	10	10		
3,3',4,5'-TeCB (79)	<sup>13</sup> C <sub>12</sub>	10	10	10	10	10		100
3,3',4,4'-TeCB (77)	<sup>13</sup> C <sub>12</sub>	10	10	10	10	10	200	
3,4,4',5'-TeCB (81)	<sup>13</sup> C <sub>12</sub>	10	10	10	10	10	200	
3,3',4,4',5'-PeCB (126)	<sup>13</sup> C <sub>12</sub>	10	10	10	10	10	200	
3,3',4,4',5,5'-HxCB (169)	<sup>13</sup> C <sub>12</sub>	10	10	10	10	10	200	
2,3,3',4,4'-PeCB (105)	<sup>13</sup> C <sub>12</sub>	10	10	10	10	10	200	
2,3,4,4',5'-PeCB (114)	<sup>13</sup> C <sub>12</sub>	10	10	10	10	10	200	
2,3',4,4',5'-PeCB (118)	<sup>13</sup> C <sub>12</sub>	10	10	10	10	10	200	
2',3,4,4',5'-PeCB (123)	<sup>13</sup> C <sub>12</sub>	10	10	10	10	10	200	
2,3,3',4,4',5'-HxCB (156)	<sup>13</sup> C <sub>12</sub>	10	10	10	10	10	200	
2,3,3',4,4',5',5'-HxCB (157)	<sup>13</sup> C <sub>12</sub>	10	10	10	10	10	200	
2,3',4,4',5,5'-HxCB (167)	<sup>13</sup> C <sub>12</sub>	10	10	10	10	10	200	
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (189)	<sup>13</sup> C <sub>12</sub>	10	10	10	10	10	200	
2,2',3,3',4,4',5'-HpCB (170)	<sup>13</sup> C <sub>12</sub>	10	10	10	10	10	200	
2,2',3,4,4',5,5'-HpCB (180)	<sup>13</sup> C <sub>12</sub>	10	10	10	10	10	200	

## 2) 装置及び器具

## (1) 高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計

ガスクロマトグラフ: Hewlett Packard 製 HP6980 Series

質量分析計: 日本電子製 JMS-700D, 二重収束型

## (2) 高速溶媒抽出(ASE)装置: Dionex 製 ASE 300

(3) ソックスレー抽出装置: 千葉理化ガラス製. 円筒ろ紙に適した大きさのもので, 水分を捕集するための Dean-Stark アダプタ(捕集容量: 約 25 mL)を備えたもの. 受器容量 500 mL.

(4) 円筒ろ紙: ADVANTEC 製 No.88R(シリカ繊維製) 外径 45 mm, 高さ 150 mm

(5) KD 管窒素濃縮装置: MORITEX 製 EVAN-k

(6) ロータリーエバポレーター: BÜCHI 製 Rotavapor R-114

(7) 振とう機: タイテック製 レシプロシユーカー SR-2w

(8) 多層シリカゲルカラム: SUPELCO 製多層シリカゲルカラム(カラム管(内径 15 mm)にシリカゲル 0.9 g, 2%水酸化カリウム被覆シリカゲル 3 g, シリカゲル 0.9 g, 44%硫酸被覆シリカゲル 4.5 g, 22%硫酸被覆シリカゲル 6 g, シリカゲル 0.9 g 及び 10%硝酸銀被覆シリカゲル 3 g を順次乾式で充てんされたもの.)にシリカゲル 2 g 及び硫酸ナトリウム(無水) 6 g を順次乾式で充てんした.

(9) 活性炭シリカゲルリバーカラム: 関東化学製活性炭分散シリカゲルリバーカラム

### 3) 定量方法

(1) 抽出及びクリーンアップスパイク添加

#### A) 高速溶媒抽出

分析試料 10.0g を量って抽出セル 34 mL に入れ, 高速溶媒抽出装置に接続し, 次の条件で抽出し, 抽出液を捕集ボトルに受けた.

マイクロシリンジを用いて PCDD・PCDF クリーンアップスパイク用内標準液 20  $\mu$ L 及び Co-PCB クリーンアップスパイク用内標準液 20  $\mu$ L を抽出液に加えた.

抽出液をあらかじめ 2%塩化ナトリウム水溶液約 100 mL を入れた 500mL の分液漏斗に移した. 捕集ボトルをヘキサン約 10 mL ずつで 3 回洗浄し, 洗液を分液漏斗に加えた. この分液漏斗を振とう数 240  $\text{min}^{-1}$  で 10 分間振とうした後静置し, 水層を流下した. 更にヘキサン層に水約 100 mL を加え, 緩やかに振とうし, 水層を流下した.

#### 抽出条件 例

抽出セル容量: 34 mL

捕集ボトル容量: 250 mL

抽出溶媒: ヘキサン-アセトン(1+1)

抽出槽温度: 100°C

抽出圧力: 10.3 MPa

静置時間: 5 分

溶媒置換量: 抽出容器の 60%

窒素ガスパージ時間: 120 秒

静置回数: 3

#### B) ソックスレー抽出

分析試料 10.0 g を量って円筒ろ紙に入れ, その上にガラスウールを軽く押さえるようにして入れた. これをソックスレー抽出管に入れ, トルエン約 350 mL を入れた受器に連結し, 16 時間ソックスレー抽出した.

マイクロシリンジを用いて PCDD・PCDF クリーンアップスパイク用内標準液 20  $\mu$ L 及び Co-PCB クリーンアップスパイク用内標準液 20  $\mu$ L を抽出液に加えた.

受器に得られた抽出液を 50°C 以下の水浴上でほとんど乾固するまで濃縮した後、残留物にヘキサン約 10 mL を加えて溶かし、分液漏斗 300 mL に移した。受器をヘキサン約 10 mL ずつで 5 回洗浄し、洗液を分液漏斗に合わせた。

## (2) 硫酸処理

硫酸約 30 mL を分液漏斗に静かに滴下した後、ヘキサン層と硫酸層との境界が明瞭になるまで静置し、硫酸層を静かに流下し、更に硫酸約 15 mL を分液漏斗に加え同様に処理した。次に、硫酸約 10 mL を分液漏斗に加え、数分間振とうした後静置し、硫酸層を流下し、更に硫酸約 10 mL を分液漏斗に加え同様に処理した。更に、硫酸約 10 mL を分液漏斗に加え、振とう数  $240 \text{ min}^{-1}$  で 10~30 分間振とうした後静置し、硫酸層を流下した。硫酸層がほとんど着色しなくなるまでこの操作を繰り返した。

ヘキサン洗浄水約 100 mL を分液漏斗に加え、振り混ぜた後静置し、水層を流下した。更にこの操作を 2 回繰り返した。

少量のガラスウールを詰めた漏斗に硫酸ナトリウム(無水)約 50 g を入れ、ヘキサンで洗浄して脱水用漏斗を調製した。脱水用漏斗をなす形フラスコ 500 mL に載せ、ヘキサン層を漏斗に加えて脱水した。更に、ヘキサン約 50 mL で分液漏斗を洗浄し、洗液を漏斗に加えて脱水し、ヘキサン層に合わせた。ヘキサン層を 40°C 以下の水浴上で約 5 mL まで減圧濃縮し、多層シリカゲルカラムクロマトグラフィーに供する試料溶液とした。

## (3) 多層シリカゲルカラムクロマトグラフィー

ヘキサン 150 mL を多層シリカゲルカラムに加え、ヘキサンの液面が充てん剤の上面に達するまで流下させて多層シリカゲルカラムを調製した。

なす形フラスコ 300 mL を多層シリカゲルカラムの下に置き、試料溶液を多層シリカゲルカラムに加え、液面が充てん剤の上面に達するまで流下させた。容器をヘキサン 2 mL ずつで 5 回洗浄し、洗液を多層シリカゲルカラムに加え、液面が充てん剤の上面に達するまで流下させた。更にヘキサン約 200 mL を多層シリカゲルカラムに加え、ダイオキシン類を毎秒 1 滴程度の流速で溶出させた。溶出液を 40°C 以下の水浴上で 0.5 mL 程度まで減圧濃縮し、活性炭シリカゲルカラムクロマトグラフィーに供する試料溶液とした。

## (4) 活性炭シリカゲルリバーサカラムクロマトグラフィー

試料溶液を活性炭シリカゲルリバーサカラムに加えた。容器をヘキサン 0.5 mL ずつで 2 回洗浄し、洗液を同カラムに加えた。15 分間放置した後、ヘキサン 60 mL を同カラムに加え、毎秒 1 滴程度の流速で流下させた。

液面が充てん剤の上端に達した時に、なす形フラスコ 100 mL を活性炭シリカゲルリバーサカラムの下に置き、ヘキサン—ジクロロメタン(75+25) 50 mL を同カラムに加え、毎秒 1 滴程度の流速でモノオルト Co-PCBs を溶出し、第 2 画分の試料溶液とした。

液面が充てん剤の上端に達した時に、活性炭シリカゲルリバーサカラムを反転し、新たに 100 mL のなす形フラスコを同カラムの下に置き、トルエン 50 mL を同カラムに加え、毎秒 1 滴程度の流速でノンオルト Co-PCBs, PCDDs 及び PCDFs を溶出し、第 3 画分の試料溶液とした。

## (5) 濃縮及びシリンジスパイク添加

第 2 画分及び第 3 画分の試料溶液を 1 mL 以下に減圧濃縮し、それぞれのケデルナ・ダニッシュ (以下

「KD」とする) 濃縮器に移し、容器をヘキサン1~2 mLで数回洗浄し、洗液をKD濃縮器に合わせた。更にノナン 30~50  $\mu$ Lを加えた後、窒素気流下で20  $\mu$ Lまで濃縮した。

Co-PCB シリンジスパイク用内標準液 20  $\mu$ Lを第2画分及び第3画分の濃縮液に、また、PCDD・PCDF シリンジスパイク用内標準液 20  $\mu$ Lを第3画分の濃縮液にそれぞれマイクロシリンジで加えた。ヘキサン 0.2~0.3 mLでそれぞれのKD濃縮器の壁を洗い、窒素気流下で20  $\mu$ Lまで濃縮した。ノナン 80  $\mu$ Lを第2画分の濃縮液に、また、ノナン 20  $\mu$ Lを第3画分の濃縮液にそれぞれ加え、GC/MSに供する各試料溶液とした。

#### (6) ガスクロマトグラフ質量分析

PCDD・PCDF測定用試料溶液については、測定条件1及び2を、ノンオルトCo-PCB測定用試料溶液及びモノオルトCo-PCB測定用試料溶液については、測定条件3を適用した。質量分析計を選択イオンモニタリング(以下、「SIM」という。)法によるイオン検出に設定し、表2に示す分析対象物質と内標準物質の各塩化物毎のモニターイオン及びロックマス用の質量数を設定した。質量校正用標準物質PFKをGC/MSのイオン化室に導入しながら、ロックマスの応答が安定したら、各標準液及び試料溶液1~2  $\mu$ LをGC/MSに注入して測定を行い、設定した各塩化物の質量数について各SIMクロマトグラムを得た。

各分析対象物質の二つのモニターイオンのピーク面積の強度比を求め、表3に示す天然存在比とほぼ一致することを確認した。個々の測定毎に、ロックマスのモニターチャンネルの確認を行った。

#### 質量分析条件

測定方法:ロックマス方式によるSIM法

分解能:10,000以上

イオン化法:電子衝撃イオン化法(EI)

イオン化エネルギー:40 eV

イオン化電流:600  $\mu$ A

イオン化室温度:280°C

イオン加速電圧:最大 10 kV

SIM周期:1 s以下(100~120 ms/ch.)

#### 測定条件 1

分析対象物質:PCDD各異性体, 1,2,3,7,8-PeCDF, 1,2,3,4,7,8-HxCDF, 1,2,3,6,7,8-HxCDF, 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF, 1,2,3,4,7,8,9-HpCDF, OCDF, PCDDs各同族体, HxCDFs同族体及びHpCDFs同族体

カラム:キャピラリーカラム(J&W製DB-5MS, 内径0.25 mm, 長さ60 m, 膜厚0.25  $\mu$ m)

キャリアーガス:He 1.3 mL/min

カラム槽温度:初期温度130°C(2分保持), 昇温30°C/min, 200°C, 昇温5°C/min, 220°C(16分保持), 昇温6°C/min, 300°C(18分保持)

試料導入方法:スプリットレス(90s)

試料導入部温度:280°C

SIMグループ化:

- 1 (20.0~32.0 min) : TeCDF (M, M+2) ,  $^{13}\text{C}_{12}$ -TeCDF (M+2) , TeCDD (M, M+2) ,  $^{13}\text{C}_{12}$ -TeCDD (M+2) , Lockmass (330.9792)
- 2 (32.0~36.5 min) : PeCDF (M, M+2) ,  $^{13}\text{C}_{12}$ -PeCDF (M+2) , PeCDD (M, M+2) ,  $^{13}\text{C}_{12}$ -PeCDD (M+2) , Lockmass (380.9760)
- 3 (36.5~40.5 min) : HxCDF (M+2, M+4) ,  $^{13}\text{C}_{12}$ -HxCDF (M+2) , HxCDD (M+2, M+4) ,  $^{13}\text{C}_{12}$ -HxCDD (M+2) , Lockmass (380.9760)
- 4 (40.5~45.0 min) : HpCDF (M+2, M+4) ,  $^{13}\text{C}_{12}$ -HpCDF (M+2) , HpCDD (M+2, M+4) ,  $^{13}\text{C}_{12}$ -HpCDD (M+2) , Lockmass (430.9728)
- 5 (45.0~50.0 min) : OCDF (M+2, M+4) ,  $^{13}\text{C}_{12}$ -OCDF (M+4) , OCDD (M+2, M+4) ,  $^{13}\text{C}_{12}$ -OCDD (M+4) , Lockmass (442.9729)

## 測定条件 2

分析対象物質: 2,3,7,8-TeCDF, 2,3,4,7,8-PeCDF, 1,2,3,7,8,9-HxCDF, 2,3,4,6,7,8-HxCDF, TeCDFs 同族体及び PeCDFs 同族体

カラム: キャピラリーカラム (J&W 製 DB-17, 内径 0.25 mm, 長さ 60 m, 膜厚 0.25  $\mu\text{m}$ )

キャリアーガス: He 1.3 mL/min

カラム槽温度: 初期温度 130°C (2分保持), 昇温 30°C/min, 200°C, 昇温 3°C/min, 280°C (36分保持)

試料導入方法: スプリットレス (90 s)

試料導入部温度: 280°C

SIM グループ化:

- 1 (20.0~35.0 min) : TeCDF (M, M+2) ,  $^{13}\text{C}_{12}$ -TeCDF (M+2) , PeCDF (M, M+2) ,  $^{13}\text{C}_{12}$ -PeCDF (M+2) , Lockmass (318.9792)
- 2 (35.0~50.0 min) : HxCDF (M+2, M+4) ,  $^{13}\text{C}_{12}$ -HxCDF (M+2) , Lockmass (380.9760)

## 測定条件 3

分析対象物質: Co-PCB 各異性体

カラム: キャピラリーカラム (J&W 製 DB-5MS, 内径 0.25 mm, 長さ 60 m, 膜厚 0.25  $\mu\text{m}$ )

キャリアーガス: He 1.3 mL/min

カラム槽温度: 初期温度 130°C (2分保持), 昇温 30°C/min, 200°C, 昇温 5°C/min, 220°C (25分保持), 昇温 6°C/min, 300°C (20分保持)

試料導入方法: スプリットレス (90 s)

試料導入部温度: 280°C

SIM グループ化:

- 1 (18.0~26.5 min) : TeCB (M, M+2) ,  $^{13}\text{C}_{12}$ -TeCB (M+2) , PeCB (M, M+2) , HxCB (M+2, M+4) , Lockmass (330.9792)
- 2 (26.5~37.5 min) : PeCB (M, M+2) ,  $^{13}\text{C}_{12}$ -PeCB (M+2) , HxCB (M+2, M+4) , HpCB (M+2, M+4) , Lockmass (380.9760)



- 3 (36.5~40.5 min) :HxCB (M+2, M+4) ,  $^{13}\text{C}_{12}$ -HxCB (M+2) , HpCB (M+2, M+4) , OCB (M+2, M+4) , Lockmass (430.9729)
- 4 (40.5~45.0 min) :HpCB (M+2, M+4) ,  $^{13}\text{C}_{12}$ -HpCB (M+2) , OCB (M+2, M+4) , NnCB (M+2, M+4) , Lockmass (442.9729)

表 2 モニターイオンの設定質量数

同族体	分析対象物質 (native)			内標準物質 ( $^{13}\text{C}_{12}$ )		
	$\text{M}^+$	$(\text{M}+2)^+$	$(\text{M}+4)^+$	$\text{M}^+$	$(\text{M}+2)^+$	$(\text{M}+4)^+$
TeCDDs	319.8965	321.8936		331.9368	333.9338	
PeCDDs		355.8546	357.8516		367.8949	369.8919
HxCDDs		389.8157	391.8127		401.8559	403.8530
HpCDDs		423.7766	425.7737		435.8169	437.8140
OCDD		457.7377	459.7348		469.7780	471.7750
TeCDFs	303.9016	305.8987		315.9419	317.9389	
PeCDFs		339.8597	341.8567		351.9000	353.8970
HxCDFs		373.8208	375.8178		385.8610	387.8580
HpCDFs		407.7818	409.7789		419.8220	421.8191
OCDF		441.7428	443.7399		453.7830	455.7801
TeCBs	289.9224	291.9194		301.9626	303.9597	
PeCBs		325.8804	327.8776		337.9207	339.9178
HxCBs		359.8415	361.8385		371.8817	373.8788
HpCBs		393.8025	395.7995		405.8428	407.8398
質量校正用標準物質 (PFK)						
	318.9792	330.9792	380.9760	430.9728	442.9728	

表 3 ダイオキシン類の天然同位体存在比

同族体	分析対象物質 (native)		
	(% )		
	M <sup>+</sup>	(M+2) <sup>+</sup>	(M+4) <sup>+</sup>
TeCDDs	77.43	100.00	
PeCDDs		100.00	64.69
HxCDDs		100.00	80.66
HpCDDs		100.00	96.64
OCDD		88.80	100.00
TeCDFs	77.55	100.00	
PeCDFs		100.00	64.57
HxCDFs		100.00	80.54
HpCDFs		100.00	96.52
OCDF		88.89	100.00
TeCBs	77.68	100.00	
PeCBs		100.00	64.45
HxCBs		100.00	80.43
HpCBs		100.00	96.40

## (7) データ解析

## A) 検量線の作成

標準液の測定により得られたクロマトグラムについて、各分析対象物質 ( $s$ ) の対応するクリーンアップスパイク用内標準物質 ( $CS$ ) に対するピーク面積 ( $A$ ) の比及び標準液中の各分析対象物質とクリーンアップスパイク用内標準物質の濃度 ( $C$ ) の比を用いて、下式により相対感度係数 (RRF) を算出した。5 段階の各標準液について繰り返し 3 回測定し、算出した RRF を平均した。

$$RRF^k = \frac{C_{CS}^k}{C_s^k} \times \frac{A_s^k}{A_{CS}^k}$$

- RRF<sup>k</sup> : 分析対象物質  $k$  (以下同様) の相対感度係数  
 $C_{CS}$  : 標準液中のクリーンアップスパイク用内標準物質の濃度  
 $C_s$  : 標準液中の分析対象物質の濃度  
 $A_s$  : 標準液中の分析対象物質のピーク面積  
 $A_{CS}$  : 標準液中のクリーンアップスパイク用内標準物質のピーク面積

同様にクリーンアップスパイク用内標準物質のシリンジスパイク用内標準物質 ( $SS$ ) に対する相対感度係数 (RRF<sub>SS</sub><sup>k</sup>) を次式により算出した。

$$RRF_{SS}^k = \frac{C_{SS}^k}{C_{CS}^k} \times \frac{A_{CS}^k}{A_{SS}^k}$$

- RRF<sub>SS</sub><sup>k</sup> : クリーンアップスパイク用内標準物質  $k$  (以下同様) の相対感度係数

- $C_{SS}$  : 標準液中のシリンジスパイク用内標準物質の濃度  
 $C_{CS}$  : 標準液中のクリーンアップスパイク用内標準物質の濃度  
 $A_{CS}$  : 標準液中のクリーンアップスパイク用内標準物質のピーク面積  
 $A_{SS}$  : 標準液中のシリンジスパイク用内標準物質のピーク面積

#### B) 回収率の確認

試料溶液の測定により得られたクロマトグラムにおけるクリーンアップスパイク用内標準物質のピーク面積とシリンジスパイク用内標準物質のピーク面積の比及び対応する相対感度係数を用いて、次式によりクリーンアップスパイク用内標準物質の回収率(rec)を計算し、前処理操作における回収率を求めた。

$$\text{rec}^k = \frac{A_{CS}^k}{A_{SS}} \times \frac{Q_{SS}}{Q_{CS}^k} \times \frac{1}{\text{RRF}_{SS}^k} \times 100$$

- $\text{rec}^k$  : クリーンアップスパイク用内標準物質  $k$  (以下同様) の回収率 (%)  
 $A_{CS}$  : 試料溶液中のクリーンアップスパイク用内標準物質のピーク面積  
 $A_{SS}$  : 試料溶液中のシリンジスパイク用内標準物質のピーク面積  
 $Q_{SS}$  : 試料溶液中のシリンジスパイク用内標準物質の添加量 (pg)  
 $Q_{CS}$  : 試料溶液中のクリーンアップスパイク用内標準物質の添加量 (pg)  
 $\text{RRF}_{SS}$  : 検量線作成時に求めたクリーンアップスパイク用内標準物質のシリンジスパイク用内標準物質に対する相対感度係数

#### C) 定量

試料溶液の測定により得られたクロマトグラム上で各分析対象物質及び対応するクリーンアップスパイク用内標準物質のピークを帰属させ、その面積比及び対応する相対感度係数を用いて、次式により試料中の各分析対象物質の濃度を算出した。2つのモニターイオンそれぞれについて得られた各濃度を平均した。

$$C^k = \frac{A_s^k}{A_{CS}^k} \times \frac{Q_{CS}^k}{\text{RRF}^k} \times \frac{1}{W}$$

- $C^k$  : 分析対象物質  $k$  (以下同様) の試料中濃度 (pg/g)  
 $A_s$  : 試料溶液中の分析対象物質のピーク面積  
 $A_{CS}$  : 試料溶液中のクリーンアップスパイク用内標準物質のピーク面積  
 $Q_{CS}$  : 試料抽出液に添加したクリーンアップスパイク用内標準物質の量 (pg)  
 $\text{RRF}$  : 検量線作成時に求めた分析対象物質のクリーンアップスパイク用内標準物質に対する相対感度係数  
 $W$  : 試料採取量 (g)

#### D) 毒性等量への換算

次式を用いて、試料中のダイオキシン類の毒性等量 (TEQ) を求めた。なお、毒性等価係数 (TEF) は 2005 年に WHO が提唱した値 (表 4) を用いた。

$$TEQ = \sum_k C^k \times TEF^k$$

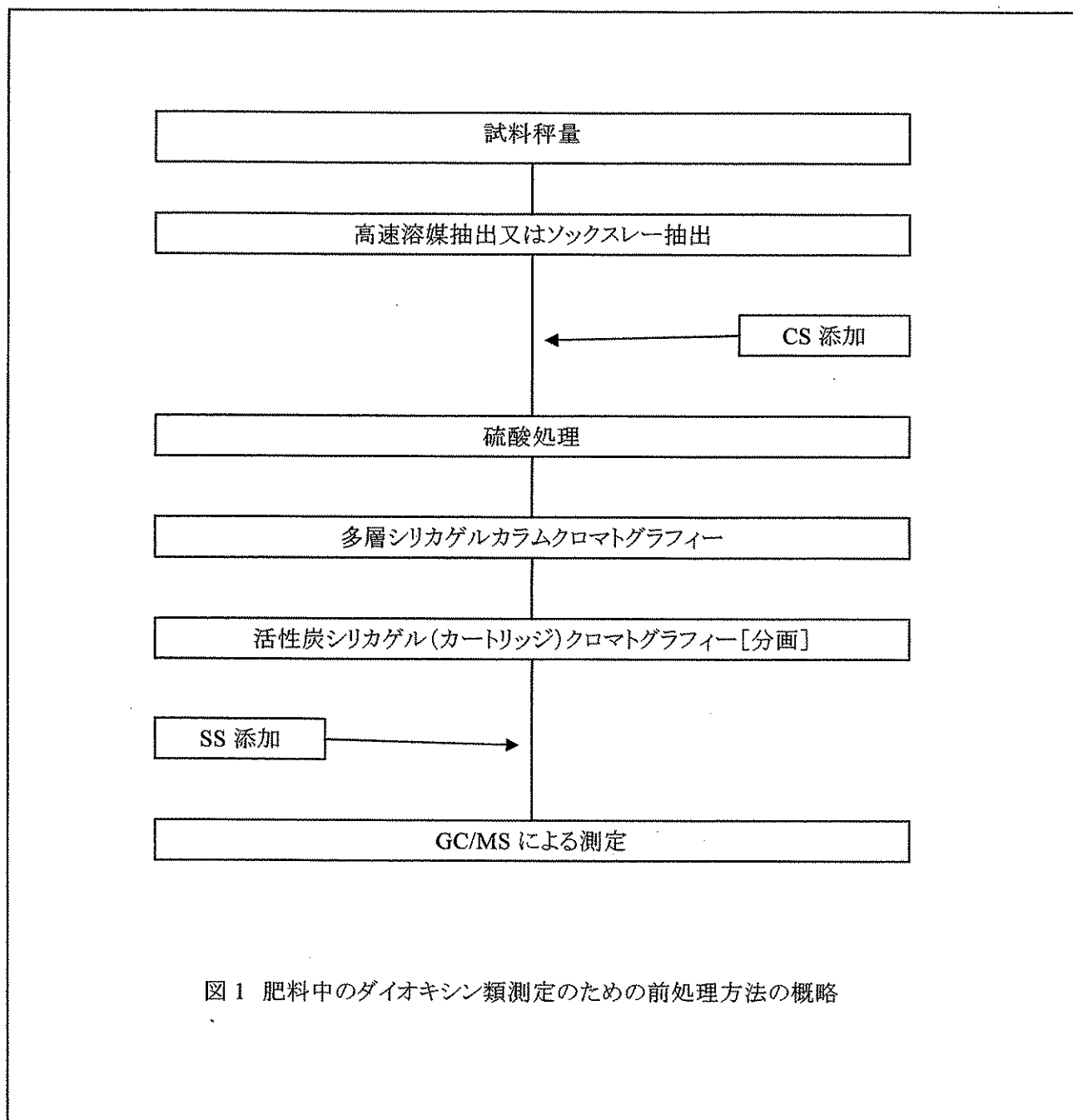
TEQ : 試料中のダイオキシン類の 2,3,7,8-TeCDD 毒性等量 (pg-TEQ/g)

$C^k$  : 分析対象物質  $k$  (以下同様) の試料中濃度 (pg/g)

TEF : 各分析対象物質の 2,3,7,8-TeCDD 毒性等価係数

表 4 各分析対象物質の毒性等価係数 (WHO, 2005)

分析対象物質		TEF	分析対象物質(IUPAC No.)		TEF
PCDD	2,3,7,8-TeCDD	1	ハノルト Co-PCB	3,3',4,4'-TeCB(#77)	0.0001
	1,2,3,7,8-PeCDD	1		3,4,4',5-TeCB(#81)	0.0003
	1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.1		3,3',4,4',5-PeCB(#126)	0.1
	1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.1		3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	0.03
	1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.1	モノルト Co-PCB	2,3,3',4,4'-PeCB(#105)	0.00003
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.01		2,3,4,4',5-PeCB(#114)	0.00003
	OCDD	0.0003		2,3',4,4',5-PeCB(#118)	0.00003
PCDF	2,3,7,8-TeCDF	0.1		2',3,4,4',5-PeCB(#123)	0.00003
	1,2,3,7,8-PeCDF	0.03		2,3,3',4,4',5-HxCB(#156)	0.00003
	2,3,4,7,8-PeCDF	0.3	2,3,3',4,4',5'-HxCB(#157)	0.00003	
	1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.1	2,3',4,4',5,5'-HxCB(#167)	0.00003	
	1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.1	2,3,3',4,4',5,5'-HpCB(#189)	0.00003	
	1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.1			
	2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.1			
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.01			
	1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.01			
	OCDF	0.0003			



### 3. 結果及び考察

#### 1) 抽出条件の検討

従来の方法では、試料をソックスレー抽出／硫酸処理後、多層シリカゲルカラムクロマトグラフ及び活性炭シリカゲルカラムクロマトグラフにより精製及び分画して試料溶液を調製することになっている。<sup>9~11)</sup> (図 1 参照)

しかし、ソックスレー抽出では 16 時間と長い抽出時間を要し、円筒ろ紙の予備洗浄時間を含めると 3 日間以上の期間を要する。そこで、高速溶媒抽出装置を用いて抽出時間の短縮を検討した。また、高速溶媒抽出装置は抽出を密閉状態で完了できるため、分析者が溶媒に接触する機会も少なくなり、本装置が適用されることによって、より安全な抽出法を選択できるようになる。

EPA Method<sup>12)</sup>では、土壌等中のPCDDs/PCDFsの抽出にはトルエン等を、また、PCBsの抽出にはヘキサン-アセトン(1+1)等を用いている。また、「飼料中のダイオキシン類の定量法暫定ガイドライン」では、高速溶媒抽出装置を用いた抽出方法を適用しており、抽出溶媒はヘキサン-アセトン(1+1)である。同ガイドラインの試料の適用範囲の一例として「畜産動物用配合飼料、乾牧草、植物質性原料等、脂質含有量が比較的少ない試料」と記載されている<sup>9)</sup>。汚泥肥料及びたい肥は、汚水処理によって発生した余剰汚泥を乾燥させたものや、動物の排泄物に植物質原料を加え堆積・発酵させたものであり、この適用範囲の形態に類似していると考えられる。よって、汚泥肥料及びたい肥からダイオキシン類を抽出する方法として、高速溶媒抽出装置を用いたヘキサン-アセトン(1+1)及びトルエンによる抽出の適否について次のとおり検討した。

肥料中のダイオキシン類を2.3(1)A)高速溶媒抽出によりヘキサン-アセトン(1+1)で抽出した。また、同様に2.3(1)B)ソックスレー抽出によりトルエン抽出した。ヘキサン-アセトン(1+1)による抽出液は2%塩化ナトリウム水溶液で液々抽出によりアセトンを除去し、トルエンによる抽出液は減圧濃縮により溶媒を除去し、以下本法によって肥料中のダイオキシン各異性体濃度、同族体濃度及び毒性等量を求めた。

その結果、表5のとおり、従来のソックスレー抽出法の定量値に比較してヘキサン-アセトン(1+1)による高速溶媒抽出法の定量値は78~128%であり、抽出方法間による差はみられなかった。なお、クリーンアップスパイク用内標準液の回収率は80~118%であった。

なお、トルエンによる抽出も試みたが、抽出液に多量の夾雑物が溶出し、粘性が高くなってしまふことから、抽出中に装置が圧力過剰で停止する場合があった。また、抽出が正常に行われた試料でも精製が極めて困難であった。このため、トルエンは抽出溶媒には適さないものと判断し、ヘキサン-アセトン(1+1)についてのみ検討することとした。

表5 抽出方法による汚泥肥料中のダイオキシン類の定量値等への影響

異性体等	目標 定量下限 (pg/g)	ソックスレー抽出		高速溶媒抽出	
		トルエン 定量値 (pg/g)	ヘキサン-アセトン(1+1) 定量値 (pg/g)	割合 <sup>1)</sup> (%)	
PCDDs	2,3,7,8- TeCDD	1	0.6 <sup>2)</sup>	0.5 <sup>2)</sup>	—
	1,2,3,7,8- PeCDD	1	2.5	3.2	128
	1,2,3,4,7,8- HxCDD	2	2.8	2.8	100
	1,2,3,6,7,8- HxCDD	2	10.4	9.5	91
	1,2,3,7,8,9- HxCDD	2	6.6	6.2	94
	1,2,3,4,6,7,8- HpCDD	2	171	140	82
	1,2,3,4,6,7,8,9- OCDD	5	3340	2970	89
	TeCDDs		619	563	91
	PeCDDs		129	122	95
	HxCDDs		82.4	84.4	102
HpCDDs		349	272	78	
PCDFs	2,3,7,8- TeCDF	1	4.0	3.4	86
	1,2,3,7,8- PeCDF	1	2.9	2.6	92
	2,3,4,7,8- PeCDF	1	4.2	4.6	108
	1,2,3,4,7,8- HxCDF	2	6.0	6.2	104
	1,2,3,6,7,8- HxCDF	2	6.0	5.8	96
	1,2,3,7,8,9- HxCDF	2	0.6 <sup>2)</sup>	0.5 <sup>2)</sup>	—
	2,3,4,6,7,8- HxCDF	2	8.5	7.5	88
	1,2,3,4,6,7,8- HpCDF	2	56.1	56.9	101
	1,2,3,4,7,8,9- HpCDF	2	5.6	5.1	91
	1,2,3,4,6,7,8,9- OCDF	5	138	126	91
	TeCDFs		81.4	68.6	84
	PeCDFs		65.0	66.9	103
	HxCDFs		69.3	70.0	101
HpCDFs		126	126	100	
ノンオルト	3,3',4,4'- TeCB (#77)	2	225	200	89
Co-PCBs	3,4,4',5'- TeCB (#81)	2	14.0	11.7	84
	3,3',4,4',5'- PeCB (#126)	2	23.6	21.5	91
	3,3',4,4',5,5'- HxCB (#169)	2	4.6	4.0	87
モノオルト	2,3,3',4,4'- PeCB (#105)	2	753	751	100
Co-PCBs	2,3,4,4',5- PeCB (#114)	2	96.4	109	113
	2,3',4,4',5- PeCB (#118)	2	1720	1910	111
	2',3,4,4',5- PeCB (#123)	2	45.9	44.2	96
	2,3,3',4,4',5- HxCB (#156)	2	478	412	86
	2,3,3',4,4',5'- HxCB (#157)	2	122	105	86
	2,3',4,4',5,5'- HxCB (#167)	2	133	123	92
	2,3,3',4,4',5,5'- HpCB (#189)	2	34.3	32.3	94
毒性等量	PCDDs+PCDFs (TEQ)		12.3	12.3	100
	Co-PCBs (TEQ)		2.6	2.4	91
	総計 (TEQ)		14.9	14.7	98

1) ソックスレー抽出の定量値等に対する割合

2) 目標定量下限未満、検出下限以上の測定値

## 2) 汚泥肥料及びたい肥を用いた2方法間の測定値及び毒性等量の比較

汚泥肥料及びたい肥における高速溶媒抽出法と従来のソックスレー抽出法の2方法を比較するため、汚泥肥料(12検体)及びたい肥(1検体)について、それぞれの方法で前処理し、GC/MSでダイオキシン類を測定し、PCDD+PCDF毒性等量、Co-PCB毒性等量及び総毒性等量を算出した。

いずれも目標定量下限値以上の分析対象物質の各測定値及び各毒性等量について、次のとおり解析した。まず、高速溶媒抽出法及び従来のソックスレー抽出法の定量値及び毒性等量について、回帰直線(図2及び3)を作成して相関係数を求めた。その結果、表6及び7のとおり、各異性体の測定値ではいずれも0.945以上であり、毒性等量においてはPCDDs+PCDFsで0.984、Co-PCBsでは0.966、総計では0.987であり、ソックスレー抽出法と高速溶媒抽出法から得られた毒性等量の間には高い正の相関が見られた。なお、各試料に添加したクリーンアップスパイク用内標準物質の各回収率は72~118%であり、環境関連の測定法に規定されている回収率の範囲内であった。また、いずれの試料においてもヘキサン-アセトン(1+1)による抽出液は硫酸処理を十分に行うことによって、GC/MSにおけるロックマスモニターは乱れず、ダイオキシン類の測定は妨害されなかった。

以上のことから、高速溶媒抽出法においても、ソックスレー抽出法と同等なレベルで汚泥肥料とたい肥からダイオキシン類を抽出できることがわかった。また、高速溶媒抽出法を用いることにより、従来のソックスレー抽出法ではこの操作に3日必要であったが、作業時間は半日に短縮され、試験時間の迅速化が図れた。



表6 高速溶媒抽出及びソックスレー抽出による肥料中のダイオキシン類異性体の定量値の比較

異性体	データ数 <sup>1)</sup>	回帰直線 <sup>2)</sup>		
		相関係数	傾きa	切片b
(PCDD)				
2,3,7,8-TeCDD	0	—	—	—
1,2,3,7,8-PeCDD	26	0.951	0.991	-0.049
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0	—	—	—
1,2,3,6,7,8-HxCDD	24	0.978	0.958	-0.590
1,2,3,7,8,9-HxCDD	16	—	—	—
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	26	0.978	0.972	-2.599
1,2,3,4,6,7,8,9-OCDD	26	0.976	0.905	25.56
(PCDF)				
2,3,7,8-TeCDF	26	0.975	0.895	-0.221
1,2,3,7,8-PeCDF	18	0.990	0.942	-0.076
2,3,4,7,8-PeCDF	26	0.945	0.934	-0.007
1,2,3,4,7,8-HxCDF	10	—	—	—
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0	—	—	—
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0	—	—	—
2,3,4,6,7,8-HxCDF	16	—	—	—
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	26	0.990	1.018	-1.268
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	10	—	—	—
1,2,3,4,6,7,8,9-OCDF	24	0.990	0.975	-0.735
(ノンオルト Co-PCB)				
3,3',4,4'-TeCB(#77)	26	0.999	0.989	-10.60
3,4',4',5'-TeCB(#81)	24	0.999	0.858	0.659
3,3',4,4',5'-PeCB(#126)	26	0.980	0.886	0.826
3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	12	—	—	—
(モノオルト Co-PCB)				
2,3,3',4,4'-PeCB(#105)	24	0.997	1.024	-17.60
2,3,4,4',5'-PeCB(#114)	26	0.993	1.115	-1.098
2,3',4,4',5'-PeCB(#118)	26	0.993	0.930	40.22
2',3,4,4',5'-PeCB(#123)	26	0.991	0.948	0.782
2,3,3',4,4',5'-HxCB(#156)	26	0.982	0.881	15.54
2,3,3',4,4',5'-HxCB(#157)	26	0.981	0.849	4.698
2,3',4,4',5,5'-HxCB(#167)	26	0.978	0.903	0.945
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB(#189)	24	0.967	0.828	1.928

1) 汚泥肥料(12検体)及びたい肥(1検体)を定量し、目標定量下限以上の定量値を比較した。

2) 20以上の比較データ数について回帰直線及び相関係数を求めた。

表7 高速溶媒抽出及びソックスレー抽出による飼料中のダイオキシン類毒性等量の比較

異性体	データ数 <sup>1)</sup>	回帰直線 <sup>2)</sup>		
		相関係数	傾きa	切片b
PCDDs+PCDFs	26	0.984	0.992	-0.587
Co-PCBs	26	0.966	0.904	0.045
総計	26	0.987	0.991	-0.642

1) 汚泥肥料(12検体)及びたい肥(1検体)を定量し、目標定量下限以上の定量値から毒性等量を算出して回帰直線及び相関係数を求めた。

2) 20以上の比較データ数について回帰直線及び相関係数を求めた。

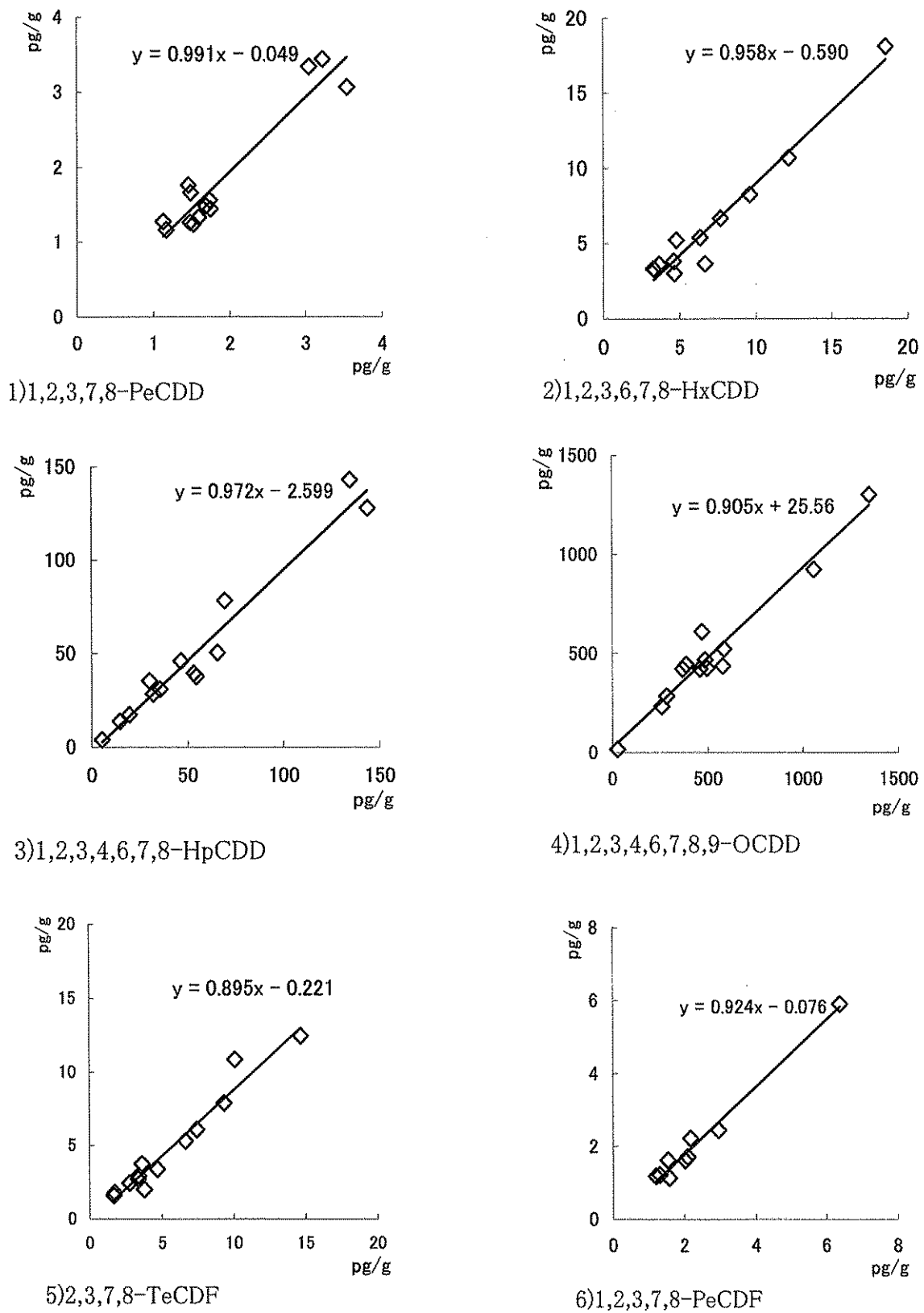


図2 抽出方法によるダイオキシン類異性体の定量値の比較

横軸: ソックスレー抽出による定量値

縦軸: 高速溶媒抽出による定量値

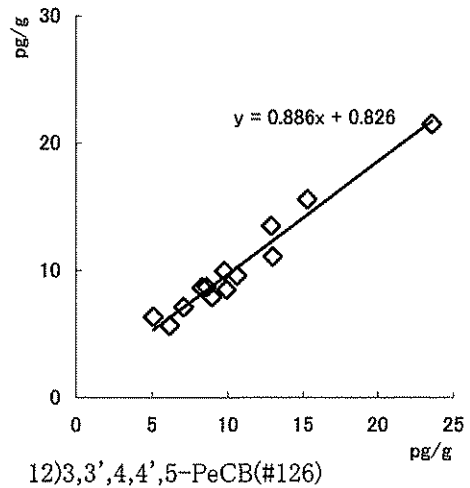
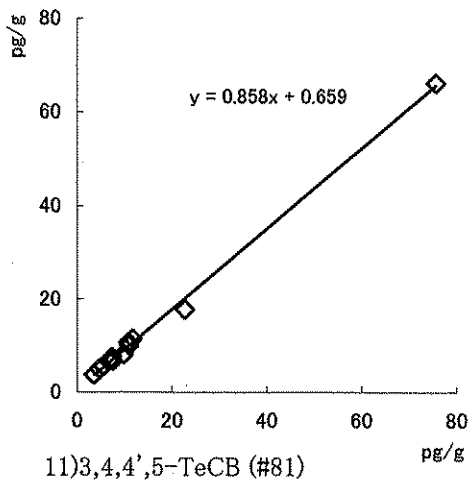
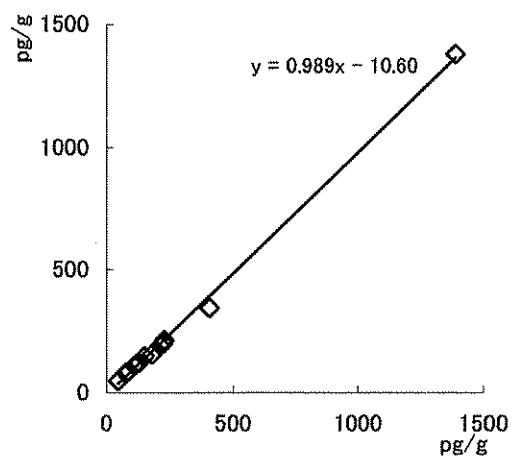
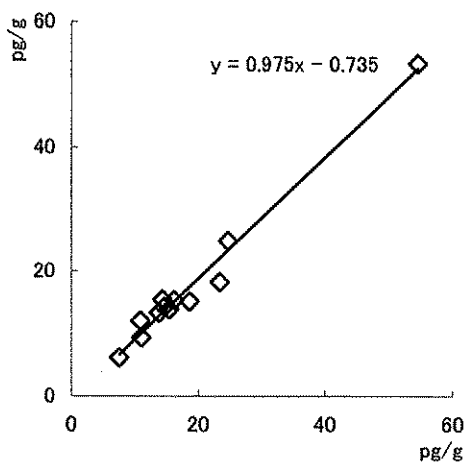
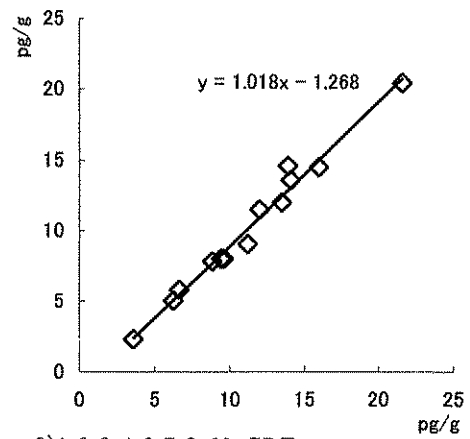
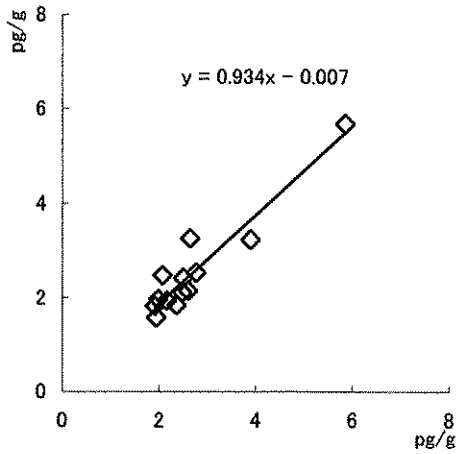
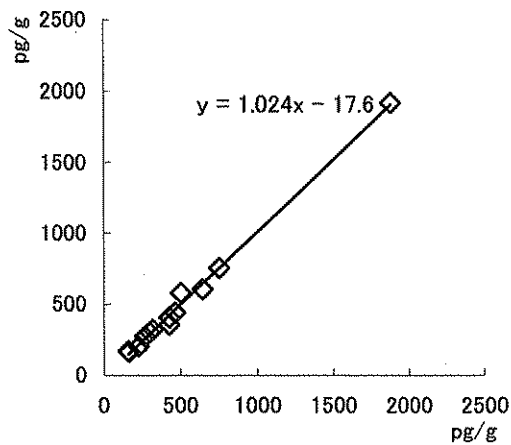


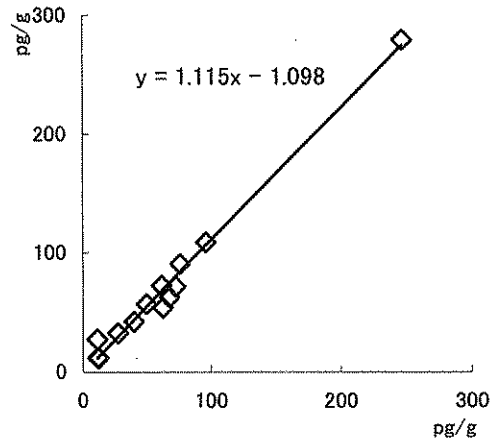
図2 抽出方法によるダイオキシン類異性体の定量値の比較(続き)

横軸: ソックスレー抽出による定量値

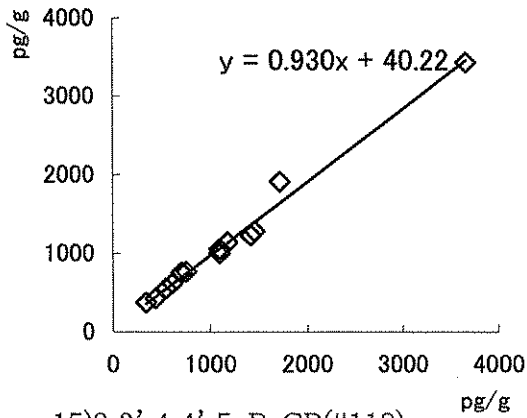
縦軸: 高速溶媒抽出による定量値



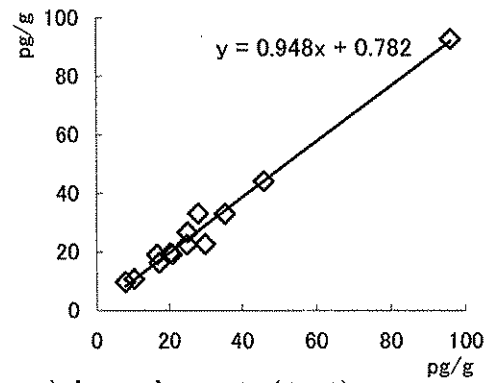
13) 2,3,3',4,4'-PeCB(#105)



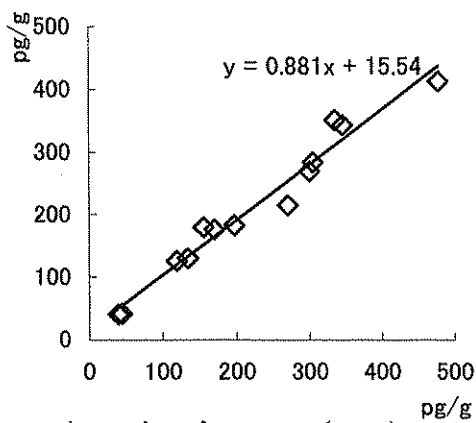
14) 2,3,4,4',5-PeCB(#114)



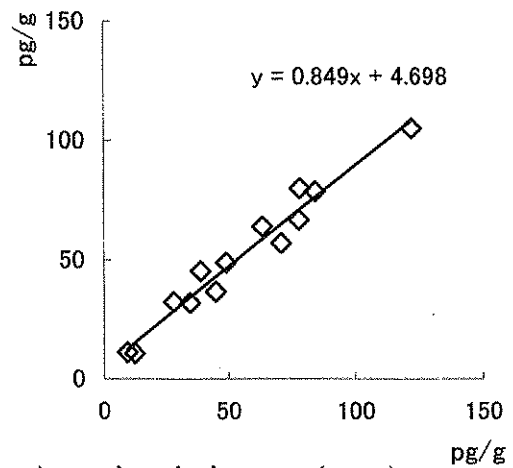
15) 2,3',4,4',5-PeCB(#118)



16) 2',3,4,4',5-PeCB(#123)



17) 2,3,3',4,4',5-HxCB(#156)

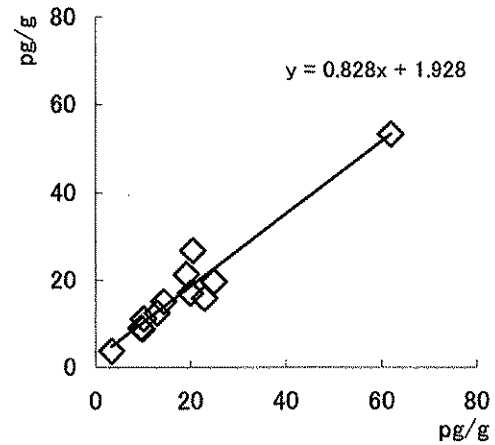
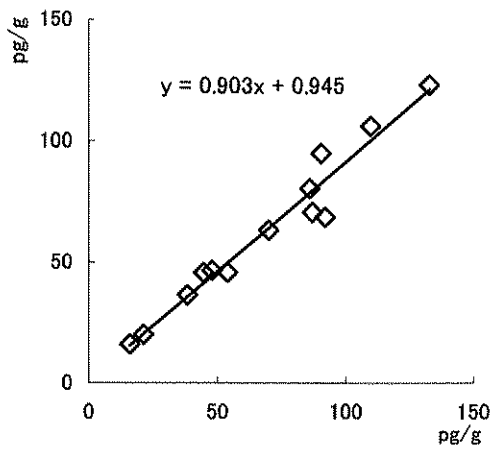


18) 2,3,3',4,4',5'-HxCB(#157)

図2 抽出方法によるダイオキシン類異性体の定量値の比較(続き)

横軸: ソックスレー抽出による定量値

縦軸: 高速溶媒抽出による定量値



19) 2,3',4,4',5,5'-HxCB(#167)

20) 2,3,3',4,4',5,5'-HpCB(#189)

図2 抽出方法によるダイオキシン類異性体の定量値の比較(続き)

横軸: ソックスレー抽出による定量値  
縦軸: 高速溶媒抽出による定量値

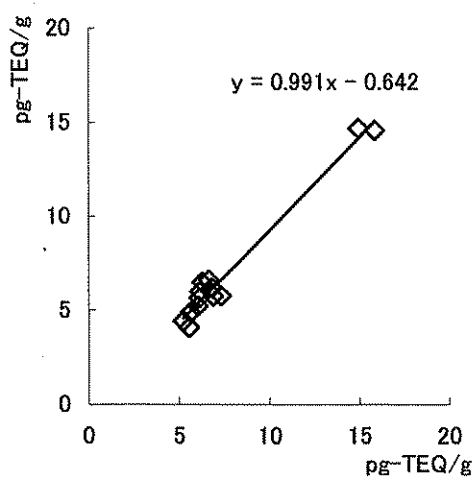
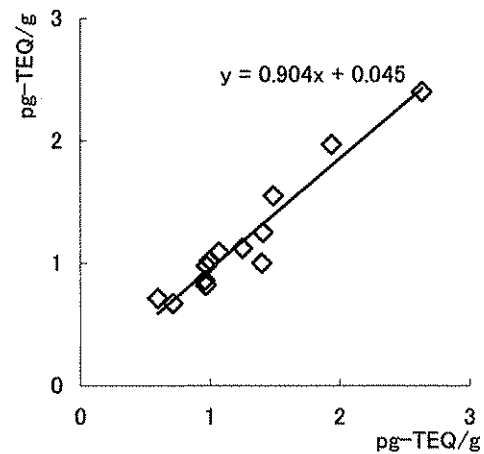
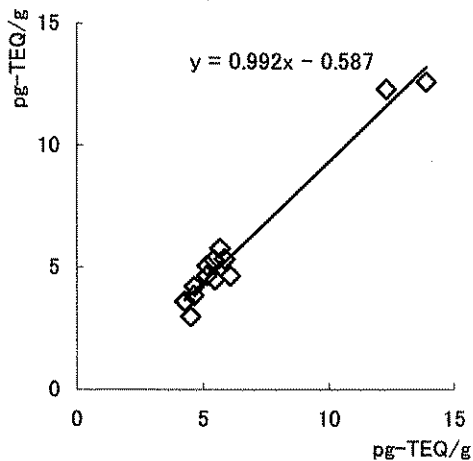


図3 抽出方法によるダイオキシン類  
毒性等量の比較

横軸: ソックスレー抽出による定量値  
縦軸: 高速溶媒抽出による定量値

3) 併行試験

高速溶媒抽出法による繰り返し精度を確認するために、汚泥肥料 5 検体を用いて、それぞれの試料について 3 回繰り返し分析を行った結果から相対標準偏差を求めた。その結果を表 8 及び 9 に示す。異性体毎の定量値から求めた相対標準偏差は、0.7~24.7%であり、毒性等量から求めた相対標準偏差は PCDDs+PCDFs で 0.9~4.9%、Co-PCBs で 1.9~4.7%、総計で 0.5~4.6%であった。

表8 高速溶媒抽出法による繰り返し試験の定量値の平均値と相対標準偏差

異性体	1		2		3		4		5	
	平均値 (pg/g)	相対標準 偏差 <sup>1)</sup> (%)	平均値 (pg/g)	相対標準 偏差(%)	平均値 (pg/g)	相対標準 偏差(%)	平均値 (pg/g)	相対標準 偏差(%)	平均値 (pg/g)	相対標準 偏差(%)
<b>(PCDD)</b>										
2,3,7,8-TeCDD	—	—	—	—	—	—	1.6	8.3	—	—
1,2,3,7,8-PeCDD	1.6	18.9	—	—	3.6	5.1	3.7	11.4	3.5	16.8
1,2,3,4,7,8-HxCDD	—	—	—	—	3.2	15.3	—	—	—	—
1,2,3,6,7,8-HxCDD	—	—	2.8	11.3	8.8	8.1	10.7	6.1	17.9	6.5
1,2,3,7,8,9-HxCDD	—	—	—	—	5.5	8.7	6.4	2.1	9.1	6.5
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	3.7	4.5	35.4	10.1	135	6.7	79.9	2.4	150	5.1
1,2,3,4,6,7,8,9-OCDD	—	—	501	18.4	1020	5.8	460	6.8	1410	5.5
<b>(PCDF)</b>										
2,3,7,8-TeCDF	8.0	1.9	1.7	9.7	2.6	9.4	13.2	6.1	9.3	6.8
1,2,3,7,8-PeCDF	2.5	24.7	—	—	1.4	18.7	5.3	12.7	—	—
2,3,4,7,8-PeCDF	3.4	13.4	1.9	7.5	2.3	8.2	5.9	5.6	1.8	12.8
1,2,3,4,7,8-HxCDF	—	—	—	—	—	—	5.2	4.2	—	—
1,2,3,6,7,8-HxCDF	—	—	—	—	—	—	4.8	12.2	—	—
1,2,3,7,8,9-HxCDF	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2,3,4,6,7,8-HxCDF	—	—	3.3	3.9	2.8	3.4	5.8	6.0	—	—
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	2.4	4.2	13.4	8.0	11.0	8.6	20.6	0.7	10.2	6.8
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1,2,3,4,6,7,8,9-OCDF	—	—	14.4	7.3	13.2	8.7	55.5	5.3	14.2	10.2
<b>(ノンオルト Co-PCB)</b>										
3,3',4,4'-TeCB(#77)	77.5	3.4	112	1.4	132	2.2	1370	5.8	1420	4.1
3,4,4',5'-TeCB(#81)	10.9	4.0	6.5	4.4	8.5	8.0	69.9	4.7	67.6	5.4
3,3',4,4',5'-PeCB(#126)	8.3	3.6	8.5	4.7	20.5	4.7	16.0	2.5	35.1	3.7
3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	—	—	—	—	4.1	8.2	2.0	5.2	4.5	7.0
<b>(モノオルト Co-PCB)</b>										
2,3,3',4,4'-PeCB(#105)	167	2.2	305	4.4	591	7.3	203	10.0	1640	3.7
2,3,4,4',5'-PeCB(#114)	11.4	9.3	28.0	5.5	74.5	3.2	283	7.5	193	10.8
2,3',4,4',5'-PeCB(#118)	420	4.3	750	3.1	1590	2.0	3550	4.3	3000	9.8
2',3,4,4',5'-PeCB(#123)	9.0	17.2	16.9	11.3	40.4	1.8	96.5	9.5	88.0	7.1
2,3,3',4,4',5'-HxCB(#156)	44.5	5.5	132	10.3	287	10.1	293	3.6	602	4.4
2,3,3',4,4',5'-HxCB(#157)	11.0	1.4	31.2	1.8	79.7	2.7	64.6	2.3	139	3.1
2,3',4,4',5,5'-HxCB(#167)	20.4	2.5	45.3	2.7	108	9.8	105	1.5	181	9.7
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB(#189)	3.4	9.0	7.9	9.5	23.6	4.7	20.5	5.7	55.5	9.2

1) 汚泥肥料(5検体)を3回繰り返し測定し、目標定量下限以上の定量値について平均値及び相対標準偏差を求めた。

表9 高速溶媒抽出法による繰り返し試験の毒性等量の平均値と相対標準偏差

異性体	1		2		3		4		5	
	毒性等量 (pg/g-TEQ)	相対標準 偏差 <sup>1)</sup> (%)	毒性等量 (pg/g-TEQ)	相対標準 偏差(%)	毒性等量 (pg/g-TEQ)	相対標準 偏差(%)	毒性等量 (pg/g-TEQ)	相対標準 偏差(%)	毒性等量 (pg/g-TEQ)	相対標準 偏差(%)
PCDDs+PCDFs	5.2	3.0	4.4	4.9	9.6	0.9	13.3	4.2	11.1	4.5
Co-PCBs	0.9	3.1	1.0	4.3	2.3	4.7	2.0	1.9	4.0	3.4
総計	6.1	2.2	5.4	4.6	11.8	0.5	15.3	3.9	15.1	4.0

1) 汚泥肥料(5検体)を3回繰り返し測定し、目標定量下限以上の定量値から毒性等量を算出して平均値及び相対標準偏差を求めた。

#### 4. まとめ

汚泥肥料及びたい肥中のダイオキシン類の測定方法として、「飼料中のダイオキシン類測定方法暫定ガイドライン」が適用可能であるか検討したところ、以下の結果が得られた。

(1) ヘキサン-アセトン (1+1)による高速溶媒抽出法とトルエンによるソックスレー抽出法について比較したところ、抽出方法間による差はなかった。

(2) 高速溶媒抽出法及び従来のソックスレー抽出法の定量値及び毒性等量について、回帰直線を作成して相関係数を求めたところ、いずれも 0.945 以上であった。

(3) また、高速溶媒抽出法による併行試験の結果、異性体毎の定量値では相対標準偏差として 0.7~24.7%であり、同様に PCDDs+PCDFs 及び Co-PCBs, 総計の各毒性等量では 0.5~4.9%であった。

(4) 以上の結果から、汚泥肥料及びたい肥中からダイオキシン類を抽出する方法として、高速溶媒抽出法が適用可能であることがわかった。

#### 文 献

- 1) ダイオキシン類対策特別措置法施行令:平成 11 年 12 月 27 日, 政令第 433 号 (1999)
- 2) 黒川雄二, 井上達: ダイオキシン類のリスクアセスメント 特に国内外の規制状況及び内分泌障害性物質としての作用, 国立衛研報告, **116**, 1~12 (1998)
- 3) JIS K 0311, 排ガス中のダイオキシン類の測定方法 (2005)
- 4) JIS K 0312 工業用水・工場排水中のダイオキシン類の測定方法 (2005)
- 5) 厚生省生活衛生局食品保健課:食品中のダイオキシン類の測定方法暫定ガイドライン, 平成 20 年 2 月 (2008)
- 6) 厚生労働省:特別管理一般廃棄物及び特別管理産業廃棄物に係る基準の検定方法, 厚生省告示第 192 号, 平成 4 年 7 月 (1992)
- 7) 環境庁水質保全局土壌農薬課:ダイオキシン類に係る土壌調査測定マニュアル, 平成 12 年 1 月 (2000)
- 8) 農林水産省生産局畜産部飼料課長通知:飼料中のダイオキシン類の定量法暫定ガイドライン, 平成 15 年 6 月 26 日, 15 生畜第 1725 号 (2003)
- 9) 農林水産省生産局畜産部飼料課長通知:飼料中のダイオキシン類の定量法暫定ガイドラインの全面改定について, 平成 16 年 11 月 24 日, 16 消安第 5299 号 (2004). (一部改定), 17 消安第 12544 号, 平成 18 年 3 月 24 日 (2005)
- 10) 山多利秋, 加島信一, 白井裕治:飼料研究報告, **29**, 84~113 (2004)
- 11) 白井裕治, 森藤 香:飼料研究報告, **29**, 150~159 (2004)
- 12) U.S. EPA Method 3545A (2000)

## Evaluation of an Accelerated Solvent Extraction Procedure for Determination of Dioxins in Sludge Fertilizer and Compost Using a High Resolution Gas Chromatograph/Mass Spectrometer (HR-GC/MS)

Jun OKI<sup>1, (2)</sup>, Yuji SHIRAI<sup>1</sup> and Mariko AIZAWA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department

<sup>2</sup> (Now) Food and Agricultural Materials Inspection Center, Food Safety and Consumer Affairs Information Department

A simple and rapid method for extraction of dioxins (polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins (PCDDs), polychlorinated dibenzofurans (PCDFs) and coplanar polychlorinated biphenyls (Co-PCBs)) from sludge fertilizer and compost was developed using an accelerated solvent extraction (ASE) procedure and a high resolution gas chromatograph/mass spectrometer (HR-GC/MS). Dioxins in samples were extracted by the ASE procedure, pressurizing samples at 1500 psi with acetone-hexane (1+1) at 100°C using ASE-300 instrument. These extracts were treated with concentrated sulfuric acid, and were cleaned up with a multi-layer silica gel column. The effluents were cleaned up with an active carbon-dispersed silica gel reversible column to obtain mono-ortho PCBs fraction and PCDDs+PCDFs+non-ortho PCBs fraction. The dioxins in each fraction were analyzed using a HR-GC/MS, and then toxic equivalents (TEQ) of PCDDs+PCDFs, Co-PCBs and the total value were calculated. The developed method produced concentrations of each isomer and TEQ values almost identical to those produced by the conventional soxhlet extraction method in a wide concentration range. The relative standard deviations (RSD) of each isomer and TEQ values, which were obtained from 3 replicate analysis of 5 samples of different sludge fertilizers and compost, were 0.7~24.7% and 0.5~4.9%, respectively. The ASE procedure was evaluated and successfully applied for determination of dioxins in sludge fertilizer and compost. The evaluated procedure is a simple and time-saving procedure and consumes less solvent in preparing samples.

*Key words* dioxin, sludge fertilizer, compost, accelerated solvent extraction (ASE), high resolution gas chromatography/mass spectrometry (HR-GC/MS)

(Research Report of Fertilizer, 1, 90~113, 2008)