

## 1-1 地盤中ダイオキシンの簡易分析手法の開発

研究予算：運営交付金（一般勘定）

研究期間：平12～平14

担当チーム：新材料チーム

研究担当者：明嵐政司、守屋 進

### 【要旨】

事業を効率的に執行するうえで、土壌のダイオキシン類による汚染状況を迅速に把握できる技術の開発が求められている。このため、ダイオキシン類の簡易分析手法を確立することを目標に試料の迅速前処理法、および迅速分析法について検討した。

その結果、迅速前処理法として高速溶媒抽出法及び加熱流下法が適用できることが判明した。また、迅速分析法として難揮発性ハロゲン化有機物（SNVOX）のTOX計による分析、および四重極GC/MSで代替物質を測定してダイオキシン類のTEQを推定する方法、免疫アッセイ法を適切に組み合わせることが有効であることがわかった。

キーワード：ダイオキシン類、簡易分析手法、迅速前処理法、TOX計、四重極GC/MS、免疫アッセイ法、

### 1. はじめに

公共事業を執行するうえで土壌のダイオキシン類による汚染の有無は事業執行に大きな影響を及ぼすので、その汚染状況を適時把握し必要な対策を行うことが効率的に事業を執行するうえで求められている。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月環境庁水質保全局土壌農業課）（以下、公定法という）では、ソックスレー抽出法、硫酸シリカゲルカラム、活性炭カラム、アルミナカラムなどによる精製後、高分解能GC/MSにより、ダイオキシン類の異性体を個別に定量する。異性体それぞれの濃度に毒性等価係数（TEF）を乗じて得られた毒性等量（TEQ）を最終的な値としている。このため、分析結果が得られるまでには1ヶ月以上を要する。一定区域の土壌のダイオキシン類による汚染調査、および対策で高濃度汚染場所の絞り込みのためのスクリーニング等では、汚染濃度が環境基準（1000pg-TEQ/g）を超える可能性があるかどうかの迅速な判定が要求される。このため、ダイオキシン類の分析測定時間を短縮する簡易分析法の確立が求められている。

ダイオキシン類の分析測定法の簡易化としては、①サンプリングの簡易化、②前処理、抽出、精製の簡易化、③分析法の簡易化がある。簡易化されたダイオキシン類の測定方法は、公定法による測定が必要か否かを判断するためのスクリーニング等の方法として位置付けられる。

本研究は、地盤中のダイオキシン類を迅速に測定す

る簡易分析手法を確立するため、迅速前処理法、迅速分析法について、公定法による分析結果との比較検討を行った。

### 2. 研究方法

#### 2.1 共通事項

（1）実験に用いた試料は、神奈川県内の2箇所から採取した有機質土に飛灰を添加して調製した試料及び埼玉県の土壌などの合計20種類の試料で実験した。

（2）抽出後の精製法は、3層カラム処理、多層カラム処理、3層カラム及び多層カラム処理後に活性炭カラム処理の4通りについて検討した。

#### 2.2 迅速前処理法の検討

公定法では、土壌試料の前処理法にはソックスレー抽出法を採用している。この抽出法は16時間程度時間を要するので、前処理時間を短縮する迅速前処理法として高速溶媒抽出法（以下、PFE抽出法）と加熱流下抽出法について、その適用性を検討した。公定法のフローを図-1に示す。

（1）PFE抽出法は、試料と抽出溶媒を高温、高圧条件下で接触させ目的物質を抽出する方法であり、抽出時間は40分程度である。DIONEX ASE-200 抽出セル33mlを用い、土壌試料20gにアセトン200mlを抽出溶媒として用いた。抽出条件は（抽出溶媒：アセトン（残留農業試験用）、温度150℃、圧力2000psi, static；5分間×2回）とした。

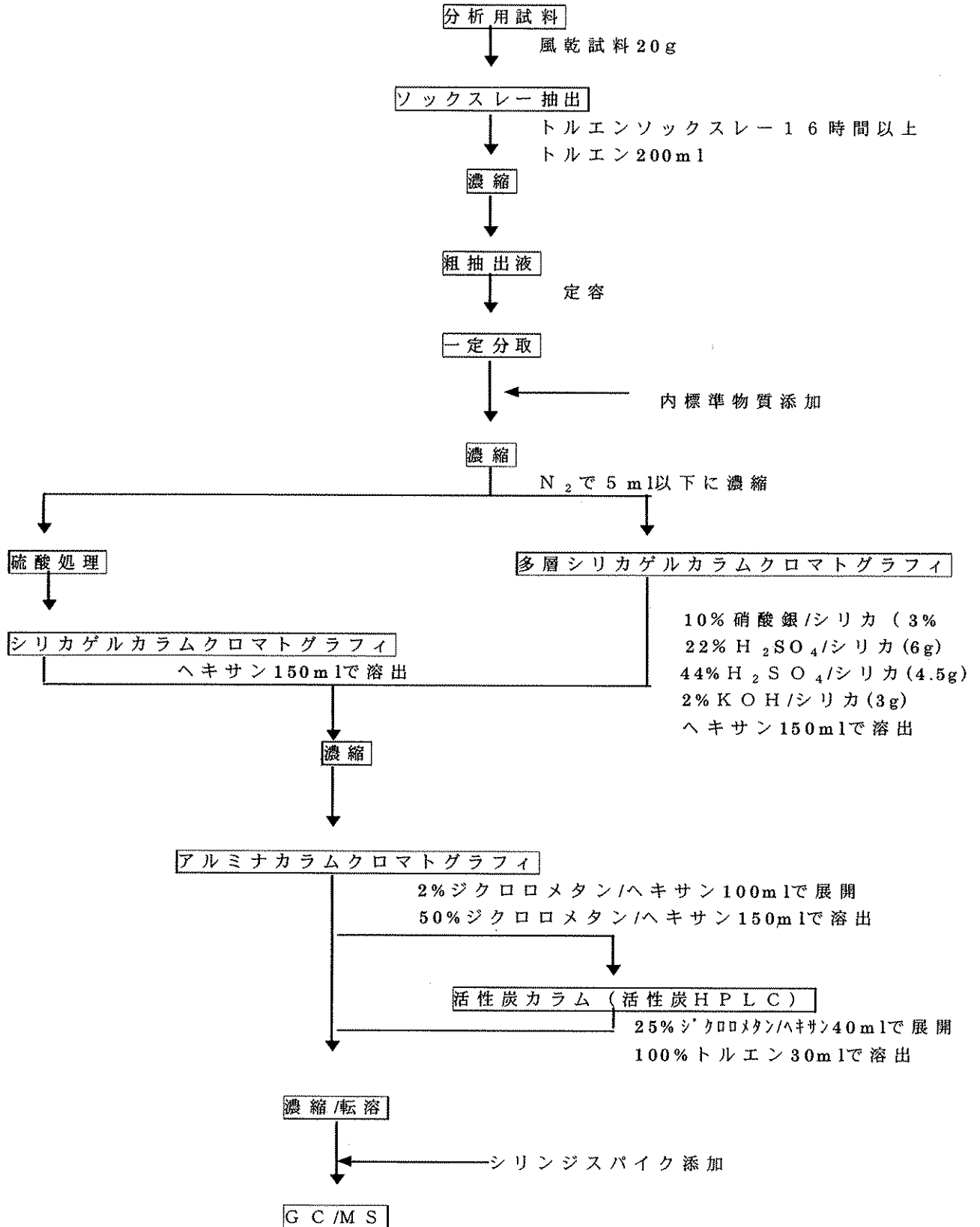


図-1 公定法による土壌試料の分析フロー

(2) 加熱流下抽出法は、試料をエタノールで脱水した後、加温したトルエンを通液し、ダイオキシン類を抽出する方法である。抽出時間は約1時間である。

### 2. 3 迅速分析法の検討

公定法では、ソックスレー抽出した試料を多層シリカゲルカラム-活性炭カラム処理で精製し、高分解能GC/MSで分析する。迅速分析法として、2種類のイムノアッセイ法、全有機ハロゲン計(TOX計)による方法、四重極GC/MS法である。その測定結果と、PFE抽出法で前処理し、精製以降を公定法に準拠して測定した結果との相関を求め、分析法の適用性を検討した。

#### (1) イムノアッセイ法

①イムノアッセイ法-1(吸光光度法)は、生物の持っている特異的な抗原抗体反応を利用したものである。2,3,7,8-TeCDD(四塩化ジベンゾパラジオキシン)に特異的な抗体を使用し、酵素を標識し吸光度を測定する。

②イムノアッセイ法-2は、ダイオキシン類の識別にAhレセプターバイディング法を、その検出過程に免疫測定法を利用した方法である。Ahレセプターに結合する物質を測定する。

#### (2) TOX計による方法

ダイオキシン類の代替指標として、SNVOXをTOX計で測定する方法である。

#### (3) 四重極GC/MS法

公定法が高分解能GC/MS法でダイオキシン類の全異性体を分析するのに対して、四重極GC/MS法は、ダイオキシン類の一部を代替物質として測定する方法である。代替物質は、2,3,4,7,8-PeCDF(5塩化ジベンゾフラン)あるいは、8塩素化ダイオキシン類(OCDD(8塩素化ジベンゾパラジオキシン)+OCDF(8塩素化ジベンゾフラン))である。

## 3. 研究結果

### 3. 1 迅速前処理の検討

PFE抽出法と加熱流下法で抽出した試料を四重極GC/MS法で分析した。2,3,4,7,8-PeCDF及び8塩素化ダイオキシン類を測定した結果と公定法TEQ値との相関を図-2に示す。いずれも良好な相関を示した。

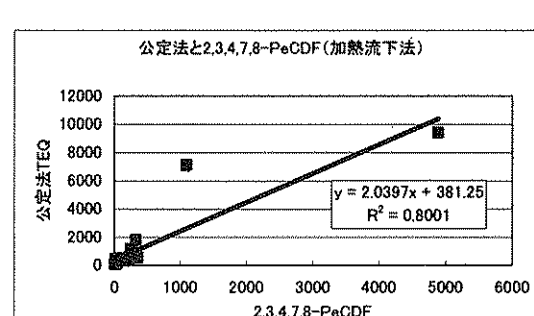
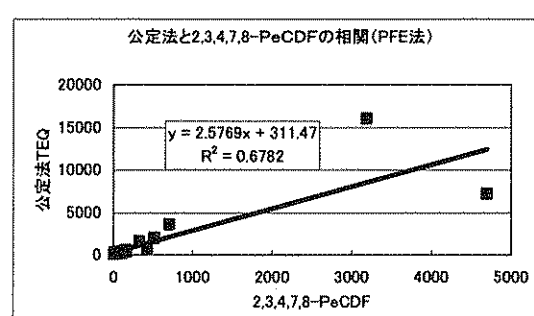
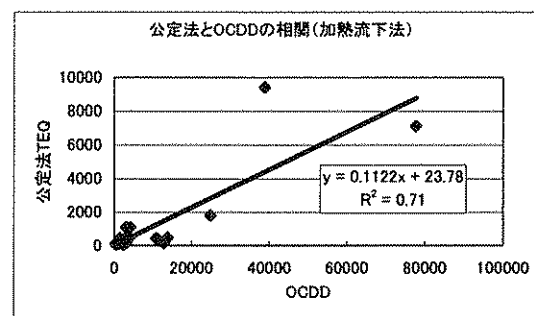
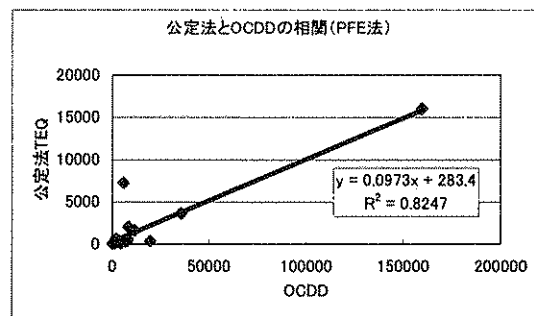


図-2 抽出法の違いによる公定法のTEQとOCDD, 2,3,4,7,8-PeCDFの四重極GC/MS測定結果の相関

### 3. 2 迅速分析法の検討

#### (1) イムノアッセイ法

土壌試料20試料をPFE抽出法と加熱流下法で迅速前処理した。この試料を多層シリカゲルカラム+活性炭処理、多層シリカゲルカラムのみ、3層シリカゲルカラムのみの3種類の精製を行った試料のイムノアッセイ法-1による測定結果と公定法の結果との関係を図-3に示す。PFE抽出法による前処理は

イムノアッセイ法-1に適していないと判断される。加熱流下法による前処理は、多層のみ及び3層のみで公定法と高い相関が得られている。精製法は、多層処理の相関が活性炭カラムを通過させるより高いが、これは活性炭カラムからの妨害物質の溶出の影響と考えられる。

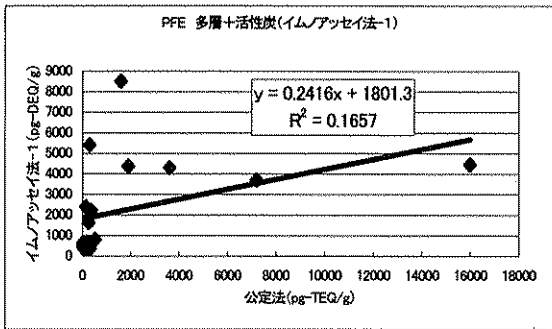
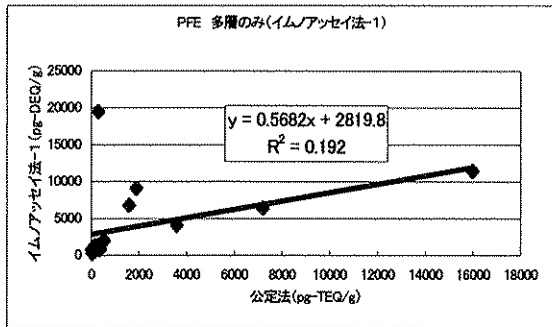
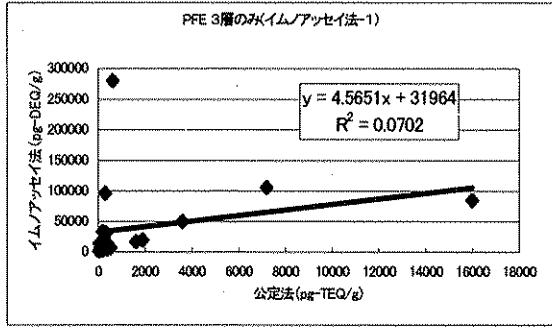


図-3 (1) PFE抽出法による試料の精製法の違いによるイムノアッセイ法-1値と公定法TEQ値との相関

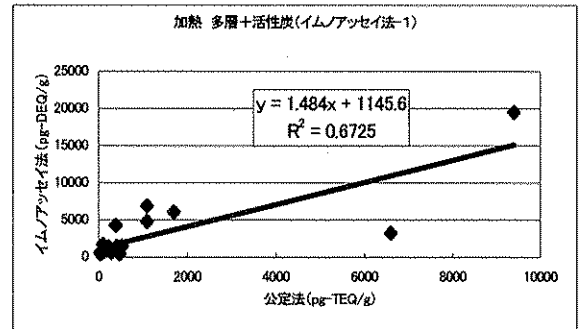
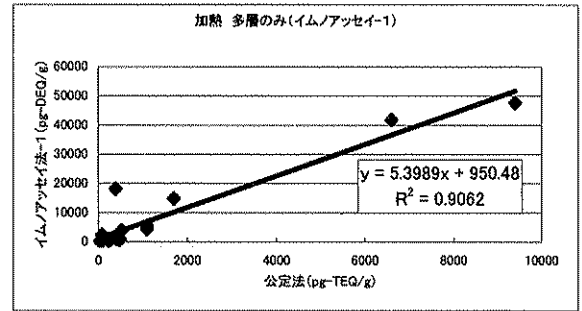
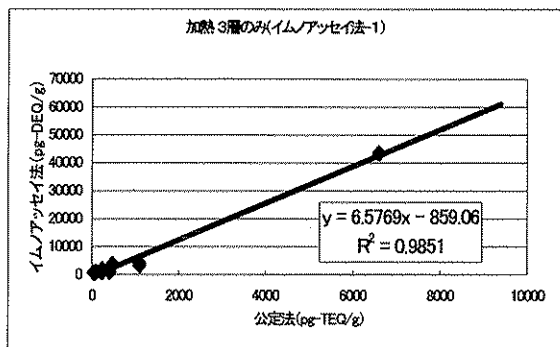


図-3 (2) 加熱流下法による試料の精製法の違いによるイムノアッセイ法-1値と公定法TEQ値との相関

試料をPFE抽出法及び加熱流下法によって前処理した。多層カラム+活性炭処理、多層カラムのみ、3層カラムのみの3種類の精製を行った試料のイムノアッセイ法-2の測定結果と公定法の結果との関係を図-4に示す。PFE抽出法では、精製の程度が高度と考えられる多層+活性炭、多層のみ、3層のみの順に、公定法との相関が高くなる傾向がみられた。一方、加熱流下法による精製試料と公定法との相関は、活性炭を用いない多層処理が最も高い相関であった。PFE抽出法及び加熱流下法の抽出操作は、いずれも前処理法として問題はないと考えられる。

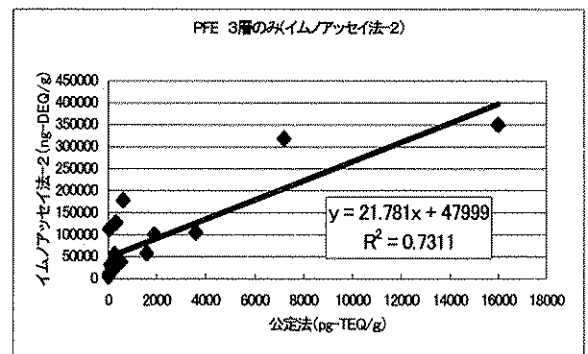


図-4 (1) PFE抽出法による試料の精製法の違いによるイムノアッセイ法-2の値と公定法TEQ値との相関

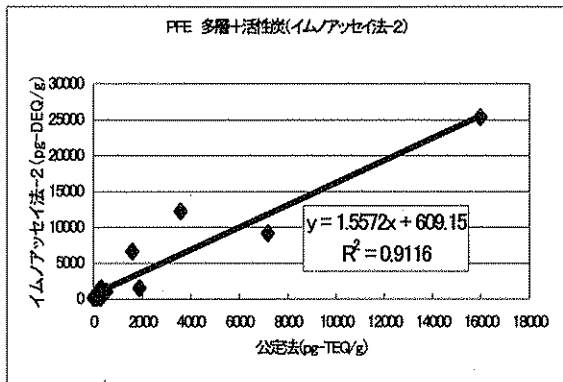
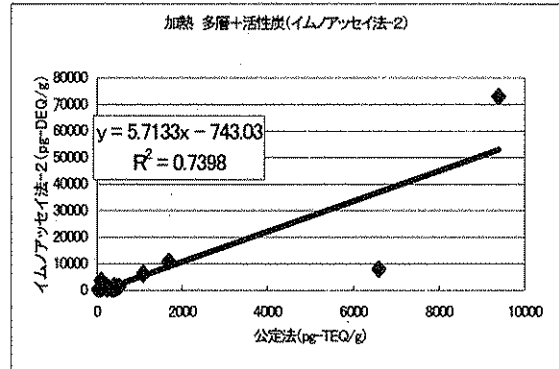
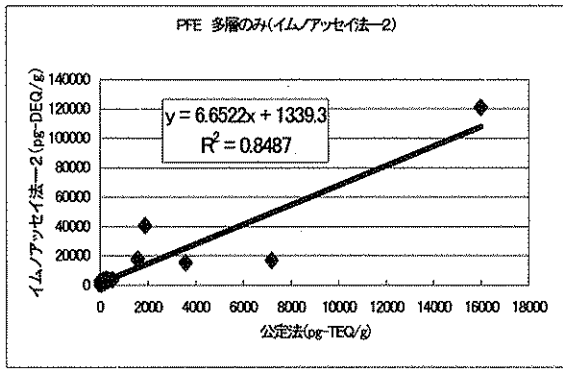


図-4 (2) 加熱流下法による試料の精製法の違いによるイムノアッセイ-2の値と公定法TEQ値との相関

## (2) TOX計

最も簡易な測定方法として、土壌試料のPFE抽出法及び加熱流下法で抽出後、濃縮しただけの粗抽出液のSNVOXをTOX計で測定した結果と公定法による結果との関係を図-5に示す。粗抽出では、加熱流下法の前処理は適していない。一方、PFE抽出法の前処理は $R^2=0.65$ 以上の相関が得られた。

図-4 (1) PFE抽出法による試料の精製法の違いによるイムノアッセイ-2の値と公定法TEQ値との相関

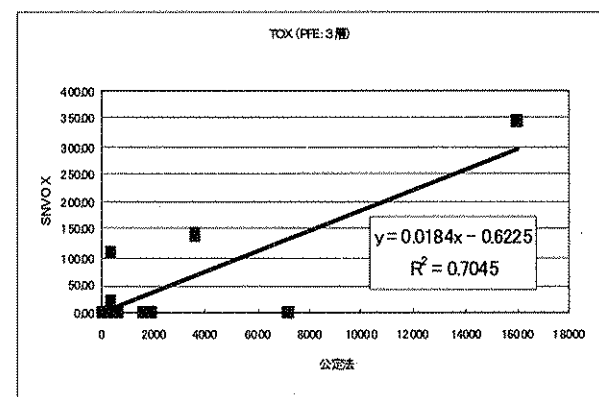
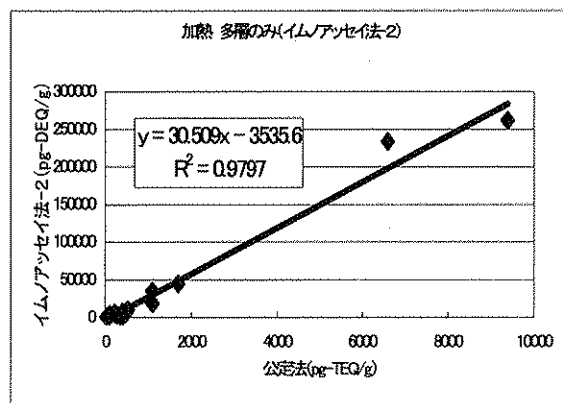
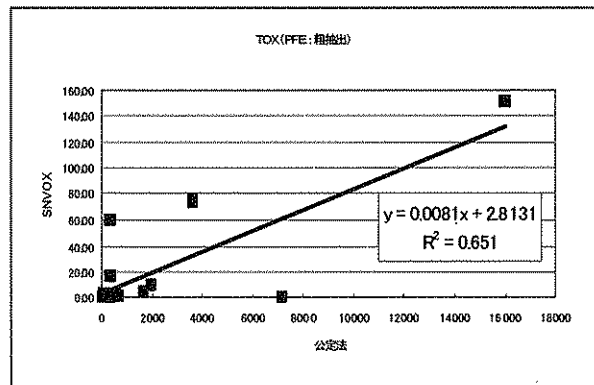
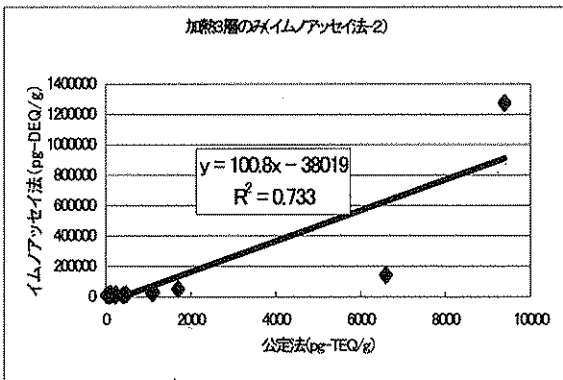


図-5 抽出法と精製法の違いによるTOX計のSNVOXの測定値と公定法TEQ値との相関

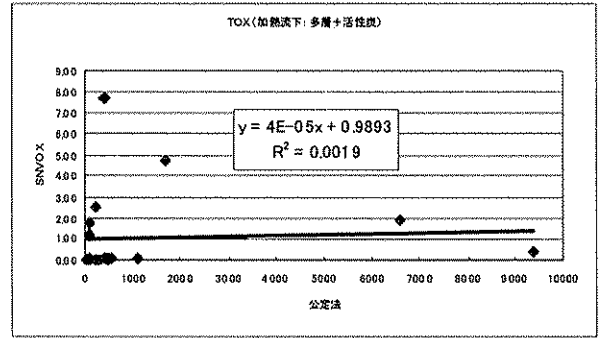
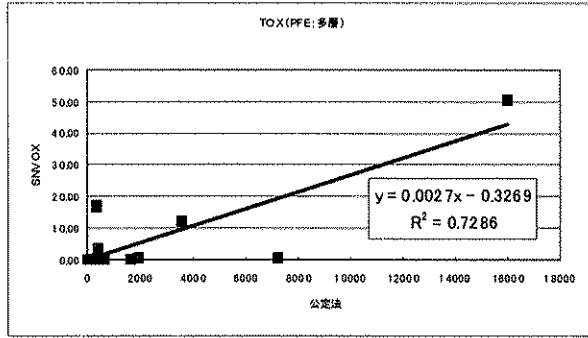
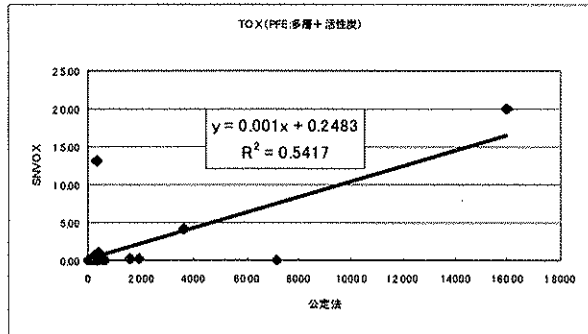


図-5 抽出法と精製法の違いによるTOX計のSNVOXの測定値と公定法TEQ値との相関



### (3) 四重極GC/MS法

四重極GC/MS法による2,3,4,7,8-PeCDFの測定結果と公定法による測定結果の関係を図-6に示す。PFE抽出法及び加熱流下法ともに、精製法による差異はあるが公定法と良好な相関が得られた。

四重極GC/MS法による8塩素化ダイオキシン類の測定結果及び公定法による測定結果の関係を図-7に示す。加熱流下法では、3層カラムのほうが多層カラムよりも若干、相関が高かった。PFE抽出法では、多層カラム処理が3層カラム処理と比較して、相関がかなり低い結果であった。

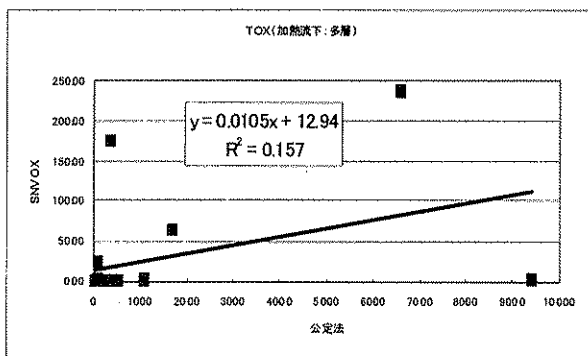
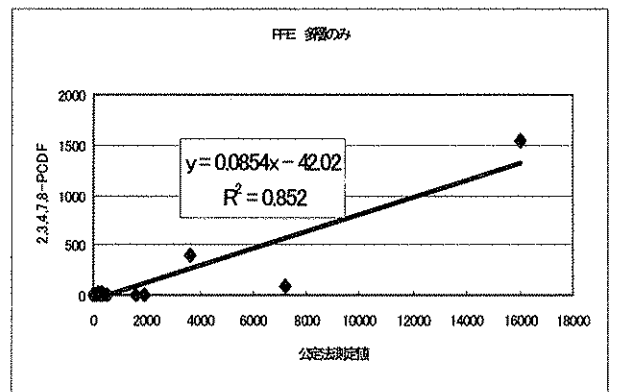
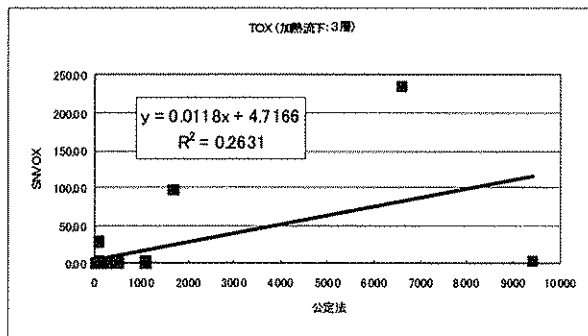
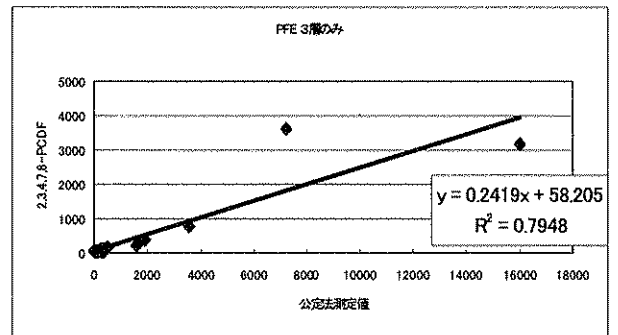
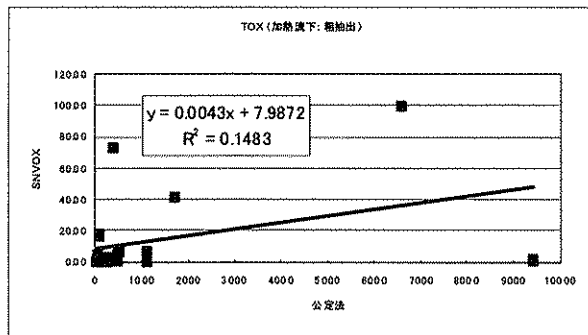


図-6 (1) PFE抽出法による試料の精製法の違いによる四重極GC/MS法の2,3,4,7,8-PeCDF測定値と公定法TEQ値との相関

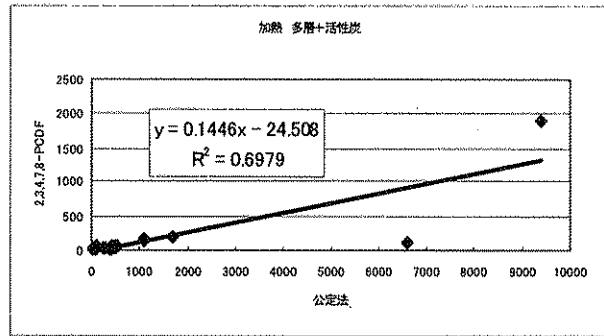
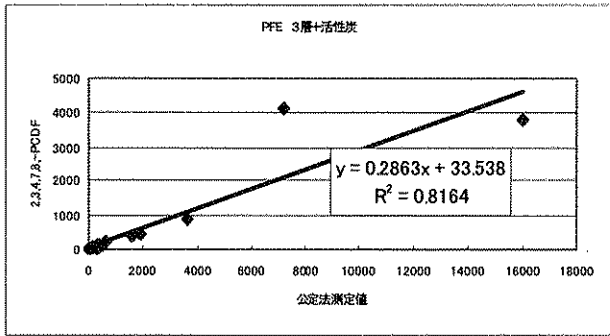


図-6 (2) 加熱流下法による試料の精製法の違いによる四重極GC/MS法の2, 3, 4, 7, 8-PeCDF値と公定法TEQ値との相関

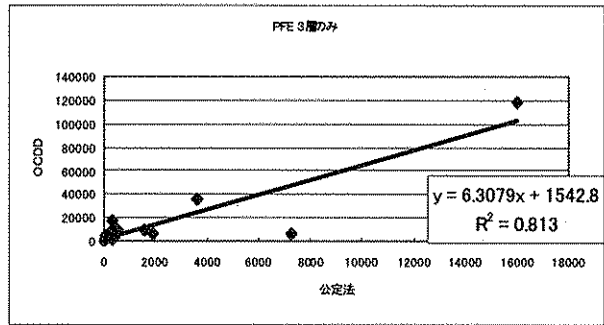
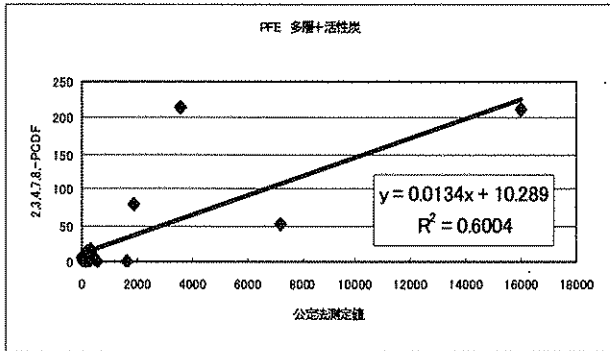


図-6 (1) PFE抽出法による試料の精製法の違いによる四重極GC/MS法の2, 3, 4, 7, 8-PeCDF測定値と公定法TEQ値との相関

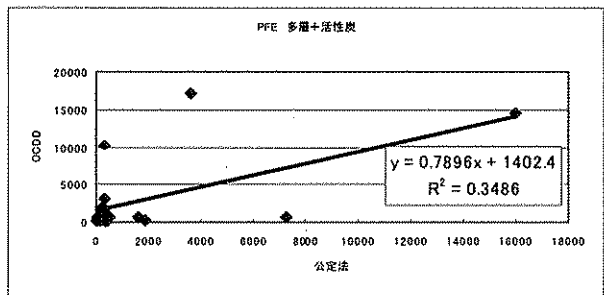
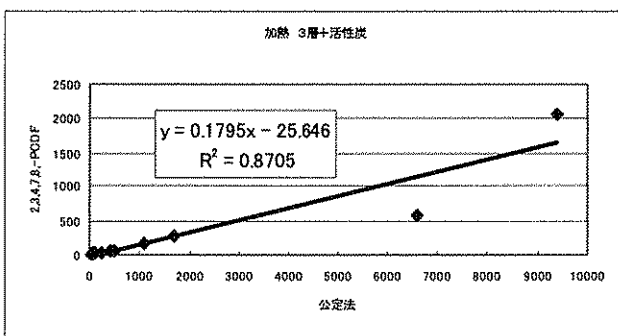
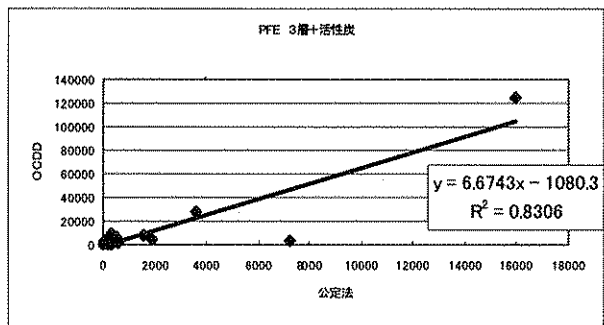
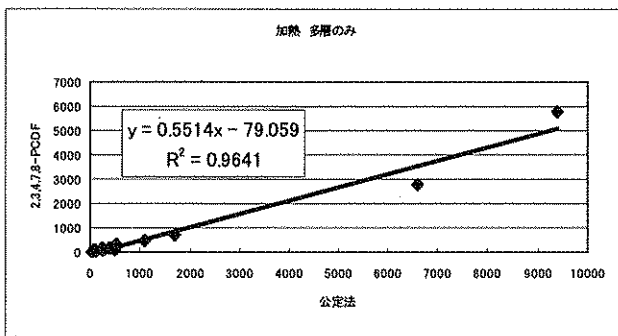
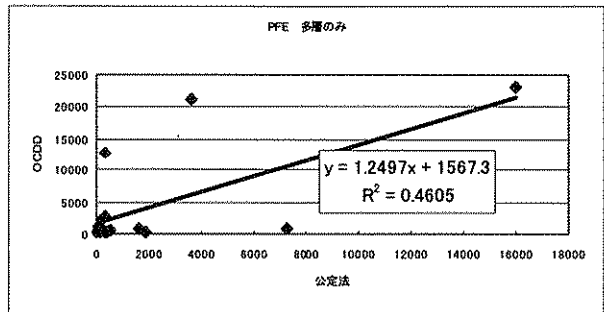
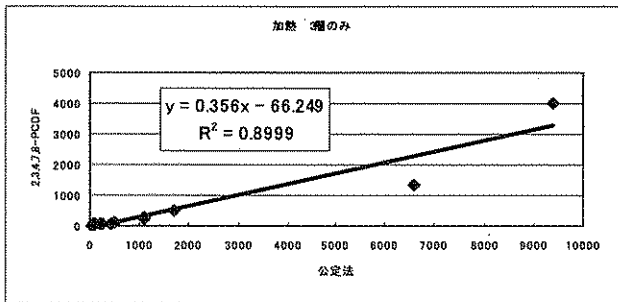


図-7 (1) PFE抽出法による試料の四重極GC/MS法のOCDD測定値と公定法TEQ値との相関

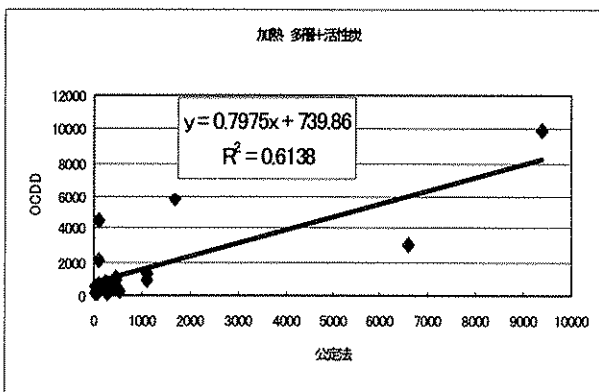
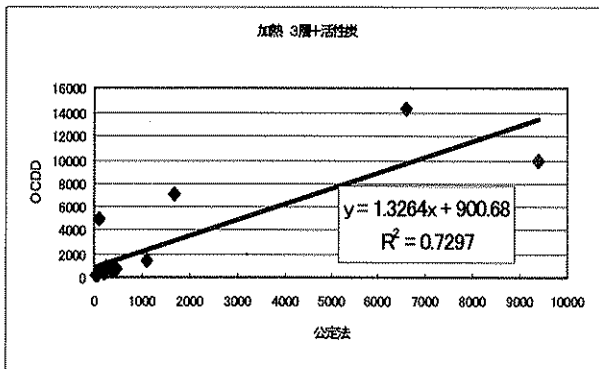
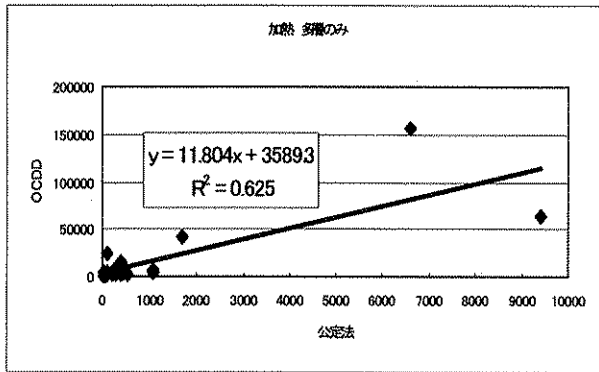
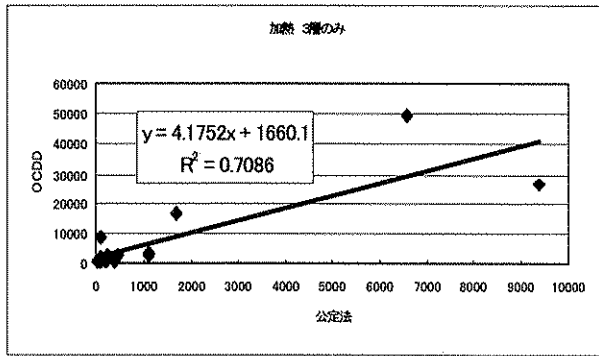


図-7 (2) 加熱流下法による試料の四重極GC/MS法のOCDD測定TEQ値との相関

#### 4. まとめ

迅速前処理方法及び迅速分析法の検討を行った結果、土壌中のダイオキシン類の簡易分析法として、以

下のことが明らかとなった。

①迅速前処理法として、高速溶媒抽出法、加熱流下法が公定法のソックスレー抽出法より、操作時間を大幅に短縮できる。ただし、迅速分析法毎に適切な精製法を選択することが有効である。

②迅速分析法として、イムノアッセイ法、TOX計によるSNVOXの測定、四重極GC/MS法で代替物質として2,3,4,7,8-PeCDFと8塩素化ダイオキシン類を測定する方法が、測定時間の短縮と費用の低減に有効である。

③迅速前処理法と迅速分析法を組み合わせることによって、公定法が1ヶ月程度要していたのに比べて、2日程度で、土壌のダイオキシン類による汚染の程度を把握することが可能である。