

国立環境研究所特別研究報告

Report of Special Research from the National Institute for Environmental Studies, Japan

SR - 49 - 2003

ダイオキシン類の新たな計測手法に
関する開発研究
(ダイオキシン類対策高度化研究)

Study on the new method of measuring polychlorinated dibenzodioxins

平成 12 ~ 14 年度

FY 2000 ~ 2002

NIES



独立行政法人 国立環境研究所

NATIONAL INSTITUTE FOR ENVIRONMENTAL STUDIES

<http://www.nies.go.jp/index-j.html>

ダイオキシン類の新たな計測手法に
関する開発研究
(ダイオキシン類対策高度化研究)

Study on the new method of measuring polychlorinated dibenzodioxins

平成 12 ~ 14 年度

FY 2000 ~ 2002

ダイオキシン類対策高度化研究「ダイオキシン類の新たな計測手法に関する開発研究」
(期間 平成12～14年度)

特別研究責任者：森田昌敏
特別研究幹事：伊藤裕康
報告書編集担当：伊藤裕康

序

本報告書は平成12年度から14年度にかけて実施したダイオキシン類対策高度化研究（ミレニアムプロジェクト）「ダイオキシン類の新たな計測手法に関する開発研究」をとりまとめたものである。

ダイオキシン類は環境中に広く存在し、食品や大気を通じて人体に蓄積することが知られ、ガン原性、催奇型性等と関係していると考えられている。このようなダイオキシン類に対する危機意識は、我が国ばかりでなく先進国の国民に共通したものである。このため、我が国においても、国民の安心が得られるよう、ダイオキシン類汚染問題に対する総合的な環境対策の実施が社会的要請となっており、その科学的基礎として、先端的な科学技術を活用した研究によって、新たな計測手法を用いた問題物質の常時的な検出や簡易な検出、環境動態、特に地球的な規模での移動と分解及び生体影響の評価、さらにはダイオキシンの社会的受忍性に関する研究を緊急に実施する必要があった。このような目的で本研究は実施された。

ダイオキシン類分析における標準物質は高額であり、そのため本研究においては、いかに標準物質の異性体の数を少なくできるかを追求した。当初は違う物質により代替品が可能か検討したが、現行の公定法等に準じた標準であるべきとの判断から検討し、内標準物質17成分を4, 7塩化物（PCDD, PCDF）の4成分で十分可能であるという結果が得られた。これによりダイオキシン類分析のコストの減少に役立つことになる。

また、ダイオキシン類分析のコストを下げるために低分解能GC/MSによる分析法の検討を行い、低分解能GC/MSによる計測法と高分解能GC/MSと比較し、適用可能な試料の種類及び範囲、必要な前処理方法等を検討し、必要に応じて装置及び計測法を改良した。

現行のダイオキシン類の計測法で用いられている煩雑なサンプリング、抽出、多段階のクリーンアップ操作によって夾雑物を除去する前処理の簡略化について、ダイオキシン分析の難しいとされる生体試料によって検討を行った。

ダイオキシン類の新たなオンサイト測定法に関する研究では、発生源でのサンプリング、計測を可能とする排ガスのリアルタイムモニタリング手法および移動型ダイオキシン測定手法の開発を試みた。

これらの研究は、環境中に存在するダイオキシン類の対策および多種類の有機塩素化合物の健康リスク評価を行うための基礎となり、手助けになると考えられる。

終わりに、研究を進める上で研究所外の多くの方々に、ご協力とご助言をいただいた。ここに深く感謝の意を表します。

平成15年9月

独立行政法人 国立環境研究所
理事長 合 志 陽 一

目 次

1 研究の目的と経緯	1
1.1 研究の目的	1
1.2 研究の構成	1
2 研究の成果	3
2.1 ダイオキシン類分析に関わる標準物質に関する研究	3
2.1.1 ダイオキシン類分析に関わる内標準物質の種類に関する検討	3
2.2 ダイオキシン類の簡易計測法の開発に関する研究	10
2.2.1 低分解能GC/MSを用いたダイオキシン類の同定手法に関する研究	10
2.2.2 分離濃縮導入システムGC/MSを用いたダイオキシン類の測定に関する研究	16
2.2.3 前処理の簡易化に関する研究	25
2.3 ダイオキシン類のオンサイト測定法に関する研究	40
2.3.1 排ガスのリアルタイムモニタリング手法の開発に関する研究	40
引用文献	42
[資 料]	
研究の組織と研究課題の構成	47
1 研究の組織	47
2 研究課題と担当者	47
研究成果発表一覧	48
1 誌上発表	48
2 口頭発表	49

1 研究の目的と経緯

1.1 研究の目的

ダイオキシン対策関係閣僚会議は、平成11年3月24日にダイオキシン対策推進基本方針をとりまとめた。その中でダイオキシン類に関する検査体制の整備や、調査研究及び技術開発の推進がうたわれている。対策を講ずる上で、簡易測定分析など、新たなダイオキシンの分析法の果たす役割は大きいと考えられ、そのような分析法の開発の需要は、非常に大きいといえる。

ダイオキシンは毒性が高い、また存在量の極めて少ない汚染物質であり、その分析は最も難しい超微量分析である。圧倒的に多量の共存物質を除き、かつ極めて微量を測定しなければならない。1970年代より発達してきたダイオキシン微量分析は、電子捕獲型検出器付ガスクロマトグラフ、パックドカラム/ガスクロマトグラフ/低分解能質量分析法、キャピラリカラムガスクロマトグラフ/低分解能質量分析法を経て現在のキャピラリカラムガスクロマトグラフ/高分解能質量分析法に到達し、環境試料の微量測定ができるにいたっている。

また高分解能質量分析法をもってしても、その選択性は十分ではなく、試料の分析にあたっては装置にかける前に、多段階のクリーンアップ操作によって夾雑物を除去しなければならない。これは、分析にかかる時間と人手を必要としており、結果として分析コストの1/3以上を占めていると推定される。

ダイオキシン分析を複雑にしているもう一つの要因がある。それはダイオキシン類の異性体は多数あり、有毒なダイオキシンはその一部であるが、その各異性体を測定しなければ正確な毒性評価が定まらないことである。

このように、現状の分析法は多くの試行の上で研究されてきたものであり、今後も基準的な公定分析法として残るものと考えられる。新しい分析法は、現行分析法の欠点を補って、ダイオキシン対策をすすめる上での実践的な分析法として期待される。

ダイオキシン類の分析の簡易化は、分析時間の短縮、分析者の負担低減、分析コストの削減に大きく寄与し、ダイオキシン類モニタリングの定常化を可能にする。このことによって、きめ細かいリスク管理と非常時における迅速な対応が可能になる。また、ダイオキシン分析技術の高水準化は、分析精度とデータの信頼性の向上に寄

与し、ダイオキシン類の正確な分布と挙動、汚染源と経路の解明に貢献すると考えられる。それによって、ダイオキシン類汚染に対する的確な対応が可能になると期待される。

1.2 研究の構成

本研究は、当初ダイオキシン類の微量分析技術の開発とダイオキシン類を迅速に計測する手法の開発を、産官学の協力のもとで行うことにより、ダイオキシン類問題の全体像及び詳細な分布（汚染）状況を明らかにし、それらの対策を促進することで進められた。次のサブテーマに分けて研究を推進することとしていた。

サブテーマ ダイオキシン類分析に関わる標準物質に関する研究

ダイオキシン類の標準物質の調整と種々の濃度評価と標準試料の安定性について行う予定であったが、市販の標準液が種々に販売され、濃度が保証されている。また本研究では、安価な標準物質という考えのもとと現行の分析法より、標準物質の種類を少なく、検出法も簡便な方法に関して可能性を検討した。よって、ダイオキシン類分析に関わる内標準物質の種類に関する検討を行った。

サブテーマ ダイオキシン類の簡易計測法の開発に関する研究

-1 低分解能GC/MSを用いたダイオキシン類の同定手法に関する研究

低分解能GC/MSによる計測法と高分解能GC/MSと比較し、適用可能な試料の種類及び範囲、必要な前処理方法等を検討し、必要に応じて装置及び計測法を改良した。

-2 分離濃縮導入システムGC/MSを用いたダイオキシン類の測定に関する研究、新規開発及び既存の手法の前処理を含めた最適化を通じて、迅速・簡便なダイオキシン類の検出に有効な手法について検討した。

-3 前処理の簡易化に関する研究

分析前処理の簡易化を行い、前処理における問題点、改良点などを明確にし、その実用性、適用範囲等について検討を行った。

サブテーマ ダイオキシン類のオンサイト測定法に関する研究

-1 排ガスのリアルタイムモニタリング手法の開発に関する研究

焼却施設などの排ガスのリアルタイムモニタリング手

法の開発・改良を行い、現場での応用を目指した。本テーマは移動型ダイオキシン類測定手法の開発に関する研究に続くものであり、移動型ダイオキシン分析手法の開発として改良を行い、現場での応用を目指すこととしている。

2 研究の成果

2.1 ダイオキシン類分析に関わる標準物質に関する研究

2.1.1 ダイオキシン類分析に関わる内標準物質の種類に関する検討

(1) 目的

分析コストの低減を目的として、高価な同位体ラベル内標準物質試薬の使用種類の削減の可能性を検討した。特に、公定法において各塩素数ごとに最低1種類ずつ用いることとされているクリーンアップスパイクの削減の可能性を検討した。

(2) 測定対象試料

本実験の検討試料として、土壤環境標準試料(NIES CRM No.21)および標準物質を用いた。

標準物質は表1に示す、ダイオキシン類(PCDDs/PCDFs)を用い検討した。

(3) 分析方法

試料の分析は、主に環境庁(当時)のダイオキシン類に係る土壤調査測定マニュアル¹⁾、JIS K0311²⁾およびJIS K 0312³⁾を参考に行った。試料は16時間のソックスレー抽出後、多層シリカゲルカラムクロマトグラフィ、次いで、活性炭埋蔵シリカゲルカラムクロマトグラフィの順でクリーンアップ処理、分画を行った。飛灰試料においては塩酸処理を行った後、上記の手順で同様に前処理を行った。

ガスクロマトグラフ/低分解能質量分析計のGCには、オートサンプラー付きAgilent6890(Agilent社製)を、MSにはJMS-GCmate(日本電子社製)を用い、分解能1,000にて測定を行った。

PCDDs及びPCDFsのガスクロマトグラフ質量分析計の測定条件を表2に示す。分析・データ処理時間の短縮という観点から、WHO/IPCS(1997)のTEFを有する2378位塩素置換異性体のみに限定し、同定及び定量を行った。また、測定対象を絞ることにより、PCDDs/PCDFsを各塩素数ごとのグルーピング測定を行うことができ検出感度の向上が図られる。キャピラリーカラムには微極性固定相のBPX5(SGE社製)のみの1本を用い、カラム交換やGC条件の変更を一切行わずに測定対

象のすべてのPCDDs/PCDFsを1インジェクションで測定した。SP-2331などに代表される高極性カラムはクロマトピークの分離能は高いが、ノイズの原因となるカラムブリードが多い、OCDFやその他夾雑物などの高沸点化合物の吸着が起こりやすいためカラム固定相が劣化しやすく耐久性に劣る、など測定回数を増加させる上で幾つかの障害がある。一方、微極性カラムは、2378位塩素置換異性体においても他の異性体とクロマトグラム上分離できないものがあり、複数異性体の和として定量せざるを得ない場合がある。しかし、同一地点における日常的な濃度の変化や同一発生源からの試料濃度の違いを調べるような場合、あるいはスクリーニング調査などの場合には、測定回数の増加を第一に考え、前記の注意点を明記することにより、微極性カラムの使用が有効なのではないかと考えられる。

本研究では、1回の測定時間の短縮を考慮に入れ30mの長さのカラムを用いた。1回の測定時間は30.5分である。もう少しクロマト分離能を上げ、測定精度を向上させる場合には60mの方が好ましい。その場合どの程度精度が向上するのかが今後の検討課題である。長さ60mでの測定時間はおよそ50~70分程度である。

TeCDDs、PeCDDs、HxCDDではPCBの影響のあるM+4は測定に用いずに、MとM+2をモニターした。

クリーンアップスパイクは前処理時にすべての2378位塩素置換体の¹³Cラベル体を添加しており、データ処理においてその都度適用異性体を選択し、計算を行った。

(4) ピークの同定および定量

ピークの同定はJ.J.Ryanらの報告⁴⁾など、幾つかの微極性カラムDB5ms、CP-Sil8CBmsの情報を参考に行った。面積計算は、ダイオキシンデータ解析プログラム、DioK(Ver2.01)(日本電子社製)を用いて行った。定量に際しては、各質量数チャンネルごとに、面積値および高さ値からExcel(MicroSoft)ソフトを用いて計算を行った。定量に際しては、比較検討に用いたのは、高分解能質量分析計(HRMS)で公定法に従って分析・処理したデータ、低分解能質量分析計(LRMS)でクリーンアップスパイクに全異性体を用いたデータ、

LRMSで ^{13}C -2378-TeCDD/ ^{13}C -2378-TeCDF/ ^{13}C -OcCDD/ ^{13}C -OcCDFのみを処理に用いたデータ， ^{13}C -2378-TeCDD/ ^{13}C -2378-TeCDF/ ^{13}C -1234678-HpCDD/ ^{13}C -1234678-HpCDFのみを処理に用いたデータの4種類である。

(5) 結果および考察

1) 相対感度係数

全2378-位塩素置換異性体を内標準物質とした場合(表1, 全IS), 表3に4塩素化物と8塩素化物の2378-位塩素置換異性体を内標準物質とした場合(48IS), 表4に4塩素化物と7塩素化物の2378-位塩素置換異性体を内標準物質とした場合(47IS)の測定対象物質と対応するクリーンアップスパイク内標準物質を示す。

表5に全IS, 表6に48IS, 表7に47ISのPCDDs/PCDFsの相対感度係数を示す。48IS, 47ISにおいてRRFcsが1から離れている場合があるが, これは測定対象物質と内標準物質(異なる異性体間)の感度差によるものである。また, 変動係数においては, RRFcsがいずれの場合でもほぼ同程度のばらつきを示している。その中で8塩素化物を内標準物質として用いた場合に変動が3~5%大きくなることが分かった。これは, OCDDとOCDFのリテンションタイムが近いのに加えMSが低分解能条件での測定であるため, OCDDとOCDF及びその内標準物質の影響が現れているものと考えられる。7塩素化物を内標準物質として用いた場合, その影響が排除でき, ばらつきが軽減された。

2) 装置の検出下限と定量下限

表8に全IS, 表9に48IS, 表10に47ISの装置の検出下限および定量下限を示す。装置の検出下限は, 全ISでおよそ0.02~0.22 pg, 48ISでおよそ0.02~0.21 pg, 47ISでおよそ0.02~0.41の範囲であった。47ISの8塩素化物で若干高い値になったものの, いずれの場合にもほぼ同等の値であった。定量下限についても同様にほぼ同程度の値であった。

3) 測定濃度と毒性当量

表11に全IS, 表12に48IS, 表13に47ISの各異性体の測定濃度および毒性当量を示す。

各濃度計算条件においても個々の異性体について良く一致している結果であった。

PCDDs/PCDFs合計の毒性当量の比較を表14に示す。合計の毒性当量では, HRMSに比べ, LRMSでは130~160%程度大きい値であった。LRMSでの計算に用いた内標準物質の種類による差は17%と小さかった。

4) まとめ

LRMSで, 計算に用いた内標準物質の種類による差は17%であり, RRFcsおよび検出下限・定量下限が同程度である結果を考え合わせると, ほぼ満足出来る精度であり十分適用可能な結果が得られた。

公定法等で用いられている内標準物質は17成分以上であるが, 本法の4, 7塩素化物あるいは, 4, 8塩素化物の内標準物質4成分を用いることにより, 簡易分析におけるコスト低減の1方法として有効な手段となり得る可能性がある。

表1 全2378置換体を内標準物質とした場合の測定対象物質とクリーンアップスパイク内標準物質

PCDDs		PCDFs	
測定対象物質	対応するクリーンアップスパイク内標準物質	測定対象物質	対応するクリーンアップスパイク内標準物質
2378-TeCDD	^{13}C -2378-TeCDD	2378-TeCDF	^{13}C -2378-TeCDF
12378-PeCDD	^{13}C -12378-PeCDD	12378-PeCDF	^{13}C -12378-PeCDF
123478-HxCDD	^{13}C -123478-HxCDD	23478-PeCDF	^{13}C -23478-PeCDF
123678-HxCDD	^{13}C -123678-HxCDD	123478-HxCDF	^{13}C -123478-HxCDF
123789-HxCDD	^{13}C -123789-HxCDD	123678-HxCDF	^{13}C -123678-HxCDF
1234678-HpCDD	^{13}C -1234678-HpCDD	123789-HxCDF	^{13}C -123789-HxCDF
OCDD	^{13}C -OCDD	234678-HxCDF	^{13}C -234678-HxCDF
		1234678-HpCDF	^{13}C -1234678-HpCDF
		1234789-HpCDF	^{13}C -1234789-HpCDF
		OCDF	^{13}C -OCDF

表2 PCDDs/PCDFsのガスクロマトグラフ/質量分析計の測定条件

ガスクロマトグラフ	
測定対象物質： 4-8塩素化 PCDDs および 4-8塩素化 PCDFs の2378-位塩素置換異性体	
使用カラム： BPX-5 (SGE社製) 内径 0.25mm, 長さ 30mm, 膜厚 0.25 μ m	
カラム温度： 100 $^{\circ}$ C(1.5min) \rightarrow (20 $^{\circ}$ C/min) \rightarrow 200 $^{\circ}$ C \rightarrow (5 $^{\circ}$ C/min) \rightarrow 320 $^{\circ}$ C	
合計 30.5 min	
注入口温度： 280 $^{\circ}$ C	
試料導入方法： スプリットレス方式 (ページ 90s)	
注入量： 1 μ l, キャリヤーガス： He 1 ml/min	
質量分析計	
イオン化モード： EI(+), イオン検出方法： SIM 加速電圧スイッチング,	
5グループ測定, 分解能： 1000,	
電子加速電圧： 40 V, イオン化電流： 300 μ A,	
イオン源温度： 280 $^{\circ}$ C, インターフェース温度： 280 $^{\circ}$ C, 加速電圧： 2.5kV,	
検出器電圧： 450V,	
PFK：使用せず	

表3 4塩素化物と8塩素化物の2378置換体を内標準物質とした場合の測定対象物質とクリーンアップスパイク内標準物質

PCDDs		PCDFs	
測定対象物質	対応するクリーンアップスパイク内標準物質	測定対象物質	対応するクリーンアップスパイク内標準物質
2378-TeCDD	13 C-2378-TeCDD	2378-TeCDF	13 C-2378-TeCDF
12378-PeCDD		12378-PeCDF	
123478-HxCDD		23478-PeCDF	
123678-HxCDD		123478-HxCDF	
123789-HxCDD		123678-HxCDF	
1234678-HpCDD	13 C-OCDD	123789-HxCDF	13 C-OCDF
OCDD		234678-HxCDF	
		1234678-HpCDF	
		1234789-HpCDF	
		OCDF	

表4 4塩素化物と7塩素化物の2378置換体を内標準物質とした場合の測定対象物質とクリーンアップスパイク内標準物質

PCDDs		PCDFs	
測定対象物質	対応するクリーンアップスパイク内標準物質	測定対象物質	対応するクリーンアップスパイク内標準物質
2378-TeCDD	13 C-2378-TeCDD	2378-TeCDF	13 C-2378-TeCDF
12378-PeCDD		12378-PeCDF	
123478-HxCDD		23478-PeCDF	
123678-HxCDD		123478-HxCDF	
123789-HxCDD		123678-HxCDF	
1234678-HpCDD	13 C-1234678-HpCDD	123789-HxCDF	13 C-1234678-HpCDF
OCDD		234678-HxCDF	
		1234678-HpCDF	
		1234789-HpCDF	
		OCDF	

表5 全2378塩位塩素置換体を内標準物質に用いた場合の相対感度係数

異性体	質量数	相対感度係数		相対感度係数の変動係数	
		RRFcs (面積)	RRFcs (高さ)	CV% (面積)	CV% (高さ)
2378-TeCDD	320	1.029	1.049	20	15
	322	1.012	1.034	20	15
12378-PeCDD	354	0.9808	1.015	21	17
	356	0.9744	1.012	21	18
123478-HxCDD	388	0.8822	0.8923	21	19
	390	0.8536	0.8600	19	17
123678-HxCDD	388	0.8599	0.8861	24	19
	390	0.8428	0.8748	22	17
123789-HxCDD	388	0.9266	0.9327	21	16
	390	0.9097	0.9226	19	15
1234678-HpCDD	424	1.028	1.057	21	19
	426	1.024	1.046	21	18
OCDD	458	0.9711	1.010	22	17
	460	0.9662	1.005	22	17
2378-TeCDF	304	0.9525	0.9693	18	14
	306	0.9459	0.9631	19	15
12378-PeCDF	340	0.9777	1.004	18	16
	342	0.9750	0.9985	18	16
23478-PeCDF	340	0.9712	1.001	18	15
	342	0.9808	1.007	20	17
123478-HxCDF	374	0.9531	0.9656	18	15
	376	0.9584	0.9725	19	17
123678-HxCDF	374	0.9060	0.9416	22	17
	376	0.8965	0.9362	21	17
123789-HxCDF	374	0.8978	0.9194	18	16
	376	0.8978	0.9230	19	18
234678-HxCDF	374	0.8932	0.9127	19	15
	376	0.8934	0.9145	20	16
1234678-HpCDF	408	0.9454	0.9709	21	18
	410	0.9502	0.9776	22	18
1234789-HpCDF	408	0.9798	1.005	21	16
	410	0.9761	1.008	22	18
OCDF	442	0.9197	0.9654	23	18
	444	0.9070	0.9537	24	19

*RRFcs : 各標準物質と対応する内標準物質との相対感度係数。同位体強度比の補正を行っている。

表6 48IS : 相対感度係数

異性体	質量数	相対感度係数		相対感度係数の変動係数	
		RRFcs (面積)	RRFcs (高さ)	CV% (面積)	CV% (高さ)
2378-TeCDD	320	1.029	1.049	20	15
	322	1.012	1.034	20	15
12378-PeCDD	354	0.8162	0.8139	19	14
	356	0.8109	0.8116	19	15
123478-HxCDD	388	0.6285	0.6156	19	14
	390	0.6083	0.5937	17	12
123678-HxCDD	388	0.6256	0.6155	18	15
	390	0.6136	0.6082	17	13
123789-HxCDD	388	0.6490	0.6296	19	13
	390	0.6373	0.6231	17	13
1234678-HpCDD	424	1.083	1.139	25	22
	426	1.079	1.127	26	22
OCDD	458	0.9711	1.010	22	17
	460	0.9662	1.005	22	17
2378-TeCDF	304	0.9525	0.9693	18	14
	306	0.9459	0.9631	19	15
12378-PeCDF	340	0.8506	0.8382	18	14
	342	0.8483	0.8335	18	14
23478-PeCDF	340	0.8066	0.7890	17	14
	342	0.8144	0.7937	19	15
123478-HxCDF	374	0.6523	0.6199	17	13
	376	0.6559	0.6242	18	14
123678-HxCDF	374	0.6590	0.6355	18	13
	376	0.6523	0.6318	17	13
123789-HxCDF	374	0.5575	0.5192	18	12
	376	0.5575	0.5210	19	15
234678-HxCDF	374	0.6133	0.5864	17	13
	376	0.6133	0.5874	18	14
1234678-HpCDF	408	1.222	1.284	26	22
	410	1.229	1.293	27	22
1234789-HpCDF	408	1.010	1.047	26	21
	410	1.007	1.050	27	23
OCDF	442	0.9197	0.9654	23	18
	444	0.9070	0.9537	24	19

*RRFcs : 各標準物質と対応する内標準物質との相対感度係数。同位体強度比の補正を行っている。

表7 47IS : 相対感度係数

異性体	質量数	相対感度係数		相対感度係数の変動係数	
		RRFcs (面積)	RRFcs (高さ)	CV% (面積)	CV% (高さ)
2378-TeCDD	320	1.029	1.049	20	15
	322	1.012	1.034	20	15
12378-PeCDD	354	0.8162	0.8139	19	14
	356	0.8109	0.8116	19	15
123478-HxCDD	388	0.6285	0.6156	19	14
	390	0.6083	0.5937	17	12
123678-HxCDD	388	0.6256	0.6155	18	15
	390	0.6136	0.6082	17	13
123789-HxCDD	388	0.6490	0.6296	19	13
	390	0.6373	0.6231	17	13
1234678-HpCDD	424	1.028	1.057	21	19
	426	1.024	1.046	21	18
OCDD	458	0.9238	0.9403	18	14
	460	0.9190	0.9349	18	14
2378-TeCDF	304	0.9525	0.9693	18	14
	306	0.9459	0.9631	19	15
12378-PeCDF	340	0.8506	0.8382	18	14
	342	0.8483	0.8335	18	14
23478-PeCDF	340	0.8066	0.7890	17	14
	342	0.8144	0.7937	19	15
123478-HxCDF	374	0.6523	0.6199	17	13
	376	0.6559	0.6242	18	14
123678-HxCDF	374	0.6590	0.6355	18	13
	376	0.6523	0.6318	17	13
123789-HxCDF	374	0.5575	0.5192	18	12
	376	0.5575	0.5210	19	15
234678-HxCDF	374	0.6133	0.5864	17	13
	376	0.6133	0.5874	18	14
1234678-HpCDF	408	0.9454	0.9709	21	18
	410	0.9502	0.9776	22	18
1234789-HpCDF	408	0.7814	0.7919	21	17
	410	0.7785	0.7942	22	19
OCDF	442	0.7122	0.7318	18	15
	444	0.7024	0.7227	19	15

* RRFcs : 各標準物質と対応する内標準物質との相対感度係数。同位体強度比の補正を行っている。

表8 全IS : 装置の検出下限および定量下限

異性体	質量数	装置の検出下限 (pg)		装置の定量下限 (pg)	
		面積	高さ	面積	高さ
2378-TeCDD	320	0.11	0.082	0.38	0.27
	322	0.052	0.032	0.17	0.11
12378-PeCDD	354	0.067	0.16	0.22	0.53
	356	0.077	0.14	0.26	0.48
123478-HxCDD	388	0.11	0.090	0.37	0.30
	390	0.16	0.13	0.55	0.45
123678-HxCDD	388	0.18	0.16	0.62	0.55
	390	0.19	0.12	0.62	0.40
123789-HxCDD	388	0.12	0.19	0.41	0.62
	390	0.14	0.13	0.45	0.44
1234678-HpCDD	424	0.045	0.19	0.15	0.62
	426	0.035	0.17	0.12	0.58
OCDD	458	0.21	0.077	0.70	0.26
	460	0.12	0.087	0.40	0.29
2378-TeCDF	304	0.051	0.018	0.17	0.06
	306	0.052	0.074	0.17	0.25
12378-PeCDF	340	0.080	0.14	0.27	0.46
	342	0.051	0.22	0.17	0.74
23478-PeCDF	340	0.049	0.047	0.16	0.16
	342	0.058	0.11	0.19	0.37
123478-HxCDF	374	0.068	0.063	0.23	0.21
	376	0.055	0.028	0.18	0.09
123678-HxCDF	374	0.069	0.056	0.23	0.19
	376	0.043	0.097	0.14	0.32
123789-HxCDF	374	0.060	0.094	0.20	0.31
	376	0.10	0.15	0.34	0.50
234678-HxCDF	374	0.099	0.060	0.33	0.20
	376	0.12	0.11	0.39	0.38
1234678-HpCDF	408	0.072	0.044	0.24	0.15
	410	0.075	0.037	0.25	0.12
1234789-HpCDF	408	0.084	0.10	0.28	0.34
	410	0.076	0.13	0.25	0.42
OCDF	442	0.093	0.11	0.31	0.36
	444	0.11	0.15	0.37	0.50

1pg/μl 標準液の5回繰り返し測定値の標準偏差より求めた。

表9 48IS：装置の検出下限および定量下限

異性体	質量数	装置の検出下限 (pg)		装置の定量下限 (pg)	
		面積	高さ	面積	高さ
2378-TeCDD	320	0.11	0.082	0.38	0.27
	322	0.052	0.032	0.17	0.11
12378-PeCDD	354	0.087	0.047	0.29	0.16
	356	0.072	0.042	0.24	0.14
123478-HxCDD	388	0.13	0.037	0.43	0.12
	390	0.17	0.13	0.58	0.44
123678-HxCDD	388	0.15	0.16	0.51	0.54
	390	0.13	0.14	0.42	0.47
123789-HxCDD	388	0.16	0.12	0.54	0.39
	390	0.11	0.13	0.35	0.45
1234678-HpCDD	424	0.13	0.082	0.43	0.27
	426	0.16	0.11	0.53	0.37
OCDD	458	0.21	0.077	0.70	0.26
	460	0.12	0.087	0.40	0.29
2378-TeCDF	304	0.051	0.018	0.17	0.061
	306	0.052	0.074	0.17	0.25
12378-PeCDF	340	0.047	0.065	0.16	0.22
	342	0.054	0.15	0.18	0.51
23478-PeCDF	340	0.063	0.051	0.21	0.17
	342	0.035	0.10	0.12	0.32
123478-HxCDF	374	0.038	0.044	0.13	0.15
	376	0.041	0.056	0.14	0.19
123678-HxCDF	374	0.036	0.053	0.12	0.18
	376	0.049	0.10	0.16	0.34
123789-HxCDF	374	0.055	0.12	0.18	0.40
	376	0.11	0.17	0.35	0.56
234678-HxCDF	374	0.056	0.089	0.19	0.30
	376	0.092	0.11	0.31	0.38
1234678-HpCDF	408	0.087	0.16	0.29	0.54
	410	0.12	0.15	0.39	0.50
1234789-HpCDF	408	0.039	0.10	0.13	0.33
	410	0.089	0.15	0.30	0.51
OCDF	442	0.093	0.11	0.31	0.36
	444	0.11	0.15	0.37	0.50

1pg/ μ l 標準液の5回繰り返し測定値の標準偏差より求めた。

表10 47IS：装置の検出下限および定量下限

異性体	質量数	装置の検出下限 (pg)		装置の定量下限 (pg)	
		面積	高さ	面積	高さ
2378-TeCDD	320	0.11	0.082	0.38	0.27
	322	0.052	0.032	0.17	0.11
12378-PeCDD	354	0.087	0.047	0.29	0.16
	356	0.072	0.042	0.24	0.14
123478-HxCDD	388	0.13	0.037	0.43	0.12
	390	0.17	0.13	0.58	0.44
123678-HxCDD	388	0.15	0.16	0.51	0.54
	390	0.13	0.14	0.42	0.47
123789-HxCDD	388	0.16	0.12	0.54	0.39
	390	0.11	0.13	0.35	0.45
1234678-HpCDD	424	0.045	0.19	0.15	0.62
	426	0.035	0.17	0.12	0.58
OCDD	458	0.21	0.41	0.70	1.4
	460	0.20	0.35	0.68	1.2
2378-TeCDF	304	0.051	0.018	0.17	0.061
	306	0.052	0.074	0.17	0.25
12378-PeCDF	340	0.047	0.065	0.16	0.22
	342	0.054	0.15	0.18	0.51
23478-PeCDF	340	0.063	0.051	0.21	0.17
	342	0.035	0.10	0.12	0.32
123478-HxCDF	374	0.038	0.044	0.13	0.15
	376	0.041	0.056	0.14	0.19
123678-HxCDF	374	0.036	0.053	0.12	0.18
	376	0.049	0.10	0.16	0.34
123789-HxCDF	374	0.055	0.12	0.18	0.40
	376	0.11	0.17	0.35	0.56
234678-HxCDF	374	0.056	0.089	0.19	0.30
	376	0.092	0.11	0.31	0.38
1234678-HpCDF	408	0.072	0.044	0.24	0.15
	410	0.075	0.037	0.25	0.12
1234789-HpCDF	408	0.086	0.056	0.29	0.19
	410	0.039	0.10	0.13	0.33
OCDF	442	0.12	0.26	0.39	0.86
	444	0.20	0.25	0.68	0.82

1pg/ μ l 標準液の5回繰り返し測定値の標準偏差より求めた。

表11 全IS：各異性体の濃度および毒性当量

異性体	質量数	実測濃度 pg/g		毒性 等価係数	毒性当量 (pg-TEQ/g)	
		面積	高さ		面積	高さ
2378-TeCDD	320	4.7	4.7	1	4.7	4.7
	322	4.3	4.3		4.3	4.3
12378-PeCDD	354	44	44	1	44	44
	356	45	44		45	44
123478-HxCDD	388	51	57	0.1	5.1	5.7
	390	53	58		5.3	5.8
123678-HxCDD	388	120	120	0.1	12	12
	390	120	120		12	12
123789-HxCDD	388	130	130	0.1	13	13
	390	130	130		13	13
1234678-HpCDD	424	1000	1200	0.01	10	12
	426	1000	1200		10	12
OCDD	458	7100	6600	0.0001	0.71	0.66
	460	7200	6600		0.72	0.66
2378-TeCDF	304	6.1	6.1	0.1	0.61	0.61
	306	6.0	5.9		0.60	0.59
12378-PeCDF	340	10	10	0.05	0.50	0.50
	342	11	11		0.55	0.55
23478-PeCDF	340	15	14	0.5	7.5	7.0
	342	16	14		8.0	7.0
123478-HxCDF	374	51	52	0.1	5.1	5.2
	376	51	52		5.1	5.2
123678-HxCDF	374	33	29	0.1	3.3	2.9
	376	33	31		3.3	3.1
123789-HxCDF	374	7.2	6.7	0.1	0.72	0.67
	376	7.3	6.9		0.73	0.69
234678-HxCDF	374	52	48	0.1	5.2	4.8
	376	53	49		5.3	4.9
1234678-HpCDF	408	440	470	0.01	4.4	4.7
	410	430	470		4.3	4.7
1234789-HpCDF	408	75	72	0.01	0.75	0.72
	410	75	71		0.75	0.71
OCDF	442	1400	1600	0.0001	0.14	0.16
	444	1400	1500		0.14	0.15

表12 48IS：各異性体の濃度および毒性当量

異性体	質量数	実測濃度 pg/g		毒性 等価係数	毒性当量 (pg-TEQ/g)	
		面積	高さ		面積	高さ
2378-TeCDD	320	4.7	4.7	1	4.7	4.7
	322	4.3	4.3		4.3	4.3
12378-PeCDD	354	49	51	1	49	51
	356	50	52		50	52
123478-HxCDD	388	64	67	0.1	6.4	6.7
	390	66	69		6.6	6.9
123678-HxCDD	388	150	150	0.1	15	15
	390	150	150		15	15
123789-HxCDD	388	160	160	0.1	16	16
	390	160	160		16	16
1234678-HpCDD	424	350	330	0.01	3.5	3.3
	426	360	330		3.6	3.3
OCDD	458	7100	6600	0.0001	0.71	0.66
	460	7200	6600		0.72	0.66
2378-TeCDF	304	6.1	6.1	0.1	0.61	0.61
	306	6.0	5.9		0.60	0.59
12378-PeCDF	340	12	12	0.05	0.60	0.59
	342	14	13		0.68	0.65
23478-PeCDF	340	18	16	0.5	8.9	7.9
	342	18	16		9.2	8.1
123478-HxCDF	374	61	58	0.1	6.1	5.8
	376	60	58		6.0	5.8
123678-HxCDF	374	40	34	0.1	4.0	3.4
	376	40	36		4.0	3.6
123789-HxCDF	374	8.5	7.5	0.1	0.85	0.75
	376	8.6	7.6		0.86	0.76
234678-HxCDF	374	64	56	0.1	6.4	5.6
	376	65	58		6.5	5.8
1234678-HpCDF	408	410	460	0.01	4.1	4.6
	410	410	460		4.1	4.6
1234789-HpCDF	408	61	67	0.01	0.61	0.67
	410	61	66		0.61	0.66
OCDF	442	1400	1600	0.0001	0.14	0.16
	444	1400	1500		0.14	0.15

表 13 47IS : 各異性体の濃度および毒性当量

異性体	質量数	実測濃度 pg/g		毒性 等価係数	毒性当量 (pg-TEQ/g)	
		面積	高さ		面積	高さ
2378-TeCDD	320	4.7	4.7	1	4.7	4.7
	322	4.3	4.3		4.3	4.3
12378-PeCDD	354	49	51	1	49	51
	356	50	52		50	52
123478-HxCDD	388	64	67	0.1	6.4	6.7
	390	66	69		6.6	6.9
123678-HxCDD	388	150	150	0.1	15	15
	390	150	150		15	15
123789-HxCDD	388	160	160	0.1	16	16
	390	160	160		16	16
1234678-HpCDD	424	1000	1200	0.01	10	12
	426	1000	1200		10	12
OCDD	458	42000	47000	0.0001	4.2	4.7
	460	42000	47000		4.2	4.7
2378-TeCDF	304	6.1	6.1	0.1	0.61	0.61
	306	6.0	5.9		0.60	0.59
12378-PeCDF	340	12	12	0.05	0.60	0.59
	342	14	13		0.68	0.65
23478-PeCDF	340	18	16	0.5	8.9	7.9
	342	18	16		9.2	8.1
123478-HxCDF	374	61	58	0.1	6.1	5.8
	376	60	58		6.0	5.8
123678-HxCDF	374	40	34	0.1	4.0	3.4
	376	40	36		4.0	3.6
123789-HxCDF	374	8.5	7.5	0.1	0.85	0.75
	376	8.6	7.6		0.86	0.76
234678-HxCDF	374	64	56	0.1	6.4	5.6
	376	65	58		6.5	5.8
1234678-HpCDF	408	440	470	0.01	4.4	4.7
	410	430	470		4.3	4.7
1234789-HpCDF	408	64	69	0.01	0.64	0.69
	410	64	68		0.64	0.68
OCDF	442	3000	3200	0.0001	0.30	0.32
	444	2900	3200		0.29	0.32

表 14 毒性当量 (TEQ) の比較

	全IS/HRMS	全IS/LRMS		48IS/LRMS		47IS/LRMS	
	pg-TEQ/g	pg-TEQ/g		pg-TEQ/g		pg-TEQ/g	
	面積	面積	高さ	面積	高さ	面積	高さ
Total PCDD	66	90	92	96	98	110	110
Total PCDF	24	28	27	32	30	33	31
Total TEQ	90	120	120	130	130	140	140
Total TEQ 相対値	-	133%	133%	144%	144%	156%	156%

2.2 ダイオキシン類の簡易計測法の開発に関する研究

2.2.1 低分解能GC/MSを用いたダイオキシン類の同定手法に関する研究

現在、ダイオキシン類の汚染問題に対する種々の環境対策が実施されている。その一環として、ダイオキシン類を、より安価に、より迅速に、より複雑さを排除して、測定するための簡易分析法の確立が求められている。ダイオキシン類測定に関する公定法では、高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC/HRMS) 等の高価な分析装置が必要である、抽出から分析までの操作が煩雑で結果が得られるまでに時間がかかる、操作全体に習熟した高い分析技術を必要とする、そしてその結果、人件費・維持費・消耗品を含めたトータルとしてのコ

ストが高い、といった点が指摘されている。このような公定法に対する補完的な位置付けから、分析にかかる費用・時間を軽減し、トータルとしての測定回数・調査回数の増加を図ることを目的に、小型・低価格でありながら、各異性体ごとの濃度情報が得られるという利点を持つガスクロマトグラフ / 低分解能質量分析計 (GC/LRMS) を用いたダイオキシン類の定量手法の開発に関する研究を行った。

低分解能質量分析法を底質、土壌、飛灰の各試料中のダイオキシン類の測定に対して適用し、分析精度、検出感度を調べると共に、その測定上の問題点や限界および注意すべき点などを明らかにすることを目的とした。

(1) 実験方法

低分解能質量分析法の適用に用いた試料は、以下の通りである。

底質標準試料 (NIES CRM No.20)

土壌標準試料 (NIES CRM No.21)

飛灰標準試料 (NIES CRM No.19)

(2) 分析方法

試料の分析は、「2.1.1(3) 分析方法」と同様に行った。機器分析も2.1.1と同様、GC/LRMS(分解能1,000)にて測定を行った。底質試料、土壌試料は16時間のソックスレー抽出後、多層シリカゲルカラムクロマトグラフィ、次いで、活性炭埋蔵シリカゲルカラムクロマトグラフィの順でクリーンアップ処理、分画を行った。飛灰試料においては塩酸処理を行った後、上記の手順で同様に前処理を行った。

TeCDDs, PeCDDs, HxCDDではPCBの影響のあるM+4は測定に用いずに、MとM+2をモニターした。

(3) ピークの同定および定量

ピークの同定はJ.J.Ryanらの報告⁴⁾など、幾つかの微極性カラムDB5ms, CP-Sil8CBmsの情報を参考に行った。面積計算は、ダイオキシンデータ解析プログラム、DioK(Ver2.01)(日本電子社製)を用いて行った。定量に際しては、各モニター質量数ごとに得られた面積値をExcel(Microsoft)ソフトを用いた。

(4) 結果及び考察

1) 各標準物質と対応する内標準物質の相対感度係数 (RRFcs)

RRFcsは、低濃度(各標準物質1 pg/μl及び内標準物質1 pg/μl)5回、中濃度(各標準物質10 pg/μl及び内標準物質1 pg/μl)5回、高濃度(各標準物質100 pg/μl及び内標準物質1 pg/μl)5回の3水準15点のデータから、各濃度ごとに求めたものを平均した。(但し、いずれの標準液においても8塩素化物のみ2倍濃度である。)表15にPCDDs/PCDFs相対感度係数表を示す。RRFcsは、最大で1.050、最小で0.8306であった。6塩素化ダイオキシンの3つの異性体では若干小さい値であったが原因はわかっていない。RRFcsの変動係数は15~30%の範囲であった。HRMSに比べるとばらつきが大きい、これは低濃度と高濃度における相対感度の差が主要因で

あった。ほぼ全ての異性体で低濃度ではRRFcsが1以上である一方高濃度では0.9以下であり、中間濃度はその中間であった。PCDDs/PCDFsの測定対象物質(ネイティブ)の濃度が増加すると、わずかではあるがそれに対応する内標準物質(¹³Cラベル)のクロマトピーク面積が増加する。この影響は高分解能MSでは非常に少ない。また、別の実験より100 pgのネイティブ試料に対して0.4%の強度でM+12にイオンが生成することが判明した。そして、ネイティブの濃度が増加するに連れM+12イオンの強度も増加した。これらのことを考え合わせると、可能性として以下のような推測が考えられる。質量分析計のイオン源においてダイオキシンがイオン化される際にわずかに生成されるM+12(ネイティブ、Mに炭素原子1個が付着したイオンの可能性が考えられる)が、¹³C同位体置換された内標準物質ヘマスクロマトグラム上で重なっているというものである。M+12が炭素原子付加イオンだとすると、内標準物質との分離には、TeCDDで質量分解能8250が、OCDDでは11620が必要となる。ほぼ完全に重なる低分解能MSではこの影響がダイナミックレンジの制限となるものと考えられる。検量線作成時と実試料測定時の両方で注意を払う必要がある。

各標準物質および内標準物質の測定結果において、天然同位体比の理論値からの大きなずれはなかった。また、各質量チャンネルごとのRRFcsの大きな差は見られなかった。標準液の測定では、分解能1000でのクロマトピークの重なりはほとんどないと判断される。

2) 装置の検出下限および定量下限

最低濃度(各標準物質1 pg/μlおよび内標準物質1 pg/μl, 8塩素化のみ各2倍濃度)の5回繰り返し測定にて得られた値の標準偏差を求め、その3倍を装置の検出下限、10倍を定量下限とした。表16にPCDDs/PCDFsの装置の検出下限および定量下限を示す。

装置の検出下限は0.03~0.53 pgの範囲であった。2378-TeCDD, 12378-PeCDD, 2378-TeCDF, 12378-PeCDF, 23478-PeCDFの低塩素では、ほぼ0.1pg程度以下であった。しかし、一部PeCDF:m/z 342ではベースラインノイズが少し多く現れており、0.2 pgと若干大きい値となった。

定量下限は0.17~1.8 pgの範囲であった。4~7塩素化物ではほぼ1 pg以下であった。

表15 PCDDs/PCDFsの相対感度係数 (RRFcs)

異性体	質量数	相対感度係数	RRFcsの変動係数
		RRFcs	CV %
2378-TeCDD	320	0.9656	23
	322	0.9930	19
	Ave.	0.9803	21
12378-PeCDD	354	0.9101	25
	356	0.9520	21
	Ave.	0.9350	23
123478-HxCDD	388	0.8340	30
	390	0.8606	22
	Ave.	0.8505	25
123678-HxCDD	388	0.8306	26
	390	0.8795	22
	Ave.	0.8612	23
123789-HxCDD	388	0.8900	23
	390	0.9459	18
	Ave.	0.9249	19
1234678-HpCDD	424	1.004	22
	426	1.050	22
	Ave.	1.025	22
OCDD	458	0.9124	29
	460	0.9635	25
	Ave.	0.9379	27
2378-TeCDF	304	0.8980	23
	306	0.9428	20
	Ave.	0.9222	21
12378-PeCDF	340	0.9644	18
	342	0.9530	20
	Ave.	0.9595	19
23478-PeCDF	340	0.9461	17
	342	1.004	17
	Ave.	0.9678	17
123478-HxCDF	374	0.9687	19
	376	0.9943	17
	Ave.	0.9796	18
123678-HxCDF	374	0.9189	22
	376	0.9167	23
	Ave.	0.9177	22
123789-HxCDF	374	0.9407	18
	376	0.9522	16
	Ave.	0.9450	17
234678-HxCDF	374	0.9172	15
	376	0.9222	15
	Ave.	0.9181	15
1234678-HpCDF	408	0.9640	20
	410	1.019	19
	Ave.	0.9898	19
1234789-HpCDF	408	0.9675	23
	410	1.020	21
	Ave.	0.9918	22
OCDF	442	0.9126	25
	444	0.8889	28
	Ave.	0.8996	27

低分解能であっても、標準液のように妨害物質を含まない場合には、良いS/Nが得られることが再確認されるデータである。カラムブリードの少ない微極性カラムを用いたことも検出下限を良くしている一因であろうと考えられる。

3) クリーンアップスパイクの回収率

表17にPCDDs/PCDFsのクリーンアップスパイクの

回収率を示す。操作ブランクと底質試料では、58 ~ 113 %以内でありほぼ良好であった。土壌試料では、¹³C-OCDDと¹³C-123678-HxCDFを除いて63 ~ 99 %であった。¹³C-OCDDでは、内標準物質¹³C-OCDDの面積が標準物質測定時に比べ約2.5倍大きくなっており、その影響で248 %となったものである。今回用いた土壌試料ではネイティブOCDDの濃度が非常に高いためネイティブOCDDから¹³C-OCDDへの影響が現れたものと推

表16 装置の検出下限および定量下限

異性体	質量数	装置の検出下限 (pg)	装置の定量下限 (pg)
2378-TeCDD	320	0.095	0.32
	322	0.091	0.30
	Ave.	0.080	0.27
12378-PeCDD	354	0.077	0.26
	356	0.097	0.32
	Ave.	0.069	0.23
123478-HxCDD	388	0.31	1.0
	390	0.18	0.59
	Ave.	0.22	0.72
123678-HxCDD	388	0.40	1.3
	390	0.21	0.72
	Ave.	0.25	0.82
123789-HxCDD	388	0.43	1.4
	390	0.30	1.0
	Ave.	0.30	1.0
1234678-HpCDD	424	0.069	0.23
	426	0.16	0.54
	Ave.	0.092	0.31
OCDD	458	0.48	1.6
	460	0.53	1.8
	Ave.	0.47	1.6
2378-TeCDF	304	0.089	0.30
	306	0.058	0.19
	Ave.	0.050	0.17
12378-PeCDF	340	0.083	0.28
	342	0.18	0.59
	Ave.	0.11	0.38
23478-PeCDF	340	0.086	0.29
	342	0.22	0.75
	Ave.	0.11	0.36
123478-HxCDF	374	0.12	0.41
	376	0.097	0.32
	Ave.	0.094	0.31
123678-HxCDF	374	0.26	0.85
	376	0.18	0.61
	Ave.	0.22	0.73
123789-HxCDF	374	0.14	0.48
	376	0.33	1.1
	Ave.	0.18	0.60
234678-HxCDF	374	0.13	0.42
	376	0.15	0.48
	Ave.	0.081	0.27
1234678-HpCDF	408	0.25	0.83
	410	0.23	0.76
	Ave.	0.034	0.11
1234789-HpCDF	408	0.14	0.46
	410	0.29	0.95
	Ave.	0.17	0.56
OCDF	442	0.41	1.4
	444	0.43	1.4
	Ave.	0.22	0.74

1pg/ μ l標準液の5回繰り返し測定値の標準偏差より求めた。

測される。¹³C-123678-HxCDFでは、片方のチャンネルに妨害イオンが存在していたため面積が大きくなり、回収率が大きな値になったものである。

飛灰試料においても土壌試料の場合と同様に¹³C-OCDDと¹³C-123678-HxCDFで回収率が大きくなっており、原因も同じであると考えられる。また、¹³C-HxCDDと¹³C-HpCDFで回収率が若干高くなっているが、この原因はわかっていない。

4) 測定濃度と毒性当量

表18に3種試料のPCDDs/PCDFsのLRMSとHRMSの測定濃度を示す。各異性体に対する全体的な傾向として、HRMSの値と比較するとLRMSではそのおよそ120~250%程度の大きめの値となっている。これは、LRMSにおいて分離できていない成分、及びキャピラリーカラムによって分離できていない成分の影響により面積が増加したものと考えられる。

表17 クリーンアップスパイク回収率

シリジンスパイク 内標準物質	質量数	クリーンアップスパイク 内標準物質	質量数	回収率 (%)			
				ブランク	底質	土壌	飛灰
¹³ C-1234-TeCDD	334	¹³ C-2378-TeCDD	334	83	68	65	75
		¹³ C-12378-PeCDD	368	86	91	79	87
		¹³ C-123478-HxCDD	402	112	105	99	135
		¹³ C-123678-HxCDD	402	107	108	92	131
		¹³ C-123789-HxCDD	402	113	112	97	120
¹³ C-1234689-HpCDF	420	¹³ C-1234678-HpCDD	436	72	80	77	153
		¹³ C-OCDD	472	58	98	248	284
¹³ C-1234-TeCDD	334	¹³ C-2378-TeCDF	318	82	75	63	77
		¹³ C-12378-PeCDF	352	93	110	80	469
		¹³ C-23478-PeCDF	352	90	85	75	96
		¹³ C-123478-HxCDF	386	97	95	88	83
		¹³ C-123678-HxCDF	386	89	111	169	206
		¹³ C-123789-HxCDF	386	108	108	94	112
¹³ C-1234689-HpCDF	420	¹³ C-234678-HxCDF	386	104	99	88	119
		¹³ C-1234678-HpCDF	420	65	62	67	103
		¹³ C-1234789-HpCDF	420	71	75	66	63
		¹³ C-OCDF	456	61	82	98	114

表18 各種試料の測定濃度比較

異性体	質量数	底質 pg/g		土壌 pg/g		飛灰 ng/g	
		LRMS	HRMS	LRMS	HRMS	LRMS	HRMS
2378-TeCDD	320	0.41		5.0		2.3	
	322	0.37		4.7		2.5	
	Ave.	0.38	0.17	4.8	2.9	2.4	1.3
12378-PeCDD	354	3.3		61		9.6	
	356	3.6		59		9.5	
	Ave.	3.5	1.8	60	31	9.5	5.3
123478-HxCDD	388	5.3		66		8.9	
	390	5.1		73		10	
	Ave.	5.2	2.4	70	36	9.8	6.7
123678-HxCDD	388	11		160		23	
	390	10		150		26	
	Ave.	10	4.7	150	70	25	14
123789-HxCDD	388	14		180		20	
	390	13		170		21	
	Ave.	13	5.7	170	91	21	9.3
1234678-HpCDD	424	220		1900		170	
	426	210		1900		180	
	Ave.	220	120	1900	1200	180	180
OCDD	458	3139		18000		300	
	460	3322		25000		460	
	Ave.	3200	1800	21000	31000	370	580
2378-TeCDF	304	3.9		11		8.7	
	306	3.5		10		8.2	
	Ave.	3.7	1.7	10	6.7	8.4	4.5
12378-PeCDF	340	4.0		14		16	
	342	2.5		14		16	
	Ave.	3.3	2.4	14	10	16	11
23478-PeCDF	340	5.8		22		26	
	342	6.3		21		26	
	Ave.	6.0	2.0	21	13	26	10
123478-HxCDF	374	7.5		68		42	
	376	8.8		71		49	
	Ave.	8.0	4.2	70	56	45	24
123678-HxCDF	374	10		42		45	
	376	7.5		13		10	
	Ave.	8.8	7.0	22	20	22	23
123789-HxCDF	374	3.7		12		15	
	376	3.1		10		16	
	Ave.	3.5	1.5	11	19	15	2.7
234678-HxCDF	374	14		73		63	
	376	14		70		69	
	Ave.	14	5.0	72	25	66	34
1234678-HpCDF	408	66		660		140	
	410	52		630		150	
	Ave.	58	26	640	340	150	140
1234789-HpCDF	408	7.8		100		34	
	410	7.6		100		36	
	Ave.	7.7	3.7	100	53	35	22
OCDF	442	83		3000		140	
	444	82		2800		150	
	Ave.	83	45	2900	1400	150	150

表19に各異性体の毒性当量の比較を、表20に各種試料の毒性当量の比較を示す。トータルTEQではHRMSに比べ、底質試料では2.1倍、土壌試料では1.8倍、飛灰試料では1.7倍といずれの場合も約2倍程度大きい値を

示した。試料中のダイオキシン濃度が低くなるにつれ、過剰誤差が大きくなった。これは低濃度になるほど、相対的に重なりの影響が増加するためであると推測される。

表19 各異性体の毒性当量の比較

異性体	質量数	毒性等価係数	底質 pg/g		土壌 pg/g		飛灰 ng/g	
			LRMS	HRMS	LRMS	HRMS	LRMS	HRMS
			2378-TeCDD	320 322 Ave.	1	0.41 0.37 0.38	0.17	5.0 4.7 4.8
12378-PeCDD	354 356 Ave.	1	3.3 3.6 3.5	1.8	61 59 60	31	9.6 9.5 9.5	5.3
123478-HxCDD	388 390 Ave.	0.1	0.53 0.51 0.52	0.24	6.6 7.3 7.0	3.6	0.89 1.0 0.98	0.67
123678-HxCDD	388 390 Ave.	0.1	1.1 1.0 1.0	0.47	16 15 15	7.0	2.3 2.6 2.5	1.4
123789-HxCDD	388 390 Ave.	0.1	1.4 1.3 1.3	0.57	18 17 17	9.1	2.0 2.1 2.1	0.93
1234678-HpCDD	424 426 Ave.	0.01	2.2 2.1 2.2	1.2	19 19 19	12	1.7 1.8 1.8	1.8
OCDD	458 460 Ave.	0.0001	0.31 0.33 0.32	0.18	1.8 2.5 2.1	0.31	0.030 0.046 0.037	0.058
2378-TeCDF	304 306 Ave.	0.1	0.39 0.35 0.37	0.17	1.1 1.0 1.0	0.67	0.87 0.82 0.84	0.45
12378-PeCDF	340 342 Ave.	0.05	0.20 0.13 0.16	0.12	0.72 0.70 0.71	0.50	0.82 0.80 0.81	0.55
23478-PeCDF	340 342 Ave.	0.5	2.9 3.2 3.0	1.0	11 10 11	6.5	13 13 13	5.0
123478-HxCDF	374 376 Ave.	0.1	0.75 0.88 0.80	0.42	6.8 7.1 7.0	5.6	4.2 4.9 4.5	2.4
123678-HxCDF	374 376 Ave.	0.1	1.0 0.75 0.88	0.70	4.2 1.3 2.2	2.0	4.5 1.0 2.2	2.3
123789-HxCDF	374 376 Ave.	0.1	0.37 0.31 0.35	0.15	1.2 1.0 1.1	1.9	1.5 1.5 1.5	2.7
234678-HxCDF	374 376 Ave.	0.1	1.4 1.4 1.4	0.50	7.3 7.0 7.2	2.5	6.3 6.9 6.6	3.4
1234678-HpCDF	408 410 Ave.	0.01	0.66 0.52 0.58	0.26	6.6 6.3 6.4	3.4	1.4 1.5 1.5	1.4
1234789-HpCDF	408 410 Ave.	0.01	0.078 0.076 0.077	0.037	1.0 1.0 1.0	0.53	0.34 0.36 0.35	0.22
OCDF	442 444 Ave.	0.0001	0.0083 0.0082 0.0083	0.0045	0.30 0.28 0.29	0.14	0.014 0.015 0.015	0.015

表20 各種試料の毒性当量の比較

	底質		土壌		飛灰	
	pg-TEQ/g		pg-TEQ/g		ng-TEQ/g	
	LRMS	HRMS	LRMS	HRMS	LRMS	HRMS
Total PCDD	9.3	4.6	120	66	19	11
Total PCDF	7.6	3.4	38	24	31	18
Total TEQ	17	8.0	160	90	51	30
Total TEQ 相対値	211%	-	178%	-	169%	-

5) まとめ

現在求められている簡易分析法の1つとして、各種試料に対するガスクロマトグラフ/低分解能質量分析法の適用可能性を検討した。今回用いた試料濃度では約2倍程度の誤差で毒性当量が求められることがわかった。この値についての議論は種々あると思われるが、生物検定法等に比べると精度(相関)は良い。さらに、毒性等価係数の与えられている個々の異性体に関する濃度情報もある程度の誤差範囲内で得られた。また、高分解能質量分析計を用いた場合に比べ精度、感度は劣るが、それらを考慮し、対象試料、目的等を限定すればスクリーニング、自主調査管理等への適用も可能であると思われる。

本研究では、キャピラリーカラムを公定法における2本使用から1本の使用へと減らし、精度よりも迅速性を優先させた。その結果分析にかかる時間は約1/3に減少し、条件変更等の煩雑さは大きく低減された。

2.2.2 分離濃縮導入システムGC/MSを用いたダイオキシン類の測定に関する研究(プレカラム分離導入システムを用いたダイオキシン類の測定)

(1) はじめに

ダイオキシン類の測定は高分解能ガスクロマトグラフ/質量分析計(HRGC/HRMS)を用いる方法が、公定法(例えば、日本工業規格:JIS K 0311)に採用されてきた。ダイオキシン類測定におけるHRGC/HRMSの利点は、測定対象成分の相互分離と高感度の検出を可能にした点にある。ダイオキシン類の環境残留性は一般的に強いと考えられているが、その存在量は極めて微量であることから、検出感度の優れた測定機器が必要とされている。しかし、測定機器の高度化に伴い分析コストが高額となる一方で、ダイオキシン類対策特別措置法の施行により検体数の爆発的増加が見込まれている。これは長期間の連続サンプリングあるいは日常的な常時監視を実施する上で、大きな問題となっている。また、対象とする媒体も拡大することが予測され、今まで以上に予め概算の濃度を把握することにより、試料間のクロスコンタミネーションを未然に防ぐスクリーニング試験の必要性が増すと思われる。さらに、精度管理の強化により前処理操作等の確認試験も増加していることから、近況ではHRGC/HRMSに替わる新規な簡易計測手法の開発が急務な課題と言える。

現在のダイオキシン類の簡易分析は迅速化に重点が置

かれている。迅速化の検討では、すでに新規前処理法の開発やデータ処理システムの整備が進んでおり、その妥当性について議論されている段階である。例えば、毒性評価やデータ評価の議論に利用される毒性換算値の算出では、各媒体に特徴的な高残留性の指標異性体に着目することで、媒体中のダイオキシン濃度を推定する手法も新たな試みとして提案されている。これら現状における簡易分析法の動向を考慮し、本研究では、特に土壌や煙道排ガスといった比較的高濃度のダイオキシン類を含有する媒体を対象として、分析の低コスト化を目標とし、以下の各項目に重点を置き研究を進めることとした。

夾雑物の少ない試料ではHRMSを用いた方法と同程度の結果が得られる。

将来的に公定法となり得るポテンシャルを有する。

省スペース型の装置により操作性を向上させる。

ダイオキシン類のような多成分組成の化学物質を同時分析するには、高性能キャピラリーカラムを用いるGCが必須であり、検出器としては、質量分析計の使用が有効と考えられる。そこで本研究では、新たな簡易計測化の手法として、上記の各項目を満足させるGC/MSを用いたプレカラム分離導入システムを提案し、土壌試料への適用性について検討を行うこととした。

(2) システムの設計概念

高濃度のダイオキシン類が測定対象ではあるが、その濃度は他の有害化学物質と比較して極めて微量であるため、可能な限り高分解・高感度な検出を行う必要がある。HRGC/HRMSを用いずに通常のGC/MSで高感度を達成させるには、大量の試料を装置に導入し、濃縮しなければならない。多数の検体を測定する場合を考慮すると、濃縮部は交換しやすい装置が好ましい。本システムの原理は、従来の昇温気化法(PTV、表21参照)を発展させ、GC/MSのGC注入部において試料を24 cm長のプレカラム(内径1 mmのロングインサート、任意の液相により内面を被膜することが可能)により分離し、目的物質のみを選択的にキャピラリーカラムに導入させ、質量分析計により検出する点にある。

小型二重収束型質量分析計については、現在使用されているHRMSが二重収束型であるため、HRMSで検討した既存の条件を適用できること、さらには将来的な「サンプリング現場での迅速な分析」の可能性を考慮して選択した。すなわち、大量注入法(LVI)を使用して

表21 試料注入法の比較

種類	Split/Splitless	On Column	PTV
注入口温度	高温一定	制御可能	制御可能
溶媒除去システム	あり	本来なし システムによっては可能	あり
最適注入量	1~3 μ l	1~3 μ l システムによってはそれ以上	1~100 μ l
大量注入	不可能	可能	可能

ダイオキシン類分析に応用すれば、微量な任意の異性体のみを分析カラムに導入することも可能であり、夾雑物による検出器の汚染を防ぎ、ノイズの軽減とそれに伴う感度の大幅な向上が期待される。また、簡易測定法という考えから、今回はポリ塩素化ジベンゾパラジオキシ類(PCDDs：ポリ塩素化ダイオキシン類)およびポリ塩素化ジベンゾフラン類(PCDFs：ポリ塩素化フラン類)の17種毒性対象異性体の中でも特に毒性換算値への寄与が大きい、すなわち毒性の極めて強い4塩素化あるいは5塩素化の2,3,7,8-位塩素置換異性体の選択的な検出を目的として、それらの分離条件の検討を行うとともに、その実用性について考察した。

(3) システムの構成

システムの概略図を図1に、試料注入からMSへの導入までの詳細なフローを図2に示す。試料は通常の注入口から注入され、GC内部に装着されたプレカラムによっていったんプレセパレーションが行われる。大量注入が行われた場合には、溶媒や夾雑物は排出され、分析対象物質と沸点等の類似した成分のみが濃縮され、GCカラムに導入されることになる。質量分析計は小型ではあるが、分解能を500~3,000の範囲で可変することが可能であり、分解能を上げることで夾雑物の影響を最小限に抑えながらダイオキシン類の測定を行える。

使用した分析機器として、GCにはAgilent 6890 (Agilent Technologies製)を、検出器には小型二重収束型質量分析計JMS-GCmate (日本電子製)を用いることとした。またロングインサートおよびその昇温制御

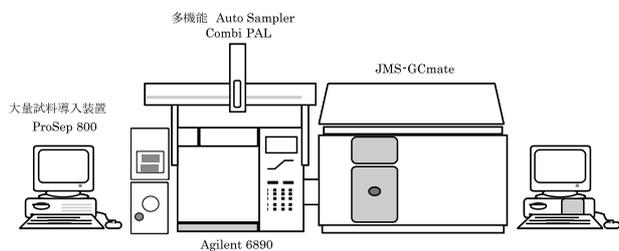


図1 システムの概略

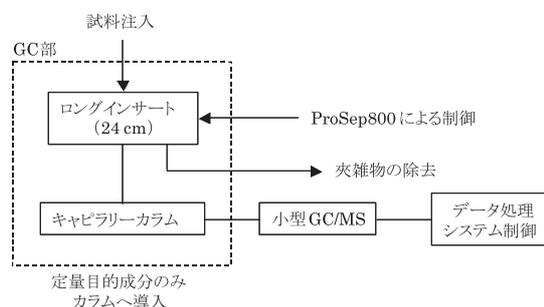


図2 試料導入から検出までの流れ

には、Pre-column Separation Inlet System ProSep800 (Apex Technologies製)を使用した。実際の試料注入はCOMBI PAL (CTC Analytics製)で行い、注入状況はGC split/splitless/ProSep splitを必要に応じて適宜変更するとともに、選択イオンモニタリング (SIM) により全測定が検討された。システム全体の大きさは従来のHRGC/HRMSと比較して大幅に小型化がなされており、幅1600 mm × 奥行800 mm程度の寸法となっている。そのため、通常の実験台に乗せることも十分に可能であり、大型になりやすいHRMSの設置面積の問題を解消した。なお、データ処理のソフトウェアにはDioK (日本電子製)を用いて、分析終了後、直ちに定量目的成分の検出を行った。

図3はプレカラム内部における試料の分離機構の模式図である。Step 1は試料の注入段階を示しており、この段階では分析対象物質が他の夾雑物と混合した状態で注入される。つぎに、プレカラムにて分析対象物質の分離が進行することにより、低沸点の溶媒はスプリットされる (Step 2)。溶媒の排出が終了した時点でventを閉じると、Step 3のように分析対象物質と沸点等の類似した成分のみがGCカラムに導入される、インサートの内面には液相が被膜されており、この

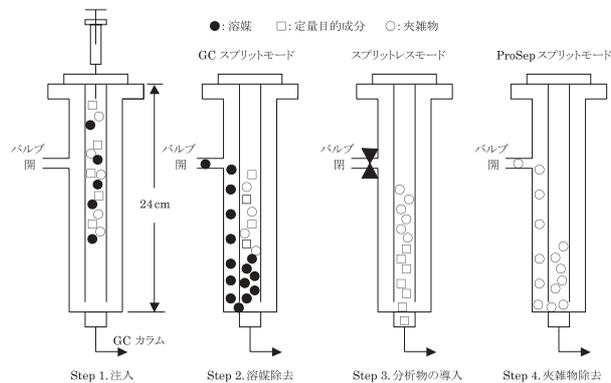


図3 プレカラム (ロングインサート) における機能

段階でダイオキシン類を予備分離することが可能となる。その後、残存する高沸点の夾雑物を排出するため、ventを再び開いて流速を増加させる（Step 4）。以上のバルブ開閉操作のタイミングを厳密に制御することで、任意のダイオキシン類異性体を選択的に取り込み測定することが可能となる。ここで、GC/MSの測定条件を表22に示す。

(4) システムの基本性能

1) LVIの評価

ProSep800のLVIの性能を評価するため、ダイオキシン類の標準溶液（各異性体: 1 pg/μl, 8塩素化体: 2 pg/μl）を用いて検討を行った。なお、標準溶液は、関東化学製

NK-LCS-AおよびNK-ST-Aを各溶媒で希釈して調製した。

注入量は1～25 μlの間で任意に変化させ、注入絶対量と検出されたピーク面積との加成性について調べるとともに、標準溶液の溶媒としてトルエン、デカン、ヘキサンの3種類を用いた際の、溶媒の違いによるLVIの機能についても併せて評価した。2,3,7,8-位塩素置換異性体のすべてのダイオキシン類について検討を行ったが、ここでは例として、クロマトグラムにおける保持時間の早い2,3,7,8-TeCDDと保持時間の遅い1,2,3,4,6,7,8-HpCDDおよびOCDFの結果について示す。図4、図5および図6は、それぞれトルエン、デカン、ヘキサンを溶媒として用いた場合の結果である。

表22 GC/MSの測定条件

GCカラム	PTE-5 (Supelco; 30 m×0.25 mm i.d., 0.25 μm)
キャリアガス	He, 1 ml/min
オープン温度	60 °C (5.00 min) → 30 °C/min → 200 °C (0.00 min) → 5 °C/min → 290 °C (10.00 min)
注入量	1-10 μl
プレカラム	HT-5 (APEX Technologies; 0.24 m×1 mm i.d., 25 μm)
注入モード	GC split (0.00 min) → splitless (2.25 min) → ProSep split (8.00 min)
注入口温度	60 °C (5.00 min) → 55 °C/min → 280 °C (30.00 min)
イオン化電圧	35 V
イオン化電流	300 μA
イオン化法	EI+
インターフェイス温度	280 °C
GCパイプ温度	280 °C
イオン源温度	300 °C

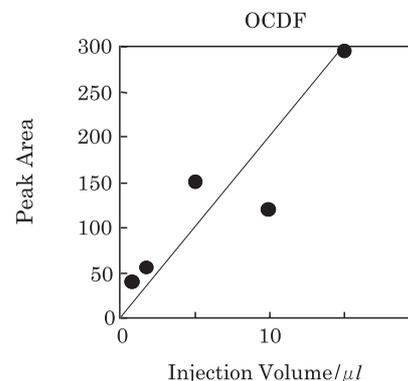
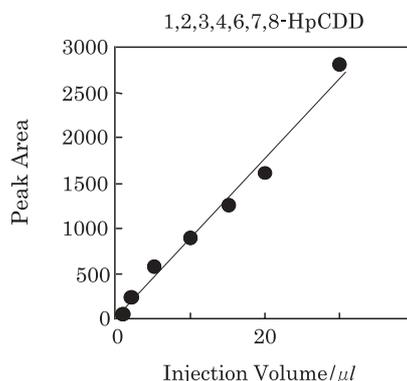
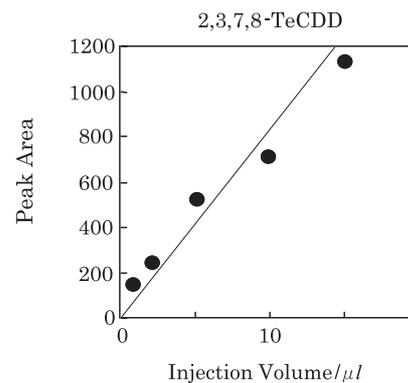
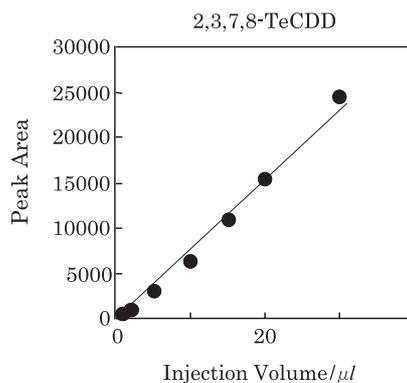


図4 トルエン溶媒による大量注入時の検量線

図5 デカン溶媒による大量注入時の検量線

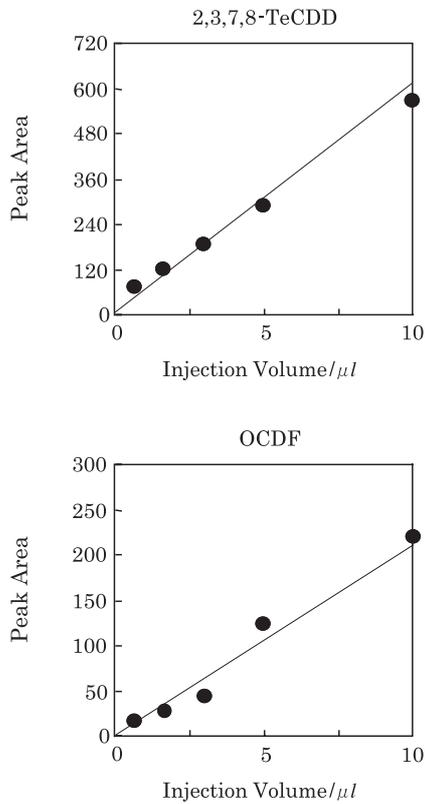


図6 ヘキサン溶媒による大量注入時の検量線

図4および図6からわかるように、トルエンやヘキサンの場合には、検討した注入量の範囲では異性体の沸点の違いに依存せず、ほぼ良好な直線関係を示した。ヘキサンの場合には、トルエンよりも蒸気圧が高いためトルエンと同様に少なくとも30 μl までは良好な直線関係を示すと考えられ、実際にその直線性を確認している。図5のデカンの場合では、2,3,7,8-TeCDDのプロットと比較してOCDFのプロットには注入量の増加に伴いプロットにばらつきが見られるが、これは高塩素化ダイオキシン類の絶対的な検出感度が低いためであると推定される。さらに、溶媒間での比較から、溶媒の沸点が高くなるに従い検量線の傾きが減少し、プロットのばらつきが見受けられた。詳細については定かではないが、ProSep注入口の温度やsplitless/ProSep split時間の設定に起因している可能性、プレカラムの容量あるいは溶媒の蒸気圧の特性、部分的なProSep注入口の昇温などが起こった可能性などが挙げられる。

上記の検討より、3種類の溶媒に対して同一の昇温条件を使用しているにもかかわらず、沸点の大きく異なるトルエン、デカン、ヘキサンを用いた際のLVIの可能性が示唆された。ヘキサンおよびトルエンについては30 μl までの検討であるが、特にデカンを溶媒として用

いた場合に10 μl まで注入可能であることは特筆すべき長所である(図7および図8参照)。ただし、この検討において使用したAuto Sampler 7673では試料溶液の吸

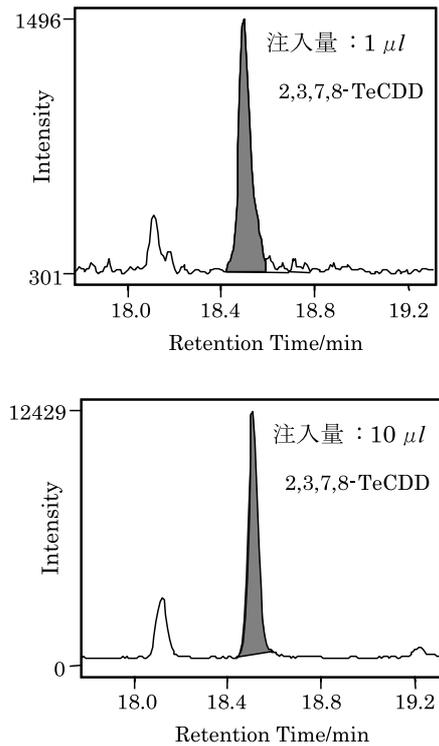


図7 LVI使用時における2,3,7,8-TeCDDのSIMクロマトグラムの変化(ヘキサン)

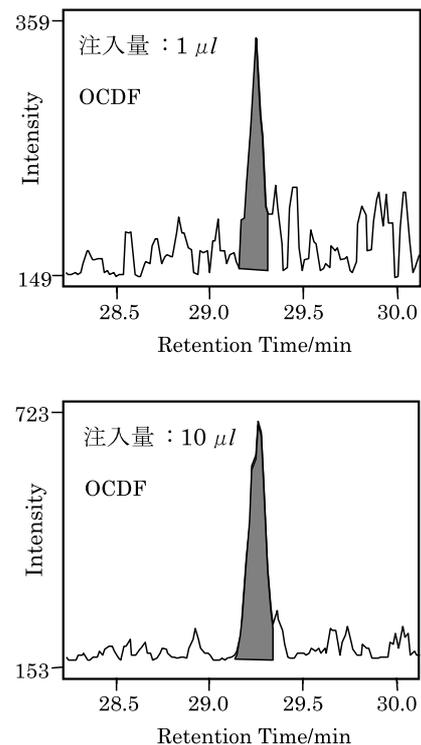


図8 LVI使用時におけるOCDFのSIMクロマトグラムの変化(デカン)

い上げ速度を制御できなかった。そのため大容量のシリ
ンジを用いるとマイクロシリンジが気泡を吸い込むた
め、再現性の良い注入が行えなかった。そこで、以後の
検討ではオートサンプラーとして速度可変型のCOMBI
PALを使用し、この問題を解決した。

2) ProSep800の条件設定

LVI法の検討の際、プレカラムと分析カラムは類似し
た極性を持つ組み合わせ（5%フェニル・メチルポリシ
ロキサン相当、微極性）であった。ダイオキシン類の分
離挙動が、使用するカラムの極性に大きく依存すること
は周知である。そこで4塩素化と5塩素化の2,3,7,8-位
塩素置換異性体のピーク分離をより促進させるため、
GC分析カラムをCP-Sil88（Chrompack製; 60 m × 0.25
mm i.d., 0.10 μm）に変更した。あらかじめ高塩素化ダ
イオキシン類の検出感度不足は予測できたが、ダイオキ
シン類を毒性換算値で評価する際には問題ないため、継
続して以後の検討を行った。ここでの検討は、GCある
いはProSep800のsplit機能を利用することにより、特
に毒性の強い低塩素化異性体の選択的な測定の可能性に
ついてである。なお、これらの条件検討には標準溶液
（各異性体: 10 pg/μl, 8塩素化体: 20 pg/μl）を用いた。
なお、分解能を3000に設定してSIM測定を行う際には
ダイオキシン類に対してグルーピングを行った。

3) GC splitの検討

ここで、ProSep800のsplitの機能（以下、ProSep
split）を利用する場合、GCの試料注入口の温度は
ProSep800のコントロールユニットにて制御される。従
って、ProSep splitを利用した注入では、時間の経過に
伴い注入状況が、前述の図3のように順次注入口の状況
が切り替わり測定が進行する。

図9はProSep800のバルブ制御の一例である。この
図において、Vent Valve Closing Timeはsplitless注入
の継続時間を意味しており、定量目的成分の取り込み時
間である。すなわち、この時間を長く設定すれば、注入
した試料に含まれる成分の中で、より広範囲な沸点差を

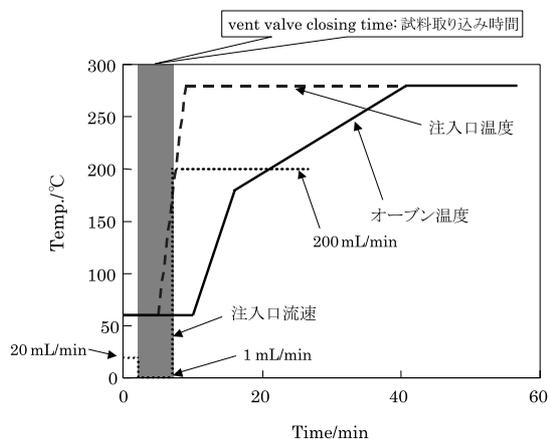


図9 ProSep800のタイムダイアグラム

持つ成分を同時に取り込むことが可能となる。また、
Splitless継続時間の終了と同時に200 ml/minの流速で
ProSep splitを行うことにより、従来法と異なり高沸点
夾雑物を注入口外に排出させることが可能となっている。

一方、ProSep800のもつSplit機能はGCのsplit機能
に比べ溶媒等を排出する能力が優れていることを確認し
たため、今回はProSep split後のGC splitに関しては検
討しなかった。よって、ProSep splitの直前に機能する
GC splitにのみ着目し、その継続時間を見積るため、カ
ラムの昇温プログラムを表23のように設定して検討を
行った。ただし、測定の都合上ProSep splitを使用して
いるが、ProSep splitはGC splitの検討に影響を与えな
いように、試料注入から十分な時間が経過してから用い
ることとした。初めにGC splitの継続時間に対する
2,3,7,8-位塩素置換異性体のピーク面積比を、GC split
が0.2分間継続した際のピーク面積を基準として表24に
表す。これより、各置換異性体のピーク面積比はGC
splitの継続時間に依存することがわかった。すなわち
継続時間が延長するにつれてピーク面積は減少し、特に
低沸点の2,3,7,8-位塩素置換異性体ほどこの傾向が強く
現れ気化により損失していることがわかる。これは、プ
レカラムでの昇温速度と化合物の沸点との兼ね合いであ
り、高沸点の2,3,7,8-位塩素置換異性体ではGC splitが
3分間継続した場合でも、一部分のみが気化しているに

表23 初期PTV条件

GCカラム	CP-Sil88 (Varian; 60 m×0.25 mm i.d., 0.10 μm)
オープン温度	60 °C (5.00 min) → 30 °C/min → 180 °C (0.00 min) → 5 °C/min → 270 °C (18.00 min)
プレカラム	HT-5 (APEX Technologies; 0.24 m×1 mm i.d., 25 μm)
注入口温度	60 °C (0.20 min) → 55 °C/min → 280 °C (40.80 min)

表24 GC split timeにおけるピーク面積の変化

GC split time/min	1.60	1.70	1.72	1.75	1.78	1.82	1.87	2.50	2.60	3.00
2,3,7,8-TeCDD	101	87	100	91	97	93	92	77	50	17
1,2,3,7,8-PeCDD	100	109	107	94	97	93	83	86	91	33
1,2,3,4,7,8-HxCDD	106	94	97	79	77	79	77	70	81	70
1,2,3,6,7,8-HxCDD	97	91	91	81	86	84	85	82	76	74
1,2,3,7,8,9-HxCDD	101	88	98	88	88	82	79	80	78	80
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	126	105	95	87	88	80	90	78	79	75
OCDD	167	131	112	64	67	66	72	75	78	76
2,3,7,8-TeCDF	103	102	102	106	103	102	92	88	46	20
1,2,3,7,8-PeCDF	98	92	95	94	95	89	89	85	83	21
2,3,4,7,8-PeCDF	93	91	94	89	84	86	86	83	80	22
1,2,3,4,7,8-HxCDF	111	106	102	90	92	90	81	86	95	64
1,2,3,6,7,8-HxCDF	99	98	94	91	86	92	84	84	80	61
1,2,3,7,8,9-HxCDF	114	98	87	83	78	92	75	85	81	85
2,3,4,6,7,8-HxCDF	95	94	96	89	81	84	81	85	83	74
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	114	116	106	85	82	82	80	82	93	79
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	118	115	83	ND	ND	ND	ND	84	ND	85
OCDF	ND									

ND: 検出下限以下

GC split time 0.2分におけるピーク面積を100%とした場合

表25 ProSep split timeにおけるピーク面積の変化

ProSep split time/min	3.20	3.40	3.60	3.80	4.00	4.20	4.40	4.60	4.80	5.00
2,3,7,8-TeCDD	5	34	81	104	85	103	108	113	107	98
1,2,3,7,8-PeCDD	5	4	26	69	77	ND	ND	ND	ND	101
1,2,3,4,7,8-HxCDD	ND	ND	ND	ND	27	48	68	72	70	78
1,2,3,6,7,8-HxCDD	ND	ND	4	ND	28	59	71	84	89	83
1,2,3,7,8,9-HxCDD	ND	ND	ND	ND	20	52	73	75	84	81
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	ND	ND	ND	ND	ND	ND	12	29	28	54
OCDD	ND									
2,3,7,8-TeCDF	9	46	85	96	92	100	105	112	110	101
1,2,3,7,8-PeCDF	2	3	29	72	76	89	100	98	106	94
2,3,4,7,8-PeCDF	2	ND	10	48	75	111	86	90	89	87
1,2,3,4,7,8-HxCDF	ND	ND	1	8	46	59	60	69	64	76
1,2,3,6,7,8-HxCDF	ND	ND	2	7	45	57	69	76	76	84
1,2,3,7,8,9-HxCDF	ND	ND	ND	ND	6	6	11	ND	ND	28
2,3,4,6,7,8-HxCDF	ND	ND	ND	ND	21	38	53	53	53	71
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	ND	ND	ND	ND	ND	ND	10	12	16	40
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	ND									
OCDF	ND									

ND: 検出下限以下

GC split time 0.2分におけるピーク面積を100%とした場合

過ぎなかった。しかしながら、急激なピーク面積の変化は見受けられず、1.6～2.5分のGC split継続時間の範囲では、各2,3,7,8-位塩素置換異性体のピーク面積比は相対的にあまり変化しなかった。4塩素化と5塩素化のダイオキシン類のみを測定することが目的であるため、「4塩素化体および5塩素化体が90%近く検出され、なおかつ6塩素化、7塩素化および8塩素化体の割合が少ない」という目標を定めて、GC splitの停止は試料注入から1.75分後と決定した。

4) ProSep splitの検討

上記3)より見積ったGC splitの継続時間に続いて、

ProSep splitの開始時間(すなわち、splitlessの継続時間)を検討した。カラムの昇温プログラムについては3)における検討と同一条件を用いている。ここで、得られた結果を表25および図10に示す。ProSep splitを使用することで、各2,3,7,8-位塩素置換異性体のピーク面積比に大きな違いが認められた。単純にGCのsplit機能と比較した場合、継続時間当りのピーク面積比の変化率は大きかった。特に6塩素化および7塩素化のダイオキシン類に対して有効にsplitが機能しており、さらなる条件の絞り込みによって、4塩素類および5塩素類との量的分離の可能性が示唆された。また3.8分後では、検出されたほぼすべてのピークが4塩素化と5塩素化の

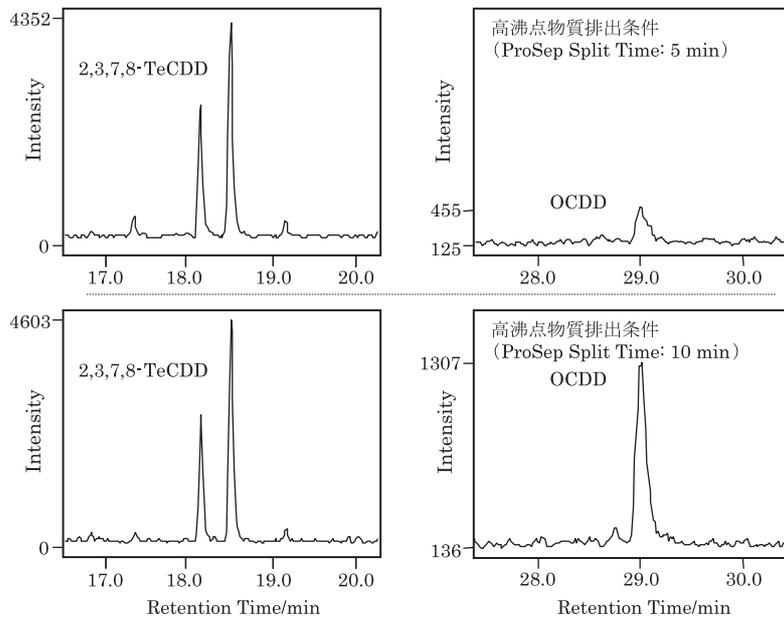


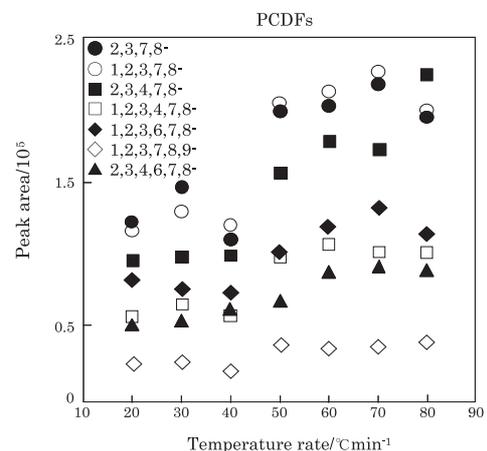
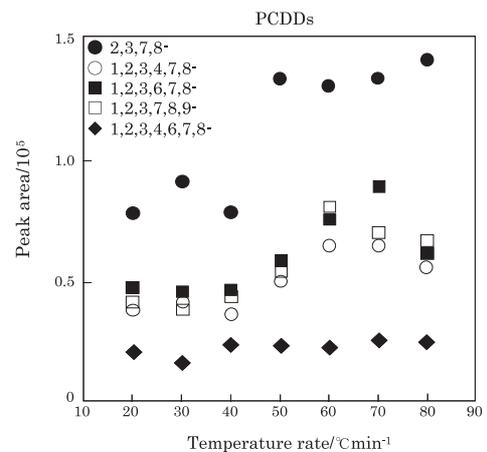
図10 注入部での分別効果

2,3,7,8-塩素置換体のピークであると考えられることから、ProSep splitの開始は試料注入から3.8分後が妥当であると判断された。

これらの検討をまとめると、本システムによる4塩素化および5塩素化ダイオキシン類の選択的分離条件として表26の条件が得られた。

5) プレカラム昇温の検討

つぎにプレカラムの昇温速度を変化させた際の、2,3,7,8-位塩素置換体の挙動を検討した。図11より、PCDDsおよびPCDFsともに、低塩素類ほど昇温速度の増加に伴って得られるピーク面積は急激に増加する傾向にある。しかしながら、50 /min以上の速度では、プロットの傾きに大きな変化は見られず、ほぼ一定のピーク面積を与えた。急激な加熱はプレカラムを局部的に温度上昇させる恐れがあること、加えて、遅い昇温速度ではバンド幅も拡大させる要因となるためプレカラムの昇温速度は55 /minが妥当であると判断した。



6) splitless 温度の検討

さらに、splitlessでの到達温度と2,3,7,8-位塩素置換体のピーク面積との関係を図12に示す。この場合も、5)における検討と同様に4塩素化あるいは5塩素化ダイオキシン類のプロットの傾きは温度上昇とともに急激に増加している。また、PCDDsとPCDFsでプロットを比較すると、両者とも210 付近を境界にプロットの傾きが減少していることがわかる。したがって、4塩素化および5塩素化ダイオキシン類を分離する際のsplitlessの到達温度としては、200 が妥当であると結論付けた。

図11 プレカラム昇温における異性体挙動 (各10pg)

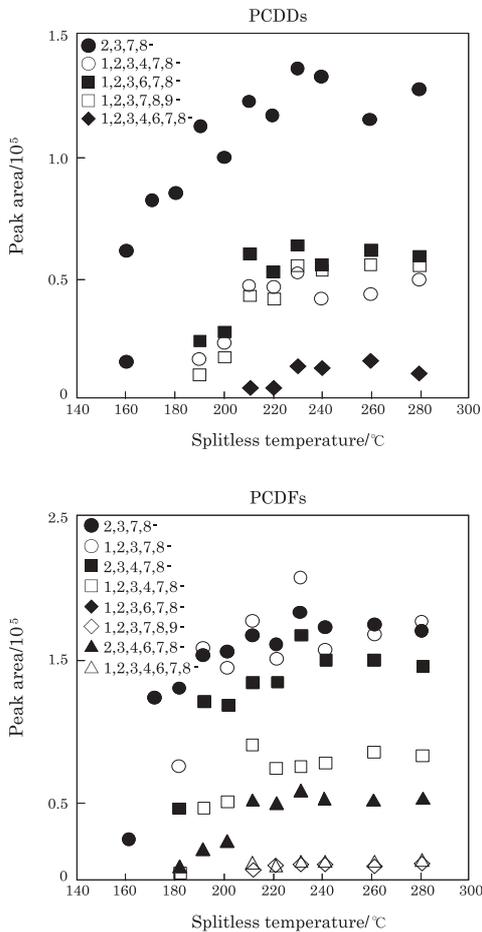


図12 splitless 温度における異性体挙動 (各 10pg)

(5) 結果および考察

土壤試料「NIES CRM No.21」を用いて本システムの実用性について検討を行った。用意した土壤試料の前処理を以下に示す。なお、測定条件は表26を用いた。

表26 4 塩素化および5 塩素化ダイオキシン類の選択的検出のためのPTV条件

注入モード	GC split (0.00 min) → splitless (1.75 min) → ProSep split (3.80 min)
注入口温度	60°C (0.20 min) → 55°C/min → 200°C (47.25 min)

洗浄済みの円筒ろ紙に土壤試料 (水分 5 % 未満) 約 8 g を分取して16時間ソックスレー抽出を行った。得られた粗抽出液にサロゲート物質を添加し、硫酸処理を施した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー、活性炭カラムクロマトグラフィーの順番でクリーンアップ操作を行った。得られた溶出液を濃縮して窒素ガスを吹き付けた後、シリンジスパイクを添加して100 μl に定容した。なお、硫酸処理のみを施した試料も調製して実験を行った。したがって、試料としてはマニュアルに従いクリーンアップした試料と前処理を簡略化した試料が得られた。図13はカラムクリーンアップを施した試料のクロマトグラムであり、注入量3 μl で分解能を500に設定して測定を行った結果である。ここで、AとCはNative、BとDは¹³C₁₂の2,3,7,8-TeCDD内標準物質に対応するクロマトグラムである。また、AおよびBは試料注入後、1.75分から4.5分までの間、すなわち定量目的成分の取り込み時間が2.75分間の場合であり、B、Dは同様に取り込み時間が9.8分間の場合を示している。得られたクロマトグラムは、splitlessによる試料の取り込み時間の差に関係なくベースラインが比較的安定している。これは、クリーンアップが適切に施された試料の場合、夾雑物による妨害が少ないため分析カラムに導入する試料量を仮に増加させても、2,3,7,8-TeCDDの測定に対するノ

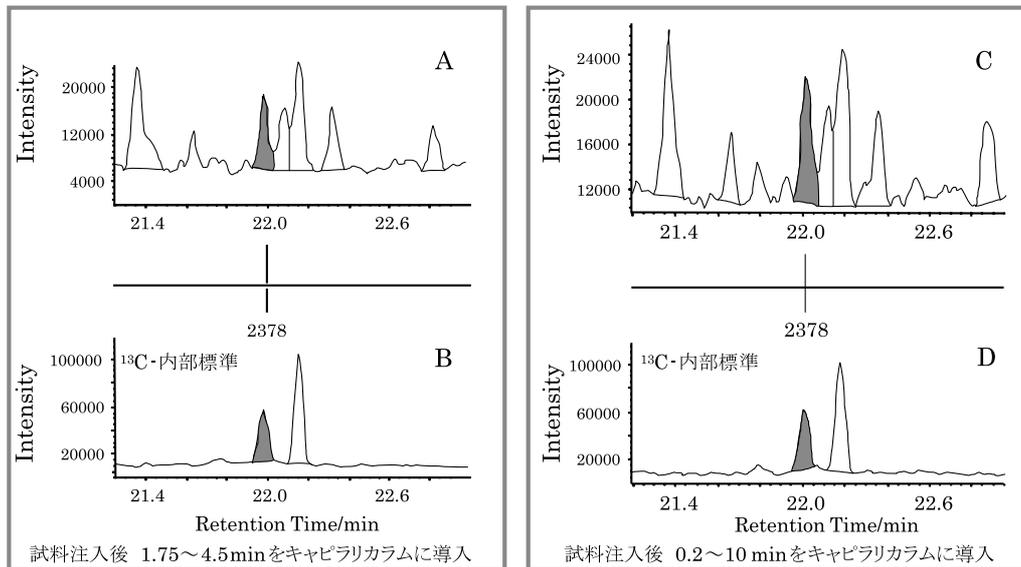


図13 カラムクリーンアップ済み土壤試料における2,3,7,8-TeCDDのSIMクロマトグラム (分解能500)

イズの影響が少ないことを示唆する。実際、Nativeと内標準のクロマトグラムにおいて2,3,7,8-TeCDDのピーク面積を比較すると、splitlessによる試料の取り込み時間にピーク面積が正比例することがわかる。クロマトグラムの比較から、適切な前処理を行った土壤試料に含まれる2,3,7,8-TeCDDの測定は、本システムにおいて分解能を500程度に設定することで、特に問題なく可能となった。

一方、硫酸処理のみを施した試料のクロマトグラムを図14に示す。これは注入量3 μ l、分解能500における結果であり、EとGはNative、FとHは $^{13}\text{C}_{12}$ の2,3,7,8-TeCDD内標準物質に対応するクロマトグラムである。図13と比較して明らかにベースラインが乱れていることから、夾雑物の多さと試料のクリーンアップが不十分であることがわかる。このような試料をsplitlessにより注入した場合、注入したほぼ全量が分析カラムへ導入されるため、得られるクロマトグラムはノイズが増加して、分析対象物質の定量が困難となる。特にGは試料の取り込み時間が9.8分間と長いことから、実質的にはsplitlessでの注入と変わらないと思われるが、得られたクロマトグラムを見ると予測されたように2,3,7,8-TeCDDのピークは完全にノイズに埋もれており、他成分とのピーク分離は達成されていない。分析対象物質が微量な場合や分析機器の感度及び分解能が低い場合には、このノイズの影響は深刻な問題となり、測定不可能となる場合が非常に多い。実際、この試料に対して2,3,7,8-TeCDDの選択的な取り込みを試みたが、十分なS/N比を得ること

は困難であった（EおよびF）。

そこで、分解能を3,000に設定し、図14と全く同一条件で測定を試みた。その結果を図15に示す。ProSep splitを用いて選択的に試料を分析カラムへ導入すると、図15の のようにノイズが軽減されたクロマトグラムが得られた。これは分解能を上げたことに起因する選択性の向上と、選択的取り込みによる夾雑物の減少に因るものである。その結果、2,3,7,8-TeCDDのピーク分離は改善され、実試料における定量が可能となった。

（6）まとめ

標準溶液および土壤の実試料を用いた検討から、以下の結論を得た。

プレカラムの条件を厳密に設定することで、ノイズの減少と目的画分の選択的な検出が可能となった。

LVIでのバンド幅の拡大は認められず、S/N比も改善された。

前処理操作の簡略化が見込まれる。

得られた結果より、本システムを適用することにより、土壤試料のダイオキシン類分析はコスト・労力の面で大幅に簡略化できるものと思われる。底質のように夾雑物の極めて多い試料に対しても適用できるかは不明であるが、少なくとも血液や大気、水質など比較的夾雑物の少ない媒体を対象とする場合には、十分な感度と選択性を示すことができる。本システムの使用によって見かけの感度は改善するが、質量分析計の検出感度以上の感度は得られない。従って、血液や河川水中のダイオキシン類

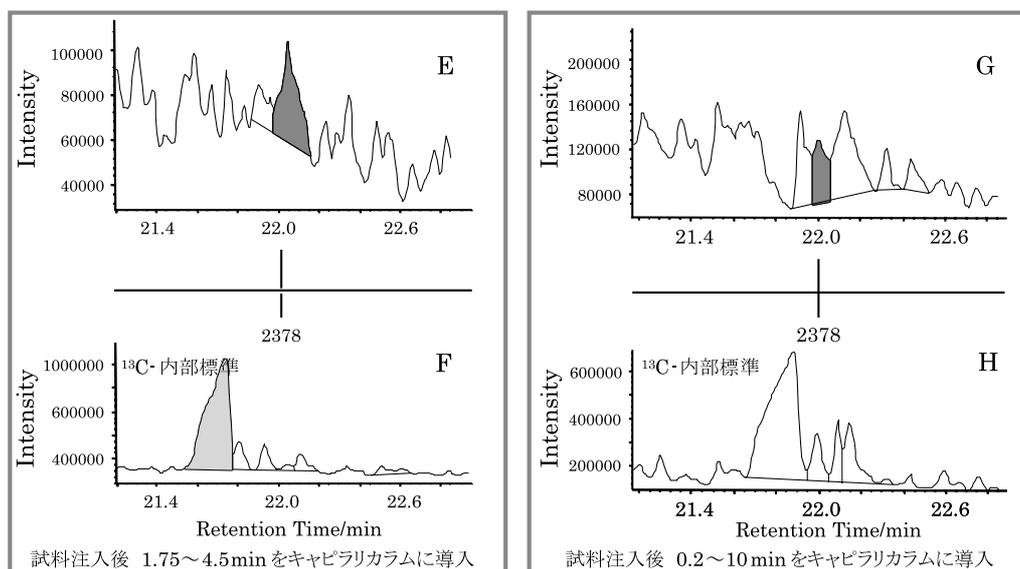


図14 硫酸処理のみ施した土壤試料における2,3,7,8-TeCDDのSIMクロマトグラム（分解能500）

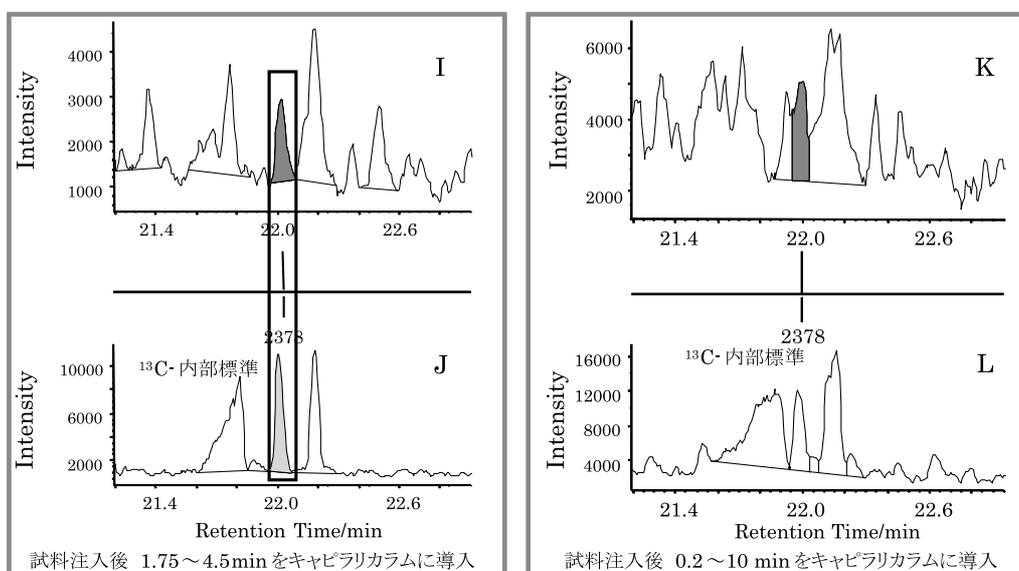


図15 硫酸処理のみ施した土壌試料における2,3,7,8-TeCDDのSIMクロマトグラム（分解能3,000）

など、その濃度が極めて低いと予測される試料についてはLVIを用いることで対応が可能となる。また、高沸点であるデカンをキーパー溶媒に使用できることも前処理するには利点となり、他のPTVと比較しても大きな特徴と言える。本報告では、簡易分析の観点から特に高い毒性等価係数をもつ低塩素化ダイオキシン類について本システムを適用したが、プレカラムの条件やカラムの極性を事前に検討すれば、本システムは任意のダイオキシン類に対して高感度、高選択的に測定が可能となるであろう。

2.2.3 前処理の簡易化に関する研究

ヒト全血中ダイオキシン類分析の前処理法のための簡易化と最適化のための研究

(1) はじめに

近年、ダイオキシン類の分析は多様な種類の試料で行われるようになった。特に、我が国では焼却場に関連した排ガス、飛灰、土壌、排水などの環境試料では大規模な調査が行われ、データの蓄積も膨大なものとなっている。そして、最終的なこれらの関心は人体への曝露やその影響であるため日本国内では焼却場と人体曝露との関連の調査が環境省や厚生労働省で全国規模の調査が行われているようになった。それゆえヒト血液（全血）試料は人体曝露調査のための試料として広く用いられており、この分析の需要が大きくなっている。しかし現状としては人体への化学物質の曝露調査のためのマス・スク

リーニングとしてはいまだに分析者に大変な負担のかかる方法が適用されたままである。その理由は他の環境試料がいくつかの新規の報告があるなか、血液試料に対する分析法の開発が遅れていることにある。また、分析には通常50 g程度の全血が用いられることが多い。しかし、一般健康者の全血50 g中に存在する10 pgTEQにも満たない微量のダイオキシン類を分析することは困難である。それゆえ血液試料のための簡易で高精度なダイオキシン類分析法の標準化が望まれている。しかし、抽出やクリーンアップに関しては多くの方法があり、分析者によって様々な異なる方法が採用されている。このことはこれらの工程中での分析値の変動が起こる大きな要因となり得る。以上の点を踏まえ、我々はマス・スクリーニングとして増加する分析需要と前処理中に起こり得る分析値の変動の軽減への対策として血液試料中のダイオキシン類分析のための前処理の簡易化と最適化を目指し以下の研究を行うことにした。

最初にクリーンアップの簡易化のための検討を行った。血液試料での従来法は多層シリカゲルカラムクロマトグラフィーでクリーンアップを達成してから、活性炭シリカゲルクロマトグラフィーで分画する方法⁵⁻⁷⁾が主流である。これを環境試料で若干の適用例のあるタンデム式多層シリカゲル 活性炭シリカゲルクロマトグラフィー^{8,9)}の血液試料への適用のための条件設定を行った。この方法はカラムのタンデム化により分画を安定させるのが難しく、普及はほとんど進んでいない。従来の多層シリカゲルカラムは充填剤の量が多く、カラムからダイ

オキシシン類を溶出させるために要するヘキサンが120～200 ml必要である。これをそのままタンデム化したカラムに適用すれば下部の活性炭による分画を不安定にさせる可能性がある。だからこの問題の解決には充填材の量を少なくさせ、条件設定を入念に行う必要がある。また、ダイオキシシン類の前処理に伴うマトリックスは主に脂質である。しかし50 g中の血液試料中の脂質は数百mg程度と少ないのでこれに合わせた量での充填剤での適用が必要である。我々は従来のJISや血液暫定マニュアルの報告にある多層シリカゲルクロマトグラフィーの充填剤および活性炭シリカゲルを前述の2つの理由からできるだけ減量させ、そしてこの2つのカラムをタンデム化することで時間短縮と溶媒節約につながるカラムの組成を決定し、これの血液試料への適用を目指した。条件設定としては¹³C₁₂-ダイオキシシン類での分画試験を

脂質マトリックス存在下で行い、その結果から実際のアプリケーションのための溶出流量を決定した。

次に、ダイオキシシン類抽出の最適化のための検討をプール全血試料を用いて行うことにした。この検討にはより最適の方法を見いだすために血液試料のために報告されている方法だけではなく一般の生物試料からのダイオキシシン類分析で良好な結果が報告されている方法も含めた。すなわち、現在最も汎用されている液々抽出法¹⁰⁻¹²⁾、最近の抽出法である高速溶媒抽出法(ASE法)¹³⁻¹⁵⁾および従来のアルカリ分解抽出法^{5, 16)}に最近報告された高濃度のアルカリによる新法^{17, 18)}も含めて総括的な比較(表27)を行い、測定値や相対標準偏差(RSD)並びに回収率の結果と操作性を考慮することによって最適化を行った。

一方、血液試料のダイオキシシン類濃度は脂質重量当た

表27 全血中におけるダイオキシシン類測定のための前処理の最適化の検討

実験項目	方法	使用プール 全血	測定項目
簡易クリーンアップ法への適用★(n=6)	・従来法 (C) (多層シリカゲルカラム→活性炭シリカゲルカラム)	Pool I	ダイオキシシン類: 29種 (濃度 pg/g wet)
	・簡易法 (T) (簡易多層シリカゲルカラム△+簡易活性炭シリカゲル▲; タンデムカラム, 既報1)の変法)		・ PCDDs 2,3,7,8-TCDD 2,3,4,7,8-PeCDD 1,2,3,4,7,8-HxCDD 1,2,3,6,7,8-HxCDD 1,2,3,7,8,9-HxCDD 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD OCDD
抽出法の最適化の検討 ☆			
1) 代表的な液々溶媒抽出法 (n=6)	・液々抽出法エタノール/ヘキサン (E) ¹⁰⁾	Pool II	・ PCDFs 2,3,7,8-TCDF 1,2,3,7,8-PeCDF 2,3,4,7,8-PeCDF 1,2,3,4,7,8-HxCDF 1,2,3,6,7,8-HxCDF 1,2,3,7,8,9-HxCDF 2,3,4,6,7,8-HxCDF 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF OCDF
	・液々抽出法アセトン/ヘキサン (Ac) ¹¹⁾		
	・液々抽出法クロロホルム/メタノール (CM) ¹²⁾		
2) ASE法○(n=3)	・液々抽出法エタノール/ヘキサン (E) (コントロール)	Pool III	・ Non-ortho-PCBs 3,3',4,4'-TCB (#77) 3,4,4',5'-TCB (#81) 3,3',4,4',5'-PeCB (#126) 3,3',4,4',5,5'-HxCB (#169)
	・ASE法エタノール/ヘキサン (AE) ・ASE法アセトン/ヘキサン (AAc) ¹⁵⁾		
3) アルカリ分解抽出法	① 窒素置換の有無における比較 (n=6)	Pool I	・ Mono-ortho-PCBs 2,3,4,4',5'-PeCB (#123) 2,3',4,4',5'-PeCB (#118) 2,3,4,4',5'-PeCB (#114) 2,3,3',4,4',4'-PeCB (#105) 2,3,3',4,4',5,5'-HxCB (#167) 2,3,3',4,4',5'-HxCB (#156) 2,3,3',4,4',5'-HxCB (#157) 2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (#189)
	・液々抽出法エタノール/ヘキサン (E) (コントロール)		
	・従来アルカリ分解法 (A) ⁵⁾		
	・窒素充填アルカリ分解法 (NA) (窒素雰囲気での従来アルカリ分解法)		
② ピロガロール添加における低濃度と高濃度のアルカリ分解法による比較 (n=6)	・窒素充填アルカリ分解法 (NA) (コントロール)	Pool III	上記 ¹³ C ₁₂ -内部標準試料の回収率
・ピロガロール添加			
・低濃度アルカリ分解法 (PLA) ¹⁷⁾ (高濃度の変法)			
	・高濃度アルカリ分解法 (PHA) ¹⁸⁾ (松田らの変法)		

★抽出法は液々抽出法のエタノール/ヘキサン、△内径10mmのカラムに下から石英ウール、0.5gシリカゲル、1g 44%硫酸シリカゲル、1g 22%硫酸シリカゲル、1gの22%硫酸シリカゲルと無水硫酸ナトリウムを1:1 (w/w)十分に混合した充填剤、0.5gシリカゲル、2g 10%硝酸銀シリカゲル、0.5g無水硫酸ナトリウムで充填した。▲内径5mmのカラムに下から多めにして弱めに詰めた石英ウール、0.3g活性炭分散シリカゲル、0.5g無水硫酸ナトリウムで充填した。溶出条件はヘキサン 50 mlで溶出後、上部のカラムを除去後、Mono-ortho-PCBs分画は25%ジクロロメタン/ヘキサン12 ml、Non-ortho-PCBsとPCDDs/Fsはトルエン 60 mlで溶出させた。☆クリーンアップは全てタンデムカラム使用、○抽出前に凍結乾燥を行った。●タンデムカラムの上部は多層シリカゲルカラムの変わりに硝酸銀シリカゲルカラムを採用した。全ての方法での水洗いは手振り30回。

りの濃度として表示されるケースが多いため、脂質の抽出法を伴うダイオキシン類の抽出法の適用が多い。現在、血液試料のための脂質抽出を伴うダイオキシン類の抽出にはPattersonら¹⁰⁾やSchecterら¹¹⁾の液々抽出法が最もよく採用されている。しかし血液中の脂質は主にコレステロールエステル、遊離コレステロール、中性脂肪(モノ、ジおよびトリグリセライド)およびリン脂質から成り、このうちリン脂質は比較的親水性である。それゆえ抽出溶媒の種類や脂質抽出後に常識的に行われる「水洗い」の方法によって抽出脂質量に差が生じる可能性が考えられる。そもそも水洗いの工程は抽出された脂質以外の混入物の除去には必要不可欠であり、これまでいわば常識的に行われてきた工程である。リン脂質についてはRyan¹⁹⁾らが血液試料に対して抽出時に大量の有機溶媒を使い過ぎるとかえって極性のあるリン脂質の抽出が不十分になり、その結果ダイオキシン類の濃度が高く見積られる問題を提起している。このことはこれまで問題にされていなかった「水洗い」の方法によってはリン脂質の量に差が生じ、全体の脂質抽出量に差が生じ、結果的にダイオキシン類の濃度の正当な評価が難しくなる可能性が生じる。しかもこれまでに「水洗い」に関する抽出脂質量への影響を検討した報告はない。

そこで最後に上記の検討で代表的な溶媒を用いた液々抽出法およびASE法における方法間とそれぞれの方法の中で脂質の抽出を伴う方法を水洗いの割合を変えた場合での影響を調べた(表34)。これは抽出脂質量および脂質ベースによるダイオキシン類濃度の比較検討を行うことで最適な脂質抽出を伴うダイオキシン類の抽出法を見いだすことを目的とした。

(2) タンデム式多層シリカゲル 活性炭シリカゲルクロマトグラフィーの作成

1) 多層シリカゲルカラムの組成決定

まず、上部の多層シリカゲルの組成を決めるに当たり、我々は飯田らの方法が抽出脂質に硫酸処理を行った後に硝酸銀シリカゲルのみでクリーンアップしている報告²⁰⁾から、血液試料のクリーンアップには従来法にあるKOHシリカゲルは必ずしも必要ではないと判断しこれを除外することにした。すなわち上から10%(w/w)硝酸銀シリカゲル、シリカゲル、22%(w/w)硫酸および44%(w/w)硫酸シリカゲル、シリカゲルの構成で行うことにした。これらは内径10 mmのガラスクロマ

ト管に充填した。また、この検討は生体脂質マトリックス下で行うことが望ましいと考え、ヒト血液の代用品としてブタ血清2 lをPattersonら¹⁰⁾の方法で脂質を抽出した後に乾燥してプール生体脂質を得た。1試料に用いるプール生体脂質はヒト全血中の脂質の重量割合が約0.4%であることから、これより多めの0.6%、すなわち試料が50 gであれば0.3 gを使用することにした。これをヘキサン3 mlに溶解させ、上記組成の多層シリカゲルカラムに添加した。最初にシリカゲルは0.5 g、その他の各充填材1 gずつの組成の多層シリカゲルカラムに添加し、100 mlのヘキサンを流した後にどこまで着色が進んでいるかで目視によるカラムのキャリーオーバーの確認を行った。まず上記構成で2番目の22%硫酸シリカゲルはこのままでは脂質が硫酸によって変性した際の変性物の粘着性から目詰まりを起こすことが分かったので22%硫酸シリカゲルと無水硫酸ナトリウムを等量(w/w)でよく混合したものを22%硫酸シリカゲルの上に充填すると詰まらなくなることが分かった。そしてカラムはこの構成であれば、その混合充填剤が1 gでも44%の真中で着色がとどまっていたが、2 gではその上部との境目で着色が留まることが分かったので安全を見越して2 gを採用することにした。よって多層シリカゲルの構成は10%硝酸銀シリカゲル1 g / シリカゲル0.5g / 混合22%硫酸シリカゲル 無水硫酸ナトリウム(1:1, w/w) / 22%硫酸シリカゲル1 g / 44%硫酸シリカゲル1 g / シリカゲル0.5 gに決定し、この上に実試料中にある水分を考慮して無水硫酸ナトリウム0.5 gをつけ加えた。次に、適切なヘキサンの流量を決定するために、100 pgの¹³C₁₂で標識化したMono-ortho-PCBs, Non-ortho-PCBs, PCDDsおよびPCDFsを上記のブタ血清より抽出した0.3 gの脂質をヘキサン3 mlに溶解した液に加え、これを多層カラムに添加した。これをヘキサン25 ml × 4で溶出させ、全同族体が溶出する容量を調べたところ、2番目の分画までに全て溶出されることが確認されたため50 mlと決定した。なお、この検討での多層シリカゲルカラムの操作に続く活性炭シリカゲルによるクリーンアップは血液暫定マニュアルに従った。また、本検討で使用した多層シリカゲルカラムの各種シリカゲルは水分含量によって含浸している試薬の効力が低下するという伊藤らの報告²¹⁾から、全て水分含量が2%以内であることを確認してから使用した。

2) 活性炭シリカゲルカラムの量の決定

次に下部の活性炭の量はタンデムカラムとして適用可能な最少量を見いだすのを目的とした。すなわち内径5 mmのガラスクロマト管に0.1 g, 0.2 g, 0.3 g, 0.4 g, 0.5 gそれぞれを充填した活性炭シリカゲルカラムの上部に先に最適化した多層カラムを連結させ, 100 pgの¹³C₁₂で標識化したMono-*ortho*-PCBs, Non-*ortho*-PCBs, PCDDsおよびPCDFsを上記のブタ血清より抽出した0.3 gの脂質をヘキサン3 mlに溶解した液に加え, これを多層カラムに添加した。これをヘキサン50 mlで溶出後, 上部のカラムを除去し, 25% (v/v) ジクロロメタン/ヘキサンを0.1 gは4 ml × 2, 0.2 gは4 ml × 3, 0.3 gは4 ml × 4, 0.4 gは4 ml × 5, 0.5 gは4 ml × 6それぞれで溶出させた後, 全ての実験区でトルエン20 ml × 6で溶出させた。

その結果, PCB114以外の同族体は0.1 ~ 0.5 gにおける分画に問題は見られなかったが, 特にPCB114はヘキサンによる溶出が目立ち, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 gそれぞれで53, 38, 14, 12, 10%が溶出された。以上の結果から0.3 g以上であればPCB114のヘキサンへの溶出が15%未満であったので活性炭シリカゲルの量は0.3 gと決定した。また, 25% (v/v) ジクロロメタン/ヘキサンでは0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 gそれぞれで4, 8,

12, 16, 20 mlまでに全てのMono-*ortho*-PCBsは溶出していた。一方, トルエンでは0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 gそれぞれで20, 40, 60, 80, 100 mlの流量でOCDD/Fの98%以上, それ以上の流量では100%の溶出が観察された。PCB114以外の同族体を溶出させるのに必要な溶媒量は両方共, 活性炭シリカゲルの量に比例的な関係にあった。以上よりヘキサン流出後の活性炭シリカゲルに吸着しているダイオキシン類を溶出するための条件は25% (v/v) ジクロロメタン/ヘキサン12 mlでMono-*ortho*-PCBs, トルエン60 mlでNon-*ortho*-PCBs/PCDDs/PCDFsを溶出させることとした。

なお, 検出および定量はすべて高分解能カスクロマトグラフィー-高分解能質量分析計 (HRGC-HRMS) を用いた測定条件の詳細は表28に示した。

3) タンデム式多層シリカゲル 活性炭シリカゲル

クロマトグラフィーのヒト全血試料への適用性の確認

次にヒト全血試料プールを3 l用意した。1試料に使用した全血量は50 gである。このプール試料を用いて上記の簡易クリーンアップ法の適用の可否を確認した。実験の詳細は表27の中の簡易クリーンアップ法への適用に示した。結果的に簡易法は従来法と比較して同族体において有意差もなくほぼ同値であった。そして簡易クリーンアップ法RSD (%) は15%未満であり,

表28 HRGC-HRMSのための測定条件

HRGC (6890 series GC system, Agilent, USA)	
GC Capillary column	
Mono- <i>ortho</i> -PCBs	
CP-Sil 8 CB low bleed/MS (VARIAN), 30m × 0.25mm ID, 0.25 μm film thickness	
Non- <i>ortho</i> -PCBs, PCDDs/Fs	
CP-Sil 8 CB low bleed/MS (VARIAN), 60m × 0.25mm ID, 0.25 μm film thickness	
Ramp of Oven Temp.	
Splitless Inj.	
Injection Port Temp. (260 °C)	
Mono- <i>ortho</i> -PCBs	
120 °C (1min)-(30 °C/min)-200 °C (0min)-(5 °C/min)-270 °C (1min)	
Non- <i>ortho</i> -PCBs, PCDDs/Fs	
120 °C (1.5min)-(15 °C/min)-200 °C (0min)-(3 °C/min)-300 °C (0min)-(5 °C/min)-310 °C (5min)	
HRMS (JMS 700, JEOL, Japan)	
Ionizing current : 700 μA	Accelerating voltage : 10 kV
Ionizing energy : 42 eV	Ion multiplier voltage : 1.5 kV
Resolution : R > 8 000 (10% valley)	
Measurement Mass : Selected Ion Monitor (SIM) *using PFK	
¹² C ₁₂ - and ¹³ C ₁₂ - TCB, TCDD/F, PeCDD	M ⁺ , (M+2) ⁺
¹² C ₁₂ - and ¹³ C ₁₂ - Pe-HxCB, PeCDF, Hx-OCDD/F	(M+2) ⁺ , (M+4) ⁺

* When the peak area ratio on the chromatogram for two monitored ions is almost equal to that of the standard substance and ion strength ratio is within ± 15%, against those of values estimated with the isotopic abundance of chlorine atoms.

表29 ヒト全血試料におけるダイオキシン類のクリーンアップのためのタンデムカラムの適用性の可否

化合物	濃度 (pg/kg wet)** , % RSD				回収率 (%) *	
	従来法		タンデム法		従来法	タンデム法
PCDDs						
2,3,7,8-TCDD	3.7	11	4.1	10	96	97
2,3,4,7,8-PeCDD	14	9	15	7	97	99
1,2,3,4,7,8-HxCDD	8.5	6	8.6	8	92	88
1,2,3,6,7,8-HxCDD	67	8	69	8	90	91
1,2,3,7,8,9-HxCDD	15	8	15	9	86	90
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	53	5	54	6	89	94
OCDD	1200	9	1200	5	80	81
PCDFs						
2,3,7,8-TCDF	4.0	13	4.2	12	102	103
1,2,3,7,8-PeCDF	2.5	14	2.5	14	94	96
2,3,4,7,8-PeCDF	43	7	46	9	93	92
1,2,3,4,7,8-HxCDF	13	8	13	8	85	85
1,2,3,6,7,8-HxCDF	16	9	16	8	77	77
1,2,3,7,8,9-HxCDF	ND	ND	ND	ND	84	85
2,3,4,6,7,8-HxCDF	5.5	15	5.7	11	86	84
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	10	11	11	6	87	86
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	ND	ND	ND	ND	85	87
OCDF	ND	ND	ND	ND	80	83
Non-ortho-PCBs						
3,3',4,4'-TCB (#81)	9.2	3	8.9	7	85	83
3,4,4',5-TCB (#77)	60	10	55	9	81	83
3,3',4,4',5'-PeCB (#126)	170	10	150	8	88	90
3,3',4,4',5,5'-HxCB (#169)	140	8	140	9	89	84
Mono-ortho-PCBs						
2',3,4,4',5'-PeCB (#123)	1000	6	980	6	100	89
2,3',4,4',5'-PeCB (#118)	52000	6	49000	8	99	91
2,3,4,4',5'-PeCB (#114)	2900	7	2800	8	92	80
2,3,3',4,4'-PeCB (#105)	7100	5	6700	6	95	92
2,3',4,4',5,5'-HxCB (#167)	8500	5	8100	4	93	84
2,3,3',4,4',5'-HxCB (#156)	14000	3	14000	7	90	90
2,3,3',4,4',5'-HxCB (#157)	3500	6	3200	8	88	90
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (#189)	2700	7	2600	6	93	93
Congeners group -TEQ						
PCDDs-TEQ	27	7	29	7		
PCDFs-TEQ	26	7	27	9		
Non-ortho-PCBs-TEQ	18	9	17	8		
Mono-ortho-PCBs-TEQ	17	3	16	6		
Total-TEQ	87	5	89	5		

○: 使用プール全血は Pool II, *: 平均値, **: ¹³C₁₂-labeled internal standard による平均値

精度面に問題なく適用可能であることが確認できた (表29)。よって以降の検討はタンデムカラムを採用した。

(3) ダイオキシン類抽出法の最適化の検討

ヒト全血試料プール , , をそれぞれ3 lずつ用意した。これらプール試料を用いて、抽出法の最適化の検討を行った、そして表27に示したように 1) 代表的な液々溶媒抽出法 2) ASE法 3) アルカリ分解法での検討を行い最適な全血液試料からのダイオキシン類抽出のための方法を見いだすことを目的とした。1試

料に使用した全血量は50 gである。

1) 代表的な液々溶媒抽出法

代表的な3つの液々抽出法において濃度数値から見て、全同族体で有意差はなく、ほぼ同値の結果が得られた (表30)。RSD (%) はAcが20%以下、EとCMが全同族体で15%未満であり、既報の本検討のような超低濃度分析の結果²²⁻²⁴⁾と比較して精度としては安定していた。使用溶媒の毒性を考慮するとEが最適であると判断した。また、回収率に差は見られなかった。

表30 ヒト全血試料における代表的なダイオキシン類抽出のための液々溶媒抽出法での比較

化合物	濃度 (pg/kg wet) *, % RSD						回収率 (%) **		
	E		Ac		CM		E	Ac	CM
PCDDs									
2,3,7,8-TCDD	4.1	11	4.4	20	4.0	13	96	95	95
2,3,4,7,8-PeCDD	15	9	14	8	14	8	94	93	91
1,2,3,4,7,8-HxCDD	7.7	6	7.6	8	7.9	6	91	89	89
1,2,3,6,7,8-HxCDD	65	6	62	4	64	6	91	88	90
1,2,3,7,8,9-HxCDD	13	6	13	5	14	5	86	88	89
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	48	10	43	8	44	6	80	82	80
OCDD	1200	6	1200	5	1300	5	82	81	84
PCDFs									
2,3,7,8-TCDF	4.2	11	4.2	9	4.2	9	94	97	96
1,2,3,7,8-PeCDF	2.4	12	2.5	11	2.4	10	96	95	96
2,3,4,7,8-PeCDF	35	7	33	4	34	8	94	93	92
1,2,3,4,7,8-HxCDF	11	6	12	5	12	9	86	87	89
1,2,3,6,7,8-HxCDF	15	8	14	4	14	7	80	79	80
1,2,3,7,8,9-HxCDF	ND		ND		ND		79	81	79
2,3,4,6,7,8-HxCDF	5.1	13	4.7	11	5.3	11	80	81	80
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	9.3	12	9.7	12	10.3	10	83	82	81
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	ND		ND		ND		81	85	81
OCDF	ND		ND		ND		81	80	83
Non-ortho-PCBs									
3,3',4,4'-TCB (#81)	6.1	7	6.1	8	6.0	9	84	84	86
3,4,4',5'-TCB (#77)	61	6	58	10	61	8	83	79	80
3,3',4,4',5'-PeCB (#126)	210	6	220	9	210	5	86	81	82
3,3',4,4',5,5'-HxCB (#169)	140	9	140	10	140	8	84	79	84
Mono-ortho-PCBs									
2',3,4,4',5'-PeCB (#123)	960	5	910	8	930	7	85	86	85
2,3',4,4',5'-PeCB (#118)	46000	6	44000	6	45000	8	95	95	94
2,3,4,4',5'-PeCB (#114)	2900	8	2700	6	2800	9	80	81	81
2,3,3',4,4',5'-PeCB (#105)	7100	5	6900	4	7000	5	94	91	96
2,3',4,4',5,5'-HxCB (#167)	7600	4	7300	5	7600	7	97	93	91
2,3,3',4,4',5'-HxCB (#156)	15000	3	15000	6	15000	8	100	98	98
2,3,3',4,4',5'-HxCB (#157)	3300	9	3500	8	3400	4	93	91	93
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (#189)	2500	8	2500	6	2400	7	95	93	92
Congeners group-TEQ									
PCDDs-TEQ	29	7	27	5	27	4			
PCDFs-TEQ	21	7	20	4	21	7			
Non-ortho-PCBs-TEQ	22	6	23	9	22	5			
Mono-ortho-PCBs-TEQ	16	2	16	5	16	3			
Total-TEQ	89	3	86	2	87	2			

○: 使用プール全血は Pool II, *: 平均値, **: ¹³C₁₂-labeled internal standard による平均値

2) ASE抽出法

ASE法では先のEをコントロールにAEとAAcを比較した。濃度数値から見て、上記と同様に全同族体で有意差はなく、ほぼ同値の結果が得られた(表31)。RSD(%)は全ての方法の同族体で15%以下であり、中でもAAcは10%以下と超微量定量としての精度としては非常に良好な結果が得られた。また、回収率の面ではHpCDD/F, OCDD/FでのAAcの回収率は有意にEよりも高値であった。AEでもその効果は向上していたが、よりAAcが良好であったのはASEによって溶媒が高温、

高圧になることによってAEもAAcも抽出効率が向上したが、AAcの方がより試料への溶媒の浸透が良好でありより抽出効率が向上したためと考えられる。以上より液々抽出法とASE法のいわゆる脂質抽出を伴う方法の中でAAc法が最適であることが明らかとなった。

3) アルカリ分解抽出法

窒素置換の有無によるアルカリ分解抽出法

以前よりアルカリ分解抽出法は高温下²⁵⁾だけではなく室温下^{17, 26, 27)}でさえも高塩素のPCDDs/Fs特にOCDFの

表31 ヒト全血試料におけるASE抽出法への適用の可否

化合物	濃度 (pg/kg wet) *, % RSD						回収率 (%) **		
	E		AE		AAc		E	AE	AAc
PCDDs									
2,3,7,8-TCDD	4.3	12	4.5	11	4.3	9	93	95	97
2,3,4,7,8-PeCDD	17	8	18	6	18	6	91	92	93
1,2,3,4,7,8-HxCDD	6.2	9	7.0	9	6.8	6	88	89	93
1,2,3,6,7,8-HxCDD	76	10	80	7	80	6	81	84	91
1,2,3,7,8,9-HxCDD	15	10	15	3	15	2	80	84	91
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	44	7	48	7	49	4	76	80	93
OCDD	1300	8	1400	6	1400	2	75	76	92
PCDFs									
2,3,7,8-TCDF	3.0	14	2.9	11	2.8	7	96	97	94
1,2,3,7,8-PeCDF	2.0	15	2.1	13	2.0	9	94	96	98
2,3,4,7,8-PeCDF	36	10	37	5	37	2	90	91	91
1,2,3,4,7,8-HxCDF	12	10	12	6	12	5	88	93	89
1,2,3,6,7,8-HxCDF	16	10	18	6	17	2	84	91	88
1,2,3,7,8,9-HxCDF	ND		ND		ND		85	87	92
2,3,4,6,7,8-HxCDF	6.8	13	7.5	10	7.1	7	84	84	90
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	12	10	14	10	13	9	76	84	94
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	ND		ND		ND		78	83	93
OCDF	ND		ND		ND		71	81	92
Non-ortho-PCBs									
3,3',4,4'-TCB (#81)	8.7	9	8.3	9	8.8	10	83	87	84
3,4,4',5'-TCB (#77)	76	10	76	11	76	4	80	87	85
3,3',4,4',5'-PeCB (#126)	240	8	250	5	240	8	84	87	87
3,3',4,4',5,5'-HxCB (#169)	150	8	160	10	160	8	80	81	82
Mono-ortho-PCBs									
2',3,4,4',5'-PeCB (#123)	840	9	840	9	870	7	83	87	86
2,3',4,4',5'-PeCB (#118)	47000	6	46000	11	48000	7	91	96	98
2,3,4,4',5'-PeCB (#114)	2900	6	2900	10	3100	8	79	80	80
2,3,3',4,4'-PeCB (#105)	8400	8	8700	8	8500	4	86	88	88
2,3',4,4',5,5'-HxCB (#167)	7100	7	7300	10	7200	7	79	87	89
2,3,3',4,4',5'-HxCB (#156)	17000	3	19000	11	18000	6	83	84	81
2,3,3',4,4',5'-HxCB (#157)	4100	9	4200	10	4100	7	83	88	86
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (#189)	2000	9	2100	8	2100	5	86	87	86
Congeners group -TEQ									
PCDDs -TEQ	32	5	33	6	33	6			
PCDFs -TEQ	22	8	23	3	23	2			
Non-ortho-PCBs -TEQ	26	7	27	4	26	8			
Mono-ortho-PCBs -TEQ	18	4	19	10	19	5			
Total-TEQ	97	3	100	2	100	3			

○: 使用プール全血は Pool III, *: 平均値, **: ¹³C₁₂-labeled internal standard による平均値

回収率の低下が指摘されていた。大高らはその原因を酸化もしくは酸素に関連するラジカルによるものとして、抗酸化剤のピロガロールを試料に添加してその回収率の低下の抑制に成功したことを報告している¹⁷⁾。そこで我々はアルカリによる上記のメカニズムの確認を含めてアルカリ分解抽出法を検討した。コントロールにE、従来の常温によるアルカリ分解抽出法(A)、窒素を充填した容器内での常温によるアルカリ分解抽出法(NA)間での比較により検討を行った(いずれも終濃度0.75M KOH-ethanol)。

濃度数値から見て、全同族体で有意差はなく、ほぼ同値の結果が得られた。RSD(%)はAが20%を超える同族体も観察され、その上PCDD-TEQで10%を超えていたのに対し、E、NAは全同族体で16%以内であった(表32)。回収率ではAのOCDDおよびOCDFはそれぞれ64%および55%であるのに対し、EとNAは両方共、全て80%以上であり、Aに対して有意に高値であった。以上より回収率が低くとも内部標準で補正されて他の方法とほぼ同値の結果であったので従来アルカリ分解法は方法として問題があるわけではないことが確認できたも

表32 ヒト全血試料における窒素置換の有無によるアルカリ分解抽出法の比較

化合物	濃度 (pg/kg wet) *, % RSD						回収率 (%)**		
	E		A		NA		E	A	NA
PCDDs									
2,3,7,8-TCDD	3.7	11	4.4	12	4.4	11	96	98	99
2,3,4,7,8-PeCDD	14	9	14	16	13	9	97	88	92
1,2,3,4,7,8-HxCDD	8.5	6	8.5	12	8.2	9	92	89	90
1,2,3,6,7,8-HxCDD	67	8	72	8	68	9	90	92	89
1,2,3,7,8,9-HxCDD	15	8	15	14	14	9	86	90	84
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	53	5	51	8	51	10	89	80	90
OCDD	1200	9	1100	8	1200	9	80	64	80
PCDFs									
2,3,7,8-TCDF	4.0	13	4.3	16	4.4	16	102	94	98
1,2,3,7,8-PeCDF	2.5	14	2.6	10	2.7	10	94	92	90
2,3,4,7,8-PeCDF	43	7	45	9	43	7	93	86	88
1,2,3,4,7,8-HxCDF	13	8	14	20	13	8	85	87	77
1,2,3,6,7,8-HxCDF	16	9	16	17	16	9	77	82	76
1,2,3,7,8,9-HxCDF	ND		ND		ND		84	91	84
2,3,4,6,7,8-HxCDF	5.5	15	5.9	20	5.3	12	86	98	83
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	10	11	11	21	10	7	87	80	87
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	ND		ND		ND		85	71	84
OCDF	ND		ND		ND		80	55	82
Non-ortho-PCBs									
3,3',4,4'-TCB (#81)	9.2	3	9.5	6	9.6	8	85	80	83
3,4,4',5'-TCB (#77)	60	10	58	7	59	8	81	78	79
3,3',4,4',5'-PeCB (#126)	170	10	160	8	160	8	88	87	91
3,3',4,4',5,5'-HxCB (#169)	140	8	140	8	140	7	89	82	84
Mono-ortho-PCBs									
2',3,4,4',5'-PeCB (#123)	1000	6	950	4	980	5	86	88	86
2,3',4,4',5'-PeCB (#118)	52000	6	48000	7	51000	6	99	88	91
2,3,4,4',5'-PeCB (#114)	2900	7	2900	4	2800	4	80	81	82
2,3,3',4,4'-PeCB (#105)	7100	5	6900	5	7000	5	95	90	93
2,3',4,4',5,5'-HxCB (#167)	8500	5	7900	2	8200	4	93	86	90
2,3,3',4,4',5'-HxCB (#156)	14000	3	14000	4	14000	3	90	87	87
2,3,3',4,4',5'-HxCB (#157)	3500	6	3600	8	3400	9	88	85	90
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (#189)	2700	7	2700	4	2800	8	93	91	91
Congeners group -TEQ									
PCDDs -TEQ	27	7	28	12	27	9			
PCDFs -TEQ	26	7	27	9	26	7			
Non-ortho-PCBs -TEQ	18	9	18	7	18	7			
Mono-ortho-PCBs -TEQ	17	3	16	3	16	3			
Total-TEQ	87	5	89	7	88	6			

○: 使用プール全血は Pool I, *: 平均値, **: ¹³C₁₂-labeled internal standard による平均値

A: Liquid-liquid extraction by using hexane with KOH/ethanol-treatment (Final level of 0.75M KOH) at overnight

NA: Method A in the inside of the container filled up with nitrogen

の、NAは窒素充填するだけでOCDD/FでEと変わらない良好な回収率が観察された。このことより従来のアルカリ分解法によるOCDFの分解が酸化に関連するものであることを裏付ける結果となった。

ピロガロール存在下によるアルカリ分解抽出法

先のNAをコントロールとして抗酸化剤であるピロガロール存在下における大高らによって報告された低濃度アルカリ分解抽出法を全血試料のために若干変更した方

法 (PLA: 終濃度0.75M KOH-ethanol, 1%ピロガロール, 70℃, 15分) とマトリックスのたんぱく質と脂質の両方を十分に分解させるために松田らがこれを若干改良した方法¹⁸⁾を全血試料のために若干変更した方法、すなわち、タンパク質分解と脂質分解の2段階のアルカリ分解工程を含む高濃度アルカリ分解抽出法 (PHA: 終濃度7.5M KOH water, 1.5%ピロガロール, 50℃, 15分 終濃度5 M KOH water-ethanol, 1%ピロガロール, 50℃, 15分) での比較検討を行った。PHAに関し

ては、さらに飯田らの報告²⁰⁾で硫酸処理による脂質除去後には多層シリカゲルではなく硝酸銀シリカゲルを通すだけで十分なクリーンアップが達成できていることから、PHAも硫酸処理後と同等の効果があることを予測して硝酸銀シリカゲルカラムで十分と判断しこれを採用

した。

濃度数値から見て、上記と同様に全同族体で有意差はなく、ほぼ同値の結果が得られた(表33)。RSD(%)は全ての方法の同族体で15%以下であり、中でもPHAは11%以下と超微量定量としての精度としては非常に

表33 ヒト全血試料におけるピロガロール存在下でのアルカリの低濃度と高濃度によるマトリックス分解におけるダイオキシン類の抽出法の比較

化合物	濃度 (pg/kg wet) *, % RSD						回収率 (%) **		
	NA		PLA		PHA***		NA	PLA	PHA***
PCDDs									
2,3,7,8-TCDD	4.3	12	4.1	9	4.2	6	95	94	95
2,3,4,7,8-PeCDD	17	8	17	9	17	8	87	88	89
1,2,3,4,7,8-HxCDD	6.6	12	6.2	8	6.6	5	88	90	90
1,2,3,6,7,8-HxCDD	81	9	75	8	77	7	88	93	90
1,2,3,7,8,9-HxCDD	15	8	14	9	15	4	87	89	89
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	47	9	48	7	44	7	78	92	91
OCDD	1300	8	1300	7	1300	5	78	94	89
PCDFs									
2,3,7,8-TCDF	2.6	13	2.6	11	2.7	9	93	97	95
1,2,3,7,8-PeCDF	1.9	14	1.9	11	2.0	11	96	94	92
2,3,4,7,8-PeCDF	35	9	36	8	36	5	90	94	95
1,2,3,4,7,8-HxCDF	12	12	11	9	12	6	87	93	93
1,2,3,6,7,8-HxCDF	16	9	16	8	16	9	86	87	91
1,2,3,7,8,9-HxCDF	ND		ND		ND		85	90	94
2,3,4,6,7,8-HxCDF	6.9	14	6.7	10	6.5	8	86	87	95
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	12	14	12	13	13	9	81	92	92
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	ND		ND		ND		80	91	90
OCDF	ND		ND		ND		79	91	90
Non-ortho-PCBs									
3,3',4,4'-TCB (#81)	8.9	9	8.4	9	8.3	5	83	85	86
3,4,4',5-TCB (#77)	77	8	74	8	78	9	82	84	82
3,3',4,4',5-PeCB (#126)	240	8	250	9	240	7	86	87	88
3,3',4,4',5,5'-HxCB (#169)	150	9	160	8	160	9	81	83	82
Mono-ortho-PCBs									
2',3,4,4',5-PeCB (#123)	830	7	800	4	820	1	88	87	89
2,3',4,4',5-PeCB (#118)	46000	6	43000	8	46000	9	91	92	93
2,3,4,4',5-PeCB (#114)	2800	8	2800	7	2800	8	78	81	82
2,3,3',4,4'-PeCB (#105)	8100	7	8100	9	8700	7	85	84	97
2,3',4,4',5,5'-HxCB (#167)	6900	4	6700	4	7000	6	84	87	83
2,3,3',4,4',5-HxCB (#156)	18000	8	18000	9	18000	4	86	84	83
2,3,3',4,4',5'-HxCB (#157)	4400	8	4000	9	4100.0	8	85	87	82
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (#189)	2100	8	2100	6	2000	5	83	89	85
Congeners group-TEQ									
PCDDs-TEQ	32	6	32	6	32	6			
PCDFs-TEQ	22	9	22	7	22	4			
Non-ortho-PCBs-TEQ	26	7	27	8	26	6			
Mono-ortho-PCBs-TEQ	18	4	18	5	18	3			
Total-TEQ	98	4	98	2	98	3			

○: 使用プール全血は Pool III, *: 平均値, **: ¹³C₁₂-labeled internal standard による平均値 ***: using tandem combination silver nitrate and carbon column

NA: Liquid-liquid extraction by using hexane with KOH/ethanol-treatment (Final level of 0.75M KOH) in the inside of the container filled up with nitrogen

PLA: Liquid-liquid extraction by using hexane with KOH/ethanol-treatment after addition of pyrogallol solution (Final level of 0.75M KOH and 1% pyrogallol) at 70°C for 15min

PHA: Liquid-liquid extraction by using hexane with high level KOH-treatment addition of pyrogallol solution (Final level of 7.5M KOH and 1.5% pyrogallol) at 50°C for 15min. Then additional ethanol (Final level of 5M KOH and 1% pyrogallol) at 50°C for 15min.

良好な結果が得られた。また、回収率の面ではPLAおよびPHAのOCDD/Fの回収率は90%近くであった。これよりPHAのみはタンデムカラムの上部により簡易な硝酸銀シリカゲルカラムを採用しているためPHAが簡易化の面で最適な方法であった。

以上より、最も簡易である方法はPHAであるが、血液中のダイオキシン濃度は試料重量当たりの濃度としての表示かあるいは脂質重量当たりの濃度としての表示で示すのでこの方法は脂質ベースで示すためには別途で脂質重量を測定するための溶媒抽出を行わなければならないが前者の表示による場合では最適な方法である。なお、ASE法は凍結乾燥を行う前に $^{13}\text{C}_{12}$ -内部標準物質を添加した結果である。このことから全血試料の凍結乾燥中のダイオキシン類に揮散がないことも確認できた。また、今回の検討で用いた方法はいずれも既報により確立されたものである。それぞれの検討を通してクロマトグラムの形状に関して特徴のある差も観察されなかった。図16-1~4にEとPHAのクロマトグラムを示す。検討したこれらの方法の中に濃度数値、RSD、クロマトグラムの形状より分析に支障をきたすような方法は確認されなかった。なお、脂質重量当たりの濃度での表示が必要な場合に関しては血液中に脂質の主な組成の一つにリン脂質があるため次の水洗いの検討を含めて考察することにした。

(4) 脂質抽出を伴うダイオキシン類の抽出法のための最適化の検討

上記の検討では代表的な溶媒を用いた液々抽出法およびASE法における方法も行っているがさらにそれぞれの方法で水洗いの程度を変えた際の抽出脂質量およびダイオキシン類濃度の比較検討(表34)を行うことで最適な脂質抽出を伴うダイオキシン類の抽出法を見いだすことを目的とした。

まずプールを用いて表34の全ての抽出方法においてそれぞれ水洗いの方法を無、手振り30回および振盪30分の3通りずつ行い、10gの試料からの抽出脂質量の変遷を検討した。その後のダイオキシン類の測定を要する試料に関しては1試料当たり50g使用した。クリーンアップ法およびHRGC-HRMSによる測定条件は前述と同様である。抽出脂質の組成分析、すなわちコレステロールエステル(CE)、遊離コレステロール(FC)、中性脂肪(モノ、ジ体を含むトリグリセリド; TG)と

リン脂質(PL)には日立自動分析装置7070(日立製作所)でデタミナーL(協和メディクス)を予備検討で抽出脂質試料への適用性を確認してから用いた。

代表的な液々抽出法やASE法間での脂質抽出量は水洗い無の場合のみ各方法で差があった。特にAcはE、AEおよびAAcに対して有意に低値($p<0.05$)であった(図17)。しかし全ての方法において手振り30回以降での脂質抽出量は近似する結果となった。これより脂質抽出量に関しては抽出法が異なっても手振り30回以上の水洗いをすればこれらのどの方法でも同様の結果が得られることが明らかとなった。よって以降の水洗いに関しての検討は手振り30回と振盪30分に絞って各種抽出法での検討を行った。まず、抽出脂質組成を手振り30回におけるE、AcおよびCMで見るとおおむね同様であった(図18)。このことはE、AEおよびAAcにおいても同様であった。しかし、振盪30分後ではリン脂質がどの方法においても最も低減していることが確認された(図19)。これはRyanら¹⁹⁾の報告で示されている血液試料からの抽出脂質の中でリン脂質の扱いに最も注意が必要であることを裏付ける結果であった。これらの脂質低減の結果がどの程度ダイオキシン類測定値に影響を及ぼすのかを検討すると、血液試料中のダイオキシン類測定がHRGC-HRMSの定量下限に近い分析のため有意差の有無は同様ではなかったが全ての方法において振盪30分後の脂質重量当たりで計算した測定値は手振り30回に対しておおむね110~120%の高値となることが確認された(表35)。このことは全ての個々の同族体においても同様な結果であった。つまり脂質重量当たりの重量として表示するための脂質抽出を伴うダイオキシン類の抽出法においては代表的な溶媒を選択し、その工程が適切であれば同様な結果が得られるが、手振り30回程度の水洗いに留める必要がある。そして、凍結乾燥を施した試料の保管のための一環として見る(凍結乾燥をした試料は試料の変性を防ぎ、元の試料に比べて保管にかかるスペースが節約できる)か、あるいは人的には時間を要する工程と見なさなければ、脂質抽出を伴うダイオキシン類の抽出法としてはAAcが最適であろう。

(5) まとめ

結論として、抽出法は脂質重量あたりの表示でダイオキシン濃度を示す必要がない場合はPHA法、必要がある場合はAAc法を選択し、その上でクリーンアップ法

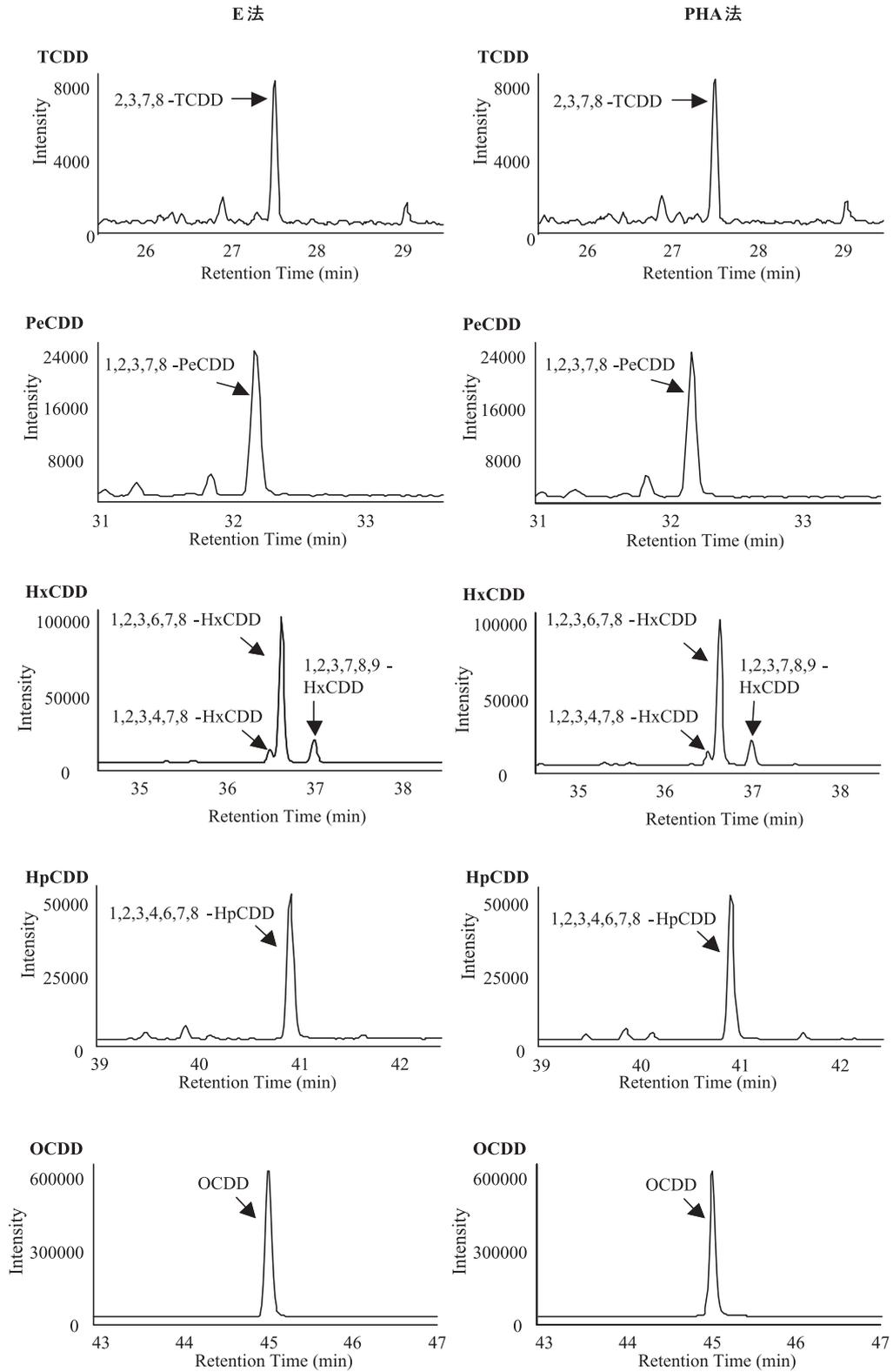


図16-1 ヒト全血試料におけるE法とPHA法におけるPCDDsのクロマトグラムの比較

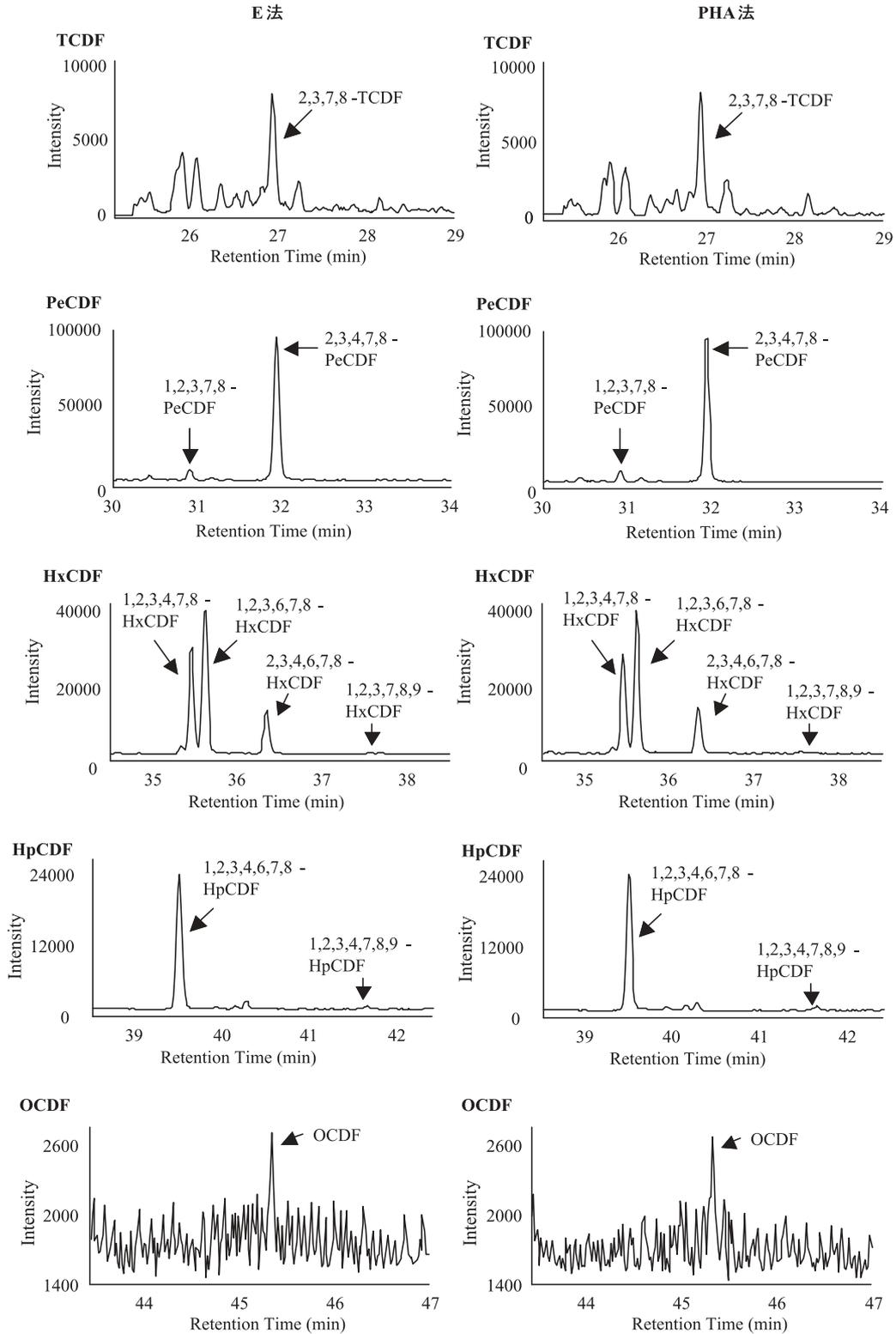


図16-2 ヒト全血試料におけるE法とPHA法におけるPCDFsのクロマトグラムの比較

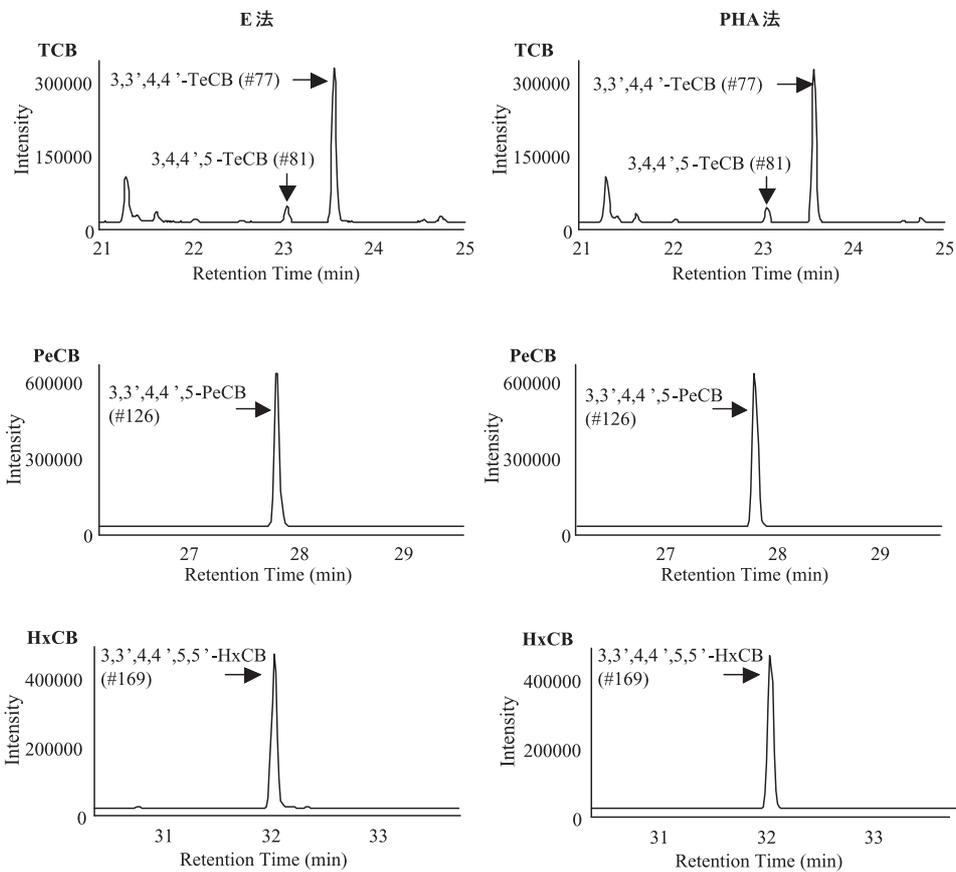


図 16-3 ヒト全血試料における E 法と PHA 法における Non-ortho-PCBs のクロマトグラムの比較

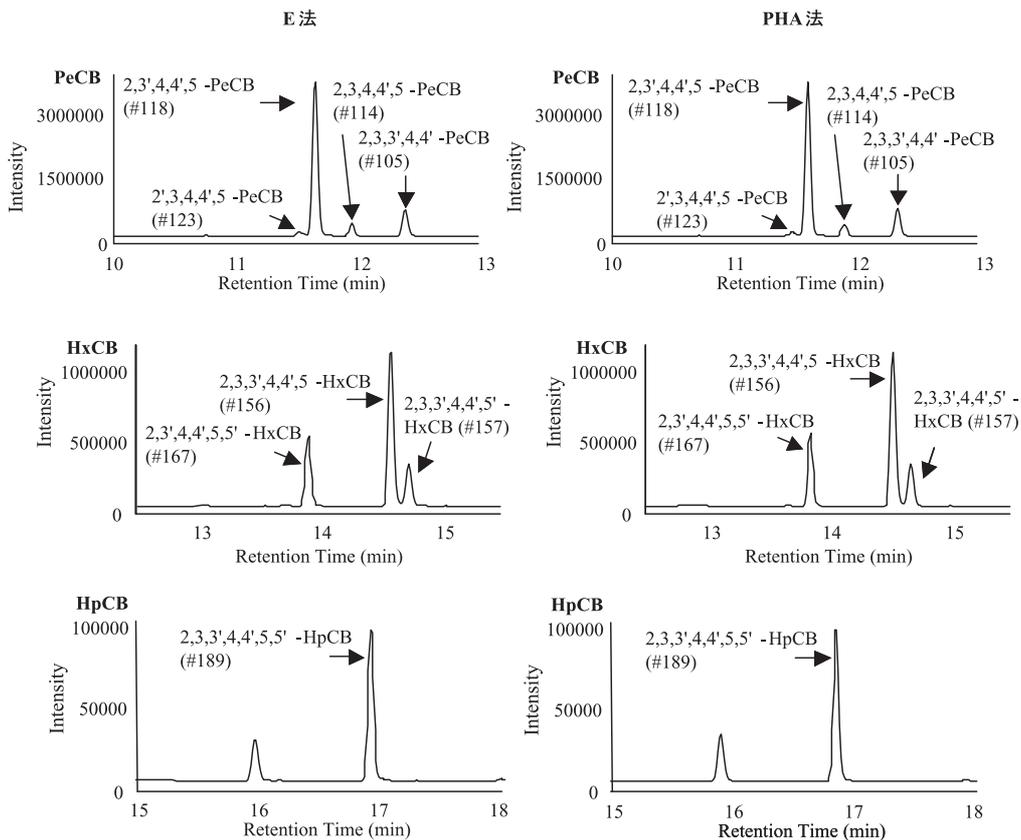


図 16-4 ヒト全血試料における E 法と PHA 法における Mono-ortho-PCBs のクロマトグラムの比較

表34 全血中における単位脂質当たりのダイオキシン類測定のための脂質抽出法の最適化の検討

実験	抽出方法	水洗い	使用プール全血
代表的な液々溶媒抽出法 (n=6)	・液々抽出法エタノール /ヘキサン (E) ¹⁾	(無) 手振り 30回 振盪 30分	プールのII プールのI プールのIII
	・液々抽出法アセトン /ヘキサン (Ac) ²⁾	(無) 手振り 30回 振盪 30分	
	・液々抽出法クロロホルム /メタノール (CM) ³⁾	(無) 手振り 30回 振盪 30分	
ASE法* (n=3)	・液々抽出法エタノール /ヘキサン (E) (コントロール)	(無) 手振り 30回 振盪 30分	
	・ASE法エタノール /ヘキサン (AE)	(無) 手振り 30回 振盪 30分	
	・ASE法アセトン /ヘキサン (AAc) ⁴⁾	(無) 手振り 30回 振盪 30分	
測定項目			
ダイオキシン類濃度 (pg/g lipid)			抽出脂質
<ul style="list-style-type: none"> ・ PCDDs 2,3,7,8 -TCDD 2,3,4,7,8 -PeCDD 1,2,3,4,7,8 -HxCDD 1,2,3,6,7,8 -HxCDD 1,2,3,7,8,9 -HxCDD 1,2,3,4,6,7,8 -HpCDD OCDD 	<ul style="list-style-type: none"> ・ PCDFs 2,3,7,8 -TCDF 1,2,3,7,8 -PeCDF 2,3,4,7,8 -PeCDF 1,2,3,4,7,8 -HxCDF 1,2,3,6,7,8 -HxCDF 1,2,3,7,8,9 -HxCDF 2,3,4,6,7,8 -HxCDF 1,2,3,4,6,7,8 -HpCDF 1,2,3,4,7,8,9 -HpCDF OCDF 	<ul style="list-style-type: none"> ・ Non-ortho-PCBs 3,3',4,4' -TCB (#77) 3,4,4',5 -TCB (#81) 3,3',4,4',5 -PeCB (#126) 3,3',4,4',5,5' -HxCB (#169) ・ Mono-ortho-PCBs 2',3,4,4',5 -PeCB (#123) 2,3',4,4',5 -PeCB (#118) 2,3,4,4',5 -PeCB (#114) 2,3,3',4,4' -PeCB (#105) 2,3',4,4',5,5' -HxCB (#167) 2,3,3',4,4',5 -HxCB (#156) 2,3,3',4,4',5' -HxCB (#157) 2,3,3',4,4',5,5' -HpCB (#189) 	抽出脂質総重量 ↓ 脂質の組成分析 ** コレステロールエステル (CE) 遊離コレステロール (FC) トリグリセライド: モノ, ジ体含む (TG) リン脂質 (PL)

○プール I での測定項目は E, Ac, CM, AE, AAc の 5 つの抽出法 (n=3) からの抽出脂質重量測定のみである。(無) はプール I でのみの検討である。*抽出前に凍結乾燥を行った。**抽出脂質の 1/20 を組成分析に用いた。

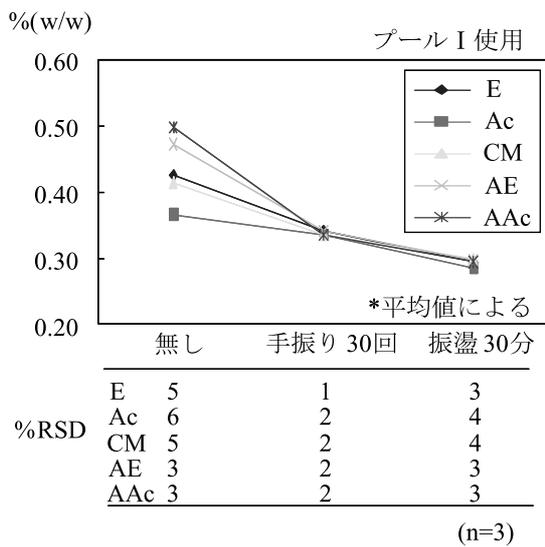


図 17 液々抽出法および水洗い方法による全血中脂質重量*の変遷

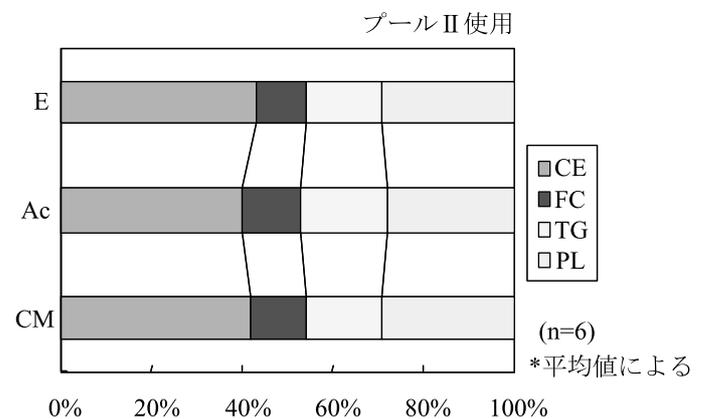


図 18 代表的な液々溶媒抽出法によって抽出された脂質の手振り 30 回の水洗い後の組成*

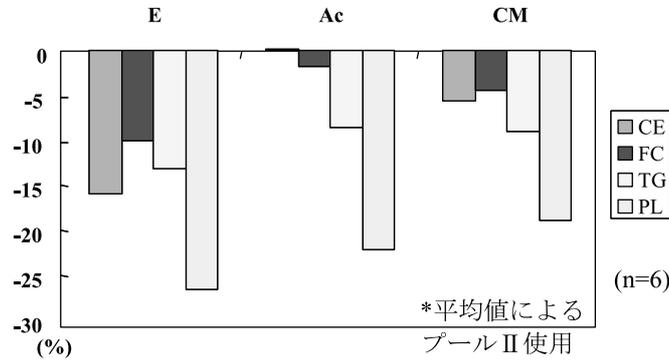


図19 水洗いによる手振り30回での各種抽出脂質成分を100とした時の振盪30分で減少した割合*

表35 水洗い方法による脂質ベースにおけるプール全血中ダイオキシン類濃度の違い

	手振り30回における濃度平均 *, % 振盪30分/手振り30回											
	液々抽出法 ○						ASE法 ○○					
	E		Ac		CM		E		AE		AAc	
Lipid weight % (w/w)	0.34	85	0.32	91	0.34	88	0.34	91	0.36	83	0.36	83
PCDDs												
2,3,7,8-TCDD	1.2	115	1.2	119	1.2	123	1.3	111	1.3	109	1.2	113
2,3,4,7,8-PeCDD	4.5	114	4.4	118	4.3	116	5.0	115	5.0	111	5.0	112
1,2,3,4,7,8-HxCDD	2.3	116	2.3	113	2.4	106	1.8	112	2.0	107	1.9	112
1,2,3,6,7,8-HxCDD	19	112	19	111	19	107	22	114	22	114	22	120
1,2,3,7,8,9-HxCDD	3.9	116	4.0	114	4.0	112	4.3	112	4.1	114	4.1	119
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	14	114	13	110	13	116	13	113	14	114	14	109
OCDD	370	116	390	105	370	111	380	112	380	107	380	108
PCDFs												
2,3,7,8-TCDF	1.3	117	1.3	107	1.3	107	0.87	106	0.81	112	0.78	116
1,2,3,7,8-PeCDF	0.72	120	0.77	110	0.73	117	0.59	111	0.59	108	0.55	112
2,3,4,7,8-PeCDF	10	112	10	120	10	112	11	110	10	111	10	108
1,2,3,4,7,8-HxCDF	3.4	111	3.6	109		114	3.6	111	3.4	113	3.4	112
1,2,3,6,7,8-HxCDF	4.3	112	4.3	108	4.2	113	4.8	116	4.9	114	4.8	111
1,2,3,7,8,9-HxCDF	ND		ND		ND		ND		ND		ND	
2,3,4,6,7,8-HxCDF	1.5	114	1.5	115	1.6	112	2.0	109	2.1	108	2.0	114
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	2.8	117	3.0	104	3.1	111	3.6	114	3.8	109	3.7	109
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	ND		ND		ND		ND		ND		ND	
OCDF	ND		ND		ND		ND		ND		ND	
Non-ortho-PCBs												
3,3',4,4'-TCB (#81)	1.8	111	1.9	113	1.8	115	2.6	104	2.3	114	2.4	108
3,4,4',5'-TCB (#77)	18	114	18	110	18	112	22	108	21	109	21	111
3,3',4,4',5'-PeCB (#126)	62	118	62	116	61	114	72	111	70	112	68	120
3,3',4,4',5,5'-HxCB (#169)	42	113	42	115	42	113	45	112	46	110	46	109
Mono-ortho-PCBs												
2',3,4,4',5'-PeCB (#123)	280	111	280	112	280	114	250	108	240	112	240	106
2,3',4,4',5'-PeCB (#118)	14000	109	14000	107	13000	116	14000	109	13000	122	13000	112
2,3,4,4',5'-PeCB (#114)	850	112	830	115	830	116	850	109	820	107	870	108
2,3,3',4,4'-PeCB (#105)	2100	109	2100	110	2100	112	2500	111	2400	109	2400	114
2,3',4,4',5,5'-HxCB (#167)	2300	112	2300	110	2300	115	2100	109	2000	112	2000	122
2,3,3',4,4',5'-HxCB (#156)	4500	111	4600	109	4500	114	5100	111	5200	108	4900	116
2,3,3',4,4',5'-HxCB (#157)	990	108	1100	106	1000	110	1200	111	1200	115	1100	120
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (#189)	740	111	780	109	730	122	590	111	600	109	580	114
Congeners group -TEQ												
PCDDs -TEQ	8.5	113	8.3	116	8.2	115	9.3	114	9.3	112	9.2	114
PCDFs -TEQ	6.4	112	6.3	118	6.2	112	6.4	110	6.4	111	6.3	109
Non-ortho- CoPCB -TEQ	6.6	118	6.6	116	6.6	114	7.7	111	7.5	112	7.2	119
Mono-ortho- CoPCB -TEQ	4.9	110	5.0	109	4.8	114	5.3	110	5.3	112	5.2	114
Total-TEQ	26	114	26	115	26	114	29	112	28	112	28	114

○: 使用プール全血は Pool II, ○○: 使用プール全血は Pool III 平均値, **: ¹³C₁₂-labeled internal standard による平均値

は今回血液試料のために最適化した多層シリカゲルカラムと活性炭シリカゲルカラムの2つのカラムをタンゲム化したカラムを奨励する。

2.3 ダイオキシン類のオンサイト測定法に関する研究

2.3.1 排ガスのリアルタイムモニタリング手法の開発に関する研究

(1) 目的

現在、ダイオキシンの主要な発生源は廃棄物焼却施設である。その焼却炉から排気されるガス中に含まれるダイオキシン量は周辺住民の健康に大きく関わるため、大きな関心が持たれている。焼却施設において、ごみ焼却後の排ガス中にどのくらいのダイオキシンが含まれているのかを連続的にモニタリングし、その計測結果を逐次現場の対応に生かすことは、ダイオキシン対策において非常に有効である。

本研究では、煙道排ガス中のダイオキシン濃度をオンサイト・オンラインで測定する装置の開発を行った。複数のカラムを組み合わせ、吸着と分離を連続的に行うことにより、夾雑物の除去とダイオキシン類の濃縮を行った。また、最終的な濃度計測にGC/MSを用いることにより、高感度分析や異性体に関する情報の取得が可能となることを目的としている。

(2) 装置と方法

煙道排ガス中のダイオキシン濃度をオンサイトで測定する全体の概略図を図20に示す。また、本研究で開発したモニタリング装置全体の概略を図21に示す。装置

は、排ガスを吸引し捕集する機能、捕集した排ガスを濃縮加熱脱離させる機能、脱離したダイオキシン類を夾雑成分と分離する機能（デュアルガスクロマトグラフ）、そしてGC/MS分析を行う機能など一連の機能を有する。

煙道排ガスの一部を積算機能を持つ流量計を介し、一定時間小型ポンプで吸引し捕集管に捕集する。吸引流速は流路の途中に設けた流量調整バルブにより、0.5～7 l/minの範囲で調整可能である。所定量の排ガスが捕集管を通過したところで10方バルブの流路を切り替える。次に捕集管を300℃まで急速に加熱し捕集成分を脱離させる。捕集管にはTenaxTAを充填し、その前後に石英ウールを約5 mm程度詰めたものを使用した。排ガス試料が通過する管、バルブ及びジョイントはヒータで約220℃に加熱保持した。

昇温脱離した成分を分離用キャピラリーカラム、MXT1（長さ15 m、内径0.53 mm、膜厚2 μm）にて分離し、分析目的であるダイオキシン類の溶出時間帯のみ、次段のコールドトラップにトラップする。ダイオキシン類溶出前の成分はそのままMSへ素通りし、排気される。ダイオキシン類溶出後はバックフラッシュを行い、不要な高沸点成分のGC/MS部への侵入を防ぐ。

バックフラッシュを開始した後、コールドトラップの冷却を解除し、通常と同様に昇温を行い、GC/MSにて分析を行う。分析カラムには、耐久性を重視し分離能及び分析時間の短縮なども考慮しDB5ms（長さ30 m、内径0.25 mm、膜厚0.25 μm）を用いた。高極性カラムは耐久性が劣るため用いなかった。オープン部分には

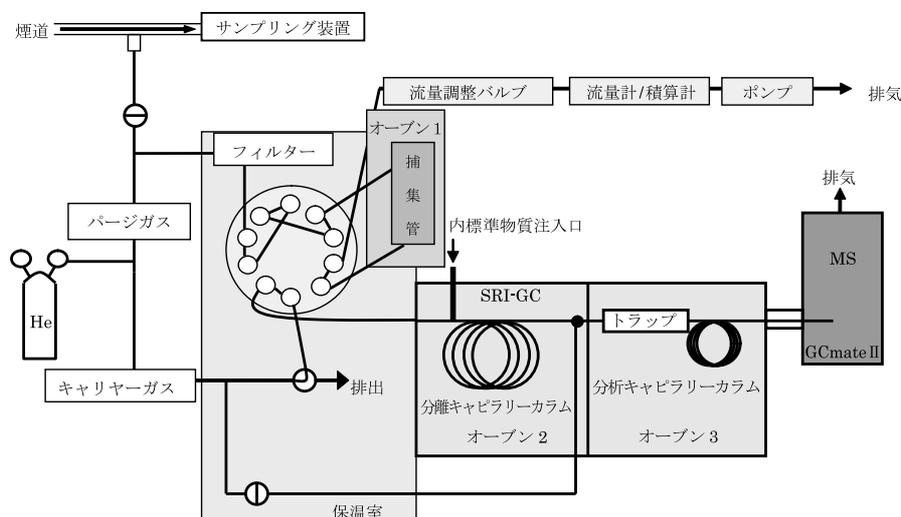


図20 装置の概略図

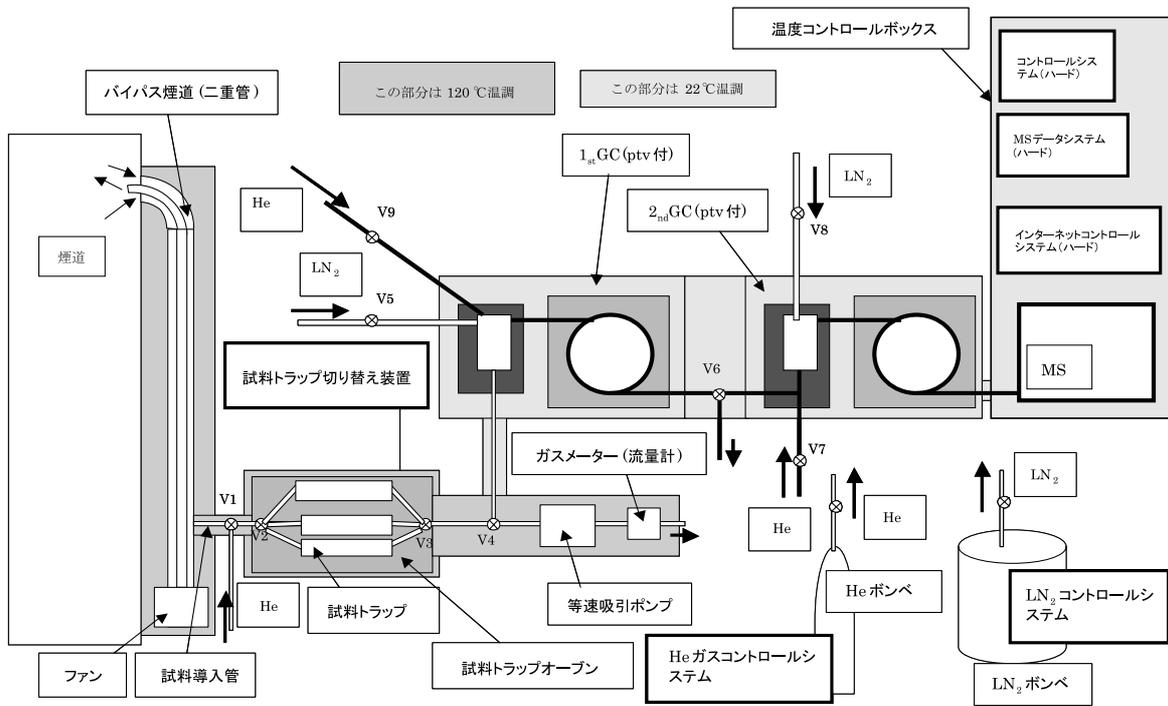


図21 ダイオキシン連続モニタリングシステム

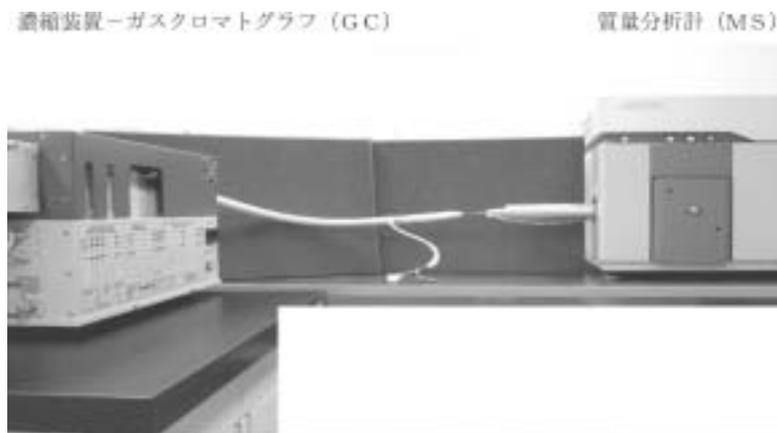


図22 作製した濃縮装置およびMSの部分写真

8610D デュアルオープン GC (SRI 社) に対し幾つかの改造を行い使用した。GC と MS の接続には 320 まで加熱可能なステンレススチール製のインターフェースを作製した。MS には小型質量分析計 (JMS-GCmate) を用いた。装置の全体写真を図 22 に示す。

(3) 結果および考察

2,3,7,8-位塩素置換異性体を含む標準液を用いて装置の動作条件の検討を行った。標準液はシリンジを用いてフィルター部に注入した。注入後は、ヘリウムガスにより捕集管に輸送されるように設定した。

動作標準液 5 μ l を用いて測定を行った 4 塩素化ダイ

オキシン・フランのマスクロマトグラムを図 23 に示す。出現ピークの同定を行うためにスキャンモード (分解能 1,000) で測定し、マススペクトルよりダイオキシン類と夾雑物との判別を行った。この測定ではコールドトラップを稼働させていなかったため、オープン 3 の温度 40 にて、分離用キャピラリーカラムからの溶出成分を、キャピラリーカラムの入り口付近にトラップし GC/MS 分析を行った。そのため、クロマトグラムのピーク幅は、同一カラムを用いた場合の通常のスプリットレス注入 GC/MS 装置に比べ 1.8 倍ブロードであった。

マススペクトルの高さより求めた同位対比は理論値に対し、約 15% 以内であった。PeCDF では M+4 (m/z

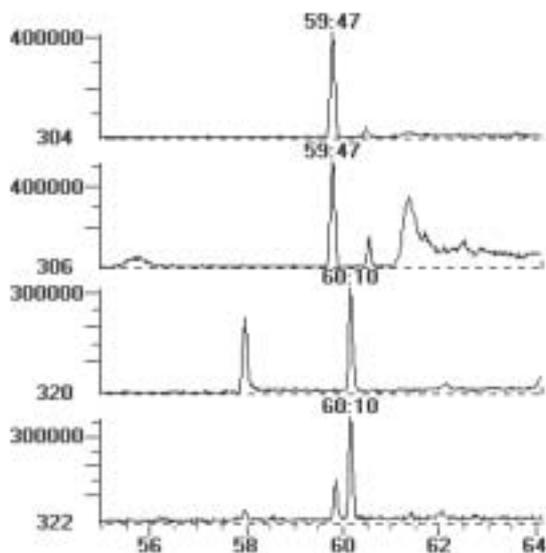


図23 TeCDD/TeCDFのマスクロマトグラム

342) に、PeCDDではM+2 (m/z 356) に妨害ピークが存在し、ベースラインを押し上げていた。HxCDD, HxCDFでは各2378異性体のピーク分離は不完全であった。HpCDD, HpCDFでは妨害ピークは見られなかった。OCDD, OCDFは非常にブロードなピークとなって現れた。また、低分解能MS条件での測定であるため、捕集管、流路管、カラム等からの夾雑物がマスクロマトグラム上に現れている。しかし、ダイオキシン類の溶出時間との重なりはほとんど見られていない。

現時点では、一応の装置が組み上がった状態であり、標準物質を用いての分析適用が可能であることが明らかとなった。今後さらに装置開発を継続し、OCDD, OCDFでのピークの広がりを解消すること、また実際の煙道と接続して、応用実験データを積み重ねることにより、実用性の向上およびダイオキシン類計測への適用性の検証を行う予定である。

引用文献

- 1) 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薬課)
- 2) 排ガス中のダイオキシン類及びコプラナーPCBの測定方法(JIS K 0311:1999)
- 3) 工業用水・工場排水中のダイオキシン類及びコプラナーPCBの測定方法(JIS K 0312:1999)
- 4) Ryan, J.J., Conacher, H.B.S., Panopio, L.G., Law, B.P.Y., Hardy, J.A., Masuda Y., (1991): J.

Chromatogr. 541, 131-183.

- 5) 厚生省(2000): 血液中のダイオキシン類測定暫定マニュアル
- 6) Masuzaki, Y., Matsumura, T., Hattori, T., Kimura, S., Noda, H., Hashimoto, S. and Morita, M. (1999): *Organohalogen Compounds*, 40, 227-230.
- 7) Kitamura, K., Nagahashi, M., Sunaga, M., Watanabe, S. and Nagao, M. (2001): *J. Health Science*, 47(2), 145-154.
- 8) 大田壮一, 岩田直樹, 青笹 治, 中尾晃幸, 三井保宏, 宮田秀明(2001): 第10回環境化学討論会講演要旨集, 230-231.
- 9) 北村公義, 崔 宰源, 高澤嘉一, 橋本俊次, 伊藤裕康, 森田昌敏, 藤巻 奨(2002): 第11回環境化学討論会講演要旨集, 306-307.
- 10) Patterson, Jr. D. G., Furst, P., Alexander, L. R., Isaacs, S. G., Turner, W. E. and Needham, L. L. (1989): *Chemosphere*, 19, 1-6, 89-96.
- 11) Schechter, A. and Ryan, J. J. (1989): *Chemosphere*, 18, 1-6, 635-642.
- 12) Nygren, M., Hansson, M., Sjostrom, M., Rappe, C., Kahn, P., Gochfeld, M., Wilson, W.P. (1988): *Chemosphere*, 17, 1663-1692.
- 13) Richter, B.E., Jones, B.A., Ezell, J.L., Avdalovic, N. and Pohl, C. (1996): *Anal. Chem.*, 68, 1033-1039.
- 14) Schantz, M.M., Nichols, J.J. and Wise, S.A. (1997): *Anal. Chem.*, 69, 4210-4219.
- 15) 橋本俊次, 柴田康行, 森田昌敏, 田中博之, 谷津明彦(1999): 第8回環境化学討論会要旨集, 242-243.
- 16) Hashimoto, S., Yamamoto, T., Yasuhara, A., Morita, M. (1995): *Chemosphere*, 31, 4067-4075.
- 17) 大高広明, 牧野和夫(2001): 第10回環境化学討論会要旨集, 128-129.
- 18) 松田壮一, 濱田典明, 本田克久, 脇本忠明(2003): *環境化学*, 13, 133-142.
- 19) Ryan, J. J. and Mills, P. (1997): *Chemosphere*, 34, 999-1009.
- 20) Iida, T., Hirakawa, H., Matsueda, T., Nagayama, J. and Nagata, T. (1999): *Chemosphere*, 38, 2767-2774.

- 21) 伊藤智博, 山本美穂, 小島 孝, 黒岡正治, 林田一良 (2000): 第9回環境化学討論会要旨集, 206-207.
- 22) Doong, R. and Lee, C. (1999): *Analyst*, 124, 1287-1289.
- 23) Taylor, K.Z., Waddell, D.S., Reiner, E.J. and MacPherson, A. (1995): *Anal. Chem.*, 67, 1186-1190.
- 24) Kitamura, K., Nagao, M., Choi, J-W., Hashimoto, S., Ito, H. and Morita, M. (2003): *Analyst*, 128, 986-993.
- 25) Ryan, J. J., Lizotte, R., Panopio, L. G. and Lau, B. P. -Y. (1989): *Chemosphere*, 18, 149-154.
- 26) 宮田秀明, 中尾晃幸, 青笹 治, 太田莊一 (1995): *環境化学*, 5, 428-429.
- 27) 高菅卓三, 青野さや香, 秋月哲也, 中川貴之, 渡邊清彦, 井上 毅 (2001): 第10回環境化学討論会要旨集, 28-29.

[資 料]

I 研究の組織と研究課題の構成

1 研究の組織

[A 研究担当者]

統括研究官 森田昌敏

化学環境研究領域

計測管理研究室 伊藤裕康

崔 宰源

NIES ポスドクフェロー 高澤嘉一

環境ホルモン・ダイオキシン研究プロジェクト

対策技術チーム 橋本俊次

NIES ポスドクフェロー 北村公義

[B 客員研究員]

宮田秀明 (摂南大学薬学部) (平成 13 ~ 14 年度)

松村 徹 (国土環境株式会社) (平成 13 ~ 14 年度)

[C 所外共同研究者]

大塚紀一郎 (日本電子株式会社) (平成 12 ~ 14 年度)

上田祥久 (同 上) (平成 12 ~ 14 年度)

藤巻 奨 (同 上) (平成 12 ~ 14 年度)

藤峰慶徳 (大塚製薬株式会社) (平成 14 年度)

望月あゆみ (同 上) (平成 14 年度)

野口政明 (テクノインターナショナル) (平成 14 年度)

江崎達哉 (エス・ジー・イー・ジャパン株式会社) (平成 13 ~ 14 年度)

大橋 眞 (同 上) (平成 13 ~ 14 年度)

2 研究課題と担当者 (*客員研究員, **所外研究者)

(1) ダイオキシン類分析に関わる標準物質に関する研究

伊藤裕康・藤巻 奨**・崔 宰源・高澤嘉一・北村公義・森田昌敏

(2) ダイオキシン類の簡易計測法の開発に関する研究

伊藤裕康・高澤嘉一・大塚紀一郎**・上田祥久**・藤巻 奨**・江崎達哉**・大橋 眞**・崔 宰源・北村公義・橋本俊次・森田昌敏・藤峰慶徳**・望月あゆみ**・松村 徹*・宮田秀明*

(3) ダイオキシン類のオンサイト測定法に関する研究

伊藤裕康・大塚紀一郎**・藤巻 奨**・崔 宰源・北村公義・森田昌敏・野口政明**

Ⅱ 研究成果発表一覧

1 誌上発表

発表者・題目・掲載誌・巻(号)・頁・刊年

Matsumura T., Masuzaki Y., Ezaki T., Ohashi M., Morita M. : Detection of low femto gram dioxins-development of column switching - solvent cut - large volume/multiple injection - Cryofocus Trap GC-HRMS - , Organohalogen Compounds 45 : 25-28, 2000

高澤嘉一, 上田祥久, 樋口哲夫, 比毛 浩, 橋本俊次, 伊藤裕康, 森田昌敏 : プレカラム分離導入システムを用いたダイオキシン類の測定, 環境化学, 11(2) : 245-251, 2001

Takazawa Y., Ueda Y., Higuchi T., Hashimoto S., Ito H., Morita M. : Determination of 2,3,7,8-chlorinated dibenzo-*p*-dioxins and -furans based on pre-Column inlet separation technique, Organohalogen Compounds, 50 : 154-157, 2001

Matsumura T., Seki Y., Hijiya M., Hiroji Shamoto, Morita M., Ito H. : Dioxins and coplanar pcbs in diet samples by duplicate service method, Organohalogen Compounds, 52 : 256-259, 2001

Masuzaki Y., Matsumura T., Ezaki T., Ohashi M., Ito H., Morita M. : High sensitivity analysis wite solvent cut large volume (SCLV) injection technique (1)Low Femtogram Level Dioxins Analyrsis For Human Blood, Organohalogen Compounds, 50 : 194-197, 2001

Ezaki T., Masuzaki Y., Matsumura T., Ohashi M., Ito H. : Development of solvent cut large volume (SCLV) injection technique with dual column configuration for rapid and high sensitive gc-hrms analysis-(1)Narrow Bore Capillary Column Applied to Low Femto Gram Dioxins, Organohalogen Compounds, 50 : 190-193, 2001

伊藤裕康 : ダイオキシン類の簡易測定技術とその開発, 資源環境対策, 37(9) : 23-28, 2001

Choi J.W., Miyabara Y., Hashimoto S., Morita M. : 2002 Comparison of PCDD/F and coplanar PCB concentrations in Japanese human adipose tissue collected in 1970-71, 1994-96 and 2000. Chemosphere 47 : 591-597

Choi J.W., Morita M. : Comparison of analytical methods for PCDD/Fs and coplanar PCBs between Japan and Korea, J. Environ. Chem., 12(3) : 563-569, 2002

Choi J.W., Miyabara Y., Hashimoto S., Suzuki N., Morita M. : Time trends of PCDD/F and coplanar PCB concentrations in Japanese human adipose tissue - comparison of 1970-71, 1994-96 and 2000 Organohalogen Compounds, 52 : 314-316, 2001

Kitamura K., Nagao M., Choi J., Hashimoto S., Ito H., Morita M. : Combination of solid phase extra ction and blue-chitin column for dioxin congeners in human serum, Organohalogen Compounds, 55 : 49-52, 2002

Masuzaki Y., Matsumura T., Ito H., Morita M. : Dioxin analysis for human blood by 10ml sample size, Organohalogen Compounds, 55 : 203-206, 2002

Kitamura K., Mochizuki A., Choi J-W., Takazawa Y., Hashimoto S., Ito H., Fujimine Y., Morita M. : Optimization of the method of extracting dioxin by lipid extraction purifying, J. Anal. Toxicol. (in preparation)

2 口頭発表

発表者・題目・学会等名称・開催都市名・年月

高澤嘉一，橋本俊次，伊藤裕康，森田昌敏，上田嘉久，樋口哲夫：小型質量分析計を用いたダイオキシン類の簡易測定，第10回環境化学討論会，松山，2001.5

松村 徹，関 好恵，大川 慎，江崎達哉，伊藤裕康，森田昌敏：SCLV Injection System / GC / イオントラップ型MS/MSを用いたダイオキシン類の簡易分析，第11回環境化学討論会，箱根，2002.6

藤巻 奨，田中一夫，崔 宰源，高澤嘉一，伊藤裕康，森田昌敏：SCLV Injection Systemを用いた卓上型二重収束質量分析計によるダイオキシン類の簡易測定法の検討，第11回環境化学討論会，箱根，2002.6

北村公義，崔 宰源，橋本俊次，伊藤裕康，森田昌敏，長尾美奈子：固相抽出法とブルーチンカラムクロマトグラフィーの組み合わせを用いたヒト血清中の迅速ダイオキシン類分析法の検討，第11回環境化学討論会，箱根，2002.6

北村公義，崔 宰源，高澤嘉一，橋本俊次，伊藤裕康，森田昌敏，藤巻 奨：生物試料中のダイオキシン類抽出法の検討 - クリーンアップにおけるカラム充填材への負荷の軽減化のための抽出法 - ，第11回環境化学討論会，箱根，2002.6

藤巻 奨，田中一夫，崔 宰源，高澤嘉一，伊藤裕康，森田昌敏，松村 徹，江崎達哉，大橋 眞：生物試料中のダイオキシン類抽出法の検討，第11回環境化学討論会，箱根，2003.6

北村公義，望月あゆみ，崔 宰源，橋本俊次，伊藤裕康，藤峰慶徳，森田昌敏：ヒト全血中ダイオキシン類分析のための迅速前処理法のための検討，第12回環境化学討論会，新潟，2003.6

北村公義，望月あゆみ，崔 宰源，橋本俊次，伊藤裕康，藤峰慶徳，森田昌敏：ヒト全血中ダイオキシン類分析のための脂質抽出法の検討，第12回環境化学討論会，新潟，2003.6

崔 宰源，宮原裕一，橋本俊次，森田昌敏：塩素化ダイオキシン類による人体暴露評価 -1970年代と最近の暴露比較，第10回環境化学討論会，松山，2001.5

REPORT OF SPECIAL RESEARCH FROM
THE NATIONAL INSTITUTE FOR ENVIRONMENTAL STUDIES, JAPAN

国立環境研究所特別研究報告

SR - 49 - 2003

平成15年9月30日発行

編 集 国立環境研究所 編集委員会

発 行 独立行政法人 国立環境研究所

〒305-8506 茨城県つくば市小野川16番2

電話 029-850-2343 (ダイヤルイン)

印 刷 前田印刷株式会社筑波支店

〒305-0033 茨城県つくば市東新井14-3

Published by the National Institute for Environmental Studies
16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305-8506 Japan
September 2003

無断転載を禁じます

