

[技術報告]

BPX Dioxin I 及び BPX Dioxin II キャピラリーカラムによる ダイオキシン類測定効率化に関する検討

Study on efficiency for the analysis of PCDDs, PCDFs and dioxin-like PCBs using
BPX Dioxin I and II capillary columns with solvent-cut large-volume injection

亀田 洋*, 松本幸一郎*, 江崎達哉**, 藤井大将**,

大橋 眞**, 塩崎卓哉*

Hirosh KAMEDA, Kouichiro MATSUMOTO, Tatsuya EZAKI, Hiromasa FUJII,
Makoto OHASHI and Takuya SHIOZAKI

【要 約】我が国におけるダイオキシン類の水質環境基準は 1pg-TEQ/L に設定されている。JIS では基準値の30分の1を検出下限として要求していること、また一般に装置の検出下限は100fg程度であることを考慮すると、70L以上の環境水を採取する必要がある。そのため、試料採取から測定に至るまで多くの時間と労力を費やすことになり、環境調査を効率良く実施するうえでの障害となる。しかし、従来1~2 μ L程度しか注入できないキャピラリーカラムに10 μ L程度の試料を注入することにより、試料量の削減が可能となる。本検討では2,3,7,8-位塩素置換PCDDs/DFs及びダイオキシン様PCBsについて、良好な分離を確保しながら迅速に分析を行うためのGC-MS分析条件を検討した。そして、SCLVシステムとBPX-Dioxin-I及びIIキャピラリーカラムを用いることにより、これらの異性体について良好な分離が得られることを確認した。

キーワード：大量注入、PCDDs、PCDFs、dioxin-like PCBs、BPX Dioxin I、BPX Dioxin II

1. はじめに

ダイオキシン類の分析は、従来から異性体の分離が比較的良好的なSP-2331、DB-17及びHT-8等の2~3種類のキャピラリーカラムを用いたガスクロマトグラフ/高分解能質量分析計(HRGC/HRMS)によって行われ、同一の試料について通常3種類以上の分析条件で測定されてきた。

しかし、SP-2331等の強極性カラムは液相のブリーディングが大きくバックグラウンドが高い、またロット間による性能のばらつきがある等の問題があった。さらに、使用するカラムの種類が増えると、カラムの交換及びコンディショニングに時間を要し、測定分析の効率を低下させる要因となるばかりでなく、イオン源の汚れや消耗品寿命の短縮にもつながっていた。

一方、日本工業規格 K0311 及び K0312 では、検

出下限の設定が「評価すべき値の1/30」と定められているため、例えば公共用水域水質の場合は環境基準が1pg-TEQ/Lであることから、HRGC/HRMSによる検出感度を考慮しても70L程度の試料を採取する必要があり、試料採取から測定に至るまで、多くの時間と労力を費やすことになる。

そこで、近年実用化された溶剤カット大量注入法^{1) 2)}(SCLV: Solvent Cut Large Volume Injection)を用いて、ダイオキシン類測定効率化に関する検討を行った。SCLVでは、従来1~2 μ L程度しか注入できないキャピラリーカラムに10 μ L程度の試料を注入するため、試料量の削減が可能となる。さらに、分析カラムにおける目的成分の分離に先立ち溶媒がほとんど除去され、かつコールドトラップにおいて濃縮されるため、カラム内における試料のバンド幅を狭くすることができ、その結果としてピーク形状や分離の向上が期待できる。

そこで、SCLVによる効果に着目してダイオキシン類の各異性体の分離挙動を調べた結果、2種類のキャピラリーカラムによって効果的かつ高感度にダ

* (財)日本環境衛生センター東日本支局環境科学部
Dept. of Environmental Science, East Branch, JESC
** エス・ジー・イー・ジャパン株式会社
SGE Japan Inc.

イオキシソ類を定量できる条件を見出したので報告する。

2. 実験方法

2. 1 試薬及び試料調製

PCDDs/DFs の 2, 3, 7, 8-位塩素置換異性体及び dioxin-like PCBs (DL-PCBs) は、12C 体及び 13C 体ともに Wellington 社製の混合標準溶液を用いた。また、その他の異性体の分離状況を確認するため、ごみ焼却施設から採取した灰に内標準物質を添加して抽出した後、JIS K 0311 に基づきクリーンアップ及び分画操作を行い、PCDDs/DFs 及びノンオルソ PCBs 画分とモノオルソ PCBs 画分に分離した。両者を濃縮してデカンに転溶し、検討に用いた。

2. 2 装置

ガスクロマトグラフ (GC) には大量注入を可能とする SCLV (SGE 社製) を装着した HP6890N (Agilent 社製) を用いた。Fig. 1 に SCLV の概念図を示す。プレカラムとして BPX-5 (内径 0.25mm、長さ 6m、膜厚 0.25 μ m、SGE 社製)、分析カラムとして BPX-Dioxin-I 及び II (内径 0.15mm、長さ 30m、SGE 社製) を用いた。質量分析計 (MS) は Auto Spec UltimaNT (Micromass 社製) を用い、選択イオン検出 (SIM) 法により、分解能 12,000 にて測定を行った。なお、検討に際しての試料液注入量は 10 μ L とした。

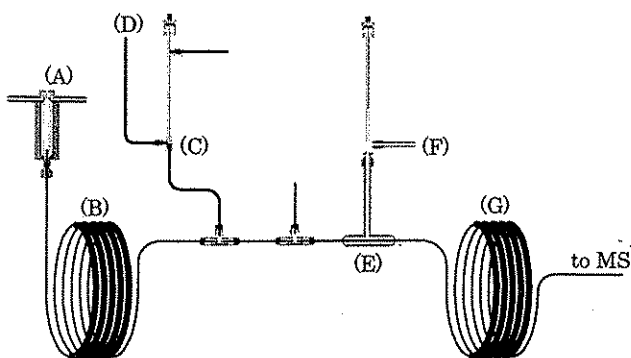


Fig.1 Schematic diagram of Solvent-cut Large Volume injection system

(A) Injection port (B) Pre-column (C) Solvent cut valve
(D) Solvent purge line (E) Cold trap (cryofocus)
(F) Liquid carbon dioxide entrance (G) Analytical column

2. 3 SCLV の動作機構

あらかじめソルベントカットバルブを開放した状態で GC 注入口に試料を注入した後、カラム恒温槽の昇温を開始し、プレカラムに分析目的成分を保持させたまま溶媒をパージラインから排出させる。その後、ソルベントカットバルブを閉止し、分析目的成分をコールドトラップへ導入する。分析目的成分のプレカラムからの溶出が終了した時点で再びソルベントカットバルブを開くと同時に、追加ガスを導入し、プレカラムとの流路を圧力調整により切り離し、カラム恒温槽を所定の温度まで下げ、コールドトラップを解除してカラム恒温槽の昇温を開始し、分析目的成分を分析カラムへ導入する。

2. 4 分析条件の最適化

PCDDs/DFs の 2, 3, 7, 8-位塩素置換異性体及び DL-PCBs について、良好な分離を確保しながら迅速に分析を行うためのカラム恒温槽の温度条件を検討した。さらに、高感度かつ効率的な分析を可能とする GC-MS 分析条件を検討した。

2. 5 カラム分離能及び定量値の評価

SP-2331、DB-17、BPX-Dioxin-I 及び BPX-Dioxin-II を用いて定量を行い、各カラムにおける 2, 3, 7, 8-位塩素置換異性体の分離状況及び定量値について評価した。

3. 結果

3. 1 SCLV による効果

SCLV を用いると、注入した試料中の溶媒がほとんど除去され、分析目的成分がコールドトラップに濃縮されるため、通常のスプリットレス方式と比較して、分析カラム内における初期の試料バンドを狭くすることが可能となった。そのため、ピークの半値幅が狭くなり、ピーク高さが向上した。混合標準溶液 (2, 3, 7, 8-TetraCDD : 10pg 相当, OctaCDD : 20pg 相当) を注入して測定したところ、従来の SP-2331 及び DB-17 を用いた測定と比較して、2, 3, 7, 8-TetraCDD で約 2 倍、OctaCDD で約 4 倍のピーク強度が得られた (Fig. 2)。これにより、2, 3, 7, 8-TetraCDD の検出下限は 0.02pg 以下に改善された。

なお、SCLV を用いて測定したときのピーク幅は 7~8 秒程度であり、従来の SP-2331 を用いた測定と比較して短くなっているが、データのサンプリング

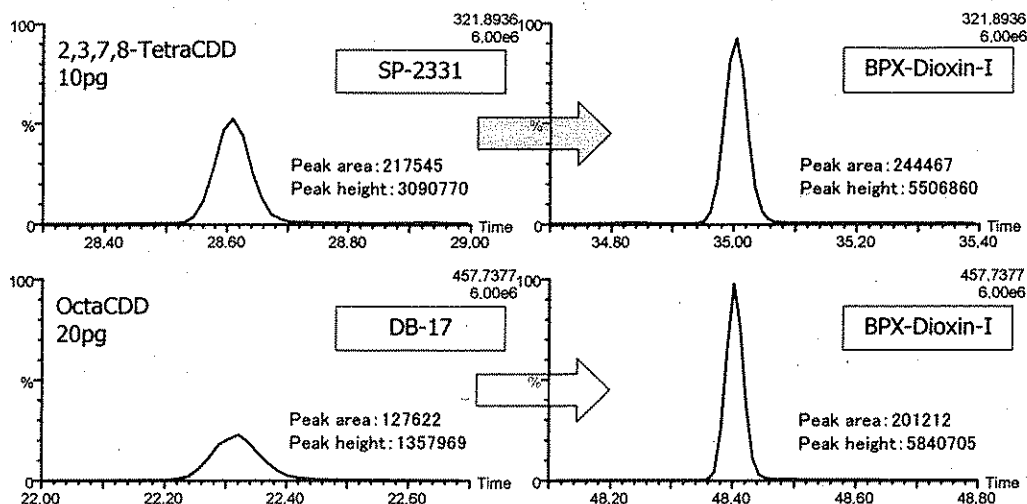


Fig.2 Chromatograms of 2,3,7,8-TetraCDD and OctaCDD on SP-2331, DB-17 and BPX-Dioxin- I

グ周期を 630~710msec に設定しているため、ピークを構成するデータポイントの数は 10 程度となり、定量性は十分に確保できると考えられる。

3. 2 温度条件の比較

ダイオキシン類をできるだけ単独分離しうるカラム恒温槽の温度条件について検討を行った。ここではコールドトラップを解除したときの初期温度を 200℃から 260℃までの間で適宜設定して検討を行った結果を Fig. 3 及び Fig. 4 に示す。

BPX-Dioxin- I では、200℃のときに最も良い分離が得られたが、220℃及び 240℃のときには分離が悪

化した (Fig. 3)。ただし、いずれの温度条件においても 2, 3, 4, 7, 8-PentaCDF、2, 3, 4, 6, 7, 8-HexaCDF 及び 1, 2, 3, 7, 8, 9-HexaCDF の分離は不十分であった。

一方、BPX-Dioxin- II では、これらの異性体について良好な分離が得られることが確認された。特に、2, 3, 4, 7, 8-PentaCDF 及び 1, 2, 3, 7, 8, 9-HexaCDF については、220、240 及び 260℃のいずれの温度条件においても単独ピークとして分離された。また、2, 3, 4, 6, 7, 8-HexaCDF については 1, 2, 3, 6, 8, 9-HexaCDF のピークと近接しているが、260℃のときに最も良い分離が得られることが確認された (Fig. 4)。

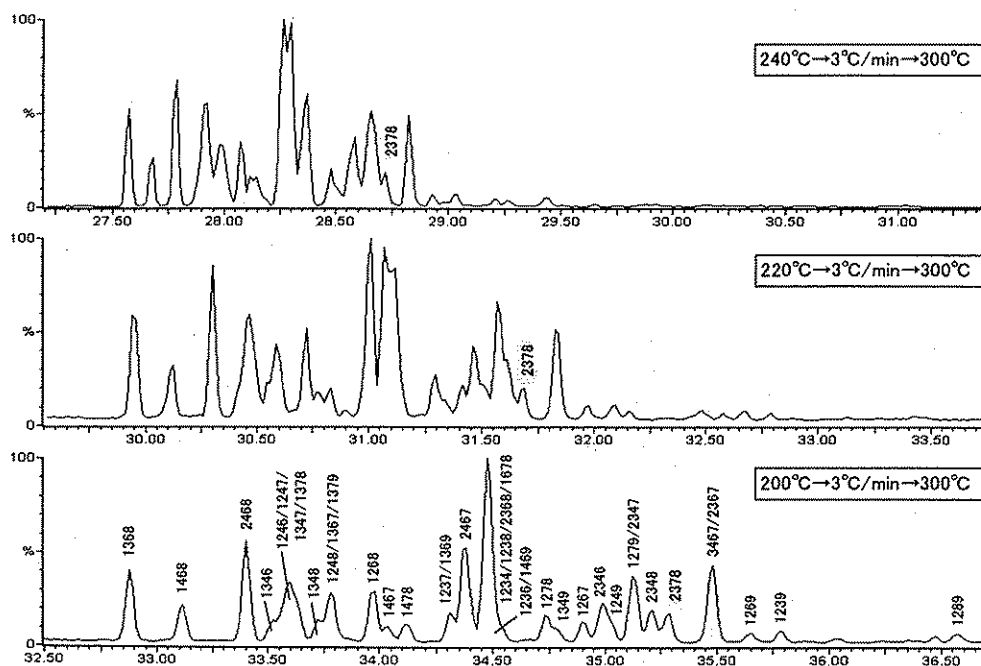


Fig.3 Effect of initial oven temperature to the separation behavior of 2,3,7,8-TetraCDF to other isomers

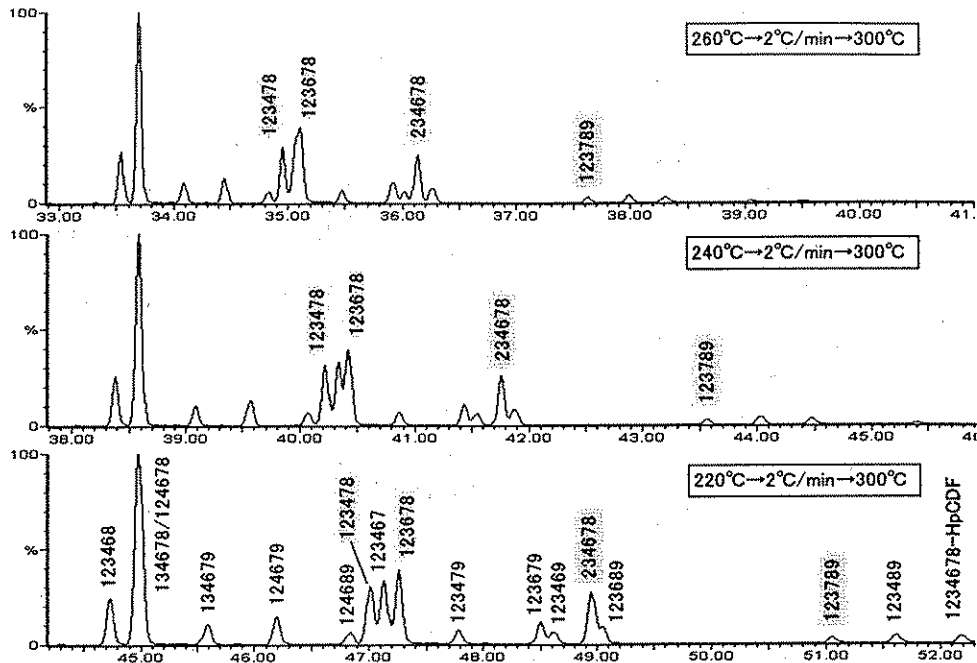


Fig.4 Effect of initial oven temperature to the separation behavior of 2,3,7,8-substituted HexaCDFs to other isomers

Table 1 Target compounds for group measurement in the gas chromatograph mass spectrometer using BPX-Dioxin and BPX-Dioxin- II

BPX-Dioxin- I		BPX-Dioxin- II	
start-end time		start-end time (min)	
32.0-36.9	TeCDDs/CDFs	23.0-29.3	TetraCBs (#77, #81) and PentaCBs (#123, #118, #114, #105)
36.9-40.7	PeCDDs/DFs except 1,3,4,6,8/1,2,4,6,8-PentaCDF and 2,3,4,7,8-PentaCDF	29.3-32.9	PentaCBs (#126), HexaCBs (#167, #156, #157, #169) , 1,3,4,6,8/1,2,4,6,8-PentaCDF and 2,3,4,7,8-PentaCDF
40.7-45.0	HxCDDs/DFs except 2,3,4,6,7,8-HexaCDF and 1,2,3,7,8,9-HexaCDF	32.9-40.0	HeptaCBs (#189), 2,3,4,6,7,8-HexaCDF and 1,2,3,7,8,9-HexaCDF
45.0-49.5	HpCDDs/DFs	-	-
49.5-53.0	OCDD/DF	-	-

3. 3 グルーピングの設定

前項の温度条件に基づき、MS の測定グループを設定した。この結果を Table 1 にまとめた。

BPX-Dioxin- I では、PCDDs/DFs の異性体別・同族体別の測定を行った。Fig. 5 及び 6 に示したように、各塩素化合物の溶出範囲は重なっていないため、塩素化合物ごとに測定グループを区切ることで、グループ内のモニターイオンの数を必要最小

限に抑えることが可能となった。ただし、PentaCDF において一番最初に溶出する異性体 (1, 3, 4, 6, 8/ 1, 2, 4, 6, 8-PentaCDF) は Tetra 体の溶出時間に重なっているため、BPX-Dioxin- I では測定対象とせず、BPX-Dioxin- II で測定することとした。また、2, 3, 4, 7, 8-PentaCDF、2, 3, 4, 6, 7, 8-HexaCDF 及び 1, 2, 3, 7, 8, 9-HexaCDF については分離が不十分であるため、BPX-Dioxin- II で測定した。

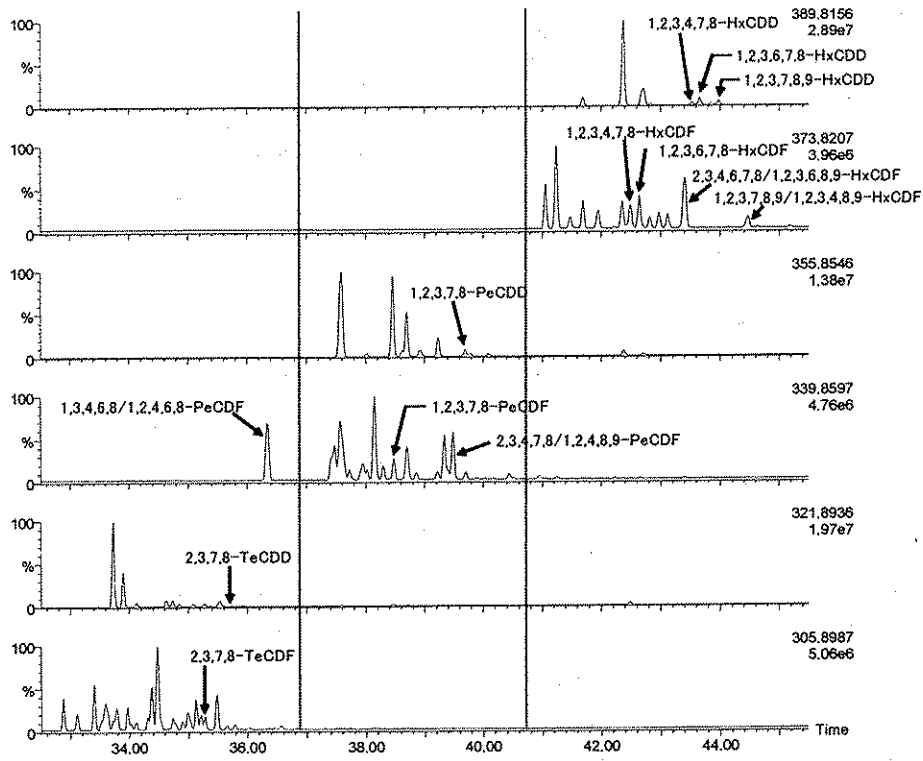


Fig.5 Chromatograms of Tetra-HexaCDDs/CDFs by SCLV injection on BPX-Dioxin- I

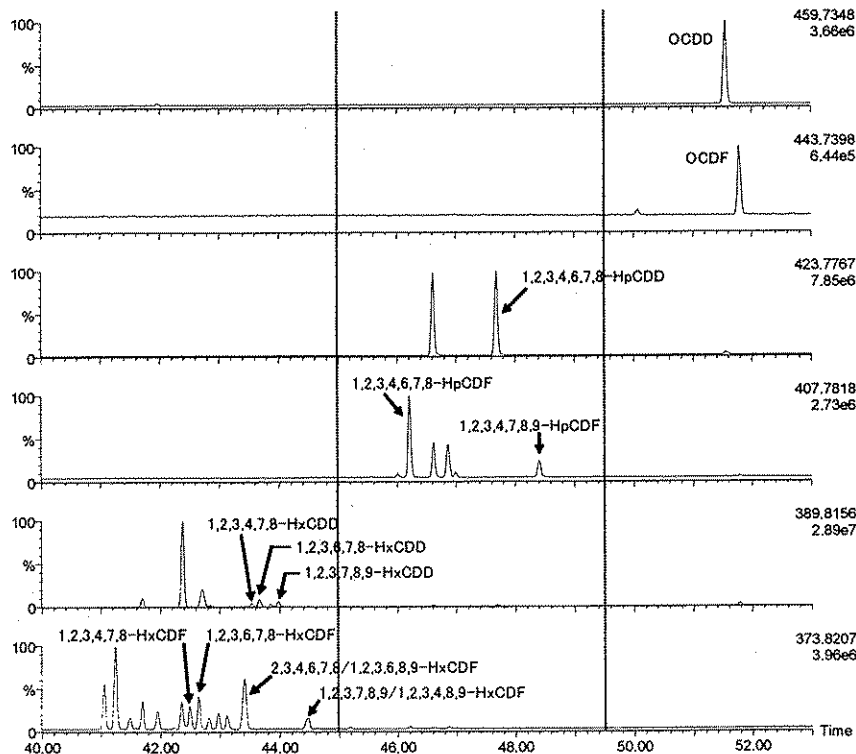


Fig.6 Chromatograms of Hexa-OctaCDDs/CDFs by SCLV injection on BPX-Dioxin- I

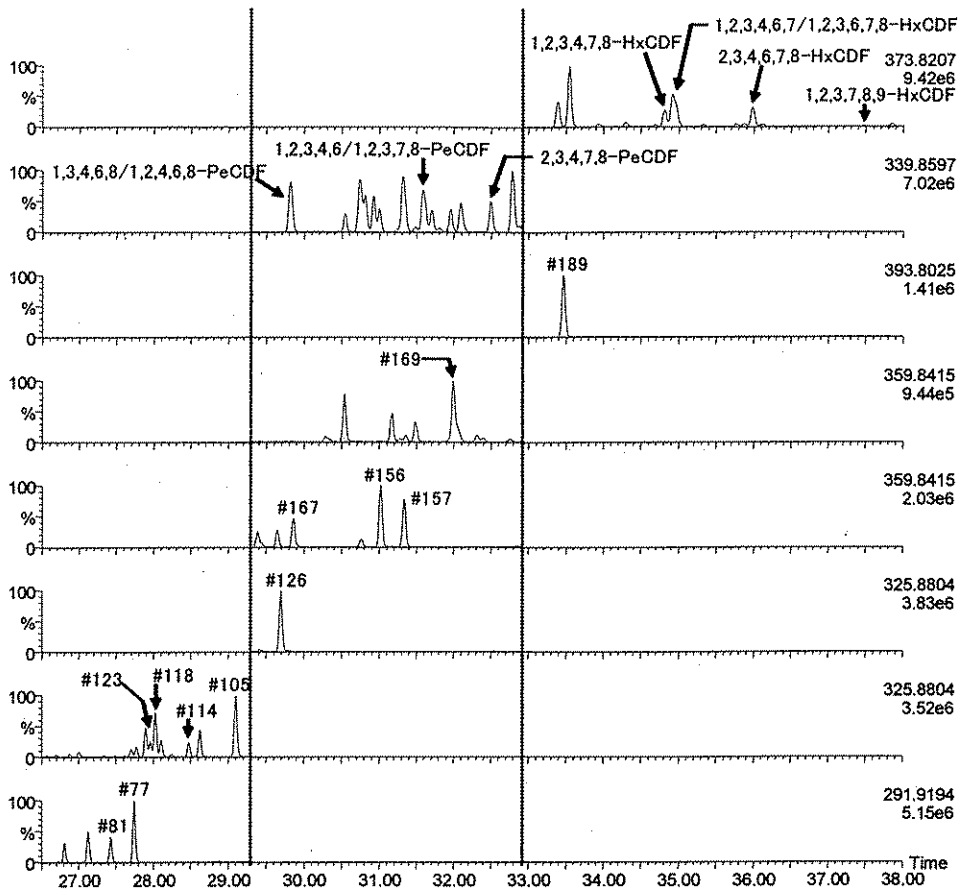


Fig.7 Chromatograms of Tetra-HeptaCBs and Penta-HexaCDFs by SCLV injection on BPX-Dioxin-II

Table 2 Comparisons of resolution and measured value ratio on SP-2331, DB-17 and BPX-Dioxin- I capillary columns

	SP-2331		DB-17		BPX-Dioxin- I		BPX-Dioxin- II	
	resolution	ratio	resolution	ratio	resolution	ratio	resolution	ratio
2,3,7,8-TeCDD	<i>i</i>	1	—	—	<i>i</i>	0.97	—	—
1,2,3,7,8-PeCDD	<i>i</i>	1	—	—	<i>i</i>	0.97	—	—
1,2,3,4,7,8-HxCDD	<i>i</i>	1	—	—	<i>i</i>	0.91	—	—
1,2,3,6,7,8-HxCDD	<i>i</i>	1	—	—	<i>i</i>	0.94	—	—
1,2,3,7,8,9-HxCDD	<i>i</i>	1	—	—	<i>i</i>	1.00	—	—
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	—	—	<i>i</i>	1	<i>i</i>	1.06	—	—
OCDD	—	—	<i>i</i>	1	<i>i</i>	0.99	—	—
2,3,7,8-TeCDF	<i>i</i>	1	—	—	<i>i</i>	1.00	—	—
1,2,3,7,8-PeCDF	<i>ol</i>	1	—	—	<i>i</i>	0.58	<i>ol</i>	2.85
2,3,4,7,8-PeCDF	<i>i</i>	1	—	—	<i>ol</i>	1.24	<i>i</i>	1.07
1,2,3,4,7,8-HxCDF	<i>ol</i>	1	—	—	<i>i</i>	0.60	<i>i</i>	0.64
1,2,3,6,7,8-HxCDF	<i>i</i>	1	—	—	<i>i</i>	0.90	<i>b</i>	1.13
1,2,3,7,8,9-HxCDF	<i>i</i>	1	—	—	<i>ol</i>	2.41	<i>i</i>	1.09
2,3,4,6,7,8-HxCDF	<i>i</i>	1	—	—	<i>ol</i>	1.21	<i>i</i>	1.01
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	—	—	<i>i</i>	1	<i>i</i>	1.03	—	—
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	—	—	<i>i</i>	1	<i>i</i>	0.97	—	—
OCDF	—	—	<i>i</i>	1	<i>i</i>	0.96	—	—

i: isolated
b: partially separated
ol: overlapped

一方、BPX-Dioxin-IIでは12種類のDL-PCBsと、BPX-Dioxin-Iで測定対象としなかった前述のPCDFsを測定対象とした。(Fig. 7)。

3. 4 カラム分離能の比較

カラム分離能の比較を行った結果をTable 2に示す。単独ピークとして定量が可能な異性体には α 、分離が不十分な異性体には β 、複数の異性体が重なっている場合には α を付けるとともに、SP-2331及びDB-17における定量値を1としたときのBPX-Dioxin-I及びIIにおける定量値の比を示した。

1, 2, 3, 7, 8-PentaCDFと1, 2, 3, 4, 7, 8-HexatCDFについて、BPX-Dioxin-Iの定量値が1を下回っているが、SP-2331ではこれらの異性体の分離が不十分であることを反映した結果である。

一方、BPX-Dioxin-IあるいはIIにおいて定量値が1を超えている異性体は、分離が不十分であることを示しているが、両方のカラムを使用して相互に補完することにより、すべての2, 3, 7, 8-位塩素置換異性体の分離定量が可能であることが確認された。

4. まとめ

ダイオキシン類測定の効率化を図るため、SCLVと極性の異なる2種類のキャピラリーカラム(BPX-Dioxin-I及びII)を用いて分析条件の最適化を行った結果、Table 3に示す分析条件を確立した。

SCLVの効果により半値幅が狭くなるため、ピーク高さが相対的に高くなりS/N比が改善された。この結果、2, 3, 7, 8-TetraCDDの検出下限は0.02pg以下となることが確認された。従って、注入量10 μ l、最終検液量50 μ lとしたときの公共用水域水質における必要試料量は20L程度となり、従来の3分の1以下に低減することが可能となった。

BPX-Dioxin-Iにより1, 3, 4, 6, 8/1, 2, 4, 6, 8-PentaCDF、2, 3, 4, 7, 8-PentaCDF、2, 3, 4, 6, 7, 8-HexaCDF及び1, 2, 3, 7, 8, 9-HexaCDFを除くTetra~Octa体の異性体及び同族体を定量することが可能であり、BPX-Dioxin-IIを併用して前述の異性体及びDL-PCBsの定量を補完することにより、2, 3, 7, 8-TetraCDD毒性等価係数が設定されている

Table 3 Operating conditions for gas chromatography

Condition-I for the analysis of tetra through octaCDDs/DFs except penta and hexaCDFs	
Column	BPX-Dioxin-I(SGE) 0.15mmID, 30m length
Oven temperature	at injection : 160 degC solvent elimination : 20 degC/min to 300degC, keeping 10min cooling down to : 200 degC
Injector	separation of analytes : 3 degC/min to 265 degC then 10degC/min to 300 degC Temperature : 300degC Mode : Splitless for SCLV Carrier gas : Helium (Electronic Pressure Control mode) Program : 469kPa(2.75min) - (418kPa) - 678kPa(16.5min) - (355kPa) - 323kPa(2min) - (4.7kPa/min) - 442kPa(5min)
Auxiliary gas #3	445kPa(2.75min) - (434kPa) - 662kPa(16.5min) - (362kPa) - 300kPa(2min) - (4kPa/min) - 401kPa(5min)
Auxiliary gas #5	411kPa(2.75min) - (538kPa) - 142kPa(16.5min) - (155kPa) - 297kPa(2min) - (3.5kPa/min) - 385kPa(5min)
Condition-II for the analysis of DL-PCBs, penta and hexaCDFs	
Column	BPX-Dioxin-II(SGE) 0.15mmID, 30m length
Oven temperature	at injection : 160 degC solvent elimination : 20 degC/min to 300degC, keeping 8min cooling down to : 260 degC
Injector	separation of analytes : 2 degC/min to 300 degC Temperature : 300degC Mode : Splitless for SCLV Carrier gas : Helium (Electronic Pressure Control mode) Program : 469kPa(2.75min) - (418kPa) - 678kPa(14.5min) - (355kPa) - 323kPa(2min) - (6.4kPa/min) - 451kPa(5min)
Auxiliary gas #3	445kPa(2.75min) - (434kPa) - 662kPa(14.5min) - (362kPa) - 300kPa(2min) - (5.3kPa/min) - 406kPa(5min)
Auxiliary gas #5	411kPa(2.75min) - (538kPa) - 142kPa(14.5min) - (155kPa) - 297kPa(2min) - (5kPa/min) - 398kPa(5min)

すべての異性体について分離定量しうることが確認された。

5. 参考文献

- 1) 松村徹、江崎達哉、増崎優子、森田昌敏(2000) : 第9回環境化学討論会講演要旨集、pp174-175
- 2) Yuko Masuzaki, Tohru Matsumura, Tatsuya Ezaki, Makoto Ohashi, Hiroyasu Ito, Masatoshi Morita(2001) : High sensitivity analysis with solvent cut large volume (SCLV) injection technique, Organohalogen compounds, 50, pp194-197

Summary

Regulation of Dioxins in environmental water has been 1 pg-TEQ/L in Japan. Environmental water samples have had to be collected in quantities exceeding 70L, since the lower limit of

instrument detection has generally been 100fg/injection or more, and 1/30 of regulation has been required as a lower detection limit in JIS methods. Such a huge sample collection has of necessity been time-consuming and more costly. Efficiency of an environmental investigation would be greatly hampered with samples of this volume. Environmental water sample collection volumes can be easily reduced by injecting a volume ten times greater than ordinary capillary column GC, which can be injected into only 1 or 2 μ l of sample solution. In this study, GC conditions were optimized for better separation of all 2,3,7,8-chlorine substituted PCDDs, PCDFs and dioxin-like PCBs. These compounds were separated into other isomers and congeners by using the SCLV system and narrow bore capillary columns, BPX Dioxin I and II, under obtained operating conditions.