

[技術報告]

マルチディメンジョナル GC システムによるダイオキシン類の 各異性体の分取方法に関する検討

Studies on fractionation of PCDDs/PCDFs Isomers by
Multi-dimensional Gas Chromatography.

堀内 泰*、江崎達哉**、樋口 純*、藤井大將**、
大橋 眞**、塩崎卓哉*

Yutaka HORIUCHI, Tatsuya EZAKI, Jun HIGUCHI, Hiromasa FUJII,
Makoto OHASHI and Takuya SHIOZAKI

【要約】ダイオキシン類の分析において、キャピラリーカラムにおける個々の異性体の溶出順位は、定量に必要な不可欠なものである。しかし、ダイオキシン類の全異性体を個々に入手することや化学的に合成することは非常に困難で多くの時間を要する。そこで、カラムスイッチングを応用したマルチディメンジョナル GC システムを用い、各異性体分取のため排ガス試料溶液の分画を行った。そして既に各異性体の溶出順位が報告されているキャピラリーカラム SP-2331 を用い、各画分に含まれる異性体組成を確認した。マルチディメンジョナル GC システムから得られた各画分の溶液を使用することによって、様々なキャピラリーカラムにおける PCDDs 及び PCDFs 各異性体の溶出順位の確認が可能となった。

キーワード：ダイオキシン類、GC/MS 分析、溶出順位、カラムスイッチング、マルチディメンジョナル GC システム

1. はじめに

ポリ塩化ジベンゾ-p-ジオキシン(PCDDs)とポリ塩化ジベンゾフラン(PCDFs)の分析において、各異性体の溶出順位が報告された例としては、1991年のJ.J.RyanらによるSP-2331など10種のカラムに関する報告¹⁾と2002年の松村らによるBPX-DXNとRH-12MSに関する報告²⁾がある。しかしPCDDs及びPCDFs全異性体の入手は極めて困難であり、化学合成にも多くの時間を要するため、新規に改良または開発されたキャピラリーカラムをこれらの分析に適用することが困難な状況にある。

著者らは、キャピラリーカラムをスイッチングすることによるマルチディメンジョナル GC システムを用いて五塩化ジベンゾフラン(PeCDFs)、六塩化ジベンゾフラン(HxCDFs)、七塩化ジベンゾフラン

(HpCDFs)及び、七塩化ジベンゾ-p-ジオキシン(HpCDDs)の分画条件の検討をし、実際に各異性体の分取を行った。そして正確に各異性体の分取が行われたかを確認するために、既に各異性体の溶出順位が報告されているキャピラリーカラム SP-2331を用い各画分の分析を行った。この結果、各異性体は正確に分取されていることが確認できたのでここに報告する。

2. 実験方法

2.1 試薬・試料調製

PCDDs及びPCDFsの2,3,7,8-位塩素置換異性体は、12C体及び13C体ともに、Wellington社製の混合標準液を用いた。分画分取した試料の回収には、関東化学製ダイオキシン類分析用ジクロロメタンを、窒素パージによる濃縮後の溶媒としてMerck社製合成用デカンを用いた。分画分取に用いた排ガス試料は、JIS K 03113)に準拠する方法にてサンプリング及び前処理を行った抽出溶液で、濃度は各異性体

* (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.

で異なり数〜数十 pg/μl であった。

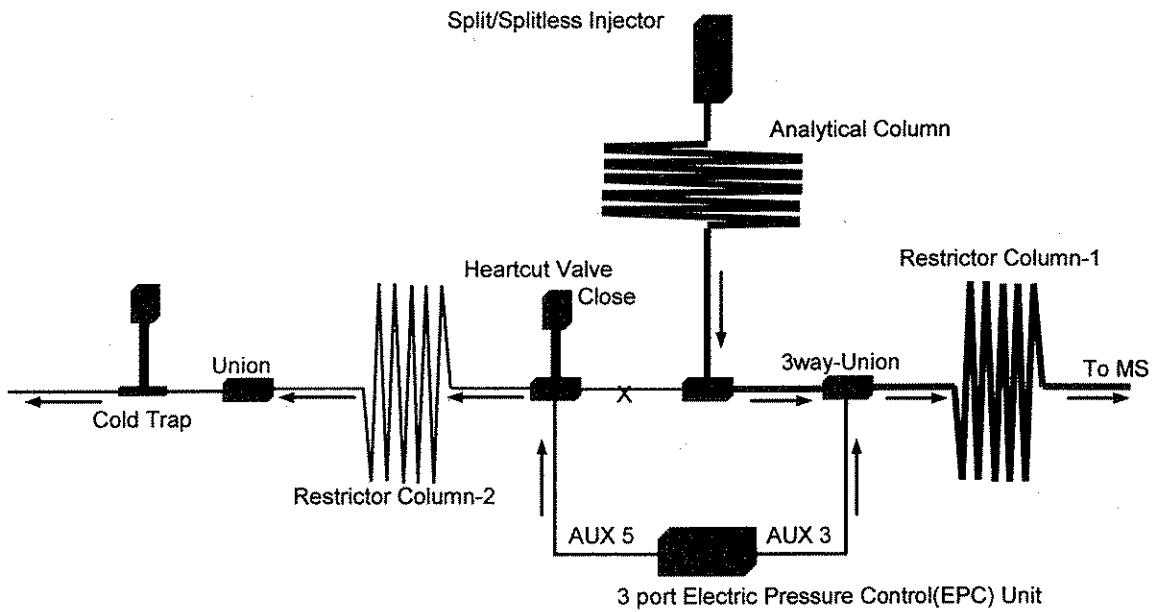
2. 2 装置及び測定条件

GC に HP6890 (Agilent Technologies 製) を、質量分析計 (MS) に JMS700 (日本電子製) を使い、選択イオン検出 (SIM) (分解能 10,000 以上) 法でモニター及び分取を行った。なお、GC 分画分取にはマルチディメジオナル GC システム MDS-6890 (SGE 社

製) を改良して用いた。

マルチディメジオナル GC システムは、通常の GC-MS システムにカラムスイッチングのためのバルブ (ハートカットバルブ) 及び、圧力設定の時間制御が可能な追加ガスライン 2 系列 (AUX3 及び 5) と分画した画分をキャピラリーチューブ内にトラップしておくためのコールドトラップ、流路を分岐するための 3 方向ユニオン、それらを繋ぐ不活性処理の

(A) Helium gas flow on the monitor mode



(B) Helium gas flow on the Heartcut mode

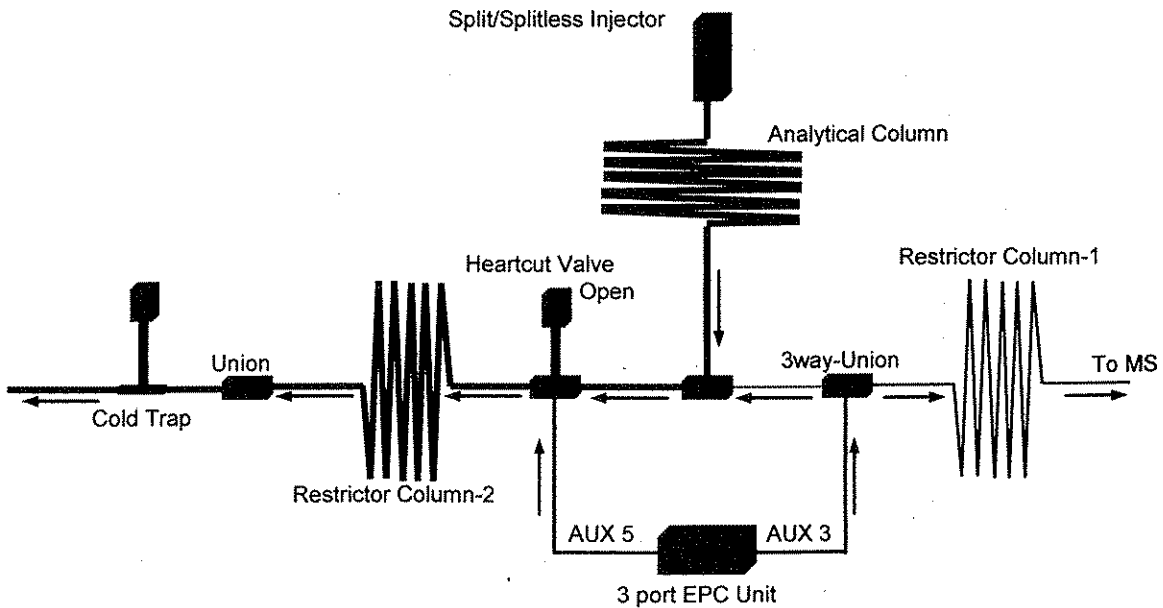


Fig.1 Schematic diagrams of Column Switching Fractionation System

Table 1 Operating condition for gas chromatography

(A) For heart-cutting PCDDs/PCDFs congeners by column switching system

Column	BPX-DXN, 0.25mmID, 60m length, 0.25mm film thickness
Oven temp.	130°C - 20°C/min - 240°C - 3°C/min - 300°C - 5°C/min - 320°C
Injector	Temperature: 280°C Mode: splitless for 1.5min at the rate of 20mL/min Carrier gas: Helium (Electronic Pressure Control mode) Program: 428kPa - 22kPa/min - 549kPa - 3.3kPa - 625kPa - 5.5kPa - 637kPa (8min)
Auxiliary gas 3	Gas: Helium (Electronic Pressure Control mode) 312kPa - 14kPa/min - 389kPa - 0.9kPa - 407kPa - 1.5kPa - 413kPa (8min)
Auxiliary gas 5	Gas: Helium (Electronic Pressure Control mode) 307kPa - 12kPa/min - 373kPa - 0.7kPa - 387kPa - 1.0kPa - 391kPa (8min)
Heart-cut valve	Timing: Setting to appropriate retention times for fractionation of specific peaks

(B) For identification of fractionated congeners in each fraction

Column	SP-2331, 0.32mmID, 60m length, 0.2mm film thickness
Oven temp.	100°C(1.5min) - 20°C/min - 180°C - 3°C/min - 260°C
Injector	Temperature: 280°C Mode: splitless for 1.5min at the rate of 20mL/min Carrier gas: Helium (Electronic Pressure Control mode) 1.8mL

施されたキャピラリーチューブにより構成されている (Fig.1)。カラムスイッチングを円滑に行うための圧力バランス及び、迅速に分画分取を行うためのカラムオープンの条件を検討し、得られた条件を Table 1(A) に示し、これにより分画分取を行った。

また、各画分に含まれる異性体については、既に溶出順位が報告されている SP-2331 (SUPELCO 製)¹⁾ を用い、Table 1(B) に示した条件にて確認した。

2. 3 GC 分画分取法

通常の分析時 (モニターモード: Fig.1(A)) においては、ハートカットバルブを閉止し、分析カラムから溶出した成分を全て MS へと導入できるように、AUX3 からの追加ガスが逆流しない程度の微流量となるように圧力バランスを設定した。分画時 (分取モード: Fig.1(B)) においては、ハートカットバルブを開放し、AUX3 からの追加ガスが、分析カラムからの溶出成分を全てコールドトラップ側へと押し流すように圧力バランスを設定した。特定の時間において分析カラム出口における流路を Fig.1 における左右に切り替える事で、分画が可能になる。なお、ハートカットバルブの開閉は、HP6890 の分析時間によるバルブ制御の機能により任意の時間に設定できる。

2. 4 排ガス試料の GC 分画分取

2.1 の排ガス試料溶液において、PeCDFs を 15 画分で、HxCDFs を 12 画分で、HpCDFs を 3 画分で、HpCDDs を 1 画分で分取した。効率よく分取を行うために、PeCDFs、HxCDFs 及び HpCDFs/HpCDDs 各異性体のリテンションタイムを考慮しながら数回のカラムスイッチングを行い、15 回の試料注入で Fr-01 から Fr-15 の全 15 種の分取溶液を得た (Fig.2 ~ Fig.5 参照)。

なお、分画した成分は、コールドトラップによりキャピラリーカラム内にトラップされるが、その画分の回収はコールドトラップ手前のユニオン部でキャピラリーチューブを取り外し、そこにルアーロック式シリンジを接続し、ジクロロメタン 1ml を 3 回通液させて、溶解・溶出させることにより行った。この回収溶液を窒素パーズで乾固しないように濃縮し、内部標準液 NK-LCS-H 200pg/uL (Wellington 社製) 5µl とデカン 50µl を添加した。

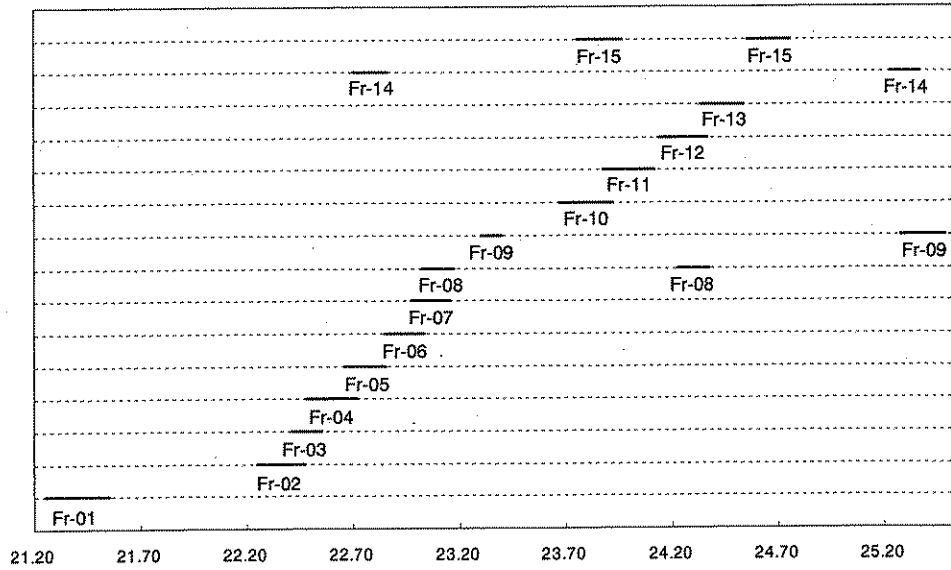
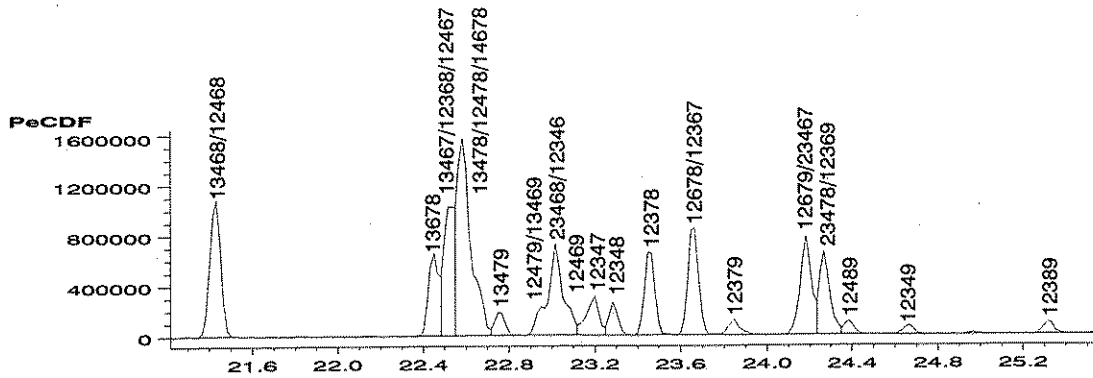


Fig.2 Heart-cut time-program for fractionation of PeCDF peaks

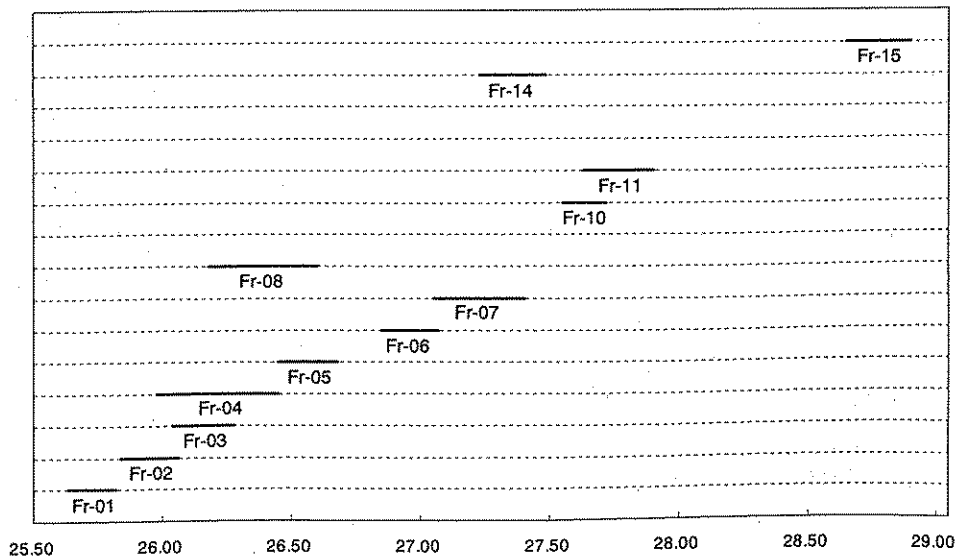
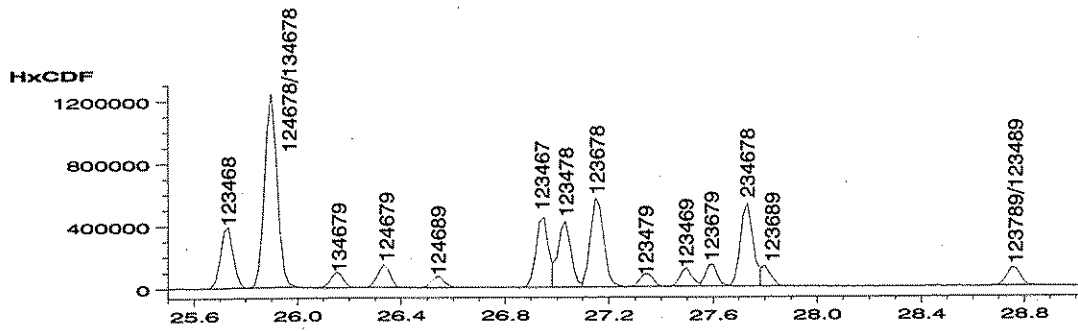


Fig.3 Heart-cut time-program for fractionation of HxCDF peaks

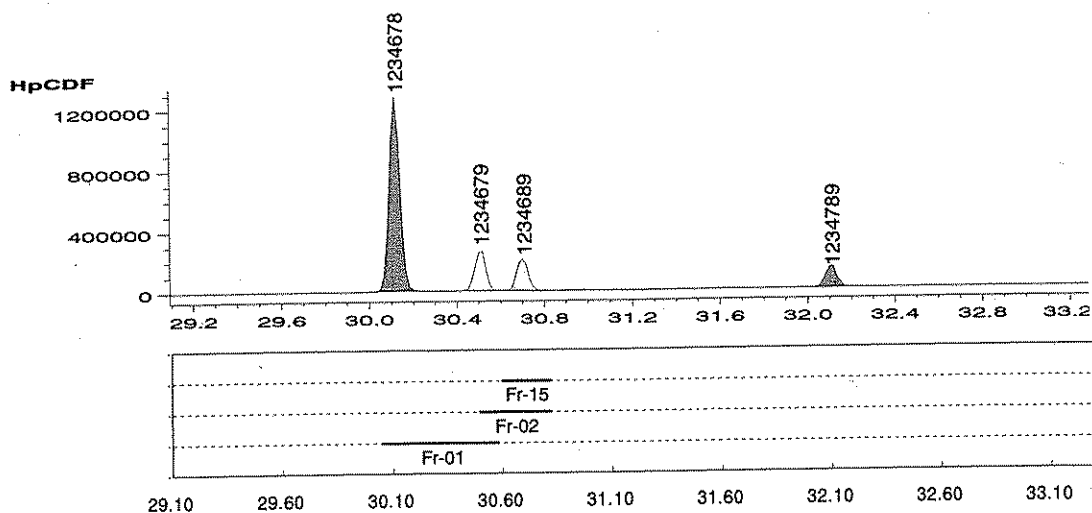


Fig.4 Heart-cut time-program for fractionation of HpCDF peaks

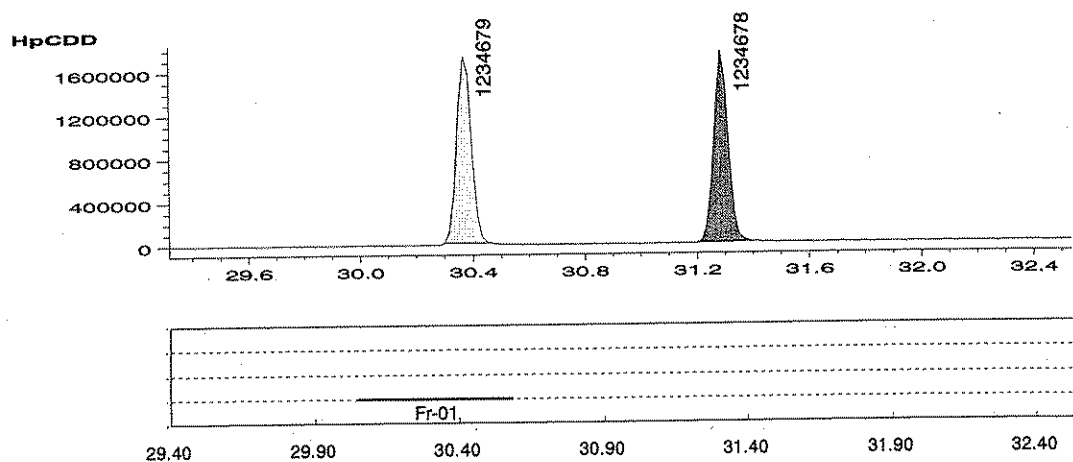


Fig.5 Heart-cut time-program for fractionation of HpCDD peaks

3. 結果

3.1 装置及び測定条件

分画成分は、カラムスイッチングにより全量がコールドトラップ側に運ばれるためMSにより検出されなくなり、そのピークはクロマトグラム上から消失する。Fig.6からFig.9にモニター時(A)と分画時(B)のクロマトグラムの比較例を示した。Fig.6(B)は、Fig.2に示したPeCDFsのFr-09を分画した時のクロマトグラムであり、BPX-DXNにおける1,2,3,4,7-PeCDFのピークの一部と、1,2,3,4,8-及び、1,2,3,8,9-PeCDFのピークが消失していることから、これら3種の異性体が分取されたことがわかる。さらに、Fig.6(C)は、Fr-09の分取溶液をSP-2331で分析したクロマトグラムであり、その溶出位置から1,2,3,4,7-、1,2,3,4,8-及び、1,2,3,8,9-PeCDFが含まれていることが確認でき

た。同時に、それぞれの異性体の1,2,3,7,8-PeCDFを ^{13}C によりラベル化した内部標準物質に対するピーク面積比を得た。Fig.7、Fig.8及び、Fig.9の(B)は、PeCDFsのFr-14、HxCDFsのFr-01及び、Fr-15を分画した時のクロマトグラムである。Fig.7(B)では、BPX-DXNにおける1,3,4,7,8-、1,2,4,7,8-、1,4,6,7,8-、1,3,4,7,9-、及び1,2,3,8,9-PeCDFのピークが、Fig.8及び、Fig.9(B)では、それぞれBPX-DXNにおける1,2,3,4,6,8-HxCDF及び、1,2,3,7,8,9-と1,2,3,4,8,9-HxCDFのピークが消失しており、5種のPeCDFs、1種及び2種のHxCDFsがそれぞれ分取されたことがわかる。Fig.7、Fig.8及び、Fig.9(C)のSP-2331による分取溶液のクロマトグラムであり、これら分取溶液中における異性体の組成について再確認できた。

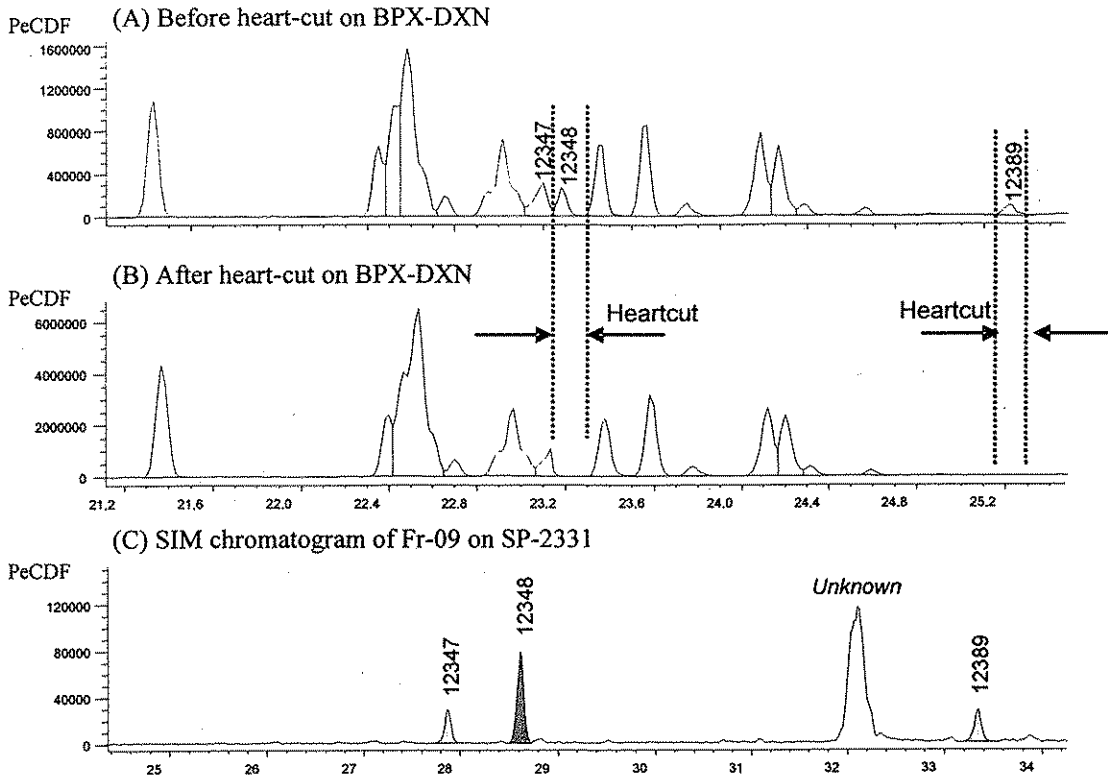


Fig.6 SIM chromatograms of heart-cut effect on BPX-DXN and fractionated PCDFs on SP-2331

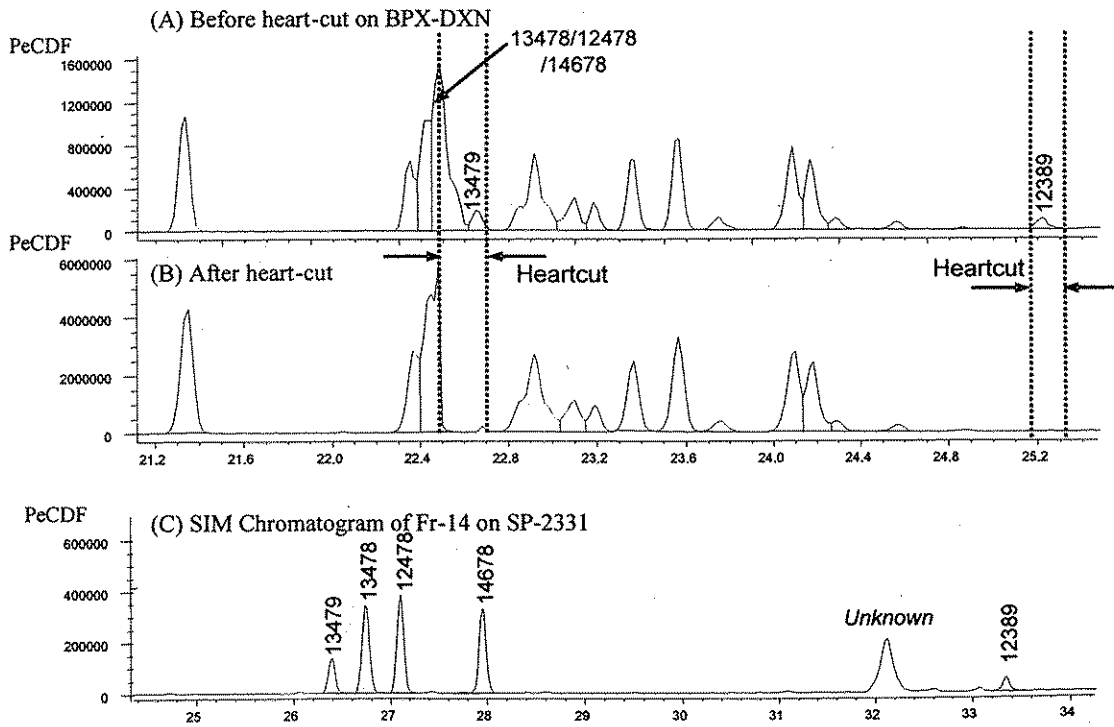


Fig.7 SIM Chromatograms of heart-cut effect on BPX-DXN and fractionated PeCDFs on SP-2331

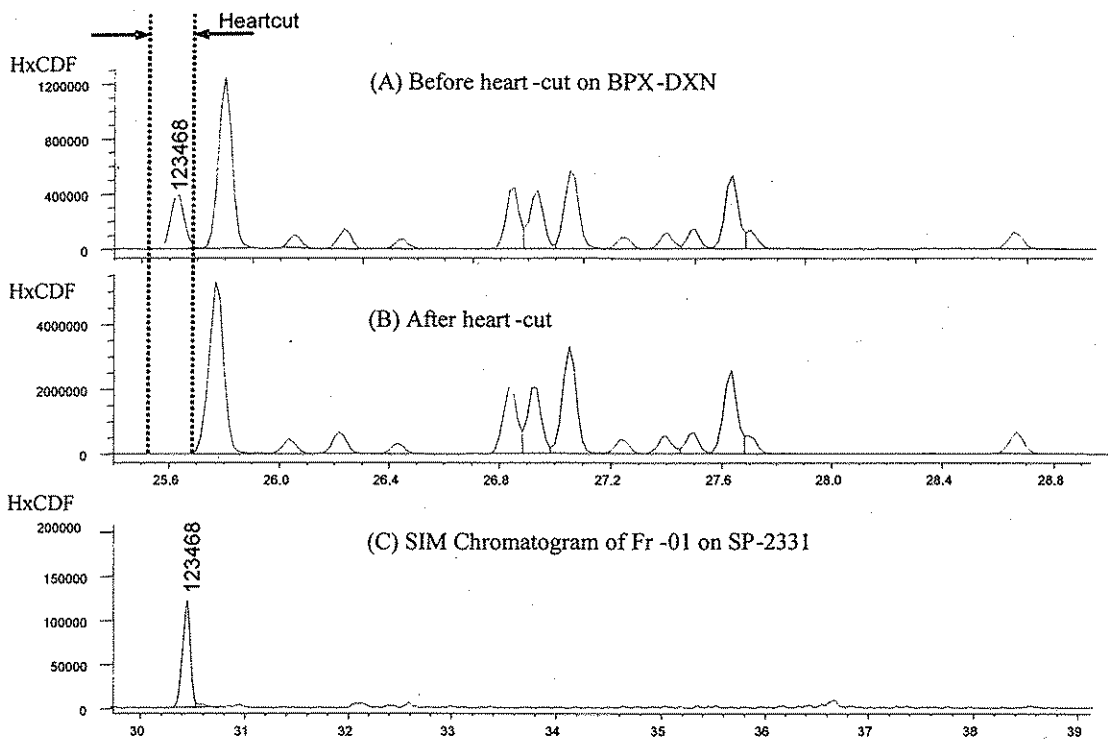


Fig.8 SIM Chromatograms of heart-cut effect on BPX-DXN and fractionated HxCDFs on SP-2331

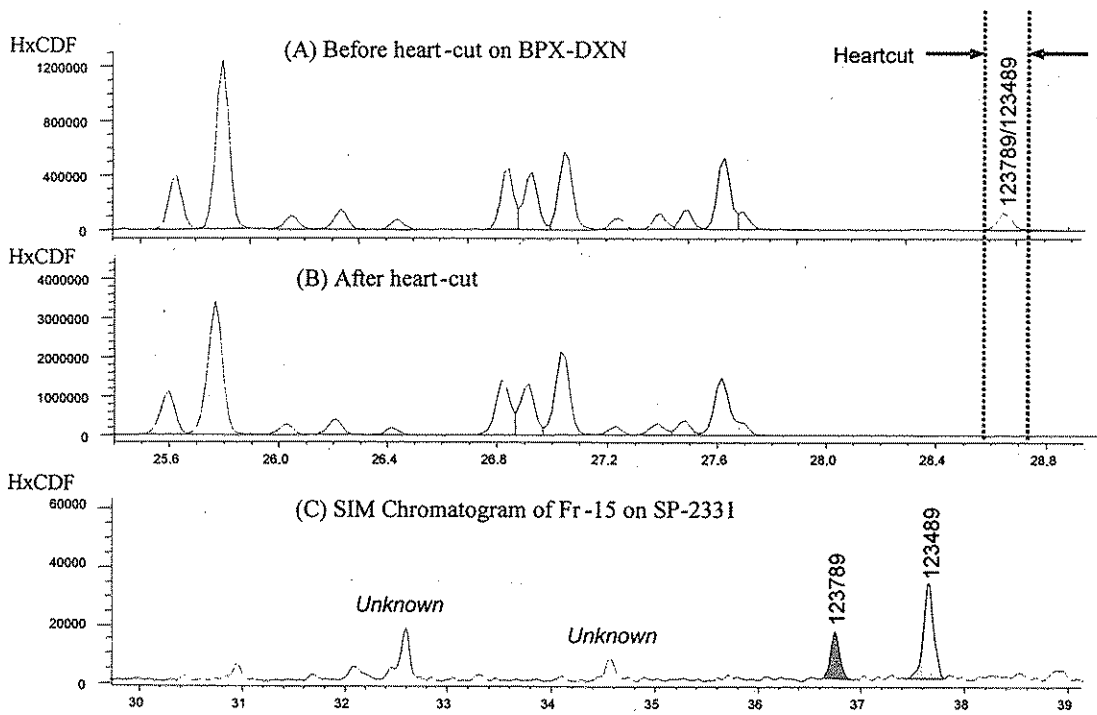


Fig.9 SIM Chromatograms of heart-cut effect on BPX-DXN and fractionated HxCDFs on SP-2331

3. 2 分取溶液の異性体組成の確認

15 種の分取溶液は、Table 1(B)の GC 条件で SP-2331I)により測定し、各分取溶液に含まれる異性体組成及びその組成比を確認した。溶出順位が既に報告されている BPX-DXN2)を用い分取している

ことから、各分取溶液に含まれる異性体組成は推測とほぼ一致している。しかし、SP-2331 で分取溶液を分離分析することにより、BPX-DXN で分離不十分であった異性体についても各塩素数における内部標準物質に対するピーク面積比を得ることができた。

Table 2 PCDDs/PCDFs congeners in each fraction

Fraction	PCDDs/PCDFs	The Congeners of PCDDs/PCDFs
Fr-01	PeCDFs	1,3,4,6,8-, 1,2,4,6,8-
	HxCDFs	1,2,3,4,6,8-
	HpCDFs	1,2,3,4,6,7,8-, 1,2,3,4,6,7,9-
	HpCDDs	1,2,3,4,6,7,9-
Fr-02	PeCDFs	1,3,6,7,8-, 1,3,4,6,7-, 1,2,3,6,8-, 1,3,4,7,8-, 1,2,4,6,7-
	HxCDFs	1,2,3,4,6,8-, 1,2,4,6,7,8-
	HpCDFs	1,2,3,4,6,7,9-, 1,2,3,4,6,8,9-
Fr-03	PeCDFs	1,3,6,7,8-, 1,3,4,6,7-, 1,2,3,6,8-, 1,3,4,7,8-, 1,2,4,6,7-
	HxCDFs	1,3,4,6,7,8-, 1,2,4,6,7,8-, 1,3,4,6,7,9-
Fr-04	PeCDFs	1,3,6,7,8-, 1,2,3,6,8-, 1,3,4,7,8-, 1,2,4,7,8-, 1,3,4,6,7-, 1,2,4,6,7-, 1,4,6,7,8-
	HxCDFs	1,3,4,6,7,8-, 1,3,4,6,7,9-, 1,2,4,6,7,9-
Fr-05	PeCDFs	1,3,6,7,8-, 1,2,3,6,8-, 1,3,4,7,8-, 1,2,4,7,8-, 1,3,4,6,7-, 1,2,4,6,7-, 1,3,4,7,9-, 1,4,6,7,8-
	HxCDFs	1,2,4,6,7,9-, 1,2,4,6,8,9-
Fr-06	PeCDFs	1,2,4,7,9-, 2,3,4,6,8-, 1,3,4,6,9-
	HxCDFs	1,2,3,4,6,7-, 1,2,3,4,7,8-
Fr-07	PeCDFs	1,2,4,7,9-, 2,3,4,6,8-, 1,3,4,6,9-, 1,2,3,4,6-
	HxCDFs	1,2,3,4,7,8-, 1,2,3,6,7,8-, 1,2,3,4,7,9-
Fr-08	PeCDFs	1,2,3,4,7-, 2,3,4,6,8-, 1,2,3,4,6-, 1,2,3,4,8-, 1,2,4,6,9-, 2,3,4,7,8-, 2,3,4,6,7-, 1,2,3,6,9-, 1,2,4,8,9-
	HxCDFs	1,3,4,6,7,9-, 1,2,4,6,7,9-, 1,2,4,6,8,9-
Fr-09	PeCDF	1,2,3,4,7-, 1,2,3,4,8-, 1,2,3,8,9-
Fr-10	PeCDFs	1,2,3,6,7-, 1,2,3,7,9-, 1,2,6,7,8-
	HxCDFs	1,2,3,6,7,9-, 2,3,4,6,7,8-
Fr-11	PeCDFs	1,2,3,7,9-, 1,2,3,6,7-
	HxCDFs	1,2,3,6,7,9-, 2,3,4,6,7,8-, 1,2,3,6,8,9-
Fr-12	PeCDFs	2,3,4,7,8-, 2,3,4,6,7-, 1,2,6,7,9-
Fr-13	PeCDFs	2,3,4,7,8-, 2,3,4,6,7-
Fr-14	PeCDFs	1,3,4,7,8-, 1,2,4,7,8-, 1,3,4,7,9-, 1,4,6,7,8-, 1,2,3,8,9-
	HxCDFs	1,2,3,6,7,8-, 1,2,3,4,7,9-, 1,2,3,4,6,9-
Fr-15	PeCDFs	1,2,3,6,7-, 1,2,6,7,8-, 1,2,3,7,9-, 1,2,3,4,9-
	HxCDFs	1,2,3,7,8,9-, 1,2,3,4,8,9-
	HpCDFs	1,2,3,4,6,8,9-
STD*	PeCDFs	1,2,3,7,8-, 2,3,4,7,8-
	HxCDFs	1,2,3,4,7,8-, 1,2,3,6,7,8-, 2,3,4,6,7,8-, 1,2,3,7,8,9-
	HpCDFs	1,2,3,4,6,7,8-, 1,2,3,4,7,8,9-
	HpCDDs	1,2,3,4,6,7,8-

STD* : The standard solution of 2,3,7,8-chlorinated congeners (Wellington)

4. まとめ

カラムスイッチングを応用したマルチディメジヨナル GC システムによって、容易でかつ迅速な PCDDs 及び PCDFs 各異性体の溶出順位の決定方法を見いだした。本手法はダイオキシン類の分析に限定されることなく、入手困難な化合物や異性体の分析における溶出位置の確認や異性体の溶出順位の決定においても有効な手法であると考えられる。

参考文献

- 1) J.J.Ryan, H.B.S.Conacher, L.Panopio, B.PYLAU, J.A.Hardy and Y.Masuda(1991): Gas Chromatographic separations of all 136 tetra- to octa- chlorinated dibenzo-p-dioxins and chlorinated dibenzofurans on nine different stationary phase. *Journal of Chromatography*, 541, pp131-183
- 2) 松村徹, 関好恵, 増崎優子, 社本博司, 森田昌敏, 伊藤裕康(2002): 第 11 回環境化学討論会講演要旨集, pp152-153
- 3) 「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 K0311. (1999)