

抽出圧力	1500psi (10MPa)
オープン温度	150℃
オープン昇温時間	7分
設定温圧静置時間	10分
フラッシュ容積	セル容積の50%
窒素ガスパージ時間	180秒
静置サイクル数	2回

1-1-2. 脂肪質量測定

血液中の脂肪量は個人の体質・食事の内容・食事からの経過時間などに大きく左右されるため、主に脂肪中に溶け込んでいるダイオキシン類の濃度を単位血液量当たりで表すとその影響によるばらつきが大きく比較が難しくなる。一方、脂肪質量当たりの濃度として表すと、その影響を受けないので比較しやすいなどの利点が多い。そのため、前処理の過程で脂肪質量を量る必要がある。

分析時間短縮のためには、一般に抽出液を二分し、一方は脂肪質量測定用のみ使用し、もう一方はダイオキシン分析用としてすぐに次の操作へ移す方法が行われている。しかしそれでは貴重な血液試料の一部が脂肪質量を測定しただけで無駄になってしまう。被験者負担軽減のためには、脂肪質量を測定した試料をダイオキシン分析用に使用すべきと考え、次の処理方法を開発した。

脂肪質量測定操作：高速溶媒抽出装置で得られた抽出液を、無水硫酸ナトリウム 15g を入れたロートでろ過しながら脱水し、500mL ナスフラスコに受ける。これを真空調節器付きのロータリーエバポレーターで減圧濃縮する。突沸あるいは乾固させないように注意しながら数十 mL 程度まで穏やかに濃縮する。これを 200mL ナスフラスコへ移し、同様に 2mL 程度まで更に濃縮する。

この濃縮液を、予め分析用精密上皿電子天秤で質量を量っておいた専用の秤量瓶（アンプル管の肩から上を切り落とした物）に移し、窒素気流下で更に濃縮する。溶媒がほぼ無くなったところでドラフト内に一晚静置し、溶媒を留去する。これを容器ごと秤量し、増加分を脂肪質量とする。

なお各容器の移し換えの際は、容器の大きさに応じて数 mL のヘキサンで洗い込みを行う。新しいヘキサンを加えては、超音波洗浄機を用いて内壁を洗い、これも次の容器に移す。この操作をそれぞれ3回行い、回収率を向上させる。

1-1-3. 硫酸による脂肪分解

有機溶媒による抽出物中および脂肪中のダイオキシン類を、脂肪、その他の有機物から分離するには、濃硫酸を加えて攪拌するのが極めて有効である。着色物質や多環芳香族炭化水素・不飽和炭化水素など、抽出物中に存在する有機物の大部分はこの処理によって分解される。化学的に安定なダイオキシン類はこの操作ではほとんど影響されない。

脂肪分解操作：まず、ヘキサン 1mL を脂肪質量測定後の容器に加えて脂肪を溶かす。これを 10mL 先細り遠沈管に移す。前述と同様、1mL のヘキサンで洗い込みを 3 回行う。全液量を 4mL に揃え、そこへ濃硫酸 2mL を静かに滴下する。エマルジョンが出来ると分離が困難になるため、振ったり混ぜたりせず、そのまま一晩静置する。

翌日、ヘキサン層（上層）が無色であることを確認し、遠心分離器（毎分 2800 回転、10 分）により硫酸層と分離する。もし着色が残っている場合は濃硫酸を 1mL 追加し、更に半日程度静置する。場合によっては硫酸層（下層）を取り除き、ヘキサン層が無色になるまでこれを繰り返す。

得られた上澄み液を 15mL スピッチへ注意深く移す。ここでの洗い込みは超音波洗浄機を使用せずに、加えたヘキサンをパスツールピペットで吸い上げては内壁を洗い落とす操作を繰り返す。最終的に全液量が 12mL になるようにヘキサンを加える。

1-1-4. 妨害物質のクリーンアップ（ダイオキシン類の分取）

前述の硫酸処理によって大部分の妨害物質は除去できる。しかし、それだけでは不十分である。試料中の含有量が非常に少ないダイオキシン類を定量するためには、桁違いに高い濃度で存在する妨害物質から分離し、濃縮することが極めて重要である。超微量物質を分析する高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計の性能維持のためにも、目的物質以外の妨害物質を可能な限り完全に除去する必要がある。

この目的に従来は、何種類かのカラムクロマトグラフィを順次行う方法がとられている。すなわち除去目的物質に応じてアルミナ（酸化アルミニウム）やフロリジル（ケイ酸マグネシウム）・硫酸や水酸化カリウムあるいは硝酸銀を添加したシリカゲル・活性炭などをガラスカラムクロマト管に充填する。そこに濃縮した試料を入れ、種々の溶媒によって各成分を溶離し、ダイオキシン類を含む画分を捕集する。しかしこの方法は、1 本 1 本充填剤を詰める作業、得られたダイオキシン画分を次のカラムクロマトグラフィのために再度濃縮する作業などに非常に時間と労力を必要とする。

本研究では、予め充填されたカラムを使い、連続してカラムクロマトグラフィを行える自動クリーンアップ装置 Power-Prep (Fluid Management System (FMS) 社製) を用いた。これによって妨害物質からダイオキシン画分を効率よく分取できるようになった。この装置は、3 種類のカラムクロマトグラフ管とポンプおよび各電磁弁が全て連結されており、コンピューター制御によって各種溶離液を自動的に流す装置である。原理も含め、基本的な動作は従来のカラムクロマトグラフィと同じである。またこの装置は開発されてからまだ間もないが、既に米国環境保護庁 (EPA) が環境試料中のダイオキシン類分析の公定法に採用している。

自動クリーンアップ操作：今回、カラムや溶離液の種類などの条件および動作プログラムは、ダイオキシン類分析用として FMS 社から提供されたものを用いた。その概要を以下

に示す。

[使用カラム]

カラム1：多層シリカゲルカラム (Disposable multi-layer silica column)

カラム2：塩基性アルミナカラム (Disposable basic alumina column)

カラム3：活性炭カラム (Disposable carbon/celite column)

[溶出条件]

- 1) 各カラム及び流路を使用する溶媒で洗浄・コンディショニングした後、ヘキサン溶液 (12mL) にした試料をカラム1へ添加。
- 2) カラム1からヘキサン 90mL (10mL/min) でカラム2へ溶出。
- 3) カラム2へ2%ジクロロメタン/ヘキサン 60mL (10mL/min) を流した後、50%ジクロロメタン/ヘキサン 120mL (10mL/min) でカラム3へ溶出。
- 4) カラム3へ50%酢酸エチル/トルエン 4mL (10mL/min)、ヘキサン 10mL (10mL/min) を流した後、逆側からトルエン 75mL (5mL/min) を流し、これをダイオキシン画分として100mLナスフラスコに採取した。

1-1-5. クリーンアップ後の試料の濃縮

濃縮操作：得られたダイオキシン画分をロータリーエバポレーターで乾固寸前まで減圧濃縮する。このとき乾固させないように十分な注意をする。これをガスクロマトグラフ用オートサンプラーのバイアルへ移す。バイアルには予め15 μ Lの印を付けておく。これにダイオキシン画分を少量ずつ移しては、窒素ガスを穏やかに吹き付けて濃縮し、洗い込みも含め全てを移す。最終的に液面が、15 μ Lの印のところになるように濃縮する。

定容後すぐに、各バイアルへ内標準物質 (シリンジスパイク ^{13}C 標識化合物 各 1pg/ μ L) 10 μ L を添加し、これを高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計の測定試料とする。

以上で説明した血液試料の前処理操作のフローチャートを図1に示した。

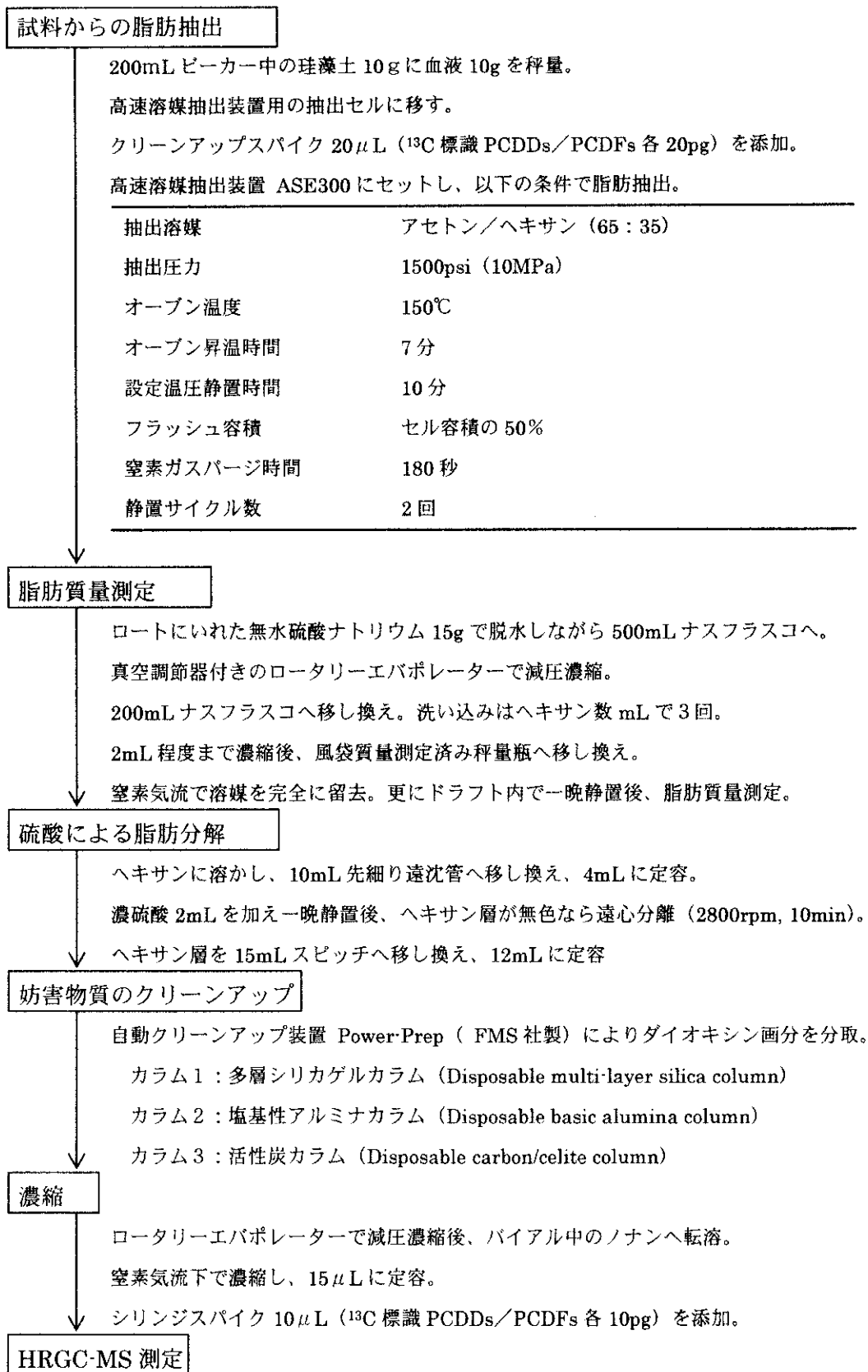


図 1. 血液中ダイオキシン類の前処理フローチャート

1-2. 高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計 (HRGC-MS) による測定

1-2-1. 分析機器

塩素化ダイオキシン類 (PCDDs および PCDFs) には多くの異性体が存在する。同位体希釈法によってそれらの定量を行うには、高感度・高選択的に測定できる高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計 (HRGC-MS) を用いる必要がある。本研究では、ダイオキシン類分析で既に数多くの実績をあげ、高い評価を得ている Micromass 社製の AutoSpec Ultima NT (二重収束型) を使用した。

本研究所では、この HRGC-MS の試料注入部に、SGE 社製の大量注入装置 (SCLV Injection System) を取り付けた。この装置を用いることにより、通常 $1\mu\text{L}$ しか注入出来ないところを、最大 $20\mu\text{L}$ まで注入することが出来るようになった。

【大量注入装置の概要と特長】

- 1) 注入された試料は、プレカラムにて溶媒と分析対象成分とに粗分離され、溶媒はソルベントカットバルブから排出される。このことで HRGC-MS の真空度が改善され、汚染も低減される。
- 2) 溶媒の排出後、ソルベントカットバルブを閉じると、分析対象成分は液化炭酸ガスによるコールドトラップへ導かれる。大量の溶媒のために拡がった試料バンドを再凝縮する。トラップ内の容積は通常の注入口の $1/1000 \sim 1/10000$ であるので、分析カラムに導入される分析成分のバンド幅が狭くなる。そのため、HRGC-MS のピークはよりシャープになるのでピークの分離性が良くなり、定量性が向上する。
- 3) 再びソルベントカットバルブを開いて分析対象成分以降に溶出する不必要な高沸点の不純物を排出する。これもまた分析カラムやイオン源の汚染および性能劣化の防止に貢献する。
- 4) 次に液化炭酸ガスの供給を止めてトラップを解除する。分析対象成分を分析カラムへと導き、測定を開始する。大量の溶媒や高沸点の不純物などは除去され、分析対象成分のみが分析カラムへと導かれる。そのため、カラムへの試料負荷量も小さくて済むので、分析カラムに内径の細かいカラムを使用できる。内径の細かいカラムは試料負荷量が小さいため、通常の実験での使用は制限されるが、分離性能が優れており定量性も良い。

1-2-2. 測定条件

分析対象のダイオキシン類およびそれらの内標準物質の種類ごとに、塩素原子の天然同位体存在比から推定される最も強い 2 つのイオンの質量数を測定する。また、保持時間によって分割したグループごとに、そこで測定する質量範囲内にあるロックマス用 PFK のイオンの質量数を測定する。なお、1 つのピークに対して十分な測定点を確保するため、選択イオン検出のサンプリング周期は 1 秒以下になるよう設定する。

表2. 高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計の塩素化ダイオキシン類測定条件

	項目	条件など
HR-MS部	高分解能質量分析計	Micromass 社製 AutoSpec Ultima NT (二重収束型)
	分解能	10000 以上
	電子加速電圧	35 eV
	イオン化電流	0.5 mA
	イオン源温度	300℃
	検出方法	質量校正用標準物質 PFK を用いたロックマス方式による選択イオン検出 (SIM) 法
GC部	高分解能ガスクロマトグラフ	Agilent 社製 HP6890
	注入装置	SGE 社製 溶媒除去大量注入システム (SCLV Injection System)
	プレカラム	SGE 社製 BPX5 (0.25mm ID×6m、膜厚 0.25 μm)
	分析カラム	SGE 社製 BPX-Dioxin-I (0.15mm ID×30m)
	注入口温度	280℃
	カラムオープン昇温条件	160℃ (3min hold) - <20℃/min> - 300℃ (8min hold) - <-100℃/min> - 150℃ (0.5min hold) - <5℃/min> - 300℃ (5min hold)
	注入口キャリアガス圧力条件	469kPa (2.75min hold) - <418kPa /min> - 678kPa (14.75min hold) - <-271kPa /min> - 271kPa (0.5min hold) - <5.7kPa /min> - 442kPa (5min hold)
	追加キャリアガスガス (Aux#3) 圧力条件	455kPa (2.75min hold) - <414kPa /min> - 662kPa (14.75min hold) - <-271kPa /min> - 255kPa (0.5min hold) - <4.9kPa /min> - 403kPa (4.79min hold)
	溶媒追い出しガス (Aux#5) 圧力条件	416kPa (2.75min hold) - <-576kPa /min> - 128kPa (14.75min hold) - <76kPa /min> - 242kPa (0.5min hold) - <4.1kPa /min> - 364kPa (5.24min hold)
	ソルベントカットバルブ (Valve 5) 動作プログラム	0 → 2.75 → 18 (min) Off → On → Off
	コールドトラップバルブ (Valve 6) 動作プログラム	0 → 2.25 → 20 (min) Off → On → Off

表3. PCDDs および PCDFs の質量数と塩素原子の天然同位体存在比から推定されるイオン強度比

	M ⁺	(M+2) ⁺	(M+4) ⁺	(M+6) ⁺
TeCDDs	319.8965	321.8936	323.8906	325.8877
¹³ C-TeCDDs	331.9368	333.9338	335.9309	337.9280
イオン強度比	77.43	100.00	48.74	10.72
TeCDFs	303.9016	305.8987	307.8957	309.8928
¹³ C-TeCDFs	315.9419	317.9389	319.9360	321.9330
イオン強度比	77.55	100.00	48.61	10.64
PeCDDs	353.8576	355.8546	357.8517	359.8487
¹³ C-PeCDDs	365.8978	367.8949	369.8919	371.8890
イオン強度比	62.06	100.00	64.69	21.08
PeCDFs	337.8627	339.8597	341.8568	343.8538
¹³ C-PeCDFs	349.9029	351.9000	353.8970	355.8941
イオン強度比	62.14	100.00	64.57	20.98
HxCDDs	387.8186	389.8156	391.8127	393.8097
¹³ C-HxCDDs	399.8589	401.8559	403.8530	405.8500
イオン強度比	51.79	100.00	80.66	34.85
HxCDFs	371.8237	373.8207	375.8178	377.8148
¹³ C-HxCDFs	383.8639	385.8610	387.8580	389.8551
イオン強度比	51.84	100.00	80.54	34.72
HpCDDs	421.7796	423.7767	425.7737	427.7708
¹³ C-HpCDDs	433.8199	435.8169	437.8140	439.8110
イオン強度比	44.43	100.00	96.64	52.03
HpCDFs	405.7847	407.7818	409.7788	411.7759
¹³ C-HpCDFs	417.8250	419.8220	421.8191	423.8161
イオン強度比	44.47	100.00	96.52	51.88
OCDDs	455.7406	457.7377	459.7347	461.7318
¹³ C-OCDDs	467.7809	469.7780	471.7750	473.7721
イオン強度比	34.54	88.80	100.00	64.48
OCDFs	439.7457	441.7428	443.7398	445.7369
¹³ C-OCDFs	451.7860	453.7830	455.7801	457.7771
イオン強度比	34.61	88.89	100.00	64.39

注) M は最低質量数のイオンを表す。

イオン強度比は、各塩素数ごとにそれぞれ最大強度を示すイオンを 100% とした値である。

1-3. 検量線の作製

1-3-1. 検量線作製用標準液の調製

検量線作製用の標準液は、Cambridge Isotope Laboratories (CIL) 社製 ダイオキシン標準溶液 EDF-9999, Method 1613 Calibration Solutions [CS1~CS5] を購入し、それぞれを 100 倍に希釈したものを用いた。

これらの標準液は、分析対象物質であるダイオキシンおよびフランの 2,3,7,8-位塩素置換異性体が 5 段階の濃度系列をなしている。また全ての溶液には各異性体に対応する内標準物質(クリーンアップスパイク; cs およびシリンジスパイク; rs として使用する ^{13}C 標識化合物) が一定濃度で含まれている。

1-3-2. 検量線作製用標準液の測定

この検量線作製用標準液を、HRGC-MS により、実際の分析試料と同条件で測定した。化合物ごとに塩素同位体組成の異なる二つの質量数を測定し、それぞれのクロマトグラムにおけるピーク面積を合計した。この値をその化合物のピーク面積とし、以降の計算に用いた。

1-3-3. 検量線の作製 (相対感度係数の計算)

まず、各分析対象物質のピーク面積 (A_s) とその分析対象物質に対応する内標準物質(クリーンアップスパイク) のピーク面積 (A_{cs}) との比 (A_s/A_{cs}) を求めた。次に、その標準液における各分析対象物質と内標準物質(クリーンアップスパイク) の濃度比 (C_s/C_{cs}) を求めた。これら濃度比とピーク面積比をそれぞれ x 軸と y 軸にとり、検量線を作製した。最小自乗法により一次回帰直線を求め、その傾きを相対感度係数 (RRF_{cs}) とした。実際の試料中のダイオキシン類の濃度はこの相対感度係数 (RRF_{cs}) を用いて計算する。

同じく検量線作製用標準液を測定し、シリンジスパイク内標準物質に対するクリーンアップスパイク内標準物質のピーク面積比 (A_{cs}/A_{rs}) と、標準液における濃度比 (C_{cs}/C_{rs}) とを比べ、その平均値を相対感度係数 (RRF_{rs}) とした。実際の試料に添加したクリーンアップスパイクの回収率 (R_{cs}) は、この相対感度係数 (RRF_{rs}) を用いて計算する。

1-3-4. 結果と考察

この検量線作製用標準液を実際の分析試料と同条件で測定した結果 (表 5) と、それを基に作製した各化合物の検量線を図 2~7 に示す。各分析対象物質とそれに対応する内標準物質(クリーンアップスパイク) の、ピーク面積比 (A_s/A_{cs}) と濃度比 (C_{cs}/C_{rs}) とはほぼ直線関係となった。最小自乗法により一次回帰直線を求めた結果、相関係数 (R^2) は 0.9996 以上と非常に良好であった。

表4. 塩素化ダイオキシン類検量線作製用標準液の成分 (pg/ μ L [=ppb] ノナン溶液)

	CS1*100	CS2*100	CS3*100	CS4*100	CS5*100
Unlabeled Compounds					
2,3,7,8-TeCDD	0.005	0.02	0.1	0.4	2
2,3,7,8-TeCDF	0.005	0.02	0.1	0.4	2
1,2,3,7,8-PeCDD	0.025	0.1	0.5	2	10
1,2,3,7,8-PeCDF	0.025	0.1	0.5	2	10
2,3,4,7,8-PeCDF	0.025	0.1	0.5	2	10
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.025	0.1	0.5	2	10
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.025	0.1	0.5	2	10
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.025	0.1	0.5	2	10
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.025	0.1	0.5	2	10
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.025	0.1	0.5	2	10
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.025	0.1	0.5	2	10
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.025	0.1	0.5	2	10
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.025	0.1	0.5	2	10
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.025	0.1	0.5	2	10
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.025	0.1	0.5	2	10
OCDD	0.05	0.2	1	4	20
OCDF	0.05	0.2	1	4	20
¹³ C Labeled Compounds (cs)					
1,2,3,4-TeCDD (rs)	1	1	1	1	1
2,3,7,8-TeCDD	1	1	1	1	1
2,3,7,8-TeCDF	1	1	1	1	1
1,2,3,7,8-PeCDD	1	1	1	1	1
1,2,3,7,8-PeCDF	1	1	1	1	1
2,3,4,7,8-PeCDF	1	1	1	1	1
1,2,3,4,7,8-HxCDD	1	1	1	1	1
1,2,3,6,7,8-HxCDD	1	1	1	1	1
1,2,3,7,8,9-HxCDD (rs)	1	1	1	1	1
1,2,3,4,7,8-HxCDF	1	1	1	1	1
1,2,3,6,7,8-HxCDF	1	1	1	1	1
1,2,3,7,8,9-HxCDF	1	1	1	1	1
2,3,4,6,7,8-HxCDF	1	1	1	1	1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	1	1	1	1	1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	1	1	1	1	1
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	1	1	1	1	1
OCDD	2	2	2	2	2

注) rs : シリンジスパイク

cs : クリーンアップスパイク (シリンジスパイク以外の全ての ¹³C 標識化合物)

表5. 塩素化ダイオキシン類検量線作製用標準液測定結果と相対感度係数(RRFcs)の計算結果

化合物		検量線作製用標準液					一次回帰直線		相関 (R ²)
		CS1X100	CS2X100	CS3X100	CS4X100	CS5X100	傾き(RRFcs)	y切片	
2,3,7,8-TeCDF	面積比	0.005575	0.018682	0.095896	0.352174	1.76094	0.878990399	0.002763	1.0000
	濃度比	0.005	0.02	0.1	0.4	2			
2,3,7,8-TeCDD	面積比	0.005522	0.020782	0.10267	0.396271	2.020662	1.010209526	-0.00097	1.0000
	濃度比	0.005	0.02	0.1	0.4	2			
1,2,3,7,8-PeCDF	面積比	0.018431	0.076078	0.415643	1.532394	7.741286	0.773520652	0.003627	1.0000
	濃度比	0.025	0.1	0.5	2	10			
2,3,4,7,8-PeCDF	面積比	0.021111	0.082526	0.400801	1.77984	8.417314	0.841646544	0.015161	0.9998
	濃度比	0.025	0.1	0.5	2	10			
1,2,3,7,8-PeCDD	面積比	0.023327	0.092198	0.468109	1.840409	9.120612	0.91155377	0.007258	1.0000
	濃度比	0.025	0.1	0.5	2	10			
1,2,3,4,7,8-HxCDF	面積比	0.023809	0.087845	0.457689	1.76726	8.650767	0.863983741	0.015915	1.0000
	濃度比	0.025	0.1	0.5	2	10			
1,2,3,6,7,8-HxCDF	面積比	0.018384	0.082702	0.429858	1.70791	8.503922	0.85038772	0.001326	1.0000
	濃度比	0.025	0.1	0.5	2	10			
2,3,4,6,7,8-HxCDF	面積比	0.019269	0.085035	0.418824	1.651417	7.906458	0.789296878	0.023226	0.9999
	濃度比	0.025	0.1	0.5	2	10			
1,2,3,7,8,9-HxCDF	面積比	0.024382	0.09335	0.424149	1.781551	8.979969	0.898611163	-0.00831	1.0000
	濃度比	0.025	0.1	0.5	2	10			
1,2,3,4,7,8-HxCDD	面積比	0.019843	0.102262	0.570292	2.231025	10.67556	1.066225538	0.027576	0.9999
	濃度比	0.025	0.1	0.5	2	10			
1,2,3,6,7,8-HxCDD	面積比	0.021989	0.094055	0.456386	1.851922	8.670477	0.865296479	0.034092	0.9998
	濃度比	0.025	0.1	0.5	2	10			
1,2,3,7,8,9-HxCDD	面積比	0.019803	0.102945	0.530299	2.108772	10.26183	1.025483146	0.015384	1.0000
	濃度比	0.025	0.1	0.5	2	10			
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	面積比	0.023174	0.091288	0.472328	1.763333	9.209417	0.921201531	-0.01413	0.9999
	濃度比	0.025	0.1	0.5	2	10			
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	面積比	0.024236	0.082197	0.445953	1.72322	8.584663	0.857979412	0.005656	1.0000
	濃度比	0.025	0.1	0.5	2	10			
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	面積比	0.020037	0.082608	0.454562	1.676746	8.699012	0.870015833	-0.0102	0.9999
	濃度比	0.025	0.1	0.5	2	10			
OCDF	面積比	0.020407	0.07749	0.393338	1.900862	8.743142	0.874819131	0.01813	0.9996
	濃度比	0.025	0.1	0.5	2	10			
OCDD	面積比	0.026193	0.093462	0.475875	1.929625	9.493737	0.949081036	0.007349	1.0000
	濃度比	0.025	0.1	0.5	2	10			

注) 面積比: 各分析対象物質のピーク面積 (As) と、対応する内標準物質 (クリーンアップスパイク) のピーク面積 (Acs) との比。As/Acs。

濃度比: 標準液における分析対象物質と対応する内標準物質 (クリーンアップスパイク) の濃度の比。Cs/Ccs。

傾き(RRFcs): 一次回帰直線の傾きを、クリーンアップスパイクに対する分析対象物質の相対感度係数(RRFcs)とした。

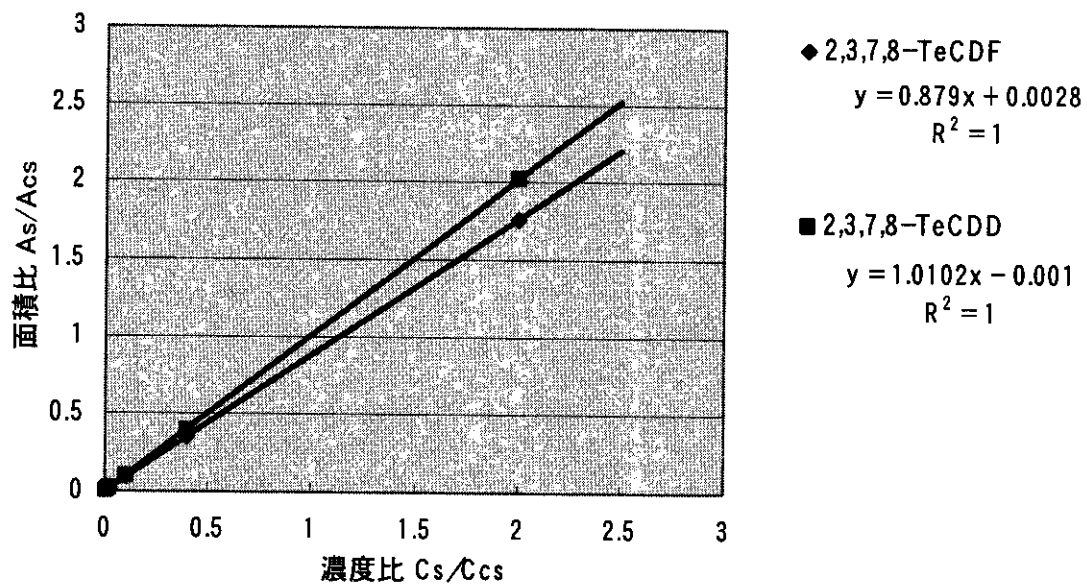


図2. TeCDD/Fと内標準物質(クリーンアップスパイク)との相対感度

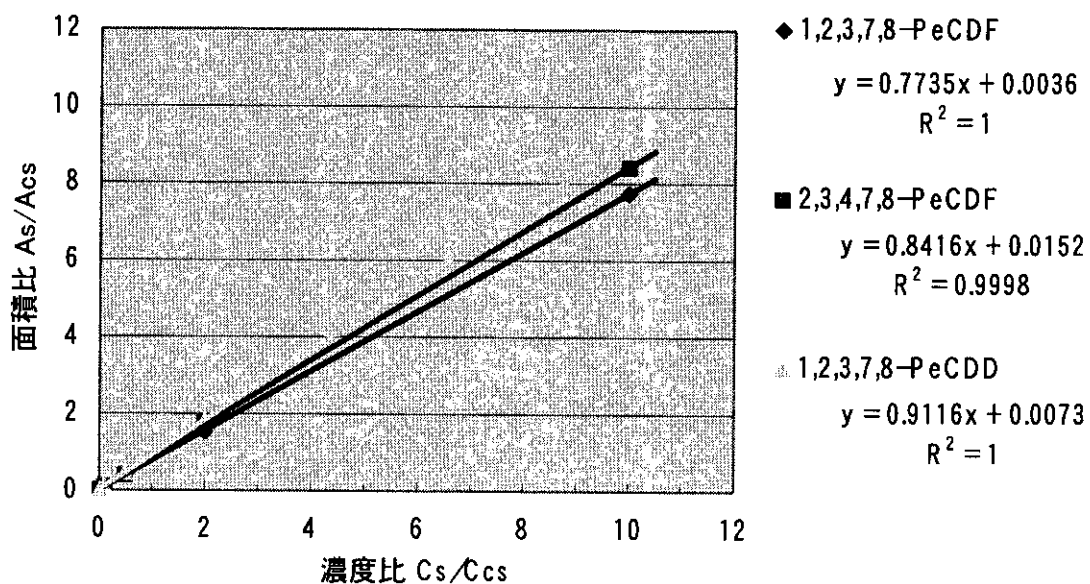


図3. PeCDD/Fと内標準物質(クリーンアップスパイク)との相対感度

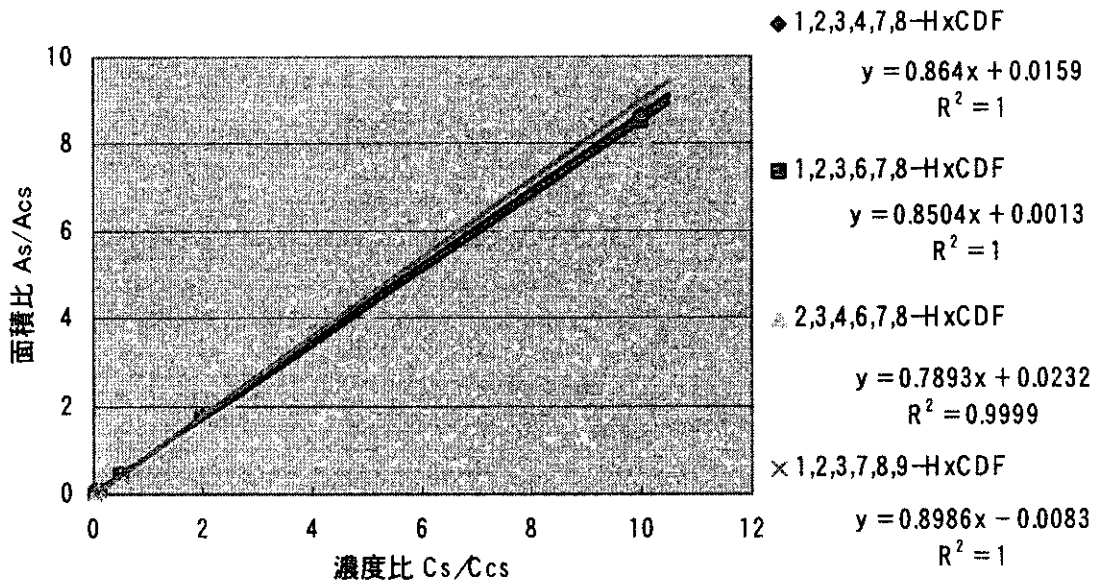


図4. HxCDFと内標準物質(クリーンアップスパイク)との相対感度

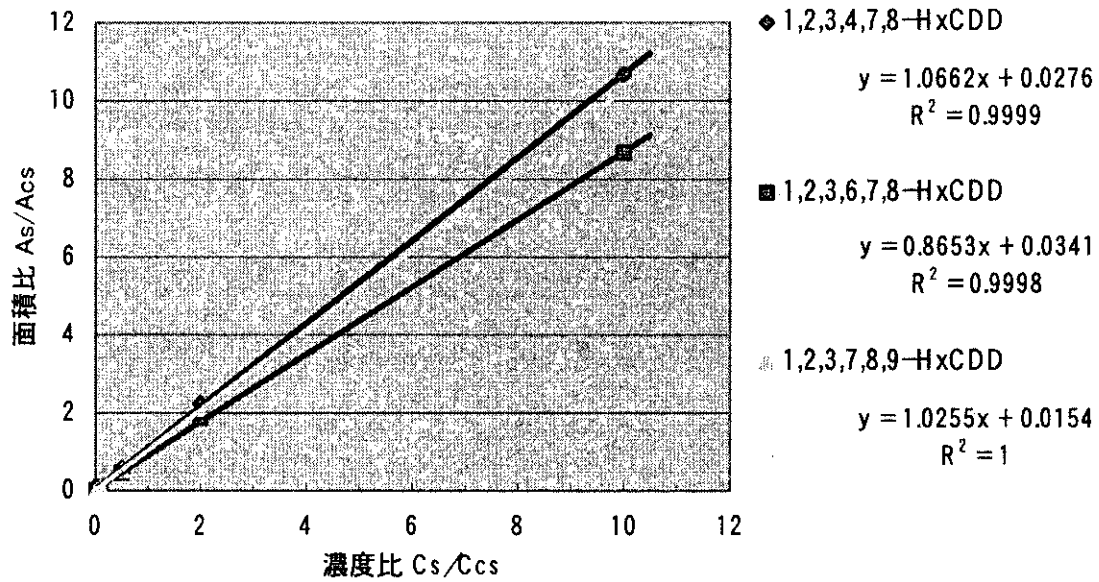


図5. HxCDDと内標準物質(クリーンアップスパイク)との相対感度

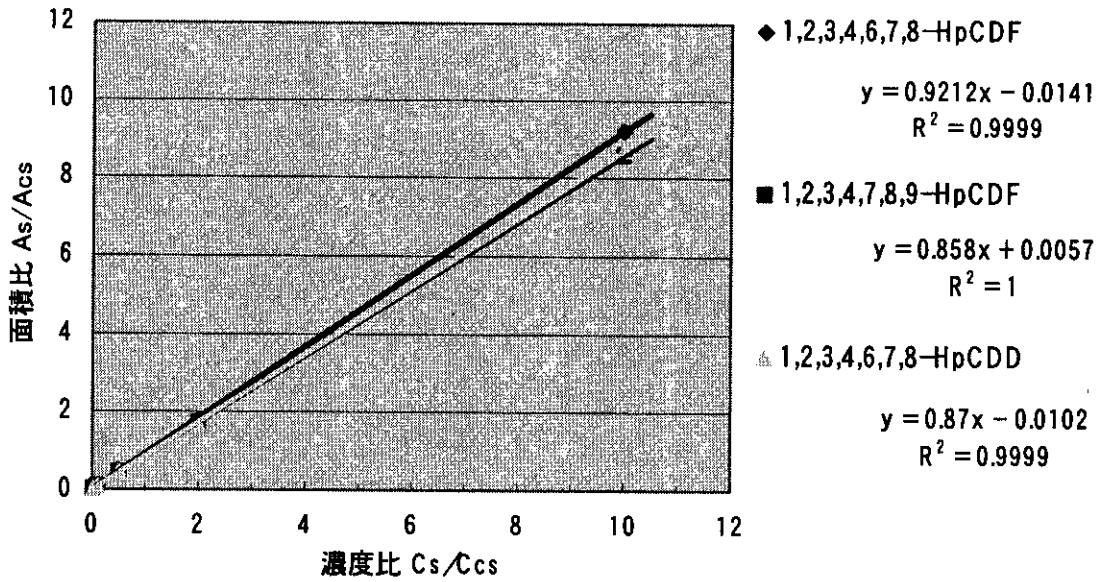


図6. HpCDDと内標準物質(クリーンアップスパイク)との相対感度

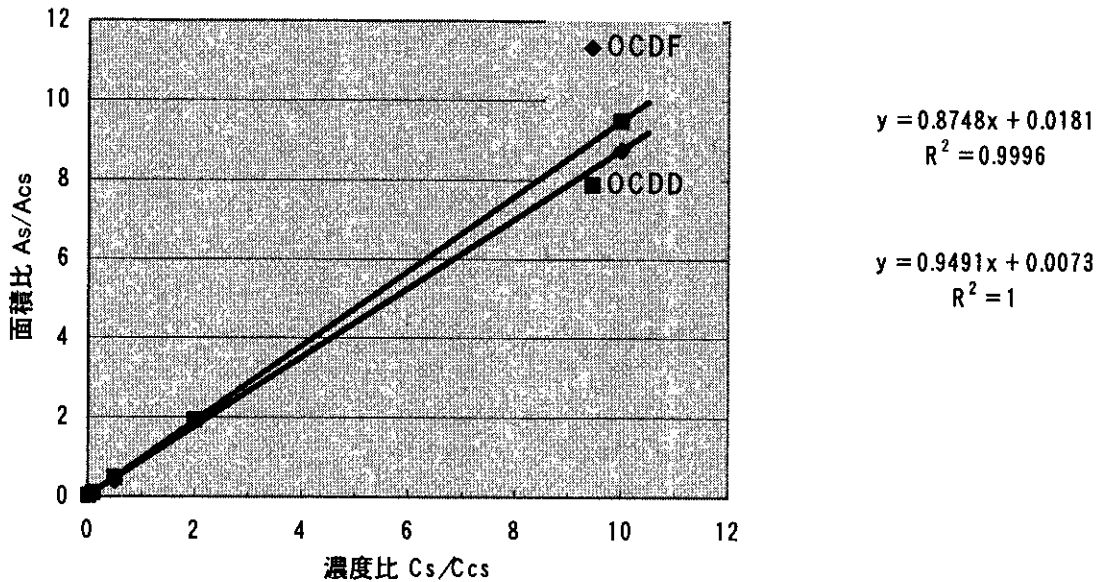


図7. OCDDと内標準物質(クリーンアップスパイク)との相対感度

1-4. ヒト血液試料中の塩素化ダイオキシン類

実際のヒト血液試料を用いた塩素化ダイオキシン類の測定例を示す。

1-4-1. 試料

試料には、インフォームドコンセントの得られた本研究所職員の血液を用いた。

1-4-2. 分析方法

これを前述したとおりに前処理を行い、HRGC・MSにより塩素化ダイオキシン類の測定を行った。

1-4-3. 結果と考察

図 8～12 に HRGC・MS によって得られたヒト血液中の塩素化ダイオキシン類のマスキロマトグラムの例を示す。

ダイオキシン類の測定は同位体希釈法で行った。最初に既知量の内標準物質（クリーンアップスパイク）を試料に添加し、目的物質であるダイオキシン類と共に抽出・精製する。これを HRGC・MS で測定し、同位体比を求める。この同位体比から試料中の含有量を計算する。

分析試料中の各分析対象物質の量 Q_s は、それぞれ対応する検量線から求めた相対感度係数 RRF_{cs} を用いて次式により算出した。

$$Q_s = (A_s \times Q_{cs}) / (A_{cs} \times RRF_{cs})$$

Q_s : 分析試料中の各分析対象物質の量 (pg)

A_s : 分析試料中の各分析対象物質のピーク面積

Q_{cs} : 対応する内標準物質（クリーンアップスパイク）の分析試料への添加量 (pg)

A_{cs} : 分析試料中の対応する内標準物質（クリーンアップスパイク）のピーク面積

RRF_{cs} : 検量線から求めた内標準物質（クリーンアップスパイク）に対する分析対象物質の相対感度係数

またクリーンアップスパイクの回収率 R_{cs} は、対応する相対感度係数 RRF_{rs} を用いて次式により算出した。

$$R_{cs} = (A_{cs} \times Q_{rs}) / (A_{rs} \times RRF_{rs}) \times 100 / Q_{cs}$$

R_{cs} : 分析試料中のクリーンアップスパイクの回収率 (%)

A_{cs} : 分析試料中の各内標準物質（クリーンアップスパイク）のピーク面積

Q_{rs} : 対応する内標準物質（シリンジスパイク）の分析試料への添加量 (pg)

A_{rs} : 分析試料中の対応する内標準物質（シリンジスパイク）のピーク面積

RRFrs : 検量線から求めたシリンジスパイクに対するクリーンアップスパイクの相対感度係数

Qcs : 内標準物質（クリーンアップスパイク）の分析試料への添加量 (pg)

その結果、実際にヒト血液試料 10g を用いて分析し、一般人レベル（バックグラウンドレベル）と考えられる塩素化ダイオキシン類を測定することができた。またクリーンアップスパイクの回収率も概ね 90% と良好なものであった。

なお定量下限値は、血液中のダイオキシン類測定暫定マニュアル（2000）に従って算出した。すなわち各化合物のマスクロマトグラムにおいて、ピークの高さがノイズレベルの 10 倍 (S/N=10) に相当するピークの面積値を化合物の量に換算した。その暫定マニュアルでは血液 50g を用いて分析しているが、そこでの目標定量下限値を、本分析法では血液 10g でも十分満たせることが明らかとなった。

そこで、この分析方法を次の本研究の主目的である臭素化ダイオキシン類のバイオロジカルモニタリング測定にも適応させた。

030121T-N (CS-CL20BR20,RS-CL10BR20/25uL) 4uL Inj.

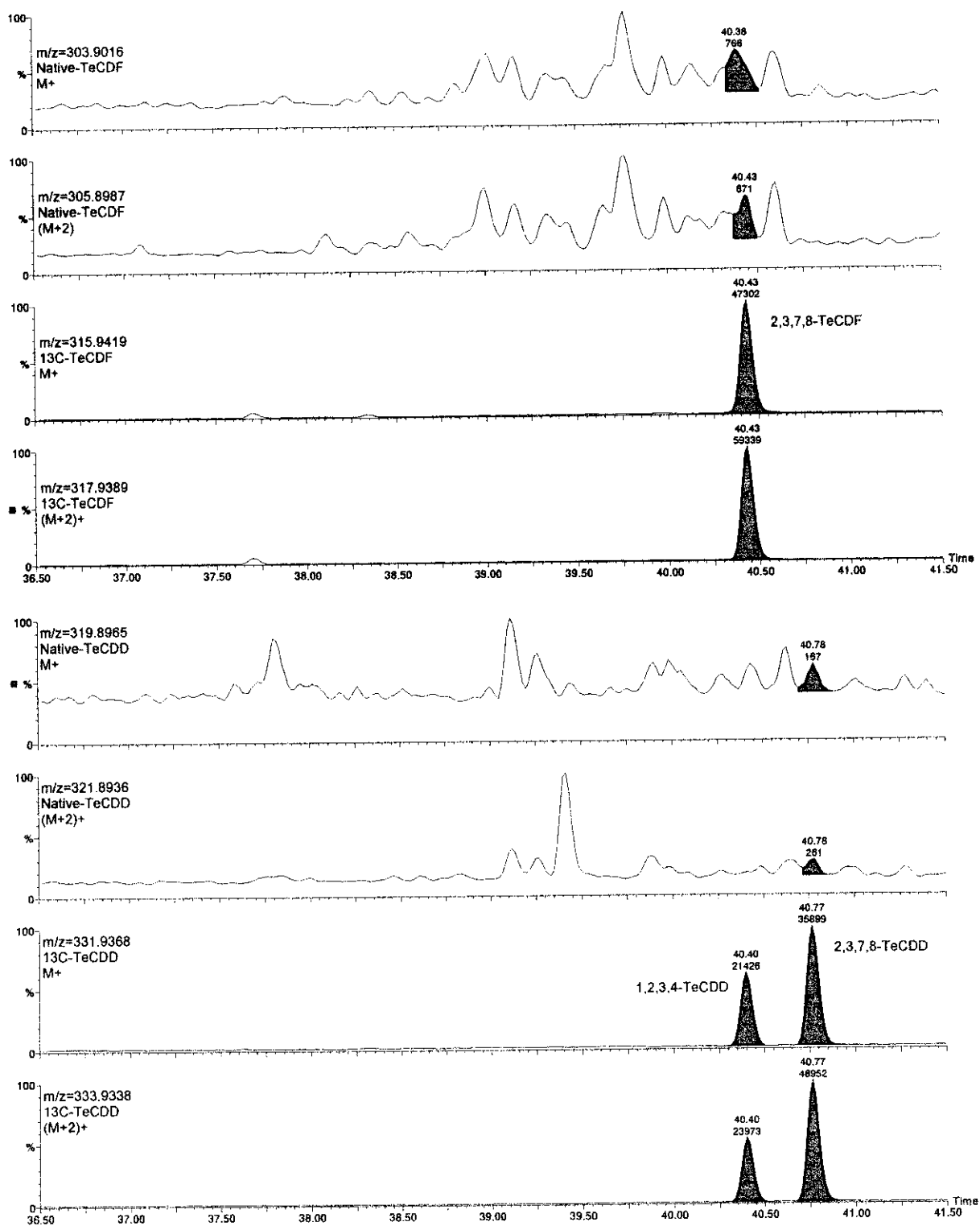


図8. ヒト血液中の TeCDDs および TeCDFs のマスクロマトグラム

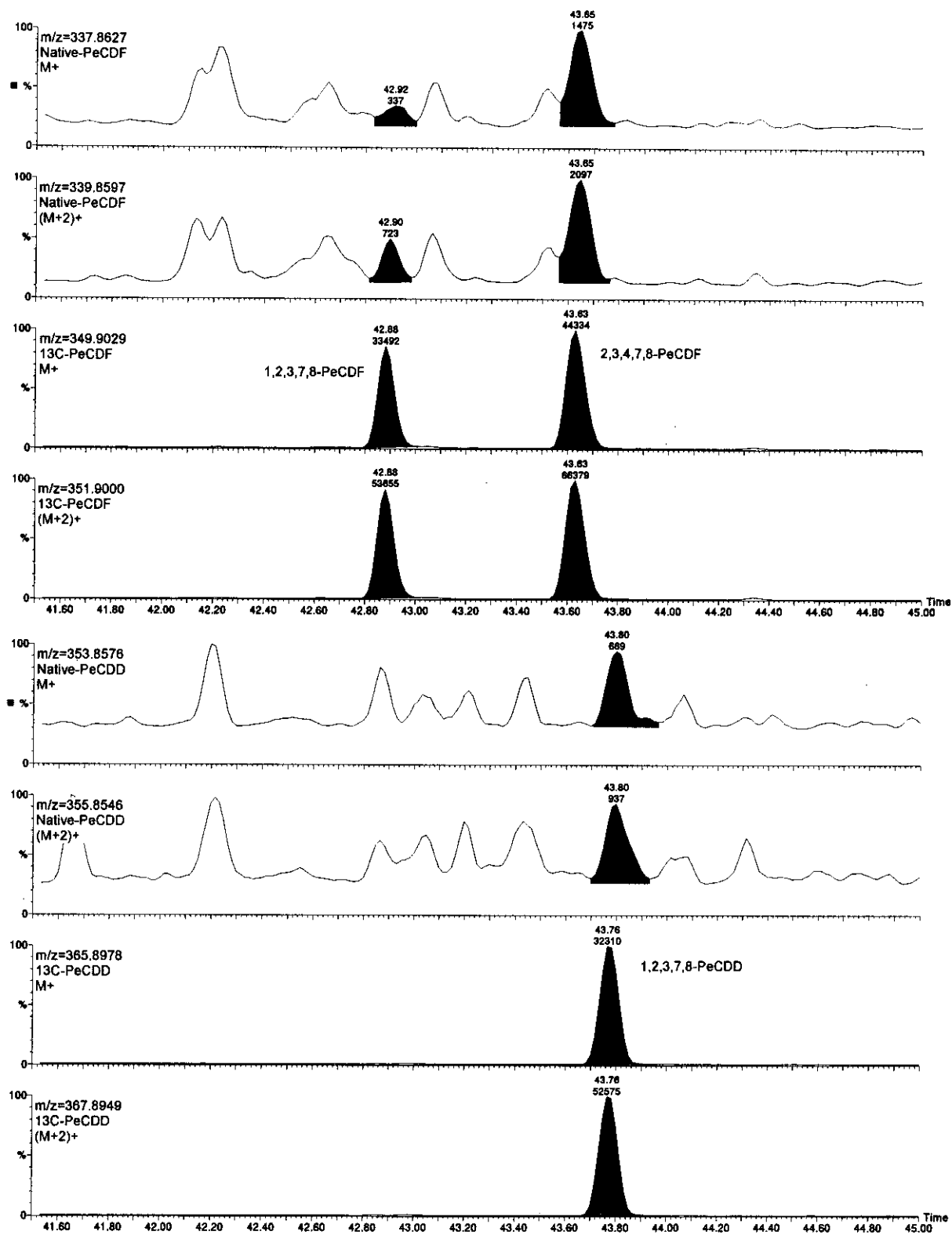


図9. ヒト血液中の PeCDDs および PeCDFs のマスクロマトグラム

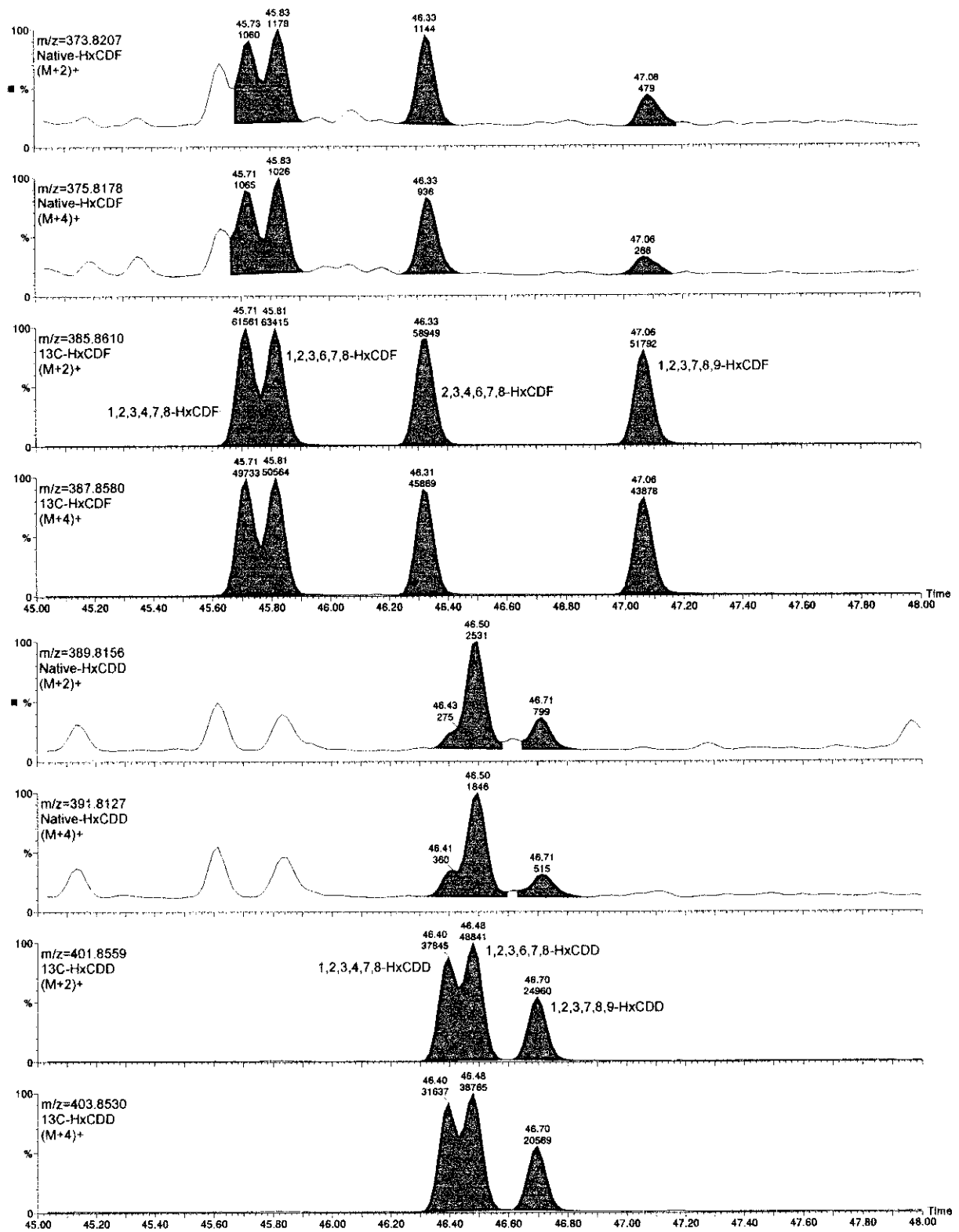


図 10. ヒト血液中の HxCDDs および HxCDFs のマスクロマトグラム

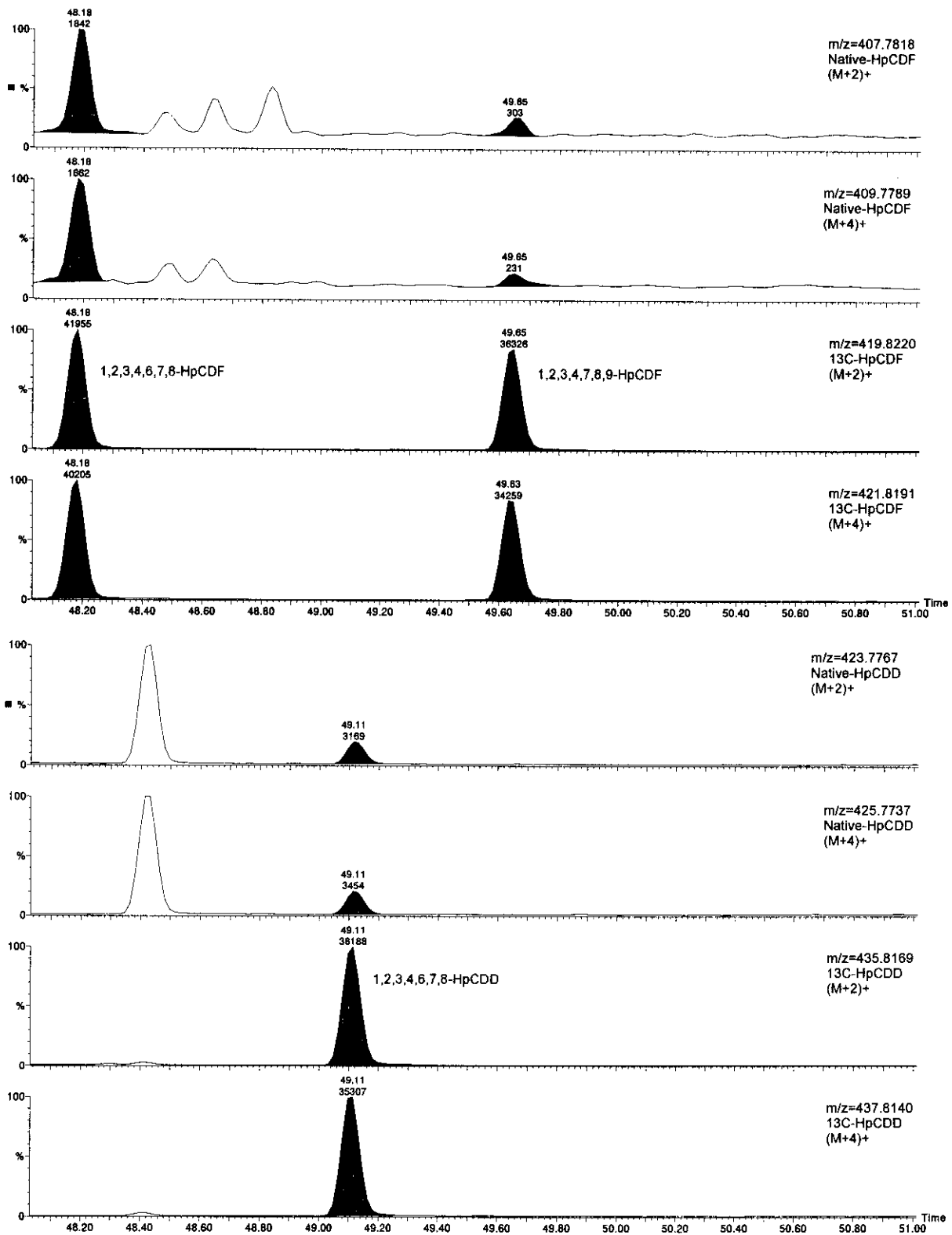


図 11. ヒト血液中の HpCDDs および HpCDFs のマスクロマトグラム

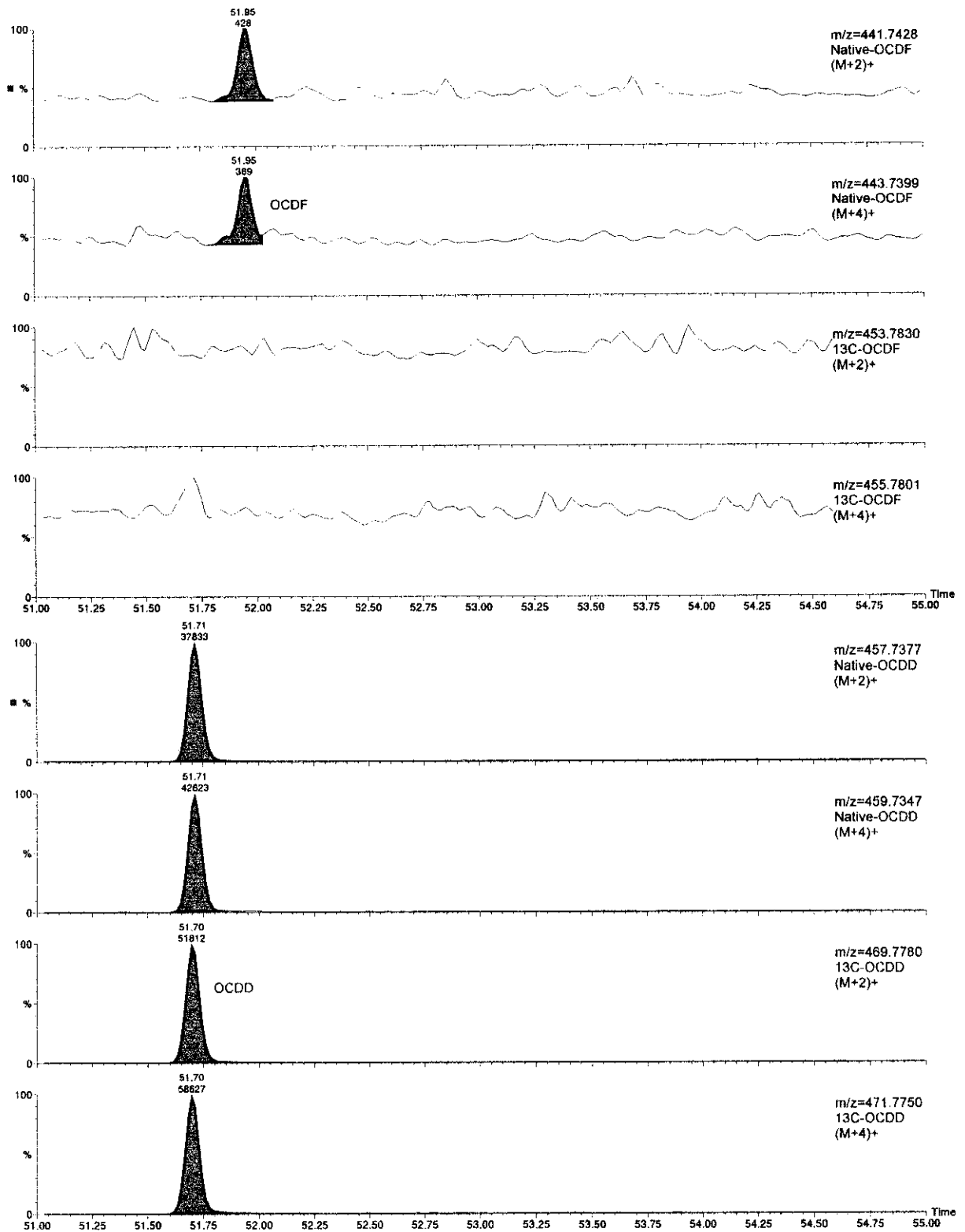


図 12. ヒト血液中の OCDD および OCDF のマスクロマトグラム