

環境汚染物質の分析のためのキャピラリーガスクロマト グラフィー/質量分析法におけるカラムパラメーターの 最適化

福島 実，山本 武[®]，梶元 慶子*

(1986 年 10 月 20 日受理)

環境試料に含まれるポリ塩化ビフェニル，ポリ塩化ジオキシン，ポリ塩化ジベンゾフランなどの有機塩素化合物に含まれる強毒性の特定異性体を分別定量するため，キャピラリー GC/MS 分析条件の最適化を検討した．昇温条件下におけるキャピラリー GC の分離効率には，キャリアガスの平均線速度と昇温速度が影響する．2,3,7,8-四塩化ジオキシン (TCDD) と隣接して溶出する 1,4,7,8-TCDD, 1,2,3,4-TCDD との最適分離を与える線速度は 40 cm/s であり，昇温速度は 1 °C/min が最適であった．焼却炉の廃水処理汚泥中のポリ塩化ジオキシン，ポリ塩化ジベンゾフランの分析にこの条件を適用したところ，2,3,7,8-TCDD の定量の繰り返し精度は相対標準偏差 3.7% ($n=4$)，検出限界 0.02 ng/g dry wt. であった．

1 緒 言

ポリ塩化ビフェニル (PCB)，ポリ塩化ジオキシン (PCDD) やポリ塩化ジベンゾフラン (PCDF) などの有機塩素化合物が，環境汚染物質として注目をうけている．近年にいたり PCDD や PCDF の発生源の多様さや環境中での広い範囲での分布が明らかになり，環境への汚染経路と暴露量を正確に把握するために，より高い精度での分析が必要となっている．PCB や PCDD, PCDF の分析の困難さは，多くの異性体を含む混合物であることに起因している．PCB では 10 個まで，PCDD や PCDF では 8 個までの塩素が含まれ，それぞれ 209, 75, 135 種の異性体が存在する．更に，これらの異性体のなかには，PCB では 3, 3', 4, 4'-位が塩素で置換されたコプラナー構造を持つ異性体が，又 PCDD と PCDF では 2, 3, 7, 8-位を塩素で置換した四塩化，五塩化，六塩化物が最も強い毒性を示す．このように，この種の有機塩素化合物は塩素の置換位置の違いによって毒性に大幅な差がみられ，環境や生物への影響を評価するためには，各異性体の分別定量が不可欠となっている．環境汚染物質の極微量分析では，GC/MS による選択イオン検出 (SIM) で，多くの妨害物質中の微量成分

を特定のモニターイオンを用いて高感度で効率の良い分析が行われているが，前述のような位置異性体間の分別は MS のみにおいては極めて困難で，キャピラリー GC (以下 GC と略記) の高い分離能に依存するところが大きい．

このような高分離，高感度を追求する GC/MS では，GC カラムを MS のイオン源に直接挿入するダイレクトカップリング法が用いられる．又，試料注入にスプリットレス法が一般に採用され，分析対象物質が広い沸点範囲にわたるため昇温分析が不可欠となる．

このような条件で行われる GC/MS では，減圧条件下のキャリアガスの線速度が分離条件の決定に重要な要素であるとともに，昇温速度の変化に伴う溶出ピーク間の分離度の変化も無視できない．従来，環境試料の四塩化ジオキシン (TCDD) や四塩化ジベンゾフラン (TCDF) 分析においては，減圧及び昇温条件での GC 分離能についての系統的な検討が行われておらず，同一のキャピラリーカラム及びキャリアガスを用いた分析でも，著者によってキャリアガスの平均線速度で 32.8~40 cm/s，昇温速度で 2.5~8 °C/min の範囲で異なっており，分離能の差が大きい^{1)~4)}．そこで本報告では減圧・昇温 GC/MS におけるカラム分離能の変化についての基礎実験をふまえて，2,3,7,8-TCDD と TCDF の分析条件の最適化を検討し，環境試料に適用

* 大阪市立環境科学研究所 : 543 大阪府大阪市天王寺区東上町 8-34

した結果について述べる。

2 実 験

2.1 GC/MS 測定条件

GC/MS: 日本電子製 JMS-DX303 質量分析装置に Hewlett Packard 製 5890A ガスクロマトグラフを接続して使用した。キャピラリーカラムはイオン源に直接挿入し、試料の注入はスプリットレス法によって行った。注入口温度は 240 °C, 試料のイオン化は電子衝撃法, イオン化電圧は 75 V, イオン化電流は 300 μ A である。質量イオンの検出は, マスクロマトグラフィー (MC) 又は SIM を用いて行い, サンプルングレートは MC では 0.5 秒 (m/z 200~400), SIM では 10 ch 1 秒で, データを取り込み, 処理は JMA-DA5000 データ処理システムを用いて行った。

GC 条件: *n*-アルカンを用いた分離数 (TZ) の測定は Hewlett Packard 製 Ultra 1 溶融シリカキャピラリーカラム (25 m $\times$ 0.31 ϕ mm, 膜厚 0.52 μ m) を用い, 温度プログラムは, 80 °C から 270 °C まで 4 °C/min である。キャリアーガスはヘリウム (純度 99.999% 以上) を用い, 昇温開始時のカラム入口圧を 10 kPa から 110 kPa まで変化させた。昇温開始温度でのキャリアーガスの平均線速度 (以下 U_i で表す) の測定は, メタンガスの溶出時間を測定し, カラム長さを溶出時間で除して求めた。

TCDD 分析条件の最適化の検討においては, Supelco 製 SP-2331 溶融シリカキャピラリーカラム (60 m $\times$ 0.32 ϕ mm, 膜厚 0.20 μ m) を用い, 温度プログラムは 100 °C から 200 °C までを 20 °C/min, 続いて 245 °C までを 1~10 °C/min の種々の昇温速度で測定した。又, 昇温開始時のカラム入口圧を 70~210 kPa の範囲で変化させた。

2.2 試 薬

n-アルカン混合液: ガスクロ工業製 Standard Mix をヘキサンに 10 μ g/ml の濃度になるように溶解して用いた。

TCDD カラム性能テスト用標準: Cambridge Isotope Laboratory 製標準溶液 1,2,3,4-TCDD, 2,3,7,8-TCDD, 1,2,3,7-/1,2,3,8-TCDD を各 1 μ g/ml に, 1,2,7,8-/1,4,7,8-TCDD を 1.5 μ g/ml になるようにドデカンを用いて希釈して用いた。内標準に用いた 2,3,7,8-TCDD-¹³C U. L. (一様ラベル) は純度 99% 以上 (アイソトープ純度 99% 以上), 又 2,3,7,8-TCDD-¹³C U. L. は純度 90% (アイソトープ純度 99% 以上) で Radian Corporation 製である。

その他の試薬は, 残留農薬試験用試薬を用いた。

2.3 試料の調製

廃棄物焼却炉廃液の廃水処理汚泥より PCDD 及び PCDF を既に報告した方法⁵⁾で抽出, 精製した。概要は以下のとおりである。風乾した汚泥を塩酸に浸して処理後, トルエンを用いてソックスレー抽出し, 濃縮後, ヘ

キサンに転溶した。抽出液は濃硫酸処理後, アルミナカラムでクリーンアップし, HPLC により更に精製して, GC/MS 用試料とした。

2.4 2,3,7,8-TCDD の定量

TCDD の SIM では, ¹³C-2,3,7,8-TCDD について m/z 332, 334 を, 又 TCDD は m/z 320, 322, 324 をモニターイオンとして用いた。定量には 2,3,7,8-TCDD 及び ¹³C-2,3,7,8-TCDD の SIM について, それぞれ m/z 320 及び 332 を用いた。それぞれのモニターイオンによる相互干渉は認められなかった。定量には ¹³C-2,3,7,8-TCDD に対する 2,3,7,8-TCDD の相対強度比から求めた検量線を用いた。

2.5 分離数 (TZ), 分離度 (R)

昇温条件下でのキャピラリーカラムの分離性能を表現する指標値として, 広範な溶出温度範囲でのカラム性能の変化を示すのに有用とされる TZ⁶⁾ を用いた。又, 近接した二つの溶出ピークの分離を示す指標として, 次式で与えられる分離度 (R) を用いた。

$$R = \frac{1.177(t_{R1} - t_{R2})}{W_{h/2.1} + W_{h/2.2}}$$

t_{R1} , t_{R2} は隣接する二成分ピークの保持時間, $W_{h/2.1}$, $W_{h/2.2}$ は隣接する二成分ピークの半値幅。

3 結果と考察

3.1 分離数に及ぼす線速度の影響

広範囲の沸点を有する混合物である PCB や PCDD, PCDF などの微量分析では, 広い保持温度範囲にわたって高い分離性能が要求される。昇温分析では, キャリヤーガスの線速度と昇温速度がカラムの分離性能に影響する。

Jones ら⁷⁾ は既に昇温条件とキャリヤーガスの平均線速度が一連の homolog の分離能に及ぼす影響を常圧 GC で検討しているが, 減圧及び昇温 GC 条件での検討はなされていないので, 減圧 GC/MS でのカラム分離能の昇温条件での変化と U_i との関係を調べた。

U_i を変化させたときの *n*-アルカン homolog のそれぞれの保持時間ごとの TZ の変化を測定した。Fig. 1 に X 軸に *n*-アルカンの炭素数を取り, Y 軸には U_i をとったときの TZ を示した。 U_i を変えたとき, 同じ炭素数のアルカンの保持温度 (T_R) での, TZ の最大値を与える U_i は 50 cm/s の近くにある。昇温測定中のキャリヤーガスの平均線速度はカラム温度の上昇と共に

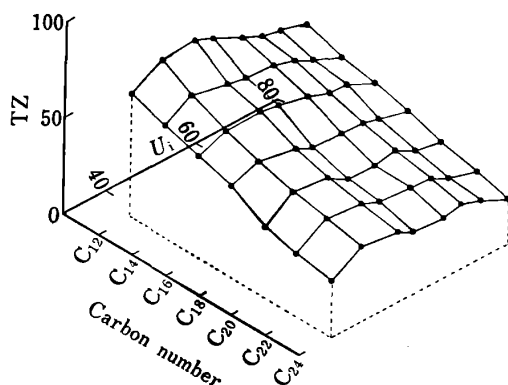


Fig. 1 Plot of TZ for alkanes as a function of flow velocity (U_i) and elution volume expressed by carbon number

Column: 25 m $\times$ 0.31 mm i.d., 0.52 μ m film thickness Hewlett-Packard Ultra 1 fused silica capillary; Temperature program: 80 $^{\circ}$ C to 270 $^{\circ}$ C at a rate of 4 $^{\circ}$ C/min; Injection: splitless, 220 $^{\circ}$ C; Mass spectrometry: electron impact 70 eV, ion source 250 $^{\circ}$ C

低下し、 C_{24} の T_R である 240 $^{\circ}$ C では、 U_i の 83% になった。しかし昇温によるキャリアガスの平均線速度の低下にかかわらず、TZ の最大値を与える U_i は一定で 50 cm/s の近傍にある。

Fig. 1 の結果は、Jones らが種々の化合物について常圧・昇温条件で行った実験結果と同様に、減圧・昇温条件でのカラム分離能は U_i に依存すること、又カラム温度が変化しても、最高の TZ 値を与える U_i は変化しないことを示している。ここで行った n -アルカンを用いた基礎実験から、減圧・昇温条件でのカラム分離能の最適化は、まず一つの昇温プログラムのもとで U_i を変化させて、その最適値を求め、次いで最適 U_i のもとで昇温速度 (r) の最適値を求めるという手続きを取ればよいことが分かった。

3.2 2,3,7,8-TCDD の分離に及ぼす線速度の影響

TCDD は塩素の置換位置によって 22 種の位置異性体があり、そのうち 2,3,7,8-位に塩素を持った異性体が他の異性体に比して特異的に強い毒性を示す。そのため 2,3,7,8-TCDD のみを正確に分離定量することが必要となる。

Fig. 2 に昇温速度を一定 (2 $^{\circ}$ C/min) とし、 U_i を種類に変化させたときの TCDD 混合標準液のマスプロトグラムを示した。又、Table 1 に 1,4,7,8-TCDD と 2,3,7,8-TCDD の間の分離度 (R) と U_i の関係を示した。これらは U_i が 39.2 cm/s での分離が最高である

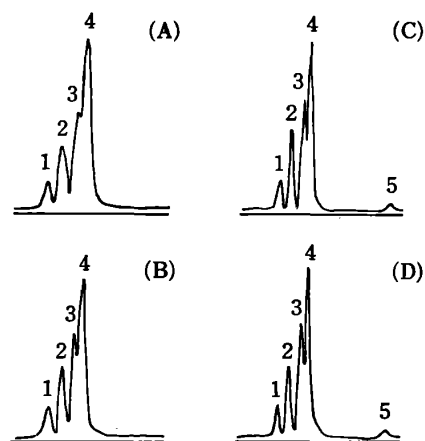


Fig. 2 Mass chromatograms of column performance test mixture of TCDDs obtained at different flow velocity

Column: 60 m $\times$ 0.32 mm i.d., 0.25 μ m film thickness Supelco SP-2331 fused silica capillary; Temperature program: 100 $^{\circ}$ C to 200 $^{\circ}$ C at a rate of 20 $^{\circ}$ C/min then to 245 $^{\circ}$ C at a rate of 2 $^{\circ}$ C/min; Injection: splitless, 240 $^{\circ}$ C; Flow velocity: (A) 26.7 cm/s, (B) 32.8 cm/s, (C) 39.2 cm/s, (D) 50.8 cm/s; TCDD isomers: (1) 1,4,7,8-, (2) 2,3,7,8-, (3) 1,2,3,4-, (4) 1,2,3,7/1,2,3,8-, (5) 1,2,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxins; Monitor ion: m/z 320

Table 1 Effect of initial flow velocity (U_i) on retention time (t_R) and resolution (R) between 1,4,7,8- and 2,3,7,8-TCDD under temperature programmed condition

U_i /cm s $^{-1}$	t_R /min	R	U_R^a /cm s $^{-1}$	T_R^b / $^{\circ}$ C
26.7	22.45	1.18	15.7	214
32.8	20.45	1.49	28.3	209
39.2	18.82	1.66	33.9	206
44.8	17.56	1.58	38.9	203
50.8	16.51	1.39	44.2	201
57.1	15.63	1.27	49.8	195

a) Average linear velocity at retention temperature of 2,3,7,8-TCDD, b) Retention temperature of 2,3,7,8-TCDD

ことを示している。このときの 2,3,7,8-TCDD の保持温度は 206 $^{\circ}$ C で R は 1.66 である。 R が 1.5 のとき二つのピークの間隔は 6σ (99.7%) であることから、完全分離が得られる U_i は、 r が 2 $^{\circ}$ C/min では 39.2 から 44.8 cm/s にあるといえる。

3.3 2,3,7,8-TCDD の分離に及ぼす昇温速度の影響

Habgood ら⁸⁾によれば、キャピラリー GC の昇温分析における溶質ピークの間隔は $R = R_1 \sqrt{n}/4$ で表さ

れる. ここで n は分離対象の溶質ピークの理論段数, R_i は固有分離度 (intrinsic resolution) で次式で表される.

$$R_i = \frac{F}{r} \frac{(\Delta T_R)_{av}}{(V_{TR})_{av}}$$

F はキャリヤーガスの流速, r は昇温速度, ΔT_R は分離する二つの溶質ピークの保持温度の差, V_{TR} は溶質ピークの保持温度における恒温条件での保持体積, av は二つの溶質についての平均を表す.

この式から分離度は F と r に関係する, V_{TR} と ΔT_R も溶質が決まれば F と r によって決まるから, 最適分離を決定するためには F と r を検討すれば良いことになる. 既に最適 U_i は前項で求められているから, この U_i のもとで R を最大にする r を求めれば良いことになる.

U_i を 39.2 cm/s としたときの r を 1, 2, 3, 5, 7 及び 10 °C/min とし測定し, 2, 3, 7, 8-TCDD と 1, 4, 7, 8-TCDD の分離度を Table 2 に示した. 最適昇温速度はこの結果から $R > 1.5$ を基準として考えると 3 °C/min 以下で行う必要があると結論される.

Table 2 Effect of temperature program rate on retention temperature (T_R) of 2,3,7,8-TCDD and R between 1,4,7,8- and 2,3,7,8-TCDD

$r/^\circ\text{C min}^{-1}$	$T_R/^\circ\text{C}$	$U_R^a/\text{cm s}$	R
1	219	38.0	2.0
2	224	37.9	1.8
3	226	37.8	1.7
5	233	37.5	1.4
7	238	37.3	1.3
10	245	37.2	1.2

a) Average linear velocity at retention temperature of 2,3,7,8-TCDD

又, R に対して保持温度を絶対温度で表したものの逆数をプロットすると直線関係が得られる (Fig. 3). この関係は, カラムの温度条件の設計に有用と思われる.

3.4 環境試料中の TCDD, TCDF 分析への応用

標準試料を用いた検討結果から, 2, 3, 7, 8-TCDD の GC/MS による分析条件として $U_i = 39.2$ cm/s, 昇温速度 3 °C/min 以下が必要であることが分かった. 実際の環境試料の分析では, 2, 3, 7, 8-TCDD と同程度の毒性を示す 2, 3, 7, 8-TCDF も併せて分析することが必要となる.

しかし, TCDF は TCDD に比して異性体の数が多い

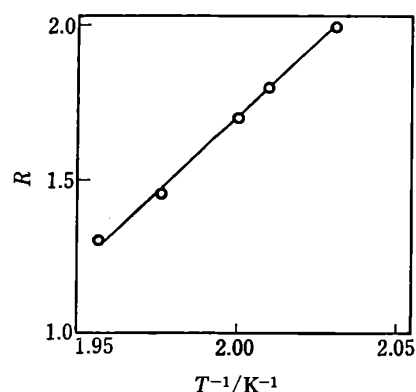


Fig. 3 Relationship between resolution (R) of TCDD isomers and retention temperature (T)

く (38 種), 更に 2, 3, 7, 8-TCDF と 2, 3, 4, 8-TCDF の保持体積が極めて接近しているために, 分離不能のことが多く, より厳密な分析条件の検討が必要となる. 焼却炉の廃水処理汚泥より抽出した試料について, キャリヤーガスの線速度を 40, 45, 50 cm/s と変え, かつ昇

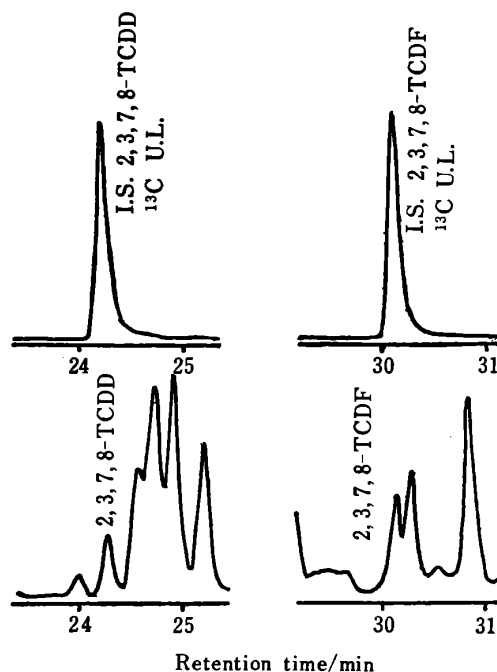


Fig. 4 Mass fragmentograms of TCDDs (m/z 320) and TCDFs (m/z 308) extracted from sludge of exhaust water treatment in municipal solid waste incinerator

GC/MS condition is the same as in Fig. 2 but the flow velocity of 39.2 cm/s and temperature program of 1 °C/min. Monitor ions for internal standards ^{13}C -2,3,7,8-TCDD and TCDF are m/z 332 and 320 respectively.

温速度を 1, 2 及び 3 °C/min と変化させて分離条件を検討した結果, キャリヤーガスの線速度が 40 cm/s で, 昇温速度 3 °C/min 以下で良好な分離が得られ, 内標準に ¹³C-2, 3, 7, 8-TCDD を用いた定量では, 検出限界 0.02 ng/g dry wt. であり, Table 3 に示すように繰り返し精度は相対標準偏差 3.7% ($n=4$) と満足すべき結果が得られた. 一方, 2, 3, 7, 8-TCDF では 2 °C/min の昇温速度ではピークトップのみ分離し, 1 °C/min で 70% Valley の分離にとどまった (Fig. 4).

Table 3 Analytical results of 2,3,7,8-TCDD in the exhaust waste water treatment sludge sample

Sample no.	2,3,7,8-TCDD/(ng/g dry wt.)
1	1.39
2	1.49
3	1.43
4	1.37
R. S. D., %	3.7

(1986 年 10 月, 日本分析化学会)
第 35 年会において一部発表

文 献

- 1) T. Mazer, F. D. Hileman, R. W. Noble, J. J. Brooks : *Anal. Chem.*, **55**, 104 (1983).
- 2) U.S. E. P. A. : "Method 613-2, 3, 7, 8-Tetrachlorodibenzo-*p*-Dioxin" Fed. Reg., **49**, 136 (1984).
- 3) M. Oehme, S. Mano, A. Mikalsen, P. Kirshmer : *Chemosphere*, **15**, 607 (1986).
- 4) R. M. Smith, P. W. O' Keefe, D. R. Hilker, K. M. Aldous : *Anal. Chem.*, **58**, 2414 (1986).
- 5) 福島 実, 山本 武 : 生活衛生, **30**, 19 (1986).
- 6) R. Kaiser : *Fresenius' Z. Anal. Chem.*, **189**, 1 (1961).
- 7) L. A. Jones, S. L. Kirby, C. L. Garganta, T. M. Gerig, J. D. Mulik : *Anal. Chem.*, **55**, 1354 (1983).
- 8) H. W. Habgood, W. E. Harris : *Anal. Chem.*,

34, 882 (1962).

☆

Optimization of column parameters in capillary GC/MS for analysis of environmental pollutants.

Minoru FUKUSHIMA, Takeshi YAMAMOTO and Keiko MASUMOTO (Department of Environmental Measurement and Analysis, Osaka City Institute of Public Health and Environmental Sciences, 8-34, Tojo-cho, Tennoji-ku, Osaka-shi, Osaka 543)

Optimization of column parameters, namely the flow rate of carrier gas and temperature program rate for a determination of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) and 2,3,7,8-tetrachlorodibenzofuran (TCDF) were performed using fused silica capillary column gas chromatograph connected with mass spectrometer. Using homologues of straight chain alkanes ($C_{12} \sim C_{24}$), separation numbers (TZ value) were determined at eight different average linear velocity of carrier gas and temperature program rate of 4 °C/min. The experimental results elucidated the over view of a change of separation efficiency through the wide range of elution temperatures and flow velocity of carrier gas. It was suggested that flow velocity and column temperature should be controlled for the improvement of separation efficiency. The resolution (*R*) between closely eluting TCDD isomer (1,4,7,8-TCDD) and 2,3,7,8-TCDD was adopted as a parameter of separation. The average linear velocity of 40 cm/s was found optimum in case of using Supelco SP-2331 fused silica capillary column (60 m × 0.32 mm i.d., 0.2 μm film thickness). The resolution of 2,3,7,8-TCDD under the optimum flow velocity was examined at six different temperature program rate (1,2,3,5,7 and 10 °C/min), and the temperature program rate of less than 3 °C/min provides good resolution of the isomer at the separation of 6σ or larger. Under the optimized operation condition of GC/MS, relative standard deviation of determination for 2,3,7,8-TCDD in sludge sample was 3.7%, and the detection limit was 0.02 ng/g dry wt.

(Received October 20, 1986)

Keyword phrases

determination of dioxins and dibenzofurans by GC/MS; optimization of capillary GC column parameters; effect of flow velocity and temperature program on column performance.