報 文

ガスクロマトグラフィー/質量分析法による常緑針葉樹葉中の 塩素化ナフタレン及びダイオキシン類の異性体分析

羽成 修康¹, 堀井 勇一², 谷保 佐知², 山下 信義^{®2}

Analysis of polychlorinated naphthalenes and dioxin-like compounds in pine needle leaf by high-resolution GC/high-resolution MS

Nobuyasu HANARI¹, Yuichi HORII², Sachi TANIYASU² and Nobuyoshi YAMASHITA²

¹ Public Relations Department (PUBREL), National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), 1-1-1, Umezono, Tsukuba-shi, Ibaraki 305-8563

² Institute for Environmental Management Technology (EMTECH), National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), 16-1, Onogawa, Tsukuba-shi, Ibaraki 305-8569

(Received 12 August 2002, Accepted 16 December 2002)

A large amount of preparations using polychlorinated naphthalenes (PCNs) were used for diverse technical appliances (capacitor dielectrics, frame retardant, etc.) in the 1970s. It appeared that pollution from PCNs and its hazardous effects to wildlife should be considered. It has been claimed that it is important to carry out reliable measurement of PCNs without any co-elution problem, because it constitutes 75 isomers, and there are non-negligible types of interferences in environmental samples. We have already developed a double column-HPLC separation method with HRGC/HRMS for sediment core samples. In this study, we applied this to pine needle leaf collected from the Tokyo Bay area to enable the identification of 53 isomers of PCNs and some dioxin-like compounds. Pine needle leaf is known to be a long-term indicator of ambient air pollution instead of short-term air sampling, which is difficult to standardize because of a change in the weather, etc. The concentrations of PCNs were 630 to 1750 pg/g, wet wt., in selected samples of pine needle leaf; tri- and tetraCNs were the predominant homologues. PCNs from incineration in pine needle leaf were greater than those of sediments from the Tokyo Bay.

Keywords : polychlorinated naphthalenes; dioxin-like compounds; double column-HPLC system; pine needle leaf.

1 緒 言

塩素化ナフタレン (polychlorinated naphthalenes, PCNs) は「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律」に基づく第1種特定化学物質であり, 過去, 難燃剤・熱媒体・絶縁物質等, 多用途に膨大な量が使用されたが, その有害性が明らかになり, 1970年代に生産・使用

が禁止された。最近の調査でも, ポリ塩化ビフェニル (polychlorinated biphenyls, PCBs) と同様に広く環境中から高濃度で検出されており¹⁾²⁾, その原因として PCNs 製剤, PCBs 製剤中に不純物として含まれる PCNs, そして二次生成 (焼却炉) 等が挙げられる。

PCNs は 75 種類の異性体を含み, 日本国内ではダイオキシン類としては認識されていないが, 5~7 塩素異性体の一部はダイオキシンやコプラナー PCBs と同様の毒性を持つことが報告されている³⁾⁴⁾。そのため早急に危険性評価研究が必要であるが, 毒性評価を可能にするための異性体別分析法が確立していないため, 国際キャリブレーション

¹ 独立行政法人産業技術総合研究所成果普及部門: 305-8563 茨城県つくば市梅園 1-1-1 つくばセンター中央第3

² 独立行政法人産業技術総合研究所環境管理研究部門: 305-8569 茨城県つくば市小野川 16-1 つくばセンター西

ン等、信頼性の高い分析法開発が最も必要とされているダイオキシン類似物質の一つと言える。

また、環境微量分析においては、共溶出現象 (co-elution) 等により 1 種類のクロマトグラフィーでは詳細分離が困難であるため、多様な試料マトリックスに応じた精製操作 (clean-up) も必要となる。そのため、既報において 2 種類の高速液体クロマトグラフ (HPLC) 用カラムを併用した精製法 (ダブルカラム HPLC) を開発し、底質試料について有効性を確認した⁵⁾⁶⁾。本報告では、大気汚染の長期指標として常緑針葉樹葉を用い、残留する PCNs 及びダイオキシン類の異性体詳細分析について、同方法の適用を検討したものである。

大気試料において従来行われている短時間捕集法では、時間変動が大きいことが判明している⁷⁾。最近では、捕集時間を 1 週間にした改良法が使用されているが、年間を通した大気汚染の長期評価は困難である。そこで大気汚染の長期的指標として有効性が確認されている常緑針葉樹葉⁸⁾を分析対象とし、葉表面に吸着されていると考えられる PCNs, PCBs, ポリ塩化ジベンゾ-*p*-ジオキシン (polychlorinated dibenzo-*p*-dioxin, PCDDs) 及びポリ塩化ジベンゾフラン (polychlorinated dibenzofuran, PCDFs) の異性体詳細分析法を検討した。特に、平面構造を持つ物質を選択的に分離する porous graphitic carbon (Hypercarb) カラム⁹⁾¹⁰⁾及び π 結合を有する化合物の分離に有効な pyrenyl silica (PYE) カラム¹¹⁾¹²⁾の 2 種類の HPLC カラムを併用するダブルカラム HPLC 法により、PCNs 全異性体の詳細分離を試みた。また、本分析法を用いて東京湾周辺の常緑針葉樹葉 (クロマツ) を分析し、含有される有害化学物質濃度を測定し、その異性体詳細解析を行った。

2 実 験

2.1 標準品、試薬及び使用器具・機器

実験に使用した添加回収用標準物質は、PCNs 製剤 (Halowax) 等量混合標準品 (HW1000 : 1001 : 1014 : 1051 = 1 : 1 : 1 : 1, Analabs 製), PCBs 製剤 (Kanechlor) 等量混合標準品 (KC300 : 400 : 500 : 600 = 1 : 1 : 1 : 1, ジーエルサイエンス製), non-*ortho* PCBs (3,4,3',4'-tetraCB, 3,4,5,3',4'-pentaCB, 3,4,5,3',4'5'-hexaCB) 3 種 (AccuStandard 製), PCDDs 及び PCDFs (以下 PCDDs/DFs, 1,3,6,8-tetraCDD, octaCDD/DF) 3 種 (Wellington 製) を使用した。定量用標準物質は、PCNs (PCN-MXB), PCBs (EPA1668PAR) 及び PCDDs/DFs (EPA1613Stock, 以上, Wellington 製) を使用した。内標準物質は、安定同位体標識の ¹³C-PCBs (EC-4937, CIL 製), ¹³C-PCDDs/DFs (NK-LCS-P, Wellington 製) 及び ¹³C-HCB (関東化学製) を用いた。

その他の試薬はアセトン、トルエン、ヘキサン、メタノール及びジクロロメタン (いずれも和光純薬製残留農薬試験用 2000), 2% 水酸化カリウムシリカゲル, 22% 硫酸シリカゲル, 44% 硫酸シリカゲル, 10% 硝酸銀シリカゲル, 無水硫酸ナトリウム (いずれも和光純薬製), シリカゲル 60 (230~400 メッシュ, Merck 製) 及びアルミナ (塩基性, 活性度 1, 70~230 メッシュ, Merck 製) を用いた。

また、ガラス器具は使用する溶媒で洗浄後、250℃ で 1 晩加熱処理したもの、石英ガラスウールは使用する溶媒でソックスレー洗浄後、真空乾燥 (窒素置換) したもの、円筒汙紙はガラス繊維製 (No.86R, 40 × 150 cm, アドバンテック製) を用い 300℃ で約 12 時間加熱処理したものを使用した。シリカゲル及び無水硫酸ナトリウムは 500℃ で約 12 時間加熱処理したもの、アルミナは 500℃ で約 12 時間加熱処理したものを密閉できる試薬瓶中に保存し、使用前に 130℃ で活性化したものを使用した。HPLC は溶離液で空洗浄してから分画を行った。以上の試薬及び器具使用下で試薬操作空試験チェックを行い、空試験画分には PCNs 及びダイオキシン類の分析に妨害となるピークが検出されないことを確認した ($S/N < 3$)。OctaCN の S/N 値は 3 以上であったが、環境試料中の octaCN の S/N 値は空試験画分より高いことが確認できたため、この異性体に関する定性・定量には特に影響がないと考えられる。PCNs 製剤等量混合標準品中に存在割合の高い異性体の幾つか (1,2,4-, 1,3,7-, 1,4,6-triCN, 1,2,4,6-, 1,2,4,7-, 1,2,5,7-, 1,2,5,8-tetraCN, 1,2,4,5,8-pentaCN, 1,2,3,4,5,6,8-heptaCN 及び octaCN) は空試験画分中で検出される可能性が高いので注意が必要である。

2.2 試料採集及び抽出

クロマツ (*Pinus thunbergii* Parl.) 葉は、東京湾周辺 5 地点 (A~E) を使用した (Fig. 1)。クロマツ葉は蒸留水で葉表面のじんあいを除去後、水気を取り除き、約 3 cm ごとにカットし、凍結乾燥した (Fig. 2)。その後ビーカーに量り取った試料にクリーンアップスパイク (¹³C-PCBs 及び ¹³C-PCDDs/DFs) を添加、トルエン 250 ml と混和し、ホモジナイズを行った。円筒汙紙に移した試料を、トルエン及び 50% ジクロロメタン-メタノールでそれぞれ 7 時間ソックスレー抽出した。得られた抽出液にシリカゲルを加え、葉緑素を十分に除去後、ロータリーエバポレーター及び窒素気流下 (N₂ パージ) で 3 ml まで濃縮した。

2.3 多層シリカゲルカラムクリーンアップ

除去しきれなかった葉緑素や極性物質等の除去方法として多層シリカゲルカラムクロマトグラフィーを適用した。ガラスクロマト管 (15 × 300 mm) の底部に石英ガラスウールを詰め、シリカゲル 0.8 g, 2% 水酸化カリウムシリカゲル 3 g, シリカゲル 0.8 g, 44% 硫酸シリカゲル 4 g,

22% 硫酸シリカゲル 4 g, シリカゲル 0.8 g, 10% 硝酸銀シリカゲル 8 g 及び無水硫酸ナトリウム 5 g を順次充填した多層シリカゲルカラムを, ヘキサン 200 ml であらかじめ洗浄後, 内標準物質を添加した抽出液 (トルエン溶液, 3 ml) を移し入れ, ヘキサン 200 ml で溶出した. 溶出液はロータリーエバポレーターで濃縮後, ヘキサンに転溶し, N₂ パージで 1 ml まで濃縮した.

2・4 アルミナカラムクリーンアップ及び分画

低極性物質の除去や PCNs, PCBs 及び PCDDs/DFs の粗分画方法としてアルミナカラムクロマトグラフィーを使用した. ガラスクロマト管 (10×300 mm) に活性化させたアルミナ (10 g) をヘキサンで湿式充填し, 無水硫酸ナトリウム (2 g) を重層し, 2・3 で得られた試料 (ヘキサン溶液, 1 ml) を移し入れた. 展開溶媒はヘキサン (第 1 画分; 低極性物質画分), 次いで 0.5% ジクロロメタン-ヘキサン及び 1% ジクロロメタン-ヘキサン (第 2 画分; 大部分の PCNs 及び PCBs 画分), 最後に 50% ジクロロメタン-ヘキサン (第 3 画分; 一部の PCNs 及び PCBs,

PCDDs/DFs 画分) を展開した (Fig. 2). 得られた溶出液はそれぞれロータリーエバポレーター及び N₂ パージで 200 µl まで濃縮した.

また, アルミナは製造ロットごとに標準物質を用いた分画試験を行った.

2・5 HPLC (Hypercarb カラム)

平面構造を持つ物質を選択的に分離する Hypercarb (Hypersil 製, 100 mm×4.6 mm i.d. 7 µm) カラムを使用し, PCBs 画分と non-ortho PCBs, PCNs 及び PCDDs/DFs 画分の分離分析を検討した.

HPLC に Hypercarb カラムを装着 (Hypercarb-HPLC) し, トルエン及び 50% ジクロロメタン-ヘキサンであらかじめ洗浄後, 2・4 で得た画分 (Fr.2 及び 3, ヘキサン溶液, 200 µl) のうち 150 µl を注入した. 移動相として 50% ジクロロメタン-ヘキサン 20 ml, 次いで reverse flow でトルエン 50 ml を用いて 2 画分に分画した. 第 1 画分にはほとんどの PCBs (Fr.2-1 及び 3-1), 第 2 画分には non-ortho PCBs, PCNs 及び PCDDs/DFs (Fr.2-2 及び 3-2) の溶出が認められた. 残りの 50 µl はアルミナカラム分画までの内標準物質の回収率を求めるために使用した. HPLC 分画条件は Table 1 に示した.

得られた各画分にキープ溶媒としてイソオクタン 30 µl を注入し, 更に Fr.2-1 及び 3-1 にはシリンジスパイク (¹³C-HCB) 10 µl を加え, それぞれロータリーエバポレーター及び N₂ パージで濃縮した. 100 µl まで濃縮した Fr.2-1 及び 3-1 は PCBs (CL2-8) 分析溶液とし, 100 µl まで濃縮した Fr.2-2 及び 3-2 は 2・6 の PYE カラムを用いた HPLC 分画溶液とした.

2・6 HPLC (PYE カラム)

π 結合を有する化合物の分離に有効な pyrenyl silica (PYE, ナカライテスク製, 250 mm×4.6 mm i.d. 5 µm) カラムを使用し, non-ortho PCBs, PCNs 及び PCDDs/DFs の詳細分離分析を検討した.

HPLC に PYE カラムを装着 (PYE-HPLC) し, ジクロロメタン及び 10% ジクロロメタン-ヘキサンであらかじめ

Fig. 1 Sampling locations of pine needle leaf in Tokyo Bay area

Table 1 Hypercarb-HPLC conditions

Model	: Shimadzu LC-10AD	
Column	: porous graphitic carbon (Hypercarb, Hypersil Co.), 100 mm×4.6 mm (i.d.) 7 µm (f.t.)	
Injector	: Rheodyne7125, sample loop: 200 µl, injection volume: 150 µl	
Flow rate	: 2.5 ml/min.	
Detector	: UV-254 nm	
Column temperature	: room temperature	
Eluent	: 50%-dichloromethane/hexane 20 ml	(fraction 1, most of PCBs)
	toluene 50 ml (reverse flow)	(fraction 2, non-ortho PCBs, PCNs, PCDDs/DFs)
	toluene 50 ml (reverse flow)	(wash)
	50%-dichloromethane/hexane 25 ml	(wash)

Table 2 PYE-HPLC conditions

Model	: Hewlett Packard 1100 series
Column	: pyrenyl silica (PYE, Nacalai Tesque Inc.), 100 mm × 4.6 mm (i.d.) 7 μm (f.t.)
Injector	: Rheodyne 7725i, sample loop: 200 μl, injection volume: 50 μl
Flow rate	: 1.0 ml/min
Detector	: UV-254 nm
Column temperature	: room temperature
Eluent	: 10%-dichloromethane/hexane (0~27 min) : dichloromethane (27~90 min ^{a)}) : 10%-dichloromethane/hexane (90~105 min)

a) The separation method was programmed from 0 to 75 min, and then to 105 min with a column washing.

洗浄後、2・5で得た第2画分 (Fr.2-2 及び 3-2, ヘキサン溶液, 100 μl) のうち 50 μl を注入した。移動相として 10% ジクロロメタン-ヘキサン, 次いでジクロロメタンを用いて4画分 (Fr.2-2-1~4 及び Fr.3-2-1~4) に分画した。HPLC 分画条件は Table 2 及び Fig. 2 に示した。残りの 50 μl は Hypercarb カラム分画までの内標準物質の回収率を求めるために使用した。

得られた各画分にキープ溶媒としてイソオクタン 30 μl 及びシリンジスパイク 10 μl を注入し, それぞれロータリーエバポレーター及び N₂ パージで 100 μl まで濃縮した。各画分は濃縮した後, non-ortho PCBs (CL4-6) 分析溶液, PCNs (CL3-8) 分析溶液及び PCDDs/DFs (CL4-8) 分析溶液とした。

特に共溶出現象等により適切な毒性評価の困難な 1,2,3,5,6,8-, 1,2,3,4,5,7-hexaCN 及び 1,2,4,5,6,8-, 1,2,4,5,7,8-hexaCN 異性体に関しては, 個々の標準品を用い, 詳細な分画条件を検討した (Table 3)。

2・7 高分解能ガスクロマトグラフィー/高分解能質量分析装置による PCNs, PCBs 及び PCDDs/DFs の同定及び定量方法

データ処理装置は日本電子製のダイオキシン分析プログラム (DioK) を用いて行った。高分解能ガスクロマトグラフィー/高分解能質量分析装置 (HRGC-HRMS) 及び PCNs の分析条件は Table 4 に示した。PCNs のイオン強度の強い M⁺, (M+2)⁺, (M+4)⁺ イオンのうち, 各塩化物ごとに native 成分 (内標準物質については添加した成分のみ) について各々二つ以上をモニターした。

定性は添加回収用標準品及び内標準物質等から判断し, すべての異性体の溶出する位置に相当するピークで, 各二つのイオンのピーク面積比が標準品と ±15% 以内のもので, 更に天然同位体比の理論値に対しても ±15% 以内のものを PCNs, PCBs 及び PCDDs/DFs と同定した。同定されたピークの面積を使用して外標準法により S/N 3 以上のピークについてピーク面積で各異性体ごとに定量した。

3 結果と考察

3・1 PCNs 製剤等量混合標準品中の PCN 異性体の同定

PCNs の分離・精製法を評価するにあたり, 最初に PCNs の HRGC-HRMS 分析条件の確認と全異性体の同定を Halowax 等量混合標準品を用いて行った。Fig. 3 に選択イオン検出 (selected ion monitoring, SIM) クロマトグラム例を示す。このクロマトグラム及び文献¹³⁾¹⁴⁾から PCN 同族体 {tri-(3 塩素化物), tetra-(4 塩素化物), penta-(5 塩素化物), hexa-(6 塩素化物), hepta-(7 塩素化物) 及び octaCNs (8 塩素化物)} に含まれる異性体が明らかとなった。次にダブルカラム HPLC 法を用いて, Halowax, Kanechlor 等量混合標準品, non-ortho PCBs 及び PCDDs/DFs を混合した標準試料を分離・精製し, HRGC-HRMS 分析条件を用いて各々の物質を測定した。

その結果, Fr.2-1 及び Fr.3-1 では non-ortho PCBs 以外の PCBs (mono-, di-ortho PCBs 含む) の溶出が確認できた。

Fr.2-2-1 及び 3-2-1 では tri-, tetraCNs 及び 1,2,4,5,8-pentaCN の溶出が確認できた。特に 1,2,4,5,8-pentaCN は 1,2,3,4,5-pentaCN と HRGC-HRMS での保持時間が近接しているため異性体分離が必要であったが, 本法により分離が確認でき, 異性体ごとの定量が可能となった。また, non-ortho PCBs の溶出も確認できた。

Fr.2-2-2 及び 3-2-2 では 1,2,3,4,5-, 1,2,3,5,7-, 1,2,3,5,8-, 1,2,3,4,6-, 1,2,4,5,7-, 1,2,4,6,7-, 1,2,4,6,8-, 1,2,4,7,8-pentaCN 及び 1,2,3,4,5,8-, 1,2,4,5,7,8-hexaCN の溶出が確認できた。共溶出現象により危険性評価を困難にしていた 1,2,4,5,6,8- 及び 1,2,4,5,7,8-hexaCN の分離が確認でき, 1,2,3,4,5-pentaCN 同様正確な定量が可能となった。また, Fr.3-2-2 では 1,3,6,8-tetraCDD/DF の溶出を確認できたため, PCBs 画分及び PCDDs/DFs 画分の分離にも成功した。これにより PCDDs/DFs 画分の HRGC-HRMS 測定中に PCBs 妨害の影響はないと考えられる。

Fr.2-2-3 及び 3-2-3 では 1,2,3,4,6-, 1,2,3,5,6-, 1,2,3,5,7-, 1,2,3,6,7-, 1,2,3,7,8-, 1,2,4,5,6-, 1,2,4,6,7-pentaCN, 1,2,3,4,5,7-, 1,2,3,5,7,8-, 1,2,4,5,6,8-hexaCN, 1,2,3,4,5,6,8-

Fig. 2 Analysis procedure for PCNs, PCBs and PCDDs/DFs

a): See Table 4 in which separable PCN isomers in detail.

heptaCN 及び octaCN の溶出が確認できた。この画分でも共溶出現象により異性体分離の必要な 1,2,3,4,5,7- 及び 1,2,3,5,6,8-hexaCN の分離に成功した。また 2,3,6,7-tetraCN の溶出も確認できた。

Fr.2-2-4 及び 3-2-4 では 1,2,3,4,5,6-, 1,2,3,4,6,7-, 1,2,3,5,6,7-, 1,2,3,5,6,8-hexaCN 及び 1,2,3,4,5,6,7-heptaCN, 特に Fr.3-2-4 では上記の異性体に加えて octaCDD/DF の溶出が確認できた。本法の条件では 1,2,3,4,6,7- 及び

Table 3 Separation methods for PCN isomers, non-*ortho* PCBs and PCDDs/DFs on PYE-HPLC

Fraction	Time/min	Eluate compounds
1	0 ~ 10	non- <i>ortho</i> PCBs triCN, tetraCN, 1,2,4,5,8-pentaCN
2	10 ~ 12	1,2,3,4,5-, 1,2,3,5,7-, 1,2,3,5,8-, 1,2,3,4,6-, 1,2,4,5,7-, 1,2,4,6,7-, 1,2,4,6,8-, 1,2,4,7,8-pentaCN 1,2,3,4,5,8-, 1,2,4,5,7,8-hexaCN, 1,3,6,8-tetraCDD
3	12 ~ 24	1,2,3,4,6-, 1,2,3,5,6-, 1,2,3,5,7-, 1,2,3,6,7- ^{b)} , 1,2,3,7,8- ^{b)} , 1,2,4,5,6- ^{b)} , 1,2,4,6,7-pentaCN 1,2,3,4,5,7- ^{b)} , 1,2,3,5,7,8- ^{c)} , 1,2,4,5,6,8-hexaCN, 1,2,3,4,5,6,8-heptaCN, octaCN
4	24 ~ 75	1,2,3,4,5,6- ^{c)} , 1,2,3,4,6,7- ^{a)c)} , 1,2,3,5,6,7- ^{a)c)} , 1,2,3,5,6,8-hexaCN ^{b)} , 1,2,3,4,5,6,7-heptaCN ^{b)} octaCDD/DF

a) PCN isomers are separable by second fractionation using *n*-hexane. b) PCN isomers mean low TEF values ($<7.0 \times 10^{-4}$).
c) PCN isomers mean high TEF values ($>0.9 \times 10^{-3}$). TEF values of PCNs make reference to published reports³⁾⁴⁾.

Table 4 HRGC/HRMS conditions for PCNs analysis

Instrument	: JEOL JMS-700D		
Column	: DB-17(J&W Co.), 30 m × 0.25 mm (i.d.) 0.25 μm (f.t.)		
Column temp	: 70°C (1 min), 15°C/min to 180°C, 2°C/min to 270°C (10 min)		
Injection	: splitless injection mode by auto injector		
Ion source	: EI ion source, positive		
Source temp	: 270°C		
Interface temp	: 270°C		
Ionization voltage	: 38 eV		
Trap current	: 500 μA		
Accel. Voltage	: 10 kV		
Resolution	: >10000		
Monitor ions		M ⁺	(M + 2) ⁺ (M + 4) ⁺
	triCN	229.9457	231.9427
	isotope ratio	100	98
	tetraCN	263.9067	265.9038
	isotope ratio	77	100
	pentaCN		299.8648 301.8618
	isotope ratio		100 65
	hexaCN		333.8258 335.8229
	isotope ratio		100 81
	heptaCN		367.7868 369.7839
	isotope ratio		100 98
	octaCN		401.7479 403.7449
	isotope ratio		88 100

1,2,3,5,6,7-hexaCN の共溶出現象は未解決であるが, Fr.2-2-4 及び 3-2-4 を更にヘキサンで溶出することにより分離が可能であることを確認している. HexaCN は毒性等価係数 (TEF) を持つ異性体が多く含まれるため, 詳細な異性体分離が望まれている同族体であるが, 本法の活用により hexaCN の異性体詳細分析が実現し, 更に同一試料中の PCBs 及び PCDDs/DFs の異性体分析も可能となった. また, 本法で用いた PYE カラムは TEF を持つ PCN 異性体³⁾⁴⁾の溶出時間が, TEF を持たない他の異性体と比較すると, 遅くなるという現象が各同族体ごとに観察された (Table 3). そのため構造及び毒性になんらかの関連性があることが示唆された. Halowax 等量混合標準品だけではほぼすべての異性体の同定が可能であったが, 製剤中濃度の非常に低い異性体も存在するため, すべての異性体の最終確認には個々の標準品が必要であろう.

また添加した各内標準物質のクリーンアップスパイク回

収率は 60 ~ 130% の範囲内で, シリンジスパイク回収率は 80% 以上であることを確認した.

なお, この分析法を用い, 著者らは昨年から実施されたカナダ環境省の PCNs 国際キャリブレーションに参加し, 有効な手法であることを確認している¹⁵⁾.

3・2 常緑針葉樹葉中の PCN 異性体の同定

実環境試料を用いた上記分析法の評価試験として, 東京湾周辺の常緑針葉樹葉を用いた分析を行った. その結果, 53 種の PCN 異性体の詳細分離・分析に成功した (Fig. 4). ダイオキシン類及びコプラナー PCBs 測定の公定法 (JIS) と比較すると, 抽出法に関しては本法では抽出溶媒を 3 種類使用しているため, クロマツ葉中に存在するダイオキシン類を損失することなく得ることができ, クリーンアップに関してはダブルカラム HPLC 法を加えたことにより精製操作は増えるが, 妨害物質の影響を受けることなくダ

Fig. 3a SIM chromatograms for tri- and tetraCN isomers in technical PCN mixture on DB-17 column

PCN isomers in parentheses were identified by environmental samples for small amount isomer in technical PCN mixture.

イオキシン類の異性体詳細分析が可能となった。更に本法を用いることにより、同一試料について、環境試料中のPCNs, PCBs, コプラナー PCBs 及び PCDDs/DFs の異性体の一斉分析が可能となるため、煩雑な精製操作が簡略化

され、省溶媒化、二次汚染の低減が実現された。また、著者らの知見では、初めて PCNs 大気汚染の長期的指標としてクロマツが有用であることを明らかにした。なお、同法をモディファイし、北浦柱状底質試料中の PCN 異性体詳

Fig. 3b SIM chromatograms for penta- and hexaCN isomers in technical PCN mixture on DB-17 column

a): PCN isomers are separable by PYE-HPLC.

細分離・分析への有効性も報告されており⁵⁾⁶⁾, 実用性を備えた方法でもある。

3・3 東京湾常緑針葉樹葉中の PCNs 濃度と同族体組成
本法によって可能になった異性体詳細分析により, PCNs の給源推定及び環境モニタリングの高度化が考えら

Fig. 3c SIM chromatograms for hepta- and octaCN isomers in technical PCN mixture on DB-17 column

れる。例として東京湾クロマツ葉及び底質（北緯 35'35", 東経 139'55"）¹⁶⁾¹⁷⁾ 中の PCNs 濃度と同族体組成を比較した。5 地点のクロマツ葉中に含有される PCNs 濃度を測定

した結果, 630~1750 pg/g, wet wt. であった (Fig. 5)。クロマツ葉中の PCNs 濃度は底質より低濃度であるが, 地点によっては底質と匹敵する PCNs 濃度を示した (Fig. 5)。

Fig. 6 Tri-, tetraCN isomers {PCNs predominated in incineration related sources (□) and others (■)} compositions in selected samples of pine needle leaf and sediments from Tokyo Bay

りクロマツ葉中には大気中に含まれる焼却炉由来の PCNs が多く吸着すると考えられるため、クロマツ葉中の PCNs には焼却炉起源の PCN 異性体が多く含まれている可能性がある。このように、環境試料中の PCNs 等、ダイオキシン類似強毒性物質の環境動態・給源推定法の信頼性を向上するためには個々の異性体の正確な同定・測定が必要である。特に従来法では 1,2,3,4,5,7- 及び 1,2,3,5,6,8-hexaCN のように、強毒性異性体と他の成分が個別に測定できないため、本法を用いることでより正確な給源推定と毒性等量 (TEQs) 等のリスク評価が PCNs について可能になると考えられる。

(2001 年 11 月, 日本分析化学)
会第 50 年会において一部発表)

文 献

- 1) K. Kannan, T. Imagawa, N. Yamashita, A. Miyazaki, J. P. Giesy: *Organohalogen Compounds*, **47**, 13 (2000).
- 2) K. Kannan, J. L. Kober, Y. S. Kang, S. Masunaga, J. Nakanishi, A. Ostaszewski, J. P. Giesy: *Environ. Toxicol. Chem.*, **20**, 1878 (2001).
- 3) D. L. Villeneuve, K. Kannan, J. S. Khim, J. Falandysz, V. A. Nikiforov, A. L. Blankenship, J. P. Giesy: *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **39**, 273 (2000).
- 4) A. L. Blankenship, K. Kannan, S. A. Villalobos, D. L. Villeneuve, J. Falandysz, T. Imagawa, E. Jakobsson, J. P. Giesy: *Environ. Sci. Technol.*, **34**, 3153 (2000).
- 5) Y. Horii, K. Kaminaka, K. Ono, M. Okada, T. Imagawa, N. Yamashita: *Organohalogen Compounds*, **50**, 75 (2001).
- 6) 堀井勇一, 岡田 誠, 天野一男, 羽成修康, 谷保佐知, 山下信義: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **51**, 1009 (2002).
- 7) H. Miyata, S. Takamitsu, T. Nakao, O. Aozasa, S. Ohta: *Organohalogen Compounds*, **43**, 203 (1999).
- 8) H. Miyata, T. Nakao, O. Aozasa, S. Ohta, M. Ikeda: *Organohalogen Compounds*, **32**, 130 (1997).
- 9) K. R. Echols, R. W. Gale, D. E. Tillitt, T. R. Schwartz, J. O'Laughlin: *Environ. Toxicol. Chem.*, **16**, 1590 (1997).
- 10) K. R. Echols, R. W. Gale, K. Feltz, J. O'Laughlin, D. E. Tillitt, T. R. Schwartz: *J. Chromatogr. A*, **811**, 135 (1998).
- 11) K. Kimata, K. Hosoya, H. Kuroki, N. Tanaka, J. R. Barr, P. C. McClure, D. G. Patterson, E. Jakobsson, A. Bergman: *J. Chromatogr. A*, **786**, 237 (1997).
- 12) R. B. Elizabeth, G. P. Donald, T. Nobuo, A. Mikio: *J. Chromatogr.*, **445**, 145 (1988).
- 13) 今川 隆: 資源環境技術総合研究所報告, **29**, 1 (2000).
- 14) S. N. Meijer, T. Harner, P. A. Helm, C. J. Halsall, A. E. Johnston, K. C. Jones: *Environ. Sci. Technol.*, **35**, 4205 (2001).
- 15) T. Harner, J. Kucklick: *Chemosphere*, (submitted).
- 16) T. Imagawa, K. Kannan, N. Yamashita, A. Miyazaki, J. P. Giesy: *Organohalogen Compounds*, **47**, 155 (2000).
- 17) N. Yamashita, K. Kannan, T. Imagawa, D. L. Villeneuve, S. Hashimoto, A. Miyazaki, J. P. Giesy: *Environ. Sci. Technol.*, **34**, 3560 (2000).
- 18) T. Harner, R. G. M. Lee, K. C. Jones: *Environ. Sci. Technol.*, **34**, 3137 (2000).
- 19) T. Harner, H. Kylin, T. F. Bidleman, C. Halsall, W. M. J. Strachan, L. A. Barrie, P. Fellin: *Environ. Sci. Technol.*, **32**, 3257 (1998).
- 20) 今川 隆, 山下信義: 環境化学, **6**, 495 (1996).
- 21) S. N. Meijer, T. Harner, P. A. Helm, C. J. Halsall, A. E. Johnston, K. C. Jones: *Environ. Sci. Technol.*, **35**, 4205 (2001).

- 22) T. Nakano, C. Matsumura, K. Fujimori:
Organohalogen Compounds, **47**, 178 (2000).

要 旨

ダイオキシン類等の大気汚染状況を正確に把握するためには、天候及び時間変動に左右されない環境試料の選択及び試料捕集法が重要な因子の一つとなる。従来行われている大気の短時間捕集法では時間変動が大きいことが判明している。しかし近年、大気汚染の長期的な指標として常緑針葉樹葉の有効性が指摘され始めている。本研究では、その常緑針葉樹葉を用いて大気中の塩素化ナフタレン (PCNs) 及びダイオキシン類の測定を行った。特に底質試料について有効性が確認されている porous graphitic carbon (Hypercarb) カラム及び pyrenyl silica (PYE) カラムを併用したダブルカラム高速液体クロマトグラフ精製法を用い、53 種の PCN 異性体の詳細分離・分析に成功した。この方法を用いて、東京湾全周を含む 20 地点の定点観測地点から選択した 5 地点の常緑針葉樹葉 (クロマツ) を分析し、含有される PCNs 濃度を測定した。その結果、選択された 5 地点のクロマツ葉中の PCNs 濃度は 630~1750 pg/g, wet wt. であった。東京湾底質と比較すると、PCN 低塩素同族体 (tri-, tetraCN) 及び焼却炉由来の PCN 異性体の存在割合が高かった。PCNs は焼却炉等、環境中での二次生成の可能性が高く、本研究で開発した簡便迅速・異性体詳細測定手法は PCNs 等、ダイオキシン類似強毒性環境汚染物質について給源推定と危険性評価を行うための分析法として期待される。