

<volume,page no.>

45,33-36

<section>

ANALYSIS 2

<English title>

A monoclonal antibody based immunoaffinity column for isolation of PCDD/PCDF from serum.

<Japanese title>

モノクローナル抗体を用いたイムノアフィニティーカラムによる血清からのPCDD/PCDFの分離

<authors>

Weilin L.Shelver, Janice K.Huwe, Larry H.Stanker, Donald G.Patterson,Jr., and Wayman E.Turner

<key words>

monoclonal antibody, immunoaffinity column, isolation, PCBs, PCDDs, PCDFs

<Japanese key words>

モノクローナル抗体, 免疫親和力カラム, 精製,ダイオキシン類

<captions>

Table 1:1~25gの血清を用いたダイオキシン類分析における各異性体の回収率

<summary>

ダイオキシン類分析における血清試料の精製にモノクローナル抗体を用いたイムノアフィニティーカラム(IAC)を用いた方法を検討した。25g血清試料添加回収試験において、25~150%の回収率の範囲に入った異性体は5つであった。回収率は0.5~2mlの範囲ではIACの容量に依存せず、カラムを通す流速に依存し、溶出前の平衡操作が必要であった。ELISA値が2.5ng以下のものはIACカラムでの回収率が高かったが、その関係は定量的ではなかった。

<comments by translator>

<translator>

石田一恵

<end>

【序論】

ダイオキシン、ジベンゾフランやPCBの様なポリ塩化芳香族化合物は、環境汚染物質としていたるところに存在する。これらの化合物は半減期が長く、難分解性で代謝されにくい為、食物連鎖の中で生物濃縮されていく。加えてこれらの物質は、類似した特性をもった非常に多くの異性体からなり、その存在量も極微量であるために、その分析は複雑である。これらの特性の原因は現行のダイオキシン/ジベンゾフランの分析は、複合カラム操作や危険性の高い溶剤を大量に消費するといった操作を含む非常に困難な精製工程が必要である。また、極微量を検出するためには高分解能GC/MSのような装置が必要である。

その結果として、現行のダイオキシン/ジベンゾフランの分析は非常に高価なものとなっている。(1000\$/1検体)

規制措置またはリスク評価においては、汚染の拡大の回避や二次的な経済問題の発生を回避するために即時的なデータの採取が要求される。その為にはhigh sample throughputが必要である。抗体を用いた免疫親和力カラムを用いて、ダイオキシンの測定に要する時間の短縮及び溶媒消費量の軽減を検討した。本報告において、我々はダイオキシン/ジベンゾフラン/PCBの分析における血清試料の精製にモノクローナル抗体を用いた免疫親和力カラム(IAC)を用いた方法を考案した。

【方法及び試薬】

免疫親和力カラムの準備：免疫親和性カラムの作成の手順は、免疫の供給源としてマウスの腹水を用いる代わりに細胞培養液上清を用いたことを除けば既報の方法に従った。モノクローナル抗体作成細胞系としては、培養液中にダイオキシン添加状態で培養したものをを用いた。遠心分離によって細胞を集めた後、上清をprotein-GカラムでIgGを分離し、サイズ排除カラムを用いてバッファー交換を行った。メーカー(Pharmacia biotech)のプロトコールに従ってIgGフラクションをCNBr-Sepharoseビーズに結合させ、ガラスカラムに充填した。実験に用いたカラムは0.5mlのもので、カラム当たり2.5mgのIgG量になる。

免疫親和力カラムの作成：PCDDs/PCDFs/PCBsの濃度検定を行った標準品を血清試料に添加したもので、IACの回収率確認試験を行った。本研究では、1または25gの血清試料に濃度で標準物質を添加したものをを用いた。IAC回収率確認試験の手順は、既報の方法を改良して行った。簡潔に述べると、まず、各サンプルに13C標識した内部標準物質を添加した後、10%アセトンで洗浄したIACカラムに自然落下速度で通し、カラムに結合しない物質をカラムの5倍容量の10%アセトンで洗浄した。その後、回収したいダイオキシン-PCDDs/PCDFs/PCBs画分をカラムの5倍容量の50%アセトンで溶出させた。カラムから溶出したPCDDs/PCDFs/PCBsをジクロロメタンで抽出し、無水硫酸ナトリウムで脱水を行った。最終溶液は濃縮した後、抽出効率確認用内部標準を添加したドデカンに溶解した。

回収率の測定法：試料の測定には高分解能GC/MSを用いた。回収率は、EPAメソッド1613に従って、25~150%で合格とした。濃度の計算には、TEQ合計値を用いた。

【結果と考察】

25g血清試料において、25~150%の回収率を満足できる結果を得られた異性体は以下のものであった。：2,3,7,8-TCDF、2,3,4,7,8-PeCDF、2,3,4,6,7,8-HxCDF、2,3,7,8-TCDD、1,2,3,7,8-PeCDD。これらの異性体はTEQ合計の内80%を占める。これら5つの異性体を持つ回収率は、すべて95%の信頼限界の範囲に入る分析が可能である。この分析による再現性は、各異性体の回収率の標準偏差が10~20%の範囲に入るものであった。(表-1)

1g血清試料においては、25g血清試料の場合と比較するとPCDDとPCDFの異性体ではおよそ1/3の回収率であり、PCBでは同等あるいはそれ以上の回収率であった。(表-1)

回収率はカラムを通す流速に依存することが示唆され、分析上固相化抗体と結合するために十分な時間を与えてやる必要がある。25g血清試料と1g血清試料の回収率の対比は、サンプル負荷比も重要であることを示唆している。25gの血清試料の方が高い回収率が得られたのは、抗体の結合部位との相互作用をより効果的にするにはサンプル負荷をゆっくりと行う良いということであると考えられる。よって、溶出工程の前に2mlの牛胎児血清で溶解したサンプルを免疫親和力ゲルビーズと30分間平衡状態に達するまで共存させると、25gの血清試料と同等の回収率が得られた。

IACの大きさを2mlから0.5mlに減少させても、回収率に変化は見られなかった。よって0.5mlカラムはまだ分析上十分な結合部位を持つこととなり、カラム容量が小さいために回収率が減少するということは考えられない。カラム容量を縮小することは、抗体の必要量、及び洗浄、溶出、抽出工程の溶媒量を減少させることとなる；より経済的観点からのアプローチを与えることとなる。

抗原抗体試験法(ELISA)から、カラムでの異性体の回収率が概算で予想できる。表1には、PCDD、PCDF及びPCBの異性体のELISA I50値が示した。もしI50値が2.5ng以下であった場合、免疫親和力カラムにおいて強い結合を示す異性体である。しかしながら、I50値と回収率の関係は定量的ではない。ダイオキシンでは2,3,7,8-TCDDと1,2,3,7,8-PeCDDのI50値は3倍ほど違うが、そのIACからの回収率はほとんど同等である。ダイオキシンからジベンゾフランへの概想もあ

まり良くない。2,3,4,7,8-PeCDFの感度は2,3,7,8-TCDDの10%程度しかないが、IACにおいてこの2つの異性体は同等かそれ以上の回収率である。PCBはELISAの交差反応性や免疫親和力カラムによる回収率に見られるように、抗体はPCBと最小の結合力を示した。

将来的には、すべての異性体を保持することができる混合免疫ビーズを作成する。IACの自動化は、血清試料の精製工程の効率化を目指しさらに改良を重ね目下進行中である。

<volume,page no.>

45,41-44

<section>

ORGANOHALOGENE COMPOUNDS

<English title>

USING SFE FOR SIMULTANEOUS DETERMINATION OF PCBs AND PAHs IN VARIOUS MARINE SPECIES AND SEDIMENTS.

<Japanese title>

海生生物及び底質中のPCBs・PAHs同時定量におけるSFEの使用

<authors>

Luigi Turrio-Baldassari,Alessandro di Domenico,Nicola Iacovella,Cinzia La Rocca

<key words>

SFE,DETERMINATION,PCB,PAH,MARINE SPECIES,SEDIMENT

<Japanese key words>

SFE、定量、PCB、PAH、海生生物、底質

<captions>

表-1 同位体ラベル内部標準の平均回収率、変動係数、最小値、最大値（28底質サンプル）

表-2 同位体ラベル内部標準の平均回収率、変動係数、最小値、最大値（47魚類・軟体動物試料）

<summary>

SFE法によってPCB、PAHs測定をする場合、内部標準物質の回収率がどのように異なるかを研究した。対象は

海洋底質28、魚試料47である。試料マトリックスによって回収率にばらつきが見られるが、実際、SFEは

試料種による影響を受けやすく、極性の大きい化合物は試料との相互作用も大きい。このような場合にはメタ

ノールを添加することで回収率を上げることができる場合もある。いずれにしてもSFE法における回収率は試

料による違いが大きく、今回はPAHsにおけるばらつきが大きく、PCBでは小さいという結果が得られた。

<comments by translator>

<translator>

福田和宏

<end>

<volume,page no.>

45,45-48

<section>

ANALYSIS 2

<English title>

MULTICOMPONENT ANALYSIS OF ORGANOCHLORINE AND ORGANOCHLORINE
CONTAMINANTS IN HUMAN MILK,BLOOD PLASMA, LIVER AND ADIPOSE TISSUE

<Japanese title>

人間のミルク、血漿、肝臓、脂肪組織中の有機塩素化合物及び有機臭素化合物汚染物質の多成分分析

<authors>

Daiva Meironyte Guvenius and Koidu Noren

<key words>

Multicomponent analysis, Organohalogen compounds, Clean-up ,Extraction, Blood plasma

<Japanese key words>

多成分分析、有機ハロゲン化合物、クリーンアップ、抽出、血漿

<captions>

図1 人体組織中の有機ハロゲン化合物の多成分分析の計画フロー

<summary>

増加する汚染物質を調べるために、多くの化合物が分析できる多成分同時分析の手法が求められている。この研究では、従来の手法を改良し、また、分析対象にPBDEs ,OH-PCBsを加えた。改良点として、従来、液-液分配を、液-ゲル分配に変更した。液-ゲル分配は、エマルジョン形成の問題を生じず、また、サンプルの液量を10mlに減らすことが可能になった。

<comments by translator>

多成分同時分析は、今後、重要になるであろう。今後の研究に期待したい。

<translator>

辻 聡志

<end>

<volume,page no.>

45,49-52

<section>

ANALYSIS 2

<English title>

New High Capacity Disposable Silica Columns (HCDS) instead of GPC for Automated Clean-up of Biological Fatty Matrices in PCDD/Fs and cPCBs Analysis.

<Japanese title>

GPCの代替法として大容量シリカカラムを用いた生物試料中ダイオキシン類の分析

<authors>

Jean-Francois Focant, Gauthier Eppe and Edwin De Pauw

<key words>

GPC,HCDS,biological fatty material,PCDD/Fs,cPCBs,clean-up

<Japanese key words>

ゲルろ過カラム、大容量シリカカラム、生物試料中の油性物質、ダイオキシン類、クリーンアップ

<captions>

Fig1. 精度管理図

Fig.2. HCDSおよびGPCを用いて行った卵試料とマッコウクジラ試料の分析結果

Table 1. 精度管理試料および日間精度管理試料の回収率の比較

<summary>

生物試料中のダイオキシン類の分析を行う際の前処理について、ゲルろ過法とPower-Prep SystemTMを用いた使い捨てシリカカラム処理（HCDS）の比較を行った。HCDS法を用いた場合、ゲルろ過法に比べ安価で迅速な処理が実行でき、油分を多く含んだ低濃度試料についても1日で10試料について抽出液からGC-MSに供するまでの処理が行えた。

<comments by translator>

<translator>

津田定豊

<end>

<volume,page no.>

45,53-56

<section>

ANALYSIS 2

<English title>

FRACTIONATION OF PCDD/DF AND PCB IN SPE CARBON TUBES.

COMPARISON TO OTHER FRACTIONATION METHODS IN HUMAN PLASMA ANALYSIS

<Japanese title>

SPEカーボンチューブを用いたPCDD/DF及びPCBの分画と他の分画方法との比較(人の血漿試料)

<authors>

M.Cabes, M.J.Montana, J.Diaz-Ferrero, R.Marti, F.Broto-Puig, L.Comellas, and M.C.Rodriguez-Larena

<key words>

Fractionation, SPE carbon tube, human plasma, automation,PCDD/F

<Japanese key words>

分画, 固相抽出, SPEカーボンチューブ, 人の血漿試料, 自動処理, ダイオキシン類

<captions>

Figure 1. SPEカーボンチューブにおけるPCDD/Fの溶出挙動:トルエンをdirect-flowで溶出した場合(a)、トルエンをreverse-flowで溶出した場合(b)

Table 1. 各分画法の比較結果

<summary>

SPEカーボンチューブ(Supelclean ENVI-Carb SPE tube)を用いてPCDDs/DFs、co-PCBs、other-PCBsについての分画を行った。トルエン等の溶媒をdirect-flowで展開した場合には4~5CDDs/DFsしか溶出しなかったが、reverse-flowで流した場合に良い回収が得られた。また、PCBs、co-PCBs、PCDDs/DFsの分画も良好であった。人の血漿試料についてSPE法とフロリジルオープンカラム法、HPLC法(pyrenyl-silica column)の比較を行った。回収率、溶媒使用量、処理時間、自動化などについて考えた場合、SPE法が最も有効であると言える。

<comments by translator>

<translator>

津田定豊

<end>

<volume,page no.>

45,57-59

<section>

ORGANOHALOGENE COMPOUNDS

<English title>

TOTAL SYNTHESIS OF (U-13C)DIELDRIN,ENDRIN,OXYCHLORDANE,AND RELATED
POLYCHLORINATED
NORBORNENE PESTICIDES

<Japanese title>

（炭素13）ディルドリン、エンドリン、オキシクロルデン及び関連する多塩素化norbornene
殺虫剤の全合成

<authors>

J.C.Bradley,D.J.Aberhart,T.J.Eckersley,R.PADYKULA,M.ElMasri,W.K.Banner,A.Racovea
nu,and

S.S.Yuan,

<key words>

synthesis, dieldrin, endrin, oxychlordan

<Japanese key words>

合成、ディルドリン、エンドリン、オキシクロルデン

<captions>

<summary>

ヘキサクロシクロペンタジエンから誘導されるクロルデン、エンドクリンのような塩素化物
は

norbornene型をしており、環境汚染物質であるがゆえに正確な定量が不可欠である。この目的
で

同位体希釈法が多く利用されている。本報では同位体希釈法に無くてはならない13Cラベル
体、

ディルドリン、エンドリン、オキシクロルデン及び関連するnorbornene殺虫剤の合成法を報告
し

ている。

<comments by translator>

<translator>

福田和宏

<end>

<volume,page no.>

45,60-63

<section>

ORGANOHALOGENE COMPOUNDS

<English title>

LABORATORY STUDY ON THE EFFECTS OF MOLECULAR CHLORINE ON EPA METHODS 23 FOR

PCDD/PCDF SAMPLING AND ANALYSIS

<Japanese title>

研究室における分子塩素の及ぼす影響研究

～PCDD/PCDFのサンプリング及び分析に関するEPA法23において～

<authors>

Gary Hinshaw, Scott Klamm, Karin Bauer, Carl Daly, and Linda Jacobson

<key words>

MOLECULAR CHLORINE, EPA METHOD 23, PCDD/PCDF

<Japanese key words>

分子塩素、EPA法23、PCDD/PCDF

<captions>

表-1 試験マトリックスと実験条件

図-1 実験装置図、 図-2 ダイナミックスパイク回収率-PCDDs、

図-3 ダイナミックスパイク回収率-PCDFs

図-4 全異性体のダイナミックスパイク回収率

<summary>

米国Utah州Grantsville近郊の一次マグネシウム精錬工場から19000ppmもの塩素ガスを
含むガス

が放出され、ダイオキシン生成の可能性が懸念されている。これを受けてEPAでは高濃度塩素
存在下

でのダイオキシン測定をラボレベルにおいて検討した。その結果、塩素が高濃度で存在すると
2378-PCDF

が初期添加量以上に検出された。これは塩素付加による影響と思われる、2378-PCDF以上に添
加した

5～8-PCDFについては増加が見られない。今後、更なる検討が必要である。

<comments by translator>

<translator>

福田和宏

<end>

<volume,page no.>

45,64-67

<section>

ANALYSIS 2

<English title>

HAIR ANALYSIS : ANOTHER APPROACH FOR THE ASSESSMENT OF HUMAN EXPOSURE TO PERSISTENT ORGANOCHLORINE POLLUTANTS (POPs)

<Japanese title>

毛髪分析：難分解性有機塩素化合物汚染物質(POPs)による人体暴露評価をするための別のアプローチ

<authors>

Adrian Covaci, Maria Tutudaki, Aristidis M. Tsatsakis and Paul Schepens

<key words>

Hair, Persistent organochlorine, Pesticide,Clean-up, Extraction,

<Japanese key words>

毛、難分解性有機塩素化合物、農薬、クリーンアップ、抽出、

<captions>

表1 液に漬けられた毛髪サンプルにおける内標準とp,p-DDEの回収率

表2 ギリシャ、ルーマニア、ベルギーの毛髪サンプルのPOPs濃度

<summary>

毛髪サンプルを用いた難分解性有機塩素化合物汚染物質(POPs)の人体暴露評価の研究は、「短期及び長期の暴露を評価できる」、「同じ検体から容易に繰り返しサンプリングできる」という利点があるにもかかわらず、過去にほとんど行われていない。この研究では、いくつかの抽出方法を試み比較した結果、「酸性の加水分解がケラチンの分解に有効であること」「ヘキサン:ジクロロメタン(4:1)混合溶媒による抽出が、DDTsの回収率を上げること」が明らかになった。

<comments by translator>

毛髪のサンプリングは、容易であるため、指標として用いるのに適している。著者らが述べているように、人体の他の部位の濃度との関連が明らかになれば、更に有効である。今後の研究に期待したい。

<translator>

辻 聡志

<end>