

MIURA

Technical Report

ラピアナ
RAPIANA®

三浦工業株式会社 三浦環境科学研究所

2021/09/10

【既報】報文:環境化学 Vol. 29, No.2, pp. 31-39, 2019

環境試料中の PCB 全異性体分析のための簡便・迅速精製法

宮内佑子¹, 川嶋文人², 森菖真³, 高橋知史¹, 濱田典明²¹ 三浦工業株式会社 (〒799-2430 愛媛県松山市北条辻 864-1)² 愛媛大学大学院農学研究科 (〒790-8566 愛媛県松山市樽味 3-5-7)³ 愛媛大学農学部 (〒790-8566 愛媛県松山市樽味 3-5-7)

A simple and rapid purification method for the analysis of all PCB congeners in environmental samples

Yuko Miyauchi¹, Ayato Kawashima², Shoma Mori³, Tomofumi Takahashi¹, Noriaki Hamada²,¹ MIURA CO., LTD. (864-1, Hojotsuji, Matsuyama, Ehime, 799-2430)² Graduate School of Agriculture, Ehime University (3-5-7, Tarumi, Matsuyama, Ehime, 790-8566)³ Faculty of Agriculture, Ehime University (3-5-7, Tarumi, Matsuyama, Ehime, 790-8566)

Summary

The conventional methods of PCB analysis used for testing environmental samples and measuring all PCB congeners are complicated in operation and sometimes insufficient to perform purification.

Therefore, we developed a simple and rapid purification method for the analysis of all PCB congeners in environmental samples by improving upon the existing analysis method used for electrical insulating oils. This existing method uses heated, multi-layer silica gel column/alumina column which cannot recover low chlorinated PCB in which only one aromatic ring is substituted with chlorine and high chlorinated tetra-*ortho* PCB.

At the outset, we prepared a column set that consisted of a purification column and a concentration column. The purification column was filled with sulfuric acid silica gel for refining the sample. The concentration column was filled with alumina and silver-modified alumina for facilitating selective adsorption and elution of PCB. The recovery rate of high chlorinated tetra-*ortho* PCB was improved when the column set was used under the non-heating cleanup condition. However, that of monochlorinated biphenyl did not show any improvement. Afterwards, an additional amount of silica gel was stacked in layers on the sulfuric acid silica gel to boost the purification column's function. As a result, the loaded sample was contained and degradation of low chlorinated PCB by sulfuric acid silica gel was prevented. Thus, all PCB congeners were recovered using this improved column set.

Subsequently, the above column set was also used to purify the samples of sediment and fish tissues. The effective cleanup was confirmed by the chromatogram of GC/ECD and GC/MS. Furthermore, the performance of this method was evaluated by the certified reference materials. The result of the study showed that the proposed method has satisfactory quantitative capability and repeatability.

Hence, this method was found to be effective for analyzing the presence of all PCB congeners in environmental samples.

Key words: all PCB congeners, environmental samples, silica gel, silver-modified alumina

1. はじめに

ポリ塩化ビフェニル(以下、PCB)は、化学的安定性と工業的有用性から広範囲に使用されるもその毒性が明らかになり、1972年に製造が中止された。しかし、今なお自然界に広く残留しているため環境汚染や生物汚染が懸念されており、その汚染実態の把握が必要とされている。このような PCB の分析対象となる環境中の試料例としては底質、土壌、水、大気、食品、生物などが挙げられ、分析方法としては、「底質調査方法(平成 24 年 8 月 環境省 水・大気環境局)」¹⁾や、「水質汚濁に係る環境基準について 付表 3(昭和 46 年 12 月 28 日 環境庁告示第 59 号)」²⁾、「モニタリング調査マニュアル(環境省 環境保健部 環境安全課)」³⁾、「食品中のダイオキシン類の測定方法暫定ガイドライン(平成 20 年 2 月 厚生労働省)」⁴⁾などがある。これら既存の PCB 分析方法では操作に多大な時間と手間を要するために回収率の低下を招いたり、生体組織など、試料によっては妨害物質の除去が不十分となることも確認されており、改善が望まれていた⁵⁻⁹⁾。

一方、絶縁油や PCB 含有廃棄物中の PCB 測定方法である「絶縁油中の微量 PCB に関する簡易測定法マニュアル(第 3 版)(平成 23 年 5 月)」¹⁰⁾や「低濃度 PCB 含有廃棄物に関する測定方法(第 3 版)(平成 29 年 4 月)」¹¹⁾に記載された、簡易定量法の一つである「加熱多層シリカゲルカラム/アルミナカラム法」(以下、簡易定量法)は、分析方法が簡便で、高い精製能力を有する¹²⁻¹⁴⁾。しかし、簡易定量法では、#1、#12、#38 等の片側の芳香環のみ塩素置換された低塩化 PCB(1~3 塩化 PCB)や、#155、#188、#202、#208、#209 等のオルソ位全てが塩素置換されたテトラオルソ体の構造を持つ高塩化 PCB(6~10 塩化 PCB)に対しては回収率が著しく低下する。前者は硫酸シリカゲルでの加熱工程における分解や硝酸銀硝酸銅シリカゲルにおける吸着が原因と推測され、後者はヘキサン共存下で活性アルミナとの相互作用が弱く、アルミナカラムで吸着されないことが原因であると推測されている¹⁴⁾。絶縁油や低濃度 PCB 含有廃棄物の簡易定量法では、製品 PCB 中の 1 塩化 PCB や 10 塩化 PCB 等は存在割合が極めて低いため、これらの回収率の低下は定量にほとんど影響を与えない。しかし、環境中の試料には、合成・分解等により 1 塩化 PCB や 10 塩化 PCB などの特異的な PCB 異性体を含む試料もあるため¹⁵⁾、簡易定量法を適用すると、これら PCB の定量が困難となる。そこで、我々は簡易定量法を応用した簡便、迅速かつ 209 種類の PCB 全異性体の回収が可能なる分析方法(以下、本法)を開発した。さらに、この手法を底質試料、食品試料に適用したところ、良好な結果が得られたので報告する。

2. 実験材料

2.1. PCB 標準溶液

回収率評価には、66 種類の PCB 異性体が混合された標準溶液(EC-5433/CIL 社製)、209 種類の PCB 全異性体が 5 セットに分けられた標準溶液(PCB Congener Mix1~5/Accu Standard 社製)を各異性体が 100 ng/mL または 200 ng/mL となるように調製し、5 ng または 10 ng 添加して使用した。GC/MS 測定におけるクリーンアップスパイクには¹³C で標識化された 1~10 塩化 PCB が混合された標準溶液(MBP-MXP/Wellington 社製)を各異性体が 20 ng/mL となるように調製し、2 ng 添加して使用した。シリンジスパイクには¹³C で標識化された 4 塩化 PCB、5 塩化 PCB、7 塩化 PCB が混合された標準溶液(P48-RS-STK/Wellington 社製)を各異性体が 40 ng/mL となるように調製し、2 ng 添加して使用した。

2.2. 認証標準物質

本法の定量性評価には、底質と魚肉の 2 種類の認証標準物質を用いた。

底質の認証標準物質には「河川底質認証標準物質 JSAC 0432(公益社団法人 日本分析化学会)」を用いた。これは、各同族体及び、その合計値に対して認証値が付与されたものである。また、魚肉の認証標準物質には「スズキ魚肉粉末 NMJJ CRM 7404-a(国立研究開発法人 産業技術総合研究所 計量標準総合センター)」を用いた。これは、5 種類の PCB 異性体 #28、#70、#105、#153、#170 に対しての認証値が付与されたものである。これらを 4.1.及び 4.2.の手順に従い抽出して使用した。

2.3. その他の試薬

本検討に用いた試薬は下記の通りである。

- ・アセトン(富士フィルム和光純薬(株)製:残留農薬・PCB 試験用)
- ・トルエン(富士フィルム和光純薬(株)製:残留農薬・PCB 試験用)

- ・ヘキサン(富士フィルム和光純薬(株)製:残留農薬・PCB 試験用)
- ・2,2,4-トリメチルペンタン(富士フィルム和光純薬(株)製:試薬特級)
- ・エタノール(富士フィルム和光純薬(株)製:試薬特級)
- ・水酸化カリウム(富士フィルム和光純薬(株)製:試薬特級)
- ・塩化ナトリウム(富士フィルム和光純薬(株)製:試薬特級)
- ・硫酸(富士フィルム和光純薬(株)製:精密分析用)
- ・硫酸ナトリウム(無水)(関東化学(株)製:PCB 試験用)
- ・球状シリカゲル(関東化学(株)製:フラッシュクロマトグラフィー用 粒径 40~100 μm)
- ・球状シリカゲル(関東化学(株)製:カラムクロマトグラフィー用 粒径 63~210 μm)
- ・44 %硫酸シリカゲル(三浦工業(株)製:ラピアナ®カラムセット絶縁油用より)
- ・15 %硝酸銀-15 %硝酸銅シリカゲル(三浦工業(株)製:ラピアナ®カラムセット絶縁油用より)
- ・アルミナカラム(三浦工業(株)製:ラピアナ®カラムセット絶縁油用より)
- ・活性アルミナ(MP Biomedicals 製:塩基性, 活性度 I)
- ・硝酸銀(富士フィルム和光純薬(株)製:試薬特級)

3. 分析方法

3.1. 簡易定量法に基づく PCB 標準液回収試験方法

今回、我々は簡易定量法に示されている多層シリカゲルカラム及びアルミナカラムを用いた精製法¹⁰⁾の加熱条件である「85℃, 1 時間」を、「50℃, 1 時間」に変更し、PCB 標準溶液の回収試験を行った。下記にその操作方法を述べる。

「絶縁油中の微量 PCB に関する簡易測定法マニュアル(第 3 版)(平成 23 年 5 月)」¹⁰⁾に記載されている「加熱多層シリカゲルカラム/アルミナカラム法」に基づき、内径 13 mm, 胴長 7.0 cm のガラス製の注射筒に、下から 15 %硝酸銀-15 %硝酸銅シリカゲル 1.4 g, 44 %硫酸シリカゲル 3.8 g を充填した多層シリカゲルカラムと、内径 4.6 mm, 全長 10 cm のガラス管にアルミナ 0.6 g を充填したアルミナカラムを用意した。この多層シリカゲルカラムに PCB 標準溶液とクリーンアップスパイクを混合して添加した。添加液量は洗いこみ液を含め 1 mL 以内となるようにした。次に、多層シリカゲルカラムに添加した溶液が展開している部分をヒーターで覆い、50℃で 1 時間加熱した後、多層シリカゲルカラムの温度が 40℃以下になるまで放冷した。そして、アルミナカラムを多層シリカゲルカラム下端に連結し、ヘキサン 20 mL を流速約 2.0 mL/min で流した。そして、アルミナカラムを外し、反転させて 85℃で 10 分間乾燥させた後、トルエン 0.6 mL を添加し PCB を溶出した。このようにして得られた溶出液約 0.3 mL にシリンジスパイクを添加して GC/MS で測定し、回収率を評価した(Fig. 1 (A))。

3.2. 硫酸シリカゲル/アルミナ-銀担持アルミナ非加熱精製法

簡易定量法を応用した 2 種類のカラムを用意した。まず、添加試料を精製するカラム(以下、精製カラム)として、内径 13 mm, 胴長 7.0 cm のガラス製の注射筒に 44 %硫酸シリカゲル 3.8 g を充填したカラムを用意した。そして、PCB を選択的に吸着した後、少量の溶出溶媒中に濃縮するカラム(以下、濃縮カラム)として内径 4.6 mm, 全長 10 cm のガラス管に上端からアルミナ 0.6 g, 銀担持アルミナ 0.7 g の順番になるように積層して充填したカラムを準備した。銀担持アルミナは、以下の方法により作製した。まず、蒸留水 10 g に硝酸銀 3.4 g を溶解した水溶液を調製し、この水溶液全量と活性アルミナ 10 g を混合した混合物を、ロータリーエバポレーターを用いて水分を蒸発させて乾燥した。このようにして得られた粉体を、温度が 1000℃以下になるように制御した管状炉に入れて空気流下で約 3 時間焼成した後、窒素気流下で室温まで冷却し、銀担持アルミナを得た。

このカラムを用いた操作手順を Fig. 1 (B)に示す。まず、精製カラムに試料を添加した。添加液量は洗いこみ液を含め 1 mL 以内となるようにし、回収率を評価する場合には、この添加試料中にクリーンアップスパイクが含まれる状態にした。次に濃縮カラムを連結し、ヘキサン 20 mL を流速 1.7~2.0 mL/min で流した。そして、濃縮カラムを外し、反転させて 85℃で 10 分間乾燥させた後、トルエン 1.2 mL を添加し PCB を溶出した。このようにして得られた溶出液を約 0.3 mL に濃縮した後シリンジスパイクを添加し、GC/MS で測定して回収率を評価した。この操作は、簡易定量法と比較して加熱精製工程が省略されるため、操作時間が約 1 時間短縮された。

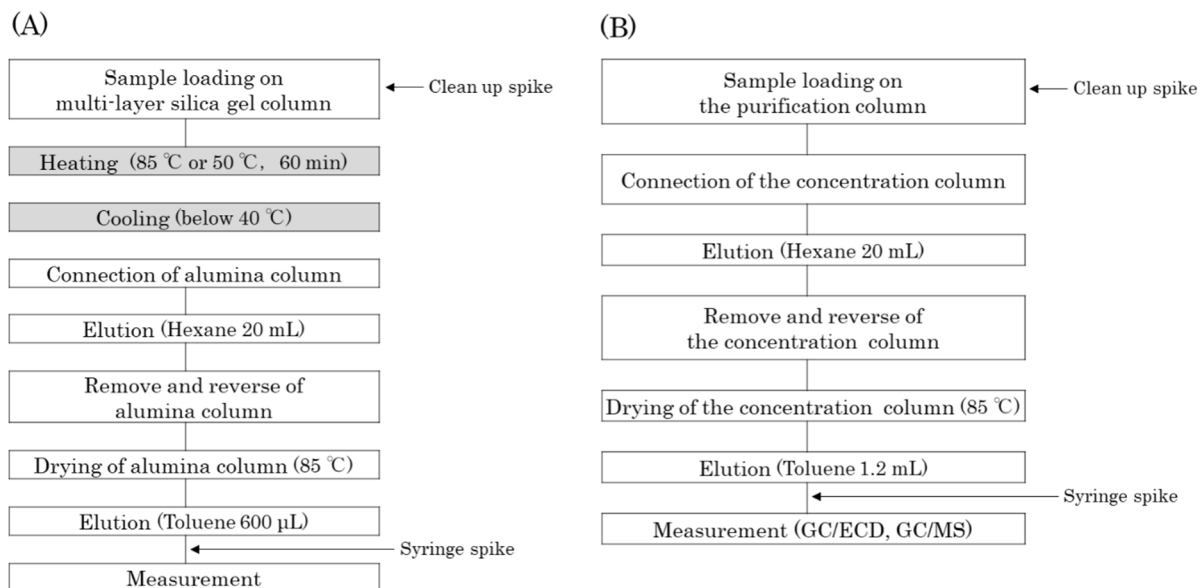
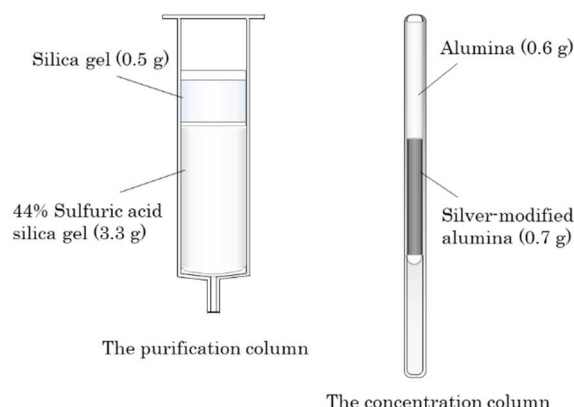


Fig. 1 Analysis scheme of PCB: (A) by heating multi-layer silica gel column/alumina column, (B) by non-heating purification column/concentration column

3.3. シリカゲル-硫酸シリカゲル/アルミナ-銀担持アルミナ非加熱精製法(本法)

3.2.のカラムをさらに応用し、精製カラムとして 44 % 硫酸シリカゲル 3.3 g を充填した上に、球状シリカゲル (粒径 40~100 µm) 0.5 g を積層したカラムと、3.2.と同様、濃縮カラムとしてアルミナ 0.6 g, 銀担持アルミナ 0.7 g を積層して充填したカラムを準備した (Fig. 2)。操作手順は 3.2.と同様の手順とし (Fig. 1 (B)), また、3.1.~3.3.の操作には専用の PCB 前処理装置 ((株)シーズテック製)を用いた。

Fig. 2 Schematic structure of the purification and concentration columns for the non-heating clean-up condition



4. 実試料の分析方法

4.1. 底質の分析方法

底質試料からの抽出は「底質調査方法(平成 24 年 8 月 環境省 水・大気環境局)」(以下、従来法)の II 6.4.1 の手順に基づき行った¹⁾。まず、湿試料約 10 g~20 g を秤量し、1.25 mol/L 水酸化カリウム/エタノール溶液 50 mL を加え、沸騰水浴中で約 1 時間加熱分解を行った。加熱後、約 50 °C まで放冷し、ヘキサン 50 mL を加え振り混ぜた。この混合液をさらに室温まで冷却し、ガラス繊維ろ紙 (GA100/ADVANTEC 社製) で吸引ろ過を行った。残渣は、エタノール/ヘキサン (1:1 混合溶液) 20 mL, ヘキサン 30 mL の順番で洗いこみ、吸引ろ過を行った。得られた各ろ液を分液漏斗に合わせ、水 50 mL を加えて 10 分間振とうし、ヘキサン層と水層に分離させた。この水層にヘキサン 50 mL を加えて再度 10 分間振とうし、得られたヘキサン層はもとの分液漏斗中のヘキサン層に合わせた。この分液漏斗のヘキサン層を水 100 mL で 3 回水洗した後、無水硫酸ナトリウムに通して脱水した。そして、ロータリーエバポレーターと窒素ガスによって、液量 0.5 mL 当たり試料 1 g 相当量が含まれるように濃縮したものを抽出溶液とした。また、試料が認証標準物質の場合は、クリーンアップスパイクをアルカリ分解前の試料に添加して抽出操作を行った。

得られた底質抽出液は、0.5 mL を分取して本法 (3.3.) の手順に従い精製を行うか、従来法 II 6.4.1 に基づいた以下の手順によって精製を行った¹⁾。まず、分取した抽出液 0.5 mL をヘキサンで 6 mL に希釈した溶液に、硫酸 2 mL を加えて振とうし、静置後、硫酸層を除去する操作をヘキサン層の色が薄くなるまで繰り返した。次に、飽和塩化ナトリウム水溶液 6 mL で 3 回水洗した後、ヘキサン溶液を約 3 mL まで濃縮し、シリカゲルクロマトグラフによって精製した。具体的には、カラムクロマトグラフ管底部にガラスウールを詰め、球状シリカゲル (粒径 63~210 µm) 3 g, 硫酸ナトリウム 6 g をヘキサンで湿式充填した後、ヘキサン 200 mL を流速約 2.5 mL/min で流

して充填物を洗浄した。洗浄が終わったら、ヘキサン液面を硫酸ナトリウム層まで下げて試験溶液を全量添加し、液面を硫酸ナトリウム層まで下げた。その後、ヘキサン 200 mL を流速約 1 mL/min で流下させて得た溶出液を、エバポレーターと窒素ガスによって 0.35 mL まで濃縮し、測定溶液を得た。

4.2. 魚肉の分析方法

魚肉試料の PCB 抽出は「モニタリング調査マニュアル」に基づき以下の方法で行った³⁾。試料 2.5~5.0 g を秤量し、これに 1 mol/L の水酸化カリウム/エタノール溶液 50 mL を加え、沸騰水浴中で約 1 時間加熱または室温で 300 rpm、約 16 時間攪拌し、アルカリ分解を行った。次に、分解物が含まれた溶液を分液漏斗へ移した。この際、残渣もヘキサン洗浄水 50 mL で洗いこみながら分液漏斗へ移した。この分液漏斗の溶液からヘキサン抽出を 3 回繰り返した。ヘキサンの液量は 60 mL, 40 mL, 40 mL の順に行った。このようにして得られたヘキサン層を合わせ、2 %塩化ナトリウム溶液 50 mL で 2 回水洗した後、無水硫酸ナトリウムにヘキサン層を通して脱水し、ロータリーエバポレーターと窒素ガスによって 0.5 mL まで濃縮したものを抽出溶液とした。また、試料が認証標準物質の場合は、クリーンアップスパイクをアルカリ分解前の試料に添加して抽出操作を行った。この魚肉抽出液全量を用いて、本法(3.3.)の手順に従い精製を行った。

5. 測定機器

PCB の測定にはキャピラリーカラム DB-5 (Agilent 社製 20 m × 0.18 mmI.D., 0.18 μm) を装填した GC/ECD (Agilent 社製 7890A GC/ECD) または DB-5ms (Agilent 社製 30 m × 0.25 mmI.D., 0.25 μm) を装填した GC/MS (Agilent 社製 7890B GC/5977B MSD) を使用した。測定機器の測定条件を Table 1 に示す。

Table1 Operating conditions of GC/ECD and GC/MS

	GC / ECD	GC/MS
<u>Instrument</u>	Agilent 7890A GC	Agilent 7890B GC Agilent 5977B MSD
<u>GC conditions</u>		
Column type	DB-5 20 m × 0.18 mmI.D. df = 0.18 μm	DB-5ms 30 m × 0.25 mmI.D. df = 0.25 μm
Oven temperature	100 °C (1 min) →40 °C/min→160 °C →15 °C/min→250 °C →20 °C/min→280 °C (1.4 min)	100 °C (2 min) →30 °C/min→170 °C (1 min) →5 °C/min→290 °C (5min)
Carrier gas	Hydrogen	Helium
Pressure	175.7 kPa	97 kPa
Flow rate	80 cm/s, 2.0 mL/min constant flow	40 cm/s, 1.2 mL/min constant flow
Injection port temperature	250 °C	250 °C
Injection mode	Splitless	Splitless
Injection volume	2 μL	2 μL
<u>Detector condition</u>		
Temperature	320 °C	Interface : 280 °C Ion source : 230 °C Quadro pole : 150 °C
Make up gas	Nitrogen	-
Flow rate	30 mL/min	-
Ionization current	-	34.6 μA
Electron energy	-	70 eV

6. 結果と考察

6.1. 簡易定量法に基づく試験方法における PCB 回収率の挙動評価

まず、簡易定量法の手順に従い、高橋らの行った 62 種類の PCB 異性体が混合された標準溶液 (BP-MS) の回収試験結果 (Fig. 3 (A)) と¹⁴⁾、今回、我々が行った 66 種類の PCB 異性体が混合された標準溶液 (EC-5433) の回収試験結果 (Fig. 3 (B)) を示す。両グラフとも点線枠で囲まれた PCB の回収率が低くなっていることが分かるが、これらは #1, #12, #38 等の片側の芳香環のみ塩素置換された低塩化 PCB (1~3 塩化 PCB) と、#155, #188, #202, #208, #209 等のオルソ位全てが塩素置換されたテトラオルソ体の構造を持つ高塩化 PCB (6~10 塩化 PCB) に分類される。これらの結果から、片側の芳香環のみ塩素置換された低塩化 PCB は、分子内に塩素が偏在することで極性が高くなるため、50 °C 程度の加熱でも多層シリカゲルカラムとの相互作用により分解されやすく、回収率が低くなったと考えられた。また、テトラオルソ体の構造を持つ高塩化 PCB はアルミナとの相互作用が弱く、吸着されにくいため、回収率が低くなったと考えられた¹⁴⁾。

6.2. 硫酸シリカゲル/アルミナ-銀担持アルミナ非加熱精製法における PCB 回収率の挙動評価

6.1 より、回収率の低かった PCB の回収率を改善するために、多層シリカゲルカラムの代わりに硫酸シリカゲル 3.8 g を充填した精製カラムと、アルミナカラムに銀担持アルミナ 0.7 g を積層した濃縮カラムを準備し、Fig. 1 (B) の手順に従いクリーンアップスパイクの回収率を評価した。その結果、試料添加後直ちにカラムをヘキサン溶出した場合は、クリーンアップスパイクの 1~10 塩化 PCB すべての回収率が良好であったが、試料添加から 10 分間静置した後にカラムをヘキサン溶出した場合は、1 塩化 PCB の回収率が下がっていることが確認された (Fig. 4 (A))。これは、簡易定量法の加熱精製時のような反応速度ではないが、非加熱条件下においても片側の芳香環のみ塩素置換された低塩化 PCB は硫酸シリカゲルで徐々に分解されるために、1 塩化 PCB の回収

率が下がったと考えられた。一方で、テトラオルソ体である 10 塩化 PCB は、アルミナカラムに追加充填した銀担持アルミナにより吸着され、回収率が向上した。

6.3. 本法による PCB の回収率の挙動評価

6.2より、非加熱条件下においても、試料添加後の経過時間に伴う 1 塩化 PCB の回収率低下を改善するために、硫酸シリカゲル 3.8 g のみを充填した精製カラムの代わりに、硫酸シリカゲル 3.3 g の上にシリカゲル 0.5 g を積層した精製カラムを準備して (Fig. 2)、同様の回収試験を行った。その結果、試料添加後直ちにカラムをヘキサン溶出した場合と、試料添加から 10 分間静置した後、カラムをヘキサン溶出した場合のいずれにおいても、クリーンアップスパイクの 1~10 塩化 PCB の回収率は良好であった (Fig. 4 (B))。これは、添加試料がシリカゲル層で保持され、ヘキサン溶出するまでに硫酸シリカゲルとの接触を避けられたことにより、1 塩化 PCB が分解されず回収率が向上したためと考えられた。

また、精製カラム中のシリカゲルの有無による実試料の精製効果の比較を、魚肉抽出液を用いて評価した。試料には 4.2.の手順に従い室温条件で抽出したブリ 5 g の抽出液を使用し、精製の際にクリーンアップスパイクは添加しなかった。測定は GC/MS による Scan 測定を行った。測定で得られたトータルイオンクロマトグラムを Fig. 5 に示す。硫酸シリカゲルのみを充填した場合には、保持時間 34 分付近に大きな妨害ピークが見られたが (Fig. 5 (A))、シリカゲルを積層した本法の場合では、この妨害ピークが除去されていることを確認した (Fig. 5 (B))。これは、シリカゲルを積層しない場合は、硫酸シリカゲルにより処理された試料由来マトリクスの分解生成物の一部が夾雑物質として検出されたが、シリカゲルを積層した場合は、そのような夾雑物質となりうるマトリクス成分がシリカゲル層で予め除去されたため、精製効果が高められたと考えられた。

さらに、本法における PCB 回収率の挙動を評価するために、209 種類の PCB 全異性体が 5 セットに分けられた標準溶液 (PCB Congener Mix1~5) を用いて回収試験を行った。その結果、209 種類の全異性体において 80 %以上の回収率が得られた (Fig. 6)。これらの結果から、シリカゲルと硫酸シリカゲルを積層した精製カラムと、アルミナと銀担持アルミナを積層した濃縮カラムを非加熱条件で用いた本法は、PCB 全異性体の回収が可能な手法であることが示された。

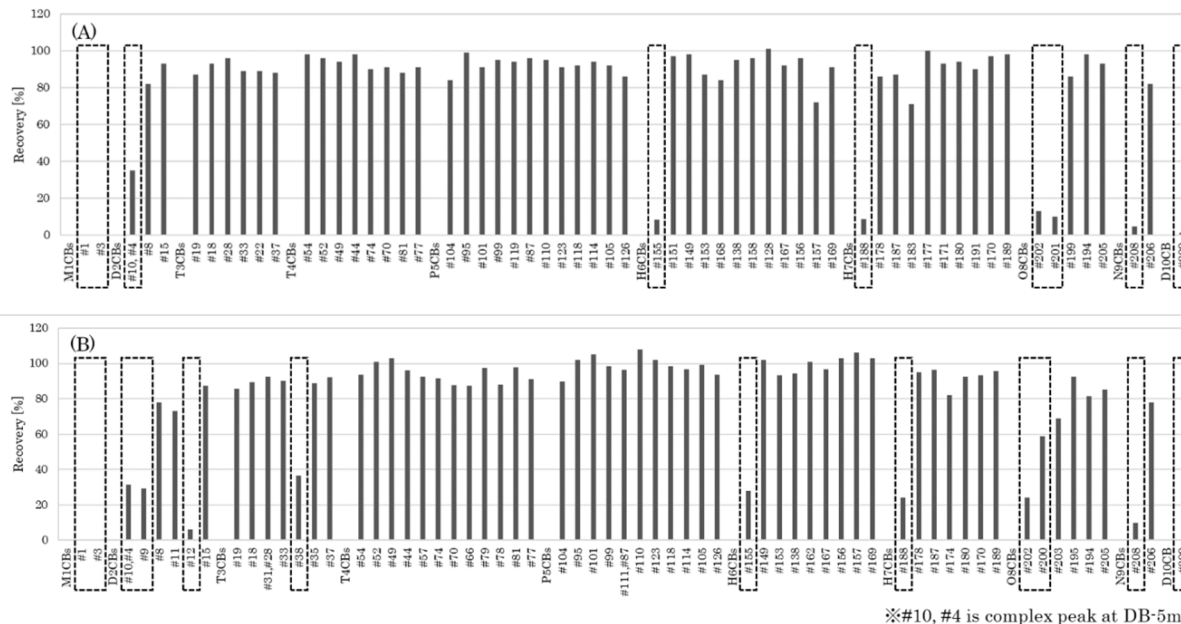


Fig. 3 Recovery rate of PCBs by the method of heating multi-layer silica gel column/alumina column: (A) in BP-MS (heating temperature at 85 °C), (B) in EC-5433 (heating temperature at 50 °C)

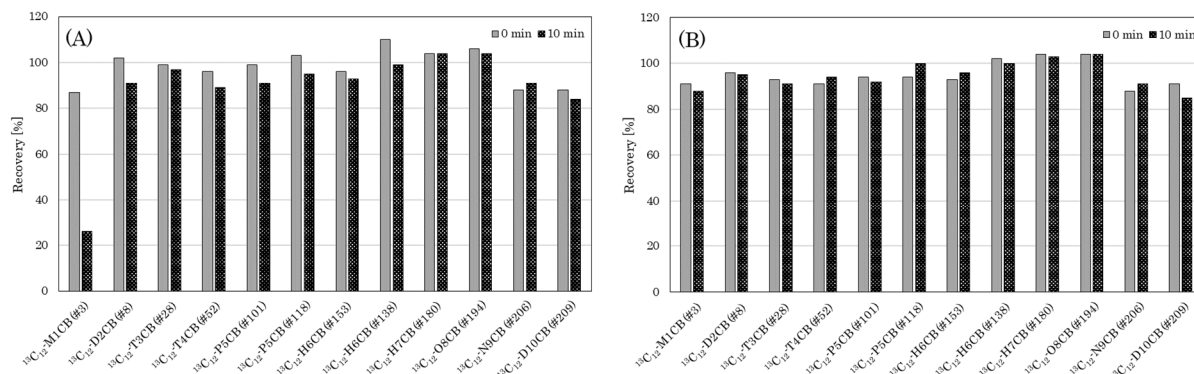


Fig. 4 Different recovery rates between 0-min and 10-min holding time at the start of purification: (A) by using the purification column filled with only sulfuric acid silica gel, and (B) by using the improved purification column filled with silica gel and sulfuric acid silica gel as shown in Fig. 2

6.4. 底質試料への適用評価

底質に対する本法の適用可能性を評価するために 2 種類の実試料 (Sample 1: 強熱減量 16.3 %, 水分含量 31.4 %, Sample 2: 強熱減量 3.9 %, 水分含量 10.8 %) を用いた試験を行った。添加試料には, 4.1. の手順に従い底質 20 g をアルカリ分解/ヘキサン抽出して得た抽出液から 1 g 相当量を使用し, 本法と従来法によって前処理したものをキャピラリーカラム GC/ECD によって測定した。各試料に対して得られた GC/ECD クロマトグラムを Fig. 7 に示す。いずれの試料においても従来法では除去できなかった妨害ピークが低減され, この結果から, 本法は従来法と同等以上の精製効果があることが確認できた。また, 従来法では精製操作に約 6 時間要したのに対し, 本法では専用の前処理装置を用いて約 1 時間で操作が完了し, 操作時間が大幅に短縮された。

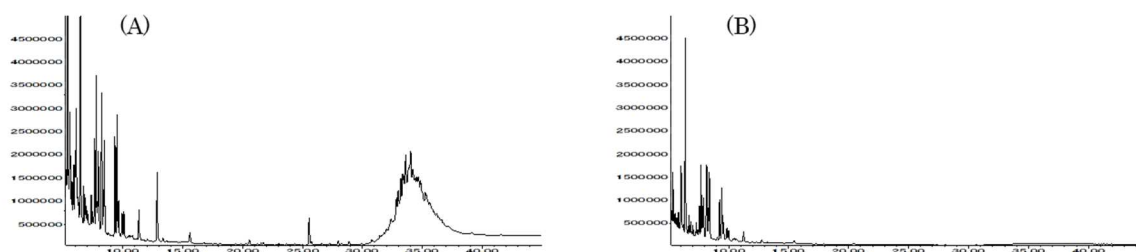


Fig. 5 Total ion chromatograms obtained by GC/MS scan mode: (A) a fish sample extract treated by the purification column filled with only sulfuric acid silica gel, and (B) a fish sample extract treated by the improved purification column filled with silica gel and sulfuric acid silica gel as shown in Fig. 2

6.5. 認証物質の評価

6.5.1. 河川底質認証標準物質 JSAC0432 の評価

試料 10 g にクリーンアップスパイクを添加し, 4.1. の手順に従い抽出した抽出液 (試料 1 g 相当量) に対し, 本法による前処理を行い, 各同族体の濃度と回収率を求めた。測定は GC/MS で行い, 操作は抽出から測定まで 3 回の繰り返し分析を行った。Table 2 は, 各同族体及びその合計値に対して付与された認証値と所間標準偏差において, 本法により得られた分析値を評価したものである。各同族体及びその合計値の分析値と認証値との差は, 所間標準偏差の 2 倍以内であることから, 得られた分析値は 95 %信頼区間の範囲内であった。また, 分析値の変動係数も 1.1~8.3 %と, 本法の良好な定量性と再現性が示された。回収率においても, 1~8 塩化 PCB においては良好であった。9 塩化 PCB, 10 塩化 PCB に関しては, 試料抽出の際にアルカリ分解による脱塩素化反応が起きたため回収率が低くなったと考えられた^{5, 16)}。

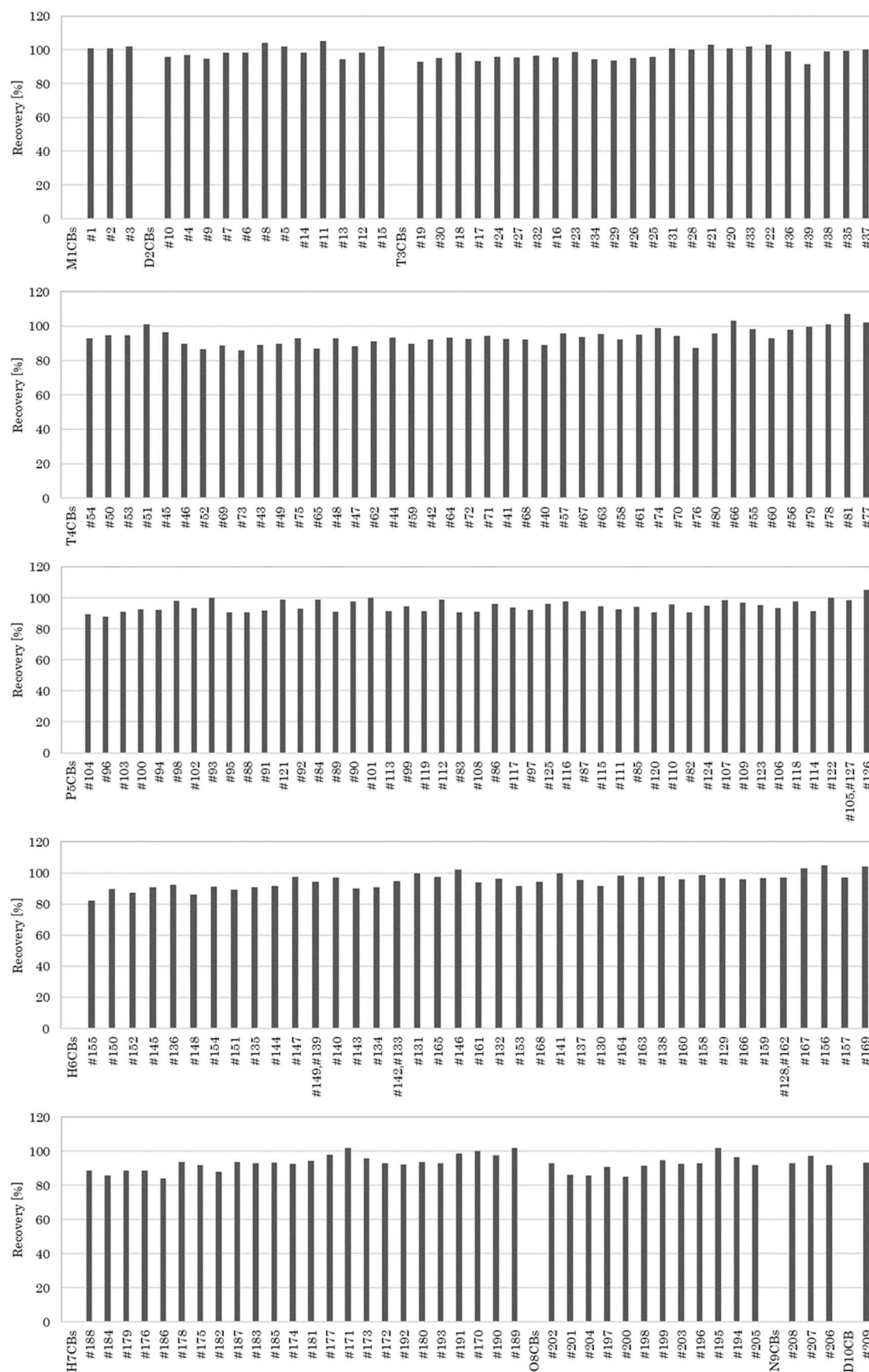


Fig. 6 Recovery rate of PCBs by the rapid analytical method for all PCB congeners using the column set as shown in Fig. 2

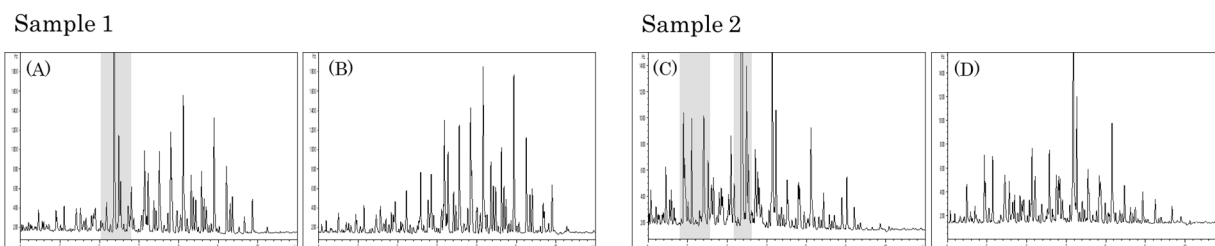


Fig. 7 GC/ECD chromatogram of each sample: (A), (C) by the conventional method for sediment analysis, (B), (D) by the rapid analytical method for all PCB congeners

Table 1 Certified value and measured value by the rapid analytical method for all PCB congeners of the sediment matrix CRM (JSAC 0432)

	(I) Certified value [μg/kg]	(II) SD [μg/kg]	(III) Measured value [μg/kg]	CV [%]	$\{(III) - (I)\} / (II)$	Recovery of $^{13}\text{C}_{12}$ labeled PCB [%]
M1CBs	1.31	0.29	0.84	4.4	-1.62	78 (#3)
D2CBs	106	27	70	1.1	-1.34	87 (#8)
T3CBs	790	220	500	6.7	-1.34	99 (#28)
T4CBs	517	47	570	8.3	1.18	94 (#52)
P5CBs	104.7	7.9	97	8.3	-0.98	97 (#101)
						110 (#118)
H6CBs	36.4	4.6	37	7.2	0.03	107 (#153)
						112 (#138)
H7CBs	11.5	1.5	12	8.1	0.18	96 (#180)
O8CBs	2.72	0.3	2.6	5.6	-0.51	95 (#194)
N9CBs	0.344	0.018	0.36	6.8	0.59	57 (#206)
D10CB	0.0904	0.0057	0.084	5.6	-1.21	25 (#209)
Total	1530	190	1300	7.1	-1.21	

Table 2 Certified value and measured value by the rapid analytical method for all PCB congeners of the fish tissue CRM (NMIJ CRM 7404-a)

PCB congener	Certified value [μg/kg]	Expanded uncertainty [μg/kg]	Measured value [μg/kg]	CV [%]	Recovery of $^{13}\text{C}_{12}$ labeled PCB [%]	
					$^{13}\text{C}_{12}$ -M1CB (#3)	97
CB28	4.73	0.58	4.8	2.1	$^{13}\text{C}_{12}$ -D2CB (#8)	95
CB70	5.7	0.6	6.1	1.2	$^{13}\text{C}_{12}$ -T3CB (#28)	98
CB105	2.62	0.27	2.6	4.6	$^{13}\text{C}_{12}$ -T4CB (#52)	91
CB153	14.0	0.5	14	2.0	$^{13}\text{C}_{12}$ -P5CB (#101)	91
CB170	1.05	0.06	1.0	1.5	$^{13}\text{C}_{12}$ -P5CB (#118)	93
					$^{13}\text{C}_{12}$ -H6CB (#153)	95
					$^{13}\text{C}_{12}$ -H6CB (#138)	91
					$^{13}\text{C}_{12}$ -H7CB (#180)	90
					$^{13}\text{C}_{12}$ -O8CB (#194)	89
					$^{13}\text{C}_{12}$ -N9CB (#206)	42
					$^{13}\text{C}_{12}$ -D10CB (#209)	9

6.5.2. スズキ魚肉粉末 NMIJ CRM 7404-a の評価

試料 2.5 g にクリーンアップスパイクを添加し、4.2.の手順に従い加熱条件で抽出した抽出液全量に対し、本法による前処理を行い、認証値が付与された PCB 各異性体の濃度と回収率を求めた。測定は GC/MS で行い、操作は抽出から測定まで 3 回の繰り返し分析を行った。Table 3 は、5 種類の PCB 異性体に対して付与された認証値と拡張不確かさにおいて、本法により得られた分析値を評価したものである。拡張不確かさは、合成標準不確かさと包含係数 $k=2$ から決定され、95%信頼区間の半分を示す。よって、各異性体に対して得られた分析値は 95 %信頼区間の範囲内であった。また、分析値の変動係数も 1.2~4.6 %と、本法の良好な定量性と再現性が示された。回収率においても 1~8 塩化 PCB においては良好であった。9 塩化 PCB, 10 塩化 PCB に関しては、底質と同じく、試料抽出の際にアルカリ分解による脱塩素化反応が起きたため回収率が低くなったと考えられた^{5, 16)}。

7. 結論

本法は、シリカゲルと硫酸シリカゲルを充填した精製カラムと、アルミナと銀担持アルミナを充填した濃縮カラムを連結し、非加熱条件下で前処理操作を行うことにより PCB 全異性体の回収を可能とした手法である。また、環境試料例として、底質の実試料を用いて従来法と本法を比較したところ、本法は操作性が良く、高い精製効果を有していた。さらに、底質と魚肉の認証標準物質を用いた評価では、本法の良好な定量性と再現性も確認できた。これらの結果から、本法は環境試料の PCB 分析において 209 種類の PCB 全異性体の回収が可能であり、簡便・迅速かつ精製効果の高い手法といえる。

8. 要約

簡易定量法を応用し、PCB 全異性体の回収が可能な手法を開発した。

まず、簡易定量法では回収できない片側の芳香環のみ塩素置換された低塩化 PCB や、テトラオルソ体の構造を持つ高塩化 PCB を回収するため、硫酸シリカゲルを充填した精製カラムと、アルミナと銀担持アルミナを充填した濃縮カラムを準備し、非加熱条件下でクリーンアップスパイクの回収試験を行った。その結果、10 塩化 PCB の回収率は改善されたが、1 塩化 PCB は試料添加後の経過時間に伴い回収率が低下した。そこで、シリカゲルを硫酸シリカゲルの上に積層したところ、1 塩化 PCB の回収率が改善され、実試料においては精製効果も高くなった。また、この手法(本法)により PCB 全異性体が回収できたことを確認した。

底質実試料を用いた評価では、GC/ECD 測定から本法の精製効果の高さを確認し、底質と魚肉の認証標準物質を用いた評価では、各試料において良好な定量性と再現性を確認した。

以上より、本法は環境試料の PCB 分析において 209 種類の PCB 全異性体の回収が可能であり、簡便・迅速かつ精製効果の高い手法といえる。

9. 参考文献

- 1) 「底質調査方法」:平成 24 年 8 月 環境省 水・大気環境局
- 2) 「水質汚濁に係る環境基準について 付表 3(環境庁告示第 59 号)」:昭和 46 年 12 月 28 日 環境庁
- 3) 「モニタリング調査マニュアル」:平成 16 年 環境省 環境保健部 環境安全課
- 4) 「食品中のダイオキシン類の測定方法暫定ガイドライン」:平成 20 年 2 月 厚生労働省
- 5) 姉崎克典:海域底質中のポリ塩化ビフェニルのコンジェナー別分析ー前処理法に関する考察ー, 環境化学, **21**, 257-264 (2011)
- 6) 福田直大, 奥本啓祐, 水口定臣, 進藤三幸:生物試料中のポリ塩化ビフェニル及びダイオキシン類の前処理方法の検討, 平成 15 年度愛媛衛環研年報, **6**, 64-68 (2003)
- 7) 松田壮一, 濱田典明, 本田克久, 脇本忠明:生体試料中ダイオキシン類の抽出法に関する検討, 環境化学, **13**, 133-142 (2003)
- 8) Azis, M.Y., Asia, L., Piram, A., Buchari, B., Doumenq, P. and Setiyanto, H.: Matrix effects on organic pollutants analysis in marine sediment. *J.Phys.:Conf.Ser.*, **1013**, 012193 (2018)
- 9) Kedikoglou, K., Costopoulou, D., Vassiliadou, I., Bakeas, E. and Leondiadis, L.: An effective and low cost carbon based clean-up method for PCDD/Fs and PCBs analysis in food. *Chemosphere*, **206**, 531-538 (2018)
- 10) 「絶縁油中の微量 PCB に関する簡易測定法マニュアル(第 3 版)」:平成 23 年 5 月 環境省大臣官房廃棄物・リサイクル対策部産業廃棄物課

- 11) 「低濃度 PCB 含有廃棄物に関する測定方法(第 3 版)」:平成 29 年 4 月 環境省大臣官房廃棄物・リサイクル対策部産業廃棄物課
- 12) 高橋知史, 本田克久:機器分析による絶縁油中 PCB 測定のための迅速前処理法, 第 17 回環境化学討論会講演要旨集, 70-71 (2008)
- 13) 高橋知史, 本田克久:絶縁油中 PCB 迅速分析法のコンデンサ油への適用, 第 18 回環境化学討論会講演要旨集, 32-33 (2009)
- 14) 高橋知史, 本田克久:加熱多層シリカゲルカラム/アルミナカラムを用いた電気絶縁油中の PCB 迅速分析法, 環境化学, **20**, 357-370 (2010)
- 15) 中野 武:PCB 分析法の概説と最近の環境中レベル, 化学と教育, **51**, 532-535 (2003)
- 16) 高菅卓三, 青野さや香, 秋月哲也, 中川貴之, 渡邊清彦, 井上毅:アルカリ分解法を用いた PCB, ダイオキシン分析の課題, 第 10 回環境化学討論会講演要旨集, 28-29 (2001)



グリーンテクノロジーを創成する
三浦環境科学研究所

愛媛県松山市北条辻864番地1 〒799-2430
TEL 089-960-2350 FAX 089-960-2351

三浦工業株式会社
<http://www.miuraz.co.jp>