キャピラリーカラム・ECD-ガスクロマト グラフィーによるポリ塩化ビフェニル (PCBs) の数値化法

宮田 秀明, 青笹 治, 間瀬由香里, 太田 壮一
摂南大学薬学部

(〒573-01 大阪府枚方市長尾峠町45-1)

[平成6年8月18日受理]

Calculation Method for Polychlorinated Biphenyls (PCBs) by Capillary Column · ECD-Gas Chromatography

Hideaki MIYATA, Osamu AOZASA, Yukari MASE and Souichi OHTA
Faculty of Pharmaceutical Sciences, Setsunan University
(45-1, Nagaotoge-cho, Hirakata, Osaka 573-01)

[Received August, 18, 1994]

Summary

A new method for the calculation of polychlorinated biphenyls (PCBs) by an ECD-GC technique using a Supelco SPB-5 capillary column was developed. A mixture of Japanese commercial PCB products (Kanechlor 300 : 400 : 500 : 600 = 1 : 1 : 1 : 1) was used as a standard for the determination. This method enabled the separate quantification of 78 peaks resulting from PCB constituents in the ECD-GC chromatogram. The comparison of total PCB concentrations in four samples of fish and human adipose tissue revealed that our analytical data are in good agreement with those obtained by the official method using an OV-1 packed column, and showed the concentration ratios of PCBs analysed with a capillary column versus those obtained by a packed column method to be in the range of 0.85 to 1.17 with an average of 0.96.

In addition, the combination of this method with GC/MS analysis makes it possible to determine 103 PCB congeners.

Key words: Calculation method, PCBs, Capillary column, ECD gas chromatography, Analysis

1. はじめに

ポリ塩化ビフェニル (PCBs) は、電気絶縁油、合成樹脂や塗料の難燃剤、印刷インクやノンカーボン紙インクの溶剤、熱媒体、潤滑油などに広く使用されてきた有機塩素系化合物である。しかし、物理的、化学的に極めて安定で、しかも、高蓄積性を有することから、広範囲に環境を汚染するとともに、食物連鎖を通じて人体汚染を引き起こすことが明らかにされた結果、1972年以降、

開放系における使用が禁止された。さらに、1974年には化学物質審査規制法に基づいて特定化学物質に指定され、製造および輸入が禁止されるに至った。

上記の措置が取られた結果、人体汚染では1974年をピークとして減少傾向にある¹⁾。また、東京湾、大阪湾および瀬戸内海のスズキにおいても、1981年頃を境に1985年頃まで汚染が減少している²⁾。このような傾向は、東京湾に生息する魚食鳥のウミネコでも観察されている²⁾。しかし、この減少傾向は極めて緩やかである。従っ

て、1988年における大阪府在住初産者55名の母乳中 PCBs の平均全乳中濃度は、1974年のピーク時 (0.047ppm) の38%に相当する0.018ppmである¹⁾。一方、スズキやウミネコにおける残留濃度は、1985年以降、ほぼ横ばい傾向ないし増加傾向が認められる²⁾。

以上のようなことから、今後かなりの長期間にわたって PCBs 汚染が続くものと推測される。

大阪市内の河川底質³⁾およびイタリア各地の土壌⁴⁾では、PCBs は、現在社会的に注目されている強毒性の環境汚染物質であるポリ塩化ジベンゾ-p-ジオキシン (PCDDs) およびポリ塩化ジベンゾフラン (PCDFs) と正の強い相関が認められる。この結果は、廃棄物焼却場から PCBs の発生を示唆するものである。最近、筆者らは大型連続焼却場17箇所の全てから PCBs が排煙経路で大気中に放出している事実を明らかにした⁵⁾。従って、現在の環境汚染は、過去に使用された PCBs 製品および現在の廃棄物焼却処理等にもなって生成している PCBs に起因するものと言及できる。

Fig. 1 に示す PCBs の化学構造でオルト位 (2,2', 6 および 6' 位) に置換塩素を持たない、あるいは1個有する異性体は共偏平構造を示すことから、それぞれ、ノンオルト (Non-Co-PCBs) およびモノオルトコプラナー PCBs (Mono-Co-PCBs) と呼ばれる。これらのコプラナー PCBs (Co-PCBs) は強い毒性を有するとともに、PCDDs および PCDFs と類似した生体作用を示す^{6,7)}。

Fig. 1 Structure and numbering system of PCBs

最近になって、PCB 製品から、Co-PCBs の存在が確認された⁸⁾。さらに、これらの異性体は、人、哺乳動物および魚などに残留していることも明らかにされている⁹⁻¹²⁾。また、毒性評価的に、これらの Co-PCBs は、PCDDs や PCDFs よりも強い生体影響を及ぼしている可能性が指摘されている⁹⁾。さらに、最近、カネミ油症においても、Co-PCBs が PCDFs とともに油症発現に大きく関与していた可能性が示唆された¹³⁾。従って、環境汚染上、PCDDs や PCDFs よりも Co-PCBs の残留蓄積が問題視される傾向にある。

以上の知見を考慮すると、従来行なわれてきた総残留濃度だけから PCB 汚染をとらえるのではなく、個々の PCB 異性体残留濃度を明らかにするとともに、それに

基づいた汚染 PCB の毒性評価を行なうことが重要である。

わが国における PCB の定量は、主として充填カラムを用いた数値化法¹⁴⁾により行なわれている。しかし、この方法は総 PCB 量は算出できるが、個々の異性体の正確な分別定量は不可能である。

1987年、中野ら¹⁵⁾はわが国の PCB 製品であるカネクロール製品混合物を定量標準品として、polysiloxane を液相とするキャピラリーカラムを用いた高分離能 PCB 数値化法を開発している。しかし、クロマトグラム上に認められる全 PCB ピーク成分の構造決定には至らなかった。一方、Mullin ら¹⁶⁾は 5% diphenyl + 95% dimethylpolysiloxane を液相とするキャピラリーカラムを用いて 209 種の全 PCB 異性体の保持時間および八塩化ナフタレンに対する相対保持時間を明らかにしている。

今回、上記の背景の基に、Mullin ら¹⁶⁾が使用したものと同種の液相を有する Supelco 製 SPB-5 キャピラリーカラムを用いた PCB 異性体の数値化法を開発した。

2. 実験方法

2.1 試薬

PCB 混合標準溶液：鐘淵化学工業社製 PCBs 製品のカネクロール 300, 400, 500 および 600 を n-ヘキサンに等量混合したもの。

2-monochloro-, 4,4'-dichloro-,
2,4,4'-trichloro-, 2,3',4',5-tetrachloro-,
2,2',4,5,5'-pentachloro-,
2,2',4,4',5,5'-hexachloro-,
2,2',3,4,5,5'-hexachloro-,
2,2',3,3',5,5',6-heptachloro-,
2,2',3,3',4,4',5,5'-octachloro-,
2,2',3,3',4,4',5,5',6-nonachloro- および
2,2',3,3',4,4',5,5',6,6'-decachlorobiphenyl 標準品：
Cambridge Isotope Laboratories 製

1,2,3,4,5,6,7,8-octachloronaphthalene 標準品：GL Sciences 製

2.2 装置

2.2.1 ガスクロマトグラフ・質量分析計 (GC/MS)

機種：Hewlett・Packard 製 5890J ガスクロマトグラフ・JEOL 製 SX-102 質量分析計

カラム：Supelco 製 SPB-5 (30m×0.32mm, 0.25μm)
カラム温度：60℃ (1 min), 60~110℃ (10℃/min),
110~280℃ (1℃/min)

イオン化電圧：70eV

イオン化電流：1000μA

分解能：1000

インターフェイスおよびチャンバー温度：280℃

走査速度：1 秒⁻¹

2. 2. 2 電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフ (ECD-GC)

機種：Hewlett・Packard 製 5890 A

検出器：⁶³Ni-ECD

カラム：Supelco 製 SPB-5 (30m×0.32mm, 0.25 μ m)

カラム温度：60℃ (1 min), 60~140℃ (10℃/min),
140~210℃ (1℃/min), 210~260℃
(3℃/min)

注入口および検出器温度：250および280℃

キャリアーガス：ヘリウム

注入モード：スプリットレス

2. 3 実験方法

2. 3. 1 異性体成分の同定

Mullin らは209種の全 PCB 異性体を合成し、Hewlett・Packard 製 Ultrabond #2 キャピラリーカラムを用いて、1,2,3,4,5,6,7,8-octachloronaphthalene (OCN) に対する各異性体の相対保持時間を明らかにしている¹⁶⁾。従って、最初に、一塩化~十塩化ビフェニル標準品の各 8 ppm と OCN の 20ppm を含むヘキサン溶液を作成し、その 2 μ l を GC/MS に注入し、スペクトルおよび保持時間を調べた。その後、OCN に対する相対保持時間を算出し、Mullin らの結果との照合性を調べた。

次に、わが国の PCB 製品であるカネクロール 300, 400, 500 および 600 等量混合物の 20ppm および OCN の 2 ppm を含有する n-ヘキサン溶液を作成し、その 2 μ l を GC/MS に注入した。その後、親イオン群の [M]⁺ と [M+2]⁺ あるいは [M+2]⁺ と [M+4]⁺ の m/z において一塩化~十塩化 PCB のマスプロットグラムを作成し、

PCB 製品等量混合物に含まれる PCB 異性体の置換塩素数および保持時間を調べるとともに、OCN に対する各異性体の相対保持時間を算出した。ここで得られた相対保持時間から Mullin らの結果¹⁶⁾を基にして、PCB 製品中に含まれる PCB 異性体を同定した。

2. 3. 2 PCB 製品等量混合物中 PCB 異性体の含有量

GC/MS 分析において、同一置換塩素数を有する PCB 異性体は相互に同一イオン強度を示すものと仮定し、一塩化~十塩化 PCB 標準品の検量線を基準にして、各 PCB 製品中の PCB 異性体の含有量を算出した。なお、検量線は、親イオン群の中、最強強度を示すイオンの面積を用いて作成した。次に、この結果に基づいて、PCB 製品混合物のトータルイオンクロマトグラム上のピーク成分含有率（以下 CB % とする）を算出した。

3. 実験結果および考察

3. 1 異性体成分の同定

Table 1 に示すように、一塩化体を除く二塩化~三塩化ビフェニル異性体標準品の OCN に対する相対保持時間は、Mullin らの結果¹⁶⁾と良く一致していた。ただし、この表中の IUPAC No. は、PCB 異性体における置換塩素の数および位置によって系統的に付けられた番号であり、Ballschmitter と Zell によって提唱されたもの¹⁷⁾である。最近の文献においては、専らこの番号が PCB 異性体を示すために用いられている。Table 1 の結果を詳細に検討すると、五塩化以下の異性体が置換塩素数が少なくなるにつれて、相対保持時間の差が若干大きくなる傾向にあった。今回使用したキャピラリーカラム (Supelco 製 SPB-5 30m×0.32mm) の液相は、5% diphenyl + 95% dimethylpolysiloxane であり、Mullin ら

Table 1 Retention times and relative retention times to octachloronaphthalene of PCB standards on a Supelco SPB-5 capillary column

IUPAC No.	Cl _n *	Structure	R. T. ** (min)	R. R. T. ***	
				This study	Mullin et. al.
1	1	2-	21.26	0.1701	0.1544
15	2	4, 4' -	43.24	0.3459	0.3387
28	3	2, 4, 4' -	51.04	0.4083	0.4031
70	4	2, 3', 4', 5-	67.92	0.5434	0.5407
99	5	2, 2', 4, 5, 5' -	72.98	0.5838	0.5880
153	6	2, 2', 4, 4', 5, 5' -	88.06	0.7045	0.7036
185	7	2, 2', 3, 4, 5, 5', 6-	98.22	0.7858	0.7848
194	8	2, 2', 3, 3', 4, 4', 5, 5' -	120.18	0.9614	0.9620
206	9	2, 2', 3, 3', 4, 4', 5, 5', 6-	126.28	1.0102	1.0103
209	10	2, 2', 3, 3', 4, 4', 5, 5', 6, 6' -	131.18	1.0494	1.0496

*: Number of substituted chlorine

**: Retention time

***: Relative retention time to octachloronaphthalene

が使用したもの（Hewlett・Packard 製 Ultrabond #2, 50m×0.2mm）と同一であった。しかし、同一カラム温度条件で操作したにもかかわらず、製造メーカー、カラム長さおよびカラム径が異なっているために、上記のような若干の相違が生じたものと考えられる。後述する PCB 数値化法に使用する標準物質としての PCB 製品混合物中には一塩化体が含有されていなかった。従って、今回の結果を考慮すると、OCN に対する相対保持時間を利用して、二塩化体以上の PCB 異性体の同定が可能であることが判明した。

これまでわが国で使用されてきた PCB 製品の大半は鐘淵化学工業製のカネクロールであったことから、現在採用されている充填カラムによる PCBs 数値化法における標準品として、カネクロール製品等量混合物（カネクロール 300, 400, 500 および 600 を等量混合したもの）が用いられている¹⁴⁾。従って、今回のキャピラリーカラムによる PCBs の数値化法を開発するに当たっても、カネクロール製品等量混合物を標準品として検討した。

上記の PCB 異性体混合標準品の場合と同一条件でカネクロール製品等量混合物の GC/MS 解析を行い、スペクトルおよびマスプロファイルの結果から混合物中 PCB 異性体の置換塩素数および OCN に対する相対保持時間を決定した。一方、本研究と同じ液相のキャピラリーカラムを用いて Duinker と Hillebrand¹⁸⁾ および Maack と Sonzogni¹⁹⁾ はそれぞれ、ドイツの PCB 製品であるクロフェンの等量混合物およびアメリカの PCB 製品であるアロクロールの等量混合物を定量標準品とした PCBs の数値化法を開発している。さらに、最近になって、Schulz ら²⁰⁾ はアロクロールおよびクロフェンについて詳細に検討し、高精度の PCB 異性体含有比を報告している。従って、これらのデータ、および Mullin らの OCN に対する相対保持時間¹⁶⁾ を基準にして、上記で決定した相対保持時間からカネクロール等量混合物中の PCB 異性体を同定した。次に、実験方法の [2.2.2] に従って、カネクロール等量混合物中各 PCB 異性体の濃度および重量パーセント（以後 CB % と略す）を求めた。

3. 2 カネクロール等量混合物の ECD-GC クロマトグラムにおけるピークの成分と重量比 (CB %)

[3.1] 項で得られた結果に基づいて、カネクロール等量混合物のトータルイオンクロマトグラムに認められる 91 のピークについて、その構成 PCB 異性体を決定した。さらに、各ピークを構成する異性体の重量比の和を求め、それを各ピーク成分の重量比とした。

上記の結果から、カネクロール等量混合物は二塩化から九塩化 PCB 異性体から構成されていた (Table 3 参照)。一方、アロクロールおよびクロフェン製品混合物はそれぞれ、二塩化～十塩化異性体²⁰⁾ および二塩化～

九塩化異性体²⁰⁾ から構成されており、カネクロールとはほぼ同様な異性体成分を含有する。Table 2 は、カネクロール、アロクロールおよびクロフェン製品混合物における主要な PCB 異性体について、保持時間の短いものから順に混合物中に占める CB % を示したものである。

二塩化体の主要な成分は、IUPAC No. (8, 5) (IUPAC No. 8 と 5 の異性体から構成されており、No. 8 が No. 5 より保持時間が短いことを示す。構造については Table 3 を参照) である。この成分はアロクロールやクロフェンではさらに多く含まれている。三塩化体では、No. (31, 28) および (33, 20) がいずれの製品でも共通して主成分となっている。しかし、これらのピーク成分はカネクロールで含有比が高い。四塩化体の中では、No. 52, 44, (41, 64), 70 および 66 が高い組成比を示す。その中、No. 52 および 44 の組成比はアロクロールやクロフェンに比べてカネクロールで低い。一方、カネクロールは他の製品に比べて、No. 70 の割合が多い。四塩化体の中、最も高毒性を示す No. 77 については、カネクロール、アロクロールおよびクロフェンでそれぞれ、0.15, 0.11 および 0.26 % であり、いずれも低比率であった。五塩化体においては、No. (95, 88) と (90, 101) の組成比が他の製品に比べて、クロフェンで高い。同様なことは、No. 110 についてカネクロールで認められる。表 2 に示すように六塩化体における主成分の比率は、他の製品に比べて、カネクロールで高い傾向が認められた。また、いずれの製品においても No. (132, 153) 成分が最も高比率で含まれている。高塩化である七塩化体の主成分の含有率は、三塩化から六塩化体のものに比べて低い傾向にある。また、No. 187, 180 および (170, 190) の比率は、他の製品に比べてクロフェンで低い (Table 2)。

以上のように、三種類の PCB 製品混合物における PCB 異性体の含有比は若干相違していることが判明した。

今回、Mullin らのデータに準拠してカネクロール製品混合物中の PCB 異性体を同定することを目的としたために、GC/MS 解析は Mullin らと同一条件で行った。しかし、この条件ではカネクロール製品混合物の分析に 130 分もの長時間を要する。従って、分析時間の短縮を目的として、カラム条件を検討した。その結果、装置の [2.2.2] 項で記載した条件が、分析時間を短縮出来、しかも PCB 異性体の高分離分析が可能であると確認できた。Fig. 2 はカネクロール製品混合物 2 ng をこの条件下で分析したときの ECD-GC クロマトグラムである。この図に示すように、78 のピーク成分に分離可能である。各ピークが混合製品中に占める CB % および、各ピークの構成異性体を Table 3 に示す。この表の記載内容は以下の通りである。

Peak No. 1 成分は二塩化体から構成されており、その

Table 2 Weight percentages (CB%) of some PCB components in three commercial PCBs preparations

IUPAC No.	Cln*	This study	Schulz et al.	
		Kanechlors**	Arochlors***	Clophen****
8, 5	2	1.56	4.69	2.67
18	3	3.03	3.95	2.88
31, 28	3	7.58	6.73	5.32
33, 20	3	2.21	3.45	2.35
52	4	3.31	3.60	3.92
44	4	2.04	2.23	2.50
41, 64	4	2.56	2.21	2.76
70	4	3.53	2.18	2.13
66	4	2.46	0.67	1.02
77	4	0.15	0.11	0.26
95, 88	5	2.66	3.14	4.03
90, 101	5	3.60	4.07	4.34
110	5	3.85	2.34	2.76
149	6	3.52	2.62	3.04
118	6	3.17	2.18	3.63
132, 153	6	5.56	5.35	5.82
138	6	4.10	2.49	3.05
187	7	2.11	1.04	0.90
174	7	1.48	1.02	1.03
180	7	3.61	1.83	1.24
170, 190	7	1.44	1.26	1.00

*:Number of substituted chlorine

**:Kanechlor 300:400:500:600=1:1:1:1

***:Aroclor 1242:1248:1254:1260=1:1:1:1

****:Clophen 30:40:50:60=1:1:1:1

Fig. 2 ECD-GC chromatogram of a mixture of Kanechlors (KC 300:400:500:600=1:1:1:1) on a 30m supelco SPB -5 capillary column

CB %は0.46%である。IUPAC No.10, 4の表示は、ほとんど分離不可能なIUPAC No.10とNo. 4の異性体から構成されており、それらの構造は2,6-および2,2'-置換体で、No.10はNo. 4よりも若干保持時間の短いことを意味する。一方、Peak No.20成分におけるClnの3/4は、ECD-GCクロマトグラム上、不完全な分離であるが二成分が認められ、保持時間的には三塩化、四塩化PCBの順であることを示している。その構成異性体は三塩化物

がIUPAC No.37 (3,4,4'-三塩化PCB)、および四塩化物がIUPAC No.59 (2,3,3',6'-四塩化PCB)とNo.42 (2,2',3,4'-四塩化PCB) (No.59がNo.42より若干保持時間が短い)の混合物である。また、Peak No.20成分のCB %の1.3 (0.68/0.62)は、No.20成分のCB %が1.3%であり、その内、IUPAC No.37が0.68%、およびNo.59とNo.42が0.62%占めていることを示す。Table 3では、Peak No.22および49成分のCB %がそれぞれ0.04%、

Table 3 Structure and CB% of PCB components in a ECD-GC chromatogram of Kanechlor mixture shown in Fig. 2

Peak No.	Cln*	IUPAC No.	CB%	Structure
1	2	10, 4	0.46	2, 6-, 2, 2' -
2	2	7, 9	0.06	2, 4-, 2, 5-
3	2	6	0.22	2, 3' -
4	2	8, 5	1.56	2, 4' -, 2, 3-
5	3	19	0.25	2, 2', 6-
6	3/2/3	18/15/17	4.45 (3.03/0.39/1.03)	2, 2', 5-/4, 4' -/2, 2', 4-
7	3	24, 27	0.21	2, 3, 6-, 2, 3' 6-
8	3	16, 32	1.67	2, 2', 3-, 2, 4' 6-
9	3	26	0.53	2, 3', 5-
10	3	25	0.19	2, 3', 4-
11	3	31, 28	7.58	2, 4', 5-, 2, 4, 4' -
12	3	33, 20	2.22	2', 3, 4-, 2, 3, 3' -
13	4/4	53/51	0.51 (0.40/0.11)	2, 2', 5, 6' -/2, 2', 4, 6' -
14	3/4	22/45	1.67 (1.27/0.40)	2, 3, 4' -/2, 2', 3, 6-
15	4	46	0.15	2, 2', 3, 6' -
16	4	52	3.31	2, 2', 5, 5' -
17	4/4	49/47, 75, 48	1.71 (0.073/1.64)	2, 2', 4, 5' -/2, 2', 4, 4' -, 2, 4, 4', 6-, 2, 2', 4, 5-
18	4/4	65/62	1.35 (0.67/0.67)	2, 3, 5, 6-/2, 3, 4, 6-
19	4	44	2.04	2, 2', 3, 5' -
20	3/4	37/59, 42	1.30 (0.684/0.616)	3, 4, 4' -/2, 3, 3', 6-, 2, 2', 3, 4' -
21	4	41, 64	2.56	2, 2', 3, 4-, 2, 3, 4', 6-
22	5	96	0.04	2, 2', 3, 6, 6' -
23	4	40	0.29	2, 2', 3, 3' -
24	4	67	0.04	2, 3', 4, 5-
25	4	63	0.08	2, 3, 4', 5-
26	4	61, 74	1.44	2, 3, 4, 5-, 2, 4, 4', 5-
27	4	70	3.53	2, 3', 4', 5-
28	4/5/4/5	66/102, 93/80/95, 88	5.27 (2.45/0.051/0.11/2.66)	2, 3', 4, 4' -/2, 2', 4, 5, 6' -, 2, 2', 3, 5, 6-/3, 3', 5, 5' -/2, 2', 3, 5', 6-, 2, 2', 3, 4, 6-
29	5	91	0.36	2, 2', 3, 4', 6-
30	4	56, 60	1.98	2, 3, 3', 4' -, 2, 3, 4, 4' -
31	5/5/5	92/84/89	1.19 (0.44/0.71/0.042)	2, 2', 3, 5, 5' -/2, 2', 3, 3', 6-/2, 2', 3, 4, 6' -
32	5	90, 101	3.60	2, 2', 3, 4', 5-, 2, 2', 4, 5, 5' -
33	5	99	1.21	2, 2', 4, 4', 5-
34	5	119	0.04	2, 3', 4, 4', 6-
35	5	83	0.08	2, 2', 3, 3', 5-
36	5	97, 86	0.84	2, 2', 3', 4, 5-, 2, 2', 3, 4, 5-
37	5/5	125, 117/115, 87	1.43 (0.068/1.36)	2', 3, 4, 5, 6' -, 2, 3, 4', 5, 6-/2, 3, 4, 4', 6-, 2, 2', 3, 4, 5' -
38	5	85	0.46	2, 2', 3, 4, 4' -
39	6	136	0.73	2, 2', 3, 3', 6, 6' -
40	5	110	3.85	2, 3, 3', 4', 6-
41	5	82	0.30	2, 2', 3, 3', 4-
42	6	151	1.02	2, 2', 3, 5, 5', 6-
43	6/5	135, 144/124	0.70 (0.64/0.060)	2, 2', 3, 3', 5, 6' -, 2, 2', 3, 4, 5, 6-/2', 3, 4, 5, 5' -
44	6/5	147/108, 107	0.21 (0.056/0.15)	2, 2', 3, 4', 5, 6-/2, 3, 3', 4, 5' -, 2, 3, 3', 4', 5-
45	6/5	149/118	6.69 (3.52/3.17)	2, 2', 3, 4', 5', 6-/2, 3', 4, 4', 5-
46	6/5	134/114	0.18 (0.14/0.037)	2, 2', 3, 3', 5, 6-/2, 3, 4, 4', 5-
47	6/5	131/122	0.11	2, 2', 3, 3', 4, 6-/2', 3, 3', 4, 5-
48	6	146	0.46	2, 2', 3, 4', 5, 5' -
49	4	77	0.15	3, 3', 4, 4' -
50	6/5	132, 153/105	6.91 (5.56/1.35)	2, 2', 3, 3', 4, 6' -, 2, 2', 4, 4', 5, 5' -/2, 3, 3', 4, 4' -
51	6/7	141/179	1.96 (0.91/1.05)	2, 2', 3, 4, 5, 5' -/2, 2', 3, 3', 5, 6, 6' -
52	6	130	0.13	2, 2', 3, 3', 4, 5' -
53	7/6	176, 137	0.43 (0.27/0.16)	2, 2', 3, 3', 4, 6, 6' -/2, 2', 3, 4, 4', 5-
54	6	138	4.10	2, 2', 3, 4, 4', 5' -
55	6	158	0.48	2, 3, 3', 4, 4', 6-
56	6/7	129/178	0.38 (0.12/0.26)	2, 2', 3, 3', 4, 5-/2, 2', 3, 3', 5, 5', 6-
57	7	187	2.11	2, 2', 3, 4', 5, 5', 6' -
58	7	183	0.97	2, 2', 3, 4, 4', 5', 6-
59	6	128	0.46	2, 2', 3, 3', 4, 4' -
60	6	167	0.14	2, 3', 4, 4', 5, 5' -
61	7	185	0.17	2, 2', 3, 4, 5, 5', 6-
62	7	174	1.48	2, 2', 3, 3', 4, 5, 6' -
63	7	177	0.83	2, 2', 3, 3', 4', 5, 6-
64	7/8/6	171/202/156	0.85 (0.33/0.099/0.42)	2, 2', 3, 3', 4, 4', 6-/2, 2', 3, 3', 5, 5', 6, 6' -/2, 3, 3', 4, 4', 5' -
65	8	200	0.08	2, 2', 3, 3', 4, 5', 6, 6' -
66	7	172	0.15	2, 2', 3, 3', 4, 5, 5' -
67	7	180	3.61	2, 2', 3, 4, 4', 5, 5' -
68	7	193	0.15	2, 3, 3', 4', 5, 5', 6-
69	8	199	0.08	2, 2', 3, 3', 4, 5, 6, 6' -
70	7	170, 190	1.44	2, 2', 3, 3', 4, 4', 5-, 2, 3, 3', 4, 4', 5, 6-
71	8	198	0.04	2, 2', 3, 3', 4, 5, 5', 6-
72	8	199	0.67	2, 2', 3, 3', 4, 5, 5', 6-
73	8	196, 203	0.68	2, 2', 3, 3', 4, 4', 5', 6-, 2, 2', 3, 4, 4', 5, 5', 6-
74	9/8	208/195	0.41 (0.084/0.32)	2, 2', 3, 3', 4, 5, 5', 6, 6' -/2, 2', 3, 3', 4, 4', 5, 6-
75	9	207	0.03	2, 2', 3, 3', 4, 4', 5, 6, 6' -
76	8	194	0.82	2, 2', 3, 3', 4, 4', 5, 5' -
77	8	205	0.05	2, 3, 3', 4, 4', 5, 5', 6-
78	9	206	0.17	2, 2', 3, 3', 4, 4', 5, 5', 6-
Total		10	0.00	

* : Number of substituted chlorine

0.15%と記載されているが、これらの異性体は感度が低いために、Fig. 2 のECD-GC クロマトグラムでピークとして認められない。

3. 3 キャピラリーカラム ECD-GC による PCBs の数値化法

PCB 異性体は置換塩素の数や位置によって、ECD に対する感度がかかなり相違することが指摘されている¹⁴⁾。即ち、同一の重量比 (CB %) を有するピークであっても、ECD-GC クロマトグラムにおけるピークの高さや面積が相違する。従って、この事実を考慮して、以下のように数値化法を作成した。

① カネクロール製品混合標準溶液の 2 μ l を ECD-GC に注入し、得られたクロマトグラムのパターンから Fig. 2 のクロマトグラムに従ってピーク番号ごとにピーク高 (H_1 mm) を読みとる。

② 被検試料溶液の 2 μ l を混合物標準溶液と同一条件で ECD-GC に注入し、ピーク番号ごとにピーク高 (H_2 mm) を読みとる。

Table 3 の各ピークの CB % を混合物標準溶液の各ピークの高さ (H_1 mm) で除した値、即ち、各ピーク 1 mm 当たりの CB % を算出し、これを K 値とする。

$$K = \frac{CB\%}{H_1}$$

③ 試験溶液のクロマトグラムから得られた各ピーク高 (H_2 mm) から M 値をピーク番号ごとに次式で算出する。

$$M = K \times H_2$$

④ 試料中の各 PCB ピーク濃度 (PC) および総 PCB 濃度 (TPC) は次式によって算出する。

$$PC(ng/g) = S \times \frac{M}{100.00} \times \frac{V}{W} \times 1000$$

TPC(ng/g) = 各 PCB ピークの PC の総和

S: PCB 混合標準溶液の濃度 (μ g/ml)

V: 試験溶液量 (ml)

W: 試料量 (g)

人体脂肪組織中の PCB 濃度の算出例を次に示す。Table 3 の CB % は常に一定で、あらかじめ試験成績表に記入しておく。Fig. 2 のピーク番号に従って標準溶液のクロマトグラムのピーク高を H_1 欄に記入し、ついで CB % / H_1 を求め K 欄に記入する。次に人体脂肪組織中の PCB のクロマトグラムの各 PCB ピークから得られたピーク高を H_2 欄に、 $K \times H_2$ を計算し M 欄に記入する。

各 M を合計して T とし、さらに試験溶液量、試料量を式に代入して PCB ピーク濃度 (PC) および総 PCB 濃度 (TPC) を算出する。

上記のようにピーク番号ごとに K 値および M を求めると、 $S = 1.00 \mu$ g/ml, $T = 37.383$ であり、 $V = 3.0$ ml, $W = 4.0$ g とすると、ピーク 11 および 15 成分の試料中の濃度 (PC) は以下ようになる。

ピーク 11 成分の PC(ng/g) =

$$1.00 \times \frac{0.291}{100.00} \times \frac{3.0}{4.0} \times 1000 = 2.19$$

ピーク 15 成分の PC(ng/g) =

$$1.00 \times \frac{0.045}{100.00} \times \frac{3.0}{4.0} \times 1000 = 0.34$$

同様に各ピーク成分について濃度を算出する。

一方、試料中の総 PCB 濃度 (TPC) は次の計算結果から、279.78ng/g となる。

TPC(ng/g) =

$$1.00 \times \frac{37.383}{100.00} \times \frac{3.0}{4.0} \times 1000 = 279.78$$

また、各ピーク成分の含有率 (%) (PC(%)) は以下のようになる。

$$\text{ピーク 11 成分の PC}(\%) = \frac{2.19}{279.78} \times 100 = 0.78$$

$$\text{ピーク 15 成分の PC}(\%) = \frac{0.34}{279.78} \times 100 = 0.12$$

3. 4 キャピラリーカラムと充填カラムによる数値化法の比較

魚および人体脂肪組織の抽出、精製試料 4 検体について、今回開発したキャピラリーカラム法と現在、繁用されている OV-1 充填カラム法を比較検討した。

Table 5 に示すように、両法による総 PCB 濃度は比較的良好に一致しており、充填カラム法に対するキャピラリーカラム法による濃度の比は、0.85~1.17、平均 0.96 であった。

一方、Maack と Sonzogni は、アロクロール製品混合物を標準品としたキャピラリーカラムによる数値化法を開発し、魚の抽出、精製試料 18 検体を用いて検討した結果、総 PCB 濃度は充填カラム数値化法の 0.82~1.57 倍、平均 1.15 倍であると報告している¹⁹⁾

今回検討した試料数は少ないが、上記の結果から判断すると、筆者らが開発した数値化法は、Maack と Sonzogni のもの¹⁹⁾と遜色のないものであった。

Table 4 An example in calculation on concentrations of PCB components in a sample of human adipose tissue by a capillary column ECD-GC method

Peak No.	CB%	PCB mixture standard		Human adipose tissue			
		H ₁ (mm)	K	H ₂ (mm)	M	PC (ng/g)	PC (%)
1	0.46	3.50	0.133	-			
2	0.06	1.50	0.039	-			
3	0.22	3.20	0.067	-			
4	1.56	22.00	0.071	-			
5	0.25	4.60	0.054	-			
6	4.45	97.50	0.046	-			
7	0.21	7.80	0.026	-			
8	1.67	64.00	0.026	-			
9	0.53	16.00	0.033	-			
10	0.19	11.00	0.017	-			
11	7.58	169.00	0.045	6.50	0.291	2.19	0.78
12	2.22	65.50	0.034	-			
13	0.51	39.50	0.013	-			
14	1.67	16.50	0.101	-			
15	0.15	6.50	0.022	2.00	0.045	0.34	0.12
16	3.31	88.00	0.038	-			
<hr/>							
62	1.48	29.50	0.050	-			
63	0.83	14.80	0.056	8.00	0.448	3.36	1.20
64	0.85	13.00	0.065	17.50	1.144	8.58	3.05
65	0.08	3.00	0.025	-			
66	0.15	4.80	0.031	4.60	0.142	1.06	0.38
67	3.61	56.00	0.064	60.00	3.868	29.01	10.37
68	0.15	1.80	0.086	3.30	0.282	2.12	0.76
69	0.08	3.20	0.024	-			
70	1.44	25.50	0.057	25.00	1.414	10.60	3.89
71	0.04	2.30	0.016	3.80	0.061	0.46	0.16
72	0.67	14.80	0.045	9.00	0.406	3.05	1.09
73	0.68	15.00	0.045	8.00	0.363	2.72	0.97
74	0.41	6.70	0.061	4.00	0.245	1.84	0.66
75	0.03	0.80	0.038	0.70	0.026	0.20	0.07
76	0.82	13.00	0.063	12.50	0.790	5.93	2.12
77	0.05	1.00	0.050	-			
78	0.17	6.00	0.029	4.00	0.116	0.87	0.31
Total	100.00				37.300	279.78	100.00

- : not detected

Table 5 Comparison between the concentration of total PCBs (ng/g on wet basis) obtained from capillary column versus packed column analysis

Sample	Capillary column	Packed column	Ratio*
Fish			
Pilchard (Sappa)	143	168	0.85
Horse mackerel (Aji)	103	88	1.17
Gizzard shad (Konoshiro)	188	207	0.91
Human			
Adipose tissue	280	310	0.90
Average			0.96

*: Ratio of concentration of total PCBs obtained from capillary column versus packed column analysis

Table 6 に魚および人体脂肪組織に蓄積する主な PCB 異性体を示す。サッパとアジは比較的類似しており、共通する主要な蓄積成分は、Peak No.27, 28, 32, 33, 40, 50および54である。しかし、コノシロはサッパやアジと若干相違しており、Peak No.18, 32, 36, 37, 42, 54および67の蓄積割合 (PC(%)) が低く、Peak No.50, 70, 73および76が高い。一方、魚試料に比べて、人体蓄積成分はかなり限定されている。特に、魚試料に蓄積している三塩化から五塩化の低塩化成分 (Peak No.11, 16~21, 27, 30, 32, 36, 37, 40, 42) が認められない。逆に、Peak No.50, 54, 56, 57, 64, 67, 70, 72および76などの六塩化~八塩化の高塩素化体が相対的に多く蓄積している。

既述したように、近年、Co-PCBs が及ぼす環境汚染への毒性インパクトの強いことが注目されている。特に、Non-Co-PCBs では IUPAC No.77 (3,3',4,4'-TCB), 126 (3,3',4,4',5-PeCB) および169 (3,3',4,4',5,5'-HxCB),

Mono-Co-PCBs では No.105 (2,3,3',4,4'-PeCB), 107 (2,3,4,4',5-PeCB), 118 (2,3',4,4',5-PeCB), 123 (2',3,4,4',5-PeCB), 156 (2,3,3',4,4',5-HxCB), 157 (2,3,3',4,4',5-HxCB), 167 (2,3',4,4',5,5'-HxCB) および189 (2,3,3',4,4',5,5'-HpCB) がカネクロール製品混合物中に含有量が少なく、ECD-GC 法では数値化が不可能であった。しかし、Table 6 に示すように、Mono-Co-PCB 異性体を含むピーク成分 (Peak No.44, 45, 50, 60および64) が魚や人体試料中に認められる。Table 3 に掲載した CB % を利用し、GC/MS 分析を行うことにより、GC ピーク No.60 を除く、上記ピーク成分中の Mono-Co-PCB 異性体の正確な定量が可能である。

一方、カネクロール製品混合物中に検出されなかった Non-Co-PCB や Mono-Co-PCB 異性体を添加することにより、これら異性体の数値化が可能になるものと考えられる。

Table 6 Concentrations of main PCB components in fish samples and a human adipose tissue sample by capillary ECD-GC method

Peak No.	IUPAC No.	Pilchard (Sappa)		Horse mackerel (Aji)		Gizzard shad (Konoshiro)		Human adipose tissue	
		PC (ng/g)	PC (%)	PC (ng/g)	PC (%)	PC (ng/g)	PC (%)	PC (ng/g)	PC (%)
11	31, 28	6.29	4.40	2.16	2.09	5.50	2.93	-	-
16	52	4.65	3.25	-	-	2.85	1.52	-	-
17	49/47, 75, 48	3.80	2.66	1.47	1.43	1.28	0.68	-	-
18	65/62	3.28	2.29	2.37	2.30	1.42	0.76	-	-
19	44	2.79	1.95	1.47	1.43	2.06	1.10	-	-
20	37/59, 42	1.48	1.03	2.85	2.76	0.36	0.19	-	-
21	41, 64	2.57	1.80	0.72	0.70	2.28	1.21	-	-
26	61, 74	4.05	2.83	1.10	1.07	4.29	2.29	11.47	4.09
27	70	6.80	4.75	1.59	1.54	4.93	2.63	-	-
28	66/102, 93/80/95, 88	11.37	7.95	4.23	4.10	7.87	4.20	5.87	2.09
30	56, 60	3.11	2.18	0.27	0.26	2.14	1.14	-	-
31	92/84/89	1.89	1.32	4.20	4.07	0.72	0.38	4.02	1.43
32	90, 101	9.84	6.88	9.30	9.02	2.60	1.38	-	-
33	99	6.00	4.19	4.95	4.79	5.79	3.09	13.17	4.70
36	97, 86	2.11	1.48	2.44	2.37	0.23	0.12	-	-
37	125, 117/115, 87	2.25	1.57	0.84	0.81	0.50	0.27	-	-
40	110	7.74	5.41	2.63	2.55	6.71	3.58	-	-
42	151	1.05	0.73	1.43	1.38	0.41	0.22	-	-
45	149/118	15.57	10.88	9.62	9.32	24.73	13.19	26.62	9.49
48	146	1.72	1.21	2.19	2.13	2.77	1.48	7.74	2.76
50	132, 153/105	14.22	9.94	14.41	13.96	39.90	21.28	63.18	22.53
51	141/179	1.46	1.02	1.77	1.71	1.55	0.83	-	-
53	176, 137	0.66	0.46	0.75	0.73	-	-	2.81	1.00
54	138	8.63	6.03	7.26	7.04	8.22	4.38	41.00	14.62
56	129/178	-	-	0.78	0.76	-	-	3.41	1.22
57	182, 187	1.72	1.20	4.42	4.29	2.90	1.55	16.85	6.01
58	183	0.87	0.61	1.05	1.02	1.75	0.94	5.14	1.83
59	128	0.93	0.65	0.80	0.77	2.17	1.16	-	-
63	177	0.16	0.11	1.01	0.98	-	-	3.36	1.20
64	171/202/156	1.01	0.71	0.83	0.81	3.07	1.64	8.58	3.06
67	180	2.44	1.71	3.49	3.38	20.47	10.92	29.01	10.35
70	170, 190	1.03	0.72	1.18	1.15	5.71	3.05	10.60	3.78
72	199	0.25	0.18	0.43	0.42	-	-	3.05	1.09
73	196, 203	0.25	0.18	0.32	0.31	2.48	1.32	-	-
76	194	0.37	0.26	0.61	0.59	5.02	2.68	5.93	2.11

* : Number of substituted chlorine

要 約

スベルコ製 SPB-5 キャピラリーカラム・GC/MS 分析により、わが国の PCBs 製品であるカネクロール 300, 400, 500 および 600 の等量混合物中に、103 種の PCB ピーク成分を同定し、それぞれの重量比を求めた。

この結果に基づいて、カネクロール製品等量混合物を標準品とした SPB-5 キャピラリーカラム・GC クロマトグラム上に認められる 78 ピークの PCBs 成分を分別定量することが可能である。

魚および人脂肪組織 4 検体について検討した結果、本法による総 PCBs 濃度は、普及している OV-1 充填カラム・ECD-GC 数値化法による値と近似していた。充填カラム法に対する本法の総 PCBs 濃度の比は 0.85~1.17, 平均 0.96 であった。一方、本法と GC/MS 分析を併用することにより、103 種の PCBs 成分の分別定量が可能である (Table 3 参照)。

文 献

- 1) 薬師寺積, 田口修三, 田中涼一, 国田信治: 母乳および血液中のポリ塩化ビフェニール等の継続調査 (14報). 大阪府立公衆衛生研究所研究報告書 食品衛生編, **17**, 61-66 (1986)
- 2) 環境庁環境保健調査室: 平成 2 年度版化学物質と環境, pp.300 (1991)
- 3) 宮田秀明, 榎本隆: ダイオキシンによる環境汚染, pp.263-302, 「環境と健康」, 志賀健他編集, HBJ 出版局, 東京 (1993)
- 4) di Domenico, A., Ferri, F., Fulgenzi A. R., Iacovella, N., La Rokka, C., Miniero, R., Rodrigues F., Scotto di Tella, E., Silvestri, S., Tafani, P., Turrio Baldassarri, L. and Volpi, F.: Polychlorinated biphenyl, dibenzodioxin, and dibenzofuran occurrence in the general environment in Italy. *Organohalogen Compounds*, **9**, 71-74 (1992)
- 5) Miyata, H., Aozasa, O., Mase, Y., Ohta, S., Khono, S. and Asada, S.: Real situation on emission of PCDDs, PCDFs and non-ortho coplanar PCBs via flue gas from urban waste incinerators in Japan. *Organohalogen Compounds*, **11**, 253-256 (1993)
- 6) Safe, S.: Dermination of 2,3,7,8-TCDD toxic equivalent factors (TEFs). Support for the use of the in vitro AHH induction assay. *Chemosphere*, **16**, 791-802 (1987)
- 7) Brunstrom, B.: Toxicity of coplanar polychlorinated biphenyls in avian embryos. *Chemosphere*, **19**, 765-768 (1989)
- 8) Kannan, N., Tanabe, S. and Tatsukawa, R.: Potential-ly hazardous residue of non-ortho chlorine substituted coplanar PCBs in human adipose tissue. *Arch. Environ. Health*, **43**, 11-14 (1987)
- 9) Kannan, N., Tanabe, S., Ono, M. and Tatsukawa, R.: Critical Evaluation of polychlorinated biphenyl toxicity in terrestrial and marine mammals: Increasing impact of non-ortho and mono-ortho coplanar polychlorinated biphenyls from land to ocean. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **18**, 850-857 (1989)
- 10) Miyata, H., Takayama, K., Ogaki, J., Mimura, M., Kashimoto, T. and Yamada, T.: Levels of PCDDs, coplanar PCBs and PCDFs in patients with Yusho disease and in the Yusho oil. *Chemosphere*, **18**, 407-416 (1989)
- 11) Kashimoto, T., Takayama, K., Mimura, M., Miyata, H., Murakami, Y., Matsumoto, H.: PCDDs, PCDFs, PCBs, coplanar PCBs and organochlorinated pesticides in human adipose tissues in Japan. *Chemosphere*, **19**, 921-926 (1989)
- 12) 高山幸司, 宮田秀明, 味村真弓, 榎本隆: 日本沿岸魚及び市販魚中の PCDDs, PCDFs 及び Coplanar PCBs, 衛生化学, **37**, 125-131 (1991)
- 13) Takayama, K., Miyata, H., Ohta, S. and Kashimoto, T.: Evaluation of biological effects of polychlorinated compounds found in contaminated oil responsible for the disease "Yusho". *Chemosphere*, **22**, 537-546 (1991)
- 14) 鶴川昌弘, 中村彰夫, 榎本隆: PCB の数値化法に関する研究. 食衛誌, **14**, 415-428 (1973)
- 15) 中野武, 辻正彦, 奥野年男: GC/ECD および GC/MS を用いたキャピラリー・カラムによる PCB の分析法. 兵庫県立公害研究所報告, **19**, 57-62 (1987)
- 16) Mullin, M.D., Pochini, C.M., McCrindle S., Romkes, M., Safe, S.H. and Safe, L.M.: High-Resolution PCB analysis: Synthesis and chromatographic properties of all 209 PCB congeners. *Environ. Sci. Technol.*, **18**, 468-476 (1984)
- 17) Ballschmiter, K. and Zell, M.: Analysis of polychlorinated biphenyls (PCB) by glass capillary gas chromatography. *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **302**, 20-31 (1980)
- 18) Duinker, J. C. and Hillebrand, M. T. J.: Characterization of PCB components in Clophen formulations by capillary GC-MS and GC-ECD techniques. *Environ. Sci. Technol.*, **17**, 449-456 (1983)
- 19) Maack, L. and Sonzogni, W. C.: Analysis of polychlorobiphenyl congeners in Wisconsin fish. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **17**, 711-719 (1988)
- 20) Schulz, D. E., Petrick, G. and Duinker, J. C.: Com-

plete characterization of polychlorinated biphenyl congeners in commercial Aroclor and Clophen mixtures by multidimensional gas chromatography-

electron capture detection. *Environ. Sci. Technol.*, **23**, 852-859 (1989)