ポリ塩化ナフタリン (PCN) の環境汚染に関する研究 (第1報)
水中 PCN のカラム濃縮法とそのガスクロマトグラフィーによる定量法¹⁾

竹下隆三,^{2a)} 吉田 博^{2b)}

国立公衆衛生院衛生薬学部,^{2a)} 関東学院女子短大^{2b)}

Studies on Environmental Contamination by Polychlorinated Naphthalenes (PCN). I.
Concentration of PCN in Water Samples by Column Chromatography and
Its Determination by Gas-Liquid Chromatography¹⁾

RYUZO TAKESHITA^{2a)} and HIROSHI YOSHIDA^{2b)}

The Institute of Public Health, Department of Public Health

Pharmaceutics^{2a)} and Kanto-gakuin, Womens Junior College^{2b)}

(Received May 24, 1977)

A method in which polychlorinated naphthalenes (PCN) residual at trace concentration in water are concentrated using an alkylbenzenesulfonic acid-binding polyamide column and determined by gas-liquid chromatography was investigated.

The sample was submitted to the polyamide column and then PCN were eluted from the column with ethanol. After dilution of the eluate with water, PCN were extracted with hexane, and the extract was washed with concentrated sulfuric acid. After evaporation of hexane, the residue was applied to polyamide thin-layer chromatography, giving a good separation of PCN from polychlorinated biphenyls and chlorinated pesticides. The purified PCN were determined by gas-liquid chromatography (ECD).

The water samples fortified with PCN at a level of 0.5 ppb were successfully determined, giving the recovery of 83.9—86.9%.

Keywords—environmental analysis; ABS-binding polyamide column; polychlorinated naphthalenes (PCN); GLC (ECD); water pollution; polychlorinated biphenyls (PCB); preparative polyamide-TLC

緒 言

ポリ塩化ナフタリン (PCN) は、ポリ塩化ビフェニル (PCB) と物理的・化学的性質が類似し、PCB と同様の用途で使用されている。わが国では昭和30—40年における総生産量は 3×10^3 tons であり、米国においては1970年 3×10^4 tons 以上、1972年 2.25×10^3 tons 未満が Hallo-wax として販売されたと言われている。

PCB の環境ならびに生態系への汚染の実態はかなり明確に浮彫りされたものの、PCN の環境汚染に関する報

告は極めて少ない。早くから有機塩素系農薬とくに DDT とその関連化合物の分析にあたり PCB および PCN が妨害することから、これらを除くクロマトグラフィーが報告され³⁾、ポリ塩化 *p*-ジオキシン (PCPD) の分析にあたり PCB、PCN およびポリ塩化ジベンゾフランが妨害することから PCPD の完全クロル化法が報告され⁴⁾、また PCB 分析にあたり PCN が妨害するので PCN をクロム酸酸化して除去し、PCB 分析を成功させることができるという報告がある。⁵⁾

1) 本報告は日本薬学会第97年会、東京、昭和52年4月発表。

2) Location: a) Shirokanedai, Minato-ku, Tokyo (東京都港区白金台4丁目6番1号); b) Mutsuura-machi, Kanazawa-ku, Yokohama (横浜市金沢区六浦町4834)。

3) J. A. Armour, J. A. Burke, *J. Ass. Off. Anal. Chem.*, **54**, 175 (1971)。

4) D. J. Williams, B. J. Blanchfield, *J. Ass. Off. Anal. Chem.*, **55**, 93 (1972)。

5) D. C. Holmes, R. P. Link, *J. Chromatogr.*, **71**, 561 (1972)。

これらの報告は、いずれも各塩素系化合物分析における PCN の妨害を消去する方法であり、PCN 分析にこれら手法を応用することはできない。

PCN の単独あるいは濃厚汚染に関して、飼料の PCN 汚染の場合、PCN を抽出しアルミナによるカラムクロマトグラフィーを行ない、紫外吸収スペクトル法および赤外線吸収スペクトル法で分析している報告⁶⁾がある。また PCN 汚染底質について PCB 分析法に準じて PCN を分離し、紫外吸収スペクトル法とエレクトロンキャプチャー検出器 (ECD) を用いたガスクロマトグラフィーにより分析している報告^{7,8)}がある。

しかしながら PCN の環境汚染は低いレベルにあることが予想されるので、有効なクリーンアップ法が適用されない限り、紫外吸収スペクトル法による測定は不可能であろうし、ガスクロマトグラフィー・質量分析法の導入も困難であろう。

これを解決する方法として、(1)液体クロマトグラフィーにより ECD ガスクロマトグラフィーにおける PCN 妨害物質を除去することと、(2)定量的な完全クロル化条件を見出すことが考えられる。前者の方法においては、通常用いられる吸着担体を駆使してもカラムクロマトグラフィーによるクリーンアップは不成功に終り、また、後者の方法では反応条件によりオクタクロロナフタリン、デカクロロ-1,4-ジヒドロナフタリンおよびパークロロインダンが生成し、なかでも五塩化アンチモンにより加熱下反応させることと、五塩化アンチモン・ヨウ素法による時はナフタリン環の開裂を起こすことが知られている。⁹⁾ 完全クロル化法は確かに PCN 各成分を単一の物質とするので感度よく定量できるが、環境試料に含まれるナフタリンをもクロル化し、PCN に加算されることは避けられない欠点である。

そこで著者らは薄層クロマトグラフィー (TLC) により PCN を PCB から完全に分離することに着目し、PCN の適確なガスクロマトグラムを捕えて定量する方法を検討し、さらに既に報告したポリアミド・ドデシルベンゼンスルホン酸 (PA-DBS) 担体を用いた水中有機物質濃縮法¹⁰⁾を組合わせ、水中の低レベルにある PCN の分析法を確立することができたので報告する。

実験の部

試薬 ① ポリ塩化ナフタリン (PCN) : PCN 標準

品 (和光純薬)

② PCN 標準溶液 : PCN をヘキサンに溶かし、0.01—0.1 ppm 溶液を調製する。なお、カラムクロマトグラフィー条件の検討には 0.5 および 100 ppm アセトン溶液が、また、薄層クロマトグラフィー条件の検討には 2.5, 5, 50 および 250 ppm アセトン溶液を用いた。

③ ポリ塩化ビフェニル (PCB) : カネクロール (KC) -200, KC-300, KC-400, KC-500 および KC-600。

④ PCB 標準溶液 : 薄層クロマトグラフィー条件のために各 KC の 100 ppm アセトン溶液を用いた。

⑤ ヘキサン, アセトン, エタノールおよびメタノール : 残留農薬分析用 (和光純薬)

⑥ その他の溶媒 : 試薬特級 (和光純薬)

⑦ ドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム (DBS) : DBS 試薬 (東京化成) を前報¹⁰⁾に従って処理する。

⑧ ポリアミド末 (PA) : ポリアミド C-200, カラムクロマトグラフィー用 (和光純薬) を 150 メッシュの篩を用い、篩過されないものを使用する。

⑨ PA-DBS : 前報¹⁰⁾に従って PA に DBS をコーティングする。

⑩ ポリアミド薄層 : ポリアミド 11 F₂₅₄, 20×20cm (メルク) をヘキサンを用いて常法により 15 cm 展開し、風乾する。

⑪ *p*-フェニルフェノール (*p*-PP) 溶液 : *p*-PP 5 mg をアセトン 10 ml に溶かす。

⑫ 無水硫酸ナトリウム : 残留農薬分析用 (和光純薬) をヘキサンで洗浄したもの。

⑬ 炭酸水素ナトリウムおよび塩化ナトリウム : いずれも試薬特級 (和光純薬) をヘキサンで洗浄したもの。

⑭ 硫酸 : 試薬特級 (和光純薬) をヘキサンと振り混ぜて洗浄したもの。

⑮ 水 : 水道水をヘキサンで振り混ぜて洗浄したもの。

装置および器具 ① クロマト管 : 内径 2.2 cm, 長さ 30 cm のコック付のもので、上部にすり合わせジョイントを有するもの。

② 薄層クロマトグラフィー用展開槽 : ハンギング式 204 展開槽 (東洋科学産業)。

③ 小クロマト管 : 駒込ビペットの球部下 5 cm の位置を加熱し引き伸ばし、先端 2—2.5 mm としたもの。

6) E. F. Reber, Jr., J. Brader, P. P. Link, *Cornell Vet.*, **46**, 320 (1956).

7) 皆川興栄, 滝沢行雄, 戸田芳徳, 北嶋哲彦, 公害と対策, **12**, 300 (1976).

8) 皆川興栄, 滝沢行雄, 戸田芳徳, 北嶋哲彦, 公害と対策, **12**, 783 (1976).

9) R. Stoh, W. Hahn, "Methoden der Organischen Chemie," Thieme Verlag, Stuttgart, Vol. V/3, 1962, p. 670, 671.

10) 竹下隆三, 吉田 博, 衛生化学, **23**, 185 (1977).

④ 濃縮用小フラスコ：クデルナ・ダニッシュ型 (KD) 濃縮器のリシーブフラスコの下部が内径 3 mm, 長さ 2—3 cm のもの。

⑤ 紫外線照射灯：マナスライト (253.6 nm) (マナス工業)。

⑥ ガスクロマトグラフ：ECD (^{63}Ni) を装着した島津 5A ガスクロマトグラフにガラスカラム (内径 3 mm, 長さ 1.5 m) に 2% シリコン OV-225 (または OV-1) / Gas Chrom Q (100—120 メッシュ) を充填したものを接続する。

カラム, 注入口および検出器温度をそれぞれ 180°, 210° および 250° に設定し, キャリヤーガス (超高純度窒素) 流量を 1 分間 60 ml とした。

標準操作法 PA-DBS カラムによる濃縮——クロマト管に少量の水を入れ, 気泡が入らないように脱脂綿をつめた後, PA-DBS (約 8 g) を水とともに流し入れ, 高さ 10 cm のカラムを調製する。

カラム上部に水を残存させ, カラム上端に 1—2 l 分液漏斗を接続させて試料一定量を流し入れる (流速 1 分間 25—30 ml)。試料を流下させた後, 水 50 ml でカラムを洗い, カラム上部より二連球を用いて加圧し, カラム内の過量の水を流出させる。ついでコックを閉じ, エタノール 40 ml を加え, カラム上部に栓をし, カラムを数回転倒させてカラム内の気泡を除去する。

水 300 ml とヘキサン 100 ml を入れた分液漏斗を受器とし, カラム内のエタノールを流下させ, カラム上部の過量の液が流下したのち, さらにエタノール 80 ml を用い, カラム内壁を洗いながら流下させる (流速 1 分間 2 ml)。

抽出, 硫酸処理および濃縮——受器の分液漏斗を振り混ぜて抽出し, 水層を別の分液漏斗に移し, さらにヘキサン 100 ml を用いて抽出する。全抽出液を合わせ, 水 100 ml ずつで 3 回水洗したのち, 硫酸 5 ml ずつで 4 回振り混ぜて洗浄する。ヘキサン抽出液を別の分液漏斗に移し, 先の分液漏斗内を少量のヘキサンをういて洗い, 洗液を抽出液に合わせ, 水 100 ml で洗う。これに炭酸水素ナトリウム 1 g を加え振り混ぜ, さらに無水硫酸ナトリウム適量を加えて脱水する。これを KD 濃縮器を用いて濃縮する。この濃縮液を濃縮用小フラスコに移し, ロータリーエバポレーターで室温で濃縮し, 殆ど乾固させる。

薄層クロマトグラフィー——小フラスコ内壁を洗うようにヘキサン 0.2 ml を加え, 薄層用試料とする。ポリアミド薄層の下端より 2 cm の位置の線上に両端 3 cm を残し, 試料溶液をキャピラリーを用いて塗布する。さ

らにフラスコ内をヘキサン 0.1 ml ずつ 2 回, アセトン 0.1 ml で 1 回洗い, 同様に溶液を薄層に塗布する。塗布線上両端 3 cm の中央に *p*-PP 溶液を直径 2 mm にスポットする。

展開槽内には展開溶媒としてメタノールを入れ, 内壁に紙を張り, 薄層を 15 分間懸垂させた後, 展開を開始する (展開距離, 10 cm)。展開終了後, 薄層を風乾し, 紫外線照射灯下で観察し, *p*-PP のスポットを検出し, 原線からスポット中心点までの距離 *A* を求める。

薄層分離帯からの溶出——試料展開部分について原線より $A \times 0.11$ — $A \times 0.69$ 部分を带状にかき取り, 小試験管に移し, スパーテルを用いて粉末とする。ヘキサン 1—1.5 ml を用い, スパーテルを洗いながら試験管に入れ, 混ぜ合わせる。小クロマト管下部に少量の脱脂綿を軽く詰め, ヘキサン数滴を加え細いガラス棒で気泡を除きながら固く詰める。ついでポリアミド末懸濁液を小ビベットを用いて移し入れ, 目盛付試験管を受器とする。カラム上部の過量の液が流下したのち, ヘキサン 1 ml を用い試験管内壁を洗い, 同様にクロマト管に移す。溶出液量が 5.0 ml となるまで同様の操作を続ける。

ガスクロマトグラフィー——溶出液の 5.0 μl (またはエバポレーターを用いて濃縮した溶液) をガスクロマトグラフィーに注入し, 得られたガスクロマトグラムを PCN 標準溶液から得られたガスクロマトグラムと比較し定性し, ピーク高総和法により定量する。

結果および考察

薄層クロマトグラフィーによる PCN と PCB の分離

ガスクロマトグラフィーによる PCN の分析においては充填剤を選択してもガスクロマトグラムにおけるピークは PCB なかでも KC-200—400 のピークの保持時間帯に出現し, PCB の存在下において PCN を分析することは不可能である。そこでガスクロマトグラフィーによる分析においては, それ以前の段階で両者を分離する必要がある。

液体クロマトグラフィーによる PCN と PCB との分離条件を見出すため, シリカゲルおよびポリアミド担体について, PCN および KC-200—600 の各 250 ppm 溶液を用いて薄層クロマトグラフィーを行ない, それらの挙動を調べた。

シリカゲル薄層を用いてヘキサンにより展開するときには PCN が最も *R_f* 値が高く, PCB においては KC-600 から KC-200 すなわち塩素置換数が少ないジフェニルとなるにつれて僅かずつ *R_f* 値が低くなる傾向が観察されるが, PCN を PCB と分離することは全く不可能であった。

ポリアミド薄層を用いてエタノールおよびメタノールで展開するときは、塩素置換数の少ないビフェニルほど R_f 値が高く、PCN は最も低い分布を示し PCN と PCB とは完全に分離することが出来た。メタノールを用いて展開した時の分離パターンを Fig. 1 に示す。

PCN および KC-600 の各 50 μg をポリアミド薄層上に線状に塗布し、メタノールにより展開した際も同様の分離結果が得られ、一枚の薄層上で各 50 μg が充分、分離できることが知られた。

薄層クロマトグラフィーにより試料中に含まれる PCB を PCN から分離する場合、PCN 含有量が低レベルにある場合が多く、展開後、紫外線照射下での観察により吸収帯すなわちその展開位置を知ることは通常不可能である。加えて標準物質として PCN および KC-600 を別部分にスポットし、それぞれの展開位置を基準として PCN 分離帯の位置を知る方法を採用できない。この手法によるときは、薄層クロマトグラフィー操作あるいはその後の過程において標準物質の試料への混入の機会を作るからである。

そこで PCN および KC-600 の位置を知るための方法として *p*-フェニルフェノール (*p*-PP) を基準物質として用いることとした。実験方法の展開操作によるときは *p*-PP の R_f 値は 0.52 であり、PCB (KC-600) の分布の下限と PCN の分布の上限の中間点と PCN 分布の下限の位置はそれぞれ R_{p-PP} 0.69 および 0.1 であり、その間の薄層を帯状にかき取ることにより PCN を分離することができる。

しかしながら *p*-PP は水酸基を有し、ポリアミドに対する親和性は PCN および PCB のポリアミドに対するそれらとは機構が異なり、展開条件により PCN と KC-600 の中間点の R_{p-PP} は大きく変動する。したがって R_f 値の再現性は完全な分離のために重要であり、展開方法においてハンギング展開槽の利用は必須の条件である。

ポリアミド PCN 画分からの PCN の溶出と回収率

PCN と KC-600 のそれぞれ 10 μg (それぞれ 50 ppm 溶液 0.2 ml) をポリアミド薄層に帯状に塗布し、*p*-PP を基準として実験操作法により展開し PCN 画分を得た。これを小クロマト管を用い、ヘキサンにより溶出を行ない 0.5 ml ずつ分画し、各分画液をガスクロマトグラフィーに付し、PCN の溶出状況を調べた。Fig. 2 に示すように PCN はすみやかに溶出され、溶出液量 2.5 ml までに PCN 10 μg はほぼ定量的に溶出されることが知られた。また各分画液のガスクロマトグラムは PCN 標準溶液から得られたガスクロマトグラムによく一致

Fig. 1. Thin-Layer Chromatogram of Polychlorinated Naphthalenes (PCN) and Polychlorinated Biphenyls (Kanechors)

1. PCN, 2. Kanechlor 600, 3. Kanechlor 500, 4. Kanechlor 400, 5. Kanechlor 300, 6. Kanechlor 200, 7. *p*-phenylphenol. Layer: polyamide.

Fig. 2. Elution Pattern of Polychlorinated Naphthalenes (PCN) using a Small Column

Samples of PCN and Kanechlor 600 (10 μg each) were chromatographed on the polyamide plate, and the PCN band separated was eluted with *n*-hexane.

し、薄層クロマトグラフィーにより PCN が KC-600 とよく分離されていることも知られた。

PCN の薄層クロマトグラフィーにおける回収率を調べるために、PCN 2.5 および 5 ppm アセトン溶液を用い、それぞれ 0.2 ml を薄層に塗布し、実験操作法に従い操作し、ガスクロマトグラフィーにより回収率を求めた。Table I に示すように、試料の薄層塗布以後の定量操作における回収率は極めて良好であることが知られた。

硫酸処理における PCN の安定性

PCB および PCT のガスクロマトグラフィーによる分析において、ヘキサン抽出液を硫酸により洗浄すること

TABLE I. Recovery of Polychlorinated Naphthalenes (PCN) by Polyamide Thin-Layer Chromatography

Amount of PCN loaded onto thin-layers (μg)	Recovery (%)
0.5	101.2
0.5	100.4
1.0	102.6
1.0	98.7
1.0	102.9

TABLE II. Examination of Loss of Polychlorinated Naphthalenes (PCN) by Sulfuric Acid Treatment

H_2SO_4 treatment	Peak height ratio ^{a)} $\times 100$
$\times 0$	100
$\times 1$	100.1
$\times 2$	99.8
$\times 3$	99.4
$\times 4$	99.7
$\times 5$	99.8

A PCN solution (0.2 ppm) in hexane was shaken with 10 ml each of concentrated sulfuric acid.

a) Peak height ratio = Total peak height of PCN gas chromatograms obtained from the solutions treated with H_2SO_4 / Total peak height of a PCN gas chromatograms obtained from the original solution.

は妨害物質の除去に極めて有効であった。そこで PCN の分析においてもこの処理が適用できるかを検討した。

PCN 0.2 ppm ヘキサン溶液 200 ml を硫酸 10 ml ずつで 3 分間振り混ぜ、各段階におけるヘキサン溶液を試験管に分取し、炭酸水素ナトリウムと振り混ぜた後、ガスクロマトグラフィーにより分析し、硫酸処理による PCN の損失の有無を調べた。

無処理の PCN ヘキサン溶液から得られたガスクロマトグラムの総ピーク高に対する各処理回数の溶液についてのそれらの比をとり、PCN の損失を表わした。Table II から明らかなように、硫酸処理の回数を重ねても PCN は全く損失なく、PCN が硫酸に対して極めて安定であることが知られた。

水中 PCN の PA-DBS による捕捉性

既に著者らは PA-DBS カラムにより水中 PCB, PCT および DDE の濃縮法を報告し、¹⁰⁾ 低いレベルにあるこれら有機物質を効率よく濃縮できることを報告した。PCN が PCB と液体クロマトグラフィー挙動が類似することから同様にこの濃縮方法が適用できると考え検討を行なった。

PCN 100 ppm アセトン溶液 1.0 ml (PCN, 100 μg) を水 1 l に加え、PA-DBS カラム (内径 2.2 $\times$ 10 cm) に流下させ、流出液を分液漏斗に受けヘキサン 40 ml により抽出し、脱水後、全量を 50 ml とし、ガスクロマトグラフィーにより PCN を測定した。

カラムに捕捉されずに流出した PCN 量はカラム負荷量 PCN 100 μg に対して 0.0001% であり、PCB の PA-DBS による捕捉性¹⁰⁾ よりも効率よく捕捉されていることが知られた。

海水中の PCN の濃縮においては、海水中の塩類が捕捉に影響を与えることが考えられるので、水溶液の場合と同様に PCN 100 μg 含有 3% 塩化ナトリウム溶液 1 l につきカラム負荷を行なった。溶液のカラム流下に伴ない、塩類効果により僅かずつ DBS の脱離が起こるものの PCN のカラム捕捉性は全く低下してないことが見出された。

PA-DBS に捕捉された PCN の溶出

試料を PA-DBS カラムに流した後の PCN 溶出において、ヘキサンによる溶出はカラム担体周囲に水が存在する関係上、ヘキサンの担体への接触が不完全となる。そこで溶出溶媒は水と任意に混ざる溶媒であることが必要であり、さらに溶出後のヘキサン抽出において PCN のヘキサンへの分配に影響を与えない極性の大きな溶媒の選択が条件となる。

エタノールおよび水を用いて PA-DBS カラム (内径 2.2 $\times$ 10 cm) を調製し、それぞれに PCN 100 μg (100 ppm アセトン溶液 1 ml) を負荷させ、エタノールを用いて溶出を行ない、溶出液を 5 ml ずつ分画した。それぞれの画分を水で希釈しヘキサン抽出し、抽出液についてガスクロマトグラフィーを行ない、各分画中の PCN 含有量を算出した。

各条件における PCN 溶出パターンを Fig. 3 に示す。水の存在下におけるエタノールによる溶出はエタノール単独による場合よりやや遅く溶出が始まり、また、ブロードな溶出を示す。標準操作法においてはカラム内の水を可及的に除く操作を行ない、また、エタノールをカラムに加えた後、カラムを転倒し気泡を除く操作を行なっているので、この条件における PCN の溶出は前二者の溶出条件の中間の溶出パターンを示すものと考えられる。

PA-DBS カラム操作における PCN の回収率

ヘキサンにより処理した水 1 l に PCN 0.5 および 10 μg (0.1 ppm アセトン溶液 5 および 10 ml) を加え、カラムに負荷させ、以下、標準操作法における抽出、硫酸処理操作を行ない、ヘキサンを用いて一定量とし、カ

Fig. 3. Elution of Polychlorinated Naphthalenes from Dodecylbenzenesulfonic Acid Binding Polyamide (DBS-Polyamide) Columns

100 μg each of PCN were loaded on to DBS-polyamide columns (10×2.2 cm I.D.), prepared using ethanol (●—●) and water (○—○) respectively, and both columns were eluted with ethanol.

ラム操作における回収率を求めた。Table III に示すように 0.5 および 1 ppb. PCN 水溶液の回収率は PCB, PCT などの回収結果とほぼ同様の結果が得られた。

標準操作法における PCN の回収率

ヘキサンにより抽出処理した水 1 l に PCN 0.5 μg を前項と同様に添加し、標準操作法に従って操作し PCN の回収率を求めた。Table IV にその結果を示す。PCN 0.5 ppb 溶液について 3 回の回収率の平均は 85.7% であり、ほぼ満足できる結果を得た。

各クロマトグラムは PCN 標準溶液から得られたクロマトグラムによく一致し、妨害となるピークは見出せなかった。

結 論

ポリアミドを担体とし、メタノールを用いて展開する

TABLE III. Recovery of Polychlorinated Naphthalenes from Dodecylbenzenesulfonic Acid Binding Polyamide Columns

Concentration in tap water (ppb)	Recovery (%)
0.5	97.7
1.0	99.2
1.0	96.8
1.0	98.3

TABLE IV. Recovery of Polychlorinated Naphthalenes through the Whole Procedure

Concentration in tap water (ppb)	Recovery (%)
0.5	86.9
0.5	86.4
0.5	83.9
Mean	85.7

薄層クロマトグラフィーにより PCN を PCB から分離することができ、PCN 分離帯をかき取り、小クロマト管を利用して溶出することにより定量的に分離された。

一方、水中 PCN の濃縮に PA-DBS カラムを用いた。PCN はカラムに効率よく捕捉され、エタノールにより容易に溶出された。溶出液を水で希釈し、ヘキサン抽出し、さらにその抽出液を硫酸処理した後、PCN をガスクロマトグラフィーにより定量することができた。

PCN 0.5 ppb 溶液 1 l について PA-DBS カラムによる濃縮操作を行ない、ついで薄層クロマトグラフィーにより PCN を分離した後、ガスクロマトグラフィーにより定量した結果、良好な回収率が得られ、特に妨害ピークを見出せなかった。