

四重極型 GC/MS による PCB の分析方法の検討

松木 司 竹井 秀夫 下田 喜則 矢野 泰正
今村 光徳 世良 勝利*

環境省の「外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル」¹⁾に基づき、PCB の分析方法を検討した結果、次のことがわかった。

- 1 マスクロマトグラム上で、PCB は 2 塩素上位の PCB から妨害を受け、3~6 塩化物の中には、妨害ピークが目的物のピークと重複するものがある。
- 2 検出下限は、0.3~3.3pg の範囲にあり、試料換算値は底質試料で 0.008~0.08 $\mu\text{g/kg(wet)}$ 、水試料で 0.2~2ng/l となり目標値の 1 $\mu\text{g/kg(wet)}$ 、10ng/l を下回った。
- 3 RRF 値の変動は、3 濃度の標準液において 1 濃度 3 回測定で、変動係数が 0.5~6.8% の範囲にあった。
- 4 シリカゲル精製では、塩素数の多いものから順に溶出し、4g のシリカゲルではヘキサン 50ml で目的物の溶出が完了する。
- 5 硝酸銀シリカゲルからヘキサンでは 1 塩化物が溶出しない。
- 6 硝酸銀シリカゲルを除いた多層シリカゲルによる精製では、ヘキサン 100ml で目的物の溶出が完了する。
- 7 底質分析においてクリーンアップスパイクの回収率は 62~103% の範囲にあった。

キーワード： PCB, 環境ホルモン, 分析法検討

はじめに

PCB は、1972 年に我国で生産が中止された²⁾にもかかわらず、今日でもなお、環境中から検出され続けている代表的な環境汚染物質のひとつである。また、内分泌攪乱化学物質としてもリストアップされ、全国で種々のモニタリングが行われている。

PCB は、1 塩素化物から 10 塩素化物までの 10 の同族体があり、塩素の数と位置により理論的に 209 の異性体が存在する。分析方法に関しては、環境省の「外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル」が、最新のものであるが、従来の JIS のガスクロマトグラフ法とは異なり、GC/MS による異性体分析である。今回この暫定マニュアルに基づき分析方法の検討を行ったので報告する。

方 法

1 装置

ガスクロマトグラフは Agilent 6890 Series を質量分析装置は JEOL Automass Sun 200 を使用し

*: 現 安佐南区厚生部

た。

2 GC/MS 測定条件

測定条件を表 1 に示す。

3 標準品と試薬

(1) 標準品

BP-WD, MBP-CG, BP-MS : Wellington Laboratories

M-1668A-1-0.01X, M-1668A-2-0.01X, M-1668A

表 1 GC/MS 測定条件

(GC 部)
カラム : SGE HT8 (50m, 0.22mmID, 膜厚 0.25 μm)
昇温 : 130°C (1min) - 20°C/min → 220°C - 5°C/min - → 320°C (10min)
注入口温度 : 250°C
注入量 : 1 μl
ヘリウムガス流量 : 1ml/min
(MS 部)
イオン源温度 : 230°C
インタフェース温度 : 250°C
イオン化電圧, 電流 : 70eV, 300 μA

-3-0.01X, M-1668A-4-0.01X, M-1668A-5-0.01X :
Accu Standard

(2) 試薬

ノナン(特級), 2%水酸化カリウムシリカゲル(ダイオキシン分析用), 44%硫酸シリカゲル(ダイオキシン分析用), 22%硫酸シリカゲル(ダイオキシン分析用), 10%硝酸銀シリカゲル(ダイオキシン分析用), ワコーゲル C-200, 水酸化カリウム(特級), n-ヘキサン洗浄水(ダイオキシン分析用), 硫酸(有害金属測定用): 和光純薬(株)

無水硫酸ナトリウム(残留農薬測定用), エタノール(残留農薬測定用), n-ヘキサン(ダイオキシン分析用): 関東化学(株)

Silicagel 60(7734-2M): MERCK

4 分析方法の検討

暫定マニュアルを参照し, 定性定量方法の確立, 検出下限の算出, 精製段階における分画試験及び底質試料での ^{13}C 体添加回収試験を行った。

結果と考察

1 モニターイオンの決定

目的物質のモニターイオンは, スキャン測定で得られたマススペクトルより, 分子イオンピークのうち最も強度の強いものを定量イオン, 2 番目に強度の強いものを確認イオンとした。

また, 内部標準物質は定量イオンのみ測定することとした。これらを表 2 に示す。

2 定性方法

Wellington Laboratories の BP-WD には, GC カラムとして 5% phenyl methyl siloxane を用いて測定した時の各塩化物の中で, 最初と最後に溶出する異性体が入っている。これを GC/MS で測定し, 各塩化物ごとの溶出範囲を把握した。この時のクロマトグラムを図 1 に示す。

溶出範囲が重複しており, SIM 測定の塩化物毎のグルーピングは 10 塩化物以外は不可能で, 1 回注入で測定を行うと多チャンネル同時測定となり, クロマトグラフの打点間隔が広がる。そのため SIM 測定時は, 1~5 塩化物と 6~10 塩化物を別注入で測定することとし, 10 塩化物のみ別グループ測定することとした。

次に, AccuStandard の M-1668A-1-0.01X, M-1668A-2-0.01X, M-1668A-3-0.01X, M-1668A-4-0.01X, M-1668A-5-0.01X を等量混合し, PCB 全異性体を含む溶液を作成した。これを GC/MS でスキャン測定した時のクロマトグラムを図 2 に示す。このクロ

表 2 モニターイオン

物 質	定量イオン	確認イオン
M1CB	188	190
D2CB	222	224
T3CB	256	258
T4CB	292	290
P5CB	326	328
H6CB	360	362
H7CB	394	396
O8CB	430	428
N9CB	464	462
D10CB	498	500
^{13}C -M1CB	200	---
^{13}C -D2CB	234	---
^{13}C -T3CB	268	---
^{13}C -T4CB	304	---
^{13}C -P5CB	338	---
^{13}C -H6CB	372	---
^{13}C -H7CB	406	---
^{13}C -O8CB	442	---
^{13}C -N9CB	476	---
^{13}C -D10CB	510	---
フルオランテン- d_{10}	212	---

マトグラムと PCB 全異性体 209 物質のピーク帰属をした既報のデータ³⁾より全異性体のリテンションタイムを把握した。

PCB はクロマト上, 高塩化物からの妨害を受ける。これは, 高塩化物の脱塩素フラグメントイオンが低塩化物の分子イオンに妨害を与えることによるものである。図 1 で, 溶出範囲内の白抜きのピークは 1 塩素上位と 2 塩素上位の PCB からの妨害で, 特に後者からの妨害が大きいことがわかる。この 2 塩素上位の PCB からの妨害についてみると, 1 塩化物, 2 塩化物及び 8 塩化物は, その溶出範囲内に 2 塩素上位の PCB が溶出しないため妨害を受けないが, 3~7 塩化物については, この妨害が生じている。妨害ピークのなかには, 目的物のピークと重複しているものもあり, 定量の際の誤差となる。これらのピークを表 3 に示す。表中の PCB 番号は IUPAC 番号で表記した。これ以降についても同様である。

3 定量方法

クリーンアップスパイクとして, Wellington Laboratories の MBP-CG を使用した。これは, 1~10 塩化物毎に 1 種類ずつの ^{13}C 体が入った溶液で,

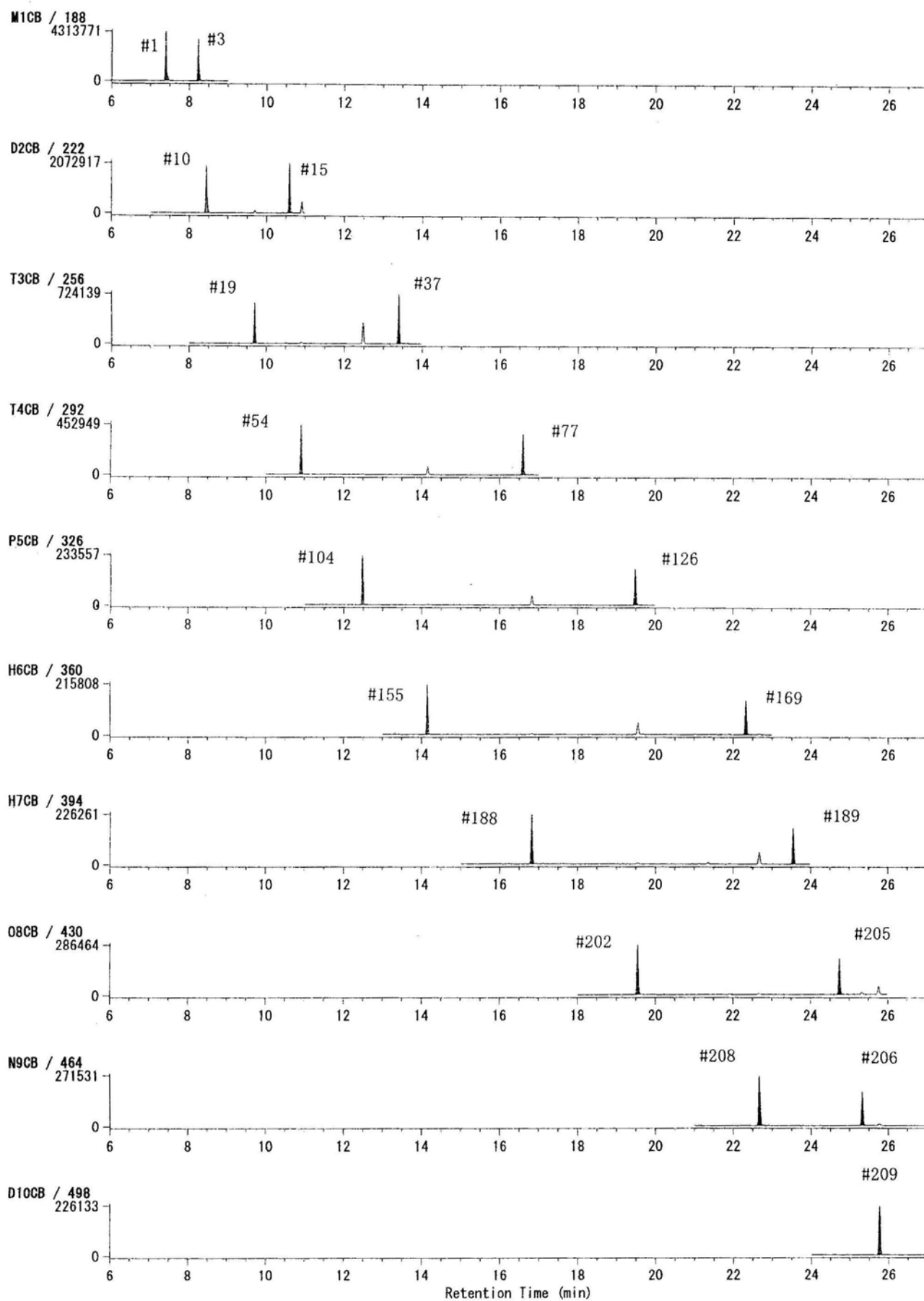


図1 各塩化物の溶出範囲

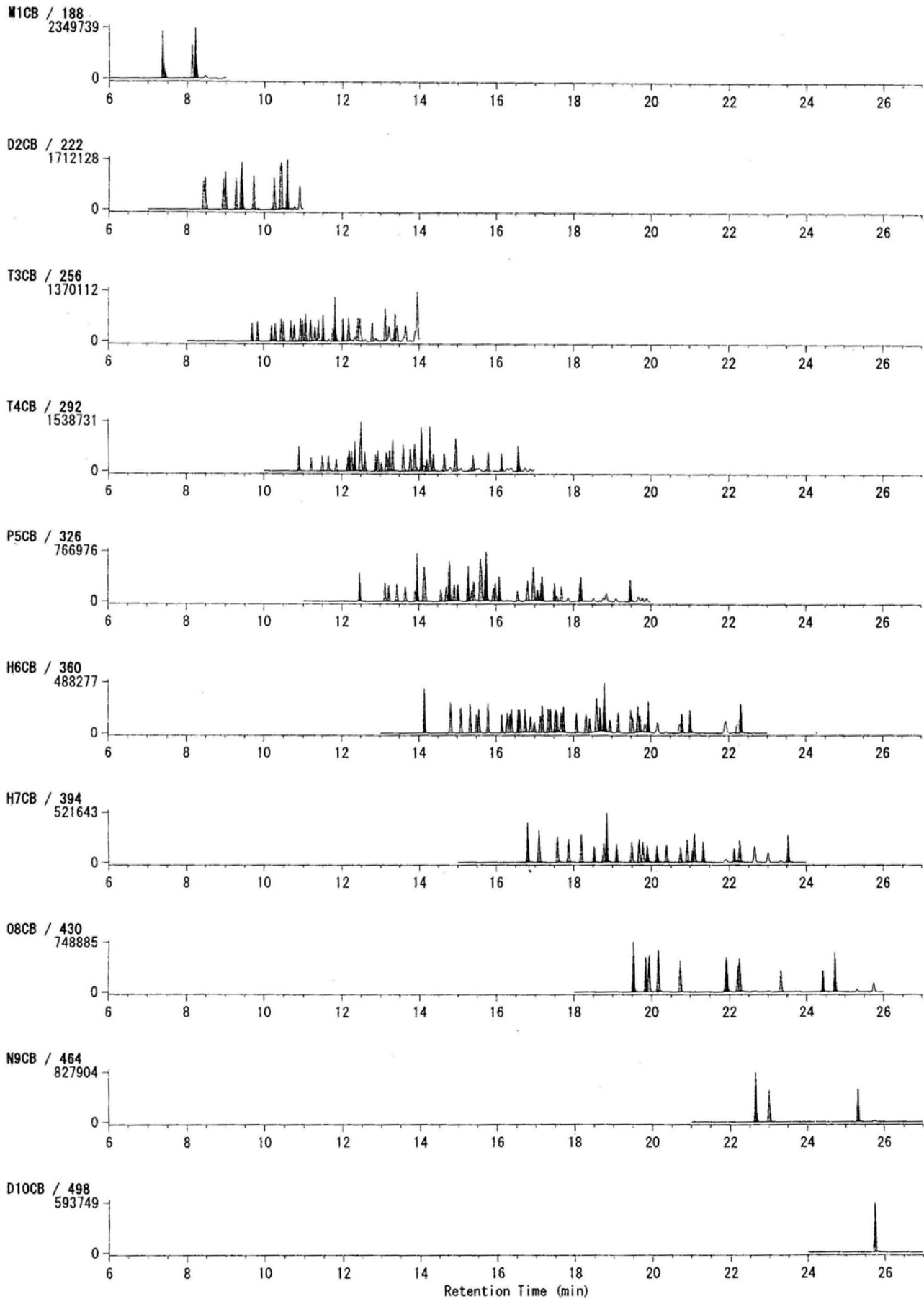


図2 PCB全異性体のマスクロマトグラム

表 3 2 塩素上位 PCB からの妨害

妨害の原因となるピーク	妨害を受けるピーク
P5CB #96(13.12)	T3CB #35(13.13)
H6CB #154(15.80)	T4CB #78(15.81)
H6CB #151(16.15)	T4CB #81(16.15)
H6CB #149(16.58)	T4CB #77(16.59)
H6CB #139(16.63)	
H7CB #188(16.81)	P5CB #124(16.82)
H7CB #184(17.10)	P5CB #123(17.08)
H7CB #186(18.20)	P5CB #127(18.19)
	P5CB #105(18.19)
H7CB #185(19.50)	P5CB #126(19.48)
O8CB #204(19.94)	H6CB #167(19.94)

(min):RT

これをノナンで希釈し 100 μ g/l 溶液を作成した。

シリンジスパイクとしては、フルオランテン-d₁₀を使用した。10mg を少量のアセトンで溶かした後、ノナンで段階的に希釈して 2mg/l 溶液を作成した。

定量は、相対感度係数法 (RRF 法) で行うこととし、検量線として Wellington Laboratories の BP-MS を用いて 20, 100, 200 μ g/l の 3 濃度の溶液を作成した。BP-MS には 1~10 塩化物までの 62 種類の PCB が入っている。また、クリーンアップスパイクとシリンジスパイクは前述した溶液を用いて、80 μ g/l となるように調整した。

この溶液を 1 濃度につき 3 回計 9 回測定し、各異性体の RRF 値を次式で算出し平均値を求めた。

$$RRF = (Q_{CS}/Q_S) \times (A_S/A_{CS})$$

Q_{CS} : 標準液中のクリーンアップスパイクの量

Q_S : 標準液中の対象物質の量

A_S : 対象物質のピーク面積

A_{CS} : クリーンアップスパイクのピーク面積

その結果を表 4 に示す。ただし、ピーク分離の不完全なものは測定対象から除外した。

1 異性体についての RRF 値の変動係数は 0.5~6.8%と少ないが、異性体が異なれば、RRF 値も多少異なってくる。このことは、同じ塩素数の異性体であっても異性体ごとのイオン化率が多少異なっているためと考えられる。

次に、塩素数の同じ同族体ごとの平均 RRF 値を

表 4 BP-MS 中の各異性体の RRF 値と検出下限

物質	RRF 値	CV (%)	IDL (pg)	CV (%)
M1CB #1	1.071	1.3	0.3	0.6
M1CB #3	1.077	0.5	0.3	0.4
D2CB #15	1.109	2.3	1.4	2.5
D2CB #8	1.122	0.9	0.6	1.0
T3CB #19	0.745	2.3	0.5	0.9
T3CB #18	0.807	2.1	1.1	1.8
T3CB #28	1.154	2.9	0.4	0.6
T3CB #33	1.147	2.9	1.1	1.8
T3CB #22	1.170	2.7	0.8	1.3
T3CB #37	0.960	3.1	0.7	1.1
T4CB #54	1.444	1.8	0.6	0.9
T4CB #52	1.138	1.2	1.1	1.7
T4CB #49	1.076	1.2	1.3	2.1
T4CB #44	0.959	2.0	1.1	1.8
T4CB #74	1.442	1.5	1.1	1.9
T4CB #70	1.470	2.5	1.2	2.1
T4CB #81	1.591	2.0	1.0	1.6
T4CB #77	1.349	2.4	0.4	0.7
P5CB #104	1.067	1.3	1.1	1.8
P5CB #95	0.722	1.6	1.8	2.9
P5CB #101	0.802	1.7	0.8	1.5
P5CB #99	0.878	2.1	0.8	1.3
P5CB #119	1.066	1.0	0.3	0.6
P5CB #87	0.694	1.9	2.0	3.3
P5CB #110	0.979	1.7	1.2	2.0
P5CB #123	0.920	1.4	0.7	1.2
P5CB #118	1.037	1.4	1.0	1.7
P5CB #114	0.950	1.1	1.1	1.8
P5CB #105	0.910	1.1	0.6	1.0
P5CB #126	1.149	1.2	0.6	1.0
H6CB #155	1.159	3.1	0.8	1.4
H6CB #151	0.657	5.5	1.9	3.2
H6CB #149	0.715	3.4	1.6	2.8
H6CB #138	0.694	2.6	1.9	3.3
H6CB #158	1.007	3.2	2.2	3.8
H6CB #128	0.627	3.0	2.6	4.7
H6CB #167	1.080	3.3	0.8	1.4
H6CB #156	0.868	3.3	0.6	1.0
H6CB #157	0.925	2.7	2.9	4.8
H6CB #169	0.825	2.5	3.3	5.5
H7CB #188	1.148	4.9	1.5	2.6
H7CB #178	0.731	3.1	2.0	3.3
H7CB #187	0.826	3.6	2.9	4.9
H7CB #183	0.818	3.9	1.0	1.7
H7CB #177	0.743	4.0	1.6	2.7
H7CB #171	0.696	2.4	2.6	4.2
H7CB #180	0.830	1.4	1.2	2.1
H7CB #191	0.979	1.1	1.6	2.7
H7CB #170	0.615	3.2	2.8	4.8
H7CB #189	0.809	3.9	0.7	1.3
O8CB #202	1.570	6.8	0.7	1.1
O8CB #201	1.429	5.4	2.6	4.1
O8CB #199	0.944	4.1	2.6	4.2
O8CB #194	0.844	2.5	3.2	5.2
O8CB #205	0.997	4.8	2.1	3.6
N9CB #208	1.217	4.5	2.3	3.7
N9CB #206	0.815	1.8	2.0	3.3
D10CB #209	1.066	0.8	1.6	2.7

表5 各同族体の平均 RRF 値

物質	平均 RRF 値
M1CB	1.074
D2CB	1.115
T3CB	0.997
T4CB	1.309
P5CB	0.931
H6CB	0.856
H7CB	0.819
O8CB	1.157
N9CB	1.016
D10CB	1.066

算出した。その結果を表5に示す。この同族体の平均 RRF 値を使用して同一塩素数の PCB を定量することとなる。

4 検出下限

前述した BP-MS の $20 \mu\text{g/l}$ 溶液を5回繰り返し測定し、その標準偏差の3倍を検出下限とした。その結果を表4に示す。検出下限は $0.3 \sim 3.3 \mu\text{g}$ の範囲にあった。

この値を底質試料 20g、最終液量 0.5ml、GC/MS で $1 \mu\text{l}$ 注入とした場合に換算すると $0.008 \sim 0.08 \mu\text{g/kg(wet)}$ となり、暫定マニュアルの目標値 $1 \mu\text{g/kg(wet)}$ を下回る。また、同様に水試料 1L の場合では、 $0.2 \sim 2 \text{ng/l}$ となり、目標値の 10ng/l を下回る。

5 精製方法

(1) シリカゲルによる精製

シリカゲルとして、和光純薬㈱のワコーゲル C-200 を使用し、カラムは内径 1cm、長さ 30cm のガラスカラムを用いた。

ガラスカラムの底にグラスウールを詰め、 130°C で3時間加熱後デシケーター中で30分放冷したシリカゲル 4g をヘキサンで湿式充填し、その上に無水硫酸ナトリウムを 2g 載せた。

MBP-CG の $100 \mu\text{g/l}$ 溶液を 0.4ml 負荷し、ヘキサンで展開し分画試験を行った。その結果を表6に示す。この結果より、ヘキサン 50ml で溶出が完了する。また、PCB は塩素数の多いものから順に溶出してくることがわかった。

(2) 多層シリカゲルによる精製(その1)

今回の PCB 測定は、四重極型の GC/MS で行うことを前提としており、二重収束型の高分解能 GC/MS に比較すれば、夾雑物の影響は大きい。そこで、シリカゲルより精製能力が高く、ダイオキ

表6 シリカゲルによる分画

	0～ 10ml	10～ 20ml	20～ 50ml	50～ 100ml
^{13}C -PCB				
M1CB#3	-	0.4	96	-
D2CB#15	-	66	29	-
T3CB#31	-	99	1.8	-
T4CB#52	-	99	1.7	-
P5CB#118	2.7	98	0.4	-
H6CB#153	24	75	-	-
H7CB#180	31	70	-	-
O8CB#194	37	68	-	-
N9CB#206	72	31	-	-
D10CB#209	101	7.6	-	-

溶出率(%)

表7 多層シリカゲルによる分画(その1)

	0～ 20ml	20～ 50ml	50～ 100ml	100～ 150ml	150～ 200ml
^{13}C -PCB					
M1CB#3	-	-	-	-	-
D2CB#15	-	-	37	54	5.0
T3CB#31	-	8.4	98	0.1	-
T4CB#52	-	47	60	-	-
P5CB#118	-	71	37	-	-
H6CB#153	-	108	7.1	-	-
H7CB#180	-	108	6.1	-	-
O8CB#194	-	110	6.0	-	-
N9CB#206	-	117	1.5	-	-
D10CB#209	-	120	1.1	-	-

溶出率(%)

表8 多層シリカゲルによる分画(その2)

	0～ 20ml	20～ 50ml	50～ 100ml	100～ 150ml	150～ 200ml
^{13}C -PCB					
M1CB#3	-	9.2	97	-	-
D2CB#15	-	84	19	-	-
T3CB#31	-	100	3.2	-	-
T4CB#52	-	102	2.9	-	-
P5CB#118	-	113	1.5	-	-
H6CB#153	-	118	-	-	-
H7CB#180	-	116	-	-	-
O8CB#194	-	121	-	-	-
N9CB#206	-	121	-	-	-
D10CB#209	-	123	-	-	-

溶出率(%)

シン類分析で使用されている多層シリカゲル⁴⁾による精製を検討した。

内径 1.5cm, 長さ 30cm のガラスカラムの底にガラスウールを詰め、底から順に次の試薬をヘキサンで湿式充填した。なお、シリカゲルは MERCK 社の Silicagel 60 を用いた。

- ・ シリカゲル (0.9g)
- ・ 2%水酸化カリウムシリカゲル (3g)
- ・ シリカゲル (0.9g)
- ・ 44%硫酸シリカゲル (4.5g)
- ・ 22%硫酸シリカゲル (6g)
- ・ シリカゲル (0.9g)
- ・ 10%硝酸銀シリカゲル (3g)
- ・ 無水硫酸ナトリウム (高さ 1cm)

MBP-CG の 100 μ g/l 溶液を 0.4ml 負荷し、ヘキサンで展開し分画試験を行った。その結果を表 7 に示す。

この結果より、1 塩化物が溶出しないことがわかる。いずれかの層でトラップされていると思われる。そこで、水酸化カリウムシリカゲル、硫酸シリカゲル、硝酸銀シリカゲル各々単独で充填し、同様に標準品を負荷し、ヘキサンで展開したところ、硝酸銀シリカゲルに 1 塩化物がトラップされていることがわかった。

(3) 多層シリカゲルによる精製(その 2)

1 塩化物をトラップする硝酸銀シリカゲルを除き、その他は多層シリカゲルによる精製(その 1)と同様に試薬を充填し、同様の分画試験を行った。その結果を表 8 に示す。1 塩化物が溶出し、2 塩化物の溶出範囲も狭くなった。

硝酸銀シリカゲルは硫黄分が多い試料に対して用いると効果的である⁵⁾とされているが、硫黄分の多い底質試料では、アルカリ分解を行うため、硫黄分は除去されている。よって、本法を精製方法として採用し、ヘキサン 100ml で溶出することとした。

6 底質試料の前処理

図 3 のフローで示すように、精製方法として多層シリカゲルを用い、その他は暫定マニュアルに準じて行うこととしたが、クリーンアップスパイクの MBP-CG の中には、コプラナー PCB が含まれているため、MBP-CG 添加以降の操作は当所のダイオキシン分析施設で行うこととした。機材やスペースの制約上、初段階での添加は不可能なため、抽出後つまり硫酸処理の前で添加し、クリーンアップスパイクとして使用することとした。

広島湾の底質をこの方法で前処理した時のクリーンアップスパイクの回収率を表 9 に示す。回収率は 62~103%の範囲にあった。

表 9 底質分析におけるクリーンアップスパイクの回収率

¹³ C-PCB	回収率 (%)
M1CB #3	66
D2CB #15	86
T3CB #31	103
T4CB #52	62
P5CB #118	95
H6CB #153	89
H7CB #180	95
O8CB #194	71
N9CB #206	82
D10CB #209	83

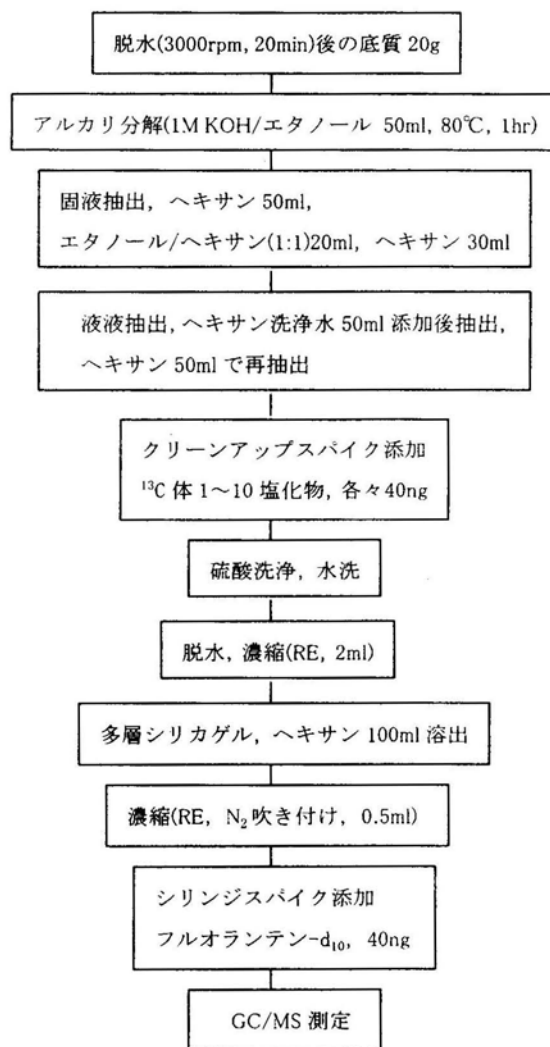


図 3 底質分析フロー

文 献

- 1) 環境庁水質保全局水質管理課: 外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル(水質, 底質, 水生生物), I-1~I-21, (1998)
- 2) 山本猛嗣: 日本発環境ホルモン報告, 189, 日刊工業新聞社(1998)
- 3) Matsumura T et al: Retention order of all 209 Chlorobiphenyl compounds on capillary column SGE HT8, Organohalogen Compounds, 31, 14-19(1997)
- 4) 日本工業規格 K0312, 工業用水・工場排水中のダイオキシン類及びコプラナーPCBの測定方法, 13~14, (財)日本規格協会(1999)
- 5) 保母敏行 他: 詳解ダイオキシン類及びコプラナーPCBの測定方法, 94~95, (財)日本規格協会(2001)