

キャピラリーカラム・ECD 法による魚介類の PCB 測定の検討(その 2) — 実試料測定への適応と魚介類のクロマトパターン —

松木 司 福田 裕 佐々木 珠生 小中 ゆかり

平成 23 年に環境省が作成した「絶縁油中の微量 PCB に関する簡易定量法(第 3 版)」¹⁾(以下、「マニュアル」)にあるキャピラリーカラム・ECD 法を魚介類の PCB 測定に活用するための検討を行った。添加回収試験結果と、マニュアル¹⁾で採用されている 1 濃度の標準溶液のピーク情報による定量法(以下、「マニュアル法」)における問題点、及びそれを改良した定量方法(以下、「提案法」)を昨年度の年報²⁾で報告した。

今回、実試料として 4 種の魚で測定を行い、この過程及び結果から次のことがわかった。

- 1 操作ブランク中に存在する妨害ピーク及び実試料中に存在する PCB ピークの把握には、各々のクロマトグラムと KC-300, KC-400, KC-500 及び KC-600 の当量混合物(以下, KC-mix)標準溶液のクロマトグラムを重ね合わせ、同定する手法が有効である。
- 2 マニュアル法と提案法の検量線、両測定法により算出した実試料濃度これらを比較すると、マニュアル法では 1 点検量線で生じる特有の誤差³⁾が生じており、この点を解消できるのが提案法の利点である。
- 3 実試料のクロマトグラムを模式化することで、魚特有のクロマトパターンを把握した。強度が強く適当な間隔で出現する 9 個のピークを、クロマトパターンを形成する上での主要ピークとした。
- 4 主要ピークを用い、ケミカルマスバランス法(以下, CMB 法)で、実試料中の PCB の起源推定を行った。KC-300 の寄与は無く、KC-500 と KC-600 の寄与率が高かった。また、算出した寄与率で KC-300~600 を混合した標準溶液を用いれば、パターン合わせ法が定量法として活用される可能性がある。

キーワード： PCB, キャピラリーカラム, ECD, 魚介類, クロマトパターン, 起源推定

はじめに

食品中の PCB に関しては、昭和 47 年に厚生省より「食品中に残留する PCB の規制について」⁴⁾が通知され、魚介類については、遠洋沖合魚介類が 0.5ppm、内海内湾魚介類が 3ppm との暫定的規制値が示されている。

通知された分析法は、当時のパックドカラム・ECD 法であり、その後通知に係る改正は無く、公定法として存在している。現在は、これに加え、キャピラリーカラム・ECD 法、GC/HRMS 法、GC/LRMS 法等が、その検査目的に応じて使い分けられている。検出器の選択性は、HRMS>ECD>LRMS であるが、機器や使用する標準品の価格は、HRMS>LRMS>ECD である¹⁾。また、キャピラリーカラムの分解能は、パックドカラムを遥かにしのぐ。

これらのことから、マニュアル¹⁾のキャピラリーカラム・ECD 法を参考とし、魚介類の PCB 測定の検討を行い、前述の検討結果を昨年度の年報で報告した。

今回、マニュアル法と提案法による実試料測定結果の比較、魚介類にみられるクロマトパターン、実試料中の PCB の起源推定等について報告する。

方 法

1 試薬等

試薬、装置及び測定条件は既報²⁾のとおり。

2 定性方法

KC-300, KC-400, KC-500 及び KC-600 の当量混合物(以下, KC-mix) 0.4ppm 標準溶液と操作ブランク試料のクロマトグラムを重ね合わせ比較した。

これにより、操作ブランク試料中に存在するピークのうち、PCB ピークに重複あるいは近接し、定量の妨害となるピークを把握した。

次に、KC-mix 0.4ppm 標準溶液と実試料のクロマトグラムを重ね合わせ比較した。これにより実試料中に存在するピークのうち、PCB ピークに該当するものを把握した。

3 定量方法

マニュアル法は、ある濃度(以下、定量基準点)の KC-mix 中の各ピーク高さを求め、各々の CB0(%) (KC-mix 中の存在比率)をピーク高さで除した k 値を求める。次に試料中の各 PCB ピーク高さに各々の k 値を乗じ、各 PCB ピークの CB2(%) を求め Σ CB2(%) を算出する。定量基準点濃度に Σ CB2(%) / Σ CB0(%) を乗じたものを試料濃度とする。本法では 0.4ppm を定量基準点とした。

一方、提案法は KC-mix 0.4ppm を定量基準点とし、他の 5 濃度(0.1, 0.2, 0.6, 0.8, 1.0ppm)の KC-mix における Σ CB2(%) を同様に算出し、濃度と Σ CB2(%) の多点検量線を作成する。次に、KC-mix 0.4ppm を定量基準点とし試料の Σ CB2(%) を算出し、多点検量線で試料濃度を求める。

実試料として、コノシロ、クロダイ、マダイ及びキヂヌを既報²⁾のとおり前処理し、マニュアル法と提案法による各々の測定値を求め比較した。今回、内部標準物質は使用しなかった。

4 魚介類のクロマトパターン

4 検体のクロマトグラムをグラフ状に模式化し、比較することにより、魚介類特有のクロマトパターンを把握し、そのパターンを形成する上で重要となる主要ピークを選定した。

5 実試料中の PCB の起源推定

CMB 法のソフトウェアは、花石竜治氏が公開している CMB8J⁵⁾を使用した。実試料中の PCB の起源のほとんどは、かつて使用された PCB 製品の KC-300, KC-400, KC-500 及び KC-600 である。そこで、実試料中の主要ピークの重量比率に最も類似するように、KC-300~600 各々の寄与率を CMB 法で算出した。

実試料中の主要ピークについては、各ピークの CB2(%) を用いた。KC-300~600 については、各々に含まれる PCB 異性体の種類とその重量比率及びピーク中の PCB 異性体種類がマニュアル¹⁾で報告されている。これらから主要ピークの重量比率を求めこれを使用した。

結果と考察

1 操作ブランク中の妨害ピーク

操作ブランク試料中のピークのうち、定量の妨害となるピークを表 1 に示す。表 1 を含め本文中の PCB ピーク番号は、マニュアル¹⁾の表 1.2.4 に記載されているものである。

表 1 操作ブランク中の妨害ピーク

保持時間 (min)	ピーク高さ	妨害を受ける PCB ピーク番号	CB0(%)
8.35	16729	1	0.928
9.74	21643	3	0.371
11.95	1595	6	0.034
16.10	8050	19	0.467
17.57	3554	23	1.330
18.09	14349	24	0.030
18.37	2219	25	2.604
19.37	1462	28	0.029
19.64	9913	29	0.442
21.10	2007	33	3.678
21.34	5793	34	5.437
22.85	7220	38	0.809
23.86	25096	40	1.077
28.62	2324	55	0.091
28.75	2051	56	0.077
31.82	1952	64	3.874

マニュアル¹⁾には、GC 測定の際に、フタル酸エステル類等により測定が妨害される場合には、硫酸を少量添加し振とうすることで除かれることがあると記述されている。本法では硫酸処理を行っていないため、操作ブランク試料中に存在するピークは、フタル酸エステル類である可能性が考えられる。

KC-mix 中の CB0(%) が高く強度の強い PCB ピーク 25, 33, 34, 64 を妨害する 4 個のピークについては、定量の際にピーク高さを減算することとし、その他の 12 個のピークについては、各々の CB0(%) の合計が 5.7% と小さく、定量値への影響が極めて低いため、定量対象から除外することとした。

次に、KC-mix 0.4ppm 標準溶液と実試料のクロマトグラムを重ね合わせを図 1 に示す。両クロマトグラムで重複しているピークを、実試料中の PCB ピークとして同定した。

2 実試料の測定結果

マニュアル法, 提案法各々で求めた実試料濃度を表 2 に示す。便宜上, 小数点以下 3 桁表示とした。実試料濃度でこの程度の差がみられる。

	コノシロ	クロダイ	マダイ	キチヌ
マニュアル法	0.026	0.057	0.076	0.149
提案法	0.011	0.054	0.082	0.180
マニュアル法 /提案法	2.4	1.1	0.93	0.83

図 2 にマニュアル法, 提案法各々の検量線を示す。

図 2 より提案法の検量線が実際の挙動に合致していることがわかる。

また, 両直線の交点に当たる濃度より低い範囲では, マニュアル法が提案法より高い濃度を算出し, 逆に高い範囲では, マニュアル法が提案法より低い濃度を算出すること, 交点から離れる程, 両法での算出濃度差が大きくなることが, 図 2 よりわかる。よって, 表 1 で, マダイとキチヌの測定溶液濃度は交点濃度より高く, その他は交点濃度より低かったため, 実測濃度比は表のように変動した。

この傾向は, 本来, 正の切片が存在する検量線での定量を, 1 点検量で定量した場合に生じる現象である³⁾。マニュアル法は 1 濃度におけるピーク情報を基に試料濃度を算出するが, 検量線と言えば 1 点検量線である。この誤差を解消できるのが, 提案法の利点である。

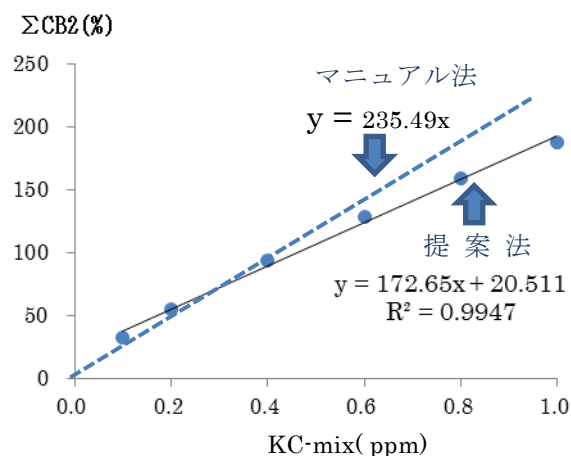


図 2 検量線の比較

3 魚介類のクロマトパターン

実試料のクロマトグラムを模式化したものを図 3 に示す。概ね類似したものとなった。図中に番号を付したピークは, 強度が強く適当な間隔で溶出するため, クロマトパターンを形成する上での主要ピークとした。

図 3 にみられる魚のクロマトパターンの信頼性を検証するため, 衛生試験法・注解⁶⁾に掲載されている本法よりも選択性の高い GC/HRMS 法で測定した結果による検出パターン例を図 4 に示し, これと比較した。図 4 は, 本法でこれまでに示したピーク番号でなく, 異性体の IUPAC 番号で示されている。最も濃度の高い異性体である 2,2',4,4',5,5'-6 塩素化ビフェニル (IUPAC 番号は #153, ピーク番号では 58) と各異性体との濃度比が示されている。

比較のために, 図 4 に本法でのピーク番号を付した。本法のピーク番号 34 は #66 と #95 を含んでいるが, 図 4 では両異性体を分離しており図中に, このことを矢印で付した。

図 3 を図 4 の形式に合わせたものが図 5 である。マダイの各ピークについて, ピーク高さを各ピークの重量相当量である CB2 (%) に換算し, 2,2',4,4',5,5'-6 塩素化ビフェニルの CB2 (%) との比率を求めた。ピーク番号と IUPAC 番号の対応が示されているマニュアルの表 1.2.4 に基づきピーク番号を IUPAC 番号にした。衛生試験法・注解⁶⁾と本法では使用したカラムが違い異性体の溶出順位が異なるため, 図 4 の順に置き換え, 図 4 に示されている異性体のみについて図 5 に示した。なお, 図 5 では, 便宜上, ピーク番号 34 を 2 等分し #66 と #95 として示した。

図 4 と図 5 を比較すると, 前半の塩素数の少ない異性体については, 本法では検出されていないものがある。これは ECD 検出器が塩素数の少ないもの程検出感度が低下することに加え, 両機器の検出感度の差でもある。

本法で把握した主要ピークに該当する異性体は, ピーク番号 45 を除き, 図 4 においても存在率の高い異性体であることがわかる。また, その他の異性体を含めた検出パターンは概ね類似しており, これらのことから, 本法で把握したクロマトパターンと主要ピークは信頼性のあるものと認識した。

ピーク番号 45 についての要因としては, 有機塩素系農薬, ポリ塩化ナフタレン類, 高濃度に存在するダイオキシンの妨害が考えられる⁷⁾。原因が

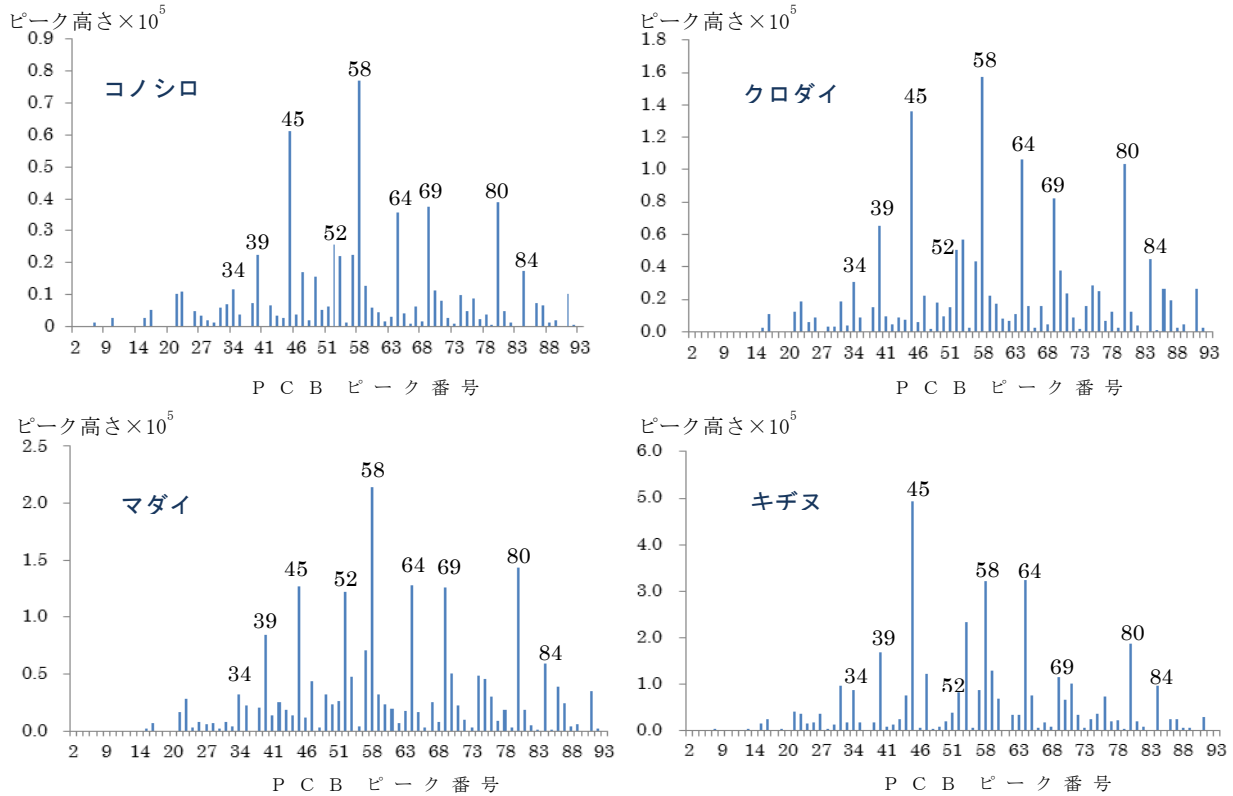


図3 模式化したクロマトグラム

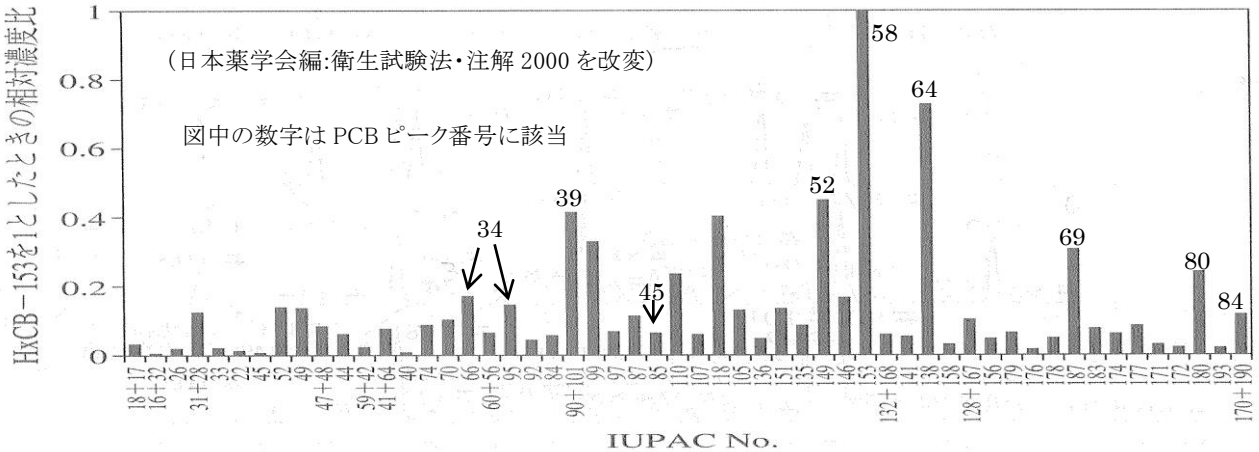


図4 報告されているGC/HRMS測定での魚介類異性体の検出パターン例

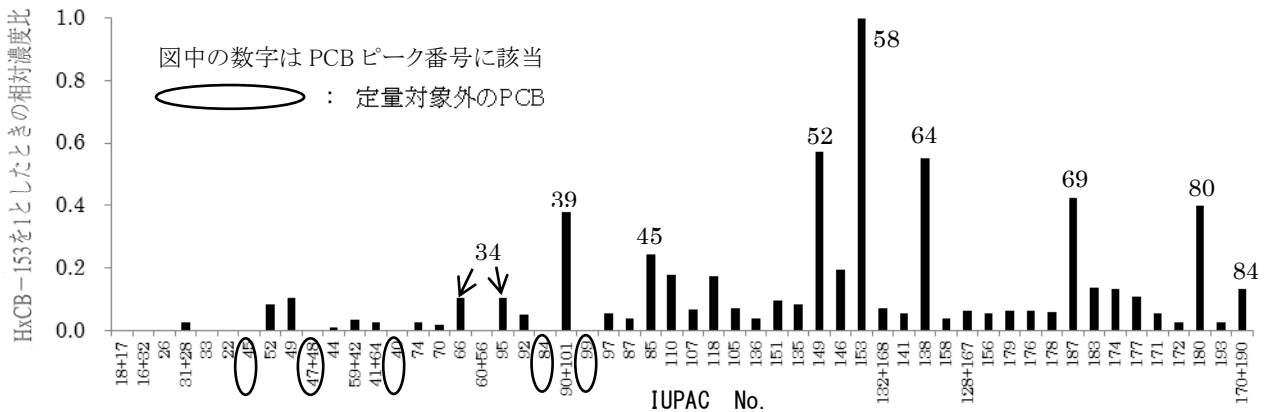
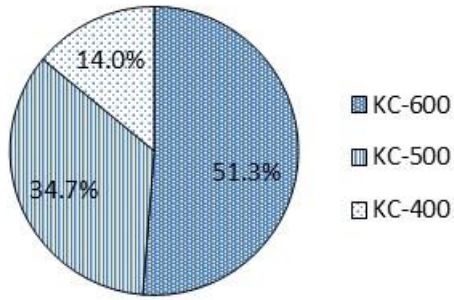
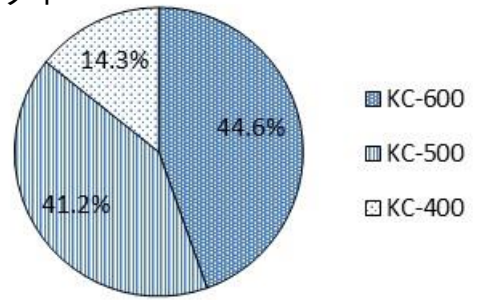


図5 本法での魚介類異性体の検出パターン例(マダイ)

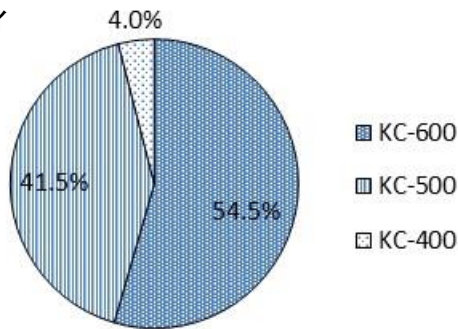
コノシロ



クロダイ



マダイ



キチヌ

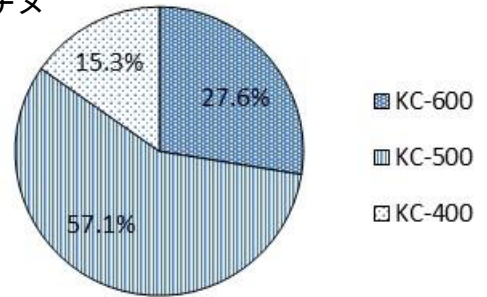


図6 実試料におけるPCB製品の寄与率

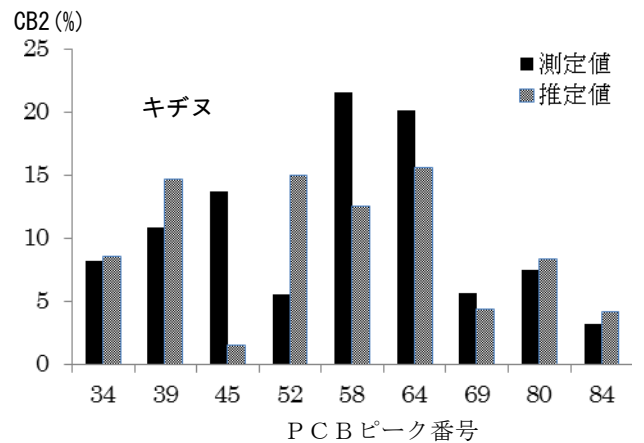
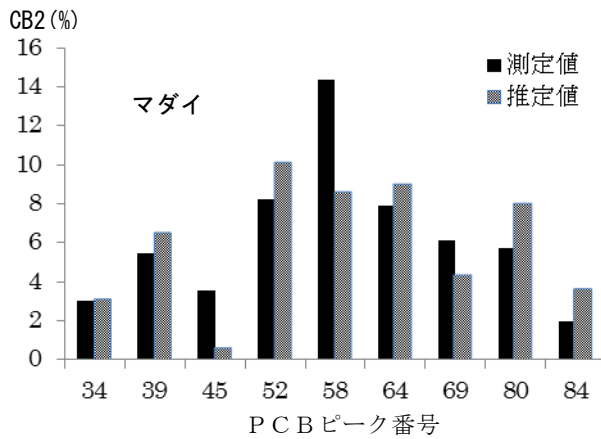
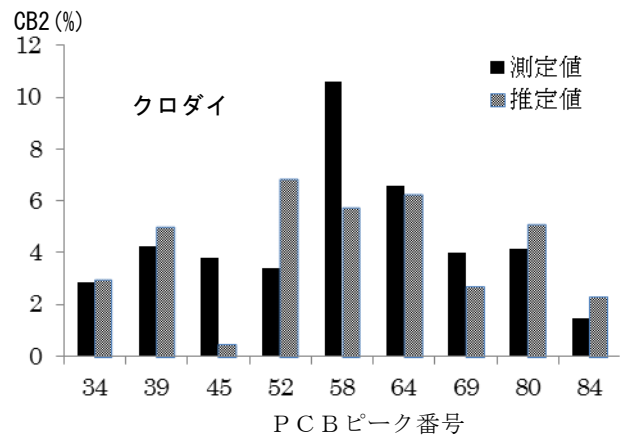
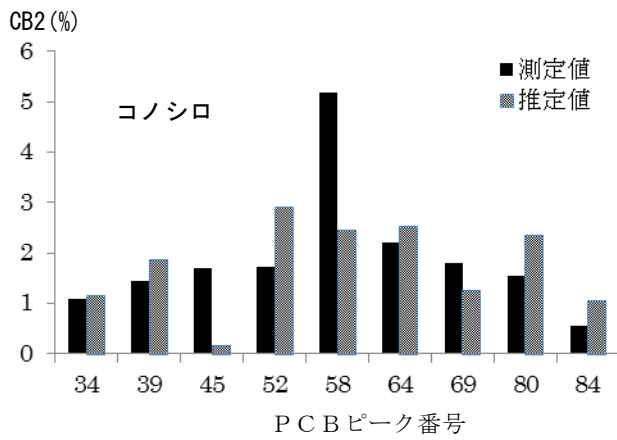


図7 主要ピークにおける重量比率の測定値と推定値

それらであれば、選択性の高さから GC/HRMS 法では区別できても、本法では不可能である。

4 実試料中の PCB の起源推定

CMB 法で求めた 4 製品の寄与率を図 6 に、それらから算出した Σ CB2(%) の推定値と測定値を図 7 に示す。なお、計算に使用した主要ピークは 9 本であり、対象ピーク数の 11% であるが、その重量比率は、対象ピークの 53~64% と半分以上を占めており、総 PCB 量においても高い寄与を有している。

全ての魚で KC-300 に寄与は無く、主成分は KC-500 と KC-600 であった。また、大部分の魚介類中の塩素数別組成比は KC500~600(1:1) に類似しているとの同様な結果⁷⁾も報告されている。

通知で示されているパターン合わせ法は、試料のクロマトパターンと酷似するように、KC 製品の混合割合を決めて調製し、その全ピーク高さの和をもって検量線を作成する手法である⁸⁾。クロマトパターンを合わせる過程で主観的要素が入ることから、現在では、ほとんど用いられていない手法であるが、マニュアル法や提案法ほど計算は煩雑でない。本法を用い KC-300~600 の割合を決定すれば、主観的要素が排除され定量手法として活用される可能性がある。

図 7 の推定値と測定値には、ある程度の差がみられる。CMB 法は、この場合、KC-300~600 に含まれている PCB 異性体の存在比に変化が無いことを前提とし、結果を算出している。

PCB とはビフェニルを塩素化して生成する多数の塩素化ビフェニルの総称であり、KC-300 は平均塩素置換数 3 の製品であり、同様に KC-400, KC-500, 及び KC-600 は塩素置換数が各々 4, 5, 6 の製品である¹⁾。PCB の物性は塩素数と塩素置換位置によ

り異なるため、異性体により、環境中や生体内での蒸発、吸着、分解、代謝等の程度が異なってくる。

従って、各 PCB 製品が環境中に放出されてから、魚に取り込まれ、PCB 測定に至るまでの過程で、各 PCB 製品の PCB 異性体の存在比は変化している。

このようなことが主な原因で、推定値と測定値には差が現れてくると考えられる。また、前述した有機塩素系農薬等の存在の関与も否めない。

文 献

- 1) 環境省大臣官房廃棄物・リサイクル対策部産業廃棄物課: 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)(2011)
- 2) 松木 司 他: キャピラリーカラム・ECD 法による魚介類の PCB 測定の検討, 広島市衛生研究所年報, 36, 34~40(2017)
- 3) (株)島津製作所: 絶縁油中微量 PCB 測定の簡易測定法(第 1 版, 第 2 版, 第 3 版)に関する解説書, <http://www.an.shimadzu.co.jp/gc/support/faq/pcb-exp-c.pdf>
- 4) 厚生省通知, 環食第 442 号, 昭和 47 年 8 月 24 日
- 5) CMB 法解析マクロの紹介と頒布サイト, <http://rhanaishi.world.coocan.jp/CMB.html>
- 6) 公益社団法人日本薬学会: 衛生試験法・注解 2015, 519~524(2015)
- 7) 武 志保 他: PCB 全異性体分析法を用いた魚介類の実態調査, 岡山県環境保健センター年報, 26, 65~71(2002)
- 8) 千葉幹雄: PCB 汚染とその分析法, 65~87(1973)

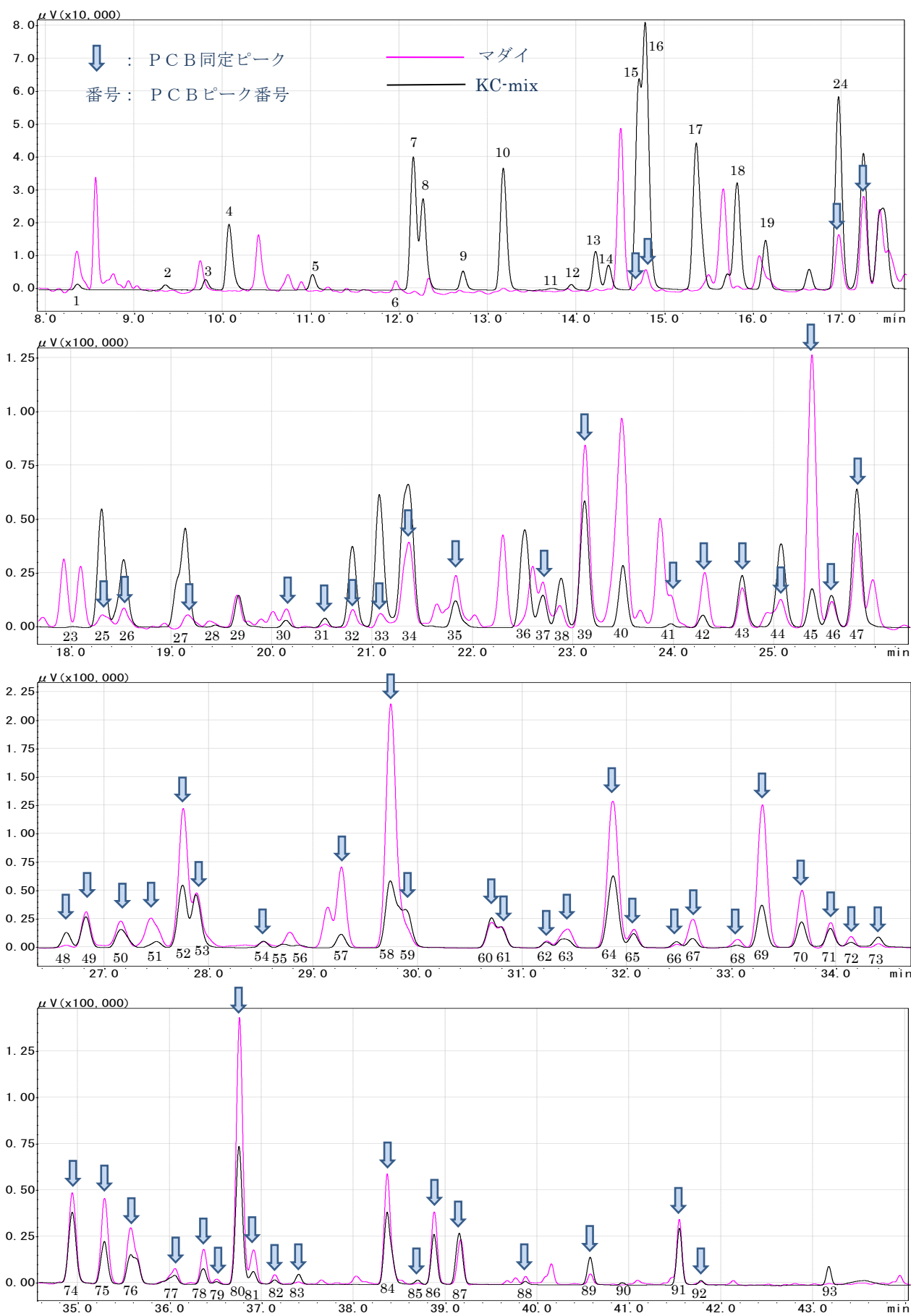


図1 KC-mix と実試料のクロマトグラムの重ね合わせによる PCB ピークの同定