

図1 続き

食品を介したダイオキシン類等有害物質摂取量の評価と
その手法開発に関する研究

研究分担報告書

難分解性汚染物 (POPs) の摂取量推定に必要な分析法の開発
(2) 食品中 PCB 代謝物の分析法開発に関する研究

研究代表者 松田りえ子 国立医薬品食品衛生研究所食品部

分担研究者 天倉 吉章 松山大学 薬学部

研究要旨

食品中 PCB 代謝物の分析法開発に関する研究を行った。本分担研究では、代表的な PCB 代謝物である PCB 水酸化体 (OH-PCBs) を検討対象の化合物とした。本課題の分析法は 3 つの工程、すなわち①食品に残留する微量の OH-PCBs の効率的な抽出、②食品に特有の分析妨害成分を効果的・効率的に取り除く精製、③高分解能ガスクロマトグラフ/質量分析計 (HRGC/HRMS) による OH-PCBs の異性体分離分析、から構成される。本年度は、HRGC/HRMS による OH-PCBs 測定法の検討を行った。OH-PCBs の機器分析法として、OH-PCBs を誘導体化せずに測定する方法 (非誘導体化法) と OH-PCBs をメキシ体 (OMe-PCBs) に誘導体化して測定する方法 (メチル化法) を検討した。非誘導体化法では、19 種類のキャピラリーカラムより分析に使用可能な製品を選定した。その結果、3 種類のキャピラリーカラムで OH-PCBs を誘導体化せずに測定可能であることが分かり、これらのカラムで HRGC/HRMS の測定条件を最適化した。メチル化法では、OH-PCBs を硫酸ジメチルで OMe-PCBs に誘導体化して測定した。その結果、OMe-PCBs を OH-PCBs 測定と同条件で定量できること、また検討した 38 種類の OH-PCBs 同族体がすべて OMe-PCBs に誘導体化されていることを確認した。以上の結果、HRGC/HRMS における OH-PCBs と OMe-PCBs の測定方法を確立することができた。OH-PCBs と OMe-PCBs の装置検出感度を比較すると、OMe-PCB の感度がやや優れていたが、誘導体化効率、反応の安定性、分析工程数を考慮すると、OH-PCBs を誘導体化せずに測定する方法に十分な優位性があると考えられた。

研究協力者

福岡県保健環境研究所

堀 就英、安武大輔

国立医薬品食品衛生研究所

堤 智昭

物質である。近年、環境水や底質、生物試料等の環境媒体において、PCB の化学構造が変化した種々の PCB 代謝物が検出されている¹⁾⁻³⁾。これは主に環境中に残留する PCB が生物代謝されて生成したと考えられており⁴⁾、一部の PCB 代謝物は母化合物の PCB よりも強い毒性を有することが示されている。これまでに PCB 代謝物の食品汚染度は調査例がなく、実態は明らかで

A. 研究目的

ポリ塩化ビフェニル (PCB) は化審法により特定化学物質に指定される環境汚染

ない。さらには食品中の PCB 代謝物の化学分析法は確立されておらず、食品汚染度の把握は実質的に不可能な状況である。食の安全性確保の観点から、これらの課題解決に取り組む必要がある。

PCB 水酸化体 (OH-PCBs) は代表的な PCB 代謝物であり、ヒト体内で血液中の甲状腺ホルモン輸送タンパク質と高い親和性を有し、結果として甲状腺ホルモン量の低下をもたらすとされている⁵⁾。近年、環境試料中の OH-PCBs 分析を行った事例が報告されているが、食品試料は脂肪や色素に富むものなど含有成分が多種多様であるため、環境試料の分析法をそのまま適用することは困難である。また食品中の OH-PCBs の濃度は極めて微量と考えられる。従って食品から効率的に微量な OH-PCBs を抽出し、適切に夾雑成分を除去し、高い精度で計測できる手法の確立が望まれる。

B. 研究方法

1. 試料・試薬等

1.1 標準物質

38 種類の OH-PCBs および 7 種類の PCB メトキシ体 (OMe-PCBs) の標準品は Accu Standard 社製を使用した。シリングスパイクには、Wellington Laboratories 社製の 2,3',4',5-tetrachlorobiphenyl (PCB#70)、2,3,3',5,5'-pentachlorobiphenyl (PCB#111)、2,2',3,4,4',5'-hexachlorobiphenyl (PCB#138) 及び 1,2,3,4,6,7,9-heptachlorodibenzofuran (1,2,3,4,6,7,8-HpCDF) の標準物質を希釈して用いた。

また、OH-PCBs 測定に最適なキャピラリーカラムの検討には、以下に示す Wellington Laboratories 社製の標準品を使用した。

4-OH-2,2',6,6'-tetrachlorobiphenyl
(4-OH-PCB#54)

4-OH-2,2',4',6,6'-pentachlorobiphenyl
(4'-OH-PCB#104)

4-OH-2,3,3',4',5-pentachlorobiphenyl
(4-OH-PCB#107)

3-OH-2,2',3',4,4',5-hexachlorobiphenyl
(3'-OH-OCB#138)

4-OH-2,2',3,4',5,5'-hexachlorobiphenyl
(4-OH-PCB#146)

4-OH-2,2',3,4',5,5',6-heptachlorobiphenyl
(4-OH-PCB#187)

4'-OH-2,2',3,3',4,5,5'-heptachlorobiphenyl
(4'-OH-PCB#172)

これらの標準溶液をノナンで希釈し、キャピラリーカラム検討溶液として使用した。今回の研究に用いた標準物質を表 1 に示す。

1.2 試薬

ヘキサンとノナンはダイオキシン類分析用、無水硫酸ナトリウムは関東化学社製の残留農薬・PCB 試薬用を用いた。水酸化カリウムと塩化ナトリウムは特級、エタノールは和光純薬工業社製のダイオキシン類分析用を使用した。

2. 機器および使用条件

2.1 高分解能ガスクロマトグラフ・質量分析計 (HRGC/HRMS)

HRGC/HRMS では、GC には Agilent 社製の 6890N を、MS には Waters 社製 AutoSpec Premier を使用した。

3. 実験操作

3.1 OH-PCBs (非誘導体化) の測定におけるキャピラリーカラムの検討

本研究では、OH-PCBs を前処理で誘導体化せず、OH-PCBs を直接的に HRGC/HRMS に注入して測定する方法 (非誘導体化法) を検討した。

表 2 に示す 19 種類のキャピラリーカラムを用い、OH-PCB の測定に最適なキャピ

ラリーカラムを選定した。これらの製品を1本ずつ HRGC/HRMS に装着し、表3に示す装置条件下でキャピラリーカラム検討溶液 1 μ L を注入し測定した。得られたマスクロマトグラム上の各異性体のピーク形状やピーク分離を確認・比較し、最適なキャピラリーカラムを決定した。

3.2 OH-PCBs (非誘導体化) の測定条件の検討

3.1 項の実験操作で選定した最適なキャピラリーカラムを HRGC/HRMS に装着し、GC の注入口温度や昇温条件、MS の測定条件の最適化を行った。得られた最適条件を用いて、38 種類の OH-PCBs を測定し、マスクロマトグラムによりピークの同定を行った。また、OH-PCBs の検量線を作成し、装置の検出下限を求めた。

3.3 OH-PCBs の誘導体化の検討

一般的に、環境中の OH-PCBs 測定では水酸基をメトキシ化し、OMe-PCBs として HRGC/HRMS で定量されている。同様に、食品中の OH-PCBs 測定においても OH-PCBs をメトキシ基に誘導体化し、HRGC/HRMS で測定する方法を試みた。

OH-PCBs の誘導体化は、図1に示すように、先山らの方法に従って行った²⁾。OH-PCBs の入ったスピッツ管 (10mL) に 3N 水酸化カリウム / エタノール (10% 含水) を 0.2mL 加え、誘導体化試薬の硫酸ジメチルを 1mL 添加し、ボルテックスミキサーで十分に攪拌した (以降の攪拌操作はボルテックスミキサーで行った)。

次に、2.5mL の 3N 水酸化カリウム / エタノール (10% 含水) を発泡に注意しながら加え、攪拌した。一定時間放置した後、5% NaCl 水溶液を 2mL 添加・攪拌し、ヘキサンを 2mL 加え、生成した OMe-PCBs を液-液振とう操作によりヘキサン層へ抽出した。

さらに遠心分離 (3000rpm、5 分間) を行い、分離した上澄みのヘキサン層を分取した。この抽出操作を3回行い、得られたヘキサン層を無水硫酸ナトリウムで脱水し、窒素ガスを穏やかに吹き付けて濃縮した。ヘキサン層が乾固する寸前で濃縮を止め、シリンジスパイク溶液 100 μ L を添加し、HRGC/HRMS 測定溶液とした。

3.4 OMe-PCBs (OH-PCBs の誘導体) の測定条件の検討

一般的に、OH-PCBs は水酸基をメトキシ化し、OMe-PCBs として HRGC/HRMS で定量されている。そこで食品中の OH-PCBs 測定においても OH-PCBs をメトキシ体に誘導体化し、HRGC/HRMS で測定する方法を検討した。まず OMe-PCBs の HRGC/HRMS 測定条件を検討した。また、38 種類の OH-PCBs 同族体を OMe-PCBs に誘導体化し、各 OMe-PCBs のピークの同定を行った。さらに OMe-PCBs 標準溶液を用いて検量線を作成し、検出下限を求めた。この結果から、OH-PCBs と OMe-PCBs の装置検出下限を比較・検証した。

C. 研究結果及び考察

1. OH-PCBs (非誘導体化) の測定におけるキャピラリーカラムの検討

表2に示した19種類のキャピラリーカラムを用い、表3の機器条件下でキャピラリーカラム検討用溶液を測定した。得られたマスクロマトグラムを図2-1~2-19に示す。

マスクロマトグラムが膨大であるため、各キャピラリーカラムのマスクロマトグラムより、①各異性体がピークとして検出されていること、②ピークの形状が良好であること (ガウス分布型に近似していること)、③ピークが定量可能なレベル (強度) であること、の3つの観点からキャピラリーカラムの分析適合性を評価した。結果は

表4に示す通りで、(5%フェニル)-メチルポリシロキサンを中心として100%ジメチルポリシロキサン、(50%フェニル)メチルポリシロキサン、(65%フェニル)ポリシロキサン及びポリエチレングリコールを液相とする製品の適合性が高かった。また、すべての液相に共通して、OH-PCBsの塩素数が増大するとピークのテーリングが大きくなる傾向が認められた。ただし、HP5(長さ15m、内径0.32mm、膜厚0.25 μ m)だけは、塩素数が少ないほどテーリングの減少が認められ、他のキャピラリーカラムと逆の傾向を示した。DB5では、長さ30m、内径0.25mm、膜厚0.1 μ mを基準として長さ、内径、膜厚を変えたところ、キャピラリーカラムの原理に従い、長さが短く、内径が大きく、膜厚が薄いほど、OH-PCBsの溶出時間が早くなった。液相に(5%フェニル)メチルポリシロキサンを有する8銘柄の製品のうち、DB5、HP5、DB5MS及びENV5MSではOH-PCBs測定は困難であった。またSLB5MSでは、ほぼ理想的なピークが得られたが、多少のテーリングが存在するため、OH-PCBsの定量にはやや不向きであった。HP5MS、VF5MS及びVF5htの3製品では、定量可能なピークが得られた。

今回、(5%フェニル)メチルポリシロキサン系の液相を有する多数のキャピラリーカラムを検討したが、同じ系統の液相であっても、メーカーや商品の違いにより分離能が大きく異なることが分かった。各メーカーにおいてキャピラリーカラムのカタログなどでは、(5%フェニル)メチルポリシロキサン系の液相に関してはすべて「類似品」として扱われているが、OH-PCBsを測定する上では大きな差が観察され、性能の違いが認められた。当初、OH-PCBs分析において、ビフェニル骨格における置換塩素数が少ないほど水酸基

の影響で相対的に極性が大きくなって低極性カラムでは測定し難くなり、逆に塩素数の増大と共に定量しやすくなると想定していた。しかし実際には高塩素のOH-PCBsでの測定が困難であり、想定と異なる結果が得られた。

結果として、図2及び表4で示すように、HP5MS、VF5MS及びVF5htのキャピラリーカラムでは、OH-PCBsの定量が可能であり、これらの製品をOH-PCBs測定用のキャピラリーカラムに採用することにした。

2. OH-PCBs(非誘導体化)の測定条件の検討

2.1 リテンションギャップの適用

一般的に、ピークのテーリング、リーディング等、ピーク形状が悪い場合、リテンションギャップとして不活性シリカキャピラリーカラムをGCの注入口と分析用キャピラリーカラムの間に接続すると形状が改善するケースが多い。そこで、VF5MS(長さ30m、内径0.25mm、膜厚0.1 μ m)のキャピラリーカラムの前に、同径の不活性シリカキャピラリーカラム(長さ2m)をリテンションギャップとして使用した。キャピラリーカラム検討用溶液を表3の分析条件下で注入し、リテンションギャップの効果を調べた。

その結果、図3に示すようにリテンションギャップを用いると塩素数の増大と共に、ピークのテーリングがより酷くなり、期待した効果が得られなかった。VF5MSを用いるOH-PCBsの測定では、リテンションギャップの使用によりピーク形状を改善することはできなかった。

2.2 GCの条件検討

VF5MS(長さ30m、内径0.25mm、膜厚0.1 μ m)を用いたOH-PCBs測定のGC条件

の最適化を行った。平成 21 年度の厚生労働科学研究費補助金、食品の安心・安全確保推進研究事業における「ダイオキシン類等の有害化学物質による食品汚染実態の把握に関する研究 -食品中ダイオキシン類および PCBs の迅速一斉分析法の検討-」において⁶⁾、GC の昇温条件で初期温度がピーク形状に大きな影響を与えたことから、OH-PCBs の測定条件でも GC の初期温度の検討を行った。初期温度の検討には、38 種類の OH-PCBs の標準溶液を用いた。

標準溶液の測定条件は表 5 に示す通りであるが、GC カラムオープンの初期温度を 80℃から 160℃まで 20℃間隔で段階的に変えて（他の設定条件は一定）測定を繰り返し行い、得られたマスクロマトグラムを比較した。MS における各異性体のモニタリオンは表 6 に示す。

GC カラムオープンの初期温度を変化させた時の OH-MonoCBs のクロマトグラムの比較を図 4 に、OH-TetraCBs のクロマトグラムの比較を図 5 に、OH-HexaCBs のクロマトグラムを図 6 に示す。図 4 の OH-MonoPCBs では、初期温度が高温になるほど、ピークのテーリングが顕著であり、初期温度が低いほどピーク形状は良好であった。反対に、図 6 に示すように塩素数が多い OH-HexaCBs では、初期温度が高ければシャープなピークが得られ、初期温度が低ければピークにリーディングが見られた。図 5 の OH-TetraCBs では、初期温度が低ければテーリングを起こし、初期温度が高ければピークの割れが見られた。

図 4～図 6 で示すように、初期温度が 120℃であれば、1 塩素から 7 塩素までの OH-PCBs の定量が可能であることが分かった。よって、VF5MS（長さ 30m、内径 0.25mm、膜厚 0.1μm）を HRGC/HRMS に装着して行う OH-PCBs 測定は、表 5 に示す GC 条件で確定した。

2.3 38 種類の OH-PCBs の同定

VF5MS（長さ 30m、内径 0.25mm、膜厚 0.1μm）を用いて、表 1 で示した 38 種類の OH-PCBs を、表 7 に示すような 10 系統の標準溶液に分け、各標準溶液を測定した。その結果、図 7 に示すような 38 種類の OH-PCBs のマスクロマトグラムが得られ、各々の OH-PCBs の同定が可能であった。

表 8 は、図 7 のマスクロマトグラム上のピーク番号に対応した異性体名とリテンションタイムを示す。ピーク番号 19 の 4'-OH-CB#72 とピーク番号の 20 の 4'-OH-CB#50 は未分離であったが、その以外の 36 種類の OH-PCBs 同族体を分離することが可能であった。

3. OH-PCBs の誘導体化と OMe-PCBs (OH-PCBs の誘導体) の測定条件の検討

本研究では、食品中の OH-PCBs を測定することが目的である。現在、環境試料や血液試料中 OH-PCBs 分析では、前処理の工程で誘導体化を行い OMe-PCBs として定量する方法が報告されている。

そこで本項では、食品中においても同様に、OH-PCBs を OMe-PCBs に誘導体化して測定する方法を実施した。これまでに OH-PCBs の誘導体化試薬としては、硫酸ジメチルやトリメチルシリルジアゾメタン等の使用が報告されている^{2), 7)}。ここでは、硫酸ジメチルによる誘導体化効率が高いとの報告（松本ら）が既になされていることから⁸⁾、誘導体化試薬に硫酸ジメチルを選択した。図 1 の操作フローに従って、表 6 に示す標準溶液と 38 種類の OH-PCBs 混合標準溶液を処理し、OH-PCBs の誘導体化反応を行った。

一般的に OH-PCBs の誘導体化物である OMe-PCBs の HRGC/HRMS 測定で使用さ

れるキャピラリーカラムは、HT8-PCB（関東化学社製）である。しかし、本検討では OH-PCBs と OMe-PCBs の同時定量を目的として、OH-PCBs の測定可能な VF5MS（長さ 30m、内径 0.25mm、膜厚 0.1 μ m）を用い、表 5 に示した OH-PCBs と同様の GC 条件で OMe-PCBs 測定を試みた。

測定には 2.3 項と同様に 10 系統の誘導体化標準溶液（表 7）を使用した。また MS における OMe-PCBs の各異性体のモニターイオンは表 9 に示す通りであった。

結果として、図 8 に示すような 38 種類の OMe-PCBs のマスプロマトグラムが得られた。個別の OMe-PCBs のアサインが可能で、38 種類の OMe-PCB を定量することが可能であった。

表 10 は、図 8 のマスプロマトグラム上のピーク番号に対応した異性体名とリテンションタイムを示す。尚、図 7 と図 8 のクロマトグラムのピーク番号は同じ PCB 骨格を持つ異性体である。図 7 に示すように、ピーク番号 7（4-OMe-CB#14）と 9（3'-OMe-CB#9）、ピーク番号 18（2'-OMe-CB#65）と 20（4'-OMe-CB#50）及びピーク番号 29（4'-OMe-CB#101）と 32（4'-OMe-CB#106）は未分離であったが、それ以外の異性体は分離することが可能であった。

OH-PCBs と OMe-PCBs のクロマトグラムを比較すると、水酸基をメトキシ基に誘導体化することでピークの溶出順位が変化した。本検討では、溶出順位の変化の規則性を見出すことはできなかった。

また、図 8 に示すようにクロマトグラム上に 38 本のピークが確認されたことから、38 種類の OH-PCBs は図 1 に示す操作により、すべて OMe-PCBs に誘導体化されることが分かった。誘導体化の反応効率及び反応の安定性に関しては検討していないが、松本らの報告によると⁸⁾、反応効率

は同族体間で異なり、塩素数の増大と共に低下する。誘導体化法の今後の課題として、反応効率と反応の安定性を検討する必要がある。

4. OH-PCBs 及び OMe-PCBs の装置における検出下限の検討

キャピラリーカラムとして VF5MS（長さ 30m、内径 0.25mm、膜厚 0.1 μ m）を用いて表 1 に示す 38 種類の OH-PCBs 標準溶液及び 7 種類の OMe-PCBs 標準溶液を HRGC/HRMS で測定し、OH-PCBs 及び OMe-PCBs の検量線を作成し、装置検出下限値を算出した。

検量線の作成では、OH-PCBs 及び OMe-PCBs ともに各異性体濃度 0.2、0.5、2、10、50ng/mL に対して 10ng/mL の ISS を含む 5 段階の混合標準溶液を測定した。装置検出下限値の算出には、検量線最下点の混合標準溶液（各異性体濃度 0.2ng/mL、ISS 濃度 10ng/mL）を測定して算出した。HRGC/HRMS では、表 5 の GC 条件で、OH-PCBs は表 6 に示すモニターイオンで、OMe-PCBs は表 9 に示すモニターイオンで測定した。

OH-PCBs 及び OMe-PCBs の検量線を作成した結果、すべての同族体で原点を通る $R^2=0.99$ 以上の直線が得られた。算出した装置検出下限を表 11 に示す。OH-PCBs と OMe-PCBs の装置検出下限を比較したところ、総じて OH-PCBs では 0.02~0.2 pg、OMe-PCBs の検出下限は 0.02~0.05 pg の範囲であった。各塩素数において同じ PCB 骨格で検出下限を比較すると、PCB#26 及び PCB#72 骨格では水酸化体の感度が高かった。PCB#101 骨格では同等の感度であった。PCB#3、PCB#9、PCB#159 及び PCB#172 骨格ではメトキシ体の感度が高かった。特に、OH-CB#172 では OMe-CB#172 に比べ 5 倍感度が低かった。従って OH-PCBs の

検出感度は、6 塩素から塩素数が増大するにつれて低下すると推察される。

結果として、OH-PCBs と OMe-PCBs の装置検出感度を比較すると、OMe-PCBs の感度がやや優れていた。しかし、誘導体化法では反応効率が同族体によって異なり、反応の安定性も明らかでなく、これらは測定精度に少なからず影響を及ぼす要因である。よって食品中の OH-PCBs 分析では、非誘導体化法の採用に十分な優位性があると考えられる。

D. 結論

本分担研究では、食品中の PCB 代謝物の分析法の開発を行った。食品から効率的に微量の OH-PCBs を抽出し、適切に夾雑成分を除去し、高い精度で計測できる手法の確立を目的とした。

今年度は、OH-PCBs の機器分析法を開発した。一般的に、OH-PCBs は OMe-PCBs に誘導体化し、HRGC/HRMS で測定されている。しかし、誘導体化反応は、異性体の水酸基の位置や塩素数の違いにより反応効率が異なること、また反応のバラツキも測定精度に加味されることから、誘導体化せずに OH-PCBs を測定することが望ましい。したがって、本研究では OH-PCBs を誘導体化せずに直接測定することを検討した。

まず、OH-PCBs 測定に用いる GC のキャピラリーカラムの選択が重要な検討項目であった。キャピラリーカラムの選択では、長さ、内径、膜厚、液相、メーカーの違いも含め 19 種類のキャピラリーカラムを試した。得られたマスキロマトグラム上のピーク形状等を判断基準に検討したところ、HP5MS、VF5MS 及び VF5ht であれば、誘導体化せず OH-PCBs の定量が可能と考えられた。これらのキャピラリーカラムはすべて (5%フェニル) メチルポリシロキサン系の液相であったが、メーカーの異なる

類似した液相のキャピラリーカラムでは定量レベル (強度) に至らないものもあり、類似品でも OH-PCBs 分析では測定結果が大きく変わることが分かった。

OH-PCBs 分析用のキャピラリーカラムとして VF5MS (長さ 30m、内径 0.25mm、膜厚 0.1 μ m) を採用して GC 条件の最適化を行った結果、38 種類の OH-PCBs をクロマトグラム上で同定することができた。

また、OH-PCBs を OMe-PCBs に誘導体化して測定する方法についても検討した。先山らにより報告されている方法で誘導体化し、OH-PCBs 測定で用いたものと同様のカラム (VF5MS、長さ 30m、内径 0.25mm、膜厚 0.1 μ m) と GC 条件を用いて OMe-PCBs を測定した。その結果、38 種類の OH-PCBs がすべて OMe-PCBs に誘導体化されたことが確認され、これらをクロマトグラム上でアサインすることができた。

OH-PCBs と OMe-PCBs の標準液を用いて、各異性体の装置における装置検出下限を比較したところ、OH-PCBs の検出下限は 0.02~0.2 pg、OMe-PCBs の検出下限は 0.02~0.05 pg の範囲であった。OH-PCBs の感度は、従来法である OMe-PCB に比べ多少劣るものの、誘導体化に伴う反応効率や反応のバラツキを考え合わせると、遜色ない結果が得られており、OH-PCBs を誘導体化せずに測定する方法の実用性に見通しを得ることができた。

E. 参考文献

- 1) Ueno D., Darling C., Alae M., Campbell L., Pacepavicius G., Teixeira C., Muir D. Detection of Hydroxylated Poly- chlorinated Biphenyls (OH-PCBs) in the Abiotic Environment: Surface Water and Precipitation from Ontario, Canada. *Environ. Sci. Technol.* (2007) 41, 1841- 1848
- 2) 先山孝則、奥村為男、森義明 水環境中

の水酸化 PCB について、第 14 回環境化学
討論会要旨集、(2005)498-499

- 3) Kunisue T., Tanabe S. Hydroxylated polychlorinated biphenyls (OH-PCBs) in the blood of mammals and birds from Japan: lower chlorinated OH-PCBs and profiles. *Chemosphere* (2009) 74, 950-961
- 4) William P. Flanagan, Ralph J. May, Metabolite detection as evidence for naturally occurring aerobic PCB biodegradation in Hudson River sediments. *Environ. Sci. Technol.* (1993) 27, 2207-2212
- 5) 黒田純子、永田功、黒田洋一郎 低濃度水酸化 PCB による甲状腺ホルモン依存性小脳プルキンエ細胞発達分化の阻害 環境ホルモン学会研究発表会要旨集、6、374
- 6) 平成 21 年度の厚生労働科学研究費補助金、食品の安心・安全確保推進研究事業における「ダイオキシン類等の有害化学物質に

よる食品汚染実態の把握に関する研究 -
食品中ダイオキシン類および PCBs の迅速
一斉分析法の検討」

- 7) Shiki Y., Hara A., Enomoto T., Hasegawa J., Matsuda M., Kawano M., Morita M., Hydroxylated Polychlorinated Biphenyls in Great Cormorant (*Phalacrocorax Carbo*). *Organohalogen Compounds*, (2007) 69, 1499-1502.
- 8) 松本幸一郎、井関直政、亀田洋、鹿島勇治、塩崎卓哉 水酸化 PCBs (OH-PCBs) 分析における効果的な誘導体化方法 日本環境衛生センター所報 (2006) 33、49-54

F. 研究業績

なし

表1 OH-PCBs及びOMe-PCBsの標準物質

OH-PCBs (38 Isomers)		OMe-PCBs (7 Isomers)	
2-OH-5-Chlorobiphenyl	6-OH-CB2	4-Methoxy-4'-Chlorobiphenyl	4'-OMe-CB3
4-OH-2-Chlorobiphenyl	4-OH-CB1	4-Methoxy-2',5'-dichlorobiphenyl	4'-OMe-CB9
4-OH-3-Chlorobiphenyl	4-OH-CB2	4-Methoxy-2',3,5'-trichlorobiphenyl	4'-OMe-CB26
4-OH-4'-Chlorobiphenyl	4'-OH-CB3	4-Methoxy-2',3,5,5'-tetrachlorobiphenyl	4'-OMe-CB72
2-OH-2',5'-dichlorobiphenyl	2'-OH-CB9	4-Methoxy-2,2',4',5,5'-pentachlorobiphenyl	4'-OMe-CB101
3-OH-2',5'-dichlorobiphenyl	3'-OH-CB9	4-Methoxy-2',3,3',4',5,5'-hexachlorobiphenyl	4'-OMe-CB159
4-OH-2',5'-dichlorobiphenyl	4'-OH-CB9	4'-Methoxy-2,2',3,3',4,5,5'-heptachlorobiphenyl	4'-OMe-CB172
4-OH-3,5-dichlorobiphenyl	4-OH-CB14	キャピラリーカラム検討用OH-PCBs (7 Isomers)	
2-OH-2',3'-dichlorobiphenyl	2'-OH-CB5	4-OH-2,2',6,6'-tetrachlorobiphenyl	4'-OH-CB#54
2-OH-3',4'-dichlorobiphenyl	2'-OH-CB12	4-OH-2,2',4',6,6'-pentachlorobiphenyl	4'-OH-CB#104
2-OH-2',4',6'-trichlorobiphenyl	2'-OH-CB30	4-OH-2,3,3',4',5-pentachlorobiphenyl	4'-OH-CB#107
2-OH-2',5,5'-trichlorobiphenyl	6'-OH-CB18	3-OH-2,2',3',4,4',5-hexachlorobiphenyl	3'-OH-CB#138
3-OH-2',4',6'-trichlorobiphenyl	3'-OH-CB30	4-OH-2,2',3,4',5,5'-hexachlorobiphenyl	4'-OH-CB#146
4-OH-2',3,5'-trichlorobiphenyl	4'-OH-CB26	4-OH-2,2',3,4',5,5',6-heptachlorobiphenyl	4'-OH-CB#187
4-OH-2',4',6'-trichlorobiphenyl	4'-OH-CB30	4'-OH-2,2',3,3',4,5,5'-heptachlorobiphenyl	4'-OH-CB#172
2-OH-2',3',4',5'-tetrachlorobiphenyl	2'-OH-CB61	シリンジスパイク ISS	
2-OH-2',3',5',6'-tetrachlorobiphenyl	2'-OH-CB65	¹³ C ₁₂ -2,3',4',5-Tetrachlorobiphenyl	¹³ C ₁₂ -PCB#70
2-OH-2',4',5',6'-tetrachlorobiphenyl	6'-OH-CB69	¹³ C ₁₂ -2,3,3',5,5'-pentachlorobiphenyl	¹³ C ₁₂ -PCB#111
3-OH-2',3',4',5'-tetrachlorobiphenyl	3'-OH-CB61	¹³ C ₁₂ -2,2',3,4,4',5'-Hexachlorobiphenyl	¹³ C ₁₂ -PCB#138
3-OH-2',3',5',6'-tetrachlorobiphenyl	3'-OH-CB65	¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6,7,9-Heptachlorodibenzofuran	¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6,7,8-HpCDF
3-OH-2',3',5',6'-tetrachlorobiphenyl	3'-OH-CB65		
4-OH-2,2',4',6'-tetrachlorobiphenyl	4'-OH-CB50		
4-OH-2',3',4',5'-tetrachlorobiphenyl	4'-OH-CB61		
4-OH-2',3,4',6'-tetrachlorobiphenyl	4'-OH-CB69		
4-OH-2',3,5,5'-tetrachlorobiphenyl	4'-OH-CB72		
4-OH-2',3',5',6'-tetrachlorobiphenyl	4'-OH-CB65		
2-OH-2',3',4',5,5'-pentachlorobiphenyl	6'-OH-CB106		
2-OH-2',3',5,5',6'-pentachlorobiphenyl	6'-OH-CB112		
4-OH-2,2',3',4',5'-pentachlorobiphenyl	4'-OH-CB86		
4-OH-2,2',3',5',6'-pentachlorobiphenyl	4'-OH-CB93		
4-OH-2',3,3',4',5'-pentachlorobiphenyl	4'-OH-CB106		
4-OH-2',3,3',5',6'-pentachlorobiphenyl	4'-OH-CB112		
4-OH-2',3,4',5,6'-pentachlorobiphenyl	4'-OH-CB121		
3-OH-2,2',4',5,5'-pentachlorobiphenyl	3'-OH-CB101		
4-OH-2,2',4',5,5'-pentachlorobiphenyl	4'-OH-CB101		
2-OH-2',3,4',5,6'-pentachlorobiphenyl	6'-OH-CB101		
4-OH-2',3,3',4',5,5'-hexachlorobiphenyl	4'-OH-CB159		
4-OH-2',3,3',5,5',6'-hexachlorobiphenyl	4'-OH-CB165		
4'-OH-2,2',3,3',4,5,5'-heptachlorobiphenyl	4'-OH-CB172		

表2 検討したキャピラリーカラムの一覧表

キャピラリーカラム	長さ (m)	内径 (mm)	膜厚 (μm)	液相	製造元
DB1	30	0.32	0.1	100% ジメチルポリシロキサン	Agilent Technologies
DB5	15	0.25	0.1	(5%-フェニル)-メチルポリシロキサン	Agilent Technologies
DB5	30	0.25	0.1	(5%-フェニル)-メチルポリシロキサン	Agilent Technologies
DB5	30	0.25	0.25	(5%-フェニル)-メチルポリシロキサン	Agilent Technologies
DB5	30	0.32	0.1	(5%-フェニル)-メチルポリシロキサン	Agilent Technologies
HP5	15	0.32	0.25	(5%-フェニル)-メチルポリシロキサン	Agilent Technologies
HP5	30	0.32	0.25	(5%-フェニル)-メチルポリシロキサン	Agilent Technologies
DB5MS	30	0.32	0.25	(5%-フェニル)-メチルポリシロキサン	Agilent Technologies
HP5MS	30	0.25	0.25	(5%-フェニル)-メチルポリシロキサン	Agilent Technologies
HP5MS	15	0.25	0.1	(5%-フェニル)-メチルポリシロキサン	Agilent Technologies
SLB5MS	30	0.25	0.1	(5%-フェニル)-メチルポリシロキサン	Supelco
SLB5MS	30	0.25	1.0	(5%-フェニル)-メチルポリシロキサン	Supelco
ENV5MS	30	0.25	0.1	(5%-フェニル)-メチルポリシロキサン	関東化学
VF5MS	30	0.25	0.1	(5%-フェニル)-メチルポリシロキサン	Agilent Technologies
VF5ht	30	0.25	0.1	(5%-フェニル)-メチルポリシロキサン	Agilent Technologies
VF5ht	15	0.32	0.1	(5%-フェニル)-メチルポリシロキサン	Agilent Technologies
DB17	30	0.25	0.25	(50%-フェニル)-メチルポリシロキサン	Agilent Technologies
Quadrex 007-65HT	25	0.25	0.1	(65%-フェニル)-メチルポリシロキサン	Quadrex
Supelco WAX10	15	0.25	0.25	ポリエチレングリコール	Supelco

表3 キャピラリーカラム検討における GC/MS 条件

		GC/MS条件
注入口温度		280 °C
注入方法		Splitless
注入量		1 μL
Heガス流量		1.3 mL/min
昇温条件		120°C(1min)→10°C/min→310°C(任意)
イオン源温度		270 °C
トランスファー温度		280 °C
モニターイオン	OH-TetraCB	307.9143
	OH-PentaCB	341.8754
	OH-HexaCB	375.8364
	OH-HeptaCB	409.7974

OH-PCBs標準溶液
 ↓
 3N KOH / エタノール (10%含水) 0.2mL
 ↓ (攪拌) 1
 硫酸ジメチル 0.5mL
 ↓ (攪拌)
 3N KOH / エタノール (10%含水) 0.5mL × 3
 ↓ (攪拌)
 3N KOH / エタノール (10%含水) 1mL
 ↓ (攪拌)
 ↓ (一定時間放置)
 5% NaCl水溶液 2mL
 ヘキサン 2mL × 3
 ↓ (攪拌) 液液振とう抽出
 ヘキサン層分取

ヘキサン層
 5% NaCl水溶液 2mL
 ↓ (攪拌) 水洗
 無水硫酸ナトリウム 2g
 ↓ (脱水)
 窒素ガス吹き付け
 ↓ (濃縮・乾固)
 シリンジスパイク溶液 100 μL

図1 OH-PCBs の誘導体化

表4 OH-PCBs 測定用キャピラリーカラムの検討一覧表

キャピラリーカラム	長さ (m)	内径 (mm)	膜厚 (μ m)	結果		備考
				ピークの検出	ピーク形状 定量可能	
DB1	30	0.32	0.1	×	×	すべて未検出
DB5	15	0.25	0.1	△	×	塩素数の増大と共に、多少のテーリング有
DB5	30	0.25	0.1	○	×	塩素数の増大と共に、多少のテーリング有
DB5	30	0.25	0.25	×	×	すべて未検出
DB5	30	0.32	0.1	△	×	未検出
HP5	15	0.32	0.25	○	×	塩素数の増大と共に、多少のテーリング有
HP5	30	0.32	0.25	○	×	塩素数の増大と共に、多少のテーリング有
DB5MS	30	0.32	0.25	△	×	未検出
HP5MS	30	0.25	0.25	○	○	定量可能
HP5MS	15	0.25	0.1	○	○	定量可能
SLB5MS	30	0.25	0.1	○	○	7塩素に多少のテーリング
SLB5MS	30	0.25	1.0	○	×	塩素数の増大と共に、多少のテーリング有
ENV5MS	30	0.25	0.1	×	×	すべて未検出
VF5MS	30	0.25	0.1	○	○	定量可能
VF5ht	30	0.25	0.1	○	○	定量可能
VF5ht	15	0.32	0.1	○	○	定量可能
DB17	30	0.25	0.25	○	△	塩素数の増大と共に、多少のテーリング有
Quadrex 007-65HT	25	0.25	0.1	○	△	塩素数の増大と共に、多少のテーリング有
Supelco WAX10	15	0.25	0.25	△	△	塩素数の増大と共に、ピーク形状が悪くなる。 測定時間が長い(温度の制限のため)

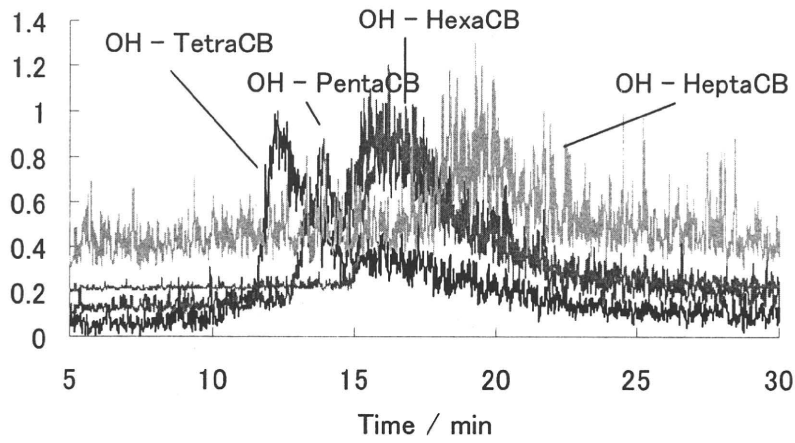


図 2-1 DB1 (長さ 15m、0.25mmI.D.、膜厚 0.1 μ m) のクロマトグラム

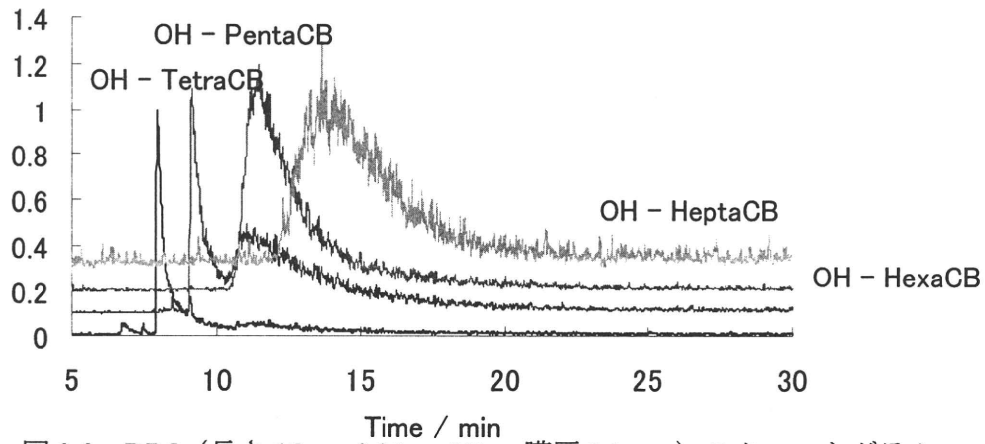


図 2-2 DB5 (長さ 15m、0.25mmI.D.、膜厚 0.1 μ m) のクロマトグラム

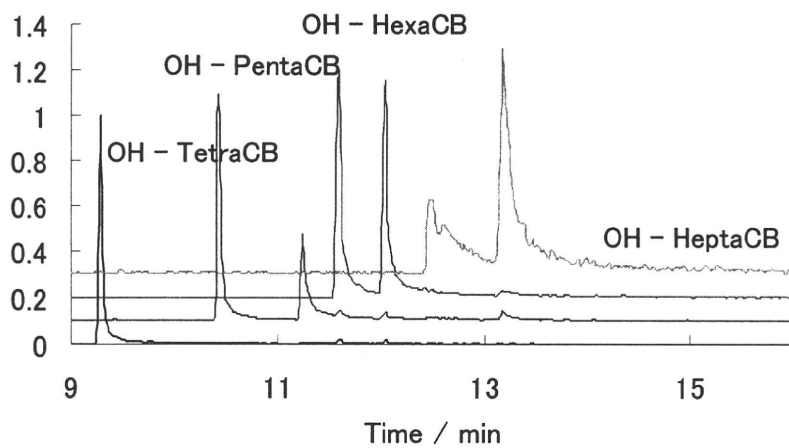


図 2-3 DB5 (長さ 30m、0.25mmI.D.、膜厚 0.1 μ m) のクロマトグラム

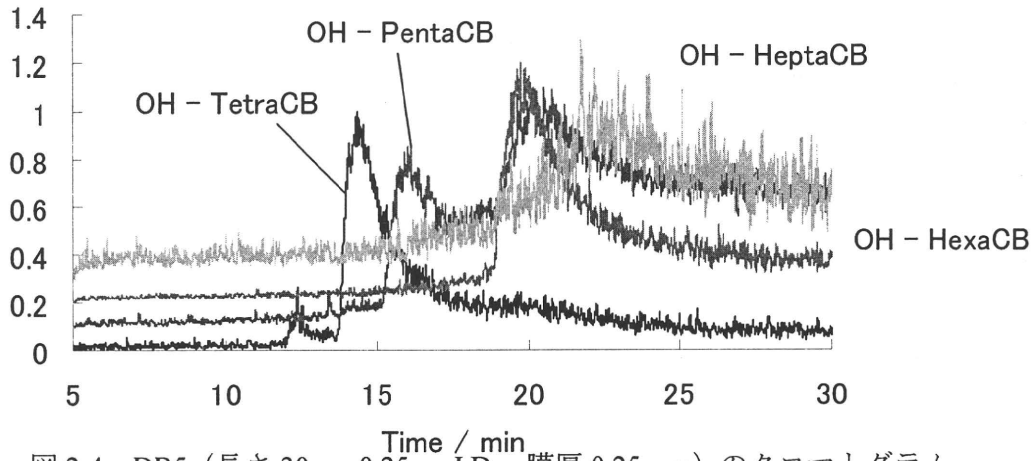


図 2-4 DB5 (長さ 30m、0.25mmI.D.、膜厚 0.25 μ m) のクロマトグラム

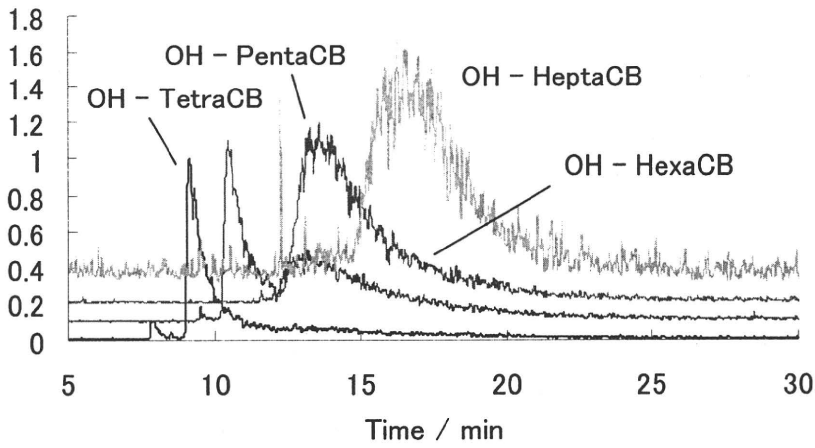


図 2-5 DB5 (長さ 30m、0.32mmI.D.、膜厚 0.1 μ m) のクロマトグラム

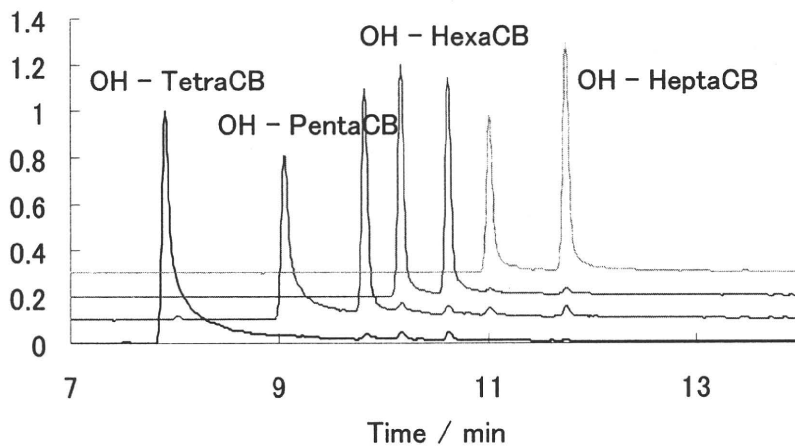


図 2-6 HP5 (長さ 15m、0.32mmI.D.、膜厚 0.25 μ m) のクロマトグラム

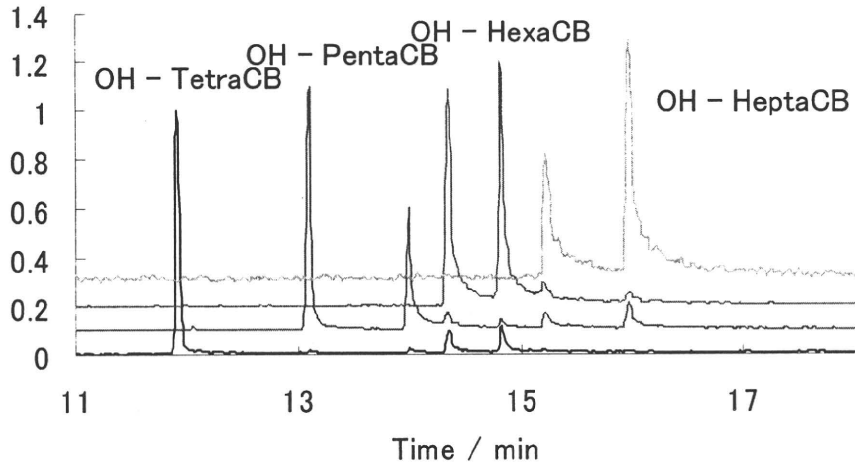


図 2-7 HP5 (長さ 30m、0.32mmI.D.、膜厚 0.25 μ m) のクロマトグラム

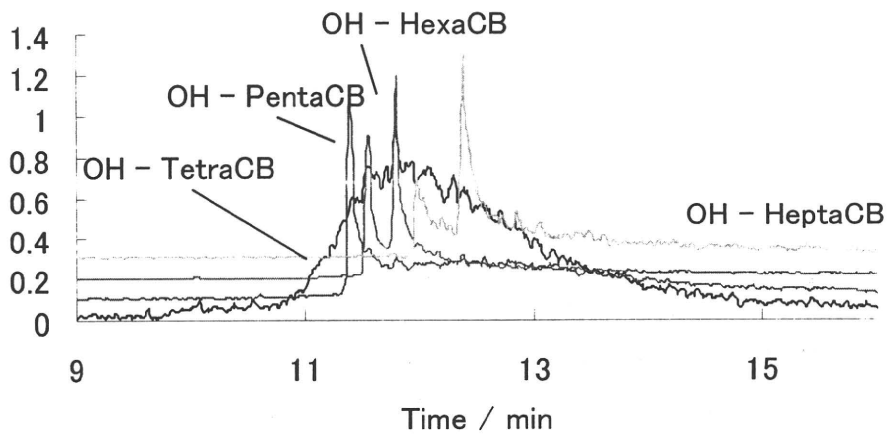


図 2-8 DB5MS (長さ 30m、0.32mmI.D.、膜厚 0.25 μ m) のクロマトグラム

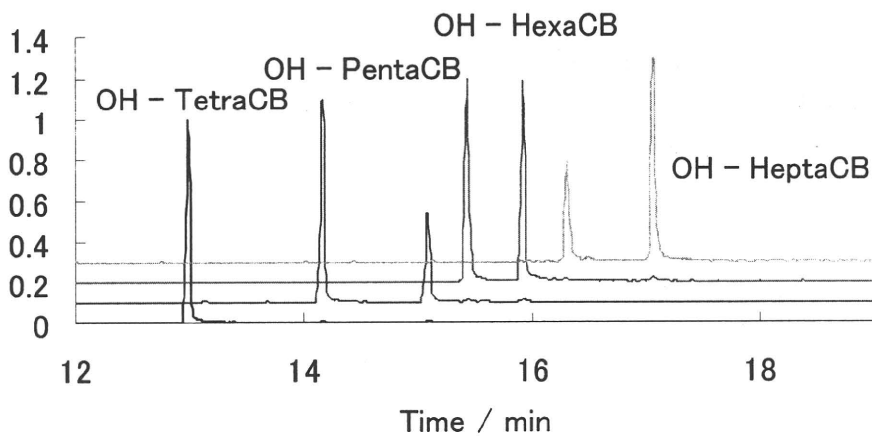


図 2-9 HP5MS (長さ 30m、0.25mmI.D.、膜厚 0.25 μ m) のクロマトグラム

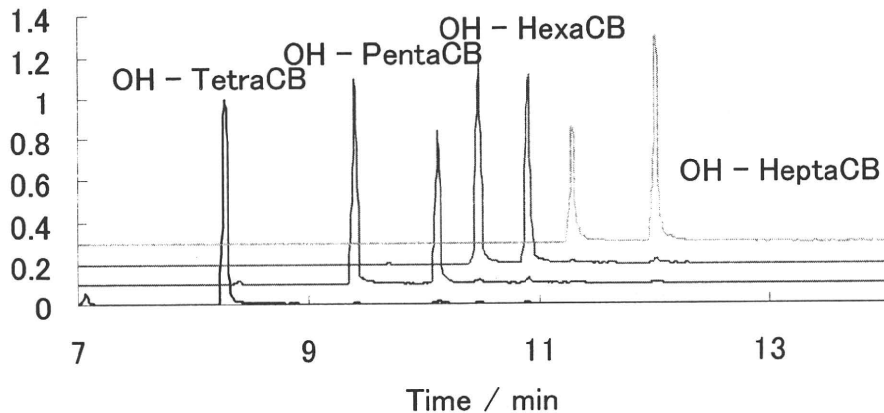


図 2-10 HP5MS (長さ 15m、0.25mmI.D.、膜厚 0.1 μ m) のクロマトグラム

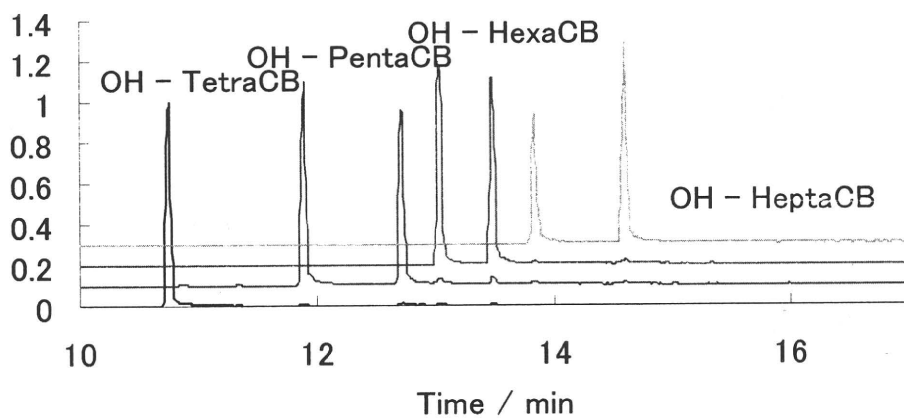


図 2-11 SLB5MS (長さ 30m、0.25mmI.D.、膜厚 0.1 μ m) のクロマトグラム

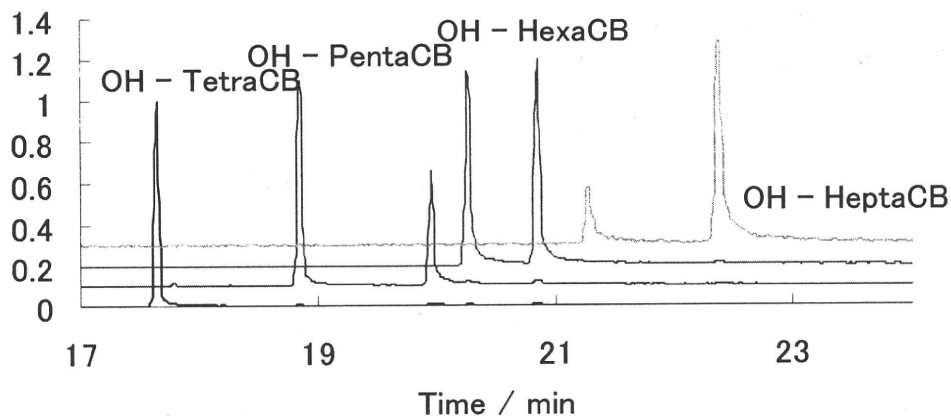


図 2-12 SLB5MS (長さ 30m、0.25mmI.D.、膜厚 1.0 μ m) のクロマトグラム

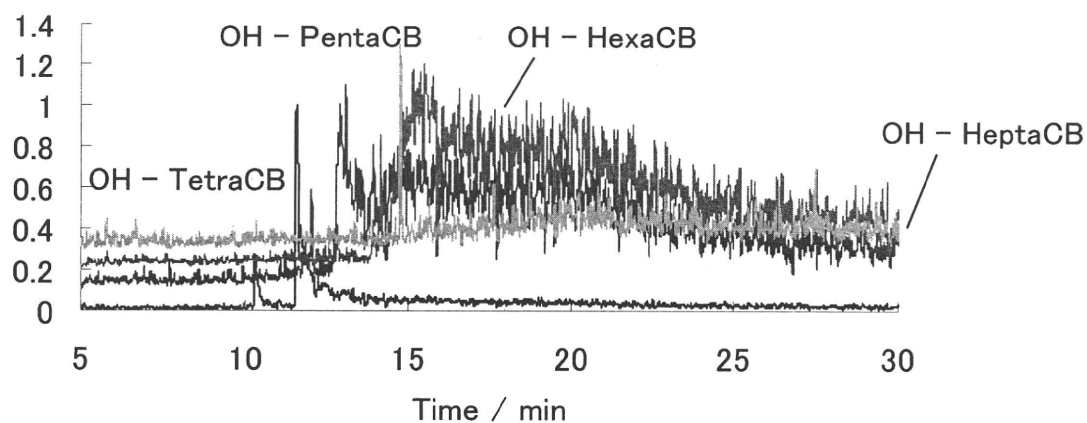


図 2-13 ENV5MS (長さ 30m、0.25mm I.D.、膜厚 0.1 μm) のクロマトグラム

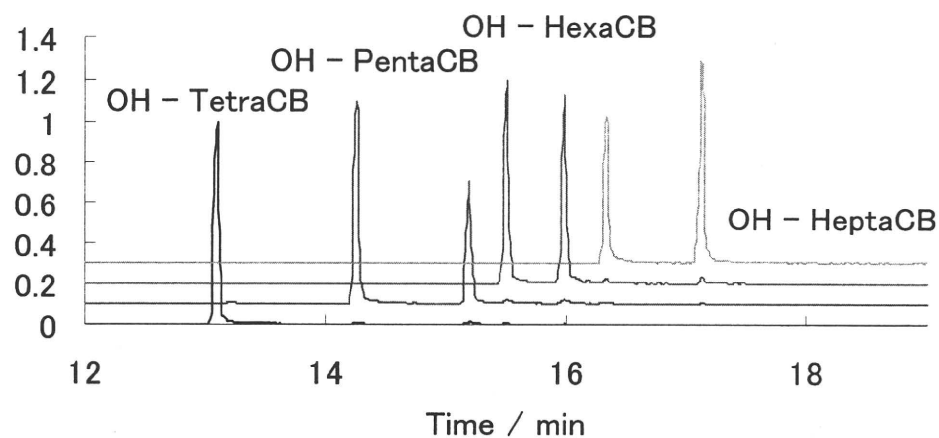


図 2-14 VF5MS (長さ 30m、0.25mm I.D.、膜厚 0.1 μm) のクロマトグラム

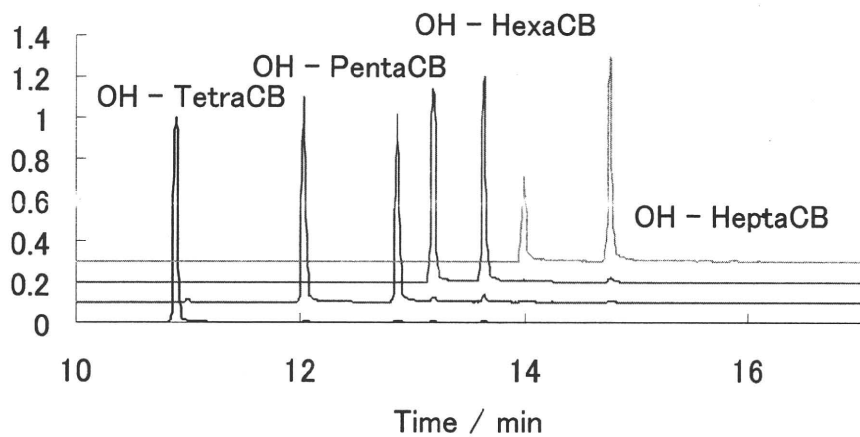


図 2-15 VF5ht (長さ 30m、0.25mm I.D.、膜厚 0.1 μm) のクロマトグラム

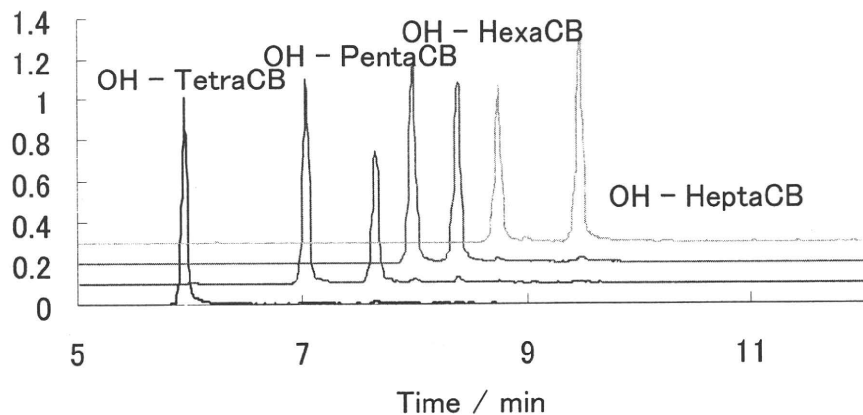


図 2-16 VF5ht (長さ 15m、0.32mmI.D.、膜厚 0.1 μ m) のクロマトグラム

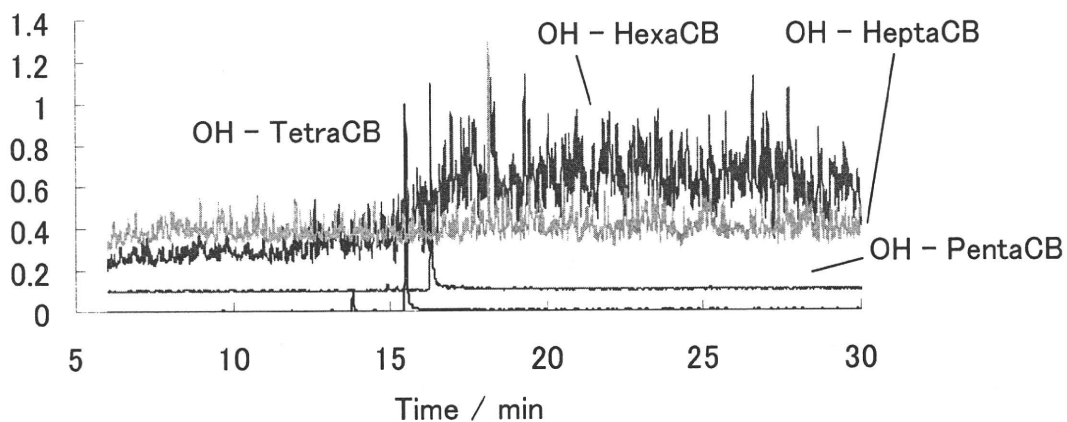


図 2-17 DB17 (長さ 30m、0.25mmI.D.、膜厚 0.25 μ m) のクロマトグラム

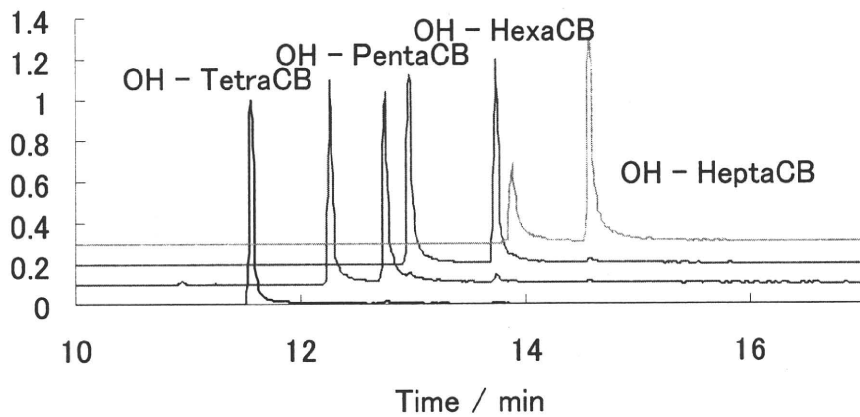


図 2-18 Quadrex 007-65ht (長さ 25m、0.25mmI.D.、膜厚 0.1 μ m) のクロマトグラム

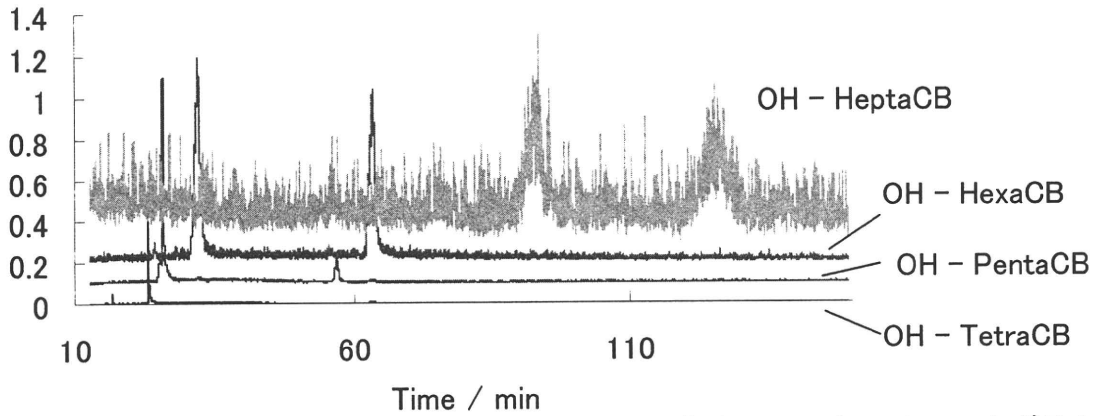


図 2-19 Supelco Wax10 (長さ 15m、0.25mmI.D.、膜厚 0.25 μ m) のクロマトグラム

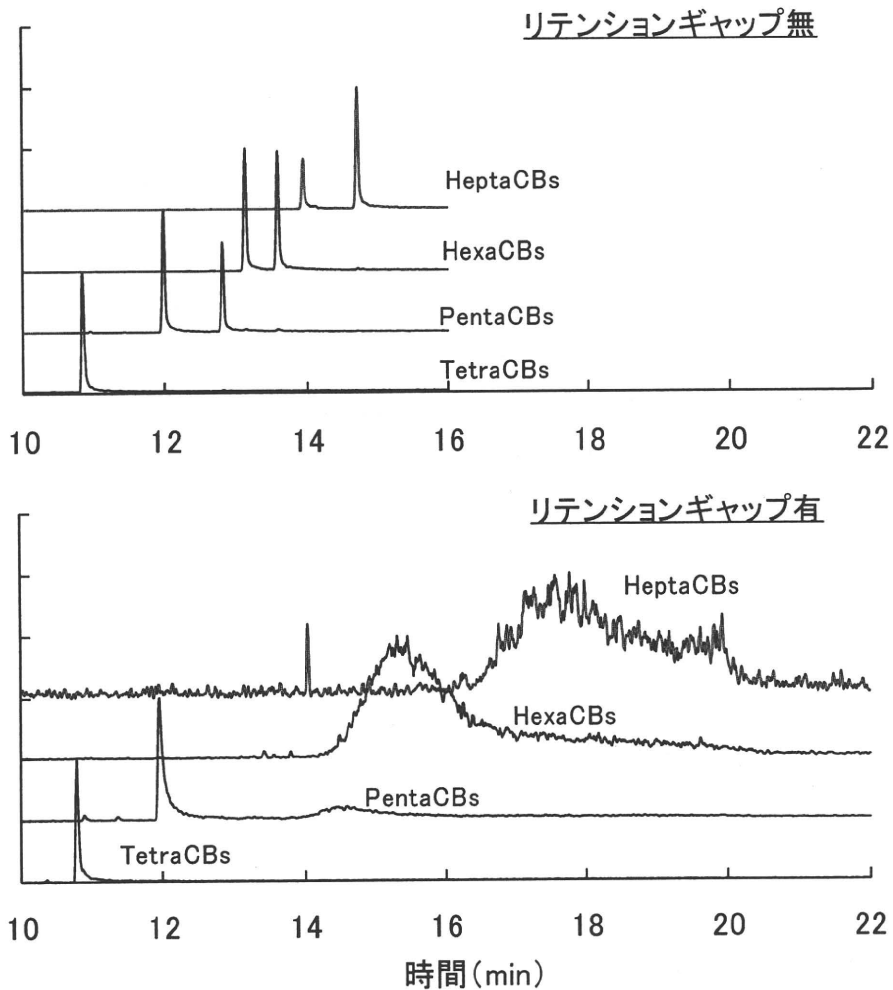


図 3 リテンションギャップ効果の検討におけるクロマトグラムの比較検討
(使用カラム VF5MS (長さ 30m、0.25mmI.D.、膜厚 0.1 μ m))

表5 HRGC/HRMS を用いた OH-PCBs 測定における GC 条件

	GC条件
注入口温度	280 °C
注入方法	Splitless
注入量	1 µL
Heガス流量	1.3 mL/min
昇温条件	120°C(1min)→30°C/min→180°C→5°C /min→275°C→40°C/min→310°C
イオン源温度	270 °C
トランスファー温度	280 °C

表6 HRGC/HRMS を用いた OH-PCBs 測定におけるモニターイオン

水酸化PCB	モニターイオン	
	定量用	確認用
Hydroxy-monochlorobiphenyl (OH-MonoCB)	204.0342	206.0312
Hydroxy-dichlorobiphenyl (OH-DiCB)	237.9952	239.9923
Hydroxy-trichlorobiphenyl (OH-TriCB)	273.9533	271.9562
Hydroxy-tetrachlorobiphenyl (OH-TetraCB)	307.9143	305.9173
Hydroxy-pentachlorobiphenyl (OH-PentaCB)	341.8754	339.8783
Hydroxy-hexachlorobiphenyl (OH-HexaCB)	375.8364	377.8334
Hydroxy-heptachlorobiphenyl (OH-HeptaCB)	409.7974	411.7945
シリンジスパイク	モニターイオン	
¹³ C ₁₂ -TetraCB	303.9597	
¹³ C ₁₂ -PentaCB	337.9207	
¹³ C ₁₂ -HexaCB	371.8817	
¹³ C ₁₂ -HpCDF	419.8220	