

環境中超微量有害化学物質の分析，検索技術の開発に関する研究

—高速溶媒抽出装置（ASE）を用いたポリ塩化ビフェニル（PCBs）  
及び残留性有機汚染物質（POPs）の同時分析の検討—

吉岡敏行，劔持堅志，浦山豊弘，藤原博一，中桐基晴（水質第二科）

【調査研究】

## 環境中超微量有害化学物質の分析，検索技術の開発に関する研究

—高速溶媒抽出装置（ASE）を用いたポリ塩化ビフェニル（PCBs）  
及び残留性有機汚染物質（POPs）の同時分析の検討—

Determination of PCBs and POPs in Sediment by ASE

吉岡敏行，劔持堅志，浦山豊弘，藤原博一，中桐基晴（水質第二科）

Toshiyuki Yoshioka, Katashi Kenmotsu, Toyohiro Urayama,

Hiroichi Fujiwara, Motoharu Nakagiri

### 要 旨

高速溶媒抽出装置（ASE）を用いた底質試料のPCBs及びPOPsの同時分析法を検討した。ASE抽出・脱硫黄処理・硫酸洗浄・硫酸シリカゲルカラムクロマトグラフィー・Gel Permeation Chromatography（GPC）の組み合わせでクリーンアップすることによりPCBsとPOPsの同時前処理が可能であった。ASE抽出では，抽出温度，溶媒組成，抽出時間等の検討を行い，抽出温度を100℃に設定した。また，POPsは風乾により損失が生じたため，湿泥でASE抽出する必要があった。

[キーワード：PCBs, POPs, ASE, 同時分析, GC/HRMS]

[Key words : PCBs, POPs, ASE, Simultaneous analysis, GC/HRMS]

## 1 はじめに

岡山県では，平成11年度から環境ホルモン物質として疑いのある物質群の環境調査を行っている。昨年度，調査対象物質に新たにPOPsが加わったことから，POPsの分析法の検討を行い，平成17年度年報<sup>1)</sup>に報告した。今回，底質の前処理の簡略化を行うため，ASEを用いたPCBsとPOPsとの同時分析法を検討したので報告する。

## 2 実験方法

### 2.1 対象物質

PCBs：209異性体

POPs：HCH（ $\alpha$ -， $\beta$ -， $\gamma$ -， $\delta$ -），HCB，

DDT（p,p'-，o,p'-），DDD（p,p'-，o,p'-），

DDE（p,p'-，o,p'-），Chlordane（cis-，trans-），

Nonachlor（cis-，trans-）

### 2.2 試薬及び器具

クリーンアップスパイク：

PCB#3-<sup>13</sup>C<sub>12</sub>， PCB#15-<sup>13</sup>C<sub>12</sub>， PCB#31-<sup>13</sup>C<sub>12</sub>，

PCB#52-<sup>13</sup>C<sub>12</sub>， PCB#77-<sup>13</sup>C<sub>12</sub>， PCB#105-<sup>13</sup>C<sub>12</sub>，

PCB#114-<sup>13</sup>C<sub>12</sub>， PCB#118-<sup>13</sup>C<sub>12</sub>， PCB#126-<sup>13</sup>C<sub>12</sub>，

PCB#153-<sup>13</sup>C<sub>12</sub>， PCB#156-<sup>13</sup>C<sub>12</sub>， PCB#157-<sup>13</sup>C<sub>12</sub>，

PCB#167-<sup>13</sup>C<sub>12</sub>， PCB#169-<sup>13</sup>C<sub>12</sub>， PCB#189-<sup>13</sup>C<sub>12</sub>，

PCB#194-<sup>13</sup>C<sub>12</sub>， PCB#206-<sup>13</sup>C<sub>12</sub>， PCB#209-<sup>13</sup>C<sub>12</sub>，  $\alpha$ -

HCH-<sup>13</sup>C<sub>6</sub>，  $\beta$ -HCH-<sup>13</sup>C<sub>6</sub>，  $\gamma$ -HCH-<sup>13</sup>C<sub>6</sub>，  $\delta$ -HCH-<sup>13</sup>C<sub>6</sub>，

p,p'-DDT-<sup>13</sup>C<sub>12</sub>， o,p'-DDT-<sup>13</sup>C<sub>12</sub>， p,p'-DDD-<sup>13</sup>C<sub>12</sub>， o,p'-

DDD-<sup>13</sup>C<sub>12</sub>， p,p'-DDE-<sup>13</sup>C<sub>12</sub>， o,p'-DDE-<sup>13</sup>C<sub>12</sub>， HCB-

<sup>13</sup>C<sub>6</sub>， trans-chlordane-<sup>13</sup>C<sub>10</sub>， cis-nonachlor-<sup>13</sup>C<sub>10</sub>，

trans-nonachlor-<sup>13</sup>C<sub>10</sub>

シリンジスパイク：PCB#8-<sup>13</sup>C<sub>12</sub>， PCB#95-<sup>13</sup>C<sub>12</sub>，

PCB#170-<sup>13</sup>C<sub>12</sub>， PCB#202-<sup>13</sup>C<sub>12</sub>

44%硫酸シリカゲル：和光純薬製，ダイオキシン類分析用

クロマト管：ガラス製，内径10mm，長さ350mm

その他の試薬は残留農薬試験用又は特級試薬を使用した。

### 2.3 分析試料

・海底質（PCB，塩素系農薬分析用－高濃度）：認証標準物質\*

\*独立行政法人産業技術総合研究所（NMIJ CRM 7304-a No.28）

認証値及び参考値の濃度範囲は表1に示す。

・環境底質：平成18年度環境ホルモン等実態調査

表1 海底質の認証値及び参考値の濃度範囲

濃度範囲 (ng/g)		認証値 (ng/g)	
1CB	0.66 ~ 1.2	p,p'-DDT	5.44
2CB	5.3 ~ 20	p,p'-DDE	5.37
3CB	90 ~ 200	p,p'-DDD	12.4
4CB	310 ~ 570	γ-HCH	5.33
5CB	160 ~ 280		
6CB	41 ~ 92		
7CB	22 ~ 36		
8CB	4 ~ 10		
9CB	0.39 ~ 0.92		
10CB	0.85 ~ 1.5		
total-PCB	634	1,212	

## 2.4 装置及び条件

### 2.4.1 高速溶媒抽出装置：ダイオネクス社製ASE300型抽出条件

- ・試料容器：66mL（底質湿泥20g+ハイドロマトリックス10g）
- ・圧力設定：1500psi
- ・抽出溶媒：アセトン：ヘキサン（1：1）
- ・温度、時間及び繰り返し回数：100℃、10分間×3回

### 2.4.2 GPC

- ・カラム：昭和電工Shodex GLNpak PAE-2000（20mmφ×300mm）
- ・移動相及び流速：シクロヘキサン：アセトン（5：95）4mL/min
- ・カラム温度：40℃
- ・注入量：2mL
- ・分取時間：14.5min～18.5min

### 2.4.3 高分解能ガスクロマトグラフ質量分析装置（GC/HRMS）：Agilent製6890型GC、JEOL製JMS700D型（高分解能二重収束型MS）

測定条件

(a) GC

- ・カラム：キャピラリーカラム（J&W製、DB-5MS）長さ60m×内径0.25mm、膜厚0.25μm
- ・昇温条件：90℃（2分）-15℃/分-160℃（0分）-5℃/分-310℃（5分）
- ・注入口温度：270℃
- ・注入法：スプリットレス法（1.5分後ページ開始）

- ・注入量：1μL
- ・キャリアガス：He 1mL/分（定流量）

(b) HRMS

- ・インタフェース部：ダイレクトカップリング（300℃）
- ・イオン化法：EI
- ・イオン化電圧：45eV
- ・イオン源温度：270℃
- ・イオン化電流：700μA
- ・検出モード：SIM
- ・分解能：10,000
- ・加速電圧：10kV
- ・イオンマルチプライヤ電圧：1.2kV
- ・モニターイオン及びグルーピング：前報のとおり<sup>1)</sup>

## 2.5 実験操作

「化学物質環境汚染実態調査実施の手引き（平成17年度版）」<sup>2)</sup>のPOPsモニタリング調査方法を参考に、海底質（PCB、塩素系農薬分析用-高濃度）を用いてPCBsとPOPsの同時分析の可能性について、主にASEの抽出条件を検討した。

今回、検討した分析フローを図1、図2に示す。昨年度報告したPOPsの分析フローにGPCクリーンアップを追加した方法で、PCBsとの同時分析で定量上問題がないか検討するとともにGPCクリーンアップの有無による定量値を比較検討した。また、昨年度まで実施していたPCBsの分析フローは方法2<sup>3)~5)</sup>で、今回、抽出操作はアセトンを用いた振とう抽出に変えてASE抽出で行い、両方法での定量値の比較も行った。また、検討結果に基づいて環境底質の分析を実施し、同時分析法について検証した。

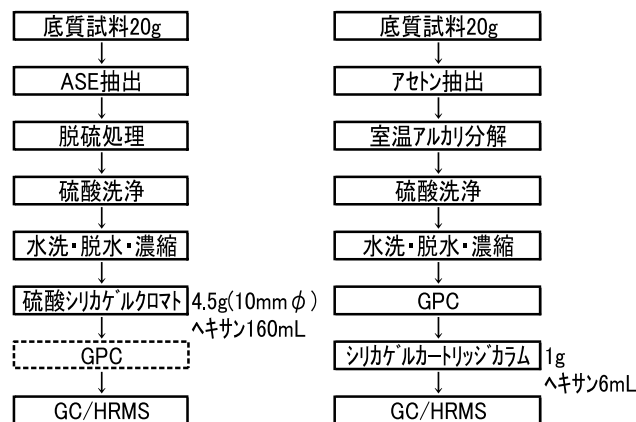


図1 分析フロー（方法1）

図2 分析フロー（方法2）

### 3 結果及び考察

#### 3.1 ASE抽出条件の検討

標準物質及び海底質を用いてASEの抽出条件を検討した。検討を加えた条件は、抽出温度（50℃、100℃、150℃）、静置時間（5分、10分、20分）及び抽出溶媒（アセトン100%、アセトン：ヘキサン（1：1））であり、フラッシュボリューム（100%）とパージ時間（180秒）、抽出回数（3回）は固定して実施した。

##### 3.1.1 抽出温度の影響

抽出温度の検討を行うために、ハイドロマトリックスに標準物質を添加して、温度の違いによる回収率を比較した。ASE抽出工程での標準物質（PCBs（BP-MS）及びPOPs）の絶対回収率を図3及び図4に示す。150℃では、10CBや*o,p'*-DDT、*p,p'*-DDTの回収率が低下しており、抽出温度が高く熱分解したものと推測された。3CB以下の低塩素化PCBsの回収率が加熱温度に関係なく低くなっているが、この原因は熱分解だけでなく、溶媒を濃縮する際の損失の可能性もあると考えられた。また、*p,p'*-DDT、*o,p'*-DDT等の一部の物質は、絶対回収率が100%を超えていたが、操作ブランクのASE抽出溶液に標準物質を添加した場合も同じ傾向を示し、ASE抽出溶

液中に含まれるマトリックスの影響と考えられた。

次に、認証値のある海底質を用いて抽出温度の検討を行った。図5及び図6に振とうアセトン抽出法による分析値に対するASE抽出による分析値の比を示す。PCBsについては、抽出温度が50℃及び100℃では、ほぼ100%と良好な値であったが、抽出温度150℃では、6及び7塩素化PCBsの値を除き、急激な回収率の低下が認められた。POPsについても、同様の傾向であり、抽出温度150℃では、全ての物質の回収率が50%程度に低下していた。この原因は、底質試料に含まれる金属等の成分が目的物質と熱反応を生じて分解しているものと推測された。また、ASE抽出の際、試料に添加するハイドロマトリックスは、抽出温度が高いほど抽出溶液が黄色に着色することやハイドロマトリックスからの溶出物によるマトリックス効果により定量値が変動することから、ASEの抽出温度は100℃とした。

PCBs及びPOPsの認証値に対する定量値を図7及び図8に示す。PCBsは外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアルに基づき算出された塩素数別の参考値を、POPsは（独）産業技術総合研究所の認証値を比較対照値とした。8塩素以上の高塩素化PCBsは温度が高くなる

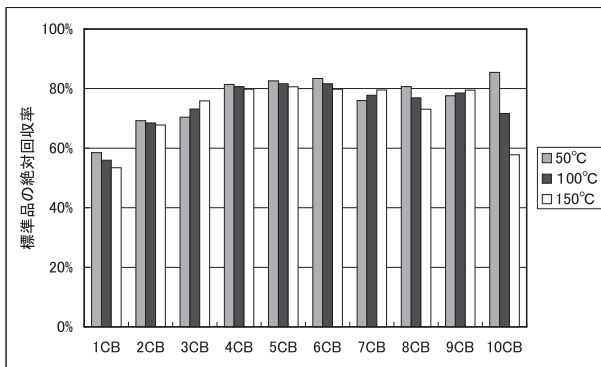


図3 ASE抽出工程における標準品の絶対回収率（PCBs）

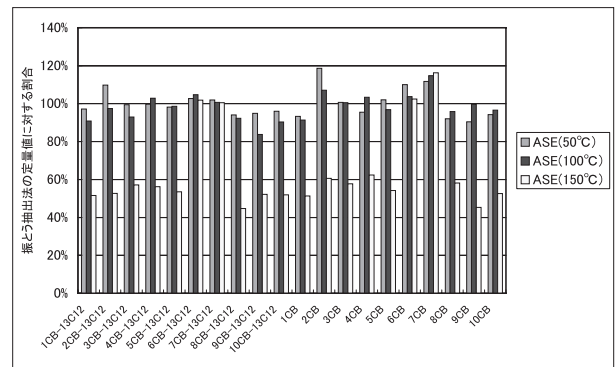


図5 ASE抽出温度の認証済み海底質定量値への影響（PCBs）

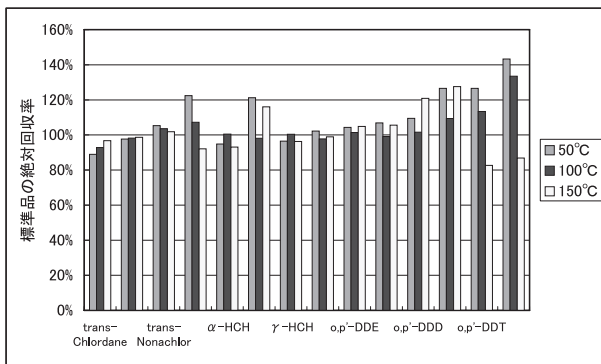


図4 ASE抽出工程における標準品の絶対回収率（POPs）

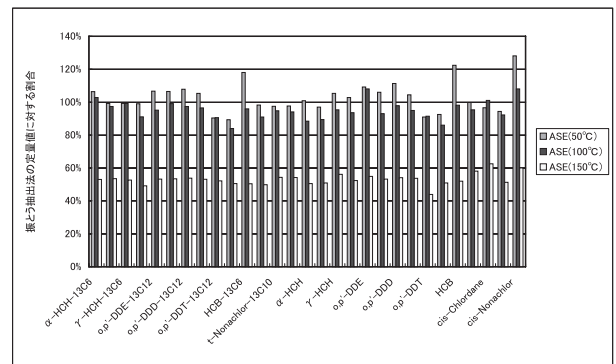


図6 ASE抽出温度の認証済み海底質定量値への影響（POPs）

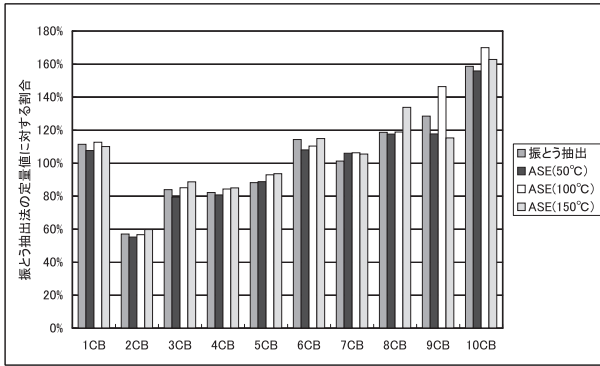


図7 海底質の参考値に対するASE抽出温度の影響(PCBs)

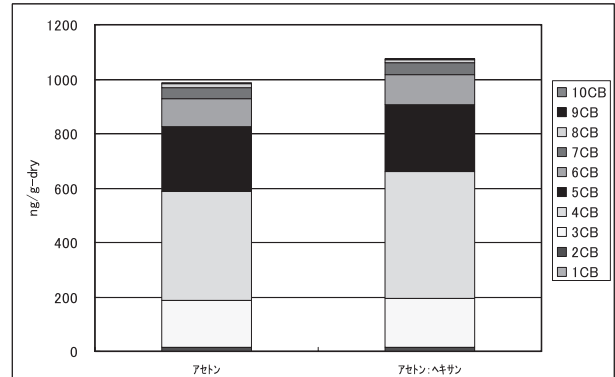


図9 海底質定量値に対するASE抽出溶媒組成の影響(PCBs)

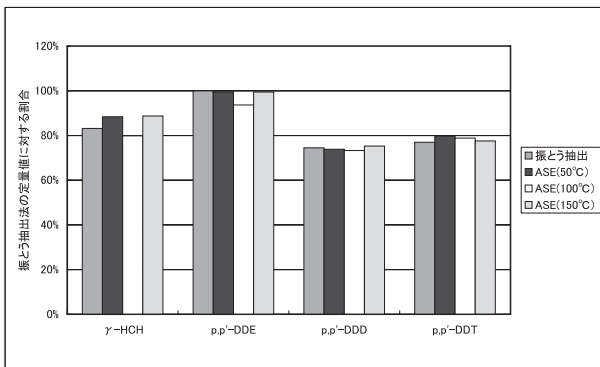


図8 海底質の認証値に対するASE抽出温度の影響(POPs)

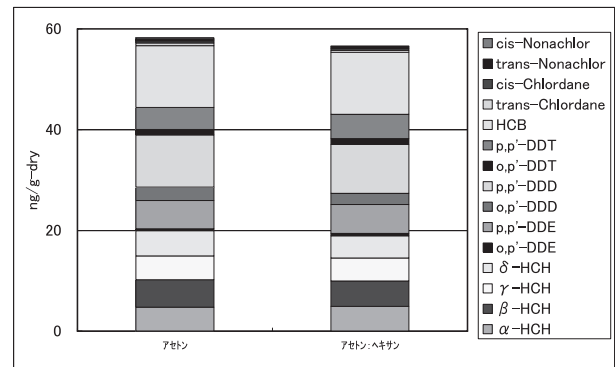


図10 海底質定量値に対するASE抽出溶媒組成の影響(POPs)

ほど参考値に対する値が高くなる傾向が見られた。参考値の定量に用いられた分析法は、アルカリ分解操作を行っているため高塩素化PCBsが分解し、低い値を示している可能性が考えられた。また、2塩素化PCBsの回収率が60%未満であったが、参考値の範囲以内であった。POPsは、温度に関係なく認証値のほぼ80%程度と良好な結果であった。

以上のように、ASEの抽出温度は150℃に設定しても、サロゲート法による定量値には影響は認められなかったが、図5及び図6に示すように150℃では添加したサロゲートが50%以下の回収率が得られたことから、ASEの抽出温度は100℃とした。

### 3.1.2 抽出溶媒

海底質を用いて抽出溶媒の検討を行った。図9及び図10に抽出溶媒としてアセトンとアセトン：ヘキサン（1：1）について比較した結果を示す。PCBsは、アセトンよりもアセトン：ヘキサン（1：1）のほうが高い値を示したが、POPsではほとんど差は見られなかった。今回検討した溶媒による抽出力の差はほとんどないものと考えられたため、抽出以降の操作の簡便性を考慮して、抽出溶媒はアセトン：ヘキサン（1：1）とした。

### 3.1.3 静置時間

ASE抽出時、溶媒を加温したセルに充填し、静置する時間がどの程度必要か検討を行った。図11及び図12にASE抽出時の静置時間の違いによる定量結果を示す。PCBsでは、静置時間が5分では定量結果が若干低く、10分と20分ではほとんど同じであった。POPsでは、静置時間に関係なく、定量値はほとんど同じであった。したがって、抽出時の静置時間は10分とした。最終的に決定したASEの抽出条件を表2に示す。

## 3.2 GPC クリーンアップの検討

### 3.2.1 GPCにおける分離状況

標準物質によるGPCの分離状況を図13、図14に示す。PCBsは15.5～18分に、POPsは15～18.5分に溶出した。同時分析を考慮し、GPCでは14.5～18.5分を分取することとした。

### 3.2.2 GPC クリーンアップの有無による定量値の比較

海底質を用いてGPC クリーンアップの必要性について検討した。図15、図16にGPC クリーンアップの有無別の海底質の定量結果を示す。PCBsは、GPC クリーンアップを実施したほうが明らかに定量値は高かったが、POPsは、GPCの有無の差はほとんどなかった。図17に

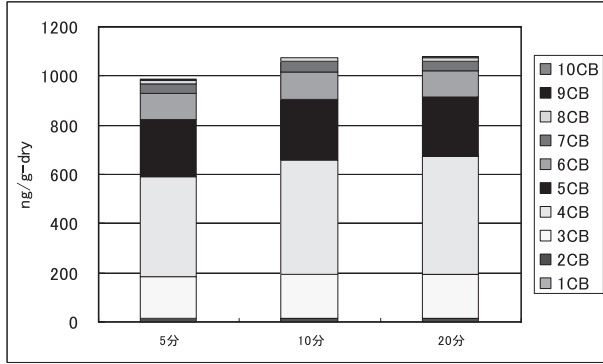


図11 海底質でのASE抽出時の静置時間の影響 (PCBs)

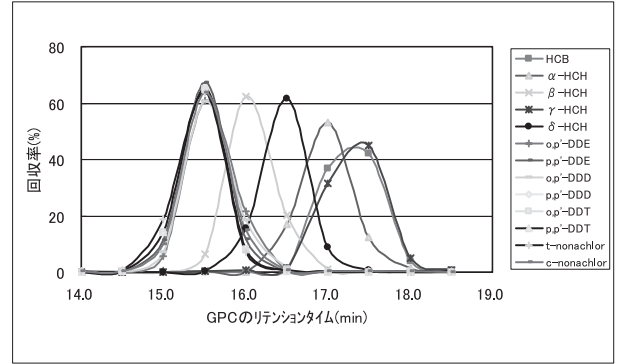


図14 POPs標準物質のGPCにおける分離状況

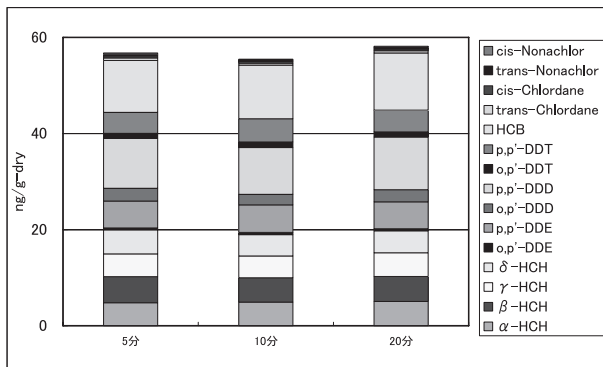


図12 海底質でのASE抽出時の静置時間の影響 (POPs)

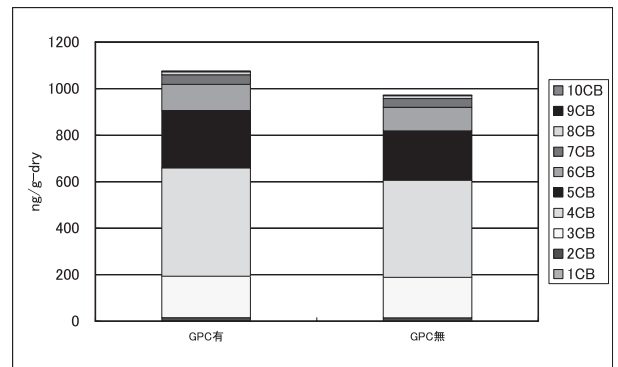


図15 海底質でのGPCクリーンアップの影響 (PCBs)

表2 ASE抽出条件

Cell	66mL
Hydro Matrix	10g
Oven Temperature	100℃
System Pressure	1500psi
Static Time	10min
Flush Volume	100%
Static cycle	3times
Purge Time	180sec
Solvent	acetone:hexane (1:1)

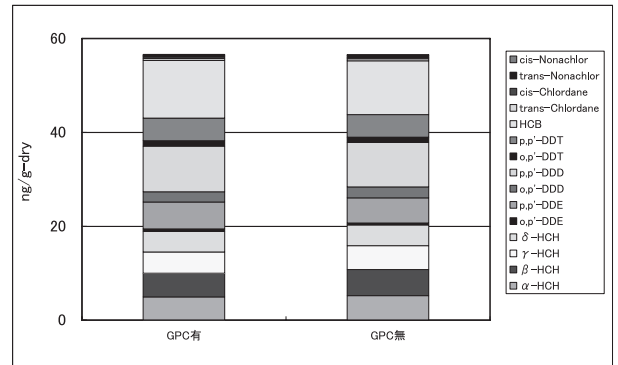


図16 海底質でのGPCクリーンアップの影響 (POPs)

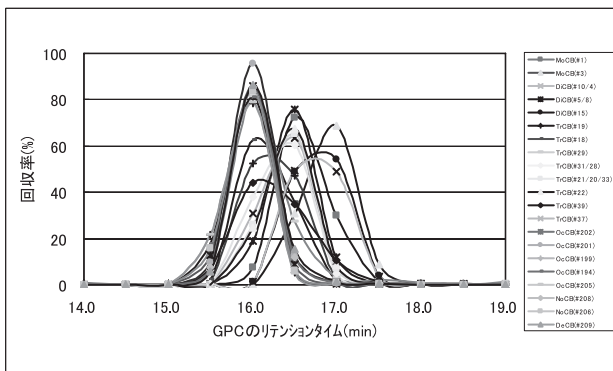


図13 PCBs標準物質のGPCにおける分離状況

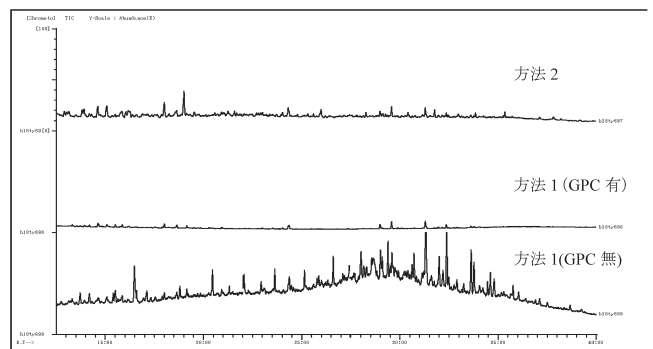


図17 海底質のマスキロマトグラム (SCAN測定) に対する前処理法の影響

方法別のクロマトグラム (SCAN) を示すが、GPC クリーンアップを行っていない方法 1 は鉍物油等が除去されていないのでベースラインが上昇しており、PCBs の場合は、定量値に影響したものと思われる。GPC クリーンアップを行った方法 2 及び方法 1 (GPC 有) では鉍物油由来のベースラインの上昇もなく、クリーンアップ効果が高いことがうかがえた。今回使用した海底質は非常に有機物が多く、GPC クリーンアップは必要である判断した。

### 3.2.3 環境試料分析に対する GPC の効果

方法 1 を用いて平成 18 年度環境ホルモン等実態調査の底質試料について分析を行った。そのうち PCBs と POPs が検出された海域 3 地点 (玉島港沖合、大多府島東南沖、張波崎南) と笹ヶ瀬川水系 4 地点 (今保通学橋、相生橋、笹ヶ瀬橋、児島湖湖心) の分析結果を GPC クリーンアップの有無別の定量値を比較した結果を図 18、図 19 に示す。PCBs については、今回の底質試料では GPC クリーンアップを行わなくても定量結果に差はほとんどなかった。POPs については、p,p'-DDE と HCB の定量値は GPC クリーンアップがない場合に、若干高い値となったが、今回の底質試料では GPC クリーンアップは省略できると考えられた。

### 3.3 風乾泥と湿泥との定量値の比較

ASE で抽出する際には、試料は乾燥していたほうが取り扱いやすいため、底質を風乾させて分析し、湿泥で分析した値と比較した。相生橋 (水分 23.8%)、笹ヶ瀬橋 (水分 57.0%)、児島湖湖心 (水分 41.5%) の 3 地点で比較した結果を図 20、図 21 に示す。PCBs は風乾させても含有濃度の低い相生橋の一部のものを除いて、定量値にあまり違いは見られなかった。しかし、POPs は風乾することにより、ほとんどの物質の定量値が含有濃度にかかわらず半減しており、底質を風乾して分析することは望ましくないと考えられた。

### 3.4 他の調査結果との比較

環境省では化学物質環境実態調査において POPs 類のモニタリングを経年調査しており、岡山県では水島沖の調査地点でモニタリングが実施されている。環境ホルモン調査の玉島港沖合と化学物質環境実態調査の水島沖は同一地点であるため、公表されてい

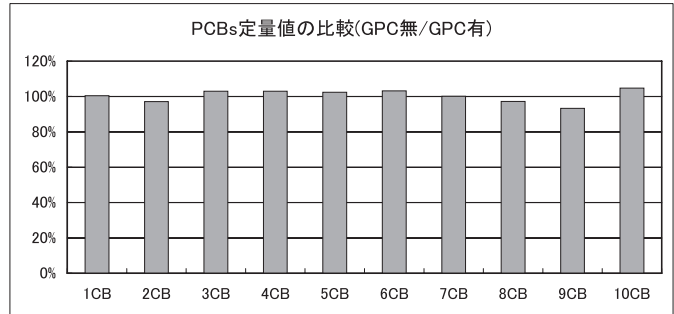


図18 環境底質でのGPCクリーンアップの影響 (PCBs)

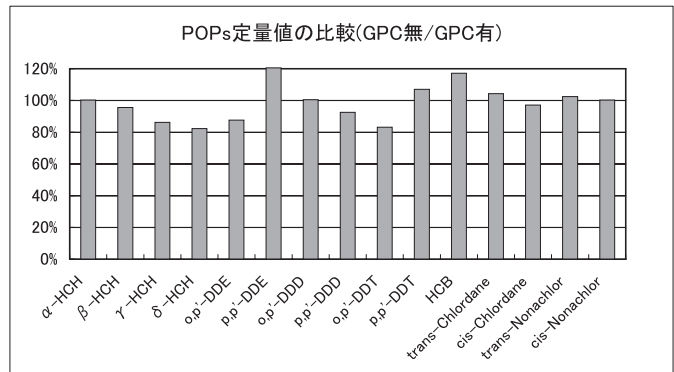


図19 環境底質でのGPCクリーンアップの影響 (POPs)

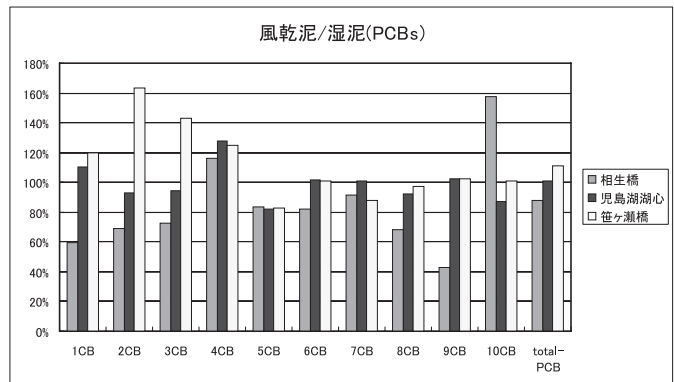


図20 風乾泥と湿泥による定量値の比較 (PCBs)

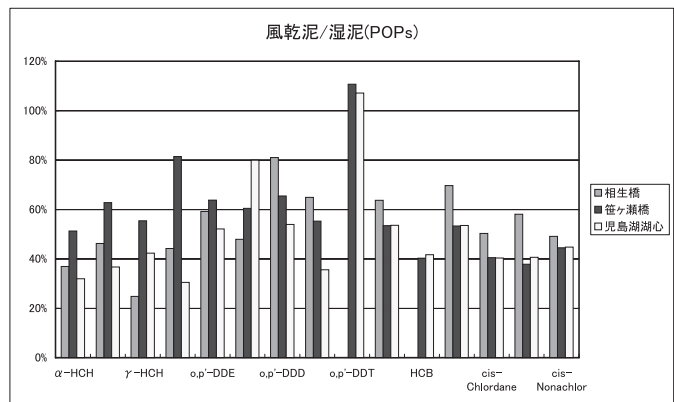


図21 風乾泥と湿泥による定量値の比較 (POPs)

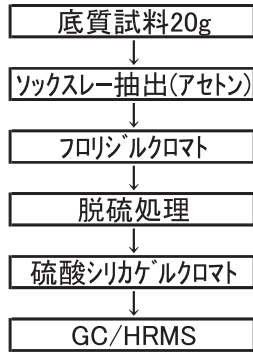


図22 化学物質環境実態調査における分析フロー

る過去の測定値との比較を行った。平成17年度版化学物質環境実態調査<sup>6)</sup>における分析フローを図22に示す。水島沖の3地点の平均値(平成16年度)と玉島港沖合(平成16年度)を比較した結果を図23、図24に示す。PCBsは平均109%、POPsは平均83%であり、ストック試料の違いにもかかわらず非常に値が一致しており、今回検討した同時分析法が有効であることが示された。

#### 4 まとめ

底質試料中のPCBsとPOPsを簡便に同時分析するため、ASE抽出条件、クリーンアップ方法などについて検討を行い、以下に示す結果を得た。

- 1) 底質試料のASE抽出条件は、抽出溶媒はアセトン：ヘキサン(1：1)、加熱温度は100℃、静置時間は10分間で3回抽出することにより十分な抽出効果が得られた。
- 2) ASE抽出温度150℃では、底質試料に添加したサロゲート物質の分解や、一部の物質の熱分解が観察された。また、ハイδροマトリックス由来と考えられるマトリックス効果により定量値が高めになることが判明し、ハイδροマトリックスは事前に溶媒洗浄を行う必要があった。
- 3) 今回使用した海底質は、有機物含有量が多く、GPCクリーンアップを省略すると、PCBsの定量値が低くなった。
- 4) 平成18年度環境ホルモン等実態調査で採取した環境底質試料を検討した同時分析法で分析した結果、PCBsはGPCクリーンアップの有無にかかわらず定量値はほとんど同じであった。
- 5) POPsは、底質を風乾して分析すると定量値が低く

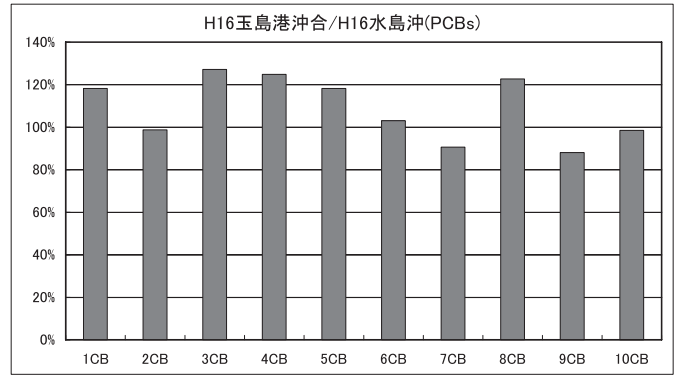


図23 化学物質環境実態調査との分析値の比較(PCBs)

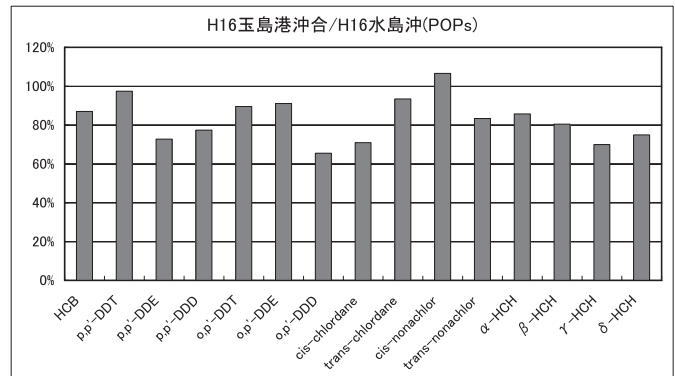


図24 化学物質環境実態調査との分析値の比較(POPs)

なるので、湿泥の状態では分析する必要があった。

- 6) 今回検討した同時分析法による分析結果は、化学物質環境実態調査結果とよく一致しており、ASE抽出によるPCBsとPOPsの同時分析が可能であることが示された。

#### 文 献

- 1) 杉山広和, 浦山豊弘, 鷹野 洋, 藤原博一, 剣持堅志: 環境中超微量有害化学物質の分析, 検索技術の開発に関する研究—環境ホルモン調査におけるPOPs等分析のための基礎的検討—, 岡山県環境保健センター年報, 30, 47-55, 2006
- 2) 環境省総合環境政策局環境保健部環境安全課: 化学物質環境汚染実態調査実施の手引き(平成17年度版), 平成18年3月, 2006
- 3) 環境省環境保健部環境安全課: モニタリング調査マニュアル, 平成16年3月, 2004
- 4) 吉岡敏行, 林隆義, 山辺真一, 斉藤直己, 剣持堅志他: 環境中超微量有害化学物質の分析, 検索技術の開発に関する研究—ポリ臭化ビフェニル, ポリ塩化ビフェニル, ポリ塩化ナフタレン及びポリ塩化ター



フェニル同時分析のための基礎的検討一，岡山県環境保健センター年報，27，23-29，2003

5) 環境省環境保健部環境安全課：平成14年度化学物質分析法開発調査報告書（ポリ塩化ナフタレン（PCNs）及びポリ塩化ビフェニル（PCBs）の分析法：岡山県

環境保健センター），48-171，2004

6) 環境省環境保健部環境安全課編：平成17年度版化学物質環境実態調査—化学物質と環境—，平成18年3月，2006