

令和 3 年 6 月 7 日現在

機関番号：80122

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K11686

研究課題名(和文)毛糸を用いた室内・作業環境中PCBの迅速採取分析法の開発とリスク評価に関する研究

研究課題名(英文) Study on the development of a method for rapidly sampling and analyzing PCBs in a room or working environment using yarns and risk evaluation

研究代表者

姉崎 克典 (Anezaki, Katsunori)

地方独立行政法人北海道立総合研究機構・産業技術環境研究本部 エネルギー・環境・地質研究所・研究主任

研究者番号：20442634

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：室内環境におけるポリ塩化ビフェニル(PCB)のパッシブサンプリング法として、毛糸を用いた迅速で簡便な測定法の開発を行った。PCB処理現場などに毛糸を10～60分設置して採取し、超音波抽出-多層シリカゲルカラムによる前処理を行い、高分解能GC/MSで分析を行った。実地試験におけるPCBsの毛糸への吸着係数 $K_u'$ は、高塩素化コンジェナーほど、高濃度の環境ほど吸着速度が速い傾向が認められた。毛糸試料からの大気換算式は $C = 373.7(N_s/t)^{0.790}$  ( $r=0.991$ )だった( $N_s$ :毛糸吸着量、 $t$ :採取時間)。また、毛糸により採取したPCBをレポータージーンアッセイ法により測定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本手法は従来のパッシブサンプリング法に比べ、大幅にサンプリング時間を低減でき、また捕集材である毛糸も市販の安価で扱いやすいものを使用していることに加え、前処理法も単純化されており、迅速に室内環境におけるPCB濃度を把握できる利点がある。また、捕集材の設置方法も、針金で吊して目的の場所にかけるだけであることから、電源の問題や測定場所の広さなどによりPCB濃度を把握できなかった場所でのモニタリングも可能となる。本手法を簡便な室内環境のPCB採取法として一般的な公共施設や様々な作業環境に適用し、居住・労働環境の改善方策への活用を提案する。

研究成果の概要(英文)：As a passive sampling method for polychlorinated biphenyls (PCBs) in an indoor environment, a rapid and simple measurement method using yarns was developed. Yarns were set for 10-60 minutes at PCB processing sites, etc. and collected, ultrasonic extraction and pretreatment with a multi-layer silica gel column chromatographs were performed, and analysis was conducted in high-resolution GC/MS. In regard to PCBs' coefficient of absorption to yarns  $K_u'$  in the on-site test, it was found that the adsorption speed is higher as the chlorination of congeners is higher and the concentration in the environment is higher. The equation for estimating concentration in the atmosphere from yarn samples was expressed as  $C = 373.7(N_s/t)^{0.790}$  ( $r = 0.991$ ) ( $N_s$ : amount of absorption to wool,  $t$ : collection time). In addition, PCBs collected by the yarns were measured by the reporter gene assay method.

研究分野：環境化学

キーワード：PCB 毛糸 パッシブサンプリング レポータージーンアッセイ 室内環境

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

PCB はプラスチックの可塑剤に使用されてきた経緯があり、前世紀に建築された建物内には今なおシーリング剤などに多く残存すると考えられている。また、近年では従来のカネクロールに代表される PCB 工業製品による PCB 汚染だけでなく、顔料を由来とする PCB の影響も無視できなくなりつつあり、特に生活に密接に関わる部分に今なお使用され続けている。屋内(室内)においては空気中の PCB 濃度が屋外に比べ数倍～数千倍レベルに達する場合もある。このことから、住居や学校等の公共施設内の室内空気 PCB の正確な把握は、その建物の使用する者や解体時における作業員のリスク、そして周辺環境への影響を管理するために極めて重要である。

我が国においても廃 PCB の処理が進められているところであるが、廃 PCB 使用機器の保管及びその解体における環境、いわゆる作業環境の把握も、その作業員の健康管理上不可欠であり、その PCB 濃度の把握が行われている。これらの屋内・作業環境における PCB は、一般にカートリッジカラムとミニポンプを用いた採取、いわゆるアクティブサンプリング法が行われている。しかしながら、屋内・作業環境の把握においては、測定値の代表性の確保が大きな課題となる。すなわち、測定ポイントやサンプリング頻度を増やす必要があるが、相当数の機器の準備や電源・場所の確保が必要となる。

そこで、サンプリング機器を使用しない、いわゆるパッシブサンプリング法が提案されており、電子機材の設置が困難な研究や実測定に使用されつつある。代表的なものにポリウレタンフォーム( PUF )や XAD のような樹脂を捕集材として用いる方法がある。申請者らも PUF を用いた UFO 型パッシブサンプラー( 図 1 )によるモニタリング手法の検討を進めてきたところであり、日本だけでなくアメリカ、カナダなどの諸外国でも環境調査に使用されている。しかし、これらの捕集材への PCB の吸着は、電子機材を使用して試料空気を通気させて捕集する場合に比べ非常に遅く、定量的なデータを得るためには数日～数ヶ月という比較的長いスパンで実施せざるを得ない。また、長期間にわたる採取のため夾雑物の除去も課題となり、採取後の分析のため捕集材から抽出や前処理にも配慮が必要であることから、アクティブサンプリング法に比べ一般的な方法としては認知されていない。そのため、より短期間で採取を完了し、迅速な抽出及び分析を行い報告値を得る方法の開発が求められてきた。



図 1 : PUF を用いた UFO 型パッシブサンプラー

### 2. 研究の目的

本課題では室内・作業環境における機器を必要としない、かつ実際の現場で効率的で実現可能なパッシブサンプリング手法を開発することを目標とした。この方法は市販されている毛糸を利用する事から、極めて安価で簡単に捕集材を確保できる。さらにその高い PCB 吸着特性から迅速にサンプリングを完了させ、より簡便に抽出・前処理・機器分析を行う事により、スピードを求められる分析結果報告に迅速に対応することが可能となり、屋内環境をモニタリングする上でより細かいメッシュで経時的に実施する事が期待できる。また、本採取方法による検体について、申請者らが確立した DR-EcoScreen 細胞等を用いたレポータージーンアッセイ法により濃度だけでなくホルモン受容体を介した内分泌攪乱作用に適用し、実際の室内・作業環境における生体リスクについて、定量的に評価する手法を確立する。

### 3. 研究の方法

( 1 ) 毛糸を用いた PCB パッシブサンプリング法における各異性体別の吸着・脱離速度の検討

服部らが検討した毛糸を捕集材として、大気中の PCB 濃度を推定する方法( 文献( 1 ) )を応用・発展させ、最適なサンプリング条件について検討した。特に本課題では、比較的 PCB が高濃度雰囲気においてアクティブサンプリング法との並行測定( クロスチェック( 図 2 ) )を実施し、毛糸や PUF への PCB の吸着速度及び脱離速度を PCB の主要コンジェナー毎に検討して、そのデータを蓄積して精度を向上させた上で採取率( sampling rate )を算出し、分析精度上最適な条件下における大気濃度換算式を求めた。



図 2 : アクティブサンプリングとパッシブ法との並行測定の様子

( 2 ) 毛糸を用いたパッシブサンプリング法による迅速

#### な室内・作業環境 PCB の測定・分析方法の確立

室内・作業環境における PCB 測定においては、そのリスク評価の観点から正確さに加え迅速な結果報告も必要とされる。このため短時間に毛糸からの PCB の抽出を行い、より簡便に夾雑物を除去し機器分析を行う手法について検討した。PCB のコンジェナー毎の評価を実施する事から、定量分析には高分解能質量分析用いた。

#### (3) パッシブサンプリング法によるリスク評価

確立したパッシブサンプリング法で採取した室内・作業環境試料について、DR-EcoScreen 細胞等を用いたレポーター遺伝子法(文献(2))を活用し、AhR 活性(ダイオキシン様作用)やエストロゲン受容体(ER)やアンドロゲン受容体(AR)等への活性(アゴニスト&アンタゴニスト作用)を検討した。

### 4. 研究成果

#### (1) 捕集材の作成及び調整方法

パッシブサンプリングの捕集材には、市販の毛糸(かわいい赤ちゃん(羊毛4:アクリル6))を使用した(文献(1))。毛糸を30cmごとに裁断し、これの30本を一束として針金で吊して捕集材とした(図3)。捕集材はアセトンによるソックスレー抽出で洗浄し、真空乾燥機で乾燥させ、試料採取まで冷凍庫又はクーラーでアルミホイル及び密閉ポリ袋に保管した。



図3：毛糸を捕集材としたパッシブサンプラー

#### (2) 毛糸による室内・作業環境 PCB の測定・分析方法の確立

迅速な分析結果を得るため、採取した毛糸からの PCBs の抽出にはアセトンによる超音波抽出を適用した。毛糸を三角フラスコに入れ、サロゲートを添加し、アセトンを130mL 加えて水温30の超音波照射器にて10分間抽出を行った。この操作を2回繰り返し抽出液とした。次に抽出液を多層シリカゲルカラムクロマトグラフ処理し、溶出液を濃縮しシリンジスパイクを添加して窒素気流にて50μLの検液とした。なお、油分の多い試料については多層シリカゲルカラムクロマトグラム処理だけでは夾雑物の除去が十分でなく、クロマトグラムのピークがブロードになる現象が認められたが、スルホキシドカラム+AgIONカラム処理(文献(3))を追加することにより解決された。いずれの分析スキームでも1日の前処理期間で検液の作成が可能であった。

検液は高分解能ガスクロマトグラフ/質量分析計(Agilent 6890/日本電子 JMS-700D)にて測定を行った。キャピラリーカラムにはHT8-PCB(60m×0.25mm 関東化学)を使用した。サロゲートの回収率は少なくとも70~80%であり、定量的な分析が可能であった。

#### (3) 作業環境における毛糸への PCBs の吸着特性の検討

パッシブサンプリングによる大気と捕集材間の PCB の吸着及び脱着を考慮し、その過程を3つの段階に分類した(図4)。パッシブサンプリングの捕集材への吸着量が時間経過に比例して増加する段階(段階1)、吸着だけでなく脱着も考慮される段階(段階2)、そして吸着と脱着が平衡に達した段階(段階3)である。本課題では極めて短時間での採取完了を目指すことから、段階1での PCB 採取率をアクティブサンプリングとのクロスチェックで算出した。PCB 廃棄物の処理現場などで捕集材を10~60分設置して、試料を採取した。採取後の毛糸はクーラーにより輸送し、分析まで-30の冷凍庫にて保管した。

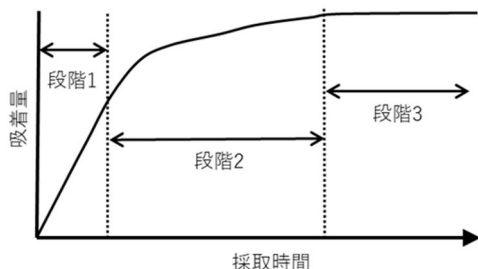


図4：パッシブサンプラーへの吸着概要

吸着係数  $k_u'$  は次式により算出した。

$$k_u' = \frac{N_s}{t \times C_v}$$

Ns:毛糸への PCBs 吸着量、t:採取時間、Cv:アクティブサンプリングによる PCBs 濃度

実地試験における PCBs の毛糸への吸着速度から算出される吸着係数  $k_u'$  は、塩素化数が高くなるほど係数が高くなる、すなわち吸着速度が速い傾向が認められ、例えば三塩素化体である PCB-28 では0.0034であったのに対し、七塩素化体で

ある PCB-180 では0.0098だった。全 PCBs での吸着係数は0.0037であった。また、高濃度の雰囲気なるほど吸着係数が高くなる傾向が認められた。すなわち、段階1での毛糸への PCBs への

吸着は、直線的ではなく指数関数的に増加する、すなわち PCB 濃度と組成により累乗近似ものと推察された（図 5）。以上の結果から導出される毛糸に捕集された PCBs からの大気換算濃度  $C$  は

$$C = 373.7 \left( \frac{N_s}{t} \right)^{0.790}$$

Ns: 毛糸への毛糸吸着量  
t: 採取時間

であった。

#### (4) パッシブサンプリング法によるリスク評価

毛糸で捕集した作業環境試料についてアッセイ用への調整を行い、エストロゲン受容体 (ER)、ER 及びアンドロゲン受容体 (AR) を介した試験物質の作用を、ホルモン受容体及びレポータープラスミドを一過性に導入したチャイニーズハムスター卵巣細胞を用いたレポータージーンアッセイ法により測定した。しかしながら、いずれの活性も認められず、毛糸捕集材を介したリスク評価には至らなかった。短時間で採取を完了する本パッシブサンプリング法では、毛糸に捕集できる PCBs の絶対量が不足しており、十分な活性を得るためにはより長い採取時間を要するものと推察され、吸着破過との関連からさらなる検討を要するものと考えられた。

#### (5) PCB 以外の化学物質についての各受容体への作用

PCB 以外に捕集される化学物質についての各受容体への作用の基礎的検討を行った。検討対象とした光重合開始剤 10 物質や短鎖塩素化パラフィンについて各種アッセイへの適用性を検討した。試験化学物質の毒性（転写活性の抑制）については -ガラクトシダーゼの恒常的発現プラスミドを用いて評価した。その結果、ホルモン受容体活性は短鎖塩素化パラフィンには認められなかったが、光重合開始剤については ER 及び ER アゴニスト活性が 5 物質に認められた。一方、AR アゴニスト活性はいずれの化合物にも認められなかったが、アンタゴニスト活性が 2-Methyl-4'-(methylthio)-2-morpholinopropiophenone のみに認められた。なお、この物質には、ER 及び ER アゴニスト活性も認められた。すなわち、様々な光重合開始剤がホルモン受容体活性を有し、中にはエストロゲン活性と抗アンドロゲン活性を併せ持つ化合物も存在することが明らかとなった。

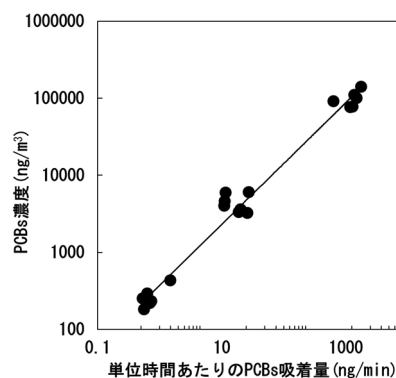


図 5：毛糸への PCBs の吸着量と室内環境濃度との関係

#### 参考文献

- (1) 服部ら、環境化学、20、35-44 (2010)
- (2) K Anezaki, et al., Environ. Sci. Technol., 43, 7478-7483 (2009)
- (3) K Anezaki, et al., Mar. Pollut. Bull., 113,282-286 (2016)

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Katsunori Anezaki, Nobuhisa Kashiwagi	4. 巻 268
2. 論文標題 Daily variations and factors of atmospheric PCDD/Fs in post-harvest paddy fields: PCDD/F source estimation using a Bayesian semi-factor model	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Chemosphere	6. 最初と最後の頁 129292
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.chemosphere.2020.129292	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Shinji Takeuchi, Toshiko Tanaka-Kagawa, Ikue Saito, Hiroyuki Kojima, Hideto Jinno	4. 巻 2
2. 論文標題 Distribution of 58 Semi-Volatile Organic Chemicals in the Gas Phase and Three Particle Sizes in Indoor Air and House Dust in Residential Buildings During the Hot Season in Japan	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 BPB Reports	6. 最初と最後の頁 91-98
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Yuki Haga, Motoharu Suzuki, Chisato Matsumura, Takeshi Nakano	4. 巻 25
2. 論文標題 Monitoring OH-PCBs in PCB transport worker's urine as a non-invasive exposure assessment tool	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Environmental Science and Pollution Research	6. 最初と最後の頁 16446-16454
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s11356-018-1927-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Erika Goto, Yuki Haga, Makoto Kubo, Toshimasa Itoh, Chie Kasai, Osami Shoji, Keiko Yamamoto, Chisato Matsumura, Takeshi Nakano, Hideyuki Inui	4. 巻 210
2. 論文標題 Metabolic enhancement of 2,3,4,4',5-pentachlorobiphenyl (CB118) using cytochrome P450 monooxygenase isolated from soil bacterium under the presence of perfluorocarboxylic acids (PFCAs) and the structural basis of its metabolism	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Chemosphere	6. 最初と最後の頁 376-383
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.chemosphere.2018.07.026	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Larry W Robertson, Roland Weber, Takeshi Nakano, Niklas Johansson	4. 巻 25
2. 論文標題 PCBs risk evaluation, environmental protection, and management: 50-year research and counting for elimination by 2028	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Environmental Science and Pollution Research	6. 最初と最後の頁 1-8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11356-018-2467-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計15件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 8件)

1. 発表者名 Vladimir BESKOSKI, Takeshi NAKANO
2. 発表標題 Capacity Building for Analysis and Reduction Measures of Persistent Organic Pollutants in Serbia
3. 学会等名 Japan-Serbia Environmental Exchange Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 姉崎克典、中野武、柏木宜久
2. 発表標題 秋期田園地帯におけるPCBs, PeCBz及びHxCBzの日間変動とその汚染由来解析
3. 学会等名 日本分析化学会第69年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shinji Takeuchi, Toshiko Tanaka-Kagawa, Ikue Saito, Hiroyuki Kojima, Hideto Jinno
2. 発表標題 Distribution of 58 semi-volatile organic chemicals in the gas phase and three particle sizes in indoor air and house dust in residential buildings during the hot season in japan.
3. 学会等名 39th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants (Dioxin 2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 姉崎克典、武内伸治、中野武
2. 発表標題 毛糸を用いた室内・作業環境中PCBの迅速採取分析法の開発
3. 学会等名 2019年室内環境学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中野武、姉崎克典
2. 発表標題 PUFを用いた環境大気中PCBのパッシブサンプリング測定
3. 学会等名 2019年室内環境学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中野武、藤原英隆、松村千里
2. 発表標題 シーリング材中の PCB 分析の留意点
3. 学会等名 第22回日本水環境学会シンポジウム MS技術研究委員会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takeshi Nakano
2. 発表標題 SEPARATION OF PCB ATROPISOMER AND PROMOTION OF JOINT RESEARCH
3. 学会等名 2019 Dioxin symposium (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 姉崎克典、柏木宜久
2. 発表標題 秋期田園地帯におけるダイオキシン類の日間変動 - ベイズ型半因子組成モデルを用いた汚染由来解析 -
3. 学会等名 日本分析化学会第67年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 武内伸治、奥田勝博、杉原数美、小島弘幸
2. 発表標題 精油成分の女性ホルモン受容体及び男性ホルモン受容体を介した作用及び分子結合シミュレーションによる評価
3. 学会等名 環境疫学及び曝露科学に関する国際会議における2018年アジア支部会（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 T. Nakano
2. 発表標題 Toxicity and pollution of PCB and Japan 's Countermeasures and Treatment Solutions
3. 学会等名 CSES2018 中国環境科学学会（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 T. Nakano
2. 発表標題 Disaster and chemicals contamination
3. 学会等名 Dioxin2018（国際学会）
4. 発表年 2018年



1. 発表者名 T. Nakano et al.
2. 発表標題 Congener specific analysis of PCB in environmental and human sample
3. 学会等名 SEMINAR AND WORKSHOP: -ENVIRONMENTAL PROTECTION (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 T. Nakano et al.
2. 発表標題 Environmental Behavior of PCBs and its Enantioselective Toxicity
3. 学会等名 PACCON 2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 T. Nakano, V. Beskoski, Y. Haga
2. 発表標題 The ten-year history of international cooperation in Serbia - Monitoring and international collaboration -
3. 学会等名 第27回環境化学討論会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中野 武、羽賀雄紀、吉識亮介、松村千里、Vladimir P. Beskoski
2. 発表標題 さまざまな災害による化学物質汚染
3. 学会等名 第21回日本水環境学会シンポジウム
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	中野 武  (Nakno Takeshi)  (00446791)	大阪大学・環境安全研究管理センター・招へい教授   (14401)	
研究 分担者	武内 伸治  (Takeuchi Shinji)  (20414287)	北海道立衛生研究所・その他部局等・主幹   (80106)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------