

第5章 LC/MSにおける試料処理

5.1 大気試料

大気試料の捕集には吸着剤や濾紙、ウレタンフォームなどが使用されることが多いが、LC/MSでの分析に適した試料形態にするため、水との親和性のよい溶媒の試料溶液とすることを考える。難揮発性の物質は、吸着剤からの破過は起こりにくいと考えられるので、比較的吸着力の小さい水試料前処理用カートリッジカラム、ディスク型吸着剤などで捕集し、アセトン、アセトニトリル、メタノールなどで抽出する。抽出液は孔径0.5 μ m以下のフィルターで濾過しておく。トルエン、ジクロロメタンなど水と混和しにくい溶媒での抽出を行う場合は、抽出後窒素吹きつけなどにより溶媒を揮散させ、アセトニトリル、メタノールなどの水溶性の高い溶媒に再溶解させる必要がある。個々の事例については「GC/MSを用いた環境中の化学物質検索マニュアル-大気編-」(平成9年7月 環境庁環境安全課発行)を参考にするとよい。

5.2 水質、底質及び生物試料

水環境に係る媒体の抽出方法、クリーンアップ方法について述べる。

5.2.1 試料の抽出方法

5.2.1.1 水質試料の抽出

水質試料の抽出には、一般的に溶媒抽出法及び固相抽出法が用いられる。

(1) 溶媒抽出法

溶媒抽出法は、古くから用いられてきた方法であるが、試料量(一般的に 500ml~1L)に比較して比較的少量の抽出溶媒(通常 100ml 程度)を用いることから、分配係数に従った完全な平衡関係が成立すること、また、抽出溶媒の容積が大きいことから夾雑物質の影響を受けにくく個人的な技量の差がでにくい特徴を持つ。

抽出溶媒を選定する際には、オクタノール・水分配係数(Log Pow)が参考になる。表 5.2.1-1 に有機リン酸トリエステル類(OPEs)を溶媒抽出した例を示したが、非極性溶媒であるヘキサン、ベンゼン等で抽出が困難な Tris(2-butoxyethyl) phosphate は、極性溶媒である酢酸エチル、酢酸メチル等では抽出できる。

表 5.2.1-1 有機リン酸トリエステル類(OPEs)の液々抽出率
(塩析剤無添加、容積比 1:10)

物質名	Log Pow	ヘキサン	ベンゼン	シクロヘキサン	酢酸エチル	酢酸メチル	エチル
Trimethyl phosphate		0	0	1	0	2	0
Triethyl phosphate	0.09	1	15	69	28	28	9
Triallyl phosphate		8	60	96	85	72	62
Tributyl phosphate	4.00	58	75	88	96	104	84
Tris(2-chloroethyl) phosphate	1.70	2	39	67	97	106	29
Tris(chloropropyl) phosphate	2.75	27	79	90	98	101	69
Tri-n-amyl phosphate		61	82	87	96	85	74
Tris(1,3-dichloro-2-propyl) phosphate	3.76	57	80	91	102	87	78
Triphenyl phosphate	4.63	82	76	94	98	100	86
2-Ethylhexyl diphenyl phosphate	5.73	77	71	84	95	83	73
Tris(2-butoxyethyl) phosphate	3.65	1	6	25	111	119	5
Tris(2-ethylhexyl) phosphate	4.23	43	44	52	91	76	62
Cresyl diphenyl phosphate	4.51	80	73	90	95	97	78
Diphenyl Cresyl phosphate		86	79	88	100	89	82
Tricresyl phosphate	5.10	80	71	87	89	89	80
Tris(isopropylphenyl) phosphate		88	69	79	104	91	79
Trixylenyl phosphate	5.63	97	71	79	104	128	86
Tris(2,3-dibromopropyl) phosphate		29	54	73	92	100	64
Tris(4-tert-butylphenyl) phosphate		46	43	49	90	80	55

溶媒抽出法では、塩化ナトリウム等の塩析剤を添加すると抽出率が向上するとともに、抽出時のエマルジョン生成の防止にも有効である。また、酸性物質、塩基性物質等では pH を変化させることで抽出率の向上を図ることができるが、酢酸エチル等のエステル系溶媒は塩基性下で加水分解するので注意を要する。また、非極性溶媒で抽出が困難な物質については、ヘキサン等の非極性溶媒で洗浄した後、pH を変化させたり、塩析剤を添加して極性溶媒で抽出する方法がクリーンアップ操作を兼ねて用いられることが多い。

溶媒抽出法で全く抽出できない物質については、水中で目的物質を誘導体化し疎水性物質に変化させて抽出したり（アルデヒド類の分析）、イオンペアー試薬を用いてイオン対を生成させて抽出する方法も用いられる。

(2)固相抽出法

固相抽出法は、カートリッジ型固相抽出剤を用いる方法とディスク型固相抽出剤を用いる方法がある。

カートリッジ型では、カートリッジに加圧または減圧により試料水を通水して目的物質をカートリッジ内の固相材に保持させた後、溶出溶媒を用いて目的物質を溶出させる。

ディスク型では、ろ紙上になった固相材に通常減圧により試料水を通水し、目的物質をカートリッジ内の固相材に保持させた後、溶出溶媒を用いて目的物質を溶出させる。

固相材に用いられる素材としては、シリカゲルにオクタデシル(C18)基等を化学結合させた化学結合型シリカゲル系（オクチル基：C8、エチル基：C2 等）の他、ポリスチレンゲル系の固相材（PS2，オアシス、XC、XD 等）等の無極性型吸着剤が主に用いられているが、極性物質の抽出を目的とする場合には、シアノプロピル基、アミノプロピル基等をシリカゲルに化学結合させた固相材やイオン交換樹脂等も用いられる。

溶媒抽出法と同様に、固相抽出においても塩析剤の添加、pH の変更、誘導体化後の抽出、イオン対の生成等の方法が適用できるが、特に化学結合型シリカゲルの場合は、使用できる pH の範囲に制限があることに留意する必要がある。

固相抽出法では、抽出操作の前に固相材のコンディショニングを行う必要がある。

コンディショニングは、固相材を活性化し抽出効率を向上させる目的と固相材に含まれる妨害物質やブランクを低下させることを目的とする。特に C18、C8 等の固相材はオクタデシル基等を水相に延伸させることが必要となるため、予め親水性溶媒であるメタノール、アセトニトリル等の溶媒で洗浄する必要がある。一般にコンディショニングは、溶出に使用する溶媒で洗浄した後に、メタノール、アセトニトリル等親水性溶媒で洗浄し、更に少量の精製水を通水して、溶媒の除去を行ってから抽出を行う。

固相抽出法では、固相材の選択、試料水の通水速度及び溶離溶媒の選択と溶媒量が、回収率に大きく影響するため、予め十分な検討を行っておく必要がある。また、固相抽出剤

は、固相材の容積が極めて小さいことから、試料中の夾雑物質の影響を受けて固相材の吸着能が飽和して目的物質の回収率が低下する可能性があるなど、個人的な技量の差が出やすい欠点がある。このため、サロゲート化合物を添加するなどの対策をとって、分析値の品質保持に十分留意する必要がある。

カートリッジ型固相材抽出剤は、固相剤のベッド高さがディスク型固相に比較して極めて大きいため、ディスク型固相よりも吸着力が強く、極性物質の抽出に適している。しかし、懸濁物質(SS)に吸着する傾向を示す疎水性物質では、予め試料水をろ過して、SS成分とろ液を別々に分析する必要が生じる。また、疎水性物質は、固相抽出装置の配管等に吸着する場合があります。カートリッジ型固相材を用いた分析には適さない傾向がある。一方、ディスク型では、SS成分も同時に分析可能で、通水時間も短縮できる利点があるが、カートリッジ型に比較して固相材の高さが小さいことから図 5.2.1-1 に示すように極性物質の回収率が低下する傾向がある。

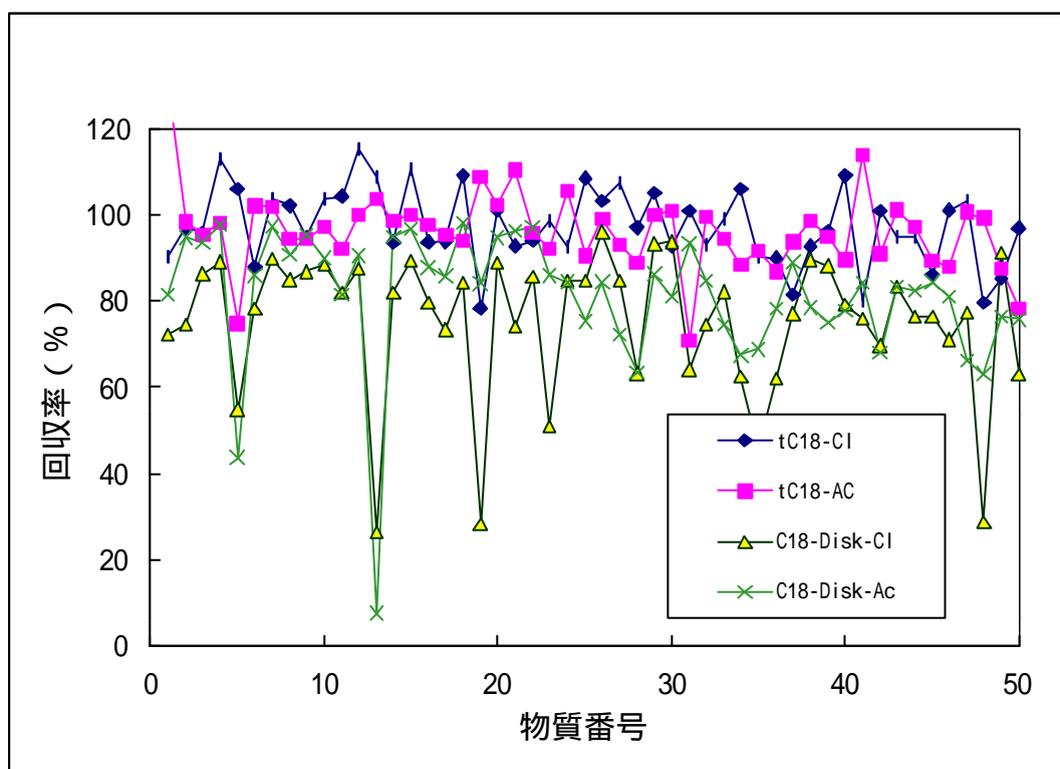


図 5.2.1-1 カートリッジ型及びディスク型固相を用いた農薬類の抽出率
(Cl: ジクロロメタン溶出、Ac: アセトン溶出)

溶媒抽出法と固相抽出法を比較した場合、一般に固相抽出法が極性物質の抽出率が高い傾向を示す。表 5.2.1-1 に有機リン酸トリエステル類の固相ディスク法による抽出率を示したが、溶媒抽出法では低い回収率を示す Triethyl phosphate が固相抽出法ではかなり高い回収率を示す。

表 5.2.1-1 有機リン酸トリエステル類の固相ディスク法による抽出率

物質名	C18FF	C18	C8	XC	XD
Trimethyl phosphate	1	2	1	1	1
Triethyl phosphate	57	87	67	85	82
Triallyl phosphate	96	91	98	108	99
Tributyl phosphate	88	89	96	98	90
Tris(2-chloroethyl) phosphate	102	100	106	134	110
Tris(chloropropyl) phosphate	96	88	99	105	99
Tri-n-amyl phosphate	64	78	89	90	80
Tris(1,3-dichloro-2-propyl) phosphate	102	91	102	108	95
Triphenyl phosphate	95	89	98	92	89
2-Ethylhexyl diphenyl phosphate	73	78	92	86	84
Tris(2-butoxyethyl) phosphate	93	112	108	155	115
Tris(2-ethylhexyl) phosphate	75	69	95	83	86
Tricresyl phosphate	79	75	94	85	82
Trixylenyl phosphate	89	84	98	97	85
Tris(2,3-dibromopropyl) phosphate	139	134	115	162	109
Tris(4-tert-butylphenyl) phosphate	68	59	90	81	87

一般に、C18系の固相材では、アルキル基の鎖長の長いC18がC8及びC2よりも高い回収率を示すが、吸着力の強い物質では、鎖長が長くなると溶出率が低下する傾向を示す。また、ポリスチレンゲル系の固相材（PS2、XC、XD等）はC18よりも高い吸着能を示す傾向にある。

また、これらの固相材で抽出できない水溶性成分に対しては活性炭が有効であり、ジオキサン、アセフェート、DEP等の抽出に使用されている。

固相材から溶出する際は、脱水操作をまず行い、次に溶出を行うが、この際に目的物質が溶出しない溶媒で洗浄を行うと、クリーンアップを兼ねた溶出を行うことができる。

また、強極性物質の抽出を行う場合には、目的物質を吸着しない固相材を連結して抽出を行い、選択的に目的物質を抽出する方法も有効である。

5.2.1.2 底質試料の抽出

底質試料の抽出は、一般に溶媒抽出法が用いられる。

PCB、ダイオキシン類等では、風乾操作によって目的物質が酸化、揮散等で失われる危険性が少ないことから、風乾を行った後にトルエン等の疎水性溶媒を用いたソックスレー抽出を行う。しかし、通常の化学物質は、風乾によって損失が生じる場合が多いことから、

底質を湿泥状態で、アセトン、メタノール等の親水性溶媒を用いて振とう抽出、超音波抽出と遠心分離またはろ過操作を組み合わせる抽出するのが一般的である。

一般に、強極性物質の抽出では水、メタノール、エタノール等の親水性溶媒が使用され、疎水性物質の抽出では、アセトン、アセトニトリル等の比較的疎水的な溶媒が用いられる。また、疎水性物質の抽出では、アセトン等の親水性溶媒で試料を脱水した後に、ヘキサンベンゼン、ジクロロメタン等の疎水性溶媒で抽出したり、これらの混合溶媒で抽出する場合もある。なお、酸・塩基性で抽出する場合には、類似物質（例えば、フタル酸エステル）から目的物質（例えば、フタル酸）が生成する場合もあるので、注意を要する。

一方、抽出操作の自動化と有害な溶媒を使用しない目的から超臨界抽出装置等も使用されているが、使用できる試料量が小さいこと、また、適用できる物質の範囲も限られていることから、一般的には使用されていない。また、揮発性成分では、蒸留法も使用されるが、非揮発性成分が効率的に除去できる反面、加熱により妨害成分が増加する場合がある。

抽出溶媒の適否は、添加回収実験のみでは正確に評価できない。汚染が明らかな物質については、図 5.2.1-2 に示すように各種の抽出溶媒を用いて試料を分析して評価する必要性が生じる。

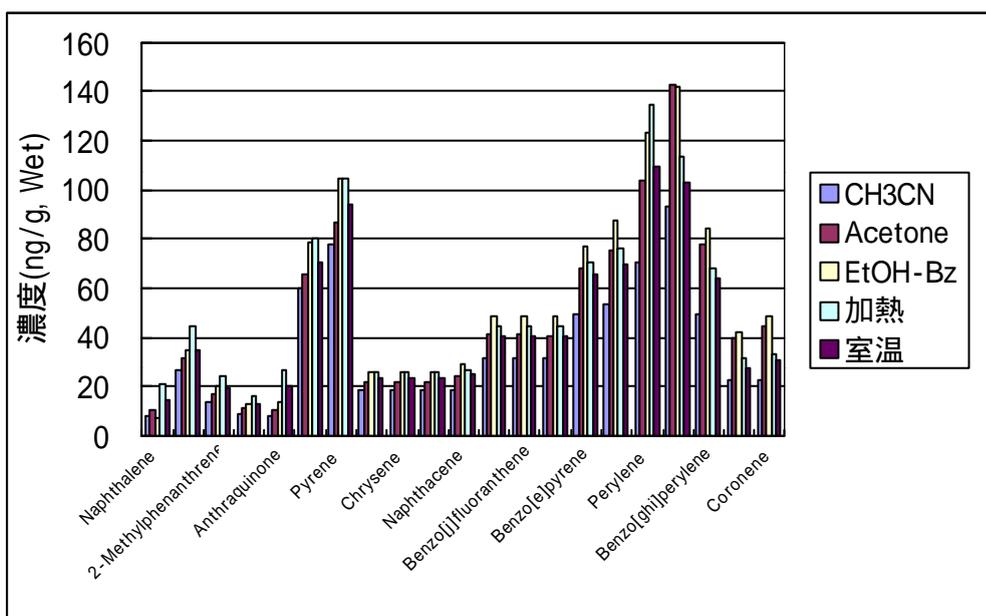


図 5.2.1-2 各種抽出法を用いた底質中多環芳香族炭化水素類 (PAHs) の分析値 (加熱、室温：アルカリ分解抽出法)

5.2.1.2 生物試料の抽出

生物試料の抽出方法は、基本的に底質試料と類似している。しかし、底質試料の汚染は、吸着等による汚染が主体であるのに対して、生物試料では、生体内に汚染物質が能動的に取り込まれていることに注意する必要がある。このため、生物試料の抽出では、細胞組織

を完全に破壊できる方法を用いる必要があり、ポリトロンホモジナイザーや超音波装置を用いた抽出が行われる。非揮発性の成分を抽出する場合には、凍結乾燥装置を用いた脱水が行われる場合もある。また、塩素系農薬等の疎水性物質の分析では、無水硫酸ナトリウムを混和した状態で組織をすりつぶして抽出する方法が行われている。また、PCB、ダイオキシン類では、組織を完全に破壊できるアルカリ分解法が抽出法として用いられている。

5.3 試料液のクリーンアップ

クリーンアップ操作は、試料液の中に含まれる夾雑成分の量と質によって、適用すべき方法が異なってくる。一般に、水質試料のように夾雑成分が少ない場合には、カートリッジカラムを用いた簡便なクリーンアップのみでよいが、生体成分に富む生物試料では多種類のクリーンアップ方法を組み合わせる必要が生じる。

5.3.1 分配・逆抽出操作

生体中に含まれる脂肪分や底質中に含まれる疎水性成分を除去する操作として、アセトニトリル/ヘキサン分配、メタノール/ヘキサン分配が利用され、これにより試料中に含まれる脂肪、炭化水素類等の疎水性成分の大部分を除去することができる。表 5.3.1-1~3 に示したように HCB、PCB 等の疎水性成分の回収率は低いが大部分の有害化学物質を回収できる。

また、フェノール、アミン等の酸塩基性成分の分析では、酸・塩基性下における逆抽出操作も極めて有効な粗クリーンアップ法となる。

5.3.2 硫酸洗浄及び銅粉処理

ダイオキシン、PCB 等のクリーンアップでは、硫酸洗浄操作により試料液中の脂肪等の夾雑成分硫酸相に分配・分解して除去している。硫酸洗浄は主として夾雑成分の除去法として使用されているが、フタル酸エステル類等では硫酸相に抽出される。

また、底質中の硫黄分の除去法として銅粉処理が使用できるが、銅と反応して分解する成分があることに注意を要する。

5.3.3 アルカリ分解法

アルカリ分解法は、底質及び生体に含まれる脂肪酸、タンパク質等の成分を効率的に除去できる方法であり、PCB、ダイオキシン類、多環芳香族炭化水素類、スチレンダイマー・トリマー、フェノール類、有機スズ化合物等の分析で使用されている。

アルカリ分解法には加熱分解法と室温分解法があるが、ダイオキシン類等では、加熱に

より脱塩素化が生じるため室温分解法が採用されている。図 5.3.3-1 にポリプロモビフェニル(PBBs)類の例を示すが、高臭素化 PBBs も室温分解では脱臭素化が生じていない。

表5.3.1-1 アセトニトリル・ヘキサン分配及びメタノールヘキサン分配の比較

Compounds	Acetonitrile/Hexane						Methanol/Hexane					
	1st ¹⁾		% of Hydrous ²⁾				1st ³⁾		% of Hydrous ⁴⁾			
	Partition	0%	1%	2%	3%	5%	Partition	0%	1%	2%	3%	5%
Naphthalene	88	88	88	88	87	85	75	97	97	73	74	79
1-benzothiophene	95	91	91	91	91	89	80	100	79	79	81	83
-methyl naphthalene	85	85	84	83	82	79	80	100	100	72	74	79
-methyl naphthalene	87	85	84	85	83	81	71	100	100	71	73	77
Acenaphthene	90	82	82	80	79	75	66	100	100	67	66	70
1,4-dimethylnaphthalene	87	80	78	75	74	71	59	100	100	62	67	62
1,5-dimethylnaphthalene	87	80	78	75	74	71	59	100	100	62	66	62
1,2-dimethylnaphthalene	89	81	80	79	78	71	64	100	100	67	66	69
1,8-dimethylnaphthalene	90	83	80	80	78	77	62	100	100	65	62	65
Phenanthlene	90	91	91	91	90	88	78	98	98	78	78	75
Anthracene	90	90	90	90	86	85	75	100	100	79	78	75
Dibenzothiophene	89	90	89	89	89	87	78	100	100	79	78	76
Diisobutylnaphthalene	74	71	69	71	66	62	60	97	97	73	73	67
-HCH	94	98	96	96	98	97	87	99	96	91	91	90
-HCH	79	98	86	84	91	88	93	95	96	98	95	93
HCB	46	54	57	57	52	43	30	77	65	50	48	44
Anthraquinone	94	96	92	94	94	90	98	90	90	98	92	94
o-Terphenyl	87	90	87	85	85	84	66	98	94	74	74	70
Fluoranthene	91	93	91	92	91	89	79	95	92	79	79	76
Pyrene	89	91	89	89	89	86	76	93	90	75	76	72
1,2-Benzofluorene	92	95	97	93	90	89	70	88	84	76	73	71
m-Terphenyl	88	92	92	92	91	92	64	89	83	73	71	69
p-Terphenyl	87	93	93	92	89	87	60	86	80	72	72	66
p,p'-DDD	97	99	97	99	98	96	78	93	94	92	93	90
Dieldrin	85	85	91	85	85	91	82	89	91	85	88	87
p,p'-DDE	62	83	82	81	81	70	46	91	86	71	71	61
trans-Chlordane	90	93	94	91	93	85	70	98	91	89	87	85
cis-Chlordane	90	92	91	90	94	94	70	95	95	86	89	85
trans-Nonachlor	88	95	93	92	92	92	56	87	91	84	88	84
cis-Nonachlor	92	88	94	85	91	89	65	90	89	90	93	92
1,2-Benzanthracene	90	91	92	92	89	87	73	88	79	82	81	81
Chrysene	88	91	90	89	89	87	76	85	82	78	79	80
Naphthacene	85	90	88	88	86	90	86	97	98	87	91	87
pp'-DDT	91	93	92	92	92	87	67	87	86	80	83	76
Benzo(b)fluoranthene	86	97	96	91	96	95	77	85	83	85	81	76
Benzo(j)fluoranthene	86	97	96	91	96	95	77	85	83	82	81	77
Benzo(e)pyrene	89	94	92	92	91	89	76	83	81	77	79	73
Benzo(a)pyrene	87	93	90	90	89	88	75	86	81	78	78	75
Perylene	89	91	92	90	91	97	79	82	87	82	81	75
3-methylchlanthrene	73	79	80	82	88	88	63	80	90	77	75	70
Indeno(1,2,3-CD)pyrene	91	97	99	97	92	91	71	86	82	80	76	77
Benz(ghi)perylene	92	95	93	93	90	91	72	87	83	81	77	78
Dibenzo(a,h)anthracene	93	96	96	94	94	96	74	85	80	80	78	74
Chlonene	86	97	90	90	86	86	89	92	88	81	75	82

1) CH₃CN(150ml)+H₂O(40ml)/Hexane(10ml)

2) 5%HydrousCH₃CN(50ml)/Hexane(10ml)

3) MeOH(100ml)+Acetone(50ml)+H₂O(40ml)/Hexane(10ml)

4) 5%HydrousMeOH(50ml)/Hexane(10ml)

表5.3.1-2 アセトニトリル・ヘキサン分配及びメタノールヘキサン分配の比較

Compounds	Acetonitrile/Hexane						Methanol/Hexane					
	1st ¹⁾	% of Hydrous ²⁾					1st ³⁾	% of Hydrous ⁴⁾				
	Partition	0%	1%	2%	3%	5%	Partition	0%	1%	2%	3%	5%
dimethyl ADP	99	98	99	99	100	98	98	98	97	94	97	98
divinyl ADP	100	97	97	100	97	97	92	100	97	89	90	93
diethyl ADP	97	97	97	96	97	97	95	96	94	91	94	95
diallyl ADP	98	98	100	100	99	99	94	96	92	91	93	94
di-iso-butyl ADP	92	92	93	93	93	91	76	91	87	84	87	87
di-iso-propyl ADP	97	95	95	95	94	94	91	93	90	89	91	91
di-n-propyl ADP	97	96	96	97	96	96	92	94	91	90	92	92
di-iso-propyl Ph	96	96	96	96	96	96	92	94	92	90	92	92
dimethyl Ph	99	99	100	100	100	100	99	98	97	96	97	98
dimethyl tere Ph	98	98	99	98	98	98	96	97	95	90	92	94
diethyl iso Ph	98	97	98	97	98	98	97	97	95	92	93	96
diethyl Ph	98	98	99	98	98	98	98	96	95	94	95	94
diethyl tere Ph	96	95	95	95	95	95	88	93	89	86	88	88
TBP	98	98	96	98	99	99	94	100	96	98	100	98
dimetoxy ADP	90	90	90	93	93	90	95	97	97	97	97	97
dibutyl ADP	92	93	94	94	94	93	79	92	89	87	89	89
diallyl Ph	98	99	99	99	99	99	97	96	96	94	96	96
di-n-propyl Ph	97	97	97	97	98	97	93	94	93	92	93	94
224T	83	83	85	82	84	79	70	90	85	78	78	75
TCEP	69	71	69	67	66	62	68	94	94	78	75	78
TCEP	97	97	99	96	99	94	100	98	98	100	100	100
di-n-butyl Ph	94	94	94	94	93	94	84	89	87	87	89	87
di-iso-butyl Ph	97	93	93	91	97	96	89	94	92	92	92	92
TNAP	96	94	96	96	94	96	76	98	96	96	96	96
dibenzil ADP	100	99	100	100	100	99	87	94	93	95	95	97
BPBG	99	98	99	98	98	99	92	96	95	96	96	97
Benzyl-n-butyl Ph	98	96	97	96	96	97	91	93	91	91	93	93
cyclohexyl Ph	90	92	91	91	91	90	72	88	84	84	85	83
di(2-ethylhexyl) Ph	35	39	45	33	27	43	11	77	69	64	58	53
di-iso-nonyl Ph	45	75	72	67	66	61	15	80	72	67	66	57
n-octyl Ph	43	75	72	66	64	57	8	78	68	64	62	55
TOP	98	97	97	95	95	95	97	98	97	100	98	97
Diphenyl Ph	100	100	100	100	100	100	96	95	96	96	96	97
ODP	96	96	96	96	96	96	82	91	89	91	91	96
TBXP	89	91	95	79	95	88	83	83	63	71	72	66
TPP	100	99	99	99	99	99	98	95	95	98	97	98
CDP	97	99	97	92	96	96	97	97	94	96	97	96
TCP	98	99	98	93	94	92	92	94	93	96	96	96
CRP	93	95	88	95	95	93	96	96	95	95	95	91
TIPP	72	63	88	63	38	31	82	76	75	78	78	70
TBPP	45	74	84	84	64	81	74	88	83	86	80	83
diheptyl Ph	68	81	80	78	74	71	42	83	76	73	70	68
di(2-butoxyethyl) Ph	89	93	93	92	91	91	77	93	91	91	90	89
di(2-ethylhexyl) ADP	45	61	61	55	57	52	32	79	69	65	65	60

1)CH₃CN(150ml)+H₂O(40ml)/Hexane(10ml)

2)5%HydrousCH₃CN(50ml)/Hexane(10ml)

3)MeOH(100ml)+Acetone(50ml)+H₂O(40ml)/Hexane(10ml)

4)5%HydrousMeOH(50ml)/Hexane(10ml)

表5.3.1-3 アセトニトリル・ヘキサン分配及びメタノールヘキサン分配の比較

Compounds	Acetonitrile/Hexane						Methanol/Hexane					
	1st ¹⁾	% of Hydrous ²⁾					1st ³⁾	% of Hydrous ⁴⁾				
	Partition	0%	1%	2%	3%	5%	Partition	0%	1%	2%	3%	5%
BPMC	99	100	100	100	100	100	94	90	97	93	93	96
DDVP	100	100	99	100	99	97	100	100	100	100	100	100
Chlorneb	98	97	97	98	97	97	90	100	100	86	89	89
Echlomezole	95	91	90	88	89	87	89	100	100	80	82	83
Simazine	99	99	99	97	99	99	100	97	98	100	100	100
Pencycron	98	97	97	100	98	95	96	91	100	100	96	93
Atrazin	99	100	100	100	100	100	100	98	98	100	100	100
Bethrodine	90	96	96	96	94	94	67	95	93	84	84	81
Propyzamide	100	100	99	100	93	93	100	99	99	99	100	100
IBP	100	100	99	100	100	100	97	97	97	98	98	100
Chlorthalonil	100	100	100	100	100	100	94	96	96	95	95	96
Diazinone	97	97	97	97	100	100	92	96	93	93	92	92
Simetryn	99	100	99	100	100	100	100	97	100	100	100	100
MBPMC	100	99	98	99	99	99	97	98	97	98	98	100
Tolchlophos-methyl	97	98	97	98	97	97	89	95	93	89	90	89
MEP	98	99	99	100	99	99	96	98	97	98	98	96
Malathion	100	100	100	99	100	100	98	98	97	98	98	99
Metolachlor	100	98	97	97	97	98	96	96	96	96	96	99
Thiobencarb	98	98	96	98	96	96	91	96	94	92	93	93
MPP	100	100	100	100	100	100	94	97	97	94	94	94
Chlorpyrifos	94	96	96	96	96	94	76	94	90	85	85	83
Pendimethaline	94	95	94	95	64	93	73	88	85	83	82	79
Captan	97	91	95	95	94	93	95	95	96	97	94	91
-CVP	98	99	95	99	98	99	97	95	97	98	97	98
-CVP	98	98	98	97	98	99	97	97	98	98	98	100
Methyl dymron	99	98	98	98	98	98	97	96	97	97	97	98
Methidathion	100	100	100	100	100	100	98	95	96	96	96	98
Isophenphos	98	98	98	98	97	99	92	96	96	94	95	95
Napropamide	98	99	97	99	97	98	100	97	97	99	99	99
NIP	99	99	98	98	98	94	100	93	93	91	91	99
Butamifos	100	100	100	100	100	99	93	95	96	96	97	96
Isoprothiorane	98	100	99	99	99	97	97	97	98	98	100	100
Isoxathion	97	94	95	95	97	94	93	97	94	92	94	94
Flutolanil	99	97	97	96	96	92	98	98	97	100	100	98
Chlorbenzilate	98	98	98	97	97	97	91	93	94	94	96	96
Mepronil	100	97	99	99	97	99	97	95	97	98	98	98
EDDP	98	96	98	96	98	99	96	95	96	96	96	96
CNP	94	96	94	96	95	94	78	89	89	89	89	86
X-52	95	98	96	98	95	98	94	93	92	95	96	93
Iprodione	96	96	96	96	97	96	97	100	100	100	100	100
Nitralin	100	99	100	100	100	99	98	98	100	100	100	100
Piridaphenthion	97	97	97	99	96	96	97	97	94	96	97	96
EPN	93	89	96	96	92	88	91	88	91	94	98	94
Bifenox	89	93	97	92	88	91	92	87	94	90	93	93
Phosalone	98	94	97	95	95	93	96	95	95	96	97	99

1) CH₃CN(150ml)+H₂O(40ml)/Hexane(10ml)

2) 5%HydrousCH₃CN(50ml)/Hexane(10ml)

3) MeOH(100ml)+Acetone(50ml)+H₂O(40ml)/Hexane(10ml)

4) 5%HydrousMeOH(50ml)/Hexane(10ml)

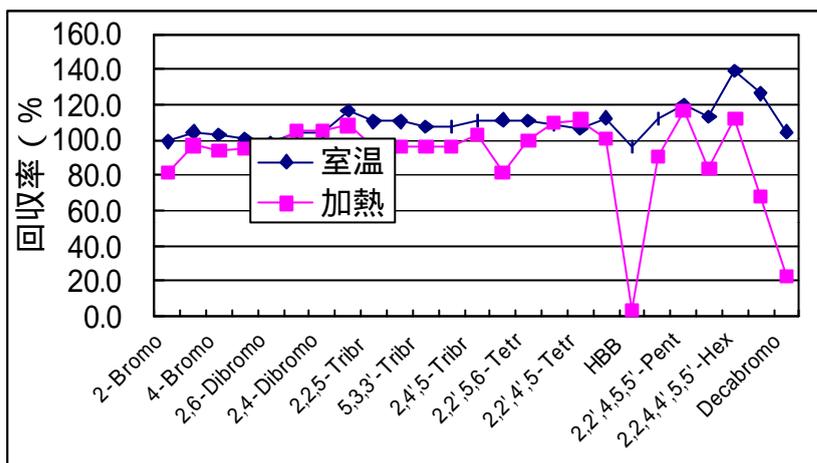


図 5.3.3-1 PBBs のアルカリ分解

5.3.4 ゲルパーミションカラムクロマトグラフィー

ゲルパーミションカラムクロマトグラフィー (GPC) は、分子量分布によって分画できるため、目的成分と夾雑成分を正確に分離できる。

従来、GPC は食品中の残留農薬クリーンアップ法としてシクロヘキサン等の疎水性溶媒を用いた方法が行われてきたが、最近では環境中のフタル酸エステル類の分析で親水性溶媒（アセトニトリル等）を用いた方法が開発されている。

親水性溶媒を用いた場合には、LC/MS との直結も容易と考えられ、将来は、前処理と分析の自動化が可能になると考えられる。

5.3.5 カラムクロマトグラフィー

カラムクロマトグラフィーを用いたクリーンアップ法には、シリカゲル、フロリジル等を順相カラムクロマトグラフィー、化学結合型シリカゲルを用いた逆相カラムクロマトグラフィー、活性炭等を用いた吸着クロマトグラフィー及びイオン交換型カラムクロマトグラフィーがある。

逆相カラムクロマトグラフィー及びイオン交換型カラムクロマトグラフィーは、主として強極性物質のクリーンアップに適しており、順相及び吸着型は、無極性から中極性成分のクリーンアップに適している。

環境分析では、フロリジルまたはシリカゲルを用いた順相クロマトグラフィーが多用されている。フロリジルは、生体中の脂肪分の保持能力が高い利点を持つが、強極性成分を溶離しにくい傾向がある。一方シリカゲルは、底質中の夾雑成分の分離には適しているが生体成分の保持能力が劣る欠点を持っている。

順相カラムクロマトグラフィーでは、試料液を疎水性溶媒でカラムに負荷させた後、溶離液の極性を高めながら、目的物質を溶離する。しかし、溶離液の極性を高めても、強極

性成分が担体に不可逆吸着して溶離しない場合がある。これを防止する目的で担体を含水させる方法が有効であるが、20%以上のアセトンを含む溶離溶媒を使用した場合には担体中の水分が溶脱するため、アセトンに換えてエタノール等の極性溶媒を使用する必要がある。

一般に水質等の夾雑成分の少ない試料ではカートリッジ型の固相が使用できるが、底質、生物試料等では夾雑成分の負荷量が大きくできるオープンカラムが用いられている。

一方、活性炭カラムクロマトグラフィーは、化学物質の立体構造に依存した分離特性を持ち、特に底質中に含まれる着色成分の除去に有効であり、PCB とダイオキシン類の相互分離にも使用されている。また、ダイオキシン類の分析では、硫黄系化合物の分離を目的に硝酸銀含浸シリカゲルが使用されている。

表 5.3.5-1~6 に 5%含水シリカゲルクロマトグラフィー及び活性炭カラムクロマトグラフィーにおける環境ホルモン関連物質の分離状況を示した。

表 5.3.5-1 ポリプロモビフェニル類の分離状況 (5%含水シリカ、5g)

物質名	Hexane				1%AcHex	
	0-10ml	10-15ml	15-20ml	20-30ml	0-20ml	
2-Bromobiphenyl	0	0	6	96	0	
3'-Bromobiphenyl	0	0	33	22	0	
4-Bromobiphenyl	0	0	26	44	0	
2,2'-Dibromobiphenyl	0	0	1	96	3	
2,6-Dibromobiphenyl	0	0	3	97	1	
2,5-Dibromobiphenyl	0	1	67	16	0	
2,4-Dibromobiphenyl	0	1	72	20	0	
4,4'-Dibromobiphenyl	0	1	38	0	0	
2,2,5-Tribromobiphen	0	0	75	20	0	
2,4,6-Tribromobiphen	0	0	75	20	0	
2,3',5-Tribromobiphe	0	1	85	8	0	
2,4,5-Tribromobiphen	0	1	85	8	0	
2,4',5-Tribromobiphe	0	3	82	2	0	
3,4,5-Tribromobiphen	0	0	69	10	0	
2,2',5,6-Tetrabromob	0	1	32	62	0	
2,2',5,5'-Tetrabromo	1	2	87	11	0	
2,2',4',5-Tetrabromo	0	5	85	5	0	
3,3',5,5'-Tetrabromo	0	51	23	0	0	
HBB	0	79	7	0	1	
2,2',4,5,6-Pentabrom	0	16	83	4	0	
2,2',4,5,5'-Pentabro	0	13	76	3	0	
2,2,4,4',6,6'-Hexabr	1	64	37	1	1	
2,2,4,4',5,5'-Hexabr	1	37	57	3	1	
3,3',4,4',5,5'-Hexab	7	2	81	6	11	
Decabromobiphenyl	6	22	72	9	2	

表 5.3.5-2 塩素系農薬等の分離状況 (5%含水シリカ、5g)

物質名	Hexane	1% AcHex	10 % AcHex			
	0-30ml	0-50ml	0-20ml	20-40ml	40-60ml	
4-Nitrotoluene		2	0	70	0	0
Benzophenon		0	0	93	0	0
a-HCH		1	70	13	0	0
b-HCH		1	1	67	3	0
g-HCH		2	1	74	1	0
d-HCH		1	1	61	14	0
HCB		91	0	0	0	0
Chlordene	101	1	1	0	0	1
Alachlor	4	1	37	35	1	1
Heptachlor	84	3	0	1	0	0
Aldrin	92	1	0	0	0	0
Octachlorostylene	92	1	0	0	0	0
Oxychlordane	5	55	4	1	2	2
Heptachlor-exo-epoxi	2	5	63	1	1	1
Heptachlor-end-epoxi	3	5	68	1	0	0
2,4,8-TCDF	90	1	0	0	0	0
trans-Chlordane	0	74	0	0	0	0
o,p'-DDE	93	10	0	0	0	0
cis-Chlordane	2	77	1	0	0	0
trans-Nonachlor	6	82	0	0	0	0
a-Endsulfan	6	106	1	1	0	0
p,p'-DDE	94	2	1	0	0	0
Dieldrin	9	2	69	1	0	0
o,p-DDD	4	58	3	0	0	0
Nitrofen(NIP)	87	7	8	1	0	0
Endrin	92	2	2	0	0	0
b-Endsulfon	11	7	51	23	2	2
cis-Nonachlor	1	56	16	0	0	0
p,p'-DDD	1	57	7	0	0	0
o,p'-DDT	38	27	5	1	0	0
p,p'-DDT	17	53	0	19	0	0
Kepone(Chlordecon)	6	69	18	2	0	0
Endsulfan Sulfate	7	2	1	90	1	1
Di(2-ethylhexyl) Adi	7	4	78	2	2	2
Methoxychlor	1	0	64	9	0	0
Kelthane(Dicofol)	2	1	56	6	0	0
Mirex	104	1	0	0	0	0
Benzo[a]pyrene	0	50	2	0	0	0

表 5.3.5-3 塩素系農薬等の分離状況 (5%含水シリカ、5g)

物質名	Hexane		1%AcetoneHexane					10%AcetoneHexane			
	0-30ml	0-50ml	50-60ml	60-70ml	70-80ml	80-90ml	90-100ml	0-20ml	20-40ml	40-60ml	60-80ml
Trifluralin	1	2	17	104	1	0	1	1	0	1	2
Simazine	0	0	0	1	0	0	0	0	61	29	1
Atrazine	0	0	0	0	1	0	0	0	113	1	0
Carbaryl	3	0	0	1	1	0	0	0	3	68	12
Metribuzin	0	0	0	0	1	0	0	1	118	4	0
Vinclozolin	0	0	9	100	1	0	1	0	0	0	0
Malathion	5	1	0	1	1	0	0	25	56	2	1
Parathion	1	1	8	100	3	1	1	1	1	2	0
cis-Permethrin	0	0	10	113	0	0	0	0	0	0	0
trans-Permethrin	0	0	10	113	0	0	0	0	0	0	0
Cypermethrin-1	8	5	11	118	1	1	1	2	4	3	4
Cypermethrin-2	0	2	9	101	9	1	0	0	3	0	0
Fenvalerate	1	1	7	78	29	2	1	1	0	0	1
Esfenvalerate	0	0	3	31	49	8	0	0	0	0	0

表 5.3.5-4 農薬等の分離状況 (Envi-Carb,250mg)

物質名	Hexane		50%AcetoneHexane		Bz:Ac:Hex(3:3:4)		Acetone	Benzene	
	0-5ml	5-10ml	0-5ml	5-10ml	0-5ml	5-10ml	10ml	10ml	
Trifluralin	104	1	1	1	1	1	2	1	0
Simazine	0	1	111	1	0	0	0	0	0
Atrazine	25	28	17	0	0	0	0	0	1
Carbaryl	2	0	113	6	2	2	0	0	1
Metribuzin	89	0	1	0	0	0	1	0	0
Vinclozolin	104	0	0	0	0	0	1	1	1
Malathion	108	2	1	2	0	3	1	0	0
Parathion	101	7	9	4	2	2	4	4	4
cis-Permethrin	103	3	0	0	0	0	0	0	0
trans-Permethrin	101	2	0	0	0	0	0	0	0
Cypermethrin-1	95	10	1	1	0	2	1	2	2
Fenvalerate	64	29	5	1	1	1	2	1	1
Esfenvalerate	50	32	2	0	0	1	1	0	0

表 5.3.5-5 塩素系農薬等の分離状況 (Envi-Carb,250mg)

物質名	Hexane		50% AcetoneHexane		Bz:Ac:Hex(3:3:4)		Acetone	Benzene
	0-5ml	5-10ml	0-5ml	5-10ml	0-5ml	5-10ml	10ml	10ml
4-Nitrotoluene	86	7	4	0	1	0	0	1
Benzophenon	98	7	3	0	0	0	0	0
a-HCH	110	0	0	0	0	1	0	0
b-HCH	100	0	0	0	0	0	0	0
g-HCH	105	1	1	2	0	1	1	1
d-HCH	103	0	0	1	0	0	0	1
HCB	1	18	33	17	11	0	1	0
Chlordene	114	2	0	0	0	0	1	1
Alachlor	104	0	0	0	0	1	1	0
Heptachlor	103	1	1	0	1	0	2	0
Aldrin	112	0	0	0	0	0	0	1
Octachlorostylene	109	0	1	0	0	0	0	0
Oxychlordane	106	1	2	1	0	1	2	1
Heptachlor-exo-epoxi	26	1	1	1	1	1	0	0
Heptachlor-end-epoxi	108	2	1	1	1	1	0	0
2,4,8-TCDF	0	0	0	0	1	40	7	46
trans-Chlordane	104	0	0	0	0	0	0	0
o,p'-DDE	107	0	0	0	0	0	1	0
cis-Chlordane	105	0	0	0	0	0	1	0
trans-Nonachlor	105	0	0	0	0	0	0	0
a-Endsulfan	108	4	5	1	2	3	3	3
p,p'-DDE	118	0	0	0	0	0	0	0
Dieldrin	109	1	4	1	1	2	1	2
o,p'-DDD	110	0	0	0	0	0	0	0
Nitrofen(NIP)	117	3	1	2	0	1	1	2
Endrin	120	0	2	0	0	1	1	0
b-Endsulfon	100	0	2	2	1	1	4	1
cis-Nonachlor	104	0	1	0	0	0	1	0
p,p'-DDD	113	0	0	0	0	0	0	0
o,p'-DDT	104	0	0	0	0	0	0	0
p,p'-DDT	98	0	0	1	0	0	0	0
Kepone(Chlordecon)	38	3	154	1	1	3	3	3
Endsulfan Sulfate	109	1	1	1	1	1	2	2
Di(2-ethylhexyl) Adi	118	1	4	2	0	3	2	1
Methoxychlor	104	1	0	1	0	0	1	0
Kelthane(Dicofol)	90	2	1	1	0	0	0	0
Mirex	100	0	0	0	0	0	1	0
Benzo[a]pyrene	0	0	0	0	0	0	0	0

表 5.3.5-6 塩素系農薬等の分離状況 (Envi-Carb,250mg)

物質名	Hexane		50% AcetoneHexane		Bz:Ac:Hex(3:3:4)		Acetone	Benzene	Toluene
	0-5ml	5-10ml	0-5ml	5-10ml	0-5ml	5-10ml	10ml	10ml	10ml
2-Bromobiphenyl	134	0	0	0	0	0	0	0	0
3'-Bromobiphenyl	72	20	9	0	0	0	0	0	1
4-Bromobiphenyl	42	11	26	4	0	0	0	0	0
2,2'-Dibromobiphenyl	101	0	0	0	0	0	0	0	1
2,6-Dibromobiphenyl	95	0	0	0	0	0	0	0	0
2,5-Dibromobiphenyl	107	3	1	0	0	0	0	1	0
2,4-Dibromobiphenyl	105	3	1	0	0	0	0	1	0
4,4'-Dibromobiphenyl	1	0	0	1	67	0	0	0	0
2,2,5-Tribromobiphen	102	0	0	0	0	0	0	0	0
2,4,6-Tribromobiphen	102	0	0	0	0	0	0	0	0
2,3',5-Tribromobiphe	90	4	0	0	0	0	0	0	0
2,4,5-Tribromobiphen	90	4	0	0	0	0	0	0	0
2,4',5-Tribromobiphe	94	3	0	0	0	0	0	0	0
3,4,5-Tribromobiphen	0	0	2	6	65	0	0	0	0
2,2',5,6-Tetrabromob	104	1	0	0	0	1	0	1	0
2,2',5,5'-Tetrabromo	105	1	0	0	0	1	0	1	0
2,2',4',5-Tetrabromo	106	0	0	0	1	0	0	0	0
3,3',5,5'-Tetrabromo	3	31	12	5	8	1	1	0	0
HBB	0	0	2	1	21	34	5	31	1
2,2',4,5,6-Pentabrom	128	0	1	1	1	1	0	1	0
2,2',4,5,5'-Pentabro	132	1	1	0	1	0	1	2	0
2,2,4,4',6,6'-Hexabr	124	1	0	3	3	0	2	3	3
2,2,4,4',5,5'-Hexabr	133	5	1	1	1	4	3	2	1
3,3',4,4',5,5'-Hexab	5	18	7	3	16	3	11	150	4
Decabromobiphenyl	80	3	10	1	23	12	10	19	6