

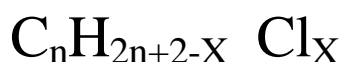
# 水質・底質・生物中の長鎖塩素化パラフィンの分析

岡山県環境保健センター

劔持 堅志、吉岡 敏行

## 【化学式】

塩素化パラフィン (CPs) 別名：クロロパラフィン  
塩化パラフィン



n は炭素数：10～30個、	x は塩素数	
40%CPs：塩素含量40%	$C_{24}H_{44}Cl_6$	平均分子量= 545
70%CPs：塩素含量70%	$C_{24}H_{29}Cl_{21}$	平均分子量=1063

## 【物理化学的性状及び用途】

平均分子量： 40%(545)、70%(1062.5)  
融点 ( )： 40% (-20)、70% (白色または淡黄色固体)  
比重： 40%(1.15～1.17)、70%(1.60～1.70)  
用途： 船舶の防火塗料、塩ビ可塑剤、合成ゴム不燃化剤、印刷インキ、潤滑油等

## 1. はじめに

塩素化パラフィン類 (CPs) は、炭化水素と塩素を原料に安価に製造できる特長があり、船舶の防火塗料、塩ビ可塑剤、合成ゴム不燃化剤、印刷インキ、潤滑油等に幅広く使用されている。CPsは、原料である炭化水素の鎖長によって短鎖 ( $C_{10} \sim C_{13}$ )、中鎖 ( $C_{13} \sim C_{17}$ )、長鎖 ( $C_{20} \sim C_{30}$ ) 分類されるが、工業製品として市販されているCPsは、鎖長と塩素化率の異なる異性体の混合物となっている。

過去の化学物質環境調査 (昭和55年度) の調査では、非常に短いパックドカラム (10～30cm) を用いたGC/ECD法で測定を行い、底質から長鎖CPsを0.5～8.5  $\mu\text{g/g}$  (検出率31/120) 検出している。また、Mehmet Coelhan (1999) らは、非常に短いキャピラリーカラム (65cm, DB-5) を用いて、GC/ECNI-MS (electron capture negative ion mass spectrometry) 法で測定し、魚類中から、短鎖CPsを11～1217ng/g (脂肪あたり) 検出するなど、CPsによる環境汚染が懸念される。

CPsはガスクロマトグラフ法で分析が試みられてきたが、長鎖CPsは高沸点であること、注入口部における熱分解も生じることから、非常に短いキャピラリーを用いてもGC/MSによる測定は不可能であった。一方、短鎖及び中鎖CPsは、分子量が比較的小さいことから、カラム長を20m以下、膜厚0.25  $\mu\text{m}$ 以下のキャピラリーカラムを使用することで、比較的短い保持時間 ( $R_t$ ) で分離・検出できたが、安定的な測定は困難であった。

このため、今回の長鎖CPsの分析法開発では、高分子化合物の測定が容易なLC/MSによる測定を検討し、水質、底質及び生物 (魚類) について分析法を確立した。

## 2. 分析法

### (1) 分析法概要

本分析法は、長鎖塩素化パラフィン (CPs、平均炭素数：24) を分析対象とする。水質試料は、ジク

ロクロメタンで抽出後、GPC (Gel Permeation Chromatography) 及びシリカゲルカートリッジカラムでクリーンアップし、底質及び生物試料は、アセトン及びジクロロメタンで抽出後、アセトニトリル/ヘキサン分配、硫酸洗浄を行った後、GPC 及びシリカゲルカートリッジカラムでクリーンアップし、LC/MS (APCI-Negative) を用いて定量する方法である。

## (2) 試薬・器具

### 【試薬】(注1)

CPs標準品：和光純薬製40%及び70%塩素化物

ヘキサン、アセトン、ジクロロメタン、アセトニトリル、メタノール、シクロヘキサン、無水硫酸ナトリウム、塩化ナトリウム：残留農薬分析用またはHPLC分析用

精製水：超純水製造装置(ミリポア社製 Milli-Q SP.TOC.)による精製水をジクロロメタンで2回洗浄して用いる。

シリカゲルカートリッジカラム：Supelclean LC-Si 12ml Tube, 2g (SUPELCO社製)

フロリジルカートリッジカラム：Supelclean Florisil 12ml Tube, 2g (SUPELCO社製)

ディスポーザブルシリンジフィルター：PURADISK 25GD(25mm、1µm、GMF-150) (Whatman社製)

### 【器具】

ロータリエバポレータ(恒温槽付き)：抽出液の濃縮に用いる。

振とう器：液々抽出に用いる。

超音波洗浄器：底質試料の超音波照射に用いる。

マイクロシリンジ：標準液の添加及びLC/MSの注入に用いる。

注射筒(10ml)：固相カートリッジカラムを用いたクリーンアップに用いる。

試料採取瓶(共栓付き全ガラス製)、分液ロート(2L、200ml、250ml)、トールビーカー(100ml、200ml)、ナス型フラスコ(50ml、100ml、200ml)、共栓付き三角フラスコ(100ml)、スピッツ型共栓付き試験管(10ml)、パスツールピペット：アセトンで洗浄し、乾燥して用いる。

GPCカラム：昭和電工 CLNpak PAE-2000 AC(プレカラム：PAE-G AC)

テフロン製ラインフィルター(オシネ型：ジーエルサイエンス社製、プレカラムの前に装着する)

## (3) 分析法

### 【試料の採取及び保存】

「化学物質環境調査試料採取要領」に従う。前処理操作は、試料採取後、速やかに行う。

### 【試料の前処理】(注1)

#### 〔水質〕

試料1Lを2Lの分液ロートに採取し、塩化ナトリウム50gを加えて十分混合・溶解する。試料容器(ガラス製)をジクロロメタン用いて数回洗浄し(ジクロロメタン総容量100ml、注2)、得られたジクロロメタン洗液を分液ロート内の試料水に合わせ、約10分間振とう抽出し、十分静置してジクロロメタン抽出液を採取する。水層はジクロロメタン50mlを用いて振とう抽出操作を更に1回繰り返す、得られたジクロロメタン抽出液は200mlのトールビーカーに合わせ、ヘキサン20mlを添加した後、無水硫酸ナトリウムを用いて脱水する(注3)。デカンテーションにより200mlのナス型フラスコに移し、無水硫酸ナトリウムはヘキサンを用いて数回洗浄し、洗液はナス型フラスコ中の抽出液に合わせる。抽出液は、ロータリーエバポレータを用いて35℃以下で減圧濃縮乾固(注4)し、アセトン約1mlを添加した後、超音波を照射して溶解(注5)し、試料抽出液とする。

#### 〔底質及び生物〕

試料約20g(底質は乾泥換算試料量として10g相当、注6)を100mlの遠心分離管に採取し、精秤する。試料を遠心分離(3,000rpm、10分)した後、遠沈管を転倒させ、間隙水をできるだけ除去する。アセトン50mlを加え、密栓して10分間振とう(注7)した後、10分間超音波抽出する。遠心分離(3,000rpm、10分)を行い、得られたアセトン抽出液は、予めアセトン及びジクロロメタンで洗浄したガラス線維ろ紙(GF/A、110m)でろ過(注8)した後、200mlのナス型フラスコに移す。残渣にアセトン50mlを加え、振とう(注7)・超音波抽出・遠心分離・ろ過操作を繰り返し、得られた抽出液は先の抽出液と合わせる。更に、残渣にジクロロメタン50mlを加え、振とう(注7)・超音波抽出・遠心分離・ろ過操作(注8)を合計2回繰り返し、得られたジクロロメタン試料抽出液(総量100ml)は、200mlのトルビーカーに移す。

アセトン抽出液は、ロータリーエバポレータを用いて約10mlまで減圧濃縮し、予め5%塩化ナトリウム溶液20mlを加えた100mlの分液ロートに移し、濃縮に用いたナス型フラスコは、ジクロロメタン20mlを用いて洗浄し(数回に分けて洗浄)、洗液は分液ロートに移し、10分間振とうを行い、十分静置後、分液し、先のジクロロメタン試料抽出液と合わす。水層は、再度ジクロロメタン20mlを用いて再抽出し、抽出液は先のジクロロメタン試料抽出液と合わす。ジクロロメタン試料抽出液にヘキサン20mlを添加した後、無水硫酸ナトリウムを用いて脱水する(注3)。抽出液をデカンテーションにより200mlのナス型フラスコに移し、無水硫酸ナトリウムはヘキサンを用いて数回洗浄し、洗液はナス型フラスコ中の抽出液に合わせる。抽出液は、ロータリーエバポレータを用いて35℃以下で減圧濃縮乾固(注4)した後、5mlのヘキサンを添加して超音波照射により溶解する(注5)。

抽出液を100mlの分液ロートに移し、更にヘキサン5ml及びヘキサン飽和アセトニトリル50mlを用いて抽出液を分液ロートに洗い込み(数回に分けて洗い込む)、10分間振とうを行い、十分静置後、アセトニトリル層を分液し、200mlのナス型フラスコに移す。ヘキサン層は、再度ヘキサン飽和アセトニトリル50mlを添加後、10分間振とうし、十分静置後、分液し、先のアセトニトリル抽出液と合わす(注9)。

アセトニトリル抽出液は、ロータリーエバポレータを用いて約35℃以下で減圧濃縮乾固し(注4)、再度ヘキサン5mlを添加して減圧濃縮乾固(注4)後、ヘキサン10mlを添加し、超音波照射を照射して溶解する(注5)。

試料液は、ヘキサン90mlを用いて無水硫酸ナトリウムを積層したガラス線維ろ紙(GF/A、110m)でろ過しながら、250mlの分液ロートに移し(注10)、濃硫酸10mlを加え、穏やかに振とうする(注11)。分液により硫酸層を除去した後、更に濃硫酸5mlを加え振とう洗浄する。この操作を硫酸層が着色しなくなるまで繰り返す(注11)。洗浄後、ヘキサン試料液は、予め5%塩化ナトリウム溶液30mlを加えた250mlの分液ロートに移し(注12)、穏やかに振とうして洗浄する(注13)。ヘキサン試料液は、再度5%塩化ナトリウム溶液20mlを用いて再度振とう洗浄する。得られたヘキサン試料液は、200mlのトルビーカーに移して無水硫酸ナトリウムを用いて脱水する。試料液を200mlのナス型フラスコに移し、ロータリーエバポレータを用いて35℃以下で減圧濃縮乾固(注4)し、アセトン約1mlを添加した後、超音波を照射して溶解(注5)し、試料抽出液とする。

#### 【試料液の調製】

試料液(アセトン溶液、注14)を予めアセトンで洗浄したディスパーザブルシリンジフィルターを用いてろ過(注15)する。フィルターを少量のアセトンで洗浄し、洗液は合わせ、窒素ガスを吹き付けて2mlとした後、GPC装置(注16)に注入し、CPsの溶出する分画(11.5~13.5min、注17)を分取する。

なお、分取開始前及び分取終了の度に、テトラヒドロフラン(THF)/トルエン(1:1)2mlをGPC装置に注入し、カラムを洗浄する。

GPC装置の操作条件は、下記のとおりである。

カラム：昭和電工 CLNpak PAE-2000 AC(プレカラム：PAE-G AC)

ラインフィルター：ジーエルサイエンス テフロン製ラインフィルター（注18）  
移動相及び流速：シクロヘキサン/アセトン（5：95） 4 ml/min（注19、20）  
カラム温度：40  
注入量：2 ml（サンプルループ容量：2 ml）  
サイクルタイム：30min（洗浄時間を含めると1時間）  
検出器：紫外吸収検出器（UV：330nm）または示差屈折検出器（RI）

GPCで分取した試料液は、ロータリーエバポレータを用いて0.5mlまで35 以下で減圧濃縮乾固し、ヘキサン5ml添加して、再度減圧濃縮乾固してアセトンを除去（注21）した後、ヘキサン1 mlを添加し、超音波を照射して溶解（注5）する。

予めヘキサン10mlで洗浄したシリカゲルカートリッジカラム（注22）にKD濃縮器用受器（20ml）またはスピッツ型試験管をセットした後、試料液をカラムに負荷し、液面をカラムベッドまで下げてから、ヘキサン9 mlを用いて濃縮容器及びカラム壁面を洗いながら試料をカラムに負荷（負荷・洗浄に使用するヘキサンの総量は10mlとなる、注23）する。更に10%アセトン含有ヘキサン10mlを用いてCPsを溶離する。溶出液は、ロータリーエバポレータを用いて35 以下で減圧濃縮乾固（注4）し、メタノール0.5mlを正確に添加した後、超音波を照射して溶解（注5）し、試料液とする。

#### 【空試料液の調製】

##### [水質試料]

予めジクロロメタンで2回洗浄した精製水1000mlを試料として、【試験の前処理】及び【試料液の調製】の項に従った操作をして得た試料液を空試料液とする。

##### [底質・生物試料]

試料を用いないで、【試験の前処理】及び【試料液の調製】の項に従った操作をして得た試料液を空試料液とする。

#### 【標準液の調製】（注1）

各標準物質100mgを正確に秤取り、ジクロロメタンを用いて溶解し、正確に100mlに定容して、1000  $\mu$ g/mlの標準原液とする。

標準原液10mlを正確に採取し、ロータリーエバポレータを用いて35 以下で減圧濃縮乾固する。希釈用溶媒（ヘキサン：固相シリカ等添加回収試験用、アセトン：GPC等添加回収試験用、メタノール：添加回収試験及び検量線用）5 mlを添加し、再度減圧濃縮乾固してジクロロメタンを留去させた後、希釈用溶媒を用いて正確に100mlに定容して、100  $\mu$ g/mlの標準液を作成する（注24）。

検量線（40%CP：0.6-20  $\mu$ g/ml、70%CP：0.15～5  $\mu$ g/ml）は、メタノールを用いて希釈する。

#### 【測定】

##### [LC/MSの条件]

###### 測定条件1

使用機種	島津 LCMS-2010
使用カラム	昭和電工 Mspak GF-310 4B (4.6mmI.D. x 50 mm)
移動相A	超純水
移動相B	アセトニトリル（またはアセトン）/メタノール（30:70）
グラジエント	50%B (0 min) 70%B (5～25 min) リニアグラジエント
移動相流量	0.2 mL/min
カラム温度	60
試料注入量	5 $\mu$ L

霧化ガス流量 2.5 mL/min  
コロナ放電電圧 -4.0 kV    プローブ温度：400    CDL温度：200  
BH温度 200

測定条件 2

使用機種 HP-1100 MS：HP-1100MSD  
使用カラム 昭和電工 Mspak GF - 310 4B (4.6mmI.D. x 50 mm)  
移動相 A 超純水  
移動相 B メタノール/アセトン (70/30)  
移動相流速 1mL/min  
カラム温度 60  
グラジエント B60% B94% (17min)  
検液注入量 10 µL  
イオン化法 APCI-Negative、SIM  
乾燥ガス N<sub>2</sub>、350、4.0L/min  
ベーパーライザ温度 400    ネブライザ：N<sub>2</sub>、60psig  
コロナ電流 40 µA    フラグメンタ電圧：70V

イオン化法 負イオン大気圧化学イオン化法 (APCI-Negative)、SIM  
モニターイオン 40%CPs：m/z 514.1, 528.1, 562.1, 576.1, 610.1, 624.1, 658.1, 672.1  
70%CPs：m/z 984.7, 998.7, 1032.6, 1046.6, 1080.6, 1094.6, 1128.6, 1142.6

〔検量線〕

標準液10 µlをLC/MSに注入し、各物質のモニターイオンの示すピーク面積の合計値を用いて検量線を作成する。

〔定 量〕

試料液10 µlをLC/MSに注入し、得られた各物質のモニターイオンの示すピーク面積の合計値から検量線により定量する。

〔計 算〕

以下の式により計算を行う。

$$\text{計算値}(\mu\text{g/mlまたは}\mu\text{g/g}) = \text{検出量}(\text{ng}) / \text{注入量}(\mu\text{l}) \times \text{最終液量}(\text{ml}) / \text{試料量}(\text{mlまたはg})$$

〔装置検出限界 (IDL)〕

本分析法に用いたLC/MSの装置検出限界を以下に示す (注25)。

装置検出限界 (IDL)

物 質 名	IDL(pg/ µ l)	濃縮率(倍)	IDL 試料濃度
			換算値 ( µ g/L)
40%CPs	0.098	2000	0.049
70%CPs	0.011	2000	0.0056

〔検出限界〕 本分析法の検出限界を下記に示す（注26）。底質は乾泥換算値を示した。

検出限界及び定量限界

	水 質		底 質		生 物	
	40%CPs	70%CPs	40%CPs	70%CPs	40%CPs	70%CPs
	μg/L	μg/L	μg/g	μg/g	μg/g	μg/g
検出限界	0.28	0.14	0.038	0.011	0.0080	0.0037
定量限界	0.83	0.41	0.12	0.033	0.024	0.011

(4) 注解

- 1) 本分析法で使用するジクロロメタン、メタノール等の有機溶媒及び標準物質は、健康に有害であり、健康障害と周辺環境の汚染防止に努める必要がある。  
本分析法では、多環芳香族炭化水素類 (PAHs)、PCB、ダイオキシン類等が試料液中に混入してくるため、前処理操作及び試料抽出液の取り扱いには十分に注意する必要がある。
- 2) CPsは極めて疎水的なため、懸濁物質に吸着して存在する可能性がある。このため、試料容器に残存した懸濁物質やガラス壁から目的物質を溶出する目的で溶媒洗浄操作を行う。容器内に残存した水分が抽出率を下げる可能性があるため、容器を転倒させ、容器内の水分を予め除去してから洗浄する。洗浄により得られたジクロロメタン洗液は、水試料の抽出溶媒となる。
- 3) 脱水を促進する目的で、ヘキサンを添加している。無水硫酸ナトリウムは、添加後は直ちに攪拌し、無水硫酸ナトリウムの固化を防止する。過剰の無水硫酸ナトリウムは、空試験値を増大させる可能性があるため、できるだけ少量で脱水する。抽出液が透明になり、無水硫酸ナトリウムが固化しなくなると脱水は完了している。
- 4) CPsは、濃縮乾固によって損失しない。
- 5) CPsは、有機溶媒等に溶解しにくい傾向があるため、超音波照射により溶解させる。
- 6) 底質は、予め水分含量を測定しておき、乾泥として10gに相当する量を採用する。
- 7) 遠沈管中の残渣は、振とう操作、ホモジナイズ操作等のみでは完全に混合しないため、ステンレス製スパテル等を用いて十分に攪拌し、抽出用溶媒に分散させてから抽出する。
- 8) ガラス線維ろ紙 (GF/A) でろ過して、固形物に起因する突沸を防止する。CPsのろ紙への吸着を防止するため、アセトン及びジクロロメタン抽出液のろ過に際しては、ろ紙及びロートの交換は行わない。
- 9) アセトニトリル/ヘキサン分配は、底質中の鉱物油、生物試料中の脂質の除去を目的に行う。アセトニトリルへのヘキサンの飽和が不十分な場合には、分配操作中にヘキサン層が消失する場合があるので、注意を要する。アセトニトリルへのヘキサンの飽和は、アセトニトリルにヘキサンを振とうしながら濁りが生じるまで添加する。水分が混入すると回収率が低下するため、分配に用いる分液ロートは乾燥しておく。
- 10) 水分が混入すると硫酸洗浄時に分解する可能性があるため、試料液の脱水を行い、使用する分液ロートも予め乾燥する。また、硫酸洗浄は危険な操作なので水分の混入による発熱、漏洩等に十分注意する必要がある。  
脱水時に用いた無水硫酸ナトリウムが混入すると、硫酸洗浄時にエマルジョンを生成しやすくなるので、混入は避ける。
- 11) 最初の洗浄時に強く振とうするとエマルジョンが生成して、分液が困難となるため、手で軽く振とうする。エマルジョンの生成が収まった場合は、10分間の機械振とうを行う。  
脂肪量の多い生物試料、夾雑物の多い底質試料等では、5回程度の洗浄が必要となる。ヘキサン量を200mlとし、硫酸量を40mlにして、2回程度洗浄しても良いが、硫酸量が多くなると回収率が低下する可能性があるため、事前の検討が必要となる。

- 12) 硫酸洗浄操作で使用した分液ロート中で水洗操作を行うと、濃硫酸に含まれる成分が水洗時にヘキサン層に抽出されてくること、発熱の危険もあるため、洗浄の終了したヘキサン抽出液は別の分液ロートに移して水洗する。
- 13) ヘキサン抽出液中に混入した硫酸、酸性成分等を除去する目的で行う。激しく振とうするとエマルジョンが生成する場合がありますので、手で軽く振とうする。
- 14) 移動相（シクロヘキサン/アセトン(5:95)）と性質の異なる溶媒を注入するとG P Cの分離が乱れるため、アセトン以外の溶媒は除去する。
- 15) 底質試料中の単体硫黄は、アセトンに溶解した際に析出する。固形物は、配管の詰まりを生じるばかりでなく、カラムの劣化の原因となるため、単体硫黄等の固形物を予めアセトンで洗浄したディスプレイザブルシリンジフィルターを用いてろ過する。  
また、夾雑物が著しく多い試料では、フロリジル（またはシリカゲル）カートリッジカラムを用いた予備精製を行うと、夾雑物と固形物のろ過ができる。  
単体硫黄は、G P Cで18~20minの分画に溶出するため、本分析法では妨害とならない。
- 16) 市販の高速液体クロマトグラフ（HPLC）が使用できる。移動相の流速が大きいため、余熱ループを設けて、移動相の温度をカラム温度と同じにするのが望ましい。  
オートサンプラーを用いる場合は、全量注入は困難なため、実注入量を測定し、補正する。
- 17) カラムの劣化の程度、装置の仕様により、CPsの保持時間は大きく変化するので、予め溶離パターンをチェックする必要がある。今回の操作条件では、CPsは、岡山県では11.5~13.5min、国土環境では13.5~16minの保持時間を示した。
- 18) カラムの劣化、配管の詰まりを防止するため、ラインフィルターをプレカラムの前に装着する。フィルターが詰まった場合は、フィルターを交換または逆洗する。  
操作中は、カラムヘッド圧の変動を監視し、ヘッド圧が上昇して回復しない場合は、ラインフィルターの洗浄・交換を行い、更にプレカラムの交換の可否を判断する。  
定期的に、試料の代わりにアセトン/水（1：1）2mlを複数回注入して、装置及びカラム内に蓄積した水溶性成分も除去すると、ヘッド圧の回復とカラムの劣化防止に効果がある。
- 19) カラムが劣化すると、例えば、ポリ塩化ナフタレン（PCNs）は一部異性体の保持時間が遅くなったため、シクロヘキサンを5%添加した。シクロヘキサンの添加は、PCNs、PCBs等の疎水性物質のG P C分離において、カラムの劣化防止と性能維持に効果があった。  
カラムの劣化は、UV吸収のあるNaphthalen、Biphenyl等の指標化合物を用いて、使用前にG P Cの分離状況を確認すると良い。
- 20) 移動相の溶媒を変更する場合は、移動相流速を1ml/min程度に落としてから行う。移動相溶媒を変更するたびにカラムの理論段数が5%程度低下するので注意が必要である。移動相は、35℃程度に加温した後、約30分間超音波照射して脱気する。
- 21) アセトンが残存するとカラムクロマトの分離が乱れるので、十分に留去する。
- 22) カラムは、ロットによって溶離パターンが変化するので、予め、溶離パターン、コンタミネーション及び妨害物質の有無等を必ず確認しておくこと。  
また、注射筒形の固相カートリッジカラムでは、少量の無水硫酸ナトリウムを固相の上部に積層することにより、水分の影響とカラムの目詰まり防止に効果がある。  
クリーンアップ効果が不十分な場合は、フロリジルカラムを使用するか、ジクロロメタンでの溶離を検討する。
- 23) 底質中の鉱物油等の非極性成分はヘキサンで溶出するため、除去される。
- 24) CPsは、各種溶媒に100µg/ml程度は可溶なため、標準物質を直接各種溶媒に溶解して標準液を作成しても良い。

25) 装置検出限界 (IDL) は、平成11年度年度第16回環境科学セミナー「分析法開発時におけるIDL算定基準の具体案」に従い、以下のとおり算出した。

表1 装置検出限界 (IDL)

物質名	40%CPs	70%CPs
注入量	6ng	1.5ng
第1回	6.453	1.503
第2回	6.246	1.539
第3回	7.093	1.373
第4回	5.886	1.462
第5回	5.622	1.494
第6回	6.348	1.429
第7回	5.752	1.518
標準偏差	0.503	0.058
IDL [ng/μl]	0.098	0.011
換算値 [μg/L]	0.049	0.0056
S/N 比	5.00	5.00
S/N 適否		
平均値 [ng]	6.20	1.47
CV% [%]	8.11	3.91

注) 注入液量: 10 μl、最終液量: 0.5ml、試料量: 1 L

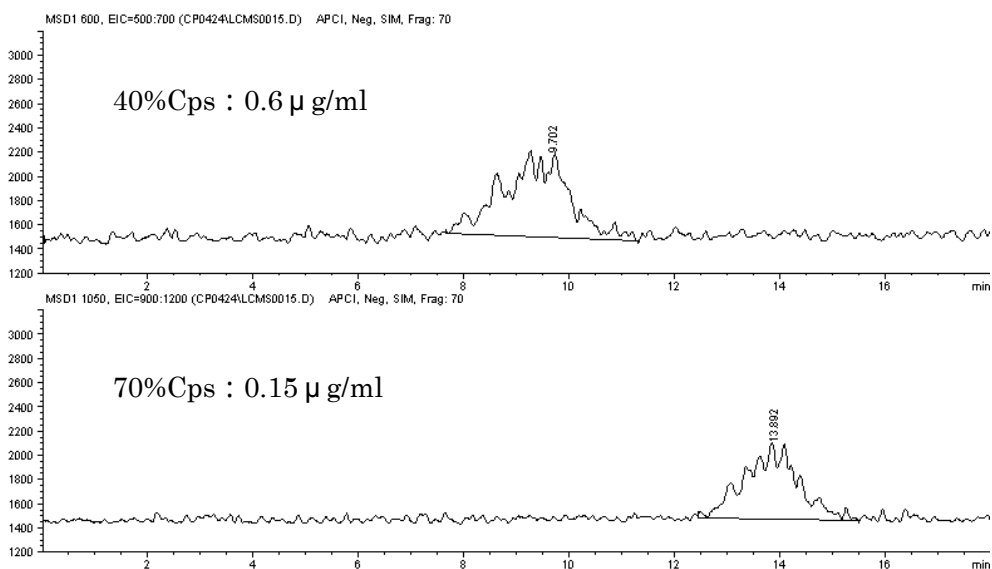


図1 IDL 付近の SIM クロマトグラム



26) 検出限界 (MDL: Method Detection Limit) 及び定量限界は、平成11年度年度第16回環境科学セミナー「分析法開発時におけるIDL算定基準の具体案」に準拠し、添加回収実験の標準偏差から検出限界 (標準偏差  $\times$  t値 (n-1,0.05)) 及び定量限界 (検出限界  $\times$  3) を以下のとおり算出した。

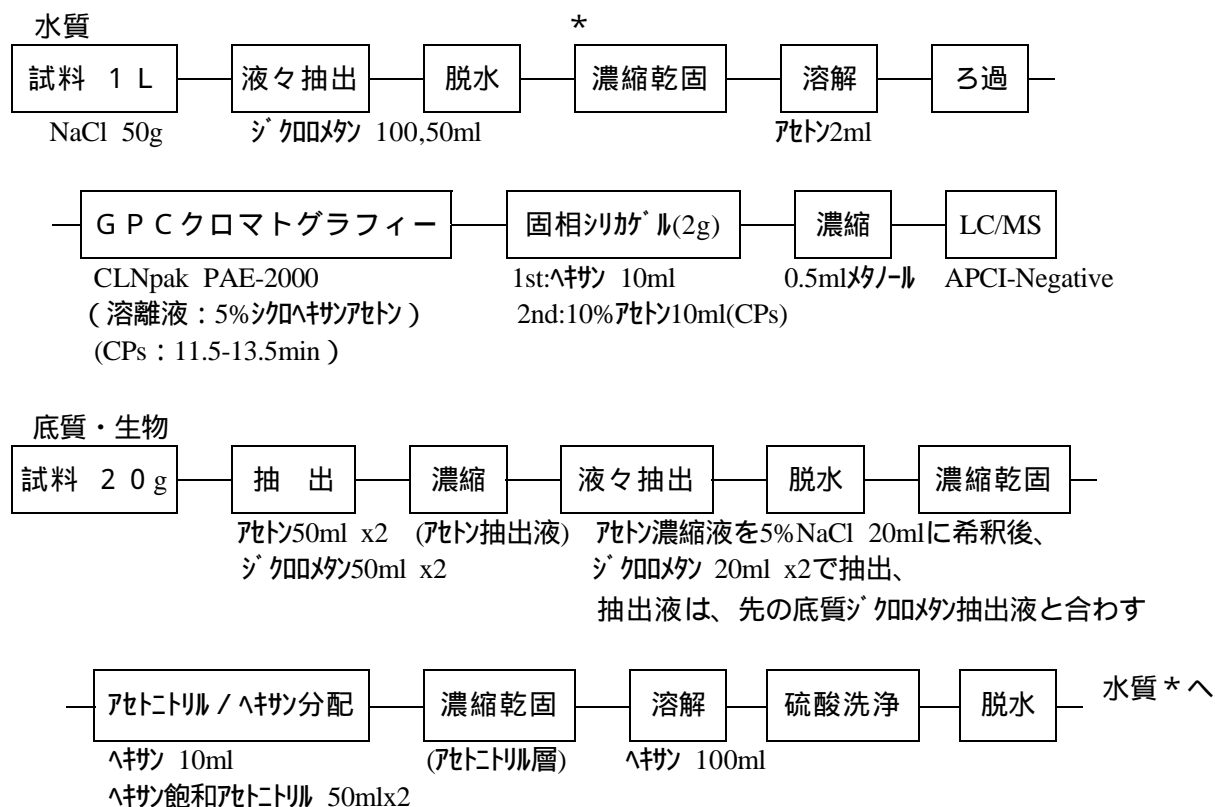
表2 検出限界及び定量限界

	水 質		底 質		生 物	
	40%CPs	70%CPs	40%CPs	70%CPs	40%CPs	70%CPs
	1	1	0.15	0.04	0.15	0.04
	$\mu\text{g/L}$	$\text{g/L}$	$\text{g/g-dry}$	$\mu\text{g/g-dry}$	$\mu\text{g/g}$	$\mu\text{g/g}$
添加1	0.806	1.025	0.103	0.025	0.114	0.027
添加2	0.872	1.073	0.113	0.028	0.108	0.025
添加3	1.179	1.183	0.128	0.032	0.116	0.026
添加4	0.841	1.090	0.081	0.019	0.118	0.029
添加5	0.860	1.190	0.098	0.022	0.116	0.027
添加6	0.862	1.159				
平均値	0.903	1.120	0.105	0.025	0.115	0.027
標準偏差	0.137	0.067	0.018	0.005	0.004	0.002
t(n-1,0.05)	2.015	2.015	2.132	2.132	2.132	2.132
n	6	6	5	5	5	5
検出限界	0.28	0.14	0.038	0.011	0.0080	0.0037
定量限界	0.83	0.41	0.12	0.033	0.024	0.011

### 3. 解説

〔分析法フローチャート〕

分析法フローチャートを次に示す。



〔分析法の検討〕

(1) 検量線

図2に検量線の例を示す。

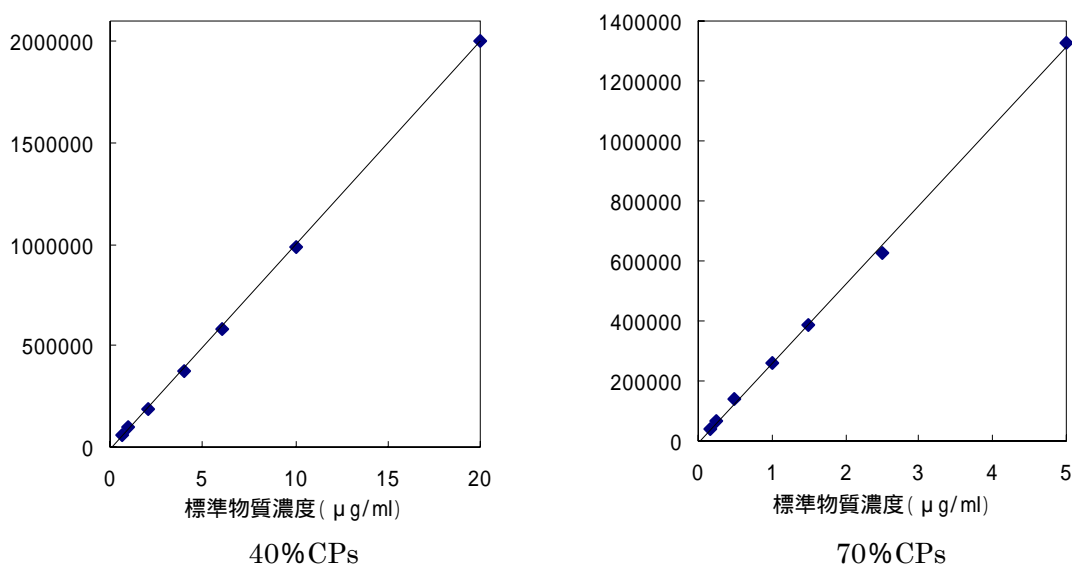


図2 検量線 (40%CPs : 0.6 ~ 20 µg/ml、70%CPs : 0.15 ~ 5 µg/ml)

(2) 低濃度添加回収実験

CPsの低濃度回収実験の結果を表3に示した。

水質の添加回収率は高い回収率が得られたが、前処理のステップ数多い底質及び生物はやや低い回収率となった。なお、底質の変動係数は19.46%と高い値を示すが、表3に示すように、無添加試料にCPsが存在したことが原因と考えられる。

表3 低濃度添加回収実験結果

40%CPs (水質 : 1 µg/L、底質 : 0.15 µg/g-dry、生物 : 0.15 µg/g)										
媒体	無添加	添加 1	添加 2	添加 3	添加 4	添加 5	添加 6	平均値	回収率 (%)	CV (%)
水質	ND	0.806	0.872	1.179	0.841	0.860	0.862	0.90	90.3	0.00
底質	0.07	0.175	0.185	0.200	0.152	0.170		0.10	69.1	0.00
生物	ND	0.114	0.108	0.116	0.118	0.116		0.11	76.4	0.00
70%CPs (水質 : 1 µg/L、底質 : 0.04 µg/g-dry、生物 : 0.04 µg/g)										
媒体	無添加	添加 1	添加 2	添加 3	添加 4	添加 5	添加 6	平均値	回収率 (%)	CV (%)
水質	ND	1.025	1.073	1.183	1.090	1.190	1.159	1.12	112.0	0.00
底質	0.007	0.032	0.035	0.038	0.026	0.029		0.02	62.2	0.00
生物	ND	0.027	0.025	0.026	0.029	0.027		0.03	67.1	0.00

(3) 測定法の検討

GC/MS及びGC/ECDを用いた測定法の検討

ポリプロモビフェニルの分析に使用されるDB-1HT(15m)を用いてGC/MSで検討した。40%CPsは、低い温度で注入し、急速に昇温するのが高感度測定に適していたが、70%CPsはほとんど感度を示さず、実質カラム長を2m(空カラム13m接続)に短縮しても改善できなかった(図3, 4)。

一方、GC/ECDでは、カラム長を短く(1m)でき、また、カラム流速を大きく(5ml/min)できることから、注入口部での熱分解の影響が小さくなり、比較的良い定量性を示した(図5)。

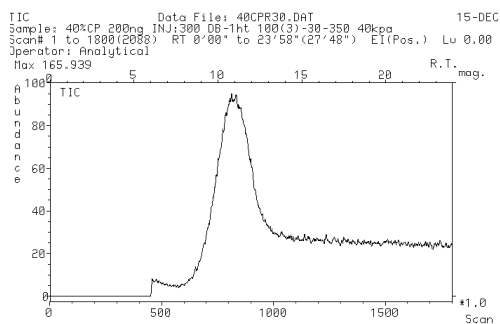


図3 GC/MSによる40%CPsの測定  
200ng (100(3)-30 /min-350 )

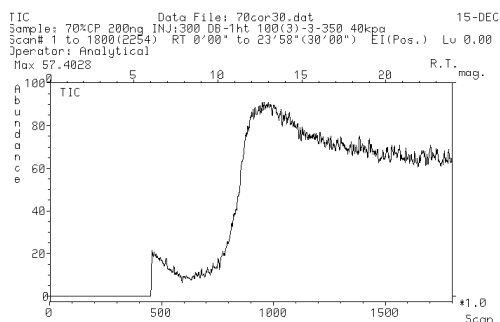


図4 GC/MSによる70%CPsの測定

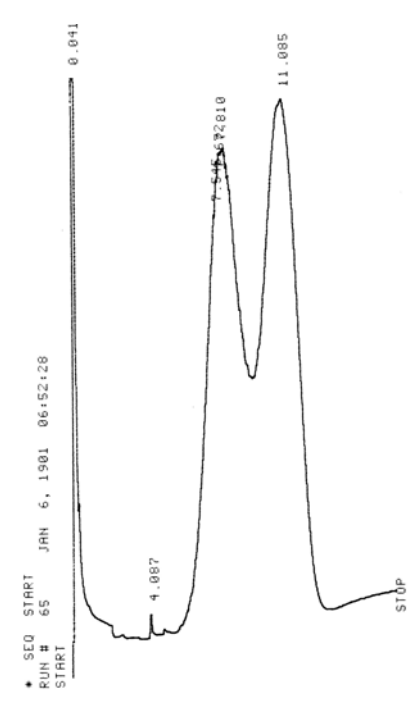
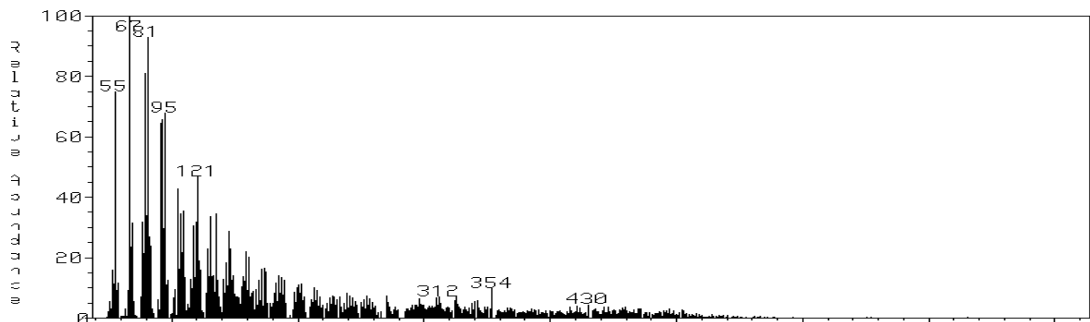


図5 GC/ECDによるCPsの測定

MASS SPECTRUM Data File: 40CPR30.DAT 15-DEC-99 18:07  
 Sample: 40%CP 200ng INJ:300 DB-1ht 100(3)-30-350 40kpa  
 RT 11'01" EI (Pos.) GC 330.8c BP: m/z 67.0000 Int. 2.8533 Lu 0.00  
 Scan# (794 to 846) - (1084, 1145) [coef. 1.00]



MASS SPECTRUM Data File: 40CPR30.DAT 15-DEC-99 18:07  
 Sample: 40%CP 200ng INJ:300 DB-1ht 100(3)-30-350 40kpa  
 RT 11'01" EI (Pos.) GC 333.7c BP: m/z 67.0000 Int. 2.6228 Lu 0.00  
 Scan# (811 to 846) - (1082, 1110) [coef. 1.00]

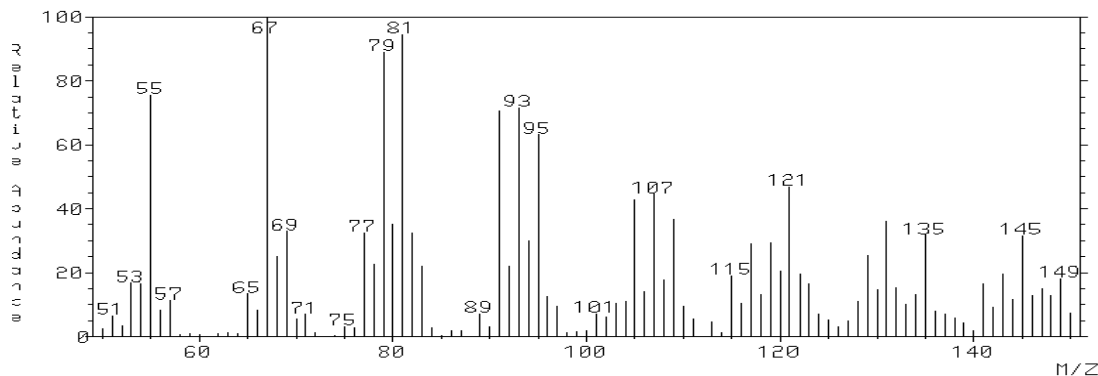


図6 40%CPsのEIMSスペクトル

## GC/MS直接導入法による検討

GC/MS/EI分析では良好な分離とスペクトル（図6）が得られないことから、直接導入法（DI）で検討した結果、ネガティブモード（DI-Negative/CI）でCPsに特徴的なスペクトル（図7）が得られた。

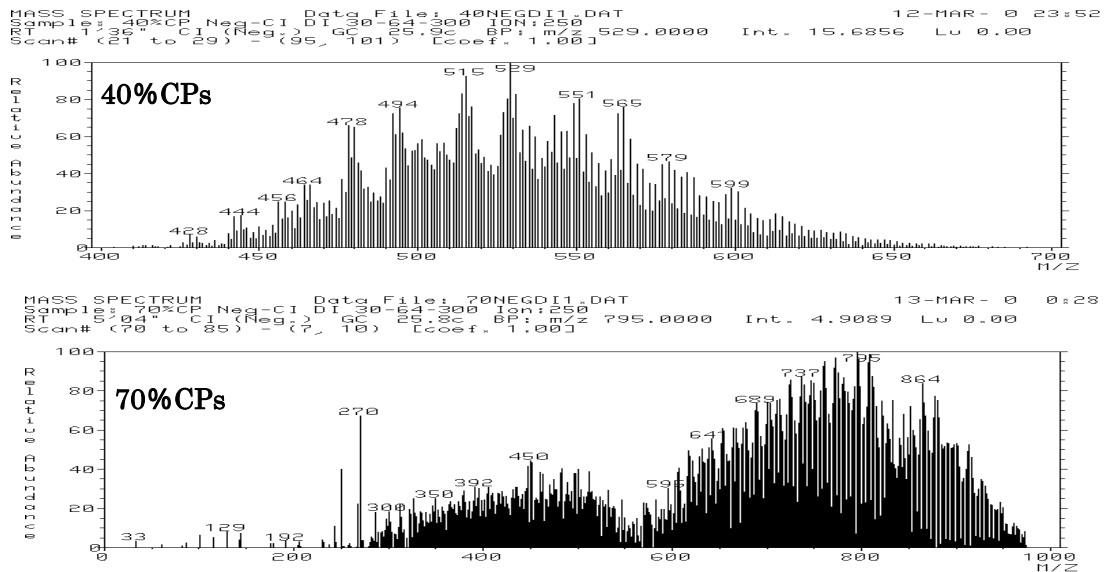


図7 CPsのDI-Negative/CI（反応ガス：イソブタン）マススペクトル

### 【参考：GC/MSの測定条件】

装置：日本電子DX-303

カラム：J&W社DB-1HT（膜厚：0.1  $\mu$ m、長さ：15mまたは2m（ダミーカラム13m接続）、  
内径：0.25mm）、昇温条件：100（2分）- 30 /分 - 350（5分）

注入法：スプリットレス法、注入口温度：300、パージ開始時間：2分

インタフェース部：ダイレクトカップリング（300）

イオン化条件：EI及びCI/Negative（反応ガス：イソブタン）

イオン源温度：250 イオン化電圧：70 eV

### 【参考：GC/ECDの測定条件】

装置 HP 5 8 9 0（検出器：ECD）

カラム J&W社DB-1HT（膜厚：0.1  $\mu$ m、長さ：1m、内径：0.25mm）

カラム温度 50（2分）- 30 /分 - 350（10分）

注入法 スプリットレス法（注入口温度：270、パージ開始時間：1.5min）

カラム流速 5ml/min（定流量）

検出器温度 325

## LC/MSを用いたフローインジェクション測定

GC/MSで、ネガティブモード（DI-Negative/CI）でCPsと考えられるスペクトル（図7）が得られたことから、LC/MSのフローインジェクション法を用いてESI及びAPCI法によりイオン化条件を検討したが、APCI-Negativeモードでのみ対象物質と推定されるマススペクトルを検出することができた。

そのスペクトルは、多数のフラグメントイオンを持つスペクトルを示したが、スペクトル分布の中央値は、対象物質の平均分子量と概ね一致していた（図8）。

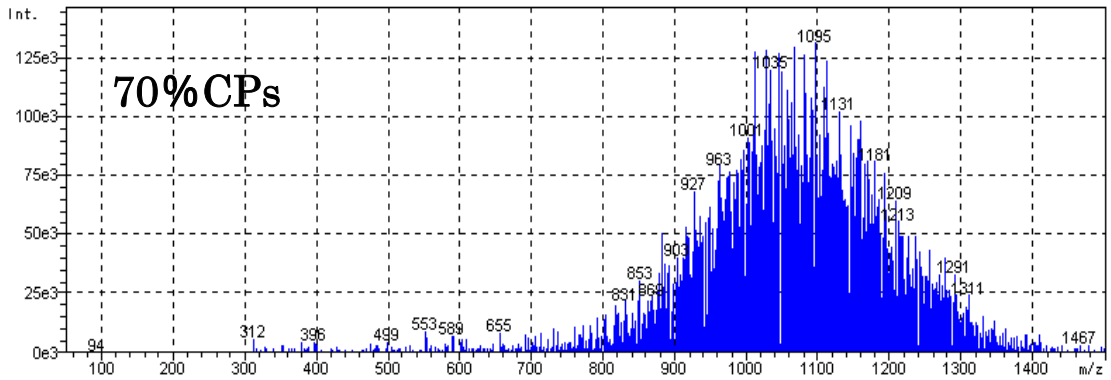
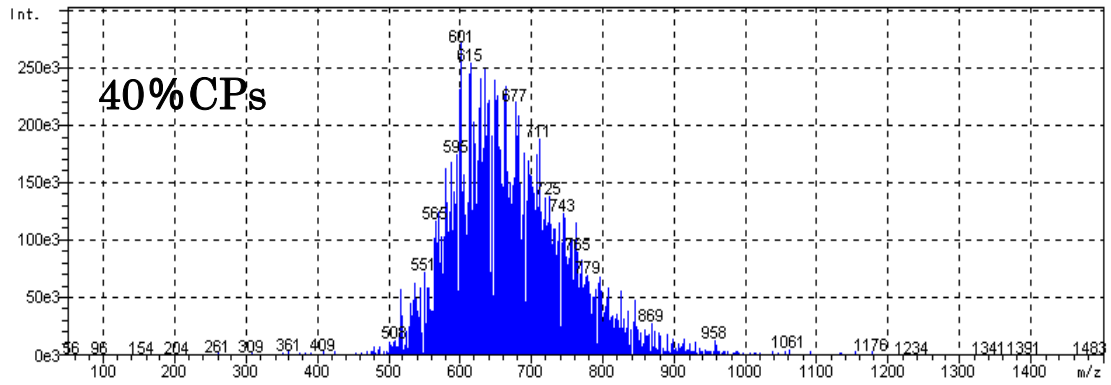
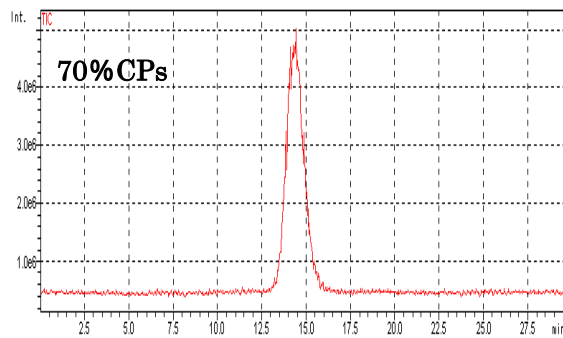
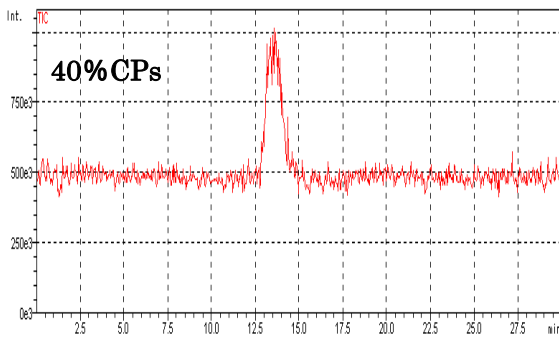


図8 フローインジェクション法によるCPsのAPCI-Negativeスペクトル

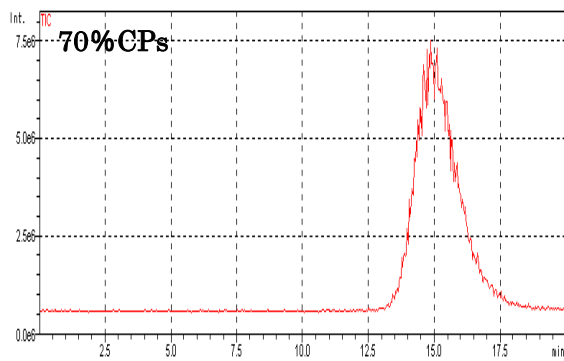
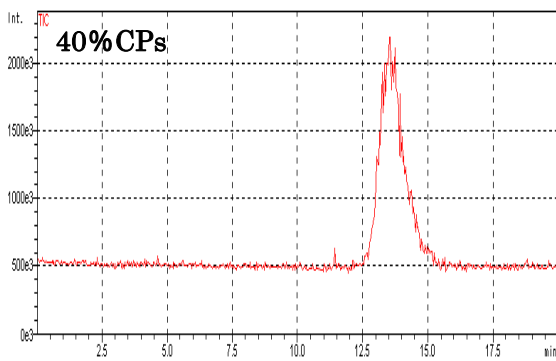
#### ODS系HPLC分離カラムの検討

ODS等の逆相系カラムを用いてCPsの分離特性を検討した。CPsは通常の長さ(150mm)のカラムやC18系の固定相では吸着性が高く、ピークを検出することはできなかった。このため、50mmの短いカラムを用いて分離を試みたが、炭素含量の少ない固定相でシャープなピークが得られた(図9)。

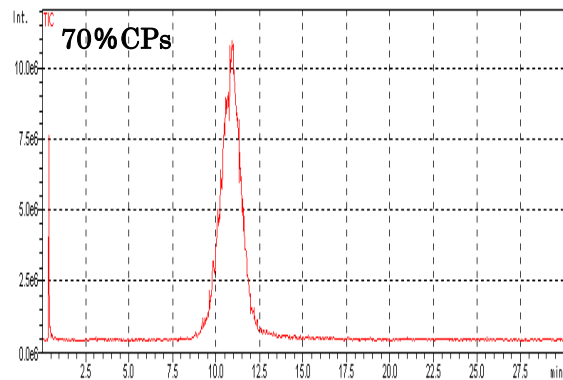
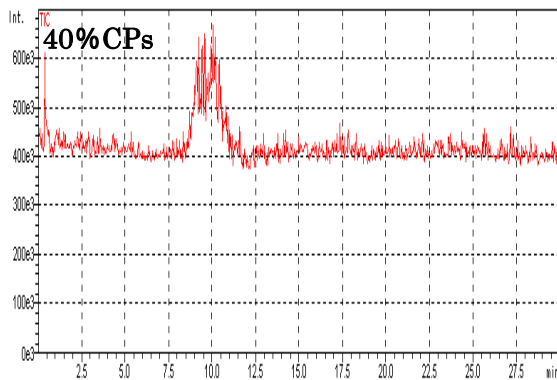
移動相としてセトニトリル及びメタノールを比較したが、アセトニトリルはCPsの相対感度が低下する傾向を示した。また、メタノールを用いたグラジエント溶出では、50%程度の含水量からのグラジエントが良好な分離を示し、50%以下に含水量を低下させてグラジエントを開始するとピーク幅が広がる傾向を示した。更に、カラム温度もピーク幅に影響し、比較的高いカラム温度(60)がテーリングの防止に効果があった。しかし、ODS等の逆相系カラムでは、40%CPsと70%CPsを相互に分離することはできなかった。



GL Inertsil C8 (2.1mm x 50mm)



GL Inertsil C4 (2.1mm x 50mm)



Nucleosil 7C2 (2.1mm x 50mm)

図9 逆相系カラムにおけるCPsの分離

(50%メタノール→100%メタノール/10min)

#### GFC系HPLC分離カラムの検討

ODS等の逆相系カラムでは、40%CPsと70%CPsを相互に分離することはできなかつたため、GFC系カラムについて検討した。GFC系カラムでも、カラム長が長くなるとカラムバックが増大し、ピークがブロードになる傾向を示したため、短いカラム(50mm)を用いて分離を検討した(図10)。

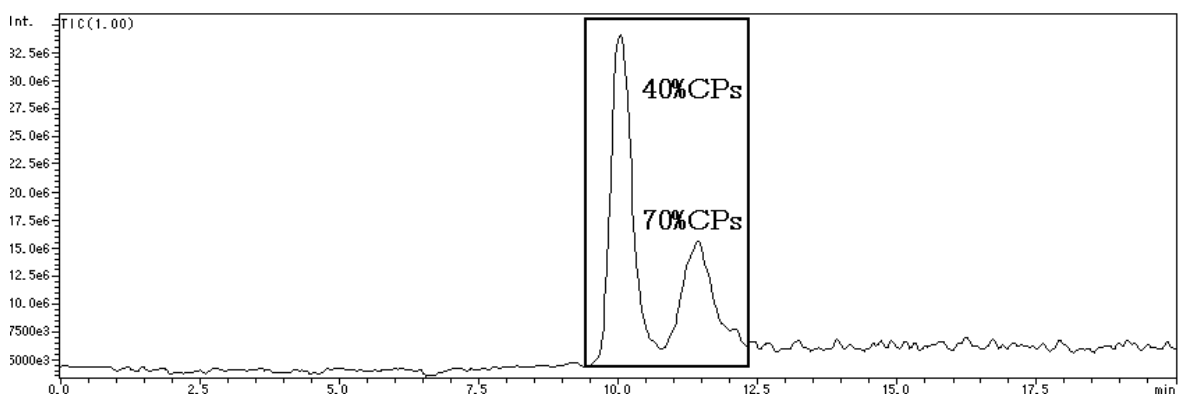


図10 GFC系カラム (Mspak GF-310) におけるCPsの分離 (SCAN測定)

(40%CPs : 20 μg/ml、70%CPs : 5 μg/ml)

GFC系カラムはODS系カラムに比較してピーク幅がシャープになる傾向を示し、また、70%CPsの吸着やテーリング現象も認められなかった。GFC系カラムにおいても、50%程度の含水量からのグラジエントが良好な分離を示し、50%以下に含水量を低下させてグラジエントを開始するとピーク幅が広がる傾向を示した。なお、GFC系カラムにおいてもCPsは吸着する傾向があるため、安定的な分離を行うためには、移動相のメタノールに30%程度のアセトニトリルまたはアセトンを追加する必要があった。カラム温度もピーク幅に影響し、比較的高いカラム温度(60℃)が良好な分離を示した。GFC系カラムは、高分子の疎水性化合物まで分離可能であり、広範囲の質量数が測定できるLC/MSとの組み合わせは、従来のGC/MSやHPLC等で測定できなかった物質の測定に極めて有効であると考えられた。

#### マスペクトル及びモニターイオンの選定

CPsは、炭化水素の鎖長と塩素化率が異なる異性体の混合物であることから、平均分子量を中心に正規分布するマスペクトルを示した(図11)。CPsは基本的に分子イオン( $[M]^-$ )を生成していると考えられるが、塩素原子を多数含むため、同位体分布パターンが非常に複雑になる。マスペクトル中で強度の強いピークの14 または34amu差は1個のメチレン鎖の増加または塩素による置換と考えられるため、表4に示すように、炭化水素の鎖長と塩素置換数の分布を考慮したCPsの化学構造式から推定される $[M]^-$ イオンの質量数を基礎に、強度が強く、またTICクロマト全体をカバーできるモニターイオン(図12)を選定した。

一般に四重極MSによるSIM検出では、小数点以下の精密分子量を無視しても実用上差し支えない場合も少なくないが、分子量の大きいものでは $^1H=1.008$ 、 $^{35}Cl=34.969$ 、 $^{37}Cl=36.966$ といった構成原子の精密分子量を考慮する必要があった(表4)。特に70%CPsにおいては整数までの値との差が0.4Daにも達し、整数値までのSIM設定(旧設定)では結果的に低感度となっていたため、小数第1位までの値に再設定した。この際、モニターすべきイオン種の確認のため、 $[M]^-$ 近傍のm/zにおける感度を調べた(表5)。その結果、40%CPでは $[M]^-$ と $[M\pm 1]^-$ が同程度の感度で検出され、一方70%CPではm/z最適化により感度が向上したほか、 $[M]^-$ 以上に $[M+1]^-$ が高感度で検出された。そこで、以後の測定では40%CPは当初の設定どおり $[M]^-$ を、70%CPは $[M+1]^-$ をモニターすることにした。ただしイオン化の機構としては当初 $[M]^-$ の生成を想定していたが、予想以上に $[M+1]^-$ が高感度であり、 $[M+2-H]^-$ (「+2」は $^{37}Cl$ を1個含む)の生成のほか、移動相溶媒との相互作用等による複雑なイオン化が起きている可能性も考えられた。なお、定量では、CPsが炭化水素の鎖長と塩素置換数の分布持つ混合物であることを考慮して、SIMで得られるモニターイオンの面積値の合計値を用いて定量することとした。

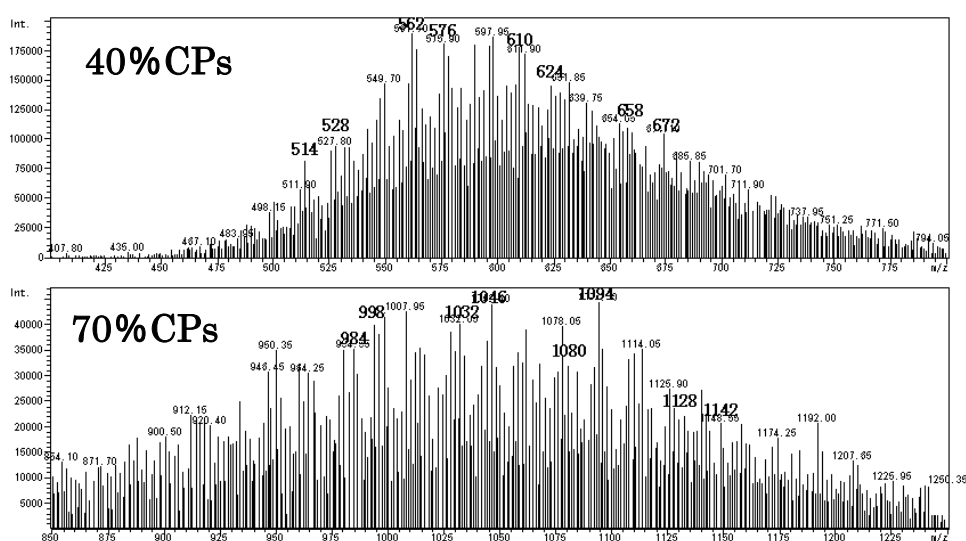


図11 CPsのマスペクトルとモニターイオンの選択 (APCI-Negative)

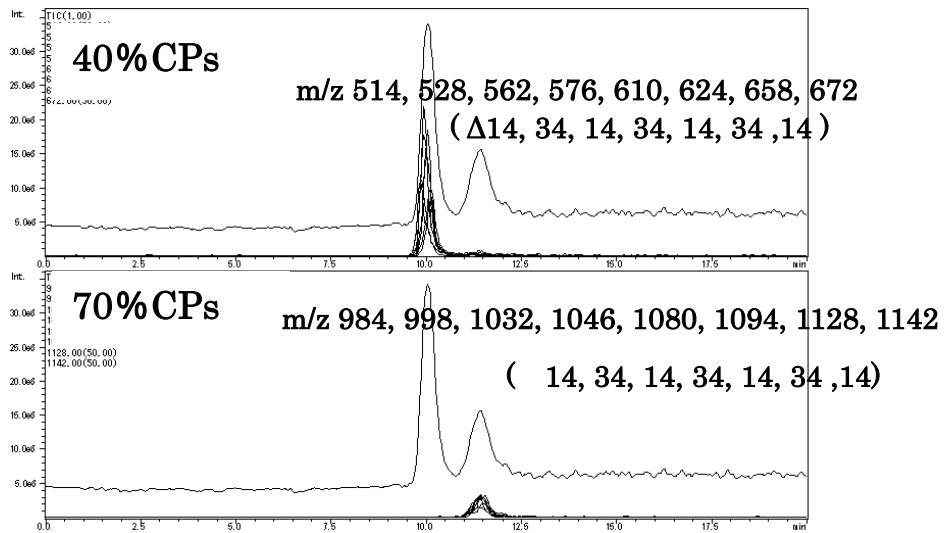


図12 選択したモニターイオンを用いたCPs異性体混合物の検出

表4 CPsの分子量とLC.MSのモニターイオンの設定

40%CPs				70%CPs			
C	H	Cl	分子量 選択	C	H	Cl	分子量 選択
22	41	5	480.2	22	27	19	955.6
22	40	6	514.1	22	26	20	989.6
22	39	7	548.1	22	25	21	1023.5
22	38	8	582.0	22	24	22	1057.5
22	37	9	616.0	23	29	19	969.6
23	43	5	494.2	23	28	20	1003.6
23	42	6	528.1	23	27	21	1037.6
23	41	7	562.1	23	26	22	1071.5
23	40	8	596.1	24	31	19	983.7
23	39	9	630.0	24	30	20	1017.6
24	45	5	508.2	24	29	21	1051.6
24	44	6	542.2	24	28	22	1085.5
24	43	7	576.1	25	33	19	997.7
24	42	8	610.1	25	32	20	1031.6
24	41	9	644.0	25	31	21	1065.6
25	47	5	522.2	25	30	22	1099.5
25	46	6	556.2	26	35	19	1011.7
25	45	7	590.1	26	34	20	1045.6
25	44	8	624.1	26	33	21	1079.6
25	43	9	658.1	26	32	22	1113.6
26	49	5	536.2	27	37	19	1025.7
26	48	6	570.2	27	36	20	1059.7
26	47	7	604.1	27	35	21	1093.6
26	46	8	638.1	27	34	22	1127.6
26	45	9	672.1	28	39	19	1039.7
27	51	5	550.2	28	38	20	1073.7
27	50	6	584.2	28	37	21	1107.6
27	49	7	618.2	28	36	22	1141.6



表5 塩素化パラフィンのモニターイオン設定による感度への影響

	旧設定	[M] <sup>-</sup>	[M-1] <sup>-</sup>	[M+1] <sup>-</sup>
40%CP	10.1	10.1	7.6	9.3
70%CP	3.3	10.6	データなし	35.3

表の値は、pgあたりのピーク面積

M+1は、<sup>35</sup>Clの代りに<sup>37</sup>Clを1個多く含む分子(M+2)の[M-H]<sup>-</sup>と考えられた。

実試料のマトリクスによる影響の検証と内標準法の検討

LC/MS測定においては、特にマトリクスの共存による感度への影響が懸念される。そこで、実試料(水質、底質、生物 各×1)からの抽出液にシリンジスパイクとして標準物質を添加し、感度への影響の有無を調べた(表6)。同時に、APCI-Negativeモードで[M]<sup>-</sup>を生成する等の点で内標準物質として適性があると考えられた2,7-ジニトロ-9-フルオレノン内標準物質(IS)の候補として、内標準法の適用を検討した。表6に示すように、実試料においても添加した標準物質の感度に変動は認められず、マトリクスによる影響をほとんど受けなかった。一方、ISの感度は変動しており、内標準法の計算結果に影響した。長時間の連続測定においてもCPの感度はきわめて安定であり、一方ISの感度には多少のドリフトが見られる場合があったことから(表7)、定量の方法としては検量線法を採用した。

表6 抽出液に添加したシリンジスパイクのイオン化率

【水質】

	ピーク面積			添加した標準品のイオン化率(%)	
	標準品	水質試料	水質+標準	検量線法	内標準法
	Astd	A	Aadd		
内標準(IS)	590021	595582	629351	-	-
40%CP	427382	0	425461	99.6	93.3
70%CP	335616	0	338914	101.0	94.7

【底質】

	ピーク面積			添加した標準品のイオン化率(%)	
	標準品	底質試料	底質+標準	検量線法	内標準法
	Astd	A	Aadd		
内標準(IS)	590021	654642	653320	-	-
40%CP	427382	131545	559858	100.2	90.6
70%CP	335616	35984	353909	94.7	85.6

【生物】

	ピーク面積			添加した標準品のイオン化率(%)	
	標準品	生物試料	生物+標準	検量線法	内標準法
	Astd	A	Aadd		
内標準(IS)	590021	693225	666565	-	-
40%CP	427382	0	464287	108.6	96.2
70%CP	335616	0	338132	100.7	89.2

イオン化率 = (Aadd-A)/Astd × 100(%) 内標準法では各項のピーク面積をISで除する。

標準物質の注入量は、検量線の中間程度

表7 連続測定における塩素化パラフィン標準品と内標準物質のピーク面積の経時変化

測定開始時刻	ピーク面積 × 10 <sup>-5</sup>						平均値	CV%
	28 Apr 02 3:05 am	28 Apr 02 7:46 am	28 Apr 02 12:26 pm	28 Apr 02 5:06 pm	28 Apr 02 8:55 pm	29 Apr 02 12:19 am		
内標準(IS)	3.36	4.10	3.63	3.68	4.09	4.53	3.90	10.9
40%CP	4.10	4.13	3.90	3.92	3.62	3.63	3.88	5.7
70%CP	3.04	3.12	3.19	3.16	3.10	2.95	3.09	2.8

#### (4) 分析法の検討

##### 抽出溶媒の検討

共通底質として使用している東京湾底質(50g)を対象に、アセトン、ジクロロメタン、ヘキサン及びアセトニトリル50mlで各2回抽出を行い、東京湾底質に含まれているCPsの抽出量を比較検討した(図13)。

CPsは、アセトンのみでは完全に抽出されず、ジクロロメタンの画分に残存したが検出され、その後のヘキサン及びアセトニトリル抽出液からは検出されなかった。また、アセトニトリルで抽出後にジクロロメタンで抽出した場合には、アセトニトリルでの抽出量は低く、全体の抽出量も低下した。CPs標準品はジクロロメタンへの溶解性が良好なことから、底質試料の抽出法は、アセトンで湿泥を振とう・超音波抽出することにより、底質を脱水し、更にジクロロメタンで振とう・超音波抽出することとした。

また、水質についても、懸濁物質に吸着したCPsを効率的に抽出する目的で、ジクロロメタンを用いた液々抽出法を採用したが、高い回収率を得るためには、塩析を必要とした。

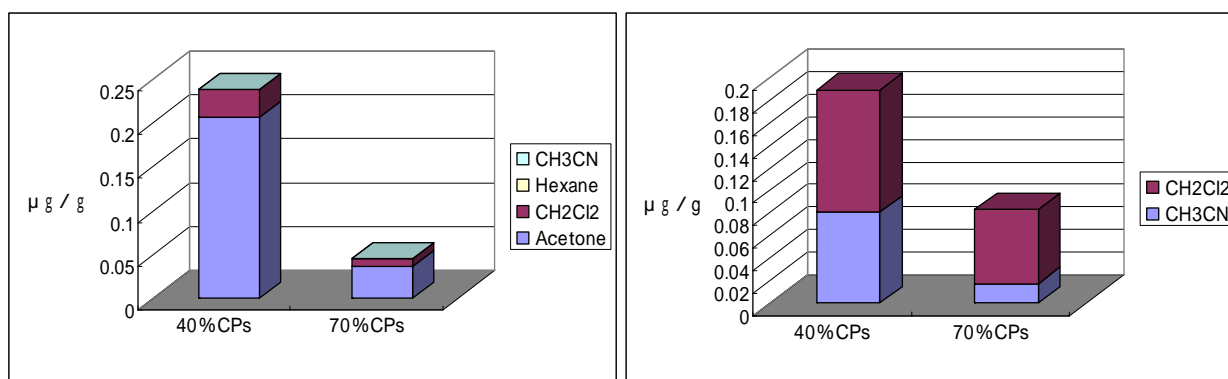


図13 東京湾底質に含まれるCPsの各種溶媒を用いた抽出効率

##### アセトニトリル/ヘキサン分配の検討

CPsは、炭化水素であるにもかかわらずアセトニトリル層に分配された(図14)。アセトニトリル/ヘキサン分配は、底質中の鉱物油成分、生物試料中の脂肪等の夾雑成分の除去に極めて効果的であるため、本操作を行うことで、後の精製操作である硫酸洗浄が極めて容易となった。

今回の分配条件(容積比 = 10:50、2回)における回収率は、40%CPsで91.7%、70%CPsで94.9%であった。

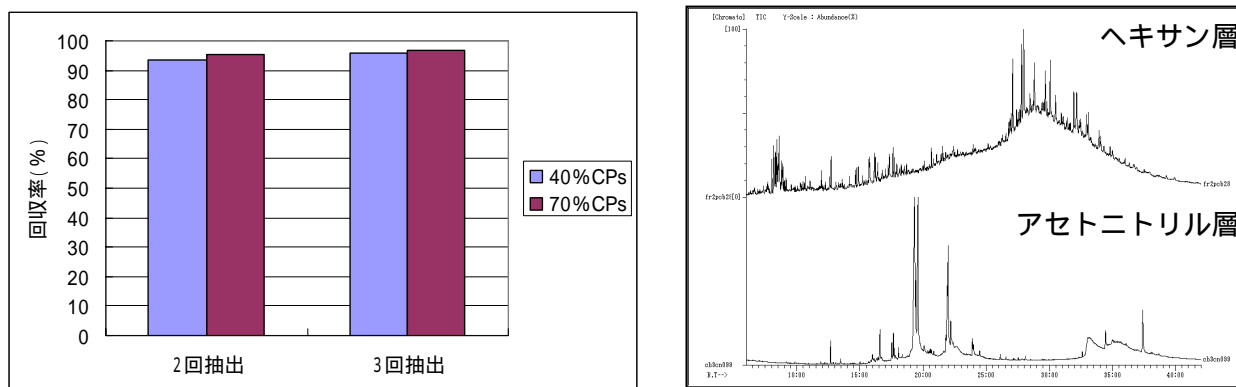


図14 アセトニトリル/ヘキサン分配の回収率と底質試料における効果

## 硫酸洗浄及び銅粉処理

CPsは硫酸洗浄を行うこと可能であり、夾雑物の分解・除去に極めて効果的であった。また、底質中に多量に存在する可能性のあるフタル酸エステル類、リン酸トリエステル類等が抽出・除去される効果もあった。回収率（硫酸 5 ml、2 回洗浄）は、40%CPsで86.4%、70%CPsで91.2%の値を示した。

なお、硫酸洗浄は底質中の単体硫黄を除去することができないが、単体硫黄はG P C操作で分離できるため、銅粉処理は省略することとした。

## G P C の検討

CPsは、G P C 処理で、11.5 ~ 13.5minの分画に溶出した（図15）。この分画には、図15に示すように底質中の鉱物油成分や生体成分が溶出するが、これらの夾雑物は、ヘキサン/アセトニトリル分配及びシリカゲルカラム処理で除去することが可能であった。また、底質中の単体硫黄は18 ~ 20minに溶出し、14min以後には表 8 に示すように、PCBs、PCNs、PCTs、PAHs、ダイオキシン類、農薬、フタル酸エステル類、リン酸トリエステル類等の主要な環境汚染物質が溶出することから、これらの物質の妨害を効果的に排除できた。なお、CPsはG P C 装置やカラムの劣化程度の違いにより、保持時間が異なる場合があるので注意する必要がある。また、テーリングが著しい場合には、移動相へのシクロヘキサン添加量の増加、ヘキサン、ジクロロメタン等の添加を検討する必要がある。

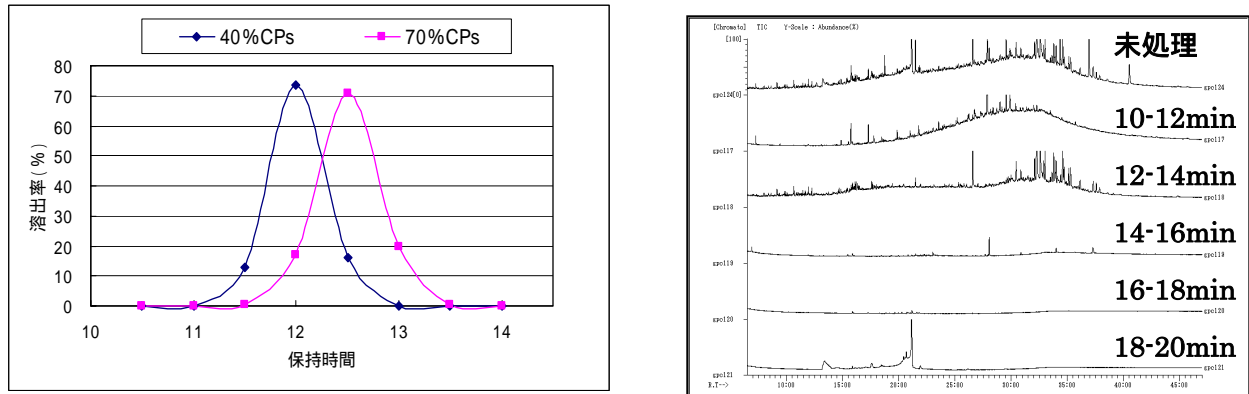


図 15 CPs 及び底質試料の G P C における分離状況

表 8 代表的な環境汚染物質の G P C における分離状況（移動相：アセトン）

Rt	Compounds
10min ~	n-Paraffin(>C17)、CPs(40%Cl)、Di(2-ethylhexyl) Adipate
12min ~	n-Paraffin(<C17)、CPs(70%Cl)、-Endsulfan、Diisopropylnaphthalene Tetraphenylethylene、Tetraphenyltin TBP、TCPP-2,3、TNAP、CRP、ODP、TBXP、TOP、TCP、TBPP(OPEs) Di-i-BP、Di-n-BP、Dipent-P、BPBG、Dihexyl-P、Benzyl butyl-P、Di(2-butoxy) Phthalate Dicyclo-P、DihepP、DEHP、Diphenyl-P、DinonyP、Di-n-octyl Phthalate、Pesticides
14min ~	PCBs、Biphenyl、PCTs、Terphenyl、4-Nitrotoluene、HCHs、Chlordene、Heptachlor Aldrin、Octachlorostylene、Oxychlordane、Heptachlor-epoxi、Chlordane、Nonachlor DDTs、NIP、Dieldrin、Endrin、-Endsulfon、Endsulfan Sulfate、Methoxychlor Mirex、Stylene-Dimers&Trimers、Dimethylnaphthalen、Benzophenone、1-Phenylnaphthalene Triphenylmethane、Reten、4-Benzylbiphenyl、Tetraphenylene、p-Quaterphenyl TEP、TAP、TCEP、TCPP-1、TPP、TDBP(OPEs)、DMP、Dimethyl tere-Phthalate DEP、Diethyl tere-P、Di-iso-Propyl-P、Di-n-propyl-P、Diallyl Phthalate、Pesticides
16min ~	PCNs、Naphthalene、1-Naphthol、2,4,8-TCDF、Dibenzofuran、Dibenzo-p-dioxin、PBDEs Stylene-Dimers&Trimers、HCB、Acenaphthene、Fluorene、Dibenzothiophene、Phenanthren Anthracene、Fluoranthene、2,3-Benzofluorene、NAC、Fthalide、MPP-sulfoxide
18min ~	Kepone、Benzo[c]cinnoline、Anthraquinone、Pyrene、Benzo[a]anthracene、Chrysene Triphenylene、Naphthacene、Benzo[b+j+k]fluoranthene、3-Methylcholanthrene Dibenz[a,h]anthracen、
20min ~	Benzo[a]pyrene、Benzo[e]pyrene、Perylene、Indeno[1,2,3-cd]pyrene、Benzanthrone
22min ~	Benzo[ghi]perylene、Anthanthrene、Naphtho[2,3-a]pyrene

### シリカゲルカートリッジカラム処理

CPsは、図16に示すように10%アセトンの分画に溶出し、鉱物油成分との分離が可能であった。また、CPsは、ジクロロメタン10mlを使用しても溶離可能であったが、カラムの製造メーカーが異なると分離パターンが異なる場合があり、注意が必要であった。

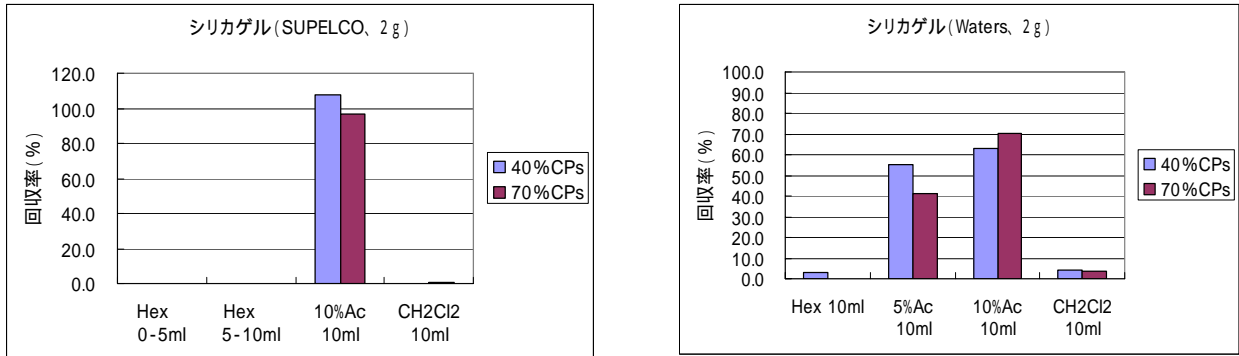


図16 シリカゲルカートリッジカラムの溶離パターン

### フロリジルカートリッジカラム処理

CPsは、フロリジルにおいても図17に示すように10%アセトンまたはジクロロメタン10mlの分画に溶出し、鉱物油成分との分離が可能であった。

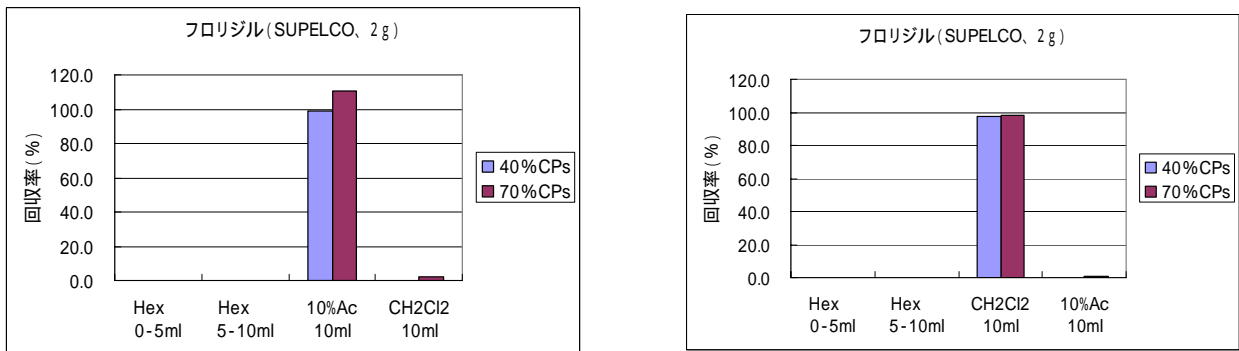


図17 フロリジルカートリッジカラムの溶離パターン

### 活性炭系カラム処理

活性炭系カラムは、鉱物油、PAHs、着色成分等の除去に有効であるが、カーボングラファイト (Env-C arb) では吸着力が弱く、活性炭 (Carboxene-1000) では、70%CPsの回収率が低い傾向があった(図18)。

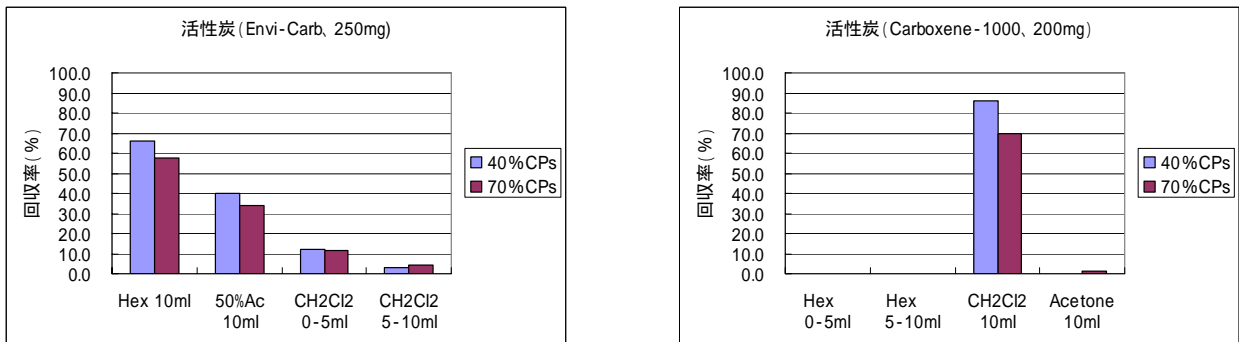


図18 活性炭系カートリッジカラムの溶離パターン

### 加熱アルカリ分解法を用いたCPsの分解と確認

共通底質として用いた東京湾底質中にはCPsと考えられるピークが検出された。CPsは炭化水素に塩素が置換している物質であることから、加熱アルカリ分解により分解する可能性があるため、CPs標準品及び東京湾底質抽出液を用いて分解実験を実施した。図19に示すように、標準品及び底質中のCPsは大部分が分解したことから、CPsが東京湾底質中に存在することが確認できた。

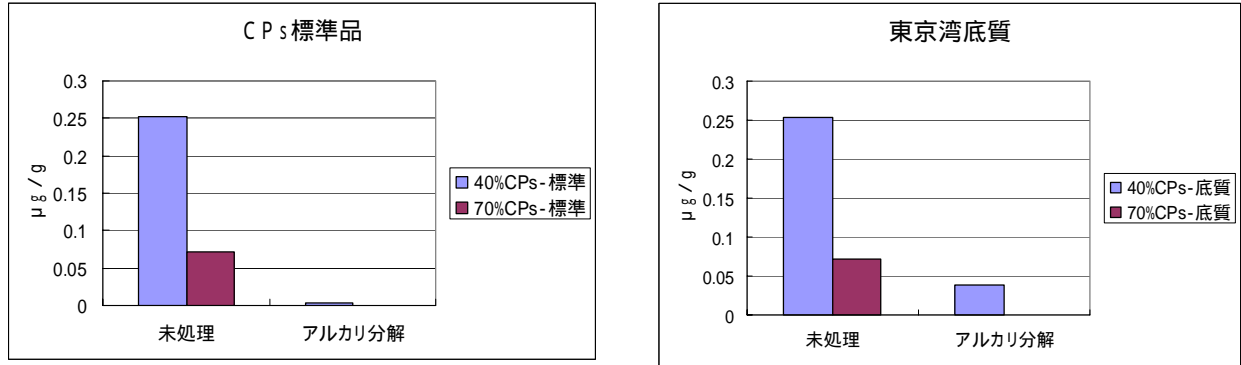


図19 CPs標準液及び東京湾底質抽出液の加熱アルカリ分解 (1N KOH / エタノール、80℃、1時間)

### SCAN測定を用いた東京湾底質中のCPsの確認

東京湾の底質からはシリカゲルカラムの第2フラクションにCPsと同じ保持時間を示すピークが検出されたため、この分画について更に活性炭カラム処理を行い、図20に示す明瞭な2個のピークを得た。最初に検出されるピーク( )のスペクトルを図21に示すが、標準品として使用した40%CPsよりやや大きな分子量分布を示すスペクトルを得た。また、次のピーク( )は、70%CPsと極めて類似したスペクトルを示した(図22)。

以上の結果から、東京湾底質は40%CPs及び70%CPsが存在し、その濃度は $\mu\text{g/g}$ レベルであることが確認できた。

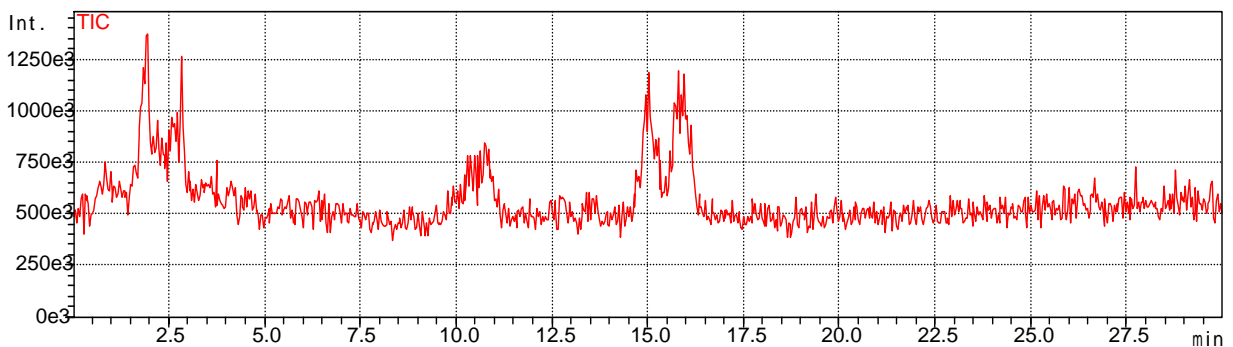
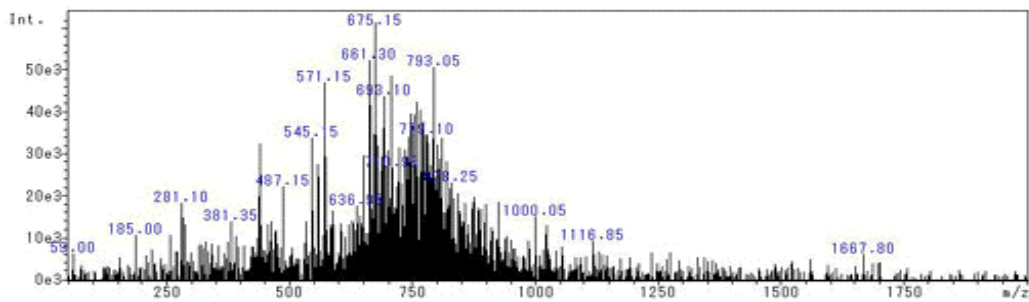
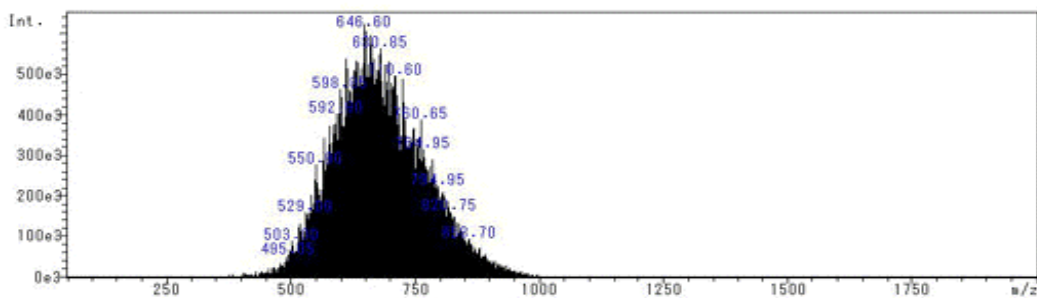


図20 東京湾底質 (シリカカラム : 2nd Fr.) の活性炭カラム処理分画のTICクロマトグラム

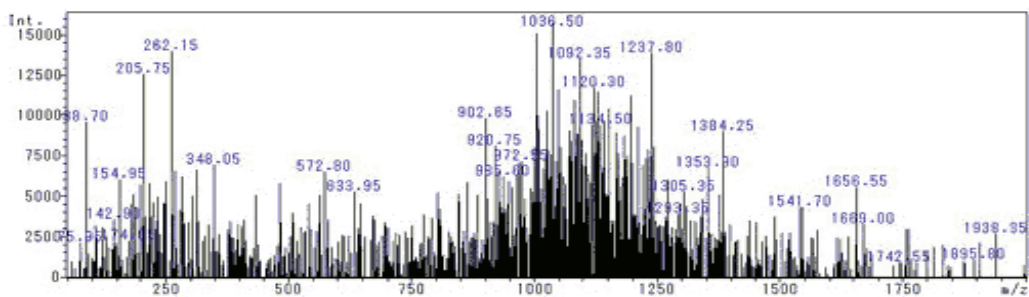


東京湾底質（ : 15分付近のピーク）

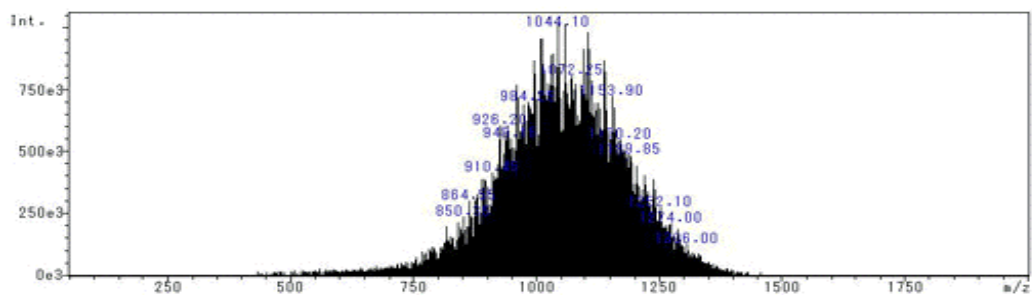


40%CPs 標準品

図 21 東京湾底質から検出される 40%CPs



東京湾底質（ : 16分付近のピーク）



70%CPs 標準品

図 22 東京湾底質から検出される 70%CPs

〔環境試料分析〕

環境底質中から、 $\mu\text{g/g}$ レベルでCPsが検出された(図33)。環境水質中からも $\mu\text{g/L}$ レベル検出された事例(図32)があったが、その原因は不明である。生物試料及びプランク試料からは検出されなかった。

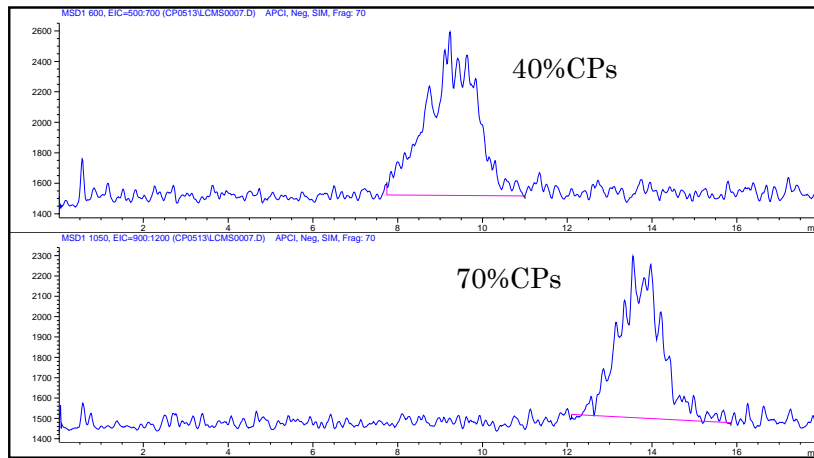


図 23 CPs 標準品 (40%CPs:0.6  $\mu\text{g/ml}$ 、70%CPs:0.15  $\mu\text{g/ml}$ )

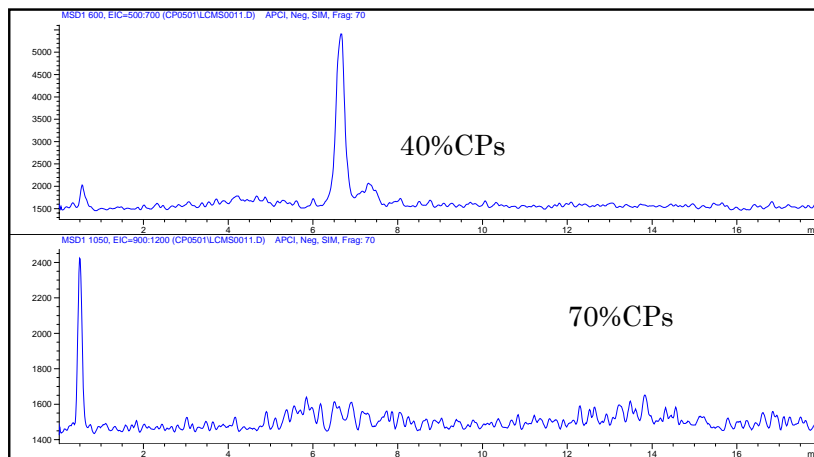


図 24 操作プランク (水質)

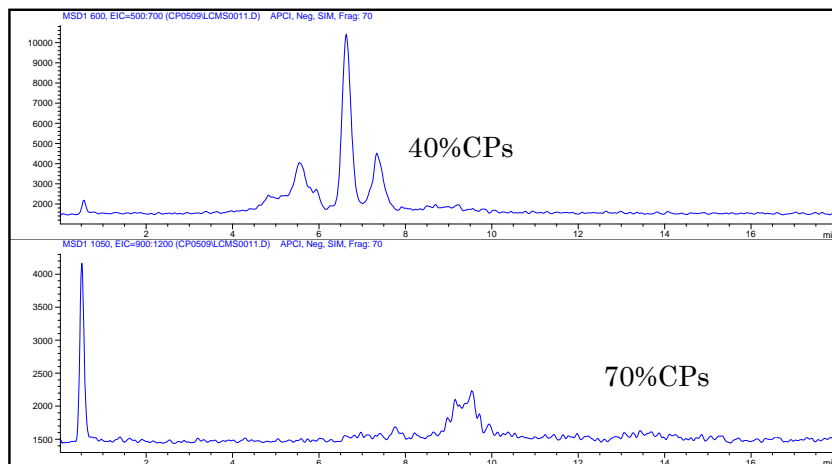


図 25 操作プランク (底質・生物)

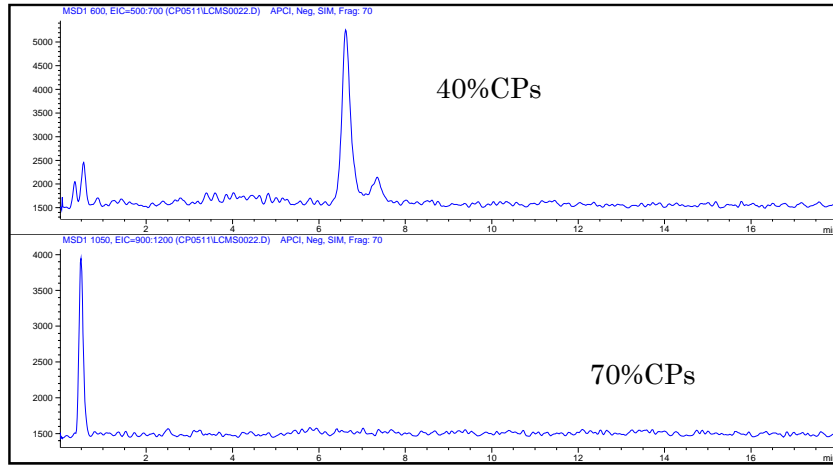


图 26 水质 (无添加)

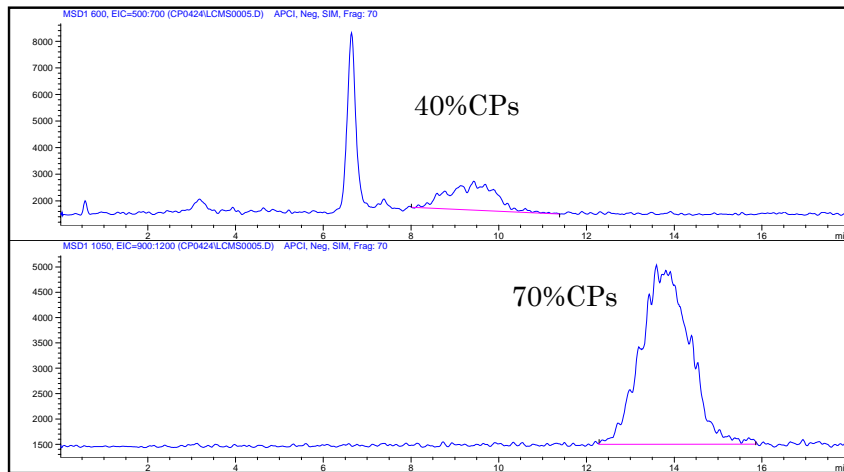


图 27 水质 (添加、40%CPs: 1  $\mu$ g/L、70%CPs: 1  $\mu$ g/L)

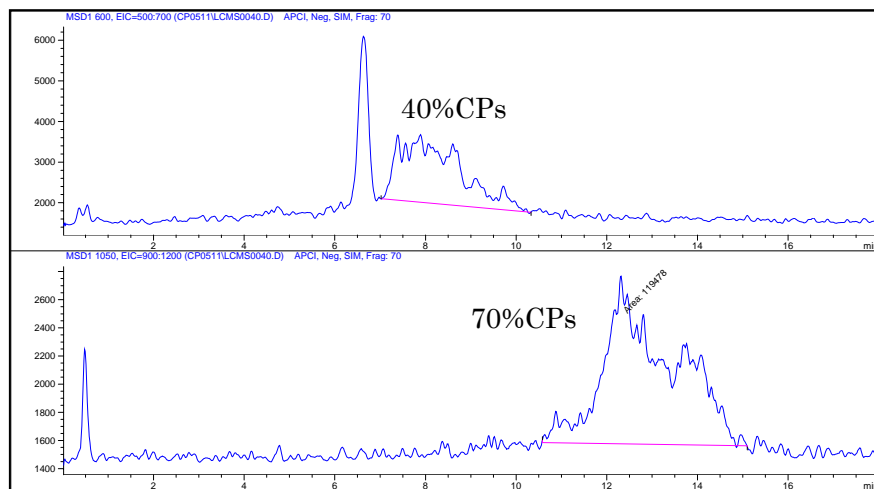


图 28 底质 (无添加)



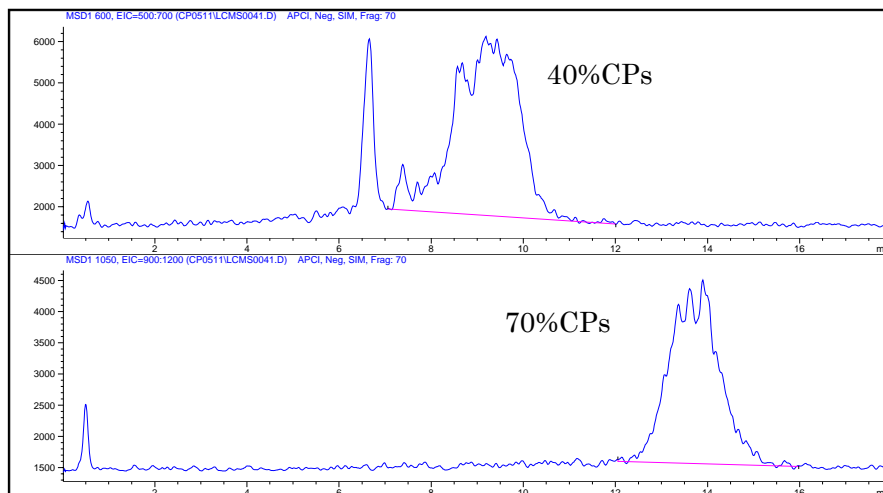


圖 29 底質 (添加、40%CPs:0.15  $\mu$ g/g-dry、70%CPs:0.04  $\mu$ g/g-dry)

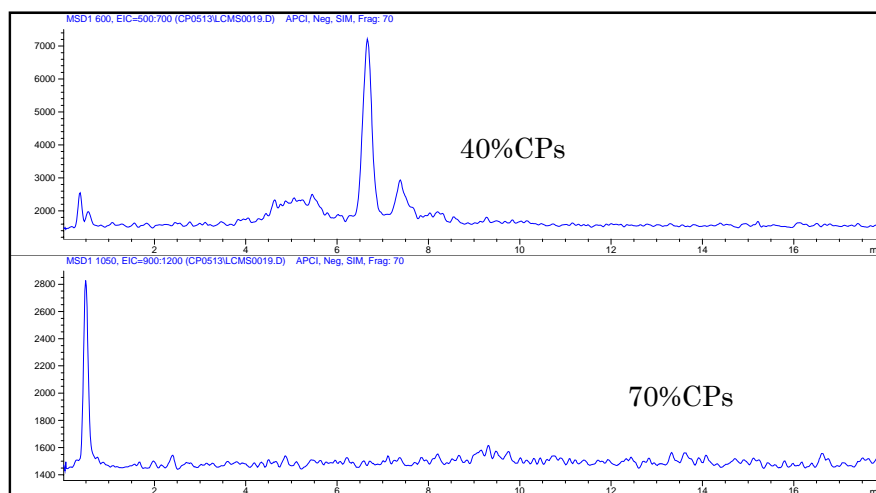


圖 30 生物 (無添加)

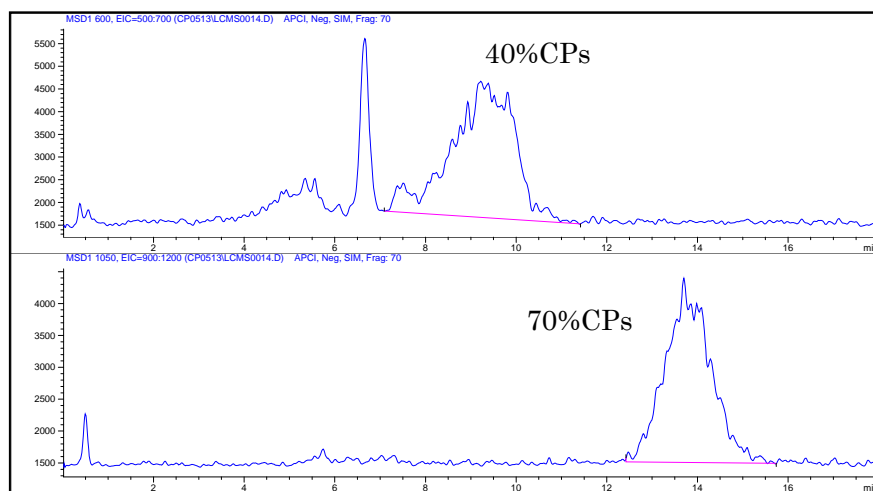


圖 31 生物 (添加、40%CPs:0.15  $\mu$ g/g、70%CPs:0.04  $\mu$ g/g)

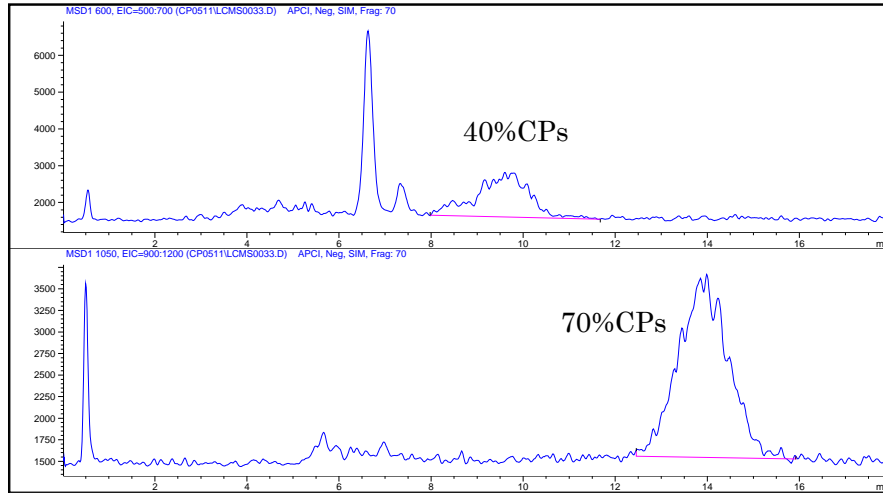


図 32 環境水質試料の測定例

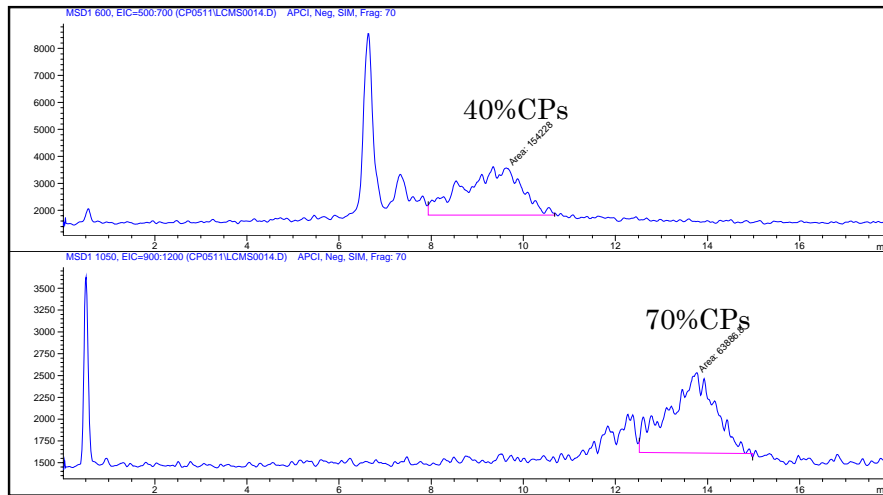


図 33 環境底質試料の測定例

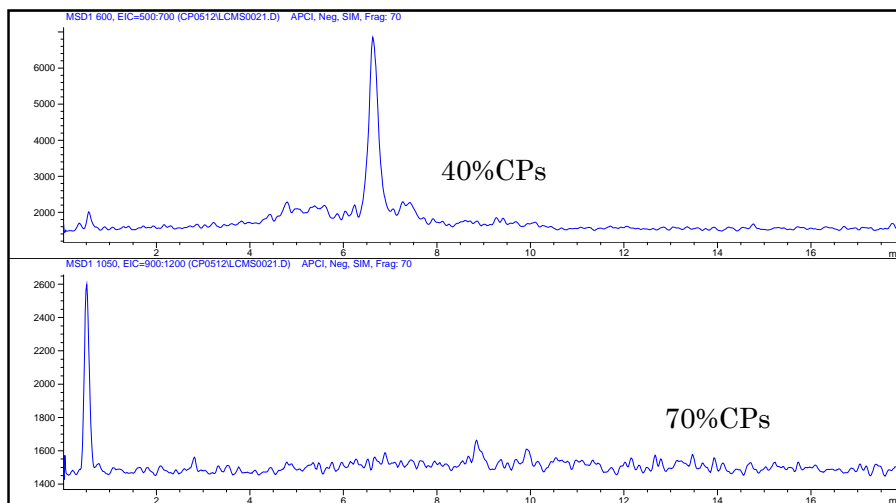


図 34 環境生物試料（ベラ）の測定例

#### 【評 価】

本法により環境試料中に存在するppbレベルの長鎖塩素化パラフィン（CPs、C24）を分析することが可能である。

なお、CPsが検出された場合には、加熱アルカリ分解（1N KOH / エタノール）によってCPsのピークが消失すること、またはGC/ECD法による確認等を実施することが望ましい。

#### 参考文献

- 1) 環境庁保健調査室：昭和53及び55年度化学物質分析法開発調査報告書（塩素化パラフィン：兵庫県公害研究所），(1973,1975)
- 2) Mehmet Coelhan: Determination of short-chain polychlorinated paraffins in fish samples by short-column GC/ECNI-MS, Anal. Chem., 71, 4498-4505, (1999)
- 3) 剣持堅志他：LC/MSを用いた塩素化パラフィン類の分析、岡山県環境保健センター年報、25、10-14、（2001）

# Analytical Method for Long-Chain Polychlorinated Paraffins(CPs, C24) in Environmental Samples by LC/MS

## Abstract

An analytical method was developed for determining of residue of polychlorinated paraffins(CPs, C24, 40%&70% Chlorine) in water, sediment and fish by LC/MS(APCI-Negative).

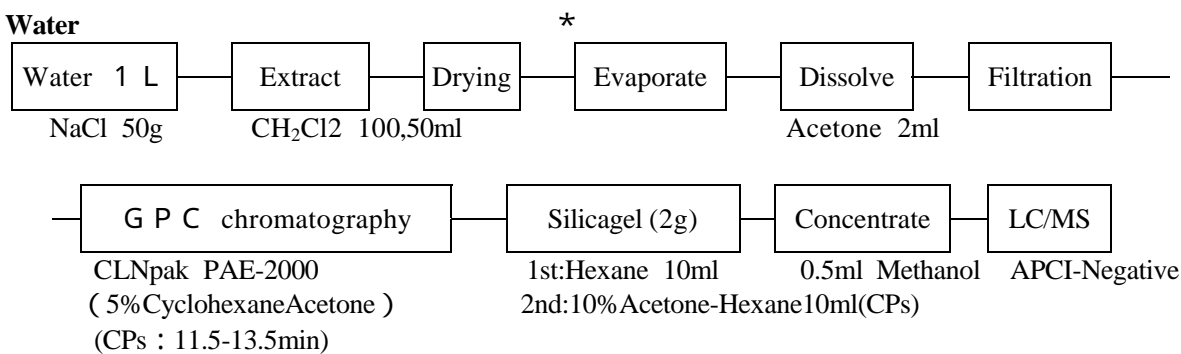
### [Water]

A water sample was extracted twice with dichloromethane. The extracts were dehydrated with anhydrous sodium sulfate and then evaporated to dryness. The residue was dissolved in 2ml of acetone and applied to a gel permeation chromatography(GPC, CLNpak PAE-2000, 5% Cyclohexane Acetone, 4ml/min). CPs was eluted in the range of 11.5 to 13.5 minutes. The CPs fraction was evaporated to dryness. The residue was dissolved in 1ml of hexane and applied to a silicagel cartridge column (2g) and then eluted with 10ml of hexane(first fraction) and 10ml of 10% acetone-hexane(second fraction). The second fraction was evaporated to dryness and dissolved in 0.5ml of methanol and analyzed by LC/MS-SIM(APCI-negative).

### [Sediment and Biological sample]

A sample was extracted twice with acetone and dichloromethane. The acetone extracts were evaporated to about 10ml and extracted with dichloromethane. The both dichloromethane extracts were dehydrated with anhydrous sodium sulfate and then evaporated to dryness. The residue was dissolved in 10ml of hexane and extracted twice with 50ml of acetonitrile(hexane saturated). The acetonitrile extracts were evaporated to dryness and dissolved in 100ml of hexane. The solution was washed 5 times with 5ml of concentrated sulfuric acid and washed twice with 30ml of 5% sodium chloride. The solution was dehydrated with anhydrous sodium sulfate and then evaporated to dryness. The residue was dissolved in 2ml of acetone and applied to a gel permeation chromatography(GPC, CLNpak PAE-2000, 5% Cyclohexane Acetone, 4ml/min). CPs was eluted in the range of 11.5 to 13.5 minutes. The CPs fraction was evaporated to dryness. The residue was dissolved in 1ml of hexane and applied to a silicagel cartridge column (2g) and then eluted with 10ml of hexane(first fraction) and 10ml of 10% acetone-hexane(second fraction). The second fraction was evaporated to dryness and dissolved in 0.5ml of methanol and analyzed by LC/MS-SIM(APCI-negative).

### Water



### Sediment and Biological sample

