

第 40 回 e-シンポ 塩素化パラフィン分析の情報交換会(平成 29 年 11 月 1 日、大阪大学)
LC/MS を用いた塩素化パラフィン類分析法開発の目的と経緯

岡山理科大学 非常勤講師(元岡山県環境保健センター) 剣持 聖志

塩素化パラフィン類(CPs)分析法開発の目的と経緯について述べる。

I 長鎖塩素化パラフィン類の分析法

検討時期: 2001 年(平成13 年)~2003 年 3 月 (平成 15 年)

研究協力: 村田 英明(株島津製作所)、伊藤 安紀、山本 潤(国土環境株)

分析機器: 島津 LCMS-2010、Waters Quattro Ultima

LC 条件: 昭和電工 Mspak GF-310 4B(4.6mmI.D. x 50 mm)

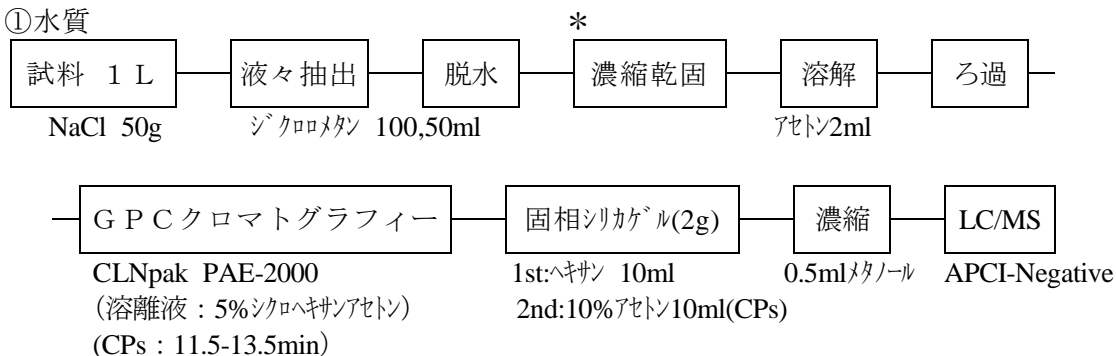
移動相 A:超純水 B:アセトニトリル/メタノール(30:70)

50%B(0 min) → 70%B(5~25 min)リニアグラジエント

GPC: CLNpak PAE-2000 AC(+PAE-G AC)、シクロヘキサン/アセトン(5:95) 4ml/min

長鎖塩素化パラフィンについて、GC/MS、LC/MS 等を用いて検討し、下記に示す分析法を確立した。

①水質



②底質・生物

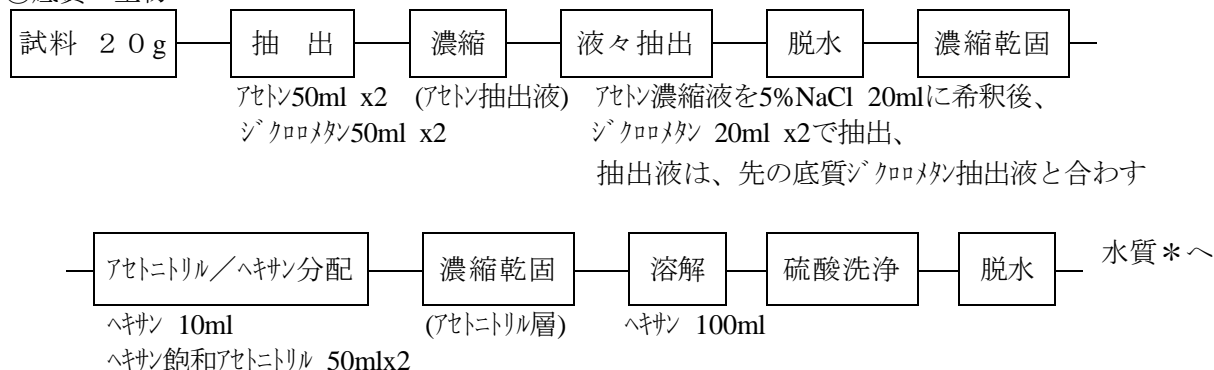


図1 長鎖CPs分析法フローチャート

(1) GC/MS及びGC/ECDを用いた測定法の検討

ポリブ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2、3)。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4)。

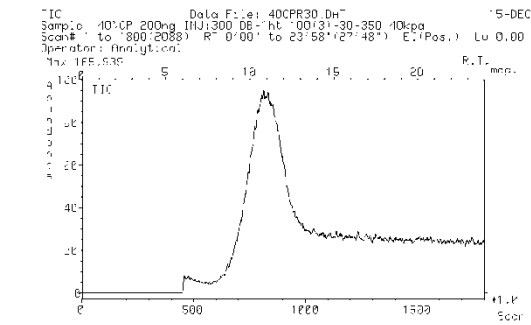


図2 GC/MSによる40%CPsの測定
200ng (100(3)-30°C/min-350°C)

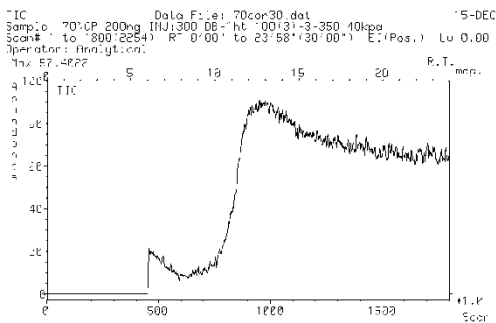


図3 GC/MSによる70%CPsの測定

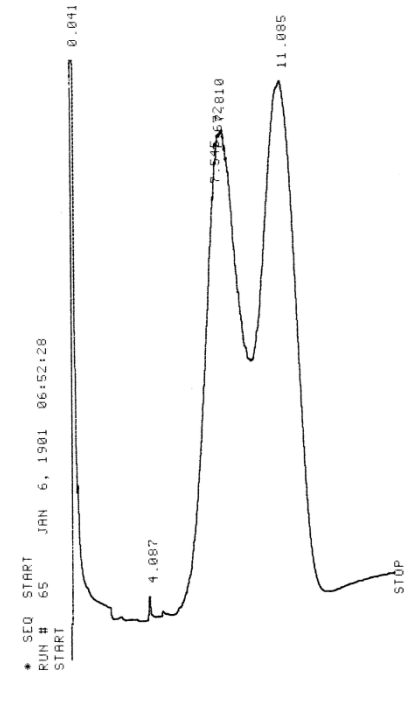


図4 GC/ECDによるCPsの測定1

(2) 長鎖CPsのマスペクトル

CPsは、ESIモードではイオン化せず、APCIネガティブモードでのみ検出することができた。CPsは、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5)。

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、強度が強くと、またTICクロマト全体をカバーできるモニターイオンを選定し、その合計値で定量した。

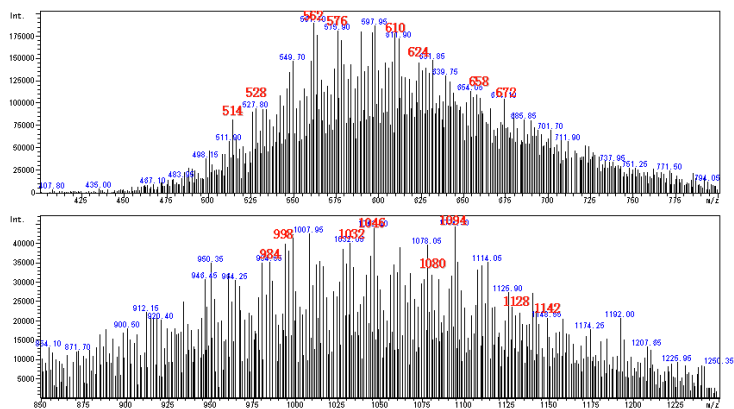


図5 CPsのマスペクトル (APCI-Neg.)

(3) LCカラムの選択

CPsは極めて疎水的でカラムへの吸着性も強いいため、逆相系ではカラム長を短くするとともに、C4等の鎖長が短い固定相が良い分離を示した。このため、固定相との相互作用が少ないと考えられるGFC系カラムを適用したところ、40%と70%CPsを相互に分離できた(図6)。

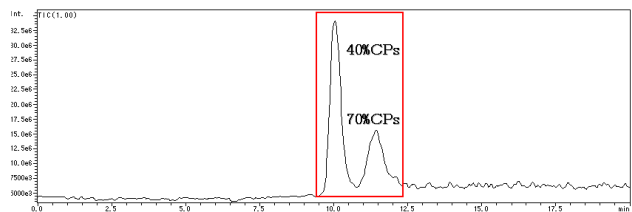


図6 CPsの分離 (Mspak GF-310 4B)

(3) 底質抽出溶媒の選定

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、CPsの抽出量を比較検討した。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

の分画にもCPsが検出された。

(4) アセトニトリル／ヘキサン分配

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。本操作により、底質中の鉱物油成分、生物試料中の脂肪の除去が可能になった。2回の分配で、CPsはほぼ完全にアセトニトリル相に移行し、また、本操作を行うことで、硫酸洗浄が容易となった。

(5) 硫酸洗浄及び銅粉処理

CPsは硫酸洗浄が可能で、夾雑物の除去に極めて効果的であった。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GPCで分離できるため、銅粉処理は省略することとした。

(6) GPC処理

CPsは、GPCで、11.5～13.5minの分画に溶出した。この分画には、鉱物油成分が溶出するが、鉱物油はヘキサン／アセトニトリル分配及びシリカゲルカラム処理で除去できた。また、14min以後には、PCB、PCN、有機塩素系化合物等主要な環境汚染物質が溶出することから、これらの妨害を効果的に排除できた。

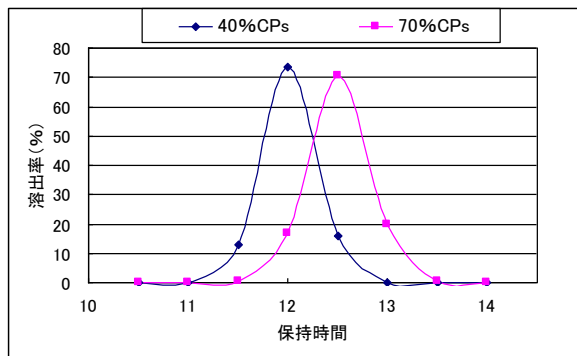


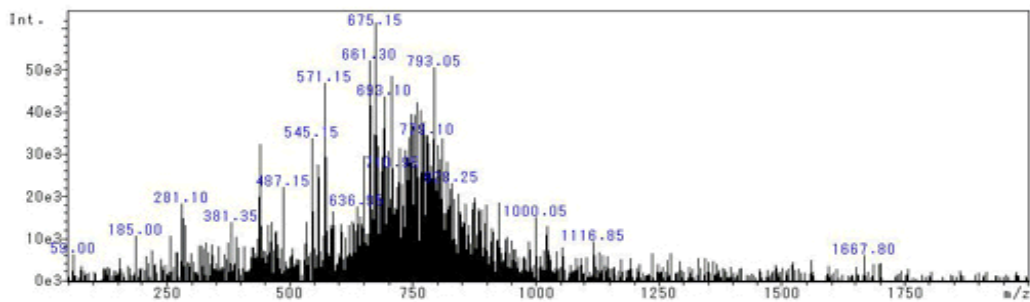
図7 長鎖CPsのGPC分離

(7) シリカゲルカートリッジカラム処理

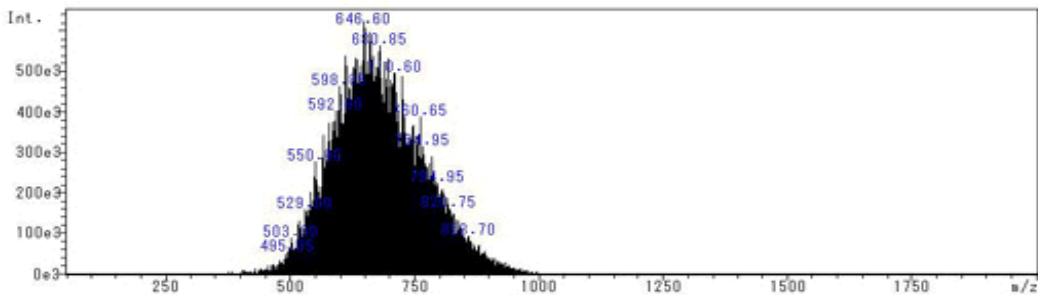
CPsは、10%アセトンの分画に溶出し、鉱物油成分と分離可能であった。

表1 代表的な環境汚染物質のGPC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)、α-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、β-Endsulfon、Endsulfan Sulfate、Methoxychlor Mirex、Stylene-Dimers&Trimers、Dimethylnaphthalen、Benzophenone、1-Phenynaphthalene 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

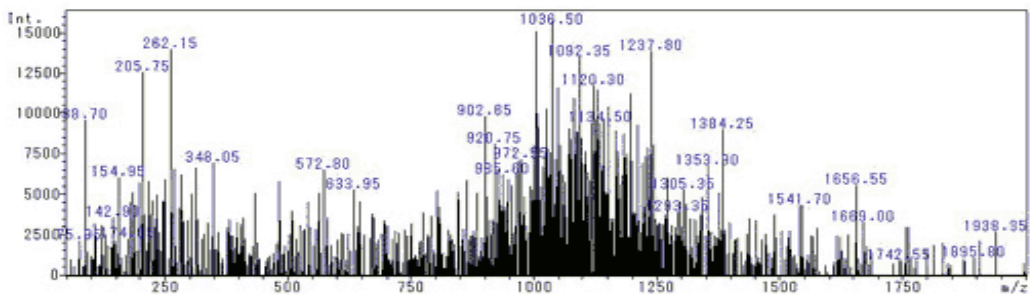


東京湾底質 (① : 15分付近のピーク)

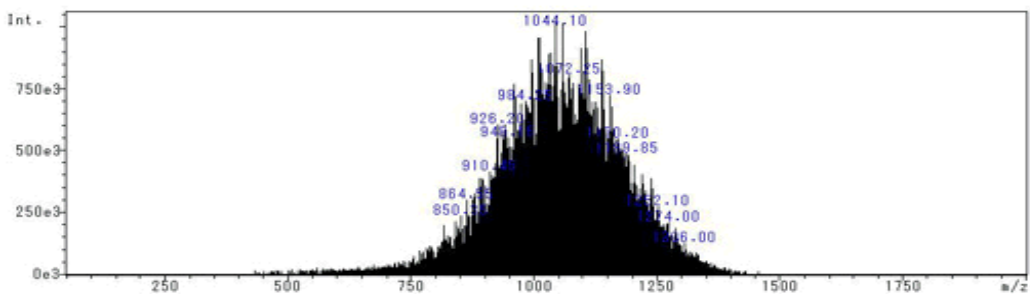


40%CP 標準品

図8 東京湾底質から検出される塩素化パラフィン類似物質



東京湾底質 (16分付近のピーク)



70%CP 標準品

図9 東京湾底質から検出される塩素化パラフィン類似物質

II 短鎖及び中鎖塩素化パラフィン類の分析法

検討時期： 2002年(平成14年頃)～2004年3月(平成16年)

研究協力： 伊藤 安紀、山本 潤(国土環境株)

分析機器： アプライドバイオシステムズ社製 API3000

Waters Micromass Quattro micro API, Quattro Ultima

LC条件： GLサイエンス ODS-3(2.0mmI.D. x 50 mm、3 μ m)

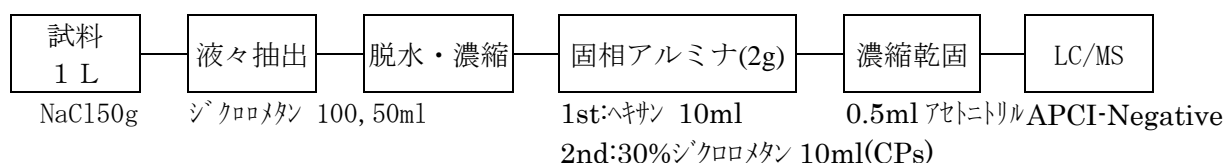
移動相 A:超純水 B:アセトニトリル

50%B(2min)→100%B(10min)→100%(25min まで保持)リニアグラジエント

GPC： CLNpak PAE-2000 AC(+PAE-G AC)、シクロヘキサン/アセトン(5:95) 4ml/min

短鎖及び中鎖塩素化パラフィンについて、下記に示す分析法を確立した。

①水質



②底質・生物

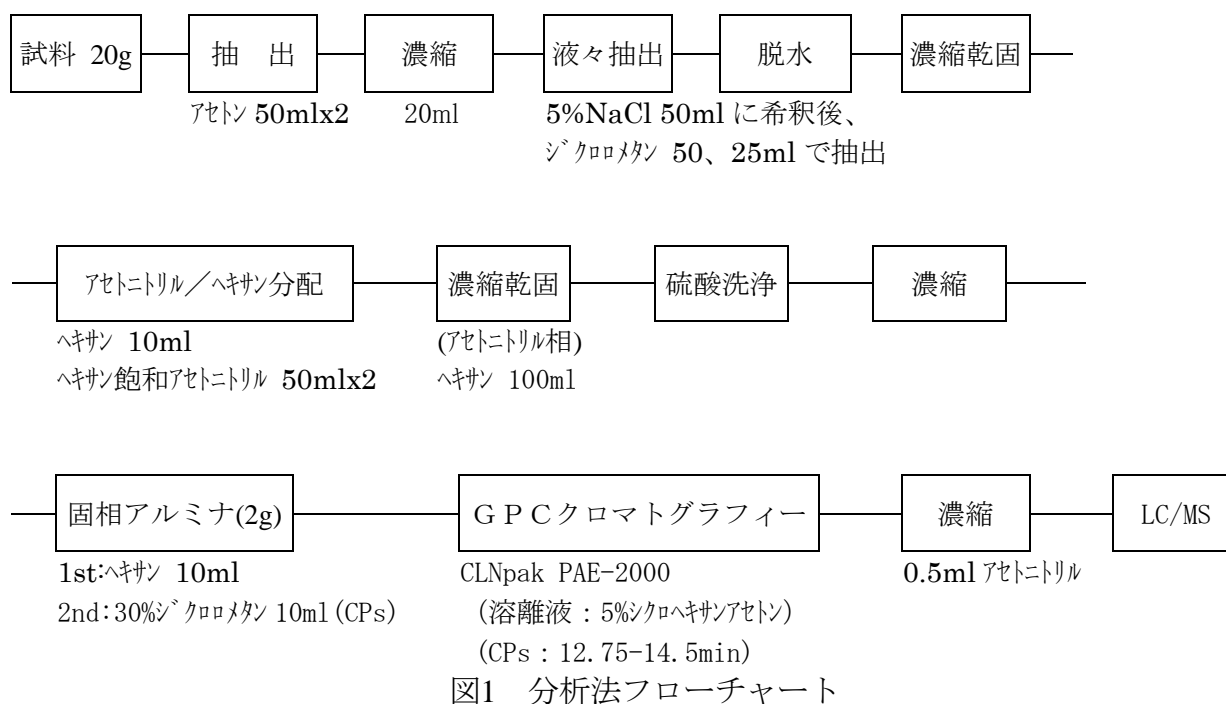
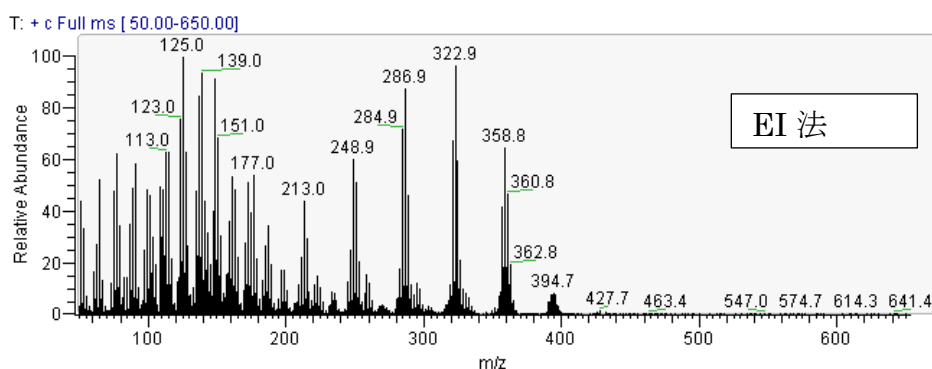


図1 分析法フローチャート

1 EI法、Neg-CI法等によるGC/MS測定の見直し



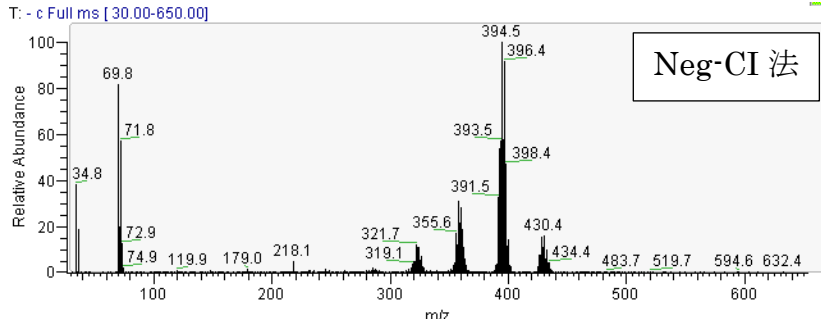


図2 エンパラK-65のEI及びNeg-CIスペクトル (Thermoquest、POLARIS)

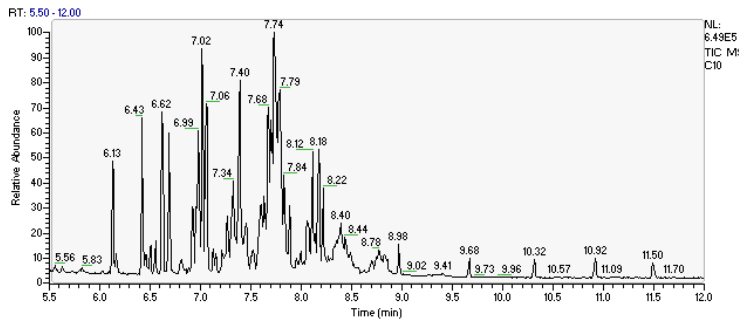
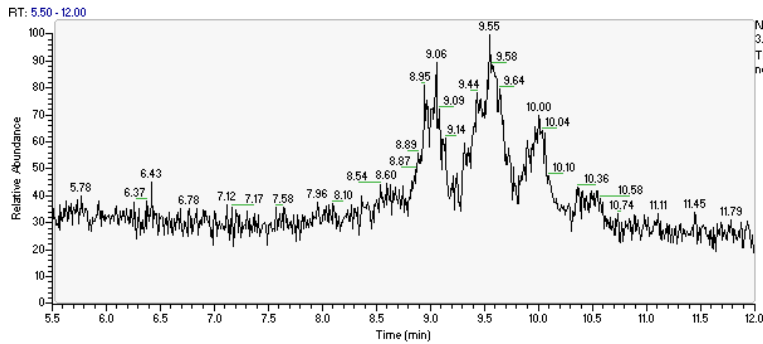


図3 C10短鎖標準品のNeg-CI及びEI法によるマスクロマトグラム (Thermoquest、POLARIS)
Neg-CI測定は、保持時間の早い低塩素化物がイオン化されにくい傾向を示す。

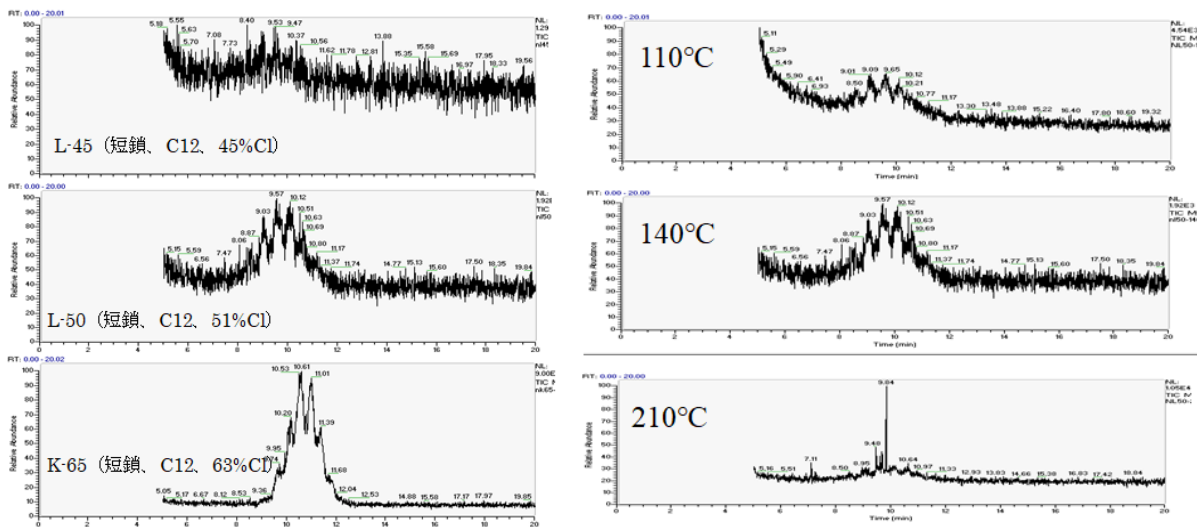


図4 Neg-CIイオン化に対する塩素化率及びイオン源温度の影響 (エンパラL-50)
Neg-CIは、低塩素化物の感度が低く、イオン源温度も影響する (機種依存性が大)

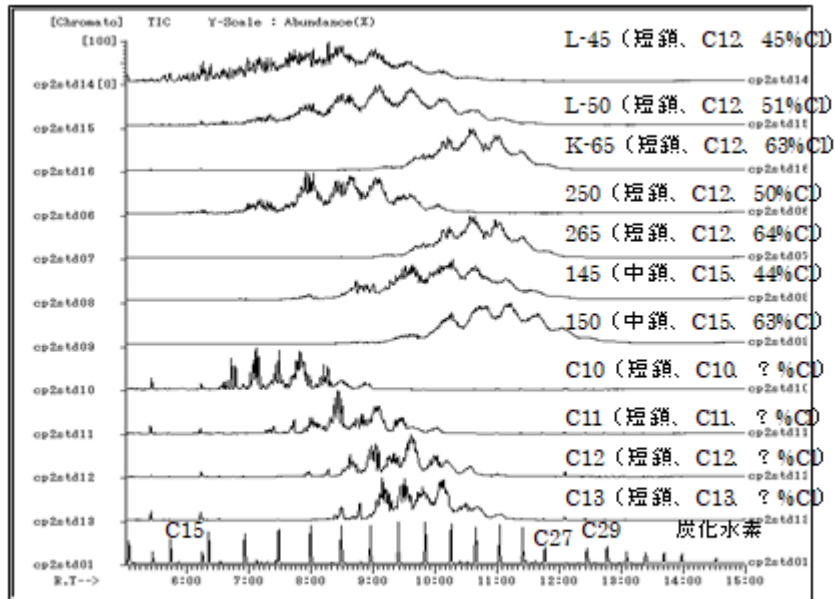


図5 GC/MS-EI法によるCPsの測定(DB-1HT, 15m, 50°C-20/min-310°C)

Promochem 社標準品のみでは K-65,265 等の工業品はカバーできない

2 LC/MS-APCI法による測定

(1) LC/MSイオン化条件の検討とモニターイオンの選定

CPsは、APCI-Negativeモードにおいてイオン化が認められた。Quattro Ultimaで得られる短鎖CPsのイオンは、ネフライザーガスを純窒素することで消失したことから、 $M+32=[M+O_2]^-$ と推定され、GC/MS-Neg-CI測定のスペクトルと類似していた。

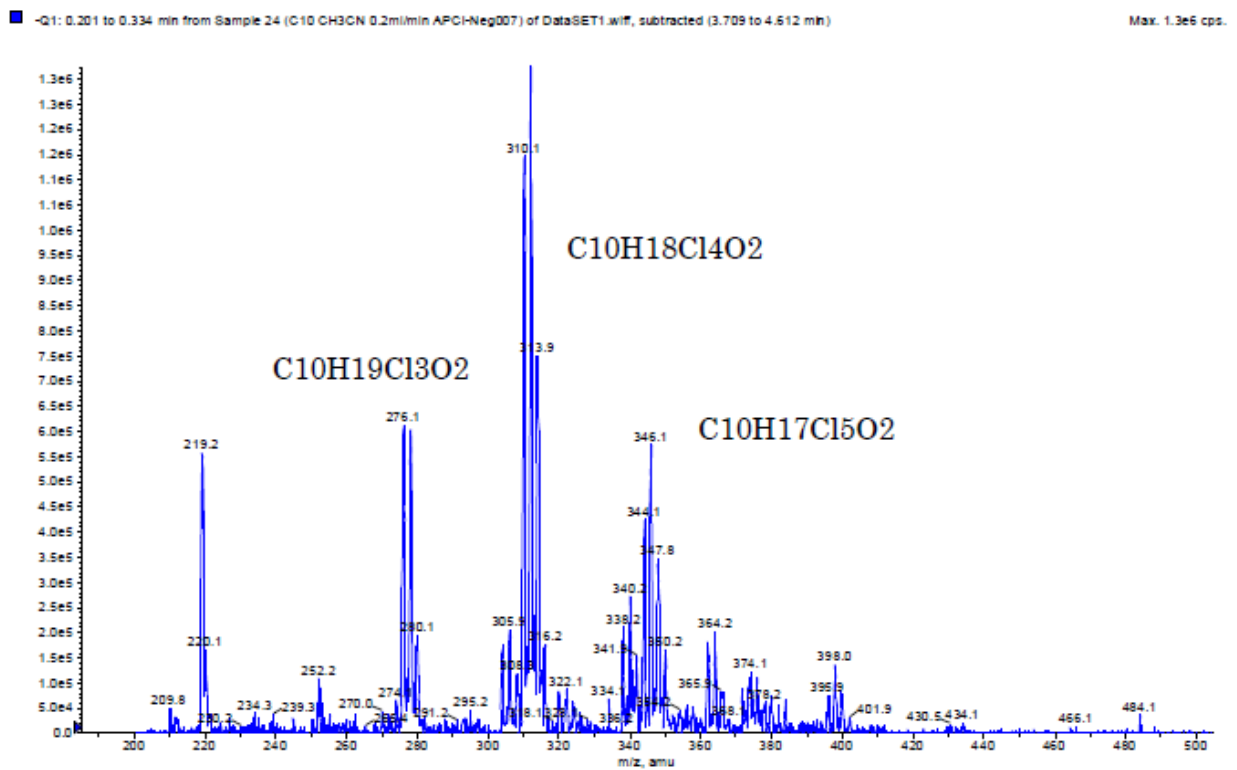


図6 C10標準品のマススペクトル (API3000)

(2) HPLC分離の検討

分子ふるい (SEC) カラムやODS系カラムを用いて、短鎖及び中鎖CPs の分離を試みたが、CPsを相互に分離することはできなかった。

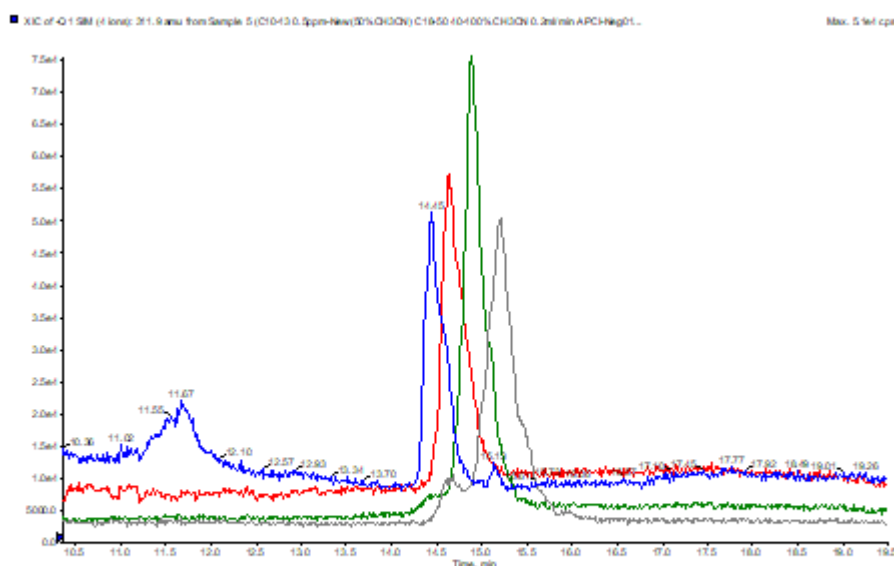


図7 ODS系カラム (C18、50mm) における短鎖 (C10~C13) の分離状況
API3000-SIM測定

(3) モニターイオンの選定と定量法の検討

モニターイオンの候補となる各イオンの組成は、短鎖CPsの示す各イオンの同位体パターンから、イオンに含まれる塩素数を推定し、その組成を検討した。

分析法開発報告書では、API3000で検出されるイオンは、塩素が脱離して二次的に生じた分子イオン $[M]^-$ に酸素 $[O_2]^-$ イオンが付加して $M+32=[M+O_2]^-$ イオンが生成していると報告したが、最新のPromochem社のカタログ値と比較した結果、塩素の脱離は生じていないことが確認できた。

表1 短鎖 CPs に含まれる主要異性体の含有率

標準品	M/Z	鎖長	塩素数	含有率	カタログ値	標準品	M/Z	鎖長	塩素数	含有率	カタログ値
C10	276	10	4	0.029	0.049	C12	340	12	5	0.221	0.136
	312	10	5	0.572	0.302		374	12	6	0.565	0.717
	346	10	6	0.400	0.599		408	12	7	0.214	0.129
C11	326	11	5	0.304	0.251	C13	354	13	5	0.356	0.332
	360	11	6	0.557	0.620		388	13	6	0.494	0.592
	394	11	7	0.139	0.111		422	13	7	0.150	0.056

(4) アセトニトリル/ヘキサン分配及び硫酸洗浄

短鎖及び中鎖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。CPsは、硫酸洗浄も可能で、夾雑物の分解・除去に極めて効果的であった。

(5) GPCの検討

短鎖は13~15min、中鎖は12.75~14.5min minの分画に溶出した。この分画には、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。14min以後には、PCBs、PCNs、PCTs、PAHs、ダイオキシン類、農薬、フタ

ル酸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、GPCで排除できない妨害の除去を目的にアルミナカラムによるクリーンアップを行った。底質中に中鎖CPsは高濃度に存在する。

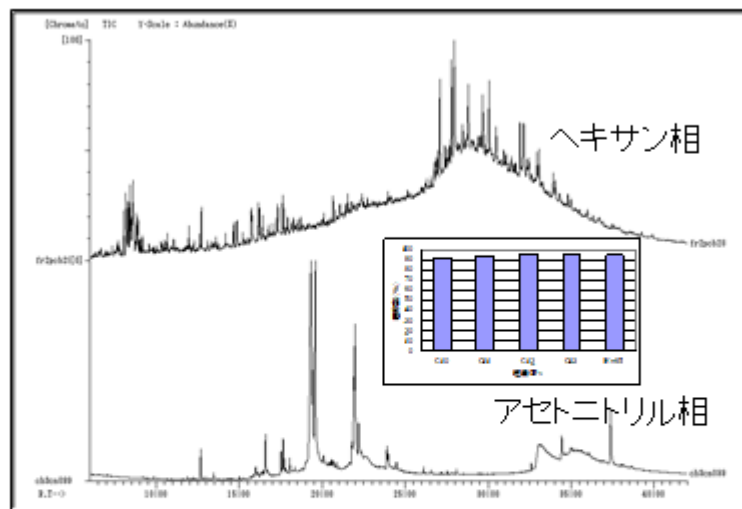


図8 底質試料に対するアセトニトリル／ヘキサン分配の効果

CPsは、アセトニトリル相に分配されるため、底質中に多量に含まれる鉱物油成分、生物試料に含まれる脂肪等をCpsと分離することができる。

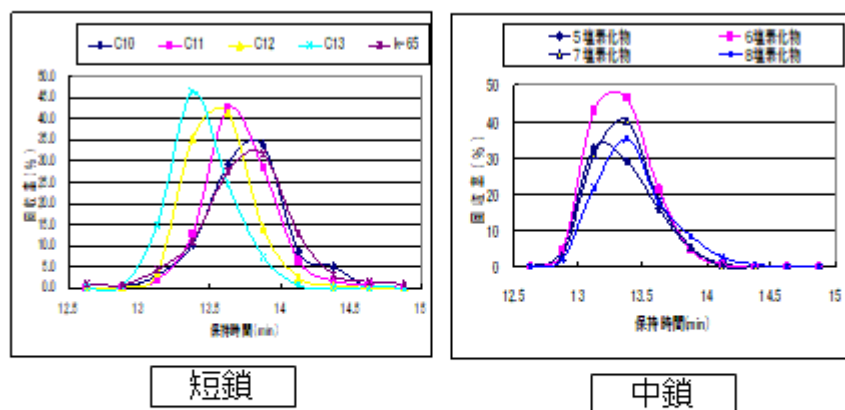


図9 CPsのGPCにおける分離状況

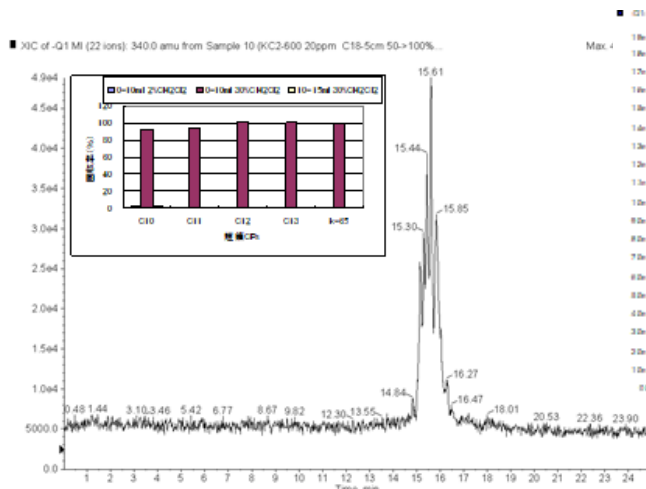


図10 短鎖CPs測定に対するPCBsの妨害とアルミナカラムによる除去

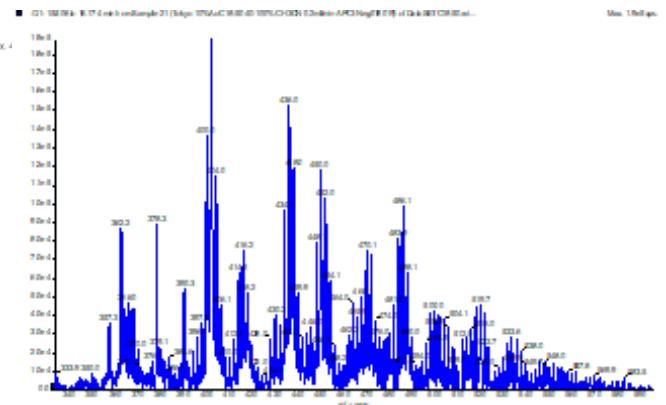


図11 東京湾底質から検出される中鎖CPs

以上