

【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
 -LC/MS 法による中鎖及び短鎖塩素化パラフィン類の同時分析法-

劔持堅志，浦山豊弘，伊藤安紀*，山本 潤*，杉山広和，鷹野 洋，藤原博一（水質第二科）

*国土環境(株) 環境創造研究所

要 旨

LC/MS 法による中鎖及び短鎖塩素化パラフィン類（CPs）の同時分析法を検討した。中鎖及び短鎖 CPs は，大気圧化学イオン化法（APCI）のネガティブモードでのみ検出できたが，そのマススペクトルは，測定に用いる LC/MS 装置によって異なるなど，使用する測定機種間の差が大きいことが判明した。中鎖 CPs の分析前処理法における挙動は短鎖 CPs と類似し，ヘキサン/アセトニトリル分配，硫酸洗浄，アルミナカラムクロマトグラフィー，Gel Permeation Chromatography（GPC）等を用いる分析法で同時分析が可能であった。中鎖 CPs は，環境中に存在し，底質及び生物試料（ボラ）から中鎖 CPs を検出した。

[キーワード：中鎖塩素化パラフィン，短鎖塩素化パラフィン，LC/MS，環境試料，分析法]

1 はじめに

塩素化パラフィン類（CPs）は，パラフィン系炭化水素に塩素を付加して製造されるが，図1に示すように個々の炭化水素に対する塩素置換量及び置換位置は塩素化条件によってそれぞれ異なるとともに，基礎原料である炭化水素の炭素数もある一定の分布を持つ異性体混合物となっている。短鎖 CPs は主として切削油，金属加工油剤，封止剤，ゴム，繊維等の難燃剤，皮革処理剤，塗料，コーティング剤等の用途に，中鎖 CPs は主として塩化ビニールポリマーの可塑剤として使用されている。

CPs は，環境省の化学物質環境汚染実態調査（平成14年度¹⁾において，底質から40%塩素化長鎖 CPs が42~2,000ng/g（検出率17/21），70%塩素化長鎖 CPs が11~390ng/g（検出率16/21）検出されている。また，Coelhan²⁾らは，GC/ECNI-MS（electron capture negative ion mass spectrometry）法で短鎖 CPs を測定し，魚類中から，11~1,217ng/g（脂肪あたり）検出するなど，環境汚染が懸念される物質³⁻⁶⁾となっている。

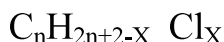
一方，中鎖 CPs については，分析法や環境中での検出事例の報告がほとんどないことから，既開発の長鎖 CPs の分析法^{7,8)}及び短鎖及び中鎖に関する前報^{9,10)}の検討結果を基

礎に，ヘキサン/アセトニトリル分配，硫酸洗浄，アルミナカラムクロマトグラフィー，GPC（Gel Permeation Chromatography）等の前処理法と LC/MS を用いた中鎖及び短鎖 CPs の同時分析法を確立したので報告する。

2 実験方法

2・1 標準品

- ① Promochem 社製標準品（短鎖：C10, C11, C12, C13）
- ② 味の素ファインテクノ社製エンパラ
短鎖：L-45（C12, 45%Cl），L-50（C12, 51%Cl），K-65（C12, 63%Cl）
- ③ 東ソー社製トヨパラックス
短鎖：250（C12, 50%Cl），265（C12, 64%Cl），270（C12, 69%Cl）
中鎖：145（C14.8, 44%Cl），150（C14.8, 50%Cl）



n は炭素数：10~30、 x は塩素数

| | |
|-----------------|---------------------------|
| 短鎖：n=10~13 (12) | 塩素化率=40~50%、50~60%、60~70% |
| 中鎖：n=14~19 (15) | 塩素化率=40~50%、50~60%、60~70% |
| 長鎖：n=20~30 (24) | 塩素化率=40~50%、50~60%、60~70% |

図1 塩素化パラフィン類の構造と分類

2・2 試薬

アルミナカートリッジカラム：Supelclean LC-Alumina-N 6 ml Tube, 2 g (SUPELCO 社製)

その他試薬は、残留農薬分析用、HPLC 分析用試薬及び特級試薬を用いた。

2・3 LC/MS の測定条件

LC 条件

使用機種：Agilent 社製 1100, Waters 社製 Alliance 2690

使用カラム：GL サイエンス ODS-3 (2.0mmI. D. x 50mm, 3 μm)

移動相A：超純水

移動相B：アセトニトリル

グラジエント：50%B (2 min) →100%B (10min)
→100%B (25min まで保持)
100%B (25min) →50%B (26min)
→50%B (40min まで保持)

移動相流量：0.2mL/min カラム温度：40℃ 試料
注入量：20μL

MS 条件

使用機種：アプライドバイオシステムズ社製 API 3000

Waters 社製 ZQ4000

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：API3000におけるモニターイオンとイオンの組成を表1及び表2に示す。

表1 短鎖 CPs のモニターイオンと組成

| 鎖長 | 塩素数 | イオンの組成 | 定量イオン | 確認イオン |
|----|-----|-------------|-------|-------------|
| 10 | 4 | C10H19Cl3O2 | 276.0 | 278.0 280.0 |
| 10 | 5 | C10H18Cl4O2 | 312.0 | 310.0 314.0 |
| 10 | 6 | C10H17Cl5O2 | 346.0 | 344.0 348.0 |
| 11 | 5 | C11H20Cl4O2 | 326.0 | 324.0 328.0 |
| 11 | 6 | C11H19Cl5O2 | 360.0 | 358.0 362.0 |
| 11 | 7 | C11H18Cl6O2 | 393.9 | 391.9 395.9 |
| 12 | 5 | C12H22Cl4O2 | 340.0 | 338.0 342.0 |
| 12 | 6 | C12H21Cl5O2 | 374.0 | 372.0 376.0 |
| 12 | 7 | C12H20Cl6O2 | 408.0 | 406.0 410.0 |
| 13 | 5 | C13H24Cl4O2 | 354.1 | 352.1 356.0 |
| 13 | 6 | C13H23Cl5O2 | 388.0 | 386.0 390.0 |
| 13 | 7 | C13H22Cl6O2 | 422.0 | 420.0 424.0 |

表2 中鎖 CPs のモニターイオンと組成

| 鎖長 | 塩素数 | イオンの組成 | 定量イオン | 確認イオン |
|----|-----|-------------|-------|-------------|
| 14 | 5 | C14H26Cl4O2 | 368.1 | 366.1 370.1 |
| 14 | 6 | C14H25Cl5O2 | 402.0 | 400.0 404.0 |
| 14 | 7 | C14H24Cl6O2 | 436.0 | 434.0 438.0 |
| 14 | 8 | C14H23Cl7O2 | 469.9 | 468.0 471.9 |
| 15 | 5 | C15H28Cl4O2 | 382.1 | 380.1 384.1 |
| 15 | 6 | C15H27Cl5O2 | 416.0 | 414.0 418.0 |
| 15 | 7 | C15H26Cl6O2 | 450.0 | 448.0 452.0 |
| 15 | 8 | C15H25Cl7O2 | 484.0 | 482.0 486.0 |
| 15 | 9 | C15H24Cl8O2 | 519.9 | 517.9 521.9 |

3 結果及び考察

3・1 短鎖 CPs を用いた LC/MS イオン化条件の検討

短鎖及び中鎖 CPs は、APCI-Negative モードにおいてのみイオン化が認められた。

モニターイオンの候補となる各イオンの組成を決定するため、鎖長が定まった標準品である Promochem 社製標準品 (短鎖：C10~C13) のマススペクトル (図2) を測定し、各イオンの示す塩素同位体パターン (図3) 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。その結果、表3に示すように API 3000で得られるマススペクトルのイオン組成は、分子イオン [M]⁻に酸素 [O₂]⁻イオンが付加して生成する M+32= [M+O₂]⁻イオンであると推定された。

しかし、API3000で測定されたイオンの塩素数は、4~6 塩素が主成分となっており、Promochem 社が公表している組成比 (C12の場合、5 塩素13.6%、6 塩素71.7%、7 塩素12.9%) と異なっていること、また、Waters 社製 LC/MS 装置 (ZQ) で測定したマススペクトルの示す主要イオン (図4) に比較して塩素数が1個少ないことから、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 [O₂]⁻イオンが付加して M+32= [M+O₂]⁻イオンが生成しているものと推定された。なお、Waters ZQ で観測されるイオンは [M+42]⁻となっているが、その組成は確定できなかった。

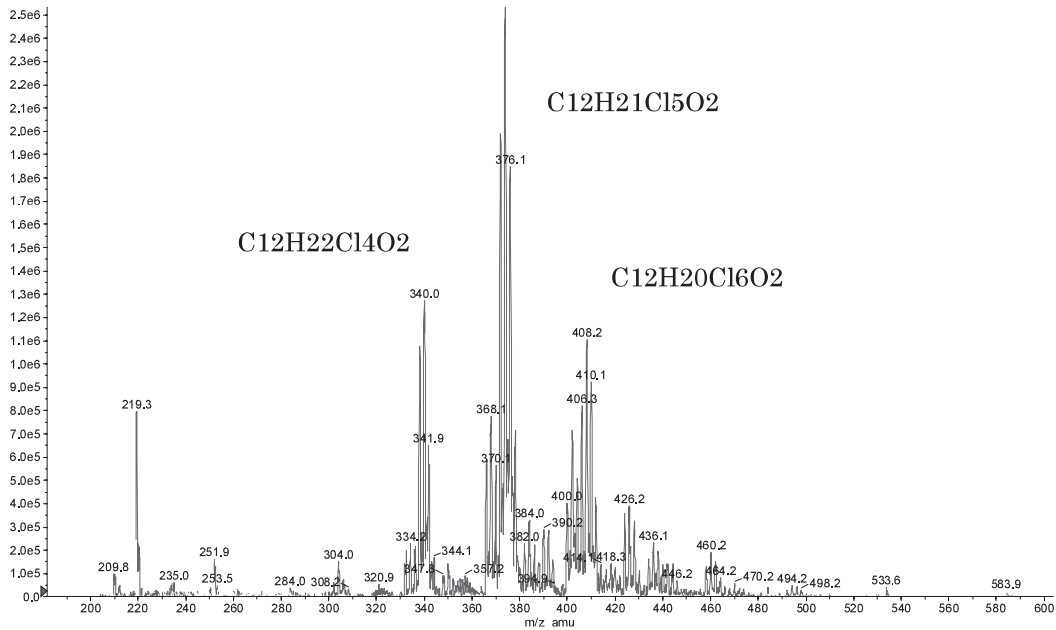


図2 C12標準品のマススペクトル (API3000)

表3 短鎖 CPs (C12) の分子量と各分子種の存在比

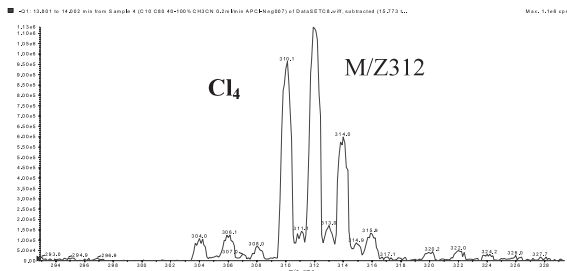


図3 各イオンの示す塩素同位体パターン

3・2 中鎖 CPs のマススペクトルパターンについて

中鎖 CPs には、短鎖 CPs のように鎖長の定まった標準品が存在しないため、工業的に使用されている製品を標準品として使用する必要がある。標準品として使用した東ソー社製トヨパラックス145 (C14.8, 44% Cl) 及び150 (C14.8, 50%Cl) のマススペクトルを図5及び図6に示したが、工業製品であることから鎖長の異なる炭化水素が原料となっており、鎖長 (C14 及び C15) と塩素化率 (4 塩素から 7 塩素) の異なった異性体の混合物となっていた。中鎖 CPs についても Waters ZQ で測定したところ、図7に示すように主要イオンに含まれる塩素数は API3000 よりも 1 個多くなっており、API3000 では、短鎖 CPs と同様にイオン化の過程で脱塩素反応が生じているものと推定され

| C12, 4 塩素化物 | | | | | | | |
|-------------|----|------------------|------------------|---|------|-------|-------|
| C | H | ³⁵ Cl | ³⁷ Cl | O | 塩素化率 | 分子量 | 存在比 |
| 12 | 22 | 4 | 0 | 2 | 41.4 | 338.0 | 78.2 |
| 12 | 22 | 3 | 1 | 2 | 41.7 | 340.0 | 100.0 |
| 12 | 22 | 2 | 2 | 2 | 42.1 | 342.0 | 48.0 |
| 12 | 22 | 1 | 3 | 2 | 42.4 | 344.0 | 10.2 |
| 12 | 22 | 0 | 4 | 2 | 42.7 | 346.0 | 0.8 |
| C12, 5 塩素化物 | | | | | | | |
| C | H | ³⁵ Cl | ³⁷ Cl | O | 塩素化率 | 分子量 | 存在比 |
| 12 | 21 | 5 | 0 | 2 | 47.0 | 372.0 | 62.5 |
| 12 | 21 | 4 | 1 | 2 | 47.3 | 374.0 | 100.0 |
| 12 | 21 | 3 | 2 | 2 | 47.6 | 376.0 | 64.0 |
| 12 | 21 | 2 | 3 | 2 | 47.8 | 378.0 | 20.5 |
| 12 | 21 | 1 | 4 | 2 | 48.1 | 380.0 | 3.3 |
| 12 | 21 | 0 | 5 | 2 | 48.4 | 382.0 | 0.2 |
| C12, 6 塩素化物 | | | | | | | |
| C | H | ³⁵ Cl | ³⁷ Cl | O | 塩素化率 | 分子量 | 存在比 |
| 12 | 20 | 6 | 0 | 2 | 51.7 | 406.0 | 52.1 |
| 12 | 20 | 5 | 1 | 2 | 51.9 | 408.0 | 100.0 |
| 12 | 20 | 4 | 2 | 2 | 52.2 | 410.0 | 79.9 |
| 12 | 20 | 3 | 3 | 2 | 52.4 | 412.0 | 34.1 |
| 12 | 20 | 2 | 4 | 2 | 52.6 | 413.9 | 8.2 |
| 12 | 20 | 1 | 5 | 2 | 52.8 | 415.9 | 1.0 |
| 12 | 20 | 0 | 6 | 2 | 53.1 | 417.9 | 0.1 |

た。なお、マススペクトルの示す鎖長は、標準品として用いた工業用製品のMSDSに記載されている平均

鎖長(14.8)に比べてC14の成分が多く検出されたが、その原因は解明できなかった。

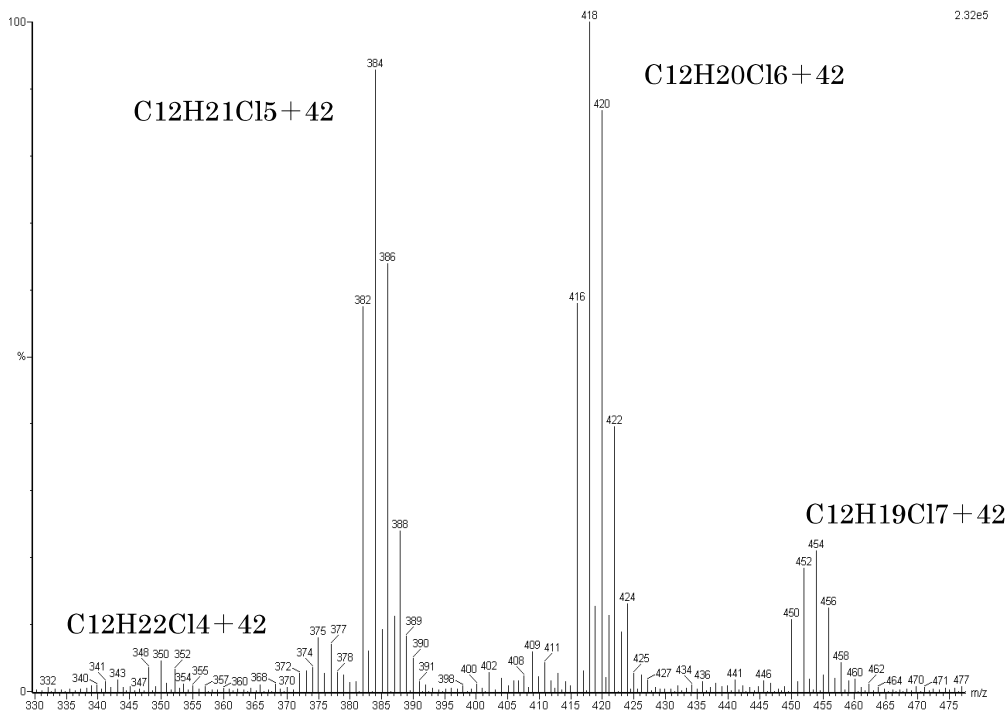


図4 C12標準品のマススペクトル (Waters ZQ)

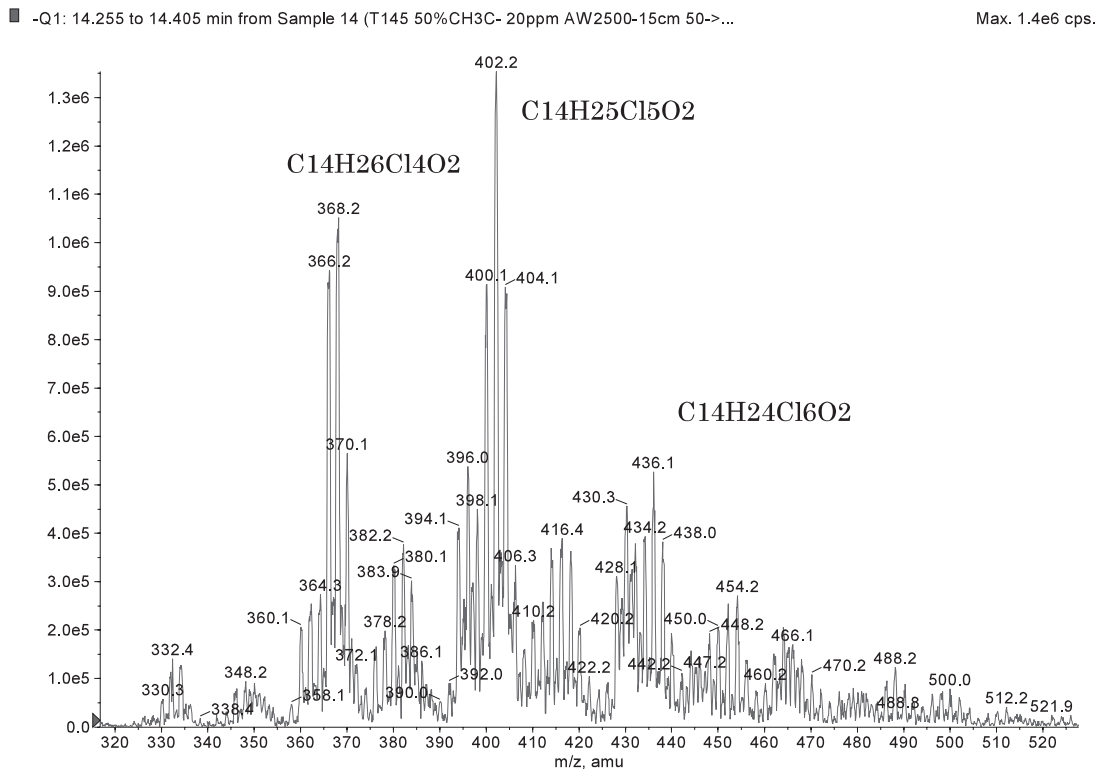


図5 トヨパラックス145のマススペクトル (API3000)

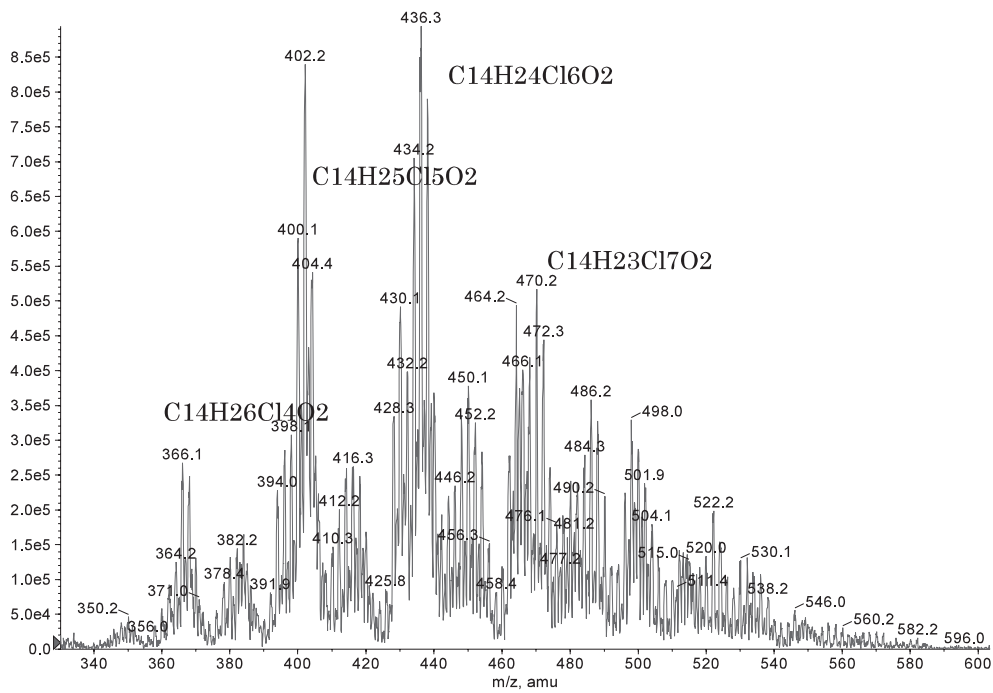


図6 トヨパラックス150のマススペクトル (API3000)

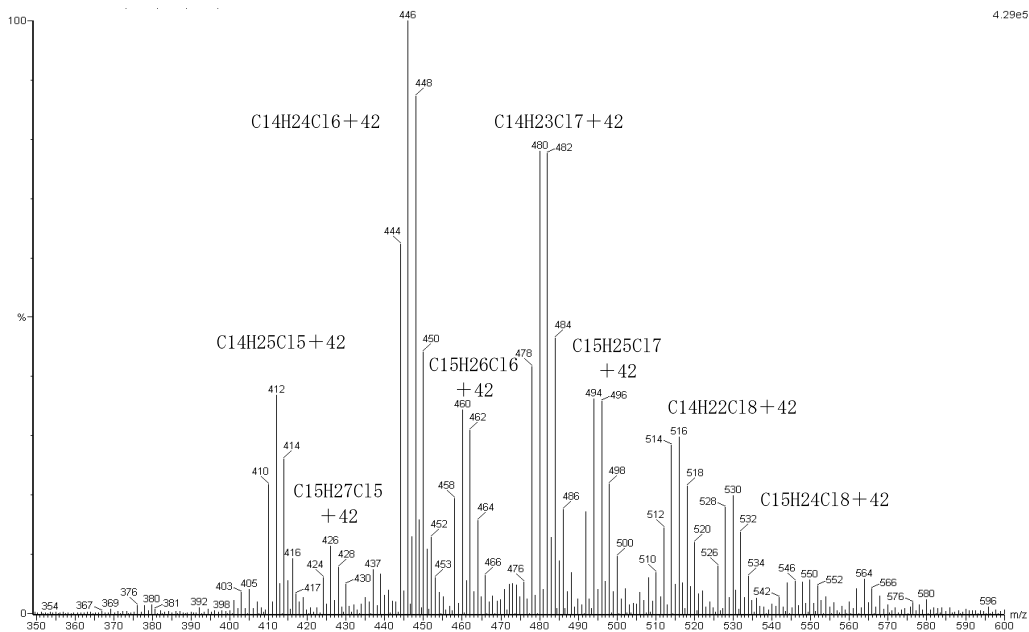


図7 トヨパラックス150のマススペクトル (Waters ZQ)

3・3 定量法の検討

標準品として用いた鎖長 CPs 標準品や工業中鎖 CPs には、鎖長と塩素化率の異なる異性体が存在することから、各標準品に存在する各異性体に特有なイオン (図8) の面積 (同位体イオンも積算する) 比を測定し、各標準品に含まれる異性体の含有率を計算した (表4)。異性体ごとの定量値の計算は、各標準品の

総量で作成した検量線から求めた定量結果に表4に示す含有率を乗じて算出することとした。なお、今回の含有率の算定では、C14の成分のみを対象としたが、標準品中には主成分である鎖長 C14の成分以外に C15の成分も含有されていることから、精度の良い定量を行うためには、C15の成分も考慮して含有率を算定する必要が認められた。

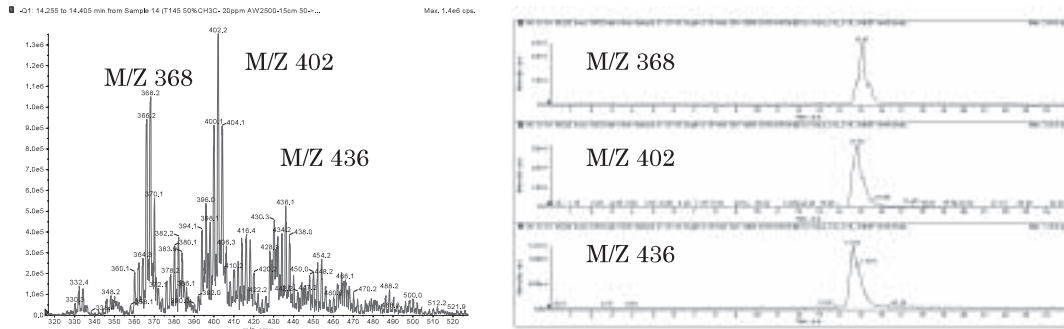


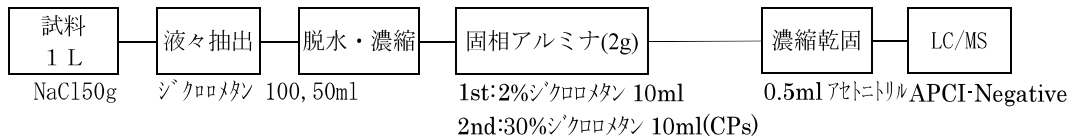
図8 標準品に含まれる異性体とイオン面積比を用いた含有率の算定
(例：トヨパラックス145)

表4 中鎖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 | 標準品 | M/Z | 鎖長 | 塩素数 | 含有率 |
|------|-----|----|-----|-------|------|-----|----|-------|-------|
| T145 | 368 | 14 | 5 | 0.298 | T150 | 368 | 14 | 5 | 0.084 |
| | 402 | 14 | 6 | 0.484 | | 402 | 14 | 6 | 0.333 |
| | 436 | 14 | 7 | 0.218 | | 436 | 14 | 7 | 0.351 |
| | | | | 470 | | 14 | 8 | 0.231 | |

注：鎖長及び塩素数は、イオン化しない状態における各異性体の鎖長と塩素数を示した。

①水質



②底質・生物

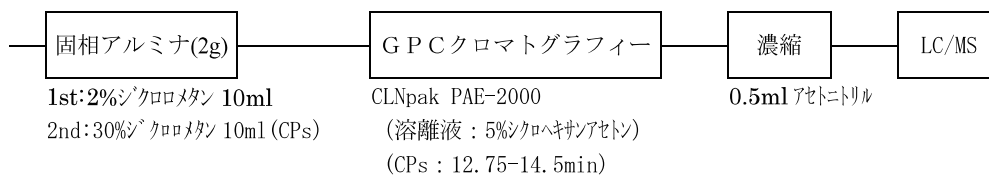
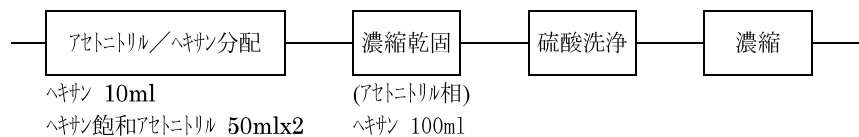
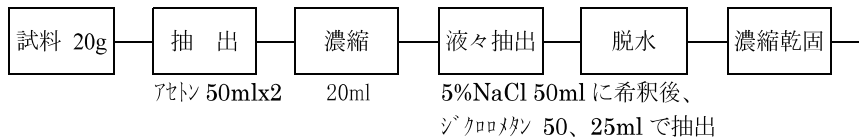


図9 分析法フローチャート

3・4 分析法の検討

既開発の長鎖 CPs 分析法^{7,8)}を基礎に、図9に示す分析法を検討した。

アセトニトリル/ヘキサン分配では、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。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。

CPs は硫酸洗浄が可能で、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・除去できる効果もあった。

PCBs は中鎖 CPs の測定を妨害しないが、短鎖 CPs の場合は図10に示すような妨害が生じることから、PCBs を完全に除去する必要があった。しかし、長鎖 CPs の分析法に採用したシリカゲル、フロリジル等の

カートリッジカラムでは、PCBs との分離は不可能であったことから、保持力の強いアルミナカラムについて検討し、中鎖及び短鎖 CPs を30%ジクロロメタンの分画に溶出させることで、2%ジクロロメタンの分画に溶出する PCBs の妨害を排除した。

CPs は、GPC 処理で、中鎖及び短鎖は12.75~14.5 min、長鎖は11.5~13.5min の分画に溶出した(図13)。この14min より保持時間の短い分画には、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 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。

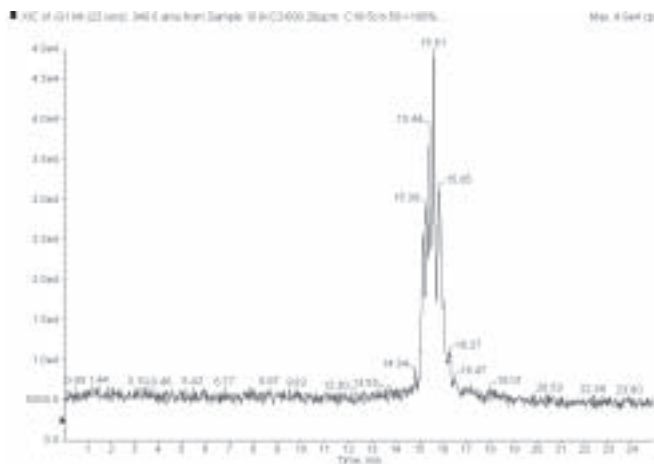


図10 短鎖 CPs 測定に対する PCBs の妨害 (M/Z 340)

3・5 添加回収実験

低濃度回収実験の結果を表5(短鎖)及び表6(中鎖)に示した。短鎖 CPs の回収率及び変動率は良好な結果が得られたが、中鎖 CPs の添加回収実験に用

いた底質中には添加量を上回る中鎖 CPs が存在したことから、変動率が増加し、回収率も低下する結果が得られた。

表5 短鎖 CPs の低濃度添加回収結果

| 媒体 | 試料量 | 添加量 | n | C10 | | C11 | | C12 | | C13 | |
|----|-----|-------|---|-------|-----|-------|-----|------|-----|-------|------|
| | | | | 回収率 | 変動率 | 回収率 | 変動率 | 回収率 | 変動率 | 回収率 | 変動率 |
| 海水 | 1L | 0.5µg | 4 | 94.2 | 9.3 | 100.8 | 9.8 | 86.5 | 7.0 | 85.1 | 15.6 |
| 海水 | 1L | 0.1µg | 7 | 102.3 | 4.9 | 90.0 | 9.3 | 96.7 | 5.0 | 99.4 | 3.6 |
| 底質 | 20g | 1.0µg | 7 | 83.4 | 5.1 | 94.1 | 5.1 | 88.7 | 5.1 | 92.2 | 7.0 |
| 底質 | 20g | 0.2µg | 7 | 72.0 | 7.8 | 70.1 | 8.1 | 79.9 | 3.5 | 100.2 | 3.9 |
| 底質 | 20g | 0.1µg | 7 | 61.2 | 6.5 | 86.0 | 9.3 | 80.7 | 2.4 | 95.1 | 6.2 |
| 生物 | 20g | 0.1µg | 7 | 66.7 | 8.8 | 84.8 | 8.1 | 78.3 | 2.8 | 83.5 | 8.7 |

注：添加量は、Promochem 社製標準品の添加量を示す。

表6 中鎖CPsの低濃度添加回収結果

| 媒体 | 試料量 | 添加量 | n | 5 塩素化物 | | 6 塩素化物 | | 7 塩素化物 | | 8 塩素化物 | |
|----|-----|-------------|---|--------|------|--------|------|--------|------|--------|------|
| | | | | 回収率 | 変動率 | 回収率 | 変動率 | 回収率 | 変動率 | 回収率 | 変動率 |
| 海水 | 1L | 0.1 μ g | 7 | 101.0 | 9.5 | 97.4 | 4.9 | 96.7 | 9.7 | 94.8 | 5.1 |
| 底質 | 20g | 0.1 μ g | 7 | 67.8 | 28.5 | 46.0 | 36.9 | 54.7 | 30.6 | 49.3 | 56.4 |
| 生物 | 20g | 0.1 μ g | 7 | 81.8 | 5.7 | 73.8 | 6.9 | 71.9 | 9.7 | 75.0 | 7.2 |

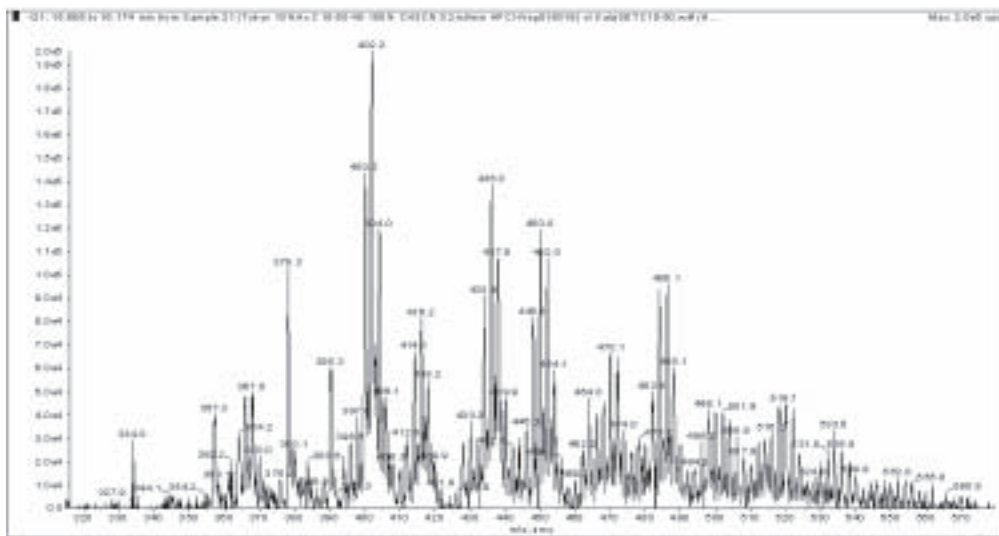
注1：添加量は、トヨパラックス145及び150の添加量を示す。

注2：底質試料には、添加量の2倍以上の中鎖CPsが存在したため、変動率が大きくなった。

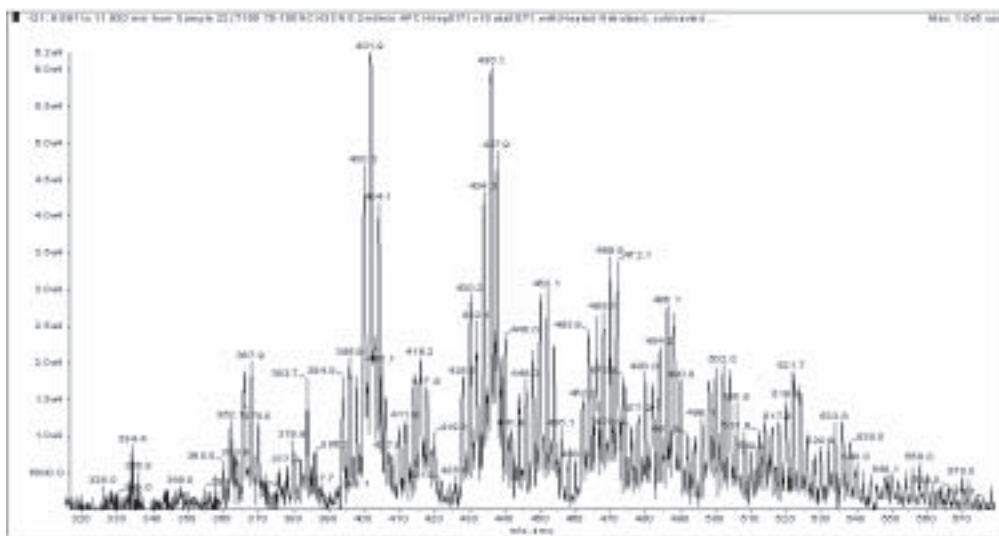
3・6 環境試料の分析

短鎖CPsは環境試料中（海水、底質、生物試料）からは検出されなかったが、中鎖CPsは、底質及び生物試料から検出された。図11に環境省が配布した共

通底質（東京湾底質）から μ g/gレベルで検出した事例を示したが、そのマススペクトルは工業用中鎖CPsと極めて類似していた。



東京湾底質



トヨパラックス150

図11 東京湾底質から検出された中鎖CPsのマススペクトル

上段：東京湾底質

下段：工業用中鎖CPs トヨパラックス150 (C15, 50%Cl)

4 まとめ

中鎖及び短鎖 CPs の LC/MS 法を用いた分析法の検討を行い、次に示す結果を得た。

- 1) 短鎖及び中鎖 CPs の LC/MS-APCI (ネガティブ) マススペクトルは、LC/MS の機種間による差が非常に大きいことから、モニタリングの実施においては、測定装置の選定に十分な検討を要する。
- 2) 標準品として用いた短鎖 CPs 標準品や工業中鎖 CPs には、鎖長と塩素化率の異なる異性体が存在することから、各標準品に存在する各異性体に特有なイオンの面積比を測定し、各標準品に含まれる異性体の含有率を計算する必要がある。
- 3) 中鎖 CPs は、前処理法において短鎖 CPs と同じ挙動を示すことから、ヘキサン/アセトニトリル分配、硫酸洗浄、アルミナカラムクロマトグラフィー、GPC 等を用いた分析法で同時分析できた。
- 4) 短鎖 CPs は環境試料中(海水、底質、生物試料)からは検出されなかったが、中鎖 CPs は、底質及び生物試料から検出された。

なお、本研究は環境省委託の平成16年度化学物質分析法(LC/MS)開発調査(環境安全課)の一環として、貸与された LC/MS を用いて実施した。

また、Waters 社製 ZQ4000 LC/MS 装置による測定は、独立行政法人国立環境研究所が実施した「平成16年度 POPs モニタリング分析基礎データ評価業務」の一環として、国立環境研究所において実施した。

文 献

- 1) 環境省環境安全課：化学物質と環境(平成14年度版), 66-67, 2003
- 2) Coelhan M: Determination of short-chain polychlorinated paraffins in fish samples by short-column GC/ECNI-MS, Anal. Chem., 71, 4498-4505, 1999
- 3) Froescheis O, Ballschmiter K: Electron capture negative ion (ECNI) mass spectrometry of complex mixtures of chlorinated decanes and dodecans: An approach to ECNI mass spectra of chlorinated paraffins in technical mixtures, Fresenius J. Anal. Chem., 361, 784-790, 1998
- 4) Rieger R, Ballschmiter K: Semivolatile organic compounds - polychlorinated dibenzo-p-dioxins (PCDD), dibenzofurans (PCDF), biphenyls (PCB), hexachlorobenzene (HCB), 4, 4'-DDE, and chlorinated paraffins (CP)- as matters in sewer films, Fresenius J. Anal. Chem., 352, 712-724, 1995
- 5) 飯野福哉, 阿部昌宏, K. S. Kumar, 高菅卓三, 吉田喜久雄, 中西準子: 短鎖塩素化パラフィン類の NCI-HRGC/HRMS による分析方法の検討, 第12回環境化学討論会講演要旨集, 712-713, 2003
- 6) 松神秀徳, K. S. Kumar, 大井悦雅, 高菅卓三, 飯野福哉, 中西準子他: 短鎖塩素化パラフィンの NCI-HRGC/HRMS を用いた分析, 第13回環境化学討論会講演要旨集, 288-289, 2004
- 7) 環境省環境安全課: 平成14年度化学物質分析法開発調査報告書(長鎖塩素化パラフィン: 岡山県環境保健センター), 172-201, 2003
- 8) 剣持堅志, 西島倫子, 吉岡敏行: 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, 10-21, 2001
- 9) 剣持堅志, 難波順子, 武志保, 今中雅章, 吉岡敏行, 林隆義, 山辺真一, 斎藤直己: LC/MS 及び GC/MS-NCI 法を用いた短鎖及び中鎖塩素化パラフィン類分析のための基礎的検討, 岡山県環境保健センター年報, 27, 83-88, 2003
- 10) 剣持堅志, 伊藤 安紀, 山本 潤, 林 隆義, 浦山豊弘, 杉山広和, 藤原博一: LC/MS 法を用いた短鎖塩素化パラフィン類分析のための基礎的検討, 岡山県環境保健センター年報, 28, 45-52, 2004