

キャピラリーカラム/マスフラグメントグラフィーによる 有機塩素化合物の定量

黒崎 裕人・渡邊 哲也・尾崎 邦雄

Determination of organochlorine compounds by capillary column
/ mass fragmentography

Hirohito Kurosaki, Tetsuya Watanabe and Kunio Ozaki

1 はじめに

キャピラリーカラムガスクロマトグラフ/質量分析法 (GC/MS) は、環境試料中の化学物質を分析するのに有力な手法として広く用いられるようになった¹⁾。特に、マスフラグメントグラフィーによる分析法は高感度、高選択性及び多成分同時定量が可能であるなど多くの長所を有している。しかしながら、水試料において数十 ng/l、底質試料において数 ng/g の濃度レベルの化学物質をモニタリングするためには、目的物質の濃縮や精製といった複雑な前処理を必要とすることや、装置の取り扱いにおける精度や正確さについての管理が要求される²⁾。

本研究では、水及び底質中に残留している塩素化ベンゼン類や DDT 類等 14 種類の有機塩素化合物のモニタリングを実施するにあたり、キャピラリーカラム/マスフラグメントグラフィーによる定量条件を検討した。すなわち、GC において昇温分析を行うことにより、分子量や揮発性の大幅に異なるこれらの物質の同時定量法を確立するため、対象物質の保持時間、分離数及び分離度などを測定し、それらを適切な条件に設定した。この条件において、マスフラグメントグラフィーによりディルドリンでは 4ng (S/N=5)、他の 13 物質では 1ng (S/N>5) のレベルで定量することが可能となった。これらの結果について既報³⁾と比較したので報告する。

2 ガスクロマトグラフィーにおけるパラメータ

2.1 昇温条件下での保持指標 (PTRI)

保持時間は物質ごとに固有のものであるため、物質の同定の際には有力な指標となるが、カラム温度やキャリ

ヤーガス流量等により変化する。そこで n -アルカンを内標準として保持時間を基準化する考え方が種々検討されており、その中で Guichon⁴⁾ は昇温分析において PTRI (Programmed Temperature Retention Index) を提唱している。すなわち、

$$\text{PTRI} = 100 \times (Z + (t_x - t_z) / (t_{z+1} - t_z)) \quad (1)$$

Z : n -アルカン C_z の炭素数

t_{z+1} , t_z : 目的物質を挟んだ二つの n -アルカン C_{z+1} , C_z の保持時間

t_x : 目的物質の保持時間

である。

2.2 分離数

カラムの分離能力を数量化して表わすパラメータの一つに分離数 (TZ: Separation number)⁵⁾ があるが、これを応用して二つの連続した n -アルカンの保持時間の間に、いくつ目的物質のピークが入るかを

$$\text{TZ} = (t_{z+1} - t_z) / W - 1 \quad (2)$$

t_{z+1} , t_z : 目的物質を挟んだ二つの n -アルカン C_{z+1} , C_z の保持時間

W : 目的物質のピーク幅

として求めた。TZ が大きい程カラムの分離能力は大きくなる。

2.3 分離度

複数の物質を同時分析する際、ガスクロマトグラム上でピークが重複する場合がある。この時重複するピーク間における分離の程度を数量化したものに、分離度 (R: Resolution) があり、

$$R = 1.18 \times (t_a - t_b) / (W_{h/2}^a + W_{h/2}^b) \quad (3)$$

t_a , t_b : ピーク a, b の保持時間

$W_{h/2}^a$, $W_{h/2}^b$: ピーク a, b の半値幅

である。R=1でピークは4 σ （各々のピーク形状はガウス分布型とし、その標準偏差を σ とする）離れ、R=1.5では6 σ 、99.7%とほぼ完全分離する⁹⁾。

2.4 テーリング度

ピークのテーリングの程度を数量化したものにテーリング度 (TF: Tailing factor) ⁷⁾ があり、

$$TF (\%) = a/b \times 100 (\%) \quad (4)$$

a: ピーク高さの10%値におけるピーク前半部の幅

b: ピーク高さの10%値におけるピーク後半部の幅

で示される。TF=100 (%)の時ピークは左右対称となり、TF>100の時はピークにテーリングが生じている。

3 実 験

3.1 試薬

ヘキサン等の有機溶剤は、残留農薬試験用（和光純薬工業製）を用いた。

有機塩素化合物標準溶液：ヘキサクロロベンゼン（以下HCB）、ディルドリン、*p, p'*-DDE、*p, p'*-DDT、*p, p'*-DDD、 α -ヘキサクロロシクロヘキサン（以下 α -HCH）、 β -HCH、*o*-ジクロロベンゼン（以下*o*-DCB）、*m*-DCB、*p*-DCBの各々10 μ g/mlのベンゼン溶液（日本環境衛生センター調製）及び*trans*-クロルデン、*cis*-クロルデン、*trans*-ノナクロル、*cis*-ノナクロルの各々10 μ g/mlのヘキサン溶液（日本食品分析センター調製）を用い、さらにヘキサンで段階的に希釈して調製した。

内標準溶液：フルオランテン-d₁₀の10 μ g/mlのベンゼン溶液（日本環境衛生センター調製）を、50 μ lずつ調製した試験溶液に添加した。

n-アルカン標準溶液：炭素数9 (C₉H₂₀) から炭素数24 (C₂₄H₅₀) までの*n*-アルカン（和光純薬工業製もしくは東京化成工業製）をヘキサンに溶解し、混合して各々が100 μ g/mlの濃度になるよう調製した。

Table 1 Operating conditions for GC/MS

GC	HP-5790A (HP)
Column	Fused silica capillary column
	DB-1 (Composition: 100% methyl polysiloxane, 0.53 mm i. d. $\times$ 15m, df = 3 μ m) (J & W)
Temp.	Column: Programmed, 50 $^{\circ}$ C (3min, hold) $\rightarrow$ 8 $^{\circ}$ C/min $\rightarrow$ 250 $^{\circ}$ C (hold)
	Injection: 190 $^{\circ}$ C
	Separator: 270 $^{\circ}$ C
Carrier gas	He (5 ml/min)
MS	JMS-DX300 (JEOL)
Ionization method	: EI
Ionization chamber temp.	: 230 $^{\circ}$ C
Ionization chamber pressure	: <1 $\times$ 10 ⁻⁶ Torr
Ionization voltage	: 70 eV
Ionization current	: 300 μ A

3.2 装置

GC/MSは、ガスクロマトグラフとしてHP-5790A（ヒューレットパッカード製）を用い、JMA3500（日本電子製）データ処理装置を装着したJMS-DX300（日本電子製）質量分析計を使用し、測定条件はTable 1に示した。

3.3 操作

あらかじめビス（ペンタフルオロフェニル）フェニルホスフィン（BPFP）を用いて、装置の状態をEPAの方法⁸⁾により調べ、良好なマススペクトルが得られるよう調整した。

分離条件の決定には、有機塩素化合物標準溶液を20ng、*n*-アルカン標準溶液を100ng注入してマスキンググラフ法により測定し、各々のPTRI、テーリング度、分離数及び分離度を求め、それらが良好な分離状態になるよう昇温速度やキャリアーガス流量等を調整した。得られた適切な条件の下で、マスフラグメントグラフィーにより試料注入0.0～4.0 ngの5段階の濃度において検量線を作成した。この検量線から内標準フルオランテン-d₁₀ (m/z=212) に対する各物質のモニタリングイオンの相対感度係数 (RF)⁹⁾ を求めた。また、試料量4.0 ngを3回連続して測定し、繰り返し精度を調べた。さらに0.5～4.0 ngを注入し得られたピーク面積からS/N比を測定し、装置の検出感度を求めた。

4 結果及び考察

4.1 ガスクロマトグラフの分離条件の検討

14物質の測定に用いたフラグメントイオン (m/z)、PTRI、テーリング度及び分離数を調べ、Table 2に示した。これらの数値を14物質の平均値土標準偏差で示すと、

Table 2 Results of GC column performance test

No	Compound	m/z	PTRI	TF, %	TZ
1	HCB	284	1,696	92	7.1
2	Dieldrin	263	2,177	93	4.4
3	<i>p, p'</i> -DDE	318	2,168	124	5.0
4	<i>p, p'</i> -DDD	235	2,247	103	4.5
5	<i>p, p'</i> -DDT	235	2,340	104	4.8
6	<i>trans</i> -Chlordane	375	2,086	99	3.6
7	<i>cis</i> -Chlordane	375	2,122	113	4.3
8	<i>trans</i> -Nonachlor	409	2,140	101	4.1
9	<i>cis</i> -Nonachlor	409	2,266	122	4.3
10	α -HCH	219	1,664	103	5.8
11	β -HCH	219	1,692	101	6.3
12	<i>o</i> -DCB	146	1,020	118	10.4
13	<i>m</i> -DCB	146	991	112	9.3
14	<i>p</i> -DCB	146	995	113	10.1

m/z: Monitoring ion; PTRI: Programmed temperature retention index; TF: Tailing factor; TZ: Separation number; 20ng injection each.

テーリング度は 107 ± 10.1 であり、既報³⁾の 117 ± 14.1 より良好な結果が得られた。分離数も 6.0 ± 2.3 と、既報の 2.8 ± 1.5 より分離能力が高い結果であった。

PTRIは、最小の *m*-DCB (991) から最大の *p*, *p'*-DDT (2340) まで再現性良く得られた。PTRIは同じ性質の分離カラムで比較した場合には、それらの値の間に正の相関関係が認められると報告¹⁰⁾されている。既報でもメチルシリコン系のキャピラリーカラムを用いたので、それらの値と比較するためFig.1のようにプロットした。両PTRI値の間には有意な正の相関関係 ($r=0.9997$, 有意水準1%) が認められ、測定条件が異なっても類似のカラムを用いれば、PTRIは物質固有の値となることが確認された。クロルデン類やHCHといった複数の異性体が共存する物質の分析においては、マススペクトルから異性体を区別することはほとんど不可能であり、PTRIを用いることによって、物質の同定及び定量がより正確に行うことができると考えられた。

4.2 マスフラグメントグラフィーによる定量性

14物質及び内標準物質のマスフラグメントグラム例をFig.2に示した。また、各物質間において分離度を調べたところ、完全分離 ($R > 1.5$) ができない物質の組み合わせは *m*-DCBと *p*-DCB ($R=0.53$)、ディルドリンと *p*, *p'*-DDE ($R=0.44$)、*cis*-クロルデンと *trans*-ノナクロル ($R=0.93$) の3組のみであった。この場合も、DCB類を除く他の2組は各物質に特有なフラグメントイオンを選択することにより、Fig.2のように保持時間が一致している物質

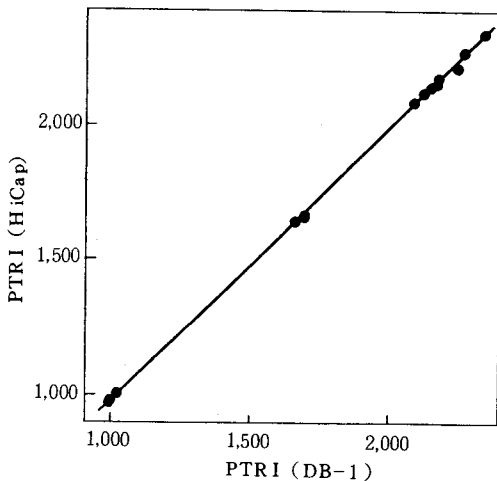


Fig.1 Correlation between PTRI (DB-1) and PTRI (HiCap)

PTRI (DB-1): Programmed Temperature Retention Indices determined using DB-1 column on the same conditions in Table 1.
PTRI (HiCap): PTRI determined using HiCap column on the same conditions in reference³⁾

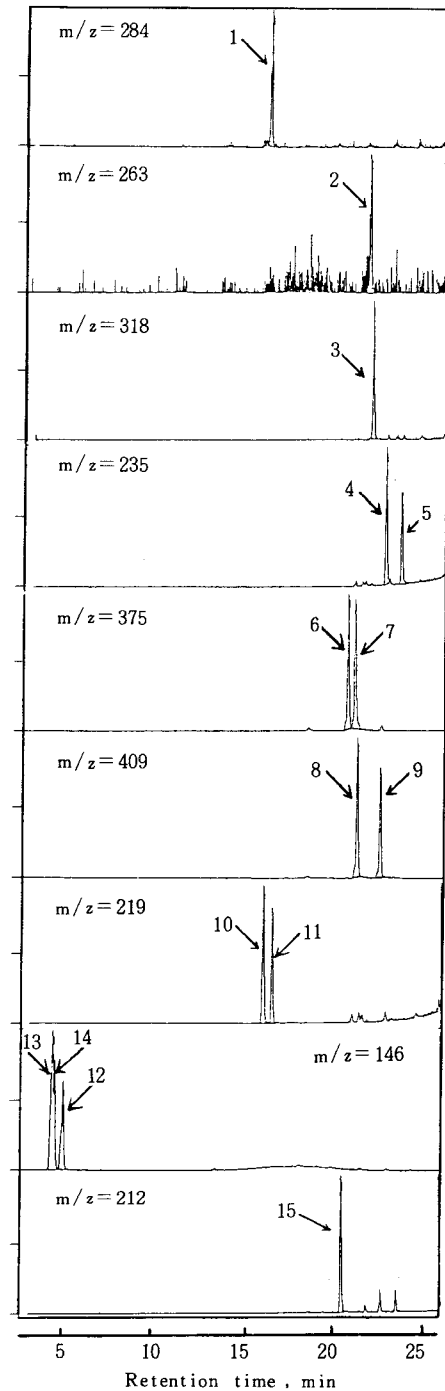


Fig.2 Mass fragmentograms of organochlorine compounds and the internal standard. Labeled peaks for 1 to 14 were same compounds in Table 2 (4 ng injection each) and the peak of 15 was fluoranthene- d_{10} (I. S.: 1 ng injection).

Table 3 Results of calibration curves, standard deviations and relative intensity factors

Compound	Range (ng)	r	σ_{n-1} * (ng)	RF
HCB	0.00~4.00	0.990	1.07	0.114
Dieldrin	0.00~4.00	0.999	0.15	0.013
<i>p, p'</i> -DDE	0.00~4.00	0.998	0.79	0.029
<i>p, p'</i> -DDD	0.00~4.00	0.999	0.98	0.327
<i>p, p'</i> -DDT	0.00~4.00	0.999	0.86	0.303
<i>trans</i> -Chlordane	0.00~4.00	0.994	0.38	0.100
<i>cis</i> -Chlordane	0.00~4.00	0.997	0.38	0.092
<i>trans</i> -Nonachlor	0.00~4.00	0.997	0.31	0.104
<i>cis</i> -Nonachlor	0.00~4.00	0.991	0.32	0.084
α -HCH	0.00~4.00	0.996	0.44	0.195
β -HCH	0.00~4.00	0.994	0.31	0.162
<i>o</i> -DCB	0.00~4.00	0.998	0.27	3.791
<i>m</i> -DCB	0.00~4.00	0.995	0.27	4.399
<i>p</i> -DCB	0.00~4.00	0.999	0.44	4.072

RF: Relative intensity factor of monitoring ion of organochlorine compounds, based on the molecular ion of fluoranthene- d_{10} ($m/z=212$, internal standard) in mass fragmentography; *: 4 ng injection each ($n=3$)

間で互いに妨害とならないクロマトグラムが得られた。

4.3 検量線及び定量下限値

マスフラグメントグラフィーにより、内標準と各々の物質のモニタリングイオンのピーク面積を求め、その面積比から検量線を作成し、Table 3に示した。いずれの物質も0.0~4.0ngの範囲で良好な直線性を示した。また、各物質の繰り返し精度は4.0ngにおいて標準偏差 $\sigma_{n-1}=0.15\sim1.07$ ngであり、相対標準偏差が10%未満の物質は8物質であった。一部の物質についてばらつきが大きいものの、環境試料の濃度レベルを把握するには十分な精度が得られた。

装置の検出感度は、Table 4に示した。S/N比5以上を得るための必要量はディルドリンのみが4ngと高かったが、他は1ng未満であった。ここで定量下限値を1ngとすると、注入量4 μ lで最終液量を0.18 mlとした場合、絶対量として45ngである。よって試料からの抽出率等の前処理の影響を考慮しなければ、水試料では4.5 l、底質試料では45gを試料量とすることにより、水試料で10ng/l、底質試料で1ng/gまでこれら14物質のモニタリングが可能となることがわかった。

5 ま と め

水及び底質中に残留している塩素化ベンゼン類やDDT類等の14種類の有機塩素化合物のモニタリングを実施するにあたり、キャピラリーカラムマスフラグメントグラフィーによる定量条件を検討したところ、

Table 4 Response of mass fragmentography

Compound	Injection (ng)	Peak area	S/N
HCB	0.5	1.32	22
Dieldrin	4.0	1.39	5
<i>p, p'</i> -DDE	2.1	4.10	12
<i>p, p'</i> -DDD	2.1	50.14	25
<i>p, p'</i> -DDT	2.1	47.67	21
<i>trans</i> -Chlordane	0.5	12.87	22
<i>cis</i> -Chlordane	0.5	12.01	19
<i>trans</i> -Nonachlor	0.5	12.36	21
<i>cis</i> -Nonachlor	0.5	10.34	17
α -HCH	1.0	15.98	21
β -HCH	1.0	13.46	19
<i>o</i> -DCB	0.5	35.23	45
<i>m</i> -DCB	0.5	35.63	46
<i>p</i> -DCB	0.5	37.21	48

S/N: Ratio of signal/noise

- 1) RTRIは最小の*m*-DCB(991)から最大の*p, p'*-DDT(2340)まで再現性良く得られ、また、テーリング度は平均107 $\pm$ 10.1、分離数も6.0 $\pm$ 2.3と良好な分析条件が得られた。
- 2) ガスクロマトグラフィーで完全分離($R > 1.5$)ができなかった物質の組み合わせのうち、DCB類以外はマスフラグメントグラフィーにより、保持時間が一致している物質間でも互いに妨害とならない分離条件が得られた。
- 3) 装置の検出感度は、マスフラグメントグラム上でS/N比5においてディルドリンのみが4ngであったが、他は1ng未満であった。ここで定量下限値を1ngとし、試料からの抽出率等の前処理の影響を考慮しなければ、水試料では10ng/l、底質試料では1ng/gまでこれら14物質のモニタリングが可能となることがわかった。

この方法を用いた環境調査結果は別報¹¹⁾にまとめた。また、全国的な調査結果は環境庁¹⁾より取りまとめられている。

本研究は環境庁委託研究「平成元年度化学物質環境汚染実態調査」に関連して実施したものである。

参 考 文 献

- 1) 環境庁環境保健部保健調査室：平成元年度化学物質と環境，p.111 (1989)。
- 2) 山本 武：第7回環境科学セミナープログラム・講演要旨集（所沢会場），p.33 (1990)。
- 3) 新潟県衛生公害研究所：昭和63年度水質・底質のGC/MSモニタリング調査，p.11 (1989)。
- 4) Guichon G. : Anal. Chem., **36**, 661 (1964)。
- 5) Jones L. A., Kirby S. L., Garganta C. L., Gerig T. M. and Mulik J. D. : Anal. Chem., **55**, 1354 (1983)。

- 6) 榎本慶子, 山本 武, 福島 実: 大阪市環研報告, **48**, 15 (1986).
- 7) Schieke J. D. and Pretorius V.: J. Chromatogr., **132**, 217 (1977).
- 8) Eichelberger J. W., Harris L. E. and Budde W. L.: Anal. Chem., **47**, 995 (1975).
- 9) 環境庁環境保健部保健調査室: GC/MSを用いた環境中の化学物質検索マニュアル(案)―水質・底質編―, p. 60 (1984).
- 10) 環境庁環境保健部保健調査室: GC/MSを用いた環境中の化学物質検索マニュアル(案)―水質・底質編― (第2分冊・解説), p. 83 (1984).
- 11) 新潟県衛生公害研究所: 平成元年度水質・底質のGC/MSモニタリング調査結果報告書, p. 23 (1990).