

# 微量化学物質分析における 各種前処理技術の特性と効果\*

劍持堅志\*\*

**キーワード** ①化学物質の微量分析 ②前処理 ③抽出法 ④クリーンアップ ⑤GPC

## 要　旨

環境試料中の微量化学物質の分析法には、さまざまな抽出・クリーンアップ手法が用いられている。高感度で効率的な分析方法を確立するためには、これらの手法・技術の特性を十分に把握して、分析対象試料の性質に応じた分析法を組み立てる必要がある。本報告では、微量化学物質の分析に使用されている各種抽出・クリーンアップ手法の特性とその効果について述べた。

## 1. はじめに

近年、ダイオキシン類、環境ホルモン等による汚染が問題になるとともに、化学物質の分析は従来以上に極微量を精度よく分析することが求められている。しかしながら、高感度で高精度な分析を行うためには複雑な前処理を必要とし、分析に要する時間と労力の増加を招いている。一方、魚の弊死、化学物質の流出事故等では、その原因を早期に究明できる迅速分析法の開発も求められており、分析操作の簡略化・迅速化も必要とされている。また、最近では分析の自動化も求められている。

このため、分析法を確立する際には極微量まで測定できるばかりでなく、分析技術者の技量に依存しない安定した分析法になるように配慮するとともに、できるだけ簡便で迅速な分析を可能にする必要がある。しかしながら、極微量分析法はしばしば複雑な分析法となる場合が多く、分析法の簡略化・迅速化の要求とは相容れない場合が多い。このような異なる要求を満たす分析法を確立

するためには、分析法に用いられる基礎的な抽出・クリーンアップ手法の特性を十分に把握しておく必要がある。

本報告では、微量化学物質分析にしばしば使用されている各種抽出・クリーンアップ手法の特性と効果について述べる。

## 2. 実験方法

実験は、主として次に示す条件で行った。

### 2.1 GC/MSの測定条件

使用機器：日本電子 JMS-700D(高分解能 SIM)，日本電子 Automass 20または Sun (スキャン測定)

使用カラム：キャピラリーカラム

①液相 = 5 % フェニルメチルシリコン (J&W 社 DB-5 MS)，膜厚 = 0.25μm，長さ/内径 : 30mx0.25mm

②液相 = メチルシリコン (Quadrex 社 MS)，膜厚 = 0.25μm，長さ/内径 : 25mx0.25mm

注入法：スプリットレス法，注入口温度 = 270°C，流速 = 1 ml/min，線速度 = 36cm/sec，バー

\*Efficiencies and Effects of Clean up Methods on Trace Analysis of Chemicals

\*\*Katashi KENMOTSU (岡山県環境保健センター) Okayama Prefectural Institute for Environmental Science and Public Health

ジ開始時間 = 1.5分

インターフェース部：ダイレクトカップリング  
(700D=300°C, Automass=240°C)

イオン化条件：EI法, イオン源温度 (700D=250°C, Automass=210°C), イオン化電圧=70eV (EI)

注入量：1 μl

## 2.2 GPCの操作条件<sup>10)</sup>

カラム：昭和电工 Shodex GLNpak PAE-2000 (20mmΦ×300mm)

溶離条件：アセトン 4 ml/min, 温度：40°C  
[注：試料の分取ごとに、テトラヒドロフラン (THF) 1 ml を注入してカラムを洗浄した]。

## 3. 結果および考察

### 3.1 抽出方法

水質試料の抽出では、一般に液液抽出法と固相抽出法が用いられている。また底質および生物試料では、主に液固抽出法、ソックスレー抽出法等が使用されている。

#### 3.1.1 水質試料の抽出法

### (1) 液液抽出法

液液抽出(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(一般に500ml～1l)に比較して比較的多量の抽出溶媒(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、抽出効率が夾雑物質の影響を受けにくく個人的な技量の差が出にくい特徴を持つ。

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1に有機リン酸トリエステル類(OPEs)<sup>11)</sup>の例を示したが、Log Powの小さいTCEPは非極性溶媒であるヘキサン、ベンゼン等で抽出が困難であるが、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。

液液抽出法では塩化ナトリウム、硫酸ナトリウム等の塩析剤を添加すると抽出率が向上し、抽出時のエマルジョン生成の防止にも効果がある。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

表1 有機リン酸トリエステル類(OPEs)の液々抽出率(%)

物質名	Log Pow	ヘキサン	ベンゼン	ジクロロメタン	酢酸エチル	酢酸メチル	エチルエーテル
Trimethyl phosphate(TMP)		0	0	1	0	2	0
Triethyl phosphate(TEP)	0.09	1	15	69	28	28	9
Triallyl phosphate(TAP)		8	60	96	85	72	62
Tributyl phosphate(TBP)	4.00	58	75	88	96	104	84
Tris(2-chloroethyl) phosphate(TCEP)	1.70	2	39	67	97	106	29
Tris(chloropropyl) phosphate(TCPP)	2.75	27	79	90	98	101	69
Tri-n-amyl phosphate(TNAP)		61	82	87	96	85	74
Tris(1,3-dichloro-2-propyl) phosphate(CRP)	3.76	57	80	91	102	87	78
Triphenyl phosphate( TPP)	4.63	82	76	94	98	100	86
2-Ethylhexyl diphenyl phosphate(ODP)	5.73	77	71	84	95	83	73
Tris(2-butoxyethyl) phosphate(TBXP)	3.65	1	6	25	111	119	5
Tris(2-ethylhexyl) phosphate(TOP)	4.23	43	44	52	91	76	62
Cresyl diphenyl phosphate(CDP)	4.51	80	73	90	95	97	78
Diphenyl Cresyl phosphate(DCP)		86	79	88	100	89	82
Tricresyl phosphate(TCP)	5.10	80	71	87	89	89	80
Tris(isopropylphenyl) phosphate(TIPP)		88	69	79	104	91	79
Trixylenyl phosphate(TXP)	5.63	97	71	79	104	128	86
Tris(2,3-dibromopropyl) phosphate(TDBP)		29	54	73	92	100	64
Tris(4-tert-butylphenyl) phosphate(TBPP)	4.6	43	49	90	80	55	

(塩析剤無添加, 容積比 1 : 10)

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、塩析剤を添加した後に、極性溶媒を用いて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場合が多い。

## (2) 固相抽出法

固相抽出法は、カートリッジ形固相抽出材を用いる方法とディスク形固相抽出材を用いる方法がある。

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( $C_{18}$ )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： $C_8$ 、エチル基： $C_2$ 等)の他、ポリスチレンゲル系の固相材(PS2、オアシス、XC、XD等)等が主に用いられているが、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。

固相抽出法は固相材の選択、試料水の通水速度およ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、あらかじめ十分な検討を行っておく必要がある。また、固相抽出法は固相材の容積がきわめて小さいことから、試料中の夾雜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場合があるなど、個人的な技量の差が出やすい欠点がある。

カートリッジ形固相は、固相材の厚さがディスク形固相に比較してきわめて大きいため、ディスク形固相よりも吸着能力が高く、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、あらかじめ試料水を

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HCB、DDT類等の疎水性物質は、図1に示すように化学物質の溶解性が低い海水試料、精製水等の場合は、回収率が著しく低下する場合がある。このような現象は、添加物質が試料水中の有機物に溶解しやすい農業用水では認められないことから、添加した目的物質が試料水に完全に溶解していないことが原因して、固相との相互作用なしに通過する現象(チャンネル効果)、固相抽出装置の配管等への吸着等が生じているものと考えられる。

一方ディスク形ではこのような現象が生じる場合は少なく、またSS成分と水溶性成分を分別して定量することも可能で、抽出時間も短縮できる利点がある。しかし、カートリッジ形に比較して固相材の厚みが小さいことから極性物質の回収率が低下する傾向が認められる。ディスク形固相抽出法は極性化合物の分析には適さないが、疎水的な物質の回収率が高く、とくに断面積の大きな固相材を使用した場合には51程度の試料水を短時間に抽出できることから、大容量試料の抽出を必要とするダイオキシン類等の抽出<sup>2)</sup>に適している。

液液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2にOPEs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(TEP)が固相抽出法ではかなり高い回収率を示した。

## 3.1.2 底質および生物試料の抽出法

底質試料の抽出は、一般に溶媒(液固)抽出法が用いられている。ポリ塩化ビフェニル類(PCBs)、ダイオキシン類等の疎水性物質については、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が行われる<sup>3)</sup>場合があるが、化学物質の中には風乾によって損失したり、酸化する可能性があることから、底質を湿泥状態でアセトン、アセトニトリル、メタノール等の親水性溶媒を用いて振とう抽出または超音波抽出した後、遠心分離またはろ過操作により抽出・分離する方法が一般的となっている。

抽出溶媒の適否を判断する場合は添加回収実験を行って、回収率の高い溶媒を選択することにな

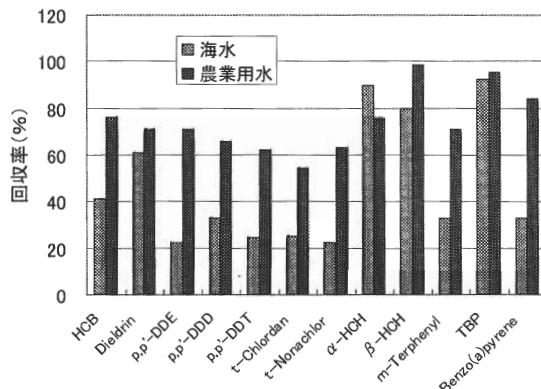


図1 カートリッジ形固相抽出法における疎水性物質の配管材料への吸着効果

表 2 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(TMP)	1	2	1	1	1
Triethyl phosphate(TEP)	57	87	67	85	82
Triallyl phosphate(TAP)	96	91	98	108	99
Tributyl phosphate(TBP)	88	89	96	98	90
Tris(2-chloroethyl) phosphate(TCEP)	102	100	106	134	110
Tris(chloropropyl) phosphate(TCPP)	96	88	99	105	99
Tri-n-amyl phosphate(TNAP)	64	78	89	90	80
Tris(1,3-dichloro-2-propyl) phosphate(CRP)	102	91	102	108	95
Triphenyl phosphate(TPP)	95	89	98	92	89
2-Ethylhexyl diphenyl phosphate(ODP)	73	78	92	86	84
Tris(2-butoxyethyl) phosphate(TBXP)	93	112	108	155	115
Tris(2-ethylhexyl) phosphate(TOP)	75	69	95	83	86
Tricresyl phosphate(TCP)	79	75	94	85	82
Trixylenyl phosphate(TXP)	89	84	98	97	85
Tris(2,3-dibromopropyl) phosphate(TDBP)	139	134	115	162	109
Tris(4-tert-butylphenyl) phosphate(TBPP)	68	59	90	81	87

注) 溶出溶媒は、アセトン、ジクロロメタン、ヘキサン各20ml

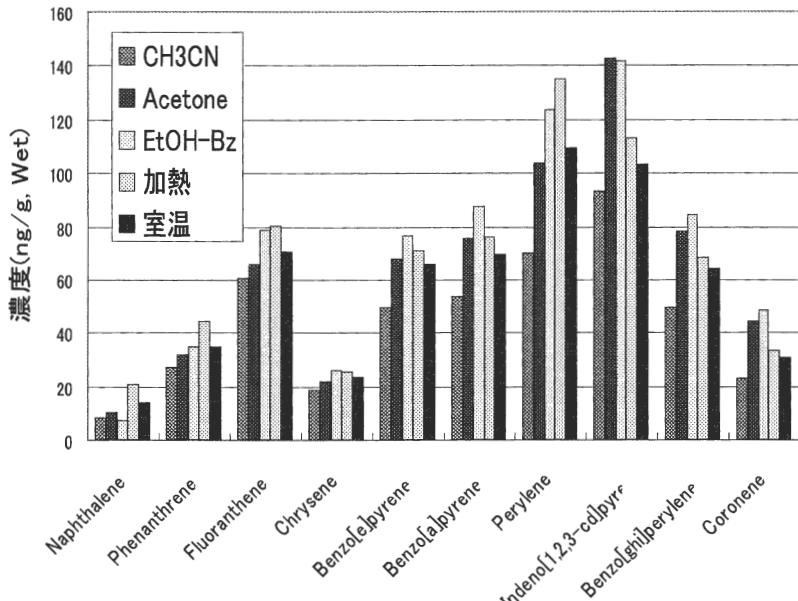


図 2 各種抽出法による東京湾底質中 PAHs の定量値

る。しかし、実際の化学物質汚染は長期間の汚染により底質、生物等に取り込まれており、その存在状態が添加実験の場合と大きく異なる可能性がある。このため抽出方法の選択に際しては、添加回収実験のほかに実際の環境試料や汚染濃度が明らかになっている標準試料を分析して、適切な抽出効率が得られているか否かを評価する必要がある。

図 2 に示した例<sup>4)</sup>では、5種類の抽出方法（アセトニトリル、アセトン、エタノール/ベンゼン混液、加熱アルカリ分解法および室温アルカリ分解法）を用いて東京湾底質中の多環芳香族炭化水素類(PAHs)濃度を評価したが、添加回収実験では同等の回収率を示した5種類の抽出法による定量値は、物質により大きく異なっていた。

アセトニトリル抽出法は、底質および生物中の

夾雑物が抽出されにくいことから、有用な抽出方法であるが、図2に示すようにPAHsなどの疎水性化合物の抽出効率は低く、低い定量値を与える。一方アセトン抽出は、各化合物について高い定量値を与えるが、夾雑物質の抽出量も多く、クリーンアップが困難になる場合がある。

ダイオキシン類の分析では、トルエンを用いたソックスレー抽出が採用<sup>3)</sup>されているが、トルエンはアセトン等に比較して抽出力が弱い欠点があるが夾雑物質の抽出量も低い特徴があり、抽出効率の低さは長い抽出時間でカバーしている。一方底質中のPAHsは、図2に示したアセトン抽出、加熱アルカリ分解法等で適切な定量値が得られるが、たとえばフライアッシュ等の不完全燃焼炭化物(活性炭類似物質)に富む試料では、抽出効率は極端に低下する現象が認められる。

また図2に示したナフタレンの定量値はアルカリ分解法は他の抽出方法の2倍程度の定量値を示しており、抽出過程において類似物質からナフタレンが生成した可能性があり、抽出、クリーンアップ操作等に過程において非意図的に目的物質が生成する可能性についても配慮する必要があった。

### 3.2 クリーンアップ方法

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のでカートリッジ形カラムを用いた簡易なクリーンアップのみでよいが<sup>4)</sup>、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。

クリーンアップの方法は、液々分配により試料液中に存在する夾雑物質を粗クリーンアップする方法と、クロマトグラフィーを用いて目的成分と夾雫物を相互に分離する方法に大別できる。

#### 3.2.1 液液分配を用いたクリーンアップ方法

底質、生体試料からの抽出液は、多量の夾雫物質を含むことから、液液分配等の操作により夾雫物質の大部分を除去する必要がある。

##### (1) アセトニトリル/ヘキサン分配、メタノール/ヘキサン分配等

生体中に含まれる脂肪分や底質中に含まれる鉱物油成分等の疎水性成分を除去する操作として、

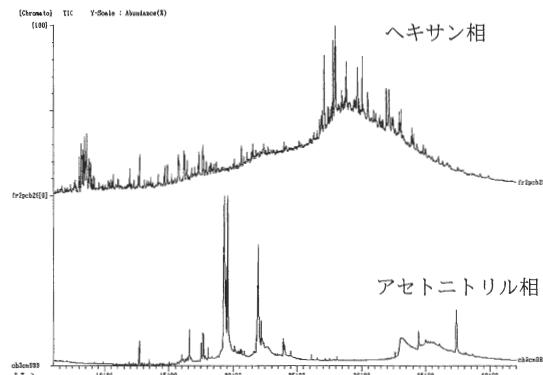


図3 底質試料に対するアセトニトリル/ヘキサン分配の効果

アセトニトリル/ヘキサン分配<sup>5,6)</sup>、メタノール/ヘキサン分配<sup>7,8)</sup>およびジメチルスルホキシド(DMSO)/ヘキサン分配<sup>9,10)</sup>が利用されている。この操作により、図3に示すように底質中に含まれる鉱物油成分の大部分を除去することができる。

この分配操作は単独の前処理法としても使用できるが、試料からの抽出をアセトニトリルまたはメタノールで行った場合には、試料抽出液を少量のヘキサンで洗浄することにより、同等のクリーンアップ効果を得ることができる<sup>5,6)</sup>。また、表3に示すように目的物質のアセトニトリル等の極性溶媒相への転用率は、極性溶媒相の含水率を調整することにより制御することができ、また必要な回収率を得るために必要な分配回数を理論的に予測できる。一般に疎水的なPCBs、PCNs等の極性溶媒相(アセトニトリル等)への転用率は低く、またフタル酸2-エチルヘキシル、トリオクチルホスフェート等の長鎖のアルキル基を有する物質の転用率も低い傾向を示す。

なおメタノールを極性溶媒相とした場合には、メタノール層を5%程度含水させないとメタノール層に多量のヘキサンが溶解するため、メタノール層への疎水性成分の移行率が高くなりクリーンアップ効果が低下するので注意が必要である。

一方、これらの分配操作を行った場合には、極性溶媒相(アセトニトリル等)を水に希釈して、ヘキサン、ジクロロメタン等を用いて再抽出する必要があるが、アセトニトリルはジクロロメタンによりほぼ全量が抽出されるため抽出液の濃縮が困

表3 ポリ塩化ナフタレン類(PCNs)のアセトニトリル(メタノール)/ヘキサン分配

異性体名	0% CH3CN		5% CH3CN		0% MeOH		5% MeOH	
	ヘキサン相 残存率(%)	95%回収に 必要な抽出回数	ヘキサン相 残存率(%)	95%回収に 必要な抽出回数	ヘキサン相 残存率(%)	95%回収に 必要な抽出回数	ヘキサン相 残存率(%)	95%回収に 必要な抽出回数
2-M1CN	9	2	9	2	5	1	12	2
1,2-Di2CN	9	2	11	2	5	1	12	2
1,8-Di2CN	7	2	7	2	4	1	10	2
1,2,6-Tr3CN	18	2	22	2	7	2	24	3
1,2,7-Tr3CN	15	2	17	2	5	1	17	2
1,2,8-Tr3CN	8	2	9	2	5	1	11	2
1,3,5,7-Te4CN	42	5	49	5	14	2	42	5
1,4,6,7-Te4CN	30	4	36	5	11	2	31	4
1,2,6,7-Te4CN	23	2	30	4	9	2	31	4
1,2,4,8-Te4CN	20	2	26	3	9	2	26	3
1,2,4,5,7-Pe5CN	36	4	46	5	14	2	45	5
1,2,3,5,6-Pe5CN	36	4	46	5	14	2	45	5
1,2,4,7,8-Pe5CN	24	3	30	4	10	2	33	4
1,2,3,4,5-Pe5CN	22	2	28	4	9	2	30	4
1,2,3,5,7,8-Hx6CN	32	4	43	5	13	2	46	5
1,2,3,4,5,6-Hx6CN	28	4	37	4	11	2	40	5
1,2,3,4,5,8-Hx6CN	24	3	33	4	10	2	39	5
1,2,3,4,5,6,8-Hp7CN	40	5	52	5	18	2	60	5
O8CN	41	5	49	5	19	2	57	5

注:容積比=10:1

難になり、またアセトニトリルが残存するとカラムクロマトグラフィーの分離に悪影響を及ぼす欠点がある。このため、ジクロロメタン抽出を必要とする農薬等の分析では、ジクロロメタン相に抽出されない性質があるメタノール/ヘキサン分配が適している。

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きわめて有効な粗クリーンアップ法となり、フェノール類、ピリジン等の分析に用いられている。

## (2) アルカリ分解法

アルカリ分解法は底質および生体に含まれる脂肪酸、たんぱく質等の成分を効率的に除去できる方法であり PCBs<sup>11, 12, 14)</sup>、ダイオキシン類<sup>13)</sup>、多環芳香族炭化水素類<sup>4)</sup>等の分析で使用されている。とくに生体試料では、ホモジナイズ試料に直接アルカリ溶液（通常エタノールまたはメタノール溶液）を添加して、試料の分解・可溶化と抽出を同時に見える利点がある。また、分解後にアルコール相の含水率を比較的低くして抽出することから、極性化合物がヘキサン相に移行しにくいこと、酸性化合物をほぼ完全に除去できること、さらに底質中に多量に含まれる単体硫黄を分解除去できる——等の利点がある。

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<sup>13)</sup>等、ポリプロモビフェニ

ル類(PBBs)<sup>4)</sup>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4にポリ塩化ビフェニル類(PCBs)の例を示すが、加熱アルカリ分解を行うと8塩素以上の高塩素化PCBsが顕著に分解し、とくに10塩素化物は完全に分解した。このような脱塩素化はアルカリ濃度の低下、分解時間の短縮、分解温度の低下で防止できることから、分解条件を適切に設定することが重要となる。

## (3) 硫酸洗浄および銅粉処理

ダイオキシン<sup>2, 3, 13)</sup>、PCBs<sup>2, 14)</sup>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を硫酸相に分配・分解して除去している。硫酸洗浄は試料液中に存在する着色成分や濃縮残さの除去法としてきわめて効果的な方法であるが、アルカリ分解と同様に硫酸洗浄が適用できる化学物質の種類は PCBs、PCNs、ダイオキシン類等の安定性のよい化学物質に限定される。また、表4に示すように PAHs の大部分は、硫酸洗浄により除去できないが、一部の PAHs (Benzo [a] pyrene, Perylene, アントラセン類等) は硫酸相に抽出される。このような現象はフタル酸エステル類(PAEs)、OPEs 等でも生じることから、硫酸相に抽出後、水に希釀してクリーンアップする場合もある。

また、底質中の硫黄分の除去法として銅粉処理

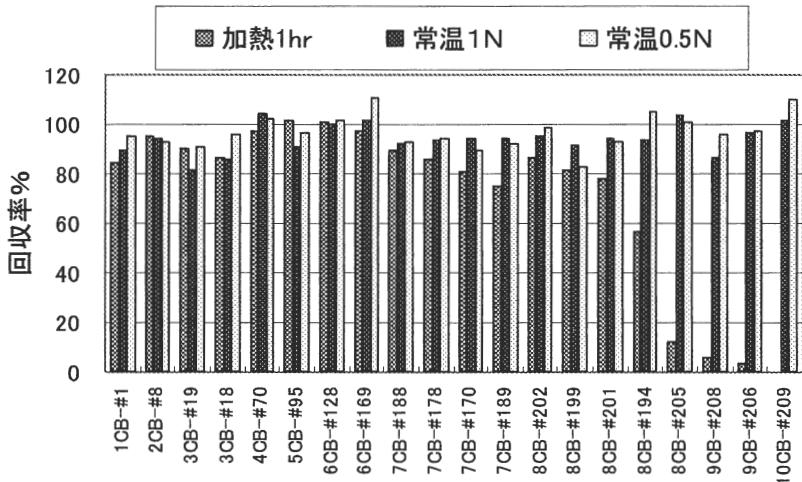


図4 PCBs のアルカリ分解と脱ハロゲン化

分解時間：1時間、エタノール溶液

表4 PAHs の硫酸洗浄における分配(回収率%)

物質名	硫酸洗浄		物質名	硫酸洗浄	
	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 相	Hexane相		H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 相	Hexane相
Naphthalene	1	75	Anthracene	70	13
Biphenyl	1	99	o-Terphenyl	1	97
2,6-Dimethylnaphthalene	1	97	Anthraquinone	96	3
2,2'-Dimethylbiphenyl	0	100	9-Methylanthracene	66	1
Diphenylmethane	1	101	Fluoranthene	1	92
1-Methoxynaphthalene	72	4	Pyrene	10	49
Acenaphthylene	0	9	Reten	1	92
Acenaphthene	0	40	9-Phenylanthracene	75	9
3-Methylbiphenyl	1	98	Benz[a]anthracene	5	84
Dibenzofuran	1	96	Triphenylene+Chrysene	0	84
Dibenzo-p-dioxin	0	93	Benz[b+j+k]fluoranthene	1	77
Fluorene	1	100	Benz[e]pyrene	1	88
Benzophenone	102	0	Benz[a]pyrene	77	0
2,7-Diisopropylphthalene	1	96	Perylene	77	0
Dibenzothiophene	1	96	7-Methylbenzo[a]pyrene	73	0
Phenanthrene	1	95	Coronene	0	73

注)10分の1量の硫酸で3回洗浄後、硫酸相を50倍量の水に希釈後、ヘキサンで抽出

が使用できるが、たとえばTributyl phosphate (TBP)のように、銅粉処理で消失する物質もあるので注意を要する。

### 3.2.2 クロマトグラフィーを用いたクリーンアップ方法

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およ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およ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、順相およ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。

一方、ゲル浸透クロマトグラフィー (Gel Permeation Chromatography : 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。

#### (1) 順相カラムクロマトグラフィーを用いたクリーンアップ

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<sup>5,6,8)</sup>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。担体を含水させた場合には、表5に示すように多様な化学物質を少ない溶媒量（約30ml）で溶出できる利点があるが、PCBs等の非極性化合物は、最初のヘキサンフラクションに溶出するため、底質中の鉱物油成分と相互に分離することは困難となる。

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形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ブン

カラムが主に用いられている。

## (2) 活性炭カラムクロマトグラフィーを用いたクリーンアップ

活性炭カラムクロマトグラフィーは、活性炭と溶媒間の相互作用に依存した分離特性を示すことから、順相カラムクロマトグラフィーとは異なった分離挙動を示す。また、化学物質の立体構造が分離に強く影響し、芳香族性の強い化合物やコプラナー（平面）構造を持った物質は強く保持されることから、たとえばコプラナー PCB の分析<sup>2)</sup>では、非コプラナー性 PCBs とコプラナー PCB の分離に利用されている。

活性炭カラムからの溶出は、最初ヘキサン、アセトン等のアルキル系溶媒を用いて溶離し、次にベンゼン、トルエン等芳香族系溶媒を使用して活性炭に強く吸着した芳香族化合物を溶離する方法が一般的である。なお、活性炭中は不純物を多量に含む場合があることから、使用前にトルエン等の芳香族系溶媒で洗浄した後、ヘキサンに溶離液を置換してから使用する場合が多い。

表5 5% 含水シリカゲルを用いた環境ホルモン関連農薬類の分離（5 g, 10 mmφ）

単位：%

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

表6 活性炭カラムにおける環境ホルモン関連農薬類の溶出パターン

（ENVI-Carb, 250 mg） 単位：%

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

注) Bz:Ac:Hex=Benzene:Acetone:Hexane(3:3:4)

底質中の農薬を分析する場合、シリカゲルカラム等では農薬は底質中の着色成分とともに溶離する場合が多いが、表6に示すように活性炭カラムでは農薬類は着色成分が溶離しないヘキサン、アセトン等のフラクションに溶離するため、底質中の着色成分の除去に有効である。また、底質中の鉱物油成分はヘキサンフラクションに溶出し、この分画にはPCBs、PCNs等は溶出しないことから、シリカゲルカラム等で分離の困難な鉱物油成分の除去にも有効である。

### (3) ゲル浸透クロマトグラフィーを用いたクリーンアップ

ゲル浸透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利点がある。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、アセトン等)を用いた方法<sup>8)</sup>が開発されている。

図4に底質試料を図5の方法1に従ってGPC処理した例を示したが、PCBs等の分析の妨害となる鉱物油成分の大部分は10~14分に、単体硫黄は18~20分のフラクションに溶出し、PCBs(14~16分)およびPCNs(16~18分)のフラクションには少量のビフェニルおよびナフタレン誘導体のみが溶出し、妨害成分の大部分を除去することができた。また魚介類においても、生体成分に由来する妨害成分の大部分は、10~14分のフラクションに

溶出した。

GPCは効率的に妨害成分を除去できることから、最終のクリーンアップ法として簡便なカートリッジ形固相を使用できること、また将来的には前処理の自動化が可能な利点があった。また、目的物質はきわめて狭い範囲に溶離(通常8 ml)できることから、分析操作の簡略・迅速化が可能になった。なおGPC法では、単体硫黄の結晶が存在するとHPLCの配管が詰まるなどの障害が生ずる場合があるため、図6に示す室温アルカリ分解を用いた硫黄の除去は有効であった。

### 3.2.3 分析法の評価とGC/MSスキャン測定の活用

分析法の作成においては、前述した個別の抽出方法およびクリーンアップ方法について回収率等

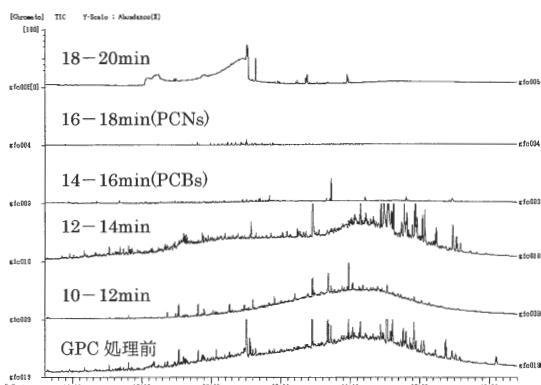
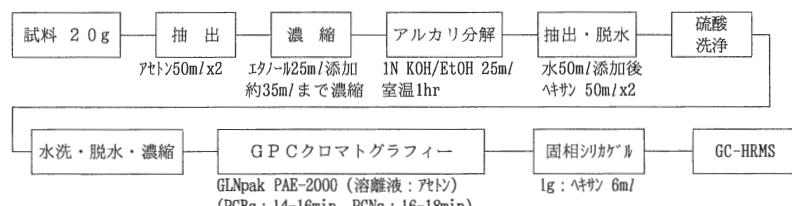


図5 東京湾底質のGPC分画

カラム: Shodex GLNpak PAE-2000(20mmφ×300mm)  
溶離液: アセトン 4 ml/分, 40°C

#### 方法1: 底質および生物(室温アルカリ分解・GPC法)



#### 方法2: 生物(液固抽出・GPC法)

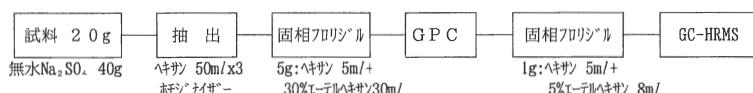


図6 PCBsおよびPCNsの分析フローチャート

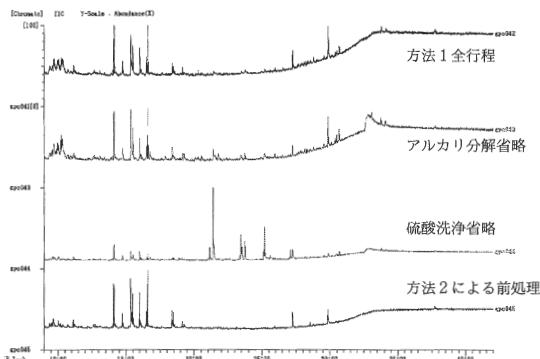


図7 各種前処理法(図5)による生物(ボラ)試料のTIC  
クロマトグラム (GPC: PCBs分画)

の検討を行い、高感度でクリーンアップ効果の高い分析法として組み立てていく必要がある。通常、分析法の良否は回収率、妨害ピークの有無、試料液の性状、プランク値の低減化等の項目をチェックして判断するが、環境分析で通常使用されているSIM定量法では、目的物質のモニターイオン以外の情報が得られないため、作成した試料液の状態を判断することは困難である。とくに高分解能SIM測定では、試料液に存在する夾雑成分がイオン源等を汚染し、分解能、感度等の低下を引き起こす場合がある。逆に、過剰なクリーンアップを行うことは、分析法の無用な複雑化を招き、分析精度の悪化を引き起こす可能性がある。

このため筆者らは、分析法の検討過程、また高分解能SIM測定を行う前に、四重極形MSを用いたスキャン測定を実施し、クリーンアップが不十分な場合には、検出される妨害成分の同定を行い、妨害成分の除去に有効なクリーンアップを追加する等の処置を行っている。図6の分析法について、アルカリ分解、硫酸洗浄等のクリーンアップ操作を省略した場合、また、さらに簡便な方法2により分析した場合の、TICクロマトグラムを図7に示したが、GPC処理を行った場合には、硫酸洗浄等のクリーンアップを省略してもカラムバックが検出できる程度にクリーンアップされており、また高分解能SIM測定でもクリーンアップ省略の影響は認められなかった。

#### 4. まとめ

微量化学物質分析において使用されている各種抽出法およびクリーンアップ方法の特性とその効果について述べた。

分析法の開発においては、分析目的物質の性質を十分に把握し、それに対応したクリーンアップ方法を適用することが重要であった。とくに、シリカゲル等の順相形カラムクロマトグラフィー、活性炭カラムクロマトグラフィー、GPC処理等の性質の異なるクリーンアップ法を組み合わせることは、クリーンアップ効果の高い分析法を作る上で効果的であった。また分析法の評価においては、SIM測定を用いた数量的な評価ばかりではなく、スキャン測定による定性的な評価も重要と考えられた。

今後とも、各種分析前処理法における化学物質の挙動の把握に努め、データベース化を図りたいと考える。

#### 一文 献一

- 1) 環境庁環境安全課：平成10年度化学物質分析法開発調査報告書（その2）（有機リン酸トリエステル類（OPEs）；岡山県環境保健センター），2000
- 2) 日本工業規格 JIS K0312（工業用水・工場排水中のダイオキシン類及びコブラナーPCBの測定方法），日本規格協会，1999
- 3) 環境庁水質保全局水質管理課及び規制課通知：ダイオキシン類に係る底質調査暫定マニュアル，1998
- 4) 環境庁環境安全課：平成10年度化学物質分析法開発調査報告書（その2）（多環芳香族炭化水素類（PAHs）；岡山県環境保健センター），2000
- 5) 環境庁保健調査室：水質、底質モニタリング調査マニュアル（1991版），1991
- 6) 劍持堅志他：水質、底質モニタリング調査の分析方法、環境化学，3, 279-293, 1993
- 7) 環境庁保健調査室：平成5年度化学物質分析法開発調査報告書（ニトロフェノール類；岡山県環境保健センター），1984
- 8) 環境庁水質保全局：水質、底質及び生物の内分泌擾乱擾乱化学物質（環境ホルモン）の分析法，1999
- 9) 高菅卓三、井上毅、大井悦雅：各種クリーンアップ法とHRGC/HRMSを用いたポリ塩化ビフェニル（PCBs）の全異性体詳細分析法、環境化学，5, 667-675, 1995
- 10) 廃棄物処理振興財団：PCB処理技術ガイドブック，198-211, ようせい, 1999
- 11) 日本工業規格 JIS K0093（ポリ塩素化ビフェニル），日本規格協会，1998
- 12) 日本薬学会：衛生試験法・注解, 467-477, 2000
- 13) 厚生省化学物質安全対策室：血液中のダイオキシン類測定暫定マニュアル，2000
- 14) 環境庁水質保全局水質管理課編：底質調査方法，2001