

魚類中のクロルデン類の分析について*

—GC-ECD法とキャピラリーカラム付GC-MS法による測定値の相互比較—

稲本 信隆** 藪 平一郎** 赤崎 昭一***

1. はじめに

近年科学技術の進歩に伴い、化学物質の生産、使用は増大の一途にあり、社会活動、日常生活等において多大な有用性、利便性を提供している反面、物質によってはそれらが有している難分解性、毒性、蓄積性など諸性状から、人の健康への影響が懸念され、有害物質による環境汚染が大きな社会問題となっている。

このような状況から、法的には「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律」等で特定の化学物質を指定し、使用、製造等の規制が行われ、また、環境庁においては化学物質による環境汚染の実態把握など体系的な環境調査が実施されている。

鹿児島県においても、クロルデン類、トリブチルスズ化合物、トリクロロエチレンなど近時問題となった化学物質による環境汚染の実態把握調査を実施してきているところである。

これらの化学物質の環境調査を進めるうえで、まず問題となるのが対象物質の分析法の選定、確立である。

化学物質は種類が多く、同類でも異性体や同属体があり、目的物質の検索、同定は容易でなく、また一般的に環境中での存在濃度は低レベルであるなどその特殊性から分析操作は複雑化し、多大な労力と時間を要する傾向が強い。しかも、得られた結果の評価は低レベルの論議であることから十分な分析精度の確保が要求される。

最近このような現状を背景に、ガスクロマトグラフ質量分析計（GC-MS）が急速に普及してきており、化学物質の高精度、高感度分析に大きく寄与して

いる。

本報告では、今後化学物質の分析測定にGC-MS法をベース化していくことを目的に、魚類中のクロルデン類の分析を、従来のGC-ECD法とキャピラリーカラム付GC-MS法と平行測定を行い、両者間の測定値の相互比較を行ったので、その結果について報告する。

2. 対象試料及び試料の前処理

試料は、1987年11月から1989年12月の期間に薩摩半島沿岸で採取したスズキを対象とした。

各試料は複数の個体で構成し、通常食習慣における可食部を細切して全体をよく混合したのち、ホモジナイザーで均一なペースト状にした。

試料の概要を表1に示す。

表1 試料の概要

試料 No.	平均体長(cm)	水分 (%)	脂肪分 (%)	試料 No.	平均体長(cm)	水分 (%)	脂肪分 (%)
1	42.3	74.3	3.77	9	35.2	76.0	2.51
2	41.5	73.8	3.64	10	33.0	77.2	1.41
3	40.6	73.8	4.18	11	49.5	73.9	3.44
4	40.0	74.8	3.61	12	42.8	70.7	3.52
5	36.1	75.3	2.98	13	41.5	71.7	3.44
6	40.5	73.3	4.02	14	41.3	73.1	3.77
7	39.8	73.4	3.56	15	39.3	72.8	4.54
8	39.0	73.6	4.36				

*Determination of Chlordanes in Fish —Comparison of Data between GC-ECD and GC-MS method—

**Nobutaka INAMOTO, Heiichirou YABU (鹿児島県環境センター) Kagoshima Prefectural Institute of Environmental Science

***Shoichi AKASAKI (鹿児島県鹿屋保健所) Kagoshima-ken Kanoya Health Center

3. 分析方法

3.1 分析対象項目

trans-chlordane, cis-chlordane, trans-nonachlor, cis-nonachlor, oxychlordane

3.2 試薬

クロルデン類の標準品は、(株)日本食品分析センターから供与されたものを用いた。カラムクロマトグラフィー用のフロリジルはキシダ化学(株)製を、シリカゲルは和光純薬工業(株)製のカラムクロマトグラフ用ワコーゲルS-1を用いた。

有機溶媒及びその他の試薬は、和光純薬工業(株)製の残留農薬試験用または特級を用いた。

3.3 試験溶液の調製

試験溶液の調製は、生物指標環境汚染調査(生物モニタリング)の分析方法¹⁾に準拠して行った。

なお、カラムクロマトグラフィーによる精製は、フロリジルを用いて Fraction 1 に trans-nonachlor を、Fraction 2 に残りの 4 物質を分画したが、共存する PCB はすべて Fraction 1 に溶出するようにし、trans-nonachlor の分離精製はさらにシリカゲルを用いて行った。

図 1 に分析操作の概略をフローシートで示す。

3.4 測定条件

3.4.1 GC-ECD 法

機種：(株)柳本製作所 GC-3800 (ECD ⁶³Ni 付)

(株)島津製作所 GC-7 AG (ECD ⁶³Ni 付)

カラム：(1) 2% シリコン OV-1, Chromosorb W HP

80~100 mesh, 2m × 0.32 cm

(2) 2% シリコン DC-200, Chromosorb W HP

80~100 mesh, 2.1 m × 0.26 cm

(3) (2 + 0.5) %DEGS + H₃PO₄, Chromosorb W HP

80~100 mesh, 2 m × 0.32 cm

温度：試料注入口・検出器 (1) 220~260°C

(2) 220~230°C, (3) 210~230°C

カラム (1) 180~200°C, (2) 165~180°C

(3) 190°C

キャリアーガス：N₂ (40 ml/min)

3.4.2 GC-MS法

機種：(株)日本電子 JMS D-300, データ処理装置 JMA-2000

カラム：ULTRA #1, 25 m × 0.32 mm × 0.52 μm

導入系：スプリットレス

温度：試料注入口；250°C

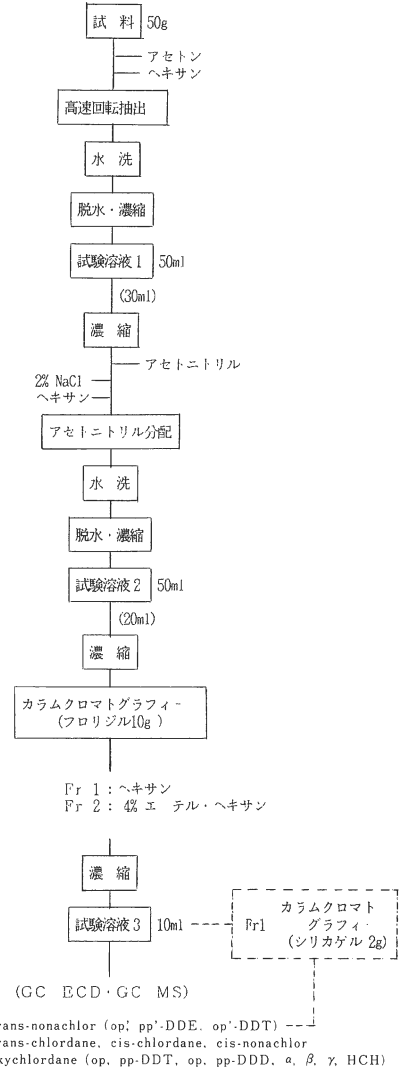


図 1 分析方法のフロー

イオン源；230°C

カラム；60~220°C (25°C/min)

キャリアーガス；He (平均線速度 52 cm/s)

イオン化電流；300 μA

イオン化電圧；70 eV

イオン化法；電子衝撃法

検出モード；SIM

設定質量数；trans-, cis-chlordane 373 m/z

trans-, cis-nonachlor 409 m/z

oxychlordane 387 m/z

4. 結果及び考察

試料の分析測定は、No. 1~5 を 1988 年に No. 6 ~

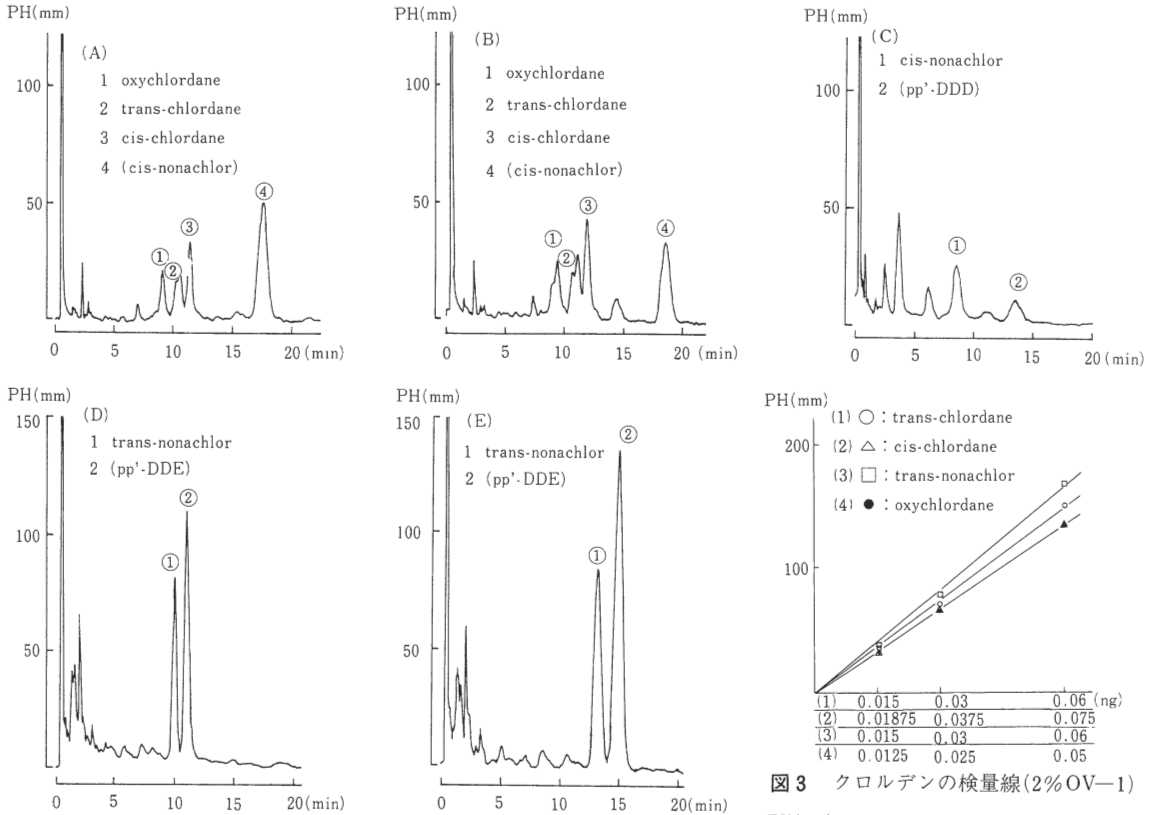


図2 クロルデンのガスクロマトグラム(試料No. 11)
 (A) GC-3800, 2%OV-1, 2m×0.32cm, 185-250°C
 (B) “, 2%DC-200, 2m×0.32cm, 180-230°C
 (C) “, (2+0.5%) DEGS+H₃PO₄, 1.5m×0.32cm, 190-230°C
 (D) “, 2%OV-1, 2m×0.32cm, 190-250°C
 (E) “, 2%DC-200, 2m×0.32cm, 175-230°C

10を1989年に, No. 11~15を1990年にそれぞれ行った。

一般的に, GC-ECD法による生体中のクロルデン類の分析は, PCBやDDT類など有機塩素系化合物が共存すると分離, 定量が困難なため, フロリジルカラムなどによる分離精製, 数種の液相カラムによるガスクロマトグラフィーを組み合わせた方法が取られている。

本報でも同様な方法で行った。

図2には3種の液相カラムによるクロルデン類のガスクロマトグラムを試料No. 11について代表的に示した。

標準品のガスクロマトグラムは省略したが, 図2に示すそれぞれのRetention timeで完全に分離したピークがえられた。

図3~5に検量線(1989年)を示した。cis-non-

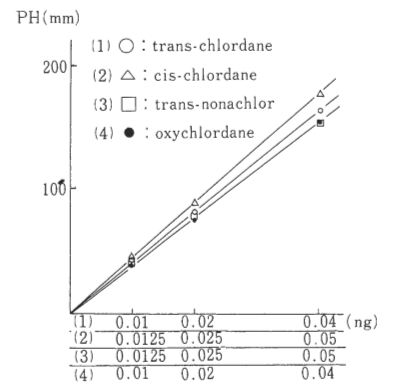


図4 クロルデンの検量線(2% DC-200)

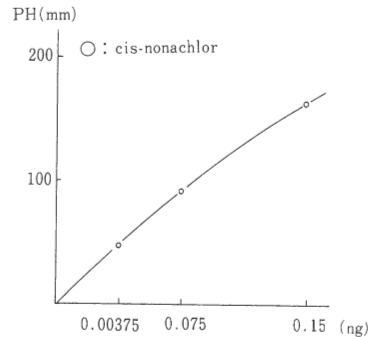


図5 クロルデンの検量線
 [(2+0.5%) DEGS+H₃PO₄]

achlor にやや曲線傾向がみられたが、そのほかはいずれも良好な直線性を示した。

試料では、cis-nonachlor が 2% OV-1 及び 2% DC-200 で他の物質と重なり分離不能であった。pp'-DDD が重なったと思われる。他の充填剤について検討した結果、(2 + 0.5%) DEGS+H₃PO₄ だけが分離可能であった。

cis-nonachlor 以外では、trans-chlordane 及び oxychlordane に一部重なるピークがみられ分離が十分ではなかったが、後述する結果からみると定量性には問題はなかった。

また、試料 50 g に各標準を 0.3 μg 添加して行った回収率試験の結果は、平均で 82.0 ~ 94.3% の範囲にあり良好であった。

なお、検出限界は S/N 比を 6 として求めると、trans-chlordane が 0.0001 ~ 0.0004 μg/g, cis-chlordane が 0.0002 ~ 0.0005 μg/g, その他が 0.0002 ~ 0.0003 μg/g であった。

GC-MS による測定は、装置の性能、カラムの性能などのチェックを GC-MS モニタリングマニュアル²⁾ に準じて行い、分離ピークの形状、分離度、PTRI 値相対感度係数など基本事項について確認した。

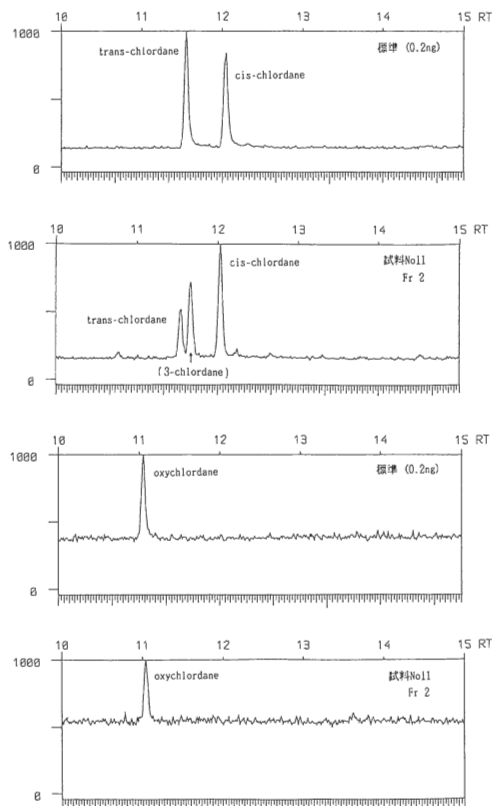


図6 クロルデンの SIM クロマトグラム (標準品, 試料 No. 11)

trans-, cis- chlordane : 373 m/z
trans-, cis- nonachlor : 409 m/z
oxychlordane : 387 m/z

定量は、GC の試験溶液 2 ml にフルオランテン d₁₀ を 0.1 ng 添加、N₂ バージして 0.2 ml にしたのち、GC-MS に注入する内部標準添加法により行った。

図 6 にクロルデン類の標準品と代表試料 (No. 11) の SIM クロマトグラムを示した。

それによると図 2 に示したガスクロマトグラムの該当ピークに対応するクロルデン類の SIM クロマトグラムが確認され、GC で検出した各物質をそれぞれ同定した。

GC-ECD 法で trans-chlordane, cis-chlordane を定量する際に trans-nonachlor の光化学反応生成物である 3-chlordane の分離が問題になり、OV-1 のカラムでは trans-chlordane と保持時間が一致することが知られている。また魚介類ではスズキに trans-chlordane と同程度検出された例があることも報告されている³⁾。

本結果においても SIM クロマトグラムより、3-chlordane の存在が確認された。

このことから、前述した GC-ECD 法の trans-chlordane に一部重なったピークは 3-chlordane と考えられる

なお、GC-MS (SIM) 法による検出限界は、GC と

表2 GC-ECD法とGC-MS法による測定結果 ($\mu\text{g/g}$)

試料 No.	trans-chlordane			cis-chlordane			trans-nonachlor		
	GC-ECD		GC-MS	GC-ECD		GC-MS	GC-ECD		GC-MS
	OV-1	DC-200	ULTRA#1	OV-1	DC-200	ULTRA#1	OV-1	DC-200	ULTRA#1
1	0.0010	0.0008	0.0030	0.0045	0.0043	0.0050	0.0143	0.0133	0.0150
2	0.0012	0.0011	0.0060	0.0064	0.0065	0.0070	0.0313	0.0299	0.0400
3	0.0014	0.0014	0.0020	0.0062	0.0065	0.0039	0.0171	0.0158	0.0190
4	0.0005	0.0005	0.0010	0.0023	0.0023	0.0016	0.0088	0.0083	0.0090
5	0.0004	0.0004	0.0010	0.0017	0.0018	0.0014	0.0100	0.0092	0.0084
6	0.0004	0.0002	0.0007	0.0017	0.0017	0.0013	0.0077	0.0072	0.0055
7	0.0002	0.0001	0.0005	0.0013	0.0013	0.0011	0.0064	0.0058	0.0045
8	0.0004	0.0002	0.0004	0.0023	0.0022	0.0021	0.0130	0.0122	0.0130
9	0.0003	0.0002	0.0003	0.0013	0.0013	0.0013	0.0071	0.0066	0.0055
10	0.0002	0.0001	0.0003	0.0011	0.0010	0.0009	0.0038	0.0035	0.0038
11	0.0009	0.0009	0.0008	0.0026	0.0025	0.0026	0.0076	0.0075	0.0072
12	0.0010	0.0009	0.0007	0.0036	0.0037	0.0037	0.0163	0.0163	0.0130
13	0.0004	0.0004	0.0004	0.0017	0.0017	0.0017	0.0066	0.0065	0.0069
14	0.0034	0.0030	0.0026	0.0068	0.0063	0.0063	0.0164	0.0163	0.0145
15	0.0004	0.0004	0.0004	0.0013	0.0014	0.0014	0.0050	0.0046	0.0051

試料 No.	cis-nonachlor		oxychlordane		
	GC-ECD	GC-MS	GC-ECD		GC-MS
	DEGS+H ₃ PO ₄	ULTRA#1	OV-1	DC-200	ULTRA#1
1	0.0069	0.0060	0.0032	0.0030	0.0030
2	0.0135	0.0116	0.0045	0.0042	0.0037
3	0.0083	0.0038	0.0022	0.0023	0.0019
4	0.0043	0.0028	0.0020	0.0020	0.0018
5	0.0044	0.0027	0.0019	0.0020	0.0016
6	0.0032	0.0026	0.0012	0.0015	0.0008
7	0.0025	0.0020	0.0010	0.0012	0.0007
8	0.0059	0.0049	0.0016	0.0019	0.0012
9	0.0029	0.0024	0.0010	0.0011	0.0007
10	0.0023	0.0017	0.0009	0.0010	0.0006
11	0.0034	0.0030	0.0010	0.0011	0.0013
12	0.0067	0.0063	0.0024	0.0026	0.0028
13	0.0028	0.0029	0.0010	0.0012	0.0013
14	0.0068	0.0065	0.0029	0.0028	0.0034
15	0.0021	0.0021	0.0008	0.0009	0.0014

表3 測定方法間の測定値の関係

	X/Y	GC-ECD/GC-ECD (OV-1) (DC-200)	GC-ECD/GC-MS (OV-1)	GC-ECD/GC-MS (DC-200)	GC-ECD/GC-MS (DEGS+H ₃ PO ₄)
trans-chlordane	一次回帰式	$Y=0.913X-0.0000$	$Y=0.970X+0.0005$	$Y=1.066X+0.0005$	---
	相関係数	0.993	0.510	0.516	---
	$ t_0 $	3.415*	1.555	1.853	---
cis-chlordane	一次回帰式	$Y=0.985X+0.0000$	$Y=0.923X-0.0000$	$Y=0.920X+0.0000$	---
	相関係数	0.996	0.945	0.931	---
	$ t_0 $	0.434	1.356	1.114	---
trans-nonachlor	一次回帰式	$Y=0.964X-0.0001$	$Y=1.269X-0.0031$	$Y=1.305X-0.0028$	---
	相関係数	0.999	0.975	0.968	---
	$ t_0 $	5.017*	0.092	0.609	---
cis-nonachlor	一次回帰式	---	---	---	$Y=0.799X+0.0000$
	相関係数	---	---	---	0.932
	$ t_0 $	---	---	---	3.343*
oxychlordane	一次回帰式	$Y=0.873X+0.0003$	$Y=0.886X+0.0001$	$Y=0.995X-0.0001$	---
	相関係数	0.994	0.924	0.913	---
	$ t_0 $	1.823	0.890	1.618	---

注) *有意差あり: $|t_0| > t_{1,1}(0.025) = 2.145$ (危険率5%)

同様な考え方で求めると 0.0002 ~ 0.0004 $\mu\text{g/g}$ であった。

表 2 に GC-ECD 法と GC-MS 法による測定結果を示した。また表 3 には各方法間の測定値の関係について、一次回帰式、相関係数、差の検定値 t_0 をそれぞれ示した。

対象試料中のクロルデン類の濃度は、GC-MS 値で見ると、trans-chlordane が 0.0003 ~ 0.0060 $\mu\text{g/g}$ 、cis-chlordane が 0.0009 ~ 0.0070 $\mu\text{g/g}$ 、trans-nonachlor が 0.0038 ~ 0.0400 $\mu\text{g/g}$ 、cis-nonachlor が 0.0017 ~ 0.0116 $\mu\text{g/g}$ 、oxychlordane が 0.0007 ~ 0.0037 $\mu\text{g/g}$ の範囲にあった。

方法間の測定値の相互関係についてみると、cis-nonachlor を除く GC-ECD 法の 2% OV-1 と 2% DC-200 との一次回帰係数は 0.873 ~ 0.985、一次回帰定数項は - 0.0001 ~ 0.0003、相関係数は 0.993 ~ 0.994 であり、差の検定では trans-chlordane と trans-nonachlor に有意差が認められるなど 2% OV-1 がやや高めの傾向がみられたが微小であり、両者間の値はほぼ一致していた。

つぎに、GC-ECD 法と GC-MS 法の一次回帰係数は 0.799 ~ 1.305、一次回帰定数項は - 0.0031 ~ 0.0005、相関係数は 0.0510 ~ 0.975 であり、物質間で多少相違がみられた。trans-chlordane は総体的に濃度レベルが低いこともあって相関係数が小さく、trans-nonachlor は濃度レベルが高くなると GC 値が低めの値を、また cis-nonachlor は GC 値が若干高めの値を示す傾向が認められたが、差の検定では cis-nonachlor 以外はいずれも有意差は認められなかった。

生物モニタリングでは、本分析方法によるクロルデン類の検出限界を 0.001 $\mu\text{g/g}$ とし、結果の評価を行っており、そのレベルオーダーで本結果を比較すると GC 値と GC-MS 値は総体的に良く一致していると判断される。

5. おわりに

魚類中のクロルデン類の分析に関して、GC-ECD 法と GC-MS 法との平行測定を行った結果、従来の GC-ECD 法では PCB や DDT 類などの妨害に対し、フロリジルやシリカゲル等を用いたきめ細かいカラムクロマトグラフィーや複数の液相カラムによる GC 測定を行うことにより、相応の分離・定量が可能であることを確認した。同時に、GC 法による既データの検証をした。

しかし、従来の GC 法では前処理操作が非常に複雑であり、多大な労力と時間を要することから非効率的

であり、今後は高分離能・高精度のキャピラリーカラム付 GC-MS 法を活用し、化学物質分析のベース化を図っていく予定である。

一引用文献一

- 1) 環境庁環境保健部保健調査室：生物モニタリング調査マニュアル，1987.
- 2) 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—1984.
- 3) 財団法人食品分析センター：難分解性化学物質検索調査研究，p. 36, 1984.