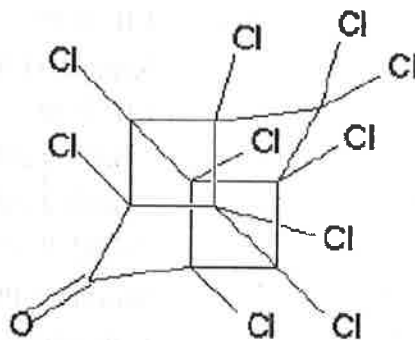


(株)島津テクノリサーチ

クロルデコン

(別名) ケポン(Kepone)、1,1a,3,3a,5,5a,5b,6-Decachlorooctahydro-
1,3,4-methano-2H-cyclobuta[cd]pentalene-2-one、
Chlordecone

【対象物質及び構造式】



CAS 番号 143-50-0

【物理化学的性状】

分子量	沸点 (°C)	蒸気圧(mmHg)	水溶解度	LogPow
490.64	350°C分解 (昇華性)	$<3 \times 10^{-7}$ (25°C)	4,000 ppm 溶解(100°C) 0.00076 g/100 mL 溶解	4.91 (計算値) *1

*1: 化学物質安全情報提供システム (KIS-NET、神奈川県) による化学物質データベース

【毒性、用途等】

毒性情報 : ラット 経口 LD50 : 125.95 mg/kg

用途 : 殺虫剤、殺菌剤。日本では農薬として未登録。

§1 分析法

(1) 分析法の概要

生物試料 10 g を無水硫酸ナトリウムと混合してよくすりつぶし脱水を行う。すりつぶした試料はジクロロメタン-ソックスレーにより抽出を行う。抽出液を脱水・濃縮して定容した後、抽出液の一部を分取してアセトニトリル/ヘキサン分配及び固相カートリッジ PS-2 によりクリーンアップを行い、LC/MS/MS(ESI negative)で定量する。

(2) 試薬・器具

【試薬】

クロルデコン	: Kepone (Unlabeled) 100 µg/mL 純度 >98% CIL 社製 カタログ No. ULM-2301-1.2
¹³ C ₁₀ -クロルデコン	: Kepone (13C10、>98%) 100 µg/mL 純度 98% CIL 社製 カタログ No. CLM-4814-1.2
ヘキサン	: 残留農薬試験用 (5000 倍濃縮)
アセトニトリル	: 残留農薬試験用 (5000 倍濃縮)
無水硫酸ナトリウム	: 残留農薬試験用 和光純薬工業株式会社製
固相カートリッジ	: Sep-Pak PS-2 Waters 社製
超純水	: (電気抵抗 16MΩ 以上の水)

【器具】

試験管 (共栓付)	: 10 mL
バイアル	: HPLC 用バイアル
遠心分離管(50ml)	
遠心分離器	

(3) 分析法

【試料採取】

環境省「化学物質環境調査における試料採取にあたっての留意事項」に従う。

【試料溶液の調製】

生物試料 10 g を無水硫酸ナトリウムと混合してよくすりつぶし脱水を行う。次にサロゲート物質($^{13}\text{C}_{10}$ -クロルデコン : 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ を 20 μL) を添加した後、ジクロロメタン-ソックスレーにより 6 時間抽出を行う。抽出液を脱水・濃縮して 1 mL に定容した後(注 1)、抽出液の全部または一部を分取してアセトニトリル/ヘキサン分配(10 mL:10 mL)を行う。アセトニトリル層を取り除いた後、10 mL アセトニトリルを加え、再度分配操作を行う。2 回の操作で得られたアセトニトリル層を合し、およそ 1 mL までロータリーエバポレーターで濃縮する。次にアセトニトリルで洗浄済み固相カートリッジ PS-2 に先の濃縮液を添加し、8 mL アセトニトリルで溶出させたものを高純度窒素ガス(純度 99.999% 以上)によりパージを行い乾固した後、メタノールまたはアセトニトリルを用いて 1 mL に定容する。

【標準原液及び標準溶液の調製】

クロルデコン(1 mL アンプル 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) を正確に 1 mL または適量を分取し、アセトニトリルを用い正確に 20 mL にして標準原液を作成する。この標準原液をアセトニトリルで順次希釈し、標準溶液を作成する。標準溶液の各濃度は、0.05~5 ng/mL とする。

またサロゲート物質 ($^{13}\text{C}_{10}$ -クロルデコン : 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) を正確に 1 mL または適量を分取し、アセトニトリルで正確に希釈し、濃度 20 ng/mL 溶液を調製する。

なおサロゲート物質として $^{13}\text{C}_{10}$ -クロルデコンは、最終測定用溶液で 2 ng/mL となるように添加する。

【測定】

[LC/MS/MS 分析条件]

LC 条件

LC 機器 : 島津製作所製 LC-20A システム
カラム : 野村化学製 Deverosil C30 (25 cm×2.0 mmID、3 μm)
移動相 : A:メタノール、B:0.1%ギ酸

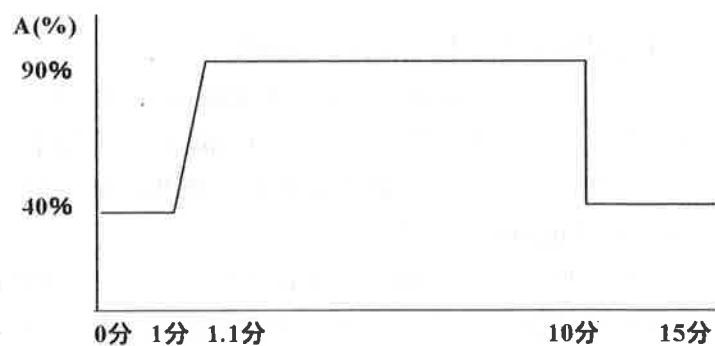
初期設定 A:B=40 : 60

0.0 分～1.0 分 A:B=40 : 60

1.0 分～1.1 分 A:B=40 : 60 → A:B=90 : 10

1.1 分～10 分 A:B=90 : 10

10 分～15 分 A:B=40 : 60



カラム温度 : 40°C
注入量 : 10 μL

MS/MS 条件

MS/MS 機器 : アプライドバイオシステム社製 API-4000
イオン化法 : ESI Negative
モニターイオン : Native Q1=506.7、Q3=426.5
(Q1=520.5、Q3=426.5)
¹³C₁₀-I.S. Q1=516.8、Q3=435.7
(Q1=530.6、Q3=435.7)

[検量線]

検量線作成用標準溶液(0.05～5 ng/mL)10 μL を LC/MS/MS に導入し、対象物質のサロゲート物質に対する相対ピーク面積と濃度の比から検量線を作成する。

[定量]

試料溶液 10 μL を LC/MS/MS に導入し、対象物質のサロゲート物質に対する相対ピーク面積を求め、検量線と比較して得られた濃度比から内部標準法に基づき定量値を求める。

[濃度の算出]

試料の濃度 C (ng/g)は、以下の式から算出する。

$$C \text{ (ng/g)} = \frac{A_s - A_t}{v}$$

- C : 測定物質の濃度(ng/g)
- A_s : 試料中の測定対象物質の重量(ng)
- A_t : 測定対象物質の操作ブランク値(ng)
- v : 試料採取量(g)

[装置検出下限(IDL)]

本分析に用いた LC-MS/MS の IDL を下表に示す(注 2)。

物質	IDL (ng/mL)	試料量 (g)	IDL 試料換算値 (pg/g)
クロルデコン	0.0065	10	0.65

[測定方法の検出下限(MDL)、定量下限(MQL)]

本測定法における検出下限及び定量下限を以下に示す(注 3)。

物質	採取量 (g)	検出下限値 (pg/g)	定量下限値 (pg/g)
クロルデコン	10	2.7	6.8

注 解

(注 1)

脂肪分やその他の影響で 1mL まで濃縮が出来ないと判断された場合、最後まで濃縮せず定容量を変更し、次の分取操作を行い、アセトニトリル/ヘキサン分配(10 mL:10 mL)を行う。

(注 2)

IDL(装置検出下限値)は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 17 年 3 月)に従って算出し、表 1 に示した。

表 1. 装置検出下限(IDL)の算出

対象物質名	クロルデコン
試料量(g)	10
最終液量(mL)	1
注入濃度(ng/mL)	0.05
装置注入量(μL)	10
結果 1	0.0462
結果 2	0.0504
結果 3	0.0499
結果 4	0.0482
結果 5	0.0465
結果 6	0.0467
結果 7	0.0487
標準偏差	0.00168
IDL(ng/mL)	0.0065
IDL 試料換算値(pg/g)	0.65
S/N	12
CV(%)	3.5

※IDL = $t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$

(注 2)

測定方法の検出下限(MDL)及び定量下限(MQL)は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 17 年 3 月)に従って算出し、表 2 に示した。

表 2. 測定方法の検出下限(MDL)及び定量下限(MQL)の算出

対象物質名	クロルデコン
試料量(g)	10
標準品添加量 (ng)	0.1
試料換算濃度 (pg/g)	10
最終液量(mL)	1
注入濃度(ng/mL)	0.1
装置注入量(μL)	10
操作ブランク平均(pg/g) ①	0
無添加平均(pg/g) ②	0
結果 1 (pg/g)	9.33
結果 2 (pg/g)	8.52
結果 3 (pg/g)	9.56
結果 4 (pg/g)	9.26
結果 5 (pg/g)	10.6
結果 6 (pg/g)	8.65
結果 7 (pg/g)	9.27
平均値	9.31
標準偏差	0.682
MDL(pg/g)	2.65
MQL(pg/g)	6.82
S/N	25
CV(%)	7.3

※MDL= $t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$

※MQL= $\sigma_{n-1} \times 10$

① 操作ブランク平均：

試料マトリックスのみがない状態で他は同様の操作を行い、測定した値の平均値

② 添加平均：

MDL 算出用試料に標準品を添加していない状態で含まれる濃度の平均値

§2 解 説

【分析法】

[フローチャート]

分析のフローチャートを図1に示す。



図 1. 分析フロー

[検量線及びマススペクトル]

検量線及びマススペクトルを以下に示す。

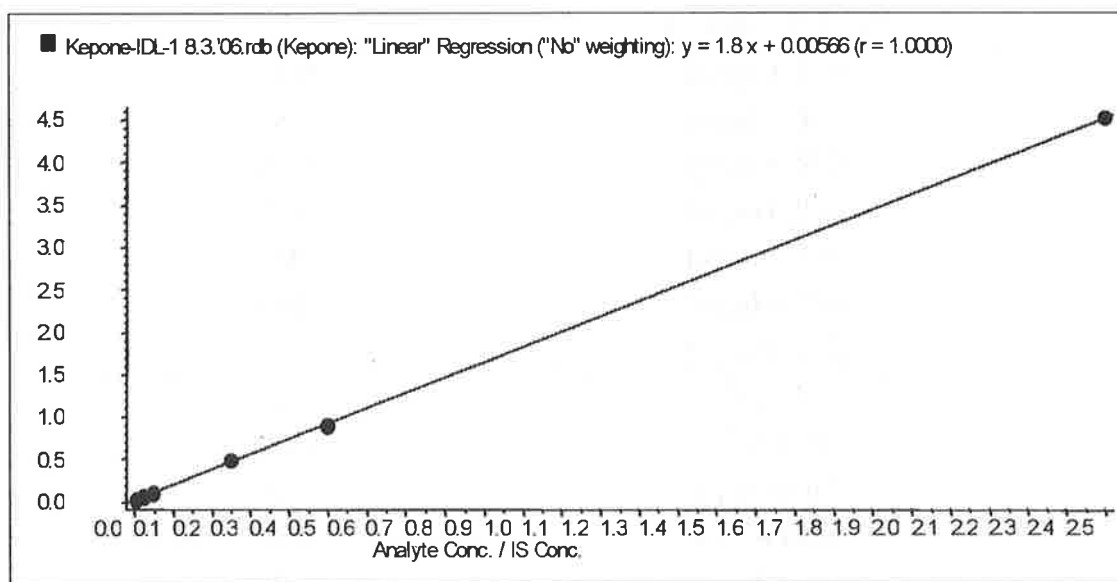


図 2. クロルデコン 標準溶液の検量線 (0.05~5 ng/mL)
(サロゲート物質濃度 2 ng/mL に調製)

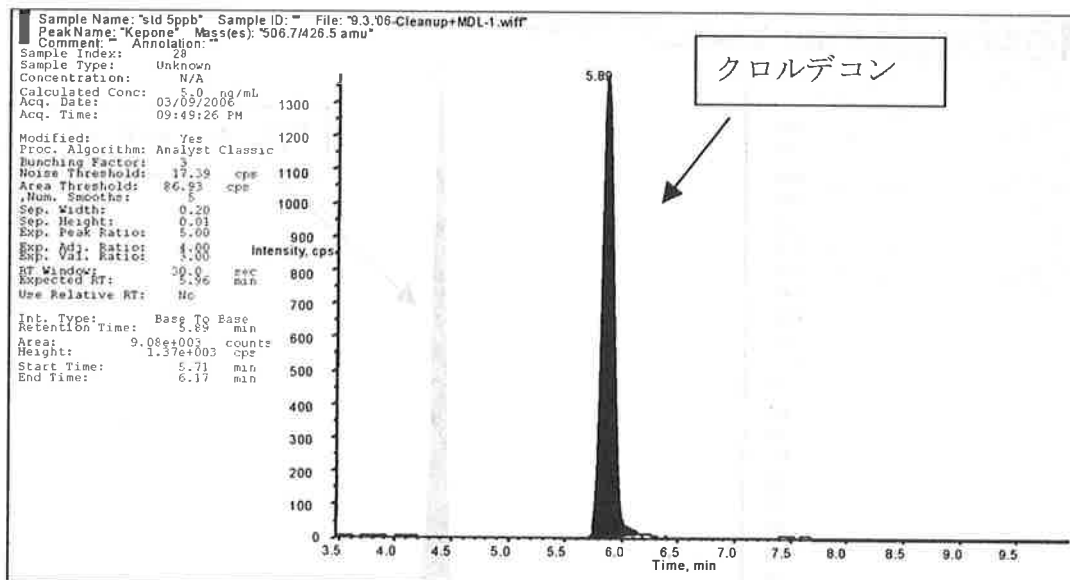


図 3. クロルデコン 標準溶液 (5 ng/mL) のクロマトグラム

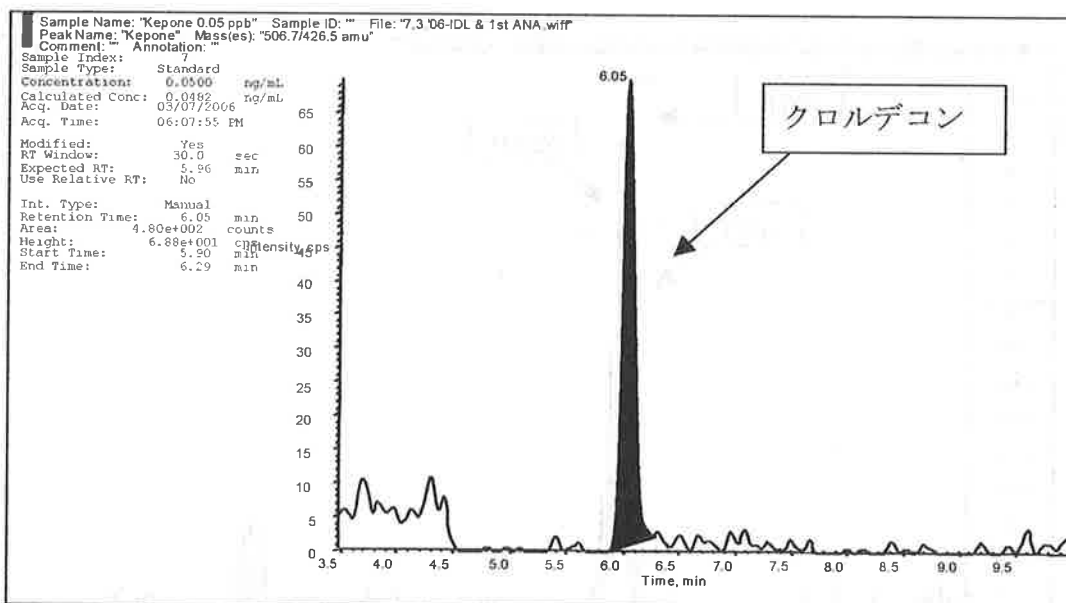


図 4. クロルデコン 検量線最低濃度 0.05 ng/mL のクロマトグラム

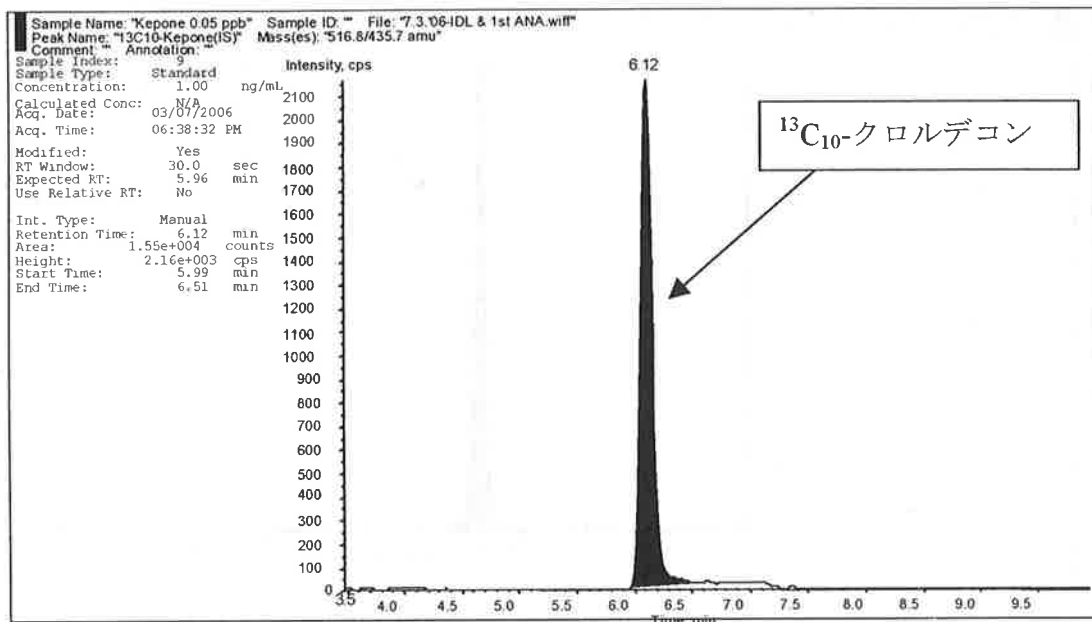


図 5. ¹³C₁₀-クロルデコンのクロマトグラム (調製濃度 2 ng/mL)

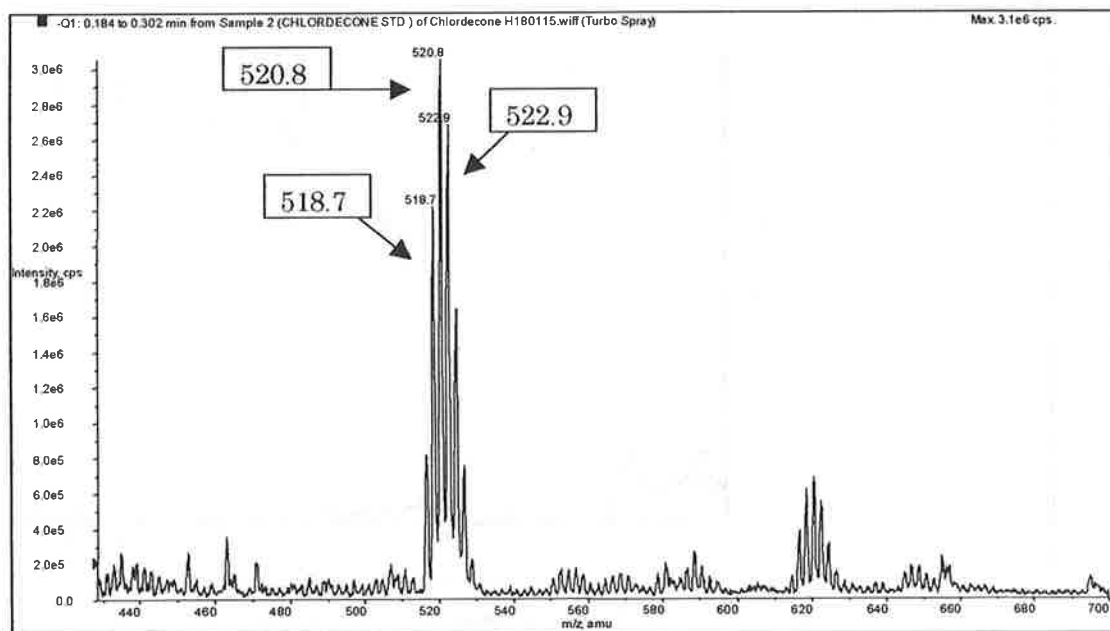


図 6. クロルデコン Q1-SCAN マススペクトル (メタノール溶媒のみ)

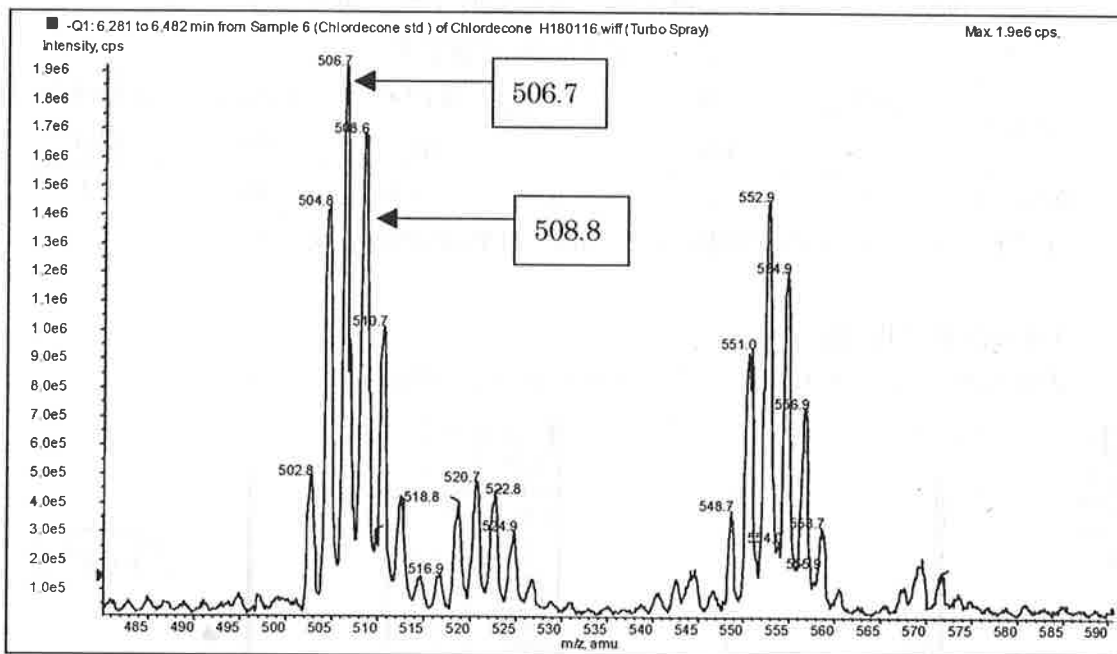


図 7. クロルデコン Q1-SCAN マススペクトル
 (メタノール・水混合溶媒の場合)

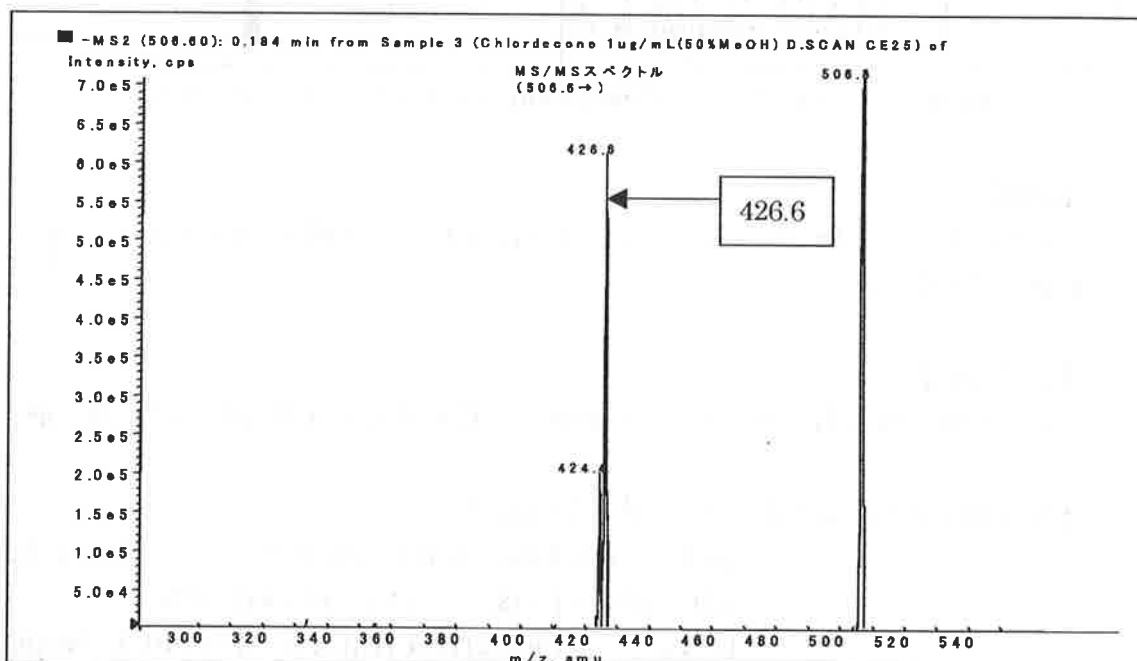


図 8. クロルデコン Q3-MS/MS SCAN マススペクトル

[添加回収実験結果]

市販品魚類（スズキ）への標準物質添加回収実験結果を表3に示す。

表3. 添加回収実験結果

試料名	試料量 (g)	添加量 (ng)	測定回数	検出濃度 (pg/g)	回収率 (%)	変動係数 (%)
魚(スズキ)	10	4	6	330	83	7.3

なお $^{13}\text{C}_{10}$ -クロルデコンの回収率は、65～115%の範囲であった。

[環境試料分析例]

市販品魚類（スズキ）からは、クロルデコンは検出されなかった。

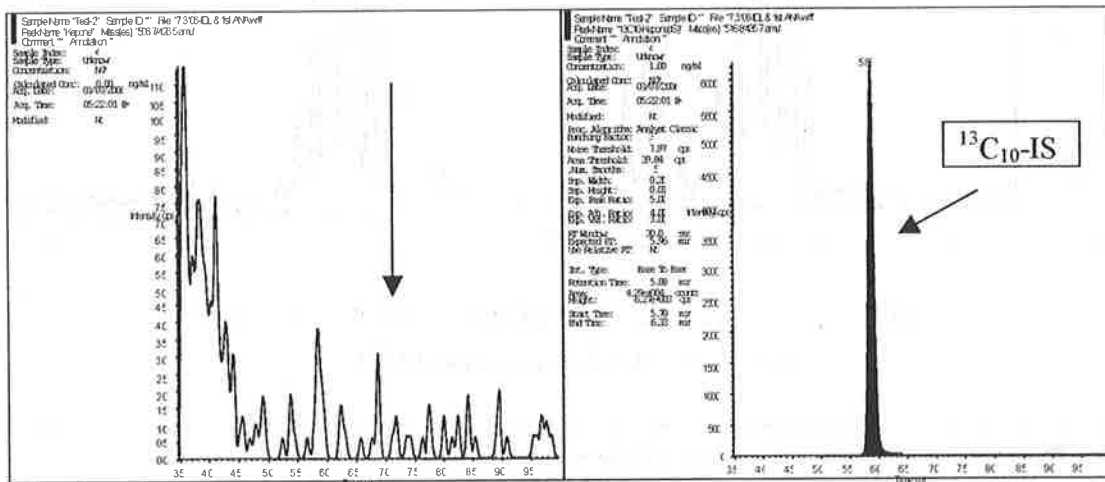


図9. クロルデコン 市販品魚類（スズキ）のクロマトグラム

【評価】

本法により、生物クロルデコンは、2.7 pg/g レベルで測定（6.8 pg/g レベルで定量）が可能である。

【参考文献】

1. 第20回環境科学セミナー(平成15年 環境省環境保健部環境保全課主催)

【担当者氏名・連絡先】 担当 株式会社島津テクノリサーチ

住所 〒604-8436 京都市中京区西ノ京下合町1番地

TEL : 075-811-3182 FAX : 075-811-3278

担当者 KURUNTHACHALAM SENTHIL KUMAR

kskumar@shimadzu-techno.co.jp

大井悦雅 e_ohi00@shimadzu-techno.co.jp

Chlordecone or Kepone

1,1a,3,3a,5,5a,5b,6-decachlorooctahydro-1,3,4-methano-2H-cyclobuta[cd]pentalene-2-one

Digest of Scheme

For biological sample, extraction, cleanup and analytical methodology was developed for Chlordecone.

10 g of fish edible tissue was ground with sodium sulfate to a power and subjected to Soxhlet extraction with dichloromethane for 6 h and de-hydrated with sodium sulfate and evaporated to 1 mL in which 10 mL acetonitrile and 10 mL hexane was introduced and shake for 10 min and centrifuge for 10 min. The lower acetonitrile layer was separated in other rotary flask. In upper hexane layer additional 10 mL acetonitrile was introduced which shake and centrifuge for 5 min. each. The both acetonitrile layer was combined in rotary flask and evaporated to 1 mL and eluted with pre-conditioned PS-2 column with excess of acetonitrile (8 mL) which was purge dried and analyzed with LC/MS/MS.

The detection limit was 2.7 pg/g. The recovery of Chlordecone in biological sample containing 330 pg/g was 83 %. The relative standard deviation was 7.3%.

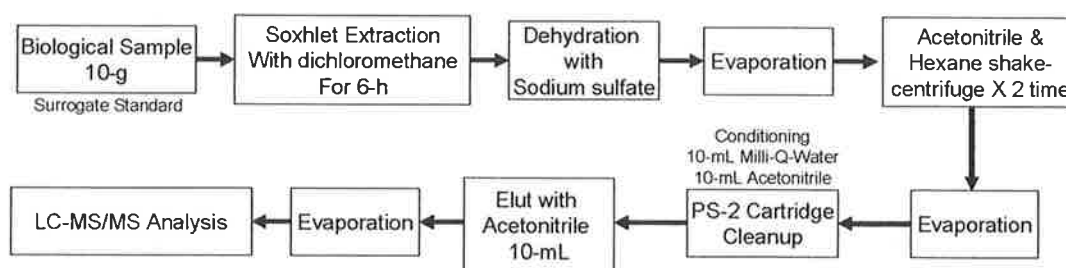


Figure 1. Flow chart illustrate extraction cleanup for chlordecone in biological sample.

物質名	分析法フローチャート	備考
クロルデコン 別名) ケボン	<pre> graph LR A[生物試料 10g] --> B[ジクロロメタン-ソックスレー抽出] B --> C[脱水] C --> D[濃縮] D --> E[アセトニトリル/ヘキサン分配] E --> F[濃縮] F --> G[アセトニトリル溶出] G --> H[LC/MS] </pre>	カラム 野村化学製 Deverosil C30 (25 cm× 2.0 mmID、3 μm) 検出モード ESI Negative SRM Native Q1=506.7、Q3=426.5 (Q1=520.5、Q3=426.5) 13c10-IS. Q1=516.8、Q3=435.7 (Q1=530.6、Q3=435.7) 検出下限 <生物> 2.7 pg/g