

GC/MS 法における水中のジチオカーバメート系農薬分析の検討

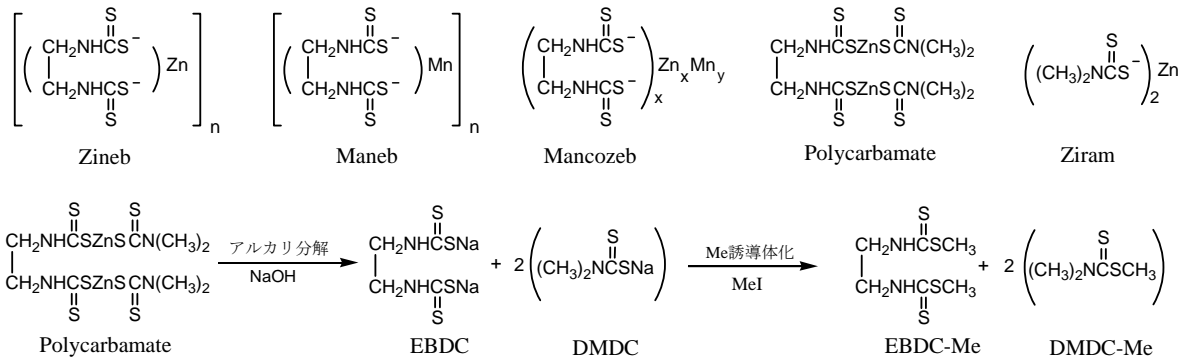
(財) 島根県環境保健公社

○小村雅男 岡本仁志 石原正彦 園山雅幸

1. はじめに

ジチオカーバメート系農薬は、野菜、果樹用の殺菌剤として広く使用されており、近年、ゴルフ場暫定指導指針農薬や水道水質検査（水質管理目標設定項目の 101 農薬）にポリカーバメートが追加され、さらに、環境ホルモン戦略 SPEED'98 にもマンネブ、ジネブ、マンゼブ、ジラムが挙げられるなど、環境中におけるモニタリングが盛んに行われている。これらの農薬の分析は、アルカリ分解で生成するジメチルジチオカーバメート (DMDC)、もしくはエチレンビスジチオカーバメート (EBDC) をヨウ化メチルによりメチル化し、HPLC/UV で定量する方法である (Scheme 1)。しかし、HPLC/UV での測定は感度が低くバックグラウンドが高いために、固相によるクリーンアップや濃縮操作が必須となり、操作が煩雑となる。さらに、メチル化体である DMDC-Me, EBDC-Me は乾固・溶媒転溶の操作の際に酸化分解を受け易く、再現性を得るには熟練を要する。

そこで、本法ではメチル化体を GC/MS を用いて測定することにより、簡便で夾雑物の影響を受けにくく、かつ高感度な分析法の開発を検討したので報告する。



Scheme 1

2. 実験

2.1 試薬および装置条件

<試薬>

各農薬の標準品・ジメチルカルバミン酸メチル (DMDC-Me)・ジクロロメタン・n-ヘキサン・酢酸エチル：和光純薬工業 (株) 残留農薬試験用
 エチレンビスジチオカルバミン酸メチル (EBDC-Me)：林純薬工業 (株) 標準品
 アトラセン-*d*₁₀およびその他の試薬：和光純薬工業 (株) 特級品

<装置条件>

GC : Agilent 6890N	Oven : 60°C (2 min) → 20°C/min, 280°C (3 min)
MS : Agilent 5973 Inert	Head Press : 6 psi (constant flow)
Injection : 220°C, splitless, 2 ul	Interface : 280°C
Column : J&W HP-5MS (30m - 0.25 mm - 0.25 μ m)	Monitoring Ion (m/z) : (DMDC-Me) 88, 135 (EBDC-Me) 144, 72

本検討で使用した農薬の標準溶液は、L-システイン塩酸塩、エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム (EDTA-2Na) 各 10g を純水 160ml に加えて 12N-NaOH で pH を 9.6~10 に調整後 200ml にメス

アップした溶液を調製し、この溶液で標準品を溶解、定容し作製した。

2.2 前処理

本検討の前処理は、「ゴルフ場で使用される農薬による水質汚濁の防止に係る暫定指導指針」で示されているポリカーバメートの試験法を参考とし、GC/MS の選択性、感度を考慮して、クリーンアップ、濃縮操作を実施せず、環境に配慮して溶媒量を極力抑えることとした。前処理フローを Fig. 1 に示す。

このフローに従い測定した結果、Fig. 2 に示したクロマトグラムが得られ GC/MS による測定が可能であった。

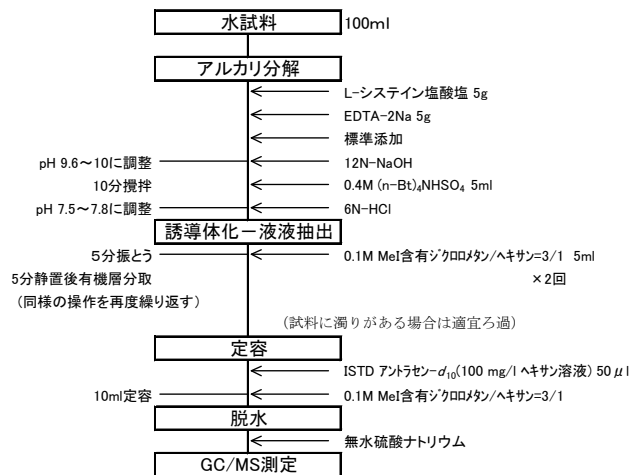


Fig. 1 前処理フロー

2.3 条件検討の方法

本検討では 2.2 の前処理を基に条件の最適化を行った。

その際、DMDC、EBDC 双方の挙動を把握するため、ポリカーバメート標準溶液を用いた。ポリカーバメートを水試料 100ml に 30 μg 添加し、前処理した試料を GC/MS で測定後、DMDC-Me、EBDC-Me のピーク面積値を求めた。誘導体化率は DMDC-Me、EBDC-Me を標準として使用し、分子量換算により算出した。

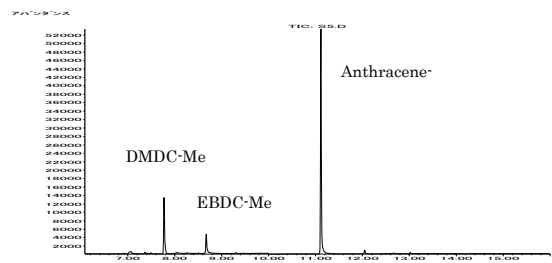


Fig. 2 ポリカーバメートを 3 μg を添加し前処理した際のクロマトグラム

3. 結果および考察

3.1 抽出操作における pH の検討

抽出操作時の pH はジチオカーバメートの解離度、誘導体化率、抽出効率の各々に影響を及ぼすため、重要なファクターとなり得る。そこで、抽出操作における pH の影響について検討した。ただし、EDTA-2Na が析出するため、検討は pH 5 以上の範囲で行った。

その結果、DMDC-Me は pH 5~10 の範囲において顕著な変化はないが、EBDC-Me については、pH 9 以上において回収が低下する傾向が認められた (Fig. 3)。このことから、抽出時の pH 範囲は 7~8 とした。

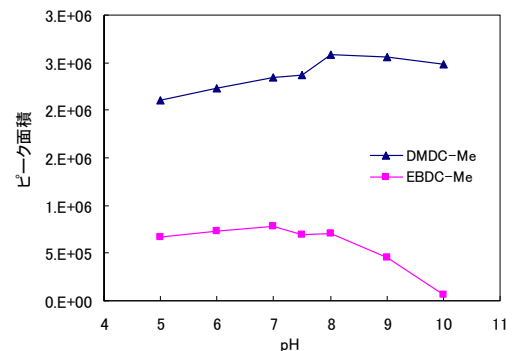


Fig. 3 抽出操作時の pH の影響

3.2 硫酸水素テトラブチルアンモニウム ((n-Bt)₄NHSO₄) の添加濃度の検討

イオンペア剤として (n-Bt)₄NHSO₄ の濃度を増加させた場合、誘導体化反応が促進されると考えられる。一方、GC/MS 分析における装置への負荷やバックグラウンドノイズを低減させるためには、イオンペア剤の添加量は極力抑えたい。そこで、(n-Bt)₄NHSO₄ 溶液の濃度を変化させて前処理を行った。

添加するイオンペア剤の濃度を 0.01M~0.8M の範囲で濃度を変化させたところ、DMDC-Me、EBDC-Me 両成分の生成が一定となるのは、0.2M 以上であ

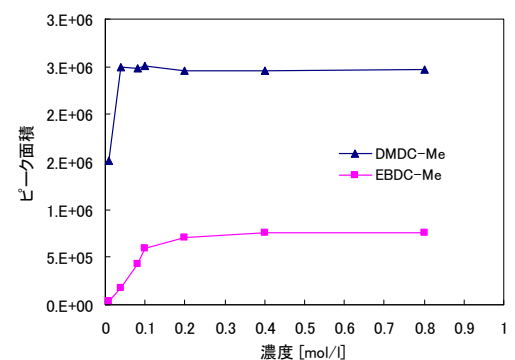


Fig. 4 (n-Bt)₄NHSO₄ の添加濃度の影響

った (Fig. 4). この結果をもとに, 実試料への適用を考慮してイオンペア剤の濃度は 0.4M とした.

3.3 反応時間の検討

誘導体化反応は抽出時だけでなく, 抽出後においてもメチル化が進行することは十分に考えられる. そこで, 溶媒抽出操作後から GC/MS に注入するまでの時間を変化させ, DMDC, EMDC の誘導体化と反応時間との関係を見た (Fig. 5).

その結果, 抽出 30 分後までは反応が進行しており, それ以降では完結していることが判明した.

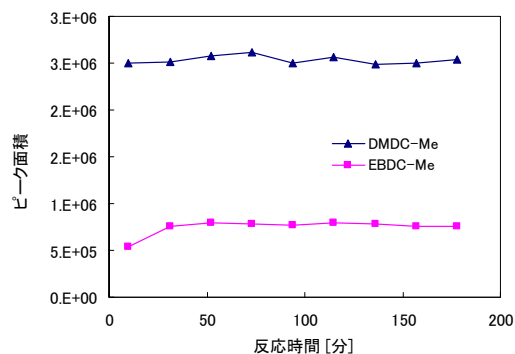


Fig. 5 反応時間の検討

3.4 抽出溶媒の検討

本法では抽出溶媒にヨウ化メチルを溶解させて, メチル化反応と抽出を同時に行う. このメチル化はイオン反応により進行していると考えられることから, 用いる溶媒としては水との分離が良い極性溶媒が適していると推察される. そこで, *t*-ブチルメチルエーテル, ジクロロメタン, 酢酸エチル, メチルイソブチルケトンを用いて検討し, 誘導体化率, GC/MS 上のピーク形状ともに良好であったジクロロメタンと酢酸エチルを使用することとした. また, 溶媒の極性変化による影響を確認するためヘキサンを混合し, その混合比を変化させた.

その結果, ジクロロメタン・ヘキサン混液 (3 : 1) が DMDC-Me, EBDC-Me ともに高い誘導体化率を示した (Fig. 6, Fig. 7).

しかし, ジクロロメタン・ヘキサン混液 (3 : 1) を用いた場合, 水層との比重差が小さいために, 有機層が水層中に分散したり, 界面付近にエマルジョンが形成されるといった問題が生じる. そこで, 反応終了後に有機層を極力分取し, 再度抽出操作を行うこととした. 再抽出に使用する溶媒として, ジクロロメタン・ヘキサン混液を用い, 混合比を変化させて界面の分離挙動, およびメチル化体の抽出率を調べた (Fig. 8).

界面の分離がよく, かつ抽出率も良好であった混合比はジクロロメタン・ヘキサン混液 (45 : 55) であったので, これを再抽出溶媒として選択することとした.

3.5 定量精度の確認

条件を最適化したフローを Fig. 9 に示す. この前処理における誘導体化率は, 両成分ともに 92~110% と非常に良好な結果が得られた (Table 1). 従来の HPLC/UV 法においては誘導体化率が 50% 程度であったことから, これと比較すると格段に向上した. これは, 濃縮操作等の省略により, メチル化体の酸化分解を抑制できたことによるものと考えられる.

次に, 純水 100ml にポリカーバメート 30ng, ジラム 20ng, ジネブおよびマンネブを 500ng 添加

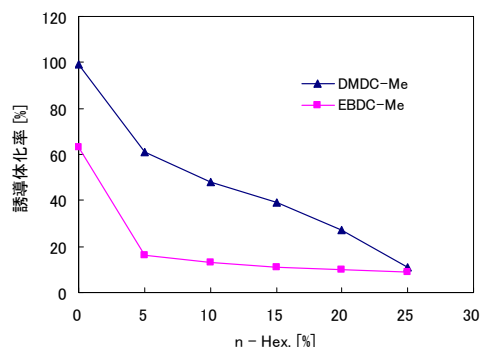


Fig. 6 酢酸エチル-ヘキサンにおける誘導体化率

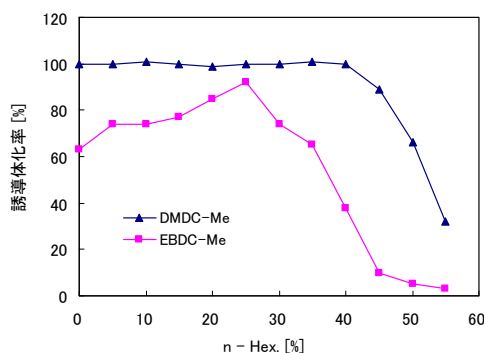


Fig. 7 ジクロロメタン-ヘキサン溶媒における誘導体化率

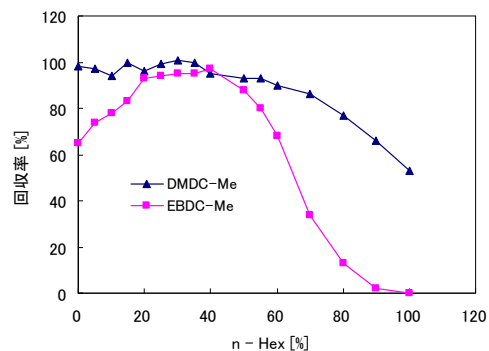


Fig. 8 ジクロロメタン-ヘキサン混液における抽出率

して Fig. 9 のフローに従い添加回収試験 (n=5) を行い、定量下限値 (10σ) を求めた (Table 2)。

その結果、いずれも良好な結果が得られ、特に水道 101 農薬 (目標管理設定項目) で測定対象となっているポリカーバメートの定量下限値については、目標値 (0.03 mg/l) の 1/100 値 (0.0003 mg/l) の定量に十分な感度、再現性が得られ、本法の有用性が確認できた。

Table 1 前処理条件最適化後の誘導体化率

run	誘導体化率[%]	
	DMDC-Me	EBDC-Me
1	102	106
2	97	100
3	92	110

Table 2 定量下限値

化合物	添加濃度 [μg/l]	定量化合物	Ave.(n=5) [μg/l]	3σ [μg/l]	10σ [μg/l]	CV [%]
ポリカーバメート	0.3	DMDC-Me	0.320	0.035	0.116	3.6
ジラム	0.2	DMDC-Me	0.204	0.033	0.109	5.4
ジネブ	5.0	EBDC-Me	5.80	0.946	3.15	5.4
マンネブ	5.0	EBDC-Me	4.86	0.949	3.16	6.5

3.6 実サンプルへの適用

河川水と貯水池の水を用いて、添加回収試験を行った。検量線はサンプルと同様に前処理を行い、ポリカーバメートが 0.3~6.0 μg/l、ジラムが 0.2~4.0 μg/l、ジネブおよびマンネブは 4.0~80 μg/l の濃度範囲で 4 点検量とし、内部標準法にて定量を行うこととした。

その結果、検量線は全成分において $r^2=0.995$ 以上で直線性は良好であった。また、全てのサンプルにおいて回収率 90~120%と満足な結果が得られ、DMDC-Me、EBDC-Me とともに夾雑物存在下であっても妨害を受けることなく定量可能であることから、本法は実サンプルに対しても十分適用可能であることが確認できた。

Table 3 実サンプルへの添加回収試験

化合物	定量化合物	添加濃度 [μg/l]	測定値 [μg/l]		回収率 [%]	
			河川水	貯水池	河川水	貯水池
ポリカーバメート	DMDC-Me	0.3	0.293	0.273	98	91
ジラム	DMDC-Me	0.2	0.190	0.202	95	101
ジネブ	EBDC-Me	5.0	5.05	5.78	101	116
マンネブ	EBDC-Me	5.0	4.84	4.61	97	92

4. まとめ

従来のジチオカーバメート系農薬の分析では DMDC-Me や EBDC-Me は酸化分解を受け易いため、L-システインを添加し酸化を抑制しても良好な再現性が得られないことがあり、分析に熟練度を要した。

これに対し、メチル化体を GC/MS を用いて測定する本法では、濃縮操作や固相によるクリーンアップが不要となり、誘導体化率が高く再現性も良好で、夾雑物の影響を受けにくい精度の良い分析が可能であった。また、操作も簡便なために分析時間の短縮にもつながり (1 検体あたり約 1 時間短縮)、従来法と比較して有用性が高い。

今後は農産物等のサンプルに対して、本法の適用を検討したい。

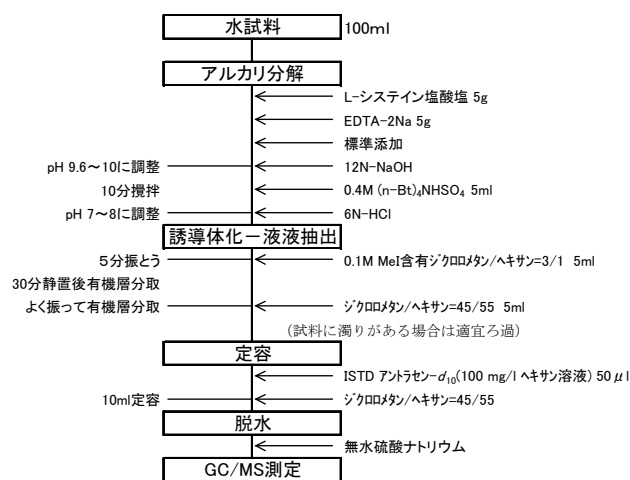


Fig. 9 前処理フロー