

ゴルフ場農薬暫定指針改正に係る個別分析法の改良・検討

～チオジカルブ分析法の最適化～

(財) 島根県環境保健公社

○土井 慎一 園山 雅幸 石原 正彦

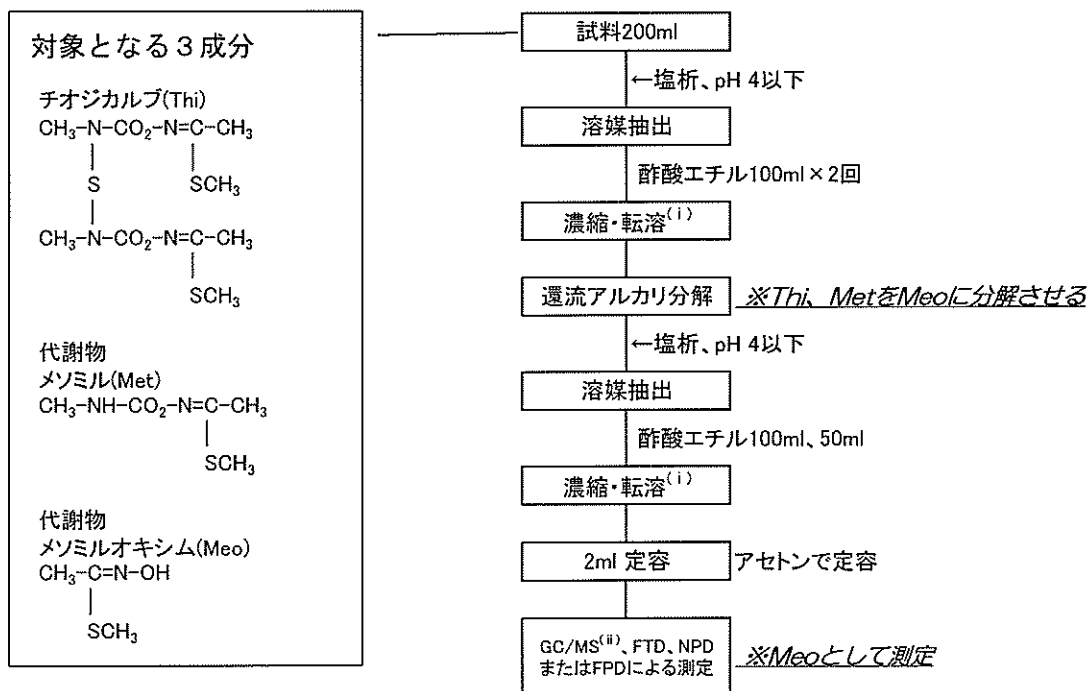
1. はじめに

平成 22 年 9 月 29 日に「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」が改正され、新たに 29 成分の農薬について指針値が設定された。新たに追加された農薬には、一斉分析で対応できない成分も多数含まれており、従来の成分も含めると、より多くの場合で個別分析法による対応が必要となる。それ故、検査を速やかに実施する上で、これら個別分析法の最適化（精度面・効率面）は、今後ますます重要となってくると予想される。

改正以前から示されているチオジカルブの個別分析法は、試料よりチオジカルブ(Thi)、及びその代謝物であるメソミル(Met)・メソミルオキシム(Meo)を溶媒抽出し、アルカリ分解により、これらを Meo とし、GC/MS、FTD、NPD 又は FPD で測定する方法である (Fig1)。

非常に分析操作が煩雑な本試験法を、より精度よくかつ効率的に測定するために、①汎用的な分析条件の適用、②濃縮時に損失し易い Meo への対策、③前処理全体の効率化、について検討の余地があると考えた。

そこで、Meo を誘導体化する手法を適用・検討したところ、上記の 3 点における改善について知見が得られたので報告する。



(i)濃縮時は、キーパーとしてジエチレングリコールを添加

(ii)GC カラム…5%フェニルメチルポリシロキサン (内径 0.2~0.7mm、膜厚 0.1~15μm、長さ 10~30m)

Fig 1. 指針に示されているチオジカルブ個別分析法の概要

2. 試薬・機器

2 - 1. 試薬等

本検討で使用した各農薬の標準品、内部標準物質、トリメチルシリル (TMS) 化剤 : N,O-ビス (トリメチルシリル) トリフルオロアミド (BSTFA) は、(株) 和光純薬工業製のものを使用した。また、固相カートリッジは Oasis HLB Plus (Waters 製) を使用した。

2 - 2. 分析機器及び装置条件

本検討で用いた分析機器及び測定条件を Table 1 に示す。

Table 1. 分析機器及び測定条件

GC	: Agilent 6890N
MS	: Agilent 5973 inert
Injection	: 250°C、splitless、2 μl
Column	: Agilent HP-5MS (30m, 0.25mm, 0.25 μm)
Oven	: 50°C (3min) → 8°C/min, 100°C → 25°C/min, 200°C → 30°C/min, 280°C (1min)
Carrier gas	: He, 1.2ml/min (constant flow)
Interface	: 280°C
Monitoring ion(m/z)	: 177, 162, 130

3. 実験結果及び考察

3 - 1. Meo の TMS 誘導体化による分析条件の効率化と最適化

一斉分析によく用いられるカラム (例えば、5% フェニルメチルポリシロキサン 30m, 0.25 mm, 0.25 μm) が適用可能であれば、カラム交換することなく分析でき、効率化が図られる。しかし、実際に測定した結果、保持が十分でなく、良好なピーク形状は得られなかった。

さらに、指針法に従い調製した試料は、濃縮時に添加するキーパー (ジエチレングリコール) がクロマト分離に影響を与え、測定が困難であった。これらを解消するためには、指針法に従い、膜厚を厚くするか、極性の高いカラムを使用することになるが、カラムの交換が必要となり、効率的ではなくなる。

そこで本検討では、Meo のヒドロキシル基に着目し、TMS 誘導体化 (TMS 化)

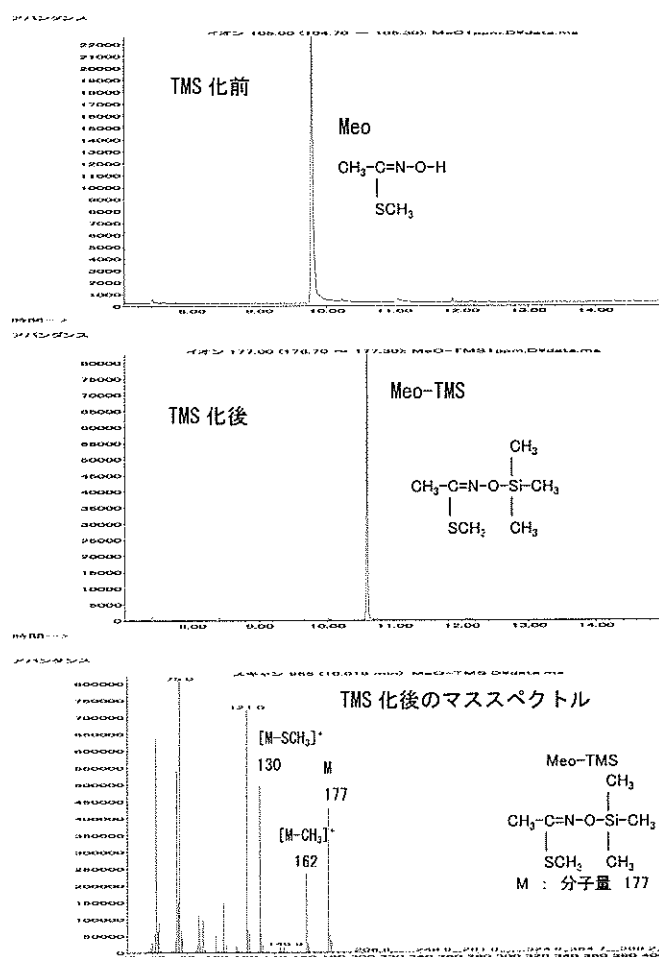


Fig 2. Meo、Meo-TMS のクロマトグラフ比較と Meo-TMS のマススペクトル

することで汎用カラムの適用を試みた。

まず、TMS 化反応と TMS 化生成物の安定性を検証した。その結果、TMS 化剤の添加により、Meo のピークが消失し、TMS 化体 (Meo-TMS) に帰属されるピークが確認された (Fig 2)。得られたピークは、保持・形状ともに良好であり、さらに感度も向上した。

また、繰り返し試験により、Meo-TMS が安定であること、及び 30 分程度で反応が完了することが確認された (Fig 3)。

検量線を作成したところ 0.01ng~2ng で良好な直線性 ($r^2=0.999$) が得られた。なお、装置上の定量下限は、Meo として 0.01ng 程度であった (0.005mg/l、2 μ l に相当)。

以上のことから、TMS 化を適用することで、汎用カラムの使用が可能であり、かつ精度も向上することが明らかとなった。

3 - 2. 濃縮時の Meo への対策

濃縮時にキーパーを使用しない場合、Meo が濃縮により損失する恐れがある。

しかし、本法では、3 - 1 で述べた TMS 化により、Meo の質量が増加し、濃縮時に損失しにくくなると考えられる。また、低沸点溶媒であるジクロロメタン (b.p. : 40°C) を使用することで、濃縮時間が短縮され、濃縮による損失が抑制されると予想される。これらをもふまえ、Fig 4 に示すフローに従い TMS 化後の試料について濃縮を行ったところ、キーパーを使用せずとも、損失がないことが確認された (回収率 100%, CV 6.4%, n=5)。

3 - 3. 前処理条件の改良

固相抽出は、溶媒抽出と比較し、使用溶媒量の少量化・濃縮時間の短縮・省略といった利点がある。特に濃縮時に損失し易い Meo については、精度面から非常に有用である。

固相抽出において、Thi、Met に比べ、親水性が高い Meo の回収率が問題となると予想される。そのため、固相には親水基を有するコンビネーションポリマーを使用した。また、Fig 5 固相抽出①の溶出溶媒には、メタノールを使用することとした。酢酸エチルを使用した場合には、その後の操作で溶媒の濃縮・留去が必要になり、Meo の損失が懸念されるためである。

1M 硫酸で pH4.0 に調整した純水を用いて、固相抽出①における Thi、Met、Meo の回収試験を行った。その結果、Meo のみ回収率が 65%~90%程度とばらついた。これは、Meo の高い親水性により、固相への保持が不十分であったためと推測される。そこで、一般的に溶媒抽

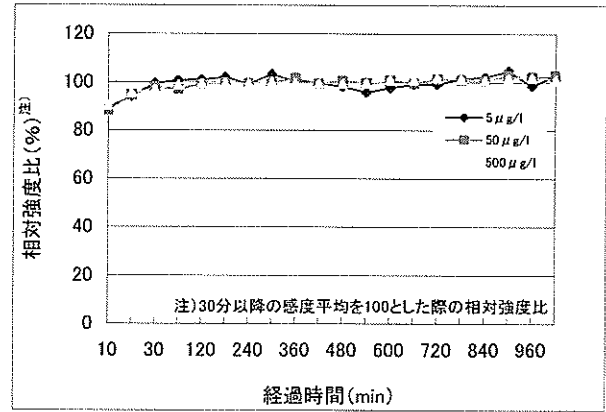


Fig 3. TMS誘導体化の安定性評価

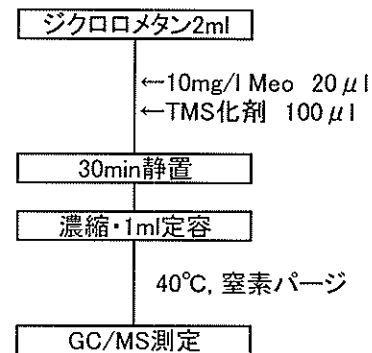


Fig 4. Meo-TMS濃縮フロー

出で用いられる手法である塩析の適用を試みた。その結果、各 3 成分の回収率が 80%以上と良好な再現性が得られた。また、Thi、Met については塩析の有無に関わらず、良好な回収が得られた。この結果から、固相抽出において塩析を用いることにより、回収率の改善を図れることが明らかとなった。

しかし、溶媒の濃縮・留去を避けるため Fig 5 固相抽出①においてメタノール 4 ml で溶出を行ったところ、その後の固相抽出②通水操作の際、残存するメタノール濃度により、成分の保持に影響を及ぼすことが判明した。このため、メタノール溶出液を水で 5ml 定容し、その 2ml を分取し、通水時の残存メタノール濃度を低減することとした。

Fig 5 固相抽出②の溶出溶媒は、以下の 3 点からジクロロメタンを使用した。①GC/MS 測定が可能である点、②上述 3-2 で述べた低沸点溶媒である点、③TMS 化効率が良い点である。

通水後は、固相を脱水・乾燥した後、溶出を行った。溶出液に TMS 化剤を添加し、静置 30 分後に濃縮し、1ml 定容したものを測定溶液とした。

構築した前処理フローに従い、添加回収試験を行った。結果を Table 2 に示す。純水での添加回収試験では、Thi、Met、Meo の 3 成分それぞれ良好な結果であった。また、実試料を使用した添加回収試験でも同様に良好な結果が得られた。

よって本法は、実試料に関しても適用可能であることが示唆された。

Table 2. 改良法を用いた添加回収試験の結果

試料	設定濃度 mg/l	回収率 (%)		
		Thi	Met	Meo
純水	0.001	108	108	102
	0.02	100	100	80
実試料 (河川水)	0.001	103	109	109
	0.02	101	94	99

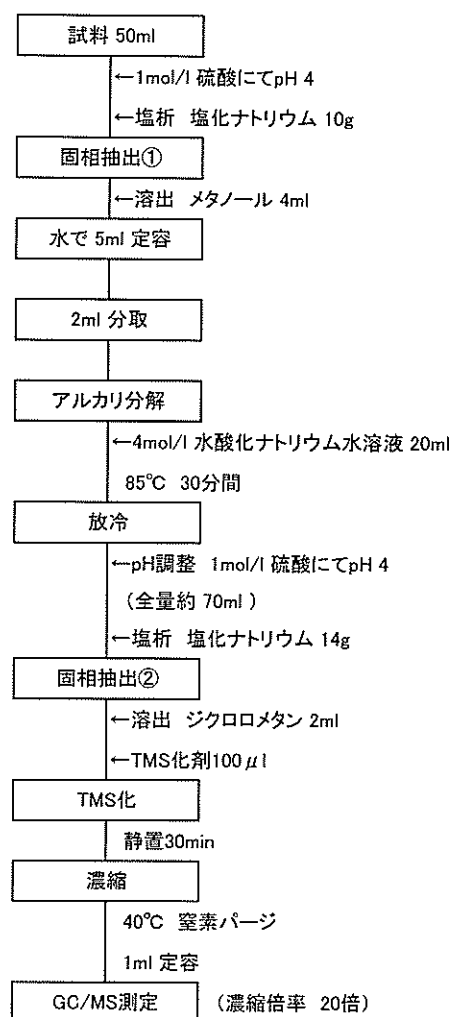


Fig 5. チオジカルブ分析改良法の概要

4. まとめ

チオジカルブの分析において、最終的な測定物質であるメソミルオキシムの測定に TMS 誘導体化を適用した。その結果、一斉分析で使用する微極性カラムでの測定が可能となり、選択性及び測定感度の向上も図れた。また、キーパーを使用することなく濃縮できるようになり、問題となっていたクロマト分離への影響は解消された。さらに、前処理方法に固相抽出法を適用することで、使用溶媒量の低減、濃縮操作等の効率化が可能となった。今後は、さまざまな実試料への適用を実施していく予定である。