

農薬類の固相抽出による分析法の検討 (水質)

山口県環境保健センター
堀切 裕子・佐々木 紀代美

Study on analysis method by solid phase extraction of pesticides

Yuko HORIKIRI, Kiyomi SASAKI
Yamaguchi Prefectural Institute of Public Health and Environment

はじめに

環境基準及び関連する排出基準等のひとつとして農薬類があり、分析時の前処理法には大きく分けて溶媒抽出法と固相抽出法がある。固相抽出法は、簡便で迅速性に優れた抽出法として環境など各分野で広く利用され、その有用性が立証されている。また、使用する有機溶媒の量が少ないこともあり、環境に負荷をかけず、労働環境にも優しい抽出法である。さらに、試料中の分析対象物質の抽出に加えクリーンアップも同時に期待できる。

当所では、農薬分析時、ジクロロメタンによる溶媒抽出法を用いて前処理を行っていたが、固相抽出法には上記利点があるため、固相抽出法に変更することとし、固相カラムの種類、溶出条件等について検討を行ったので報告する。また、当所における分析項目は、水質汚濁防止法等の規制基準値のあるシマジン (CAT) とチオベンカルブであるため、IDL、MDL、分解性スクリーニング試験等はこの 2 種の農薬について行った。

検討内容

1 前処理法の検討

(1) 固相カラムの種類検討 (乾燥時間)

5 種の固相カラム (HLB、PS-2、C-18、RP-1、PLS-3) について検討を行った。

まず、固相の完全な脱水が回収率に大きく関与することから、各固相に超純水 200 mL を通水、遠沈 (2000 rpm, 15 分) 後、窒素ガス気流下で、固相カラムの重量が通水前の重さにもどるまでの時間を調べた。結果を図 1 に示す。HLB、PS-2、PLS-3 で 30 分、他の 2 種については 90 分をした。

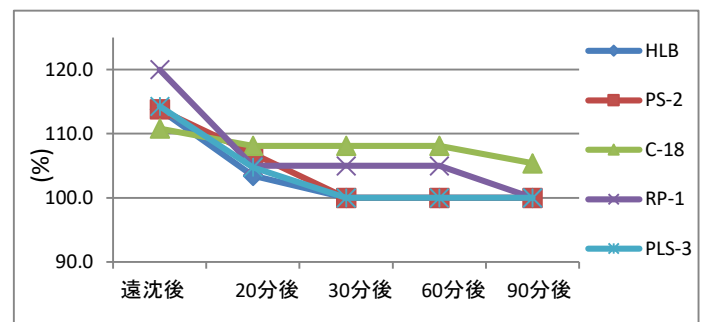


図 1 固相カラムの重量の変化

(2) 固相カラムの種類検討 (固相カラムの種類による回収率の違い)

13 種農薬混合標準液 (残留農薬試験用 富士フィルム和光純薬 (株)) を 3 $\mu\text{g/L}$ になるよう超純水 200 mL に添加し、通水 (10 mL/min)、洗浄後アセトン 3 mL で溶出し、各農薬の回収率を調査した。

今回は、環境測定分析統一精度管理に参加し、分析対象として他にフェノブカルブ (BPMC)、イプロベンホス (IBP)、フェニトロチオン (MEP)、イソプロチオランがあがっていたため、これらの農薬についても同時に検討を行った。結果は表 1 のとおり。回収率 80 ~ 120% を適と判断すると、農薬の種類によって最適 (100% に近い) な回収率となる固相カラムは異なるが、CAT 及びチオベンカルブの両物質の抽出に最適な固相カラムは PS-2 と考えられた。また、他の農薬類についても PS-2 を用いた場合、回収率が不適と判断されるものはなかった。

表 1 固相カラムの種類による回収率の違い

	BPMC	CAT	IBP	MEP	チオベン カルブ	イソプロ チオラン
HLB	100.9	134.5	836	78.0	88.2	93.8
PS-2	96.4	109.9	114.1	97.4	89.8	107.5
C-18	107.4	90.9	83.9	75.8	61.0	96.0
RP-1	89.4	75.5	82.6	60.1	55.6	79.1
PLS-3	109.0	91.1	95.3	72.2	67.1	94.8
	回収率(80~120%:適)			最適	不適	

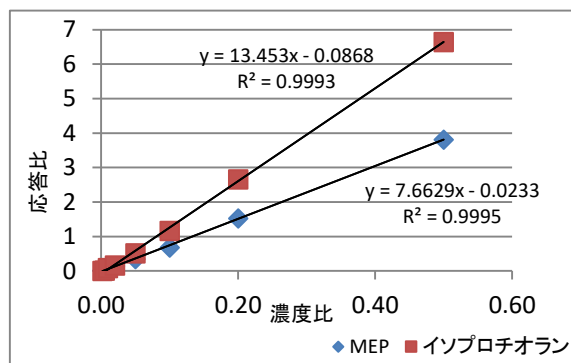


図 5 検量線 (低~高濃度 : 0.5~5.0 µg/mL)

(3) 溶出液の種類を検討 (低~高濃度の検量線 (図 2~5) を用いた定量について)

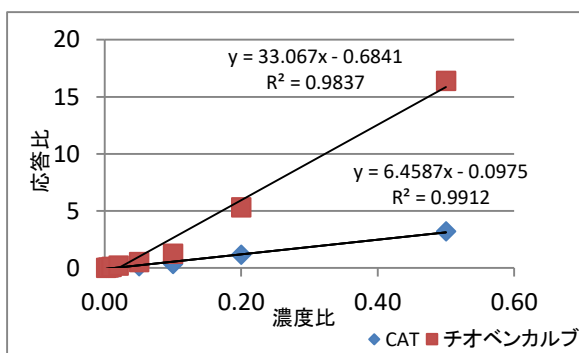


図 2 検量線 (低~高濃度 : 0.02~5.0 µg/mL)

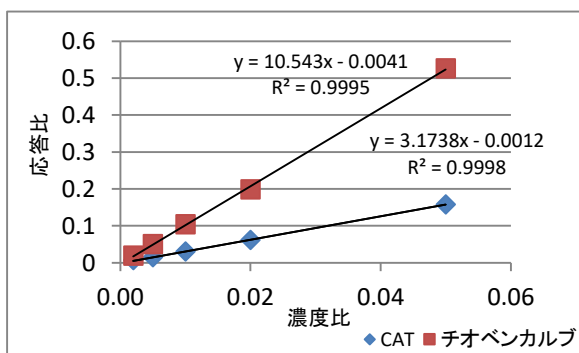


図 3 検量線 (低濃度 : 0.02~0.5 µg/mL)

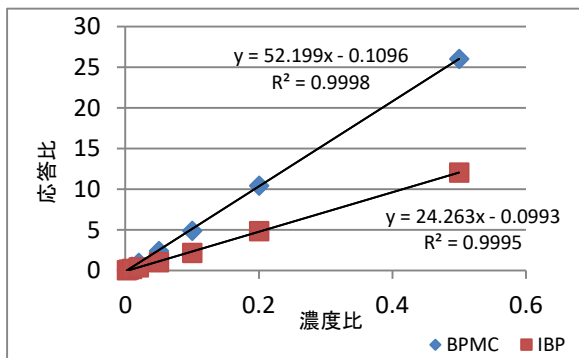


図 4 検量線 (低~高濃度 : 0.02~5.0 µg/mL)

CAT及びチオベンカルブについては、低~高濃度検量線と低濃度検量線の傾き及び切片が異なり、レンジの広い検量線では二次曲線様になることがわかった(図 2, 図 3)。他の 2 種の農薬については、低濃度検量線を図には示していないが低~高濃度検量線でも直線性は CAT、チオベンカルブに比べて高かった(図 4、図 5)。

各 3 µg 添加し前処理 (PS-2 を用いアセトンおよびジクロロメタン 3 mL で溶出) を行い、低~高濃度検量線及び低濃度検量線を用い定量した。回収率の結果は表 2 及び表 3 のとおり。この表から、アセトン 3 mL で溶出し、低濃度検量線で定量するとより真値に近い結果が得られる農薬が多いことがわかった。CAT、チオベンカルブについては、レンジの大きい検量線を用いた場合の回収率は 110.2~119.0%であり、回収率としては適であったものの真値との乖離は大きかった。

以上のことから、PS-2 を用いて抽出を行い、コンディショニング (アセトン 10 mL) →平衡化 (超純水 10 mL) →サンプル 200 mL 通水 (10 mL/min) →洗浄 (超純水 10 mL) →カラムを遠心分離 (2000 rpm, 10min) →乾燥 (窒素吹き付けにより 30 分) →溶出 (アセトン 3 mL) →濃縮 (窒素吹き付けにより 1 mL) により前処理を行うこととした。

表 2 回収率 (%) (低~高濃度検量線使用)

溶出 溶媒	BP MC	CAT	IBP	MEP	チオベン カルブ	イソプロ チオラン
アセトン 3mL	96.4	114.0	94.0	97.7	119.0	112.6
ジクロ ロメ タン 3mL	80.4	110.2	84.7	97.7	118.0	105.9

表 3 回収率 (%) (低濃度検量線使用)

溶出 溶媒	BPMC	CAT	IBP	MEP	チオベン カルブ	ソプロホ オラン
アセトン 3mL	98.4	104.3	97.0	98.7	104.5	89.7
ジクロロ メタン 3mL	88.4	86.2	85.3	97.7	102.0	81.2

2 機器分析

GC/MS を用いて分析を行った。分析条件等を表 4、標準物質のクロマトグラムを図 6 に示す。

表 4 GC/MS 条件

機種	: GC: Agilent 製 6890N, MS: Agilent 製 5975C	
カラム	: HP-5MS (30 m×0.25 mm×0.25 μm (J&W))	
カラム温度	: 70 °C (0.5 分) → 10 °C/分 → 160 °C (0 分) → 8 °C/分 → 210 °C (0 分) → 6 °C/分 → 280 °C (10 分)	
注入口温度	: 270 °C	
注入方法	: スプリットレス(パージ開始時間 2.0 分)	
	注入量	1 μL
キャリアガス	: He(0.9 mL/min)	
イオン源温度	: 250 °C	
イオン化電流	: 40 μA	
イオン化電圧	: 70 eV	
測定モード	: SIM	
モニターイオン	CAT	m/z 201.00 (定量用)
		m/z 186.00 (確認用)
	チオベンカルブ	m/z 100.00 (定量用)
		m/z 72.00 (確認用)
	フェナントレン-d ₁₀	m/z 188.00 (定量用)

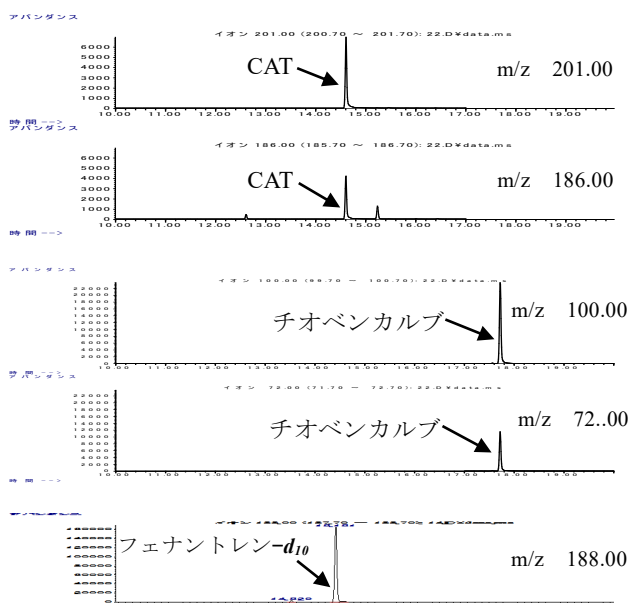


図 6 標準物質のクロマトグラム
(対象物質: 1.0 μg/mL 内標準物質: 0.1 μg/mL)

3 分析法の検出下限値 (MDL) 等

「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 28 年 3 月) に従いそれぞれ算出した。装置検出下限値 (IDL) を表 5、分析法の検出下限値 (MDL) 及び分析法の定量下限値 (MQL) 表 6 お及び表 7 に示す。両物質ともに、環境基準及び水道基準の 1/10 の感度は十分満たしていた。

表 5 IDL

対象物質名	CAT	チオベンカルブ
注入液濃度(μg/mL)	0.05	0.05
装置注入液量 (μL)	1.0	1.0
結果 1 (μg/mL)	0.0414	0.0423
結果 2 (μg/mL)	0.0488	0.0423
結果 3 (μg/mL)	0.0482	0.0455
結果 4 (μg/mL)	0.0482	0.0415
結果 5 (μg/mL)	0.0480	0.0414
結果 6 (μg/mL)	0.0476	0.0410
結果 7 (μg/mL)	0.0474	0.0454
平均値 (μg/mL)	0.0471	0.0428
標準偏差 (μg/mL)	0.0024	0.0018
IDL (μg/mL)*	0.0092	0.0068
CV (%)	5.0	4.1

*: IDL = t (n-1,0.05) × σ_{n-1} × 2

表 6 MQL と MDL (CAT)

物質名	CAT	
試料	センター排水	回収率 (%)
試料量 (L)	0.2	
最終液量(mL)	1.0	
注入液濃度 (μg/mL)	0.05	
装置注入液量 (μL)	1.0	
操作ブランク平均(μg/L)	< 0.146	
無添加平均(μg/L)	< 0.146	
結果 1 (μg/L)	0.0444	(89)
結果 2 (μg/L)	0.0454	(91)
結果 3 (μg/L)	0.0464	(93)
結果 4 (μg/L)	0.0507	(101)
結果 5 (μg/L)	0.0508	(102)
結果 6 (μg/L)	0.0529	(106)
結果 7 (μg/L)	0.0537	(107)
平均値 (μg/L)	0.0492	(98.3)
標準偏差	0.0035	
MDL (μg/L)* ¹	0.0135	
MQL (μg/L)* ²	0.0347	
CV (%)	7.0	

*1: MDL = t (n-1,0.05) × σ_{n-1} × 2

*2: MQL = σ_{n-1} × 10

表 7 MQL と MDL (チオベンカルブ)

物質名	チオベンカルブ	
試料	センター排水	回収率 (%)
試料量 (L)	0.2	
最終液量(mL)	1.0	
注入液濃度 (µg/mL)	0.05	
装置注入液量 (µL)	1.0	
操作ブランク平均(µg/L)	< 0.0069	
無添加平均(µg/L)	< 0.0069	
結果 1 (µg/L)	0.0493	(99)
結果 2 (µg/L)	0.0478	(96)
結果 3 (µg/L)	0.0515	(103)
結果 4 (µg/L)	0.0499	(100)
結果 5 (µg/L)	0.0521	(104)
結果 6 (µg/L)	0.0527	(105)
結果 7 (µg/L)	0.0528	(106)
平均値 (µg/L)	0.0509	(103)
標準偏差	0.0018	
MDL (µg/L)*1	0.0069	
MQL (µg/L)*2	0.0178	
CV (%)	3.5	

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

*2:MQL = $\sigma_{n-1} \times 10$

4 添加回収試験

当所の排水に CAT、チオベンカルブを各 3 µg 添加し回収率の確認を行った。結果を表 8 に示す。回収率はそれぞれ 107%、103%であった。

表 8 添加回収試験結果

試料名	試料量 (L)	添加量 (µg)	検出濃度 (µg/L)	回収率 (%)	変動係数 (%)
シマジン	1.0	無添加	< 0.146	-	
	1.0	3	3.20	107	6.1
チオベンカルブ	1.0	無添加	< 0.054	-	
	1.0	3	3.08	103	6.2

5 分解性スクリーニング試験

pH を 5、7、9 に調製した当所の排水に CAT、チオベンカルブ各 3 µg 添加しメジューム瓶に分注後、4°C の温度条件下で 7 日間保存した。その後、濃度を測定し、調整濃度に対する残存率を求めた。結果を表 9 に示す。

pH7 における 7 日後の残存率が 74.4% まで低下することから、サンプル採取後、7 日以内に分析を行う必要があり、中性で保存しない方が好ましいと考えられた。また、粗抽出液の保存については、両物質とも抽出後 2 週間は安定であったので、サンプル搬入後はできるだけ速やかに抽出操作まで行っておく必要があると考えられた。

表 9 分解性スクリーニング試験結果

物質名	pH	試験数	調整濃度 (µg/L)	7 日後の残存率 (%)
CAT	5	2	3	99.1
	7	2	3	74.4
	9	2	3	92.1
チオベンカルブ	5	2	3	89.8
	7	2	3	82.2
	9	2	3	80.8

6 まとめ

今回確立した分析フローを図 6 に示す。

前処理を溶媒抽出法から固相抽出法に変更することにより、分析に必要なサンプル量が 1/5、使用する溶媒の種類の変更と量を大幅に減らす(前:ジクロロメタン 150 mL、ヘキサン 50 mL →後:アセトン 13 mL) ことにつながり、労働環境を含む環境に負荷の少ない分析法の確立をすることができた。

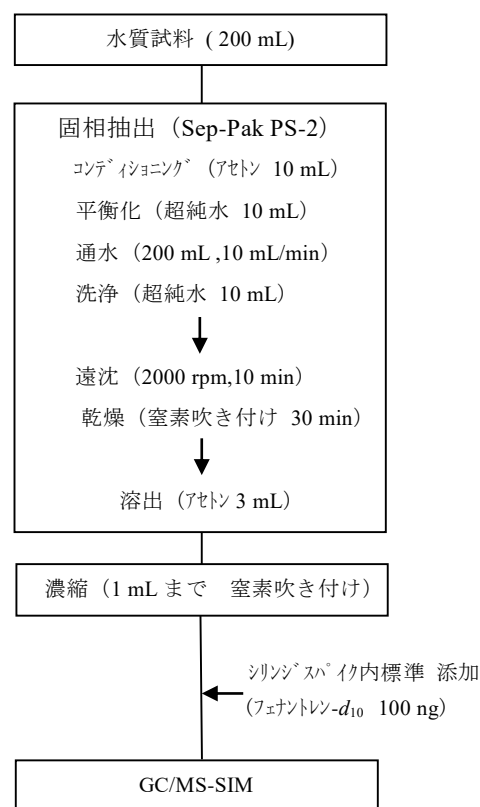


図 6 分析フロー

[参考文献]

1) 化学物質環境実態調査の手引き (平成 27 年度版)