

固相マイクロ抽出 (SPME) / GC-MS 法 を用いた河川水中の農薬の分析

渡辺由香里 小林規矩夫

Determination of Pesticides in River Water Using Solid Phase Microextraction/GC-MS Method

Yukari WATANABE and Kikuo KOBAYASHI

分析法の開発にあたっては、より簡便で、より精度の高い方法が求められるが、それと同時に環境問題に関心が高まっている現在では、分析にともなって発生する溶媒などによる環境汚染への配慮が強く求められている。

農薬の分析においても従来からの溶媒抽出法や固相抽出法は、溶媒の使用量に多少の違いがあるが、前処理の段階で環境中への溶媒放出は避けられず、よりクリーンな検査法が求められている。

数年前に開発された固相マイクロ抽出 (SPME) 法は、溶媒を全く使用しない方法として、また、特別な前処理装置がなくても簡便に水中の微量な有機化合物が分析できることから、多岐にわたり利用¹⁾され始め、農薬の分析にも応用^{2,3)}されている。

我々もこの SPME 法を用いて揮発性成分の分析を検討し、良好な結果を得ている⁴⁾。今回はこの方法を用いてゴルフ場で使用されている農薬を中心に分析を試みた。その結果、本法がスクリーニング法として有用であることが認められたので報告する。

実験方法

1. 試薬

1) 農薬標準品

検討した農薬は 44 成分 (殺菌剤 13, 殺虫剤 17, 除草剤 14 成分) であり、林純薬社製のゴルフ場用農薬混合標準溶液キット (GC-MS 用) A 液 (23 種類混合液) と、和光純薬社製の残留農薬標準品 (21 成分) を標準品として用いた。

2) 農薬標準混合液

林純薬社製のゴルフ場用農薬混合標準溶液キット (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$) は 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ に希釈して使用した (以下 A 混合液と記す)。

和光純薬社製の残留農薬標準品は上水試験方法に記載の調製方法に従って各農薬の標準原液を調製し、それを用いてそれぞれの農薬濃度が 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ になるようアセト

ンを用いて標準混合液を調製した (以下 B 混合液と記す)。

3) 保持指標 (PTRI) 測定用標準液

東京化成社製 n-パラフィン標準液 (炭素数 7~25) を各成分の濃度が 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ になるように n-ヘキサンで希釈した。

4) 内部標準物質

Cambridge Isotope Laboratories 社製のナフタレン-d₈, フルオランテン-d₁₀, フェナントレン-d₁₀ の 3 物質を 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度になるようにアセトンで希釈した。

5) その他の試薬

塩化ナトリウムとアセトンは、残留農薬試験用 (和光純薬社製) を用いた。

2. 器具および装置

固相マイクロ抽出ユニットは手動サンプリング用 SPM Eホルダー (スペルコ社製) に各種固相のファイバーアセンブリー (以下ファイバーと記す) を装着し用いた。検討したファイバーの種類は 65 μm ポリジメチルシロキサン・ジビニルベンゼン (PDMS/DB と略す), 65 μm カーボワックス・ジビニルベンゼン (CW と略す), 100 μm ポリジメチルシロキサン (PDMS と略す), 85 μm ポリアクリレート (PA と略す) の 4 種である。

ガスクロマトグラフ質量分析計 (以下 GC-MS と記す) は、ヒューレットパッカード社製ガスクロマトグラフ 5890 型を装着した質量分析計 (日本電子社製 AX505W 型) を用いた。

3. 測定方法

1) 標準試料の調整

20ml 用のバイアルビンに塩化ナトリウム 5g とマグネットを入れ蒸留水 20ml を加える。これにマイクロシリンジで A または B 混合液を 2.5~40 μl 加え、さらに内標準物質 10 μl とアセトンを計 150 μl となるようにそれぞれに添加し、シリコンセプタムで栓をする。

表1 各ファイバーアセンブリへの吸着率

No.	成分名	GC-MS分析		吸着率(%)			
		測定質量数	ピーク面積	PDMS/DB*	CW*	PDMS*	PA*
1	ペンシクロン	125	14	6.9	10	11	9.5
2	シマジン	201	12	1.9	1.7	0.1	0.7
3	プロピサミド	173	27	6.2	15	2.1	9.5
4	ダイアジノン	179	4.1	5.1	3.4	4.0	3.4
5	クロタロニル	266	110	8.2	0.2	0.2	0.3
6	テルブカルブ	205	58	2.9	1.1	1.1	0.7
7	トリクロホスメチル	265	43	22	19	30	23
8	メトラキシル	206	3.4	0.6	0.1	0.0	0.0
9	フェントロチオン	277	4.1	14	8.3	12	7.9
10	ジチオピル	354	82	6.1	6.0	9.4	10
11	ブタミホス	286	48	3.7	3.0	4.2	3.9
12	クロルピリホス	314	4.8	10	12	18	24
13	ペンディメタリン	252	11	4.4	4.2	4.9	5.0
14	キャプタン	79	5.9	1.9	0.0	0.0	0.0
15	メチルダイムロン	107	19	0.01	0.17	0.20	0.07
16	イソフェンホス	58	10	2.1	1.2	1.1	0.8
17	ナプロパミド	72	20	10	5.0	3.9	0.6
18	イソプロチオラン	118	11	20	16	9.8	6.5
19	フルトラニル	323	9.4	13	13	3.5	5.6
20	イソキサチオン	313	0.9	7.2	3.2	7.4	5.6
21	メプロニル	119	45	20	20	6.2	9.8
22	イプロジオン	314	19	4.1	0.7	0.4	1.1
23	ピリダフェンチオン	340	2.5	10	6.9	6.9	4.5
24	ジクロルボス(DDVP)	109	87	0.5	0.2	0.1	0.2
25	フェノブカルブ(BPMC)	121	120	1.8	1.3	0.7	1.3
26	アトラジン	200	28	3.5	2.6	0.8	2.9
27	イプロベンホス(IPB)	91	23	3.7	2.1	7.0	2.1
28	ピンクロソリン	285	28	18	7.2	17	11
29	エチルチオメトン	64	1.3	13	6.8	12	8.6
30	チオベンカルブ	100	74	4.5	5.2	11	5.2
31	マラチオン	127	25	3.5	1.9	4.5	1.5
32	トリアジメホン	128	13	8.7	2.5	4.2	3.5
33	α -CVP	265	0.2	21	10	36	14
34	β -CVP	267	16	4.2	2.0	4.4	1.7
35	メチダチオン(DMTP)	145	29	2.2	0.7	0.4	0.9
36	CVMP	331	36	2.2	0.7	2.8	0.9
37	シュディロン	93	14	0.0	0.0	0.0	0.0
38	プロチオホス	309	11	0.6	0.6	0.9	0.5
39	プロジアミン	321	1.4	12	16	14	12
40	クロルニトロフェン(CNP)	317	4.1	12	18	14	13
41	プロピコナゾール	69	8.1	8.4	2.6	11	4.7
42	EPN	157	19	7.9	9.2	8.1	6.0
43	ビフェノックス	341	2.8	12	9.1	16	10
44	フェナリモル	219	9.8	7.8	4.6	3.7	4.2

* PDMS/DB: 65 μ m ポリジメチルシロキサン・ジビニルベンゼン

CW: 65 μ m カーボワックス・ジビニルベンゼン

PDMS: 100 μ m ポリジメチルシロキサン

PA: 85 μ m ポリアクリレート

2) SPME法による吸着率の測定方法

ファイバーへの農薬の吸着は、バイアルビンにファイバーを入れ、30℃の水浴中で45分間⁵⁾マグネチックスターラーで攪拌しながら吸着させる。その後ファイバーに付着した塩分を落とすため蒸留水中にファイバーを浸せたのち、ろ紙で水分を除きGC注入口に入れる。ファイバーへ吸着している農薬の熱脱離は5分間行い、GC分離カラムに導入し定量する。

4. GC-MS測定条件

ガスクロマトグラム条件

カラム: Ultra 2 (HP社製 長さ 25m 内径 0.32mm 膜厚 0.17 μ m)

オープン温度: 40℃ (4分間保持) → 160℃ (20℃/分)

昇温速度: 250℃ (5℃/分)

注入口温度: 250℃

表2 添加回収試験結果

No.*	蒸留水			河川水		
	平均値	標準偏差	CV%	平均値	標準偏差	CV%
1	0.0655	0.0094	14	0.0416	0.0042	10
2	0.0139	0.0010	7	0.0115	0.0011	9
3	0.0705	0.0084	11	0.1461	0.0164	11
4	0.0030	0.0002	7	0.0051	0.0007	14
5	0.2729	0.0234	8	0.1887	0.0302	16
6	0.2363	0.0445	18	0.3924	0.0285	7
7	0.2740	0.0123	4	0.4592	0.0249	5
8	0.0007	0.0001	8	—	—	—
9	0.0285	0.0028	9	0.0413	0.0043	10
10	0.2568	0.0187	7	0.2584	0.0156	6
11	0.1073	0.0102	9	0.1376	0.0145	10
12	0.0185	0.0003	1	0.0332	0.0013	3
13	0.0724	0.0031	4	0.0626	0.0046	7
14	0.0106	0.0006	5	0.0091	0.0007	7
15	0.0033	0.0001	2	0.0043	0.0003	6
16	0.0029	0.0006	22	0.0168	0.0008	5
17	0.0233	0.0025	10	0.0166	0.0006	3
18	0.0398	0.0053	13	0.0352	0.0029	8
19	0.0313	0.0057	18	0.0211	0.0015	7
20	0.0017	0.0001	6	0.0011	0.0002	15
21	0.1572	0.0177	11	0.1884	0.0156	8
22	0.0204	0.0032	15	0.0134	0.0015	10
23	0.0034	0.0005	14	0.0044	0.0005	11
24	0.0462	0.0174	37	0.0163	0.0038	23
25	0.3506	0.0537	15	0.2952	0.0886	30
26	0.0924	0.0163	17	0.0685	0.0129	18
27	0.0738	0.0046	6	0.0680	0.0091	13
28	0.2894	0.0106	3	0.2562	0.0053	2
29	0.0112	0.0011	9	0.0104	0.0001	1
30	0.2330	0.0076	3	0.1555	0.0045	2
31	0.0535	0.0140	26	0.0522	0.0069	13
32	0.0487	0.0061	12	0.0541	0.0062	11
33	0.0111	0.0016	14	0.0114	0.0003	3
34	0.0461	0.0052	11	0.0446	0.0024	5
35	0.0135	0.0014	10	0.0242	0.0038	15
36	0.0322	0.0053	16	0.0257	0.0040	15
37	—	—	—	—	—	—
38	0.0107	0.0016	15	0.0090	0.0007	7
39	0.0220	0.0020	9	0.0171	0.0020	11
40	0.0707	0.0069	9	0.0580	0.0055	9
41	0.0100	0.0004	4	0.0100	0.0011	10
42	0.0557	0.0087	15	0.1083	0.0115	10
43	0.0234	0.0029	12	0.0176	0.0011	6
44	0.0315	0.0042	13	0.0417	0.0048	11

* : No.は表1の成分名に対応

表3 検出下限値と PTRI

No.*	RT	PTRI	下限値 (ng/ml)
1	11' 03"	1681	0.1
2	11' 37"	1747	0.08
3	11' 58"	1786	0.06
4	12' 11"	1808	0.1
5	12' 16"	1816	0.03
6	13' 05"	1893	0.1
7	13' 08"	1898	0.05
8	13' 23"	1918	0.4
9	13' 42"	1943	0.05
10	13' 44"	1945	0.06
11	13' 44"	1945	0.02
12	14' 13"	1984	0.02
13	15' 02"	2045	0.1
14	15' 07"	2051	0.5
15	15' 15"	2061	0.2
16	15' 23"	2071	0.2
17	16' 20"	2138	0.1
18	16' 41"	2161	0.05
19	16' 44"	2165	0.08
20	17' 28"	2214	0.2
21	18' 38"	2288	0.07
22	20' 51"	2436	0.1
23	20' 53"	2439	0.1
24	08' 09"	1274	0.09
25	10' 34"	1621	0.03
26	11' 42"	1756	0.04
27	12' 34"	1845	0.03
28	13' 05"	1893	0.02
29	13' 05"	1893	0.1
30	13' 57"	1963	0.05
31	14' 08"	1977	0.1
32	14' 23"	1996	0.1
33	15' 05"	2047	0.1
34	15' 26"	2075	0.07
35	15' 44"	2097	0.3
36	16' 10"	2127	0.09
37	16' 33"	2138	—
38	16' 36"	2156	0.04
39	18' 43"	2293	0.03
40	18' 46"	2297	0.02
41	19' 14"	2328	0.1
42	20' 56"	2442	0.06
43	21' 40"	2491	0.09
44	22' 55"	2641	0.1
内標 ¹⁾	07' 19"	1163	
内標 ²⁾	11' 34"	1741	
内標 ³⁾	14' 52"	2033	

内標¹⁾ : ナフタレン-d₈
 内標²⁾ : フルオランテン-d₁₀
 内標³⁾ : フェナントレン-d₁₀

注入法 : スプリット・スプリットレス法 (ページ開始
時間 3.5 分)

キャリアーガス : ヘリウム (10 psi)

質量分析計条件

インターフェイス温度 : 280°C

イオン化法 : EI 法 (70 eV)

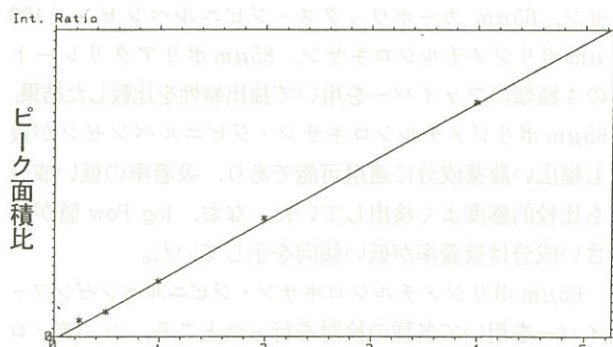
検出法 : SIM 法

測定質量数 (m/z) : 表1に示した。なお, SIM 測定
用パラメーターファイルはA, B各混合液用
の2種類を作成して分析した。

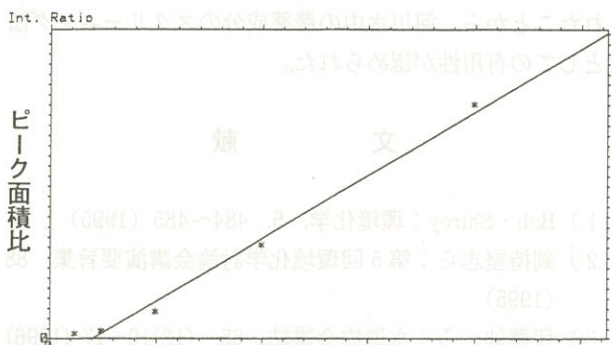
結果と考察

1. ファイバーの選択

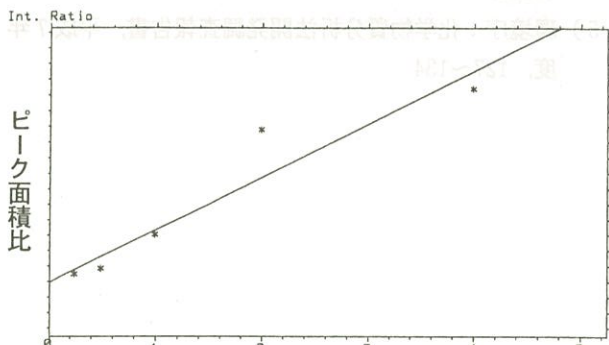
標準試料からのファイバーの抽出特性の比較は, 各ファ
イバーを用いた吸着実験のGC-MS分析で得られたクロ
マトグラムと, A, B各混合液 (濃度 2 μg
/ml) をシリンジを用いて直接ガスクロマトグラムに1



(a) イソプロチオラン 濃度 ng/ml



(b) ダイアジノン 濃度 ng/ml



(c) キャプタン 濃度 ng/ml

図 検量線

μl を注入したときのピーク面積との相対感度で表した。結果を表1に示した。

A, B各混合液を直接ガスクロマトグラフに注入したときの各農薬のピーク面積は、120~0.2の範囲であった。各農薬のGC-MSの感度をみると、分析感度の高い成分はフェノブカルブを最高にクロロタロニル、ジクロロボス、ジチオピル、チオベンカルブ、テルブカルブの順であった。一方、分析感度の低い成分はα-CVPを最低にイソキサチオン、エチルチオメトン、プロジアミン、ピリダフェンチオン、ピフェノックス、メタラキシル、ダイアジノン、フェニトロチオン、クロルニトロフェン、クロルピリホス、キャプタンの順であった。

ファイバー別の各農薬の吸着率は、PDMS/DBでは22

~0.0%、CWでは20~0.0%、PDMSでは36~0.0%、PAでは24~0.0%を示し、ファイバーによる明らかな差はなかった。なお、シュディロンについては上記のファイバーでは測定することができなかった。また、各ファイバーで吸着率が2.0%以下と低い値を示した成分は、log Pow値が2以下で極性を示す物質が多く含まれていた。

各ファイバーの吸着率が0.5%以上を示した成分は、PDMS/DBでは44成分中43成分が(43/44)、CWでは38/44、PDMSでは35/44、PAでは39/44であり、PDM S/DBが最も幅広い農業成分に適用可能であった。このPDMS/DBは他のファイバーと比べてシマジン、テルブカルブ、メタラキシル、キャプタン、イソフェンホス、フェノブカルブ、ジクロロボス、メチダチオン、プロチオホスなどの吸着率の低い成分が比較的感度よく測定可能であったことから、以後PDMS/DBファイバーを用いて検討を行った。

2. 検量線の検討

各農薬濃度が0.25, 0.5, 1, 2, 4 ng/mlの試料(20 ml)に内部標準物質とアセトンを追加し、検量線を作成した。代表的な検量線を図に示した。

(a)にイソプロチオラン、(b)にダイアジノンの検量線を示した。41成分はこれらに類似した検量線を示し、0.25~4 ng/mlの範囲でほぼ良好な直線性が得られ、定量的な取り扱いも可能であった。また、(c)にキャプタンの検量線を示したが、メチルダイムロンも同様な検量線が得られた。

3. 再現性の検討

河川水、排水などの水試料への適用を考え、蒸留水と河川水を用いて再現性を検討した。用いた河川水のBO Dは2 mg/lであった。

蒸留水および河川水それぞれ20 mlに、標準試料と同様にA, B各混合液各10 μl、内部標準物質、アセトンを添加した試料についてSPME法で測定した(n=4)。内部標準物質としてナフタレン-d₈、フルオランテン-d₁₀、フェナントレン-d₁₀の3物質を用いた。その結果を表2に示した。

蒸留水では、各農薬のCV%は1~37%の範囲であった。44成分中CV20%を超えた成分はジクロロボス、マラチオン、イソフェンホスの3成分であった。15%を超えた成分はテルブカルブ、フルトラニル、イプロジオン、フェノブカルブ、アトラジン、CVMP、プロチオホス、E PNの8成分であった。これらの再現性の悪い成分はフルトラニルを除き吸着率が比較的低い成分であった。

一方、河川水では、メタラキシルが測定できなかったがその他の成分のCV%は、1~30%の範囲であった。20%を超えた成分はフェノブカルブ、ジクロロボスであっ

た。なお、河川水と蒸留水を比較すると、河川水でより良好な再現性を示す成分も認められた。この点については今後の検討課題である。

4. 検出下限値

表3に、この測定方法の検出下限値とPTRIを示した。検出下限値は各農薬の濃度が0.25ng/mlの試料のSIMクロマトグラムから、S/N比3を用いて算出した。

検出下限値は0.02~0.5ng/mlの範囲にあり、ゴルフ場使用農薬暫定指導指針値および環境基準の要監視項目の指針値を十分クリアしていた。

また、今回用いたカラム(Ultra 2)でのPTRIは1681~2641であり、各成分の内部標準物質はナフタレン-d₈(PTRI 1274)、フルオランテン-d₁₀(PTRI 1621~1786)、フェナントレン-d₁₀(PTRI 1808~2641)を用いた。SPME法でも直接導入法のPTRIと同様な値を示し、未知成分の同定に有効であると考えられた。

ま と め

固相マイクロ抽出(SPME)/GC-MS法を用いた農薬の分析について検討した。

農薬44成分(殺菌剤13, 殺虫剤17, 除草剤14成分)について65 μ mポリジメチルシロキサン・ジビニルベン

ゼン, 65 μ mカーボワックス・ジビニルベンゼン, 100 μ mポリジメチルシロキサン, 85 μ mポリアクリレート
の4種類のファイバーを用いて抽出特性を比較した結果、65 μ mポリジメチルシロキサン・ジビニルベンゼンが最も幅広い農薬成分に適用可能であり、吸着率の低い成分も比較的感度よく検出していた。なお、log Pow値が小さい成分は吸着率が低い傾向を示していた。

65 μ mポリジメチルシロキサン・ジビニルベンゼンファイバーを用いて各種の検討を行ったところ、シュディロンとメタラキシルを除き42成分の農薬を測定することが可能であった。また、河川水でも良好な再現性が得られたことから、河川水中の農薬成分のスクリーニング法としての有用性が認められた。

文 献

- 1) Bob・Shirey: 環境化学, 5, 484~485 (1995)
- 2) 剣持堅志ら: 第5回環境化学討論会講演要旨集 88 (1995)
- 3) 伊藤伸一ら: 水道協会雑誌, 65, (12)10~17 (1996)
- 4) 渡辺由香里ら: 山梨県衛公研年報, 40, 38~42 (1996)
- 5) 環境庁: 化学物質分析法開発調査報告書, 平成7年度, 127~134