ガスクロマトグラフィー / 質量分析法による 環境試料中の農薬の定量

水野 勝*

愛知県公害調査センター

(〒462 名古屋市北区辻町字流 7-6)

(*現在 愛知県小牧保健所 〒485 小牧市堀の内 3-62)

[平成 3 年 9 月 6 日受理]

Determination of Agrochemicals in Environmental Samples by Gas Chromatography / Mass Spectrometry

Masaru Mizuno*

Aichi Environmental Research Center

(7-6, Tsujimachi, Kita-ku, Nagoya 462)

(*Present address: Aichi Prefectural Komaki Health Center,

3-62, Horinouchi, Komaki 485)

[Received September, 6, 1991]

Summary

An analytical method was studied for the simultaneous determination of 6 major agrochemicals (simazine, atrazine, chlormethoxynil, chloronitrofen, chlorotharonyl and quintozone) in environmental water and sediment samples by gas chromatography / mass spectrometry (GC / MS) equipped with a capillary column. Agrochemicals in water samples were extracted with dichloromethane. The solvent of the extract was converted to hexane after dehydration, and was concentrated to 1 ml. The agrochemicals in the concentrate were determined by GC / MS. In the case of sediment samples, these chemicals were extracted with acetone. The solvent of the acetone extract was converted to dichloromethane and concentrated after dehydration. Furthermore, the dichloromethane of the extracts was converted to hexane once more, and was concentrated. The agrochemicals in the concentrate were cleaned up using a florisil column, and were determined by GC / MS.

The 6 major agrochemicals in environmental samples were able to be determined at the level of ppb by this method. The recoveries of these chemicals in water samples were more than 85%, and those in sediment samples were more than 75% except chlorotharonyl. This analytical method was estimated to be applied of another agrochemicals which contain the similar structure as shown above.

Key Word: agrochemical, environmental sample, gas chromatography / mass spectrometry

1. はじめに

作物や土壌等に散布された農薬の大部分は、降雨等により河川や海、地下水に移動する。その間に、生物や光

等により吸収、分解されるものもある。農薬はその目的から生物活性が高い化合物であり、生態影響の大きいことが考えられ、農薬による環境汚染が懸念されている。

野菜等に残留する農薬や環境中に残存する農薬の測定

法は、現在のところ、ECD、FPD等の選択性のある検出器を用いたガスクロマトグラフィー（GC）法が主流となっている。ガスクロマトグラフィー/質量分析（GC/MS）法は、もっぱら同定に用いられてきたが、最近ではGC/MS法による農薬の測定の実例も見られるようになった。ECD、FPD等の検出器を用いるGC法は、ハロゲンやリン等を含む物質を選択的に高感度に分析できる。GC/MS法ではこれらに比較して感度は劣るものもあるが、ハロゲンやリン等の含有の有無にかかわらず測定が可能であり、環境試料中の多種類の農薬のスクリーニング法、一斉分析法として有用である¹⁻³⁾。

環境試料中の農薬の分析法は、水質試料を対象としたものがほとんどであり、底質試料について検討したものは少ない。ここでは、トリアジン系の除草剤であるシマジン（CAT）、アトラジン、ジフェニル系の除草剤であるクロメトキシニル、クロルニトロフェン（CNP）、クロルベンゼン系の殺菌剤であるクロロタロニル（TPN）、キントゼン（PCNB）の6種類の農薬を対象とし、キャピラリーカラムを用いたGC/MS法による環境試料中の一括分析法を検討した。これらの物質についても、それぞれの物質では水質及び底質試料の分析法を検討したもののみが見られるが⁴⁻⁵⁾、GC/MS法による一括の分析法は検討されていない。そして、環境試料（水質、底質）中に存在するppbレベルのこれらの物質を定量することが可能であり、また、類似した他の農薬の定量にも適用可能と思われる分析法を開発したので報告する。

2. 実験方法

2. 1. 試薬

アトラジンの標準物質は、1 mg/mlのトルエン溶液（ナノゲン社）を使用し、アトラジン以外の標準物質は、残留農薬分析用（和光純薬）を使用した。各物質の性状をTable 1に示す。アトラジン以外は、標準物質25mgを量り取り、アセトン50mlを加えて溶解し、500 µg/mlの標準原液を作製し、ヘキサンを用いて0.1 ~ 2.0 µg/mlの標準液に希釈した。アトラジンの標準液は1 mg/mlのトルエン溶液をヘキサンで希釈して用いた。また、

内標準物質としてフロオランテン d-10（アルドリッチ社）を使用した。

実験に用いたすべての各種有機溶媒及び無水硫酸ナトリウムは、和光純薬製残留農薬分析用を使用した。

フロリジルカラムは、フロリジル（メルク製、60 ~ 80mesh）を130℃で15時間活性化し、デシケーターで放冷し、8 gを直径1 cm長さ30cmのカラムにヘキサンで充填したものを使用した。シルカゲルカラムは、シルカゲル（Kieselgel 60、70 ~ 230mesh）を130℃で4時間活性化し、デシケーターで放冷し、3 gを直径1 cm長さ30cmのカラムにヘキサンで充填したものを使用した。セップバックカラムは、C18、フロリジル、シルカゲル、中性アルミナの4種（ウォーターズ社製）を用いた。

2. 2. 装置

使用したGC/MSは、日本電子製JMS-DX303質量分析計にHP社製5890J型ガスクロマトグラフを装備したものである。Table 2に測定条件を示す。

2. 3. 分析法

1) 水質試料

試料1 ℓを分液ロートに取り、塩化ナトリウム50g、ジクロロメタン100ml及びアセトン20mlを加えて、5分間振とう抽出し、ジクロロメタン層を分取する。再度、ジクロロメタン50mlを加えて、同様の抽出操作を繰り返す。ジクロロメタン層を合わせ、無水硫酸ナトリウムで脱水し、ロータリーエバポレーターを用いて濃縮後、さらにヘキサン50mlを加えて、数mlまで濃縮する。窒素ガスを吹付けて1 ml以下とし、フルオランテン d-10 (10mg/l)を10 µl添加し、正確に1 mlとして、測定用試料液とする。

2) 底質試料

試料20gをコニカルビーカーに取り、アセトン50mlを加えて、マグネチックスターラーで10分間かくはん抽出を行った後、遠心分離（2500rpm、10分）を行い、アセトン層を分離する。再度、アセトン50mlを加えて同様

Table 1 Property of agrochemicals

	Formula	M.W.	M.P. (℃)	B.P. (℃)	log Pow	Solubility in Water(g/l)
Simazine	C ₇ H ₁₂ ClN ₅	201.666	226	*686.5	2.18	0.0035
Atrazine	C ₈ H ₁₄ ClN ₅	215.692	174	*593.6	2.69	0.070
Chlormethoxynil	C ₁₃ H ₉ Cl ₂ NO ₄	314.112	113.5	—	2.07	0.0003
Chloronitrofen	C ₁₂ H ₆ Cl ₃ NO ₃	318.528	107	—	1.90	0.00025
Chlorotharonyl	C ₈ Cl ₄ N ₂	265.89	250.5	350	3.83	0.0006
Quintozene	C ₆ Cl ₅ NO ₂	295.32	144	328	5.42	*0.000154

*Estimated value

Table 2 Operating conditions for gas chromatography / mass spectrometry (GC / MS)

GC	Column: Ultra 2 (capillary column, crosslinked 5% Phenyl Methyl Silicone (0.32mm×25m×0.52 μm))			
	Column temp.: 50°C (1 min) — (20°C / min) — 280°C (10min)			
	Carrier: He (8 psi, 23cm / sec)			
	Injection mode: Splitless (purge off: 0.5min)			
	Injection temp.: 250°C			
MS	Seperator temp.: 250°C			
	Ionization voltage: 70eV			
	Ionization current: 300 μA			
	Ion source temp.: 250°C			
	Monitoring ion: Simazine	186(201)	Atrazine	215(200)
	Chlormethoxynil	313(266)	Chloronitrofen	317(319)
	Chlorotharonyl	266(264)	Quintozene	249(295)
	Internal standard(Fluoranthene d-10)			212

Fig. 1. Typical selected ion chromatogram of standard compound

の操作を行う。アセトン層を合わせて、5%塩化ナトリウム溶液400mlを入れた分液ロートにいれ、ジクロロメタン100mlを加えて、5分間振とう抽出し、ジクロロメタン層を分取する。再度、ジクロロメタン50mlを加えて、同様の抽出操作を繰り返す。ジクロロメタン層を合わせ、無水硫酸ナトリウムで脱水し、ロータリーエバポレーターを用いて濃縮し、さらにヘキサン50mlを加えて、約1mlまで濃縮する。これをフロリジルカラムに添加し、ヘキサン120mlを流下し、これを捨てる。次に15%アセトン含有ヘキサン50mlを流下させて溶出させ、これを集め、ロータリーエバポレーターを用いて数mlまで濃縮し、窒素ガスを吹きつけて1ml以下とし、フルオランテン d-10(10mg/l)を10 μl添加し、正確に1mlとして、測定用試料液とする。

3. 結果と考察

3. 1. 標準物質のSIMクロマトグラム

表2に示した条件で測定した各標準物質の選択イオン

クロマトグラム (SIM) を Fig. 1 に示す。リテンションタイムは6物質とも15分以内であった。しかし、シマジン、アトラジンのリテンションタイムが接近していた。最も感度のよいフラグメントイオンは、シマジンの201、アトラジンの200であるが、201のフラグメントではアトラジンもピークを示し、200のフラグメントではシマジンもピークを示し、カラムの劣化等により分離が不十分になることが考えられる。昇温速度を遅くして分離をよくすることも考えられるが、測定時間が長くなる。そこで、感度が60~70%程度になるが、それぞれのピークのほとんどない次に感度のよいフラグメントイオンで測定することとした。また、各物質とも測定の際に妨害物質の影響があった場合には、Table 2に示した他のフラグメントイオンで測定し、検出された場合には同様に他のフラグメントイオンで測定して確認する。

3. 2. 検量線

標準液を2 μl注入し、各物質のピーク面積と内標準

物質のピーク面積の比から検量線を作成した。Fig. 2 に各物質の検量線を示す。

クロメトキシニル及びクロロニトロフェンの検量線は、この濃度範囲ではかなり直線に近かったが、直線ではなかった。カラムをウルトラ1やDB-1に変えても、これらの物質の検量線は同様であり、内径を0.52 μ mのものに変えたり、長さを10mのものに変えても、同様であった。検量線が直線にならなかった一因として、これらの物質のカラムへの吸着やインジェクション部の汚れが考えられるが、詳細ははっきりしなかった。

シマジン、アトラジン、クロロタロニルは、0.1ng、クロロニトロフェン、クロメトキシニル、キントゼンは0.2ngまで十分検出が可能であった。しかし、クロロニトロフェン、クロロタロニル等ではECD-GC法の方が感度はよかった。

3. 3. 水質試料の抽出溶媒

水質試料の抽出溶媒として、ヘキサン、ベンゼン、酢

Fig. 2. Calibration curve for agrochemicals (○ Chlorotharonyl ● Atrazine △ Simazine ▲ Quintozene ◇ Chloronitrofen ◆ Chlormethoxylinl)

Fig. 3. Elution patterns of agrochemicals from florisisil column

酸エチル、ジクロロメタンについて検討した。ヘキサンでは、シマジン、アトラジンの抽出率が、30%以下であったが、他の物質は90%以上であった。検討した他の溶媒では各物質とも抽出率は90%以上であった。取扱い等を考慮し、水質試料の抽出溶媒はジクロロメタンとした。

3. 4. カラムクロマト処理

妨害物質を除去方法として、フロリジルカラム処理を検討した。フロリジルカラムに試料を添加し、ヘキサン120mlを流下して妨害物質を除去し、15%アセトン含有ヘキサンで目的物質を溶出することとした。各物質の溶出パターンをFig. 3に示す。分画は10mlずつ行なった。

各物質ともヘキサンの流下では溶出せず、15%アセトン含有ヘキサンの流下により、40mlで6物質が溶出した。しかし、15%アセトン含有ヘキサンの代わりに5%アセトン含有ヘキサンを用いた場合は、200mlでもシマジンが溶離してこなかった。

フロリジルは量が少なかったり、活性化が不十分であったり、長く保存したものをを用いると、ヘキサンを流下した時にキントゼンが溶出してくることがあった。また、ジクロロメタンの溶液を用いると、ヘキサン120mlを流下した時にキントゼンが溶出した。このため、カラム処理を行う場合は、ヘキサンに転溶する必要がある。

また、実際に底質試料でこのカラム処理を行うと、15%アセトン含有ヘキサンでの流下で褐色の物質も一部溶出した。これらの物質は、GC/MSの測定ではほとんど妨害とならなかった。しかし、ECD-GCの測定では妨害の可能性が示唆されるため、これらの物質を一括で測定するのではなく、さらにいくつかのグループにわけて前処理を検討する必要があると思われる。

5%含水フロリジル及びシルカゲルカラムについても検討した。それぞれのカラムでは、キントゼンがヘキサン50ml以内の流下で溶出し、妨害物質の除去が不十分

と考えたため、これらによる処理は用いなかった。なお、最も溶出が遅いシマジンは、5%アセトン含有ヘキサンが100ml~130ml必要であった。

3. 5. セットバックカラム処理

フロリジルカラム処理では、褐色の物質の一部が溶出した。GC/MSの測定ではほとんど妨害とならなかったが、カラムや装置の汚染が懸念されるので、褐色の物質を除去するために、簡便なセットバックカラム処理の検討を行った。

C18のセットバックカラムでは、ヘキサン溶液の試料をとおり、セットバックカラムに妨害物質のみを保持させ、目的物質はヘキサン10mlで溶出する方法を検討した。褐色の物質の一部が除去され、シマジン以外の物質は回収率は90%以上であったが、シマジンの回収率は約50%であった。10%アセトン含有ヘキサン10mlによる溶出では、シマジンの回収率は90%以上であったが、褐色の物質もほとんど溶出した。

シルカゲル、フロリジルのセットバックカラムでは、キントゼン以外はヘキサン10mlで溶離せず、溶離には10%アセトン含有ヘキサン10mlが必要であり、この場合、褐色の物質は同時にほとんど溶出した。また、中性アルミナでは、10%アセトン含有ヘキサンの溶離でもシマジン等の回収率が低かった。いずれのセットバックカラムでも褐色の物質のみをうまく処理できなかった。

3. 6. 添加回収実験

各物質を水質試料（河川水及び海水）では、1 lに1.25~3.75 μg 、底質試料では、20gに0.5~1.5 μg を添加し、2. 3.に示した方法に従って添加回収実験を行っ

た。底質試料は、一夜冷蔵庫で放置後、処理した。結果をTable 3に示す。また、水質試料（河川水）及び底質試料のSIMのクロマトグラムをFig. 4に示す。

水質試料では、各物質ともC.V. が10%以下であり、回収率は85%以上であった。クロロタロニル以外の底質試料では、C.V. が15%以下であり、回収率は70%以上であった。底質試料のクロロタロニルは、回収率が20%以下であった。

水質試料のSIMクロマトグラムは、他のピークはほとんどなかった。しかし、底質試料では他のピークがいくつかあったが、妨害とはならなかった。

3. 7. 底質試料のクロロタロニルの抽出法の検討

底質試料のクロロタロニルの添加回収率が20%以下と低かったため、さらに検討を行った。

底質20gをアセトンで抽出した溶液100mlにクロロタロニルを0.5 μg を添加して、2. 3.に示した方法に従って回収率を求めると、75%以上であった。また、底質20gにクロロタロニル0.5 μg を添加して、数分以内にアセトンで抽出等の処理開始し、同様に処理して回収率を求めると、25%以下であった。これらから、底質からの抽出法を検討する必要があると考えられた。そこで、抽出溶媒をアセトニトリルに変えたり、抽出方法を超音波処理法に変えて、回収率を求めたが、改善されなかった。

抽出溶媒をアセトンの代わりに1 N塩酸メタノール（水の代わりにメタノールで1 N塩酸を作製したもの）とし、底質20gにクロロタロニル0.5 μg を添加して、数分以内に抽出等の処理を開始し、処理して回収率を求めると、62~90%であった。また、底質20gの1 N塩酸メタノール抽出液100mlにクロロタロニル0.5 μg を添加

Table 3 Recovery of agrochemicals from environmental samples.

	Simazine			Atrazine		
	added	recovery(%)	C.V.(%)	added	recovery(%)	C.V.(%)
River water(1 l)	1.25 μg	92.7	7.1	1.25 μg	100	7.1
Seawater(1 l)	1.25 μg	86.7	3.3	1.25 μg	88.9	3.4
Sediment(20g)	0.5 μg	83.2	13.1	0.5 μg	89.3	9.7
	Chlormethoxynil			Chloronitrofen		
	added	recovery(%)	C.V.(%)	added	recovery(%)	C.V.(%)
River water(1 l)	2.5 μg	98.5	7.9	2.5 μg	90.5	5.8
Seawater(1 l)	2.5 μg	91.4	5.8	2.5 μg	101	3.5
Sediment(20g)	1.0 μg	85.0	8.2	1.0 μg	88.4	8.8
	Chlorotharonyl			Quintozene		
	added	recovery(%)	C.V.(%)	added	recovery(%)	C.V.(%)
River water(1 l)	1.25 μg	94.4	1.7	3.75 μg	92.3	2.0
Seawater(1 l)	1.25 μg	88.1	6.6	3.75 μg	100	6.8
Sediment(20g)	0.5 μg	<20	—	1.5 μg	72.1	7.0

Fig. 4. Typical selected ion chromatogram of environmental samples spiked standard compound.

し、同様に処理して回収率を求めると、ほぼ100%であった。しかし、この溶媒を用いた場合のシマジンの回収率は、アセトンを用いた場合に比べて減少した。また、SIMのクロマトグラムは、アセトン抽出溶媒に用いたものに比べて他の物質のピークが多かった。

底質20gにクロロタロニル0.5 μ gを添加して、一夜放置し、1 N 塩酸メタノールで抽出して回収率を求めると38%であった。クロロタロニルの添加量を1.5 μ g、10.5 μ gと増加した場合の回収率は18~24、26~32%であった。分解の可能性も考えられた。また、底質20gにクロロタロニル0.5 μ gを添加して、一夜放置し、1 N 塩酸メタノールとアセトンの混合液(1:1)を抽出溶媒として、回収率を求めると38%であった。ここで検討したいずれの方法でも底質試料のクロロタロニルの添加回収率は、十分改善されず、さらに検討が必要であった。

以上のことから、本法は底質試料中のクロロタロニルを除いて、環境試料中のシマジン等の6種類の農薬をGC/MSでppbレベルで一括定量できた。回収率は水質試料で85%以上であり、底質試料ではクロロタロニルを除いて70%以上であった。底質試料中のクロロタロニル測定方法についてはさらに検討が必要であった。また、この方法は他の類似した構造の農薬の分析にも適用できると推定された。

(本研究は、前所属である公害調査センターで平成2年度環境庁公害防止等調査研究委託費による化学物質分析法開発調査で行ったものである。)

要 約

環境試料(水質、底質)中のシマジン、クロロタロニル

フェン、クロロタロニル等の6種類の農薬について、キャピラリーカラムを用いたGC/MS法による一括の分析法の検討を行った。水質試料はジクロロメタンで抽出し、脱水濃縮後、ヘキサンに転溶して測定した。底質試料はアセトンで抽出し、ジクロロメタンに転溶後、さらにヘキサンに転溶し、これをフロリジルカラム処理し、濃縮して測定した。

本法では環境試料中のppbレベルのこれらの物質を定量することができ、添加回収率は水質試料で85%以上、底質試料でクロロタロニルを除いて70%以上であった。この測定方法は、他の類似した構造の農薬の分析にも適用できると考えられた。

文 献

- 1) 森本美鈴, 内村 豊, 原口公男, 篠原亮太: GC/MSを用いた水中の有害化学物質のスクリーニング法, 水質汚濁研究, Vol.13, 311-319 (1990)
- 2) 奥村為男, 今村 清: キャピラリー・GC/MSによる農薬の一斉分析について, 水質汚濁研究, Vol.14, 109-122 (1991)
- 3) 尾崎邦雄, 富永泰子, 黒埼裕人: 河川水中及び底質中の農薬の微量分析, 新潟県公害研究所研究報告, Vol.10, 12-18 (1985)
- 4) 玉川勝美, 大金由夫, 加藤 恵, 三島靖子, 関 敏彦, 角田 行: SEP-PAK カートリッジによるジフェニルエーテル系除草剤の簡易分析法, 衛生化学, Vol.32, 153-158 (1986)
- 5) 昭和57年度化学物質分析法開発調査結果報告書(環境庁環境保健部保健調査室)