水中のアセフェートのガスクロマト グラフィー質量分析法による定量

奥村 為男

大阪府公害監視センター

(〒537 大阪市東成区中道1-3-62)

[平成4年1月13日受理]

GC / MS Determination of Acephate in Water.

Tameo OKUMURA

Environmental Pollution Control Center, Osaka Prefecture

(1-3-62 Nakamichi, Higashinari-ku, Osaka 537)

[Received January, 13, 1992]

Summary

A method is described for the determination of acephate in water sample. The water sample was evaporated to dryness. After addition of unhydrous sodium sulfate, acephate was extracted with dichloromethane from the residue. The dichloromethane extract was concentrated in a Kuderna-Danish apparatus to 3-5ml and continue evaporation to 0.5ml under a nitrogen stream. Acenaphthene- d_{10} (0.5ml of 1.0ppm dichloromethane solution) as internal standard and acetic acid (50%) were added and determined by capillary gas chromatography-selected-ion monitoring (GC-SIM). As the addition of acetic acid was effective to prevent adsorption of acephate to injection port, high respons and low relative standard deviation were obtained. In addition, as acephate was very sensitive to column condition, the peak extremely tailed under inferior column condition. The recoveries and relative standard deviation in parenthesis for distilled water and river water were 91.8% (3.2%) and 96.4% (5.0%), respectively. However, acephate was not recovered from tap water, since it was decomposed by residual chlorine. In this method, the detection limit of acephate was 0.5ng.

Key Words: acephate, water, gas chromatography / mass spectrometry, selected-ion-monitoring.

1. はじめに

最近、ゴルフ場等の農用地以外での農薬散布による環境や飲料水汚染が社会問題となっており、環境庁及び厚生省が排水口と飲料水源での暫定指導基準を設定したところである。これを受けて、各地方公共団体の試験研究機関においても農薬の分析法が検討されている。著者は、先にキャピラリー・GC/MSによる農薬の一斉分析について報告した¹⁾。しかし、数多く存在する農薬の中には、一斉分析に組み込むのが困難なものも存在し、これらのものはやむを得ず、個別分析に頼らざるを得ない。

アセフェート (O, S-dimethyl N-acetylphosphoramidothioate, 商品名オルトラン) は有機りん系殺虫剤で、野菜や果樹等を対象とし、広範囲な害虫に対して使用されている。ゴルフ場においても使用されているが、環境庁及び厚生省が提示した30種の農薬には含まれていない。しかし、大阪府ではゴルフ場での農薬使用実態調査結果から、いわゆる“横だし”としてアセフェートを規制対象農薬としている²⁾。このため、当公害監視センターに対して、アセフェートの分析に関する問い合わせが数件あった。その内容を整理すると、問題点は次の3点に要約された。1. ピークが出ない。2. ピークは出るが、変

動が大きく、良好な検量線が得られない。3. 水中から有機溶媒による抽出が出来ない。以上の問題点の存在が指摘された。アセフェートの分析については殆ど報告例が無い。僅かに、J.B.Leary が穀類中のアセフェートを、充填剤として Reoplex を使用し、アルカリ炎イオン化検出器で分析する方法を報告している³⁾。また、後藤と加藤が Leary の方法を若干改良した方法を記載している⁴⁾。しかし、前記のような問題点が解決されないので、これらを踏まえて水中のアセフェートの分析法を検討し良好な結果が得られたので報告する。

2. 実験方法

2.1 試 薬

アセフェート：和光純薬工業（株）、アセナフテン-d₁₀：MSD Isotopes 社製、ジクロロメタン、アセトン、ベンゼン、ヘキサン、酢酸エチル、無水硫酸ナトリウム：和光純薬工業（株）残留農薬試験用、酢酸：和光純薬工業（株）試薬特級

2.2 装 置

ガスクロマトグラフ（GC）：ヒューレットパッカード社製 5790。質量分析計（MS）：日本電子社製 JEOL JMS-DX 303 データ処理装置：日本電子社製 DA-5000

GC/MS の測定条件を Table 1 に示した。

2.3 標準液注入による相対感度の測定と酢酸添加効果

アセフェート 5.0ppm、内標準アセナフテン-d₁₀ 0.5ppm の混合標準液をヘキサン、ベンゼン、ジクロロメタン、アセトン、酢酸エチルを用いて調製した。更に、これらの標準混合液に 1 及び 5 % になる様酢酸を添加したものを別に調製した。それぞれの標準液 3 μ l を各 5 回 GC/MS に注入して得られた相対感度（ピーク面積比 RF）の平均値と相対標準偏差（RSD）を求めた。

2.4 GC 注入口温度の影響

GC の注入口温度を 150, 200, 250, 300℃ にし、アセフェート 5.0ppm、アセナフテン-d₁₀ 0.5ppm、酢酸 5 % を含有するジクロロメタン溶液 3 μ l を各 5 回注入したときの RF と RSD を求めた。

2.5 乾固時の回収率に及ぼす乾固時間と湯浴温度の影響

アセフェート 10.0ppm ジクロロメタン標準液 0.5ml を 11 容丸底フラスコに入れ、アスピレーター減圧下ロータリーエバポレーターで 5, 10, 20 分間吸引した時のアセフェート残存量を求めた。なお、湯浴の温度は 50 $\pm$ 5℃ 及び 85 $\pm$ 5℃ とした。

Table 1 Operating conditions of GC/MS.

Gas chromatograph: HP 5790 (Hewlett-Packard)	
Column:	DB-17; Crosslinked 5% phenyl methyl silicone (30m x 0.53mm I.D. 1.0 micron film)
Temperature:	Column; 180°C Injection port; 250°C Interface; 250°C
Carrier gas:	He (20ml min ⁻¹)
Mass spectrometer: JEOL JMS-DX303/JMA-DA5000	
	Ionization energy; 70eV
	Ionization current; 300 μ A
	Accelerate voltage; 3kv
	Monitor ion; acephate (94, 136) acenaphthene-d ₁₀ (164)

2. 6 検量線

アセフェート10ppmジクロロメタン溶液0.1~0.5mlを段階的にとり、これにアセナフテン-d₁₀の1.0ppmジクロロメタン溶液0.5mlを加え、ジクロロメタンで1.0mlとした。さらに、これに酢酸0.05mlを添加し、その3 μ lをGC/MSに注入し、内標準との面積比から検量線を作成した。

2. 7 添加回収実験

蒸留水、河川水及び水道水500mlにアセフェートの10ppmアセトン溶液0.2及び0.5mlを添加し、11丸底フラスコに入れ、アスピレーター減圧ロータリーエバポレーターで濃縮した。ほぼ乾固した時点で、無水硫酸ナトリウム15gを入れ、ジクロロメタン30mlで内容物を洗いだした。容器はさらにジクロロメタン5mlずつで2回洗い、先のジクロロメタン溶液に加えた。このようにして得られたジクロロメタン溶液はKD濃縮器（常圧濃縮）で5ml程度まで濃縮し、さらにチッソ気流下で0.5mlまで濃縮し、アセナフテン-d₁₀の1.0ppmジクロロメタン溶液0.5ml、酢酸0.05mlを加え、その3 μ lをGC/MSに注入し、内標準法により定量した。

2. 8 試料水保存の検討

河川水500mlにアセフェート5 μ g（10ppm/アセトン溶液0.5ml）を添加し、冷暗所（冷蔵庫内）及び実験室内に3及び7日間保存した時の残存率を求めた。

3. 結果及び考察

3. 1 カラムコンディションとピーク形状

アセフェート5ppm、内標準アセナフテン-d₁₀ 0.5ppm、酢酸5%を含有するジクロロメタン溶液3 μ lを注入した時のSIMクロマトグラムをFig. 1に示した。上図はカラムが正常な場合で、アセフェート及び内標準の良好なピークが得られている。一方、下図はカラムが劣化している場合で、内標準のアセナフテン-d₁₀については正常なピークが得られているにも拘らず、アセフェートは著しくテーリングをしており、殆どピークとなっていない。このことは、アセフェートが極めてカラムコンディ

Fig. 1 GC/MS (SIM) chromatogram of acephate and acenaphthene-d₁₀
(A) In case ability of column is favorable
(B) In case ability of column grew worse

ションに対して鋭敏であるかを示すものである。ピークが出ないという問題はカラムの劣化が原因と考えられた。

3. 2 酢酸添加効果

2. 3に示した各種の溶媒で調製した標準液とそれぞれに酢酸を含有させたものを注入した場合の相対感度の平均値と相対感度のRSDをTable 2に示した。酢酸が存在しない場合はRSDが大きく、このような状況では検量線の直線性は不良であった。なお、RFのRSDが大きくなったのは全てアセフェートの応答値の変動によるもので、内標準のピーク面積は殆ど変動しなかった。一方、酢酸を含有させるとRSDが著しく小さくなり、また、RFも大きくなることが分かった。これらの現象は、アセフェートのジクロロメタン溶液を注入後、5%酢酸含

Table 2 The effect of acetic acid added to standard solution on RF and RSD

added AcOH (%)	(N=5)					
	0		1		5	
Solution	RF	RSD(%)	RF	RSD(%)	RF	RSD(%)
Hexane	0.669	49.5	1.287	7.3	1.205	10.3
Benzene	1.160	21.6	1.272	2.2	1.269	4.8
Dichloromethane	0.815	13.5	1.390	0.6	1.517	6.6
Acetone	0.821	16.4	1.309	3.8	1.334	6.2
Ethyl acetate	0.860	11.8	1.231	2.4	1.205	2.5

有ジクロロメタン（アセフェートを含有しない）を注入するとアセフェートのピークが出現することから、アセフェートが注入口に吸着することが原因であることを明らかに出来た。僅かの酢酸を共存させることにより、アセフェートのGC注入口への吸着を防止でき、応答値を増加させ、RSDを小さくすることが出来た。このことから、標準液及び試料液に5%酢酸を添加し、GCに注入することとした。

3.3 注入口温度の影響

市販のアセフェート標準試薬の添付書に、アセフェートが熱的に不安定であり、熱分解のためピークが出なかったり、変動する由の記載があるので、GC注入口の温度の影響について検討した結果をTable 3に示した。注入口温度の上昇に伴ってRFも増加することが分かった。このことは、アセフェートが熱分解せず、むしろ温度の上昇により注入口への吸着が減少しRFが増加したものと考えられる。従って、注入口の温度は高い方が良いが、300℃では注入口のセプタムの損傷が認められたので、注入口温度は250℃とした。

3.4 回収率へ及ぼす乾固時間の影響

水中のアセフェートをジクロロメタン、酢酸エチル等の溶媒で抽出する場合について検討したが、殆ど抽出出来なかった。ただ、硫酸アンモニウムを飽和（約70%）させ、ジクロロメタンで抽出するとほぼ定量的に抽出出来た。しかし、この方法は大量の硫酸アンモニウムを添加するため、試薬からの有機物の混入が著しいこと、さらに廃液の処理という難点があった。また、ODS-C₁₈カー

トリッジカラムによる液固抽出も検討したが、殆ど捕集出来なかった。そこで、水を直接アスピレーター減圧ロータリーエバポレーターで濃縮乾固することとし、乾固時の損失について検討した結果をTable 4に示した。湯浴温度が50±5℃の場合には乾固時間が20分間続いても揮散による回収率の低下は無かった。一方、湯浴温度が85±5℃の場合では乾固時間の経過とともに緩やかな回収率の低下が認められた。しかし、乾固時間が5分以内では殆ど揮散がないこと、及び、実試料では共存物質により揮散が抑制されることが期待されること、また、濃縮時間を短縮するという点から濃縮時の湯浴温度を85±5℃とした。

3.5 検量線

検量線の例をFig. 2に示した。3.2で述べたように、標準液に酢酸を添加することにより、ほぼ原点を通る良

Fig. 2 Calibration curve for acephate

Table 3 The effect of injection temperature on RF and RSD

Temp. °C	(N=5)	
	RF	RSD(%)
150	1.509	4.1
200	1.627	5.6
250	1.759	4.9
300	2.251	3.5

Table 4 The effect of temperature and time on recoveries after dryness by rotary evaporation

Temp. °C	time (min)	Recovery %
50±5	0	105
	5	102
	10	111
	20	102
85±5	5	109
	10	86
	20	68

Table 5 Recovery of acephate from water samples

Sample	added (μ g)	(N=5)	
		Rec. (%)	RSD (%)
distilled water	2	91.8	3.2
river water	2	96.4	5.0
tap water	5	0	-

Fig. 3 SIM chromatogram of acephate in waste water from golf link

好な検量線が得られた。

3. 6 添加回収実験結果

アセフェートを蒸留水、河川水及び水道水に添加し、2. 6 に従って分析した時の回収率及びRSDをTable 5に示した。その結果、回収率が蒸留水で91.8%、河川水で96.4%、また、RSDはそれぞれ3.2%及び5.0%と良好であった。しかし、水道水に添加した場合はまったく回収されなかった。これはアセフェートが残留塩素により分解するためと推察される。なお、本条件で500mlの水試料を濃縮乾固するのに要する時間は約30分であった。検出限界は0.5ng (S/N=3) であった。

3. 7 分析例

本法によるゴルフ場排水の分析例をFig. 3に示した。本分析操作にはクリンアップ操作は無いが、妨害も無く良好な結果が得られた。

3. 8 試料水の保存

河川水に添加した試料を冷蔵所及び実験室内に3及び7日間保存した場合の残存率をTable 6に示した。いずれの場合も減少は認められず、1週間程度の保存では安定であった。

Table 6 Recoveries of acephate in river water stored

Storage(day)	Recovery (%)
3 a)	90.3
7 a)	107.5
3 b)	104.1
7 b)	97.5

a) in a refrigerator

b) in a laboratory

4. まとめ

水中のアセフェートの分析について検討した。特に、ピークテーリング、応答値の変動及び水中からの濃縮法に重点を置いて検討した。

アセフェートはカラムコンディションによりピークが著しくテーリングを起こすことがあり、場合によっては殆どピークが出ないことがあった。また、GC注入口に吸着を起こすため、応答値の変動が大きかった。これに対しては、微量の酢酸を添加することにより吸着を防止でき、安定した応答値を得ることが出来た。水試料から有機溶媒による液液抽出やODS-C₁₈カートリッジカラムによる液固抽出は出来なかった。水を直接ロータリーエバポレーターで濃縮乾固する方法が良好であり、湯浴の温度は可能な限り高くしても揮散による損失は無かった。本法により水中のppbレベルのアセフェートを分析出来た。

文 献

- 1) 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)
- 2) 大阪府ゴルフ場農薬適正使用等指導要綱, 平成2年7月1日施行。
- 3) Leary J.B.: Gas-liquid chromatographic determination of acephate and ortho 9006 residues in crops., J. Assoc. Offic. Anal. Chem., Vol. 57, 189-191, (1974)
- 4) 後藤真康, 加藤誠哉: 残留農薬分析法, ソフトサイエンス社 (昭和55年)