

【調査研究】

環境中微量有害化学物質の分析，検索技術の開発に関する研究 —GC/MSによる農薬の多成分同時分析法の検討—

浦山豊弘，劔持堅志，藤原博一，杉山広和，鷹野 洋（水質第二科）

要 旨

魚のへい死事故等に多成分同時分析している農薬数を従来の92から104に増やすと共に，それらについて，Gel Permeation Chromatography（GPC）及びメタノール/ヘキサン分配，シリカゲルカラム等を組み合わせたクリーンアップ法における基礎的検討を行った。

【キーワード：農薬，多成分分析，GC/MS，GPC，環境試料】

1 はじめに

魚のへい死事故等では，多成分を迅速に分析することが求められる。

原因物質の調査では，予め確立した分析法を用いた分析と未知物質の検出・同定を行う場合が多いが，未知物質の検出と同定は困難な場合が多いことから，事前に同時分析できる農薬数をできるだけ増やしておく必要があり，検討対象物質数を従来の92から104に増加させた。

また，複雑なマトリックスを含む試料では妨害成分を分離する必要があり，効率的な分析を行うには，あらかじめ基礎的挙動と効果的なクリーンアップ法を検討しておく必要がある。

このため，104成分の農薬を対象に，前報で報告したピリダフェンチオンの分析法¹⁻³⁾を基礎に，メタノール/ヘキサン分配，グラファイトカーボンカラム，GPC及びシリカゲルカラムのクリーンアップ法における挙動を検討し，環境試料（水質及び底質）中の農薬を高感度に同時分析するための基礎的検討を行ったので報告する。

2 実験方法

2.1 対象農薬

環境基準項目，要監視項目，ゴルフ場農薬，水道法の水質管理目標設定項目，その関連物質及びLC/MS項目のうちGC/MSで分析可能な項目，排水基準，農薬登録保留基準，環境ホルモン作用疑われている物質の一覧であるSPEED'98等から，表1に示す計104物

質を選定して検討を行った。

2.2 GC/MSの測定条件

GC/MSの測定条件を下記に示す。

使用機種：JEOL Automass sun

使用カラム：キャピラリーカラム DB-5MS(J&W)

膜厚：0.25 μ m，長さ：30m，内径：0.25mm

昇温条件：50 $^{\circ}$ C（2 min） \rightarrow 20 $^{\circ}$ C/min \rightarrow 120 $^{\circ}$ C \rightarrow 7 $^{\circ}$ C/min \rightarrow 310 $^{\circ}$ C（5 min）

注入法：スプリットレス法 注入口温度：250 $^{\circ}$ C

注入量：1 μ l

流量：1 ml/min（He：定流量）

パージ開始時間：1.5min

インターフェース部：ダイレクトカップリング（240 $^{\circ}$ C）

イオン化条件：イオン化電圧：70eV（EI）

イオン化電流：300 μ A イオン源温度：210 $^{\circ}$ C

測定条件：PM 電圧：700V

測定法：SACN法

2.3 抽出，クリーンアップ方法の検討

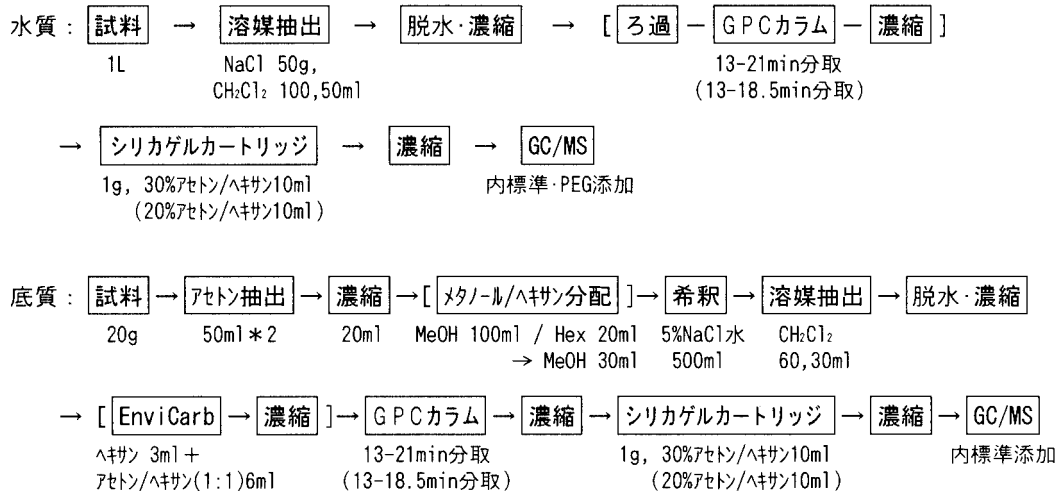
前報で報告したピリダフェンチオンの分析法¹⁻³⁾を基礎に，図1に示す分析方法について検討した。

(1) 抽出溶媒と液性の検討

精製水200mlを300ml分液ロートに採取し，標準液（各1 μ g/ml，アセトン溶液）0.5mlを加え，1N塩酸又は1N水酸化ナトリウムで液性を調整し，塩化ナトリウム10gを添加・溶解した後，ジクロロメタン又

表1 対象農薬

環境基準項目	シマジン, チオベンカルブ	2	
要監視項目	ジクロロボス, フェノブカルブ, クロロタロニル, プロピザミド, ダイアジノン, イプロベンホス, フェニトロチオン, イソプロチオラン, イソキサチオン, クロロニトロフェン, EPN	11	
ゴルフ場農薬	エクロメゾール, クロロネブ, ペンシクロン, ベスロジン, トリクロホスメチル, テルブカルブ, メタラキシル, ジチオピル, クロロピリホス, キャプタン, ベンディメタリン, メチルダイムロン, イソフェンホス, ブタミホス, ナプロバミド, フルトラニル, メプロニル, ピリブチカルブ, ピリダフェンチオン, イプロジオン, エトフェンプロックス, プロピコナゾール	22	
水道法 (水質管理目標設定項目)	イソプロカルブ, トリフルラリン, アトラジン, エチルチオメトン, シメトリン, プロモブチド, エスプロカルブ, マラチオン, フェンチオン, フサライド, フェニトエート, メチダチオン, エンドスルファン(α , β), プレチラクロール, ププロフェジン, エディフェンホス, テニルクロール, ビフェノックス, メフェナセツト, アラクロール, CNP-アミノ体, ピロキロン, モリネート, プロシミドン, アニロホス, ジクロベニル, ジメトエート, ジメピペレート, ピペロホス, ジメタメトリン, ピリプロキシフェン, カフェンストロール	33	
	関連物質	エンドスルファンサルフェート, フェンチオンスルホキシド, フェンチオンスルホン	3
	LC/MS	ダイムロン, NAC, ベンフラカルブ, プロベナゾール	4
排水基準	パラチオン, メチルパラチオン	2	
農薬登録保留基準	XMC, MCPB エチル, クロロピリホスメチル, プロメトリン, メトラクロール, フェリムゾン, CVMP, ブタクロール, オキサジアゾン, ホサロン, ベルメトリン (シス, トランス), シラフルオフェン	13	
SPEED'98	メトリブジン, NIP, フェンバレレート, エスフェンバレレート	4	
その他	MTMC, ピンクロゾリン, ジメチルピンホス, CVP (α , β), クロロベンジレート, ニトラリン, X-52, ブロクロラズ, フィプロニル	10	
合 計		104	



注: []内の操作は、汚濁物質が少ない場合は省略できる。
注: ()内は、クリーンアップ効果を優先する場合の条件。

図1 分析法フローチャート

はヘキサンを20mLを加え振とう・抽出し、再度ジクロロメタン又はヘキサン10mLで抽出し、脱水後1mlに減圧濃縮しGC/MSで測定した。

(2) 含水メタノール/ヘキサン分配によるクリーンアップ

200ml 分液ロートにヘキサンで飽和したアセトニトリル, 5%含水アセトニトリル, メタノール, 5%含

水メタノール又は10%含水メタノールを100mL加え、標準液(各1µg/ml, アセトン溶液)0.5ml添加した。

ヘキサン20mL加え振とう, 静置後ヘキサン層を分取し, ロータリーエバポレーターで濃縮しGC/MSで測定した。

(3) グラファイトカーボンカラムクリーンアップ

予めトルエン 5 mL, アセトン 7 mL, ヘキサン 7 mL で洗浄したグラファイトカーボンカートリッジ (SPELCO 社製 ENVI-Carb, 0.25g, 6 ml) にスピッツ型共栓付試験管 (10ml) をセットし, 標準液 (各 1 µg/ml, ヘキサン溶液) 1 ml をカラムに負荷し, 液面をカラムヘッドまで下げた後, 溶離液を用いて溶出した。

それぞれの溶出液を窒素吹き付けにより 1 ml まで濃縮し, GC/MS で測定した。

(4) GPC 処理によるクリーンアップ

標準液 2 ml (各 0.5µg 含有, アセトン溶液) を GPC 装置に注入し, 11分~22分を 0.5分ごとに分取し, 窒素吹き付けにより 1 ml まで濃縮し, GC/MS で測定した。

GPC 装置の操作条件は, 下記のとおりである。

カラム: 昭和電工 CLNpak PAE-2000 AC (プレカラム: PAE-G AC)

移動相及び流速: シクロヘキサン/アセトン (5 : 95) 4 ml/min

カラム温度: 40℃

注入量: 2 ml (サンプルループ容量: 2 ml)

サイクルタイム: 30min

(5) シリカゲルカートリッジカラムクロマトグラフィによるクリーンアップ

予めヘキサン 10ml で洗浄したシリカゲルカートリッジカラム (SPELCO 社製 LC-Si, 1 g, 6 ml) にスピッツ型共栓付試験管 (10ml) をセットし, 標準液 (各 1 µg/ml, ヘキサン溶液) 1 ml をカラムに負荷し, 液面をカラムヘッドまで下げた。

ヘキサン 5 ml で洗浄し, ①20%アセトン含有ヘキサン 10mL 又は②30%アセトン含有ヘキサン 10mL で溶出し, 濃縮後, GC/MS で測定した。

3 結果及び考察

3. 1 抽出溶媒と液性

結果は表 2・表 3 のとおりで, 中性下でジクロロメタンを使用した場合に, 回収率の低い農薬数が最も少なくなった。

なお, 酸性下で回収率の低い農薬は表 4 に示す 3 物質のみであったが, 塩基性下では有機リン系・カーバメート系農薬等が加水分解することから, 回収率の低

い農薬が 26 物質存在した。

ヘキサンで抽出した場合に回収率が低い農薬は, 表 5 に示すとおり中性でも酸性でも回収率の低い農薬が 17 物質, 酸性下で回収率の低い農薬が 4 物質であった。

また, この中性下でのジクロロメタン抽出は, 魚のへい死時等の水質試料の分析法で採用している操作であり, 104 農薬全てがこの操作で回収できることが確認された。

3. 2 ヘキサン洗浄の溶媒の検討

鉱物油・脂肪等の除去法として, 通常アセトニトリル/ヘキサン分配が使用されるが, この方法は次のステップであるジクロロメタン抽出操作でアセトニトリルが抽出されるため, 抽出されたアセトニトリルを濃縮した際に濃縮損失が生じる可能性がある。

一方, メタノールはジクロロメタンに抽出されない性質を持っているため, メタノール/ヘキサン分配を検討したところ, 表 6 に示すとおり, 検討した全ての農薬でメタノール層に分配され, ヘキサン層への分配率が 10% 未満であった。

また, 検体由来の含水を 5~10% 程度考慮した場合, ヘキサン層に分配しやすい農薬は含水率が増加するにつれてヘキサン層への分配率も増加する傾向にあり, 含水率 5% で 13 農薬, 含水率 10% で 27 農薬がヘキサン層への分配率が 10% 以上となった。

なお, 分析法では, ヘキサン層へ分配された農薬を回収するため, ヘキサン層に再度メタノールを加えて再分配することとしたため, 含水率の増加による回収率の低下は無視できた。

3. 3 グラファイトカーボンカラムの検討

グラファイトカーボンカラムである ENVI-Carb では, 表 7 の①に示すように, 多くの農薬がヘキサン画分に溶出したが, 芳香族性に富む残りの農薬を溶出させるためには, アセトン含有溶媒で溶出させる必要があった。

溶出液のアセトン含有率を変えて比較したところ, 表 7 に示すように, 芳香族性が特に強いクロロタロニル, フサライド, ホサロンの 3 農薬の回収率が, ③の溶離条件 (ヘキサン 3 ml + アセトン/ヘキサン (1 : 1) 6 ml) で最も高くなり, その他 100 農薬も 80% 以上の回収率を示した。

表2 液液抽出における抽出溶媒・液性と回収率一覧

	ジクロロメタン			ヘキサン			ジクロロメタン			ヘキサン	
	中性 (pH7)	酸性 (pH3)	塩基性 (pH10)	中性 (pH7)	酸性 (pH3)		中性 (pH7)	酸性 (pH3)	塩基性 (pH10)	中性 (pH7)	酸性 (pH3)
DDVP	89	86	16	28	28	Procymidone	97	90	0	96	98
Dichlobenil	93	87	96	91	94	Dimepiperate	98	93	82	96	97
Metolcarb	90	84	1	13	12	Phenthoate	95	92	0	96	94
Echlomezole	101	94	100	106	108	Isophenphos	93	88	98	97	95
Chlorneb	95	88	104	95	98	Ferimzone	85	59	88	27	1
Isoprocarb	93	86	26	57	57	Methidathion	96	94	59	90	88
Molinate	93	85	95	92	96	CVMP	99	100	78	94	93
XMC	91	85	0	43	41	a-Endosulfan	95	93	2	94	102
BPMC	95	87	34	80	81	Isoprothiolane	96	92	97	95	94
Pencycuron	77	76	80	66	63	Butamifos	95	93	92	95	96
Trifluralin	104	98	110	106	110	Napropamide	97	93	96	96	93
Bethrodine	100	94	109	104	109	Butachlor	96	93	98	98	98
Dimethoate	69	69	17	0	0	Flutolanil	98	95	95	91	86
Simazine	94	91	92	12	6	Pretilachlor	95	93	97	95	95
Atrazine	98	98	100	47	31	Oxadiazon	98	84	71	98	100
Chlorothalonil	98	95	72	96	98	Buprofezin	101	96	102	97	64
Pyroquilon	91	89	93	12	11	CNP-amino	244	229	216	246	61
Propyzamide	98	93	99	90	90	Nitrofen	99	104	102	103	101
Diazinon	95	82	96	90	82	Isoxathion	114	111	90	124	119
Ethylthiomethone	94	89	93	88	92	b-Endosulfan	96	93	2	95	99
IBP	97	93	98	86	82	Fenthion-sulfoxide	82	83	80	5	6
Metribuzin	94	224	122	18	29	Fenthion-sulfon	96	95	90	59	51
MCPB-ethyl	99	94	54	97	97	Chlorbenzilate	100	98	27	95	97
Palathion-methyl	94	96	92	93	95	Mepronil	115	119	116	104	103
Carbaryl	92	89	2	28	22	EDDP	122	125	1	106	101
Chlorpyrifos-methyl	96	93	82	94	97	Endosulfansulfate	104	101	104	101	106
Simetryn	93	57	94	51	0	CNP	104	110	106	102	102
Bromobutide	95	93	100	97	101	Propiconazole	100	99	74	72	76
Vinclozoline	98	94	0	99	102	Daimuron	94	98	84	20	15
Tolchlofos-methyl	96	92	97	96	99	Thenylchlor	105	105	108	100	100
Terbutol	95	89	98	92	95	Nitralin	100	102	102	82	77
Metalaxyl	75	79	75	8	6	Chlomethoxyfen	98	103	94	96	94
Prometrin	95	85	97	90	7	Pyributicarb	104	99	101	100	99
Probenazole	92	88	3	27	26	Pyridaphenthion	99	103	90	64	49
Fenitrothion	97	92	96	98	94	Iprodione	101	98	11	74	67
Dithiopyr	92	90	99	94	91	EPN	99	101	30	98	97
Esprocarb	98	93	97	97	98	Piperophos	99	101	88	88	78
Thiobencarb	96	92	96	98	98	Anilofos	100	100	78	89	80
Malathion	95	90	0	90	90	Bifenox	96	101	25	95	94
Fenthion	95	91	96	93	95	Phosalone	107	108	42	107	104
Dimethylvinphos	96	93	82	86	80	Pyriproxyfen	102	102	98	105	100
Metolachlor	94	89	95	91	92	Mefenacet	96	101	91	77	61
Fthalide	96	93	0	95	96	Benfuracarb	80	2	64	77	0
Parathion	94	92	93	96	96	cis-Permethrin	101	100	95	106	102
Chlorpyrifos	96	90	90	95	97	trans-Permethrin	99	100	89	103	100
Captan	124	129	9	133	115	Prochloraz	49	41	44	11	1
a-Chlorfenvinphos	95	91	94	89	88	Cafenstrole	87	90	4	26	19
Pendimethalin	93	92	96	97	98	Ethofenprox	112	112	107	105	103
Methyl dymron	100	97	101	94	87	Shilafluofen	106	105	102	106	104
b-Chlorfenvinphos	94	94	94	87	81	Fenvalerate	107	108	151	104	103
Fipronil	82	86	76	36	32	Esfenvalerate	102	103	29	101	99
Dimethametryn	94	86	95	89	12	Alachlor	96	91	99	96	98

精製水200ml, 標準液 (1 µg/ml, アセトン溶液) 0.5ml 添加, HCl 又は NaOH で液性調製, 溶媒20ml+10ml で振とう抽出

表3 抽出溶媒・液性と回収率区分毎の農薬数

	ジクロロメタン			ヘキサン	
	中性	酸性	塩基性	中性	酸性
80%以上	99	97	68	78	70
60~80%	4	3	9	6	10
40~60%	1	3	4	5	4
20~40%	0	0	6	6	6
0~20%	0	1	17	9	14

表4 中性と比較して酸性又は塩基性で回収率の低い農薬 (ジクロロメタン)

酸性で回収率の低い農薬	Simetryn, Ferimzone, Benfuracarb	3
塩基性で回収率の低い農薬	DDVP, Metolcarb, Isoprocarb, XMC, BPMC, Dimethoate, MCPB-ethyl, Carbaryl, Vinclozoline, Probenazole, Malathion, Fthalide, Captan, Procymidone, Phenthoate, Methidathion, a-Endosulfan, b-Endosulfan, Chlorbenzilate, EDDP, Iprodione, EPN, Bifenox, Phosalone, Cafenstrole, Esfenvalerate	26

表5 ジクロロメタンと比較してヘキサンで回収率の低い農薬

ヘキサンで回収率の低い農薬	中性・酸性とも	DDVP, Metolcarb, XMC, Dimethoate, Simazine, Atrazine, Pyroquilon, Metribuzin, Carbaryl, Metalaxyl, Probenazole, Fipronil, Ferimzone, Fenthion-sulfoxide, Daimuron, Prochloraz, Cafenstrole	17
	酸性のみ	Simetryn, Prometrin, Dimethametryn, Benfuracarb	4

3.4 GPCからの溶出パターン

図2及び表8に示すように大部分の農薬が13~18.5分に溶出したが、ピロキロンとフェリムゾンは少し遅れて19.5~21分に溶出した。

底質の夾雑成分は13分までに大部分が溶出すること

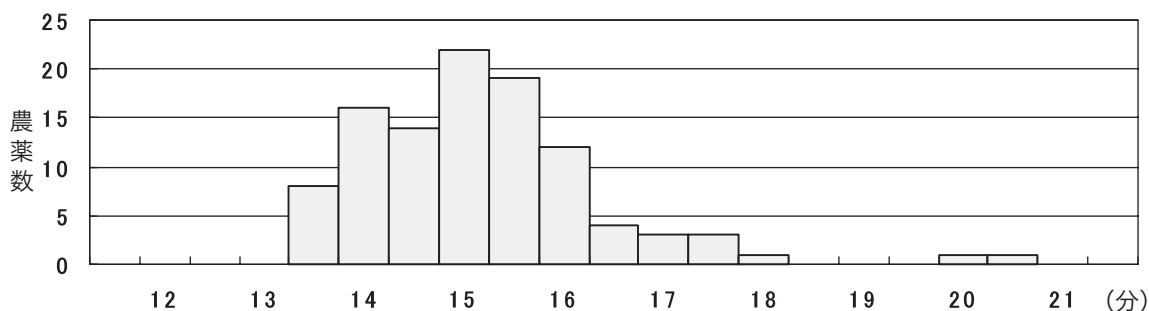


図2 GPCにおける農薬類の分離状況

から高いクリーンアップ効果が期待できるが、より高いクリーンアップ効果を得るには目的物質に応じて分取時間を使い分ける必要がある。

3.5 シリカゲルカートリッジカラムからの溶出パターン

前報¹⁻²⁾で、シリカゲルカートリッジカラム (SPELCO社製 LC-Si, 1g) では、ヘキサン5mlで溶出する農薬はなく、多くの農薬が10%アセトン/ヘキサン画分に溶出するが、ピリダフェンチオンを含む一部の農薬が20%アセトン/ヘキサン画分に溶出することを報告した。

今回、ヘキサン5mlで洗浄した後、20%アセトン/ヘキサン10ml又は30%アセトン/ヘキサン10mlで104成分の溶出を検討したところ、表9に示すように20%アセトン/ヘキサンでは、ジメトエート・フェンチオンスルホキシドの2農薬を除く102農薬が溶出した。

また、ヘキサンで洗浄した後30%アセトン/ヘキサンで溶出したところ、全ての農薬が溶出したが、フェンチオンスルホキシドは約50%しか回収できなかった。

3.6 標準溶液のピークのテーリング対策

前報¹⁻²⁾で、ピリダフェンチオンは低濃度でピークがテーリングして感度が落ちるが、奥村⁴⁾が提唱したポリエチレングリコール (PEG) を加える方法により、マトリックス補正効果が得られピークがシャープになるため、低濃度でも測定できるようになることを報告した。

今回、各30ng/mlの低濃度混合標準液に、PEG300を加えないもの、50, 100, 200µg/mlとなるように加えたものでピーク面積を比較したところ、表10・11に示すとおりほとんどの農薬で定量値が増加し添加量を増やすに連れて効果が顕著となったが、プロベンゾー

表6 アセトニトリル又はメタノール／ヘキサン分配等におけるヘキサン層への分配率

	アセトニトリル	5%含水アセトニトリル	メタノール	5%含水メタノール	10%含水メタノール		アセトニトリル	5%含水アセトニトリル	メタノール	5%含水メタノール	10%含水メタノール
DDVP	0	0	1	1	1	Dimepiperate	4	4	4	8	12
Dichlobenil	1	2	3	3	4	Phenthoate	1	1	2	4	6
Metolcarb	0	0	1	0	0	Isophenphos	1	1	2	3	6
Echlomezole	9	11	7	16	24	Ferimzone	0	0	0	0	0
Chlorneb	3	4	5	9	13	Methidathion	0	0	1	1	2
Isoprocab	0	0	1	0	0	CVMP	0	0	1	1	1
Molinate	8	9	5	8	11	a-Endosulfan	9	14	8	22	38
XMC	0	0	1	0	0	Isoprothiolane	0	0	1	1	1
BPMC	0	0	1	1	1	Butamifos	1	1	2	2	4
Pencycuron	0	0	0	0	0	Napropamide	1	1	1	1	1
Trifluralin	3	6	6	17	37	Butachlor	3	4	4	7	12
Bethrodine	3	5	5	16	38	Flutolanil	0	0	0	0	0
Dimethoate	0	0	1	0	0	Pretilachlor	1	1	2	2	4
Simazine	0	0	1	0	0	Oxadiazon	2	3	4	7	14
Atrazine	0	0	1	1	1	Buprofezin	2	2	1	2	4
Chlorothalonil	1	1	2	2	4	CNP-amino	5	6	4	2	3
Pyroquilon	0	0	1	0	1	Nitrofen	1	2	3	5	10
Propyzamide	1	1	1	1	1	Isoxathion	1	1	2	3	5
Diazinon	4	5	4	7	10	b-Endosulfan	2	3	4	6	9
Ethylthiomethone	2	3	4	8	13	Fenthion-sulfoxide	0	0	0	0	1
IBP	1	0	1	1	1	Fenthion-sulfon	0	0	0	0	0
Metribuzin	0	0	1	1	2	Chlorbenzilate	1	1	2	2	3
MCPB-ethyl	4	6	5	11	19	Mepronil	0	0	1	0	0
Palathion-methyl	0	0	1	2	2	EDDP	0	0	1	1	1
Carbaryl	0	0	0	0	0	Endosulfansulfate	0	1	1	2	2
Chlorpyrifos-methyl	2	3	4	9	15	CNP	2	3	3	8	16
Simetryn	0	0	0	0	0	Propiconazole	0	0	0	0	0
Bromobutide	1	1	1	1	1	Daimuron	0	0	0	0	0
Vinclozoline	1	2	3	5	8	Thenylchlor	0	0	1	1	1
Tolchlofos-methyl	2	3	5	9	14	Nitralin	0	0	0	0	0
Terbutol	1	2	2	2	2	Chlormethoxyfen	1	1	2	2	3
Metalaxyl	0	0	0	0	0	Pyributicarb	2	3	4	9	18
Prometrin	1	1	1	1	2	Pyridaphenthion	0	0	0	0	0
Probenazole	0	0	0	0	1	Iprodione	0	0	0	0	1
Fenitrothion	1	1	2	2	3	EPN	1	1	2	3	5
Dithiopyr	1	1	2	4	9	Piperophos	0	0	1	0	1
Esprocarb	7	9	5	13	21	Anilofos	0	0	1	0	0
Thiobencarb	4	5	5	8	9	Bifenox	1	0	1	2	3
Malathion	0	0	1	1	2	Phosalone	0	0	1	2	3
Fenthion	1	1	3	6	8	Pyriproxyfen	4	5	6	14	26
Dimethylvinphos	0	0	1	0	0	Mefenacet	0	0	0	0	0
Metolachlor	1	1	2	2	3	Benfuracarb	0	0	1	0	1
Fthalide	1	1	2	3	4	cis-Permethrin	7	12	7	28	61
Parathion	1	1	2	3	5	trans-Permethrin	4	8	5	21	49
Chlorpyrifos	4	7	6	16	29	Prochloraz	1	1	1	1	1
Captan	2	1	2	3	5	Cafenstrole	0	0	0	0	0
a-Chlorfenvinphos	1	1	2	1	2	Ethofenprox	5	8	6	26	53
Pendimethalin	3	5	4	13	27	Shilafuofen	9	18	9	44	85
Methyl dymron	0	0	1	1	1	Fenvalerate	1	2	4	7	17
b-Chlorfenvinphos	0	0	1	1	1	Esfenvalerate	1	1	2	5	14
Fipronil	0	0	0	0	0	Alachlor	1	1	3	3	5
Dimethametryn	1	1	1	1	1	10%以上 分配した農薬数	0	4	0	13	27
Procymidone	1	1	2	3	4						

ヘキサン飽和アセトニトリル等100ml, 標準品 (1 µg / ml, アセトン溶液) 0.5ml 添加, ヘキサン20ml を加え振とう, ヘキサン層への分配率 (%)

表7 グラファイトカーボンカートリッジカラム (ENVI-Carb) による分画

	①	②		③		④		①	②		③		④
	ヘキサン 5ml	ヘキサン 3ml+ アセトン/ ヘキサン 6ml	アセトン/ ヘキサン (1:1) 5ml	ヘキサン 3ml+ アセトン/ ヘキサン (1:1) 6ml	アセトン 5ml	ヘキサン 3ml + アセトン 6ml		ヘキサン 5ml	ヘキサン 3ml+ アセトン/ ヘキサン 6ml	アセトン/ ヘキサン (1:1) 5ml	ヘキサン 3ml+ アセトン/ ヘキサン (1:1) 6ml	アセトン 5ml	ヘキサン 3ml + アセトン 6ml
DDVP	101	94	1	100	0	115	Procymidone	77	98	0	98	0	97
Dichlobenil	94	90	0	98	0	104	Dimepiperate	99	97	0	99	0	99
Metolcarb	92	97	0	99	0	116	Phenthoate	104	92	0	100	0	99
Echlomezole	103	90	0	102	0	108	Isophenphos	98	96	0	101	0	101
Chlorneb	102	96	0	103	1	106	Ferimzone	82	86	1	93	1	80
Isoprocab	104	98	0	103	0	107	Methidathion	100	95	0	97	0	97
Molinate	100	95	0	100	0	105	CVMP	105	92	0	99	0	100
XMC	97	96	0	101	0	107	a-Endosulfan	102	94	1	100	1	102
BPMC	105	98	0	102	0	106	Isoprothiolane	101	98	0	99	0	99
Pencycuron	1	92	0	87	0	92	Butamifos	104	89	0	99	0	97
Trifluralin	109	86	0	103	0	106	Napropamide	26	96	0	98	0	95
Bethrodine	106	88	0	101	0	103	Butachlor	104	97	0	102	0	100
Dimethoate	73	110	0	109	0	112	Flutolanil	11	97	0	97	0	97
Simazine	0	99	0	103	0	102	Pretilachlor	103	94	0	101	0	100
Atrazine	64	98	0	102	0	101	Oxadiazon	104	96	0	100	0	99
Chlorothalonil	0	27	37	40	0	1	Buprofezin	106	95	1	98	1	97
Pyroquilon	94	101	0	100	0	103	CNP-amino	84	86	0	73	0	38
Propyzamide	103	93	0	103	0	104	Nitrofen	67	89	0	92	0	90
Diazinon	103	96	0	101	0	102	Isoxathion	14	91	0	98	0	80
Ethylthiomethone	100	91	1	100	1	100	b-Endosulfan	100	97	1	102	1	100
IBP	104	93	0	101	0	105	Fenthion-sulfoxide	7	116	0	105	0	104
Metribuzin	95	95	0	99	0	100	Fenthion-sulfon	48	99	0	98	0	93
MCPB-ethyl	101	96	1	99	1	102	Chlorbenzilate	98	94	0	97	0	100
Palathion-methyl	97	87	0	96	0	99	Mepronil	0	98	0	94	0	92
Carbaryl	1	98	0	91	0	94	EDDP	83	94	0	94	0	91
Chlorpyrifos-methyl	51	93	0	98	0	97	Endosulfansulfate	103	96	0	101	0	99
Simetryn	0	88	3	95	1	90	CNP	77	89	1	93	1	92
Bromobutide	104	95	0	102	0	102	Propiconazole	52	106	1	101	0	101
Vinclozoline	104	96	0	100	0	99	Daimuron	0	102	0	93	0	93
Tolchlofos-methyl	96	93	0	99	0	100	Thenylchlor	100	96	0	102	0	100
Terbutol	106	98	0	103	0	104	Nitralin	98	88	0	99	0	95
Metalaxyl	85	101	0	106	0	100	Chlomethoxyfen	11	89	1	89	0	87
Prometrin	82	95	0	102	0	100	Pyributicarb	102	96	0	96	0	96
Probenazole	18	94	1	96	1	96	Pyridaphenthion	1	97	1	94	0	88
Fenitrothion	101	89	0	98	0	98	Iprodione	37	101	0	94	0	84
Dithiopyr	106	93	0	102	0	103	EPN	2	89	0	90	0	38
Esprocarb	102	96	0	101	0	101	Piperophos	84	89	0	94	0	90
Thiobencarb	99	94	0	97	0	98	Anilofos	98	94	0	96	1	93
Malathion	102	94	0	101	0	101	Bifenox	58	91	0	88	0	85
Fenthion	97	94	0	98	0	99	Phosalone	0	5	25	39	8	0
Dimethylvinphos	105	95	0	100	0	99	Pyriproxyfen	22	95	1	91	1	63
Metolachlor	106	95	0	102	0	101	Mefenacet	0	89	2	81	1	18
Fthalide	0	15	39	27	13	1	Benfuracarb	95	88	1	91	0	80
Parathion	102	89	0	97	0	97	cis-Permethrin	94	101	0	96	0	93
Chlorpyrifos	87	94	0	99	0	98	trans-Permethrin	97	100	0	91	0	89
Captan	101	100	4	99	5	101	Prochloraz	6	124	7	91	3	12
a-Chlorfenvinphos	106	94	1	100	0	101	Cafenstrole	63	107	0	92	0	82
Pendimethalin	82	88	0	98	0	98	Ethofenprox	15	108	0	96	0	34
Methyl dymron	99	96	0	101	0	101	Shilaflofen	65	104	0	94	0	83
b-Chlorfenvinphos	104	94	0	99	1	100	Fenvalerate	69	103	1	93	0	90
Fipronil	40	95	0	103	0	102	Esfenvalerate	43	106	0	89	0	85
Dimethametryn	17	97	0	100	0	99	Alachlor	105	96	0	100	0	102

SPELCO 製 ENVI-Carb, 0.25g, 6 ml, 標準液 1 µg/ml × 1 ml 添加

表9 シリカゲルカラムによる分画

	①		②			①		②	
	20% アセトン /ヘキササン 10ml	30% アセトン /ヘキササン 10ml	30% アセトン /ヘキササン 10ml	1:1 アセトン /ヘキササン 10ml		20% アセトン /ヘキササン 10ml	30% アセトン /ヘキササン 10ml	30% アセトン /ヘキササン 10ml	1:1 アセトン /ヘキササン 10ml
DDVP	98	1	98	0	Procymidone	97	0	97	0
Dichlobenil	88	0	87	0	Dimepiperate	96	0	98	0
Metolcarb	107	0	107	0	Phenthoate	91	0	96	0
Echlomezole	96	0	96	0	Isophenphos	94	0	96	0
Chlorneb	92	0	94	0	Ferimzone	81	2	85	1
Isoprocarb	103	0	107	0	Methidathion	98	0	101	0
Molinate	97	0	97	0	CVMP	98	0	103	0
XMC	104	0	109	0	a-Endosulfan	89	0	95	1
BPMC	101	0	105	0	Isoprothiolane	94	0	98	0
Pencycuron	95	2	94	10	Butamifos	95	0	97	0
Trifluralin	105	0	110	0	Napropamide	97	0	101	0
Bethrodine	95	0	100	0	Butachlor	94	0	97	0
Dimethoate	1	82	76	15	Flutolanil	103	0	104	0
Simazine	92	1	96	1	Pretilachlor	95	0	99	0
Atrazine	93	1	98	1	Oxadiazon	97	0	100	0
Chlorothalonil	92	0	97	0	Buprofezin	98	2	100	1
Pyroquilon	93	4	98	2	CNP-amino	61	0	60	0
Propyzamide	94	1	101	0	Nitrofen	101	0	104	0
Diazinon	91	0	95	0	Isoxathion	108	0	109	0
Ethylthiomethone	58	0	55	1	b-Endosulfan	90	1	97	1
IBP	103	1	107	0	Fenthion-sulfoxide	4	74	54	53
Metribuzin	90	0	93	0	Fenthion-sulfon	91	5	100	1
MCPB-ethyl	97	1	100	0	Chlorbenzilate	96	0	99	0
Palathion-methyl	95	0	99	0	Mepronil	106	0	106	0
Carbaryl	100	0	105	0	EDDP	97	0	103	1
Chlorpyrifos-methyl	91	0	95	0	Endosulfansulfate	92	0	97	0
Simetryn	96	1	99	0	CNP	98	0	102	1
Bromobutide	94	0	99	0	Propiconazole	103	3	108	1
Vinclozoline	91	0	97	0	Daimuron	141	0	140	0
Tolchlofos-methyl	92	0	96	0	Thenylchlor	107	0	109	0
Terbutol	95	0	100	0	Nitralin	98	1	101	0
Metalaxyl	94	2	98	1	Chlomethoxyfen	103	1	107	1
Prometrin	93	0	97	0	Pyributicarb	102	0	102	0
Probenazole	99	0	101	0	Pyridaphenthion	105	1	107	0
Fenitrothion	96	0	100	0	Iprodione	114	1	105	0
Dithiopyr	90	0	95	0	EPN	102	0	104	0
Esprocarb	93	0	98	0	Piperophos	105	1	104	1
Thiobencarb	94	0	96	0	Anilofos	103	1	104	0
Malathion	94	0	98	0	Bifenox	102	0	104	0
Fenthion	73	1	73	1	Phosalone	108	0	109	0
Dimethylvinphos	97	0	102	0	Pyriproxyfen	106	1	109	1
Metolachlor	92	0	97	0	Mefenacet	113	0	112	1
Fthalide	98	0	101	0	Benfuracarb	97	1	93	0
Parathion	94	0	99	0	cis-Permethrin	110	0	111	0
Chlorpyrifos	91	0	95	0	trans-Permethrin	109	0	108	0
Captan	102	2	109	5	Prochloraz	95	6	128	5
a-Chlorfenvinphos	97	1	102	1	Cafenstrole	106	1	106	1
Pendimethalin	93	0	98	0	Ethofenprox	114	0	114	0
Methyl dymron	95	0	98	0	Shilafuofen	111	0	110	0
b-Chlorfenvinphos	97	0	102	1	Fenvalerate	116	1	115	1
Fipronil	97	1	101	0	Esfenvalerate	110	0	109	0
Dimethametryn	95	0	97	0	Alachlor	94	0	97	0

SPELCO 社製 LC-Si (1 g, 6 ml), 標準液 1 µg 添加, ヘキササン 5 ml で洗浄後, ①及び②の条件で溶出した。

表10 PEG 添加量とピーク面積の増加

PEG 添加量 (/ml)	0 (基準)	50µg	100µg	200µg	PEG 添加量 (/ml)	0 (基準)	50µg	100µg	200µg
DDVP	100	138	143	145	Procymidone	100	125	133	131
Dichlobenil	100	115	119	116	Dimepiperate	100	192	213	214
Metolcarb	100	232	259	254	Phenthoate	100	152	196	195
Echlomezole	100	142	158	150	Isophenphos	100	199	241	252
Chlomeb	100	106	115	112	Ferimzone	100	252	303	296
Isoprocarb	100	159	177	181	Methidathion	100	204	240	249
Molinate	100	139	149	148	CVMP	100	218	263	281
XMC	100	198	217	223	a-Endosulfan	100	106	105	109
BPMC	100	149	162	170	Isoprothiolane	100	152	184	182
Pencycuron	100	152	192	177	Butamifos	100	131	165	184
Trifluralin	100	137	141	142	Napropamide	100	136	187	198
Bethrodine	100	124	129	133	Butachlor	100	160	187	202
Dimethoate	100	189	211	204	Flutolanil	100	178	215	217
Simazine	100	144	161	154	Pretilachlor	100	203	239	232
Atrazine	100	117	136	135	Oxadiazon	100	137	153	157
Chlorothalonil	100	143	159	155	Buprofezin	100	199	229	237
Pyroquilon	100	181	224	223	CNP-amino	100	11	11	14
Propyzamide	100	149	172	188	Nitrofen	100	162	185	182
Diazinon	100	144	158	162	Isoxathion	100	212	223	208
Ethylthiomethone	100	185	201	192	b-Endosulfan	100	114	115	125
IBP	100	196	244	257	Fenthion-sulfoxide	100	262	290	283
Metribuzin	100	231	245	274	Fenthion-sulfon	100	173	191	213
MCPB-ethyl	100	121	140	144	Chlorbenzilate	100	170	207	212
Palathion-methyl	100	162	182	179	Mepronil	100	215	271	272
Carbaryl	100	242	277	298	EDDP	100	203	286	286
Chlorpyrifos-methyl	100	142	154	154	Endosulfansulfate	100	117	143	152
Simetryn	100	174	197	198	CNP	100	159	155	177
Bromobutide	100	140	143	153	Propiconazole	100	278	511	552
Vinclozoline	100	95	86	85	Daimuron	100	316	525	548
Tolchlofos-methyl	100	120	127	127	Thenylchlor	100	166	218	232
Terbutol	100	146	154	159	Nitralin	100	161	171	174
Metalaxyl	100	136	159	161	Chlomethoxyfen	100	164	213	222
Prometrin	100	155	177	176	Pyributicarb	100	159	194	203
Probenazole	100	66	79	71	Pyridaphenthion	100	285	397	406
Fenitrothion	100	141	145	146	Iprodione	100	150	193	185
Dithiopyr	100	123	139	144	EPN	100	177	212	224
Esprocarb	100	139	154	158	Piperophos	100	218	260	294
Thiobencarb	100	119	125	118	Anilofos	100	159	197	202
Malathion	100	129	145	162	Bifenox	100	149	164	225
Fenthion	100	126	135	134	Phosalone	100	174	205	208
Dimethylvinphos	100	162	190	190	Pyriproxyfen	100	124	148	158
Metolachlor	100	139	148	152	Mefenacet	100	307	390	418
Fthalide	100	131	135	135	Benfuracarb	100	105	136	162
Parathion	100	127	137	140	cis-Permethrin	100	162	220	239
Chlorpyrifos	100	151	155	153	trans-Permethrin	100	185	252	271
Captan	100	979	773	637	Prochloraz	100	791	1388	1457
a-Chlorfenvinphos	100	172	202	215	Cafenstrole	100	202	280	291
Pendimethalin	100	140	151	154	Ethofenprox	100	205	310	295
Methyl dymron	100	200	260	345	Shilafuofen	100	139	168	185
b-Chlorfenvinphos	100	215	272	280	Fenvalerate	100	152	164	200
Fipronil	100	134	165	166	Esfenvalerate	100	211	261	273
Dimethametryn	100	180	246	259	Alachlor	100	137	150	152

標準品各30ng/ml, PEG300を0~200ng/mlとなるよう添加, 無添加を基準(100%)とした場合のピーク面積の変化

ル・ピンクロゾリンの2農薬は逆にピーク面積が減少し、CNPアミノ体はピークが消失する現象が認められた。

表11 PEG 添加量とピーク面積の増加（集計）

PEG 添加量 (/ml)	50μg	100μg	200μg	該当農薬	
ピーク面積の変化	2倍以上	23	41	46	
	1.5~2倍	35	35	36	
	1.05~1.5倍	43	25	19	
	減少	2	2	2	プロベナゾール、ピンクロゾリン
	消失	1	1	1	CNPアミノ
	平均	1.8倍	2.1倍	2.2倍	

3. 7 添加回収率

図1に示した分析法フローチャートに従って添加回収実験を行った結果を表12に示した。水質で75物質が80%以上の回収率、底質で85物質が50%以上の回収率を示した。

なお、水質は0.2mlまで高濃縮測定を行ったため、妨害が生じる農薬があり、高濃縮測定を行う場合にはクリーンアップ操作の追加を必要とした。

4 まとめ

- 1) 魚のへい死時等の苦情処理時に採用しているジクロロメタンによる液々抽出法を用いた分析法で、対象とした104農薬全てが分析できることが確認され、同時分析農薬数を従来の92から104に増加させることができた。
- 2) メタノール/ヘキサン分配において、大半の農薬類はメタノール層に分配された。
- 3) グラファイトカーボンカラムにおいて、多くの農薬はヘキサン画分に溶出するが、残りの農薬をアセトン/ヘキサン(1:1)で溶出させて、両画分を合わせて分析するのが最も良いことが分かった。
- 4) GPC処理では、ピロキロンとフェリムゾンを除き13~18.5分に溶出したが、全ての農薬を回収する場合は13~21分を分取する必要があった。

5) シリカゲルカラムでは、ジメトエートとフェンチオンスルホキシドを除き20%アセトン/ヘキサンで溶出させることができたが、全ての農薬を回収する場合は30%アセトン/ヘキサンで溶出させる必要があった。

6) 一部の農薬は低濃度でピークがテーリングして感度が悪くなり、マトリックス効果の影響を受けるが、ポリエチレングリコール(PEG)300を添加することにより、マトリックス効果を補正できるようになり低濃度でも測定できるようになった。しかし、PEGを加えることで、プロベナゾール・ピンクロゾリンはピーク面積が減少し、CNPアミノ体はピークが消失した。

7) 確立した分析法における添加回収率は、水質で75物質が80%以上の回収率、底質で85物質が50%以上の回収率であった。

なお、本研究は環境省委託の平成15年度化学物質分析法開発調査(環境安全課)及び岡山県が実施した平成16年度環境ホルモン等実態調査と連携して実施した。

文 献

- 1) 浦山豊弘, 劔持堅志, 吉岡敏行, 林隆義, 杉山広和, 藤原博一: ピリダフェンチオン等の農薬多成分同時分析のための基礎的検討, 平成15年度岡山県環境保健センター年報, 28, 33-44, 2004
- 2) 環境省環境保健部環境安全課: 平成15年度化学物質分析法開発調査報告書(ピリダフェンチオン, 岡山県環境保健センター), 127-152, 2004
- 3) 浦山豊弘, 劔持堅志, 藤原博一, 杉山広和, 鷹野 洋: 第39回日本水環境学会年会講演集, 352, 2005
- 4) 奥村為男: キャピラリー・GC/MSによる水中の農薬及びその酸化生成物の定量-標準液のPEG共注入法-, 環境化学, 5(3), 575-583, 1995

表12 環境試料における添加回収率

	回 収 率			回 収 率			回 収 率	
	海水	底質		海水	底質		海水	底質
DDVP	63	35	Dithiopyr	96	83	Isoxathion	246	100
Dichlobenil	55	29	Esprocarb	92	100	b-Endosulfan	100	89
Metolcarb	※	※	Thiobencarb	87	102	Fenthion-sulfoxide	—	—
Echlomezole	81	46	Malathion	104	104	Fenthion-sulfon	80	83
Chlorneb	※102	※	Fenthion	87	78	Chlorbenzilate	110	85
Isoprocarb	83	66	Dimethylvinphos	106	97	Mepronil	115	93
Molinate	※72	46	Metolachlor	98	96	EDDP	89	78
XMC	86	72	Fthalide	90	49	Endosulfansulfate	※	77
BPMC	98	78	Parathion	114	98	CNP	109	98
Pencycuron	※61	48	Chlorpyrifos	92	84	Propiconazole	※	※
Trifluralin	119	95	Captan	×	×	Daimuron	※	137
Bethrodine	107	86	a-Chlorfenvinphos	120	98	Thenylchlor	95	93
Dimethoate	—	—	Pendimethalin	122	106	Nitralin	144	102
Simazine	123	96	Mehyl Dymron	※	40	Chlomethoxyfen	121	90
Atrazine	112	102	b-Chlorfenvinphos	87	65	Pyributicarb	107	85
Chlorothalonil	25	<10	Fipronil	113	95	Pyridaphenthion	105	96
Pyroquilon	—	—	Dimethametryn	140	37	Iprodione	103	52
Propyzamide	91	71	Procymidone	95	75	EPN	114	79
Diazinon	92	70	Dimepiperate	74	69	Piperophos	110	85
Ethylthiomethone	69	59	Phenthoate	80	64	Anilofos	105	80
IBP	101	79	Isophenphos	※	88	Bifenox	135	94
Metribuzin	95	76	Ferimzone	×	—	Phosalone	108	86
MCPB-ethyl	110	68	Methidathion	95	79	Pyriproxyfen	※100	73
Palathion-methyl	102	94	CVMP	94	80	Mefenacet	112	74
Carbaryl	102	79	a-Endosulfan	110	72	Benfuracarb	※	299
Chlorpyrifos-methyl	89	72	Isoprothiolane	102	105	cis-Permethrin	104	67
Simetryn	111	80	Butamifos	118	110	trans-Permethrin	104	69
Bromobutide	103	83	Napropamide	110	93	Prochloraz	48	52
Vinclozoline	94	73	Butachlor	93	87	Cafenstrole	92	73
Tolchlofos-methyl	90	75	Flutolanil	※113	93	Ethofenprox	98	69
Terbutol	94	80	Pretilachlor	113	93	Shilafluofen	105	45
Metalaxyl	85	79	Oxadiazon	※102	95	Fenvalerate	95	63
Prometrin	※	59	Buprofezin	※100	100	Esfenvalerate	105	82
Probenazole	※	121	CNP-amino	—	—	Alachlor	84	77
Fenitrothion	113	100	Nitrofen	132	78			

海水 1 L, 標準品各0.01 μ g 添加, 0.2ml に濃縮, 底質20g (乾泥10g 相当), 標準品各0.05 μ g 添加, 1 ml に濃縮

※は, 添加量と比較して大きな妨害があり定量できなかったもの。

数字に※が付いたものは, 添加量と同等から数分の1の妨害のあったもの。

—は, クリーナップ条件等で対象外となったもの。×は, 標準品が測定できなかったもの。