

# チウラム・シマジン・チオベンカルブの同時一斉分析法について

藤沼政憲 折原智明 山口弘行 三觜 雄

## 1. 緒 言

水質汚濁防止法に基づく特定事業所排水の農薬検査については、現在チウラムを固相抽出-LC-MS/MS法、シマジン・チオベンカルブを固相抽出-GC-MS法により分析を行っている。

しかし、3物質とも可溶性であることから、分析時間の短縮、分析機材・溶媒の節約等を目的として、この3物質を固相抽出-LC-MS/MS法による、同時一斉分析が行えないか検討を行うこととした。

## 2. 方 法

### 2-1 試験概要

分析方法の検討は、各対象物質の重水素化体を試料に添加し補正するサロゲート法により行った。

最初に、各物質の感度を求めMS/MSの最適条件を設定した。次に、精製水・実試料により各物質の添加回収試験を行ったが、チウラム・チウラム- $d_{12}$ について十分な回収率が得られなかったため、試料の濃縮倍率、塩析など前処理方法の検討を行った。

### 2-2 試薬

アセトニトリル：LC/MS用、関東化学製

精製水：ミリポア社製Milli-Qにより精製した水

クエン酸一水和物：試薬特級、和光純薬工業製

塩化ナトリウム：残留農薬用、和光純薬工業製

ギ酸：LC/MS用、和光純薬工業製

### 2-3 LC-MS/MSの機器設定条件

(LC条件)

使用機器：Waters社製Alliance e2695

カラム：化学物質評価研究機構製L-column ODS、  
2.1mm×150mm 3 $\mu$ m

移動相A：0.1%ギ酸水溶液 B：アセトニトリル

0min B 40%

10min B 90% Linear gradient

15min B 90% Hold

15.2min B 40% Linear gradient

ランタイム 25min

流量：0.2mL/min、カラム温度：35°C

サンプル室温度：4°C、注入量：30 $\mu$ L

(MS/MS条件)

3物質の0.5ng/mLの標準液でS/N比を見てみると、シマジン・チオベンカルブに比べチウラムの感度が低いため(表1)、MS/MSの条件は、チウラムの最適条件により行った。

表1 各物質の感度(S/N比)

物質名	チウラム	シマジン	チオベンカルブ
STD 0.5ng/mLのS/N比	29	104	68
チウラムを1とした感度比	1	4	2

使用機器：Waters社製Quattro micro API

Capillary：0.5kV、Source Temp：120°C

Desolvation Temp：450°C

Desolvation Gas：600L/hr、Cone Gas：50L/hr

キャピラリー電圧は、チウラムの300ng/mLを各電圧値で測定した結果、0.5kVの応答値が最も大きかった。(図1)

イオン化法はESI、測定モードはPositiveとし、各物質のモニターイオン、コーン電圧及びコリジョン電圧は機器のオートチューン機能により測定し、設定値は表2のとおりである。また、各物質のプロダクトイオンのクロマトグラムは図2のとおりである。

表 2 各物質の保持時間および分析条件

物質名	R. T. (min)	プレカカーサー	プロダクト 1	プロダクト 2	コーン 電圧 (V)	コリジョン 電圧 (eV)
シマジン- <i>d</i> <sub>10</sub>	5.26	212.2	134.2	—	34	18
シマジン	5.43	202.2	124.2	96.1	37	18
チウラム- <i>d</i> <sub>12</sub>	7.94	253.2	94.1	—	13	10
チウラム	8.14	241.2	88.0	119.8	15	10
チオベンカルブ- <i>d</i> <sub>10</sub>	14.49	268.3	125.1	—	21	18
チオベンカルブ	14.62	258.2	125.1	100.1	24	14

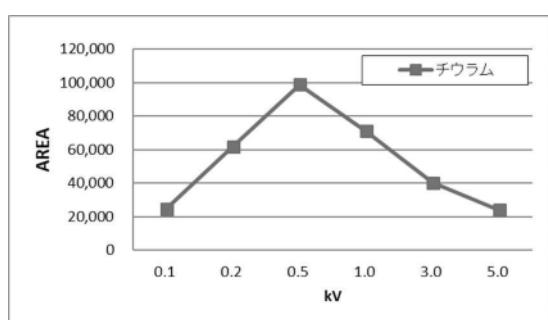


図 1 キャピラリー電圧値による AREA の変化

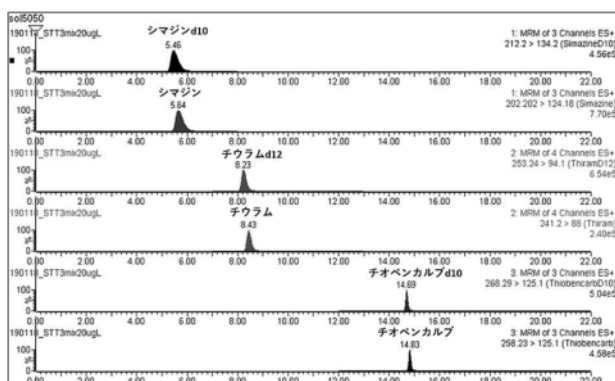


図 2 各物質のプロダクトイオンのクロマトグラム

## 2-4 分析方法

検討当初は、試料 50mL を 50 倍濃縮し試験液 1mL としたが、チウラム-*d*<sub>12</sub> の回収率が 50% 以上、チウラムの回収率が 70% 以上を満たせない状況であった。そのため、検討を行った最終的な前処理フローが図 3<sup>1)</sup> である。操作は、試料 50mL にキレート剤としてクエン酸一水和物 0.2 g を溶かす。(pH は、2.5 ほどになる。) 次に、固相カートリッジにアセトニト

リル 10mL と精製水 20mL を通液しコンディショニング後、コンセンレーターにより試料を 10mL/min で通水し、精製水 10mL で洗浄する。カートリッジの間隙水をガラスシリンジにより数回フラッシングし、水分を除去する。最後に、アセトニトリル 5mL で溶出し精製水で 10mL に定容 (アセトニトリル : 水 = 1 : 1) し、試験液とした。

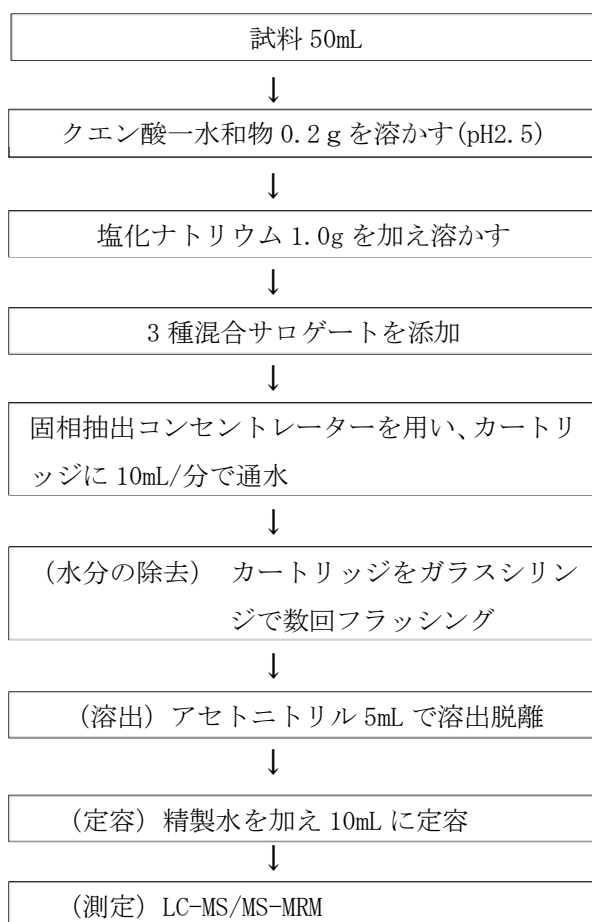


図 3 分析フロー

### 3. 結果及び考察

#### 3-1 検量線の作成

各3物質の標準列(同濃度)2、5、10、20、40ng/mLの検量線は、図4のとおりである。

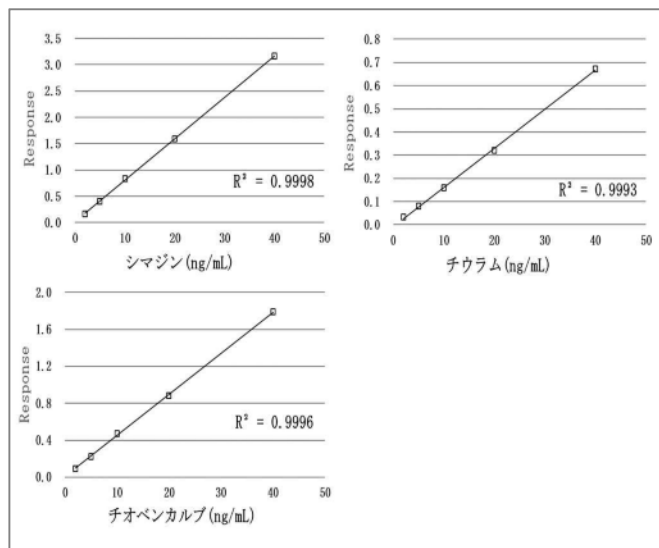


図4 検量線(内標:サロゲート)

#### 3-2 固相カートリッジの選択

検討当初は、試料の前処理で塩析を行っておらず、その添加回収試験の結果が、図5及び図6である。(調製値:試料0.4μg/L-50倍濃縮-試験液で20μg/L)

図5は、精製水に標準液を添加し、5種類の固相カートリッジにより添加回収試験を行った結果である。シマジン・チオベンカルブ及び各サロゲートの回収率は72~103%の範囲にあったが(測定対象3物質は、サロゲート補正後の回収率)、チウラム-d<sub>12</sub>はいずれのカートリッジを用いても30%前後の回収率であった。

図6は、下水処理水を用いた添加回収試験であり、シマジン・チオベンカルブは、78~95%の範囲(サロゲートも含む)にあったが、チウラム・チウラム-d<sub>12</sub>はさらに回収率の低下が見られた。

下水処理水での固相カートリッジ別添加回収試験(試料濃度0.4μg/L-試験液で20μg/L)は、5種類の固相カートリッジにより3回繰返して行い、チウラム-d<sub>12</sub>の測定値CV%が最も小さく、安定して

抽出の行えた Sep-Pak PS2 により、検討を行うこととした。(表3)

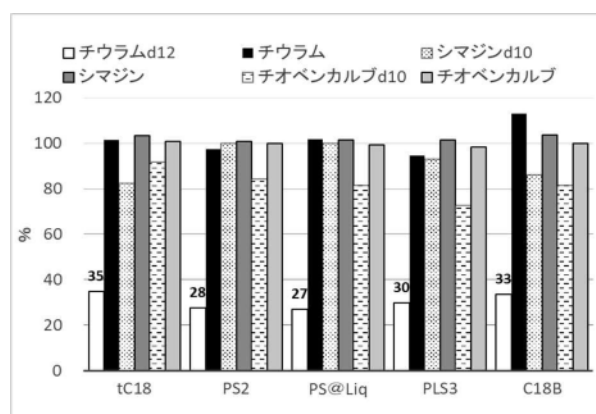


図5 精製水による添加回収試験

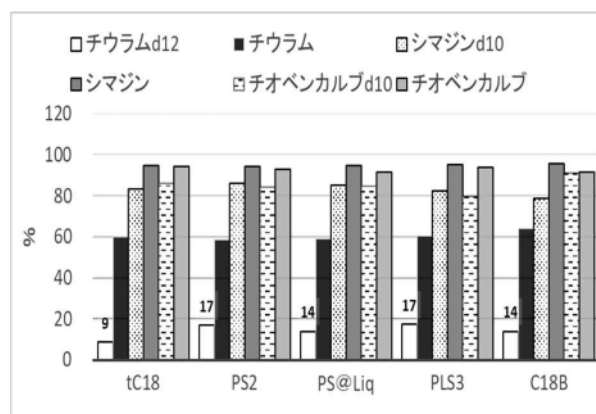


図6 下水処理水による添加回収試験

表3 固相カートリッジ別による添加回収試験の変動係数(n=3)

試料: 下水処理水	(%)					
カートリッジ	シマジン-d <sub>10</sub>	シマジン	チウラム-d <sub>12</sub>	チウラム	チオベンカルブ-d <sub>10</sub>	チオベンカルブ
Sep-Pak tC18	1.6	0.3	63.8	1.7	2.7	1.6
Sep-Pak PS2	3.2	1.1	2.5	1.3	2.7	0.8
Autoprep PS@Liq	1.6	0.5	10.6	2.0	3.6	0.9
Inert Sep PLS3	2.8	0.3	37.0	1.4	0.4	1.1
Inert Sep C18B	1.9	0.5	25.4	1.6	6.9	2.1

#### 3-3 分析方法の検討(塩析)

サロゲート法による分析では、各試験法でもサロゲートの回収率は50%以上が求められているが、今回の検討試験(試料の50倍濃縮)では、実試料においてチウラム-d<sub>12</sub>の回収率が50%以上を得ることができなかった。そのため、試料の夾雑物の影響

及び抽出溶媒の濃縮操作によるロスを避けるため、試料を5倍濃縮とし、塩析剤として塩化ナトリウムを用いる塩析分析を試みた。

実試料（2施設の下水処理水）50mLに塩化ナトリウムを無添加・50mg・500mg・1g・2.5g・5g・10g加え溶解し抽出後、固相カートリッジにアセトニトリル5mLを通し溶出、精製水で10mLに定容（アセトニトリル：水=1：1）し測定した結果が、図7及び図8である。

その結果、2施設の下水処理水を用いた添加回収試験ともチウラム及びチウラム-d<sub>2</sub>については、添加量50mg～1gまでは回収率の上昇が見られ2.5gまでは、回収率はほぼ同様な結果であった。しかし、添加量が2.5g以上になるとチオベンカルブ-d<sub>10</sub>の回収率が低下し始めた。このことから、塩化ナトリウムの塩析剤としての添加量は、1gが妥当であると考えられた。

塩化ナトリウムの添加量1gでは、3物質のサロゲートとも回収率50%以上、3物質の回収率も70%以上が得られている。

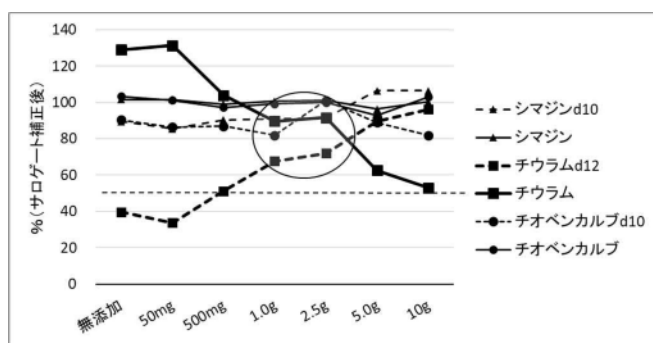


図7 T処理場の塩析による添加回収試験

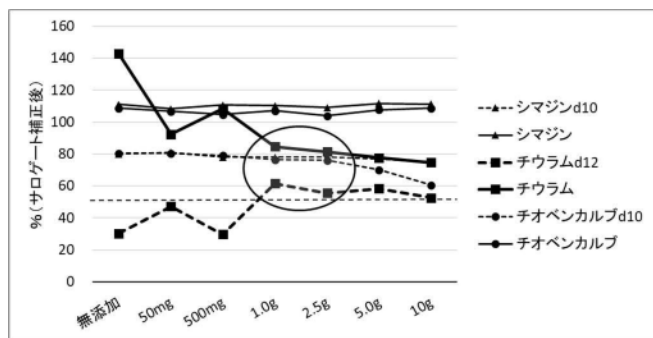


図8 A処理場の塩析による添加回収試験

### 3-4 方法定量下限値

下水処理水・河川水を試料としてMQLを求めた。（表4）

試料への標準液の添加量は、下水処理水のチウラムは試料濃度を4.0μg/Lとし、その他の添加量は下水処理水・河川水とも全て1.0μg/Lとして行った。

その結果では、3物質とも排水基準値の1/10を満たしていた。また、シマジンとチオベンカルブについては、下水処理水・河川水ともほぼ同じMQLの値であったが、チウラムの下水処理水への標準液の添加量の違いはあるが、シマジン・チオベンカルブに比べ1桁大きい値となり、チウラムは試料の汚濁の度合による影響が大きいと思われた。

表4 MQL

物質名	シマジン	チウラム	チオベンカルブ	繰り返し回数
排水基準値 (μg/L)	30	60	200	
試料：下水処理水				
MQL 試料換算値 (μg/L)	0.2	4.5	0.3	8
試料：河川水				
MQL 試料換算値 (μg/L)	0.2	0.5	0.2	8

## 4. まとめ

- (1) 当初検討したサロゲート法の一斉分析（50倍濃縮）では、シマジン・チオベンカルブの添加回収試験は良好な結果であったが、チウラム-d<sub>2</sub>の回収率が50%以上を得ることが出来なかった。
- (2) そのため、試料の夾雑物の影響を少なくするため、濃縮率を50倍から5倍とし、更に塩化ナトリウムによる塩析を行うことで、チウラム-d<sub>2</sub>・チウラムの回収率を上げることができ、3物質の一斉分析を行うことが可能であった。

## 5. 文献

- 1) 成田浩之，藤森裕悟，荒川修 他：LC/MSを用いた農薬3物質の同時測定について（第3報）、札幌市建設局処理施設課水質管理係