

HPLCを用いる水中のN-メチルカルバメート系農薬 およびそれらの代謝物の同時分析*

藤本千鶴**

キーワード ①メソミル ②オキサミル ③N-メチルカルバメート系農薬
 ④固相抽出 ⑤HPLC ポストカラム誘導体化蛍光法

要 旨

水域における環境ホルモン様物質の調査の一環として、N-メチルカルバメート系農薬であるオキサミル、メソミルにあわせ同時分析可能と考えられる同族系農薬とそれらの代謝物の計17物質について環境水における分析方法の検討を行った。前処理法として固相抽出法、測定方法としてHPLC ポストカラム誘導体化蛍光法による定量方法について検討した。Sep-Pak C18と ENVITM-Carb カートリッジの連結抽出によりオキサミル、メソミルを含む14物質について高い回収率で定量できた。

1. はじめに

環境庁は1998年5月、「環境ホルモン戦略計画 SPEED'98」により内分泌搅乱の疑いのある化学物質として67種をあげ、7月には全国一斉調査を開始した¹⁾。筆者らもこれまで、水域における環境ホルモン様物質の調査を実施してきた^{2~5)}。今回、N-メチルカルバメート系農薬（以後、「NMC」という）であるオキサミル、メソミルにあわせ同時分析可能と考えられる同族系農薬とそれらの代謝物6物質の計17物質について環境水における分析方法の検討を行った。

NMC類は熱分解しやすいため誘導体化しGC/MSによる分析方法⁶⁾が示されているが、操作が煩雑なため、近年HPLC ポストカラム誘導体化蛍光法が用いられるようになった。HPLC ポストカラム誘導体化蛍光法を用いた多成分分析方法は、農産物中のNMC類とその代謝物について津村

ら⁷⁾、永山ら⁸⁾により詳細に検討され、公定法として衛生試験法⁹⁾、残留農薬迅速分析法¹⁰⁾に採用され、遠藤ら¹¹⁾、氏家ら¹²⁾と多数報告がある。しかし、環境水においては2~3物質のNMC類について田嶋¹³⁾、松井ら¹⁴⁾により報告されているが、詳細な報告例としてはオキサミル、メソミルについて、肥塚ら¹⁵⁾により、前処理法としてジクロロメタンによる液-液抽出による分析方法が示されているのみであり、日本ではHPLC ポストカラム誘導体化蛍光法を用いた環境水中のNMC類の多成分分析法の検討報告例はほとんどない。また前処理法としては、Antonioら¹⁶⁾によりNMCを含む広範囲な極性を持つ35種の農薬類について固相抽出HPLC(検出器:UV)にて高い回収率を報告している。

そこで筆者らは環境水中のNMC類の多成分分析法として、前処理法として固相抽出法、測定法

*Simultaneous Determination of N-Methylcarbamate Pesticides and their Oxidized Metabolites in Water by HPLC with Post Column Fluorescence Derivatization

**Chizuru FUJIMOTO 千葉県水質保全研究所 (Chiba Prefectural Laboratory of Water Pollution)

としてHPLCポストカラム誘導体化蛍光法による定量方法について検討し、良好な結果が得られたので報告する。

2. 実験方法

2.1 試薬および器具等

アセトン、ジクロロメタンは残留農薬試験用を使用し、メタノールは残留農薬試験用、高速液体クロマトグラム用を用いた。精製水(以後、「水」という)はIWAKI GLASS社製Automatic Still ASK-2Dによりイオン交換後蒸留しMillipore社製 MILLI-Q SP TOCにより精製した。試料のろ過にADVANTEC社製GA100(以後、「GFP」という)、測定用試料のろ過にはMILLIPORE社製サンプルレップLCR13-LH(以後、「LCR」という)を用いた。反応試薬のOPA試薬は0.05N-Na₂B₄O₇水溶液(水1lにNa₂B₄O₇・10H₂Oを19.1g溶解し半日以上放置)にo-フタルアルデヒド100mg/10mlメタノールを加え、2-メルカプトエタノール50μlをマイクロピペットで加えて調整した。0.05N-水酸化ナトリウム溶液はNaOH 2g/1000ml水とした。

固相抽出材は表1に示すカートリッジタイプ4種、ディスクタイプ3種を用いた。表には活性化法も記した(以後、固相抽出材は表中の略称を用いる)。固相抽出にはカートリッジタイプは

ウォーターズ社製Sep-Pakコンセントレーターをディスクタイプにはジーエルサイエンス社製エムポア用吸引マニホールドを用いた。

使用するすべてのガラス器具類は、洗剤洗浄後、硫酸水溶液(約10%)に1日以上浸し、使用前日にアセトン(特級)で3回洗浄した。

表2 検討対象N-メチルカルバメート系農薬およびその代謝物

標準物質NO	グループ		標準物質名	水への溶解度*(g/l)
	A	B		
1	*		オキサミル	280.00
2	*		メソミル	58.00
3	*		アルディカルブ	6.00
4	*		メトルカルブ	2.60
5	*		プロポキシル	2.00
6	*		カルボフラン	0.70
7	*		カルバリル	0.04
8	*		エチオフェンカルブ	1.90
9	*		イソプロカルブ	微溶
10	*		フェノブカルブ	微溶
11	*		メチオカルブ	0.01
20	*		アルディカルブスルフォキシド	
21	*		アルディカルブスルファン	
22	*		エチオフェンカルブスルフォキシド	
23	*		エチオフェンカルブスルファン	
24	*		メチオカルブスルフォキシド	
25	*		メチオカルブスルファン	

*ソフトサイエンス社:最新農薬データブック1989年版

表1 固相抽出材と活性化法

名称	略称	充填剤	製造社名	活性化法
カートリッジタイプ				
Sep-Pak PlusC18	C18	オクタデシル	日本ウォーターズ	検討時(トルエン20ml-ジクロロメタン/メタノール(8/2)25ml-アセトン5ml)
Sep-Pak PlusPS-2	PS-2	スチレンジビニルベンゼン共重合体		分析フロー(アセトン5ml)
Carboxen1000	C1000	カーボンモレキュラーシーブ	スペルコ	
スペルクリン ENVI™-Carb	ENVI	グラファイトカーボンブラック	スペルコ	検討時(トルエン20ml-ジクロロメタン/メタノール(8/2)25ml-後、分析フローに続く)
	ENVI _{re}		(再利用)	分析フロー(アセトン5ml-メタノール2ml-アスコルビン酸水溶液(10g/l, HCl pH=2))
				ジクロロメタン5ml-アセトン5ml
ディスクタイプ(47mm)				
Empore Octadecyl(C18)	C18d	オクタデシル	住友スリーエム	トルエン15ml-ジクロロメタン/メタノール(8/2)15ml-アセトン10ml
Empore SDB-XC	XC	スチレンジビニルベンゼン共重合体		
Empore Carbon	C	活性炭		

2.2 標準溶液

NMC 類および代謝物は表 2 に示す17物質とし、各々1,000mg/l メタノール溶液を作成し標準原液とした。標準溶液は StA はメソミル等 NMC 類11物質、StB は代謝物 6 物質の50mg/l、StC は StA、StB の当量混合25mg/l とし標準原液からメタノールを用いて作成した。

2.3 HPLC 測定条件と定量方法

NMC 系農薬はアルカリ存在下において加水分解によりメチルアミンを生成し、このメチルアミンと蛍光誘導体化試薬である o-フタルアルデヒドとの反応により蛍光物質を生成する。HPLC ポストカラム誘導体化蛍光法では、この蛍光物質を蛍光検出器にて測定する。

HPLC 測定条件は、機器：ワークステーションは島津社製 CLASS-LC10、検出器：同社製 RF-10AXL、カラム：ウォーターズ社製 Nova-Pak C18(Φ=3.9mm×150mm)、ガードカラム：ウォーターズ社製 Sentry™ ガードカラム Nova-Pak C18、カラム恒温槽温度：40°C、流速：1 ml/min、試料注入量：20μl、移動相：水、メタノール、タイムプログラム：0～10分10% (メタノール濃度)一定→25分30%→50分50%→60分80%，反応試薬と条件：加水分解液(0.05N 水酸化ナトリウム水、85°C、1 ml/min)、誘導体化 OPA 試薬：(40°C、0.5ml/min)、検出条件：励起波長(345 nm)、蛍光検出波長(450nm)とした。測定条件は基本的に肥塚ら¹⁵⁾の方法に従った。定量は同時に

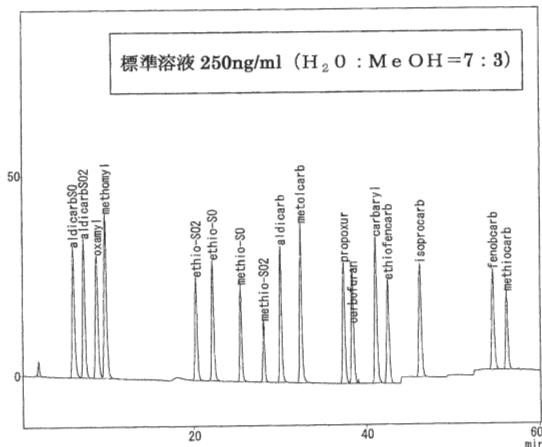


図 1 N-メチルカルバメート系農薬およびその代謝物のクロマトグラム例

作成した検量線(ピーク面積)により行った。検量線用標準溶液は水：メタノール(7:3) 1ml に StC の10倍希釈を10, 20μl, StC を4, 10, 20μl 添加して25, 50, 100, 250, 500ng/ml を作成した。StC のクロマトグラム例を図 1 に示した。

3. 分析フローと定量下限値

分析フローを図 2 に示した。水試料1,200ml を GFP ろ過後、ろ液は別々に活性化した C18 と ENVI を連結して、C18 側から通水し10ml/min で濃縮した。C18 と ENVI を個別に N₂ガスで30分間乾燥後、個別にアセトン10ml で溶出し、50ml ナスフラスコに受けた。GFP は30分間吸引乾燥後アセトン10ml で2回超音波抽出し、先のろ液の濃縮に使用した ENVI (以後、「ENVI_{re}」という) を再活性化し全抽出液を負荷した。次いで、ジクロロメタン10ml で溶出し前記のナスフラスコに全量を受けた。全溶出液をロータリーエバポレーターで35°Cで約0.5ml に濃縮し、メタノール約1ml を加え、同様に濃縮し、乾固直前まで濃縮し(濃縮し過ぎると回収率が低下する)、水：メタノール

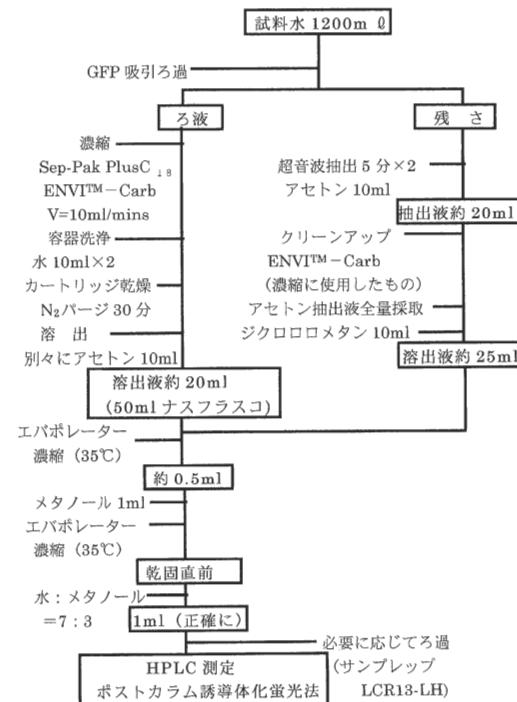


図 2 分析フロー

= 7 : 3 で正確に 1 ml とした。沈殿物が生じた時は LCR でろ過後、HPLC にて測定した。

本分析フローにおける定量下限値は HPLC 測定において 0.5ng (標準溶液 25ng/ml, 注入量 20 μ l) とし、試料濃度としては 0.02ng/ml (25ng/1200 ml) とした。HPLC 測定において標準溶液 10ng/ml が S/N ≥ 3 程度であるが、妨害等を見込んで 25ng/ml とした。

4. 結果および考察

4.1 測定用標準物質の安定性

測定用標準物質の溶解溶媒としては文献^{7,15)}では 10% メタノール水としているが、本検討過程において標準物質の低下現象が認められたことから、水混合溶媒の 2 ケース (10%, 30% メタノール水) について安定性を検討したところ、2 ケースともに冷蔵ではほぼ安定していた。しかし、室温 (24°C, 6 時間) でオキサミル、カルバリル、メチオカルブが約 80% 程度に低下するとともに、メチオカルブ、エチオフェンカルブの代謝物はさらに低下した。とくに、10% メタノール水ではメチオカルブの各代謝物がゼロとなったことから、溶解溶媒はより安定性のある 30% メタノール水とした。メタノール 100% はもっとも安定していたが、HPLC 測定においてピークがプロードとなる物質があったため除いた。

エバポレーター濃縮操作時における水浴水温は、30°C ~ 40°C ではほぼ検討対象物質に変化が認められなかったことから 35°C とした。

本検討において、測定用標準物質の溶解溶媒のメタノール濃度が HPLC 測定のピーク面積に影響することが認められ、とくに、水溶解度の低いカルバリル、メチオカルブにおいてメタノール濃度の増加につれてピーク面積が増加した。このことは、実試料における HPLC 測定試料中のメタノール濃度に正確性が求められ、分析操作におけるカートリッジおよび GFP の乾燥には注意が必要と考えられた。

4.2 固相抽出の検討

4.2.1 ディスクタイプ

C18_d, XC, C は活性化後、水 500ml に標準物質をマイクロシリジで 500ng 添加しろ過後ディスクを 30 分間吸引乾燥し、アセトン 10ml, ジクロ

ロメタン / メタノール (8/2) 10ml, トルエン 10ml で順次溶出し、溶出液を N₂ガスで 1 ml に濃縮後測定し結果を表 3(ディスクタイプ) に示した。

後記するが、アルディカルブとエチオフェンカルブは分析過程で各スルフォキシドに変化することから、今後の評価は合計量により行う場合もある。表から、C18_d からの合計の回収率は親水性の高い物質は 10% 程度と低く、疎水性になると回収率も 95% 程度に高くなる傾向にあり、親水性の物質はディスクに濃縮されず、破過していると考えられた。

XC は C18_d より回収率は高いがオキサミル 44%, メソミル 30% と低かった。C はメチオカルブを除き 90% 以上の回収率を示したが、ジクロロメタンによる溶出が必要な物質が多数あった。メチオカルブは 3 種のディスクとも回収率が低かった。

4.2.2 カートリッジタイプ

C18, PS-2, C1000, ENVI は活性化後、水 500ml に標準物質をマイクロシリジで 500ng 添加し 6 ml/min で濃縮した。カートリッジを N₂ガスで 30 分間乾燥後、アセトン 5 ml, ジクロロメタン / メタノール (8/2) 5 ml, トルエン 10ml で順次溶出し、N₂ガスで 1 ml に濃縮後測定し結果を表 3(カートリッジタイプ) に示した。表から、C18 からの合計の回収率は親水性の物質は 10~20% と低く、疎水性になるに従い回収率も 90% 程度に高くなる傾向にあった。PS-2 はアセトン溶出のみでも平均して高い回収率を示した。

C1000 は PS-2 と同様に平均して高い回収率を示したがジクロロメタン、トルエンによる溶出が必要であった。さらに、カルバリル、メチオカルブの合計回収率が 80% 以下と低かった。ENVI は平均して高い回収率を示したがジクロロメタンによる溶出が必要であった。

以上から、ディスク、カートリッジタイプを通してカートリッジタイプ ENVI がもっとも効率的に回収できたが、ジクロロメタンによる溶出が必要であった。ここでは、ジクロロメタンの使用を極力避けるため、抽出カートリッジとしては C18 と ENVI の 2 種類の連結とし、まず、C18 を用いて ENVI に吸着すると溶出しにくい疎水性物質群を吸着し、次いで ENVI を用いて C18 を破過した

表3 ディスク、カートリッジを用いた回収率の比較

標準物質名	種類	ディスクタイプ			合計回収率(%)	カートリッジタイプ			合計回収率(%)		
		回収率(%)		溶出溶媒 ^{*1}		回収率(%)		溶出溶媒 ^{*2}			
		A	B			C	A				
オキサミル	C18d	12.0	0.0	0.0	12.0	C18	19.9	0.0	0.0		
	XC	42.0	2.0	0.0	44.0	PS-2	86.9	0.0	0.0		
	C	75.0	18.0	0.0	93.0	C1000	79.6	10.5	0.0		
メソミル	C18d	7.0	0.0	0.0	7.0	ENV1	94.2	0.0	0.0		
	XC	26.0	4.0	0.0	30.0	C18	12.5	0.0	0.0		
	C	71.0	38.0	5.0	114.0	PS-2	83.3	0.0	0.0		
アルディカルブ	C18d	11.0	6.0	0.0	17.0	C1000	66.7	28.1	0.0		
	XC	6.0	0.0	0.0	6.0	ENV1	96.9	0.0	0.0		
	C	68.0	12.0	0.0	80.0	C18	74.2	5.6	0.0		
メトルカルブ	C18d	71.0	8.0	0.0	79.0	PS-2	60.7	4.5	0.0		
	XC	88.0	8.0	0.0	96.0	C1000	74.2	10.1	0.0		
	C	33.0	46.0	16.0	95.0	ENV1	49.4	0.0	0.0		
プロボキシル	C18d	90.0	9.0	0.0	99.0	C18	65.9	0.0	0.0		
	XC	88.0	6.0	0.0	94.0	PS-2	88.6	0.0	4.5		
	C	70.0	25.0	3.0	98.0	C1000	47.7	36.4	0.0		
カルボフラン	C18d	93.0	9.0	0.0	102.0	ENV1	89.8	3.4	0.0		
	XC	86.0	7.0	0.0	93.0	C18	90.9	0.0	0.0		
	C	63.0	27.0	0.0	90.0	PS-2	92.0	0.0	0.0		
カルバリル	C18d	97.0	0.0	0.0	97.0	C1000	67.8	24.6	0.0		
	XC	95.0	0.0	0.0	95.0	ENV1	90.1	0.0	0.0		
	C	0.0	15.0	59.0	74.0	C18	105.0	0.0	0.0		
エチオフェンカルブ	C18d	54.0	8.0	0.0	62.0	PS-2	102.8	0.0	0.0		
	XC	54.0	7.0	0.0	61.0	C1000	0.0	16.6	42.0		
	C	27.0	35.0	14.0	76.0	ENV1	39.8	34.3	7.7		
イソプロカルブ	C18d	86.0	10.0	0.0	96.0	C18	87.3	0.0	5.5		
	XC	88.0	10.0	0.0	98.0	PS-2	70.7	0.0	0.0		
	C	71.0	25.0	0.0	96.0	C1000	76.7	18.6	0.0		
フェノブカルブ	C18d	91.0	8.0	0.0	99.0	ENV1	51.9	0.0	0.0		
	XC	95.0	7.0	0.0	102.0	C18	100.6	0.0	0.0		
	C	70.0	28.0	4.0	102.0	PS-2	95.9	0.0	0.0		
メチオカルブ	C18d	59.0	9.0	0.0	68.0	C1000	72.5	21.1	0.0		
	XC	55.0	0.0	0.0	55.0	ENV1	94.7	0.0	0.0		
	C	15.0	45.0	0.0	60.0	C18	100.6	0.0	0.0		
アルディカルブ スルフォキシド	C18d	33.0	5.0	0.0	38.0	PS-2	101.8	0.0	0.0		
	XC	42.0	4.0	0.0	46.0	C1000	23.7	45.0	0.0		
	C	81.0	13.0	2.0	96.0	ENV1	79.3	10.7	0.0		
						C18	12.7	0.0	0.0		
						PS-2	49.7	0.0	0.0		
						C1000	76.3	11.6	0.0		
						ENV1	115.6	0.0	0.0		

*1 A=アセトン10ml, B=ジクロロメタン, メタノール(8/2)10ml, C=トルエン10ml

*2 A=アセトン5ml, B=ジクロロメタン, メタノール(8/2)5ml, C=トルエン10ml

水溶性の高い物質群を吸着させ、溶出はアセトンのみとした。表3から、この組合せで高い回収率が得られると考えられた。C18の代わりにPS-2でも可能と考えられたが、PS-2はC18よりも吸着力が強く色素等の濃縮が考えられるため除いた。

また、表からオキサミル、メソミルのみであればENVI単独でアセトン溶出のみで定量可能と考えられた。

4.3 SS処理とクリーンアップ

4.3.1 SS処理

SSをGFPで除去することからGFPからの溶出

の検討を行った。GFP をアセトンで 5 分間超音波予備洗浄後、GFP 上に標準物質を 500ng 添加し 5 分間放置後、30 分間吸引し、アセトン 10ml で 2 回超音波抽出した。回収率はメトルカルブ 73.2%，メチオカルブ 76.8%，エチオフェンカルブ 81.9% とやや低いがその他はほぼ 90% 以上回収されたの

で、2 回 5 分間の超音波抽出とした。

4.3.2 クリーンアップ

河川水の GFP ろ過ろ液からのカートリッジ溶出液は濃縮後もほとんど着色が認められないが、SS を捕集した GFP からのアセトン抽出液は黄色～緑色を呈しており、クリーンアップが必要となった。河川水中 SS からの着色成分をアセトンで ENVI に負荷したところアセトン、ジクロロメタンでは溶出せずトルエンで溶出した。そこで、ENVI をジクロロメタン、アセトン各 5 ml で活性化後、標準物質 17 物質 250ng をアセトン 25ml に添加後、ENVI に負荷し、溶出液を全量採取、次いでアセトン 10ml で 2 回、ジクロロメタン 5 ml で 2 回溶出した。各溶出液を N₂ガスで 1 ml まで濃縮後測定した。カルバリル以外の 16 物質はほとんど吸着されず第一溶出液に溶出し、カルバリルは初めのジクロロメタン 5 ml に溶出した。本検討ではジクロロメタンの使用を避けたかったが、この着色成分の除去のため使用することとした。合計回収率はメチオカルブスルフォンが 74.4% と最低でその他は 85% 以上溶出し、ENVI によるクリーンアップが可能と考えられた。

そこで、ENVI_{re} の再利用の可能性を検討した。ENVI_{re} をジクロロメタン、アセトン各 5 ml で再

表 4 ENVI-Carb カートリッジ(抽出に 1 回使用)を用いたクリーンアップの回収率

標準物質名	回収率 (%)	
	溶出ジクロロメタン量 (ml)	
	5 ml	10 ml
オキサミル	96.3	96.7
メソミル	97.4	97.5
アルディカルブ	92.4	85.8
メトルカルブ	95.2	94.5
プロポキシル	97.1	94.7
カルボフラン	97.3	95.2
カルバリル	80.5	97.5
エチオフェンカルブ	79.0	58.9
イソプロカルブ	97.0	92.2
フェノブカルブ	99.3	96.1
メチオカルブ	103.8	99.6
アルディカルブスルフォキシド	103.6	108.7
アルディカルブスルフォン	95.9	96.2
エチオフェンカルブスルフォキシド	122.1	144.5
エチオフェンカルブスルフォン	97.0	95.7
メチオカルブスルフォキシド	99.4	98.2
メチオカルブスルフォン	104.5	99.0

表 5 連結カートリッジを用いた水、河川水からの回収実験結果(GFP ろ過操作実施)

標準物質名	ケース 2				ケース 1		
	水 (n=4) ^{*1}		河川水 (n=5)		回収率 (%)		GFP
	回収率 (%)	変動係数 (%)	回収率 (%)	変動係数 (%)	水	河川水	
オキサミル	97.7	3.2	104.1	2.5	86.9	76.4	0
メソミル	99.4	2.3	100.1	3.1	95.8	96.2	0
アルディカルブ	83.2	10.2	76.8	7.2	47.5	56.6	0
メトルカルブ	94.5	3.0	92.0	2.8	89.3	88.1	0
プロポキシル	95.9	4.2	97.7	4.1	95.6	100.5	0
カルボフラン	97.1	2.4	97.7	6.0	99.1	103.6	0
カルバリル	104.2	4.9	111.4	3.0	97.0	108.8	0
エチオフェンカルブ	62.8	9.2	74.8	2.3	29.6	87.5	0
イソプロカルブ	97.0	3.9	97.2	1.7	95.5	100.6	0
フェノブカルブ	104.3	5.3	107.0	2.7	99.5	104.2	0
メチオカルブ	111.1	8.9	119.0	3.9	98.2	110.7	0
アルディカルブスルフォキシド	114.9	4.6	76.3	22.9	51.2	30.8	0
アルディカルブスルフォン	80.2	10.8	18.4	15.2	0.0	0.0	0
エチオフェンカルブスルフォキシド	131.7	8.4	123.7	3.8	85.2	16.9	0
エチオフェンカルブスルフォン	92.2	9.9	97.2	2.5	0.0	0.0	0
メチオカルブスルフォキシド	97.1	1.1	91.7	5.7	7.1	0.0	0
メチオカルブスルフォン	99.2	8.6	70.1	2.8	0.0	0.0	0

*1: V=6, 10ml/min 各 n=2

活性化後、標準物質17物質250ng をアセトン25mlに添加後、ENVI_{re} に負荷し、次いでジクロロメタン5, 10mlで各々溶出した結果を表4に示した。表から、ジクロロメタン量に影響されたのはカルバリルのみで、ジクロロメタン10ml 溶出で検討対象物質の回収率は92%以上であった。このことから、クリーンアップは ENVI_{re} を再活性化後、GFP のアセトン抽出液を全量負荷し、次いでジクロロメタン10mlで溶出し溶出液全量採取することとした。ここで、カルバリルを分析対象外とするジクロロメタンによる溶出は不要であった。

4.4 連結カートリッジ抽出による回収率

4.4.1 分析中の変化

水、河川水1,000ml にNMC11物質250ng を添加後、分析フローに従い処理し、カートリッジ溶出液と GFP 抽出液を個別に濃縮し測定した。結果を表5(ケース1)に示すが、GFP からの溶出はすべて不検出であり、NMC 類はSS に吸着しにくいと考えられた。カートリッジ溶出液の回収率は、アルディカルブ、エチオフェンカルブが各スルフォキシドに変化しており、水における回収率は、変化物質を入れると最低がオキサミルの86.9%と高い回収率を示した。河川水ではオキサミルが76.4%とやや低いがその他は高い回収率を示した。津村ら⁷⁾はアルディカルブ、エチオフェンカルブのようにチオエーテル基を持つNMC 類は農作物中でそれぞれのスルフォキシド、スルファン

に変化するとしており、さらに、分析操作中にはスルフォキシドに変化したとしている。本分析操作中においても同様な変化が認められ、このため、NMC 類の分析には代謝物も含めた定量が必要となつた。

4.4.2 水、河川水からの回収率と変動

水1,000ml に標準物質17物質250ng を添加後、分析フローに従い処理し測定した。通水速度は6, 10ml/min で行った。結果、流速の差異による回収率の差異は認められなかったので両者を合わせた回収率と変動を表5(ケース2)に示した。表から、変化する4物質(アルディカルブ、エチオフェンカルブおよび各スルフォキシド)は合算して評価すると、回収率はアルディカルブスルファンが80.2%とやや低い以外ほぼ95%以上であった。変動係数は分析中に変化する4物質と代謝物にやや高いケースが認められた。

河川水(SS<10mg/l)も同様に処理した結果を表5(ケース2)に示したが、回収率はアルディカルブスルファンが18.4%と著しく低くその他は70%以上であった。しかし、添加した量と分析操作中の変化物の合計量であるアルディカルブスルフォキシドの回収率は76.3%と低く、このことは添加したアルディカルブスルフォキシドの回収率が50~60%程度と推定された。

変動係数は変化する4物質以外ではアルディカルブスルファンが15.2%でその他は10%以下で

表6 連結カートリッジ(C 18, ENVI-Carb)と ENVI-Carb カートリッジ単独による回収率の比較

標準物質名	回収率(%)							測定対象
	水				河川水1		河川水2	
	連結	連結	ENVI	ENVI	連結	ENVI	ENVI	
オキサミル	93.1	95.0	94.1	94.4	82.6	90.8	79.7	●
メソミル	92.3	94.9	92.4	94.7	88.5	97.4	87.3	●
アルディカルブ	61.6	65.6	81.6	67.4	78.7	83.8	70.7	対象外
メトルカルブ	90.0	90.7	84.7	91.5	85.6	87.9	80.2	●
プロポキシル	90.7	92.4	89.1	94.4	89.8	94.8	84.4	●
カルボフラン	93.5	95.1	92.6	92.6	90.1	94.7	86.6	●
カルバリル	92.5	94.9	94.8	94.0	89.4	92.8	86.0	●
エチオフェンカルブ	27.4	41.6	52.3	20.0	73.8	49.3	31.7	●
イソプロカルブ	91.0	93.4	88.2	93.1	86.3	88.7	83.1	●
フェノプロカルブ	91.0	93.1	89.1	93.3	89.6	92.9	86.2	●
メチオカルブ	93.4	96.3	96.9	90.4	91.5	96.1	93.1	●
アルディカルブスルファン	131.1	125.0	104.8	125.3	61.3	54.7	60.6	対象外
アルディカルブスルフォキシド	81.1	66.5	72.8	73.9	16.7	13.6	13.9	対象外
エチオフェンカルブスルファン	170.3	157.2	136.4	167.0	97.2	143.7	147.6	●
エチオフェンカルブスルフォキシド	91.3	93.4	91.6	94.3	88.0	93.7	88.3	●
メチオカルブスルファン	96.9	96.3	92.5	103.2	70.5	89.0	83.4	●
メチオカルブスルフォキシド	91.9	94.8	75.0	72.1	58.6	68.3	68.6	●

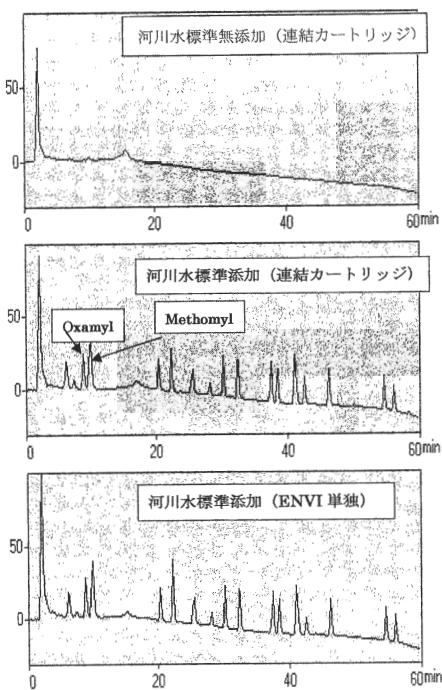


図3 河川水のクロマトグラム例
(河川水に250ng/1,200ml 添加)

あった。

4.5 連結カートリッジと ENVI 単独抽出による回収率の比較

本検討において、ジクロロメタンの使用を最小限とするために、抽出には C18 と ENVI の連結法を用いたが、クリーンアップではジクロロメタンを使用せざるを得なかった。ジクロロメタンの使用を前提とするなら、表3の結果から ENVI 単独抽出においても連結抽出とほぼ同程度の回収率が得られると推定された。そこで、連結と ENVI 単独抽出について、水、河川水 1,200ml (250ng 添加) からの回収率を表6に示した。ここで、ENVI 单独抽出の溶出はアセトン 10ml、ジクロロメタン 5ml とした。表から、水、河川水からの回収率は両者ともにほとんど変わらなかった。図3 に河川水の標準無添加、17物質添加(連結、ENVI 单独カートリッジ抽出)のクロマトグラム例を示したが、両者ともに妨害ピークが少ないことが示され、前処理法として使用可能と考えられた。

しかし、表5、6において、河川水からのアルディカルプスルフォンの回収率は20%以下と低

く、さらにアルディカルプスルフォキシドの回収率も50~70%前後と低く、結果としてアルディカルプと2代謝物については本フローでは定量できなかった。

以上から、ジクロロメタン使用を前提とするならば連結カートリッジあるいはENVI 単独抽出において、検討対象17物質のうち回収率の低いアルディカルプ類3物質を除く14物質の定量が可能となった。また、ジクロロメタンを使用しない場合は、①上水のような試料(GFPろ過不要)で連結カートリッジ抽出で14物質、②クリーンアップでジクロロメタン溶出を行わないケースでカルバリル、アルディガルブ類以外の計13物質の分析が可能となった。

さらに、オキサミル、メソミルのみであれば、ENVI 単独抽出でジクロロメタンを使用せず分析可能と考えられた。

5. まとめ

N-メチルカルバメート系農薬であるオキサミル、メソミルにあわせ同時分析可能と考えられた同族系農薬とそれらの代謝物6種計17種について環境水における分析方法の検討を行った。前処理法としてカートリッジ4種とディスク3種について検討した結果、対象物質の選択、ジクロロメタン使用の可否により種々の分析フローが考案された。ジクロロメタンの使用を最小限とすると、C18とENVI カートリッジの連結抽出あるいはジクロロメタンの使用を前提とするとENVI 単独抽出で高い回収率で14種について定量できた。

謝 辞

本分析方法の検討に当たり、数々の助言をいただいた千葉県衛生研究所の宮本文夫氏、シグマアルドリッジジャパン社金子敏郎氏、暑い中実験を手伝って下さった日本大学生産工学部学生中村寛子氏に深く感謝いたします。

—参考文献—

- 1) 環境庁：外因性内分泌攪乱化学物質問題への環境庁の対応方針について—環境ホルモン戦略 SPEED'98—、1998
- 2) 吉澤正、藤本千鶴：固相抽出法による多環芳香族炭化水素の分析、全国公害研会誌、24, 92-99, 1999
- 3) 藤本千鶴、吉澤正：固相抽出法による有機塩素系農薬類

- の分析, 環境化学, **9**, 11–21, 1999
- 4) 藤本千鶴: 水中のフタル酸エステル類の分析方法の検討とモニタリング, 用水と排水, **41**, 1133–1139, 1999
- 5) 吉澤正, 藤本千鶴: 千葉県内公共用水域における外因性内分泌搅乱化学物質に関する実態調査—フェノール類, フタル酸エステル類など, 用水と排水, **42**, 140–148, 2000
- 6) 環境庁保健調査室: 昭和62年度化学物質分析法開発調査報告書, pp. 88–98, 1988
- 7) 津村ゆかり, 中村優美子, 吉井公彦, 外海泰秀, 肥後真美子, 柴田正: HPLC を用いる農産物中の N-メチルカルバメート系農薬21種及びそれらの代謝物12種の同時分析, 食品衛生学雑誌, **39**, 357–367, 1998
- 8) 永山敏広, 小林麻記, 塩田寛子, 森野雅也, 伊藤正子, 田村行弘: 農産物中の N-メチルカルバメート系農薬分析法, 食品衛生学雑誌, **35**, 470–478, 1994
- 9) 日本薬学会: 衛生試験法・注解2000, pp. 435–444, 2000
- 10) 厚生省生活衛生局長: 衛化第43号残留農薬迅速分析法の利用について, 1997
- 11) 遠藤幸男, 保坂久義, 宮本文夫, 左伯政信: 農薬の迅速分析法への適用性の検討(第三報)—含窒素系農薬一, 千葉県衛生研究所報告, 第22号, 22–30, 1998
- 12) 氏家愛子, 高橋紀世子, 細谷義隆, 伊藤孝一: N-メチルカルバメート系農薬の同時分析における簡易な精製法の検討, 宮城県保健環境センター年報, 第17号, 70–73, 1999
- 13) 田嶋広: N-メチルカルバメート系農薬の分析方法の検討—HPLC による OPA を用いたポストカラム蛍光誘導体化法, 第50回全国水道研究発表会 演要旨集, pp. 556–557, 1999
- 14) 松井克肇, 宮田雅典: 高速液体クロマトグラフポストカラム法によるカルボフラン測定方法の検討, 第8回環境化学会講演要旨集, pp. 184–185, 1997
- 15) 肥塚加奈江, 劍持堅志, 萩野泰夫, 松永和義, 森忠繁: ポストカラム誘導体化蛍光法を用いた環境及び生物試料中のメソミル, オキサミルの分析, 環境化学, **3**, 771–782, 1993
- 16) Antonio Di Corcia and Marcello Marchetti: Multiresidue Method for Pesticides in Drinking Water Using a Graphitized Carbon Black Cartridge Extraction and Liquid Chromatographic Analysis, Analytical Chemistry, **63**, 580–585, 1991