

胃袋型インサートを用いた GC 大量注入による水中農薬分析への応用

谷澤 春奈、佐々野 僚一 (株式会社アイスティサイエンス)

【はじめに】平成 16 年度より水道法が改定され、農薬に関しては 101 種類が水質管理項目となっている。このような背景のもと一斉分析の迅速化と高感度分析が必要とされる中で、特に、測定の定量下限値が目標値の 100 分の 1 までという低濃度での分析が要求されている。本研究では、試料量の少量化に伴う前処理操作の迅速化と簡便化を目的とし、101 項目中 GC/MS 対象農薬 70 項目について、胃袋型インサートを用いた GC 大量注入法により試料中濃度 0.0001mg/L (0.1ppb) での分析を検討し、良好な結果が得られたので報告する。

【実験方法】装置；GC 大量注入法は胃袋型インサートを備えた PTV 注入口装置 (アイスティサイエンス社製) を用いた。GC/MS は Jms-Q1000GC (日本電子社製) 注入には 100 μ L のシリンジを備えた既存のオートサンプラー 7863B (Agilent 社製) を用いた。

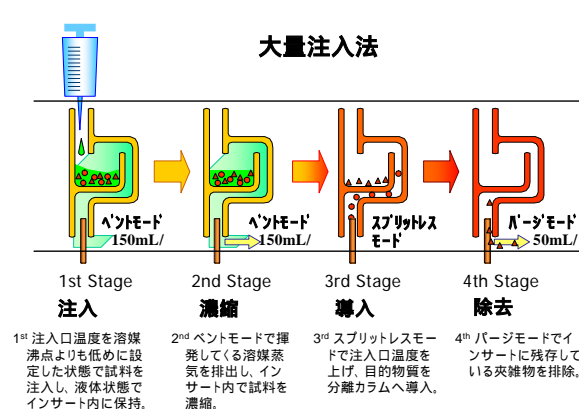
農薬標準品；農薬標準品は水道法 GC/MS 対象農薬 70 種 (残集農薬試験用農薬混合標準液 46) (関東化学社製) を用いた。

前処理法；前処理法を Fig.2 に示す。試験水 50mL にメタノール 2.5mL (5%メタノール) を加え、よく混合後、SAIKA-SPE PLS-3 (20mg) (アイスティサイエンス社製, 充填剤: GLScience 社製) に通水した。試料を通水後、5%メタノール 2mL で試料を入れた容器を洗浄し、洗液として上記固相ミニカラムに通水した。その後、3 分間吸引乾燥を行い水分を除去し、アセトン:ヘキサン(3:7)1mL で溶出後、0.2%ポリエチレングリコール(300)/アセトン溶液を 5 μ L 添加し 1mL に定容し、試験溶液とした。大量注入装置を用いて GC/MS にその試験溶液を 50 μ L 注入し、測定を行った。

大量注入法；今回用いた GC 大量注入法の工程を Fig.1 に示す。本大量注入法は胃袋型インサートを特長としているためガラスウール等の充填剤を必要とせず、目的物質の吸着や分解を防ぐことができ、また低い温度でインサート内の目的物質をカラムへ導入できるため、熱に弱い物質の分析も可能となった。今回、大量注入法を用いて試料中 0.0001mg/L という低濃度での添加回収試験を行うにあたり、大半の農薬は SCAN 法で測定を行ったが、一部感度の低い農薬のみ SIM 法を組み込んだ。

【結果と考察】本研究では大量注入法により GC/MS へ 50 μ L 注入することから、試料量を少量化し前処理操作のスケールダウンを図った。試料採取量を 500mL からその 1/10 である 50mL に少量化することで、その後の前処理操作が全体的に格段に早くて簡便になる。固相への試料負荷量が減ることによる固相充填量の少量化 (500mg \rightarrow 20mg) 固相への試料通水時間の短縮化 (約 40 分 \rightarrow 約 4 分) 固相乾燥時間の短縮化 (30 分以上 \rightarrow 3 分) 溶出溶媒の変更 (ジクロロメタン \rightarrow 30%アセトン/ヘキサン) と溶出量の少量化 (3mL \rightarrow 1mL) 窒素パーズ等濃縮操作の省略などである。結果的に、全体を通して 1 時間以上かかっていた操作が 10 分程度で終了することが可能になった。また、採取した試料にメタノールを少量 (試料中 5%メタノール) 加え、低極性農薬の試料への溶解度を高めたことにより、これらの回収率が向上した。これは低極性農薬が溶媒を含まない試料水に溶解しにくくガラスやリザーバー等に吸着を起こしていたものが、メタノールを加えることで試料水に溶解しやすくなり吸着が抑制されたためと考えられた。添加するメタノール濃度は、5%以上高くすると逆に高極性農薬の固相への保持力が弱まったため、試料に対して 5%となるようにメタノールを加えることとした。

市販のミネラルウォーターに 0.0001mg/L (0.1ppb) になるように農薬を添加し、Fig.2 に従い分析を行った結果を Table1 に示した。分解性の高い Chlorothalonil は回収率が低く RSD も 20%以上であり、同様に Disulfoton や Captan もやや低回収率であったが、それ以外の農薬においては回収率、RSD 共に良好な結果が得られた。また試料に少量のメタノールを加えたことで、低極性農薬である Etofenprox (LogPow=7.05) と高極性農薬である Dimethoate (LogPow=0.704) も 60%以上の回収率を得ることができた。以上の結果から、GC 大量注入法を用いることで、試料中 0.0001mg/L の低濃度分析における前処理操作は 1 検体でわずか 10 分、4 検体でも 20 分という短時間で分析できるようになった。



試料水 50mL

メタノール 2.5mL

固相PLS-3(20mg):保持

洗液;5%メタノール水

吸引乾燥;3min

溶出;アセトン:ヘキサン(3:7) 1mL

0.2%ポリエチレングリコール(300)/アセトン 5μL

定容(1mL)

GC/MS測定 (50μL注入)

Fig.2 Scheme of sample preparation

Fig.1 Process of Large volume Injection

Table 1. Recovery and Reproducibility of pesticides added to mineral water (% , n=4)

Pesticides	Recovery	RSD	Pesticides	Recovery	RSD	Pesticides	Recovery	RSD
Dichlorvos	70.7	6.2	Alachlor	96.0	7.8	Flutolanil	93.3	6.7
Dichlobenil	105.4	4.5	Toriclophos- methyl	100.3	3.2	Pretilachlor	88.0	11.1
Etridiazol	101.1	5.6	Dithiopyr	99.0	2.2	Isoprothiolane	89.3	9.3
Chloronebe	101.4	3.5	Metalaxyl	87.7	7.0	Buprofezin	92.2	6.0
Isoprocarbe	103.6	2.3	Symetryne	97.8	5.1	Isoxathion	87.0	6.8
Molinate	109.9	1.3	Phenitrothion	80.5	6.4	Endosulfan-2	92.5	4.1
Fenobucarb	106.4	2.1	Malathion	83.8	7.0	Mepronil	96.1	8.0
Trifluralin	75.3	4.8	Esprocarb	83.7	9.1	Chlornitrofen	97.5	4.2
Benfluralin	77.9	3.1	Chlorpyrifos	85.9	2.6	Edifenphos	89.7	6.0
Pencycuron	93.0	3.1	Thiobencarb	88.5	6.2	Endosulfan sulfate	109.9	7.1
Dimethoate	85.0	6.8	Fenthion	81.9	6.4	Thenylchlor	84.2	8.4
Simazine	100.9	5.2	Isofenphos-oxon	73.1	14.2	Pyributicarb	95.2	3.5
Diazoxon	91.2	8.8	Phthalide	107.0	2.6	Pyridafenthion	96.9	9.9
Atrazine	103.6	4.4	Pendimethalin	92.1	7.3	Iprodione	82.5	9.7
Diazinone	98.6	4.2	Isofenphos	87.0	8.4	Piperophos	85.0	10.0
Propyzamide	106.0	2.0	Dimethametryn	96.6	3.7	EPN	99.2	7.0
Pyroquilon	97.1	3.0	Methyl-daimuron	110.8	6.4	Anilofos	91.3	7.0
Disulfoton	58.8	9.8	Phenthoate	58.9	15.9	Bifenox	108.9	7.3
Chlorothalonil	24.0	33.7	Dimepiperate	79.8	12.3	Pyriproxyfen	100.5	5.7
Iprobenfos	79.8	14.0	Captan	63.7	4.3	Mefenacet	89.1	11.8
Terbucarb	102.3	3.5	Methidathion	94.7	8.7	Cafenstrole	101.5	5.6
Toriclophos-methyl oxon	98.8	5.2	Butamifos	82.9	7.8	Etofenprox	63.8	7.6
Fenitrooxon	92.0	6.5	Endosulfan-1	98.5	4.3			
Bromobutide	102.4	3.5	Napropamid	96.9	6.9			

*Sample were spiked at 0.0001mg/L(0.1ppb) of each pesticide.

胃袋型インサートを用いたGC大量注入による水中農薬への応用

株式会社アイスティサイエンス 谷澤春奈 佐々野優一

目的

平成16年度より水道法が改定され、農薬に関しては101種類が水質管理項目となっている。このような背景のもと一斉分析の迅速化と高感度分析が必要とされる中で、特に、測定の下限值が目標値の100分の1までという低濃度での分析が要求されている。本研究では、大量注入法を用いることによる高感度分析と、試料量の少量化に伴う前処理操作の迅速かつ簡便化を目的とし、101項目中GC/MS対象農薬70項目について、胃袋型インサートを用いたGC大量注入法により試料中濃度0.0001mg/L (0.1ppb)での分析を検討し、良好な結果が得られたので報告する。

前処理フロー

前処理時間: 10分/1検体, 20分/4検体

試料水 50mL

メタノール 2.5mL

固相PLS-3 (20mg): 保持

洗浄; 5%メタノール水 2mL

吸引乾燥; 3min

溶出; アセトン:ヘキサン (3:7) 1mL

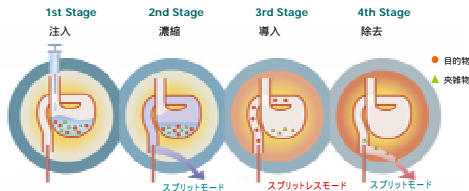
0.2%ポリエチレングリコール (300)/アセトン 5μL

定容 (1mL)

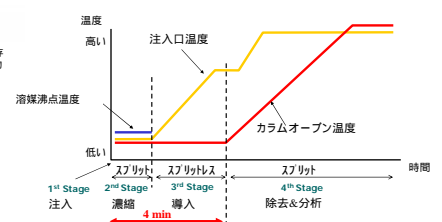
GC/MS測定 (50μL注入)

大量注入法

胃袋型インサートを用いた大量注入工程



GC条件概念図



本大量注入法は胃袋型インサートを特長としているため、ガラスウール等の充填剤を必要とせず、目的物質の吸着や分解を防ぐことができ、また低い温度でインサート内の目的物質をカラムへ導入できるため、熱に弱い物質の分析も可能となった。

メタノール添加について

採取した試料水にメタノールを添加し、各農薬の挙動を確認したところ、メタノールの添加量が増えると共に、低極性農薬の固相 (PLS3) における回収率が向上した。これは、低極性農薬がメタノールを含まない試料水に溶解しにくく、リザーバー (PP) や三角フラスコ (ガラス) に吸着を起しており、メタノールを加えることで試料水に溶解しやすくなり、吸着が抑制されたためと考えられた。添加するメタノールは5mL以上になると、高極性農薬の固相 (PLS3) への保持が弱まったため、試料に対して5% (2.5mL) 加えることとなった。

農薬名	LogPow	水溶解度 (mg/L)	PLS3-20mg			リザーバー			三角フラスコ (ガラス)						
			無添加	メタノール添加量 2mL	5mL	10mL	無添加	2mL	5mL	10mL	無添加	2mL	5mL	10mL	
Dimethoate	0.704	23800	87.1	73.5	48.4	24.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Dichlorvos	1.9	18000	99.2	84.3	78.4	55.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Pyrethrin	1.57	4000	94.8	86.9	81.0	69.9	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Simazine	2.1	6.2	98.7	91.8	88.8	78.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Pyributicarb	-	0.32	72.4	75.3	80.6	83.3	0.4	0.5	0.2	0.5	0.1	0.0	0.1	0.1	0.1
Bifentox	4.5	0.35	80.7	81.8	82.1	85.8	2.4	2.3	2.1	1.6	1.2	1.0	1.1	0.0	0.0
Pyriproxyfen	5.37	-	80.1	84.7	87.6	89.7	2.0	1.3	1.1	1.3	2.6	1.8	1.1	0.3	0.3
Etofenprox	7.05	<0.001	34.3	46.1	62.0	64.1	7.9	4.6	2.4	2.5	7.7	9.4	9.1	8.1	8.1

* 各農薬は、PLS3, リザーバー, 三角フラスコを乾燥後、アセトン:ヘキサン (3:7) (1mL) で溶出; 定容し、測定を行った。

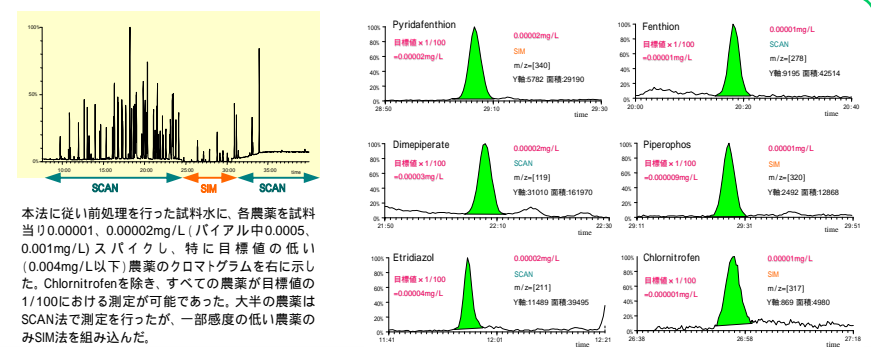
農薬標準品

水道法GC/MS対象農薬70種
残留農薬試験用農薬混合標準溶液46 (関東化学株式会社)

分析条件

PTV Injector	LVI-S200 (AISTI Science): Stomach Insert
Injection Temp.	70 (0.3min)-120 (1min)-240 (0.5min)-50 (1min)-280 (85min)
Solvent Purge Time	0.55min
Auto Injector	Agilent 7883B: 100 μL syringe
Injection Volume	50 μL
GC	Agilent 6890N
Pre-column	Deactivated silica capillary tube 0.32mm x 0.3m
Column	MIGHTY Cap ENV-5MS 0.25mm i.d. x 30m, dft.25 μm
Column Oven Temp.	80 (4min)-20 (1min)-180 - 5 (1min)-220 - 3 (1min)-240 - 10 (1min)-300 (8min)
Split/purge Flow	50mL/min (6min)-20mL/min
Splitless Time	4min
MS	JMS-K9 (JEOL)
Detector Temp.	280
MS Method	SCAN: 50-450 SIM: some of pesticides

目標値の1/100における農薬の感度について



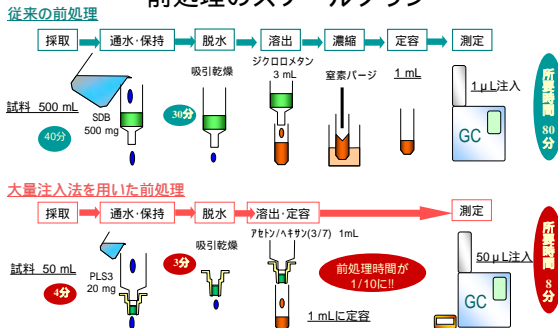
添加回収試験

ミネラルウォーターを用いた添加回収試験における各農薬の添加回収率およびRSD (%) (n=4)

農薬名	回収率	RSD	農薬名	回収率	RSD	農薬名	回収率	RSD
Dichlorvos	70.7	6.2	Alachlor	96.0	7.8	Flutolanil	93.3	6.7
Dichlobenil	105.4	4.5	Toridlophos-methyl	100.3	3.2	Pretlalachlor	88.0	11.1
Etridiazol	101.1	5.6	Dithiopyr	99.0	2.2	Isoprothiolane	89.3	9.3
Chloronbe	101.4	3.5	Metalaxyl	87.7	7.0	Buprofezin	92.2	6.0
Isoprocarbe	103.6	2.3	Symetryne	97.8	5.1	Isoxathion	87.0	6.8
Molinate	109.9	1.3	Phenitrothion	80.5	6.4	Endosulfan-2	92.5	4.1
Fenobucarb	106.4	2.1	Malathion	83.8	7.0	Meprolin	96.1	4.0
Trifluralin	75.3	4.8	Esprocarb	83.7	9.1	Chlorintrofen	97.5	8.2
Benfluralin	77.9	3.1	Chlorpyrifos	85.9	2.6	Edifenphos	89.7	6.0
Pencycuron	93.0	3.1	Thiobencarb	88.5	6.2	Endosulfan sulfate	109.9	7.1
Dimethoate	85.0	6.8	Fenthion	81.9	6.4	Thenylchlor	84.2	8.4
Simazine	100.9	5.2	Isofenphos-oxon	73.1	14.2	Pyributicarb	95.2	3.5
Diazoxon	91.2	8.8	Phthalide	107.0	2.6	Pyridafenthion	96.9	9.9
Atrazine	103.6	4.4	Pendimethalin	92.1	7.3	Iprodione	82.5	9.7
Diazinone	98.6	4.2	Isofenphos	87.0	8.4	Piperophos	85.0	10.0
Propyzamide	106.0	2.0	Dimethametryn	96.6	3.7	EPN	99.2	7.0
Pyrethrin	97.1	3.0	Methyl-daimuron	110.8	6.4	Anilofos	91.3	7.0
Disulfoton	58.8	9.8	Phenthoate	58.9	15.9	Bifenox	108.9	7.3
Chlorothalonil	24.0	33.7	Dimepiperate	79.8	12.3	Pyriproxyfen	100.5	5.7
Iprobenfos	79.8	14.0	Captan	63.7	4.3	Mefenacet	89.1	11.8
Terbutcarb	102.3	3.5	Methidathion	94.7	8.7	Cafenestrole	101.5	5.6
Toridlophos-methyl oxon	98.8	5.2	Butamifos	82.9	7.8	Etofenprox	63.8	7.6
Fenitrooxon	92.0	6.5	Endosulfan-1	95.9	4.3			
Bromobutide	102.4	3.5	Napropamid	96.9	6.9			

* 各農薬を試料中濃度 0.0001mg/L (0.1ppb) になるようにミネラルウォーターに添加し、本法に従い分析を行った。

前処理のスケールダウン



本研究では大量注入法により、GC/MSへ50μL注入することから、試料量を少量化し前処理操作のスケールダウンを図った。水質管理目標設定項目の検査方法 (平成15年10月10日健水発第1010001号) と比較して、試料採取量を500mLからその1/10である50mLに少量化することで、その後の前処理操作が全体的に格段に早くかつ簡便になった。固相への試料負荷量が減ることによる固相充填量の少量化 (500mg → 20mg)、固相への試料通水時間の短縮化 (約40分 → 約4分)、固相乾燥時間の短縮化 (30分以上 → 3分)、溶出溶媒の変更 (ジクロロメタン アセトン:ヘキサン (3:7)) と溶出量の少量化 (3mL → 1mL)、濃縮操作の省略などである。GC大量注入法を用いることで、前処理操作は1検体でわずか10分、4検体でも20分という短時間で分析可能になった。

市販のミネラルウォーターに0.0001mg/L (0.1ppb) になるように各農薬を添加し、前処理フローに従い分析を行った結果を上記に示した。分解性の高いChlorthalonilは回収率が低くRSDも20%以上であり、同様にDisulfotonやPhenthoate, Captan, Etofenproxもやや低回収率であったが、それ以外の農薬においては回収率70~120%以内、RSDほぼ10%未満と良好な結果が得られた。また、少量のメタノールを加えたことで、低極性農薬であるEtofenprox (LogPow=7.05) と高極性農薬であるDimethoate (LogPow=0.704) も60%以上の回収率を得ることができた。