

高速液体クロマトグラフによる水質試料中のシマジン、チウラム、チオベンカルブの同時分析法について

坂 雅宏 多田 哲子 中村 昌子

A Simultaneous Analytical method using a High-performance Liquid Chromatograph for the Determination of Simazine, Thiuram, and Thiobencarb in Water Samples

Masahiro SAKA Noriko TADA Masako NAKAMURA

要 旨

水質汚濁防止法等により基準値が定められている農薬のうち、シマジンとチオベンカルブは固相抽出ーガスクロマトグラフ (GC) 質量分析法、チウラムは同一高速液体クロマトグラフ (LC) 紫外吸光度法により測定され、前処理の固相抽出過程を含めてそれぞれ異なる操作を必要とする。分析の効率化を図るとともに、GC で使用されるヘリウムガスの供給不足にも対応すべく、上記3農薬のLC紫外吸光度法 (ダイオードアレイ検出器) による同時分析法を検討した。まず、LCによる測定条件を、(1) 3農薬のピークが完全に分離されること、(2) 測定時間の大幅な短縮を図ること、以上2点に着目して最適化した。次に、従来のチウラム単独分析時の固相抽出法に基づき、超純水と河川水や排水等の実試料を用いて3農薬の添加回収試験を行った。測定条件に関しては、移動相の流速を1.5 mL/minとし、試料注入後5分から10分までの間に移動相のアセトニトリル濃度を急激に上げることにより、3農薬のピークを完全に分離しつつ1サイクルを最短14分で終了させることができた。また、超純水、河川水、地下水を用いた添加回収試験では、いずれの農薬についても良好な回収率 (85.7-113%) が得られた。ただし、排水 (下水処理場放流水) や産業廃棄物最終処分場からの浸出水や放流水を用いた場合、チウラムの回収率のみ0.0-64.5%であった。これは、試料中の共存物質によるチウラムの分解が反映された結果であると推測され、固相抽出を含めた本法に関する直接的な問題点からは除外された。また、産業廃棄物最終処分場の浸出水や下流観測井戸水の場合、試料中の夾雑物による妨害ピークが発生し、試料によっては各農薬に該当するピークの有無が確認できないケースが見られた。このような場合、従来どおり選択性に優れたGC質量分析法や、質量分析計を備えたLCによる測定を選択しなければならない。しかし、年間検体数の中で過半数を占める河川水や地下水等、試料中の夾雑物による影響がほとんど見られなかった試料の場合は本法によるスクリーニングが可能であり、本法の導入は分析業務の効率化に大きく寄与するものと期待できる。

キーワード：環境監視、農薬、分析効率化、固相抽出、ダイオードアレイ検出器、添加回収試験、ヘリウム消費量削減
Keywords : Environmental monitoring, Pesticides, Efficiency of chemical analysis, Solid phase extraction, Diode array detector, Spike and recovery tests, Helium consumption reduction

はじめに

検査項目数の増加に加え、微量濃度域で新たに設定される基準値や指針値等にも応えなければならない環境監視業務において、高度な装置を要する化学分析の需要の高まりは衰えを見せない。その化学分析の中で、検出器として最も重要な役割を担う質量分析計が格段に進歩したことにより、極めて微量レベルでの検出感度を要求される高度な分析法でさえ、今や汎用的な手法の一つとして定着している。このような分析技術の変化に、監視業務を行う公的検査機関の機器整備は残念ながら追いついていない。検査需要に応じた機器の新規導入や定期的な更新が進まない状況下では、特定の高度な機器に利用頻度 (負荷) が集中しないよう装置利用の効率化を図り、機器の故障等リスクを分散させることを考えなければならない。たとえば、ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC/MS) は環境中に存在する微量の有機化合物を測定するため

の装置として利用頻度が高い。環境関連法に基づく水質監視業務に限っても農薬類、揮発性有機化合物、アルキルフェノール類、フタル酸エステル類、有機水銀等多くの測定項目に採用されている。一方、検出器として紫外吸光度計を備えた高速液体クロマトグラフ (LC/UV) は、ダイオードアレイ検出器の搭載により物質同定機能が強化された装置であっても、質量分析計を検出器とする液体クロマトグラフ (LC/MS) の普及に伴ってその利用価値を失いつつある¹⁾。法定の水質監視業務においても、LC/UVを用いて測定する項目は農薬のチウラムとオキシ銅のみである。このように対照的ともいえる両者の利用頻度の違いが継続する中で、GC/MSに関してはキャリアガスとして用いられるヘリウムガスの供給量が不足するという新たな問題が浮上した²⁾。資源としてのヘリウムガスの枯渇が根本的な原因である以上、GC/MSを用いる分析業務がいずれ深刻な影響を受けることは必至であり、それゆえ、代替ガスの利用³⁾やGC/MSを使わない分析法⁴⁾が模索され続けている。

当所で扱っている水質、土壌、廃棄物試料に関して、環境

(令和6年11月25日受理)

関連法により基準値が定められている農薬類は、揮発性有機化合物の範疇に含まれる 1,3-ジクロロプロペンを除くとシマジン、チオベンカルブ、チウラムの3物質のみである。当所の環境監視業務において、これらの農薬がこれまでに検出されたことはほとんどなく、一貫して「非検出（報告下限値未満）」であることの確認に終始している。このように検出頻度が極端に少ない分析項目は効率化の対象として優先的に考えやすい。公定法に基づく分析方法では、シマジンとチオベンカルブは主として固相抽出—GC/MS、チウラムは同一 LC/UV により測定される。しかも、2つの方法に共通している前処理操作の固相抽出についても、抽出条件がそれぞれ異なるためシマジン・チオベンカルブ測定用とチウラム測定用と別々に抽出操作を行わなければならない。換言すれば、これら3農薬の同時分析を前処理操作も含めて可能にすれば、当該の農薬に関する分析業務量の半減に繋がる。しかも、同時分析法が GC/MS ではなく LC/UV を用いるのであれば、装置利用の効率化やヘリウムガス使用量削減対策にも貢献できる。

実際、これら3農薬を LC/UV により同時分析する試みについては既に幾つか報告例があり、総合的に以下の事実を確認することができる。すなわち、(1) 固相抽出操作の際、従来のチウラム測定法に基づいて試料の pH を 3.5 に調整し、固相カラムからの溶出溶媒としてアセトニトリルを用いた場合でも、シマジンとチオベンカルブは良好な回収率で抽出できること^{5,6)}、(2) 固相抽出操作により試料を 500 倍程度に濃縮すれば、LC/UV でも法定監視業務における報告下限値（基準値の 1/10）を満足できる感度が得られること^{6,7,8)}、(3) シマジンとチオベンカルブの測定波長として、低波長領域（220–230 nm）が採用されていること^{6,7,8)}、(4) 分離カラムとして汎用的な逆相オクタデシル結合シリカゲルカラムを用いる場合、シマジン、チウラムの保持時間とチオベンカルブの保持時間との間に大きなタイムラグが発生すること^{5,6,8)}、である。したがって、当所の LC/UV システムにより3農薬の同時分析法に着手する場合、チウラム単独測定の場合と同様の前処理法に基づいて試料から試験液を濃縮・調製し、LC/UV では 220–230 nm を含めて波長設定することが測定条件検討の基本となる。また、測定時間の短縮を図るためには、保持時間の差を縮小すべく移動相のグラジエントに関するタイムプログラムが重要なポイントとなる。

本研究の目的は、先行研究における3農薬の同時分析法を参考にしつつ、当所の固相抽出装置や LC/UV システムを用いて測定条件の最適化を行い、当所で扱う試料に適した同時分析法を確立することである。本報では、同時分析法に関する条件検討の過程を述べつつ、確立された分析法についての定量下限値や添加回収試験結果等に基づく信頼性について報告する。また、様々な実試料に本法を適用する際に、試料中の夾雑物による影響、具体的には固相抽出操作を介した回収率の低下や LC/UV のクロマトグラム上に妨害ピークが見られた実試料の例を紹介し、その原因の推測や対応策についても言及する。

材料と方法

1. 試料の前処理方法

試料の前処理方法としてチウラム単独分析の場合と同じ固相抽出法を採用した。すなわち、1N 塩酸で pH を 3.5 に調整した試料を全自動固相抽出装置（GL Sciences 製、ASPE799）にセットし、以下の抽出条件にしたがって LC/UV 用試験液を調製した。アセトニトリルと超純水各 5 mL でコンディショニングを行った逆相ポリマー系抽出カラム（Waters 製、OASISTM HLB Plus LP）に試料 500 mL（排水系試料の場合は 100 mL）を 15 mL/分 で通水し、カラムを超純水 10 mL で洗浄後、窒素ガスにより乾燥させた。カラムにトラップされた抽出物を 4 mL のアセトニトリルで溶出させ、窒素ガス吹付けにより 1 mL に濃縮したものを試験液とした。

なお、排水系試料のように試料中の夾雑物による測定への影響が予想される場合、30% (v/v) アセトニトリル水 3 mL によるカラムの洗浄工程を追加すると試験液のクリーンアップが期待できるため⁹⁾、必要に応じてこの洗浄工程を、超純水による洗浄工程の直後に追加した。

2. 標準試料の調製

同時分析法の検討に用いた3農薬の標準試料については、富士フィルム和光純薬製の標準物質または標準品、残留農薬試験用のアセトン（300）または高速液体クロマトグラフ用のアセトニトリルを用いて調製した。まず、シマジン標準物質（規格含量 99%）、チオベンカルブ標準品（同 98%）、チウラム標準品（同 98%）をそれぞれ 20 mg 秤量し、アセトン（チウラム標準品の場合のみアセトニトリル）で別々に溶かして 20 mL に定容したものを標準原液（各 1 mg/mL）とした。次に、これらの標準原液から 500 μ L ずつ取って混合し、アセトニトリルで 10 mL に定容したものを3農薬混合標準液（各 50 μ g/mL）とした。これをアセトニトリルで段階的に希釈し、0.15、0.5、1、2、5 μ g/mL の合計5点の検量線用標準試料を調製した。

3. LC/UV による測定条件の最適化

LC/UV については、ダイオードアレイ検出器を備えた4波長同時測定型のシステムである Thermo Fisher Scientific 製の Ultimate 3000 を使用した。分離カラムとして、チウラム単独分析の際に使用していたものと同じオクタデシル基結合シリカゲルカラム InertsilTM ODS-3（GL Sciences 製、4.6 \times 150 mm、粒径 5 μ m）を用いた。カラムオープンの温度と送液ポンプの流速をそれぞれ 40 $^{\circ}$ C と 1.5 mL/min に設定し、移動相として超純水とアセトニトリルを用いた。最初にアセトニトリル：超純水 = 55：45 のイソクラティックモードで3農薬の保持時間やピーク形状を確認した。続いて、測定時間短縮のためグラジエントモードでの測定を確立すべく、アセトニトリルの濃度を増加させるタイミング等を検討した。測定波長として、チウラム単独測定時に設定されていた 235 nm と 272 nm のほか、シマジン、チオベンカルブ測

定用として新たに 220 nm と 230 nm^{6,7,8)} を加えた。同時に、検出されたピークについてはその吸収スペクトルパターンを波長 190–340 nm の範囲で取得した。検量線最高濃度である 5 µg/mL の標準試料の測定により得られたパターンを、各農薬の基準スペクトルとして LC/UV システムの操作ソフトウェアに登録し、必要に応じて未知試料におけるピーク同定時の比較対象として利用できるようにした。

4. 検量線の信頼性と定量下限値

上記により最適化された条件に基づいて標準試料 5 点を測定し、得られた検量線については相関係数および各設定濃度におけるかい離度を算出して信頼性を評価する際の指標とした。すなわち、相関係数 0.999 以上かつ、かい離度 10% 以内 (最低濃度においては 20% 以内) であることを検量線の採否を判断する基準とした。検量線がこの条件を満足することを確認した後、最低濃度である 0.15 µg/mL の標準試料を 10 回測定し、その標準偏差の 3 倍値および 10 倍値をそれぞれ装置検出下限値および装置定量下限値として算出した。さらに、装置定量下限値を固相抽出操作に伴う試料の濃縮倍率で除した数値を分析方法全体に係る定量下限値とし、これが法定の水質監視業務に係る報告下限値 (基準値の 1/10 相当値) 以下であることを確認した。

5. 超純水への添加回収試験

前述の前処理方法に従い、最初に超純水への添加回収試験 ($n=3$) を実施した。超純水 1 L に対して 3 農薬混合標準液を 80 µL 添加・混合したものを試料 (各農薬の濃度 0.004 mg/L) として前処理 (通水量 500 mL) を行い、LC/UV で測定して各農薬の回収率と変動係数を算出した。回収率が 70–120% の範囲内かつ変動係数が 10% 以内であれば、その

前処理方法を次に述べる実試料を用いた測定や添加回収試験においても適用することにした。

6. 実試料を用いた測定および添加回収試験

当所に搬入された河川水、地下水、事業場排水 (下水処理場放流水)、産業廃棄物最終処分場 (管理型または安定型) に係る浸出水 (未処理水)、管理型処分場放流水 (処理水)、同観測用井戸水の各カテゴリーから一つ以上の試料を選択し、上記の前処理–LC/UV 同時分析法を適用した。得られた各試料のクロマトグラムを、標準試料のものと比較することにより、試料中の共存物質による大きなベースドリフトや妨害ピークの有無等を確認した。これにより、いずれの農薬も検出されず、かつ、検出の妨害となる大きなピークが認められなかった試料を添加回収試験用の実試料として選択した。実試料への添加回収試験は $n=1$ で行い、回収率のみ算出した。超純水を用いた場合と同様、固相抽出操作後の試験液濃度が各農薬 2 µg/mL となるよう、実試料への添加量は試料 1 L に対し農薬 3 種混合標準液 80 µL (排水系試料の場合は 400 µL) とした。

結果

1. 標準試料による LC/UV 測定条件の検討と分析方法の妥当性

図 1 (A) は 3 農薬の標準試料 (各 2 µg/mL) を LC/UV によりアセトニトリル：超純水 = 55 : 45 のイソクラティックモードで測定した場合のクロマトグラムである。標準物質溶解の際に使用したアセトンのピークが最初に出現した後、シマジン、チウラム、チオベンカルブの順で検出され、3 農

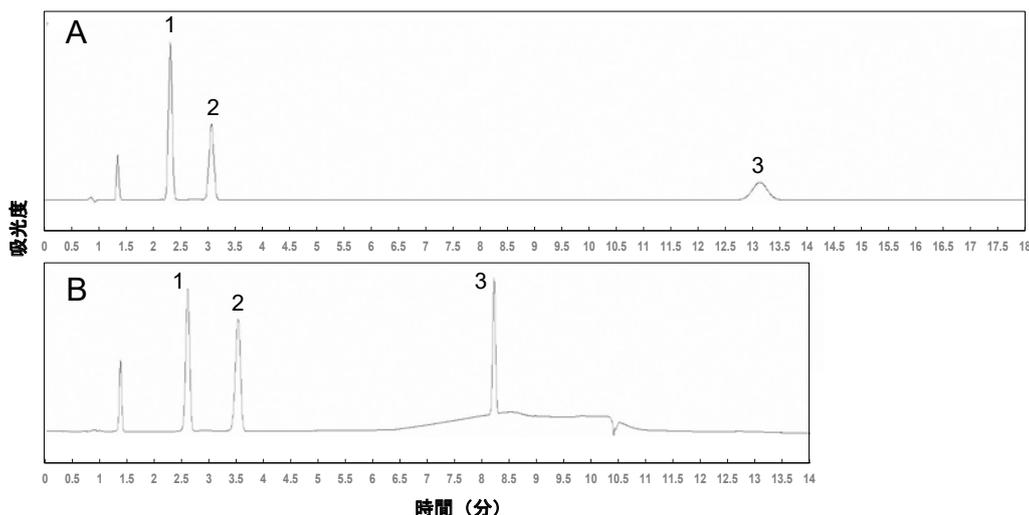


図 1. 高速液体クロマトグラフ紫外吸光度計 (LC/UV) を用いたシマジン、チウラム、チオベンカルブの同時分析法において、移動相のグラジエントモード適用による測定時間短縮とピーク形状改善の効果。3 農薬の混合標準試料 (各 2 µg/mL) をアセトニトリル：超純水 = 55 : 45 のイソクラティックモードで測定した場合 (A) と、グラジエントモードで測定した場合 (B) のクロマトグラム (波長 230 nm) を示す。図中の数字は昇順にシマジン、チウラム、チオベンカルブのピークを表し、グラジエントモードのタイムプログラムは図 2 (A) に示すとおりである。

薬の保持時間はそれぞれ 2.30、3.06、13.23 分であった。チウラムとチオベンカルブの保持時間において約 10 分の隔たりが見られ、さらに、検出されたチオベンカルブはかなりブロードなピーク形状を示した。次に、図 2 (A) に示すとおり、移動相におけるアセトニトリル濃度を初期値 50% (v/v) とし、予想されるチウラムの保持時間以降に短時間で 90% (v/v) まで上昇させるグラジエントモードでの測定を試みた。図 1 (B) は、グラジエントモードを適用した場合に得られた 3 農薬のクロマトグラムである。3 農薬の保持時間は順に 2.58、3.50、8.22 分となり、チウラムとチオベンカルブの保持時間の差が 5 分程度まで短縮され、さらに、チオベンカルブのピーク形状も大幅に改善された。

グラジエントモードで得られた各農薬のピーク (標準試料 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$) について、ダイオードアレイ検出器により得られた吸収スペクトルのパターンは図 3 に示すとおりである。いずれの農薬も高波長側へシフトするとともに吸光度が低下するパターンを示しつつ、シマジンでは明瞭な極大値が波長 221.5 nm において認められたが、チオベンカルブでは一貫して単調減少に近い曲線が得られた。

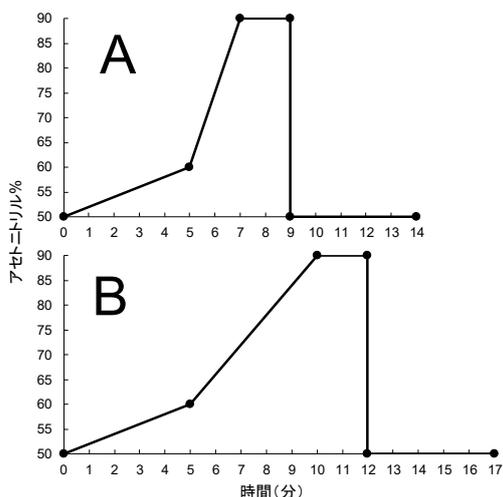


図 2. LC/UV を用いたシマジン、チウラム、チオベンカルブの同時分析法で採用された 2 種類のグラジエントモードのタイムプログラム。試料が河川水、地下水、事業場排水の場合は (A) を、産業廃棄物最終処分場の浸出水や下流観測井戸水の場合は (B) をそれぞれ適用した。

各農薬のピーク面積値を 4 つの測定波長間で比較した場合、上記の吸収スペクトルパターンが示すとおり、いずれの農薬についても波長 220nm の場合に最大値を示し、波長の増加とともに面積値は減少した。とくに、シマジンとチオベンカルブについては 235 nm 以上の波長において面積値が急激に低下し、272 nm での面積値は 220 nm における面積値の数%程度の数値まで低下した。チウラムの場合、波長のシフトに伴う面積値の変化はさほど劇的ではなく、272 nm においても 220 nm で得られた面積値の約 60% の数値が得られた。

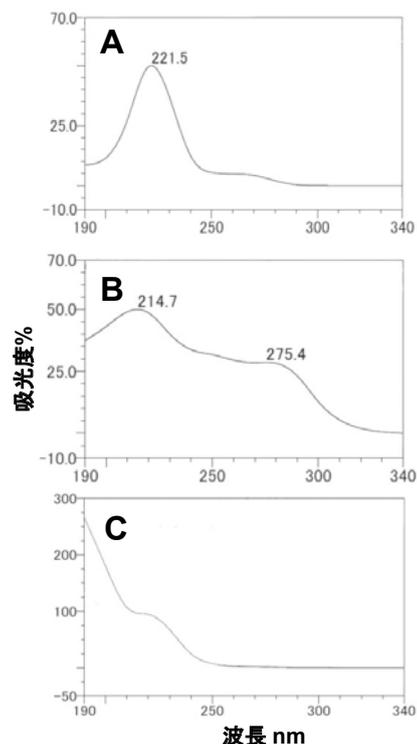


図 3. LC/UV のダイオードアレイ検出器により波長 190 - 340 nm の範囲で取得されたシマジン (A)、チウラム (B)、チオベンカルブ (C) の吸収スペクトルのパターン。

0.15 - 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の範囲で調製された 5 点の標準試料に基づく 3 農薬の検量線は、波長 272 nm で 0.999 以上、その他の 3 波長で 0.9999 以上の相関係数を示した。これらの検量線における設定濃度からのかい離度については、波長 272 nm で $\pm 20\%$ 以内 (最低濃度を除くと $\pm 10\%$ 以内)、その他の 3 波長では $\pm 10\%$ 以内 (最低濃度を除くと $\pm 2\%$ 以内) であった。

標準試料 0.15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の繰り返し測定により、各波長における 3 農薬についての装置検出限界値と固相抽出操作を含めた分析方法全体に係る定量下限値は、表 1 に示すとおり算出された。法定監視業務におけるシマジン、チウラム、チオベンカルブの報告下限値はそれぞれ 0.3、0.6、2 $\mu\text{g}/\text{L}$ (排水系試料の場合はそれぞれ 3、6、20 $\mu\text{g}/\text{L}$) であり、すべての定量下限値が報告下限値を下回った。

表 1. 高速液体クロマトグラフ紫外吸光度計 (LC/UV) を用いたシマジン、チウラム、チオベンカルブ同時分析法における装置検出下限値と固相抽出操作を含めた分析方法全体に係る定量下限値

測定波長	装置検出下限値 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)			分析方法の定量下限値 ($\mu\text{g}/\text{L}$)					
	シマジン	チウラム	チオベンカルブ	試料 500 倍濃縮時 (河川水等)			試料 100 倍濃縮時 (排水等)		
				シマジン	チウラム	チオベンカルブ	シマジン	チウラム	チオベンカルブ
220 nm	0.018	0.010	0.014	0.12	0.066	0.094	0.59	0.33	0.47
230 nm	0.017	0.009	0.018	0.12	0.064	0.12	0.58	0.32	0.61
235 nm	0.018	0.011	0.007	0.12	0.072	0.044	0.59	0.36	0.22
272 nm	0.022	0.016	0.048	0.15	0.10	0.32	0.73	0.52	1.6

2. 超純水を用いた3農薬の添加回収試験

超純水を添加用試料として用いた場合、固相抽出からLC/UVによる測定までの操作を含めた3農薬の回収率は表2に示すとおりであり、すべて70-120%の範囲内に収まった。超純水による回収率は3回の繰り返し試験による平均値として算出されたものであり、その変動係数はすべて10%以内(シマジン4.1%、チウラム4.3%、チオベンカルブ4.3%)であった。

表2. 固相抽出-LC/UVによるシマジン、チウラム、チオベンカルブ同時分析法を適用した場合の超純水(n=3)および実試料(n=1)における3農薬の回収率(%)

試料	シマジン	チウラム	チオベンカルブ
超純水	103	93.7	99.4
河川水	107	85.7	98.5
地下水	113	95.4	104
事業場排水(下水処理場放流水)	92.5	64.5	92.0
安定型産業廃棄物最終処分場浸出水	75.6	53.6	86.4
管理型産業廃棄物最終処分場原水	110	0.0	86.1
同 放流水	98.1	0.0	76.1

3. 実試料を用いた3農薬の測定および添加回収試験

図4は、実試料を測定した際に得られたLC/UVのクロマトグラムの中から代表的な例を示したものである。図4(A)で示された河川水、地下水、事業場排水(下水処理場放流水)のほか、産業廃棄物最終処分場に関連した試料のうち放流水

(処理水)、上流観測井戸水についてもLC/UVのクロマトグラム上に3農薬の検出や定量において妨害となるピークや大きなベースラインのドリフトは認められなかった。しかし、産業廃棄物最終処分場の浸出水(図4、B)や下流観測井戸水(同、C)の場合、クロマトグラム上に妨害となりそうなピーク、たとえば、シマジンとチウラムの保持時間に近い位置に出現するピークや、グラジエントモードによりアセトニトリル濃度が90%(v/v)に達するタイミングにおいて、チオベンカルブのピークと重なって出現するピーク等が見られた。このようなピークが一部でも除去されるよう、固相抽出操作の過程で、試料通水後の固相カラムを30%(v/v)アセトニトリル水3mLにより洗浄する工程を追加し、改めてLC/UVによる測定を試みた。しかし、洗浄によるクリーンアップの効果はほとんど認められなかった。別の方法として、移動相のグラジエントモードを、図2(B)に示されたパターンに変更し、ランタイム17分となるモードでの測定も試みた。アセトニトリル濃度の上昇に伴うベースラインのドリフトはかなり抑えられ、さらに、チオベンカルブのピーク位置周辺に見られた他成分のピークもある程度分散したため、妨害の程度は幾分低下した。この場合、3農薬のうちチオベンカルブについてのみ、グラジエントパターン変更の影響を受けて保持時間が少し遅くなり9.01分となった。ただし、産業廃棄物最終処分場の浸出水のうち、埋立初期のため硫化水素臭を放ち黒色を呈する試料については、この方法によっても妨害ピークの影響を排除することができず、3農薬に該当

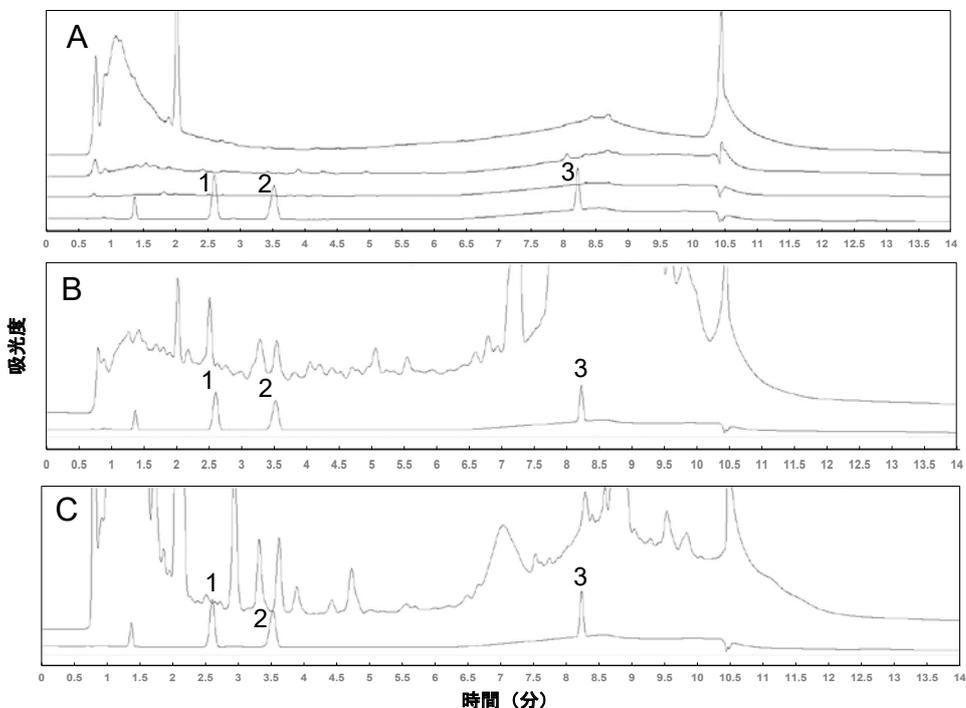


図4. LC/UV(波長230nm)を用いたシマジン、チウラム、チオベンカルブの同時分析法を実試料に適用した場合のクロマトグラム。保持時間の比較のため3農薬混合標準試料(各1μg/mL)のクロマトグラムを時間軸の直上に示し、ピーク上の番号と農薬との対応は図1と同じである。Aは上から順に河川水、地下水、事業場排水のクロマトグラムをオーバーレイ表示したもの、BとCはそれぞれ産業廃棄物最終処分場浸出水と同下流観測井戸水のクロマトグラムを示す。

するピークの有無を確認することができなかった。

図4(A)のように妨害ピーク等がほとんど見られなかったクロマトグラムを示した実試料の中から、5試料を選定して3農薬の添加回収試験を実施したところ、回収率は表2に示すとおりであった。シマジンとチオベンカルブの回収率に関しては、すべての実試料において70-120%の範囲内に収まった。チウラムの回収率については、この範囲内に収まった実試料は河川水と地下水のみであり、それ以外の実試料での回収率は70%を下回った。とくに、産業廃棄物最終処分場関連の実試料では回収率が0.0%となるものがあった。

考 察

時間短縮を図ったLC/UVによるシマジン、チウラム、チオベンカルブの同時分析法を検討した結果、チウラムの保持時間以降に移動相のアセトニトリル濃度を短時間で90%(v/v)まで増加させるグラジエントモードで測定することにより、最短14分のランタイムで1試料の測定が可能となった。4種類の測定波長はいずれも検量線の信頼性や定量下限値の点で法定の水質監視業務において求められる感度と精度を満足しており、理論的にはどの波長も実用に耐える。最も高感度で検出できる波長はピーク面積値の比較により3農薬とも220 nmであることがわかる。この事実はダイオードアレイ検出器で得られた各農薬の吸収スペクトルパターンからも推測できる。しかし、一般的に、LC/UVによる低波長領域での測定はベースラインの変動が大きく、共存物質による妨害ピークの影響も受けやすい^{5,10)}。一方、今回の検討において、235 nm以上の波長、とくに272 nmではシマジンとチオベンカルブに関して感度の著しい低下が認められている。したがって、230 nmでの測定結果をデフォルトとしてそのクロマトグラムを確認し、必要に応じて他の波長で得られたクロマトグラムを参照するという解析方法が妥当である。後述するように、夾雑物が多く複雑な組成で構成される試料を除き、当所で扱う多くの水質試料に関しては、230 nmの単一波長によるクロマトグラムでも3農薬に該当するピークの有無を確認することは可能である。

超純水への添加回収試験により得られた100%に近い回収率は、従来のチウラム単独分析のために採用していた固相抽出法がシマジンとチオベンカルブの抽出にも有効であることを示している。実試料においても、河川水や地下水へ添加した場合の回収率は3農薬とも評価基準の70-120%の範囲内に収まった。したがって、この固相抽出方法をLC/UVによる3農薬同時分析法の前処理方法として採用することについて、試料が河川水や地下水のように比較的清浄であると推測される場合には支障はない。しかし、排水系試料の場合に認められたチウラムの低い回収率に関しては検証を要する。二つのジメチルジチオカーバメートがジスルフィド結合を介して対をなす構造のため、チウラムの分解性については幾度となく議論されてきた¹¹⁻¹³⁾。しかし、水中における易分解性に関しては疑問の余地が残されており¹¹⁾、今なお意見の一致を見ていない。それでも、幾つかの断片的な証拠は還元的条

件下や酸化剤との共存下におけるチウラムの易分解性を強く示唆している。たとえば、土中でのチウラムはジメチルジチオカルバミン酸銅を経て最終的にはジメチルアミンと二硫化炭素に分解される¹³⁾。この過程の初期段階では、還元作用によるチウラムのジスルフィド結合の開裂が起こり、続いて銅イオンとの錯体形成という様式¹⁴⁾をたどることが考えられる。また、排水処理の過程で酸化処理剤や殺菌剤として利用される次亜塩素酸ナトリウムは、二つのチオカルボニル基をカルボニル基へ順次変換することにより、チウラムの酸化分解を招く¹⁵⁾。実際、次亜塩素酸ナトリウムが微量添加された精製水を用いてチウラムの添加回収試験を行うと、回収率は次亜塩素酸ナトリウムの添加量に依存しつつ顕著に低下する¹¹⁾。このようにチウラムの分解を招く物理化学的な要因が、今回試した排水系試料(下水処理場放流水、産業廃棄物最終処分場浸出水、同・放流水)に存在し、それゆえチウラムの回収率低下に繋がったという仮説には合理性がある。なぜなら、廃棄物埋立地を介した浸出水が硫化物イオン等の影響により還元的状態にあることや、排水処理が施された放流水に次亜塩素酸ナトリウム等の酸化剤が残存することは普通に想定されるからである。この場合、チウラムの低い回収率は必ずしも前処理の固相抽出法における欠陥を指摘するものとはならない。実証には回収率低下に繋がる要因を排除した上での添加回収試験が求められるが、産業廃棄物最終処分場浸出水の場合、試料から還元的要因を短期間ですべて取り除くことは難しい。しかし、排水試料中の次亜塩素酸ナトリウムを除去することは、たとえば、アスコルビン酸の添加による中和¹¹⁾等、比較的容易であり検証の余地は残されている。

選択された実試料を測定したクロマトグラムが、同じタイプの水質試料に概ね共通するパターンであると仮定すれば、公共用水域・地下水の常時監視に係る水質試料に関しては14分サイクルのグラジエントモード、波長230 nmによるクロマトグラムのみで、3農薬とも非検出か否かの判定は可能である。さらに、京都府が担当する発生源監視業務の範囲内に、3農薬が測定対象となる事業場の業種は下水処理場のみであるので、発生源監視に係る事業場排水に関しても同様に、3農薬について検出の有無を十分に確認できると予想する。一方、産業廃棄物最終処分場の浸出水や埋立地の影響を受けている可能性がある下流観測井戸水の水質試料の解析には注意を要する。これらの試料に関しては、固相抽出操作の過程で30%(v/v)アセトニトリルによる洗浄を施してもクリーンアップの効果はほとんど認められず、対応策として各種クリーンアップカラムの適用など検討の余地はあった。しかし、作業工程の増加に繋がる方法は分析業務の効率化という目的と相容れないため、代わりにLC/UVのランタイムを3分延長し、グラジエントモードに若干の修正を加えて妨害ピークを分散させる方法を選択した。この対応策による効果は、試料によってはある程度認められたものかなり限定的である。疑わしいピークの同定に際しては、他の測定波長によるクロマトグラムの確認や、ダイオードアレイ検出器の機能により登録された3農薬の吸収スペクトルパターンとの比較なども活用し、総合的な判断が求められる。

以上の手段によっても、LC/UVのクロマトグラムから3農薬のピークの有無を確認できない試料はかなり限られるが、その場合には従来どおり、シマジン・チオベンカルブに関してはGC/MS、チウラムに関してはLC/MSを用いて測定するよりほか方法はない。もちろん、LC/MSによる3農薬同時分析法を確立し、これを標準法として採用すれば再測定の手間は解消される。実際、そのような方法については既に報告例¹⁶⁾がある。しかし、当所では環境測定に利用できるLC/MSは1台のみであり、しかも導入後15年が経過している。老朽化による故障のリスクが高まっているにもかかわらず、その利用頻度は近年急激に増加している。したがって、一部の例外的な試料を除き、LC/UVにより報告下限値未満か否かについて、ピークの有無により容易に確認できるシマジン、チウラム、チオベンカルブの測定に最初からLC/MSを利用することは得策ではない。検出事例のほとんどない3農薬について、最初にLC/UVによる同時分析でスクリーニングを行い、その結果、検出か非検出かの判定ができない、あるいは検出が疑われる試料についてのみ、従来の分析方法により確定するという方法を採れば、水質監視という目的を損なうことなく分析業務の効率化を図ることができる。同時に、従来のGC/MS法で使用されるヘリウムガスの消費量削減対策にも繋がり、本法の確立は一挙両得の効果をもたらすものと期待できる。

引用文献

- 1) 中村洋. 2007. 医薬品のLC-MS/MS分析. 薬剤学, 67(4), 250-254.
- 2) 大沼倫晃. 2019. ヘリウムガスの動向と取扱いについて. 環境と測定技術, 46(8), 3-8.
- 3) 閑念弘樹. 2023. ガスクロマトグラフ質量分析計におけるヘリウムガスの供給不足への対策. 生産と技術, 75(3), 45-47.
- 4) 上嶋明子. 2019. LC-MS/MSを用いた環境水中のフェノールおよび2,4-ジクロロフェノールの同時分析法の検討. 福井県衛生環境研究センター年報, 18, 81-83.
- 5) 北見秀明, 渡辺哲男, 北原滝男, 石原良美, 高野二郎. 2002. 固相抽出/高速液体クロマトグラフィーによる河川水中のシマジン、チウラム、ベンチオカーブの同時分析. 分析化学, 51(11), 1069-1073.
- 6) 橋本徳幸, 古賀みな子, 津田国幸. 2004. 農薬類(チウラム, チオベンカルブ, シマジン)のHPLC法による同時分析. Jasco Report, 46(1), 13-14.
- 7) 北原滝男, 高野二郎, 北見秀明, 渡辺哲男. 2002. 固相抽出HPLC法による環境水中のチウラム、シマジン、ベンチオカーブの同時分析. 環境化学, 12(1), 147-152.
- 8) 小玉修嗣, 松永明信, 大戸幹也, 山本敦, 水上英一. 1995. 水道水中シマジン、チウラムおよびチオベンカルブの全自動HPLC分析システムの構築. 環境化学, 5(1), 81-86.
- 9) 川上千尋, 堀切裕子, 佐々木紀代美. 2020. 固相抽出-HPLCを用いたチウラムの前処理法と保存性の検討. 山口県環境保健センター所報, 63, 61-64.
- 10) 坊之下雅夫, 日比清勝, 清水敏之, 邵平. 1991. HPLCを用いたゴルフ場使用農薬の分析法-試料の直接注入(抽出および濃縮操作不要)によるAsulam, Oxine-Cu, Thiuram, Bensulide, Iprodioneの分析法-. 環境化学, 1(1), 135-144.
- 11) 松井利夫. 2007. チウラムの分解性の検討. 全国環境研学会誌, 32(2), 51-55.
- 12) 三好益美. 2008. チウラムの分解性と回相抽出カラムを用いた前処理法の検討. 香川県環境保健研究センター所報, 7, 118-121.
- 13) 日本産業衛生学会. 2008. チウラム(チラム, テトラメチルチウラムジスルフィド). 産業衛生学会誌, 50, 194-198.
- 14) 田口茂, 柿沼篤志, 夏敏, 笠原一世. 1997. 溶媒可溶性メンブランフィルターを用いる水中の微量チウラムの前濃縮/吸光度定量. 分析化学, 46(2), 107-111.
- 15) Kodama S., Yamamoto A., Ohto M., Matsunaga A. 1999. Major degradation pathway of thiuram in tap water processed by oxidation with sodium hypochlorite. Journal of Agricultural Food Chemistry, 47(7), 2914-2919.
- 16) 藤沼政憲, 折原智明, 山口弘行, 三薺雄. 2019. 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. 札幌市衛生研究所年報, 46, 61-64.