

農薬等の環境残留実態調査分析法

水質編

1. 有機塩素系化合物分析法

1.1. 分析法の概要

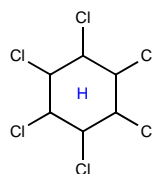
試料からヘキサンで抽出後，フロリジルミニカラムで精製，GC/ECD(又は GC/MS)で測定する。

対象化合物	分析操作概略	検出限界
ヘキサクロロベンゼン ヘキサクロロシクロヘキサン(, , , 体) D D T, D D D, D D E (各 p,p' 体, o,p' 体) クロルデン(cis, trans 体), オキシクロルデン trans-ノナクロル, ケルセン, アルドリン エンドリン, ディルドリン エンドスルファン(, , SO ₂ 体) ヘプタクロル, ヘプタクロルエポキシド メトキシクロル	ヘキサン抽出 フロリジル C C GC/ECD(又は GC/MS)	0.05µg/L

1.2. 対象化合物の概要

1) ヘキサクロロシクロヘキサン(HCH, BHC)

構造式：



化学式：C₆H₆Cl₆

分子量：290.8

化学名(IUPAC)：1,2,3,4,5,6-hexachlorocyclohexane (mixed isomers)

物理化学的性質(体)

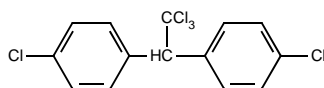
外 観：無色結晶，融 点：112～113.5 ，蒸気圧：5.6mPa(20)

溶解性：水 7.3mg/L(25)，アセトン 43.5，メタノール 7.4，エタノール 6.4，
ベンゼン 28.9，トルン 27.6，キシレン 24.7，ジエチルエーテル 20.8，
石油エーテル 2.9，酢酸エチル 35.7，クロロホルム 24.0，四塩化炭素 6.7，
シクロヘキサノン 36.7，ジオキサノン 31.4，酢酸 12.8(以上 g/L, 20)

安定性：酸，光，空気安定，アルカリ下で脱塩酸する
pH7 の半減期 191 日，pH9 の半減期 11 時間

2) DDT

構造式(p,p' 体)：



化学式：C₁₄H₉Cl₅

分子量：354.5

化学名(IUPAC)：1,1,1-trichloro-2,2-bis-(4-chlorophenyl)ethane

物理化学的性質

外 観：白色結晶，融 点：108.5 ，沸 点：260 ，蒸気圧：0.025mPa(20)

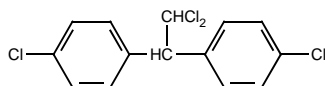
溶解性：水に不溶，シクロヘキサン 1000，ジオキサノン 1000，ベンゼン 770，
クロロホルム 310，アセトン 500，メタノール 40，エタノール 60

(以上 g/L, 20)

安定性：酸に安定，アルコール性アルカリにより脱塩酸

3) DDD

構造式(p,p'体) :



化学式 : $C_{14}H_{10}Cl_4$

分子量 : 320.0

化学名(IUPAC) : 1,1-dichloro-2,2-bis(4-chlorophenyl)-ethane

物理化学的性質

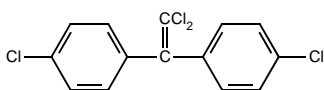
外 観 : 無色結晶 , 融 点 : 110 ~ 110.5 , 沸 点 : 185 ~ 193

溶解性 : 水に不溶 , 多くの有機溶剤に可溶

安定性 : 紫外線に安定 , アルカリ下で徐々に分解

4) DDE

構造式(p,p'体) :



化学式 : $C_{14}H_8Cl_4$

分子量 : 318.0

化学名(IUPAC) : 1,1-dichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)-ethylene

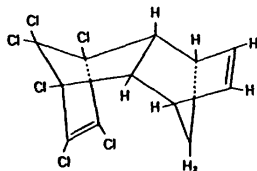
物理化学的性質

外 観 : 白色結晶 , 融 点 : 88 ~ 90 , 沸 点 : 316.5

溶解性 : 多くの有機溶剤に可溶

5) アルドリン

構造式 :



化学式 : $C_{12}H_6Cl_6$

分子量 : 364.9

化学名(IUPAC) : (1R,4S,4aS,5S,8R,8aR)-1,2,3,4,10,10-hexachloro-1,4,4a,5,8,8a-hexahydro-1,4:5,8-dimethanonaphthalene

物理化学的性質

外 観 : 白色結晶 , 融 点 : 104 ~ 104.5 , 蒸気圧 : 1mPa(20)

溶解性 : 水 0.027ppm(27) , アセトン 660 , ベンゼン 830 , ブタノール 90 ,

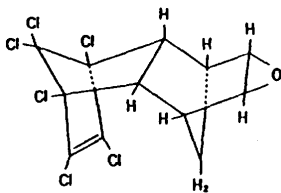
エタノール 50 , ジクロロエタン 1040 , 四塩化炭素 1050 , ペンタン 30

(以上 g/L , 20)

安定性 : 熱 , アルカリに安定

6) デILDリン

構造式 :



化学式 : $C_{12}H_6Cl_6O$

分子量 : 380.9

化学名(IUPAC) : (1R,4S,4aS,5R,6R,7S,8S,8aR)-1,2,3,4,10,10-hexachloro-1,4,4a,5,6,7,8,8a-octahydro-6,7-epoxy-1,4:5,8-dimethanonaphthalene

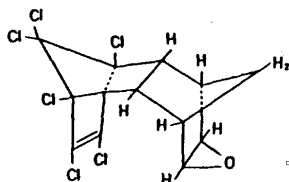
物理化学的性質

外 観：白色結晶， 融 点：175～176 ， 蒸気圧：0.0237mPa(20)
溶解性：水 0.186ppm(25～29)， アセトン 260， ベンゼン 560， プタノール 50，
エタノール 40， ジクロロエタン 700， 四塩化炭素 480， ペンタン 20
(以上 g/L， 20)

安定性：熱， 光， 弱酸及びアルカリに安定

7) エンドリン

構造式：



化学式：C₁₂H₈Cl₆O

分子量：380.9

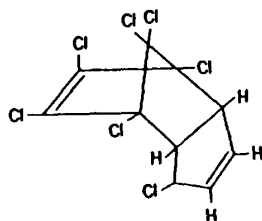
化学名(IUPAC)：(1R,4S,4aS,5S,6S,7R,8R,8aR)1,2,3,4,10,10-hexachloro-1,4,4a,5,6,7,8,8a-octahydro-6,7-epoxy-1,4:5,8-dimethanonaphthalene

物理化学的性質

外 観：白色結晶， 融 点：245 (分解)， 蒸気圧：0.0266mPa(25)
溶解性：水 不溶， アセトン 170， ベンゼン 138， キシレン 183， 四塩化炭素 33，
ヘキサン 127.1(以上 g/L， 20)
安定性：酸及びアルカリに安定

8) ヘプタクロル

構造式：



化学式：C₁₀H₅Cl₇

分子量：373.3

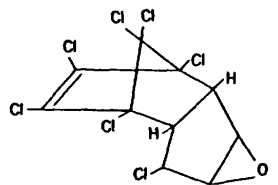
化学名(IUPAC)：1,4,5,6,7,8,8-heptachloro-3a,4,7,7a-tetrahydro-4,7-methanoindene

物理化学的性質

外 観：白色結晶， 融 点：95～96 ， 蒸気圧：53mPa(25)
溶解性：水 0.056ppm(25～29)， アセトン 750， ベンゼン 1060， キシレン 1020，
エタノール 45(以上 g/L， 20)
安定性：光， 空気， 湿気に安定， 強アルカリで脱塩酸

9) ヘプタクロルエポキシド

構造式：



化学式：C₁₀H₅Cl₇O

分子量：389.3

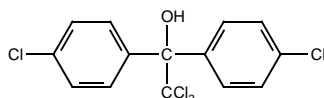
化学名(IUPAC)：1,4,5,6,7,8,8-heptachloro-2,3,3a,4,7,7a-hexahydro-4,7-methanoindene-[2,3-b]oxirane

物理化学的性質

外 観：白色結晶

10) ケルセン

構造式：



化学式：C₁₄H₉Cl₅O

分子量：370.5

化学名(IUPAC)：2,2,2-trichloro-1,1-bis(4-chloro-phenyl)ethanol

物理化学的性質

外 観：無色結晶， 融 点：78.5～79.5 ， 蒸気圧：0.053mPa

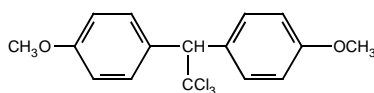
溶解性：水 0.8ppm，クロロホルム 440，キシレン 440，メタノール 50(以上 g/L，20)

安定性：酸性で安定，アルカリ性で加水分解

半減期；pH5 85 日，pH7 64～99 時間，pH9 26 分

11) メトキシクロル

構造式：



化学式：C₁₆H₁₅Cl₃O₂

分子量：345.7

化学名(IUPAC)：1,1,1-trichloro-2,2-bis(4-methoxy-phenyl)-ethane

物理化学的性質

外 観：無色結晶， 融 点：89

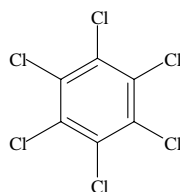
溶解性：水 0.1ppm(22)，アセトン 400，酢酸エチル 400，トルエン 400，

ヘキサン 30，2-プロパノール 30，メタノール 36(以上 g/L，20)

安定性：熱，紫外線に安定

12) ヘキサクロロベンゼン(HCB)

構造式：



化学式：C₆Cl₆

分子量：284.8

化学名(IUPAC)：hexachlorobenzene

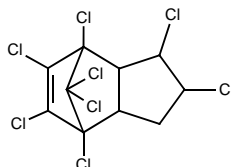
物理化学的性質

外 観：無色結晶， 融 点：226 ， 蒸気圧：1.45mPa(20)

溶解性：水に不溶

13) クロルデン

構造式：



化学式：C₁₀H₆Cl₈

分子量：409.8

化学名(IUPAC)：1,2,4,5,6,7,8,8-octachloro-2,3,3a,4,7,7a-hexahydro-4,7-methanoindene

物理化学的性質

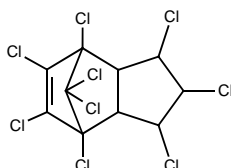
外 観：粘稠性琥珀色液体， 融 点：104～107 ， 蒸気圧：1.3mPa(25)

溶解性：水 0.1mg/L(25)，多くの有機溶剤に可溶

安定性：アルカリにより脱塩酸

14) trans-ノナクロル

構造式：



化学式：C₁₀H₅Cl₉

分子量：444.2

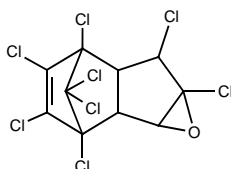
化学名(IUPAC)：1,2,3,4,5,6,7,8,8-nonachloro-2,3,3a,4,7,7a-hexahydro-4,7-methano-indene

物理化学的性質

融点：122 ~ 123 ， 安定性：アルカリで分解

15) オキシクロルデン

構造式：



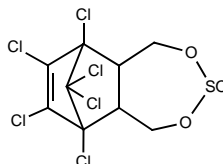
化学式：C₁₀H₄Cl₈O

分子量：423.8

化学名(IUPAC)：2,3,4,5,6,6a,7,7-octachloro-1a,1b,5,5a,6,6a-hexahydro-2,5-methanoindeno-oxirene

16) エンドスルファン

構造式：



化学式：C₉H₆Cl₆O₃S

分子量：406.9

化学名(IUPAC)：6,7,8,9,10,10-hexachloro-1,5,5a,6,9,9a-hexahydro-6,9-methano-2,4,3-benzodioxathiepin-3-oxide

物理化学的性質

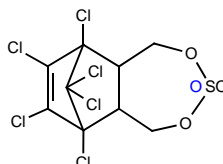
外観：白色結晶， 融点： -isomer 108-110 ， -isomer 208-210

蒸気圧：1.2mPa(80)

溶解性：水 0.32mg/L(22)，酢酸エチル 200，トルエン 200，ヘキサン 24，エタノール 65(以上 g/L，20)

17) エンドスルファン SO₂体(エンドスルファンスルファート)

構造式：



化学式：C₉H₆Cl₆O₄S

分子量：422.9

化学名(IUPAC)：1,4,5,6,7,7-hexachloro-5-norbornen-2,3-dimethanol

物理化学的性質

外観：白色結晶

1.3. 分析法フローチャート

秤 取

| 試料 100ml

ヘキサン抽出

| 塩化ナトリウム 5g(海水の場合は入れない)

| ヘキサン 50ml x 2

| 無水硫酸ナトリウムで脱水ろ過

約 5ml まで減圧濃縮(乾固させてはならない)

フロリジルC C

| フロリジルミニカラム(例: Sep-Pak Plus フロリジル(910mg))

| ヘキサン 5ml で予備洗浄

| 試料濃縮液を負荷

| ヘキサン - ジエチルエーテル(1:1 V/V)20ml で溶出

| 2%DEG・アセトン溶液 0.5ml 添加

減圧濃縮, 窒素乾固

GC/ECD 定量

乾固後, 速やかにヘキサン 5ml 定容, 2 μ l 注入

1.4. 検量線

対象化合物の標準品をヘキサンに溶解し, 500 μ g/ml 溶液を調製する。これらを以下に示した 4 種類のグループに分け, それぞれ等量混合し, 適宜ヘキサンで希釈して各々 0.001 ~ 0.02 μ g/ml の範囲の混合標準溶液を数点調製する。この 2 μ l を GC/ECD 又は GC/MS に注入し, 検量線を作成する。

・混合標準溶液 A

HCH(, , 体), p,p'-DDT, o,p'-DDT, p,p'-DDD, p,p'-DDE, アルドリン, ディルドリン, エンドリン, ヘプタクロル, ヘプタクロルエポキシド

・混合標準溶液 B

ヘキサクロロベンゼン, -エンドスルファン, -エンドスルファン, エンドスルファン SO₂ 体, メトキシクロル, o,p'-DDD, o,p'-DDE

・混合標準溶液 C

trans-クロルデン, cis-クロルデン, trans-ノナクロル, オキシクロルデン

・ケルセン標準溶液

1.5. 検出限界

GC/ECD で測定した場合の有機塩素系化合物の最小検出量と検出限界を表 1.1 に示した。

表 1.1 有機塩素系化合物の最小検出量と検出限界

化合物	最小検出量	検出限界
ヘキサクロロシクロヘキサン(体)	0.002ng	0.05μg/L
ヘキサクロロシクロヘキサン(体)	0.002ng	0.05μg/L
ヘキサクロロシクロヘキサン(体)	0.002ng	0.05μg/L
ヘキサクロロシクロヘキサン(体)	0.002ng	0.05μg/L
DDT(p,p'体)	0.002ng	0.05μg/L
DDT(o,p'体)	0.002ng	0.05μg/L
DDD(p,p'体)	0.002ng	0.05μg/L
DDD(o,p'体)	0.002ng	0.05μg/L
DDE(p,p'体)	0.002ng	0.05μg/L
DDE(o,p'体)	0.002ng	0.05μg/L
アルドリン	0.002ng	0.05μg/L
ディルドリン	0.002ng	0.05μg/L
エンドリン	0.002ng	0.05μg/L
ヘプタクロル	0.002ng	0.05μg/L
ヘプタクロルエポキシド	0.002ng	0.05μg/L
ケルセン	0.002ng	0.05μg/L
メトキシクロル	0.002ng	0.05μg/L
ヘキサクロロベンゼン	0.002ng	0.05μg/L
クロルデン(trans 体)	0.002ng	0.05μg/L
クロルデン(cis 体)	0.002ng	0.05μg/L
trans-ノナクロル	0.002ng	0.05μg/L
オキシクロルデン	0.002ng	0.05μg/L
エンドスルファン(体)	0.002ng	0.05μg/L
エンドスルファン(体)	0.002ng	0.05μg/L
エンドスルファン(SO ₂ 体)	0.002ng	0.05μg/L

1.6. 測定機器操作条件例

[条件 1]

機種(検出器) : GC/ECD(⁶³Ni)

カラム : 14%シアノプロピルフェニルメチルポリシロキサン化学結合型キャピラリー
カラム(例 : DB-1701 , 0.25mm × 30m , 膜厚 0.25μm)

温度 : カラム 80 (2min) 30 /min 190 3.6 /min 280 (5min)

注入口 250 , 検出器 300

ガス流量 : キャリヤー(He) 2.5ml/min , メイクアップ(N₂) 60ml/min

注入方式 : スプリットレス法(パージ開始時間 注入後 1min)

[条件 2]

機種(検出器) : GC/ECD(⁶³Ni)

カラム : 5%フェニルメチルポリシロキサン化学結合型キャピラリーカラム
(例 : DB-5 , 0.25mm×30m , 膜厚 0.25μm)

温度 : カラム 80 (2min) 30 /min 190 3.6 /min 280 (5min)
注入口 250 , 検出器 300

ガス流量 : キャリヤー(He) 1.5ml/min , メイクアップ(N₂) 60ml/min

注入方式 : スプリットレス法(パージ開始時間 注入後 1min)

[条件 3]

機種(検出器) : GC/ECD(⁶³Ni)

カラム : 5%フェニルメチルポリシロキサン化学結合型キャピラリーカラム
(例 : DB-5 , 0.25mm×30m , 膜厚 0.25μm)

温度 : カラム 80 (2min) 30 /min 190 3.6 /min 280 (5min)
注入口 200 , 検出器 300

ガス流量 : キャリヤー(He) 1.5ml/min , メイクアップ(N₂) 60ml/min

注入方式 : スプリットレス法(パージ開始時間 注入後 1min)

[条件 4 : ヘプタクロル測定用]

機種(検出器) : GC/MS(SIM モード)

カラム : 5%フェニルメチルポリシロキサン化学結合型キャピラリーカラム
(例 : DB-5ms , 0.25mm×30m , 膜厚 0.25μm)

温度 : カラム 80 (2min) 10 /min 220 20 /min 280 (5min)
注入口 250 , インターフェイス 300

ガス流量 : キャリヤー(He) 1.0ml/min

注入方式 : スプリットレス法(パージ開始時間 1min)

イオン化電圧 : 70eV

イオン化法 : EI

設定質量数 : m/Z=272

[条件 5 : ケルセン測定用]

機種(検出器) : GC/MS(SIM モード)

カラム : トリフルオロプロピルメチルポリシロキサン化学結合型キャピラリーカラム
(例 : Rtx-200 , 0.25mm×30m , 膜厚 0.25μm)

温度 : カラム 70 (2min) 30 /min 180 5 /min 230
30 /min 280 (2min)

注入口 250 , インターフェイス 280

ガス圧力 : キャリヤー(He) 80kpa

注入方式 : スプリットレス法(パージ開始時間 注入後 1min)

イオン化電圧 : 70eV

イオン化法 : EI

設定質量数 : m/Z=139 , 250

1.7. 検討事項

有機塩素系化合物は基本的に GC/ECD で測定するが、ピークが検出された場合や妨害により測定が困難な場合は GC/MS で測定を行う。

測定機器の性能により表 1.1 に示した最小検出量が得られない場合には、最終液量又は、試料採取量を適宜変更して、検出限界を確保する。

1.7.1. ヘキサクロロベンゼンの乾固ロスについて

溶媒の減圧濃縮時、乾固させるとヘキサクロロベンゼンの回収率が低下するので、溶媒を約 5ml 残した状態で濃縮を終了する。また、カラム精製後の溶出液を濃縮する際は、2%DEG・アセトン溶液 2 滴を加える。定容の際は、窒素ガスを緩やかに吹き付けて乾固させた後、速やかに定容操作を行う必要がある。

1.7.2. フロリジルミニカラムからの溶出状況

フロリジルミニカラムからの有機塩素系化合物の溶出状況を表 1.2 に示した。

表 1.2 フロリジルミニカラムからの溶出率(%)

化合物名	ヘキサン-ジエチルエーテル(85:15)		ヘキサン-ジエチルエーテル(1:1)	
	0-15ml	15-20ml	0-15ml	15-20ml
ヘキサクロロベンゼン(体)	88	0	0	0
ヘキサクロロベンゼン(体)	100	0	0	0
ヘキサクロロベンゼン(体)	97	0	0	0
ヘキサクロロベンゼン(体)	105	0	0	0
DDT(p,p'体)	106	0	0	0
DDT(o,p'体)	105	0	0	0
DDD(p,p'体)	101	0	0	0
DDD(o,p'体)	99	0	0	0
DDE(p,p'体)	105	0	0	0
DDE(o,p'体)	101	0	0	0
アルドリン	94	0	0	0
ディルドリン	107	0	0	0
エンドリン	104	0	0	0
ヘプタクロル	97	0	0	0
ヘプタクロルエポキシド	105	0	0	0
ケルセン	93	0	0	0
メトキシクロル	99	0	0	0
ヘキサクロロベンゼン	86	0	0	0
クロルデン(trans体)	103	0	0	0
クロルデン(cis体)	98	0	0	0
trans-ノナクロル	104	0	0	0
オキシクロルデン	93	0	0	0

各成分 1 μ g 負荷, Sep-Pak Plus フロリジル使用

1.7.3. ケルセンの GC での分解について

ケルセンは GC の注入口の状態によっては注入時に 4,4'-ジクロロベンゾフェノンに分解されて検出される。GC の機種や使用するインサートの状態によって分解の程度は異なるが、不活性化処理したオープンチューブ型のインサートを使用すると分解が押さえられる。

なお、4,4'-ジクロロベンゾフェノンは GC 上ケルセンの 2/3 程度の保持時間に検出される。

1.7.4. ヘプタクロルの MS スペクトル

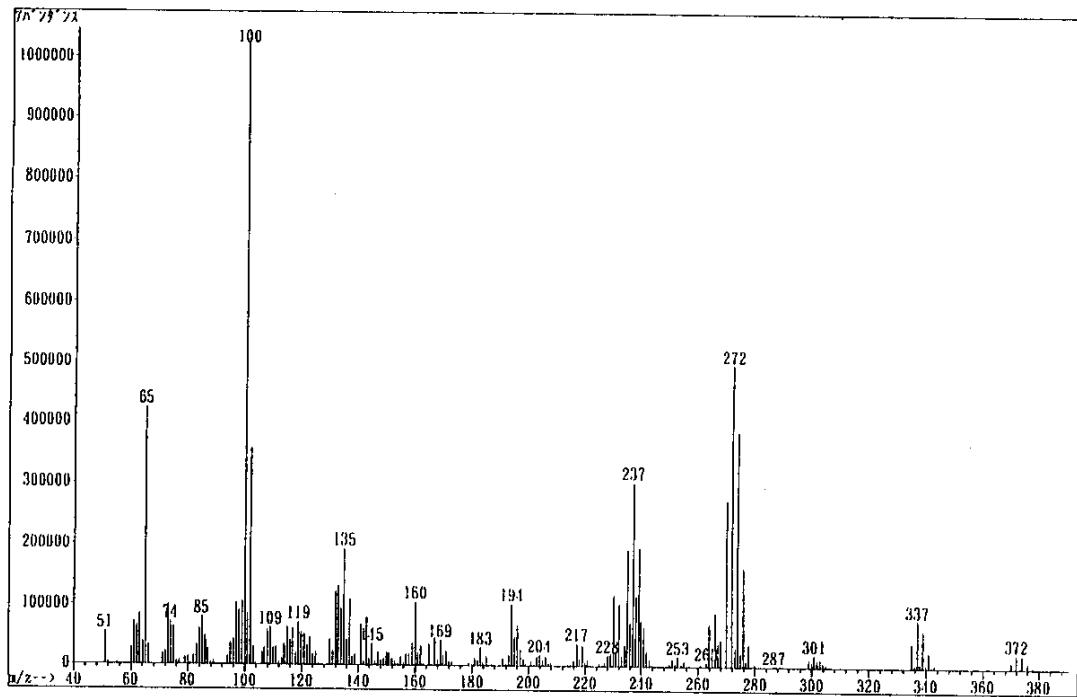


図 1.1 ヘプタクロルの MS スペクトル

2. トリアジン系，有機リン系及びその他の化合物分析法

2.1. 分析法の概要

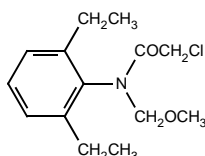
試料から酢酸エチル - ヘキサン混液で抽出後，フロリジルミニカラムで精製，GC/MS(SIM)で測定する。

対象化合物	分析操作概略	検出限界
アトラジン，アラクロール CAT，NAC，マラチオン ニトロフェン，トリフルラリン ピンクロゾリン エチルパラチオン，メトリブジン	酢酸エチル - ヘキサン混液抽出 フロリジルミニカラム GC/MS(SIM)	0.05µg/L

2.2. 対象化合物の概要

1) アラクロール

構造式：



化学式：C₁₄H₂₀ClNO₂

分子量：269.8

化学名(IUPAC)：2-chloro-2',6'-diethyl-N-methoxymethylacetanilide

物理化学的性質

外 観：黄白色～赤褐色(室温)，黄色～赤色液体(>40)

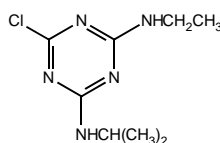
融 点：40.5～41.5 ， 沸 点：100 /0.0026kPa， 蒸気圧：2.1mPa(25)

溶解性：水 242mg/L(25)，ジエチルエーテル，アセトン，ベンゼン，
クロロホルム，エタノール，酢酸エチルに可溶，ヘプタンに微溶

安定性：強酸及びアルカリ性で加水分解，紫外線に安定，105 で分解

2) アトラジン

構造式：



化学式：C₈H₁₄ClN₅

分子量：215.7

化学名(IUPAC)：6-chloro-N²-ethyl-N⁴-isopropyl-1,3,5-triazine-2,4-diamine

物理化学的性質

外 観：無色粉末， 融 点：175.8 ， 沸 点：205.0 /101kPa

蒸気圧：3.85 × 10⁻²mPa(25)

溶解性：水 33mg/L(pH7，22)，酢酸エチル 24，アセトン 31，ジクロロメタン 28，
エタノール 15，トルエン 4.0，n-ヘキサン 0.11，n-オクタノール 8.7

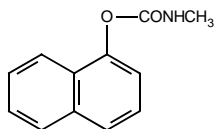
(以上 g/L，25)

安定性：中性，弱酸及び弱アルカリ性下で比較的安定

強酸，強アルカリ性下で速やかに加水分解

3) N A C

構造式：



化学式：C₁₂H₁₁NO₂

分子量：201.2

化学名(IUPAC)：1-naphthyl methylcarbamate

物理化学的性質

外 観：無色～淡褐色結晶， 融 点：142 ， 蒸気圧：4.1×10⁻²mPa(23.5)

溶解性：水 120mg/L(20)，ジメチルホルムアミド，ジメチルスルホキシド 400～500，

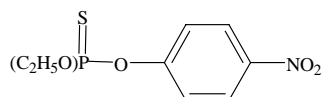
アセトン 200～300，シクロヘキサン 200～250，イソプロパノール 100，

キシレン 100(以上 g/kg，25)

安定性：中性，弱酸性下で安定，アルカリ性下で1-ナフトールに分解

4) エチルパラチオン

構造式：



化学式：C₁₀H₁₄NO₅PS

分子量：291.3

化学名(IUPAC)：O,O-diethyl O-4-nitrophenyl phosphorothioate

物理化学的性質

外 観：帯黄色液体， 融 点：6.1 ， 沸 点：150 /80kPa

蒸気圧：0.89mPa(20)

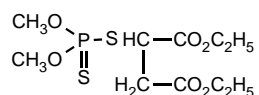
溶解性：水 11mg/L(20)，ほとんどの有機溶剤に混合。ジクロロメタン>200，

イソプロパノール，トルエン，ヘキサン 50～100 (以上 g/L，20)

安定性：酸性下(pH1～6)で緩やかに加水分解，アルカリ性下ではやや早く加水分解

5) マラチオン

構造式：



化学式：C₁₀H₁₉O₆PS₂

分子量：330.3

化学名(IUPAC)：diethyl(dimethoxythiophosphorylthio)succinate

物理化学的性質

外 観：琥珀色液体， 融 点：2.85 ， 沸 点：156～157 /0.7mmHg

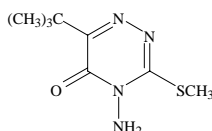
蒸気圧：5.3mPa(30)

溶解性：水 145mg/L(25)，ほとんどの有機溶剤に混合

安定性：中性水溶液中で比較的安定。酸性及びアルカリ性下で分解

6) メトリブジン

構造式：



化学式：C₈H₁₄N₄OS

分子量：214.3

化学名(IUPAC)：4-amino-6-*tert*-butyl-4,5-dihydro-3-methylthio-1,2,4-triazine-5-one

物理化学的性質

外 観：白色結晶，融 点：126.2 ， 沸 点：132 /2Pa

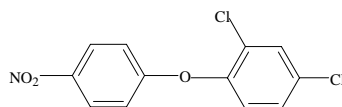
蒸気圧：0.058mPa(20)

溶解性：水 1.05g/L(20)，ジメチルホルムアミド 1780，シクロヘキサン 1000，クロロホルム 850，アセトン 820，メタノール 450，ジクロロメタン 340，ベンゼン 220，*n*-ブタノール 150，エタノール 190，トルエン 87，キシレン 90，イソプロパノール 77，ヘキサン 1.0(以上 g/L，20)

安定性：紫外線に比較的安定，希酸及び希アルカリ性で安定(20)

7) ニトロフェン

構造式：



化学式：C₁₂H₇Cl₂NO₃

分子量：284.1

化学名(IUPAC)：4-(2,4-dichlorophenoxy)-1-nitrobenzene

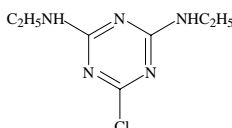
物理化学的性質

外 観：結晶性固体，融 点：70~71 ， 蒸気圧：8×10⁻⁶mmHg(40)

溶解性：水 0.7~1.2mg/L(20)

8) C A T

構造式：



化学式：C₇H₁₂ClN₅

分子量：201.7

化学名(IUPAC)：6-chloro-*N*²,*N*⁴-diethyl-1,3,5-triazine-2,4-diamine

物理化学的性質

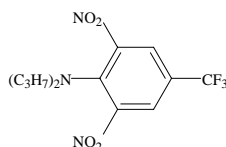
外 観：無色粉末，融 点：225~227 (分解)，蒸気圧：2.94×10⁻³mPa(25)

溶解性：水 6.2mg/L(pH7，20)，エタノール 570，アセトン 1500，トルエン 130，*n*-オクタノール 390，*n*-ヘキサン 3.1(以上 mg/L，25)

安定性：中性，弱酸性及び弱アルカリ性下で比較的安定
強酸性及び強アルカリ性下で速やかに加水分解

9) トリフルラリン

構造式：



化学式：C₁₃H₁₆F₃N₃O₄

分子量：335.3

化学名(IUPAC)： , , -trifluoro-2,6-dinitro-*N,N*-dipropyl-*p*-toluidine

物理化学的性質

外 観：黄色結晶， 融 点：48.5～49 ， 沸 点：96～97 /24Pa

蒸気圧：6.1mPa(25)

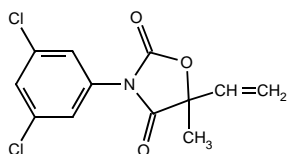
溶解性：水 0.184mg/L(pH5)，0.221mg/L(pH7)，0.189mg/L(pH9)

アセトン，クロロホルム，アセトニトリル，トルエン，酢酸エチル>1000，
メタノール 33～40，ヘキサン 50～67(以上 g/L，25)

安定性：52 において pH3，6，9 で安定，紫外線で分解

10) ピンクロゾリン

構造式：



化学式：C₁₂H₉Cl₂NO₃

分子量：286.1

化学名(IUPAC)：(RS)-3-(3,5-dichlorophenyl)-5-methyl-5-vinyl-1,3-oxazolidine-
2,4-dione

物理化学的性質

外 観：無色結晶， 融 点：108 ， 沸 点：131 /0.05mmHg

蒸気圧：0.13mPa(20)

溶解性：水 2.6mg/L(20)，メタノール 1.54，アセトン 33.4，酢酸エチル 23.3，
n-ヘプタン 0.45，トルエン 10.9，ジクロロメタン 47.5(以上 g/100ml，20)

安定性：50 まで安定，酸性性下で 24h 安定

0.1mol/L 水酸化ナトリウム溶液中で 3.8h で 50%加水分解

2.3. 分析法フローチャート

秤 取

試料 200ml

ヘキサン - 酢酸エチル混液抽出

- | 塩化ナトリウム 10g(海水の場合は入れない)
- | 内標準溶液(simazine-d₁₀ 0.1μg/ml) 1ml 添加
- | ヘキサン - 酢酸エチル(75:25) 100+50ml で抽出
- 無水硫酸ナトリウムで脱水，減圧濃縮，窒素乾固

フロリジルC C

- | フロリジルミニカラム(例：Sep-Pak Plus フロリジル(910mg))
- | アセトン，ヘキサン各 5ml で予備洗浄
- | ヘキサン - アセトン(85:15)20ml で負荷，溶出
- 減圧濃縮，窒素乾固

GC/MS 定量

0.001%PEG・アセトン溶液 1ml 定容，2μl 注入

2.4. 検量線

分析対象化合物及び内標準物質 simazine-d₁₀ の標準品をアセトンに溶解，希釈して 20 μg/ml 溶液を調製する。これらを等量混合した後，0.001%PEG・アセトン溶液で希釈して 0.01 ~ 0.2μg/ml 混合溶液を数点調製する。この 2μl を GC/MS に注入し，検量線を作成する。

2.5. 検出限界

測定対象化合物の最小検出量及び検出限界を表 2.1 に示した。

表 2.1 測定対象化合物の最小検出量及び検出限界

化合物	最小検出量	検出限界
アラクロール	0.02ng	0.05μg/L
アトラジン	0.02ng	0.05μg/L
N A C	0.02ng	0.05μg/L
エチルパラチオン	0.02ng	0.05μg/L
マラチオン	0.02ng	0.05μg/L
メトリブジン	0.02ng	0.05μg/L
ニトロフェン	0.02ng	0.05μg/L
C A T	0.02ng	0.05μg/L
トリフルラリン	0.02ng	0.05μg/L
ピンクロゾリン	0.02ng	0.05μg/L

2.6. 測定機器操作条件

[条件 1]

機種(検出器) : GC/MS(SIM モード)

カラム : トリフルオロプロピルメチルポリシロキサン化学結合型キャピラリーカラム
(例 : Rtx-200 , 0.25mm × 30m , 膜厚 0.25μm)

温度 : カラム 70 (2min) 30 /min 190 5 /min 230
30 /min 280 (5min)

注入口 250 , インターフェイス 280

ガス流量 : キャリヤー(He) 1ml/min(定流量)

イオン化電圧 : 70eV

イオン化法 : EI

設定質量数 : 表 2.2 に記載

注入方法 : スプリットレス法(パージ開始時間 注入後 1min)

[条件 2 : メトリブジン測定用]

機種(検出器) : GC/MS(SIM モード)

カラム : 5%フェニルメチルポリシロキサン化学結合型キャピラリーカラム
(例 : DB-5ms , 0.25mm × 30m , 膜厚 0.25μm)

温度 : カラム 60 (2min) 30 /min 190 5 /min 220
30 /min 280 (5min)

注入口 250 , インターフェイス 280

ガス圧力 : キャリヤー(He) 80kpa

イオン化電圧 : 70eV

イオン化法 : EI

設定質量数 : メトリブジン m/Z = 198 , 144

simazine-d₁₀ m/Z = 211 , 193

注入方法 : スプリットレス法(パージ開始時間 注入後 1min)

表 2.2 測定対象化合物の分子量と設定質量数

測定対象化合物	分子量	フラグメントイオン	設定質量数		保持時間 (min)
			測定用	確認用	
N A C	201	144 , 115	144	115	6.32
C A T	202	201 , 186 , 158	201	186	7.62
アトラジン	216	215 , 200 , 173	200	215	7.68
トリフルラリン	335	306 , 290 , 264 , 248	306	264	8.01
メトリブジン	214	198 , 182 , 171 , 144	198	144	8.28
アラクロール	270	269 , 237 , 188 , 160 , 146	188	160	9.24
ピンクロゾリン	286	285 , 212 , 198 , 178 , 124	285	212	9.83
マラチオン	330	173 , 158 , 125	173	215	10.06
エチルパラチオン	291	291 , 139 , 97	291	139	10.94
ニトロフェン	284	283 , 252 , 202 , 139	283	202	12.75
simazine-d ₁₀	212	211 , 193 , 179	211	193	7.62

2.7. 検討事項

2.7.1. 液々抽出の基礎データ

各対象化合物の水層からヘキサン - 酢酸エチル(75:25)への転溶率を表 2.3 に示した。

表 2.3 液々抽出の転溶率(単位：%)

化合物	ヘキサン - 酢酸エチル(75:25)			合計
	100ml	50ml	50ml	
アラクロール	97	0	0	97
アトラジン	92	2	0	94
N A C	74	9	0	83
エチルパラチオン	90	0	0	90
馬拉チオン	96	0	0	96
メトリブジン	96	1	0	97
ニトロフェン	84	0	0	84
C A T	85	6	0	91
トリフルラリン	94	0	0	94
ピンクロゾリン	102	0	0	102

各化合物 0.2 μ g 供試, 精製水 200ml, NaCl 10g

2.7.2. フロリジルミニカラムからの溶出状況

フロリジルミニカラムからの各対象化合物の溶出率を表 2.4 に示した。

表 2.4 フロリジルミニカラムからの溶出率(単位：%)

化合物	ヘキサン - アセトン(85:15)		合計
	0-15ml	15-20ml	
アラクロール	91	7	98
アトラジン	87	9	96
N A C	97	20	117
エチルパラチオン	103	7	110
馬拉チオン	111	10	121
メトリブジン	91	10	101
ニトロフェン	90	4	94
C A T	87	12	99
トリフルラリン	93	3	96
ピンクロゾリン	93	7	100

各化合物 1 μ g 供試, Sep-Pak Plus フロリジル使用

2.7.3. メトリブジンの追加精製

メトリブジン分析で追加精製が必要な場合は以下のシリカゲルCCによる精製操作を追加する。

シリカゲルCC

- | シリカゲルミニカラム(例: Sep-Pak Plus シリカ(690mg))
- | アセトン, ヘキサン各 5ml で予備洗浄
- | ヘキサン - アセトン(98:2)20ml で負荷, 洗浄
- | ヘキサン - アセトン(9:1)15ml で溶出
- 減圧濃縮, 窒素乾固

2.7.4. GC/MS の測定条件について

GC/MS の測定において, 標準溶液及び試験溶液をアセトン溶液で調製すると, 一部の成分の試験溶液で試料由来の夾雑物の影響と思われる感度上昇が見られる。標準溶液及び試験溶液を 0.001%PEG・アセトン溶液で調製すると, 標準溶液と試験溶液の感度差を少なくすることができる。

また, サロゲート化合物として simazine-d₁₀ を抽出時に添加し, この回収率で分析値を補正することで, 測定時の感度変動等を補正することができる。

NACは注入時の熱分解により1-ナフトールを生成し, 親化合物のピークが検出されないことがある。この熱分解は定量的であるので, 1-ナフトールを測定してNACの測定値としてもよい。

図 2.1 ~ 図 2.10 に各測定化合物の MS スペクトルを添付した。

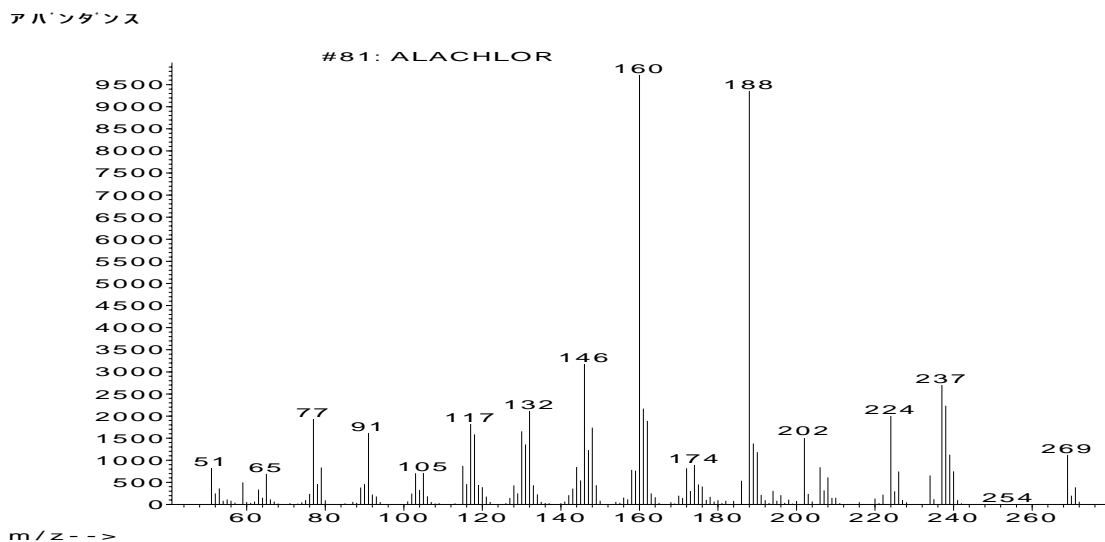


図 2.1 アラクロールの MS スペクトル

アバundance

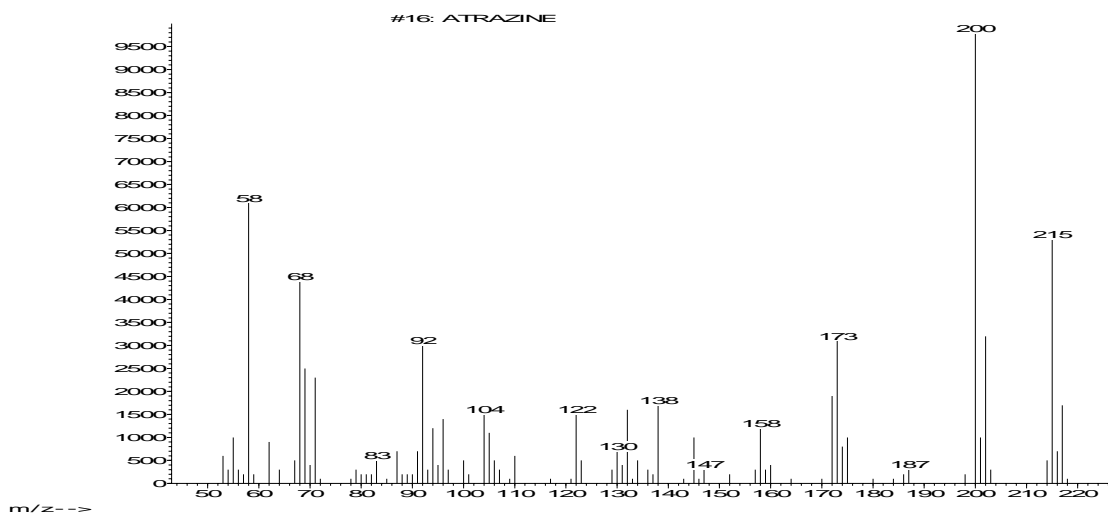


図 2.2 アトラジンの MS スペクトル

アバundance

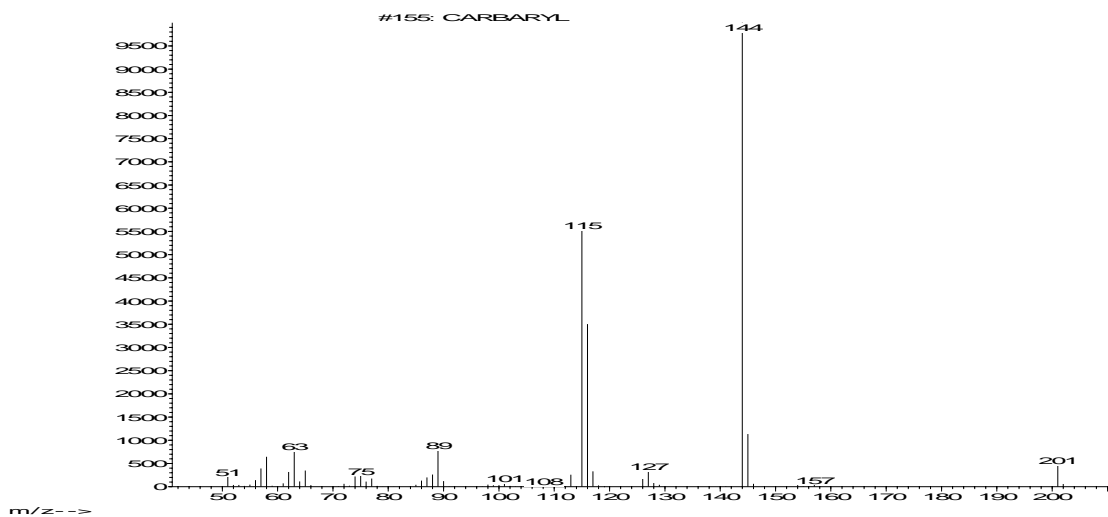


図 2.3 NAC (1-ナフトール)の MS スペクトル

アバシタシ

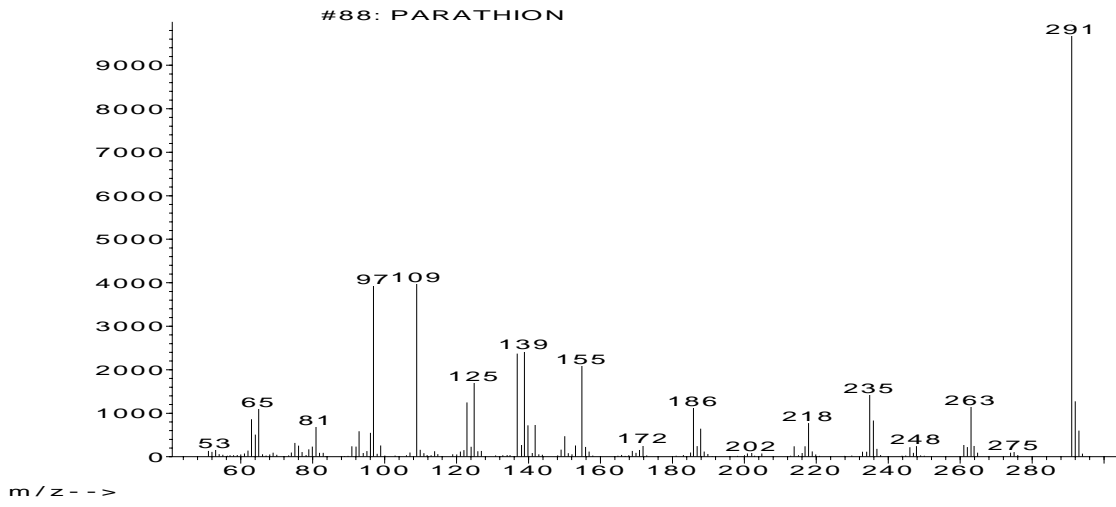


図 2.4 エチルパラチオシの MS スペクトル

アバシタシ

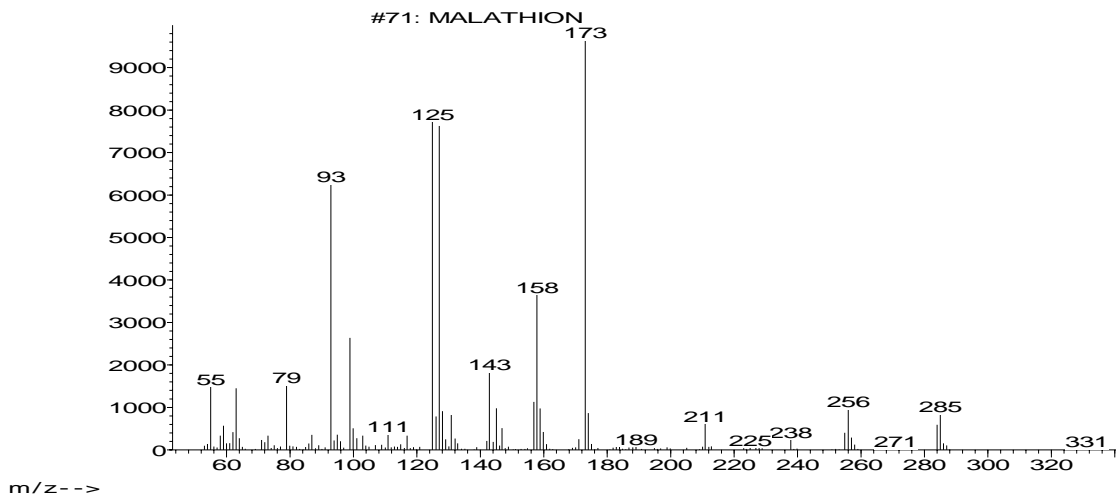


図 2.5 マラチオシの MS スペクトル

アバ`ンダ`ンス

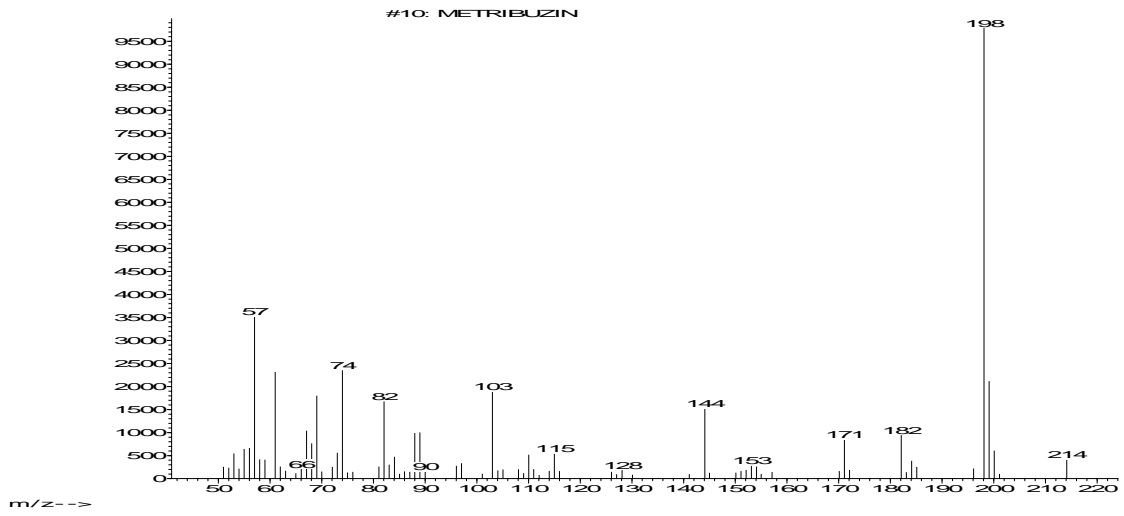


図 2.6 メトリブジンの MS スペクトル

アバ`ンダ`ンス

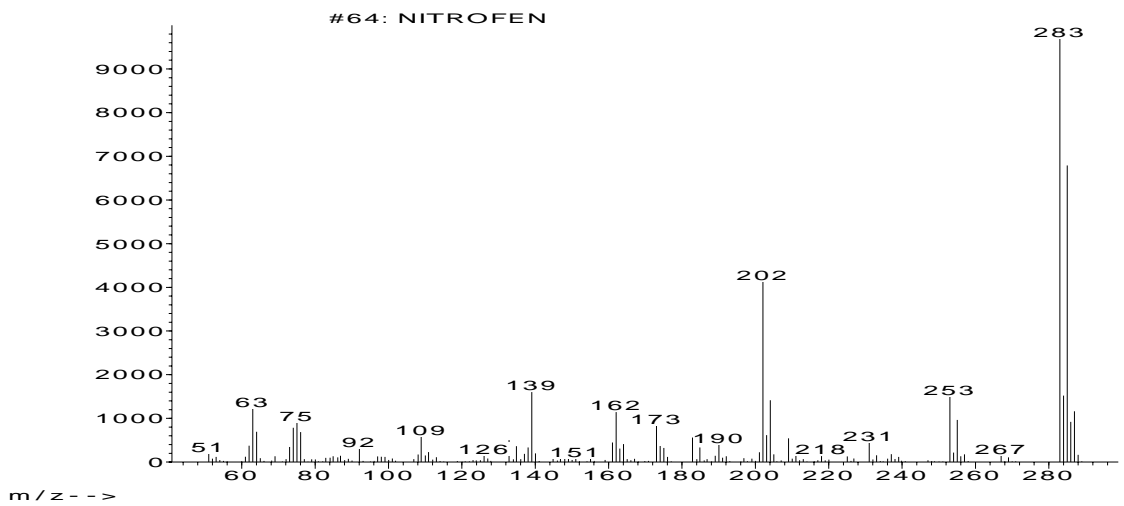


図 2.7 ニトロフェンの MS スペクトル

アバundance

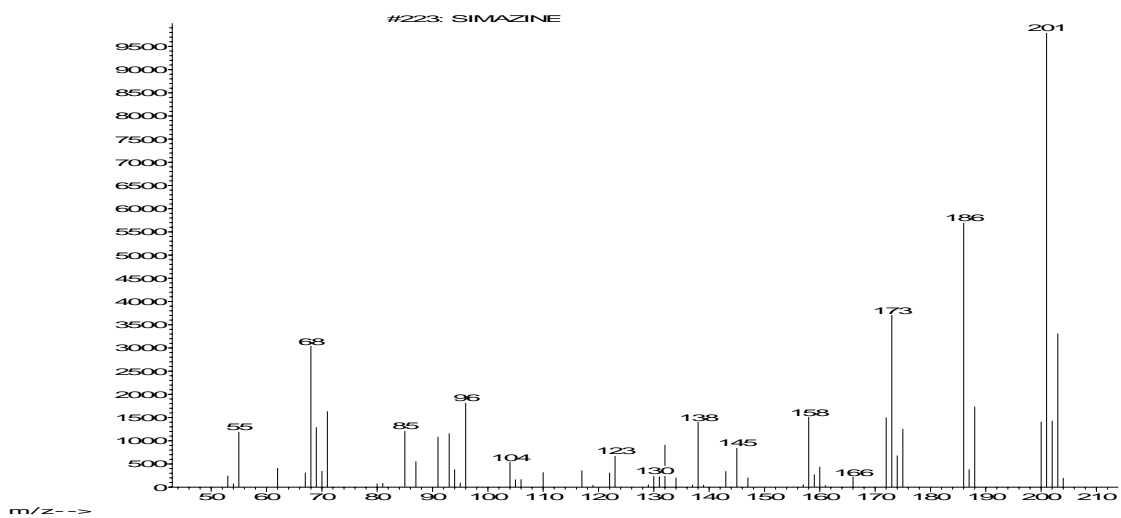


図 2.8 CATのMSスペクトル

アバundance

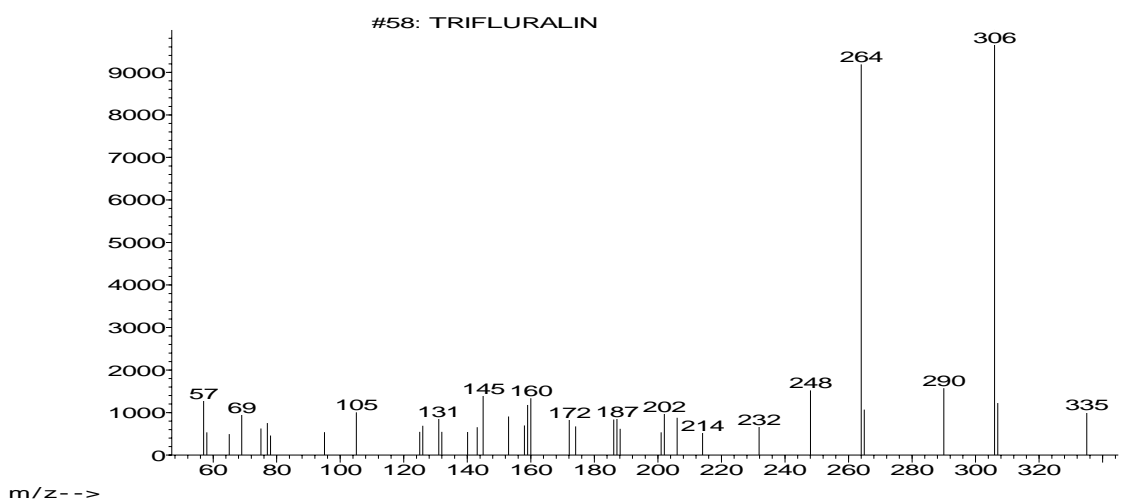


図 2.9 トリフルラルインのMSスペクトル

アバundance

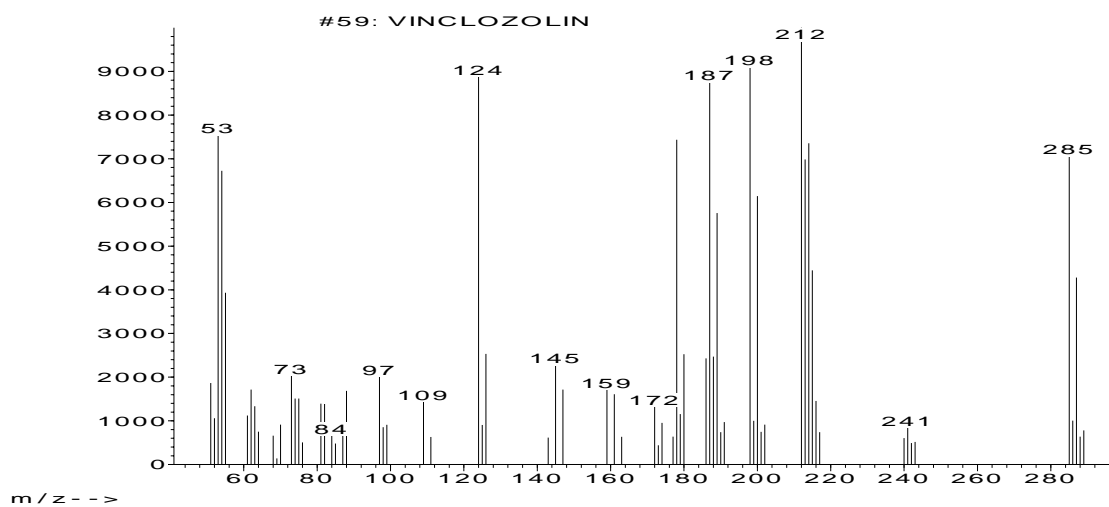


図 2.10 ビンクロゾリンの MS スペクトル

2.8. 参考文献

- ・ 「第 24 回日本環境化学会講演会」資料集
- ・ The Pesticide Manual , 11th Ed.
- ・ The Merck Index , 10th Ed.

3. 合成ピレスロイド系化合物分析法

3.1. 分析法の概要

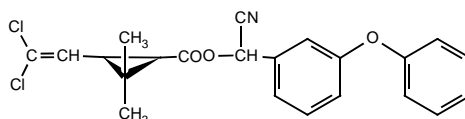
試料からヘキサン - 酢酸エチル混液で抽出後，フロリジルミニカラムで精製，GC/MS(SIM)で測定する。

対象化合物	分析操作概略	検出限界
シベルメトリン ペルメトリン フェンバレレート	ヘキサン - 酢酸エチル混液抽出 フロリジルC C GC/MS(SIM)	0.05µg/L

3.2. 対象化合物の概要

1) シベルメトリン

構造式



化学式：C₂₂H₁₉Cl₂NO₃

分子量：416.3

化学名(IUPAC)：(RS)- -cyano-3-phenoxybenzyl (1RS)-cis, trans-3-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate

物理化学的性質

外 観：黄褐色粘稠性液体， 蒸気圧：2.3 × 10⁻⁷Pa(20)

溶解性：水 約 0.01mg/L(20)，

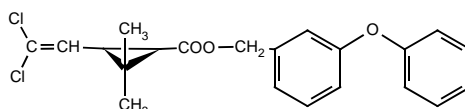
アセトン，クロロホルム，シクロヘキサン，キシレン >450，

エタノール 337，ヘキサン 103 (以上 g/L，20)

安定性：中性，弱酸性で比較的安定，pH4 で最も安定，アルカリ性で加水分解
光に比較的安定，熱に対し 220 まで安定

2) ペルメトリン

構造式



化学式：C₂₂H₂₀Cl₂O₃

分子量：391.3

化学名(IUPAC)：3-phenoxybenzyl (1RS)-cis, trans-3-(2,2-dichlorovinyl)-
2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate

物理化学的性質

外 観：淡褐色液体， 融 点：34 ~ 35 ， 沸 点：約 200 (0.01mmHg)

蒸気圧：0.045mPa(25)(cis 0.0025mPa，trans 0.0015mPa，both 20)

溶解性：水 約 0.2mg/L(20)

エチレングリコールを除く有機溶媒に可溶

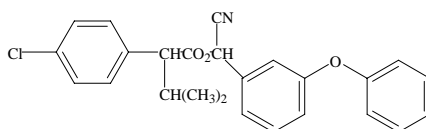
キシレン，ヘキサン >1000，メタノール 258 (以上 g/kg，25)

安定性：アルカリ性より酸性溶液中より安定

太陽光に安定，熱に対し 50 で少なくとも 2 年間安定

3) フェンバレレート

構造式



化学式：C₂₅H₂₂ClNO₃

分子量：419.9

化学名(IUPAC)：(RS)-2-(4-chlorophenyl)-3-methylbutyrate (RS)-2-(4-phenoxyphenyl)propanoate

物理化学的性質

外 観：粘稠性黄色液体， 蒸気圧：19.2μPa(20)

溶解性：水 <10μg/L(25)

ヘキサン 53，キシレン 200，メタノール 84 (以上 g/L，20)

安定性：光，熱，湿度に安定，酸性で比較的安定，pH4 で最も安定

アルカリ性で速やかに加水分解

3.3. 分析法フローチャート

秤 取

試料 400ml

ヘキサン - 酢酸エチル混液抽出

- | 塩化ナトリウム 20g(海水の場合は入れない)
- | ヘキサン - 酢酸エチル(75:25)100ml × 2
- 無水硫酸ナトリウムで脱水ろ過，減圧濃縮，窒素乾固

フロリジルCC

- | フロリジルミニカラム(例：Sep-Pak Plus フロリジル(910mg))
- | ヘキサン 5ml で予備洗浄
- | ヘキサン 5ml × 4 で負荷
- | ヘキサン - ジエチルエーテル(85:15)15ml で溶出
- 減圧濃縮，窒素乾固

GC/MSD 定量

0.02%PEG・トルエン 1ml 定容，4μl 注入

3.4. 検量線

分析対象化合物の標準品をアセトンに溶解，希釈して 40 μg/ml 溶液を調製する。これを等量混合した後，0.02%PEG・トルエン溶液で希釈し，0.02 ~ 0.4 μg/ml の混合標準溶液を数点調製し，この 4μl を GC/MS に注入し，検量線を作成する。

3.5. 検出限界

測定対象化合物の最小検出量及び検出限界を表 3.1 に示した。

表 3.1 測定対象化合物と検出限界

化合物	最小検出量	検出限界
シペルメトリン	0.08ng	0.05μg/L
ペルメトリン	0.08ng	0.05μg/L
フェンバレレート	0.08ng	0.05μg/L

3.6. 測定機器操作条件

機種(検出器) : GC/MS(SIMモード)

カラム : 5%フェニルメチルポリシロキサン化学結合型キャピラリーカラム

(例 : HP-5ms , 0.25mm × 30m , 膜厚 0.25μm)

温度 : カラム 60 (1min) 10 /min 300 (3min)

注入口 250 , インターフェイス 230

ガス流量 : キャリヤー(He) 1.5ml/min(定流量)

注入方式 : パルスドスプリットレス法 40.0psi(1min) 13.4psi

イオン化電圧 : 70eV

イオン化法 : EI

設定質量数 : シペルメトリン m/Z=181(209)

ペルメトリン m/Z=183(163)

フェンバレレート m/Z=419(181)

3.7. 検討事項

3.7.1. 液々液抽出の基礎データ

分析対象化合物の水層からヘキサン及びヘキサン - 酢酸エチル(75:25)への転溶率を表 3.1 に示した。

表 3.1 液々分配の転溶率(%)

化合物	ヘキサン	ヘキサン - 酢酸エチル (75:25)
シペルメトリン	93	125
ペルメトリン	112	127
フェンバレレート	86	115

5%塩化ナトリウム溶液 100ml , 各溶媒 50ml × 2 , 各 1µg 供試

3.7.2. フロリジルミニカラムからの溶出状況

フロリジルミニカラムからの各分析対象化合物の溶出状況を表 3.2 に示した。

表 3.2 フロリジルミニカラムからの溶出状況(%)

展開溶媒	ヘキサン	ヘキサン - ジエチルエーテル(85:15)			合計
	0-20ml	0-10ml	10-20ml	20-30ml	
シペルメトリン	0	80	0	0	80
ペルメトリン	0	87	0	0	87
フェンバレレート	0	90	0	0	90

供試量 : 各 0.4µg , Sep-Pak Plus フロリジル使用

3.7.3. 定容溶媒について

合成ピレスロイド系化合物のトルエン溶液を GC/MS に注入した場合、低濃度での検量線の直線性が低下する場合がある。この原因は測定物質が注入口又はカラムへ一部が吸着することによると考えられる。この吸着現象を回避するため、定容溶媒に 0.02%PEG・トルエン溶液を用いると、良好な結果が得られる。

3.7.4. GC/MS での設定質量数

測定対象化合物の分子量，フラグメント，設定質量数及び保持時間を表 3.3 に記載した。

表 3.3 測定対象化合物の分子量と設定質量数

測定対象化合物	分子量	フラグメントイオン	設定質量数		保持時間 (min)
			測定用	確認用	
シペルメトリン	416	209, 181, 163	181	209	23.67
					23.77
					23.84
					23.88
ペルメトリン	391	183, 163, 127	183	163	22.8
					22.9
フェンバレレート	420	419, 225, 181, 167, 125	419	181	24.6
					24.8

注：異性体が複数のピークに分離して検出される場合は，ピーク面積の含量で定量する。

測定に用いたフラグメントイオンの他に，確認用のフラグメントイオンもモニターする。

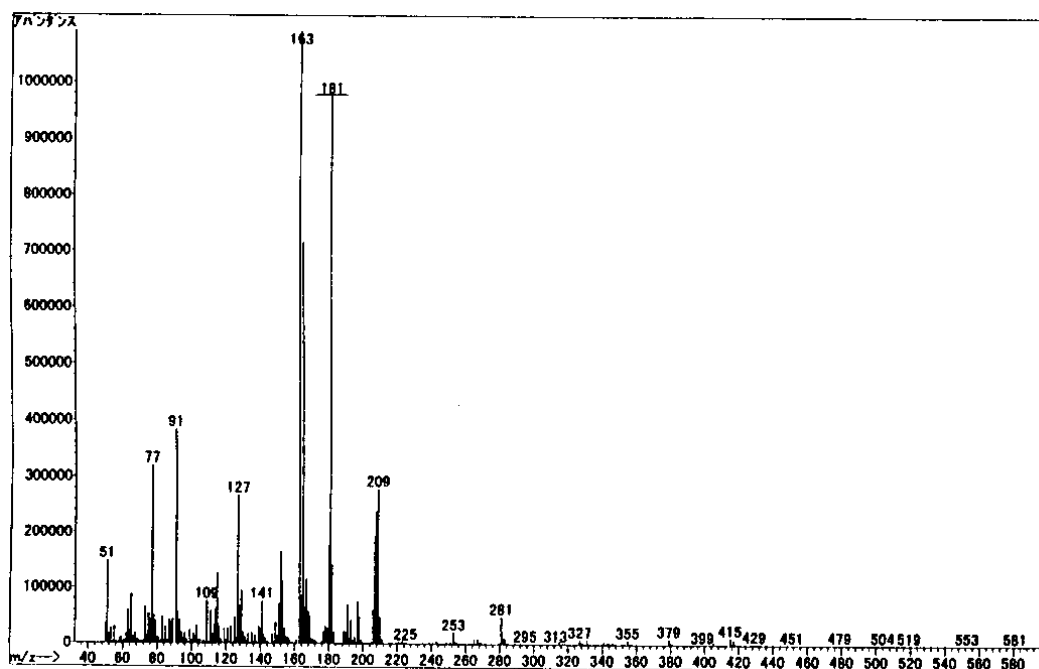


図 3.1 シペルメトリンの MS スペクトル

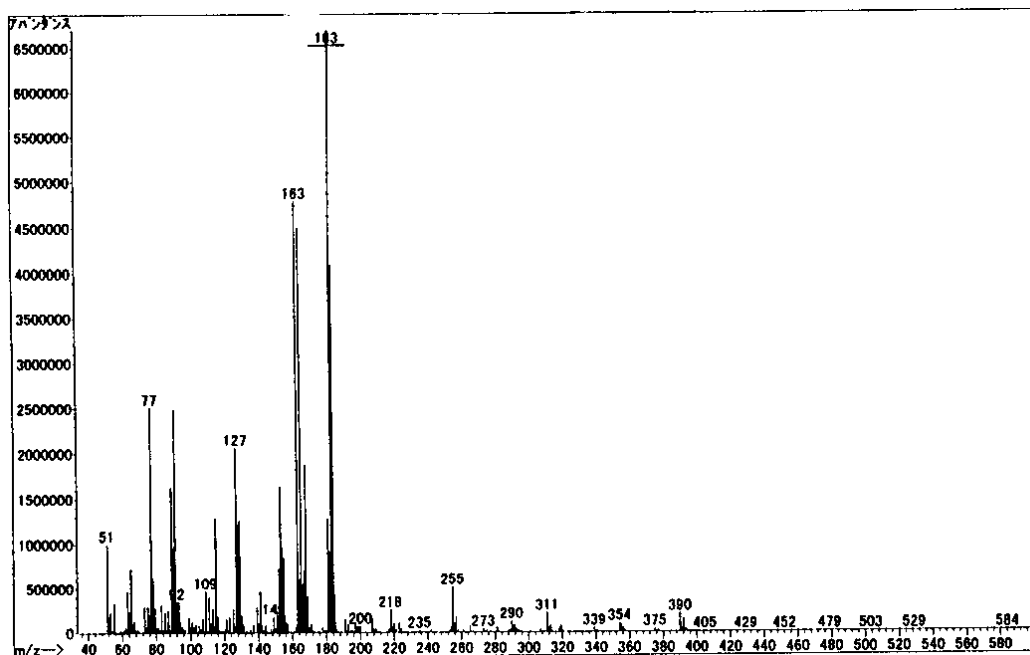


図 3.2 ペルメトリンの MS スペクトル

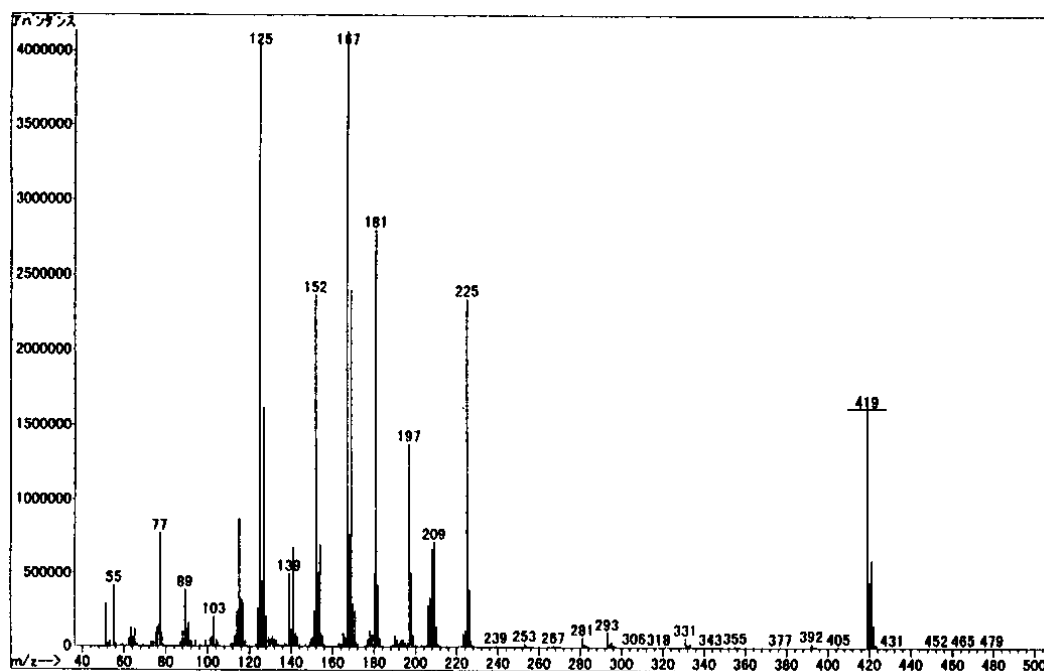


図 3.3 フェンバレートの MS スペクトル

3.7.5. その他

合成ピレスロイド系化合物には異性体が存在しているが、通常、標準品にはラセミ体を用いているので、複数のピークが検出される。

フェンバレレートは2つの不斉炭素原子を有し、4種の光学異性体(A 体, A 体, B 体及びB 体)で構成される。その中で最も殺虫活性の高いものがA 体であり、これを主成分とした農薬がエスフェンバレレートである。

3.6.の条件では2本のピークに分離して検出されるが、各々のピーク面積の含量値を用いてフェンバレレートとして定量を行う。なお、この2本のピークの2番目のピークにエスフェンバレレートが含まれることを確認されている。

光学異性体分離カラムを用いた高速液体クロマトグラフィーで、フェンバレレートは4本のピークに分離する。このうち、2番目のピークがエスフェンバレレートである。

フェンバレレートの各異性体の230nmでのモル吸光係数が同一であると仮定した場合、4本のピーク的面積比が各異性体の存在比率となる。この場合のフェンバレレート標準品中のエスフェンバレレートの存在比率は29%であった。

なお、ペルメトリンについてはcis体及びtrans体それぞれの標準品が市販されているので分別定量も可能である。

3.8. 参考文献

- ・ 農薬環境保全対策研究会編「残留農薬基準ハンドブック」, 化学工業日報社
- ・ 後藤真康, 加藤誠哉 編著 増補「残留農薬分析法」, ソフトサイエンス社(1988)
- ・ 農薬残留分析法研究班「最新 農薬の残留分析法」, 中央法規出版(1995)

4. フェノキシ酢酸系化合物分析法

4.1. 分析法の概要

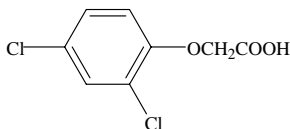
2,4-ジクロロフェノキシ酢酸及び2,4,5-トリクロロフェノキシ酢酸には酸体とエステル体がある。本分析法では、エステル体を加水分解して、酸体に統一した後、ブチルエステル化したものをGC/MS(SIM)で測定する。

対象化合物	分析操作概略	検出限界
2,4-ジクロロフェノキシ酢酸 2,4,5-トリクロロフェノキシ酢酸	アルカリ加水分解 エーテル抽出 アルカリ抽出 エーテル洗浄 エーテル抽出 ブチル化 ヘキサン抽出 シリカゲルC C GC/MS(SIM)	0.05µg/L

4.2. 対象化合物の概要

1) 2,4-ジクロロフェノキシ酢酸(2,4-PA, 2,4-D)

構造式



化学式：C₈H₆Cl₂O₃

分子量：221.0

化学名(IUPAC)：(2,4-dichlorophenoxy)acetic acid

物理化学的性質

外 観：無色粉末，融 点：140.5 ，蒸気圧：1.1×10⁻²Pa(20)

溶解性：水 311mg/L(pH1, 25)

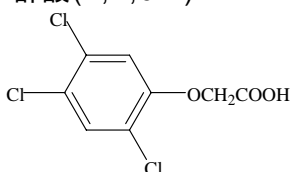
エタノール 1250，ジエチルエーテル 243，ヘプタン 1.1，トルエン 6.7，キシレン 5.8 (以上 g/kg, 20)

石油類に不溶

安定性：強酸(pKa 2.64)，アルカリ金属やアミンと水溶性の塩を形成

2) 2,4,5-トリクロロフェノキシ酢酸(2,4,5-T)

構造式



化学式：C₈H₅Cl₃O₃

分子量：255.5

化学名(IUPAC)：(2,4,5-trichlorophenoxy)acetic acid

物理化学的性質

外 観：無色結晶，融 点：153～156 ，蒸気圧：700nPa(25)

溶解性：水 150mg/L(25)

エタノール，ジエチルエーテル，メタノール，トルエン >50g/L

ヘプタン 400mg/L (以上 25)

安定性：pH5～9の水溶液中で安定，アルカリ金属やアミンと水溶性の塩を形成

4.3. 分析法フローチャート

秤取

試料 200ml

加水分解

| 2mol/L 水酸化ナトリウム溶液 10ml , アセトン 10ml
80 , 30 分

ジエチルエーテル抽出

| 4mol/L 塩酸 20ml , 塩化ナトリウム 30g(海水の場合は 20g)
ジエチルエーテル 100ml+50ml

アルカリ抽出

4%炭酸水素ナトリウム溶液 50ml × 2

ジエチルエーテル洗浄

ジエチルエーテル 50ml

ジエチルエーテル抽出

| 4mol/L 塩酸 20ml , ジエチルエーテル 50ml × 2
無水硫酸ナトリウムで脱水 , 減圧濃縮 , 窒素乾固

ブチルエステル化

| 1-ブタノール - 三フッ化ホウ素ジエチルエーテル錯体(5:2) 1ml
90 , 30 分

ヘキサン抽出

| 5%塩化ナトリウム溶液 100ml , ヘキサン 50ml × 2
無水硫酸ナトリウムで脱水 , 減圧濃縮 , 窒素乾固

シリカゲルCC

| シリカゲルミニカラム(例 : Sep-Pak Plus シリカ(690mg))
| ヘキサン 5ml で予備洗浄
| 残留物をヘキサン 5ml × 2 で負荷 , 洗浄
| ヘキサン - ジエチルエーテル(96:4) 10ml で溶出
減圧濃縮 , 窒素乾固

GC/MSD 定量

ヘキサン 1ml 定容 , 2 μ l 注入

4.4. 検量線

2,4-PA及び2,4,5-Tの標準品を別々にはかりとりアセトンに溶解し500 μ g/mlを調製する。これをさらにアセトンで希釈して40 μ g/mlを調製した後,1:1の割合で混合,希釈して2 μ g/ml混合溶液を調製する。この1ml(各2 μ g相当量)を分取し,アセトンを揮散させた後,上記と同様にブチルエステル化,ヘキサン転溶,シリカゲルCCの操作を行いヘキサンに溶解,希釈して0.01~0.2 μ g/ml溶液を調製する。各溶液の2 μ lをGC/MSに注入し,検量線を作成する。

4.5. 検出限界

測定対象化合物の最小検出量及び検出限界を表 4.2 に示した。

表 4.2 測定対象化合物の最小検出量と検出限界

化合物	最小検出量	検出限界
2,4-PA	0.02ng	0.05µg/L
2,4,5-T	0.02ng	0.05µg/L

注：2,4-PA 及び 2,4,5-T とも酸体としての値

4.6. 測定機器操作条件

機 種：GC/MS(SIM モード)

カ ラ ム：5%フェニルメチルポリシロキサン化学結合型キャピラリーカラム
(例：HP-5MS, 0.25mm×30m, 膜厚 0.25µm)

温 度：カラム 80 (1min) 10 /min 150 5 /min 220 (1min)

注入口 250 , インターフェイス 230

ガス流量：キャリアー(He) 1.7ml/min(定流量)

注入方式：パルスドスプリットレス法 (パージ開始時間 注入後 1min)

イオン化電圧：70eV

イオン化法：EI

設定質量数：2,4-PA m/Z=276(278) , 2,4,5-T m/Z=310(312)

4.7. 検討事項

4.7.1. シリカゲルミニカラムからの溶出状況

シリカゲルミニカラムからの 2,4-PA 及び 2,4,5-T のブチルエステル化物の溶出状況を表 4.3 に示した。

表 4.3 シリカゲルミニカラムからの溶出状況(%)

展開溶媒	ヘキサン 0-10ml	ヘキサン - ジエチルエーテル(96:4)			合計
		0-10ml	10-20ml	20-30ml	
2,4-PA	0	100	0	0	100
2,4,5-T	0	107	0	0	107

Sep-Pak Plus シリカ使用

2,4-PA 及び 2,4,5-T のブチルエステル化物供試量：各 0.4 μ g

4.7.2. GC/MS 操作条件

対象物質の分子量，フラグメント，設定質量数及び保持時間について表 4.4 に記載した。

表 4.4 対象物質の分子量と設定質量数

成分	分子量	ブチルエステル の分子量	フラグメントイオン	設定質量数		保持時間 (min)
				測定用	確認用	
2,4-PA	221.0	277.0	278, 276, 220, 185	276	278	14.5
2,4,5-T	255.5	311.5	312, 310, 219	310	312	16.9

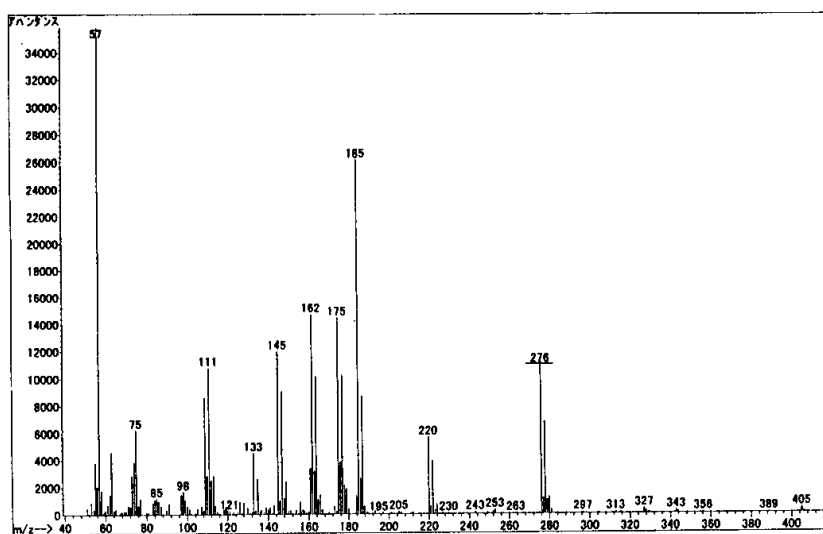


図 4.1 2,4-PA ブチルエステルの MS スペクトル

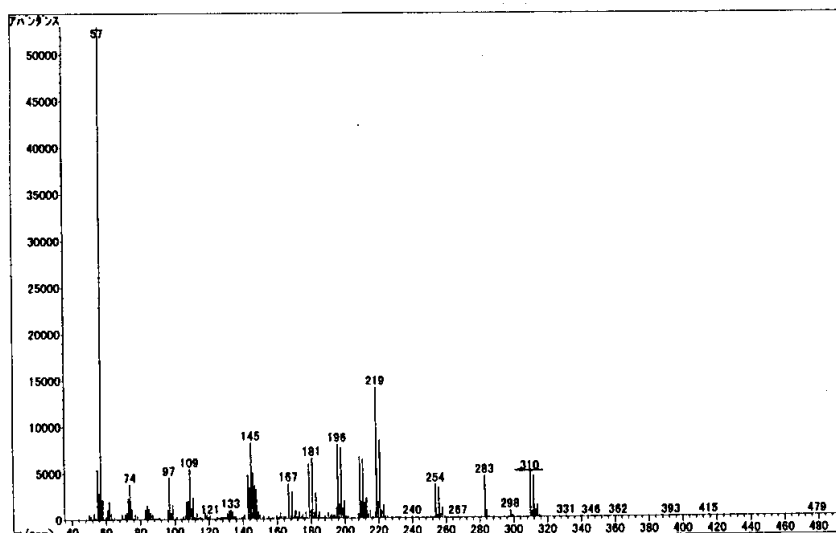


図 4.2 2,4,5-T ブチルエステルの MS スペクトル

本分析法では、0.02～0.4ng の範囲で検量線を作成しているが、注入口のガラスインサートの形状やそこに充てる石英(グラス)ウールの品質によって検量線の直線性や検出感度などが大きく左右されることがある。再現性が低い場合には0.05%PEG・アセトン溶液と試験溶液を交互に注入することで注入口付近における測定成分の吸着を抑えることが可能である。ただし、この方法では使用中に保持時間が徐々に早くなるなど、キャピラリーカラムの劣化を早めたり、イオン源の汚染が通常の使用に比べて激しく、感度低下を起こすことがある。

4.7.3. メチル化 - GC/ECD 法

2,4-PA に関しては以下に示した分析法を用いても分析が可能である。なお、抽出からメチル化前までの操作は 4.3. に記載した方法と同様である。

4.7.3.1. 分析法フローチャート

メチル化

- | メタノール 0.5ml、ジエチルエーテル 1ml
- | 室温(25) , 1 時間
- | 窒素ガスで乾固直前、ヘキサン 10ml に溶解

ヘキサン転溶

- | 5%塩化ナトリウム 100ml
- | ヘキサン 50ml × 2
- | 無水硫酸ナトリウムで脱水，減圧濃縮(25)
- | 窒素ガスで乾固直前にヘキサン 5ml に溶解

シリカゲル C C

- | 活性化シリカゲル(例：ワコーゲル C-100，130 ，15 時間活性化)，5g
- | ヘキサンでクロマト管に湿式充てん
- | ヘキサン 50ml で予備洗浄
- | 溶解液をヘキサン 5ml × 3 で負荷
- | ヘキサン 50ml，ヘキサン - ジエチルエーテル(95:5) 100ml で洗浄
- | ヘキサン - ジエチルエーテル(95:5) 70ml で溶出

減圧濃縮(25) , 窒素ガスで乾固直前

GC/ECD 定量

ヘキサン 2ml 定容 , 2 μ l 注入

4.7.3.2. 検量線

2,4-PA 純品をはかりとりアセトンに溶解 , 希釈して 10 μ g/ml 溶液を調製する。この 2ml (20 μ g) を分取し , 上記と同様にメチル化を行った後 , ヘキサンで定容後 , 希釈して 0.005 ~ 0.1 μ g/ml 溶液を調製する。各溶液の 2 μ l を GC/ECD に注入しピーク高と重量から検量線を作成する。

4.7.3.3. 測定機器操作条件

機種(検出器) : GC/ECD(⁶³Ni)

カラム : 50%フェニルメチルポリシロキサン化学結合型キャピラリーカラム

(例 : DB-17 , 0.25mm \times 30m , 膜厚 0.25 μ m)

温度 : カラム 70 (2min) 30 /min 220 5 /min 240

30 /min 280 (3min)

注入口 250 , 検出器 280

ガス圧力 : 純窒素 120kPa

注入方式 : スプリットレス法 (パーティ開始時間 注入後 1min)

4.8. 参考文献

- ・ 環境庁告示 2,4-PA 試験法
- ・ 環境庁告示 2,4,5-T 試験法
- ・ 農薬残留分析法研究班編集 “最新農薬の残留分析法” p.21 ~ 26(1995) , 中央法規出版

5. ジチオカルバマート系化合物分析法

5.1. 分析法の概要

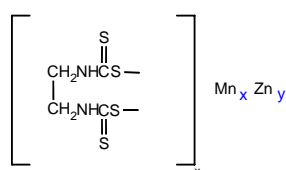
対象となる 4 種の化合物を抽出操作で誘導化しながらエチレンビスジチオカルバミン酸メチル又はジメチルジチオカルバミン酸メチルの 2 成分に収斂し、C₁₈ ミニカラム及び中性アルミナミニカラムで精製後、HPLC/UV で測定する。

対象化合物	分析操作概略	検出限界
マンネブ, マンゼブ ジネブ, ジラム	メチル化・ジクロロメタン - ヘキサン混液抽出 C ₁₈ C C 中性アルミナ C C HPLC/UV	0.2µg/L

5.2. 対象化合物の概要

1) マンゼブ(mancozeb)

構造式



化学式：(C₄H₆MnN₂S₄)_x·(Zn)_y

分子量：(265.28)_x·(65.38)_y

化学名(IUPAC)：manganese ethylenebis(dithiocarbamate)(polymeric)complex
with zinc salt

物理化学的性質

外 観：灰黄色粉末

融 点：192～194 (溶融せずに分解), 蒸気圧：極小(20)

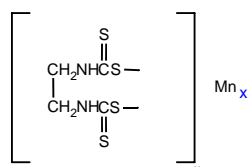
溶解性：水や大部分の一般的な有機溶媒に不溶

安定性：通常の乾燥した保存状態では安定, 熱, 湿気により徐々に分解

酸性で不安定

2) マンネブ(maneb)

構造式



化学式：(C₄H₆MnN₂S₄)_x

分子量：(265.28)_x

化学名(IUPAC)：manganese ethylenebis(dithiocarbamate)(polymeric)

物理化学的性質

外 観：黄色粉末

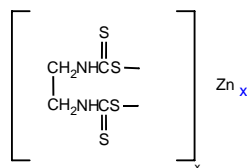
融 点：192～204 (溶融せずに分解), 蒸気圧：極小(20)

溶解性：水や大部分の一般的な有機溶媒に不溶

安定性：光に対して安定, 空気, 湿気により分解, 酸性溶液中で速やかに加水分解

3) ジネブ(zineb)

構造式



化学式：(C₄H₆N₂S₄Zn)_x

分子量：(275.8)_x

化学名(IUPAC)：zinc ethylenebis(dithiocarbamate)(polymeric)

物理化学的性質

外 観：暗黄色粉末，融 点：157 (溶融せず分解)

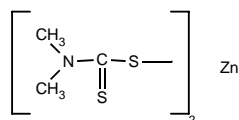
蒸気圧：<0.01 × 10⁻³Pa(20)

溶解性：水 10mg/L(室温)，大部分の一般的な有機溶媒に不溶

安定性：長期保存の場合，光，湿気，熱に不安定(安定剤により分解は抑制される)

4) ジラム(ziram)

構造式



化学式：C₆H₁₂N₂S₄Zn

分子量：305.8

化学名(IUPAC)：zinc bis(dimethyldithiocarbamate)

物理化学的性質

外 観：無色粉末，融 点：246 (240～244 ，原体)

蒸気圧：<1 × 10⁻⁹Pa(推定)

溶解性：水 0.03mg/L(20)

ジクロロメタン，二硫化炭素及び希アルカリ溶液に可溶

アセトンに可溶

エタノール及びジエチルエーテルにはほとんど溶解しない

安定性：酸性溶液中及び紫外線により分解

5.3. 分析法フローチャート

秤取

試料 200ml

ナトリウム塩の生成

- | エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム 15g, L-システイン塩酸塩 15g
- | 12mol/L 水酸化ナトリウム溶液を加えて pH 9.6 ~ 10.0 に調整
- | 60 分放置

メチル化及びジクロロメタン - ヘキサン抽出

- | 0.4mol/L 硫酸水素テトラブチルアンモニウム 5ml
- | 2mol/L 塩酸を加えて pH 7.5 ~ 7.8 に調整
- | 0.05mol/L ヨウ化メチル含有ジクロロメタン - ヘキサン(3:1) 70ml × 2
- | 無水硫酸ナトリウムで脱水
- | L-システイン塩酸塩 0.1g, 1%PEG・アセトン溶液 0.5ml
- | 減圧濃縮, 窒素乾固

C₁₈ C C

- | C₁₈ シリカミニカラム(例: Sep-Pak Plus C₁₈(360mg))
- | アセトニトリル及び水 5ml で予備洗浄
- | 水 10ml × 2 で負荷, 洗浄
- | アセトニトリル 5ml で負荷, 溶出

中性アルミナ C C

- | 中性アルミナミニカラム(例: Sep-Pak Plus アルミナ N(1710mg))
- | アセトニトリル 5ml で予備洗浄
- | アセトニトリル 30ml で負荷, 溶出
- | L-システイン塩酸塩 0.1g, 1%PEG・アセトン溶液 0.5ml
- | 減圧濃縮, 窒素乾固

HPLC/UV 定量

水 - アセトニトリル(7:3) 2ml 定容, 5μl 注入

5.4. 検量線

ジラム標準品及びマンゼブ標準品の 10mg(純度換算)を L-システイン含有エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム溶液に懸濁して, 50ml 定容とし 200μg/ml 溶液をそれぞれ調製する。これらを L-システイン含有エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム溶液で希釈して 2μg/ml 溶液をそれぞれ調製する。この 10μg 相当量を L-システイン含有エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム溶液 200ml を入れた 300ml の三角フラスコに分取する。これに 0.4mol/L 硫酸水素テトラブチルアンモニウム溶液 5ml を加えた後 2mol/L 塩酸を加えて pH7.5 ~ 7.8 に調整する。これを 500ml の分液漏斗に移し, 0.05mol/L ヨウ化メチル含有ジクロロメタン及びヘキサンの混液(3:1)70ml を加え, 振とう機を用いて 5 分間激しく振とうする。暫時放置後, 有機溶媒層を分取し, 残った水層に同混液 70ml を加え同様の振とう及び分取の操作を繰り返す。全有機溶媒層を 300ml の三角フラスコに合わせ, 無水硫酸ナトリウム約 100g を加えて脱水し, 直ちにろ過する。フラスコ及び無水硫酸ナトリウムをジクロロメタン及びヘキサンの混液(3:1)100ml で洗浄する。ろ液を合わせて, L-システイン塩酸塩 0.1g 及び 1%PEG・アセトン溶液 0.5ml を加えて 40 以下で約 1ml まで減圧濃縮し, 窒素ガスで乾固する。これを水及びアセトニトリルの混液(7:3)に溶解, 希釈して 0.02 ~ 0.4μg/ml 混合溶液を調製する。この 5μl

を HPLC/UV に注入し、検量線を作成する。

5.5. 検出限界

ジチオカルバマート系化合物の最小検出量及び検出限界について、表 5.1 に示した。

表 5.1 ジチオカルバマート系化合物の最小検出量と検出限界

化合物	最小検出量	検出限界
ジネブ	0.1ng	0.2µg/L
ジラム	0.1ng	0.2µg/L
マンネブ	0.1ng	0.2µg/L
マンゼブ	0.1ng	0.2µg/L

5.6. 測定機器操作条件

[条件 1]

機種(検出器) : HPLC/UV

カラム : シリカ ODS カラム

(例 : J'sphere ODS-H80 , 2.0mm × 15cm)

カラム槽温度 : 40

溶離液 : 水 - アセトニトリル(7:3)

流量 : 0.2ml/min

測定波長 : 272nm

最小検出量 : ジラム 0.1ng , エチレンビスジチオカルバマート類 0.1ng

[条件 2]

機種(検出器) : HPLC/UV

カラム : シリカ ODS カラム

(例 : TSKgel ODS-80Ts , 4.6mm × 25cm)

カラム槽温度 : 40

溶離液 : 水 - アセトニトリル(7:3)

流量 : 0.9ml/min

測定波長 : 272nm

最小検出量 : ジラム 0.1ng , エチレンビスジチオカルバマート類 0.1ng

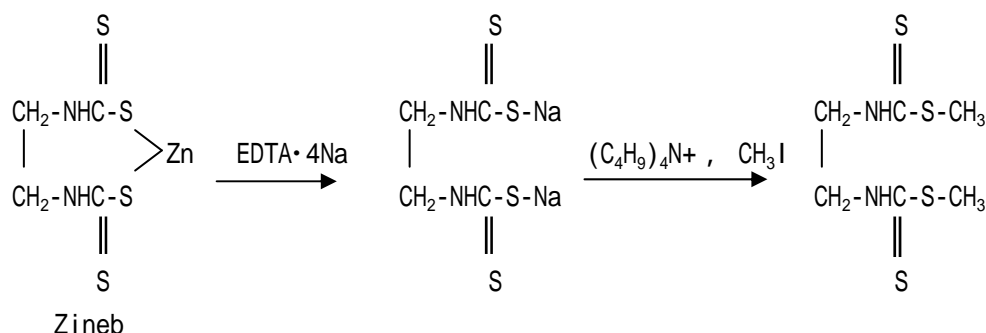
5.7. 検討事項

ジチオカルバマート系殺菌剤の環境庁告示作物試験法は、加水分解で生成する二硫化炭素を GC/FPD(S)で測定している。この分析法は、塩酸加水分解により二硫化炭素を生成する物質をすべて量り込んでしまうという欠点がある。天然成分にも塩酸加水分解で二硫化炭素を生成する物質が多数存在するため、環境試料の分析法としては適当でない。できるだけ化合物の骨格を残した分析法が、物質を同定するためにも必要条件となる。

しかしながら、このグループの化合物を直接測定する方法はない。次善の策として、できるだけ元の形を残す方法の選択が考えられる。従来から、アブラナ科植物には含硫化合物が多く、二硫化炭素法では、バックグランドが高くでてしまうため、これを避けて誘導体を調製して分析する方法がとられていた。これを参考に、対象となる 4 種の化合物を抽出操作で誘導化しながらエチレンジチオカルバミン酸メチル又はジメチルジチオカルバミン酸メチルの 2 成分に収斂し、HPLC/UV で測定する方法を用いる。

5.7.1. 分析法の原理

本分析法では、対象化合物を Na 塩とした後、ヨウ化メチルでメチル化して HPLC/UV で測定する方法であり、その原理を以下に図示した。



この分析法では、同一グループの化合物を識別することはできないが、ジラム等のジメチルジチオカルバミン酸(以下「DMDC」と略)類、マンネブ等のジエチルジチオカルバミン酸(以下「EBDC」と略)類、プロピネブ等のジプロピルジチオカルバミン酸は、分別して測定することが可能である。

5.7.2. ナトリウム塩の生成

5.3. では試料 200ml にエチレンジアミン四酢酸二ナトリウム 15g 及び L-システイン塩酸塩 15g を加えているが、あらかじめ、15% L-システイン塩酸塩 + 15%エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム溶液(10mol/L 水酸化ナトリウム溶液で pH 9.6 ~ 10 に調整)を 80ml 加えても良い。

5.7.3. メチル化及びメチル化物の抽出溶媒について

試料水中のジチオカルバマート系化合物のナトリウム塩を生成させた後、ヨウ化メチルでメチル化及びジクロロメタン - ヘキサン混液への抽出を同時に行う。従来法では、抽出溶媒としてクロロホルム - ヘキサン混液が用いられているが、クロロホルムの毒性及び操作性の点から考えて、これに代わる有機溶媒を使用することが望ましい。各種有機溶媒を用いた時の標準溶液の検出ピーク高を表 5.2 に示した。

表 5.2 マンゼブ及びジラムナトリウム塩のメチル化及び抽出率(相対比)

	クロロホルム・ヘキサン (3:1)	ジクロロメタン	ジクロロメタン・ヘキサン (3:1)	酢酸エチル	酢酸エチル - ヘキサン	
					(3:1)	(1:1)
EBDC ジメチル	100	84	85	20	9	7
DMDC メチル	100	81	85	81	41	14

0.05mol/L ヨウ化メチル含有有機溶媒 70ml で 2 回抽出
マンゼブ及びジラム各 1 μ g をメチル化, 10ml に定容

これらの結果より, 酢酸エチルを用いた場合 EBDC ジメチルの検出感度が低く定量が困難であった。また, ジクロロメタンを用いた場合クロロホルムと比較して検出感度が劣るが, 精製効果及び操作性を考慮し, ジクロロメタン - ヘキサン(3:1 V/V)を用いた方が望ましい。

5.7.4. C₁₈CC について

C₁₈ミニカラムからの DMDC メチル及び EBDC ジメチルの溶出状況を表 5.3 に示した。

表 5.3 C₁₈ミニカラムからの溶出状況(%)

展開溶媒	水 20ml	アセトニトリル		合計
		0-5ml	5-10ml	
EBDC ジメチル	0	91	0	91
DMDC メチル	0	95	0	95

Sep-Pak Plus C₁₈ カートリッジ使用
マンゼブ及びジラムとしての供試量: 各 1 μ g

5.7.5. 中性アルミナCC について

中性アルミナミニカラムからの DMDC メチル及び EBDC ジメチルの溶出状況を表 5.4 に示した。

表 5.4 中性アルミナミニカラムからの溶出状況(%)

展開溶媒	アセトニトリル				合計
	0-10ml	10-20ml	20-30ml	30-40ml	
EBDC ジメチル	66	31	3	0	100
DMDC メチル	93	8	0	0	101

Sep-Pak Plus アルミナ N カートリッジ使用
マンゼブ及びジラムとしての供試量: 各 1 μ g

C₁₈ミニカラムと中性アルミナミニカラムは連結して使用方法もある。詳細は 底質編に記載のジチオカルバマート系化合物分析法を参照。

5.7.6. 標準溶液について

ジチオカルバマート系化合物は一般に水溶液中では不安定であり, 標準品を水に懸濁し, 試料水と同様に誘導化を行った場合, 特に低濃度の懸濁液では定量に影響が及ぶ可能性がある。標準品をシス테인 - EDTA 溶液に直接懸濁し, 直ちに比較的安定なナトリウム塩にするという方法で定量用標準溶液を調製すると良好な結果が得られる。

EBDC ジメチルは, アセトニトリル溶液中で不安定であるが, 標準溶液及び試験溶液に L-シス테인塩酸塩を安定剤として少量加えると, 室温で 3 日間以上安定である。

5.7.7. DMDC メチル及び EBDC ジメチルの UV スペクトル

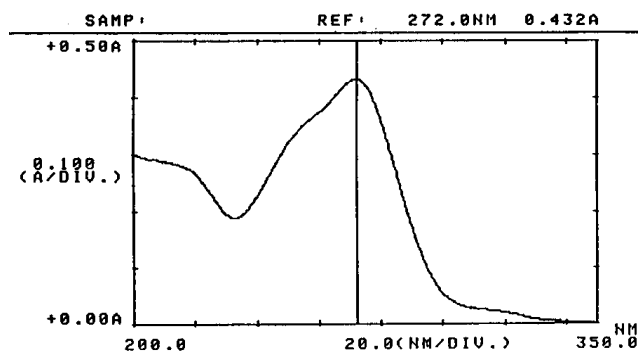


図 5.1 EBDC ジメチルの UV スペクトル

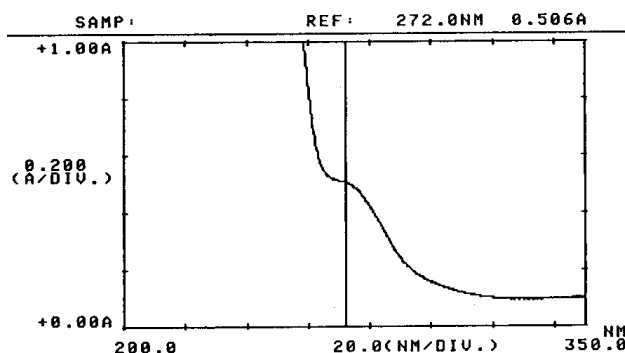


図 5.2 DMDC メチルの UV スペクトル

5.7.8. 分析法における問題点

5.7.8.1. 類似化合物との関係

5.7.1.に記載したように本分析法では、できるだけ化合物の原形をとどめて測定する方法を用いているが、直接元の化合物を測定していないため、類似構造を有した化合物が同一の誘導体を生成した場合は、分別できずにこれらの物質を測り込んでしまう。特に、ジラム(ジメチルジチオカルバミン酸)に類似する化合物が農薬として或いはゴム加硫剤として使用されている(表 5.5 参照)。従って環境試料からピークが検出した場合は、その由来を確定することが困難である。

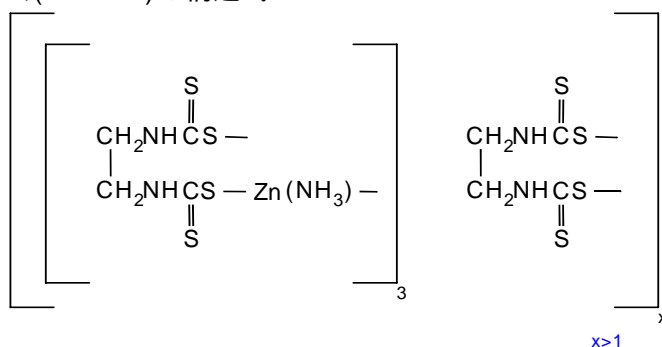
表 5.5 ジメチルジチオカルバミン酸骨格を有する化合物(出典 化学大辞典)

用途	化合物名
農薬(殺菌剤)	ファーバム (ジメチルジチオカルバミン酸鉄)
農薬(殺菌剤)	サンケル (ジメチルジチオカルバミン酸ニッケル)
農薬(殺菌剤)	チウラム (ビス(ジメチルチオカルバモイル)ジスルフィド)
ゴム加硫剤	ジメチルジチオカルバミン酸ナトリウム
ゴム加硫剤	ジメチルジチオカルバミン酸亜鉛

5.7.8.2. メチラムについて

SPEED'98 ではジチオカルバマート系化合物で内分泌攪乱作用が疑われる物質として、上記に記載した3物質の他に"メチラム"を挙げている。メチラムはマンゼブ等と同様にEBDCを構造中に持つ。しかし、マンゼブ等と同様にアルカリ性下でEBDC-Na塩とした後、ヨウ化メチルでEBDCジメチルを生成させHPLC-UVで定量する方法では、メチラム由来のEBDCジメチルのピークは検出できない。このため、本分析法ではメチラムは分析不能である。

メチラム(metiram)の構造式



化学式：C₁₆H₃₃N₁₁S₁₆Zn₃

分子量：1088.7

化学名(IUPAC)：

zinc ammoniate ethylenebis(dithiocarbamate)-poly(ethylenethiuram disulfide)

物理化学的性質

外 観：黄色粉末

融 点：約 140 (溶融せずに分解)

蒸気圧：0.01mPa 未満(20)

溶解性：水やエタノール，アセトン，ベンゼンなどの有機溶媒に不溶
ピリジンに可溶(分解)

オクタノール/水分配係数：log P = 2 (pH7)

安定性：30 で安定。吸湿性なし
強酸，強アルカリで分解

5.8. 参考文献

- Gustafsson, K.H., Thompson, R.A.: J. Agric. Food Chem. 29, 729-732(1981)
- Gustafsson, K.H., Fahlgren, C.H., : ibid. 31, 461-463(1983)
- (財)日本食品分析センター：“平成三年度ポストハーベスト農薬残留防止緊急対策事業 飼料中の残留農薬分析法の開発” p.159(1992)

6. メソミル分析法

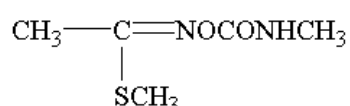
6.1. 分析法の概要

試料からジクロロメタンで抽出後，高速液体クロマトグラフ - ポストカラム誘導体化システム/蛍光検出器で測定する。

対象化合物	分析操作概略	検出限界
メソミル	ジクロロメタン抽出 HPLC - ポストカラム誘導体化システム/FL	0.05µg/L

6.2. メソミルの概要

構造式：



化学式：C₅H₁₀N₂O₂S

分子量：162.2

化学名(IUPAC)：S-methyl N-(methylcarbamoyloxy)thioacetimidate

物理化学的性質

外 観：無色結晶

融 点：78～79 ， 蒸気圧：0.72mPa(25)

溶解性：水 57.9g/L

メタノール 1000，アセトン 730，エタノール 420，イソプロパノール 220，

トルエン 30(以上 g/kg, 25)

安定性：室温水溶液中で緩やかに分解

6.3. 分析法のフローチャート

ジクロロメタン抽出

- | 試料 200ml，塩化ナトリウム 10g
- | ジクロロメタン 100+50ml で抽出
- | 無水硫酸ナトリウムで脱水
- | 0.1%PEG・アセトン溶液 1ml 添加
- | 減圧濃縮，窒素乾固

HPLC-ポストカラム誘導体化システム/FL

水 - メタノール(9:1)1ml 定容，20µl 注入

6.4. 検量線

メソミルの標準品をアセトンに溶解，希釈して 20µg/ml 溶液を調製する。これを水 - メタノール(9:1)で希釈して，0.01～0.2µg/ml 溶液を数点調製し，この 20µl を HPLC-ポストカラム誘導体化システム/FL に注入し，検量線を作成する。

6.5. 検出限界

メソミルの最小検出量と検出限界を表 6.1 に示した。

表 6.1 メソミルの最小検出量と検出限界

化合物	最小検出量	検出限界
メソミル	0.2ng	0.05 μ g/L

6.6. 測定機器操作条件

機種(検出器) : HPLC-ポストカラム蛍光誘導体化システム/FL

[HPLC 部]

カラム : シリカ ODS カラム

(例 : STR ODS- , 4.6mm \times 150mm)

溶離液 : 水 - メタノール(82:18)

流 量 : 1ml/min

カラム槽温度 : 45

[反応部]

反応液 1 : 0.05mol/L 水酸化ナトリウム溶液 , 0.2ml/min

反応槽温度 : 90

反応液 2 : 0.1mol/L o-フタルアルデヒド溶液 + 0.01%メルカプトエタノール溶液
/ 0.3mol/L ホウ酸緩衝溶液 , 0.2ml/min

反応槽温度 : 45

[検出部]

設定波長 : 励起波長 340nm , 蛍光波長 445nm

6.7. 検討事項

6.7.1. 液々抽出の基礎データ

メソミルの水層からジクロロメタンへの転溶率を表 6.2 に記載した。

表 6.2 メソミルの転溶率

	ジクロロメタン			合計
	100ml	50ml	50ml	
転溶率(%)	85	11	0	96

0.1 μ g 供試, 精製水 200ml, 塩化ナトリウム 10g

6.7.2. メソミルの確認

試料からメソミルのピークが検出された場合は, HPLC/MS/MS にてピークの確認を行う。

機種(検出器): HPLC/MS/MS(四重極型)

[HPLC 部]

カラム: シリカ ODS カラム

(例: YMC-Pack ODS-A-312, 6mm \times 150mm)

溶離液: 水 - アセトニトリル - 酢酸(85:15:0.1)

流量: 1ml/min

カラム槽温度: 40

[MS/MS 部]

イオン化法: ES(+)

イオン源温度: 140

コーン電圧: 10eV

設定質量数: 162.9 105.9

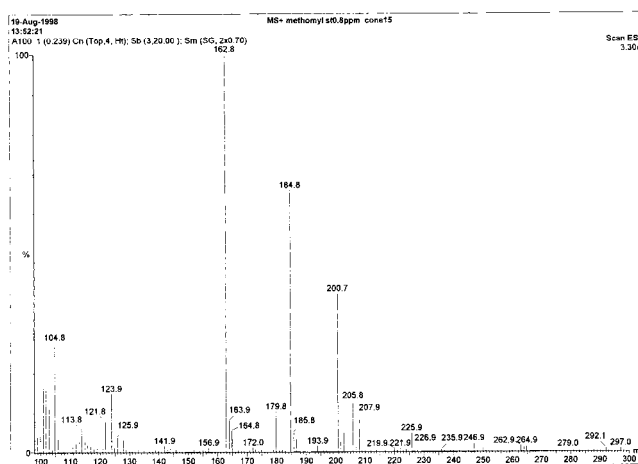


図 6.1 メソミルの HPLC/MS スペクトル

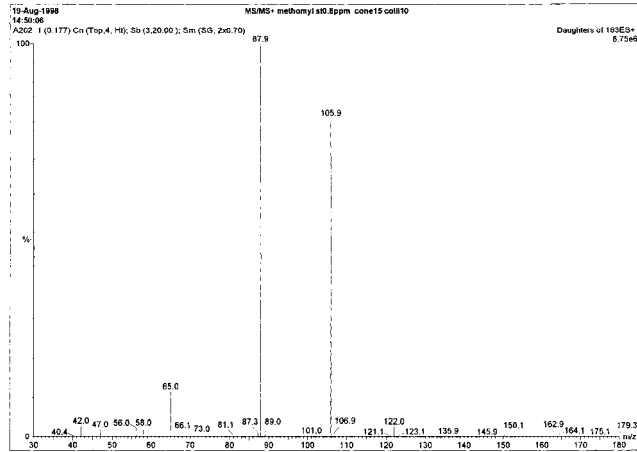


図 6.2 メソミルの HPLC/MS/MS スペクトル
($m/z=162.8$ のイオンを MS/MS 分析して得られたスペクトル)

6.8. 参考文献

- ・ 「第 24 回日本環境化学会講演会」資料集
- ・ The Pesticide Manual, 11th Ed.

7. カルベンダジム分析法

7.1. 分析法の概要

試料をヘキサン洗浄，酢酸エチル転溶，塩酸転溶，酢酸エチル転溶し，HPLC/UV で測定する。

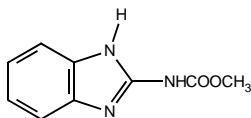
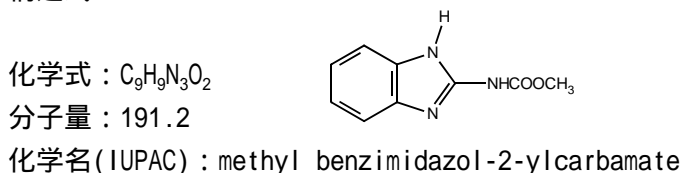
なお，この分析法では分解によりカルベンダジムを生成するベノミルが存在した場合，カルベンダジムと区別することができず含量として定量される。

対象化合物	分析操作概略	検出限界
カルベンダジム	ヘキサン洗浄 酢酸エチル抽出 塩酸抽出 酢酸エチル抽出 HPLC/UV	0.1µg/L

7.2. 対象化合物の概要

1) カルベンダジム(carbendazim)

構造式



物理化学的性質

外 観：無色結晶， 融 点：302～307 (分解)
蒸気圧：0.09mPa(20)，0.15mPa(25)，1.3mPa(50)
溶解性：水 29mg/L(pH4)，8mg/L(pH7)，7mg/L(pH8) (以上 24)
ジメチルホルムアミド 5，アセトン 0.3，エタノール 0.3，
クロロホルム 0.1，酢酸エチル 0.135，ジクロロメタン 0.068，
ベンゼン 0.036，シクロヘキサン <0.01，エチルエーテル <0.01
(以上 g/L，24)

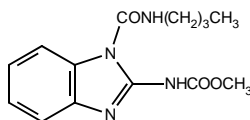
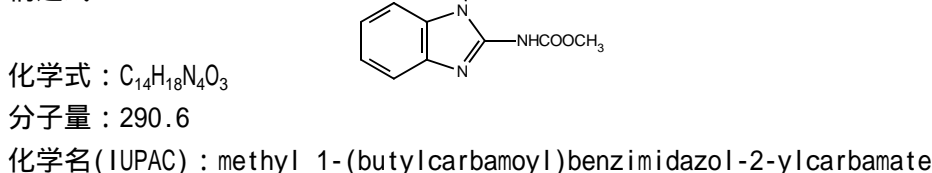
ヘキサンに不溶

安定性：50 以下で少なくとも 2 年間安定

アルカリ溶液中で徐々に分解，酸性溶液中で水溶性の塩を形成し安定

2) ベノミル(benomyI)

構造式



物理化学的性質

外 観：無色結晶， 融 点：140 (分解)， 蒸気圧：<4.9µPa(25)
溶解性：水 約 4mg/kg(pH3～10)，pH1 で易溶，pH13 で分解(25)
クロロホルム 94，ジメチルホルムアミド 53，アセトン 18，キシレン 10，
エタノール 4 (以上 g/kg，25)

安定性：強酸及び強アルカリで分解，水分の存在で徐々に分解

7.3. 分析法フローチャート

秤 取

試料水 400ml

ヘキサン洗浄

| NaCl 20g(海水の場合は入れない), 0.5mol/L 硫酸 20ml, ヘキサン 100ml × 2
(ヘキサン層はペンタクロロフェノールの分析に使用)

酢酸エチル転溶

| 2mol/L 水酸化ナトリウム溶液で pH6 ~ 7 に調整
酢酸エチル 100ml × 2 に抽出

塩酸転溶

0.1mol/L 塩酸 80ml × 2

酢酸エチル転溶

| 2mol/L 水酸化ナトリウム溶液で pH6 ~ 7 に調整
| 酢酸エチル 80ml × 2 に抽出
無水硫酸ナトリウムで脱水, 減圧濃縮, 窒素乾固

HPLC/UV 定量

水 - アセトニトリル(8:2) 2.5ml 定容, 50 μ l を注入

7.4. 検量線の作成

カルベンダジムの標準品をメタノールに溶解し, 500 μ g/ml を調製する。これを水及びアセトニトリルの混液(8:2)で希釈し, 0.01 ~ 0.2 μ g/ml の標準溶液を数点調製し, それぞれ 50 μ l を高速液体クロマトグラフに注入し, 縦軸にピーク面積, 横軸に重量をとって検量線を作成する。

7.5. 検出限界

カルベンダジムの最小検出量と検出限界を表 7.1 に示した。

表 7.1 カルベンダジムの最小検出量と検出限界

	最小検出量	検出限界
メソミル	0.5ng	0.07 μ g/L

7.6. 測定機器操作条件

機種(検出器) : HPLC/UV

カラム : シリカ ODS カラム

(例 : YMC-Pack Pro C18, 3mm × 250mm)

溶離液 : 0.01mol/L リン酸一カリウム - メタノール(55:45)

カラム槽温度 : 40

流量 : 0.3ml/min

測定波長 : 285nm

7.7. 検討事項

7.7.1. 液々分配について

カルベンダジムは酸性及びアルカリ性で水に溶解，中性で有機溶媒に抽出されるので，この性質を利用して精製を行った。なお，ベノミルは分析操作中に定量的にカルベンダジムに変換される。

7.7.2. 検出ピークの確認について

カルベンダジムが検出された試料は，HPLC/MS/MS に試験溶液を注入し，標準溶液の MS スペクトルと比較を行うことで，ピークの確認を行う。

HPLC/MS/MS 操作条件

機種(検出器)：HPLC/MS/MS

[HPLC 部]

カラム：シリカ ODS カラム

(例：YMC-Pack ODS-A-312, 6mm×150mm)

溶離液：水 - アセトニトリル - 酢酸(85:15:0.1 V/V/V)

カラム槽温度：40

流量：1ml/min

[MS/MS 部]

イオン化法：ES(+)

イオン源温度：130

コーン電圧：22V

コリジョンエネルギー：15eV(MS/MS 時)

設定イオン数(m/Z)：191.9 159.9

7.7.3. カルベンダジムの UV スペクトル及び MS スペクトル

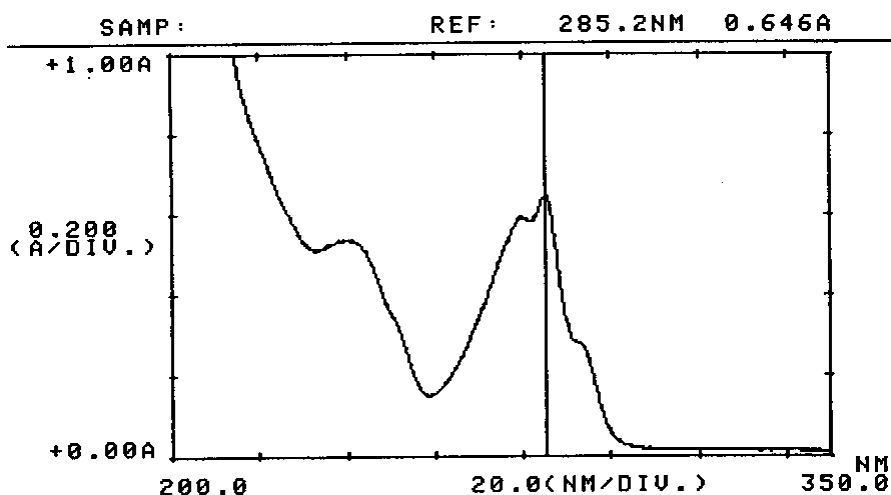
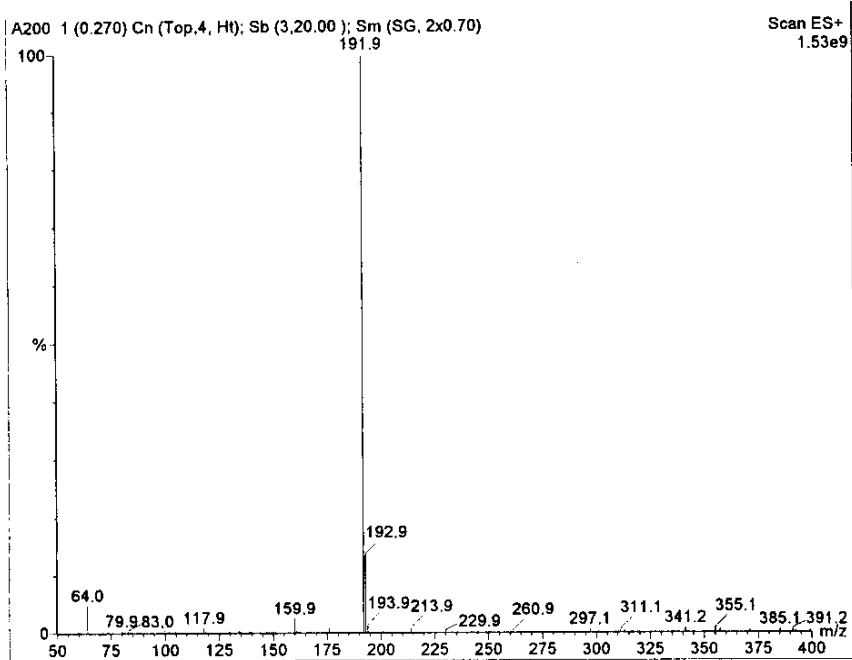


図 7.1 カルベンダジムの UV スペクトル

HPLC/MS スペクトル



HPLC/MS/MS スペクトル

(m/z=191.9 のイオンを MS/MS 分析して得られたスペクトル)

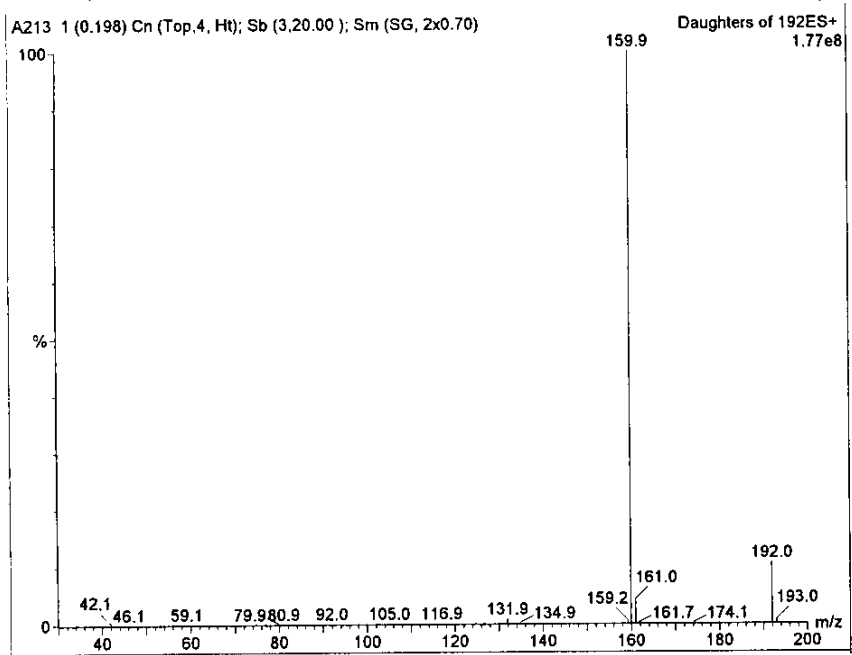


図 7.2 カルベンダジムの MS スペクトル

7.8. カルベンダジム分析における問題点

カルベンダジムは現在、日本では農薬として使用されていないが、ベンゾイミダゾール系殺菌剤のベノミルやチオファネートメチルなどが農作物中あるいは環境で代謝、分解されてカルベンダジムを生成する。

今回の調査で環境水中におけるカルベンダジム濃度を調査したが、ベノミルは分析操作中にその変化生成物であるカルベンダジムに変換し、もともと存在したカルベンダジムとの含量として測定するので、検出されたカルベンダジムがどの農薬に由来するのかを特定することはできない。

一般的に、ベノミルは水溶液中では速やかに安定なカルベンダジムとなり、チオファネートメチルは徐々にカルベンダジムへと変換することが知られており、チオファネートメチルは光分解により主分解物としてカルベンダジムを生成することが報告されている。

7.9. 参考資料

- ・ 農薬残留分析法研究班編集 “最新農薬の残留分析法”

p.56～58, p.108～109(1995) 中央法規出版

8. 1,2-ジブロモ-3-クロロプロパン分析法

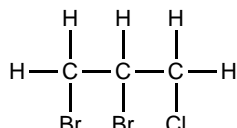
8.1. 分析法の概要

蒸留抽出装置を用い、試料からヘキサンに抽出後、GC/ECDで測定する。

対象化合物	分析操作概略	検出限界
1,2-ジブロモ-3-クロロプロパン	蒸留抽出(ヘキサン捕集) GC/ECD	0.05 μ g/L

8.2. 1,2-ジブロモ-3-クロロプロパン(DBCP)の概要

構造式：



化学式：C₃H₅Br₂Cl

分子量：236.3

化学名(IUPAC)：1,2-dibromo-3-chloropropane

物理化学的性質

外 観：茶色液体， 沸 点：196 ， 蒸気圧：0.8mmHg(21)

溶解性：水 微溶

油類，ジクロロプロパン，イソプロパノールに混合

8.3. 分析法フローチャート

蒸留抽出(Dean&Stark 抽出装置)

| 試料 200ml，ヘキサン 10ml

| 沸とう後，60 分間加熱還流抽出

ヘキサン層を脱水(液相分離紙)

GC/ECD 定量

2 μ l 注入

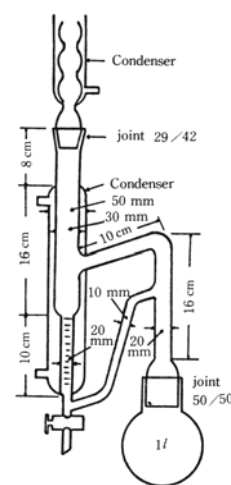


図 8.1 Dean&Stark 抽出装置

8.4. 検量線

1,2-ジブロモ-3-クロロプロパン標準品をアセトンに溶解 希釈して 20 μ g/ml を調製する。これをヘキサンで希釈し，0.001~0.02 μ g/ml の溶液を数点調製し，この 2 μ l をガスクロマトグラフに注入し，検量線を作成する。

8.5. 検出限界

1,2-ジブromo-3-クロロプロパンの最小検出量と検出限界を表 8.1 に示した。

表 8.1 1,2-ジブromo-3-クロロプロパンの最小検出量と検出限界

化合物	最小検出量	検出限界
1,2-ジブromo-3-クロロプロパン	0.002ng	0.05 μ g/L

8.6. 測定機器操作条件

機種(検出器) : GC/ECD(⁶³Ni)

カラム : 50%フェニルメチルポリシロキサン化学結合型キャピラリーカラム
(例 : DB-17 , 0.25mm \times 30m , 膜厚 0.25 μ m)

温度 : カラム 60 (2min) 10 /min 140 30 /min 280 (6min)
注入口 250 , 検出器 280

ガス流量 : キャリヤーガス(He) 2.5ml/min(定流量)

メイクアップガス(N₂) 60ml/min

アノードガス(N₂) 6ml/min

注入方法 : スプリットレス法(パージ開始時間 注入後 1min)

8.7. 参考文献

- ・ 「第 24 回日本環境化学会講演会」資料集
- ・ The Pesticide Manual , 11th Ed.
- ・ The Merck Index , 10th Ed.

9. ペンタクロロフェノール分析法

9.1. 分析法の概要

試料をヘキサン転溶，アルカリ転溶，ヘキサン洗浄，ヘキサン転溶し，HPLC/UV で測定する。

対象化合物	分析操作概略	検出限界
ペンタクロロフェノール	ヘキサン抽出 アルカリ抽出 ヘキサン洗浄 ヘキサン抽出 HPLC/UV	0.05µg/L

9.2. ペンタクロロフェノール(PCP)の概要

構造式

化学式：C₆HCl₅O

分子量：266.3

化学名(IUPAC)：pentachlorophenol

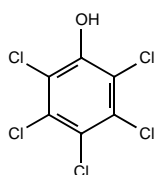
物理化学的性質

外 観：無色結晶，フェノール臭， 融 点：191 ， 蒸気圧：16Pa(100)

溶解性：水 80mg/L(30)

アセトン 215g/L，大部分の有機溶媒に可溶

安定性：比較的安定，吸湿性はない



9.4. 分析法フローチャート

秤 取

試料 400ml

ヘキサン転溶

| 塩化ナトリウム 20g，0.5mol/L 硫酸 20ml

| ヘキサン 100ml × 2 に転溶

水層はカルベンダジムの分析に使用

アルカリ転溶

0.2mol/L 炭酸ナトリウム溶液 100ml × 2 に転溶

ヘキサン洗浄

ヘキサン 50ml

ヘキサン転溶

| 2.5mol/L 硫酸 20ml，ヘキサン 100ml × 2 に転溶

脱水，減圧濃縮，乾固

HPLC/UV 定量

アセトニトリル - 0.5%リン酸(65:35) 2ml 定容，50µl 注入

9.5. 検量線

ペンタクロロフェノール標準品をメタノールに溶解し，500mg/L を調製する。これをアセトニトリル及び0.5%リン酸の混液(65:35)で希釈し，0.01～0.2μg/ml の標準溶液を数点調製し，それぞれ50μl を高速液体クロマトグラフに注入し，縦軸にピーク高，横軸に重量をとって検量線を作成する。

9.6. 検出限界

ペンタクロロフェノールの最小検出量と検出限界を表9.1 に示した。

表9.1 ペンタクロロフェノールの最小検出量と検出限界

化合物	最小検出量	検出限界
ペンタクロロフェノール	0.5ng	0.05μg/L

9.7. 測定機器操作条件

機種(検出器) : HPLC/UV

カラム : シリカ ODS カラム

(例 : Phenomenex® Luna 5u C18(2) , 4.6mm × 250mm)

溶離液 : アセトニトリル - 0.5%リン酸(65:35)

カラム槽温度 : 40

流量 : 0.8ml/min

測定波長 : 215nm

9.8. 検討事項

9.8.1. 液々分配でのペンタクロロフェノールの挙動

ペンタクロロフェノールは構造中にフェノール性水酸基を持つために、水層の pH を変化させることで水層と有機溶媒層間の液々分配で精製する。

ペンタクロロフェノールの各種水層からヘキサンへの転溶率を表 9.1 に示した。

表 9.1 ペンタクロロフェノールの各種水層からヘキサンへの転溶率

水層の液性		ヘキサン 50ml × 2
酸性	5%NaCl 200ml+1mol/L 硫酸 10ml	116%
中性	5%NaCl 200ml	113%
アルカリ性	0.2mol/L 炭酸ナトリウム 200ml	0%

PCP 供試量：0.4μg

9.8.2. ペンタクロロフェノールの定量法

従来の分析法としては、無水酢酸でアセチル化した後、GC/ECD で定量する方法があるが、低検出限界での定量は困難である。

図 9.1 に示したようにペンタクロロフェノールが非常に低波長側ではあるが UV 吸収極大を持つことから、HPLC/UV で測定する。

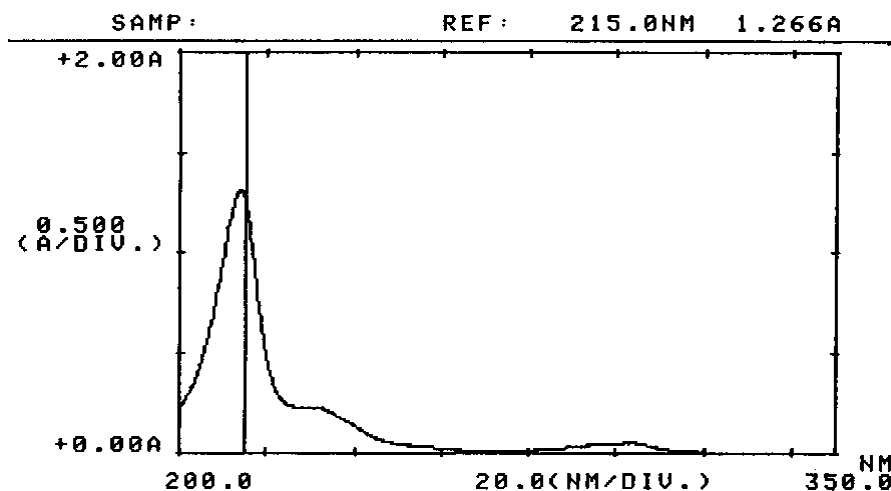


図 9.1 ペンタクロロフェノールの UV スペクトル

9.8.3. 分析上の留意点

ペンタクロロフェノールは主にナトリウム塩として除草剤、木材などの防黴剤、落葉促進剤などに広く用いられるため、分析操作中に混入する可能性がある。

本分析操作において、器具等は使用前にアセトン等の清浄な有機溶媒で洗浄したものを使用する必要がある。

9.9. 参考文献

- ・ 農薬公定検査法 昭和 47 年度版

10. アミトロール分析法

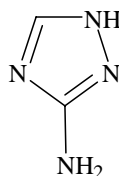
10.1. 分析法の概要

試料を pH 調整後，多孔性ケイソウ土カラムに保持させ，酢酸エチルで抽出する。海水に関してはこの抽出物を蛍光誘導化して HPLC/FL で測定する。河川水に関しては陽イオン交換 CC の精製を追加した後，蛍光誘導化して HPLC/FL で測定する。

対象化合物	分析操作概略	検出限界
アミトロール	ケイソウ土 CC 陽イオン交換 CC (海水は省略) 蛍光誘導化 HPLC/FL	0.05µg/L

10.2. アミトロールの概要

構造式



化学式：C₂N₄H₄

分子量：84.1

化学名(IUPAC)：1H-1,2,4-triazol-3-yl amine

物理化学的性質

外 観：無色結晶， 融 点：157～159 ， 蒸気圧：4.4×10⁻¹⁰Pa

溶解性：水 280g/kg(25)，エタノール 260g/kg(75)，

アセトン，ジエチルエーテル 不溶

安定性：酸及び塩基と塩を形成し安定

10.3. 分析法フローチャート

10.3.1. 河川水分析法

秤 取

- | 試料 100ml
- | 減圧濃縮，乾固

多孔性ケイソウ土 CC

- | 保持容量 20ml の多孔性ケイソウ土カラム(例：ケムエルート CE1020)
- | 0.2mol/L リン酸緩衝液(pH 6.0)^{*1} 6ml に溶解，負荷
- | 酢酸エチル 250ml で溶出
- | 減圧濃縮，窒素乾固
- | エタノール 20ml に溶解

強酸性陽イオン交換 CC

- | 強酸性陽イオン交換樹脂^{*2}，H⁺型，200-400mesh，1ml
- | (例：ムロマック 50W×8)
- | 抽出液の 10ml を負荷

- | 水 10ml で洗淨，2.8%アンモニア水 12ml で溶出
- 減圧濃縮，乾固

蛍光誘導化

- | 0.2mol/L 酢酸緩衝液^{*3} 1ml
- | 0.5%フルオレスカミン・アセトン溶液 200 μ l
- | 1時間放置
- 0.1mol/L ホウ酸ナトリウム溶液 1ml

HPLC/FL 定量

20 μ l 注入

10.3.2. 海水分析法

秤 取

- | 試料 100ml
- | 減圧濃縮
- 0.2mol/L リン酸二水素ナトリウム溶液で pH 6.0 に調整し 25ml 定容

多孔性ケイソウ土 C C

- | 保持容量 20ml の多孔性ケイソウ土カラム(例：ケムエルート CE1020)
- | 濃縮液の 5ml を負荷
- | 酢酸エチル 250ml で溶出
- 減圧濃縮，窒素乾固

蛍光誘導化

- | 0.2mol/L 酢酸緩衝液^{*3} 1ml，
- | 0.5%フルオレスカミン・アセトン溶液 200 μ l
- | 1時間放置
- 0.1mol/L ホウ酸ナトリウム溶液 1ml

HPLC/FL 定量

20 μ l 注入

*1 0.2mol/L リン酸二水素ナトリウム溶液に 0.2mol/L リン酸水素二ナトリウム溶液を加え pH 6.0 に調整。

*2 1mol/L 塩酸，1mol/L 水酸化ナトリウム溶液，1mol/L 塩酸の順に洗淨し，水を用いて中性になるまで洗淨。

*3 0.2mol/L 酢酸溶液 800ml に 0.2mol/L 酢酸ナトリウム溶液を加えて 1,000ml にする。

10.4. 検量線

アミトロール標準品をメタノールに溶解し、500 μ g/ml の標準原液を調製する。これをメタノールでさらに希釈し、0.0025 ~ 0.05 μ g/ml (海水の場合、0.001 ~ 0.02 μ g/ml) の標準溶液を数点調製する。標準溶液を各 1ml 分取し、窒素ガスを通じて乾固する。これに 0.2mol/L 酢酸緩衝液 1ml 及び 0.5%フルオレスカミン・アセトン溶液 200 μ l を加えた後、1 時間室温に放置して蛍光誘導化を行う。反応液に 0.1mol/L ホウ酸ナトリウム溶液 1ml を加えて測定用標準溶液とし、この 20ml を HPLC/FL に注入し、検量線を作成する。

10.5. 検出限界

アミトロールの最小検出量と検出限界を表 10.1 に示した。

表 10.1 アミトロールの最小検出量と検出限界

	最小検出量	検出限界
河川水	0.05ng	0.05 μ g/L
海水	0.02ng	0.05 μ g/L

10.6. 測定機器測定条件

機種(検出器) : HPLC/FL

カラム : シリカ ODS カラム

(例 : YMC Pack ODS-AM-312 , 6.0mm \times 15cm)

カラム槽温度 : 40

溶離液 : 0.05mol/L リン酸緩衝液(pH 3.0) - アセトニトリル(7:3)

流量 : 0.8ml/min

蛍光励起波長 : 380nm

蛍光測定波長 : 484nm

10.7. 検討事項

アミトロールは一級アミンを持つ水溶性の高いイオン性物質であり、通常イオン交換 CC で精製を行いフルオレスカミンで蛍光誘導化して HPLC/FL で測定する方法がとられている。しかし、水質試料では脱塩操作が不可欠であるため、pH 調整後、多孔性ケイソウ土カラムに保持させ、酢酸エチルで抽出する。海水に関してはこの抽出物を蛍光誘導化して HPLC/FL で測定する。河川水に関しては陽イオン交換 CC の精製を追加した後、蛍光誘導化して HPLC/FL で測定する。

10.7.1. 多孔性ケイソウ土カラムからの溶出状況

アミトロールの多孔性ケイソウ土カラムからの溶出状況を表 10.2 に示した。

表 10.2 多孔性ケイソウ土カラムからの溶出状況

展開溶媒	酢酸エチル				合計
	0 ~ 100ml	~ 150ml	~ 200ml	~ 250ml	
溶出率(%)	49	23	6	3	81

アミトロール 0.5 μ g を 0.05mol/L リン酸緩衝液(pH 6.0)6ml に溶解して多孔性ケイソウ土カラムに負荷

10.7.2. 強酸性陽イオン交換樹脂からの溶出状況

アミトロール 0.5 μ g をエタノールに溶解し、強酸性陽イオン交換樹脂 1ml を充てんしたカラムに負荷し、精製水 10ml でカラムを洗浄後、2.8%アンモニア水で溶出することで精製を行う。ただし、海水については混入している塩の影響で回収率が低下するのでこの操作は行わない。

10.7.3. アミトロール検出試料の確認方法

アミトロールについては、下記の GC/MS 法又は HPLC/MS 法(河川水)又は HPLC/FL 法(海水)で分析が可能である。

10.7.3.1. GC/MS 法フローチャート及び GC/MS 操作条件

10.7.3.1.1. 分析法フローチャート

秤取

- | 試料 100ml
- | 減圧濃縮，乾固

多孔性ケイソウ土 CC

- | 保持容量 20ml の多孔性ケイソウ土カラム(例：ケムエルト CE1020)
- | 0.2mol/L リン酸緩衝液(pH 6.0) 6ml に溶解，負荷
- | 酢酸エチル 250ml で溶出
- | 減圧濃縮，窒素乾固
- | エタノール 20ml に溶解

強酸性陽イオン交換 CC

- | 強酸性陽イオン交換樹脂²，H⁺型，200-400mesh，1ml

| (例：ムロマック 50W×8)
| 抽出液の 10ml を負荷
| 水 10ml で洗浄，2.8%アンモニア水 12ml で溶出
減圧濃縮，乾固

TMS 化

| アセトニトリル 200μl，1% TMCS/BSTFA 50μl
30 分放置

GC/MS 定量

1μl 注入

10.7.3.1.2. 測定機器操作条件

機種(検出器)：GC/MS(SIM モード)

カラム：トリフルオロプロピルメチルポリシロキサン化学結合型キャピラリーカラム

(例：Rtx-200，0.25mm×30m，膜厚 0.25μm)

温度：カラム 80 (2min) 20 /min 280 (5min)

注入口 280，インターフェース 280，イオン源 190

イオン化電圧：70eV

イオン化法：EI

注入方法：スプリットレス法(パージ開始時間 注入後 1min)

設定質量数：m/Z 228，213

10.7.3.2. HPLC/MS 法フローチャート及び HPLC/MS 操作条件

10.7.3.2.1. 分析法フローチャート

秤 取

| 河川水試料 500ml
| 1ml まで減圧濃縮
0.2mol/L リン酸緩衝液(pH 6.0) 6ml に溶解

多孔性ケイソウ土 C C

| 保持容量 20ml の多孔性ケイソウ土カラム(例：ケムエルト CE1020)
| 溶液負荷
| 酢酸エチル - アセトン(9:1)250ml で溶出
| 2ml まで減圧濃縮
水 10ml 加え酢酸エチル臭がなくなるまで濃縮

強酸性陽イオン交換 C C

| 強酸性陽イオン交換樹脂，H⁺型，200-400mesh，1ml
| (例：ムロマック 50W×8)
| 濃縮液負荷，水 15ml で洗い込み
| 水 10ml で洗浄，20%アンモニア水 16ml で溶出
| 1ml まで減圧濃縮

- | 水 1ml を加え再度 1ml まで減圧濃縮
 - | メタノール 10ml を加え 1ml まで減圧濃縮
 - | メタノール 10ml を加え 1ml まで減圧濃縮
- メタノールで 2ml 定容

LC/MS 定量

10 μ l 注入

10.7.3.2.2. 測定機器操作条件

機種(検出器) : HPLC/MS

カラム : アクリルアミド基化学結合型シリカゲル充填カラム

(例 : TSKgel Amide-80 , 4.6mm \times 15cm)

カラム槽温度 : 40

溶離液 : メタノール - 0.2%酢酸 (85:15)

流量 : 0.8mL/min

イオン化方法 : API-ES(Positive)

選択イオン : 85.1m/z(1000m 秒)

フラグメンター電圧 : 70V

ドラインガス : 10L/min(350)

ネプライザーガス : 35psi

キャピラリー電圧 : 3500V

10.7.3.3. HPLC/FL 法フローチャート及び HPLC 操作条件

10.7.3.3.1. 分析法フローチャート

秤取

- | 海水試料 100ml
 - | 10ml まで減圧濃縮
 - | 0.2mol/L リン酸二水素ナトリウム溶液で pH 6 に調整
- 水で 25ml に定容

多孔性ケイソウ土 C C

- | 保持容量 20ml の多孔性ケイソウ土カラム(例 : ケムエルート CE1020)
 - | 濃縮液の 5ml を負荷(海水 20ml 相当)
 - | 酢酸エチル - アセトン(9:1)250ml で溶出
- 減圧濃縮 , 乾固

蛍光誘導化

- | 0.2mol/L 酢酸緩衝液 1ml
 - | 0.5%フルオレスカミン・アセトン溶液 200 μ l
 - | 1 時間放置
- 0.1mol/L ホウ酸ナトリウム溶液 1ml

HPLC/FL 定量

40 μ l 注入

10.7.3.3.2. 測定機器操作条件

機種(検出器) : HPLC/FL

カラム : シリカ ODS カラム

(例 : YMC ODS AM-312 , 6.0mm \times 15cm)

溶離液 : 0.05mol/L リン酸緩衝液 - アセトニトリル(7:3)

カラム槽温度 : 40

流量 : 0.8mL/min

測定波長 : 励起 380nm , 蛍光 484nm

保持時間 : 約 13.6 分