

# イミノクタジン酢酸塩のポストカラム反応蛍光検出器付き 高速液体クロマトグラフによる分析法の検討

## Study on Analysis Method of Iminoctadine Triacetate by Post Column HPLC with Fluorescence Detector

高尾仁士                      石川英樹                      鈴木佳代子  
Hitoshi TAKAO              Hideki ISHIKAWA              Kayoko SUZUKI

ゴルフ場農薬のイミノクタジン酢酸塩の分析は、誘導体化 GC/MS 法で測定を行っているので、誘導体化に時間がかかるため処理にかなりの時間を要している。そこで操作の簡便さと分析時間の短縮化を図るため既存の分析装置を組み合わせ、ポストカラム法の検討を行った結果、指針値(0.06mg/L:イミノクタジンとして)を十分満たす装置感度を得、分析に利用できることが確認された。液液抽出法においては、蒸留水、環境水ともに回収率が80~100%の範囲内で良好であったが、固相抽出法では、蒸留水で76.5%、環境水では46.6%と低い傾向が見られた。また、抽出濃縮をせず直接試料を導入する方法が、スクリーニングとして有効であることが確認された。

Keyword イミノクタジン酢酸塩, ポストカラム法, ゴルフ場農薬

## I 緒言

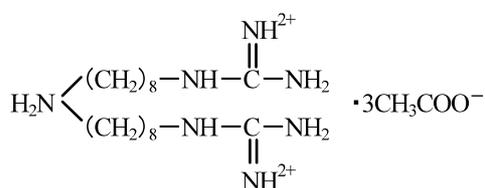


図1 イミノクタジン酢酸塩の構造

ゴルフ場で使用される農薬による水質汚濁防止に係る暫定指針値がある農薬が、平成13年12月に10物質追加され現在45物質となっている。イミノクタジン酢酸塩(図1)もその一つで、当センターでは誘導体化 GC/MS 法を採用しているが誘導体化に時間がかかり、処理にかなりの時間を要している。そこで操作の簡便さと分析時間の短縮を図るため、ポストカラム法の検討を行った。

また、蛍光検出器は高感度であるため、抽出濃縮操作をせず直接試料を導入する方法についても検討を行った。

## II 方法

### (1) 分析方法

#### (1) - i 液-液抽出

環境庁水質保全局長通知「ゴルフ場で使用される農薬による水質汚濁の防止に係る暫定指針値」の改定について、平成13年12月28日環水土第234号<sup>1)</sup>に準じて行う。

#### (1) - ii 固相抽出

用いた固相はスチレンジビニルベンゼン系である PS2 である。アセトニトリル 6 ml, 続いて蒸留水 6 ml でコンディショニングしたものに試料 200 ml (通水速度 10 ml/min) を負荷し、遠心分離 (3000 rpm, 20 分) にて脱水し、0.1N 塩酸メタノール 10 ml で溶出した。これを窒素吹き付けで濃縮した後、移動相で 2 ml に定容し測定に供した。

#### (2) 装置

装置概略を図2に示す。分析装置は分離カラム部及び反応槽部からなり、各々下記の装置を組み合わせる用いた。

##### 分離カラム部

島津製作所製 コントローラー (SCL 10Avp), オートサンプラー (SIL 10ADvp), 送液ポンプ (LC-10ADvp), デガッサー (DGU 14A), カラムオーブ

ン (CTO 10Avp)

反応槽部

島津製作所製 送液ポンプ (LC 10ADvp), デガッサー (DGU 12A)

日立製作所製 カラムオーブン (L 5025columnoven), 蛍光検出器 (F 1150) 送液ポンプ (L 6000 pump)

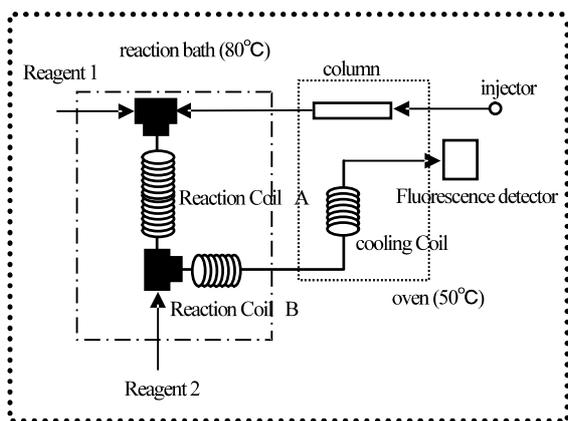


図2 装置概略図

(3) 測定条件

測定条件を表1に示す。

表1 測定条件

Column	Mightysil RP 18 GP (4.6 150mm $\times$ 関東化学製)
Mobile Phase	A : NaClO <sub>4</sub> aq. B : Acetonitrile A : B = 7 : 3
Flow Rate	0.5ml/min
Oven temperature	50
Reagent 1	0.5M NaOH
Flow Rate	0.2ml/min
Reagent 2	3g/L Ninhydrin Solution
Flow Rate	0.1ml/min
Reaction bath temp.	80
Reaction coil A	6 m
Reaction coil B	2.3m
Cooling coil	4 m
Injection volume	50 $\mu$ l
Detection	Ex at 395nm EM at 500nm

III 結果と考察

(1) 分析条件等について

公定法に記載されている方法を参考にして、高感度分析を行えるように、また、既存の分析装置を組み合わせて使用しているため分析装置の改良を行った。主な変更点として、移動相のアセトニトリル濃度を増加させ、誘導体化されたイミノクタジンの溶出時間を早めた。これは、既知の割合で混合した移動相では、溶出時間が10分を超えてしまい、ピーク形状もブロードとなるため変更した。また、反応槽の温度を80に設定し、蛍光検出器の感度を保つため、検出器導入前に冷却カラムを設けた。次に低濃度における誘導体化されたイミノクタジン酢酸塩のクロマトグラム及び0.01~1.0 $\mu$ g/mlの濃度範囲における検量線の結果を図3に示す。検量線は、非常に良い直線関係が得られた。

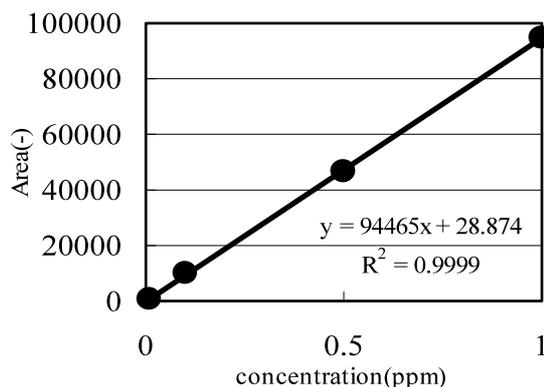
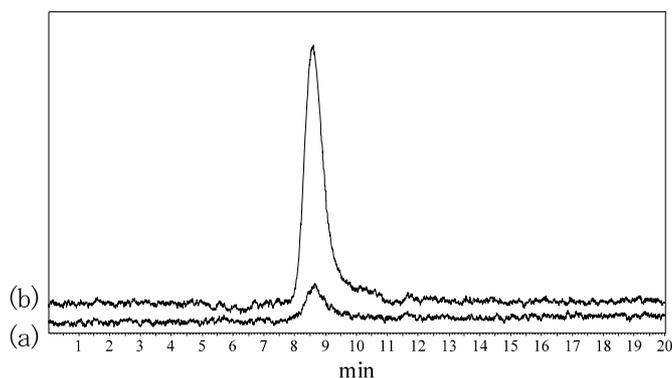


図3 標準溶液のクロマトグラム及び検量線  
a) 0.01 $\mu$ g/ml b) 0.1 $\mu$ g/ml

(2) 検出限界

表2に検量線における最低濃度0.01 $\mu$ g/mlにおける繰り返し試験の結果を示す。その結果、指針値を十分満たす装置感度を得ることが確認された。

表2 検出限界及び定量限界

単位:  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 

イミノクタジン酢酸塩						
1	2	3	4	5	6	7
0.012	0.013	0.011	0.013	0.013	0.010	0.010
平均値			0.012			
標準偏差 $\sigma$			0.0014			
変動係数 CV%			11.8			
検出限界 ( $3 \times \sigma$ )			0.0041 (0.000041)*			
定量限界 ( $10 \times \sigma$ )			0.0138 (0.000138)*			

\* 100倍濃縮を行うので実際の濃度に換算した値

## (3) 添加回収試験

## (3) - i 液液抽出

次に添加回収試験の結果を表3に示す。また、環境水に添加したときのクロマトグラムを図4に示す。試料水200mlに対し、イミノクタジン酢酸塩  $1 \mu\text{g}$  ( $0.005 \mu\text{g}/\text{ml}$ ) を添加し、所定の前処理を行い、2 mlまで濃縮し測定に供した。蒸留水で92.3%、環境水で87.0%が回収され、非常に良好な結果であった。

表3 液 - 液抽出による蒸留水及び環境水における添加回収試験 (n = 3)

	蒸留水	環境水
回収率 (%)	92.3	87.0
標準偏差 $\sigma$	1.64	6.92
変動係数 CV%	1.8	8.0

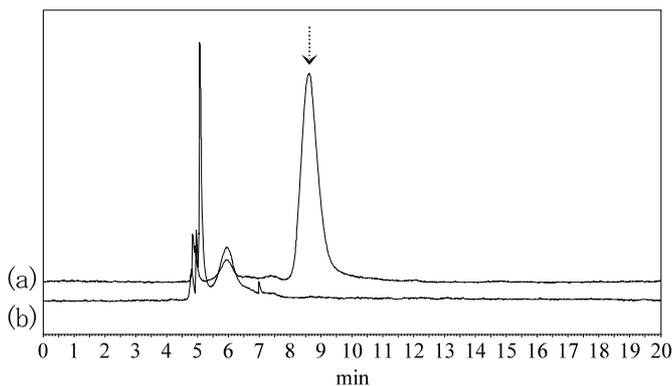


図4 液 - 液抽出を用いた環境水での添加回収試験をしたときのクロマトグラム

a) 環境水に  $0.005 \mu\text{g}/\text{ml}$  となるように添加した試料  
b) 環境水ブランク試料

## (3) - 2 固相抽出

固相抽出を用いた添加回収試験の結果を表4に示

す。また、環境水に添加したときのクロマトグラムを図5に示す。蒸留水で76.5%、環境水で46.6%の回収率であった。環境水においては、6分付近の巨大なピークのテーリング上にピークが出現した。このピークは後述する直接導入法のクロマトグラムにも見られるが、濃縮操作をしていないため誘導体化されたイミノクタジン酢酸塩のピークに影響を与えない。しかし、固相抽出法では100倍濃縮しているため、上述のようなピーク形状となった。今後の課題として、クリーンアップ方法や各種の固相を比較検討して最適な固相抽出条件を見つける必要がある。

表4 PS2による蒸留水及び環境水における添加回収試験 (n = 3)

	蒸留水	環境水
回収率 (%)	76.5	46.6
標準偏差 $\sigma$	2.66	9.5
変動係数 CV%	3.5	20.4

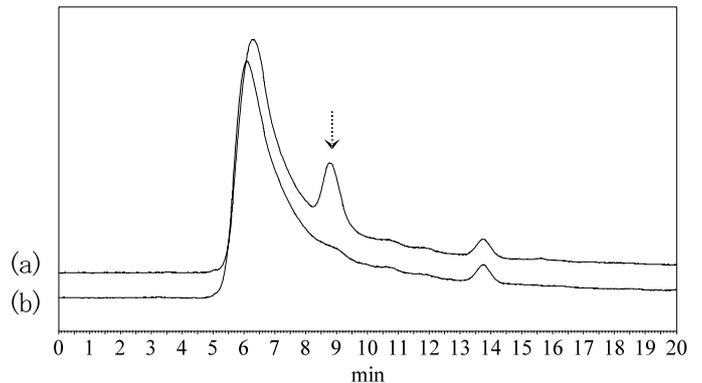


図5 固相抽出を用いた環境水での添加回収試験をしたときのクロマトグラム

a) 環境水に  $0.005 \mu\text{g}/\text{ml}$  となるように添加した試料  
b) 環境水ブランク試料

## (4) 直接導入法について

図6に環境水に  $0.1 \mu\text{g}/\text{ml}$  となるように添加し、濃縮操作をせずにそのまま測定したときのクロマトグラムを示す。添加直後でも約50%のピーク強度しか示さず、また添加後2時間30分後に測定を行うとさらに約30%ピーク強度が減少していた。蒸留水を用いたときも同様である。これは、イミノクタジン酢酸塩がガラスに吸着しやすい性質<sup>4)</sup>を示しており、また、水100%の状態では移動相、および反応条件との相性によりピーク強度が減少した

と考えられる。これを補うために測定試料を移動相と同じ状態にし、測定を行った。測定用試料を過塩素酸ナトリウム溶液(過塩素酸ナトリウム7.05g, 水酸化ナトリウム200mg, 乳酸0.9mlを加え蒸留水で100mlにメスアップ)とアセトニトリルを4:6の割合で混合したもので2倍希釈したものを測定に供した。その結果(図7), 約80%の回収率が得られ、スクリーニング検査としては有効であると確認された。

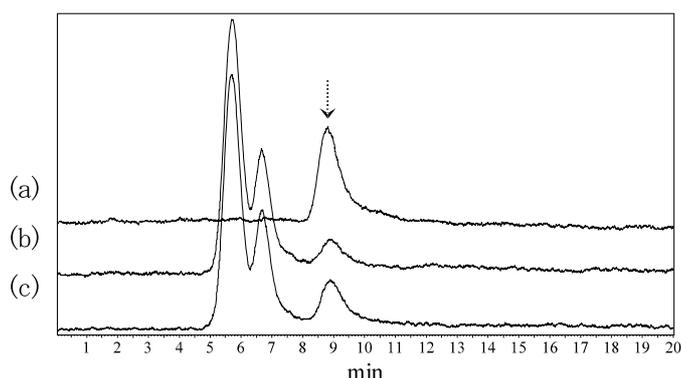


図6 直接導入法におけるクロマトグラム

- a) 標準0.1µg/ml
- b) 環境水に0.1µg/mlとなるように添加(2.5時間後)
- c) 環境水に0.1µg/mlとなるように添加(直後)

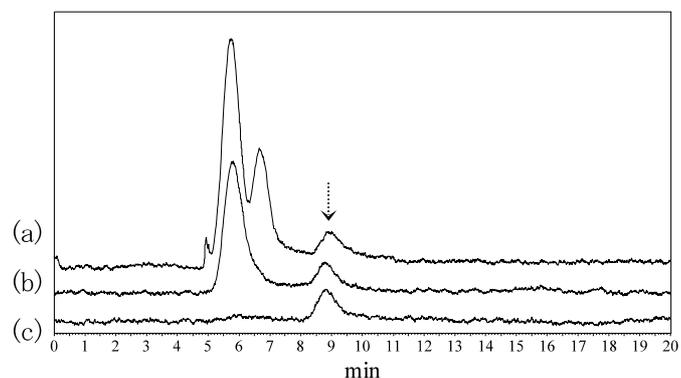


図7 直接導入法(改良版)におけるクロマトグラム

- a) 環境水に0.06µg/mlになるように添加
- b) a)を所定溶液で2倍希釈したもの(0.03µg/ml相当)
- c) 標準0.03µg/ml

## IV 結 言

1. ポンプ及び化学反応槽を組み合わせることにより高感度なポストカラム法を行えることが確認され、分析操作の簡便さが図られる。
2. 抽出濃縮を行わず直接導入する方法については、ス

クリーニングとしては有効である。

3. 固相抽出についても検討を行ったが、回収率が低く、環境水では固相抽出条件をさらに検討する必要がある。
4. イミノクタジン酢酸塩はガラスに吸着する性質を有することから、サンプリング・分析操作には十分注意する必要がある。

## V 参考文献

- 1) 環境庁水質保全局長通知:「ゴルフ場で使用される農薬による水質汚濁の防止に係る暫定指導指針値」の改定について,平成13年12月28日 環水土第234号
- 2) 上路雅子,小林裕子,中村幸二:2002年版残留農薬分析法,309-312,ソフトサイエンス社(2001)
- 3) 農薬登録保留基準ハンドブック,改訂3版,107-111,化学工業日報社(1998)
- 4) 伊吹幸代,梅林清志,兔本文昭,青木喜也:イミノクタジンの固相抽出による分析の検討,奈良県保健環境研究センター年報,37,85-89(2002)
- 5) 肥塚加奈江,劔持堅志:メソミル オキサミル分析法,平成3年度化学物質分析法開発調査報告書,55-68,環境庁環境保健部保健調査室(1991)
- 6) J. Nagata:ゴルフ場農薬の分析への応用(その4)ポストカラム誘導体化によるイミノクタジン酢酸塩の分析,島津アプリケーションニュース,L283(2002)
- 7) T. Goda:水質管理目標設定項目検査方法に準拠したイミノクタジン酢酸塩の分析,島津アプリケーションニュース,L312(2004)
- 8) 厚生労働省健康局水道課長通知:「水質基準に関する省令の制定及び水道法施行規則の一部改正等並びに水道水質管理における留意事項について」,平成15年10月10日健水発第1010001号