

環境中超微量有害化学物質の分析，検索技術の開発に関する研究

—フェンバレレート及びエスフェンバレレートの水質分析法の検討—

吉岡敏行，劔持堅志，藤原博一，中桐基晴，浦山豊弘（水質第二科）

【調査研究】

環境中超微量有害化学物質の分析，検索技術の開発に関する研究

—フェンバレレート及びエスフェンバレレートの水質分析法の検討—

Determination of Fenvalerate and Esfenvalerate in Water by GC/MS

吉岡敏行， 劔持堅志， 藤原博一， 中桐基晴， 浦山豊弘（水質第二科）

Toshiyuki Yoshioka, Katashi Kenmotsu, Hiroichi Fujiwara, Motoharu Nakagiri, Toyohiro Urayama

要 旨

フェンバレレート及びエスフェンバレレートの水質分析法を検討した。分析方法は，水質試料をヘキサンで抽出後，フロリジルカートリッジカラムで精製し，四重極GC/MS-SIMで測定する方法とした。この物質はアルカリ性で不安定であるが，試料採取時にアスコルビン酸を添加し，酸性にすることにより比較的長期間の保存が可能であった。環境試料を分析したところ，いずれからも検出されなかった。

[キーワード：フェンバレレート， エスフェンバレレート， 光学異性体， GC/MS， 試料の保存性]

[Key words : Fenvalerete, Esfenvalerete, Optical isomer, GC/MS, Preservation of sample]

1 はじめに

フェンバレレート及びエスフェンバレレートは合成ピレスロイド系殺虫剤であり，魚毒性がC類，毒物及び劇物取締法により劇物に指定され，食品衛生法では0.01～8ppmの農産物残留基準が設定されている。フェンバレレートの構造式を図1に示すが，不斉炭素が2個あるこ

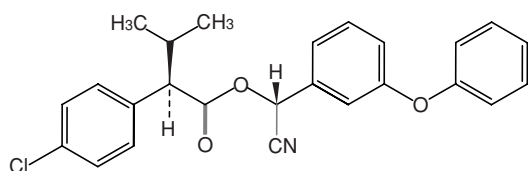


図1 対象物質の構造式

とから4つの光学異性体（S,R, R,S, S,S, R,R）が存在し，エスフェンバレレートはそのうちのひとつの光学異性体（S,S）であり，フェンバレレートの有効成分とされている。物性を表1に示すが，LogPowが6.2と高く，水

溶解度が0.3mg/Lと低い特徴を持つ。

既存の水質分析法としては，「外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル（水質，底質，水生生物）」¹⁾があるが，農薬の多成分分析法として開発されており，光学異性体を有する本物質の挙動の詳細は報告されていない。今回，平成18年度化学物質分析法開発調査（環境省委託）において本物質の分析法を開発するにあたり，検出感度の高感度化を図るとともに，分析法における光学異性体の挙動，試料の保存性等について検討したので報告する。

2 実験方法

2.1 試薬及び器具

フェンバレレート：CALBIOCHEM（25mg，95%）

エスフェンバレレート：AccuStandard（10mg）

エスフェンバレレート-d7：林純薬工業（20mg，97.1%）

表1 対象物質の物性

物 質	分子量	融点(℃)	沸点(℃)	蒸気圧(hPa)	水溶解度(mg/L)	LogPow
フェンバレレート	419.9	37～54	—	—	不溶	6.2
エスフェンバレレート	419.9	59～61.5	151～167	0.0000005 (25℃)	0.3	—

化学物質安全情報提供システム(kis-net)

ベンゾ(e)ピレン-d12：Cambridge Isotope Laboratories, Inc.
(10mg, 98%)

ヘキサン, ジエチルエーテル：残留農薬・PCB 試験用
(5,000倍濃縮)

アスコルビン酸：試薬特級

無水硫酸ナトリウム, 塩化ナトリウム：残留農薬・
PCB 試験用

LC-Florisil (1g/6mL)：SUPELCO (ガラス製)

分液ロート (2L), ガラスビン (1L), ナス型フラスコ
(200mL), トールピーカー (200mL), スピッツ型試
験管 (10mL)

2.2 装置及び条件

2.3.1 GC/MS：GC；Agilent6890, MS；

JMS-Automass sun

カラム DB-5MS
30m × 0.25 mm × 0.25 μm (J&W)
カラム温度 50℃ (2min) - 20℃/min - 120℃ (0min)
- 7℃/min - 310 (5min)

注入方法 スプリットレス (パージ開始時間
1.5min)

注入口温度 270℃

注入量 1 μL

キャリアーガス ヘリウム (1mL/min)

インターフェース温度 240℃

イオン源温度 210℃

イオン化電圧 70eV

検出モード SIM

モニターイオン 定量用 確認用

fenvalerate, esfenvalerate 167 125

esfenvalerate-d7 174 132

Benzo(e)pyrene-d12 264

2.3.2 HPLC：島津LC10AD

カラム SUMICHIRAL OA 2000
4.6 mm I.D. × 250 mm (住化分析センター)

移動相 n-ヘキサン：1,2-ジクロロエタン：エタ
ノール = 500：30：0.15

流速 1mL/min

カラム温度 40℃

注入量 15 μL

検出 UV230nm

2.3 分析方法

既存の分析方法と今回検討した分析方法を図2に示す。
対象物質がアルカリ性で不安定であることから、あらか
じめアスコルビン酸1gを添加した1Lガラスビンに水質
試料を採取する必要がある。



図2 分析フロー

試料全量を2L分液ロートに移し、ガラスビンに抽出用
のn-ヘキサン100mLを添加し、ガラス内の壁面を洗い
こむようにして2L分液ロートに移した。NaCl50gとサロ
ゲート10ngを添加し、10分間振とうした。十分静置し
た後、水層は1Lガラスビンに受け、ヘキサン溶液を
200mL トールピーカーに移した。この操作を、n-ヘキサ
ン50mLで再度繰り返し、ヘキサン溶液をあわせた。ヘ
キサン溶液は、無水硫酸ナトリウムで脱水し、ナス型フ
ラスコへ移し、ロータリーエバポレーターで約1mL程度
まで濃縮した。あらかじめヘキサン10mLでコンディシ
ョニングしたフロリジルカートリッジカラムに抽出液を
負荷し、3%エーテル/ヘキサン10mLで洗浄した。次
に、10%エーテル/ヘキサン10mLを負荷し、溶出液を
10mL 試験管に受けた。窒素ガスで溶出液を1mLまで濃
縮し、内部標準 (ベンゾ(e)ピレン-d12) 20ngを添加し、
GC/MS-SIMで測定した。

3 結果及び考察

3.1 各異性体のGC/MSでのリテンションタイムの 確認

フェンバレレート及びエスフェンバレレートのGC/MS
マスクロマトグラムを図3に示す。フェンバレレートに
は4つの光学異性体が存在するが、ピークは2つしか検

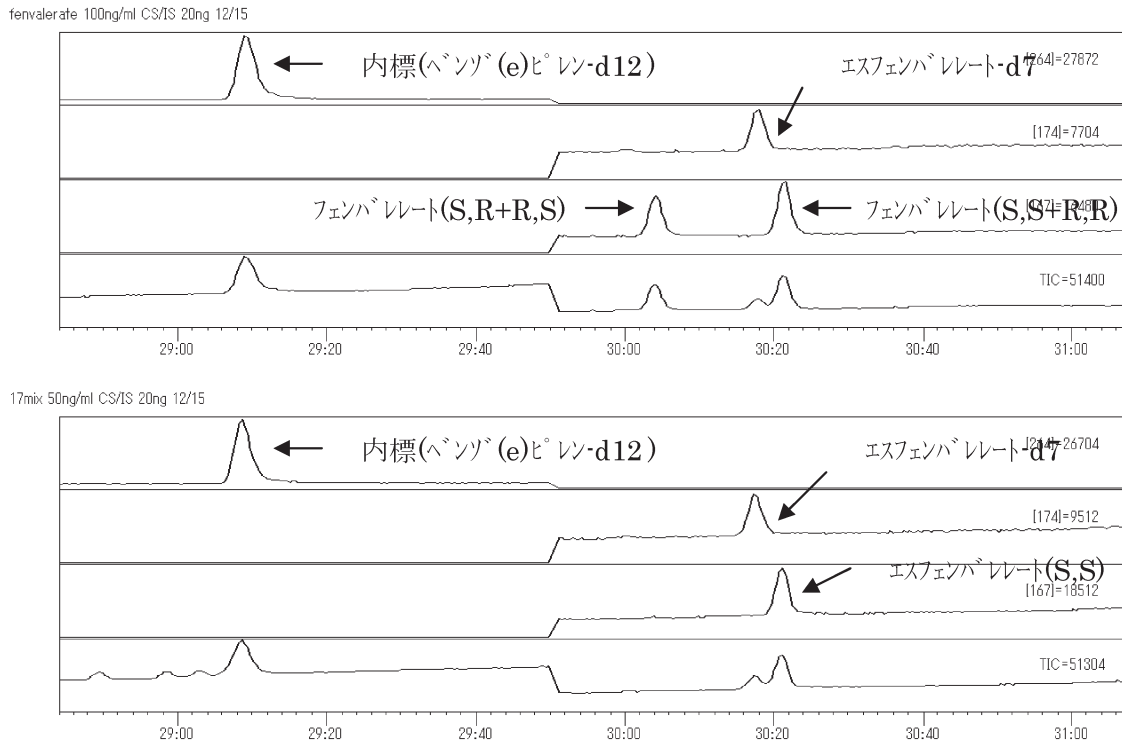


図3 フェンバレレート標準品及びエスフェンバレレート標準品のマスクロマトグラム (GC/MS)

出されなかった。光学異性体には鏡像異性体とジアステレオ異性体があり、鏡像異性体同士は、沸点・融点などの物理的性質がほとんど同じであるため²⁾、一般的なGCカラムでの分離は大変困難である。しかし、HPLCでは光学異性体を分離する専用カラム³⁾があることから、フェンバレレートの各異性体を分離・分取し、各溶出画分をGC/MSで測定し、各異性体のリテンションタイムを確認することとした。図4にHPLCでの光学異性体の分離状況を示す。HPLCで分離した各ピークをフラクシオンコレクターで分取し、各画分をGC/MSで測定し、各異性体のリテンションタイムを確認したマスクロマトグラムを図5に示す。最初のピークがS,RとR,S、2番目のピークがS,SとR,Rであることが判明し、GCキャピラリーカラムではジアステレオ異性体同士は分離し、鏡像異性体同士は分離しないことが確認できた。

3.2 分解性スクリーニング試験

125mLバイアルビンにpH調整した精製水100mLを加え、初期濃度が1ng/mLとなるようにエスフェンバレレート標準溶液を添加し、分解性スクリーニング試験を実施した。各バイアルビンは、1時間後、5日後(暗所保管)、5日後(明所保管)に全量分析を行った。分解性スクリーニング試験結果を表2に示す。pH9では添加1時

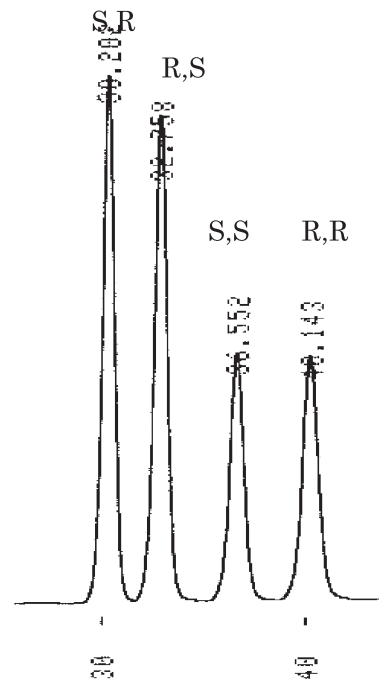


図4 フェンバレレート標準品のクロマトグラム (HPLC)

間後に残存率が55%となったが、5日後まで変化しなかった。pH5(暗所)では5日後に残存率91%と安定であった。図6に分解性試験(1時間後)のクロマトグラムを示すが、エスフェンバレレート(S,S異性体)がS,R又はR,S異性体に変化したため残存率が減少したことが判

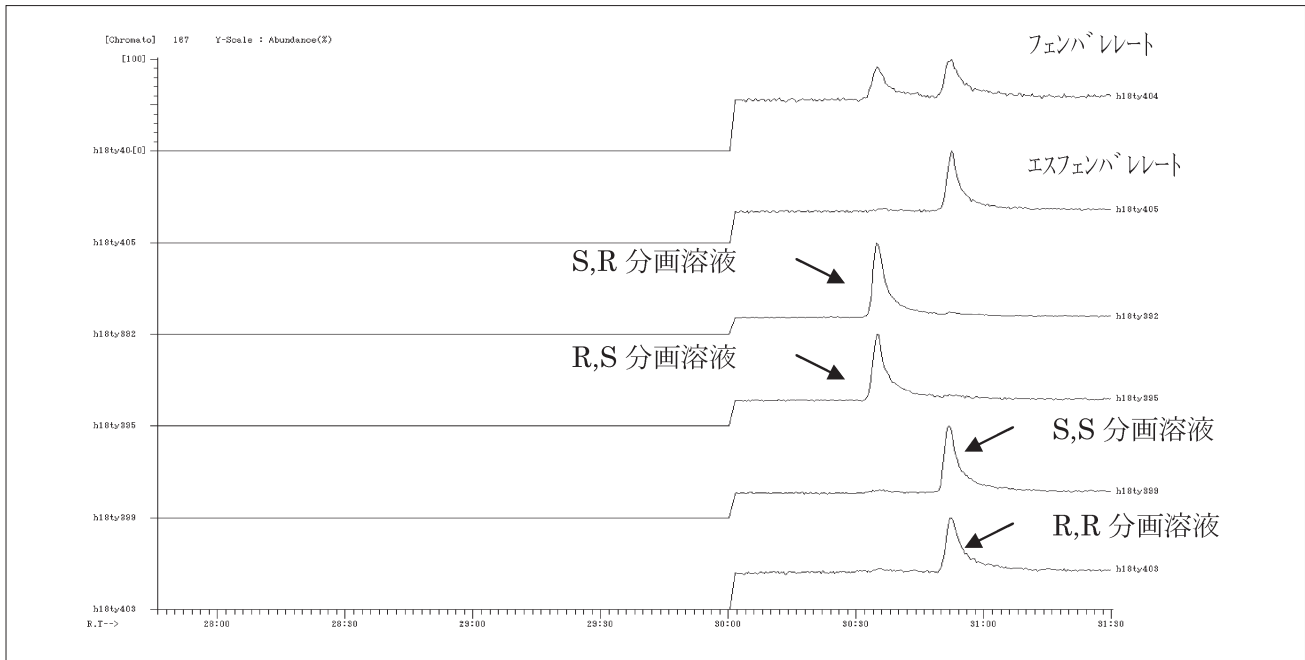


図5 各異性体のGC/MSでのリテンションタイム

表2 分解性スクリーニング試験結果

pH	初期濃度 (ng/mL)	1時間放置後の 残存率(%)	5日間放置後の残存率	
			暗所(%)	明所(%)
5	1.0	98	91	-
7	1.0	95	88	42
9	1.0	55	53	-

明した。S,S異性体がどの異性体に変化したか確認するために、pH9での1時間後の抽出液をHPLCで光学異性体の分離を行った結果を図7に示す。HPLCのリテンションタイムよりS,R異性体が生成されたことが判明した。

3.3 試料の保存性試験

分解性スクリーニング試験でエスフェンバレートが酸性(pH5)下では91%と安定であったことから、酸性で抗酸化作用が期待できるアスコルビン酸を試料採取時に添加することを検討した。保存性試験は、海水にエスフェンバレート50ng/Lまたはフェンバレート100ng/Lを添加し、海水100mLあたりアスコルビン酸0.1gを添加する試験溶液と添加しない試験溶液を作成し、冷暗所に保存し、3日後、7日後、12日後、30日後に濃度を測定した。エスフェンバレートの保存性試験結果を図8と図9に示す。エスフェンバレートはアスコルビン酸無添加の場合、3日後には40%程度がS,R異性体

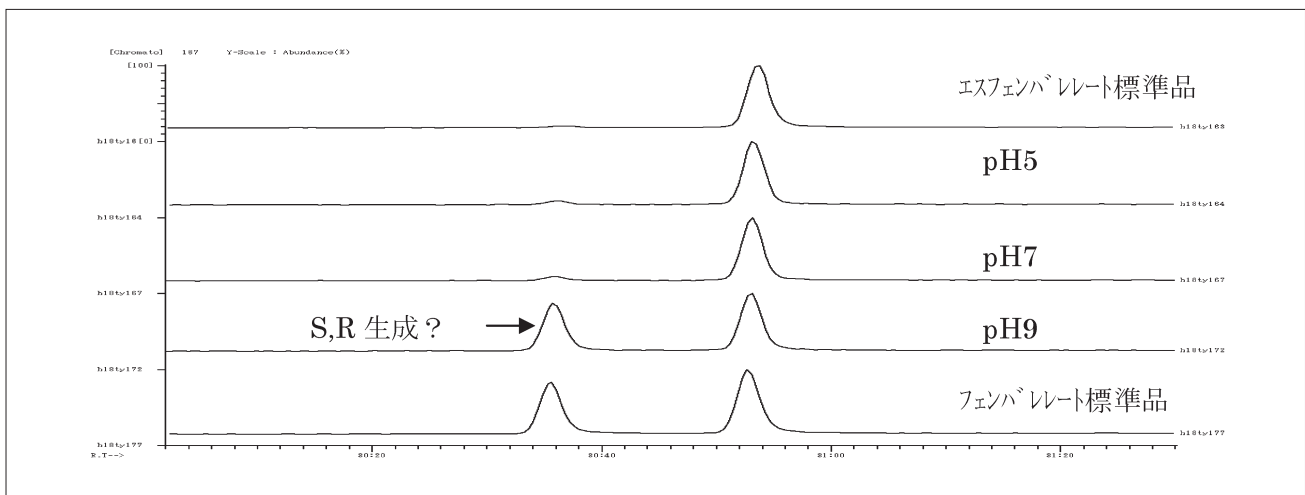


図6 分解性試験(1時間後)のクロマトグラム

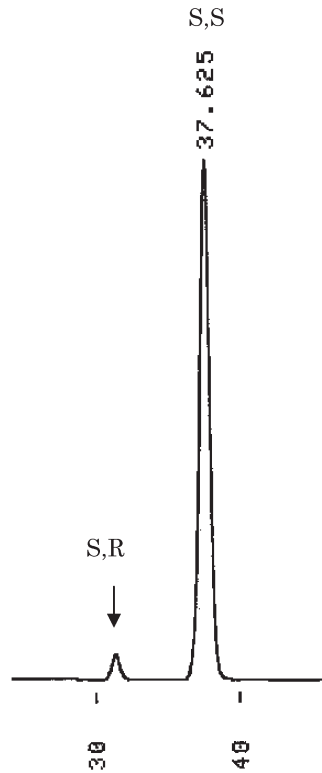


図7 1時間後(pH9)の抽出液のクロマトグラム(HPLC)

に変化し、30日後には総濃度として60%程度まで減少した。一方、アスコルビン酸を添加した場合、エスフェンバレレートがS,R異性体へ構造変化することはほとんどなく、30日後にも80%以上存在した。フェンバレレートの保存性試験結果を図10と図11に示す。フェンバレレートもアスコルビン酸無添加の場合、30日後には総濃度として50%程度まで減少したが、アスコルビン酸を添加した場合、30日後にも80%以上存在した。

3.4 抽出溶媒の検討

抽出溶媒について、ヘキサンとジクロロメタンを比較した結果を図12に示す。精製水1Lにエスフェンバレレートとエスフェンバレレート-d7をそれぞれ2ng添加し、ヘキサン又はジクロロメタンで2回抽出を行い、それぞれの絶対回収率を比較したところ、ほとんど同じであったが、妨害物質の抽出が少ないヘキサンを選択した。

3.5 クリーンアップの検討

一部の河川水では図13に示すとおり、エスフェンバレレートのリテンションタイムの近くに妨害ピークが認められたので、フロリジルカートリッジカラム(1g)でのクリーンアップを検討した。図14に示すとおり、妨害物質は3%エーテル/ヘキサンまでに溶出し、エスフェンバレレートは10%エーテル/ヘキサンで溶出した。した

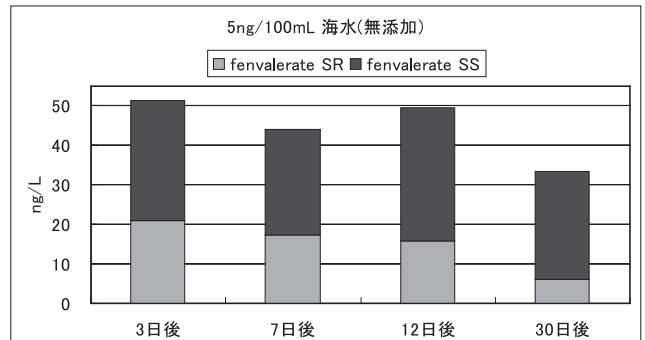


図8 エスフェンバレレート保存性試験 (アスコルビン酸無添加) 結果

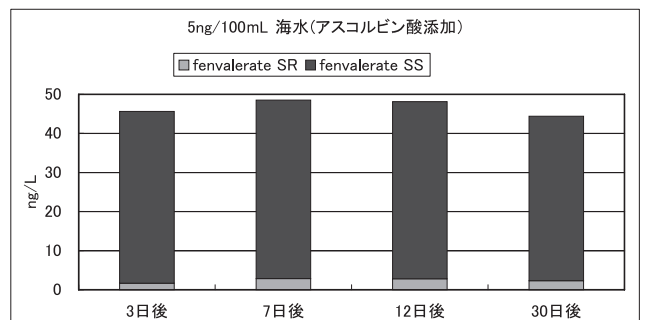


図9 エスフェンバレレート保存性試験 (アスコルビン酸添加) 結果

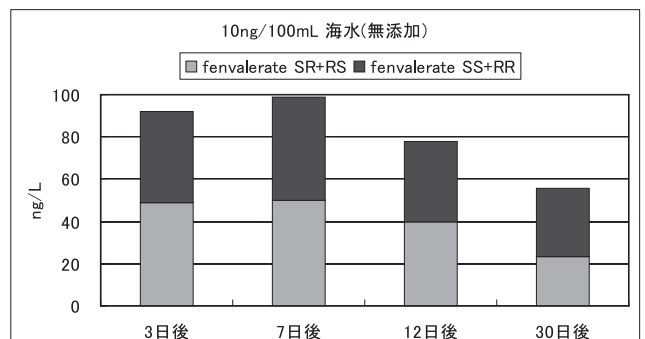


図10 フェンバレレート保存性試験 (アスコルビン酸無添加) 結果

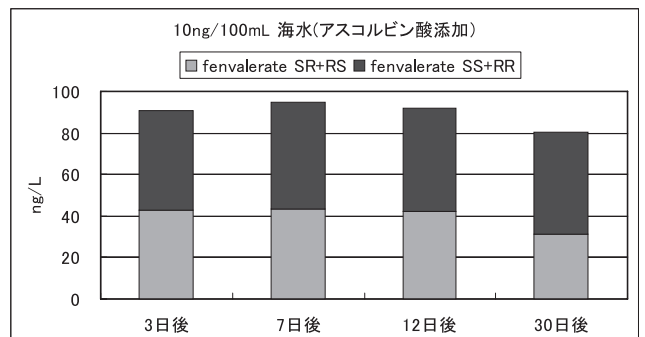


図11 フェンバレレート保存性試験 (アスコルビン酸添加) 結果

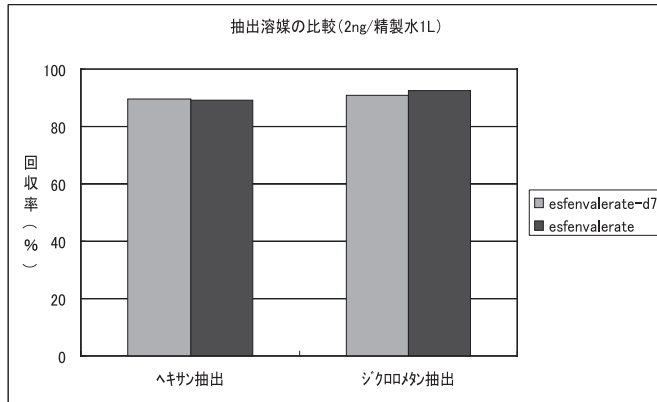


図12 抽出溶媒の検討結果

がって、3%エーテル/ヘキサン10mLで洗浄し、次に10%エーテル/ヘキサン10mLで溶出することとした。

3.6 添加回収試験

精製水、河川水（旭川乙井手堰）、海水（児島湾宮浦岸壁）への標準物質の添加回収試験結果を表3に示す。図15と図16に河川水及び海水のクロマトグラムを示す。河川水及び海

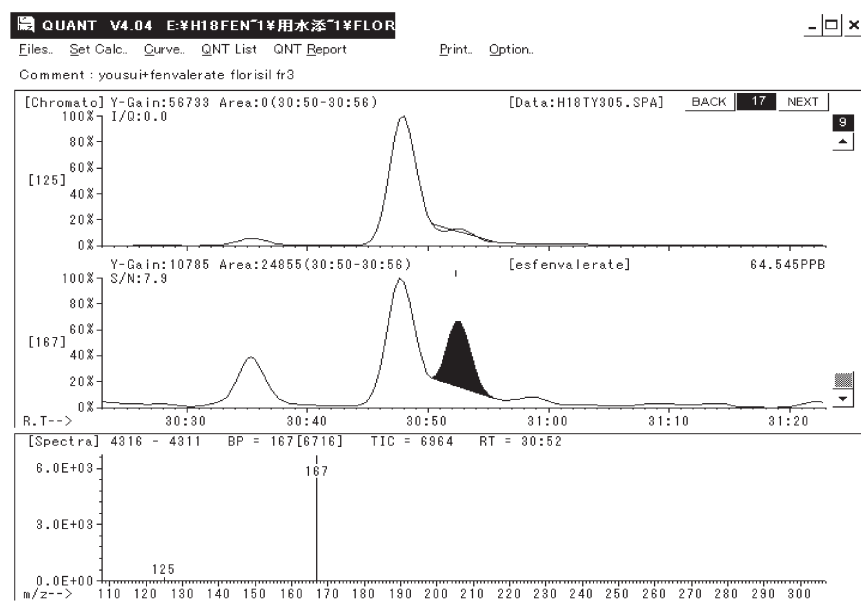


図13 河川水への標準物質添加時のマスクロマトグラム

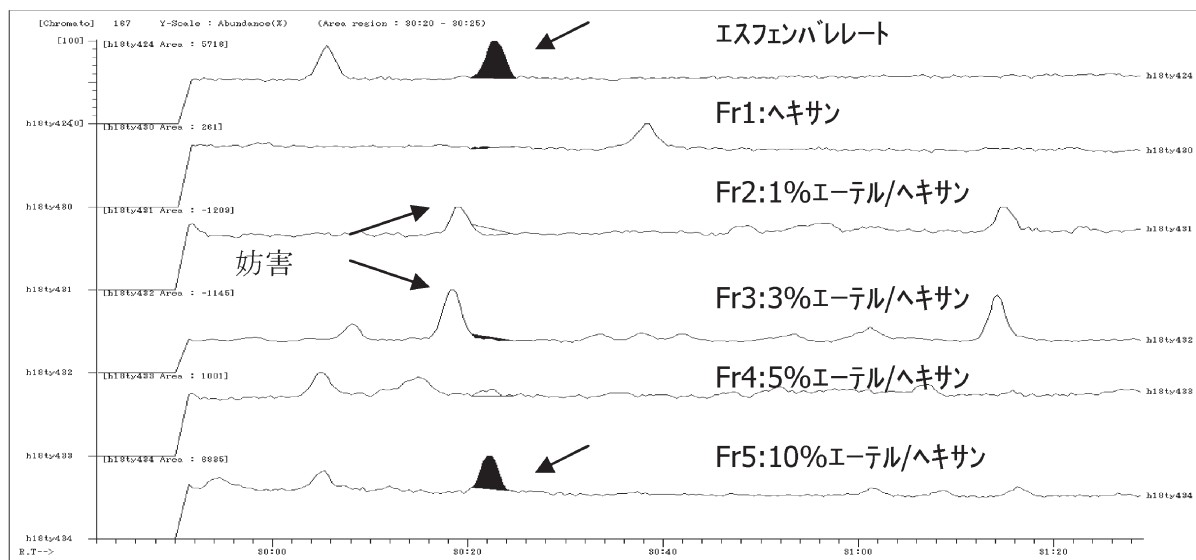


図14 フロリジルカートリッジカラムでの妨害ピークの分離状況

表3 添加回収試験結果

esfenvalerate (1L/0.1mL)									
試料名	試料量 (L)	添加量 (ng)	測定回数	検出濃度 (ng/L)	相対回収率 (%)	相対変動係数 (%)	絶対回収率 (%)	絶対変動係数 (%)	
精製水	1	0.3	8	0.31	103	3.2	107	10	
河川水	1	0.9	5	0.92	102	1.4	114	9.0	
海水	1	0.9	5	0.90	100	5.2	128	17	
fenvalerate (1L/1mL)									
試料名	試料量 (L)	添加量 (ng)	測定回数	検出濃度 (ng/L)	相対回収率 (%)	相対変動係数 (%)	絶対回収率 (%)	絶対変動係数 (%)	
精製水	1	SR+RS 2.3	8	2.4	105	2.3	104	6.5	
		SS+RR 2.7		2.8					103
河川水	1	SR+RS 8.6	5	8.2	95	4.4	70	12	
		SS+RR 11.4		12.0					105
海水	1	SR+RS 8.6	5	8.5	99	7.7	89	12	
		SS+RR 11.4		11.6					102

水からは検出されず、添加時のクロマトグラムに妨害ピークは認められなかった。

3.7 検出限界及び定量限界

装置検出下限 (IDL), 測定方法の検出下限 (MDL) 及び定量下限 (MQL) は、「化学物質環境汚染実態調査の

手引き (平成17年度版)」⁴⁾ に従って算出し、その結果を表4と表5に示した。フェンバレレートから求めたIDLは、S,RとR,S異性体の混合物が0.50ng/L, S,SとR,R異性体の混合物が0.28ng/Lであり、エスフェンバレレート (S,S異性体) から求めたIDLは、0.45ng/Lであった。フェンバレレートから求めた定量下限値は、S,RとR,S異性体の混合物が0.55ng/L, S,SとR,R異性体の混合物が1.7ng/Lであり、エスフェンバレレート (S,S異性体) から求めた定量限界値は、1.1ng/Lであった。

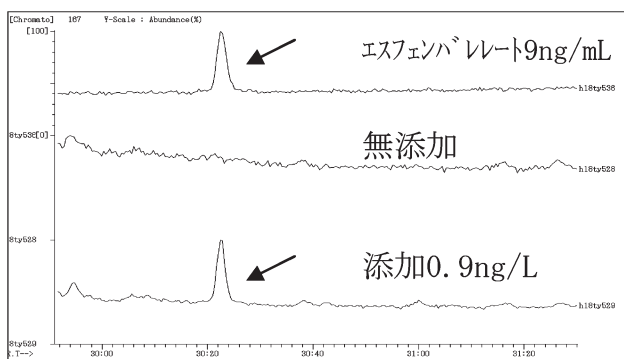


図15 河川水のクロマトグラム

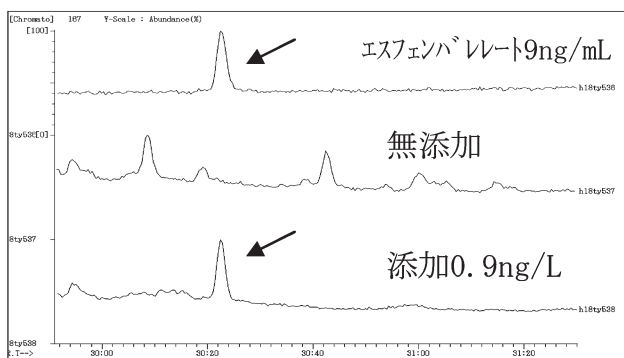


図16 海水のクロマトグラム

表4 装置検出下限値 (IDL)

物質	IDL (ng)	試料量 (L)	最終液量 (mL)	IDL試料換算値 (ng/L)
fenvalerate (S,R+R,S)	0.50	1	1	0.50
fenvalerate (S,S+R,R)	0.28	1	1	0.28
esfenvalerate	0.45	1	1	0.45

表5 分析方法の検出下限値 (MDL) 及び定量下限値 (MQL)

物質	試料量 (L)	最終液量 (mL)	検出下限値 (ng/L)	定量下限値 (ng/L)
fenvalerate (S,R+R,S)	1	1	0.21	0.55
fenvalerate (S,S+R,R)	1	1	0.66	1.7
esfenvalerate	1	1	0.40	1.1

表6 平成18年度環境ホルモン等実態調査結果

地点番号	測定地点	水域名	フェンバレレート (S,R+R,S) (ng/L)	エスフェンバレレート (ng/L)
1	布原橋	西川	<0.55	<1.1
2	中井橋	高梁川中流	<0.55	<1.1
3	神崎橋	成羽川	<0.55	<1.1
4	下倉橋	高梁川下流	<0.55	<1.1
5	三谷橋	小田川	<0.55	<1.1
6	落合橋	旭川上流	<0.55	<1.1
7	八幡堰	旭川中流	<0.55	<1.1
8	乙井手堰	旭川下流	<0.55	<1.1
9	嵯峨堰	吉井川上流	<0.55	<1.1
10	周匝大橋	吉井川中流	<0.55	<1.1
11	熊山橋	吉井川下流	<0.55	<1.1
12	鷺湯橋	吉野川	<0.55	<1.1
13	栄橋	美山川	<0.55	<1.1
14	今保通学橋	笹ヶ瀬川	<0.55	<1.1
15	相生橋	笹ヶ瀬川	<0.55	<1.1
16	笹ヶ瀬橋	笹ヶ瀬川	<0.55	<1.1
17	引舟橋	足守川	<0.55	<1.1
18	倉敷川橋	倉敷川	<0.55	<1.1
19	湖心	児島湖	<0.55	<1.1
20	玉島港沖合	水島地先海域	<0.55	<1.1
21	波張崎南	児島湾	<0.55	<1.1
22	大多府島東南沖	播磨灘北西部	<0.55	<1.1

3.8 環境水質の分析結果

平成18年度環境ホルモン等実態調査において採取した岡山県内22地点の水質試料を今回検討した分析法で測定したが、表6のとおり、いずれからも検出されなかった。

4 まとめ

フェンバレレート及びエスフェンバレレートの水質分析方法を検討し、以下に示す結果を得た。

- 1) フェンバレレートはアルカリ性でS,S異性体がS,R異性体へ短時間で構造変化するが、アスコルビン酸による酸性下では異性体の構造変化もほとんどなく安定であった。
- 2) アスコルビン酸の添加により、冷蔵庫中で1ヶ月程度、試料の保存が可能であった。
- 3) 一部の河川水には、エスフェンバレレートのピークの直近にm/z167の妨害ピークが見られたが、フロリジルカートリッジカラムで分離することができた。
- 4) ヘキサン抽出後、フロリジルカラムでクリーンアップし、GC/MS-SIMにより分析することにより、

1ng/Lレベルで分析可能な高感度分析法を確立できた。

- 5) 岡山県下の河川水・湖沼水・海水を分析したところ、フェンバレレート及びエスフェンバレレートはいずれの地点からも検出されなかった。

文 献

- 1) 環境庁水質保全局水質管理課：外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル（水質、底質、水生生物）、平成10年10月
- 2) 有機合成化学協会：有機化学ハンドブック、技報堂出版、1973
- 3) 住化分析センター：高性能液体クロマトグラフィーによる光学異性体の分離と分取精製、SCAN NEWS 2000-II, Vol.12, 2000
- 4) 環境省総合環境政策局環境保健部環境安全課：化学物質環境汚染実態調査の手引き（平成17年度版）、平成18年3月