

LC/MS を用いたチウラムの高感度分析法の検討

北九州市環境科学研究所 ○花田 喜文、梶原 葉子、一田 亜希子

LC/MS Study on Sensitive Detection of Tetramethylthiuram Disulfide (Thiuram) in Environmental Water Samples, by Yoshifumi HANADA, Yoko KAJIWARA, Akiko ICHIDA (Kitakyushu Inst. of Env. Sci.)

【はじめに】

テトラメチルチウラムジスルフィド (チウラム) は、シマジンやチオベンカルブとともに水質の環境基準項目に指定されている代表的な環境汚染農薬である。そのため、河川や海域などの公共用水域では頻繁にモニタリングが行われ、国内での年間測定頻度は、3,563 件 (2000 年) に達している¹⁾。

しかしながら、チウラムの環境基準は「人の健康の保護」を目的に設定されているため、基準濃度は $6 \mu\text{g/L}$ と比較的高い。しかも、計測には HPLC-UV が用いられていることから、モニタリングの検出下限値は、 $0.4 - 3 \mu\text{g/L}$ と、現状では ppb 濃度レベルの実態把握しかできず、殆どのモニタリング結果は不検出を羅列するに留まっている。

一方、環境省のリスク評価では、チウラムの生態への予測無影響濃度を $0.003 \mu\text{g/L}$ と評価しており、「検出下限値を見直した上で、環境中濃度の測定を優先的に行う必要がある」物質に分類している²⁾。

演者らは、チウラムの環境モニタリングを人の健康保護のみではなく、生態系への影響についても把握できるようにする目的で、液体クロマトグラフィー／質量分析法 (LC/MS) を用いたチウラムの高感度分析法について検討した。ここでは、検討を行う中で、低濃度領域で生じるいくつかの問題点に関する知見を得たので報告する。

【実験】

装置： 分析に使用した液体クロマトグラフ質量分析計 (LC-MS) は、シングル型 LC-MS として Alliance 2690 型 HPLC 装置付き ZMD 4000 型質量分析計 (Waters) を、タンデム型 LC-MS として Aquity Ultra performance LC 型 HPLC 装置付き Qutro Premier XE 型質量分析計 (Waters) を用いた。タンデム型による LC/MS 測定条件を Table 1 に示す。なお、シングル型による測定は、タンデム型とほぼ同じ測定条件を用いた。

分析操作： 水質試料 1 L にサロゲートとしてチウラム- d_{12} を添加し、1 M 塩酸で pH を 3.5 に調整した後、コンディショニング済みの固相カートリッジ Autoprep PS@Liq HQ (昭和電工) に $10 \sim 20 \text{ mL/min}$ の流速で通水した。通水後、カートリッジを精製水 5 mL で洗浄し、遠心分離で水分を除去した後、アセトニトリル 5 mL で被検成分を溶出した。溶出液を窒素ガスで 0.1 mL に濃縮し、ア

セトニトリル-水 (1 : 1) で全量を 0.2 mL とした後、LC/MS で分析した。

Table 1 Operating conditions for LC/MS

LC conditions	
Column	Shodex ODP2 HP-2B (50 mm, 2.0 mm)
Mobile phase	A: Acetonitrile B: 0.1% Formic acid 5% A(1min) → (liner gradient, 10min) → 70% A(9min) → (liner gradient, 5min) → 100% A (5min) → (liner gradient, 5 min) → 5% A(10min)
Flow rate	0.2 mL/min
Injection vol.	10 μL
MS conditions	
Ionization mode	Positive ion-ESI
Desolvation gas	Nitrogen, 1000 L/h
Desolvation temp.	450 $^{\circ}\text{C}$
Capillary voltage	5.0 kV
Cone voltage	10 V
Collision energy	10 eV
Ion source temp.	120 $^{\circ}\text{C}$
Monitor ion	m/z 241 > 88, 241>120 for thiuram m/z 253 > 94 for surrogate (thiuram- d_{12})

【結果及び考察】

イオン化法の検討： 10 mg/L のチウラム標準溶液を質量分析計にシリンジポンプで直接導入し、大気圧化学イオン化法 (APCI) 及びエレクトロスプレーイオン化法 (ESI) を用いて各々正イオン (pos-) 及び負イオン (nega-) の被検成分を測定した。その結果、pos-ESI による測定で、チウラムの擬分子イオン (m/z 241) がベースピークとなったため、測定には pos-ESI を用いた。

カラムの検討： 一般に pos-ESI での測定は、nega-ESI や nega-APCI での測定に比べてバックグラウンドが高く、分析に支障を生じるきらいがある。分析カラムからのバックグラウンドの影響を評価するため、市販されている 3 種類の分析カラムについて、pos-ESI での m/z 241 イオンのバックグラウンドを測定した。その結果、Shodex ODP2 HP-2B カラムからのバックグラウンドが最も低かったため、測定にはこのカラムを選択した。

タンデム型LC-MSの効果: 精製水にチウラム 10ng を添加し、所定の分析操作に従ってシングル型及びタンデム型 LC-MS を用いて測定を行った。その結果、シングル型では、水質試料中に存在する妨害物質の影響を受け、分析困難であったが、タンデム型を用いることにより、Fig. 1 に示すような妨害ピーク

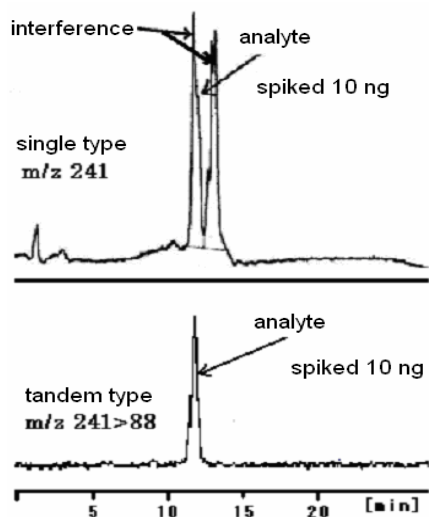


Fig. 1 Effect of tandem-type LC-MS

のない良好なクロマトグラムを得ることができた。そのため、測定にはタンデム型 LC-MS を用いることとした。**検量線及び低濃度域での感度変動:** LC/MS の測定条件をチウラムに合わせて最適化した。最適化条件を Table 1 に示す。最適化により、 $0.05 \mu\text{g/L}$ の極微量濃度域までチウラムをピークとして検出することができた。 $0.05 \mu\text{g/L}$ のチウラム標準溶液 (試料換算濃度: $0.00001 \mu\text{g/L}$) のクロマトグラムを Fig.2 に示す。

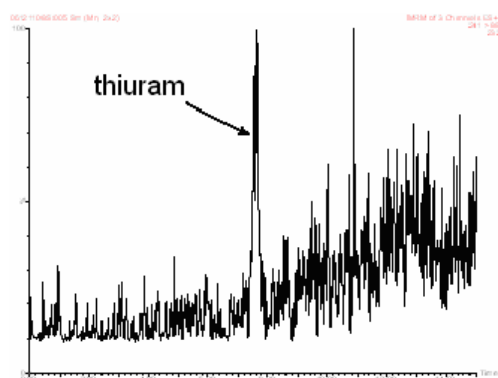


Fig.2 MRM chromatogram of the ultra trace level of thiuram ($0.05 \mu\text{g/L}$)

しかしながら、この濃度域では、Fig. 3 に示すように感度変動による検量線の落ち込みが確認された。US-EPA は、化学物質分析の理論の中で、検出下限値を推定する方法の一つに検量線の落ち込みなど低濃度域での感度が明瞭に変化する濃度を挙げている²⁾。LC/MS では、装置を最適化することにより、 $0.05 \mu\text{g/L}$ までピークを検出できるものの、定量分析法としては、 $5 \mu\text{g/L}$ (試料換算濃度: $0.001 \mu\text{g/L}$) 付近が分析装置の限界と考えられる。なお、 $5 \mu\text{g/L}$ の標準溶液の繰返し測定から算出した装置検出限界は、 $0.5 \mu\text{g/L}$ (試料換算濃度: $0.0001 \mu\text{g/L}$) であった。

分析法検出下限値: 精製水に $0.010 \mu\text{g/L}$ となるよう

にチウラムを添加した後、本分析法を用いて繰返し測定を行った。繰返し測定の平均値及び標準偏差は、各々 $0.0106 \mu\text{g/L}$ ($n=5$) 及び $0.00571 \mu\text{g/L}$ (相対標準偏差: 5.4%) と良好な結果を示した。標準偏差から求めた分析法検出下限値は、 $0.0024 \mu\text{g/L}$ に達し、従来の HPLC-UV 法の $0.4 - 3 \mu\text{g/L}$ に比べ 160 - 1200 倍に高感度化することができた。

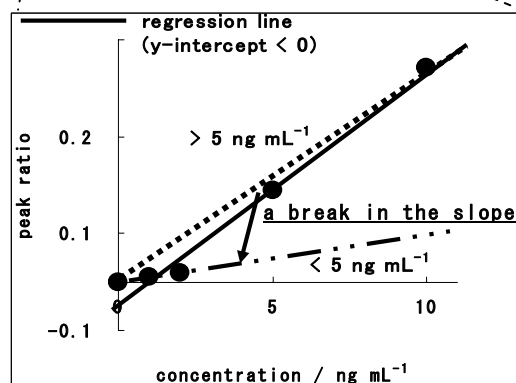
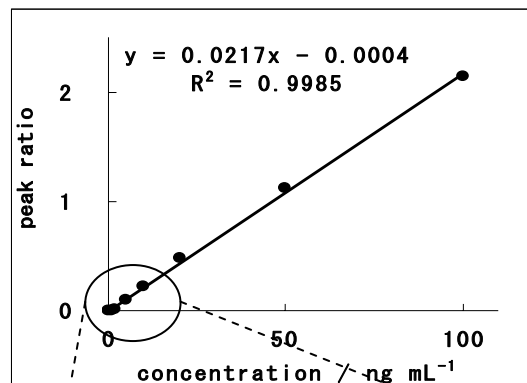


Fig.3 calibration curve and change in sensitivity at low analyte concentration (i.e. a break in the slope)

【まとめ】

LC/MS によるチウラムの高感度分析法を検討した結果、従来法に比べ 160-1200 倍高感度化することができた。今後は、河川水など実試料への適用を検討する予定である。

謝辞 本研究の一部は、環境省環境安全課からの化学物質環境実態調査委託業務を受けて実施したものである。研究の遂行にあたり、LC/MS 測定に関する有益なご助言を頂いた日本ウォーターズ㈱の米久保淳氏、カラム及び吸着剤の開発にご尽力頂いた昭和電工㈱の篠田昌子女史に深謝いたします。

引用文献)

- 1) 環境省環境リスク評価室. '化学物質の環境リスク評価', 第2巻: [37]チウラム, 2003, pp. 431-436.
- 2) John A. Glaser, et al.: Trace analyses for wastewaters, *Environmental Science & Technology* 15(12), 1426-1435 (1981)