

## 底質中におけるフェンバレートの分析法

吉田 光方子\* 中野 武

### Analysis of the Fenvalerate in Sediment Samples

Mihoko YOSHIDA\* and Takeshi NAKANO

*Environmental Safety Division, Hyogo Prefectural Institute of Public Health and Environmental Sciences, 3-1-27 Yukihiro-cho, Suma-ku, Kobe, Hyogo 654-0037, Japan*

Analytical method for Fenvalerate in the sediment using solvent extraction was developed. The sediment samples were analyzed after adding mass labelled isomer as surrogate, and determined using isotope dilution method. MDL of Fenvalerate in the sediment was 0.80 $\mu$ g/kg-dry for Fv-1 (0.65 $\mu$ g/kg-dry for Fv-2). MQL of Fenvalerate in the sediment was 0.31 $\mu$ g/kg-dry for Fv-1 (0.25 $\mu$ g/kg-dry for Fv-2). The recovery of Fenvalerate in sediment sample was 95% for Fv-1 (89% for Fv-2). The influence of interference was not observed in SIM chromatogram of Fenvalerate in environmental sediment sample, Fenvalerate in water sample was not detected. Using this analytical method the quantification of Fenvalerate in the sediment sample containing at the ppb level was enabled.

#### I はじめに

近年、農産物においては残留農薬が、環境中においては水中における農薬の分析が主だったものであり、GS/MSやLC/MSを用いて、数種の農薬を一斉に検出できる同時分析法が確立され、精度の向上がみられる。そのなかで、Fig 1 に示す殺虫剤のフェンバレートは、魚毒性がC類、毒物及び劇物取締法で劇物に指定されており、また、人や生態系に有害であり、

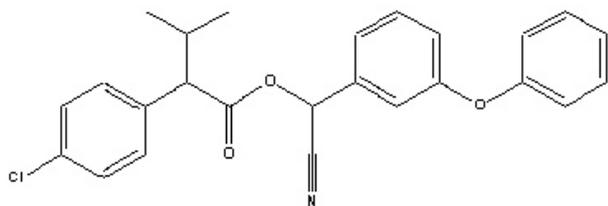


Fig.1 Fenvalerate structural formula

かつ環境中に広く継続的に存在すると認められることから、平成11年度に「特定化学物質の環境への排出量の把握等及び管理の改善の促進に関する法律」(PRTR法)の第1種指定化学物質に指定され、排出量などを国へ報告する義務のある化学物質である。フェンバレートの水質中における分析法はいくつか報告<sup>1) 2)</sup>があり、ng/Lレベルの低濃度での分析法が確立している。

一方、フェンバレートは、水溶解度0.31mg/L<sup>3)</sup>、土壌吸着定数5270<sup>3)</sup>と水に溶けにくく、土壌に吸着されやすい性質であるため、土壌中での残存が懸念される化学物質でもある。そこで、本研究ではフェンバレートの環境底質中での存在状況を把握することを目的として、底質におけるフェンバレートの分析法を確立し、底質試料の分析を行ったので、その結果を報告する。

#### II 方法

##### 1. 試料及び試薬

分析法の検討に使用した底質は、姫路沖で2004年

安全科学部

\* 別刷請求先: 〒654-0037 神戸市須磨区行平町 3-1-27

兵庫県立健康環境科学研究所

安全科学部 吉田 光方子

から2006年の秋季に採取した後、湿泥の状態冷蔵保存していたものを試料として用いた。

採取方法については、環境省編集「化学物質環境実態調査実施の手引き」<sup>4)</sup>における「試料の採取方法」及び「試料採取にあたっての留意事項」に従った。

フェンバレレート標準品は、和光純薬工業（株）製残留農薬試験用を用いた。サロゲート物質及び内標準として使用したエスフェンバレレート-d<sub>7</sub>は、林純薬工業（株）製を、ベンゾ(e)ピレン-d<sub>12</sub>はCambridge Isotope Laboratories, Inc. 製を用いた。

アセトン、ヘキサン、ジエチルエーテルなどの有機溶剤は、残留農薬試験・PCB分析用（5000倍濃縮）の高純度のものを、その他L(+)-アスコルビン酸及び塩化ナトリウム、無水硫酸ナトリウムなどの試薬は、試薬特級もしくは残留農薬試験・PCB分析用を用い、いずれも被験物質の測定を妨害しないことを確認した。また、分析試料のクリーンアップには、スペルコ製LC-Florisil (1g/6mL, SUPELCO SPE tube Cat No. 57057) を使用した。

## 2. 分析手法及び前処理法

### 2.1 底質試料の前処理法

湿泥試料20g（含水率50%として乾泥量換算10g相当）を遠沈管に分取し、2%アスコルビン酸水溶液1mL及びサロゲートとしてエスフェンバレレート-d<sub>7</sub>を10ng加えた後、アセトン50mLを加え、超音波振とうを各10分行い溶媒抽出を行う。3000rpmで遠心分離後、アセトンを分取し、再度アセトン50mLを加え同様の操作を行う。分取したアセトンは、25g NaClを溶かした精製水500mL（5%NaCl溶液）に加え混合する。

上記を分液ロートにとり、ヘキサン100mLを加え10分振とう、転溶した。得られたヘキサン層をビーカーに分取し、新たにヘキサン100mLを加え、同様の操作を繰り返す。

ヘキサンをあわせて、無水硫酸ナトリウムで脱水後、ターボバップで約1mLに濃縮する。

### 2.2 試料溶液の調製

得られた濃縮液をフロリジルカラムに負荷し、ヘキサン10mL、3%ジエチルエーテル/ヘキサン10mLの順で洗浄後、10%ジエチルエーテル/ヘキサン10mLで溶出する。この溶出液をターボバップで約1mLに濃縮する。この操作に使用するフロリジルカラムは、予めヘキサン10mLでコンディショニングを行っておく。

得られた濃縮液に内標準物質として、ベンゾ(e)ピレン-d<sub>12</sub>を10ng添加し、GC/MS-SIMで分析を行う。

### 2.3 標準溶液の調製及び検量線の作成

標準物質及びサロゲート物質、内標準は、各物質10mgを正確に秤取りアセトンで10mLとし、1000μg/mLの標準原液を作成した。この標準原液は、冷蔵保存し、使用時に適宜ヘキサンで希釈して用いた。

検量線は、標準物質10~100ng/mLの濃度範囲で作成し、各濃度の標準物質に、サロゲート物質のエスフェンバレレート-d<sub>7</sub>及び、内標準のベンゾ(e)ピレン-d<sub>12</sub>がそれぞれ10ng/mLとなるよう添加して低濃度標準溶液を調製した。分析用の底質試料においては前処理操作段階でサロゲート物質を10ng添加し、試料溶液調製時に内標準を10ng/mLとなるよう添加した。

### 2.4 GC/MS 分析

GCは、6890N (Agilent Technologies社)、MSはJMS-Q1000GC K9 (JEOL社)の装置を使用した。カラムはSUPELCO社の5%ジフェニル:SLB-5ms（長さ30m、内径0.25mm、厚さ0.25μm）を用いた。その他測定条件は、Table 1 及び詳細は既報<sup>5)</sup>に記した。

Table 1 Operational conditions of GC/MS-SIM

Gas chromatograph	: 6890N (Agilent Technologies)
Mass spectrometer	: JMS-Q1000GC K9 (JEOL)
Column	: SLB-5ms : 30m×0.25mm×0.25μm (SUPELCO)
Temp. program	: 50°C (1 min) → 25°C/min → 150°C (0min) → 5°C/min → 250°C (0min) → 25°C/min → 300°C (1 min)
Injection temp.	: 250°C
Interface temp.	: 250°C
Carrier gas	: Helium (Flow Rate ; 1 mL/min)
Injection mode	: Splitless (purge on time ; 1.5 min)
Injection volume	: 2μL
Ion source temp.	: 230°C
Ionization voltage	: 70 eV
Ionization current	: EI 200μA
Selected Ion Monitor	: Fenvalerate 167
	: Esfenvalerate-d <sub>7</sub> 174
	: Benzo(e)pyrene-d <sub>12</sub> 264

### III 結果および考察

#### 1. 標準物質の SIM クロマトグラム

Fig.2 に各物質のマススペクトルを, Fig.3 に SIM

クロマトグラムを示す. この標準物質は, 検量線作成用に3物質を調製したフェンバレレート 30ng/mL, エスフェンバレレート-d<sub>7</sub> 及びベンゾ(e)ピレン-d<sub>12</sub> 10g/mL のヘキサン溶液を用いた.

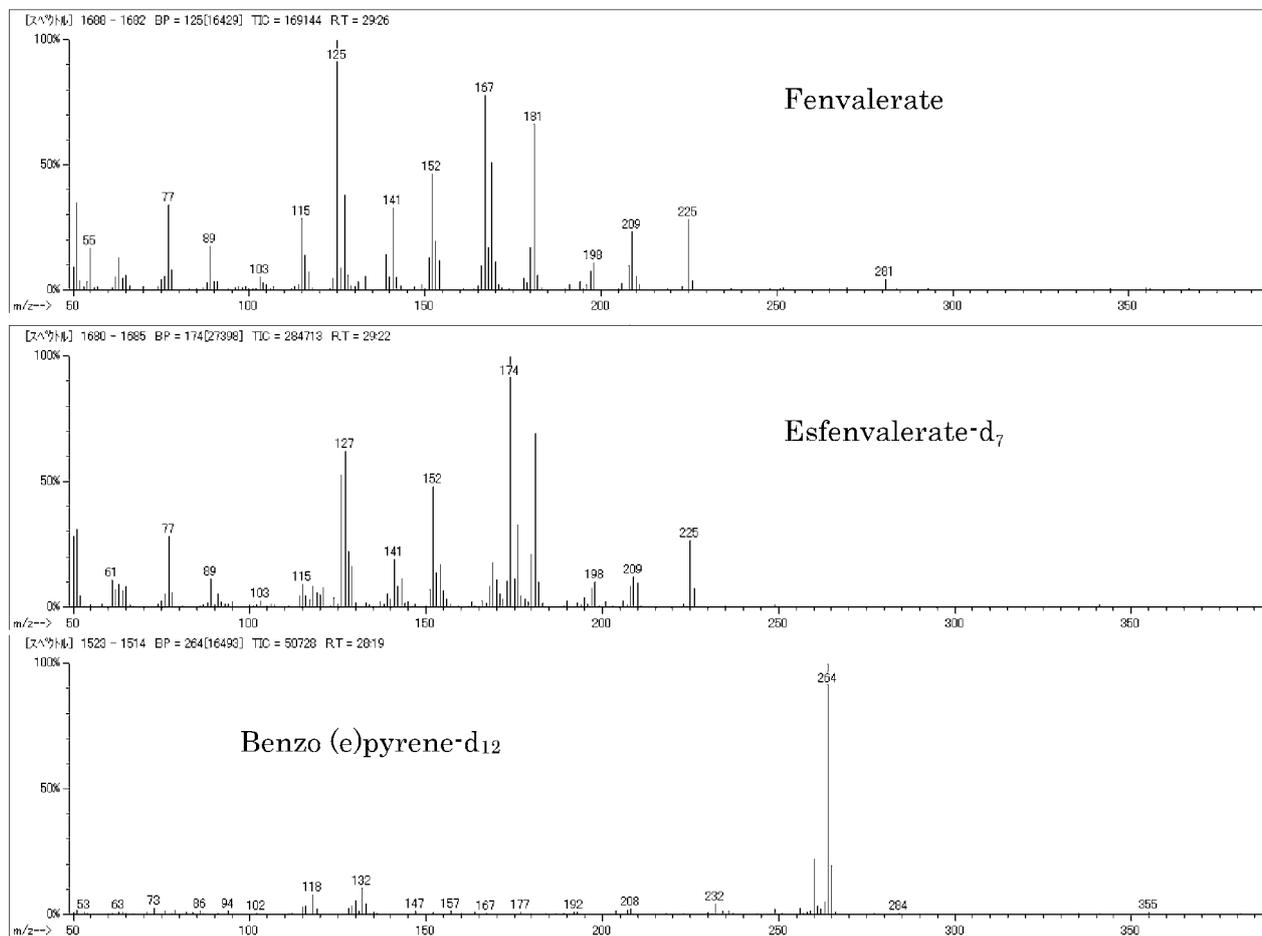


Fig.2 Mass spectra of Fenvalerate , Esfenvalerate- d<sub>7</sub> and Benzo (e)pyrene- d<sub>12</sub>

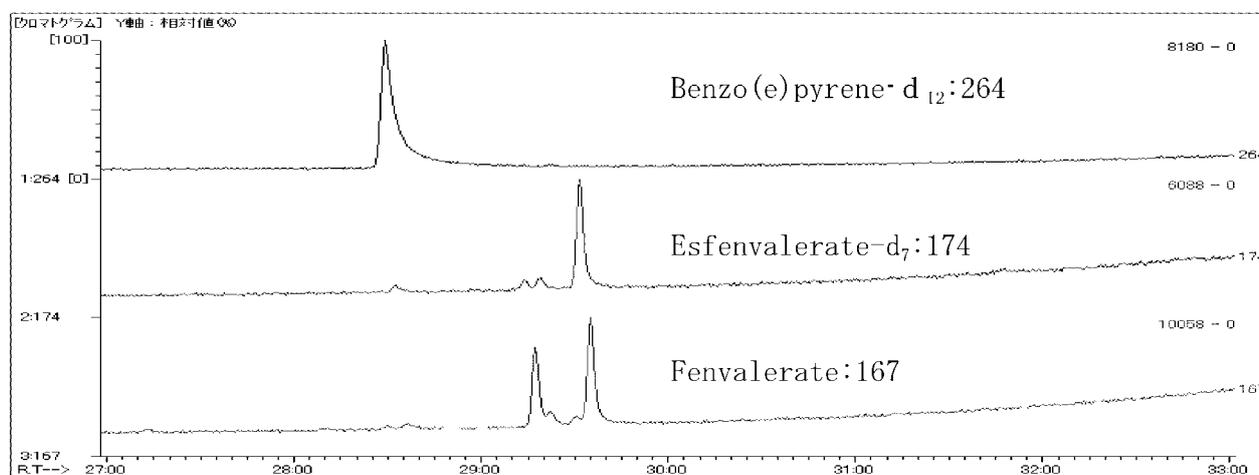


Fig.3 SIM chromatogram of standard

各物質とも 28 分から 30 分程度の保持時間でピークが分離され、本法で示した測定条件での分析が可能であることが確認された。

本法の測定条件や既報<sup>1) 2)</sup>において、フェンバレレートは 2 本に分離されたが、フェンバレレートは 4 種の光学異性体の混合物であることが知られており、エスフェンバレレートを有効成分とする。各光学異性体のピークを GC/MS で分離するのは困難であり、本報告において、保持時間の早いピークをフェンバレレート異性体 1、後のピークをフェンバレレート異性体 2（以下 Fv-1, Fv-2 と示す）とした。

2. 定量方法及び検出下限値, 定量下限値

本報告では、光学異性体の合計をフェンバレレート定量値とする手法を用いるが、検出下限値及び定量下限値は、Fv-1, Fv-2 それぞれを面積比で按分してそれぞれの値を求めた。

検量線は、Fv-1, Fv-2 とサロゲートのエスフェンバレレート-d<sub>7</sub> の面積比から作成し、その一例を Fig.4 に示す。フェンバレレートの濃度は、面積比率から Fv-1:Fv-2 の面積割合を 42%:58%と按分した。

定量は、試料液 2 μL を GC/MS に注入し、Fv-1, Fv-2 それぞれのピーク面積をサロゲートのエスフェンバレレート-d<sub>7</sub> との面積比から下式により濃度を算出した。また、サロゲートの回収率は、内部標準ベンゾ(e)ピレン-d<sub>12</sub> のピーク面積を用いて求める。

底質試料中の濃度 (ng/kg)

$$= \text{検出量 (pg)} \times \frac{\text{固相抽出後の最終液量 (mL)}}{\text{GC/MS 注入量 (μL)} \times \text{分析試料量 (kg)}}$$

その結果、検出下限値は Fv-1 : 0.31 μg/kg-dry, Fv-2 : 0.25 μg/kg-dry, 定量下限値 Fv-1 : 0.80 μg/kg-dry, Fv-2 : 0.65 μg/kg-dry の値が得られた。

3. 添加回収試験

底質試料に標準物質 0.15 μg/kg-dry を添加したサンプルを本法により調整後、分析を行い回収率及び変動係数を求めた<sup>4) 5)</sup>。その結果、Fv-1 及び Fv-2 の回収率は、それぞれ 95%, 89%であり、変動係数は 6.7%, 4.2%と良好な値が得られた。

4. 環境試料の濃度レベル

海域底質の測定結果を Fig.5 に示す。

本 SIM クロマトグラムの試験溶液は、測定時に内部標準ベンゾ(e)ピレン-d<sub>12</sub> を添加した以外、添加した物質はなく、分析対象物質の Fv-1, Fv-2 及びサロゲートのエスフェンバレレート-d<sub>7</sub> は、いずれも保持時間にピークは検出されなかった。

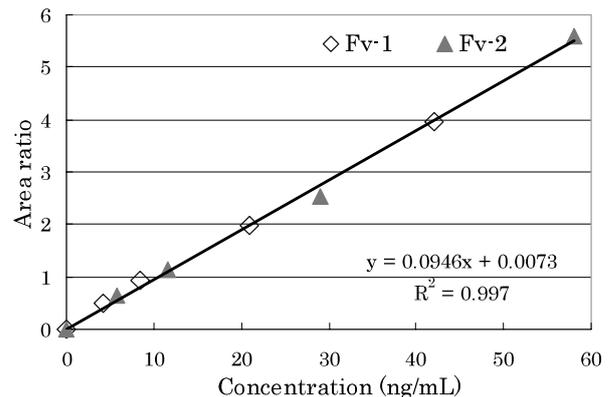


Fig.4 Standard curve of Fenvalerate

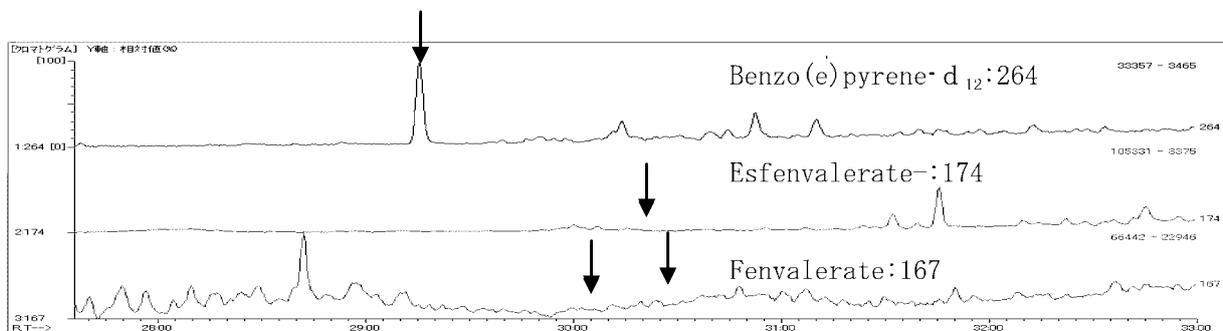


Fig.5 SIM chromatogram of sediment

## IV 要 旨

本報において、溶媒抽出法を用いた底質に存在する農薬フェンバレレート微量分析を行うための検討を進め、以下の結果を得た。

- ①フェンバレレートは、カラム温度 50℃～300℃の昇温条件で 28 分から 30 分程度の保持時間でピークが良好に分離され、本法で示した測定条件での分析が可能であることが確認された。
- ②底質試料の分析はサロゲートを添加し、標準物質との面積比から対象物質の濃度を算出した。その結果、検出下限値は、Fv-1: 0.31  $\mu$ g/kg-dry, Fv-2: 0.25  $\mu$ g/kg-dry, 定量下限値は、Fv-1: 0.80  $\mu$ g/kg-dry, Fv-2: 0.65  $\mu$ g/kg-dry の値が得られ環境試料へ適用可能な低濃度レベルが得られた。
- ③対象物質及びサロゲート物質の汚染がないことを確認した底質試料を用いた添加回収試験（試料濃度 1.5  $\mu$ g/kg-dry）では、Fv-1 の回収率 95%、変動係数 6.7%、Fv-2 の回収率 89%、変動係数 4.2%であった。
- ④底質環境試料を分析した SIM クロマトグラムには夾雑物の影響は見られず、ppb レベルで存在するフェンバレレートの定量が可能であることが確認できた。

以上の結果から底質試料のフェンバレレート分析法を確立した。本報告での結果、及び吉岡らの水質試料の報告<sup>1) 2)</sup>での環境試料からは、いずれもフェンバレレートの存在は確認されなかった。

今後、フェンバレレートの汚染が危惧される地域での水質経由、底質への環境中での汚染の拡大など、検討の余地があると考えられる。

本研究は、環境省の「平成 18, 19 年度化学物質分析法開発調査」の委託事業の一環として行われた結果をまとめたものである。

## 文 献

- 1) 吉岡敏行、剣持堅志：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, 第 42 回日本水環境学会年会講演集, 622, (2008)
- 2) 環境省環境安全課：平成 18 年度 化学物質分析法開発調査報告書 平成 18 年 12 月（フェンバレレート, エスフェンバレレート水質試料；岡山県環境保健センター）, 622, (2006)
- 3) 鋤塚昭三・山本広基著：土壌中における農薬の挙動 農薬の吸着と移動, 土と農薬（社）, 日本植物防疫協会発行, pp87(1998)
- 4) 環境省総合環境政策局環境保健部環境安全課：化学物質環境実態調査実施の手引き（平成 17 年度版）平成 18 年 3 月（2006）
- 5) 環境省環境安全課：平成 19 年度 化学物質分析法開発調査報告書 平成 20 年 12 月（フェンバレレート底質試料；兵庫県健康環境科学研究センター）, p300～310, (2008)