

# アルミナ系固相を用いた環境試料中のチウラム、シマジン、チオベンカルブの簡易前処理法

## Sample Pretreatment Method for Thiuramu, Simazine, Thiobencarb in Environmental Samples Using Alumina Solid Phase Extraction

○坂井拓斗<sup>1</sup>、高原玲華<sup>1</sup>、石井一行<sup>1</sup>、高柳学<sup>1</sup>、太田茂徳<sup>1</sup>  
 ( <sup>1</sup>ジーエルサイエンス株式会社 )



### はじめに

チウラム、シマジン、チオベンカルブは水質汚濁防止法の環境基準項目に定められている農薬である。これらの農薬は原水として河川水などについても測定を行う必要があるが、原水は夾雑成分が多く、分析に影響を及ぼすことがある。本検討では、原水（河川水など）に含まれる夾雑成分に対して、アルミナ系固相の充填量、および試料負荷量の違いによるクリーンアップ効果を比較し、より正確な定量結果を得るための検討を行い、良好な結果が得られたため報告する。

### 方法

固相抽出カラムは、水試料からの濃縮を目的とした、N含有メタクリレート・スチレンジビニルベンゼンポリマー固相のInertSep PLS-3(200mg/6mL)と、クリーンアップ用として酸化アルミニウムを充填したInertSep AL-A（酸性）、AL-N（中性）、AL-B（塩基性）の3種類の固相抽出カラムを用いて評価を行った。アルミナカラムの充填量の最適化は検討①、実試料での回収試験結果は検討②、夾雑成分の負荷量試験を検討③にて行った。一連の前処理フローをFig.1、HPLC分析条件はTable 1に示す。

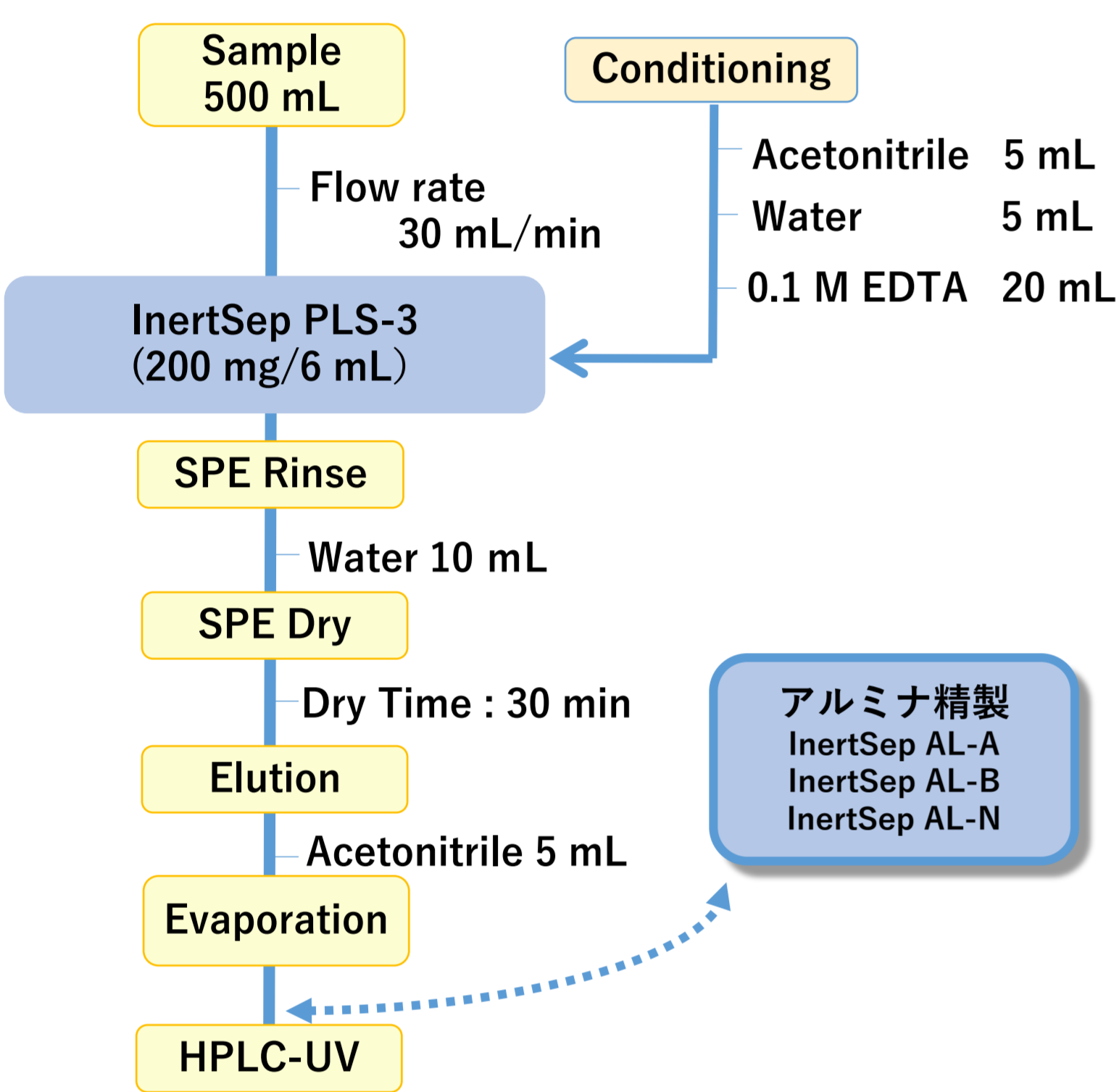


Fig.1 Solid Phase Extraction Procedure

Table 1 HPLC Conditions

System	: HPLC system Primaide		
Column	: InertSustain AQ-C18 (5 μm, 150 × 4.6 mm I.D.)		
Eluent A	: 0.1% H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>		
Eluent B	: CH <sub>3</sub> CN		
Time (min)	A (vol %)	B (vol %)	
0.0	90	10	
3.0	90	10	
20.0	0	100	
25.0	0	100	
25.1	90	10	
40.0	90	10	
Flow Rate	: 1.0 mL/min		
Col.Temp.	: 40°C		
Detection	: UV 270 nm		
Injection Vol.	: 10 μL		

Table 3 Recoveries of pesticides from environmental water using alumina cleanup.

Types of alumina	Simazine	Thiuram	Thiobencarb
AL-A	86.8	80.2	95.2
AL-N	81.9	78.6	81.8
AL-B	71.7	76.5	86.7

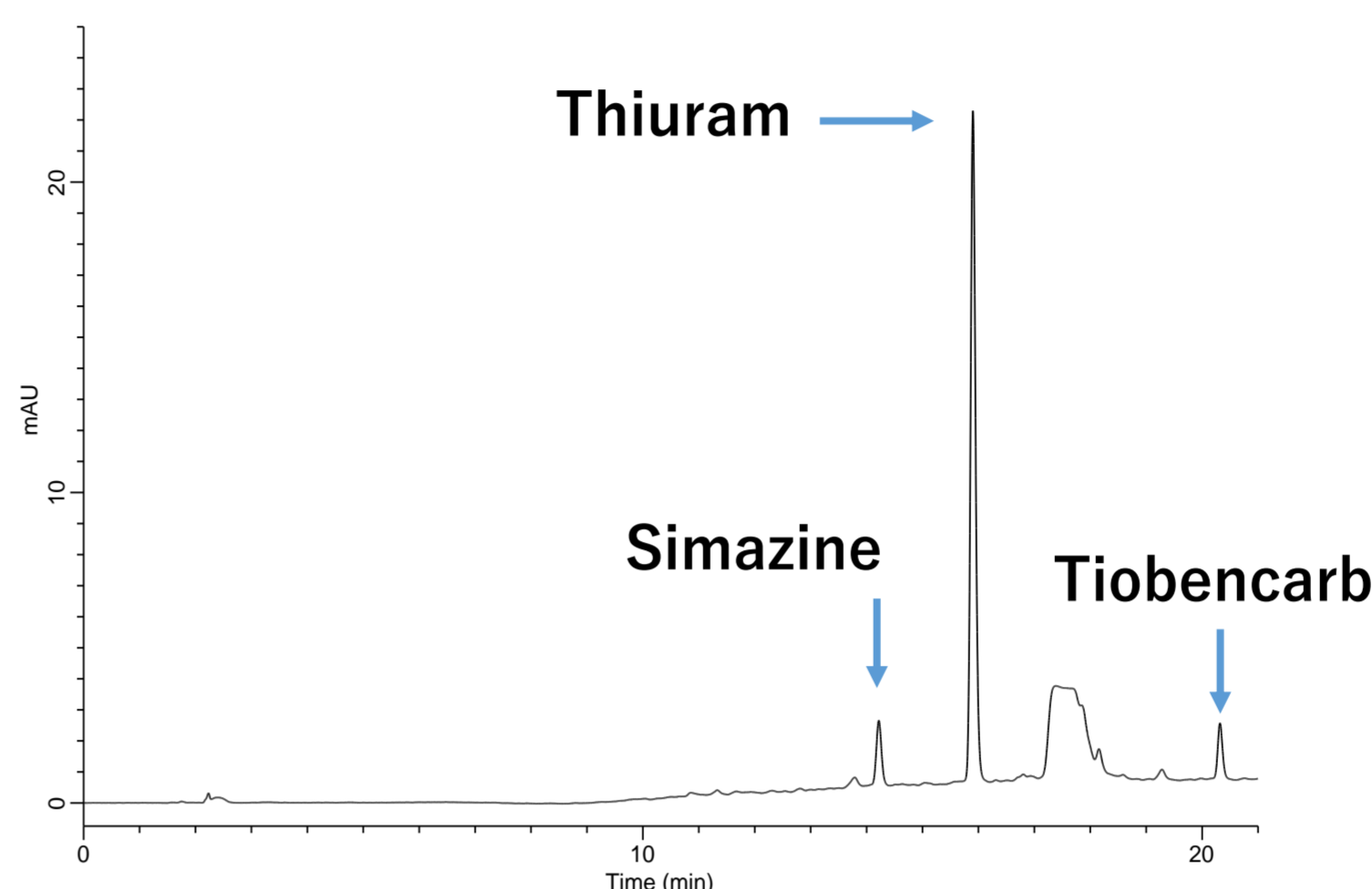


Fig.2 Environmental water samples cleanup using AL-A

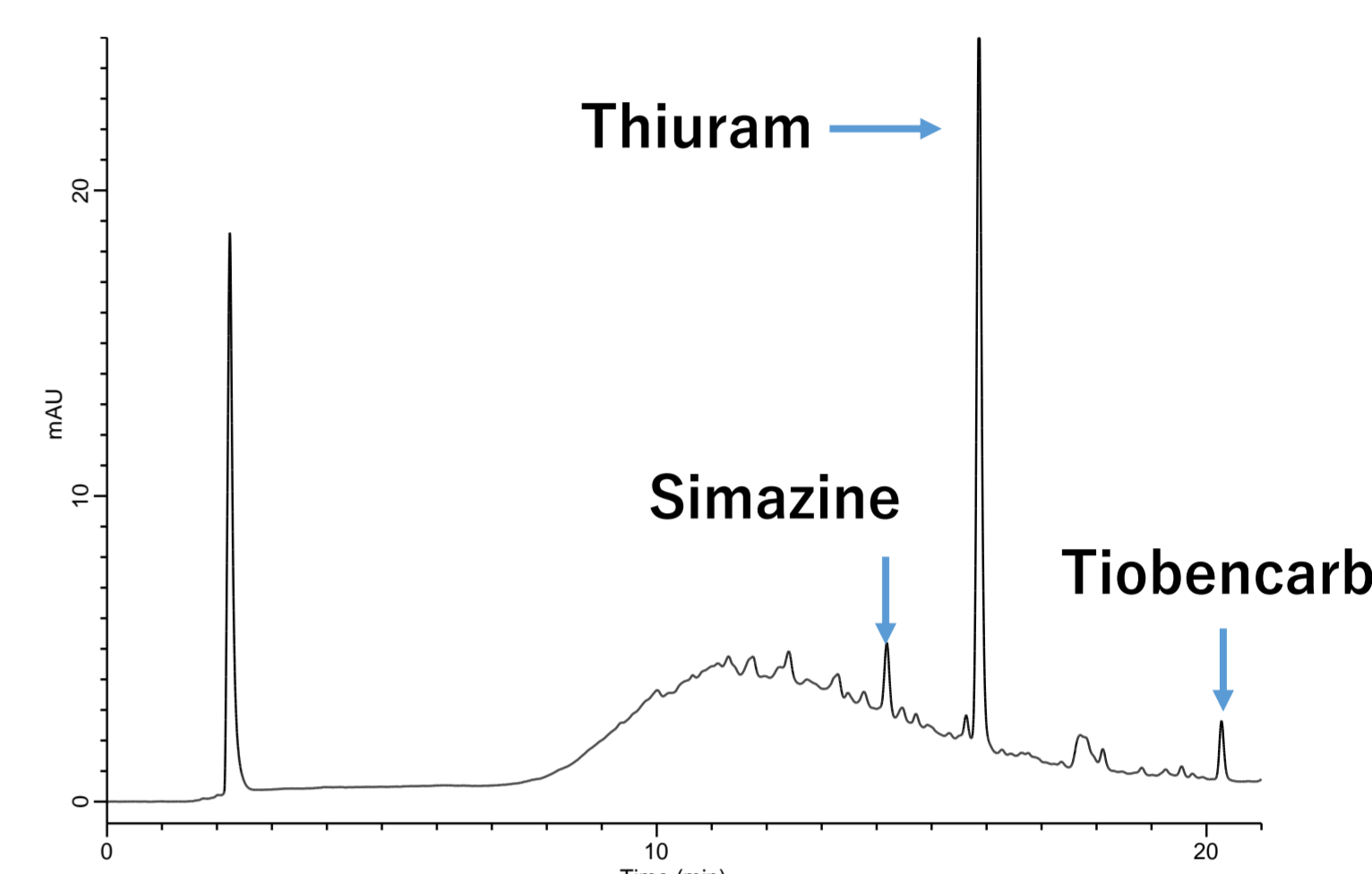


Fig.3 Environmental water samples without AL-A cleanup

### 検討③：夾雑成分の負荷量確認

AL-Aによる負荷量試験を行うため、腐葉土50 gと超純水500 mLを混合し一日静置後にろ過したものを疑似試料とした。疑似試料水を用いてAL-Aの精製効果を確認するために、以下のサンプルを準備した。

- 疑似試料をFig.1の手順でPLS-3で濃縮し、アセトニトリルで1 mLに転溶した(Fig.4)
- 「(1)」で得られた処理液300 μLをInertSep AL-A (100 mg/1 mL)へ負荷し、アセトニトリルで追加溶出した後、300 μLに定容したもの(Fig.5)
- 「(1)」で得られた処理液300 μLをInertSep AL-A (500 mg/3 mL)へ負荷し、アセトニトリルで追加溶出した後、300 μLに定容したもの(Fig.6)
- 「(1)」で得られた溶出液をアセトニトリルにて4倍希釈した希釈液300 μLをInertSep AL-A (100 mg/1 mL)へ負荷し、アセトニトリルで追加溶出した後、300 μLに定容したもの(Fig.7)

得られたクロマトグラムをFig.4~7に示す。InertSep AL-A(100 mg/1 mL)にてクリーンアップを行うと、ベースラインの上昇は抑えられた(Fig.5)。さらに、充填量を500 mgに増やすことで、よりベースラインの上昇が抑えられることが示された(Fig.6)。また、試料液を1/4に希釈しクリーンアップを行うことで、同じ充填量でもベースラインの上昇がより抑えられることが示された(Fig.7)。

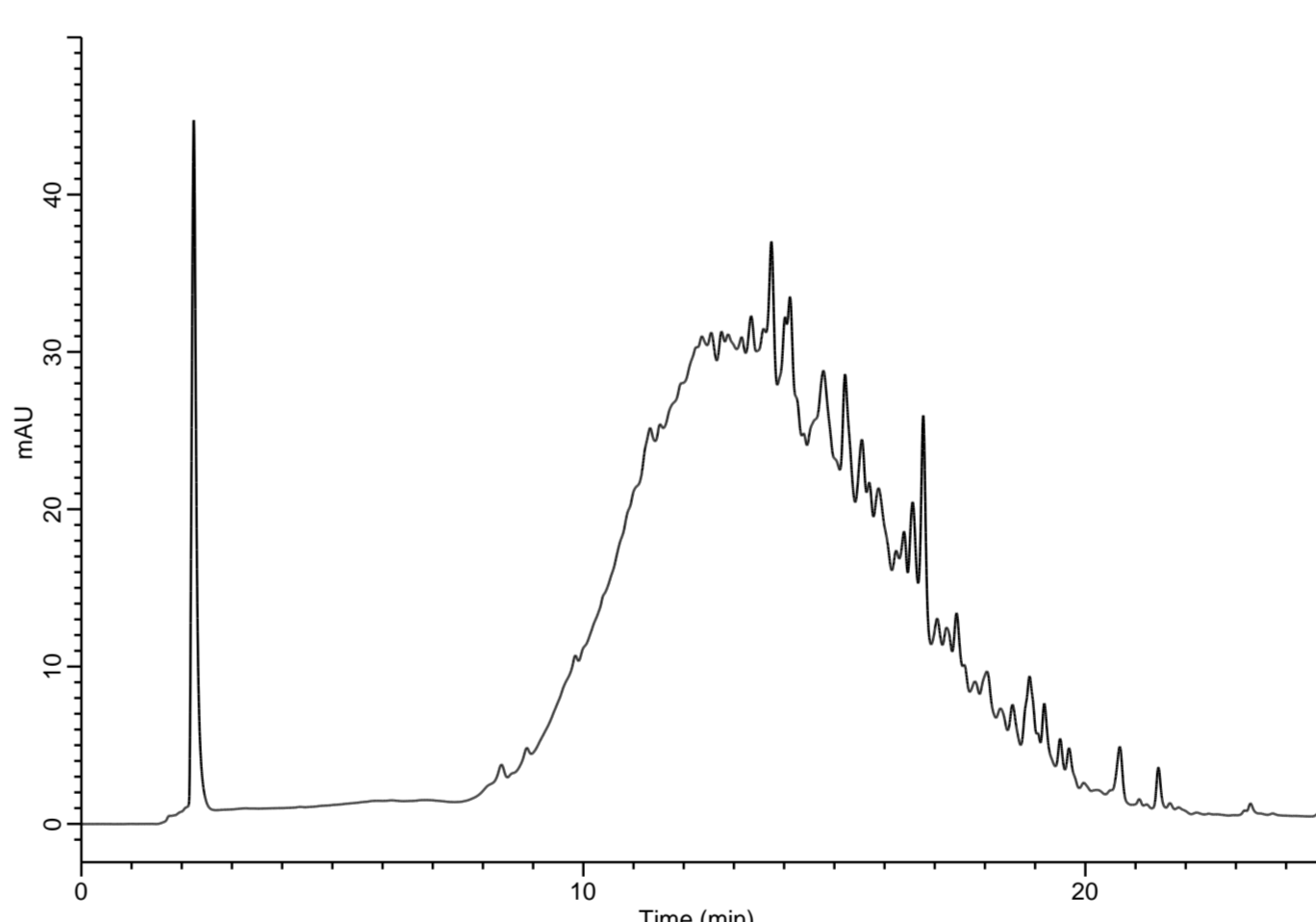


Fig.4 Soil water samples without AL-A cleanup

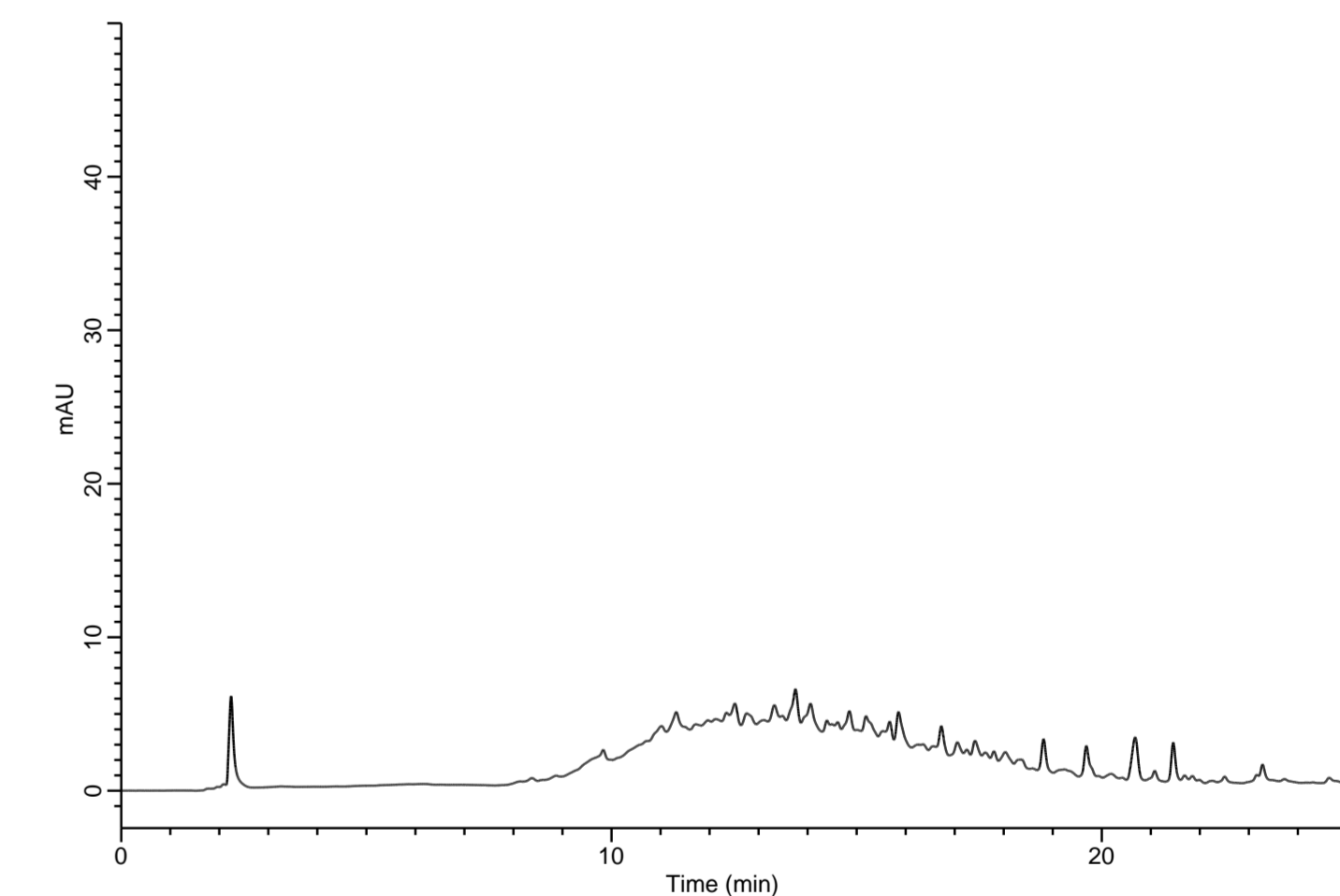


Fig.5 Soil water samples cleanup using AL-A(100 mg/1 mL)

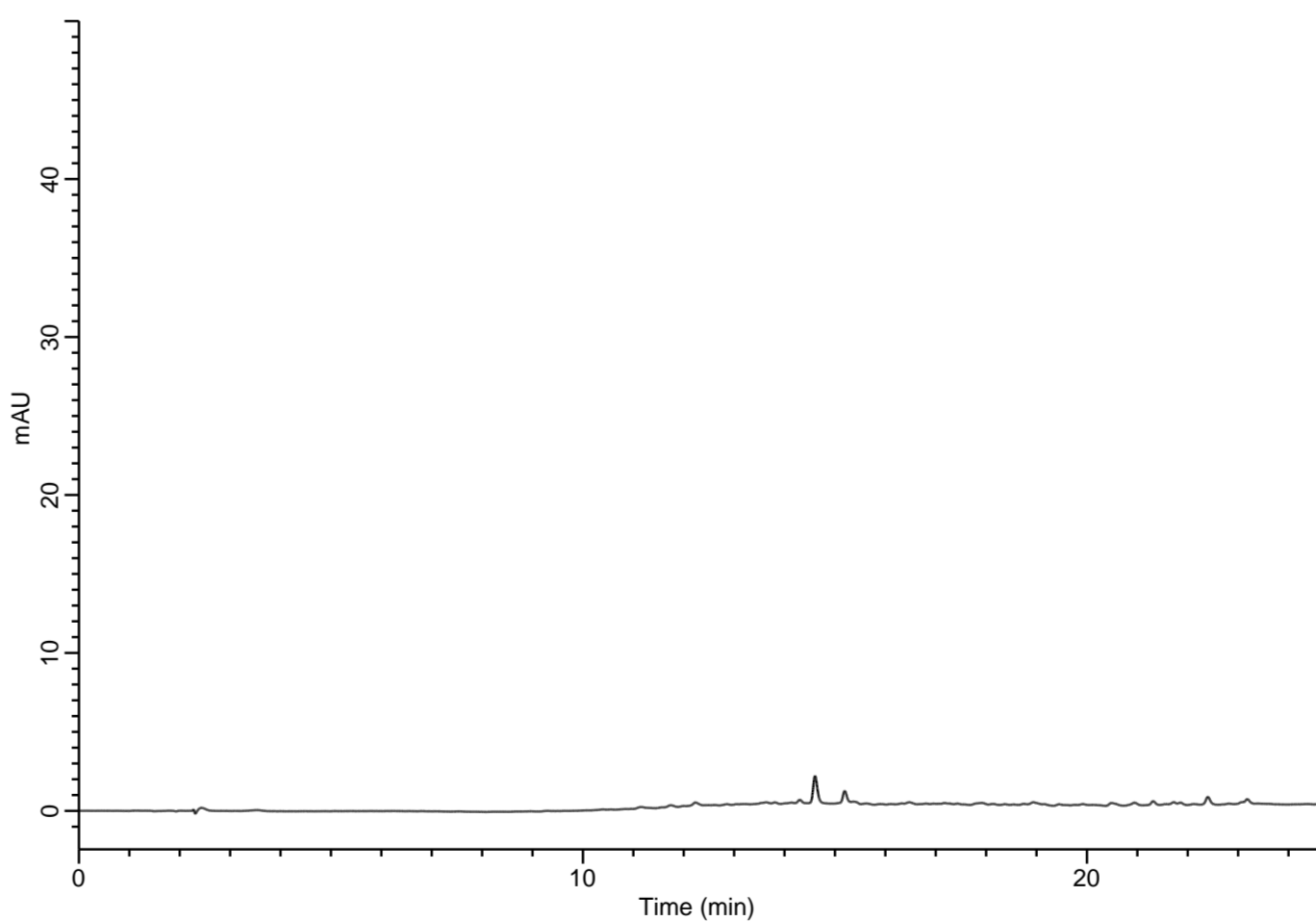


Fig.6 Soil water samples cleanup using AL-A(500 mg/3 mL)

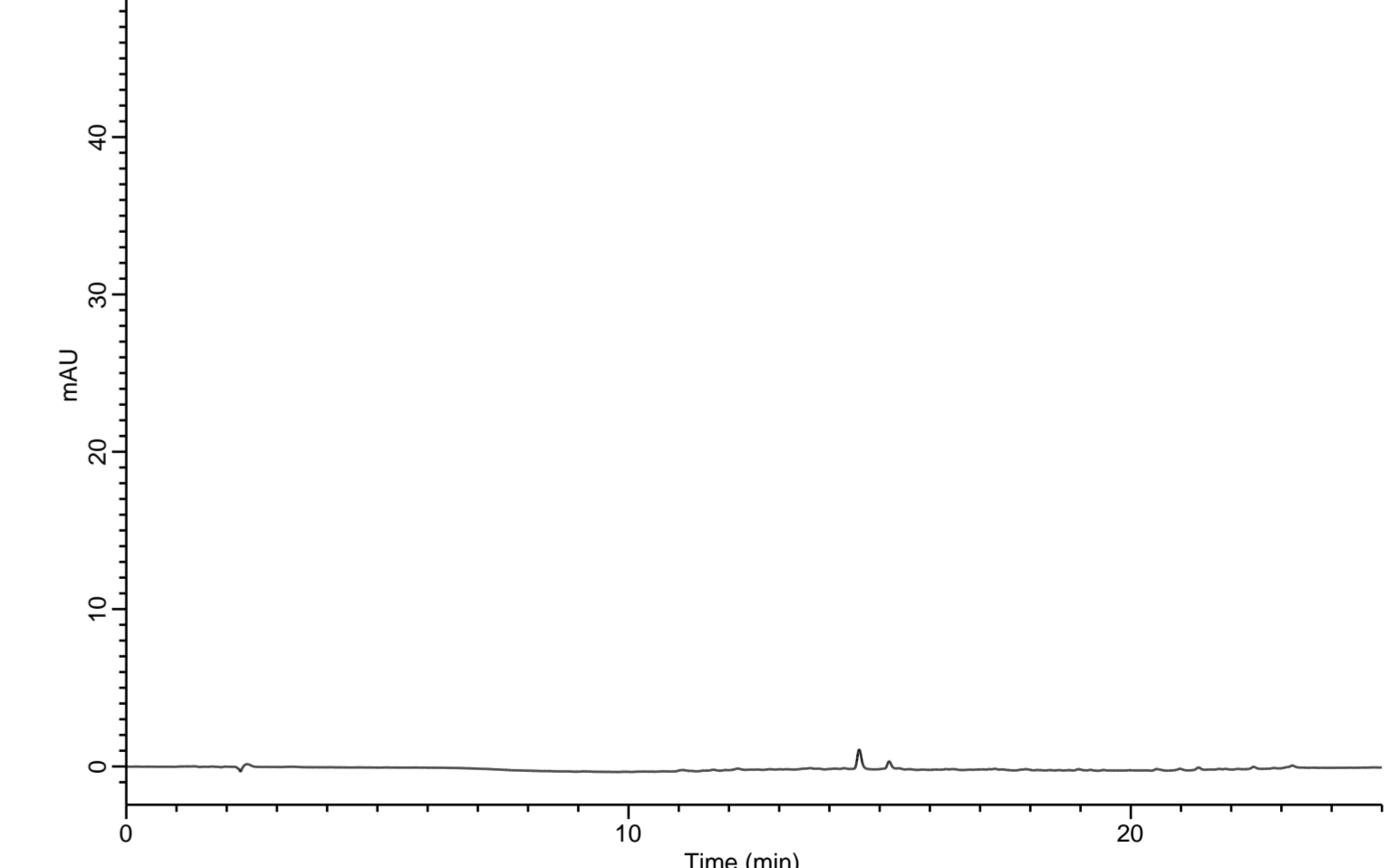


Fig.7 1/4 Diluted Soil water samples cleanup using AL-A(100 mg/1 mL)

### 検討内容及び結果

本検討を進めるにあたり、以下の①~③の検討を実施した。

#### 検討①：クリーンアップ固相の充填量の違いによる溶出効率の確認

アセトニトリル1 mLにチウラム、シマジン、チオベンカルブを溶解し、InertSep AL-A・AL-N・AL-B（それぞれ100 mg/1 mL、200 mg/3 mL、500 mg/3 mL、1 g/6 mL）へ負荷、アセトニトリルで追加溶出し、得られた溶出液をそれぞれHPLCで分析した。測定した結果をTable 2に示す。チウラム、チオベンカルブの回収では、アルミナカラムの種類によらず回収率に大きな違いは見られなかった。一方で、シマジンに関しては、AL-Aが最も良い回収率が得られたものの、AL-BとAL-Nについては充填量が増えるほど回収率の低下が見られた。

Table 2 Pesticide recovery (%) influenced by different types of alumina columns (n=3)

Types and filling amounts of solid-phase extraction columns		Simazine	Thiuram	Thiobencarb
InertSep AL-A	100 mg	93.2	101.1	98.5
	200 mg	96.2	102.2	98.2
	500 mg	83.0	103.5	98.0
	1 g	86.5	100.3	108.6
InertSep AL-B	100 mg	87.6	102.0	99.0
	200 mg	79.2	101.6	95.1
	500 mg	70.0	101.7	97.2
	1 g	80.1	103.9	105.4
InertSep AL-N	100 mg	95.2	102.6	98.4
	200 mg	87.1	101.6	96.5
	500 mg	79.1	103.1	98.1
	1 g	80.6	104.2	108.2

#### 検討②：河川水中チウラム、シマジン、チオベンカルブの添加回収試験

河川水にチウラム、シマジン、チオベンカルブを添加し、PLS-3での前処理を行い溶出液を作成した。得られた溶出液をInertSep AL-A・AL-N・AL-B (100 mg/1 mL)へそれぞれ負荷し、精製処理を実施した回収率結果を、Table 3に示す。すべての固相において農薬3成分の回収率は70~120%を示した。検討①と同様に、AL-Aで最も良好な回収率が得られた。

AL-Aの精製効果を確認するため、得られたクロマトグラムをFig.2、精製前のクロマトグラムをFig.3に示す。AL-Aによる精製を行う事で、ベースラインの上昇が抑えられている事がわかり、精製効果が確認された。

### 結論

シマジン、チウラム、チオベンカルブのクリーンアップ方法の検討を行った。アルミナ固相カラムであるInertSep AL-A、AL-B、AL-Nを用いて対象成分の回収を検討した結果、検討したすべての充填量にてアセトニトリルによる溶出が可能であった。特に酸性アルミナであるAL-Aが特に高い回収率を示した。また、河川水を用いた試料での前処理でも高い回収率が得られ、夾雑成分も効果的に除去できていたことから、アルミナ系固相カラムがクリーンアップとして有用であると考えられた。充填量100 mg~1 gと幅広いカラム充填量において高い回収率を得ることができたことから、本カラムを用いた前処理は、試料中のマトリクス量に対応してより多くの夾雑成分を含む試料を簡便に前処理にも対応できる可能性が示唆された。