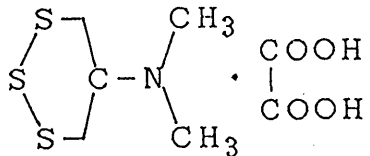


カルタップ

Cartap

チオシクラム

Thiocyclam

対象物質	カルタップ	チオシクラム
化学名	Carbamothioic acid S,S'- -[2-(dimethylamino)-1,3- propanediyl]ester hydrochloride	N,N-dimethyl-1,2,3-tri- thiane-5-amine hydrogen- oxalate
構造式	$(\text{CH}_3)_2\text{NCH}(\text{CH}_2\text{SCONH}_2)_2 \cdot \text{HCl}$	
分子式	$\text{C}_7\text{H}_{16}\text{ClN}_3\text{O}_2\text{S}_2$	$\text{C}_7\text{H}_{13}\text{NO}_4\text{S}_3$
分子量	273.8	271.4
沸点 (℃)	—	—
融点 (℃)	180	126
溶解度 (μg/ml)	200000	84000
log Pow	1.02 (pH 9)	1.86 (pH 9)

§1 分 析 法

水質試料については、塩酸酸性下でジクロロメタンで洗浄し夾雑物を除去した後、アルカリ性でジクロロメタン抽出し、脱水、濃縮後、内部標準物質を加え、GC/MSで定量する。底質試料はアルカリ性水溶液、生物試料は塩酸メタノールで抽出し、塩酸酸性下でジクロロメタンで洗浄し夾雑物を除去した後、以下、水質試料と同様に操作しGC/MSで定量する。なお、本分析法においては、カルタップの場合その分解生成物であるネライストキシン、またはチオシクラムとして定量する。さらに、チオシクラムの場合は生物試料に添加したチオシクラムはすべてネライストキシンに変化するのでネライストキシンとして定量する。

試 験 法

【試料の前処理】

〔水質試料〕 試料1lを1.5 l分液ロートにとり、2N塩酸10ml及び塩化ナトリウム30 g

[註1]を加え、ジクロロメタン50及び20mlで、それぞれ5分間振とう抽出する。ジクロロメタン層はすて、水層を2N水酸化ナトリウム溶液で中和した後、緩衝液 (pH 9) 10 mlを加え、ジクロロメタン50及び20 mlで、それぞれ5分間振とう抽出する[註2]。ジクロロメタン層を無水硫酸ナトリウムで脱水した後、30℃以下の湯浴中でロータリーエバポレーターにより減圧下で約2mlまで濃縮し、前処理液とする[註3]。

〔底質試料〕 試料20gを500mlの共栓付き三角フラスコにとり0.05 N水酸化ナトリウム溶液150mlを加え、5分間超音波抽出した後、30分間振とうする。その後、試料を3000 rpmで10分間遠心分離し、上澄み液を500mlの分液ロートに移した後、2N塩酸でpH2以下に調整し、塩化ナトリウム4.5gを加えた後、ジクロロメタン50及び20mlで、それぞれ5分間振とう抽出する[註2, 註4]。以下、〔水質試料〕と同様に操作し、前処理液とする[註3]。

〔生物試料〕 試料20gをトールピーカー(300ml)にとり、0.02N塩酸メタノール液150mlを加えて、5分間ポリトロンでホモジナイズした後、これを3000 rpmで10分間遠心分離し、上澄液を1lの分液ロートに移す。これに順次2N塩酸4ml、蒸留水400ml及び、塩化ナトリウム12gを加えた後、ジクロロメタン50mlで2回振とうする[註2, 註4]。ジクロロメタンを除いた後、以下、〔水質試料〕と同様に操作し処理液を得る[註3]。

【試料液の調製】

〔水質試料、底質試料及び生物試料〕 試料処理液にニトロベンゼン- d_5 0.5 μ gを添加した後、窒素を吹き付け1mlに濃縮する。

【空試料液の調製】

水質試料は1000mlの蒸留水を用い、底質試料においては0.05Nの水酸化ナトリウム溶液150ml、生物試料においては0.02N 塩酸メタノール溶液150mlを用い【試料の前処理】及び【試料液の調製】の項にしたがって操作し得られた試料液を空試料液とする。

【標準液の調製】

チオシクロラムしゅう酸塩及びネライストキシンしゅう酸塩を各々正確に5mg 計り、メタノールを加えて正確に10mlとし標準原液とする。標準原液をメタノールで希釈し、さらに、内部標準物質のニトロベンゼン- d_5 が0.5 μ g/mlになるように添加し、0.25-1.0 μ g/mlの標準溶液を調製する。

【測定】

〔GC/MS-MFの測定条件〕

カラム：OV-1701 (J&W) 0.25mm i.d. $\times$ 25m 膜厚：0.25 μ m [註5]

カラム温度：60℃ (1min)-----200℃ (5min)

15℃/min

注入口温度：240℃

インターフェイス温度：200℃

キャリアーガス：He (12psi, 線速度 38 cm/sec)

イオン化電流：1000 μ A , イオンマルチ電圧：2kV

モニターイオン (m/Z) : 71.074, 135.018 ISTD:128.063

分解能：5000

〔検量線〕 0.25-1.0 μ g/mlの標準溶液 (内部標準：0.5 μ g/ml) 1 μ lをGC/MSに注入し得られたクロマトグラムと内部標準のピーク面積比及び濃度比より検量線を作成する。[註6]

〔計算〕

$$\text{計算値} (\mu\text{g/ml}, \mu\text{g/g}) = \text{GC/MS検出濃度} (\mu\text{g/ml}) \times \frac{\text{最終液量 (ml)}}{\text{試料量 (ml又はg)}}$$

〔検出限界及び定量限界〕本分析法の検出限界及び定量限界を表1に示す。〔註7〕

表1 検出限界及び定量限界

試料	試料量	カルタップ		チオシクロラム	
		検出限界	定量限界	検出限界	定量限界
水質試料	1 l	0.14 $\mu\text{g/l}^{*1}$	0.46 $\mu\text{g/l}^{*1}$	0.09 $\mu\text{g/l}$	0.29 $\mu\text{g/l}$
底質試料	20 g	14.3 $\mu\text{g/kg}^{*2}$	—	4.8 $\mu\text{g/kg}^{*3}$	—
生物試料	20 g	10.9 $\mu\text{g/kg}^{*1}$	—	4.1 $\mu\text{g/kg}^{*4}$	—

*1：ネライストキシンとして検出し、カルタップに換算した（換算係数 1.14）。

*2：ネライストキシン又はチオシクロラムとして検出し、それぞれの検出値をカルタップに換算した（換算係数 チオシクロラム→カルタップ 1.01）。

*3：一部ネライストキシンとして検出し、チオシクロラムに換算した（換算係数 1.13）。

*4：ネライストキシンとして検出しチオシクロラムに換算した（換算係数 1.13）。

試薬・器具

〔試薬〕

ジクロロメタン：残留農薬用

カルタップ：ナノゲン製（塩酸塩）メタノール溶液（1000 $\mu\text{g/ml}$ ）

チオシクロラム：和光製（しゅう酸塩）をエタノールより再結晶して使用した。〔註8〕

ネライストキシン：和光製（しゅう酸塩）を用いた。

ニトロベンゼン- d_5 ：アルドリッチ製を使用した。

0.02N塩酸メタノール溶液：2N塩酸1 mlに対してメタノール100mlの割合に混ぜて使用した。

緩衝液(pH9)：Clark Lubsの緩衝液を用いる。〔註9〕

〔器具〕

ホモジナイザー：ポリトロンホモジナイザーを用いる。

注 解

1) 海水試料の場合、塩酸酸性（pH 1-2）とし塩化ナトリウムは添加しなくてよい。

2) ジクロロメタン洗浄の際に著しい着色あるいは夾雑物が残っていると思われる場合には、ジクロロメタン20mlで再度洗浄する。

3) 分析操作中に、日光の直射を受けないように注意する。

4) 抽出操作を行なう際、エマルジョンが起こり易い試料については、緩やかに振とうすることによりエマルジョンの生成を抑制することができる。また、エマルジョンが生じた場合には、遠心分離（3000rpm）し、水層と有機層を分離する。

5) キャピラリーカラムは、HP-20Mは使用可能であり、その他DB-WAX等のカラムも利用可と考えられる。

- 6) カルタップの場合は、ネライストキシンの検量線より、ネライストキシンしゅう酸塩の重量を求め、これを1.14倍（換算係数）し、カルタップ塩酸塩の重量に換算し試料中のカルタップ塩酸塩の濃度を算出する。また、チオシクラム→カルタップの換算係数は1.01、ネライストキシン→チオシクラムの換算係数は1.13を使用する。
- 7) 検出限界値及び定量限界値の計算結果を表2-1～表2-3に示す。
- 8) チオシクラム中に2～10%のネライストキシンが含まれているので再結晶により精製する。
- 9) 0.1Mホウ酸と0.1M塩化カリウムとの混合液50mlに0.1N水酸化ナトリウム溶液21.3mlを加えて水で100mlに希釈する。

表2-1 水質試料の検出限界

物質名	カルタップ			チオシクラム		
試料濃度度 ($\mu\text{g/l}$)	0.2	0.4	0.6	0.2	0.4	0.6
応答値 (X)	0.086	0.167	0.269	0.170	0.331	0.537
標準偏差 (σ_R)	0.009	0.012	0.011	0.013	0.013	0.014
検出力 (D_n)	0.035	0.066	0.037	0.024	0.037	0.025
検出限界 (D_{X3})		0.138			0.086	
定量限界 (D_{X10})		0.46			0.29	
不偏分散 (F_d)		1.50			1.18	

表2-2 底質試料の検出限界

物質名	カルタップ	チオシクラム
検出限界推定値 ($\mu\text{g/kg}$)	7	4.3
試料濃度 ($\mu\text{g/kg}$)	25	25
分析値 (x)	17.5	14.3
標準偏差 (S c)	4.55	1.53
検出限界 (DL)	14.3	4.8
95%信頼区間	9.15～31.5	3.0～10.6

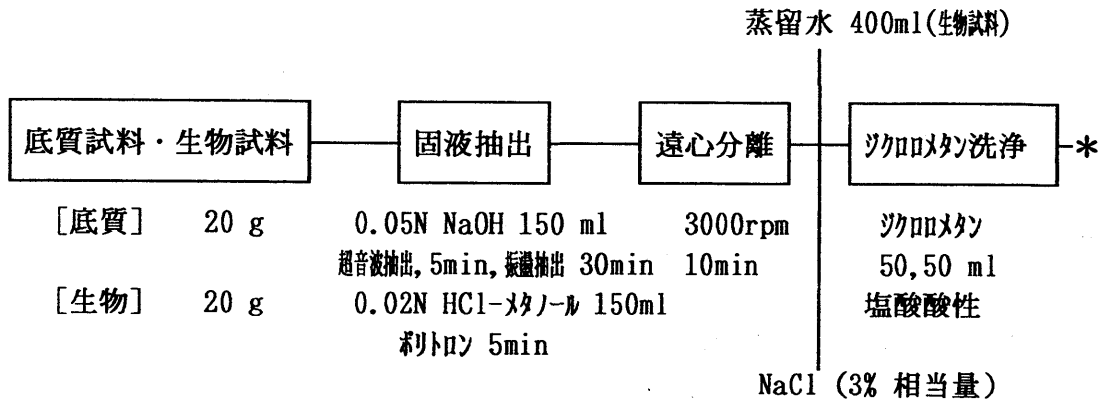
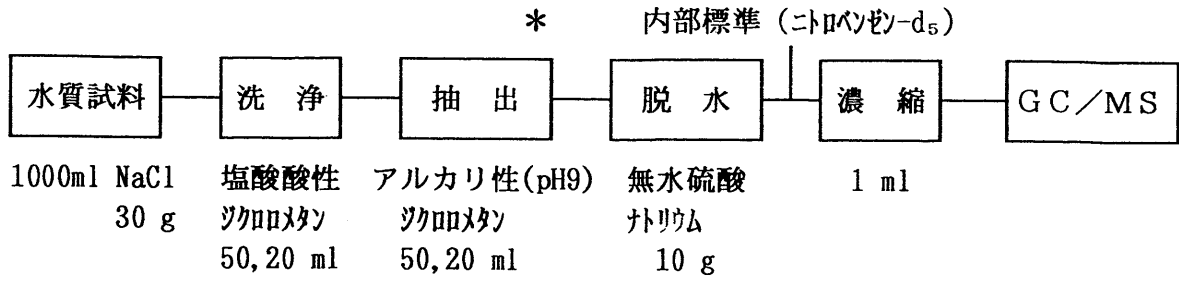
表2-3 生物試料の検出限界

物質名	カルタップ	チオシクラム
検出限界推定値 ($\mu\text{g/kg}$)	7	4.3
試料濃度 ($\mu\text{g/kg}$)	25	25
分析値 (X)	25.1	16.7
標準偏差 (S c)	3.46	1.32
検出限界 (DL)	10.8	4.1
95%信頼区間	6.9～23.9	2.6～9.1

§ 2 解 説

〔分析法〕

〔分析法フローチャート〕



以下、水質の試料*に続く

〔分析法の検討〕

1. 検量線 図1に代表的検量線を示す。

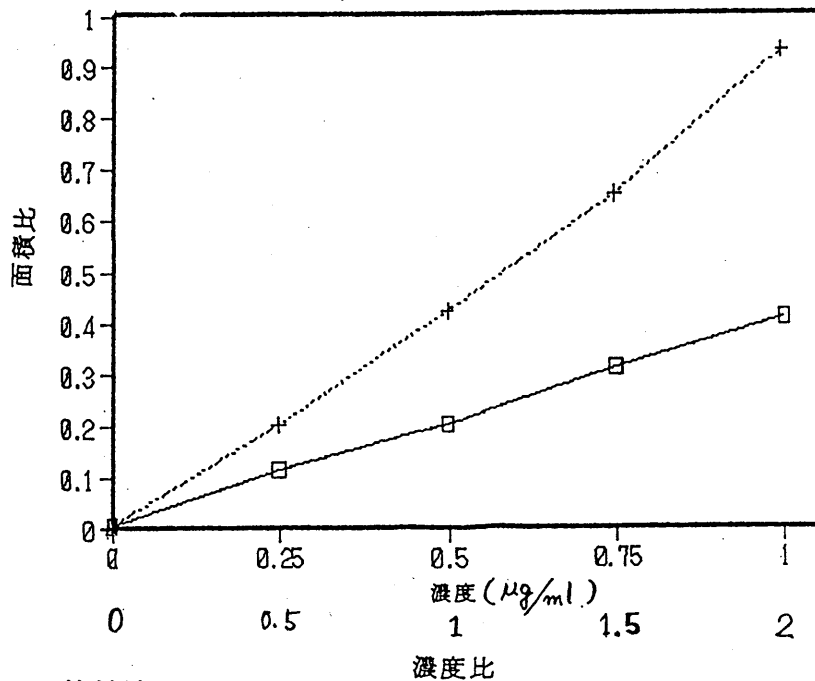


図1 検量線

□：ネライストキシン +：チオシクラム

2. 低濃度添加回収実験結果 水質試料1000ml,底質試料,生物試料20gに標準物質を添加し本分析法にしたがって得られた回収試験結果を表3に示す。

表3. 低濃度添加回収試験結果

試料	試料量 (ml)	添加量 (μ g)	回収率(変動率)(%)	
			カルタップ	チオシクラム
精製水	1000	0.2	NTX 93.5 (10.9)	TC 107 (7.5)
		0.4	NTX 90.5 (6.9)	TC 104 (3.9)
		0.6	NTX 97.3 (3.9)	TC 102 (2.6)
河川水	1000	0.5	NTX 70.8 (5.4)	TC 98.0 (5.3)
海水	1000	0.5	NTX 97.3 (8.5)	TC 103 (3.7)
底質	20g	0.5	TC 26.0 (60)	TC 57.2 (10.7)
			NTX 44.1 (28)	NTX 42.4 (15.0)
生物	20g	0.5	NTX101 (13.8)	NTX 66.8 (7.9)

測定回数：精製水4回,河川水,海水, 4回,底質7回,生物7回

TC：チオシクラム, NTX：ネライストキシン,

3. 分解性スクリーニング試験結果 分解性スクリーニング試験結果を表4に示す。

表4 分解性スクリーニング試験結果 (残存率%)

物質名	カルタップ		チオシクラム	
pH	1時間	5日間	1時間	5日間
		暗所 光照射		暗所 光照射
5	77.5	0 —	99.1	91.2 —
7	0	0 0	96.8	96.0 85.0*
9	0	0 —	103	88.0 —

初期濃度 カルタップ：40 μ g/ml, チオシクラム：50 μ g/ml

*：直射日光で1日当たり1時間照射

4. カルタップ及びチオシクラムの添加回収試験の過程での変化

添加回収試験の結果,カルタップは水及び生物中では,すべてネライストキシンに変化し,底質中ではチオシクラム及びネライストキシンに変化した。チオシクラムは,水質及び底質中では一部ネライストキシンに変化し,生物中ではすべてネライストキシンに変化した。底質中でのカルタップからチオシクラムへの変化を確認するため,カルタップの水溶液に硫化水素を添加した結果,チオシクラムの生成が認められた。このように,カルタップ及びチオシクラムは環境中で加水分解,酸化,光分解,硫化物との反応等の変化を受け図2に示すようなルートでネライストキシンが生成するものと推定される。

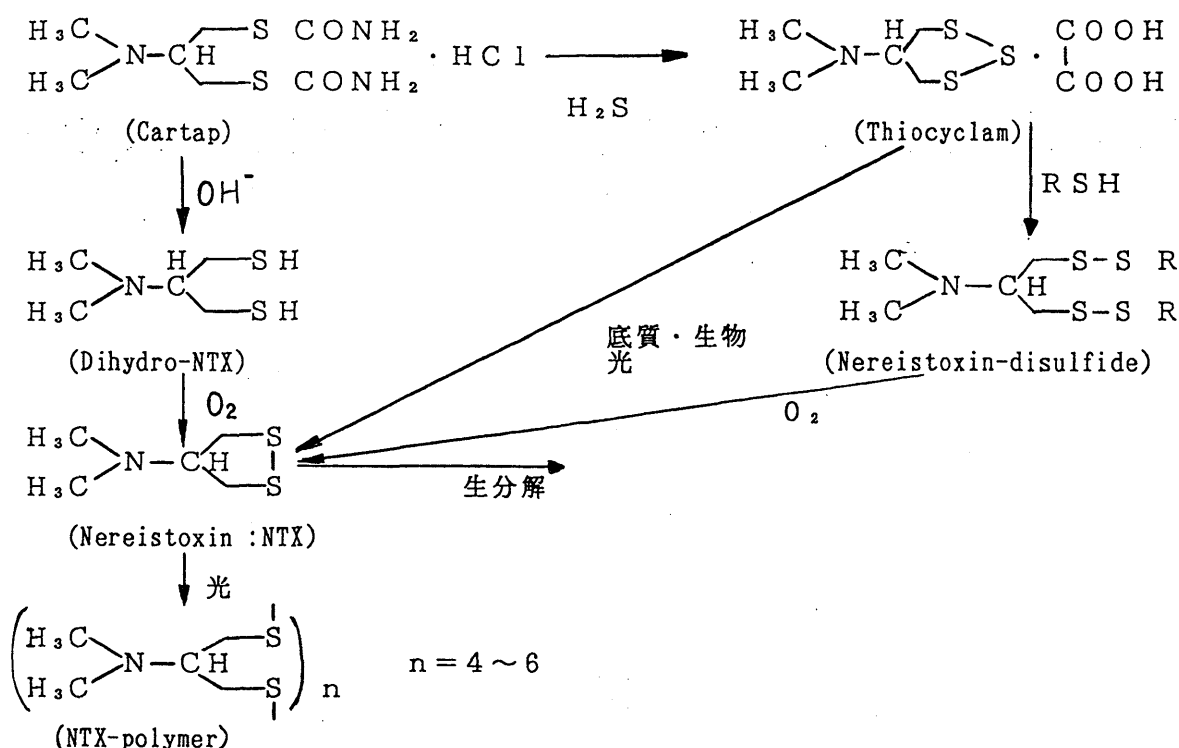


図2 Scheme for reaction of NTX related compounds

5. カルタップ, チオシクラム及びネライストキシンの抽出に及ぼす pH の影響

カルタップ, チオシクラム及びネライストキシンの抽出に及ぼす pH の影響を調べた。塩化ナトリウム 30g を添加し種々の pH に調整した溶液について、ジクロロメタン抽出を行った。その結果、図 3 に示すように、pH 9 以上で抽出率は、95-100% を示した。また pH 2 以下では抽出されないため、塩酸性下で夾雑物の除去が可能であった。

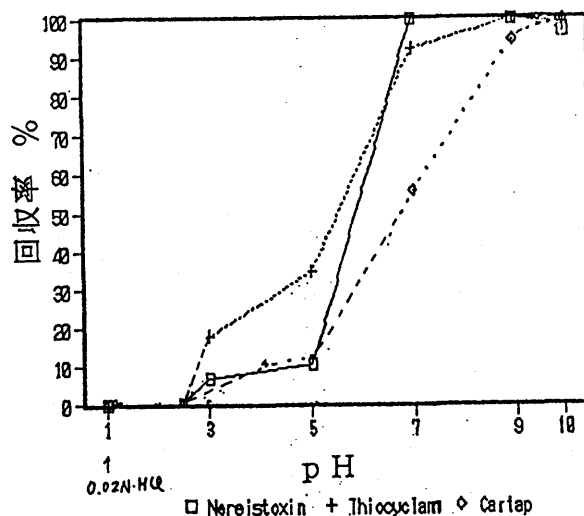


図3 抽出に及ぼす pH の影響

6. 振とう時間の影響

アルカリ性とした後、振とう時間によるカルタップのネライストキシンとしての回収率に及ぼす影響を検討したところ、5 分以上の振とう時間で 95 % 以上の回収率が得られた。したがってカルタップの場合にはアルカリ性とした後、ジクロロメタンを加える前に 10 分間振とうすることとした。

7. マススペクトル

ネライストキシシン及びチオシクラムのマススペクトルを図4-1及び4-2に示す。カルタップについては直接導入法でマススペクトルの測定を試みたがマススペクトルは得られなかった。チオシクラムの分子イオンでモニターするとバックグラウンドが高かったため、定量のモニターイオンは両物質に共通のフラグメントイオンである m/z 71 ($\text{CH}_2\text{-CH-N(CH}_3)_2^+$) を使用した。また、確認用としてチオシクラムについては135ネライストキシシンについては149をモニターした。

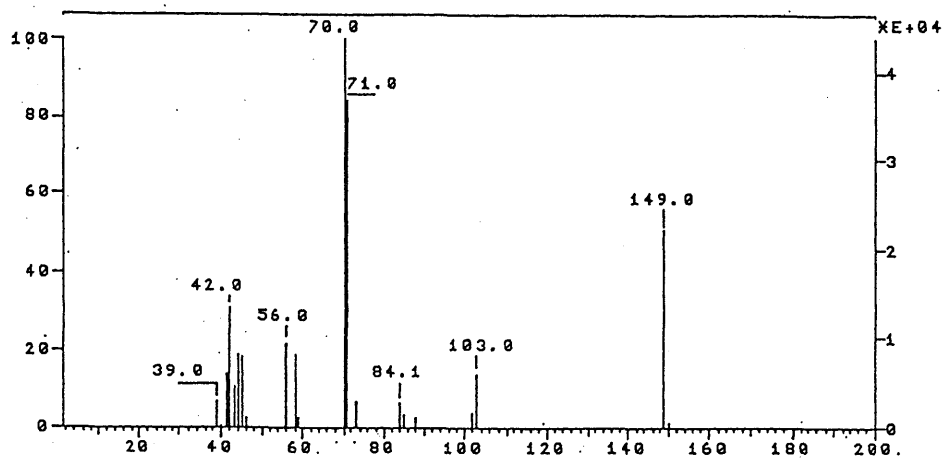


図4-1 ネライストキシシンのマススペクトル

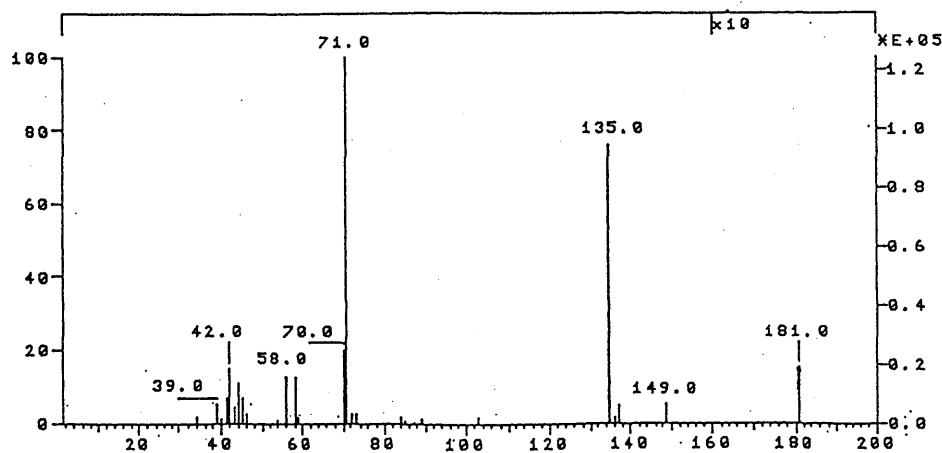
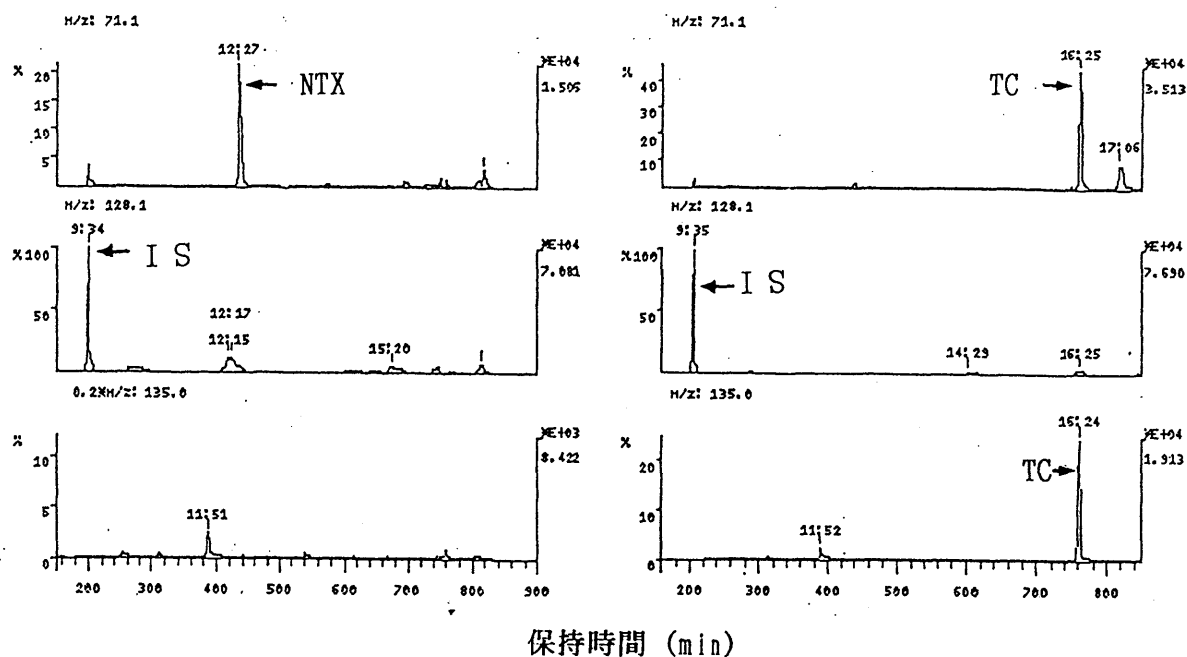


図4-2 チオシクラムのマススペクトル

8. GC/MS MIDクロマトグラム

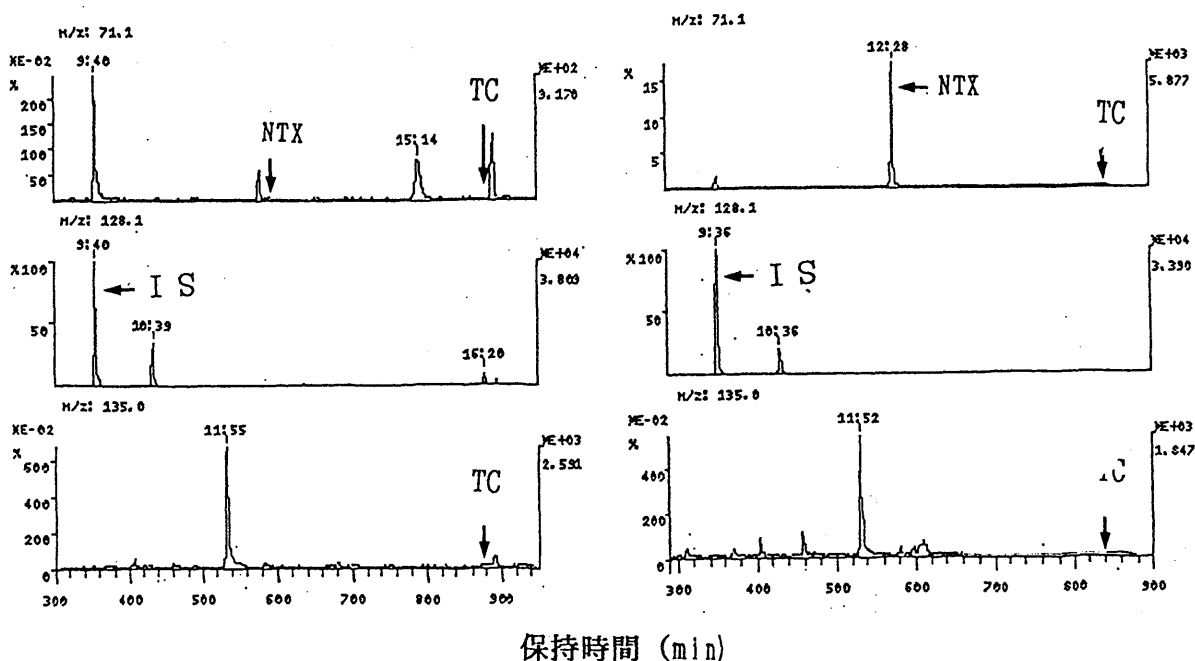
図5に代表的なGC/MS SIMクロマトグラムを示す。



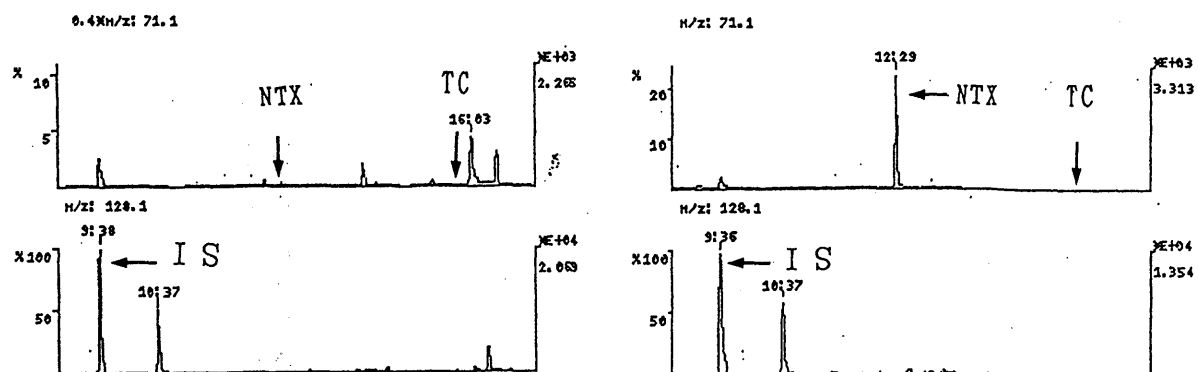
ネライストキシシン
図5 標準品のGC/MS SIMクロマトグラム
チオシクラム (TC)

〔環境試料の分析〕

福岡県内の河川水、海水、及び東京湾底質及び生物試料 (スズキ) について分析を行なったが、いずれの試料からも検出されなかった。図6～図13に環境試料のGC/MS SIMクロマトグラムを示す。



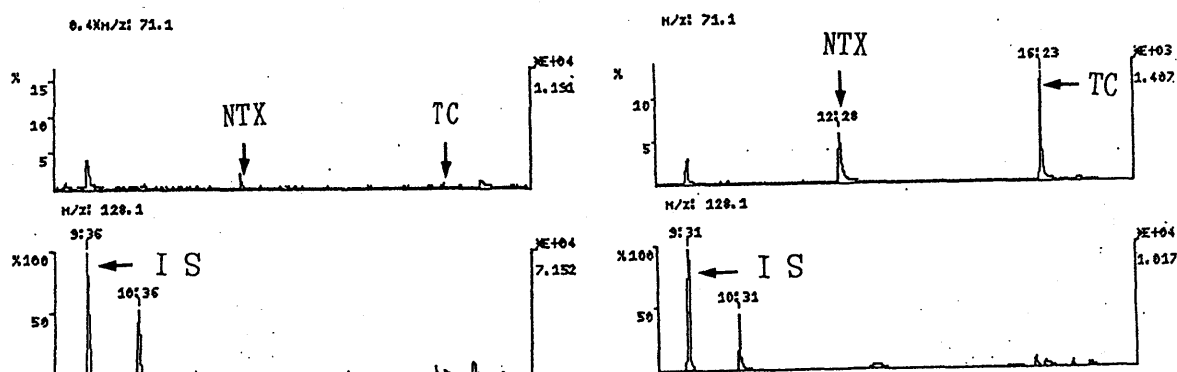
無添加
図6 海水試料のGC/MS SIMクロマトグラム
カルタップ添加 0.5 μg



保持時間 (min)

無添加 カルタップ添加 0.5μg

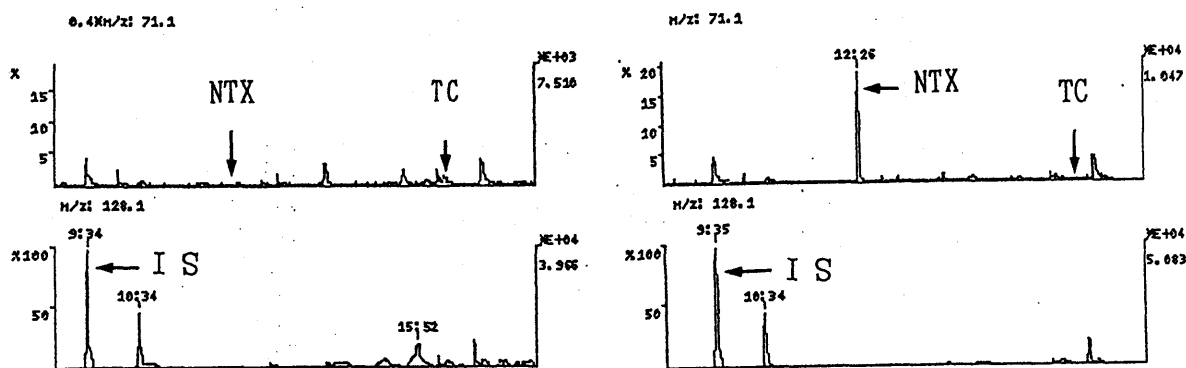
図7 河川水試料のGC/MS SIMクロマトグラム



保持時間 (min)

無添加 カルタップ添加 0.5μg

図8 東京湾底質試料のGC/MS SIMクロマトグラム



保持時間 (min)

無添加 カルタップ添加 0.5μg

図9 生物試料 (スズキ) のGC/MS SIMクロマトグラム

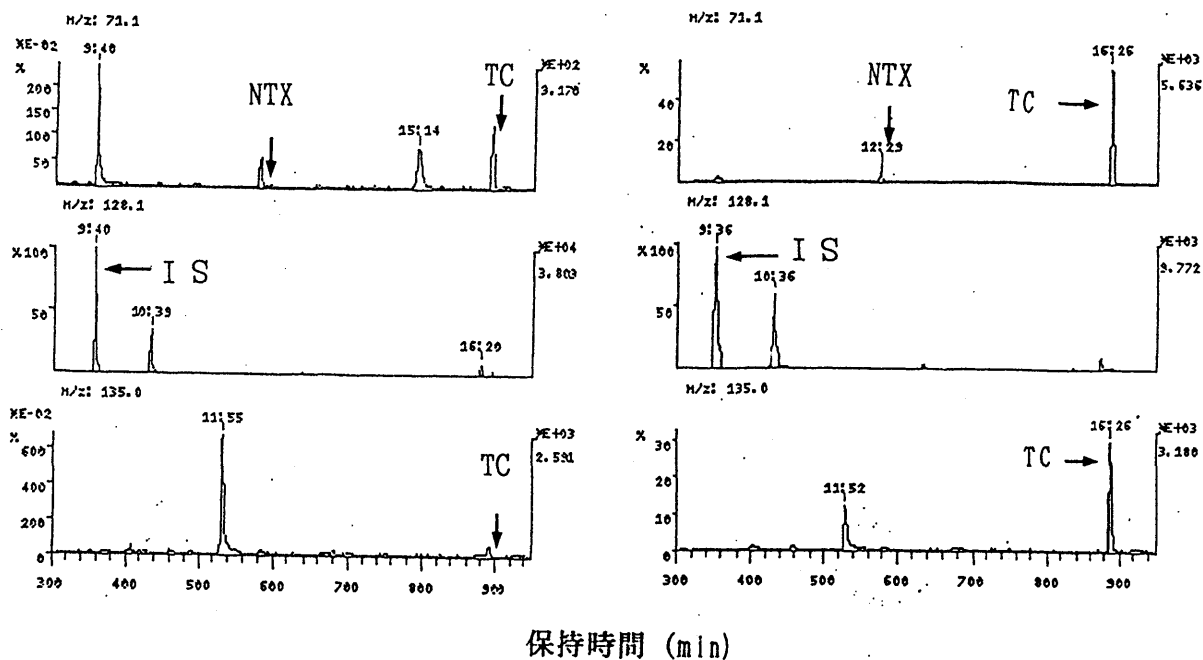


図10 海水試料のGC/MS SIMクロマトグラム

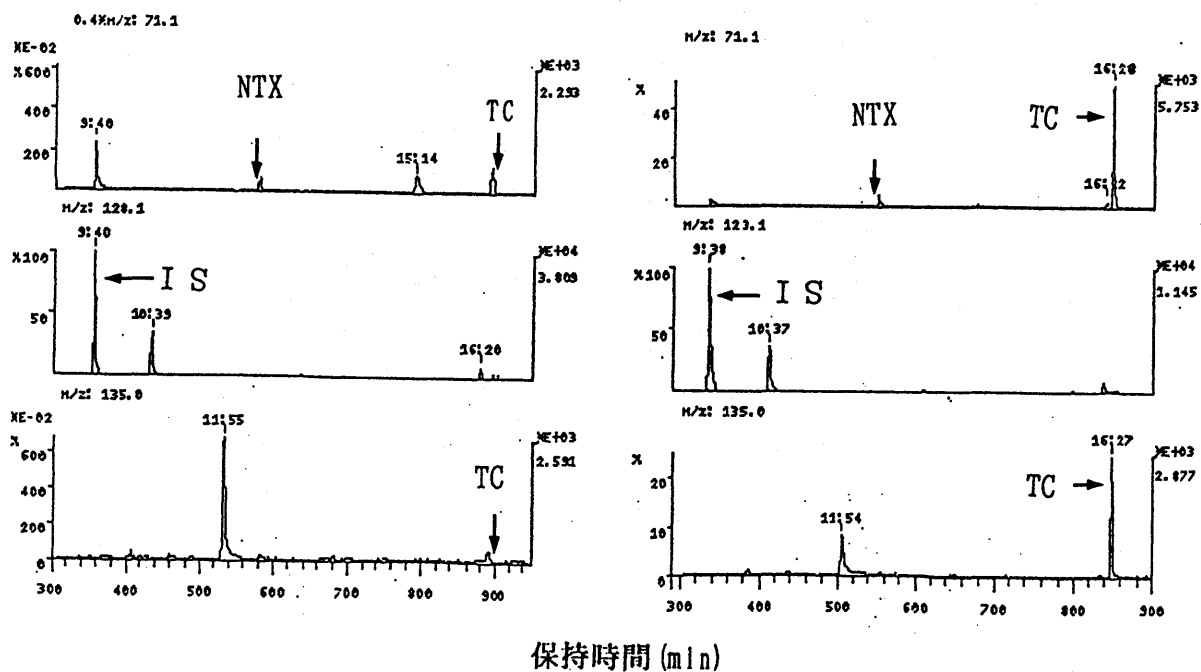
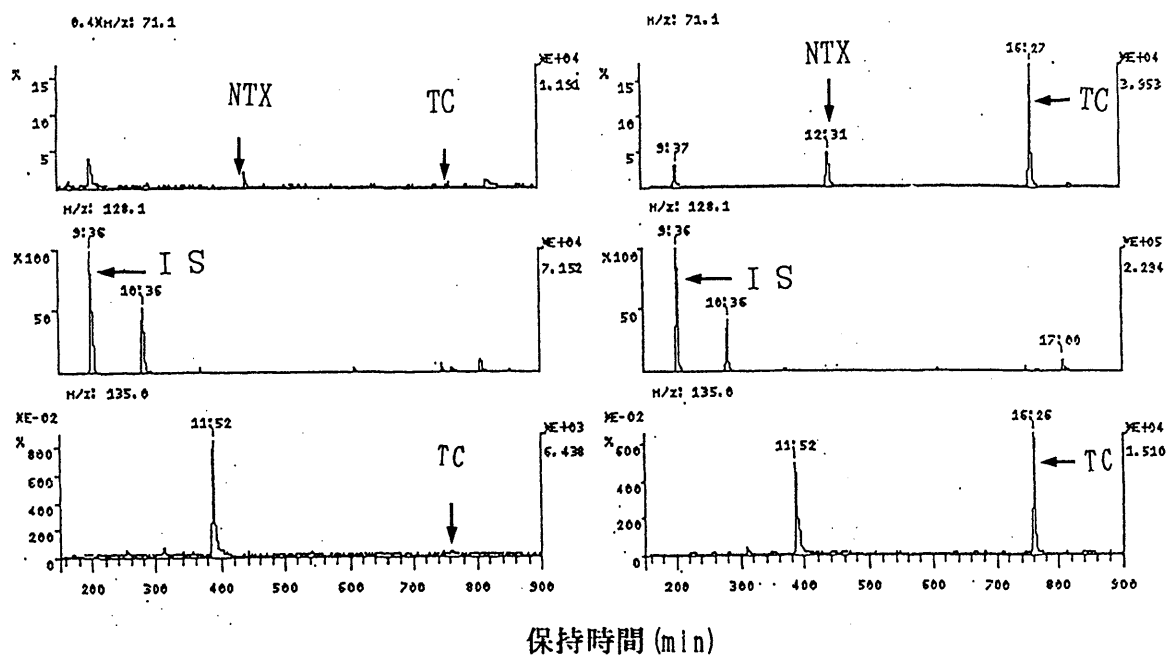
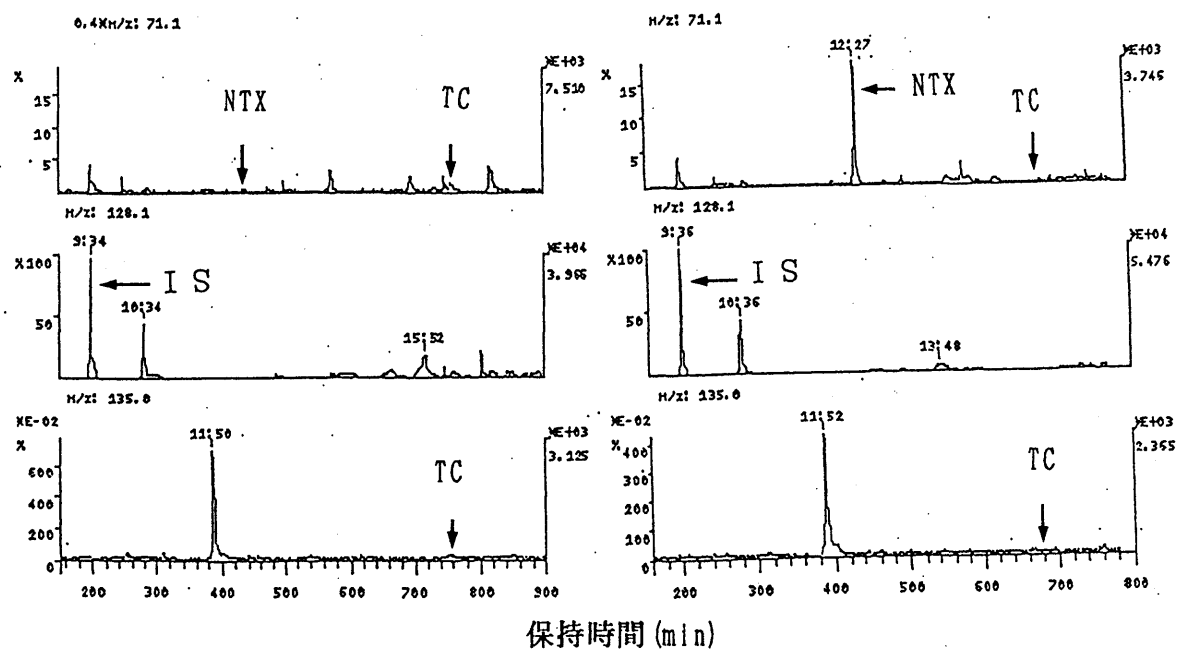


図11 河川水試料のGC/MS SIMクロマトグラム



無添加 TC添加
図12 東京湾底質試料のGC/MS SIMクロマトグラム



無添加 TC添加
図13 生物試料 (スズキ) のGC/MS SIMクロマトグラム

【評価】

カルタップは環境試料に添加すると、水質試料及び生物試料ではすべてネライストキシンに変化し、底質試料ではチオシクロラムとネライストキシンに変化し、再現性も悪く（変動率60%）、カルタップを分析することは出来なかった（カルタップの分析法としては、陽イオン交換樹脂濃縮-HP LC法が報告されている：参考文献4）。チオシクロラムは水質試料に添加した場合、変化しなかったが、生物試料の場合、すべて、ネライストキシンに変化し、東京湾底質試料の場合、一部ネライストキシンに変化した。以上のようにカルタップ及びネライストキシンは環境中で変化し、最終的に環境中に残留する可能性がある物質はネライストキシンまたはチオシクロラムと推定される。しかし、ネライストキシンまたはチオシクロラムが環境試料より検出された場合その由来を判別することは困難である。なお、ここにはデータとして示さなかったが、ネライストキシンについても本分析法による回収率は85%以上（水質試料）を示し、環境試料中に存在するppbレベルのネライストキシン及びチオシクロラムを測定することが可能である。

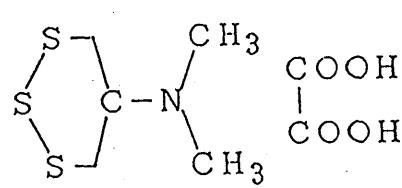
参考文献

- 1) 後藤真廉, 加藤誠哉, 残留農薬分析法, (1980) (ソトサイエンス社).
- 2) 後藤真廉, 加藤誠哉, 増補 残留農薬分析法, (1987) (ソトサイエンス社).
- 3) 環境庁告示第72号, 昭和56年8月5日, カルタップ, チオシクロラムの試験法. (1981).
- 4) 宇野正清, 陰地義樹, 農沢宗利, 中平宏志, 谷川薫, 奈良県衛生研究所年報, No.17, 90 (1983).

担当者 久富 啓次, 松枝 隆彦, 永瀬 誠, 大崎 靖彦

物質名	分析法フローチャート	備考
カルタップ チオシクラム	(水質) <pre> graph LR A[試料 1 l] --> B[液液抽出 (洗浄)] B --> C[液液抽出 (ツクロメタン)] C --> D[濃縮] D --> E[GC-MS] </pre>	GC-MS-SIM カラム: OV-1701 カルタップ 検出限界 水質: 0.14 $\mu\text{g/l}$ 底質: 14.3 $\mu\text{g/kg}$ 生物: 10.9 $\mu\text{g/kg}$
	(底質) <pre> graph LR A[試料 20 g] --> B[アルカリ抽出] B --> C[液液抽出 (洗浄)] C --> D[液液抽出 (ツクロメタン)] D --> E[濃縮] E --> F[GC-MS] </pre>	
	(生物) <pre> graph LR A[試料 20 g] --> B[塩酸メタノール抽出] B --> C[液液抽出 (洗浄)] C --> D[液液抽出 (ツクロメタン)] D --> E[濃縮] E --> F[GC-MS] </pre> (福岡県)	
		チオシクラム 検出限界 水質: 0.09 $\mu\text{g/l}$ 底質: 4.8 $\mu\text{g/kg}$ 生物: 4.1 $\mu\text{g/kg}$

研究機関名	福岡県衛生公害センター					
担当者名	久富 啓次， 松枝 隆彦， 永瀬 誠， 大崎 靖彦					
性状項目	n-オクタノール／水分配係数					
化学物質名	カルタップ					
測定法	フラスコ振とう法					
測定結果	1.02 (pH9) (25℃)			測定回数 3 回		
試薬とその純度 ナノゲン製：カルタップ塩酸塩メタノール液				構造式 $(\text{CH}_3)_2\text{NCH}(\text{CH}_2\text{SCONH}_2)_2 \cdot \text{HCl}$		
測定条件 分析機器 島津GC-7A (FPD-S) 分析条件 カラム：10%PEG-20M Unipor tHP キャリアーガス：N ₂ 40ml/min 温度：カラム：190℃ 注入口：250℃						
測定法の概要 * 所定方法に準じてオクタノール層をメタノールで希釈し、水層は、ジクロロメタンで抽出しGCで定量した。						
標準溶液の調整 標準物質のメタノール溶液をメタノールで希釈したものを用いた。 (1～5 μg/ml 溶液)						
測定結果 (log Pow) (pH9)						
測定回数	1	2	3	4	平均値	標準偏差
測定値	1.03	1.00	1.02		1.02	0.015
その他 * 遠心分離：30分間，3000rpm						

研究機関名	福岡県衛生公害センター					
担当者名	久富 啓次, 松枝 隆彦, 永瀬 誠, 大崎 靖彦					
性状項目	n-オクタノール／水分配係数					
化学物質名	チオシクラム					
測定法	フラスコ振とう法					
測定結果	1.86 (pH9) (25℃)	測定回数 3 回				
試薬とその純度 和光純薬製：チオシクラムしゅう酸塩精製品		構造式 				
測定条件 分析機器 島津GC-7A (FPD-S) 分析条件 カラム：10%PEG-20M Unipor t HP キャリアーガス：N ₂ 40ml/min 温度：カラム：190℃ 注入口：250℃						
測定法の概要 * 所定方法に準じてオクタノール層をメタノールで希釈し、水層は、ジクロロメタンで抽出し、GCで定量した。						
標準溶液の調整 標準物質のメタノール溶液をメタノールで希釈したものを用いた。 (1～5 μg/ml 溶液)						
測定結果 (log Pow) (pH9)						
測定回数	1	2	3	4	平均値	標準偏差
測定値	1.89	1.83	1.86		1.86	0.03
その他 *遠心分離：30分間, 3000rpm						