

化学物質による汚染の調査手法に関する基礎的研究 (第8報)

—ゴルフ場使用農薬追加5項目を含む固相抽出による農薬の一斉分析について—

Fundamental Study on the Research Methods of the Pollutions by Chemical Substances (VIII)

- Analysis of Pesticides including Additional 5 Compounds using Solid-Phase Extraction -

西岡 信浩 三好 益美 久保 正弘
Nobuhiro NISHIOKA Masumi MIYOSHI Masahiro KUBO

A solid-phase extraction method was examined for simultaneously determination of 31 pesticides and 2 decomposition products. 31 pesticides including metalaxyl, dithiopyr, pyributicarb and a decomposition product of triclopyr, triclopyr butoxyethyl were condensed to SPE-ENV/124 and eluted with dichloromethane. The recoveries were more than approximately 70%. 5 pesticides including triclopyr were condensed to SPE-ENV/124 and eluted with acetonitrile. The recoveries except for oxine-copper were good. Acephate and a decomposition product of Acephate, methamidphos were condensed to SPE-ENV/124 and eluted with acetone. This method was successfully applied to monitoring of the pesticides in environmental water.

はじめに

環境汚染の一因にゴルフ場使用農薬の問題があり、これまでに30農薬について暫定指導指針¹⁾が定められていたが、ゴルフ場での使用状況等を考慮し、平成9年4月に新たに5農薬(アセフェート、メタラキシル、ジチオピル、トリクロピル及びピリブチカルブ)について指針値が設定され、計35農薬について暫定指導指針²⁾が定められた。

追加5農薬のうちアセフェート及びトリクロピルにおいてはそれぞれの分解生成物であるメタミドホス、トリクロピルブトキシエチルについても分析することが示されている。また、多数の農薬を同時に前処理できる多成分同時分析法²⁾も新たに示されている。この多成分同時分析法は表3に示したように、まず、対象農薬をGCもしくはHPLCのどちらにより分析するかで分類し、GC分析を行う農薬については、更に抽出方法により固相抽出(C18シリカゲルミニカラムの後段に活性炭カラムを連結)もしくは溶媒抽出(酢酸エチル)に分類している。また、メタミドホスについては、試料を直接濃縮する方法など系統分けが複雑であり、抽出操作が困難で時間がかかるという問題がある。

そこで、水戸部らは追加5農薬について固相カートリッジを用いた抽出による分析法の検討³⁾を行っており、当センターにおいても、第2報においてジクロロメタン抽出による一斉分析法、及びオキシシン銅等3農薬の固相

抽出法⁴⁾、第6報においてアセフェートなど水溶性農薬の固相抽出を用いた分析法の検討⁵⁾を行ってきた。

今回、より容易に抽出を行うため、追加5農薬及び2分解生成物を含む指針値農薬35物質と指針値に定められていない1物質を含む計38種の農薬の固相抽出による分析の検討を行ったので、その結果について報告する。

調査方法

1. 分析対象農薬

分析対象農薬38種を表1に示す。

2. 試薬

- 1) 農薬標準品: 和光純薬, Riedel-de Haën, ナノゲン, 住友化学, チバガイギー, 東ソー, 林純薬, ジーエルサイエンス社製の農薬標準品を使用した。
- 2) 内部標準: Aldrich Chem. Co.製のアントラセン-d₁₀及びC.I.L製のp-ターフェニル-d₁₄を使用した。
- 3) 固相抽出カートリッジ: YOKOGAWA製のスチレンジビニルベンゼン/メタクリレート系ポリマーを充填したSPE-ENV/124 (8ml, 250mg)及びWaters製の活性炭を充填したSep-Pak Plus AC-2を使用した。
- 4) その他の試薬: ジクロロメタン, アセトン, 無水硫酸ナトリウムは和光純薬製の残留農薬試験用を使用した。アセトニトリルは和光純薬製のチウラム測定用及

び高速液体クロマトグラフ用を使用した。塩酸，リン酸，水酸化ナトリウム，リン酸二水素カリウムは和光純薬製の特級試薬を使用した。

3. 装置

GC/MS: 島津QP-5000

HPLC: HITACHI L-6000 Pump, L-4250 UV-VIS
Detector

GC/FPD: 島津GC-14A

4. GC/MS及びHPLCの測定条件

1) HPLC測定条件

カラム: Waters GOLF PAK 6mm×150mm

カラム温度: 40°C

溶離液: 10mM KH₂PO₄ : CH₃CN =13:7

FLOW: 2ml/min

検出波長: 272nm(0-5min)-230nm(5-21min)

2) GC/MS測定条件

カラム: SPB-5 0.32mm×30m 0.25μm

カラム温度: 70°C(2min)-15°C/min-160°C

(0min)-10°C/min-280°C(3min)

注入口温度: 240°C(スプリットレス)

キャリアーガス: He 50kPa

インターフェイス: 240°C

イオン源温度: 180°C

イオン化電流: 60μA

イオン化電圧: 70eV

3) GC/FPD測定条件①

カラム: DB-1701 0.53mm×15m 0.25μm

カラム温度: 70°C(1min)-20°C/min-270°C

注入口温度: 100°C(スプリットレス)

キャリアーガス: He, 0.75kg/cm²

検出器: FPD(Pフィルター), 280°C

メイクアップガス: N₂, 0.5kg/cm²

水素: 0.7kg/cm²

空気: 0.7kg/cm²

4) GC/FPD測定条件②

カラム: PTE-5 0.25mm×5m 0.25μm

カラム温度: 100°C(1min)-20°C/min-280°C

注入口温度: 200°C(スプリットレス)

キャリアーガス: He, 0.75kg/cm²

検出器: FPD(Pフィルター), 280°C

メイクアップガス: N₂, 0.5kg/cm²

水素: 0.7kg/cm²

空気: 0.7kg/cm²

5) GC/FPD測定条件③

カラム: DB-1701 0.53mm×15m 0.25μm

カラム温度: 100°C(1min)-20°C/min-280°C

注入口温度: 250°C(スプリットレス)

キャリアーガス: He, 0.75kg/cm²

検出器: FPD(Pフィルター), 280°C

メイクアップガス: N₂, 0.5kg/cm²

水素: 0.7kg/cm²

空気: 0.7kg/cm²

表1 分析対象農薬

用途	農 薬 名	
殺虫剤	アセフェート (メタミドホス) イソキサチオン イソフェンホス クロルピリホス	ダイアジノン トリクロルホン(DEP) ピリダフェンチオン フェントロチオン(MEP)
殺菌剤	イソプロチオラン イプロジオン エトリジアゾール オキシシン銅 キャプタン クロロタロニル(TPN) クロロネブ	チウラム トルクロホスメチル フルトラニル ペンシクロン メタラキシル メプロニル プロピコナゾール*
除草剤	アシュラム ジチオビル シマジン(CAT) テルブカルブ(MBPMC) トリクロピル (トリクロピルブトキシエチル) ナプロパミド ピリブチカルブ	ブタミホス プロピザミト ベンスリド(SAP) ベンディメタリン ベンフルラリン メコプロップ(MCPP) メチルダイムロン

*暫定指導指針の設定のない農薬

5. 分析方法

分析方法を表2に示す。

方法1としては横河アナリティカルシステムズ株式会社の固相抽出カートリッジカタログの抽出方法を参考に、固相抽出による分析の検討を行った。

方法2では第2報で古川ら⁴⁾が報告したオキシシン銅等の

抽出方法を若干変更し分析を行った。

方法3では第6報で久保ら⁵⁾が報告したアセフェートの抽出方法により分析を行った。

また、環境庁が示した多成分同時分析法との比較を表3に示す。

表2 分析方法

方法	農薬名	分析フロー
1	イフフェンホス等 31種	試料 250 mL → 固相抽出 (SPE-ENV/124) → 遠心 (2700rpm, 5min) → 溶出 (ジクロロメタン 5 mL, メタノール 5 mL, 蒸留水 5 mL) → N ₂ → 定容 (1 mL) → GC/MS 29種 *1 (注入量: 2 μL) / GC/FPD ① 1種 *2 / ② 1種 *3 (注入量: 2 μL)
2	チラム アシュラム オキシシン銅 メコプロップ トリクロピル	試料 250 mL → pH3.5 → 固相抽出 (SPE-ENV/124) → 遠心 (2700rpm, 5min) → 溶出 (アセトニトリル 10 mL, 蒸留水 20 mL) → N ₂ → 定容 (1 mL) → HPLC (注入量: 20 μL)
3	アセフェート メタミドホス	試料 250 mL → 固相抽出 (AC-2) → 遠心 (2700rpm, 5min) → 溶出 (アセトン 50 mL) → 濃縮 → N ₂ → 定容 (1 mL) → GC/FPD ③ (注入量: 2 μL)

- * 1 イキサチオン、イフフェンホス、クロピリホス、ダインジノン、ピリダフェンチオン、フェエトチオン、イプロチオン、イプロジオン、エトリジアール、キアタン、クロタロニル、クロネブ、トリクロメスチル、フルトラニル、ペンシクロン、メタキシル、メプロニル、プロトコサール、ジチゼル、シマジン、テルブカルブ、トリクロピル、トキシフェル、ナプロミド、ピリプロチル、ブタミホス、プロピザミド、ペンディメタリン、ベンフルラン、メタライロン、
- * 2 トリクロピル
- * 3 ベンスト
- * 4 アセフェート、メタミドホス

表3 分析方法の比較

Method	抽出方法	抽出溶媒	分析機器	追加農薬
Method1	固相抽出 SPE-ENV/124 (YOKOGAWA 製 スチレンジニルベンゼン/メタクリレート系ポリマー) 横河アナリティカルシステムズの 固相抽出カートリッジカタログ参照	ジクロロメタン	GC/MS 29種 GC/FPD 2種	ジチゼル メタキシル ピリプロチル (トリクロピル、トキシフェル)
Method2	固相抽出 SPE-ENV/124 (YOKOGAWA 製 スチレンジニルベンゼン/メタクリレート系ポリマー) オキシシン銅等の抽出方法 (第2報 古川ら)	アセトニトリル	HPLC 5種	トリクロピル
Method3	固相抽出 Sep-Pak Plus AC-2 (Waters 製、活性炭) アセフェートの抽出方法 (第6報 久保ら)	アセトン	GC/FPD 2種	アセフェート (メタミドホス)
環境庁 多成分 同時 分析法	1 固相抽出 スチレンジニルベンゼン共重合体	アセトニトリル 最終 水: アセトニトリル 13:7	HPLC 5種 *1	トリクロピル
	2 固相抽出 C18 シリカ カラムの後段に 活性炭カラムを連結	C18カラム アセトン/アセトニトリル (最終アセトン) 活性炭カラム メタノール (最終アセトン)	GC/MS 25種 *2 GC/MS (GC/FPD) 2種 *3	メタキシル ジチゼル (トリクロピル、トキシフェル) アセフェート
	3 溶媒抽出	酢酸エチル (最終アセトン)	GC/MS (GC/ECD, FTD, NPD) 4種 *4	ピリプロチル
	4 試料を直接濃縮	---	GC/MS (GC/FPD) 1種 *5	(メタミドホス)

- * 1 アシュラム、オキシシン銅、チラム、トリクロピル、メコプロップ
- * 2 イキサチオン、イフフェンホス、クロピリホス、ダインジノン、ピリダフェンチオン、フェエトチオン、イプロチオン、イプロジオン、キアタン、クロタロニル、トリクロメスチル、フルトラニル、ペンシクロン、メタキシル、メプロニル、ジチゼル、シマジン、テルブカルブ、トリクロピル、トキシフェル、ナプロミド、ブタミホス、プロピザミド、ペンディメタリン、メタライロン、ベンスト
- * 3 アセフェート、トリクロピル
- * 4 エトリジアール、クロネブ、ピリプロチル、ベンフルラン
- * 5 メタミドホス

結果及び考察

1. 方法1による農薬分析について

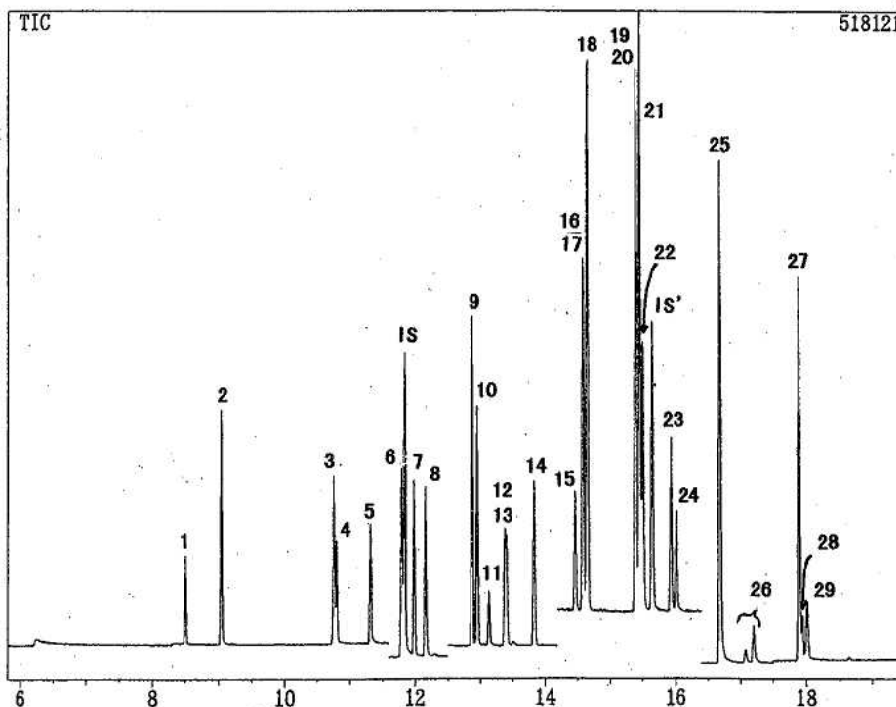
今回の対象農薬のうち方法1で分析を行った農薬は31種である。これらの分析方法は表2に示すとおりであり、そのうちトリクロロホン、ベンスリドはGC/FPDで測定を行い、それ以外の29種はGC/MSで測定を行った。

方法1としては横河アナリティカルシステムズ株式会社の固相抽出カートリッジカタログの抽出方法を参照し、固相カートリッジとしてスチレンジビニルベンゼン/メタクリレート系ポリマーを充填したYOKOGAWA製のSPE-ENV/124を使用した。脱水はカラムに無水硫酸ナトリウムを8g程度充填し、抽出液を通し行った。追加農薬であるメタラキシル、ジチオピル、ピリプチカルブ及び分解生成物であるトリクロピルプトキシエチルもこの方法により検討を行った。測定方法としてトリクロピルプトキシエチルは、HPLC法としても測定法が示されているが、HPLC法では感度がGC/MSに比べ低く、また検出に際しての確認が難しいため、GC/MSによる測定を検討した。GC/MSでの測定において、トリクロピルプトキシエチル以

外は、第2報で古川ら⁴⁾が報告した測定条件を参考にし、まずSCAN測定を行い得られたマスパターンを参考にし、SIM測定には、ターゲットイオンとして182、リファランスとして85及び210を使用した。そのTICを図1に示す。

一方、トリクロロホンについては、GC/MS測定条件に示した方法では分解する可能性があるため、GC/FPD測定条件①により、また、ベンスリドについてはGC/MSでの感度が不十分であるため、GC/FPD測定条件②により分析を行った。

以上の分析方法により、湖沼水250mlを用い、これに混合標準液濃度10mg/mlのアセトン溶液100 μ l(混合農薬各1 μ g)を添加し回収実験を行った結果を表4に示す。変動係数が若干高いものもあるが、全体として良好な回収率が得られ、環境庁が示した多成分同時分析法における溶媒を用いたピリプチカルブを含む農薬4種の抽出は、固相カートリッジを用いることで1系統省略できることがわかった。



- 1: エトリジブアール, 2: クロロネブ,
- 3: ペンソクロ, 4: ペンソフルリン,
- 5: シマジン, 6: プロピザミド,
- 7: ダイジリン, 8: クロタクロル
- 9: テルブカルブ, 10: トルホホスメチル,
- 11: メタラキシル, 12: ジチオピル,
- 13: フェントロチオン, 14: クロルピリホス,
- 15: ペンデイメタリン, 16: キアブタン,
- 17: メチルダィムン, 18: イソフェノス,
- 19: プロタミス, 20: ナプロハミド,
- 21: フルトラニル, 22: イソプロチオラン
- 23: トリクロピル-2-プロトキシエチル,
- 24: イソキチオン, 25: メプロニル,
- 26: プロピコナゾール, 27: ピリプチカルブ,
- 28: イソジオン, 29: ピリタフェチオン,
- IS: プロトレン-d₁₀, IS': ターフェニル-d₁₄

図1 GC/MS (SIM)によるTIC

表4 添加回収結果

用途	農薬名	モニターイオン	方法 1		方法 2		方法 3	
			回収率 (%)	CV(n=5) (%)	回収率 (%)	CV(n=5) (%)	回収率 (%)	CV(n=5) (%)
殺虫剤	アセフェート (メタミトホス)	—	—	—	—	—	80	5.4
	イソキサチオン	105,313	105	6.0	—	—	75	8.6
	イソフェンホス	213,121	100	2.6	—	—	—	—
	クロルピリホス	197,314	101	6.7	—	—	—	—
	ダイアジノン	304,179	102	5.2	—	—	—	—
	トリクロロホン (DEP)	—	100	10.0	—	—	—	—
	ピリダフェンチオン	340,199	108	5.2	—	—	—	—
殺菌剤	フェントロチオン (MEP)	277,260	101	8.7	—	—	—	—
	イソプロチオラン	162,290	101	2.6	—	—	—	—
	イプロシオン	314,187	114	6.8	—	—	—	—
	エトリジアゾール	211,183	83	8.6	—	—	—	—
	オキシシン銅	—	—	—	64	26.6	—	—
	キャブタン	79,149	96	1.6	—	—	—	—
	クロタロニル (TPN)	266,264	103	5.9	—	—	—	—
	クロネブ	191,206	85	6.7	—	—	—	—
	チウラム	—	—	—	77	9.3	—	—
	トルクロホスメチル	265,267	97	6.4	—	—	—	—
	フルトラニル	173,323	104	3.4	—	—	—	—
	ベンシクロン	125,209	124	12.6	—	—	—	—
	メタラキシル	206,249	122	8.1	—	—	—	—
	メプロニル	119,269	104	3.5	—	—	—	—
プロピコナゾール	173,259	92	8.5	—	—	—	—	
除草剤	アシュラム	—	—	—	119	6.4	—	—
	ジチオビル	354,306	104	7.8	—	—	—	—
	シマジン (GAT)	201,186	111	9.4	—	—	—	—
	テルブカルブ (MBPMC)	205,220	109	8.1	—	—	—	—
	トリクロビル	—	—	—	123	5.1	—	—
	(トリクロビル)プロキシエチル	182,85,210	94	4.7	—	—	—	—
	ナプロパミド	271,128	106	3.2	—	—	—	—
	ピリプロチカルブ	165,330	90	2.8	—	—	—	—
	ブタミホス	286,200	110	4.0	—	—	—	—
	プロピザミド	173,255	103	7.2	—	—	—	—
	ベンスリト (SAP)	—	98	7.6	—	—	—	—
	ベンディメタリン	252,162	85	4.1	—	—	—	—
	ベンフルラリン	292,264	77	6.7	—	—	—	—
	メコプロップ (MOPP)	—	—	—	107	9.0	—	—
メチルダイムロン	107,268	95	4.2	—	—	—	—	

2. 方法2による農薬分析について

方法2で分析を行った農薬は追加農薬であるトリクロビルを含む5種である。測定条件としては第2報で報告したオキシシン銅等の条件を参考にし、溶離液 50 mM KH₂PO₄ (pH3.3) : CH₃CN = 55 : 45を使用した。図2に示すようにオキシシン銅、トリクロビル、メコプロップの分離

が悪かった。そこで、溶離液を10mM KH₂PO₄ (pH3.3) : CH₃CN = 13 : 7に変えて行ったところ、図3に示すように上記3種の農薬の分離が可能となった。

以上の分析方法による、湖沼水を用いた添加回収実験を行った結果を表3に示す。オキシシン銅の回収率、変動係数が若干悪いが、全体として良好な回収率が得られた。

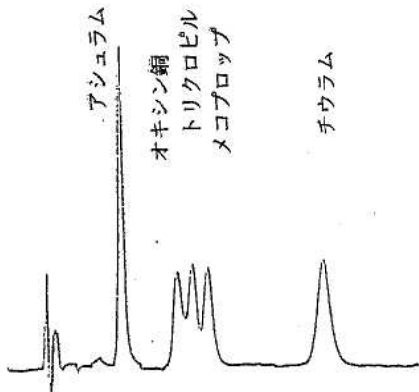


図2 HPLCによるクロマトグラム

(溶離液 50 mM KH₂PO₄ (pH3.3) : CH₃CN = 55 : 45)

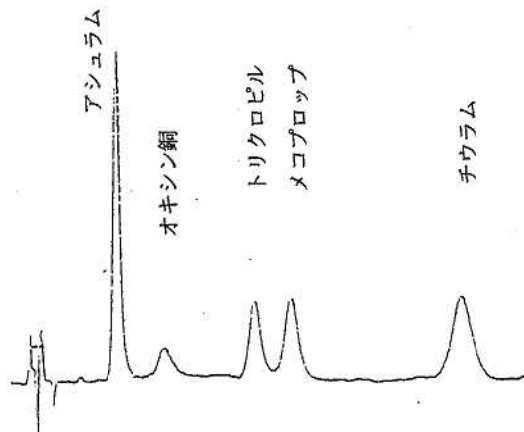


図3 HPLCによるクロマトグラム

(溶離液 10mM KH₂PO₄ (pH3.3) : CH₃CN = 13 : 7)

3. 方法3による農薬分析について

方法3で分析を行った農薬はアセフェートとその分解生成物であるメタミドホスである。抽出方法については、メタミドホスも水溶性の高い物質であるため、活性炭を使用した固相カートリッジが有効であると考えられる。そこで、第6報において報告したアセフェートの抽出方法⁵⁾を使用し分析を検討した。

以上の分析方法による、湖沼水を用いた添加回収実験を行った結果を表4に示す。メタミドホスの回収率が若干低い但同时抽出は可能であり、メタミドホスの前処理である試料を直接濃縮する方法を省略できることがわかった。GCのチャートを図4に示す。

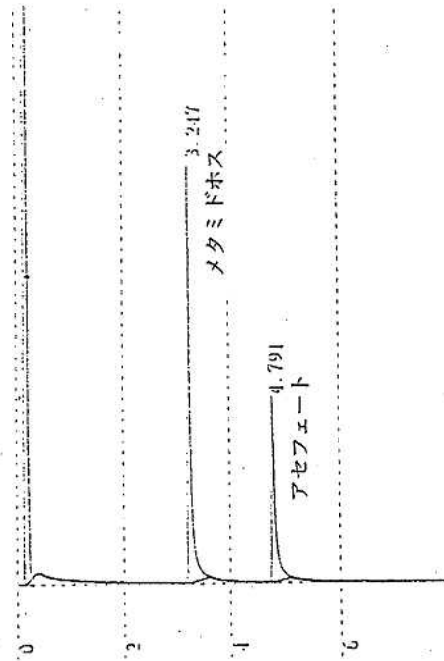


図4 GC/FPD測定条件③によるクロマトグラム

ま と め

暫定指導指針値が設けられている農薬等38種について分析方法の検討を行い、次のことがわかった。

1. 追加農薬であるメタラキシル、ジチオピル、ピリブチカルブ及び分解生成物であるトリクロピルプトキシエチルを含む31種の農薬は、ジクロロメタンを使用し、固相カートリッジ SPE-ENV/124からの一斉抽出が可能であった。

そのうちトリクロロホン、ベンスリドはGC/FPDで測定を行い、それ以外の29種はGC/MSで測定を行った。試料として湖沼水を使用し回収率を求めた結果、約70%以上の回収率が得られた。

2. 追加農薬であるトリクロピルを含む5種の農薬は、アセトニトリルを使用し、固相カートリッジSPE-ENV/124からの一斉抽出が可能であった。試料として湖沼水を使用し回収率を求めた結果、オキシシン銅の回収率が若干悪いが、全体として良好な回収率が得られた。

3. アセフェートとその分解生成物であるメタミドホスは、活性炭を充填したWaters製のSep-Pak Plus AC-2を使用し、アセトンによる同時抽出が可能であった。

今回検討した方法により環境庁が示した多成分同時分析法における5系統の抽出操作を3系統に分類することができ、効率よく分析できることがわかった。

文 献

- 1) 環境庁水質保全局, 環水土第109号: ゴルフ場で使用される農薬による水質汚濁の防止に係る暫定指導指針の一部改正について (1991)
- 2) 環境庁水質保全局, 環水土第100号: ゴルフ場で使用される農薬による水質汚濁の防止に係る暫定指導指針の一部改正について (1997)
- 3) 水戸部英子, 茨木 剛, 川田邦明, 他: 環境化学, 8 97 (1998)
- 4) 古川恵美, 久保正弘, 日野康良, 他: 香川県環境研究センター所報, 17 15 (1992)
- 5) 久保正弘, 川波誉大, 西岡信浩, 他: 香川県環境研究センター所報, 21 17 (1996)