

# 化学物質による汚染の調査手法に関する基礎的研究 (第1報)

(ゴルフ場農薬について)

## Fundamental Studies on the Research Methods of the Pollutions by chemical Substances (I) (Pesticides in Golf Courses)

古川 恵美  
Emi FURUKAWA

久保 正弘  
Masahiro KUBO

日野 康良  
Yasuyoshi HINO

増井 武彦  
Takehiko MASUI

三好 健治  
Kenji MIYOSHI

水質試料について指針値外農薬9種の分析法の検討を行い、ジチオピル以下6種の農薬については、ジクロロメタン抽出で良好な回収率を得られたことから、指針値農薬の多くのもとGC/MSによる一斉分析が可能であることがわかった。他の3種の農薬についてはそれぞれ単独の分析方法で良好な回収率を得た。そのうち、フラザスルフロンの場合はメコプロップとの同時抽出が可能であり、メコプロップとの同時分析の可能性はある。土壌試料については、指針値外農薬6種、指針値農薬5種の計11種の農薬について分析法を検討し、ジクロロメタンによる土壌からの直接抽出では良い回収率が得られなかったが、酢酸エチルによる直接抽出、アセトンもしくはメタノールによる抽出後、水に展開し、ジクロロメタン抽出する方法では良好な結果が得られた。

## はじめに

現在、ゴルフ場で使用される農薬として、30種の農薬の暫定指導指針値<sup>1,2)</sup>が環境庁より、また、水質目標値<sup>3,4)</sup>が厚生省より示されている。しかし、実際にゴルフ場で使用されている農薬には、この中に含まれていないものも多い。このような指針値外農薬としては、新規農薬あるいは農業分野で使用されていたものなどさまざまである。これらの農薬については、水質試料、土壌試料などの分析法が十分とはいえないもの、あるいは分析操作が煩雑なものもあり、より簡便な分析法を検討する必要がある。そこで今回は、香川県内ゴルフ場で使用されている指針値外農薬を中心として水質、土壌の両試料の分析法の検討を行ったので報告する。

## 分析方法

### 1. 分析対象農薬

分析対象農薬の一覧を表1に示す。

### 2. 試薬

- 1) アセトン、メタノール、酢酸エチル、ジクロロメタン、アセトニトリル、ジエチルエーテル、無水硫酸ナトリウム (和光純薬工業<sup>株</sup>、残留農薬試験用)

塩化ナトリウム、硫酸アンモニウム、炭酸カリウム、塩酸、リン酸、水酸化ナトリウム、リン酸二水素カリウム、EDTA-2 Na (和光純薬工業<sup>株</sup>、特級)

0,0-ジエチルホスホクロリダート (Aldrich Chem. Co.)

### 2) 標準品

トリフルミゾール、シマジン、ペンシクロン、フェニトロチオン、フルトラニル (和光純薬工業<sup>株</sup>)  
プロピコナゾール、ヒドロキシイソキサゾール、テルブカルブ、イソプロチオラン (GLサイエンス)  
ジチオピル (日本モンサント<sup>株</sup>)  
ピリプチカルブ (東ソー<sup>株</sup>)  
メトラキシル (チバガイギー)  
フェナリモル (ダウエランコ日本<sup>株</sup>)  
フラザスルフロンの (石原産業<sup>株</sup>)  
プロピザミド (ナノゲン)  
ペノミル (Riedel-de Haën)

### 3) 内部標準<sup>5)</sup>

アントラセン-d<sub>10</sub> (Aldrich Chem. Co.)  
p-テルフェニル-d<sub>14</sub> (C. I. L.)

### 3. 分析フロー

水質試料の分析フローを表2に、土壌試料の分析フローを表3に示す。

表1 農薬一覧

農薬名	分析*	商品名	用途	分子量	モニターイオン	組成式
ジチオピル	w s	ディクトラン	除草剤	401.4	306, 354	C <sub>15</sub> H <sub>16</sub> F <sub>5</sub> NO <sub>2</sub> S <sub>2</sub>
メタラキシル	w s	シバクリン	殺菌剤	279.3	206, 249	C <sub>15</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>4</sub>
トリフルミゾール	w s	トリフミン	殺菌剤	345.7	206, 278	C <sub>15</sub> H <sub>15</sub> ClF <sub>3</sub> N <sub>3</sub> O
ピリプチカルブ	w s	エイゲン	除草剤	330.4	165, 314	C <sub>18</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> S
フェナリモル	w s	ルビゲン	殺菌剤	331.2	251, 330	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O
プロピコナゾール	w s	バシパッチ	殺菌剤	342.2	173, 259	C <sub>15</sub> H <sub>17</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>
フラザスルフロン	w	シバゲン	除草剤	407.3	231, 300	C <sub>13</sub> H <sub>12</sub> F <sub>3</sub> N <sub>3</sub> O <sub>5</sub> S
ヒドロキシイソキサゾール	w	シバクリン	殺菌剤	99.1	115, 251	C <sub>4</sub> H <sub>5</sub> NO <sub>2</sub>
ベノミル	w	ベンレート	殺菌剤	290.3	………	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub>
シマジン	s	シマジン	除草剤	201.7	186, 201	C <sub>7</sub> H <sub>12</sub> ClN <sub>5</sub>
ペンシクロン	s	モンセレン	殺菌剤	328.8	125, 209	C <sub>19</sub> H <sub>21</sub> ClN <sub>2</sub> O
テルブカルブ	s	リネルーブ	除草剤	277.4	205, 220	C <sub>17</sub> H <sub>27</sub> NO <sub>2</sub>
フルトラニル	s	モンカット	殺菌剤	323.3	173, 323	C <sub>17</sub> H <sub>16</sub> F <sub>3</sub> NO <sub>2</sub>
イソプロチオラン	s	フジワン	殺菌剤	290.4	162, 290	C <sub>12</sub> H <sub>15</sub> O <sub>4</sub> S <sub>2</sub>

〈備考〉 \*のwは水質試料の分析を、sは土壌試料の分析を行ったことを表す。

#### 4. GC/MS及びHPLCの測定条件

##### 【GC/MS条件】

装置 : JMS SX-102A  
 カラム : PTE-5 0.25mm×30m 0.25µm  
 カラム温度 : 70°C(1min) - (15deg/min) - 160°C(0min)  
 - (10deg/min) - 280°C(6min)

キャリアガス : He 15psi  
 注入口温度 : 240°C(スプリットレス)  
 イオン源温度 : 220°C  
 イオン化電流 : 300µA  
 イオン化電圧 : 70eV  
 加速電圧 : 10kV

##### 【HPLC条件】

装置 : HITACHI L-3000  
 カラム : HITACHI GEL 3056 4mm×150mm  
 カラム温度 : 40°C

溶離液 : 0.1%EDTA-2Na/50mMKH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>  
 (pH3.5) : CH<sub>3</sub>CN=60 : 40  
 FLOW : 0.8ml/min  
 検出波長 : 282nm

## 結果及び考察

### 1. 水質試料

水質試料については指針値外農薬9種<sup>6)~13)</sup>について検討を行った。12物質(土壌試料分も含む)のGC/MS(SCAN)による測定の例を図1に、ヒドロキシイソキサゾールのエステル化物のGC/MS(SCAN)による測定の例を図2に、ベノミルの加水分解物質であるMBC(メチル 2-ベンゾイミダゾールカーバメート)のHPLCチャートを図3に示す。回収率及び変動係数(CV)を表4に示す。

表 2 水質試料の分析方法

農 薬 名	分 析 方 法
ジチオピル メタラキシル トリフルミゾール ピリプチカルブ フェナリモル プロピコナゾール	<p>試料 → 抽出 → 脱水 → 濃縮 → N<sub>2</sub> → 定容 → GC/MS</p> <p>500ml 試料濃度 2 μg/ℓ      NaCl 25g      ジクロロメタン(50ml×2) 振とう(5min×2)      アセトン2ml      内部標準</p>
フラザスルフロン	<p>試料 → pH2 → 抽出 → 脱水 → 濃縮 → N<sub>2</sub> → 定容 → GC/MS</p> <p>500ml 試料濃度 2 μg/ℓ      ジクロロメタン(50ml×2) 振とう(5min×2)      アセトン 2 ml      内部標準</p>
ヒドロキシイソキサゾール	<p>試料 → pH2 → 抽出 → 脱水 → 濃縮</p> <p>500ml 試料濃度 2 μg/ℓ      (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 250g      ジエチルエーテル(100,80,80ml) 振とう(5min×3)</p> <p>N<sub>2</sub> → エステル化 → 定容 → GC/MS</p> <p>25% 炭酸カリウム 1 滴      48°C, 1 hr      アセトン10ml 1% 0,0-ジエチルホスホチオクロリダート -アセトン溶液 2 ml</p>
ベノミル	<p>試料 → 抽出 → 酢酸エチル留去</p> <p>500ml 試料濃度 10 μg/ℓ      NaCl 25g      酢酸エチル(100,50ml) 振とう(5min×2)      0.1N HCl 50ml      加水分解</p> <p>pH 6~6.5 → 抽出 → 脱水 → 濃縮 → N<sub>2</sub> → 定容 → HPLC</p> <p>ジクロロメタン(20ml×2) 振とう(5min×2)      アセトニトリル 1 ml</p>

〈備考〉 内部標準にはアントラセン-d<sub>10</sub> 及びP-テルフェニル-d<sub>4</sub> を用い、それぞれのアセトン溶液 1mg/ℓ を100 μℓ ずつ添加して試料溶液とした。

表 3 土壌試料の分析方法

NO.	分 析 方 法
1	<p>試料 → 抽出 → 遠心 → 転溶 → 脱水 → 濃縮 → N<sub>2</sub></p> <p>10g 試料濃度 0.5 μg/g      アセトン or メタノール (20ml×2) 振とう(10min×2)      2000rpm (5min×2)      水 160ml      ジクロロメタン(30ml×2) NaCl 10g 振とう(5min×2)</p> <p>定容 → GC/MS</p> <p>アセトン 1ml      内部標準</p>
2	<p>試料 → 抽出 → 遠心 → 脱水 → 濃縮 → N<sub>2</sub> → 定容 → GC/MS</p> <p>10g 試料濃度 0.5 μg/g      酢酸エチル or ジクロロメタン (20ml×2) 振とう(10min×2)      2000rpm (5min×2)      アセトン 1 ml      内部標準</p>

〈備考〉 内部標準にはアントラセン-d<sub>10</sub> 及びP-テルフェニル-d<sub>4</sub> を用い、それぞれのアセトン溶液 1mg/ℓ を50 μℓ ずつ添加して試料溶液とした。

ジチオピル以下6種の農薬については、指針値農薬の主な分析方法であるジクロロメタン抽出で80%を越える良好な結果が得られた。トリフルミゾールについては前報<sup>8)</sup>においてHPLCによる報告を行ったが、今回検討した結果、GC/MSによる測定が可能であったので、一斉抽出に組み入れることができた。

フラザスルフロンについても前報においてはHPLCによる測定を報告したが、今回は、抽出は前報を参考にpH調整を行った後、ジクロロメタン抽出という方法を取り、測定にはGC/MSを用い良好な回収率を得た。この抽出方法であれば指針値農薬であるメコプロップ<sup>4)</sup>の抽出方法と同じであることから、メコプロップのメチル化時の影響がでなければ同時分析が可能と思われる。これについては今後検討して行きたいと考えている。

ヒドロキシイソキサゾールについては、抽出時に塩析を行った方がよいが、食塩だと溶解度は30%程度が限度であり、その場合の回収率は50%程度に留まることから、硫酸を使用することとした。硫酸50%を添加することにより70%程度まで回収率を上げることができた。なお、抽出溶媒についてはジクロロメタン等を検討したが、ジエチルエーテルが最も良かった。

ベノミルについては、酸性時の加水分解を減圧留去、振とうの2つの方法について検討したが、減圧留去の方が多少回収率もよく、操作も簡便であることから減圧留去により加水分解を行った。回収率は90%と良好であった。

表4 添加回収結果 (水質)

(単位: %)

農薬名	回収率	CV (n)
ジチオピル	97	1.7(n=5)
メタラキシル	90	3.6( // )
トリフルミゾール	99	6.4( // )
ピリプチカルブ	82	6.3( // )
フェナリモル	98	2.5( // )
プロピコナゾール	97	5.7( // )
フラザスルフロン	86	2.4(n=3)
ヒドロキシイソキサゾール	72	4.5(n=5)
ベノミル	90	4.8(n=3)

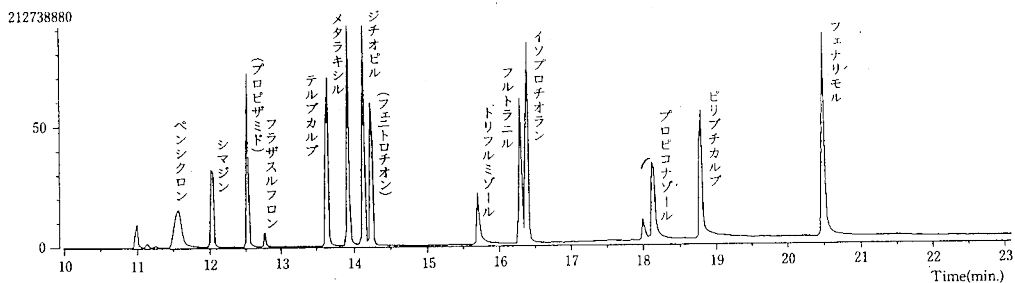


図1 GC/MS (SCAN)によるTICチャート

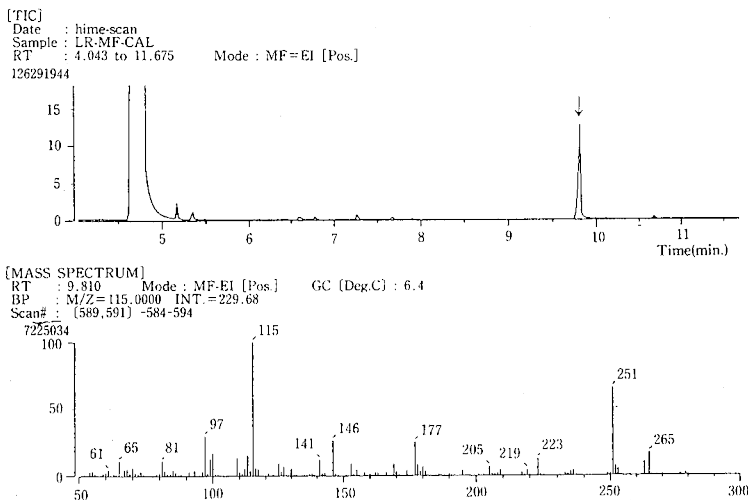


図2 ヒドロキシイソキサゾールのエステル化物の測定例

図3 MBCのHPLCチャート

## 2. 土壌試料

土壌試料からの回収については、5ミリのふるいを通したゴルフ場の土（含水率：9.83%）を使用し、指針値外農薬6種と指針値農薬5種の計11種の農薬について検討を行った。今回は2系統の分析法においてそれぞれ2つの溶媒を選択し抽出を行った。回収率及び変動係数を表5に、溶媒別による回収率の変動を図4に示す。

方法1は、水に易溶なアセトンもしくはメタノールで抽出を行いこれに水を加え、後は水質試料と同様にジクロロメタン抽出を行う方法である。これによると、抽出溶媒（アセトン、メタノール）による差は多少あるもののほぼ同様な結果を示し、トリフルミゾールが55%（アセトン）、51%（メタノール）、ピリプチカルブが60%（アセトン）、67%（メタノール）、メタラキシルが60%（メタノール）と少し低いものの、他の農薬については70%を越える良好な回収率が得られた。

方法2は、酢酸エチルもしくはジクロロメタンを用いて抽出を行い、それを直接脱水、濃縮しアセトンにより定容する方法である。これによると、酢酸エチル抽出においては、ベンシクロンが50%と低い値を示しているが、これを除けばあとは70%を越える回収率が得られた。また、トリフルミゾールとピリプチカルブにおいては、他の3つの抽出溶媒では低い回収率に留まっているのに比べ良好な回収率が得られた。

ジクロロメタン抽出においては全体的にあまり良好な結果は得られなかった。

土壌試料については、今回ある程度含水率のある土壌を想定して分析を試みたが、ジクロロメタン抽出以外についてはどれも良好な結果が得られ、実用可能と思われる。酢酸エチルを抽出溶媒とする分析法は操作が簡便であるので妨害物質の影響が少ない場合には有効であると思われる。妨害物質の影響が大きい場合にはクリーンアップ操作が必要であるが、方法1の抽出方法を用いれば、ジクロロメタン抽出を行う際にクリーンアップ効果も得られ妨害物質の影響をかなり抑えることが可能と思われる。

## ま と め

水質試料、土壌試料について指針値外農薬を中心に分析法の検討を行い次のことがわかった。  
水質試料について

1. ジチオピル以下6種の農薬については多くの指針値農薬との一斉分析が可能であることがわかった。
2. 他の3種の農薬については、それぞれ単独の分析法ではあるが良好な回収率が得られた。

表5 溶媒別添加回収結果（土壌）

回収率（CV）単位：％  
n = 3

農薬名	方法 1		方法 2	
	アセトン	メタノール	酢酸エチル	ジクロロメタン
ジチオピル	76(3.6)	74(1.1)	74(5.3)	57(4.2)
メタラキシル	70(4.5)	60(11.8)	84(7.3)	70(1.5)
トリフルミゾール	55(1.3)	51(2.8)	74(3.6)	54(5.9)
ピリプチカルブ	60(1.3)	67(6.0)	85(6.0)	47(5.5)
フェナリモル	78(0.7)	83(2.0)	77(5.1)	59(3.0)
プロピコナゾール	78(1.2)	83(1.2)	80(4.6)	55(3.9)
シマジン	84(4.4)	83(2.9)	89(1.0)	75(0.6)
ベンシクロン	70(7.5)	79(6.2)	50(9.6)	49(4.3)
テルブカルブ	81(4.1)	80(1.5)	97(4.9)	63(2.0)
フルトラニル	98(2.8)	88(1.4)	75(3.6)	76(2.8)
イソプロチオラン	73(2.1)	76(1.2)	73(3.9)	54(2.6)

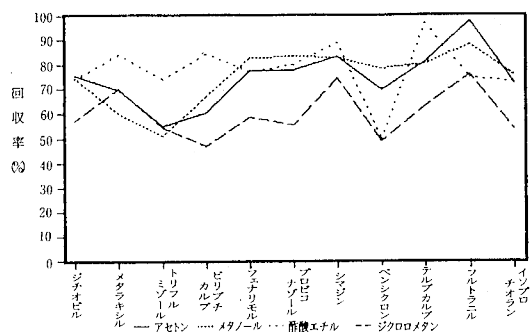


図4 溶媒別による回収率の変動

3. フラザスルフロンについてはメコブロップとの同時抽出が可能であり、メコブロップとの同時分析の可能性がある。

土壌試料について

ジクロロメタンによる土壌からの直接抽出ではあまり良い回収率は得られなかったが、他の3種の溶媒（アセトン、メタノール、酢酸エチル）による抽出方法ではほとんどの農薬について良好な回収率が得られた。

なお、本報の内容の一部は、全国公害研協議会中国・四国支部第19回水質部会で発表した。

## 文 献

- 1) 環境庁水質保全局, 環水土第77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 (1990).
- 2) 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防止に係る暫定指導指針の一部改正について (1991).
- 3) 厚生省生活衛生局水道環境部, 衛水第 152号: ゴルフ場使用農薬に係る水道水の安全対策について (1990).
- 4) 厚生省生活衛生局水道環境部, 衛水第 192号: ゴルフ場使用農薬に係る水道水の安全対策について (1991).
- 5) 奥村為男, 今村 潜: 水質汚濁研究, 14, 109 (1991).
- 6) 日本モンサント㈱: ディクトラン乳剤の安全性について (1991).
- 7) ソフトサイエンス社: 増補版, 残留農薬分析法, 200 (1987).
- 8) 古川恵美, 久保正弘, 藤田久雄: 香川県環境研究センター所報, 15, 21 (1990).
- 9) 東ソー㈱: 水中のピリプチカルブ分析法
- 10) ソフトサイエンス社: 増補版, 残留農薬分析法, 183 (1987).
- 11) 官報号外第 141号 (平成2年11月7日付) (1990).
- 12) 化学工業日報社: 農薬登録保留基準ハンドブック, 218 (1990).
- 13) 日本食品衛生協会: 残留農薬分析法, 144 (1986).