

固相抽出法—高速液体クロマトグラフィーによる河川水中のペンシクロンの定量

中山 和好, 成富 武治, 小室 芳洵

Determination of Pencycuron in River Water by Solid Extraction Method and HPLC

Kazuyoshi NAKAYAMA, Takeharu NARITOMI and Yosinobu KOMURO

I はじめに

ペンシクロンはイネの紋枯病防止のため、殺菌剤として水田に空中散布される農薬の一つで、千葉県でも広く使用されている。環境庁は、水道利用に配慮した公共用水域等の水質保全対策の一環として「公共用水域等における農薬の水質評価指針」¹⁾を定めた。これは、公共用水域等での水質汚濁に関する基準に定められていない、空中散布等により一時的に微量であるが検出され、または検出される可能性の高い27種の農薬を指定し、その指針値を設定したものである。ペンシクロンもその中の一つで、指針値としては0.04mg/l以下となっている。そこで示されている標準分析法は、ペンシクロンを溶媒抽出し、メチル誘導体を生成させ、GC-MS又はGCで測定するという、手間と時間のかかる方法である。今回我々は、比較的操作が簡単な、固相抽出—液体クロマトグラフィー (HPLC) による測定法について検討し、実用性のある分析法である事を確認したので報告する。

II 実験方法

1. 試薬・器材

ペンシクロン標準品は和光純薬、アセトニトリルは関東化学の高速液体クロマトグラフィー用を用いた。実験では、ペンシクロンの100mg/lアセトニトリル溶液を調整し適宜希釈して用いた。純水はミリポア社のMilli-Q SP TOCで精製したもの、固相抽出用カートリッジはSep-Pak Plus PS-2 (ウォーターズ社製) を使用した。

2. 装置と測定条件

固相抽出装置 ウォーターズ社Sep-Pak コンセントレーター
ウォーターズ社バキュームマニフォールド

高速液体クロマトグラフ

ポンプ：日本分光880-PU

カラムオープン：日本分光865-CO

検出器：ウォーターズ996フォトダイオードアレイ検出器

HPLCの測定条件

分離カラム：昭和電工製 Shodex RSpak DE-613
6 mmID-150mmL

移動相：アセトニトリル：水 (60：40) 1 ml/min

カラム温度：40℃

測定波長：240nm

注入量：50μl

3. 実験

千葉県内の河川水を用いて添加回収試験を実施した。添加量は指針値の1/10の濃度0.004mg/l、および、指針で示されている測定法の定量下限値0.001mg/lとした。また、河川水中の懸濁物質 (SS) の除去がペンシクロン定量に及ぼす影響を調べるため、1μmのGFPフィルターでろ過した。分析法のフローを図-1に示した。通水量は検出器で確認出来ると思われるペンシクロンの量と、濃縮倍率から換算し、500mlとした。

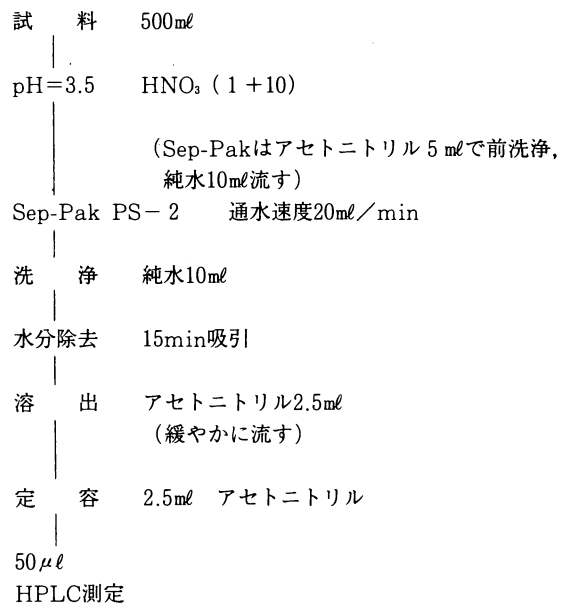


図-1 分析フロー

III 結果と考察

1. 河川水の性状

用いた河川水の性状を表-1に示した。試料は水質性状の異なる県内5河川より採取した。Aは河川上流部の比較的汚濁の少ないものであり、Dはアオコが見られ色調は黄緑色を呈し、カビ臭の強い汚濁の進んだ河川水であった。B, C, Eは程度の差あれ生活排水による汚濁が見られる。Bの採水地点はこの河川水を源水としている浄水場の取水口である。

2. HPLC測定の検討

ペンシクロンのHPLC測定に関しては2, 3の報告²⁾³⁾⁴⁾があるが、紫外吸収スペクトルで240nm付近に吸収ピークが見られる

千葉県衛生研究所

(1994年11月15日受理)

表-1 河川水の性状

試料名	外 観	pH	BOD	C-BOD	COD	SS	T-N	T-P	電気伝導率
A	淡黄色澄明	7.12	1.1	0.8	3.4	< 1	0.94	<0.02	164
B	淡黄色濁り有	7.30	4.3	3.8	7.0	9.6	1.52	<0.02	485
C	淡黄色濁り有	7.20	2.3	2.2	4.8	8.6	6.51	0.26	633
D	黄緑色濁り有, カビ臭	7.30	4.6	4.3	7.8	11.5	3.34	0.02	329
E	淡黄色濁り有	7.20	2.4	2.1	3.4	14.6	2.24	<0.02	284

単位: BOD, COD, SS, T-N, T-P (mg/l) 電気伝導率 (μS/cm)

ことから、測定波長としては240nmを用いた。移動相の選択においては、一般に用いられるアセトニリル+水系を使用した。混合比50:50と60:40を調整し、ペンシクロンの保持時間を調べたところ、50:50の場合43.2分、60:40で17.8分付近であったので、以後測定時間の短い後者の割合の移動相を用いた。ペンシクロン1.0mg/lの溶液50μl (50ng)を注入した時のクロマトグラムを図-2に示した。

3. 添加回収試験

まず、純水にペンシクロン標準液を添加し、回収率、変動係数を調べた。0.001, 0.004mg/lとも、回収率は100%近く、変動係数も3%以下と問題はなかった。河川水での添加回収結果を表-2に示した。0.001mg/lのそれぞれの回収率、変動係数は、原水91.7~113.7% (1.0~9.8%), ろ過水82.2~100.7 (2.6~5.7), 0.004mg/lでは、原水97.5~114.9 (1.2~4.3), ろ過水79.2~

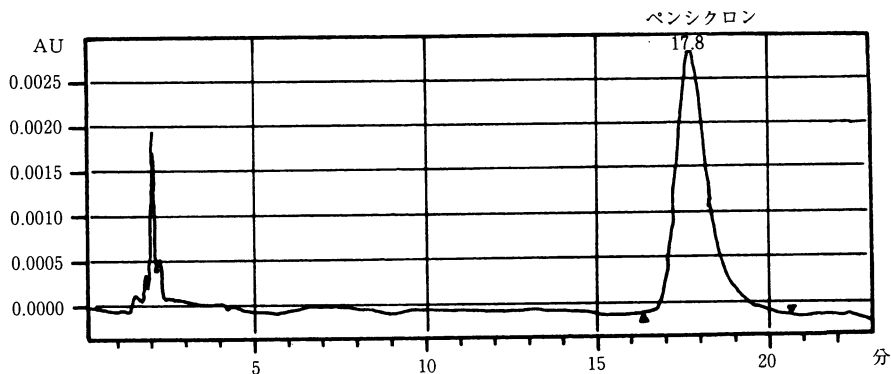


図-2 ペンシクロン50ngのクロマトグラム

表-2 添加回収試験結果

	添加量 (mg/l)	回収率 (%)	変動係数 (%)	
純水	0.001	108.8	2.8	
	0.004	100.1	1.8	
A	0.001	原水	111.5	1.0
		ろ過水	100.7	3.9
	0.004	原水	103.8	2.5
		ろ過水	102.1	1.7
B	0.001	原水	113.7	5.9
		ろ過水	87.0	4.5
	0.004	原水	105.3	1.2
		ろ過水	87.4	4.0
C	0.001	原水	98.5	1.8
		ろ過水	87.2	4.4
	0.004	原水	97.5	2.9
		ろ過水	90.4	4.4
D	0.001	原水	91.7	9.8
		ろ過水	82.2	5.7
	0.004	原水	112.1	4.3
		ろ過水	79.2	3.0
E	0.001	原水	110.0	7.1
		ろ過水	91.7	2.6
	0.004	原水	114.9	4.0
		ろ過水	87.5	2.9

(n = 3)

102.1 (1.7~4.4) であった。いずれも変動係数は10%以下と、分析法としては問題のない値であった。

ろ過水の方に、SSの吸着等の影響と思われる若干の回収率の低下があった。SS量とペンシクロンの損失量を表-3に示した。

表-3 SS量と回収率の低減

河川水	SS(mg/l)	0.001(mg/l)	0.004(mg/l)
A	<1	90.3	98.4
C	8.9	88.5	92.7
B	9.6	76.5	80.2
D	11.5	89.6	70.7
E	14.6	83.4	76.2

ろ過水/原水 (%)

固相抽出の前処理として、SS成分の除去により、ペンシクロンの損失のある事が分かる。なお、用いた固相抽出装置は加圧式で、河川水D (SS 11.5mg/l), E (SS 14.6mg/l) を 500ml 通水したところ、Sep-Pakの目詰まりによる圧力上昇で装置のライン接続部からの液洩れが生じるおそれがあった。SSの性状にもよるが500ml通水する場合、SS 10mg/l程度で、GFPによるろ過が必要と思われた。なおその場合、GFP上のSSをアセトニリルで洗浄、溶出させる事で、SS成分中のペンシクロンも定量が可能と思われる。河川水Cに0.004mg/l添加した時のクロマトグラムを図-3に示した。図のように、保持時間1~3分にかけて大きなピークが見られ、これは他の河川水も同様であった。そして、その大きさを比較すると、COD, C-BOD値の

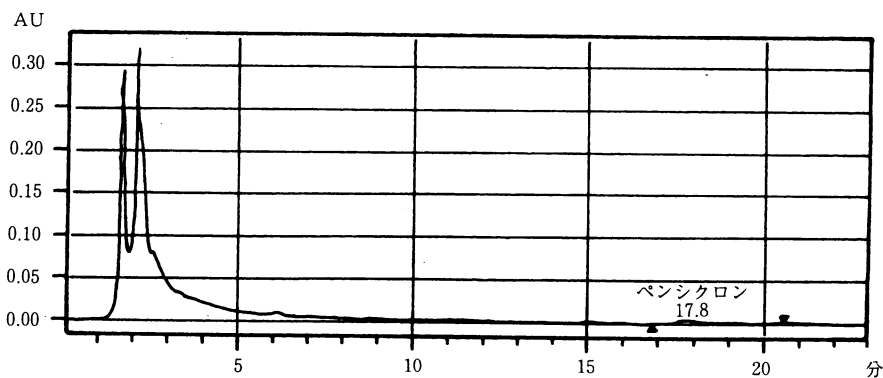


図-3 河川水Cにベンシクロン0.004mg/l添加時のクロマトグラム

傾向と類似しており汚濁に関する有機性成分と思われるが、ベンシクロンの定量には特に問題となるピークではない。なお用いた河川水においてベンシクロンの保持時間の位置にピークはいずれも見られなかった。

4. 他農薬の妨害

我々は、HPLCによる農薬の一斉分析という事で検討して来たが、農薬によっては保持時間の近接により分離の困難なものもある。分離カラムは違うが、前の検討⁴⁾でベンシクロンに近接していたブタミホス、チオベンカルブ、イソキサチオン、トリクロホスメチルの保持時間を、同じ測定条件で調べた。結果は15.1, 13.8, 15.7, 15.5分でベンシクロンには妨害しない事がわかった。

5. フォトダイオードアレイ検出器での同定

検出器付属のソフトで解析を行った。ベンシクロン標準液の吸収スペクトルをライブラリーに登録し、河川水の添加回収試験におけるピークの比較を行った。0.001, 0.004mg/lいずれの場合においても、保持時間、吸収スペクトルからベンシクロンである事が同定された。ベンシクロンの量としては、分析フロー図より0.001mg/lで10ng, 0.004mg/lで40ng注入した計算となり、この程度の量で同定できる事がわかった。いずれにしても、ピークが検出された場合、吸収スペクトル等での確認が望ましい。

IV まとめ

5種の河川水を用いベンシクロンの固相抽出—HPLCによる定量法について検討した。試料 500mlをSep-Pak PS-2に20ml/minで通水し、アセトニトリル2.5mlで溶出、50μlをHPLCで測定した。添加回収試験の結果、環境庁の「公共用水域等における農薬の水質評価指針」で示されたベンシクロンの指針値の1/10の濃度、0.004mg/lで回収率、変動係数は97.5~114.9% (1.2~4.3), また同じく指針で示された標準分析法の定量下限値0.001mg/lで91.7~113.7 (1.0~9.8)であった。また、フォトダイオードアレイ検出器による同定において10ngで確認された。

V 文献

- 1) 環境庁通知 環水土第86号 (平成6年4月15日) 公共用水域等における農薬の水質評価指針について
- 2) 藤本千鶴: 高速液体クロマトグラフィーによる農薬の同時定量 (I) 千葉県水保研年報 (平成4年度) 141-148
- 3) 池田憲広, 伊藤重美, 佐々木美智子 (1992): ポリスチレンゲルミニカートリッジ濃縮法とHPLCによる水道水及び河川水中の農薬の定量 環境化学2 (3) 581-590
- 4) 中山和好, 小室芳洵 (1992): 高速液体クロマトグラフィーによるゴルフ場使用農薬の分析—吸収スペクトルと保持時間 千葉県衛研報告 第16号 55-62