

2 水 質 課

(1) カートリッジカラムを用いた高速液体クロマトグラフ 分析法による農薬の定量

露 淳嗣, 新城 幸紀

1. はじめに

ゴルフ場使用農薬に係わる検査方法は、平成3年2月28日付け厚生省生活衛生局長通知¹⁾により用字中の分析が、平成3年7月30日付け環境庁水質保全局長通知²⁾により環境水中の分析が定められているが、上記の方法による溶媒抽出での分析方法では、回収率が低く問題も多いことが指摘されている。

そこで、ゴルフ場使用農薬のうち高速液体クロマトグラフ分析装置（以下、HPLCという）での定量が定められている、アシュラム、チウラム、オキシシン銅、および上記分析装置を使う検査が可能な農薬M CPP（メコプロップ）について、操作が簡便なカートリッジカラムを用いた固相抽出をおこない分析する方法を検討し、若干の知見を得たので報告する。

2. 検査方法

(1) 試 薬

- 除草剤アシュラム標準品、殺菌剤チウラム標準品、殺菌剤オキシシン銅標準品；和光純薬製 残留農薬標準品
- 除草剤M CPP（メコプロップ）標準品；GLサイエンス社製 農薬標準品
- アセトニトリル、メタノール；関東化学製 Cica-MERCK残留農薬試験用

(2) カートリッジカラム；

WATERS社製ポリスチレン樹脂充填カラム SEP-PAK PLUS PS-2、および同社製陰イオン交換樹脂充填カラム SEP-PAK PLUS QMAを用いた。

(3) 分析装置

- HPLC；日本分光製 TRI-ROTAR IVに同社紫外分光光度計 UVDEC-100-IVを接続して使用した。
- 分離カラム；和光純薬製 Wakosil-Cu を用いカラム温度は37°Cに設定した。
- 移動相；アセトニトリル/50mMリン酸塩緩衝液（pH3.5、0.05%EDTA）=40/60（V/V）を流した。流速は1.0ml/minにした。
- 検出器；アシュラムの分析は、測定波長を270nm、検出感度を0.01AUF Sでおこなった。また、チウラムとオキシシン銅の分析は測定波長を230nm、検出感度を0.02AUF Sでおこなった。

(4) 分析方法

チウラム、オキシシン銅、およびM CPPの抽出は、試料水200ml（pHを3.5に調整したもの）をア

セトニトリル4 mlで洗浄し純水4 mlを通し洗浄したカートリッジカラムPS-2に吸引して通水し吸着する。そしてこのカートリッジカラムを純水4 mlを通し洗浄する。目的成分の溶出はアセトニトリル4 mlを通水しておこなう。この溶出液を必要に応じてロータリーエバポレーターで濃縮しHPLCに注入して分析する。(図1)

アシュラムの抽出については、長野県衛生公害研究所の月岡氏らの方法に拠った。試料水200ml (pHを7に調整したもの)を溶出液(0.05M NaCl/アセトニトリル=1/1)で洗浄し純水4 mlを通し洗浄したカートリッジカラムQMAに吸引して通水し吸着する。そして、このカートリッジカラムを純水4 mlを通し洗浄する。目的成分の溶出は前記の溶出液を4 ml通水する。(図2)

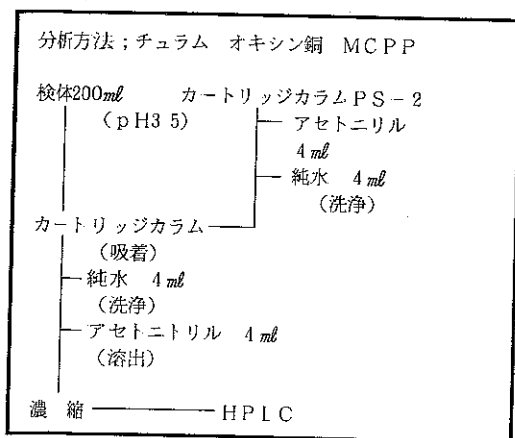


図 1

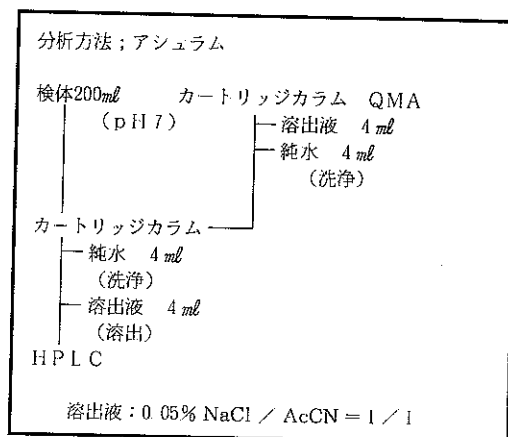


図 2

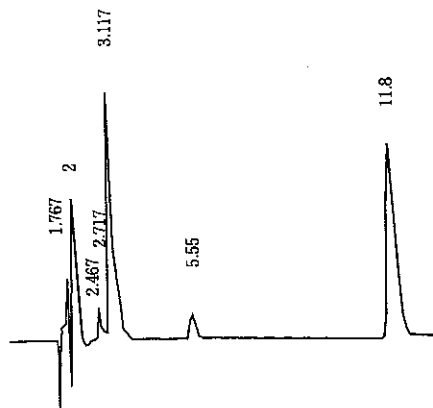
3. 結果および考察

(1) 各農薬の検出感度および検量線

HPLCの各農薬の検出限界を調べた。移動相は多物質同時に定量ができるようにオキシ銅の定量に適したアセトニトリル/50mMリン酸塩緩衝液 (pH3.5, 0.05% EDTA) = 40/60 (V/V) を用いた。移動相は厚生省通知¹⁾では0.2%のEDTAを添加するが、この移動相ではチャートのベースラインのノイズが高いためEDTAの添加量を0.05%にした。そして、アシュラム、チュラム、オキシ銅、およびMCPPを同じ移動相で分析することとした。各農薬の標準物質のクロマトグラムを示す。アシュラムの検出は、0.5ngを打ち込んでS/N比が6となる。チュラムの検出は1ngを打ち込んでS/N比が4である。オキシ銅では2ngでS/N比が5である。MCPPは1ng打ち込んでS/N比が5になる。しかし、実際に水相から抽出する場合にはアシュラム1ng、チュラム2ng、オキシ銅2ng、MCPP2ngが検出限界になる。(図3)(図4)(図5)(図6) また、各農薬の検量線を示す(図7)

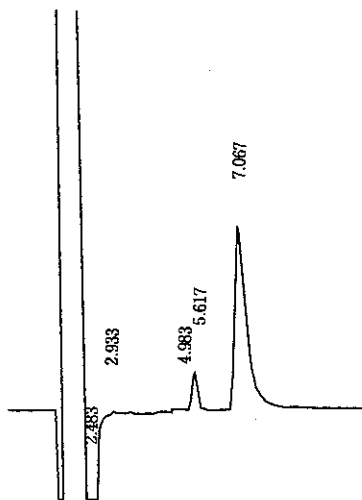
(2) 各農薬の前処理方法

前記の四農薬を同時に分析することを試みた。純水に標準物質を各々濃度50mg/l, pH3.5になるよう調整し、カートリッジカラムPS-2に通水したが、アシュラムのピークが検出しなかった。しか



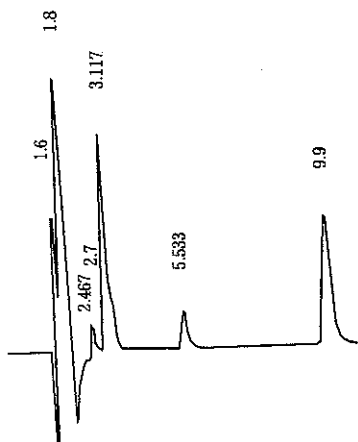
チウラムのHPLCクロマトグラム
 カラム: Wakopak VS - Cu (4.6*150 nm)
 移動相: アセトニトリル/50mM
 リン酸塩緩衝液 (pH3.5 0.05% EDTA)
 =40/60
 流速: 1.0ml/min at 37°C
 検出器: UV230nm, 0.01AUF S
 試料: チウラム 10ng

図 3



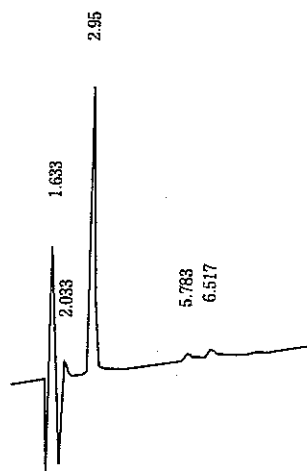
オキシンの編のHPLCクロマトグラム
 カラム: Wakopak VS - Cu (4.6*150 nm)
 移動相: アセトニトリル/50mM
 リン酸塩緩衝液 (pH3.5 0.05% EDTA)
 =40/60
 流速: 1.0ml/min at 37°C
 検出器: UV230nm, 0.01AUF S
 試料: オキシンの編 10ng

図 4



MCPPPのHPLCクロマトグラム
 カラム: Wakopak VS - Cu (4.6*150 nm)
 移動相: アセトニトリル/50mM
 リン酸塩緩衝液 (pH3.5 0.05% EDTA)
 =40/60
 流速: 1.0ml/min at 37°C
 検出器: UV230nm, 0.01AUF S
 試料: MCPPP 10ng

図 5



アシュラムのHPLCクロマトグラム
 カラム: Wakopak VS - Cu (4.6*150 nm)
 移動相: アセトニトリル/50mM
 リン酸塩緩衝液 (pH3.5 0.05% EDTA)
 =40/60
 流速: 1.0ml/min at 37°C
 検出器: UV230nm, 0.01AUF S
 試料: アシュラム 10ng

図 6

し、チウラム、オキシシン銅、は90%以上の回収があった。四農薬を同時に分析するには難があった。そこでアシュラムは別に陰イオン交換樹脂充填カートリッジカラムを用いる長野県衛生公害研究所の月岡氏らの方法³⁾に拠り分析することとした。

(3) カートリッジカラムの溶出パターン

SEP-PAK PS-2からの各農薬の溶出パターンを示す。(図8)(図9)(図10)添加量は各農薬ともに純水200ml中に8μgである。溶出液4mlですべて溶出している。なお、チウラムの回収率は95.1%、オキシシン銅の回収率は、118.8%、MCPPの回収率は141.7%となった。

(4) カートリッジカラムの破過容量

つぎに、農薬がどれくらいの濃度までカートリッジカラムに吸着されるのかを調べた。添加は純水にHPLCへの打ち込み量が1ngから80ngになるようにチウラム、オキシシン銅、MCPP、の濃度を調整した。1ngは各物質ともにピークを検出せず2ngから80ngまで十分に吸着する。純水200mlへの添加濃度は0.4μgから32μgである。(図11)

(5) カートリッジカラムの懸濁物質による影響

カートリッジカラムは検体に懸濁物質が多い場合、目づまりを起こして通水できないことがある。検体から懸濁物質を除去すれば、通水が早く完了する。そこで検体から懸濁物質を除去すれば回収がどのようになるのか調べた。検体には、県内のゴルフ場の排水で降雨後の濁りの多いもの2検体を混合し、チウラムを8μg添加して用いた。SS量が多くなると、回収率が減少した。SS分にチウラムが吸着したと思われる。(表1)(図12)SS分に吸着した農薬の定量が今後の課題である。

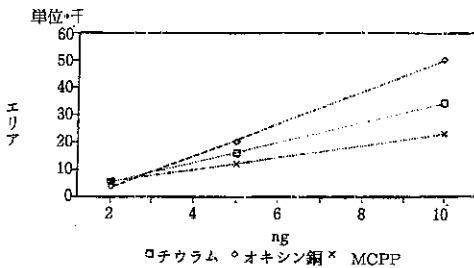


図7 各農薬の検量線

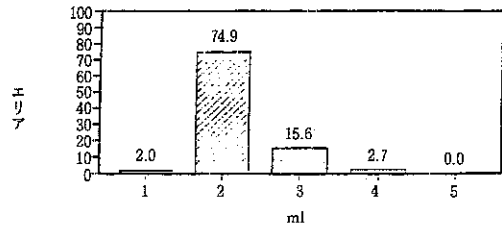


図8 チウラムの溶出

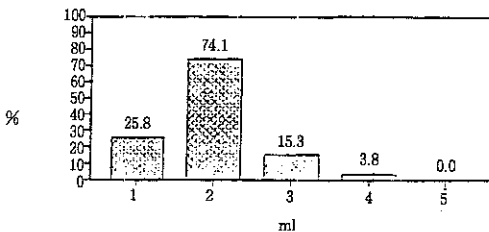


図9 オキシシン銅の溶出

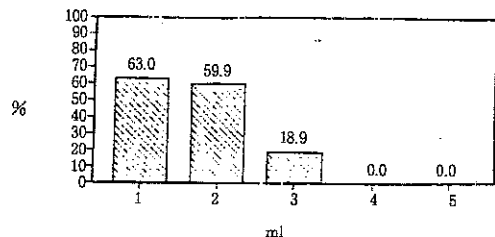


図10 MCPPの溶出

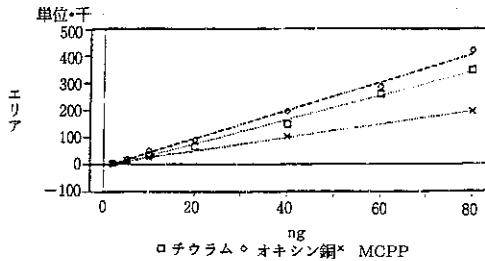


図11 各農薬の検量線

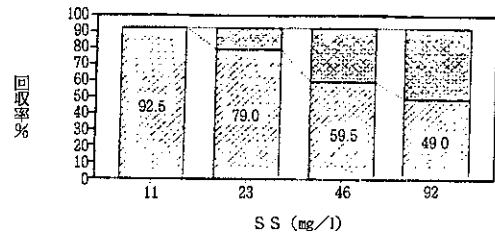


図12 懸濁物質の回収率への影響

4. ま と め

HPLCで定量する農薬をポリスチレン樹脂充填カートリッジカラムを用いて定量する方法を検討して次の知見を得た。

- 1) 検体をpH3.5に調整して通水すればカー

トリッジカラムにチウラム、オキシシン銅、MCPP、を吸着することができる。

- 2) HPLCの移動相はアセトニトリル/50mMリン酸塩緩衝液 (pH3.5, 0.05% EDTA) = 40/60 (V/V) を用いればチウラム、オキシシン銅、MCPP各農薬ごとに移動相を変える必要がない。
- 3) 各農薬の純水からの回収率は90%以上、C.V.値は5%以下である。
- 4) 各農薬の純水からの検出限界は0.8 μ g/lである。
- 5) 各農薬32 μ gまで十分吸着する。

懸濁物質の回収率への影響

	pH	EC	SS	透視度	濃度	回収率
ゴルフ場排水	7.6	132.1	92	5	3.12	49.0
“ (2倍希釈)	7.5	76.5	46	9	3.82	59.5
“ (4倍希釈)	7.5	33.1	23	16	5.04	79.0
“ (8倍希釈)	7.4	17.8	11	29	5.92	92.5
単 位		μ s/cm	ng/l	cm	μ g	%

表 1

参考文献

- 1) 平成3年2月28日付け衛水第37号厚生省生活衛生局長通知「ゴルフ場使用農薬に係わる検査方法について」
- 2) 平成3年7月30日付け環水土第109号環境庁水質保全局長通知「ゴルフ場で使用される農薬による水質汚濁の防止に係わる暫定指導指針について」
- 3) 月岡忠・小沢秀明・武田洋一・寺沢潤一・清水重徳：高速液体クロマトグラフィーによる環境水中のアシュラムの定量方法、環境技術V01, 19, No.10, 652-655, (1990)
- 4) 高橋清・鈴木清一・我妻悟：高速液体クロマトグラフ法における固相抽出法の検討 第43回全国水道研究発表会講演要旨集P603, 1992
- 5) 村井伸顕・前田年宏・増田善紀・塩田裕徳・杉本吉弘・松本英俊：固相カートリッジを用いた農薬の分析方法(II) 第43回全国水道研究発表会講演要旨集P666, 1992
- 6) 池田憲広・伊藤重美・佐々木美智子：ポリスチレンゲルミニカートリッジ濃縮法と高速液体クロマトグラフィー(HPLC)による水道水及び河川水中の農薬の定量、環境化学V01, 2, No.3, 581-590, 1992