

固相抽出法を用いた環境水中の農薬の一括分析

近 藤 秀 治 村 田 清 康

要 約

従来、環境水の残留農薬の分析は液液抽出法が用いられてきたが、この方法は大量の有機溶媒を使用し、安全性や作業の効率化の面で種々の課題を抱えている。

本報告では固相抽出法¹⁾による環境水中の農薬の一括分析について検討を試みた。手法としては、固相抽出材として Sep-Pak tC18 plus を用い、これと全自動 GC/MS を組み合わせた分析法を採用した。対象とした農薬は平成 2 年 5 月に環境庁および厚生省によって基準となる数値が示されたゴルフ場使用農薬 21 物質のうち、ガスクロマトグラフィーの適用となる 17 物質である。また、高沸点の SAP については、分析時間の関係より薄膜短小のカラムによる GC/ECD の分析法を採用した。

その結果、固相抽出法は液液抽出法に比べて、使用する有機溶媒量が少なく、また短時間で良好な回収率がえられた。また、ブランクについても妨害ピークがほとんどないクリーンなクロマトグラムが得られた。

1 結 言

従来、環境水中の残留農薬の分析は、有機溶媒とガラス器具と時間を大量に消費する液液抽出法が用いられてきた。ゴルフ場使用農薬として 21 物質（平成 3 年 7 月に新たに 9 物質が追加設定され現在は 30 物質である）が規制されているが、これらすべての農薬を北海道内の約 150 カ所のゴルフ場を対象に液液抽出法によってモニターする場合、人員や時間等が制約条件となり、多くの難題を抱えることになる。従って、本報告では、前処理に Sep-Pak tC18 plus を用いた固相抽出法を採用し、分析上の最適条件について検討を試みた。

2 実験方法

2.1 試 薬

各農薬標準品はペスタナールを用い、一部ナノ

ゲン製、和光純薬製を使用した。これらはすべてアセトンにて標準原液（250～1,000 ppm）を調製した。17 農薬の標準混合溶液は各農薬の分析装置に対する感度に応じて適量ずつ混合し調製した。なお、ナノゲン製の農薬標準品はすべてトルエン溶液なのでアセトンに置き換えして使用した。固相抽出材は Sep-Pak tC18 plus (Waters)を用いた。tC18 シリカゲルの充填量は 400 mg である。各種溶媒は残留農薬分析用（関東化学メルク）を用いた。分析対象農薬の名称と構造式を Fig 1 と Table 1 に示す。

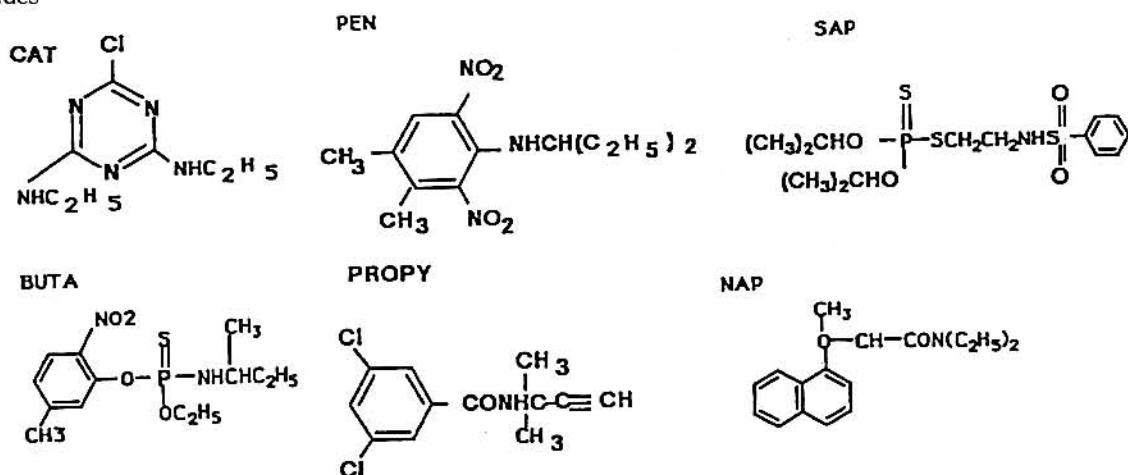
2.2 装 置

GC/MS システムはヒューレットパッカード社の質量検出装置付きガスクロマトグラフ（HP5971A+HP5890 II+HP7673+HP-VECTRA-QS20）を用いた。GC/ECD は島津製作所の（GC14A+CHROMATOPAC-R4A）を用

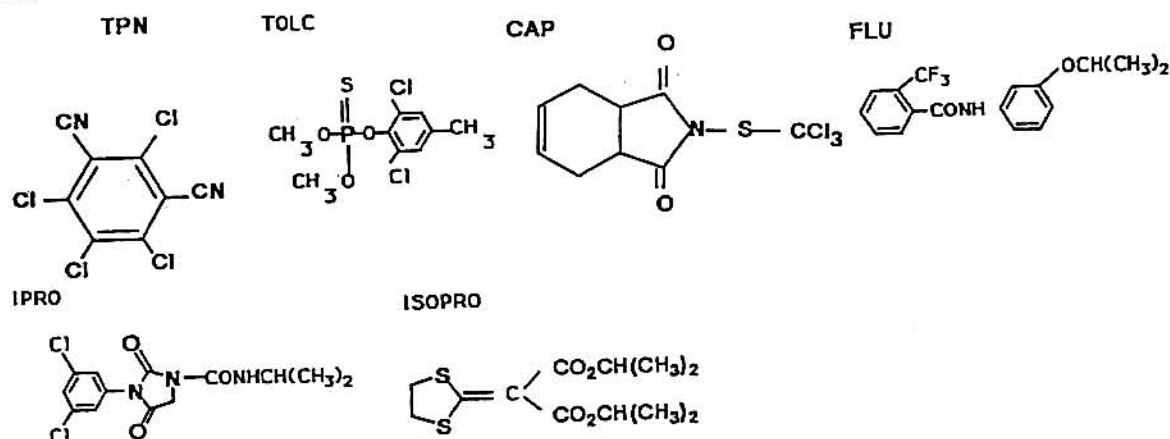
Table 1 Pesticides covered by the GC/MS, GC/ECD method

HERBICIDES	FUNGICIDES	INSECTICIDES
Simazine (CAT)	Iprodione (IPRO)	Diazinon (DIA)
Napropamide (NAP)	Chlorothalonil (TPN)	Fenitrothion (MEP)
Bensulide (SAP)	Tolclofos-methyl (TOLC)	Isoxathion (ISOXA)
Pendimethalin (PEN)	Captan (CAP)	Isufenphos (ISOFEN)
Propyzamide (PROPY)	Flutolanil (FLU)	Chlorpyrifos (CHLOR)
Butamifos (BUTA)	Isoprothiorane (ISOPRO)	

Herbicides



Fungicides



Insecticides

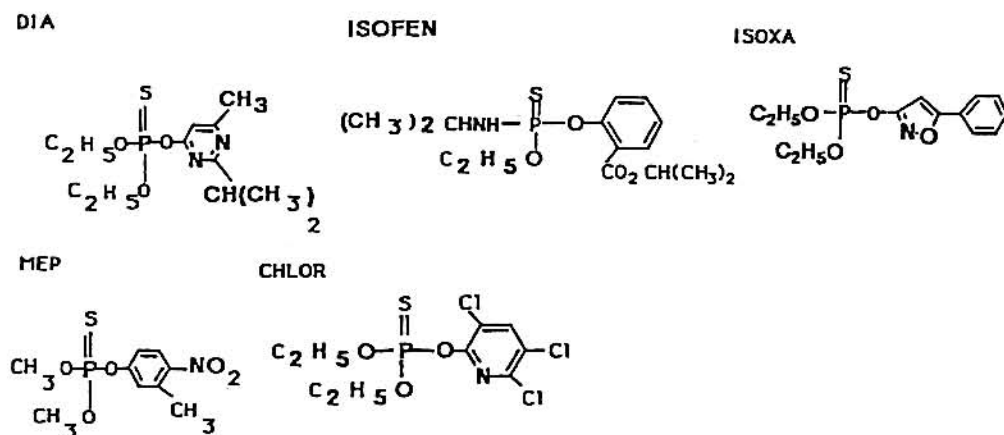


Fig 1 Structural formulas of Pesticides covered by the GC/MS, GC/ECD method

Table 2 Operating conditions of GC/MS, GC/ECD

	GC/MS	GC/ECD
Systems	HP5971A + HP5890II + HP Vectra QS-20	SHIMADZU 14A + Chromatopac R4A
Column	OV1701	OV17
Column temperature	0.25mmid* 0.15 μ m* 15m 45°C-30°C/m-210°C-5°C/m -232°C-35°C/m-250°C	0.32mmid* 0.25 μ m* 3m 100°C-20°C/m-220°C
Injection temperature	250°C	250°C
Injection method	HP7673 Auto injector splitless	Manual splitless
Carrier gas	He Back pressure 4 PSI	He Entrance pressure 0.9Kg
Interface temp.	250°C	----
Ionchamber temp.	170°C	----
Ionization Voltage	70eV	----
Ionmulti. Voltage	2400V	----

いた。これらの操作条件を Table 2 に示す。試料水の通水には Waters のセップバックラック（8 検体並列処理可能）を、農薬を保持したカートリッジの溶出には Supelco の Visiprep vacuum manifold を、通水後のカートリッジの Dry purge および溶出液の濃縮乾固には Supelco の Visi dry attachment を使用した。

2.3 最適分離カラムの検討

HP5971A の真空排気能力の関係より使用するキャピラリーカラムは最大内径 0.25 mm とし、低沸点から高沸点までの農薬を一括分析することを考慮して、膜厚の薄いものを（0.2 μ m 程度）を選択した。これらの条件を一定にし、カラム OV-1, OV-5, OV-1701 について分離能を検討した。

2.4 ブランククロマトグラム

固相抽出法の分析フローを Fig 2 に示す。各々の分析フローに従って、蒸留水を用いて全操作ブランク試験を行った。

2.5 添加回収実験

対象農薬の検出されない河川水（SS 5 ppm）200 ml に 17 農薬のアセトン標準混合溶液 0.1 ml を添加して上記の固相抽出法の分析フローに従って添加回収率と変動係数を求めた。繰り返し回数は 8 回である。添加した農薬の試料中濃度は、5-50 ppb の範囲である。

3 結果と考察

3.1 最適分離カラム

実験方法で述べた条件で 3 種類のカラム液相を比較した。OV-1, OV-5 は各クロマトパターンはほとんど同じであり、NAP と BUTA は完全

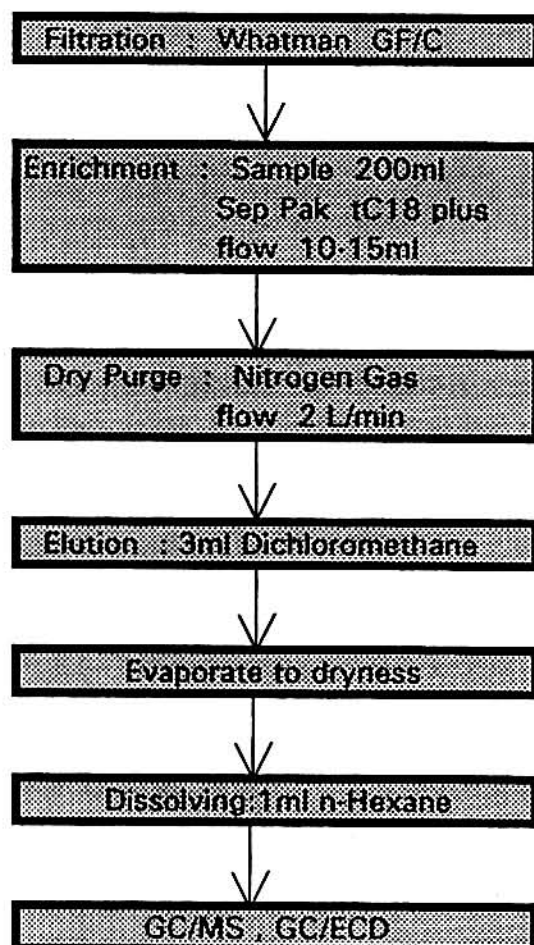


Fig 2 A schem for sample preparation by solid phase extraction for the determination of pesticides

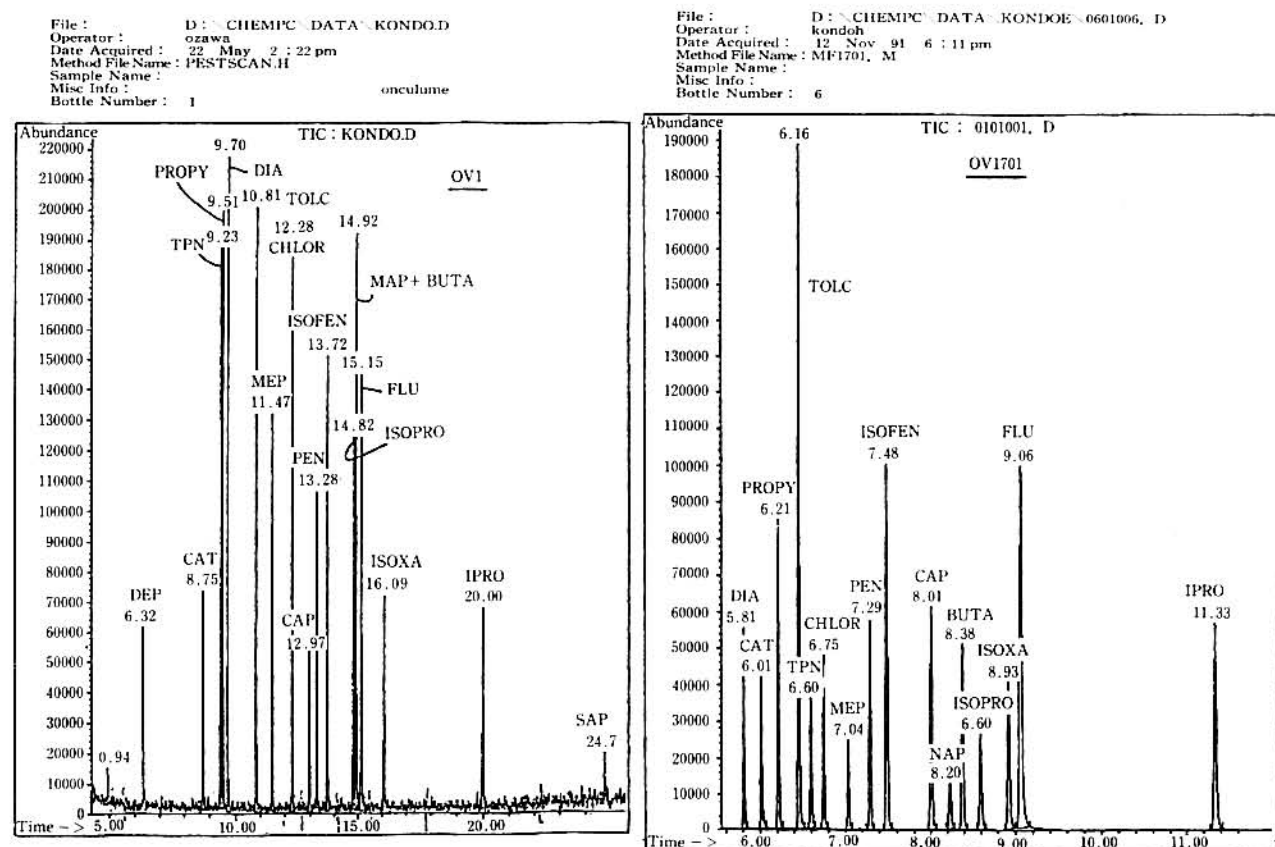


Fig 3 Typical gas chromatogram of Pesticides by HP 5971A/MSD (Left: OV-1, Right: OV1701)

に重なり、TPN と PROPY, ISOPRO と NAP+ BUTA も分離不十分であった。一方、OV-1701 では各農薬のすべてについて、完全に分離された。

また、高沸点の SAP を一括分析するには分離時間が長く、また、カラム液相の使用可能温度の上限近くで長時間使用することからカラム、GC/MS 検出器ともマイナス要因が大きい。このため、SAP については別途、薄膜短小のカラムを用い、GC/ECD で分析した。OV-1 と OV-1701²⁾ を用いた場合の農薬の分離例を Fig 3 に示す。

3.2 固相抽出法による前処理について

サンプル中（ゴルフ場排水、河川水）の懸濁物質が Sep-Pak 中に入ると、目づまりを起こしたり水分除去が困難となり、GC/MS、GC/ECD 分析に支障をきたす。このため、試料を予めガラス繊維濾紙（Whatman GF/C、約 1 μ m ポアサイズ）でろ過した。得られた濾液 200 ml を Sep-Pak tC18 plus (400 mg) に通水（通水速度約 10 ml/min）した。このカートリッジは予め、ジクロロメタン 5 ml、アセトン 5 ml、蒸留水 10 ml の順によく溶媒和しておいた。また、Supelco の Visiprep などの減圧吸引装置は Drypurge の時の水

分がバルブ等の通路に残っているのでチッソガスで除いた。サンプル通水後の固相抽出材中の水分は遠心分離や減圧吸引では全く除去できないが、高純度チッソガスを 2 l/min 程度で約 12 分間 Drypurge³⁾ を行うことによって、ほぼ完全に水分を除去し得た。Sep-Pak tC18 plus からの溶出はジクロロメタン 3 ml で行い、さらにこれを高純度チッソガスで濃縮乾固させて、ヘキサン 1 ml に溶解させた。

3.3 ブランク試験

蒸留水を用いた固相抽出法と液液抽出法による全操作ブランクのガスクロマトグラムを Fig 4 に示す（固相抽出の方は縦軸スケールを 25 倍に拡大している）。

固相抽出法の場合は全く妨害ピークが現れないが、液液抽出の場合はフロリジルによるクリーンアップの後でも著しい妨害ピークが生じていた。保持時間 6 分前後の不純ピークは食塩由来のもので、700°C で 24 時間焼くか、高価な残留農薬分析用食塩を使用することによって除けるが、それ以外の不純ピークは種々の操作を試みても除けなかった。即ち、液液抽出では大量の試薬と大量の

File : D:\CHEMPC\DATA\DWEL1, D
 Operator :
 Date Acquired : 10 Dec 91 3:30 pm
 Method File Name : MF1701, M
 Sample Name :
 Misc Info :
 Bottle Number : 1

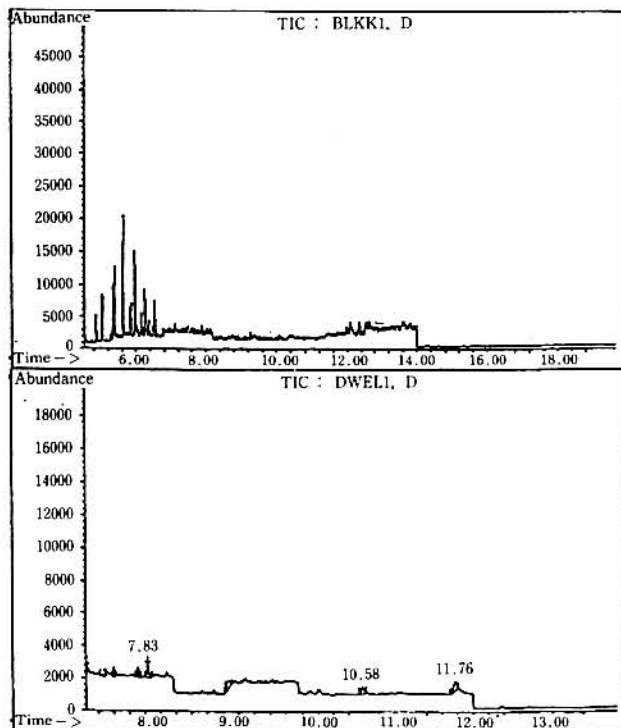


Fig 4 Demonstration gas chromatogram through the analysis of a distilled water method blank. (Upper: liquid liquid extraction, Lower: solid phase extraction)

ガラス器具を使用して長い工程を経るため、妨害ピークが避けられないと考えられる。

Table 3 Recoveries of 17 Pesticides

PEST	Conc.(ng/ml)	Recovery(n = 8)%	C.V.(n = 8) %
DIA	5.0	83.6	8.1
CAT	5.0	111	10
PROPY	5.0	96.4	11
TOLC	5.0	81.8	8.5
TPN	5.0	86.0	10
CHLOR	5.0	61.1	9.2
MEP	10	94.0	11
PEN	5.0	46.4	12
ISOFEN	10	85.8	9.2
CAP	50	91.6	8.8
NAP	5.0	73.3	4.2
BUTA	10	75.0	1.9
ISOPRO	5.0	79.5	2.8
ISOXA	20	75.0	8.2
FLU	5.0	114	9.5
I PRO	20	96.8	8.2
SAP	20	75.1	10

3.4 添加回収実験

添加回収率試験の結果を Table 3 に示す。ほとんどが回収率 75% から 115% の範囲に入り、変動係数もすべて 12% 以内であった。十分に実用できるものとする。

3.5 消費する時間と試薬量の比較

液液抽出法は有機溶媒による抽出の段階で必ずエマルジョンを生じ、この処理に多くの操作と時間を要する。また、ジクロロメタンなど作業環境

Table 4 Comparison of reagent consumption and run time

Reagent	LLE	SPE
Dichloromethane	100ml	8ml
Aceton	33ml	5ml
n-Hexane	110ml	1ml
NaCl	80g	---
Sodium sulfate (unhydro)	50g	---
Nitrogen gas	gauge 1.2Kg decr.	gauge 2Kg decr.
Filter	silica wool 0.5g	Whatman GF/C

per one sample

Operation	LLE	SPE
Extract, clean up	120min	5min
Condensation	50min	3min
Dehydro, dryness	(24hr)	1min
Prewash	10min	2min
Filtration	10min	5min

per one sample

上避けた方がよい有機溶媒を大量に使用する。一方、固相抽出法は、エマルジョンが生じることがなく、また、有機溶媒の使用量を大幅に削減でき、さらに、前述のブランク試験の結果から、クロスコンタミネーションの減少も期待できる。ここで、両法による処理時間の比較を試みたところ、固相抽出法は液液抽出法の1/10以下であった。なお、処理に要する費用は両法で有意の差は認められなかった。

4 結 語

農薬を含む化学物質の環境分析においては、その対象物質のもつ物理化学的性状やサンプル媒体により前処理方法や検出機器の種類を巧妙に使い分けている。液液抽出法では、PH や塩析濃度や抽出溶媒などの選択因子が多く、多成分を一括分析する場合、これらを組み合わせて別々に抽出操作を行うことが一般的である。固相抽出においても対象物質により種々の固相を使い分ける必要があ

り、必ずしも今回採用した手法だけで、すべての物質が処理できるとは限らない。しかし、前処理の分析効率や作業の安全性を考えたとき、液液抽出法とは比較にならないほどの利点が認められた。

水がサンプル媒体のときは完全に液液抽出法に比べて効率的であり、多数の検体を分析する必要のある環境分析においては、迅速に検体を処理できる Sep-Pak tC18 plus のような化学結合型シリカゲルを用いた固相抽出法は非常に有効な手段であることが示された。

参 考 文 献

- 1) K.C.Van Horne 編集：固相抽出法ハンドブック (1985)
- 2) 笹山 弘：環境化学, 1, 145 (1991)
- 3) Hewlett-Packard Co.: Hewlett-Packard Application Note (1990)

RP-C18 Cartridge Isolation of 17 controlled Pesticides in Water Supplies

Hideharu KONDOH, Kiyoyasu MURATA

Semiautomatic solid phase extraction was developed to determine relevant pesticides in wastewater flowing through golf courses. These pesticides were isolated on a Sep-Pak plus tC18 cartridge, then eluted with Dichloromethane. The Dichloromethane eluate was substituted using n-Hexane, then submitted directly to full automatic GC/MS systems (HP5971A + HP5890II + HP7673) and GC/ECD. Recovery rates were usually higher than 75% and the standard deviations were 12% at the most.

In conclusion, the advantage of solid phase extraction is follows :

- SOLVENT USE REDUCED BY AT LEAST 90%
- NOT LABOR INTENSIVE
- NO HARM TO HUMANS, CLEAN EXTRACT
- HIGH QUALITY DATA