

キャピラリーガスクロマトグラフィーを用いた 環境水中の農薬のスクリーニング法

小林規矩夫 茅野陽子 飛田修作 堤 充紀

Screening Method of Pesticides in Aquatic Environment
by Capillary Gas Chromatography

Kikuo KOBAYASHI, Yoko CHINO, Shusaku TOBITA
and Mitsutoshi TSUTSUMI

現在農耕地をはじめ山林、ゴルフ場などで多種多様の農薬が使用されている。農薬は環境中に散布されることで本来の効果を示すことから、使用方法によっては周辺環境汚染をひきおこすことが懸念され、特にゴルフ場からの農薬流出による水質汚染が危惧され大きな社会問題となっている。

このような農薬による水質汚染の状況を把握するためには、試料中の農薬の分別定量が必要である。しかし試料中に存在するか否か不明な多種類の農薬について、個々の定量法を用いることは実際上困難であり、一連の操作で多成分を同時に定量できる一斉分析法の適用が望ましい。

今までも農薬の多成分分析については、キャピラリーカラムを用いたガスクロマトグラフ法が検討され、分離能が高く、高感度な分析が可能であると報告されている¹⁻³⁾。また現在、最も信頼性の高い方法と考えられるキャピラリーカラムを用いたGC/MS法で環境試料中の農薬の一斉分析を試みた報告もある⁴⁻⁶⁾。しかしGC/MS装置はまだ十分普及していないことと、このGC/MSを用いる方法は高度の技術と熟練を要することから、今回、より簡易なキャピラリーガスクロマトグラフィーを用いる水中の多種類の農薬のスクリーニング法について検討した。

最近ゴルフ場等によく使用されている農薬を対象にして、水からジクロロメタンで抽出し、検出器としてECD, NPD(高感度窒素、リン検出器)を用いて、代表的な数種のキャピラリーカラムでの分離性、保持時間、感度等について検討し、さらに水からの回収実験を行ったのでその結果を報告する。

実験方法

1. 試薬

農薬標準液：和光純薬工業(株)、ガスクロ工業(株)より入手した標準品約10mgを秤量し少量のアセトンに溶解し、n-ヘキサンで50mlにする(標準原液)。

この標準原液をGCの感度に応じて適宜希釈し農薬標準液とした。

ジクロロメタン、n-ヘキサン：残留農薬試験用を用いた。

2. 装置

ガスクロマトグラフ：HP5890A型

データ処理装置：HP3396A型

検出器：ECD, NPD

自動試料注入装置：HP7673型

3. GC測定条件

(1)キャピラリーカラム：すべてJ&W社製のフューズド・シリカ・カラムを用い、各カラムの仕様は次に記した。メガボアカラム；

DB-1 (methylsilicone)

内径 0.53mm, 長さ 30m, 膜厚 1.5 μ m

DB-5 (5%phenylmethylsilicone)

内径 0.53mm, 長さ 15m, 膜厚 1.5 μ m

DB-17 (50%phenylmethylsilicone)

内径 0.53mm, 長さ 15m, 膜厚 1.0 μ m

DB-1701 (14%cyanopropylphenylsilicone)

内径 0.53mm, 長さ 15m, 膜厚 1.0 μ m

レギュラーボアカラム；DB-5, DB-17

内径 0.25mm, 長さ 30m, 膜厚 0.1 μ m

(2)ECD測定条件：検出器温度；250 $^{\circ}$ C, 注入温度；150 $^{\circ}$ C, キャリヤーガス；He, カラム温度条件等；メガボアカラム 150 $^{\circ}$ C (1min) -10 $^{\circ}$ C/min-200 $^{\circ}$ C -2.5 $^{\circ}$ C/min-250 $^{\circ}$ C, ヘッド圧 3psi

レギュラーボアカラム 50℃ (2min) -20℃/min-
160℃-5℃/min-250℃, ヘッド圧 20psi

(3)NPD測定条件(メガボアカラム): カラム温度;
170℃ (3min) -4℃/min-230℃, 検出器温度; 220
℃, 注入口温度; 150℃, キャリヤーガス; He, H₂;
3.5ml/min, Air; 100ml/min, ヘッド圧 3psi

4. 保持時間, 感度の検討

農薬標準液を試料注入装置で1μl注入し, 保持時間
とピーク面積を求め, これをECDではγ-BHC, N
PDではパラチオンを基準にして, それぞれ相対保持時
間と相対感度を求めた。

また, 最小検出量はピーク面積10,000μV・sec
(ECDで保持時間約10分でのピーク高がAtt=3で5
mm)を示す量とした。

5. 水からの抽出方法

試料1ℓに塩酸(1+1)3mlを加えジクロロメタン

80mlで抽出する。この抽出を2回行い有機層を合わせ,
無水硫酸ナトリウムで脱水する。ロータリーエバポレー
ターで濃縮したのち, 窒素ガスを用いて乾燥する。残さ
をn-ヘキサン1mlに溶かしGC用検液とする。

結果および考察

1. ECDでの保持時間と感度

図1, 2に34種の農薬を混合した標準溶液について
ECDでメガボアカラム(DB-1, DB-17)を用い
た分離検出状況を示した。また表1に各種のメガボア,
レギュラーボアカラムでの相対保持時間(γ-BHCを
基準とする)を示した。図1, 2のピーク番号はこの表
の番号に対応している。

今回ECDで検討した農薬は表1の34種類でいずれも
メガボアカラムで30分以内に検出され, 短時間に分析が

表1 各種農薬の相対保持時間(ECD)

γ-BHCを1.00とした値

No.	Pesticide	Megabore Column				Regularbore Column	
		DB-1	DB-5	DB-1701	DB-17	DB-5	DB-17
1	DEP	0.17	0.20	0.19	0.15	0.31	0.12
2	DBN	0.46	0.43	0.45	0.42	0.62	0.61
3	Echloomezole	0.57	0.56	0.47	0.50	0.70	0.66
4	Chloroneb	0.62	0.62	0.56	0.60	0.74	0.73
5	Beslogine	0.85	0.87	0.79		0.90	—
6	Dimethoate	0.90	0.90	1.17	1.11	0.76	
7	CYAP	0.98	0.99	1.13	1.09	1.01	1.05
8	Propyzamide	1.03	1.04	1.10	0.89	1.01	0.93
9	PCNB	1.03	1.03	0.90	0.94	1.01	0.97
10	TPN	1.06	1.07	1.28	1.14	1.06	1.08
11	Formothion	1.10	1.10	1.41	1.35	1.09	1.18
12	DCPA	1.16	1.17	1.46	1.26	1.11	1.14
13	Methyl Parathion	1.21	1.22	1.36	1.32	1.14	1.16
14	MEP	1.32	1.34	1.64	1.45	1.21	1.22
15	Heptachlor	1.32	1.33	1.07	1.13	1.16	1.07
16	Parathion	1.43	1.46	1.56	1.46	1.25	1.22
17	Chlorpyrifos	1.44	1.47	1.33	1.42	1.25	1.21
18	α-CVP	1.57	1.62	1.58	1.61	1.32	1.28
19	Pendimethalin	1.57	1.64	1.57	1.56	1.33	1.26
20	Captan	1.58	1.62	1.86	2.04	1.35	1.44
21	β-CVP	1.62	1.67	1.67	1.74	1.35	1.33
22	PAP	1.62	1.68	1.68	1.90	1.36	1.39
23	Procymidone	1.67	1.73	1.87	1.74	1.37	1.33
24	Isoprothiolane	1.79	1.87	2.08	2.42	1.46	1.55
25	Flutolanil	1.82	1.91	2.23	1.98	1.45	1.41
26	α-Benzoepin	1.83	1.89	1.62	1.77	1.42	1.35
27	Isoxathion	1.98	2.09	2.19	2.29	1.52	1.51
28	β-Benzoepin	2.08	2.18	2.26	2.33	1.56	1.54
29	CYP	2.27	2.43	2.64	2.79	1.65	1.67
30	EDDP	2.27	2.43	2.51	2.98	1.65	1.74
31	CNP	2.27	2.43	2.39	2.49	1.63	1.57
32	Difolatan	2.41	2.58	2.93	3.21	1.72	1.84
33	EPN	2.65	2.88	3.02	3.21	1.79	1.83
34	γ-BHC (min)	10.828	7.725	8.587	7.833	15.407	17.968

可能であった。

各カラムの相対保持時間をみると無極性のDB-1と微極性のDB-5が、また中極性のDB-1701と同じく中極性のDB-17が同様な結果を示し、保持時間の長い農薬ではカラムの極性が増すと保持時間も長くなる傾向が認められた。

図1にみられるようにDB-1では8のプロピサミドと9のPCNB、14のMEPと15のヘプタクロル、16のバラチオンと17のクロルピリホス等のように保持時間が同一でピークが重なり分離が不可能なものがあった。

また図2のDB-17でも分離できない農薬があったが溶出順はDB-1とはやや異なっており、ピークの重なった組み合わせが10と15、11と13、14と16のように変わった。このことから、今回検討した農薬については両者の

カラムで測定することにより、同定が可能であると考えられた。

またレギュラーボアカラム (DB-5) で測定したクロマトグラムはメガボアカラムに比べよりシャープなピークを示し分離能は高かったが、表1の相対保持時間からみても各農薬を完全に分離することは困難であり、メガボアカラムと較べて特に優れているとはいえなかった。

またスプリットレス注入法を用いたため溶媒の沸点付近から昇温する必要があり、1回当りの分析時間が約50分かかり通常のルーチン分析に使用するには難点があった。

次に表2に γ -BHCを基準にした相対感度と最小検出量を示した。メガボアカラムではいずれも γ -BHCより感度が低く、DB-17で検出されなかったベスロジ

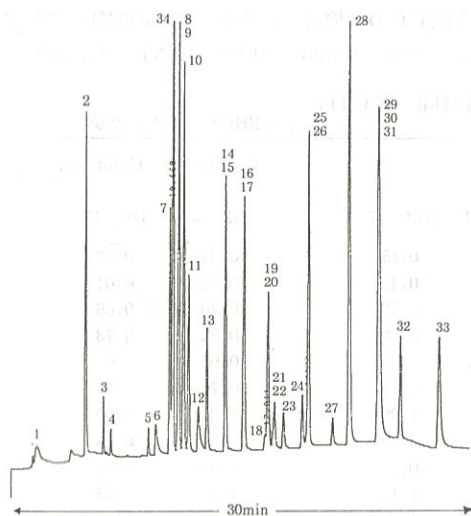


図1 各種農薬のメガボアカラム、DB-1でのクロマトグラム
ピーク上の数字は表1の番号に対応

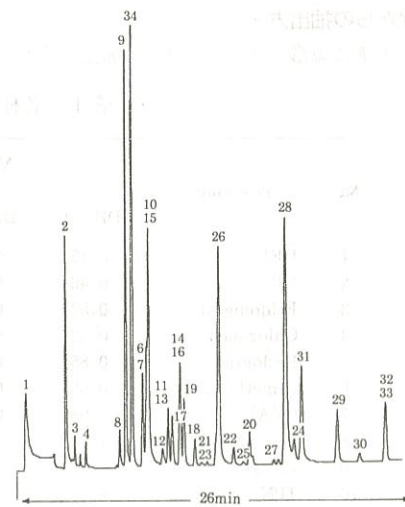


図2 各種農薬のメガボアカラム、DB-17でのクロマトグラム
(ECD) ピーク上の数字は表1の番号に対応

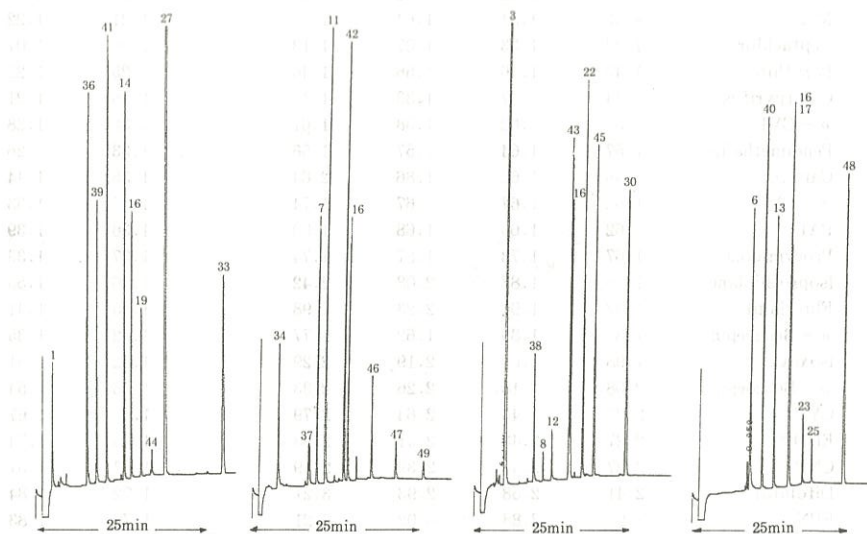


図3 各種農薬のメガボアカラム、DB-1でのクロマトグラム (NPD)

ピーク上の数字は表3の番号に対応

ンを除き相対感度は0.03~0.88であり、カラムの種類による感度差はほとんどなかった。

一方、レギュラーボアカラムではメガボアカラムに比べ一般に感度が低く、この傾向は保持時間の長いものほど顕著であった。

最小検出量をメガボアカラムのDB-1を用いて測定したさいピーク面積が10,000 ($\mu V \cdot sec$)となる量としたとき、各農薬について算出したところ2~75pgであった。

2. NPDでの保持時間と感度

図3にNPDに対して感度のよいとされる農薬について、それぞれ8~10種を混合した標準液(合計33種)の

DB-1でのクロマトグラムを示した。

表3にはこれら33種の農薬についての相対保持時間、相対感度(パラチオンを基準)、最小検出量を示した。NPDはカラムからの液相のブリードによる影響が大きいため今回は極性の弱いDB-1、DB-5について検討したが、両カラムともほぼ同様な相対保持時間を示した。

なお図3の各ピークの番号は表3の番号と同じであるが、この中にはECDでも検出可能な農薬があり重複しているものは表1の番号を使用した。図3の中でNo.1から33までの18種類の農薬はECDでも検出されているのである。表3の相対保持時間からわかるようにNPD

表2 各種農薬の相対感度と最小検出量(ECD)
 r -BHCを1.00とした値

No. Pesticide	Megabore		Regularbore		最小検出量(pg)
	Column		Column		
	DB-1	DB-17	DB-5	DB-1	
1 DEP	0.17	0.15	0.31	13	
2 DBN	0.29	0.30	0.33	8	
3 Echlomezole	0.38	0.37	0.27	6	
4 Chloroneb	0.03	0.06	0.03	75	
5 Beslogine	0.09	—	0.01	25	
6 Dimethoate	0.11	0.12	0.02	20	
7 CYAP	0.55	0.56	0.39	4	
8 Propyzamide	0.23	0.21	0.16	10	
9 PCNB	0.67	0.65	0.70	3	
10 TPN	0.69	0.64	0.62	3	
11 Formothion	0.47	0.48	0.11	5	
12 DCPA	0.12	0.12	0.05	19	
13 Methyl Parathion	0.20	0.20	0.12	11	
14 MEP	0.23	0.23	0.16	10	
15 Heptachlor	0.88	0.87	0.69	2	
16 Parathion	0.16	0.16	0.09	14	
17 Chlorpyrifos	0.29	0.29	0.19	8	
18 α -CVP	0.21	0.22	0.04	11	
19 Pendimethalin	0.11	0.27	0.11	7	
20 Captan	0.41	0.43	0.05	5	
21 β -CVP	0.33	0.28	0.03	7	
22 PAP	0.13	0.14	0.04	17	
23 Procymidone	0.06	0.06	0.03	37	
24 Isoprothiolane	0.15	0.14	0.03	15	
25 Flutolanil	0.05	0.05	0.01	45	
26 α -Benzoepin	0.67	0.63	0.42	3	
27 Isoxathion	0.10	0.11	0.01	22	
28 β -Benzoepin	0.74	0.68	0.23	3	
29 CYP	0.57	0.59	0.05	4	
30 EDDP	0.26	0.29	0.01	9	
31 CNP	0.45	0.45	0.08	5	
32 Difolatan	0.41	0.40	<0.01	5	
33 EPN	0.40	0.42	0.03	9	
34 r -BHC*	4,460	3,980	1,790	2	

* 1 pg 当りの面積 ($\mu V \cdot sec$)

表3 各種農薬の相対保持時間と感度(NPD)
Parathionを1.00とした値

No. Pesticide	相対保持時間		相対感度		最小検出量(pg)
	Column		Column		
	DB-1	DB-5	DB-1	DB-1	
1 DEP	0.17	0.12	0.18	390	
35 Acephate	0.27	0.19	0.46	150	
3 Echlomezole	0.32	0.23	0.70	100	
36 Salithion	0.54	0.45	1.04	67	
6 Dimethoate	0.60	0.52	0.90	78	
37 Pencycuron	0.60	0.52	0.13	540	
38 Simazin	0.62	0.54	0.63	110	
39 Atrazine	0.64	0.56	0.97	72	
7 CYAP	0.67	0.60	0.82	85	
8 Propyzamide	0.72	0.65	0.09	780	
40 Diazinon	0.73	0.67	0.95	74	
41 Ethylthiomethone	0.74	0.68	0.94	74	
11 Formothion	0.76	0.71	0.83	84	
12 DCPA	0.81	0.76	0.08	880	
13 Methyl Parathion	0.85	0.81	0.76	92	
14 MEP	0.93	0.91	0.69	100	
42 Malathion	0.96	0.96	0.94	74	
43 MPP	0.99	0.98	0.64	110	
17 Chlorpyrifos	1.01	1.01	0.91	77	
19 Pendimethalin	1.10	1.13	0.41	170	
22 PAP	1.12	1.16	0.82	85	
23 Procymidone	1.15	1.19	0.09	780	
44 Siduron	1.22	1.27	0.05	1,400	
45 Butamifos	1.24	1.31	1.00	70	
25 Flutolanil	1.25	1.32	0.10	700	
46 Napropamide	1.25	1.31	0.36	190	
27 Isoxathion	1.35	1.43	0.35	200	
47 Mepronil	1.51	1.57	0.11	640	
48 Iprodione	1.58	1.62	1.78	39	
30 EDDP	1.58	1.62	0.82	85	
49 Nitralin	1.80	1.81	0.15	470	
33 EPN	1.95	1.92	1.14	61	
16 Parathion (min)	15.527	11.261	143*	70	

* 1 pg 当りの面積 ($\mu V \cdot sec$)

の場合もすべての農薬を同時に分離定量する事は困難であったが、ECDでの測定結果と照合することにより同定が可能となるものも多と考えられた。

NPDでの最小検出量をECDと同様な方法で算出すると39~1,400pgと農薬により大きな感度差がみられた。またECD, NPDの両者で検出される農薬についてその感度を比較すると今回の測定条件ではいずれもECDのほうがはるかに高感度であった。

表4 添加回収実験結果

(回収率が蒸留水で85%未満のもの)

農 薬	添加量(μg)	回収率(%)	
		蒸留水 (n=2)	河川水 (n=2)
DEP	0.80	11.3	18.2
Dimethoate	1.25	62.0	62.5
Echlomezole	1.20	68.5	71.0
DBN	1.35	74.0	79.2
CAT	1.25	79.7	71.1
Chloroneb	0.46	79.0	86.5
Propyzamide	2.90	82.3	88.5

表5 保持時間とピーク面積の再現性 (ECD, レギュラーボア, DB-5)

	注入量(ng)	保持時間(min)	変動係数(%)	ピーク面積(mV・Sec)	変動係数(%)
DBN	0.54	9.529	0.009	551	0.5
PCNB	0.40	15.387	0.008	1,408	0.6
TPN	0.45	16.330	0.004	759	0.3
Propyzamide	0.21	17.554	0.005	203	1.5
Heptachlor	0.21	17.872	0.005	319	2.3
MEP	0.32	18.531	0.005	145	2.7
Chloropyrifos	0.65	19.307	0.004	413	3.3
Captan	0.60	20.489	0.004	93	2.3
α-Benzoepin	0.51	21.885	0.003	603	0.9
CNP	0.50	25.231	0.07	119	1.5

ま と め

キャピラリーガスクロマトグラフィーで水中の多種類の農薬のスクリーニング法について検討した。検出器にECD, NPDを用いて49種類の農薬について測定したところ1種類のカラムではすべての農薬を完全に分離することはできなかったが、他の極性の異なるカラムを用いて測定することにより、またECDとNPDの両者に感度を持つものがあり、両者の測定結果を照合することによりスクリーニングが可能であった。

また、水からの回収実験と保持時間、ピーク面積の再現性について検討したところ良好な結果が得られ、この方法は環境水中の農薬のスクリーニング法として使用できることが認められた。

3. 回収実験

蒸留水、河川水1ℓに各農薬を0.1~5 μg添加し水からの抽出方法に従い操作しECD, NPDで測定した。結果は表3に示した農薬以外は蒸留水、河川水共に85%以上の良好な回収率であった。表3の回収率が低い農薬はいずれもGCでの保持時間が短いことから気化しやすいため抽出操作中にロスしたものと推定され、これらの農薬を分析するさい溶媒の留去等には十分の注意が必要であることが分かった。

4. 保持時間、ピーク面積の再現性

今回検討したスクリーニング法では保持時間が重要な情報であるため繰返し注入による変動を調べた。レギュラーボアカラム(DB-5)を用いGC測定条件のカラム温度で5回繰返し標準液を注入し保持時間とピーク面積の変動について検討した。結果は表4に示したように保持時間の変動係数は0.07%以下であり、変動係数の最も大きなCNPでも保持時間の変動幅は0.015分と小さいものであった。またピーク面積も変動係数0.5~3.3%と良好な精度であった。

文 献

- 1) 大橋則雄ら：日本薬学会第108年回講演要旨集Ⅳ, 70 (1989)
- 2) Ripley, B.D. and Braun, H.Z.: J. Assoc. Off. Anal. Chem., 66, 1084~1095 (1983)
- 3) 今中雅章ら：岡山県環境センター所報, 11, 104~108 (1987)
- 4) 森本美鈴, 内村豊, 篠原亮太：第23回水質汚濁学会講演集, 469~470 (1989)
- 5) 奥村為男, 今村清：第24回水質汚濁学会講演集, 323~324 (1990)
- 6) 鈴木茂, 古塩英世：第24回水質汚濁学会講演集, 325~326 (1990)