

農薬分析における前処理方法の検討

芝 和代 島田喜文

Study on pretreatment method for analysis of agricultural-chemicals used on golf courses

Kazuyo SHIBA, Yoshifumi SHIMADA

The recovery rates of Iminoctadine acetate from water samples were studied using two types of solid phase cartridges, PS-2 and PLS-3. These cartridges are using for pretreatment method of agricultural-chemicals in water samples.

The results obtained are as follows : (1)When using solid phase cartridges for pretreatment of Iminoctadine acetate, it was suggested that matrices in the water might affect the recovery rates from water samples.(2) Recovery rates of PS-2 and PLS-3 from refining water showed 56% and 58% respectively and those recovery rates showed no significant difference .

Keywords : Iminoctadine acetate, solid phase pretreatment, agricultural-chemicals

はじめに

ゴルフ場で使用される農薬については、平成2年5月、環境庁（現環境省）が定めた「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」により、指針値及び分析法が示されている。同指針は順次見直しが行われ、平成13年12月には10農薬が追加され、現在45農薬についての指針となっている。

このうち、グアニジン系殺菌剤であるイミノクタジン酢酸塩（以下「IM」という）の分析法は、ニンヒドリンによるポストカラム誘導体化HPLC法が規定され¹⁾ ている。同法による前処理では、強塩基性下でブタノール：ヘキサン混液により抽出後、硫酸酸性下で水層転溶し、イオン交換ミニカラムにより精製操作を行っており、多量の有機溶媒を使用するほか、強塩基性及び強酸性の条件下で処理するため、分析者の健康への悪影響が懸念される。このため、これに代わる前処理法として、処理操作が簡便で処理時間も短縮され、また、溶媒使用量が少ない固相抽出カートリッジによる方法が検討され、伊吹ら²⁾ はPLS-2で固相抽出し、アセトニトリルで溶出する方法で、蒸留水からの回収は良好であったが、環境水では回収率が低下したと報告している。また、高尾ら⁴⁾ は

PS-2で固相抽出し、塩酸メタノールで溶出する方法を検討し、環境水では回収率が低かったと報告している。

今回、我々は固相抽出カートリッジによる前処理法を採用する前段として、高尾らの方法に準じ、PS-2とPLS-3の二つの固相抽出カートリッジを用い、固相抽出による前処理法での回収率について検討したので、その結果の一部を報告する。

分析試薬及び分析装置

1. 試薬

IM標準品は和光純薬工業製残留農薬試験用、過塩素酸ナトリウムは和光純薬工業製一級試薬、乳酸、水酸化ナトリウムは同社製特級試薬、ニンヒドリンは同社製アミノ酸自動分析用、塩酸は関東化学製特級試薬、アセトニトリル、メタノールは同社製残留農薬試験用及び高速液体クロマトグラフィー用を用いた。

2. 移動相

移動相の調製に使用する過塩素酸ナトリウム溶液（pH3.7）は、精製水（ヤマト科学製Auto pure WR600G超純水装置で作成）に過塩素酸ナトリウム14.1g、水酸化ナトリウム400mg及び乳酸1.8mlを加えて溶解し1lとした。移動相は、同液とアセトニトリルを混合（7：3）して調製した。

3. 固相抽出カートリッジ

固相抽出カートリッジとしては、Waters製PS-2（以下「PS-2」という）及びGL Science製Aquisis PLS-3 Jr.（以下「PLS-3」という）を使用した。これらカートリッジの使用にあたっては、アセトニトリル（10ml）に次いで精製水（10ml）を使用してコンディショニングした。

4. 装置

(1) 試料の抽出

Waters製SPC10-C型固相抽出装置を用いた。

(2) IM濃度の測定

測定は、Waters製616型HPLC及び2475型蛍光検出器を使用した。測定条件を表1に示した。

実験方法

1. 液-液抽出

精製水及びゴルフ場排水（以下「環境水」という）にIM標準液を添加して0.005mg/lに調製した溶液200mlを分液ロートに分取し、トリエチルアミン0.15ml及び50%水酸化ナトリウム溶液16ml、塩化ナトリウム5gを加え、ブタノール：ヘキサン（1：1）混液100mlで2回抽出し

有機溶媒層を合わせた。有機溶媒層に蒸留水30ml及び1mol/l硫酸2mlを加えて抽出し、さらに蒸留水20ml及び1mol/l硫酸0.5mlを加えて抽出し、水層を合わせた。水層を40℃の水浴上でロータリーエバポレーターを用いて濃縮し、移動相で2mlに定容しHPLC用試料とした。

2. 固相抽出

コンディショニングした固相抽出カートリッジ（PS-2，PLS-3）に、精製水及び環境水にIM標準溶液を添加して0.005mg/lに調製した溶液200mlを通液し、IMを吸着させた。カートリッジを遠心分離（3000rpm，15分）して脱水し、0.1mol/l塩酸メタノール溶液10mlでIMを溶出した。溶出液を40℃水浴上でエバポレーターを用いて濃縮し、移動相で2mlに定容しHPLC用試料とした。実験方法を図1に示した。

3. 直接添加

精製水及び環境水200mlを固相抽出カートリッジ（PS-2，PLS-3）に通液し、その溶出液約10mlにIM標準溶液を0.1mg/lになるように添加し、40℃の水浴上でロータリーエバポレーターを用いて濃縮した後移動相で2mlに定容しHPLC用試料とした。

表1 測定条件

測定条件	
分析カラム	YMC製YMC-PACK Pro C ₁₈
移動相	過塩素酸ナトリウム・アセトニトリル混液
流量	0.5ml/min
オープン温度	50℃
試薬 1	0.5mol/l NaOH
流量	0.3ml/min
試薬 2	3g/l ニンヒドリン溶液
流量	0.2ml/min
反応温度	60℃
注入量	20μl
測定波長	Ex.at 395nm Em.at 500nm

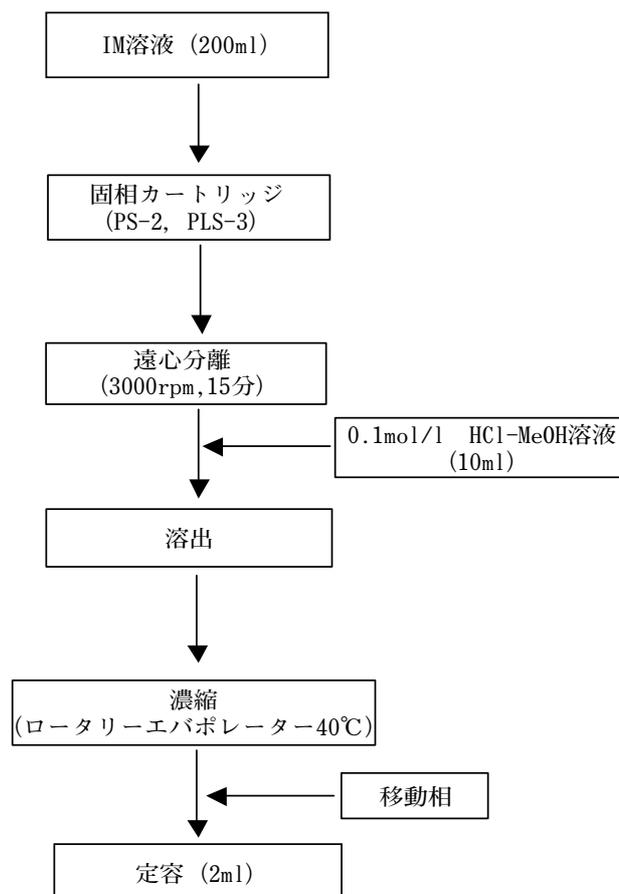


図1 固相抽出における方法

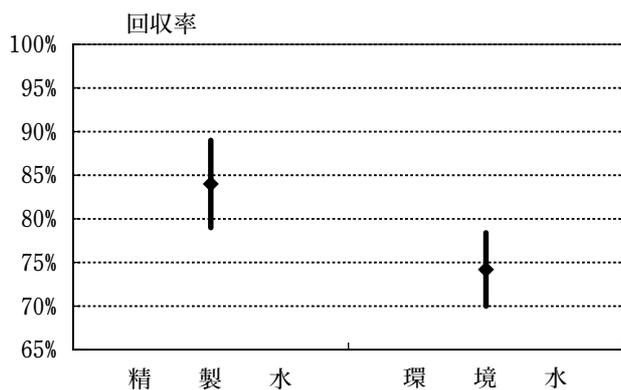


図2 液-液抽出による添加回収試験結果

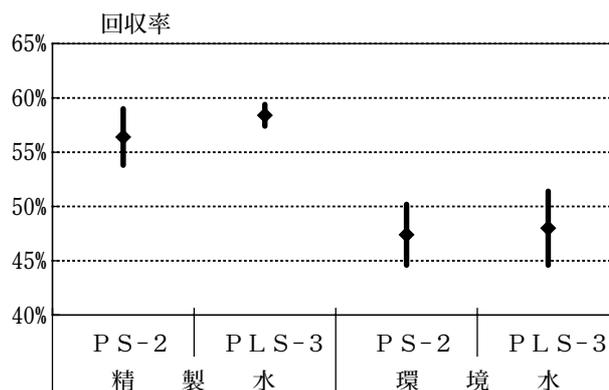


図3 固相抽出による添加回収試験結果

結果及び考察

1. 液-液抽出

液-液抽出による添加回収試験 (n=3) の結果を図2に示した。精製水からの回収率は84±5%であったのに対し、環境水からは74±4%で、環境水のほうが低い結果であった。

IMは、ガラス壁面への吸着が指摘されており、吸着防止剤として抽出時にトリエチルアミンを添加している。それにもかかわらず、精製水と環境水には有意な差が見られ ($t = 2.60 > 2.58 (0.01)$)、これは水中の有機物などのマトリックスによる吸着が推察された。

2. 固相抽出

固相抽出カートリッジ (PS-2, PLS-3) を用いて実施した精製水及び環境水からのIM回収試験 (n=5) の結果を図3に示した。精製水ではPS-2で56±3%、PLS-3で58±1%、環境水ではPS-2で47±3%、PLS-3で48±3%となり、いずれのカートリッジについても回収率は低かった。固相からの回収率が低いことは、前述のように、IMのガラス等に吸着しやすい性質によるものと考えられた。また、どちらの固相抽出カートリッジにおいても、精製水と環境水の回収率に有意な差が認められた (PS-2: $t = 5.28 > 2.58 (0.01)$, PLS-3: $t = 6.65 > 2.58 (0.01)$)。このことから、環境水中の有機物などのマトリックスへの吸着が示唆された。

また、固相抽出カートリッジ間では、回収率について有意な差は認められなかった。PS-2がスチレンジビニルベンゼンポリマーであるのに対し、PLS-3はスチレンジビニルベンゼンポリマーにメタクリレート系ポリマーを組み合わせたものであり、水との親和性が高い製品のため、水溶性の高いIMの回収率が高くなることを期待したが、今回においてはその差はないと考えられた。

このため、固相抽出による前処理では、固相抽出カートリッジの選択や固相からの溶出条件の検討、マトリッ

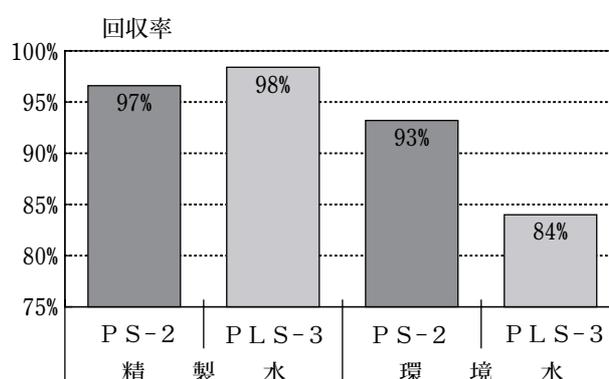


図4 残存有機物が回収率に及ぼす影響

クスへの吸着防止方法の検討が必要であると考えられた。

3. 直接添加

固相を通過した溶出液中に残存するマトリックスによるIM回収率への影響を調べるため、固相抽出カートリッジ (PS-2, PLS-3) を通過させた精製水及び環境水に直接IM標準溶液を添加し、濃縮操作を行った。結果を図4に示した。

回収率が、精製水ではPS-2が97%、PLS-3が98%であったのに対し、環境水ではPS-2が93%、PLS-3が84%であった。精製水での回収率が高いことは、濃縮操作の後HPLCによる測定までの時間が短かったことから、容器への吸着が減少したことによるものと考えられた。このことは、高尾ら⁴⁾の報告とも同様であった。また、精製水に比べ、環境水の回収率が低いのは、固相からの溶出液に残存する環境水中のマトリックスによる吸着が考えられ、今後マトリックスによる影響を詳細に検討するとともに、影響を除去する方法についても研究する必要がある。

ま と め

イミノクタジン酢酸塩の固相抽出カートリッジによる前処理法を採用する前段として、PS-2とPLS-3の二つの固相抽出カートリッジを用い、固相抽出による前処理法での回収率について検討した。

その結果、

1. IMは環境水中のマトリックスの影響を受けることが示唆された。
2. PS-2とPLS-3の二つの固相抽出カートリッジを用いて検討を行ったが、今回の場合、差は認められなかった。

今後、回収率を向上させるため、固相抽出カートリッジの選択、溶出溶媒の検討、マトリックスの影響を除去す

る方法の確立が必要であると考えられた。

文 献

- 1) 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る暫定指導指針」の改定について、平成13年12月28日 環水土234号
- 2) 伊吹ほか：奈良県保健環境センター年報, 37, 85-89 (2002)
- 3) 水環境部：栃木県保健環境センター年報, 8, 128-135 (2003)
- 4) 高尾ほか：香川県環境保健研究センター所報, 3, 141-144 (2004)