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

池田 憲広, 伊藤 重美, 佐々木美智子

奈良県衛生研究所

(〒630 奈良市大森町57-6)

[平成4年3月9日受理]

Determination of Pesticides in Tap Water and River Water by HPLC using Concentration Technique with Polystyrene Gel Mini Cartridge.

Norihiro IKEDA, Shigemi ITO, Michiko SASAKI

Nara Prefectural Institute of Public Health

(57-6 Omori-cho, Nara 630)

[Received March, 9, 1992]

Summary

Method for simultaneous determination of asulam, oxin-copper, thiuram, simazine (CAT), mecoprop, napropamide, iprodione, bensulide (SAP) and pencycuron in water was investigated by high performance liquid chromatography (HPLC). Pesticides in waters were absorbed on polystyrene gel mini cartridge. And then the pesticides on cartridge were eluted with acetonitrile and determined by high performance liquid chromatograph equipped with a column of RS pak DE-613 or NOVAPAK C18. The recoveries of these pesticides in distilled water were more than 80% except asulam and oxin-copper. And those in river water were more than 89% except oxin-copper. But those in tap water were less than 36% except mecoprop, iprodione and pencycuron. These low recoveries were caused by residual chlorine in tap water.

Key Words: HPLC, polystyrene gel mini cartridge, pesticides, tap water, river water.

1. はじめに

1990年5月さらに1991年7月に環境庁より“排水に係わるゴルフ場使用農薬標準分析法”¹⁾及び厚生省より“水道水中ゴルフ場使用農薬に係わる検査法”²⁾が出された。ここに示されている液・液抽出による方法では操作が煩雑で時間がかかり、使用する多量の有機溶媒の濃縮等による環境の汚染も問題となる。

また、揮発性の低い農薬や、メチルあるいはエチル誘導体化が必要な、メコプロップ等の農薬のガスクロマト

グラフィー (GC) による測定はかなり煩雑で回収率も低くなる。

そこで、数多くの検体の処理が求められるルーチン検査等で、検査法の一層の迅速化、簡便化を測るため、現在市販されているミニ・カートリッジの中から、ポリスチレン系のものを選び、アシュラム、オキシシン銅、チウラム、シマジン、メコプロップ、イブロジオン、ナプロバミド、ベンスリドおよびペンシクロンの計9種の農薬を固相抽出した。さらに、試料中の共存物質による測定上の妨害を軽減し、ピークの重なりを防ぐため、カラム

や溶離液等について2種類の条件を設定した。第一の条件でアシュラム、オキシシン銅及びチウラムを、第二の条件で、シマジン、メコプロップ、ナプロバミド、イプロジオン、ベンスリド及びペンシクロンを高速液体クロマトグラフィー (HPLC) で測定し、その回収率や測定値のバラツキを求めた。

2. 分析方法

2. 1 試薬

アシュラム、オキシシン銅、チウラム、シマジン、ナプロバミド、イプロジオン、ベンスリドはジーエルサイエンス(株)製の Pesticides kit (×21) を、メコプロップ、ペンシクロンは和光純薬(株)製の残留農薬分析用標準品を用いた。これら標準品農薬の性状を Table-1 に示す。

標準溶液の調製：オキシシン銅を除く8種の農薬10mgをそれぞれ、アセトンに溶解し、正確に10ml (1,000ppm) とし、これを標準原液とする。これをアセトニトリルで希釈し、標準溶液 (5 ppm) を調製した。オキシシン銅については5%リン酸：アセトニトリル=1：1混液を用いて標準原液を調製し、更にアセトニトリルにて希釈し、標準溶液 (5 ppm) とした。アセトニトリルは和光純薬(株)製の残留農薬分析用を、リン酸二水素カリウム、リン酸及び硝酸は和光純薬(株)製の試薬特級を、EDTA2Naは

同仁化学研究所(株)製の試薬特級を用いた。試薬の調製にはイオン交換樹脂通過後、蒸留した水を用いた。

2. 2 ミニカートリッジ及びHPLC用カラム

農薬捕集用ポリスチレンゲルミニカートリッジ；

SEP-PAK PLUS PS-1；

昭和電工(株)製の (ポリスチレンゲル500mg 充填)。

HPLCのカラム

RSpakDE-613 (6 mm I. D. × 150mm)；昭和電工(株)製ポリメタクリレート系中極性ゲル (ポリマー系吸着分配用カラム)。

NOVAPAKC18 (4 μ) (3.9mm I. D. × 150mm)；ウォータース(株)製 ODS カラム。

2. 3 装置

測定に用いた HPLC 装置はウォータース社(株)製の820J型 (紫外部検出器付き) 及び991J型 (フォトダイオードアレイ、三次元検出器付き) で、カラム恒温槽、オートサンプラー及びデータ処理装置付きである。

ミニ・カートリッジへの試料送液には古川サイエンス社(株)製のRA-MV型ローラーポンプ (しごき部分はタイゴンチューブを使用し、残りの部分は全てテフロンチューブとした) を用いた。

Table-1 Properties of Pesticides studied

Substance name	Mol.Form	M.W.	M.P. (°C)	Solubility in Water (mg/l)
Asulam	C ₈ H ₁₀ N ₂ O ₄ S	230.24	143-144	Slightly soluble
Oxin-copper	C ₁₈ H ₁₂ CuN ₂ O ₂	351.85	less than 200	Insoluble
Thiuram	C ₆ H ₁₂ N ₂ S ₃	208.37	110	30 at roomtemp.
Simazine	C ₇ H ₁₂ ClN ₅	201.69	225-227	Insoluble
Mecoprop	C ₁₀ H ₁₁ ClO ₃	214.65	94-95	620
Iprodione	C ₁₃ H ₁₃ ClN ₃ O ₃	330.17	ca. 130	13 at 20° C
Napropamide	C ₁₇ H ₂₁ NO ₂	271.36	74.8-75.5	70 at 20° C
Bensulide	C ₁₄ H ₂₄ NO ₄ PS ₃	397.50	34.4	Insoluble
Pencycuron	C ₁₉ H ₂₁ ClN ₂ O	328.84	132-133	0.5

3. 分析条件の検討

3. 1 試料前処理の検討

ポリスチレンゲルミニカートリッジの捕集効果について検討した。あらかじめ、アセトニトリル 5 ml, 水 10 ml でコンディショニングしたミニカートリッジにローラーポンプを介して試料を送液し (送液速度 8 ml/min), 試料溶液中の農薬を捕集した。試料溶液 1 l の pH を 0.1N-硝酸で 3.5 に調整した場合, 最も効率よく農薬を捕集した (Table-3)。捕集後, カートリッジを

Fig. 1 Pre-treatment System of Pesticides in Water

取り外し, 捕集農薬をアセトニトリルで溶出して, 正確に 3 ml とし, HPLC 分析試料溶液とした。

3. 2 HPLC 測定条件の検討

河川水, 水道水ともに, 200nm 以下の短波長域から 240nm 付近までの吸収スペクトルをもつ未知物質が 2 ~ 5 分の保持時間に溶出してくる。そこでこの位置に目的物質が溶出しないよう条件を設定する必要がある。

さらにまた, 各種農薬の HPLC 分析では, 各ピークの重複を避けるために, 本法では溶出パターンの異なる二つの HPLC カラムを採用した (Table-2)。

4. 結果

蒸留水, 河川水 (大和川河川水) 及び水道水 (奈良市水) 1 l を用い, それぞれに 5 ppm の各農薬標準液 3 ml を添加し, それぞれ同一試料 3 検体について, 添加直後にポリスチレンゲルミニカートリッジに捕集した。これらの測定結果を Table-4, Fig. 2 及び Fig. 3 に示す。

1) 第 1 法による測定結果について (Table-4 及び

Table-2 Operational conditions of HPLC

Method	Column	Carrier	ml/min	Inj.volume	Wavelength	Retention t .
1st	RS pak DE-613 6.0 φ × 150 mm	30mMKH ₂ - PO ₄ (0.2% EDTA2Na, Phosphoric acid → pH3.5) : MeCN= 1 : 1	0.8ml /min at 40°	20 μl	270nm → 10min 250nm → 15min 215nm → 20min	6.8min = Asulam 12.5min = Oxin- Copper 18.4min = Thiuram
2nd	Nova pak C ₁₈ (4 μ) 3.9 φ × 150 mm	H ₂ O(Pho- sphoric acid → pH 3.5) : MeCN= 1 : 1	0.5ml /min at 40°	10 μl	228nm → 8min 220nm → 22min 240nm → 25min	3.8min = Simazine 6.5min = Mecoprop 9.8min = Iprodione 11.1min = Napropamid 19.9min = Bensulide 23.7min = Pencycuron

Table-3 Recovery (%) of Pesticides in Distilled water of various pH

	1st method (%)			2nd method (%)					
Pesticides (5ppm) pH	Asul am	Oxin Copper	Thiu ram	Sima zine	Meco prop	Ipro dione	Napro pamide	Bens ulide	Penc ycuron
pH 3.0	61.2	44.7	99.8	83.4	106.1	103	101.7	82.8	95.5
pH 3.5	62.8	73.0	97.8	81.8	106.1	105.1	101.7	86.7	95.5
pH 4.0	46.4	60.3	84.6	82.6	106.1	103.1	87.4	81.9	77.7
pH 5.3	10.3	59.7	58.4	82.6	107.2	90.1	87.5	82.2	77.7

Table-4 Recovery of Pesticides added into Various Waters

	1 st method			2 nd method					
Pesticides standard Sample (5ppm)	Asul am	Oxin Copper	Thiu ram	Sima azine	Meco prop	Ipro dione	Napr opam	Bens ulide	Penc ycuron
Distilled Water Recovery % ※1	62.8	73.0	97.8	81.8	106.1	105.1	101.7	86.7	95.5
Relative standard deviation % ※2	3.7	0.3	1.5	5.4	2.0	0.7	1.3	6.3	4.4
River Water Recovery %	92.0	68.6	89.6	98.6	100.8	96.8	99.7	89.0	89.2
Relative standard deviation %	5.2	6.6	7.4	1.1	4.7	1.3	0.8	0.4	1.8
Tap water Recovery % ※3	—	35.6	4.0	36.8	83.6	11.0	91.9	—	52.7
Relative standard deviation %	—	2.3	12.5	13.2	7.6	20.2	5.7	—	8.0
Distilled W.BL	—	—	—	—	—	—	—	—	—
River W.BL	0.8	4.2	—	—	0.5	6.0	—	1.0	—
Tap W.BL	—	4.1	—	1.0	0.5	—	—	—	—

※ 1.3ml of Pesticides standard solution (5ppm) was added into 1l of various Waters.

※ 2.The number of experimental runs was 3.※ 3. — means not determind.

Fig. 2 HPLC Chromatograms of 1st method

① Standard (Asulam, Oxin-Copper, Thiuram, as 5ppm)

[Fig. 2] ② Standard added into Distilled Water

[Fig. 2] ③ Distilled Water (BL)

[Fig. 2] ④ Standard added into Environmental Water

[Fig. 2] ⑤ Environmental Water (BL)

[Fig. 2] ⑥ Standard added into Tap Water

[Fig. 2] ⑦ Tap Water (BL)

Fig. 3 HPLC Chromatograms of 2nd method

① Standard (Simazine, Mecoprop, Napropamide, Iprodione, Bensulide, Pencycuron as 5ppm)

[Fig. 3] ② Standard added into Distilled Water

[Fig. 3] ③ Distilled Water (BL)

[Fig. 3] ④ Standard added into Environmental Water

[Fig. 3] ⑤ Environmental Water (BL)

[Fig. 3] ⑥ Standard added into Tap Water

[Fig. 3] ⑦ Tap Water (BL)

Fig. 2 の①～⑦) ; アシュラム, オキシ銅及びチウラムの標準液 (各 5 ppm) のクロマトグラムを Fig. 2 ①に示す。蒸留水に標準液を添加した場合は, 各農薬の出現位置に妨害となるピークは認められない (Fig. 2 ②, ③)。河川水の場合は, アシュラム, オキシ銅の溶出位置に妨害となるピークが出現している (Fig. 2 ⑤)。その寄与率は 5 ppm 標準のピーク高さを 100% とした場合, それぞれ 0.8 及び 4.2% であった。河川水に標準液を添加した場合の回収率は, 蒸留水に標準液を添加した場合に比べ, オキシ銅, チウラムは低いが, アシュラムは高い結果を示した (Fig. 2 ④)。3 回の測定値のバラツキはそれぞれの農薬によって異なるが, 蒸留水へ標準液を添加した場合に比べ, 河川水へ標準液を添加した場合の方

が 3 種の農薬についてバラツキは大きかった。水道水については, オキシ銅の位置に 4.2% の寄与率の妨害ピークが出現する (Fig. 2 ⑦)。また, 水道水に標準液を添加した場合は, アシュラムのピークはなくなり, チウラム, オキシ銅のピークも大きく減少した (Fig. 2 ⑥)。2) 第 2 法による測定結果について (Table- 4 及び Fig. 3 の①～⑦) ; 6 種の農薬の標準液 (5 ppm) のクロマトグラムを Fig. 3 ①に示す。蒸留水に標準液を添加した場合は妨害となるピークは出現しない (Fig. 3 ②, ③)。しかし河川水ではメコプロップ, ナプロバミド及びペンスリドの位置にそれぞれ, 0.5, 6.0, 1.0% の寄与率で妨害ピークが出現し (Fig. 3 ⑤), 水道水ではシマジン, メコプロップの位置に 1.0, 0.5% の妨害ピーク

が出現する (Fig. 3 ⑦)。標準液添加による回収率については蒸留水 (Fig. 3 ②), 河川水 (Fig. 3 ④) とともに80%以上であった。しかし, 水道水へ標準液を添加した場合は, メコプロップ, イブロジオン以外は大きなピークの低下を示した (Fig. 3 ⑥)。

5. 議論

ポリスチレンゲルミニカートリッジに, ペリスタポンプを用いて試料を送液して, 農薬を捕集し, 捕集後アセトニトリルで溶出, 試料溶液をメタクリレート系及びC₁₈系の2種のカラムを用いてHPLCにより測定する方法で, 一部回収率に問題はあるが, 河川水及び水道水中の農薬を, 簡便, 迅速に測定できた。

蒸留水や河川水に添加した場合, アシュラム, オキシ銅以外の7種の農薬は80%以上が回収される。しかし, 水道水の場合, 共存する残留塩素の影響によって, アシュラム, オキシ銅, チウラム, シマジン, ナプロバミド, ベンスリド及びベンシクロンが大きく影響を受け回収率が低下した。アシュラム, オキシ銅の残留塩素による影響については報告されているが^{3), 4)}, それ以外にもかなりの種類の農薬が影響を受け, クロマトグラム上のピークの減少, 消滅あるいはピーク位置の移動等の現象を生じると考えられる。また, 今回測定した河川水, 水道水には農薬の出現位置と同じ場所に妨害となるピークが存在した。これらのピークは三次元検出器により, そ

れぞれ標準品のスペクトルの形状と異なっていたので農薬由来のピークでないことは判明したが, 特定波長での検出では判別できなかった。特に河川水中ではナプロバミド, オキシ銅, 水道水中ではオキシ銅の保持時間でこれらのピークの寄与率は4~6%にもなるので, 今後このような試料の定量にあたっては, 三次元検出器によるスペクトルの確認や測定条件の変更 (グラジエントによる妨害ピークの分離等) も考慮しなければならない。

文 献

- 1) 排水水に係わるゴルフ場使用農薬標準分析法
平成2. 5. 14. 付環水土第77号及び平成3. 7. 30.
付環水土第109号環境庁水質保全局
- 2) 水道水中ゴルフ場使用農薬に係わる検査方法
平成2. 5. 31. 付衛水第153号, 平成3. 7. 30.
付衛水第152, 153号厚生省生活衛生局水道環境部水道整備課
- 3) 小川 広, 桂 英二, 兼俊昭夫, 小島弘幸, 金島弘恭: ゴルフ場に使用されている農薬の研究 (第2報) 殺菌剤オキシ銅と水道水中の残留塩素との反応, 第111回日本薬学会講演要旨集, p. 165, 1991.
- 4) 節田節子, 伊藤伸一, 内藤昭治: 固相抽出を用いたチウラムの前処理法について, 第28回全国衛生化学技術協議会年会講演集, p. 116, 1991.