

【調査研究】

環境中微量有害化学物質の分析，検索技術の開発に関する研究

- ピリダフェンチオン等の農薬多成分同時分析のための基礎的検討 -

浦山豊弘，劔持堅志，吉岡敏行*，林 隆義，杉山広和，藤原博一（水質第二科）

*岡山県生活環境部環境管理課

要 旨

環境試料（水質及び底質）中のピリダフェンチオン及びその他農薬の多成分同時分析法を検討した。分析法は、GPC（Gel Permeation Chromatography）を用いる方法とし、ピリダフェンチオンを含む数十種類の農薬を同時分析するための基礎的検討を行った。

[キーワード：ピリダフェンチオン（Pyridaphention），農薬の多成分分析，GPC（Gel Permeation Chromatography），環境試料，GC/MS-SIM]

1 はじめに

ピリダフェンチオンは、有機リン系の農薬（殺虫剤）であり、国内で毎年約450トンが生産されており、「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」に指定されていると共に、「特定化学物質の環境への排出量の把握等及び管理の改善の促進に関する法律」（PRTR法）の第一種指定化学物質に指定されている物質である。

当センターでは、平成15年度に環境省が実施している化学物質環境汚染実態調査においてピリダフェンチオンの分析法を開発したが、併せて魚の斃死事例等の際に調査している数十種類の農薬について、既存の分析法¹⁾⁻⁴⁾を基礎に、同時分析するための基礎的な検討を行ったので報告する。

2 実験方法

2.1 試薬

ピリダフェンチオン：和光純薬製

Phenanthrene-d10：Cambridge Isotope Laboratories 製

ポリエチレングリコール（PEG）300：和光純薬製

シリカゲルカートリッジカラム：LC-Si 6 mL Glass Tube，1 g（SUPELCO社製）

グラファイトカーボンカートリッジ：ENVI-Carb SPE Tubes 6 mL，0.25g（SUPELCO社製）

その他試薬は、残留農薬分析用を用いた。

2.2 GC/MSの測定条件

GC/MSの測定条件を下記に示す。

使用機種：日本電子 Automass20又は Automass sun

使用カラム：キャピラリーカラム DB-5 MS（J&W）

膜厚：0.25μm，長さ：30m，内径：0.25mm

昇温条件：50（2min）-20 /min ~ 120 - 7 /min - 310（5min）

注入法：スプリットレス法

注入口温度：250

注入量：1μl

流量：1 ml/min（He：定流量）

ページ開始時間：1.5min

インターフェース部：

ダイレクトカップリング（240）

イオン化条件：イオン化電圧：70eV（EI）

イオン化電流：300μA

イオン源温度：210

測定条件：PM 電圧：700V

測定法：SIM法

〔モニターイオン〕

対象物質 Pyridaphention m/z：340（定量用）

199（確認用）188（予備）

内標準物質 Phenanthrene-d10 m/z：188

2.3 分析方法

図1に示す分析方法について検討した。

その詳細を次に示す。

(1) 試料液の前処理

〔水質：ジクロロメタン液液抽出法〕

試料水 1 L を 2 L 分液ロートに採取し、塩化ナトリウム 50g を添加・溶解した後、ジクロロメタン 100mL を加え振とう器で約 10 分間振とうし、静置してジクロロメタン層を 200mL トールビーカーに分取した。再び、ジクロロメタン 50mL を加え同様な操作を行い、先の抽出液に合わせた。ヘキサン 30mL 加え、無水硫酸ナトリウムで脱水した後、200mL ナス型フラスコに移して、ロータリーエバポレータを用いて 35℃ で約 1 ml 以下まで減圧濃縮し、試料抽出液を得た。

〔底質：アセトン抽出法〕

湿泥試料約 20g (乾泥換算試料量として 10g 相当) を 100ml 遠心沈殿管に採取し、精秤した。アセトン 50 ml を加えた後、密栓して 10 分間振とうし、10 分間超音波抽出、遠心分離 (2,500rpm, 10分) を行い、得られたアセトン抽出液を GF/A ろ紙でろ過して 200ml トールビーカーに移した。残渣にアセトン 50ml を加え、振とう・超音波抽出・遠心分離・ろ過操作を繰り返し、先の抽出液と合わせた。抽出液をロータリーエバポレータを用いて 35℃ で約 20ml まで減圧濃縮し、試料抽出液を得た。

(2) クリーンアップ操作

下記 ~ に示すクリーンアップ操作を組み合わせ、試料液を精製した。

〔水質〕

試料抽出液を、シリカゲルカートリッジカラム (

項参照) によるクリーンアップを行い、窒素濃縮により約 1 ml 以下まで濃縮し、測定用内標準液 (20µg/ml) を正確に 5 µl 加えた後、測定用バイアル瓶にパスツールピペットを用いて移し、ポリエチレングリコール溶液を 200µg 添加した。

〔底質〕

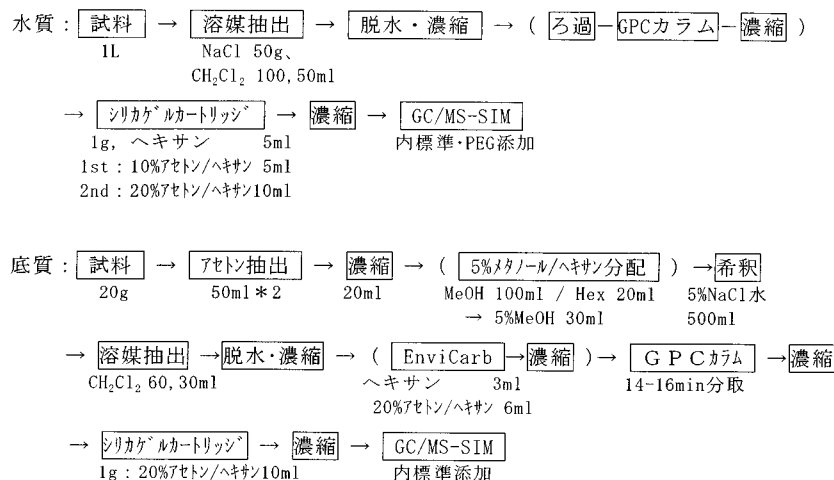
試料抽出液を含水メタノール/ヘキサン分配 (項参照)、グラファイトカーボンカラムクリーンアップ (項参照)、GPC 処理 (項参照) を行った後、シリカゲルカートリッジカラム (項参照) によるクリーンアップを行い、窒素濃縮により約 1 ml 以下まで濃縮し、測定用内標準液 (20µg/ml) を正確に 5 µl 加えた後、測定用バイアル瓶にパスツールピペットを用いて移した。

クリーンアップ操作の詳細を下記に示す。

含水メタノール/ヘキサン分配

試料抽出液を、200ml 分液ロートにメタノール 100 mL で洗い込み、手で振とうしてヘキサン層が消えなくなるまでヘキサンを加え (約 30mL), 更にヘキサン 20mL 加えた後 10 分間振とうした。静置後メタノール層を 200mL トールビーカーに分取した。ヘキサン層にヘキサン飽和 5% 含水メタノール 30mL を加え同様な分配操作を行い、メタノール層を先の抽出液に合わせた。

メタノール溶液を、予め 5% 塩化ナトリウム水溶液 500mL 加えた 1 L 分液ロートに、ジクロロメタン 60mL で洗い込み 10 分間振とうした。静置後ジクロロメタン



注：括弧内の操作は、汚濁物質が少ない場合は省略できる。

図 1 分析法フローチャート

層を200mL トールピーカーに分取した。再び、ジクロロメタン30mLを加え同様な操作を行い、先の抽出液に合わせた。ヘキサン20mL加え、無水硫酸ナトリウムで脱水した後、200mLナス型フラスコに移して、ロータリーエボレータを用いて約1ml以下まで減圧濃縮した。

グラファイトカーボンカラムクリーンアップ

予めトルエン5mL、アセトン7mL、ヘキサン7mLで洗浄したグラファイトカーボンカートリッジにスピッツ型共栓付試験管(10ml)をセットした後、試料液をカラムに負荷し、液面をカラムベッドまで下げた後、ヘキサン3mlで濃縮容器及びカラム壁面を洗い込み、20%アセトン含有ヘキサン6mlで溶出した。

GPC 処理

試料液を0.5ml以下まで減圧濃縮し、シリンジフィルターを用いて沈殿物を除去した。試料液2mlをGPC装置に注入し、14~16分の分画を分取した。なお、分取開始前及び分取終了の度に、テトラヒドロフラン(THF)/トルエン(1:1)2mlをGPC装置に注入し、GPCカラムを洗浄した。

GPC装置の操作条件は、下記のとおりである。

カラム：昭和電工 CLNpak PAE-2000 AC (ブ
レカラム：PAE-G AC)

ラインフィルター：ジーエルサイエンス

テフロン製ラインフィルター

移動相及び流速：シクロヘキサン/アセトン
(5:95) 4 ml/min

カラム温度：40

注入量：2 ml (サンプルループ容量：2 ml)

サイクルタイム：30min (洗浄時間を含めると1
時間)

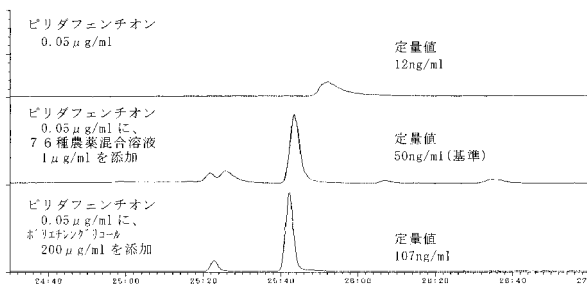


図2 カラム劣化時のマトリックス効果によるピーク形状の変化

検出器：紫外吸収検出器 (UV: 330nm) または
示差屈折検出器 (IR)

シリカゲルカートリッジカラムクロマトグラ
フィー

試料抽出液を、ロータリーエボレータ(底質の場
合は窒素濃縮)を用いて約1ml以下まで濃縮し、更
にヘキサン5mlを添加して同様に約1ml以下まで減
圧濃縮した。再度ヘキサン5mlを添加してこの減
圧濃縮操作を再度繰り返し、アセトン(又はジクロロメ
タン)を除去し溶媒をヘキサンに置換した。

予めヘキサン10mlで洗浄したシリカゲルカート
リッジカラムに、試料液をカラムに負荷し、液面をカ
ラムベッドまで下げた後、ヘキサン5mlで濃縮容
器及びカラム壁面を洗い込み、10%アセトン含有ヘキ
サン5mlで洗浄し(この洗浄液は捨てた)、スピツ
ツ型共栓付試験管(10ml)をセットした後、20%ア
セトン含有ヘキサン10mlで溶出した。

3 結果及び考察

3.1 標準溶液のピークのテーリング対策

当初の検討では、同時分析可能な農薬を調査するた
め、ピリダフェンチオンと他の数十種類の農薬を等量
混合した溶液を使用し測定したが、図2に示すように
ピリダフェンチオンの単品を測定するとピークがテー
リングして感度がかかり落ちた。この原因はマトリッ
クス効果と考えられたため、ピリダフェンチオンを含
まない76種農薬混合溶液1µg/mlを混合して比較した
ところ、共存する農薬類のマトリックス効果により
ピークがシャープになることが分かった。

マトリックス効果を補正する目的で、奥村⁴⁾が提案

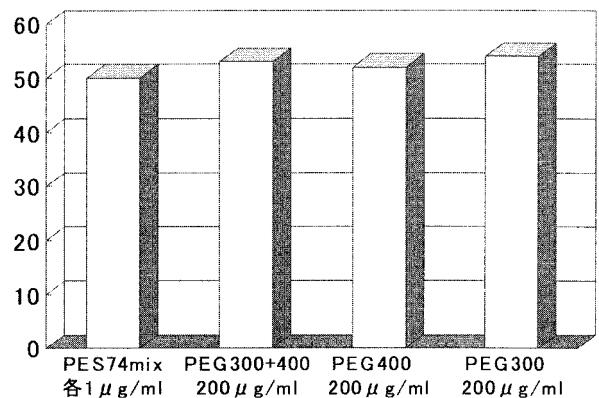


図3 農薬混合物とPEG300・PEG400とのマトリックス効果の比較

したポリエチレングリコール（PEG）について検討したが、図3に示すように、PEG300及びPEG400は、農薬混合品と同等の効果を示した。また、PEG200とPEG300を比較すると、PEG300の方が効果が大きいことが分かった。（図4）

また、添加量については、カラムの劣化状態により差があるが、概ね100～200 μ g/mlの添加で、十分なマトリックス補正効果が得られた。（図5）

3.2 抽出、クリーンアップ方法の検討

(1) 抽出溶媒と液性

精製水200mlに各標準品0.6 μ gを添加後、NaClを10g加え、液性（pH）を調整し、各種溶媒20ml及び10mlで抽出した場合の回収率を図6及び表1に示した。

中性または酸性下でジクロロメタンを使用した場合に90%以上の回収率となったが、ヘキサンでは回収率が低かったことから、抽出溶媒にジクロロメタンを採用することとした。

(2) ヘキサン洗浄の溶媒の検討

鉱物油・脂肪等の除去法として、通常アセトニトリル/ヘキサン分配が使用されるが、この方法は次のステップであるジクロロメタン抽出操作でアセトニトリルが抽出されるため、濃縮損失が生じる可能性がある。

このため、メタノール/ヘキサン分配を検討したところ、アセトニトリルを用いなくても、メタノールに5%程度の水が含まれていれば、表2に示すようにピリダフェンチオンはヘキサン層にほとんど分配しない

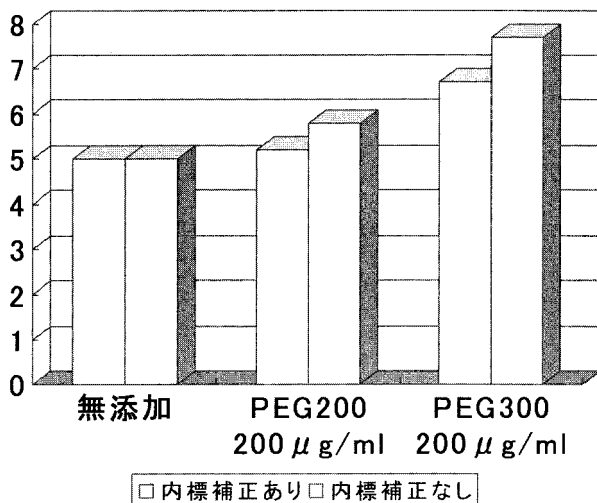


図4 PEG200とPEG300のマトリックス効果の比較

ことが判明したことから、5%メタノールを用いて分配を行うこととした。

(3) ジクロロメタン再抽出の水溶液量の検討

メタノール/ヘキサン分配後のジクロロメタン再抽出時の希釈食塩水量について検討したところ、200mlで抽出よりも500mlで抽出の方が回収率が良かった。また、メタノールを20mlまで減圧濃縮した場合は回収率が低かった。このことから、メタノールを濃縮せず、500mlの食塩水を用いることとした。

(4) グラファイトカーボンの溶出パターンの検討

Envi-Carbの溶出パターンを調べたところ、ピリダフェンチオンは20%アセトン/ヘキサンにより溶出することが分かった。（表4）なお、GPC前の粗クリーンアップ過程であることから、20%アセトン/ヘキサン層とともにヘキサン層も回収することとした。

(5) GPCからの溶出パターン

ピリダフェンチオンは、表5に示すように14～16分に溶出したが、13～14分、16～18分に溶出する農薬もあった。一般に14分以後は高いクリーンアップ効果が得られることから、メインのクリーンアップとしてGPCを採用することとした。

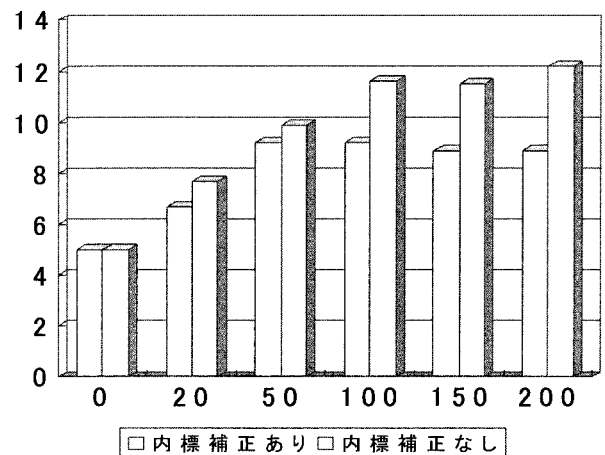


図5 PEG300の添加量と効果

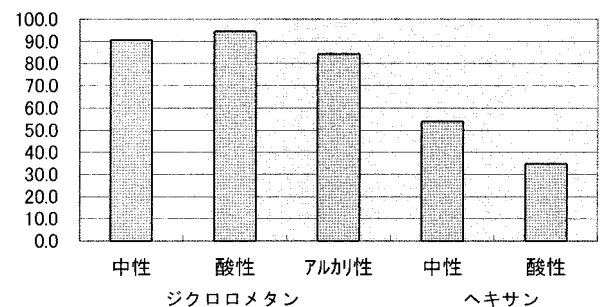


図6 抽出溶媒・液性と回収率（ピリダフェンチオン）

表1 抽出溶媒・液性と回収率

Pyridaphenthion	ジクロロメタン						ヘキサン				
	中性			酸性		アルカリ性	中性			酸性	
	90			94		84	54			35	
	ジクロロメタン			ヘキサン			ジクロロメタン			ヘキサン	
	中性	酸性	アルカリ性	中性	酸性		中性	酸性	アルカリ性	中性	酸性
DDVP	90	96	69	28	28	Methyl dymron	89	84	88	92	76
MTMC(metolcarb)	97	104	28	15	14	b-CVP	90	94	87	87	71
Echlomezole	95	96	91	99	97	PAR(phenthoate)	91	94	6	98	92
Chlorneb	94	99	106	100	96	Isophenphos	93	98	92	96	90
MIPC(isoprocarb)	93	100	80	61	57	Ferimzone	86	55	80	27	1
XMC	96	108	37	47	42	Methidathion	92	93	80	90	82
BPMC	93	104	82	87	81	CVMP	92	97	85	91	80
Pencycuron	68	78	77	67	58	a-Endosulfan	91	97	5	96	94
Trifluralin	95	97	96	98	93	Isoprothiolane	90	95	89	93	82
Bethrodine	95	98	95	97	93	Butamifos	90	96	89	96	91
Simazine	92	95	90	14	8	Napropamide	89	96	89	92	80
Atrazine	92	95	92	51	32	Butachlor	93	96	90	94	91
Chlorothalonil(TPN)	94	99	90	97	92	Flutolanil	93	98	89	90	77
Propyzamide	91	97	87	92	88	Pretilachlor	91	97	91	94	83
Diazinon	94	95	93	97	89	Oxadiazon	92	100	90	98	94
Ethylthiomethone	92	93	93	98	93	Buprofezin	76	82	78	79	57
IBP	94	97	92	92	77	NIP	94	96	91	98	96
MCPB-ethyl	94	97	89	99	95	Isoxathion	94	95	86	97	92
Palathion-methyl	94	100	92	100	95	b-Endosulfan	93	100	3	95	91
NA(carbaryl)	99	105	4	32	26	MPP-sulfoxide	89	104	93	5	2
Chlorpyrifos-methyl	92	99	91	97	92	MPP-sulfur(fenthion)	91	94	85	53	37
Simetryn	91	63	89	52	0	Chlorbenzilate	93	103	83	92	89
Bromobutide	94	100	96	99	93	Mepronil	97	104	94	94	88
Vinclozoline	96	100	1	101	94	EDDP	89	96	2	86	76
Tolchlofos-methyl	94	97	93	99	93	Endosulfansulfate	92	99	89	95	90
MBPM(Terbutol)	94	98	96	99	89	CNP	91	96	92	94	95
Metalaxyl	72	83	72	6	3	Daimuron	100	106	94	16	11
Prometrin	92	91	92	91	19	Thenylchlor	92	96	88	93	83
Probenazole	93	86	1	31	31	Nitralin	89	94	88	78	62
MEP	93	95	92	98	89	X - 52	93	97	87	95	90
Dithiopyr	92	95	93	96	86	Pyributicarb	91	98	90	97	91
Esprocarb	95	100	92	99	92	Iprodione	87	91	10	79	57
Thiobencarb	95	97	94	99	92	EPN	91	94	76	95	92
Malathion	95	99	7	94	83	Bifenox	92	98	74	97	95
MPP	93	96	92	95	89	Phosalone	97	100	82	101	95
Dimethylvinphos	93	98	86	86	66	Mefenacet	95	96	88	77	47
Metolachlor	94	98	91	95	80	Benfuracarb	80	5	80	74	6
Bentazone	3	189	4	2	3	cis-permethrin	95	102	92	105	99
Fthalide	92	98	0	98	94	trans-permethrin	95	101	91	104	101
Parathion	93	99	92	97	94	Prochloraz	109	107	126	6	10
Chlorpyrifos	93	99	93	97	90	Ethofenprox	97	103	95	103	101
Captan	91	89	1	87	79	Fenvalerate	96	103	119	109	96
a-CVP	92	99	88	91	76	es-Fenvalerate	97	106	79	105	100
Pendimethalin	93	97	93	98	93	Alachlor	96	96	111	102	98

表2 ヘキサン分配におけるヘキサンへの分配率

Pyridaphenthion		アセトニトリル		5%含水アセトニトリル		メタノール		5%含水メタノール	
		0		0		2		0	
	アセトニトリル	5%含水アセトニトリル	メタノール	5%含水メタノール		アセトニトリル	5%含水アセトニトリル	メタノール	5%含水メタノール
DDVP	1	1	3	2	Pendimethalin	3	4	7	11
MTMC(metolcarb)	1	1	2	1	Methyl dymron	0	0	2	1
Echlomezole	8	10	12	17	b-CVP	9	8	4	2
Chlorneb	45	39	10	12	PAR(phenthoate)	1	1	5	4
MIPC(isoprocab)	1	0	2	1	Isophenphos	1	2	5	4
XMC	0	1	2	1	Ferimzone	0	1	1	2
BPMC	1	1	3	1	Methidathion	0	0	3	2
Pencycuron	0	0	0	0	CVMP	1	1	3	2
Trifluralin	4	6	11	19	a-Endosulfan	8	13	14	22
Bethrodine	3	5	8	16	Isoprothiolane	1	1	4	2
Simazine	0	0	3	2	Butamifos	1	1	4	3
Atrazine	1	1	4	2	Napropamide	1	1	4	1
Chlorothalonil(TPN)	0	0	0	0	Butachlor	4	4	7	8
Propyzamide	1	0	2	1	Flutolanil	0	0	1	0
Ethylthiomethone	4	5	6	9	Pretilachlor	2	2	5	4
IBP	1	1	4	3	Oxadiazon	2	3	7	9
Metribuzin	1	0	2	1	Buprofezin	7	6	7	5
MCPB-ethyl	3	7	8	12	NIP	2	2	4	5
Palathion-methyl	0	1	2	2	Isoxathion	0	0	2	2
NAC(carbaryl)	0	0	1	0	b-Endosulfan	3	4	6	7
Chlorpyrifos-methyl	2	3	7	9	MPP-sulfoxide	0	1	2	1
Simetryn	0	0	0	0	MPP-sulfox(fenthion)	0	0	1	0
Bromobutide	1	1	3	2	Chlorbenzilate	2	2	3	3
Vinclozoline	2	2	7	6	Mepronil	1	1	3	0
Tolchlofos-methyl	2	3	8	9	EDDP	3	5	3	4
MBPMC(Terbutol)	2	2	4	2	Endosulfansulfate	1	1	2	1
Metalaxyl	0	1	3	1	CNP	1	2	5	8
Prometrin	0	0	0	0	Daimuron	0	3	1	1
Probenazole	1	3	1	0	Thenylchlor	1	2	4	2
MEP	1	1	4	3	Nitralin	1	0	1	0
Dithiopyr	4	4	6	7	X - 52	2	2	2	2
Esprocarb	7	10	10	14	Pyributicarb	2	3	6	9
Thiobencarb	4	5	9	10	Iprodione	1	1	4	1
Malathion	0	1	3	2	EPN	1	1	3	3
MPP	1	1	6	6	Bifenox	1	2	3	2
Dimethylvinphos	1	0	2	1	Phosalone	0	0	2	2
Metolachlor	2	2	5	4	Mefenacet	0	0	1	1
Bentazone	1	3	3	2	cis-permethrin	6	11	11	24
Fthalide	1	1	4	3	trans-permethrin	3	6	8	16
Parathion	2	2	3	4	Ethofenprox	6	11	12	30
Chlorpyrifos	4	7	11	16	Fenvalerate	3	6	7	13
Captan	0	2	3	1	es-Fenvalerate	1	1	3	4
a-CVP	2	3	5	3	Alachlor	1	2	5	4

(ヘキサン：20mL，アセトニトリル等：100mL，10分振とう時のヘキサンへの分配量(%))

表3 ジクロロメタン再抽出時の希釈食塩水量とメタノール濃縮における回収率

MeOH / 5 %食塩水 (ml)		130 / 200		130 / 300		130 / 400		130 / 500		20 (濃縮) / 100	
Pyridaphenthion		86		89		92		94		85	
DDVP	91	97	103	102	94	Pendimethalin	85	88	91	92	88
MTMC(metolcarb)	83	96	102	107	91	Methyl dymron	87	92	100	100	93
Echlomezole	96	101	107	106	99	b-CVP	87	94	97	98	91
Chlorneb	90	94	101	99	95	PAR(phenthoate)	90	92	97	97	92
MIPC(isoprocab)	86	90	96	93	91	Isophenphos	88	91	95	96	91
XMC	86	91	97	96	89	Methodathion	89	91	94	95	91
BPMC	88	92	97	98	91	CVMP	88	92	97	99	92
Pencycuron	78	82	75	79	75	a-Endosulfan	92	93	96	94	96
Trifluralin	91	93	99	99	94	Isoprothiolane	88	91	96	96	93
Bethrodine	90	92	98	100	93	Butamifos	86	86	92	92	89
Simazine	85	94	98	96	94	Napropamide	88	89	95	97	90
Atrazine	88	93	97	99	92	Butachlor	90	91	95	99	92
Chlorothalonil(TPN)	100	103	108	107	103	Flutolanil	89	92	97	98	91
Propyzamide	90	91	95	97	91	Pretilachlor	88	92	95	100	93
Diazinon	88	90	95	96	93	Oxadiazon	92	94	99	99	95
Ethylthiomethone	82	92	87	86	89	Buprofezin	83	90	94	94	89
IBP	89	93	98	96	95	NIP	86	90	93	96	89
Metribuzin	76	79	85	84	81	Isoxathion	94	100	102	103	99
MCPB-ethyl	91	93	100	98	91	b-Endosulfan	92	94	95	98	94
Palathion-methyl	88	92	95	96	91	MPP-sulfoxide	75	82	73	78	69
NAC(carbaryl)	85	92	98	100	88	MPP-sulfon(fenthion)	88	94	94	96	91
Chlorpyrifos-methyl	89	94	97	97	92	Chlorbenzilate	85	90	93	93	88
Simetryn	84	90	88	88	86	Mepronil	89	96	99	104	94
Bromobutide	90	93	100	99	93	EDDP	90	97	97	99	92
Vinclozoline	91	98	100	98	95	Endosulfansulfate	89	94	97	98	99
Tolchlofos-methyl	91	94	97	98	93	CNP	88	89	94	94	92
MBPMC(Terbutol)	87	95	98	96	93	Daimuron	73	80	74	77	70
Metalaxyl	78	85	74	77	61	Thenylchlor	87	93	96	99	98
Prometrin	88	93	95	94	91	Nitralin	76	81	78	79	79
Probenazole	84	89	89	96	84	X - 52	84	86	91	89	82
MEP	91	94	98	99	93	Pyributicarb	87	89	95	96	93
Dithiopyr	89	93	98	97	94	Iprodione	86	92	89	94	86
Esprocarb	92	94	98	98	94	EPN	84	86	89	92	89
Thiobencarb	89	92	98	97	92	Bifenox	87	85	92	92	87
Malathion	88	94	97	98	91	Phosalone	90	94	99	99	96
MPP	88	92	96	94	92	Mefenacet	88	92	95	100	91
Dimethylvinphos	89	92	97	96	89	Benfuracarb	76	78	72	74	85
Metolachlor	89	92	98	97	92	cis-permethrin	90	92	98	99	98
Bentazone	78	113	87	56	95	trans-permethrin	92	92	95	96	94
Fthalide	91	93	96	96	93	Ethofenprox	100	98	104	111	99
Parathion	87	91	95	94	88	Fenvalerate	95	99	105	97	103
Chlorpyrifos	89	94	97	98	93	es-Fenvalerate	93	95	95	100	95
Captan	92	95	97	109	81	Alachlor	88	93	96	97	93
a-CVP	89	91	99	100	92						

(~ : 5 %食塩水による希釈量を変化 , : メタノール抽出液を減圧濃縮)

表4 グラファイトカーボンカートリッジにおける溶出状況

Pyridaphention	ヘキサン		20%アセトン/ヘキサン		50%アセトン/ヘキサン		アセトン		トルエン		合計		
	0	76	0	76	0	76	0	76	0	76	0	76	
	ヘキサン	20%アセトン/ヘキサン	50%アセトン/ヘキサン	アセトン	トルエン	合計		ヘキサン	20%アセトン/ヘキサン	50%アセトン/ヘキサン	アセトン	トルエン	合計
DDVP	110	3	1	1	1	114	b-CVP	87	7	1	2	1	98
MTMC(metolcarb)	100	6	0	1	1	107	PAR(phenthoate)	105	1	1	1	0	108
Echlomezole	106	1	0	0	0	108	Isophenphos	103	1	1	0	0	104
MIPC(isoproc carb)	105	1	0	0	1	108	Methidathion	96	2	1	0	0	99
XMC	100	3	0	0	0	103	CVMP	91	4	1	0	0	97
BPMC	105	2	0	1	1	109	a-Endosulfan	109	1	0	1	1	112
Monocrotophos	7	60	6	7	11	90	Isoprothiolane	99	1	0	1	0	101
Pencycuron	4	77	2	1	1	86	Butamifos	102	2	1	2	1	107
Trifluralin	107	1	1	0	0	109	Napropamide	17	53	0	1	2	74
Bethrodine	106	1	0	0	0	107	Butachlor	111	1	1	1	1	115
Propyzamide	102	1	0	0	0	104	Flutolanil	17	53	0	0	0	70
Diazinon	104	1	0	1	1	107	Pretilachlor	99	1	0	0	0	101
Ethylthiomethone	106	5	4	3	2	120	Oxadiazon	105	1	0	0	0	107
IBP	96	5	0	0	0	102	Buprofezin	99	7	5	3	2	116
Metribuzin	101	3	1	2	2	109	NIP	70	12	1	1	1	85
MCPB-ethyl	106	1	0	0	1	108	Isoxathion	60	24	1	1	1	87
Palathion-methyl	98	2	0	0	0	101	b-Endosulfan	108	2	1	0	0	112
NAC(carbaryl)	1	62	4	0	1	68	MPP-sulfoxide	2	59	0	0	0	61
Chlorpyrifos-methyl	102	2	0	0	0	104	MPP-sulfon	43	29	0	1	0	73
Simetryn	0	68	7	0	5	80	Chlorbenzilate	93	1	0	0	0	94
Bromobutide	110	1	0	0	0	112	Mepronil	1	73	3	0	5	84
Vinclozoline	104	1	1	1	0	108	EDDP	61	18	2	1	2	84
Tolchlofos-methyl	103	1	0	0	0	104	Endosulfansulfate	98	2	0	1	1	101
MBPMC(Terbutol)	108	1	0	0	0	109	CNP	91	2	1	1	0	96
Metalaxyl	7	71	1	0	0	79	Daimuron	2	66	5	7	7	86
MEP	100	1	0	0	0	102	Thenylchlor	98	3	1	1	1	104
Dithiopyr	101	1	0	0	0	102	Nitralin	93	2	1	1	0	97
Esprocarb	104	1	0	0	0	105	X - 52	32	34	1	1	1	69
Thiobencarb	102	1	0	0	0	104	Pyributicarb	104	1	0	0	0	106
Malathion	102	1	0	1	0	104	Iprodione	38	33	2	3	1	77
MPP	100	2	0	0	0	103	EPN	20	51	1	1	6	79
Dimethylvinphos	92	5	0	0	0	98	Bifenox	81	5	1	1	1	90
Metolachlor	104	1	0	0	0	105	Benfuracarb	96	12	3	6	6	124
Parathion	102	1	1	1	0	105	cis-permethrin	97	1	0	0	0	98
Chlorpyrifos	104	2	0	1	0	108	trans-permethrin	94	2	1	1	0	99
Captan	101	1	0	2	3	108	Ethofenprox	55	23	2	1	6	86
a-CVP	105	2	2	1	1	112	Fenvalerate	88	11	1	1	2	104
Pendimethalin	103	1	0	0	0	105	es-Fenvalerate	80	7	1	1	1	90
Methyl dymron	98	2	0	0	2	102							

ENVI-Carb (0.25g), 各0.5ng 添加, 各溶媒 6 ml で溶出, Automass20測定

表5 GPCにおける農薬類の分離状況

	12	12.5	12.5	13	13.5	13.5	14	14	14.5	14.5	15	15.5	15.5	16	16.5	16.5	17	17.5	17.5	18	18.5	計
Pyridaphenthion	0	0	0	0	0	0	0	0	31	21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	54
DDVP	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12	75	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	89
MTMC(metolcarb)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	57	0	0	0	0	0	0	0	0	0	79
Echlomezole	0	0	0	0	0	0	0	0	20	59	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	81
Chlorneb	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	90	9	2	1	1	1	1	1	1	1	1	114
MIPC(isoproc carb)	0	0	0	0	0	0	0	0	22	68	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	92
XMC	0	0	0	0	0	0	0	0	14	69	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	85
BPMC	0	0	0	0	0	1	91	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
Pencycuron	0	0	0	3	0	4	58	2	2	5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	78
Trifluralin	0	6	96	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	106
Bethrodine	0	5	98	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	105
Simazine	0	0	0	0	1	0	0	2	66	11	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	83
Atrazine	0	0	0	0	0	0	32	51	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	86
Propyzamide	0	0	0	0	1	93	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	99
Diazinon	0	0	61	25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	88
Ethylthiomethone	1	0	1	88	9	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	104
IBP	0	0	0	0	0	0	75	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	90
Metribuzin	0	0	0	0	54	52	1	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	111
MCPB-ethyl	0	0	0	2	100	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	107
Palathion-methyl	0	0	0	0	0	13	66	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	81
NAC carbaryl)	0	0	0	0	0	0	3	0	0	24	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	35
Chlorpyrifos-methyl	0	0	0	0	3	71	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	87
Simetryn	0	0	0	0	0	0	0	0	0	37	27	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	66
Bromobutide	0	0	0	10	85	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	97
Vinclozoline	0	0	0	0	53	49	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	104
Tolchlofos-methyl	0	0	0	0	2	90	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	98
MBPMC(Terbutol)	0	0	1	94	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
Metalaxyl	0	0	0	0	0	1	80	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	88
Prometrin	0	0	1	0	0	32	44	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	79
Probenazole	1	0	1	1	0	0	3	68	5	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	83
MEP	0	0	0	0	1	85	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	91
Dithiopyr	0	4	86	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	92
Esprocarb	0	0	0	4	90	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	97
Thiobencarb	0	0	0	0	0	72	4	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	78
Malathion	0	0	0	59	16	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	77
MPP	0	0	0	0	1	84	6	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	93
Dimethylvinphos	0	0	0	0	0	0	5	51	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	58
Metolachlor	0	0	0	0	21	64	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	86
Fthalide	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	68	7	1	1	1	1	1	1	1	1	83
Parathion	0	0	0	2	84	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	88
Chlorpyrifos	0	0	0	21	68	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	91
Captan	1	2	0	0	1	0	1	44	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	56
a-CVP	0	0	0	0	3	65	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	71
Pendimethalin	0	0	0	3	90	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	96
Methyl dymron	0	1	1	1	0	1	44	15	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	67
b-CVP	0	0	0	0	0	43	18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	63
PAR phenthoate)	0	0	0	2	87	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	92
Isophenphos	0	0	9	63	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	74
Methodathion	0	0	0	0	0	0	29	34	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	65
CVMP	0	0	0	0	0	0	41	21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	63
a-Endosulfan	1	0	0	1	0	0	12	79	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	100
Isoprothiolane	0	0	0	2	5	64	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	74
Butamifos	0	0	0	77	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	83
Napropamide	0	0	0	0	0	1	45	23	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	72
Butachlor	0	0	3	76	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	82
Flutolanil	0	0	0	23	40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	64
Pretilachlor	0	0	0	36	37	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	74
Oxadiazon	0	0	59	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	86
Buprofezin	1	2	0	34	50	1	1	0	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	95
NIP	0	0	0	0	0	0	5	62	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	71
b-Endosulfan	0	0	0	0	0	0	3	78	9	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	94
MPP-sulfoxide	0	0	0	0	0	0	0	2	0	1	43	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	48
MPP-sulfor(fenthion)	0	0	0	0	0	19	42	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	63
Chlorbenzilate	0	0	0	0	0	0	65	7	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	73
Mepronil	0	0	0	0	1	65	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	72
EDDP	0	0	0	0	0	0	11	45	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	59
Endosulfansulfate	0	0	0	0	0	1	59	16	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	79
CNP	0	0	0	0	0	0	24	46	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	73
Daimuron	0	0	0	0	0	2	58	5	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	67
Thenylchlor	0	0	0	0	0	0	61	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	72
Nitralin	0	0	0	4	77	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	83
X - 52	1	0	0	0	0	1	51	7	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	63
Pyributicarb	0	0	0	66	11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	78
Iprodione	0	0	0	0	0	5	51	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	59
EPN	0	0	0	0	8	51	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	61
Bifenox	1	0	0	0	0	37	19	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	60
Phosalone	0	0	0	0	11	54	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	67
Benfuracarb	1	0	9	68	1	3	1	1	2	2	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	93
cis-permethrin	0	0	2	84	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	88
trans-permethrin	0	0	1	89	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	92

各 1 ng 添加 : Shodex CLNpak PAE - 2000AC (5 %シクロヘキサン / アセトン 4 ml/min , 40) ; Automass20測定

表6 シリカゲルカラムからの溶出パターン

	ヘキサン	10%アセトン /ヘキサン	20%アセトン /ヘキサン	30%アセトン /ヘキサン	合計	ヘキサン	20%アセトン /ヘキサン	合計
Pyridaphenthion	0	0	64	0	64	3	103	107
DDVP	0	9	107	0	117	1	105	106
MTMC (metolcarb)	0	15	108	0	124	0	114	115
Echlomezole	0	98	0	0	98	0	100	100
Chlorneb	1	92	0	0	94	1	95	96
MIPC (isoprocarb)	0	70	27	0	98	0	108	109
BPMC	0	103	2	0	105	0	113	113
Pencycuron	0	74	1	2	77	0	100	100
Trifluralin	25	81	1	1	107	24	80	103
Bethrodine	1	99	0	0	101	2	98	100
Simazine	1	97	1	1	101	2	115	117
Atrazine	0	96	3	1	99	1	111	111
Chlorothalonil (TPN)	1	95	1	0	97	1	97	98
Propyzamide	0	97	0	0	97	0	102	102
Diazinon	0	101	0	0	102	0	104	105
Ethylthiomethone	3	85	2	3	94	2	82	85
IBP	0	114	1	0	115	0	121	122
Metribuzin	2	77	9	2	90	4	106	110
MCPB-ethyl	0	100	0	1	102	0	110	110
Palathion-methyl	1	106	1	0	109	0	101	101
NAC (carbaryl)	0	0	71	0	72	0	104	104
Chlorpyrifos-methyl	0	100	0	0	100	0	102	102
Bromobutide	0	104	0	0	105	0	108	108
Vinclazoline	1	101	1	0	104	2	104	106
Tolchlofos-methyl	0	97	0	0	97	0	101	101
MBPMC (Terbutol)	0	107	0	0	107	0	112	112
Metalaxyl	0	0	83	0	84	0	119	119
Prometrin	0	95	0	0	96	0	107	107
Probenazole	1	1	75	1	78	1	97	97
MEP	0	100	0	1	101	1	102	103
Dithiopyr	0	99	0	0	100	0	99	99
Esprocarb	0	99	0	0	99	0	105	105
Thiobencarb	0	99	0	0	100	1	106	106
Malathion	0	97	2	1	100	0	108	108
MPP	0	90	0	1	91	0	94	94
Dimethylvinphos	0	1	71	0	72	0	109	109
Metolachlor	0	102	0	0	102	0	107	107
Fthalide	0	98	0	0	98	0	99	99
Parathion	1	100	1	1	103	0	103	103
Chlorpyrifos	1	97	1	1	99	1	107	107
Captan	2	110	2	2	116	1	97	98
a-CVP	1	101	2	1	105	1	106	107
Pendimethalin	0	98	0	0	99	0	102	103
Methyl dymron	0	98	1	0	99	0	98	98
b-CVP	2	95	5	2	104	1	108	109
PAP (phenthoate)	1	97	0	1	98	1	96	97
Isophenphos	0	103	0	0	104	0	108	108
Ferimzone	3	2	59	2	66	1	78	80
Methidathion	0	99	0	0	99	0	102	102
CVMP	0	86	10	1	97	0	111	111
a-Endosulfan	1	97	0	0	98	2	102	104
Isoprothiolane	0	96	0	0	97	0	104	105
Butamifos	1	99	0	0	101	1	101	102
Napropamide	1	103	1	1	106	0	109	109
Butachlor	1	103	1	2	106	0	110	110
Flutolanil	0	0	69	0	70	0	109	109
Pretilachlor	0	99	0	0	100	0	108	108
Oxadiazon	0	98	0	0	99	0	107	107
Buprofezin	2	101	5	3	111	2	106	108
NIP	1	99	1	1	102	1	101	102
Isoxathion	0	105	0	0	106	0	105	105
b-Endosulfan	1	97	1	1	100	1	107	108
MPP-sulfon (fenthion)	1	1	71	1	73	1	78	79
Chlorbenzilate	0	99	0	0	99	0	111	111
Mepronil	1	99	3	1	103	1	100	101
EDDP	2	97	2	1	102	3	92	95
Endosulfansulfate	0	102	1	1	104	1	102	102
CNP	1	98	1	1	102	1	98	99
Daimuron	4	3	68	9	85	7	135	142
Thenylchlor	1	111	2	1	115	0	128	128
Nitralin	1	1	72	1	73	2	110	112
X - 52	2	85	1	1	90	2	90	92
Pyributicarb	0	90	0	0	90	0	115	115
EPN	1	89	0	1	90	1	105	106
Bifenox	3	98	3	2	106	0	89	89
Phosalone	0	99	0	0	99	0	104	105
Mefenacet	0	3	77	0	81	1	97	98

(各農薬0.5mg 添加 , 各溶媒10ml を順番に添加して溶出)

(6) シリカゲルカラムからの溶出パターン

シリカゲルカートリッジカラム (Supelclean LC-Si 6ml Glass Tube, 1g:SUPELCO 社製) の溶出パターンを調べたところ、ピリダフェンチオンは10%アセトン/ヘキサンで溶出せず、20%アセトン/ヘキサンで溶出することが分かった(表6)。

また、10%アセトン/ヘキサンで洗浄せず、ヘキサンの直後に20%アセトン/ヘキサンで溶出させた場合、回収率が103%となった。また、10%アセトン/ヘキサンで洗浄後の20%アセトン/ヘキサン分画の回収率は64%と低い値であったが、PEG300を200μg/ml 添加したところ、定量値が87%に増加した。これらのことから、回収率が低いのは他農薬によるマトリックス効果が低くなったためと考えられる。

3.3 低濃度添加回収試験

添加回収試験は、精製水は1Lに5・10・15ng、河川水と海水では1Lに5ng、底質では20g(湿泥)に15ngを添加し、図1に示す分析フローに従って行った。添加回収試験は繰り返し7回(精製水は各濃度で4回)を行い、その時の平均回収率を表7に示す。どの検体においても、約100%の良好な回収率となった。

表7 添加回収率

物質名	試料	試料量	添加量 (ng)	測定回数	回収率 (%)	変動係数 (%)
Pyridaphenthion	精製水	1 L	5	4	91	8.2
			10	4	91	8.4
			15	4	93	4.2
	河川水	1 L	5	7	113	6.3
	海水	1 L	5	7	112	5.8
	底質	20g-wet	15	7	99	4.3

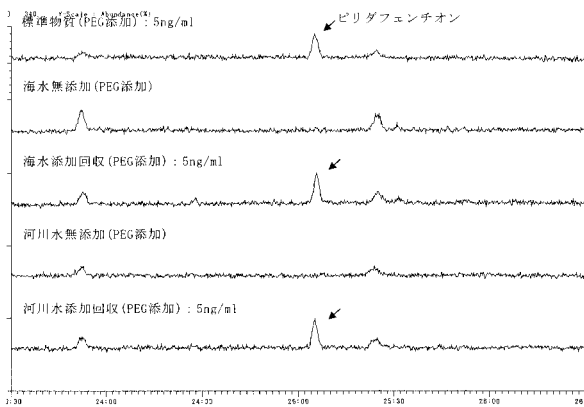


図7 水質環境試料のSIMクロマトグラム

3.4 環境試料分析

(1) 水質

河川水(笹ヶ瀬川)、海水(水島沖)のクロマトグラム例を図7に示す。いずれの媒体からもピリダフェンチオンは検出されなかった。

(2) 底質

共通底質のクロマトグラム例を図8に示す。検出下限(Dx3)未満ながら、共通底質にピリダフェンチオンと保持時間が一致するピークが確認された。高分解能GC/MSで測定した場合もピークが確認できたことから、ピリダフェンチオンが存在すると判断された。

4 まとめ

ピリダフェンチオン等の農薬類の多成分同時分析法を検討し、次の結果を得た。

- 1) 農薬類の大部分は、メタノール/ヘキサン分配において、メタノール層に分配された。
- 2) グラファイトカーボンカラムにおいて、大部分の農薬はヘキサン又は20%アセトン/ヘキサンの分画に溶出した。

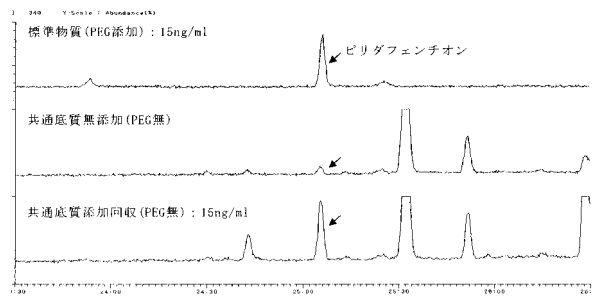


図8 底質環境試料のSIMクロマトグラム

- 3) GPC 処理では、大部分の農薬がクリーンアップ効果の高い14分以降に溶出したが、一部の農薬は13～14分に溶出した。
- 4) シリカゲルカラムでは、比較的極性の強いピリダフェンチオンは20%アセトン/ヘキサンの分画に溶出したが、大部分の農薬は10%アセトン/ヘキサンの分画に溶出したことから、多成分分析を行う場合には、この分画も回収する必要があることが分かった。
- 5) ピリダフェンチオンは、低濃度ではピークがテーリングして感度が悪くなり、マトリックス効果の影響を受けるが、ポリエチレングリコール (PEG) 300を添加することにより、マトリックス効果を補正できるようになり、低濃度でも測定できるようになった。
- 6) 添加回収試験を行ったところ、水質・底質試料ともに良好な回収率が得られ、この分析法が環境試料に十分適応できることがわかった。
- 7) 環境試料を測定したところ、水質からはピリダフェンチオンが検出されなかったが、底質からは、検出下限値未満ながら、ピリダフェンチオンと判断されるピークが確認できた。

なお、本研究は環境省委託の平成15年度化学物質分析法開発調査（環境安全課）及び岡山県が実施した平成15年度環境ホルモン等実態調査の一環として実施し

た。

文 献

- 1) 環境庁環境保健部保健調査室，昭和62年度化学物質分析法開発調査報告書（チオリン酸O，O-ジエチルO-（3,5,6-トリクロロ-2-ピリジル），チオリン酸O，O-ジエチルO-（ α -シアノベンジリデンアミノ），ジチオリン酸S-〔 α -（エトキシカルボニル）ベンジル〕O，O-ジメチル，リン酸2-クロロ-1-（2,4-ジクロロフェニル）ビニルジエチル，リン酸O，O-ジメチルO-2-クロロ-1-（2,4,5-トリクロロフェニル）エテニル，チオリン酸O，O-ジエチルO-（3-オキソ-1-フェニル-ピリダジン-6-イル），岡山県環境保健センター），129-137，1988
- 2) 環境省環境保健部環境安全課，平成12年度化学物質分析法開発調査報告書（クロロタロニル，ブタクロール，ピリダフェンチオン，長野県衛生公害研究所），16-38，2001
- 3) 環境省環境保健部環境安全課，平成14年度化学物質分析法開発調査報告書（ヘキサプロモピフェニル，岡山県環境保健センター），202-224，2003
- 4) 奥村為男，キャピラリー・GC/MSによる水中の農薬及びその酸化生成物の定量 - 標準液のPEG共注入法 - ，環境化学，5(3)，575-583，1995