

固相抽出法を用いた環境水中農薬のクリーンアップ手法の検討

Study of a Cleanup Method for Pesticides in Environmental water using Solid-Phase Extraction

○坂井拓斗¹, 田中沙季¹, 高原玲華¹, 高柳学¹, 石井一行¹, 太田茂徳¹, 岩崎貴普¹
(¹ ジーエルサイエンス株式会社)



はじめに

水質汚濁に係る環境基準項目に定められている農薬類を分析する際、環境水中の夾雑成分が分析を妨害する。特にチウラムをHPLC-UVで測定する場合、環境水由来の夾雑成分によりベースラインが上昇し、定量性が低下する可能性があるため、適切な前処理が必要となる。本検討では、チウラムを主対象とし、固相抽出法を用いた簡易クリーンアップ法について基礎的検討を行った。また、将来的なLCによる同時分析への適用を視野に入れ、シマジンおよびチオベンカルブに対する本手法の適用性についても補足的に確認した。

使用器具及び試薬

本検討で用いた固相抽出カラムは以下 6 種類とした。

- InertSep VRA-MX1
- アルミナ系充填剤 2種 (A・B)
- 陰イオン交換系充填剤 2種 (C・D)
- 順相系充填剤 1種 (E)

測定対象の農薬はチウラム、シマジン、およびチオベンカルブの3種で、チウラムおよびシマジンは富士フイルム和光純薬工業社、チオベンカルブはChem Service社製の標準試薬を使用した。

実験方法及び結果

検討①：クリーンアップ用固相抽出カラム充填剤種類の比較

各種固相抽出カラムによるクリーンアップ効果を検証するため、Fig.1に示す手法に従い、河川水をInertSep Slim-J PLS-3で前処理した。得られた溶出液にチウラムを1 µg/mLとなるよう添加した後、クリーンアップ用固相抽出カラムで処理した。得られた処理液をTable 1に示す条件でHPLC分析し、クリーンアップ工程におけるチウラムの回収率および精製効果を確認した。6種類の固相抽出カラムをクリーンアップ用カラムとして用い、PLS-3により濃縮した河川水由来成分を処理し、チウラムの回収率を確認した。その結果、河川水中のマトリックス成分はいずれの固相抽出カラムでも低減され (Fig.2)、チウラムの回収率はInertSep VRA-MX1を用いた場合に最も高かった (Fig.3)。

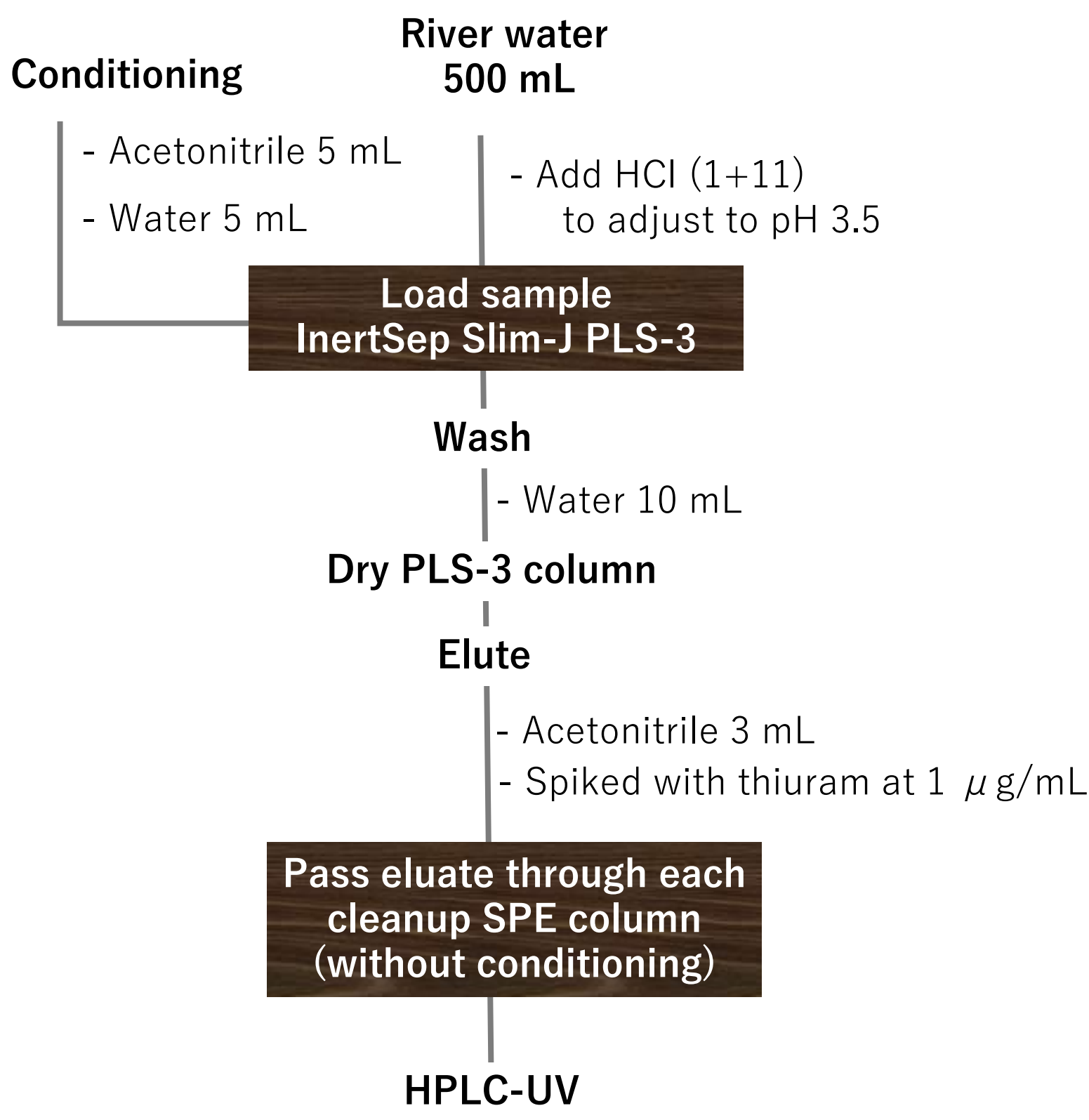


Fig. 1 Solid-phase extraction procedure for evaluating thiuram recovery in the cleanup step after river water pretreatment

Table 1 HPLC conditions

Parameter	Condition
Column	InertSustain C18, 5 µm 150 × 4.6 mm I.D.
Mobile phase	CH ₃ CN / 50 mmol/L KH ₂ PO ₄ , pH 3.0 adjusted with H ₃ PO ₄ = 55/45, v/v, isocratic
Flow rate	1.0 mL/min
Column temperature	40°C
Detection	UV 272 nm
Detector	UV detector
Injection volume	20 µL

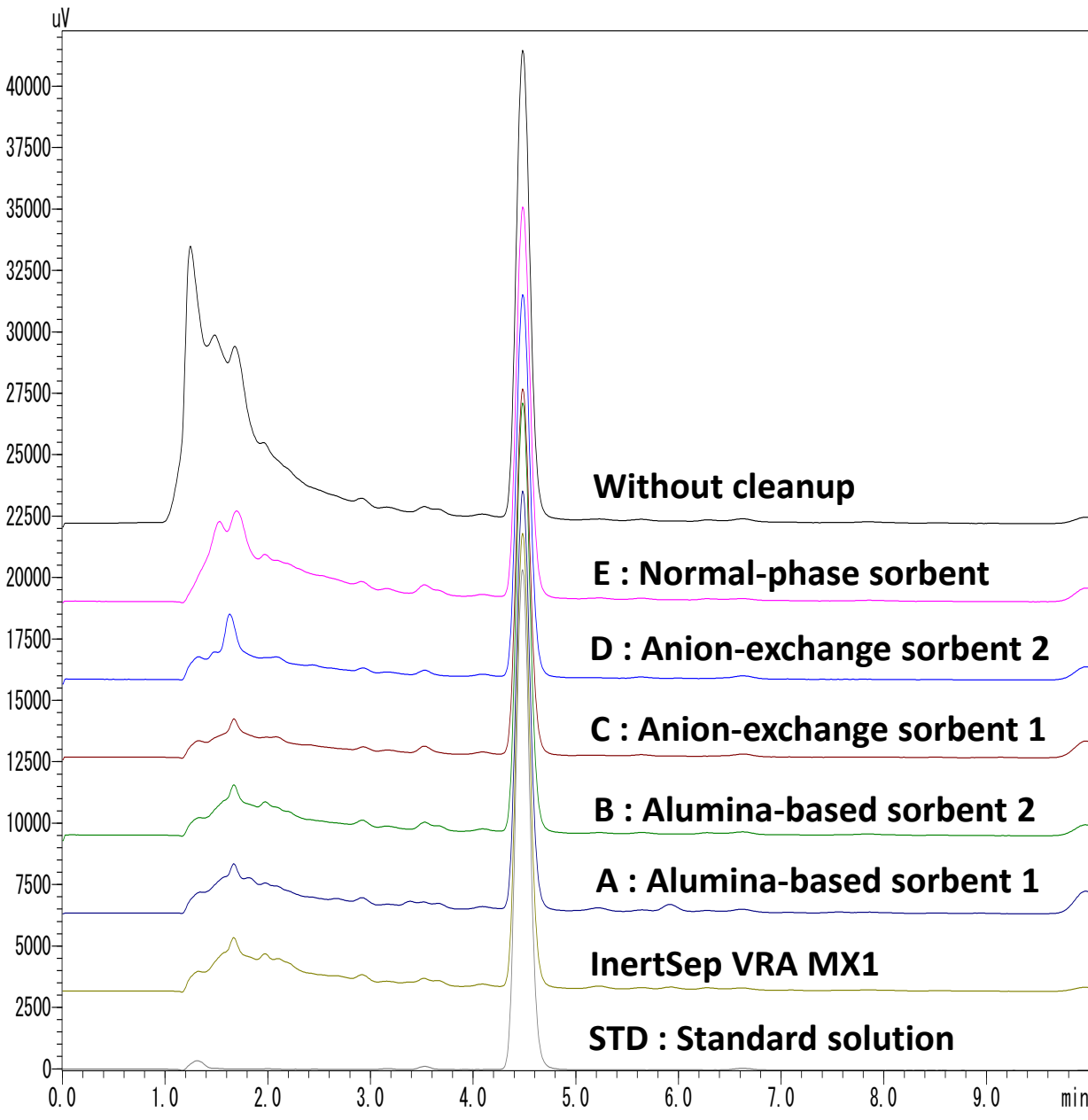
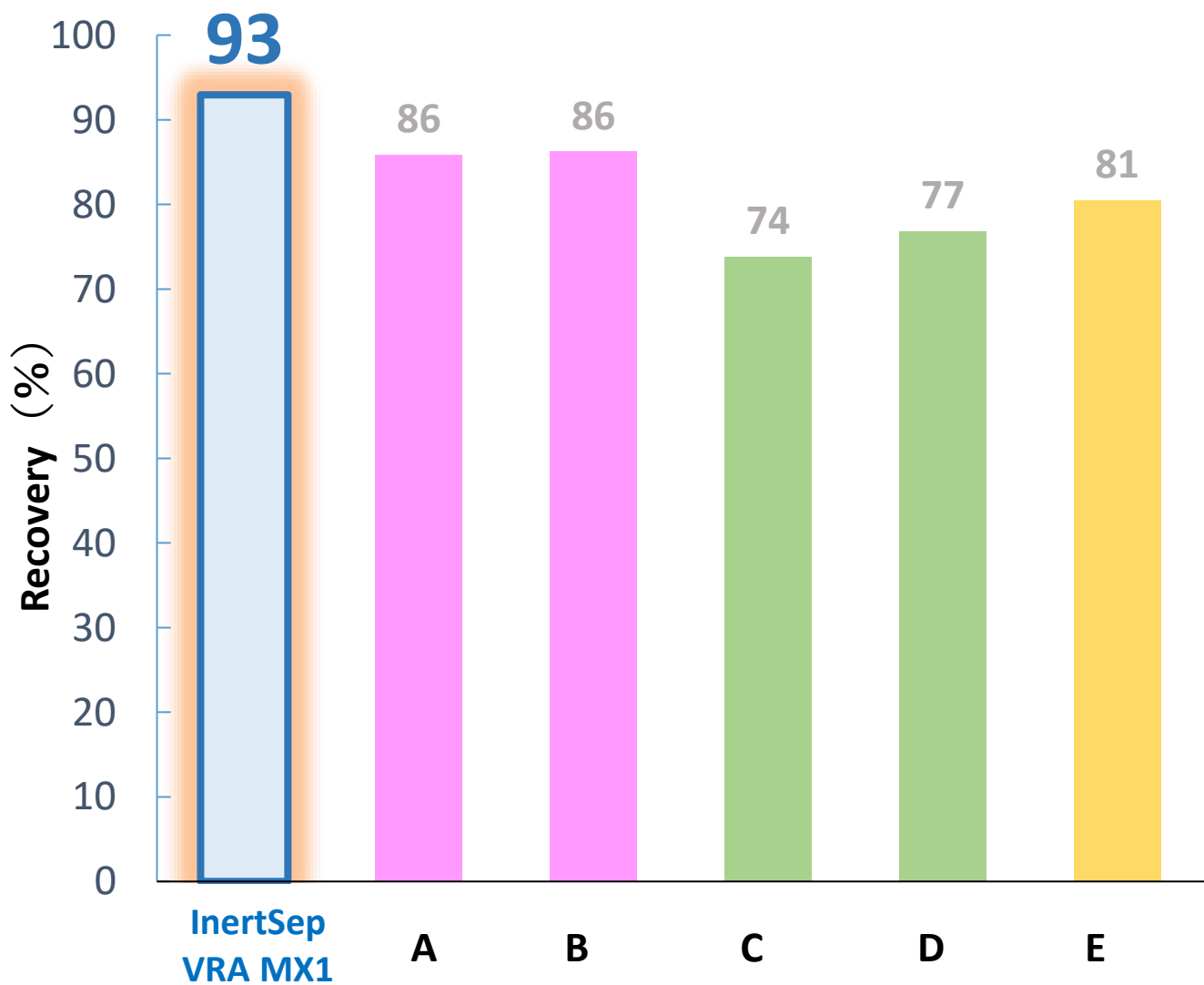


Fig. 2. HPLC chromatograms of thiuram after cleanup using different SPE columns



A : Alumina-based sorbent 1 C : Anion-exchange sorbent 1 E : Normal-phase sorbent
B : Alumina-based sorbent 2 D : Anion-exchange sorbent 2

Fig. 3. Recovery rates of thiuram after cleanup using different SPE columns

検討②：クリーンアップ用固相抽出カラム充填量の検討

検水500 mLの処理液に対するクリーンアップ用固相抽出カラムの適切な充填量を確認するため、Fig.1に示す方法に従い、充填量を100, 200, 300, 500 mgおよび1 gに変更して処理を行い、チウラムの回収率を確認した。InertSep VRA-MX1をクリーンアップ用固相抽出カラムとして用い、固相充填量がチウラム回収率に及ぼす影響を評価した。その結果、固相充填量が増加するほどチウラムの回収率は低下し、1 gでは80%を下回った (Fig.4)。一方、マトリックス由来の夾雑ピークおよびベースライン上昇の低減効果を考慮しても (Fig.5)、固相充填量100 mgで十分な精製効果が得られることが確認された。

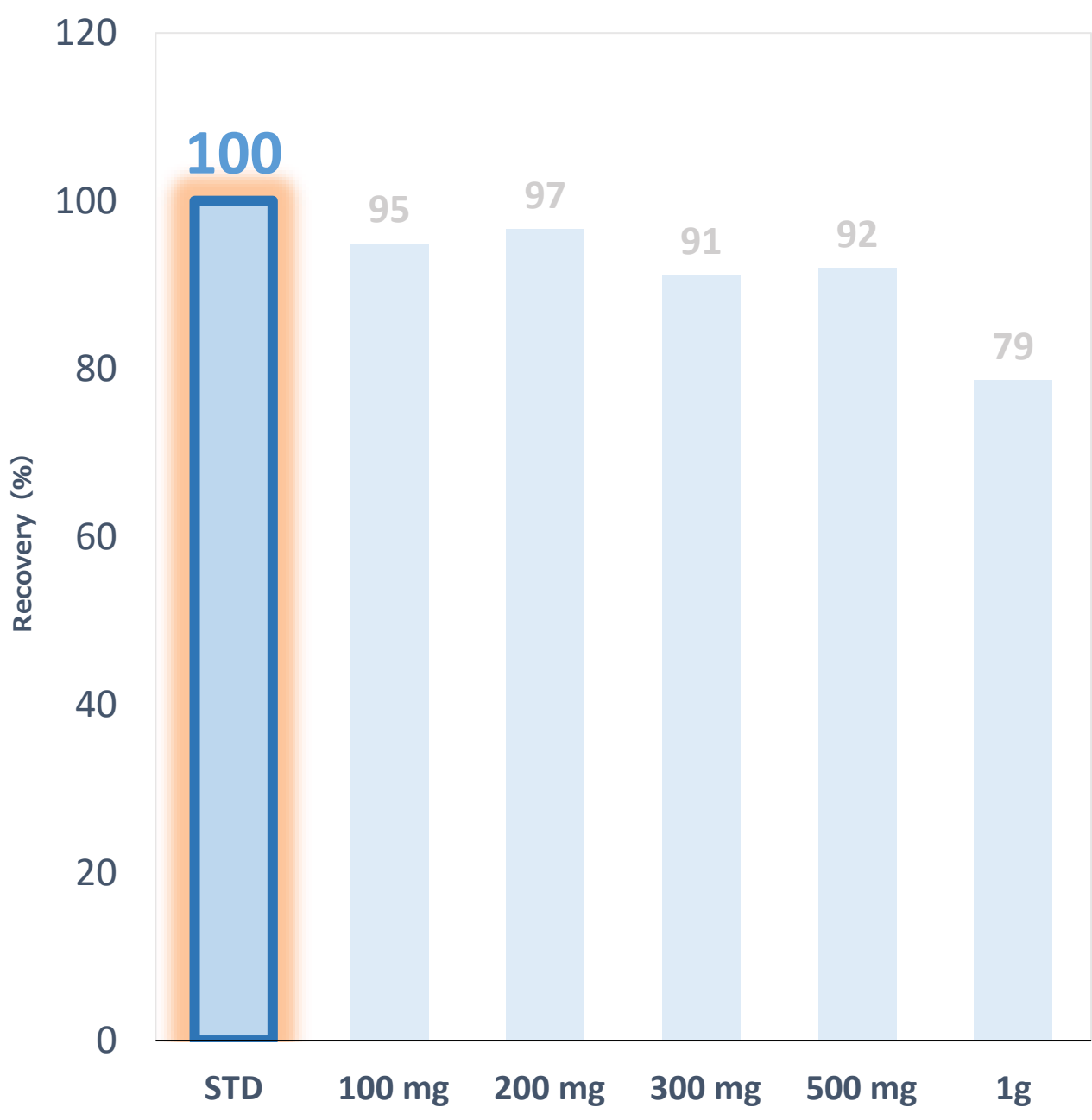


Fig. 4. Effect of sorbent mass on thiuram recovery.

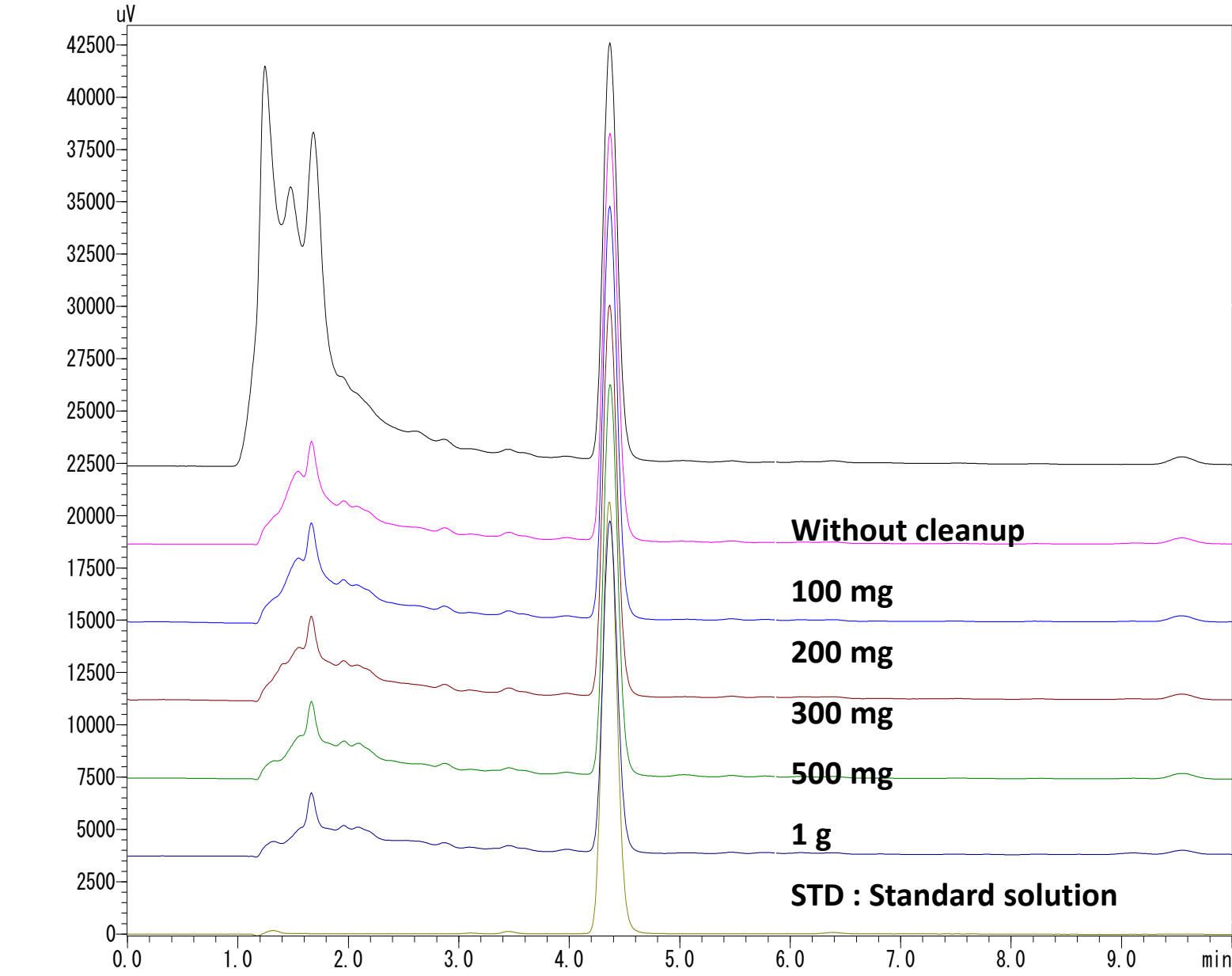


Fig. 5. Comparison of cleanup efficiency at different InertSep VRA MX1 sorbent masses

検討③：土壌抽出液に対するクリーンアップ効果の検証

本クリーンアップカラムの適用性を確認するため、土壌抽出液に対するクリーンアップ効果の評価した。腐葉土1 gと超純水50 mLを混合し、1日静置した後、Grade GD 1 µm, 47 mm (メルク社製)で吸引ろ過したものを模擬土壌水とした。InertSep VRA-MX1の精製効果を確認するため、模擬土壌水50 mLをFig. 1の手順に従って前処理し、アセトニトリルで5 mLに定容して土壌抽出液を調製した。土壌抽出液にチウラム、シマジンおよびチオベンカルブをそれぞれ環境基準値となるよう添加し、負荷試料とした。負荷試料500 µLをInertSep VRA-MX1 (100 mg/1 mL)に負荷し、得られた回収液をHPLCで分析した。土壌抽出液のクリーンアップ前後におけるHPLCクロマトグラムをFig. 8に、色調の変化をFig. 9に示す。HPLC分析の結果、InertSep VRA-MX1を用いたクリーンアップにより、ベースライン上昇が抑制されることを確認した。また、色調の変化から、色素成分が低減されることを確認した。以上より、InertSep VRA-MX1は、色素成分を含む土壌抽出液に対してもクリーンアップ効果を示すことが確認された。

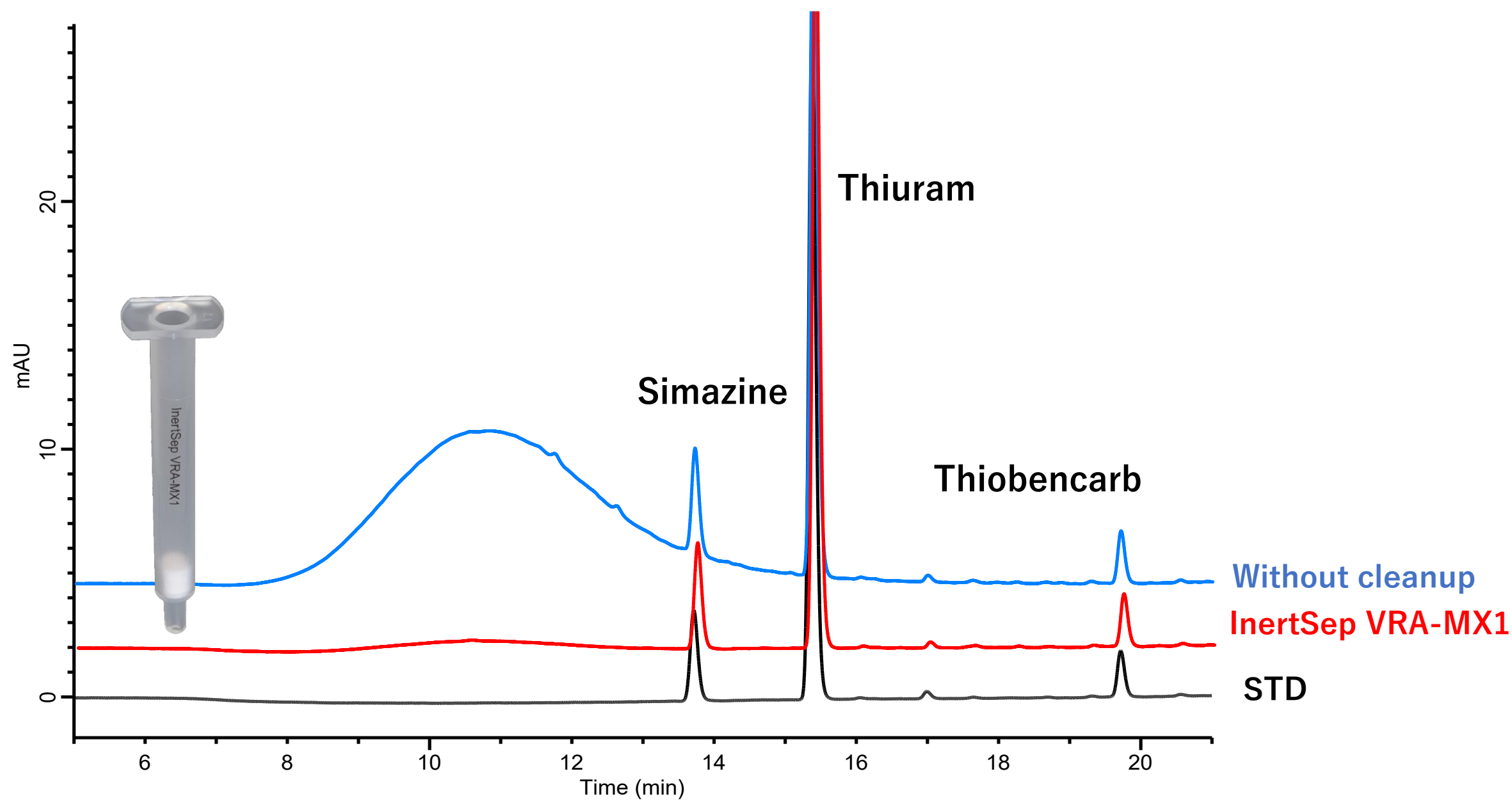


Fig. 8. HPLC Chromatogram for soil water samples cleanup using InertSep VRA-MX1

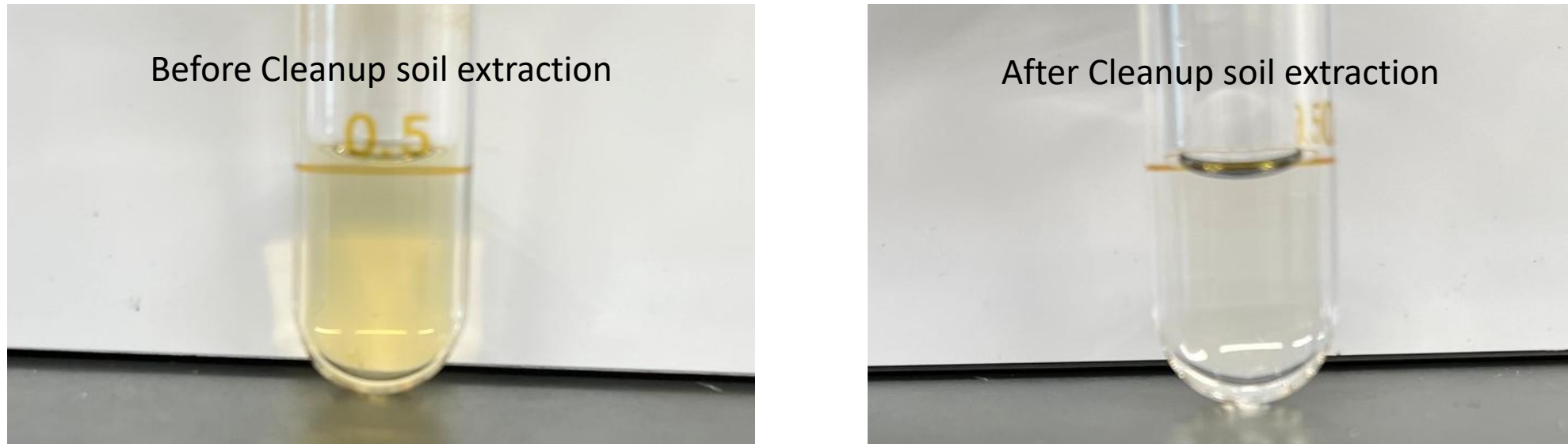


Fig .9. Soil water samples cleanup using InertSep VRA-MX1

結論

チウラム分析の前処理において、固相抽出法を用いたクリーンアップ法を検討した。評価した固相抽出カラムのうち、InertSep VRA-MX1を用いた場合に高いクリーンアップ効果が得られ、チウラムの回収率も十分であった。河川水500 mLを濃縮した溶液に対しては、クリーンアップ用固相の充填量100 mgで十分な精製効果が得られた。InertSep VRA-MX1 (100 mg/1 mL)は、土壌抽出液中の夾雑成分および色素成分を効果的に低減し、妨害ピークおよびベースライン上昇の抑制に有効であった。本手法は、環境試料中のチウラムを主対象とする分析前処理法として有効であり、シマジンおよびチオベンカルブにも適用できる可能性が示された。