

水質及び底質中の化学物質の分離・濃縮方法の検討

森田 一夫 渡辺 正子
和田 照美 (非常勤研究員)

1 はじめに

本報告は、当研究所で実施している「化学物質による環境汚染に関する研究」で、平成3年度に調査対象とした化学物質の分析条件を検討した結果である。検討は水質と底質からの化学物質の分離・濃縮方法及び分離・濃縮操作によって得られた分析試料のクリーンアップ方法について行った。

分離・濃縮方法として、①ジクロロメタンによる溶媒抽出法、②ヘキサンによる溶媒抽出法、③Sep-Pak C18カートリッジカラムによる吸着法、④水蒸気蒸留法の4方法。

底質については、①振とう法、②水蒸気蒸留法の2方法を検討した。

クリーンアップ方法として、①シリカゲルを用いたカラムクロマトグラフ法、②フロリジルを用いたカラムクロマトグラフ法、③アセトニトリルによる分配処理、④

硫酸による分解処理の4方法について検討した。

「化学物質による環境汚染に関する研究」では、20~30物質を毎年調査するため、抽出方法が簡便であること、一度でできるだけ多くの物質を抽出できることが望ましい。本報告は、こうした点に主眼を置いて抽出率その他を比較検討した。

2 実験

表1に示す11種の有機りん系農薬について水質と底質からの分離・濃縮方法及びクリーンアップ方法を、並びに、5種の有機りん酸トリエステルについて、底質からの分離・濃縮方法及びクリーンアップ方法を検討した。同表にはこれらの物質の物理化学的特性を掲げた。

(1) 水質からの分離・濃縮方法の比較

A 試料の調製及び分離・濃縮方法

試料中の標準物質濃度が10 μ g/lになるように、標

表1 農薬等物性データ^{1),2)}

名称	分子式	分子量	沸点	蒸気圧	比重	溶解度 (%)	その他
有機リン系 (DDP)	C ₁₂ H ₁₇ Cl ₂ O ₂ P	221.00	35 °C(0.05mmHg)	1.2 x 10 ⁻⁶ mmHg(20 °C)	1.42	1000ppm(室温)	残留性が劣る
殺菌剤	C ₁₆ H ₁₉ N ₃ O ₂ PS	184.24	83~84 °C(0.002mmHg)	1.4 x 10 ⁻⁶ mmHg(20 °C)	1.17	40ppm(20 °C)	速効性と残留性に優れる
有機リン系	C ₁₂ H ₁₇ N ₃ O ₂ PS	345.40		3 x 10 ⁻⁶ mmHg(20 °C)	1.13	20ppm(20 °C)	土壌微生物殺菌剤
殺菌剤	C ₁₆ H ₁₉ Cl ₂ O ₂ PS	301.10		4.27 x 10 ⁻⁶ mmHg(20 °C)		0.3~0.4ppm(20 °C)	土壌殺菌剤
有機リン系	C ₁₂ H ₁₇ O ₂ NPS	277.24	140~145 °C(10.1mmHg)	6 x 10 ⁻⁶ mmHg(20 °C)	1.32	14ppm(30 °C)	熱に対してかなり安定、過熱の高温で分解
有機リン系	C ₁₂ H ₁₇ O ₂ PS ₂	279.30	87 °C(0.01mmHg)	3 x 10 ⁻⁶ mmHg(20 °C)	1.25	54~56ppm(室温)	残留性強い・低毒性
有機リン系	C ₁₂ H ₁₇ O ₂ PS ₂	320.40			1.23	11ppm(24 °C)	低毒性・速効性
有機リン系	C ₁₆ H ₁₉ Cl ₂ N ₃ O ₂ PS	350.60		1.87 x 10 ⁻⁶ mmHg(25 °C)		2ppm(35 °C)	中性・弱毒性で比較的安定、70%性で分解
有機リン系	C ₁₂ H ₁₇ N ₃ O ₂ PS	313.30	167 °C(0.15mmHg)	1.2 x 10 ⁻⁶ mmHg(25 °C)		難溶	70%性に対して不安定
有機リン系	C ₁₂ H ₁₇ O ₂ PS ₂	310.40	154 °C(0.01mmHg)		1.23	5ppm	
有機リン系	C ₁₂ H ₁₇ N ₃ O ₂ PS	332.40		6.3 x 10 ⁻⁶ mmHg(27 °C)	1.19	5.1ppm(20 °C)	熱に対して安定、酸生で安定、70%性で分解
有機リン系	(C ₁₂ H ₁₇) ₂ P=O	266.30	180 °C(20mmHg)	20mmHg(20 °C)	0.98	ほとんど不溶	比較的安定な化合物
有機リン系	(C ₁₂ H ₁₇) ₂ P=O	368.00	265~265 °C(20mmHg)	0.23mmHg(200 °C)	1.17	0.1ppm(25 °C)	残留性が高い
有機リン系	(C ₁₂ H ₁₇) ₂ P=O	286.00	210~220 °C(20mmHg)		1.47	ほとんど不溶	低温で安定な化合物
有機リン系	(C ₁₂ H ₁₇ OC ₂ H ₄ O) ₂ P=O	398.00	222 °C(4mmHg)		1.02	0.11%	
有機リン系	(C ₁₂ H ₁₇ OC ₂ H ₄ O) ₂ P=O	431.00			1.50	不溶	

準品のアセトン溶液を蒸留水に一定量加えたものを試料として用い、以下の方法で実験した。

①ジクロロメタンによる溶媒抽出法：平成2年5月31日、厚生省通知の方法（「ゴルフ場農業に係る検査方法について」）に準拠して行った。すなわち、試料1ℓをジクロロメタン100mlで抽出操作を行い溶媒層を分取する。再度、水層にジクロロメタンを100ml加えて同様の操作を行った後、分取した溶媒層を先の溶媒層に合わせる。これに無水硫酸ナトリウムを加えて脱水した後、5mlまで濃縮した段階で、ヘキサンを50ml加え、再度5mlまで濃縮したものを分析試料とする。

②ヘキサンによる溶媒抽出法：試料1ℓに対してヘキサン100mlで抽出操作を行い溶媒層を分取する。再度、水層にヘキサンを100ml加えて同様の操作を行った後、分取した溶媒層を先の溶媒層に合わせる。これに無水硫酸ナトリウムを加えて脱水した後、5mlまで濃縮したものを分析試料とする。

③Sep-Pak C18カートリッジカラムによる吸着法：Sep-Pak C18にメタノール15mlを流して活性化し、水5mlを通してなじませた後、試料0.5ℓを20ml/分の吸引速度でSep-Pak C18に吸着させる。これを約3000rpmで5分間遠心分離して脱水した後、溶離液が2mlとなるように酢酸メチルで溶離して、分析試料とする。

④水蒸気蒸留法：前報と同様の操作方法で行った。すなわち、試料1ℓを2時間加熱還流して、ヘキサン5mlで捕集したものを分析試料とした。

イ 分析方法

分離・濃縮した化学物質の分析はガスクロマトグラフ-質量分析装置（以下、「GC/MS」と記する。）で行った。

使用機器及び分析条件は表2とおりである。

表2 GC/MSの分析条件

GC部機種	HP 5890 A
MS部機種	日立M80B
使用カラム	スベルコ社製 PTE-5 長さ30m 内径0.25mm 膜厚0.25μm
オープン温度	50℃ (2分保持) ~270℃ (8℃/分)
試料注入モード	スプリットレス パージオフタイム1.5分
試料注入量	1μℓ
試料注入口温度	240℃

ウ 結果及び考察

結果を表3に示す。4方法の比較では、全ての物質についてはほぼ90%以上の回収率が得られたジクロロメタンによる溶媒抽出法が最も優れている。一方、ヘキサンによる溶媒抽出法は、ジクロロボス（DDVP）の回収率が30%程度と低く、クロルピリホスの回収率の標準偏差が20%を超過し変動が大きい。また、Sep-Pak C18カー

表3 4方法による水質からの農業の回収率比較

抽出方法	ジクロロメタン溶媒抽出法				ヘキサン溶媒抽出法				Sep-Pak C18吸着法				水蒸気蒸留法			
	平均回収率(%)	標準偏差(%)	変動係数(%)	参考値回収率(%)	平均回収率(%)	標準偏差(%)	変動係数(%)	参考値回収率(%)	平均回収率(%)	標準偏差(%)	変動係数(%)	参考値回収率(%)	平均回収率(%)	標準偏差(%)	変動係数(%)	参考値回収率(%)
ジクロボス(DDVP)	93	4.48	4.80	51	27	3.36	12.22	11	84	2.60	3.08	20~40	0			
ダイアリン	94	7.09	7.54	91	97	6.69	6.87	91	87	3.02	3.47	96~102	101	3.94	3.92	101
イプロキサ	90	7.18	8.02		100	14.13	14.15		95	5.05	5.32		108	6.44	5.98	
トクロロメタン	92	8.41	9.15		98	5.85	5.98		76	8.36	10.99		99	5.02	5.08	
フェニトロチン(MEP)	89	10.39	11.67	90	95	4.53	4.75	90	92	3.45	3.74	92~97	12	2.03	17.12	76
フェニチン(MPP)	90	9.32	10.30	86	96	5.78	6.03	88	74	6.43	8.70	94~100	80	3.97	4.97	66
フェニエート(PAP)	95	9.78	10.29	81	97	7.88	8.16	96	90	5.57	6.19	100~108	10	0.76	4.09	85
クロルピリホス	85	11.48	13.51	88	144	22.46	15.63	91	56	15.06	26.98	75~85	100	6.05	6.04	92
イプロキサ	103	18.61	18.03	90	92	5.90	6.42	99	85	9.24	10.83	78~80	30	8.72	23.20	90
エチレックス(EDDP)	89	14.76	16.52	88	87	7.52	8.69	93	117	4.44	3.80	131	0			11
イプロキサ	93	9.93	10.64		103	18.64	18.14		107	8.62	8.06		117	14.93	12.79	

(注) 平均値は4樹木の平均である。

参考値は資料①からの実測によるデータである。ただし、抽出等の条件は本研究とは多少異なる。

トリッジカラムを用いた吸着法は、クロロピリホスの回収率が60%程度と低く、変動係数が27%と大きかったが、その他の10物質の回収率はおおむね80%以上、変動係数10%以内に収まっており良好であった。

そこで、ジクロロメタンによる溶媒抽出法と Sep-Pak C18 カートリッジカラムを用いた吸着法とで、環境試料を分析して相互比較した結果を表4に示す。結果は、内匠橋におけるジクロロピリホスが2倍程度の違いがあるなど、両方法による分析値はあまりよく一致していなかった。環境試料は、分離・濃縮方法を検討した時の標準試料の濃度に比べて1/10以下と低濃度であることが、相互の分析値をバラツカせる原因になっていると思われる。

(2) 底質からの分離・濃縮方法の比較

有機りん系農薬と有機りん酸トリエステルを対象にして、振とう抽出法と水蒸気蒸留法について比較した。

ア 試料の調製及び分離・濃縮方法

東京都内湾 St. 25 の底質に有機りん系農薬が 1 mg/kg、有機りん酸トリエステルが 2.5 mg/kg になるように標準物質のアセトン溶液を加えてよく攪拌したものを試料とした。なお、St. 25 の底質は実験の対象とした物質が含まれていないことが確認されている。

振とう法、水蒸気蒸留法ともに、前報と同様の分離・濃縮操作で行った。ただし、試料の前処理として、抽出物に含まれる硫黄分を Cu 粉末によって処理したが、そ

れ以上のクリーンアップ処理は省略した。

①振とう法：試料10gを50mlの遠沈管にとり、ヘキサン/アセトン(50:50)30mlを加え、10分間振とう抽出し、3000rpmの速度で遠心分離して、溶媒層を分取する。残渣にヘキサン20mlを加えて同様の操作を行い、分取した溶媒層を先の溶媒層に合わせて脱水後、5mlまで濃縮して分析用試料とした。

②水蒸気蒸留法：前報と同様の操作を行った。すなわち、試料20mgに蒸留水500mlを加えて、2時間加熱還流してヘキサン5mlに捕集する。蒸留終了後、ヘキサン層を容器に受け、管壁を洗ったヘキサンを先のヘキサン層に合わせて、脱水後、正確に5mlに濃縮して分析用試料とした。

イ 分析方法

分析は(1)水質からの分離・濃縮方法と同様に行った。

ウ 結果及び考察

結果を表5に示す。農薬類の回収率は、振とう法で50~60%、水蒸気蒸留法で0~30%程度と極めて低かった。

また、有機りん酸トリエステルの回収率は、振とう法で20~90%、水蒸気蒸留法で0~50%と物質によって非常に差があった。

以上の結果から、底泥の抽出方法として、振とう法を選定し、また、回収率が50%を下回るような極端に低い物質については抽出方法を更に検討することとして、平

表4 ジクロロメタン溶媒抽出法と Sep-Pak C18 吸着法による水質環境試料の分析値の比較

農薬名 調査地点	ジクロロピリホス (DDVP)		ダイアジノン		フェニトロチオン (MEP)		フェンチオン (MPP)		
	ジクロロピリホス 溶媒抽出法	SepPak C18 吸着法	ジクロロピリホス 溶媒抽出法	SepPak C18 吸着法	フェニトロチオン 溶媒抽出法	SepPak C18 吸着法	フェンチオン 溶媒抽出法	SepPak C18 吸着法	
河川	高幡橋	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
	調布堰	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
	大師橋	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
	両国橋	Tr	ND	0.30	Tr	0.31	Tr	ND	ND
	柳橋	ND	ND	0.27	Tr	0.37	ND	0.24	0.29
	内匠橋	0.39	0.21	0.34	0.38	Tr	Tr	0.34	0.61
	葛西橋	0.24	ND	0.44	0.24	Tr	ND	ND	ND
葛西小橋	ND	ND	0.50	0.30	Tr	ND	ND	ND	
内湾	St 6	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	St 8	ND	ND	0.21	Tr	ND	ND	ND	ND
	St 1 1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	St 2 2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	St 2 5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	St 3 5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

(注) 単位は $\mu\text{g}/\text{l}$ 、Trは0.1~0.2 $\mu\text{g}/\text{l}$ 未満、NDは0.1 $\mu\text{g}/\text{l}$ 未満である。

表5 振とう法と水蒸気蒸留法とによる底質からの回収率比較検討

方 法		振 とう 法			水 蒸 気 蒸 留 法		
物 質		平均 回収率(%)	標準 偏差(%)	変動 係数(%)	平均 回収率(%)	標準 偏差(%)	変動 係数(%)
有機 りん 系 農 薬	ジクロロボス(DDVP)	25	3.73	15.15	0	-	-
	ダイアリン	58	4.38	7.54	43	8.81	20.41
	イソフェンメス	59	7.16	12.22	33	0.89	2.66
	トクロロフェニル	60	4.31	7.15	40	2.57	6.48
	フェントロチオン(MEP)	58	9.91	17.17	23	3.90	16.89
	フェンチオン(MPP)	60	4.25	7.06	5	0.33	6.28
	フェントエート(PAP)	56	3.99	7.17	7	0.82	11.81
	クロルピリフェス	56	18.35	33.02	46	5.81	12.59
	イソキサチオン	-	-	-	-	-	-
	ブタミフェス	57	7.31	12.81	35	6.08	17.45
	エチイフェンフェス(EDDP)	34	8.46	24.67	-	-	-
有 機 りん 酸 ル	トリフェルフェスフェート(TBPF)	69	15.23	21.95	49	2.50	5.12
	トリブチキシエチルフェスフェート(TBXP)	22	8.71	39.78	-	-	-
	トリスクロルエチルフェスフェート(TCEP)	47	14.04	29.73	-	-	-
	トリクレタフェスフェート(TCP)	91	32.47	35.67	46	34.66	74.79
	トリス(ジクロロフェル)フェスフェート(TDCPP)	68	31.37	46.03	1	0.30	29.93

(注) 平均回収率は4検体の平均値である。

成3年度「化学物質による環境汚染に関する研究」の調査結果からは除外することとした。

(3) クリーンアップ方法の検討

底質試料や汚染の著しい水質試料からの抽出物は、着色成分や脂質を含有するため、分析上の妨害、機器汚染の可能性があるので、そのクリーンアップ方法について検討した。

ア 試料の調製及びクリーンアップ方法

カラムクロマトによるクリーンアップは着色物質の除去を主目的として、処理後の目的物質の回収率を検討した。すなわち、あらかじめ底質から抽出した着色成分に有機りん系農薬・有機りん酸トリエステルの標準物質を添加して、5 mg/lの濃度のヘキサン溶液としたものを試料として用い、カラムからの溶離液に着色成分が認められるまでに回収される標準物質の量を求めた。

アセトニトリル分配処理と硫酸による分解処理は、標準物質の5 mg/lの濃度のヘキサン溶液を用いて、それぞれの処理を行った後に残存する標準物質の量から回収率を検討した。

①カラムクロマトグラフィー(シリカゲル)：用いたカラムは内径1cm、長さ30cm。シリカゲルは130℃で5時

間活性化したものを用い、100%ヘキサンで、約15cmの高さに湿式充填し、無水硫酸ナトリウムを重層した。充填後、約100mlのヘキサンで洗浄後、液面を無水硫酸ナトリウムの上面まで下げて、試料1mlを静かにのせて、以下のように展開した。

- Fr1：ヘキサン100%
- Fr2：10% エーテル in ヘキサン
- Fr3：30% エーテル in ヘキサン
- Fr4：10% エタノール in ヘキサン

以上の組成の混合溶媒を各70mlずつ流した。

②カラムクロマトグラフィー(フロリジル)：用いたカラム、充填方法、展開方法は、①カラムクロマトグラフィー(シリカゲル)と同様に行った。フロリジルは、60~100メッシュのものを130℃で15時間活性化して使用した。

③アセトニトリル分配処理：常法に従って行った。すなわち、試料5mlを分液漏斗にとり、ヘキサン飽和アセト

ニトリル溶液10mlでアセトニトリルに転溶する操作を2回行う。次に、アセトニトリル層に2% NaCl水溶液100mlを加え、これをヘキサン25mlで2回逆抽出し、ヘキサン層を水洗した後脱水・濃縮して分析用試料とした。

④硫酸分解処理：試料5mlと硫酸2mlを分液漏斗に入れて、1分間振とうした後、洗液が中性になるまでヘキサン層を水で良く洗ってから脱水したものを分析試料とした。

イ 分析方法

分析はGC/MSと炎光光度検出器付きガスクロマトグラフ（以下「GC/FPD」と記す。）で行った。用いた機器及び条件は表2と表6の通りである。

ウ 結果及び考察

結果を表7に示す。

カラムクロマトでは、Fr3で着色成分が一部溶出したため、Fr2までに回収された成分で回収率を求めた。

アセトニトリル分配処理では、有機りん系農薬のジクロロボス、有機りん酸トリエステルのTCEP、TBXP、TDCPPが全く回収されなかったが、ヘキサンに逆抽出する過程でアセトニトリル層に残ってしまったものと思われる。硫酸による分解処理では、硫酸と農薬との接触

表6 GC/FPDの分析条件

使用機種	島津 GC 14A
使用カラム	島津 CBP1 長さ30m 内径0.25mm 膜厚0.25μm
オープン温度	有機りん農薬：50℃（2分保持）～270℃（8℃/min） 有機りん酸トリエステル：110℃（2分保持）～250℃（10℃/min）
試料注入モード	スプリットレスモード パージオフタイム1.5分
試料注入量	1μl
試料注入口温度	240℃

時間が回収率に大きな影響を与えるものと思われる、2つのデータが大きくばらつく結果となった。

以上の結果から、有機りん系農薬11種全てに適したクリーンアップ法は、この4方法の中からは見いだせなかった。

しかし、有機りん酸トリエステル類はフロリジルカラ

表7 平成3年度農薬等クリーンアップ検討結果

物質	方法	カラムクロマトグラフ法		アセトニトリル	硫酸分解処理
		シリカゲル	フロリジル	ル分配処理	
有機りん系農薬	ジクロロボス(DBVP)	0	0	0	0
	ダイアリン	31	84	96	8
	イソフェンホス	75	76	98	58(23, 92)
	トリクロロフェニル	76	0	98	114
	フェントロファン(MEP)	87	82	77	110
	フェンチオン(MPP)	56	39	91	122
	フェントエート(PAP)	75	76	98	58(23, 92)
	クロルピリフェス	72	0	102	55(0, 110)
	イソキサチオン	90	80	102	42(9, 74)
	エディフェンホス(EDDP)	0	0	68	103
ブタミフェス	84	79	99	114	
有機りん酸	トリアチルホスフェート(TBP)	-	94	95	-
	トリクロロホスフェート(TCP)	-	68	98	-
	トリクロロエチルホスフェート(TCEP)	-	78	3	-
	トリスプロキシエチルホスフェート(TBXP)	-	73	-	-
トリス(ジクロロプロピル)ホスフェート(TDCPP)	-	84	-	-	

(注) 数値は、クリーンアップを行う前の量に対する回収割合(%)の平均値である。カラムクロマトグラフ法では、着色成分が溶出するまでに回収された成分の割合を示す。アセトニトリル分配処理と硫酸分解処理は処理後の残存率を示す。硫酸分解処理の()内数値は最高値と最低値とを表す。

ムクロマトにより、回収率70%以上であって着色成分が除去でき、クリーンアップ法として利用可能なことがわかった。

3 まとめ

①水質からの有機りん系農薬の分離・濃縮方法の検討では、ジクロロメタンによる溶媒抽出法が回収率ほぼ90%以上、変動係数概ね10%以内に収まり、総合的に優れている。

②底質からの分離・濃縮方法の比較では、有機りん系農薬、有機りん酸トリエステルともに、振とう法が水蒸気蒸留法よりも優れていたが、回収率は振とう法で20～90%、水蒸気蒸留法で0～50%と、いずれもあまりよくなかった。

③今回検討したクリーンアップ方法の内からは、有機りん系農薬の全てについて適切な方法はなかった。一方、有機りん酸トリエステルはフロリジルを用いるカラムクロマトで、着色物質を除去でき、回収率も70%以上と、良好なクリーンアップが可能になったことがわかった。

参考文献

- 1) ソフトサイエンス社：最新農薬データブック
- 2) 化学工業日報社：11691の化学商品
- 3) 奥村ら：キャピラリー・GC/MSによる農薬の一斉分析について、水質汚濁研究，4，2，p.109-122 (1991)
- 4) 森田ら：底泥中の化学物質の抽出方法の検討，東京都環境科学研究所年報1991-2.