

河川水等におけるアミトロール分析

江川 幸恵・馬場強三

Determination of Amitrole in River and Sea Water

Sachie EGAWA and Tsuyomi BABA

Key Words : Amitrole, derivative, fluorescence, HPLC

キーワード : アミトロール, 誘導体, 蛍光, 高速液体クロマトグラフィー

はじめに

アミトロールは、過去、非農耕地において、除草剤として使用されてきたが、その農薬登録は、1975年に失効している。最近、アミトロールは、外因性内分泌攪乱物質（いわゆる環境ホルモン）である可能性が指摘されている。長崎県は、平成12年度より3ヶ年計画で環境中の環境ホルモン汚染実態調査を行っているが、平成13年度よりアミトロールを分析項目として追加するにあたり、分析法の検討を行ったので報告する。

分析法

1. 試料

添加回収試験には、水試料として精製水、河川水、海水を用いた。

2. 試験法

分析法の検討については、環境庁水質保全局水質管理課「外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル」¹⁾を参考として図1に示す方法で行った。

3. 標準液の調整

アミトロールを正確に50mg量りとり、精製水を加えて50mlとし、これを標準原液（1000 μg/ml）とする。標準原液を順次希釈し、検量線作成用の標準液を調整する。水質で1 μg/Lの検出限界を目標とし、0.05、0.1、0.2 μg/mlの標準液を調整した。

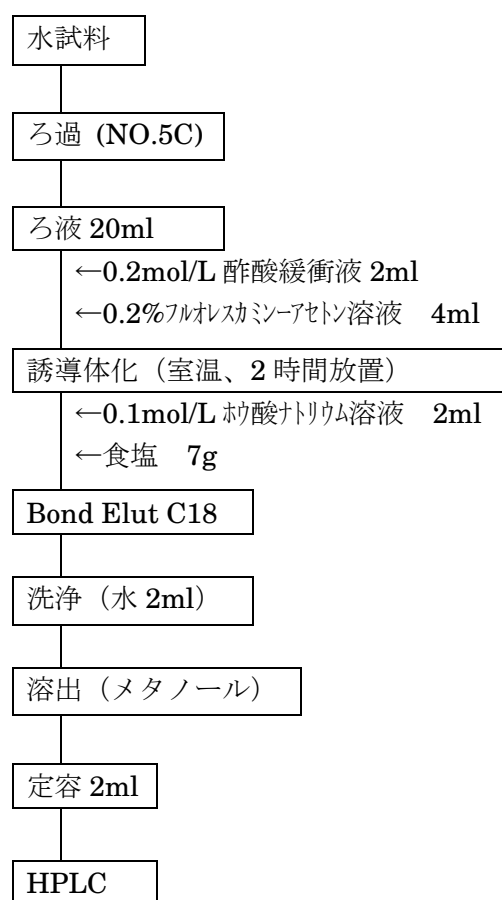


図1 アミトロールの分析法

4. 装置及び測定条件

装置については、(株)島津製作所製 SCL-10A型システムコントローラー、LC-10AD型送液ポンプ、RF-550型蛍光検出器、CTO-10A型カラム恒温槽、DGU-12A型脱気装置、SIL-10ADVP型オートインジェクターを用いた。

測定条件については表1に示した。

表1 HPLC 測定条件

カラム	Inertsil ODS-2
移動相	9%酢酸水溶液+メタノール (6:4)
流量	1.0ml/min
カラム温度	40℃
励起波長	395nm
蛍光波長	480nm
注入量	20 μL

5. 検量線

各濃度(0.05、0.1、0.2 μg/ml)の標準液を各々10ml メスフラスコに1ml 入れ、精製水1ml、0.2mol/L 酢酸緩衝液1ml、0.2%フルオレスカミン-アセトン溶液0.4ml を加え直ちに十分混和する。室温で2時間静置後、0.1mol/L ホウ酸ナトリウム1ml を加え、メタノールで10ml に定容する。対照として、精製水を用いて同様の操作をしたものを検量線のゼロとした。

結果及び考察

1. 誘導体化後のpHの影響

アミトロールとフルオレスカミンの誘導体の生成においては、pH3.8~4.0が最適であることが報告されている。²⁾しかし、暫定マニュアルに従って操作を行うと、誘導体生成後、誘導体は非常に不安定なため、時間の経過に伴い、蛍光強度が急激に減少する(図2)。このことから、今回は誘導体化後のpHの影響を調べた。

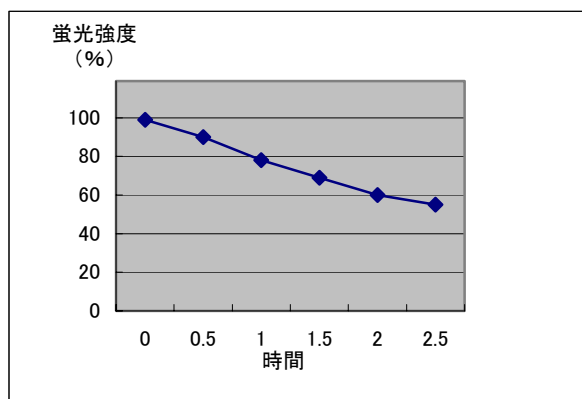


図2 時間の経過と蛍光強度

(1) 酢酸緩衝液の濃度

誘導体化前にpHを4.0にするために酢酸緩

衝液を加えるが、酢酸緩衝液の濃度が誘導体生成後の蛍光強度に影響を与えていると考えられる。酢酸緩衝液の濃度として、2mol/Lと0.2mol/Lを比較したところ、0.2mol/L 酢酸緩衝液でも誘導体化前の試料のpHを最適の4.0にすることができた。さらに、誘導体化後の蛍光強度の比較では0.2mol/L 酢酸緩衝液の方が、蛍光強度が大きかった。このことから、誘導体化の生成前のpHの調整として、0.2mol/L 酢酸緩衝液を用いた。

(2) 0.1mol/L ホウ酸ナトリウム溶液添加によるpHの影響

誘導体化後の反応液のpHを0.1mol/L ホウ酸ナトリウム溶液を用いて変化させ(図3)、蛍光強度の経時変化を調べた。その結果、0.1mol/L ホウ酸ナトリウム2ml 添加したとき、pHはほぼ中性で、蛍光強度が最も大きく、また、時間の経過に伴う蛍光強度の急激な減少も小さかった。(図4)

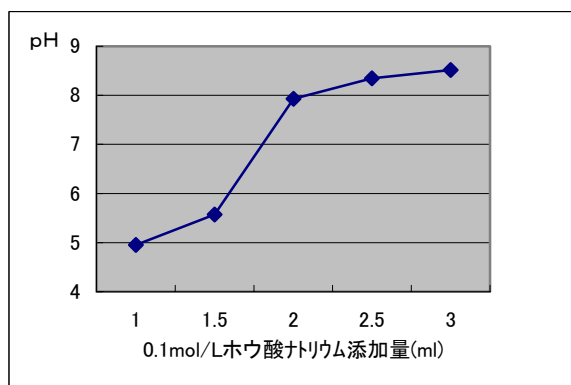


図3 0.1mol/L ホウ酸ナトリウム添加量とpHの関係

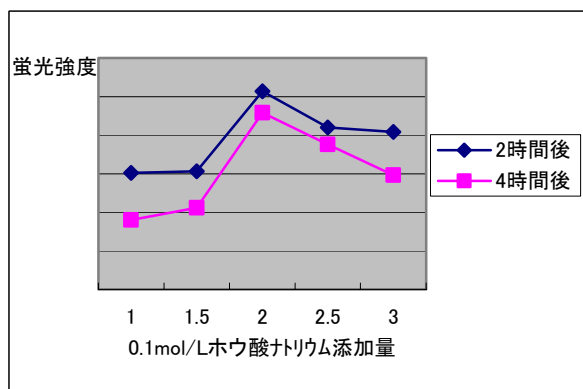


図4 0.1mol/L ホウ酸ナトリウム添加量と蛍光強度

2. 移動相の検討

暫定マニュアル中の移動相では、誘導体のピークが、ブランク中の妨害ピークと重なるため正確に測定することができない(図5)。そこで、移動相における溶媒比率を検討した。その結果、9%酢酸水溶液とメタノールの比率が6:4のとき、誘導体のピークが妨害ピークと分離でき、さらに10分以内で検出できるので、この比率を用いた。(図6)

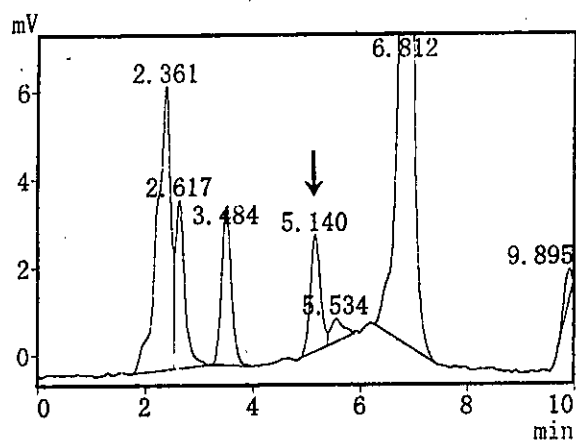


図5 暫定マニュアルの移動相
9%酢酸水溶液：メタノール(10:9)

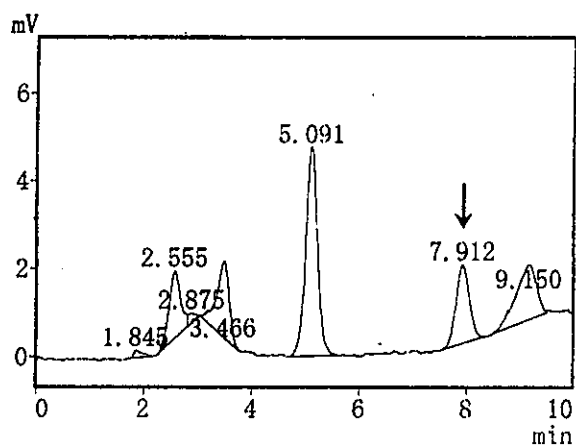


図6 9%酢酸水溶液：メタノール(6:4)

3. 添加回収試験

水試料 20ml に 0.02 μg を添加し、全操作を行い、回収率を求めた。その結果、表2に示すとおり、海水の回収率が75%で、河川水に比べて低い値であったが、ほぼ満足する結果であった。

表2 添加回収試験結果

試料	回収率 (%)	平均 (%)
精製水	82~103 (n=3)	91.3
河川水	73~99 (n=3)	87.0
海水	66~83 (n=3)	75.3

まとめ

水質中におけるアミトロールの分析法の検討を行った。

1) 誘導体化前の試料のpH調整には、2mol/Lよりも0.2mol/Lの酢酸緩衝液を用いた方が、蛍光強度が大きかった。

2) 誘導体化後、試料のpHを0.1mol/L 酢酸ナトリウム 2ml を添加して中性にすることで、時間の経過に伴う急激な減少を抑えることができた。

3) 移動相の溶媒比率を9%酢酸水溶液：メタノール(6:4)とすることで、妨害ピークと分離することができた。

4) 本分析法により、河川水等への添加回収試験を行った結果は良好であった。

今後、底質試料等を分析するにあたり、クリーンアップ法等の検討を行っていきたい。

参考文献

- 1) 環境庁水質保全局水質管理課「外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル(水質、底質、水生生物)」平成10年10月
- 2) 昭和58年度 化学物質分析法開発調査報告書(環境庁 環境保健部 保健調査室) p.269-275(門上 希和夫, 北九州市環境衛生研究所)