

## 井戸水中の除草剤ベンタゾンの分析及び土壌中の残留性

五十嵐 剛\*, 鈴木 俊也\*, 矢口 久美子\*,  
宇佐美 美穂子\*, 稲葉 美佐子\*, 安田 和男\*

### Analysis of Herbicides Bentazone in Groundwater by LC/MS and its Persistence in Soil

Tsuyoshi IGARASHI\*, Toshinari SUZUKI\*,  
Kumiko YAGUCHI\*, Mihoko USAMI\*, Misako INABA\*  
and Kazuo YASUDA\*

**Keywords:** ベンタゾン(3-isopropyl-1*H*-2,1,3-benzothiadiazin-4(3*H*)-one-2,2-dioxide), 液体クロマトグラフ LC, ガスクロマトグラフ/質量分析計 GC/MS, 液体クロマトグラフ/質量分析計 LC/MS

#### 緒言

ベンタゾン(3-isopropyl-1*H*-2,1,3-benzothiadiazin-4(3*H*)-one-2,2-dioxide)はベンゾチアゾール系の除草剤であり,平成11年6月に水道法の監視項目に追加され,その指針値は0.2 mg/L以下とされている<sup>1)</sup>.平成11年に厚生労働省(旧厚生省)から出されたベンタゾンの分析では,水試料中から酸性下固相抽出法により抽出し,ジアゾメタンによりメチル化後,GC/MSで測定する方法が公定法として採用されている<sup>5)</sup>.しかし,ベンタゾンの蒸気圧は0.46 mPa(20 )と低く,また弱酸性(Pka 3.3)の化合物であることから,GC/MSを用いて分析する場合にはメチル化等の誘導体化が必要とされる<sup>2-4)</sup>.

一方 LC/MSは近年になり優れたインターフェイスが開発され,環境中の農薬や内分泌かく乱化学物質などの各種化学物質の分析に応用されるようになった<sup>6)</sup>.LC/MSを測定に用いるメリットとして,高極性,不揮発性または熱分解性の化学物質の測定に際して,GC/MS法では必要とされる誘導体化等の前処理が不要であることから,分析法の簡略化が可能になることが挙げられる.

今回,井戸水中のベンタゾンについてLC/MSを用いて分析する際の測定条件や定量法等を検討すると共に,井戸水試料を用いてGC/MS法とLC/MS法との定量結果を比較することにより,LC/MS法の評価を行った.また,土壌中のベンタゾンの分解実験も行いその残留性も調査したので併せて報告する.

#### 実験方法

1. 試料 平成12年6月から7月および平成13年6月から7月に行った東京都多摩地域の飲用井戸水の調査で,GC/MS法によりベンタゾンが検出された井戸水を用いた.
2. 試薬 1)ベンタゾン(3-isopropyl-1*H*-2,1,3-benzothiadiazin-4(3*H*)-one-2,2-dioxide) (和光純薬工業(株)製):アセトンに溶解し1000 mg/Lに調製後,適宜希釈して使用した.

2)フルオランテン-d<sub>10</sub>(C/D/Nアイソトープ社製):内部標準物質として最終濃度10 mg/Lになるようにアセトンで希釈し使用した.

3)ジアゾメタン溶液:試験管に10 %水酸化ナトリウム1 mL,ジエチルエーテル20 mLを積層させて氷水で冷しながら*N*-メチル-*N*'-ニトロ-*N*'-ニトロソグアニジン(MNNG)(シグマ社製)を少量ずつ加え,生成したジアゾメタンをエーテル層に捕集して調製した.

3. 試験溶液の調製 試料からのベンタゾンの抽出は公定法<sup>5)</sup>に準じて行った.すなわち,試料500 mLに35 %塩酸1 mLを加え,これを検水とした.次に,予めジクロロメタン,アセトン,メタノール,精製水(各5 mL)の順でコンディショニングしたPS-2カートリッジ(日本ウォーターズ社製)に検水をセップバックコンセンレーターを用いて,流速15 mL/minで通水した.通水後,カートリッジをバキューマニホールドに取り付け30分間吸引脱水した.次に,ジクロロメタン5 mLでカートリッジからベンタゾンを溶出し,溶出液はさらに無水硫酸ナトリウムを充填したガラスカラムに通して脱水し,これを抽出液とした.

LC/MS用試料の場合には,抽出液を窒素気流下で乾固後,メタノール1 mLに転溶し,これを試験溶液とした.また,GC/MS用試料の場合には,抽出液を窒素気流下1 mLに濃縮し,ジアゾメタン溶液を0.5 mL添加して15分間室温で放置した.その後,抽出液を窒素気流下1 mLに濃縮した後,フルオランテン-d<sub>10</sub>(最終濃度0.1 mg/L)を添加し,これを試験溶液とした.

4. 添加回収試験 ベンタゾンを検出しない芝生地の表層土壌(深さ0-10 cm)及び深層土壌(深さ90-100 cm)をハンドオーガーを用いて採取した.各土壌14 g(乾燥重量10 g)をガ

\* 東京都立衛生研究所多摩支所理化学研究科 190-0023 東京都立川市柴崎町3-16-25

\* Tama Branch Laboratory, The Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health,  
3-16-25, Shibasaki-cho, Tachikawa, Tokyo 190-0023 Japan

ラス製の遠沈管(容量50 mL)に秤量し,ペンタゾンの添加濃度が10 mg/kg(乾土)になるように添加(10 mg/mLメタノールを10  $\mu$ L添加)し,軽く攪拌した土壌を添加回収試験に用いた。

これらの土壌試料にメタノール:0.01 mol/L塩化カルシウム(8:2)を10 mL加え,60分間振とう後,3,500 rpmで10分遠心分離して得られた上清についてペンタゾンの量をLC-UVで測定した。

5.ペンタゾンの分解実験 上記の芝生地の表層土壌及び深層土壌にペンタゾンを10 mg/L(乾土)の濃度で添加した。そして,表層土壌については遠沈管の口をアルミホイルで覆い(n=3,好氣的条件),深層土壌については遠沈管をシリコンゴムで密栓し(n=3,微好氣的条件)遠沈管を20の恒温槽内でインキュベーションし,ペンタゾンの量を経時的に測定した<sup>7)</sup>。

6.測定条件 1)LC/MS: D'Ascenzoらの方法<sup>8)</sup>を参考にし,次のように設定した。LC, Alliance 2690(日本ウォーターズ社製); カラム, CAPCELL PAK C<sub>18</sub> (2 mm I.D. x 150 mm, MG 5  $\mu$ m, (株)資生堂製); カラムオープン温度, 40 ; 移動相, 0.1%酢酸-アセトニトリル(CH<sub>3</sub>CN) (30:70); 流速, 0.2 mL/min; 注入量, 10  $\mu$ L MS, ZMD (日本ウォーターズ社製); モード, negative ESI (SIM, m/z 132.1, 175.2, 197.0, 239.1; SCAN, m/z 120-500); コーン電圧, 50 V; ソースブロック温度, 120 ; 脱溶媒温度, 250

2)GC/MS: GC, HP5890II(ヒューレットパッカード社製); カラム, HP-5MS (0.25 mm I.D. x 30 m, 0.25  $\mu$ m); 注入法, スプリットレス (2  $\mu$ L); 注入口温度, 220 ; カラム温度, 50 (1 min)-10 /min-200 -6 /min-300

MS, Automass II(日本電子(株)製); モード, positive EI (SIM m/z 77, 105, 133, 175, 212, 254), インターフェイス温度, 250 ; イオン化電流, 300  $\mu$ A; イオン化電圧, 70 eV; イオン源温度, 220

3)LC-UV: LC, 880 LC System(日本分光(株)製); TSK-gel ODS-120T (4.6 mm I.D. x 25 cm, 5  $\mu$ m); カラム温度, 40 ; 検出器, UV 240 nm; 溶離液, 0.1%酢酸:CH<sub>3</sub>CN(3:7); 流速, 1.0 mL/min; 注入量, 50  $\mu$ L。

## 結果

### 1.ペンタゾンのLC/MS分析条件

1)LC/MSクロマトグラム 溶離液である0.1%酢酸:CH<sub>3</sub>CN混液の組成割合を変えてペンタゾンの保持時間を調べた。その結果,0.1%酢酸:CH<sub>3</sub>CN(3:7)の時,ペンタゾンの保持時間は10:02分と良好であった。また,SIM法ではいずれのモニターイオンでも0.01 mg/L(試料換算で0.01  $\mu$ g/L)のペンタゾンを十分に精度良く測定できた(図1)。

2)LC/MSスペクトル ペンタゾンのMSスペクトルをMSのコーン電圧を変化させて測定したところ,40 V以下では,プロトン脱離に基づくm/z 239.1のイオンのみであったが,50~60 V高電圧側では,m/z 132.1, 175.2, 197.0のフラグメントイオンが認められた(図2)。そこで,コーン電圧は50 V

~60 Vに,SIMのモニターイオンとして,定量用には239.1を,さらに,確認用には132.1,175.2または197.0を用いることにした。

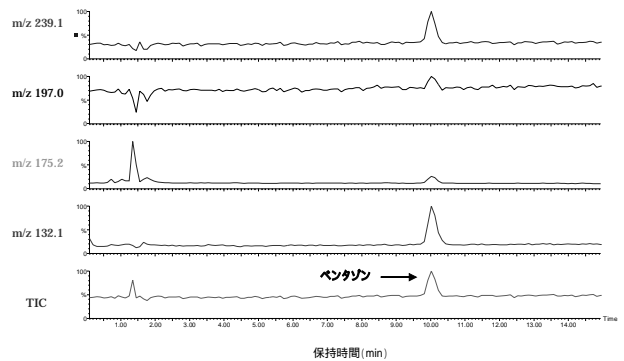


図1. ペンタゾン標準液のLC/MS-SIMクロマトグラム  
濃度 0.01 mg/L, 注入量 10  $\mu$ L, コーン電圧 50 V

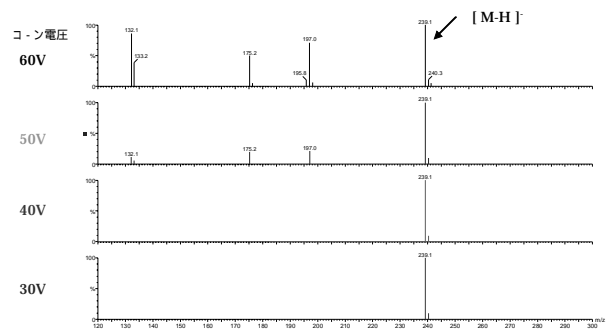


図2. ペンタゾンのLC/MSスペクトル

3)SIMでの検量線の直線性 0.01~0.10 mg/Lのペンタゾン溶液を注入し,m/z 239.1をモニターイオンとして検量線の直線性を調べた結果,コーン電圧50 V~60 Vで良好な直線性( $r^2=0.9982$ )が得られた。この条件下でのペンタゾンの検出限界はS/N=3とした時,0.005 mg/Lであった。

### 2. LC/MS及びGC/MSによる定量値の比較

井戸水試料をLC/MSで分析した時の代表的な3試料のクロマトグラムを図3に示した。井戸水Aでは,0.046  $\mu$ g/Lのペンタゾンが検出された。また,各試料のクロマトグラム

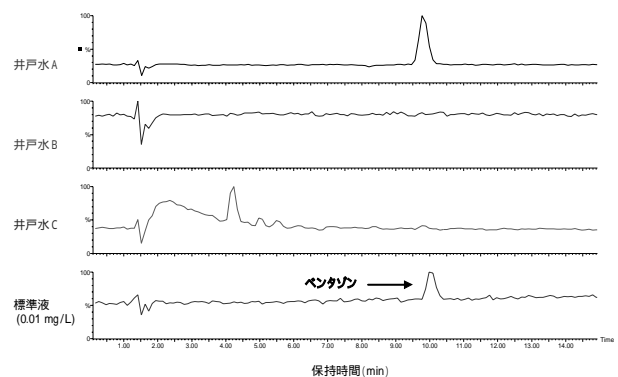


図3. 井戸水試料のLC/MS-SIMクロマトグラム

mz/: 239.1

上には妨害ピークは認められなかった。LC/MS法とGC/MS法との定量値を比較するために井戸水17試料について両法で分析を行った。図4に示したように両法の定量値の間には正の相関が認められた( $r=0.9948$ )。

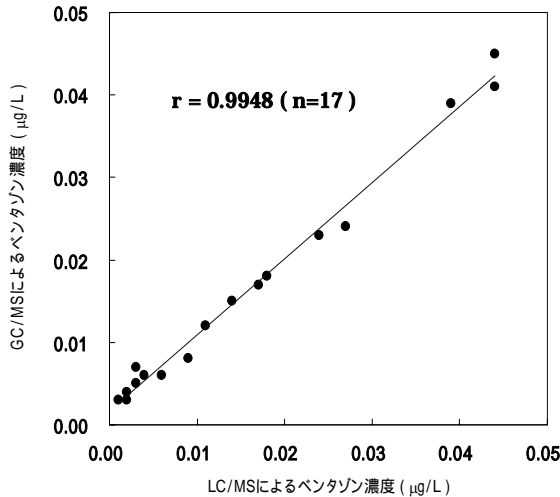


図4. LC/MS法とGC/MS法の定量値の比較

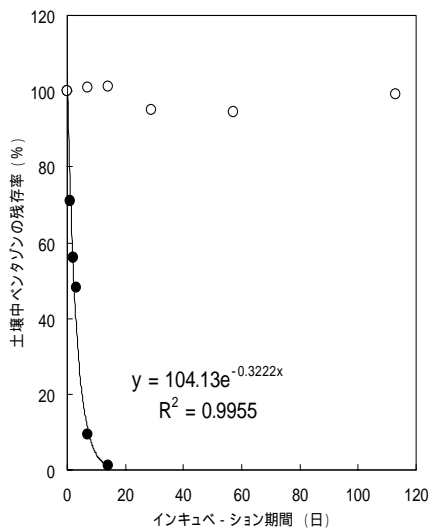


図5. 好氣的及び微好氣的条件下における  
土壤中ベンタゾンの残存率  
：好氣的条件， ○：微好氣的条件

### 3. 土壤中ベンタゾンの添加回収試験

土壤試料にベンタゾンを添加して、回収試験を行った。試料にベンタゾンを10 mg/Lになるように添加し、試料と等量のメタノール:0.01 mol/L塩化カルシウム(8:2)で抽出したところベンタゾンの回収率は $73 \pm 2\%$  ( $n=3$ )であり、ほぼ良好に回収されることがわかった。

### 4. 容器内分解試験

好氣的及び微好氣的条件下での土壤中ベンタゾンの残存率を経時的に調べた結果を図5に示した。好氣的条件下では、ベンタゾンの土壤中残存量はすみやかに減少した。土壤中農薬の減少(分解)は一次式に従うことが知られている<sup>15)</sup>

ことから、図5の式を用いて土壤中半減期を求めたところ、ベンタゾンの半減期は3日であった。一方、微好氣的条件下においては、112日後においてもベンタゾンの残存量はほとんど減少しなかった。

## 考 察

LC/MSはGC/MSに比べてカラムの理論段数は劣っている。そのため、河川水や排水など汚染の程度が高い環境水中の化学物質を低濃度レベルまで分析するには、一般的にLC/MSよりも選択性の高いLC/MS/MSが用いられている<sup>16)</sup>。しかし、今回、井戸水中のベンタゾンについてLC/MSを用いて測定し、GC/MS法の定量値と比較したところ、感度及び定量値は両法共にほとんど同程度であった。このことからLC/MS法は地下水など比較的きれいな水試料中のベンタゾンの分析には適用できるものと考えられる。また、LC/MS法ではGC/MS法が必要とされるMNNGなどの発ガン性物質が不必要であることから労働安全面から見て有用な方法であると考えられる。

ベンタゾンは欧米では、浅層地下水から0.07~13.7 µg/Lのレベルで検出され、地下水を汚染することが既に報告されている<sup>9,10)</sup>。また、多摩地域における飲用井戸水中の農薬の調査においても、ベンタゾンは0.040~0.046 µg/Lのレベルで検出されている。土壤の表層に散布された農薬が地下水を汚染するか否かを推察するためには、土壤中での半減期や移動性を調べる必要がある<sup>11,12,13)</sup>。既に著者らは農薬による地下水汚染を予測する上で、土壤の表層部と共に深層部での農薬の分解性の調査が重要であることを明らかにしている<sup>7)</sup>。今回、ベンタゾンの分解実験を行い、好氣的表層部での半減期は3日であることがわかった。これまでの報告でも、半減期は約14~22日であり<sup>14)</sup>、表層部におけるベンタゾンの残留性は低いことが示唆された。一方、酸素の供給を減らした深層土壤の環境に近い条件下ではベンタゾンはほとんど分解されなかった。今回、ベンタゾン分解菌の存在や化学的な分解速度の検討は行っていないが、いずれにしても深層部でのベンタゾンの残留性は非常に高いことが示唆された。また、ベンタゾンはその土壤吸着平衡定数(Koc)が107と小さいことから<sup>14)</sup>、雨水と共に移動しやすい。したがって、ベンタゾンの地下水汚染のメカニズムとして、土壤の表層部に散布されたベンタゾンは降雨とともに地下(深層部)に浸透し、長期に残留することにより、最終的には地下水を汚染するものと考えられる。

## 文 献

- 1) 「水質基準に関する基準の制定について」の一部改正について、厚生省生活衛生局、(平成11年6月29日、生衛発第959号)
- 2) 後藤真康, 加藤誠哉: 増補・残留農薬分析法, 301-303, 1987, ソフトサイエンス社, 東京.
- 3) Carmen, G., Cristina, S., Francesco, M.: Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent., 61/2b, 641-643, 1996.
- 4) Despina, T., Anastasia, H., Thomas, H., et al.: *Water*,

- Air, and soil pollution*, 104, 259-268, 1998.
- 5) 「水質基準を補完する項目に係る測定方法について」等の一部改正について 厚生省生活衛生局(平成11年6月29日, 衛水第39号)
  - 6) LC/MSを用いた化学物質分析法開発マニュアル 環境庁環境保健部環境安全課, 平成12年4月
  - 7) Suzuki, T., Yaguchi, K., Suzuki, S., *et al.*: *J. Environ. Qual.*, 30, 18-23, 2001.
  - 8) D'Ascenzo. G, Gentili. A, Marchese. S.: *Chromatographia* 48, 7/8, 1998.
  - 9) Sitts, J.A.: EH89-10, California EPA, 1989.
  - 10) John, T., Don, W., Joe, M., *et al.*: *J. Environ. Qual.*, 30, 448-459, 2001.
  - 11) Cohen, S.Z.: *J. Environ. Sci. Health*, B31(3), 345-352, 1996.
  - 12) Tsuzuki, M.: *J. Pest. Sci.*, 26(1), 104-112, 2001.
  - 13) The Center for Exposure Assessment Modeling (CEAM), USEPA.: <http://www.epa.gov/ceampubl/>, 2002.
  - 14) 金澤 純: 農薬の環境特性と毒性データ集, 32, 1996, 合同出版, 東京.
  - 15) 金澤 純: 農薬の環境科学, 93-97, 1992, 合同出版, 東京.
  - 16) 上村 仁, 節田節子: 水道協会雑誌, 69, 30-34, 2000.