

パラコート残留分析法の改良

谷 口 尚 ・ 山 本 公 昭

An Improved Method for the Determination of Paraquat Residue

Hisashi TANIGUCHI and Masaaki YAMAMOTO

パラコート残留分析法の改良

谷 口 尚^{*}・山 本 公 昭^{*}

An Improved Method for the Determination of Paraquat Residue

Hisashi TANIGUCHI and Masaaki YAMAMOTO

はじめに

パラコートは、除草剤グラモキシソン[®]の有効成分で、非選択性の接触型除草剤として、広く使用されている。筆者らは、水稻栽培前にグラモキシソンを散布した場合、収穫した玄米および稲わら中にパラコートがどの程度残留するかを調査する機会があり、既存の残留分析法にもとづいて分析を実施したが、分析法に問題があり、満足な結果を得ることができなかった。

パラコートの残留分析法として、現在、わが国で一般に実施されている方法は、金沢ら（1973）によって示されており、試料から硫酸酸性溶液で浸出したパラコートを、イオン交換樹脂カラムでクリーン・アップしたのち、還元して比色定量するようになっている。この方法は、Calderbank & Yuen（1965）によって提案され、その後、分析操作の一部が改良されて、現在に至っている。

この分析法で筆者らは、カラムクリーン・アップ操作と比色法の2点を問題として、玄米および稲わらを用いて改良法を検討した。その結果、カラムクロマトグラフィーによるクリーン・アップ操作は、Pope & Benner（1974）の方法を参考とすることにより解決し、比色法についても若干の注意事項を明らかにすることができたので、これらの検討結果を報告する。

実験の方法および結果

1. 試薬および装置

1) 試薬

18規定硫酸

0.3規定および10規定水酸化ナトリウム溶液

2規定塩酸

2.5%および飽和塩化アンモニウム溶液

1%ハイドロサルファイト・ナトリウム：1規定水酸化ナトリウム溶液

5%エチレン・ジアミン・四酢酸・ニナトリウム溶液

陽イオン交換樹脂：Bio-Rad 社製，AG50 W-X8・H型・100～200メッシュ

パラコート標準品：和光純薬社製

2) 装置

分解フラスコ：1ℓのガラスすり合せ還流冷却器つきの丸底フラスコ

イオン交換樹脂カラム：内径20mm，長さ300mmの下部にコックのついたガラス・クロマト管

pH計：ベックマン・エクスパンドマチックSS-2

分光光度計：島津製作所製UV-200型，10mm石英セル使用

2. クリーンアップ法の検討

1) イオン交換樹脂カラムの目づまり現象とその対策

金沢ら（1973）が示した抽出法とクリーン・アップ法は、試料中のパラコートを硫酸酸性溶液で浸出し、水酸化ナトリウム溶液で中和し、pH 9に調整した後、その液を陽イオン交換樹脂カラム（Bio-Rad 社，AG 50W-X 8，100～200メッシュ，Na型）に注ぎこみ、樹脂にパラコートを吸着させ、不純物を流出後、飽和塩化アンモニウム溶液でパラコートを溶出するようになっている。

筆者らは、この方法に従って粉碎した玄米を分析したところ、カラムクリーン・アップ操作のところで樹脂層に目づまりが起り、流下速度が徐々に遅くなった。たとえば、浸出液800mlを流すのに1日以上もかかり、その後の水や塩酸などによるカラムの洗浄や塩化アンモニウムによる溶出の時間を合わせると数日を要し、しかも、この方法による回収率は、玄米100gに

*高知県農林技術研究所 農薬残留研究室

高知農林研報 第10号（1978）1～4.

Bull. Kochi Inst. Agr. & Forest Sci. No 10（1978）1～4.

パラコート 50 μg を添加した場合、27%と低かった。カラムからの流下速度を速めようとして吸引してみたが、樹脂層に気泡が発生し、良好なクロマトグラフィーが望めないため、吸引法による検討は中止した。

また粉碎した稲わらからの浸出液の場合は、完全に目づまりを起し途中でカラムから液が流下しなくなった。

このカラムの目づまりの原因は、硫酸浸出液をアルカリ化した場合に生ずる微粒の沈でん物がイオン交換樹脂の間隙をつめるのではないかと考えられた。そこで硫酸浸出液中のパラコートをバッチ法でイオン交換樹脂に吸着し、その樹脂をカラムへつめ、飽和塩化アンモニウムで溶出する Pope & Benner (1974) の方法を適用すれば目づまりは起らないのではないかと考えられた。彼らの方法は土壤中に残留しているパラコートを定量する方法であり、具体的には硫酸浸出液を水でうすめて約 1.8 ℓ とし、この液にイオン交換樹脂 (H 型) 10ml を加え、30分間、マグネチック・スターラで攪拌し、静置後、樹脂と約 50ml の溶液を残して上澄液をサイホンで排出する。更にこの残液を水で希釈し、再びサイホンで水を除き、残った水と樹脂に 0.3 規定水酸化ナトリウムを加え、pH を 9~10 に調整した後、水を用いて樹脂をカラムクロマト管内に移す。25~50 ml の水で樹脂を洗い、つぎに飽和塩化アンモニウム溶液を用いて毎分 1~2 ml の流速で溶出する。

この方法に従って稲わら浸出液のクリーン・アップを行ったところ、カラムの樹脂層の目づまりは全然起らなかった。

2) カラムからの溶出液の着色とその対策

Pope らの方法に従ってクリーン・アップしたところ樹脂の目づまりは起らなかったが、飽和塩化アンモニウムによる溶出液は着色が著しく、発色剤のハイドロサルファイトを加えなくても、396nm での著しい吸収が認められ、比色が困難であった。Pope らはその分析法で、供試土壌量を 10 g 以上に増すと、カラムからの溶出液が着色し、比色定量を困難にするので、供試土壌を 10 g 以上に増やすことができなかったと報じている。

筆者らはこの溶出液の着色を防ぐため、溶出前にカラムをよく洗浄しておけばよいのではないかと考え、水 50ml、2 規定塩酸 50ml、水 50ml、2.5 % 塩化アンモニウム 50ml および水 50ml で順次洗った後に、飽和塩化アンモニウムによる溶出を行った。その結果、溶出液の着色程度は著しく少なくなった。

第 1 表 イオン交換樹脂カラムからの
パラコートの溶出状況

溶出液区分	パラコート量*
0 ~ 10	16.3 μg
10 ~ 20	40.7
20 ~ 30	25.3
30 ~ 40	9.7
40 ~ 50	3.3
50 ~ 60	0
60 ~ 70	0
合 計	95.3 μg

* 添加パラコート量は 100 μg 。

そこで稲わらの硫酸浸出液にパラコート 100 μg を添加し、上記のようなクリーン・アップを行ったところパラコートは第 1 表のように、初めの 50ml でほとんどが溶出され、添加量の 95.3% が回収された。なお、この実験において溶出液の 0~10ml 区分は、比色定量においてハイドロサルファイトを添加すると、白濁して比色できなかった。この白濁は検討の結果、ハイドロサルファイトが酸により分解され、硫黄が遊離したために生じた現象であることが判った。従って比色に当り、予め、溶出液を 10 規定水酸化ナトリウムで中和しておく、比色が可能になった。

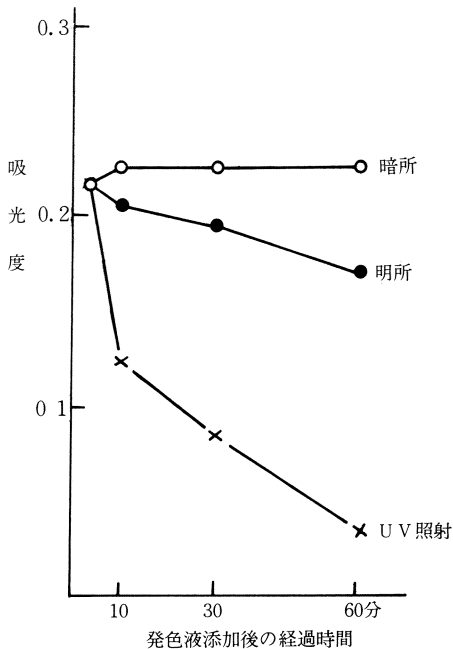
3) 添加回収率

玄米および稲わらの粉末に 2 ppm 相当量のパラコートを添加し、硫酸で浸出後、改良したクリーン・アップ操作を実施し、0~50ml の溶出区分について定量したところ、回収率は玄米で 82.8%、稲わらでは 83.8% であった。回収率は、やや低い、分析に要する時間が短かくて済み、日常分析法としては、一応評価できるものと考えられた。

3. 比色法の検討

1) 発色液の安定性

金沢ら (1973) が示した方法に従って比色したところ、測定値の再現性が悪かった。この比色法はパラコートをハイドロサルファイトで電子還元し、生じたパラコート・フリーラジカルを 396 nm で比色定量することになっているが、このパラコート・フリーラジカルは空気中の酸素によって酸化され、もとのパラコートに戻る可能性もあり、また還元剤として使用されるハイドロサルファイトも不安定な試薬といわれている。従って、比色に当っては、発色後に極力早く測定する



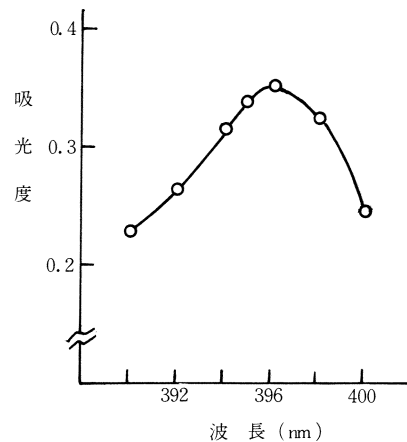
第1図 パラコート・フリーラジカルの安定度におよぼす光の影響

こととし、これに用いられるハイドロサルファイト溶液は使用の直前に調整するようにした。

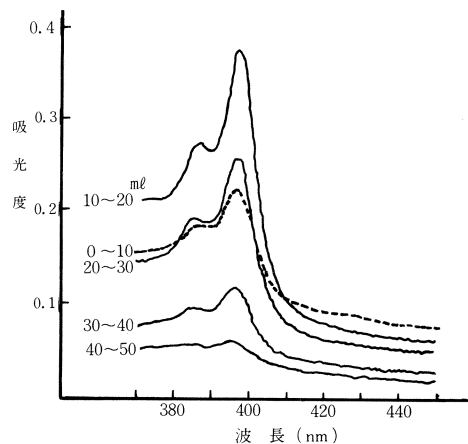
しかし、それでもなお、安定した検量線を得ることができなかったで、その原因について検討した。第1図は、パラコート・フリーラジカル溶液（検量線用の発色液）を吸光度測定用の石英セルに入れ、暗所と窓際の明るい所と紫外線殺菌燈（ナショナル殺菌燈 GL-15, 15ワット, 4本）の下20cmの所に置き、経時的な吸光度の変化をみた図である。暗所では安定であり、窓際の明所ではやや不安定であり、殺菌燈の下では著しく不安定であった。従って比色に当っては発色後できるだけ早く測定する必要がある、さらに窓際などの明るいところでの操作は避けるべきであろう。

2) 吸光度の測定

パラコート・フリーラジカルの吸収スペクトルは第2図に示すように396 nmに吸収極大がある。だからこの396 nmの吸光度を求めて定量すればよいようなものであるが、実際にはクリーン・アップが十分でなく、カラムからの溶出液には、パラコートと同時に、396 nm付近の光を吸収する植物成分も溶出するらしく、単純に396 nmの吸光度のみから定量した場合、大きな誤差を生ずるおそれがある。第3図は先に示した第1表の溶出状況を調べた際の各溶出区分の発色後のスペクトルであるが、早く溶出する液ほど黄色味が強く、パラ



第2図 パラコート・フリーラジカルの吸収スペクトル



第3図 イオン交換樹脂カラムから溶出された各区分の発色液のスペクトル

コート・フリーラジカル・スペクトルのベースラインも高くなっているので、396 nmの吸光度のみ用いて定量すると、誤差は大きく、各溶出区分のパラコートの合計量は、添加量より著しく多くなった。この方法で定量することが適当でない一例である。

Calderbank & Yuen (1965) は、396 nm付近の光吸収のバックグラウンドが植物成分によるものであるとして、このバックグラウンドを取除くために、392, 396および400 nmの吸光度を測定し、この値から396 nmの吸光度を補正することを提案しているが、クリーン・ア

ップが十分行えない分析法では、この補正は止むを得ない措置であろう。その点、環境庁が告示している農薬登録保留基準にかかわるパラコートの残留試験法(1976)では、この補正を省略しているので問題がある。

残 留 分 析 法

以上、検討した結果から、パラコートの残留分析法として、次のような改良法を提案する。

植物の粉碎試料50 g ~ 100 g を 1 ℓ 分解フラスコにとり、水 400 ml, 18 規定硫酸 60 ml を加え、還流冷却管をつけ、5 時間煮沸する。1 夜放置後、セライトを敷いた桐山ロートで吸引ろ過する。残渣を水 100 ml で洗い、ろ液と合わせる。このろ液を 2 ℓ 三角フラスコに移し、水で希釈して約 900 ml とした後、陽イオン交換樹脂 10 ml を加え、マグネチックスターで 30 分間攪拌する。30 分間静置後、約 100 ml を残してサイホンで上澄液を取除く。水を用いて 500 ml ビーカーへ樹脂と溶液を移し、静置後再びサイホンで水を取除き、樹脂と約 50 ml の水を残す。この液を 0.3 規定水酸化ナトリウムで、pH 9 に調整した後、マグネチックスターで 5 分間攪拌する。

溶液と樹脂をクロマト管に水を用いて移し込み、水 50 ml, 2 規定塩酸 50 ml, 水 50 ml, 2.5 % 塩化アンモニウム溶液 50 ml, 水 50 ml で順に洗浄する(流速は 1 分間に 5 ml)。つぎに樹脂層の上に厚さ約 1 cm の塩化アンモニウム粉末をのせた後、飽和塩化アンモニウム溶液を 1 分間 1 ml の速度で流し、パラコートを溶出する。溶出液の最初の 50 ml を採取し、よく混合する。これより 9 ml をとり、1 % ハイドロサルファイト溶液 1 ml を加え、発色させた後、直ちに 392, 396 および 400 nm における吸光度を測定する。これら吸光度を用いて補正し、検量線から残留量を算出する。

$$A(\text{補正值}) = \frac{A_m^P}{2 A_m^P - (A_h^P + A_l^P)} \times [2 A_m - (A_h + A_l)]$$

ここで A_m^P : パラコート標準液の 396 nm での吸光度

A_h^P :	"	400 nm	"
A_l^P :	"	392 nm	"
A_m :	試料の 396 nm での吸光度		
A_h :	"	400 nm	"
A_l :	"	392 nm	"

摘 要

玄米や稲わら中にパラコートが残留するかどうかを調査するに当って、現在、一般に実施されている作物残留分析法(金沢ら 1973)を適用したが、クリーン・アップ操作および比色法に問題があり、満足な分析ができなかった。そこでこの問題解決をはかったところ、次のような結果が得られた。

(1) 改良法ではカラムの目づまりによる流下停止というような操作上の支障はなくなり、分析所要時間は著しく短縮された。玄米や稲わらの粉末に 2 ppm 相当のパラコートを添加した際の回収率は 82 ~ 84 % であった。

(2) 抽出液のクリーン・アップ法のうち、現行法が陽イオン交換樹脂カラムに抽出液を流し、パラコートを樹脂に吸着させる方法を用いているのに対して、改良法では、イオン交換樹脂を抽出液に加え、パッチ法でパラコートを吸着し、その樹脂をカラムへつめ、洗浄、溶出を行った。この洗浄は水のみでは不十分で、2 規定塩酸や 2.5 % 塩化アンモニウムによる洗浄が必要であった。

(3) 飽和塩化アンモニウムによるカラムからのパラコートの溶出は、最初の 50 ml でほぼ完了した。

(4) 比色に当っては、発色したパラコート・フリーラジカルが光の影響を受けることが判ったので、発色後はできるだけ早く測定することと、窓際などの明るいところで操作しないようにすることなどの注意点を示した。

引 用 文 献

- 1) Calderbank, A. and S. H. Yuen (1965). An Ionexchange Method for Determining Paraquat Residues in Food Crops. Analyst 90, 99 ~ 106.
- 2) 金沢純・升田武夫・飯塚宏栄・山田忠男・鈴木隆之(1973). 土壌および作物の残留農薬分析法(5), 日本土壌肥科学雑誌 44, 491 ~ 502.
- 3) 環境庁告示第40号(1976). パラコート試験法
- 4) Pope and Benner (1974). Colorimetric Determination of Paraquat Residues in Soil and Water. J of A. O. A. C 57, 202 ~ 204.