

マスフラグメントグラフィーによるpentachloronitrobenzene (PCNB)および関連化合物の土壌残留分析

誌名	日本農薬学会誌
ISSN	03851559
著者	大沢, 貫寿 宮本, 徹 山本, 出
巻/号	9巻2号
掲載ページ	p. 339-344
発行年月	1984年5月

短 報

マスフラグメントグラフィーによる pentachloronitrobenzene (PCNB) および関連化合物の土壤残留分析

大沢貫寿, 宮本 徹*, 山本 出*

東京農業大学総合研究所
*東京農業大学農芸化学科

(昭和58年9月22日受理)

Residue Analysis of Pentachloronitrobenzene and Its Related Compound in Soils by Mass Fragmentography

Kanju OHSAWA, Toru MIYAMOTO* and Izuru YAMAMOTO*

NODAI Research Institute, Tokyo University of Agriculture,
Setagaya-ku, Tokyo 156, Japan*Department of Agricultural Chemistry, Tokyo University of Agriculture,
Setagaya-ku, Tokyo 156, Japan

PCNB (pentachloronitrobenzene) has been extensively used in Japan as well as world wide. PCNB contains a persistent impurity, HCB (hexachlorobenzene). To analyze PCNB, HCB and their degradation products, an analytical method based on mass fragmentography was developed. From a soil in which PCNB has been extensively used, the followings were found: PCNB (1) (10.1 ppm), pentachloroaniline (2) (8.05 ppm), 2,3,4,5-tetrachloroaniline (3) (0.7 ppm), pentachlorothioanisole (4) (0.52 ppm), methyl pentachlorophenyl sulfoxide (5) (9.35 ppm), methyl pentachlorophenyl sulfone (6) (1.04 ppm), 2,3,5,6-tetrachloronitrobenzene (7) (0.67 ppm), pentachloroanisole (8) (0.009 ppm), hexachlorobenzene (9) (1.55 ppm), pentachlorobenzene (10) (1.22 ppm), 1,2,3,4-tetrachlorobenzene (11) (0.009 ppm), 1,2,3,5-tetrachlorobenzene (12) (0.011 ppm). Compounds 3, 8, 11 and 12 were found from the soil for the first time. In addition, a large quantity of the compounds 5 and 6 were found from the PCNB applied field.

緒 論

Pentachloronitrobenzene (PCNB) は、果樹、野菜、大豆、棉栽培の土壤殺菌剤として、ほかに大麦、トウモロコシ、米、小麦などの種子保護剤としても用いられている。PCNB は有機塩素系農薬であり土壤、作物中への残留に興味をもたれる。また PCNB 原体中の不純物 hexachlorobenzene (HCB) は残留性があり環境汚染が危惧されている。PCNB 関連化合物の土壤残留性については多くの研究がなされており、Murthy and Kaufman¹⁾ は ¹⁴C 標識 PCNB を用いて PCNB のほかに pentachloroaniline (PCA), pentachlorothioanisole (PCTA) を定

性定量し、岡崎²⁾ はガスクロマトグラフィーにより PCNB, PCA, PCTA, methyl pentachlorophenyl sulfoxide (PCTA-SO), methyl pentachlorophenyl sulfone (PCTA-SO₂) を定量した。小木曾と田辺³⁾ は PCNB 施用圃場における PCA, PCTA, HCB の土壤作物残留を調査した。さらに De Vos⁴⁾ はマスフラグメントグラフィー (MF) により PCA, PCTA, tetrachloronitrobenzene (TCNB), pentachlorobenzene (PCB), HCB の定性をしたが定量は行なっていない。本報告は PCNB を多用している群馬県嬬恋村のキャベツ畑圃場土壤中における PCNB および関連化合物を MF によって迅速に定性定量することを試みたものである。

材料および方法

1. 分析法

1.1 試薬および機器

PCNB (mp 142~145°C), PCA (mp 233°C), PCTA (mp 94°C), PCTA-SO (mp 162°C), PCTA-SO₂ (mp 189°C) の各標品は三井東圧化学(株)より提供を受けた。HCB は東京化成社特級品で、その他の pentachloroanisole(PCP-OCH₃), PCB, 2,3,5,6-TCNB, 2,3,4,5-tetrachloroaniline (2,3,4,5-TCA), 2,3,4,6-tetrachloroanisole (2,3,4,6-TCP-OCH₃), 1,2,3,4-tetrachlorobenzene (1,2,3,4-TCB), 1,2,3,5-TCB, ワコーゲル C-100 は和光純薬製特級品を用いた。

1.2 ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC-MS)

GC-MS は島津 AUTO GCMS 6020 ガスクロマトグラフ質量分析計を使用した。PCNB および関連化合物の GC-MS 分析条件は Table 1 に示した。

1.3 同定

PCNB など塩素をもつ化合物のマススペクトルは塩素の同位体の存在のため塩素数の違いによって分子イオン M⁺ に対する (M+2)⁺ の存在百分率に違いを生ずることから、その化合物の塩素の数を判断することができ

る。さらにガスクロマトグラム上の保持時間と MF の保持時間を比較することによって生成物の同定が行なえる。分析にあたって、PCNB ならびに HCB の変化生成物と推定される 12 種類の化合物のマススペクトルを測定した。各化合物の開裂様式は分子イオンの強い比較的単純なものであった。そのうち、PCA, HCB, PCB, TCA, TCB は分子イオンがフラグメント中最大強度であるのに対し、他の化合物では置換基の脱離が速く分子イオンの二次開裂が起こりやすい傾向を示した。これら化合物の開裂様式をもとに MF 分析のモニタリングイオン *m/z* として M⁺ と (M+2)⁺ を選択した。PCNB とその関連化合物のモニタリングイオン *m/z* を Table 1 に示した。PCNB についてみると、Table 1 に示したように固有の *m/z* 293 と 295 でモニタリングし MF 上の保持時間と同位体ピークの相対強度とを合わせて同定を行なった。他の化合物についても同様である。この結果を Fig. 1, 2, 3 に示した。これら各図は横軸に保持時間を縦軸にモニタリングイオンのカウント数を示した。MF の保持時間および同時に記録した全イオン検出器によるガスクロマトグラムの保持時間が標品と一致し、さらに M⁺ に対する (M+2)⁺ の存在百分率が理論値と合致した場合をもって同定した。

Table 1 GC-MS condition, monitoring *m/z* and percentage of (M+2)⁺/M⁺ of PCNB and its related compounds.

GC condition	Compounds	Selected mass <i>m/z</i>		Calculated ratio % of (M+2) ⁺ /M ⁺
		M ⁺	(M+2) ⁺	
A	1,2,3,4-TCB	214	216	131.0
	1,2,3,5-TCB	214	216	131.0
	PCB	248	250	163.0
	2,3,4,6-TCP-OCH ₃	244	246	131.0
	2,3,5,6-TCNB	259	261	131.0
B	PCB	248	250	163.0
	2,3,5,6-TCNB	259	261	131.0
	HCB	282	284	196.0
	PCP-OCH ₃	278	280	163.0
	PCNB	293	295	163.0
	2,3,4,5-TCA	229	231	131.0
	PCA	263	265	163.0
	PCTA	294	296	163.0
C	PCTA-SO	310	312	163.0
	PCTA-SO ₂	326	328	163.0

Apparatus: Shimadzu AUTO GCMS 6020 gas chromatograph-mass spectrometer, electron energy 70 eV, trap current 60 μA.

GC condition: glass column 3 mm (i.d.) × 1.0 m, 2% OV-17 on Chromosorb W (AW-DMCS) 60-80 mesh, column oven temperatures (A) program 130°C $\xrightarrow{4^\circ\text{C}/\text{min}}$ 230°C, (B) program 160°C $\xrightarrow{4^\circ\text{C}/\text{min}}$ 230°C, (C) 230°C, helium 20 ml/min.

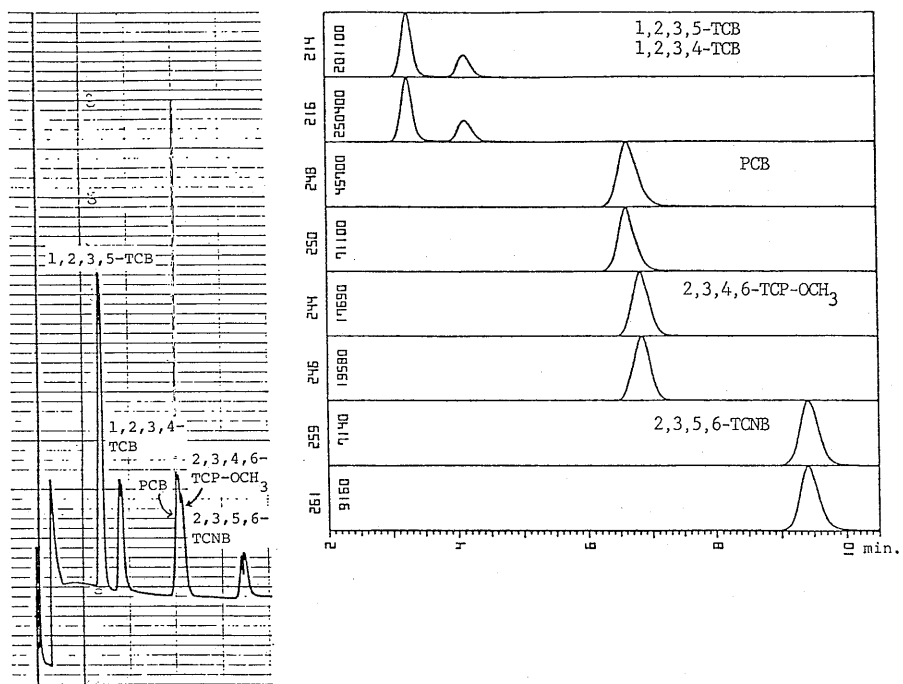


Fig. 1 Gas chromatogram and mass fragmentogram of 1,2,3,5-TCB, 1,2,3,4-TCB, PCB, 2,3,4,6-TCP-OCH₃ and 2,3,5,6-TCNB.

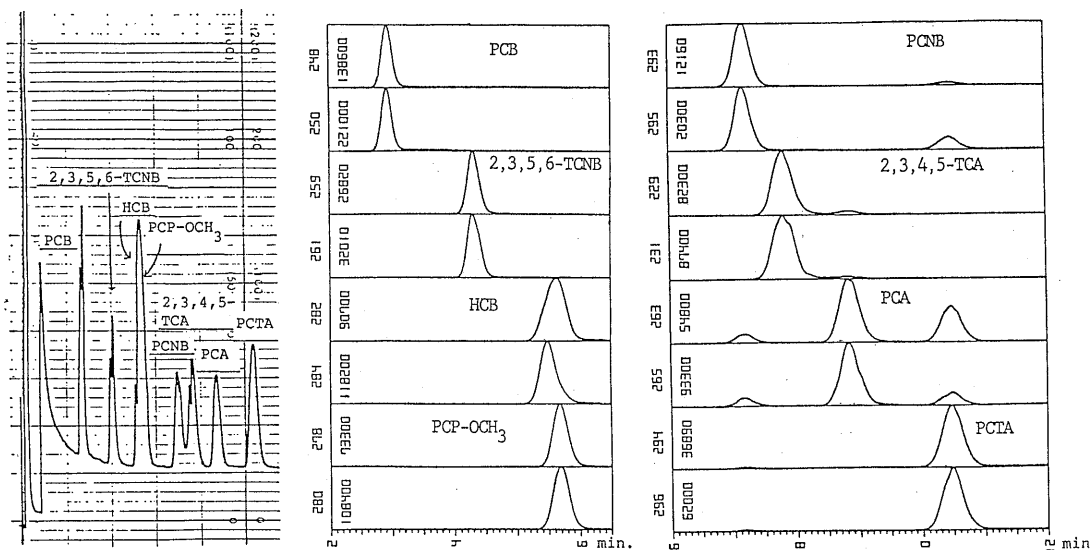


Fig. 2 Gas chromatogram and mass fragmentogram of PCB, 2,3,5,6-TCNB, HCB, PCP-OCH₃, PCNB, 2,3,4,5-TCA, PCA and PCTA.

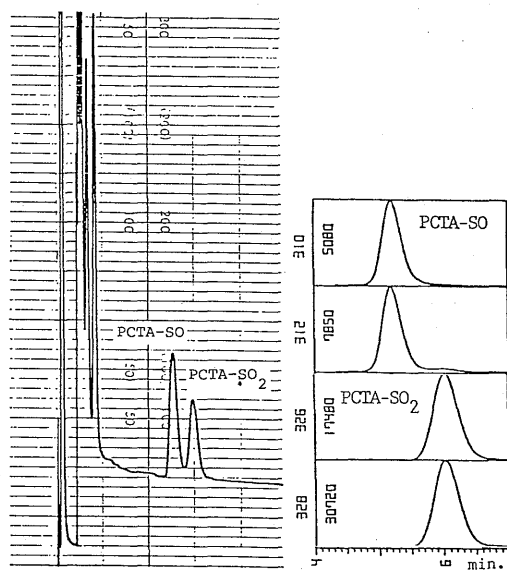


Fig. 3 Gas chromatogram and mass fragmentogram of PCTA-SO and PCTA-SO₂.

2. 実験

2.1 供試土壌

群馬県嬬恋村キャベツ畑の PCNB 剤施用3ヵ月後の腐植質火山灰土壌 (I) を試料とした。同地は野菜栽培地帯で PCNB 剤の多量施用地で、20% 粉剤約 30 kg/10 a を数年間施用しており土壌での残留が危惧される。対照土壌としては同地の林野の腐植質火山灰土壌 (II) を用いた。さらに一般対照土壌として、茨城県五霞村の沖積水田土壌 (III) と神奈川県原町田の腐植質火山灰土壌 (IV) を供試した。

2.2 抽出法の検討

採取3日後の供試土壌 50 g に含水量 50% になるように水を添加し、アセトン 150 ml を加え密栓し5時間振とうした後濾過し、さら残渣は 80 ml のアセトンで洗浄した。これら両濾液を合し 60 ml まで減圧で濃縮後 *n*-ヘキサン 30 ml で3回振とう抽出した。*n*-ヘキサン層を無水硫酸ナトリウムで脱水後 Kuderna-Danish 濃縮器で約 1 ml まで濃縮した (区分 A)。水層を 3N 塩酸で pH 1 とし *n*-ヘキサン-エチルエーテル (3:1) 30 ml で3回抽出、脱水、濃縮した (区分 B)。さらに水層は 4N 水酸化ナトリウムでアルカリ性とした後 *n*-ヘキサン-エチルエーテル (1:3) 30 ml で3回振とう抽出、脱水、濃縮した (区分 C)。一方アセトン抽出後の残渣土壌に水 30 ml を加え、メタノール 80 ml で抽出し、この液を 40 ml まで濃縮した。これを上記と同様の方

法で分離、精製を行なった。*n*-ヘキサン抽出 (区分 A'), 酸性下 *n*-ヘキサン-エチルエーテル (1:3) 抽出 (区分 B'), アルカリ性下 *n*-ヘキサン-エチルエーテル (1:3) 抽出 (区分 C') の各抽出液を脱水、濃縮した。各濃縮液は合しあるいは独立にカラムクロマトグラフィーで精製する試料とした。すなわち各濃縮液をシリカゲルカラム (ワコーゲル C-100, 内径 15 mm×30 cm) を用いて、はじめに *n*-ヘキサン-エチルエーテル (9:1) 200 ml, 次いでエチルエーテル-アセトン (1:1) 150 ml で溶出した。各溶出液は Kuderna-Danish 型濃縮器で 2 ml まで濃縮した後 5 ml のメスフラスコに移し定容とした。また定容後の試料の一部はメタノール中でジアゾメタン処理をした。これら各試料を MF 分析に供し PCNB とその関連化合物の定性定量を行なった。

2.3 検量線

PCNB とその関連化合物の標品を用い、それぞれの土壌中の残留量にしたがってアセトン標準液を調製して、その適当量を GC-MS に注入し *m/z* のピーク高を測定して絶対検量線を作成した。Fig. 4 に PCNB および PCTA-SO の検量線を示した。両化合物とも直線性を示し再現性も良好であった。他の化合物も同様の直線性を示した。

結果と考察

1. 分析法

抽出法を検討した結果 PCNB 関連化合物の 98.6% 以上は区分 A のカラムクロマトグラフィーによる精製の *n*-ヘキサン-エチルエーテル画分に溶出した。このカラムをさらに極性溶媒で溶出しても PCNB およびその他の変化生成物は見いだされなかった。また区分 A', B', C' にも見いだされなかった。酸性下およびアルカリ性下抽出の区分 B, C に若干変化生成物が検出されたが無視する量であった。またメチル化を行なわない場合は PCP-OCH₃ を見いだせなかった。以上より PCNB とその関連化合物の分析にあたっては供試土壌を水-アセトンで振とう抽出し、濾液を濃縮して *n*-ヘキサンで抽出、これを濃縮後シリカゲルカラムに供し、*n*-ヘキサン-エチルエーテルで溶出し濃縮定容後 MF に供すればよいことが明らかとなった。この方法において、MS の全イオンコレクターは天然物の妨害ピークによって変化生成物かどうかの判断ができない状態を示すので保持時間と *m/z*, M⁺ (M+2)⁺ の存在比によって同定した。各化合物の検出限界は土壌 50 g を用い前記の方法で精製し 5 ml に定容後その 1 μl を GC-MS に注入した場合 PCNB, 2,3,5,6-TCNB は 0.004 ppm, PCTA, PCA, HCB は

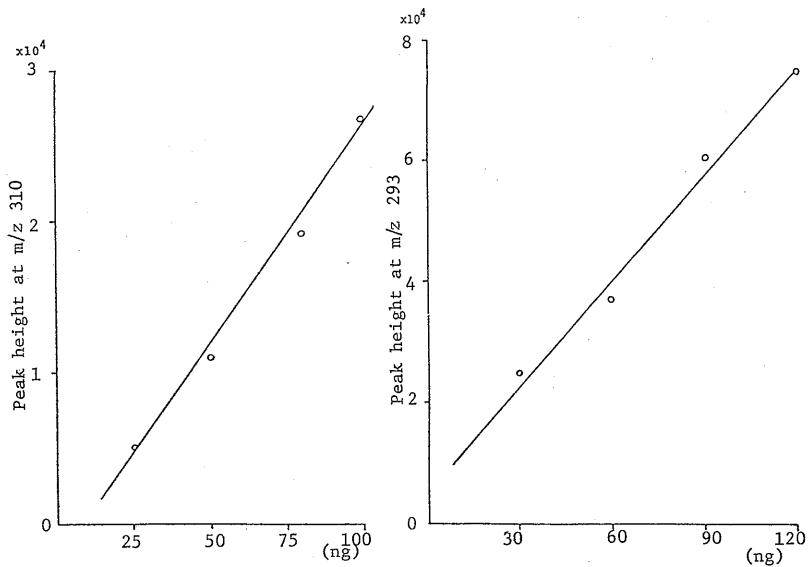


Fig. 4 Standard curve of PCNB and PCTA-SO.

0.001 ppm, PCTA-SO, PCTA-SO₂ は 0.005 ppm, また TCB, PCB は 0.1 ppb まで検出可能である。

2. 土壌中の残留量

供試土壌における PCNB の残留量は 10.1 ppm であった。ほかのおもな変化生成物は PCA 8.05 ppm, PCTA-SO 9.35 ppm ときわめて高かった。しかし PCTA-SO の前駆体 PCTA と PCTA-SO の酸化体 PCTA-SO₂ の残留量はそれぞれ 0.52, 1.04 ppm と低かった。脱塩素と脱ニトロ反応を伴う 1,2,3,4-TCB と 1,2,3,5-TCB の残留量はともに 0.01 ppm 程度であった。2,3,4,5-TCA は 0.7 ppm 残留していた。PCNB 原体中に含まれている 2,3,5,6-TCNB と HCB はそれぞれ 0.67, 1.22 ppm であった。一方、各画分をジアゾメタン処理後分析したが 2,3,4,6-tetrachlorophenol (2,3,4,6-TCP) と pentachlorothiophenol (PCTP) に対応するメチル体の存在は認められなかったが PCP-OCH₃ は微量見いだされた。一方、対照土壌の神奈川県火山灰土壌と茨城県沖積土壌からは PCNB に由来する変化生成物は検出されなかった。しかし嬬恋村林野土壌からは微量の PCB が検出されたが、これはこの地区における PCNB の多量施用による影響と考えられる。これまで PCNB 施用区の土壌からの PCNB 関連化合物は PCA, PCTA, 2,3,5,6-TCNB, HCB, PCB, PCTA-SO, PCTA-SO₂ であった。本研究で新たに 1,2,3,4-TCB, 1,2,3,5-TCB, PCP-OCH₃, 2,3,4,5-TCA を見いだした。また PCTA-SO が圃場で多く見いだされたのもこれが初めてである。

Table 2 Residues of PCNB and its degradation products in soils.

Compound	Residue in soil (ppm)				
	Soil number	I	II	III	IV
1,2,3,5-TCB		0.009	ND ^{a)}	ND	ND
1,2,3,4-TCB		0.011	ND	ND	ND
PCB		1.22	0.009	ND	ND
2,3,5,6-TCNB		0.67	ND	ND	ND
HCB		1.55	ND	ND	ND
PCP-OCH ₃		0.009	ND	ND	ND
PCNB		10.10	ND	ND	ND
2,3,4,5-TCA		0.70	ND	ND	ND
PCA		8.05	ND	ND	ND
PCTA		0.52	ND	ND	ND
PCTA-SO		9.35	ND	ND	ND
PCTA-SO ₂		1.04	ND	ND	ND
PCP		ND	ND	ND	ND
2,3,4,6-TCP		ND	ND	ND	ND
PCTP		ND	ND	ND	ND

I: volcanic ash soil, continuous PCNB application (Nagano Pref.), II: volcanic ash soil (Nagano Pref.), III: alluvial soil (Ibaraki Pref.), IV: volcanic ash soil (Kanagawa Pref.).

^{a)} Not detectable.

要 約

土壌殺菌剤 PCNB は日本をはじめ世界中で広く土壌殺菌剤として使用されている。多用散布圃場の土壌中に

おける PCNB およびその関連化合物をマスフラグメントグラフィーによって追跡した。おもな分解生成物として pentachloroaniline, methyl pentachlorophenyl sulfide (PCTA-SO), pentachlorobenzene および methyl pentachlorophenyl sulfone (PCTA-SO₂) を見いだした。PCNB 施用圃場土壌中から 2,3,4,5-tetrachloroaniline, pentachloroanisole, 1,2,3,4-tetrachlorobenzene, 1,2,3,5-tetrachlorobenzene を最初に少量ではあるが見いだすとともに, PCTA-SO が圃場中に多く残留することおよびその酸化体 PCTA-SO₂ も少量だが残留すること

を明らかにした。

引用文献

- 1) N. B. K. Murthy & D. D. Kaufman: *J. Agric. Food Chem.* **26**, 1151 (1978)
- 2) 岡崎 博: 農薬誌 **4**, 355 (1979)
- 3) 小木曾正敏・田辺仁志: 農薬誌 **7**, 391 (1982)
- 4) R. H. De Vos, M. C. Ten, Noever de Brauw & P.D.A. Oithob: *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **11**, 567 (1974)