



TOSOH

# SEPARATION REPORT

## フォトダイオードアレイ検出器によるゴルフ場農薬の分析 — TSKgel Enviropak を用いた一斉分析 —

### — 目 次 —

	ページ
1. はじめに	1
2. 分析条件	2
3. 測定結果	3
4. フォトダイオードアレイ検出器を 用いた場合の有用性	4

## 1. はじめに

平成2年に厚生省および環境庁からゴルフ場で使用される農薬に対する水道水の暫定水質目標値およびゴルフ場排水の暫定指導指針値と標準測定法が示されました。<sup>1) 2)</sup>

これによると、殺虫剤7種・殺菌剤12種・除草剤11種の合計21成分が対象で、このうちアシュラム・チュウラム・オキシ銅・ベンスリド・イプロジオンが、熱分解しやすい／揮発しにくい／イオン性物質であることで、GC／MSで分析するのではなく、HPLCにより測定することとされています。さらに平成3年に9成分が追加され、このうちペンシクロン・メコプロップがHPLCにより分析することとされています。これら合計30成分のうち7成分がHPLCを標準測定法として示されていますが、表1に示しているように、トリクロルホン (DEP) だけがUV吸収がないためHPLCでは検出不可能で、それを除いた29成分がHPLCにより分析可能となっています。

平成4年12月に水道法の水質基準に関する厚生省令<sup>3)</sup>、そして平成5年3月に水質汚濁に係る環境基準の一部改正の環境庁告示<sup>4)</sup>がなされ、従来からのシアン・クロム・カドミウムなどの人の健康の保護に関する環境基準(9項目)に加えて、新規項目で15項目(有機塩素系化合物9種、農薬4種など)が環境基準として設定され、要監視項目として7種類の農薬が指針値として定められるようになり、農薬の分析はますます重要なものとなってきています。

平成5年秋頃には、上水水質基準／上水試験方法の改訂が検討されており、30成分のほかに、殺虫剤でアセフェート・モノクロトホス、殺菌剤でチオファネートメチル・ベノミル、除草剤でシデュロン・トリクロビル・MCPA (MCP) などが追加されることが検討され、合計約40種類の基準値が設定されることにより、この試験方法として迅速・簡便で、多成分の農薬をなるべく同時分析できる方法が必要とされています。

このような背景をもとにゴルフ場農薬分析用カラム TSKgel Enviropak G1 が開発されました。この専用カラムではHPLCの測定対象とされているゴルフ場使用農薬6種を含む合計8種類の農薬の一斉分析が20分以内で行えます。

また、農薬の場合は、その分子構造により特有のUV吸収プロフィールをもっています。従ってHPLCによる多成分同時分析の検出器には、フォトダイオードアレイ検出器の機能が最大限に活用されることになります。

ここでは農薬8成分の同時分析例とフォトダイオードアレイ検出器(MCPD-3600)の有用性を紹介します。

表-1 農薬30成分一覧表

農薬名	基準mg/l	1990 21成分	1991 追加9成分	HPLC分析			平成5年3月 環境庁告示	
				LCが標準法	UV吸収	GC/MSが標準法		
<b>殺虫剤</b>								
7種	イソキサチオン	0.008	*		○	○	要監視項目	
	イソフェンホス	0.001	*		○	○		
	クロルピリホス	0.004	*		○	○		
	ダイアジノン	0.005	*		○	○	要監視項目	
	トリクロルホン (DEP)	0.030	*		無	○		
	ピリダフェンチオン	0.002		*	○	○		
	フェニトロチオン (MEP)	0.003	*		○	○	要監視項目	
<b>殺菌剤</b>								
12種	イソプロチオラン	0.040	*		○	○	要監視項目	
	イプロジオン	0.300	*		◎	×	(熱分解しやすい)	
	エトリジアゾール	0.004		*		○	○	
	オキシ銅	0.040	*		◎	○	×	(揮発しにくい)
	キャプタン	0.300	*			○	○	
	クロロタニル (TPN)	0.040	*			○	○	
	クロロネブ	0.050		*		○	○	
	チュウラム	0.006	*		◎	○	×	(揮発しにくい)
	トルクロホスメチル	0.080	*			○	○	
	フルトラニル	0.200	*			○	○	
	ペンシクロン	0.040		*	◎	○	×	
	メブロニル	0.100		*		○	○	
<b>除草剤</b>								
11種	アシュラム	0.200	*		◎	×	(揮発しにくい)	
	シマジン (CAT)	0.003	*			○	○	
	テルビカルブ	0.020		*		○	○	
	ナプロパミド	0.030	*			○	○	
	ブタミホス	0.004	*			○	○	
	プロピザミド	0.040	*			○	○	
	ベンスリド (SAP)	0.100	*		◎	○	×	(保持時間が大)
	ペンフルラリン	0.080		*		○	○	
	ペンディメタリン	0.050	*			○	○	
	メコプロップ	0.005		*	◎	○	×	
	メチルダイムロン	0.030		*		○	○	

## 2. 分析条件

### 農薬8成分標準試料の分析

カラム ; TSKgel Enviropak G1 6.0mm I.D.×15cm

溶離液 ; 50mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>/CH<sub>3</sub>CN=50/50

調整法 ; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>(無水塩、試薬特級)3.40gを、脱イオン水500mlに溶解させた後、アセトニトリル(高速液体クロマトグラフ用)500mlを加え、攪拌しながら1Mリン酸(試薬特級)4.0mlを混和させます(約pH3.7、pH調整は不用です)

流速 ; 1.0ml/min

温度 ; 40°C

検出 ; フォトダイオードアレイ検出器(MCPD-3600)

試料 ; 20μl

- |                  |                   |
|------------------|-------------------|
| 1. アシュラム (5ppm)  | 2. オキシ銅 (5ppm)    |
| 3. チュウラム (5ppm)  | 4. メコプロップ (10ppm) |
| 5. シデュロン (5ppm)  | 6. イプロジオン (5ppm)  |
| 7. ベンスリド (10ppm) | 8. ペンシクロン (10ppm) |

### 3. 測定結果

図-1 三次元クロマトグラム

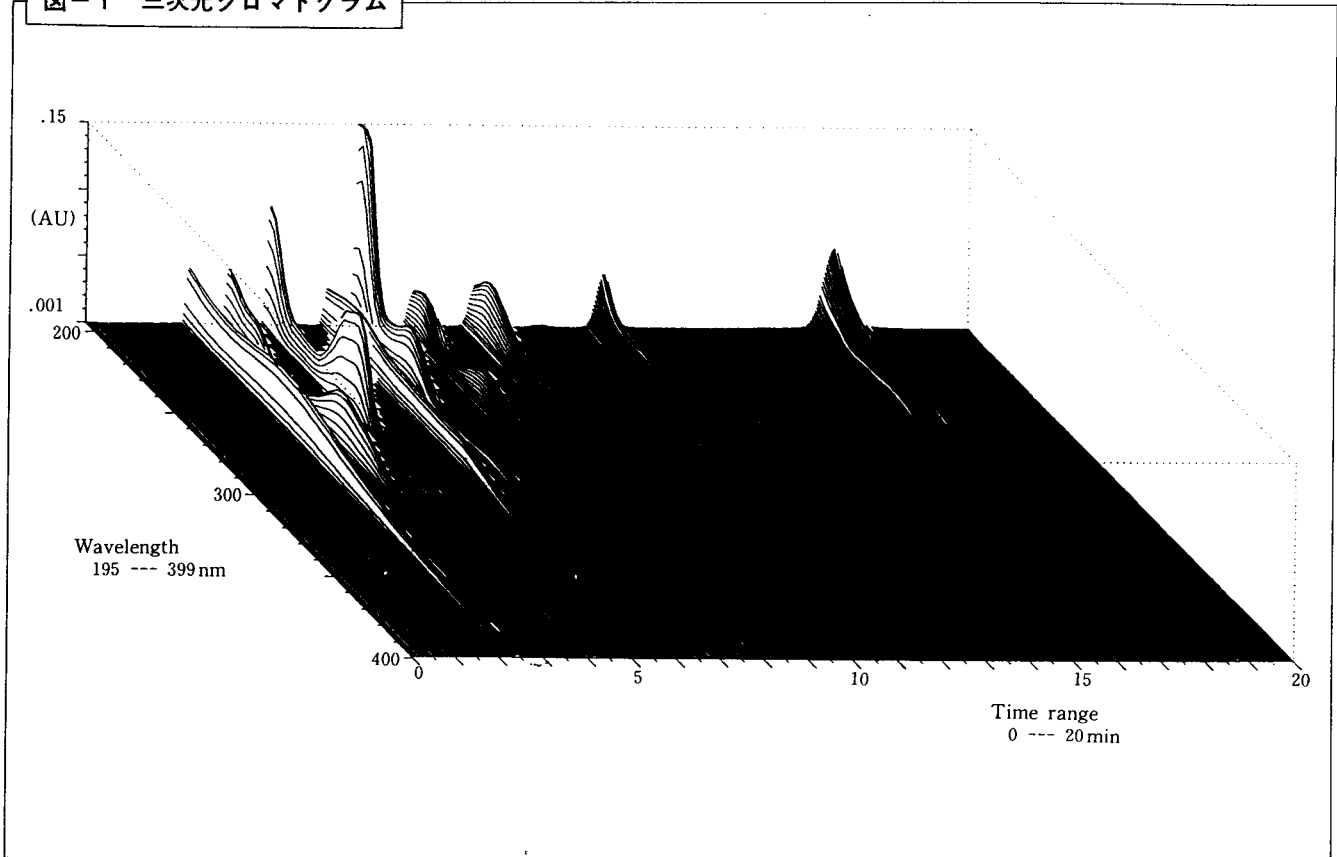
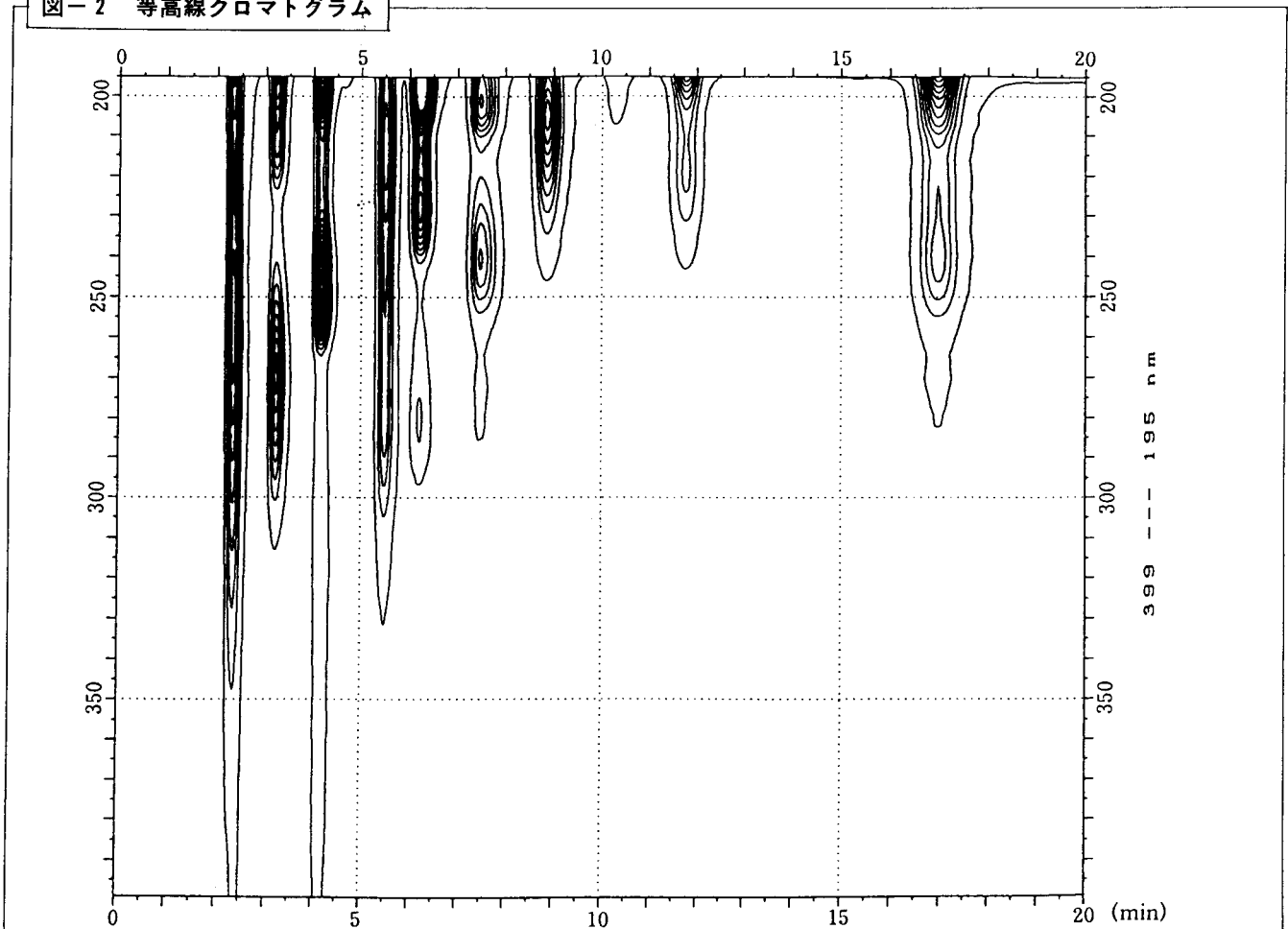


図-2 等高線クロマトグラム



#### 4. フォトダイオードアレイ検出器を用いた場合の有用性

農薬は、その分子構造により特有のUV吸収を持っています。(図-3～図-4参照)

従って、多成分同時分析を行った場合には、各ピークのスペクトルより容易に成分の定性分析が行えます。

##### ① 各成分毎に最適波長で定量

水道水の分析法・ゴルフ排水の分析法などで、成分によって検出波長が定められています。これは各農薬成分が特異的なUV吸収を持つ事と、環境試料で微量にしか存在しない成分をより高感度に測定するためです。

図-6には、定められている検出波長付近の230nmと270nmのクロマトグラムを示しています。これで示されているように、例えば2番目のピークはアシュラムで、270nmのピーク高さは230nmに比べ約18倍の高さ比になっており(これはアシュラムのスペクトルをみれば明らか)270nmで定量すれば高感度に定量できます。他は230nmのクロマトで良いとも思われますが、例えば230nmのクロマト中で最も高いピークの5番目のピーク(Rt=6.23min)は、0.037AUですが、図-3の「Max.クロマトグラム」では0.17AUになっており、4.6倍の吸光度になります。

このように多成分になればなる程、各農薬成分で特有のスペクトルを持つため、各ピーク毎に検出波長を変えることが、試料中に微量にしか存在しない成分(前処理で濃縮はするものの)を高感度定量するのに必要となります。

MCPD-3600では、「Max.クロマトグラム」が、各成分ピーク毎に最適波長でプロットしたものであり、各保持時間(Rt)における最大吸光度を検出して定量計算が行えます。(図-7参照)

##### ② スペクトルにより、着目ピークの同定

環境試料を測定してピークが検出され、それが規制対象の農薬であるかどうかを判定することは、非常に重大な意味をもちます。この判定に対して与えられるHPLCの情報として、従来からの固定単波長のUV検出器の場合は、Rtに限られてしまい、一定の変動係数をもつRtだけでは非常に不安が伴い情報不足です。フォトダイオードアレイ検出器を用いた場合は、スペクトル情報が得られ図-3、図-4に示されているように、特有のスペクトル波形が得られるために、STD(標品)であらかじめライブラリー登録された中から検索して、判定(同定)に確かな情報を与えてくれます。

これらの判定には、通常高感度レンジで解析することになり、マルチ検出器の中でもノイズレベルの小さいMCPD-3600は最適の検出器といえます。

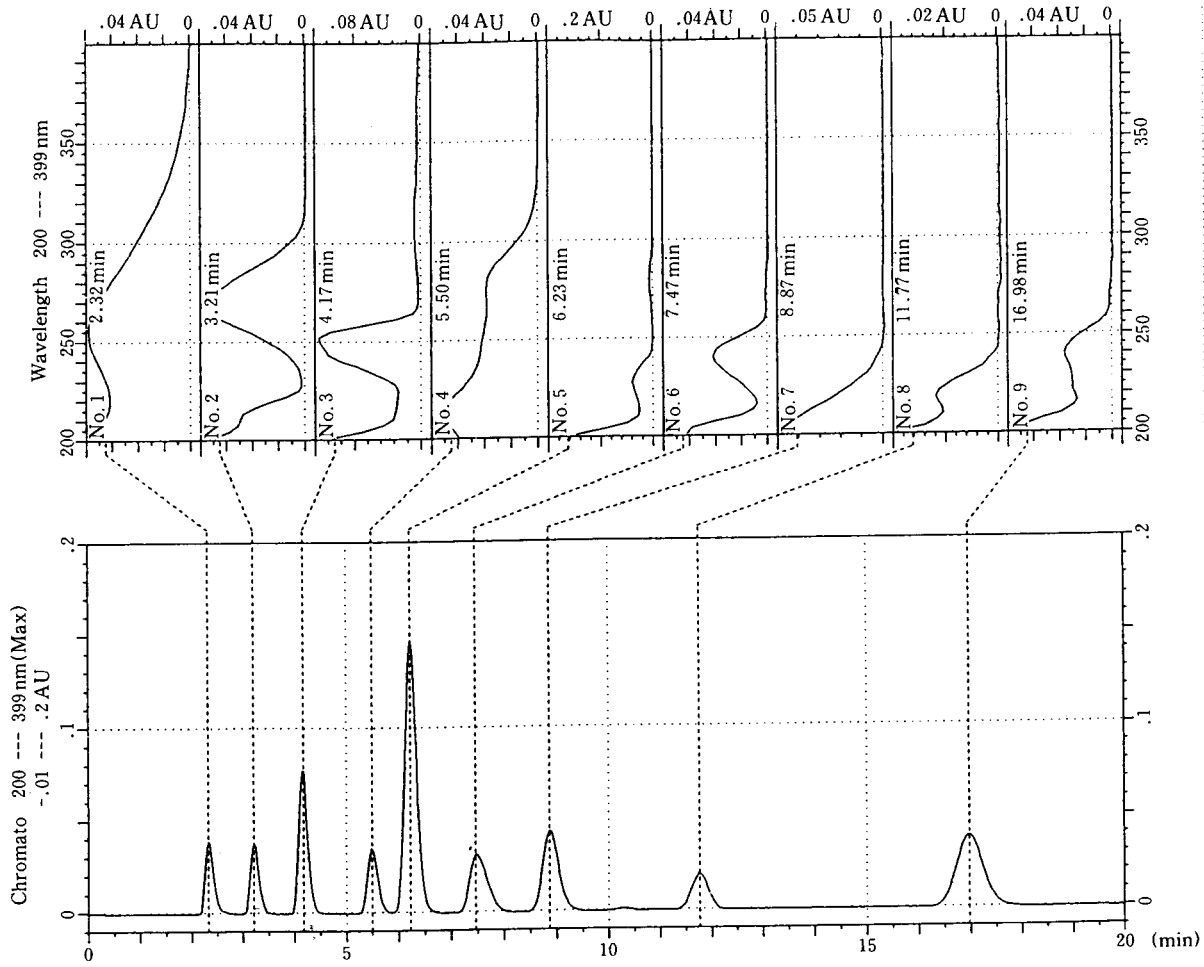
##### ③ 未知ピークの発見、定性

「Max.クロマトグラム」や「等高線クロマトグラム」などにより、クロマトの全体像を把握し、ピークを見逃す事なく検出でき、予想もされないような成分も発見できます。

また、検出された未知ピークをスペクトルにより定性することができます。

例えばイプロジオンの分析などで、ゴーストピークがみられ、目的成分のイプロジオンなのかゴーストかの判定を行うには、フォトダイオードアレイ検出器が有効であるとの報告がされています。<sup>5)</sup>

図-3 Max. クロマトグラムによるスペクトラムインデックスシート



- ピークNo. 1 unknown
- ピークNo. 2 アシュラム
- ピークNo. 3 オキシシン銅
- ピークNo. 4 チュウラム
- ピークNo. 5 メコプロップ
- ピークNo. 6 シデュロン
- ピークNo. 7 イプロジオン
- ピークNo. 8 ベンスリド
- ピークNo. 9 ペンシクロン

図-4 各成分のUVスペクトル

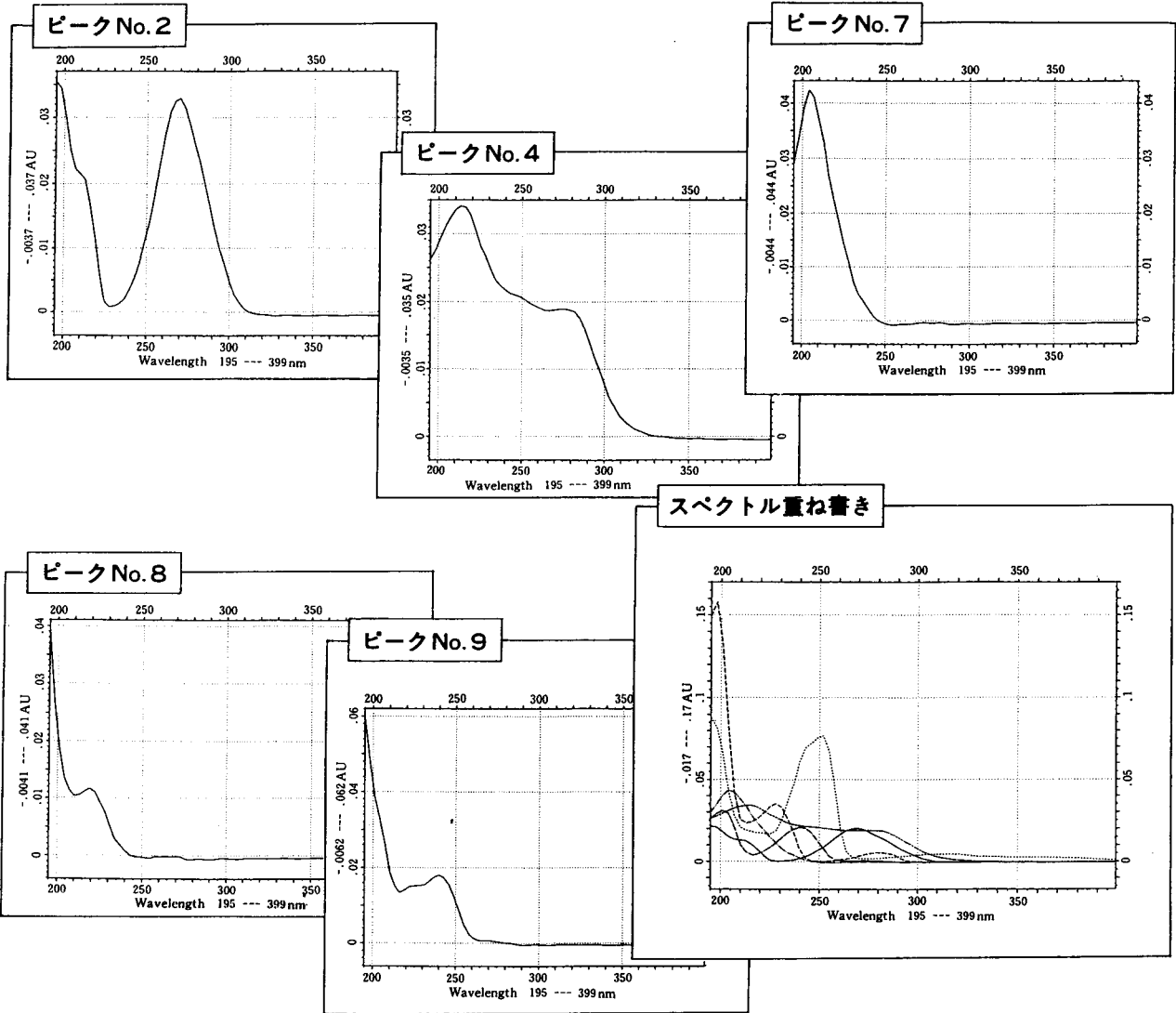


図-5 ピーク純度チェック

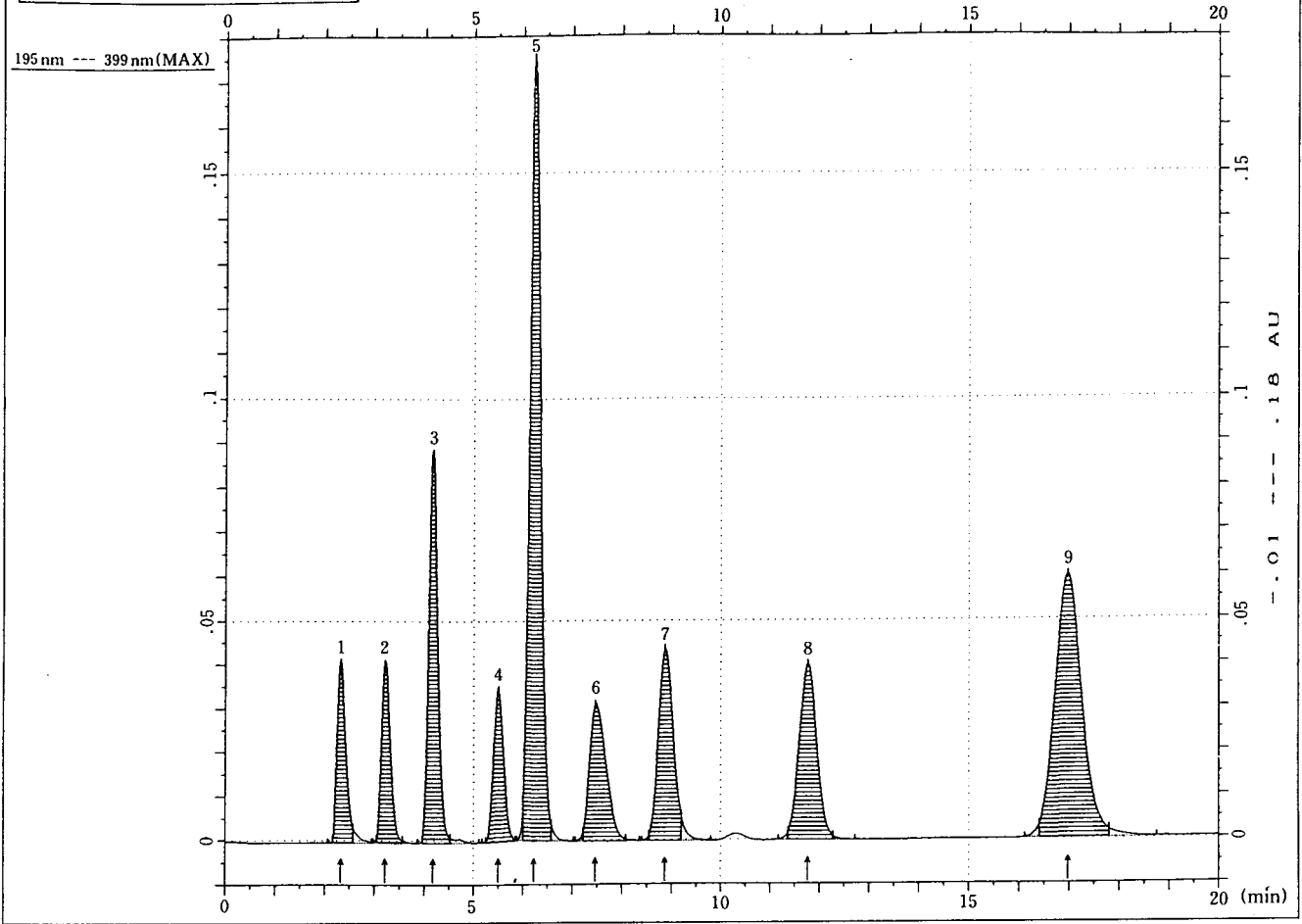


図-6 230 nmと270 nmにおけるクロマトグラム

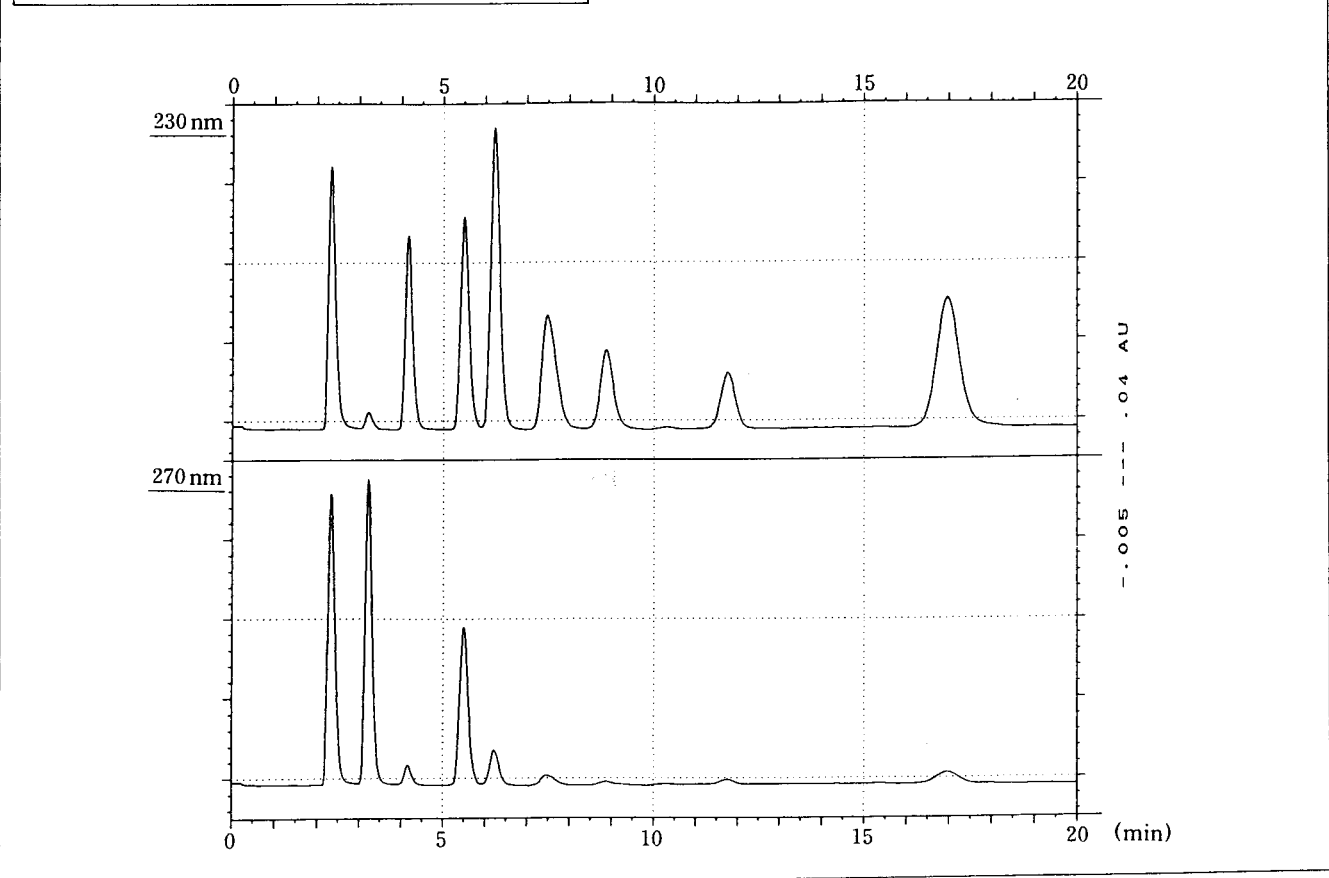




図-7 Max.クロマトグラムによる面積計算

MCPD-3600	Purity check	ENVIRO1.DT3	Otsuka
1993/02/11	14:14:54	Sample name	NOUYAKU-STD
Sampling time	34 msec *40	Baseline	OFF
Sense	high 4	Threshold	900
Wavelength	195 --- 399 nm	Resolution	3 nm
Time range	0 --- 20 min	Interval	1.4 sec
Smoothing	7 points	Slope	.005 AU/min
Drift	.002 AU/min	Height	.0001 AU
Width	.02 min	Min. area	.001 AU*min
Time double	30 min	Minus peak	OFF
Column	mm ID * mm	Packing material	
Mobile phase		Flow rate	ml/min
Pressure			

Report File ENVIRO1.DT3	
195 nm --- 399 nm (MAX)	

No.	RT time	Match [%]	Area [AU*min]		Left time		Right time	
			Peak	Pure	Peak	Pure	Peak	Pure
1	2.32	95.51	0.008583	0.008198	2.07	2.16	2.98	2.58
2	3.21	99.44	0.008223	0.008177	2.95	3.05	3.86	3.56
3	4.17	98.50	0.018587	0.018307	3.86	3.96	5.11	4.52
4	5.50	99.93	0.008083	0.008077	5.18	5.25	5.88	5.85
5	6.23	98.83	0.045668	0.045134	5.85	5.99	7.02	6.58
6	7.47	98.98	0.012274	0.012150	7.07	7.21	8.35	8.07
7	8.87	95.82	0.015692	0.015036	8.40	8.54	9.80	9.19
8	11.77	98.89	0.016507	0.016323	11.18	11.37	12.73	12.28
9	16.98	98.10	0.037748	0.037031	16.12	16.40	18.76	17.80

④ ピーク純度チェック

測定されたピークが、すべて単一成分に分離されているかどうかの判定が可能となります。(図-5参照)

多成分同時分析の場合、Rtが重なる成分が生じる場合があります。カラムの種類や溶媒の組成を変えた場合などでも、成分によって重なったりします。例えばチュウラムとメコプロップとか、TPNとイソプロチオン、MEPとイプロジオンなどが重なる場合があります。他の未知の成分が重なることもあります。

着目ピークについて、単一成分ピークかどうかのピーク純度チェックは、自動で行い(図-5)、他に上昇/下降/ピーク時の各スペクトル比較なども自動/手動で行うことができます。

文 献

- 1) 環境庁水質保全局、環水土第77号：ゴルフ場で使用される農薬による水質汚濁の防止に係る暫定指導方針(1990) (1991—一部改正)
- 2) 厚生省生活衛生局、衛水第153号：ゴルフ場農薬に係る検査方法について (1990) (1991—一部改正)
- 3) 厚生省令第69号、水道法第4条第2項に基く水質基準に関する省令 (平成4年12月)
- 4) 環境庁告示第16号、昭和46年12月環境庁告示第59号 (水質汚濁に係る環境基準について)の一部改正 (平成5年3月8日)
- 5) “飲料水中の化学物質の検査方法について”、安藤正典他、環境技術No.11, Vol.19 (1992)