

液体クロマトグラフおよび液体クロマトグラフ/ 質量分析計による水質中の農薬分析

Analysis of Contaminated Level of Pesticides in Water
by LC and LC/MS (Liquid Chromatography/Mass Spectrometry)

今井一成* Kazumichi Imai
栗石賢一** Ken'ichi Shizukuishi
松村和美* Kazumi Matsumura
石川昌子** Masako Ishikawa



多波長同時検出器(三次元クロマトシステム) 液体クロマトグラフの検出器としてフォトダイオードアレーを採用した多波長同時検出器では、吸収スペクトル情報を常時得ることができる。共存物による妨害ピークがある場合でも、測定対象の農薬に固有な吸収スペクトルで確認を行うことにより、分析結果の信頼性を高めることができる。この図では波長、溶出時間および信号値(吸光度)を三次元表示している。

今回の水質基準の改正により、新たに農薬4種類が基準項目に定められた。このうち、チウラムの分析には、固相抽出・液体クロマトグラフ法が採用された。液体クロマトグラフで共存物と分離し、吸光度計などの検出器で定量する。しかし、河川水などの実際の試料中には共存物が多く、これが農薬成分のピークに重なり、誤って農薬として認識される場合がある。そこで、共存する農薬以外の成分と測定対象の農薬とを識別する能力に優れた検出器が必要とされている。

農薬は、それぞれ固有の吸収スペクトルを持っているため、識別には吸収スペクトルの比較が有効である。常時スペクトル情報が収集できる多波長同時検出器を農薬分析に応用し、有効性を確認した。

さらには、質量分析計を検出器に適用した液体クロマトグラフ/質量分析計を用いれば、実際の試料中共存物の妨害を免れ、農薬成分を選択的に検出できる。農薬の種類の特定制も、検出される質量数によって容易かつ正確に行うことができる。

* 日立製作所 計測器事業部 ** 日立計測エンジニアリング株式会社

1 はじめに

最近では田畑や果樹園だけでなく、ゴルフ場などでも多種類の農薬が使用されるようになってきている。今回の水質基準の改正では、シマジン、チウラムなど4種類の農薬が基準項目の対象となった。このうち、抗菌剤チウラムの測定を液体クロマトグラフ法で行うこととなった。対象となる農薬の濃度が低いため、あらかじめ固相抽出または溶媒抽出によって濃縮した後、液体クロマトグラフで分離分析される。実際に測定を行ううえで、次の2項目が大きな課題となる。

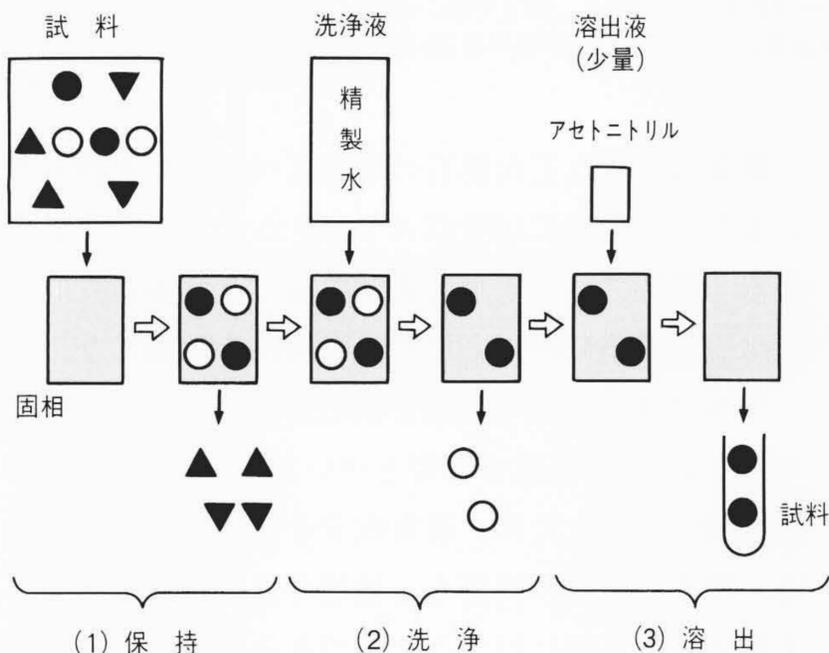
- (1) 多種類の共存成分が高濃度に存在すること。
- (2) 農薬の種類が多く、類似の成分も多いこと。

ここでは、上記課題を解決するための新しい検出技術を中心に、水質中農薬の分析法について述べる。

2 液体クロマトグラフ法

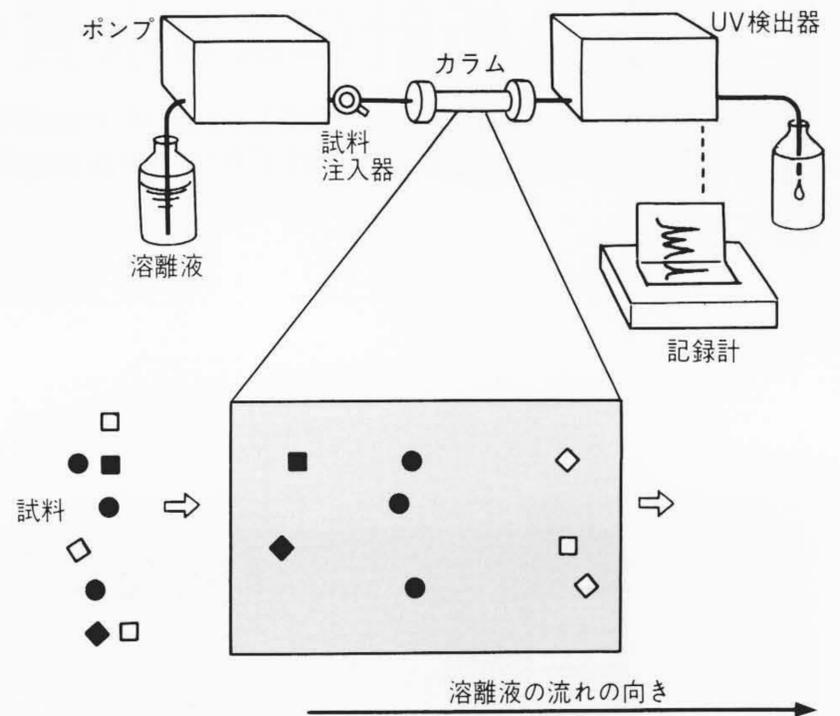
2.1 固相抽出(農薬の濃縮)

測定すべき農薬の濃度は、非常に低くて $\mu\text{g}/\text{l}$ レベルあるいはそれ以下の量である。そのため、あらかじめ試料の濃縮が必要である。濃縮処理には、固相抽出(図1参照)または溶媒抽出を行う。試料水を微細な吸着剤の入ったカラムを通過させて農薬成分を吸着させ、精製水で洗浄後、有機溶媒を通す。一般に、農薬は水よりも有機溶媒に溶けやすいので、吸着剤から脱離されて溶媒中に溶け出る。多量の試料水に対し、少量の有機溶媒を使用



注：●(測定対象), ○, ▲(不純物, 妨害物)

図1 固相抽出法 濃度の低い農薬でも、多量の試料水を固相カラムに通して保持させた後、少量の溶媒で溶かし出すことによって濃縮できる。



注：親和性(□<●<■)

図2 液体クロマトグラフ法 分離カラムでは、農薬のカラムに対する親和性の差でしだいに分離される。カラムの出口に検出器がつながれる。

すれば濃縮ができる。100~500倍の濃縮を行って測定液とする。

2.2 液体クロマトグラフ法の原理(分離分析)

抽出が終わった試料は、液体クロマトグラフ法(図2参照)で分離分析する。試料中の成分のうち、疎水性が強く相互作用の大きい成分ほどカラムを遅れて通過する。すなわち、各成分が分離して溶出する。溶出時間は、分離の条件が決まれば成分ごとに固有で常に一定となる。

カラムの出口には検出器が接続される。一般に農薬は紫外線を吸収するので、その吸収波長に合わせた特定波長で吸光度をモニタする。

2.3 検出上の課題

上述した単一波長での検出には限界がある。単に信号強度と溶出時間の情報だけからでは、測定対象のピークであるか、共存物のピークであるかの判別は困難である。特に溶出時間の早い領域で、共存物によるピークが多数現れる。間違っって農薬以外の成分を農薬として検出する可能性もある。また、多種類の農薬を特定することも難しい。

一例として、河川水を測定した結果のクロマトグラムを図3に示す。この例では、殺菌剤チウラムの溶出時間に一致するピークが検出された。ところが、このピークでの吸収スペクトルとチウラム標準物質の吸収スペクトルとを比較した結果、チウラムでないことが判明した。

このように、それぞれの農薬は固有の吸収スペクトル

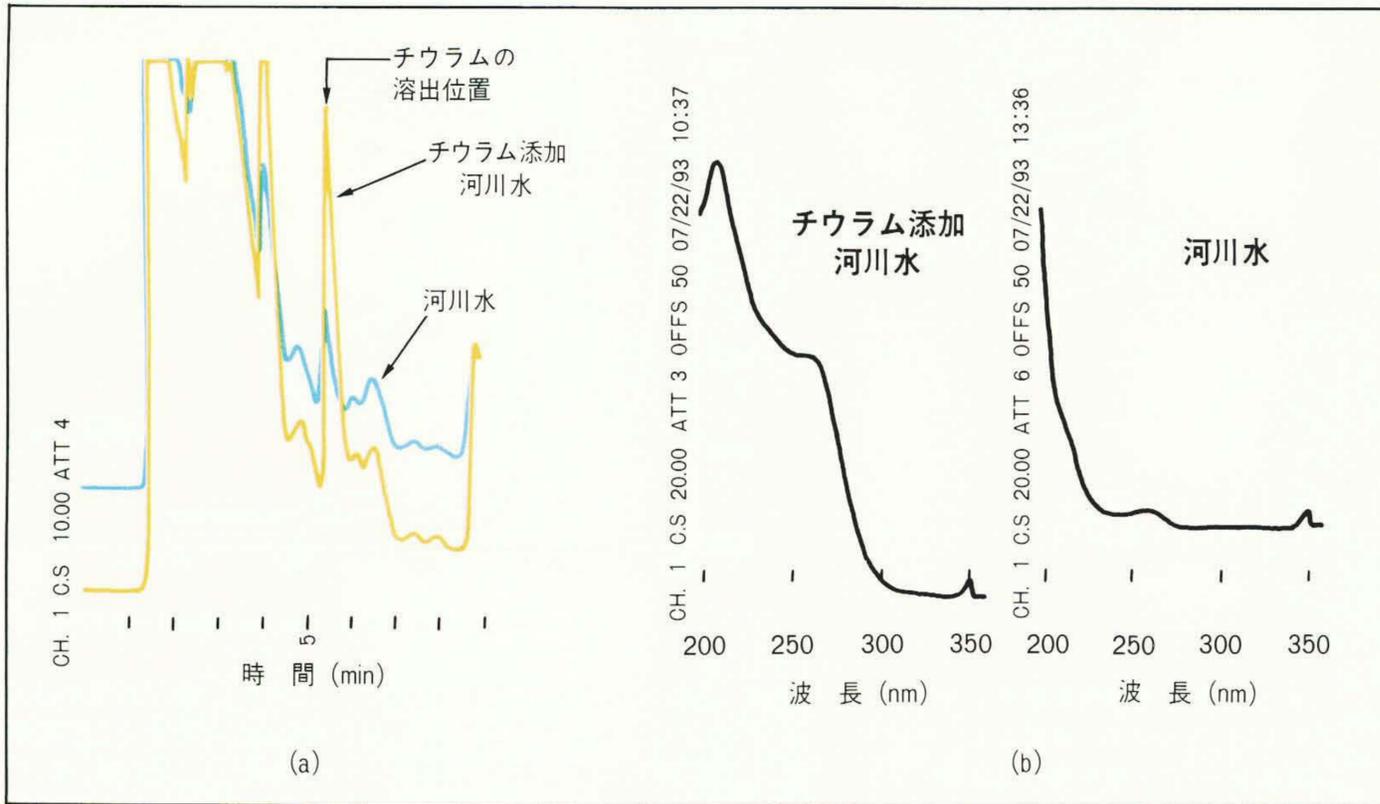


図3 河川水の分析例
殺菌剤チウラムの溶出時間にピークが検出された(a)。ピークでの吸収スペクトルを標準物質の吸収スペクトルと比較したところ一致せず、チウラムでないことが確認された(b)。

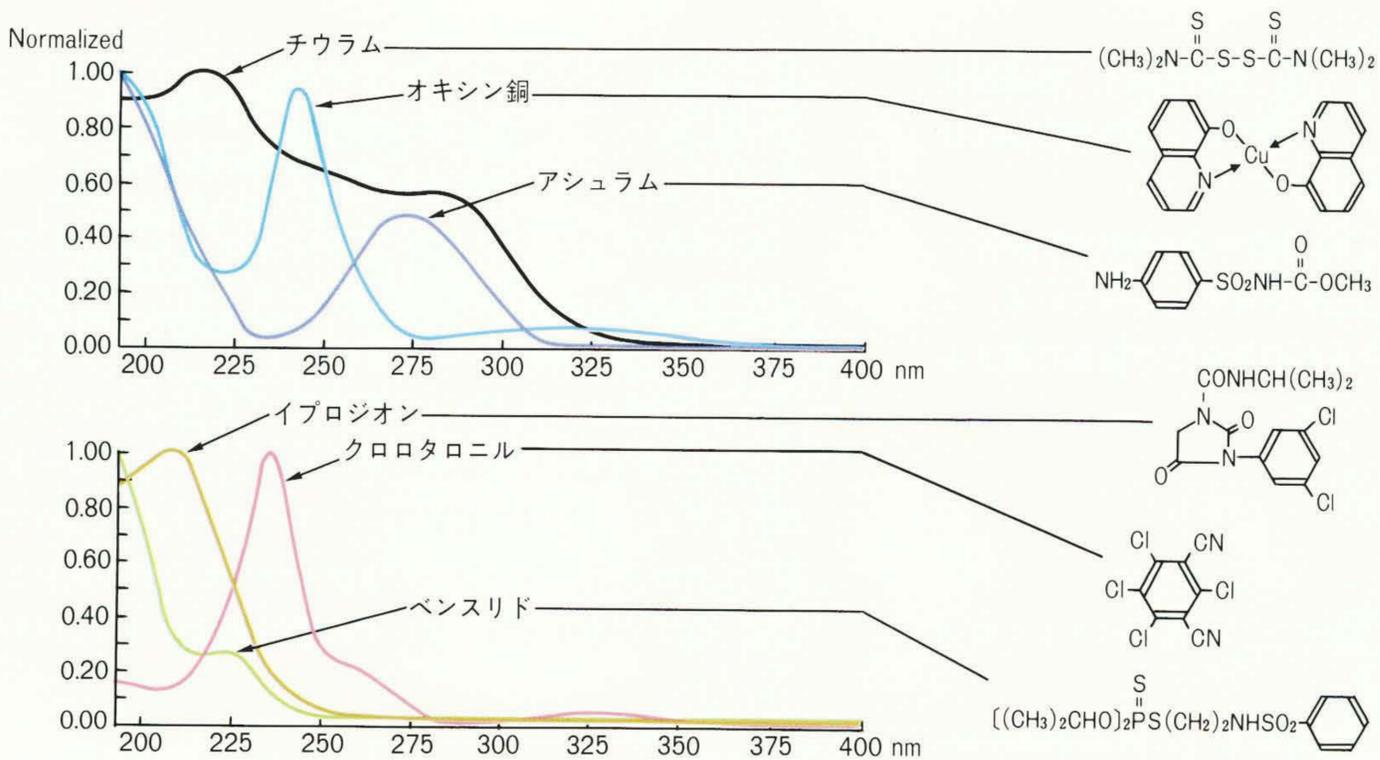


図4 各種農薬の吸収スペクトル 農薬の化学構造に依存し、それぞれ固有の吸収スペクトルを持っている。この吸収スペクトルを利用し成分の確認ができる。

を持っているので(図4参照)、検出されたピークごとに吸収スペクトルを比較して確認することが有効である。

2.4 多波長同時検出器の適用

上述した課題を解決するためには、吸収スペクトルの確認が容易に行える多波長同時検出器の適用が正に有効になる。この検出器では、フォトダイオードアレーを用いて常時スペクトル情報が収集される。D-6500形三次元クロマトグラフシステムは、512素子のダイオードで波長190~800 nmの範囲を同時に検知する(図5参照)。特に、紫外領域での分解能、感度に優れているので農薬分析に最適である。測定中の結果は、溶出時間を横軸に検出波長を縦軸とした、吸光度が色表示された等高線図で

リアルタイム表示される。任意の時間のスペクトルや任意の波長のクロマトグラムも自由に得ることができる(図6参照)。同図では、チウラムなど農薬9成分を分離した例を示す。それぞれのピークで波長に対する分布が異なることがよくわかる。

多波長同時検出器では、自動的に吸収スペクトルの比較を行う機能が準備されている(図7参照)。殺菌剤オキシシン銅と同定された未知試料の吸収スペクトルと、あらかじめ測定・登録しておいた標準試料のオキシシン銅の吸収スペクトルを比較した例を同図に示す。両者のピークの成分が同一であれば吸収スペクトルが重なり、相関係数はほぼ1となる。注目しているすべてのピークについて、

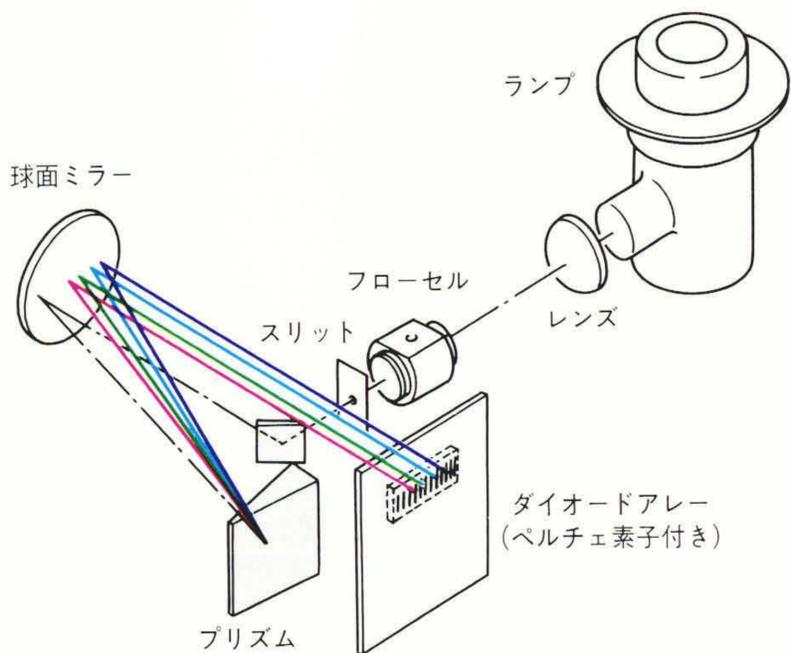


図5 多波長検出器の光学系 D-6500形の光学系を示す。光源からの光は、フローセル通過後プリズムで分光され、波長ごとにダイオードアレーの各素子で光検知される。フローセル中には分離カラムで分離された試料が通され、多波長にわたる情報が同時に収集される。

測定と同時に吸収スペクトルの比較が行われ、相関係数が表示される。この機能を利用すれば、結果の信頼性は大幅に向上する。

河川水や排水など複雑な共存物を含む試料の分析には、吸収スペクトルでの確認が不可欠となっている。今後、三次元クロマトシステムへの依存度が急速に高まるものと予想している。

3 質量分析計の適用

3.1 質量分析の原理

化学構造の類似した農薬間では、吸収スペクトル間の

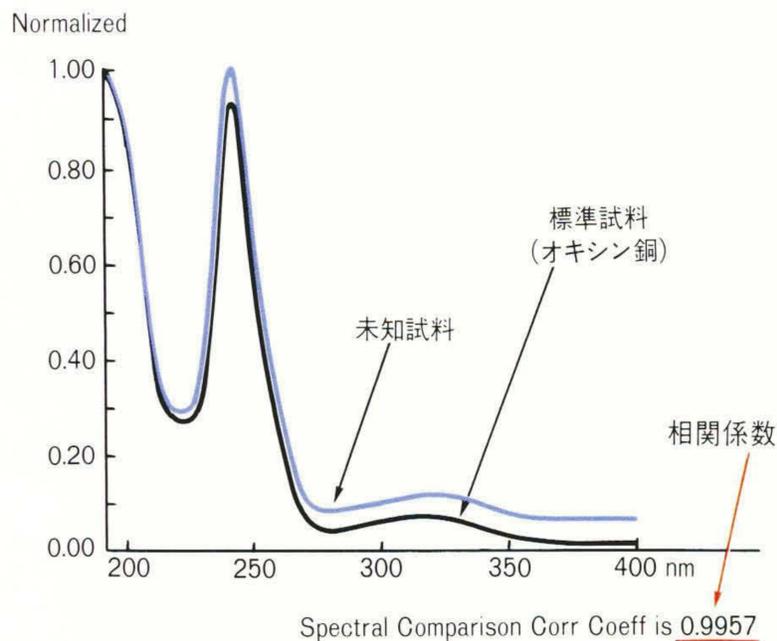


図7 吸収スペクトルの自動比較 多波長検出器を組み込んだ三次元クロマトシステムでは、試料分析時の各ピークと標準試料分析時の標準ピークとの間で吸収スペクトルを自動的に比較し、成分の確認ができる。これにより、信頼性の高い分析結果を得ることができる。

差も小さい。より共存物の妨害が多い試料の分析では、さらに確度の高い判別能力が必要となる場合がある。これには、質量分析計が検出器として威力を発揮する。

質量分析計では、各成分をイオン化し、イオンの質量ごとに検知する。各成分は、固有の分子量と化学構造を持っているので、生成するイオンの質量も成分固有となる。それぞれの成分で検出される質量数の情報は、マススペクトル(図8参照)と呼ばれ、あたかも物質のバーコードのようである。物質の識別は、マススペクトルを用いて正確に行われる。シマジンおよびチウラムを正イオンとして検出する場合は、それぞれ質量数202, 241で区別

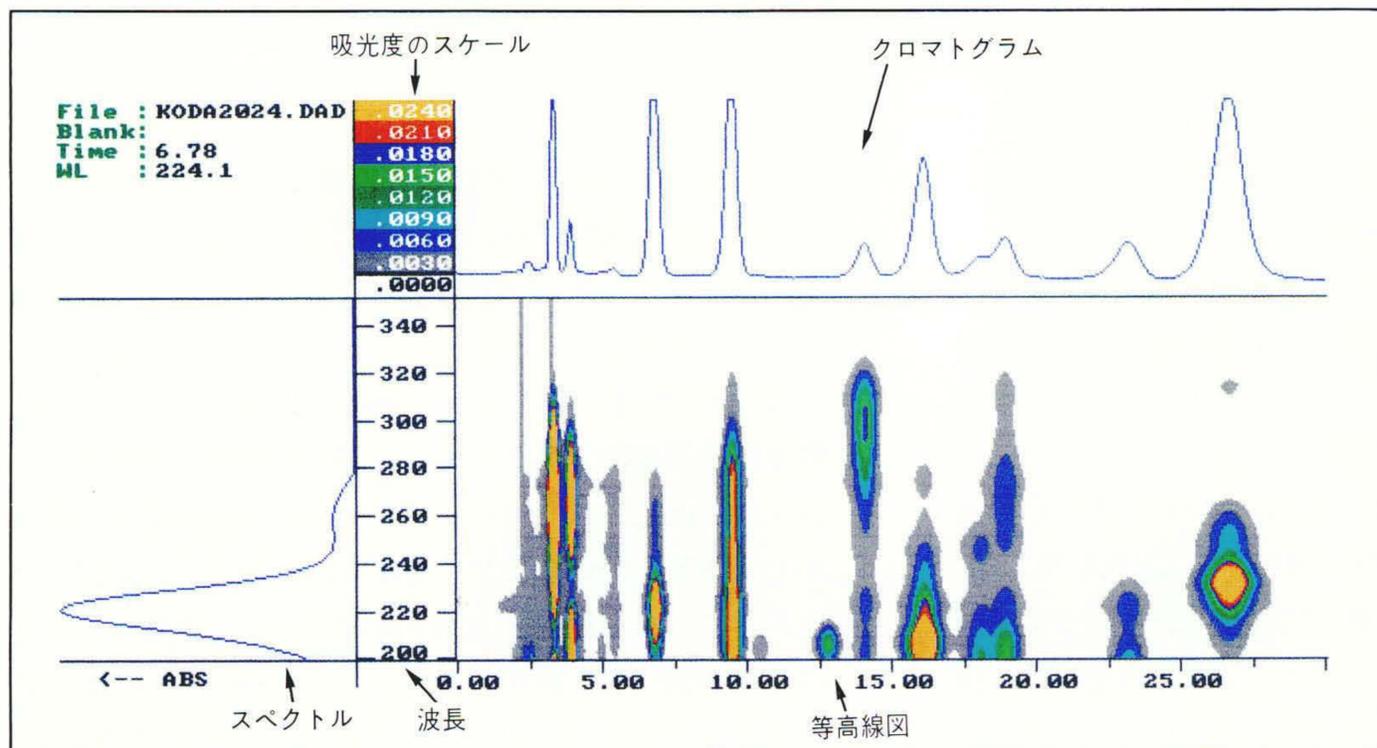


図6 多波長検出器による測定例 収集された情報は、等高線図の形で表示される。縦軸は検出波長、横軸は溶出時間である。信号値(吸光度)は、高さに応じて色表示される。等高線図の左側に吸収スペクトルが、上方にクロマトグラム情報が抽出される。農薬9成分の分離例を示している。

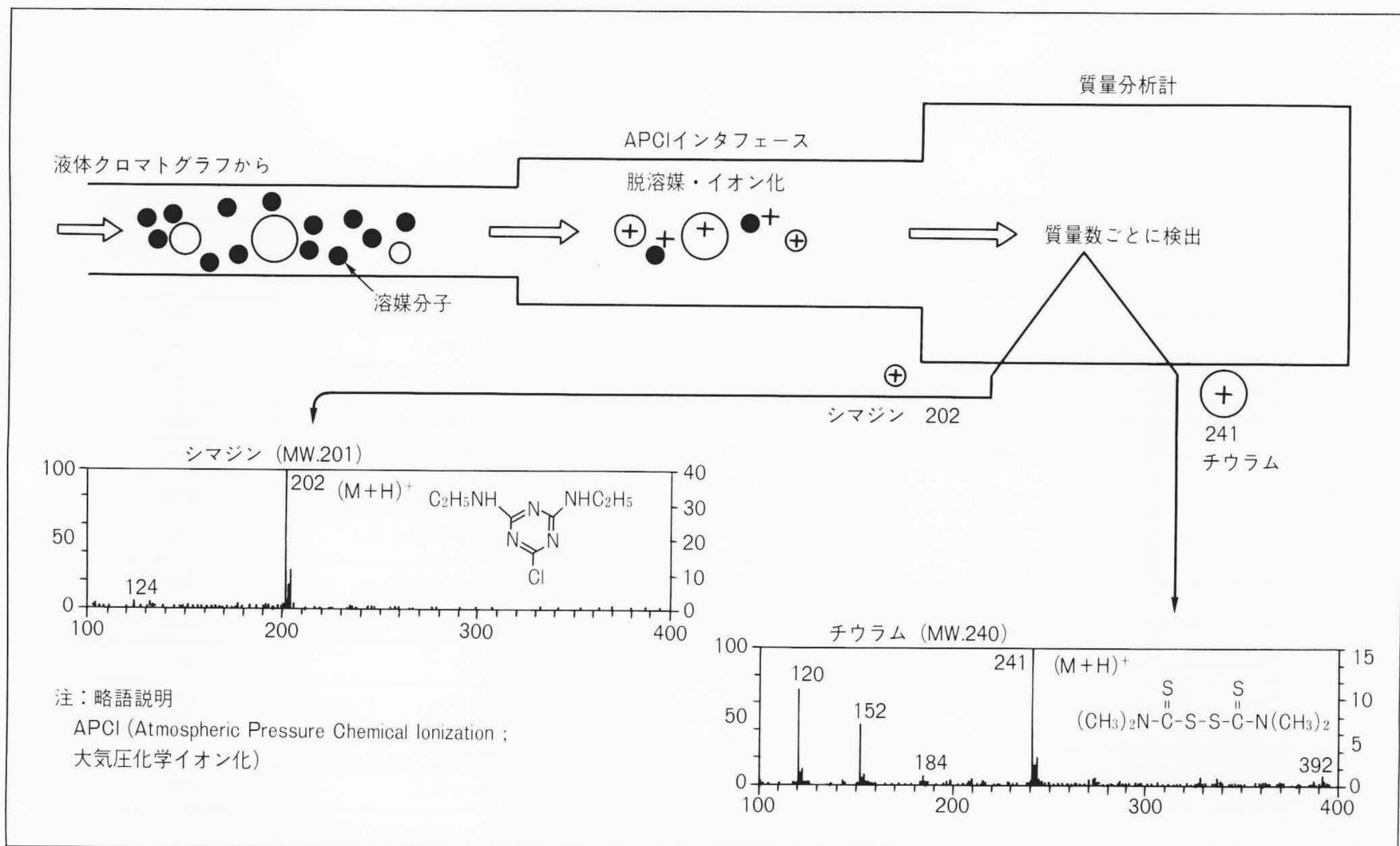


図8 質量分析による検出 液体クロマトグラフで分離された試料の各成分は、導入部(APCIインターフェース)でイオンになり、質量分析器に入る。質量分析器で質量数ごとに区別されて検出される。各農薬は、それぞれ固有の分子量と化学構造を持つため、検出される質量数も固有のものとなる。これをマススペクトルと言う。この図では、二つの農薬成分のマススペクトルを示す。

して検出できる。

さらに、化学的な性質の差に基づく液体クロマトグラフ法による分離と質量分析による物理的判別を組み合わせることにより、判別の確度は飛躍的に向上する。これが液体クロマトグラフ/質量分析計である。

3.2 液体クロマトグラフ/質量分析計

技術的には、液体クロマトグラフと質量分析計をいかに結ぶかが重要になる。液体クロマトグラフ側は大気圧にあるが、質量分析計は高真空中で動作する。インターフェースと呼ばれる結合部では、圧力を段階的に下げ、質量分析計へ試料(イオン)を導く。試料はここでイオン化される。

M-1200H形液体クロマトグラフ/質量分析計システムは、大気圧化学イオン化(APCI: Atmospheric Pressure Chemical Ionization)インターフェースを備え、通常の液体クロマトグラフの流量(~1 ml/min)に対応した試料導入が行えるのが特長である。特に、APCIでは、極性の低い成分に対してイオン化効率が良く、農薬の分析には好適である。液体クロマトグラフ/質量分析計を適用することにより、以下の効果が得られる。

- (1) 個々の農薬成分ごとの特定質量で検知するので、類似の成分もほぼ完全に分離できる。すなわち、妨害成分の影響を受けない。
- (2) 物質固有の質量数で識別するので、定性能力に優れ、誤りが少ない。

実際に、河川水にシマジンなどの標準試料15種を添加した試料を測定した結果を図9に示す。二つの検出モードでの結果の差に注目したい。すべてのイオンを検知するモード(TIC: Total Ion Current)では、液体クロマトグラフ分析と同様に共存物を検知し、ほとんど農薬のピークを識別できない。一方、特定質量だけ検知するモード(SIM: Selected Ion Monitoring)では共存物の影響を受けずに農薬のピークを識別することができる。液体クロマトグラフで分離が不十分な対象も、成分ごとに完全に分離できる。例えば、フルトラニル(質量数: 324)とイソプロチオラン(質量数: 291)やピリダフェンチオン(質量数: 341)とメチルダイムロン(質量数: 269)などである。これは、多成分一斉分析にも有効な手段となる。以上のように、液体クロマトグラフ/質量分析計での識別能力は、実使用条件での利用価値が高い。

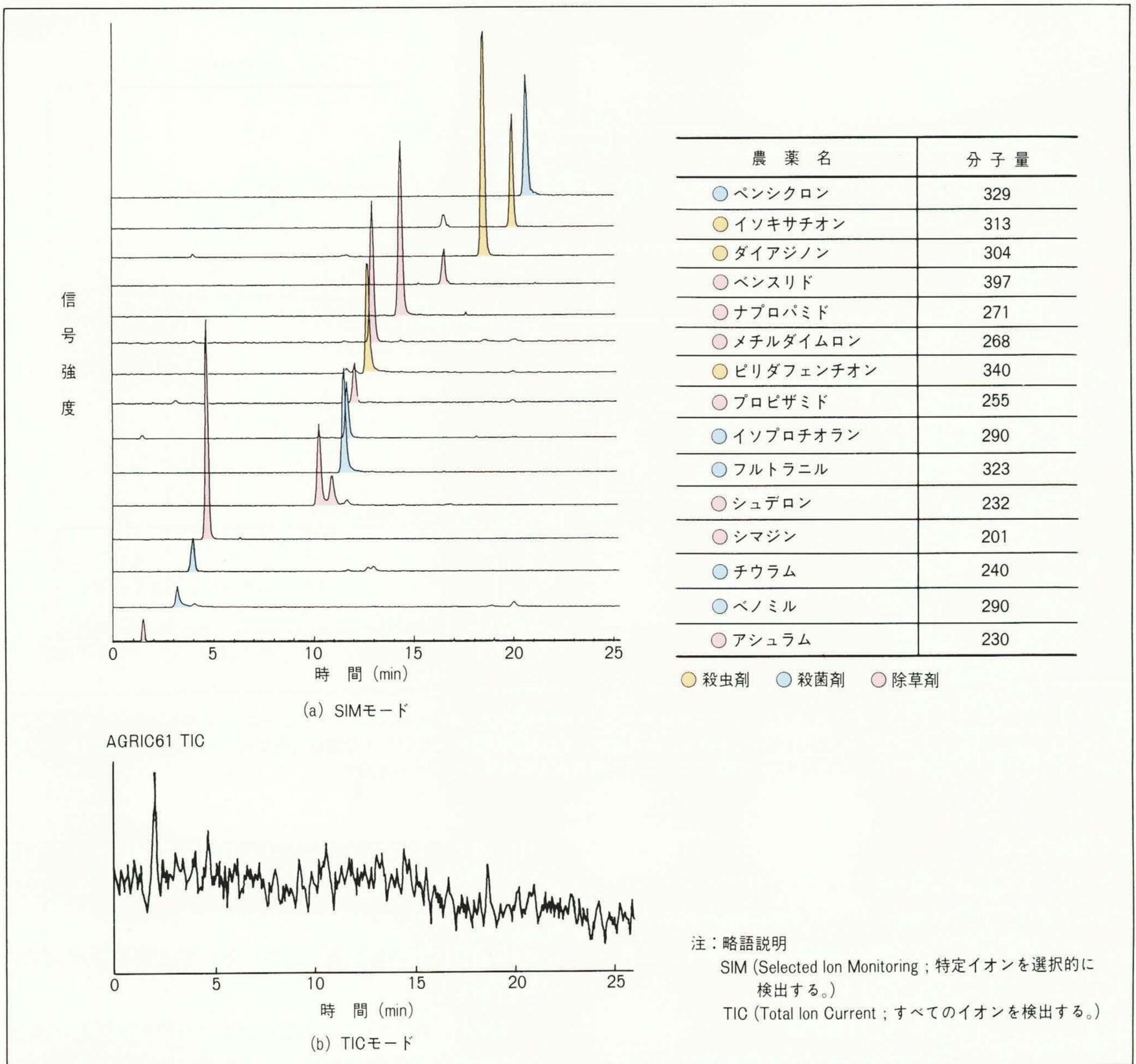


図9 液体クロマトグラフ/質量分析計による分析例 河川水に15成分の農薬を添加，固相抽出して分析した。個々の農薬に固有な質量数で検出することにより，共存成分の影響を受けなくて，それぞれの成分を選択的に検出できる。

日立製作所は、すでに200種を超える農薬の質量スペクトルライブラリーを構築している。ライブラリデータを参照することにより、未知成分の同定も容易に行うことができる。

実際、使用される農薬の種類も著しく増加の方向にあり、化学的性質だけでの選択的抽出や分離には限界があることは明らかである。識別能力に優れる液体クロマトグラフ/質量分析計に対する期待と必要性は、今後ますます高まると思われる。

4 おわりに

ここでは、公定法に採用されていない液体クロマトグラフ/質量分析計を含め、新しい検出技術を利用した水質中農薬の分析法について述べた。今後は、ここで述べたような新技術がさらに実績を積み重ね、ルーチン分析用としても広く活躍するものと期待できる。