ガスクロマトグラフィー質量分析法による公共用水域規制 農薬45物質の分離の検討

近藤 秀治, 中嶋 敏秋
北海道環境科学研究センター
(〒060 札幌市北区北19条西12丁目)

[平成7年3月7日受理]

Analysis of 45 Controlled Pesticides in Public Waters by Gas Chromatography/Mass Spectrometry

Hideharu KONDOH and Toshiaki NAKAJIMA
Hokkaido Institute of Environmental Sciences
(N19, W12, Kita-ku, Sapporo 060)

[Received March 7, 1995]

1. はじめに

公共用水域の環境基準, 要監視項目および水質評価指針で規制されている農薬のうち, 特別な注入方法や化学修飾を必要としないで, ガスクロマトグラフィー質量分析に適用可能な45物質と1内部標準物質について分離を検討した。

短時間で分析できることを優先し, 検討にはガスクロマトグラフィー分離予測アプリケーションを使用した。

ガスクロマトグラフィー分離シミュレーションは多数報告されているが, カラム出口が大気圧のガスクロマトグラフィーに適用したものが多^{1), 2), 3), 4)}。

今回, 身近な分析項目の公共用水域関連の農薬を対象に, カラム出口が真空のガスクロマトグラフィー質量分析計を用いた分離シミュレーションを検討した。

2. 実験方法

2.1 試薬, 装置

農薬の標準物質はベスタナール試薬(林純薬)を用い, 内部標準物質としてはフルオランテン d_{10} (CIL製)を使用した。

これらを少量のアセトンに溶解した後, ヘキサンで1000mg/lの標準原液(シマジンのみ200mg/l)を調製した。この標準原液より各5mg/l(ベンスリドのみ20mg/l)

の標準混合溶液を調製し, この1 μ lをHP7673オートサンプラーにより自動注入した。

ガスクロマトグラフィー質量分析計はHP 5972Aを用い, 分離カラムは, J&W製 DB-1 (0.25mm ID, 0.25 μ m, 15m)を使用した。また, 別に比較検討用としてHP製, Ultra-1 (0.20mm ID, 0.11 μ m, 25m)を用いた。

注入口温度250 $^{\circ}$ C, インターフェース部温度280 $^{\circ}$ C, イオンマルチ電圧2200v, 注入口インサートはHP 5181-3316, パージオンタイム2分のスプリットレスモード条件で検討した。

検討対象農薬名, 内部標準物質名はTable 1からTable 3に記載してある46物質である。

2.2 分離予測の検討

分離予測のアプリケーションとして, Pro ez GC (Developed by Analytical Innovations, Inc., In cooperation with Restek Corporation., 販売元: 関東化学株式会社, テクノケミカル株式会社)を用いた。

これは, 予め2種類の昇温プログラムにより求めた46物質の保持時間から, 使用液相に対する各物質の熱力学的保持指標を計算することにより, 同じ液相についてカラム温度昇温プログラム, 注入口圧力プログラムに対する保持時間の予測を行うものである。

この保持時間の予測理論については, いくつか報告さ

Table 1 Experimental Data for Determining Retention Indices

Peak NO	Pesticides	Run 1 tR (min)	Run 2 tR (min)
1	Dichlorvos	5.148	8.579
2	Etridiazole	6.105	11.214
3	Chloroneb	6.312	11.860
4	Molinate	6.422	12.076
5	Fenobucarb	6.720	13.028
6	Pencycron	7.126	13.874
7	Benfluralin	7.176	14.168
8	Simazine	7.295	14.288
9	Chlorothalonil	7.698	14.859
10	Propyzamide	7.715	15.015
11	Diazinon	7.815	15.220
12	Iprobenfos	8.052	15.471
13	Dichlofenthion	8.346	15.862
14	Carbaryl	8.368	15.862
15	Bromobutide	8.408	15.913
16	Simetryn	8.420	15.972
17	Tolclofos-methyl	8.449	15.962
18	Terbucarb	8.507	16.112
19	Probenazole	8.685	16.271
20	Fenitrothion	8.833	16.509
21	Esprocarb	9.051	16.795
22	Thiobencarb	9.101	16.851
23	Malathion	9.130	16.969
24	Fthalide	9.295	17.001
25	Chlorpyrifos	9.364	17.237
26	Captan	9.817	17.763
27	Fluoranthene-d-10	9.984	17.936
28	Pendimethalin	10.054	18.185
29	Methyl dymron	10.176	18.380
30	Isofenfos	10.353	18.655
31	Isoprothiolane	11.150	19.820
32	Napropamide	11.242	19.880
33	Butamifos	11.270	19.986
34	Flutolanil	11.441	20.319
35	Pretilachlor	11.881	20.958
36	Buprofezin	12.110	21.316
37	Isoxathion	12.241	21.536
38	Mepronil	13.501	23.694
39	Edifenphos	13.689	23.850
40	Chlormitrofen	13.690	23.850
41	Pyridaphenthion	15.901	28.142
42	Iprodion	16.048	28.480
43	EPN	16.156	28.520
44	Mefenacet	17.883	32.047
45	Bensulide	19.722	39.914
46	Ethofenprox	20.464	48.452

Column: DB-1, 15m, 0.25mm ID, 0.25 μ m
Constant flow mode: He 1.62ml/min
Run 1: 40 $^{\circ}$ C (hold 2 min) @ 30 $^{\circ}$ C/min to 175 $^{\circ}$ C @ 3.0 $^{\circ}$ C/min to 210 $^{\circ}$ C @ 30 $^{\circ}$ C/min to 280 $^{\circ}$ C (hold 1 min)
Run 2: 40 $^{\circ}$ C (hold 2 min) @ 10 $^{\circ}$ C/min to 175 $^{\circ}$ C @ 1.0 $^{\circ}$ C/min to 210 $^{\circ}$ C @ 10 $^{\circ}$ C/min to 280 $^{\circ}$ C

れている。Curversら¹⁾, Dose²⁾, Snow and McNair⁴⁾の理論は、いずれも等温分析でのデータをもとに、液相に対する試料の溶解のエンタルピー変化 ΔH 、エントロピー変化 ΔS を計算して、等温分析や昇温分析での保持時間の予測を行っている。

また、Bautzら³⁾は昇温分析のデータを用いてはいる

が、 ΔH 、 ΔS は使用せずに、分配比 k の線形近似により、等温分析や昇温分析での保持時間の予測を行っている。

一方、今回使用したアプリケーション (Pro ez GC) は、昇温分析でのデータを用いて ΔH 、 ΔS を算出して、これをもとに保持時間の予測を行っている。

背景となる動作原理については、開発元の Restek (米国) によると次のようである⁵⁾。

液相に対する試料の溶解の自由エネルギー変化を ΔG 、分配係数を K_D 、相比を β とすると、 $-\Delta G = RT \ln K_D$ と $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$ より、分配係数 K_D は、

$$K_D = \exp\left(\frac{-\Delta G}{RT}\right) = a \cdot \exp\left(\frac{\Delta H}{RT}\right) \text{で示される。}$$

液相に対する試料の溶解のエンタルピー変化 ΔH は、通常は負なので正で示す。ここで、 $a = \exp\left(\frac{\Delta S}{R}\right)$ である。

分配比を k とすると、 $K_D = k\beta$ であるから、

$$\ln k = \ln \frac{a}{\beta} + \frac{\Delta H}{RT} \text{が得られる。}$$

これらの基本的関係をコンピューターアルゴリズムに組み込んで保持時間の予測を行っている。

今回は、キャリアガスが一定流量、注入口一定圧力および注入口圧力プログラムモードで、分析時間、分離度が最適と思われる予測値と実験値を比較した。

また、同じ液相の異なるディメンジョンの別のカラムを用いて、キャリアガスが一定流量モードでの予測値と実験値の比較を行った。計算は HP Vectra 386/20パーソナルコンピューターを使用した。

46物質について、例えば480個の昇温プログラムの計算には、30分程度必要とした。

3. 結果及び考察

3. 1 分離予測結果

保持時間予測用の熱力学的保持指標を計算するために用いた、カラム昇温速度の異なる2回の分析結果を Table 1に示す。また、キャリアガス一定流量モード、一定圧力モード、圧力プログラムモードそれぞれで、分離度、分析時間の組み合わせが一番良好であった昇温プログラムの予測結果と実験結果を Table 2に示す。

また、同じ無極性液相を持つ、異なるディメンジョンのカラム (Ultra-1, 25m, 0.20 ID, 0.11 μ m) に対し、この熱力学的保持指標を適用した一定流量モード (1.62ml/min) での昇温プログラムの予測結果と実験結果を Table 3に示す。

分離予測の精度については、Dose²⁾は、DB-17, DB-210⁺カラムを用いたECD付きガスクロマトグラフィーに、独自のプログラムを有機リン化合物、ジニトロ化合物に適用した結果、多くの昇温プログラムで1%

Table 2 Comparison of Calculated & Experimental Retention Times

Peak NO	Pesticides	Constant flow mode			Constant pressure mode			Pressure programming mode		
		Calc. tR (min.)	Exp. tR (min.)	% Error	Calc. tR (min.)	Exp. tR (min.)	% Error	Calc. tR (min.)	Exp. tR (min.)	% Error
1	Dichlorvos	5.148	5.152	0.08	6.096	6.136	0.65	5.189	5.147	0.82
2	Etridiazole	6.105	6.110	0.08	7.587	7.616	0.38	6.164	6.107	0.93
3	Chloroneb	6.312	6.318	0.09	7.923	7.951	0.35	6.370	6.316	0.85
4	Molinate	6.422	6.426	0.06	8.073	8.103	0.37	6.480	6.425	0.86
5	Fenobucarb	6.739	6.753	0.21	8.560	8.580	0.23	6.814	6.750	0.95
6	Pencycron	7.210	7.224	0.19	9.141	9.151	0.11	7.309	7.210	1.37
7	Benfluralin	7.276	7.295	0.26	9.257	9.270	0.14	7.373	7.276	1.33
8	Simazine	7.415	7.436	0.28	9.412	9.425	0.14	7.519	7.412	1.44
9	Chlorothalonil	7.895	7.916	0.27	9.987	9.989	0.02	8.006	7.864	1.81
10	Propyzamide	7.929	7.951	0.28	10.056	10.060	0.04	8.037	7.897	1.77
11	Diazinon	8.064	8.081	0.21	10.234	10.230	0.04	8.171	8.017	1.92
12	Iprobenfos	8.350	8.370	0.24	10.573	10.566	0.07	8.453	8.282	2.06
13	Dichlofenthion	8.727	8.755	0.32	11.046	11.037	0.08	8.817	8.632	2.14
14	Carbaryl	8.751	8.760	0.10	11.070	11.050	0.18	8.840	8.650	2.20
15	Bromobutide	8.791	8.829	0.43	11.119	11.108	0.10	8.879	8.690	2.17
16	Simetryn	8.825	8.844	0.21	11.172	11.151	0.19	8.910	8.714	2.25
17	Tolclofos-methyl	8.856	8.866	0.11	11.201	11.175	0.23	8.940	8.740	2.29
18	Terbucarb	8.958	8.965	0.08	11.347	11.306	0.36	9.035	8.820	2.44
19	Probenazole	9.165	9.180	0.16	11.588	11.551	0.32	9.232	9.012	2.44
20	Fenitrothion	9.383	9.388	0.05	11.873	11.815	0.49	9.433	9.195	2.59
21	Esprocarb	9.672	9.678	0.06	12.240	12.173	0.55	9.699	9.453	2.60
22	Thiobencarb	9.737	9.737	0.00	12.320	12.244	0.62	9.758	9.504	2.67
23	Malathion	9.806	9.813	0.07	12.424	12.354	0.57	9.818	9.569	2.60
24	Fthalide	9.959	9.965	0.06	12.577	12.500	0.62	9.960	9.699	2.69
25	Chlorpyrifos	10.108	10.111	0.03	12.798	12.711	0.68	10.091	9.828	2.68
26	Captan	10.702	10.691	0.10	13.501	13.411	0.67	10.645	10.321	3.14
27	Fluoranthene-d-10	10.911	10.894	0.16	13.760	13.651	0.80	10.825	10.495	3.14
28	Pendimethalin	11.097	11.067	0.27	14.022	13.903	0.86	10.993	10.641	3.31
29	Methyl dymron	11.275	11.250	0.22	14.250	14.136	0.81	11.148	10.796	3.26
30	Isofenfos	11.542	11.518	0.21	14.598	14.476	0.84	11.380	11.017	3.29
31	Isoprothiolane	12.709	12.680	0.23	16.188	15.951	1.49	12.370	11.975	3.30
32	Napropamide	12.772	12.757	0.12	16.271	16.034	1.48	12.423	12.034	3.23
33	Butamifos	12.858	12.844	0.11	16.393	16.155	1.47	12.496	12.104	3.24
34	Flutolanil	13.118	13.136	0.14	16.747	16.599	0.89	12.716	12.348	2.98
35	Pretilachlor	13.605	13.545	0.44	17.624	17.371	1.46	13.264	12.857	3.17
36	Buprofezin	13.771	13.701	0.51	18.089	17.822	1.50	13.502	13.123	2.89
37	Isoxathion	13.852	13.782	0.51	18.372	18.103	1.49	13.615	13.257	2.70
38	Mepronil	14.383	14.322	0.43	19.707	19.565	0.73	14.208	13.968	1.72
39	Edifenphos	14.451	14.382	0.48	19.776	19.635	0.72	14.271	14.002	1.92
40	Chlormitrofen	14.451	14.382	0.48	19.776	19.635	0.72	14.272	14.002	1.93
41	Pyridaphenthion	14.956	14.911	0.30	20.511	20.448	0.31	14.797	14.628	1.16
42	Iprodion	14.975	14.934	0.27	20.537	20.486	0.25	14.819	14.656	1.11
43	EPN	15.012	14.974	0.25	20.578	20.525	0.26	14.850	14.687	1.11
44	Mefenacet	15.324	15.275	0.32	20.962	20.918	0.21	15.158	15.007	1.01
45	Bensulide	15.675	15.726	0.32	21.413	21.518	0.49	15.530	15.470	0.39
46	Ethofenprox	16.053	16.119	0.41	21.953	22.061	0.49	15.892	15.817	0.47
		Average			Average			Average		
		0.22			0.55			2.09		
Column: DB-1 15m, 0.25mm ID, 0.25 μm										
Constant flow mode: He 1.62ml/min, Oven temp.: 40°C(hold 2 min) @ 30°C/min to 170 °C @ 1.5°C/min to 180 °C @ 40°C/min to 280 °C(hold 3min)										
Constant press. mode: Linear Velocity: 66.7 cm/sec at 40°C, Oven temp.: 40°C(hold 2 min) @ 20°C/min to 170°C @ 1°C/min to 180°C @ 40 °C/min to 280 °C (hold 4 min)										
Press. prog. mode: 5 PSI(2) @ 1.49PSI/min to 35PSI, Oven temp.: 40°C(hold 2 min) @ 30°C/min to 170 °C @ 1.5°C/min to 180 °C @ 40°C/min to 280 °C(hold 2 min)										

以内の精度であったことを示している。

また、Bautz ら³⁾は、DB-5カラムを用いたFID付きガスクロマトグラフィーに、LC Resources のDRYLAB GCソフトウェアをフェノール化合物に適用した結果、多くの昇温プログラムで0.6%から9.2%の精度であったことを示している。

今回、46物質での平均の予測精度は、一定流量モードで0.22%、定圧モードで0.55%、圧力プログラムモードで2.09%であった。

また、同じ液相で異なるディメンジョン(カラム内径、カラム長さ、膜厚)のUltra-1カラムに一定流量モードで適用した結果、平均で1.38%の精度であった。

Table 3 Comparison of Calculated & Experimental Retention Times

Peak NO	Pesticides	Constant flow mode		
		Calc. tR (min.)	Exp. tR (min.)	% Error
1	Dichlorvos	6.400	6.750	5.19
2	Etridiazole	7.806	7.912	1.34
3	Chloroneb	8.123	8.238	1.40
4	Molinate	8.269	8.402	1.58
5	Fenobucarb	8.730	8.893	1.83
6	Pencycron	9.303	9.447	1.52
7	Benfluralin	9.418	9.499	0.85
8	Simazine	9.563	9.878	3.19
9	Chlorothalonil	10.117	10.314	1.91
10	Propyzamide	10.181	10.383	1.95
11	Diazinon	10.352	10.464	1.07
12	Iprobenfos	10.669	10.942	2.49
13	Dichlofenthion	11.114	11.214	0.89
14	Carbaryl	11.137	11.466	2.87
15	Bromobutide	11.195	11.340	1.28
16	Simetryn	11.231	11.587	3.07
17	Tolclofos-methyl	11.260	11.374	1.00
18	Terbucarb	11.397	11.536	1.20
19	Probenazole	11.623	11.982	3.00
20	Fenitrothion	11.887	12.042	1.29
21	Esprocarb	12.229	12.331	0.83
22	Thiobencarb	12.303	12.436	1.07
23	Malathion	12.404	12.562	1.26
24	Fthalide	12.544	12.773	1.79
25	Chlorpyrifos	12.749	12.818	0.54
26	Captan	13.404	13.644	1.76
27	Fluoranthene-d-10	13.644	13.765	0.88
28	Pendimethalin	13.888	13.963	0.54
29	Methyl dymron	14.103	13.650	3.32
30	Isofenfos	14.425	14.571	1.00
31	Isoprothiolane	15.914	16.131	1.35
32	Napropamide	15.983	16.263	1.72
33	Butamifos	16.074	16.227	0.94
34	Flutolanil	16.450	16.850	2.37
35	Pretilachlor	17.254	17.399	0.83
36	Buprofezin	17.686	17.754	0.38
37	Isoxathion	17.952	18.113	0.89
38	Mepronil	19.568	19.596	0.14
39	Edifenphos	19.629	19.667	0.19
40	Chlormitrofen	19.629	19.580	0.25
41	Pyridaphenthion	20.421	20.476	0.27
42	Iprodion	20.457	20.515	0.28
43	EPN	20.494	20.515	0.10
44	Mefenacet	20.874	20.943	0.33
45	Bensulide	21.337	21.535	0.92
46	Ethofenprox	21.816	21.978	0.74
			Average	1.38

Column: Ultra-1, 25m, 0.20mm, 0.11 μ m
Constant flow mode: He 1.62ml/l, Oven temp.: 40°C
(hold 2 min) @ 20°C/min to 170°C
@ 1°C/min to 180°C @ 40°C/min
to 280°C(hold 3 min)

上記の定圧モード、圧力プログラムモードに比べて、一部の物質での精度が特に悪かった。同じ液相でもカラム間の差異が示唆された。

この流量コントロールについては、カラム出口が大気圧の場合、平均線速度を用いた流量計算は、HP ガスクロマトグラフも Pro ez GC も次の計算式⁶⁾が適用されている。

$$F = (60 \pi r^2) \left(\frac{T_{ref}}{T} \right) \left(\frac{2(P_i^3 - P_0^3)}{3P_{ref}(P_i^2 - P_0^2)} \right) \bar{u}$$

ここで、F はカラム流量、r はカラム内径、T はカラム温度、 $\bar{u}$ はカラム温度 T での平均線速度、 P_i はカラム注入口圧力、 P_0 はカラム出口圧力、 T_{ref} はリファレンス温度 (298°K)、 P_{ref} はリファレンス圧 (1 atm) である。

従って、HP ガスクロマトグラフ内での流量計算表示

と Pro ez GC 内での流量計算表示は一致する。

出口真空の場合、HP ガスクロマトグラフでは上記の式で、 P_0 をゼロとして次式を使用している。

$$F = (60 \pi r^2) \left(\frac{T_{ref}}{T} \right) \left(\frac{2P_i}{3P_{ref}} \right) \bar{u}$$

Pro ez GC では計算式が不明であり、HP ガスクロマトグラフとは一致しないことになる。

ところで、Pro ez GC の流量パラメーターは、定流量モードでは流量のみを、定圧モードでは線速度のみを、圧力プログラミングモードでは圧力のみをコンピュータスクリーンに入力するようになっている。

従って、Pro ez GC での予測の正確さを実際の HP ガスクロマトグラフで検証する場合、定流量モードでは Pro ez GC での流量をそのまま HP ガスクロマトグラフで使用した。定圧モードでは、Pro ez GC で使用する線速度に対応する Pro ez GC での流量計算値を HP ガスクロマトグラフに入力し、その時の HP 側での線速度計算値を実際の分析で使用した。同様に圧力プログラミングモードでは、Pro ez GC で使用する圧力に対応する Pro ez GC での流量計算値を HP ガスクロマトグラフに入力し、その時の HP 側での圧力計算値を実際の分析で使用した。

3. 2 45農薬の分離について

水質指針に入っている農薬のうち、トリシクラゾールについては、注入量の変化によるピークレスポンス変動が極端に大きいので、今回の分析条件では除外した。また、カルバリルについては、分解ピークらしきものを含めて、ピークが2本になるが、後半の分子イオンピークの出ているほうを検討した。

今回、DB-1カラムを用いた、キャリアガス一定流量モード（1.62ml/min）の3段昇温が、分析時間、分離度とも最適分離と考えられたので、この時の実際のクロマトグラムを Fig 1 に示す。同時に計算により予測したクロマトグラムを Fig 2 に示す。

キャリアガス一定流量モード（Fig 1）では、45農薬のうち、ピーク番号13から17のジクロフェンチオン、カルバリル、プロモブチド、シメトリン、トルクロホスメチルはほぼ完全に重なった。また、ピーク番号39と40のエディフェンフォスとクロルニトロフェンは完全に重複した。ピーク番号41と42のピリダフェンチオンとイプロジオンもほぼ重複している。

ガスクロマトグラフィー質量分析計による質量分離を併用すれば分離可能であるが、これらをガスクロマトグラフィー上で分離するには、カラム口径を小さくするか、別の液相を検討する必要があると思われる。

Fig. 1 Experimental chromatogram of 45 Pesticides and fluoranthene d10 (Peak NO. refer to Table 1)

Fig. 2 Predicted chromatogram of 45 Pesticides and fluoranthene d10 (Peak NO. refer to Table 1)

文 献

- 1) Curvers J., Rijks J. and Cramers C.: Temperature Programmed Retention Indices: Calculation from Isothermal Data, *J. High Resol. Chromatogr. Chromatogr. Commun.*, **8**, 607-617 (1985)
- 2) Dose E.V.: Simulation of Gas Chromatographic Retention and Peak Width Using Thermodynamic Retention Indexes, *Anal. Chem.*, **59**, 2414-2419 (1987)
- 3) Bautz D.E., Dolan J.W., Raddatz W.D. and Snyder L.R.: Computer Simulation (Based on a Linear-Elution-Strength Approximation) as an Aid for Optimizing Separations by Programmed-Temperature Gas Chromatography, *Anal. Chem.*, **62**, 1560-1567 (1990)
- 4) Snow N.H. and McNair H.M.: A Numerical Simulation of Temperature Programmed Gas Chromatography, *J. Chromatogr. Sci.*, **30**, 271-275 (1992)
- 5) Restek Corporation: *ADVANTAGE*, p1-p3 (1993, May)
- 6) Hewlett-Packard Company: *Electronic Pressure Control in Gas Chromatography*, p168 (1994)