



Agilent Infinity 1260 LC を用いた ゴルフ場農薬の分析



<要旨>

平成 25 年 6 月に改正された「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指針」に準拠し、LC 測定対象と定められたゴルフ場農薬分析法の検討を行いました。

Agilent 1260 infinity LC とダイオードアレイ検出器を用いることで、測定感度として規定される各成分 5 ng が検出でき、その 10 分の 1 にあたる 0.5 ng の定量も可能です。

各成分 5 ng 測定時の面積再現性は概ね 1%以下でした。

高分解能と低圧損を併せ持つ Poroshell カラムを使用することで、分離能を保ったまま、測定時間を 10 分未満まで短縮することが可能です。

Key Words: 1260, G4212B, Poroshell,
ゴルフ場農薬, チウラム, オキシシン銅

1.はじめに

ゴルフ場で使用される農薬は付近の環境汚染に原因となるため、平成2年に水質暫定目標値が設定され、その測定が義務付けられています。

平成25年6月18日に改正された「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指針」によると、アシュラム、アゾキシストロビン、オキシシン銅、シデュロン、チウラム、トリクロピル酸、ハロスルフロンメチル、フラザスルフロン及びメコプロップの9種類が紫外分光光度型検出器付き高速液体クロマトグラフでの測定対象農薬となっています。

(図.1)

本アプリケーションノートでは、Agilent 1260 infinity LCとダイオードアレイ検出器を用いたLC測定対象農薬9成分の分析方法をご紹介します。

2.分析条件

1) 装置

Agilent1260 Infinity シリーズ

:G1312B (バイナリポンプ)

:G4225A (デガッサ)

:G1367E (高性能オートサンプラ)

:G1330B (冷却ユニット)

:G1316C (カラムコンパートメント)

:G4212B (ダイオードアレイ検出器)
(標準 10mm セル)

:OpenLAB CDS ChemStation (データ処理)

2) 実験方法

カラム: Poroshell EC-C18, 3.0 x 100 mm, 2.7 μm

カラム温度: 40°C

移動相: A; 25mM Phosphate buffer (pH 3.6)

: B; acetonitrile

流量: 0.6 mL/min (A;65%, B;35% isocratic)

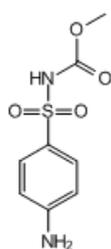
サンプル: 農薬混合標準液 24 (関東化学 製)
オキシシン銅 (和光純薬 製)

注入量: 5 μL

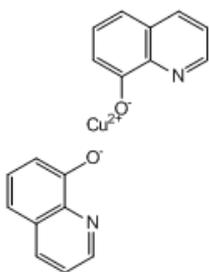
検出: DAD; 230/4 nm、リファレンス; 380/100 nm

DAD; 270/4 nm、リファレンス; 380/100 nm

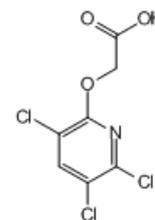




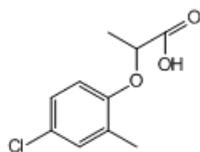
Asulam



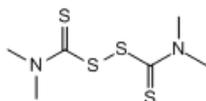
Oxine-Copper



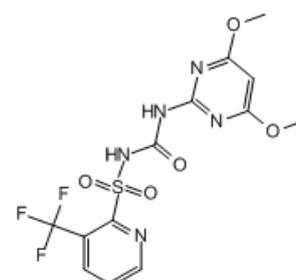
Tricopyl



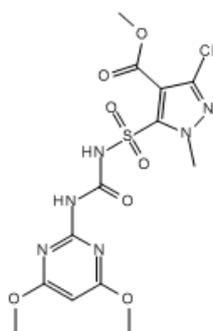
Mecoprop



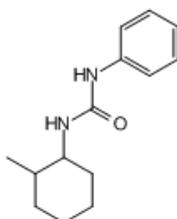
Thiram



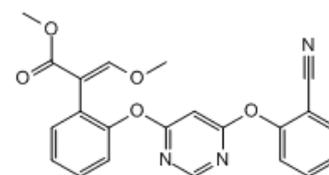
Flazasulfuron



Halosulfuron-metyl



Siduron



Azoxystrobin

図.1 LC 測定対象農薬一覧

3. 分析と考察

<標準溶液クロマトグラム>

図.2 に各成分 1 mg/L を 5 μL 注入した際のクロマトグラムを示します。

指針記載の測定方法で規定されている感度(各分析対象農薬 5 ng)を満たしています。

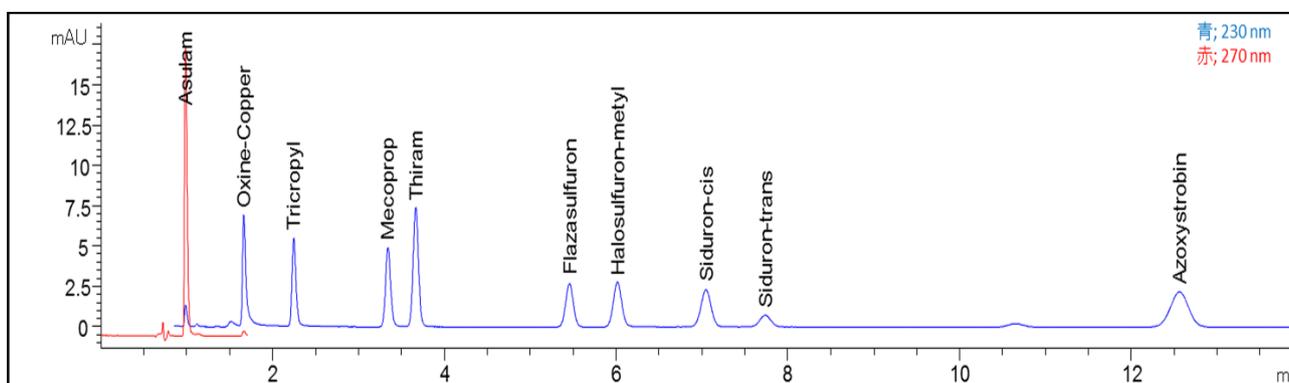


図.2 LC 測定クロマトグラム

<検量線>

図.3に各成分 0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0 mg/L を 5 μL 注入した際の各成分の検量線を示します。各成分とも R=0.999 以上の高い直線性が確認できました。オキシ銅のみ 5.0 ppm 注入時にピーク形状の乱れが見られたため、その濃度は検量線から外れています。

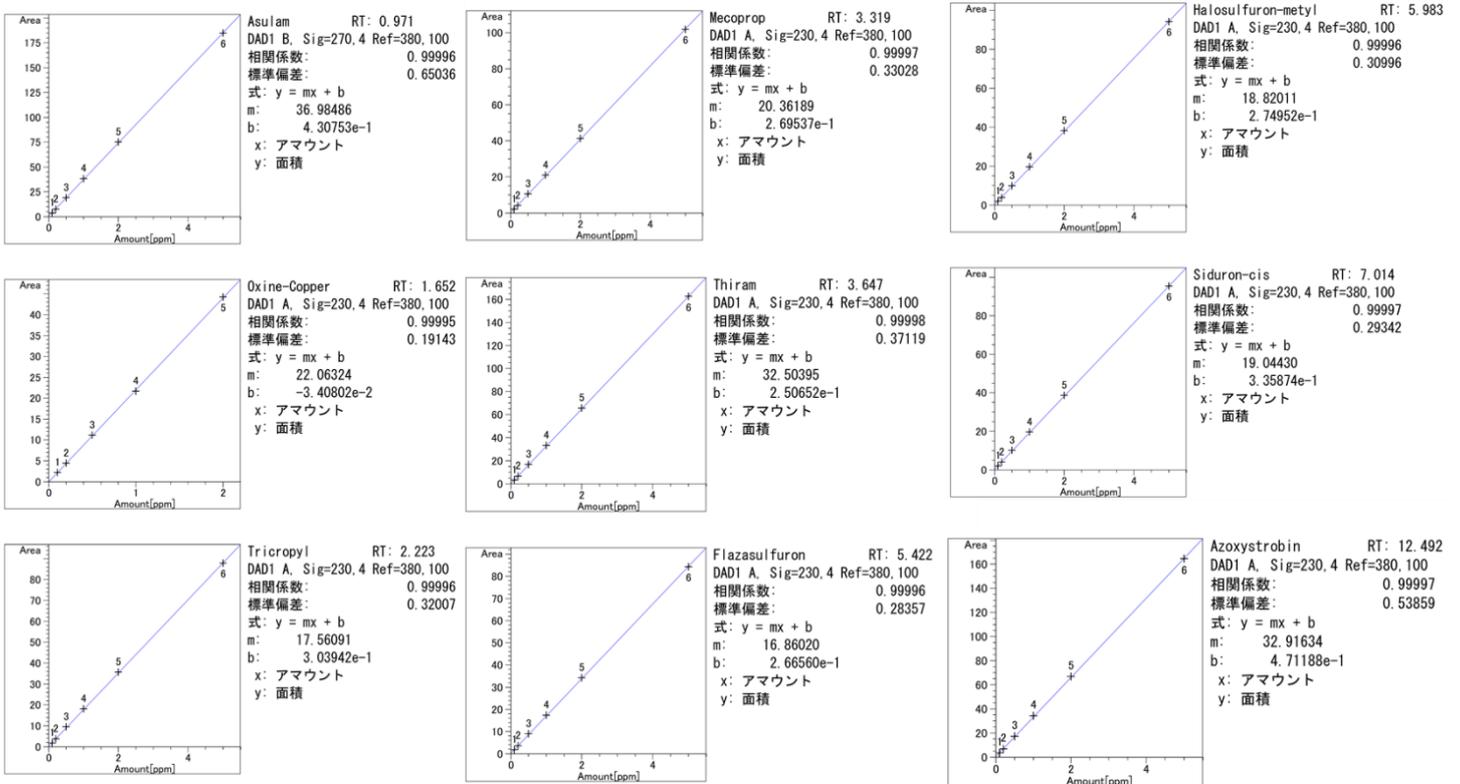


図.3 検量線

<再現性>

表.1に各成分 1 mg/L を 5 μL 注入した際の保持時間、及び、面積再現性 (n=6) を示します。保持時間の再現性は概ね 0.1%。面積再現性は概ね 1.0%以下となり、良好な結果が得られました。

対象成分	No.	1	2	3	4	5	6	平均	標準偏差	RSD (%)
Asulam		0.972	0.972	0.972	0.973	0.973	0.972	0.972	0.000476	0.049
Oxine-Copper		1.628	1.628	1.629	1.630	1.630	1.629	1.629	0.00101	0.062
Tricopyl		2.206	2.206	2.207	2.209	2.209	2.209	2.208	0.00144	0.065
Mecoprop		3.282	3.282	3.284	3.286	3.287	3.288	3.285	0.00246	0.075
Thiram		3.595	3.595	3.597	3.599	3.600	3.601	3.598	0.00258	0.072
Flazasulfuron		5.336	5.341	5.345	5.349	5.349	5.355	5.346	0.00664	0.124
Halosulfuron-metyl		5.905	5.910	5.915	5.920	5.920	5.927	5.916	0.00772	0.130
Siduron-cis		6.879	6.886	6.892	6.899	6.899	6.905	6.893	0.00967	0.140
Siduron-trans		7.550	7.555	7.567	7.574	7.573	7.578	7.566	0.0113	0.149
Azoxystrobin		12.212	12.221	12.237	12.250	12.257	12.272	12.241	0.0228	0.186

表 1-1 保持時間の再現性 (RT [min], n=6)

対象成分	No.	1	2	3	4	5	6	平均	標準偏差	RSD (%)
Asulam		39.036	39.064	39.001	39.079	38.991	38.970	39.024	0.043	0.111
Oxine-Copper		21.640	21.787	21.865	21.383	21.673	21.342	21.615	0.212	0.980
Tricropyl		18.045	18.012	18.081	17.928	17.948	17.931	17.991	0.065	0.359
Mecoprop		20.982	20.889	20.656	20.614	20.945	20.764	20.808	0.154	0.739
Thiram		33.184	33.025	32.665	32.775	33.067	33.064	32.963	0.199	0.603
Flazasulfuron		17.486	17.318	17.363	17.448	17.374	17.372	17.393	0.062	0.354
Halosulfuron-metyl		19.228	19.450	19.419	19.420	19.426	19.316	19.376	0.086	0.446
Siduron-cis		19.564	19.569	19.517	19.617	19.699	19.722	19.615	0.081	0.414
Siduron-trans		6.751	6.780	6.629	6.664	6.709	6.815	6.725	0.071	1.053
Azoxystrobin		33.676	33.465	33.647	33.758	33.589	33.659	33.632	0.098	0.293

表 1-2 ピーク面積の再現性 (Area [mAU*s], n=6)

<各成分の UV 吸収スペクトル>

図.4 に各成分の UV 吸収スペクトル(190 – 400 nm)を示します。

pH によって溶出位置が変わる成分があります。移動相の pH 調製は慎重に行ってください。

また、ダイオードアレイ検出器で UV スペクトルを採取すると同定の際に便利です。

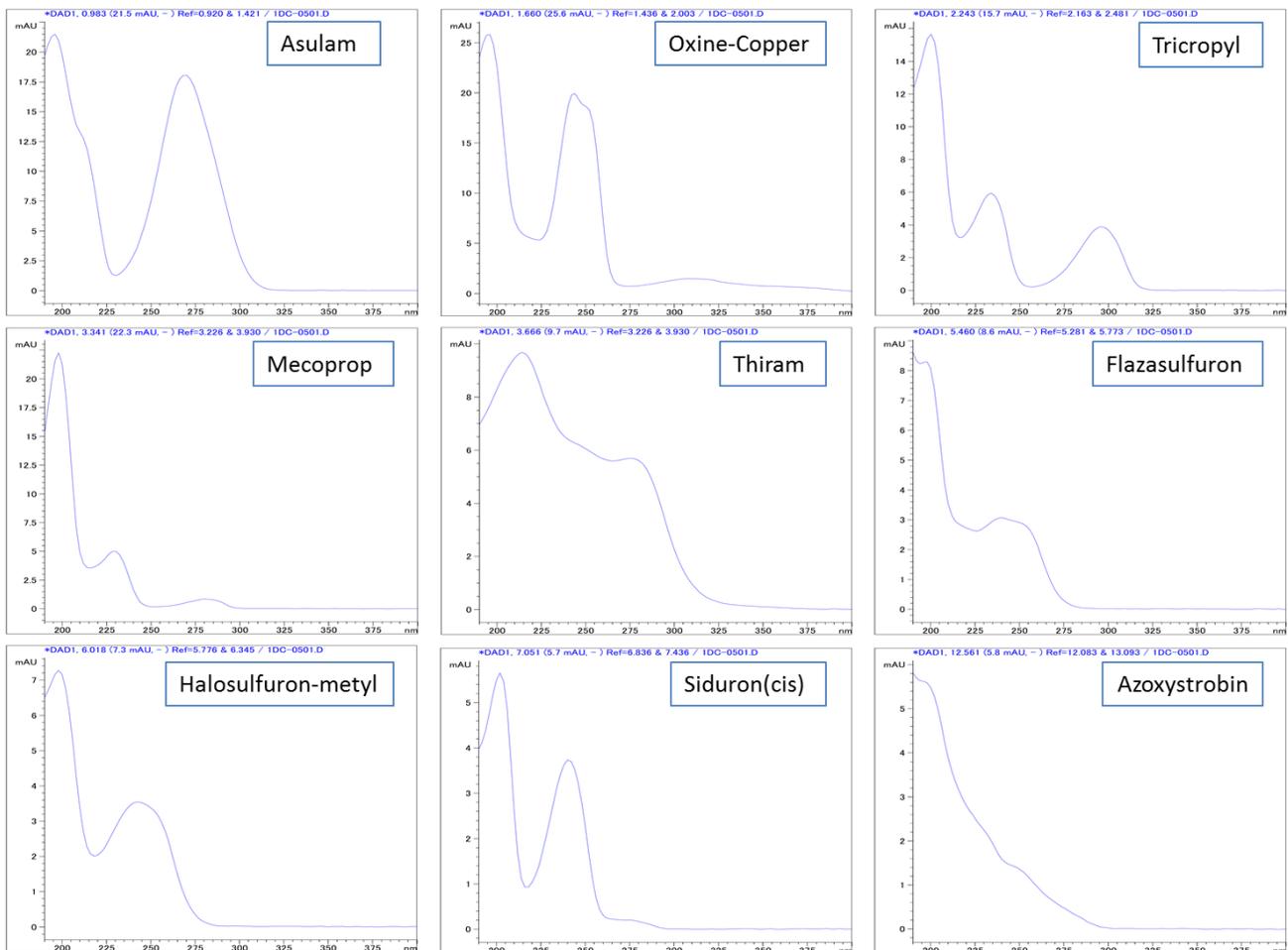


図.4 各成分の UV 吸収スペクトル (190 – 400 nm)

<高速化>

移動相条件を一定にして、流速を上げることによる高速化を検討しました。その結果を図.5 に示します。流速 0.6 ml/min では、最終成分(アジキシトルビン)が約 12.5 min で溶出されますが、流速を 1.0 ml/min まで上げることで、分離度を保ったまま 10 分未満で測定が終了します。高分離能と低圧損を併せ持つ Poroshell カラムを使用しているため、圧力が上限値を超えることはありません。

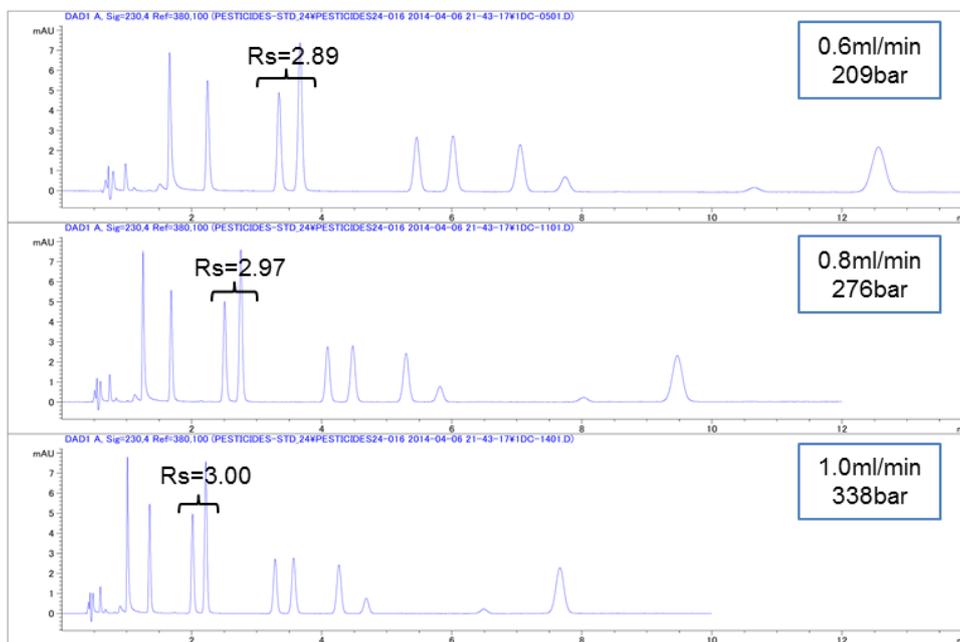


図.5 流速 0.6, 0.8, 1.0ml/min 測定時のクロマトグラム

<ロット間再現性>

ロット間再現性を比較するため、異なるロットの充填剤から作られた 3 本のカラムを用いて、分離係数(選択性)を比較しました。その結果を図.6 に示します。

選択性は固定相と移動相の間の分析対象成分の平衡分布に直接影響するため、ロット間の再現性において適切な測定基準になります。平衡分布は、移動相組成、固定相の性質、および温度の影響を受けますが、移動相組成と温度は一定であるため、分離係数の差異は固定相の違いによるものです。

今回測定した異なる 3 ロットのカラムにおける分離係数(選択性)はほぼ同じ値でした。

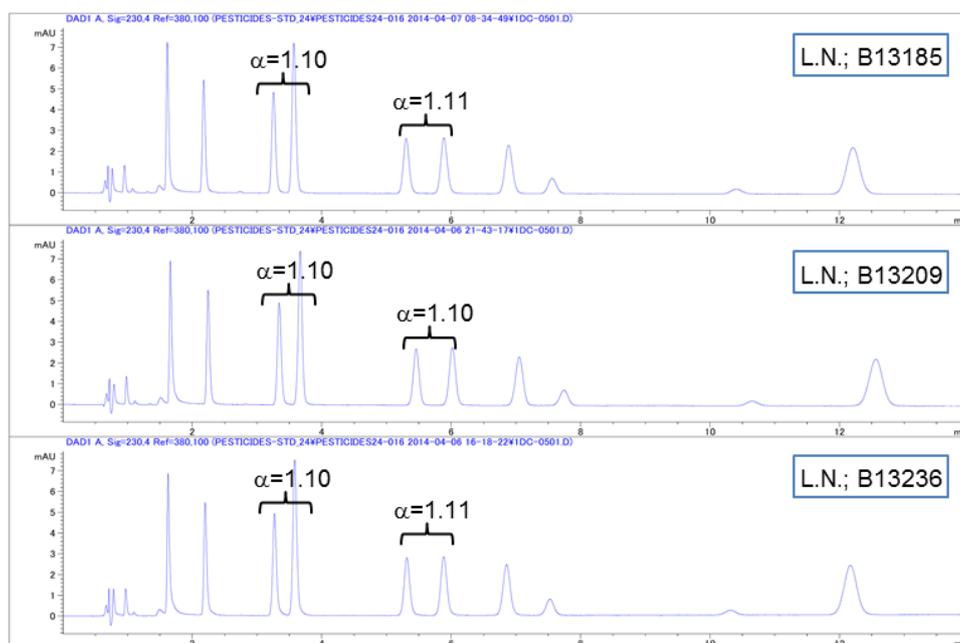


図.6 ロット間再現性

4. まとめ

「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指針」に定められた LC 測定対象農薬 9 種は、Agilent 1260 infinity LC とダイオードアレイ検出器を用いて測定可能です。

このシステムでは、測定感度として規定される各成分 5ng の感度を満たし、その 10 分の 1 にあたる 0.5ng でも定量できます。その際の面積再現性は概ね 1%以下と良好な結果が得られます。

高い分離能と低圧損を併せ持つ Poroshell カラムを使用しているため、流量を上げることで、測定時間を 10 分未満まで短縮することが可能です。

また、LC 測定対象農薬の中には移動相の pH によって溶出位置が変わるものがあります。移動相調製は慎重に行ってください。ダイオードアレイ検出器で UV スペクトルを採取すると、同定の際に便利です。

【LC-201405IB-001】

アジレントは、本文書に誤りが発見された場合、また、本文書の使用により付随的または間接的に生じる障害について一切免責とさせていただきます。
また、本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更することがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社

〒192-8510 東京都八王子市高倉町 9-1
www.agilent.com/chem/jp

