

水道水質基準改正に伴う「農薬類」の分析法検討

(財)島根県環境保健公社

岡本 仁志 石原 正彦 ○園山 雅幸

1. はじめに

2004年4月に施行となった水道水質基準の改正に伴い、農薬成分については、管理目標設定項目において「農薬類」として101種の成分が測定対象となった。農薬類の取り扱いとして総農薬方式が導入され、その評価のため各成分について原則として目標値の1/100値まで測定することとなり、非常に低いオーダーでの定量が要求されることとなった。

分析業務を遂行するにあたり、このような多成分の測定は、分析者にとって非常に大きな負担となる。そのため、効率的かつ定量性の良好な一斉分析法の確立が必要不可欠である。既に示された検査方法においても一斉分析等により効率化を考慮されているが、さらなる効率化も可能と考えられる。また、逆に一斉分析とすることで定量性が低下する成分もある。

そこで今回、農薬類で測定対象となっている各成分について、GC/MSおよびLC/MS一斉分析法の検討、さらに一斉分析において定量性が低下する成分に対する改善を行った。また、個別分析についても改善の検討を行った。

2. 実験

2-1 試薬類

各農薬成分の標準および安定同位体は、和光純薬、林純薬および関東化学の農薬標準品を使用した。また、各種有機溶媒については、和光純薬・残留農薬分析用、HPLC用およびLC/MS用を使用した。

2-2 固相ディスクおよびカートリッジ

GC/MS一斉分析：SDB-XD (ポリマー系) ディスク 住友 3M 社製
LC/MS一斉分析：SDB-XD + AC (活性炭) ディスク 住友 3M 社製
ジクワット分析：MCX (陽イオン交換性) カートリッジ Waters 社製

3. 結果および考察

3-1 固相抽出 GC/MS 一斉分析法 (測定対象 70 成分、安定同位体 11 成分)

本検討における GC/MS 一斉分析法の前処理、装置条件を Fig.1 に示す。また、対象成分についての検出条件、定量下限値および純水を用いた添加回収試験の結果を Table 1 にまとめた。本検討では、安定同位体

GC	: 6890 (Agilent社)
MSD	: 5973N inert (Agilent社)
Column	: HP5-MS 30 m×0.25 mm×0.25 μm (J&W)
Oven	: 60 °C (2 min)→12 °C/min 180 °C (6 min)→ 4.0 °C/min 220 °C (2 min)→10 °C/min 280 °C (6min)
Head Press	: 6 psi (constant flow He 0.9 ml/min)
Injection	: 220 °C, splitless 2 μl/Auto Sampler (Agilent 7683)
Interface	: 280 °C
Det. Temp.	: 230 °C
Ionization	: EI/70 eV

Fig. 1 GC/MS 一斉分析装置条件

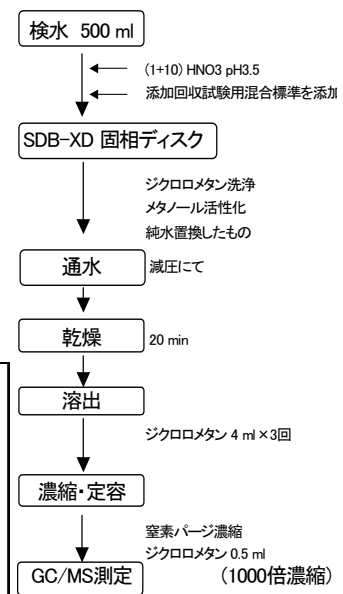


Fig. 2 前処理フロー

Table 1 各成分の検出条件および添加回収試験結果

※注入量 2 μl

農薬成分名	Monitoring Ion			目標値 (mg/L)	定量下限値 (目標値/100) (mg/L)	※定量下限 値 GC/MS 試料濃度 (μg/L)	添加回収試験 / 純水		Rec. %	CV %	測定濃度 (μg/L)	農薬成分名	Monitoring Ion			目標値 (mg/L)	定量下限値 (目標値/100) (mg/L)	※定量下限 値 GC/MS 試料濃度 (μg/L)	添加回収試験 / 純水		Rec. %	CV %	測定濃度 (μg/L)
	RT	TI	QI				n=4	n=4					RT	TI	QI				n=4	n=4			
							定量下限値付近						定量下限値付近		定量下限値付近				定量下限値付近				
1 d_6ジクロロボス	8.53	115	191	***	***	***	92	4.9	200	42	ベンデメタン	21.67	252	281	0.1	0.001	1000	94	3.6	200			
2 ジクロボス (DDVP)	8.57	109	185	0.008	0.00008	80	97	6.6	40	43	シタメトリン	21.77	212	255	0.02	0.0002	200	94	2.3	200			
3 ジクロベニル (DBN)	9.70	171	173	0.01	0.0001	100	81	3.7	100	44	キヤブタン	21.90	79	149	0.3	0.003	3000	89	12.2	200			
4 エトリアノール (エクロメノール)	10.90	211	183	0.004	0.00004	40	124	6.2	40	45	メチルタイムロン	22.02	107	119	0.03	0.0003	300	96	1.4	200			
5 クロキネブ	11.47	191	206	0.05	0.0005	500	93	8.7	200	46	ジズレート	22.16	119	145	0.003	0.00003	30	104	4.3	20			
6 d_6モリネート-d12	11.72	138	199	***	***	***	82	8.7	200	47	イフェンホス	22.27	213	121	0.001	0.00001	10	94	13.2	10			
7 モリネート	11.73	126	187	0.005	0.00005	50	80	7.3	40	48	フェニエト (PAP)	22.37	274	246	0.004	0.00004	40	101	2.9	40			
8 イプロカルブ (MIPC)	11.76	121	136	0.01	0.0001	100	96	4.3	100	49	プロシドン	22.59	283	96	0.09	0.0009	900	95	5.3	200			
9 フェノカルブ (BPMC)	12.48	121	150	0.03	0.0003	300	96	5.1	200	50	メチダチオン (DMTP)	22.91	145	85	0.004	0.00004	40	112	3.6	40			
10 トリフルラリン	13.31	306	264	0.06	0.0006	600	84	7.0	200	51	α -エンドスルファン	23.24	241	195	0.01	0.0001	100	87	12.2	100			
11 ベンフルラリン	13.36	292	276	0.08	0.0008	800	83	7.6	200	52	ナプロキシド	24.11	128	72	0.03	0.0003	300	94	8.3	200			
12 ベンシクロン	13.36	125	180	0.04	0.0004	400	90	4.1	200	53	ブタホス	24.24	286	200	0.01	0.0001	100	97	6.5	100			
13 ジメトエト	14.03	125	87	0.05	0.0005	500	111	10.2	200	54	フルトラネ	24.53	173	145	0.2	0.002	2000	97	6.3	200			
14 d_6シマジン-d10	14.06	211	193	***	***	***	97	12.5	200	55	イプロチオラン (IPT)	24.61	189	118	0.04	0.0004	400	91	3.9	200			
15 シマジン (CAT)	14.18	186	201	0.003	0.00003	30	103	3.6	20	56	フルチクロール	24.89	162	238	0.04	0.0004	400	95	4.6	200			
16 アラジン	14.35	200	215	0.01	0.0001	100	92	4.9	100	57	プロフェジオン	25.40	105	172	0.02	0.0002	200	97	4.1	200			
17 ヒロキロン	14.87	130	144	0.04	0.0004	400	88	4.4	200	58	イキサチオン	25.90	177	105	0.008	0.00008	80	112	11.0	40			
18 プロピザミド	14.94	175	145	0.05	0.0005	500	89	9.1	200	59	β -エンドスルファン	26.09	241	195	0.01	0.0001	100	84	4.2	100			
19 d_6ダイアジン-d10	15.17	183	138	***	***	***	92	10.3	200	60	カルプロキシド	26.19	298	190	0.04	0.0004	400	100	9.8	200			
20 ダイアジン	15.30	137	179	0.005	0.00005	50	99	5.4	40	61	メブロル	27.66	119	269	0.1	0.001	1000	97	5.9	200			
21 エチルチオマン (ジスルホトン)	15.42	274	88	0.004	0.00004	40	79	7.6	40	62	d_6クロルニトロフェン-d4	27.86	323	321	***	***	***	85	4.9	200			
22 クロタニル (TNP)	15.64	266	264	0.05	0.0005	500	97	5.2	200	63	d_6クロルニトロフェン (GNP)	27.92	319	317	0.0001	0.00001	10	81	6.4	10			
23 d_6イプロベホス-d7	16.00	211	98	***	***	***	104	8.4	200	64	エチフェホス (EDDP)	28.26	109	310	0.006	0.00006	60	117	5.1	40			
24 イプロベホス (IEP)	16.08	204	91	0.008	0.00008	80	111	6.0	40	65	プロピコナゾール①	28.90	259	173	0.05	0.0005	500	89	5.3	200			
25 プロモブチド	16.92	119	120	0.04	0.0004	400	100	5.1	200	66	プロピコナゾール②	28.90	259	173	0.05	0.0005	500	89	7.9	200			
26 テルブカルブ (MBPMC)	17.30	205	220	0.02	0.0002	200	98	4.9	200	67	ダイムロン	29.10	107	119	0.8	0.008	8000	98	11.2	200			
27 トリクロホステチル	17.46	265	267	0.2	0.002	2000	97	3.3	200	68	テニクロール	29.40	127	288	0.2	0.002	2000	96	2.9	200			
28 シムトリン	17.46	213	170	0.03	0.0003	300	96	6.0	200	69	ビラチカルブ	31.02	165	108	0.02	0.0002	200	100	3.7	200			
29 アラクロール	17.67	188	160	0.01	0.0001	100	92	4.4	100	70	イロシオン	31.16	314	316	0.3	0.003	3000	113	6.5	200			
30 マラキシル	17.99	206	249	0.05	0.0005	500	95	6.3	200	71	ビラダフェチオン	31.29	340	199	0.002	0.00002	20	100	4.0	20			
31 d_6フェノロチオン-d6	18.65	283	266	***	***	***	111	8.2	200	72	d_6EPN-d6	31.35	174	158	***	***	***	98	7.2	200			
32 フェノロチオン (MEP)	18.77	277	260	0.003	0.00003	30	104	6.4	20	73	EPN	31.43	169	157	0.006	0.00006	60	102	5.8	40			
33 ジチオピル	18.75	354	306	0.008	0.00008	80	95	2.1	40	74	イプロホス	31.76	320	140	0.009	0.00009	9	98	10.2	10			
34 エソプロカルブ	18.95	91	222	0.01	0.0001	100	88	3.8	100	75	ビフェノックス	32.22	341	343	0.02	0.0002	2000	100	10.0	200			
35 プロベナゾール	19.02	130	103	0.05	0.0005	500	100	9.9	200	76	アニコホス	32.29	226	125	0.003	0.00003	30	88	6.9	20			
36 d_6チオベンカルブ-d10	19.10	110	78	***	***	***	95	2.0	200	77	ビプロキシフェン	33.12	136	226	0.02	0.0002	2000	102	1.7	200			
37 チオベンカルブ	19.31	100	72	0.02	0.0002	200	94	3.0	200	78	d_6メフェナセット-d5	33.13	125	153	***	***	***	111	6.3	200			
38 マラリン (マラチオン)	19.50	173	127	0.05	0.0005	500	96	2.8	200	79	メフェナセット	33.16	120	148	0.009	0.00009	90	120	2.6	40			
39 フェンチオン (MFP)	19.83	278	169	0.001	0.00001	10	119	11.4	10	80	カフェンストロール	35.57	100	188	0.008	0.00008	80	139	4.8	40			
40 クロルピリホス	19.95	197	199	0.03	0.0003	300	98	8.4	200	81	エトフェンプロックス	36.48	163	376	0.08	0.0008	800	121	8.5	200			
41 フサライド	20.48	243	241	0.1	0.001	1000	86	3.7	200	82	d_6エスフェンバレレート-d12	37.69	174	127	***	***	***	130	7.3	200			

※定量下限値 GC/MS試料濃度
前処理(1000倍濃縮を考慮した際の、目標値の0.1/100値のGC/MS試料濃度
(クロルニトロフェンについては目標値の0.1/10)

※メフェナセット-d5、エスフェンバレレート-d12
定容時、内部標準として添加

11 種についても同時に検討を行った。目標値の 1/100 値の保証については、クロルニトロフェンを除く全ての成分で十分な感度が得られ (前処理 1000 倍濃縮考慮)、装置内における変動も良好 (ほとんどの成分で CV 5%未満) であった。目標値の 1/100 値を定量下限値とし、その付近または、それを下回る濃度における純水での添加回収試験 (測定濃度は Table 1 参照) を行った。ほとんどの成分で良好な回収率 (80~120%)、CV (20%未満) であり、十分な定量性が得られた。

しかし、一部で低回収・過剰回収な成分があった。

Table 2 低・過剰回収傾向な成分について

Table 2 にそれらの成分についてまとめた。

低回収傾向となる主な要因としては前処理での固相抽出時における挙動によるもので、成分の構造・物性が影響すると考えられる。今回、使用した安定同位体のクロルニトロフェン-d4、モリネート-d12 についても、同様な回収傾向であった。

また、過剰回収傾向であった成分は、後半に保持時間を持つ成分に見られ、過剰回収となる主な要因は注入口におけるマトリックス効果のためだと考えられる。そこで本検討では、メフェナセット-d5 およびエスフェンバレレート-d12 を前処理からではなく、定容時に内部標準として添加し、これらの挙動を検証したところ、同様な傾向が見られ、上述した要因によるものであることが明らかとなった。

低回収・過剰回収傾向を示す成分については、安定同位体を用いた同位体希釈法が有用であるが、このような多成分一斉分析では、使用・入手可能な安定同位体は限られてくる。同位体希釈

低回収傾向な成分	RT	測定濃度		低回収となる主な要因
		回収率 %	(μg/L)	
6 モリネート-d12	11.72	82	200	
7 モリネート	11.73	80	40	光に不安定
10 トリフルラリン	13.31	84	200	光に不安定
11 ベンフルラリン	13.36	83	200	トリフルラリンと類似した構造
41 フサライド	20.48	86	200	
51 α -エンドスルファン	23.24	87	100	
59 β -エンドスルファン	26.09	84	100	六員環に塩素基を有した構造を持つ
62 d_6クロルニトロフェン-d4	27.86	85	200	
63 クロルニトロフェン (GNP)	27.92	81	10	

過剰回収傾向な成分	RT	測定濃度		過剰回収となる主な要因
		回収率 %	(μg/L)	
78 d_6メフェナセット-d5	33.13	111	200	
79 メフェナセット	33.16	120	40	検量線の直線性が悪く、注入口でのマトリックス効果の影響を受ける成分
80 カフェンストロール	35.57	139	40	
81 エトフェンプロックス	36.48	121	200	
82 d_6エスフェンバレレート-d12	37.69	130	200	

法は、本来その対象成分に対しての前処理妥当性の評価または定量値の補正に効力を発揮する。本検討における結果より、安定同位体をその対象成分以外の成分についても、構造・物性による前処理または装置上における挙動の類似等から適用することで、定量性の向上を図ることが可能ではないかと考えられる。

3-2 固相抽出 LC/MS 一斉分析法 (測定対象農薬 28 成分、安定同位体 4 成分)

公定法では、個別の前処理法が規定されているアセフェート、また GC/MS 一斉分析法では測定が困難なトリクロロホンについても本一斉分析法に加え、効率化を図った。前処理および装置条件を Fig. 3 および Fig. 4 に示す。固相抽出の際、水溶性の非常に高いアセフェートを保持させるため、ポリマー系の固相とさらに活性炭の固相を重ねて使用することとし (上層:ポリマーディスク、下層:活性炭ディスク)、一斉分析を可能とした。

各成分の検出条件および純水を用いた添加回収試験の結果をそれぞれ Table 3 に示す。全成分目標値の 1/100 値の定量に十分な装置上での感度が得られ、装置内 CV も良好であった (全成分 5% 未満)。添加回収試験結果については、すべての成分で良好な回収率、CV が得られた。

Table 3 LC/MS 一斉分析法における各成分の検出条件および添加回

農薬名	R.T	mode	Monitoring Ion	目標値 (mg/L)	目標値/100 (定量下限値) (mg/L)	定量下限値 LC/MS 試料として (ug/L)	添加回収試験 / 純水 (n=4)		
							Rec. %	CV %	測定濃度 (ug/L)
1 オキシジメチル	6.37	ESI(+)	146	0.04	0.0004	200	92	6.9	200
2 <d>アセフェート-d6	6.60	ESI(+)	190	***	***	***	91	5.3	200
3 アセフェート	6.65	ESI(+)	184	0.08	0.0008	400	93	5.4	400
4 MBC	7.22	ESI(+)	192	0.02	0.0002	100	97	3.2	100
5 アシララム	8.53	ESI(+)	231	0.2	0.002	1000	80	4.5	400
6 メソミル	8.85	ESI(+)	163	0.03	0.0003	150	87	7.3	100
7 <d>トリクロロホン-d6	9.87	ESI(+)	263	***	***	***	92	3.1	200
8 トリクロロホン	9.90	ESI(+)	257	0.03	0.0003	150	93	3.3	100
9 トリシクロゾール	11.27	ESI(+)	190	0.08	0.0008	400	93	2.6	400
10 チオジカルブ	18.20	ESI(+)	355	0.08	0.0008	400	93	2.2	400
11 カルボフラン	18.33	ESI(+)	222	0.005	0.00005	25	84	1.3	20
12 <d>カルバリル-d7	20.20	ESI(+)	209	***	***	***	89	2.9	200
13 カルバリル	20.53	ESI(+)	202	0.05	0.0005	250	88	1.1	200
14 <d>ペンタゾン-d7	20.60	ESI(-)	246	***	***	***	85	6.6	200
15 ペンタゾン	20.67	ESI(-)	239	0.2	0.002	1000	94	0.6	400
16 チウラム	20.80	ESI(+)	241	0.02	0.0002	100	80	4.8	100
17 ジウロン	23.03	ESI(+)	233	0.02	0.0002	100	94	2.3	100
18 2,4-D	23.20	ESI(-)	219	0.03	0.0003	150	89	2.3	100
19 トリクロピル	25.63	ESI(-)	196	0.006	0.00006	30	94	4.9	20
20 ベンスルフロメチル	26.47	ESI(+)	411	0.4	0.004	2000	89	0.6	400
21 フラザスルフロ	26.95	ESI(+)	408	0.03	0.0003	150	88	3.3	100
22 MCPP	27.37	ESI(-)	213	0.005	0.00005	25	84	3.1	20
23 シデュロン	27.93	ESI(+)	233	0.3	0.003	1500	94	4.2	400
24 アゾキシストロピン	29.98	ESI(+)	404	0.5	0.005	2500	88	1.8	400
25 ハロスルフロメチル	30.02	ESI(+)	435	0.3	0.003	1500	97	1.3	400
26 ダイムロン	30.22	ESI(+)	269	0.8	0.008	4000	90	3.1	400
27 イプロジオン	31.23	ESI(+)	330	0.3	0.003	1500	90	4.3	2000
28 カルブドバミド	32.45	ESI(+)	334	0.04	0.0004	200	90	3.6	100
29 SAP	32.47	ESI(+)	356	0.1	0.001	500	91	2.9	400
30 チオファネートメチル				0.3	0.003	1500			* MBCとして測定
31 ベノミル				0.02	0.0002	100			* MBCとして測定
32 ベンフラカルブ				0.04	0.0004	200			* カルボフランとして測定

※注入力量 5ul

Instrument	: LCMS-2010A (Shimadzu)
Column	: L-Column ODS (2.1mm × 150 mm, 5um)
Mobile Phase	: A water containing 0.1% formic acid : B acetonitrile
Gradient	: 0% B - 30% B (6 min) - 95% B (30 - 40min)
Flow rate	: 0.2 ml/min
Injection	: 5 ul
Ionization	: ESI(+), ESI(-)
Interface	: 4.5 kV
CDL Temp.	: 200 °C
Heat block Temp.	: 250 °C
Drying gass (N2)	: 0.2 MPa
Nebulizer gass	: 1.5 ml/min

Fig. 3 LC/MS 分析条件

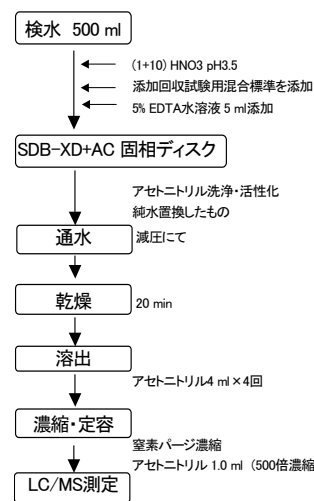


Fig. 4 前処理フロー

今回、さらに 4 成分の安定同位体 (Table 3 参照) についても同様に検討した。対象農薬成分とクロマト的な分離は困難であったが、質量数が重なることなく検出でき、本分析条件では使用可能であった。実試料測定の際、これらの安定同位体により前処理の妥当性の判断が可能であり、今後、さらに入手可能な安定同位体を追加し、各成分について定量性の向上を図っていきたい。

3-3 ダラポン LC/MS 直接導入法 (ホセチルとの同時分析)

ダラポンは公定法では LC/MS 一斉分析法に挙げられているが、当成分は陰イオン性を有する化合物で上述の分析前処理では、安定した回収が得られなかった。pH 調整による解離の抑制、または、イオン交換性の固相を用い、個別に前処理 (濃縮) することで測定可能であると考えられるが、本検討では効率面を重視し、同様に陰イオン性を示すホセチルとの同時分析 (LC/MS 直接導入) を行うこととした。移動相に 5 mM 酢酸ジブチルアンモニウム (イオンペア剤) 含有 0.1%ギ酸を用い、試料注入量を 100 ul とした。両成分について、目標値の 1/100 値の定量が可能で (ホセチル 0.02 mg/l ダラポン 0.0008 mg/l) あった。

3-4 ジクワット 固相抽出-HPLC 法

ジクワットは、陽イオン性の化合物であり、公定法では試料の pH を 10.5 に調整し、対象成分のイオン性を消失させ、ODS 系の固相により抽出することとなっているが、十分な回収が得られなかった。

そこで本検討では、検液の pH 調整を行わず、逆相系陽イオン交換の固相カートリッジを用いて固相抽出を試みた。添加回収試験では良好な回収が得られた。前処理フローおよび添加回収結果を Fig.5 に示す。HPLC 条件は公定法に準拠し注入量を 50 ul とした。本分析法では、目標値の 1/10 値での定量が可能 (ジクワット 0.0005 mg/l、HPLC 上 0.025 mg/l) であった。

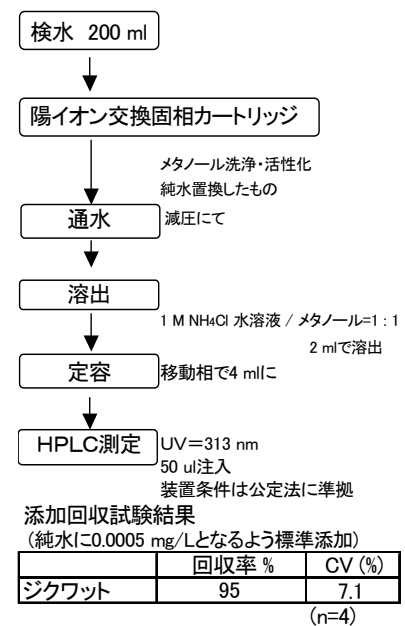


Fig. 5 ジクワットの前処理フローおよび添加回収試験結果

3-5 ポリカーバメート メチル誘導体化-LC/MS 測定

公定法では、LC/MS 直接導入法となっているが、実際、直接導入を行ったところ対象成分のピークが確認できなかった。そこで、「ゴルフ場で使用される農薬による水質汚濁防止に係る暫定指導指針」における当農薬成分の測定方法を参考に、アルカリ EDTA 分解-メチル誘導体化を行った。LC/MS で測定したところ、当成分のメチル誘導体化された成分 (ジメチルジチオカルバメートメチル) のピークの検出が可能で、目標値の 1/10 値での測定が可能であった。

4 まとめ

水質管理目標設定項目「農薬類」の分析法について各成分の分析法の検討を行った。本検討において、安定同位体を用いた、定量精度の高い GC/MS および LC/MS 一斉分析法が確立できた。また、示された検査方法では、十分な定量性が確保できなかった成分について改善を行った結果、これらの成分の測定が可能となった。

なお、その他の成分については、示された検査方法により測定可能であり、現在、農薬全 101 成分について厚生労働省の示した定量下限参考値を満たしている。今後、前処理の工夫・検討、LC/MS の活用等により定量精度を確保、向上させつつ、さらなる効率化を図っていく考えである。