

相対定量法を用いた GC/MS 迅速スクリーニング法の検討 および水道水質農薬分析への適用

財団法人 島根県環境保健公社
○園山 雅幸 石原 正彦 岡本仁志

1 はじめに

水道水質基準の改正による測定対象農薬成分の増加、また食品では残留農薬ポジティブリスト制の導入等により、GC/MS による測定を行う場合、従来の SIM 法ではモニタリング成分数に制約があり一斉分析が困難となりつつある。これらの背景から Scan 法によるスクリーニングを行う手法が試みられるようになり、Scan 法による定性および定量を目的とした GC/MS 解析ソフトウェアが開発されている。これらのソフトウェアは、農薬成分をはじめ多種の有機化合物についての保持時間、マススペクトルおよび検量線に関する情報がデータベース化されており、迅速なモニタリングを支援することができる。

このような解析ソフトウェアを適用できれば、緊急時においてより迅速な農薬成分測定が可能になるのではないかと考えられる。そこで本検討ではこのような解析ソフトウェアの有用性および定量性について水道水質農薬成分を用いてその検証を行った。

2 実験結果及び考察

2-1 ソフトウェア概要および適用目的

本検討で使用した GC/MS 解析ソフトウェア (NAGINATA ; 西川計測) の概要を Fig. 1 に示す。精密チューニングおよびチェックサンプル測定により、装置のパフォーマンスを一定レベルに維持・管理し、リテンションタイムロッキングした GC メソッドにより測定を行う。ソフトウェアには、同一条件で測定した各化合物についてのデータベースが備わっており、解析処理を実行することで、迅速な定性処理が可能となる。さらにデータベースには各化合物について内部標準法による検量線が登録されている。よって内部標準を添加し試料測定を行うことにより、その試料における検出化合物と内部標準の強度比から化合物の定量 (相対定量) を行うことができる。

そのため定量にあたっては、従来のような標準試料の調製・測定および

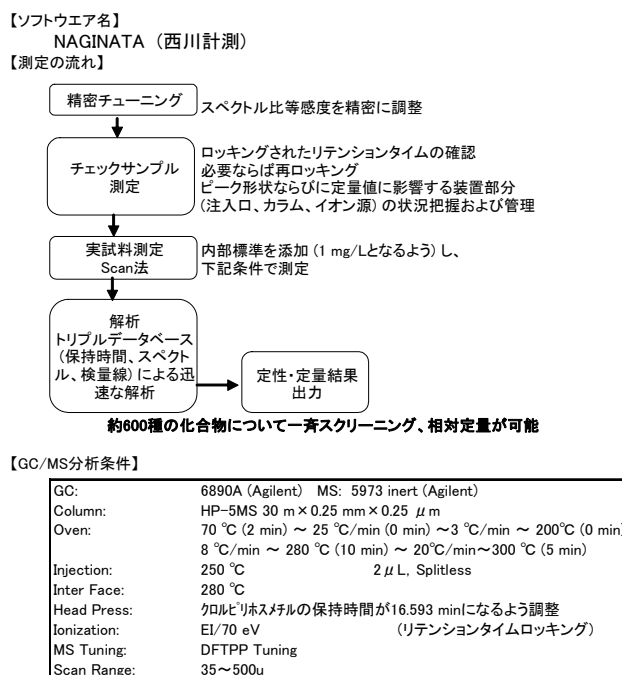


Fig. 1 ソフトウェア概要および分析条件

解析による検量線の作成を必要とせず大幅な測定時間の短縮が可能となる。

そこで、農薬流出等の緊急対応時における迅速なスクリーニング法および定量法として、本ソフトウェアが適用できれば、非常に有用な手法となり得ると考えられる。本検討では、水質農薬成分分

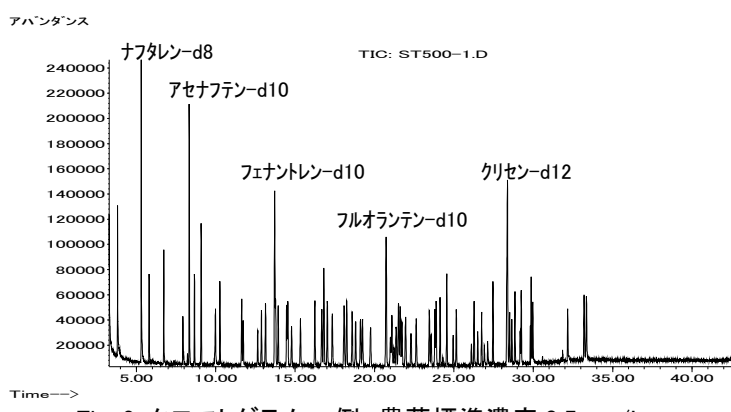


Fig. 2 クロマトグラム一例 農薬標準濃度 0.5 mg/L、内部標準 1.0 mg/L、2 μ L 注入

析について本法を適用し、その再現性および定量性を検証することとした。

2-2 水道水質農薬分析における本分析メソッドの定量性検証

GC/MS 一斉分析法に挙げられた水道水質農薬において本検討で測定対象とした 67 成分について Table 1 にその詳細を示す。また、本分析条件におけるクロマトを Fig. 2 に示す。

Scan 法による本分析条件における検出感度については、クロロニトロフェンを除く全ての成分について、設定目標値の 1/10 値付近での測定が可能であり(前処理 1000 倍濃縮として)、緊急時のスクリーニングとしては十分な感度であった。また、ほとんどの成分で目標値の 1/100 値までの検出が可能であったが、一部の成分については十分な感度が得られず、総農薬として分析を行う際は、これらについては SIM 法の併用が必要であった。

混合標準試料を用いて、再現性および定量性の測定を行った結果について Table 1 にまとめる。低濃度では、やや再現性が低下するものの、ほとんどの成分で実用上十分な定量性(設定値 \pm 20%以内)および再現性(CV 10%未満)が得られた。

続いて、実サンプルの測定を想定し、実試料(水道原水)を前処理(固相ディスクによる前処理) 1000 倍濃縮したものに混合標準をスパイクし、再現性および定量性の検証を行った。結果を Table 1 に示す。設定値よりも、定量値がやや高値になる成分、上述の標準試料による試験と比較して再現性が低下する成分もあったが、ほとんどの成分で良好な結果が得られ、前処理濃縮後の夾雑成分を含む実試料についても充分適用可能であると判断できた。また、水道水を対象とした場合についても同様な結果が得られている。

一部、定量性の低下する成分としては、カラムとの相性が好ましくない成分、あるいはマトリクス効果の影響を受けやすい成分であった。チェックサンプルを用いてあらかじめ装置のコンディションが一定レベルに管理できている状況にあっても、上述した成分については、わずかな装置状態の変化で夾雑成分の影響をより顕著に受け定量値が高値に、あるいは再現性が低下したものと考えられる。

しかし、このような傾向は、従来の検量線による定量においても見られる。実試料では、試料により夾雑成分が異なるため、これらの影響を把握するためには、定量に使用する内

Table 1 測定対象成分と定量性検証結果

農薬成分名	R.T	定量 イオン	目標値 (mg/L)	標準試料						実試料(水道原水)濃縮液(1000倍)に 標準試料をスパイク					
				50 μ g/L		100 μ g/L		500 μ g/L		50 μ g/L		100 μ g/L		500 μ g/L	
				Ave. (n=4)	CV(%)	Ave. (n=4)	CV(%)	Ave. (n=4)	CV(%)	Ave. (n=4)	CV(%)	Ave. (n=4)	CV(%)	Ave. (n=4)	CV(%)
IS1 <IS>ナフタレン-d8	5.3	136	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	
1 ジクロロポス (DDVP)	5.8	185	0.008	49	5.4	110	1.7	561	1.7	56	6.7	106	6.8	577	3.1
2 ジクロベニル (DBN)	6.7	171	0.01	62	4.7	114	3.0	546	1.3	55	3.9	109	4.4	570	2.5
3 エトリジアゾール	8.0	211	0.004	50	8.8	95	6.5	471	2.3	51	15.8	93	7.4	552	6.3
IS2 <IS>アセナフテン-d10	8.3	164	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
4 クロネブ	8.7	191	0.05	56	3.5	103	6.6	476	1.8	49	7.5	95	6.3	497	2.5
5 モリネート	9.1	126	0.005	53	5.6	105	3.2	508	2.1	44	5.2	89	4.7	473	0.8
6 イソプロカルブ (MIPC)	9.1	121	0.01	52	1.9	101	2.8	525	0.8	46	5.3	95	3.0	519	2.3
7 フェノカルブ (BPMC)	10.3	121	0.03	54	8.1	97	4.7	496	1.8	45	5.5	93	6.2	505	2.0
8 ベンシクロン	11.6	125	0.04	81	5.3	126	2.7	628	2.0	69	8.9	140	10.4	820	4.8
9 トリフルラリン	11.7	306	0.06	45	15.6	74	3.1	411	2.7	40	14.4	89	14.4	536	2.6
10 ベンフルラリン	11.7	292	0.08	36	5.3	66	5.4	406	1.8	33	7.6	77	7.1	496	1.3
11 ジメトエート	12.7	125	0.05	47	4.6	84	11.5	470	4.0	40	11.4	93	13.9	487	4.2
12 シマジン (CAT)	12.9	201	0.003	51	7.0	84	4.3	440	1.1	44	9.4	90	4.3	487	4.7
13 アトラジン	13.1	200	0.01	46	8.4	87	5.8	455	2.9	46	9.1	91	14.5	482	1.9
IS3 <IS>フェナントレン-d10	13.7	188	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
14 ピロキロン	13.8	173	0.04	52	1.2	101	4.0	540	2.4	51	2.6	104	3.4	571	2.6
15 プロピザミド	13.9	173	0.05	55	11.2	96	6.5	590	1.6	52	6.8	113	10.1	638	1.5
16 ダイアジノン	14.5	179	0.005	52	14.0	95	4.7	528	2.4	50	7.9	104	12.5	570	1.7
17 エチルチオメトン	14.5	88	0.004	70	12.5	132	4.7	727	0.9	63	29.0	128	18.1	726	6.0
18 クロタロニル (TPN)	14.8	266	0.05	39	19.3	104	6.0	582	1.7	46	8.2	93	3.2	459	6.7
19 イプロベンホス (IBP)	15.3	204	0.008	51	10.3	73	3.8	440	2.0	47	9.0	101	2.8	617	1.5
20 プロモブチド	16.2	119	0.04	60	5.6	113	1.1	623	1.9	57	9.8	120	6.3	655	1.6
21 テルブカルブ (MBPMC)	16.7	205	0.02	47	6.2	76	1.6	431	1.7	43	5.0	90	3.9	497	1.3
22 トリクロホスメチル	16.8	265	0.2	51	2.2	92	2.9	489	2.1	45	4.1	92	1.5	509	2.0
23 シメトリン	16.8	213	0.03	46	2.1	80	2.7	471	1.6	44	12.2	99	9.5	529	2.6
24 アラクロール	17.0	160	0.01	55	5.5	102	8.4	549	2.9	53	5.4	109	13.5	570	1.1
25 メタラキシル	17.3	206	0.05	49	11.5	83	4.4	448	3.1	48	9.2	88	10.5	508	3.2
26 フェニトロチオン (MEP)	18.1	277	0.003	45	14.3	74	12.8	418	3.0	32	35.0	81	8.0	484	1.9
27 ジチオビル	18.1	354	0.008	43	10.0	79	1.9	430	2.5	43	12.5	87	7.6	470	4.3
28 エスプロカルブ	18.2	222	0.01	43	6.9	85	11.0	478	1.1	39	11.8	84	6.5	473	2.7
29 チオベンカルブ	18.6	100	0.02	47	3.2	99	3.1	549	0.5	45	4.1	91	5.5	524	2.4
30 マラソン (マラチオン)	18.8	173	0.05	47	10.3	90	5.0	560	1.3	44	12.1	90	6.6	578	2.4
31 フェンチオン (MPP)	19.1	278	0.001	49	11.1	90	5.3	490	2.4	46	5.3	86	2.2	521	1.8
32 クロピリホス	19.7	314	0.03	58	8.2	118	7.6	550	2.2	52	16.8	104	13.0	543	5.5
33 フサライド	20.5	243	0.1	55	7.7	102	8.3	555	2.0	50	4.8	100	3.2	560	0.3
IS4 <IS>フルオランテン-d10	20.7	212	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
34 ベンディメタリン	21.0	252	0.1	37	7.4	71	7.4	443	3.5	31	8.7	78	14.5	522	3.6
35 ジメタメトリン	21.1	212	0.02	48	4.3	88	6.1	573	1.9	45	8.5	101	3.8	606	1.1
36 キャプタン	21.2	79	0.3	38	5.7	63	7.7	432	2.1	32	0.4	61	7.1	426	4.4
37 メチルタイムロン	21.4	107	0.03	46	4.5	96	2.9	578	1.8	41	2.3	88	4.5	481	12.5
38 ジメピレート	21.5	119	0.003	51	3.3	112	7.1	660	0.3	47	4.5	101	2.1	619	0.4
39 イソフェンホス	21.6	213	0.001	43	9.4	89	7.4	513	2.6	39	10.4	87	8.6	521	2.5
40 フェニトエート (PAP)	21.7	274	0.004	44	3.6	87	4.7	530	4.6	41	11.9	85	1.2	526	2.9
41 プロシモジン	21.9	283	0.09	55	9.9	101	6.9	501	5.3	44	13.8	100	5.9	505	2.9
42 メチダチオン (DMTP)	22.3	145	0.004	49	1.6	97	5.3	606	1.0	46	15.6	85	6.1	552	1.5
43 α -エンドスルファン	22.6	241	0.01	64	12.1	106	8.7	490	9.9	52	16.9	103	7.8	514	5.6
44 ナプロバミド	23.4	128	0.03	51	9.0	101	5.1	617	2.5	51	11.6	109	5.8	621	0.9
45 プタミホス	23.6	286	0.01	38	10.0	72	9.3	425	3.0	39	23.3	75	13.9	531	4.5
46 フルトラニル	23.8	173	0.2	46	2.0	90	2.6	614	1.8	46	25.1	109	3.8	665	1.1
47 イソプロチオラン (IPT)	23.9	118	0.04	49	4.5	101	4.5	645	1.9	47	10.5	99	5.3	576	1.0
48 プレチラクロール	24.1	162	0.04	50	5.1	95	4.7	570	3.0	49	3.7	98	6.1	572	2.8
49 ププロフェジン	24.5	172	0.02	54	5.5	104	9.2	591	1.7	47	14.6	109	9.2	580	2.0
50 イソキサチオン	25.0	105	0.008	42	9.1	69	3.0	433	2.4	38	22.0	79	6.1	413	0.7
51 β -エンドスルファン	25.1	195	0.01	63	7.8	129	3.1	568	2.5	54	27.7	117	14.8	585	2.1
52 メプロニル	26.3	119	0.1	47	8.8	90	5.2	612	0.4	52	15.2	119	8.4	766	2.2
53 クロニトロフェン (CNP)	26.5	317	0.0001	57	2.8	89	3.7	513	5.3	51	6.1	95	7.0	667	6.4
54 エディフェンホス (EDDP)	26.7	173	0.006	41	6.4	78	5.1	512	2.0	44	12.1	89	7.1	603	2.5
55-1 プロピコナゾール①	26.9	173	0.05	61	6.3	114	9.9	554	3.8	52	16.1	123	6.3	744	9.1
55-2 プロピコナゾール②	27.1	173	0.05	51	2.1	93	9.6	560	2.8	56	13.5	109	14.2	708	4.3
56 テニルクロール	27.5	127	0.2	56	4.6	108	4.0	660	1.1	52	5.2	114	6.5	685	3.0
57 ピリプチカルブ	28.3	165	0.02	40	8.4	73	5.5	533	1.7	38	7.6	96	7.3	652	2.3
IS4 <IS>クリセチン-d12	28.4	240	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
58 イプロジオン	28.4	314	0.3	47	11.6	82	11.1	471	3.3	53	7.1	103	13.0	539	5.3
59 ピリダフェンチオン	28.5	199	0.002	46	4.7	75	5.3	541	1.2	42	15.4	91	14.5	662	5.5
60 EPN	28.7	157	0.006	53	13.5	94	3.6	674	0.7	45	4.3	98	15.4	757	3.3
61 ビペロホス	28.8	320	0.0009	47	14.4	76	8.3	506	1.6	46	10.3	99	4.6	666	2.5
62 ビフェノックス	29.2	341	0.2	49	25.4	92	7.3	522	4.7	45	10.9	95	6.5	672	5.2
63 アニロホス	29.2	226	0.003	37	9.0	71	8.8	481	1.6	32	7.5	86	21.8	467	2.9
64 ピリプロキシフェン	29.9	136	0.2	45	7.7	91	2.4	578	2.4	48	3.6	115	13.5	652	1.3
65 メフェナセト	30.0	192	0.009	42	3.7	76	4.2	502	2.3	40	8.3	91	4.9	602	3.9
66 カフェンストロール	32.2	100	0.008	42	5.6	83	2.0	543	0.5	46	9.8	107	7.4	632	3.4
67 エトフェンブロックス	33.2	163	0.08	46	5.2	94	2.4	558	2.6	52	6.9	129	9.1	736	1.0

部標準に加えてさらに農薬成分と同様の挙動を示す安定同位体を使用することで、マトリクスの影響および更なる装置のコンディションの把握ができ、精度の向上を図ることができると考えられる。このことについては、既報のとおりであり、本法においても有用である結果が得られている。

2-3 実試料への適用例

上述の実験結果より本法が、実試料測定においても標準試料を用いることなく、スクリーニングとしては、十分な定量性が得られると判断することができた。

そこで実試料測定に本法を適用し、その結果を、従来のSIM法（検量線作成、内部標準法により定量）による定量値と比較した。結果および概要をFig.3に示す。

本法では、低濃度のビフェノックスを除きSIM法で検出された農薬成分を見落とすことなく全て同定できた。

ビフェノックスについては、Scan法では感度が不足していたため、検出できなかった。定量値については、本法により得られた定量値は、従来法の±30%の範囲に入り、スクリーニングとしては実用上十分な定量結果が得られた。

【実試料の測定】

試料： 代掻き後の水田周辺の用水路より採取した試料
 前処理方法： 固相抽出法（ディスクタイプの固相を使用）により1000倍濃縮とした。
 測定方法： ①Scan法による試料測定を行い、ソフトウェアにより解析。検出した成分は、内部標準法によりデータベースをもとに定量
 ②SIM法により標準試料の測定を行い検量線を作成後、試料測定を行い、内部標準法により定量

【分析結果】

検出農薬名	測定法①			測定法②	
	GC/MS上 定量値 ($\mu\text{g/L}$)	水試料として (mg/L)	測定法② に対して	GC/MS上 定量値 ($\mu\text{g/L}$)	水試料として (mg/L)
ピロキロン	52	0.00005	+17%	43	0.00004
イソプロチオラン	95	0.00009	+13%	83	0.00008
プレチラクロール	194	0.00019	+13%	168	0.00017
ピリプチカルブ	19	0.00002	-26%	24	0.00002
ビフェノックス※	***	***	***	15	0.00001

※ビフェノックスについては、Scan法では十分な感度が得られなかったためSIM法による測定で検出を確認
 (ビフェノックス 目標値 0.2 mg/L)

Fig. 3 測定対象成分と定量性検証結果

3 まとめ及び今後の展望

Scan法およびGC/MS解析ソフトウェアを用いた際の定性能力・定量性について、水道水質農薬67成分を用いて検証を行ったところ、実用上十分な結果が得られた。このことより、緊急時のスクリーニングにおいて、標準試料を用いることなく農薬の検出、さらに定量においては、試料濃度に対し0.5~2.0倍の範囲で濃度把握が行え、迅速な対応が可能となる。

最終的な定量値（報告値）を得るには、やはり標準試料を用いた定量を行うこととなるが、本法を用いることで検出成分およびその濃度範囲の事前把握ができるため、その後の定量試験にあたり的確なアプローチが可能となるものと考えられる。

また、本ソフトウェアには、農薬成分以外にも多種多様の有機化合物がデータベース化されており、測定試料中の成分の包括的な把握が行える。今回、検証した成分以外についても検討を行い、本法の適用範囲をさらに広げていく考えである。

