

## 水質管理目標設定項目15農薬類のLC-MSによる一斉分析(別添方法16,17)

Simultaneous Analysis of Pesticides using LC-MS (extra attached method 16,17)

厚生労働省は平成15年10月10日付けで「水質基準に関する省令の制定及び水道法施行規則の一部改正などについて」(健水発第1010001号)を公示しました。これには水質管理目標設定項目の検査方法が示されています。

水質管理目標設定項目15農薬類として101種の農薬が設定されていますが、LC-MS法が採用されている分析法は別添方法16から19の4法で、別添方法16のみ27成分(分解生成物を入れ28成分)一斉分析、17はアセフェート、18はホセチル、19はポリカーバメートの個別分析となっています。

農薬類分析結果は総農薬方式を採用している関係から、原則として目標値の1/100濃度の測定が必要となります。また、分析するにあたり、別添方法16は逆相系樹脂固相

カラム、別添方法17は活性炭固相カラムによる500倍濃縮を行うよう記載されていますが、アセフェートは別添方法16に示された28成分と同一のLC-MS条件で検出されるため、ここではジビニルベンゼン-*N*-ビニルピロリドン共重合体固相カラムと活性炭固相カラムを連結して前処理濃縮を行った農薬29成分のLC-MS一斉分析結果を紹介いたします。

今回は、検水としてイオン交換水(milli-Q Gradient)、河川水、水道水を使用し、各々の農薬について目標値の1/100濃度になるように添加し、添加回収率を求めました。Table1に、今回の測定に使用したイオン化モード、農薬番号、農薬名、モニターイオン( $m/z$ )、水質管理目標値(mg/L)を示します。

M.Kobayashi, K.Arakawa

Table 1 別添方法16,17 農薬リスト  
List of pesticides

イオン化モード	番号	農薬名	モニターイオン( $m/z$ )	目標値(mg/L)
ポジティブ	1	チウラム	241	0.02
	18	カルボフラン	222	0.005
	21	アセフェート	184	0.08
	26	イプロジオン	330	0.3
	28	オキシ銅	146	0.04
	36	アシュラム	231	0.2
	42	ベンスリド	356	0.1
	48	カルバリル	202	0.05
	55	チオファネートメチル	343	0.3
	58	カルプロバシド	334	0.04
	68	ジウロン	233	0.02
	74	メソミル	163	0.03
	75	ベノミル	291	0.02
	76	ベンフラカルブ	411	0.04
	82	プロベナゾール	224	0.05
	86	ベンスルフロンメチル	411	0.4
	87	トリシクラゾール	190	0.08
	90	アゾキシストロピン	404	0.5
	95	フラザスルフロン	408	0.03
	96	チオジカルブ	355	0.08
98	シデュロン-A	233	0.3	
98	シデュロン-B	233	0.3	
	—	メチル-2-ベンツイミダゾールカルバメート(MBC)ベノミルの分解物	192	—
ネガティブ	17	ベンタゾン	239	0.2
	19	2,4-D	219	0.03
	20	トリクロピル	196	0.006
	45	メコプロップ	213	0.005
	64	ダラボン	141	0.08
	84	ダイムロン	313	0.8
	94	ハロスルフロンメチル	433	0.3

### 分析概要

#### Experiments

検水500mLにEDTA-2Na・2H<sub>2</sub>Oを0.25g加え、硝酸(1+10)でpH3.5に調整した後、それぞれ活性化処理を行ったジビニルベンゼン-*N*-ビニルピロリドン共重合体固相カラムと活性炭固相カラムに通液します。それぞれの固相カラムを乾燥し、ジビニルベンゼン-*N*-ビニルピロリドン共重合体固相カラムは5mLのアセトニトリルで、活性炭固相カラムは5mLのメタノールでバックフラッシュ溶出します。溶出溶液は、穏やかに窒素を吹き付け100 $\mu$ L以下に濃縮後、精製水で1mLに定容。10 $\mu$ LをLC-MSへ注入し、分析しました。分析フローチャートをFig.1に示します。

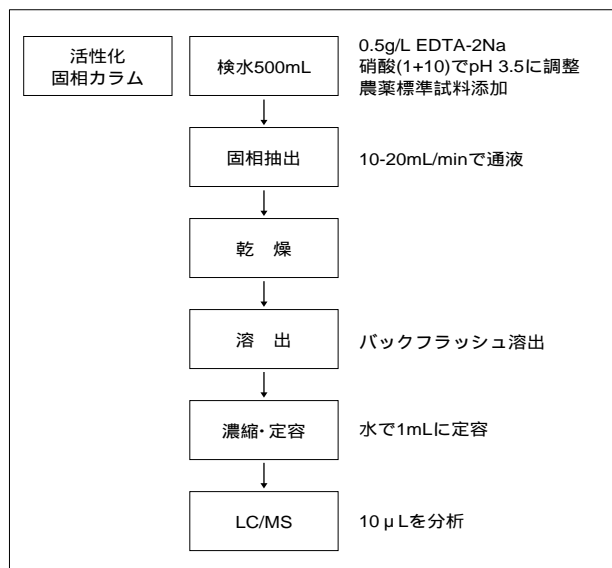


Fig.1 固相抽出フローチャート  
Flow chart of the analysis

## 測定結果

### Conclusion

LC-MSの測定条件をTable3に示します。島津アプリケーションニュースNo.C33と同様にアセトニトリル-0.1%塩酸水系の移動相を用いていますが、固相カラム濃縮後の試料に含まれる夾雑物との分離を十分に行うため、グラジエント条件に若干の変更を加えました。また、モニターイオンも、ペンシルド、フラザスルフロン、シデュロン、トリクロピルについては、農業添加回収率を鑑み、それぞれ  $m/z$  398 ( $[M+H]^+$ ),  $m/z$  406 ( $[M-H]^-$ ),  $m/z$  277 ( $[M+HCOO]^-$ ),  $m/z$  254 ( $[M-H]^-$ ) から  $m/z$  356 ( $[M-C(CH_3)_2+H]^+$ ),  $m/z$  408 ( $[M+H]^+$ ),  $m/z$  233 ( $[M+H]^+$ ),  $m/z$  196へと変更しました。

Figs.2 3にポジティブモードでのSIMクロマトグラムを、Figs.4 5には、ネガティブモードでのSIMクロマトグラム

を示しました。各クロマトグラムの上段は、イオン交換水に、下段は河水水に農業混合標準試料を目標値の1/100濃度になるように添加し、固相抽出（ジビニルベンゼン-*N*-ビニルピロリドン共重合体固相カラム）を行った試料（500倍濃縮）のSIM分析結果です。

イオン交換水、河水水の結果から、目標値の1/100濃度以下の検出が十分可能な感度が得られていることがわかります。河水水添加では、イオン交換水添加と比べて若干のベースラインの上昇や夾雑成分のピークが見られますが、各々の農業ピークは質量数と保持時間で定性・定量することが可能でした。

Table2に、固相カラムの添加回収結果を示します。標準試料をLC-MSで分析した時の各農業の平均面積値 ( $A_s$ )

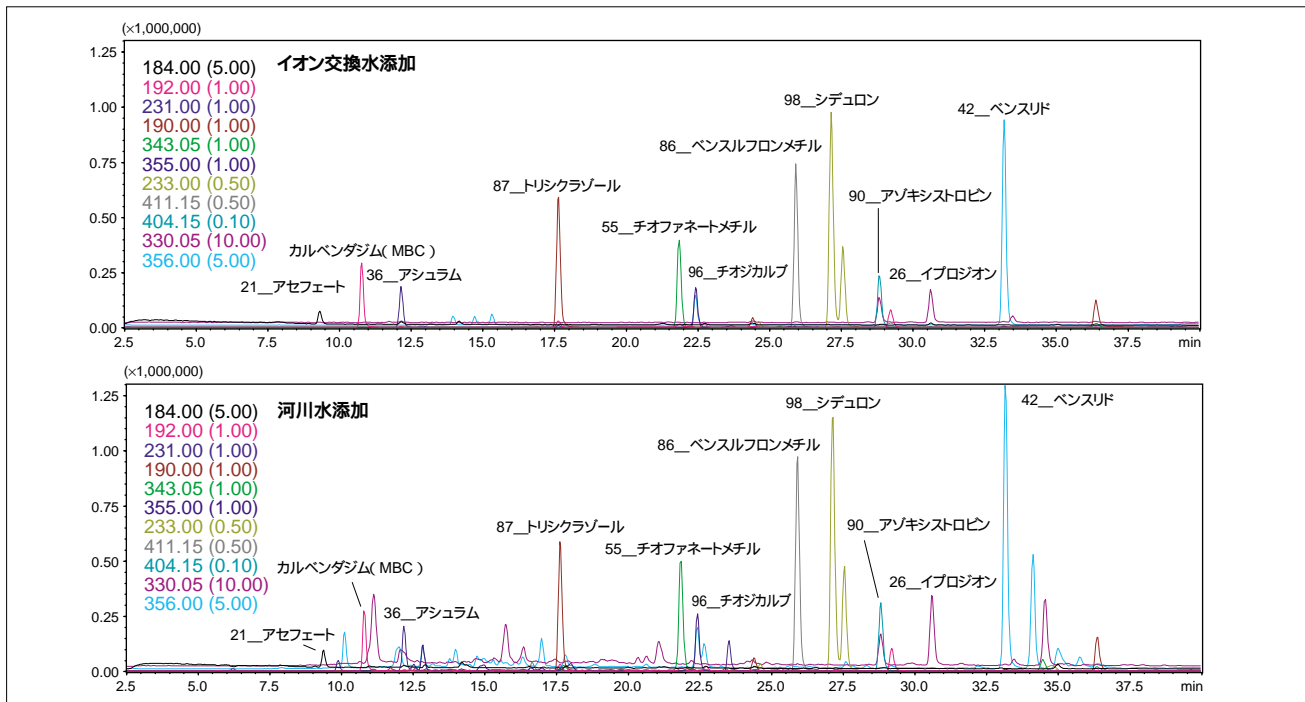


Fig.2 ポジティブモードにおける各成分目標値1/100濃度のSIMクロマトグラム（目標値0.08mg/L以上の農業）  
（上段:イオン交換水添加農業,下段:河水水添加農業）  
SIM chromatograms of pesticides (ESI-positive)

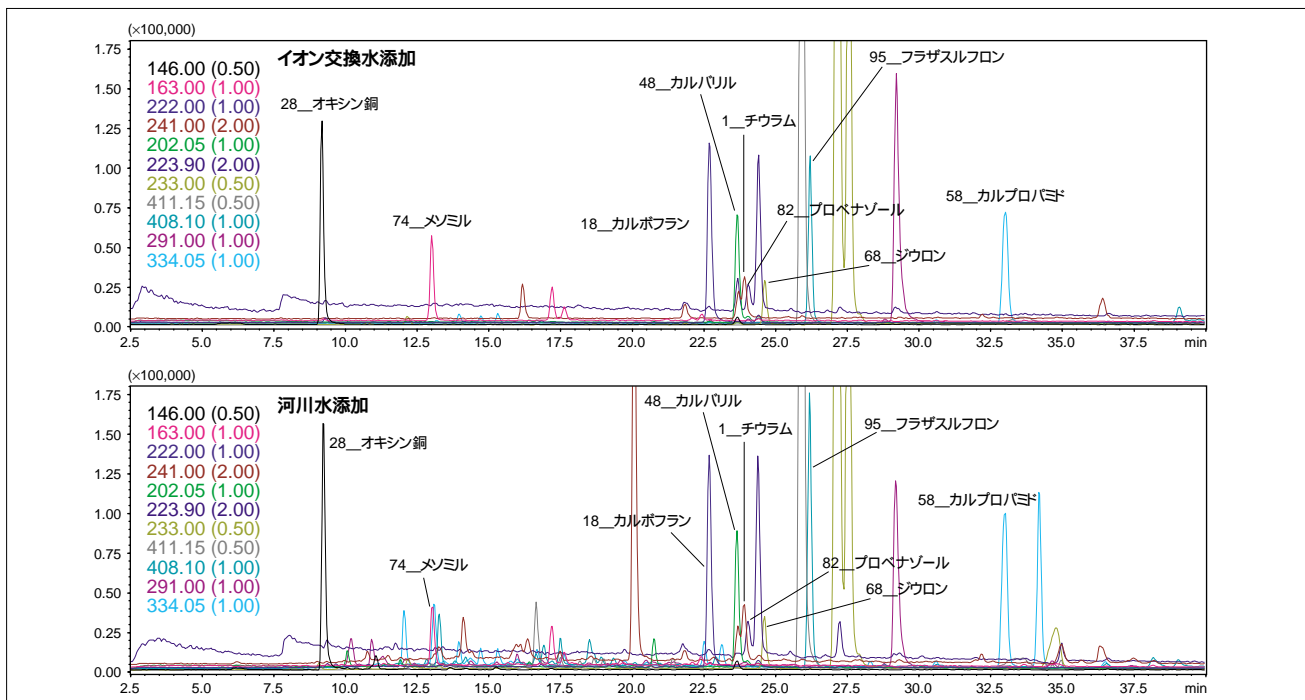


Fig.3 ポジティブモードにおける各成分目標値1/100濃度のSIMクロマトグラム（目標値0.08mg/L未満の農業）  
（上段:イオン交換水添加農業,下段:河水水添加農業）  
SIM chromatograms of pesticides (ESI-positive)

と、イオン交換水、河川水、水道水に農業を添加し、ジビニルベンゼン-*N*-ビニルピロリドン共重合体固相カラムと活性炭固相カラムで500倍濃縮した試料に含まれる各農薬の平均面積値 ( $A_x$ ) および添加回収率 ( $A_x/A_s \times 100$ ) をまとめました。ペノミル ( $m/z$  291) とベンフラカルブ ( $m/z$  411) は、水溶液中ですみやかに分解され、実際には、ペノミルはMBC ( $m/z$  192), ベンフラカルブはカルボフラン ( $m/z$  222) として検出されます。

イオン交換水添加においてアセフェート、ダラボンを除く25成分についてはジビニルベンゼン-*N*-ビニルピロリドン共重合体固相カラムで81~139%の回収率が得られており、本方法を用い500倍濃縮することにより、水質管理目標値の1/100濃度での検出が可能なが示されました。

別添方法16の中でダラボンだけは、逆相系樹脂固相カラムで5%、活性炭固相カラムで28%という低い回収率と

なりました。

アセフェートは、別添方法17で活性炭固相カラムによる抽出となっているため、逆相系樹脂固相カラムでは8%と低い回収率ですが、検水通液の際、この固相カラムの後ろに設置していた活性炭固相カラムからは、66%で回収されています。今回は実験のため、それぞれの溶出液について別々に分析しましたが、最終の溶出液を併せて定溶することにより、別添方法16, 17の28成分(ダラボンを除く)を1回の分析で定量することが可能です。

水道水添加結果でチウラム、アシュラムなど回収率の悪い成分は、水道水中の塩素などの影響により分解していると考えられます。

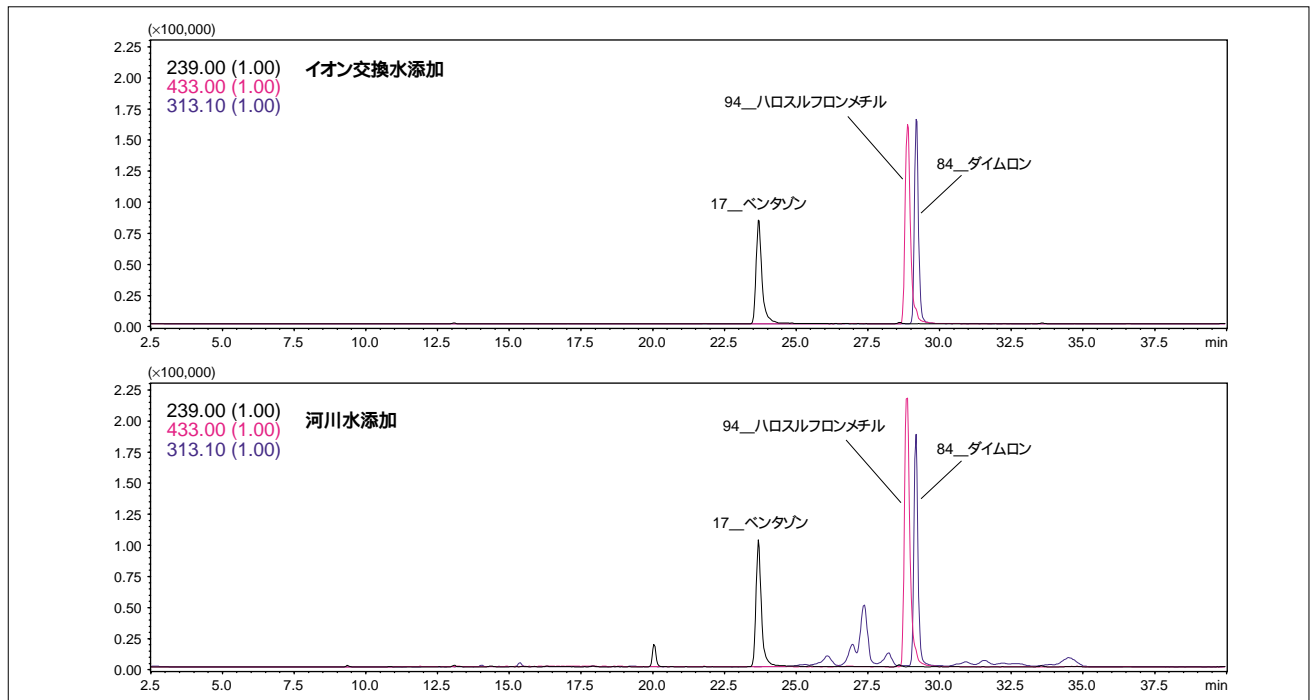


Fig.4 ネガティブモードにおける各成分目標値1/100濃度のSIMクロマトグラム (目標値0.1mg/L以上の農薬)  
(上段:イオン交換水添加農薬,下段:河川水添加農薬)  
SIM chromatograms of pesticides (ESI-negative)

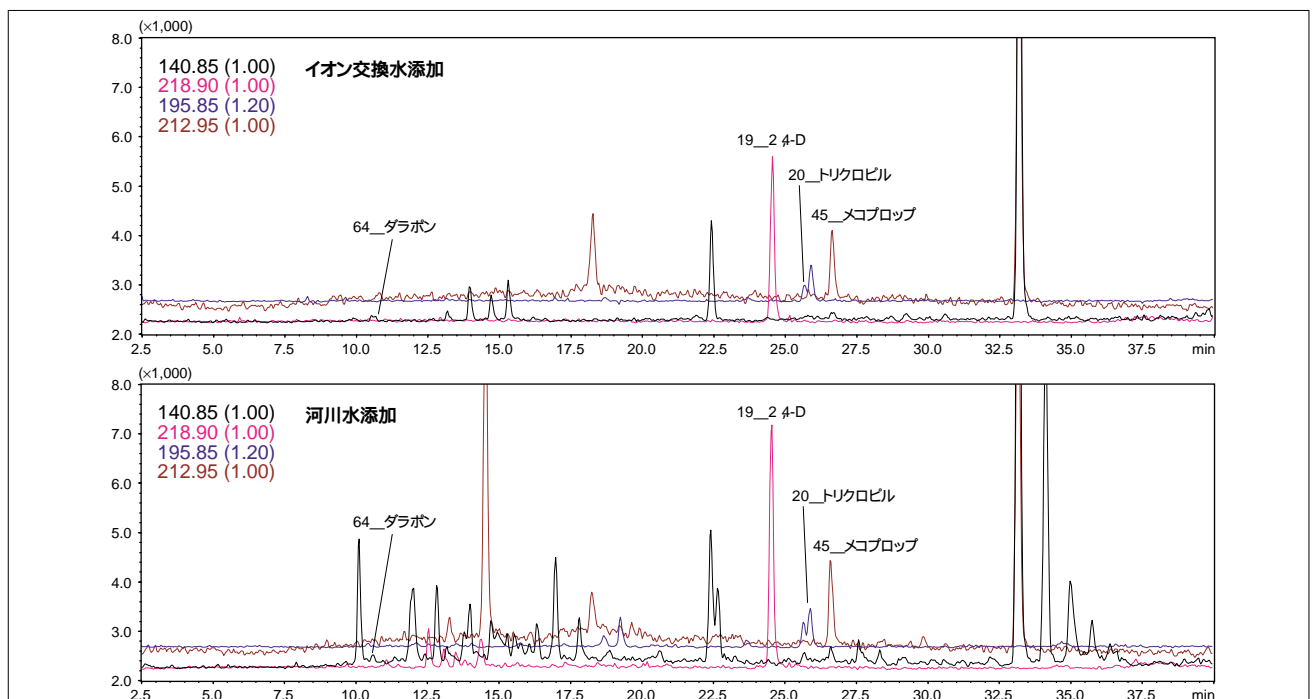


Fig.5 ネガティブモードにおける各成分目標値1/100濃度のSIMクロマトグラム (目標値0.1mg/L未満の農薬)  
(上段:イオン交換水添加農薬,下段:河川水添加農薬)  
SIM chromatograms of pesticides (ESI-negative)

Table 2 農薬の回収率結果  
Recoveries(%) of pesticides

番号	農薬名	イオン化モード	m/z	保持時間 (min)	混合農薬標準試料		樹脂固相カラムイオン交換水添加		樹脂固相カラム河川水添加		樹脂固相カラム水道水添加	
					平均面積値	回収率[%]	平均面積値	回収率[%]	平均面積値	回収率[%]	平均面積値	回収率[%]
28	Oxine-Cu	ESI(+)	146	9.1640	2536161	2270502	90	2590196	102	1264508	50	
21	Acephate	ESI(+)	184	9.3113	1281560	100248	8	115380	9	103954	8	
64	Dalapon	ESI(-)	141	10.5560	22646	1233	5	1054	5	1798	8	
-	MBC	ESI(+)	192	10.7413	1836985	2544503	139	2446088	133	2410520	131	
36	Asulam	ESI(+)	231	12.1390	1901601	1705211	90	1814171	95	157573	8	
74	Methomyl	ESI(+)	163	12.9933	598218	487014	81	372044	62	182442	30	
87	Tricyclazole	ESI(+)	190	17.5980	6315401	5723195	91	5568845	88	6107171	97	
55	Thiophanate-methyl	ESI(+)	343	21.8070	4895682	4002006	82	5172645	106	0	0	
96	Thiodicarb	ESI(+)	355	22.3850	1860440	1648123	89	2445425	131	788158	42	
18	Carbofuran	ESI(+)	222	22.6577	1116075	1044080	94	1218048	109	1284624	115	
48	Carbaryl	ESI(+)	202	23.6203	784720	710779	91	927849	118	815183	104	
17	Bentazon	ESI(-)	239	23.6610	1227639	1184164	96	1296595	106	747034	61	
1	Thiram	ESI(+)	241	23.8747	177080	147462	83	195679	111	2089	1	
82	Probenazole	ESI(+)	224	24.0103	107633	86891	81	121214	113	103624	96	
19	2,4-D	ESI(-)	219	24.5107	39066	33385	85	48273	124	38298	98	
68	Diuron	ESI(+)	233	24.5823	581798	534267	92	695376	120	541103	93	
20	Tryclopyr	ESI(-)	196	25.6430	3369	2718	81	3687	109	3076	91	
86	Bensulfuron-methyl	ESI(+)	411	25.8767	15922945	14051070	88	19794965	124	5007981	31	
95	Flazasulfuron	ESI(+)	408	26.1623	1111154	977366	88	1621623	146	136324	12	
45	Mecoprop	ESI(-)	213	26.5920	14079	12741	90	17483	124	13776	98	
98	Siduron-A	ESI(+)	233	27.1050	21448903	19895942	93	24980380	116	16965517	79	
98	Siduron-B	ESI(+)	233	27.5097	8366253	7875350	94	9929777	119	6421904	77	
90	Azoxystrobin	ESI(+)	404	28.7813	27617530	25759400	93	33437455	121	25147575	91	
94	Halosulfuron-methyl	ESI(-)	433	28.8403	2435565	2179959	90	2820816	116	219475	9	
84	Daimuron	ESI(-)	313	29.1487	1586780	1658620	105	1840805	116	1190543	75	
26	Iprodione	ESI(+)	330	30.5663	168173	147034	87	318492	189	177725	106	
75	Benomyl	ESI(+)	291	30.8053	39904	3374	8	1223	3	1867	5	
58	Carpropamid	ESI(+)	334	32.9563	1128933	987225	87	1358701	120	715769	63	
42	Bensulide	ESI(+)	356	33.1297	2256143	1828860	81	2624467	116	0	0	
76	Benfuracarb	ESI(+)	411	36.6470	364295	0	0	0	0	0	0	

番号	農薬名	イオン化モード	m/z	保持時間 (min)	混合農薬標準試料		活性炭固相カラムイオン交換水添加		活性炭固相カラム河川水添加		活性炭固相カラム水道水添加	
					平均面積値	回収率[%]	平均面積値	回収率[%]	平均面積値	回収率[%]	平均面積値	回収率[%]
21	Acephate	ESI(+)	184	9.3113	1281560	843333	66	602590	47	733333	57	
64	Dalapon	ESI(-)	141	10.5560	22646	6346	28	4966	22	4230	19	

Table 3 分析条件  
Analytical conditions for LC-MS

Column	: L-column ODS (150mmL. × 2.1mmI.D.)
Mobile phase A	: 0.1%(w/v) Formic Acid-Water
Mobile phase B	: Acetonitrile
Gradient program	: 0%B (0min)→ 95%B (40min) → 0%B (40.01min)→STOP(50min)
Flow rate	: 0.2 mL/min
Injection volume	: 10μL
Column temperature	: 40°C
Probe voltage	: +4.5 / -3.5kV (ESI-Positive Mode/ ESI-Negative Mode)
CDL temperature	: 250°C
Block Heater temperature	: 200°C
Nebulizing gas flow	: 1.5L/min
Drying gas pressure	: 0.2MPa
CDL, Q-array voltages	: Default Values
SIM	: see Table 1