

## 水道原水中農薬の LC/MS による一斉分析法の検討

高垣敬司 白方千香子 青野 眞 岡 裕三 武智拓郎  
小笠原光憲\* 大瀬戸光明 井上博雄

### Studies on the Simultaneous Determination of Pesticide Residues in Raw Water Using Liquid Chromatography/Mass Spectrometry

Keiji TAKAGAKI, Chikako SHIRAKATA, Makoto AONO, Yuzo OKA, Takuro TAKECHI,  
Mitsunori OGASAWARA, Mitsuaki OSETO, Hiroo INOUYE

The simultaneous determination of pesticide residues in raw water has been analyzed with solid-phase extraction (SPE) and liquid chromatography/electrospray ionization/mass spectrometry (LC/ESI/MS). The gradient-elution analysis by using methanol and water as the mobile phase, gave a good reproducibility of the each retention time of the peaks. The linearity of the working curves were obtained in the concentration range from 1.0  $\mu\text{g/l}$  to 100.0  $\mu\text{g/l}$  for all compounds.

The recovery ratio of pesticide residues spiked into raw water were shown more than 70%. In addition, their coefficient of variation (relative standard deviation) ranged from 3.06 to 9.26%.

**Keywords** : raw water, pesticide residues, LC/ESI/MS, SPE

### はじめに

大幅に改正された水道水質に関する省令が平成16年4月1日から施行され、農薬については効率的な監視を行うため、水道原水より検出される恐れのあるものとして101種類がリストアップされ、農薬類として水質管理目標設定項目（以下、管理項目）に定められた。

その評価にあたっては、総農薬方式が採用され、水道事業者が地域の農薬使用実態等に基づき、測定する農薬を選定し、監視することとなった。

しかし、農薬は地域の特性にあった農業・林業等の発展から、使用形態が大きく異なり、管理項目以外の農薬の大量使用や、連続使用による害虫の耐性獲得を予防するために、使用農薬を頻繁に変更すること等が水道水源における農薬の管理を一層困難なものにしている。

そこで、水道水源への農薬流入等の健康危機発生時における、迅速検査体制を確立することを目的に、愛媛県内の農薬使用量調査を行い、使用量上位にリストアップされた農薬のうち、すでに検査方法が確立されている管理項目以外の農薬について、高速液体クロマトグラフ質量分析計 (LC/MS) による一斉分析法を検討したので報告する。

### 材料と方法

#### 1 検討対象農薬選定

一般に農薬は、複数の有効成分（原体）を一定の割合で含む製剤として販売、使用されているため、平成15年度～平成17年度の「農薬要覧」出荷数量を基に、原体及び用途別（殺虫剤、殺菌剤、除草剤等）の使用量を調査した。愛媛県における農薬出荷数量は年間4500 t前後で推移しており、各農薬年度とも殺虫剤、殺菌剤、除草剤の出荷数量の和は総出荷数量の95%以上を占め

愛媛県立衛生環境研究所 松山市三番町8丁目234番地

\*現 保健福祉部健康衛生局薬務衛生課

表1 年度別農薬出荷数量表

種類	15年		16年		17年	
	数量 (t)	占有率 (%)	数量 (t)	占有率 (%)	数量 (t)	占有率 (%)
総量	4517.0	-	4394.8	-	4405.3	-
殺虫剤	1923.5	42.6	1857.7	42.3	1488.0	33.8
殺菌剤	1095.0	24.2	1146.8	26.1	1621.1	36.8
殺虫殺菌剤	529.1	11.7	568.4	12.9	438.3	9.9
除草剤	734.0	16.2	690.0	15.7	678.0	15.4
殺鼠剤	0.2	0.0	0.2	0.0	0.3	0.0
植物成長調整剤	36.6	0.8	36.5	0.8	21.5	0.5
その他	198.6	4.4	95.2	2.2	158.1	3.6
殺虫剤・殺菌剤・除草剤の全体に占める割合 (%)		94.8		97.0		95.9

表2 年度原形別農薬出荷数量表

原形名	15年度		16年度		17年度	
	出荷量 (kg)	原形名	出荷量 (kg)	原形名	出荷量 (kg)	原形名
94969.0	アミトラス	96765.4	アミトラス	72674.4	アミトラス	
7983.8	アゾキシカルブ	6900.9	アミトラス	8529.9	アミトラス	
4745.4	アゾキシカルブ	4534.3	アミトラス	1596.4	DMTP	
2510.0	DMTP	2148.0	DMTP	1701.1	アミトラス	
1926.4	MPP	1792.8	MPP	1249.0	MPP	
1376.0	アミトラス	1020.0	アミトラス	753.2	MPP	
1026.8	アミトラス	616.8	アミトラス	1714.4	アミトラス	
659.4	アゾキシカルブ	669.5	アミトラス	434.0	MPP	
360.0	MPP	430.0	アミトラス	463.0	アミトラス	
349.1	アミトラス	349.1	アミトラス	349.1	アミトラス	
328.8	アミトラス	313.8	アミトラス	309.9	アミトラス	
279.8	アミトラス	263.8	アミトラス	213.8	アミトラス	
258.0	アミトラス	313.8	MPP	302.0	アミトラス	
231.0	アミトラス	231.0	アミトラス	231.0	アミトラス	
220.0	MPP	202.0	アミトラス	217.8	アミトラス	
201.0	アミトラス	201.0	アミトラス	214.8	アミトラス	
191.0	アミトラス	202.0	アミトラス	202.0	アミトラス	
183.0	アミトラス	202.0	アミトラス	186.0	アミトラス	
173.0	アミトラス	187.0	アミトラス	173.0	アミトラス	
171.0	アミトラス	171.0	アミトラス	171.0	アミトラス	
168.0	アミトラス	170.0	アミトラス	171.0	アミトラス	
163.0	アミトラス	163.0	アミトラス	163.0	アミトラス	
146.0	アミトラス	146.0	MPP	146.0	アミトラス	
136.0	アミトラス	136.0	アミトラス	142.0	アミトラス	
128.0	アミトラス	128.0	アミトラス	128.0	アミトラス	
119.0	アミトラス	119.0	アミトラス	119.0	アミトラス	
119.0	アミトラス	119.0	アミトラス	119.0	アミトラス	
118994.1	86.1%	117994.1	86.1%	88494.1	86.1%	
17101.5	3.9%	11999.8	2.8%	27659.1	6.2%	

原形名	15年度		16年度		17年度	
	出荷量 (kg)	原形名	出荷量 (kg)	原形名	出荷量 (kg)	原形名
26740.0	アミトラス	24763.0	アミトラス	21270.0	アミトラス	
1420.8	アミトラス	1417.0	アミトラス	2470.0	アミトラス	
3318.0	アミトラス	2669.0	アミトラス	3900.0	アミトラス	
1926.4	アミトラス	1692.0	アミトラス	1249.0	アミトラス	
1599.4	アミトラス	1501.1	アミトラス	1259.0	アミトラス	
920.0	アミトラス	820.0	アミトラス	610.0	アミトラス	
659.4	アミトラス	659.4	アミトラス	434.0	アミトラス	
474.5	アミトラス	474.5	アミトラス	463.0	アミトラス	
449.1	アミトラス	449.1	アミトラス	449.1	アミトラス	
419.0	アミトラス	419.0	アミトラス	419.0	アミトラス	
360.0	アミトラス	360.0	アミトラス	360.0	アミトラス	
349.1	アミトラス	349.1	アミトラス	349.1	アミトラス	
279.8	アミトラス	279.8	アミトラス	279.8	アミトラス	
258.0	アミトラス	258.0	アミトラス	258.0	アミトラス	
231.0	アミトラス	231.0	アミトラス	231.0	アミトラス	
220.0	アミトラス	220.0	アミトラス	220.0	アミトラス	
201.0	アミトラス	201.0	アミトラス	201.0	アミトラス	
191.0	アミトラス	191.0	アミトラス	191.0	アミトラス	
183.0	アミトラス	183.0	アミトラス	183.0	アミトラス	
173.0	アミトラス	173.0	アミトラス	173.0	アミトラス	
171.0	アミトラス	171.0	アミトラス	171.0	アミトラス	
168.0	アミトラス	168.0	アミトラス	168.0	アミトラス	
163.0	アミトラス	163.0	アミトラス	163.0	アミトラス	
146.0	アミトラス	146.0	アミトラス	146.0	アミトラス	
136.0	アミトラス	136.0	アミトラス	136.0	アミトラス	
128.0	アミトラス	128.0	アミトラス	128.0	アミトラス	
119.0	アミトラス	119.0	アミトラス	119.0	アミトラス	
119.0	アミトラス	119.0	アミトラス	119.0	アミトラス	
118994.1	86.1%	117994.1	86.1%	88494.1	86.1%	
17101.5	3.9%	11999.8	2.8%	27659.1	6.2%	

原形名	15年度		16年度		17年度	
	出荷量 (kg)	原形名	出荷量 (kg)	原形名	出荷量 (kg)	原形名
6214.1	アミトラス	6214.1	アミトラス	6214.1	アミトラス	
3698.0	アミトラス	3698.0	アミトラス	3698.0	アミトラス	
474.5	アミトラス	474.5	アミトラス	474.5	アミトラス	
449.1	アミトラス	449.1	アミトラス	449.1	アミトラス	
419.0	アミトラス	419.0	アミトラス	419.0	アミトラス	
360.0	アミトラス	360.0	アミトラス	360.0	アミトラス	
349.1	アミトラス	349.1	アミトラス	349.1	アミトラス	
279.8	アミトラス	279.8	アミトラス	279.8	アミトラス	
258.0	アミトラス	258.0	アミトラス	258.0	アミトラス	
231.0	アミトラス	231.0	アミトラス	231.0	アミトラス	
220.0	アミトラス	220.0	アミトラス	220.0	アミトラス	
201.0	アミトラス	201.0	アミトラス	201.0	アミトラス	
191.0	アミトラス	191.0	アミトラス	191.0	アミトラス	
183.0	アミトラス	183.0	アミトラス	183.0	アミトラス	
173.0	アミトラス	173.0	アミトラス	173.0	アミトラス	
171.0	アミトラス	171.0	アミトラス	171.0	アミトラス	
168.0	アミトラス	168.0	アミトラス	168.0	アミトラス	
163.0	アミトラス	163.0	アミトラス	163.0	アミトラス	
146.0	アミトラス	146.0	アミトラス	146.0	アミトラス	
136.0	アミトラス	136.0	アミトラス	136.0	アミトラス	
128.0	アミトラス	128.0	アミトラス	128.0	アミトラス	
119.0	アミトラス	119.0	アミトラス	119.0	アミトラス	
119.0	アミトラス	119.0	アミトラス	119.0	アミトラス	
118994.1	86.1%	117994.1	86.1%	88494.1	86.1%	
17101.5	3.9%	11999.8	2.8%	27659.1	6.2%	

注) 表中網掛け部分は各年度に共通して30位内に入るもの

ていた(表1)。また、殺虫剤、殺菌剤、除草剤の上位30農薬の出荷数量の和は用途別総出荷数量の95%以上を占めており、調査年度における上位の順位に大きな変化はなかった(表2)。

そこで、これらのデータをもとに過去3年間の用途別使用量上位30農薬をリストアップしたところ、管理項目以外の農薬は38種類あり、農薬原体の物性及び分析事例等<sup>1)</sup>から、LC/MSによる一斉分析法が可能と思われる農薬を今回の検討対象とした(表3)。

2 実験方法

(1) 検討対象農薬及び試薬

検討対象農薬は amitraz, benzobicyclon, cyprodinyl,

表3 用途別使用量上位30農薬リスト

殺虫剤	殺菌剤	除草剤
1 アミトラス	ベンゼブ	グリホサートイソプロピルアミン塩
2 カロルセキリン	アミトラス	グリホサートアジモニウム塩
3 3,4-ジメチルピリジン	アミトラス	塩化メチル
4 3,4-ジメチルピリジン(DMT P)	塩化メチル	塩化メチル
5 フェニトロチオン(ME P)	塩化メチル	塩化メチル
6 フェニトロチオン	塩化メチル	塩化メチル
7 アゾキシカルブ	塩化メチル	塩化メチル
8 カルセキリン(ジコホール)	塩化メチル	塩化メチル
9 XMC	塩化メチル	塩化メチル
10 カロルセキリン	塩化メチル	塩化メチル
11 アミトラス	塩化メチル	塩化メチル
12 アミトラス	塩化メチル	塩化メチル
13 カロルセキリン(DDVP)	塩化メチル	塩化メチル
14 ジフルレンスリン※	塩化メチル	塩化メチル
15 トリタロルホン(DE P)	塩化メチル	塩化メチル
16 イミダクロリド※	塩化メチル	塩化メチル
17 フェニトロチオン	塩化メチル	塩化メチル
18 フェニトロチオン	塩化メチル	塩化メチル
19 フェニトロチオン	塩化メチル	塩化メチル
20 フェニトロチオン	塩化メチル	塩化メチル
21 フェニトロチオン	塩化メチル	塩化メチル
22 フェニトロチオン	塩化メチル	塩化メチル
23 フェニトロチオン	塩化メチル	塩化メチル
24 フェニトロチオン	塩化メチル	塩化メチル
25 フェニトロチオン	塩化メチル	塩化メチル
26 フェニトロチオン	塩化メチル	塩化メチル
27 フェニトロチオン	塩化メチル	塩化メチル
28 フェニトロチオン	塩化メチル	塩化メチル
29 フェニトロチオン	塩化メチル	塩化メチル
30 フェニトロチオン	塩化メチル	塩化メチル

注) 表中網掛け部分は管理項目、※印は今回の検討対象農薬

表4 装置条件

HPLC条件			
装置: Agilent1100 Series (Agilent Technologies)			
カラム: Inertsil ODS-SP (2.1mm×150mm) (GL Sciences)			
カラム温度: 40℃			
移動相組成:			
時間 (min)	H <sub>2</sub> O (%)	CH <sub>3</sub> OH (%)	
0	90	10	
5	90	10	
10	30	70	
20	10	90	
30	10	90	
流速: 0.2ml/min			
注入量: 10 μl			

MS(SIM)条件	
装置: JMS-LCmate (日本電子株式会社)	
分解能: 750	
Orifice 1: 0V	
Ring Lens: 35V	
Neblizing Gas: N <sub>2</sub> (1.0L/min)	
Switching Mode: Magnetic Field	
Switching Rate: 300ms	
Ion Multi. Voltage: 2.2kV(positive), -2.2kV(negative)	
Monitor Ion:	
amitraz	294.43
benzobicyclon	354.35
cyprodinyl	226.31
diflubenzuron※	309.14
dinotefuran	203.25
ferimzone	255.36
fluziazinam※	464.11
imidacloprid	256.28
pyrazolate	439.32
tebufenozide	353.55
thiamethoxam	292.26
※negative mode	

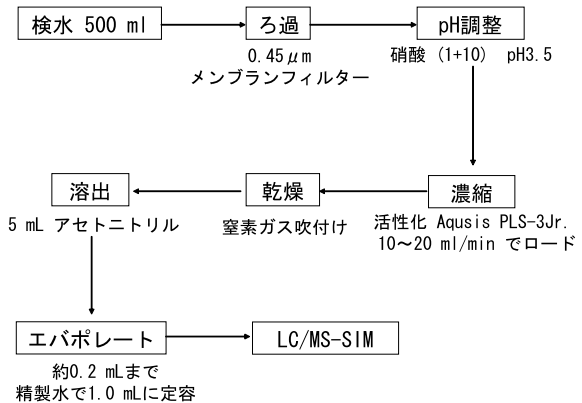


図1 分析フローチャート

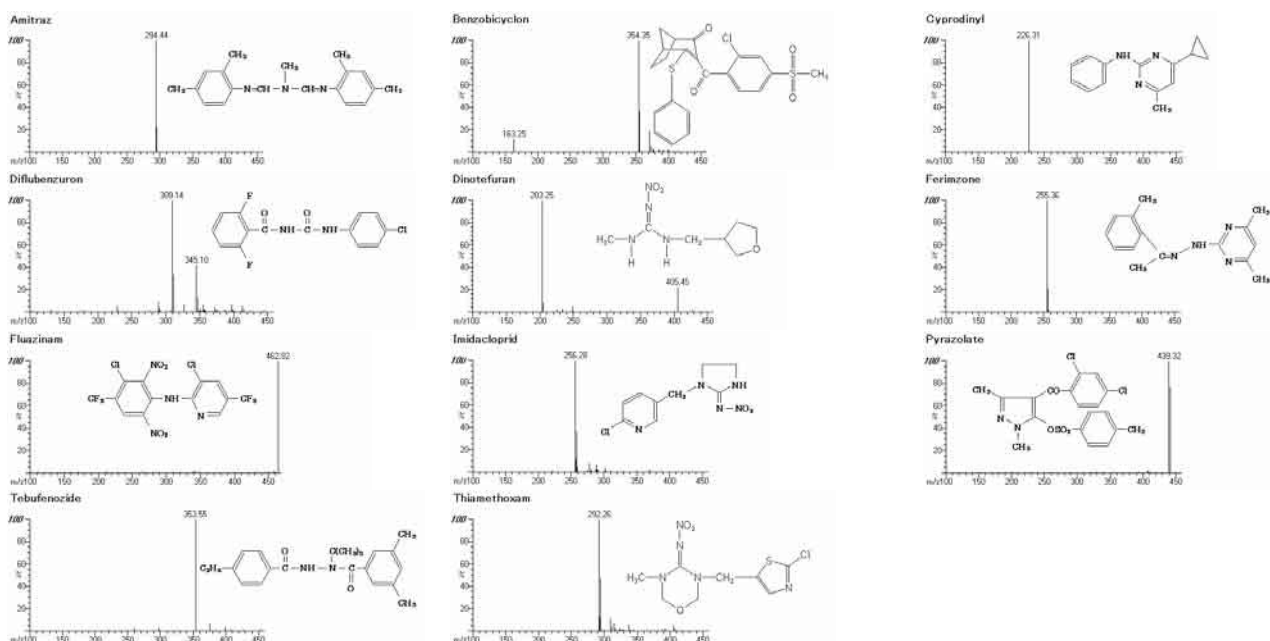


図2 検討対象農薬のマススペクトル及び構造式

diflubenzuron, dinotefuran, ferimzone, fluazinam, imidacloprid, pyrazolate, tebufenozide, thiamethoxam の11種類であり、使用した農薬標準品は和光純薬及び関東化学製の残留農薬試験用、試薬はすべて和光純薬製の残留農薬試験用を用いた。

### (2) 分析条件

質量分析計は日本電子株式会社製 JMS-LCmate を、高速液体クロマトグラフ装置は Agilent Technologies 製 Agilent1100 Series を、カラムは GL Sciences 製 Inertsil ODS-SP (2.1mm × 150mm) を、固相抽出カートリッジは GL Sciences 製 PLS-3を用いた。分析機器の詳細なパラメーターは表4に示した。

### (3) 試験溶液調整

図1に示したように、試料500ml を希硝酸で pH3.5に調整し、あらかじめアセトニトリル、精製水で活性化した固相抽出カートリッジ PLS-3へ10～20ml/min で吸引しながら通水した後、窒素気流によりカートリッジを乾燥した。目盛り付き容器にアセトニトリルで5ml まで溶出した後、約0.2ml まで濃縮し精製水で1.0ml に定容したものを試験溶液とした。

## 結果及び考察

### 1 イオン化法の検討

LC/MSにおけるイオン化法には frit-FAB, 大気圧化学イオン化 (APCI), エレクトロスプレーイオン化法 (ESI) が現在よく用いられている<sup>2~8)</sup>。今回の検討対象農薬の物性を考慮し、高極性化合物のイオン化に有効であり<sup>9)</sup>、高感度な分析が期待できる ESI を用いてフ

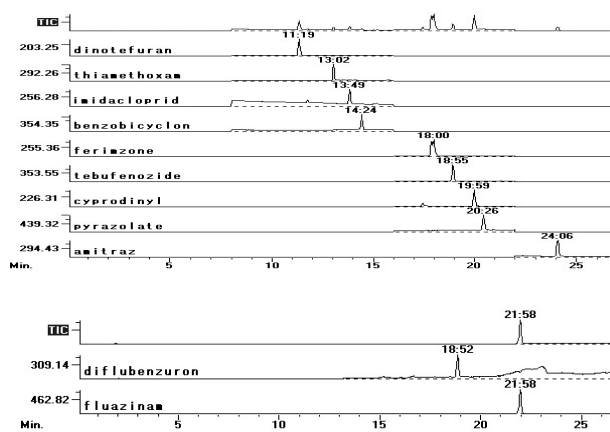


図3 全イオンクロマトグラム及び各成分のマス chromatogram  
上図：ポジティブモード 下図：ネガティブモード

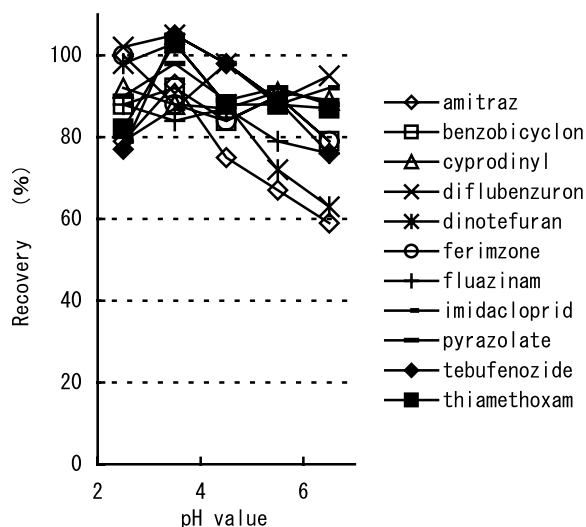


図4 pH値と回収率の関係

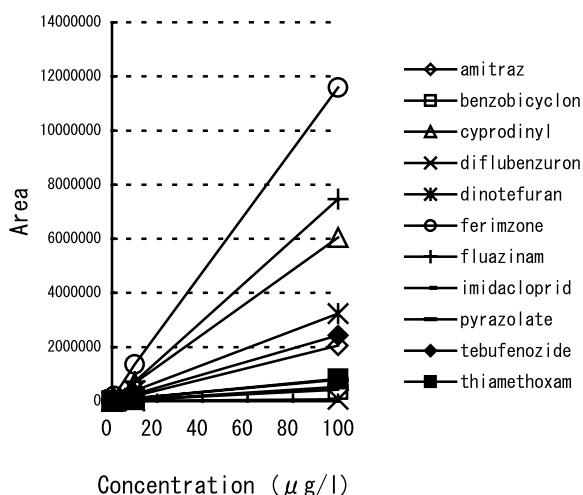


図5 検量線

ローインジェクション法により、イオン化効率に影響するオリフィス電圧及びリングレンズ電圧を調節し最適条件を検討した結果、得られた条件及び各農薬のモニターイオンを表4に、マススペクトル及び構造式を図2に示した。ベンゾビシクロン以外はプロトン付加イオン及び脱プロトン化イオンが感度良く観察された。

## 2 分離条件の検討

フローインジェクション法により、移動相のイオン化に対する影響を検討した結果、水-メタノールの混合系を用いたときに最も感度、ピーク形状とも良好な結果が得られた。また、フェリムゾンには光学異性体が2種存在するが、完全に分離することはできなかった(図3)。

## 3 前処理法の検討

環境試料の前処理の検討として精製水に標準液を添加し、希硝酸にてpH値を2.5～6.5に調整した後、固相抽出カートリッジであるPLS-3 (GL-Sciences製)に通水した。固相抽出カートリッジを窒素気流で乾燥後0.2mlまで濃縮し、精製水で1mlに定容した試料について測定を行った。

その結果、pH5.5～6.5においてアミトラズ及びジノレフランの回収率が70%を下回ったがpH3.5においてはすべての農薬が、80%以上の回収率を示したことから(図4)、固相抽出時は試料をpH3.5に調整することとした。

## 4 検量線

各農薬共1.0～100.0 μg/lの濃度において、相関係数は各々0.999と良好な結果が得られた(図5)。

## 5 環境試料への適用

水道法による主な農薬の基準値は、1日に飲用する水

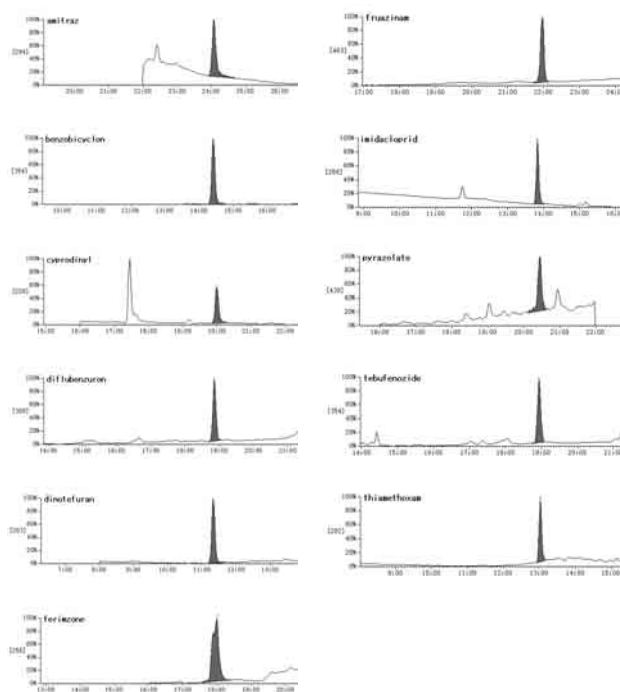


図6 検討対象農薬のマスキロマトグラム

表5 環境試料への添加回収試験結果 (n=5)

	指標値 (mg/l)	検水濃度 (mg/l)	回収率(%)	
			平均	変動係数
amitraz	0.006	0.0006	90.13	6.34
benzobicyclon	0.04	0.0004	85.16	3.95
cyprodinyl	0.07	0.0007	106.2	3.06
diflubenzuron	0.03	0.0003	87.3	9.03
dinotefuran	0.6	0.006	101.48	6.69
ferimzone	0.02	0.0002	86.63	5.07
fluazinam	0.03	0.0003	94.27	4.57
imidacloprid	0.1	0.001	109.54	6.36
pyrazolate	0.02	0.0002	93.94	5.76
tebufenozide	0.02	0.0002	89.14	8.42
thiamethoxam	0.05	0.0005	71.5	9.26

の量を2リットル、人の平均体重を50kg、水道水経由の暴露割合を10%とし、各農薬の一日許容摂取量(ADI)から計算して求めている。

そこで今回、各検討対象農薬のADI値から水質管理目標設定項目と同様の手法により指標値を算出し、愛媛県中部K町の水道原水に、指標値の1/100濃度になるように標準液を添加し、本法を適用したところ、夾雑物の影響は認められず、良好なクロマトグラムが得られた(図6)。チアメトキサムの回収率が71.5%とやや低い値を示したが、チアメトキサムは水中で分解されやすい農薬であるため、このことが回収率を低下させた原因であると考えられる。他の農薬については85.16～109.54%と良好であった。また、すべての農薬でCV=3.06～9.26%と精度よく測定できていた。今回適用した指標値及び検討結果(回収率及び再現性)は表5に示した。なお、今回の検水から検討対象農薬は検出されなかったが、本法

の有用性は確認することができた。

CV=3.06 ~ 9.26%と良好であった。

## まとめ

愛媛県内において、過去3年間の用途別使用量上位30位に入る農薬のうち、管理項目以外の11種類について一斉分析法を検討したところ、次の結果が得られた。

- 1 ESI法においてベンゾビシクロン以外はプロトン付加イオン及び脱プロトン化イオンが感度良く観察された。
- 2 水-メタノールの混合系を用いたときに最も感度、ピーク形状とも良好な結果が得られた。
- 3 固相カートリッジにPLS-3を用いてpHを3.5に調整し、通水した試料を分析することで、いずれの農薬成分も80%以上の回収率が得られた。
- 4 各農薬共1.0 ~ 100.0  $\mu$  g/lの濃度において、相関係数0.999と良好な結果が得られた。
- 5 本法を環境試料に適応した結果、夾雑物の影響は認められず、良好なクロマトグラムが得られ、チアメトキサムを除き回収率は85.16 ~ 109.54%、精度も

## 文 献

- 1) 上路雅子ほか：2002年版 残留農薬分析法，ソフトサイエンス社（2001）
- 2) 大倉敏裕ほか：衛生化学. 40, 266-273 (1994)
- 3) 大倉敏裕ほか：水環境学会誌. 20, 324-331 (1997)
- 4) 上村仁ほか：水道協会雑誌. 69, 30-34 (2000)
- 5) 井上智ほか：愛媛県立衛生環境研究所年報. 3, 34-38 (2000)
- 6) 樋口玲輔ほか：新潟県保健環境科学研究所年報. 17, 76-82 (2002)
- 7) 浦山豊弘ほか：岡山県環境保健センター年報. 30, 57-62 (2006)
- 8) 伴創一郎ほか：京都市衛生公害研究所年報. 72, 105-115 (2006)
- 9) 丹羽利充ほか：最新のマススペクトロメトリー. 42-43, 化学同人 (1995)