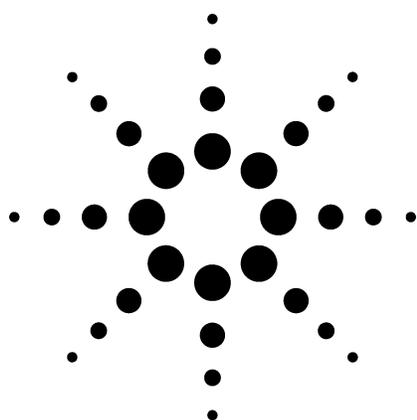


# 地表水中に含まれる微量農薬の抽出・分析 における残留農薬一斉分析メソッドの検証

## アプリケーション



環境

### 著者

Stephen Siegel and Mark Lee  
California Department of Food and Agriculture  
Center for Analytical Chemistry  
3292 Meadowview Road  
Sacramento, CA 95832

Chin-Kai Meng  
Agilent Technologies, Inc.  
2850 Centerville Road  
Wilmington, Delaware 19808-1610  
USA

### 概要

ガスクロマトグラフィー／質量選択検出器（GC/MSD）を使用する **USGS**（米国地質調査所）の分析メソッドに変更を加え、農薬汚染源の特定と暴風雨シーズンにおける河川の汚染負荷量の計算に使用しました。このメソッドは、**12種類の有機リン系農薬と5種類のピレスロイド系農薬**に対して妥当性を検証しました。**GC/MSD**選択イオン検出（SIM）法を使用した場合、これらのターゲット化合物の定量限界は**10～500ppt**です。

### はじめに

カリフォルニア地区水質規制委員会は、サンウォーキン川下流域に対し、1日あたりの最大汚染負荷総量（**Total Maximum Daily Loads：TMDL**）を早急に設定する必要がありますとしました。カリフォルニア地区水質規制委員会は、特に、休眠期の植物に対する農薬散布（冬季に行われる）実施後の暴風雨期におけるサンウォーキン川とサクラメント川の汚染源を特定するために調査を実施しました。

これらの河川における暴風雨期およびその前後の農薬レベルを決定するには各種の調査が必要です。また、基準となるレベルを決定するために、植物休眠期の農薬散布前に集められたサンプルの分析も必要になります。集められたデータは、これらの河川における農薬汚染源を特定して暴風雨シーズンの川に含まれる農薬量を計算するために使用されます。

このTMDLプログラムに使用された基準メソッドはUSGS GC/MSD法（Open File Report 95-181および01-273）に修正を加えたものです。この方法については、**12種類の有機リン系農薬と5種類のピレスロイド系農薬**に対して有効性の評価が行われました。定量限界（Limits Of Quantification：LOQ）は水質規制委員会が指定したものです。

### 実験装置

#### 使用する装置

- 天秤（最大2kg±1g）
- 2L分液漏斗
- 250mL丸底フラスコ（沸騰フラスコ）
- ガラスフィルター漏斗
- Rotavaporエバポレータ
- 15mL回収チューブ
- 窒素エバポレータ
- ボルテックス
- ソニケーター（オプション）



Agilent Technologies

## 試薬および器材

- 塩化メチレン：農薬用
- 無水硫酸ナトリウム；ACS規格（Certified ACS）、10～60メッシュ
- グラスウール：Pyrexブランドのグラスファイバー
- NaCl：ACS規格
- ナイロンフィルタ（0.45 $\mu$ m）（Alltech 2024または同等品）
- サロゲートスパイク溶液：アセトンにクロルピリフォスメチル0.5ng/mLを添加
- 内部標準物質（ISTD）溶液：アントラセン-d<sub>10</sub>、ピレン-d<sub>10</sub>、クリセン-d<sub>12</sub>を0.5ng/mL（500ppt）添加：Ultra Scientific ISM-520

## 6890 GCのパラメータ

- カラム：30m×0.25mm×0.25 $\mu$ m HP-5MS
- 注入口温度：230°C
- 注入量：2 $\mu$ L（スプリットレス）
- オープンプログラム：70°C(2min)  
25°C/min /150°C(0min)  
3°C/min /200°C(0 min)  
8°C/min /280°C(12 min)

## 5973MSDのパラメータ

- SIMモード
- 最大感度オートチューニング
- SIMグループ（各イオンのドウェルタイム = 50ms）

グループ	開始時間（分）	イオン番号	イオン
1	4.0	7	86, 128, 164, 173, 186, 189, 201
2	15.5	13	88, 115, 125, 137, 144, 179, 186, 188, 201, 274, 286, 288, 304
3	19.5	10	162, 197, 198, 204, 238, 240, 258, 301, 314, 332
4	23.0	3	85, 125, 145
5	26.0	12	77, 132, 135, 141, 160, 165, 166, 173, 181, 209, 240, 350
6	32.0	7	163, 165, 167, 181, 225, 226, 419

## サンプルの準備

茶色のボトルに入れた1Lの各種水サンプルをラボに搬入し、抽出を行うまで通常の冷蔵状態（約4°C）で最大7日間保存しました。

1. 沈殿物を含め、1Lの水のサンプルの重量を測定して記録します。
2. 沈殿物を含む1Lの水サンプルをサイズ2Lの分離漏斗に移します。農薬はフミン物質に付着するので、フィルタは使用しません。
3. サロゲートスパイク溶液を1mL添加します：0.5ng/mL（ppb）クロルピリフォスメチル（0.5ng）。添加後は分離漏斗を静かに振って混ぜます。
4. 塩析のために10～15gの粒状NaClを加え、溶かすために静かにサンプルを振ります。
5. 水のサンプル容器を60mLの塩化メチレンですすぎ、この塩化メチレンを分離漏斗に加えます。空の容器の重量を測定して記録し、水サンプルの重量からこの値を減じて記録します。
6. サンプルを振って何度か圧力を抜きます。3分間よく振って、塩化メチレンと水が完全に分離して下側に層ができるまで静置します。漏斗内のエマルジョンが多すぎる場合は、ソニケーターを使用してエマルジョンを破碎します。
7. 底にたまった有機物の層を、粒状の無水硫酸ナトリウムの層（約20g）をフィルタにして250mL丸底フラスコに移します。硫酸ナトリウムは、30～40mLの塩化メチレンであらかじめ洗浄したグラスウール上に置きます。
8. 漏斗に60mLの塩化メチレンを加え、6～7の手順をあと2回繰り返します。
9. 以上で、丸底フラスコには約180mLの塩化メチレンが残ります。丸底フラスコをRotavaporエバポレータに装着し、約 100rpm 40°Cで5～7mLになるまで蒸発させます。
10. 丸底フラスコの中身を15mLの回収チューブに移します。丸底フラスコを5mLの塩化メチレンですすぎ、その塩化メチレンを回収チューブに加えます。
11. 15mL回収チューブを水温40°Cにセットした窒素エバポレータ上に置き、サンプルがほぼ乾くまで蒸発させます。
12. 窒素エバポレータからチューブを外し、チューブに塩化メチレン1.0mL、0.5pg/ $\mu$ L（ppb）のISTD溶液10 $\mu$ Lを加えます。
13. ボルテックスを行い、溶液をオートサンプラーバイアルに移します。
14. バイアルをキャップして分析まで冷凍庫に-5°Cで保管します。

ターゲット化合物はその保持時間 (RT) と選択イオンによって同定され、あらかじめ決められた定量イオン ( $m/z$ ) を使って定量し、内部標準 (ISTD) で補正されます。農薬のRTと質量数は、市販されている質量スペクトルライブラリのものを使用しました (Agilent Technologies Retention Time Locking Pesticide MS Library—Agilent Technologies リテンションタイムロッキング農薬MSライブラリ、G1049)。

## メソッドの較正

メソッドを較正するために、マトリックスと試薬等級水 (Reagent Grade water) に5段階の標準物質を加えたものを用意します。試薬水を分離漏斗に入れて10~15グラムのNaClを加え、サンプル調製手順に従ってこれを1.0mLまで濃縮します。このうちの0.5mLを抽出し、アセトンに溶かした0.5mLの標準物質を加えます。この溶液に10 $\mu$ LのISTD溶液を加え較正用標準サンプルとし、GC/MSDで分析します。原点 (0,0) を含む直線回帰を使用し、 $R^2$ の値は0.99以上とします。これらの較正用標準サンプルは、未知サンプルセットとともに分析して、較正の整合性をチェックします。継続的較正標準値は、較正の $\pm 25\%$ でなければなりません。残留農薬濃度は装置の指示値から計算します。

$$R \text{ (ppt)} = I \times \frac{1000 \text{ g}}{W \text{ (g)}}$$

R = 残留農薬量 (ppt)

I = 装置の応答値

W = サンプル重量 (g)

較正曲線の $R^2$ の値が0.99未満の場合は、サンプルの応答と、最も近いブラケット標準物質濃度の平均応答とを直接比較することによって農薬レベルを決定できます。ブラケット標準物質の応答差は25%以内でなければなりません。また、残留物の応答は標準物質の応答の30%以内の範囲になければなりません。残留農薬物量が較正曲線の範囲外となる場合は、サンプルを希釈して分析をやり直します。検出限界 (DL) を低くしたり特定の測定手法に対応したりするには、非線形較正が必要になることがあります。非線形較正を検出器の飽和補正や装置のメンテナンス回避のために使用することできません。

単一点の比較を使用した較正:

$$S \text{ (ppt)} = SR/AR \times \frac{1000 \text{ g}}{W \text{ (g)}} \times SA \text{ (ppt)}$$

S = サンプル量

SR = サンプル応答

AR = ブラケット標準物質の平均応答

W = サンプル重量 (g)

SA = 標準物質の量 (ppt)

サロゲート物質と濃度: クロルピリフォスメチル、500ppt

## 結果と考察

LOQはTMDLプログラムによって指定されており、このメソッドの最小検出レベル (Minimum Detection Level: MDL) は、化合物同定可能な装置 (GC/MSD) の応答を実験することで検証されました。1リットルの水道水には異なる量のスパイク混合溶液を添加し、添加レベルの異なる (1、3、および5) 3つのサンプルを毎日用意して直ちに抽出と定量を行いました。実験は、時間的なばらつきを反映させるために3セットを3日に分けて行っています。表1と図1は、各レベルについて3日間にわたり行った分析によって得られた結果です。表2と図2は、3つのレベルすべてについて同じ日に分析を行った結果です。表1と表2の結果は同じですが、それぞれ異なる方法で示されています。化合物の代表的な回収率は80%~90%ですが、回収率が最も悪いのはエプタム (EPTC) で40~60%の範囲に止まっています。

表1. 3つのレベルを3日間に分けた場合の17種類のターゲット化合物およびISTDの回収結果

化合物	レベル1- LOQ			レベル3- 4×LOQ			レベル5- 20×LOQ		
	濃度 (ppt)	3日間の 平均回収率	% RSD	濃度 (ppt)	3日間の 平均回収率	% RSD	濃度 (ppt)	3日間の 平均回収率	% RSD
EPTC (エブタム)	50	70	34	200	48	27	1000	62	23
シマジン	200	88	10	800	81	16	1200	86	13
ダイアジノン	20	92	15	100	80	19	1000	83	13
ジスルホトン	20	82	13	100	71	21	1000	78	18
クロルピリフォスメチル	50	87	12	200	78	18	1000	81	15
カルバリル	20	89	15	100	80	12	1000	88	9
メトラクロール	20	89	9	100	85	14	1000	86	13
クロルピリフォス	10	94	12	50	81	18	500	85	14
シアナジン	50	91	11	200	85	17	1000	87	13
ダクタール (DCPA)	50	89	11	200	83	14	1000	85	12
メチダチオン	30	90	18	100	85	13	1000	86	18
プロパルギット	500	84	24	1000	85	12	2000	85	18
ピフェントリン	50	85	15	200	91	11	1000	86	15
アジンホスメチル	50	91	26	200	113	31	1000	89	30
1-シハロトリン	100	85	14	400	90	11	1000	86	24
シフルトリン	200	89	23	800	91	16	1200	89	24
シベルメトリン	200	87	20	800	90	11	1200	90	30
エスフェンバレレート	50	87	30	200	94	15	1000	87	30

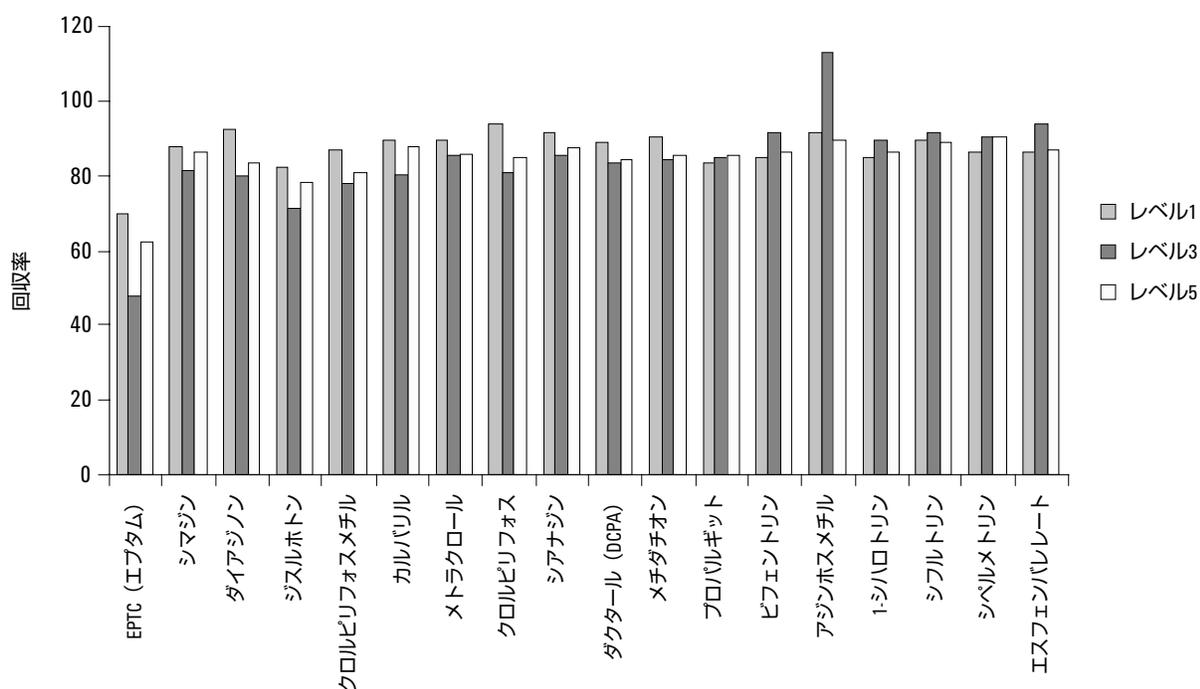


図1. 3つの濃度レベルを3日に分けて分析した場合の17種類のターゲット化合物とISTDの回収率 (表1のデータより)

表2. 3つのレベルを同じ日に分析した場合の17種類のターゲット化合物およびISTDの回収結果

同一日の変化 (3レベル) 化合物	1日目			2日目			3日目		
	平均	SDの変化	% RSD	平均	SDの変化	% RSD	平均	SDの変化	% RSD
EPTC (エブタム)	44	1	3	73	12	16	62	22	36
シマジン	80	1	1	98	2	2	78	8	10
ダイアジノン	75	2	2	99	5	5	81	13	16
ジスルホトン	69	2	3	92	3	4	71	12	16
クロルピリフォスメチル	75	3	4	95	3	3	76	9	12
カルバリル	83	6	7	97	7	7	78	4	5
メトラクロール	81	2	2	99	0	0	81	6	7
クロルピリフォス	81	5	6	101	6	6	78	10	13
シアナジン	81	3	4	102	2	1	81	6	8
ダクタール (DCPA)	78	2	3	97	1	1	82	6	7
メチダチオン	82	3	4	103	6	5	76	1	2
プロパルギット	80	6	7	101	5	5	73	7	10
ピフェントリン	82	7	8	101	2	2	80	4	4
アジンホスメチル	79	5	6	115	9	8	100	44	44*
1-シハロトリン	79	7	8	103	6	6	79	3	4
シフルトリン (トータル)	84	10	11	109	4	4	75	6	7
シベルメトリン (トータル)	80	7	9	110	11	10	77	6	7
エスフェンバレレート	88	16	18	109	8	7	70	12	17

\*サンプルに何らかの汚染がありレベル5分析時の定量に干渉。

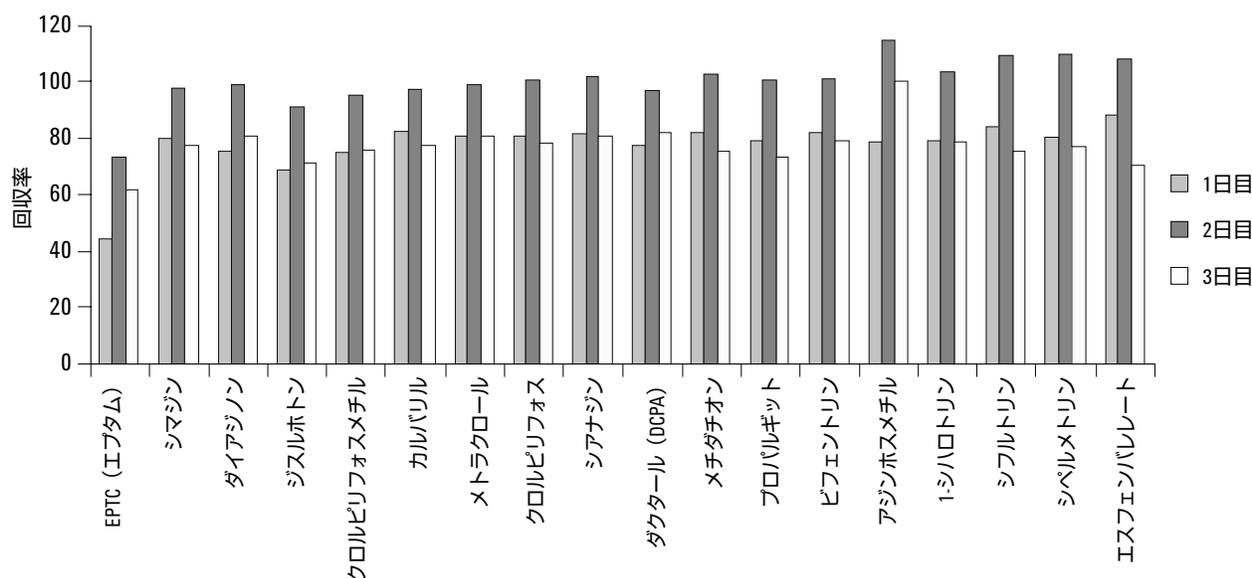


図2. 3つの濃度レベルを同じ日に分析した場合の17種類のターゲット化合物とISTDの回収率 (表2のデータより)

3種類の化学物質（ダイアジノン、シアナジン、エスフェンバレート）については、マトリックス効果への対応と必要な感度を得るために、文書に報告されたものとは異なる定量イオンを使用しました。MDLの実証においては、マトリックス干渉のためにアジンホスメチルを明確に同定することができませんでした。この干渉は偶発的なもので、常に結果に影響を与えるものではありません。図3は、SIMモードにおけるレベル5の標準物質と水のサンプルのトータルイオンクロマトグラム（TIC）を重ねて示したものです。

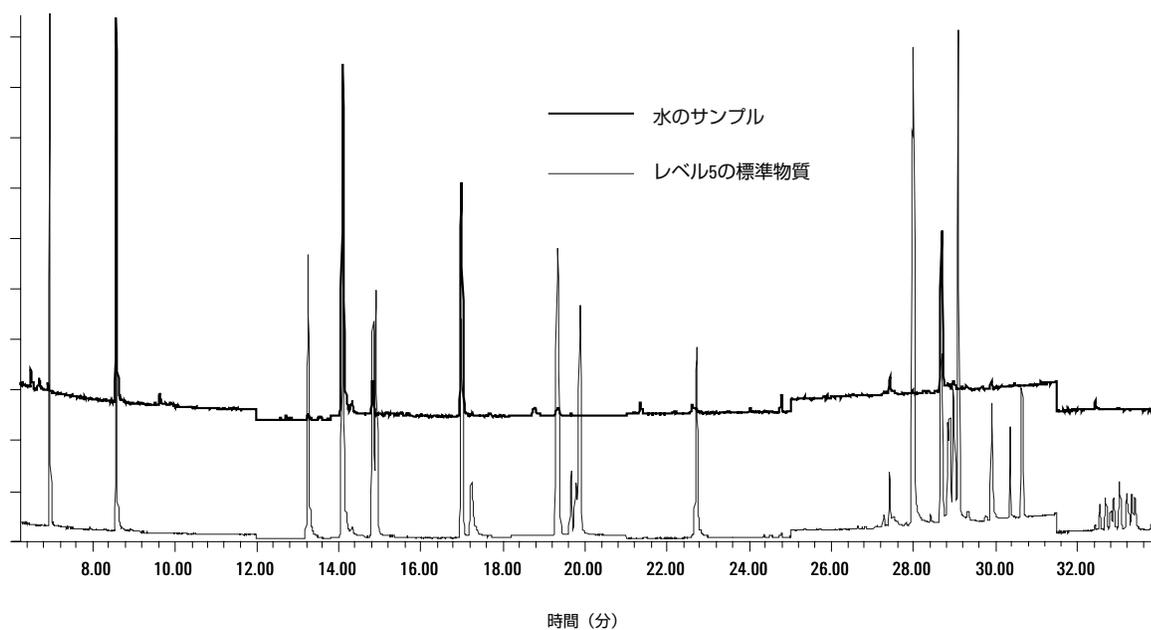


図3. SIMモードにおけるレベル5標準物質と水サンプルのTIC

表3は、分析対象となった農薬の検出限界（Limit Of Detection：LOD）とLOQの概要をまとめたものです。最も低いLOQはクロルピリフォスの10pptです。

表3. 分析対象農薬のLODとLOQ

化合物	LOD (ppb)	LOQ (ppb)
エブタム (EPTC)	0.020	0.05
シマジン	0.005	0.20
ダイアジノン	0.007	0.02
ジスルホトン	0.007	0.02
カルバリル	0.007	0.02
メトラクロール	0.007	0.02
クロルピリフォス	0.004	0.01
シアナジン	0.007	0.05
ダクタール (DCPA)	0.007	0.05
メチダチオン	0.010	0.03
プロバルギット	0.150	0.50
ピフェントリン	0.007	0.05
アジンホスメチル	0.007	0.05
1-シハロトリン	0.030	0.10
シフルトリン (4)	0.070	0.20
シベルメトリン (4)	0.070	0.20
エスフェンバレレート	0.007	0.05

サロゲート：0.5ng/mL (500ppt) クロルピリフォスメチル

ISTD：アントラセン-d<sub>10</sub>、ピレン-d<sub>10</sub>、クリセン-d<sub>12</sub>、濃度各0.5 ng/mL (500ppt)

## 結論

農薬汚染源の特定と暴風雨シーズンにおける河川の汚染負荷量の計算するために、GC/MSDを使用するUSGSのメソッドに変更を加え、12種類の有機リン系農薬と5種類のピレスロイド系農薬に対して妥当性を検証しました。GC/MSD SIM法を使用した場合、これらターゲット化合物のLOQは10～500pptです。

## 詳細情報

Agilentの製品およびサービスについてさらに詳しい内容をお知りになりたい場合は、弊社ウェブサイトをご覧ください。[www.agilent.com/chem/jp](http://www.agilent.com/chem/jp)

お問い合わせは： 0120-477-111  
横河アナリティカルシステムズ株式会社  
〒192-0033 東京都八王子市高倉町 9-1

この資料に含まれる誤りや、この資料の提供、内容の実行、または使用に伴って生じる二次的損害または結果的損害については責任を負いかねます。

この文書に含まれる情報、記述、仕様は予告なく変更されることがあります。

© Agilent Technologies, Inc. 2004

Printed in the USA  
May 24, 2004  
5989-1100JAJP