

ゴルフ場農薬 44 成分同時分析の検討

森本 章嗣 上本 宗祥 渡邊 進一 小串 恭子
宮本 伸一 松尾 愛子* 山本 恒彦 片岡真喜夫
細末 次郎 堀川 敏勝*

ゴルフ場で使用される農薬(以下,ゴルフ場農薬)の 44 成分同時分析を液体クロマトグラフタンデム型質量分析計(以下, LC/MS/MS)によって行い, 検出下限値(以下, IDL)および定量下限値(以下, MQL)を算出した。その結果, イプロジオンおよびフラザスルフロンを除く 42 成分で IDL が 1ppb 以下を達成できた。また, IDL が求められた 42 成分について MQL を算出し, 回収率の低かったフラザスルフロンおよびペンディメタリンを除く 40 成分について MQL を算出した。

今回の検討では, 40 成分については同時分析可能であったが, IDL の目標値を達成できなかった農薬や回収率の低い農薬もあり, 今後さらに検討を続けていく。

キーワード: ゴルフ場農薬, 44 成分同時分析, LC/MS/MS, IDL, MQL

はじめに

ゴルフ場農薬については, 水質汚濁を未然に防止するため, 「ゴルフ場で使用される農薬による水質汚濁の防止に係る暫定指導指針」(以下, 「指針」)が定められている。平成 22 年 9 月, この指針の一部が改正され, 指針値設定農薬が 42 農薬から 69 農薬に増加した。増加に伴い, 排水に係る標準分析方法として LC/MS/MS による多成分同時分析法が示された¹⁾。

今回, LC/MS/MS による 44 成分同時分析を試みたので, その結果を報告する。

方法

1 操作法

指針の「II 排水に係る標準分析方法」に従い操作を行った。

2 試薬等

標準液: 農薬混合標準液 65(関東化学 43 成分), フェニトロチオン(Dr. Ehrenstorfer)

その他の試薬: アセトン 5,000(関東化学), アセトニトリル 5,000(関東化学), ヘキサン 5,000(関東化学), メタノール 5,000(関東化学), 塩酸(特級, 関東化学), 酢酸アンモニウム溶液(高速液体クロマトグラフ用, 和光純薬), 超純水(Milli-Q) 固相抽出カラム: Waters 社製 Oasis HLB PLUS(アセトン 5ml および水 5ml で洗浄したもの)

3 装置

LC: 島津製作所製 LC-20AD 型ポンプ, 同 DGU-20A5 型デガッサ, 同 FCV-11AL 型リザーブ切替バルブ, 同 SCL-10AVP 型システムコントローラ, 同 SIL-20AC 型オートサンプラー, 同 SPD-20AV 型 UV-VIS 検出器, 同 CTO-20A 型オーブンによって構成されたもの MS/MS: ABSciex 製 API4000

4 測定条件

カラム: 関東化学製 Mightysil RP-18GP(カラム径 2mm, 粒子径 3 μ m, 細孔径 12.5nm, 長さ 150mm)

カラム槽温度: 40°C

注入量: 5 μ l

移動相: 5mmol/L 酢酸アンモニウム溶液およびメタノールの混液(80:20)から(10:90)までの濃度勾配を 13 分間で行い, そのまま 10 分間維持した。

対象成分の測定条件: 表 1 に示す。対象成分ごとに直接イオン源に標準溶液を注入し, 測定条件を定めた。

イオン源のパラメータ: 表 2 に示す。Positive モードではフェニトロチオン, Negative モードではトリクロピルで, FIA(Flow Injection Analysis)によりイオン源の最適化を行った。

5 IDLの算出

指針では各成分の 0.005ng が十分確認できることとなっていたため, 44 成分を含む 1ppb 標準溶液を調製したのち, 5 μ l(0.005ng 相当)を 7 回測定して「要調査項目等調査マニュアル」²⁾に従い装置の IDL を算出した。

*: 退職

6 MQLの算出

河川水に 200ppb 混合標準溶液を添加して濃度が 0.5ppb と 2.5ppb になるように調製し、各濃度ごとに 7 検体ずつ試料 250ml を 300ml 三角フラスコに量り取り、1mol/L 塩酸 2.5ml を加えた。これを固相抽出カラムに毎分 10ml の流速で 20 分間流し入れ、次に水 10ml を流し、流出液を捨てた後、アルゴンガスにより乾燥した。アセトン 30ml で展開し、溶出液を 100ml のナス型フラスコに取り、アセトニト

リル 2ml を加えた。それをロータリーエバポレータを用いて 38℃で約 1ml まで溶媒を留去し、アルゴンガス気流下で乾固し、この残留物にアセトンおよびヘキサンの混液(1:1)2ml を加えて溶解した。その溶解液 1ml を取り、アルゴンガス気流下で乾固し、この残留物に水およびメタノールの混液(1:1)50ml を加えて溶解した。それらの試料を測定し、「要調査項目等調査マニュアル」に従い MQL を算出した。

表 1 各成分の測定条件

成分名	イオン化法	プレカーサー イオン(m/z)	プロダクト イオン(m/z)	MS/MS パラメータ (eV)		
				DP	CE	CXP
アセタミプリド	pos	223	126, 207	56	29, 25	8, 16
アゾキシストロビン	pos	404	372, 344	71	21, 35	28, 24
イソキサチオン	pos	314	105, 286	56	23, 15	8, 26
イソプロチオラン	pos	291	189, 231	31	31, 17	14, 20
イブロジオン	neg	328, 329	245, 288	-56	-23, -19	-16, -8
イミダクロプリド	pos	256	175, 209	56	29, 23	12, 16
エトキシスルフロ	pos	399	261, 218	61	23, 35	18, 18
オキサジクロメホン	pos	376	190, 161	66	21, 39	12, 10
カフェンストロール	pos	351	100, 72	61	15, 47	8, 12
カフェンストロール代謝産物	neg	250	186, 67	-60	-26, -44	-15, -9
クミロン	pos	303	185, 125	56	19, 51	14, 8
クロチアニジン	pos	250	169, 132	56	19, 21	12, 8
シクロスルファミロン	neg	420	265, 78	-40	-18, -52	-1, -1
ジチオピル	neg	400	352, 304	-30	-18, -34	-15, -19
シデュロン	pos	233	137, 94	71	25, 37	10, 6
ジフェノコナゾール	pos	406	251, 111	91	35, 79	18, 8
シプロコナゾール	pos	292	70, 125	61	43, 39	12, 10
シマジン	pos	202	132, 104	71	27, 35	12, 8
シメコナゾール	pos	294	70, 73	61	47, 49	4, 4
ダイアジノン	pos	305	169, 153	66	31, 29	10, 10
チアメトキサム	pos	292	211, 181	61	19, 31	14, 12
チフルザミド	pos	529	148, 107	91	59, 95	10, 8
テトラコナゾール	pos	372	159, 70	51	47, 47	10, 4
テブコナゾール	pos	308, 309	70, 70	61, 71	51, 47	12, 12
テブフェノジド	pos	353	297, 133	51	13, 25	20, 8
テルブカルブ	pos	278	222, 166	66	11, 19	16, 12
トリクロピル	neg	254, 256	196, 198	-30, -45	-14, -18	-11, -9
トリフルミゾール	pos	346	278, 73	51	15, 25	18, 4
トリフルミゾール代謝物	pos	295	215, 176	76	35, 35	22, 16
ハロスルフロメチル	neg	433	252, 78	-70	-24, -58	-11, -11
ビリブチカルブ	pos	331	181, 108	51	16, 47	23, 8
フェニトロチオン	pos	278	109	76	27	8
ブタミホス	pos	331, 333	180, 152	61	15, 27	12, 10
フラザスルフロ	neg	408	182, 83	66	27, 69	12, 4
フルトラニル	pos	324	242, 262	61	37, 27	18, 26
プロピコナゾール	pos	342, 344	159, 161	66, 71	37, 37	12, 10
プロピザミド	pos	256	190, 173	61	21, 31	14, 12
ベンシクロ	pos	329	125, 89	91	37, 93	8, 6
ベンスリド	neg	396	213, 111	-40	-12, -54	-11, -17
ペンディメタリン	pos	282	212, 194	36	15, 27	14, 18
ボスカリド	pos	343	307, 272	91	29, 45	22, 18
メコプロップ	neg	213, 215	141, 143	-45, -40	-22, -20	-9, -11
メタラキシル	pos	280	220, 192	46	19, 27	16, 16
メプロニル	pos	270	119, 228	61	31, 21	8, 24

注: pos: Positive モード neg: Negative モード

DP: Declustering Potential CE: Collision Energy CXP: Collision Cell Exit Potential

表2 イオン源のパラメータ

	CUR	GS1	GS2	IS	TEM	CAD	注 : CUR : Curtain Gas	GS1 : Ion Source Gas1
	(psi)	(psi)	(psi)	(V)	(°C)	(-)	GS2 : Ion Source Gas2	IS : Ion Spray Voltage
Positive	20	80	70	5500	300	5	TEM : Temperature	CAD : Collision Gas
Negative	30	30	70	-4500	400	7		

表3 各成分の保持時間

成分名	保持時間 (分)
Positive モード	
1 チアメトキサム	2.75
2 クロチアニジン	5.62
3 イミダクロプリド	5.95
4 アセタミプリド	6.96
5 エトキシスルフロ	11.2
6 シマジ	11.7
7 メタラキシル	13.7
8 アゾキシストロビン	14.4
9 シデュロン	14.8
10 ボスカリド	15.0
11 イソプロチオラン	15.2
12 フルトラニル	15.2
13 メプロニル	15.3
14 プロピザミド	15.4
15 カフェンストロール	15.5
16 クミロン	15.5
17 シプロコナゾール	15.8
18 トリフルミゾール	15.8
代謝物	
19 シメコナゾール	15.9
20 テトラコナゾール	15.9
21 チフルザミド	16.1
22 テブコナゾール	16.8
23 テブフェノジド	16.8
24 ダイアジノン	17.0
25 プロピコナゾール	17.0
26 イソキサチオン	17.1
27 ブタミホス	17.1
28 ペンシクロン	17.4
29 ジフェノコナゾール	17.6
30 テルブカルブ	17.7
31 フェニトロチオン	17.7
32 トリフルミゾール	18.0
33 オキサジクロメホン	18.2
34 ピリブチカルブ	19.2
35 ペンディメタリン	19.9
Negative モード	
36 ハロスルフロメチル	9.15
37 カフェンストロール	10.5
代謝産物	
38 トリクロピル	11.2
39 メコプロップ	11.7
40 シクロスルファミロン	13.5
41 ベンスリド	16.2
42 ジチオピル	17.7

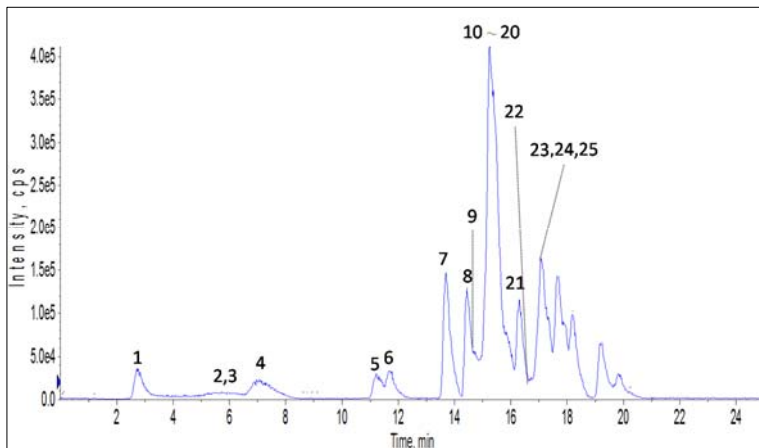


図1 Positive モードの TIC (1~25)

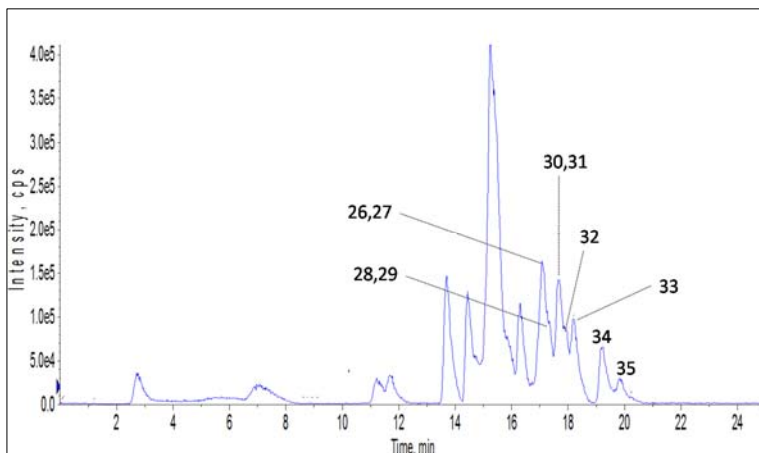


図2 Positive モードの TIC (26~35)

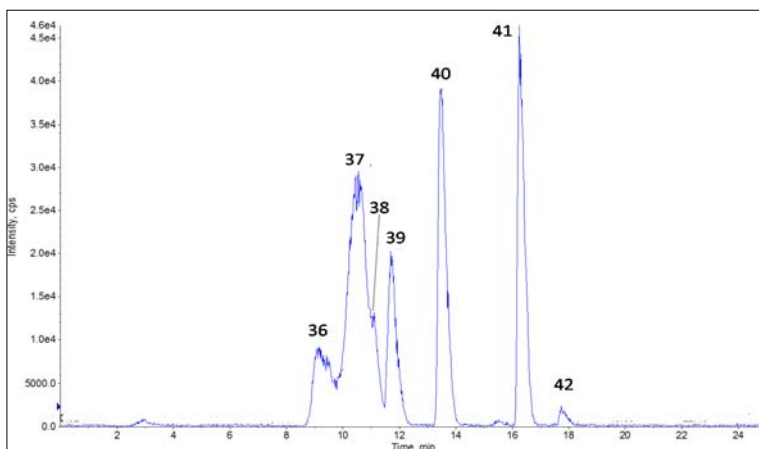


図3 Negative モードの TIC (36~42)

表 4 各成分の装置の検出下限値

成分名	測定結果 (ppb)							標準 偏差 (ppb)	変動 係数 (%)	IDL (ppb)
	1回目	2回目	3回目	4回目	5回目	6回目	7回目			
アセタミプリド	0.973	0.977	0.833	0.892	0.916	0.872	0.961	0.0544	5.9	0.21
アゾキシストロビン	1.05	1.01	0.982	1.04	1.01	1.03	1.08	0.0319	3.1	0.12
イソキサチオン	1.04	1.04	1.07	1.02	1.05	1.02	1.00	0.0230	2.2	0.089
イソプロチオラン	1.02	0.998	0.995	0.987	1.04	0.985	1.03	0.0220	2.2	0.085
イブロジオン	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
イミダクロプリド	0.997	0.922	0.866	0.983	1.02	0.976	0.956	0.0517	5.4	0.20
エトキシスルフロソ	1.07	1.12	1.10	1.15	1.20	1.14	1.14	0.0410	3.6	0.16
オキサジクロメホン	0.994	0.997	0.999	0.944	1.00	0.995	1.06	0.0336	3.4	0.13
カフェンストロール	0.971	1.00	1.01	0.984	0.941	0.966	0.936	0.0279	2.9	0.11
カフェンストロール 代謝産物	1.01	0.999	1.03	1.00	1.01	1.02	1.03	0.0129	1.3	0.050
クミルロン	1.09	1.12	1.12	1.13	1.14	1.11	1.10	0.0172	1.5	0.067
クロチアニジン	0.861	0.970	1.11	1.15	1.13	1.17	0.992	0.1153	11	0.45
シクロスルファミロン	1.03	1.01	1.03	1.05	0.971	0.965	0.998	0.0318	3.2	0.12
ジチオピル	0.870	1.05	0.905	0.935	0.909	0.896	1.01	0.0659	7.0	0.26
シデュロン	1.12	1.08	1.10	1.14	1.07	1.06	1.08	0.0287	2.6	0.11
ジフェノコナゾール	1.09	1.02	1.08	1.02	1.09	0.967	1.04	0.0459	4.4	0.18
シプロコナゾール	1.47	1.10	1.05	1.33	1.17	1.17	1.21	0.1430	12	0.56
シマジソ	1.03	1.10	1.09	1.06	1.05	1.03	1.03	0.0294	2.8	0.11
シメコナゾール	1.11	0.982	1.03	1.02	1.12	1.09	0.998	0.0559	5.3	0.22
ダイアジソ	1.05	1.06	1.10	1.11	1.10	1.02	1.04	0.0348	3.3	0.14
チアメトキサム	1.08	1.05	1.01	1.11	1.06	1.06	1.11	0.0353	3.3	0.14
チフルザミド	1.01	1.01	1.09	1.01	1.05	1.06	1.04	0.0308	3.0	0.12
テトラコナゾール	1.03	1.02	1.07	1.14	1.06	0.963	1.06	0.0541	5.2	0.21
テブコナゾール	1.18	0.984	0.984	1.05	1.01	1.03	1.06	0.0675	6.5	0.26
テブフェノジド	1.02	1.03	0.999	1.01	1.01	1.00	1.01	0.0109	1.1	0.042
テルブカルブ	0.986	1.00	1.14	1.06	1.03	1.09	1.05	0.0529	5.0	0.21
トリクロピル	0.932	0.946	0.990	0.962	0.973	0.898	0.986	0.0327	3.4	0.13
トリフルミゾール	0.927	0.814	0.849	0.854	0.823	0.845	0.791	0.0431	5.1	0.17
トリフルミゾール 代謝物	1.18	0.988	1.09	1.05	1.17	1.12	1.02	0.0734	6.7	0.29
ハロスルフロソメチル	0.928	0.984	1.04	0.984	0.934	0.957	0.993	0.0386	4.0	0.15
ピリブチカルブ	1.08	1.00	1.05	1.09	1.07	1.05	1.08	0.0306	2.9	0.12
フェニトロチオン	1.00	0.990	0.982	1.01	0.998	1.09	1.09	0.0467	4.6	0.18
ブタミホス	1.05	1.06	0.996	1.03	1.06	0.974	1.01	0.0336	3.3	0.13
フラザスルフロソ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
フルトラニル	1.04	1.01	1.04	1.06	1.04	1.07	1.07	0.0214	2.0	0.083
プロピコナゾール	1.04	1.11	1.15	1.08	0.996	1.15	1.04	0.0591	5.5	0.23
プロピザミド	0.960	0.971	0.931	1.05	0.992	0.976	1.00	0.0372	3.8	0.14
ペンシクロソ	1.12	1.06	1.06	1.05	1.12	1.04	1.08	0.0326	3.0	0.13
ベソスリド	1.03	0.955	1.04	0.888	0.998	0.965	0.977	0.0324	3.3	0.13
ペンディメタリン	1.08	0.984	1.01	1.01	1.02	0.990	0.980	0.0512	5.2	0.20
ボスカリド	1.07	1.05	1.10	1.02	0.871	1.13	1.12	0.0886	8.4	0.34
メコプロップ	0.977	1.04	1.05	0.980	0.949	0.994	1.04	0.0390	3.9	0.15
メタラキシル	1.03	1.02	1.03	1.05	1.00	1.08	1.08	0.0302	2.9	0.12
メプロニル	1.08	1.07	1.08	1.10	1.12	1.14	1.09	0.0250	2.3	0.097

表5 各成分の測定方法の定量下限値

成分名	測定結果 (ppb)							標準 偏差 (ppb)	変動 係数 (%)	MQL (ppb)
	1回目	2回目	3回目	4回目	5回目	6回目	7回目			
アセタミプリド	0.550	0.595	0.550	0.575	0.504	0.585	0.595	0.0352	6.2	0.35
アゾキシストロビン	0.437	0.489	0.444	0.489	0.382	0.456	0.463	0.0365	8.1	0.37
イソキサチオン	1.94	2.00	1.97	2.05	1.89	1.94	1.87	0.0680	3.5	0.68
イソプロチオラン	0.419	0.520	0.421	0.485	0.434	0.449	0.471	0.0370	8.0	0.37
イミダクロプリド	2.22	2.37	2.37	2.67	2.30	2.56	2.72	0.174	7.0	1.7
エトキシスルフロン	2.00	2.46	2.07	1.99	2.07	2.30	2.06	0.180	8.4	1.8
オキサジクロメホン	2.27	2.16	2.36	2.08	2.11	2.37	2.20	0.125	5.6	1.3
カフェンストロール	2.26	2.25	2.27	2.29	2.26	2.30	2.11	0.0688	3.1	0.69
カフェンストロール	0.474	0.510	0.510	0.520	0.428	0.555	0.530	0.0411	8.1	0.41
代謝産物										
クミルロン	2.35	2.48	2.50	2.52	2.35	2.62	2.38	0.0993	4.0	0.99
クロチアニジン	2.51	2.38	2.38	2.59	2.55	2.34	2.25	0.128	5.3	1.3
シクロスルファミロン	2.32	2.47	2.51	2.35	2.29	2.32	2.26	0.101	4.3	1.0
ジチオピル	2.24	2.08	2.35	2.08	2.16	2.06	2.18	0.109	5.1	1.1
シデュロン	0.497	0.540	0.474	0.494	0.449	0.520	0.499	0.0295	5.9	0.30
ジフェノコナゾール	2.00	2.15	2.21	2.13	2.08	2.00	2.16	0.0729	3.4	0.73
シプロコナゾール	0.580	0.615	0.520	0.466	0.505	0.575	0.560	0.0511	9.5	0.51
シマジン	0.477	0.550	0.434	0.431	0.431	0.464	0.436	0.0433	9.5	0.43
シメコナゾール	2.51	2.48	2.33	2.38	2.72	2.64	2.43	0.151	6.0	1.5
ダイアジノン	2.01	1.91	1.94	1.95	2.04	2.06	1.95	0.0587	3.0	0.59
チアメトキサム	2.29	2.28	2.48	2.25	2.47	2.51	2.34	0.113	4.7	1.1
チフルザミド	2.21	2.48	2.39	2.18	2.40	2.44	2.55	0.126	5.2	1.3
テトラコナゾール	2.33	2.48	2.49	2.49	2.28	2.61	2.48	0.104	4.2	1.0
テブコナゾール	2.58	2.54	2.71	2.62	2.38	2.44	2.56	0.119	4.7	1.2
テブフェノジド	0.415	0.445	0.375	0.437	0.355	0.414	0.429	0.0333	8.1	0.33
テルブカルブ	0.478	0.505	0.510	0.450	0.390	0.456	0.461	0.0402	8.7	0.40
トリクロピル	2.60	2.75	2.88	2.79	2.94	2.98	2.67	0.119	4.2	1.20
トリフルミゾール	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
トリフルミゾール	2.33	2.25	2.52	2.38	2.28	2.20	2.50	0.135	5.7	1.4
代謝物										
ハロスルフロメチル	0.505	0.488	0.510	0.550	0.441	0.520	0.535	0.0354	7.0	0.35
ピリブチカルブ	1.97	2.07	2.12	2.01	2.03	2.12	1.87	0.0923	4.5	0.92
フェニトロチオン	2.55	2.61	2.45	2.47	2.41	2.39	2.30	0.104	4.3	1.0
ブタミホス	2.20	2.24	2.16	2.24	2.30	2.39	2.25	0.0764	3.4	0.76
フルトラニル	0.446	0.431	0.455	0.484	0.390	0.430	0.431	0.0287	6.6	0.29
プロピコナゾール	2.45	2.40	2.46	2.51	2.36	2.48	2.29	0.0825	3.4	0.83
プロピザミド	2.45	2.67	2.40	2.47	2.23	2.49	2.52	0.147	6.0	1.5
ペンシクロン	2.34	2.35	2.37	2.29	2.29	2.39	2.25	0.0545	2.3	0.55
ベンスリド	2.31	2.47	2.31	2.29	2.38	2.41	2.26	0.0812	3.5	0.81
ペンディメタリン	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ボスカリド	2.49	2.76	2.79	2.51	2.64	2.44	2.49	0.146	5.6	1.5
メコプロップ	0.474	0.505	0.505	0.535	0.478	0.510	0.472	0.0232	4.7	0.23
メタラキシル	0.480	0.485	0.462	0.461	0.421	0.497	0.498	0.0269	5.7	0.27
メプロニル	0.457	0.510	0.452	0.462	0.378	0.487	0.476	0.0414	9.0	0.41

結果と考察

標準溶液測定時の各成分の保持時間, TIC を表 3, 図 1~3 に示し, 各成分の検出下限値, 定量下限値を表 4 および表 5 に示す。

1 検出下限値 (IDL)

44 成分のうち, イプロジオンおよびフラザスルフロンを除く 42 成分は, 変動係数 1.1~12%, 標準偏差 0.011~0.14ppb, IDL は 0.042~0.56ppb (絶対量として 0.00024ng~0.0028ng) の範囲となり, 指針の検出下限値 0.005ng (5 μ l 注入時 1ppb) を満足できた。なお, イプロジオンおよびフラザスルフロンは, この測定条件では検出できなかった。検出できなかった原因としては, イプロジオンは分解温度が 233 $^{\circ}$ C³⁾ と低く, イオン源の温度は 300 $^{\circ}$ C であるためイオン化の際に分解してしまったと考えられた。また, フラザスルフロンは, 移動相をアセトニトリルに変更⁴⁾ するなど分析条件の検討が必要である。

2 定量下限値 (MQL)

MQL は 0.5ppb に調製された試料の値で算出したが, 7 つの試料のうち 1 つ以上添加回収率が 70% を下回った成分と, 変動係数が 10% を超えた成分に関しては, MQL の算出の際 2.5ppb に調製された試料の値を用いて算出した。その結果, IDL を求めた 42 成分のうち 40 成分で変動係数 2.3~9.5, 標準偏差 0.023~0.18ppb となり, MQL は 0.23~1.8ppb の範囲となった。なお, トリフルミゾールおよびペンディメタリンは 2.5ppb でも添加回収率が 70% を下回った試料がほとんどであり, MQL を算出することは出来なかった。算出できなかった原因としては, トリフルミゾールは光分解を起こした⁵⁾ ためと考えられる。また, ペンディメタ

リンは疎水性が高く⁶⁾ 固相抽出カラムの乾燥が十分でなかった可能性がある。そのため, ガラス器具を透明なものから褐色なものに変更し, 遠心分離器等で固相抽出カラムの乾燥をしっかりと行って再検討する必要がある。

今回, 農薬混合標準液 65 およびフェニトロチオン標準液を用いて分析条件の検討を行った結果, 2 成分を除く 42 成分について, 0.042~0.56ppb の範囲で IDL を求めることができた。また, 40 成分について, 0.23~1.8ppb の範囲で MQL を求めることができた。今回の検討では, 40 成分について同時分析が可能であることが分かったが, IDL の目標値を達成できなかった農薬や回収率の低かった農薬もあり, 今後さらに検討を続けていく。

文 献

- 1) 環境省: ゴルフ場で使用される農薬による水質汚濁の防止に係る暫定指導指針, (平成 22 年 9 月 29 日)
- 2) 環境省: 要調査項目等調査マニュアル(水質, 底質, 水生生物), 8~12(平成 20 年 3 月)
- 3) 厚生労働省: 職場の安全サイト, 製品安全データシート, (平成 21 年 3 月 30 日)
- 4) 厚生労働省: 水質管理目標設定項目の検査方法, 71(平成 19 年 11 月 15 日)
- 5) 環境省: ゴルフ場で使用される農薬による水質汚濁の防止に係る暫定指導指針, 98(平成 22 年 9 月 29 日)
- 6) 農林水産消費安全技術センター: ペンディメタリン農薬抄録, 6(平成 24 年 2 月 8 日)