

ゴルフ場使用農薬類の分析法に関する妥当性評価試験

宮本 千尋 鳥居南 豊

Validation tests of Analytical Methods for Golf Course Pesticides

Chihiro MIYAMOTO Yutaka TORIIMINAMI

要 旨

水濁指針値及び水産指針値が設定されているゴルフ場農薬のうち、当所において分析法が標準化されていないもの及びその代謝物の中から13物質を選定し、水質試料から対象物質を（必要に応じて誘導体化を行い）固相抽出法又はパージ・トラップ法により抽出した後、ガスクロマトグラフ質量分析法又は液体クロマトグラフタンデム型質量分析法による測定法を検討した。すなわち、分析法の妥当性を評価すべく13物質の標準試料を用いて測定装置の条件を最適化した後、各物質について検量線における直線性の範囲及び定量下限値を確認した。さらに、超純水及び都市河川水に13物質の標準液を添加して抽出操作を行い、各物質を定量して添加回収率を算出した。標準試料によるクロマトグラムは、すべての対象物質について良好な分離とピーク形状を示しており、その検量線は各方法の濃度範囲内（それぞれ50–2000 ng/mL, 0.5–20 ng/mL, 0.5–10 ng/mL）で良好な直線性を示した（相関係数0.998–1.000）。定量下限値については0.04–31 ng/mLであり、試料濃度に換算すると、いずれの物質においても京都府において定められた検出限界値を下回るものであった。添加回収率は71–118%であり、超純水及び都市河川水のいずれを用いた場合であってもすべての物質について評価基準（70–120 %）の範囲内であった。以上の結果は、今回確立した分析法が十分な感度及び精度を有していることを示しており、これを標準化することによって、今後のゴルフ場農薬検査方法に適用できると考えられた。

キーワード：固相抽出、パージ・トラップ法、ガスクロマトグラフ質量分析法、液体クロマトグラフタンデム型質量分析法、定量下限値、添加回収試験

Keywords：Solid phase extraction, Purge and trap method, Gas chromatography-mass spectrometry, Liquid chromatography-tandem mass spectrometry, Quantitation limit values, Spike recovery tests

はじめに

環境省は、ゴルフ場農薬による水質汚濁の防止を図る観点から、「ゴルフ場で使用される農薬による水質汚濁の防止及び水産動物被害の防止に係る指導指針」により、その排水中濃度について、水濁指針値及び水産指針値を定めている。監視対象農薬数は、令和4年1月1日現在、423種類に及ぶなか、当課では、かねてから監視対象農薬の測定のため、分析方法の標準化を順次行っており、令和2年度末までに103農薬の測定法を確立した¹⁻³⁾。しかし、ゴルフ場で使用される農薬の種類は、年々、新規農薬の登録や使用傾向の変化が生じており、それに伴って使用頻度の高い農薬等の測定法を順次、標準化していくことが求められる。また、検査業務の効率化を図るうえでは、可能な限り一斉分析法を検討することも必要である。

本研究で検討対象としたゴルフ場農薬は表1に示す13物質である。これらは、近年の府内における出荷量（国立環境研究所による化学物質データベースWebKis-Plus <https://www.nies.go.jp/kisplus/>に基づく）及び実際の府内ゴルフ場での使用実績に基づいて選定したものであるが、いずれも、前年度に検討対象としたゴルフ場農薬11物質の一斉分析法³⁾では測定できなかったものである。そこで、「水質管理目標

設定項目の検査方法」（厚生労働省健康局水道課長通知、平成15年10月10日、健水発第1010001号 別添⁴⁾）を参考としつつ、別の方法による分析法の確立を目指した。すなわち、前処理操作として固相抽出法、誘導体化-固相抽出法又はパージ・トラップ（PT）法を適用し、ガスクロマトグラフ質量分析計（GC/MS）又は液体クロマトグラフタンデム型質量分析計（LC/MS）による定量法を試みた。さらに、使用する有機溶媒等については可能な限り、人体への健康影響のリスクが少ないものへ変更することも検討した。先行研究¹⁻³⁾と同様、検討した分析法において、検量線の直線性の範囲を確認した後、定量下限値を算出し、さらに、超純水や河川水

表1. 分析対象とした農薬類の検査法、水濁指針値、水産指針値及び京都府が定める検出限界値

物質名	検査法*	水濁指針値 (ng/mL)	水産指針値 (ng/mL)	検出限界値 (ng/mL)
ピロキロン	A	500	33000	1
ブタクロール	A	260	31	1
プロモブチド	A	1000	4800	1
メチダチオン	A	—	1.1	0.1
メフェナセト	A	100	320	1
トリフルラリン	A	—	240	1
プロマシル	A	500	270	1
モリネート	A	55	5000	1
ダゾメット	B	100**	6100	1**
メタム	B	100**	200	1**
メチルイソチオンシアネート(MITC)	B	100	55	1
グリホサート	C	26600	62000	1***
アミノメチルリン酸 (AMPA)	C	—	—	—
グルホシネート	C	240	100000	1

*A: 固相抽出-ガスクロマトグラフ質量分析 (GC/MS) 法、B: パージ・トラップ (PT) - GC/MS法、C: 誘導体化-固相抽出-液体クロマトグラフタンデム型質量分析 (LC/MS) 法。

**MITCとして換算された濃度。

***グリホサート及びAMPAの和として換算された濃度。

(令和5年1月23日受理)

への添加回収試験を行った結果、13物質すべてについて分析法の妥当性が確認できたので、その概要を報告する。

材料と方法

1. 分析対象物質

分析対象物質として表1に示す13物質を選定した。「水質管理目標設定項目の検査方法」に基づき、ピロキロン、ブタクロール、プロモブチド、メチダチオン、メフェナセット、トリフルラリン、プロマシル及びモリネートの8物質については固相抽出-GC/MS法、ダゾメット及びメタムの2物質についてはPT-GC/MS法、グリホサート及びその代謝物であるアミノメチルリン酸 (AMPA) 並びにグルホシネートの3物質については誘導体化-固相抽出-LC/MS法により検討を行った。

なお、ダゾメット及びメタムは、水の存在下で速やかにメチルイソチオシアネート (MITC) へ分解されることにより農薬としての効果を発揮するものと考えられている⁴⁾ ため、いずれもMITCとして定量することとした。

2. 試薬

2-1. 固相抽出-GC/MS測定項目

標準品 (純度98.0%以上) はすべて富士フィルム和光純薬製のものを使用した。内部標準混合原液 (9-プロモアントラセン、アントラセン-d₁₀、クリセン-d₁₂の3種混合液) は関東化学製のものを使用した。抽出・希釈用溶媒のアセトン、ジクロロメタン及びメタノールは残留農薬・PCB試験用 (富士フィルム和光純薬製)、疑似マトリックス剤のポリエチレングリコール200は和光一級 (富士フィルム和光純薬製) を使用した。固相カートリッジはWaters製 Oasis HLB Plus 225 mgを使用した。

2-2. PT-GC/MS測定項目

MITC標準品 (純度99.0%以上)、ダゾメット標準品 (純度98.0%以上)、メタム標準品 (純度98.0%以上) 及び希釈用溶媒のメタノール (トリハロメタン測定用) は、富士フィルム和光純薬製のものを使用した。内部標準混合原液 (フルオロベンゼン含有) は関東化学製のものを使用した。

2-3. LC/MS測定項目

測定対象物質の標準品 (純度: グリホサート96%以上、AMPA98%以上、グルホシネート89.5-93.4%) 及び、四ホウ酸ナトリウム (無水)、リン酸 (特級)、クロロギ酸 9-フルオレニルメチル (FMOC) およびアセトニトリル (LC/MS用)、酢酸アンモニウム (特級) は、すべて富士フィルム和光純薬製を使用した。固相カートリッジはWaters製 Oasis HLB Plus 225 mgを使用した。

3. 混合標準溶液の調製

3-1. 固相抽出-GC/MS測定項目

各物質の標準品を、アセトンで各1 mg/mLに希釈したも

のを単一組成の標準原液とした。これらを混合・希釈して50, 100, 200, 500, 1000, 2000 ng/mLの6点の検量線用混合標準液を調製した。「水質管理目標設定項目の検査方法」においては、希釈溶媒としてジクロロメタンを使用することになっているが、試験操作者への健康影響のリスクを抑えるためアセトンに変更した。ただし、後述するようにアセトンを使用することにより測定精度上、支障があると判断されたトリフルラリン、プロマシル及びモリネートについてはジクロロメタンを使用することにした。

各濃度の標準液1 mLに対し内部標準混合液 (内部標準混合原液をアセトンで希釈し10 µg/mLに調製したものを) を20 µL添加し、さらにポリエチレングリコール溶液 (ポリエチレングリコール200をアセトンで2% (w/v) の濃度になるよう調製したものを) を10 µL添加し、GC/MS測定用試料とした。

3-2. PT-GC/MS測定項目

MITC標準品をメタノールに溶解し、1 mg/mLの標準原液を調製した後、これをメタノールで希釈して50 µg/mLとした。このメタノール溶液をさらに超純水で希釈し、0.5, 1, 2, 5, 10, 20 ng/mLの6点の検量線用標準液を調製した。ダゾメット及びメタムについては、いずれもMITCとして定量されるため検量線用標準液は調製しなかったが、後述の添加回収試験において使用する標準液として、MITCの場合と同様にして50 µg/mLの標準液をそれぞれ調製した。

3-3. LC/MS測定項目

各物質の標準品を超純水で1 mg/mLに希釈したものを混合標準原液とし、この混合標準原液を各濃度が0.5, 1, 2, 5, 10 ng/mLの濃度になるように超純水で希釈した。この希釈溶液20 mLに対し、2.5% (w/v) の四ホウ酸ナトリウム (無水) 溶液1 mLと0.1% (w/v) のFMOC溶液2 mLを加え、50°Cで30分間加温して各物質の誘導体化を行った後、2% (v/v) のリン酸溶液1.2 mLを加えて反応を停止させた。予め、コンディショニングを行った固相カートリッジに、誘導体化を行った試料 (20 mL) を3 mL/minの速度で通水した後、固相カートリッジを5 mM酢酸アンモニウム溶液5 mLで洗浄し、アセトニトリルと5 mM酢酸アンモニウム溶液の混合液 (体積比40:60) 1.5 mLでカートリッジからの溶出を行い、5 mM酢酸アンモニウム溶液で2 mLに定容した (10倍濃縮)。これを孔径0.2 µmのメンブレンフィルター (ADVANTEC製) でろ過したろ液を5, 10, 20, 50, 100 ng/mLの検量線用標準試料とした。

4. 測定装置及び条件

GC/MSはサーモフィッシャーサイエンティフィック製のTrace GC Ultra Polaris Qを、PT-GC/MSはジーエルサイエンス製PT7100及びこれに接続された島津製作所製GCMS QP2020NXを、LC/MSはWaters社製ACQUITY UPLC及びこれに接続されたQPREMIRE XEを使用した。各分析機器の測定条件及び対象化合物のモニターイオンについては表

2-4に示すとおりである。

5. 検量線の妥当性

標準試料の測定により得られた検量線について、相関係数が0.995以上であり、かつ、各濃度における乖離度（設定濃度との誤差）が20%以下であれば、検量線に関する妥当性評価基準を満足するものと判断した。

6. 装置検出下限値と装置定量下限値の算出

装置検出下限値 (IDL) 及び装置定量下限値 (IQL) については、「化学物質環境実態調査実施の手引き」⁵⁾に基づき、検量線の最小濃度の標準試料を用いて $n=7$ の繰り返し測定を行い、得られた測定値の標準偏差を用いて次式より算出した。

$$IDL = t(n - 1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$$

$$IQL = 10 \times \sigma_{n-1}$$

$t(n - 1, 0.05)$: 危険率5%、自由度 $n - 1$ の t 値 (片側、 $n=7$ の場合は1.9432)

σ_{n-1} : 測定値の標準偏差

得られたIDL及びIQLのうち、試料濃度に換算した場合のIQLの値が、京都府において定められた検出限界値 (表1) 以下であれば、定量下限値に関して試験法の妥当性評価基準を満足するものと判断した。

表2. GC/MS測定装置及び測定条件

装置パラメーター	仕様・条件																						
システム	Trace GC Ultra + Polaris Q(イオントラップ型MS、サーモフィッシャーサイエンティフィック製)																						
カラム	DB-5MS(内径0.25 mm、長さ30 m、膜厚0.25 μm、アジレント・テクノロジー製)																						
注入口温度	250°C																						
カラム流量	1.2 mL/min																						
注入モード	サージスプリットレス (220Pa)																						
注入量	3 μL																						
カラム温度	60°C (2 min)→20°C/min→150°C→10°C/min→290°C (5 min)																						
インターフェイス温度	290°C																						
イオン源温度	220°C																						
スキャン範囲	80-310 (m/z)																						
モニターイオン*	<table border="0"> <tr><td>ピロキロン</td><td>130+173</td></tr> <tr><td>ブタクロール</td><td>160+176</td></tr> <tr><td>プロモブナド</td><td>232</td></tr> <tr><td>メチルチオン</td><td>145</td></tr> <tr><td>メフェナセツ</td><td>192</td></tr> <tr><td>トリフルラリン</td><td>264+306</td></tr> <tr><td>プロマシル</td><td>205+207</td></tr> <tr><td>モリネート</td><td>126</td></tr> <tr><td>アントラセン-d₁₀</td><td>188</td></tr> <tr><td>9-プロモアントラセン</td><td>256+258</td></tr> <tr><td>クリセン-d₁₂</td><td>236+240</td></tr> </table>	ピロキロン	130+173	ブタクロール	160+176	プロモブナド	232	メチルチオン	145	メフェナセツ	192	トリフルラリン	264+306	プロマシル	205+207	モリネート	126	アントラセン-d ₁₀	188	9-プロモアントラセン	256+258	クリセン-d ₁₂	236+240
ピロキロン	130+173																						
ブタクロール	160+176																						
プロモブナド	232																						
メチルチオン	145																						
メフェナセツ	192																						
トリフルラリン	264+306																						
プロマシル	205+207																						
モリネート	126																						
アントラセン-d ₁₀	188																						
9-プロモアントラセン	256+258																						
クリセン-d ₁₂	236+240																						

*モニターイオンが2種類設定されている農薬については、それぞれのモニターイオンに基づく強度を合算して定量した。

表3. PT-GC/MS測定装置及び測定条件

装置パラメーター	仕様・条件														
PT	<table border="0"> <tr><td>トラップ管</td><td>AquaPT 7000+AquaPT AS7100 (ジーエルサイエンス製)</td></tr> <tr><td>パージ管流量</td><td>5 mL</td></tr> <tr><td>キャリアガス</td><td>窒素</td></tr> <tr><td>パージ時間</td><td>6 min</td></tr> <tr><td>パージ流量</td><td>40 mL/min</td></tr> <tr><td>トランスファーライン温度</td><td>150°C</td></tr> </table>	トラップ管	AquaPT 7000+AquaPT AS7100 (ジーエルサイエンス製)	パージ管流量	5 mL	キャリアガス	窒素	パージ時間	6 min	パージ流量	40 mL/min	トランスファーライン温度	150°C		
トラップ管	AquaPT 7000+AquaPT AS7100 (ジーエルサイエンス製)														
パージ管流量	5 mL														
キャリアガス	窒素														
パージ時間	6 min														
パージ流量	40 mL/min														
トランスファーライン温度	150°C														
GCMS	<table border="0"> <tr><td>装置</td><td>QP2020NX (島津製作所製)</td></tr> <tr><td>カラム</td><td>InertCap AQUATIC(内径0.25 mm、長さ60 m、膜厚1.0 mm、ジーエルサイエンス製)</td></tr> <tr><td>カラム温度</td><td>35°C (5 min)→15°C/min→200°C (10 min)</td></tr> <tr><td>注入口温度</td><td>150°C</td></tr> <tr><td>インターフェイス温度</td><td>200°C</td></tr> <tr><td>イオン源温度</td><td>200°C</td></tr> <tr><td>モニターイオン</td><td>MITC: 73 (定量用)、72 (確認用) フルオロベンゼン: 96 (定量用)、70 (確認用)</td></tr> </table>	装置	QP2020NX (島津製作所製)	カラム	InertCap AQUATIC(内径0.25 mm、長さ60 m、膜厚1.0 mm、ジーエルサイエンス製)	カラム温度	35°C (5 min)→15°C/min→200°C (10 min)	注入口温度	150°C	インターフェイス温度	200°C	イオン源温度	200°C	モニターイオン	MITC: 73 (定量用)、72 (確認用) フルオロベンゼン: 96 (定量用)、70 (確認用)
装置	QP2020NX (島津製作所製)														
カラム	InertCap AQUATIC(内径0.25 mm、長さ60 m、膜厚1.0 mm、ジーエルサイエンス製)														
カラム温度	35°C (5 min)→15°C/min→200°C (10 min)														
注入口温度	150°C														
インターフェイス温度	200°C														
イオン源温度	200°C														
モニターイオン	MITC: 73 (定量用)、72 (確認用) フルオロベンゼン: 96 (定量用)、70 (確認用)														

7. 添加回収試験

添加回収試験は超純水と都市河川水を用いて行った。都市河川水は試験当日に京都市伏見区濠川 (年間を通じての生物化学的酸素要求量が1-2 mg/L程度) で採水したもので、後述の前処理操作を行って13物質を測定し、河川水中に含まれる13物質の濃度がいずれも定量下限値未満であることを確認した。添加回収試験用試料として、固相抽出-GC/MS測定項目は、超純水及び河川水試料1Lに対し、試料中の濃度が0.1 ng/mL (濃縮により100 ng/mL) となるよう、100 ng/mL混合標準液を1 mL添加して調製したものをを使用した。PT-GC/MS測定項目は、超純水及び河川水試料100 mLに対しダズメット及びメタム標準品を、試料中濃度がMITCに換算して1 ng/mLとなるように、各50 μg/mLの標準液を2 μL添加して調製したものをを使用した。LC/MS測定項目は、河川水試料20 mLに対し、試料中の濃度が2 ng/mL (濃縮により20 ng/mL) となるよう、100 ng/mL混合標準液を400 μL添加して調製したものをを使用した。

後述する前処理操作方法にしたがって添加回収試験用試料を処理した後、測定装置へ導入して得られた定量結果に基づき、添加回収率を算出した。添加回収試験結果に基づく妥当性評価は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」⁵⁾に準じて行い、回収率が70-120%の範囲であれば基準を満足するものと判断した。

なお、LC/MS測定項目 (グリホサート、AMPA、グリホシネート) については、標準試料の調製において、超純水を用いた前処理操作が含まれているため、超純水への添加回収試験は行わなかった。

8. 試料の前処理操作

8-1. 固相抽出-GC/MS測定用試料

全自動固相抽出装置 (ジーエルサイエンス製AQUA Trace ASPE 899) を用いた抽出を行った。予め、コンディショニングを行った固相カートリッジに試料500 mLを3 mL/minの速度で通水した後、固相カートリッジを超純水10 mLで洗浄し、窒素ガスを40-60分吹き付けて固相カートリッジを乾燥させた。固相カートリッジからの溶出はバックフラッシュ (固相カートリッジの装着方向を上下反転させた後に溶出操

表4. LC/MS測定装置及び測定条件

装置パラメーター	仕様・条件																		
LC	<table border="0"> <tr><td>システム</td><td>Acquity UPLC(Waters 製)</td></tr> <tr><td>カラム</td><td>Acquity UPLC BEH C18 (2.1×100 mm, 1.7μm)</td></tr> <tr><td>移動相</td><td>溶媒A: 5mM酢酸アンモニウム 溶媒B: アセトニトリル 溶媒B (%): 5% (0-0.5 min); 5-95% (0.5-5 min); 95% (5-6 min); 5% (6-7 min)</td></tr> <tr><td>グラジエント</td><td></td></tr> <tr><td>カラム流量</td><td>0.4 mL/min</td></tr> <tr><td>カラムオープン温度</td><td>40°C</td></tr> <tr><td>注入量</td><td>10 μL</td></tr> </table>	システム	Acquity UPLC(Waters 製)	カラム	Acquity UPLC BEH C18 (2.1×100 mm, 1.7μm)	移動相	溶媒A: 5mM酢酸アンモニウム 溶媒B: アセトニトリル 溶媒B (%): 5% (0-0.5 min); 5-95% (0.5-5 min); 95% (5-6 min); 5% (6-7 min)	グラジエント		カラム流量	0.4 mL/min	カラムオープン温度	40°C	注入量	10 μL				
システム	Acquity UPLC(Waters 製)																		
カラム	Acquity UPLC BEH C18 (2.1×100 mm, 1.7μm)																		
移動相	溶媒A: 5mM酢酸アンモニウム 溶媒B: アセトニトリル 溶媒B (%): 5% (0-0.5 min); 5-95% (0.5-5 min); 95% (5-6 min); 5% (6-7 min)																		
グラジエント																			
カラム流量	0.4 mL/min																		
カラムオープン温度	40°C																		
注入量	10 μL																		
MS	<table border="0"> <tr><td>システム</td><td>Quattro Premier XE (Waters 製)</td></tr> <tr><td>キャピラリー電圧</td><td>3.0 kV</td></tr> <tr><td>イオンソース温度</td><td>120°C</td></tr> <tr><td>脱溶媒ガス流量 (温度)</td><td>800 L/h (400°C)</td></tr> <tr><td>コーンガス流量</td><td>50 L/h</td></tr> <tr><td>イオンモード</td><td>ESI (-)</td></tr> <tr><td>コーン電圧</td><td>グリホサート 20 V AMPA 15 V グリホシネート 20 V</td></tr> <tr><td>コリジョン電圧</td><td>グリホサート 10 V AMPA 20 V グリホシネート 10 V</td></tr> <tr><td>モニターイオン</td><td>グリホサート 390/168 AMPA 332/110 グリホシネート 402/180</td></tr> </table>	システム	Quattro Premier XE (Waters 製)	キャピラリー電圧	3.0 kV	イオンソース温度	120°C	脱溶媒ガス流量 (温度)	800 L/h (400°C)	コーンガス流量	50 L/h	イオンモード	ESI (-)	コーン電圧	グリホサート 20 V AMPA 15 V グリホシネート 20 V	コリジョン電圧	グリホサート 10 V AMPA 20 V グリホシネート 10 V	モニターイオン	グリホサート 390/168 AMPA 332/110 グリホシネート 402/180
システム	Quattro Premier XE (Waters 製)																		
キャピラリー電圧	3.0 kV																		
イオンソース温度	120°C																		
脱溶媒ガス流量 (温度)	800 L/h (400°C)																		
コーンガス流量	50 L/h																		
イオンモード	ESI (-)																		
コーン電圧	グリホサート 20 V AMPA 15 V グリホシネート 20 V																		
コリジョン電圧	グリホサート 10 V AMPA 20 V グリホシネート 10 V																		
モニターイオン	グリホサート 390/168 AMPA 332/110 グリホシネート 402/180																		

*フリカーサイオン/プロダクトイオン

作を行う方法)により行い、5 mLのアセトンで溶出させた。溶出液は窒素ガス吹付け(30分)により0.5 mLまで濃縮し(1,000倍濃縮)、これに、標準試料と同じ混合比となるように内部標準混合液10 µL及びPEG溶液5 µLを加えて混合したものを測定用試料とした。

なお、「水質管理目標設定項目の検査方法」においては、上述の操作で使用する有機溶媒はジクロロメタンを使用することになっているが、本研究では試験操作者に対する健康影響のリスクの低減化を図り、使用する有機溶媒をアセトンに変更した。ただし、この変更によって添加回収試験の結果が妥当性評価基準、すなわち、回収率が70-120%の範囲内であることを満足しなかった場合は、ジクロロメタンを使用することとした。

8-2. PT-GC/MS測定項目

試料をガラス製バイアル(44 mL容量)に気相部が残らないように充填してセプタム付きキャップで密封し、試料中に含まれているダゾメット又はメタムがMITCに分解されるよう、80°Cに設定した乾燥機で1時間加熱した。これを室温まで冷却したものを測定用試料とした。

8-3. LC/MS測定用試料

試料20 mLについて、前述の「混合標準液の調製」で述べた方法と同様に誘導体化と固相抽出を行い、定容した抽出液をフィルターを過したろ液を測定用試料とした。

結果と考察

1. 検量線の直線性

表5に示すとおり、13物質ごとに設定された濃度範囲において、検量線の相関係数は0.998以上であった。また、各設定濃度との誤差はいずれも20%以下であった。以上の結果から、検量線に関しては妥当性評価基準を満足していることが確認された。

2. IDL及びIQL

13物質のIDL及びIQLの結果を表5に示す。固相抽出-GC/MS測定項目(1,000倍濃縮)の8物質に関するIDL及びIQLはそれぞれ1.9-12 ng/mL及び4.8-31 ng/mLの範囲であった。これらの項目については前処理操作において測定用試料は1,000倍濃縮されるため、試料濃度に換算した場合のIQLは、いずれの物質についても京都府の定める検出限界値(メチダチオンは0.1 ng/mL、それ以外の7物質は1 ng/mL)を十分に下回るものであった。試料の濃縮操作を伴わないPT-GC/MS測定項目については、IDL及びIQLがそれぞれ0.01 ng/mL及び0.04 ng/mLであり、IQLは京都府の定める検出限界値の1 ng/mLを十分に下回っていた。LC/MS測定項目の3物質については、IDL及びIQLはそれぞれ0.08-0.19 ng/mL及び0.20-0.49 ng/mLの範囲であった。試料は誘導体化後の固相抽出操作により10倍濃縮されるため、試料濃度に換算す

るとIDL及びIQLの範囲は上記よりもさらに一桁低いものとなり、前述の2項目と同様に、京都府の定める検出限界値の1 ng/mLを十分に下回るIQLが得られた。以上の結果から、今回、検討の対象とした13物質のすべてについて、定量下限値に関する妥当性評価の基準を満足することが示された。

3. 添加回収試験

固相抽出において使用する有機溶媒をジクロロメタンからアセトンに変更した8物質のうち、トリフルラリン及びモリネートの回収率は超純水、河川水のいずれに添加した場合でも70%を大幅に下回った。さらに、プロマシルの回収率は河川水に添加した場合に120%を超過した。このため、これら3物質については固相抽出における抽出溶媒としてジクロロメタンを使用することとし、改めて添加回収試験を行った。各農薬の添加回収率は表5に示すとおり、すべて70-120%の範囲内であり、添加回収試験における妥当性の評価基準を満足した。

以上の結果を総合すると、今回、検討の対象とした13物質について3種類の分析法、すなわち、固相抽出-GC/MS法、PT-GC/MS法又は誘導体化を行った後の固相抽出を伴うLC/MS法のいずれかを適用することにより、十分な感度と精度で測定できることが確認された。ただし、固相抽出-GC/MS法による8物質のうち、3物質はアセトン抽出では妥当性の評価基準を満足できず、ジクロロメタン抽出を行う必要が生じたことについては検討の余地を残している。作業の効率化を考慮した場合、これら8物質を測定する際に、アセトン抽出法とジクロロメタン抽出法に分けて行うことはむしろデメリットである。試験者に対する健康影響のリスク低減化に関しては、3物質についてジクロロメタン抽出法を適用するのであれば、8物質ともジクロロメタン抽出で行う場合とほとんど変わらない。アセトン抽出法を適用した場合に3物質が添加回収試験での評価基準を満足しなかったことについては、その原因を推定して対策を講じることにより、作業の効率化と健康影響のリスク低減化に叶う方法を見いだせる可能性がある。たとえば、超純水と河川水に添加されたトリフルラリンとモリネートの回収率がかなり低かった原因については、アセトンの親水性により固相カートリッジでの脱水が十分に行われず、抽出効果の低下を招いた可能性が考えられる⁶⁾。この場合、固相カートリッジの乾燥時間を延長する

表5. 各農薬類の検量線における相関係数と設定濃度との乖離度、装置検出下限値(IDL)、装置定量下限値(IQL)及び添加回収試験結果

物質名	検査法*	検量線		IDL (ng/mL)	IQL (ng/mL)	添加回収試験結果 (%)	
		相関係数	乖離度 (%)			超純水	河川水
ピロキロン	A	1.000	-3.0 - 11.0	1.9	4.8	99	89
フタカロール	A	0.999	-2.0 - 14.0	2.0	5.1	89	93
プロモチド	A	1.000	-4.0 - 6.0	4.9	12	104	75
メチダチオン	A	0.999	-2.0 - 5.0	12	31	88	118
メフェナセツト	A	0.999	-3.0 - 10.0	2.8	7.1	108	110
トリフルラリン	A	0.998	-9.0 - 2.0	5.3	13.7	71	76
プロマシル	A	0.999	-5.0 - 15.0	7.2	18.4	112	110
モリネート	A	0.999	-2.0 - 16.0	2.4	6.1	94	87
ダゾメット	B					72	84
メタム	B	0.999**	-2.2 - 5.3**	0.01**	0.04**	80	74
MITC	B					94	99
グリホサート	C	0.999	-9.8 - 2.4	0.19	0.49	-	93
AMPA	C	0.999	-0.4 - 16.8	0.18	0.47	-	97
グルホシネート	C	0.999	-5.6 - 19.1	0.08	0.20	-	108

*検査法のA、Cについては表1の脚注と同じ。

**MITC標準品を用いて検討を行った結果に基づく。

こと等により、回収率の改善を図ることができるかも知れない。また、アセトン抽出によるプロマシルの回収率は、河川水に添加した場合にのみ120%を超過したことから、河川水中のマトリクス成分が関与していると考えられる⁷⁾が、ジクロロメタン抽出によって回収率が改善された理由については不明である。このような場合、ジクロロメタンの代替としてヘキサンとアセトンの混合溶媒を用いると、従来の固相抽出操作を大幅に変更することなく良好な回収率が得られたとの報告⁸⁾もある。本研究において、アセトン抽出法ではなく、ジクロロメタン抽出法によって分析法の妥当性評価基準を満足した物質に関しては、混合溶媒も含めて抽出溶媒を検討する必要があるかも知れない。

引用文献

- 1) 宮尻久美, 近藤博文, 蒲敏幸. 2012. 新規ゴルフ場使用農薬の液体クロマトグラフタンデム型質量分析計を用いた分析法の検討及び環境実態について. 京都府保健環境研究所年報, 57, 102-106.
- 2) 武田真由美. 2018. ゴルフ場で使用される農薬の液体クロマトグラフタンデム型質量分析計を用いた一斉分析法の検討. 京都府保健環境研究所年報, 63, 40-44.
- 3) 鳥居南豊, 武田真由美. 2021. ゴルフ場で使用される農薬のガスクロマトグラフ質量分析計を用いた一斉分析法の検討. 京都府保健環境研究所年報, 66, 22-24.
- 4) 厚生労働省食品安全委員会. 2019. 農薬評価書-ダゾメット、メタム及びメチルイソチオシアネート (第2版).
- 5) 環境省大臣官房環境保健部環境安全課. 2021. 化学物質環境実態調査実施の手引き (令和2年度版), 77-95.
- 6) 北見秀明, 渡辺哲男, 北原滝男, 高野二郎. 2002. ディスク型固相抽出GC/MS法による環境水中の農薬の分析, 日本化学会誌, No2, 183-188.
- 7) 藤本千鶴, 吉澤正. 1999. 固相抽出による有機塩素系農薬類の分析, 環境化学, vol9, No1, 11-21.
- 8) 森口泰男, 平林達也. 2021. ヘキサン-アセトン混合溶媒を用いた固相抽出-GC/MS法による農薬類の一斉分析, 水道協会雑誌, 第90巻, 第2号, 3-12.