

[調査研究]

## LC/Q-TOF による環境水中農薬の挙動追跡

環境衛生課 大窪かおり 草場潤一 北島淳二  
食品化学課 中山秀幸

キーワード: ノンターゲット分析 LC/Q-TOF 農薬 事故 多変量解析

### 1 はじめに

現代の生活において化学物質は必要不可欠で、その種類と使用量が近年加速度的に増加している一方で、適切に管理されず誤った使用や廃棄により環境に拡散した場合は、人の健康や生態系へ悪影響を及ぼす恐れが生じる。佐賀県においては、農薬等の化学物質が水源に流出したと考えられる水質事故が毎年数件発生しているが、調査過程で原因物質が不明なことも多く、原因究明のためには対象物質を絞らずできるだけ多くの物質を測定することが求められる。それらの幅広い物質を網羅するノンターゲット分析は、コンピュータの性能及びソフトウェアの飛躍的な進歩によりこれまで困難とされてきた解析が可能となっている。

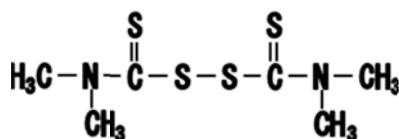
一方、水質事故の原因物質として農薬が疑われるケースでは、クリーク等の停滞している水域であっても事故原因物質の特定に至るケースは少なく、農薬の消長過程には不明な点が多い。そこで、分解性の比較的高い農薬を対象に LC/Q-TOF を用いて環境水中における変化の追跡を試み、事故原因究明手法として有用であるか検討を行った。

### 2 方法

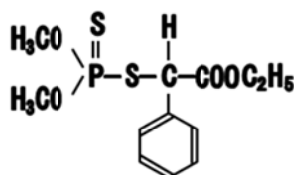
#### ① 試料

佐賀県内クリークで2012年10月に採水し、GF/Cでろ過したものを用いた。農薬はPRTR集計結果<sup>1)</sup>に基づいて、佐賀県内で使用実績の多いチウラム、フェントエート、メチダチオン(図1)を選択した。農薬は残留農薬試験用標準品をそれぞれメタノールに溶解し、1000mg/Lに調製したものを原液とした。

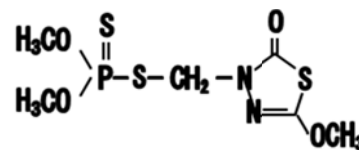
分析用試料は、クリーク水及び対照(ミリQ水)500mLに対し各原液を2mg/Lとなるように添加混合後自然光下に放置し、1時間後(クリーク水のみ)、6時間後、24時間後、2日後、3日後、7日後に分取し、分析に供した。測定開始時のpHは、クリーク水7.8、ミリQ水7.0であった。



Thiram



Phenthoate (PAP)



Methidathion

#### ② 測定

所定の時間を経過した試料は、メンブランフィルタ(親水性PTFE製, ADVANTEC DISMIC 13HP)でろ過した後、LC/Q-TOFを用いて各試料3回ずつ繰り返しMS Scan測定及びAuto MS/MS測定を行った。測定条件は表1に示すとおりである。なお、Collision energyについては、予備試験で各標準物質に対し5~20V

## [調査研究]

で測定したところ、プリカーサイオン強度が低下するか、またはプロダクトイオン強度が極端に低くなったことから、Auto MS/MSモードの設定値を0Vとした。

## ③ 解析

定性的スクリーニングのためのデータ解析には、Agilent Mass Hunter Qualitative analysis for LC/MS (B04.00)を用いた。最初に、各試料のスキャンデータからMolecular Feature Extractにより、強度 10,000 以上、質量誤差 7ppm 以下のピークを抽出した。

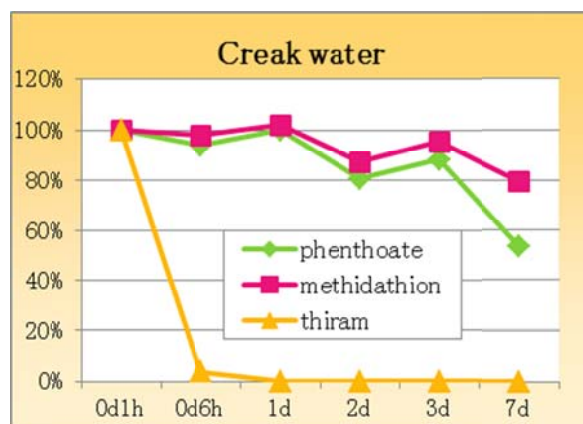
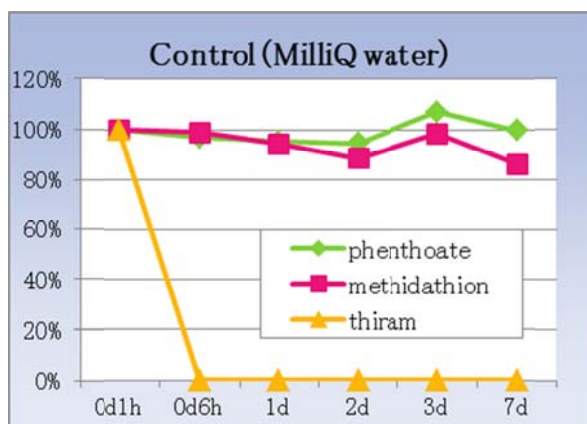
次に、生成が予想される分解生成物を含む農薬精密質量データベース(当所作成、約 750 物質収録)を用いて、質量誤差 5ppm 以下かつ 0.0025Da 以下でデータベースと一致するピークを検索し一致したピークについては物質名を記録した。また各ピークの強度により経時変化を記録した。

データベースと一致したピークに対しては、分解生成物の挙動を把握するために多変量解析を行った。多変量解析ソフトは Agilent Mass Profiler Professional (Version 2.0)を使用した。解析条件は、Molecular Feature Extract によるピーク抽出時の条件に加え、同一検体における 3 回の測定で 100%出現した物質を対象として、更にその強度変動が 25%以内の物質に絞り込んだ。

## 3 結果と考察

## ① 各農薬の経時変化

添加した 3 物質の経時変化について図 2 に示す。チウラムは対照・クリーク水とも 6 時間後の測定時に大きく減少し、更に 1 日後には完全に消失した。メチダチオンは 7 日間を通して対照で 10%、クリーク水で 20%程度とわずかに減少した。フェントエートはクリーク水のみで徐々に減少し、7 日後に概ね半減した。

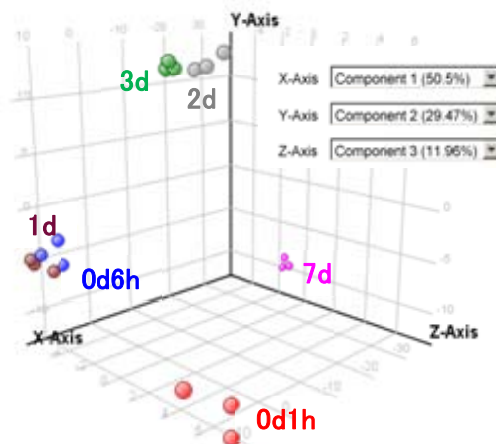


[調査研究]

② 多変量解析結果

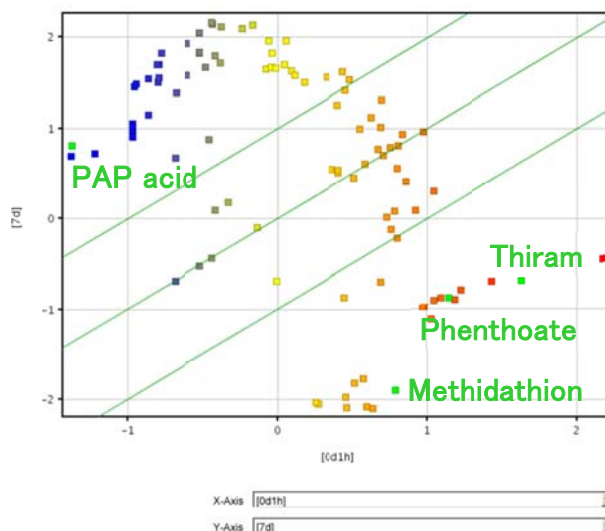
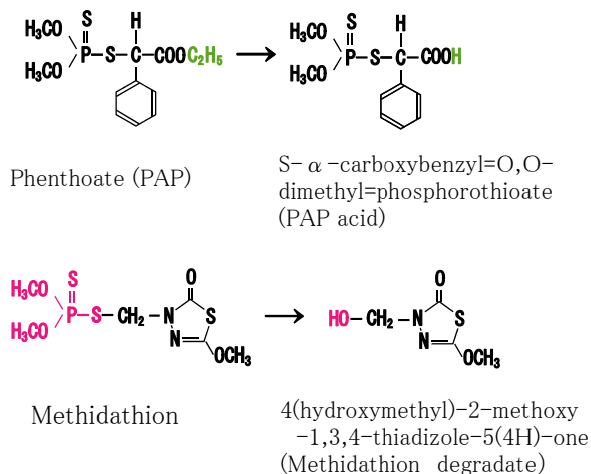
各物質についてはそれぞれ分解物が生成したと考えられ、それらの追跡を目的として多変量解析を行った。

経時的な変化が適切に把握できることを確認するために、最初に各試料群を時系列でグループ分けして主成分分析(PCA:Principal Component Analysis)を行った(図 3)。この結果、試料群の経時変化が反映されている様子を視覚的に捉えることができた。すなわち主成分分析の X 軸及び Y 軸の構成要素は経時的に大きく変化している要素であることから、これらを追跡することにより、具体的に分解物を把握することができる。



プロット

経時的に増加した物質群のうち添加農薬の分解によって生成した可能性のあるもの<sup>2)3)</sup>を、精密質量から推定される化学式及び経時的な強度変化から推定した(図 4)。これらを含む精密質量データベースを用いた各抽出ピークの検索により、分解物を特定した。その結果を基に、1 時間後(X 軸)と 7 日後(Y 軸)の 2 群間のスキャタードプロットを作成した(図 5)。この図では X 軸では右下、Y 軸では左上に偏るほど、その試料群に特徴的な成分であることを示している。その結果、経時的に変化している要素を網羅した上で、フェントエートの分解生成物(PAP acid)が 7 日後の試料に特徴的に存在することが確認できた。

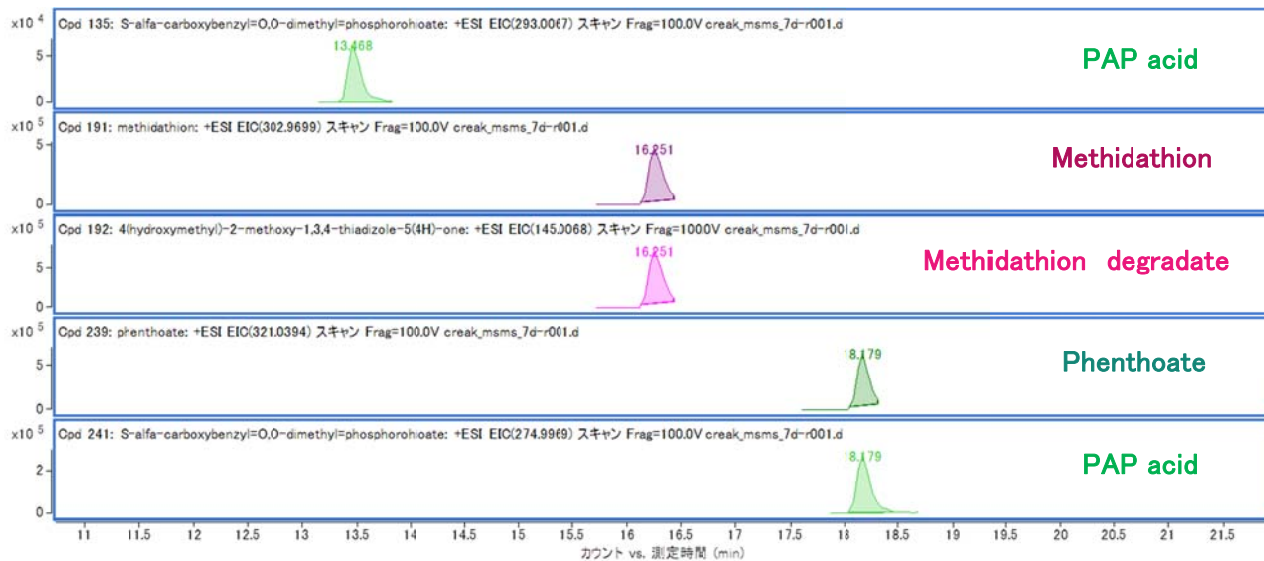


③ 添加農薬の挙動

チウラムは水中で速やかに消失したが、スキャン及び Auto MS/MS 測定の結果から分解生成物を把握することはできなかった。これに関しては、分解生成物が本実験における測定条件で検出できなかった可能性に加えて、チウラム自体の容器への吸着の可能性が考えられ<sup>4)5)</sup>、更なる検証が必要である。

フェントエート及びメチダチオンとそれらの分解物としてデータベース検索で一致したピークについて、それぞれの抽出イオンマスキングクロマトグラム(Extracted Ion Chromatogram:EIC)を図 6 に示す。メチダチオン

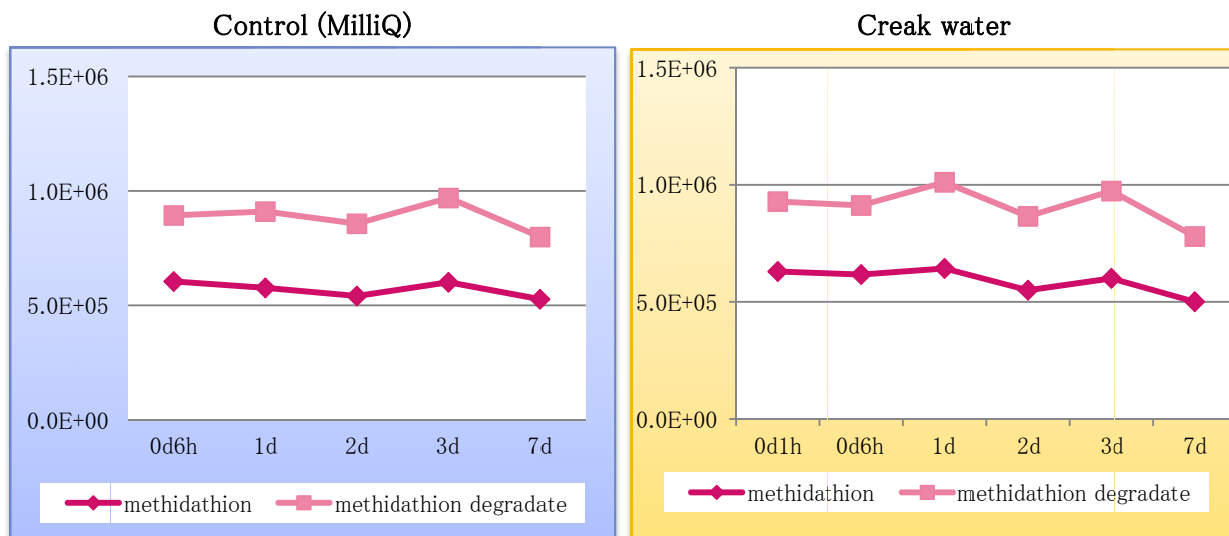
[調査研究]



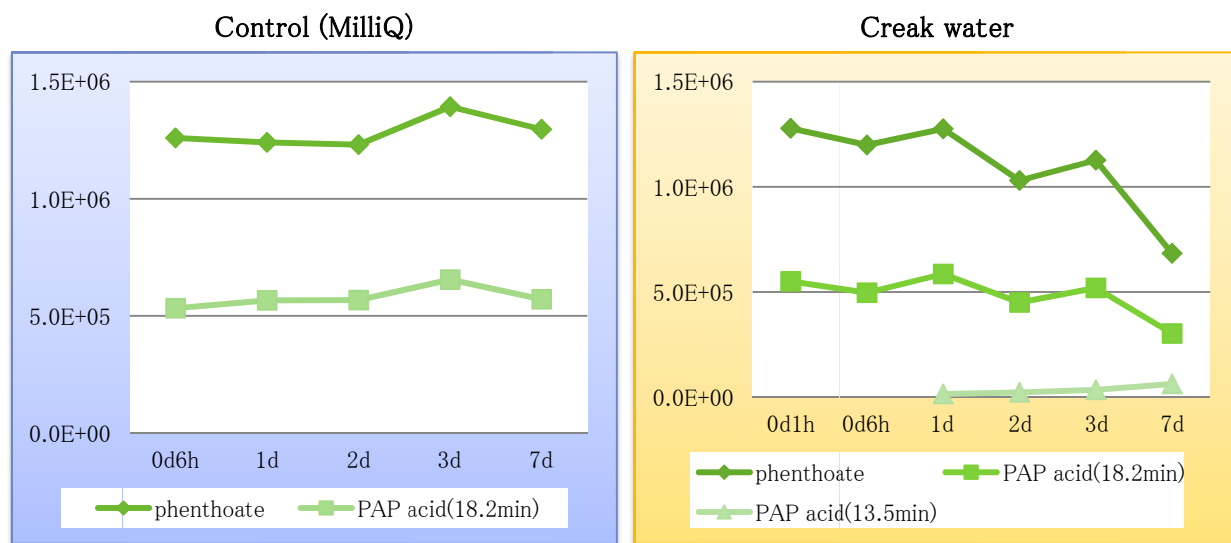
については分解物 1 種類のみが観測された. 一方, フェントエートの分解物である PAP acid はリテンションタイムの異なる 2 本のピークが出現した. いずれの農薬についても, それぞれのリテンションタイムに重なるピークがあり, これらの経時的な強度変化によりその挙動を検証した.

メチダチオン及びその分解物(図 7-1)については, ピークの経時変化がそれぞれ同調していたことから, メチダチオンがイオンソース内でイオン化する際に分解生成した可能性が高い.

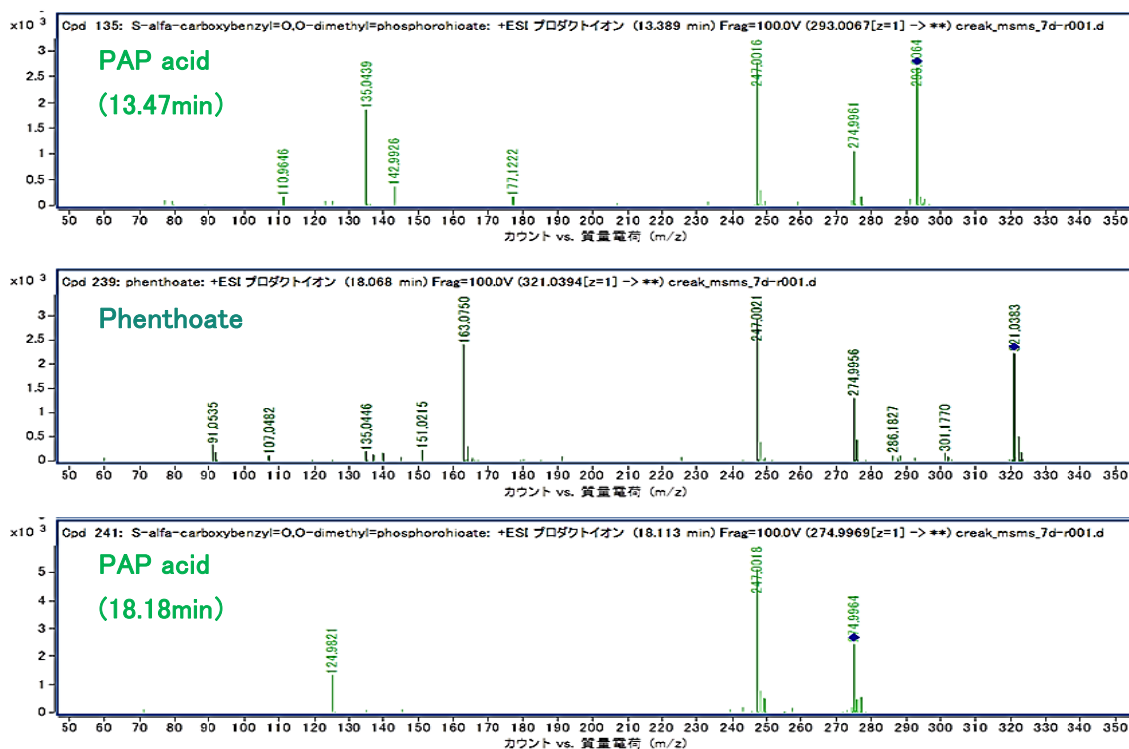
一方, フェントエート及びその分解物である PAP acid については(図 7-2), フェントエートとリテンションタイムの同じものは経時変化が同調していたことから, メチダチオンの場合と同様イオンソース内で生成したものと推測された. しかし, フェントエートよりも早いリテンションタイムに出現したピークはミリ Q 水では出現せず, クリーク水のみで 1 日後から徐々に増加したことから, フェントエートが水中で分解した PAP acid と考えられた.



[調査研究]



Auto MS/MS 測定は、生成した分解物の構造について、より多くの情報を得るために実施した。Auto MS/MS 測定は、この場合ピーク強度 10,000 以上のピークについて、自動的にプロダクトイオンスキャンを行う測定モードである。このようにして得られたプロダクトイオンのマススペクトルを示す(図 8)。フェントエートも含めていずれも共通するフラグメントイオンのピーク(m/z 247.00)があり、共通の構造(C<sub>9</sub>H<sub>12</sub>O<sub>2</sub>PS<sub>2</sub>)を持っていると推測される。このことから、ノンターゲット分析のように目的物質が特定できない場合には、Auto MS/MS を活用することにより、確実な分解物の帰属が可能になる。



## [調査研究]

## 4 まとめ

環境水中における農薬の分解生成物を LC/Q-TOF を用いて追跡した。スキャンモード測定で添加農薬及びその分解生成物を把握し、Auto MS/MS 測定により共通の構造を有することを確認した。

クリークのように停滞している場合の多い環境水中では、農薬は吸着や分解により減衰すると考えられる。水質事故が発生してから通報までには数日が経過していることも多く、より確実に原因物質を突き止めるためには分解物を追跡することも重要であり、これまで実施してきたスキャンモードのスクリーニングに加えて、同時に MS/MS 測定によるプロダクトイオンの解析を行うことが有用である。

## 5 文献

- 1) 平成22年度PRTRデータの概要～化学物質の排出量・移動量の集計結果～,  
[https://www.env.go.jp/chemi/prtr/result/past\\_gaiyoH22.html](https://www.env.go.jp/chemi/prtr/result/past_gaiyoH22.html), 2012
- 2) 食品安全委員会, 農薬評価書フェントエート(第2版), 2013
- 3) CDPR and Cal EPA, METHIDATHION RISK CHARACTERIZATION DOCUMENT Volume III ENVIRONMENTAL FATE, 2007
- 4) 水産動植物の被害防止に係る農薬登録保留基準について, 水産動植物の被害防止に係る農薬登録保留基準の設定に関する資料 チウラム, <http://www.env.go.jp/water/sui-kaitei/kijun.html>, 2010
- 5) 松井利夫, チウラムの分解性の検討, 全国環境研会誌, 32(2), 51-55, 2007