

特集	有害化学物質
----	--------

第1編	LC/MSの環境化学分析への応用
-----	------------------

## 環境水中の農薬および関連化学物質の分析\*

田 辺 顕 子\*\*・ 川 田 邦 明\*\*\*

キーワード

①農薬
②分解化合物
③ LC/MS
④河川水
⑤一斉分析

### 要 旨

トリアジン系農薬は、環境中における分解化合物の存在が報告されているが、これらは親化合物と物性が大きく異なるため、GC/MSで一斉に分析することは困難である。そこで、トリアジン系農薬5種および分解化合物類12種を対象として、これらの分析にLC/MSを適用するための基礎的検討を行った。その結果、LC/ESI/MS法を用いるにより一斉分析を行うことが可能であった。

### 1. はじめに

農薬による環境汚染実態を把握する手段として、これまでガスクロマトグラフィー/質量分析法(GC/MS)による一斉分析が重要な役割を果たしてきた。GC/MSでは、たとえば100種の農薬類も20分程度で検出することが可能であり、これによって散布された農薬の詳細なモニタリングを容易に行うことができる<sup>1,2)</sup>。一方、農薬の物理化学的性質は多様であり、極性の高い農薬や熱に対する安定性が低い農薬も多数存在する。これらの農薬をGC/MSで測定するためには、誘導體化が必要とされる場合や分析条件の制約を受ける場合などがあることから、GC/MSを用いた環境モニタリングでは他の低～中極性の農薬とは別に測定されることが多い。

環境中に散布された農薬は、光分解や加水分解

等の化学的分解、あるいは微生物等による生物学的分解を受ける。農薬によっては、分解によってより有害性が高い化合物が生成することもある<sup>3)</sup>。また、親化合物とは物理化学的性質が異なるため、環境中において親化合物と異なる挙動や残留性などを示す分解化合物もある。したがって、農薬の生態系への負荷や環境中における挙動を把握するためには、分解化合物も含めたモニタリングも必

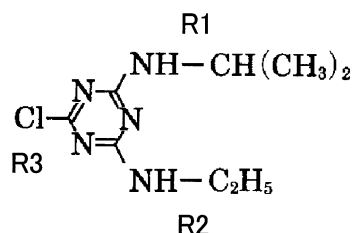


図1 アトラジンの構造式

\* Analysis of pesticides and their Transformation Products in Water

\*\* Akiko TANABE (新潟県保健環境科学研究所) Niigata Prefectural Institute of Public Health and Environmental Sciences

\*\*\* Kuniaki KAWATA (新潟薬科大学) Niigata University of Pharmacy and Applied Life Sciences

要である。これらの農薬の分解化合物は、一般に親化合物よりも極性が高いため、GC/MSでは親化合物との同時分析が困難な場合が多い。

液体クロマトグラフィー／質量分析法(LC/MS)は、従来のGC/MS分析では困難であった極性や熱安定性の大きく異なる化合物の同時検出が可能であることから、近年、農薬の環境モニタリングへの適用も多数報告されている<sup>4-6)</sup>。ここでは、LC/MSを用いて農薬とその分解化合物との同時分析について測定条件等を検討した事例を述べる。

## 2. 対象化合物

代表的なトリアジン系除草剤であるアトラジンは、**図1**に示すようにクロロトリアジンの2つのアミノ基がエチルおよびイソプロピルで置換された構造である。分解過程では、脱アルキル化ま

たはヒドロキシル化によりデエチルアトラジン(DEA)、デイソプロピルアトラジン(DIA)、ヒドロキシアトラジン(HA)を生ずる。これらはさらに分解を受けることによりデエチルデイソプロピルアトラジン(DDA)、デエチルヒドロキシアトラジン(DEHA)、デイソプロピルヒドロキシアトラジン(DIHA)を経てデエチルデイソプロピルヒドロキシアトラジン(DDHA)となる<sup>7)</sup>。アトラジンとこれらの分解化合物の物理化学的性質は**表1**に示すように大きく異なり<sup>8)</sup>、これらのうちヒドロキシル化されたものはGC/MSで直接分析することは困難である。ここでは、トリアジン系除草剤のうち内分泌攪乱作用が疑われるアトラジン、シマジン、メトリブジンにこれらと類似した構造のプロバジン、アトラトンを加えた5農薬および分解化合物12種を対象とした(**表2**)。

表1 アトラジンとその分解化合物

化合物名	R 1 *	R 2 *	R 3 *	Log Pow
アトラジン	NHCH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	NHC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	Cl	2.7
デエチルアトラジン	NHCH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	NH <sub>2</sub>	Cl	1.6
デエチルデイソプロピルアトラジン	NH <sub>2</sub>	NH <sub>2</sub>	Cl	0.0
デエチルデイソプロピルヒドロキシアトラジン	NH <sub>2</sub>	NH <sub>2</sub>	OH	-1.2
デエチルヒドロキシアトラジン	NHCH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	NH <sub>2</sub>	OH	0.2
デイソプロピルアトラジン	NH <sub>2</sub>	NHC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	Cl	1.2
デイソプロピルヒドロキシアトラジン	NH <sub>2</sub>	NHC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	OH	-0.1
ヒドロキシアトラジン	NHCH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	NHC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	OH	1.4

\*図1に示す位置の置換基

表2 対象化合物

No.	化合物名	TP	略名	分子量
1	アトラトン		—	211.3
2	アトラジン		—	215.7
3	デアミノジケトメトリブジン	*	DADKM	169.2
4	デアミノメトリブジン	*	DAM	199.3
5	デエチルアトラジン	*	DEA	187.6
6	デエチルデイソプロピルアトラジン	*	DDA	145.6
7	デエチルデイソプロピルヒドロキシアトラジン	*	DDHA	127.1
8	デエチルヒドロキシアトラジン	*	DEHA	169.2
9	デイソプロピルアトラジン	*	DIA	173.6
10	デイソプロピルヒドロキシアトラジン	*	DIHA	155.2
11	ジケトメトリブジン	*	DKM	184.2
12	ヒドロキシアトラジン	*	HA	197.2
13	ヒドロキシプロバジン	*	HP	211.3
14	ヒドロキシシマジン	*	HS	183.2
15	メトリブジン		—	214.3
16	プロバジン		—	229.7
17	シマジン		—	201.7
18	シマジン-d <sub>10</sub>		—	211.7

TP；分解化合物，IS；内標準

3. LC/MS による測定条件

3.1 MS 条件の検討

LC/MS における測定モードおよびモニターイオンを検討するため、フローインジェクション法により対象農薬類を測定した。移動相は、①0.2% 酢酸：0.2% 酢酸含有アセトニトリル=50：50および②10mM 酢酸アンモニウム：アセトニトリル=50：50) を用い、それぞれ ESI/MS および APCI/MS の各イオン化法で測定を行った。結果を表 3 に示す。メトリブジンの分解化合物であるデアミノジケトメトリブジン(DADKM)およびジケトメ

トリブジン(DKM)は ESI/MS および APCI/MS のネガティブモードにおいて、これらを除く15化合物は ESI/MS および APCI/MS のポジティブモードにおいてそれぞれ検出することが可能であった。

また、ポジティブモードで検出された15化合物のうち、DAM および HP は ESI/MS および APCI/MS のネガティブモード、メトリブジンは APCI/MS のネガティブモードにおいても、それぞれ検出可能であった。各検出モードおよび各移動相におけるベースピークイオンの検出強度を比較した例を図 2 に示す。

表 3 対象化合物の検出モード及び検出イオン

No.	化合物名	検出モード	ESI において検出されたイオン***
1	アトラトン	ESI(+)*, APCI(+)	212(BP) [M+H] <sup>+</sup> , 253
2	アトラジン	ESI(+), APCI(+)	216(BP) [M+H] <sup>+</sup> , 218, 257, 259
3	DADKM	ESI(-)**, APCI(-)	168(BP) [M-H] <sup>-</sup>
4	DAM	ESI(+), ESI(-), APCI(+), APCI(-)	200(BP) [M+H] <sup>+</sup> , 241
5	DEA	ESI(+), APCI(+)	188(BP) [M+H] <sup>+</sup> , 190, 229, 231
6	DDA	ESI(+), APCI(+)	146(BP) [M+H] <sup>+</sup> , 187, 102
7	DDHA	ESI(+), APCI(+)	128(BP) [M+H] <sup>+</sup> , 255
8	DEHA	ESI(+), APCI(+)	170(BP) [M+H] <sup>+</sup> , 399
9	DIA	ESI(+), APCI(+)	174(BP) [M+H] <sup>+</sup> , 176, 215, 217
10	DIHA	ESI(+), APCI(+)	156(BP) [M+H] <sup>+</sup> , 311
11	DKM	ESI(-), APCI(-)	183(BP) [M-H] <sup>-</sup>
12	HA	ESI(+), APCI(+)	198(BP) [M+H] <sup>+</sup> , 239
13	HP	ESI(+), ESI(-), APCI(+), APCI(-)	212(BP) [M+H] <sup>+</sup> , 253
14	HS	ESI(+), APCI(+)	184(BP) [M+H] <sup>+</sup> , 225
15	メトリブジン	ESI(+), APCI(+), APCI(-)	215(BP) [M+H] <sup>+</sup> , 256
16	プロバジン	ESI(+), APCI(+)	230(BP) [M+H] <sup>+</sup> , 232, 271, 273
17	シマジン	ESI(+), APCI(+)	202(BP) [M+H] <sup>+</sup> , 204, 243, 245

\*(+); ポジティブ \*\*(-); ネガティブ \*\*\*No. 3, No.11はネガティブ, 他はポジティブモード

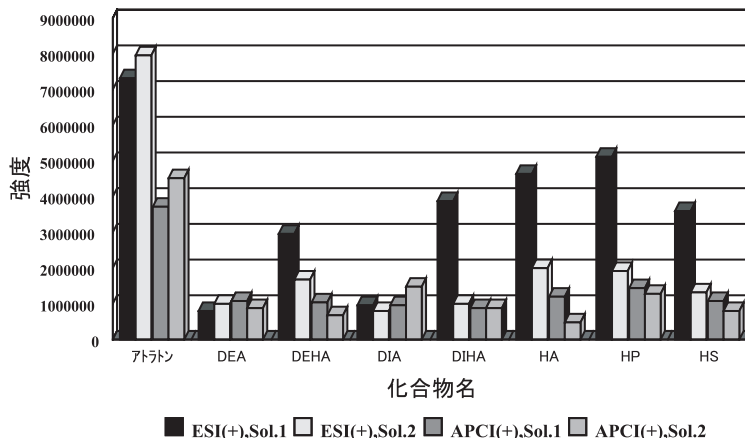


図 2 各検出条件によるベースピーク強度

Sol. 1 ; 0.2% 酢酸 : 0.2% 酢酸含有アセトニトリル=50 : 50  
 Sol. 2 ; 10 mM 酢酸アンモニウム : アセトニトリル=50 : 50

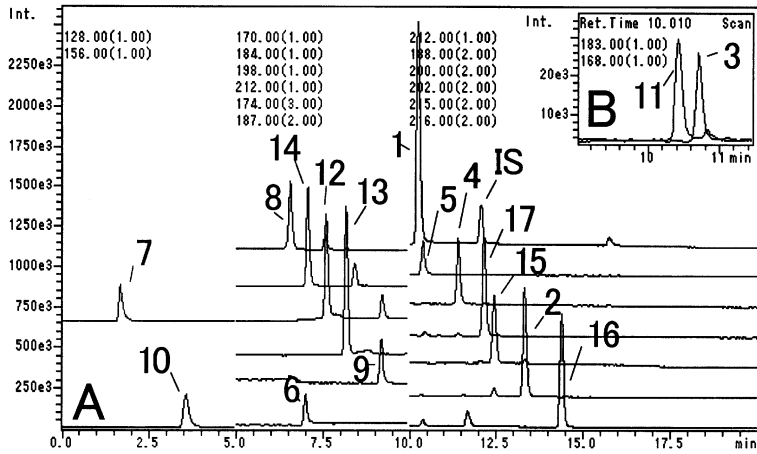


図3 対象化合物のクロマトグラム例<sup>9)</sup> (A; ESI-positive, B; ESI-negative)

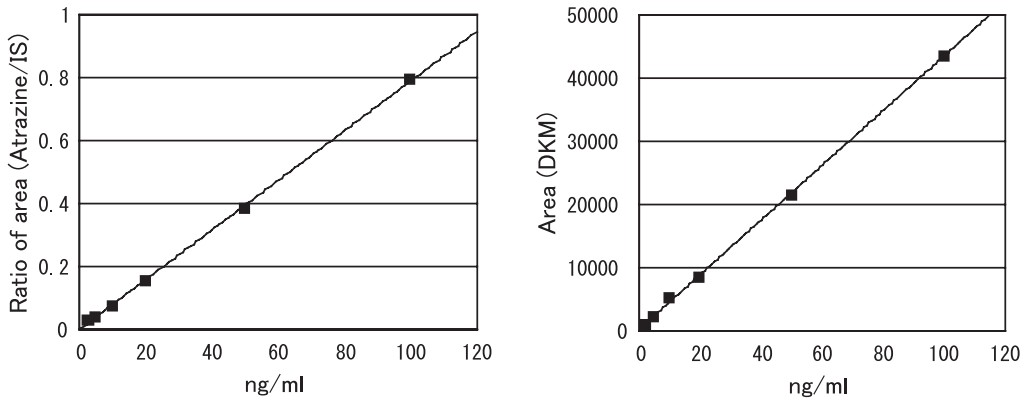


図4 検量線の例 (アトラジンおよびDKM)

表4 モニターイオン及び検出下限値<sup>9)</sup>

No.	化合物名	定量イオン [ESI測定モード]	保持時間 (分)	検出下限値 (pg)
1	アトラトン	212 [M+H] <sup>+</sup>	10.29	1
2	アトラジン	216 [M+H] <sup>+</sup>	13.33	8
3	DADKM	168 [M-H] <sup>-</sup>	10.7	50
4	DAM	200 [M+H] <sup>+</sup>	11.41	12
5	DEA	188 [M+H] <sup>+</sup>	10.39	25
6	DDA	187 [M+H+CH <sub>3</sub> CN] <sup>+</sup>	6.99	140
7	DDHA	128 [M+H] <sup>+</sup>	1.73	25
8	DEHA	170 [M+H] <sup>+</sup>	6.61	12
9	DIA	174 [M+H] <sup>+</sup>	9.18	25
10	DIHA	156 [M+H] <sup>+</sup>	3.9	12
11	DKM	183 [M-H] <sup>-</sup>	10.41	25
12	HA	198 [M+H] <sup>+</sup>	7.68	25
13	HP	212 [M+H] <sup>+</sup>	8.24	10
14	HS	184 [M+H] <sup>+</sup>	7.11	10
15	メトリブジン	215 [M+H] <sup>+</sup>	12.46	12
16	プロバジン	230 [M+H] <sup>+</sup>	14.41	3
17	シマジン	202 [M+H] <sup>+</sup>	12.14	12
IS	シマジン-d <sub>10</sub>	212 [M+H] <sup>+</sup>	12.06	-

IS; 内標準

APCI/MS と ESI/MS における感度を比較すると、DEA および DIA ではほぼ同程度の感度であったが、その他の農薬類では APCI/MS の感度は ESI/MS の 1/2 から 1/5 程度であった。また、移動相については①の移動相において②に比べて同程度から 3 倍程度の感度で検出された。以上のことから、一斉分析の条件としては移動相①を用いた ESI/MS 法を選択することとし、DADKM および DKM はネガティブモードで、その他の 15 化合物はポジティブモードで測定することとした。

このように対象化合物の大部分がポジティブモードで感度よく検出された理由としては、いずれもプロトンの付加しやすい窒素原子を有することによるものと考えられた。ESI/MS では、いずれのモードでも疑分子イオン  $[M+H]^+$  がベースピークとして検出され、ポジティブモードでは、この他にアセトニトリル付加体  $[M+H+CH_3CN]^+$  等が検出された。各化合物の定量イオンは、DDA を除く 16 種の農薬類では擬分子イオン、DDA については妨害の少ないアセトニトリル付加体を選択した。

### 3.2 LC 条件の検討

LC の分離カラムとして C<sub>18</sub>カラム (Inertsil ODS-3) および C<sub>30</sub>カラム (Develosil C30-UG-5) を用いて、農薬類の分離条件を検討した。その結果、前者の C<sub>18</sub>カラムを用いた場合には、DDHA、DEHA および DIHA の保持ができなかった。一方、C<sub>30</sub>カラムでは両者とも保持が可能であり、以下の LC/MS 条件によって対象農薬類を良好に分離することができた。LC/MS；島津製 LCMS-2010、カラム；Develosil C30-UG-5(2.0mm I.D.×150mm)、移動相；溶離液 A(水-酢酸溶液 98.8：0.2, v/v%) から溶離液 B(アセトニトリル-酢酸溶液 98.8：0.2, v/v%) へ直線グラジエント(15分間)の後、5分間保持、流量；0.2ml/min、注入量；10 $\mu$ l、カラム温度；40 $^{\circ}$ C、イオン化法；ESI 法。トリアジン系農薬のマスキロマトグラム例を **図 3** に示す。

### 4. 検出下限値

各化合物を表 4 に示すモニターイオンで SIM 測定し、検出下限値を求めた。対象農薬類のうち DDA の検出下限値は 140pg であったが、その他

16 種の農薬類は 1～50pg まで検出が可能であった。各化合物の検量線の直線性は **図 4** に示すように、検出下限値から 1000pg までの範囲でおおむね良好であった ( $\gamma > 0.995$ )。

### 5. 固相抽出-LC/MS 法による環境水の分析<sup>9)</sup>

トリアジン系農薬類について固相抽出-LC/MS 法による環境水の分析法を検討した。その結果、環境水からの抽出は、ポリマー系の固相と炭素系の固相を組み合わせることで、良好な結果が得られた。地下水および河川水について添加回収試験を行った結果、回収率 73～111%、相対標準偏差 2.2～11% ( $n=4$ ) と良好な結果が得られ、地下水試料の測定においてシマジン、HS、DIA および DDA が、0.1～2.0 $\mu$ g/l の濃度範囲で検出された。これらの結果から、本法は実試料への適用が可能であると考えられた。

### 6. おわりに

LC/MS では多様な物理化学的性質を持つ化合物を同時検出することが可能である。GC/MS と異なり水系における分析であることから、水試料中の夾雑物が少なく目的の化合物が十分検出可能な濃度であれば、溶媒抽出を行わずにろ過等を行うのみで簡易なスクリーニングを行うことなども可能と考えられる。

一方、多様な目的物質を一斉分析できるという特性を十分に生かすためには、これらに対応した LC の分離条件(カラム、溶離液等)や抽出方法(たとえば固相抽出における固相の種類、溶出条件など)の検討が必須である。また、GC/MS と比較し、LC/MS ではソフトなイオン化であるためスペクトル情報が少なく、試料中の夾雑物の影響を受けやすいことから、クリーンアップの検討も必要である。環境分析における新たな可能性が LC/MS に期待される中で、これらの部分のノウハウを蓄積することにより、今後さらに LC/MS の役割が重要となってくるものと考えている。

(本研究の一部は、環境省環境安全課の環境中化学物質安全性総点検調査により実施された。)

### — 参考文献 —

- 1) Tanabe, A., Mitobe, H., Kawata, K., Sakai, M. and Yasu-

- hara, A.: New monitoring system for ninety pesticides and related compounds in river water by solid-phase extraction with determination by gas chromatography/mass spectrometry. *J. AOAC Int.*, **83**, 61–77, 2000
- 2) Tanabe, A., Mitobe, H., Kawata, K., Sakai, M., Yasuhara, A. and Shibamoto, T.: Seasonal and spatial studies on pesticide residues in surface waters of the Shinano River in Japan. *J. Agric. Food Chem.*, **49**, 3847–3852, 2001
  - 3) Barrett, M. R.: The environmental impact of pesticide degradates in groundwater. Symposium Series No. 630, Chapter16, pp. 200–225, American Chemical Society, Washington DC, 1996
  - 4) Crescenzi C., Di Corcia, A., Guerriero, E. and Samperi, R.: Development of multiresidue method for analyzing pesticide traces in water based on solid-phase extraction and electrospray lipid chromatography mass spectrometry. *Environ. Sci. Technol.*, **31**, 479–488, 1997
  - 5) LC/MS 研究会：LC/MS の環境化学分析への応用. 全国公害研究会誌, **25**(3), 102–128, 2000
  - 6) 田辺顕子, 家合浩明, 川田邦明, 北嶋永一：LC/MS を用いた環境水中の農薬類分析, 日本分析化学会第50年会講演要旨集, pp.334, 2001
  - 7) Scribner, E. A., Thurman, E. M. and Zimmerman, L. R.: Analysis of selected herbicide metabolites in surface and ground water of the United States. *The Science of the Total Environment*, **248**, 157–167, 2000
  - 8) Pichon, V., Chen, L., Guenu, S. and Hennion, M. -C.: Comparison of sorbents for the solid-phase extraction of the highly polar degradation products of atrazine (including ammeline, ammelide and cyanuric acid). *J. Chromatogr. A*, **711**, 257–267, 1995
  - 9) Tanabe, A. and Kawata, K.: Determination of triazine pesticides and related compounds in environmental water by liquid chromatography-mass spectrometry. *Analytical Sciences*, in press.