

## 硫酸ジメチル誘導体化-LC/MS/MSによる

### 水道水中のジチオカルバメート系農薬類の分析法の検討

木下 輝昭<sup>a</sup>, 小杉 有希<sup>a</sup>, 鈴木 俊也<sup>a</sup>, 保坂 三継<sup>b</sup>, 栗田 雅行<sup>b</sup>

水道水の管理目標設定項目である農薬類の中で、対象農薬リスト掲載農薬類として分類されているものの標準検査法が設定されていないジチオカルバメート系農薬7種類（チウラム、ポリカーバメート、マンゼブ、マンネブ、ジラム、ジネブおよびプロピネブ）について分析法の検討を行った。ジチオカルバメート系農薬7種類をアルカリ分解し、硫酸ジメチルによる誘導体化によって生成するジメチルジチオカルバメートメチル(DMDC-Me)、エチレンビスジチオカルバメートメチル(EBDC-Me)およびプロピレンビスジチオカルバメートメチル(PBDC-Me)をLC/APCI/MS/MSにより測定した。その結果、DMDC-Me、EBDC-MeおよびPBDC-Meの定量下限値は、それぞれ0.01、0.001および0.001 mg/Lであり、検量線も良好な直線性が得られた。本法により、ジチオカルバメート系農薬7種類について、目標値付近である濃度0.01 mg/Lで妥当性評価を行ったところ、ジラムを除く6種類の農薬の真度は71~93%、併行精度は7~19%となり、真度は水道水質検査の妥当性評価ガイドラインの目標である70~120%を満たし、併行精度は目標である15%未満をほぼ満たした。本法は、ジチオカルバメート系農薬7種類について、ジラム以外の農薬の定量試験法および定性試験法として有用であると考えられる。

**キーワード**：ジチオカルバメート系農薬、アルカリ分解、硫酸ジメチル誘導体、LC/MS/MS

#### はじめに

水道水中の農薬類は、水質管理上留意すべき項目である「水質管理目標設定項目」に設定されている。その目標値は、各農薬の検出値と目標値の比の総和として1を超えないこととされている<sup>1)</sup>。また、各農薬の検査方法についても提示され、各農薬の定量下限値は、目標値の1/100、変動係数は20%以下となることが求められている<sup>2)</sup>。有機硫黄殺菌剤であるジチオカルバメート系農薬は、マンゼブやマンネブに代表されるエチレンビスジチオカルバメート系とチウラムによって代表されるジメチルジチオカルバメート系がある<sup>3)</sup>。ジチオカルバメート系農薬は、平成25年3月の農薬類の分類の見直し<sup>4)</sup>において、新たに「水質管理目標設定項目」の対象農薬リストに追加され、ジネブ、ジラム、チウラム、プロピネブ、ポリカーバメート、マンゼブ（マンコゼブ）およびマンネブの濃度を二硫化炭素に換算して合計して算出することとされている。これら農薬類7物質のうち6物質については、平成15年答申時に目標値が設定されており、目標値を用いて物質に含まれる硫黄から生成可能な二硫化炭素を換算した結果、最小値はジラムの目標値から計算される0.005 mg/Lであった（表3）。

また、平成26年3月の「水質基準に関する省令の一部改正等について」において、目標値が0.005 mg/L（二硫化炭素として）と設定された。これら農薬の分析法として、厚生労働省ではチウラムとポリカーバメートの2物質について標準検査法を定めており、固相抽出後LC/MSで定量

する方法およびヨウ化メチルで誘導体後HPLC/UVで定量する方法が示されている<sup>2)</sup>。また、ジチオカルバメート系農薬の分析法は、塩酸中で加熱して発生した二硫化炭素を捕集し定量する二硫化炭素法<sup>5)</sup>やアルカリ加水分解で生成するジメチルジチオカルバメート（以下DMDCと略す）もしくはエチレンビスジチオカルバメート（以下EBDCと略す）をヨウ化メチルによりメチル化し、HPLC/UV<sup>6)</sup>やGC/MS<sup>7)</sup>で定量する方法が用いられている。しかし、HPLC/UVでの測定は、感度が低くバックグラウンドが高いため、固相によるクリーンアップや濃縮操作が必要となる点や、前処理であるメチル化が極めて煩雑である点で問題が指摘されている。巴山らは、ポリカーバメートのアルカリ分解生成物を硫酸ジメチルでメチル化後、LC/MS/MSによる簡便かつ高感度測定法を報告している<sup>8)</sup>。

そこで、著者らはこの報告を参考に、前処理および誘導体化の工程を簡略化するため、硫酸ジメチルによる水溶液中での直接メチル化を行い、LC/MS/MSによる高感度な測定方法の検討を行ったので報告する。

#### 実験方法

##### 1. 試薬

ジチオカルバメート系農薬7種類のうち、チウラム、ポリカーバメート、マンゼブ、マンネブ、ジラム、ジネブ、プロピネブは、関東化学（株）社製、林純薬工業（株）社製を使用した。メチル誘導体化物のジメチルジチオカルバ

<sup>a</sup> 東京都健康安全研究センター 薬事環境科学部 環境衛生研究科  
169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1

<sup>b</sup> 東京都健康安全研究センター 薬事環境科学部

表3 ジチオカルバメート系農薬類7種類の目標値およびメチル誘導体の濃度の換算表

	チウラム	ポリカーバメート	マンコゼブ	マンネブ	ジラム	ジネブ	プロピネブ
目標値(mg/L)	0.02	0.03	0.02	0.01	0.01	0.01	
分子量	240.43	581.57	265.3	265.3	305.82	275.75	289.8
CS <sub>2</sub> モル比	2	4	2	2	2	2	2
CS <sub>2</sub> 換算値	0.01	0.02	0.01	0.006	0.005	0.006	
二硫化炭素 (CS <sub>2</sub> ) 分子量 : 76.14							
農薬1moLに対しての生成moL数							
DMDC-Me	2	2			2		
EBDC-Me		1	1	1		1	
PBDC-Me							1
農薬濃度0.01 mg/L相当とした場合のメチル誘導体の濃度 (μg/L)							
DMDC-Me	11.2	4.6			8.8		
EBDC-Me		4.1	9.0	9.0		8.7	
PBDC-Me							8.8

メートメチル (以下DMDC-Meと略す) は和光純薬工業 (株) 社製, エチレンビスジチオカルバメートメチル (以下EBDC-Meと略す) およびプロピレンビスジチオカルバメートメチル (以下PBDC-Meと略す) は林純薬工業 (株) 社製を使用した。

また, アセトニトリルは関東化学 (株) 社製, EDTA二ナトリウム, L-システイン塩酸および水酸化ナトリウムは和光純薬工業 (株) 社製を用いた。精製水は, 水道水を超純水製造装置 (日本ミリポア (株) 社製 MilliQ Advantage/Elix-UV5) で精製した水を用いた。

2. 標準液および試験溶液の調製

1) 各農薬類の標準液の調製

各農薬の標準品10 mgを秤量してメスフラスコに採り, EDTA-システイン溶液で10 mLに定容して標準原液とした (各1000 mg/L)。EDTA-システイン溶液は, EDTA二ナトリウム15 gおよびL-システイン塩酸10 gを取り, 精製水50 mLに懸濁し, 40%水酸化ナトリウム水溶液でpH10付近に調整し, 全量100 mLとした。また, 各標準原液の適量をメスフラスコに採り, EDTA-システイン溶液の10倍希釈液で, 適宜希釈して農薬混合標準液を調製した。

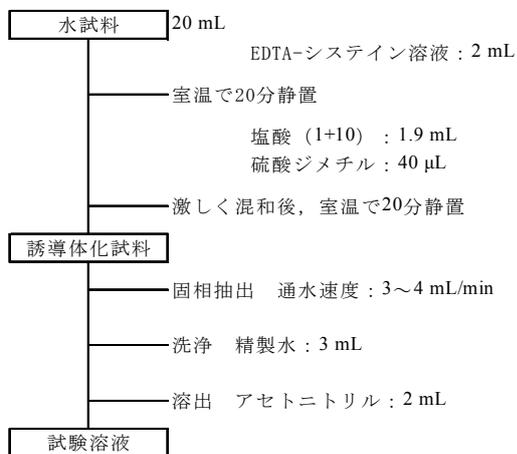


図1 試験溶液調製の操作フロー

2) メチル誘導体の標準液の調製

DMDC-Me, EBDC-MeおよびPBDC-Meをそれぞれ10 mg秤量してメスフラスコに採り, アセトニトリルで10 mLに定容して各標準原液を調製した (各1000 mg/L)。また, 各標準原液の1 mLをメスフラスコに採り, アセトニトリルを加えて100 mLにし, 検量線用混合標準原液 (各10 mg/L) を調製した。

3) 試験溶液の調製

水道水 (脱塩素処理剤としてアスコルビン酸ナトリウムを10 mg/L添加) または精製水を用いて, 図1の操作フローに従い, 試験溶液を調製した。

3. 装置および測定条件

LC装置は, Waters社製ACQUITY UPLC I-Classシステム, MS/MS装置は, Waters社製Xevo TQを使用した。MS/MSのイオン化法はAPCI (ポジティブおよびネガティブモード) を用い, 測定対象化合物の測定イオンは表1, 装置測定条件は表2示した。

表1 メチル誘導体の測定対象イオンおよび測定条件

メチル誘導体	イオン化法	保持時間 (min)	定量イオン* (m/z)	Cone (V)	Collision (V)
DMDC-Me	APCI+	3.5	136.1>88.1	15	10
EBDC-Me	APCI-	4.7	238.9>190.7	15	5
PBDC-Me	APCI-	5.3	253.1>205.1	15	10

\*プリカーサーイオン>プロダクトイオンの順で記載

表2 LC/MS/MS分析条件

カラム	HSSC18 (2x50 mm, 1.7μm)
移動相A/B	メタノール/水
移動相A	30%(0-1 min)-
グラジエント	リニアグラジエント-
移動相A	100%(1-10 min)-
移動相A	100%(10-15 min)
流速	0.20 mL/min
カラム温度	40 °C
サンプル温度	10 °C
注入量	2 μL
コロナ電圧	3 kV
キャピラリー電圧	3 keV
エキストラクター	3 V
イオン源温度	150 °C
脱溶媒温度	450 °C
脱溶媒ガス	650 L/hr

4. 検量線

DMDC-Me, EBDC-MeおよびPBDC-Meの検量線用混合標準原液(各10 mg/L)をアセトニトリルで適宜希釈し, 0.001~1 mg/Lの検量線用混合標準液を調製し, LC/MS/MSで分析を行い, 検量線を作成した。また, 空試験として, 精製水を20 mL採り, 図1の操作フローに従って試験溶液を調製し, DMDC-Me, EBDC-MeおよびPBDC-Meの濃度を求めた。

5. 妥当性評価

7種類の農薬がそれぞれ0.01 mg/Lになるように水道水に添加し, 5併行で添加回収試験を実施した。なお, 各農薬の目標値とメチル誘導体の濃度の換算表を表3示す。

結果および考察

1. MS/MS条件の最適化

イオン化法において, DMDC-Meは, ESIおよびAPCIネガティブモード(以下APCI-と略す)ではイオン化しなかったが, APCIのポジティブモード(以下APCI+と略す)でイオン化した。EBDC-MeおよびPBDC-Meは, ESI, APCI+およびAPCI-でイオン化した。APCI-が最も感度が高かった。そこで, 表1のとおりイオン化法を確定した。

次に, DMDC-Me, EBDC-MeおよびPBDC-Meの分析条件の最適化を行った。検量線用混合標準原液10 mg/Lを用いて, APCIイオン化法のスキャンモードによりマススペクトルを測定し, MRMモードにおけるプリカーサーイオ

ンおよびプロダクトイオンを選択した。また, キャピラリー電圧を1~4 keV, コーン電圧を5~20 Vに変更して, イオン化の至適条件の検討を行った。コーン電圧を10 Vに固定してキャピラリー電圧を1~4 keVに変更した時のAPCI+およびAPCI-によるメチル誘導体のピーク面積を図2に示す。DMDC-Meについては, APCI+においてキャピラリー電圧3~4keVの時, EBDC-MeおよびPBDC-Meについては, APCI-においてキャピラリー電圧3keVの時に高感度であった。一方, キャピラリー電圧を3 keVに固定してコーン電圧を5~20 Vに変更した時のAPCI+およびAPCI-によるメチル誘導体のピーク面積を図3に示す。DMDC-Meについては, APCI+においてコーン電圧15 Vの時, EBDC-MeおよびPBDC-Meについては, APCI-においてコーン電圧15 Vの時に高感度であった。以上の結果から, キャピラリー電圧3kV, コーン電圧15Vとした。最適化により決定したメチル誘導体のLC/MS/MSの分析条件を表1および表2に示す。

2. 検量線

表1および表2の条件下で, 0.05 mg/LのDMDC-Me, 0.01 mg/LのEBDC-MeおよびPBDC-Meの標準液を分析した時のそれぞれのクロマトグラムを図4に示す。いずれのメチル誘導体も6分以内にピークが検出され, それぞれのテーリング係数を計算すると, DMDC-Meは1.25, EBDC-Meは1.00, PBDCは1.10であった。ピーク対称性として, テーリング係数は0.5~1.5程度が適切な値であり, いずれのメチル誘導体のピークも対称性は良好であった。また, DMDC-Meについて0.005~1 mg/L, EBDC-MeおよびPBDC-Meについて0.001~1 mg/Lの検量線を図5に示す。DMDC-Me, EBDC-MeおよびPBDC-Meの決定係数( $r^2$ )は, 0.9999, 0.9991および0.9993と高い値を示し, 直線性は良好であった。

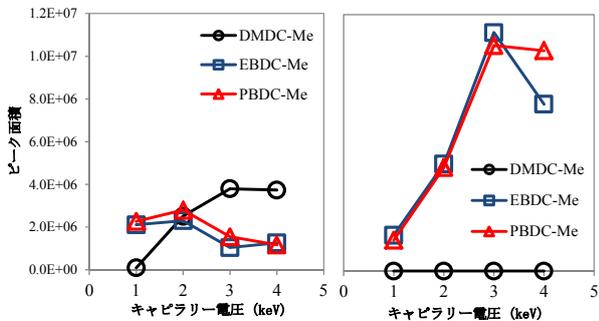


図2 メチル誘導体標準液のキャピラリー電圧の違いによるピーク面積(左: APCI+, 右: APCI-)

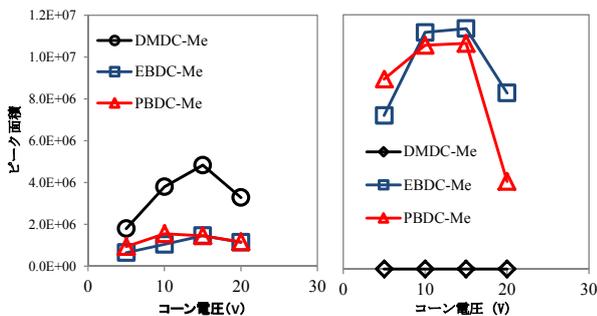


図3 メチル誘導体標準液のコーン電圧の違いによるピーク面積(左: APCI+, 右: APCI-)

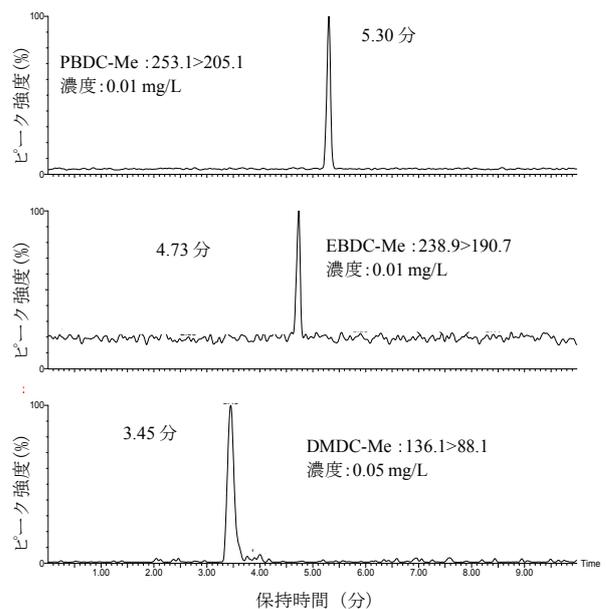


図4 メチル誘導体標準液のLC/MS/MSクロマトグラム

表5 水道水中のジチオカルバメート系農薬7種類の添加回収試験

農薬名	添加濃度 (mg/L)	メチル 誘導体	真度(%)					併行精度 (%)	
			1	2	3	4	5		
チウラム	0.01	DMDC-Me	67	64	61	90	75	71	16
ポリカーバメート	0.01	DMDC-Me	61	61	93	75	67	71	19
		EBDC-Me	82	92	95	86	110	93	12
マンコゼブ	0.01	EBDC-Me	65	90	80	86	87	82	13
マネブ	0.01	EBDC-Me	80	67	73	70	70	72	7
ジラム	0.01	DMDC-Me	47	24	51	55	57	47	28
ジネブ	0.01	EBDC-Me	79	79	82	99	91	86	10
プロピネブ	0.01	PBDC-Me	77	76	68	75	85	76	8

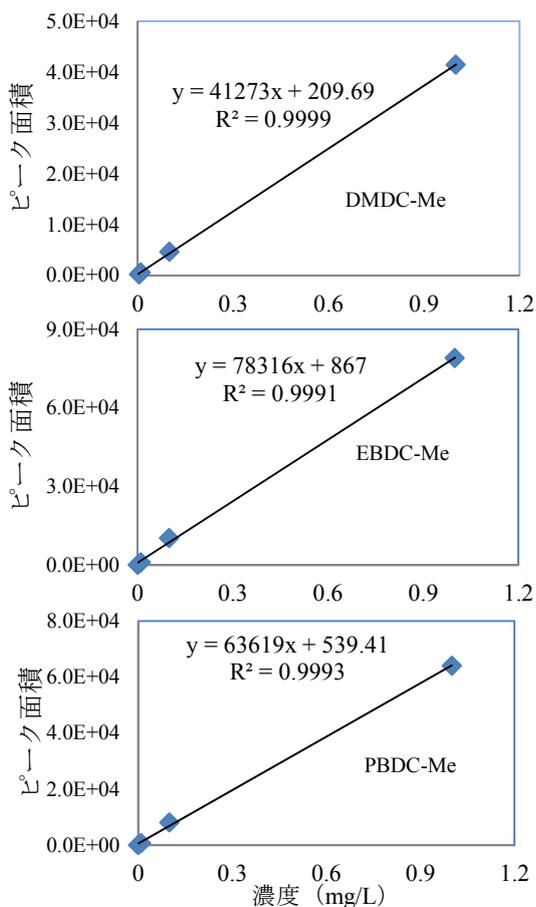


図5 メチル誘導体標準液の検量線

### 3. 妥当性評価

#### 3.1 選択性および定量下限値

空試験用水試料である精製水を用いて試験溶液を調製した場合、クロマトグラム上にDMDC-Me、EBDC-MeおよびPBDC-Meに相当するピークは認められなかった。定量下限値 (S/N=10) は、DMDC-Meは0.01 mg/L、EBDC-MeおよびPBDC-Meは0.001 mg/Lであった。

#### 3.2 真度および併行精度

ジチオカルバメート系農薬7種類について、それぞれを目標値付近の濃度で水道水に添加して、回収率 (真度) および併行精度 (RSD) を調べた (表5)。

水道水質検査方法の妥当性評価ガイドライン<sup>9)</sup>による評価目標は、添加濃度が目標値付近として真度が70~120%、併行精度が15%未満である。DMDC-Meを生成する農薬、チウラムおよびポリカーバメートについては、いずれも回収率が71%と妥当性ガイドラインによる評価目標を満たしているものの、併行精度がそれぞれ16%および19%で評価目標を満たしていなかった。また、ジラムの回収率は47%、併行精度は28%で、両方とも評価目標を満たしておらず、その原因については不明である。

一方、EBDC-MeおよびPBDC-Meを生成する農薬については、回収率は72~93%、併行精度は7~12%で、評価目標を満たしており、良好な結果であった。

本法では、DMDC-Me、EBDC-MeおよびPBDC-Meの添加濃度が目標値付近において、DMDC-Meについては定性試験、EBDC-MeおよびPBDC-Meについては定量試験として有用であった。

### まとめ

ジチオカルバメート系農薬7種類 (チウラム、ポリカーバメート、マンコゼブ、マネブ、ジラム、ジネブおよびプロピネブ) について分析法の検討を行った。ジチオカルバメート系農薬7種類をアルカリ分解し、硫酸ジメチルによる誘導体化によって生成するDMDC-Me、EBDC-MeおよびPBDC-MeをLC/APCI/MS/MSにより測定した。その分析条件下におけるDMDC-Me、EBDC-MeおよびPBDC-Meの定量下限値は、それぞれ0.01、0.001および0.001 mg/Lであった。検量線については、DMDC-Meが0.005-1.0 mg/L、EBDC-Meが0.001-1.0 mg/LおよびPBDC-Meが0.001-1.0 mg/Lの範囲で、決定係数 ( $r^2$ ) がそれぞれ0.9999、0.9991および0.9993と良好な結果であった。ジチオカルバメート系農薬7種類について、目標値付近である濃度0.01 mg/Lで妥当性評価を行ったところ、ジラムを除く6種類の農薬類の回収率は71~93%、併行精度は7~19%となり、回収率については水道水質検査の妥当性評価ガイドラインの目標である70~120%を満たし、併行精度については目標である15%未満をほぼ満たした。しかし、ジラムの回収率は47%、

併行精度は28%で、両方ともに妥当性評価ガイドラインの目標を満たすことができなかった。

本法は、ジチオカルバメート系農薬7種類について、DMDC-Meを生成する農薬、ジラムについては、目標値付近の濃度において精度良く測定することができなかったものの、ジラム以外の農薬の定量試験法および定性試験法としては有用であった。

## 文 献

- 1) 厚生労働省健康局長：水質基準に関する省令の制定および水道法施行規則の一部改正等について  
<http://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-10900000-Kenkoukyoku/0000055199.pdf> (2015年7月31日現在, なお本URLは変更または抹消の可能性がある)
- 2) 厚生労働省健康局水道課：水質基準に関する省令の制定および水道法施行規則の一部改正等並びに水道水質管理における留意事項について 別添 4 水質管理目標設定項目の検査方法  
<http://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-10900000-Kenkoukyoku/0000055189.pdf> (2015年7月31日現在, なお本URLは変更または抹消の可能性がある)
- 3) 日本植物防疫協会編：農薬ハンドブック, 2011年版, 235, 2011, 一般社団法人日本植物防疫協会 東京.
- 4) 厚生労働省健康局長：「水質基準に関する省令の制定および水道法施行規則の一部改正等について」の一部改正について  
<http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/kenkou/suido/hourai/jimuren/dl/130328-12.pdf> (2015年7月31日現在, なお本URLは変更または抹消の可能性がある)
- 5) Crnogorac,G, Schwack,W., : Trends in Analytical Chemistry,vol.28, No.1, 40-50, 2009
- 6) 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について 別添（暫定指導指針において示す標準分析法）  
[https://www.env.go.jp/water/dojo/noyaku/golf\\_course/attach/guidelines\\_an.pdf](https://www.env.go.jp/water/dojo/noyaku/golf_course/attach/guidelines_an.pdf) (2015年7月31日現在, なお本URLは変更または抹消の可能性がある)
- 7) (財)島根県環境保健公社：GC/MS法における水中のジチオカーバメート系農薬分析の検討  
<http://www.kanhokou.or.jp/presentation/presen18.pdf> (2015年7月31日現在, なお本URLは変更または抹消の可能性がある)
- 8) Hayama,T.,Yada,K.,Onimaru,S.,et al. : Journal of chromatography A, 1141, 251-258, 2007
- 9) 厚生労働省健康局水道課：水道水質検査方法の妥当性評価ガイドラインについて（通知）  
<http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/kenkou/suido/hourai/jimuren/dl/120906-1.pdf> (2015年7月31日現在, なお本URLは変更または抹消の可能性がある).

**Determination Method using Dimethyl Sulfate Derivatization for Dithiocarbamate Pesticides  
in Drinking Water by LC/MS/MS**

Teruaki KINOSHITA<sup>a</sup>, Yuki KOSUGI<sup>a</sup>, Toshinari SUZUKI<sup>a</sup>, Mitsugu HOSAKA<sup>a</sup>, and Masayuki KURITA<sup>a</sup>

The pesticide list for drinking water in Japan was revised on March 28, 2013, and dithiocarbamate pesticides were listed as a target pesticide. However, no official analytical method for dithiocarbamate pesticides has been published by the Ministry of Health, Labour and Welfare in Japan. We investigated an analytical method for methyl dimethyldithiocarbamate, dimethyl ethylenebisdithiocarbamate, and dimethyl propylenebisdithiocarbamate using liquid chromatography–atmospheric pressure chemical ionization source-tandem mass spectrometry. These methyl derivatives were derived from methylation by dimethyl sulfate after alkaline hydrolysis of dithiocarbamate pesticides (thiram, polycarbamate, manzeb, maneb, ziram, zineb, and propineb). The method was assessed by performing recovery tests with 0.01 mg/L of each dithiocarbamate pesticide. Except for ziram, the recovery and coefficients of variation were 71%–93% and 7%–19%, respectively. In the case of ziram, the recovery rate and coefficient of variation were 47% and 28%, respectively. We conclude that this method is applicable as a qualitative rather than a quantitative determination method for dithiocarbamate pesticides in drinking water.

**Keywords:** Dithiocarbamate pesticides, Alkaline hydrolysis, Dimethyl sulfate, LC-MS/MS

---

<sup>a</sup> Tokyo Metropolitan Institute of Public Health,  
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073, Japan