

## 固相抽出-GC/MSによる水道水中の殺虫剤プロチオホスの分析法の検討

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

2013年4月に水道水中の管理目標設定項目に追加された有機リン系農薬プロチオホスについて、標準検査法である固相抽出-GC/MSによる一斉試験法の適用の可否について検討した。プロチオホスの定量下限値は0.00002 mg/Lで、目標値の1/100を十分に定量可能であった。添加回収試験の結果、真度は67%、併行精度は13%で、真度は妥当性評価ガイドラインの目標（70-120%）を下回ったが、併行精度は目標（30%未満）を満たした。既存の標準検査法はプロチオホスの目標値の1/100を再現性良く検出可能であることから、本法により他の農薬と一緒にスクリーニングし、目標値付近の濃度以上で検出された場合にはプロチオホスの個別分析法により確認することで、農薬検査の効率化を図れるものと考えられる。

**キーワード：** プロチオホス, 農薬, 固相抽出, GC-MS, 妥当性評価, 水道水

## はじめに

2013年4月に水道水の管理目標設定項目の農薬類に有機リン系農薬プロチオホスが新たに追加され<sup>1)</sup>, その管理目標値は0.004 mg/L、定量下限値はその1/100に設定された。

プロチオホスは非対称構造を持つ有機リン系の殺虫剤で、鱗翅目害虫やアブラムシ類に有効である<sup>2)</sup>。既存のプロチオホスの分析法については、食品の残留農薬の試験法としてGC-MSによる農薬等の一斉試験法（農産物）<sup>3)</sup>、SCD-GCによる一斉分析法<sup>4)</sup>、固相マイクロ抽出/GC-MS法<sup>5)</sup>等が、環境水の試験方法として固相抽出-GC/MS分析法<sup>6)</sup>、固相マイクロ抽出/GC-MS法<sup>7)</sup>等が報告されている。また、2015年4月には厚生労働省から水道水中のプロチオホスの標準検査法<sup>8)</sup>（以下別添方法25と略す）が通知されているが、この方法はプロチオホスの個別分析法である。

当センターでは現在GC/MSで測定可能な農薬の一斉分析を既存の厚生労働省の水道水中農薬のGC/MSによる一斉分析法<sup>9)</sup>（以下別添方法5と略す）で行っている。

今回、水道水中の農薬検査の効率化を図るため、別添方法5のプロチオホスの分析への適用について検討した。さらに、水道水質検査方法の妥当性評価ガイドライン<sup>10)</sup>に基づいて妥当性評価を実施したので、その結果を報告する。

## 実験方法

## 1. 試薬

n-ヘキサン、アセトン、ジクロロメタンおよびメタノールは残留農薬用、アスコルビン酸ナトリウムは試薬特級を使用し、精製水はMilli-Q Advantage（日本ミリポア）により調製したものをを用いた。プロチオホス標準品（純度98%以上）および内部標準物質9-プロモアントラセン（3種混合内部標準物質、各100 µg/mL：ジクロロメタン溶液）は

和光純薬工業(株)製を使用した。

## 2. 器具

固相カラムはSep-Pak PS-2 Plus（265 mg）、固相抽出装置はSep-Pak-コンセントレーター（日本ウォーターズ(株)製）を使用した。

## 3. 装置

GC/MSはイオントラップ型のITQ-1100（サーモフィッシャーサイエンティフィック(株)製）を使用した。装置の分析条件を表1に示す。

表1. プロチオホスのGC/MS分析条件

パラメーター	ThermoFisher ITQ1100 イオントラップ型
注入口温度	240°C
注入法	スプリットレス（パーズ開始時間1分）
注入量	2 µL
カラム	Agilent社製 HP-5MS (0.25 mm i.d.×30 m, 膜厚0.25 µm)
カラム温度	60°C (1 min) →20°C/min→150°C (3 min) →5°C/min→240°C (0 min) →10°C/min→270°C (10 min)
キャリアーガス流量	He, 1.0 mL/min
インターフェイス温度	200°C
イオン源温度	220°C
MSモード	SCAN (測定: m/z 65-400)
モニターイオン	
プロチオホス	定量イオン: m/z 309, 確認イオン: m/z 267
9-プロモアントラセン	定量イオン: m/z 258, 確認イオン: m/z 256

## 4. プロチオホス標準液の調製

プロチオホス10 mgを秤量し、ジクロロメタンに溶解して正確に100 mLとし、冷蔵庫に保存した。これを用時、ジクロロメタンで適宜希釈して用いた。

<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

5. 内部標準液の調製

市販の標準品をジクロロメタンで10倍希釈して用いた。

6. 試験溶液の調製

厚生労働省の別添方法5により行った。分析フローを図1に示す。

1. 厚生労働省の別添方法5

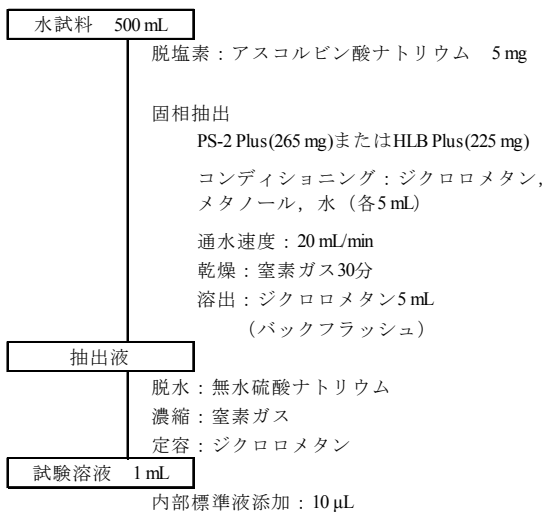


図1. 水試料中のプロチオホスの試験溶液の調製法

結果および考察

1. GC/MSによるプロチオホスのモニターイオンおよびクロマトグラム

プロチオホス標準溶液を ITQ-1100 に注入し、スキャン法によりフラグメンテーションを調べたところ、主要なフラグメントイオンは  $m/z$  207, 239, 267 および 309 であった (図2)。そこで、定量イオンは  $m/z$  309, 確認用イオンは  $m/z$  267 とすることとした。

プロチオホスを注入した時の GC/MS クロマトグラムを図3に示す。0.01 mg/L (水試料換算で目標値の 1/200) で  $S/N=52$  と良好な感度が得られた。

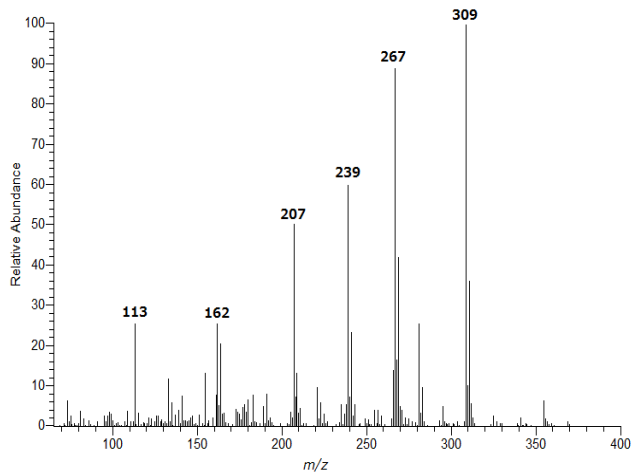


図2. プロチオホスの GC/MS マススペクトル

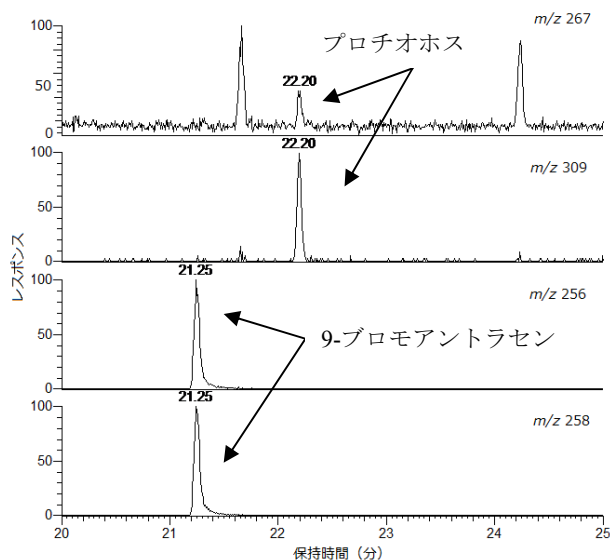


図3. プロチオホスの GC/MS クロマトグラム (濃度 0.01 mg/L)

2. 検量線および定量下限値

プロチオホスの検量線を図4に示す。プロチオホス濃度 0.01 から 0.2 mg/L の範囲で、決定係数が 0.997 と直線性は良好であった。また、一次回帰式より求めた値に対する実測値の誤差は、-6.5~12.1%であった。

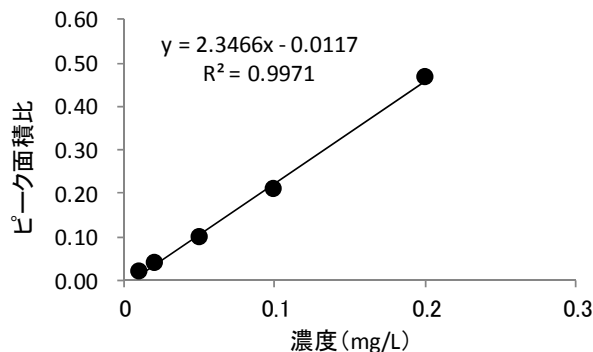


図4. プロチオホスの検量線 (0.01~0.2 mg/L)

厚生労働省では基本的に水道水中の農薬は目標値の 1/100 までを測定することとしている<sup>11)</sup>。したがって、プロチオホスの目標値は 0.004 mg/L であることから、0.00004 mg/L まで測定する必要がある。今回検討した GC/MS の分析条件では、水試料を 500 倍濃縮していることから、0.02 mg/L の濃度が十分な感度で測定できなければならない。そこで、これよりも低濃度の 0.01 mg/L 標準液を GC/MS に繰り返し注入し、ピーク面積のばらつきより検出下限値 (標準偏差の 3 倍)、定量下限値 (標準偏差の 10 倍) を求めた (表2)。0.01 mg/L の標準溶液が  $S/N=10$  以上で測定可能であった。そこで、定量下限値は水試料換算値で 0.00002 mg/L とした。

表 2. プロチオホスの定量下限値\*

GC-MS	平均値 (mg/L)	標準偏差 (mg/L)	変動係数 (%)	検出下限 (mg/L)	定量下限 (mg/L)
ITQ-1100	0.0132	0.0009	7.0	0.0028	0.0093

※プロチオホス濃度: 0.01 mg/L (目標値の1/200相当, n=10)  
 検出下限: 3×標準偏差(σ)  
 定量下限: 10×標準偏差(σ)

3. 一斉分析における妨害物質の検討

一斉分析を行う際に、プロチオホスのマスクロマトグラム上に重なるピークがないことを確認した。予めプロチオホス以外の農薬類混合標準液を測定し、他の農薬類の影響の有無を調べたところ (図 5 および図 6)、プロチオホスの保持時間である 22.2 分付近には、m/z 267, 309 共にピークが検出されなかった。このことより、現在厚生労働省の別添方法 5 で測定を行っている他の農薬類と一斉分析を行っても、問題なくプロチオホスを分析できることが確認された。

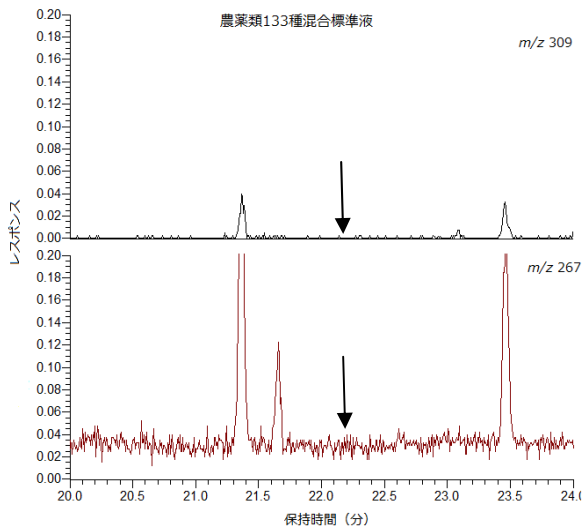


図 5. 農薬類 133 種混合溶液の GC/MS クロマトグラム

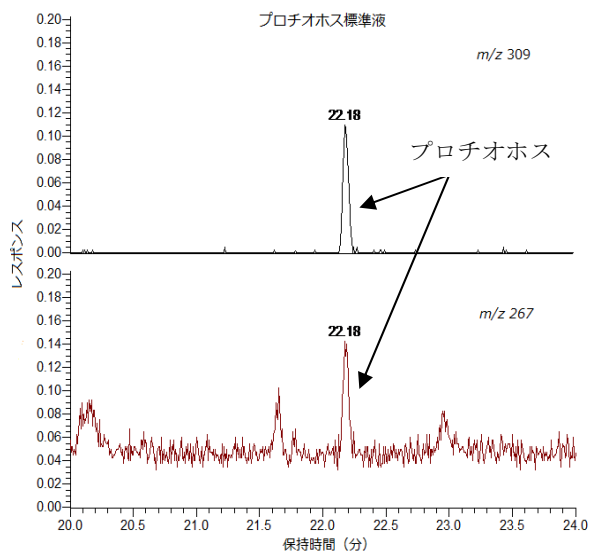


図 6. プロチオホス標準液の GC/MS クロマトグラム

4. 妥当性評価

当センターの水道水を用い、プロチオホスの添加濃度 0.00004 mg/L で、妥当性評価試験を行った (表 3)。厚生労働省の別添方法 5 では、真度の平均は 67%、併行精度が 13% であった。厚生労働省の水道水質検査法の妥当性評価ガイドライン<sup>10)</sup>では、目標値の 1/100 の添加濃度の場合、真度および併行精度の目標値はそれぞれ 70-120% および 30% 未満とされている。それに照らし合わせた場合、別添方法 5 では、真度は目標である 70%-120% を満たしていなかったが、併行精度は 30% 以内であった。即ち、水道水中のプロチオホスの目標値の 1/100 を再現性良く検出可能でありスクリーニング試験法として有用であった。しかし、1/100 付近の濃度以上で検出された場合は、別添方法 25 による確認が必要であると考えられる。

表 3. 水道水中のプロチオホスの妥当性評価試験

分析法	空試験値 (mg/L)	真度 (%)					平均値	標準偏差	併行精度 (RSD%)
		1	2	3	4	5			
厚生労働省 別添方法 5	<0.00001	69	77	70	53	68	67	9	13

添加濃度: 0.00004 mg/L (目標値の 1/100)

ま と め

プロチオホスについて、既存の別添方法 5 を用いてその他の農薬類と一緒に効率的に分析できるかを検討した。定量下限値は 0.00002 mg/L であり、水道水中のプロチオホスの目標値の 1/100 を検出可能であった。

また、真度が水道水質検査方法の妥当性評価ガイドラインの目標値に近い値を得ることができ、併行精度は目標を満たした。

別添方法 5 はプロチオホスの目標値の 1/100 を再現性良く検出可能であることから、本法により他の農薬と一緒にスクリーニングし、目標値付近の濃度以上で検出された場合に別添方法 25 により確認することで、農薬検査の効率化を図れるものと考えられる。

文 献

- 1) 厚生労働省健康局水道課長：健水発 0328 第 4 号，農薬類の分類の見直しについて (通知)，2013。  
<http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/kenkou/suido/hourei/jimuren/dl/130328-3.pdf> (2015 年 07 月 17 日現在，なお本 URL は変更または抹消の可能性がある)
- 2) 日本植物防疫協会：農薬ハンドブック 2011 年版，20-21, 2011, 日本植物防疫協会，東京
- 3) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長：食安発第 0124001 号，「食品に残留する農薬，飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法について」，2005。  
<http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/00000754>

- 97.html (2015年07月17日現在, なお本URLは変更または抹消の可能性がある)
- 4) 金丸正, 安井義徳: 農林水産消費技術センター調査研究報告書, **22**, 11-16, 1998.
  - 5) Zi-Ye Sang, Yu-Ting Wang, Yeuk-Ki Keivin, *et al.*: *Food Chemistry*, **136**, 710-717, 2013.
  - 6) 環境省総合環境政策局環境保健部環境安全課: 化学物質と環境, 平成21年度化学物質分析法開発調査報告書, 64-102, 2010.  
[http://db-out.nies.go.jp/emdb/pdfs/kurohon/2009/adoc2009\\_v2.pdf](http://db-out.nies.go.jp/emdb/pdfs/kurohon/2009/adoc2009_v2.pdf)  
(2015年07月17日現在, なお本URLは変更または抹消の可能性がある)
  - 7) 渡辺由香里, 小林規矩夫: 山梨衛公年報, **41**, 58-62, 1997.
  - 8) 厚生労働省健康局水道課長: 健水発 0325 第3号, 水道基準に関する省令の一部改正における留意事項について, 別紙1, 別添方法25, 固相抽出ーガスクロマトグラフー質量分析計法, 2015.  
<http://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-10900000-Kenkoukyoku/0000080932.pdf> (2015年07月17日現在, なお本URLは変更または抹消の可能性がある)
  - 9) 厚生労働省健康局水道課: 健水発第 1010001号, 水質管理目標設定項目の検査方法, 別添方法5, 固相抽出ーガスクロマトグラフー質量分析計による一斉分析法, 2003.  
<http://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-10900000-Kenkoukyoku/0000055192.pdf> (2015年07月17日現在, なお本URLは変更または抹消の可能性がある)
  - 10) 厚生労働省健康局水道課長: 健水発 0906 第1~4号, 「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), 2012.  
<http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/kenkou/suido/houreijimuren/dl/120906-1.pdf> (2015年07月17日現在, なお本URLは変更または抹消の可能性がある)
  - 11) 厚生労働省健康局水道課: 健水発第 1010001号, 水質管理目標設定項目の検査方法, 別紙2, 農薬類(水質管理目標項目15)の測定精度, 2003.  
<http://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-10900000-Kenkoukyoku/0000055192.pdf> (2015年07月17日現在, なお本URLは変更または抹消の可能性がある)

**Examination of Analytical Methods for the Pesticide Prothiofos in Drinking Water by Solid-phase Extraction-GC/MS**

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

Prothiofos was newly included in the category of "pesticides in drinking water" in April, 2013. In order to streamline pesticide analysis of drinking water in our laboratory, the official simultaneous pesticide analytical method for drinking water as presented by the Ministry of Health, Labour and Welfare in Japan was applied to prothiofos. The detection limit of prothiofos is 0.00002 mg/L, which is lower than one-hundredth of the target concentration. Regarding the results of the validation test, precision and repeatability of the method were 67% and 13%, respectively. The accuracy did not satisfy the validation guideline of the analytical method for drinking water in Japan, whereas the repeatability did satisfy the guideline. These results suggest that the method is useful as a screening method, and will streamline the pesticide analysis of drinking water.

**Keywords:** prothiofos, pesticide, solid-phase extraction, GC-MS, validation, drinking water

---

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