

平成 25 年度厚生労働科学研究費補助金（厚生労働科学特別研究事業）
「水道水質検査における対象農薬リスト掲載農薬のうち標準検査法未設定の
農薬類の分析法開発」
分担研究報告書

ダゾメット，メタム（カーバム）の分析法開発

研究分担者	小林憲弘	国立医薬品食品衛生研究所	生活衛生化学部
研究協力者	五十嵐良明	国立医薬品食品衛生研究所	生活衛生化学部
	久保田領志	国立医薬品食品衛生研究所	生活衛生化学部
	古川浩司	一般財団法人	三重県環境保全事業団
	阿部晃文	川崎市上下水道局	水管理センター 水道水質課

研究要旨

水道水質検査の対象農薬リストに掲載されているが標準検査法が未だ設定されていないダゾメットおよびメタム（カーバム）の分析法を開発することを目的とした。

ダゾメットおよびメタムはいずれも、水と反応して速やかにメチルイソチオシアネート（MITC）に分解することが知られている。そこで本研究では、ダゾメットおよびメタムを MITC に分解した後、パージ・トラップ（PT）-GC/MS により MITC の濃度を測定し、測定値をダゾメットあるいはメタムの濃度に換算する方法を検討した。

前処理条件の検討の結果、80 の恒温槽で 60 分間の加熱が最適であると判断した。また、PT-GC/MS 測定条件の検討の結果、ダゾメットおよびメタムの目標値の 1/100 に相当する濃度よりも低い MITC 濃度（0.02 $\mu\text{g/L}$ ）の繰り返し測定における SN 比および併行精度は良好であった。

さらに、分析法の妥当性を評価するため、ダゾメットおよびメタムを各目標値の 1/100 の濃度（それぞれ 0.06 および 0.05 $\mu\text{g/L}$ ）となるように水道水に添加した試料を用いて 5 回の繰り返し試験をそれぞれ 2 回実施したところ、いずれの試験においても妥当性評価ガイドラインの目標を満たす回収率（70～120%）と併行精度（<30%）が得られた。なお、MITC の検量線の直線性が確保できる濃度範囲は、0.02～0.5 $\mu\text{g/L}$ であると評価した。

以上のことから、水道水中のダゾメットおよびメタム（カーバム）の分析については、加熱分解して生成した MITC を PT-GC/MS により測定することで、いずれも目標値の 1/100 以下の濃度まで精度の高い分析が可能であることが示された。

A. 研究目的

水道水質検査の対象農薬リストに掲載されているが標準検査法が未だ設定されていないダゾメットおよびメタム（カーバム）の分析法を開発することを目的とした。

ダゾメットおよびメタムはいずれも、水と反応して速やかにメチルイソチオシアネート（MITC）に分解することが知られている。そこで本研究では、ダゾメットおよびメタムを MITC に分解した後、パージ・トラップ（PT）-GC/MS により MITC の濃度を測定し、測定値をダゾメットあるいはメタムの濃度に換算する方法を検討した。

また、平成 25 年 10 月から「水道水質検査方法の妥当性評価ガイドライン」が適用されたことにより（厚生労働省 2012）機器分析による全ての水道水質検査において、分析精度がガイドラインで定められた目標を満たすかどうかを確認する必要がある。そこで本研究では、ガイドラインに従って、開発した分析法の妥当性を評価した。

B. 研究方法

1. 対象物質の基本的情報

本研究の対象物質であるダゾメットおよびメタム（カーバム）、およびその共通の分解物であるメチルイソチオシアネート（MITC）の基本的情報を以下に示す。

ダゾメットおよびメタムにはそれぞれ個別の目標値が定められているが、MITC には定められていない。そこで、水道水質検査においては MITC の測定値をダゾメットあるいはメタムの濃度に換算して評価する必要がある。

1.1. ダゾメット

用途：殺菌剤，防かび剤，防汚剤，殺虫剤，防虫剤，除草剤など

分子式： $C_5H_{10}N_2S_2$

分子量：162.3

目標値：6 $\mu\text{g/L}$

備考：速やかにメチルイソチオシアネートに分解する。

1.2. メタム

使用用途：土壌中の病原菌，害虫，線虫及び雑草種子など

分子式： $C_2H_4NNaS_2$

分子量：129.18

目標値：10 $\mu\text{g/L}$

備考：速やかにメチルイソチオシアネートに分解する。

1.3. メチルイソチオシアネート（MITC）

使用用途：土壌中の病原菌，害虫，線虫および雑草種子など
（土壌中で気化・ガス体となって拡散する）。

分子式： C_2H_3NS

分子量：73.1

2. 標準品・試薬

(1) 精製水

(2) メタノール

関東化学(株)製の残留農薬試験用(5000倍)の規格品を使用した。

(3) アセトン

和光純薬(株)製の残留農薬試験用(5000倍)の規格品を使用した。

(4) アスコルビン酸ナトリウム

関東化学(株)製の特級品を使用した。

(5) メチルイソチオシアネート標準品

和光純薬(株)製の残留農薬試験用の規格品を使用した。

(6) ダゾメット標準品

GmbH 社製の製品を使用した。

(7) メタム標準品

Fluka 社製の製品を使用した。

(8) フルオロベンゼン標準品

関東化学(株)製の内部標準混合原液(1 mg/mL)を使用した。
(フルオロベンゼン及び4-ブロモフルオロベンゼンを含む)

3. 標準液の調整

3.1. 内部標準液の調製

内部標準原液(フルオロベンゼン 1000 mg/L) 1 mL をホールピペットで 10 mL メスフラスコに採取し、メタノールで定容した(100 mg/L)。この 1 mL をホールピペットで 25 mL のメスフラスコに採取し、メタノールで定容した(この溶液を内部標準液 A とする)。内部標準液 A には、フルオロベンゼンを 4 mg/L 含む。

内部標準液 A の 1 mL をホールピペットで 10 mL のメスフラスコに採取し、メタノールで定容した(この溶液を内部標準液 B とする)。内部標準液 B には、フルオロベンゼンを 0.4 mg/L 含む。

3.2. 検量線用標準液の調製

MITC 標準品 100 mg を秤量して 100 mL メスフラスコに採り、メタノールで定容して MITC 標準原液を調製した(1000 mg/L)。これをメタノールで順次希釈し、0.1~2.5 mg/L の濃度範囲の検量線用標準液を調製した(図 1)。

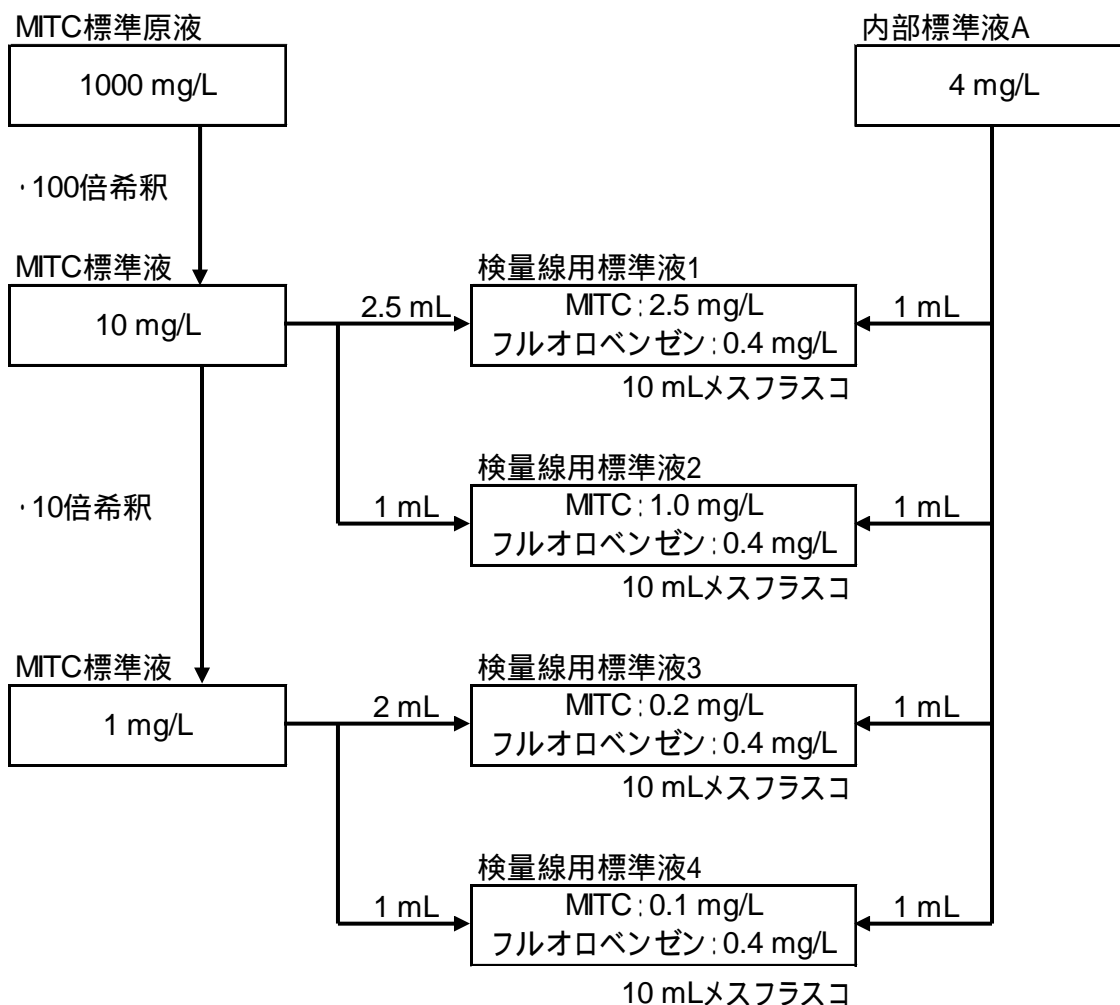


図 1. 検量線用 MITC 標準液の調整フロー

3.3. 添加回収試験用標準液の調製

ダゾメット標準品の 10 mg を秤量して 100 mL メスフラスコに採り，アセトンで定容してダゾメット標準原液を調製した(100 mg/L)。メタム標準品の 10 mg を秤量して 100 mL メスフラスコに採り，精製水で定容してメタム標準原液を調製した(100 mg/L)。これらの標準原液を適宜希釈して試験に用いた。なお，メタムについては，メタノールで調製すると回収率が低下する現象がみられたため，メタノール中では速やかに分解すると考えられる。

4. 分析条件の最適化

ダゾメットおよびメタムの熱分解による MITC への変換の最適時間を検討するため，ダゾメットおよびメタムを一定濃度添加した精製水を 80 の恒温槽で 0～120 分の範囲で加熱し，PT-GC/MS による MITC の測定強度の違いについて検討した。

また，PT-GC/MS による MITC 測定条件の最適化を行った。

5. 分析法の妥当性評価

開発した分析法の妥当性を評価するため、以下の手順に従って水道水を用いた添加回収試験を行い、試験結果がガイドラインの目標を満たすかどうかについて確認した。

5.1. 添加試料の調製

ダゾメット添加試料は、0.01 mg/L のダゾメット標準液 3 mL を 500 mL メスフラスコに採り、脱塩素処理をした水道水（水道水 1 L に対しアスコルビン酸ナトリウム 10 mg を添加）で 500 mL にメスアップして調製した。この添加試料は、ダゾメットを目標値の 1/100 の濃度である 0.06 µg/L 含む。

メタム添加試料は、0.01 mg/L の濃度の標準液の 2.5 mL を 500 mL メスフラスコに採り、脱塩素処理をした水道水（水道水 1 L に対しアスコルビン酸ナトリウム 10 mg を添加）で 500 mL にメスアップして調製した。この添加試料は、メタムを目標値の 1/200 の濃度である 0.05 µg/L 含む。

なお、上記の試料調製には、三重県津市河芸町の水道水を使用した。

5.2. 試料の前処理

上記で調製した添加試料を、パージ&トラップ装置用のねじ口瓶に水道水を満水となるように採り、内部標準液 B をマイクロシリンジで 8.6 µL 添加して密栓した。次に、ねじ口瓶を予め 80 °C に加熱した恒温槽に入れ、1 時間加熱した後、室温で 30 分静置したものを検査試料水とした。

なお、精製水を用いて上記と同様に操作したものを空試験用の試料水とした。

5.2. PT-GC/MS 測定

検査試料水および空試験用の試料水について、最適化を行った PT-GC/MS 測定条件において測定を行い、MITC と内部標準物質のフルオロベンゼンのフラグメントイオンのピーク面積の比を求め、下記の操作で作成した検量線を用いて検査試料水中の MITC 濃度を求めた。

ここから空試験の MITC 濃度を差し引いた後で、ダゾメットに換算する場合は 2.22 を、メタムに換算する場合は 1.77 を乗じて、検査試料水中のダゾメットあるいはメタムの濃度を算出し、添加濃度に対する割合を回収率とした。

5.3. 検量線の作成

パージ&トラップ装置用のねじ口瓶に精製水を満水となるように採り、3.2 で調製した検量線用標準液 1~4 をマイクロシリンジでそれぞれ 8.6 µL ずつ添加した。この時、各ねじ口瓶中の MITC 濃度はそれぞれ 0.5, 0.2, 0.04, 0.02 µg/L となる。これを、検査試料水と同様の条件で PT-GC/MS 測定を行い、MITC とフルオロベンゼンのフラグメントイオンのピーク面積を求め、検量線を作成した。

C. 結果と考察

1. 分析条件の最適化

1.1. 加熱時間の最適化

80 の恒温槽での加熱時間に対する MITC の測定強度を図 2 に示した。ダゾメット、メタム添加時ともに、加熱時間が長くなるにつれ強度が増加する傾向が見られたが、60 分以降ではほぼ一定となった。長時間加熱を続けた場合、MITC の分解のおそれがあることから、60 分の加熱時間が最適であると判断した。

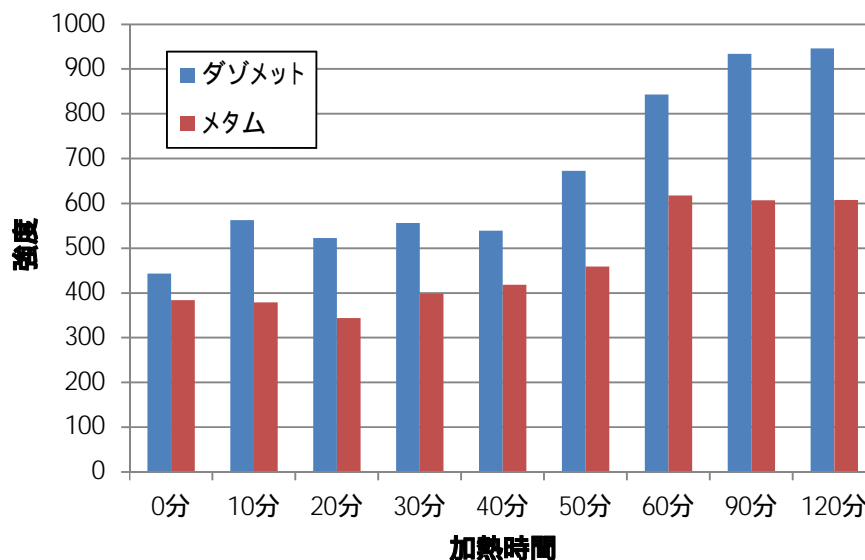


図 2. 加熱時間と MITC の強度との関係

1.2. PT-GC/MS 測定条件の最適化

分析条件の最適化により決定した PT-GC/MS の分析条件を表 1 に示す。また、検量線の最低濃度であり、定量下限値付近である 0.02 $\mu\text{g/L}$ の濃度の MITC 標準液を PT-GC/MS で測定したクロマトグラムを図 3 に示す。SN 比に問題はなく、妨害ピーク等もみられなかった。また、5 回の繰り返し測定における併行精度 (RSD_r) は 4.14% と良好な結果が得られた。

表 1. PT-GC/MS 測定条件

PT 装置条件	
機種	4000J (ジーエルサイエンス)
サンプル量	20 mL
トラップ管	Tenax
パージガス	He
パージ時間	11 min
ライン温度	150
トラップ管加熱温度	225
GC/MS 装置条件	
機種	5973iGC/MS (アジレント)
カラム	AQUATIC-2(60 m×0.25 mm×1.40 μm ,ジーエルサイエンス)
昇温条件	40 (15min) 15 /min 140 20 /min 250 (8min)
AUX 温度	250
イオン化法	EI 法
モニターイオン (m/z)	MITC : 73 (定量イオン), 72 (確認イオン) フルオロベンゼン (内部標準物質): 96

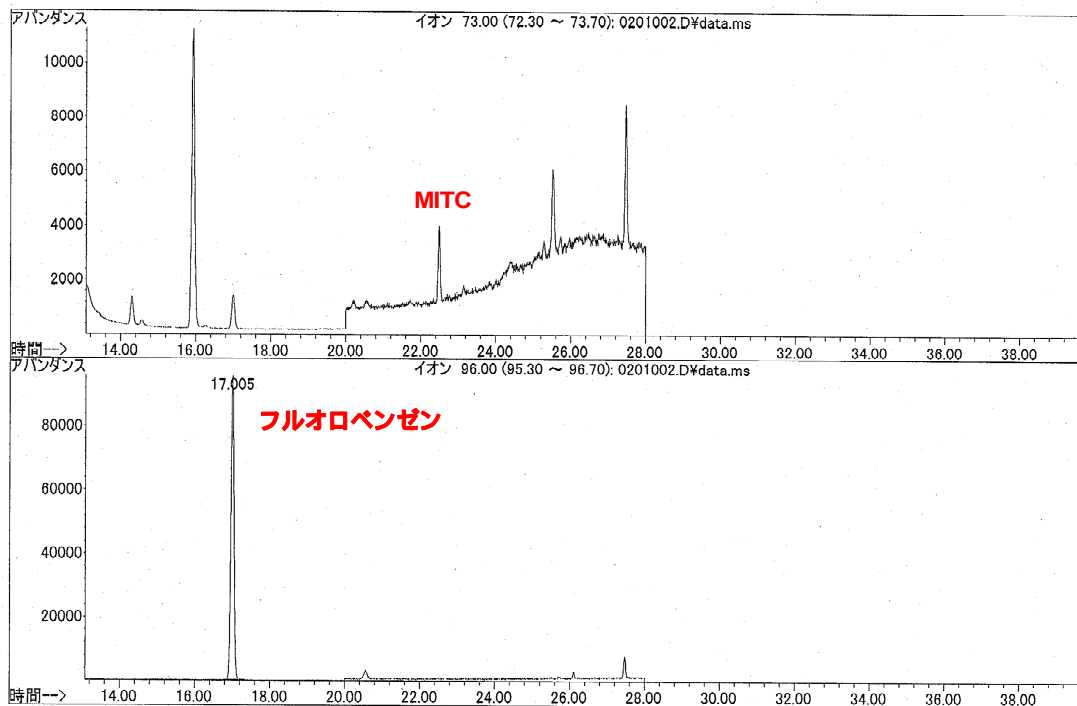


図 3. 定量下限値付近の濃度 (0.02 μg/L) の PT-GC/MS 測定クロマトグラム

2. 分析法の妥当性評価

2.1. 検量線の評価

MITC の濃度範囲が 0.02 ~ 0.5 µg/L である場合と 0.02 ~ 1.0 µg/L である場合の検量線をそれぞれ図 4 および図 5 に示す。MITC の濃度範囲が 0.02 ~ 0.5 µg/L の場合、重相関係数 (r^2) が 0.9997 であり、検量線の直線性が確保できた。一方、MITC の濃度範囲が 0.02 ~ 1 µg/L の場合、 r^2 は 0.996 と高い値であったが、0.02 µg/L の測定点が検量線から少し外れており、直線性が得られなかった。

以上のことから、MITC の検量線が高い直線性を得られる濃度範囲は、0.02 ~ 0.5 µg/L と判断し、この範囲内で MITC の測定を行うこととした。

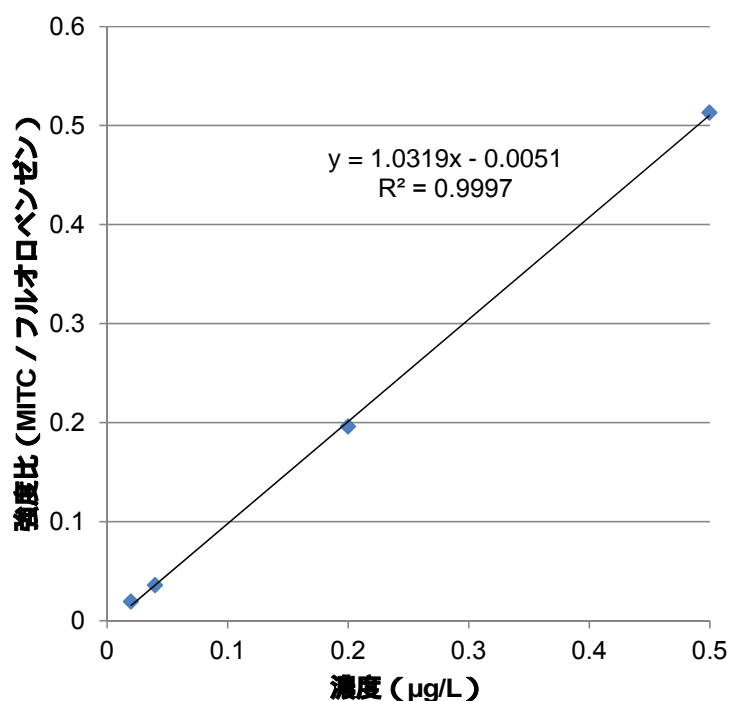


図 4. MITC の検量線 (濃度範囲 0.02 ~ 0.5 µg/L)

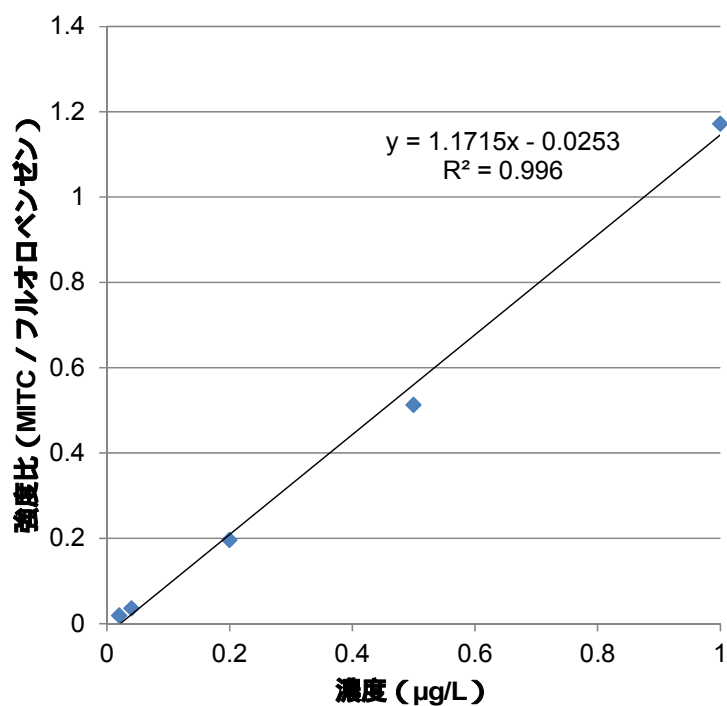


図 5. MITC の検量線 (濃度範囲 0.02 ~ 1 μg/L)

2.2. 水道水添加回収試験結果の評価

ダゾメットおよびメタムの水道水添加回収試験の結果をそれぞれ表 2 ~ 表 5 に示す。また、空試験、ダゾメット、およびメタムの添加回収試験における PT-GC/MS の測定クロマトグラムをそれぞれ図 6 ~ 図 8 に示す。

ダゾメット、メタムともに目標値の 1/100 以下の添加濃度において 5 回の繰り返し試験をそれぞれ 2 回実施したが、いずれの試験においても妥当性評価ガイドラインの目標を満たす回収率 (70 ~ 120%) と RSD_r (<30%) が得られた。

また、空試験において MITC のピークは検出されず (図 6)、ダゾメット、メタムの添加回収試験において夾雑成分の影響を受けていないことも確認できた (図 7 および図 8)。

表 2. ダゾメットの水道水添加回収試験結果 1

	試料 1	試料 2	試料 3	試料 4	試料 5	平均	RSD _r (%)
MITC 濃度 (μg/L)	0.032	0.037	0.031	0.031	0.031	0.032	
ダゾメット換算濃度(μg/L)	0.071	0.082	0.069	0.069	0.069	0.071	8.0
回収率 (%)	118.4	136.9	114.7	114.7	114.7	119.9	

表 3. ダゾメットの水道水添加回収試験結果 2

	試料 1	試料 2	試料 3	試料 4	試料 5	平均	RSD _r (%)
MITC 濃度 (μg/L)	0.025	0.023	0.023	0.023	0.024	0.024	
ダゾメット換算濃度(μg/L)	0.056	0.051	0.051	0.051	0.053	0.052	3.8
回収率 (%)	92.5	85.1	85.1	85.1	88.8	87.3	

表 4. メタムの水道水添加回収試験結果 1

	試料 1	試料 2	試料 3	試料 4	試料 5	平均	RSD _r (%)
MITC 濃度 (μg/L)	0.021	0.023	0.022	0.020	0.021	0.021	
メタム換算濃度 (μg/L)	0.037	0.041	0.039	0.035	0.037	0.038	5.3
回収率 (%)	74.3	81.4	77.9	70.8	74.3	75.8	

表 5. メタムの水道水添加回収試験結果 2

	試料 1	試料 2	試料 3	試料 4	試料 5	平均	RSD _r (%)
MITC 濃度 (μg/L)	0.026	0.023	0.027	0.025	0.025	0.025	
メタム換算濃度 (μg/L)	0.046	0.041	0.048	0.044	0.044	0.045	5.9
回収率 (%)	92.0	81.4	95.6	88.5	88.5	89.2	

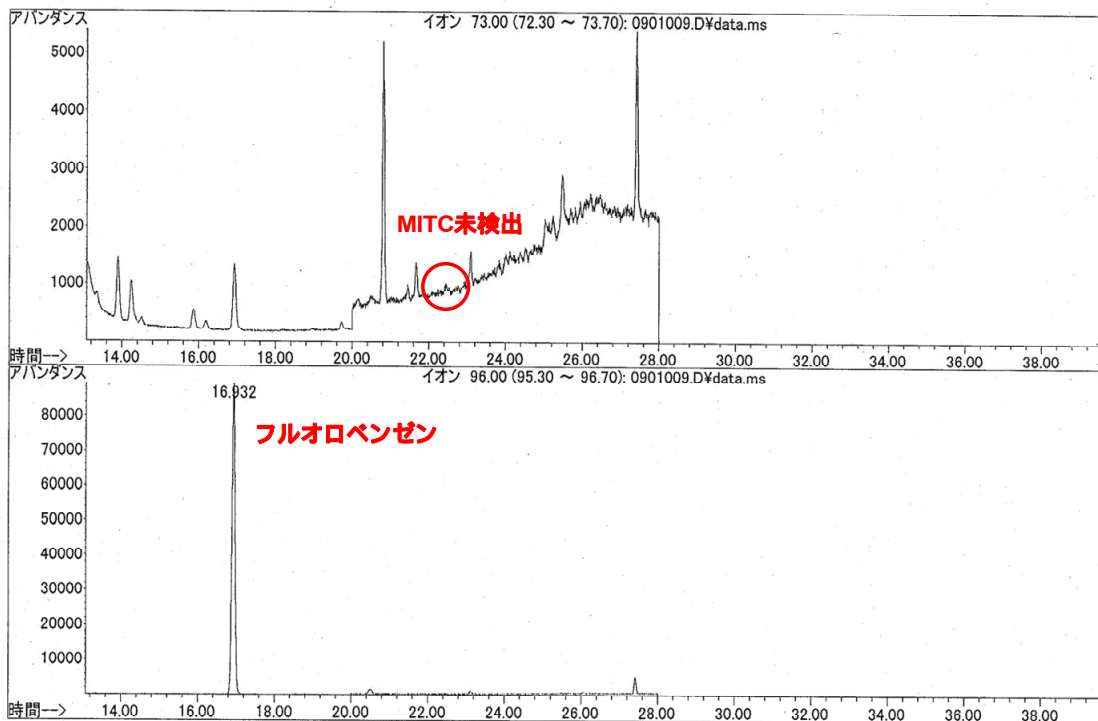


図 6. 空試験（水道水）の PT-GC/MS 測定クロマトグラム

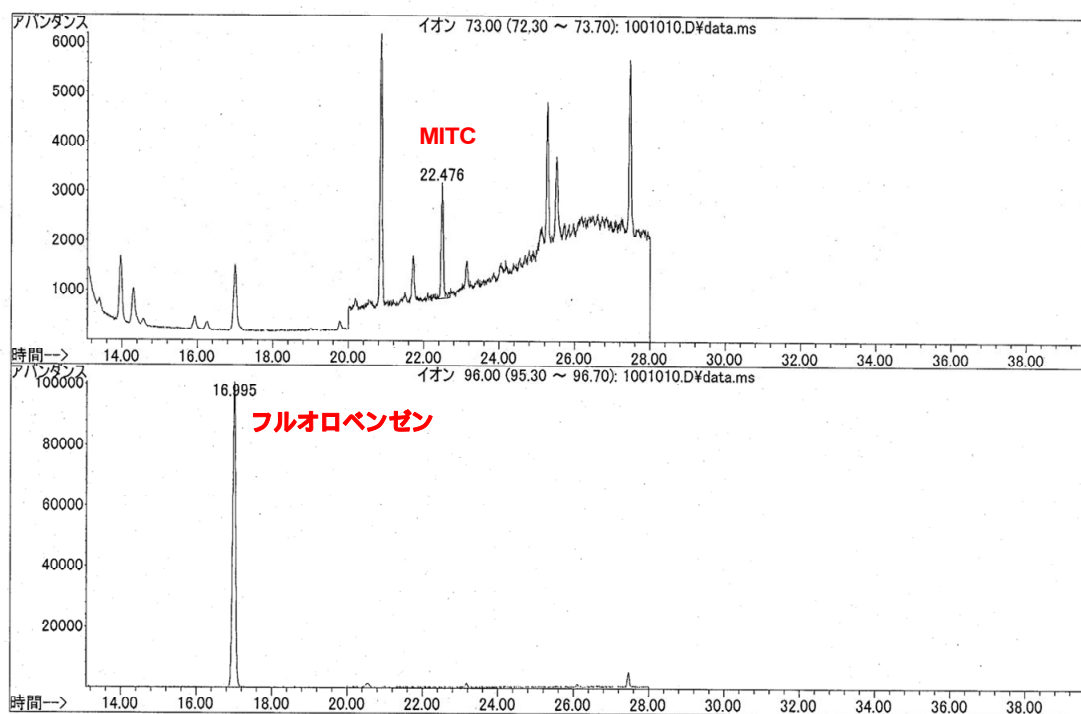


図 7. ダゾメットの水道水添加回収試験の PT-GC/MS 測定クロマトグラム

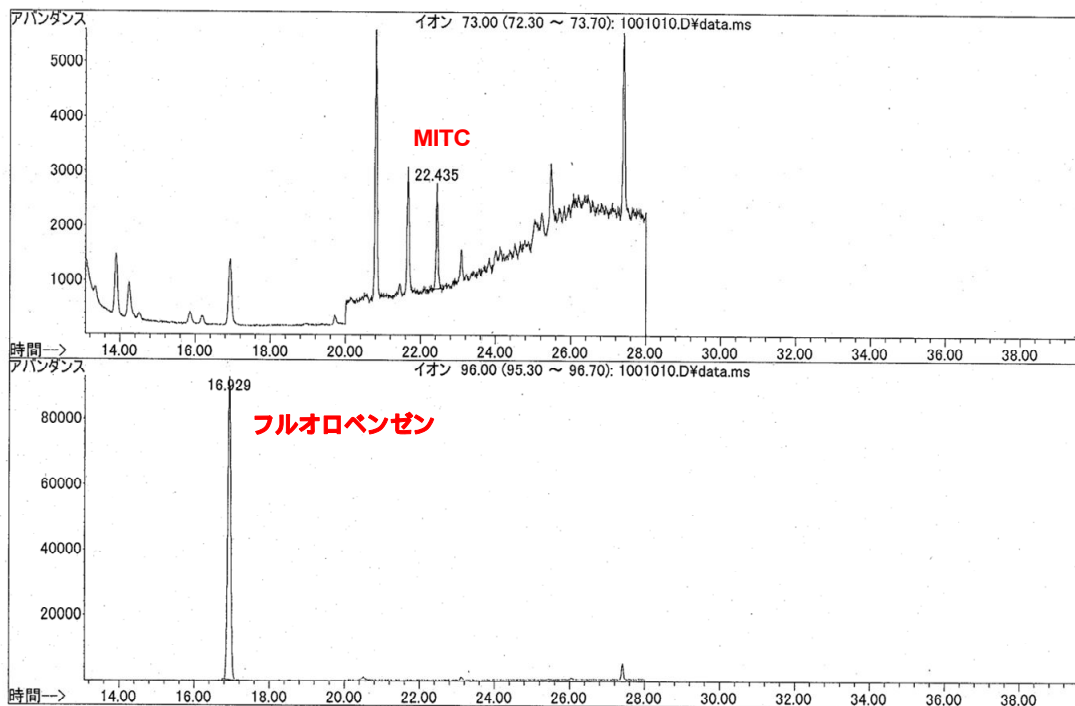


図 8. メタムの水道水添加回収試験の PT-GC/MS 測定クロマトグラム

D. 結論

ダゾメットおよびメタムを MITC に分解した後，パージ&トラップ (PT)-GC/MS により MITC の濃度を測定し，測定値をダゾメットあるいはメタムの濃度に換算する方法を検討した。

前処理条件の検討の結果，80 の恒温槽で 60 分間の加熱が最適であると判断した。また，PT-GC/MS 測定条件の検討の結果，ダゾメットおよびメタムの目標値の 1/100 に相当する濃度よりも低い MITC 濃度 (0.02 $\mu\text{g/L}$) の繰り返し測定における SN 比および併行精度は良好であった。

さらに，ダゾメットおよびメタムを目標値の 1/100 に相当する濃度を添加した試料を用いて 5 回の繰り返し試験をそれぞれ 2 回実施したところ，いずれの試験においても妥当性評価ガイドラインの目標を満たす回収率 (70 ~ 120%) と併行精度 (<30%) が得られた。なお，MITC の検量線の直線性が確保できる濃度範囲は，0.02 ~ 0.5 $\mu\text{g/L}$ であると評価した。

以上のことから，水道水中のダゾメットおよびメタム (カーバム) の分析については，加熱分解して生成した MITC を PT-GC/MS により測定することで，いずれも目標値の 1/100 以下の濃度まで精度の高い分析が可能であることが示された。

E. 健康危機情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案特許

なし

3. その他

なし

H. 参考文献

厚生労働省（2012）水道水質検査方法の妥当性評価ガイドラインについて．厚生労働省水道課長通知，健水発 0906 第 1 号，平成 24 年 9 月 6 日．

<http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/kenkou/suido/hourei/jimuren/dl/120906-1.pdf>

野田寧：クロマトグラフィー/質量分析法による食用塩中の残留農薬等の分析法に関する研究．横浜国立大学，平成 22 年 9 月 30 日，博士(工学)，甲第 1308 号．

<http://hdl.handle.net/10131/7490>