

LC/TOF MS を活用した水質事故時の農薬スクリーニング

環境衛生課 大窪かおり
食品化学課 西川千裕 松尾彩水

キーワード：水質事故 魚へい死 農薬 LC/TOF MS LC/MS

1. はじめに

河川における魚のへい死等の水質事故時の危機管理上重要な場面において、原因物質を迅速に特定することが近年強く求められている。しかしながら、現場調査で原因物質を特定することは困難で、原因究明に至らないケースも多い。当所では、これまで精密質量の測定が可能な LC/TOF MS を農薬等のスクリーニングに活用しており、水質事故時には環境センターと連携して GC/MS で測定が困難な物質の検索を行っている。本稿では LC/TOF MS を活用して試料のスクリーニングから LC/MS/MS による定量までを行ったケースを中心に、平成 22 年度に調査を行った事例について報告する。

2. 方法

① 調査事例

平成 22 年度にスクリーニング分析を行った調査事例を表 1 に示す。いずれも試料は環境センターで前処理を実施したもので、水試料は固相抽出後 1000 倍に濃縮した試料、生物試料は事故現場で採取された魚のえら抽出物をそれぞれ半量譲り受けて分析に供した。なお、水試料については測定時に 2 倍希釈して 500 倍濃縮相当で測定を行った。

表 1 平成 22 年度調査事例

No.	発生日	検体数		地点形態	備考
		水試料	生物試料		
1	H22. 6. 16	1	1	河川	魚の腐敗が進行、対照なし
2	H22. 8. 30	1	1	河川	対照なし
3	H22. 10. 7	2	1	河川、ため池	
4	H23. 3. 1	3	0	河川	

② 分析

分析は、最初に LC/TOF MS のスキャン測定によりスクリーニングを行い、データベース検索で一致した物質を中心に LC/MS/MS の MRM モードで定量分析を行うという手順で実施した。LC/TOF MS の分析条件を表 2 に示す。

スクリーニングは Agilent Mass Hunter Qualitative Analysis を用いて各 TIC から強度 5000 以上のピークを抽出した後、当所の農薬精密質量データベース（約 600 物質収載）の質量との質量誤差が 5ppm 以内かつイオン強度が 5,000（生物試料）もしくは 50,000（水試料）以上という条件で、付加イオンは H⁺および NH₄⁺を設定し該当するピークを検索した。検索結果でスコア 95 以上の物質のうち、明らかにリテンションタイムが異なる物質を除外し、一致した物質とみなした。

表2 LC/TOF MS 分析条件

LC : Agilent 1200EL		MS : Agilent 6540 Q TOF MS	
カラム	ZORBAX EclipsePlusC18 2.1x100mm(3.5 μm)	イオン化	dual-ESI ポジティブモード
カラム温度	40℃	乾燥ガス	350℃, 10L/min
注入量	2 μL	ネブライザ	N2, 50
流量	0.2mL/min	キャピラリ電圧	4000V
移動相	A:0.1%ギ酸+10mM ギ酸アンモニウム B:アセトニトリル	フラグメンター電圧	120V
グラジェン ト条件	A85:B15(0min)→ A15:B85(15min-30min)	SCAN 範囲	100~1300
		リファレンスマス	121.0509 922.0098

3. 結果

① 各事例におけるスクリーニング結果

1~4の各事例におけるスクリーニング結果を表3にまとめた。

No.1のケースでは水試料から8物質、生物試料から1物質がデータベース検索で一致した。水試料と生物試料の両方で一致した物質はブプロフェジン1物質であった。No.2では水試料から8物質、生物試料から3物質が一致し、両方の試料でトリネキサパックエチルが一致した。No.3では一致した物質はなかった。No.4では全ての試料で2~5物質が一致した。

表3 LC/TOF MS スクリーニング結果

No.	試料	物質名	強度	試料	物質名	強度
1	水	トリシクラゾール	389345	生物	ブプロフェジン	5764
		フラメトピル	527542			
		メタラキシル	309191			
		メフェナセット	130426			
		ダイムロン	1403283			
		ピリミノバックメチル	1296732			
		ブプロフェジン	106938			
		ピリダベン	304921			
2	水	トリシクラゾール	157480	生物	ベンズカイン	61829
		トリネキサパックエチル	121472		トリネキサパックエチル	74067
		フラメトピル	357233		スピロキサミン	69295
		メトミノストロピン	82935		スピロキサミン	90295
		ピリミノバックメチル	76120			
		ピリミノバックメチル	80247			
		メトキシフェノジド	64267			
		プロモブチド	120148			
		ブプロフェジン	368198			

表3 (続き)

No.	試料	物質名	強度	試料	物質名	強度
4	水①	アミトラズ代謝物	915518	水②	アミトラズ代謝物	389583
		テプラロキシジム	851596		ダイムロン	259394
		フルトリアホル	758048		フルトリアホル	348712
		プロスルホカルブ	917653		プロスルホカルブ	258349
		ブプロフェジン	375239		ブプロフェジン	385981
	水③	アミトラズ代謝物	648315			
		トラルコキシジム	316864			

② 事例 No. 1 における定量分析

事例 No. 1 においてスクリーニング分析で一致した水 8 物質と魚 1 物質について、定量および確認を必要とすると考えられた。これらの物質については、より定量性能に優れた LC/MS/MS の MRM モードを用いて定量分析を実施した。

その結果、生物試料からはいずれの農薬も検出されなかったが、水試料からは 8 物質すべてが 1ng/mL 以上検出された。(表 4)

表4 LC/MS/MS 定量結果 (単位: ng/mL)

物質名	水	生物
トリシクラゾール	230	<1
フラメトピル	615	<1
メタラキシル	57	<1
メフェナセット	29	<1
ダイムロン	164	<1
ピリミノバックメチル	384	<1
ブプロフェジン	6	<1
ピリダベン	222	<1

4. 考察

① 各事例におけるスクリーニング

平成 22 年度は 4 件の調査を実施したが、スクリーニング結果から原因を明確に特定できたケースはなかった。

その原因として、適切な試料および対照試料が得られなかったことが挙げられる。いずれのケースでも事故から通報までに長時間が経過していたと考えられ、サンプリング時点で原因物質が現場に残っていたかどうか不明であった。また原因究明に際しては、河川であれば事故現場の上流の原因物質の影響を受けなかったと推定される地点でのサンプリングが必要である。

② 事例 No. 1 における定量分析

多くの魚へい死事故において、事故直後にサンプリングできるケースが少ないため、水試料から原因物質を検出するのは困難なことが多い。本件においても魚の腐敗状況から事故以降相当の時間が経過していたと考えられた。本件では、魚から検出された農薬がなく水試料から 8 物質が検出されるという結果からは、対照試料がなかったこともあって原因物質を特定するには至らなかった。

しかしながら、適切なサンプリングがなされた水質事故時の原因究明には、LC/TOF MS の定性的なスクリーニング能力は十分活用できるものとする。

今回は LC/TOF MS のスキャンモードのみでスクリーニングを行ったが、スクリーニング後の定量や高マトリクス試料における確実な同定、更には代謝物の検索に Q-TOF を活用できる可能性がある。対

照試料のサンプリング条件が適切であれば、試料間比較による原因物質の特定などが可能となることから、サンプリングの重要性を周知することも必要と思われる。

5. まとめ

水質事故時に LC/TOF MS を活用したスクリーニングについて、平成 22 年度の事例を挙げて問題点を考察した。LC/TOF MS は事故に際して農薬等のスクリーニングに対しては十分活用できるが、原因究明のためには適切なサンプリングが重要であると考えられる。

6. 文献

- 1) LC-TOF MS を用いた農薬流出事故等におけるスクリーニング方法の検討，中山ら，第 17 回環境化学討論会要旨（2008）