

[ノート]

## 除草剤ブロモブチドの水道原水等からの高感度分析法の開発 及び県内での実態調査

川元 達彦\* 井上 亘 谷畑 智也 吉田 昌史

Development of a Highly Sensitive Method for Analysis of Herbicide,  
Bromobutide in Water by Solid Phase Extraction and PTV-GC/MS Methods,  
and Survey in Raw Water from Hyogo Prefecture

Tatsuhiko KAWAMOTO\*, Motomu INOUE, Tomoya TANIHATA and Masashi YOSHIDA

*Health Science Research Division, Public Health Science Research Center, Hyogo Prefectural  
Institute of Public Health and Consumer Sciences, 2-1-29, Arata-cho, Hyogo-ku, Kobe 652-0032,  
Japan*

We have established a highly sensitive method for analyzing the concentration of a regulated agricultural chemical, bromobutide, in water by solid phase extraction and PTV-GC/MS methods. In order to evaluate the analytical method, we conducted recovery experiments from distilled water, dechlorinated tap water and river water samples using a PS-2 column. The recovery rate was greater than 97% and the coefficient of variance was under 4%. The determination limit by this method was 0.02 µg/L. Furthermore, we conducted a water-quality test using this method for water samples collected from 15 monitoring points in the Hyogo Prefecture. The results indicated that the concentrations of bromobutide is over a range from N.D. to 0.20 µg/L. However, the detection of bromobutide in water sources was a significantly high rate of 33%.

### I はじめに

厚生労働省は、2003年に大幅な水道水質基準改正<sup>1)</sup>を行い、水質管理目標設定項目の102農薬に、それぞれ目標値を定め、規制の評価方法として総農薬方式を日本の水道水分野に初めて導入<sup>1-3)</sup>した。この結果、農薬ごとに設定された目標値の1/100濃度を定量することが求められることとなった。さらに、厚生労働省は、2013年に農薬

類の分類の見直しを行い、農薬の検出状況や出荷量、ADI（1日許容摂取量）の見直し状況等を踏まえて120農薬に改正<sup>4)</sup>した。このうち、除草剤ブロモブチド（目標値：100 µg/L）は、主に農繁期の春から夏期までに施用される農薬であり、従来から測定対象農薬の一つとなっている。しかしながら、この農薬の微量分析法や水源種別における実態把握に関する報告は少ない。また、これまでに著者らは多種類の農薬について、高感度な多成分一斉分析法を開発し、水道原水中の実態把握及び浄水処理過程における除去挙動を明らかにした<sup>5-7)</sup>。

本研究では、全国で比較的検出率の高い除草剤ブロモブチドについて、著者らがこれまでに開発・確立したTPIオンカラム注入-GC/MS法<sup>5-7)</sup>を基本とし、分析条件等を

健康科学部

\*別刷請求先：〒652-0032 神戸市兵庫区荒田町2-1-29  
兵庫県立健康生活科学研究所健康科学研究センター  
健康科学部 川元 達彦

PTV (Programmed Temperature Vaporizer) -GC/MS 法<sup>8)</sup>に適用した結果, 良好な成績が得られたので報告する. また, 水道水の安全性確保対策に資するため, 本分析法を用いて, 兵庫県水道水質管理計画<sup>9,10)</sup>に基づく水質監視地点におけるブロモブチドの実態調査を行ったので, それらの結果についても併せて報告する.

## II 材料と方法

### 1. 試料

農薬: 分析対象としたブロモブチドの構造式を Fig.1 に示した. 標準原液は標準品の粉末 10.0 mg (和光純薬工業社製, 純度 98%以上) をアセトンで全量を 10 mL とし, 1,000 mg/L 溶液を調製した後, さらに塩化メチレン (ジクロロメタン) で希釈して 100 mg/L の標準原液を調製した. この標準原液をジクロロメタンまたはアセトンで適宜希釈し, 各種試験に必要な標準溶液を調製した. また, 内部標準物質アントラセン-d<sub>10</sub>は 100 mg/L (関東化学社製) を用い, ジクロロメタンで適宜希釈して試験に必要な内部標準物質として調製した.

精製水: 水道水を逆浸透膜 Elix 装置 (Millipore 社製) でろ過後, Milli-Q Advantage 装置 (Millipore 社製) で再精製したものをを用いた.

水道水: 県立健康生活科学研究所の 3 階給水栓水より採取し, アスコルビン酸ナトリウム (水道水 1 L に 10 mg) で脱塩素したものを実験に供した.

水道原水: 河川水は阪神地区内の河川より採取した. アスコルビン酸ナトリウム (和光純薬社製).

無水硫酸ナトリウム: 残留農薬試験用の無水硫酸ナトリウム (和光純薬社製) は電気炉で 500°C, 5 時間乾燥した後, 使用時まで恒温デシケーターにて保存した.

有機溶媒: ジクロロメタン及びアセトン等は残留農薬試験用 5,000 (和光純薬社製) を, その他の試薬はすべて市販の特級品を用いた.

pH, 浮遊物質 (SS) 及び残留塩素: 精製水, 水道水及び水道原水 (河川水) について, 上水試験方法<sup>11)</sup>に準拠して分析した.

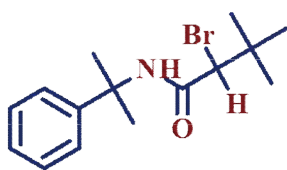


Fig.1 Chemical structure of bromobutide  
C<sub>15</sub>H<sub>22</sub>BrNO, M.W. 312.3

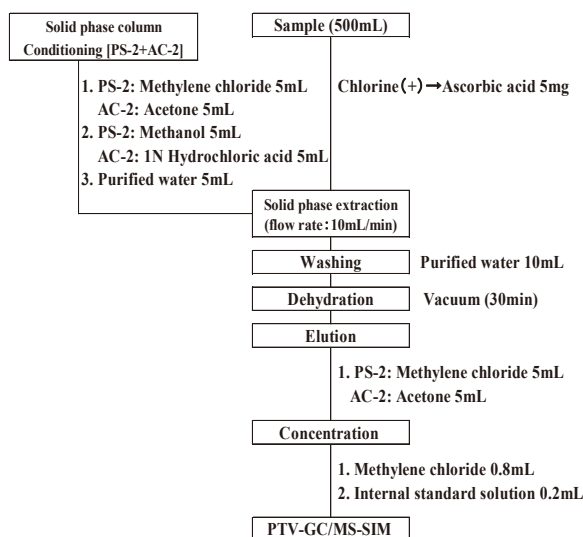


Fig.2 Analytical procedures for bromobutide

2. 装置: 質量分析計付ガスクロマトグラフは ThermoFischer Scientific 社製タンデム四重極型 TSQ Quantum GC を用いた.

### 3. 水中ブロモブチドの固相抽出-PTV-GC/MS 分析

水中農薬の固相抽出法は既報<sup>7)</sup>に従って行ったが, その概略を Fig.2 に示し, 概要を以下に示した.

試料水 500 mL (ブロモブチドを 0.1, 1.0, 100 µg/L となる様に精製水, 脱塩素した水道水, 河川水に添加したものを), 予めコンディショニングを行った Sep-Pak Plus PS-2 固相カラム (Waters 社, 265 mg) と Sep-Pak Plus AC-2 固相カラム (Waters 社, 400 mg) を連結し, 順方向から流速 10 mL/min 以下で通水を行った. 固相カラムを精製水 10 mL で洗浄後, 窒素気流下で 30 分間乾燥を行い, PS-2 カラムはジクロロメタン 5 mL, AC-2 カラムはアセトン 5 mL でバックフラッシュ法による溶出操作を行い, ジクロロメタン溶出液は無水硫酸ナトリウムで脱水した. その後, アセトン溶出液を合わせて窒素ガス気流下にて 0.8 mL 以下まで濃縮後, 内部標準物質アントラセン-d<sub>10</sub>, 0.2 mL (1.0 µg/mL) を添加し, ジクロロメタンで正確に 1.0 mL としたものを分析用検液とした.

GC/MS 測定条件については Table 1 に示した. 農薬分析のための検量線作成 (濃度範囲: 0, 5~500 µg/L) 及び定量にあたっては, フルスキャンで取り込んだイオンの中から, ブロモブチドに特徴的なイオン ( $m/z$ 119, 120, 232) を選択 (選択的検出法: SIM 法) し, 内部標準物質 ( $m/z$ 160, 188, 189) で MS 感度を補正して測定を行った. 本法における農薬の添加回収試験の平均回収率

Table 1 GC/MS operation conditions

<p>【GC】                  Injection method: PTV on column injection                  Injection temp.: 40°C(0.05min)-10°C/min-280°C(10min)                  Coolant: liquid CO<sub>2</sub>                  Oven temp.: 40°C(3min)-25°C/min-125°C-10°C/min-280°C(8.1min)                  Carrier gas: Helium, 40cm/sec(EPC)                  Column: DB-5ms(film thickness: 0.1µm, l: 30m, i.d.: 0.25mm)</p>
<p>【MS】                  Ion source temp.: EI: 200°C,                  Transferline temp.: 280°C                  Emission current: 285µA                  Ionization volt: 70eV                  Mass range: 50-650 (m/z)</p>

と変動係数は5回の繰り返し試験により求めた。

#### 4. 水道原水中のブロモブチド含有量調査

兵庫県水道水質管理計画<sup>10)</sup>に基づいた水質監視15地点等(水源種別:湖沼水1地点,河川水5地点,伏流水1地点,浅井戸6地点,深井戸2地点)(Fig.3)について,2012年6月19日に採水した試料を用いた。各地点の原水500 mLを試料として,3.の方法に従って農薬を抽出し,濃縮液に内部標準物質0.2 mL(1.0 µg/mL)を添加し,正確にジクロロメタンで1.0 mLとしたものを分析時まで冷凍保存(-40°C)して分析用検液とした。

なお,測定対象物質の検索はフルスキャンによるトータルイオンクロマトグラム上で得られたピークのマスパターン(標準物質の保持時間の±10秒以内,Signal/Noise(S/N)比10以上のピーク)により行い,ライブラリーとの相同性が80%以上の場合を測定物質として同定した。定量はフルスキャンで取り込んだイオ

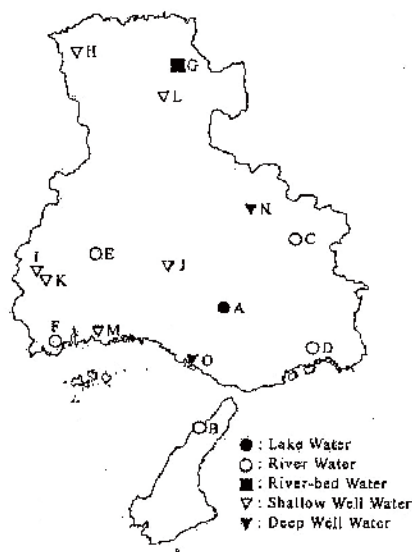


Fig. 3 Location of sampling points in Hyogo Prefecture

ンの中から,ブロモブチドに特徴的なイオン(m/z119,

120, 232)を選んで, SIM法による測定を行った。

### III 結果及び考察

#### 1. 固相抽出-PTV-GC/MS法によるブロモブチドの分析法の条件設定について

##### 1.1 固相抽出法による前処理法の検討

今回,水中ブロモブチドの固相抽出カラムとして,他の農薬類と一斉分析<sup>4)</sup>に加えることを目的としたため,ポリマー系固相カラムであるSep-Pak Plus PS-2固相カラム(Waters社,265 mg)及びOasis HLB Plus 6cc(Waters社,260 mg)について検討した。精製水に対する添加濃度については,ブロモブチドの目標値である100 µg/Lの1/10濃度の10 µg/Lとして回収率を検討した。その結果,平均回収率(n=3)として,それぞれ99.3%,98.7%,変動係数(n=3)として,それぞれPS-2で0.8%,HLBで1.2%といずれも良好な結果を示した。本研究では,僅かではあるがPS-2の方が良好であったことから,PS-2カラムを選択した。なお,各固相カラムにAC-2カラムを連結して同様に操作を行ったが,AC-2カラムへの吸着は1%未満であった。

##### 1.2 分析条件等の検討

農薬の熱分解を抑制する目的からPTVオンカラム注入法を採用した。すなわち,ガスクロ注入口の熱に不安定なトリクロロホンやメチルダイムロンなど水道水質管理目標設定項目の農薬類と共にブロモブチドを一斉に分析することが可能となるため,PTVオンカラム注入法を用いた<sup>5,8)</sup>。なお,注入口温度を50°C~300°Cまでの範囲設定において,ブロモブチド標準溶液(50 µg/L)を注入して熱分解物の検索を行ったが,熱分解物は全く認められないことが分かった。

Fig.4-1にブロモブチドのトータルイオンクロマトグラムとマススペクトルを示した。また, Fig.4-2に内部標準物質アントラセン-d<sub>10</sub>のトータルイオンクロマトグラムとマススペクトルを示した。両者のクロマトグラムの結果から,ブロモブチドとアントラセン-d<sub>10</sub>のピーク形状及び分離は良好であった。

一方,マススペクトル(EI:電子衝撃法)では,ブロモブチドの分子イオンピークは僅かに認められたが,ベースピークはブロモブチドの基本構造式から,脱離した[C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>のm/z119と[C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>のm/z120が特徴的なイオンとして認められた。また,臭素の平均原子量は79.9で脱ブロム体のm/z232も特徴的な強いイオンとして認められた。一方,内部標準物質アントラセン-d<sub>10</sub>の平均分子量は188.3であり,特徴的な

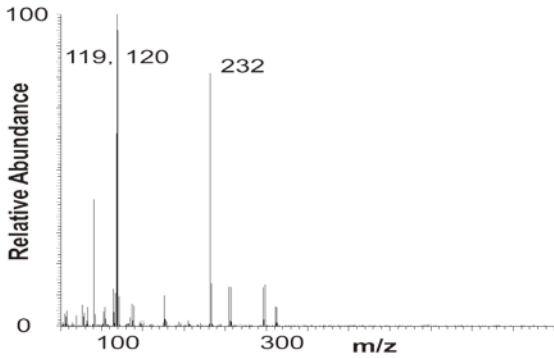
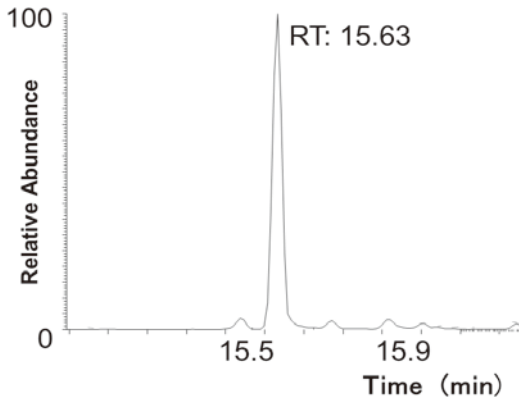


Fig.4-1 Total ion chromatogram and mass spectrum of bromobutide  
quantitative ion:  $m/z$ 119, 120, 232

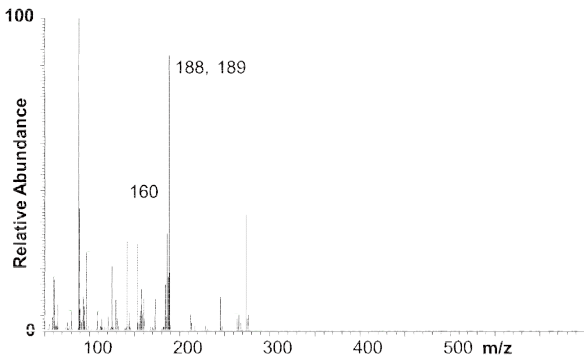
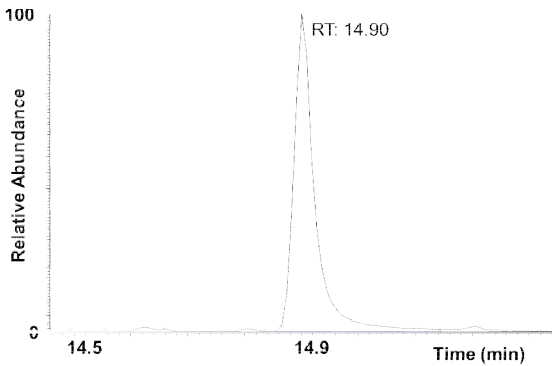


Fig. 4-2 Total ion chromatogram and mass spectrum of anthracene- $d_{10}$   
quantitative ion:  $m/z$ 160, 188, 189

Table 2 Various parameters of bromobutide measurement

Monitor ion( $m/z$ )	Retention time(min)	Regression curve*	Correlation coeff.(r)
119, 120, 232	15.63	$y=0.00504x+0.00334$	0.999

\*: Conc. 5–500  $\mu\text{g/L}$  (7 points: 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500  $\mu\text{g/L}$ )

分子イオンピークである  $m/z$ 188, 同位体の  $m/z$ 189 が特徴的なイオンとして認められた. また, 芳香環の一部が開環して脱エチル化 (推定) された  $m/z$ 160 も定量イオンとした.

以上の検討結果から得られたブロモブチドのモニターイオン, 保持時間, 検量線の直線回帰式及び相関係数の分析パラメーターを Table 2 にまとめて示した. 農薬濃度とピーク面積との相関係数は 0.999 と高い値を示し, 濃度応答性の直線性が極めて良好であることが認められた. また, PTV-GC/MS 法がブロモブチド分析に対しても有効な分析方法であることが示された.

### 1.3 添加回収試験

固相抽出-PTV-GC/MS によるブロモブチドの定量性及び再現性を把握するため, 試料水 500 mL (精製水, 脱塩素した水道水, 河川水) に農薬標準溶液 0.1, 1.0, 100  $\mu\text{g/L}$  を添加して回収率とその変動係数を求めた. それらの回収率と変動係数の結果を Table3 に示した.

精製水, 脱塩素した水道水及び河川水にブロモブチド 0.1  $\mu\text{g/L}$  添加した時の回収率の範囲は, 97.3~98.5%、変動係数の範囲は 2.3~3.3%であった.

また, 精製水, 脱塩素した水道水及び河川水にブロモブチド 1.0  $\mu\text{g/L}$  添加した時の回収率の範囲は, 98.3~98.9%、変動係数の範囲は 2.0~2.8%であった.

さらに, 精製水, 脱塩素した水道水及び河川水にブロモブチド 100  $\mu\text{g/L}$  添加した時の回収率の範囲は, 99.9~100.2%、変動係数の範囲は 1.1~2.5%であった.

このように, 検討を行ったすべてのブロモブチド添加試料水の回収率は 97%以上と良好であった. また, 変動係数は 4%未満と良好な再現性を示した.

Table 3 Recoveries of bromobutide in water

Conc. ( $\mu\text{g/L}$ )	Dist. Water		Tap Water		River Water	
	R(%)	CV(%)	R(%)	CV(%)	R(%)	CV(%)
0.1	98.5	2.3	98.4	2.3	97.3	3.3
1.0	98.9	2.0	98.3	2.0	98.3	2.8
100	100.2	1.1	99.9	2.0	100.1	2.5

Dist. Water: pH7.1, SS: <1.0mg/L, n=5  
Tap Water: pH6.9, SS: <1.0mg/L, n=5  
River Water: pH6.9, SS: 2.8mg/L, n=5  
R(%): Recovery, CV(%): coefficient of variation

## IV 結論

Table 4 Concentration levels of Bromobutide in various water sources

Water sources	Conc. ( $\mu\text{g/L}$ ) <sup>*</sup>	Frequency
River water	N.D.	4/5
	0.02	
	0.03	
	0.04	
	0.20	
Lake water	N.D.	0/1
River bed water	N.D.	0/1
Shallow well	N.D.	1/6
	N.D.	
	N.D.	
	0.02	
	N.D.	
Deep well	N.D.	0/2
	N.D.	
Total	N.D.-0.20	5/15

Sampling date: June 19, 2012

\*: Determination limit: 0.02  $\mu\text{g/L}$

このことから、実際のサンプルである水道水、河川水に含有する水質成分による妨害はなく、定量可能であることが明らかとなった。また、ブロモブチドは目標値 100  $\mu\text{g/L}$  の 1/1,000 の 0.1  $\mu\text{g/L}$  であっても、内部標準物質を用いることで分析の精度は高められ、極めて高感度に分析可能であることが認められた。

本分析条件によるブロモブチドの定量下限値は 0.02  $\mu\text{g/L}$  (S/N=10) であった。なお、添加回収実験に用いた試料水にはブロモブチドは全く含まれていないことも確認している。

### 2. 水道原水中のブロモブチド調査

兵庫県水道水質管理計画に基づく水質監視 15 地点等の水道原水について、ブロモブチドの含有量調査を行った結果を Table 4 に示した。水道原水から最高値 0.20  $\mu\text{g/L}$  が検出されたが、この濃度は水道水の水質管理目標値 100  $\mu\text{g/L}$  の 1/500 の濃度レベルにあり、比較的濃度レベルであった。

しかし、全体の検出率は 5/15 (33%) と高い値を示し、水源別では特に河川水で多く検出され、また地下水の浅井戸においても僅かに検出されていることが分かった。

以上、本研究結果から、水道原水中におけるブロモブチドの検出濃度は目標値と比較して低濃度レベルにあった。しかし、検出率は高いことから、継続して監視を要する農薬であることが明らかとなった。

今後とも、行政、水道事業所、試験研究機関が一体となり、浄水処理過程における挙動調査など詳細な研究を進めることが必要であると考えられる。

水質管理目標設定項目の農薬類の一つであるブロモブチドについて、固相抽出・PTV-GC/MS 法による分析法の測定条件の検討及び実態調査に関する研究を行った結果、以下の知見が得られた。

1. 水中ブロモブチドの固相抽出法として、PS-2 カラムと HLB カラムを検討した結果、いずれも回収率、変動係数ともに良好な結果を示したが、PS-2 カラムが僅かに良好であることが分かった。
2. さまざまな試料水（精製水、脱塩素した水道水、河川水）を用いて、ブロモブチドの添加回収試験を行ったところ、回収率は 97% 以上と良好な結果が得られた。また、変動係数も 4% 未満と再現性の高い結果であることが認められた。これらのことから、本分析法の有用性が示され、ここに高感度な分析法が確立された。本法によるブロモブチドの定量下限値は 0.02  $\mu\text{g/L}$  であり、目標値 100  $\mu\text{g/L}$  の 1/5,000 まで定量可能であった。
3. 本法を兵庫県水道水質管理計画に基づく水質監視 15 地点等の水道原水中ブロモブチドの濃度調査に適用した結果、N.D.~0.20  $\mu\text{g/L}$  の濃度範囲で検出され、目標値に比して低濃度レベルにあることが分かった。しかし、検出率は 33% (15 検体中 5 検体で検出) であり、注視すべき農薬であることを認めた。今後も継続した実態調査及び詳細な浄水処理過程における挙動調査を行うことが必要であると考えられる。

## 謝辞

本稿を終えるにあたり、試料水の採取にご協力をいただきました県生活衛生課、県健康福祉事務所ならびに各市町水道事業所の関係各位に深く感謝いたします。

## 文献

- 1) 厚生労働省：「水質基準に関する省令」，平成15年5月30日，厚生労働省令第101号（2003）
- 2) 厚生労働省健康局水道課長通知：「水質基準に関する省令の制定及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」，平成15年10月10日，健水発第1010001号（最終改正 平成22年2月17日）（2010）
- 3) 厚生労働省健康局長通知：「水質基準に関する省令の制定及び水道法施行規則の一部改正について」，平成

- 15年10月10日, 健水発第1010004号 (2003)
- 4) 厚生労働省健康局長通知: 「農薬類の分類の見直しについて」, 平成25年3月28日, 健水発0328第4号 (2013)
- 5) Kawamoto, T. and Makihata, N.: Development of a simultaneous analysis method for carbofuran and its three derivative pesticides in water by GC/MS with temperature programmable inlet on-column injection. *Anal. Sci.*, **19**(2), 1605-1610 (2003)
- 6) Kawamoto, T., Makihata, N., Tsiji, H. and Teranishi, K.: Annual variation in the concentration levels and frequency of detection of pesticides in water sources in Hyogo Prefecture. *J. Health Sci.*, **45**(6), 401-411 (1999)
- 7) Kawamoto, T, Yano, M., and Makihata, N.: Development of a high-sensitivity quantitative analytical method for determining polycarbamate by gas chromatography-mass spectrometry incorporating temperature-programmable inlet injection. *J. Chromatogr. A*, **1074**, 155-161 (2005)
- 8) 川元達彦, 矢野美穂, 三橋隆夫: 水中農薬の固相抽出-PTV-GC/MS/MS法による高感度分析法に関する研究. 兵庫県立健康生活科学研究所健康科学研究センター研究報告, **2**, 32-39 (2011)
- 9) 厚生労働省健康局水道課長通知: 「水道水質管理計画の策定にあたっての留意事項について」の一部改正について, 平成18年1月22日, 健水発第0122002号 (2006)
- 10) 兵庫県健康生活部生活衛生課: 「兵庫県水道水質管理計画」, 平成17年9月策定(第2次) (2005)
- 11) 日本水道協会編: 上水試験方法2011年版, P. 76-83, P. 92-95, P. 216-226, 日本水道協会出版, 東京 (2011)  
(平成29年3月15日受理)