

[資 料]

GC/MSによる水質検査での農薬類分析の条件検討で認められた
マトリックス様効果

北本 寛明* 藤田 裕代

Matrix-like Effect Observed during a Study for the Analysis Condition of Pesticides in
Water Quality Inspection by GC/MS

Hiroaki KITAMOTO * and Yasuyo FUJITA

*Health Science Research Division, Hyogo Prefectural Institute of Public Health Science,
1819-14, Kanno, Kanno-cho, Kakogawa 675-0003, Japan*

In the analysis of pesticides using GC/MS under the Japanese Water Supply Act, two commercially available mixed pesticide standard solutions were combined and analyzed along with three internal standard substances to examine the analytical conditions. As a result, a phenomenon was observed in which the peak intensity of the internal standard substances in the chromatograms was enhanced due to matrix-like effect.

Based on these results, it was determined that it is necessary to apply a concentration range of the mixed pesticide standards that does not significantly affect the peak intensity of the internal standards to the calibration curve. Additionally, the injection volume, peak shapes, and sensitivities of each pesticide must be confirmed to establish the quantifiable concentration range for each pesticide.

I はじめに

マトリックス効果¹⁾とは、GC/MSやLC/MS分析において標準試料だけの場合とマトリックスが共存する場合で分子種(測定対象成分)の濃度が同一であっても検出器応答が異なる現象をいう。水道法で、水質管理目標設定項目に定められる農薬類²⁾のうち、GC/MSでの分析が可能な対象物質の一部(別添方法5対象農薬類)の分析条件を検討する中で、試料水由来のマトリックスを含まない条件下でマトリックス効果に類似する現象が認められた。特に高濃度の農薬類の分析において、内部標準物質に対する影響が顕著であった。

そこでこの現象を確認するために、内部標準物質の

ピーク強度の増強を市販の農薬類混合標準液を用い検討したので報告する。

II 材料と方法

分析機器はThermo Fisher Scientific社製の、GCはTrace GC Ultra、MSはTSQ Quantum GC、オートサンプラーはTriPlusを使用した。

分析条件はTable 1に示した。

農薬類混合標準物質は、関東化学(株)製の農薬混合標準液72(水質分析 GC/MS対象73種)及び47(同8種)を用いた。

単体の農薬類標準物質はAccuStandard(株)製のエンドスルファンI(α -エンドスルファン)、エンドスルファンII(β -エンドスルファン)及び富士フィルム和光純薬(株)製のCNP-アミノ標準物質、イプロジオン代謝物標準品を次に示す試験条件1に用いた。

兵庫県立健康科学研究所 健康科学部

* 〒675-0003 兵庫県加古川市神野町神野 1819-14

Table 1 GC/MS analysis conditions

[GC]

Injection mode : PTV (40°C→0.05 min→10°C/sec→280°C, 10.00 min)
 Injection volume : 1, 2, 3 µL
 Precolumn : Restek Co.,Ltd. RTX-5 (7.5 m×0.32 mm id×0.25 µm df)
 Column : Agilent Co.,Ltd. DB-5MS (30 m×0.25 mm id×0.25 µm df)
 Oven Temperature : 40°C, 3.00 min→25°C/min→125°C→10°C/min→280°C, 5.00 min
 →10°C/min→300°C, 2 min
 Carrier gas : Helium (1 mL/min)

[MS]

Ionization method : EI positive ion
 Emission current : 50 µA
 Ion source temperature : 100°C
 Scan mode : Full Scan (SIM)

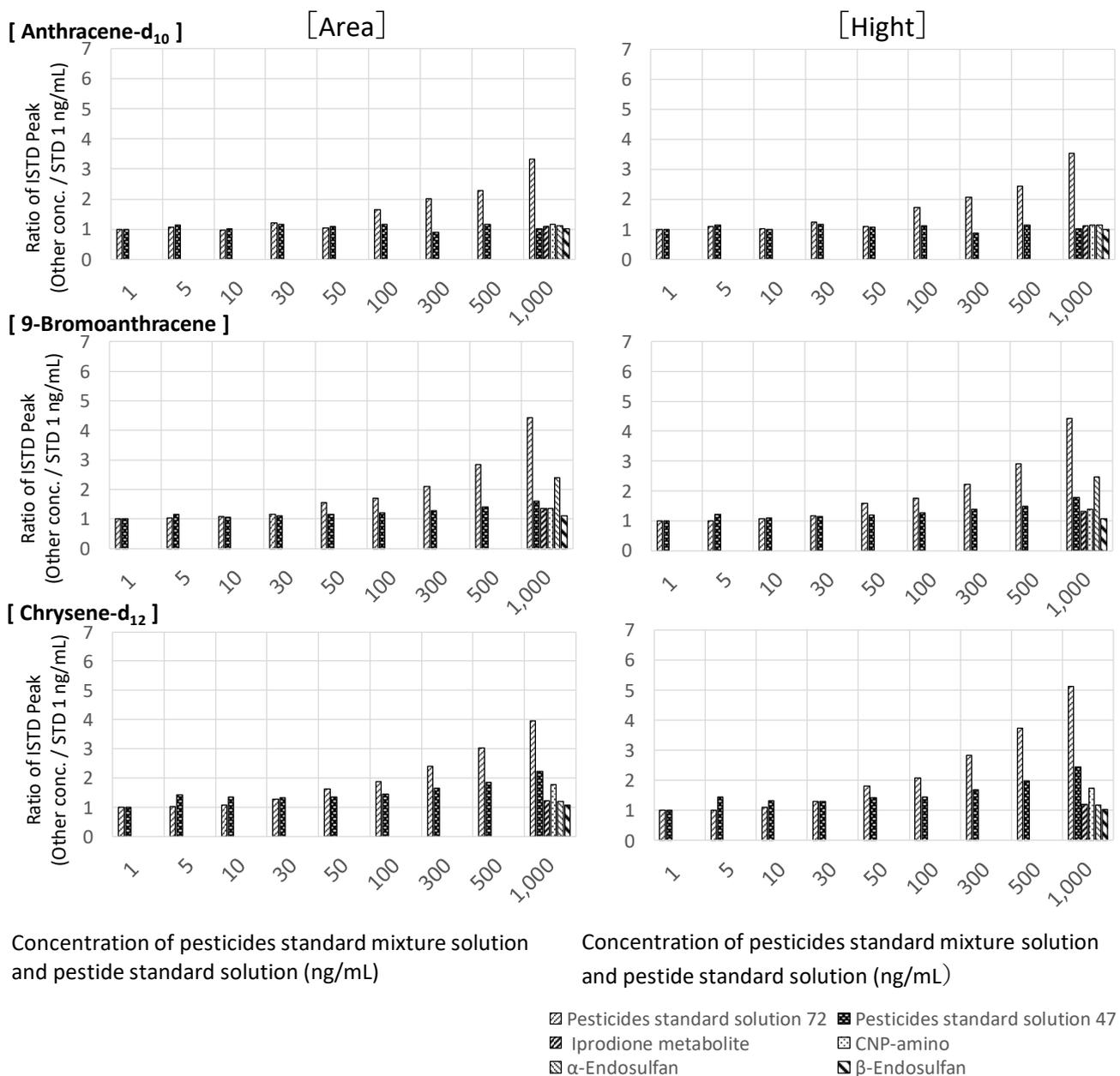


Fig.1 Matrix-like effect phenomenon first identified

内部標準物質は関東化学(株)製の内部標準混合原液 3 (アントラセン-d₁₀, 9-プロモアントラセン, クリセン-d₁₂ の混合物) を用いた。

1. 各農薬類の基礎的な分析条件の検討 (試験条件 1)

農薬標準物質の濃度について、農薬類混合標準液は 1~1000 ng/mL の段階希釈列を調製し、単体の農薬類標準物質は 1000 ng/mL の 1 濃度を調製した。最終的にヘキサン：アセトン = 4:1 (v/v) 溶液として分析に用いた。以下、農薬類標準物質及び内部標準物質について、分析に供した最終液は同溶液とした。

内部標準物質は、農薬混合標準液の段階希釈列及び単体の農薬類標準品の溶液各 1 mL に対して 1000 ng/mL の内部標準混合溶液 200 µL を添加し分析に供した。

分析条件は、注入量を除き Table 1 のとおりとし、注入量は 5 µL とした。

高濃度の農薬類化合物を分析することにより、各農薬類のクロマトグラムの保持時間を確認した。

次に、農薬類と内部標準物質の組み合わせと内部標準物質のピーク強度を確認した。

2. マトリックス様効果の現象の確認 (試験条件 2)

マトリックス様効果の現象を確認するために、次の条件を用いた。

農薬標準物質は、農薬混合標準液 72 及び 47 を混合して農薬類 81 種とし、最終的に 0~1000 ng/mL の段階希釈列を調製した。

内部標準物質は、調製した農薬混合標準溶液の各濃度 1 mL に対し、濃度 1,000 ng/mL の溶液とし、試験条件 1 の半量の 100 µL を添加して分析に供した。

その他の項目は、試験条件 1 と同様の条件を用いた。

Ⅲ 結果及び考察

1. 各濃度の基礎的な分析条件の検討

農薬類の濃度の違いにより、内部標準物質のクロマトグラムのピーク強度が一部で増強される現象が確認された。

農薬混合標準液 72 と 47 の各 1 ng/mL 溶液と共に分析した内部標準物質のピーク強度の平均値をピーク強度 1 とした。各農薬類標準物質の分析時の内部標準物質のピーク強度の比率を Fig.1 に示した。

農薬類混合標準液が比較的高濃度の条件及び高濃度である農薬類単体の標準液の一部で、内部標準物質のピーク強度が増強される現象が確認された。

含まれる農薬類標準物質が 73 種とより混合物質数の多い農薬混合標準液 72 では 300 ng/mL 以上の濃度において、

内部標準物質のアントラセン-d₁₀ と 9-プロモアントラセンのピーク面積及び高さ比率が共に 2 を超えた。同様に、クリセン-d₁₂ での農薬混合標準液 72 の濃度がピーク面積は 300 ng/mL 以上、ピーク高さでは 100 ng/mL 以上で比率が 2 を超えた。

含まれる農薬類標準物質が 8 種の農薬混合標準液 47 では、アントラセン-d₁₀ ではピーク面積及び高さで濃度依存的な大きなピーク強度の比率の上昇は認められなかった。9-プロモアントラセンでも、比率が 2 を超える増強は認められなかった。クリセン-d₁₂ では、農薬混合標準液 47 の濃度が 1000 ng/mL でピーク面積、高さ共に比率が 2 を超えた。なお、農薬混合標準液 47 の濃度 500 ng/mL でのクリセン-d₁₂ のピーク高さの比率は 1.99 であった。

農薬類化合物単体で分析した濃度 1000 ng/mL の α-エンドスルファンについては、9-プロモアントラセンのピーク面積及び高さの比率が共に 2 を超えた。

同様に農薬類化合物単体の 1000 ng/mL の CNP-アミノ体ではクリセン-d₁₂ のピーク面積で 1.77、高さで 1.74 と比較的高い比率を示した。

農薬混合標準液 72 は、高濃度域で内部標準物質のピーク強度の比率が明らかに上昇するマトリックス効果様の現象が確認された。

農薬類と内部標準物質のピーク強度比で検量線を作成して定量する内部標準法による測定において、今回の試験条件での高濃度域を含む検量線による定量では、内部標準物質のピーク強度が上昇することにより、実際の水道水試料測定時に定量結果に影響が出る可能性が考えられた。

2. マトリックス様効果の現象の確認

試験条件 1 より多くの農薬類を含む農薬混合標準液を用い、濃度と GC/MS への注入量の違いによる、内部標準物質のクロマトグラムのピーク強度への影響を確認した。

農薬混合標準液 0 ng/mL での内部標準物質のクロマトグラムピーク強度を 1 とした時の、ピーク強度の比率の変化を、ピーク面積とピーク高さ別に Fig.2 に示した。

数値は示さないが、内部標準物質の種類別に、GC/MS への各注入量 1 µL, 2 µL, 3 µL による違いと、ピーク面積とピーク高さによる評価を行った。仮に比率 1.5 を目安とした。

内部標準物質は 3 種類全てで、1~3 µL 注入時のピーク面積とピーク高さについて、農薬混合標準濃度液の 1~50 ng/mL までは、比率 1.5 を超えるものはなかった。

比率 1.5 を超える標準物質濃度と、GC/MS に注入した農薬類の量に依存した内部標準物質のピーク強度の増加から外れたものに注目した。

比率 1.5 を超える標準物質濃度について、アントラセン-

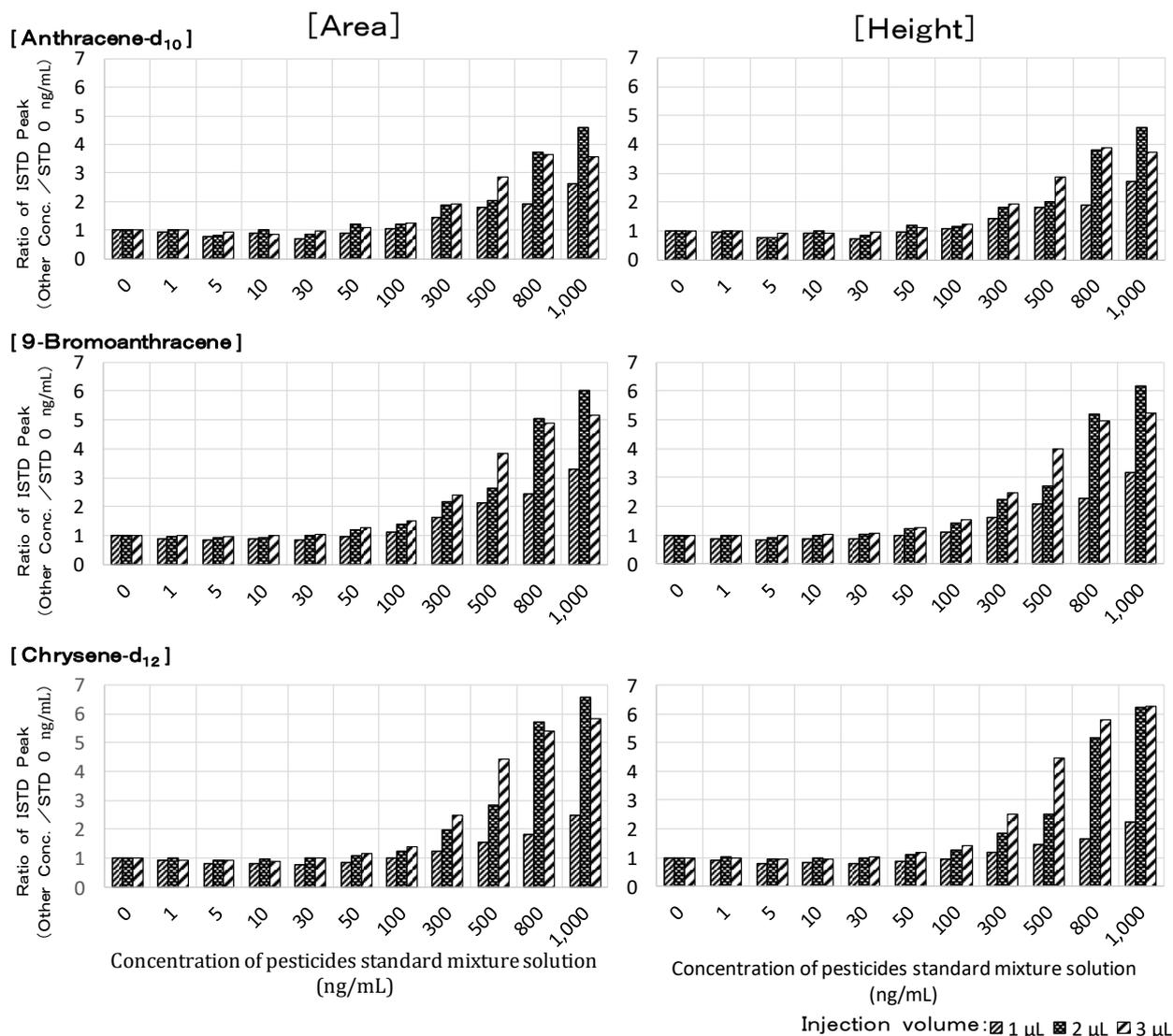


Fig.2 Variation in peak intensity of the internal standard depending on the concentration of the pesticide mixture standard solution

d₁₀とクリセン-d₁₂では、農薬混合標準液 300 ng/mL の 2 μL と 3 μL の注入で、ピーク面積と高さ共に比率 1.5 を超えた。

9-ブromoアントラセンでは、農薬混合標準液 100 ng/mL の 3 μL の注入で、ピーク面積と高さ共に、比率 1.5 を超えた。より高濃度な農薬混合標準液では、内部標準物質のピーク強度も強くなる傾向が確認された。

次に GC/MS へ注入した農薬量の量に依存した内部標準物質のピーク強度の増加から外れたものについて、アントラセン-d₁₀では、3 μL 注入では農薬混合標準液 800 ng/mL で面積と高さ共に比率が最大となり、1000 ng/mL の比率を上回った。一方比率が最も高かったのは、1000 ng/mL の 2 μL 注入でピーク強度は面積と高さ共に比率 4.60 であり、注入された農薬類の総量として多い 800 ng/mL や 1000 ng/mL の 3 μL 注入の比率を上回った。

クリセン-d₁₂のピーク高さを除き、9-ブromoアントラセン、クリセン-d₁₂でも、農薬混合標準液 800 ng/mL, 1000 ng/mL

では、ピーク強度は 3 μL 注入より 2 μL 注入で比率が高くなった。

今回使用した各農薬類は計 81 物質、内部標準物質は 3 物質である。

以上のことから、マトリックス様効果の現象により、多くの農薬類を含む農薬類混合標準液について、濃度が比較的高くなると、内部標準物質のピーク強度は増強されるが、GC/MS の分析経路内に注入される農薬類混合標準物質の総量がある程度以上に増加すると、内部標準物質のピーク強度の増強は、緩やかになる可能性が示唆された。

3. 試験条件 1 と 2 でのマトリックス様効果の現象の比較

試験条件 1 で確認されたマトリックス様効果の現象 (Fig.1) では、内部標準物質の添加量、農薬混合標準液 72 と 47 を別々に分析している点、GC/MS への注入量及び農薬混合標準液 1 ng/mL のピーク強度を比率 1 として示して

いる点で試験条件 2 とは異なるが、農薬混合標準液 72 において農薬混合標準液 47 や農薬類の単体分析より強い内部標準物質のピーク強度の増強が確認された。

試験条件 2 では農薬混合標準液 72 と 47 を混合し、注入量は 5 μL から 1~3 μL に、農薬混合標準液に対する内部標準物質の添加量を半分の 100 μL に下げて評価 (Fig.2) した。また、内部標準物質のピーク強度を比較するための比率の基準を、農薬類濃度 1 ng/mL から、農薬類濃度 0 ng/mL を分析した時の内部標準物質のピーク強度を 1 として評価した。

多少の分析条件の違いはあるものの、農薬混合標準液 72 と 47 を混合した分析は、別々に分析した場合に比べ、内部標準物質のピーク強度の増強は高まる可能性が示唆された。

このことから、農薬類混合標準液中の農薬類の数が多くなり、濃度が比較的高くなるとマトリックス様効果の現象が強くなる可能性が示唆された。

一方、試験条件 1 の 1000 ng/mL の α -エンドスルファン単品の分析では、内部標準物質の 9-プロモアントラセン、CNP-アミノ体の単体の分析ではクリセン- d_{12} でピーク強度が増強された。

今回の検討では、無極性の分析カラム DB-5MS にプレカラムとして微極性の RTX-5 を用いたことから単体農薬類分析での内部標準物質のピーク強度増強は、この影響もあるものと推測された。

阿久津らは、食品中の残留農薬分析について、試料からのマトリックスを含まない、農薬標準物質と内部標準物質による詳細な検討で、“matrix-like effect”が生じることを報告している³⁾。

使用した農薬類の種類と数、内部標準物質は同一ではないが、水道水質検査の分野においても、同様のマトリックス様効果の現象が確認された。

内部標準物質のピーク強度が数倍強くなっていく状態で、内部標準法により各農薬類の検量線を作成した場合、検量線は内部標準物質のマトリックス様効果の現象による影響を受けると推測され、水中から検出される農薬類の濃度が実際の水中濃度より高く見積もる可能性が示唆された。

マトリックス効果の原因が測定系内に存在する活性点によるものと推定されている³⁾ように、今回確認されたマトリ

ックス様効果の現象による内部標準物質のピーク強度の増強も、同様に測定系内に存在している活性点による影響である可能性が考えられた。

IV 結論

試料水由来のマトリックスを含まない条件下で、市販の農薬類混合標準液 2 種を混合し、3 種類の内部標準物質と共に分析条件の検討を行った結果、マトリックス様効果の作用として、内部標準物質のクロマトグラムのピーク強度が増強される現象が認められた。

今回の検討結果から、内部標準物質のピーク強度に大きな影響を及ぼさない農薬混合標準濃度域を検量線に適用し、注入量と各農薬のピーク形状や感度を確認し各農薬類の定量可能な濃度範囲を決めていく必要があると考えられた。

なお、本研究の一部は 2023 年 3 月に愛媛大学で開催された、第 57 回日本水環境学会年会で発表した⁴⁾。

文献

- 1) 保母敏行, 古野正浩: ガスクロ自由在 Q&A 準備・試料導入編, p.133-135, 丸善出版, 東京 (2007)
- 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 (2003), 別添 4 水質管理目標設定項目の検査方法. (最終改正, 令和 4 年 3 月 31 日) (2022)
- 3) Akutsu, K., Yoshimitsu, M., Kitagawa, Y., Takatori, S., Fukui, N., Osakada, M., Yamaguchi, S., Kajimura, K., Obana H., Watanabe, T.: Evaluation of the matrix-like effect in multiresidue pesticide analysis by gas chromatography with tandem mass spectrometry. J. Sep. Sci., **40**, 1293-1300 (2017)
- 4) 北本寛明ら: 第 57 回日本水環境学会年会講演集, p.519 (2023), 愛媛

(令和 7 年 3 月 31 日受理)