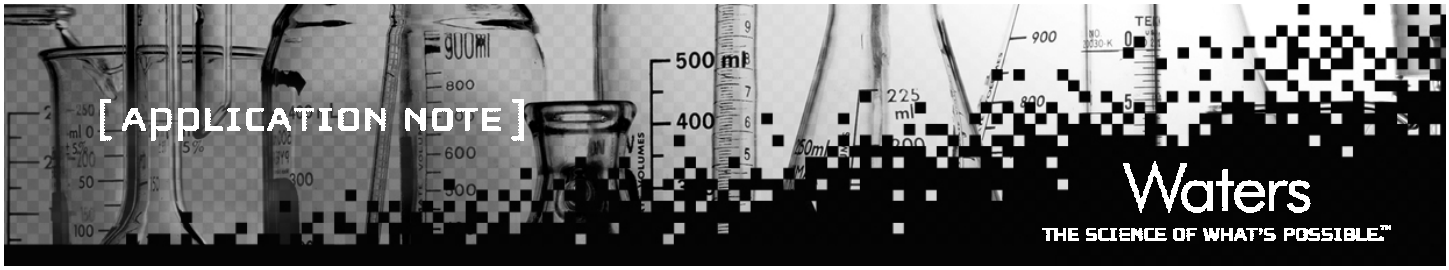


No. 720001437J

ACQUITY UPLC®/TOF-MSによる飲料水とトマト中の農薬の高速スクリーニング分析

概要

新規農薬化合物や規制前の(されていない)化合物の検出のためには、高感度で迅速なスクリーニング分析法が重要です。従来はこのような対象外の化合物に対してもGCやLCとシングル四重極型質量分析計を組み合わせた装置によって分析が行われて来ました。しかしながら感度や選択性の不十分さのために、多量の試料注入や前処理が必要な場合がありました。近年ではタンデム四重極型質量分析計が用いられ、MRM測定によって高感度で高選択的な結果が得られるようになりました。このMRM測定は検出が予想されるターゲット化合物の分析には適していますが、未知化合物の検出には適していません。
Waters LCT Premier™ は飛行時間型質量分析計で、高感度に未知化合物を検出・同定する分析に適しています。Waters ACQUITY UPLC®と組み合わせることにより、迅速により高感度な結果が得られます。
このアプリケーションノートでは、飲料水とトマト抽出液を実試料として、農薬86成分をスクリーニング分析した結果について説明します。精密質量測定による元素組成の決定に加えて、Waters MassLynx™ソフトウエアのアプリケーションマネージャであるChromaLynx™を用いたライブラリ検索による化合物の同定についても解説します。

サンプルの準備※

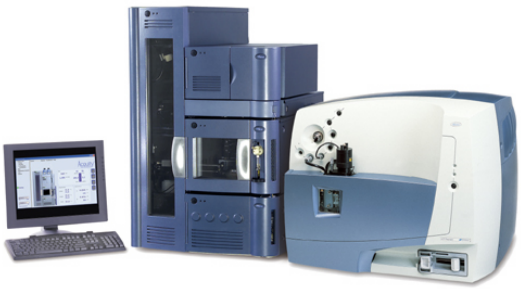
-試料を10g計り取ります。乾燥試料の場合は5g使用します。
-水を加えて10mLとします。
-メタノール20mLを加え、2分間混ぜます。
-抽出液6mLを2mLの塩化ナトリウム溶液と混合します。
-5mLをケイソウ土を充填したカラムに通します。
-ジクロロメタン16mLを用いてカラム内の成分を溶出させます。
-乾燥させた残渣をメタノール250μLに溶解します。
-水1000μLを加えます。
-0.45μmのフィルタでろ過します。

※Jeannette Klein と Lutz Alder(FIRA,Berlin) によって開発されたメソッドです。

分析条件

装置 ：Waters ACQUITY UPLC®
カラム ：ACQUITY BEH C18 1.7μm 2.1x 100 mm
カラム温度 ：40 ℃
流速 ：0.45 mL/min
移動相A ：2mM酢酸アンモニウム/5%メタノール/水
移動相B ：2mM酢酸アンモニウム/95%メタノール/水
注入量 ：20μL
グラジエント条件
0%B(0分)→100%B(8.5分)→100%B(11分)
サイクルタイム13.5分

MS ：Waters LCT PremierTM
イオン化法 ： ESIポジティブ/ネガティブ
キャピラリ電圧: 1000V
ソース温度 ：120℃
脱溶媒温度 ：400℃
脱溶媒ガス ：600L/Hr
測定質量範囲: 50-1000Da
キャリブレーション: $NaCH_2O_2$
リファレンス ：$[M+H]^+$=556.2771Da
： $[M-H]^-$=554.2615Da



Acquity™
Ultra Performance LC

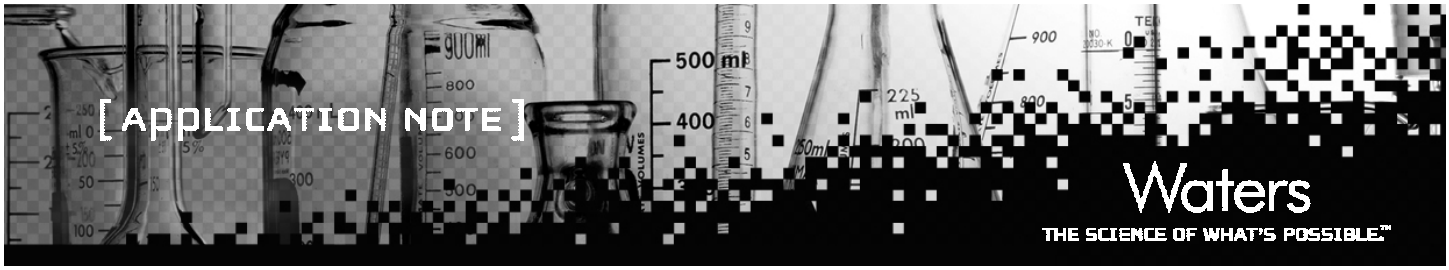


図1. 農薬92成分のUPLC®/MSクロマトグラム (飲料水にスパイクしたサンプル)

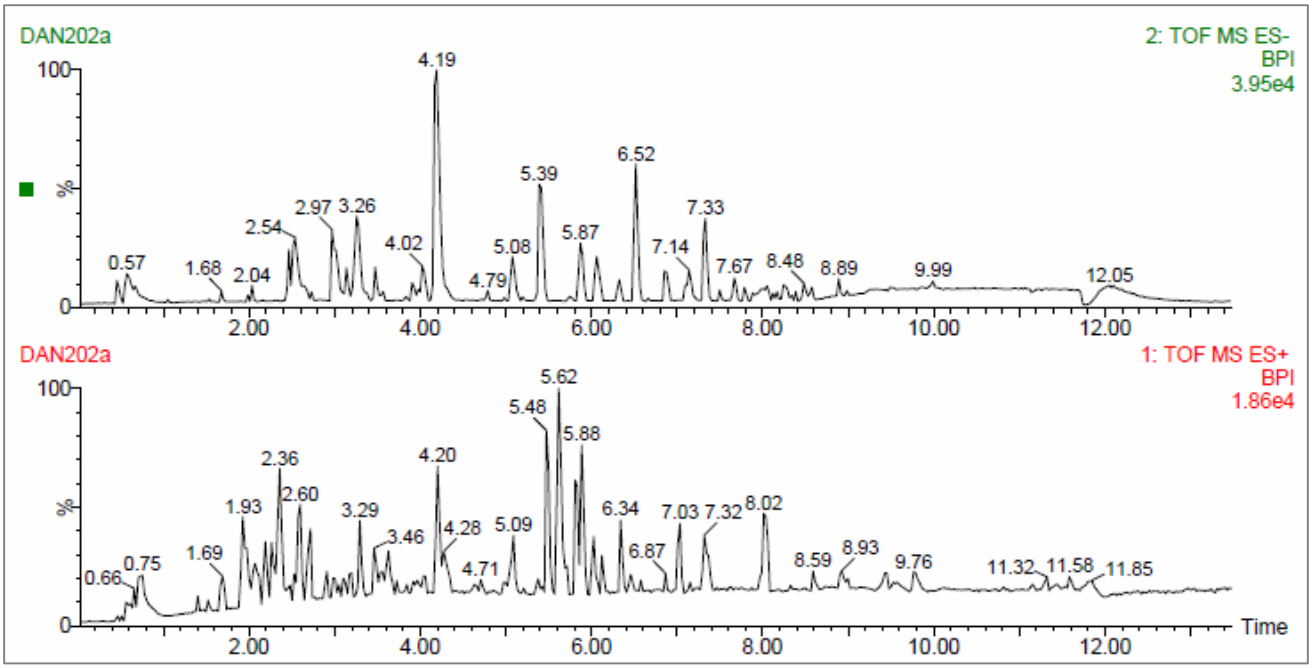


図2. Diuronの元素組成計算結果

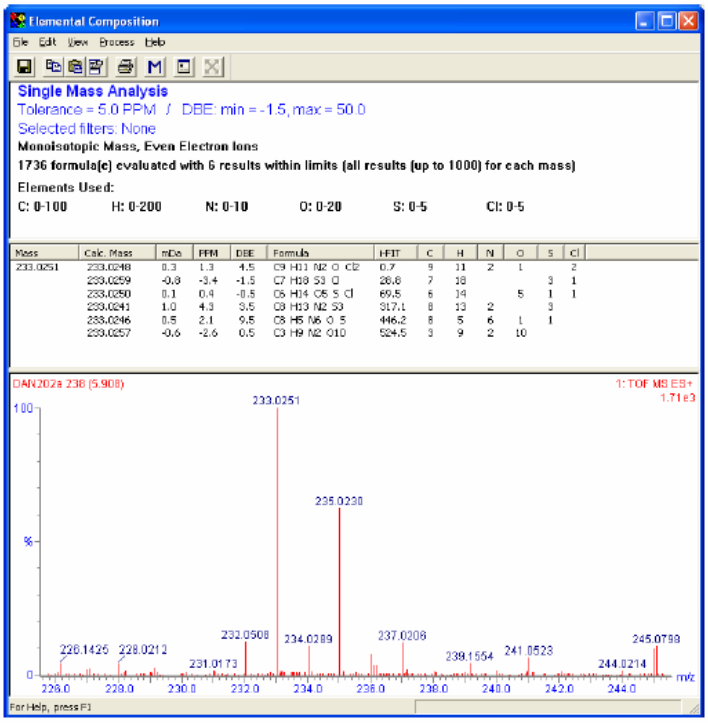


図1に92成分をスパイクした飲料水サンプルのUPLC®/MSクロマトグラムを示します。各成分の濃度は100ppbです。このうち6成分がネガティブモードで感度が高く、ポジティブ/ネガティブ同時測定が重要であると考えられます。ピーク幅はいずれも5秒以下であり、UPLC®にの使用よって分離度が向上しています。

図2にはDiuronのMSスペクトルから計算した元素組成の結果を示します。
許容誤差範囲を5ppmとしたときの、可能性のある元素組成はわずか6つでした。MassLynx™ではi-FITという同位体パターンを用いた候補の絞込みを行う機能があります。この値が小さいほど、測定で得られたMSスペクトルの同位体パターンと候補の元素組成から計算された同位体パターンが近似であるということになります。この場合には、i-FIT=0.7、差1.3ppmという結果でジウロンの元素組成結果が示されました。

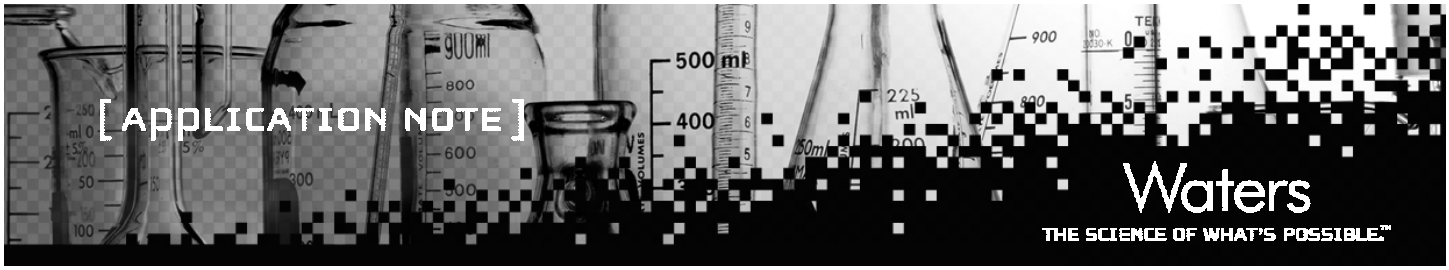
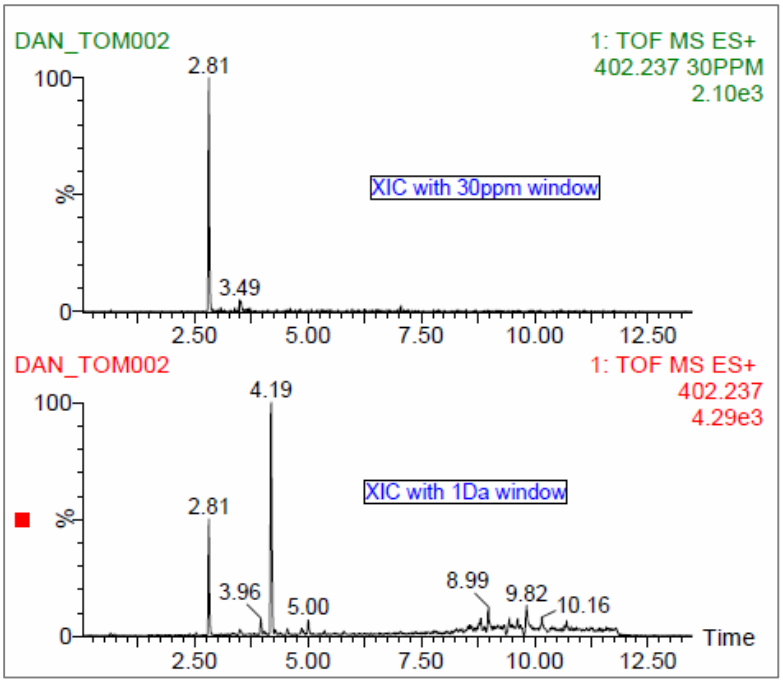
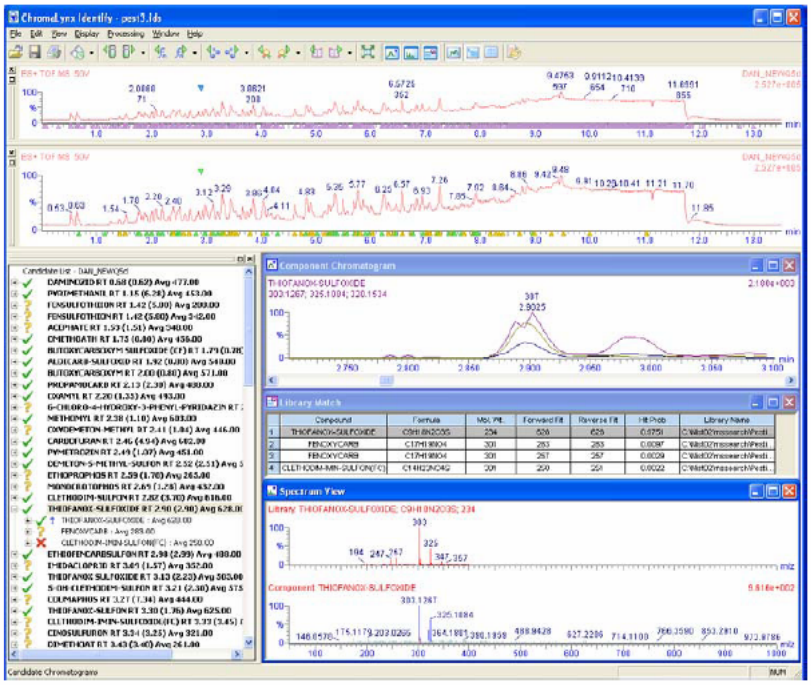


図3. MS抽出ウインドウ(抽出幅)の比較



ターゲット化合物が想定されている場合にも、TOFによる高分解能測定にはメリットがあります。既知の元素組成から精密質量を求め、その値で抽出クロマトグラムを作成するとシグナル-ノイズ比の高いクロマトグラムが得られます。
図3に30ppmと1Daのウインドウ幅で抽出したMSクロマトグラムの比較を示します。30ppm幅で抽出したMSクロマトグラム(上)では2.81分のピークが1Da幅のものに比べて感度よく検出されています。

図4. スクリーニング結果を示すChromaLynx™ウインドウ



対象化合物数が多い場合、1つずつMSスペクトルによって同定していくことは多大な時間を要します。Waters MassLynx™のアプリケーションマネージャであるChromaLynx™は自動的にクロマトグラムを抽出し、設定した条件を満たすMSスペクトルが検出されるとその精密質量スペクトルを表示します。このMSスペクトルによって、元素組成の計算や登録済みのライブラリスペクトルを用いた検索が行われます。ライブラリの作成においては、質量・元素組成・保持時間・極性・コーン電圧などの情報を入力でき、それらを検索時のフィルタとして利用することができます。

図4には飲料水サンプルを分析した際のスクリーニング結果を表示した画面を示します。緑色でチェックが付いた成分はライブラリとの高い一致度を表し、黄色から赤色とその一致度が低いことを表しています。

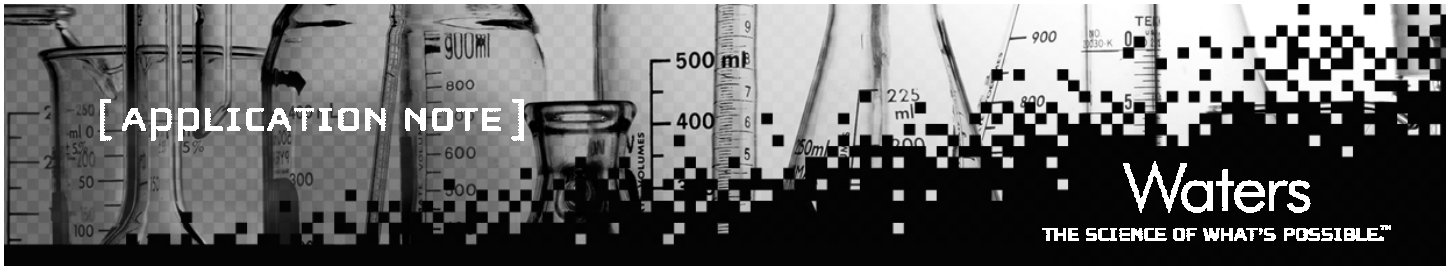


図5. ポジティブ/ネガティブ切替による定量の画面

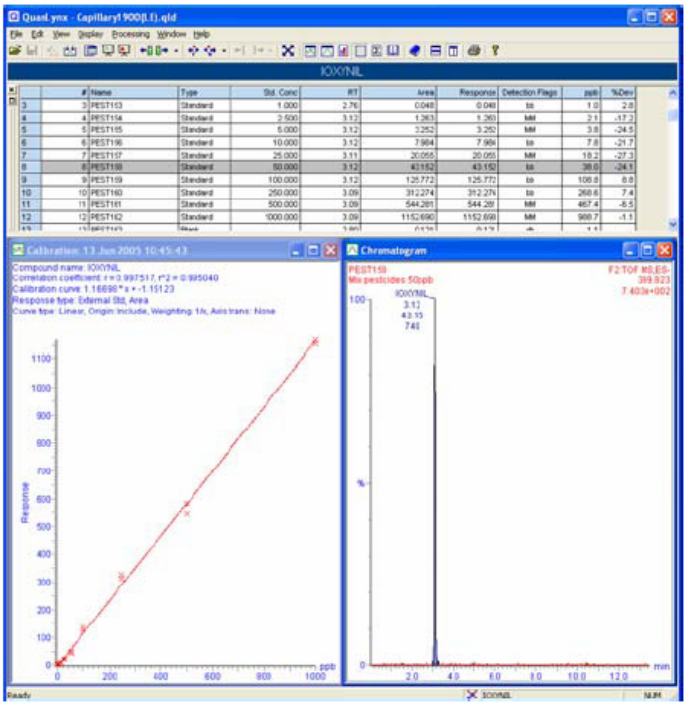
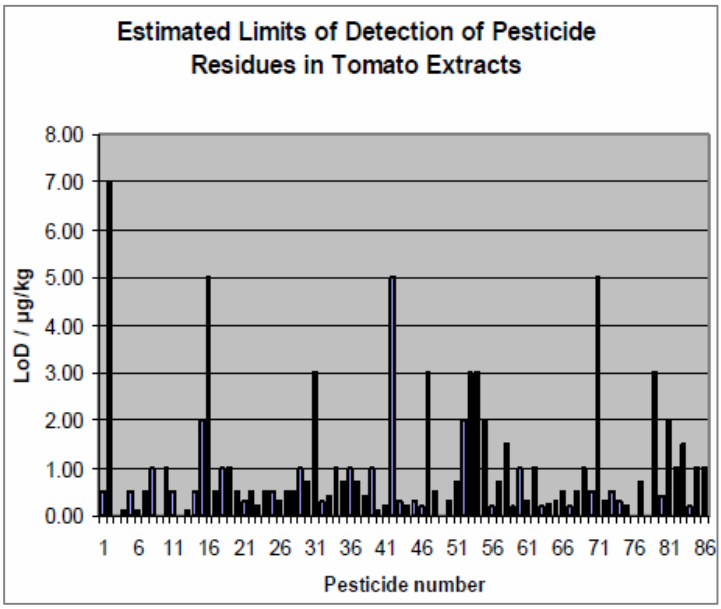


図5に定量画面の一例を示します。LCT Premier™はDRE (Dynamic Range Enhancement)ーイオン透過率を自動調整することで検出部でのイオンの飽和を防ぎ広い直線性を得るーという機能があります。この特長によって、より広い濃度範囲での定量分析が可能です。

図6. トマト抽出液からの検出下限値



マトリクス効果を検討するために、有機栽培トマトを購入し、MRL(Maximum Residue Level)の濃度の農薬類をスパイクして抽出し分析して、検出下限(S/N3)を測定しました。

図6には、これらの検出下限値を示します。図中の番号に対応する化合物名は次ページの表1に示しました。

Acephate、Daminozide、Oxydemeton-methyl、Dimethoate、Prosulfuronに対するMRLは20µg/kgであり、その他の化合物に対するMRLは50µg/kgです。このように、TOF-MS検出器は定性だけでなく、定量分析にも十分な感度を示します。

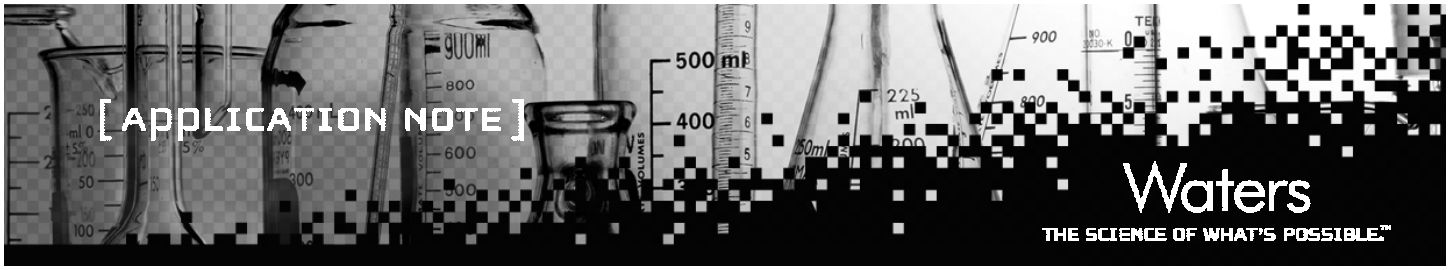


表1. 図6中の番号と対応する化合物名

Number	Compound	Number	Compound
1	Acephate	44	Metolachlor
2	Aldicarb	45	Pymetrozin
3	Amidosulfuron	46	Pyrimethanil
4	Azoxystrobin	47	Thiofanox
5	Bendiocarb	48	Thiofanox-sulfoxide
6	butoxycarboxym	49	Butocarboxim
7	Carbaril	50	Clethodim-imin-sulfoxide
8	Carbendazim	51	Ethiofencarb
9	pyridazin	52	Fenhexamid
10	Chlorsulfuron	53	Imidacloprid
11	Clethodim	54	Triflumuron
12	Daminozide	55	Isoproturon
13	Fenoxycarb	56	Metamitron
14	Fenpropimorph	57	Methamidophos
15	Flufenoxuron	58	Methiocarb
16	Pyridate	59	Metsulfuron-methyl
17	Aldoxicarb	60	monocrotophos
18	Atrazine	61	Oxydemeton-methyl
19	Butoxycarboxim-sulfoxid	62	Quizalofop-ethyl
20	Carbofuran	63	Tebuconazole
21	Cinosulfuron	64	Thiacloprid
22	Clethodim-sulfon	65	Trisulfuron-methyl
23	Demethon-S-methyl-sulfon	66	Fluazifop-P-butyl
24	Desmedipham	67	Omethoate
25	Ethiofencarbsulfon	68	Pirimicarb
26	Imazalil	69	Propamocarb
27	Linuron	70	Quinmerac
28	Oxamyl	71	Tebufenozide
29	Aldicarb-sulfoxid	72	Thifensulfuron-methyl
30	Bensulfuron-methyl	73	Thiofanox-sulfon
31	Carbofuran-3-OH	74	Thiophanate-methyl
32	Clethodim-sulfoxid	75	triasulfuron
33	Diuron	76	Dimethoat
34	Furathiocarb	77	Nicosulfuron
35	Methomyl	78	Thiodicarb
36	Promecarb	79	3,4,5-trimethacarb
37	propoxur	80	5-OH-clethodim-sulfon
38	Thiabendazol	81	Haloxyfop-ethoxyethyl
39	diflubenzuron	82	Flazasulfuron
40	Clethodim-imin-sulfon	83	Prosulfuron
41	Cyprodinil	84	Vamidothion
42	Haloxyfop-methyl	85	Isoxaflutole
43	Metalaxyl	86	Spiroxamine

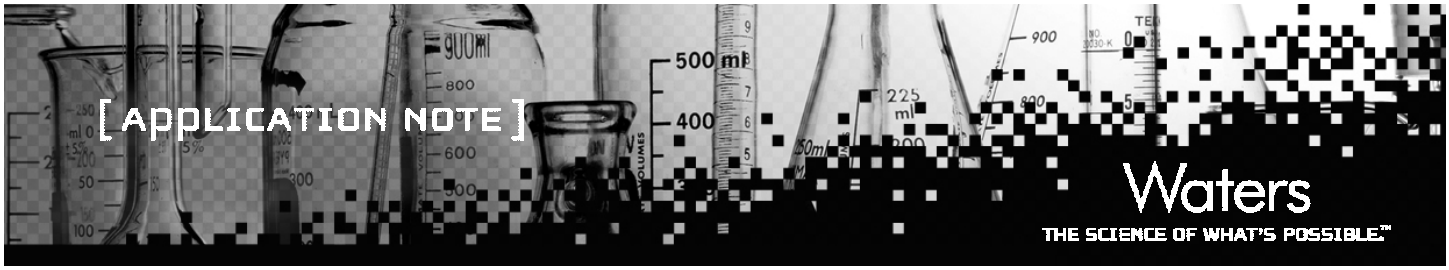


図7. トマト抽出液中のTriasulfuranの定量結果画面

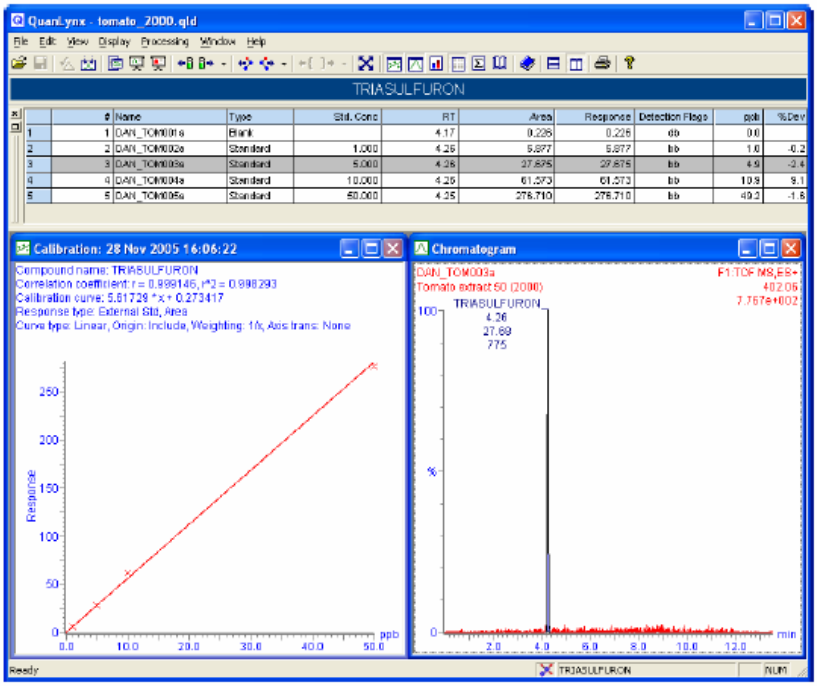


図7にはTriasulfuranの定量結果画面を示します。ピークが感度よく検出され、その定量結果は4.9μg/kgでした。(MRL;50μg/kg)

まとめ

ACQUITY UPLC®とTOF-MS検出器を用いた分析により、飲料水のようなシンプルな試料からもトマト抽出液のような複雑なマトリクスの試料からも残留農薬のスクリーニング分析が可能であることがわかりました。精密質量測定による元素組成の決定とライブラリ検索による同定手法は未知化合物の分析に有用であると考えられます。また、定量分析を目的とした場合にも、十分な感度が得られることがわかりました。

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™
日本ウォーターズ株式会社 www.waters.co.jp
東京本社 〒140-0001 東京都品川区北品川1-3-12第5小池ビル TEL 03-3471-7191 FAX 03-3471-7118
大阪支社 〒532-0011 大阪市淀川区西中島5-14-10カトキチ新大阪ビル11F TEL 06-6304-8888 FAX 06-6300-1734
ショールーム 東京 大阪
テクニカルセンター 東京 大阪 名古屋 福岡 静岡