Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

CORTECS UPLC HILICカラムを用いたジャガイモおよび小麦中のパラコートならびにジクワットのUPLC-MS/MS分析

Michael S. Young, Jeremy C. Shia, and Kim Van Tran
Waters Corporation, Milford, MA, USA

アプリケーションのメリット

- 他の HILIC カラムと比較して CORTECS® UPLC® HILIC カラムはパラコートとジクワットの保持ならびに分離を改善
- CORTECS UPLC HILIC カラムは EU で採用されている高速スクリーニングメソッドに準拠
- CORTECS UPLC HILIC カラムはイオンペア試薬を使用せず、LC-MS 分析において卓越した感度を提供

ウォーターズのソリューション

ACQUITY UPLC® H-Class システム

ACQUITY® TQD 質量分析計

CORTECS UPLC HILIC カラム

キーワード

ジクワット、パラコート、UPLC-MS/MS、HILIC、ジャガイモ、小麦

はじめに

ジクワットおよびパラコートは二価の 4 級アンモニウム除草剤であり（図 1）、どちらも依然として作物および水生雑草をコントロールするために世界的に広く使用されています。米国環境保護庁（EPA）によるジクワットの最大許容値はジャガイモで 100 ppb（µg/kg）、小麦で 20 ppb、一方でパラコートの許容値はジャガイモで 500 ppb、小麦で 1100 ppb と定められています。パラコートとジクワットは C_{18} など逆相 LC カラムへの保持が非常に弱いイオン性物質で、逆相で保持させるためにイオンペア試薬が使用される場合もありますが、イオンペア試薬は LC に残存しやすいため、検出・定量に質量分析計（LC-MS）を使用する場合は、このアプローチは多くの場合、パラコートとジクワットとは反対の極性（ネガティブ）において顕著なイオンサプレッションを引き起こします。この点において、逆相に替わる方法である親水性相互作用クロマトグラフィー（HILIC）を用いた、ジクワットとパラコートの LC-MS 検出には明確なメリットがあります。なぜなら、イオンペア試薬を使用しないために他の測定でもイオン化抑制がありません。本アプリケーションノートでは、他の HILIC メソッドと比較して保持と分離の向上を実現する、CORTECS HILIC カラムを用いたパラコートならびにジクワットの UPLC-MS/MS 分析について紹介します。

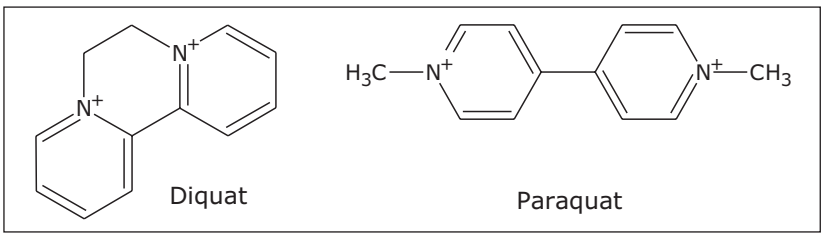

図 1. ジクワットおよびパラコートの構造

実験方法

LC条件

LC システム：ACQUITY UPLC H-Class システム

カラム：　CORTECS HILIC カラム
1.6 µm、2.1 × 100 mm
（製品番号 186007106）

移動相

（アイソクラティック）：50:50 A/B

移動相 A：　200 mM ギ酸アンモニウム（pH 3.7）

移動相 B：　アセトニトリル

注入量：　20 µL

カラム温度：30℃

洗浄溶媒：　50:50 アセトニトリル/水

パージ溶媒：50:50 アセトニトリル/水

流速：　0.5 mL/min

サンプルバイアル：ポリプロピレン（PP）バイアル
（製品番号 186002642）

MS条件

MS システム：ACQUITY TQD 質量分析計

イオン化モード：ESI+

ソース温度：150℃

脱溶媒温度：350℃

脱溶媒ガス流速：800 L/hr

コーンガス流速：30 L/hr

コリジョンガス流速：0.20 mL/min

データ管理：MassLynx® v4.1

サンプル調製

注：パラコートおよびジクワットはガラス吸着性が高いため、サンプル採取ならびにサンプル調製の全てのステップにおいて、ポリプロピレン製の容器を使用してください。UPLC 分析においては、ポリプロピレンバイアル（製品番号 186002642）を推奨しています。

現在通知されている分析法[1]の手順に準じて、新鮮なジャガイモと小麦全粒粉のサンプルを用意しました。Web 上で公開されている[2]この手法は、EU における残留パラコートとジクワットのスクリーニング条件で推奨されています。

ジャガイモ分析：秤量したサンプル（10 g）を 50 mL 遠沈管に入れました。添加回収サンプルには、事前に秤量しておいたサンプルに水溶性のスタンダードをスパイクし、30 分間平衡化したものを準備しました。10 mL の抽出溶液（50：50 メタノール / 0.1 M 塩化ナトリウム水溶液）をサンプルに加えて、2 分間手で振り混ぜました。その後 80℃にて 15 分間加温し、冷ました後に 4000 rpm（rcf 3250 xg）にて 4 分間遠心分離しました。分注した上清を 45 µm PTFE シリンジフィルターにて濾過後、400 µL のサンプルに 1.0 mL アセトニトリルを加え、UPLC-MS 分析に供しました。

小麦分析：秤量したサンプル（4 g）を 50 mL 遠沈管に入れました。添加回収サンプルには、事前に秤量しておいたサンプルに水溶性のスタンダードをスパイクし、30 分間平衡化したものを準備しました。10 mL の水を加えてボルテックスにかけた後、15 分間平衡化しました。抽出したサンプルは、前述のジャガイモのサンプルと同じ手順で処理しました。

表 1 には本実験で使用した MRM トランジションと LC-MS パラメーターについてまとめました。

化合物	MRM	Cone (V)	CID (eV)
ジクワット	183.1 > 157.1	50	25
	183.1 > 130.1	50	30
パラコート	185.1 > 170.1	38	22
	171.1 > 77.0	45	40

表 1．本実験で使用した MRM トランジションと LC-MS パラメーター

結果

図 2 は全てのサンプル前処理工程を実施する前に各分析種を 10 ppb 添加した小麦全粒粉のサンプルから得られた代表的な抽出イオンクロマトグラムです。ジャガイモのサンプルから得られたイオンクロマトグラムも類似した結果を示しました。

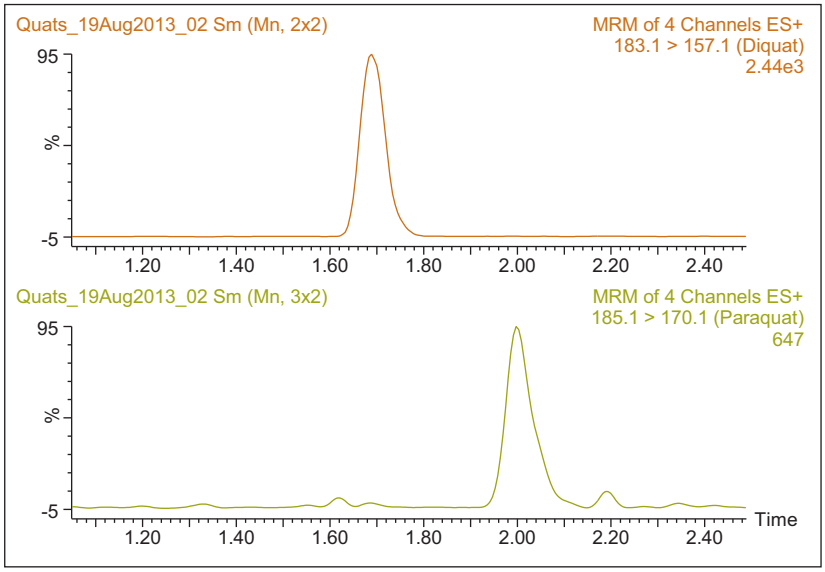

図 2. 小麦全粒粉サンプル（10ppb スパイク）から得られた UPLC-MS/MS の抽出イオンクロマトグラム

CORTECS UPLC HILIC カラムによる分離は EU で採用されている高速スクリーニングメソッドに適していることが分かります。UPLC-MS/MS 分析を実施する前に、抽出したサンプルは簡単にろ過と希釈をおこないました。CORTECS UPLC HILIC メソッドは、アイソクラティック（50:50 アセトニトリル / 水溶液）分析であるため、良好なクロマトグラフィー性能を得るために、抽出したサンプルはアセトニトリルで 1:1 に希釈しました。ジャガイモと小麦粉におけるジクワットの定量下限値（LOQ）は 10ng/g 以下、パラコートの定量下限値は、ジャガイモで 10 ppb 以下、小麦粉でおよそ 10 ppb でした。

結論

- CORTECS HILIC カラムを用いてトータル分析時間 4 分でジクワットおよびパラコートのベースライン分離を実現
- ジャガイモと小麦粉中のパラコートおよびジクワットについて、検出限界 10 ppb もしくはそれ以下でも検出可能

参考文献

1. Kohlberg, D.I.S., Mack, D., Anastassiades, M., Hetmanski, M.T., Fussell, R.J., Meijer, T., and Mol, H.G.J., Anal. *Bioanal. Chem*, 404, 2465-2474 (2012).
2. Anastassiades, M, Kolberg, D.I., Mack, D., Wildgrube C., Sigalova, I., Roux, D., and Fügel, D., "Quick Method for the Analysis of Residues of numerous Highly Polar Pesticides in Foods of Plant Origin involving Simultaneous Extraction with Methanol and LC-MS/MS Determination", EU Reference Laboratory for pesticides requiring single Residue Methods (EURL-SRM), Version 7 (Dec 2012).

Waters

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

日本ウォーターズ株式会社 www.waters.com

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 サムティ新大阪フロントビル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 札幌 富山

Waters、ACQUITY UPLC、ACQUITY、MassLynx、CORTECS および The Science of What's Possible は Waters Corporation の登録商標です。その他すべての登録商標はそれぞれの所有者に帰属します。

©2015 Waters Corporation. Produced in Japan.

2015年3月 720004851JA PDF