

P-103 QTOFを用いた水質LC-MS対象農薬の一斉分析



○佐藤 香代¹, 秋山 愛子¹, 会田 祐司¹(¹サイエックス アプリケーションサポート部)

【はじめに】

水道水の安全管理のため、多種多様な検査が日々実施されている。その中には、水道法による水質基準を始め、水質管理上留意すべき項目として水質管理目標設定項目、さらには毒性評価が定まらない物質や水道水中での検出実態が明らかでない項目が要検討項目と位置づけられている。水質管理設定項目として測定・評価されている農薬類(水質管理目標設定項目15)のうち、多くがLC-MS/MSによる検査法が定められており、トリプル四重極質量分析計(QqQ)のLC-MS/MSを用いたMRM測定が広く実施されている。MRM測定の場合、各測定対象化合物の条件を予め作成する必要があると共に、対象化合物以外の物質を測定することができない。一方、四重極飛行時間(QTOF)型のLC-MS/MSを用いた測定においては、事前の測定条件検討を必要とせず、かつ対象外の化合物の測定も可能である。また、高分解能によるバックグラウンドの低下も期待できる。今回、QTOF型のSCIEX X500R QTOFシステムを用いてLC-MS対象の水質管理目標設定項目のうち、別添方法18、19、20、20の2に検査法が定められている農薬類(Positiveモード)の一斉分析法を検討した。

【測定試料】

標準液として下記の原体および市販の農薬混合標準溶液を用いて、各濃度が1 µg/mLになるよう混合標準液を調製した。混合標準液を10%アセトニトリルを用いて希釈し、次の濃度(0.005, 0.01, 0.03, 0.05, 0.1, 0.3, 0.5, 1, 3, 5, 10 ng/mL)に調製を行った。
原体:カルバリル、2-ベンズイミダゾールカルバミン酸メチル、アセフェート、アミトラズ、DPA、ホセチル、チオファネートメチル、ベンフラカルブ、ピラクロニル、フェリムゾンE、フェリムゾンZ、ネライストキシンしゅう酸塩(いずれも和光純薬工業製)
農薬混合標準溶液:28種農薬混合標準液 水質-3、63種農薬混合標準液 水質-4、オキシシン銅標準液(いずれも和光純薬工業製)

【測定条件】

LC

システム : ExionLC™ AD (SCIEX)

カラム : SunShell C18 2.6 µm,

2.1 × 100 mm (クロマニックテクノロジーズ)

移動相 : A: 0.1 vol% 酢酸含有精製水

B: 0.5 mM 酢酸アンモニウムを含むメタノール

B : 5 % (0min)-30 % (0.5min)-45 % (2min)-75 % (9min)

-98% (11min)-98 % (12min)-5% (12.1min)-5 % (15min)

流速 : 0.4 mL/min

カラムオープン : 40 °C

注入量 : 50 µL

Software

データ取得から定量・構造推定などのデータ解析まで一つのソフトウェアで対応可能なSCIEX OS Software

SWATH® Acquisitionについて

包括的なデータ取得

- 包括的 : 取りこぼしのない全てのMSMSスペクトルを取得 (“MRMs” of everything)
- 定量 : 多数の取得したMSMSスペクトルからMRMと同等程度の定量情報を取得

トリプル四重極と同程度の定量

- トリプル四重極と同様、選択性が高いため量的に少ないサンプルについて定量可能。
- TOFで分離したプロダクトイオンのピークから狭い範囲を指定し抽出した面積値を定量解析に用いており、選択性が高い。

簡単な分析

- MRMと異なり、最適化など測定メソッドの開発を必要としない。
- 再解析のみで再分析を必要としない。

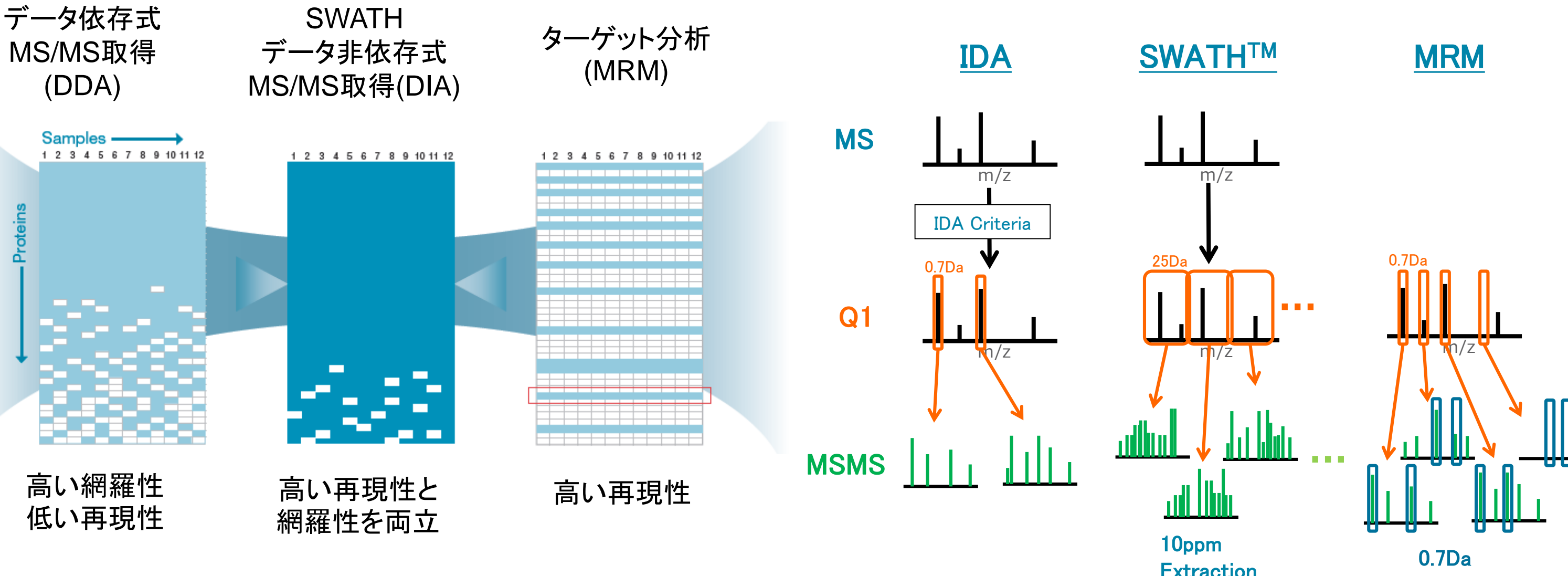


Figure2 SWATH® Acquisition

【結果】

検量線と再現性

検量線の直線性、n=5測定の再現性を確認した。

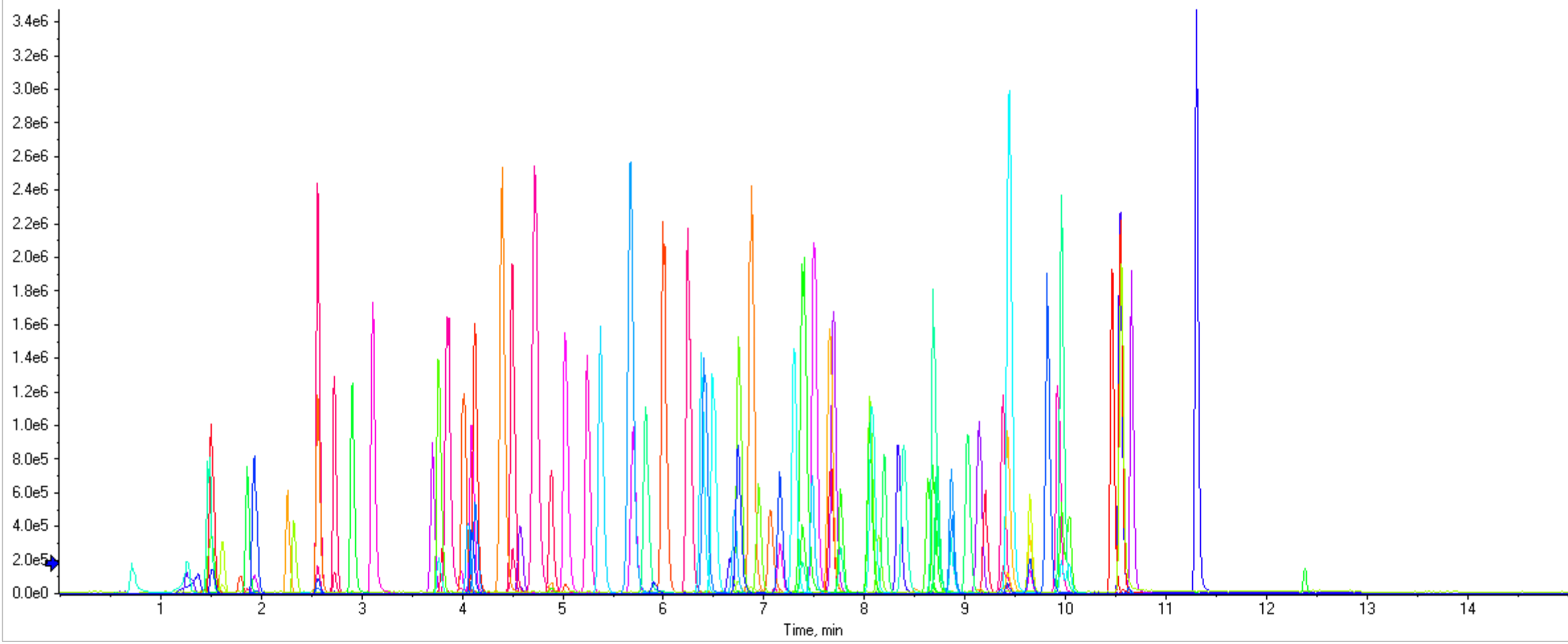


Figure3 標準溶液のEIC重ね描き例(抽出幅 20 mDa)

ABBREVIATION: CE: Collision Energy, EIC: Extracted Ion Chromatogram
TRADEMARKS/LICENSING: For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures. AB Sciex is doing business as SCIEX. © 2017 AB Sciex. The trademarks mentioned herein are the property of the AB Sciex Pte. Ltd. or their respective owners. AB SCIEX™ is being used under license. AS 10- 575 A

Table1 検量線と再現性結果 (TOF-MS)

Compound Name	目標値 (ng/mL)	目標値 1/100	検量線		再現性 (n=5)				
			最小 (ng/mL)	最大 (ng/mL)	R	測定値の 平均値	SD	%CV	
アシラム	900	9	0.005	1	0.9977	0.5	0.44	0.011	2
アセフェート	6	0.06	0.03	10	0.9983	0.05	0.05	0.004	7
アミトラズ	6	0.06	0.005	0.5	0.9993	0.05	0.05	0.005	11
インダメタリン	9	0.09	0.03	10	0.9980	0.05	0.05	0.006	12
オキサジクロロホン	20	0.2	0.01	10	0.9977	0.1	0.09	0.002	2
オキシシン銅	40	0.4	0.03	0.5	0.9923	0.3	0.26	0.014	5
ネオイストキシン(カルタップ)	300	3	0.3	5	0.9968	-	-	-	-
カルカリル(NAC)	50	0.5	0.05	10	0.9988	0.5	0.43	0.016	4
カルバメチン	40	0.4	0.005	10	0.9990	0.3	0.27	0.004	1
カルボラン	5	0.05	0.01	0.5	0.9998	0.05	0.05	0.002	3
ケルロン	30	0.3	0.005	5	0.9986	0.3	0.28	0.006	2
クロメゾロブ	20	0.2	0.01	0.5	0.9999	0.1	0.10	0.003	3
シメナジン	4	0.04	0.01	3	0.9973	0.03	0.03	0.003	8
ジウコン(DCMU)	20	0.2	0.005	0.5	0.9996	0.1	0.10	0.004	4
ダイムロン	800	8	0.005	5	0.9980	0.5	0.44	0.005	1
チオラム	20	0.2	0.05	0.5	0.9978	0.1	0.11	0.013	12
チオラフル	80	0.8	0.03	3	0.9964	0.5	0.45	0.006	1
チオラフル・ネートメチル	300	3	0.005	1	0.9975	0.5	0.49	0.014	3
トリシクソール	100	1	0.005	0.5	0.9990	0.5	0.48	0.013	3
ピラクロニル	10	0.1	0.01	0.5	0.9997	0.1	0.10	0.002	2
ピラジノール	20	0.2	0.005	0.5	0.9994	0.1	0.10	0.003	3
フェリムゾンE	50	0.5	0.005	10	0.9983	0.5	0.51	0.011	2
フェリムゾンZ	50	0.5	0.005	10	0.9987	0.5	0.45	0.012	3
MPP(フェニチオン)	6	0.06	0.01	0.5	0.9996	0.5	0.50	0.008	2
MPP-オキシシン	6	0.06	0.005	0.5	0.9998	0.5	0.49	0.006	1
MPP-オキシシン・ネートメチル	6	0.06	0.005	0.5	0.9992	0.5	0.44	0.01	2
MPP-オキシシン・ネートメチル	6	0.06	0.01	0.5	0.9985	0.5	0.46	0.01	2
MPP-スルホネート	6	0.06	0.005	10	0.9992	0.5	0.43	0.018	4
フェリムゾンE	10	0.1	0.01	0.5	0.9992	0.1	0.09	0.001	2
プロバネール	50	0.5	0.01	0.3	0.9995	0.3	0.30	0.007	2
MBQ(ベズミル)	20	0.2	0.01	0.5	0.9988	0.1	0.10	0.003	3
ベンジクロロ	90	0.9	0.01	5	0.9979	0.5	0.45	0.015	3
ベンジクロロ	4	0.04	0.01	10	0.9977	0.03	0.03	0.003	9
ベンジクロロ	30	0.3	0.01	0.5	0.9997	0.3	0.31	0.007	2
ベンジクロロ	40	0.4	0.03	1	0.9976	0.3	0.27	0.007	3
カルボラ(ベンラカルブ代謝物)	40	0.4	0.005	0.5	0.9995	0.3	0.30	0.009	3
メソリン	30	0.3	0.1	10	0.9999	0.3	0.25	0.027	11
メソリン(メソリン E)	40	0.4	0.005	10	0.9973	0.3	0.28	0.008	3
メソリン	30	0.3	0.01	0.5	0.9977	0.3	0.31	0.007	2
アシベンゾール・メチル	200	2	0.3	10	0.9991	0.5	0.43	0.007	2
アセタムプリド	200	2	0.03	10	0.9964	0.5	0.48	0.009	2
アセタムプリド・ネートメチル	500	5	0.01	5	0.9992	0.5	0.45	0.013	3
アセタムプリド	200	2	0.005	10	0.9991	0.5	0.44	0.001	2
イミダゾール	300	3	0.05	10	0.9988	0.5	0.46	0.027	6
イミダゾール	100	1	0.005	3	0.9971	0.5	0.46	0.015	3
エトキシフルン	100	1	0.005	3	0.9987	0.5	0.47	0.015	3
エトキシフルン	100	1	0.005	10	0.9962	0.5	0.48	0.01	2

Compound Name	目標値 (ng/mL)	目標値 (ng/mL)	検量線		R	再現性 (n=5)		SD	ncv
			最小 (ng/mL)	最大 (ng/mL)		平均値	標準偏差		
オキサジアルギル	20	0.2	0.1	10	0.9993	0.1	0.12	0.004	3
オキサミル	50	0.5	0.05	10	0.9987	0.5	0.48	0.016	3
キザロホプロピル	20	0.2	0.05	5	0.9981	0.1	0.10	0.004	4
クロマフェニド	200	2	0.005	3	0.9994	0.5	0.46	0.006	1
ジクロメジン	70	7	0.005	5	0.9995	0.5	0.44	0.012	3
シメナジン	50	0.5	0.03	10	0.9994	0.5	0.43	0.016	4
シメナジン	300	3	0.03	5	0.9967	0.5	0.44	0.016	4
シメナジン	200	2	0.005	3	0.9974	0.5	0.46	0.016	3
シメナジン	600	6	0.03	3	0.9996	0.5	0.47	0.017	4
ジエタノール	20	0.2	0.01	10	0.9984	0.1	0.09	0.003	3
ジフルベンズロン	50	0.5	0.005	10	0.9985	0.5	0.45	0.009	2
シメナジン	20	0.2	0.01	1	0.9950	0.1	0.094	0.005	5
シメナジン	70	0.7	0.01	0.5	0.9997	0.5	0.49	0.004	1
シメナジン	20	0.2	0.01	3	0.9984	0.1	0.09	0.002	2
シメナジン	300	3	0.3	5	0.993	0.5	0.49	0.012	2
シメナジン	-	0.3	0.005	5	0.9986	0.3	0.27	0.003	1
チタロキマ	50	0.5	0.005	5	0.9988	0.5	0.47	0.022	5
テトラプロピルホスホニル (TPMP)	10	0.1	0.005	5	0.9981	0.1	0.09	0.002	2
トラコナール	10	0.1	0.005	10	0.9992	0.1	0.09	0.003	4
テチコナール	70	0.7	0.005	10	0.9986	0.5	0.44	0.011	3
テフフェンド	40	0.4	0.01	5	0.997	0.3	0.29	0.01	3
トリネキス・メチル	10	0.1	0.01	10	0.9975	0.1	0.09	0.004	4
トリメチル	-	0.3	0.03	10	0.9976	0.3	0.27	0.004	2
ナプロエン	20	0.2	0.005	5	0.9983	0.1	0.09	0.002	2
ニベジウム	1300	13	0.1	3	0.9974	0.5	0.45	0.008	2
ハスルメチル	30	0.3	0.005	3	0.9997	0.5	0.48	0.009	2
シメナジン	30	0.3	0.1	1	0.9995	0.3	0.32	0.009	3
ヒドロキシプロピル	100	1	0.005	3	0.9988	0.5	0.45	0.017	4
ビシム(パクテチル)	50	0.5	0.005	10	0.9985	0.5	0.46	0.005	1
ビシム(パクテチル)	50	0.5	0.01	10	0.9992	0.5	0.42	0.008	2
ビシム(パクテチル)	60	0.6	0.03	1	0.996	0.5	0.44	0.008	2
フラサリル	30	0.3	0.01	3	0.9983	0.3	0.30	0.005	2
フラサリル	20	0.2	0.005	5	0.998	0.1	0.09	0.002	3
フルアサリル	10	0.1	0.003	0.5	0.9978	0.1	0.10	0.007	7
フルアサリル	40	0.4	0.03	5	0.9978	0.3	0.26	0.01	4
フルアサリル	-	0.3	0.01	5	0.9977	0.3	0.28	0.005	2
プロシリン	80	0.8	0.005	10	0.9986	0.5	0.44	0.01	2
ベントリル(SAP)	10	0.1	0.005	10	0.9988	0.5	0.46	0.002	4
ベントリル	500	5	0.005	1	0.9984	0.5	0.46	0.018	4
ベントリル	9	0.09	0.03	5	0.999	0.05	0.003	0.003	6
ベントリル	600	6	0.1	10	0.9992	0.5	0.50	0.013	3
ホシシム	3	0.03	0.03	10	0.9987	0.03	0.03	0.004	13
ホシシム	100	1	0.005	5	0.9982	0.5	0.44	0.011	2
モロ	2	0.02	0.01	0.5	0.9988	0.01	0.01	0.001	9
ヒロニオン	20	0.2	0.005	5	0.9976	0.1	0.09	0.002	2
テリリリオン	2	0.02	0.01	10	0.998	0.1	0.09	0.004	4

全化合物で目標値1/100以下から検量線を作成できた。また目標値1/100以下の濃度での良好な再現性を確認できた(Table 1)。

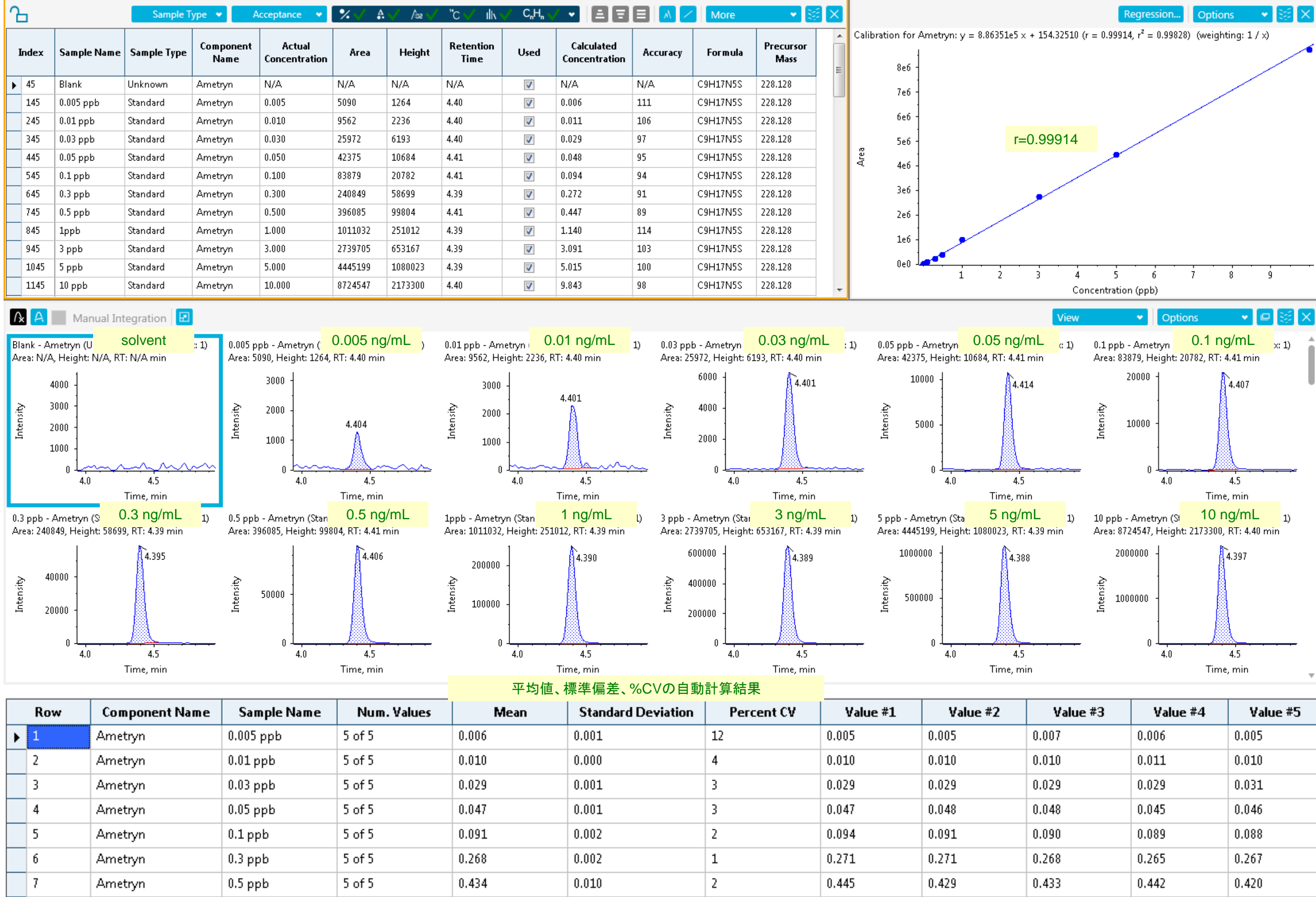


Figure4 定量解析画面の一例(Ametryn)

TOF-MS/MSデータの解析

SWATH® Acquisitionを使用して TOF-MS/MSを同時取得しているため、TOFMSデータでバックグラウンドの高かったCarbofuran、IndanofanはTOF-MS/MSデータを解析することで、バックグラウンドを低減させ、より高感度定量が可能であった。

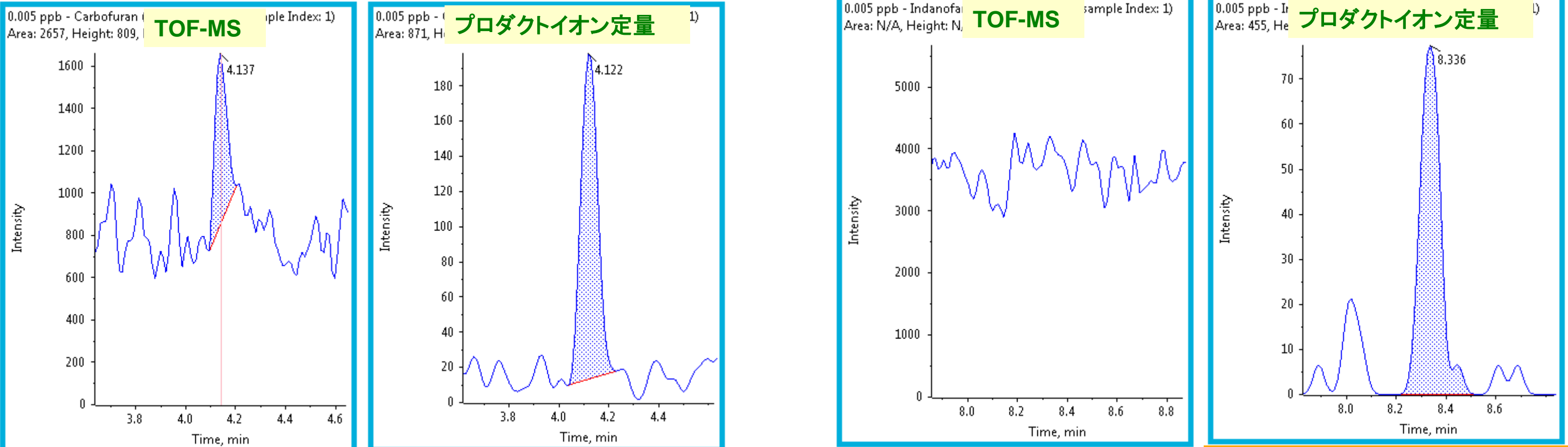


Figure5 Carbofuranのクロマトグラム比較 (0.005ppb)

Figure6 Indanofanのクロマトグラム比較 (0.005ppb)

4項目(精度、同位体比、保持時間、ライブラリ)の判定結果および実データ(クロマトグラムおよびMSとMS/MS)とその理論パターンやライブラリとの比較で、各成分を同定確認できた。

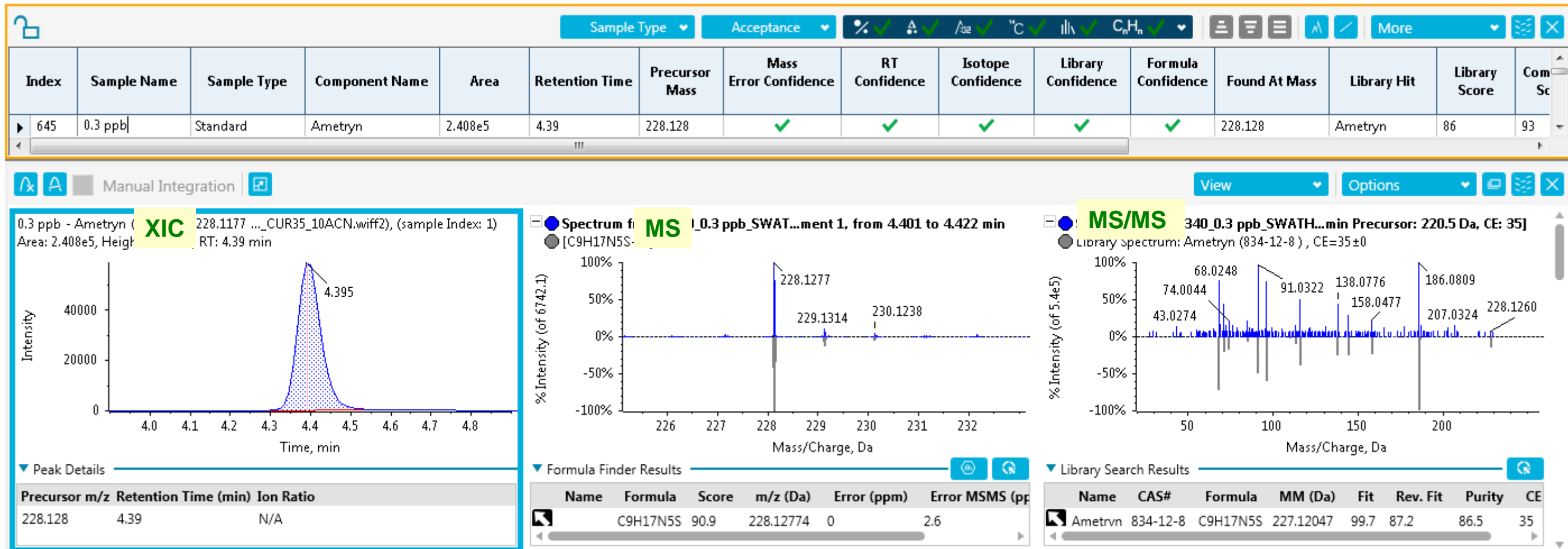


Figure7 Ametrynのマスキングクロマトグラム、MSおよびMS/MS (青:実測値、グレー:MS:理論パターン、MS/MS:ライブラリ)

【考察】

SCIEX X500R QTOFシステムを用いたSWATH® Acquisitionによって事前の測定条件の検討をほとんど必要とせずに、水質管理設定項目農薬類の一斉分析が可能であった。
SWATH® AcquisitionはTOF-MS定量だけでなく、TOF-MS/MSを用いたさらなる高感度定量やMS理論パターン、MS/MSライブラリとの比較による定性確認が可能となる有用な測定手法であることが示された。

【参考】

- 水質管理目標設定項目の検査方法(平成15年10月10日付健水発第1010001号)(最終改正 平成28年3月30日) 厚生労働省健康局水道課
- Direct injection-LC-MS/MS(ESI)を用いた水質GC/MS対象農薬類の検討(第24回環境化学討論会、会田 祐司、ポスター発表)