

トリプル四重極 GC/MS/MS による 残留農薬スクリーニング MRM Screening



＜要旨＞ 選択性に優れるトリプル四重極のMRMと農薬サロゲート物質を内標とした半定量メソッドを確立しました。抽出→精製した検液にサロゲート物質と擬似マトリックスを添加するだけで半定量をすることができるメソッドです。実際の農産物および果実抽出液に適用したところ、90%以上の農薬で添加濃度の50-200%の間で半定量値が算出されました。

Key Words: トリプル四重極 GC/MS、残留農薬スクリーニング、MRM Screening、半定量、農薬サロゲート物質

1. はじめに

ポジティブリスト制度の施行以降、基準値の設定のない農薬についても一律基準値(0.01ppm)が適用されるようになりました。しかしながら何百もの農薬の標準品をそろえ分析するには莫大なコストと時間がかかります。そこで、選択性および感度に優れたGC/MS/MSを用い、農薬のサロゲート物質を内部標準物質(内標)として半定量するスクリーニングメソッドを開発しました。

本アプリケーションノートではスクリーニングメソッドの使用法と、実試料を用いた妥当性の確認を行った結果を紹介いたします。

2. 測定条件

装置: Agilent 7890B GC/7000C トリプル四重極 MS

(Extractor lens: 6mm)

7693 オートサンブラ

カラム : VF-5ms 30m, 0.25mm, 0.25μm
注入口 : S/SL (Ultra Inert Splitless w/wool, P/N 5190-2293 使用)
注入量 : 2μl
注入法 : パルスドスプリットレス (25psi, 1min)
ページ流量 : 50ml/min
注入口温度 : 250℃
オープン : 70℃ (2min) → 25℃/min → 150℃ (0min) → 3℃/min → 200℃ (0min) → 8℃/min → 310℃ (5min)
カラム流量 : 1.1ml/min (定流量モード、リテンションタイムロッキング使用、クロロピリホスメチル = 17.469min)
コリジョンガス : 窒素 1.5ml/min
クエンチガス : ヘリウム 2.25ml/min
インターフェース温度 : 280℃
イオン源温度 : 280℃

チューニング : オートチューン (ゲイン係数 10)

MRM 条件 : 農薬データベースに従う

3. 対象農薬および使用サロゲート物質

スクリーニング対象農薬は、市販の混合溶液(林純薬工業、和光純薬工業、関東化学)に含まれる農薬としました。また、内標として使用するサロゲート物質は、林純薬工業製の農薬サロゲート混合溶液 I, II および和光純薬製のフェナントレン-*d*₁₀ を用いました。リテンションタイム、官能基、極性(Log *P*_{ow})、マトリックス効果の程度を考慮して、それぞれの農薬に対してサロゲート物質の振り分けを行いました。さらに半定量とはいえ、できるだけ精確さの高い定量値が得られるよう、マトリックス効果対策として、擬似マトリックス(PEG 300)を併用しました。検量線は5~200ppbの6点で作成しました。いくつかの農薬(キャプタン、ジコホールなど)では注入口で熱分解することが知られておりますが、これらの農薬の分解物についてもモニターできるメソッドを構築しました。

4. MRM の選択性

MRM 分析は同じ質量を持つイオンでも、コリジョンセル内で衝突誘起解離(CID)を起こすことで、異なる質量のプロダクトイオンが生成するため、SIM 分析と比較して、選択性が向上します。そのため、ターゲット化合物に特徴的なプロダクトイオンを選択することで、選択性が向上します。Fig. 1 に MS/MS の概念図を、Fig. 2 にしょうが中にアトラジンが10ppb になるように添加したときの比較のためのSIM とMRM のクロマトグラムを示しました。



Agilent Technologies

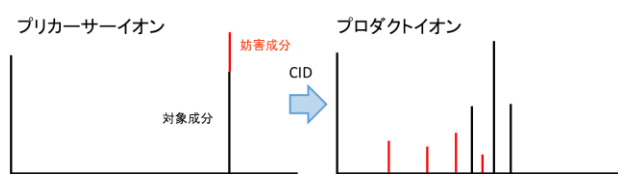


Fig.1 MS/MS の概念図

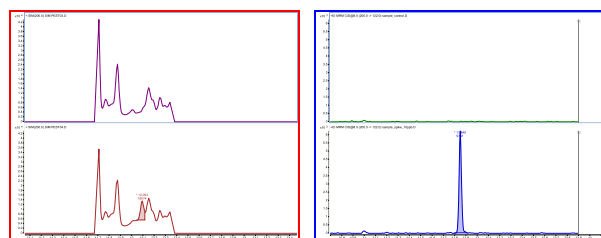


Fig.2 しょうが中のアトラジンの分析例
左：SIM, 右：MRM,
上段：ブランクサンプル, 下段：添加(10ppb)サンプル

5. スクリーニングメソッドの使用法

サンプルを抽出および精製した検液にサロゲート混合溶液と PEG 300 を添加します。添加した検液をリテンションタイムロッキング (RTL) をかけた装置で測定し、あらかじめ検量線の登録された定量メソッドを用いて半定量を行います。指定されたレポートテンプレートをを用いれば、半定量値に加え、10ppb 以上検出した場合は判定結果も表示されます。

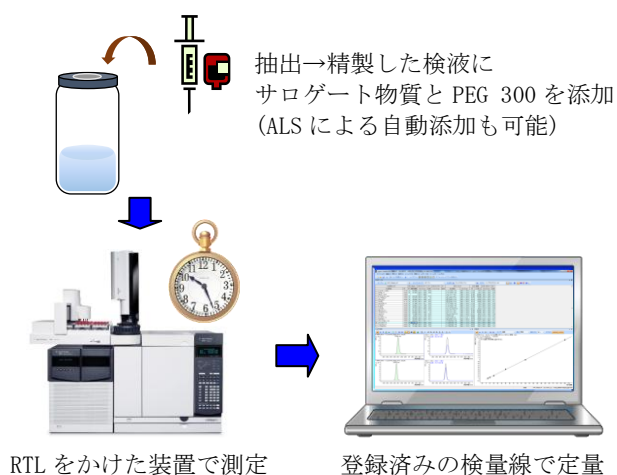


Fig.3 スクリーニングメソッド使用法

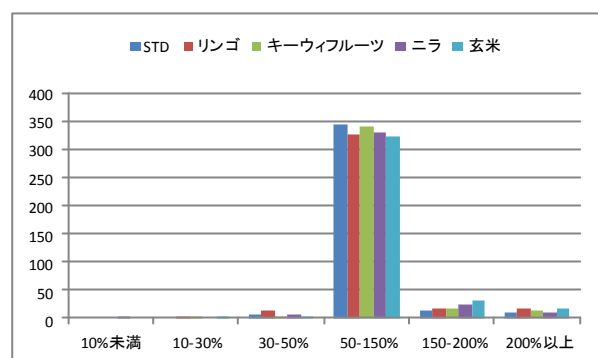
7693 オートサンプラではオプション機能を使うことにより、サロゲート混合溶液や PEG300 の自動添加・攪拌を行うことができます。(タワー2 本使用)



6. 結果

異なる農産物・果実から抽出および精製した検液に対し、農薬を 20-80ppb 添加した試料で半定量を行った結果、90%以上の農薬でおよそ 50~200%の値となる定量結果が得られました。この際、異なる試薬メーカーで異性体比の異なる農薬や熱分解する農薬は除き、添加濃度が既知の農薬を対象として、その妥当性を確認しました。さらに装置間差を見るために複数台の装置を使い検証を行いました。いずれの装置においても、一部の溶出の遅い農薬で（フルシラゾール、プロピコナゾール、キノキフェン、ヘキサジノン、ビフェントリン、ホスメット等）高めの半定量値になったものの、90%以上の農薬で添加濃度に対して 50~200%となり、実用的に使用できるメソッドであることが確認できました。Fig.4 にマトリックスの異なる種々の試料における検証結果を示しました。

装置 A



装置 B

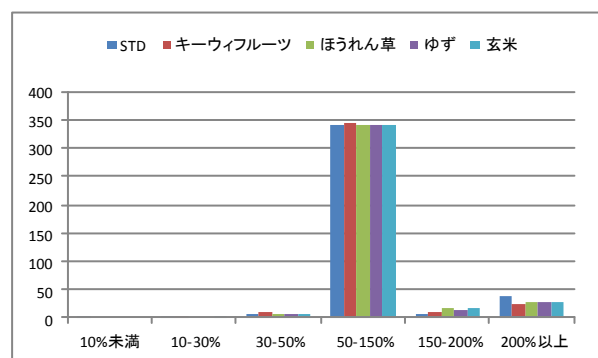


Fig.4 マトリックスの異なる種々の試料による検証結果
縦軸：農薬数
横軸：半定量値の真度の目安 (%) = (半定量値/実際の添加濃度) × 100

【GC-MS-201402SG-002】

アジレントは、本文書に誤りが発見された場合、また、本文書の使用により付随的または間接的に生じる障害について一切免責とさせていただきます。また、本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更することがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社

〒192-8510 東京都八王子市高倉町 9-1

www.agilent.com/chem/jp



Agilent Technologies