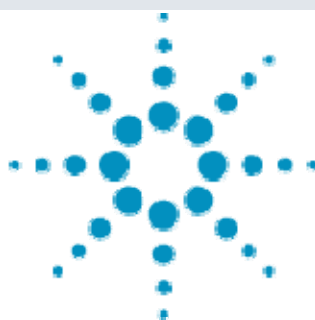




Agilent 6410 によるエマメクチンおよび その代謝物の高感度分析の紹介



要旨> エマメクチン (B1a, Bb) 及びその代謝物であるエマメクチンアミノ体 (B1a, B1b)、エマメクチンホルミルアミノ体 (B1a, B1b)、エマメクチンN-メチルホルミルアミノ体及び 8,9-Z-エマメクチン (B1a, B1b) の LC-MS/MS 法による一斉分析法を検討しました。その結果、イオン源に ESI、移動相にギ酸及びギ酸アンモニウムを使用することで良好な結果が得られ、1ng/mL 以下の測定が可能でした。また、作物抽出液中で妨害ピークは検出されず、顕著なイオン化抑制もなく良好な結果が得られました。

Key Words: エマメクチン、エマメクチン代謝物、LC-MS/MS、MRM

1. はじめに

エマメクチン安息香酸塩は対象の害虫が抵抗性を獲得することが低いことから広く使用されている殺虫剤です。厚生労働省による試験法は蛍光検出器を用いた定量分析と LC/MS を用いた確認試験法が指定されています。通常、エマメクチン安息香酸塩の基準値は、エマメクチン及びその代謝物を全てエマメクチン安息香酸塩に換算した総和であり、農産物では 0.1~0.5ppm、食肉では 0.0005~0.01ppm と指定されています。そこで今回、LC-MS/MS を用いたエマメクチン及びその代謝物の一斉分析法について検討したので報告します。

2. 装置及び測定条件

分析条件は表.1 に示しましたが、移動相にはアセトニトリル及び 0.1%ギ酸+10mM ギ酸アンモニウムを用いました。農作物の前処理は厚生労働省試験法に準じて行いました。イオン化抑制の有無を確認するため 10ng/g 相等のエマメクチン及び代謝物混合溶液を添加した農作物抽出液を使用しました。MS はイオン源に ESI を使用し正イオンモードで測定を行いました。エマメクチン及び代謝物の MRM 条件は表.2 に示しました。

表.1 エマメクチン及び代謝物の分析条件

LC	: 1200LC
Column	: ZORBAX Extend C18(100mm, 2.1mm, 1.8µm)
Mobile phase	: A: ACN, B: 0.1% HCOOH +10mM MHCOONH_4 60%A/40%B---(10min)---100%A
Column temp	: 40°C
Sample volume	: 10 µL
Flow rate	: 0.2mL/min
MS	: Agilent 6410 LC-MS
Ionization	: ESI (positive)
Collision energy	: 10V
MRM transition	: see another slide
Drying gas	: 10L/min at 250°C
Nebulizer gas	: 345kPa
Fragmentor	: 100V

表.2 エマメクチン及び代謝物の MRM 条件

No	Name	MW	Precursor	Target	Qualifier	CE1	CE2	R.time	TS
1	A-emamectin B1b	859.6	858.6	144.0	112.0	30	35	4.61	1
2	Emamectin B1b	871.6	872.6	158.0	82.0	35	40	4.86	1
3	A-emamectin B1a	871.6	872.6	144.0	112.0	30	35	5.14	1
4	Emamectin B1a	887.6	886.6	158.0	82.0	35	40	5.41	1
5	8,9-Z-emamectin B1b	871.6	872.6	144.0	112.0	35	35	5.65	1
6	8,9-Z-emamectin B1a	887.6	886.6	158.0	112.0	35	35	5.89	1
7	FA-emamectin B1b	886.6	886.6	172.0	140.0	10	20	9.97	2
8	FA-emamectin B1a	899.6	900.6	172.0	140.0	10	20	10.97	2
9	NMFA-emamectin B1b	899.6	900.6	186.0	154.0	20	15	11.63	2
10	NMFA-emamectin B1a	913.6	914.6	186.0	154.0	20	20	12.66	2

3. 結果

標準品 はじめに、エマメクチン及び代謝物の標準混合溶液を用いて Q3scan モードで測定を行い、その結果からプリカーサーイオンにプロトン化分子を選択したプロダクトイオン scan による MS/MS スペクトルの測定を行いました。結果は図.1 に示した通り強度の強い特徴的なプロダクトイオンが観察されました。従って、これらイオンを表.2 の通り MRM モードでのプロダクトイオンに選択しました。

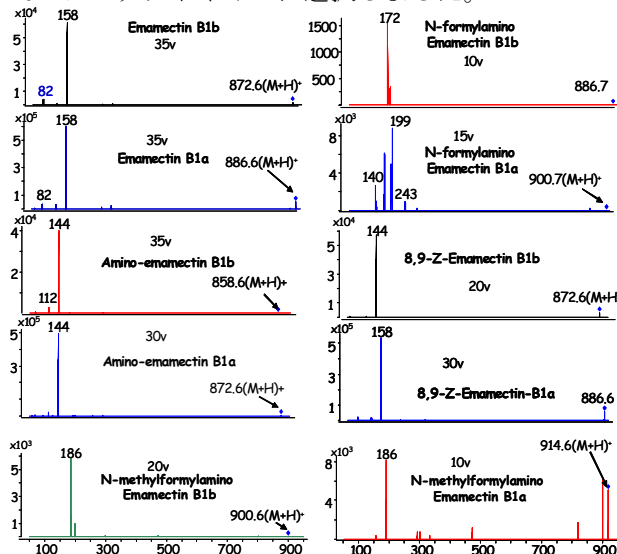


図.1 エマメクチン、エマメクチン代謝物の質量スペクトル



Agilent Technologies

図.2にはMRMモードでの各化合物のMRMクロマトグラムを示しましたが、エマメクチン B1aのアミノ体と 8,9- α -エマメクチン B1b、エマメクチン B1a と 8,9- α -エマメクチン B1a はプリカーサーイオンとプロダクトイオンが同一であることから、MS/MS での識別ができません。従ってLCで分離させる必要がありますが、図.2の通り分離は可能でした。その他プリカーサーイオンが同一の化合物に関してはプロダクトイオンの選択する際、各化合物のプロダクトイオンが共通しないイオンを選択しました。その結果、エマメクチン及び代謝物は個別に測定することが可能でした。

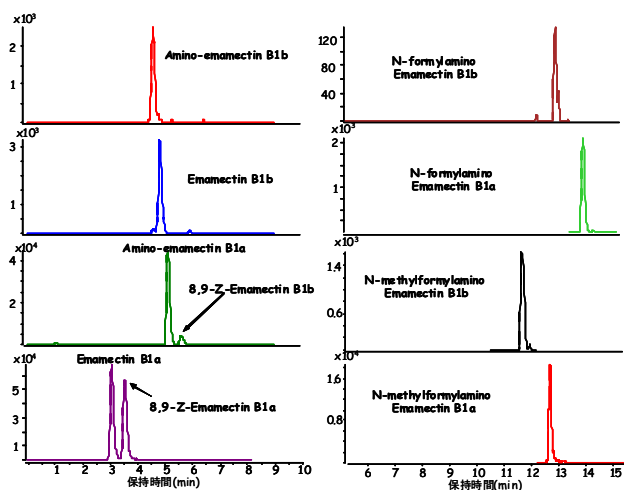


図.2 エマメクチン及び代謝物の MRM クロマトグラム

直線性に関しては、図.3に各化合物の検量線を示しましたが、決定係数は全て 0.999 以上と良好でした。

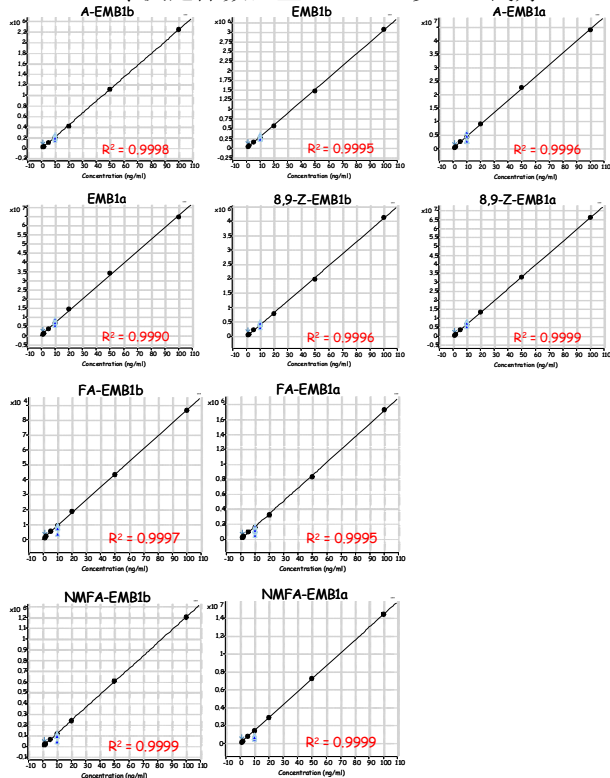


図.3 エマメクチン及び代謝物の検量線

農作物抽出液 厚生労働省の試験法に準じて抽出した農作物中に標準溶液を添加した試料を用いて測定を行いました。図.4には標準液添加キャベツ、オレンジ、パレイショ及びりんご抽出液の積算MRMクロマトグラムを示しましたが、目的化合物の検出を妨害するピークは全く観察されませんでした。

また、表.2には各化合物の標準液に対する相対強度を示しましたが、ホウレン草抽出液中の一部の代謝物で相対強度が 50%以下でしたが、その他作物中では良好な結果でした。

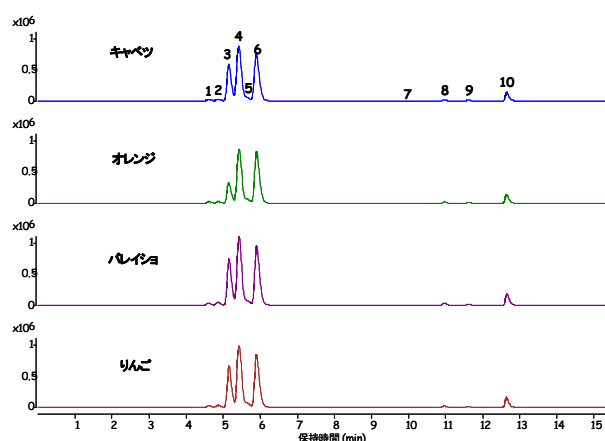


図.4 各作物抽出液中エマメクチン及び代謝物の積算 MRM クロマトグラム(添加量:10ng/g)

表.3 各作物抽出液中エマメクチン及び代謝物の定量値 (ng/g)

作物	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
キャベツ	10.8	11.1	11.0	10.8	10.7	10.7	8.4	6.1	7.7	4.9
オレンジ	9.6	8.9	6.2	10.5	11.9	11.6	7.8	7.3	7.9	4.7
パレイショ	12.3	13.0	11.9	12.8	12.5	12.9	10.5	10.7	9.9	6.4
りんご	11.7	11.5	12.3	11.8	12.0	12.8	10.0	8.1	7.7	5.4

4. まとめ

今回、LC-MS/MS 法を用いたエマメクチン及びその代謝物の一斉分析法を紹介しましたが、MRM 法を使用することで、マイナー成分である B1b 体も含めて全化合物の分析が可能であり、検出限界は 1ng/mL 以下でした。また作物中での測定においても妨害成分の影響や顕著なイオン化抑制も観察されず良好な結果でした。

【LCMS-200807TK-001】

本資料に記載の情報、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