

アジレント農薬分析メソッドにおけるガスクロマトグラフ/ トリプル四重極 GC/MS (GC/QQQ) の利点

Philip L. Wylie, Chin-Kai Meng (Agilent Technologies Inc., Wilmington, Delaware, USA)

残留農薬分析は複雑な作業です。多くの場合、分析者は多種多様なマトリックスの中から数百種の化合物を突き止めなければなりません。多くの農薬では 10 µg/kg (10 ppb) 以下の検出限界が要求されるため、精度の高い分析ツールが必要とされます。食品、土壌、水などのマトリックスがきわめて複雑な場合に、過度なサンプルクリーンアップを行うと分析対象物自体を洗い流してしまう危険性もあります。

ガスクロマトグラフィ (GC) で分析可能な農薬に関しては、多くのラボが 2 つの相補的な方法 (スクリーニング分析と確認分析) を行っています。10~100 ppb レベルのブロードスクリーニング (包括的スクリーニング) については、アジレントのデコンポリューションレポートティングソフトウェア (DRS) と RTL 農薬/内分泌かく乱物質ライブラリを併用するという形で GC/シングル四重極 (GC/Q) が採用されています¹。この RTL メソッドは、1 回の GC/MS 分析で分析可能な 927 種類の農薬/内分泌かく乱物質を一斉スクリーニングするスキャンメソッドです。大部分の農薬の検出限界は、マトリックスや注入量によって異なりますが、ほぼ 10~100 ppb の範囲になります。きわめて複雑なマトリックスでのターゲット農薬分析については、アジレントの新しい 7890A/7000A トリプル四重極 GC/MS (GC/QQQ) システムが優れた能力を発揮します。ここでは、ほかの方法では検出不能な微量農薬を対象としたアジレントの GC/QQQ の検出能力について解説します。

ています。この石英製の一体型四重極がきわめて安定、かつ堅牢なものであることは、すでに 5973 および 5975 シリーズの MSD システムで実証されています。この四重極は最高 200 °C まで加熱できるため、クリーニングはほとんど不要になっています。コリジョンセルは、Agilent 6460 トリプル四重極 LC/MS (LC/QQQ) で使用されているヘキサポール (六重極) を短くしたものです。アジレントの革新的なコリジョンセルクエンチングという手法は、バックグラウンドノイズを大幅に低減し、機器の S/N 比が向上させます。さらに 7000A は 7890A GC に完全に統合されているため、カラムバックフラッシュなどのキャピラリー・フロー・テクノロジーが利用できるようなもになっています²。制御ソフトウェアは、アジレントの GC/MS ChemStation で使いやすい機器コントロール部と、アジレントの LC/TOF、LC/Q-TOF、LC/QQQ の各機器で現在装備されている高機能な MassHunter データ解析パッケージを組み合わせたものです。

実験手法

GC:	Agilent 7890A
MS:	Agilent 7000A (EIモード)
注入口:	スプリット/スプリットレス @ 250 °C
キャピラリーフローデバイス:	2 ウェイスプリッタ (入口側には分析カラムを、出口側には QQQ へのリストリクタをつなげ、もう 1 つのポートはキャップド)。 3 psi のヘリウム圧力を Aux EPC から供給
カラム:	Agilent J&W HP-5ms ウルトライナート 15 m × 0.25 mm × 0.25 µm HP-5MSUI (P/N 19091S-431UI)
リテンションギャップ:	2 m × 0.25 mm の不活性フューズドシリカ
リストリクタ:	80 cm × 0.150 mm の不活性フューズドシリカ
キャリアガス:	ヘリウム @ 17.720 psi (定圧モード)
オープン温度:	70 °C (1 分) - 50 °C/min - 150 °C (0 分) - 6 °C/min - 200 °C (0 分) - 16 °C/min - 280 °C (5 分)
バックフラッシュ条件:	時間 = 3 分、注入口圧力 = 1 psi、 Aux EPC = 80 psi、オープン温度 = 280 °C
リテンションタイム:	クロルピリホスメチルを 8.298 分に
ロッキング (RTL)	ロック
コリジョンセル:	N ₂ ガス @ 2.60 psi、He ガス @ 6.25 psi

結果と考察

GC/QQQ によるイオンランジションのモニタリングは、GC/Q によるスキャンまたは選択イオンモニタリング (SIM) よりもはるかに高い選択性を備えています。きれいなサンプルをスキャンモードで分析する場合には、Agilent 7000A と 5975C MSD の感度の差はほとんどありません。汚れた抽出物中の含有農薬を分析する場合、QQQ のマルチプルリアクションモニタリング (MRM) モードは検出限界を大幅に引き下げ、非常に高い感度を示します。前述のとおり^{1,2}、DRS は、マトリックスバックグラウンドから「クリーンな」スペクトルを引き出すためにフルスキャンデコンポリューションを使用しています。これは数多くの分析物に対してきわめて便利で有効な方法ですが、低濃度化につれ、マトリックスの干渉によってデコンポリューションの効果は覆い隠されてしまいます。SIM のメソッドを使用すれば、感度を高めることはできま

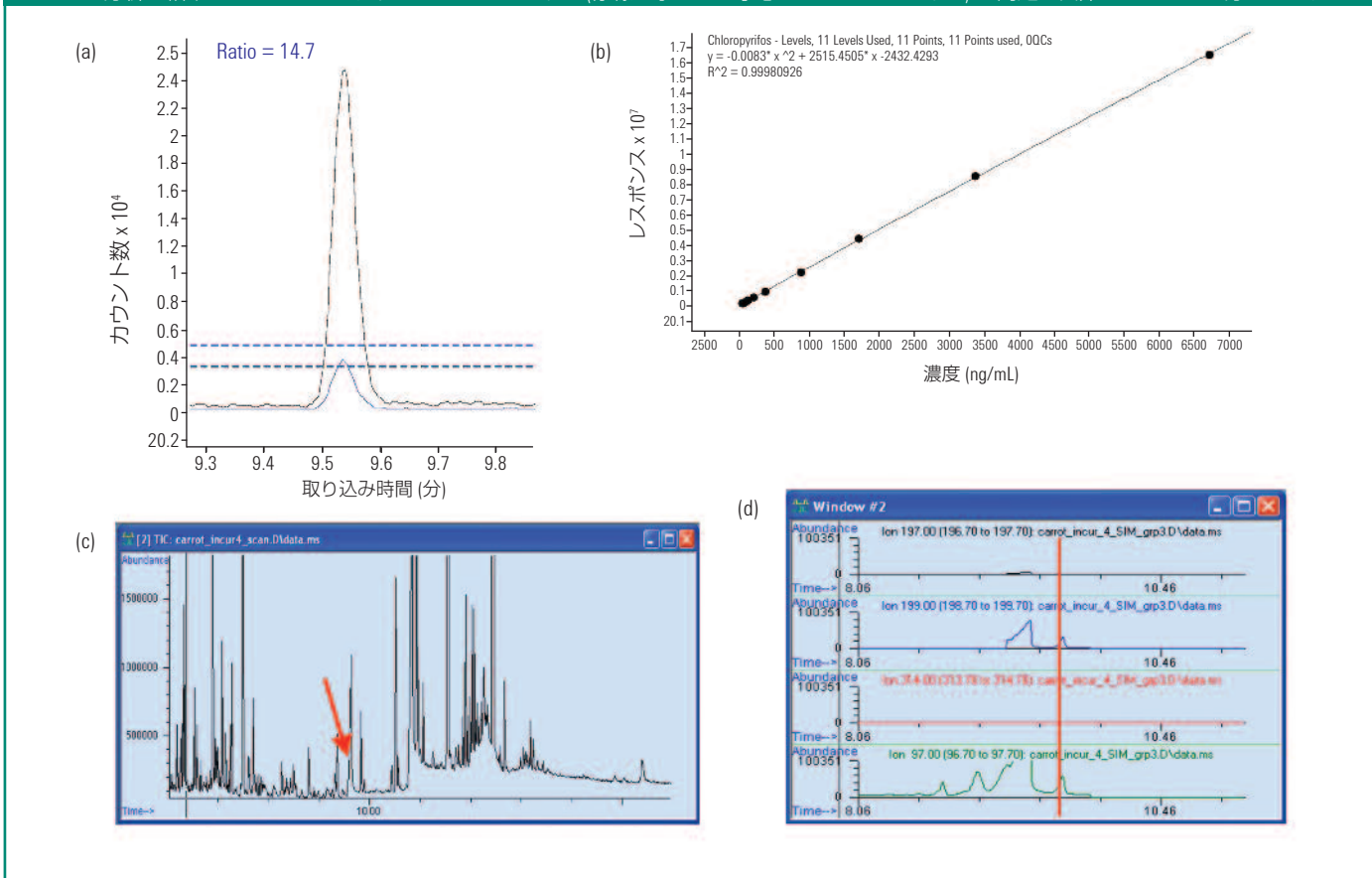
図 1. Agilent 7890A/7000A トリプル四重極 GC/MS システム



機器のデザイン

Agilent 7000A のデザインは、堅牢で信頼性の高い 5975C シングル四重極 MSD を基にしています (図 1)。このシステムは、5975C で新たに導入された高感度トリプルアクシスディテクタ (TAD) と同じ高温不活性イオン源を使用しています。石英製の一体型メッキ双曲面四重極も 2 つ使用し

図2: (a) 2つのトランジションを見ると、ニンジン抽出物のクロルピリホス含有濃度 (28 ppb) が確認できます。(b) ニンジン抽出物に含まれるクロルピリホスに関する 3.33 ppb から 6670 ppb までの検量線。(c) クロルピリホスの溶出位置を示しているニンジン抽出物の GC/Q TIC。(d) ニンジンサンプルの SIM 分析の結果から、このメソッドではクロルピリホス (赤線で示される予想リテンションタイム) の同定が困難であることが分かります。

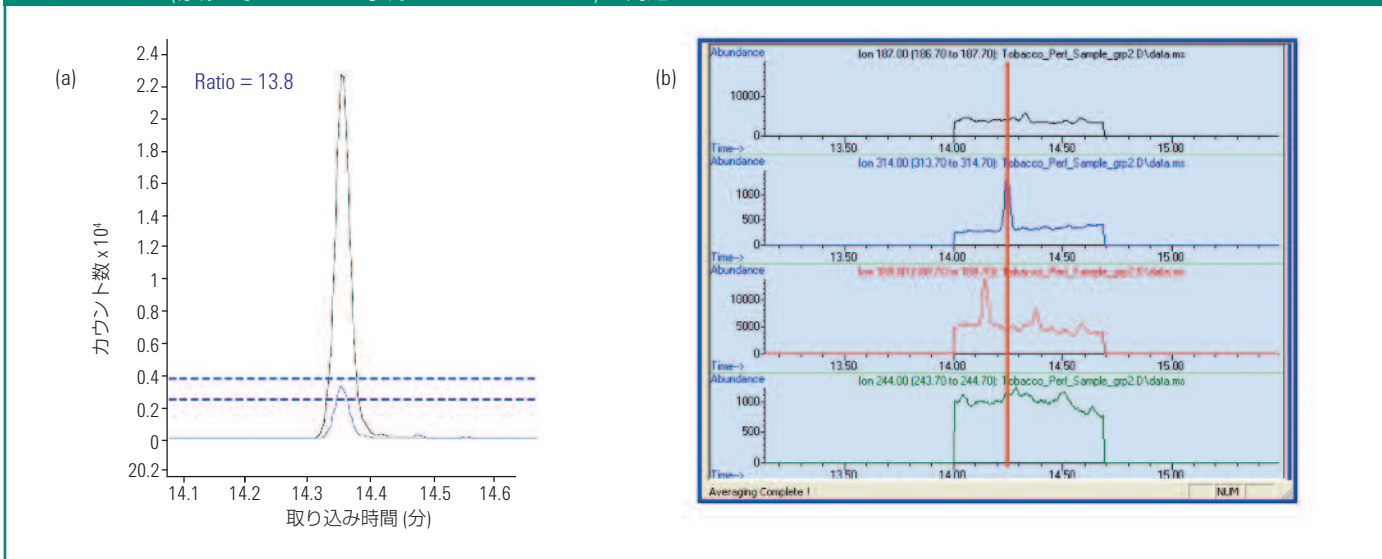


すが、食品や環境抽出物で頻繁に見られるマトリックスの干渉は解消されません。

MRM モードでは、1 番目の四重極 (Q1) から化合物あたり 1~2 個のイオンを選び、そのイオンを加速してヘキサポールコリジョンセルへ導入します。この高エネルギーイオンは中性ガスと衝突して砕け、分

子量の小さな特徴的なフラグメントになります。この衝突誘起解離 (CID) によって生じたフラグメントイオンを 3 番目の四重極 (Q3) でモニタリングします。一般的に、2つのプリカーサ/プロダクトトランジションの比率が正しいアバンドンス比になっていれば、化合物が正しく同定されていると判断します。

図 3: (a) トランジションを見ると、タバコ抽出物のイブロジオン含有濃度 (44 ppb) が確認できます。(b) GC/Q SIM 分析では、タバコ抽出物に含まれるイブロジオン (赤線で示されている予測リテンションタイム) を同定できません。



分析方法を比較するため、スパイクしていないニンジン抽出物を用いて、GC/Q (7890A/5975C) と GC/QQQ (7890A/7000A) でそれぞれのメソッドにより、約 170 種の対象農薬を分析しました。図 2 (a) に示したとおり、GC/QQQ では、28 ppb のクロルピリホスが簡単に発見できます。ニンジンのマトリックスに含まれるクロルピリホスの検量線は、3.33 ppb ~ 6670 ppb の範囲内で良好な一致を示しています [図 2(b)]。図 2 (c) は、クロルピリホスのリテンションタイムを矢印で示したニンジン抽出物 (GC/Q) のトータルイオンクロマトグラム (TIC) です。クロルピリホスのピークが、はるかに大きなヘキサデカン酸エチルのピークに埋もれてしまうため、SIM 分析ではクロルピリホスを同定が困難です [図 2(d)]。GC/QQQ では、クロルピリホスの他に 6 種類の DDT 異性体と分解生成物が 5 ~ 180 ppb の濃度で存在し、8 種類の他の農薬が 0.2 ~ 21 ppb の濃度で含有されていることも見つけました。アジレントの DRS メソッドによる分析で同定できたのは、p,p'-DDT と p,p'-DDE のみです。

スパイクを添加したタバコ抽出物を同じ GC/QQQ メソッドで分析し、35 ~ 250 ppb の濃度範囲にある農薬をいくつか同定しました。そのうちの 1 つがイプロジオンで、44 ppb の濃度であることが分かります [図 3(a)]。GC/Q の SIM 分析結果 [図 3(b)] からは、バックグラウンドノイズが多すぎてイプロジオンを同定できません。

この作業の過程では、4.5:1 の比率 (最終抽出物 1 mL に対して野菜 4.5 g という比率) に濃縮した注入サンプルを数十検体作成しました。これらのサンプルを用いた実験では、クロマトグラフィック性能を維持してイオン源の汚染を防ぐためにはバックフラッシュが必要なことが分かります⁴。この例では、アジレントのキャピラリーフローデバイスのひとつであるパージド 2 ウェイスプリッタに分析カラムを接続しました。スプリッタからの QQQ トランスファーラインへの接続には短いストリクタを取り付け、残りの 1 つのポートはキャップドします。最後の農薬が溶出した後に、注入口とスプリッタの圧力をそれぞれ 1 psi と 80 psi に設定します。これにより、分析終了後のポストラン 3 分間は分析カラムのフローが逆向きとなり、残りの高沸点物質すべてがカラムのヘッドからバックフラッシュされスプリットベントから排出されます。

結論

複雑な食品や環境抽出物に含まれる低 ppb レベル、またはそれ以下の濃度の農薬分析するラボでは、新しいアジレント 7000A トリプル四重極 GC/MS の優れた選択性と高い感度が役立ちます。この 7000A は、実績ある 5975C シングル四重極 MSD で使われている石英製金メッキ双曲面四重極、イオン源、およびトリプルアクシスディテクタを使用しており、堅牢で信頼性と感度に優れています。ヘキサポールコリジョンセルは、Agilent 6460 トリプル四重極 LC/MS をベースにしています。最大 500 MRM/sec の感度により、1 回の注入で数百種の農薬を分析するメソッドの開発が可能です。

謝辞

数多くの標準サンプルや食品抽出物をご提供いただきましたアメリカ食品医薬品局 USFDA (メリーランド州カレッジパーク、USA) の Jon Wong 博士に感謝申し上げます。

参考文献

1. M. Mezcuca et al., "Simultaneous screening and target analytical approach by GC-q-MS for pesticide residues in fruits and vegetables," Submitted to J. AOAC Int.
2. Chin-Kai Meng and Mike Szelewski, 「フルスキャン GC/MS による農薬スクリーニング分析における生産性の向上」 Agilent Application Note 5989-7670.JAJP.
3. Philip L. Wylie, 「926 種類の農薬物質と外因性内分泌攪乱物質のスクリーニング-デコンボリューションレポート作成ソフトウェアと新農薬物質ライブラリによる GC/MS 分析」 Agilent Application Note 5989-5076.JAJP.
4. Chin-Kai Meng, 「バックフラッシュによる生産性の向上とカラム寿命の延長」 Agilent Application Note 5989-6018.JAJP.



Agilent Technologies

アジレント・テクノロジー株式会社
ホームページ: www.agilent.com/chem/jp