



データベース(926 化合物)を用いる 河川水中農薬等のスターバー抽出 GC/MS スクリーニング分析



＜要旨＞ Twister を用いるスターバー抽出は、固相抽出法に比較して非常に簡便な前処理法です。しかしながら、液相に使用するポリジメチルシロキサン (PDMS) の特性から logK_{o/w} (オクタノール/水分配係数の常用対数値) の小さい化合物には回収率が低いことが予想できますが、塩析によりこの問題を大幅に解決しました。また、SIM/Scan 同時取り込みモードを用いることで、水質規制農薬 70 成分の定量 (SIM) と同時にデコンボリューションレポーティングソフトウェア (DRS) による 926 化合物のスクリーニング (SIM/Scan) が可能になりました。

Key Words: 水質分析、農薬、DRS、スクリーニング、データベース、Twister、スターバー抽出 (SBSE)、塩析、SIM/Scan 同時取り込み、GC/MS

* * * * *

1. はじめに

水質基準に関する検査方法では、農薬類は検水 500ml を固相抽出 (スチレンジビニルベンゼン) で 500 倍濃縮をし、一定量を GC/MS あるいは LC/MS に注入し定量を行います。一方、スターバー抽出 (Stir Bar Sorptive Extraction, SBSE) はポリジメチルシロキサン (PDMS) を攪拌子にコーティングしたものを抽出に用います。SBSE は、抽出のメカニズムは固相マイクロ抽出 (SPME) と同じですが、PDMS 液相量が多く高回収率が期待できます。

デコンボリューションレポーティングソフトウェア (DRS) は、夾雑物の影響のない質量スペクトルを取り出すことができ、926 化合物のデータベースとの照合により対象農薬等の存在を自動で判断できます。そのため、夾雑物が存在する河川水試料中の微量な農薬等の分析には威力を発揮し、大幅なデータ解析時間の短縮が期待できます。

本アプリケーションノートでは、河川水からスターバー抽出を用いて農薬等の抽出を行い、加熱脱着 GC/MS により測定後、DRS によるスクリーニングの有用性について検討を行いました。

2. デコンボリューションレポーティングソフトウェア (DRS)

アジレントの GC 及び GC/MS はリテンションタイムロッキング (RTL) 機能を備えています。RTL ソフトウェアを使用することで、同一のメソッドと同一の品番の GC カラムを用いる限りは、世界中のあらゆるラボでの Agilent GC や GC/MS で、分析間のリテンションタイムを再現することができます。どのラボでも別のラボでのリテンションタイムを再現できるため、ロックされたリテンションタイムを収録したマ

ススペクトルライブラリを作成することができます。そのため、スペクトルが一致することに加えて、リテンションタイムも正確に一致することを必須とすることで、数多くの疑陽性が排除され、より確実な化合物同定が可能になります。さらに、複雑な GC/MS データの解析には、デコンボリューションレポーティングソフトウェア (DRS) が有効です。これは、従来のライブラリ検索と定量ソフトウェアに、マスマススペクトルデコンボリューションソフトウェアを組み込んだもので、次の 3 種類の機能・情報が統合されます (以下参照)。

- 1) Agilent 定量ソフトウェア (ChemStation)
- 2) NIST マスマススペクトルデコンボリューションと同定の自動化システム (AMDIS)
- 3) NIST マスマススペクトル検索プログラム (NIST MS ライブラリ付) (NIST Search)

MSD Deconvolution Report
Sample Name: strawberry
Data File: C:\msdchem\1\DATA\112106.sim.scan-T10\strawberry_SIM.scan_T10.D
Date/Time: 01:47 PM Wednesday, Jan 24 2007

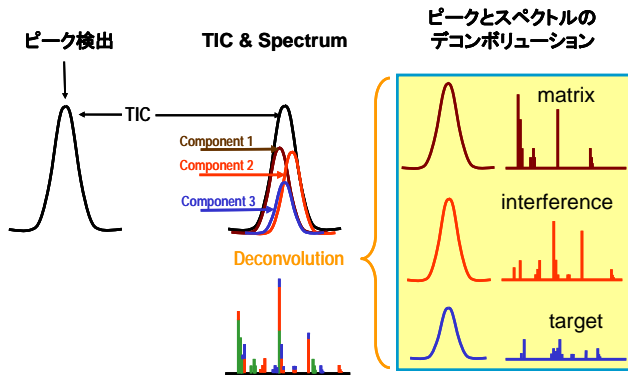
The NIST library was searched for the components that were found in the AMDIS target library.

R.T.	Cas #	Compound Name	Agilent ChemStation Amount (ng)	AMDIS Match	R.T. Diff sec.	NIST Reverse Match	Hit Num.
18.3490	84742	Di-n-butylphthalate		91	-4.0		
18.3490	0000	Phthalic acid, butyl cyclobutyl ester				92	1
19.0589	55389	Fenthion		91	-3.7	85	2
23.5824	22224926	Phenamiphos		71	-0.3	63	2

NIST の AMDIS を用いることにより、次図のように重なり合ったマスマススペクトルを解きほぐし、単一成分のマスマススペクトルを再構築することができます。そのため、複雑な夾雑物中から微量農薬の純粋なマスマ



スペクトルを単離することが可能になります。



926 種類の農薬及び環境ホルモンについてのデータベースは、最新のものを含む GC で検出可能なほぼすべての農薬が収録されています。そのデータベースには、マススペクトル及び RTL によりロックされたリテンションタイムが含まれます。

3. 実験方法

スターバーは Gerstel 社 Twister (PDMS 0.5mm, 10mm) を用いました。10ml バイアルに試料 10ml、塩化ナトリウム 3g を入れ、Twister で室温、1000rpm により 1 時間抽出を行いました。その後、Gerstel 社 TDU あるいは TDS (加熱脱着)、Agilent 社 6890/5975 (GC/MS) により測定を行いました。加熱脱着により Twister に抽出した農薬等をすべて GC/MS に導入しました。MS の測定は、SIM/Scan 同時取り込みモードを用い、Scan データ及び SIM データ (水質規制農薬 70 成分を設定、誘導体化なし GC/MS 対象) を 1 回の測定で採取しました。測定条件は、以下に示しました。また、Table 1 にリテンションタイム (RT)、ターゲットイオン (T)、クオリファイアイオン (Q1、Q2、Q3) を示しました。

装置: Gerstel MPS2-TDU or TDS3-Agilent 6890 GC/5975 inert MSD
カラム: HP-5MSi 30m, 0.25mm, 0.25 μ m
TDU or TDS3 温度: 20 $^{\circ}$ C (0.5min)-60 $^{\circ}$ C/min-300 $^{\circ}$ C (5min)
CIS 温度: -100 $^{\circ}$ C (0.5min)-12 $^{\circ}$ C/s-300 $^{\circ}$ C (10min)
脱着流量: 50ml/min (ヘリウム)
注入モード: ソルベントバント (スプリットレス時間: 3min)
オープン: 70 $^{\circ}$ C (2min)-25 $^{\circ}$ C/min-150 $^{\circ}$ C (0min)-3 $^{\circ}$ C/min-200 $^{\circ}$ C (0min)-8 $^{\circ}$ C/min-280 $^{\circ}$ C (10min)-10 $^{\circ}$ C/min-300 $^{\circ}$ C (5min)
カラム流量: 1.7ml/min at 15.69psi (定圧力モード、リテンションタイムロッキング使用、chlorpyrifos methyl = 16.593min)
インターフェース温度: 280 $^{\circ}$ C
イオン源温度: 230 $^{\circ}$ C
チューニング: オートチューン
SIM/Scan 同時取り込み: スキャンレンジ, m/z 35-550 (サンプリングレート 2 2) ; SIM 用のイオン, 各農薬 ターゲットイオン及びクオリファイアイオン 3 つ (ドゥエルタイムは通常値の約半分)

4. 結果及び考察

水質規制農薬 70 成分を用い、スターバー抽出の最適化を行いました。絶対回収率が 10% 以下の農薬が 10 成分ありましたが、塩析 (30% 塩化ナトリウム) により回収率が向上し 10% 以下の農薬は 3 成分となりました。Fig. 1 に、塩析なしと塩析 30% の回収率の比較を示しました。

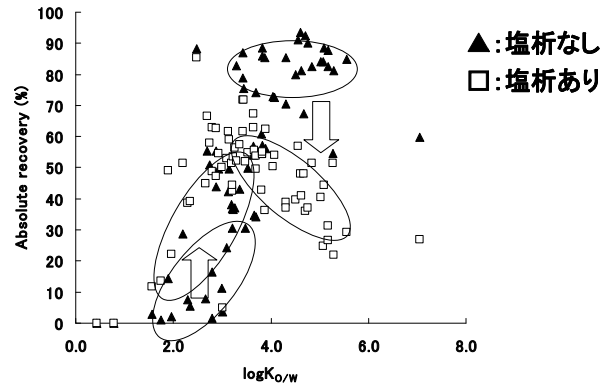


Fig. 1 塩析なしと塩析 30% の回収率の比較

logKo/w 3.5 以下の農薬については、回収率の向上が確認でき、3.5 以上の農薬では逆に回収率の低下がありました。しかしながら、3.5 以上の農薬については、それでも感度的な余裕があるため、この条件で抽出を行いました。

検量線の直線性は標準水溶液濃度 5 から 1000ng/l において、 r^2 で 0.9733~1.0000 でした (SIM 測定)。河川水からの回収率は添加濃度 10ng/l で 57.3~144.9% (RSD=2.6~31.3%) (trichlorfon, dimethoate, methyl dymron, amino-chlornitrofen は除く)、100ng/l で 61.1~134.5% (RSD=2.1~36.8%) (trichlorfon, dimethoate は除く) でした (SIM 測定)。水質基準の各農薬の目標値を考慮すると、農薬 70 成分のうち trichlorfon, dimethoate, methyl dymron, amino-chlornitrofen の 4 成分を除けば、スターバー抽出-加熱脱着 GC/MS は目標値の 1/100 の測定が可能であり、直線性、再現性、回収率とも良好でした (SIM 測定)。

この最適化した条件により、河川水に対して 926 化合物のデータベースを用いるスクリーニング分析を検討しました。農薬 70 成分のうち、データベースに登録がない pencycuron, ethyl thiometon 及び amino-chlornitrofen は、今回は検討から除きました (データベースに登録することは可能)。また、回収率の低い 4 成分 (trichlorfon, dimethoate, methyl dymron, amino-chlornitrofen) も検討から除き、農薬 70 成分中 64 成分について DRS の有用性について検討を行いました。河川水に、農薬標準品を濃度 1000、100、10ng/l になるように添加し、スターバー抽出-加熱脱着 GC/MS により測定を行い、Scan データについて DRS を用いました。農薬 64 成分中検出された成分は、1000ng/l で 64 成分 (100%)、100ng/l



で 61 成分 (95.3%)、10ng/l で 19 成分 (29.7%) でした。Fig. 2 に、その結果を円グラフで示しました。

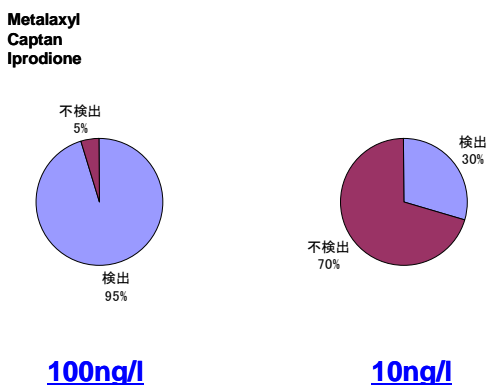


Fig. 2 DRS スクリーニング結果 (Scan)

濃度 10ng/l では、検出率が約 30%と低いので、検出率の向上を図るため、SIM での検討を行いました。農薬 64 成分中 DRS で検出された成分は、10ng/l で 59 成分 (92.2%) になり、大幅に検出率が向上しました。Fig. 3 に、その結果を円グラフで示しました。

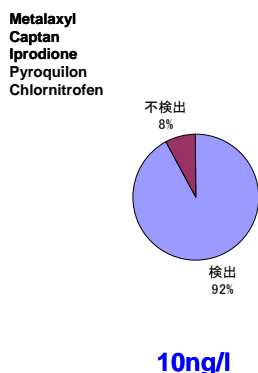


Fig. 3 DRS スクリーニング結果 (SIM)

Fig. 4 に、河川水（農薬無添加）抽出物のトータルイオンクロマトグラム (TIC) を示しました。多くのマトリックスピークの中から DRS で terbucarb が検出され、半定量値 (926 化合物の平均レスポンスでの算出) は 6ng/l でした。標準品を用いた terbucarb の定量値は、3ng/l でした。その他の検出された成分は、リン酸エステル類、フタル酸エステル類などでした。

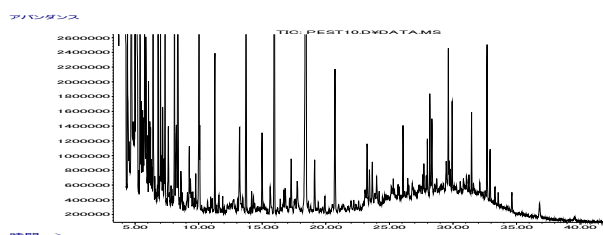


Fig. 4 河川水（農薬無添加）抽出物の TIC

5. まとめ

スターバー抽出-加熱脱着 GC/MS では、塩化ナト

リウムによる塩析 (30%) を用いることで水質規制農薬 70 成分のうち、trichlorfon、dimethoate、methyl dymron 及び amino-chlornitrofen を除く、66 成分について良好な回収率が得られ、目標値の 1/100 の測定が可能でした (SIM 測定)。Scan データを用いた DRS でのスクリーニング結果は、農薬 64 成分の河川水中濃度 100ng/l では 95.3%、10ng/l では 29.7%が検出可能でした。SIM データを用いた DRS でのスクリーニング結果は、農薬 64 成分中 10ng/l で 59 成分 (92.2%) となり、大幅に検出率が向上しました。本法は、スターバー抽出に続き、SIM による水質規制農薬 (70 成分) の標準品を用いた定量及び DRS による 926 化合物のスクリーニングを 1 回の測定で行うことができるため、迅速でかつ網羅的な分析法として期待できます。

6. 参考文献

[1] S. Nakamura, S. Daishima, Anal Bioanal Chem (2005) 382, 99

Table 1 農薬 70 成分及び内部標準物質のリテンションタイム、ターゲットイオン、クオリファイアイオン

#	Compounds	RT	T	Q1	Q2	Q3
1	Phenanthrene-d10	13.73	188	184	189	160
2	Dichlorvos	5.86	109	185	79	187
3	Dichlobenil	6.78	171	173	136	100
4	Trichlorfon	7.97	79	109	80	82
5	Etridiazole	7.98	211	183	213	185
6	Chlorneb	8.69	191	193	206	208
7	Molinate	9.11	126	55	187	83
8	Isoprocarb	9.12	121	136	91	77
9	Fenobucarb	10.29	121	150	91	122
10	Trifluralin	11.66	306	264	307	290
11	Pencycuron	11.68	180	125	127	182
12	Benfluralin	11.74	292	264	276	293
13	Dimethoate	12.66	87	93	125	143
14	Simazine	12.92	201	186	44	173
15	Atrazine	13.18	200	215	202	173
16	Pyroquilon	13.80	173	130	172	144
17	Propyzamide	13.95	173	175	145	255
18	Diazinon	14.48	179	137	152	199
19	Ethyl thiometon	14.55	88	89	97	186
20	Chlorothalonil	14.80	266	264	268	270
21	Iprobenfos	15.35	91	204	123	122
22	Bromobutide	16.26	119	120	118	232
23	Terbucarb	16.69	205	220	206	57
24	Tolclofos-methyl	16.81	265	267	125	266
25	Simetryn	16.85	213	170	155	198
26	Alachlor	17.03	160	188	45	146
27	Metalaxyl	17.35	206	45	160	249
28	Fenitrothion	18.08	277	125	109	260
29	Dithiopyr	18.10	354	306	286	237
30	Esprocarb	18.25	91	222	71	162
31	Thiobencarb	18.61	100	72	125	257
32	Malathion	18.82	173	127	125	93
33	Fenthion	19.12	278	125	109	169
34	Chlorpyrifos	19.25	197	199	314	97
35	Phthalide	19.77	243	241	245	272
36	Pendimethalin	21.00	252	253	281	162
37	Dimethametryn	21.12	212	213	255	71
38	Captan	21.23	79	80	151	77
39	Methyldymron	21.36	107	146	106	77
40	Dimepiperate	21.51	119	145	118	117



#	Compounds	RT	T	Q1	Q2	Q3
41	Isofenphos	21.62	213	58	121	255
42	Phenthoate	21.72	274	125	121	93
43	Procymidone	21.96	96	283	285	67
44	Methidathion	22.30	145	85	93	125
45	a-Endosulfan	22.63	241	195	239	237
46	Napropamide	23.46	72	128	271	100
47	Butamifos	23.56	286	200	96	202
48	Flutolanil	23.82	173	145	281	323
49	Isoprothiolane	23.89	118	162	189	290
50	Pretilachlor	24.14	162	238	176	202
51	amino-Chlornitrofen	24.32	287	289	291	108
52	Benprofezine	24.56	105	106	104	172
53	Isoxathion	24.96	105	77	177	313
54	b-Endosulfan	25.16	195	237	207	241
55	Mepronil	26.29	119	91	269	120
56	Chlornitrofen	26.50	317	319	287	236
57	Edifenfos	26.75	109	173	110	310
58	Propiconazole 1	26.92	173	69	259	175
59	Propiconazole 2	27.13	173	69	259	175
60	Thenylchlor	27.46	127	288	141	287
61	Pyributicarb	28.32	165	108	181	93
62	Iprodione	28.40	187	314	189	244
63	Pyridaphenthion	28.51	340	77	199	97
64	EPN	28.65	157	169	141	185
65	Piperophos	28.84	122	140	320	97
66	Bifenox	29.17	341	343	311	189
67	Anilofos	29.23	226	125	184	228
68	Pyriproxyfen	29.86	136	96	78	77
69	Mefenacet	29.96	192	77	120	106
70	Cafenstrole	32.15	100	72	188	91
71	Ethofenprox	33.16	163	164	135	107

【MS-200711-003】

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



Agilent Technologies