

水素キャリアガスを使用した農薬等の GC/MS スクリーニング分析のための検証

理化学課 北原健一 金子丈志 山本梓 宮崎則文 大窪かおり

キーワード GC/MS 水素キャリア 農薬

1 はじめに

佐賀県衛生薬業センターでは、令和5年度の GC/MS 更新に伴い、水素キャリアを使用できるシステムを併設した。この装置にはターゲットスクリーニングを行うためのソフトウェアも導入したが、これらのデータベースはヘリウムキャリアで取得されたものである。一般的に水素キャリア条件下においては、感度の低下、脱ハロゲン化や還元作用といった要因によりマススペクトルが変化することが知られており¹⁾、既存のデータベースをそのまま適用できるかは不明である。

そこで本研究では、水素キャリアでのデータベース構築の前段階として水素キャリアとヘリウムキャリア条件下での検出感度及びマススペクトルの変化等について検証を行ったので報告する。

2 方法

2-1 対象物質

水道水質管理目標設定項目及び関連農薬のうち、通知法で GC/MS で測定可能とされる農薬のほか、廃棄物処分場排水等規制農薬、当所で実施している食品収去検査の対象農薬等、計 180 物質を対象とした(表 1)。

2-2 標準液及び試薬等

(1)検査に使用した標準品、試薬等

混合標準液は、富士フィルム和光純薬(株)製農薬混合標準液 4 種類(水質-1-2、水質-2、水質-5、水質-10)及び関東化学(株)製の農薬混合標準液 20(有機リン系農薬 4 種)を使用した。単体の標準品は α -エンドスルファン(Dr.Ehrenstorfer 製)及び β -エンドスルファン(富士フィルム和光純薬(株)製)を使用した。食品検査に使用している単体標準品は富士フィルム和光純薬(株)製を用いた。

その他試薬として、関東化学(株)製の残留農薬試験/PCB 試験用アセトニトリル、アセトン及びヘキサンを使用した。

(2)測定用標準液の調製

単体標準品は、アセトンまたはアセトニトリルで標準原液を作製した。標準原液及び市販の混合標準液をリテンションタイムができるだけ重ならないように6つにグループ分けて混合した後、アセトン:ヘキサン(1:1)溶媒で段階的に希釈し、2000 ng/mL、200 ng/mL、20 ng/mL の 3 段階の測定用標準液を調製した。

2-3 装置及び測定条件

装置及び測定条件については、表 2 のとおりである。水素キャリア時のイオン源は、マススペクトルの変化が抑制される HydroInert イオン源²⁾を使用した。また、オーブンの昇温条件等は、ヘリウムキャリア時は当所の水道農薬検査の条件を採用した。水素キャリア時は、アジレント・テクノロジー社(以下アジレント)の GC 計算ツールであるメソッドトランスレーターを使用して変換した条件を設定した。

[調査研究]

表1 対象農薬180物質

EPN	EPN オキソン	α -エンドスルファン	β -エンドスルファン
アクリナトリン	アセタミプリド	アトラジン	アニロホス
アメトリン	アラクロール	イソキサチオン	イソキサチオンオキソン
イソフェンホス	イソフェンホスオキソン	イソプロカルブ	イソプロチオラン
イプフェンカルバゾン	イプロジオン	イプロジオン代謝物	イプロベンホス(IPB)
インダノファン	ウニコナゾールP	エスプロカルブ	エディフェンホス(EDDP)
エトキサゾール	エトフェンプロックス	エトベンザニド	エトリジアゾール
エンドスルファンスルフェート	オキサジアゾン	オリサストロビン	カズサホス
カフェンストロール	キノクラミン(ACN)	キャプタン	クミルロン
クレソキシムメチル	クロチアニジン	クロルタールジメチル(TCTP)	クロルニトロフェン(CNP)
クロルピリホス	クロルピリホスオキソン	クロルピリホスメチル	クロルフェナピル
クロロタロニル(TPN)	クロロネブ	シアゾファミド	シアナジン
シアノホス(CYAP)	ジエトフェンカルブ	ジクロシメット1	ジクロシメット2
ジクロフェンチオン(ECP)	ジクロベニル(DBN)	ジクロルボス(DDVP)	ジスルホトン
ジチオピル	シハロホップブチル	ジフェノコナゾール1	ジフェノコナゾール2
シプロコナゾール	シプロジニル	シペルメトリン1	シペルメトリン2
シペルメトリン3	シペルメトリン4	シマジン(CAT)	シメコナゾール
ジメタメトリノ	ジメチルビンホスE	ジメチルビンホスZ	ジメトエート
シメトリン	ジメピペレート	シンメチリン	ダイアジノン
ダイアジノンオキソノ	チアクロプリド	チアベンダゾール	チアメキサム
チオベンカルブ	チフルザミド	テトラクロルビンホス(CVMP)	テトラコナゾール
テニルクロール	テブコナゾール	テブフェンピラド	テフルトリン
テルブカルブ(MBPMC)	トリクロルホン(DEP)	トリシクラゾール	トリフルミゾール
トリフルラリン	トリフロキシストロビン	トルクロホスメチル	トルクロホスメチルオキソノ
トルフェンピラド	ナプロパミド	パクロブトラゾール	パラチオン
ビフェノックス	ビフェントリン	ピペロホス	ピラクロホス
ピラゾキシフェン	ピリダフェンチオン	ピリダベン	ピリブチカルブ
ピリプロキシフェン	ピリミノバッケメチルE	ピリミノバッケメチルZ	ピリミホスメチル
ピロキロン	フェナリモル	フェニトロチオン	フェニトロチオンオキソノ
フェノブカルブ	フェンチオン(MPP)	フェンチオンオキソノ	フェンチオンオキソンスルホキシド
フェンチオンオキソソルホン	フェンチオンスルホキシド	フェンチオンスルホン	フェントエート
フェンバレレート1	フェンバレレート2	フェンブコナゾール	フェンプロパトリン
フサライト	ブタクロール	ブタミホス	ブタミホスオキソノ
ブプロフェジン	フラメトピル	フルジオキソニル	フルシリネート1
フルシリネート2	フルトラニル	フルバリネート1	フルバリネート2
プレチラクロール	プロシミドン	プロチオホス	プロパジン
プロパニル	プロパホス	プロパルギット(BPPS)	プロピコナゾール
プロピザミド	プロポキスル(PHC)	プロマシル	プロメトリノ
プロモブチド	ヘキサコナゾール	ペルメトリン1	ペルメトリン2
ベンシクロン	ベンディメタリン	ベンフルラリン(ベスロジン)	ベンフレセート
ホサロン	ボスカリド	ホスチアゼート1	ホスチアゼート2
マラオキソノ	マラチオン	ミクロブタニル	メタラキシル
メチダチオン	メチダチオン(DMTP)オキソノ	メチルジメトン	メチルダイムロン
メチルパラチオン	メトミノストロビンE	メトラクロール	メトリブジン
メフェナセット	メプロニル	モリネート	レスメトリノ

[調査研究]

表2 装置及び測定条件

GC:Agilent8890	ヘリウムキャリア	水素キャリア①	水素キャリア②
カラム	HP-5MS UI (30m×0.25mm,膜厚0.25 μm Agilent)	HP-5MS UI (30m×0.25mm,膜厚0.25 μm Agilent)	HP-5MS UI (20m×0.18mm,膜厚0.18 μm Agilent)
カラム流量	1.0 mL/min	1.25 mL/min	0.6 mL/min
昇温条件	50°C(1min)–20°C/min –160°C–3°C/min –230°C –15°C/min–290°C(5min)	50°C(0.6min)–33°C/min –160°C–5°C/min –230°C –25°C/min–290°C(3min)	50°C(0.5min)–40°C/min –160°C–6°C/min –230°C –30°C/min–290°C(3min)
注入口温度	250 °C	250 °C	250 °C
注入モード	スプリットレス	スプリットレス	パルスドスプリットレス(注入圧:20 psi)
注入量	2 μL	2 μL	2 μL
MS:Agilent5977C			
イオン源	エクストラクタイオノン源	HydroInert イオン源	HydroInert イオン源
インターフェース温度	280 °C	280 °C	280 °C
イオン源温度	230 °C	230 °C	230 °C
四重極温度	150 °C	150 °C	150 °C

2-4 解析方法

解析は、アジレントの解析ソフトである MassHunter Unknowns Analysis を用いて、デコンボリューション後、マススペクトルの抽出及びライブラリサーチを行った。NIST ライブラリとの一致スコアが 60 以上のものを今回検出と判断した。

3 結果及び考察

3-1 各キャリアガスでの感度比較

各測定条件における TIC は図1のとおりである。同じカラムを使用した時のヘリウムキャリアと水素キャリアの感度(ピーク高さ)を比較すると、水素キャリアでの感度はヘリウムキャリアの 1/5 程度に減少した。水素キャリアでの測定に推奨されている内径の細いカラムを使用して、キャリアガスの流量を下げる水素の影響を小さくして測定した場合、感度の低下を 1/3~1/2 程度に抑えることができた。これより、水素キャリアで測定する際は、内径の細いカラムを使用した方がよく、また、分析時間の短縮も可能である。

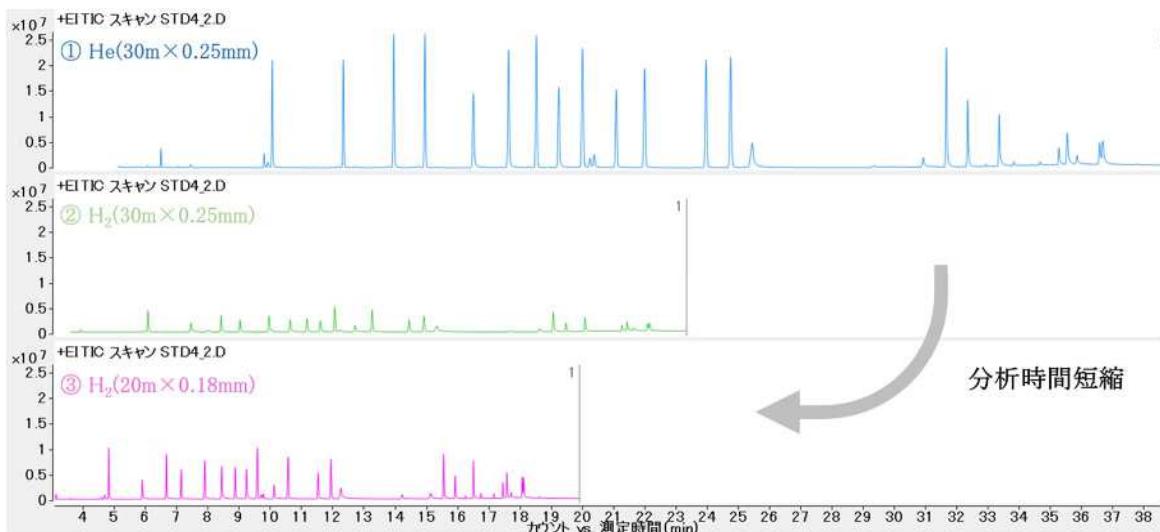


図1 各測定条件における TIC

[調査研究]

3-2 各キャリアガスでの農薬検出数及びライプラリとの一致率

各測定条件での農薬検出結果は図2のとおりである。NIST ライプラリに登録されていなかった 12 物質を除くと、ヘリウムキャリアでの高濃度及び中濃度では、それぞれ162物質、159物質と 9 割以上の農薬を検出できた。低濃度では112物質と 7 割弱の農薬が検出となった。一方、ヘリウムキャリアと同じカラムを使用した水素キャリアでの測定では、高濃度はヘリウムキャリアと同程度(161物質)の検出数であり、中濃度では検出数は下がるもの、146物質と 8 割以上を検出できた。これに対し低濃度では、ヘリウム測定時と比較して検出数が大きく減少し、2 割弱(32物質)の農薬しか検出できなかった。しかし、感度の低下を抑えることが確認できた内径の細いカラムで測定したところ、高濃度及び中濃度では、それぞれ162物質、156物質とヘリウム時とほぼ変わらない物質数を検出できた。低濃度では、ヘリウムの場合の半数程度(55物質)検出でき、検出数は減少したもの、内径の細いカラムを使用した方が減少数を抑えることができた。以上のことから、数十 ng/mL 程度の濃度だと水素キャリアでの Scan 測定での検出は難しいが、数百 ng/mL から数千 ng/mL の濃度範囲であれば、農薬の種類にもよるが水素キャリアでもヘリウム時と同程度検出可能であることがわかった。また水素キャリアを使用する際は、内径の細いカラムを使用することが有効であることが確認できた。

また、各測定条件における濃度ごとの一致率の比較を図3に示す。ヘリウムキャリアでの測定における濃度ごとの一致率の中央値は、高濃度 97.8%、中濃度 94.8%、低濃度 79.7%となり、濃度が低くなるほど一致率は低下した。高濃度及び中濃度は、大部分の農薬は一致率 90%以上であったのに対し、低濃度では感度が低いため、抽出したマススペクトルに重なるノイズの影響が大きくなるために一致率が低下したものと思われる。水素キャリアでの測定の場合でもカラムの内径の違いによらず、ヘリウム時と同様に濃度が低くなるほど一致率の低下がみられた。ヘリウムと水素キャリアで一部の農薬でマススペクトルの変化があつたものの、高濃度ではカラムの違いによらずほとんどの農薬の一致率は 90%以上であった。これに対して、中濃度・低濃度では、ヘリウムの場合と比較して水素キャリアの場合は一致率が 10%程度減少した。これは水素キャリアによる感度低下の影響が大きいと思われる。また、水素キャリア同士で比較すると、内径が細いカラムを用いた方が若干一致率は高い傾向があつたが、大きな違いはなかった。内径が細いカラムを用いて水素流量を下げ、水素キャリアの影響を小さくしたもの全体的に一致率の改善はみられず、一致率が向上した物質もあつたが、これは感度(S/N 比)が上昇したためだと思われる。

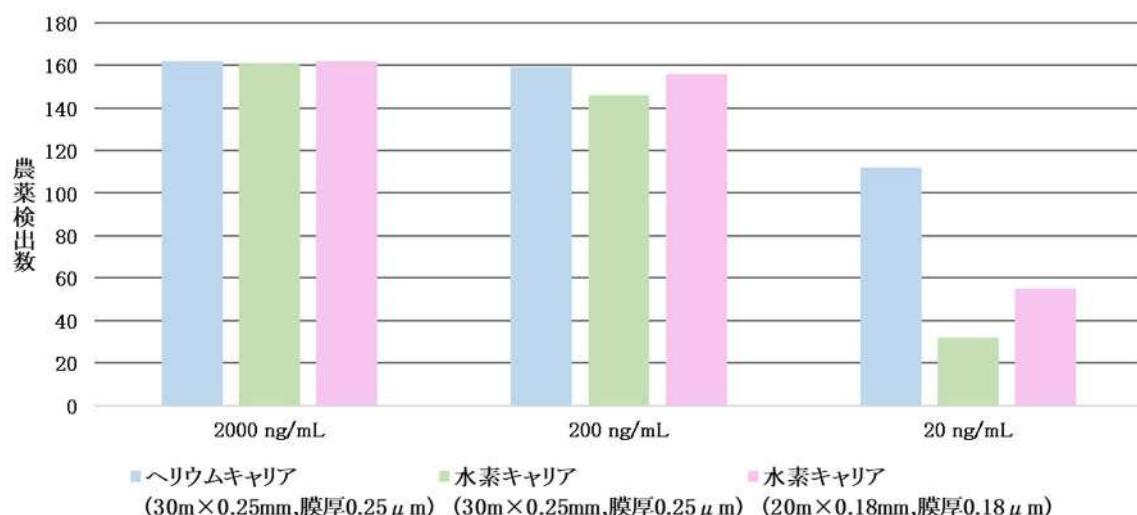


図2 各測定条件における濃度ごとの農薬検出数

[調査研究]

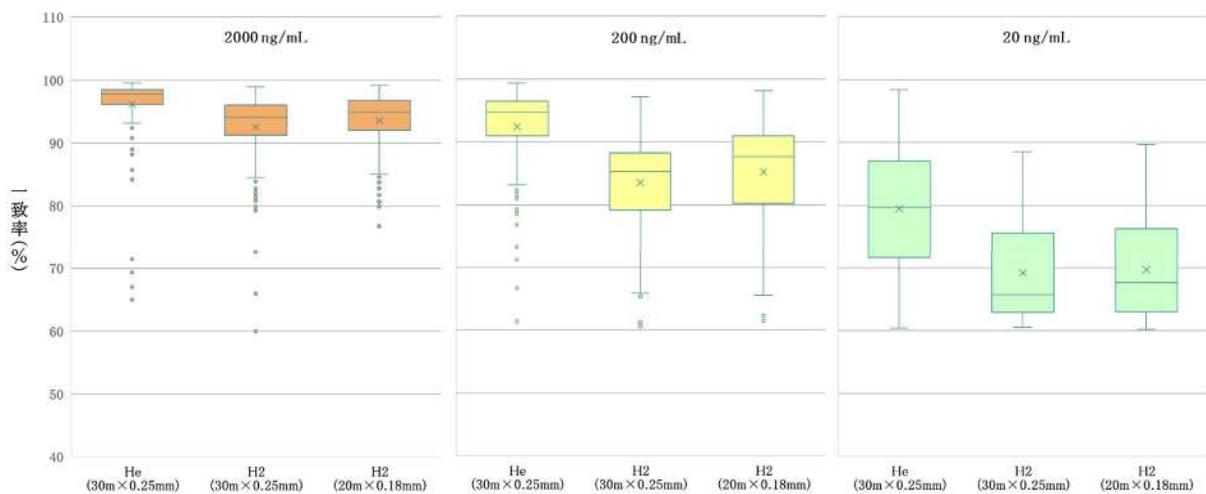
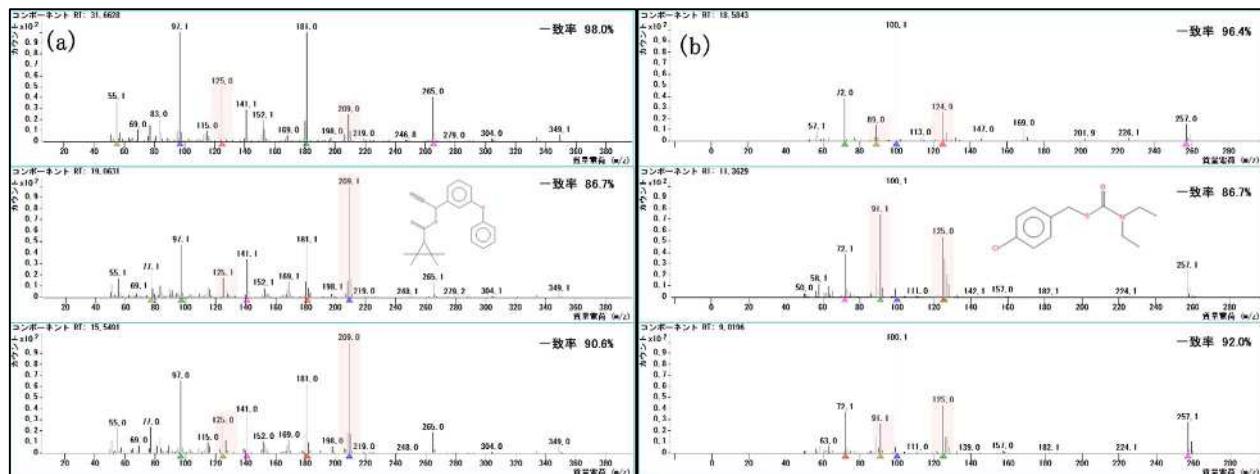


図3 各測定条件における濃度ごとの一致率

3-3 マススペクトルの変化について

今回の検証では、ほとんどの農薬では大きな変化はみられなかったが、ピレスロイド系やカーバメート系など一部の農薬でマススペクトルの変化が確認された。マススペクトルが変化した例を図4に示す。これら変化が起きた農薬については、水素キャリア用のライプラリとして登録することで、定性可能であると考えられるが、SIM測定などの定量分析時はモニターイオンの選択など注意が必要である。

図4 マススペクトル (a)フェンプロパトリン、(b)チオベンカルブ
(上:He キャリア、中:H₂ キャリア、下:H₂ キャリア(細いカラム))

最後に、今回検証した農薬の中でマススペクトルの変化について傾向がみられた農薬類について紹介する。まず、ピレスロイド系農薬について、今回検証した11種類(異性体を除く)のなかで、特定の構造(赤丸部分)を持つすべての農薬(図5)で $m/z:209$ が増加していた。次に、カーバメート系農薬について、今回検証したカーバメート系(チオカーバメート系)5物質のうち、モリネート以外の4物質でスペクトルの変化があった。カーバメートの構造(図6)のなかでR3部分のフラグメントイオンが増加している傾向がみられた。一方で、今回検証したトリアジン系(8種類)及びトリアゾール系(11種類(異性体を除く))では、検証したすべての物質でマススペクトルに大きな変化はみられなかった。

[調査研究]

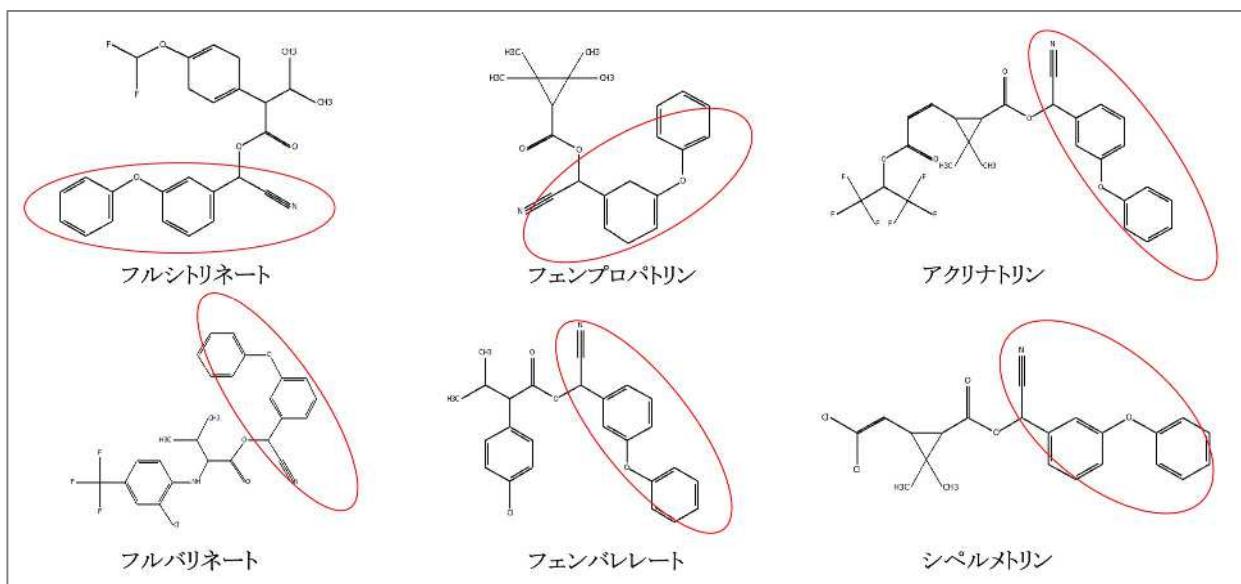


図5 マススペクトルの変化がみられたピレスロイド系農薬

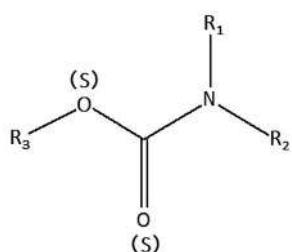


図6 カーバメート構造

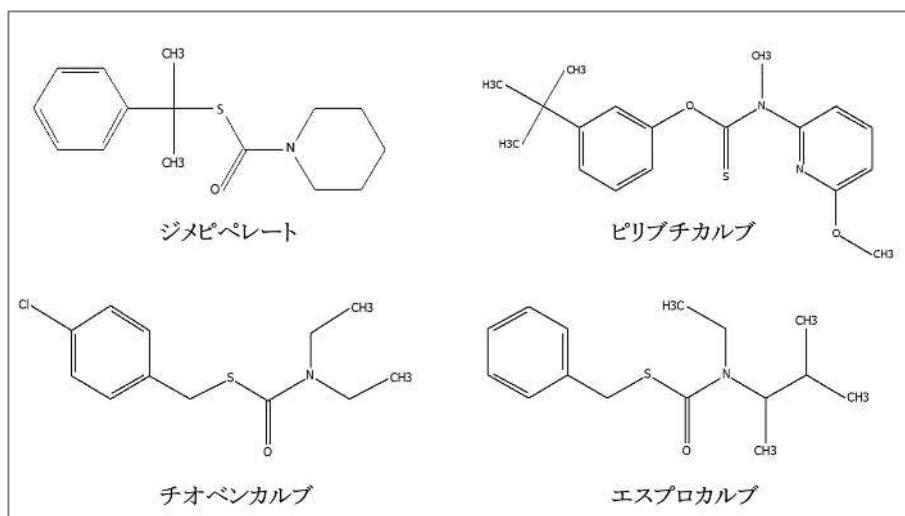


図7 マススペクトルの変化がみられたチオカーバメート系農薬

4 まとめ

一部の農薬でマススペクトルの変化がみられたが、水素キャリアでも数百 ng/mL 以上の濃度であればヘリウムと同様に Scan 測定で検出可能であることがわかった。内径が細いカラムを用いることで、水素キャリアによる感度低下を抑えることができた。マススペクトルの変化がみられた一部の農薬については、水素キャリア用のライブラリとして登録することで水素キャリアでも定性スクリーニングが可能だと考えられる。

5 参考文献

- 1) 奥田ら, J. Mass Spectrom. Soc. Jpn., Vol. 71, No. 2, p. 81-82, 2023
- 2) アジレント HP (<https://www.chem-agilent.com/pdf/fl-hydroinert-source-gcms-5994-4782ja-jp-agilent.pdf>)