

MassHunter Quantitative Analysis GC スクリーニング機能および データベース（926 化合物）による 河川水のスクリーニング分析



Authors

中村 貞夫

野原 健太

アジレント・テクノロジー
株式会社

要旨

MassHunter に新たに搭載された GC スクリーニング機能はクロマトグラムデコンボリューション後、データベースとの照合により、マススペクトル、リテンションタイム、複数の抽出イオンクロマトグラム（EIC）の S/N 比・ピーク形状などを基に総合的にターゲット物質の検出を判断するデータ解析機能です。SBSE（Stir Bar Sorptive Extraction）は、Twister を試料溶液中で攪拌させて目的成分を抽出する技術の事で、液-液分配の理論を応用した画期的な手法です。この SBSE 法は、固相抽出法に比較して非常に簡便な前処理法です。試料量を 10 ml 程度と少なくすることができるよう、抽出時に溶媒を使用せず環境や分析者にも優しい前処理法です。本アプリケーションノートでは、河川水中農薬等のスクリーニング分析に、前処理として簡便・迅速な SBSE 法を用い、データ解析にデータベース（926 化合物）を用いる GC スクリーニング機能を適用し、その有用性について報告します。

Key word：農薬&内分泌攪乱物質データベース、SBSE、スターバー抽出、MassHunter、GC スクリーニング、GC/MS

はじめに

水質汚染事故発生時には、網羅的に広範囲の物質を迅速に分析し、およその濃度を把握することが要求されます。網羅的に広範囲の物質を対象とするには、データベースを活用するスクリーニング手法が一般的です。Agilent農薬&内分泌攪乱物質用データベース（部品番号:G1672AA）は、926化合物の情報を収録しており、スクリーニングデータ解析用に新たに開発されたAgilent MassHunter Quantitative Analysis（以下、MassHunter Quant）のGCスクリーニング機能と組み合わせることで、データベースに登録されているターゲット物質の検出の有無を確認し、標準品を用いることなく半定量値を算出することが可能です。

本アプリケーションノートでは、河川水中農薬等のスクリーニング分析に、前処理は簡便（試料量：10 ml）・迅速（1時間）なSBSE法を用い、加熱脱着-GC/MSで測定を行いました。データベースを用いたGCスクリーニング機能によるデータ解析を行いましたので、これらの有用性について報告します。

測定条件

Stir Bar(攪拌子)にPDMS(Polydimethyl Siloxane)をコーティングしたGERSTEL社Twister（PDMS 0.5 mm, 10 mm）を用いました。10 mlバイアルに試料10 ml、塩化ナトリウム3 gを入れ、内部標準物質フェナントレン-d₁₀を添加し、室温、1000 rpmにより1時間抽出を行いました。その後、GERSTEL 加熱脱着（TD）-Agilent GC/MSにより測定を行いました。

【TD】

TDU温度: 20°C(0.5min)-60°C/min-300°C(5min)

CIS温度: -100°C(0.01min)-12°C/s-300°C(10min)

脱着流量: 50ml/min（ヘリウム）

【GC】

カラム: HP-5msi 30m, 0.25mm, 0.25μm（部品番号：19091S-433I）

注入モード: ソルベントベント（スプリットレス時間: 2.5min）

オープン: 70°C(2min)-25°C/min-150°C(0min)-3°C/min-200°C(0min)-8°C/min-280°C(10min)-10°C/min-300°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°C

【MS】

イオン源温度: 230°C

チューニング: オートチューン

SIM/Scan同時取り込み: スキャン範囲, 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）

【データベース】

Agilent 農薬&内分泌攪乱物質データベース 926化合物（部品番号：G1672AA）

MassHunter Quant GCスクリーニング機能

GCスクリーニング機能では、クロマトグラムデコンボリューションにより夾雑物の影響を排除することで、マススペクトルのライブラリ検索における一致率を向上させます。さらに、リテンションタイムおよび登録 m/z の抽出イオンクロマトグラム（EIC）のS/N比・ピーク形状などの判定も加え、データベースに登録された化合物の検出判断を総合的に行います。そして、スクリーニング結果を分かりやすい3段階（✓ = 検出の可能性大、△ = 要確認、× = 不検出の可能性大）に表示します。判定に用いられる各項目の閾値は、ユーザーで任意に変更することが可能です。また、今回構築したスクリーニングデータ解析メソッドでは内部標準との相対レスポンス比を用いた半定量値が算出され、効率的かつ迅速なスクリーニング解析を可能とします。

SBSE法の理論回収率

SBSE法は、試料溶液中でTwisterを攪拌させて目的成分を抽出する技術で、液々分配の原理を応用した手法です。目的成分のPDMS/水間の分配係数（ $K_{PDMS/W}$ ）は、オクタノール/水間の分配係数（ $K_{O/W}$ ）に近似できます。そのため、目的成分の $K_{O/W}$ により理論回収率を求めることができます。

$$K_{O/W} \approx K_{PDMS/W} = \frac{C_{PDMS}}{C_W} = \frac{m_{PDMS}}{m_W} \times \frac{V_W}{V_{PDMS}} \quad (1)$$

C_{PDMS} : PDMS相中の目的成分濃度

C_W : 水相中の目的成分濃度

m_{PDMS} : PDMS相中の目的成分の質量

m_W : 水相中の目的成分の質量

V_{PDMS} : PDMS相の体積

V_W : 水相の体積

相比 β （ V_W/V_{PDMS} ）を用いて、式(1)は次式に書き換えられます。

$$\frac{K_{O/W}}{\beta} = \frac{m_{PDMS}}{m_W} = \frac{m_{PDMS}}{m_0 - m_{PDMS}} \quad (2)$$

m_0 : 試料溶液中目的成分初期質量

式(2)より、回収率を導くと次式になります。

$$\frac{m_{PDMS}}{m_0} = \frac{\frac{K_{O/W}}{\beta}}{1 + \frac{K_{O/W}}{\beta}} \quad (3)$$

試料溶液からの目的成分の回収率は、分配係数と相比の比率 ($K_{O/W}/\beta$) から求めることができます。試料溶液を 10 mlとした場合のSBSE法 (1cm, 500 μ m: 24 μ l) の相比は、417です。よって、目的成分の $K_{O/W}$ から理論回収率の計算が可能であり、SBSE法が適用可能かどうかの判断が容易にできます。また、Fig.1に示すように、SBSE法の理論回収率を計算するソフトウェアがGERSTEL社から提供されています。

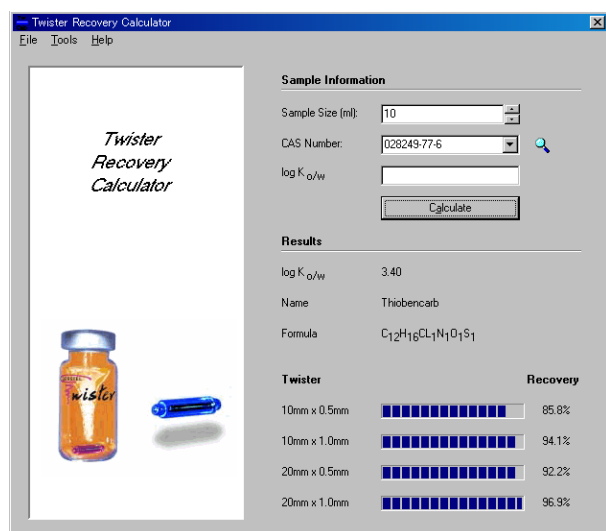


Fig.1 GERSTEL Twister Recovery Calculator

結果及び考察

SBSE法の回収率の向上

水質規制農薬70成分について検討を行い、塩析（塩化ナトリウム30%添加）により、 $\log K_{O/W}$ 3.5以下の農薬（トリクロルホン ($\log K_{O/W}$ 0.43)、ジメトエート ($\log K_{O/W}$ 0.73) を除く）に対して、回収率の向上が確認できました¹⁾。

本法を農薬135成分（健水発 0328 第4号）へ適用し、回収率（実測）を確認しました。標準水溶液濃度100 ng/l (100ppt) において、SIMモードで検討を行いました。125農薬が検出可能で、回収率 0%の農薬は10成分で、全体の7.4%でした。それらの農薬は、トリクロルホン ($\log K_{O/W}$ 0.43)、ジメトエート ($\log K_{O/W}$ 0.73)、プロマシル ($\log K_{O/W}$ 1.71)、チアメトキサム ($\log K_{O/W}$ -0.13)、MPP オキソン、MPPオキシンスルホキシド、MPPオキシンスルホン、アミノ-クロルニトロフェン、アセタミプリド ($\log K_{O/W}$ 0.8)、チアクロプリド ($\log K_{O/W}$ 1.26) でした。回収率 50-150%の農薬は99で、全体の73.3%でした²⁾。

試料溶液10 mlとし、Twister (1cm, 500 μ m: 24 μ l) を用いる場合、 $\log K_{O/W}$ 1.5の化合物の理論回収率は7.0%となります。一つの目安として、1.5から2程度以上の $\log K_{O/W}$ を有する化合物であれば、本法の適用が可能と考えられます。

MassHunter Quant GCスクリーニングによる結果

926化合物のデータベースを用いるGCスクリーニング機能により、河川水中農薬等のスクリーニング分析を行いました。データベースに登録がないペンシクロン、エチルチオメトン及びアミノ-クロルニトロフェンは、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（トリクロルホン、ジメトエート、メ

チルダイムロン、アミノ-クロルニトロフェン）も検討から除き、合計64成分の農薬についてGCスクリーニング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1000ng/lになるように添加し、SBSE-加熱脱着GC/MSにより測定を行い、Scanデータについてスクリーニング解析を行いました。スクリーニング結果は、3段階（✓、△、×）で表示され、63成分は✓で、1成分（キャプタン）は×の結果でした。Fig.2に、GCスクリーニングの画面を示し、プロピコナゾールをハイライトしました。✓は検出、×は不検出とほぼ考えられます。スクリーニング判定結果を基に、クロマトグラムやマススペクトルなどを同一画面上で確認することが可能です。ターゲットイオンが検出されると✓あるいは△で、RTが一致した上でマススペクトルの一致スコアが高ければ✓、低ければ△となります。例えば、△の一致スコア50%以上の化合物を目安に、ターゲット&クオリファイイオンのクロマトグラムを確認すると、効率的に検出の判断を行うことができます。今回、△が165化合物でしたが、一致スコア50%以上の化合物は4つでした。また、農薬添加河川水（濃度 1000 ng/l）のGCスクリーニングによる半定量値は、50-200%の精度の農薬が30成分、10-50%の精度の農薬が27成分と、これらで全体の約87%を占めました。Fig.3に、半定量値の精度をグラフで示しました。

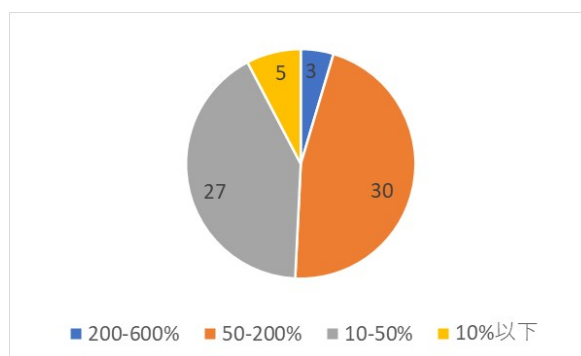


Fig.3 半定量値の精度

まとめ

SBSE法は、ターゲット物質のオクタノール/水間の分配係数 ($K_{O/W}$) から理論回収率を算出することが可能で、本法が適用可能かの判断が容易です。MassHunter QuantのGCスクリーニング機能では検出判定に複数のクライテリアを用いるため、迅速に農薬等の926化合物のスクリーニング結果を得ることが可能になりました。疑わしい化合物については、解析画面上でマニュアル解析することで、検出の可否を効率的に判断することが可能です。

参考文献

- 1) S. Nakamura, S. Daishima, Anal Bioanal Chem (2005) 382, 99
- 2) スターバー抽出加熱脱着GC/MSによる水道規制農薬135成分の分析（危機管理への対応）、アジレント・テクノロジー アプリケーションノート Pub No. GC-MS-201408NK-001

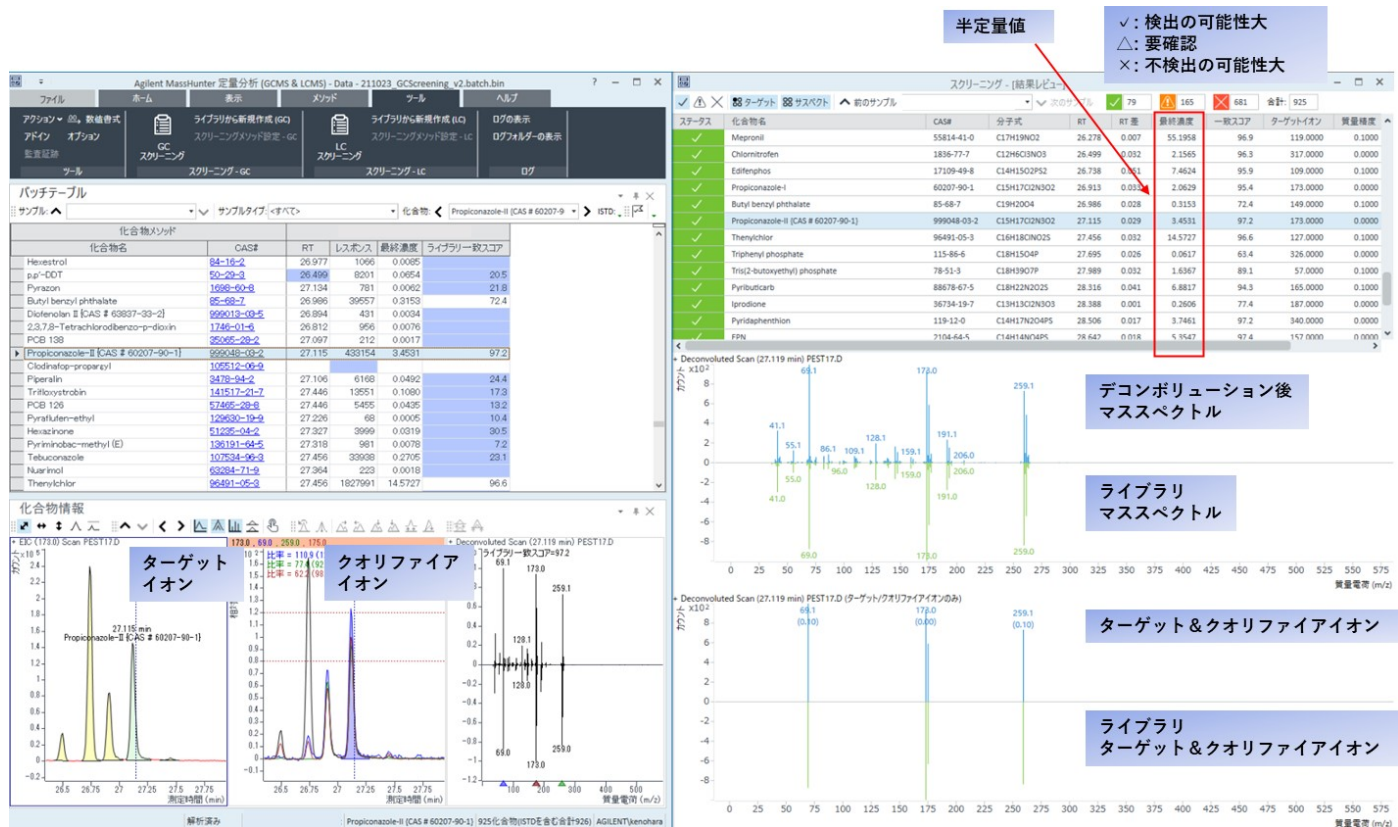


Fig.2 MassHunter Quant GCスクリーニングの画面

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンタ

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2021

Printed in Japan, October 08, 2021

5994-4455JAJP

DE10738537