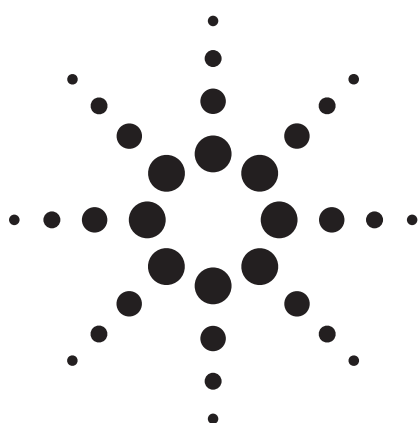


# LC/Q-TOFを用いた環境関連化合物の分析

## 第3部: イミダクロプリドとマヌール



### アプリケーション

### 環境

### 著者

Jim Lau, Chin-Kai Meng, and Jennifer Gushue  
Agilent Technologies, Inc.  
2850 Centerville Road  
Wilmington, DE 19808  
USA

L. Mark Hewitt and Suzanne Batchelor  
Aquatic Ecosystem Protection Research Division  
Water Science and Technology Directorate  
Environment Canada  
867 Lakeshore Road  
Burlington, ON, L7R 4A6  
Canada

### 概要

**パルプ工場からの廃液、汚水、または農業の流出は、複雑な混合物として環境水に放出されます。本報では、2種類の放出化合物（殺虫剤とパルプ工場の凝縮物）を使用して、LC/四重極-TOF質量分析計（LC/Q-TOF）の感度、直線性範囲、定量、および定性分析機能を示します。**

### はじめに

カナダ環境省（Environment Canada）は、さまざまな化合物による環境への影響のリスク評価に取り組んでいます [1, 2]。パルプ工場からの廃液、汚水、または農業の流出は、複雑な混合物として環境水に放出されます。通常、廃液からの物質の特性の判別には固相抽出（SPE）またはゲル浸透クロマトグラフィ（GPC）とGC/MSが使用されます。分析が難しい極性化合物の

同定にはLC/MSが使用されてきました。しかし、未知の極性化合物を同定するためのLC/MSの潜在能力は、まだ完全には実現されていません。

本報では、2種類の放出化合物を使用して、LC/Q-TOFの感度、直線性範囲、定量、および定性分析機能を示します。イミダクロプリド（殺虫剤）はGC/MSによる分析が困難です。これはカナダ大西洋岸地域で使用されてきたもので（ジャガイモ畑からの流出）、この殺虫剤による非特異的な毒物学的影響があるように見えます。Q-TOFの精密質量と定量能力は、対象化合物のルーチン分析に不可欠です。

もう一方のサンプルは、パルプ工場廃液の凝縮物です。パルプ工場は、カナダにおける淡水の最大消費者です。漂白クラフトパルプと製紙工場の最終廃液は、魚類の生殖内分泌恒常性に影響する化合物の源であることがわかっています [3, 4]。カナダ環境省は、毒性に対する排水放出規制項目を満たすために逆浸透プロセスを開発したパルプ工場と密接に連携して作業しています。樹木に存在するテルペノイドであるマヌールは、逆浸透によって除去される化合物の1つであり、魚類の生殖の問題を引き起こす疑いのある化合物に関連しています。逆浸透によって処理された凝縮物中のマヌールの存在を確認するには分析が必要です。Q-TOFでは、不純物質および分解生成物のスクリーニングと同定が可能です。

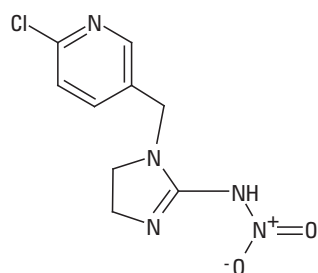


## 実験手法

### サンプル

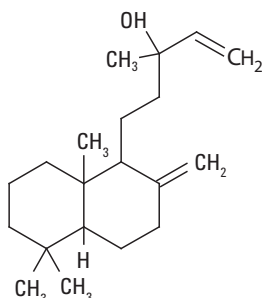
図1と2に、本報で使用した2つの化合物を示します。イミダクロプリドのキャリブレーション溶液 (10、20、50、100、および200ppb) は、10.11ppmのメタノール標準原液から作成しました。Q-TOFの定量能力を評価するために、追加のサンプルは、イミダクロプリドの濃度が伏せられました。

マニュアルのサンプルにはメタノール中の標準溶液が含まれ、パルプ抽出物は逆浸透プロセスで処理されました。



化学式:  $C_9H_{10}ClN_5O_2$   
CAS: 13826-41-3  
MW: 255.05230

図1. イミダクロプリド



化学式:  $C_{20}H_{34}O$   
CAS: 596-85-0  
MW: 290.26095

図2. マヌール

### 分析条件

すべてのサンプルは、Agilent 6520 Q-TOFとAgilent 1200 SL Rapid Resolution LCを組み合わせたシステムで分析されました。

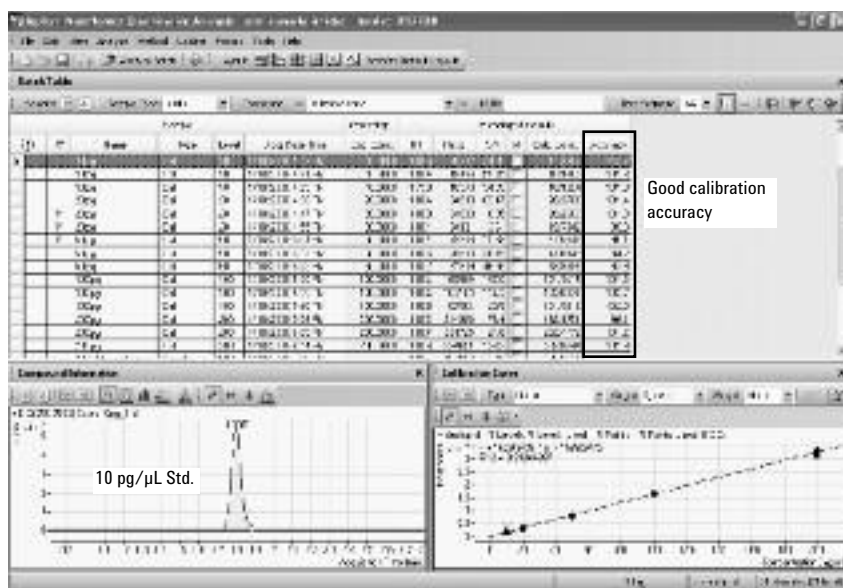
すべてのサンプル分析は、Q-TOFオートチューン条件のもとで行われました。すべてのサンプルの質量精度、感度、および分解能は、LC流量、およびサンプルの熱安定性に適したイオン源条件を除き、分析条件を変更せずに測定されました。

移動相A	5 mM $NH_4OAc$ , pH 4
移動相B	MeOH
LCカラム	ZORBAX XDB 2.1 × 50mm, C-18, 3.5- $\mu m$ 粒子径
流量	0.5mL/min
注入量	5 $\mu L$
MS	2 scan/sec, 50~1,100m/z
リファレンスイオン	m/z 121.922
AutoMS/MS	2 scan/secのMSおよび 2 scan/secのMS/MS
Q-TOFのパラメータ	オートチューンにより設定
乾燥ガス	12L/min $N_2$
乾燥ガス温度	300°C (イミダクロプリド)、 150°C (マニュアル)
ネブライザガス圧	50psi
ESI (+)	3KV
フラグメンター電圧	120V

## 結果と考察

### イミダクロプリド

図3は、MassHunterソフトウェアの定量結果画面です。分析されたすべてのサンプルが画面の上半分に一覧表示されています。各サンプルの検量線および対応する定量イオンは、画面の下半分に表示されています。すべての検量線作成用の標準溶液 (10、20、50、100、および200ppb) とサンプルは、精度をチェックするために、バッチ中に3回分析されました。



Good calibration accuracy

図3. イミダクロプリドの定量とキャリブレーションの結果を示す、MassHunterソフトウェアの画面

検量線の $R^2$ は0.9984で、各標準試料の精度は94~113%でした。未知の濃度のイミダクロプリドでのサンプルの定量結果(3回)は、305、287、および296pg/ $\mu$ Lでした。結果は、303.3pg/ $\mu$ Lの実際の量に非常に近いものであり、真値との差は、6%未満でした。表1に、検量線作成用標準溶液の精度結果(それぞれ3回注入)を示します。これは、LC/Q-TOFシステムの良好な精度を示しています。

表1. 検量線作成用標準溶液および未知サンプルの機器精度(各レベルに対して3回注入)

レベル	%RSD
10	5.5
20	1.3
50	2.0
100	0.7
200	3.2
(303.3)	3.1

表2は、イミダクロプリド標準試料の質量精度が、10-ppbの場合に1.76ppm、200-ppbの場合に1.03ppmであったことを示します。これは、単一のオートチューン設定で質量精度とダイナミックレンジの間にトレードオフがないことを示します。

### マヌール

マヌールの標準メタノール溶液は、LC/Q-TOFで分析しました。図4に示すように、複数のクロマトピークが見られました。いくつかのピークはマヌール関連の不純物質(ジテルペン)です。興味深いことに、マヌールの $[M+H]^+$ はQ-TOFスペクトルに見られず(図5)、最も顕著なイオンは $[M+H]^+ - H_2O$ でした。その他のイオンには、 $[M+NH_4]^+ - H_2O$ 、 $[M+NH_4]^+$ 、および $[M+Na]^+$ がありました。サーマルニュートラルロスイオンは、MS/MS分析によって確認されました。図6と7に、それぞれ $m/z$  308および290のMS1およびMS/MSスペクトルを示します。両方のイオンのMS/MSスペクトルは非常に似ており、 $H_2O$ の損失分( $m/z$  18)が異なる類似プリカーサイオンを示唆しています。

表2. さまざまな濃度のイミダクロプリド(C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>ClN<sub>5</sub>O<sub>2</sub>)の質量精度

	精密中性質量	理論値 $[M+H]^+$	実測値 $[M+H]^+$	質量精度
10 ppb	255.052299	256.05958	256.06003	1.76 ppm
200 ppb	255.052299	256.05958	256.05984	1.03 ppm

パルプ工場廃液の凝縮抽出物も、LC/Q-TOFで分析しました。図8は、モレキュラーフィーチャーエクストラクション(MFE)機能によって見つかった、15個の化合物( $m/z$  200~600)とTICを重ねたものです。主要化合物は次のように同定されました。

- $C_{20}H_{30}O_4$  (フタル酸ジヘキシル)
- $C_{20}H_{34}O$  (マヌール)
- $C_{22}H_{34}O_4$  (フタル酸ジヘプチル)
- $C_{24}H_{38}O_4$  (フタル酸ジオクチル)

マヌールの $C_{20}$ 類縁体と思われる分子式 $C_{20}H_{30}O$ 、 $C_{20}H_{30}O_3$ 、および $C_{20}H_{34}O_2$ にも未知のものがありました。これらのデータは、逆浸透システムがこれらの天然化合物を廃液の凝縮物から除去することを示しています。

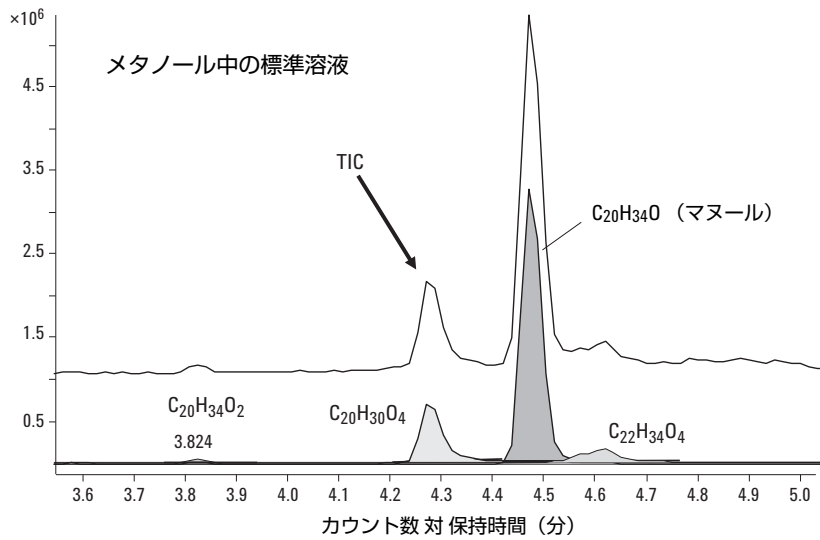


図4. マヌールと不純物質の特性解析



図5. マヌールの特性イオン。このスペクトルは、さまざまな可能性(たとえば、水の損失、付加など)をすべて示しています。

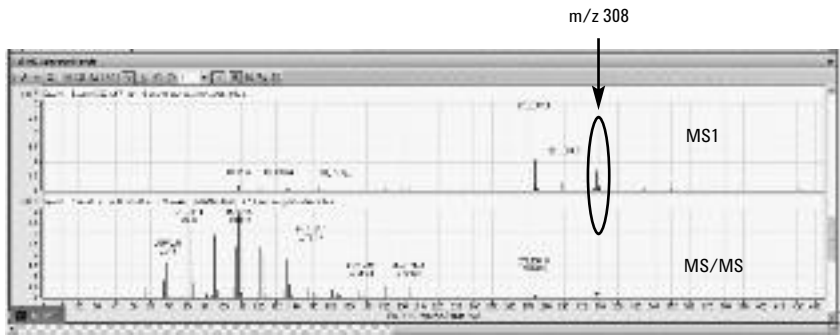


図6. MSスペクトル中の $m/z$  308へのサーマルニュートラルロスイオンの発生を確認するパルプサンプルのMS/MS [マヌール+  $\text{NH}_4$ ]<sup>+</sup>

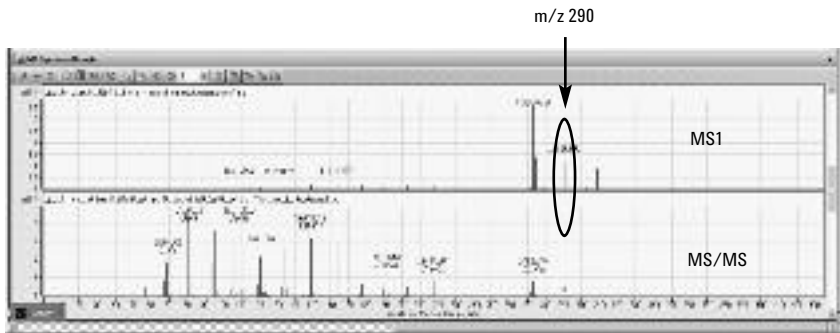


図7. MSスペクトル中の $m/z$  290へのサーマルニュートラルロスイオンの発生を確認するパルプサンプルのMS/MS [マヌール- $\text{H}_2\text{O}$  +  $\text{NH}_4$ ]<sup>+</sup>

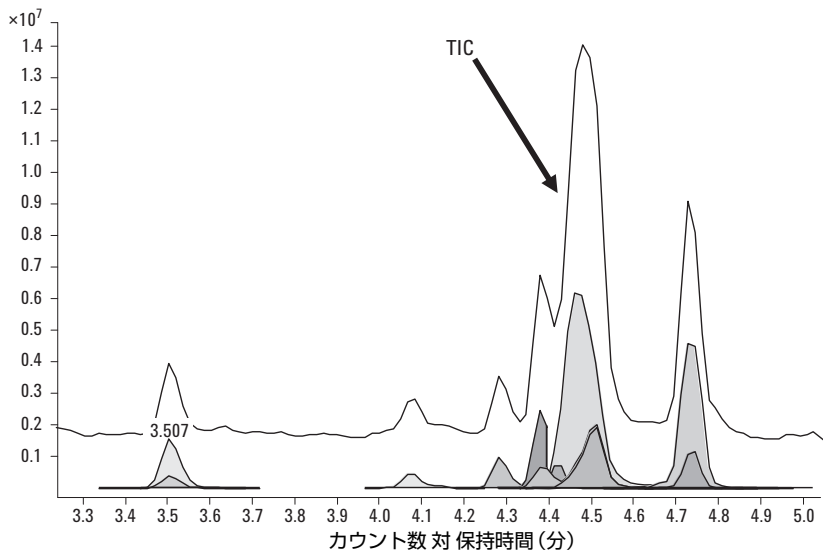


図8. MFE機能により抽出された、パルプ抽出物中の15個の化合物のマスクロマトグラム

## 結論

イミダクロプリド分析から、優れた質量精度 (< 2 ppm)、繰り返し測定精度 (%RSD < 6%)、および定量結果 (定量精度 < 6%) が得られました。

組成式の検索またはMFE機能に続いて正確な質量データベース検索を使用することにより、多くのマヌール関連化合物 (テルペン) がQ-TOFによって同定されました。より低い乾燥ガス温度と移動相への $\text{NH}_4\text{OAc}$ の添加は、分子イオンとMS/MSイオンの取得に不可欠でした。

## 参考文献

1. Jim Lau, Chin-Kai Meng, Jennifer Gushue, Mehran Alaee, and Vimal Balakrishnan, "LC/Q-TOFを用いた環境関連化合物の分析、第1部：染料と色素" 資料番号 5989-9336JAJP, August 2008.
2. Jim Lau, Chin-Kai Meng, Jennifer Gushue, Robert J. Letcher, and Shaogang Chu, "LC/Q-TOFを用いた環境関連化合物の分析、第2部：フルオロテロマー不飽和酸" 資料番号 5989-9132JAJP, August 2008.
3. L. Mark Hewitt et al., "Isolation of Compounds from Bleached Kraft Mill Recovery Condensates Associated with Reduced Levels of Testosterone in Mummichog (*Fundulus heteroclitus*)," *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 21, No. 7, pp. 1359-1367, 2002.
4. L. Mark Hewitt et al., "Altered Reproduction in Fish Exposed to Pulp and Paper Mill Effluents: Roles of Individual Compounds and Mill Operating Conditions," *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 27, No. 3, pp. 682-697, 2008.

## 詳細情報

アジレント製品とサービスの詳細については、アジレントのウェブサイト [www.agilent.com/chem/jp](http://www.agilent.com/chem/jp) をご覧ください。

アジレントは、本文書に誤りが発見された場合、また、本文書の使用により付随的または間接的に生じる損害について一切免責とさせていただきます。

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。著作権法で許されている場合を除き、書面による事前の許可なく、本文書を複製、翻案、翻訳することは禁じられています。

アジレント・テクノロジー株式会社  
© Agilent Technologies, Inc. 2008

Printed in Japan  
August 11, 2008  
5989-9129JAJP

