

液体クロマトグラフ/タンデム質量分析計 (LC-MSMS) を用いた 農薬一斉分析法の測定条件の検討

山口 玲子

1 はじめに

液体クロマトグラフ/タンデム質量分析計 (LC-MSMS) による農薬一斉分析法では市販の混合標準液 2 種類を適宜希釈混合し、イプロバリカルブ標準液 (標準品から調製したもの) を追加して使用している。この混合標準液には 14 物質が含まれているが、現在 10 物質について測定しており、残りの 4 物質は LC-MSMS の測定条件が設定されていない。そこでこれらの条件を検討し、測定項目の追加ができないかを検討したので報告する。

2 検討方法

混合標準液のうち、LC-MSMS の測定条件が設定されていない 4 物質 (オキサミル、アルジカルブ、エチオフェンカルブ、テブフェノジド) の単品から標準液を作成し適宜希釈して測定し、測定条件の最適化をはかる (今回は現在の測定に項目を追加するため抽出方法及び LC の条件は変更しないこととした)。現在使用している測定条件に 4 物質の最適化した条件を加えて、混合標準液を測定し、測定できるかを確認する。

3 試薬・試液

メタノール：残留農薬試験用、LC-MS 用

酢酸アンモニウム：LC-MS 用

LC-MS 混合標準溶液 (メタノールで調製)

農薬混合標準液 39：関東化学社製

農薬混合標準液 43：関東化学社製

イプロバリカルブ標準液 (200 μ g/mL)

農薬混合標準液 39、43 (各 10 μ g/mL) と、適宜希釈したイプロバリカルブ標準液を混合希釈し 2 μ g/mL とする。

オキサミル標準液 (200 μ g/mL)

アルジカルブ標準液 (200 μ g/mL)

エチオフェンカルブ標準液 (200 μ g/mL)

テブフェノジド標準液 (200 μ g/mL)

上記 4 物質についてはメタノールで 1 μ g/mL 希釈して使用した。

4 LC-MSMS 分析条件

LC-MSMS: Waters 社製 Quattro micro API System

LC カラム: Supelco Discovery HS C18

(2.1mm $\times$ 150mm 3 μ m)

LC 部

カラム温度: 40 $^{\circ}$ C

流速: 0.2mL/min

グラジェント条件

移動相 A 10mM 酢酸アンモニウム

移動相 B メタノール

A : B=85 : 15 (初期) $\rightarrow$ 50 : 50 (6 分) $\rightarrow$ 25 : 75 (15 分) $\rightarrow$ 5 : 95 (30 分 10 分間ホールド)

サンプル量: 10 μ L

MSMS 部

ESI-Positive モード

イオン源温度: 120 $^{\circ}$ C

脱溶媒温度: 400 $^{\circ}$ C

Cone ガス流速: 50L/h

脱溶媒ガス流速: 800L/h

4 物質の測定イオンは表 1 のとおり

表 1 測定イオン

農薬名	分子量	プリカーサー(m/z)	プロダクト(m/z)
オキサミル	219.3	236.93	71.8
アルジカルブ	190.3	207.91	116
エチオフェンカルブ	225.3	225.93	106.8
テブフェノジド	352.5	353.18	132.7

5 溶出時間の確認と Cone 電圧の最適化

4 物質単品標準液について、Cone 電圧を 5V 間隔で 5 $\sim$ 60V に変化して測定し、溶出時間を確認し、その面積値と MS スペクトルから最適の Cone 電圧を決定した。

オキサミルは 6.8 分に溶出し、Cone 電圧 20V で面積値が最大となったが、MS クロマトグラムでは Cone 電圧 15V でプロダクトイオンのピークが最大となった (図 1)。

アルジカルブは 13.1 分に溶出し、Cone 電圧 20V で面積値が最大となったが、MS クロマトグラムでは Cone 電圧 15V でプロダクトイオンのピークが最大となった (図 2)。

エチオフェンカルブは 16.2 分に溶出し、Cone 電圧 30V で面積値が最大となったが、MS クロマトグラムでは Cone 電圧 25V でプロダクトイオンのピークが最大となった。

テブフェノジドは 22.3 分に溶出し、Cone 電圧 40V

で面積値が最大となったが、MS クロマトグラムでは Cone 電圧 35V でプロダクトイオンのピークが最大となった。

6 Collision 電圧の最適化

最適化された Cone 電圧を使用し、Collision 電圧を 5V 間隔で 5～60V に変化して測定し、その面積値と MS スペクトルから最適の Collision 電圧を決定した。

オキサミルは Collision 電圧 10V で面積値が最大となり、MS クロマトグラムでもプロダクトイオンのピークが最大となった (図 3)。

アルジカルブは Collision 電圧 10V で面積値が最大となったが、MS クロマトグラムでは Collision 電圧 5V でプロダクトイオンのピークが最大となった (図 4)。

エチオフェンカルブは Collision 電圧 10V で面積値が最大となったが、MS クロマトグラムでは Collision 電圧 15V でプロダクトイオンのピークが最大となった。

テブフェノジドは Collision 電圧 20V で面積値が最大となり、MS クロマトグラムでもプロダクトイオンのピークが最大となった。

7 混合標準液の測定条件

4 物質の最適化された測定条件を既存の測定条件に加え、混合標準液を測定し検量線を作成した。(表 2、図 5)。検量線については特に問題はなかった。

8 結語

農薬 4 物質について、LC-MSMS の測定条件を最適化し、標準液についてはほぼ問題なく測定できることが確認された。オキサミルについては、ピーク形状があまり良くない為、LC の条件の検討が必要と思われる。今後は野菜等の検体を使用した妥当性の評価を行い、測定項目数を増やしていきたい。

参考文献

- 1) 液体クロマトグラフ/タンデム質量分析計 (LC/MS/MS) を用いた農産物の残留農薬一斉分析について
札幌市衛生研究所年報 37、2010
- 2) LC/MS による農薬等の一斉試験法
食安発第 1129002 号 平成 17 年 11 月 29 日

表 2 測定条件一覧

農薬名	Start(分)	Stop(分)	RT(分)	プリカーサー(m/z)	プロダクト(m/z)	Cone(V)	Collision(V)
オキサミル	5.4	8.4	6.9	236.93	71.8	15	10
アルジカルブ	12	15	13.46	207.91	116	15	5
ベンダイオカルブ	13.7	16.7	15.29	224.1	108.9	20	15
カルバリル	14.5	17.5	16.05	202.0	145	20	10
エチオフェンカルブ	15.1	18.1	16.60	225.93	106.8	25	15
ピリミカルブ	15.6	18.6	17.06	239.2	71.8	30	20
フェノカルブ	17.9	20.9	19.36	208.1	95.0	20	10
イプロハリカルブ	19.7	22.7	21.29	321.1	119.1	20	10
テブフェノジド	20.9	23.9	22.37	353.18	132.7	35	20
ジフルベンズロン	20.9	23.9	22.4	311.0	157.9	25	15
ルフエスロン	26.6	29.6	28.16	510.9	158	35	15
テフルベンズロン	26.6	29.6	28.01	380.9	158.0	25	15
フルフェノクスロン	28.4	31.4	29.83	489.1	158	35	15
クロルフルアスロン	29.7	32.7	31.04	539.8	382.6	35	20

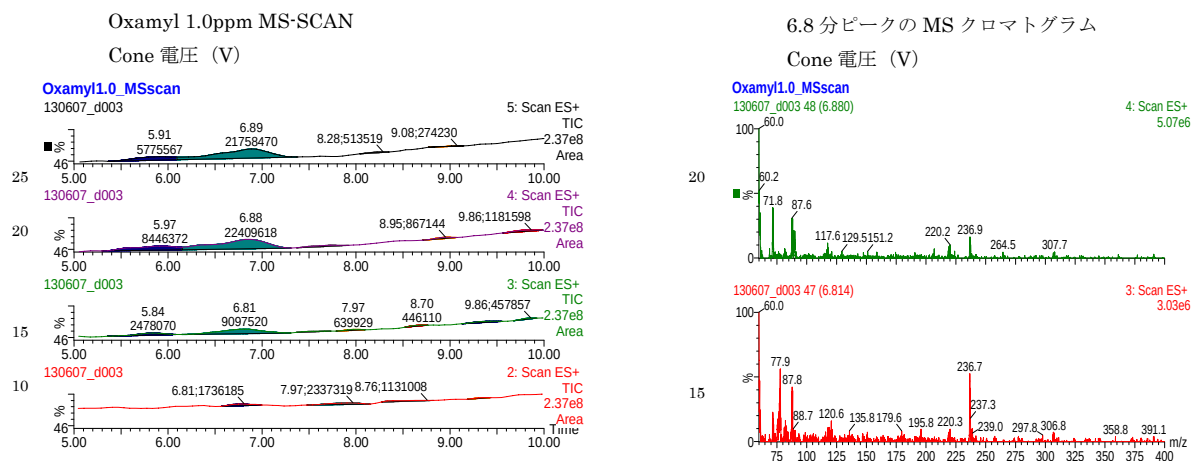


図 1 オキサミルの Cone 電圧変化とクロマトグラム

13.1 分ピークの MS クロマトグラム
Cone 電圧 (V)

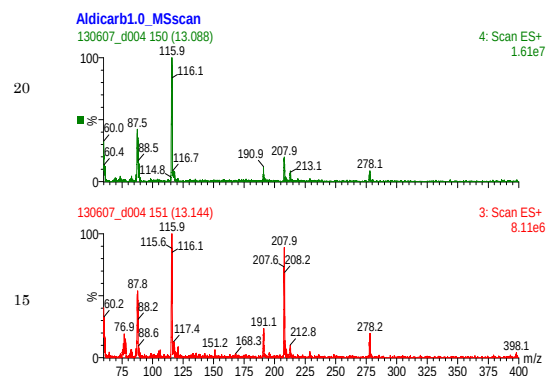


図2 アルジカルブの Cone 電圧変化とクロマトグラム

7.6 分ピークの MS クロマトグラム
Collision 電圧 (V)

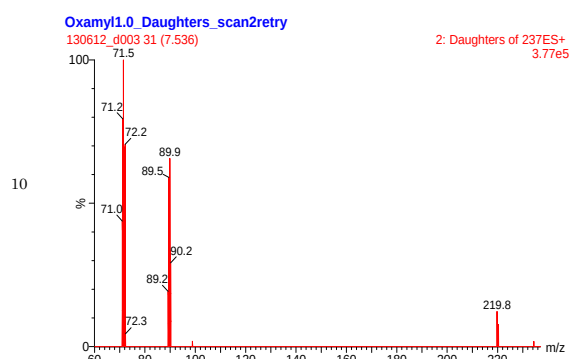


図3 オキサミルの Collision 電圧変化とクロマトグラム

13.1 分ピークの MS クロマトグラム
Collision 電圧 (V)

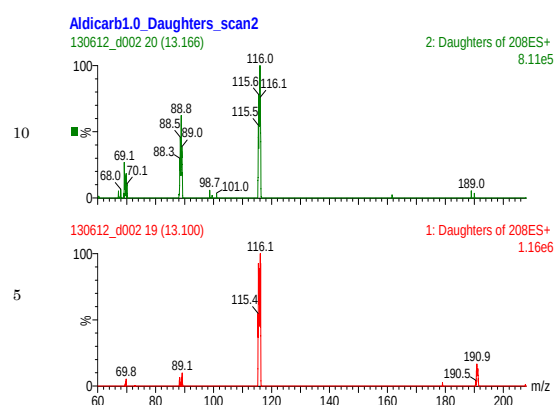


図4 アルジカルブの Collision 電圧変化とクロマトグラム

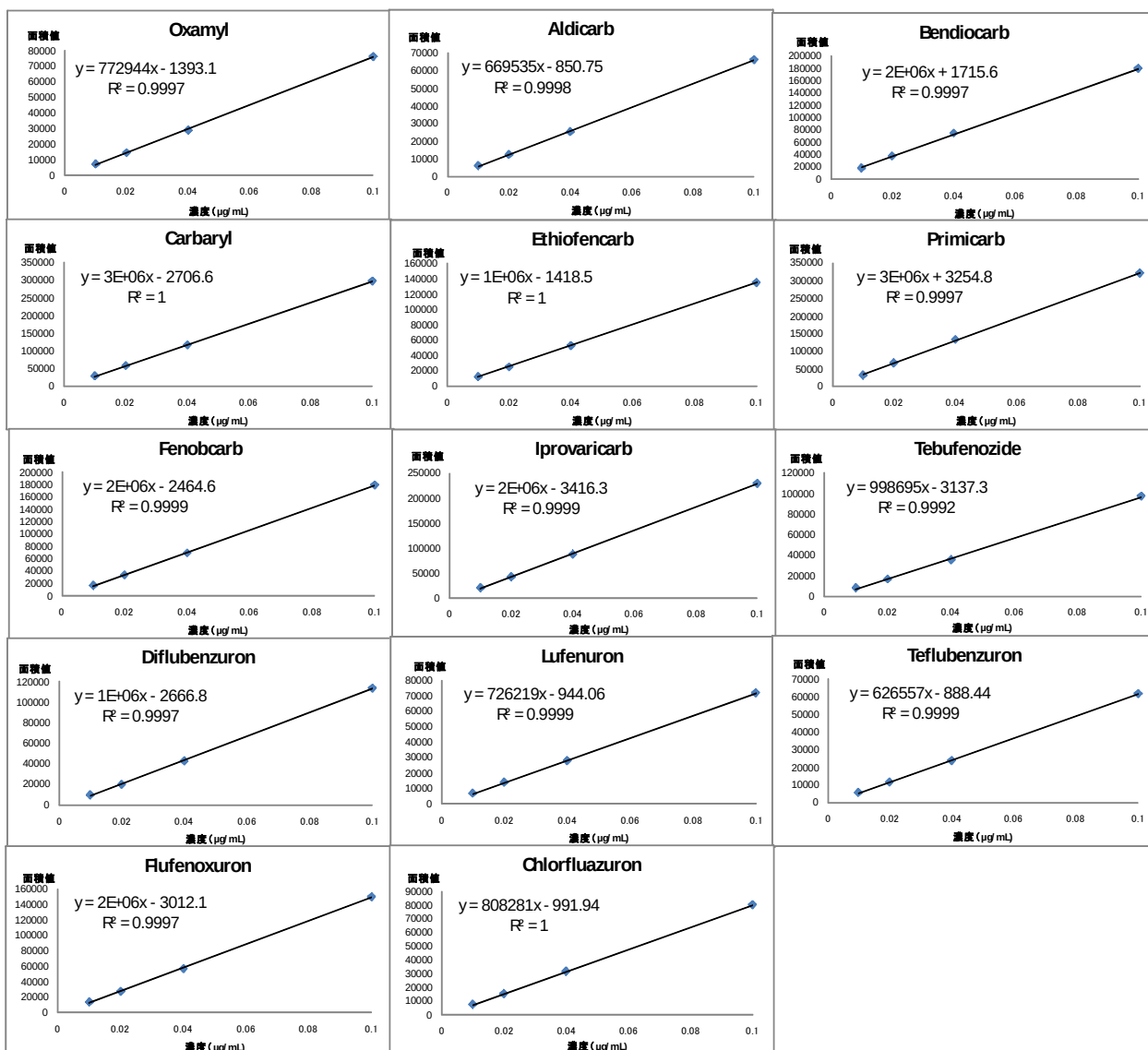


图5 檢量線