

GC-TOFMS による “ Ion Ratio ” 機能を用いた農薬分析

はじめに

Ion Ratio という ChromaTOF®ソフトウェアの機能は、選択イオン検出器 (SIR) 高分解能質量分析計 (HRMS) によるポリ塩化ビフェニル (PCB) の測定を行なっていたお客様向けに開発しました。SIR では、フルマススペクトルが得られないので、天然に存在する塩素の安定同位体 ^{35}Cl (存在率 76%) と ^{37}Cl (存在率 24%) の 2 分子のイオン比を比較することで、測定している成分が夾雑物由来ではなく PCB であると判断しています。異なる塩素同位体を持つ PCB 分子の正確なイオン比率を計算し、SIR 測定で得られたイオン比率が計算値 (理論値または標準試料から得られた値) のパーセント範囲から逸脱している場合、その化合物は PCB ではないと判断されます。反対に、測定比と予想比が許容誤差内であればその化合物は PCB であると言えます。この方法は、塩素化ダイオキシンおよびフランの SIR HRMS 分析でも行なえます。TOFMS によるフルマススペクトルの同定は可能ですが、そこで PCB と判断された結果を Ion Ratio によって補足証明します。

Ion Ratio は、TOFMS を使用する際には必ず得られるフルマススペクトルを補足するための Quality Assurance (QA) ツールとして、農薬の分析に使用できます。最も重要なのは、定量に選択したイオンのピーク面積の総和を用いる場合、Ion Ratio は、妨害イオン由来の定量誤差を明らかにできるという点です。このアプリケーション ノートでは、農薬 (殺虫剤) を添加したハウレン草から抽出した試料中の農薬のグループ イオン存在比を説明しています。

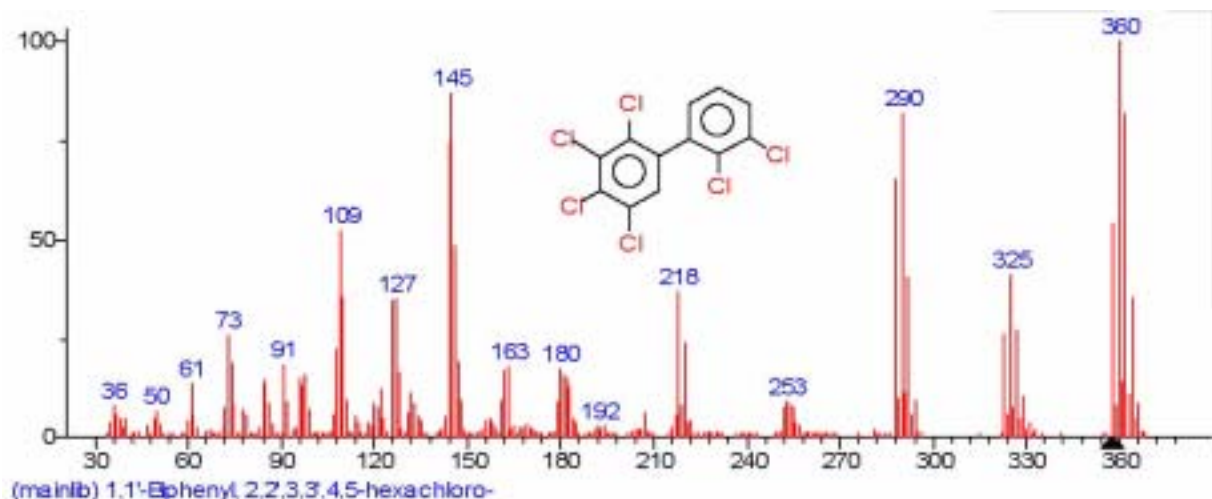


図 1 ヘキサクロロビフェニルのマススペクトル。イオン 360 および 362 を SIR HRMS に使用します。 ^{35}Cl および ^{37}Cl の天然存在比から計算した 2 イオンの存在比は、約 1.25 (360/362) です。

分析条件

Gas Chromatography: Agilent 6890 GC
Column: 20 m x 0.18 mm x 0.14 μ m CLP11 (Restek)
Carrier: Helium at 1 mL/min, constant flow
Injection: 1 μ L splitless at 250°C, 60 sec. valve
Oven Program: 40°C (1 min), 40°C /min to 120°C, 20°C /min to 320°C
Total Run Time: 13 min

Mass Spectrometry: LECO Pegasus III TOFMS
Ionization: Electron ionization at 70eV
Source Temperature: 225°C
Stored Mass Range: 45 to 550 u
Acquisition rate: 20 spectra/sec.

Data Processing
LECO ChromaTOF software with automatic Peak Find and Deconvolution

ハウレン草の抽出および分析

Florida-Modified-California Department of Food and Agriculture multiresidue メソッドで地元の食料品店で購入した冷凍ハウレン草から試料を抽出しました。GC-TOFMS の分析前に抽出試料に農薬を添加しました。

キャリブレーションおよびイオン比

TOFMS で得られたフルマススペクトルを使用し、試料中の化合物が農薬であると同定し、それを定量化するには、次の 3 つのステップを行ないます。

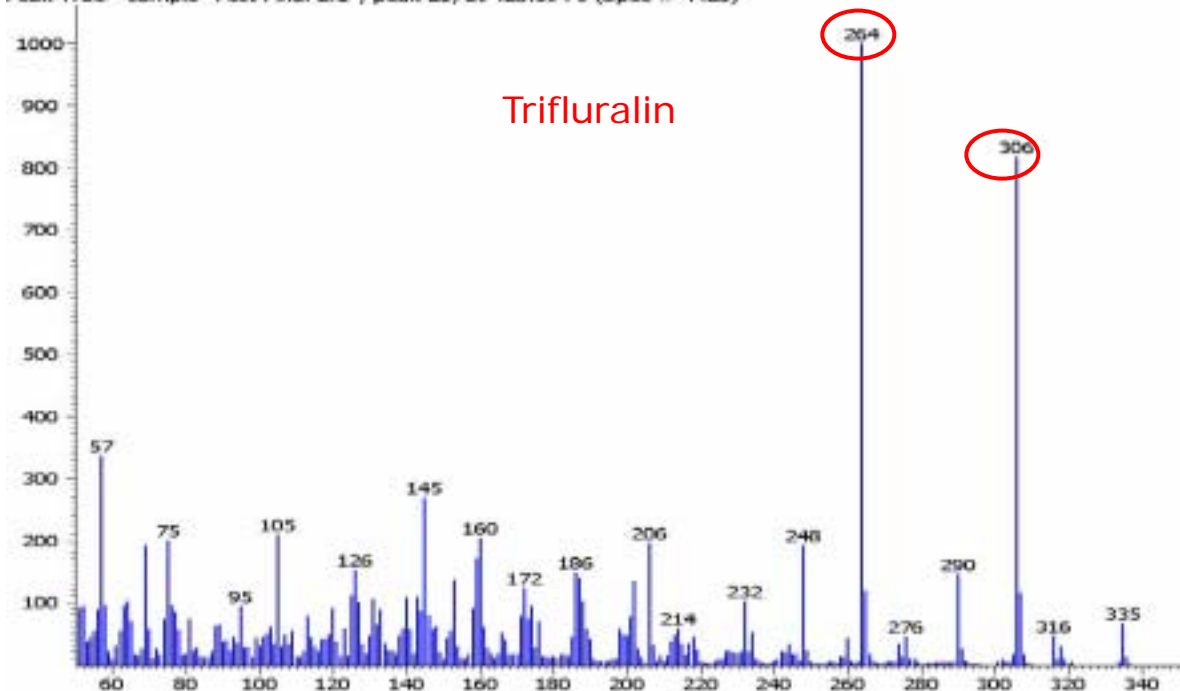
1. その化合物は、農薬のリファレンススペクトルの一致係数に達したか？
2. その化合物は、特定の保持時間ウィンドウで溶出したか？
3. その化合物は、設定した S/N またはエリア閾値にあるか？

しかし、リファレンス スペクトルの基準値を満たし、農薬と同定されても定量用に選択したマスには妨害物質由来のバイアスがある可能性があります。この場合、Ion Ratio は、定量のバイアスを抑える QA 機能として使えます。

Ion Ratio は、Calibration Table (図 2) で設定します。農薬の標準物質を分析してから、Ion Masses を Calibration Table に入力し、標準物質からイオン比が算出されます。ユーザーは Ion Ratio Tolerance (%) を設定できます。“Passed” となった Ion Ratio は、リファレンス スペクトルでの一致をより確かなものにします。これが、適切な保持時間ウィンドウにあるピークを特定の農薬であると特定する最初のステップです。“Passed” となった結果は、定量の正確さも保障します。Passed は、定量用に選択した質量にはバイアスがないということを示しています。

Analyte	Name	Absolute R.T. (s)	Ion Ratio Masses	Expected Ion Ratio	Ion Ratio Tolerance (%)
1*	Trifluralin	426.394	264/306	1.22	30.0
2	Pentachloronitrobenzene	465.594		Not Defined	30.0
3	Chlorothalonil	503.394	264/266	0.770	30.0
4	DCPA	534.794	299/301	0.800	30.0
5	Thiabendazole	570.01	174/201	1.23	30.0
6	4,4'-DDE	576.85	316/318	0.786	30.0
7	Azinphos methyl	703.144	132/160	1.04	30.0

Peak True: - sample "Pest Final 2:1", peak 28, at 426.394 s (Spec # 4426)



- 図2 Calibration Tableにある農薬標準物質グループの Ion Ratio。トリフルラリンのマススペクトルは、どのように2つの予想イオン比率が1.22である Ion Masses として選択したかを示しています。

Peak #	Quantification	R.T. (s)	Ion Ratio Masses	Calculated Ion Ratio	Ion Ratio Result	Quant Masses	Concentration
65*	Trifluralin	426.237	264/306	1.1973	Passed	264+306	0.55
78	Pentachloronitrobenzene	465.487	Not Defined	0.0000	Not Checked	237+249+295	2.00
91	Chlorothalonil	503.287	264/266	0.76961	Passed	264+266+268	0.41
105	DCPA	534.637	299/301	0.77972	Passed	299+301+332	0.53
119	Thiabendazole	571.537	174/201	1.2431	Passed	174+201	1.08
120	4,4'-DDE	576.587	316/318	0.78852	Passed	246+248+318	0.56
142	Azinphos methyl	703.087	132/160	1.0914	Passed	77+132+160	0.83

- 図3 添加した農薬の Ion Ratio の結果を示しているホウレン草の抽出試料のピークテーブル。Quant Masses および Ion Masses が、ほぼどのケースでも重複していることを確認してください。Ion Ratio の結果が "Failed" である場合、定量にバイアスがある可能性を示しています。テーブルに予想イオン比を表示することも可能です。

結論

Ion Ratio は、フルマスペクトルでの一致が確かであると証明すると同時に、検体には定量値にバイアスが存在していないことを示します。良好なリファレンス スペクトルの一致が見られるにも関わらず、Ion Ratio が許容誤差範囲内にならないことから、定量値にバイアスがある、または、間違った高濃度農薬の検出結果であるということがわかるという、稀なケースを明らかにしています。

LECOジャパン合同会社
〒140-0002 東京都品川区東品川1-31-5
Tel 03-5782-7800 Fax 03-5782-7801



LECO Corporation • 3000 Lakeview Ave. • St. Joseph, MI 49085-2396
Phone: 800-292-6141 • Fax: 269-982-8977 • info@leco.com • www.leco.com
ISO-9001:2000 • No. FM 24045

