

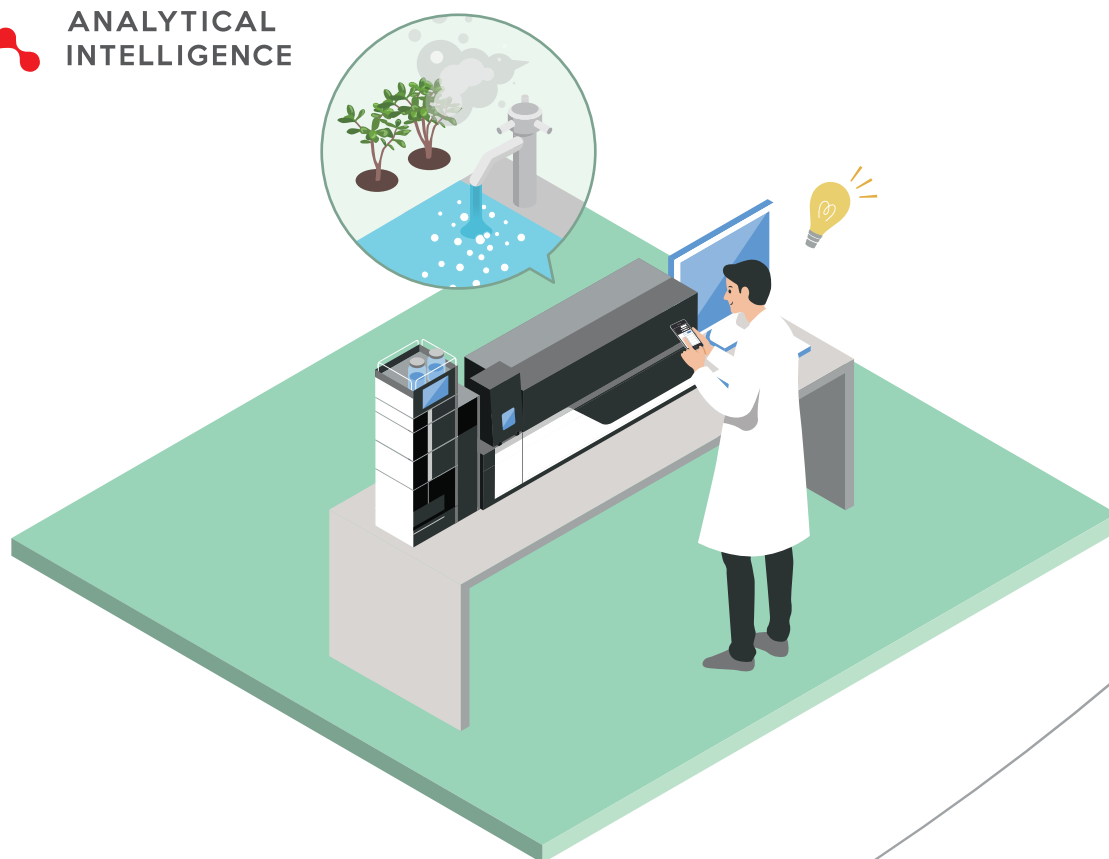
新しいワークスタイルを提案する

Solutions for New Work Style

LCMS環境分析 アプリケーション集



ANALYTICAL
INTELLIGENCE



おはようございます。

「Analytical Intelligence」機能を備えた
島津LCMSによって
新しい分析ラボでの1日が始まります。



島津LCMS™とNexera™シリーズを組み合わせることで
「Analytical Intelligence」機能を備えたシステムが、
分析準備から解析まで新しいワークスタイルを提供します。



**ANALYTICAL
INTELLIGENCE**

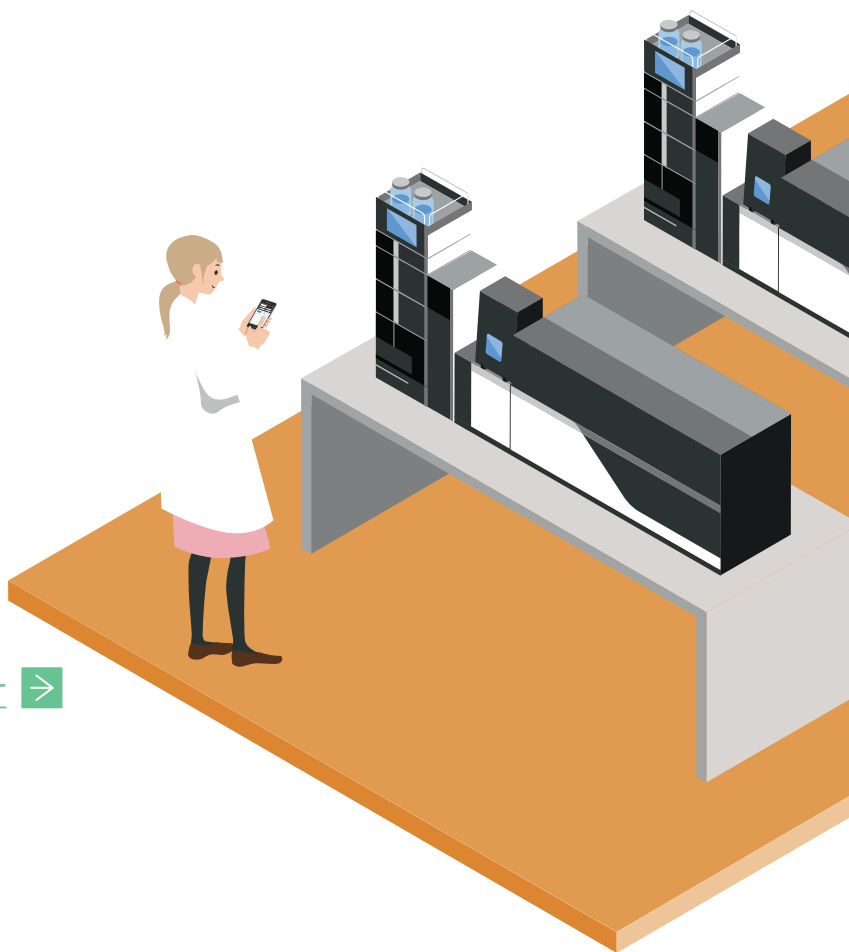
Analytical Intelligenceは、島津製作所が提案する分析機器の新しい概念です。
システムやソフトウェアが、熟練技術者と同じように操作を行い、状態・結果の良し
悪しを自動で判断し、ユーザーへのフィードバックやトラブルの解決を行います。
また、分析機器に対する知識や経験の差を補完し、データの信頼性を確保します。

ベストな状態ですぐに分析開始

Nexeraシリーズでは、スマートスタートアップ、カラムに優しいFlowPilot機能、移動相残量モニタリング機能など、種々のAnalytical Intelligence機能が分析のクオリティを支えます。

熟練者の手作業を自動化：FlowPilot機能 [➤](#)

連続分析中に移動相を枯渇させない移動相モニター [➤](#)



サンプル前処理での負荷を軽減

Nexera オートサンプラ SIL-40シリーズの様々な機能を活用して、サンプル前処理の負荷を軽減することができます。グラフィカルな画面で簡単に設定でき、共注入や誘導体化などの前処理の負荷軽減、精度向上が可能です。

オートサンプラ SIL-40 シリーズ：自動前処理機能（共注入） [➤](#)



分析中のトラブルを自ら判断し、解決

分析中にトラブルが発生した場合、システムがその問題を検知して、正常状態へ復帰させることができます。

万が一に備えて、常に自らを監視：
自己診断・自己復帰機能 [➤](#)



分析とデータ解析を 無人化できる ソフトウェア

MS条件の最適化から定量解析までの一連の流れの自動化を実現し、業務効率を最大限高めます。

#MRM最適化～定量計算までをシームレスに実行：
[LabSolutions Connect™ MRM](#) ➤

多様な働き方への対応

自宅のPCからVPN接続でラボのLabSolutions™ CSサーバーにアクセスし、サーバーにあるデータの解析やレポート作成を行うこともできます。



#いつでも、どこからでも
ラボの状況を一括モニター ➤



新しいワークスタイルを提案する LCMS 環境分析アプリケーション 目次

飲料・水道水/環境水

- トリプル四重極型LC/MS/MSを用いたハロ酢酸類9成分の分析 (C89) >>
- トリプル四重極型LC/MS/MSを用いたハロ酢酸類の分析 (C95) >>
- トリプル四重極型LC/MS/MSを用いたフェノール類の分析 (C96) >>
- トリプル四重極型LC/MS/MSを用いた水道水中のカルタップ・ピラクロニル・フェリムゾンの分析 (C119) >>
- トリプル四重極型LC/MS/MSを用いた水道水中のグルホシネート・グリホサート・AMPAの分析 (C120) >>
- トリプル四重極型LC/MS/MSを用いた水道水中のホルムアルデヒド分析 (C128A) >>
- トリプル四重極型LC/MS/MSを用いた水道水中のイミノクタジン・パラコート・ジクワット分析 (C129A) >>
- トリプル四重極型LC/MS/MSを用いた水道水中の臭素酸分析 (1) (C144) >>
- トリプル四重極型LC/MS/MSを用いた水道水中の臭素酸分析 (2) (C152) >>
- トリプル四重極型LC/MS/MSを用いた水質管理目標設定項目別添方法20の2 追加農薬の分析 (C171) >>
- トリプル四重極型LC/MS/MSを用いた水質管理目標設定項目別添方法20の2 農薬の高速分析 (C172) >>
- トリプル四重極型LC/MS/MSを用いた水道水中の過塩素酸分析 (C173) >>
- トリプル四重極型LC/MS/MSを用いた飲料中グリホサート・グルホシネート・AMPAの直接分析 (C181A) >>
- トリプル四重極型LC/MS/MSを用いた有機フッ素系化合物 (PFAS) の分析 (C184) >>
- LC/MS/MSを用いたゴルフ場農薬の分析 (C193) >>
- トリプル四重極型LC/MS/MSを用いた飲料水および環境水中のマイクロシスチンの分析 (C204) >>
- APCI-LCMS-8060による水中のキャプタン、フォルペットおよびそれらの代謝物の分析 (C212) >>
- トリプル四重極型LC/MS/MSを用いた水道水中の塩素酸・臭素酸・過塩素酸・亜塩素酸の同時分析 (C221) >>
- Q-TOF 型質量分析計LCMS-9030を用いた地表水に含まれる有機フッ素系化合物 (PFAS) のスクリーニング分析 (C222) >>
- トリプル四重極型LC/MS/MSを用いた水道水中のペルフルオロオクタンスルホン酸 (PFOS) およびペルフルオロオクタン酸 (PFOA) の分析 (C224) >>

土壌/その他

- トリプル四重極型LC/MS/MSを用いた土壌および底質中のピレスロイド系農薬の定量 (C100) >>
- Nexera UC SFE 前処理システムの土壌中残留農薬抽出への応用 (L503) >>
- アルキルフェノールエトキシレート (APEO) およびアルキルフェノール (AP) のLC/MS/MS測定 (C187) >>
- サンプルバイアルへのイオンペア試薬添加による食品中グリホサート・グルホシネート・AMPA の新しい定量分析法 (C220) >>

トリプル四重極型 LC/MS/MS を用いた
ハロ酢酸類 9 成分の分析

Analysis of 9 Haloacetic Acids in Drinking Water Using Triple Quadrupole LC/MS/MS [LCMS-8040]

ハロ酢酸類は、浄水処理における塩素処理によって生成する消毒副生物です。モノクロロ酢酸 (MCAA), ジクロロ酢酸 (DCAA), トリクロロ酢酸 (TCAA) の 3 成分に関しては、水道水質基準においてそれぞれ基準値 (MCAA: 0.02 mg/L, DCAA: 0.04 mg/L, TCAA: 0.2 mg/L) が定められています。

従来ハロ酢酸類の試験法 (告示法) としては、溶媒抽出後にジアゾメタンでメチル化し GC/MS で分析する手法が収載されていましたが、平成 24 年厚生労働省告示第 66 号により LC/MS (MS) を用いた分析法が新たに追加されました。この LC/MS (MS) 試験法では GC/MS 法で行われていた溶媒抽出操作および誘導体化操作を省略してサンプルを LC/MS (MS) へ直接注入するため、分析作業負荷の大幅な軽減が期待されます^{1), 2)}。

ここでは LC/MS (MS) 試験法に則り、トリプル四重極型質量分析計 LCMS-8040 を用いて、水質基準の対象である上記の 3 成分に要検討項目の含臭素ハロ酢酸類 6 成分を加えたハロ酢酸類 9 成分の一斉分析例をご紹介します。

Fig. 1 に標準溶液 0.001 mg/L の MRM クロマトグラムを示しました。各成分の 0.001–0.2 mg/L における検量線直線性および 0.001 mg/L におけるピーク面積値再現性 (n=3) を Table 1 に示しました。いずれの成分も良好な直線性が確認され、また 0.001 mg/L における面積値再現性 (%RSD) は 5 % 以下でした。

実際の水道水試料を用いて各ハロ酢酸類の定量と添加回収試験を行いました。試験法では検水中に高濃度の陰イオン類が含まれる場合には、必要に応じて検水のクリーンアップを行う旨が記載されていますが、今回の水道水直接分析については水道水中の夾雑成分による顕著な妨害は確認されず (Fig. 2), 90 ~ 110 % の良好な回収率が得られました (Table 2)。

T. Tsukamoto

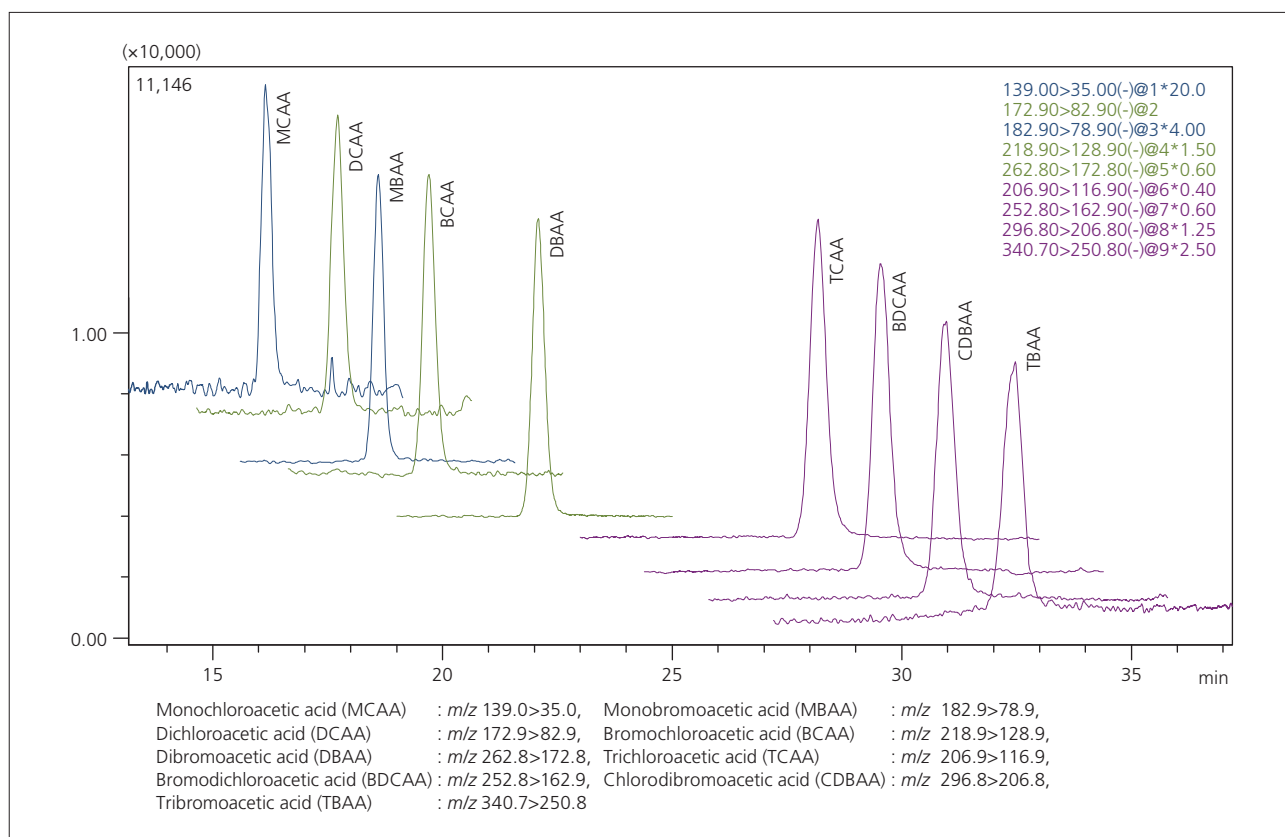


Fig. 1 ハロ酢酸類 9 成分標準溶液 (0.001 mg/L) の MRM クロマトグラム
MRM Chromatograms of Haloacetic Acids 9 Mixture Standard Solution (0.001 mg/L)

Table 1 検量線の直線性とピーク面積値再現性
Linearity and Repeatability of Peak Area

	相関係数R 0.001–0.2 mg/L	Area %RSD 0.001 mg/L
MCAA	0.9956	2.6
MBAA	0.9988	0.3
DCAA	0.9950	2.7
BCAA	0.9960	1.9
DBAA	0.9965	0.8
TCAA	0.9987	0.7
BDCAA	0.9991	1.2
CDBAA	0.9983	3.3
TBAA	0.9956	0.9

Table 2 水道水試料の分析結果と添加回収率
Quantitation Result of Drinking Water and Recovery

	水道水試料濃度 mg/L	回収率% 0.001 mg/L添加
MCAA	N.D.	92
MBAA	N.D.	102
DCAA	Tr.	109
BCAA	N.D.	104
DBAA	Tr.	99
TCAA	0.0031	105
BDCAA	0.0017	103
CDBAA	0.00034	105
TBAA	Tr.	98

N.D.: 非検出, Tr.: 痕跡量

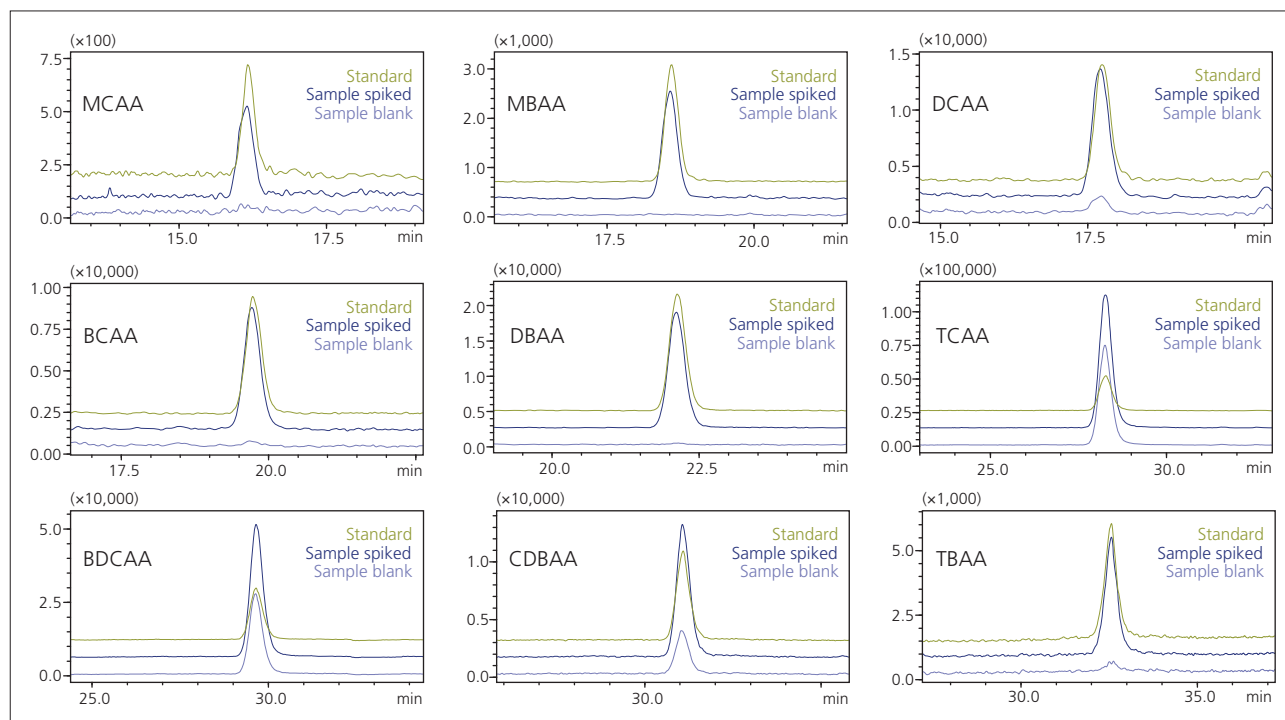


Fig. 2 標準溶液 (0.001 mg/L), ブランク水道水および各成分 0.001 mg/L を添加した水道水の MRM クロマトグラム
MRM Chromatograms of Standard Solution (0.001 mg/L), Drinking Water Blank and Spiked Each Haloacetic Acids 0.001 mg/L

Table 3 分析条件
Analytical Conditions

Column	: CAPCELL PAK MGIII (150 mm L. × 4.6 mm I.D., 3 μm)		
Mobile Phases	: A: 0.2 % Formic acid-water, B: Methanol		
Time Program	: 5 % B (0 min) → 100 % B (38 min) → 5 % B (38.01-50 min)		
Flow Rate	: 0.2 mL/min		
Injection Volume	: 50 μL		
Column Temperature	: 30°C		
Probe Voltage	: -3.5 kV (ESI-negative mode)		
DL Temperature	: 150 °C		
Block Heater Temperature	: 400 °C		
Nebulizing Gas Flow	: 1.5 L/min		
Drying Gas Flow	: 15 L/min		
DL Voltage/Q-array Voltage	: Using default values		
MRM Transition	: MCAA <i>m/z</i> 139.0>35.0, MBAA <i>m/z</i> 182.9>78.9, DCAA <i>m/z</i> 172.9>82.9, BCAA <i>m/z</i> 218.9>128.9, DBAA <i>m/z</i> 262.8>172.8, TCAA <i>m/z</i> 206.9>116.9, BDCAA <i>m/z</i> 252.8>162.9, CDBAA <i>m/z</i> 296.8>206.8, TBAA <i>m/z</i> 340.7>250.8		

[参考文献]

- 1) 田原麻衣子, 杉本直樹, 久保田領志, 西村哲治: 液体クロマトグラフ / 質量分析計による水道水中のハロ酢酸類の定量法の確立. 水道協会雑誌, 907, 18-22 (2010).
- 2) 田原麻衣子, 久保田領志, 小林憲弘, 塚本多矩, 杉本直樹, 西村哲治: 陰イオン存在下における水道水中のハロ酢酸類の LC/MS および LC/MS/MS 分析の定量精度の検証. 水道協会雑誌, 931, 20-27 (2012)

初版発行: 2013年2月

トリプル四重極型 LC/MS/MS を用いた ハロ酢酸類の分析

Analysis of Haloacetic Acids in Drinking Water Using Triple Quadrupole LC/MS/MS [LCMS-8050]

ハロ酢酸類は浄水処理における塩素処理によって生成する消毒副生物です。モノクロロ酢酸 (MCAA), ジクロロ酢酸 (DCAA), トリクロロ酢酸 (TCAA) の3成分に関しては、厚生労働省の水道水質基準においてそれぞれ基準値 (MCAA: 0.02 mg/L, DCAA: 0.04 mg/L, TCAA: 0.2 mg/L) が定められています。これらハロ酢酸3成分の試験法 (告示法) としては、溶媒抽出後にジアゾメタンを用いて誘導体化し GC/MS により測定する手法が提示されています。

平成 24 年 4 月 1 日より、ハロ酢酸類の追加試験法として LC/MS (MS) を用いた試験法が加わりました (平成 24 年厚生労働省告示第 66 号: 水質基準に関する省令の規定に基づき厚生労働大臣が定める方法の一部を改正する件)。この LC/MS 法は GC/MS 法で必要であった溶媒抽出操作および誘導体化操作を省略して水試料中のハロ酢酸類を直接分析する

というものであり、分析作業の効率化が期待されています。本アプリケーションニュースではこの LC/MS の試験法に則り、トリプル四重極型質量分析計 LCMS-8050 を用いたハロ酢酸3成分の分析例をご紹介します。

本分析条件では、ESI 脱プロトン化分子をプリカーサーイオンに用いて、MCAA が 3.1 分に DCAA が 3.4 分に、TCAA が 5.2 分にそれぞれ溶出し、時間短縮を実現しました。Fig. 1 に 0.001 mg/L における MRM クロマトグラムを示しました。各成分の 0.001 – 0.1 mg/L における検量線直線性および 0.001 mg/L におけるピーク面積値再現性 ($n = 5$) を Fig. 2 に示しました。いずれの成分でも基準値の 1/10 以下である 0.001 mg/L において面積値再現性 (%RSD) は 3 % 以下でした。

T. Yoshitomi M. Kobayashi

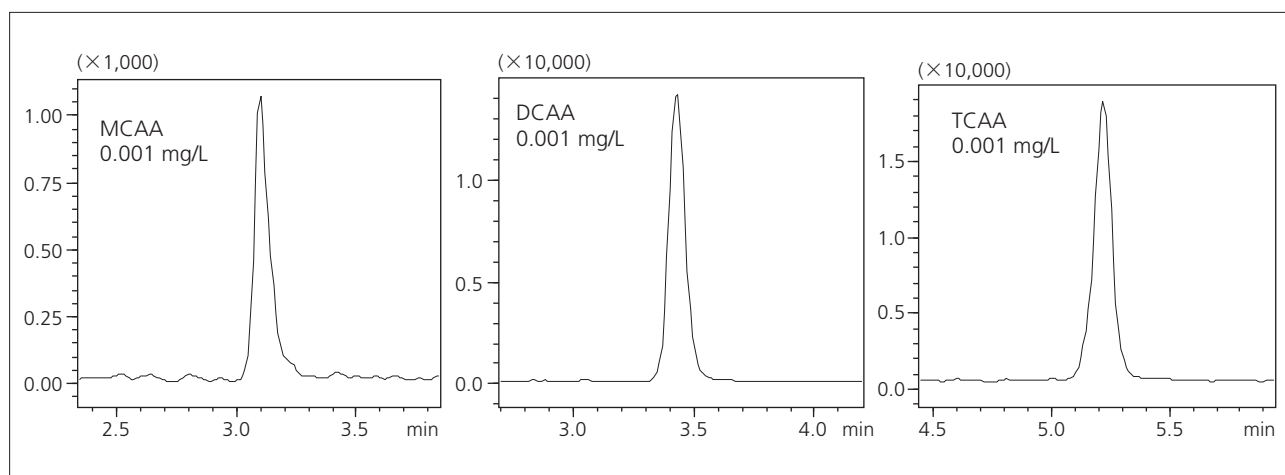


Fig. 1 モノクロロ酢酸, ジクロロ酢酸, トリクロロ酢酸 (各 0.001 mg/L) 標準溶液の MRM クロマトグラム
MRM Chromatograms of MCAA, DCAA and TCAA (0.001 mg/L)

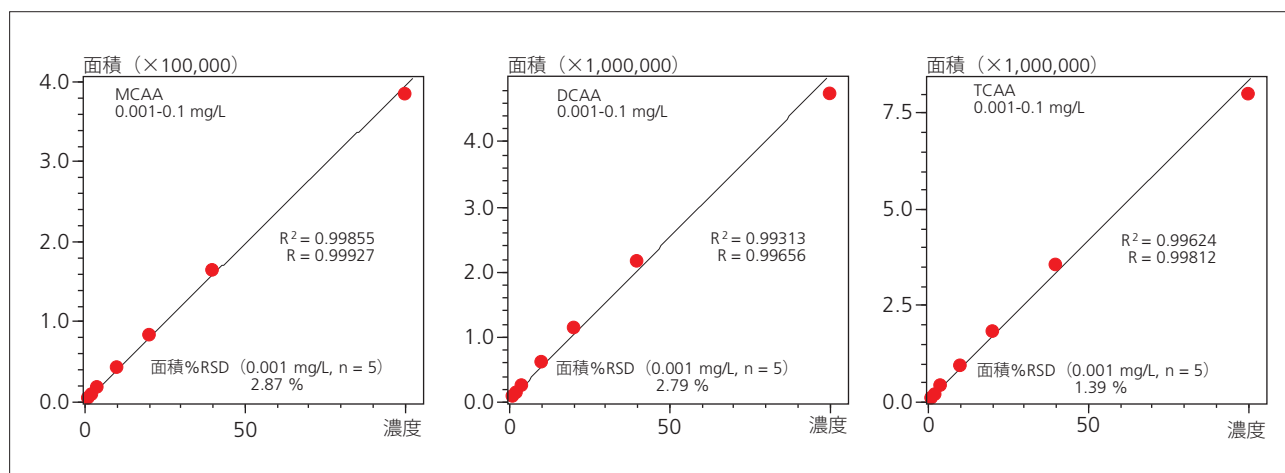


Fig. 2 検量線の直線性とピーク面積値再現性
Linearity and Repeatability of Peak Area

また、実際の水道水を用いて、ハロ酢酸類の定量と添加回収試験を行いました（残留塩素還元のためにアスコルビン酸ナトリウムを水道水 100 mL に対し 2 mg 加えています）。Fig. 3 に、水道水およびハロ酢酸 3 成分 0.001 mg/L を添加した水道水の MRM クロマトグラムを示しました。回収率は

5 回の繰り返し測定を行い、その平均面積から算出しました。試験法では検水中に高濃度の陰イオン類が含まれる場合には、必要に応じて検水のクリーンアップを行う旨が記載されていますが、今回、水道水の直接分析において、夾雑成分による顕著な妨害は確認されませんでした。

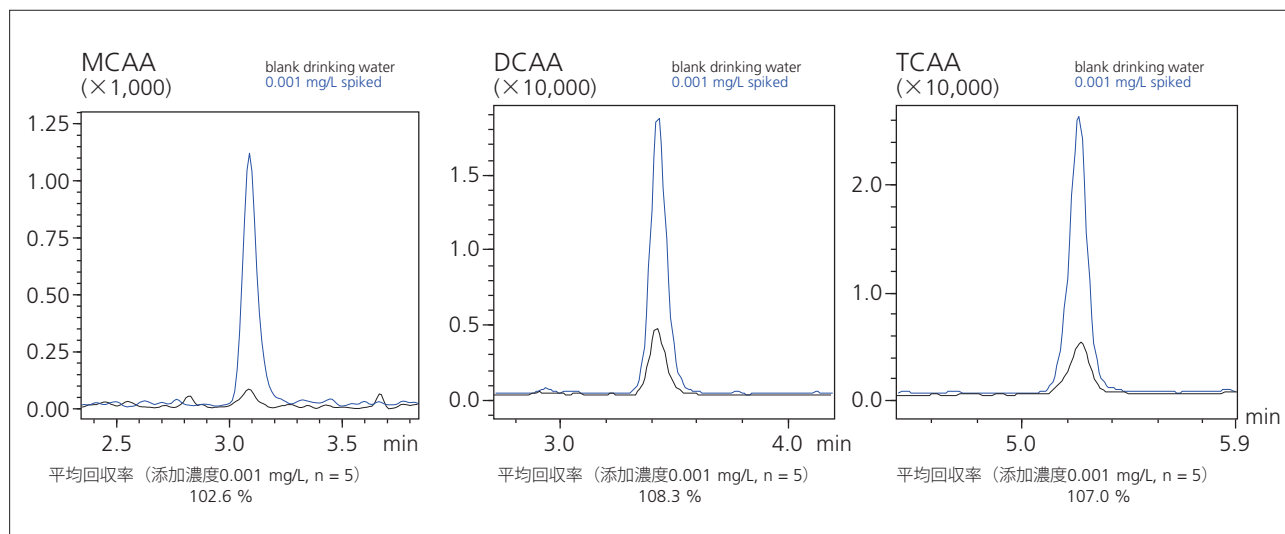


Fig. 3 Sample 1 のブランク水道水およびモノクロ酢酸、ジクロ酢酸、トリクロ酢酸（各 0.001 mg/L）を添加した水道水の MRM クロマトグラム
MRM Chromatograms of Drinking Water Blank and Spiked MCAA, DCAA and TCAA (0.001 mg/L)

この試験では異なる 4 つの地域から水道水 (Sample 1 ~ 4) を採水し、添加回収試験を行いました。その結果、採水地域に依存せず、どのサンプルからも 90 ~ 110 % の良好な回収

率が得られました (Table 1)。また、水道から検出されたハロ酢酸類の濃度はいずれも基準値以下でした。

Table 1 水道水試料の分析結果と添加回収試験
Quantitation Result and Recovery of Drinking Water

	Sample 1		Sample 2		Sample 3		Sample 4	
	水道水試料濃度 (mg/L)	回収率 (%)	水道水試料濃度 (mg/L)	回収率 (%)	水道水試料濃度 (mg/L)	回収率 (%)	水道水試料濃度 (mg/L)	回収率 (%)
MCAA	Tr.	102.6	0.00076	103.6	0.00069	94.9	0.00034	100.4
DCAA	Tr.	108.3	0.01151	101.7	0.00742	102.9	0.00635	92.3
TCAA	Tr.	107.1	0.00861	107.2	0.00622	104.5	0.00452	102.9

Table 2 分析条件
Analytical Conditions

Column	: CAPCELL PAK MGIII (150 mmL. × 3 mmI.D., 3 μm)
Mobile Phases	: A 0.2 % Formic acid-water : B 0.2 % Formic acid-methanol
Flow Rate	: 0.5 mL/min
Column Temperature	: 50 °C
Injection Volume	: 25 μL
Probe Voltage	: -3.5 kV (ESI-negative mode)
DL Temperature	: 150 °C
Block Heater Temperature	: 100 °C
Interface Temperature	: 100 °C
Nebulizing Gas Flow	: 3 L/min
Drying Gas Flow	: 5 L/min
Heating Gas Flow	: 15 L/min
MRM Transition	: MCAA; <i>m/z</i> 93.00 > 35.00 : DCAA; <i>m/z</i> 126.90 > 82.90 : TCAA; <i>m/z</i> 161.10 > 116.90

トリプル四重極型 LC/MS/MS を用いた
フェノール類の分析

Analysis of Phenols in Drinking Water Using Triple Quadrupole LC/MS/MS [LCMS-8040]

フェノール類は浄水処理過程で生成する消毒副生成物であり、フェノール、2-クロロフェノール、4-クロロフェノール、2,4-ジクロロフェノール、2,6-ジクロロフェノール、2,4,6-トリクロロフェノールの6成分が、厚生労働省の水道水質基準の対象となっています。これらフェノール類6成分の試験法（告示法）としては、固相抽出-誘導体化-GC/MS法がさだめられています。

ここではUHPLC/MS/MSによる分析例をご紹介します。LC/MS/MSではGC/MSとは異なり、誘導体化を必要としないため、分析負荷の軽減が期待されます^{1), 2)}。

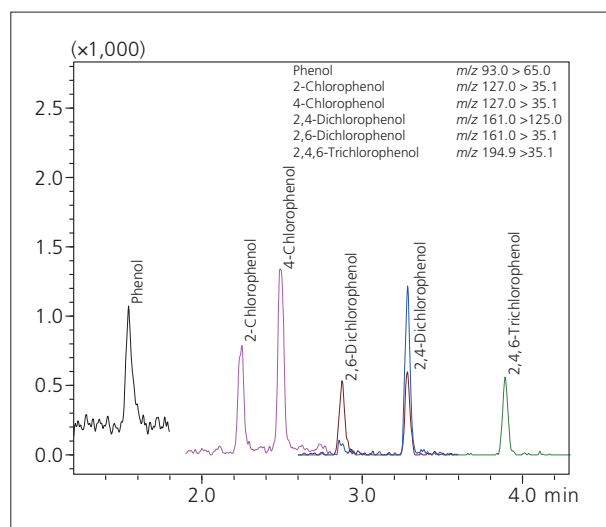
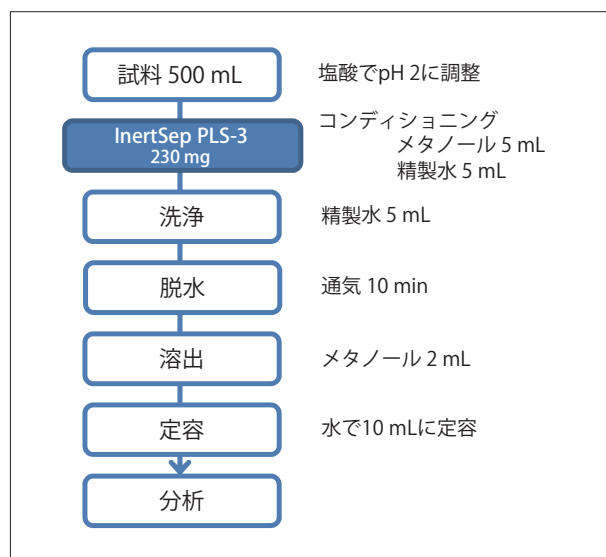
T. Tsukamoto

■ UHPLC/MS/MS による分析

UHPLC/MS/MS Analysis

試料の前処理は、告示法である固相抽出-誘導体化-GC/MS法と同様に固相抽出を行いました（Fig. 2）。固相カラムにはN含有スチレンジビニルベンゼン-メタクリレートポリマーを用いました。

Fig. 1に分析対象6成分各0.4 µg/Lの標準溶液を測定した結果を示しました。検水試料は固相抽出により50倍濃縮を行いますので、検水中の濃度に換算すると0.008 µg/Lに相当します。Table 1に検水試料相当濃度0.008～1 µg/Lの範囲にて作成した検量線の直線性と0.008 µg/Lにおける再現性を示しました。いずれの成分についても良好な直線性と再現性が得られています。

Fig. 1 フェノール類標準溶液のマスキングクロマトグラム (MRM)
Mass Chromatograms (MRM) of PhenolsFig. 2 前処理操作
Preparation FlowTable 1 検量線および再現性
Calibration Curves and Repeatability

	注入試料濃度 (µg/L)	検水試料相当濃度 (µg/L)	寄与率R ²	面積値再現性%RSD (検量点最小濃度)
Phenol	0.4 – 50	0.008 – 1	0.99938	7.4
2-Chlorophenol	0.4 – 50	0.008 – 1	0.99967	4.5
4-Chlorophenol	0.4 – 50	0.008 – 1	0.99960	5.0
2,4-Dichlorophenol	0.4 – 50	0.008 – 1	0.99966	3.9
2,6-Dichlorophenol	0.4 – 50	0.008 – 1	0.99960	7.0
2,4,6-Trichlorophenol	0.4 – 50	0.008 – 1	0.99960	7.8

■ 水道水を用いた添加回収試験

Spike and Recovery Test in Drinking Water

この分析法を用いて、水道水についてフェノール類の添加回収試験を行いました。Fig. 3 に、ブランク水道水を前処理した試料およびフェノール類 6 成分を検水中の濃度に換算して各 0.08 µg/L を添加した試料のマスキロマトグラム (MRM) を示しました。これらの添加濃度はフェノール類の基準値 (6 成分

をフェノールの量に換算して、0.005 mg/L 以下) の約 1/10 に相当します。今回分析した水道水試料については夾雑成分による顕著な妨害は確認されませんでした (Fig. 3)。また、90 ~ 110 % と良好な回収率が得られました (Table 2)。

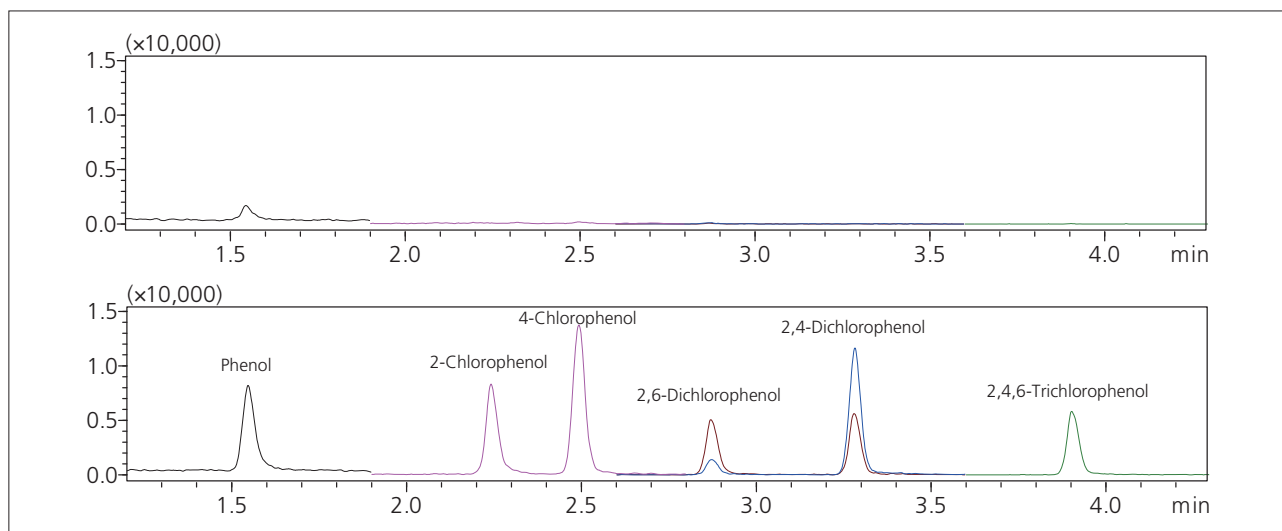


Fig. 3 ブランク水道水試料 (上) および標準品添加水道水試料 (0.08 µg/L 相当) (下) のマスキロマトグラム (MRM)
Mass Chromatograms (MRM) of Drinking Water (Upper: Blank, Lower: 0.08 µg/L spiked)

Table 2 添加回収試験結果 (n=5)
Result of Recovery Test (n=5)

	回収率% (0.08 µg/L相当)	回収率% (0.4 µg/L相当)
Phenol	103.7	99.6
2-Chlorophenol	104.8	100.1
4-Chlorophenol	104.1	100.2
2,4-Dichlorophenol	104.6	100.4
2,6-Dichlorophenol	102.0	100.3
2,4,6-Trichlorophenol	105.6	99.3

Table 3 分析条件
Analytical Conditions

Column	: InertSustain C18 HP (100 mm L. × 2.1 mm I.D., 3 µm)
Mobile Phases	: A Water : B Methanol
Flow Rate	: 0.5 mL/min
Time Program	: B conc. 40 % (0 min) – 95 % (4.8 – 5.4 min) – 40 % (5.41 – 7.5 min)
Column Temperature	: 40 °C
Injection Volume	: 50 µL
Probe Voltage	: -3.5 kV (APCI-negative mode)
DL Temperature	: 200 °C
Block Heater Temperature	: 200 °C
Interface Temperature	: 350 °C
Nebulizing Gas Flow	: 3 L/min (Air)
Drying Gas Flow	: 5 L/min (N ₂)
MRM Transition	: Phenol: <i>m/z</i> 93.0 > 65.0, 2-Chlorophenol: <i>m/z</i> 127.0 > 35.1, 4-Chlorophenol: <i>m/z</i> 127.0 > 35.1, 2,4-Dichlorophenol: <i>m/z</i> 161.0 > 125.0, 2,6-Dichlorophenol: <i>m/z</i> 161.0 > 35.1, 2,4,6-Trichlorophenol: <i>m/z</i> 194.9 > 35.1

参考文献

- 1) 久保田領志, 小林憲弘, 田原麻衣子, 杉本直樹, 五十嵐良明: 固相抽出ー LC/MS による水道水中フェノール及びクロロフェノール類の分析法の検討. 第 22 回環境化学討論会, p.586-587 (2013)
- 2) 久保田領志, 小林憲弘, 齊藤香織, 齋藤信裕, 鈴木俊也, 小杉有希, 田中美奈子, 塚本多矩, 林田寛司, 平林達也, 山本五秋, 五十嵐良明: 固相抽出ー LC/MS 法によるフェノール類検査法の妥当性評価. 第 23 回環境化学討論会, p.126-127 (2014)

初版発行: 2014年7月

トリプル四重極型 LC/MS/MS を用いた水道水中
のカルタップ・ピラクロニル・フェリムゾンの分析Analysis of Cartap, Pyraclonil and Ferimzone in Drinking Water Using Triple Quadrupole LC/MS/MS
[LCMS-8050]

カルタップは農作物用殺虫剤として、ピラクロニル、フェリムゾンも水稲用殺菌剤としてそれぞれ広く用いられています。これら農薬は、水道水において水質管理上留意すべき項目とされる水質管理目標設定項目の農薬類に設定され、目標値が定められているものの今まで検査法については示されていませんでした。

平成 27 年 3 月の厚生労働省健康局水道課長通知（健水発 0325 第 3 号～6 号）により、水質管理目標設定項目の対象農薬のうち検査方法が定められていなかった農薬であるカルタップ、ピラクロニル、フェリムゾンについて、LC/MS/MS による検査法が示されました。

ここでは、この 3 成分の検査方法である別添方法 20 の 2「液体クロマトグラフ - 質量分析計による一斉分析法」を用いた分析例をご紹介します。カルタップは水中でネライストキシンに分解するため、ネライストキシンとして測定します。また、フェリムゾンは異性体として E 体および Z 体が存在するため合算した濃度となります。

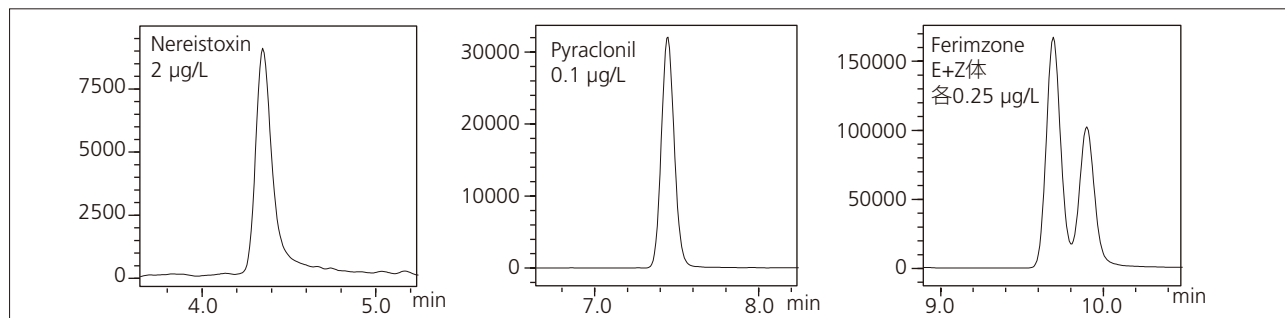
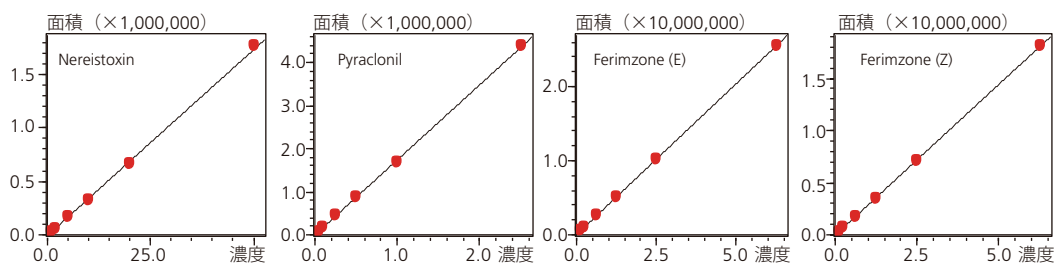
T. Tsukamoto H. Horiike

■ネライストキシン（カルタップ）、ピラクロニル、フェリムゾン混合標準溶液の分析

Analysis of Nereistoxin (Cartap), Ferimzone, Pyraclonil Standard Mixture

ネライストキシン、ピラクロニル、フェリムゾンについて各目標値の 1/100 濃度の標準溶液を測定した結果、得られた MRM クロマトグラムを Fig. 1 に示しました。

Fig. 2 に各目標値の 1/100 濃度を含めた濃度範囲における検量線および各検量点の最小濃度における再現性を示しました。いずれも良好な直線性と再現性が得られました。

Fig. 1 ネライストキシン、ピラクロニル、フェリムゾン混合標準溶液の各 MRM クロマトグラム
Mass Chromatograms (MRM) of Nereistoxin, Pyraclonil, Ferimzone Standard Mixture

	注入試料濃度	寄与率 R ²	面積値%RSD (N = 5)
Nereistoxin (Cartap)	1 – 50 µg/L	0.999	2.9 % (1 µg/L)
Pyraclonil	0.05 – 2.5 µg/L	0.999	2.4 % (0.05 µg/L)
Ferimzone (E)	0.125 – 6.25 µg/L	0.999	0.7 % (0.125 µg/L)
Ferimzone (Z)	0.125 – 6.25 µg/L	0.999	1.0 % (0.125 µg/L)

Fig. 2 寄与率および面積値再現性
Contribution and Repeatability of Peak Area

■水道水を用いた添加回収試験

Spike and Recovery Test in Drinking Water

水道水を用いてネライストキシン、ピラクロニル、フェリムゾンの添加回収試験を行いました。前処理として水道水の残留塩素除去には、アスコルビン酸ナトリウムでなく、チオ硫酸ナトリウムを用いました。(水道水1 Lにつき、20 mg 添加)

Fig. 3 に前処理済みの水道水および各成分の目標値の 1/100 濃度（ネライストキシン 2 $\mu\text{g/L}$ 、ピラクロニル 0.1 $\mu\text{g/L}$ 、フェリムゾン E 体および Z 体 各 0.125 $\mu\text{g/L}$ ）を前処理済みの水道水に添加した各 MRM クロマトグラムを示しました。

回収率は 5 回の繰返し測定の平均面積値より算出しました。

Table 1 に示す通り、ネライストキシンは 102 %、フェリムゾンは E 体で 95 %、Z 体で 100 %、ピラクロニルは 95 % と良好な結果が得られました。

なお、今回測定に用いた分析条件は、Table 2 の通りです。

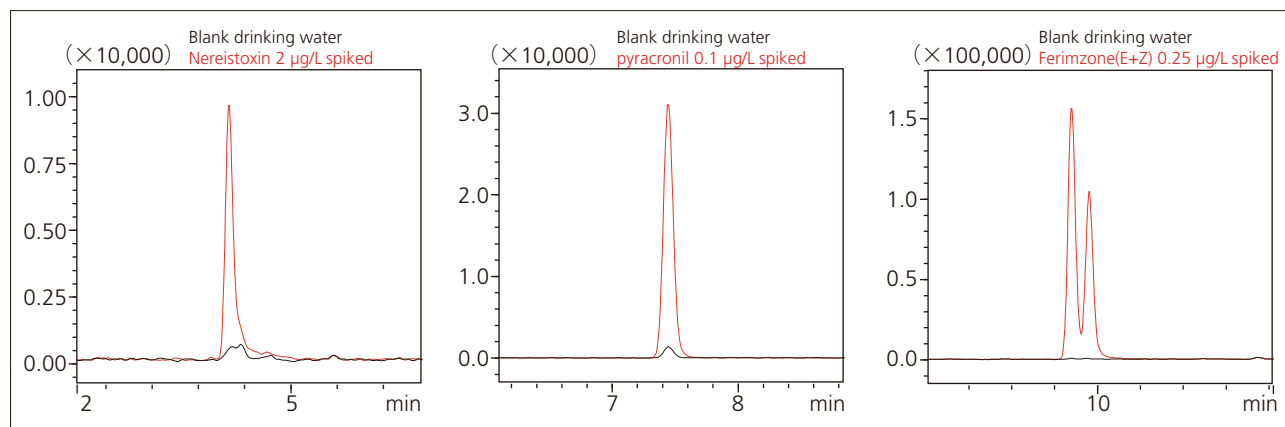


Fig. 3 水道水（ブランク）およびネライストキシン、ピラクロニル、フェリムゾンを添加した水道水の MRM クロマトグラム
MRM Chromatograms of Drinking Water Blank and Spiked Nereistoxin, Pyracronil, Ferimzone

Table 1 添加回収試験結果 (n = 5)
Result of Recovery Test (n = 5)

	添加濃度	回収率 (%)
Nereistoxin (Cartap)	2 $\mu\text{g/L}$	102
Pyracronil	0.1 $\mu\text{g/L}$	95
Ferimzone (E)	0.125 $\mu\text{g/L}$	95
Ferimzone (Z)	0.125 $\mu\text{g/L}$	100

Table 2 分析条件
Analytical Conditions

Column	: L-Column2 ODS (75 mmL. $\times$ 2.1 mm I.D., 2 μm , CERI)
Mobile Phases	: A 5 mmol/L Ammonium acetate-Water B 5 mmol/L Ammonium acetate-Methanol
Flow Rate	: 0.2 mL/min
Time Program	: B conc 5 % (0 min) – 45 % (2 min) – 75 % (12 - 13.5 min) – 5 % (13.51 - 20 min)
Column Temperature	: 40 $^{\circ}\text{C}$
Injection Volume	: 10 μL
Probe Voltage	: 4 kV (ESI-Positive)
DL Temperature	: 200 $^{\circ}\text{C}$
Block Heater Temperature	: 400 $^{\circ}\text{C}$
Interface Temperature	: 200 $^{\circ}\text{C}$
Nebulizing Gas Flow	: 2 L/min
Drying Gas Flow	: 10 L/min
Heating Gas Flow	: 10 L/min
MRM Transition	: Nereistoxin (Cartap) m/z 150 > 105 Pyracronil m/z 315 > 169 Ferimzone m/z 255 > 91

トリプル四重極型 LC/MS/MS を用いた水道水中
のグルホシネート・グリホサート・AMPAの分析Analysis of Glufosinate, Glyphosate and AMPA in Drinking Water Using Triple Quadrupole LC/MS/MS
[LCMS-8050]

グルホシネートはアミノ酸系除草剤として、グリホサートは茎葉処理除草剤として広く使用されており、また、グリホサートが土壌中や水中で代謝されて生成する物質が、アミノメチルリン酸（AMPA）となります。

平成 27 年 3 月の厚生労働省健康局水道課長通知（健水発 0325 第 3 号～第 6 号）により、これまで水質管理目標設定項目の対象農薬のうち検査方法が定められていなかった農薬であるグルホシネートについて、LC/MS/MS による検査法が示されました。

■試料の前処理

Preparation of Sample

別添方法 22 では、塩基性条件下でクロロギ酸 -9- フルオレニルメチル（FMOC-Cl）を用いて誘導体化した後、固相抽出により試料濃縮します。Fig. 1 に誘導体化したグルホシネート、グリホサート、AMPA の構造式を示しました。

また、Fig. 2 に前処理フロー図を示しました。

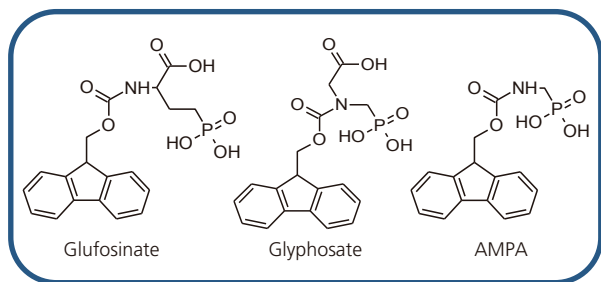


Fig. 1 各 FMOC 誘導体の構造
Structure of FMOC Derivative

今回グルホシネートの検査方法として示された別添方法 22 の「誘導体化 - 固相抽出 - 液体クロマトグラフ - 質量分析計による一斉分析法」では、今まで別添方法 12 または別添方法 15 の高速液体クロマトグラフ法による検査方法が示されていたグリホサート、AMPA も同時分析が可能となりました。

ここでは、この別添方法 22 によるグルホシネート、グリホサートおよび AMPA の分析例をご紹介します。また LCMS-8050 を使用することで、前処理過程の固相抽出による試料濃縮過程を省き、直接分析することも可能です。

T. Tsukamoto H. Horiike

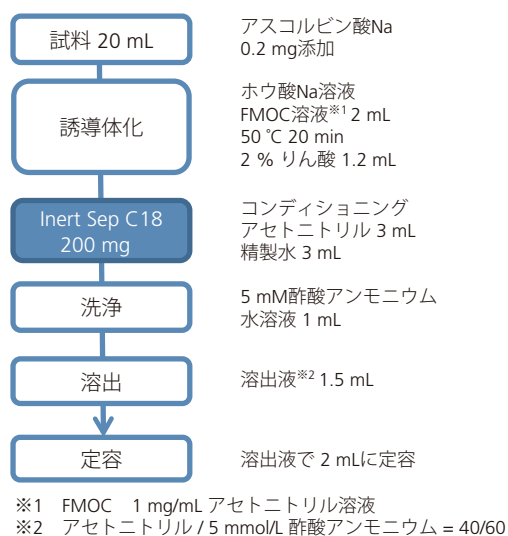


Fig. 2 前処理操作
Preparation Flow

■グルホシネート・グリホサート・AMPA 標準溶液の分析（固相抽出あり）

Analysis of Glufosinate, Glyphosate, AMPA Standards (with solid phase extraction)

グルホシネート、グリホサート、AMPA の混合標準溶液（各 0.1 μg/L）を誘導体化後、固相抽出により 10 倍濃縮した試料測定した MRM クロマトグラムを Fig. 3 に示しました。また、分析条件は Table 2 に示します。

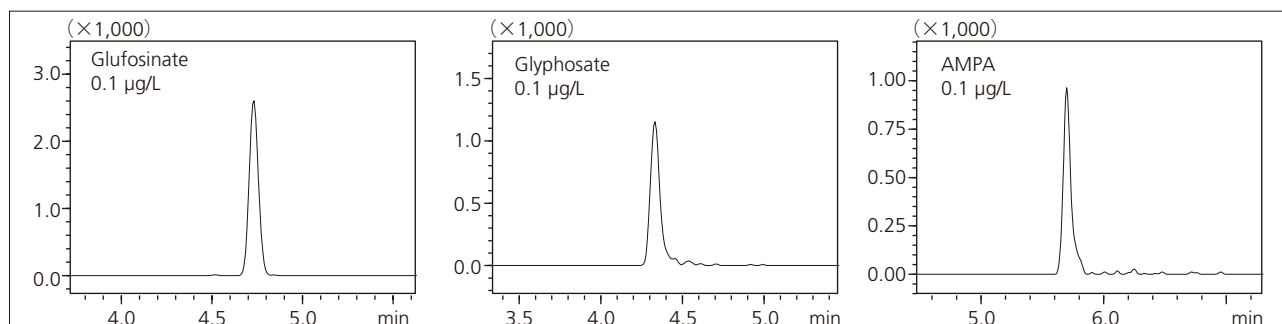


Fig. 3 グルホシネート、グリホサート、AMPA の各標準溶液の MRM クロマトグラム（固相抽出あり）
MRM Chromatograms of Glufosinate, Glyphosate and AMPA Standards (with solid phase extraction)

■ グルホシネート・グリホサート・AMPA 標準溶液の誘導体化 - 直接分析

Derivatized Direct Analysis of Glufosinate, Glyphosate, AMPA Standards

グルホシネート、グリホサート、AMPA の混合標準溶液 (0.1 µg/L) について、前処理の固相抽出を省略し、誘導体化のみ行い分析しました。Fig. 4 に得られた各 MRM クロマトグラムおよび面積値 %RSD (n = 5) を示しました。このよう

に目標値の 1/100 以下の濃度においても %RSD < 30 % を十分満たしており、固相抽出による試料濃縮を省略しても、高感度な LCMS-8050 を用いれば、分析可能です。

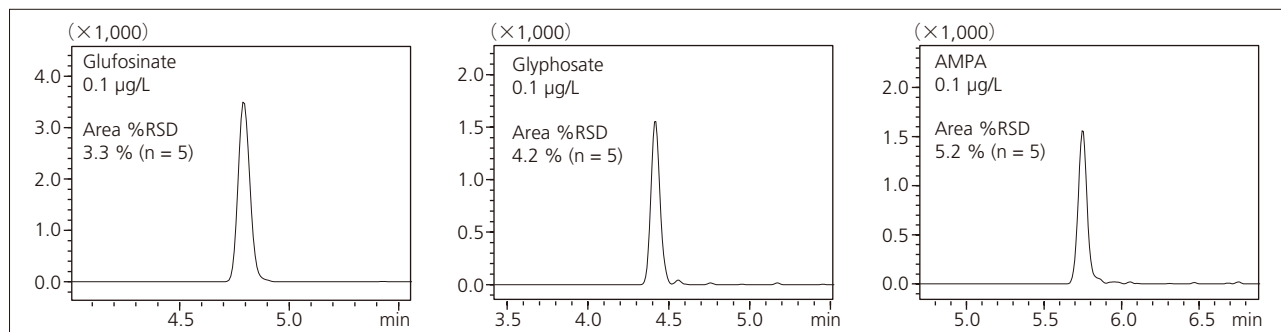


Fig. 4 グルホシネート、グリホサート、AMPA 標準溶液の MRM クロマトグラム (固相抽出なし)
MRM Chromatograms of Glufosinate, Glyphosate and AMPA Standards (without solid phase extraction)

■ 水道水を用いた添加回収試験 (誘導体化 - 直接分析)

Spike and Recovery Test in Drinking Water (derivatized direct analysis)

前処理は固相抽出を省略し、誘導体化のみとして、実際に水道水を用いてグルホシネート、グリホサート、AMPA の添加回収試験を行いました。Fig. 5 に水道水 (ブランク) およびグルホシネート、グリホサート、AMPA をそれぞれ 0.2 µg/L 添加した水道水の各 MRM クロマトグラムを示しました。また、Table 1 に回収率を示しました。回収率 (真度) として 70 ~ 120 % 満たす良好な結果が得られました。

Table 1 添加回収試験結果 (n = 5)
Result of Recovery Test (n = 5)

	回収率 (%)	
	0.2 µg/L 添加	2 µg/L 添加
Glufosinate	96	99
Glyphosate	88	77
AMPA	96	104

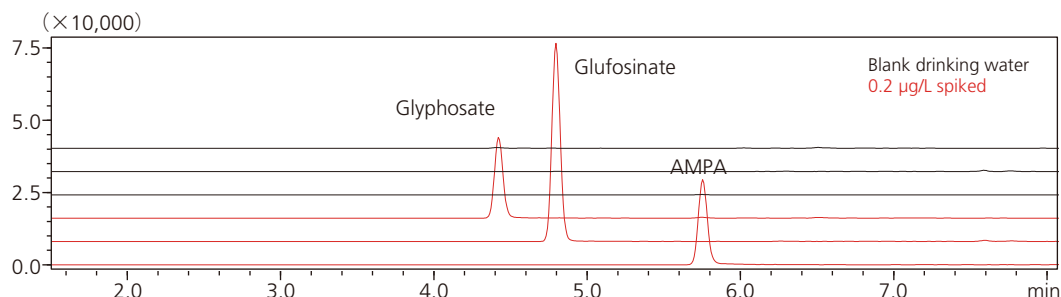


Fig. 5 水道水 (ブランク) およびグルホシネート、グリホサート、AMPA を添加した水道水の MRM クロマトグラム (固相抽出なし)
MRM Chromatograms of Drinking Water Blank and Spiked Glufosinate, Glyphosate and AMPA (without solid phase extraction)

Table 2 分析条件
Analytical Conditions

Column	: Mastro C18 (100 mmL. × 2.1 mm I.D., 3 µm, Shimadzu GLC)		
Mobile Phases	: A 5 mmol/L Ammonium acetate-Water B Acetonitrile		
Flow Rate	: 0.25 mL/min		
Time Program	: B conc 5 % (0 min) – 50 % (7 min) – 95 % (7.01 - 11 min) – 5 % (11.01 - 13 min)		
Column Temperature	: 40 °C		
Injection Volume	: 2 µL (With solid phase extraction), 20 µL (Without solid phase extraction)		
Probe Voltage	: - 3 kV (ESI - Negative)		
DL Temperature	: 150 °C		
Block Heater Temperature	: 400 °C		
Interface Temperature	: 300 °C		
Nebulizing Gas Flow	: 2 L/min		
Drying Gas Flow	: 10 L/min		
Heating Gas Flow	: 10 L/min		
MRM Transition	Glyphosate	<i>m/z</i> 390 > 168	Glufosinate <i>m/z</i> 402 > 180
	AMPA	<i>m/z</i> 332 > 110	

トリプル四重極型 LC/MS/MS を用いた
水道水中のホルムアルデヒド分析

Analysis of Formaldehyde in Drinking Water Using Triple Quadrupole LC/MS/MS [LCMS-8050]

ホルムアルデヒドは、毒性が強くシックハウス症候群の原因物質の一つであることから室内環境（作業環境）をはじめ、化粧品、繊維製品、家庭用品に至るまで広い分野で含有量が規制されています。

水道水においても、現在ホルムアルデヒドは水質基準値（0.08 mg/L）が設定されており、検査法として平成 15 年厚生労働省告示 261 号「水質基準に関する省令の規定に基づき厚生労働大臣が定める方法」別表第 19 に「溶媒抽出 - 誘導体化 - ガスクロマトグラフ - 質量分析法」が定められています。

■試料の前処理

Preparation of Sample

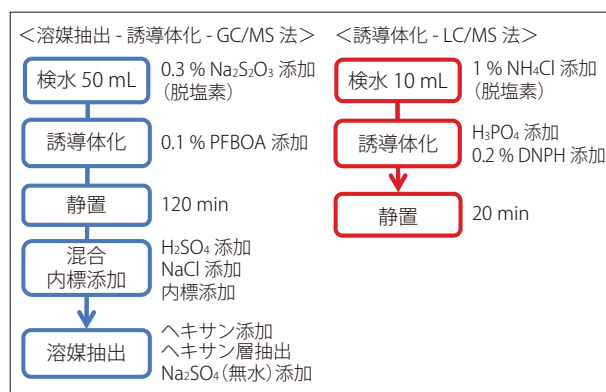
別表 19 の 3 として示された新検査法の誘導体化 - 液体クロマトグラフ - 質量分析法の前処理は、現行法である別表第 19「溶媒抽出 - 誘導体化 - ガスクロマトグラフ - 質量分析法」で行うヨウ素滴定やヘキサンによる溶媒抽出作業の操作が不要となります。

さらに誘導体化後の静置時間も約 1/6 になるなど大幅な前処理効率の向上が見込めます。

これらそれぞれの前処理操作フローの簡略図を Fig. 1 に示しました。

平成 28 年 3 月 30 日付で水質基準に関する省令の改正が公布され（厚生労働省告示第 115 号 平成 28 年 4 月 1 日施行）、「水質基準に関する省令の規定に基づき厚生労働大臣が定める方法」におけるホルムアルデヒドの検査法として、新たに「別表 19 の 2 誘導体化 - 高速液体クロマトグラフ法」および「別表 19 の 3 誘導体化 - 液体クロマトグラフ - 質量分析法」の 2 法が追加されました。今回は、追加された誘導体化 - 液体クロマトグラフ - 質量分析法に従って、ホルムアルデヒドと、要検討項目であるアセトアルデヒドを同時分析した例をご紹介します。

H. Horiike

Fig. 1 前処理操作
Preparation Flow

■ホルムアルデヒド・アセトアルデヒド混合標準溶液の分析

Analysis of Formaldehyde and Acetaldehyde Standards

ホルムアルデヒドの水質基準値 0.08 mg/L の 1/10 濃度より低い 0.005 mg/L におけるアセトアルデヒドとの混合標準溶液を DNPH 誘導体化して測定した MRM クロマトグラムを Fig. 2 に示しました。

DNPH 誘導体化したホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドの面積再現性 (n=6) は共に %RSD < 20 % を十分に満たした良好な結果が得られました。

分析条件は次頁の Table 2 に示しました。

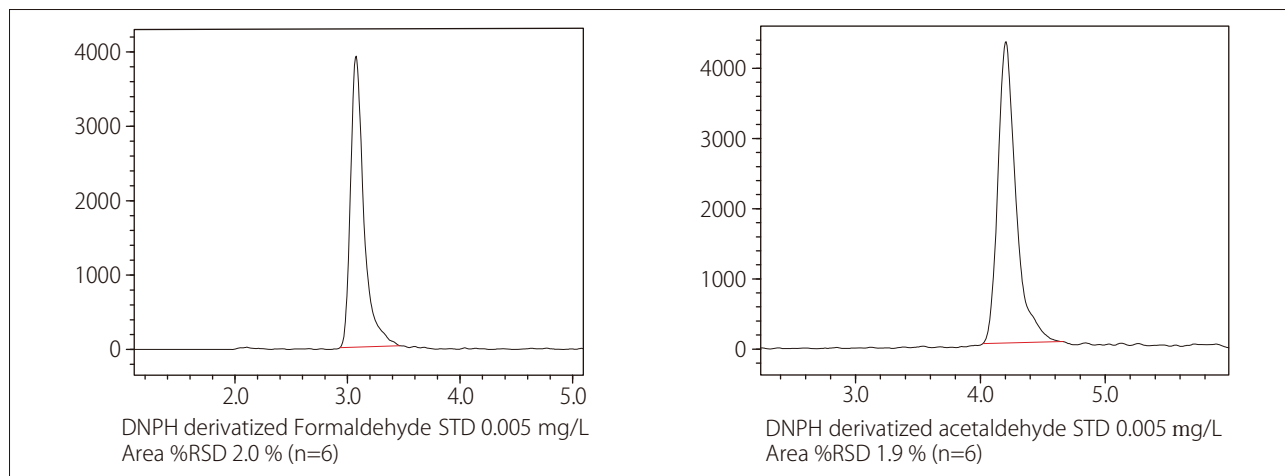
Fig. 2 DNPH 誘導体化ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドの各標準溶液の MRM クロマトグラム
MRM Chromatograms of DNPH Derivatized Formaldehyde and Acetaldehyde Standards

Fig. 3 にホルムアルデヒドの基準値の 1/10 濃度である 0.008 mg/L を含む濃度範囲 0.005 ~ 0.100 mg/L における DNPH 誘導体化したホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒ

ドの各 5 点の検量線 (n=6) を示しました。両検量線ともに決定係数 (R^2) > 0.999 以上と良好な直線性が得られました。

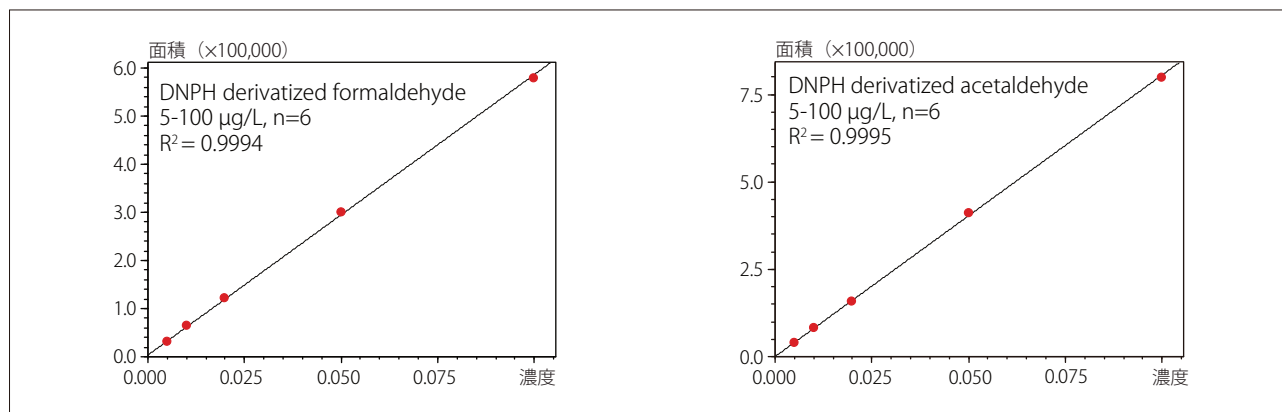


Fig. 3 5点の絶対検量線
Absolute Calibration Curves of Five Points

■ 水道水を用いた添加回収試験

Spike and Recovery Test in Drinking Water

実際に水道水を用いてホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドの添加回収試験を行いました。ホルムアルデヒドの基準値 0.08 mg/L およびその基準値の 1/10 濃度である 0.008 mg/L になるように水道水にホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドを添加した後、DNPH 誘導体化を行いました。

0.008 mg/L 濃度になるように 2 成分を添加した水道水の MRM クロマトグラムを Fig. 4 に示しました。水道水ブランクにおける 2 成分の面積値は共に 1/3 以下であることから、選択性を有することも確認できました。

添加回収率においても、ホルムアルデヒドの基準値および 1/10 濃度において 2 成分ともに 101 ~ 105 % と良好な結果が得られました。

Table 1 添加回収試験結果 (n=6)
Result of Recovery Test (n=6)

回収率	0.08 mg/L 添加	0.008 mg/L 添加
(DNPH derivatized) Formaldehyde	103.0 %	101.4 %
(DNPH derivatized) Acetaldehyde	104.3 %	101.1 %

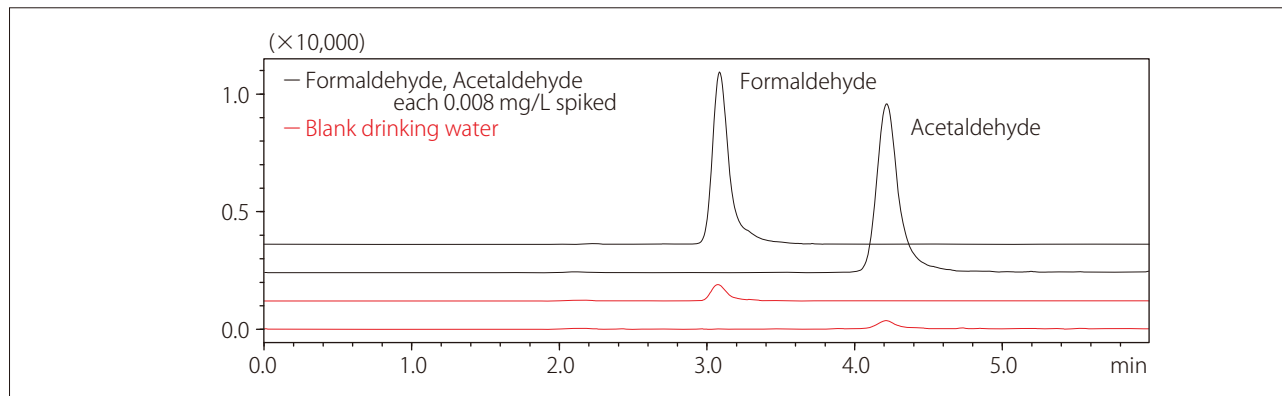


Fig. 4 DNPH 誘導体化による水道水ブランクおよびホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒド添加の水道水の MRM クロマトグラム
MRM Chromatograms of Drinking Water Blank and Spiked Formaldehyde and Acetaldehyde by DNPH Derivatization

Table 2 分析条件
Analytical Conditions

Column	: Shim-pack FC-ODS (75 mm L. × 2.0 mm I.D., 3 µm, Shimadzu)	DL Temperature	: 150 °C
Mobile Phases	: Water / Acetonitrile = 50 / 50 (v/v)	Block Heater Temperature	: 300 °C
Flow Rate	: 0.20 mL/min	Interface Temperature	: 200 °C
Column Temperature	: 30 °C	Nebulizing Gas Flow	: 2 L/min
MS program	: FCV2 = 1 (0.001 min) → FCV2 = 0 (2.000 min)	Drying Gas Flow	: 10 L/min
Injection Volume	: 1.0 µL	Heating Gas Flow	: 10 L/min
Probe Voltage	: -3 kV (ESI-Negative)	MRM Transition	: Formaldehyde <i>m/z</i> 209.00>151.00 Acetaldehyde <i>m/z</i> 223.00>163.00

A改訂版発行：2016年7月
初版発行：2016年5月

トリプル四重極型 LC/MS/MS を用いた水道水中の
イミノクタジン・パラコート・ジクワット分析Analysis of Iminoctadine, Paraquat and Diquat in Drinking Water
Using Triple Quadrupole LC/MS/MS [LCMS-8050]

イミノクタジンは殺菌剤として、パラコートおよびジクワットは非選択型除草剤として使用されています。

平成 27 年 3 月の厚生労働省健康局水道課長通知（健水発 0325 第 3 号～第 6 号）により、水道水中のこれらの 3 農薬の試験法として「固相抽出－液体クロマトグラフ－質量分析計による一斉分析法」（別添方法 21）が通知されました。

ここでは、別添方法 21 によるイミノクタジン、パラコート、ジクワットの分析例をご紹介します。また、前処理の一部を省略した簡易法について検討した結果を併せてご紹介します。

H. Horiike

■試料の前処理

Sample Pretreatment

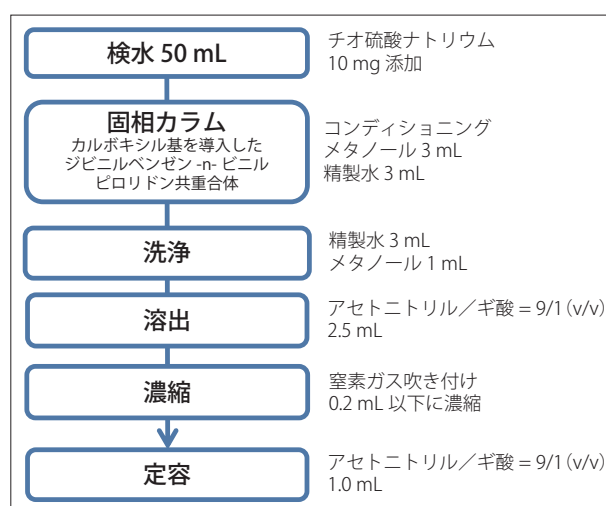
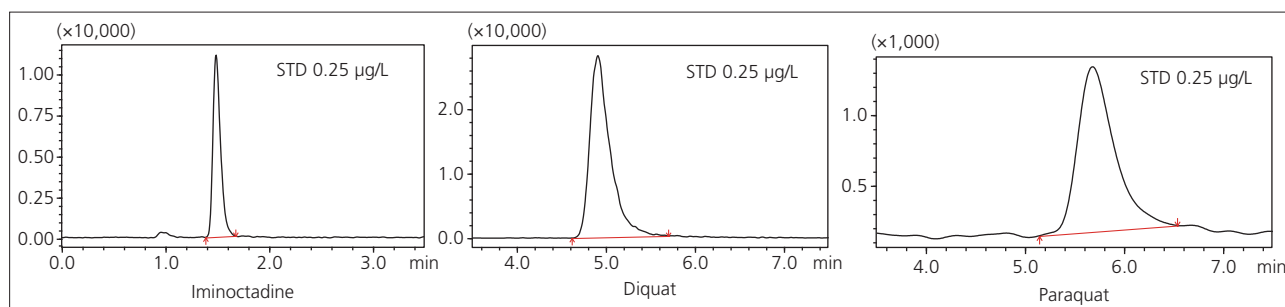
別添方法 21 では、水道水試料の前処理としてチオ硫酸ナトリウムによる脱塩素処理を行った後、カルボキシル基を導入したジビニルベンゼン-n-ビニルピロリドン共重合体の固相カラムを用いた固相抽出を行います。この溶出液に窒素ガスを吹き付けて濃縮した後、アセトニトリル・ギ酸混合液で定容して LC/MS/MS により分析します。Fig. 1 に前処理のフロー図を示しました。

前処理操作における留意点として、試料の容器等への吸着を抑制するため、試料に接する容器および器具はすべて精製水で十分洗浄した PTFE（ポリテトラフルオロエチレン）製または PP（ポリプロピレン）製のものをを用いることとされています。

■イミノクタジン・パラコート・ジクワット標準混合溶液の分析

Analysis of Iminoctadine, Paraquat, and Diquat Standard Mixture

イミノクタジン、パラコート、ジクワットの混合標準溶液（各 0.25 µg/L）を測定した MRM クロマトグラムを Fig. 2 に示しました。1.5 min にイミノクタジン、4.9 min にジクワット、5.7 min にパラコートの順に検出されます。分析条件を Table 3 に示しました。

Fig. 1 前処理操作
Pretreatment WorkflowFig. 2 イミノクタジン、パラコート、ジクワットの標準混合溶液のマスキロマトグラム
MRM Chromatograms of Iminoctadine, Paraquat, and Diquat Standard Mixture

■ 水道水を用いた添加回収試験

Spike Recovery Test Using Drinking Water

水道水試料を用いて添加回収試験を行いました。ブランク水道水および各化合物を 0.05 µg/L（目標値濃度の約 1/100 に相当）および 0.25 µg/L（同 1/20 に相当）添加した水道水のマスクロマトグラムを Fig. 3 に、試験結果より得られた回収率を Table 1 に示しました。いずれの化合物も、水道水中の夾雑成分による顕著な妨害は確認されず、水道水質検査方法の妥当性評価ガイドラインにおける真度の目標（70 ～ 120 %）を満たす結果が得られました。

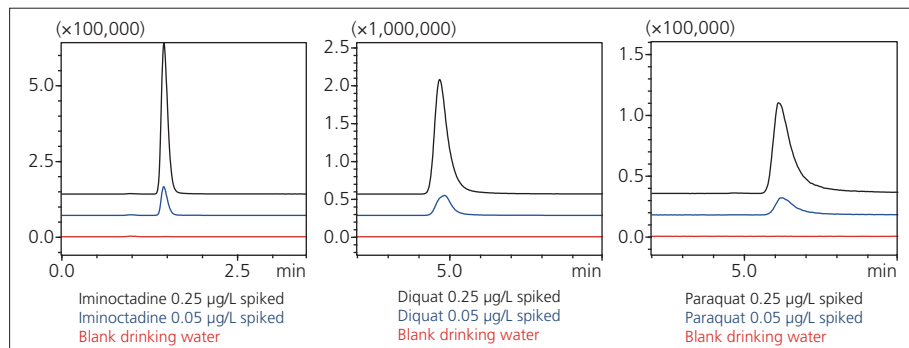


Fig. 3 イミノクタジン、パラコート、ジクワットを添加した水道水試料のマスクロマトグラム
MRM Chromatograms of Drinking Water Blank and Drinking Water Spiked with Iminoctadine, Paraquat, and Diquat

Table 1 添加回収試験結果
Spike Recovery Test Results

化合物	回収率 (%)	
	0.05 µg/L	0.25 µg/L
Iminoctadine	85.1	91.0
Paraquat	92.9	94.2
Diquat	86.8	91.7

n = 3

■ 濃縮工程を省略した簡易前処理法の検討

Simplified Preparation Analysis without N₂ Evaporation

前処理の濃縮工程を省略した簡易分析法について併せて検討しました。Fig. 1 と同様に固相抽出を行った後、溶出液を濃縮せずアセトニトリル・ギ酸混合液を用いて 5 mL に定容し、LC/MS/MS により分析しました。上記と同様の添加回収試験から得られた結果より、Fig. 4 に各水道水試料のマスクロマトグラムを、Table 2 に回収率を示しました。濃縮を省略した簡易分析法においても夾雑成分による顕著な妨害は確認されず、妥当性評価ガイドラインにおける真度の目標を満たす結果が得られました。

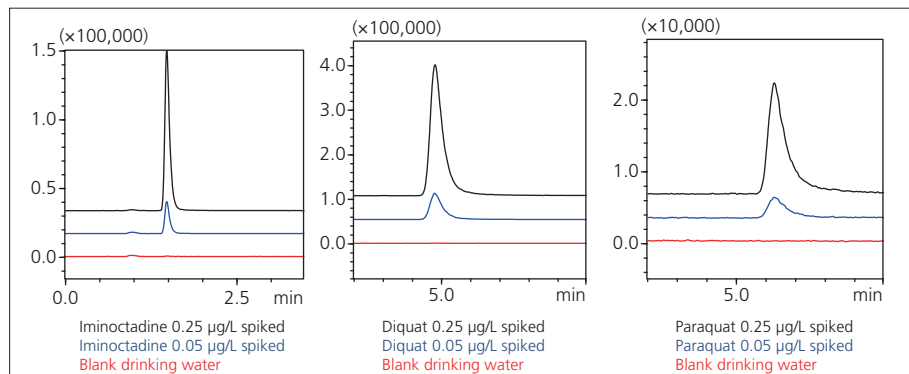


Fig. 4 簡易前処理法による水道水試料のマスクロマトグラム
MRM Chromatograms of Drinking Water Samples Using Simplified Preparation

Table 2 簡易前処理法による
添加回収試験結果
Spike Recovery Test Results
Using Simplified Preparation

化合物	回収率 (%)	
	0.05 µg/L	0.25 µg/L
Iminoctadine	85.2	85.2
Paraquat	95.5	93.7
Diquat	95.1	90.2

n = 3

Table 3 分析条件
Analytical Conditions

Column	: Inertsil WP300 SIL (100 mm L. × 2.1 mm I.D., 3 µm, GL Sciences)
Mobile Phases	: 150 mmol/L Ammonium formate - water / Acetonitrile = 40 / 60 (v/v)
Flow Rate	: 0.3 mL/min
Column Temperature	: 30 °C
Injection Volume	: 5 µL
Probe Voltage	: 1 kV (ESI-Positive)
DL Temperature	: 300 °C
Block Heater Temperature	: 500 °C
Interface Temperature	: 400 °C
Nebulizing Gas Flow	: 3 L/min
Drying Gas Flow	: 5 L/min
Heating Gas Flow	: 15 L/min
MRM Transition	: Iminoctadine m/z 179>69 Paraquat m/z 171>77 Diquat m/z 183>157

A改訂版発行：2016年9月
初版発行：2016年5月

トリプル四重極型 LC/MS/MS を用いた
水道水中の臭素酸分析（１）

水道水中の臭素酸は、浄水処理過程におけるオゾン高度処理などによって生成されます。IARC（1999）では、臭素酸カリウムはヒトで発がん性の可能性があるとされる GroupB2 に分類されており、平成 16 年に水質基準項目に設定されました。この際、臭素酸の試験法としてイオンクロマトグラフ-ポストカラム吸光光度法が定められています。（平成 15 年厚生労働省告示 261 号「水質基準に関する省令の規定に基づき厚生労働大臣が定める方法」別表第 18）

平成 28 年 12 月に厚生労働省より同方法の一部改正案に関する意見募集が実施され、臭素酸の新規検査法（案）に別表 18 の 2 液体クロマトグラフ-質量分析法として質量分析法が提案されました。

本報ではこの新規検査法（案）を参考に、アニオン交換カラムを用いた LC/MS/MS 分析について検討した結果をご紹介します。

M. Tanaka, H. Horiike

■アニオン交換カラムを用いた分析条件の検討

臭素酸は高極性化合物であるため、LC/MS/MS で広く用いられている一般的な逆相 LC 条件では保持が困難です。このため、本報では新規検査法（案）を参考に、例示されているアニオン交換カラムを用いて移動相などの検討を行い、臭素酸を保持可能な分析条件を構築しました（表 1）。

図 1 に水質基準値の 1/10 に相当する 0.001 mg/L 標準溶液のクロマトグラムを示しました。この分析条件では 3.4 分

に臭素酸が溶出し、良好な保持およびピーク形状が得られていることが確認できます。

図 2 に濃度範囲 0.0005～0.01 mg/L における 5 点検量線を示しました。相関係数 $R = 0.999$ 、寄与率 $R^2 = 0.998$ の良好な直線性が得られました。

表 1 分析条件

Column	: GL Sciences SYPRON AX-1 (100 mm L, × 2.1 mm I.D., 5 μ m)
Mobile phases	: A) 25 mmol/L Ammonium acetate-water B) Acetonitrile A/B=70/30 (vol./vol.)
Flow rate	: 0.2 mL/min
Column temp.	: 40 °C
Injection Volume	: 10 μ L
Probe Voltage	: -1 kV (ESI-Negative)
DL temp.	: 100 °C
Block Heater temp.	: 300 °C
Interface temp.	: 300 °C
Nebulizing gas flow	: 2 L/min
Drying gas flow	: 10 L/min
Heating gas flow	: 10 L/min
MRM transition	: Bromate ion m/z 129.00>112.95

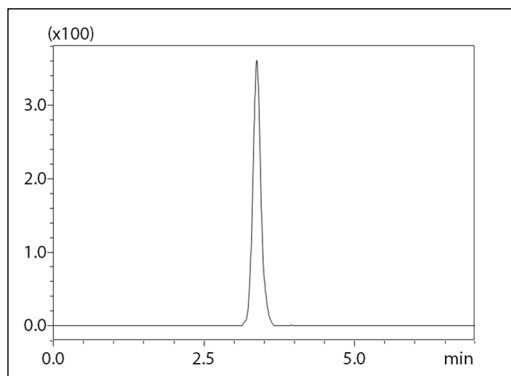


図 1 臭素酸 0.001 mg/L 標準溶液のクロマトグラム

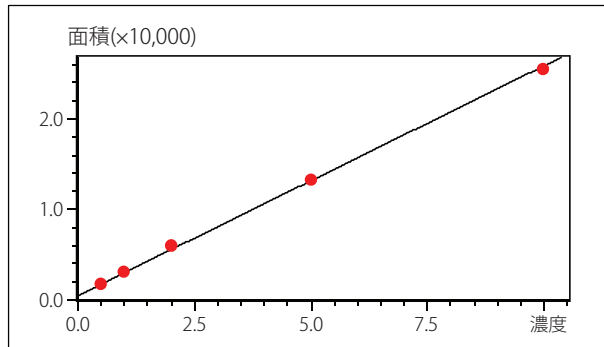


図 2 臭素酸の検量線 (0.0005～0.01 mg/L)

■ 水道水中の夾雑アニオンとの分離確認

LC/MS/MS による MRM 測定では水道水中の臭素酸を選択的に検出することができます。一方で水道水試料中には硫酸イオンなどのアニオンが共存しており、これらの夾雑アニオンと臭素酸をクロマトグラム上で分離することにより、水道水分析での定量精度の向上が期待されます。

これは今回の液体クロマトグラフ-質量分析法（案）における「検水中に高濃度の硫酸イオンが含まれる場合は、硫酸イオンが分離カラムから溶出する分析条件を設定する」という記述からも確認できます。

図 3 に臭素酸を添加した水道水試料（神奈川県）について、夾雑アニオンを併せてモニタリングしたクロマトグラムを

示しました。水道水中の硫酸由来イオン、塩化物イオン、硝酸イオン、塩素酸イオンも同様に保持・溶出しており、臭素酸と分離されていることが確認できます。

一般的にアニオン交換カラムを用いた分析では、これらの夾雑アニオンを溶出するためには高濃度の塩を移動相に添加する必要があり、通常より高頻度な装置メンテナンスが必要となります。しかし、この分析条件では水系移動相の酢酸アンモニウム濃度が 25 mmol/L と、逆相 LC/MS/MS 分析で通常用いられる条件と同程度であり、メンテナンス面でも頑健な分析条件であると考えられます。

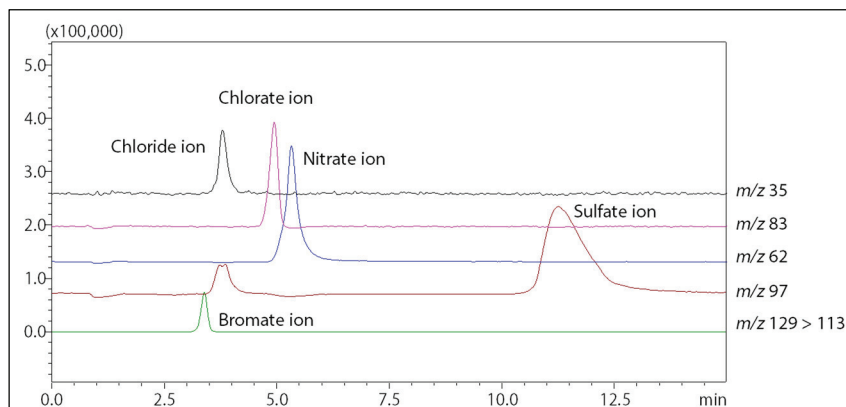


図 3 水道水中の夾雑アニオンと臭素酸のクロマトグラム

■ 水道水への添加回収試験

水道水（神奈川県）を用いて臭素酸の添加回収試験を行いました。水道水に臭素酸を水質基準値である 0.01 mg/L およびその 1/10 濃度に相当する 0.001 mg/L を添加し、測定しました。クロマトグラム上からは水道水中の夾雑成分に由来する顕著な妨害は確認されませんでした（図 4）。

またこれらの試料の分析結果から算出した真度および精度を表 2 に示しました。いずれの添加濃度でも妥当性評価ガイドライン（平成 24 年 9 月通知）の基準を満たす良好な結果が得られました。

今回の新規検査法（案）を参考にした分析検討では、水道水試料中の臭素酸を前処理なしで基準値 1/10 濃度である 0.001 mg/L 以下まで検出可能であることが確認されました。

この分析法では現行のイオンクロマトグラフ-ポストカラム吸光度法のような反応試薬調製の手間を要さないことから、水質検査の効率化と負担軽減に寄与することが期待されます。

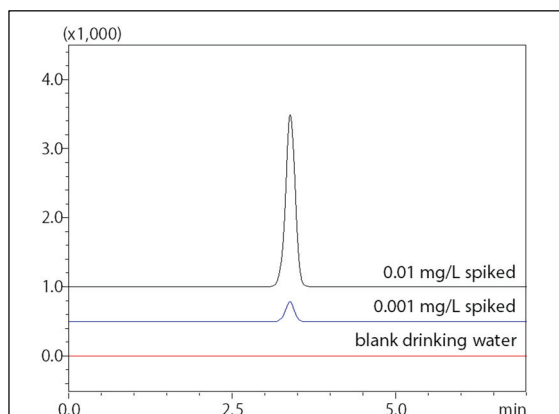


図 4 ブランク水道水および標準品添加水道水のクロマトグラム

表 2 臭素酸の添加回収試験結果 (n=5)

Spiked Conc. mg/L	Accuracy	Precision %RSD
0.01	96.7 %	2.2
0.001	84.6 %	5.2

トリプル四重極型 LC/MS/MS を用いた
水道水中の臭素酸分析（２）

水道水中の臭素酸は、浄水処理過程におけるオゾン高度処理などによって生成されます。IARC（1999）では、臭素酸カリウムはヒトで発がん性の可能性があるとされる GroupB2 に分類されており、平成 16 年に厚生労働省により水質基準項目に設定されました。この際、臭素酸の試験法としてイオンクロマトグラフ-ポストカラム吸光度法が定められています。（平成 15 年厚生労働省告示 261 号「水質基準に関する省令の規定に基づき厚生労働大臣が定める方法」別表第 18）

平成 28 年 12 月に厚生労働省より同方法の一部改正案に関する意見募集が実施され、臭素酸の新規検査法（案）に別表 18 の 2 液体クロマトグラフ-質量分析法として質量分析法が提案されました。

アプリケーションニュース C144 ではこの新規検査法（案）を参考に、アニオン交換カラムを用いた分析法についての検討をご紹介しました。本報では新しい LC 分離モードとして、ミックスモードカラム（マルチモードカラム）を用いた LC/MS/MS 分析について検討した結果をご紹介します。

M.Tanaka, H.Horiike

■ ミックスモードカラムを用いた分析条件
の検討

臭素酸は高極性化合物であるため、LC/MS/MS で広く用いられている一般的な逆相 LC 条件では保持が困難です。このため、本報ではミックスモードカラムを用いて、新規検査法（案）を参考に移動相条件などの検討を行い、分析条件を構築しました（表 1）。ミックスモードカラムとは複数の異なる分離モードが機能する分離カラムを意味します。ここでは、逆相に加え、アニオン交換とカチオン交換が機能する分離カラムを用いました。

図 1 に水質基準値の 1/10 に相当する 0.001 mg/L 標準溶液のクロマトグラムを示しました。この分析条件では 2.7 分に臭素酸が溶出し、良好な保持およびピーク形状が得られていることが確認できます。

図 2 に濃度範囲 0.0005~0.01 mg/L における 6 点検量線を示しました。相関係数 $R=0.9995$ 、寄与率 $R^2=0.9990$ の良好な直線性が得られました。

表 1 分析条件

Column	: lmtakt Scherzo SS-C18 (150 mm L. × 2.0 mm I.D., 3 μ m)
Mobile phases	: A) 200 mmol/L ammonium acetate - water containing 0.5 % acetic acid B) acetonitrile
Time programs	: B conc. 90 % (0 - 7 min) - 5 % (7.01 - 12 min) - 90 % (12.01 - 17 min)
Flow rate	: 0.3 mL/min
Column temp.	: 40 °C
Injection Volume	: 10 μ L
Probe Voltage	: -1 kV (ESI-Negative)
DL temp.	: 100 °C
Block Heater temp.	: 300 °Cw
Interface temp.	: 300 °C
Nebulizing gas flow	: 2 L/min
Drying gas flow	: 10 L/min
Heating gas flow	: 10 L/min
MRM transition	: Bromate ion m/z 129.00>112.95

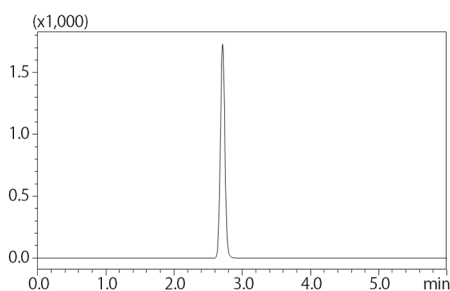


図 1. 臭素酸 0.001 mg/L 標準溶液のクロマトグラム

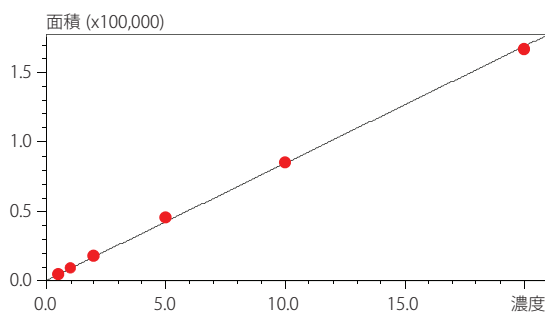


図 2. 臭素酸の検量線（0.0005~0.01 mg/L）

■ 水道水中の夾雑アニオンとの分離確認

LC/MS/MS による MRM 測定では水道水中の臭素酸を選択的に検出することができます。一方で水道水試料中には硫酸イオンなどのアニオンが共存しており、これらの夾雑アニオンと臭素酸をクロマトグラム上で分離することにより、水道水分析での定量精度の向上が期待されます。これは今回の液体クロマトグラフ-質量分析法（案）における「検水中に高濃度の硫酸イオンが含まれる場合は、硫酸イオンが分離カラムから溶出する分析条件を設定する」という記述からも確認できます。

図 3 に臭素酸を添加した水道水試料（神奈川県）について、夾雑アニオンを併せてモニタリングしたクロマトグラムを示しました。水道水中の硫酸由来イオン、塩化物イオン、硝酸イオン、塩素酸イオンも同様に保持・溶出しており、臭素酸と分離されていることが確認できます。

ミックスモードカラムを用いた本分析条件では、新規検査法（案）に例示のように 200 mmol/L の酢酸アンモニウムを含む水系移動相を使用して硫酸由来イオンなどを分離カラムから溶出させています。一般に高濃度の塩を含む移動相を MS に導入する場合、通常より高頻度なメンテナンスが必要となる可能性があります。このため、本分析条件では水系移動相の比率を高める保持時間 7 分から 15 分の区間について、スイッチングバルブにより分離カラム以降の流路を MS 側からドレイン側へ切り替えるよう設定しました。これにより、高濃度の塩を含む移動相を廃棄し、メンテナンス面での頑健性向上を図っています

（平成 24 年 9 月通知）の基準を満たす良好な結果が得られました。

本報のミックスモードカラムを用いた分析法検討では、アプリケーションニュース C144 でご紹介しましたアニオン交換カラムを用いた分析法と同様に、水道水試料中の臭素酸を前処理なしで基準値 1/10 濃度である 0.001 mg/L 以下まで定量可能であることが確認されました。

この分析法では現行のイオンクロマトグラフ-ポストカラム吸光光度法のような反応試薬調製の手間を要さないことから、水質検査の効率化と負担軽減に寄与することが期待されます。

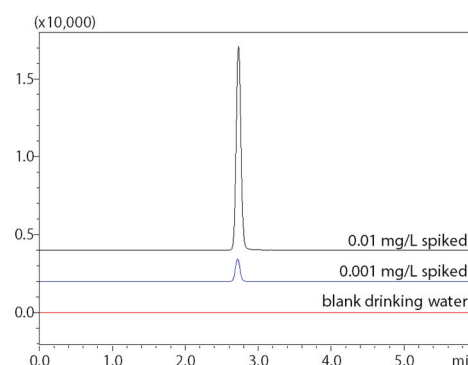


図 4. ブランク水道水および標準品添加水道水のクロマトグラム

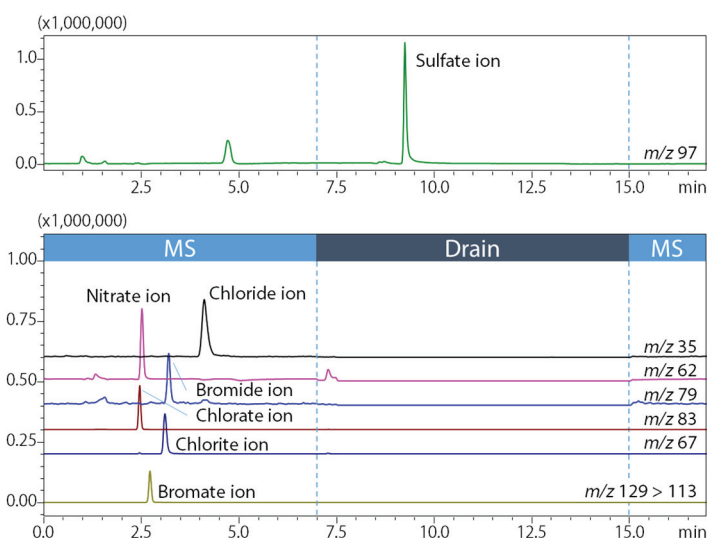


図 3. 水道水中の夾雑アニオンと臭素酸のクロマトグラム

■ 水道水への添加回収試験

水道水（神奈川県）を用いて臭素酸の添加回収試験を行いました。水道水に臭素酸を水質基準値である 0.01 mg/L およびその 1/10 濃度に相当する 0.001 mg/L を添加し、測定しました。クロマトグラム上からは水道水中の夾雑成分に由来する顕著な妨害は確認されませんでした（図 4）。またこれらの試料の分析結果から算出した真度および精度を表 2 に示しました。いずれの添加濃度でも妥当性評価ガイドライン

表 2 臭素酸の添加回収試験結果（n=5）

Spiked Conc. mg/L	Accuracy %	Precision %RSD
0.01	92.4	2.0
0.001	86.5	5.5

トリプル四重極型LC/MS/MSを用いた
水質管理目標設定項目
別添方法20の2 追加農薬の分析

平成 30 年 3 月の厚生労働省生活衛生局水道課長通知（薬生水発 0328 第 1 号～第 4 号）により、水質管理目標設定項目の検査方法における別添方法 20 の 2「液体クロマトグラフ-質量分析計による一斉分析法」に掲載される農薬が大幅に増え、181 農薬となりました。

別添方法 5 および別添方法 5 の 2 である「固相抽出-ガスクロマトグラフ-質量分析計による一斉分析法」および別添方法 18「固相抽出-液体クロマトグラフ-質量分析計による一斉分析法」、別添方法 19「固相抽出-液体クロマトグラフ-質量分析法」、別添方法 20「液体クロマトグラフ-質量分析計による一斉分析法」に掲載される各農薬のうち、別添方法 20 の 2 の分析条件で分析可能な 106 農薬および、今回検査方法として新設された 7 農薬を加えた 113 農薬が追加されました。

別添方法 20 の 2 に追加された 113 農薬においては、通知法に概ね準拠した分析条件により、参考法扱いの 14 農薬を除く 99 農薬においては、各目標値 1/100 濃度以下を精度良く分析することが可能です。

今回は、検査方法として新たに示された 7 農薬および目標値が比較的低濃度である農薬、今回目標値が厳しくなった農薬のについて取り上げながら、99 農薬について、水道水質検査方法の妥当性評価ガイドラインに基づき、液体クロマトグラフ質量分析計 LCMSTM-8050 を用いて評価した結果を紹介します。

H. Horiike

■ 113 農薬混合標準液の分析

今回追加された 113 農薬について、混合標準液による TIC クロマトグラムを図 1 に示しました。1 分析は 65 min となります。

また、分析条件を表 1 に示しました。

今回の追加では、固相抽出-GC-MS による一斉分析法で採用されている多数の農薬が LC/MS 法にも追加されたため、農薬の物性が多岐に渡っています。そのため、一部の農薬に見られる分析カラムへの吸着等を考慮し、メタルフリータイプの ODS カラムを選定し、分析しました。

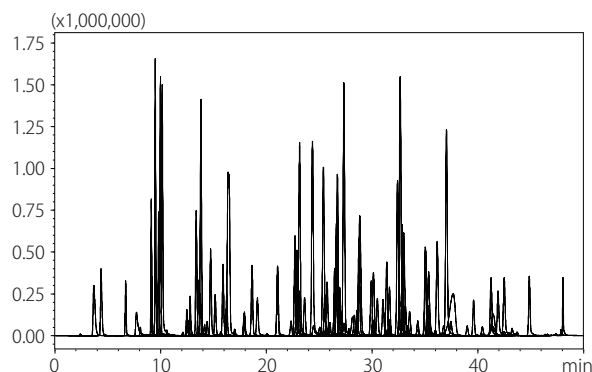


図 1 113 農薬混合標準液の TIC クロマトグラム（各 1~2 µg/L）

表 1 分析条件

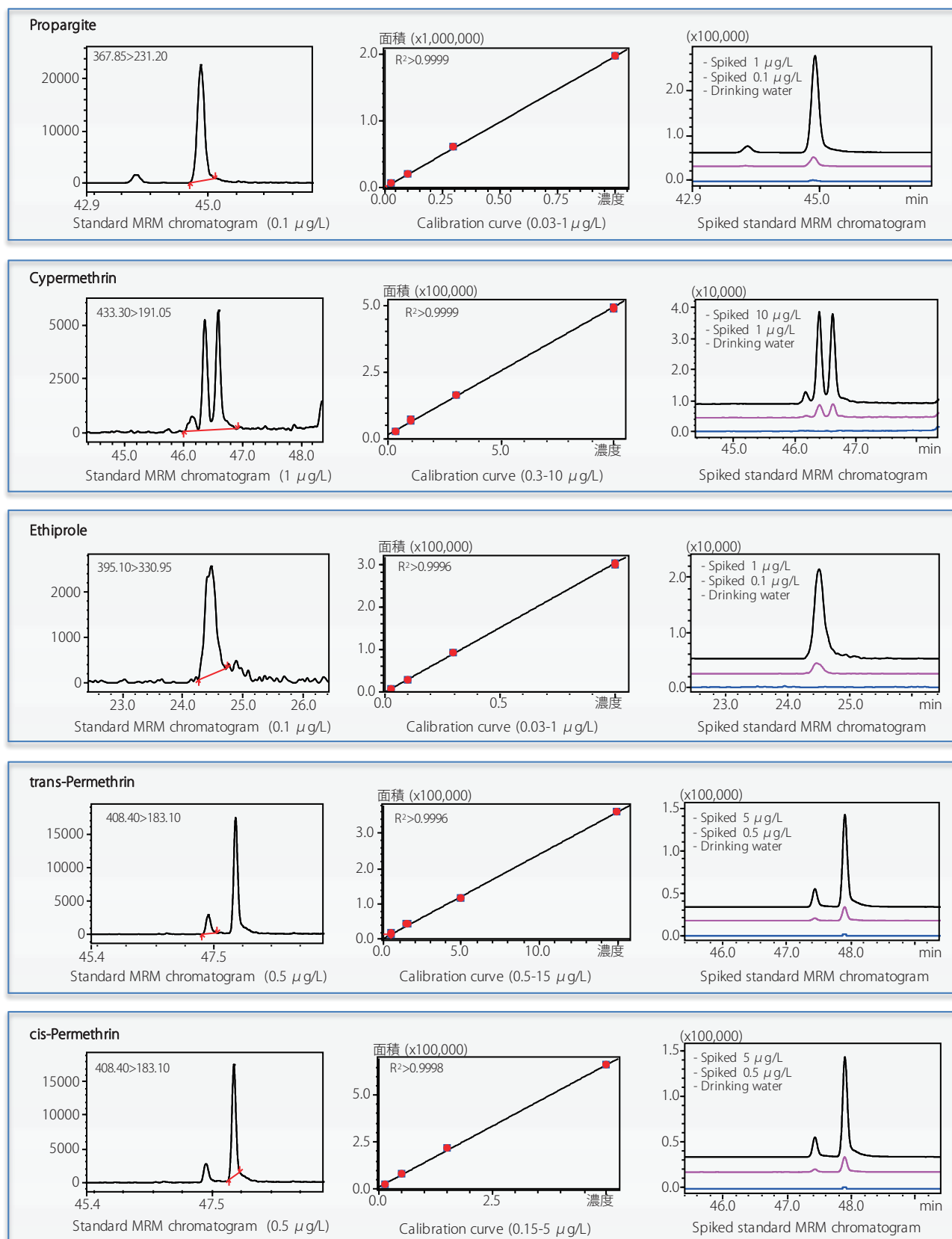
Column	: L-column2 ODS Metal free (150 mm L × 2.0 mm I.D., 3 µm, CERI)
Mobile phases	: A 5 mmol/L Ammonium acetate-water B 5 mmol/L Ammonium acetate-methanol
Time schedule	: B conc. 10 % (0 min) → 45 % (7 min) → 80 % (42 min) → 100% (46~51 min) → 10 % (51.01~65 min)
Flow rate	: 0.2 mL/min
Column temperature	: 40 °C
Injection volume	: 50 µL
Ionization	: ESI (Positive / Negative)
DL temperature	: 300 °C
Block heater temperature	: 400 °C
Interface temperature	: 250 °C
Nebulizing gas flow	: 3 L/min
Drying gas flow	: 10 L/min
Heating gas flow	: 10 L/min

■新規検査方法として採用された7農薬の分析

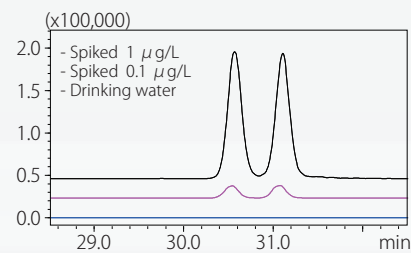
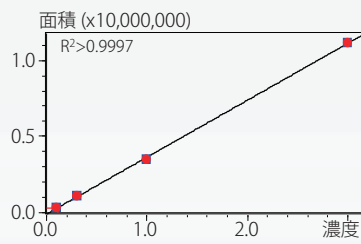
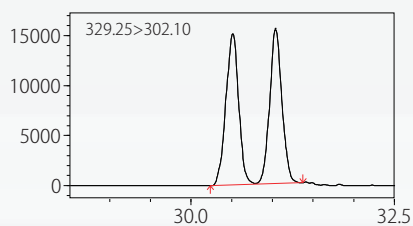
別添方法 20 の 2 へ追加された農薬のうち、今まで検査方法が示されていなかったプロパルギット、シペルメトリン、エチプロール、cis-ペルメトリン、trans-ペルメトリン、フェノキサニル、メタミドホス、トルフェンピラドの 7 農薬*1 について、各目標値の 1/100 濃度以下における MRM クロマトグラムおよび各目標値の 1/100 濃度以下を含む 4 点検量線

をそれぞれ下記に示しました。また、それぞれアスコルビン酸ナトリウムにより脱塩処理した水道水へ各目標値の 1/10 濃度、1/100 濃度以下を添加した MRM クロマトグラムも示しました。

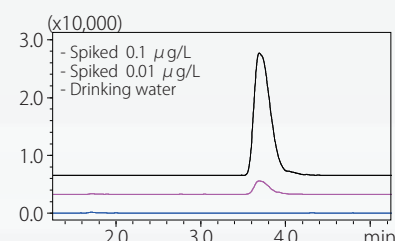
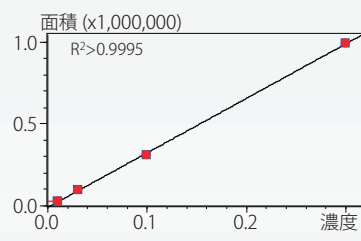
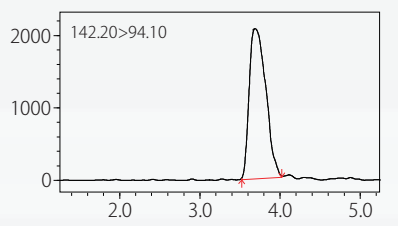
*1 異性体も個別に対象として 8 項目になります



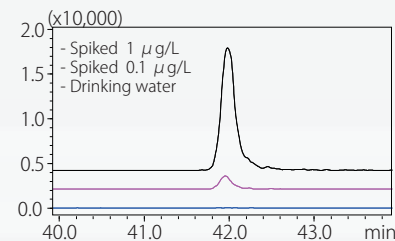
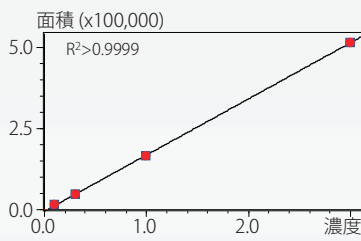
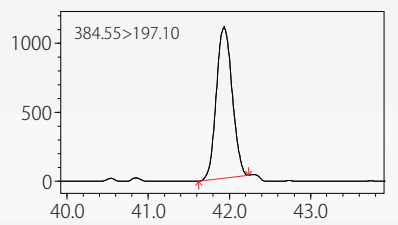
Fenoxanil



Methamidophos



Tolfenpyrad

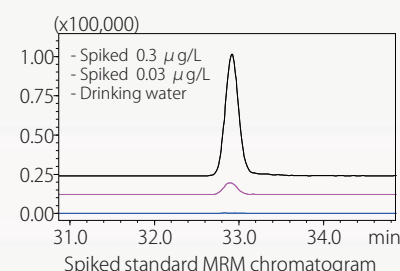
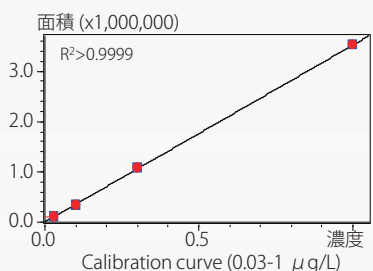
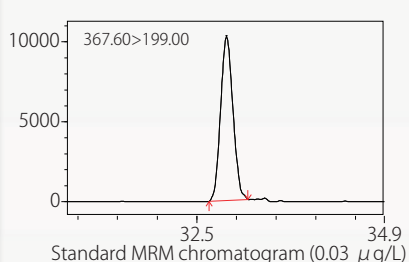


目標値が低濃度となる農薬の分析

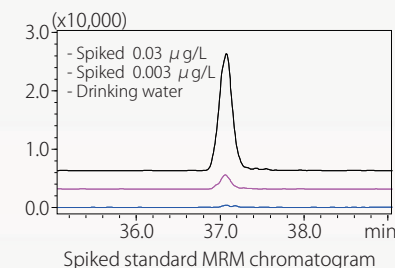
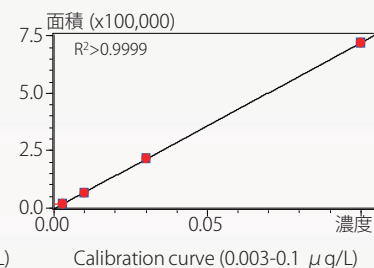
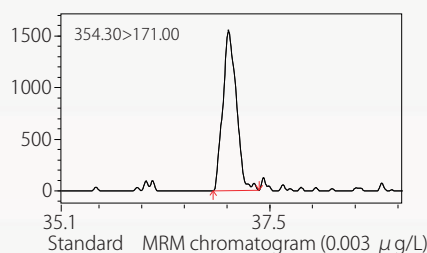
別添方法 20 の 2 の対象農薬のうち、目標値が低濃度となる農薬としてアニロホス、ピペロホス、ピリダフェンチオン、カズサホス、ピペロホス、シマジン、フィプロニルの 7 農薬を取り上げ、MRM クロマトグラムおよび各目標値の 1/100

濃度以下を含む 4 点検量線をそれぞれ示しました。また、それぞれアスコルビン酸ナトリウムにより脱塩処理した水道水へ各目標値の 1/10 濃度、1/100 濃度となるよう添加した MRM クロマトグラムも示しました。

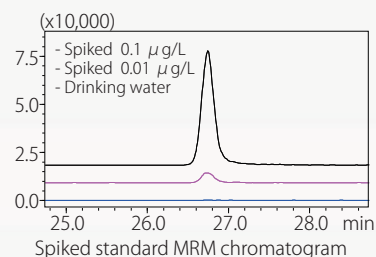
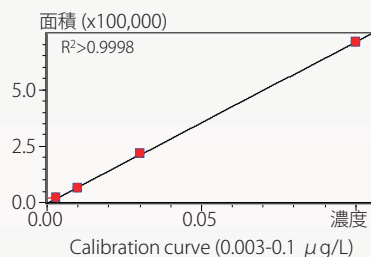
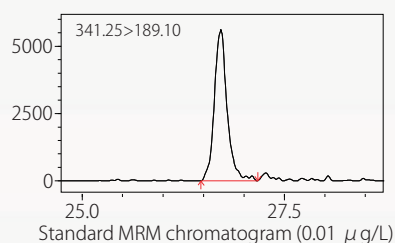
Anilofos



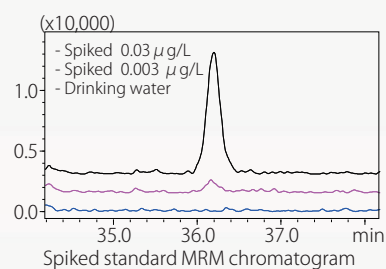
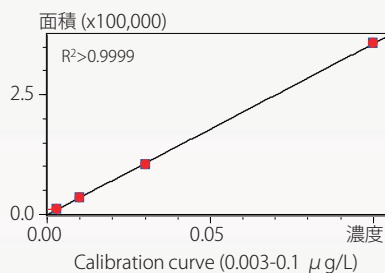
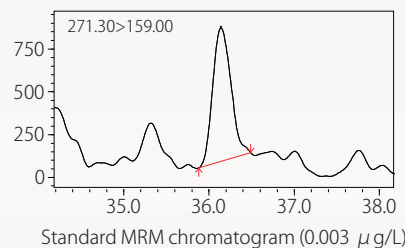
Piperphos



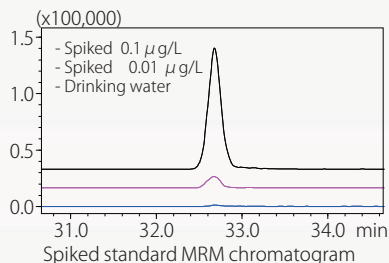
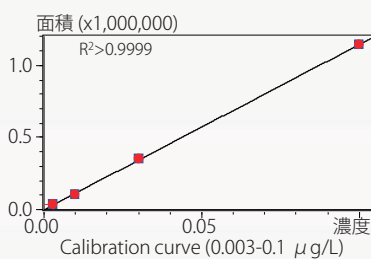
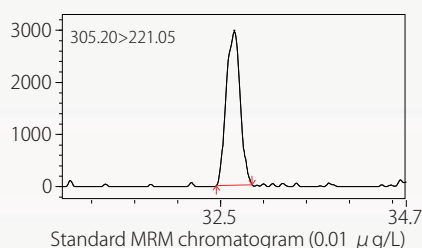
Pyridaphenthion



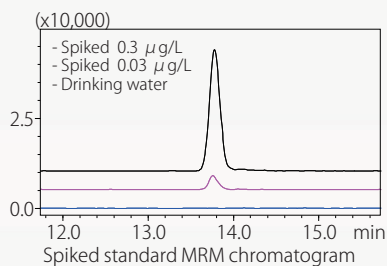
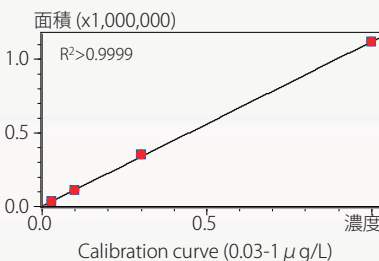
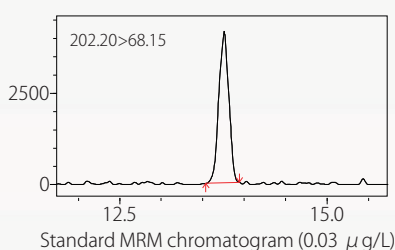
Cadusafos



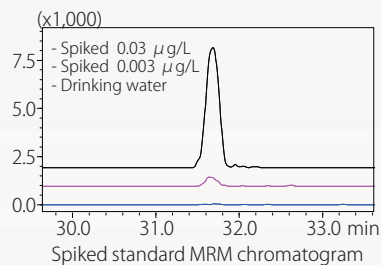
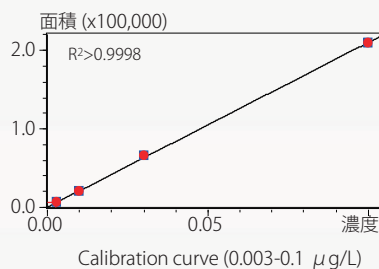
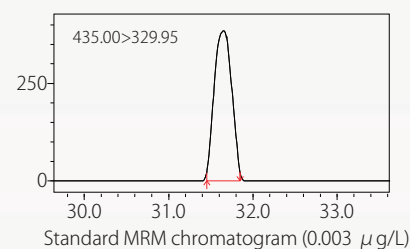
Propaphos



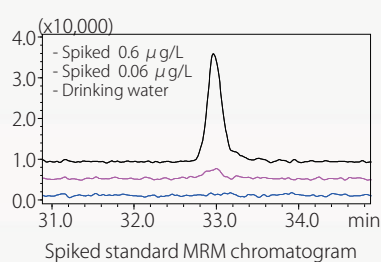
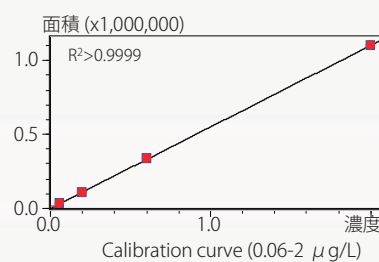
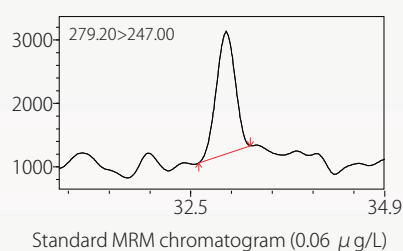
Simazine (CAT)



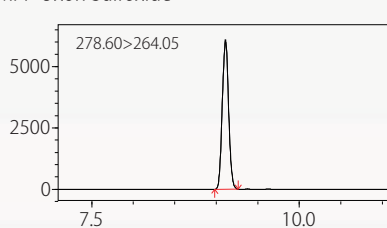
Fipronil



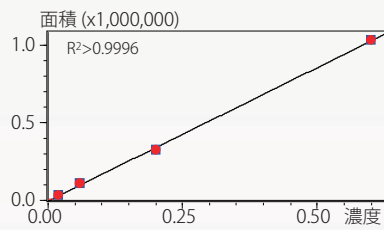
MPP (Fenthion)



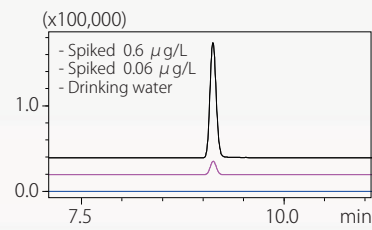
MPP Oxon Sulfoxide



Standard MRM chromatogram (0.02 $\mu\text{g/L}$)

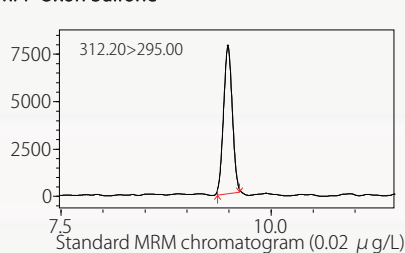


Calibration curve (0.02-0.6 $\mu\text{g/L}$)

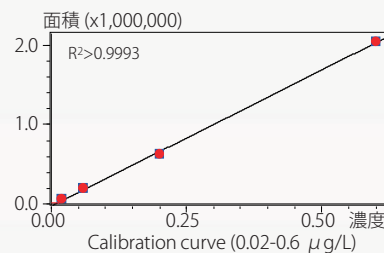


Spiked standard MRM chromatogram

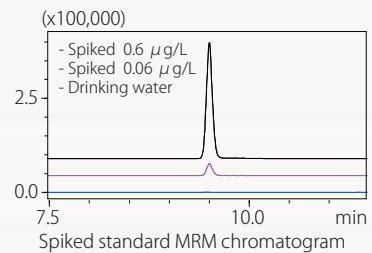
MPP Oxon Sulfone



Standard MRM chromatogram (0.02 $\mu\text{g/L}$)

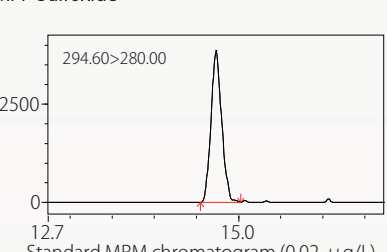


Calibration curve (0.02-0.6 $\mu\text{g/L}$)

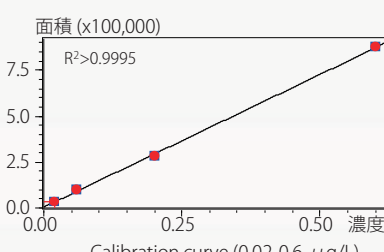


Spiked standard MRM chromatogram

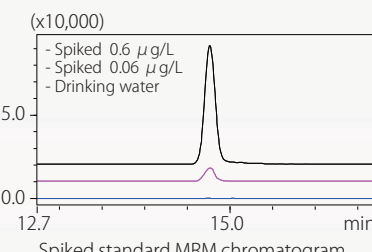
MPP Sulfoxide



Standard MRM chromatogram (0.02 $\mu\text{g/L}$)



Calibration curve (0.02-0.6 $\mu\text{g/L}$)



Spiked standard MRM chromatogram

目標値が変更された農薬の分析

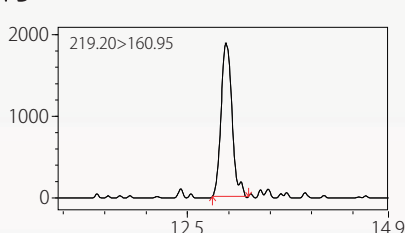
今回、別添方法 20 の 2 へ追加された農薬で 2,4-D は、目標値が 0.03 mg/L から 0.02 mg/L へ、イソキサチオンは、目標値が 0.008 mg/L から 0.005 mg/L へ、それぞれ見直され基準が強化されました。

2,4-D については、目標値の 1/100 濃度以下である 0.1 $\mu\text{g/L}$ の MRM クロマトグラムおよび 0.1 $\mu\text{g/L}$ を含む 4

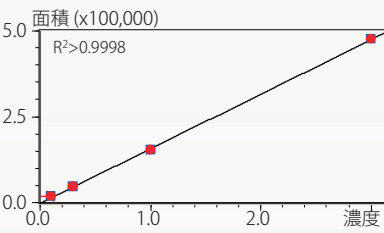
点検量線を、イソキサチオンについては、目標値の 1/100 濃度以下である 0.03 $\mu\text{g/L}$ の MRM クロマトグラムおよび 0.03 $\mu\text{g/L}$ を含む 4 点検量線を下記に示しました。

また、アスコルビン酸ナトリウムにより脱塩処理した水道水へ 2 農薬の各目標値の 1/100 濃度、1/10 濃度以下になるように添加した際の MRM クロマトグラムも示しました。

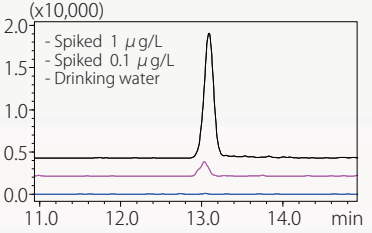
2,4-D



Standard MRM chromatogram (0.1 $\mu\text{g/L}$)

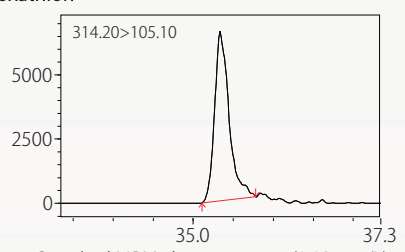


Calibration curve (0.1-3 $\mu\text{g/L}$)

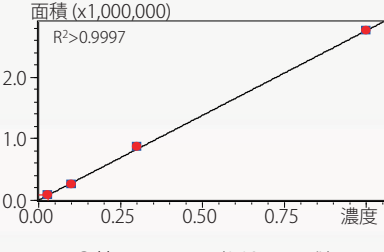


Spiked standard MRM chromatogram

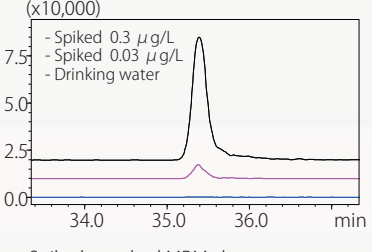
Isoxathion



Standard MRM chromatogram (0.03 $\mu\text{g/L}$)



Calibration curve (0.03-1 $\mu\text{g/L}$)



Spiked standard MRM chromatogram

■ 水道水を用いた添加回収試験における併行精度および真度結果 (99 農薬)

別添方法 20 の 2 へ追加された農薬のうち、参考と付した方法の 14 農薬を除く 99 農薬について、下記に水道水へ各目標値 1/100 以下濃度になるように水道水へ添加した試料を測定 (n=5) した結果を示しました。

水道水は、アスコルビン酸ナトリウムにより脱塩素処理したものを用品ましたが、フラザスルフロン、ベンスルフロンメチルについては、アスコルビン酸ナトリウムによる分解が見られるため、チオ硫酸ナトリウムによる脱塩素処理したものを用品、評価しました。

1) 別添方法 5 農薬 (51 農薬)

	農薬	R.T. (min)	+/-	Precursor ion	Product ion	目標値 1/100 ($\mu\text{g/L}$)	添加濃度 ($\mu\text{g/L}$)	回収率 (n=5,%)	併行精度 (n=5,%RSD)	検量線範囲 ($\mu\text{g/L}$)	寄与率 (R ²)
1	Alachlor	41.5	+	270	238	0.3	0.3	110	7.8	0.3-10	0.9999
2	Anilofos	32.9	+	368	199	0.03	0.03	83	3.3	0.03-1	0.9999
3	Atrazine	17.9	+	216	174	0.1	0.1	97	3.3	0.1-3	0.9999
4	Bifenox	36.3	+	359	310	2	1	99	3.9	0.3-10	0.9999
5	Bromobutide	28.3	+	314	196	1	1	88	3.1	0.03-1	0.9999
6	Buprofezin	41.2	+	306	201	0.2	0.1	89	4.8	0.03-1	0.9997
7	Butamifos	35.3	+	333	180	0.2	0.1	90	6.1	0.01-0.3	0.9997
	Butamifos Oxon	26.5	+	317	244	0.2	0.1	92	3.0	0.01-0.3	0.9994
8	Cafenstrole	26.7	+	351	100	0.08	0.03	85	17.9	0.03-1	0.9978
9	Chlorpyrifos	43.2	+	350	198	0.03	0.03	94	8.7	0.03-1	0.9998
	Chlorpyrifos Oxon	29.9	+	336	280	0.03	0.03	83	8.6	0.01-1	0.9999
10	Dithiopyr	39.0	+	402	354	0.09	0.03	110	6.4	0.03-1	0.9999
11	Diazinon	33.4	+	305	169	0.03	0.03	110	16.6	0.03-1	0.9999
	Diazinon Oxon	21.1	+	289	153	0.03	0.03	87	2.1	0.03-1	0.9997
12	Dimepiperate	36.9	+	146	69	0.03	0.03	83	17.4	0.03-1	0.9999
13	Dimethametryn	31.4	+	256	186	0.2	0.1	83	4.9	0.03-1	0.9997
14	Dimethoate	9.2	+	230	199	0.5	0.3	93	6.3	0.01-0.3	0.9995
15	Edifenphos (EDDP)	32.4	+	311	283	0.06	0.03	93	4.0	0.01-1	0.9999
16	EPN	37.4	+	324	296	0.04	0.03	100	9.1	0.01-1	0.9999
	EPN Oxon	22.7	+	308	280	0.04	0.03	97	2.9	0.03-3	0.9999
17	Esprocarb	40.4	+	266	91	0.1	0.1	88	2.5	0.1-3	0.9999
18	Ethofenprox	48.1	+	394	177	0.8	0.3	93	10.1	0.1-3	0.9999
19	Fenobucarb (BPMC)	22.3	+	208	95	0.3	0.3	81	2.8	0.03-1	0.9998
20	Flutolanil	25.7	+	324	262	2	1	82	2.0	0.1-3	0.9998
21	Fthalide	27.1	-	271	243	1	1	110	7.1	1-30	0.9997
22	Iprobenfos (IBP)	31.4	+	289	91	0.9	0.3	95	4.1	0.1-3	0.9999
	Isofenphos Oxon	27.3	+	330	201	0.01	0.01	80	5.7	0.003-0.1	0.9997
23	Isoprocab (MIPC)	17.9	+	194	95	0.1	0.1	83	5.8	0.1-3	0.9999
24	Isoprothiolane (IPT)	25.4	+	291	231	3	3	93	1.0	0.1-3	0.9998
25	Isoxathion	35.3	+	314	105	0.05	0.03	86	3.4	0.03-1	0.9997
	Isoxathion Oxon	24.4	+	298	242	0.08	0.03	86	4.9	0.03-1	0.9997
26	Malathion	25.5	+	348	331	7	3	86	3.3	0.1-3	0.9999
	Malaoxon	14.2	+	315	99	7	3	83	2.3	0.1-3	0.9999
27	Mefenacet	26.6	+	299	148	0.2	0.1	83	2.1	0.03-1	0.9999
-	MEP Oxon	14.4	+	262	104	0.1	0.1	93	11.5	0.03-1	0.9999
28	Mepronil	25.4	+	270	119	1	1	88	3.7	0.03-1	0.9999
29	Metalaxyl	18.7	+	280	220	0.6	0.3	81	1.6	0.1-3	0.9999
30	Methidathion (DMTP)	20.1	+	320	145	0.04	0.03	86	15.1	0.03-1	0.9999
31	Methyldymron	26.8	+	269	151	0.3	0.3	103	5.9	0.03-1	0.9995
32	Napropamide	28.6	+	272	171	0.3	0.3	83	4.4	0.1-3	0.9999
33	Pencycron	36.0	+	329	125	1	1	87	5.6	0.1-3	0.9999
34	Pendimethalin	43.5	+	282	212	3	3	88	2.7	3-100	0.9999
35	Phenthoate (PAP)	31.7	+	321	247	0.07	0.03	107	14.5	0.03-3	0.9998
36	Piperophos	37.0	+	354	171	0.009	0.003	100	13.9	0.003-0.1	0.9999

	農薬	R.T. (min)	+/-	Precursor ion	Product ion	目標値 1/100 ($\mu\text{g/L}$)	添加濃度 ($\mu\text{g/L}$)	回収率 (n=5,%)	併行精度 (n=5,%RSD)	検量線範囲 ($\mu\text{g/L}$)	寄与率 (R ²)
37	Pretilachlor	37.6	+	312	252	0.5	0.3	93	3.2	0.03-1	0.9999
38	Procymidone	27.0	-	314	282	0.9	0.3	88	16.9	0.3-10	0.9998
39	Propiconazole	33.1	+	342	159	0.5	0.3	83	3.6	0.03-3	0.9999
40	Propyzamide	25.0	-	254	228	0.5	0.3	108	3.7	0.1-3	0.9993
41	Pyributicarb	42.5	+	331	181	0.2	0.1	81	3.7	0.03-1	0.9999
42	Pyridaphenthion	26.7	+	341	189	0.02	0.01	80	6.5	0.003-0.1	0.9998
43	Pyriproxyfen	43.0	+	322	96	3	3	94	1.5	0.3-10	0.9999
44	Pyroquilon	12.8	+	174	117	0.5	0.3	87	2.2	0.1-3	0.9999
45	Simazine (CAT)	13.7	+	202	68	0.03	0.03	80	11.4	0.03-1	0.9999
46	Simetryn	17.9	+	214	68	0.3	0.3	100	2.9	0.1-3	0.9998
47	Terbutcarb (MBPMC)	37.0	+	295	222	0.2	0.1	100	12.3	0.1-3	0.9999
48	Thenylchlor	28.2	+	324	127	2	1	95	2.2	0.1-3	0.9996
49	Thobencarb	35.5	+	258	125	0.2	0.1	113	0.6	0.1-3	0.9999
50	Tolclofos-methyl	35.9	+	301	269	2	1	103	5.6	1-30	0.9999
	Tolclofos-methyl Oxon	23.1	+	285	109	2	1	98	1.0	0.1-3	0.9998
51	Trichorfon (DEP)	9.2	+	259	109	0.05	0.03	98	6.3	0.01-0.3	0.9999

2) 別添方法 5 の 2 農薬 (18 農薬)

	農薬	R.T. (min)	+/-	Precursor ion	Product ion	目標値 1/100 ($\mu\text{g/L}$)	添加濃度 ($\mu\text{g/L}$)	回収率 (n=5,%)	併行精度 (n=5,%RSD)	検量線範囲 ($\mu\text{g/L}$)	寄与率 (R ²)
52	Benfuresate	19.8	+	274	18	0.7	0.3	116	10.5	0.3-10	0.9997
53	Butachlor	41.4	+	312	238	0.3	0.3	109	5.2	0.1-3	0.9999
54	Cadusafos	36.2	+	271	159	0.006	0.003	100	16.1	0.003-0.1	0.9999
55	Cinmethylin	40.5	+	292	105	1	1	103	9.7	1-100	0.9999
56	Dichlofenthion (ECP)	42.5	+	315	259	0.06	0.03	104	14.5	0.03-1	0.9999
57	Chlorpyrifos-methyl	36.7	+	322	125	0.3	0.3	103	7.7	0.1-3	0.9999
58	Dimethylvinphos_E	26.9	+	331	127	0.1	0.1	94	1.0	0.03-1	0.9999
	Dimethylvinphos_Z	25.4	+	331	127	0.1	0.1	96	5.7	0.03-1	0.9999
59	Fosthiazate	16.4	+	284	104	0.03	0.03	87	3.2	0.03-1	0.9999
60	Metrachlor	28.8	+	284	252	2	1	93	1.6	0.03-1	0.9999
61	Orysastrobin	26.0	+	392	205	1	1	88	1.0	0.1-3	0.9999
62	Paclobutrazol	28.7	+	294	70	0.5	0.3	90	1.6	0.01-1	0.9998
63	Phosalone	35.1	+	368	182	0.05	0.03	93	5.8	0.01-0.3	0.9999
64	Propaphos	32.7	+	305	221	0.01	0.01	90	9.0	0.003-0.1	0.9998
65	Propoxur (PHC)	13.6	+	210	111	2	1	84	2.9	0.1-3	0.9999
66	Pyraclofos	35.0	+	361	257	-	0.01	110	7.3	0.01-1	0.9999
67	Pyrazoxyfen	33.0	+	403	91	0.04	0.03	107	2.8	0.003-0.1	0.9999
68	Quinoclamine (ACN)	12.6	+	208	105	0.05	0.03	100	9.7	0.03-1	0.9999
69	Uniconazole-P	30.1	+	292	70	0.4	0.3	90	0.4	0.03-1	0.9998

3) 新規農薬 (7 農薬)

	農薬	R.T. (min)	+/-	Precursor ion	Product ion	目標値 1/100 ($\mu\text{g/L}$)	添加濃度 ($\mu\text{g/L}$)	回収率 (n=5,%)	併行精度 (n=5,%RSD)	検量線範囲 ($\mu\text{g/L}$)	寄与率 (R ²)
70	Cypermethrin	46.5	+	433	191	1	1	90	10.1	0.3-10	0.9999
71	Ethiprole	24.4	-	395	331	0.1	0.1	86	3.9	0.03-1	0.9996
72	Fenoxanil	30.7	+	329	302	0.2	0.1	112	1.7	0.1-3	0.9997
73	Methamidophos	3.7	+	142	94	0.01	0.01	83	0.8	0.01-0.3	0.9995
74	Propargite (BPPS)	44.8	+	368	231	0.2	0.1	91	6.1	0.03-1	0.9999
75	Permethrin_trans	47.8	+	408	183	1	0.5	101	8.0	0.5-15	0.9996
	Permethrin_cis	48.1	+	408	183	1	0.5	106	4.3	0.05-1.5	0.9998
76	Tolfenpyrad	41.9	+	385	197	0.1	0.1	89	8.6	0.1-3	0.9999

4) 別添方法 18 農薬 (20 農薬)

	農薬	R.T. (min)	+/-	Precursor ion	Product ion	目標値 1/100 ($\mu\text{g/L}$)	添加濃度 ($\mu\text{g/L}$)	回収率 (n=5,%)	併行精度 (n=5,%RSD)	検量線範囲 ($\mu\text{g/L}$)	寄与率 (R ²)
77	2,4-D	13.1	-	219	161	0.2	0.1	103	5.1	0.1-3	0.9998
78	Azoxystrobin	23.1	+	404	372	5	3	80	0.8	0.3-10	0.9996
79	Bensulfuron-methyl	17.0	+	411	149	5	3	82	4.7	0.1-3	0.9997
80	Bensulide (SAP)	31.5	+	398	158	1	1	82	3.5	0.1-3	0.9999
81	Bentazone	8.1	-	239	132	2	1	113	0.9	0.03-1	0.9996
82	Carbaryl (NAC)	15.2	+	202	145	0.5	0.3	95	2.8	0.1-3	0.9998
83	Carbendazim (MBC)	10.2	+	192	160	0.2	0.1	95	1.4	0.1-3	0.9997
84	Carbofuran	13.8	+	222	165	0.05	0.03	97	1.9	0.03-3	0.9998
85	Carpropamid	32.7	+	334	139	0.4	0.3	95	1.5	0.1-3	0.9999
86	Diuron (DCMU)	19.2	+	233	72	0.2	0.1	94	3.4	0.03-1	0.9999
87	Dymron	26.2	+	269	151	8	3	99	1.8	0.1-3	0.9999
88	Fipronil	31.6	-	435	330	0.005	0.003	100	15.9	0.003-0.1	0.9998
89	Flazasulfuron	9.8	+	408	182	0.3	0.3	86	7.2	0.003-0.1	0.9993
90	Halosulfuron-methyl	12.1	+	435	182	3	3	100	10.5	0.1-3	0.9999
91	Mecoprop (MCPP)	15.7	-	213	141	0.5	0.3	120	2.1	0.3-10	0.9998
92	Methomyl	6.7	+	163	88	0.3	0.3	97	0.3	0.01-0.3	0.9995
93	MPP (Fenthion)	32.9	+	279	247	0.06	0.06	100	4.4	0.06-2	0.9999
	MPP Oxon	21.1	+	263	231	0.06	0.06	100	4.4	0.06-2	0.9999
	MPP Oxon Sulfoxide	9.1	+	279	264	0.06	0.06	103	4.7	0.02-0.6	0.9996
	MPP Oxon Sulfone	9.5	+	312	295	0.06	0.06	90	3.0	0.02-0.6	0.9993
	MPP Sulfoxide	14.7	+	295	280	0.06	0.06	100	7.4	0.02-0.6	0.9995
	MPP Sulfone	15.9	+	328	311	0.06	0.06	96	4.7	0.02-0.6	0.9998
94	Siduron	23.0	+	233	137	3	3	96	0.7	0.1-3	0.9999
95	Thiodicarb	16.3	+	377	64	0.8	0.3	83	3.8	0.3-10	0.9997
96	Tricyclazole	10.6	+	190	163	1	1	84	6.4	0.1-3	0.9999

5) 別添方法 19・20 農薬 (3 農薬)

	農薬	R.T. (min)	+/-	Precursor ion	Product ion	目標値 1/100 ($\mu\text{g/L}$)	添加濃度 ($\mu\text{g/L}$)	回収率 (n=5,%)	併行精度 (n=5,%RSD)	検量線範囲 ($\mu\text{g/L}$)	寄与率 (R ²)
97	2,2-DPA (Dalapon)	4.2	-	141	97	0.8	0.3	107	3.4	0.3-10	0.9999
98	Acephate	4.4	+	184	143	0.06	0.03	110	1.6	0.03-3	0.9997
99	Benfuracarb	39.6	+	411	195	0.4	0.3	89	4.8	0.1-3	0.9999

LCMS は、株式会社 島津製作所の商標です。
 本文書に記載されている会社名、製品名、サービスマークおよびロゴは、各社の商標および登録商標です。
 なお、本文中では「TM」、「®」を明記していない場合があります。

トリプル四重極型LC/MS/MSを用いた
水質管理目標設定項目
別添方法20の2 農薬の高速分析

平成 30 年 3 月の厚生労働省生活衛生局水道課長通知（薬生水発 0328 第 1 号～第 4 号）により、水質管理目標設定項目の検査方法における別添方法 20 の 2「液体クロマトグラフ-質量分析計による一斉分析法」の対象となる農薬が大幅に増え、181 農薬となりました。

別添方法 5 および別添方法 5 の 2 である「固相抽出-ガスクロマトグラフ-質量分析計による一斉分析法」および別添方法 18「固相抽出-液体クロマトグラフ-質量分析計による一斉分析法」、別添方法 19「固相抽出-液体クロマトグラフ-質量分析法」、別添方法 20「液体クロマトグラフ-質量分析計による一斉分析法」に掲載される各農薬のうち、別添方法 20 の 2 の分析条件で分析可能な 106 農薬、および今回検査方法として新設された 7 農薬を加えた 113 農薬が追加されました。

今回は、181 農薬を分析時間 25 min と短時間で分析した例を紹介すると共に、参考法扱いとなっている 29 農薬を除く 152 農薬について、水道水質検査方法の妥当性評価ガイドラインに基づき、LCMSTM-8050 を用いて評価した結果も併せて紹介します。

H. Horiike

■ 181 農薬混合標準液の分析

今回追加された 113 農薬を含む別添方法 20 の 2 に示される 181 農薬について、混合標準液による TIC クロマトグラムを図 1 に示しました。

1 分析は、25 min となります。

また、分析条件を表 1 に示しました。今回の追加では、固相抽出-GC-MS による一斉分析法で採用されている多数の農薬が LC/MS 法にも追加されたため、農薬の物性も多岐に渡っています。

一部の農薬に見られる分析カラムへの吸着等を考慮し、メタルフリータイプの ODS カラムを選定し、分析しました。

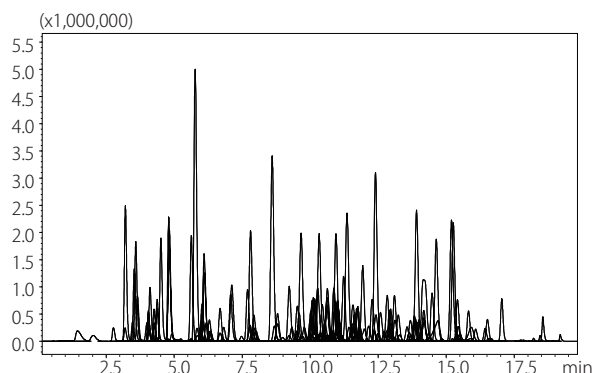


図 1 181 農薬混合標準液の TIC クロマトグラム（各 1～2 μg/L）

表 1 分析条件

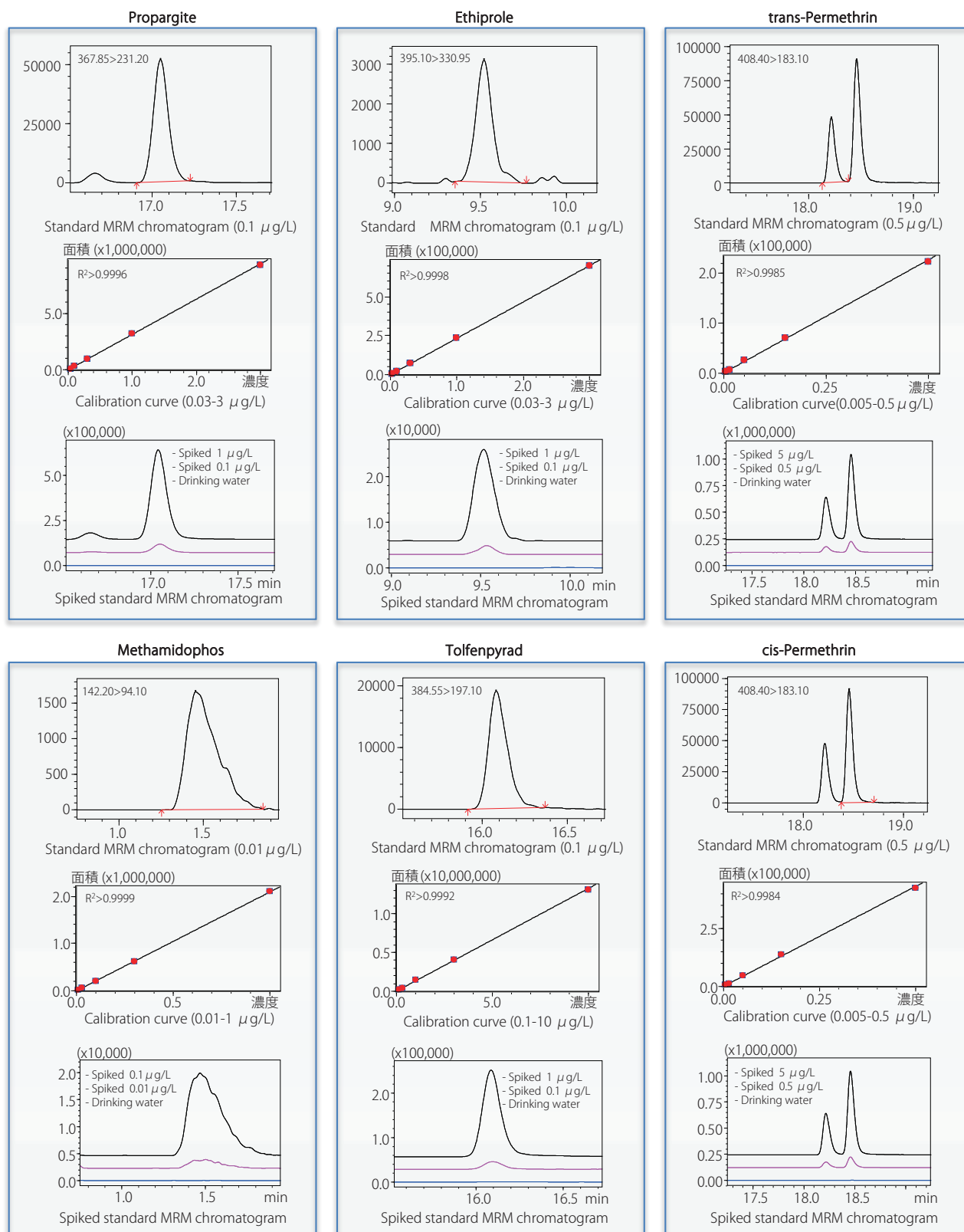
Column	: InertSustain® AQ-C18 PEEK (50 mm L. × 2.1 mm I.D., 1.9 μm, GL Sciences)
Mobile phases	: A 5 mmol/L Ammonium acetate-water B 5 mmol/L Ammonium acetate-methanol
Time schedule	: B conc. 10 % (0～0.50 min) → 45 % (3.00 min) → 80 % (15.50 min) → 100 % (18～21 min) → 10 % (21.01～25 min)
Flow rate	: 0.25 mL/min
Column temperature	: 40 °C
Injection volume	: 50 μL
Ionization	: ESI (Positive / Negative)
DL temperature	: 200 °C
Block heater temperature	: 400 °C
Interface temperature	: 200 °C
Nebulizing gas flow	: 3 L/min
Drying gas flow	: 10 L/min
Heating gas flow	: 10 L/min

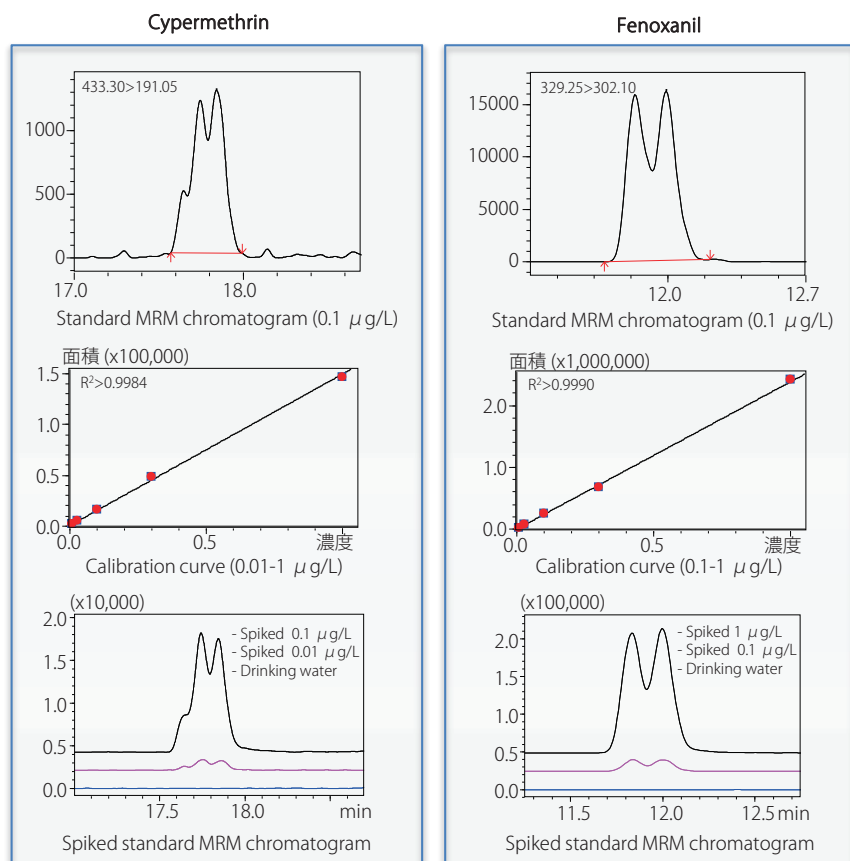
■新規検査方法として採用された 7 農薬の分析

別添方法 20 の 2 に追加された農薬のうち、今まで検査方法が示されていなかったプロパルギット、シペルメトリン、エチプロール、cis-ペルメトリン、trans-ペルメトリン、フェノキサニル、メタミドホス、トルフェンピラドの 7 農薬*1 について、各目標値の 1/100 濃度以下における MRM クロマトグラムおよび各目標値の 1/100 濃度以下を含む 5 点検量線

を下記に示しました。また、それぞれアスコルビン酸ナトリウムにより脱塩処理した水道水へ各目標値の 1/10 濃度以下、1/100 濃度以下を添加した MRM クロマトグラムも示しました。

*1 異性体も個別に対象として 8 項目になります

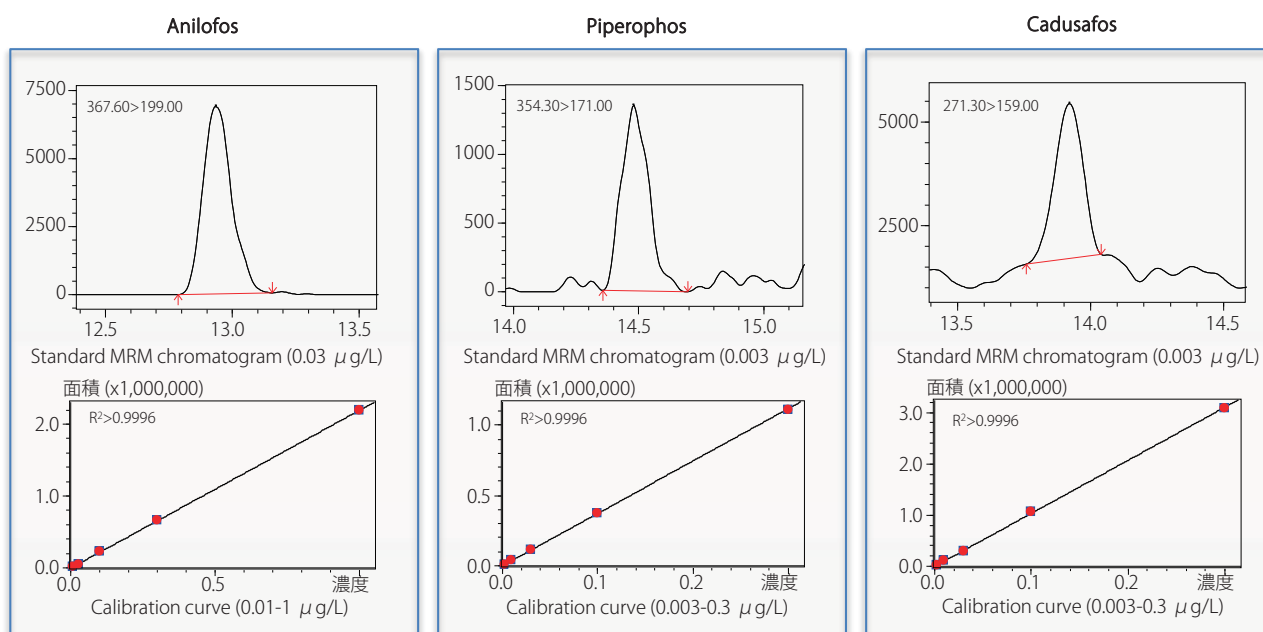




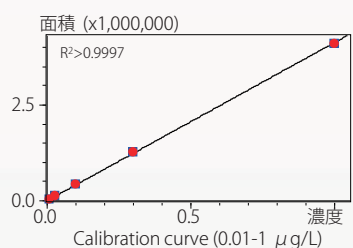
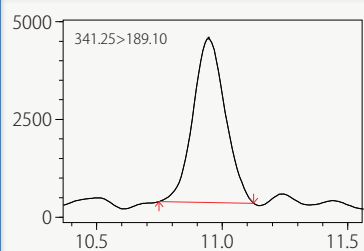
■ 目標値が低濃度となる農薬および目標値が見直された農薬の分析

別添方法 20 の 2 の対象農薬のうち、目標値が低濃度となる農薬としてアニロホス、ピペロホス、カズサホス、ピリダフェンチオン、プロパロホス、シマジン、フィプロニル、テフリルトリオン、モノクロトホスの 9 農薬を取りあげ、各目標値の 1/100 濃度以下の MRM クロマトグラムおよび各目標値の 1/100 濃度以下を含む 5 点検量線を示しました。

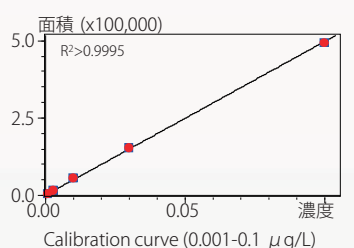
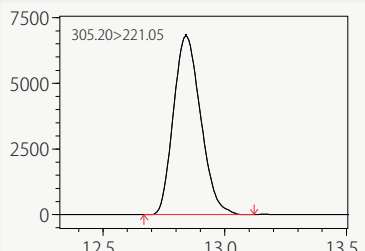
また、2,4-D、シアナジン、イソキサチオン（オキシソン体含む）は更に目標値が厳しくなりました。これら 3 農薬についても、各目標値の 1/100 濃度以下の MRM クロマトグラムおよび 1/100 濃度以下を含む 5 点検量線を同様に示しました。



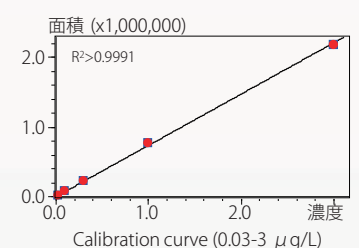
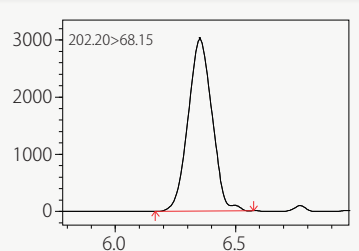
Pyridaphenthion



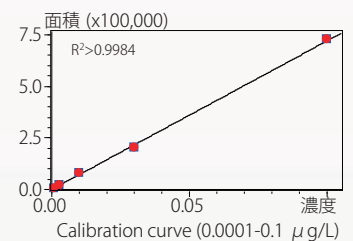
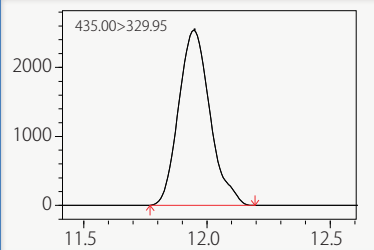
Propaphos



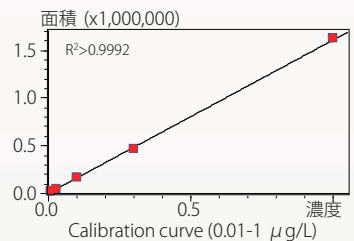
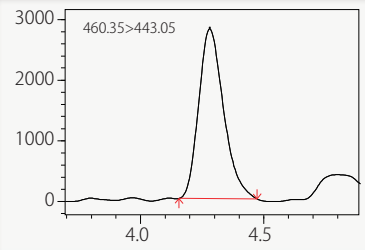
Simazine (CAT)



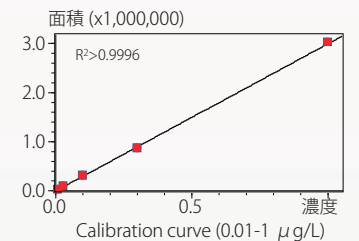
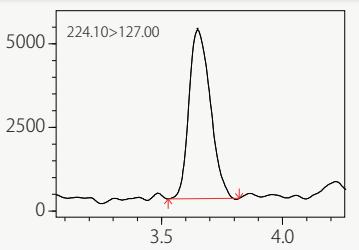
Fipronil



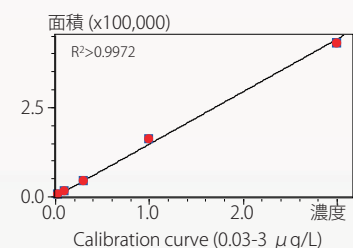
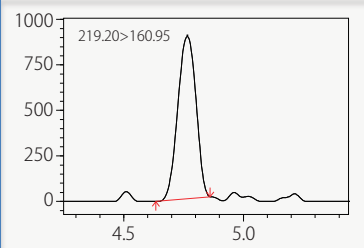
Tefuryltrione



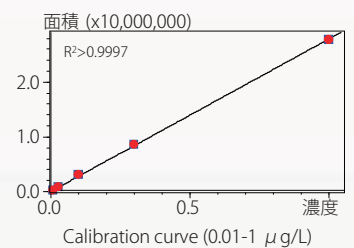
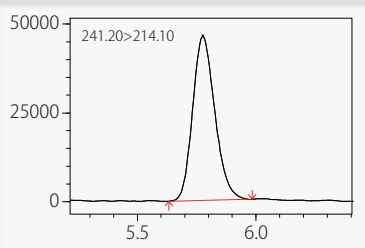
Monocrotophos



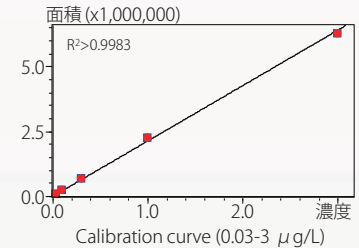
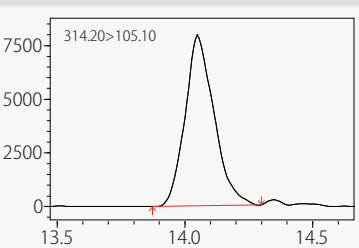
2,4-D



Cyanazine



Isoxathion



■ 水道水を用いた添加回収試験における併行精度および真度結果 (152 農薬)

別添方法 20 の 2 に掲載される農薬のうち、参考法扱いの 29 農薬を除く 152 農薬について、記に水道水へ各目標値 1/100 以下濃度になるように水道水へ添加した試料を測定 (n=5) した結果を示しました。

水道水は、アスコルビン酸ナトリウムにより脱塩素処理し

たものを用いましたが、フラザスルフロン、ベンスルフロンメチルについては、アスコルビン酸ナトリウムによる分解が見られるため、ネライストキシンおよびフェリムゾンと共に、チオ硫酸ナトリウムによる脱塩素処理したものを、評価しました。

1) 別添方法 5 農薬 (51 農薬)

	農薬	R.T. (min)	+/-	Precursor ion	Product ion	目標値 1/100 ($\mu\text{g/L}$)	添加濃度 ($\mu\text{g/L}$)	回収率 (n=5,%)	併行精度 (n=5,%RSD)	検量線範囲 ($\mu\text{g/L}$)	寄与率 (R ²)
1	Alachlor	15.9	+	270	238	0.3	0.3	101	1.4	0.1-10	0.9997
2	Anilofos	12.9	+	368	199	0.03	0.03	97	2.9	0.01-1	0.9996
3	Atrazine	7.9	+	216	174	0.1	0.1	100	3.8	0.03-3	0.9975
4	Bifenox	14.2	+	359	310	2	1	97	12.5	0.3-10	0.9960
5	Bromobutide	11.4	+	314	196	1	0.3	101	2.8	0.01-1	0.9998
6	Buprofezin	15.8	+	306	201	0.2	0.1	94	3.5	0.1-10	0.9987
7	Butamifos	13.8	+	333	180	0.2	0.1	101	3.3	0.01-1	0.9995
	Butamifos Oxon	10.6	+	317	244	0.2	0.1	99	1.7	0.01-1	0.9998
8	Cafenstrole	11.0	+	351	100	0.08	0.03	93	10.9	0.01-1	0.9995
9	Chlorpyrifos	16.4	+	350	198	0.03	0.03	83	5.3	0.03-3	0.9997
	Chlorpyrifos Oxon	11.8	+	336	280	0.03	0.03	100	7.3	0.01-1	0.9996
10	Dithiopyr	15.2	+	402	354	0.09	0.03	113	9.0	0.03-3	0.9995
11	Diazinon	13.3	+	305	169	0.03	0.03	83	15.5	0.03-3	0.9997
	Diazinon Oxon	8.8	+	289	153	0.03	0.03	97	3.4	0.01-1	0.9997
12	Dimepiperate	14.4	+	264	146	0.03	0.03	107	6.0	0.03-3	0.9995
13	Dimethametryn	12.6	+	256	186	0.2	0.1	98	1.5	0.01-1	0.9997
14	Dimethoate	4.3	+	230	199	0.5	0.03	100	8.2	0.01-1	0.9997
15	Edifenphos (EDDP)	13.0	+	311	283	0.06	0.03	107	3.6	0.01-1	0.9999
16	EPN	14.7	+	324	296	0.04	0.03	99	14.8	0.03-3	0.9997
	EPN Oxon	9.6	+	308	280	0.04	0.03	97	5.2	0.01-1	0.9994
17	Esprocarb	15.5	+	266	91	0.3	0.3	95	3.3	0.1-10	0.9997
18	Ethofenprox	18.6	+	394	177	0.8	0.3	104	3.6	0.01-1	0.9989
19	Fenobucarb (BPMC)	9.0	+	208	95	0.3	0.3	95	4.1	0.1-10	0.9997
20	Flutolanil	10.4	+	324	262	2	0.3	95	3.8	0.01-1	0.9999
21	Fthalide	10.6	-	271	243	1	1	96	17.9	1-30	0.9998
22	Iprobenfos (IBP)	12.4	+	289	91	0.9	0.3	85	2.5	0.03-3	0.9982
-	Isofenphos Oxon	11.0	+	330	201	0.01	0.01	100	5.3	0.003-0.3	0.9989
23	Isoprocab (MIPC)	7.5	+	194	95	0.1	0.1	94	5.6	0.01-1	0.9996
24	Isoprothiolane (IPT)	10.6	+	291	231	3	0.3	94	2.3	0.01-1	0.9998
25	Isoxathion	14.0	+	314	105	0.05	0.03	97	3.4	0.03-3	0.9983
	Isoxathion Oxon	10.1	+	298	242	0.08	0.03	97	4.0	0.01-1	0.9999
26	Malathion	10.5	+	348	331	7	1	96	4.5	0.03-3	0.9989
	Malaoxon	6.3	+	315	99	7	1	90	3.0	0.03-3	0.9985
27	Mefenacet	11.0	+	299	148	0.2	0.1	98	2.7	0.01-1	0.9997
-	MEP Oxon	6.4	+	262	104	0.1	0.1	98	13.7	0.03-3	0.9995
28	Mepronil	10.5	+	270	119	1	0.3	91	2.7	0.01-1	0.9999
29	Metalaxyl	7.9	+	280	220	0.6	0.3	95	1.2	0.01-1	0.9999
30	Methidathion (DMTP)	8.7	+	320	145	0.04	0.03	87	5.7	0.03-3	0.9977
31	Methyldymron	11.0	+	269	151	0.3	0.3	89	4.2	0.03-3	0.9989
32	Napropamide	11.5	+	272	171	0.3	0.3	93	4.8	0.1-10	0.9988
33	Pencycron	14.0	+	329	125	1	1	92	4.5	0.1-10	0.9997
34	Pendimethalin	16.6	+	282	212	3	1	101	1.6	0.1-10	0.9996
35	Phenthoate (PAP)	12.7	+	321	247	0.07	0.03	110	11.1	0.03-3	0.9996
36	Piperophos	14.5	+	354	171	0.009	0.003	86	0.2	0.003-0.3	0.9996

	農薬	R.T. (min)	+/-	Precursor ion	Product ion	目標値 1/100 ($\mu\text{g/L}$)	添加濃度 ($\mu\text{g/L}$)	回収率 (n=5,%)	併行精度 (n=5,%RSD)	検量線範囲 ($\mu\text{g/L}$)	寄与率 (R ²)
37	Pretilachlor	14.7	+	312	252	0.5	0.3	100	4.3	0.03-3	0.9991
38	Procymidone	10.7	+	284	256	0.9	0.3	107	18.3	0.3-10	0.9993
39	Propiconazole	12.9	+	342	159	0.5	0.3	94	2.4	0.01-1	0.9993
40	Propyzamide	10.1	-	254	228	0.5	0.3	99	5.1	0.03-3	0.9990
41	Pyributicarb	16.5	+	331	181	0.2	0.1	86	4.5	0.1-10	0.9992
42	Pyridaphenthion	10.9	+	341	189	0.02	0.01	110	13.7	0.01-1	0.9997
43	Pyriproxyfen	16.6	+	322	96	3	0.3	83	2.0	0.01-1	0.9994
44	Pyroquilon	5.9	+	174	117	0.4	0.1	96	4.7	0.01-1	0.9999
45	Simazine (CAT)	6.4	+	202	68	0.03	0.03	86	13.9	0.03-3	0.9991
46	Simetryn	8.0	+	214	68	0.3	0.3	95	2.7	0.03-3	0.9981
47	Terbucarb (MBPMC)	14.2	+	295	109	0.2	0.1	97	1.6	0.01-1	0.9999
48	Thenylchlor	11.6	+	324	127	2	0.3	103	1.7	0.01-1	0.9999
49	Thobencarb	13.7	+	258	125	0.2	0.1	107	4.2	0.03-3	0.9991
50	Tolclofos-methyl	13.9	+	301	269	2	1	117	2.6	0.3-30	0.9990
	Tolclofos-methyl Oxon	9.6	+	285	109	2	1	116	1.3	0.03-3	0.9991
51	Trichorfon (DEP)	4.2	+	259	109	0.05	0.03	80	6.9	0.01-1	0.9997

2) 別添方法 5 の 2 農薬 (18 農薬)

	農薬	R.T. (min)	+/-	Precursor ion	Product ion	目標値 1/100 ($\mu\text{g/L}$)	添加濃度 ($\mu\text{g/L}$)	回収率 (n=5,%)	併行精度 (n=5,%RSD)	検量線範囲 ($\mu\text{g/L}$)	寄与率 (R ²)
52	Benfuresate	8.4	+	274	18	0.7	0.3	96	6.1	0.3-30	0.9992
53	Butachlor	15.9	+	312	238	0.3	0.3	109	1.9	0.1-10	0.9996
54	Cadusafos	13.9	+	271	159	0.006	0.003	101	8.5	0.003-0.3	0.9996
55	Cinmethylin	15.5	+	292	105	1	1	104	0.8	0.3-30	0.9999
56	Dichlofenthion (ECP)	16.1	+	315	259	0.06	0.03	104	19.8	0.03-3	0.9982
57	Chlorpyrifos-methyl	14.1	+	322	125	0.3	0.3	96	15.1	0.3-30	0.9998
58	Dimethylvinphos_E	11.4	+	333	127	0.1	0.1	97	15.5	0.01-1	0.9986
	Dimethylvinphos_Z	10.7	+	333	127	0.1	0.1	103	5.2	0.01-1	0.9995
59	Fosthiazate	7.1	+	284	104	0.03	0.03	99	1.6	0.01-1	0.9999
60	Metrachlor	11.6	+	284	252	2	0.3	97	1.6	0.01-1	0.9997
61	Orysastrobin	10.8	+	392	205	1	1	97	3.1	0.1-10	0.9984
62	Paclobutrazol	11.0	+	294	70	0.5	0.3	98	1.6	0.01-1	0.9998
63	Phosalone	13.7	+	368	182	0.05	0.03	90	13.4	0.01-1	0.9997
64	Propaphos	12.8	+	305	221	0.01	0.01	100	4.6	0.001-0.1	0.9995
65	Propoxur (PHC)	6.0	+	210	111	2	1	104	2.2	0.03-3	0.9992
66	Pyraclofos	13.7	+	361	257	0.03	0.03	93	1.9	0.01-1	0.9991
67	Pyrazoxyfen	13.2	+	403	91	0.04	0.03	93	3.2	0.01-1	0.9997
68	Quinoclamine (ACN)	5.9	+	208	105	0.05	0.03	87	14.1	0.01-1	0.9994
69	Uniconazole-P	10.6	+	292	70	0.4	0.3	98	0.7	0.01-1	0.9999

3) 新規農薬 (7 農薬)

	農薬	R.T. (min)	+/-	Precursor ion	Product ion	目標値 1/100 ($\mu\text{g/L}$)	添加濃度 ($\mu\text{g/L}$)	回収率 (n=5,%)	併行精度 (n=5,%RSD)	検量線範囲 ($\mu\text{g/L}$)	寄与率 (R ²)
70	Cypermethrin	17.8	+	433	191	1	0.1	90	5.0	0.01-1	0.9984
71	Ethiprole	9.5	-	395	331	0.1	0.1	104	7.2	0.03-3	0.9998
72	Fenoxanil	12.0	+	329	302	0.2	0.1	101	3.6	0.01-1	0.9990
73	Methamidophos	1.5	+	142	94	0.01	0.01	100	4.4	0.01-1	0.9999
74	Propargite (BPPS)	17.1	+	368	231	0.2	0.1	92	4.1	0.03-3	0.9996
75	Permethrin_trans	18.2	+	408	183	1	0.5	111	2.5	0.005-0.5	0.9985
	Permethrin_cis	18.5	+	408	183	1	0.5	111	2.1	0.005-0.5	0.9984
76	Tolfenpyrad	16.1	+	385	197	0.1	0.1	80	3.4	0.1-10	0.9992

4) 別添方法 18 農薬 (20 農薬)

	農薬	R.T. (min)	+/-	Precursor ion	Product ion	目標値 1/100 ($\mu\text{g/L}$)	添加濃度 ($\mu\text{g/L}$)	回収率 (n=5,%)	併行精度 (n=5,%RSD)	検量線範囲 ($\mu\text{g/L}$)	寄与率 (R ²)
77	2,4-D	4.8	-	219	161	0.2	0.1	101	10.2	0.03-3	0.9972
78	Azoxystrobin	10.1	+	404	372	5	1	103	1.0	0.03-3	0.9985
79	Bensulfuron-methyl	6.9	+	411	149	5	1	72	2.5	0.01-1	0.9999
80	Bensulide (SAP)	12.5	+	398	158	1	1	106	1.6	0.03-3	0.9994
81	Bentazone	3.5	-	239	132	2	1	103	2.9	0.3-10	0.9999
82	Carbaryl (NAC)	6.7	+	202	145	0.5	0.3	100	2.8	0.01-1	0.9994
83	Carbendazim (MBC)	4.8	+	192	160	0.2	0.1	107	1.9	0.01-1	0.9998
84	Carbofuran	6.1	+	222	165	0.05	0.03	80	1.9	0.03-3	0.9986
85	Carpropamid	12.9	+	334	139	0.4	0.3	101	1.1	0.01-1	0.9998
86	Diuron (DCMU)	8.0	+	233	72	0.2	0.1	102	6.0	0.01-1	0.9999
87	Dymron	10.6	+	269	151	8	0.3	87	6.0	0.01-1	0.9994
88	Fipronil	11.9	-	435	330	0.005	0.003	105	8.7	0.001-0.1	0.9984
89	Flazasulfuron	4.3	+	408	182	0.3	0.3	76	0.6	0.003-0.3	0.9995
90	Halosulfuron-methyl	4.9	+	435	182	3	1	89	4.5	0.01-1	0.9988
91	Mecoprop (MCP)	5.5	-	213	141	0.5	0.3	104	7.7	0.03-3	0.9990
92	Methomyl	3.5	+	163	88	0.3	0.3	100	3.5	0.01-1	0.9997
93	MPP (Fenthion)	13.0	+	279	169	0.06	0.06	93	6.6	0.02-2	0.9984
	MPP Oxon	8.8	+	263	231	0.06	0.06	91	4.1	0.02-2	0.9999
	MPP Oxon Sulfoxide	4.4	+	279	264	0.06	0.06	93	4.9	0.02-2	0.9995
	MPP Oxon Sulfone	4.5	+	312	295	0.06	0.06	95	4.1	0.02-2	0.9999
	MPP Sulfoxide	6.7	+	295	280	0.06	0.06	93	2.1	0.02-2	0.9999
	MPP Sulfone	7.1	+	328	311	0.06	0.06	93	1.5	0.02-2	0.9998
94	Siduron	9.6	+	233	137	3	0.3	99	1.1	0.01-1	0.9998
95	Thiodicarb	7.8	+	355	88	0.8	0.3	102	1.4	0.03-3	0.9977
96	Tricyclazole	5.2	+	190	163	1	1	83	7.6	0.3-10	0.9975

5) 別添方法 19・20 農薬 (3 農薬)

	農薬	R.T. (min)	+/-	Precursor ion	Product ion	目標値 1/100 ($\mu\text{g/L}$)	添加濃度 ($\mu\text{g/L}$)	回収率 (n=5,%)	併行精度 (n=5,%RSD)	検量線範囲 ($\mu\text{g/L}$)	寄与率 (R ²)
97	2,2-DPA (Dalapon)	1.2	-	141	97	0.8	0.3	110	15.3	0.3-30	0.9976
98	Acephate	2.0	+	184	143	0.06	0.03	93	3.0	0.03-3	0.9992
99	Benfuracarb	15.5	+	411	195	0.4	0.3	111	1.6	0.03-3	0.9998

6) 別添方法 20 の 2 既存農薬 (53 農薬)

	農薬	R.T. (min)	+/-	Precursor ion	Product ion	目標値 1/100 ($\mu\text{g/L}$)	添加濃度 ($\mu\text{g/L}$)	回収率 (n=5,%)	併行精度 (n=5,%RSD)	検量線範囲 ($\mu\text{g/L}$)	寄与率 (R ²)
100	Acetamidiprid	4.4	+	223	126	2	0.3	98	1.4	0.01-1	0.9996
101	Ametrine	9.7	+	228	186	2	1	106	1.0	0.1-10	0.9998
102	Benzofenap	15.3	+	431	105	0.05	0.03	93	2.0	0.003-0.3	0.9998
103	Boscalid	10.0	+	343	307	1	0.3	95	3.0	0.01-1	0.9986
104	Bromacil	6.0	+	261	205	0.5	0.3	100	2.0	0.01-1	0.9999
105	Chromafenozide	11.6	+	395	175	7	1	107	0.9	0.03-3	0.9995
106	Clomeprop	15.5	+	324	120	0.2	0.1	84	5.5	0.1-10	0.9992
107	Clothianidine	4.1	+	250	169	2	0.3	97	3.3	0.01-1	0.9998
108	Cumyluron	10.9	+	303	185	0.3	0.3	103	2.0	0.01-1	0.9998
109	Cyanazine	5.8	+	241	214	0.01	0.01	91	3.1	0.01-1	0.9997
110	Cyproconazole	10.5	+	292	70	0.2	0.1	96	1.6	0.01-1	0.9996
111	Cyprodinil	13.0	+	226	108	0.7	0.3	101	2.5	0.1-10	0.9998
112	Dichlorprop	5.6	-	233	161	0.6	0.3	95	5.6	0.1-10	0.9992
113	Diomezine	11.1	+	255	141	0.5	0.3	92	14.2	0.03-1	0.9987
114	Difenoconazole	14.2	+	406	251	0.2	0.1	93	1.2	0.01-1	0.9999

	農薬	R.T. (min)	+/-	Precursor ion	Product ion	目標値 1/100 ($\mu\text{g/L}$)	添加濃度 ($\mu\text{g/L}$)	回収率 (n=5,%)	併行精度 (n=5,%RSD)	検量線範囲 ($\mu\text{g/L}$)	寄与率 (R ²)
115	Diflubenzron	11.8	-	309	156	0.5	0.3	90	13.0	0.03-1	0.9990
116	Dinotefuran	2.8	+	203	129	6	0.3	92	2.5	0.01-1	0.9997
117	Etobenzanid	13.1	+	340	179	1	0.3	96	3.4	0.01-1	0.9997
118	Fentrazamide	13.1	+	350	154	0.1	0.1	102	3.0	0.01-1	0.9999
119	Ferimzone_E	10.0	+	255	132	0.5	0.15	88	0.1	0.05-5	0.9999
	Ferimzone_Z	10.3	+	255	132	0.5	0.15	88	0.5	0.05-5	0.9996
120	Fluazifop-butyl	6.3	+	328	282	0.1	0.1	70	4.2	0.01-1	0.9995
121	Fluazinam	14.8	-	463	415	0.3	0.3	106	4.1	0.01-1	0.9986
122	Flusulfamide	11.0	-	413	171	-	0.01	110	14.3	0.003-0.3	0.9992
123	Furametpyr	7.8	+	334	157	0.2	0.1	102	2.3	0.01-1	0.9997
124	Imidacloprid	4.0	+	256	209	1	0.3	94	1.9	0.01-1	0.9997
125	Inabenfide	9.6	-	337	122	3	0.3	95	5.0	0.1-10	0.9992
126	Linuron	9.3	+	249	182	0.2	0.1	101	1.5	0.03-3	0.9998
127	Metominostrobin	8.6	+	285	196	0.4	0.3	104	0.9	0.1-10	0.9990
128	Metribuzin	6.0	+	215	49	0.3	0.3	98	2.8	0.01-1	0.9999
129	Monocrotophos	3.7	+	224	127	0.02	0.01	110	12.1	0.01-1	0.9996
130	Naproanilide	12.3	+	292	171	0.2	0.1	81	3.5	0.1-10	0.9993
131	Nereistoxin	5.4	+	150	105	3	3	109	3.9	0.1-10	0.9984
132	Nitenpyram	3.2	+	271	56	13	0.3	92	3.6	0.01-1	0.9994
133	Oxadiargyl	13.6	+	358	223	0.2	0.1	88	5.5	0.1-10	0.9991
134	Oxaziclomefone	15.4	+	376	190	0.2	0.1	94	1.7	0.1-10	0.9997
135	Pirimiphos-methyl	13.9	+	306	164	0.6	0.3	100	1.5	0.03-3	0.9998
136	Prometryn	11.4	+	242	158	0.8	0.3	101	2.2	0.03-3	0.9999
137	Propanil	9.2	-	216	160	0.4	0.1	108	2.5	0.003-0.3	0.9986
138	Pymetrozine	3.6	+	218	105	0.3	0.3	93	1.2	0.01-1	0.9999
139	Pyraclonil	7.7	+	315	169	0.1	0.1	95	1.8	0.01-1	0.9998
140	Pyriminobac-methyl_E	9.2	+	362	330	0.5	0.3	99	1.2	0.03-3	0.9996
	Pyriminobac-methyl_Z	10.3	+	362	330	0.5	0.3	103	1.2	0.03-3	0.9992
141	Quizalofop-ethyl	15.2	+	373	299	0.2	0.1	90	1.6	0.1-10	0.9996
142	Simeconazole	11.0	+	294	70	0.2	0.1	98	4.4	0.01-1	0.9993
143	Tebuconazole	12.4	+	308	70	0.7	0.1	92	3.9	0.003-0.3	0.9995
144	Tebufozide	12.4	+	353	133	0.4	0.3	100	1.2	0.01-1	0.9999
145	Tefuryltrione	4.3	+	460	443	0.02	0.01	80	6.5	0.01-1	0.9992
146	Tetrachlorvinphos	12.2	+	367	127	0.1	0.1	102	4.9	0.03-3	0.9999
147	Tetraconazole	11.2	+	372	159	0.1	0.1	95	2.3	0.01-1	0.9997
148	Thiacloprid	4.8	+	253	126	-	0.3	102	1.5	0.01-1	0.9989
149	Thiamethoxam	3.5	+	292	181	0.5	0.3	95	4.1	0.01-1	0.9999
150	Thifluzamide	11.7	-	527	125	0.4	0.1	106	1.9	0.003-0.3	0.9992
151	Tiadinil	10.4	-	266	71	1	1	101	1.9	0.1-10	0.9997
152	Trinexapac-ethyl	4	+	253	69	0.1	0.1	82	3.1	0.01-1	0.9999

LCMS は、株式会社 島津製作所の商標です。

InertSustain はジーエルサイエンス株式会社の日本国内における登録商標です。

本文書に記載されている会社名、製品名、サービスマークおよびロゴは、各社の商標および登録商標です。

なお、本文中では「TM」、「®」を明記していない場合があります。

トリプル四重極型 LC/MS/MS を用いた
水道水中の過塩素酸分析

過塩素酸塩は、鉱物などに含まれ、また大気中においても光化学反応により生成することが知られており、自然界にも存在します。水溶性が高く水中において解離した過塩素酸イオンとして安定して存在し、汚染された飲料水などから、ヒトが多量に摂取した場合には、甲状腺機能の低下などを引き起こす可能性があり、健康への影響が懸念されています。

また過塩素酸は、水道原水の浄水処理により除去が難しいため、日本国内においては、平成 21 年に水質基準関連項目である要検討項目として過塩素酸が追加され、平成 23 年には水質管理の目標値として 0.025 mg/L が設定されています。

■陰イオン交換カラムを用いた分析例

表 1 に示すイオン交換カラムを用い、目標値の 1/10 濃度である 0.0025 mg/L の過塩素酸標準溶液を分析し、得られた MRM クロマトグラムを図 1 に、0.001~0.025 mg/L 範囲における絶対検量線を図 2 に示しました。

また、水道水中に高濃度に存在する塩化物イオン、硫酸イオン、硝酸イオンなどを含む混合標準溶液を分析し、得られた MRM クロマトグラムを図 3 に示しました。過塩素酸は、これら夾雑イオンと十分に分離できていることが確認できます。

表 1 分析条件①

Column	: Shim-pack™ IC-A3(S) (150 mm L. × 2.0 mm I.D., Shimadzu)
Mobile phases	: A) 25 mmol/L Ammonium acetate-water B) Acetonitrile A/B=80/20 (vol/vol)
Flow rate	: 0.4 mL/min
Column temp.	: 40 °C
Injection volume	: 10 µL
Probe voltage	: -3.5 kV (ESI-Negative)
DL temp.	: 100 °C
Block heater temp.	: 300 °C
Interface temp.	: 100 °C
Nebulizing gas flow	: 2 L/min
Drying gas flow	: 10 L/min
Heating gas flow	: 10 L/min
MRM transition	: m/z 99.10>82.95

平成 30 年現在、米国環境保護庁では過塩素酸分析方法として Method 331 に LC/ESI/MS 法が示されていますが、日本において過塩素酸の分析方法は、まだ示されていません。

既に弊社アプリケーションニュース No. C85 「ノンサプレッサ方式 IC-LC/MS による過塩素酸の分析」にて、シングル LC/MS を用いた過塩素酸の分析例を紹介していますが、今回はトリプル四重極型 LC/MS/MS である LCMS™-8050 を用い、水道水中の過塩素酸を高感度分析した例を紹介すると共に、逆相条件による分析例も併せて紹介いたします。

H. Horiike

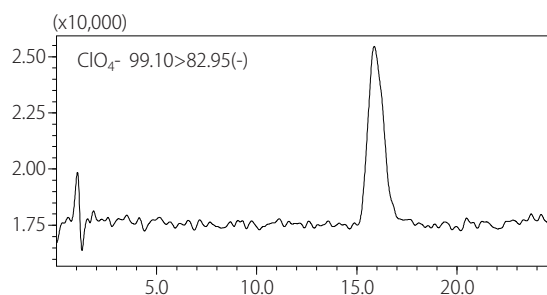


図 1 過塩素酸のMRMクロマトグラム (0.0025 mg/L標準溶液)

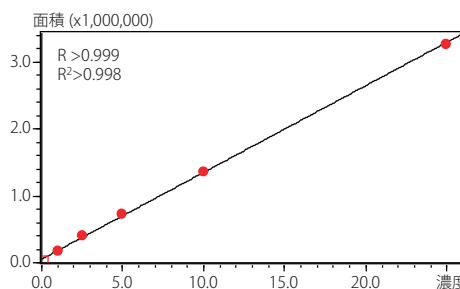


図 2 過塩素酸の5点絶対検量線 (0.001~0.025 mg/L)

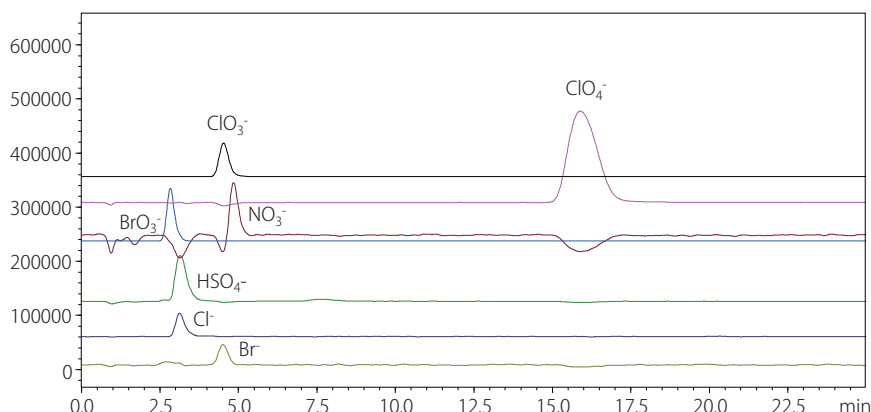


図 3 アニオン混合標準溶液によるMRMおよびSIMクロマトグラム (スケール調整あり)

ClO ₄ ⁻	MRM	m/z	99.10>82.95
ClO ₃ ⁻	MRM	m/z	82.90>66.90
BrO ₃ ⁻	MRM	m/z	129.00>112.95
NO ₃ ⁻	SIM	m/z	62.00
HSO ₄ ⁻	SIM	m/z	97.00
Cl ⁻	SIM	m/z	35.00
Br ⁻	SIM	m/z	78.90

■ 逆相カラムを用いた分析例

表 2 に示す逆相カラムを用い、目標値の 1/10 濃度である 0.0025 mg/L の過塩素酸標準溶液を分析し、得られた MRM クロマトグラムを図 4 に、また 0.001~0.050 mg/L 範囲における 6 検量線を図 5 に示しました。

過塩素酸イオンは、比較的疎水の高いイオンであるため逆相カラムにおいても一定の保持 (約 6.3 min) を示しますが、その他のアニオン類は保持が弱いため、図 6 に示すように過塩素酸イオンと十分な分離が可能となります。

表 2 分析条件②

Column	: CAPCELL PAK C18 MGIII (150 mm L. × 3.0 mm I.D., SHISEIDO)
Mobile phases	: A) 0.05 % formic acid-water B) Acetonitrile A/B=80/20 (vol/vol)
Flow rate	: 0.4 mL/min
Column temp.	: 35 °C
Injection volume	: 2 µL
Probe voltage	: -3.5 kV (ESI-Negative)
DL temp.	: 100 °C
Block heater temp.	: 300 °C
Interface temp.	: 100 °C
Nebulizing gas flow	: 2 L/min
Drying gas flow	: 10 L/min
Heating gas flow	: 10 L/min
MRM transition	: Perchlorate m/z 99.10>82.95

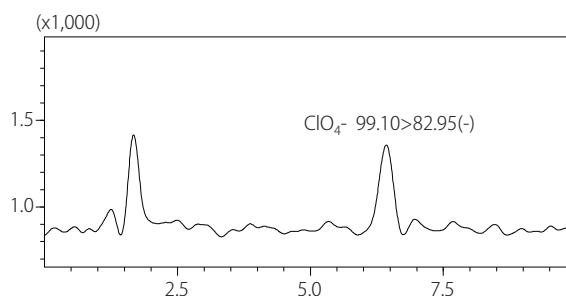


図 4 過塩素酸のMRMクロマトグラム (0.0025 mg/L標準溶液)

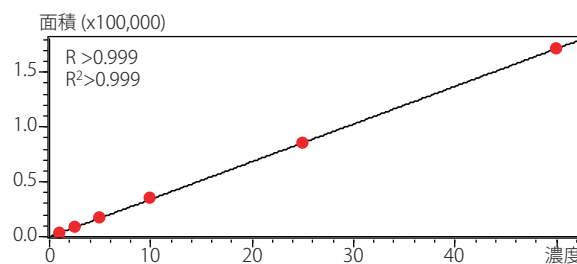


図 5 過塩素酸の6点絶対検量線(0.001~0.050 mg/L)

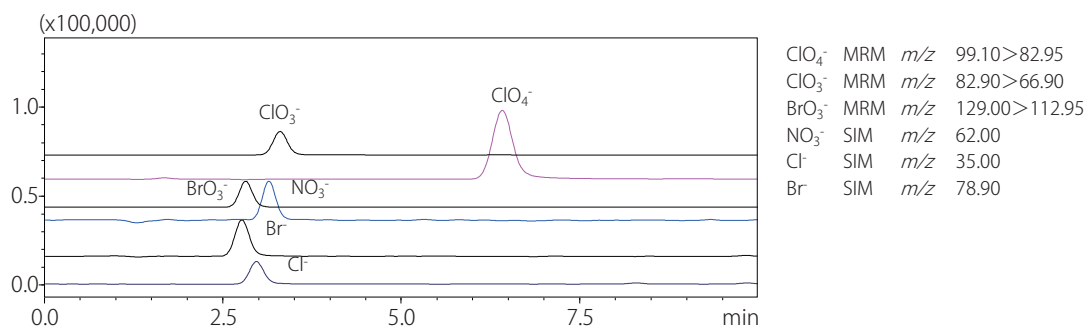


図 6 アニオン混合標準溶のMRMおよびSIMクロマトグラム (スケール調整あり)

■ 水道水への添加回収試験

過塩素酸を水質基準の目標値である 0.025 mg/L およびその 1/10 濃度である 0.0025 mg/L になるように水道水 (神奈川県内) に添加し、分析条件①および分析条件②によりそれぞれ分析を行いました。得られた過塩素酸の MRM クロマトグラムを図 7 および図 8 にそれぞれ示しました。また表 3 には、水道水へ添加した試料における回収率および併行精度の結果を示しました。両分析方法とも良好な結果が得られました。

表 3 水道水への添加回収試験結果 (n=6)

分析条件		水道水添加濃度 0.0025 mg/L	水道水添加濃度 0.025 mg/L
① イオン交換	真度 (%)	105.0	86.7
	併行精度 (%RSD)	2.40	1.69
② 逆相	真度 (%)	98.7	103.9
	併行精度 (%RSD)	4.08	2.37

LCMS および Shim-pack は、株式会社 島津製作所の商標です。本文書に記載されている会社名、製品名、サービスマークおよびロゴは、各社の商標および登録商標です。なお、本文中では「TM」、「®」を明記していない場合があります。

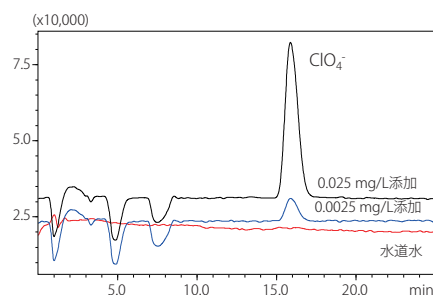


図 7 過塩素酸を添加した水道水中のMRMクロマトグラム (分析条件①)

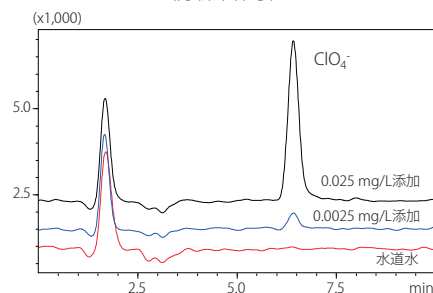


図 8 過塩素酸を添加した水道水中のMRMクロマトグラム (分析条件②)

トリプル四重極型 LC/MS/MS を用いた
飲料中グリホサート・グルホシネート・
AMPA の直接分析

グルホシネートはアミノ酸系除草剤として、グリホサートは茎葉処理除草剤として広く使用される農薬です。グリホサートは土壌中や水中で代謝され、アミノメチルリン酸 (AMPA) となります。いずれも極めて極性の高い化合物であり、HPLC や LC-MS においては逆相モードでの保持が難しく、FMOC での誘導体化による分析が一般的です。

本アプリケーションニュースでは、煩雑な前処理と時間を要する誘導体化を省略し、高感度にグリホサート・グルホシネート・AMPA を測定した例をご紹介します。

M. Kawashima

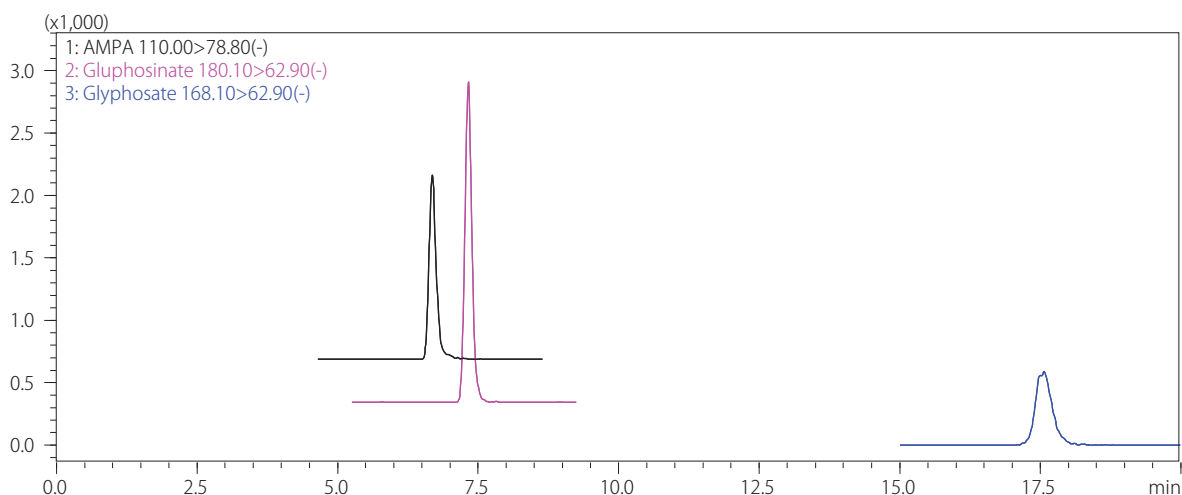
■ 標準溶液の分析

表 1 に示す分析条件にて、グリホサート・グルホシネート・AMPA の MRM 測定を実施しました。5 $\mu\text{g/L}$ における各化合物のクロマトグラムを図 1 に、検量線を図 2 に示しました。また、各検量点の正確さおよび面積値再現性 (%RSD) を表 2 に示しました。検量点の正確さは 95.3~106.9 % となっており、良好な結果が得られました。

表 1 分析条件

Instrument (LC)	: Nexera™ X2*		
Column	: HILICpak VT-50 2D (150 mmL x 2.0 mmI.D., 5.0 μm , 昭和電工製)		
Mobile phases	: A: 50 mmol/L Ammonium bicarbonate - Water B: Acetonitrile		
Gradient	: B Conc. 50 % (0.0-3.0 min) $\rightarrow$ 5 % (7.0-20.0 min) $\rightarrow$ 50 % (20.01-30.0 min)		
Flow rate	: 0.25 mL/min		
Column temperature	: 40 $^{\circ}\text{C}$		
Injection volume	: 50 μL		
Instrument (MS)	: LCMS™-8050		
Probe voltage	: -3.0 kV (ESI-negative mode)		
Nebulizing gas flow	: 2 L/min		
Heating gas flow	: 10 L/min		
Interface temperature	: 300 $^{\circ}\text{C}$		
DL temperature	: 250 $^{\circ}\text{C}$		
Block heater temperature	: 400 $^{\circ}\text{C}$		
Drying gas flow	: 10 L/min		
CID gas	: 325 kPa		
MRM transition	: AMPA	110.00>78.80(-)	CE: 28.0
	: グルホシネート	180.10>62.90(-)	CE: 43.0
	: グリホサート	168.10>62.90(-)	CE: 24.0

*グリホサート、グルホシネートの装置への吸着を防ぐため、オートサンプラのアウト配管を PEEK 樹脂製のものに変更しました。

図 1 5 $\mu\text{g/L}$ におけるグリホサート・グルホシネート・AMPA の MRM クロマトグラム

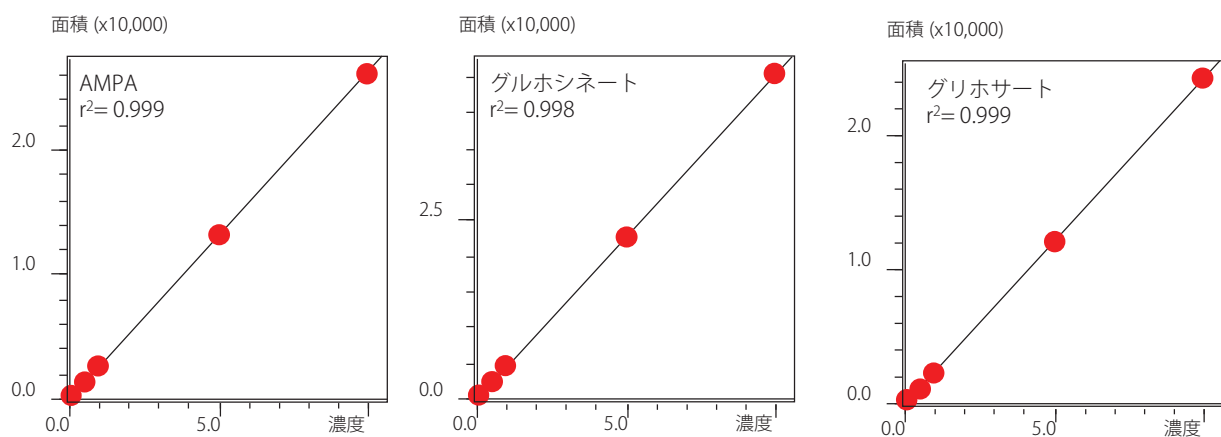


図2 グリホサート・グルホシネート・AMPAの検量線

表2 各検量点の正確さ(%)および面積値再現性(%RSD、n=3)

化合物名	0.1 µg/L		0.5 µg/L		1 µg/L		5 µg/L		10 µg/L	
	正確さ	再現性	正確さ	再現性	正確さ	再現性	正確さ	再現性	正確さ	再現性
AMPA	100.8	9.61	95.3	3.69	101.4	4.60	102.1	4.29	100.4	2.23
グルホシネート	98.8	8.43	106.9	5.82	99.3	7.59	96.8	2.65	98.2	1.90
グリホサート	100.2	7.32	100.1	5.76	97.8	1.67	100.7	1.94	101.2	0.96

飲料の分析

フィルタろ過後の5種の飲料(コーヒー、紅茶、赤ワイン、白ワイン、りんごジュース)に、グリホサート・グルホシネート・AMPAを100 µg/Lの濃度になるよう添加し、添加回収試験用試料としました。これを超純水にて100倍に希釈した試料を測定することにより、添加回収率を確認しました。その結果を表3に示しました。

また、添加回収率試験用試料の例として、コーヒーのクロマトグラムを図3に示しました。

試料の前処理として固相抽出等によるクリーンアップを行う場合も多いですが、操作が煩雑で手間とコストがかかることが難点です。本法では、フィルタろ過と希釈のみの簡単な前処理でも、全ての試料で回収率72.9~104.9%と良好な結果が得られました。

表3 回収率(%)および面積値再現性(%RSD、n=3)

化合物名	コーヒー		紅茶		赤ワイン		白ワイン		りんごジュース	
	回収率	再現性	回収率	再現性	回収率	再現性	回収率	再現性	回収率	再現性
AMPA	88.8	6.44	90.5	4.82	76.2	9.67	76.6	10.38	78.5	1.60
グルホシネート	82.6	6.16	91.5	4.13	72.9	3.42	77.5	4.76	86.5	5.88
グリホサート	96.1	5.59	93.8	9.88	94.8	7.67	104.9	10.34	86.9	1.99

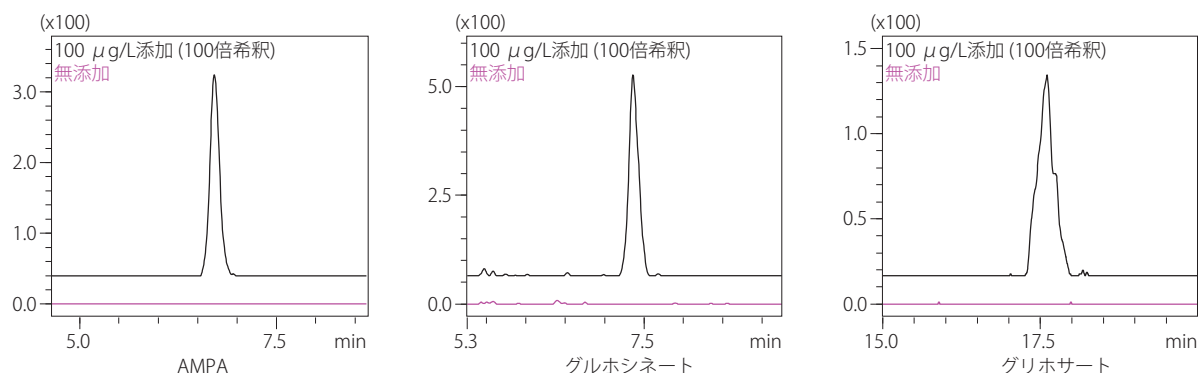


図3 添加回収率試験用試料(コーヒー)のMRMクロマトグラム

NexeraおよびLCMSは、株式会社島津製作所の商標です。
HILICpakは、昭和電工株式会社の登録商標です。
なお、本文中では「TM」、「®」を明記していない場合があります。

本アプリケーションニュースでは、飲料水中の 21 種類の PFAS（EPA Method 537 に記載されている 14 種類すべてを含む）の分析における島津 LC/MS/MS の利用方法と性能について説明し、実例を示します。本研究では、島津トリプル四重極型質量分析計 LCMS-8045 および LCMS-8050 を使用しました。555MRM/秒の超高速 MRM 切替速度と高速極性切替速度（5 msec）を備えたこれらの機器は、飲料水中 PFAS 化合物の迅速で信頼性の高い高感度定量分析を実現します。

■ 実験

PFAS 化合物および検量線用標準溶液の調製

表 1 に、本研究で使用した 27 種類の PFAS 化合物（21 種類の対象化合物、3 種類の内部標準（IS）、および 3 種類のサロゲート）を示します。すべての PFAS 標準物質は、ウェリントンラボラトリーズ（オンタリオ州ゲエルフ）から購入しました。濃度が 1.25、2.50、5.00、10.0、15.0、20.0、25.0、37.5、50.0、および 100 µg/L の 10 種類の検量線用標準溶液は、96：4%（vol/vol）のメタノール：水で希釈することにより調製しました。これらの濃度は、実試料の前処理で分析対象化合物が濃縮されることを考慮して、250 倍高い範囲に設定されています。1.25 µg/L の検量線用標準溶液が 5 ng/L の飲料水実試料濃度に相当します。

表 1 PFAS の一覧表（対象化合物、内部標準、およびサロゲート）

PFAS Compounds	Abbreviation	CAS	Molecular Weight	Molecular Formula	IS, Surrogates and its Abbreviation	PFAS Listed in EPA Method 537
PERFLUOROALKYL CARBOXYLIC ACIDS						
Perfluorohexanoic acid	PFHxA	307-24-4	314.06	C ₆ F ₁₁ O ₂ H	M2PFHxA (Surr.) (¹³ C ₂ ¹² C ₄ F ₁₁ O ₂ H)	✓
Perfluoroheptanoic acid	PFHpA	375-85-9	364.06	C ₇ F ₁₃ O ₂ H	-	✓
Perfluorooctanoic acid	PFOA	335-67-1	414.07	C ₈ F ₁₅ O ₂ H	M2PFOA (IS) (¹³ C ₂ ¹² C ₆ F ₁₅ O ₂ H)	✓
Perfluorononanoic acid	PFNA	375-95-1	464.08	C ₉ F ₁₇ O ₂ H	-	✓
Perfluorodecanoic acid	PFDA	335-76-2	514.09	C ₁₀ F ₁₉ O ₂ H	M2PFDA (Surr.) (¹³ C ₂ ¹² C ₈ F ₁₉ O ₂ H)	✓
Perfluoroundecanoic acid	PFUnA	2058-94-8	564.09	C ₁₁ F ₂₁ O ₂ H	-	✓
Perfluorododecanoic acid	PFDoA	307-55-1	614.10	C ₁₂ F ₂₃ O ₂ H	-	✓
Perfluorotridecanoic acid	PFTriA	72629-94-8	664.11	C ₁₃ F ₂₅ O ₂ H	-	✓
Perfluorotetradecanoic acid	PFTreA	376-06-7	714.12	C ₁₄ F ₂₇ O ₂ H	-	✓
PERFLUOROALKYL SULFONATES						
Perfluorobutyl sulfonate	PFBS	375-73-5	300.10	C ₄ F ₉ SO ₃ H	-	✓
Perfluoropentane sulfonate	PFPeS	2706-91-4	350.11	C ₅ F ₁₁ SO ₃ H	-	Additional
Perfluorohexyl sulfonate	PFHxS	355-46-4	400.11	C ₆ F ₁₃ SO ₃ H	-	✓
Perfluoroheptane sulfonate	PFHpS	375-92-8	450.12	C ₇ F ₁₅ SO ₃ H	-	Additional
Perfluorooctane sulfonate	PFOS	1763-23-1	500.13	C ₈ F ₁₇ SO ₃ H	M4PFOS (IS) (¹³ C ₄ ¹² C ₄ F ₁₇ SO ₃ Na)	✓
Perfluorononane sulfonate	PFNS	68259-12-1	550.14	C ₉ F ₁₉ SO ₃ H	-	Additional
Perfluorodecane sulfonate	PFDS	335-77-3	600.14	C ₁₀ F ₂₁ SO ₃ H	-	Additional
FLUORINATED TELOMER SULFONATES						
1H, 1H, 2H, 2H-perfluorohexane sulfonic acid	4:2 FTS	757124-72-4	328.15	C ₆ H ₅ F ₉ SO ₃	-	Additional
1H, 1H, 2H, 2H-perfluorooctane sulfonic acid	6:2 FTS	27619-97-2	428.17	C ₈ H ₅ F ₁₃ SO ₃	-	Additional
1H, 1H, 2H, 2H-perfluorodecane sulfonic acid	8:2 FTS	39108-34-4	528.18	C ₁₀ H ₅ F ₁₇ SO ₃	-	Additional
PERFLUOROCTANESULFONAMIDE AND PERFLUOROCTANESULFONAMIDOACETIC ACIDS						
2-(N-Methylperfluorooctanesulfonamido) acetic acid	N-MeFOSAA	2355-31-9	571.21	C ₁₁ H ₆ F ₁₇ NSO ₄	d3-NMeFOSAA (IS) (C ₁₁ ² H ₃ F ₁₇ NSO ₄)	✓
2-(N-Ethylperfluorooctanesulfonamido) acetic acid	N-EtFOSAA	2991-50-6	585.24	C ₁₂ H ₈ F ₁₇ NSO ₄	d5-NEtFOSAA (Surr.) (C ₁₂ ² H ₅ ³ F ₁₇ NSO ₄)	✓

試料の調製

EPA Method 537 に従って、試料の調製と固相抽出 (SPE) を行いました。PFAS 汚染の可能性を減らすため、PEEK チューブを取り付けた大量サンプリングキットを備えた真空マニホールドを使用しました。抽出は、Biotage-ISOLUTE®101 ポリスチレンジビニルベンゼン (SDVB) カートリッジ (500 mg/6 mL、部品番号 101-0050-C) を使用して行いました。各 SPE カートリッジは、最初にメタノールを通液し、次に LCMS グレードの超純水を通液してコンディショニングしました。分析対象化合物を 8 mL のメタノールで固相より溶出し、そのメタノール溶液を窒素で蒸発乾固しました。固相抽出した試料は、IS を加えた後、96 : 4%メタノール : 水

表 2 LC システムとパラメータ

LC System	: Nexera™-X2 UHPLC System
Analytical Column	: Shim-pack Velox SP-C18, 150 mm × 2.1 mm × 2.7 µm, Part No. 227-32003-04
Solvent Delay Column	: Shim-pack™ XR-ODS II, 75 mm × 2 mm × 2.2 µm, Part No. 228-41605-93
Column Temp.	: 40 °C
Injection Volume	: 1 µL*
Mobile Phase	: A: 20 mM Ammonium Acetate B: Methanol
Flow Rate	: 0.25 mL/min
Run Time	: 35 minutes

* EPA Method 537 の注入量 (10 µL) と比較して、はるかに少ない注入量 (1 µL) を使用しました。

表 3 LC/MS パラメータ

MS Instrument	: LCMS-8045 and LCMS-8050
Interface	: Electrospray Ionization (ESI)
Interface Temp.	: 300 °C
Desolvation Line Temp.	: 100 °C
Heat Block Temp.	: 200 °C
Heating Gas Flow	: 15 L/min
Drying Gas Flow	: 5 L/min
Nebulizing Gas Flow	: 3 L/min
Total MRMs	: 48

で最終体積が 1 mL になるように再溶解しました。すべての溶液が均質化され、一貫性のある結果が得られるよう、LC/MS/MS による分析の前に LC バイアルをボルテックス攪拌することを推奨します。

LC/MS/MS 分析および機器条件

PFAS 分析は、表 2 および表 3 に示す条件で抽出した溶液 1 µL を LCMS-8045 および LCMS-8050 に注入することにより実施しました。PFHxS および PFOS の分岐および直鎖異性体を含む PFAS 化合物は、Shim-pack Velox™ SP-C18 カラムを使用して分離しました。

表 4 保持時間 (RT) および MRM トランジション

PFAS Compound	RT (mins)	Precursor Ion	Product Ion
PFBS	8.046	298.90	80.10* 99.10
4:2 FTS	8.558	327.00	80.90* 307.00
PFHxA	8.614	312.90	269.00* 119.10
M2PFHxA (Surr.)	8.650	315.00	270.00*
PFPeS	8.666	348.90	79.90* 98.90
PFHpA	9.512	362.90	319.00* 169.00
PFHxS	9.558	398.90	80.10* 99.10
6:2 FTS	10.770	427.00	406.90* 80.00
PFOA	10.840	412.90	369.00* 169.00
PFHpS	10.859	448.90	79.90* 98.90
M2PFOA (IS)	10.877	415.00	370.00*
PFNA	12.545	462.90	418.90* 219.00
PFOS	12.550	498.90	80.10* 99.10
M4PFOS (IS)	12.575	503.00	80.00*
8:2 FTS	14.436	526.90	506.90* 80.90
PFNS	14.469	548.90	79.90* 98.90
M2PFDA (Surr.)	14.484	515.00	469.95*
PFDA	14.486	512.90	468.90* 219.00
M-N-MeFOSAA (IS)	15.403	572.90	419.00*
N-MeFOSAA	15.423	569.90	419.00* 482.90
M-N-EtFOSAA (Surr.)	16.357	588.90	419.00*
PFDS	16.397	598.90	79.90* 98.90
N-EtFOSAA	16.411	583.90	419.00* 482.90
PFUnA	16.449	562.90	519.00* 269.00
PFDoA	18.339	612.90	568.90* 169.00
PFTriA	20.035	662.00	618.90* 169.00
PFTreA	21.549	712.90	668.90* 169.00

PFAS はチューブや HPLC システムなど、実験室の装置に広く存在するため、LCMS グレードの試薬溶媒を使用した場合でも、LC 移動相から PFAS を完全に除去することは不可能です。このため、高感度分析には溶媒由来化合物遅延カラムを使用する必要があります。分析カラムよりも PFAS の保持率が高い小さな C18 カラムをオートサンプラーのすぐ上流に配置して、移動相に含まれるすべての PFAS を捕捉します。クロマトグラフ溶離中、分析カラムに試料由来の PFAS ピークが最初に現れ、遅延カラムに捕捉された移動相の汚染に由来する二次ピークと分離されます。

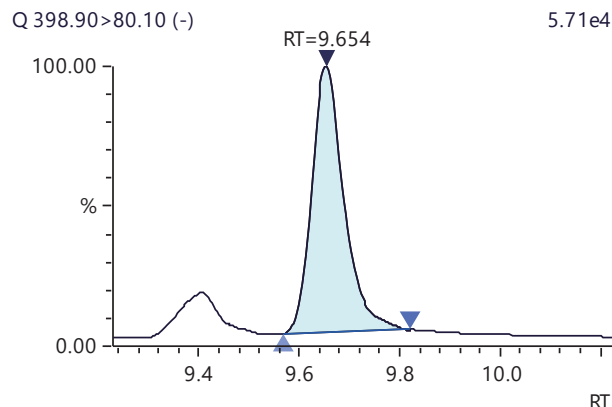


図2 PFHxS 異性体の分離 (20 µg/L)

■結果と考察

クロマトグラフィーによる分離

各対象 PFAS に対して 2 つの MRM トランジション（定量化用と確認用）を選択しました（表 4）。図 1 に、代表的な分離プロファイルを示すために LCMS-8050 を使用して得られた、混合標準溶液（20 µg/L）中のすべての PFAS の MRM およびトータルイオンカレント（TIC）のクロマトグラムを重ねて示しています。

PFHxS（図 2）および PFOS（図 3 および図 4）の分岐および直鎖異性体は、Shim-pack Velox SP-C18 カラムを使用してクロマトグラフィーで分離されています。

検量線の直線性と定期校正検査

分析対象 PFAS 化合物の検量線用標準溶液を調製し、10 点検量線を作成するために各 1 回の注入で分析しました。すべての検量線（表 5）の決定係数（R²）は 0.99 よりも高く、これらの検量線を使用して PFAS の定量を行いました。また低濃度（20 µg/L）、中濃度（50 µg/L）、高濃度（100 µg/L）で、2 週間の調査中に 4 回反復注入することにより、定期校正検査（CCC）を実施しました。3 つの濃度レベルでのすべての PFAS 化合物の回収率は、十分に EPA の CCC 基準（真値の 70～130%）の範囲内でした。データは、LCMS-8045 と LCMS-8050 のいずれもが EPA Method 537 で要求される濃度範囲に確実に対応できることを示しており、図 3 および図 4 に示すように良好な SN 比でピークが検出されました。

表 5 LCMS-8045 を使用して測定した検量線の直線性（1.25～100 µg/L および CCC の %RSD（n = 4））

Compound	Linearity (R ²)	Low Concentration (20 µg/L)		Mid Concentration (50 µg/L)		High Concentration (100 µg/L)	
		Conc.	%RSD	Conc.	%RSD	Conc.	%RSD
PFBS	0.9977	21	2	46	3	103	2
4:2FTS*	0.9928	22	2	45	7	94	1
PFHxA	0.9968	21	4	48	6	102	3
PFPeS*	0.9985	21	2	46	2	100	1
PFHpA	0.9974	21	5	46	5	101	2
PFHxS	0.9968	21	3	46	5	104	3
6:2FTS*	0.9968	21	4	44	4	95	2
PFOA	0.9967	21	5	47	7	103	3
PFHpS*	0.9982	21	4	45	8	104	6
PFOS	0.9986	20	6	44	7	103	12
PFNA	0.9975	21	10	47	2	100	3
8:2FTS*	0.9940	23	14	46	13	94	13
PFNS*	0.9978	21	2	46	6	100	5
PFDA	0.9969	21	3	47	3	98	2
N-MeFOSAA	0.9979	21	3	47	1	100	3
N-EtFOSAA	0.9980	22	4	48	2	102	5
PFDS*	0.9970	21	4	45	11	103	5
PFUnA	0.9973	21	4	48	4	100	6
PFDoA	0.9975	21	4	48	3	103	6
PFTriA	0.9967	20	5	45	5	101	5
PFTreA	0.9966	21	5	47	4	103	3

* EPA Method 537 に記載されていない追加の PFAS 化合物

LCMS-8045

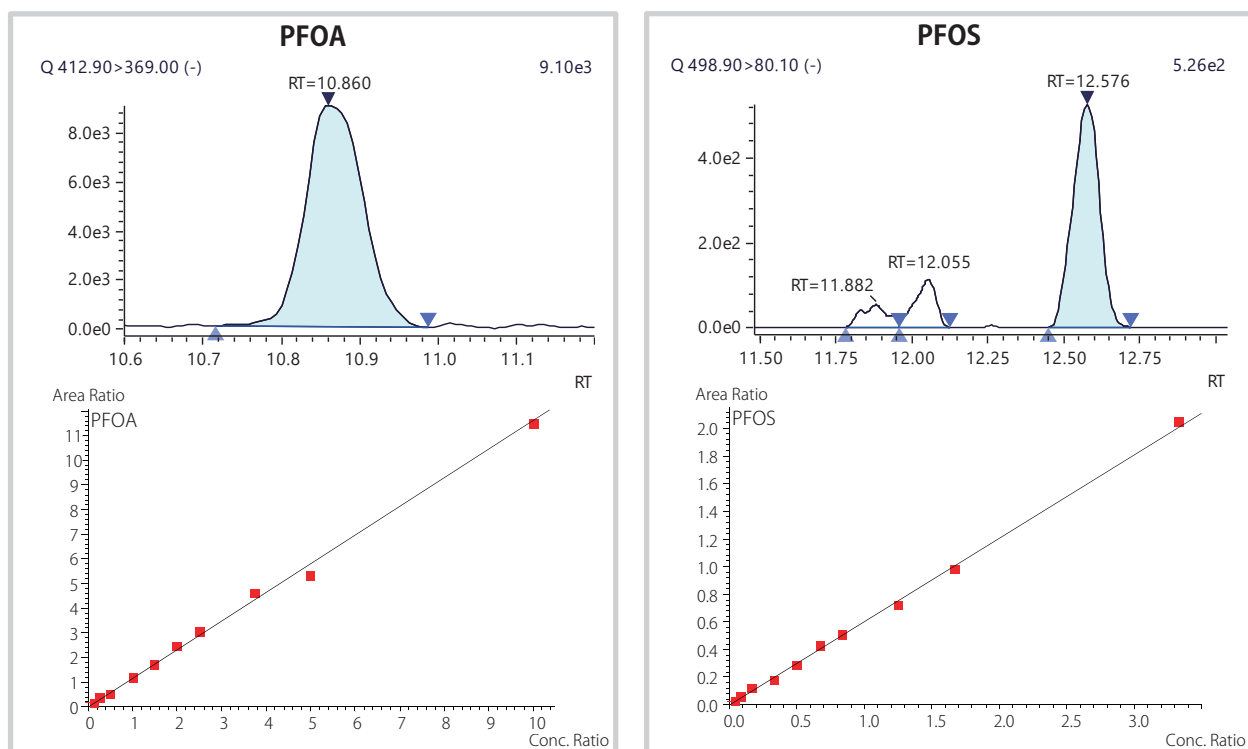


図3 LCMS-8045を使用して測定した PFOA および PFOS の MRM クロマトグラム (1.25 µg/L の場合) および検量線

LCMS-8050

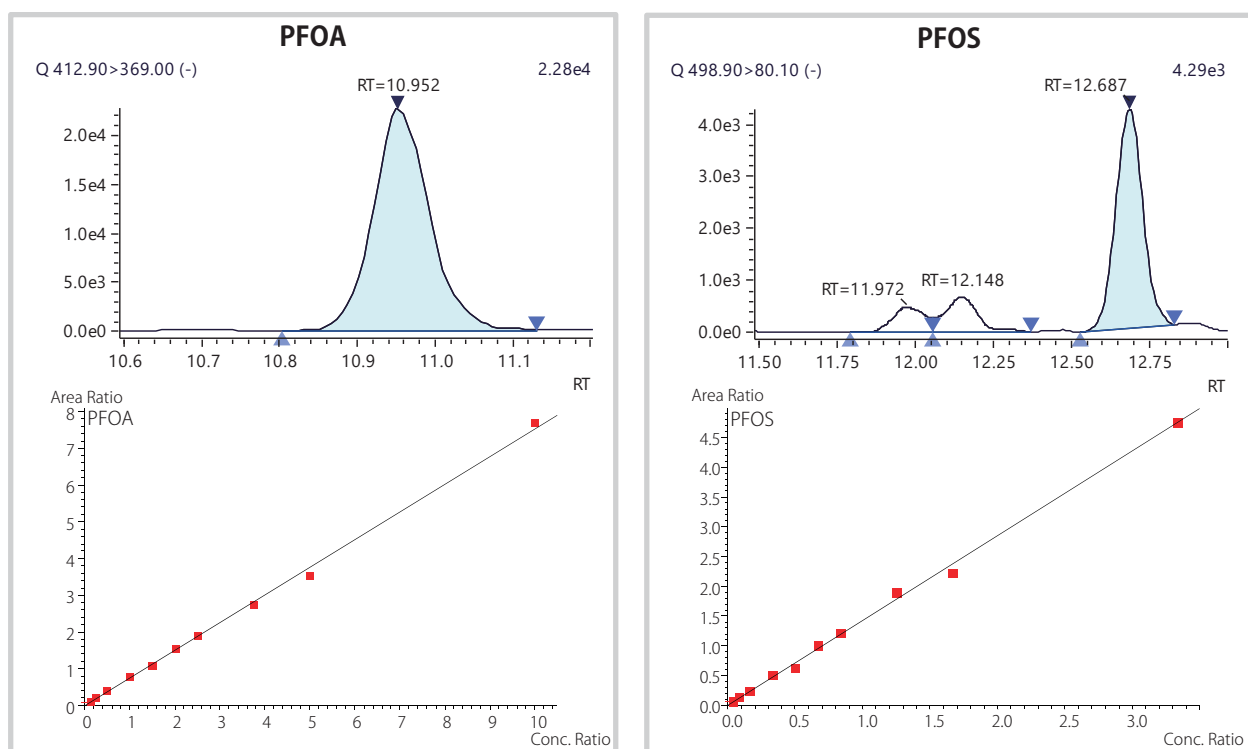


図4 LCMS-8050を使用して測定した PFOA および PFOS の MRM クロマトグラム (1.25 µg/L の場合) および検量線

分析法の検出限界（MDL）

MDL 試験は、250 mL の水実試料に各 PFAS を濃度 5 ng/L に添加することで実施されました。次いで、これらの試料を前処理し、96：4%メタノール：水で最終体積 1 mL に濃縮し

ました。このような試料を 9 種類、3 日間にわたって前処理しました。LCMS-8045 および LCMS-8050 を使用した試験結果は表 6 にまとめられているように、それぞれ 0.7～3.3 ng/L および 0.7～1.6 ng/L の MDL が達成されています。

表 6 LCMS-8045 および LCMS-8050 を使用して測定した MDL の検討結果

Compound	Spiked Conc. (ng/L)	LCMS-8045				LCMS-8050			
		Calculated Conc. (ng/L), n = 9	% Recovery	% RSD	MDL (ng/L)	Calculated Conc. (ng/L), n = 9	% Recovery	%RSD	MDL (ng/L)
PFBS	5	4.2	83	12	1.5	5.1	102	8	1.2
4:2FTS*	5	5.2	104	14	2.1	4.9	98	9	1.3
PFHxA	5	4.1	81	10	1.2	4.7	94	7	1.0
PFPeS*	5	4.1	81	13	1.5	4.8	96	9	1.4
PFHpA	5	4.2	84	8	1.1	4.7	94	7	1.0
PFHxS	5	4.3	85	6	0.7	4.8	96	8	1.2
6:2 FTS*	5	4.6	92	17	2.3	4.8	96	7	1.1
PFOA	5	4.6	92	12	1.6	4.7	94	7	1.0
PFHpS*	5	4.0	80	9	1.0	4.7	95	11	1.6
PFOS	5	4.0	81	15	1.7	4.6	92	6	0.8
PFNA	5	4.0	80	7	0.8	4.8	97	5	0.7
8:2 FTS*	5	5.0	100	22	3.3	5.3	106	11	1.7
PFNS*	5	4.0	81	9	2.1	4.4	91	8	1.1
PFDA	5	4.1	83	8	1.0	4.8	95	10	1.4
N-MeFOSAA	5	3.9	78	15	1.7	4.6	91	9	1.2
N-EtFOSAA	5	3.8	77	11	1.2	4.4	88	10	1.3
PFDS*	5	4.1	82	18	2.2	4.6	92	10	1.4
PFUnA	5	4.1	82	12	1.5	4.4	88	11	1.4
PFDoA	5	4.0	79	14	1.6	4.3	86	9	1.2
PFTriA	5	3.9	78	13	1.4	4.4	87	10	1.3
PFTreA	5	4.0	79	15	1.8	4.3	86	11	1.3

* EPA Method 537 に記載されていない追加の PFAS 化合物

回収率と精度

LC/MS グレードの超純水ブランク 7 個に 60 ng/L の各 PFAS を添加した試料を分析して、真度と精度の実証実験を行いました。表 7 は、7 回測定後の平均測定濃度と、回収率

と相対標準偏差（RSD）として表される真度と精度の評価結果を示しています。LCMS-8045 および LCMS-8050 を使用して得られた回収率はすべて、真値の±20%以内であり、EPA に記載された基準を満たしています。

表 7 LCMS-8045 および LCMS-8050 の 60 ng/L での対象 PFAS の真度（%回収率）および精度（%RSD）

Compound	LCMS-8045			LCMS-8050		
	Average Conc. (ng/L), n = 7	% Recovery	% RSD	Average Conc. (ng/L), n = 7	% Recovery	% RSD
PFBS	52	87	13	54	90	6
4:2FTS*	54	90	13	56	94	8
PFHxA	52	87	12	52	87	9
PFPeS*	54	90	14	54	90	9
PFHpA	53	88	16	52	87	10
PFHxS	54	89	13	54	90	8
6:2 FTS*	55	92	15	55	92	9
PFOA	52	86	14	53	88	11
PFHpS*	54	90	13	53	89	9
PFOS	53	89	17	51	85	12
PFNA	51	86	16	64	107	21
8:2 FTS*	51	86	19	56	93	9
PFNS*	54	89	15	55	92	11
PFDA	52	87	13	52	87	10
N-MeFOSAA	53	88	15	53	88	9
N-EtFOSAA	54	90	15	56	93	10
PFDS*	52	86	17	53	89	9
PFUnA	51	85	11	53	88	10
PFDoA	51	86	14	51	85	9
PFTriA	49	82	14	51	85	9
PFTreA	49	82	14	49	81	8

* EPA Method 537 に記載されていない追加の PFAS 化合物

表 8 LCMS-8045 および LCMS-8050 を使用して測定したスパイク試料中サロゲートの平均濃度（n = 7）、%回収率と%RSD

Compound	Fortified Conc. (ng/L)	LCMS-8045			LCMS-8050		
		Average Conc (ng/L), n=7	% Recovery	% RSD	Average Conc (ng/L), n=7	% Recovery	% RSD
M2PFHxA	40	43	107	14	40	101	10
M2PFDA	40	44	109	12	42	106	13
M-N-EtFOSAA	160	175	109	14	160	100	12

サロゲートの回収

サロゲートの回収率は、前処理抽出前の水試料にサロゲートを添加して確認しました。サロゲート添加水試料は、前処理後、LC/MS で分析しました。良好な方法性能を実証するためには、算出したサロゲートの回収率は 70～130% の範囲内であればなりません（EPA、9.3.5 項）。

7 個の 250 mL の水試料に、10 ng の M2PFHxA、10 ng の M2PFDA、および 40 ng の M-N-EtFOSAA を添加し、M2PFHxA と M2PFDA を 40 ng/L、および M-N-EtFOSAA を 160 ng/L の濃度としました。LCMS-8045 および LCMS-8050 を使用して算出した回収率を表 8 に示します。すべての回収率は±10% 以内で、EPA 要件が十分に達成されています。

■ まとめと考察

本アプリケーションニュースでは、EPA Method 537 に対する島津 LC/MS/MS の使用方法、性能、および適合性について、7 種類の PFAS 対象を追加して説明および実証しました。すべての試料とブランクを同じ SPE 手順で抽出し、異なる型式の機器で同じ分析条件を使用しました。0.7～1.7 ng/L（LCMS-8050）および 0.7～3.3 ng/L（LCMS-8045）の MDL が得られ、いずれのシステムも飲料水中の PFAS 分析に関する EPA の要件をすべて満たしました。これは、元の EPA Method 537 に記載されている 10 µL よりもはるかに少ない 1 µL 注入で達成されました。注入量が少ない（LC/MS への負担が少ない）ため、分析法の堅牢性が高まり、長期的な所有コストが削減されます。

参考文献

- U.S. EPA, "EPA Method 537: Determination of Selected Perfluorinated Alkyl Acids in Drinking Water by SPE and LC/MS/MS," Washington D.C., 2009.
- ASTM International, "ASTM D7979-17: Standard Test Method for Determination of Perfluorinated Compounds in Water, Sludge, Influent, Effluent and Wastewater by LC/MS/MS," Conshohocken PA, 2017.

LCMS、Nexera、Shim-pack、および Shim-pack Velox は、株式会社 島津製作所の日本およびその他の国における商標です。ISOLUTE は、Biotage AB の商標です。その他、本文中に記載されている会社名および製品名は、各社の商標および登録商標です。本文中では「TM」、「®」を明記していない場合があります。

LC/MS/MS を用いたゴルフ場農薬の分析

ゴルフ場で使用される農薬による水質汚濁を未然に防止するために、ゴルフ場で使用される農薬による水質汚濁の防止及び水産動植物被害の防止に係る指導指針（最終改正：平成 30 年 11 月 30 日（環水大土発第 1811301 号））¹⁾が設定されました。

水濁指針値は、水質汚濁に係る農薬登録基準値の 10 倍値、また、水濁基準値が設定されていない農薬のうち、別途排水中の水濁指針値が設定されている 42 農薬に設定されています。ゴルフ場からの排水中の農薬濃度は、排水口において別表に掲げる値（以下「指針値」という。）を超えないこととされています。なお、最新の水濁基準値は、環境省のホームページ²⁾に掲載されており、随時確認することとなっています。

分析方法としては、排水に係る標準分析方法（別添）が示され、Ⅰ排水に係る標準分析方法（個別分析法）として 51 項目、Ⅱ排水に係る標準分析方法（多成分同時分析法）として 6 項目が示されています³⁾。

本稿では、LC/MS/MS を使用した 7 つの個別分析法（①Ⅰ-10 ベンスルタップ、②Ⅰ-21 チオファネートメチル、③Ⅰ-23 バリダマイシン、④Ⅰ-24 ヒドロキシイソキサゾール（ヒメキサゾール）、⑤Ⅰ-27 ベノミル、⑥Ⅰ-50 MCPA イソプロピルアミン塩及び MCPA ナトリウム塩、⑦Ⅰ-51 トリネキサバックエチル）と 44 農薬の多成分同時分析法Ⅱ-1 のご紹介をします。

M Kobayashi

■ 農薬標準品・試薬類と測定装置

各農薬標準試料は、富士フイルム和光純薬株式会社製、SIGMA-ALDRICH 製の残留農薬試験用標準品を使用しました。特に、多成分同時分析法Ⅱ-1 の 44 農薬の混合標準試料は、42 農薬混合品である富士フイルム和光純薬株式会社製 162-25213 農薬混合標準液 GF-1 (LC/MS/MS) に、054-06821 エトキシスルフロ、033-22051 クミルロンを混合し調製しました。

移動相に使用したメタノール、アセトニトリル、ギ酸、酢酸は LCMS 用、酢酸アンモニウムは試薬特級を使用しました。測定機器は、当社製 UHPLC Nexera™ X2 とトリプル四重極型質量分析計 LCMS™-8050 を使用しました。

■ 個別方法①Ⅰ-10 ベンスルタップ

標準分析法別添では、「ネライストキシシユ酸塩の 0.01 ng が十分確認できるように感度を調整すること」が、明記されています（以下表）。

対象化合物	ネライストキシシユ酸塩
指針値 (mg/L)	0.9
要求感度 (ng)	0.01
検量線範囲 (mg/L)	0.0025-0.5
係数	1.8

* ネライストキシシユ酸塩を秤量

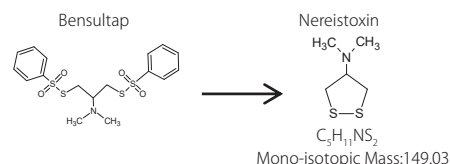


図 1 ベンスルタップとネライストキシシユの構造式

図 2 に、ネライストキシシユの代表的なクロマトグラム (0.0025 mg/L) と検量線、表 1 に分析条件を示しました。

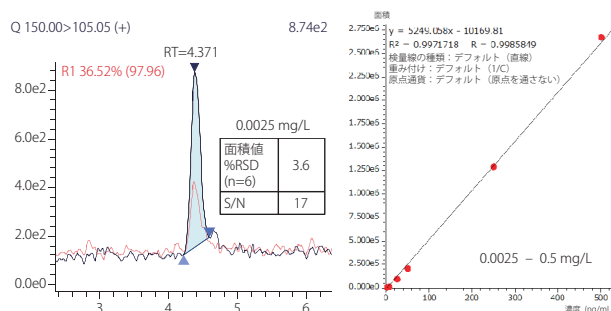


図 2 ネライストキシシユの代表的なクロマトグラムと検量線

表 1 ネライストキシシユ酸塩の分析条件

Column	: Shim-pack Scepter™ C18-120 (100 mm L.×2.0 mm I.D., 1.9 μm)
Mobile phase A	: 2 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液
Mobile phase B	: メタノール
Flow rate	: 0.2 mL/min
Time program	: 45 %B. (0 min) - 95 %B. (15 min) - 45 %B. (15.01-20 min)
Oven temperature	: 40 °C
Injection volume	: 4 μL
Rinse solution	: R0 : 50 %メタノール
Final dilution solvent	: メタノール
Back pressure range	: 20-33 MPa
Interface polarity	: ESI positive
IF voltage	: +4 kV
CID gas pressure	: 270 kPa (default value)
ESI probe position	: 2 mm
Nebulizer gas	: 3 L/min
Heating/Drying gas	: 10/10 L/min
Interface/DL/HB temp.	: 300/200/400 °C
Dwell/Pause time	: 200/3 msec for each ch.
MRM transitions	: 150.00>105.05, 150.00>61.05

* S/N 計算：ASTM 法、ノイズはピーク近傍を時間範囲指定しています。

■ 個別方法② I-21 チオファネートメチル

標準分析法別添では、「チオファネートメチルの 0.02 ng 及びカルベンダジムの 0.01 ng が十分確認できるように感度を調整する。」が、明記されています（以下表）。

対象化合物	チオファネートメチル
指針値 (mg/L)	3
要求感度 (ng)	0.02
検量線範囲 (mg/L)	0.01-0.1
係数	—

* チオファネートメチルは分解しやすいので用事調製のこと
カルベンダジムとは別に標準溶液を調製すること

対象化合物	カルベンダジム
指針値 (mg/L)	—
要求感度 (ng)	0.01
検量線範囲 (mg/L)	0.005-0.05
係数	1.79

* カルベンダジムは、「個別方法⑤ I-27 ペノミル」を参照の事。

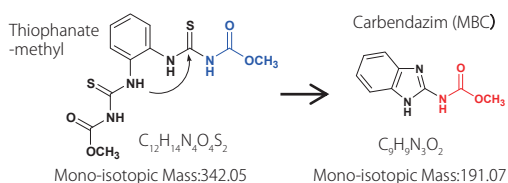


図3 チオファネートメチルとカルベンダジムの構造式

図4に、チオファネートメチルの代表的なクロマトグラム (0.001 mg/L) と検量線、表2に分析条件を示しました。

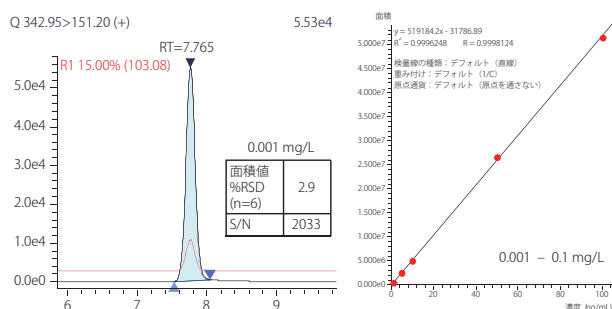


図4 チオファネートメチルの代表的なクロマトグラムと検量線

表2 チオファネートメチルの分析条件

Column	: Shim-pack™ XR-ODS II (100 mm L.×2.0 mm I.D., 2.2 μm)
Mobile phase A	: 2 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液
Mobile phase B	: メタノール
Flow rate	: 0.2 mL/min
Time program	: 40 %B. (0-5 min) - 95 %B. (10-15 min) - 40 %B. (15.01-20 min)
Oven temperature	: 40 °C
Injection volumn	: 2 μL
Rinse solution	: R0 : 50 %メタノール
Final dilution solvent	: メタノール
Back pressure range	: 12-24 MPa
Interface polarity	: ESI positive
IF voltage	: +4 kV
CID gas pressure	: 270 kPa (default value)
ESI probe position	: 2 mm
Nebulizer gas	: 3 L/min
Heating/Drying gas	: 10/10 L/min
Interface/DL/HB temp.	: 300/250/400 °C
Dwell/Pause time	: 100/1 msec for each ch.
MRM transitions	: 342.95>151.2, 342.95>93.2

* S/N 計算 : ASTM 法、ノイズはピーク近傍を時間範囲指定しています。

■ 個別方法③ I-23 バリダマイシン

標準分析法別添では、「バリダマイシンの 0.025 ng が十分確認できるように感度を調整する。」と明記されています（以下表）。標準溶液の調製には、PP バイアルを使用しました。

対象化合物	バリダマイシン
指針値 (mg/L)	12
要求感度 (ng)	0.025
検量線範囲 (mg/L)	0.0025-0.05
係数	—

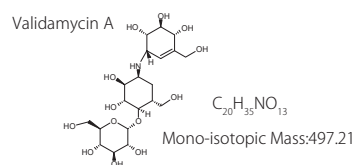


図5 バリダマイシン A の構造式

図6に、バリダマイシン A の代表的なクロマトグラム (0.0025 mg/L) と検量線、表3に分析条件を示しました。

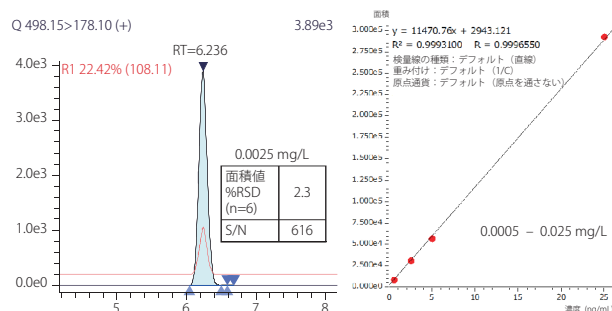


図6 バリダマイシン A の代表的なクロマトグラムと検量線

表3 バリダマイシン A の分析条件

Column	: Shim-pack Scepter C18-120 (100 mm L.×2.0 mm I.D., 1.9 μm)
Mobile phase A	: 2 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液
Mobile phase B	: アセトニトリル
Flow rate	: 0.2 mL/min
Time program	: 0 %B. (0-9 min) - 50 %B. (13-18 min) - 0 %B. (18.01-23 min)
Oven temperature	: 40 °C
Injection volumn	: 2 μL
Rinse solution	: R0 : 水
Final dilution solvent	: 水
Back pressure range	: 18-22 MPa
Interface polarity	: ESI positive
IF voltage	: +4 kV
CID gas pressure	: 270 kPa (default value)
ESI probe position	: 1 mm
Nebulizer gas	: 3 L/min
Heating/Drying gas	: 5/15 L/min
Interface/DL/HB temp.	: 200/150/500 °C
Dwell/Pause time	: 100/3 msec for each ch.
MRM transitions	: 498.15>178.10, 498.15>124.15, 498.15>336.25

* S/N 計算 : ASTM 法、ノイズは全分析時間を指定しています。

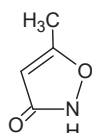
■ 個別方法④ I-24 ヒドロキシイソキサゾール

標準分析法別添では、「ヒドロキシイソキサゾールの 0.025 ng が十分確認できるように感度を調整する。」と明記されています（以下表）。また、別添に記載されている SIM モードに加えて、MRM でも分析が可能です。

標準溶液の調製には、PP バイアルを使用しました。

対象化合物	ヒドロキシイソキサゾール
指針値 (mg/L)	1
要求感度 (ng)	0.025
検量線範囲 (mg/L)	0.0025-0.1
係数	—

Hydroxyisoxazole



C₄H₅NO₂
Mono-isotopic Mass:99.03

図 7 ヒドロキシイソキサゾールの構造式

図 8 に、ヒドロキシイソキサゾールの代表的なクロマトグラム (0.0025 mg/L) と検量線、表 4 に分析条件を示しました。

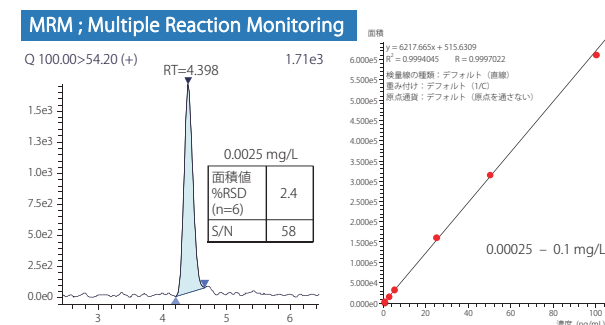
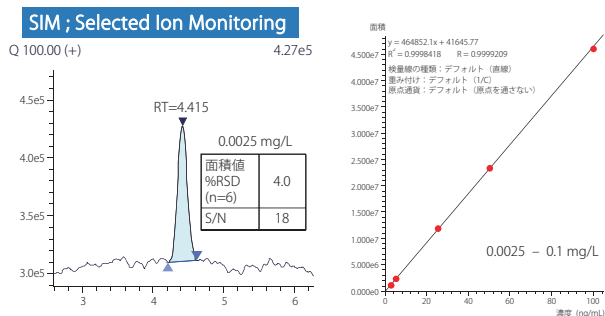


図 8 ヒドロキシイソキサゾールの代表的なクロマトグラムと検量線 (SIM & MRM)

表 4 ヒドロキシイソキサゾールの分析条件

Column	: Shim-pack XR-ODS II (100 mm L × 2.0 mm I.D., 2.2 μm)
Mobile phase A	: 0.01 % 酢酸
Mobile phase B	: アセトニトリル
Flow rate	: 0.2 mL/min
Time program	: 4 %B. (0-6 min)
Oven temperature	: 40 °C
Injection volume	: 2 μL
Rinse solution	: R0 : 水
Final dilution solvent	: 水
Back pressure range	: 15 MPa
Interface polarity	: ESI positive
IF voltage	: +1 kV
CID gas pressure	: 270 kPa (default value)
ESI probe position	: 2 mm
Nebulizer gas	: 3 L/min
Heating/Drying gas	: 10/10 L/min
Interface/DL/HB temp.	: 300/250/400 °C
Dwell/Pause time	: 100/3 msec for each ch.
SIM transition	: 100
MRM transitions	: 100.00>54.20, 100.00>44.05

* S/N 計算 : ASTM 法、ノイズはピーク近傍を時間範囲指定しています。

■ 個別方法⑤ I-27 ベノミル

標準分析法別添では、「カルベンダジムの 0.001 ng が十分確認できるように感度を調整する。」と明記されています（以下表）。

対象化合物	カルベンダジム
指針値 (mg/L)	0.2
要求感度 (ng)	0.001
検量線範囲 (mg/L)	0.0005-0.05
係数	1.52

* カルベンダジムを秤量

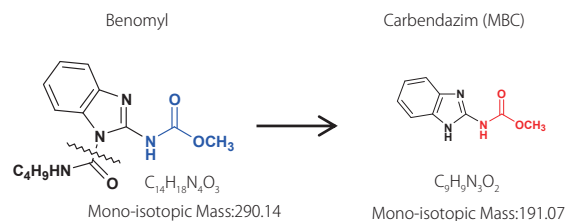


図 9 ベノミルとカルベンダジムの構造式

図 10 に、カルベンダジムの代表的なクロマトグラム (0.0005 mg/L) と検量線、表 5 に分析条件を示しました。

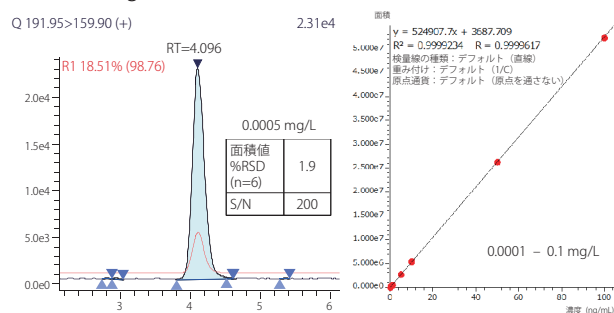


図 10 カルベンダジムの代表的なクロマトグラムと検量線

表 5 カルベンダジムの分析条件

Column	: Shim-pack XR-ODS II (100 mm L × 2.0 mm I.D., 2.2 μm)
Mobile phase A	: 2 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液
Mobile phase B	: メタノール
Flow rate	: 0.2 mL/min
Time program	: 40 %B. (0-5 min) - 95 %B. (10-15 min) - 40 %B. (15.01-20 min)
Oven temperature	: 40 °C
Injection volume	: 2 μL
Rinse solution	: R0 : 50 %メタノール
Final dilution solvent	: メタノール
Back pressure range	: 12-24 MPa
Interface polarity	: ESI positive
IF voltage	: +4 kV
CID gas pressure	: 270 kPa (default value)
ESI probe position	: 2 mm
Nebulizer gas	: 3 L/min
Heating/Drying gas	: 10/10 L/min
Interface/DL/HB temp.	: 300/250/400 °C
Dwell/Pause time	: 100/1 msec for each ch.
MRM transitions	: 191.95>159.90, 191.95>132.05

* S/N 計算 : ASTM 法、ノイズはピーク近傍を時間範囲指定しています。

■ 個別方法⑥ I-50 MCPA イソプロピルアミン塩及び MCPA ナトリウム塩

標準分析法別添では、「MCPA の 1 ng が十分確認できるように感度を調整する。」と明記されています（以下表）。

対象化合物	MCPA
指針値 (mg/L)	0.051
要求感度 (ng)	0.025
検量線範囲 (mg/L)	0.005-0.5
係数	—

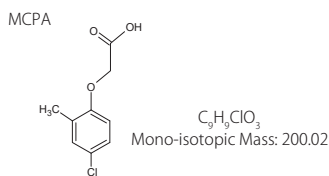


図 11 MCPA の構造式

図 12 に、MCPA の代表的なクロマトグラム (0.001 mg/L) と検量線、表 6 に分析条件を示しました。

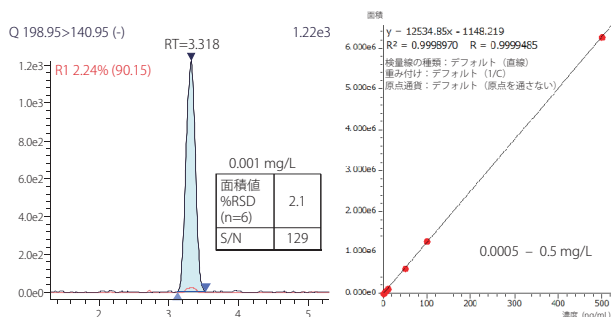


図 12 MCPA の代表的なクロマトグラムと検量線

表 6 MCPA の分析条件

Column	: Shim-pack XR-ODS II (100 mm L.×2.0 mm I.D., 2.2 μm)
Mobile phase A	: 5 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液
Mobile phase B	: メタノール
Flow rate	: 0.2 mL/min
Time program	: 40%B. (0 min) - 95%B. (10-12 min) - 40%B. (12.01-17 min)
Oven temperature	: 40 °C
Injection volume	: 2 μL
Rinse solution	: R0: 50%メタノール
Final dilution solvent	: メタノール
Back pressure range	: 12-24 MPa
Interface polarity	: ESI negative
IF voltage	: -3 kV
CID gas pressure	: 270 kPa (default value)
ESI probe position	: 2 mm
Nebulizer gas	: 3 L/min
Heating/Drying gas	: 5/15 L/min
Interface/DL/HB temp.	: 200/150/500 °C
Dwell/Pause time	: 200/3 msec for each ch.
MRM transitions	: 198.95>140.95, 198.95>104.90

* S/N 計算: ASTM 法、ノイズはピーク近傍を時間範囲指定しています。



図 13 高速液体クロマトグラフ質量分析計 LCMS™-8050

■ 個別方法⑦ I-51 トリネキサパックエチル

標準分析法別添では、「トリネキサパックエチルの 1 ng が十分確認できるように感度を調整する。」と明記されています（以下表）。

対象化合物	トリネキサパック トリネキサパックエチル
指針値 (mg/L)	0.15
要求感度 (ng)	0.025
検量線範囲 (mg/L)	—
係数	1.13

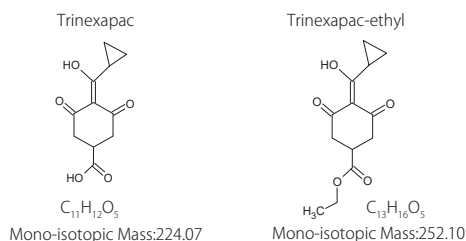


図 14 トリネキサパックとトリネキサパックエチルの構造式

図 15 に、トリネキサパックとトリネキサパックエチルの代表的なクロマトグラム (0.005 mg/L) と検量線、表 7 に分析条件を示しました。

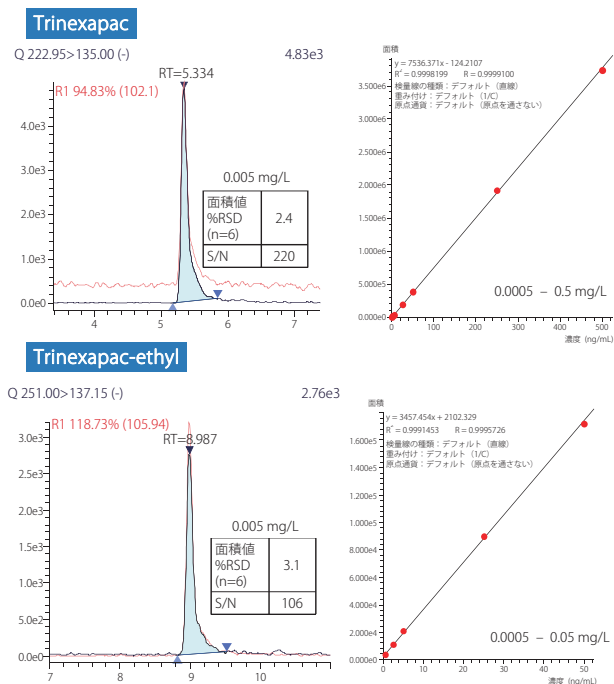


図 15 トリネキサパックとトリネキサパックエチルの代表的なクロマトグラムと検量線

表 7 トリネキサパックとトリネキサパックエチルの分析条件

Column	: L-column 2 ODS METAL FREE (100 mm L.×2.0 mm, 3 μm)
Mobile phase A	: 0.1%酢酸水
Mobile phase B	: アセトニトリル
Flow rate	: 0.2 mL/min
Time program	: 20%B. (0 min) - 80%B. (15 min) - 20%B. (15.01-20 min)
Oven temperature	: 40 °C
Injection volume	: 2 μL
Rinse solution	: R0: アセトニトリル
Final dilution solvent	: 水/アセトニトリル (4:1)
Back pressure range	: 5-9 MPa
Interface polarity	: ESI negative
IF voltage	: -3 kV
CID gas pressure	: 270 kPa (default value)
ESI probe position	: 2 mm
Nebulizer gas	: 3 L/min
Heating/Drying gas	: 10/10 L/min
Interface/DL/HB temp.	: 300/250/400 °C
Dwell/Pause time	: 100/3 msec for each ch.
MRM transitions	: 222.95>135.00, 222.95>179.15, 251.00>137.15, 251.00>177.05

* S/N 計算: ASTM 法、ノイズはピーク近傍を時間範囲指定しています。

■ 個別方法 まとめ

7つの個別方法の指針値、6回繰り返しの面積値%RSD、検量線範囲、検量線の寄与率、相関係数を表8にまとめました。

液体クロマトグラフ質量分析計 LCMS-8050 で、ゴルフ場農薬個別方法の要求感度以下の分析が可能です。

表8 各個別方法の指針値、面積値再現性、検量線範囲

(n=6、単位：mg/L)

	農薬名	指針値	水濁基準値	面積値 %RSD 算出濃度	面積値 %RSD	検量線範囲	寄与率	相関係数
10	ベンスルタップ（ネライストキシン）	0.9	—	0.0025	3.6	0.0025-0.5	0.9972	0.9986
21	チオファネートメチル	3	—	0.0010	2.9	0.001-0.1	0.9996	0.9998
23	バリダマイシン	12	—	0.0025	2.3	0.0005-0.025	0.9993	0.9997
24	ヒドロキシイソキサゾール SIM	1	—	0.0025	4.0	0.0025-0.1	0.9998	0.9999
24	ヒドロキシイソキサゾール MRM	1	—	0.0025	2.4	0.0025-0.1	0.9994	0.9997
27	ベノミル（カルベンダジム）	0.2	—	0.0005	1.9	0.0001-0.1	0.9999	1.0000
50	MCPA	0.051	—	0.0010	2.1	0.0005-0.5	0.9999	0.9999
51	トリネキサパックエチル	0.15	—	0.0050	2.4	0.0005-0.5	0.9998	0.9999
51	トリネキサパック	—	—	0.0050	3.1	0.0005-0.05	0.9991	0.9996

■多成分同時分析法 II-1

多成分同時分析法 II-1 は、44 種類の農薬を分析対象化合物とする正負同時一斉分析法です。混合標準試料は、42 農薬の混合品である富士フィルム和光純薬株式会社製 162-25213 農薬混合標準液 GF-1 (LC/MS/MS) に、054-06821

エトキシスルフロン、033-22051 クミルロンを混合し調製しました。

図 16 に、44 種類の農薬の代表的なクロマトグラム (各 0.04 mg/L) と、表 9 に分析条件を示しました。

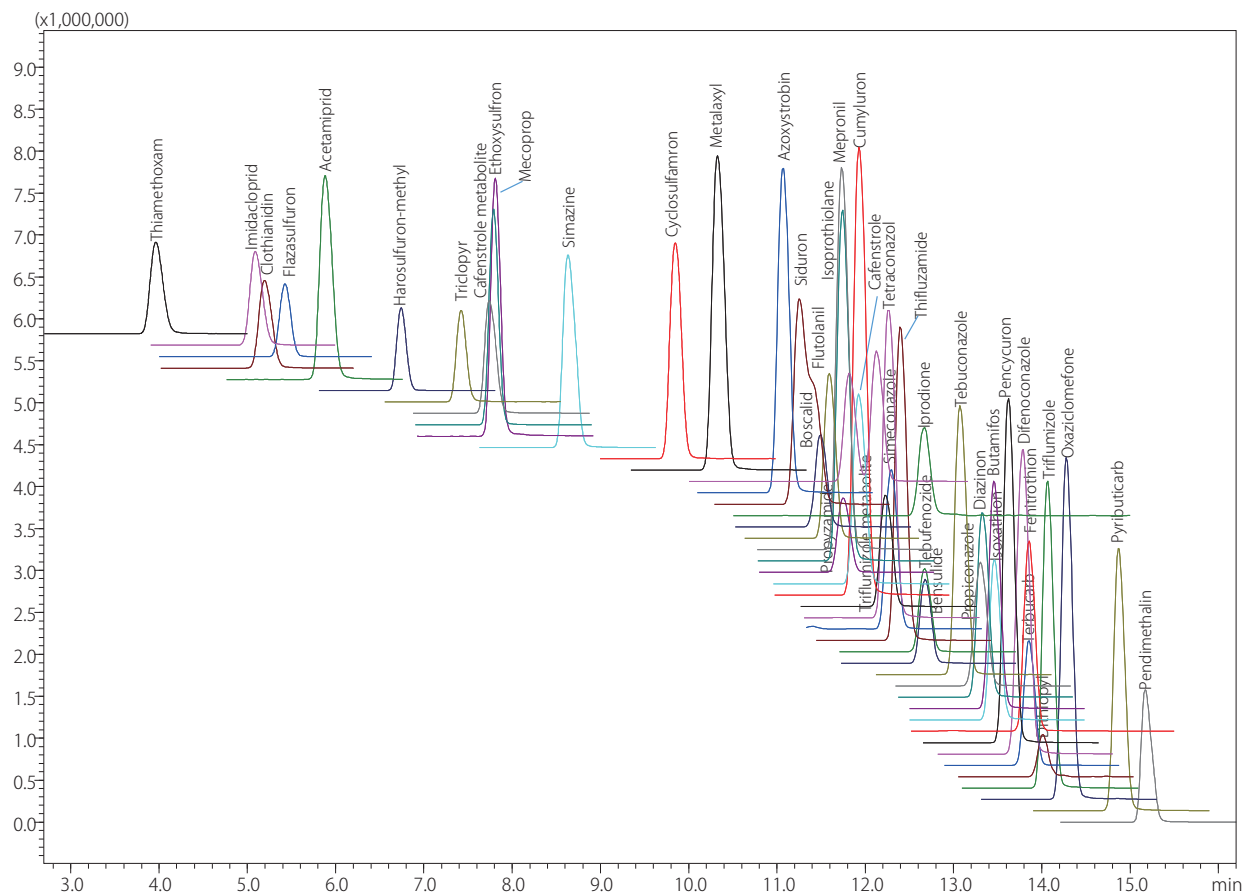


図 16 44 種類の農薬の代表的なクロマトグラム (各 0.04 mg/L)

表 9 多成分同時分析法 II-1 の分析条件

Column	: Shim-pack XR-ODS II (100 mm L.×2.0 mm I.D., 2.2 μm)	Interface polarity	: ESI positive/negative
Mobile phase A	: 5 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液	IF voltage	: +4 kV/-3 kV (Iprodione -1 kV)
Mobile phase B	: メタノール	CID gas pressure	: 270 kPa (default value)
Flow rate	: 0.2 mL/min	ESI probe position	: 1 mm
Time program	: 20 %B. (0 min) - 90 %B. (13-17 min) - 20 %B. (17.01-22 min)	Nebulizer gas	: 3 L/min
Oven temperature	: 40 °C	Heating / Drying gas	: 10/10 L/min
Injection volume	: 5 μL	Interface /DL/HB temp.	: 100/150/300 °C
Rinse solution	: R0 : 50 %メタノール	Dwell / Pause time	: 25/1 msec for each ch.
Final dilution solvent	: 50 %メタノール	MRM transitions	: 44 event (max loop time 1.076 sec)
Back pressure range	: 20-24 MPa		

44 種類の農薬の代表的な全クロマトグラム (0.002 mg/L) を図 17 に示します。溶出順に、並べています。

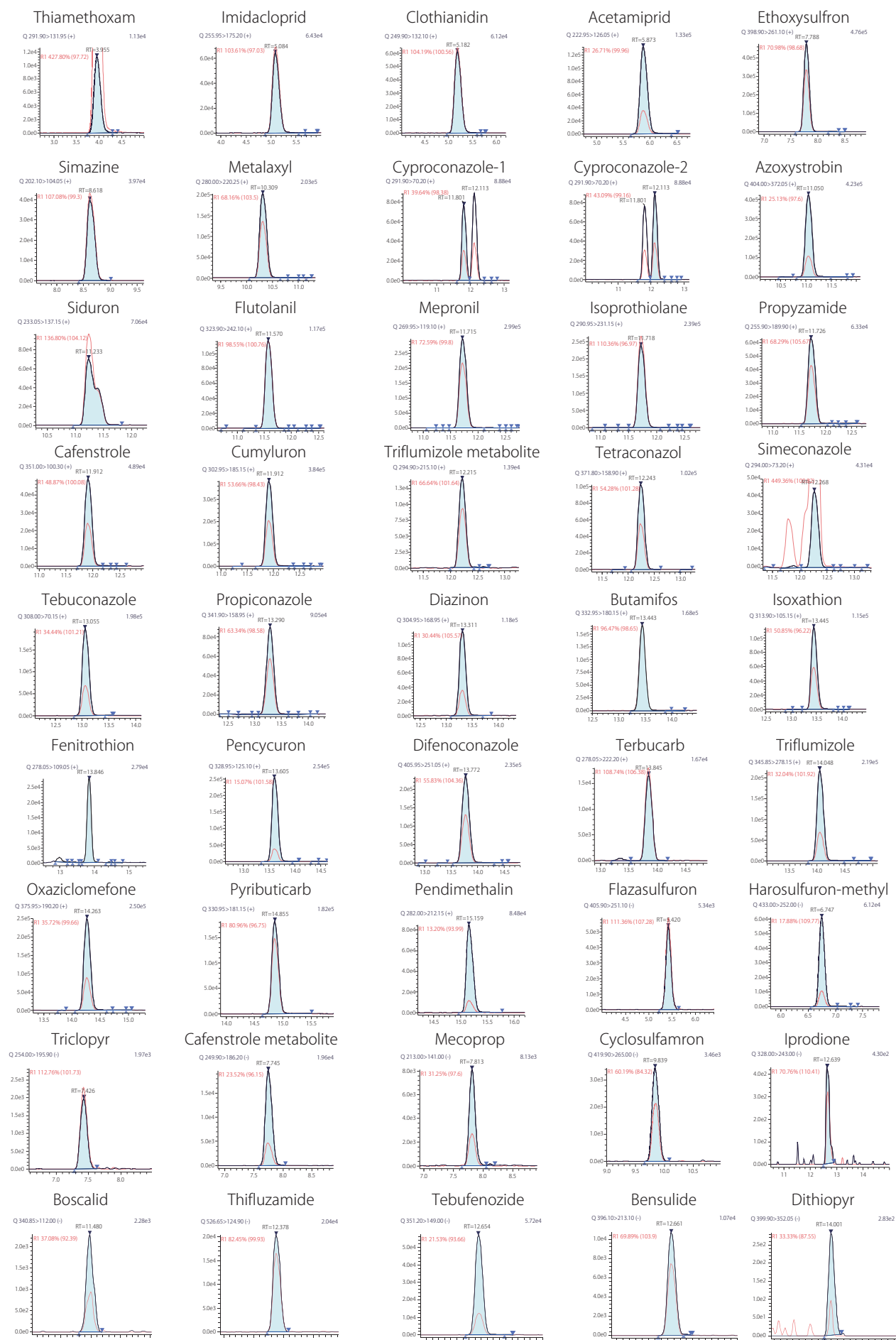


図 17 全農薬の代表的なクロマトグラム (0.002 mg/L)

■多成分同時分析法 II-1 まとめ

44種類の農薬の指針値、6回繰り返しの面積値%RSD、検量線範囲、検量線の寄与率、相関係数を表10にまとめました。各農薬の検量線範囲は、0.0002-0.04 mg/L (Iprodione、Boscalid、Dithiopyl は 0.002-0.04 mg/L) でした。

液体クロマトグラフ質量分析計 LCMS-8050 で、全農薬、指針値の100分の1の検査を実施することができます。(多成分同時分析法 II-1 は、試料の前処理で2倍濃縮となります。)

表10 44農薬の指針値、面積値再現性、検量線範囲

(n=6、単位: mg/L)

	農薬名	指針値	水濁基準値	面積値 %RSD 算出濃度	面積値 %RSD	検量線範囲	寄与率	相関係数
1	アセタミプリド	1.8	0.18	0.0002	0.8	0.0002-0.04	0.99982	0.99991
2	アゾキシストロビン	4.7	0.47	0.0002	1.2	0.0002-0.04	0.99979	0.99989
3	ボスカリド	1.1	0.11	0.002	2.8	0.002-0.04	0.99997	0.99998
4	ブタミホス	0.2	0.02	0.0002	3.4	0.0002-0.04	0.99909	0.99954
5	カフェンストロール	0.07	0.007	0.0002	3.4	0.0002-0.04	0.99502	0.99751
6	クロチアニジン	2.5	0.25	0.0002	2.0	0.0002-0.04	0.99901	0.99951
7	クミルロン	0.2	0.02	0.0002	2.6	0.0002-0.04	0.99248	0.99623
8	シプロコナゾール	0.3	—	0.0002	4.6	0.0002-0.04	0.99850	0.99930
9	ダイアジノン*	0.05	—	0.0002	3.5	0.0002-0.04	0.99995	0.99997
10	ジフェノコナゾール	0.3	0.025	0.0002	2.2	0.0002-0.04	0.99715	0.99858
11	エトキシスルフロ	1	0.14	0.0002	1.3	0.0002-0.04	0.99983	0.99991
12	フラザスルフロ	0.3	—	0.0002	7.8	0.0002-0.04	0.99838	0.99919
13	フルトラニル	2.3	0.23	0.0002	3.0	0.0002-0.04	0.99819	0.99909
14	ハロスルフロメチル	2.6	0.26	0.0002	2.0	0.0002-0.04	0.99722	0.99861
15	イミダクロプリド	1.5	0.15	0.0002	1.2	0.0002-0.04	0.99922	0.99961
16	イプロジオン	3	—	0.002	13.7	0.002-0.04	0.99676	0.99838
17	イソプロチオラン	2.6	0.26	0.0002	2.5	0.0002-0.04	0.99963	0.99982
18	イソキサチオン	0.08	—	0.0002	3.1	0.0002-0.04	0.99942	0.99971
19	メコプロップ	0.47	0.047	0.0002	8.2	0.0002-0.04	0.99986	0.99993
20	メプロニル	1	0.1	0.0002	5.0	0.0002-0.04	0.99550	0.99775
21	メタラキシル	0.58	0.058	0.0002	1.9	0.0002-0.04	0.99984	0.99992
22	オキサジクロメホン	0.24	0.024	0.0002	1.8	0.0002-0.04	0.99902	0.99951
23	ペンシクロン	1.4	0.14	0.0002	3.7	0.0002-0.04	0.99860	0.99930
24	ベンディメタリン	3.1	0.31	0.0002	3.0	0.0002-0.04	0.99979	0.99989
25	プロピコナゾール	0.5	0.05	0.0002	2.1	0.0002-0.04	0.99862	0.99931
26	プロピザミド	0.5	0.05	0.0002	4.1	0.0002-0.04	0.99165	0.99582
27	ピリプチカルブ	0.23	0.023	0.0002	1.9	0.0002-0.04	0.99978	0.99989
28	シデュロン	3	—	0.0002	3.3	0.0002-0.04	0.99919	0.99960
29	シマジ	0.03	—	0.0002	2.5	0.0002-0.04	0.99984	0.99992
30	シメコナゾール	0.22	0.022	0.0002	5.3	0.0002-0.04	0.99589	0.99794
31	テブコナゾール	0.77	0.077	0.0002	1.8	0.0002-0.04	0.99833	0.99916
32	テブフェノジド	0.42	0.042	0.0002	3.4	0.0002-0.04	0.99873	0.99936
33	テトラコナゾール	0.1	—	0.0002	3.1	0.0002-0.04	0.98094	0.99042
34	チアメトキサム	0.47	0.047	0.0002	4.2	0.0002-0.04	0.99979	0.99990
35	チフルザミド	0.5	0.037	0.0002	11.0	0.0002-0.04	0.99993	0.99996
36	トリフルミゾール	0.5	0.039	0.0002	3.4	0.0002-0.04	0.99932	0.99966
37	シクロスルファミロン	0.8	—	0.0002	6.8	0.0002-0.04	0.99745	0.99873
38	ジチオビル	0.095	0.0095	0.002	17.5	0.002-0.04	0.99999	1.00000
39	フェニトロチオン	0.03	—	0.0002	6.0	0.0002-0.04	0.99938	0.99969
40	トリクロビル	0.06	—	0.0002	17.0	0.0002-0.04	0.99995	0.99997
41	ベンスリド	—	—	0.0002	7.6	0.0002-0.04	0.99977	0.99988
42	デルブカルブ	—	—	0.0002	7.7	0.0002-0.04	0.99934	0.99967
43	カフェンストロール代謝物	—	—	0.0002	2.2	0.0002-0.04	0.99384	0.99692
44	トリフルミゾール代謝物	—	—	0.0002	6.9	0.0002-0.04	0.99993	0.99997

<参考文献>

- 1) ゴルフ場で使用される農薬による水質汚濁の防止及び水産動植物被害の防止に係る指導指針(最終改正:平成30年11月30日(環水大土発第1811301号))
- 2) 環境省ホームページ http://www.env.go.jp/water/dojo/noyaku/odaku_kijun/kijun.html (2019年4月18日参照)
- 3) 環水大土発第1811301号 別添(排水水に係る標準分析方法) http://www.env.go.jp/water/dojo/noyaku/golf_course/attach/guidelines_an.pdf (2019年4月18日参照)

Nexera、LCMS、Shim-pack Scepter、および Shim-pack は、株式会社島津製作所の商標です。

ダイアジノンは、日本化薬株式会社の登録商標です。

その他、本書に掲載されている会社名、製品名、サービスマーク、およびロゴは、各社の商標および登録商標です。

なお、本文中には TM、*マークを明記していない場合があります。

初版発行: 2019年6月

トリプル四重極型LC/MS/MSを用いた飲料
水および環境水中のミクロシスチンの分析

アオコとは、池や湖沼等の水中で植物プランクトンが大量に増殖し水面に集積したもので、「水の華 (Water bloom)」あるいは「藻類ブルーム (Algal bloom)」と呼ばれています。アオコを形成する植物プランクトンの中には有毒物質を産生するものがあり、ミクロシスチンはアオコにより生成される肝臓毒の一種です。

WHO による飲料水水質ガイドライン¹⁾では、ミクロシスチンの規制値を $1 \mu\text{g/L}$ 以下と定めています。ミクロシスチンには多くの類縁体が存在することが知られていますが、日本においては、ミクロシスチン LR が水道水質基準で要検討項目として指定されており、飲料水中に $0.8 \mu\text{g/L}$ という目標値が設けられています。

測定試料の前処理方法としては、固相抽出による濃縮とクリーンアップを施す手法が多く報告されています。

本稿では、煩雑な前処理を省略し、水試料中のミクロシスチン LR, RR, YR を高感度に測定した例をご紹介します。

M. Kawashima

■ 試料の調製

ミクロシスチン LR, RR, YR 標準品を水/メタノール=8/2 (v/v)にて溶解・混合し、 10 mg/L 混合標準原液を調製しました。これを超純水にて段階希釈し、検量線用標準試料を調製しました。

実試料として、ミネラルウォーター、水道水、池の水の3種それぞれに、ミクロシスチンを添加した試料を調製しました。「池の水」として採水した池は、農業用水のため池として作られたもので、都市公園内に位置します。

それぞれの試料は、固形物除去のため、遠心分離をした後にディスポーザブルフィルタにて濾過しました。この試料に、WHO の規制値である $1 \mu\text{g/L}$ になるようミクロシスチンを添加し、分析用試料としました。

■ 分析条件

分析条件を表 1 に示しました。

表 1 分析条件

[HPLC conditions] (Nexera™ X2)	
Column	: Shim-pack Scepter™ C18-120 ($2.1 \times 100, 3 \mu\text{m}$)
Mobile phases	: A) 0.1% formic acid in H_2O B) 0.1% formic acid in Acetonitrile
Gradient Program	: B 5% (0-3 min) – B 55% (4 min) – B 95% (6-7 min) – B 5% (7.01-10 min)
Flow rate	: 0.35 mL/min
Column Temp.	: 40°C
Injection volume	: $10 \mu\text{L}$
Rinse type	: Internal and External
[MS conditions] (LCMS™-8060)	
Ionization	: ESI (Positive mode)
Probe Voltage	: $+5.0 \text{ kV}$
Mode	: MRM
Nebulizing gas flow	: 3.0 L/min
Drying gas flow	: 10.0 L/min
Heating gas flow	: 10.0 L/min
DL Temp.	: 150°C
Heat Block Temp.	: 200°C
Interface Temp.	: 350°C
Probe position	: $+1.0 \text{ mm}$

[MS/MS parameters]

Compound	MRM transition (m/z)	DL/Qarray Bias (V)	Collision energy (V)
Microcystin YR	1045.20>135.10	20	-70.0
	1045.20>112.05		-67.0
Microcystin LR	498.30>135.10	20	-13.0
	498.30>90.95		-40.0
Microcystin RR	519.80>135.10	20	-33.0
	519.80>103.05		-61.0

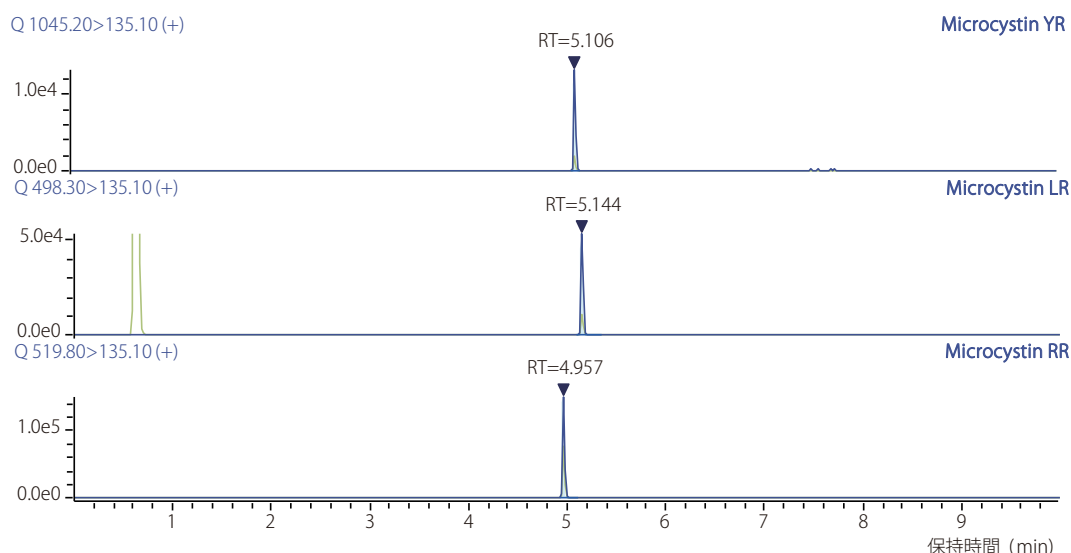


図 1 $1 \mu\text{g/L}$ 標準試料のクロマトグラム

■ 標準試料の分析結果

0.1~10 µg/L の範囲で作成した検量線を図 2 に示しました。WHO のガイドラインによる規制値は 1 µg/L とされていますが、その 1/10 である 0.1 µg/L を含む範囲で、良好な直線性を示しました。

また、日本の水道水質基準の目標値の 1/10 である 0.08 µg/L において、6 回繰り返し分析を行い、再現性を確認した結果を表 2 および図 3 に示しました。全ての成分において、面積値再現性 10%以下の良好な結果が得られました。

表 2 繰り返し分析 (n=6) における 0.08 µg/L 標準試料の再現性

Compound	Area%RSD	Rt%RSD
Microcystin YR	5.98%	0.04%
Microcystin LR	4.31%	0.04%
Microcystin RR	2.29%	0.02%

■ 水試料の分析結果

ミネラルウォーター、水道水、池の水にミクロシスチンを添加した試料を分析し、絶対検量線法により定量した値から、回収率を算出し、その結果を表 3 に示しました。どの試料においても 70~130%内の良好な回収率が得られました。

■ 結論

- 固相抽出による前処理を省略し、遠心分離とフィルタろ過のみのシンプルな前処理による分析方法を検討しました。
- ミネラルウォーター、水道水、池の水において、良好な回収率を示しました。
- 煩雑な処理工程を要する固相抽出や、時間のかかる濃縮を省略し、ミクロシスチンを迅速かつ正確に測定することができました。

表 3 水試料の添加回収率および面積値%RSD

	Compound	ミネラル ウォーター	水道水	池の水
Recovery	Microcystin YR	92.4%	78.7%	106.8%
	Microcystin LR	86.8%	83.5%	90.5%
	Microcystin RR	102.5%	94.9%	97.9%
Area%RSD	Microcystin YR	1.2%	2.3%	4.6%
	Microcystin LR	1.2%	1.9%	2.7%
	Microcystin RR	1.2%	2.3%	4.6%

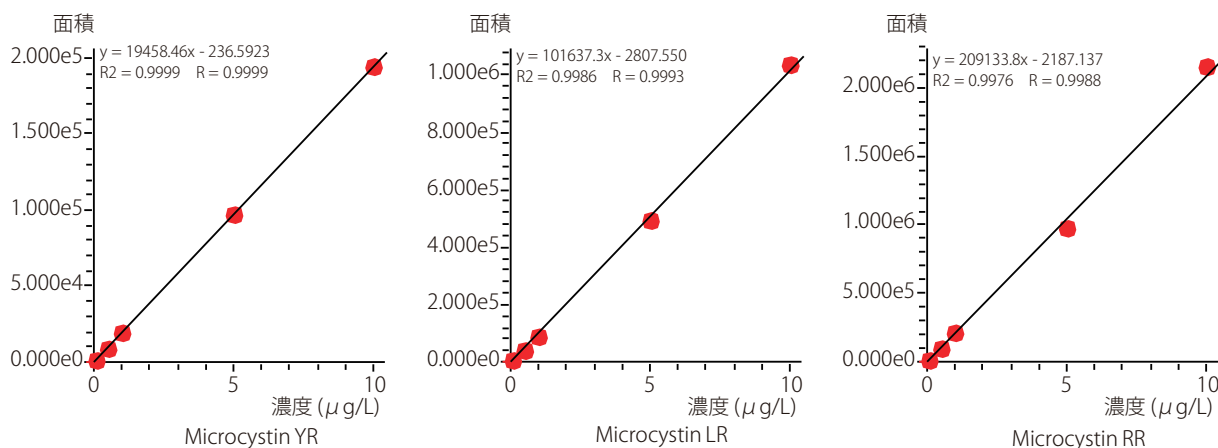


図 2 各成分の検量線

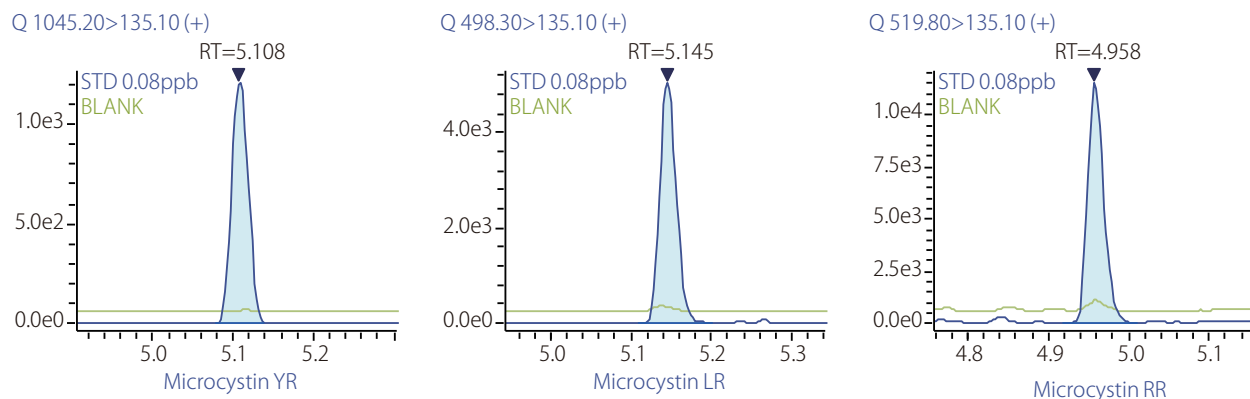


図 3 0.08 µg/L 標準試料のクロマトグラム

<参考文献>

- WHO (2003) Cyanobacterial toxins: Microcystin-LR in drinking-water. Background document for preparation of WHO Guidelines for drinking-water quality. Geneva, World Health Organization (WHO/SDE/WSH/03.04/57).

Nexera、Shim-pack Scepter、および LCMS は、株式会社 島津製作所の日本およびその他の国における商標です。

初版発行：2019 年 11 月

APCI-LCMS™-8060 による水中のキャプタン、 フォルペットおよびそれらの代謝物の分析



■はじめに

キャプタンとフォルペットはフタルイミド環をもつ農薬で、殺菌剤として広く使用されています。フォルペットは最も毒性の高い農薬として分類されてはいませんが、最も広く使用されている農薬の1つであり、特にブドウ畑や小麦やトマトの作物で使用されています。

キャプタンは、指令 2007/5/EC によって指令 91/414/EEC の付属書 I に収載されている活性物質です (<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=celex:32007L0005>)。この化合物のヒトへの影響を示す一日摂取許容量 (ADI) は、0.01-0.1 mg/kg/day に定められています。

キャプタンとフォルセットおよびそれらの代謝物のフタルイミドとテトラヒドロフタルイミドは、特に水生生物に対して毒性があります。本報では飲料水および地表水中のキャプタンとフォルペットおよびそれらの代謝物の定量分析を行いました。APCI インターフェイスを備えた LC/MS/MS を用いた迅速かつ高感度な分析法をご紹介します。試料前処理なしの直接分析で、1 分析あたり 6 分で分析が可能となりました。

D. Toinon

■方法

キャプタンとフタルイミドは富士フイルム和光純薬株式会社から、フォルペットは Riedel-de Haën 社から、そしてテトラヒドロフタルイミドは東京化成工業株式会社からそれぞれ購入しました。測定機器は、当社製 UHPLC Nexera™X2 と APCI ユニットを装着したトリプル四重極質量分析計 LCMS™-8060 を使用しました。各成分の MRM トランジションは、フローインジェクション分析 (FIA) を使用して最適化されています。インターフェイスパラメータについても最適化することでイオン化および脱溶媒が改善され、感度向上が見られました。

本方法では、0.1 %酢酸水で試料調製を行いました。酸を添加することで各成分を安定的に良好なピーク形状で検出することができました。今回は、内部標準物質は使用していませんが、質量分析計で想定されるマトリックス効果を補正するためには内部標準物質の使用が有効です。京都で採取された水道水と河川水に標準試料溶液を添加して定量分析を行いました。

HPLC および質量分析計の分析条件を、それぞれ表 1 および 2 に示します。

表 1 HPLC 分析条件

[LC]	
システム	: Nexera™ UHPLC システム
カラム	: Shim-pack Scepter™C18 (30 mm×2.0 mm I.D., 1.9 μm)
温度	: 40 °C
注入量	: 計 300 μL (100 μL×3 回)
移動相	: 水 + 10 mM 酢酸アンモニウムメタノール
流量	: 200 μL/min
分析時間	: 6 min

表 2 質量分析計 分析条件

[MS]	
システム	: LCMS-8060
インターフェース	: 大気圧化学イオン化法 (APCI)
噴霧ガス	: 3 L/min
乾燥ガス	: 3 L/min
脱溶媒ライン	: 150 °C
ヒートブロック	: 300 °C
インターフェース	: 400 °C

■結果と考察

0.1 %酢酸水で調製した標準試料溶液を用いて、9 から 900 pg/mL の範囲で検量線を作成しました。異なる水試料で定量が可能であるかを検証するために、蒸留水と水道水および河川水に標準試料溶液を添加した試料を調製して再現性を確認しました。

検量線データ

検量線を図 1 に示しました。これらの検量線の相関係数は 0.99 以上で、検量点の正確さは、80-120 %となりました。各成分は 9 pg/mL で検出できるため、定量下限 (LOQ) は 27 pg/mL と考えられます。

再現性

蒸留水、水道水、河川水に 27、45、63 pg/mL になるように標準試料溶液を添加した試料を分析し、再現性を確認しました (n=3)。河川水を分析して得られた LOQ での MRM クロマトグラムと再現性の結果をそれぞれ図 2 と表 3 に示しました。LOQ を含むすべての濃度で RSD% が 12 %未満の良好な結果が得られました。

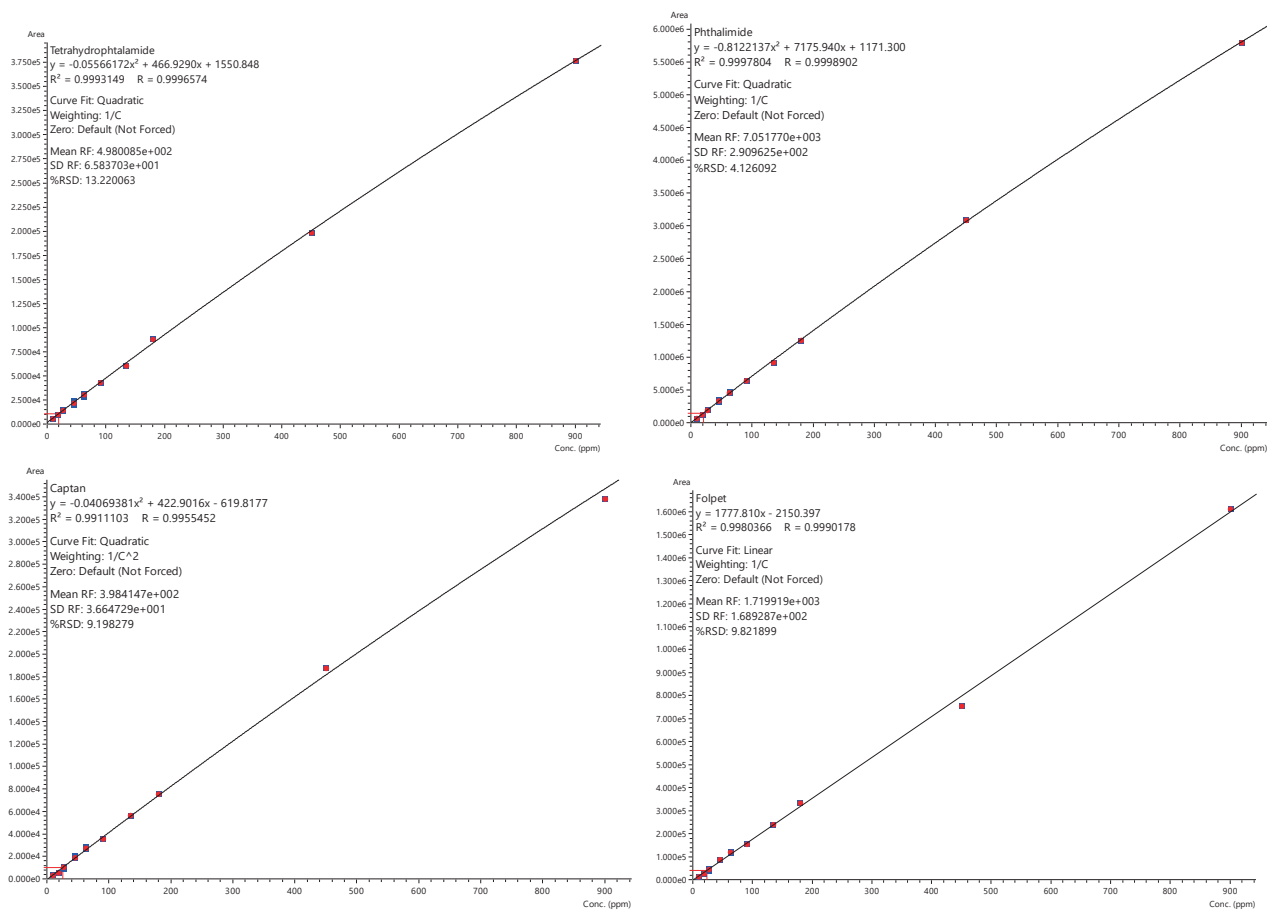


図1 検量線

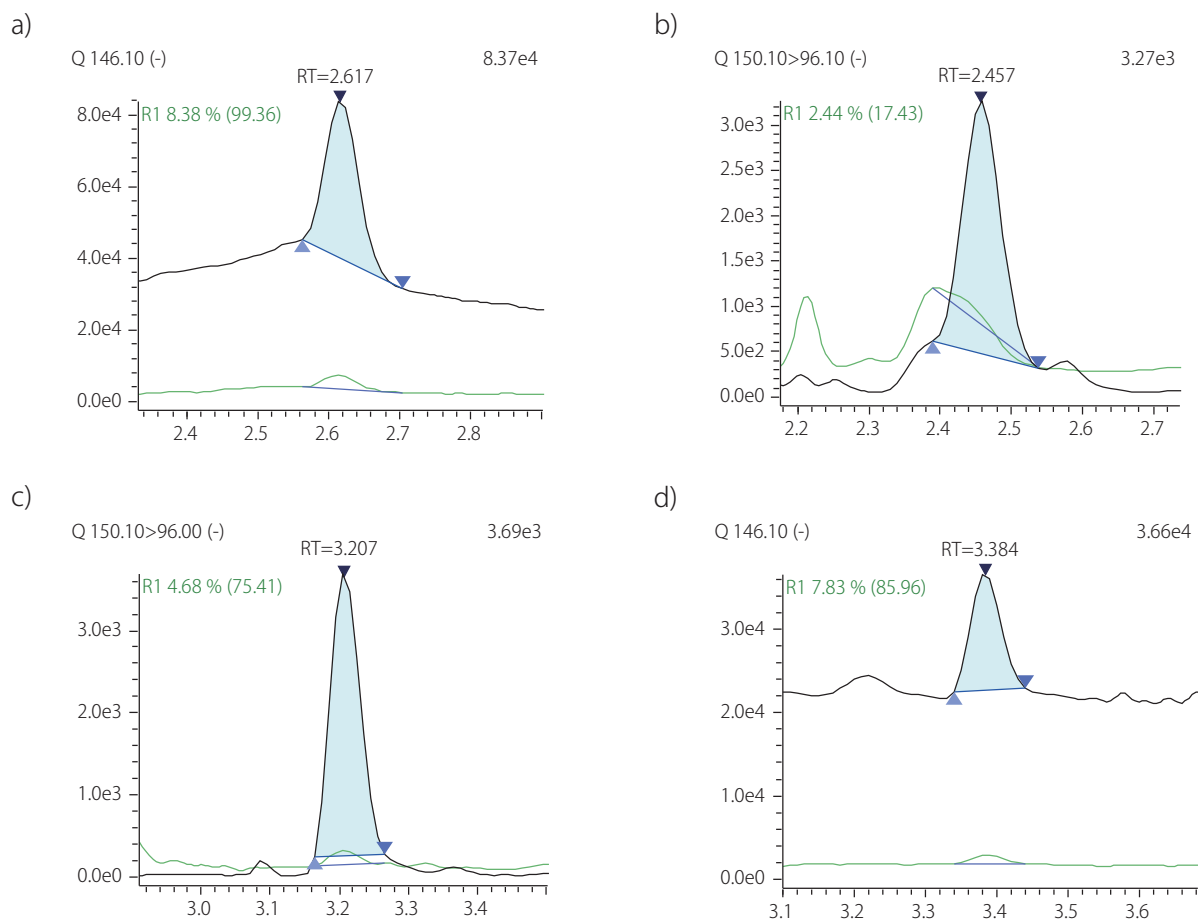


図2 河川水（濃度：27 pg/mL）のクロマトグラム
 a) フォルペット b) テトラフルイミド c) キャプタン d) フタルイミド

表 3 再現性

化合物	溶液	RSD (%) 蒸留水	RSD (%) 水道水	RSD (%) 河川水
キャプタン	27 pg/mL	11	10	8
	45 pg/mL	7	2	5
	63 pg/mL	3	4	10
テトラヒドロ フタルイミド	27 pg/mL	4	4	8
	45 pg/mL	10	6	2
	63 pg/mL	6	1	1
フォルベット	27 pg/mL	9	11	3
	45 pg/mL	3	2	2
	63 pg/mL	2	1	4
フタルイミド	27 pg/mL	3	4	3
	45 pg/mL	2	5	3
	63 pg/mL	1	6	7

真度

水道水と河川水に標準溶液を添加して、本方法での真度を評価した結果を表 4 に示しました。

全ての成分で、いずれの水試料においても 75-120 % の良好な真度を示しました。

今回は外部標準法による定量を行いました。マトリクス効果を補正する内部標準物質を用いることで、真度の改善が期待できます。

表 4 真度

濃度 pg/mL	フォルベット			テトラヒドロフタルイミド		
	蒸留水 真度 (%)	水道水 真度 (%)	河川水 真度 (%)	蒸留水 真度 (%)	水道水 真度 (%)	河川水 真度 (%)
9	94	96	83	101	104	89
18	89	90	89	96	98	76
27	107	79	94	96	84	89
45	114	111	86	107	87	80
63	109	97	79	92	77	81
90	98	89	89	100	80	83
135	101	78	77	95	81	84
180	105	84	77	105	86	88
450	95	103	75	99	83	88
900	101	102	84	100	86	89

濃度 pg/mL	キャプタン			フタルイミド		
	蒸留水 真度 (%)	水道水 真度 (%)	河川水 真度 (%)	蒸留水 真度 (%)	水道水 真度 (%)	河川水 真度 (%)
9	108	118	115	99	92	76
18	82	92	92	97	75	79
27	106	85	103	101	91	87
45	101	107	90	106	92	77
63	106	93	91	102	79	86
90	96	84	97	101	80	86
135	102	77	76	97	84	76
180	102	85	76	99	91	76
450	104	107	75	101	96	88
900	97	108	89	100	91	84

まとめと結論

APCI インターフェイスを備えた LCMS-8060 で、水道水と河川水中のキャプタン、フォルベットおよびそれらの代謝物の定量を行いました。

試料前処理を省略した直接分析で、1 分析 6 分サイクルの迅速分析メソッドを構築しました。本法でいずれの成分も少なくとも 30 pg/mL の下限で定量が可能であり、良好な再現性と回収率を示す結果が得られました。

LCMS、Nexera、および Shim-pack Scepter は、株式会社 島津製作所の日本およびその他の国における商標です。その他、本文中に記載されている会社名および製品名は、各社の商標および登録商標です。本文中では「TM」、「®」を明記していません。

初版発行：2020 年 6 月

トリプル四重極型 LC/MS/MS を用いた
水道水中の塩素酸・臭素酸・過塩素酸・
亜塩素酸の同時分析

塩素酸は、浄水処理過程において使用される消毒剤である次亜塩素酸ナトリウム中に含まれる不純物由来あるいは浄水処理過程で生成し、また臭素酸も同様に不純物由来あるいは浄水処理、特にオゾン処理過程において生成することが知られています。

塩素酸および臭素酸は、共にヒトの健康への影響が懸念されることから水質基準項目に設定されており、「水質基準に関する省令の規定に基づき、厚生労働大臣が定める方法（平成 15 年厚生労働省告示第 261 号）」が定められています。

これまで塩素酸は「別表第 13 イオンクロマトグラフによる一斉分析法」の対象成分として示されていましたが、令和 2 年度の改正により「別表第 18 の 2 液体クロマトグラフ-質量分析法」の対象項目である臭素酸に加え、塩素酸も「別表 18 の 2」の対象となり、同時分析が可能となりました。（令和 2 年 3 月厚生労働省告示第 95 号）

今回は、要検討項目である過塩素酸および水質管理目標設定項目である亜塩素酸を加えた 4 成分を「別表 18 の 2」の方法に基づき LCMS™-8060 を用いて一斉分析した例をご紹介します。

H. Niwa, H. Horiike

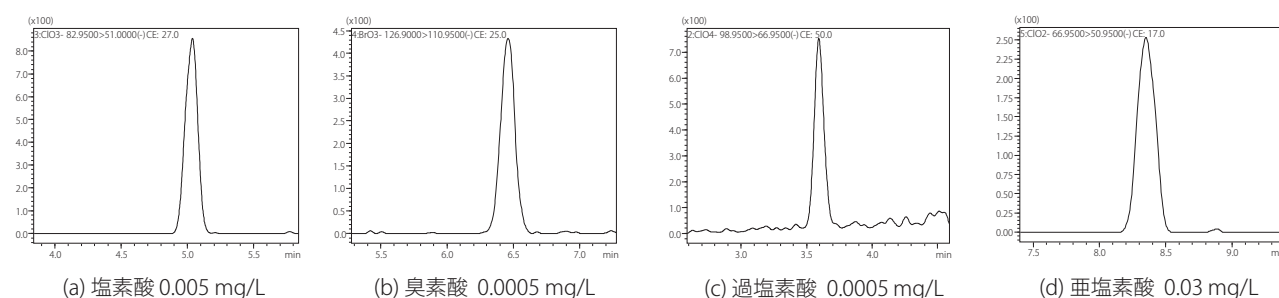


図 1 (a) 塩素酸、(b) 臭素酸、(c) 過塩素酸、(d) 亜塩素酸の各 MRM クロマトグラム

表 1 分析条件

Column	: Acclaim™ Trinity P1 (100 mm × 3.0 mm I.D., 3 μm)		
Mobile phases	: A 200 mmol/L 酢酸アンモニウム含有 0.5 %酢酸水溶液 B アセトニトリル		
Time program	: B.conc 95 % (0 min) → 90 % (3-10 min) → 5 % (10.5-15.5 min) → 95 % (16-22 min)		
Flow rate	: 0.4 mL/min		
Column temperature	: 35 °C		
Injection volume	: 1 μL		
Ionization	: ESI - Negative		
Probe voltage	: -1.0 kV		
DL temperature	: 150 °C		
Block heater temperature	: 400 °C		
Interface temperature	: 400 °C		
Nebulizing gas flow	: 2 L/min		
Drying gas flow	: 5 L/min		
Heating gas flow	: 20 L/min		
MRM transition	Chlorate ion	m/z 82.95 > 51.00 (定量)	82.95 > 66.95 (確認)
	Bromate ion	m/z 126.90 > 110.95 (定量)	128.90 > 113.00 (確認)
	Chlorite ion	m/z 66.95 > 50.95 (定量)	66.95 > 34.95 (確認)
	Perchlorate ion	m/z 98.95 > 66.95 (定量)	98.95 > 82.95 (確認)

■ 塩素酸・臭素酸・過塩素酸・亜塩素酸の
MRMクロマトグラム（混合標準溶液の測定）

図 1 に塩素酸 0.005 mg/L（基準値：0.6 mg/L）、臭素酸 0.0005 mg/L（基準値：0.01 mg/L）、過塩素酸 0.0005 mg/L（目標値：0.025 mg/L）、亜塩素酸 0.03 mg/L（目標値：0.6 mg/L）を含む混合標準溶液を測定して得られた各 MRM クロマトグラムを示しました。これらクロマトグラムから各基準値または目標値の 1/10 以下の濃度においても、十分に検出可能であることが示されました。

分析条件は、表 1 の通りです。

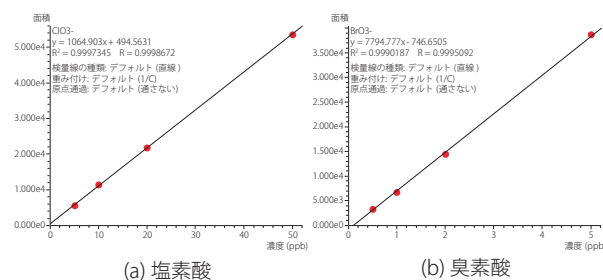


LCMS™-8060

■ 塩素酸・臭素酸・過塩素酸・亜塩素酸の各検量線 直線性 (混合標準溶液の測定)

図2に塩素酸 0.005~0.05 mg/L (4点)、臭素酸 0.0005~0.005 mg/L (4点)、過塩素酸 0.0005~0.005 mg/L (4点)、亜塩素酸 0.03~0.6 mg/L (5点)の各濃度範囲にて、外部標準法による検量線を示しました。

各相関係数 (R) は、塩素酸 $R > 0.999$ 、臭素酸 $R > 0.999$ 、過塩素酸 $R > 0.999$ 、亜塩素酸 $R > 0.999$ が得られました。すべての検量線において、良好な直線性を示しました。



■ 水道水の分析

水道水 (神奈川県) を用いて添加回収試験を行いました。採水した水道水にエチレンジアミンを添加することで脱塩素処理を行った後、塩素酸 10 µg/L、臭素酸 1 µg/L、過塩素酸 1 µg/L、亜塩素酸 60 µg/L になるよう水道水に標準試料を添加した試験溶液を調製しました。図3に水道水のブランクおよび水道水添加試験溶液をそれぞれ測定し、得られた各MRMクロマトグラムを示しました。また、表2にその定量結果、回収率およびピーク面積値再現性 (%RSD) をそれぞれ示しました。

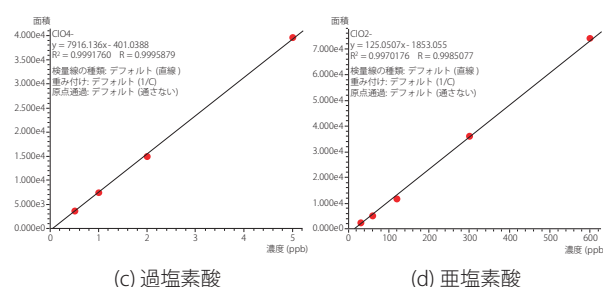


図2 (a) 塩素酸、(b) 臭素酸、(c) 過塩素酸、(d) 亜塩素酸の各検量線

■ まとめ

「別表18の2」による方法によりLCMSを用いることで、水質基準項目である塩素酸、臭素酸および要検討項目、水質管理目標設定項目である過塩素酸、亜塩素酸についても精度良く分析が可能であることがわかりました。

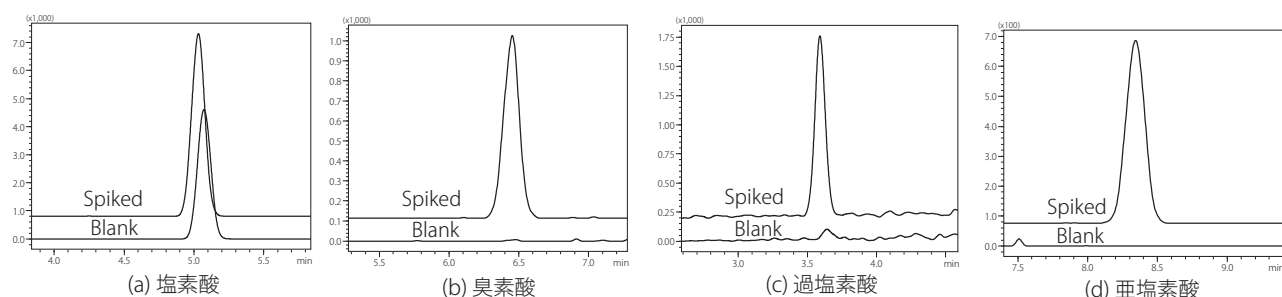


図3 水道水 (ブランク) および水道水添加試料の各MRMクロマトグラム

表2 水道水の添加回収試験結果

成分	水道水添加濃度 (µg/L)	水道水 (ブランク) 定量濃度 (µg/L)	水道水添加試料 定量濃度 (N=5, µg/L)	回収率 (N=5)	%RSD (N=5)
塩素酸	10	29.16	41.19	120 %	2.12
臭素酸	1	0.10	1.06	96 %	6.32
過塩素酸	1	0.10	1.18	108 %	3.77
亜塩素酸	60	N.D.	63.06	105 %	2.85

LCMS は、株式会社 島津製作所の日本およびその他の国における商標です。
ACCLAIM は、Dionex 社の商標です。
その他、本文中に記載されている会社名および製品名は、各社の商標および登録商標です。
本文中では「TM」、「®」を明記していない場合があります。

初版発行：2020年7月

Q-TOF 型質量分析計 LCMS™-9030 を用いた
地表水に含まれる有機フッ素系化合物
(PFAS) のスクリーニング分析

■はじめに

ペルフルオロアルキルおよびポリフルオロアルキル物質 (PFAS) は人工的に作られた有機フッ素化合物であり、環境中の水、土壌、食品、生体中に長期間残存することが知られています。米国環境保護庁 (EPA) は、飲料水に含まれる PFAS を測定するための試験法 537.1 を制定しました¹⁾。この試験法は MRM 法に基づくスクリーニング法であり、最大約 30 成分の PFAS を対象とした分析メソッドです。しかしながら、サンプルには対象外の有機フッ素化合物も含まれているため、既存の分析メソッドで全ての成分を検出することは困難です^{1), 2)}。このため、環境中に含有している PFAS のリスクは過少に評価されている可能性があります。本稿では高分解能、優れた質量安定性を有する Q-TOF 型質量分析計 LCMS-9030 (図 1) を用い、MS/MS で得られたフラグメントパターンや特異的なマスディフレクトを基に、水域に含まれる既知および未知 PFAS 成分のスクリーニング手法を紹介します。



図 1 LCMS™-9030 の外観図

■測定方法

Wellington Laboratories から PFAS 標準物質 34 成分を購入しました。超純水を用いて PFAS の混合標準溶液を調製し、スクリーニングメソッド作成に用いました。地下水および河川水を分析サンプルとし、フィルター濾過した後、窒素ガス吹付により 50 倍濃縮し、分析に供しました。本測定には加熱 ESI を搭載した LCMS-9030 を用いました。LC および MS の分析条件を表 1 に示します。分析カラムは Shim-pack™ GIST C18 (100 mm×2.1 mm I.D., 2.1 μm, P/N: 227-30001-04) を用い、測定時間 45 分のグラジエント分析を行いました。

表 1 測定条件

<HPLC Conditions (Nexera™ X2) >

Column : Shim-pack GIST C18 (100 mm×2.1 mm I.D., 2 μm)
Mobile phases : A) 5mM Ammonium acetate in water
B) Acetonitrile
Flow rate : 0.4 mL/min
Column oven temp. : 40 °C
Injection volume : 10 μL
Gradient program : 10 % (0 – 2 min) → 95 % (35 – 40 min)
(%B) → 10 % (40.1 – 45 min)

<MS Conditions (LCMS-9030) >

Ionization : ESI (Negative mode)
Mode : Data Dependent Acquisition (DDA)
Nebulizing gas flow : 3 L/min
Drying gas flow : 10 L/min
Heating gas flow : 10 L/min
DL temp. : 250 °C
Block heater temp. : 300 °C
Interface temp. : 400 °C

表 2 PFAS の化合物情報、精密質量の理論値および LCMS-9030 から得られた実測値

	化合物名	組成式	CAS No.	保持時間 (分)	精密質量 (理論値)	精密質量 (実測値)	質量精度 (ppm)
1	PFBA	C ₄ HF ₉ O ₂	375-22-4	4.85	212.9792	212.9787	2.2
2	PFPA	C ₅ HF ₉ O ₂	2706-90-3	8.78	262.976	262.9755	1.8
3	PFHxA	C ₆ HF ₁₁ O ₂	307-24-4	11.58	312.9728	312.9725	1.2
4	PFHpA	C ₇ HF ₁₃ O ₂	375-85-9	13.78	362.9696	362.9693	0.8
5	PFOA	C ₈ HF ₁₅ O ₂	335-67-1	15.65	412.9664	412.9662	0.6
6	PFNA	C ₉ HF ₁₇ O ₂	375-95-1	17.32	462.9632	462.9631	0.3
7	PFDA	C ₁₀ HF ₁₉ O ₂	335-76-2	18.90	512.9600	512.9598	0.4
8	PFUdA	C ₁₁ HF ₂₁ O ₂	2058-94-8	20.41	562.9568	562.9571	0.5
9	PFDoA	C ₁₂ HF ₂₃ O ₂	307-55-1	21.88	612.9537	612.9537	0.1
10	PFTeDA	C ₁₃ HF ₂₅ O ₂	72629-94-8	23.32	662.9505	662.9506	0.2
11	PFTeDA	C ₁₄ HF ₂₇ O ₂	376-06-7	24.71	712.9473	712.9471	0.3
12	PFHxDA	C ₁₆ HF ₃₁ O ₂	67905-19-5	27.40	812.9409	812.9409	0.0
13	PFODA	C ₁₈ HF ₃₅ O ₂	16517-11-6	29.87	912.9345	912.9355	1.1
14	PF-3,7-DMOA	C ₁₀ HF ₁₉ O ₂	172155-07-6	17.97	468.9702	468.9704	0.5
15	HPFHpA	C ₈ H ₂ F ₁₂ O ₂	1546-95-8	11.94	344.9790	344.9789	0.3
16	PFBS	C ₄ HF ₉ O ₂ S	29420-49-3	11.63	298.9430	298.9436	2.1
17	PFHxS	C ₆ H ₂ F ₁₃ O ₂ S	82382-12-5	16.26	398.9366	398.9371	1.2
18	PFHpS	C ₇ H ₂ F ₁₅ O ₂ S	21934-50-9	18.07	448.9334	448.9343	1.9
19	LPFOS	C ₈ HF ₁₇ O ₂ S	4021-47-0	19.74	498.9302	498.9308	1.2
20	LPFDS	C ₁₀ HF ₂₁ O ₂ S	2806-15-7	22.82	598.9238	598.9243	0.7
21	H4PFuNA	C ₁₁ HF ₂₁ O ₂	2058-94-8	20.41	562.9568	562.957	0.3
22	FOSA	C ₈ H ₂ F ₁₇ NO ₂ S	754-91-6	21.90	497.9462	497.946	0.5
23	N-MeFOSA	C ₉ H ₄ F ₁₇ NO ₂ S	2355-31-9	18.78	511.9619	511.9608	2.0
24	N-EtFOSA	C ₁₀ H ₆ F ₁₇ NO ₂ S	2991-50-6	19.39	525.9775	525.9774	0.2
25	N-MeEtFOSAA	C ₁₁ H ₈ F ₁₇ NO ₂ S	2355-31-9	18.78	569.9673	569.9674	0.2
26	N-EtFOSAA	C ₁₂ H ₁₀ F ₁₇ NO ₂ S	2991-50-6	19.40	583.9830	583.983	0.0
27	FHEA	C ₈ H ₃ F ₁₃ O ₂	53826-12-3	13.03	376.9853	376.985	0.7
28	FOEA	C ₁₀ H ₅ F ₁₇ O ₂	27854-31-5	16.45	476.9789	476.9783	1.3
29	6:2 FTS	C ₈ H ₄ F ₁₃ NaO ₂ S	27619-94-9	14.89	426.9674	426.9679	1.3
30	8:2 FTS	C ₁₀ H ₄ F ₁₇ NaO ₂ S	27619-96-1	18.13	526.9610	526.9615	1.1
31	HFPO-DA	C ₆ HF ₁₁ O ₃	13252-13-6	12.45	328.9677	328.9672	1.8
32	9Cl-PF3ONS	C ₆ ClF ₁₆ KO ₂ S	73606-19-6 (F-53B)	20.88	530.8950	530.8961	2.1
33	11Cl-PF3OUDS	C ₁₀ ClF ₂₀ KO ₂ S	83329-89-9	23.88	630.8886	630.8896	1.5
34	ADONA	C ₇ H ₂ F ₁₂ O ₄	958445-44-8	14.51	376.9689	376.9689	0.0

■ 結果および考察

1. PFAS 34 成分のスクリーニングメソッドおよびライブラリの構築

PFAS 34 成分の混合標準溶液を用いて、スクリーニングメソッドを構築しました。PFAS 34 成分の混合溶液から得られた TIC を図 2 に示します。ネガティブモードで測定を行い、PF-3,7-DMOA を除く全ての PFAS は[M-H]⁻として検出しました。PF-3,7-DMOA は[M-HCOO]⁻として検出しました。TOF 較正は外部標準法により実施しました。PFAS 34 成分の精密質量の理論値および実測値を表 2 に示します。

理論値および実測値を比較したところ、34 成分の相対質量誤差は 3 ppm 以内でした（ロックマスや内部標準物質を用いた再解析中の TOF 較正は実施していません）。Data-dependent acquisition (DDA) モードで分析を行い、34 成分の MS/MS スペクトルを取得しました。プリカーサイオン、MS/MS スペクトル、保持時間の情報を LabSolutions™上でライブラリに登録しました。

2. 地表水に含まれる PFAS のターゲット分析

地表水から得られた PFOA および PFOS の測定結果(TIC)を図 3 に示します。データ取得は MS スキャンおよび DDA 測定で行いました。サンプルはフィルタリング濾過した後、精製は行わず、50 倍に乾燥濃縮して測定を行いました。溶媒および移動相由来のイオンを除外イオンリストに登録し、DDA 測定を行いました。

予めインハウスライブラリに登録した 34 成分を対象にデータ解析を行いました。登録した PFAS の保持時間、精密質量、MS/MS スペクトルを指標にしたマッチングリストを作成し、ライブラリ検索を行いました。地表水に含まれる PFOA の分析結果を図 4 に示します。PFOA の MS/MS スペクトルの類似度は 92 であり、相対質量誤差は 0.18 ppm でした。

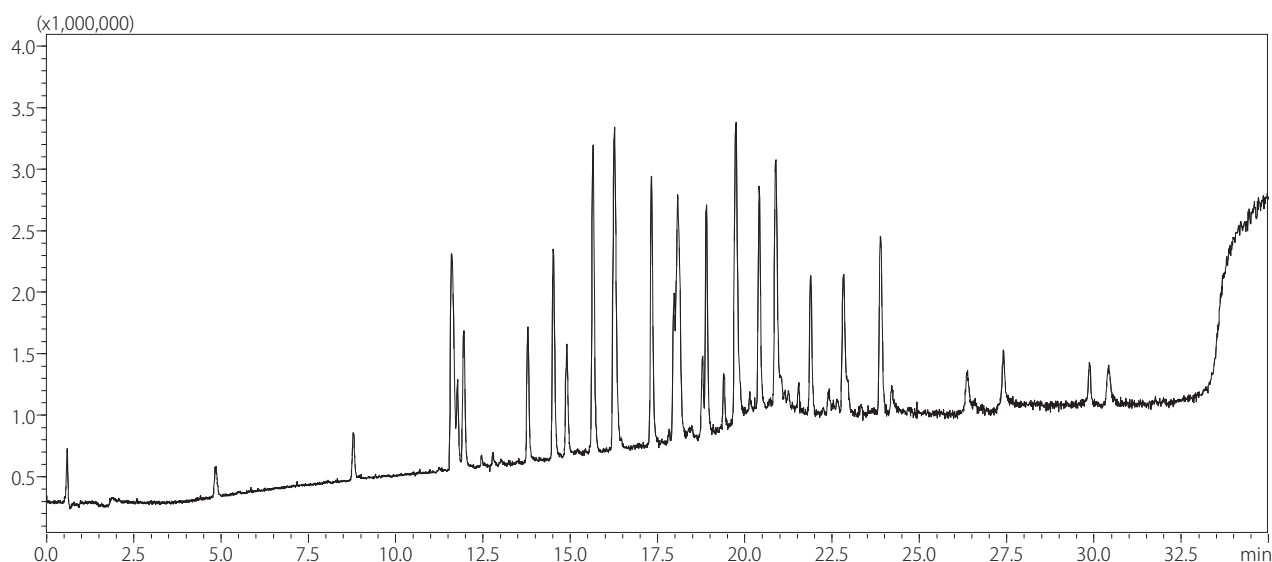


図 2 超純水を用いて 100 ng/mL に希釈した PFAS 34 成分混合溶液の TIC
Peak ID、保持時間、精密質量、相対質量誤差は表 2 参照

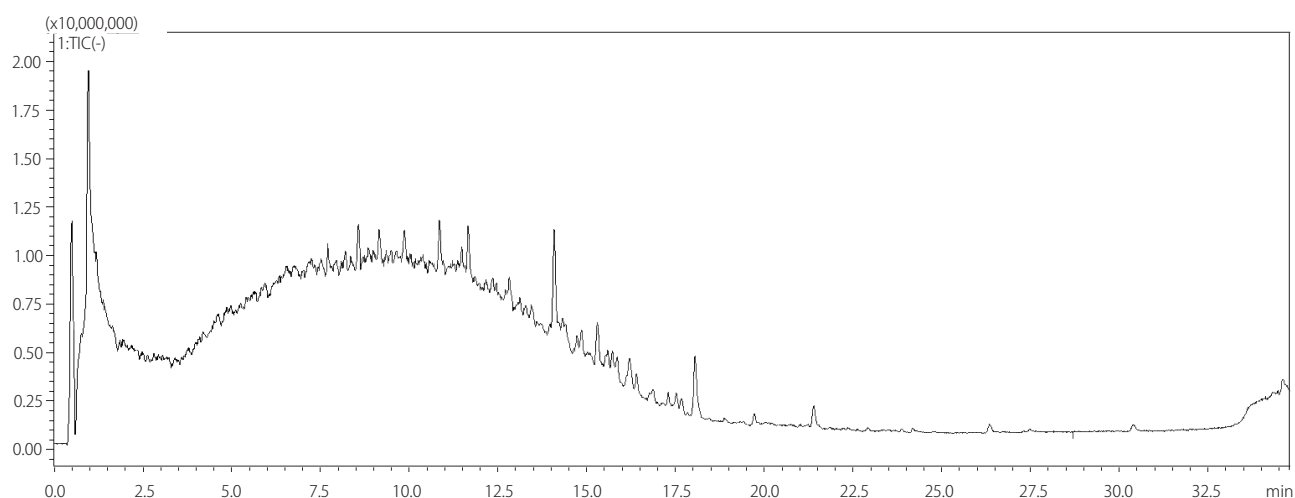


図 3 LCMS-9030 を用いて地表水から得られた TIC

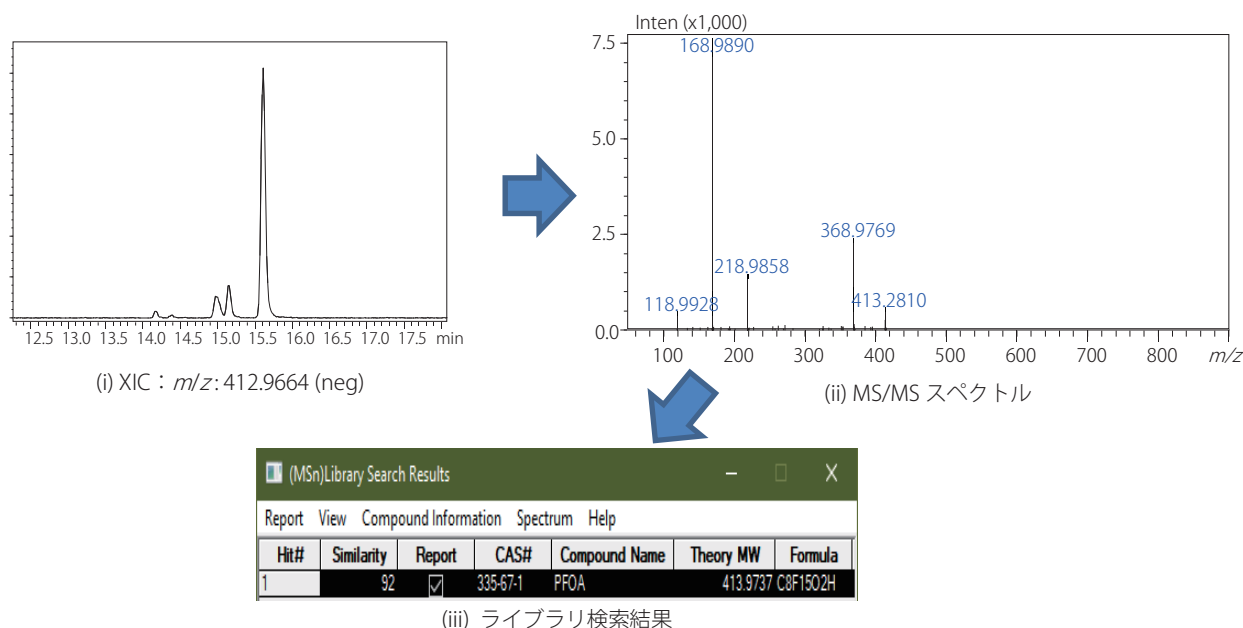


図4 地表水に含まれる PFOA の同定結果
(i) 抽出クロマトグラム (m/z 412.9664) (ii) MS/MS スペクトル (iii) ライブラリ検索結果 (スコア : 92)

3. 未知 PFAS 成分の解析フロー

Q-TOF の DDA 測定では、既知 PFAS 成分を対象としたターゲット分析だけでなく、同時に未知 PFAS 成分の測定および解析が可能です。ここでは未知 PFAS 成分の解析フローを示します。一般的に未知 PFAS 成分の同定を目的としたノンターゲット分析は、化合物の情報が十分でないことから非常に困難です^{2), 3)}。このため、構造情報から詳細に化合物を同定する前に、精密質量情報を用いて PFAS の候補となるピークを探索する、つまり一意的な情報を基に絞り込むワークフローを最初に構築する事が重要です。

Mass defect filtering (MDF) 法 :

とりわけ PFAS に対しては、Mass defect filtering (MDF) 法によるスクリーニングが有効です。MDF 法はモノアイソトピック質量から整数質量を差し引いた値 (マスディフェクト) でフィルタリングを行う手法です。PFAS は異なるフッ化炭素鎖の構造を有する一方で、水素 (1.0078 Da) ではなくフッ素 (18.9984 Da) が C 骨格に結合しているという共通の特徴があります。このため、PFAS から負のマスディフェクトが得られます。この規則性を活用して、未知ピークから PFAS 候補のピークをフィルタリングすることができます。今回測定を実施した 34 成分では、-14.7 mDa (FHEA, (-) m/z 376.9853) から -111.4 mDa (11Cl-PF3OUdS, (-) m/z 630.8886) のマスディフェクトが生じるので、マスディフェクトの範囲を -10 mDa から -120 mDa に設定しました。

特徴的なフラグメントイオン :

PFAS を MS/MS 測定した場合、 $C_2F_5^-$ (m/z 118.9926) や $C_3F_7^-$ (m/z 168.9893) などの特徴的なフラグメントイオンが生成されます。その他の部分構造からも特徴的なフラグメントイオンが検出されます。例えば、スルホ基 ($-SO_3H$) から SO_3^- (m/z 79.9574) のイオンが生成されます。また、高いコリジョンエネルギーで MS/MS 測定を行った場合、 FSO_3^- (m/z 98.9558) が生成されます。これらの非常に特異的なフラグメントイオンを指標として、DDA で取得した MS/MS スペクトルから PFAS の候補となるピークを探索することができます。以上を踏まえて、未知 PFAS 成分のスクリーニングを図 5 のワークフローに沿って実施しました。

4. 地表水に含まれる未知 PFAS の解析

ターゲット分析と同じ地表水をサンプルとして、未知 PFAS 成分のノンターゲット分析を行いました。ノンターゲット分析では上述した MDF 法を用いており、マスディフェクトの閾値を -10 mDa から -120 mDa に設定しました。さらにフラグメントイオン $C_2F_5^-$ および $C_3F_7^-$ の有無を PFAS の判断指標としました。組成推定および構造解析のソフトウェアは LabSolutions Insight Explore™ を使い、後述する構造決定および同定を行いました。未知 PFAS 成分の解析フローを図 6 に示します。その結果、PFAS の候補としてプリカーサイオン m/z 382.94179 を検出しました。このイオンはマスディフェクトが -58.2 mDa であり、MS/MS 測定の結果から $C_2F_5^-$ 、 $C_3F_7^-$ の両イオンを有していることが分かりました。また、組成推定を行った結果、トップヒットした組成式が $C_6F_{13}SO_2H$ であり、相対質量誤差が +0.26 ppm であったことから未知 PFAS 成分の候補としました。MS/MS 測定の結果、 C_6F_{13} および PFAS の末端部を示す FSO_2^- が検出されたため、地表水から得られた未知 PFAS 成分は perfluorohexyl sulfinic acid もしくはその類縁体である可能性が高いという結果が得られました。

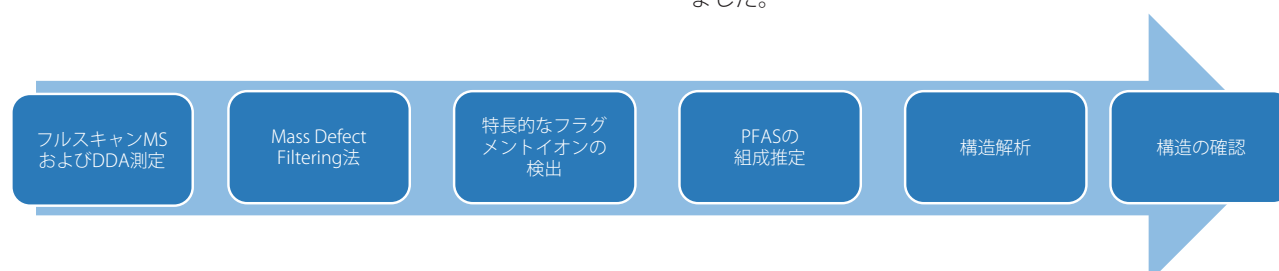
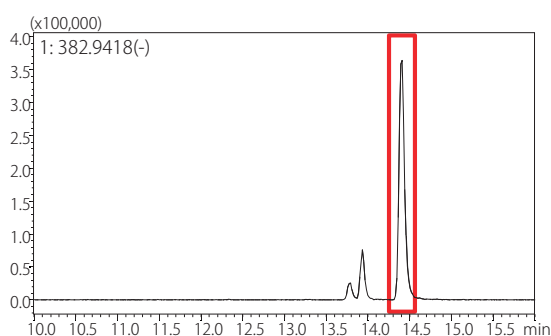
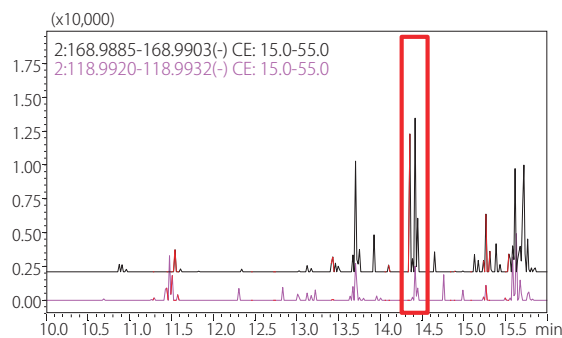


図5 LCMS-9030 を用いた未知 PFAS 成分のスクリーニングおよび解析フロー

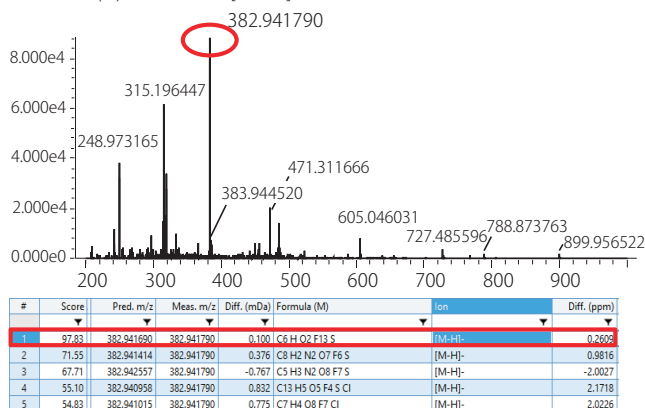


(i) MS スキャン (XIC: m/z 382.9418)
Mass Defect: -58.2 mDa



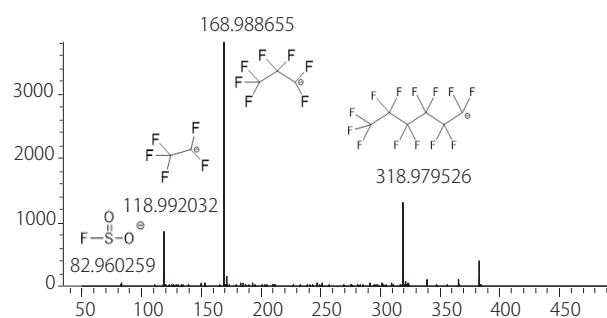
(ii) DDA 測定 (XIC: $C_2F_5^-$, $C_3F_7^-$)

Event#: 1 MS(E-) Ret. Time: [14.409]

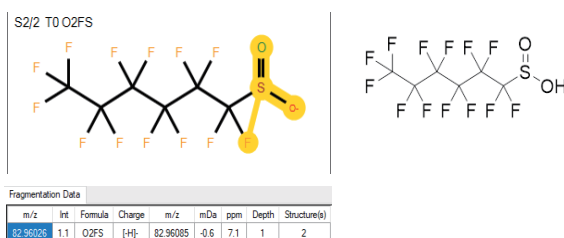


(iii) MS スペクトルと組成推定結果 (スコア: 97)

Event#: 2 MS/MS(E-) Precursor: 382.9418 CE:15.0-55.0 Ret. Time: [14.417]



(iv) MS/MS スペクトルとフラグメントイオンの構造式



(v) perfluoro-hexyl sulfonic acid から得られたフラグメントイオンのアサインメント

図6 未知 PFAS 成分の解析例

(i) MS スキャンから得られた XIC: m/z 382.9417 (ii) DDA 測定から得られた $C_2F_5^-$ および $C_3F_7^-$ の XIC (iii) MS スペクトル組成推定結果
(iv) MS/MS スペクトルとフラグメントイオンの構造式 (v) フラグメントイオンのアサインメント

まとめ

高分解能かつ優れた質量安定性を有する LCMS-9030 を用いて既知および未知 PFAS 成分のスクリーニングメソッドを構築しました。PFAS34 成分の保持時間、MS スペクトル、MS/MS スペクトルを有するインハウスイブラリを用いて既知 PFAS 成分の同定を行いました。MDF 法および PFAS 特有のフラグメントイオンの情報を基に、未知 PFAS 成分の探索及び同定を行いました。今回構築したスクリーニングメソッドを用いて、地表水から PFOA および PFOS を検出すると同時に、PFAS 成分である perfluorohexyl sulfonic acid ($C_6F_{13}SO_2H$) もしくはその類縁体を検出しました。

<参考文献>

- Shoemaker, J. and Dan Tettenhorst. Method 537.1: Determination of Selected Per- and Polyfluorinated Alkyl Substances in Drinking Water by Solid Phase Extraction and Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry (LC/MS/MS). U.S. Environmental Protection Agency, Office of Research and Development, National Center for Environmental Assessment, Washington, DC, 2018.
- EPA Researchers Use Innovative Approach to Find PFAS in the Environment, <https://www.epa.gov/sciencematters/epa-researchers-use-innovative-approach-find-pfas-environment> (Accessed 21 April 2019)
- Y. Liu et al., High-resolution mass spectrometry (HRMS) methods for non target discovery and characterization of poly and per-fluoroalkyl substances (PFASs) in environmental and human samples, Trends in Analytical Chemistry, <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.02.021>

本稿は、SHIMADZU (Asia Pacific) Pte. Ltd より発行された内容 (AD-200A) です。

LCMS、Shim-pack、LabSolutions、および LabSolutions Insight Explore は、株式会社 島津製作所の日本およびその他の国における商標です。その他、本文中に記載されている会社名および製品名は、各社の商標および登録商標です。

初版発行: 2020 年 7 月

トリプル四重極型LC/MS/MSを用いた水道水中の
ペルフルオロオクタンスルホン酸 (PFOS) および
ペルフルオロオクタン酸 (PFOA) の分析

ペルフルオロオクタンスルホン酸 (PFOS) およびペルフルオロオクタン酸 (PFOA) は有機フッ素化合物の一種で、環境中で分解されにくく、体内に蓄積しやすいことが知られています。PFOS は、2009 年に「残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約」附属書 B (制限) に追加掲載され、製造・使用・輸出入が制限されています。また、PFOA は、2019 年に開催されたストックホルム条約第9回締約国会議において、附属書 A (廃絶) に追加され、特定の用途を除き廃絶することが決定されました。

令和2年3月の厚生労働省生活衛生局水道課長通知 (薬生水発0330 第1号～第4号) により、令和2年4月より PFOS および PFOA について、要検討項目から水質管理目標設定項目へ位置づけが変更されるとともに、これら2物質の量の和として 0.00005 mg/L (50 ng/L) が目標値として定められました。

今回は、水質管理目標設定項目の検査方法 (目標 31) に基づき、1000 倍濃縮した水道水を液体クロマトグラフ質量分析計 LCMS™-8050 で分析した結果をご紹介します。

K. Kawakami

■ 前処理

水質管理目標設定項目の検査方法 (目標 31) では、水道水試料の前処理として検水に内部標準物質 ($^{13}\text{C}_8$ -PFOS および $^{13}\text{C}_8$ -PFOA) を 10 ng/L になるよう添加後、陰イオン交換固相カラムを用いた固相抽出を行います。固相カラムからの溶出液を窒素ガスにより濃縮した後、メタノールで定容して LC/MS/MS により分析します。

図1に水道水の前処理フロー図を示しました。

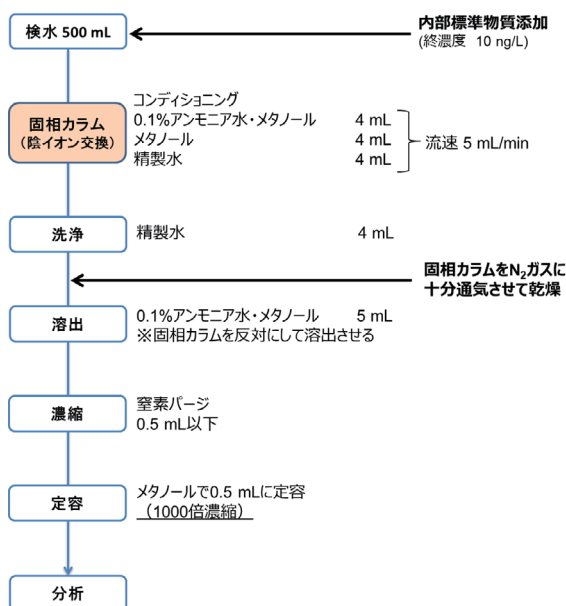


図1 水道水の前処理フロー図

■ PFOSおよびPFOAのMRMクロマトグラム
(混合標準溶液の測定)

図2に PFOS および PFOA 各 1 ng/L、5 ng/L (1000 倍濃縮相当) を含む混合標準溶液を表1の測定条件により測定して得られた各 MRM クロマトグラムを示しました。目標値 (50 ng/L) の 1/10 以下の濃度においても十分に検出が可能であることが確認できました。

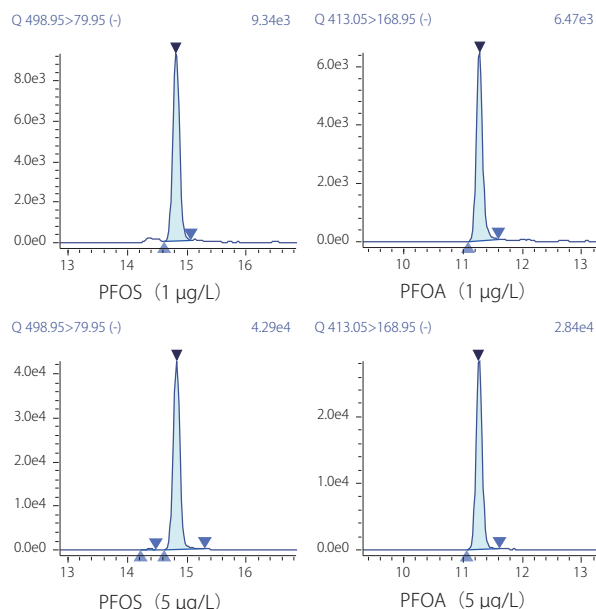


図2 PFOS および PFOA (混合標準溶液) の MRM クロマトグラム

表1 測定条件

Column	: Shim-pack™ GIST C18-AQ HP (150 mm×2.1 mm I.D., 3 µm P/N: 227-30765-04)
Mobile phase A	: 10 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液
Mobile phase B	: アセトニトリル
Time Program	: B conc. 25 % (0-1 min) – 100 % (26-30 min) – 25 % (30.01 – 33.5 min)
Flow rate	: 0.2 mL/min
Column Temp.	: 40 °C
Injection volume	: 5 µL
Probe Voltage	: 1 kV (ESI-Negative)
DL Temp.	: 200 °C
Block Heater Temp.	: 300 °C
Interface Temp.	: 300 °C
Nebulizing Gas Flow	: 3 L/min
Drying Gas Flow	: 5 L/min
Heating Gas Flow	: 15 L/min
MRM Transition	: PFOS m/z 498.95>79.95 (-) PFOA m/z 413.05>168.95 (-) $^{13}\text{C}_8$ -PFOS (内部標準) m/z 506.90>80.00 (-) $^{13}\text{C}_8$ -PFOA (内部標準) m/z 420.90>375.85 (-)
Vial	: 1.0 mL ディスボバイアル (P/N: 228-31600-91)

■ PFOS および PFOA の検量線 (混合標準溶液の測定)

図 3 に PFOS および PFOA 1~20 µg/L (5 点) について各濃度範囲における内部標準法による検量線を示しました。

各寄与率 (R^2) は、PFOS および PFOA ともに $R^2 > 0.999$ となり、各検量線において良好な直線性が確認されました。

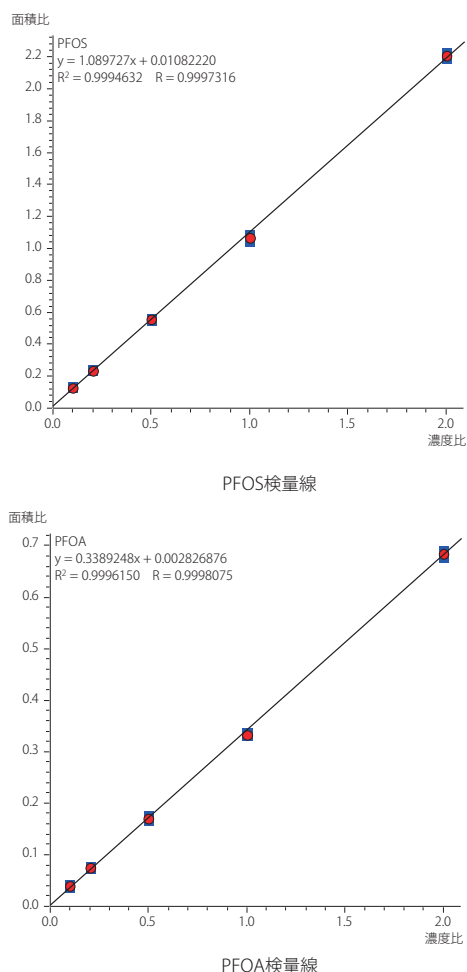


図 3 PFOS および PFOA (混合標準溶液) の検量線

■ 水道水の分析

水道水 (神奈川県) を用いて添加回収試験を行いました。採水した水道水に PFOS および PFOA の濃度が 5 ng/L になるよう添加した水道水添加試料を調製し、図 1 に示したフロー図に従って前処理を行いました。

図 4 に水道水および水道水添加試料をそれぞれ測定し、得られた各 MRM クロマトグラムを示しました。

また、表 2 に定量結果をあわせて示しました。これら分析結果から、PFOS の回収率が 104 %、PFOA の回収率が 79 %、5 回繰り返し再現性 (濃度 %RSD) の値も 5 %以下となることが確認されました。また、水道水測定後のコントロール試料の真度も 80~120 %の範囲内でした。

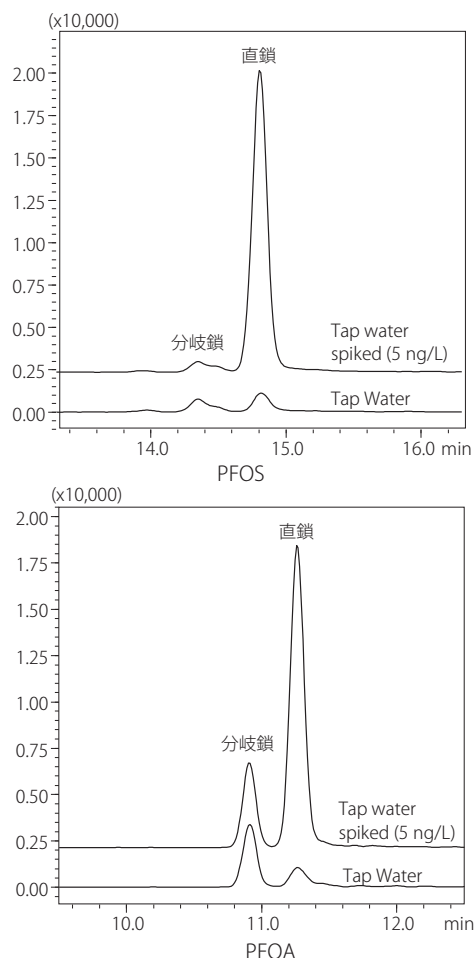


図 4 水道水および水道水添加試料の各 MRM クロマトグラム

■ まとめ

以上の結果から、LCMS-8050 を用いた水質管理目標設定項目 PFOS/PFOA (目標 31) による手法により、水道水質検査方法の妥当性ガイドラインを満たし、精度良く分析可能なことが確認されました。

表 2 水道水添加回収試験結果

成分	水道水 定量濃度 (ng/L)	添加回収率 (N=5)	濃度 %RSD (N=5)	コントロール試料 (真度) (5 µg/L)
PFOS	N.D.	104 %	1.2 %	101 %
PFOA	1.03	79 %	3.4 %	99 %

* 水道水における定量値については、分析時に実施した精製水による空試験結果を考慮しています。

LCMS および Shim-pack は、株式会社 島津製作所の日本およびその他の国における商標です。

初版発行：2020 年 7 月

トリプル四重極型 LC/MS/MS を用いた土壌
および底質中のピレスロイド系農薬の定量

Quantitative Analysis of Pyrethroids in Soil and Sediment Using Triple Quadrupole LC/MS/MS [LCMS-8050]

ピレスロイド系農薬は農業および家庭用殺虫剤として世界中で広く使用されています。合成ピレスロイドは水に溶けにくく、土壌に吸着しやすい性質を持っており、近年、農業地や都市部における土壌や底質への残留が確認されています。ピレスロイドは、ヒトへの害は少ないとされているものの、昆虫や水生生物へは極めて高い毒性を示すことから、生態系への影響が懸念されており、土壌および底質中におけるピレスロイド系農薬を迅速かつ高感度に測定できる手法が必要と

されています。

ピレスロイド系農薬は、極性が低いことから、GC および GC/MS で測定されることが一般的ですが、より幅広い農薬の一斉分析に対応できる測定手段として、本アプリケーションニュースでは、LC/MS/MS を用いたピレスロイド系農薬の一斉分析例をご紹介します。今回の測定では、14 成分のピレスロイド系農薬について、エレクトロイオンスプレーイオン化 (ESI) 法の正・負イオンモードで測定を行いました。

Y. Fujito

■標準溶液の MRM 測定および検量線の作成

MRM Analysis of Standards and Calibration Curves

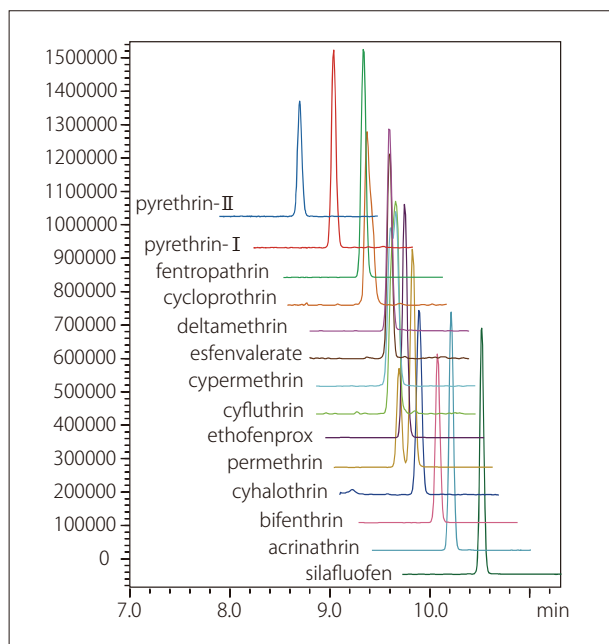


Fig. 1 ピレスロイド系農薬のピーク検出例
MRM Chromatograms of Pyrethroids

Table 1 ピレスロイド系農薬の MRM トランジションおよび検量線情報
MRM Transitions and Calibration Curves of Pyrethroids

化合物名	極性	プリカーサー (m/z)	プロダクト (m/z)	検量線範囲 (μg/L)	r ²
Pyrethrin-I	+	329.20	161.10	0.5 - 500	0.9996
Pyrethrin-II	+	373.20	161.20	0.5 - 500	0.9997
Fenpropathrin	+	367.20	125.20	0.02 - 100	0.9993
Cycloprothrin	+	498.90	181.10	0.5 - 100	0.9991
Deltamethrin	+	522.80	280.90	0.05 - 100	0.9992
Esfenvalerate	+	437.10	167.30	0.5 - 100	0.9990
Cypermethrin	+	433.10	191.10	0.05 - 100	0.9986
Cyfluthrin	+	450.90	191.00	0.5 - 100	0.9976
Ethofenprox	+	394.20	177.30	0.01 - 100	0.9993
trans-Permethrin	+	408.10	183.30	0.02 - 100	0.9996
cis-Permethrin	+	408.10	183.30	0.02 - 100	0.9994
Cyhalothrin	+	467.10	225.10	0.1 - 100	0.9993
Bifenthrin	+	440.00	181.20	0.02 - 100	0.9995
Acrinathrin	-	540.10	372.20	0.1 - 100	0.9994
Silafluofen	+	426.20	287.10	0.01 - 100	0.9999

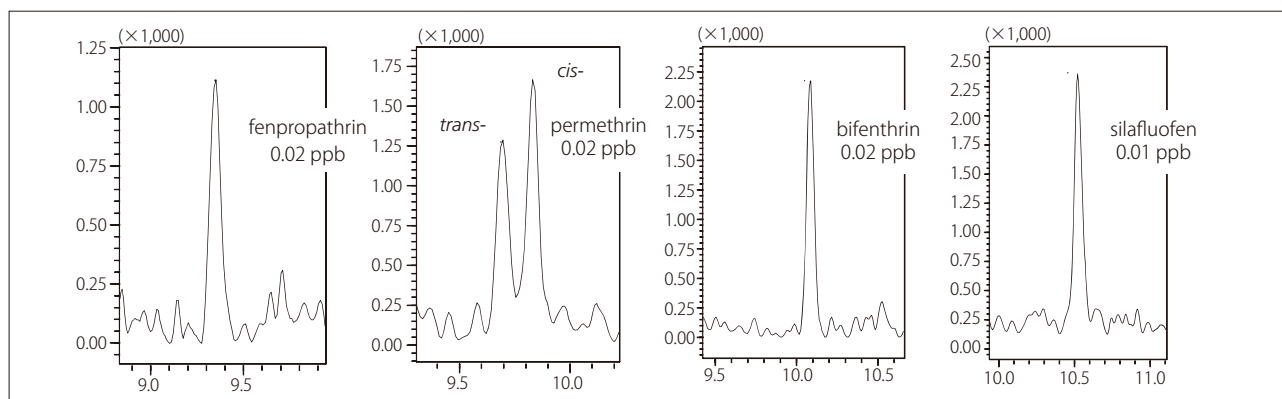


Fig. 2 代表的なピレスロイドの定量下限値付近の MRM クロマトグラム
MRM Chromatograms Around LOQs of Typical Pyrethroids

■ QuEChERS 法による土壌および底質の前処理

Sample Preparation for Soil and Sediment Using QuEChERS Method

土壌の前処理には、通常固相抽出法が用いられますが、操作が非常に煩雑であり、手間と時間がかかります。そこで本アプリケーションでは、食品中の残留農薬分析に用いられている簡易前処理法である QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe) 法を応用し、土壌および底質サンプルの前処理を行いました。Fig. 3 に、土壌および底質の前処理プロトコルを示します。

1 サンプルあたり、アセトニトリル抽出とクリーンアップ工程を合わせて、約 15 分で操作を完了することができます。

■ 実サンプルにおける回収率

Recoveries from Real world Samples

土壌および底質について、QuEChERS 法による前処理の前または後に 10 ppb になるように農薬混合標準溶液をそれぞれ添加し、回収試験を行いました。結果を Fig. 4 に示します。土壌・底質いずれのサンプルにおいても、70-120 % の良好な回収率を示しました。

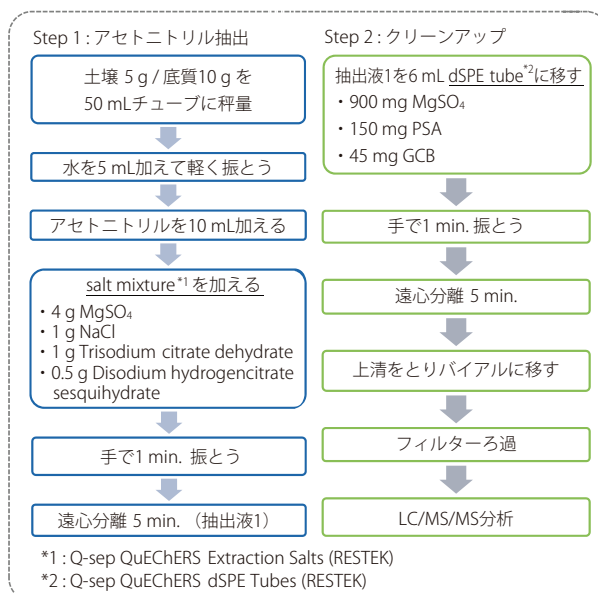


Fig. 3 QuEChERS 法による前処理プロトコル
Procedure of Sample Preparation Using QuEChERS Method

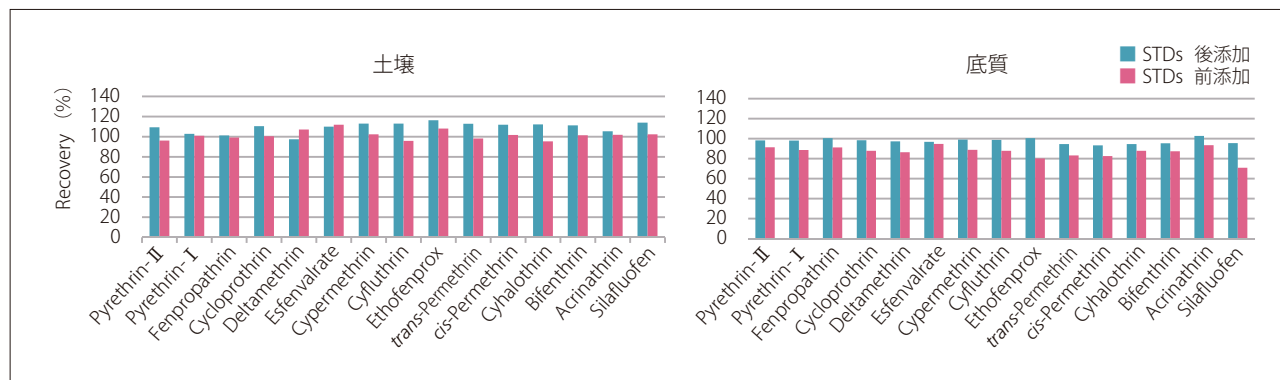


Fig. 4 土壌および底質中のピレスロイド系農薬の回収率
Recoveries from Soil and Sediment

Table 2 分析条件
Analytical Conditions

Column	: Phenomenex Kinetex 2.6 μm PFP 100Å (100 mm × 2.1 mm I.D.)
Mobile Phase A	: 5 mM Ammonium Acetate - Water
Mobile Phase B	: Methanol
Time Program	: 40 %B (0 min) → 100 %B (10 - 12 min) → 40 %B (12.01 - 15 min)
Flow Rate	: 0.2 mL/min.
Injection Volume	: 1 μL
Oven Temperature	: 40 °C
Ionization Mode	: ESI (Positive / Negative)
Probe Voltage	: +4.0 kV / -3.0 kV
Neburizing Gas Flow	: 3.0 L/min.
Drying Gas Flow	: 15.0 L/min.
Heating Gas Flow	: 15.0 L/min.
Interface Temperature	: 100 °C
DL Temperature	: 100 °C
Block Heater Temperature	: 400 °C

Nexera UC SFE 前処理システムの 土壌中残留農薬抽出への応用

Application of Nexera UC SFE System to Extraction of Pesticide Residue in Soils

環境土壌における農薬の残留性評価は、農薬の安全性評価の重要な項目であり、土壌中の農薬分析は農薬の初期評価や農薬登録において非常に重要です。土壌中の農薬を分析する際、多くの場合、液・液抽出法によって農薬の抽出を行いますが、抽出に多くの時間や器具、試薬が必要であり、金属イオン等のイオン性物質の混入による分析機器の汚染や、抽出過程において生じる酸化や発熱反応等による分析対象物の分解等が問題になる場合もあります。

超臨界流体二酸化炭素を抽出溶媒として使用する超臨界流体抽出（Supercritical Fluid Extraction: SFE）は、気体並みの低粘性と高拡散性、流体並みの高溶解性で抽出効率が良いため、短時間での抽出が可能であり、また従来の有機溶媒による抽出に比べ、使用する有機溶媒量が少なく、環境に優しい抽出法です。

ここでは、Nexera UC SFE 前処理システムを土壌中の残留農薬抽出に応用しました事例をご紹介します。

T. Hattori

■オフライン SFE システム

Off-line SFE System

Fig. 1 に Nexera UC SFE 前処理システムの動作原理を示します。サンプルを充てんした抽出容器を SFE ユニットにセットし、容器が 40 °C に達するまで温調します。（Fig. 1A）抽出容器内を超臨界流体二酸化炭素で満たした後は、通液は行わず、静的に目的成分を抽出します。（Fig. 1B）静的抽出後、抽出容器内を超臨界流体二酸化炭素で通液しながら動的に抽出します。（Fig. 1C）抽出物をトラップカラムによってトラップした後、目的成分を含む溶出液をフラクションコレクターにて回収します。（Fig. 1D）

■サンプル調製

Sample Preparation

土壌中の残留農薬分析の前処理では、多くの場合、液・液抽出が用いられています。しかしながら、抽出時間や必要な器具の制限があるため、スループットが低く、1 日に処理できるサンプル数が限られます。また、抽出する際、有機溶媒を使用する必要があり、環境・コストの観点からも、液・液抽出に代わる抽出法が求められます。

一方で、本システムでは、Fig. 2 に示しましたように土壌 1 g と脱水剤 *1 g を混ぜ合わせ、抽出容器に詰める工程のみです。そのため、分析における生産性が向上し、環境負荷を低減するだけでなく、前処理工程における人為的ミスの回避にもつながります。また、専用のラックチェンジャーを使用することで、最大 48 検体の連続抽出が可能です。

* “Miyazaki Hydro-Protect” 特許第 3645552 号

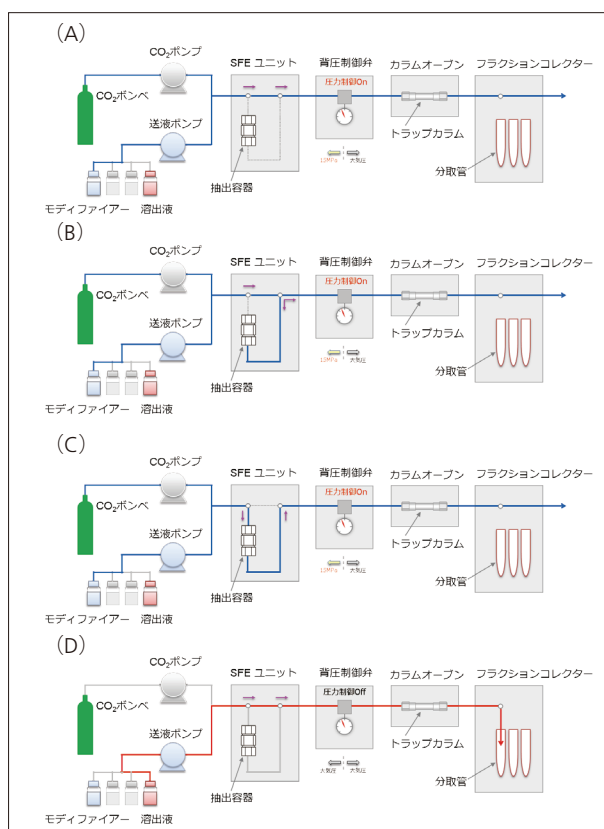


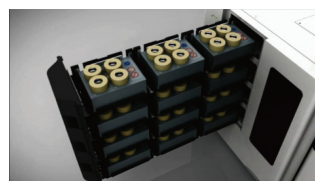
Fig. 1 SFE 抽出の流れ
Flow of SFE Extraction



土壌と脱水剤を混合



抽出容器に充填



ラックチェンジャー

Fig. 2 サンプル調製
Sample Preparation

■ 土壌中残留農薬の抽出・分析

Extraction and Analysis of Pesticide Residue in Soils

土壌に農薬 8 成分を試料中濃度が 200 ng/g となるように添加し、Table 1 の条件で SFE を実施しました。得られた抽出液を、全量が 2 mL となるように溶出液でメスアップし、Table 1 の条件で LC-MS/MS により分析しました。Table 2 に各農薬 8 成分の再現性および回収率を示します。回収率は、農薬を添加した土壌からの抽出液と農薬を添加していない土壌からの抽出液に農薬を後添加した抽出液を分析した際のピーク面積から求めました。本システムは、1 試料あたり約 30 分で抽出可能であり、従来の液・液抽出と比較し、前処理の簡便性・迅速性において優れています。また、使用する有機溶媒量も削減でき、環境・コストの観点からも優れた方法です。

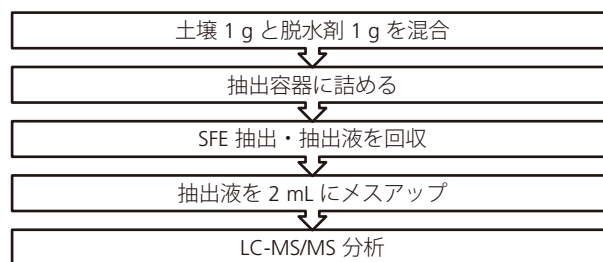


Fig. 3 前処理から分析までの流れ
Flow of from the Preparation to Analysis

Table 1 抽出・分析条件
Extraction and Analytical Conditions

[SFE] Nexera UC SFE System		[LC] Nexera X2 System	
Solvent	: A) Supercritical fluid of CO ₂ B) Methanol	Column	: Shim-pack UC-RP (150 mm L. × 2.1 mm I.D., 3 μm)
Flow Rate	: 5 mL/min	Mobile Phase	: A) 10 mM Ammonium formate B) 10 mM Ammonium formate in methanol
Extraction	: 4 min (Static mode → Dynamic mode)	Time Program	: B.Conc. 0 % (0 min) → 100 % (14-17 min) → 0 % (17.1-20 min)
Extraction	: 40 °C	Flow Rate	: 0.4 mL/min
Vessel Temp.		Column Temp.	: 40 °C
BPR Pressure	: 15 MPa	Injection Volume	: 3 μL
Trap Column	: Shim-pack VP-ODS (50 mm L. × 4.6 mm I.D., 5 μm)		
Column	: 40 °C		
Oven Temp.		[MS] LCMS-8060 (MRM mode)	
Elution Solvent	: Acetone/Hexane = 50/50 (2 mL/min, 2 min)	Ionization	: ESI (positive or negative)
		DL Temp.	: 200 °C
		Block Heater Temp.	: 400 °C
		Interface Temp.	: 300 °C
		Nebulizing Gas Flow	: 2 L/min
		Drying Gas Flow	: 10 L/min
		Heating Gas Flow	: 10 L/min

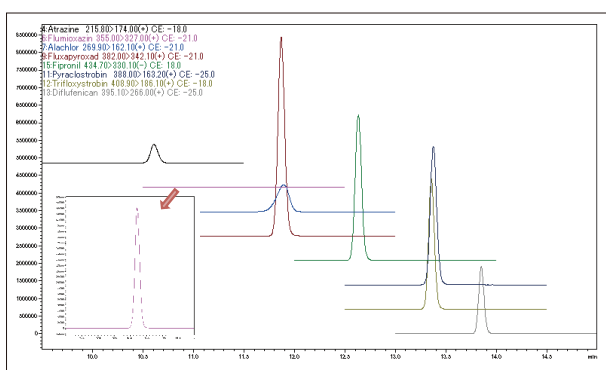


Fig. 4 農薬添加土壌からの抽出液の MRM クロマトグラム
MRM Chromatogram of a Extraction of Soil Spiked Pesticides

Table 2 再現性および回収率
Repeatability and Recovery

Compounds	Repeatability (%RSD, n=6)	Recovery (%)
Alachlor	1.9	87.0
Atrazine	1.3	75.8
Diflufenican	1.2	86.2
Fipronil	1.5	80.6
Flumioxazin	3.8	70.1
Fluxapyroxad	2.2	72.9
Pyraclostrobin	1.8	73.3
Trifloxystrobin	1.5	87.7

アルキルフェノールエトキシレート
(APEO) およびアルキルフェノール (AP)
のLC/MS/MS測定

近年、食の安全や環境の問題が多く取り上げられる中、生活に必要な不可欠な繊維製品の安全性にも注目が集まっています。特に EU を中心に世界各国で繊維製品中における有害物質の規制や検討が行われています。また、OEKO-TEX®STANDARD 100 という繊維を対象とした世界統一の残留基準の独立検査・認証システムの採用や各メーカーでの自主規制の実施など、繊維製品中の有害物質に対する規制は厳しくなっています。

それら有害物質の一つにアルキルフェノールエトキシレート (APEO) があります。これは界面活性剤として使われる化学物質の一種であり、その大半をノニルフェノールエトキシレート (NPEO) がしめています。これらが分解して生じるノニルフェノール (NP) は内分泌攪乱物質として知られており生物への影響が危惧されています。特に NPEO は REACH 規制においてその使用が制限されています。

「LC/MS/MS メソッドパッケージ繊維製品中有害物質」では上記のような有害物質を検出する数種類の分析メソッドを提供しています。ここでは、それらのメソッドを使用し NPEO とオクチルフェノールエトキシレート (OPEO) の測定、NP とオクチルフェノール (OP) の測定を行った結果についてご紹介します。

T. Tanigawa, N. Asano, Lee, Jun Xiang,
Chew, Yin Ling, Xing, Jie, Zhan, Zhaoqi

■ APEO の測定方法

上記メソッドパッケージに含まれている分析メソッドにて測定を実施しました。図 1 にそれぞれの化合物の構造を示しました。それぞれノニルフェノール基もしくはオクチルフェノール基がポリオキシエチレン鎖と結合した構造をとります。そのため、表 1 に示すような重合体を検出することになります。定量はそれぞれを合算することで実施します。また、これらのブリカーサイオンにはアンモニウムイオン付加体 ($[M+NH_4]^+$) が選択されます。

表 2 に測定条件を示しました。HPLC 条件は ISO-18254 に示されている条件に則っています。一方で MS 条件は弊社トリプル四重極型質量分析計に合わせて最適化した条件になっています。

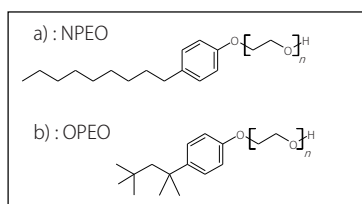


図 1 各化合物の構造

表 1 MRM transition

compounds	n	Molecular formula	Precursor ion (m/z)	Product ion (m/z)
NPEO	3	C15H24O(C2H4O)3	370.3	227.10
	4	C15H24O(C2H4O)4	414.3	271.15
	5	C15H24O(C2H4O)5	458.3	441.35
	6	C15H24O(C2H4O)6	502.4	485.30
	7	C15H24O(C2H4O)7	546.4	529.35
	8	C15H24O(C2H4O)8	590.4	573.35
	9	C15H24O(C2H4O)9	634.5	133.10
	10	C15H24O(C2H4O)10	678.5	133.00
	11	C15H24O(C2H4O)11	722.5	133.05
	12	C15H24O(C2H4O)12	766.5	133.00
	13	C15H24O(C2H4O)13	810.6	133.05
	14	C15H24O(C2H4O)14	854.6	133.00
	15	C15H24O(C2H4O)15	898.6	133.05
	16	C15H24O(C2H4O)16	942.6	132.80
	17	C15H24O(C2H4O)17	986.7	89.00
OPEO	3	C14H22O(C2H4O)3	356.3	226.70
	4	C14H22O(C2H4O)4	400.3	271.10
	5	C14H22O(C2H4O)5	444.3	427.30
	6	C14H22O(C2H4O)6	488.4	471.30
	7	C14H22O(C2H4O)7	532.4	515.40
	8	C14H22O(C2H4O)8	576.4	559.30
	9	C14H22O(C2H4O)9	620.4	133.05
	10	C14H22O(C2H4O)10	664.5	133.10
	11	C14H22O(C2H4O)11	708.5	133.05
	12	C14H22O(C2H4O)12	752.5	133.00
	13	C14H22O(C2H4O)13	796.5	133.05
	14	C14H22O(C2H4O)14	840.6	133.05
	15	C14H22O(C2H4O)15	884.6	89.05
	16	C14H22O(C2H4O)16	928.6	132.95

表 2 測定条件

LC conditions	
Column	: Shim-pack™ FC ODS (75 mmL × 2.0 mm I.D., 3 μm)
Mobile phase A	: 10 mM Ammonium Acetate – water (pH 3.6)
Mobile phase B	: Acetonitrile
Time program	: 70 %B (0.0 mins to 1.0 mins) → 95 %B (1.01 min to 5.00 min) → 70 %B (5.01 min to 7.00 min)
Flow rate	: 0.25 mL/min
Column temp.	: 40 °C
Injection volume	: 5 μL
MS conditions (LCMS™-8045)	
Ionization	: ESI (Positive)
Nebulizing gas flow	: 2.0 L/min
Drying gas flow	: 10.0 L/min
Heating gas flow	: 10.0 L/min
Interface temperature	: 300 °C
DL Temperature	: 250 °C
Block Temperature	: 400 °C

■ APEO の測定結果

図2に NPEO (n=3~16)、OPEO (n=3~15)、それぞれの MRM クロマトグラムを示しました。また、図3に検量線結果を示しました。ここに示されているように良好な直線性が得られました。

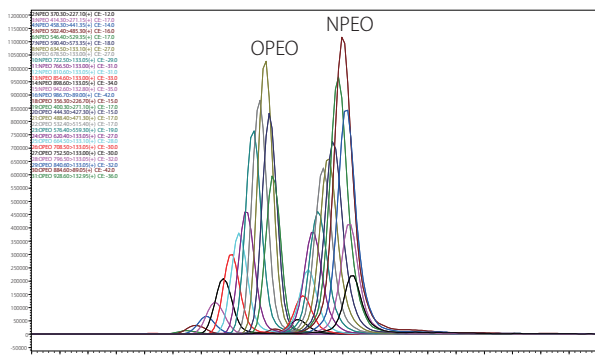


図2 標準溶液の MRM クロマトグラム (50 ng/mL)

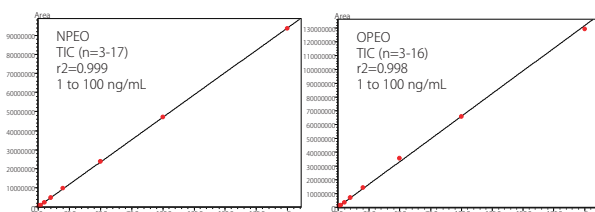


図3 検量線結果

■ AP の測定方法

アルキルフェノール (AP) は、前述の APEO の分析条件にて一斉分析を実施した場合、感度が著しく減少する傾向があるため、測定条件を別途設定し、測定を行う必要があります。表3に MRM トランジション情報を示します。これらのターゲットイオンには脱プロトン化分子 ([M-H]⁻) が選択されます。また、表4に測定条件を示します。APEO の LC 条件と比較すると移動相 A のみを変更しますが、分析カラムを交換する必要がないため、容易に一連の測定を実施することが可能です。

表3 MRM transition

Name	Abbreviation	Molecular formula	Precursor ion (m/z)	Product ion (m/z)
Nonylphenol	NP	C ₁₅ H ₂₄ O	219.2	133.10
4-n-Nonylphenol	4-n-NP	C ₁₅ H ₂₄ O	219.2	105.95
4-n-Octylphenol	4-n-OP	C ₁₄ H ₂₂ O	205.2	106.00
4-tert-Octylphenol	4-t-OP	C ₁₄ H ₂₂ O	205.2	133.05

表4 測定条件

LC conditions	
Column	: Shim-pack FC ODS (75 mmL × 2.0 mm I.D., 3 μm)
Mobile phase A	: Water
Mobile phase B	: Acetonitrile
Time program	: 50 %B (0.0 mins to 0.50 mins) → 95 %B (7.00 min to 9.00 min) → 50 %B (9.01 min to 11.00 min)
Flow rate	: 0.4 mL / min
Column temp.	: 40 °C
Injection volume	: 10 μL

MS conditions (LCMS-8045)

Ionization	: ESI (Positive)
Nebulizing gas flow	: 2.0 L/min
Drying gas flow	: 10.0 L/min
Heating gas flow	: 10.0 L/min
Interface temperature	: 300 °C
DL Temperature	: 250 °C
Block Temperature	: 400 °C

■ AP の測定結果

図4にそれぞれの MRM クロマトグラムを示しました。また、図5に検量線結果を示しました。ここに示されているように良好な直線性が得られました。

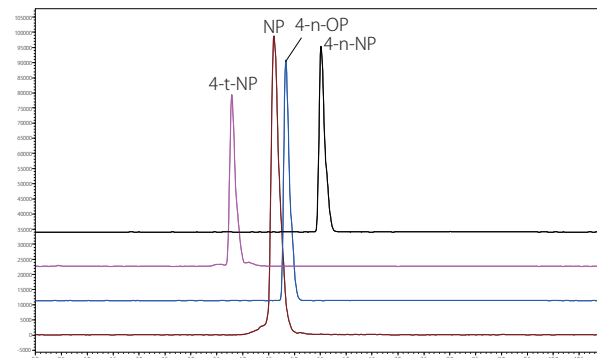


図4 標準溶液の MRM クロマトグラム (20 ng/mL)

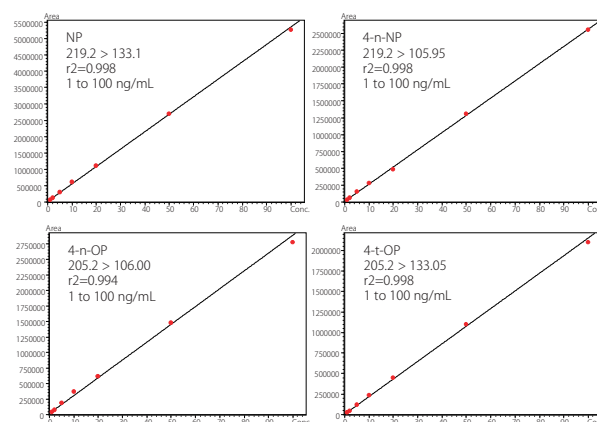


図5 検量線結果

■ まとめ

2種類の APEO と 4種類の AP について LCMS-8045 を用いて感度良く検量線を作成することが確認できました。これらの対象物質だけでなく「LC/MS/MS メソッドパッケージ繊維製品中有害物質」では繊維製品中の様々な有害物質を検出するために数種類の分析メソッドを提供しています。

参考文献

J. X. Lee, J. Xing, S. H. Chia and Z. Zhan, ASMS 2018, Poster Session WP 779.

Shim-pack および LCMS は、株式会社 島津製作所の日本及びその他の国における商標です。

OEKO-TEX は、ÖTI-Institut für Ökologie, Technik und Innovation GmbH の登録商標です。

なお、本文中には TM、®マークを明記していない場合があります。

サンプルバイアルへのイオンペア試薬添加による食品中グリホサート・グルホシネート・AMPA の新しい定量分析法



■はじめに

グリホサートとグルホシネートは除草剤として穀物や野菜作物に広く使用されている農薬です。グリホサートは、植物の機能、特に光合成に不可欠なアミノ酸前駆体の生合成系を阻害します。

2015年に世界保健機構（WHO）は、グリホサートを人に対して発がん性の疑いのある物質に分類すると報告しました^{*1}。

グリホサート、グルホシネートおよびグリホサートの代謝物である AMPA は、いずれも高極性の化合物であるため、環境中や食品中でのモニタリングは容易ではありません。現在 FMOC のような誘導体化法による分析も行われていますが、誘導体化の工程が煩雑です。そのため誘導体化せずに、陽イオン交換や親水性相互作用クロマトグラフィー（HILIC）、多孔性グラファイトカーボン、ミックスモードのカラムを用いて、食品中のグリホサートや高極性農薬を LC/MS/MS で直接分析する方法も多く報告されています。しかし、いずれの方法にも課題が残されています^{*2}。

本報では、サンプルバイアルへのイオンペア試薬添加により、逆相条件での分離と定量を可能にする新しい分析法について検証を行いました。

従来のイオンペア法では、移動相に高濃度のイオンペア試薬を添加するため、イオン化競合や LC/MS/MS システムの汚染による感度低下が見られたり、装置メンテナンス頻度が増えることがあります。

今回紹介する新しい分析方法では、イオンペア試薬は使用しますが、試料バイアルにのみ添加するため、イオンペア試薬の負荷量は少量に抑えられます。イオンペア試薬を効果的に利用し、逆相条件でグリホサート、グルホシネート、AMPA を直接分析した例をご紹介します。

D. Toinon

*1 http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/Specs/Glyphosate_2016_02_10.pdf

*2 [https://www.eurl-pesticides.eu/userfiles/file/EurlSRM/meth_QuPPE_PO_V11\(1\).pdf](https://www.eurl-pesticides.eu/userfiles/file/EurlSRM/meth_QuPPE_PO_V11(1).pdf)

■ 方法

食品中のグリホサート、グルホシネート、AMPA をバイアルにイオンペア試薬を添加して分析しました。

この方法により逆相条件で良好な保持、分離および感度を得ることができました。

今回は、これらの成分が、果実で 50 µg/kg 以下、他のマトリクス（小麦、米、大麦）では 100 µg/kg 以下での定量が可能であるか評価を行いました。

測定機器は、島津製作所製 UHPLC Nexera™ X2 とトリプル四重極型質量分析計 LCMS™-8060 を使用しました。多重反応モニタリング (MRM) を用いたネガティブモードで測定し、HPLC および質量分析計の分析条件は表 1 に示しました。

表 1 分析条件

HPLC 条件	
Column	: Shim-pack Scepter™ Phenyl-120 (100 mm × 2.1 mm I.D., 3 µm)
Mobile phase A	: Water
Mobile phase B	: Acetonitrile
Flow rate	: 0.4 mL/min
Column temp.	: 50 °C
Injection volume	: 5 µL
Gradient (min)	: 0 %B (0.0-0.2 min) - 100 %B (3.1-4.0 min) - 0 %B (4.1-7.0 min)
MS 条件	
System	: LCMS-8060
Interface	: Electrospray (ESI)
Neb gas	: 3 L/min
Drying gas	: 5 L/min
Heating gas	: 15 L/min
Desolvation line	: 300 °C
Heat block	: 500 °C
Interface	: 350 °C
CID	: 325 kPa
Interface Voltage	: -5 kV
MRM transition	: Glyphosate 167.9>62.9 167.9>78.9 AMPA 110.0>62.9 110.0>78.8 Glufosinate 179.9>63.0 179.9>85.0

試料の前処理

分析試料には、小麦粉、米、大麦、みかんの 4 種の食品を用いました。これらの試料は、図 1 に示した前処理を行いました。メタノール抽出ののちにイオンペア試薬で希釈しました。米と小麦粉、大麦には 100 µg/kg、みかんには 50 µg/kg となるよう標準溶液を添加して分析試料としました。各試料で標準溶液添加で 3 回、非添加を 1 回抽出しました。



図 1 試料前処理

検量線作成

検量線作成には、市販のグリホサートとグルホシネートと AMPA の混合標準溶液と Diamylammonium acetate (DAAA) 溶液を使用しました。

グリホサートを含む 20 µg/mL の混合標準溶液は、富士フイルム和光純薬製（大阪、日本）、DAAA 溶液は東京化成工業社製（東京、日本）の 0.5 mol/L 水溶液を使用しました。DAAA 溶液は、アセトニトリルで 10 倍希釈して、最終濃度 50 mmol/L に調製しました。

混合標準溶液を 1000、100、10 ng/mL 水溶液になるように調製したのち、メタノールで希釈して、0.4、1、2、4、10、20、100、200 ng/mL になるように調製しました。これらの標準溶液は、最終希釈溶液に 50 mmol/L DAAA 溶液を用いて二倍希釈して調製しました。

結果と考察

検量線データ

標準溶液の分析により得られた MRM クロマトグラムを図 2 に示しました。バイアルにイオンペア試薬を添加することで、フェニルカラムを用いた逆相条件で各成分が良好に分離しています。図 3 に検量線を示しました。いずれの成分でも相関係数が 0.99 以上、検量点の正確さは 85 % から 115 % で良好な直線性が得られました。

定量限界

標準溶液の分析結果より、定量下限 (LOQ、S/N=10) は、グルホシネート 0.1 ng/mL、AMPA 0.15 ng/mL、グリホサート 0.2 ng/mL でした。

標準添加試料の MRM クロマトグラムを図 4 に示しました。マトリクスの影響を受けることなく、ピークが検出されます (米、小麦粉、大麦は 100 µg/kg、みかんは 50 µg/kg 添加)。標準添加試料の分析結果から、定量下限値は、米、小麦粉、大麦では 100 µg/kg、みかんでは 50 µg/kg 以下と考えられます。

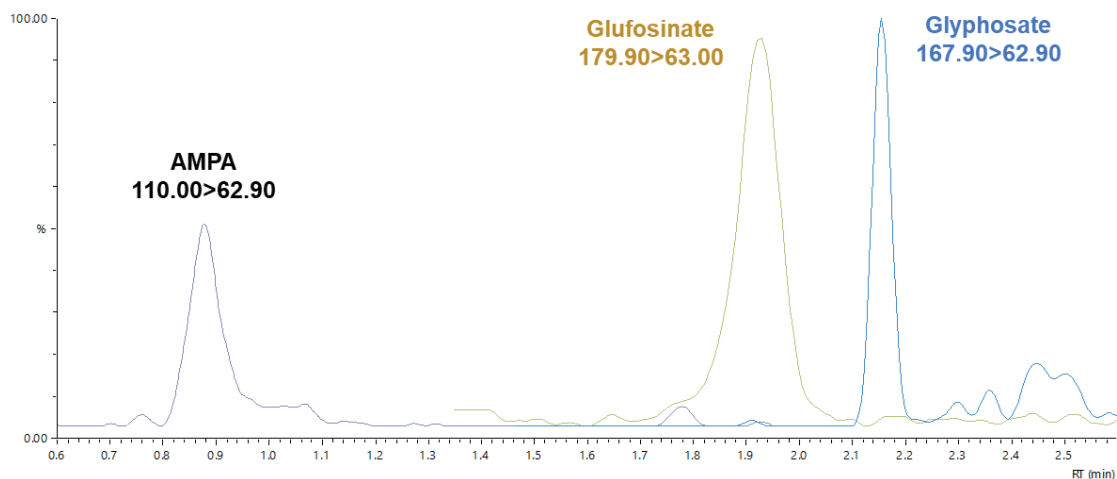


図 2 グリホサート、AMPA、グルホシネートの MRM クロマトグラム (0.40 ng/mL 標準溶液)

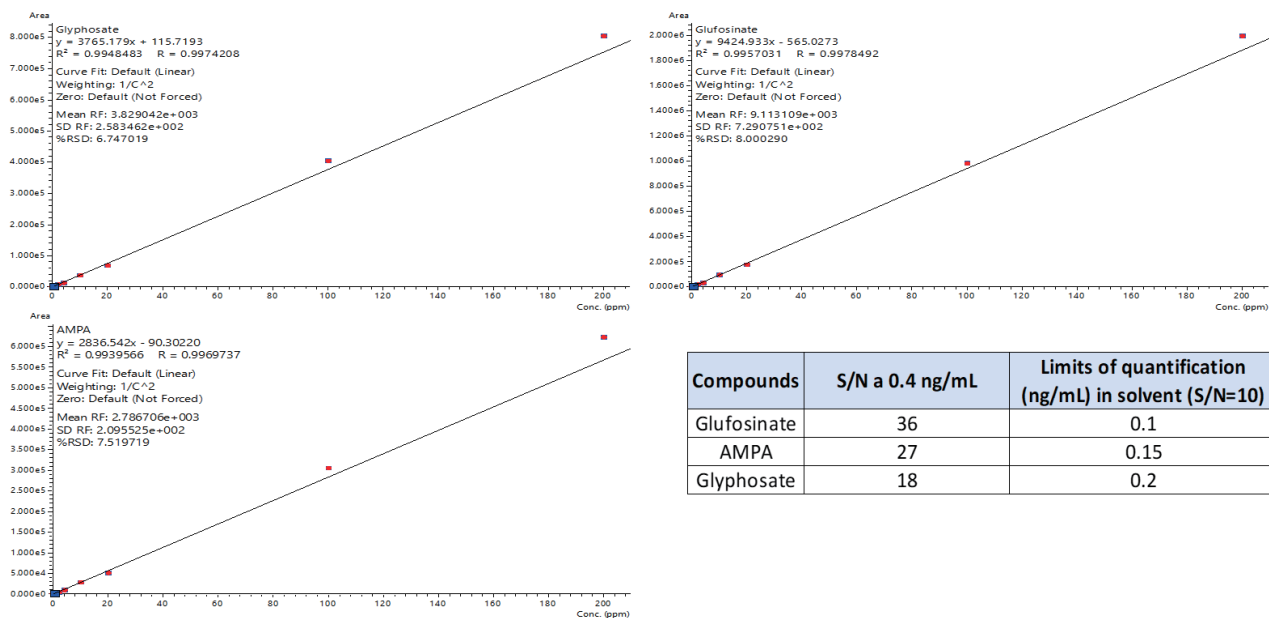


図 3 検量線と各成分の定量下限値

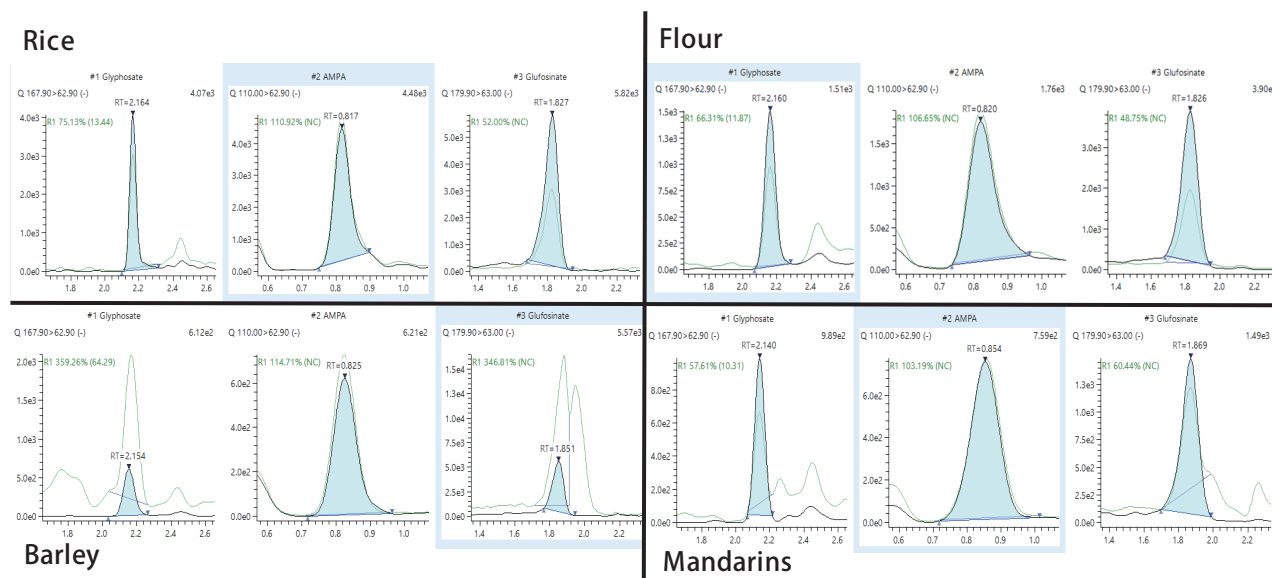


図4 標準溶液添加によるMRMクロマトグラム：米、小麦粉、大麦 100 µg/kg、みかん 50 µg/kg

回収率

回収率を評価するために、抽出前と抽出後の試料に標準溶液を添加して比較を行いました。3回の分析結果でピーク面積値の平均値を算出しました。どの成分もマトリクスに関係なく、回収率は80%から107%でした。

再現性

小麦粉、コメ、大麦に100 µg/kg、みかんに50 µg/kgになるように標準溶液を添加した試料を測定 (n=3) し、ピーク面積値の再現性を表2に示しました。すべてのマトリクスにおいて、どの成分も相対標準偏差 (%RSD) は、0%から11% (n=3) となりました。

表2 マトリクス中での面積再現性

Compounds	Flour RSD (%)	Rice RSD (%)	Barley RSD (%)	Mandarins RSD (%)
Glufosinate	0	5	2	3
AMPA	8	6	11	3
Glyphosate	2	5	7	6

まとめと結論

LCMS-8060 を用いて食品中のグリホサート、グルホシネート、AMPAの定量分析が可能でした。

イオンペア試薬をバイアル内で添加する新しい手法により、イオンペア試薬による装置汚染などの影響を受けることなく、逆相条件で良好な保持、分離、および感度が得られました。

簡単な試料前処理で1分析7分サイクルの迅速メソッドを構築しました。

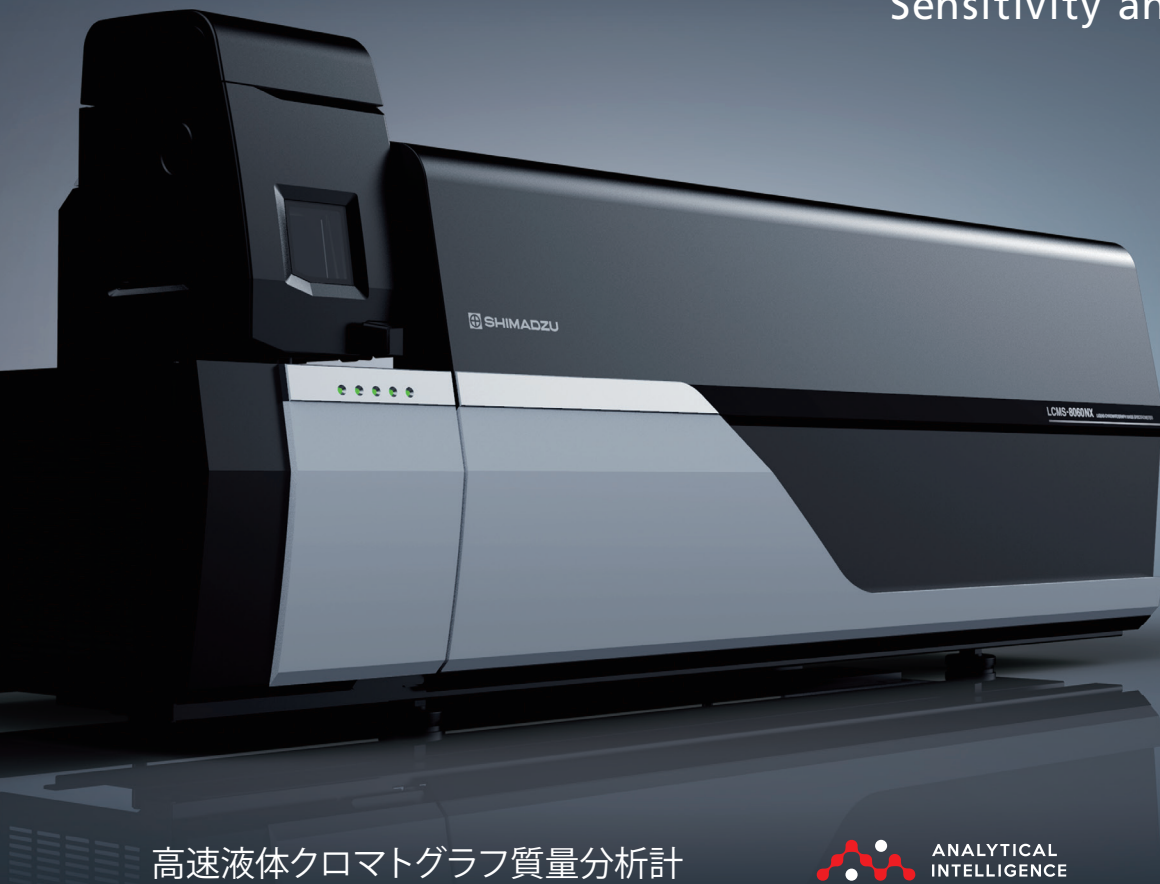
今回得られた結果から、みかんで50 µg/kg、その他のマトリクスでは100 µg/kg以下での定量分析が可能と考えられます。

本法は、再現性、回収効率ともに良好であり、堅牢性に優れた方法であることが示されました。

Nexera、LCMS、および Shim-pack Scepter は、株式会社島津製作所の日本およびその他の国における商標です。その他、本文中に記載されている会社名および製品名は、各社の商標および登録商標です。本文中では「TM」、「®」を明記していない場合があります。

Enhanced performance

Sensitivity and Robustness



高速液体クロマトグラフ質量分析計 Liquid Chromatograph Mass Spectrometer **LCMS-8060NX**



ANALYTICAL
INTELLIGENCE

Analytical Intelligenceは、島津製作所が提案する分析機器の新しい概念です。システムやソフトウェアが、熟練技術者と同じように操作を行い、状態・結果の良し悪しを自動で判断し、ユーザーへのフィードバックやトラブルの解決を行います。また、分析機器に対する知識や経験の差を補完し、データの信頼性を確保します。

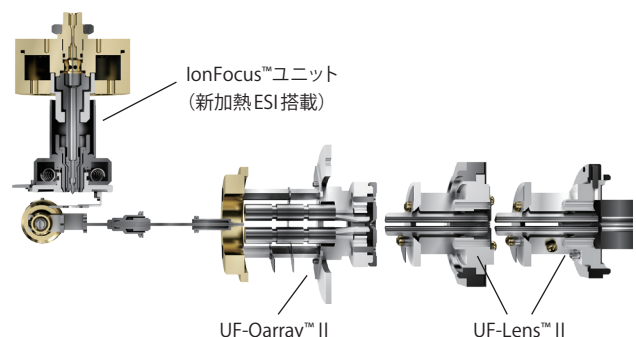
LCMS-8060NXは世界最高クラスの感度、測定速度を実現しながら、操作性、頑健性をさらに向上させた島津トリプル四重極質量分析計の集大成モデルです。Analytical Intelligenceを備えたLCMS-8060NXはあなたのラボのアウトプットを最大化します。

■ 世界最高クラスの感度と測定速度

LCMS-8060が誇る、世界最高クラスの感度と測定速度はそのままに、加熱ESIの改良と、ヒーティングガス流量の上限値拡張により、脱溶媒効率をさらに向上。イオン化しにくかった化合物に対しても最適なイオン化条件を設定でき、さらなる高感度分析が可能です。

■ ダウンタイムを最小化する高い頑健性

新開発のイオン源IonFocusユニットは、イオンのみを効率よく装置内部に導入し、夾雑成分は除去。装置内部の汚染やマトリクス効果を緩和できます。さらに、高いイオン透過率を維持しながら頑健性を向上させた新イオンガイドUF-Qarray II、UF-Lens IIを採用し、装置のダウンタイムを最小化します。



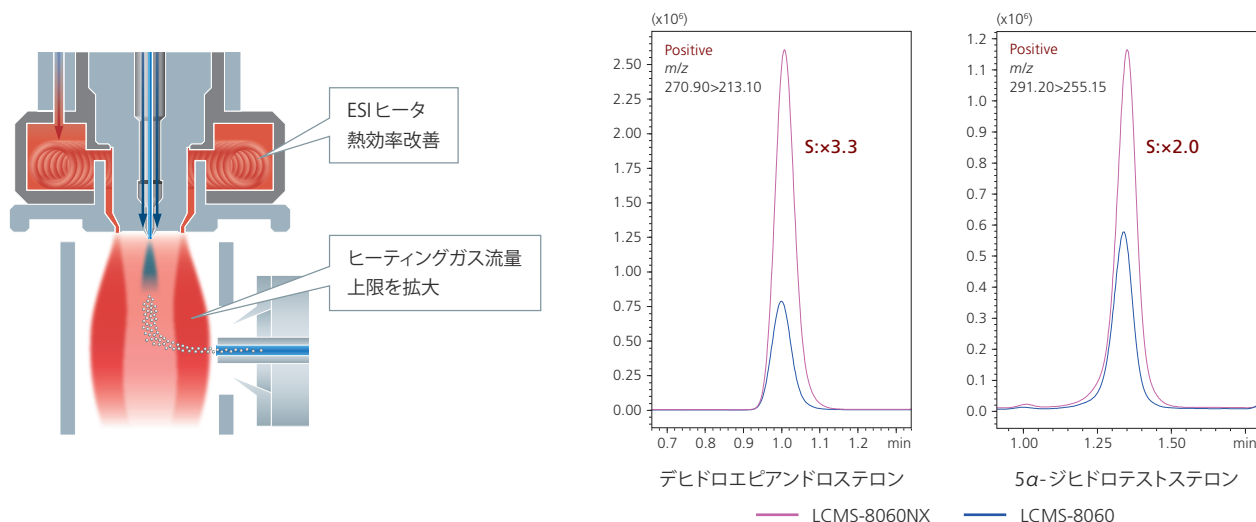
■ ワークフロー全体を効率化する操作性

最適化せずに高感度が得られる新パラメータや、装置の自動スタートアップ、シャットダウン機能 (LabSolutions Connect™ MRM) など、Nexera™シリーズと組み合わせることで、種々のAnalytical Intelligence機能がワークフロー全体の効率化を支えます。

脱溶媒効率の改善による、より高感度な分析

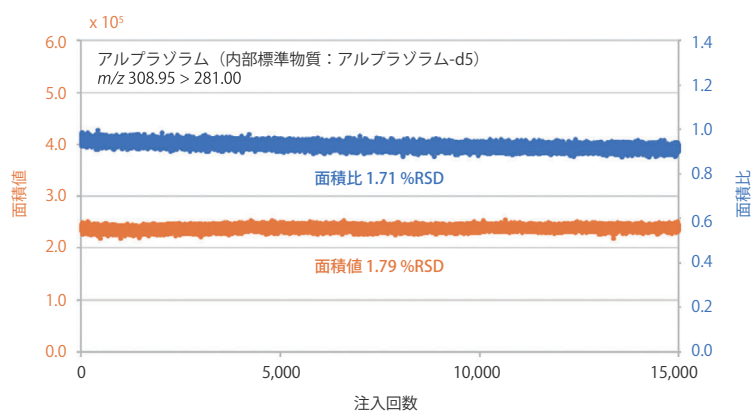
LCMS-8060NXでは、ESIヒータの熱効率の改善とヒーティングガス流量の上限値の拡張により、脱溶媒の効率が向上しました。そのため、ステロイドホルモンのようなイオン化しにくい化合物の、さらなる高感度分析が可能となります。

以下に脱溶媒効率改善によるステロイドホルモンの感度向上を示します。最適なイオン化条件を設定することで、LCMS-8060NXでは従来装置と比較して、シグナル強度が向上しました。



新技術による頑健性の向上

LCMS-8060NXの優れた頑健性は、装置を汚染しやすい生体由来のサンプルの連続分析に威力を発揮します。下記データは、ヒト血漿中に添加したアルプラゾラムを連続分析し、面積値と面積比（内部標準物質：アルプラゾラム-d5）をプロットしたものです。より過酷な条件で頑健性を評価するため、バルブを用いた夾雑成分の除去は行わず、合計 15,000 回の連続測定を行いました。結果は下図に示すように、面積値再現性 1.79 %RSD、面積比再現性 1.71 %RSD という非常に安定したデータを示しました。このように LCMS-8060NX は、尿や血液に代表される夾雑成分を多量に含む試料の連続測定においても抜群のデータ安定性を維持します。



ヒト血漿中に添加したアルプラゾラムの連続分析結果

高速液体クロマトグラフ質量分析計

LCMS-8060NX

製品動画紹介

新しいワークスタイルを提案する、
LCMS-8060NXのコンセプト動画はこちら>>



Find us on



Linked in®



R⁶ ResearchGate



LCMS、Analytical Intelligenceロゴ、Nexera、LabSolutions Connect、LabSolutions、Shim-pack、Shim-pack Velox、Shim-pack Scepter、LabSolutions Insight Explore、IonFocus、UF-QarrayおよびUF-Lensは、株式会社島津製作所の商標です。ACCLAIMは、Dionex社の商標です。

本文書に記載されている会社名、製品名、サービスマークおよびロゴは、各社の商標および登録商標です。
なお、本文中では「TM」、「®」を明記していない場合があります。
本製品は、医薬品医療機器法に基づく医療機器として承認・認証等を受けておりません。
治療診断目的およびその手続き上での使用はできません。
トラブル解消のため補修用部品・消耗品は純正部品をご採用ください。
外観および仕様は、改良のため予告なく変更することがありますのでご了承ください。

株式会社 島津製作所

分析計測事業部 604-8511 京都市中京区西ノ京桑原町1

東京支社 101-8448 東京都千代田区神田錦町1丁目3
(03) 3219-(官公庁担当) 5631・(大学担当) 5616・(会社担当) 5622
関西支社 530-0012 大阪市北区芝田1丁目1-4 阪急ターミナルビル14階
(06) 6373-(官公庁・大学担当) 6541・(会社担当) 6556
札幌支店 060-0807 札幌市北区北七条西2丁目8-1 札幌北ビル9階 (011) 700-6605
東北支店 980-0021 仙台市青葉区中央2丁目9-27 プライムスクエア広瀬通12階 (022) 221-6231
郡山営業所 963-8877 郡山市堂前町6-7 郡山フコク生命ビル2階 (024) 939-3790
つくば支店 305-0031 つくば市吾妻3丁目17-1
(029) 851-(官公庁・大学担当) 8511・(会社担当) 8515
北関東支店 330-0843 さいたま市大宮区吉敷町1-41 明治安田生命大宮吉敷町ビル8階
(048) 646-(官公庁・大学担当) 0095・(会社担当) 0081
横浜支店 220-0004 横浜市西区北幸2丁目8-29 東武横浜第3ビル7階
(045) 311-(官公庁・大学担当) 4106・(会社担当) 4615
静岡支店 422-8062 静岡市駿河区稲川1丁目1-1 伊伝静岡駅南ビル2階 (054) 285-0124

名古屋支店 450-0001 名古屋市中村区那古野1丁目47-1 名古屋国際センタービル19階
(052) 565-(官公庁・大学担当) 7521・(会社担当) 7531
京都支店 604-8445 京都市中京区西ノ京徳大寺町1
(075) 823-(官公庁・大学担当) 1604・(会社担当) 1603
神戸支店 650-0033 神戸市中央区江戸町9-3 栄光ビル9階 (078) 331-9665
岡山営業所 700-0826 岡山市北区磨屋町3-10 岡山ニューシティビル6階 (086) 221-2511
四国支店 760-0017 高松市番町1丁目6-1 高松NKビル9階 (087) 823-6623
広島支店 732-0057 広島市東区二葉の里3丁目5-7 GRANODE広島5階 (082) 236-9652
九州支店 812-0039 福岡市博多区冷泉町4-20 島津博多ビル4階
(092) 283-(官公庁・大学担当) 3332・(会社担当) 3334

島津コールセンター（操作・分析に関する電話相談窓口） ☎ 0120-131691
IP電話等：(075) 813-1691

<https://www.an.shimadzu.co.jp/>