ノ ー ト

液体クロマトグラフィー/ソニックスプレーイオン化質量分析法 による河川水中のダイムロンの分析

石川 昌子^{®*}, 吉岡 信二^{*}, 平 林 集^{**}

Analysis of dymron in river-water samples using LC/ sonic spray ionization MS

Masako ISHIKAWA, Shinji YOSHIOKA^{*} and Atsumu HIRABAYASHI^{**}

^{*}Techno-research Laboratory, Hitachi Science Systems Co., Ltd., 882, Ichige, Hitachinaka-shi, Ibaraki 312-8504

^{**}Central Research Laboratory, Hitachi Co., Ltd., 1-280 Higashi-koigakubo, Kokubunji-shi, Tokyo 185-8601

(Received 29 August 2000, Accepted 20 November 2000)

A liquid chromatography/sonic spray ionization mass spectrometry (LC/SSI-MS) in conjunction with solid-disk extraction has been developed to assay dymron in river-water samples. The mean recovery of dymron from pure water at a concentration of 0.01 mg/l was 89%, and the limit of detection was 50 pg ($S/N = 3$). The repeatability of ion intensity with a concentration of 1 mg/l was 2.9% RSD ($n = 5$). The positive ionization produced a typical $[M + H]^+$ molecular-related ion of dymron ($m/z = 269$). The extracts from river-water samples included interfering substances. Our result shows MS/MS product ion was detected at a m/z of 151 both dymron and extract from river-water samples, thus suggesting that river-water samples contained dymron.

Keywords : sonic spray ionization; agrochemicals; river-water; LC/MS; dymron.

1 緒 言

ダイムロンは、水田における雑草防除に使用されている除草剤である。ダイムロンの分析方法には、誘導体化後、電子捕獲検出器付きガスクロマトグラフィー (GC-electron capture detector, GC-ECD) で測定する方法¹⁾や高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いた方法²⁾³⁾がある。しかし誘導体化は操作が煩雑で汚染やサンプルの損失の問題がある。また、HPLC 法は紫外吸収で検出するため、十分な定性分析が行えないなどの問題がある。これらを解決する手段として、液体クロマトグラフィー/質量分析法 (LC/MS) が注目されている。LC/MS を用いた農薬の分析については、大気圧化学イオン化法⁴⁾⁵⁾ (atmospheric pressure chemical ionization, APCI) やエレクトロスプレ

ーイオン化法^{6)~8)} (electrospray ionization, ESI) など各種イオン源で検討されてきた。これらのイオン化法は、イオン化時に熱や高電圧をかけるため、分解しやすい農薬の場合は擬分子イオンを基準ピークとして検出しにくい³⁾⁹⁾という問題があった。分子量情報を得る上でも、試料を擬分子イオンで検出できる測定手法の開発が望まれていた。

近年 Hirabayashi ら^{10)~14)}は、新しいイオン化法としてソニックスプレーイオン化法 (sonic spray ionization, SSI) を開発した。この方法はイオン生成時に高熱や高電圧を必要としないので、不安定な物質にも適応可能で糖類や貝毒の分析に応用されている¹⁵⁾¹⁶⁾。

著者らは、河川水中の農薬の簡便で信頼性の高い分析手法の開発を目的とし、この SSI 法を検討した。特にきょう雑成分が多く含まれる河川水のダイムロン測定において、MS/MS スペクトルを用いて定性分析を行った結果、新たな知見が得られたので報告する。

^{*} (株)日立サイエンスシステムズテクノリサーチセンタ: 312-8504 茨城県ひたちなか市市毛 882

^{**} (株)日立製作所中央研究所: 185-8601 東京都国分寺市東恋ヶ窪 1-280

Fig. 1 Cross-sectional view of the sonic spray interface

2 実験

2.1 試薬及び装置

2.1.1 試薬 農薬の標準品は、関東化学製、林純薬製を用いた。ダイムロンの標準試料及び試薬は、関東化学製を用いた。実験に用いたダイムロンはメタノールに溶解し、1000 mg/l 溶液を作製、これを原液とした。測定に際しては、適宜メタノールにて希釈して用いた。メタノールは電子工業用を、アセトニトリルは液体クロマトグラフ用を、酢酸、硝酸は特級を用いた。

2.1.2 装置 測定には、日立製作所製 M-8000 三次元四重極質量分析計 (LC/3DQMS) を用いた。本装置は、高感度で MS/MS 測定を行うことができる。カラムは、日立サイエンスシステムズ製シリカ ODS 系 3 μ m の GH-C18(3)、内径 4 mm、長さ 100 mm を用いた。イオン源は SSI を使用した。SSI イオン源 (Fig. 1) は、音速のガス流で試料溶液を噴霧することにより、液滴の微細化と同時にイオンを生成させるものである¹⁰⁾。定性分析にはライブラリー検索ソフトを用いた。本ソフトは、得られたスペクトルについて、登録してあるデータベースの中で一致度の高いスペクトルを検索する機能である。一致度とはスペクトル間の類似度から求めた値で、最高値は 100% となり、本検索ソフトでは経験値から 70% 以上のとき同定されていると考えている。データ検索¹⁷⁾用の農薬ライブラリーは、日立サイエンスシステムズ製のデータベースで、農薬 168 種類の質量スペクトルが登録されている。これは、あらかじめ農薬標準試料をフローインジェクションモードで測定し、イオン化法は APCI 法、ESI 法、SSI 法の 3 種類、更にそれぞれ正、負イオンモードで分類したものである。

2.2 前処理方法

前処理には、有機溶媒の使用量が少ない固相抽出法を用いた。本報告では、短時間で抽出が可能である点で優れているディスク型固定相を用いた。

ディスク型固定相は、スチレンジビニルベンゼン共重合

Fig. 2 Disk SPE procedure for agrochemicals analysis

Table 1 Analytical conditions

Separation column	GH-C18(3) 4 mm i.d., 100 mm 3 μ m Silica ODS		
Injection volume	10 μ l		
Gradient program for neutral agrochemicals			
Time/ min	(A) Pure water	(B) Methanol	Flow rate/ $\text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$
0.0	90	10	0.5
40.0	0	100	
45.0	0	100	
45.1	90	10	
65.0	90	10	
Column temperature	40 $^{\circ}$ C		
Detector(LC/3DQMS)			
Ion source		Sonic spray ionization (SSI)	
Porous plate temperature		130 $^{\circ}$ C	
Sampling orifice temperature		130 $^{\circ}$ C	
Drift voltage		30 V	
Detection mode		Positive ion mode	
MS/MS detection for dymron			
Precursor ion		m/z 269	
CID voltage		0.17 V	

体をベースとした 3M 製エムポアディスク SDB-XD (直径 47 mm) を用いた。固相のホルダー及び吸引マニホールドは、3M 製エムポアTM マニホールドを用いた。前処理法のフローチャートは、Fig. 2 に示した。

2.3 測定条件

測定条件を Table 1 に示す。ダイムロンは、正イオン検出モードで検出した。質量スペクトルは、 m/z 80 ~ 500 の範囲で測定した。

3 結果と考察

3.1 標準試料の分離

農薬標準試料各 1 mg/l の混合試料を Table 1 の測定条件で測定し、各成分の標的イオンの質量数で記録したマス

Fig. 3 Mass chromatograms of agrochemicals

Sample: 1 mg/l mix; MS detection: a, m/z 90 + 319; b, 106 + 163; c, 249; d, 152 + 208; e, 145 + 202; f, 256; g, 233; h, 343; i, 190; j, 269; k, 269; l, 198 + 224; m, 373; Peak: 1, oxamyl; 2, methomyl; 3, monocrotophos; 4, imidacloprid; 5, tricyclazole; 6, thiofanatemethyl; 7, carbaryl; 8, diuron; 9, BPMC; 10, siduron; 11, linuron; 12, dymron; 13, quizalofop-ethyl

クロマトグラムを Fig. 3 に示す。ダイムロン (ピーク 12) は、ほかの農薬と分離できることが分かった。また、SSI イオン源はダイムロン以外の農薬についても分離検出が可能であり、一斉分析の可能性が示唆された。

3・2 再現性と前処理における回収率

ダイムロンの標準試料 0.1 mg/l のマスクロマトグラムを Fig. 4(1) に示す。その質量スペクトルを、Fig. 4(4) に示す。 $[M + H]^+$ の擬分子イオン m/z 269 が基準ピークとして観察された。標準試料 1 mg/l の繰り返し測定におけるピーク面積の再現性は、相対標準偏差で 2.9% ($n = 5$) であった。検出下限は、 $5 \mu\text{g/l}$ ($S/N = 3$) であった。なお、本条件を用い、純水 100 ml にダイムロン標準試料 $1 \mu\text{g}$ を添加し、Fig. 2 に示した操作手順で 100 倍濃縮を行ったときの回収率について検討した結果、89% を示した。

3・3 CID 電圧の影響

3DQMS を用いた LC/MS の衝突誘導解離 (collision induced dissociation, CID) は、試料イオンと不活性ガスの分子を衝突させるもので、本装置ではヘリウムガスを用いている。CID 電圧値は MS/MS 測定の際の重要なパラメーターとなり、この電圧の最適値を把握するため、フローインジェクションモードで標準試料を測定し、プロダクトイオン強度の変化を検討した。その結果を Fig. 5 に示す。横軸に CID 電圧を、縦軸にプロダクトイオン m/z 151 のイオン強度を示す。CID 電圧 0.17 V の場合に最大値を示し、以後この電圧を採用することにした。

3・4 河川水中の農薬の測定

3・4・1 河川水抽出物中のダイムロンの測定 河川水

Fig. 4 Analysis of dymron in a river water extract by LC/SSI-MS

(1): mass chromatogram of dymron standard 0.1 mg/l; MS detection ion: $[M + H]^+ = 269$; (2): total ion chromatogram of a river water extract; (3): mass spectra of a river water extract; (4): mass spectra of a dymron standard

Fig. 5 Effect of CID voltage

Sample: dymron 1 mg/l; FIA mode; Pump flow rate: 0.2 ml/min; precursor ion of m/z 269 and product ion of m/z 151. ●: ion intensity of product ion of dymron m/z 151.

(茨城県 N 川下流から 1999 年 6 月採取) を測定した全イオンクロマトグラム (TIC) を Fig. 4(2) に示す。溶出時間 32 分付近の矢印ピークについて定性分析を行った。Fig. 4(2) に示す TIC では、保持時間は Fig. 4(1) に示す

Fig. 6 MS/MS spectra of a river-water extract

(1): structure of dymron; (2): MS/MS product ion spectra of a dymron standard 0.1 mg/l; (3) MS/MS product ion spectra of a river water extract

ダイムロンのピークと一致していた。このピークの質量スペクトルを Fig. 4(3) に示す。ダイムロンの標準試料の質量スペクトルを Fig. 4(4) に示す。ダイムロンは $[M + H]^+$ の擬分子イオン (m/z 269) が基準ピークとして検出された。Fig. 4(3) の質量スペクトルを見ると m/z 269 は検出されているが、ほかのきょう雑成分によると思われるピークが多く検出されていた。また、農業ライブラリーで検索した結果、一致度は 32% と低値を示した。

3・4・2 ダイムロンの MS/MS 測定 TIC では、保持時間が一致していたことから、更にこのピークに関し MS/MS 測定を試みた。Fig. 6(1) にダイムロンの構造式を示す。 m/z 269 を前駆イオンとして、MS/MS モードで測定したマススペクトルを Fig. 6(2) に示す。MS/MS 測定時には、矢印で示す位置で開裂し、プロダクトイオンとして m/z 151 が検出され则认为される。この条件で河川水の溶出時間 32 分付近の矢印ピークについて定性分析を行った。Fig. 6(3) が河川水の MS/MS スペクトル、Fig. 6(2) がダイムロン標準試料の MS/MS スペクトルである。Fig. 4 で検出されたきょう雑ピークは検出されず、標準試料と同様の MS/MS スペクトルが検出され、ここで検出されたピークはダイムロンの可能性が高いと认为される。定量は、MS/MS プロダクトイオン m/z 151 のクロマトグラ

ムの面積値から求めた。検量線は 0.01 から 1.0 mg/l の範囲で作成し、相関係数 0.998 を得た。河川水 100 ml にダイムロン標準試料 1 μ g を添加し、Fig. 2 に示した操作手順で 100 倍濃縮を行ったときの回収率について検討した結果、107% を示した。また、河川水中濃度は 0.2 μ g/l であった。

以上本法では、実際の河川水中に含まれていた数百 ppt オーダーのダイムロンの定性定量分析が可能であり、MS/MS 測定はきょう雑成分の多い環境水中の農薬等のより確実な同定に有効であることが示唆された。

本研究の一部は科学技術振興事業団 CREST (戦略的基礎研究推進事業) により行われた。

文 献

- 1) 農業環境保全対策研究会編: “残留農薬ハンドブック—作物・水質残留の分析法”, p. 449 (1995), (化学工業日報社).
- 2) 厚生省: 厚生省告示第 245 号 (1998. 10. 12).
- 3) 小林麻紀, 永井敏廣, 橋本堂生, 羽石菜穂子, 伊藤正子, 田村康宏, 高田千恵子, 安田和男: 食品衛生学雑誌, **40**, 233 (1999).
- 4) 永井伸治, 伊藤伸也, 高木正徳, 三村忠男, 平林集: 第 7 回環境化学討論会講演要旨集, p. 32 (1998).
- 5) Y. Shimamura, N. Tomiyama, M. Murakoshi, H. Kobayashi, O. Matano: *J. Pesticide. Sci.*, **23**, 241 (1998).
- 6) 鈴木 茂: 第 28 回日本環境化学会講演会予稿集, p. 21 (1999).
- 7) 滝埜昌彦, 京野 完, 代島茂樹: 農薬残留分析研究会講演資料集, p. 138 (1997).
- 8) 相澤貴子: 第 28 回日本環境化学会講演会予稿集, p. 34 (1999).
- 9) 環境庁環境保全研究成果集: 水道水源水域及び利水過程における親水性利水障害物質の適正管理に関する研究, p. 161 (1997).
- 10) A. Hirabayashi, M. Sakairi, H. Koizumi: *Anal. Chem.*, **66**, 4557 (1994).
- 11) A. Hirabayashi, M. Sakairi, H. Koizumi: *Anal. Chem.*, **67**, 2878 (1995).
- 12) Y. Hirabayashi, Y. Takada, A. Hirabayashi, M. Sakairi, H. Koizumi: *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **10**, 1891 (1996).
- 13) A. Hirabayashi: *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, **47**, 289 (1999).
- 14) 平林由紀子, 高田安章, 平林 集, 坂入 実, 小泉英明: *Chromatography*, **17**, 266 (1996).
- 15) 石川昌子, 吉岡信二, 永井伸治, 望月康平: Separation Sciences '98 講演要旨集, p. 119 (1998).
- 16) 伊藤伸也, 塚田勝男: *Chromatography*, **20**, 386 (1996).
- 17) 伊藤伸也, 谷川建一, 永井伸治, 吉岡信二: 環境と測定技術, **26**, 48 (1999).