

水質農薬分析におけるオンライン SPE-GC/MS システムの開発

アイスティサイエンス ○佐々野僚一、船倉洋、内田滋
アジレント・テクノロジー 杉立久仁代、佐久井徳広、中村貞夫

Development of Online SPE-GC/MS System for pesticides analysis in water,
by Ryoichi SASANO, Hiroshi FUNAKURA and Shigeru UCHIDA (AiSTI SCIENCE), Kuniyo SUGITATE,
Norihiro SAKUI and Sadao NAKAMURA (Agilent Technologies)

1. はじめに

従来の水質農薬分析では大量の試料を固相で濃縮し溶出液の一部を GC へ注入している。そこで演者らは固相に保持した目的成分を溶出しながら GC へ全量注入することで試料量を少量化し前処理から測定までのオンラインを達成した。本研究では本システムを水質農薬分析に適用することを目的として、各工程の最適条件の検討を行ったので報告する。

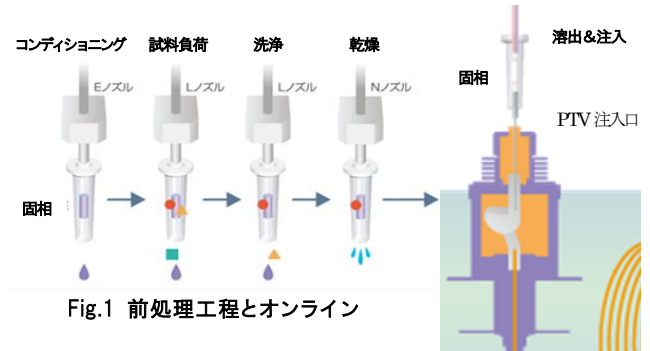


Fig.1 前処理工程とオンライン

2. 実験方法

固相：Flash-SPE HLB-4mg (アイスティ社)

試料量：0.5 mL

溶出液：アセトン-ヘキサン (1/4)

SPE-GC システム：SGI-P100 (アイスティ社)

PTV 注入口装置：LVI-S250 (アイスティ社)

GC-MS/MS：7000C (アジレント社)

3. 実験結果

3-1. 乾燥時間の最適化: 乾燥時間を 15, 30, 45, 60, 120 秒として、最適条件を検討した。15 秒ではジメトエートやオキソン体などの極性が高い農薬の回収率が悪かった。一方 30, 45, 60, 120 秒においてはほとんど差異がなかった。結果、60 秒を最適条件とした。

3-2. 溶出量の最適化: 溶出量を 10, 20, 30, 40, 50 μ L として、最適条件を検討した。溶出量 20 μ L で約 85%、30 μ L で約 95%、40 μ L で約 100%の回収率であった。結果 40 μ L を最適条件とした。

3-3. 添加回収試験

各農薬 1.25pg/ μ L 混合標準溶液 40 μ L を直接 GC-MS に注入して得られたピーク面積値 (絶対量: 50pg) と各農薬 1pg/ μ L(0.1ppb)の精製水添加試料 0.5mL を本システムで測定して得られたピーク面積値 (絶対量: 50pg) から回収率を導いた。得られた平均回収率と RSD (n=9) を Table 1 に示す。

4. 結論

従来時間と手間がかかっていた水質農薬分析が、本システムを用いることで、分解性の高い一部の農薬を除き、良好な回収率と再現性を全自動オンラインで得ることがわかった。

Table 1 精製水を用いた添加回収試験結果

| No. | 農薬名 | 回収率 | RSD | No. | 農薬名 | 回収率 | RSD |
|-----|---------------|-----|------|-----|------------------|-----|------|
| 1 | ジクロロボス | 102 | 5.6 | 61 | イソフェンホス | 104 | 2.8 |
| 2 | ジクロロベニル | 108 | 2.4 | 62 | フェントエート | 101 | 3.2 |
| 3 | エトリジアゾール | 111 | 4.3 | 63 | プロシミドン | 102 | 3.3 |
| 4 | クロロネブ | 97 | 2.3 | 64 | ブタミホスオキソン | 122 | 3.6 |
| 5 | イソプロカルブ | 104 | 2.5 | 65 | ジメピベレート | 106 | 3.5 |
| 6 | モリネート | 99 | 3.9 | 66 | プロバホス | 109 | 1.0 |
| 7 | フェノプロカルブ | 103 | 2.1 | 67 | メチルダチオン | 112 | 2.4 |
| 8 | プロボクスル | 99 | 3.9 | 68 | ブタクロール | 97 | 6.0 |
| 9 | トリフルラリン | 70 | 12.5 | 69 | テトラクロロピホス | 106 | 2.3 |
| 10 | ベンフルラリン | 68 | 11.7 | 70 | バクロプロラゾール | 100 | 2.3 |
| 11 | カズサホス | 108 | 2.0 | 71 | ブタミホス | 99 | 3.8 |
| 12 | ベンシクロン | 99 | 2.2 | 72 | ナプロバミド | 113 | 1.3 |
| 13 | ジメトエート | 65 | 6.4 | 73 | フルトラニル | 111 | 1.5 |
| 14 | シマジン | 94 | 2.7 | 74 | プレチラクロール | 108 | 1.6 |
| 15 | ダイアジノン オキソン | 104 | 2.4 | 75 | メトミノストロピホ (E) | 106 | 0.8 |
| 16 | アトラジン | 96 | 2.8 | 76 | イソキサチオン | 155 | 12.1 |
| 17 | ダイアジノン-d10 | 100 | 2.7 | 77 | イソプロチオラン | 110 | 2.0 |
| 18 | ダイアジノン | 97 | 5.5 | 78 | チフルザミド | 104 | 2.7 |
| 19 | シアノホス | 107 | 2.3 | 79 | ウニコナゾール p | 102 | 1.7 |
| 20 | プロピザミド | 105 | 1.8 | 80 | フェンチオンオキソンスルホキシド | 61 | 7.5 |
| 21 | ピロキロン | 100 | 3.5 | 81 | プロプロフェジン | 97 | 8.8 |
| 22 | ジスルホトン | 77 | 7.0 | 82 | フェンチオンオキソンスルホ | 89 | 6.0 |
| 23 | イプロベンホス | 109 | 2.5 | 83 | イソキサチオン | 113 | 2.9 |
| 24 | ジクロロフェンチオン | 78 | 9.3 | 84 | シプロコナゾール | 85 | 3.6 |
| 25 | トルクロホスメチルオキソン | 109 | 1.6 | 85 | ピリミノバックメチル (Z) | 107 | 2.0 |
| 26 | テルブカルブ | 103 | 2.2 | 86 | フェンチオンオキソンスルホキシド | 114 | 5.0 |
| 27 | ベンフレセート | 103 | 2.6 | 87 | フェンチオンスルホ | 107 | 3.6 |
| 28 | フェントロチオンオキソン | 119 | 2.6 | 88 | クロロニトロフェン | 76 | 9.5 |
| 29 | マラオキソン | 117 | 3.5 | 89 | プロピコナゾール I | 103 | 2.2 |
| 30 | プロモピチド | 104 | 6.4 | 90 | エディフェンホス | 108 | 3.1 |
| 31 | クロルピリホスメチル | 90 | 8.1 | 91 | ピリミノバックメチル (E) | 109 | 1.4 |
| 32 | プロバニル | 119 | 3.2 | 92 | プロピコナゾール II | 118 | 2.4 |
| 33 | メトリアジン | 99 | 4.4 | 93 | エンドスルファンサルフェート | 97 | 3.3 |
| 34 | シメコナゾール | 95 | 3.5 | 94 | EPNオキソン | 119 | 3.7 |
| 35 | アラクロール | 112 | 3.7 | 95 | テニルクロール | 111 | 1.5 |
| 36 | トルクロホスメチル | 90 | 8.9 | 96 | テブコナゾール | 98 | 2.2 |
| 37 | シンメチリン | 114 | 6.6 | 97 | ビリブチカルブ | 90 | 7.3 |
| 38 | ジチオピル | 88 | 9.1 | 98 | ビリダフェンチオン | 114 | 2.3 |
| 39 | メタラキシル | 103 | 4.7 | 99 | イプロジオン | 94 | 6.4 |
| 40 | フェンチオンオキソン | 107 | 1.9 | 100 | ピベロホス | 110 | 2.4 |
| 41 | ピリミホスメチル | 98 | 6.5 | 101 | EPN | 95 | 5.4 |
| 42 | フェントロチオン | 108 | 3.1 | 102 | クミロン | 115 | 8.7 |
| 43 | ジメチルピホス (E) | 104 | 2.0 | 103 | オリサストロピホ | 112 | 2.9 |
| 44 | マラチオン | 110 | 2.8 | 104 | ビフェノックス | 103 | 3.8 |
| 45 | エスプロカルブ | 93 | 8.5 | 105 | フラメトピル | 112 | 1.6 |
| 46 | クロルピリホスオキソン | 133 | 11.2 | 106 | ホサロン | 107 | 3.3 |
| 47 | プロマシリン | 105 | 6.5 | 107 | ビリプロキシフェン | 82 | 5.8 |
| 48 | メトラクロール | 107 | 2.5 | 108 | シハロホップブチル | 97 | 1.5 |
| 49 | クロルピリホス | 81 | 10.2 | 109 | メフェナセート | 114 | 3.9 |
| 50 | チオベンカルブ | 101 | 4.0 | 110 | ピラクロホス | 115 | 5.3 |
| 51 | ジメチルピホス (Z) | 112 | 2.2 | 111 | エトベンザニド | 119 | 3.9 |
| 52 | フェンチオン | 90 | 4.4 | 112 | カフェンストロール | 99 | 4.3 |
| 53 | クロルタールジメチル | 93 | 6.8 | 113 | ボスカリド | 105 | 3.4 |
| 54 | キノクラミン | 101 | 1.9 | 114 | エトフェンプロックス | 49 | 5.7 |
| 55 | イソフェンホスオキソン | 119 | 2.1 | 115 | チアクロプロリド | 84 | 5.2 |
| 56 | シアナジン | 103 | 4.2 | 116 | ジフェノコナゾール II | 83 | 3.7 |
| 57 | テトラコナゾール | 102 | 4.8 | 117 | ピラゾキシフェン | 92 | 3.7 |
| 58 | ホスチアゼート II | 116 | 3.1 | | | | |
| 59 | フサライド | 102 | 4.4 | | | | |
| 60 | ペンディメタリン | 80 | 11.2 | | | | |

*各農薬を試料中濃度0.0001mg/L(0.1ppb)

水質農薬分析における オンラインSPE-GC/MSシステムの開発

○佐々野僚一, 船倉洋, 内田滋 (アイスティサイエンス)
杉立久仁代, 佐久井徳広, 中村貞夫 (アジレント・テクノロジー)



Beyond your Imagination

AiSTI SCIENCE

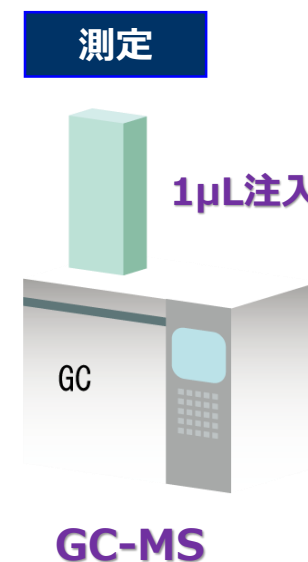
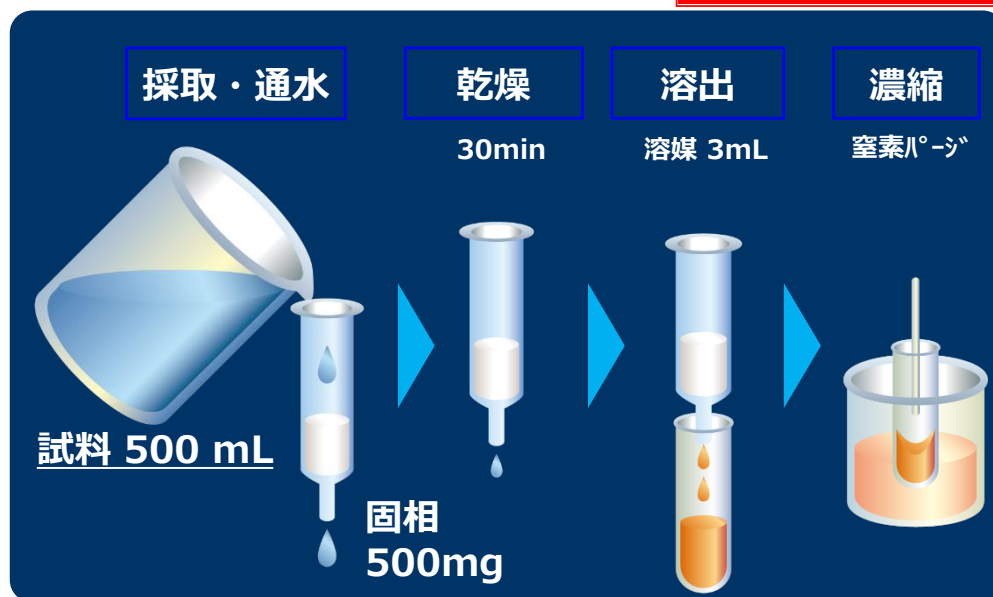
従来法：固相抽出～GC注入

【水中農薬分析場合】

「手作業」または「固相抽出装置」

処理時間; 約2時間

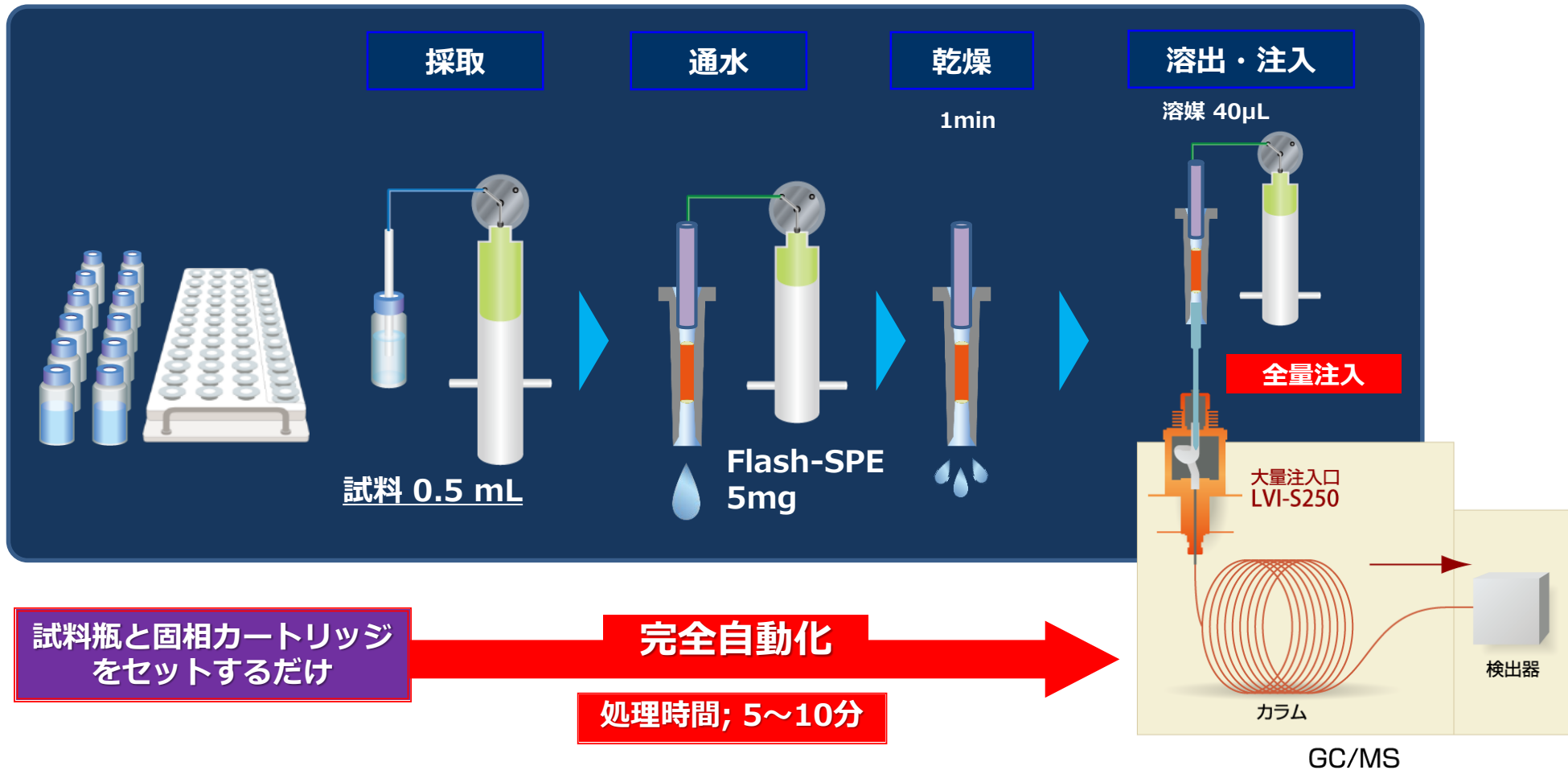
必ず「手作業」



- 固相抽出の操作は煩雑
- 窒素パーズなどは自動化しにくい。
- 自動化しても前処理の時間は変わらず。
- 人の手で定容して、バイアル瓶に移し、GC-MSにセットする。
- 最終検液1mL中1µLしか注入しない。

固相抽出～GC注入の自動化

オンラインSPE-GC/MSシステム

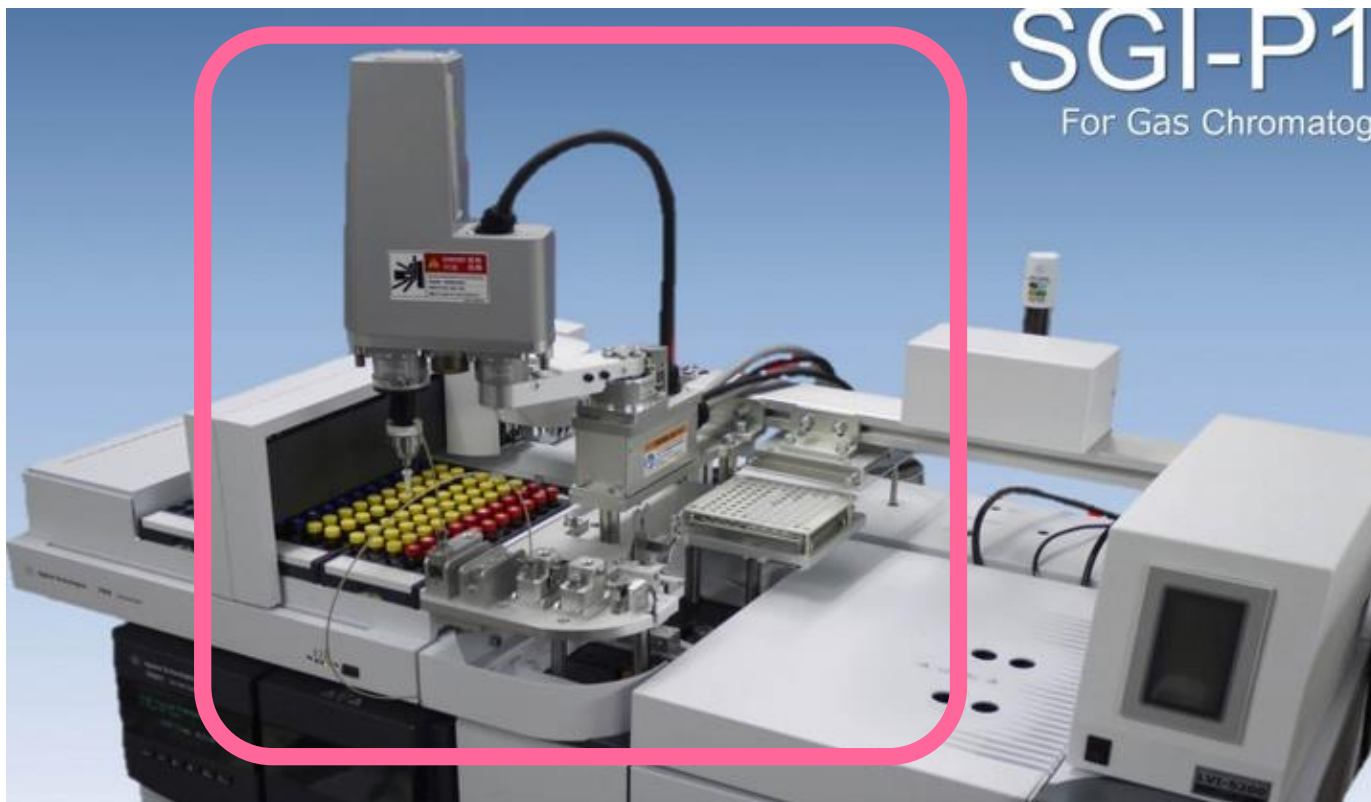


試料瓶と固相カートリッジ
をセットするだけ

完全自動化

処理時間; 5~10分

SPE-GC前処理および注入部



固相抽出工程

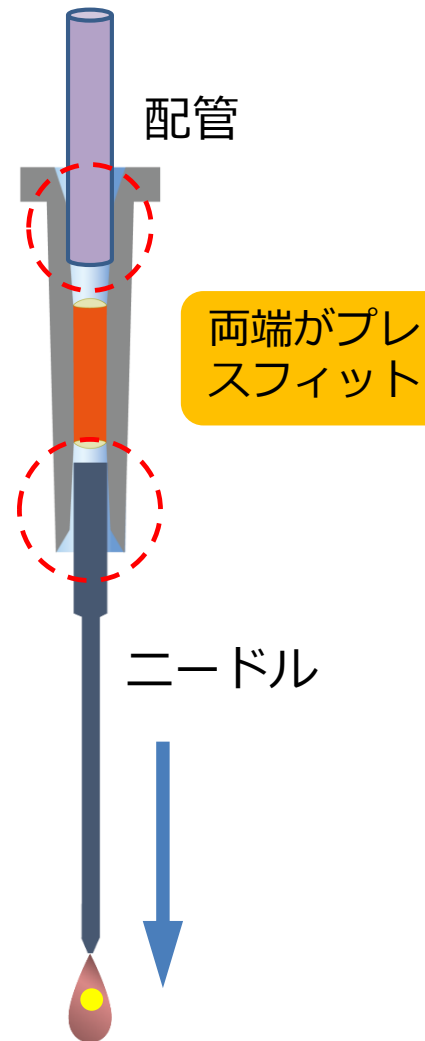
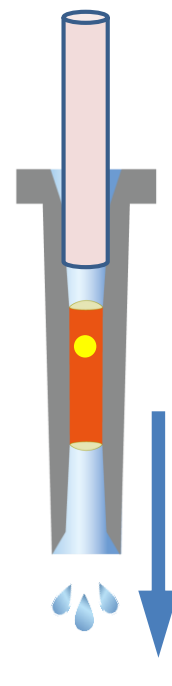
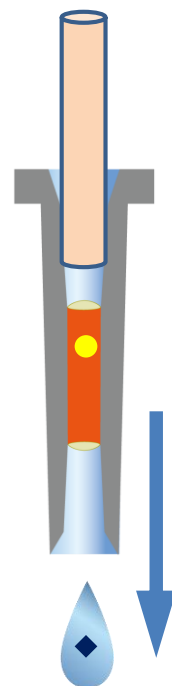
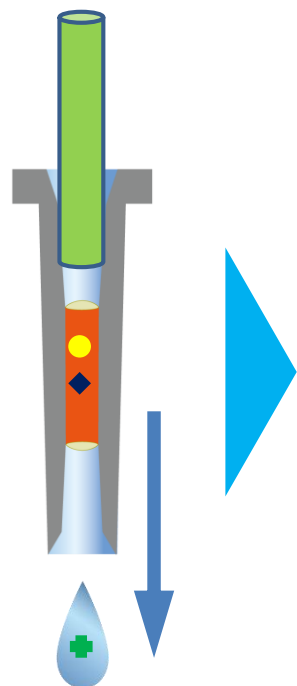
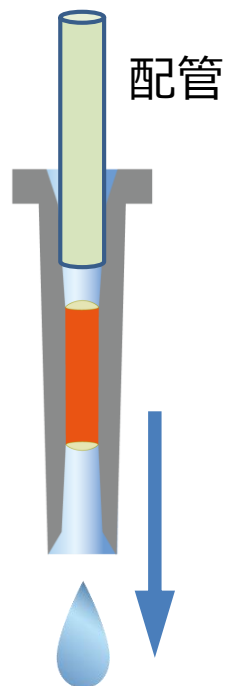
コンディ
ショニング

試料負荷

洗浄

乾燥

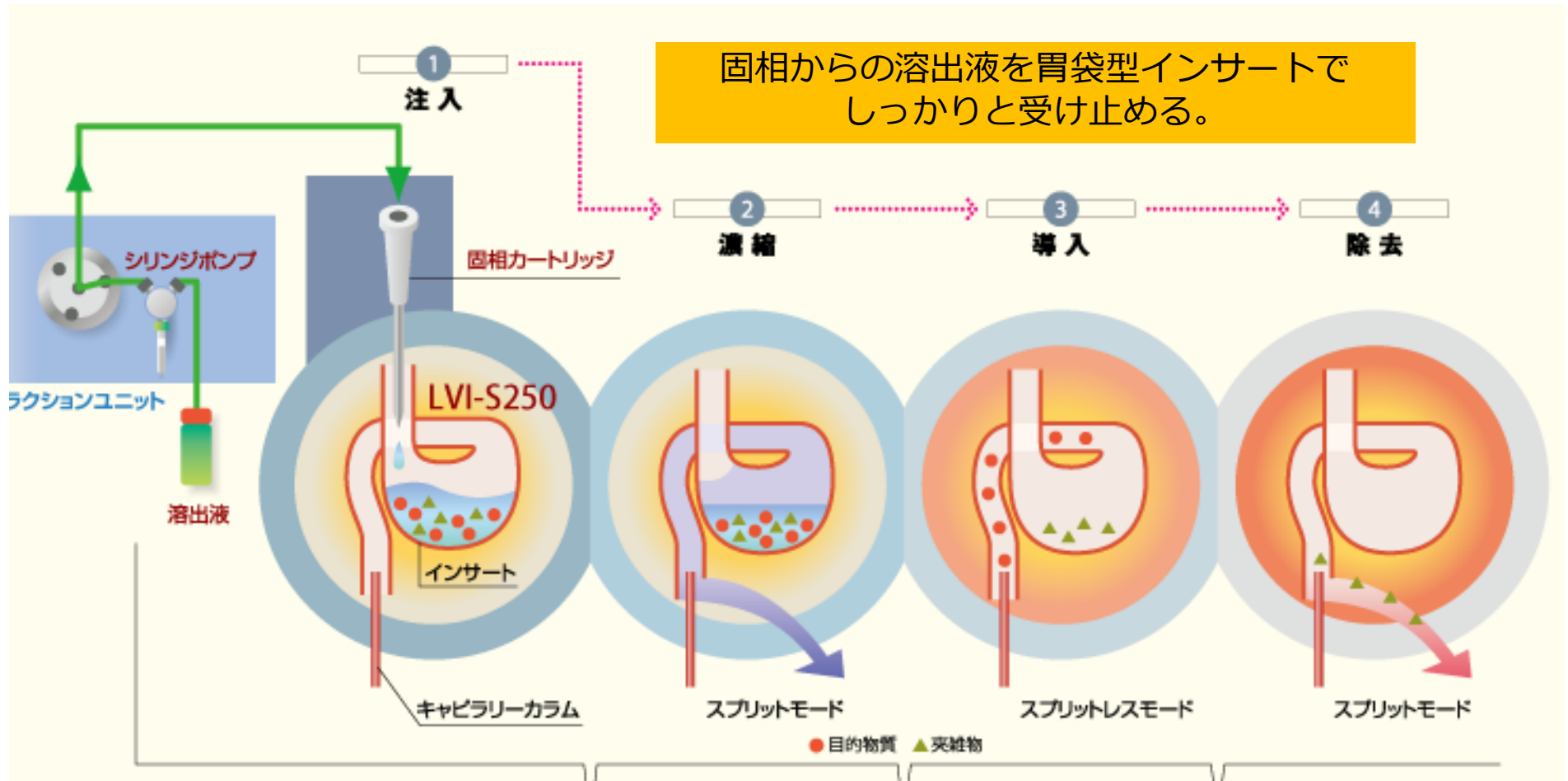
溶出・注入



小さい
充填量2~5mg

脱水しやすい
ストレート構造

GC大量注入法



前処理のスケールダウンと省略化

【従来法】

試料量 : 500mL

コンディショニング

固相: 500mg (保持)

吸引乾燥 : 30分

1mL/1mg相当

溶出 : 3mL

濃縮 : 窒素パーズ

定容 : 1 mL

GC注入量 : 1 μ L

500倍濃縮、1 μ LGC/MSへ注入

||
試料量 : 0.5mL相当

【オンライン法】

試料量 : 0.5mL

コンディショニング

固相: 5mg (保持)

乾燥 : 1分

0.1mL/1mg相当

溶出&GC注入量 : 40 μ L

試料0.5mL分取、全量GC/MSへ注入

||
試料量 : 0.5mL相当

同じ感度

分析条件

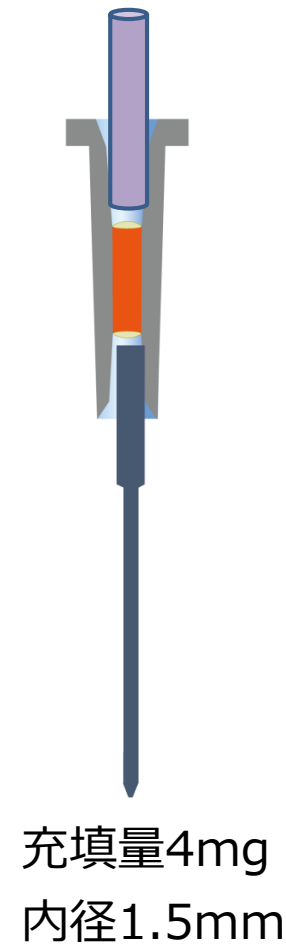
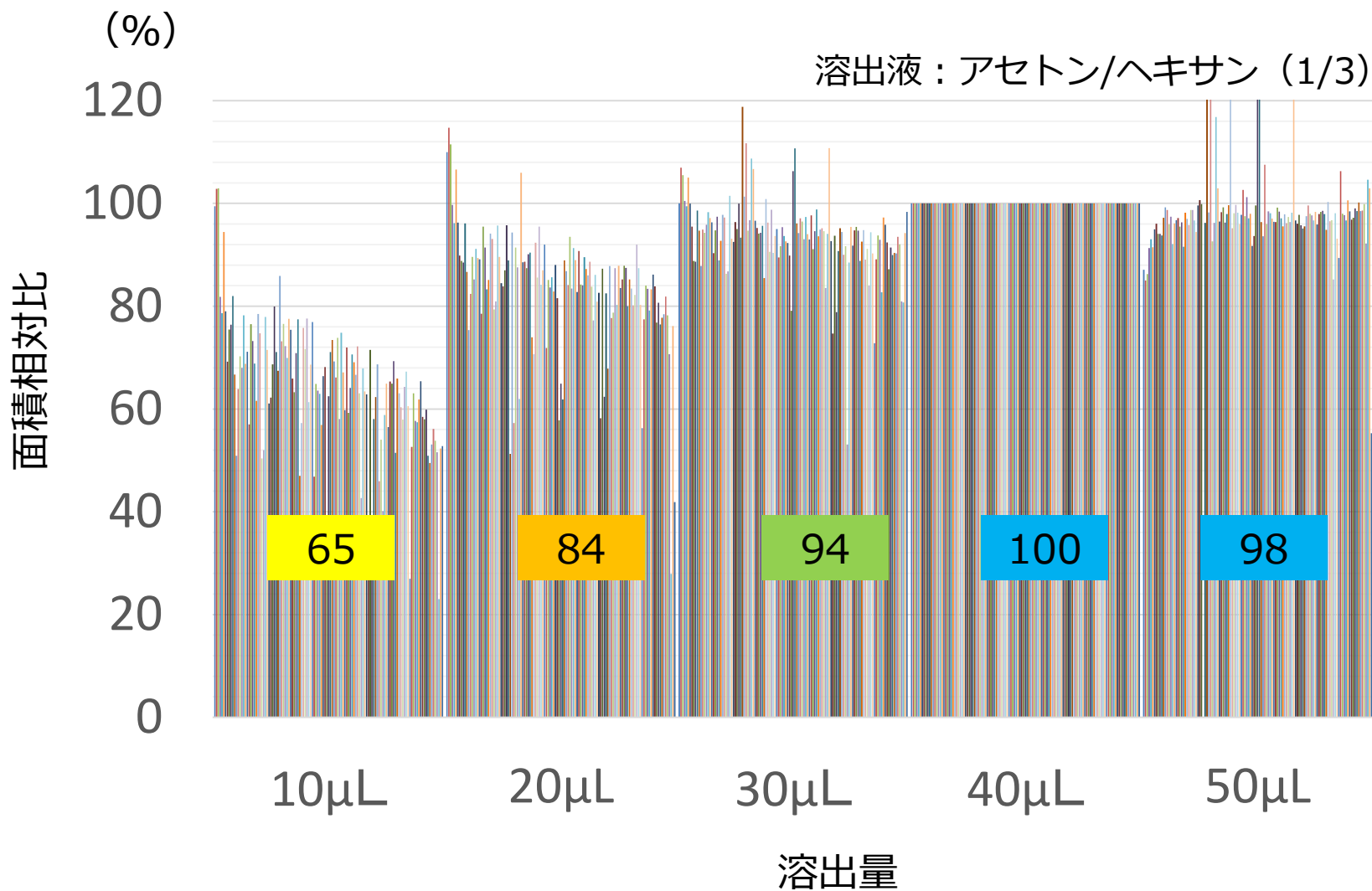
- **オンラインSPEシステム SGI-P100 [AiSTI Science]**
 Sample Volume : 500 μ L
 SPE Cartridge:Flash-SPE HLB-4mg[AiSTI Science]

- **PTV Injector LVI-S250 [AiSTI Science]**
- Insert :Spiral Insert
- Injector Temp. :70 $^{\circ}$ C(0.4min)-120 $^{\circ}$ C/min-240 $^{\circ}$ C-50 $^{\circ}$ C/min-300 $^{\circ}$ C(28min)
- **GC/MS/MS 7000Cトリプル四重極GC/MS [Agilent Technologies]**
- Column :VF-5ms, 0.25mm X 30m, df;0.25 μ m
- Oven Temp. :60 $^{\circ}$ C(4min)-20 $^{\circ}$ C/min-200 $^{\circ}$ C-5 $^{\circ}$ C/min-290 $^{\circ}$ C(2min)
- : -10 $^{\circ}$ C/min-310 $^{\circ}$ C(3min)
- Inlet Mode :Solvent Vent, 70kPa, 150mL/min, 0.4min
- Parge Flow :50ml/min, 4min
- Transferline Temp. :280 $^{\circ}$ C
- Ion Source Temp. :280 $^{\circ}$ C
- MS Method :MRM (Agilent *Intelligent* MRMを使用)

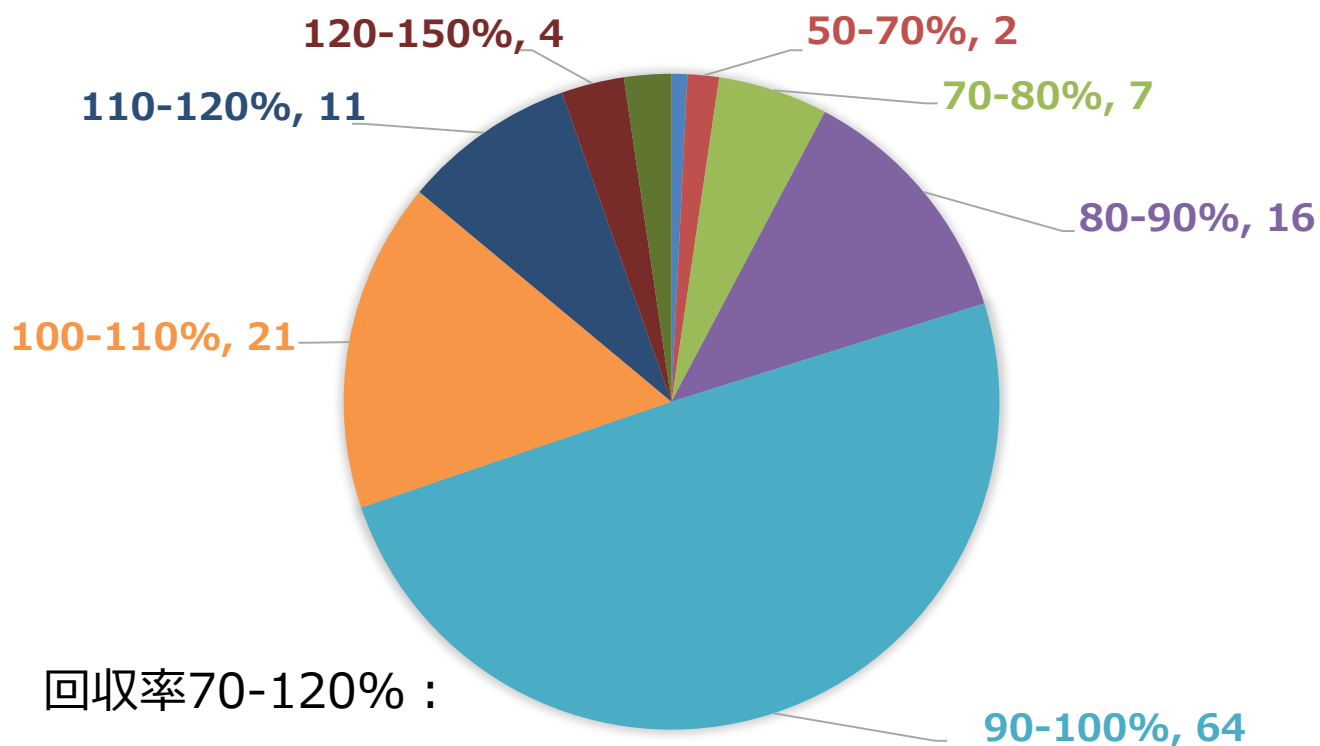
乾燥時間の最適化

| 化合物名 | 15sec | 30sec | 45sec | 60sec | 120sec | 化合物名 | 15sec | 30sec | 45sec | 60sec | 120sec | 化合物名 | 15sec | 30sec | 45sec | 60sec | 120sec |
|--------------|-------|-------|-------|-------|--------|---------------|-------|-------|-------|-------|--------|----------------|-------|-------|-------|-------|--------|
| ジクロロボス | 113 | 112 | 104 | 100 | 94 | フェニトロチオン | 114 | 109 | 102 | 100 | 101 | ブプロフェジン | 103 | 101 | 99 | 100 | 96 |
| ジクロベニル | 103 | 100 | 101 | 100 | 99 | ジメチルビンホス (E) | 103 | 110 | 105 | 100 | 105 | フェンチオンオキソンスルホ | 38 | 127 | 121 | 100 | 123 |
| エトリジアゾール | 105 | 103 | 102 | 100 | 99 | マラチオン | 106 | 105 | 101 | 100 | 100 | イソキサチオン | 116 | 112 | 113 | 100 | 105 |
| クロロネブ | 107 | 104 | 103 | 100 | 100 | エスプロカルブ | 105 | 102 | 101 | 100 | 95 | シプロコナゾール | 112 | 105 | 102 | 100 | 101 |
| イソプロカルブ | 105 | 103 | 101 | 100 | 100 | クロルピリホスオキソン | 96 | 115 | 120 | 100 | 114 | ピリミノバックメチル (Z) | 107 | 106 | 102 | 100 | 100 |
| モリネート | 105 | 102 | 101 | 100 | 98 | プロマシル | 251 | 102 | 98 | 100 | 104 | フェンチオンスルホキシド | 86 | 114 | 109 | 100 | 108 |
| フェノカルブ | 106 | 105 | 104 | 100 | 102 | メトラクロール | 107 | 104 | 102 | 100 | 100 | フェンチオンスルホ | 105 | 111 | 109 | 100 | 108 |
| プロボクスル | 106 | 109 | 105 | 100 | 104 | クロルピリホス | 110 | 109 | 104 | 100 | 98 | メブロニル | 118 | 110 | 103 | 100 | 101 |
| トリフルラリン | 114 | 111 | 103 | 100 | 99 | チオベンカルブ | 112 | 107 | 102 | 100 | 102 | クロロニトロフェン | 112 | 105 | 104 | 100 | 95 |
| ベンフルラリン | 114 | 109 | 104 | 100 | 98 | ジメチルビンホス (Z) | 106 | 113 | 111 | 100 | 108 | プロピコナゾール I | 108 | 106 | 107 | 100 | 103 |
| カズサホス | 109 | 105 | 103 | 100 | 100 | フェンチオン | 109 | 108 | 106 | 100 | 99 | エディフェンホス | 111 | 113 | 113 | 100 | 108 |
| ペンシクロ | 104 | 105 | 104 | 100 | 101 | クロルタールジメチル | 103 | 104 | 99 | 100 | 96 | ピリミノバックメチル (E) | 110 | 107 | 107 | 100 | 103 |
| ジメトエート | 73 | 113 | 110 | 100 | 108 | キノクラミン | 103 | 104 | 105 | 100 | 106 | プロピコナゾール II | 108 | 106 | 107 | 100 | 103 |
| シマジン | 105 | 101 | 102 | 100 | 102 | イソフェンホスオキソン | 106 | 109 | 107 | 100 | 103 | エンドスルファンサルフェート | 104 | 106 | 104 | 100 | 100 |
| ダイアジノン オキソン | 102 | 110 | 108 | 100 | 106 | シアナジン | 101 | 105 | 102 | 100 | 105 | EPNオキソン | 96 | 116 | 114 | 100 | 114 |
| アトラジン | 105 | 100 | 101 | 100 | 99 | テトラコナゾール | 103 | 105 | 104 | 100 | 101 | テニルクロール | 108 | 106 | 107 | 100 | 103 |
| ダイアジノン | 105 | 103 | 103 | 100 | 99 | ホスチアゼート I II | 104 | 118 | 116 | 100 | 111 | テブコナゾール | 106 | 102 | 107 | 100 | 100 |
| シアノホス | 105 | 104 | 102 | 100 | 101 | フサライド | 112 | 107 | 102 | 100 | 98 | ピリプチカルブ | 110 | 104 | 106 | 100 | 99 |
| プロピザミド | 108 | 104 | 102 | 100 | 100 | ペンディメタリン | 113 | 102 | 102 | 100 | 99 | ピリダフェンチオン | 110 | 109 | 109 | 100 | 103 |
| ピロキロン | 97 | 102 | 102 | 100 | 99 | チアメトキサム | 37 | 110 | 102 | 100 | 103 | イプロジオン | 127 | 117 | 105 | 100 | 96 |
| ジスルホト | 122 | 113 | 108 | 100 | 104 | シプロロジニル | 83 | 61 | 86 | 100 | 112 | ピペロホス | 113 | 108 | 109 | 100 | 103 |
| フェナントレン-d10 | 108 | 101 | 101 | 100 | 99 | ジメタメトリン | 84 | 58 | 85 | 100 | 112 | EPN | 113 | 107 | 107 | 100 | 101 |
| イプロベンホス | 108 | 104 | 102 | 100 | 101 | イソフェンホス | 109 | 105 | 104 | 100 | 100 | アセタミプリド | 62 | 117 | 124 | 100 | 129 |
| ジクロフェンチオン | 109 | 106 | 102 | 100 | 97 | フェントエート | 117 | 110 | 109 | 100 | 103 | クミルロン | 100 | 101 | 101 | 100 | 99 |
| トルクロホスメチルオキ | 101 | 111 | 108 | 100 | 106 | トリフルミゾール | 105 | 94 | 105 | 100 | 99 | オリサストロピン | 110 | 106 | 105 | 100 | 100 |
| テルブカルブ | 109 | 105 | 102 | 100 | 101 | プロシミドン | 108 | 106 | 100 | 100 | 97 | アニロホス | 116 | 114 | 117 | 100 | 108 |
| ベンフレセート | 106 | 101 | 102 | 100 | 100 | ブタミホスオキソン | 103 | 113 | 109 | 100 | 109 | インダノファン | 106 | 106 | 91 | 100 | 95 |
| フェニトロチオンオキソン | 93 | 121 | 116 | 100 | 115 | ジメピペレート | 108 | 105 | 105 | 100 | 102 | ピフェノックス | 116 | 104 | 109 | 100 | 100 |
| マラオキソン | 94 | 125 | 120 | 100 | 118 | プロパホス | 106 | 106 | 103 | 100 | 101 | フラメトビル | 108 | 106 | 104 | 100 | 101 |
| プロモブチド | 108 | 105 | 100 | 100 | 102 | メチダチオン | 107 | 110 | 108 | 100 | 105 | ホサロン | 109 | 107 | 109 | 100 | 103 |
| クロルピリホスメチル | 110 | 109 | 106 | 100 | 101 | ブタクロー | 105 | 104 | 105 | 100 | 95 | ピリプロキシフェン | 112 | 105 | 108 | 100 | 100 |
| プロバニル | 107 | 106 | 107 | 100 | 104 | テトラクロルビンホス | 104 | 116 | 110 | 100 | 108 | シハロホップブチル | 114 | 107 | 110 | 100 | 104 |
| メトリブジン | 104 | 104 | 105 | 100 | 99 | パクロプロトラゾール | 107 | 102 | 101 | 100 | 97 | メフェナセット | 109 | 109 | 111 | 100 | 105 |
| シメコナゾール | 107 | 101 | 101 | 100 | 99 | ブタミホス | 110 | 105 | 104 | 100 | 100 | ピラクロホス | 107 | 115 | 115 | 100 | 111 |
| トルクロホスメチル | 103 | 103 | 103 | 100 | 95 | ナプロパミド | 109 | 102 | 103 | 100 | 97 | エトベンザニド | 115 | 112 | 113 | 100 | 106 |
| シメトリン | 86 | 49 | 83 | 100 | 126 | フルトラニル | 110 | 105 | 104 | 100 | 100 | カフェンストロール | 104 | 111 | 110 | 100 | 108 |
| シンメチリン | 121 | 112 | 114 | 100 | 108 | プレチラクロー | 111 | 106 | 106 | 100 | 101 | ボスカリド | 113 | 107 | 107 | 100 | 102 |
| アメトリン | 94 | 58 | 86 | 100 | 121 | メトミノストロピン (E) | 107 | 105 | 106 | 100 | 100 | エトフェンブックス | 104 | 98 | 100 | 100 | 93 |
| ジチオビル | 106 | 101 | 99 | 100 | 96 | イソキサチオンオキソン | 91 | 121 | 125 | 100 | 121 | チアクロプリド | 120 | 100 | 104 | 100 | 105 |
| メタラキシル | 106 | 105 | 103 | 100 | 101 | イソプロチオラン | 109 | 105 | 105 | 100 | 100 | ジフェノコナゾール I II | 117 | 105 | 107 | 100 | 103 |
| プロメトリン | 80 | 57 | 85 | 100 | 105 | チフルザミド | 237 | 103 | 93 | 100 | 98 | ピラゾキシフェン | 121 | 110 | 106 | 100 | 99 |
| フェンチオンオキソン | 102 | 102 | 108 | 100 | 105 | ウニコナゾール p | 108 | 100 | 103 | 100 | 97 | 平均 | 106 | 105 | 105 | 100 | 103 |
| ピリミホスメチル | 110 | 107 | 104 | 100 | 100 | フェンチオンオキソンスルホ | 4 | 99 | 94 | 100 | 103 | | | | | | |

溶出量の最適化



添加回収試験：回収率



試料：精製水
添加濃度：0.1 ppb
採取量：500 μL

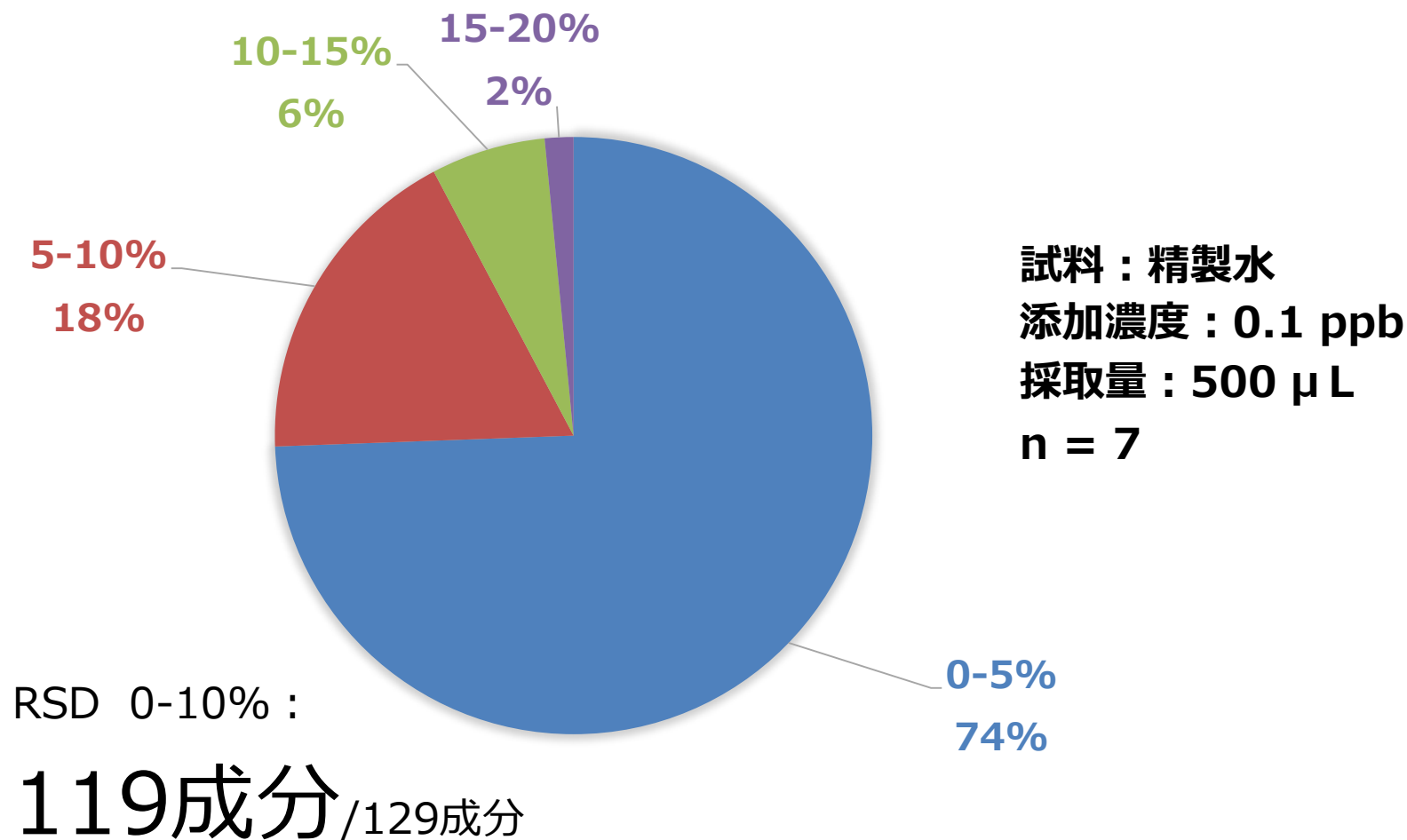
スタンダード：
濃度：1.25 ppb
注入量：40 μL

低回収率
 ジスルホトン
 エトフェンプロックス
 チアメキサム

回収率70-120%：

119成分 / 129成分

添加回收試驗：再現性 (RSD)



まとめ

- ◆ 乾燥時間の最適化を検討したところ、60秒を最適条件とした。
本法の固相カートリッジが充填剤が少ないことと形状がストレート型であることから短時間で乾燥できた。
- ◆ 溶出量の最適化を検討したところ、40 μ Lを最適条件とした。
本法で用いた固相カートリッジは充填剤が4mgであることから少ない溶媒でも十分に溶出できることが分かった。
- ◆ 従来時間がかかっていた水質農薬分析が、SPE-GC/MSシステムを用いることで、分解性の高い一部の農薬を除き、良好な回収率と再現性を全自動オンラインで得ることが分かった。