

## Q-RAI 法を用いた LC/Q-TOF による 農薬スクリーニング分析法



### 著者

滝埜昌彦

アジレント・テクノロジー  
株式会社

### 要旨

本アプリケーションノートでは、Q-RAI (Quadrupole Resolved All Ions) 法を用いた四重極飛行時間型 LC/MS (LC/Q-TOF) による農薬スクリーニング法について紹介します。

Q-RAI 法とは既報のアプリケーションノート<sup>1)</sup>でも紹介したように、従来のデータ依存型 MS/MS 法と異なるデータ非依存型 MS/MS 法です。この手法の特徴は、検出されたイオンを網羅的に MS/MS 測定が可能な点です。一方で、Q-RAI 法はフルスペクトル測定と数個の選択した質量幅におけるプロダクトイオンスペクトル測定を実行することから、感度や精度の低下が懸念されます。そこで本報では農薬標準液と河川底質抽出液を用いて Q-RAI 法による LC/Q-TOF 測定の評価を実施しました。また、Q-RAI 法と合わせて、測定結果を視覚化することで解析の効率化が可能な LC スクリーニング機能を用いることにより、農薬添加河川底質抽出液のサスペクトスクリーニングを行いました。

## 実験

農薬標準液は、林純薬工業社製の農薬混合標準液 PL2005 農薬 LC/MS Mix 4～12 を使用し、質量干渉を避けるため混合標準液をすべて混合せず、LC/MS Mix 4～6、LC/MS Mix 7, 8 および 10、LC/MS Mix 11, 12 を個別に混合して各農薬濃度 100, 10 および 1 ng/mL の 3 種類の混合液を調製しました。河川底質には異なる河川 3 か所で採取した底質を使用し既報特定の方法<sup>2)</sup>で調製しました。

## システム

1290 Infinity II high speed pump (G7120A)  
 1290 Infinity II multisampler (G7167B)  
 1290 Infinity II multicolumn thermostat (G7116B)  
 6546 LC/Q-TOF (G6546A)

## LC/MS 条件

今回の分析は高分解能 LC/Q-TOF を使用しました。条件は表 1 に示した通りです。

イオン化は、Agilent Jet Stream (AJS) テクノロジーによるエレクトロスプレーイオン化法 (ESI 法) を使用しました。Q-RAI 条件の設定画面を図 1 に示します。プリカーサーイオン選択質量幅を 100 Da おきに 7 条件で測定し、取り込み速度は 7 スペクトル/秒としました。

表 1. LC/Q-TOF 分析条件

LC		Agilent 1290 Infinity II LC System	
カラム	ZORBAX Eclipse Plus C18 RRHD (2.1 mm× 100 mm, 1.8 μm) (P/N : 959758-902)		
流量	0.2 mL/min		
移動相	A : 5 mM 酢酸アンモニウム B : メタノール		
グラジエント	10%B→ (30 min) →100%B		
カラム温度	40 °C		
注入量	2 μL		
MS		Agilent 6546 LC/Q-TOF System	
イオン源	Agilent Jet Stream (AJS) (正イオン)		
測定モード	Q-RAI		
乾燥ガス	300 °C 10 L/min		
シースガス	300 °C 12 L/min		
ネブライザ圧	50 psi		
キャピラリー電圧	4000 V		
ノズル電圧	0 V		
フラグメンタ電圧	120 V		

質量範囲および取り込み速度

Special Parameters   Quadrupole Window List   MS		Special Parameters   Quadrupole Window List   MS/MS	
Mass Range		Mass Range	
Min Range	100 m/z	Min Range	30 m/z
Max Range	1000 m/z	Max Range	1000 m/z
Acquisition Rate/Time		Acquisition Rate/Time	
Rate	7 spectra/s	Rate	7 spectra/s
Time	142.9 ms/spectrum	Time	142.9 ms/spectrum
Transients/spectrum	1272	Transients/spectrum	1249
Max. Time between MS1 Spectra	5 s		

Q-RAI 条件

Special Parameters   Quadrupole Window List				
On	Start m/z	End m/z	Window Width	Collision Energy
<input checked="" type="checkbox"/>	150	250	100 30	
<input checked="" type="checkbox"/>	250	350	100 30	
<input checked="" type="checkbox"/>	350	450	100 30	
<input checked="" type="checkbox"/>	450	550	100 30	
<input checked="" type="checkbox"/>	550	650	100 30	
<input checked="" type="checkbox"/>	650	750	100 30	
<input checked="" type="checkbox"/>	750	850	100 30	

図 1. Q-RAI 設定画面

## サスペクトスクリーニング法

スクリーニングは Q-RAI 法で測定した結果を、保持時間を含む精密質量データベースライブラリ (Personal Compound Database and Library : PCDL) を用いてサスペクトスクリーニングメソッドを作成し実施しました。定量イオンおよび確認イオンの抽出イオンクロマトグラム (Extract Ion Chromatogram : EIC) の抽出条件、スクリーニング解析条件と基準を表 2 に示します。定量イオンにはプロトン化分子あるいはアンモニウムイオン付加分子、確認イオンは PCDL のプロダクトイオンスペクトルの中から強度順にプロダクトイオンを選択しました。LC スクリーニングは、測定結果を一覧表で表示し視覚化するツールです。表 2 に示す基準に従って、定量イオン (相対質量誤差、質量一致スコア、保持時間、S/N) と確認イオン (定量イオンとの共溶出スコア、S/N) を評価し、表 3 の可視化基準を用いて、検出、要確認、非検出と色分けを行い、一覧表に表示されるため容易に確認が可能となります。

表 2. スクリーニング解析条件および基準

EIC 抽出条件		スクリーニング基準	
項目	設定値	項目	基準値
定量イオン	(M+H) <sup>+</sup> , (M+NH <sub>4</sub> ) <sup>+</sup>	<b>定量イオン</b>	
抽出質量幅	±30 ppm	相対質量誤差	±3 ppm 以下
抽出時間	±2 分	質量一致スコア	90 以上
確認イオン数	4	S/N	5 以上
		保持時間	5 %以内
		<b>確認イオン</b>	
		相対質量誤差	±3 ppm 以下
		共溶出スコア	90 以上
		S/N	5 以上
		<b>検証済イオン数 : 2</b>	

検証済イオンとは  
 定量イオン：相対質量誤差と S/N が基準を満たすイオン  
 確認イオン：すべての基準を満たすイオン

表 3. LC スクリーニングの可視化基準

検出 <input checked="" type="checkbox"/>	定量イオンの全基準が基準内 かつ 検証済確認イオン数が基準以上
要確認 <input type="checkbox"/>	定量イオンの基準項目の少なくとも 1 項目以上が基準外 または 検証済確認イオン数が基準未滿
非検出 <input type="checkbox"/>	定量イオンの基準項目の少なくとも 1 項目が基準外 かつ 検証済確認イオン数が基準未滿

## 結果

### 標準液

Q-RAI 法は高速で測定することからターゲット化合物の強度低下や質量真度の低下が予想されます。そこで実験に示した測定条件で農業混合液を測定し、各農薬の抽出イオンクロマトグラム (EIC) を図 2 に示しました。

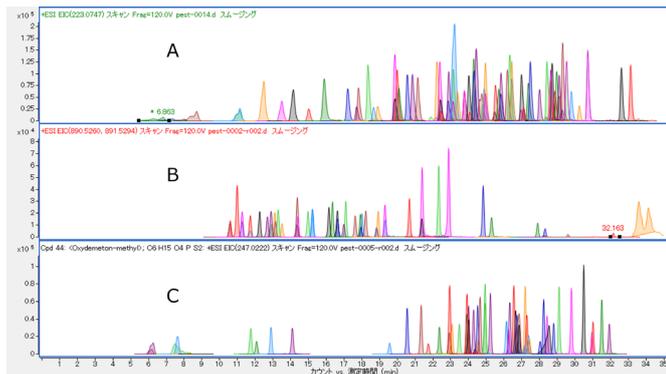


図 2. LC/MS Mix の EIC (濃度 : 10 ng/mL)  
A : LCMS Mix 4 ~ 6 B : LCMS Mix 7,8,10 C : LCMS Mix 11,12

今回検討した農薬は 10 ng/mL ですべて検出可能でした。図 3 は各農薬を濃度 1 ng/mL で測定し、S/N 比毎の分布図として示したものです。不検出および S/N が 10 以下の農薬数は 206 農薬中 17 と 10 % 以下でした。従って Q-RAI 法においても 1 ng/mL 程度の農薬の測定が可能であることがわかりました。

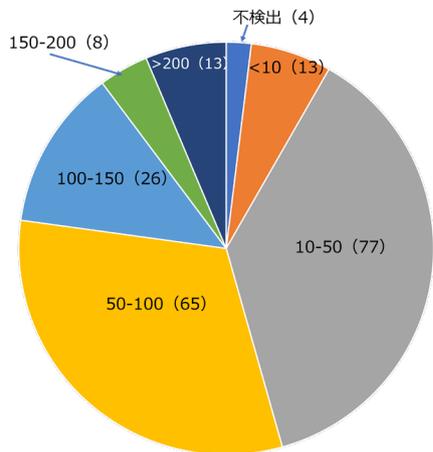


図 3. 各農薬の S/N 分布図 (濃度 : 1 ng/mL)  
最初の数字は S/N 比の範囲、() 内数字は農薬数

図 4 には TOF 法および Q-RAI 法で農業標準液 (濃度 : 10 ng/mL) を測定した際、各農薬で観察されたプロトン化分子あるいはアンモニウム付加分子のモノアイソトピック質量の相対質量誤差を示しました。TOF 法と Q-RAI 法共に  $\pm 4$  ppm 以内と良好な結果でした。同様に図 5 には各農薬の質量一致スコアを示しました。質量一致スコアは、観察された

分子量関連イオンの同位体強度比と同位体質量差の理論値との一致度をスコア化した値で 100 が最大値です。その結果も測定法に関係なく一部の農薬を除いて 80 以上と良好な一致スコアを示しました。

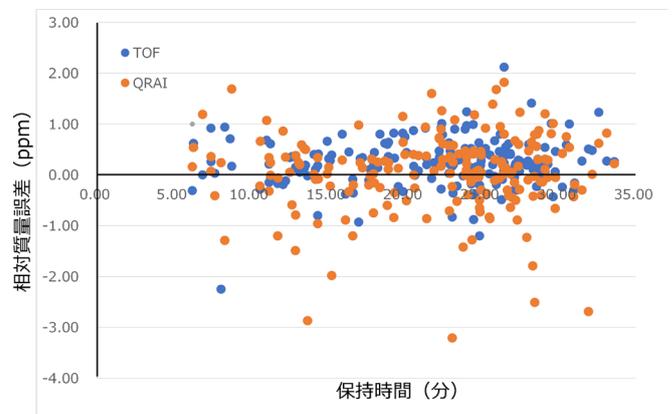


図 4. 農薬の相対質量誤差 (濃度 : 10 ng/mL)

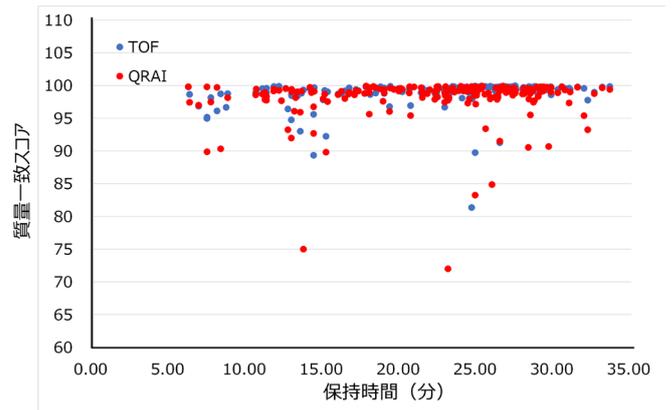


図 5. 農薬の質量一致スコア (濃度 : 10 ng/mL)

農業標準液および農業添加河川底質抽出液を Q-RAI 法で測定し、スクリーニングメソッドで解析した結果を図 6 に示しました。添加濃度が 1 ng/mL では 50 % 以上が要確認か非検出でしたが、10 および 100 ng/mL では 80 % 以上の農薬が定量イオン、確認イオン共に基準をクリアし検出可能でした。また、標準液と河川底質とで検出された農薬数に有意差はなく、Q-RAI 法において、河川底質由来のマトリックスの影響は軽微であったと考えられます。

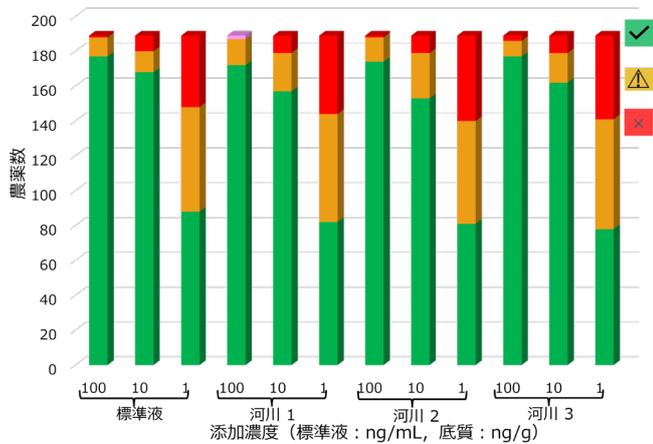


図 6. 各試料でのスクリーニング判定結果

図 7 に LC スクリーニングによる解析結果を示しました。A の部分に一覧表が表示され、この例では検出された農薬のみを表示しています。B,C,D のエリアにはアメトリンに関する情報が、一覧表の項目（質量一致スコア、質量真度）に加えて、マスマスペクトルとして表示されています。



図 7. LC スクリーニングによる解析結果

- A：一覧表、B：フルマスマスペクトル C：プロトン化分子あるいはアンモニウムイオン付加分子の同位体パターン
- D：確認イオンと PCDL のマスマスペクトル

図 8 は通常の定量結果の表示画面ですが、LC スクリーニングの結果とリンクして、容易に定量結果、クロマトグラムおよび検量線の確認を行うことが可能です。

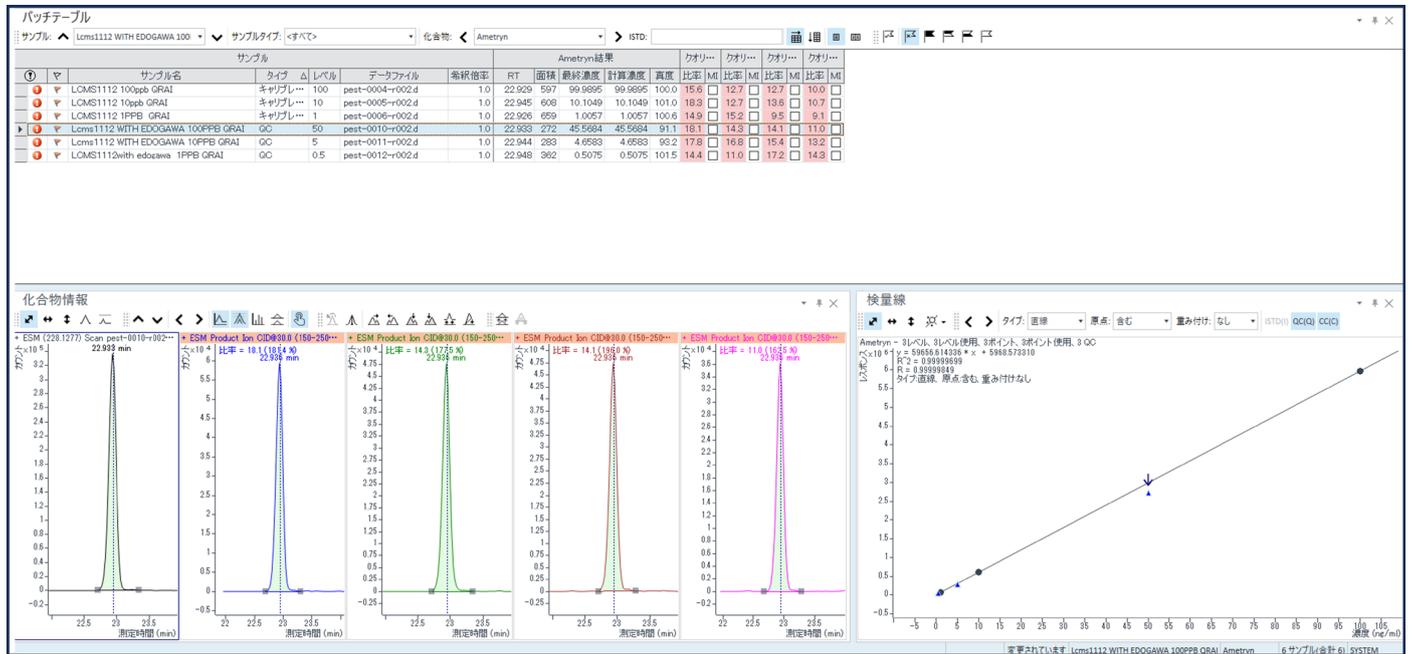


図 8. 定量結果画面 (アメトリン)

## まとめ

Agilent 6546 LC/Q-TOF の Q-RAI 法を用いた農薬スクリーニング法を検証しました。農薬標準液を用いて測定および解析した結果、1 ng/mL で 90 % 以上の農薬が S/N>10 で測定が可能でした。また、観察されたモノアイソトピックイオンの相対質量誤差は  $\pm 4$  ppm 以内で、質量一致スコアは 70 以上でした。Q-RAI 法と LC スクリーニング機能を組み合わせたスクリーニング手法で 10 ng/mL 相当の農薬を添加した河川底質抽出液を分析した結果、80 % 以上の農薬を検出することができました。

以上の結果から、Agilent 6546 LC/Q-TOF の Q-RAI 法を用いた農薬スクリーニング法は、環境試料中微量農薬分析のスクリーニングに有効であると考えられます。

## 参考文献

- 1) Q-RAI 法を用いた Agilent 6546 LC/Q-TOF による薬物スクリーニング法, LC-MS-202006TK-001
- 2) Agilent 6470 トリプル四重極 LC/MS システムと InfinityLab Poroshell 120 EC-CN カラムによる底質中の塩素化パラフィン分析, 5994-5554JAJP

ホームページ

[www.agilent.com/chem/jp](http://www.agilent.com/chem/jp)

カスタムコンタクトセンター

**0120-477-111**

**email\_japan@agilent.com**

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

DE70738138

アジレント・テクノロジー株式会社  
© Agilent Technologies, Inc. 2024  
Printed in Japan, July 16, 2024  
5994-7630JAJP