

LC/MS/MS を用いた環境変化体の無標準測定技術の開発

○高梨啓和¹, 橋本扶美^{1,2}, 中島常憲¹, 上田岳彦¹, 門川淳一¹, 石川英律²,
宮本信一²

(¹鹿児島大学学術研究院, ²いであ株式会社)

【はじめに】

水環境中からは、様々な農薬環境変化体 (Pesticide Transformation Product in Water environments, PTPWs) が検出される。しかし、未だ測定が行われていない PTPWs が数多く存在すると考えられる。環境中での濃度域の極性物質を検出するためには LC/MS/MS が必要になるが、LC/MS/MS を用いた測定では試薬を用いて選択反応モニタリング (SRM) 条件を定める必要がある。未知 PTPWs を含めて多くの PTPWs は試薬の市販が確認できず、合成が必要となる。合成には一定の労力とコストが必要であるが、ラボ環境と実環境との違いなどの原因で、構造推定して合成した PTPWs の環境中からの検出率が低い場合があり、研究効率が低い。そこで本研究では、合成に先立ち、着目した PTPWs の環境中からの検出率を検討する無標準 SRM 測定技術を構築し、原理を確認した。

【方法】

殺虫剤 imidacloprid の 1 mM 水溶液にキセノンランプ光を照射し、光照射産物を得た。また、農家の協力を得て、imidacloprid を施用した水田の田面水を採取した。これらのサンプルに含まれる既知 PTPWs を高分解能 LC/MS (LTQ Orbitrap XL, Thermo Scientific) を用いて網羅的に探索した。また、1st gen. product ion analysis を実施した。その際の衝突誘起解離は、緩衝ガスとして窒素を用いて axial CID で実施し、activation time は 100 msec、isolation width を 1.5 Da とした。イオン化は ESI により行い、正イオン化モードで実施した。分離カラムには AQ-C18 (ジーエルサイエンス) を用いた。

2016 年 5 月 21 日～6 月 13 日に、imidacloprid を施用した地域を流れる河川から、環境基準点を含む 5 ヶ所で 271 サンプルを採集した。採集したサンプルは、Oasis WCX Plus Short Cartridge (日本ウォーターズ) を備えたアクアトレース ASPE899 (ジーエルサイエンス) を用いて 300 倍に濃縮され、LC/MS/MS (TSQ Quantiva, Thermo Scientific) を用いた分析に供された。四重極における resolution を 0.7 Da (選択イオンモニタリング (SIM) 測定時には 0.2 Da)、緩衝ガスをアルゴンとして測定した。イオン化および分離は、高分解能 LC/MS における分析と同条件とした。とくに、LC 分離の固定相および移動相は、同一のカラム、同一の溶液を使用した。

【結果と考察】

光照射により生成した PTPWs を高分解能 LC/MS を用いて探索したところ、5-(aminomethyl)-2-chloropyridine、1-((6-chloropyridin-3-yl)methyl)imidazolidin-2-imine、6-chloronicotinic acid、1-((6-chloropyridin-3-yl)methyl)imidazolidin-2-one、*N*-((6-chloropyridin-3-yl)methyl)acetamide、(*E*)-1-

A technique for detecting environmental transformation products without authentic standards, Hirokazu TAKANASHI^{1*}, Fumi HASHIMOTO^{1,2}, Tsunenori NAKAJIMA¹, Takehiko UEDA¹, Jun-ichi KADOKAWA¹, Hidenori ISHIKAWA¹ and Nobukazu MIYAMOTO³, ¹Kagoshima Univ., ²IDEA Consultants, Inc., * takanashi@apc.kagoshima-u.ac.jp

((6-chloropyridin-3-yl)methyl)-2-nitroguanidin および (*E*)-*N*-(1-((6-chloropyridin-3-yl)methyl)-1,3-dihydro-2*H*-imidazol-2-ylidene)nitramide の 7 物質を発見することができた。これらの 7 物質を購入または合成し、技術開発と原理確認のモデル物質として用いた。

次に、発見された PTPWs を LC/MS/MS を用いて測定する際に必要となる SRM 条件を検討した。検討は、光照射サンプルまたは田面水濃縮サンプルを用いて行った。まず、高分解能 LC/MS での測定結果から (図 1)、各 PTPWs の付加体イオンの種類とカラム保持時間 (RT) を検討した。その結果、すべての PTPWs の付加体イオンの種類を、プロトン付加体と特定できた。また、すべての PTPWs の RT を定めることができた。そこで、LC/MS/MS を用いた SIM 分析を行ったところ (図 1)、すべての PTPWs について、高分解能 LC/MS と同一 RT にプロトン付加体の *m/z* と一致するイオンのピークが観察された。分析種の *m/z* と RT を決定することができたので、SRM 条件を定めた。

以上のように定めた SRM 条件が正しいことを確認するために、市販試薬や合成物の SRM 分析を行った。その結果、すべての分析種の RT が図 1 と一致し

た。さらに、市販試薬や合成物を用いて検量線を描いたところ、設定濃度比のピーク面積が得られ、検量線を描くことができた。これらのことから、標準物質となる試薬が入手できない農薬環境変化体の高感度 LC/MS/MS 分析技術の構築と原理確認に成功したと判断した。構築した技術を用いて実サンプルの分析を行ったところ、すべての PTPWs を検出することができた。

【結論】

試薬の市販が確認できないなど、標準物質を入手できない環境変化体を LC/MS/MS で検出することを目的として、選択反応モニタリング条件を定める技術を検討した。その結果、未変化体の光照射サンプルや田面水などの高濃度混合サンプルを用いて選択反応モニタリング条件を決定可能なことを示した。同技術を用いて、標準物質を用いずに、実環境中からの検出に成功した。

【謝辞】

本研究は、環境省の環境研究総合推進費(5-1406)および JSPS 科研費 26550064 により実施された。ここに記して謝意を表す。

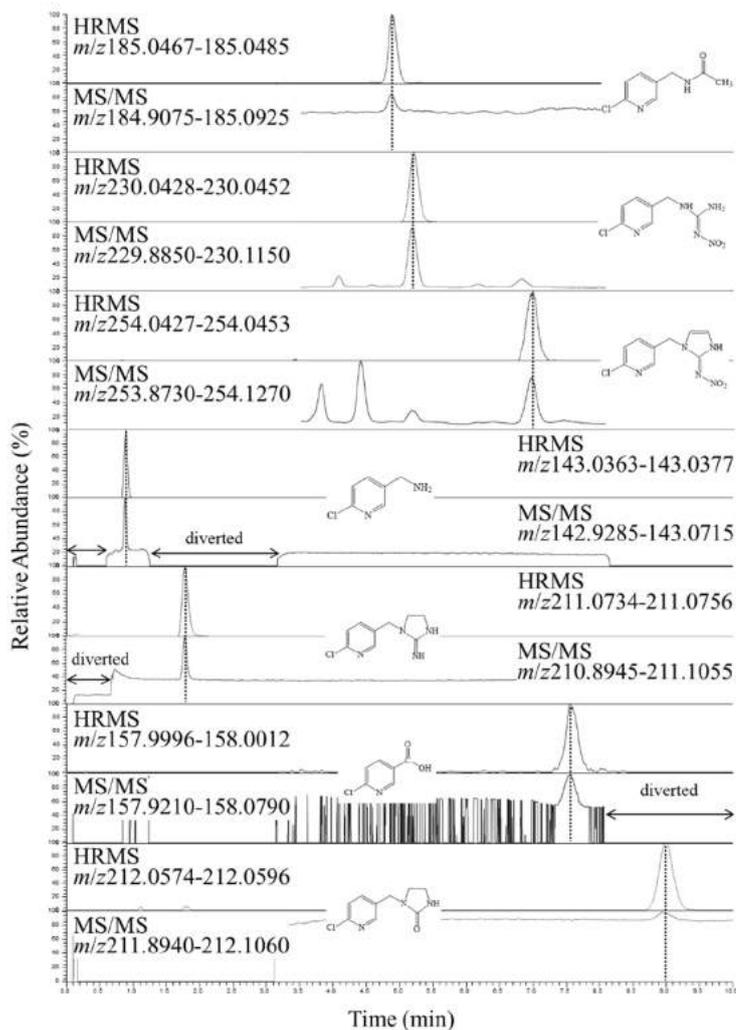


図 1 高分解能 LC/MS によるプリカーサーイオン分析と高感度 LC/MS/MS による選択イオンモニタリング分析の抽出イオンクロマトグラムの比較