

Calibration Locking Database 法による検出・定量法の開発

○山上 仰、小川義謙、中島晋也、東房健一 1)、中 聡子 1)、瀧川義澄 2)、陣矢大助 3)、門上希和夫 3)

西川計測、1)新川電機、2)アジレント・テクノロジー、3)北九州市立大学

Development of Detection and Quantification using Calibration Locking Database, by Takashi YAMAGAMI, Yoshinori OGAWA, Shinya NAKASHIMA, Kenichi TOBO1), Satoko NAKA1), Yoshizumi TAKIGAWA2), Daisuke JINYA3), Kiwao KADOKAMI3), (Nishikawa Keisoku, 1) Shinkawa Electric, 2) Agilent Technologies, 3) The University of Kitakyushu)

1. はじめに

近年では、多くの化学物質がさまざまな分野で使用されており、環境分析などにおいても測定すべき成分ならびに試料は増加し続けている。したがって、多くの化学種を同時に分析できる一斉分析法は不可欠な手法となっており、この分析目的に合致した MS の進歩ともあいまって、広く普及するに至っている。しかしながら、一斉分析で扱う化学種が多くなるにつれて、測定・解析の困難さならびに標準物質の入手・管理に由来する制約などの問題点も顕在化しつつある。

上記の問題点に対して、演者らは GC/MS による Calibration Locking Database 法（以下 CLD 法）を開発した。CLD 法は、一般的な検量線に代えてデータベース化された保持時間（RT）および検出器応答（RF）を用いて検出ならびに定量を行う方法である。本手法によれば、迅速かつ簡便な多成分分析が可能であるとともに、日常的には標準物質を使用しない測定が期待できる。さらに、データベースに登録されている化学種であれば特に測定対象成分に指定しなくても、検出・定量が可能なので網羅的測定が可能である。以上の特徴から、本手法は特に多成分のスクリーニング分析に有用であると考えられる。本発表では、CLD 法におけるデータベースの構築ならびに擬似試料を用いた本手法の評価結果について報告する。

2. データベースの構築

上で挙げた 2 つの化合物情報である RT および RF は、測定装置あるいは測定時期などが異なると変動するのが通例である。このため、RT および RF をデータベース化するためには、装置あるいは測定日に関わらずこれらの値を固定化する技術が必要である。

RT の固定化には、リテンションタイムロッキング（RTL）を利用した。本技術では、GC 条件の一部を同一にすることにより、実用上問題ないレベルで RT を一定に保つことが可能である。図 1 に RTL の一例として、5 機関における農薬 40 成分あまりの各 RT について、その最大値と最小値との差分を示す。5 分から 35 分程度の RT に対して差分のほとんどは 0.05 分未満、最大でも 0.06 分と全体的に良く一致した。

RF については、その絶対値を一定に保つのは困難と思われるので、適当な内部標準物質（IS）との相対応答（RRF）の固定化を試みた。この場合、IS と測定対象成分では定量イオンが異なるので、MS 間での質量スペクトルパターンの均一性が重要となる。そこで、MS チューニングにおいてイオン

強度比をより厳密に調整する EPA メソッド 625 準拠の DFTPP ターゲットチューニングアルゴリズムを採用した。表 1 に 10 台の異なる装置で得られた各イオンの対ベースイオン強度比の平均値とその相対標準偏差を示す。設定値と平均値はおおむね良く一致していた。また、データベース化に際して、より重要と考えられる相対標準偏差も概して 5%程度と良好であった。

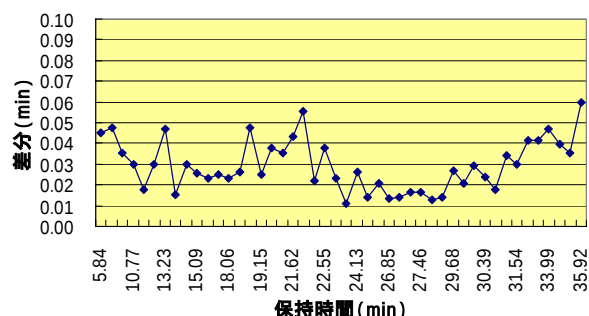


図1 5 機関による RT の差分(最大値 - 最小値)

表1 10 台の装置による DFTPP チューニングの結果

Ion(m/z)	50	131	219	414	502
Target(%)	1.0	45.0	55.0	2.4	2.0
Average	1.0	46.6	54.5	2.6	2.2
RSD (%)	8.0	3.2	4.3	3.6	5.2

RRF のもう一つの変動要因として GC/MS のシステム状態が考えられる。これは、システムの汚染もしくは劣化が生じた箇所とその度合いおよび化学種の組み合わせにより影響の出かたが異なる場合があるためである。この点については、システム評価用試料（クライテリアサンプル）を作成した。本試料作成にあたっては、測定に影響をおよぼす箇所として、注入口、カラムの入り口側（注入口側）、カラムの出口側（MS 側）および MS イオン源を想定した。このため、クライテリアサンプルはこれら各部の汚染 / 劣化に対して、それぞれ影響を受け易いと思われる化学種を混合溶液にしたものである。さらに、それらの選定に際しては入手のし易さも考慮した。本試料の測定結果から、およそそのシステム状態を見積もることができる。また、クライテリアサンプルに含まれる化学種もデータベース化してあるので、ソフトウェアによる数値化・自動化による評価が可能である。図 2 にクライテリアサンプルのクロマトグラム例を示す。

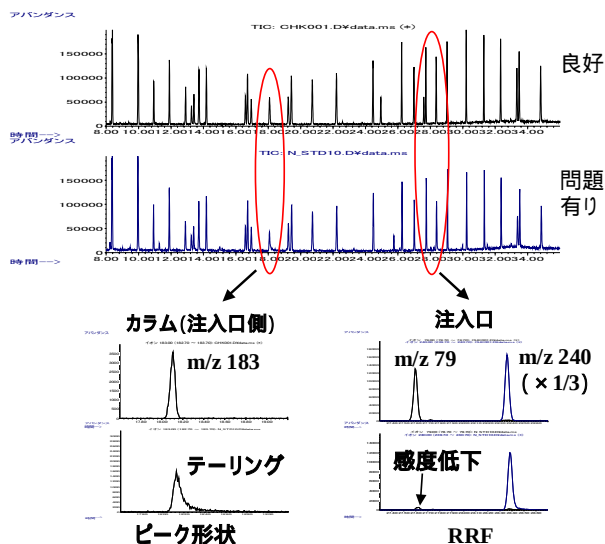


図2 クライテリアサンプルクロマトグラムの一例

以上の仕組みにもとづき、約 750 化合物をデータベースに登録した。また、このデータベースを利用するための自動検出・定量用ソフトウェアならびにマニュアル解析用にデータブラウザも合わせて作成した。

3. 擬似試料を用いた CLD 法の評価

河川水擬似試料を CLD 法により測定し、検出および定量に関して評価を行った。

擬似試料は、河川水 1L をジクロロメタン抽出により 1mL に濃縮して得られた溶液に水道水規制農薬 69 成分(トリクロロホンおよびクロロニトロフェンアミノ体を除く)を 1ug/mL (河川水として 1ng/mL) になるように添加して調製した。

測定結果を表 2 に示す。検出については、RT がデータベースと良く一致したことおよび、ほとんどの成分で質量スペクトルの一致率が 90 以上(最高 99)であったことから、いずれの成分とも良好であった。質量スペクトルの一致率が低い成分がいくつか認められたが、原因は添加成分どうして RT が重なったためであった。定量に関しては、ほとんどの成分が添加濃度の 1ug/mL に対して高い値を示したが、いずれも 1/2 から 2 倍の範囲に入っており、スクリーニング分析としては有用であると思われる。定量値が高めになる原因は、試料共存で感度が高くなるマトリックス効果によるものと推察される。本評価結果は、CLD 法の多成分スクリーニングへの実用可能性を示唆するものと考えられる。

4. まとめ

GC/MS 分析において検出と定量に必要な情報である保持時間および検出器応答を固定化・データベース化することで、日常的には標準物質を用いない、簡便・迅速かつ網羅的な測定法を開発した。本検討では評価用化合物として農薬を用いたが、他の多くの有機化合物にも適用可能と考えられる。本手法はその特徴から、総合的モニタリングあるいは事故等緊急時の対応などに有効性が高いと思われる。今後、より低濃度試料への適用性についての検討を予定している。

表2 擬似試料測定結果

化合物名	実測(分)	保持時間 DB(分)	差(秒)	MS Hit	定量値 ug/ml
ジクロロホス	5.82	5.80	1.15	98	1.30
ジクロベニル	6.74	6.73	0.58	98	1.36
エトシアゾール	7.95	7.94	0.63	99	1.54
クロロネブ	8.68	8.66	0.69	99	1.46
モリネート	9.09	9.08	0.39	41	1.28
イソプロカルブ	9.10	9.10	0.53	96	1.23
フェノカルブ	10.28	10.27	0.47	96	1.41
ベンシクロン	11.70	11.65	3.39	42	1.81
トリフルラリン	11.65	11.65	0.15	99	1.57
ベンフルラリン	11.74	11.74	-0.26	99	1.54
ジメエート	12.65	12.66	-0.27	98	1.46
シマジン	12.90	12.90	0.26	95	1.58
アトラジン	13.15	13.15	0.27	99	1.45
ピロキロン	13.78	13.78	-0.09	98	1.43
プロピザミド	13.94	13.94	0.06	99	1.46
ダイアジン	14.48	14.48	-0.11	99	1.53
ジスルホトン	14.55	14.55	-0.08	99	1.33
クロロタロニル	14.77	14.78	-0.44	97	1.56
イプロベンホス	15.34	15.34	-0.03	99	1.60
プロモブチド	16.26	16.25	0.17	95	1.35
テルブカルブ	16.69	16.69	-0.14	91	1.50
トリクロホスメチル	16.81	16.81	-0.01	96	1.57
シメリン	16.83	16.82	0.36	55	1.44
アラクロール	17.04	17.03	0.12	99	1.34
メタラキシル	17.35	17.35	0.06	99	1.41
フェントロチオン	18.08	18.08	-0.27	74	1.43
シチオビル	18.10	18.10	0.27	38	1.37
エスプロカルブ	18.26	18.25	0.47	95	1.44
チオベンカルブ	18.60	18.58	1.16	95	1.34
マラチオン	18.82	18.82	0.15	94	1.16
フェンチオン	19.13	19.12	0.46	93	1.41
クロルピリホス	19.25	19.24	0.63	95	1.29
フアライド	19.75	19.75	0.24	99	1.33
ペンディメタリン	21.01	21.00	0.29	99	1.33
ジメタドリ	21.11	21.08	1.76	98	1.51
キャブタン	21.24	21.23	0.19	96	0.83
メチルタイムロン	21.37	21.36	0.54	78	1.06
ジメバレート	21.53	21.52	0.61	93	1.21
イソフェンホス	21.64	21.63	0.53	99	1.23
フェントート	21.74	21.73	0.91	94	1.50
プロシドン	21.97	21.97	0.05	99	1.36
メダチオン	22.31	22.30	0.35	91	1.30
a-エンドスルファン	22.64	22.62	1.08	99	1.20
ナプロバミド	23.46	23.45	0.34	96	1.24
ブタホス	23.58	23.57	0.46	95	1.41
フルタニル	23.82	23.80	0.78	98	1.40
イソプロチオン	23.89	23.89	0.41	93	1.13
プレチクロール	24.14	24.13	0.84	99	1.21
プロロフェジン	24.57	24.55	1.05	99	1.25
イソキサチオン	24.97	24.95	0.87	86	1.52
b-エンドスルファン	25.16	25.15	0.71	99	1.27
メプロニル	26.29	26.26	1.75	94	1.34
クロロニトロフェン	26.52	26.49	1.59	99	1.27
エディフェンホス	26.77	26.76	0.28	94	1.44
プロピコナゾール @1	26.94	26.93	0.64	81	0.51
プロピコナゾール @2	27.15	27.13	0.93	93	0.79
プロピコナゾール総量					1.30
テニクロール	27.48	27.45	1.64	96	1.07
ピリブチカルブ	28.35	28.32	2.28	97	1.22
イプロジオン	28.43	28.38	2.95	86	1.59
ピリダフェンチオン	28.54	28.50	2.42	97	1.35
EPN	28.68	28.63	2.63	99	1.28
ビバロホス	28.87	28.83	2.52	95	1.35
ピフェノックス	29.20	29.16	2.55	86	1.46
アニコホス	29.27	29.22	2.83	94	1.23
ピリプロキシフェン	29.89	29.84	2.88	91	1.31
メフェナセト	30.00	29.95	2.87	91	1.31
カエンストロール	32.20	32.14	3.71	90	1.52
イトフェンロックス	33.23	33.16	4.31	99	1.61

イタリック:無添加試料定量値を差し引いた値
プロピコナゾールは異性体総量で1ug/mL