

# Captiva EMR-Lipid を用いた Agilent 6470 トリプル四重極 LC/MS による 穀類中農薬の分析



# **Authors**

滝埜昌彦

澤田浩和

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、試料精製に脂質除去用ミニカラムである Captiva EMR-Lipid を使用し、測定にトリプル四重極 LC/MS を用いた穀類中農薬の一斉分析法を紹介します。食品の農薬分析は平成 18 年に施工されたポジティブリスト制以来、測定対象農薬数が増大し一斉分析法が一般的となっています。また、試料前処理には迅速な QuEChERS 法が用いられています。しかし、抽出液の精製に分散固相法を用いる QuEChERS 法では脂質の除去が不十分な場合もあります。そこで、脂質を特異的に除去する Captiva EMR-Lipid を用いてトリプル四重極 LC-MS による穀類中の農薬の迅速な一斉分析法を検討しました。

Key words:農薬,精白米,玄米,大豆,小麦,Captiva EMR-Lipid,LC/MS

# 分析条件

# システム

1290 Infinity II high speed pump (G7120A) 1290 Infinity II multisampler (G7167B) 1290 Infinity II multicolumn thermostat (G7116B) 6470 Triple Quadrupole LC/MS (G6470A)

#### LC/MS条件

今回の分析はトリプル四重極LC/MS法を使用しました。 条件は表1及び2に示した通りです。

#### 表1. 分析条件



#### 表2. 各農薬のMRM条件

No	農業名	・・ プリカーサー	プロダクト	CE	極性	No	農薬名	ブリカーサー	プロダクト	CE	極性	No 農業名	プリカーサー	プロダクト	CE	極性	No	農薬名	プリカーサー	プロダクト	CE	極性
1	Aldicarb-sulfoxide	207	132	5	正	54	Penoxsulam	484	195	33	正	106 Linuron	249	160	17	正		Coumaphos	363	227	29	正
2	Dinotefuran	203	129	9	Œ	55	Triclopyr	254	196	5	負	107 Pyrimethanil	200	107	29	正		Phoxim	299	77	41	正
3	Propamocarb	189	102	17	正	56	Chlorimuron ethyl	415	186	17	Œ	108 Azoxystrobin	404	372	15	正		Pyraclostrobin	388	194	8	正
4	Aldoxycarb	240	223	5	Æ	57	Azamethiophos	325	112	40	Æ	109 Methiocarb	226	169	9	正	161	Clofentezin	303	138	12	Æ
5	Oxamyl	237	72	13	正	58	Cloransulam-methyl	430	398	13	Œ	110 Fenamidone	312	92	29	正	162	Prochloraz	376	308	9	正
6	Nitenpyram	271	56	36	正	59	Ethoxysulfuron	399	261	17	正	111 Ferimzone(E,Z)	255	132	20	正	163	Metconazole	320	125	45	正
7	Methomyl	163	88	9	正	60	Mecoprop	213	141	13	負	112 Ethiprole	397	351	20	正	164	Cyflufenamide	413	295	17	正
8	Oxydemeton-methyl	247	169	15	正	61	Diclosulam	406	161	25	正	113 Fludioxonil	247	180	35	負	165	Triflumuron	359	156	17	正
9	Clofencet	230	203	20	正	62	Bendiocarb	224	109	19	正	114 Boscalid	343	307	21	正	166	Butamifos	333	180	5	正
10	Flonicamid	230	203	17	正	63	Carbofuran	222	123	25	Æ	115 Dimethomorph	388	301	21	正	167	Thiobencarb	258	125	21	正
11	Flumetsulam	326	129	29	正	64	Dichlorprop	233	161	9	負	116 Mandipropamide	412	356	9	正	168	Pyrazolynate	439	91	41	正
12	Thiamethoxam	292	211	13	正	65	Sulfentrazone	404	387	13	正	117 Isoprothiolane	291	189	21	正		Pencycuron	329	125	29	正
13	Bentazone	239	132	30	負	66	Thidiazuron	221	102	17	正	118 Flutranil	324	262	21	正		Cycloate	216	83	17	正
14	Fluroxypyr	253	195	9	負	67	Prosulfuron	420	141	21	正	119 Methoxyfenozide	367	149	25	負		Fluacrypyrim	427	205	9	正
15	Giberellic acid	345	143	33	負	68	Tebuthiuron	229	172	21	正	120 Dymuron	269	151	13	正	172	Indoxacarb	528	150	20	正
16	Thifensulfuron-methyl	388	167	17	正	69	Carbaryl	202	145	5	Œ	121 Mefenacet	299	148	13	正	173	Trifloxystrobin	409	186	17	正
17	Metsulfuron-methyl	382	167	17	正	70	Clodinafop acid	312	266	17	Œ	122 Pacrobutrazole	294	70	20	正	174	Diallate	270	86	17	正
18	4-Chlorophenoxyacetic acid	185	127	13	負	71	Fluazifop	326	254	20	負	123 Cumyluron	303	185	13	正	175	Hexaflumuron	461	158	16	正
19	Imidacloprid	256	209	17	正	72	Cyclanilide	272	160	17	負	124 Tiadinil	266	71	20	負	176	Triflumizole	346	278	9	正
20	Clothianidin	250	169	13	正	73	Monolinuron	215	126	21	正	125 Chlorxuron	291	72	25	正	177	Pretilachlor	312	252	17	正
21	Imazaquin	312	86	33	正	74	Triflusulfuron methyl	493	264	20	正	126 Triazophos	314	162	21	正	178	Novalron	493	158	20	正
22	Azimsulfuron	425	182	17	正	75	Ethiofencarb	226	107	13	正	127 Mepanipyrim	224	106	29	正	179	Benzofenap	431	105	35	Æ
23	Florasuram	360	129	25	正	76	Bensuifuron-methyl	411	149	21	Æ	128 Fenhexamide	302	97	29	正	180	Profenophos	373	303	21	正
24	Bromoxynil	274	79	33	負	77	Primsulfuron-methyl	467	226	15	負	129 Prometryn	242	158	25	正	181	Fenoxaprop-ethyl	362	288	21	Œ
25	Trichlorfom	257	109	17	正	78	Thiodicarb	355	88	17	正	130 Iprovalicarb	321	119	21	正	182	Quizalfop-ethyl	373	299	21	正
26	Chlorsulfurobn	358	141	17	正	79	Dimethirimol	210	71	41	正	131 Chlomafenozide	395	175	13	正	183	Oxadiclomefone	376	190	13	正
27	Cinosulfuron	414	183	17	正	80	Pirimicarb	239	72	25	正	132 Butafenacil	492	331	25	正	184	Pentoxazone	371	286	17	正
28	Vamidothion	288	146	9	正	81	MCPB	227	141	5	負	133 Flufenacet	364	152	21	正	185	Fluazifop-buthyl	384	282	21	正
29	Chloridazon	222	77	41	正	82	Tralkoxydim-1	330	284	13	正	134 Napropamide	272	171	21	正	186	Clomeprop	322	175	25	負
30	Foramsulfuron	453	182	21	正	83	pyraclonil	315	169	32	正	135 Triticonazole	318	70	17	正正	187	Furathiocarb	383	195	17	正正
31	Flazasulfuron	408	182	21	正	84	Methabenzthiazuron	222	165	17	正	136 Simeconazole	294	70	21	正	188	Lactofen	479	344	13	正
32	Sulfosulfuron	471	211	13	正	85	Furametpyr	334	157	37	正	137 Triflumizole metabolite		73	20	正	189	Cloquintcet-mexyl	336	238	17	正
33	Cloprop	199	127	10	負	86	Cyclosulfamuron	422	261	17	正	138 Indanofan	341	175	9	正	190	Aramite	352	191	8	正
34	Imazosulfuron	413	153	13	正	87	Metalaxyl	280	220	13	正	139 Epoxyconazole	330	121	25	正		Teflubenzuron	381	158	17	正
35	Propoxycarbazone	399	116	33	正	88	Isoxafultole	360	251	17	正	140 Cyazofamide	325	108	13	正		Fenpyroxymate(E)	422	366	12	正
36	Tribenuron methyl	396	155	13	正	89	Diuron	233	72	20	正	141 Diclomezine	255	80	37	正		Lufenuron	511	158	21	正
37	Cymoxanil	199	128	5	正	90	Azafenidin	338	264	37	正	142 Naproanilide	292	171	13	正		Pyributicarb	331	133	29	正
38	Triasulfuron	402	167	17	正	91	Forchlorfenuron	248	129	21	正	143 Diflubenzuron	311	158	17	正		Hexythiazox	353	228	16	正
39	Oxycarboxin	268	175	13	正	92	Acifluofen	360	316	5	負	144 Fenoxycarb	302	88	20	正		Flufenoxuron	489	158	21	正
40	Carbendazim	192	160	17	正	93	Methidathion	303	145	4	正	145 Tebufenozide	297	133	15	正		Etoxazole	360	304	21	正
41	Thiacloprid	253	126	25	正	94	Fomesafen	456	344	13	Œ	146 Fipronil	435	330	15	負		Emamectin B1b	873	158	20	Æ
42	Mesosulfuron-methyl	504	182	25	正	95	Azinphos methyl	318	261	5	正	147 Tetrachlorvinphos	365	127	12	正		Cycloprothrin	499	181	40	Œ
43	Ethametsulfuron-methyl	411	196	17	正	96	Chlorantranipirprol	482	204	10	負	148 Quinalphos	299	163	25	正		Fenpyroxymate(Z)	422	366	12	Œ
44	Naptalam	292	144	9	正	97	Phenmedipham	318	136	29	正	149 Iprobenphos	289	91	21	正		Spirodiclofen	411	71	17	正
45	Aldicarb	116	89	9	正	98	Pyriflalid	319	139	33	正	150 Penconazole	284	70	17	正		Chlorfluazuron	540	383	20	正
46	loxynil	370	127	32	負	99	Haloxyfop	362	316	16	正	151 Cypronidil	226	93	25	正		Emamectin B1a	887	158	40	正
47	2,4-D	219	161	9	負		Fluridon	330	309	45	正	152 Imazalil	297	159	25	正		Pyridaben	365	147	29	正
48	Pyrazosulfuron-ethyl	415	182	21	正		Fenobucarb	208	95	17	正	153 Tebuconazole	308	70	25	正		Abamectin B1a	891	567	8	正
49	MCPA	199	141	13	負		Acibenzoral-S-methyl	211	136	37	正	154 Pyrazoxyfen	403	91	45	正		Spinosyn A	733	142	33	正
50	lodosulfuron-methyl	508	167	16	正		Sethoxydim	328	178	21	正	155 Anilofos	368	125	37	正		Spinosyn D	747	142	33	正
51	Halosulfuron methyl	435	182	21	正		Tralkoxydim-2	330	284	13	正	156 Carpropamide	334	139	25	正		Silafluofen	426	287	9	正
52	Thiabendazole	202	175	29	正		Ametryn	228	186	21	正	157 Etobenzanid	340	149	25	正	209	Tridemorph	298	57	37	Æ
53	Metosulam	418	175	29	正	los -	コリジョンエネルギー															

#### 混合標準液

農薬混合標準液は林純薬工業製農薬混合標準溶液 (PL2005LC/MS農薬 Mix 4~12)を混合した後,80%アセトニトリル水溶液を希釈液として各濃度に調製しました。

#### 試料調製

試料はスーパーマーケットで購入した精白米,玄米,小麦及び大豆を使用しました。ウエスト製ミクロパウダー MPW-G800を用いて粉砕した試料5 gを正確に秤量後, Bond Elut QuEChERS抽出キット (P/N:5982-5650)及び Captiva EMR-Lipid(P/N:5190-1004)を使用し図1の通り処理しました。試料抽出精製液は $0.45~\mu$ mのシリンジフィルターでろ過し試験溶液としました。

#### 穀類粉末(5 g) 及び純水(10 mL)を遠沈管(50 mL)に入れ振とう

アセトニトリル(10 mL)を遠沈管\*1に入れ1 分間激しく振とう

塩(4 g硫酸マグネシウム、1 g 塩化ナトリウム、1 g クエン酸ナトリウ及び0.5 g クエン酸ニナトトリウムセスキ水和物)を添加し1分間激しく振とう

4000回転で5分間遠心分離

上清(4 mL)を純水(1mL)で希釈後, Captiva EMR-Lipid(600 mg/6 mL) に減圧下、1mL/min程度で負荷

初留(2mL)を捨て、その後1mL捕集

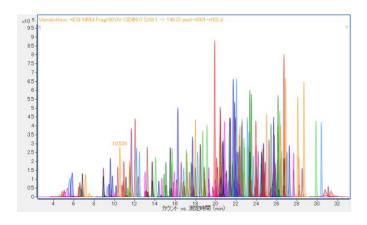
図1 試料調製工程

## 結果

## 標準液

農薬混合標準液(4 ppb)を表1,2の条件で測定しました。 MRMクロマトグラムは図2に示しました。すべての農薬でS/Nが10以上の感度を示しました。

図2 209農薬のMRMクロマトグラム(4 ppb)

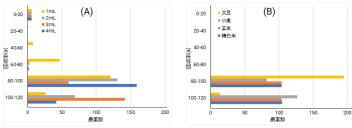


#### Captiva EMR-LIPIDによる試料精製 回収率

Captiva EMR-Lipidは脂質除去が可能です。そこで農薬標準液及び農薬を添加した試料粗抽出液(図1, step 4)をCaptiva EMR-Lipidに負荷し、各溶出画分(1~4mL)の回収率を測定しました。結果は図3に示しました。標準液(図3A)では初留(1 mL)で62農薬の回収率が80%以下でしたが、2 mL以上では

200農薬の回収率が80%以上でした。しかし、トリデモルフ、スピノシンA,D, エマメクチンB1a,B1b及びプロパモカルブの回収率は20%以下でした。一方、初留(2mL)を捨てた後1mLを捕集した穀類抽出液(図3B)では、全ての農薬の回収率が80-120%と良好となりました。

図3 Captiva EMR-Lipidによる農薬の回収率分布(濃度:4 ppb)



(A):標準液 (B):穀類抽出液

#### マトリックス効果

図1の通り穀類を抽出-精製した抽出液のマトリックス効果について農薬標準液と農薬添加穀類抽出-精製液を用いて評価しました。図4に農薬標準液に対する穀類抽出精製液中農薬の相対強度、図5に相対強度分布を示しました。図4では玄米及び大豆において保持時間が20~25分付近の農薬相対強度が低下していました。原因は玄米や大豆に存在するマトリックス成分によるイオン化阻害と考えられます。

図4 穀類中農薬の相対強度(標準液:100%)

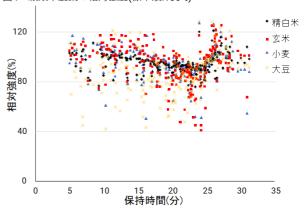


図5に示す通り農薬相対強度が80%以下の農薬数が大豆:59, 玄米:23, 小麦:34, 精白米:5でした。

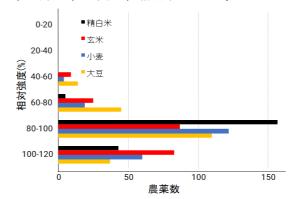
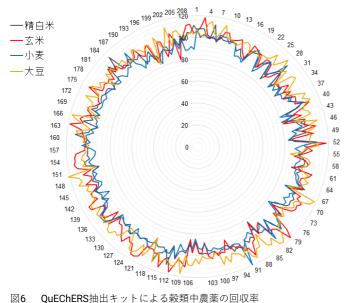


図5 各農薬の相対強度分布(標準液:100%)

## QuEChERS抽出キットの添加回収率

QuEChERS抽出キットを使用した穀類中農薬の添加回収 率を測定しました。回収率は図1のStep1~4で得られた粗抽 出液で測定しました。全ての穀類中で回収率は80~120%の 範囲内でした(図6)。



QuEChERS抽出キットによる穀類中農薬の回収率 図6

#### 穀類中農薬の添加回収率

粉砕した穀類に10ppb相当の農薬標準液を添加し、図1の 通り試料調製した際の農薬の添加回収率を測定しました (n=4)。図7,8に回収率及び相対標準偏差をそれぞれ示しま した。また、MRMクロマトグラムを図9に示しました。

回収率80%以下の農薬が玄米(36),小麦(27),大豆(57)で認め られましたが、40%以下となった農薬はありませんでした。 相対標準偏差は全て12%以下でした。

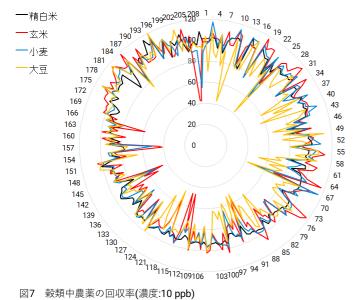
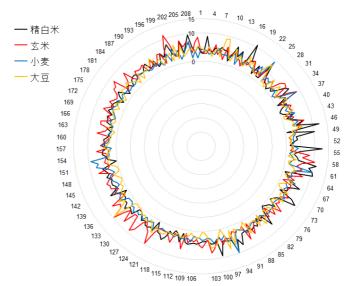
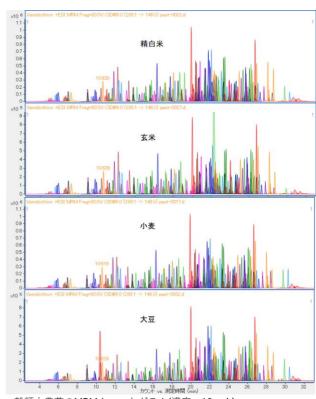


図7 穀類中農薬の回収率(濃度:10 ppb)



農薬回収率の相対標準偏差(n=4) 図8



穀類中農薬のMRMクロマトグラム(濃度:10 ppb) 図9

# まとめ

精白米,玄米,小麦及び大豆中209農薬の一斉分析にBond Elut QuEChERS抽出キット、Captiva EMR-Lipid及びトリプル 四重極質量分析計を使用した迅速分析法を開発しました。 70%以上の農薬で回収率が80~120%でした。また、再現性 は全ての農薬の相対標準偏差評価で12%以下でした。大豆 や玄米では含有成分によるイオン化阻害により一部農薬の 回収率が60%以下でしたが、迅速なスクリーニング分析法 として有効な手法と考えられます。

# ホームページ

# www.agilent.com/chem/jp

カストマコンタクトセンタ

# 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。

アジレント・テクノロジー株式会社 ② Agilent Technologies, Inc. 2020 Printed in Japan, May 20, 2020 DE44222.0155208333 LC-MS-202005TK-002

