

## GC/MS/MS を用いた 食品中残留農薬多成分一斉分析において 最大限の性能を引き出すための 5 つの秘策

### 著者

Anastasia A. Andrianova and  
Limian Zhao  
Agilent Technologies, Inc.

### 概要

このアプリケーションノートでは、ホウレンソウ、クルミ、トウガラシを含む困難なマトリックス中の 200 種類以上の農薬を分析する際に分析性能を高めるための 5 つの秘訣について取り上げます。Agilent QuEChERS による抽出後に、Agilent Captiva EMR を用いた通液クリーンアップ手順を実行することで、より精製度を上げることが可能になりました。クリーンアップにより、ターゲット化合物に対するマトリックス干渉が低減し、機器のメンテナンス頻度が減少しました。また、4 桁という広いダイナミックレンジにわたり良好な検量線性能が得られました。Agilent 8890/7000E トリプル四重極 GC/MS システムでは、0.1 ~ 5,000 ppb の濃度範囲にわたって優れた直線性が達成されました。Agilent 8890/7010C トリプル四重極 GC/MS システムでは、卓越した感度により、低濃度でも高い S/N 比が得られました。

## はじめに

世界各地の農産物では、食料生産に 1000 種類を超える農薬が使用されています。手頃な価格の食品に対する需要の高まりに応えるために、農薬は生産者にとって必要な手段です。その一方で、この需要傾向が、農薬使用量の増加と、問題をはらんだ農業慣行の助長につながっており、食品供給および環境におけるリスクの増大を招いています。こういった食品中の微量の化学汚染物質に対する懸念から、残留化学物質を同定および定量するための、より迅速で信頼性の高いメソッドが強く求められるようになってきました。Agilent 8890/7000E および 8890/7010C トリプル四重極 GC/MS (GC/TQ) システムは、このニーズに応えることのできる最適なシステムです。

米国環境保護庁 (EPA) により、食品安全性に関する規制の一環として許容量が定められています<sup>1</sup>。この許容量は、処理済み食品中またはその表面に残存することが許容される残留農薬の最大濃度である最大残留基準値 (MRL) に相当します。MRL は、農薬によって、また食品によって、濃度が大きく異なる可能性があります。例えば、ホウレンソウ中の規制対象農薬 68 種に対して定められた MRL は、フルジオキソニルの 10 ppb からボスカリドの 60,000 ppb まで、大きな幅があります<sup>2</sup>。この広い検出限界範囲が分析上の課題となっており、その解決には、高い感度と広いダイナミックレンジにわたる検量線性能の両方が求められます。

このアプリケーションでは、農薬分析を成功させるための、以下の 5 つの重要要素について取り上げます。

1 効果的なサンプル抽出とマトリックスクリーンアップにより、マトリックスバックグラウンドと干渉を最小限に抑え、同時に農薬の高い回収率を維持できます。また、堅牢な分析メソッドを使用することで、必要なメソッド性能を達成しながら、メンテナンス頻度を減少させることができます。

2 フルスキャンデータ取り込みモードでマトリックスを評価することにより、最大限の効率性を実現できます。特に超高感度イオン源 (HES) を使用する場合は、この評価が重要になります。

3 ミッドカラムバックフラッシュにより、システムのメンテナンス頻度が減少します。この手法を使用することで、カラムのトリミングやイオン源のクリーニングが最小限で済み、分析時間を短縮することもできます。

4 GC/TQ システムをリークのない状態に保つことで、GC カラムの寿命を延長できます。また、メンテナンスの必要性を軽減しながら MS 性能の一貫性と信頼性を確保できます。

5 プログラム昇温可能な Agilent マルチモード注入口 (MMI) と 2 mm ディンプルライナ (ガラスウールなし) を使用することで、熱的にきわめて不安定な化合物でも効率的な気化が可能になります。

このアプリケーションノートでは、分析困難な 3 種類のマトリックス (多量のクロロフィルを含む生ホウレンソウ、複雑なマトリックスを含む乾燥トウガラシ、および油脂を多く含む乾燥クルミ) 中の 200 種類以上の農薬を分析した結果について説明します。今回の研究では、広いダイナミックレンジと高いメソッド感度が達成され、3 種類のマトリックス中の農薬をそれぞれの MRL で正確に定量することができました。

7000E GC/TQ では 0.1 ~ 5,000 ppb、7010C GC/TQ では 0.1 ~ 1,000 ppb という広いダイナミックレンジにわたり、 $R^2 > 0.99$  のマトリックスマッチング検量線が得られました。また、HES を搭載した 7010C GC/TQ では、卓越した感度が実現されました。低濃度でも高い S/N 比が得られ、0.1 ppb 未満の濃度で正確に定量することができました。ただし、今回の研究では、サンプルとして用いた食品中の規制対象農薬の MRL でサブ 0.1 ppb の定量が要求されなかったため、このレベルの感度は必要ありませんでした。

## 実験方法

### GC/TQ 分析

分析には、8890/7000E および 8890/7010C GC/TQ システム (図 1A) を使用しました。これらのシステムは、広い検量線範囲にわたり最善の性能が得られるように構成しました。この検量線範囲は、分析した食品中の規制対象農薬の幅広い MRL をカバーしていました。GC は、Agilent 7693A オートサンブラ (ALS) および 150 サンプルトレイと組み合わせて構成しました。このシステムでは、マルチモード注入口 (MMI) をコールドスプリットレス注入モードで使用しました。同一の 2 本の 15 m カラムの間に取り付けられたアジレントのページ付き Ultimate ユニオン (PUU) と、8890 ニューマティクス切り替えデバイス (PSD) モジュールにより、ミッドカラムバックフラッシュ機能を実装しました (図 1B)。機器の操作パラメータを表 1 に示します。

データはダイナミック MRM (dMRM) モードで取り込みました。このモードでは、多成分系の分析に対応でき、きわめて効率的なドウェルタイム分布が自動設定され、狭いピークも正確に定量できます。dMRM 機能を使用することで、合計 614 個の MRM トランジションを使用し、最大 52 個の MRM を同時測定して、203 種類もの農薬を正確に分析できました (図 2)。また、dMRM では、追加成分を簡単に追加したり削除したりできます。取り込みメソッドでは、Agilent MassHunter 農薬および環境汚染 MRM データベース (P&EP 4) のリテンションタイムに合わせて、リテンションタイムをロックしました。P&EP 4 を使用することにより、MS メソッドをシームレスに作成し、ターゲット dMRM メソッドを簡単かつすばやく設定できました。取り込みメソッドでは、P&EP ライブラリに合わせてリテンションタイムをロックしました。

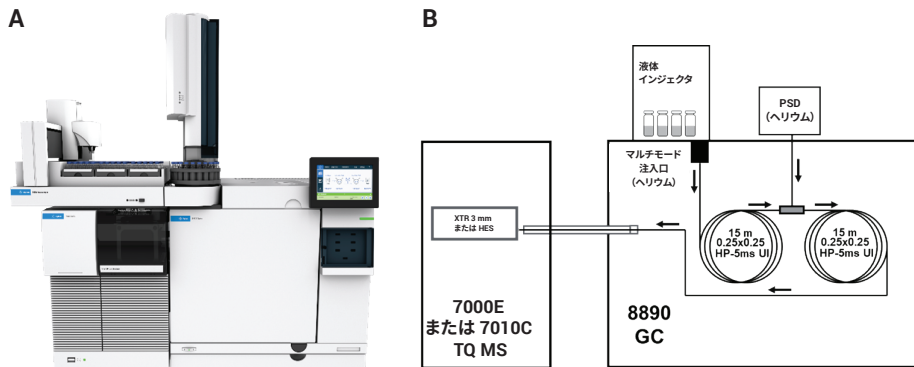


図 1. Agilent 8890/7000E および 8890/7010C GC/TQ システム (A) とシステム構成 (B)

表 1. 農業分析に用いた Agilent 8890/7000E および 8890/7010C GC/MS の条件

GC		カラム 1		MSD	
Agilent 8890 と高速オープン、オートサンブラ、トレイ		タイプ		モデル	
注入口	マルチモード注入口 (MMI)	Agilent HP-5ms UI (p/n 19091S-431UI-KEY)		Agilent 7000E または 7010C	
モード	スプリットレス	長さ		イオン源	
スプリットベントへの パージ流量	0.75 分で 60 mL/min	15 m		3 mm レンズ付き不活性 エクストラクタイオン源または HES	
セブタムパージ流量	3 mL/min	内径		真空ポンプ	
セブタムパージ流量 モード	スイッチド	0.25 mm		パフォーマンスタワーボ	
注入量	1.0 µL	膜厚		チューニングファイル	
注入の種類	標準	0.25 µm		Atunes.eiex.jtune.xml または Atunes.eihs.jtune.xml	
L1 エアギャップ	0.2 µL	コントロールモード		溶媒待ち時間	
ガスセバ	3 分後に 30 mL/min で作動	定流量		3 分	
注入口温度	60 °C で 0.1 分間、 その後 600 °C /min で 280 °C まで昇温	流量		四重極温度 (MS1 および MS2)	
ポストラン注入口温度	310 °C	1.016 mL/min		150 °C	
ポストラントータル流量	25 mL/min	注入口接続		イオン源温度	
キャリアガス	ヘリウム	マルチモード注入口 (MMI)		280 °C	
注入口ライナ	Agilent Ultra Inert 2 mm ディンプルライナ (p/n 5190-2297)	出口接続		モード	
<b>オープン</b>		PSD (PUU)		dMRM またはスキャン	
初期 オープン温度	60 °C	PSD パージフロー		He クエンチガス	
初期オープン保持	1 分	5 mL/min		2.25 mL/min	
昇温速度 1	40 °C /min	ポストラン流量 (バック フラッシュ)		N <sub>2</sub> コリジョンガス	
最終温度 1	170 °C	-7.873		1.5 mL/min	
最終オープン保持 1	0 分	<b>カラム 2</b>		<b>MRM 統計値</b>	
昇温速度 2	10 °C /min	タイプ		MRM 総数 (dMRM モード)	
最終温度 2	310 °C	Agilent HP-5ms UI (p/n 19091S-431UI-KEY)		614	
最終オープン保持 2	2.25 分	長さ		最小ドウェルタイム	
合計分析時間	20 分	15 m		6.85 ms	
ポストラン時間	1.5 分	内径		最小サイクル時間	
平衡化時間	0.25 分	0.25 mm		69.8 ms	
		膜厚		最大同時 MRM 数	
		0.25 µm		52	
		コントロールモード		EM 電圧ゲインモード	
		定流量		10	
		流量		<b>スキャンパラメータ</b>	
		1.216 mL/min		スキャンタイプ	
		注入口接続		MS1 スキャン	
		PSD (PUU)		スキャン範囲	
		MSD		45 ~ 450 m/z	
		ポストラン流量 (バックフラッシュ)		スキャン時間 (ms)	
		8.202		220	
				ステップサイズ	
				0.1 amu	
				スレッシュホールド	
				0	
				EM 電圧ゲインモード	
				1	

マトリックス抽出液の予備スクリーニングには、フルスキャンデータ取り込みモードを使用しました。このスクリーニングにより、イオン源への負荷を評価し、サンプルクリーンアップの有効性をモニタリングしました。

この作業には、GC/MS システム用 MassHunter Acquisition ソフトウェア 10.2、MassHunter Quantitative 10.1、および MassHunter Qualitative 10 パッケージを含む Agilent MassHunter Workstation リビジョン 10.1 および 10.2 を使用しました。

検量線の性能評価には、マトリックスに合わせて調製した濃度範囲 0.1 ~ 5,000 ppb (0.1、0.5、1、5、10、50、100、250、500、1,000、および 5,000 ppb) の標準液を使用しました。ターゲット農薬定量用の内部標準として、 $\alpha$ -BHC-d<sub>6</sub> 標準試薬をバイアル内最終濃度 20 ppb で使用しました。すべての検量線に、重み付き係数 1/x の直線または二次回帰曲線を適用しました。

### サンプル前処理

図 3 に、サンプル前処理ワークフローチャートを示します。サンプル前処理は、主に、従来の QuEChERS 抽出によるサンプル抽出と Captiva EMR による通液クリーンアップの 2 つのステップで構成されます。各マトリックスに応じて異なる Captiva EMR 製品を使用しました。具体的には、多量のクロロフィルを含む生ホウレンソウには、Captiva EMR-HCF カートリッジを使用しました。色素は少ないが、油脂を多く含む乾燥クルミには、Captiva EMR-LPD を使用しました。分析が非常に困難な乾燥トウガラシには、Captiva EMR-GPD を使用しました。新しいサンプル前処理ワークフローにより、シンプルな手順で、サンプルマトリックスの除去性能とターゲット化合物の定量データ品質がどちらも高まることがわかりました。

図 3 に示すように、まず、サンプルを従来の QuEChERS EN 抽出キット (部品番号 5892-5650) で抽出しました。生ホウレンソウの場合は、ホモジナイズしたホウレンソウサンプル 10 g を抽出に使用しました。クルミの場合は、クルミ粉末 5 g に 10 mL の水を加え、10 分間ボルテックスしました。トウガラシの場合は、トウガラシ粉末 2 g に 10 mL の水を加え、10 分間ボルテックスしました。その後、抽出のため、1% の酢酸を含む ACN 10 mL を加え、QuEChERS EN で抽出しました。抽出後、3 mL の未処理抽出液または 10% の水を加えた混合液を Captiva EMR カートリッジに移し、通液クリーンアップを行いました。カートリッジとして、ホウレンソウには Captiva EMR 高ク

ロロフィルフレッシュ、NH<sub>2</sub> 付き (Captiva EMR-HCF1、部品番号 5610-2088)、クルミには Captiva EMR 低色素ドライ (Captiva EMR-LPD、部品番号 5610-2092)、トウガラシには Captiva EMR 汎用色素ドライ (Captiva EMR-GPD、部品番号 5610-2091) を使用しました。その後、サンプル溶出液を回収し、無水 MgSO<sub>4</sub> (部品番号 5982-0102) で脱水させ、このサンプルを GC/TQ での分析に使用しました。Captiva EMR による通液クリーンアップ処理には、加圧マニホールド 48 プロセッサ (PPM-48、部品番号 5191-4101) を使用しました。

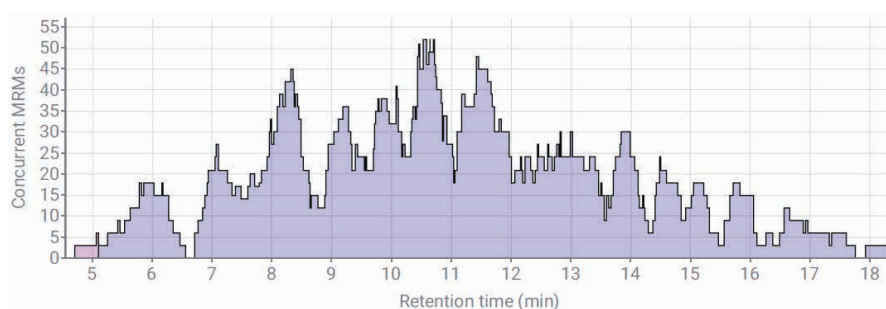


図 2. 614 個の MRM トランジションの分布。分析中、最大 52 個の MRM を同時にモニタリングすることで、きわめて効率的なドウェルタイム分布が実現されました。



図 3. サンプル前処理フローチャート：従来の QuEChERS 抽出に続いて Captiva EMR による通液クリーンアップを実施

## 結果と考察

ハイスループットのワークフローをサポートする堅牢な農業分析では、最小限のダウンタイムで長時間にわたりメンテナンスなしでシステムを運用できなければなりません。また、ワークフローが、要求される感度を満たしていなければならない、その感度がサブ ppb レベルで求められることもあります。さらに、一般に、モニタリングする食品中の化合物の MRL には大きなばらつきがありますが、それをカバーする広いダイナミックレンジにわたって検量線性能を確保できなければなりません。このアプリケーションノートで説明する 5 つの主な戦略に従うことで、0.1 ppb という低い定量下限 (LOQ) を達成し、7000E では 5,000 ppb まで、7010C では 1,000 ppb までの範囲にわたり良好な検量線性能を維持することができました。また、メンテナンスが、注入約 100 回ごとのライナおよびセプタムの交換のみで済み、機器のダウンタイムを最小限に抑えることができました。

このアプリケーションノートで紹介する研究と、他のアプリケーションノート<sup>3</sup>に記載されている 700 回の連続注入によるシステムの堅牢性評価では、ホウレンソウ、クルミ、トウガラシなどの複雑なマトリックス抽出液が 1,000 回以上注入されました。その間、TQ MS のチューニング、イオン源のクリーニング、GC カラムのトリミングは必要ありませんでした。

### サンプル前処理

効率的なサンプル抽出およびクリーンアップが、農業分析の成功の鍵を握ります。未処理の QuEChERS 抽出液の分析、特にその抽出液が色素や油脂を多く含む複雑なマトリックスの場合は、ライナの交換、注入口のクリーニング、GC カラムのトリミング、MS イオン源のクリーニングの必要性が大幅に高まる可能性があります。また、このようなメンテナンス作業により分析のスループットは低下します。QuEChERS 抽出に続いて効率的なクリーンアップを行うことで、イオン源へのマトリックス負荷やターゲット化合物に対する干渉が低減

し、同時にターゲット農業の S/N 比、精度、再現性が向上します。今回の研究では、従来の QuEChERS 抽出の後に Captiva EMR による通液クリーンアップを行いました。新しいクリーンアッププロトコルは、手順がシンプルで、サンプルマトリックスの除去性能とターゲット化合物の回収率および再現性がどちらも向上します。図 4 に示すように、クリーンアップ後のホウレンソウ、クルミ、およびトウガラシ抽出液では、フルスキャンデータ取り込みモードで採取した TIC 信号のアバンドンスが、クリーンアップ前の未処理抽出液より明らかに低下しています。

## フルスキャンデータ取り込みモードでのマトリックススクリーニング

フルスキャンデータ取り込みモードでサンプルスクリーニングを行うことにより、イオン源へのマトリックス負荷を容易に評価できます。どのMSイオン源にも、任意の時点で最適な性能を維持できる、物質に限度があります。イオン源のマトリックス負荷が過剰になると、分析の定量精度が著しく損なわれる可能性があります。このような状況を防ぐため、フルスキャンモードでマトリックスを分析し、そのTICを評価して、最適なGC/TQ性能を保つことが不可欠です。EMゲインを1に設定して分析する場合は、フルスキャンモードでのTICのアバUNDANCEを $7 \times 10^7$ カウント以下にすることが推奨されます。分析した3種類のマトリックスのうち、トウガラシにおいて最も高いマトリックスバックグラウンドが観察されましたが、クリーンアップ手順後は格段に低減しました。この評価から、感度とダイナミックレンジの評価時に、トウガラシマトリックス中の、11分から12.5分の間に溶出する農薬の分析性能が損なわれると予測できることが明らかになりました。例えば、7000Eおよび7010Cのどちらのシステムを使用した場合も、トウガラシマトリックス中の、11.273分に溶出するエンドスルファンIは、5ppb以上でないで定量できませんでした。これに対し、ホウレンソウおよびクルミのマトリックスでは、エンドスルファンIと共溶出するマトリックスレベルが大幅に低いため、観察されたLOQは0.1ppbでした。Agilent GC/TQシステムをフルスキャンデータ取り込みモードで使用する際のベストプラクティスについては、アプリケーションノート5994-3859JAJ<sup>4</sup>で確認いただけます。

マトリックスバックグラウンドを低減させるために使用できる手段として、十分なサンプルクリーンアップ、サンプル希釈、より少量の注入量があります。多くの場合、後者の2つのアプローチを用いると、特にHES搭載の7010C GC/TQシステムでは、LOQが改善されます。

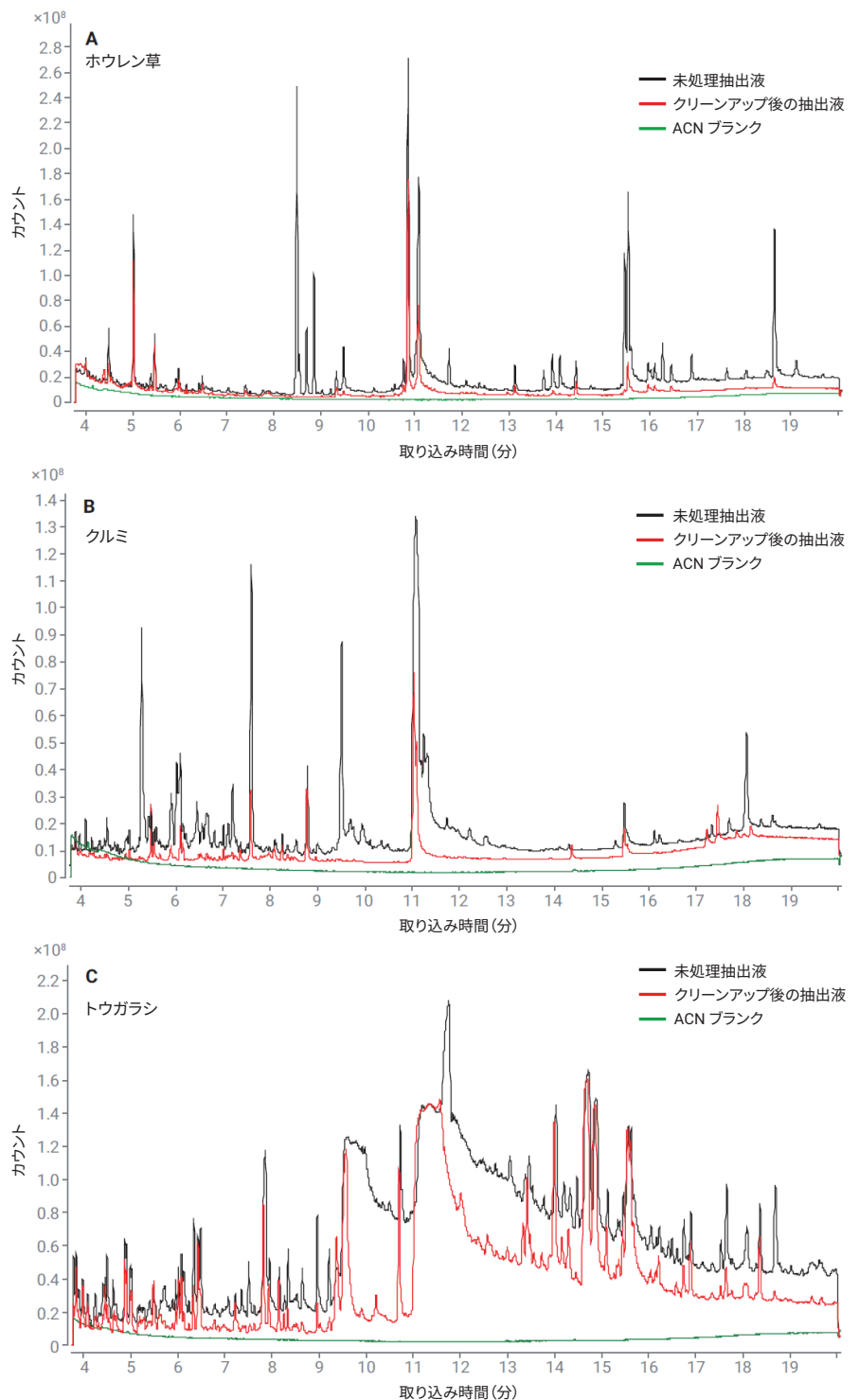


図 4. ホウレンソウ (A)、クルミ (B)、トウガラシ (C) 抽出液のスクリーン TIC。赤は Captiva EMR でのクリーンアップ済みマトリックスサンプル、黒はクリーンアップなしのマトリックスサンプル、緑はアセトニトリル溶媒ブランクを表します。

## ミッドカラムバックフラッシュ

ミッドカラムバックフラッシュ構成を使用すると、分析時間を、最後に溶出するターゲット化合物のリテンションタイムに合わせることができます。分析困難なマトリクス、特にクルミのように油脂分の多いマトリクスには、高沸点成分が多量に含まれ、リテンションタイムが長くなります。これらのリテンションタイムが、ターゲット農薬のリテンションタイムを超えることも珍しくありません。従来、後続の分析におけるゴーストピークを防ぐための一般的な方法として、最後のターゲット化合物がカラムから溶出した後に、長時間にわたるカラムのベイクアウトを行います。ただし、このアプローチには、EI イオン源への高沸点成分および GC カラム固定相の堆積、GC カラムのヘッドの汚染、カラム寿命の短縮、長時間のベイクアウトによる長いサイクル時間など、欠点がいくつかあります。

ミッドカラムバックフラッシュでは、ベイクアウトに伴う犠牲を払うことなく、カラムから高沸点のマトリクス成分を溶出させることができます。ミッドカラムバックフラッシュは、最後のターゲット成分がカラムを抜けた後にキャリアガスを逆流させる手法です。MS データの収集後、オープンをポストランモードで最終温度に保ち、第 1 カラムからのキャリアガスを逆流させます。この逆流により、データ採取終了時にカラムに残っていた高沸点成分が、カラムのヘッドからスプリットベントラインへと排出されます (図 5A)。このバックフラッシュ逆流を行うのにアジレントの Purged Ultimate Union (PUU) を使用します。PUU は、この場合は 2 つの同一の 15 m カラムの間に挿入されます。分析中は、接続部をスイープするために、8890 圧力切り替えデバイス (PSD) モジュールに少量のメイクアップガスを流します。バックフラッシュ中は、PSD から送られるメイクアップガスの流量が大幅に増加し、カラム 1 では逆流によって高沸点成分が一掃されます。同時に、カラム 2 にはガスが

順方向に流れます。今回の構成では、バックフラッシュ時間は 1.5 分でした。8890 GC システムでの PSD によるバックフラッシュの詳細については、アプリケーションノート 5994-0550JAJP<sup>5</sup> をご覧ください。

図 5B に示すクロマトグラムから、バックフラッシュ手法がサイクル時間の短縮とキャリアオーバーの低減に有効であることがわかります。サイクル時間は半分に短縮されました。また、長時間にわたるカラムを高いベイクアウト温度にさらす必要がありませんでした。バックフラッシュを使用することで、過剰なカラムブリードやヘビーマトリクスが MSD に導入されなくなり、イオン源の汚染が軽減されます。

ミッドカラムバックフラッシュ構成を MMI 注入口と組み合わせれば、大幅な時間節約という利点も得られます。セプタムおよびライナの交換や、カラムのトリミングなどのメンテナンス作業を行うために、MS のトランスファーラインおよびイオン源を冷却する必要がありません。セプタムを取り外すときには、PSD により、キャリアガスがカラム 1 を逆流します。PSD は、GC カラムや MS への空気の侵入を防ぐ役割も果たします。MMI の高速冷却機能により、時間をさらに節約できます。その結果、最も一般的なメンテナンス作業であるライナおよびセプタムの交換を数分で完了できます。

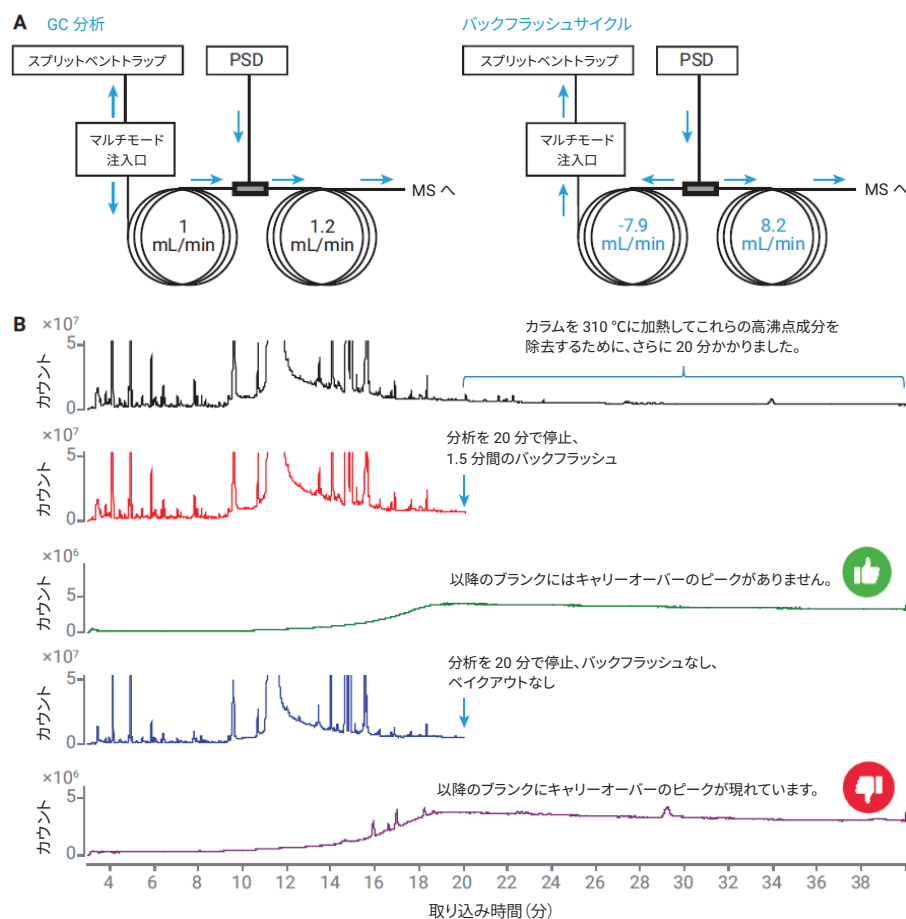


図 5. ミッドカラムバックフラッシュの構成と、GC 分析時およびバックフラッシュサイクル時のガスの流れ (A)。トウガラシ抽出液に続いて機器ブランクを分析することにより得られた、カラムのベイクアウトを行った場合、バックフラッシュを行った場合、およびバックフラッシュもベイクアウトも行わなかった場合の TIC スキャンクロマトグラム (B)

## リークのない GC/TQ システム

長期にわたって機器の性能を確保するには、GC/MS システムをリークのない状態に保つことが不可欠です。望ましくないリークは GC カラムの寿命を短縮し、性能低下を引き起こす EI イオン源の酸化につながります。タイトな接続を実現するツールを使用することで、取り付けを簡単かつ確実にこなせます。これらのツールには、GC 用のカラー付きセルフタイトカラムナット (図 6A および 6B、部品番号 G3440-81011 および G3440-81013) や、CFT 金メッキフレキシブルメタルフェラル (図 6C、部品番号 G2855-28501) があります。

カラー付きセルフタイトカラムナットには、革新的なスプリング式ピストンが採用されています。このピストンにより、グラファイト/ポリイミド製のショートフェラルが常にカラム接続部に密着し、オープンによる数百回の温度サイクル後も、リークのないシールが維持されます。カラー付きのため、GC 注入口および MS トランスファーラインへのカラムの取り付けが容易になります。また、固定カラーによりカラムが所定の位置にロックされるため、毎回、正確かつ確実に取り付けることができます。カラー付きセルフタイトカラムナットを使用したシンプルなカラム取り付けプロセスをビデオ<sup>6,7</sup>でご覧いただけます。MS イオン源のメンテナンスが必要ない場合は、カラー付きナットとカラム取り付けツール (部品番号 G1099-20030) を組み合わせて使用すれば、サイドドアを開けずにカラムを MS に取り付けることができます。

金メッキフレキシブルメタルフェラルは不活性であり、きわめて信頼性の高いシールを実現します。CFT (PUU) 接続部の微量のリークを防ぎ、GC/TQ の優れた感度を維持することができます。



図 6. 注入口用 (A) および MS トランスファーライン接続用のカラー付きセルフタイトカラムナット (B) と、金メッキフレキシブルメタルフェラル (C)

一般には、システムにリークがないことを確認するために、空気/水チェックまたはオートチューンレポートが評価され、MS で検出されるリーク量が判断されます。ただし、この方法はリーク源の特定には役立ちません。また、ユーザーが取り付けした接続部などで生じている微量のリークを見逃してしまう可能性もあります。

MassHunter Data Acquisition 10.2 以上を搭載した 7000E および 7010C GC/TQ は、新しいリークテスト機能を備えています。このリークテストでは、リーク源を突き止め、リークの大きさをモニタリングできます。エアダスターなどのリークテストガスに含まれるイオンなど ( $m/z$  69 および 83、図 7B)、ユーザーが指定した最大 10 種類のイオンがモニタリングされ (図 7A)、EIC や TIC など対応するクロマトグラムがプロットされます (図 7C)。

## プログラム昇温可能なマルチモード注入口 (MMI) による注入の最適化

GC/MS 分析を成功させるには、GC 注入口でサンプルを効率的に気化することが不可欠です。カプタホール、キャプタン、ジコホール、ホルペット、デルタメトリンなど一部の農薬は、熱的に不安定であることがわかっており、注入時に熱分解することが予測されます。MMI は、注入を低温の 60 °C から開始して 280 °C まで昇温することにより、GC カラムへの導入時に熱分解を抑制しながら、すべてのターゲット化合物を気化させることができます。また、注入口温度をプログラムできるため、ポストラン中にバックフラッシュと並行して、注入口をさらに 310 °C まで加熱できます。この加熱により、システムでは、注入口に残っている可能性のあるマトリックス残留物をすべてバイクアウトすることができます。



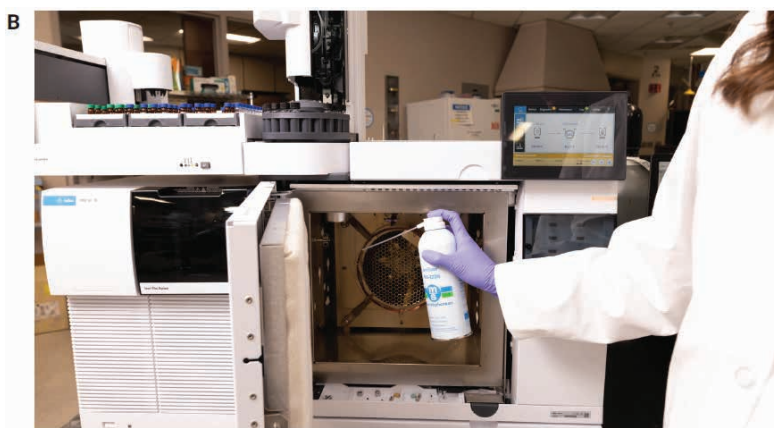
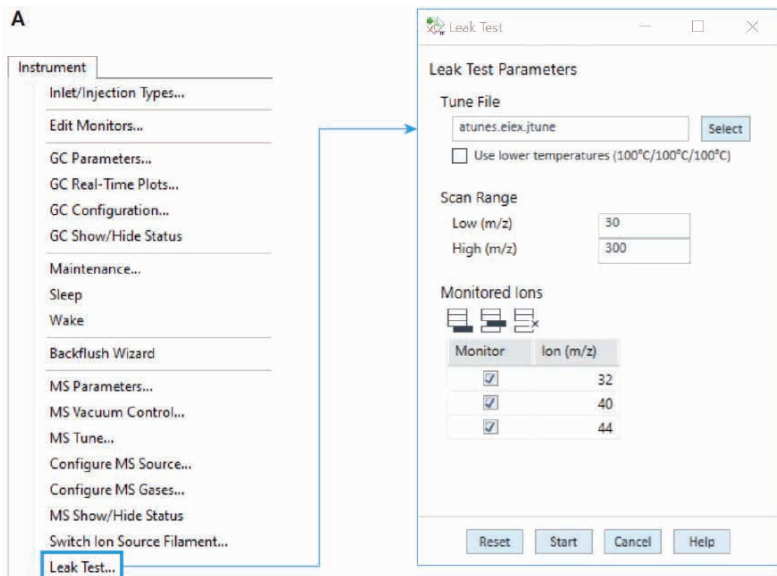


図 7. ユーザーが指定したイオンをモニタリングしてリーク源とリーク量を突き止めることのできる新しいリークテストツール

プログラム昇温可能な注入とウルトライナート 2 mm ディンプルライナを組み合わせることで、複雑なクルミマトリックス中のデルタメトリンなど、分析困難な農薬に対しても高い感度が得られました。図 8A は、MRL が規定されているクルミ中の農薬であるデルタメトリンの 0.5 ppb 時の 7000E および 7010C GC/TQ によるレスポンスです。HES 搭載の 7010C

GC/TQ の方が感度が高いため、より高い S/N 比が得られています。

ペンタクロロニトロベンゼンという農薬は、多くの野菜と果物（作物グループ 8 野菜・果物グループ）、ピーナッツ、およびダイズ種子に対する MRL 規定値が 20 ppb ~ 1 ppm と幅広いため、一般に、さまざまな食品での分析に GC/MS が使用されています<sup>9</sup>。ペンタク

ロクロニトロベンゼンは LC/MS での分析が難しいため、GC/MS が最適な分析法です。図 8B は、7000E および 7010C による、クルミ抽出液中のペンタクロロニトロベンゼンの特定 MRM クロマトグラムです。

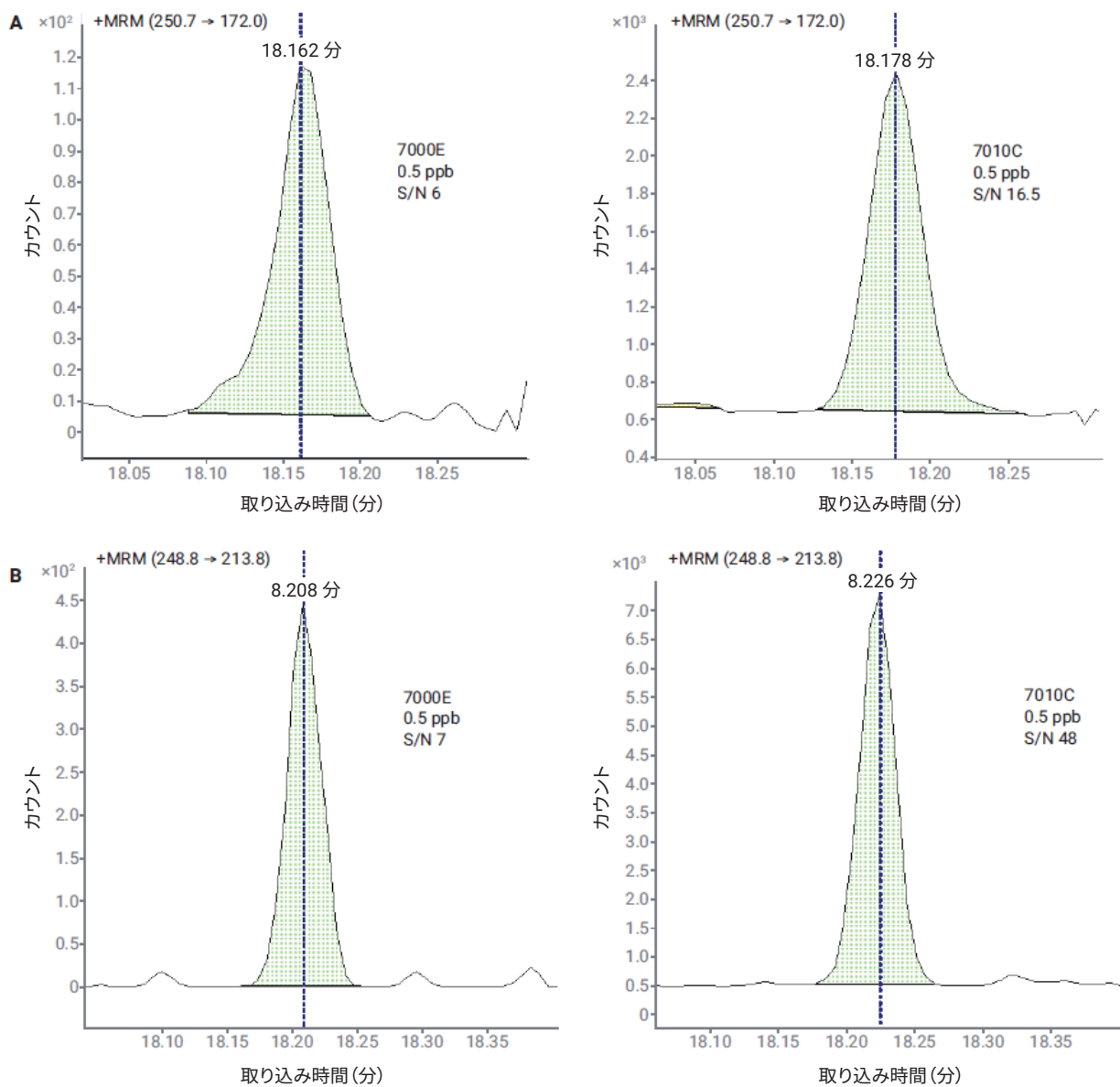


図 8. 7000E および 7010C GC/TQ で分析した、クルミ抽出液中の 0.5 ppb のデルタメトリン (A) とペンタクロロニトロベンゼン (B) の MRM クロマトグラム

### 7000E および 7010C GC/TQ の広い ダイナミックレンジにわたる検量線性能

食品の多成分残留分析に伴う最大の課題は、農薬の MRL が広範囲にわたるため、サンプルの再注入を余儀なくされる場合があることです。広いダイナミックレンジを実現すれば、サンプルを希釈したり分析を繰り返したりする必要性を大幅に軽減できます。

ハウレンソウ、クルミ、トウガラシ中のピフェントリンの MRL は、それぞれ 200、50、および 500 ppb です。図 9 は、7000E で得られた、直線性に優れた検量線です。その検量線範囲はそれぞれ、ハウレンソウの場合は 0.1 ~ 1,000 ppb ( $R^2 = 0.996$ )、クルミの場合は 0.1 ~ 5,000 ppb ( $R^2 = 0.991$ )、トウガラシの場合は 0.1 ~ 5,000 ppb ( $R^2 = 0.995$ ) で、どの範囲も MRL をカバーしています。

農薬の MRL は、食品によって大幅に異なるだけでなく、同じ食品でも規制対象農薬によって大きな差があります。例えば、ハウレンソウで残留農薬としてモニタリングされるピリプロキシフェンとフルジオキシニルの MRL はそれぞれ 3,000 ppb と 10 ppb です。図 10A から、7000E GC/TQ により、ハウレンソウ抽出液中のピリプロキシフェンおよびフルジオキシニルについて、濃度範囲 0.1 ~ 5,000 ppb にわたって直線性に優れた検量線性能が維持され、低濃度でも卓越した精度が得られていることがわかります（フルジオキシニルの検量線の拡大図を参照）。

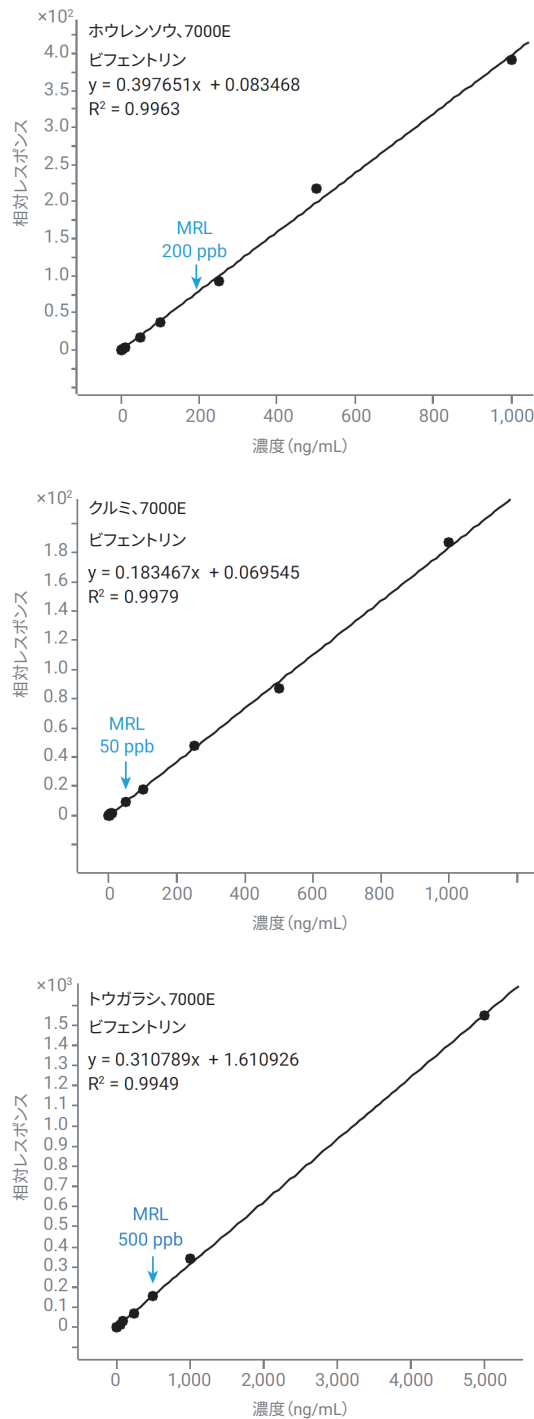


図 9. 7000E GC/TQ によるハウレンソウ、クルミ、およびトウガラシ抽出液中のピフェントリンのマトリックスマッチング検量線

また、図 10B に示すように、7010C GC/TQ でも、両方の農薬について、広い濃度範囲 (0.1 ~ 1,000 ppb) にわたって直線性に優れた検量線が得られました。ただし、7010C のダイナミックレンジで、MRL に相当する 3,000 ppb のピリプロキシフェンを正確に定

量するには、希釈サンプルを追加注入する必要があります。ピリプロキシフェンおよびフルジオキシニルについて、7010C で得られた検量線の上限は 7000E より低くなっていますが、7010C では、より低濃度でより高い感度が提供されます。このことは、図 10C に示さ

れており、これらの農薬を、MRL が低い食品で分析する場合に重要になる可能性があります。7010C GC/TQ を使用する場合は、分析前にさらに希釈することで、MRL が 1,000 ppb を超えているサンプルに対応できます。HES により実現される優れた感度があれば、

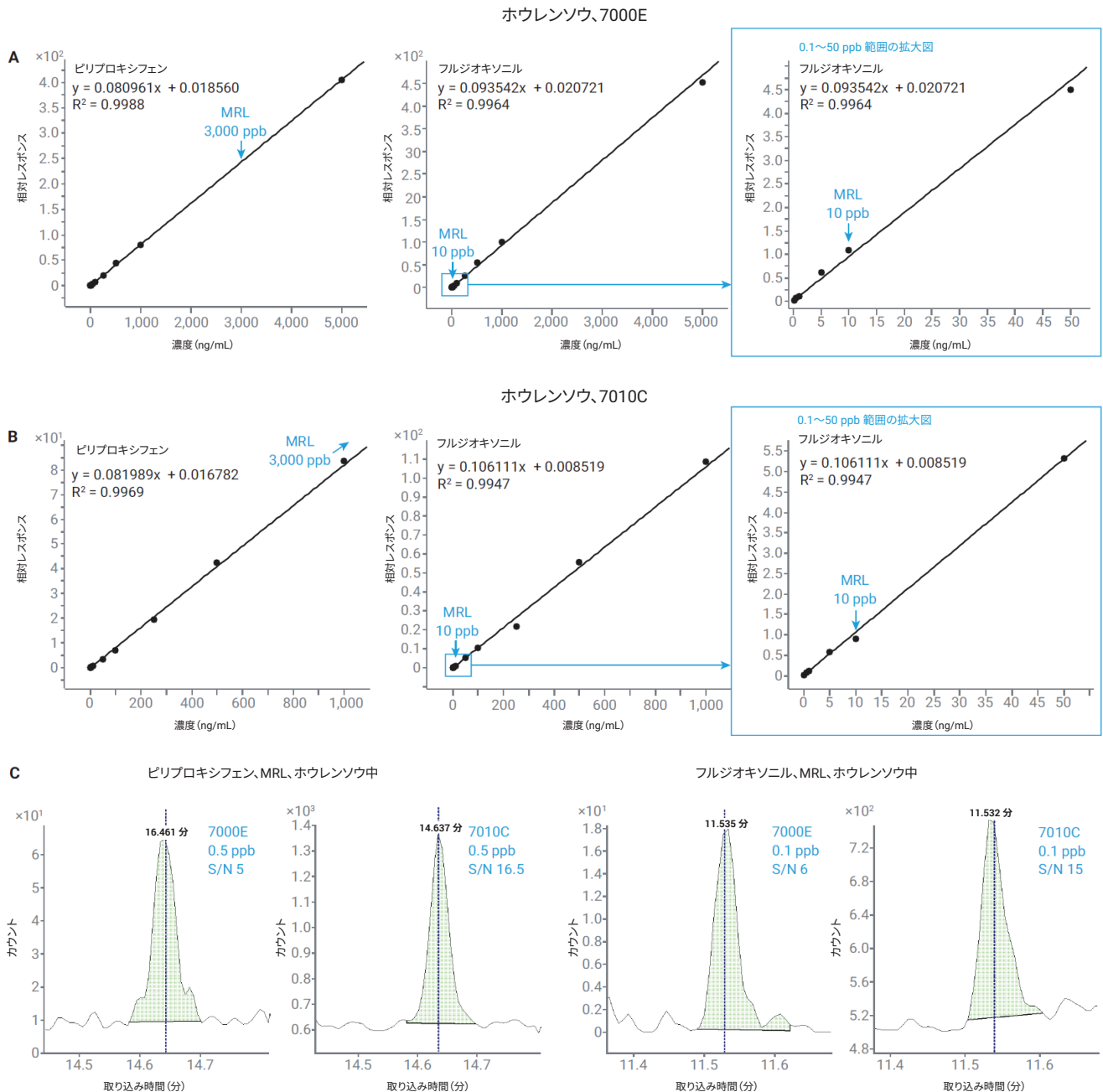


図 10. 7000E GC/TQ (A) および 7010C GC/TQ (B) によるホウレンソウの QuEChERS 抽出液中のピリプロキシフェンとフルジオキシニルのマトリックスマッチング検量線。7000E および 7010C GC/TQ で分析した、ホウレンソウの QuEChERS 抽出液中の 0.5 および 0.1 ppb のピリプロキシフェンとフルジオキシニルの MRM クロマトグラム (C)

希釈サンプルでも低いLOQを維持し、正確に定量することができます。また、希釈サンプルを注入することでメンテナンス頻度が減少し、GC注入口ライナの交換が必要になるまでに行える注入回数が増えました。

図11に、7000Eおよび7010C GC/TQシステムで分析したハウレンソウ、クルミ、トウガラシ中の農薬203種の検量線性能をまとめます。グラフには、検量線の相関係数が $R^2 > 0.99$ の化合物数、検量線の種類（直線または二次）、検量線範囲が示されています。

HESに対する推奨負荷量が成分あたり1 ng以下であることから、予測どおり、7010Cの検量線範囲の上限は7000Eより低くなりました（それぞれ1,000 ppbと5,000 ppb）。ただし、7010Cでは検量線範囲は、分析したほとんどの化合物について、直線で最大4桁となりました。また、HES搭載の7010C GC/TQでは、卓越した感度が実現されます。低濃度でも高いS/N比が得られ、0.1 ppb未満の濃度で正確に定量することができます。ただし、今回の研究では、サンプルとして用いた食品中の規制対象農薬のMRLでサブ0.1 ppbの定量が要求されなかったため、このレベルの性能は必要ありませんでした。7010C GC/TQを使用する場合は、分析前にさらに希釈することで、MRLが1,000 ppbを超えているサンプルに対応できます。希釈サンプルでも、HESにより、LOQレベルの濃度で高い感度を維持することができます。

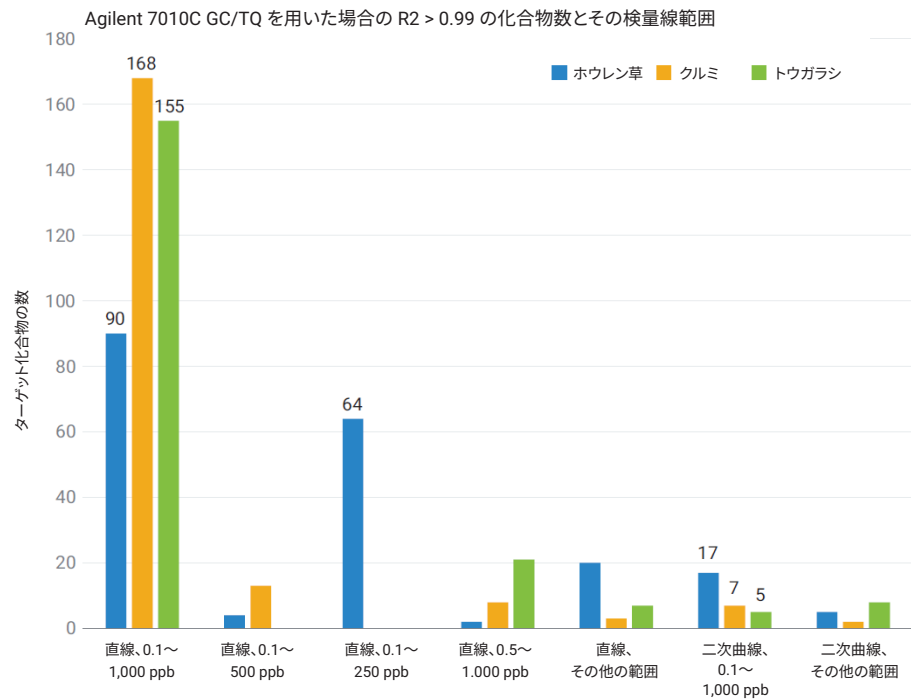
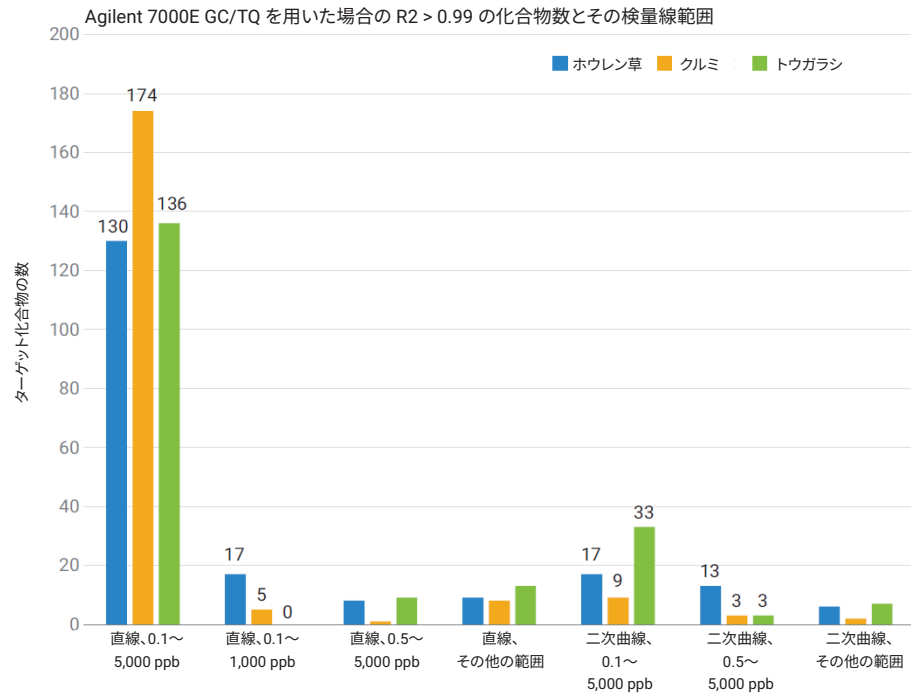


図 11. 7000E および 7010C GC/TQ によるハウレンソウ中の農薬 203 種の検量線性能。グラフには、化合物数とその検量線範囲が示されています。

## 結論

このアプリケーションノートでは、サンプル前処理と Agilent 8890/7000E および 8890/7010C トリプル四重極 GC/MS システムによる分析に関する 5 つの秘訣を、ハウレンソウ、クルミ、トウガラシを含む分析困難な食品マトリックス中の農薬 203 種に適用した結果について説明しました。これらの秘訣は次のとおりです。

- 従来の Agilent QuEChERS による抽出に続いて新しい改良型 Agilent Captiva EMR による通液クリーンアップを行うことにより、シンプルで、より高品質のサンプル前処理が実現されました。
- フルスキャンデータ取り込みモードでイオン源へのマトリックス負荷を評価しました。
- ミッドカラムバックフラッシュを実施しました。
- カラー付きセルフタイトカラムナットと CFT 金メッキフレキシブルメタルフェエラルを使用することで、リークのない GC/トリプル四重極システムが実現しました。
- プログラム昇温可能なマルチモード注入口と 2 mm ディンプルライナ（ガラスウールなし）を使用しました。

上記を適用したメソッドでは、最大 4 桁におよぶ広いダイナミックレンジにわたって優れた検量線性能が達成されました。具体的には、7000E および 7010C で、ほとんどの化合物に対して、それぞれ 0.1 ~ 5,000 ppb および 0.1 ~ 1,000 ppb という広い濃度範囲にわたり良好な直線性が得られました。また、7010C は卓越した感度を示し、低濃度でも高い S/N 比が得られました。この広いダイナミックレンジと高感度を兼ね備えた 7000E および 7010C は、色素や油脂分の多い複雑なマトリックスも含め、さまざまな食品中の農薬をそれぞれの MRL で分析できる最適な装置と言えます。

## 参考文献

1. Setting Tolerances for Pesticide Residues in Foods, US EPA <https://www.epa.gov/pesticide-tolerances/setting-tolerances-pesticide-residues-foods>. Accessed on April 28th, **2022**.
2. Index to Pesticide Chemical Names, Part 180 Tolerance Information, and Food and Feed Commodities (by Commodity), US EPA. December 12, 2012. <https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-01/documents/tolerances-commodity.pdf> Accessed on April 28th, **2022**.

3. Andrianova, A.; Quimby, B.; Zhao, L. A Fast and Robust GC/MS/MS ホウレンソウ中の 203 種類の農薬の 10 分間での高速かつ堅牢な GC/MS/MS 分析. *Agilent Technologies application note*, publication number 5994-4967JAJP, **2022**.
4. Andrianova, A.; Quimby, B. 半揮発性有機化合物のフルスキャン定量分析: SVOC 分析における Agilent 7000D GC/TQ のフルスキャンデータ取り込みモードでの性能の評価. *Agilent Technologies application note*, publication number 5994-3859JAJP, **2021**.
5. Fritz, B. PSD を用いた Agilent 8890 GC システムによるバックフラッシュ. *Agilent Technologies application note*, publication number 5994-0550JAJP, **2018**.
6. Self Tightening Column Nut Installation – Inlet & Detectors. <https://www.agilent.com/en/video/stcn-inlet-detector> Accessed on May 2nd, **2022**.
7. Self Tightening Column Nut Installation – MS Interface. <https://www.agilent.com/en/video/stcn-mass-spec> Accessed on May 2nd, **2022**.
8. 40 CFR § 180.291 - Pentachloronitrobenzene; Tolerance for Residues. <https://www.law.cornell.edu/cfr/text/40/180.291> Accessed on May 2nd, **2022**.

## 付録 1

今回の研究で分析した化合物と、観察されたそれぞれのリテンションタイム

名前	リテンションタイム (分)	名前	リテンションタイム (分)	名前	リテンションタイム (分)
アリドクロール	4.893	ピリメタニル	8.282	DCPA (ダクタール、クロルタールジメチル)	10.062
ジクロロベンゾニトリル、2,6-	5.244	ダイアジノン	8.291	フェンソン	10.201
ピフェニル	5.423	フルクロラリン	8.326	ジフェナミド	10.288
メピンホス、E-	5.597	ジスルホトン	8.427	プロモホス	10.297
3,4-ジクロロアニリン	5.708	テフルトリン	8.431	ピリミホスエチル	10.304
ペブレート	5.803	ターバシル	8.432	イソプロバリン	10.358
エトリジアゾール	5.833	δ-BHC	8.504	シプロジニル	10.407
cis-1,2,3,6-テトラヒドロフタルイミド	5.966	イサゾホス	8.527	MGK-264	10.443
N-(2,4-ジメチルフェニル)ホルムアミド	5.973	トリアレート	8.569	イソドリル	10.455
メタクリホス	6.055	クロロタロニル	8.584	メタザクロル	10.532
クロロネブ	6.136	エンドスルフアンエーテル	8.857	ベンディメタリン	10.535
2-フェニルフェノール	6.246	ペンタクロロアニリン	8.913	ベンコナゾール	10.562
ペンタクロロベンゼン	6.343	プロバニル	8.942	クロソリナート	10.584
プロバクロール	6.888	ジメタクロール	8.996	ヘプタクロルエキソエポキシド	10.621
テクナゼン	6.889	アセトクロール	9.093	トリルフルアニド	10.646
ジフェニルアミン	6.959	ピンクロソリン	9.115	アレスリン	10.648
シクロエート	7.043	トランスフルトリン	9.129	フィプロニル	10.662
2,3,5,6-テトラクロロアニリン	7.059	パラチオンメチル	9.145	クロルフェンピンホス	10.676
クロルプロファミ	7.102	クロルピリホスメチル	9.146	プロムフェンピンホスメチル	10.683
エタルフルラリン	7.139	トルクロホスメチル	9.233	キャプタン	10.732
トリフルラリン	7.245	アラクロール	9.263	トリアジメノール	10.746
ベンフルラリン	7.279	プロピソクロール	9.333	キナルホス	10.747
スルホテップ	7.376	ヘプタクロル	9.336	トリフルミゾール	10.77
ダイアレート I	7.481	メタラキシル	9.337	ホルベット	10.847
ホレート	7.498	ロンネル	9.396	プロシミドン	10.858
BHC-α (ベンゼンヘキサクロリド)	7.636	プロジアミン	9.556	クロルベンジド	10.918
ヘキサクロロベンゼン	7.768	フェニトロチオン	9.596	プロモホスエチル	11.041
ジクロラン	7.798	ピリミホスメチル	9.598	クロルデン-trans	11.043
ペンタクロロアニソール	7.823	リニューロン	9.668	DDE-o,p'	11.09
アトラジン	7.885	マラチオン	9.743	バクロプロラゾール	11.106
クロマゾン	7.982	ペンタクロロチオアニソール	9.758	テトラクロルピンホス	11.169
β-BHC	8.025	ジクロフルアニド	9.764	エンドスルフアン I (α異性体)	11.273
プロフルラリン	8.117	メトラクロール	9.902	クロルデン-cis	11.305
テルブチラジン	8.119	アントラキノン	9.916	フルトリアホール	11.322
BHC-γ (リンデン、γ HCH)	8.146	フェンチオン	9.928	フェナミホス	11.355
テルブホス	8.159	アルドリル	9.942	クロルフェンソン	11.382
プロピザミド	8.175	クロルピリホス	9.964	ノナクロル、trans-	11.392
ペンタクロロニトロベンゼン	8.219	パラチオン	9.98	プロムフェンピンホス	11.4
ホノホス	8.251	トリアジメホン	10.011	フルトラニル	11.402
ペンタフルオロベンゾニトリル	8.259	ジクロロベンゾフェノン、4,4'-	10.033	ヨードフェンホス	11.479

名前	リテンション タイム (分)	名前	リテンション タイム (分)	名前	リテンション タイム (分)
プロチオホス	11.514	カルボフェノチオン	12.849	フェノトリン I	14.334
フルジオキシソニル	11.556	カルフェントラゾンエチル	12.851	テトラジホン	14.445
プロフェノホス	11.56	メトキシシクロオレフィン	12.865	ホサロン	14.61
プレチラクロール	11.592	エジフェンホス	12.949	アジンホスメチル	14.64
DDE-p,p'	11.637	ノルフルラゾン	12.964	ビリプロキシフェン	14.662
トリシクラゾール	11.645	レナシル	12.976	レプトホス	14.666
オキサジアゾン	11.659	硫酸エンドスルファン	13.04	シハロトリン (λ)	14.731
ディルドリン	11.73	DDT-p,p'	13.054	マイレックス	14.898
オキシフルオルフェン	11.737	ヘキサジノン	13.23	アクリナトリン	15.076
マイクロプタニル	11.747	メトキシシクロ、o,p'-	13.241	フェナリモル	15.121
DDD-o,p'	11.799	テブコナゾール	13.294	ピラソホス	15.168
フルシラゾール	11.8	プロバルギット	13.352	アジンホスエチル	15.252
ブピリメート	11.831	ピペロニルプトキシド	13.404	ピラクロホス	15.303
フルアジホップ-p-プチル	12.007	レスメトリン	13.44	ベルメトリン、(1R)-cis-	15.656
ニトロフェン	12.023	カプタホール	13.466	ベルメトリン、(1R)-trans-	15.772
エチラン	12.063	ニトラリン	13.563	ピリダベン	15.807
クロルフェナビル	12.064	イプロジオン	13.726	フルキンコナゾール	15.895
エンドリン	12.127	テトラメトリン I	13.836	クマホス	15.902
クロロベンジレート	12.194	ピリダフェンチオン	13.838	プロクloraz	15.958
エンドスルファン II (β異性体)	12.291	エンドリンケトン	13.898	シフルトリン I	16.207
DDD-p,p'	12.383	ホスメット	13.931	シベルメトリン I	16.421
エチオン	12.453	プロモプロビレート	13.952	フルシトリネート I	16.75
DDT-o,p'	12.457	EPN	13.955	エトフェンプロックス	16.829
クロルチオホス	12.503	ビフェントリン	13.956	フルリドン	17.034
ノナクロル、cis-	12.508	メトキシシクロ、p,p'-	14.062	フェンバレレート I	17.459
エンドリンアルデヒド	12.618	フェンプロバトリン	14.077	フルバリネート-tau I	17.646
スルプロホス	12.669	テブフェンピラド	14.142	デルタメトリン	18.177
トリアソホス	12.674				

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

0120-477-111

[email\\_japan@agilent.com](mailto: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。

DE10556921

アジレント・テクノロジー株式会社  
© Agilent Technologies, Inc. 2022  
Printed in Japan, July 13, 2022  
5994-4965JAJP