

# Agilent BondElut QuEChERS キットと Agilent 7000 シリーズトリプル 四重極 GC/MS システムを使用した、 レッドチリパウダー中の複数の農薬 残留物質の特定

アプリケーションノート

食品安全性

## 著者

Meena Mariappan  
Harisenthil Kumar  
TUV-SUD South Asia Pvt. Ltd.,  
Stage II, Peenya Industrial Area  
Bangalore

Chandrasekar Kandaswamy  
Sunil Kulkarni  
Agilent Technologies  
Block C, RMZ Centennial  
Mahadevapura, Bangalore

## 概要

レッドチリの農薬残留物質の分析は、色素が原因で困難だと考えられています。これらのマトリックス成分は、サンプル前処理の間に、ターゲット化合物と一緒に共溶出していました。このような共溶出のため、頻繁なイオン源のメンテナンスと、ライナーやカラムの交換が必要でした。このため、サンプル前処理のメソッドを改良し、ライナーとカラムの寿命を延ばすことを検討しました。この前処理と Agilent 農薬データベースから、農薬残留物質を正確に特定できました。Agilent BondElut QuEChERS (Quick (高速)、Easy (簡単)、Cheap (低価格)、Effective (効果的)、Rugged (高い耐久性)、Safe (安全)) を使用して、さまざまな分散吸着剤による前処理を行い、抽出しました。レッドチリの抽出物は、Agilent 7890 GC と Agilent 7000 トリプル四重極 GC/MS システムを使用し、GC/MS/MS の MRM モードで分析しました。



Agilent Technologies

## はじめに

レッドチリは、世界、特にアジアで非常に人気の高いスパイスの1つです。毎年、数百万トンのレッドチリが生産、輸出されており、インドが世界最大の輸出国です。農薬の大量使用によって、農薬や潜在的な健康リスクにさらされていることに対する消費者の懸念が高まっています。このため、農薬残留物質の効果的な分析メソッドを提供する必要があります。表 1 はレッドチリの成分です。

表 1. レッドチリの成分

### 100 g (乾燥していない状態)

エネルギー	40 kcal
炭水化物	8.8 g
糖分	5.3 g
食物繊維	1.5 g
脂肪	0.4 g
タンパク質	1.9 g
水分	88 g
ビタミン A	48 µg
ベータカロチン	534 µg
ビタミン B <sub>6</sub>	0.51 mg
ビタミン C	144 mg
鉄分	1 mg
マグネシウム	23 mg
カリウム	322 mg
カプサイチン	0.01g – 6 g

チリの色はカロテノイド色素によるもので、ガスクロマトグラフ分析試料とする前にできるだけ除去する必要があります。この色素は揮発性が低いため、除去しないとライナーを汚染し [1]、ライナーやカラムの寿命が短くなります。

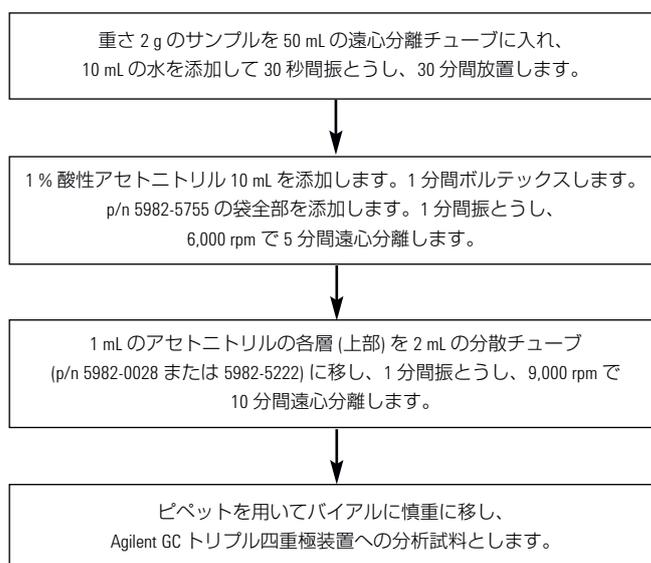
このアプリケーションノートでは、さまざまな分散吸着剤の使用による利点と、簡単な機器のメソッド設定について説明します。

## サンプル前処理法

サンプル前処理法では、Agilent BondElut QuEChERS キットをカスタマイズして使用しました [2]。抽出キットには 6 g の硫酸マグネシウムと 1.5 g の酢酸ナトリウムが含まれています。

Agilent BondElut QuEChERS の分散クリーンアップキットを使用して、抽出効率と色素の除去を確認しました。図 3 のように、GCB を使ったキットは色素の吸着性能が優れています。

## サンプル前処理法のフローチャート



## サンプル分析

GC メソッドは 9.14 分でクロルピリホスメチルにリテンションタイムロック (RTL) を行い、バックフラッシュはポストランで行います。分析の終了時にカラムに残っている高沸点マトリクス成分は、バックフラッシュによって、次の注入の前に迅速かつ効率的に除去されます。バックフラッシュにより、保持時間が安定するため、一貫したリテンションタイムを維持し、クロマトグラフピーク形状を分析するのに役立ちます [3]。

分析条件となるオープンプログラミング、バックフラッシュ、注入口温度、マルチプルリアクションモニタリング (MRM) トランジションなどの装置パラメータは、Agilent 農業データベースから取得しました [4]。

データベースから利用可能なすべてのトランジションを分析し、ピーク形状、アバundance、イオン比を考慮して 2 つのトランジションを選び、メソッドを設定しました。たとえば、エチオンのデータベースで使用可能な 5 つのトランジションのうち、長期に安定して妨害を受けないレスポンスが得られる Q0 と Q1 を選択しました。

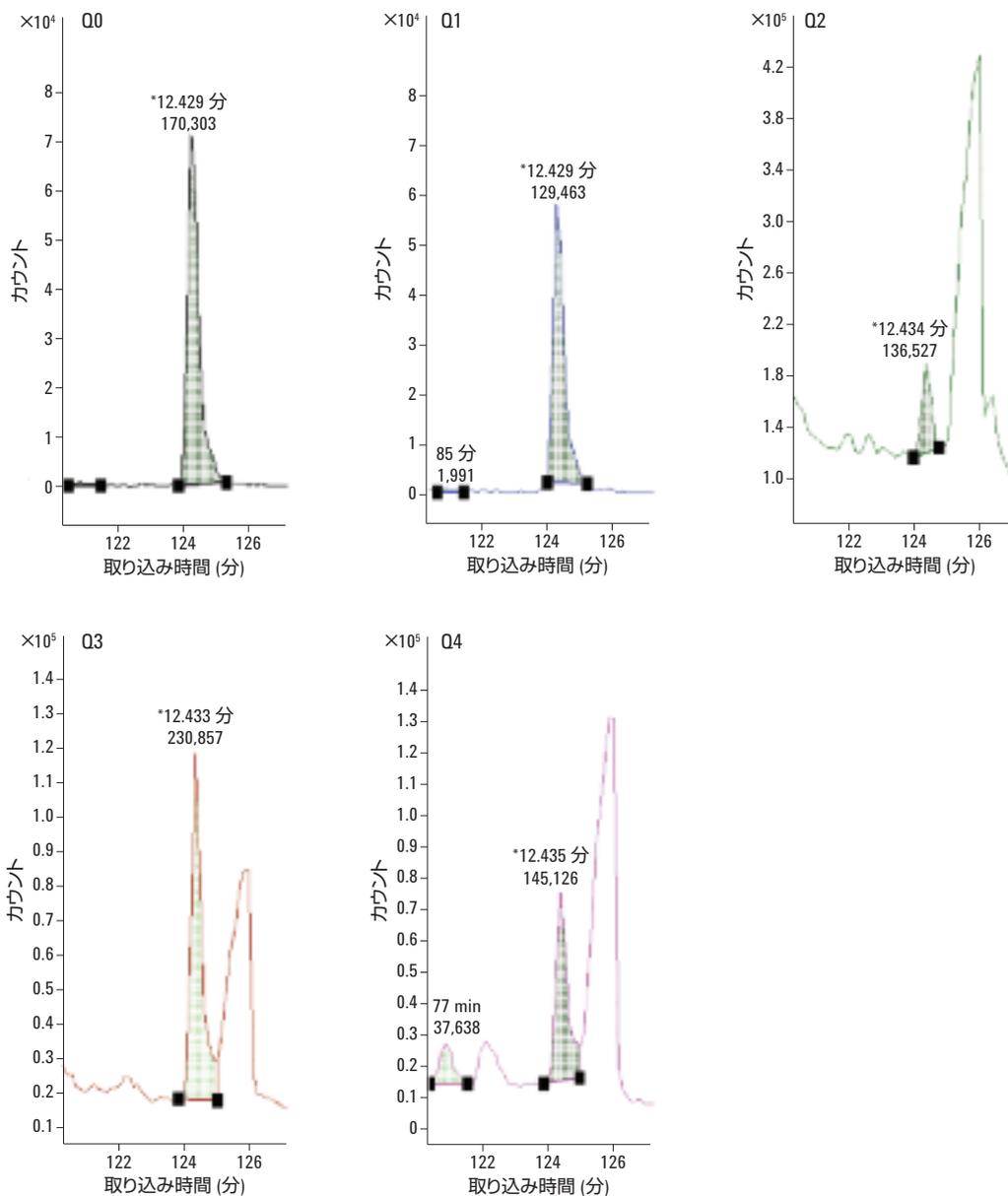


図 1. Agilent 農業データベースにある、すべての利用可能なエチオンのトランジション

## GC 装置パラメータ

リテンションキャップ	1 m (長さ) × 0.25 mm (直径)、コーティングなし (p/n 160-2255-5)
カラム 1	Agilent J&W HP-5ms、15 m × 0.25 mm、0.25 μm (p/n 19091S-433)、フロー 1.3 mL/分
カラム 2	Agilent J&W HP-5ms、15 m × 0.25 mm、0.25 μm (p/n 19091S-433)、フロー 1.5 mL/分
キャピラリー・フローデバイス	エレクトロニックニューマティクス コントロール (EPC) 付きの圧力制御ティ (PCT)
オートサンブラ	Agilent 7693A 自動液体サンブラ
注入	マルチモード注入口 (MMI) の 2 μL コールド スプリットレス
ライナー	4 mm シングルテーパウルトラライナート、 ガラスウール入り (p/n 5180-2293)
注入口温度プログラム	70 °C (0.1 分) 450 °C/分 ~ 325 °C (5 分) 10 °C ~ 250 °C
注入口へのパーズ流量	1 分で 50 mL/分
RTL 化合物	9.14 RT でロックしたクロルピリホスメチル
キャリアガス	ヘリウム
オープンプログラム	60 °C - 1 分保持 - 170 °C まで 40 °C/分上昇、 10 °C ~ 310 °C、3 分保持
ポストラン時間	3.3 分
ポストラン温度	310 °C
MS トランスファー ライン温度	280 °C

Agilent 7000 トリプル四重極 GC/MS は MS/MS 電子衝突イオン化 (EI) モードで操作し、マルチプルリアクションモニタリング (MRM) モードを使用して定量しました。

## MS パラメータ

イオン化モード	電子衝突イオン化 (EI)
イオン化エネルギー	-70 eV
チューン	EI オートチューン
EM ゲイン	50
滞留時間	10
コリジョンセルガス流	窒素 (1.5 mL/分) ヘリウム (2.25 mL/分)
MS 温度	イオン源 300 °C、Q1 150 °C、Q2 150 °C
MRM トランジション	表 2 を参照

表 2. MRM トランジション

シリアル番号	化合物名	RT	Q1	CE1	Q2	CE2
1	メビンホス	5.58	192.0 → 127.0	10.0	192.0 → 108.9	25.0
2	ジフェニルアミン	6.93	169.0 → 168.2	15.0	168.0 → 167.2	15.0
3	トリフルラリン	7.20	289.9 → 248.0	5.0	289.9 → 201.9	15.0
4	ベンフルラリン	7.24	292.0 → 264.0	5.0	292.0 → 206.0	10.0
5	ベンジオカルブ	7.26	126.0 → 52.1	15.0	126.0 → 80.0	10.0
6	ホレート	7.46	230.9 → 128.9	25.0	260.0 → 75.0	5.0
7	α-BHC	7.60	216.9 → 181.0	5.0	216.9 → 145.0	15.0
8	エトキシキン	7.76	202.1 → 174.1	15.0	202.1 → 145.1	30.0
9	β-BHC	8.06	180.8 → 145.0	15.0	183.0 → 147.0	15.0
10	プロベタンホス	8.07	221.9 → 137.9	5.0	138.0 → 64.0	15.0
11	γ-BHC	8.16	180.8 → 145.0	5.0	183.0 → 147.0	15.0
12	テルブホス	8.12	230.9 → 129.0	20.0	230.9 → 185.0	5.0
13	ダイアジノン	8.25	137.1 → 84.0	10.0	199.1 → 135.1	15.0
14	ピリメタニル	8.27	198.0 → 118.1	35.0	198.0 → 158.1	20.0
15	フルクロラリン	8.29	325.8 → 62.9	15.0	264.0 → 160.0	15.0
16	エトリムホス	8.51	291.9 → 181.0	5.0	153.0 → 56.1	15.0
17	δ-BHC	8.52	219.0 → 147.0	15.0	217.0 → 145.0	5.0
18	フェンクロルホスオキソン	8.82	268.9 → 254.0	15.0	268.9 → 224.0	30.0
19	スピロキサミン I	9.05	100.0 → 58.1	10.0	198.0 → 126.1	5.0

シリアル番号	化合物名	RT	Q1	CE1	Q2	CE2
20	スピロキサミンⅡ	9.05	100.0 → 58.1	10.0	198.0 → 126.1	5.0
21	アセトクロール	9.06	222.9 → 132.2	20.0	222.9 → 147.2	5.0
22	トランスフルトリン	9.08	165.1 → 91.1	10.0	127.0 → 91.1	10.0
23	クロルピリホスメチル	9.11	285.9 → 92.9	20.0	287.9 → 92.9	20.0
24	パラチオンメチル	9.11	125.0 → 47.0	10.0	232.9 → 109.0	10.0
25	アラクロール	9.23	188.1 → 160.2	10.0	224.0 → 206.2	5.0
26	ヘブタクロール	9.30	271.7 → 236.9	15.0	273.7 → 238.9	15.0
27	メタラキシル	9.33	234.0 → 146.1	20.0	234.0 → 174.1	10.0
28	マラチオン	9.72	172.9 → 99.0	15.0	157.8 → 125.0	5.0
29	チオベンカルブ	9.77	124.9 → 89.0	15.0	124.9 → 99.0	20.0
30	アルドリン	9.90	262.9 → 192.9	35.0	262.9 → 190.9	35.0
31	フェンチオン	9.90	278.0 → 109.0	15.0	278.0 → 169.0	15.0
32	クロルピリホス	9.93	313.8 → 257.8	15.0	313.8 → 285.8	5.0
33	テトラコナゾール	10.09	336.0 → 217.9	20.0	336.0 → 203.8	30.0
34	ベンジメタリン	10.50	251.8 → 162.2	10.0	251.8 → 161.1	15.0
35	フィプロニル	10.54	350.8 → 254.8	15.0	254.9 → 157.0	15.0
36	ベンコナゾール	10.59	248.0 → 157.1	25.0	248.0 → 192.1	15.0
37	フェントアート	10.72	274.0 → 121.0	10.0	274.0 → 125.0	15.0
38	プロシミドン	10.85	282.8 → 96.0	10.0	284.8 → 96.0	10.0
39	DDE-o,p'	11.06	248.0 → 176.2	30.0	317.8 → 248.0	15.0
40	ブタクロール	11.19	188.1 → 160.2	20.0	176.0 → 146.0	35.0
41	プロフェノホス	11.58	338.8 → 268.7	15.0	338.8 → 187.8	30.0
42	ディルドリン	11.71	277.0 → 241.0	5.0	345.0 → 262.7	5.0
43	DDD-o,p'	11.78	235.0 → 165.1	20.0	235.0 → 199.1	15.0
44	DDE-p,p'	11.80	235.0 → 165.2	30.0	235.0 → 199.1	15.0
45	クロルフェナピル	12.07	327.8 → 246.8	15.0	246.9 → 200.0	30.0
46	エンドリン	12.12	262.8 → 193.0	35.0	244.8 → 210.0	10.0
47	フェンチオンスルホキシド	12.28	125.0 → 47.0	10.0	278.0 → 169.0	15.0
48	オキサジアゾン	12.30	174.9 → 112.0	15.0	176.9 → 112.0	15.0
49	DDD-p,p'	12.38	234.9 → 165.1	20.0	236.9 → 165.2	20.0
50	エチオン	12.43	230.9 → 129.0	20.0	120.9 → 65.0	10.0
51	DDT-o,p'	12.43	235.0 → 165.2	20.0	199.0 → 163.1	35.0
52	ジニコナゾール	12.44	267.9 → 232.1	10.0	269.9 → 233.9	10.0
53	カルフェントラゾン-エチル	12.86	339.9 → 311.9	10.0	329.9 → 309.9	10.0
54	トリフロキシストロビン	12.96	116.0 → 89.0	15.0	186.0 → 145.1	15.0
55	プロピコナゾールⅡ	13.01	172.9 → 74.0	45.0	258.8 → 69.0	10.0
56	硫酸エンドスルファン	13.05	271.9 → 237.0	15.0	273.8 → 238.9	15.0
57	プロピコナゾールⅠ	13.13	172.9 → 74.0	45.0	258.8 → 69.0	10.0
58	ジフルフェニカン	13.34	266.0 → 238.1	15.0	393.9 → 265.9	10.0
59	テブコナゾール	13.35	250.0 → 125.0	20.0	127.0 → 89.0	20.0

シリアル番号	化合物名	RT	TS	Q1	CE1	Q2	CE2
60	リン酸トリフェニル	13.41	26	325.0 → 169.1	20.0	326.0 → 233.0	10.0
61	イブロジオン	13.76	29	313.8 → 55.9	20.0	187.0 → 124.0	25.0
62	ビフェントリン	13.92	29	181.2 → 165.2	25.0	181.2 → 166.2	10.0
63	ビフェナゼート	14.00	29	299.9 → 258.1	5.0	299.9 → 214.1	10.0
64	フェンプロバスリン	14.07	30	207.9 → 181.0	5.0	264.9 → 210.0	10.0
65	フェンアミドン	14.20	30	238.0 → 237.2	10.0	268.0 → 77.1	35.0
66	フェナザキン	14.24	30	145.0 → 117.1	10.0	160.0 → 145.2	5.0
67	フェノトリンⅡ	14.41	32	182.9 → 168.1	10.0	182.9 → 153.1	15.0
68	テトラジホン	14.46	32	158.9 → 111.0	20.0	355.8 → 228.8	10.0
69	トリチコナゾール	14.58	33	234.8 → 182.1	10.0	234.8 → 167.1	25.0
70	ホサロン	14.62	34	182.0 → 75.1	30.0	182.0 → 102.1	15.0
71	ピリプロキシフェン	14.66	34	136.1 → 96.0	15.0	226.1 → 186.2	15.0
72*	マイレックス	14.87	35	273.8 → 238.8	15.0	236.8 → 142.9	30.0
73	アクリナトリン	14.91	36	181.0 → 152.0	30.0	288.9 → 92.8	10.0
74	フェナリモル	15.14	36	219.0 → 107.1	10.0	139.0 → 75.0	30.0
75	アジンホスエチル	15.26	37	132.0 → 77.1	15.0	160.0 → 77.1	0.0
76	フェノキサプロップエチル	15.36	37	360.9 → 288.0	10.0	261.1 → 182.2	10.0
77	ビテルタノールⅠ	15.61	37	170.1 → 141.1	20.0	151.9 → 126.0	30.0
78	ペルメトリンⅠ	15.63	37	163.0 → 127.0	5.0	183.1 → 165.1	10.0
79	ビテルタノールⅡ	15.71	37	170.1 → 141.1	20.0	170.1 → 115.0	35.0
80	ペルメトリンⅡ(トランス)	15.75	37	163.0 → 127.0	5.0	162.9 → 127.1	5.0
81	シフルトリンⅢ	16.20	42	206.0 → 150.0	15.0	206.0 → 176.9	5.0
82	シフルトリンⅡ	16.28	42	206.0 → 150.0	15.0	206.0 → 176.9	5.0
83	シペルメトリンⅠ	16.40	43	163.0 → 127.0	10.0	165.1 → 127.1	10.0
84	シペルメトリンⅢ	16.40	43	163.0 → 127.0	5.0	165.1 → 127.1	10.0
85	シフルトリンⅠ	16.40	41	206.0 → 150.0	15.0	206.0 → 176.9	5.0
86	シフルトリンⅣ	16.51	42	206.0 → 150.0	15.0	206.0 → 176.9	5.0
87	シペルメトリンⅡ	16.60	43	163.0 → 127.0	15.0	165.1 → 127.1	10.0
88	キザロホップエチル	16.68	43	371.8 → 298.9	10.0	298.9 → 90.8	15.0
89	シペルメトリンⅣ	16.71	43	163.0 → 127.0	15.0	165.1 → 127.1	10.0
90	フルシトリネートⅠ	16.72	44	156.9 → 107.1	15.0	198.9 → 107.0	25.0
91	フルシトリネートⅡ	16.90	45	156.9 → 107.1	10.0	198.9 → 107.0	25.0
92	フェンバレレートⅠ	17.43	47	167.0 → 125.1	5.0	224.9 → 119.0	15.0
93	デルタメトリン	17.97	48	181.0 → 152.1	25.0	250.7 → 172.0	5.0

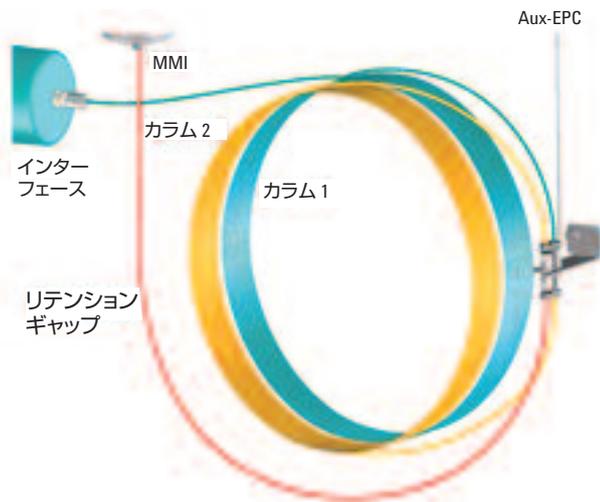
RT- リテンションタイム

\* 内部標準

Q1- 定量 MRM トランジション

Q2- 確認 MRM トランジション

CE1 → CE2- 個々のコリジョンエネルギー



リテンションギャップによって分析カラムの汚染を防ぎ、システムをベントせずに簡単に交換できます。

図2. コンスタントフローとポストランバックフラッシュのカラム1とカラム2。

図3は、さまざまな BondElut QuEChERS 分散クリーンアップ充填材を使用した、カロテノイド除去の効率を示しています。

吸着剤	0028	5122	5022	5222
PSA	50	50	50	50
シリカ-C18	50	50	-	-
GCB	7.5	-	-	50
硫酸マグネシウム	150	150	150	150

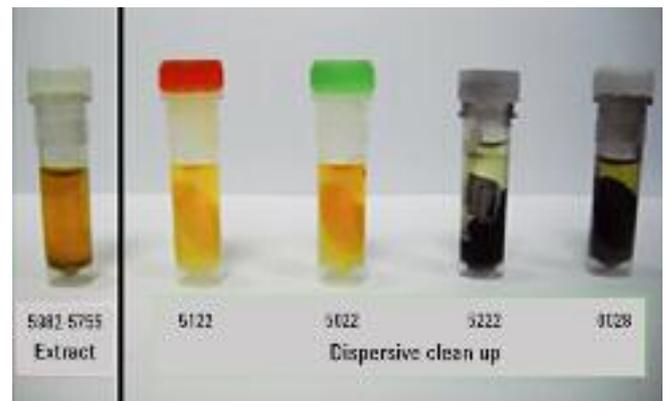


図3. 充填材と対応する抽出物のさまざまな組み合わせ。

## 機器キャリブレーション

農薬のレッドチリマトリックス添加のキャリブレーション標準を、0.19、0.39、0.78、1.56、3.13、6.25、12.5、25、50、100、200 ng/mL の濃度で調製しました。各マトリックス標準には、25 ng/mL の濃度の内部標準 (IS) として、マイレックスも含まれています。

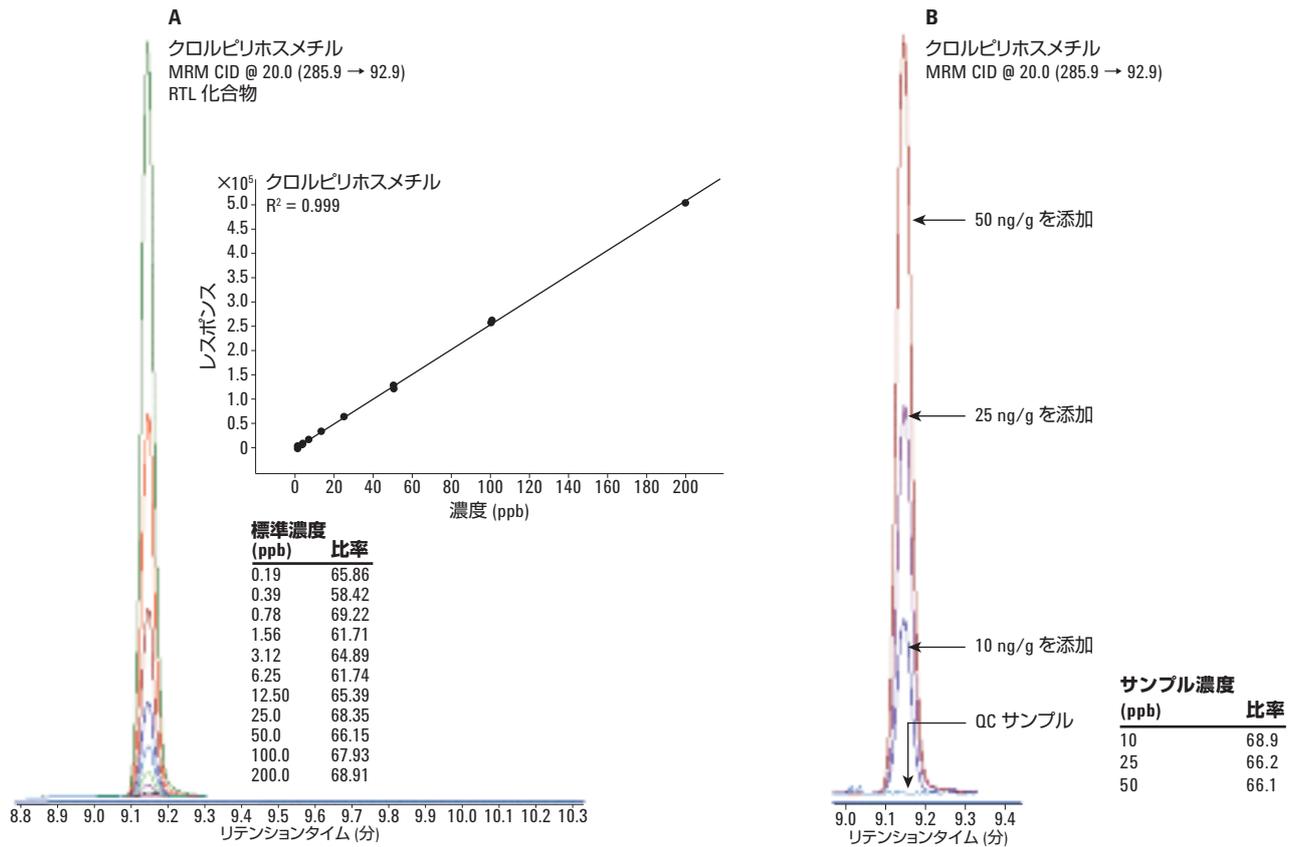


図 4. A) クロルピリホスメチルマトリックス添加の 0.19 ng/mL ~ 200 ng/mL の標準 (定量イオン)、およびその直線性とイオン比を重ねて表示。  
 B) 10、25、および 50 ng/g (定量イオン) のクロルピリホスメチルとそのイオン比、QC サンプルを重ねて表示。

## メソッド性能

このアプリケーションノートのサンプル前処理メソッドは、10、25、および 50 ng/g (n = 6) の 3 種類の濃度の添加回収実験で検証しました。テスト対象のすべての化合物の添加回収は 70 ~ 120 % で、関連する相対標準偏差 (%RSD) は 20 % 以内でした。5982-5222 では多くの色素が吸着され、色が少なくなりましたが、ピリメタニルとフェナザキンの添加回収は 5982-0028 と比べて低いものでした。

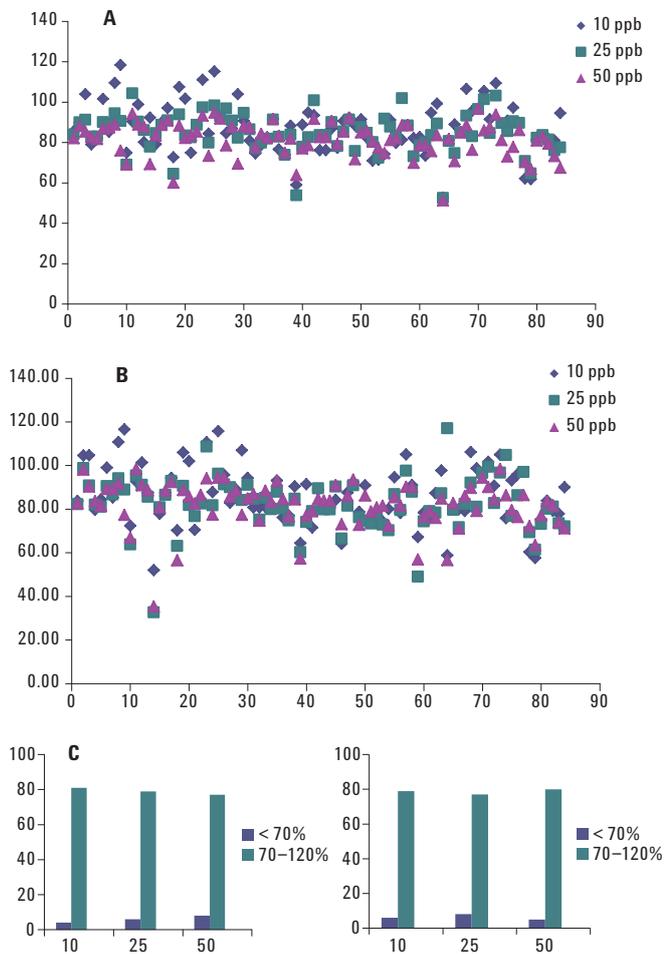


図 5. A) 5982-0028 による 10、25、および 50 ng/g の添加回収実験。  
B) 5982-5222 による 10、25、および 50 ng/g の添加回収実験。  
C) 5982-0028 と 5982-5222 の添加回収実験の比較。

## メソッド評価

メソッドの性能と適合性は、市場から入手した 10 個のチリサンプルを分析して評価しました。これらのサンプルの分析結果については、図 6 をご覧ください。

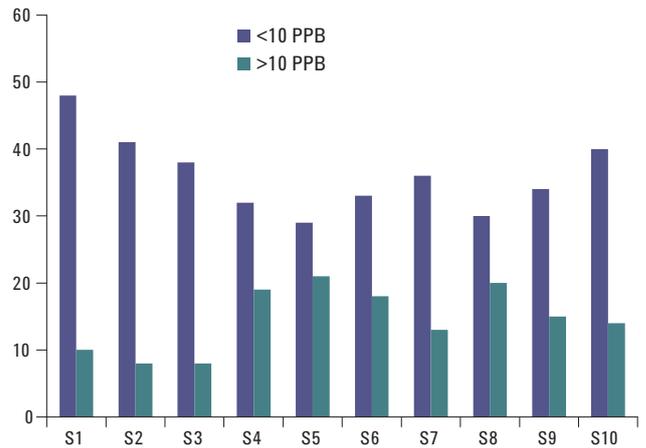


図 6. 定量した農薬と、濃度が 10 ng/g を超える農薬の数。

## 結論

乾燥したレッドチリパウダー中の農薬残留物質の特定は、マトリックスが複雑なためサンプル前処理と分析が困難です。

共溶出したカロテノイド色素を除去し、ライナーとカラムの寿命を延ばす努力をしました。BondElut QuEChERS のサンプル前処理キットを使用しました。この方法には、アセトニトリル抽出後のGCB 分散クリーンアップステップが含まれていました。カロテノイドを減らすことでライナーとカラムの寿命、およびターゲット化合物の検出が改善されます。

ポストラン、バックフラッシュを使用して、高沸点成分を除去し、イオン源の汚染を減らすことができました。

添加回収 [5] は 70 ~ 120 % の範囲内で、ほとんどの成分で、3 つの添加レベル (10、25、および 50 ng/g) 全部で RSD (n = 6) が 20 % 未満となりました。感度は、ほとんどの成分を 10 µg/kg 未満のレベルで定量できました。これらの農薬で優れた結果 (RSD が 20 % 未満) を達成でき、既知の低回収率 (70 % 未満) の分析条件を改善できました。

最適化されたサンプル前処理法と GC/MS/MS メソッドで、信頼性の高い結果と性能を示すことができました。

## 参考文献

1. B. Rodrigue, Z. Amaya Ph.D., A guide to carotenoid analysis in food, University of Brazil.
2. The Agilent BondElut QuEChERS Sample preparation manual page number 90-99.
3. User Quick guide to Pressure control T (PCT) operation – post run back flush; Agilent Publication no: 5990-5484EN.
4. Pesticides and Environmental pollutants MRM database G9250AA.
5. Method Validation and quality control procedures for pesticide residues analysis in food and feed, Document N° SANCO/12495/2013.

## 詳細

アジレント製品とサービスの詳細については、アジレントの Web サイト ([www.agilent.com/chem/jp](http://www.agilent.com/chem/jp)) をご覧ください。

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

アジレントは、本文書に誤りが発見された場合、また、本文書の使用により付随的または間接的に生じる損害について一切免責とさせていただきます。

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  
© Agilent Technologies, Inc. 2014  
Published in Japan, June 27, 2014  
5991-4193JAJP



**Agilent Technologies**