

# Agilent GC/Q-TOF と精密質量農薬 ライブラリによる食品中の 740 種類以上の残留農薬の スクリーニング

## アプリケーションノート

### 著者

Philip L. Wylie、Joan Stevens、  
Sofia Nieto

### 要約

6 種類の有機栽培の果物と野菜のサンプルを EN QuEChERS メソッドを使用して抽出し、抽出物に 10 および 100 ng/mL の 93 種類の農薬をスパイクしました。スパイクした抽出物は高分解能飛行時間型質量分析計 Agilent 7200A GC/Q-TOF の電子イオン化モードにて分析しました。Agilent MassHunter Qualitative Analysis ソフトウェア (B.07.00) とアジレントの新しい精密質量 GC/Q-TOF 農薬パーソナル化合物データベースライブラリ (PCDL) を使用してデータを解析しました。以下の 2 つの GC メソッドを試しました。

- パージ付き Ultimate ユニオン (PUU) で 5 m カラムと 15 m カラムを組み合わせた 20 分間の分析
  - パージ付き Ultimate ユニオン (PUU) で 15 m カラムを 2 本組み合わせた 40.5 分間の分析
- 各ケースで、手前のカラムを分析の終了時にバックフラッシュしました。10 ng/mL のスパイクレベルで、20 分間および 40.5 分間メソッドによりそれぞれ 97.3 % および 97.1 % の農薬を同定できました。100 ng/mL レベルでは、2 つのメソッドによりそれぞれ 99.6 % および 99.8 % の農薬を同定できました。シグナル/ノイズ比が 10 以上の場合は、分子イオンの質量を 2 ppm 以下の精度で測定することができました。



Agilent Technologies

## 概要

安全な食品供給を確実にするために、さまざまな政府機関 [1~3] および国際食品規格 [4] によって農薬の最大残留基準値 (MRLs) が設定されています。これらの法律は、提供された穀物に合法的にどの農薬を使用できるか、および収穫後に残留が許容される農薬の最大量を規制しています。ある国においてある穀物への使用が許可されている農薬が他の国では使用が禁止されている場合があります。また、MRL 値はさまざまな農薬/食品の組み合わせについて通常、世界で同一ではありません。900 種類以上の農薬が世界中で使用され、国際的な食品取引が増加していることを考えると、多くの種類の農薬のスクリーニングが必要です。

一般的な残留農薬メソッドではガスおよび液体クロマトグラフィとタンデム質量分析計を使用しています (GC/MS/MS [5,6] および LC/MS/MS [7])。非常に高い感度と高い選択性を備えています。ターゲット分析であり、対象の農薬のみを検出します。最も包括的な GC/MS/MS メソッドの 1 つは 375 種類のターゲット化合物が含まれ、そのうち 349 は農薬でした [8]。しかしながら、数百種類の農薬の検量線の作成は費用と時間がかかるため、多くの場合 GC/MS/MS メソッドはそこまで多数の農薬を対象にすることはありません。

検量線の作成を必要としない包括的なメソッドでは、より多数の農薬をスクリーニングすることができます。この手法は、サンプルが定量メソッドの正常範囲外の農薬を含んでいないことを追加的に示すことによって、ターゲットメソッドを補完します。このようなスクリーニングメソッドは定量的である必要はありませんが、残留許容範囲が設定されていない農薬に対して通常受け入れられているデフォルト MRL である 10 ng/g レベル (10 ppb) を検出するのに十分な高感度であるべきです。スクリーニングメソッドで検出された農薬は、GC/MS/MS ターゲット分析に追加できます。

現在使用されている手法の 1 つは Agilent 7890B ガスクロマトグラフとスキャンモードの Agilent 5977A シリーズ GC/MSD システムを組み合わせたサンプル分析です。その後、アジレントのデコンボリューションレポート作成ソフトウェア (DRS) と農薬および内分秘かく乱物質データベース/ライブラリを使用して解析します [9、10]。これはかなり低コストで包括的な手法ですが、農薬によっては感度が制限され、非常に複雑なマトリックスではデコンボ

リューションは効果的ではありません。

このアプリケーションノートでは、7890 GC と 7200 四重極飛行時間型質量分析計 (GC/0-TOF) を使用した農薬の新しいスクリーニングの手法について解説します。Agilent MassHunter Qualitative Analysis ソフトウェアは PCDL に登録された各化合物の特徴的な精密質量イオンを選択し、適切なリテンションタイム (RT) で存在するか、共溶出するかを判断します。700 以上の化合物が登録された 3 種類の農薬 PCDL は、MassHunter Qualitative Analysis ソフトウェアを使用して作成されました。3 種類の PCDL の主な違いは GC メソッドです。このため、各 PCDL には使用した GC メソッドに対応した RT 情報が登録されています。

## 実験

### サンプル前処理法

#### 装置と機器と材料

- Agilent Bond Elut QuEChERS EN 抽出バケツ、部品番号 5982-5650 (米国、カリフォルニア州、フォルサム、アジレント・テクノロジー株式会社)
- Agilent Bond Elut QuEChERS EN 一般的な果実と野菜用分散 SPE キット、部品番号 5982-5056 と濃い色素のある果実と野菜用分散 SPE キット、部品番号 5982-5356
- Agilent Bond Elut QuEChERS セラミックホモジナイザ、部品番号 5982-9311
- ロボクープブレンダ (米国、ミシシッピ州、リッジランド、Robot Coupe USA, Inc.)
- 2010 ジェノグラインダー (米国、ニュージャージー州、メアチェン、SPEX Sample Prep)
- VWR Signature Digital Multi-Tube Vortexer (米国、ペンシルベニア州、ラドナー、VWR)
- CentraCLR3R Centrifuge (米国、マサチューセツツ州、ウォルサム、Thermo-Fisher)

## 手順

Quick (高速)、Easy (簡単)、Cheap (低価格)、Effective (効果的)、Rugged (高い耐久性)、Safe (安全) の頭文字に由来する QuEChERS メソッド [11] の欧州規格 (EN) バージョンに基づき、アジレントの抽出塩および分散キットを使用して、果実と野菜 (人参、ブロッコリ、トマト、サヤマメ、セロリ、赤リンゴ) の抽出物を前処理しました。有機栽培した果実と野菜は、細かく切りドライアイスで冷凍してロボクープレンダ内で均質化しました。均質化したサンプルは抽出まで  $-20^{\circ}\text{C}$  で保存しました。

## 抽出/分画

10 g の均質化したサンプルを 50 mL 遠心分離チューブに秤量して入れ、2つのセラミックホモジナイザをサンプルに加ええました。10 mL の ACN を遠心管サンプルチューブに加えキャップし、1 分間ボルテックスしました。4 g  $\text{MgSO}_4$ 、1 g NaCl、1 g クエン酸ナトリウム、0.5 g クエン酸 2 ナトリウム 1.5 水和物が含まれている Agilent EN QuEChERS 塩のパケット (部品番号 5982-5650) をサンプルチューブに直接加ええました。サンプルチューブを密閉しジェノグラインダー上で 1 分間強く振とうしました。その後、サンプルチューブを 5,000 rpm で 5 分間遠心分離しました。

## 分散 SPE クリーンアップ

抽出物の上澄み ACN 層のサンプル 6 mL を、Agilent QuEChERS EN 分散 SPE の 15 mL チューブに移しました。人参、トマト、セロリ、赤リンゴの抽出物については、150 mg の PSA と 900 mg  $\text{MgSO}_4$  が含まれる QuEChERS EN 分散 SPE (部品番号 5982-5056) を使用しました。ブロッコリとサヤマメについては、150 mg の PSA、45 mg の GCB、855 mg の  $\text{MgSO}_4$  を含む QuEChERS EN 分散 SPE (部品番号 5982-5356) を使用しました。最後に、チューブをキャップで密閉して 1 分間ボルテックスしたのち、5,000 rpm で 5 分間遠心分離しました。

## 混合標準抽出物

カスタム仕様の農薬標準として 9 種類の異なる 100 ppm (100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) の混合物を AccuStandard (コネチカット州、ニューヘイブン) から購入しました。9 つの各バイアルからそれぞれ 100  $\mu\text{L}$  と追加の 100  $\mu\text{L}$  の ACN を合わせて 1:10 希釈の混合標準 (10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) を作りました。1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  混合標準は 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  溶液を 1:10 に希釈して調整しました。1  $\mu\text{L}$  の 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  標準混合物を 99  $\mu\text{L}$  の果実または野菜の抽出物に加えて、100 ng/mL のスパイク溶液を調整しました。1  $\mu\text{L}$  の 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  混合標準を 99  $\mu\text{L}$  の果実または野菜の抽出物に加えて、10 ng/mL のスパイク溶液を調整しました。図 1 は QuEChERS サンプル抽出手順のワークフローを示しています。

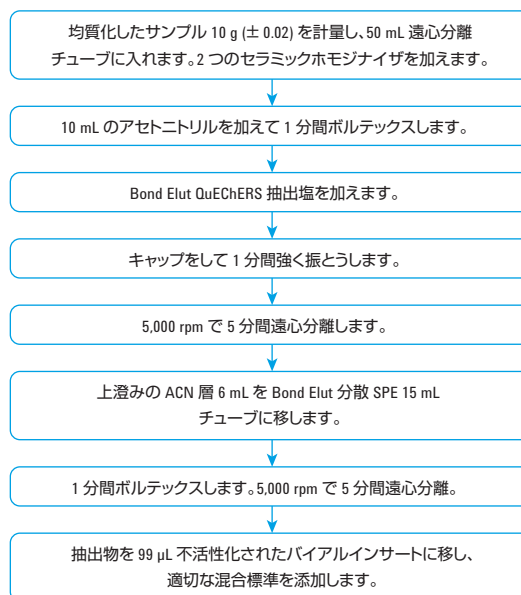


図 1. Agilent QuEChERS サンプル抽出手順のワークフロー。

## 機器および分析条件

機器および分析条件を表1および表2に示します。それぞれ独自のGC カラム構成、総分析時間、RT を持つ、2 種類のミッドカラムバックフラッシュメソッドを使用しました。最初のメソッドでは、5 m × 0.25 mm、0.25 μm DB-5 カラムをマルチモード注入口 (MMI) とパージ付きユニオンとの間に接続し、もう1つのカラム (15 m × 0.25 mm、0.25 μm DB-5) をパージ付きユニオンと Q-TOF トランス

表 1. 5×15 メソッドによる分析のための機器と条件

パラメータ	値
ガスクロマトグラフ	Agilent 7890B ガスクロマトグラフ、240 V 電源
オートサンブラ	Agilent 7693A シリズオートリキッドサンブラ、インジェクタとトレイ
注入量	2 μL コールドスプリットレス
注入速度	高速
注入ロライナ	内径 2 mm のウルトライナート、ディンプル付き (部品番号 5190-2296)
セプタムパージフロー	
およびモード	3 mL/min、スイッチド
カラム 1	Agilent DB-5、5 m × 0.25 mm、0.25 μm、MMI とパージ付きユニオンとの間に取り付け (15 m カラム (部品番号 122-5012) から切り取る)
カラム 2	Agilent DB-5、15 m × 0.25 mm、0.25 μm (部品番号 122-5012)、パージ付きユニオンと Q-TOF の間に取り付け
カラム 1 流量	He、推定値 1.0 mL/min
カラム 2 流量	He、推定値 1.1 mL/min (カラム 1 流量 + 0.1 mL/min)
バックフラッシュ (ポストラン)	290 °C で 3 分間 カラム 1 流量 = -36.852 mL/min カラム 2 流量 = 12.672 mL/min
RT ロッキング	クロルピリフォスメチルは 8.524 分にロック
MMI 温度プログラム	60 °C で 0.02 分間 600 °C/min で 300 °C、ホールド
MMI モード	スプリットレス (スプリットメントへのパージフロー = 1.5 分で 100 mL/min) ガスセーバ = 2.0 分で 20 mL/min
オープン温度プログラム	60 °C (1.5 分) 50 °C/min で 160 °C (0 分間)、 8 °C/min で 240 °C (0 分間)、 50 °C/min で 280 °C (2.5 分間)、 100 °C/min で 290 °C (3.1 分間)
質量分析計	Agilent 7200A Q-TOF
質量分析モード	EI、高分解能 (4 GHz) モードで TOF のみ
コリジョンガス	1.5 mL/min で N <sub>2</sub> オン
保存マスレンジ	m/z 35-550
収集レート	5 Hz
トランスファークライン温度	300 °C
イオン源および四重極の温度	300 °C および 180 °C

ファークラインとの間に接続しました (図 2)。2 つ目のメソッドは、カラムの構成方法は同じですが、15 m × 0.25 mm、0.25 μm のカラムを 2 つ使用します。この 2 つの構成を 5×15 メソッドおよび 15×15 メソッドと呼び、一定のカラム流量モードで実行され、それぞれの分析時間は 20 分および 40.5 分です。

表 2. 15×15 メソッド用のカラムと条件

パラメータ	値
カラム 1 および 2	Agilent DB-5、15 m × 0.25 mm、0.25 μm (部品番号 122-5012) を表 1 に示すように取り付け
カラム 1 流量	He、推定値 1.5 mL/min
カラム 2 流量	He、推定値 1.7 mL/min (カラム 1 流量 + 0.2 mL/min)
バックフラッシュ (ポストラン)	310 °C で 5 分間 カラム 1 流量 = -11.536 mL/min カラム 2 流量 = 11.95 mL/min
RT ロッキング	クロルピリフォスメチルは 18.111 分にロック
オープン温度プログラム	1 分間 60 °C、 40 °C/min で 120 °C (0 分間)、 5 °C/min で 310 °C (0 分間)

上記に示されていない機器と条件は表 1 に示した内容と同じです。

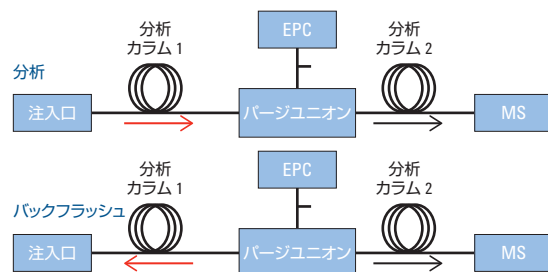


図 2. バックフラッシュメソッドのコンフィグレーション。5×15 メソッドでは、カラム 1 は 5 m からカラム 2 は 15 m です。15×15 メソッドでは、どちらのカラムも 15 m です。バックフラッシュの間、圧力はパージ付きユニオンでは上昇し、注入口では低下するため、カラム 1 のフローは逆方向になります。残留する化合物は、カラムフローと共に注入口の スプリットメントを通して外に排出されます。

## GC カラム

この分析では、DB-5 カラムを使用しました。5 m × 0.25 mm、0.25 μm カラムは 15 m カラムを切って使いました。これらの DB-5 カラムは、農薬 PCDLs の作成時に使われた Agilent HP-5MS UI カラムで得られる RT とほぼ等しい RT を提供します。DB-5MS カラムとも固定相が異なり、全く同じ RT ではないため注意が必要です。

## 測定およびデータ解析用のソフトウェア

機器コントロールとデータ取り込みには、MassHunter GC/MS Acquisition ソフトウェア (バージョン B.07.00 SP2) を使用しました。データ解析には、MassHunter Workstation Qualitative Analysis ソフトウェア (Qual, バージョン B.07.00) を使用しました。特に、Qual の Find-by-Formula 部分に組み込まれた All Ions ワークフローにより、分析された農薬をさまざまな指標で GC/Q-TOF メソッドによって同定できるかどうかを判断しました。データ解析は、セントロイドスペクトルで実施しました。

## Q-TOF のチューニング

すべての分析で 4 GHz EI オートチューンを使用しました。イオン源と四重極の温度はそれぞれ 300 °C と 180 °C に設定しました。各サンプルを分析する直前にシーケンスのプログラムで自動的に質量校正を行いました。TOF の質量校正に約 90 秒かかりました。

## 結果と考察

これまで説明してきたデータ解析メソッドは定性分析に限定したものです。目的は残留農薬を定量することではなく同定することです。一部のターゲット化合物の検量線を作成できても、PCDL 内の 700 種類以上のすべての農薬について同様にできるとは限りません。このアプローチでは、GC/Q-TOF メソッドがスクリーニングに使用され、見つかった任意の農薬を GC/MS/MS のターゲット化合物に加えることとなります。

農薬は果実と野菜の抽出物に 10 ng/mL レベルでスパイクされました。なぜならこの濃度は、通常農薬と農作物の組み合わせに対してデフォルト MRL として設定されているからです。スクリーニング時、このレベルでの定量は必要ではありませんが、農薬が存在している可能性だけは示す必要があります。MRL のある農薬の場合 10 ng/mL を大幅に超えることも少なくありません。このため、サンプルは 100 ng/mL レベルでもスパイクされました。こうして 2 つの濃度について All Ions メソッドの性能を比べることができました。スパイクした QuEChERS 抽出物のクロマトグラムを図 3 に示します。QuEChERS 抽出は通常、GC/MS/MS による残留農薬分析のために十分なクリーンアップを提供します。しかしながら、マトリックスのレスポンスは通常、ターゲット農薬のレスポンスよりも何桁も大きくなり、マトリックス中の分析物を検出するには非常に高い選択性が必要です。GC と高分解能の精密質量 (HRAM) TOF 検出が、低レベルのスクリーニングに対応した十分な選択性を提供できるかを判断することが、この作業の 1 つの目的です。

## バックフラッシュ構成

図 3 に示すように、各抽出物は高い濃度の共溶出化合物を含んでいました。通常、GC カラムは、次の分析に備え確実に汚れをなくすために、分析が終わるたびに高温で焼き出すことが必要です [5]。しかし、手前のカラムは揮発性の低い化合物が残留し、分析終了時にパージ付きユニオンの圧力を上げ、注入口の圧力を下げることによってバックフラッシュすることができます (図 2)。5×15 メソッドでは、カラム 1 は 290 °C で 3~4 分間、-36.9 mL/min の流量でバックフラッシュしました。15×15 メソッドでは、カラム 1 は 310 °C で 5 分間、-11.5 mL/min の流量でバックフラッシュしました。これらのメソッドはサンプルとして非常に難しい黒胡椒の抽出物の分析にも使用されたため、これらのバックフラッシュ時間は通常よりも 1 分または 2 分長くなっています。

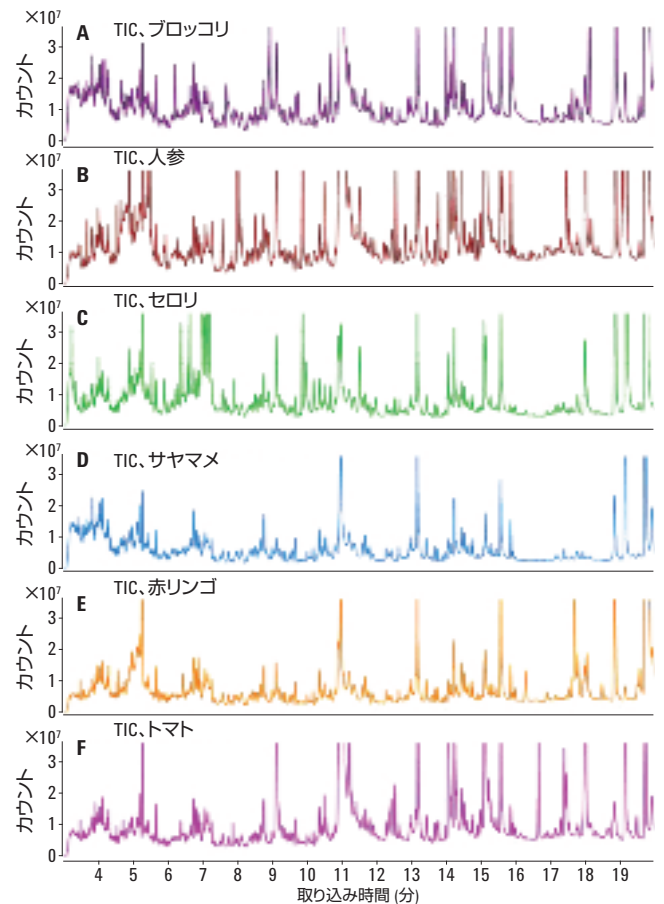


図 3. 表 3 に記載された農薬標準を 100 ng/mL 相当にスパイクした QuEChERS 抽出物のサンプルクロマトグラム A) ブロッコリ、B) 人參、C) セロリ、D) サヤマメ、E) 赤リンゴ、F) トマト。すべてのサンプルクロマトグラムは同じスケールで示され、それぞれの抽出物の複雑さを示しています。



## All Ions スクリーニングプロセス

図 4C のサヤマメ抽出物中のキノキシフェンの例のように、サンプルクロマトグラムは PCDL から選択された精密質量イオンにより既知の RT において抽出され、重ね表示されています。ソフトウェアにより 1 つの EIC がリファレンスイオンとして選択され、他に選択したイオンのピーク形状および RT がリファレンスイオンと一致するかどうか判断されます。ピーク全体での各スペクトルについて、各イオンのレスポンスをリファレンスイオンのレスポンスと比較します。理想的には、この比はピーク全体で維持されます。図 4D は、この比の正規化後の値をプロットしたものです。イオンピーク形状および RT が完全であれば、図 4D のプロットは 1 で水平な直線になるはずですが、

ターゲット化合物が測定可能な分子イオンを生じる場合、そのイ

オンの同位体パターンおよび赤い囲いで示される理論同位体分布パターンがプロットされます (図 4E)。図 4B に表示されるウィンドウは定性されたイオンを示しています (共溶出スコアはユーザー設定要件を超えています)。上のバーは化合物名、分子式、分子イオン  $M^+$  の  $m/z$ 、測定質量と理論質量との差、データベースと実際の RT との相対誤差 (単位 ppm) を示しています。図 4F の上段は抽出イオンと分子イオン同位体 (存在する場合)、下段は全イオンクロマトグラム (TIC) から抽出されたスペクトルを示しています。図 4A の表は同定された各化合物のすべての情報をまとめたものです。

TOF では常にフルスペクトルを取得するため、取得後しばらく経ってからデータに戻り再度解析することができます。データ取り込みは PCDL 内の化合物の数に依存しないため、理論的にはスクリーニングメソッドの対象範囲を無制限に広げることができます。

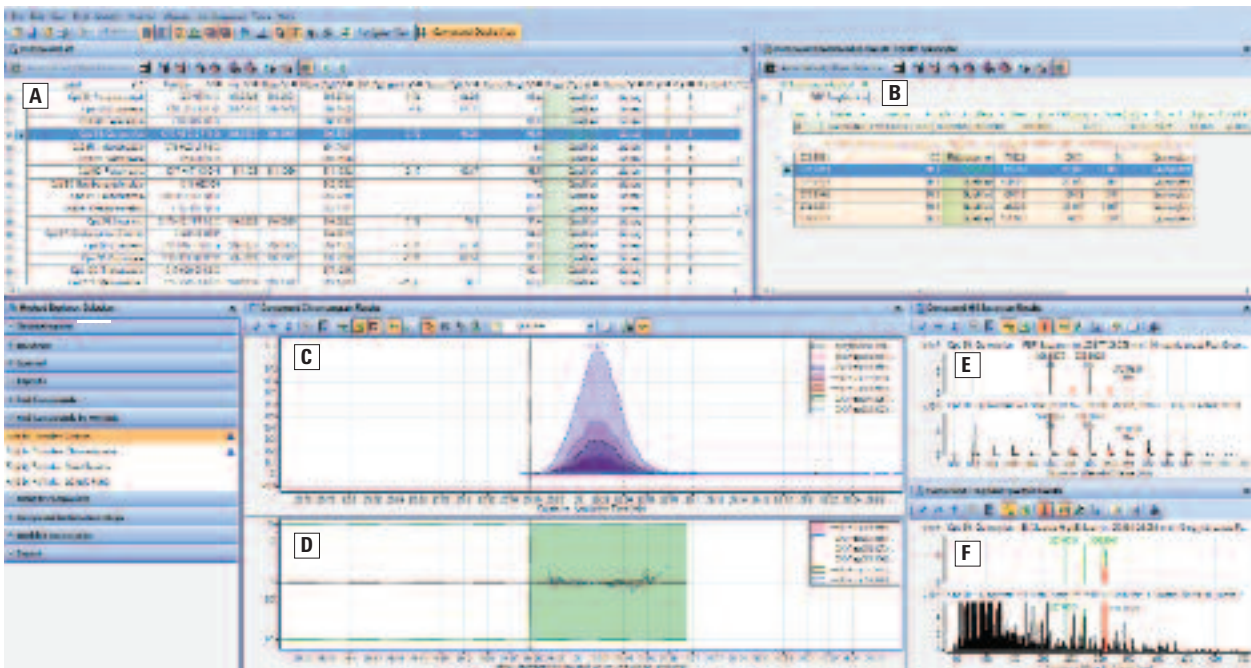


図 4. キノキシフェンがハイライトされたサヤマメ抽出物の農業分析結果。A) ヒットを示す化合物リスト、B) キノキシフェンについての化合物の同定結果、C) キノキシフェンから抽出された最も優位なイオンクロマトグラム、D) 共溶出プロット、E) 分子イオン同位体比のプロット、F) 抽出イオン (上) と分離ピーク全体で平均化されたスペクトル (下)。

図 5 は人參抽出物中のカルボキシンの 10 ng/mL で同定された例です。6 つの EIC は適切なピーク形状とリテンションの整合 (図 5A) を示し、図 5B に示されているように高い共溶出スコアによってサポートされています。さらに、分子イオンの測定された質量は、計算されたモノアイソトピック質量からちょうど 1.1 ppm 離れてい

ます。さらに、カルボキシンの測定された RT は、5x15 データベースの値からわずか 0.013 分 (0.78 秒) の差がありました。ライブラリスペクトラム (図 5C) にあるように、6 つの抽出イオンのうち 3 つはかなり弱いとはいえ確認することはできます。

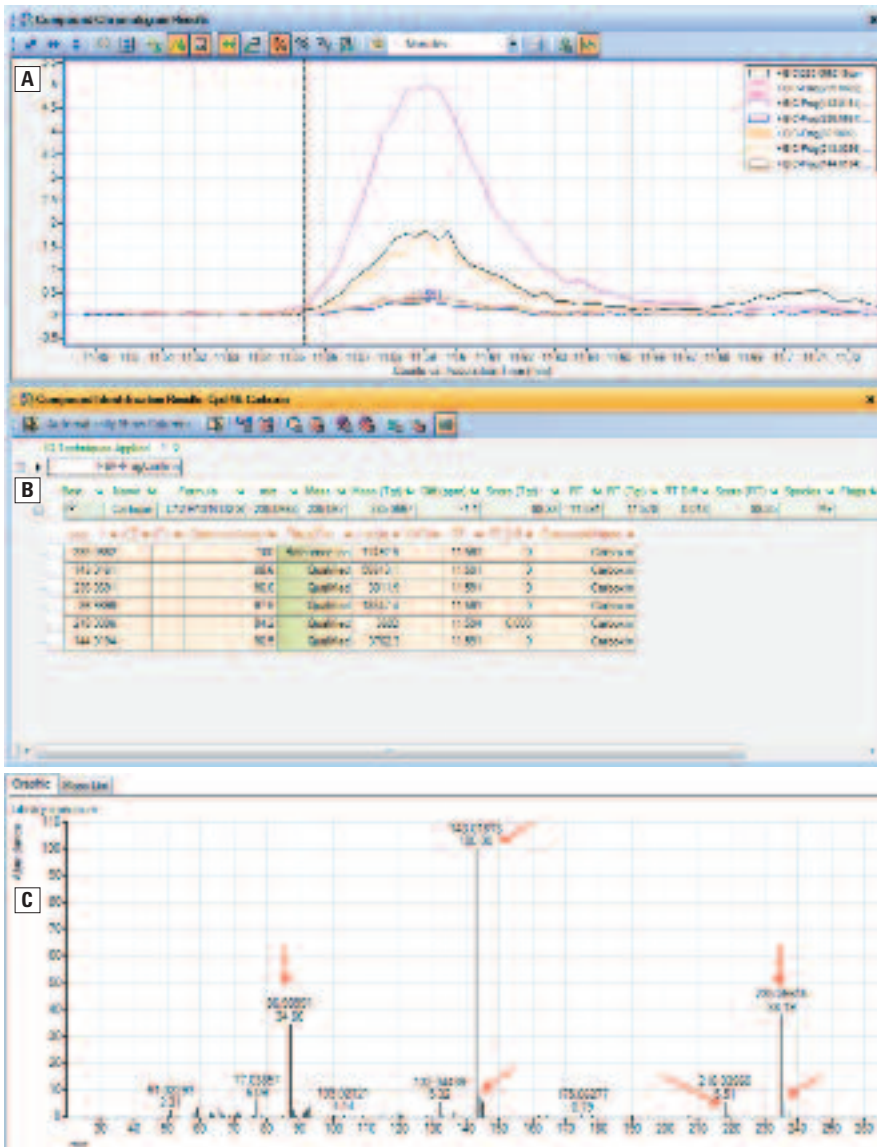


図 5. 人參抽出物中の 10 ppb 相当のカルボキシンの同定。A) カルボキシンの特徴を示すリファレンスイオンと 5 つの追加イオン分析を示す EIC。B) 6 つのイオンすべてが確認された化合物の同定結果。M<sup>+</sup> の質量精度と RT の精度が化合物名の右側に示されています。C) 同定に使用した 6 つのイオンを示すカルボキシンの PCDL スペクトル。

## スパイクした果実と野菜の測定結果

表3と表4ではそれぞれ5×15 20分メソッドと15×15 40分メソッドの2つの異なるGC/Q-TOFメソッドで得られた測定結果をまとめています。表3に示された農薬はすべて、5×15メソッド用のAgilent GC HRAM 農薬 PCDLに含まれています。この中で7つの農薬は現在15×15 PCDLには含まれておらず、表4には示されていません。全部で、93の農薬が5×15メソッドで、86の農薬が15×15メソッドでターゲット化されました。表3と表4のすべての農薬についてロックしたRTと精密質量スペクトルをAgilent GC/Q-TOF 農薬 PCDL (部品番号 G3892AA) で確認できます。

表3では各農薬に適した分析メソッドも示しています。示されたすべての農薬はLC/MS分析に対応しています。また、これらの農薬の中には、GC/MSによる分析が可能であっても、LC/MSでの分析の方が好ましいものもあります。ほとんどの化合物はGC/MSとLC/MSのどちらでも分析できます。

5×15メソッドを使用すると、平均で97.3% (10 ng/mLスパイク) および99.6% (100 ng/mLスパイク) の農薬を6つの抽出物の中で同定することができました。15×15メソッドは分析に2倍の時間がかかりますが(5×15メソッドで20分に対して40.5分)、より良好な分離を提供してより多くの農薬が同定される可能性がありました。しかし結果はほぼ同じで、10 ng/mLレベルでスパイクした場合、確認できた化合物は全体の97.1%、100 ng/mLでは99.8%でした。この結果を表3と表4にまとめました。

表3. 5×15 GC/Q-TOFメソッドと5×15 GC/Q-TOF 農薬 PCDLを使用して、10および100 ppbでスパイクした果実と野菜の抽出物中で同定された農薬 (次ページに続く)

確認された農薬の数(93の中から)とパーセンテージを表にまとめて示しています。

5×15メソッドで 分析した農薬	好ましい 分析メソッド	サヤマメ		トマト		人参		赤リンゴ		セロリ		ブロッコリ	
		10 ng/mL	100 ng/mL	10 ng/mL	100 ng/mL	10 ng/mL	100 ng/mL	10 ng/mL	100 ng/mL	10 ng/mL	100 ng/mL	10 ng/mL	100 ng/mL
1-ナフトール	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
アシベンゾラールS-メチル	L	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
アメトリン	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
アゾキシストロピン	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
ベナラキシル	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
ボスカリド	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
ブロムコナゾール	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
ピリメート	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
プロフェジン	GまたはL	X	X	X	X		X	X	X		X	X	X
カルボキシシン	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
カルフェントラノンエチル	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
クレトジム	L	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
シクルロン	L	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
シプロコナゾール	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X		X	X	X
シプロジニル	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
ジクロプロトラゾール	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
ジエトフェンカルブ	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
ジフェンコナゾール	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
ジメトアート	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		X
ジメトモルフ	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
ジニコナゾール	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

X = 同定された農薬

M = 同定された代謝物

G = GC/MS

L = LC/MS



表 3. 5x15 GC/Q-TOF メソッドと 5x15 GC/Q-TOF 農業 PCDL を使用して、10 および 100 ppb でスパイクした果実と野菜の抽出物中で同定された農薬  
(次ページに続く)

5x15 メソッドで 分析した農薬	好ましい 分析メソッド	サヤマメ		トマト		人参		赤リンゴ		セロリ		ブロッコリ	
		100		100		100		100		100		100	
		10 ng/mL	ng/mL	10 ng/mL	ng/mL	10 ng/mL	ng/mL	10 ng/mL	ng/mL	10 ng/mL	ng/mL	10 ng/mL	ng/mL
ジウロン	L	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
エポキシコナゾール	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
エタコナゾール	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
エトフメサート	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
エトキサゾール	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
ファモキサドン	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
フェンアミドン	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
フェナリモル	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
フェナザキン	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
フェンブコナゾール	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
フェンヘキサミド	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
フェノキシカルブ	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
フェンプロピモルフ	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
フィプロニル	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
フルジオクソニル	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
フルフェナセット	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
フルオキサストロピン	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
フルキンコナゾール	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
フルシラゾール	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
フルトリアホル	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
フララキシル	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
フラチオカルブ	L	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
ヘキサコナゾール	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
イマザリル	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
イブコナゾール	GまたはL		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
イソキサフルトール	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
クレソキシムメチル	GまたはL	X	X		X	X	X	X	X	X	X		X
ルフェヌロン	L	X	X	X	X	X	X	X	X	X		X	
メフェナセット	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X		X	X	X
メパニピリム	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
メプロニル	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
メタラキシル	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
メトコナゾール	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
メトプロトリン	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
メトプロムロン	GまたはL		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
メトリブジン	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
メキサカルベート	L	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

X = 同定された農薬  
M = 同定された代謝物  
G = GC/MS  
L = LC/MS

表 3. 5x15 GC/Q-TOF メソッドと 5x15 GC/Q-TOF 農業 PCDL を使用して、10 および 100 ppb でスパイクした果実と野菜の抽出物中で同定された農業 (次ページに続く)

5x15 メソッドで 分析した農業	好ましい 分析メソッド	サヤマメ		トマト		人参		赤リンゴ		セロリ		ブロッコリ	
		10 ng/mL	100 ng/mL	10 ng/mL	100 ng/mL	10 ng/mL	100 ng/mL	10 ng/mL	100 ng/mL	10 ng/mL	100 ng/mL	10 ng/mL	100 ng/mL
ミクロブタニル	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
ノバルロン	L	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
ヌアリモル	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
o-フェニルフェノール	GまたはL	X	X	X	X		X	X	X	X	X	X	X
オキサジキシル	GまたはL	X	X		X	X	X	X	X	X	X	X	X
バクロブトラゾール	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
ベンコナゾール	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
ピコキシストロピン	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
ピペロニルブトキシド	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
ピリミカルブ	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
ブロクロラズ	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
プロメトン	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
プロメトリン	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
プロパルギット	G	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		X
プロピコナゾール	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
ピラカルボリド	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
ピリダベン	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
ピリメタニル	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
ピリプロキシフェン	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
キノキシフェン	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
セクブメトン	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X		X	X	X
スピロジクロフェン	GまたはL	X	X		X	X	X	X	X	X	X	X	X
スピロメシフェン	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
スピロキサミン	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
スルフェントラゾン	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X		X	X	X
テブコナゾール	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
テブフェンピラド	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
テルブメトン	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
テルブトリン	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
テトラコナゾール	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
チアメトキサム	L	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
トリアジメホン	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
トリアジメノール	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
トリフロキシストロピン	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
トリチコナゾール	GまたはL	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
5x15 20分メソッドで確認された農業の数 (93の中から)		91	93	90	93	91	93	93	93	88	92	90	92
5x15 メソッドで確認されたパーセンテージ		97.8	100	96.7	100	97.8	100	100	100	94.6	98.9	96.7	98.9

X = 同定された農業  
M = 同定された代謝物  
G = GC/MS  
L = LC/MS

表 4. 15x15 GC/Q-TOF メソッドと 15x15 農薬 PCDL を使用して、10 および 100 ppb でスパイクした果実と野菜の抽出物中で  
 同定された農薬 (次ページに続く)

確認された農薬の数 (86 の中から) とパーセンテージを表の最後の行にまとめて示しています。

15x15 メソッドで 分析した農薬	サヤマメ		トマト		人参		赤リンゴ		セロリ		ブロッコリ	
	10 ng/mL	100 ng/mL	10 ng/mL	100 ng/mL	10 ng/mL	100 ng/mL	10 ng/mL	100 ng/mL	10 ng/mL	100 ng/mL	10 ng/mL	100 ng/mL
1-ナフトール	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
アシベンゾラール&メチル	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
アメトリン	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
アゾキシストロピン	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
ベナラキシル	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
ボスカリド	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
プロムコナゾール	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
ピリメート	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
プロフェジン	X	X		X		X		X	X	X	X	X
カルボキシシン	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
カルフェントラゾンエチル	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
シクルロン	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
シプロコナゾール	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
シプロジニル	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
ジクロプロトラゾール	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
ジエトフェンカルブ	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
ジフェンコナゾール		X	X	X	X	X	X		X	X	X	X
ジメトアート	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
ジメトモルフ	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
ジニコナゾール	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
ジウロン	M	M	M	M	M	M	M	M		M	M	M
エタコナゾール	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
エトフメサート	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
エトキサゾール	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
ファモキサドン	X	X	X	X	X	X	X	X		X	X	X
フェンアミドン	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
フェナリモル	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
フェナザキン	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
フェンヘキサミド	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
フェノキシカルブ	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
フェンプロビモルフ	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
フィプロニル	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
フルジオキシニル	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
フルフェナセット	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
フルキンコナゾール	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
フルシラゾール	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
フルトリアホル	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
フララキシル	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

X = 同定された農薬

M = 同定された代謝物

表 4. 15x15 GC/Q-TOF メソッドと 15x15 農薬 PCDL を使用して、10 および 100 ppb でスパイクした果実と野菜の抽出物中で同定された農薬 (次ページに続く)

15x15 メソッドで 分析した農薬	サヤマメ		トマト		人参		赤リンゴ		セロリ		ブロッコリ	
	10 ng/mL	100 ng/mL	10 ng/mL	100 ng/mL	10 ng/mL	100 ng/mL	10 ng/mL	100 ng/mL	10 ng/mL	100 ng/mL	10 ng/mL	100 ng/mL
フラチオカルブ	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
ヘキサコナゾール	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
イマザリル	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
イブコナゾール	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
イソプロカルブ	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
クレソキシムメチル	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
メフェナセット	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
メパニピリム	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
メプロニル	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
メタラキシル	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
メトコナゾール	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
メトプロトリン	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
メトフロムロン	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
メトリブジン	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
メキサカルベート	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
ミクロブタニル	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
ヌアリモル	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
o-フェニルフェノール	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
オキサジキシル	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
バクロプロトラゾール	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
ベンコナゾール	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
ピコキシストロピン	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
ピペロニルブトキシド	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
ピリミカルブ	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
プロクロラズ	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
プロメトン	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
プロメトリン	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
プロパルギット		X		X			X	X		X		X
プロピコナゾール	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
ピラカルボリド	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
ピリダベン	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
ピリメタニル	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
ピリプロキシフェン	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
キノキシフェン	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
セクブメトン	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
スピロジクロフェン	X	X		X	X	X	X	X	X	X		X
スピロメシフェン	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
スピロキサミン	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
スルフエントラゾン	X	X	X	X	X	X	X	X		X	X	X

X = 同定された農薬

M = 同定された代謝物

表 4. 40.5分 15x15 GC/Q-TOF メソッドと 15x15 農薬 PCDL を使用して、10 および 100 ppb でスパイクした果実と野菜の抽出物中で同定された農薬 (前のページから続く)

15x15 メソッドで分析した農薬	サヤマメ		トマト		人参		赤リンゴ		セロリ		ブロッコリ	
	10 ng/mL	100 ng/mL	10 ng/mL	100 ng/mL	10 ng/mL	100 ng/mL	10 ng/mL	100 ng/mL	10 ng/mL	100 ng/mL	10 ng/mL	100 ng/mL
テブコナゾール	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
テブフェンピラド	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
テルブメトン	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
テルブトリン	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
テトラコナゾール	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
トリアジメホン	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
トリアジメノール	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
トリプロキシストロピン	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
トリチコナゾール	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
15x15 40-分メソッドで確認された農薬の数 (86 の中から)	84	86	83	86	84	85	85	86	81	86	84	86
15x15 メソッドで確認されたパーセンテージ	97.7	100	96.5	100	97.7	98.8	98.8	100	94.2	100	97.7	100

X = 同定された農薬  
M = 同定された代謝物

スクリーニングのアプローチとして 70 eV で電子イオン化 (EI) を使用するのには複数の利点があります。EI はイオンの選択肢が豊富にあり、同定の信頼性を向上させることができます。TOF MS は再現性がありライブラリでの検索可能な標準 EI スペクトルを生成します。つまり、このデータでは、最初にクロマトグラムをデコンボリュートし、標準 MS ライブラリサーチを適用して成分を同定するアジレントの MassHunter 未知化合物分析ソフトウェアを使用して評価することもできます。実際、この精密質量農薬 PCDL はこの目的のためにも使用でき、NIST のような市販の入手可能な整数質量ライブラリも使用することができます。化合物が暫定的に同定されると、MassHunter Qual を使用してイオン組成式をスペクトル内の精密質量フラグメントに割り当てて、割り当てられた構造とこのスペクトルが一致するかどうかを確認できます。

## 質量精度

TOF の質量精度は、測定対象のイオンのアバダンスと質量校正の精度に特に依存します。信号が小さすぎて適切なイオン統計を得ることができない場合や、大きすぎて検出器の飽和に近づいてしまう場合、質量のシフトが生じることがあります。m/z 値を正確に測定するための Agilent 7200GC/Q-TOF の性能を解説するために、ブロッコリ抽出物 (100 ng/mL でスパイク) 中の農薬分子イオン (存在する場合) のシグナル/ノイズ (S/N) 比を測定しました。分子イオンが弱い (S/N < 10) 場合、測定した m/z 値と計算で求めたモノアイソトピック質量

の相対誤差の平均値は 5.69 ppm でした (表 5)。S/N が 10 と 100 の間にある場合、質量精度は 2 ppm よりも良くなり、S/N が 100 を超えると、質量精度は 1.25 ppm となりました。サンプルが分析される直前に TOF の自動質量校正がなされた場合には、こうした値を得ることができます。内部リファレンスマスを使用して分析中に連続的に質量校正を実行することもできますが、今回の実験では実施ませんでした。

表 5. 抽出されたイオンクロマトグラムの S/N 比と分子イオンの質量精度の関係 (分子イオンが出現する農薬)

農薬の数 (M <sup>++</sup> が範囲内にある場合)	S/N の範囲	平均質量誤差 (ppm) <sup>a</sup>
10	< 10	5.69
34	> 10 かつ < 100	1.92
27 <sup>b</sup>	> 100	1.25

<sup>a</sup> 質量誤差の絶対値の平均

<sup>b</sup> 飽和して異常値を示す 1 種類を除いた値

100 ng/mL 相当にスパイクし 5x15 メソッドを使用して分析したブロッコリ抽出物を用いました。



## 結論

Agilent 7200 GC/Q-TOF を使用して、93 の農薬を 10 ng/mL と 100 ng/mL の 2 つの異なるレベルでスパイクした 6 つの果物および野菜サンプルの QuEChERS 抽出物をスクリーニングしました。スクリーニング手順では、Agilent MassHunter Qualitative Analysis ソフトウェア (B.07.00)、All Ions ワークフロー、新しい Agilent GC/Q-TOF 農薬 PCDL を使用しました。20-分 GC 5×15 ミッドカラムバックフラッシュメソッドと、40-分 15×15 ミッドカラムバックフラッシュメソッドを比較し、分析時間が長いとより多く農薬が同定ができるかどうかを調べました。現実にはこの 2 つのメソッド間で、MassHunter All Ions アプローチによって同定した農薬の数に差はありませんでした。どちらのメソッドでも、10 ng/mL レベルでスパイクした農薬の 97 % 以上を、100 ng/mL レベルでスパイクした農薬の 99 % 以上を同定できました。分子イオンの S/N が 10 以上の場合、TOF の質量精度は 2 ppm 未満でした。TOF は常にフルスペクトルを取得しているため、過去に遡ってのデータ解析が可能です。

## 参考文献

1. "Indexes to Part 180 Tolerance Information for Pesticide Chemicals in Food and Feed Commodities," US EPA, <http://www.epa.gov/opp00001/regulating/part-180.html>.
2. "Maximum Residue Levels," European Commission, [http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/max\\_residue\\_levels/index\\_en.htm](http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/max_residue_levels/index_en.htm).
3. "Pesticide Maximum Residue Limit (MRL) legislation around the world," New Zealand Ministry of Primary Industries, <http://www.foodsafety.govt.nz/industry/sectors/plant-products/pesticide-mrl/worldwide.htm>.
4. "CODEX Pesticides Residues in Food Online Database," Codex Alimentarius, FAO/WHO Food Standards, <http://www.codexalimentarius.net/pestres/data/index.html>.
5. K. Mastovska, P. L. Wylie. "Evaluation of a New Column Backflushing Set-up in the Gas Chromatographic-Tandem Mass Spectrometric Analysis of Pesticide Residues in Dietary Supplements" J. Chromatogr. A, **1265** 155–164 (2012).
6. K. Mastovska. Rugged GC/MS/MS Pesticide Residue Analysis Fulfilling the USDA Pesticide Data Program (PDP) Requirements, Agilent Technologies, publication number 5991-1054EN.
7. Y. Chen, et al. "Multiresidue Pesticide Analysis of Dried Botanical Dietary Supplements Using an Automated Dispersive SPE Cleanup for QuEChERS and High-Performance Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry," J. Agric. Food Chem., **60** (40), 9991–9999 (2012).
8. K. Banerjee, et al. "Multiresidue determination of 375 organic contaminants including pesticides, polychlorinated biphenyls and polyaromatic hydrocarbons in fruits and vegetables by gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry with introduction of semi-quantification approach," J. Chromatogr., A, **1270**, 283–295 (2012).
9. G. Satpathya, Y. K. Tyagia, R. K. Gupta. "A novel optimised and validated method for analysis of multi-residues of pesticides in fruits and vegetables by microwave-assisted extraction (MAE)–dispersive solid-phase extraction (d-SPE)–retention time locked (RTL)–gas chromatography–mass spectrometry with Deconvolution reporting software (DRS)" Food Chemistry, **127**(3), 1300–1308 (2011).
10. M. Mezcua, et al. "Simultaneous Screening and Target Analytical Approach by Gas Chromatography-Quadrupole-Mass Spectrometry for Pesticide Residues in Fruits and Vegetables," J. AOAC Int., **92**(6), 1790–1806 (2009).
11. EN 15662: "Foods of plant origin - Determination of pesticide residues using GC-MS and/or LC-MS/MS following acetonitrile extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE - QuEChERS-method."

## 詳細

これらのデータは一般的な結果を示したものです。アジレントの製品とサービスの詳細については、アジレントのウェブサイト ([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。

本資料に記載の情報、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. 2015  
Printed in Japan  
April 10, 2015  
5991-5633JAJP



**Agilent Technologies**