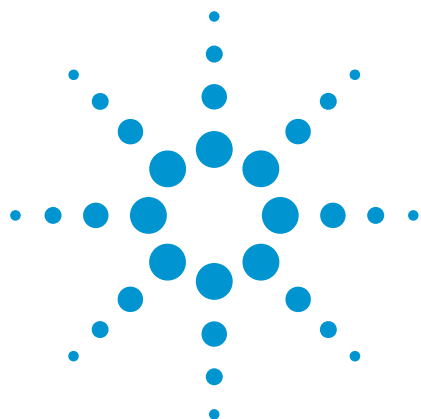




GC-ICP-QQQ によるリンおよび硫黄検出を使用した食品中の農薬の検出

アプリケーションノート

食品検査

著者

Jenny Nelson¹⁻³, Helene Hopfer^{1-2,4}, Fabio Silva³, Steve Wilbur³, Jianmin Chen³, Kumi Shiota Ozawa³ and Philip L. Wylie⁵

1 Department of Viticulture and Enology,
University of California-Davis, Davis CA, USA

2 Food Safety and Measurement Facility,
University of California-Davis, Davis CA, USA

3 Agilent Technologies, Inc., Santa Clara CA,
USA

4 HM Clause, Davis CA, USA

5 Agilent Technologies, Inc., Wilmington DE,
USA



はじめに

食品中の農薬残留物の測定は、乳児および小児にとって特に重要です。体重 1 キログラム当たりの食物摂取量が比較的高いためです。一部の農薬は、内分泌かく乱物質 (EDC) であることが知られているか、または疑われているため、天然のホルモンの働きに干渉する可能性があり、濃度が低くても、成長期の小児に深刻な影響を与えることが考えられます。少量の曝露であっても、長期間にわたって食物から摂取され続けた場合の影響が予測されるため、高速なサンプル前処理とハイフネーテッド分離および検出を組み合わせた高感度分析メソッドの開発に対する関心呼び起こしました。農薬残留物を扱うほとんどのラボは、QuEChERS (Quick (高速)、Easy (簡単)、Cheap (低価格)、Effective (効果的)、Rugged (高い耐久性)、Safe (安全)) 抽出メソッドをベースとしたメソッドを使用します。多くの場合、熱安定性が高く極性の低い農薬の場合は、ガスクロマトグラフィー/質量分析 (GC/MS/MS) を使用し、低揮発性または高極性あるいはその両方である農薬の場合は、液体クロマトグラフィーと質量分析 (LC-MS/MS) を使用して分析します。最近開発された別の手法では、GC をトリプル四重極 ICP-MS (GC-ICP-QQQ) と組み合わせます。この手法では、ほとんどの農薬に含まれるヘテロ原子 P および S (これに加えて Cl および Br) を測定することで、農薬を判別できます。



Agilent Technologies

GC-ICP-QQQ は、選択性と特異性が非常に優れており、既に定評のあるメソッドよりも高い感度を提供できます。この実験で説明するメソッドは、有機リン系化学兵器、臭素化難燃剤、ポリマー添加剤、および香料や香水中の微量硫黄化合物などの他の化合物にも適用できます。

実験方法

試薬

3 種の標準農薬混合液を、Ultra Scientific (米国ロードアイランド州キングスタウン) およびアジレント・テクノロジー (部品番号 5190-0468) から入手しました。標準溶液を、高純度グレードのアセトニトリルで希釈して、中間溶液を生成しました。次にその中間溶液を使用して、アセトニトリルでの連続希釈の後にキャリブレーション標準溶液を用意しました。

サンプルとサンプル前処理

離乳食の果物の裏ごし (ブラジルのサンパウロで購入) と 3 種の茶 (中国で購入) を含むいくつかの異なる食品マトリックスについて、農薬の含有量を検査しました。AOAC 2007.1 QuEChERS メソッドを適用し [1]、QuEChERS 抽出キット (部品番号 5982-5755) を使用して、すべての食品マトリックスを 3 回繰り返して均質化し、抽出しました。

最初のステップとして、約 15 ± 0.1 g の離乳食サンプルまたは 5 ± 0.1 g の茶を秤量して 50 mL の遠心管に入れ、15 mL のアセトニトリルを加えました。2 本のセラミックバーを加え、ボルテックスミキサーを使用して各サンプルを 1 分間均質化しました。6 g の MgSO_4 と 1.5 g の NaCl を含む Agilent Bond Elut QuEChERS 抽出無水塩を加えました。混合物を、1 分間攪拌してから、5 分間 2600 g で遠心分離しました。

次に、8 mL の上澄みのアセトニトリル層を、1 級-2 級アミン (PSA) と MgSO_4 が入っている、分散 SPE を使用する Agilent Bond Elut QuEChERS General Fruits and Vegetables の 15 mL 遠心管 (部品番号 5982-5058) に移しました。遠心管を 1 分間ボルテックスミキサーで攪拌し、5 分間 2600 g で遠心分離しました。その結果生じた上澄み層を、分析のために茶色ガラス製バイアル (部品番号 5183-4496) に移しました。

使用機器と測定条件

Agilent GC-ICP-MS インタフェース (G3158D) を使用して、Agilent 7890B GC と Agilent 8800 ICP-QQQ を接続しました。アジレントの 2 つのカラムを直列で使用しました。1 つ目のカラムは、長さ 20 m、内径 0.18 mm、膜厚 0.18 μm の DB-35ms ウルトライナート (UI) キャピラリカラム (部品番号 121-3822UI) から長さ 5 m を切り取ったものです (5 m のカラムは、部品番号 G3903-61005 として提供されています)。このカラムを、注入口とパージ付きユニオンの一方の端の間に設置し、分析が終了する少し前にバックフラッシュして、沸点の高い混入物質が 2 番目のカラムに入らないようにしました。2 番目のカラムは、長さ 15 m、内径 0.25 mm、膜厚 0.25 μm の DB-5MS UI キャピラリカラム (部品番号 19091S-431UI) です。これを、パージ付きユニオンのもう一方の端と、GC オープン内の ICP-MS トランスファーライン接続の間に設置しました。1 μL の量のサンプル注入を、280 $^{\circ}\text{C}$ を保った注入口を使用してスプリットレス条件下で実行しました。予備加熱したメークアップガスを使用して、GC カラムからの溶出物を効率的にプラズマへ流しました。GC の操作パラメータについては、以前の研究で詳述しています [2]。

リンおよび硫黄の第一イオン化ポテンシャルは高いため、ICP-MS のプラズマでのリンおよび硫黄のイオン化率は低く、感度が比較的低くなります。また、リンおよび硫黄はスペクトル干渉を強く受けるため、従来の四重極 ICP-MS (ICP-QMS) では測定が困難です。ただし、MS/MS リアクションセルモードで動作する ICP-QQQ を適用すると、このスペクトル干渉の問題を解決できます。スペクトル干渉を排除することで、従来の ICP-QMS を使用した場合より格段に低濃度の P および S を定量することができます。この研究では、 O_2 をセルガスとする MS/MS マスシフトモードを使用して、P を m/z 47 の反応プロダクトイオン $^{31}\text{PO}^+$ として測定し、S を m/z 48 の反応プロダクトイオン $^{32}\text{SO}^+$ として測定しました。

ICP-QQQ を調整するため、GC 注入口と補助エレクトロニックニューマティクスコントロール (Aux EPC) モジュールを提供するヘリウムキャリアガスを、100 ppm の H_2S を含むアルゴンに置き換えました。酸素セルガス流量とセルの設定は、 H_2S を添加したアルゴンからの $^{32}\text{S}^+$ シグナル向けに最適化しました。純粋なヘリウムに切り替えた後に高い残留硫黄バックグラウンドが観測されました。このことは、さらに日常的に使用するためには別の位置でチューニングガスを ICP-QQQ に導入する必要があることを示します。ICP-QQQ 使用条件を表 1 に示します。

表 1. Agilent 8800 ICP-QQQ の使用条件

	P および S の測定
サンプリング深さ (mm)	3
メイクアップガス流量 (L/min)	0.6
OctP バイアス (V)	-0.5
運動エネルギー弁別 (V)	-13
セルガス	O ₂
セルガス流量	最大測定限界の 20 %
モニターされた質量	Q1 » Q2 31 » 47, 32 » 48

結果と考察

GC-ICP-QQQ メソッドの直線性を確認するため、P (約 0.01 ~ 16 µg/L) および S (約 0.8 ~ 33 µg/L) の検量線を、それぞれ 10 種および 6 種のキャリブレーション標準と、ブランクを使用して生成しました。濃度は、農薬中のこれらの元素の測定に必要な範囲を表します。キャリブレーションのルーチン操作は、化合物ごとに 3 つまたは 4 つのキャリブレーションレベルに簡略化することができます。表 2 に示すように、すべての化合物で、両方の元素について 0.997 を越える相関係数 (R) を達成しました。これは、キャリブレーション範囲での優れた直線性を示しています。P および S の典型的な検量線を図 1 に示します。

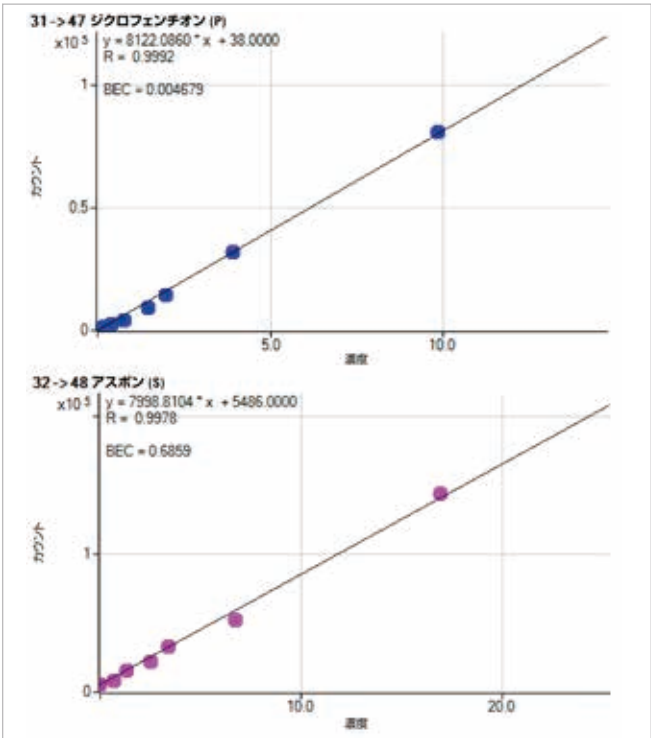


図 1. 上のグラフ: P (P0⁺として測定) の反応に基づくジクロフェンチオンの検量線下のグラフ: S (S0⁺として測定) の反応に基づくアスボンの検量線

表 2. P0⁺ および S0⁺ の測定に基づいた化合物としての 18 種の農薬のキャリブレーション範囲と相関係数 (R)

化合物	リテンションタイム ± 0.3 (分)	P		S	
		化合物としての キャリブレーション範囲 (µg/L)	相関係数 (R)	化合物としての キャリブレーション範囲 (µg/L)	相関係数 (R)
トリクロルホン	4.103	0.02~12	0.999		
チオナジン	5.926	0.02~12	0.999	1~12	0.996
テルブホス	7.071	0.02~11	0.999	1.3~33	0.997
ホノホス	7.185	0.02~13	0.999	2~26	0.997
ホスファミドン	7.299	0.02~21	0.998		
ジクロフェンチオン	7.858	0.01~10	0.999	0.8~10	0.999
クロルピリフォスメチル	7.973	0.01~10	0.997	0.8~10	0.995
フェントロチオン	8.44	0.02~11	0.999	2~11	0.999
アスボン	8.705	0.02~16	0.999	0.7~16	0.998
クロルフェンビンホス	9.486	0.01~9	0.996		
クロトキシホス	9.541	0.01~10	0.999		
カルボフェノチオン	11.158	0.08~9	0.999	1.1~28	0.997
エチオン	11.527	0.02~15	0.999		
ファムファー	12.547	0.01~10	0.998	4~20	0.991
ホスメット	12.851	0.14~10	0.996		
レプトホス	13.263	0.01~8	0.999	1~8	0.999
アジンホスエチル	13.827	0.01~9	0.999	3~19	0.996
ジオキサチオン	14.587	0.02~14	0.998		

現在の GC/MS/MS を使用した農薬の検出限界 (DL) は、通常、農薬および使用された機器に応じて、約 0.1 µg/L から 10 µg/L まで幅があります [3、4]。表 3 のデータは、有機リン系農薬を測定する場合に GC-ICP-QQQ が提供する DL が、GC/MS/MS と類似しているか、またはわずかに低いことを示しています。S を含む農薬の場合、検出限界は、GC/MS/MS が達成した検出限界と類似しているか、またはわずかに高くなっています。表 3 に示された農薬の大部分は、P の含有量によって検出でき、ほとんどの食品安全性のラボで要求される 10 µg/L の定量下限 (LOQ) をはるかに下回るレベルで定量できます。

図 2 には、混合農薬標準中の P および S のクロマトグラムの重ね表示を示します。複数のヘテロ元素を含む農薬は、容易に同定できます。実際の食品サンプルで農薬の含有量を測定しました。4 種の食品と 200 µg/L の混合農薬標準中の P シグナルのクロマトグラムを、図 3 に示します。検査対象のすべての食品サンプルで、微量の有機リン系農薬が検出されています。

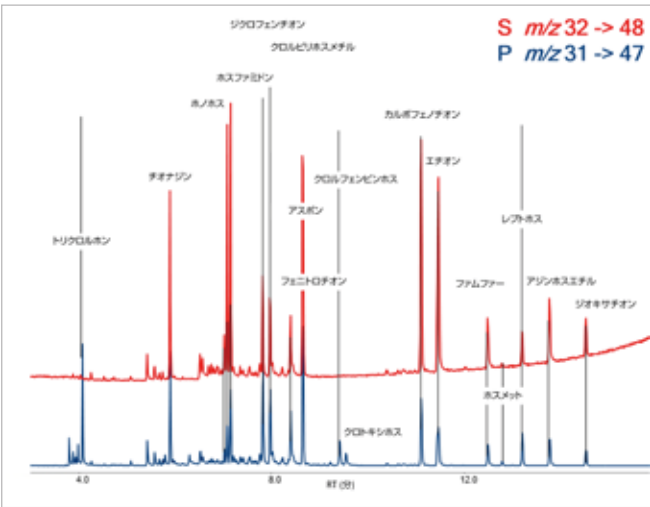


図 2. 農薬化合物が同定された、混合農薬標準中の P および S の微量ヘテロ原子を示すクロマトグラム。
『Journal of Agricultural and Food Chemistry』、2015、63、4478–4483 から許可を得て転載。Copyright 2015 American Chemical Society.

表 3. 化合物およびヘテロ原子元素としての農薬の検出限界。検出下限 (LOD) は、シグナル/ノイズ (S/N) の 3 倍としました。

農薬	RT ± 0.3 (分)	P		S	
		化合物 DL (µg/L)	元素 DL (µg/L)	化合物 DL (µg/L)	元素 DL (µg/L)
トリクロルホン	4.103	0.178	0.021		
チオナジン	5.926	0.221	0.028	11.93	1.580
テルブホス	7.071	0.718	0.077	9.708	3.231
ホノホス	7.185	0.455	0.057	7.917	2.057
ホスファミドン	7.299	0.923	0.095		
ジクロフェンチオン	7.858	0.362	0.036	15.80	1.604
クロルピリフォスメチル	7.973	0.613	0.059	24.18	2.399
フェニトロチオン	8.440	0.907	0.101	19.52	2.253
アスボン	8.705	0.200	0.033	9.912	1.676
クロルフェンビンホス	9.486	2.020	0.174		
クロトキシホス	9.541	3.338	0.329		
カルボフェノチオン	11.158	0.583	0.053	9.585	2.684
エチオン	11.527	0.707	0.114	11.51	3.832
ファムファア	12.547	2.206	0.210	20.61	4.054
ホスメット	12.851	3.829	0.374		
レフトホス	13.263	1.125	0.085	18.35	1.425
アジンホスエチル	13.827	1.812	0.163	21.33	3.952
ジオキサチオン	14.587	1.392	0.189	7.840	2.198

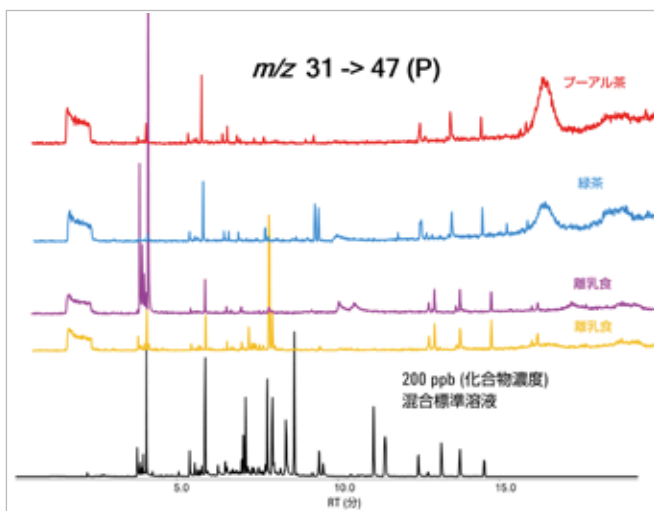


図 3. 4 種の食品サンプルと 200 µg/L の混合農薬標準中で測定された P シグナルを示すクロマトグラム例。

『Journal of Agricultural and Food Chemistry』、2015、63、4478–4483 から許可を得て転載。Copyright 2015 American Chemical Society.

結論

GC-ICP-QQQ メソッドは、ヘテロ原子の測定による有機リン系農薬および有機硫黄系農薬を、選択的かつ高感度で検出するために適しています。Agilent 8800 ICP-QQQ のバックグラウンドが大幅に低いいため、GC-ICP-QQQ は、GC/MS/MS と比較して、有機リン系農薬の測定の際に優れた感度性能を提供します。調査したすべての実際の食品サンプルで、微量の農薬が測定されました。

詳細情報

このアプリケーションノートの詳細な説明については、Jenny Nelson、Helene Hopfer、Fabio Silva、Steve Wilbur、Jianmin Chen、Kumi Shiota Ozawa、および Philip L. Wylie による『Journal of Agricultural and Food Chemistry』の「Evaluation of GC-ICP-MS/MS as a New Strategy for Specific Heteroatom Detection of Phosphorus, Sulfur, and Chlorine Determination in Foods」(2015、DOI: 10.1021/jf506372e) を参照してください。

参考文献

1. S. J. Lehotay et al., Determination of pesticide residues in foods by acetonitrile extraction and partitioning with magnesium sulfate: collaborative study, J AOAC Int. 2007 Mar-Apr; 90 (2):485-520.
2. P. L. Wylie, C. Meng, 「Agilent トリプル四重極 GC/MS による農薬 175 種の微量分析メソッド」、2009、アジレント資料番号 5990-3578JAJP
3. M. Churley, Agilent Technologies.Appl.Note 5991-4131EN 2014, 1–10.
4. G. E. Mercer, B. Neuhaus, J. Jones, M. Wong, FDA/ORL/DFS Lab.Inf. Bull.1-32.

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、製品仕様など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

Published October 30 2015

5991-6260.JAJP



Agilent Technologies