

## 紅茶および蜂蜜中の農薬に関する欧州連合の 最大許容残留量規制への適合

### 著者

Jessica Westland  
Agilent Technologies, Inc.

### 概要

農薬の使用拡大に伴い、残留農薬に対する環境問題専門家、規制機関、および消費者の懸念が高まっています。需要の高まりにより、農薬使用が増え、不適切な農業手法が広がったことで、食品供給と環境におけるリスクが高まっています。世界中の規制機関が、食品に含まれる農薬の最大許容残留量 (MRL) に関する規制を確立しました。米国では、マトリックスおよび規制対象の農薬に応じて MRL を 0.02 ~ 100 ppm に規定していますが、欧州委員会では MRL 下限値を 0.01 ppm としています<sup>1</sup>。農薬の分析は複雑であるため、要求される定量下限と MRL 範囲を得るには、妥当な直線範囲と低い検出下限を実現可能な多成分残留農薬用の定量メソッドが必要です。この理由から、低濃度の農薬のスクリーニング、確認、および定量には、タンデム質量分析計 (MS/MS) が有効です。この機器は定量下限が低いだけでなく、高い選択性によってマトリックス干渉を最小限に抑制できるという特長があります<sup>2</sup>。このアプリケーションノートでは、Agilent Intuvo 9000 ガスクロマトグラフ (GC) および Agilent 7000C トリプル四重極ガスクロマトグラフィー / 質量分析 (GC/MS) システムによるルーズリーフ紅茶と有機蜂蜜の多成分残留農薬の分析を評価します。ターゲット農薬の検量線は、5 ~ 500 ppb の濃度範囲で優れた直線性を示しています (97 % の化合物で 0.990 以上の  $R^2$  を維持)。蜂蜜中のすべての分析化合物で、定量下限 (LOQ) が 7 ppb 未満、MRL が 10 ~ 50 ppb でした。紅茶中の 94 % の分析化合物で、LOQ が 100 ppb 未満、MRL が 20 ~ 200 ppb でした。すべての分析対象農薬で、繰り返し測定の %RSD が 30 % 以下、回収率の誤差が 30 % 未満でした。

## はじめに

Intuvo 9000 GC は、使いやすいガスクロマトグラフィープラットフォームとして登場しました。Intuvo はモジュラ型流路とガードチップにより、下流のコンポーネントが汚染されない設計となっています。またカラムのトリミングも不要です。このため、多くのラボでメンテナンスを大幅に簡素化し、分析あたりのコストを削減できます。ただし、これは現在ラボが直面している課題の一部にすぎません。機器の構成やメソッド開発での課題もあります。世界中の食品分析ラボの現在および将来のニーズに応えるには、食品中の農薬に最適な構成でデフォルトスクリーニングメソッドを提供する包括的なワークフローが必要です。

アジレントの Intuvo GC/TQ 用農薬ワークフローキット (G9233AA) は、Intuvo-GC/TQ システムで多成分残留農薬分析を新たに作成または変更するための包括的なツールです。この分析では、このキットを使用します。

## 実験方法

### サンプル前処理

クロマトグラム上のマトリックス干渉は、マルチリアクションモニタリング (MRM) を使用することで低減できます。ただし、サンプルからマトリックスが除去されるわけではないため、マトリックスの注入によって信号の損失やピークテーリングが生じる可能性があります<sup>3</sup>。このため、食品中の農薬残留物の分析には、一定のサンプル前処理が必要になります。少なくとも、サンプルをホモジナイズし、クロマトグラフィーに適した溶媒に抽出しなければなりません。農薬の抽出にはアセトニトリルへの抽出と硫酸マグネシウムによる塩析を同時に行える、QuEChERS (キャッチャーズ: Quick (高速)、Easy (簡単)、Cheap (低価格)、Effective (効果的)、Rugged (高い耐久性)、Safe (安全) の略) 抽出法が広く使用されています。さらに、分散固相抽出 (dSPE) によるクリーンアップが行われる場合もあります<sup>4</sup>。

有機蜂蜜とルズリーフ紅茶をそれぞれ所定の QuEChERS 手法で抽出しました。ここでは、マトリックスクリーンアップにさまざまな dSPE 手法を使用しました (図 1)。

### 装置構成

Intuvo 9000 GC に Agilent 7693B オートサンプラおよび 7000C トリプル四重極 GC/MS を接続したシステムをすべての分析に使用しました (図 2)。Intuvo 9000 の不活性流路は、ミッドカラムバックフラッシュ (p/n G4588-60721) と 2 個の Agilent J&W HP-5ms ウルトライナート Intuvo GC カラム (15 m × 0.25 mm、0.25 μm、p/n 19091S-431UI-INT) で構成しました。

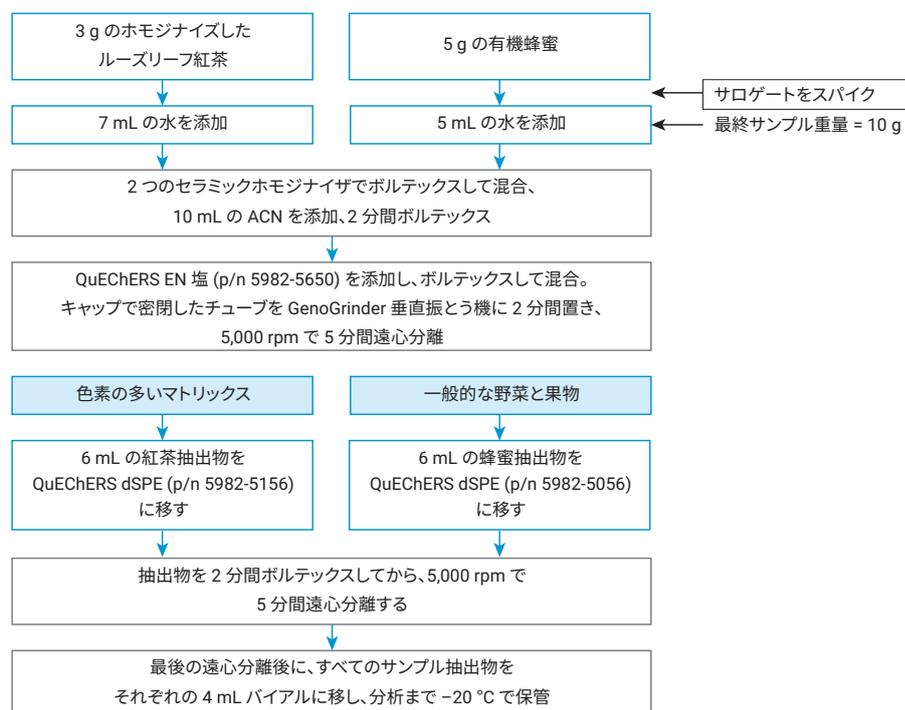


図 1. QuEChERS サンプル前処理メソッド

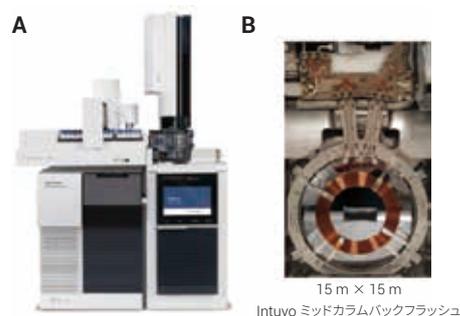


図 2. A) Intuvo 9000 GC と 7693B オートサンプラ および 7000C トリプル四重極 GC/MS、および B) 多成分残留農薬ワークフロー用の Intuvo カラム構成

表 1 は、GC/MS/MS メソッドパラメータを示しています。また Intuvo は、4 mm の Agilent ウルトライナートスプリットレスシングルテーパガラスウール入りライナ (p/n 5190-2293) およびマルチモード注入口 (MMI) ガードチップ (p/n G4587-60665) 付の MMI で構成しました。

表 1. GC/MS/MS メソッドパラメータ

パラメータ	設定値
<b>Intuvo 9000 GC</b>	
不活性流路構成	ミッドカラムバックフラッシュ
シリンジ	10 µL (p/n G4513-80220)、PTFE チップブランジャ
溶媒洗浄	注入前
	溶媒 A × 3、アセトニトリル (3 µL)
	溶媒 B × 3、アセトニトリル (3 µL)
	注入後
	溶媒 A × 3、アセトニトリル (3 µL)
	溶媒 B × 3、アセトニトリル (3 µL)
サンプル洗浄	0
サンプルポンプ	1
サンドイッチ注入	3 層逆転スイッチ (L3、L1、L2)
	L1 (標準液またはサンプル) 0.5 µL
	L2 (ISTD) 0.5 µL
	L3 (マトリックス) 0.5 µL
キャリアガス流量	He
注入口	MMI
注入モード	パルスドスプリットレス
スプリットベントへのパージ流量	1 分で 30 mL/min
セプタムパージ流量	3 mL/min
ガスセーバ	20 mL/min (2 分後)
Intuvo ガードチップ	トラックオープン
カラム	Intuvo HP5-MS UI (p/n 19091S-431UHNT)
カラム 1 流量	1.2 mL/min
カラム 2 流量	1.4 mL/min
オープン温度プログラム	60 °C (1 分間保持)、 その後 40 °C/min で 170 °C まで昇温、 その後 10 °C/min で 310 °C まで昇温 (3 分間保持)
<b>ミッドカラムバックフラッシュ</b>	
タイミング	ポストラン中の 5 分間
オープン温度	310 °C
AUX EPC 圧力	~ 30 psi
注入口圧力	~ 2 psi
<b>7000C トリプル四重極 GC/MS/MS</b>	
チューニングファイル	atunes.eiex.tune
トランスファーライン	280 °C
イオン源温度	280 °C
四重極温度	150 °C
コリジョンセルガス流量	1.5 mL/min N <sub>2</sub> および 2.25 mL/min He
スキャンタイプ	dMRM
イオン化エネルギー	70 eV
EM ゲイン	10
MS1 および MS2 分離能	ワイド
定量/定性トランジション	P&EP Intuvo MRM データベース
右側と左側の RT デルタ	0.2 分
ドウェルタイム	dMRM で最適化
最小ドウェルタイム (ms)	10
サイクル/秒	3.07

## 結果と考察

Intuvo 9000 GC および 7000C トリプル四重極 GC/MS システムでは、EU MRL 要件を満たしながら、ルーズリーフ紅茶と有機蜂蜜の抽出物に含まれる低 ppb レベルの残留農薬を確認および定量できます。表 2 と表 3 は、選択したターゲット化合物のデータです。

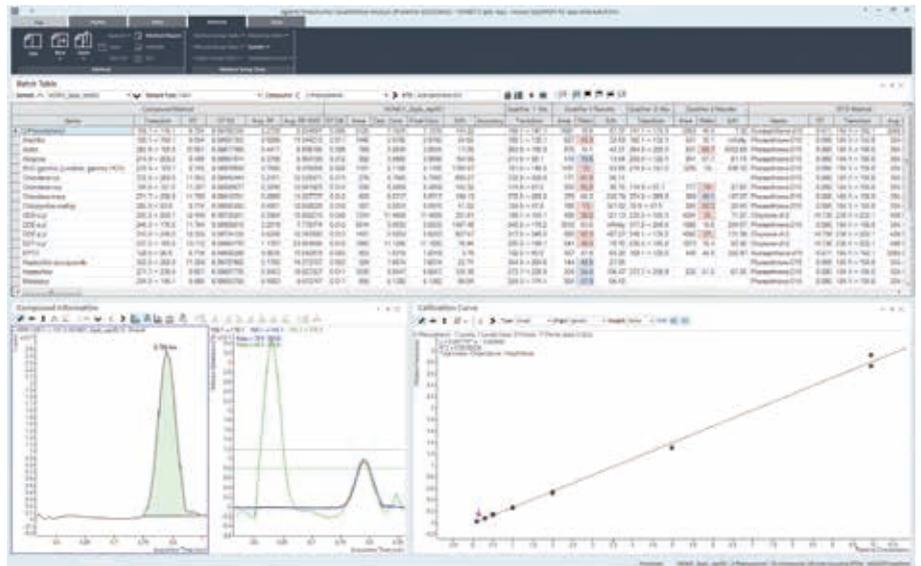


図 3. Intuvo/TQ の農薬ワークフローキットで表示される Quant-My-Way Flavor Pistachio のディスプレイ (p/n G9223AA)

表 2. ルーズリーフ紅茶のデータ結果

化合物	紅茶の結果		
	EU MRL (ppb)	MDL (ppb)	iLOQ (ppb)
アルドリン	20	6.15	16.42
アトラジン	100	0.09	0.30
アラクロール	50	3.39	12.46
2-フェニルフェノール	100	5.63	19.96
クロルデン	20	12.03	9.77
クロルピリホスメチル	100	0.17	0.45
DDT	200	151.34	150.81
ヘプタクロル	20	0.16	0.34
メタラキシル	50	1.93	7.10
メトラクロール	50	0.04	0.12
ミクロプタニル	50	5.85	21.53
EPTC	50	1.17	3.74
プロピザミド	50	0.40	1.20
プロバクロール	100	0.36	1.20
シマジン	50	0.10	0.30
ペルメトリン	100	4.49	13.24
トリアジメホン	50	3.80	13.97

表 3. 有機蜂蜜のデータ結果

化合物	蜂蜜の結果		
	EU MRL (ppb)	MDL (ppb)	iLOQ (ppb)
アルドリン	10	0.39	1.43
アトラジン	50	0.21	0.77
アラクロール	10	0.89	3.28
2-フェニルフェノール	50	0.16	0.60
クロルデン	10	0.64	0.30
クロルピリホスメチル	N/A	0.34	1.24
DDT	50	2.94	2.53
ヘプタクロル	10	0.45	1.65
メタラキシル	50	0.43	1.59
メトラクロール	50	1.31	4.80
ミクロプタニル	50	0.35	1.27
EPTC	20	0.04	0.15
プロピザミド	50	1.37	5.03
プロバクロール	20	0.02	0.09
シマジン	10	0.29	1.06
ペルメトリン	N/A	0.21	2.92
トリアジメホン	50	0.42	1.54

## 結論

Intuvo/TQ 用農薬ワークフローキット (p/n G9233AA) は、Intuvo GC/TQ システムで多成分残留農薬分析を新たに作成または変更するための包括的なツールです。この分析ではこのキットを使用して、EU MRL に適合する多成分残留農薬分析を行いました。5 ~ 500 ppb の濃度範囲では、ルーズリーフ紅茶と有機蜂蜜の両方で、分析対象の農薬の検量線が優れた直線性を示しました (97 % の化合物で 0.990 以上の  $R^2$  を維持)。蜂蜜中のすべての分析化合物で、LOQ が 7 ppb 未満でした。紅茶中の 94 % の分析化合物で、LOQ が 100 ppb 未満でした。すべての分析対象農薬で、繰り返し測定の %RSD が 30 % 以下、回収率の誤差が 30 % 未満でした。Intuvo 9000 GC および 7000C トリプル四重極 GC/MS システムでは、EU MRL 要件を満たしながら、複雑な抽出物に含まれる低 ppb レベルの残留農薬を確認および定量することができます。

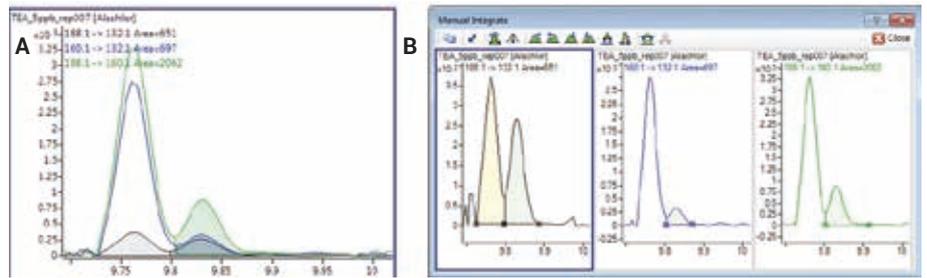


図 4. 5 ppb で紅茶に含まれるアラクロール: A) MRM トランジションの重ね表示、および B) 各トランジションの個別表示

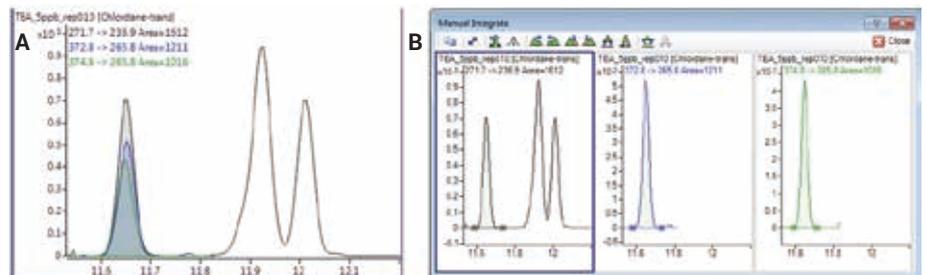


図 5. 5 ppb で紅茶に含まれる *trans*-クロロゲン: A) MRM トランジションの重ね表示、および B) 各トランジションの個別表示

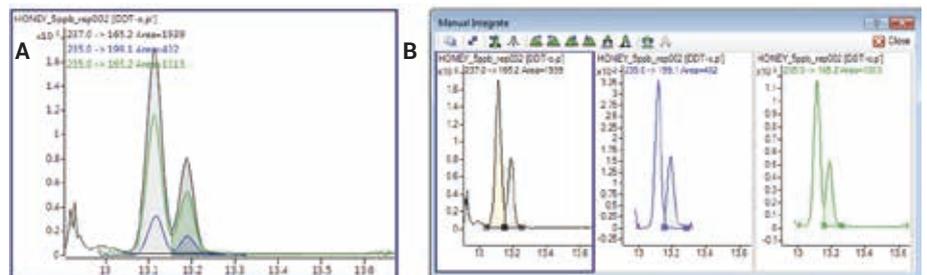


図 6. 5 ppb で蜂蜜に含まれる DDT-o,p': A) MRM トランジションの重ね表示、および B) 各トランジションの個別表示

## 参考文献

1. Maximum Residue Limits Database. (2016, July 7). Retrieved from United States Department of Agriculture Foreign Agriculture Service: <https://www.fas.usda.gov/maximum-residue-limits-mrl-database>.
2. Churley, M. Lowering Detection Limits for Routine Analysis of Pesticides Residues in Foods Using the Agilent 7000C Triple Quadrupole GC/MS, *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5991-4131EN, **2015**.
3. Veeneman, R. Multiresidue Pesticide Analysis with the Agilent Intuvo 9000 GC and Agilent 7000 Series Mass Spectrometer, *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5991-7216EN, **2016**.
4. Churley, M. Reduce Cost of Pesticide Residue Analysis, *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5991-6069EN, **2015**.

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ー

**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。

アジレント・テクノロジー株式会社  
© Agilent Technologies, Inc. 2018  
Printed in Japan, May 29, 2018  
5991-9238JAJP