

# イチゴ中の US EPA 許容レベルの 農薬の定量分析

Agilent 8890/7000D および 8890/7010B トリプル四重極  
GC/MS システムによる測定

## 著者

Anastasia A. Andrianova,  
Jessica L. Westland, and  
Bruce D. Quimby  
Agilent Technologies, Inc.

## 概要

US EPA が 10 ～ 25,000 ppb の許容値を規定した、イチゴ中の農薬濃度の測定に対する適合性を試験するために、Agilent 8890 ガスクロマトグラフを Agilent 7000D および 7010B トリプル四重極質量分析装置と組み合わせて使用しました。パルスドスプリットレス注入およびミッドカラムバックフラッシュの最適化を簡単にするための機器構成を選択し、農薬および環境汚染 MRM データベースに対してリテンションタイムロッキング（RTL）を使用しました。イチゴのサンプルは地域の食料品店で購入して、ワークフローを評価しました。入手元の異なる 12 のイチゴで定量された農薬のターゲットリストは、Agilent 5977 シリーズ GC/MSD および Agilent 7250 GC/Q-TOF システムによるサンプルのスクリーニング結果に基づいて決定しました。

## はじめに

食品中や環境中の微量濃度の汚染物質に対する懸念から、化学残留物の同定および定量のためのより迅速で信頼性の高いメソッドへの要求が高まっています。イチゴ類は品質の良い水や土壌、病気、害虫の影響を受けやすいために、販売用の栽培が困難であることが知られています。このアプリケーションノートは、無作為に選んだ産地の市販のイチゴサンプルに残留した農薬の GC による定量分析に焦点を当てています。報告されたターゲットリストは、8890 と 5977 GC/MSD との組み合わせまたは 8890 と 7250 GC/Q-TOF システムとの組み合わせを用いた初期スクリーニングに基づいています。

US EPA が規定したイチゴ中の残留農薬の最大濃度の許容値は広い濃度範囲にわたっています。<sup>1,2</sup> このため、農薬の定量では、許容レベルでの高い精度の維持とともに、広いキャリブレーション範囲が必要とされます。

食品中の農薬の分析では、干渉の原因となり得るマトリックスに関連した問題に直面します。さらに、分析対象物の後に高沸点のマトリックスが溶出する場合、後の分析でのキャリーオーバーやゴーストピークを回避するために焼き出し時間の延長が必要となることがあります。最も沸点の高い汚染物質がカラムヘッドに堆積すると、頻繁なカラムトリミングや、リテンションタイムのシフトによる MRM およびデータ分析時間ウィンドウの調整が必要になります。QuEChERS サンプル前処理法を行い、ミッドカラムバックフラッシュおよび RTL を使用することで、広い濃度範囲全体で農薬の定量を簡単に分析することができます。

## 実験方法

ターゲット MRM メソッドの簡単かつ短時間でのセットアップを促進し、QuEChERS 抽出に従った農薬分析により潜在的な問題を最小化し、適切な感度を維持しつつサンプルスルーブットが向上するように、システムを構成しました。使用した重要な手法を説明します。

- **ミッドカラムバックフラッシュ**は、最後の分析対象物がカラムから排出され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 カラムでのキャリアガスを逆流させます。この逆流によって、データ収集終了時にカラム内に存在した高沸点化合物がカラムヘッドからスプリットベントラインへ運ばれます。この逆流機能は、アジレントの Purged Ultimate Union (PUU) の使用により実現します。PUU は挿入して用いるティで、今回は 2 つの同一の 15 m カラムの間に挿入します。分析中は、接続部をスワイプするために、8890 圧力切り替えデバイス (PSD) モジュールからの少量のメークアップガスが使用されます。バックフラッシュ中は、PSD からのメークアップ流量が大幅に増えて、第 1 カラムは逆流、第 2 カラムは MS 側に流れることによって高沸点化合物を排出します。今回の構成では、バックフラッシュ時間は 1.5 分でした。

- **パルスドスプリットレス注入法**は、注入口から GC カラムへの分析対象物の移送を最大化し、滞留時間および注入口での分解を最小に低減します。
- **PSD** はバックフラッシュアプリケーション用に最適化された 8890 ニューマティクスモジュールです。バックフラッシュ中の高圧時、固定リストリクタには数百 mL/min の無駄なガスが流れることがあります。PSD では、高圧時もユーザーが定義した設定値（デフォルトは 3 mL/min）に保持されるため、必要なガス流量を大幅に低減できます。また、PSD がミッドカラムバックフラッシュ構成に存在する場合、パルススプリットレスモードのセットアップを簡便に行えます。これは、カラム 1 とカラム 2 の両方のカラム流量が、それぞれパルス時間中に増加するためです。
- **エクストラクタ EI イオン源**は、高感度、不活性、広いキャリブレーション範囲を提供します。
- **超高感度イオン源 (HES)** は、エクストラクタよりも最大で 20 倍多くのイオンを生成し、超微量の化合物の高い信頼性での分析を可能にします。
- **Agilent MassHunter 農薬および環境汚染 MRM データベース (P&EP 4)** は、1 個の分析対象物あたり最大 8 個の MRM トランジションを含んでおり、MRM を開発することなく、取り込みメソッドを作成できます。データベースには定流量の 20 および 40 分の GC オープンプログラムのリテンションタイムが含まれています。
- **ダイナミック MRM モード**では、ドウェルタイムの最も効率的な配分を自動的に決定することによって、大規模な多成分系の分析が可能になります。
- **RTL** により、カラムや機器を新しくする場合でも MRM データベースと高い精度で一致するリテンションタイムの使用が可能となるため、メソッドメンテナンスが非常に容易になります。

図 1 に、システムの構成を示します。

表 1 に、分析条件を示します。恒温パルスド  
スプリットレス注入法を用いて、測定するター  
ゲットリストのサンプルスループットを向上させ、  
農薬、特に活性のある農薬のカラムへの移送  
を最大限に高めました。最初に、注入溶媒の  
アセトニトリルの使用を原因とする、分析対象  
物のピーク形状に関する問題が生じました。  
アセトニトリルは、半非極性カラムへのスプリ  
ットレス注入での使用には問題があることが知  
られています（多くの場合、溶媒ベントモー  
ドの注入を使用してピークテーリングを回避し  
ています）。<sup>3</sup>

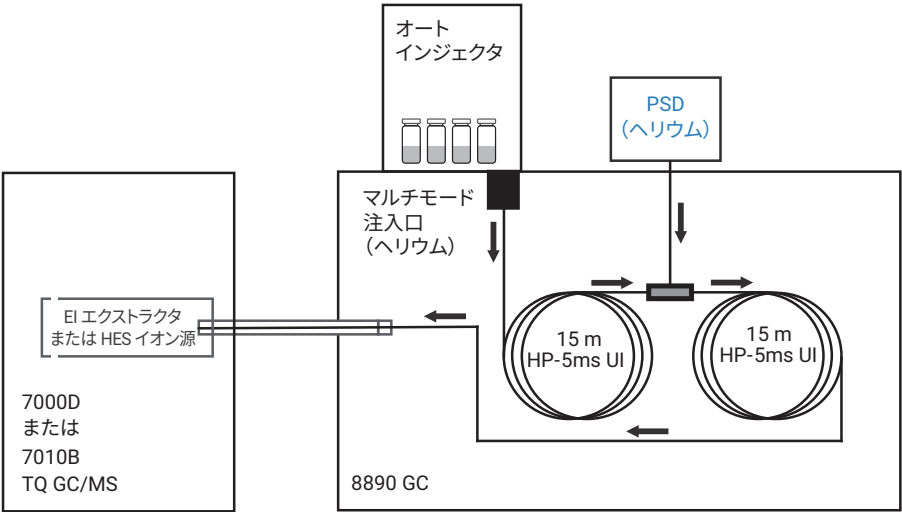


図 1. システム構成

表 1. 農薬定量のための GC/MS 条件

| 8890 GC と高速オープン、オートインジェクタ、トレイ |                                                 |
|-------------------------------|-------------------------------------------------|
| マルチモード注入口 (MMI)               |                                                 |
| モード                           | パルスドスプリットレス                                     |
| 注入パルス圧力                       | 50 psi、0.75 分間                                  |
| スプリットベントへのバージ流量               | 0.7 分で 50 mL/min                                |
| セブタムバージ流量モード                  | スイッチド                                           |
| 注入量                           | 1.0 µL                                          |
| 注入の種類                         | 標準                                              |
| L1 エアギャップ                     | 0.2 µL                                          |
| 注入口温度                         | 280 °C                                          |
| キャリアガス                        | ヘリウム                                            |
| 注入口ライナ                        | Agilent 汎用低圧力損失ライナ、<br>ガラスウール入り (p/n 5190-2295) |
| オープン                          |                                                 |
| 初期オープン温度                      | 60 °C                                           |
| 初期オープン保持                      | 1 分                                             |
| 昇温速度 1                        | 40 °C /min                                      |
| 最終温度 1                        | 120 °C                                          |
| 最終オープン保持 1                    | 0 分                                             |
| 昇温速度 2                        | 5 °C /min                                       |
| 最終温度 2                        | 310 °C                                          |
| 最終オープン保持 2                    | 0 分                                             |
| 合計分析時間                        | 40.5 分                                          |
| ポストラン時間                       | 1.5 分                                           |
| 平衡化時間                         | 0.5 分                                           |

| カラム                    |                                                     |
|------------------------|-----------------------------------------------------|
| カラム 1                  | HP-5MS UI、15 m × 0.25 mm、0.25 µm (p/n 19091S-431UI) |
| コントロールモード              | 定流量                                                 |
| 流量                     | 1.042 mL/min                                        |
| 注入口接続                  | MMI                                                 |
| 出口接続                   | PSD (PUU)                                           |
| ポストラン流量 (バックフラッシュ)     | -12.906 mL/min                                      |
| カラム 2                  | HP-5MS UI、15 m × 0.25 mm、0.25 µm (p/n 19091S-431UI) |
| コントロールモード              | 定流量                                                 |
| 流量                     | 1.242 mL/min                                        |
| 注入口接続                  | PSD (PUU)                                           |
| 出口接続                   | MSD                                                 |
| ポストラン流量 (バックフラッシュ)     | 13.429 mL/min                                       |
| MSD                    |                                                     |
| モデル                    | 7000D または 7010B                                     |
| イオン源                   | 不活性エクストラクタイオン源、3 mm ドローアウトレンズまたは<br>HES 付き          |
| 真空ポンプ                  | パフォーマンススターボ                                         |
| チューニングファイル             | Atunes.eiex.tune.xml または Atunes.eihs.tune.xml       |
| モード                    | dMRM                                                |
| 溶媒ディレイ                 | 3 分                                                 |
| EM 電圧ゲインモード            | 10                                                  |
| 四重極温度<br>(MS1 および MS2) | 150 °C                                              |
| イオン源温度                 | 280 °C                                              |
| トランスファーライン温度           | 280 °C                                              |
| He クエンチガス              | 2.25 mL/min                                         |
| N <sub>2</sub> コリジョンガス | 1.5 mL/min                                          |

Agilent 5190-2293 シングルテーパー UI スプリットレスライナ (図 2 上) は、スプリットレス注入で広く使用されており、一般的な GC 溶媒で適切に機能します。しかし、アセトニトリルとの組み合わせでは、パルスドスプリットレス注入により各分析対象物について複数のピークが生じました。代わりに、Agilent 5190-2295 UI 汎用低圧力損失ライナ (図 2 下) を用いると、この問題がなくなることが分かったため、以降のすべての分析で使用しました。

表 2 に、化合物のリスト、そのリテンションタイムと推奨される定量および定性 MRM トランジションを示します。MRM トランジションは Agilent MassHunter 農薬および環境汚染 MRM データベース (P&EP 4) にあるものです。

### イチゴサンプルとキャリブレーション標準の調製

それぞれ異なる 12 バックの有機栽培および非有機栽培イチゴをカリフォルニア州、クパチーノの地元小売店やファーマーズマーケットで購入しました。イチゴを細かく刻んで凍らせ、液体窒素下で混ぜ合わせました (最初に有機サンプルを混ぜ合わせました)。QuEChERS サンプル前処理法を用いて次の処理をしました。

各サンプルを 10 g 計量し、50 mL 遠心分離チューブに入れました。2 個のセラミックホモジナイザを各遠心分離チューブに加えた後、10 mL のアセトニトリル (HPLC グレード) を各チューブに加えました。サンプルを振とう機で 3 分間 1,500 ストローク/min で振とうしました。EN メソッド 15662 QuEChERS 抽出塩パッケージ (p/n 5982-6650) を各遠心分離チューブに加えました。サンプルを振とう機で 3 分間 1,500 ストローク/min で振とうした後、5 分間 5000 rpm で遠心分離しました。6 mL の抽出物を QuEChERS 分散 SPE 15 mL チューブ (一般的な果物と野菜用、p/n 5982-5056) に移しました。サンプルを 3 分間 1,500 ストローク/min で振とうした後、5 分間

5000 rpm で遠心分離しました。サンプル抽出物をラベル付きオートサンブラバイアルに移して分析しました。

ブランクマトリックス抽出物に農薬をスパイクすることによって、マトリックス適合キャリブレーション標準を作製しました。ブランクマトリックス抽出物は、予備スクリーニング中に農薬が 1 つも同定されることがなかった有機栽培イチゴサンプルの 1 つから作成されたものです。1 ~ 10,000 ppb の範囲をカバーするように、必要に応じて、イチゴ中の残留農薬の最大濃度の許容値を含むように、キャリブレーション溶液を調整しました。

UI スプリットレスライナ 5190-2293



UI 汎用低圧力損失ライナ 5190-2295



図 2. パルスドスプリットレス注入法で評価したライナ

表 2. 定量および定性に用いる MRM トランジション

| 化合物名                                     | クラス | RT (分) | 定量イオン         | 確認イオン 1       | 確認イオン 2       | 確認イオン 3       | 確認イオン 4       |
|------------------------------------------|-----|--------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| アセタミプリド                                  | I   | 27.890 | 152.0 & 116.1 | 126.0 & 73.0  | 126.0 & 99.0  | 126.0 & 90.0  | 152.0 & 62.0  |
| Allethrin                                | I   | 21.638 | 123.0 & 81.0  | 91.0 & 65.0   | 107.0 & 91.0  | 136.0 & 93.0  | 107.0 & 78.9  |
| Azoxystrobin                             | F   | 37.103 | 344.1 & 329.0 | 344.1 & 171.9 | 344.1 & 182.9 | 344.1 & 155.8 | 387.9 & 360.0 |
| Bifenazate                               | I   | 28.337 | 184.1 & 77.0  | 152.1 & 127.1 | 211.1 & 183.1 | 211.1 & 155.1 | 211.1 & 141.0 |
| Bifenthrin                               | I   | 28.311 | 181.2 & 165.2 | 166.2 & 165.2 | 165.2 & 115.1 | 182.2 & 167.2 |               |
| Boscalid                                 | F   | 33.394 | 140.0 & 76.0  | 140.0 & 112.0 | 111.9 & 76.0  | 341.9 & 139.9 | 341.9 & 111.8 |
| Captan                                   | F   | 21.414 | 151.0 & 79.0  | 149.0 & 77.1  | 148.1 & 70.0  | 263.9 & 79.0  | 149.0 & 79.1  |
| Carbaryl                                 | I   | 18.243 | 144.1 & 116.1 | 115.1 & 89.0  | 144.1 & 89.0  | 115.1 & 65.0  | 144.1 & 65.0  |
| Carbofuran                               | I   | 15.170 | 164.2 & 149.1 | 149.1 & 77.1  | 164.2 & 103.1 | 149.1 & 121.1 | 149.1 & 103.1 |
| Chlorantraniliprole                      | I   | 28.347 | 278.0 & 249.0 | 278.0 & 215.0 |               |               |               |
| cis-1,2,3,6-Tetrahydrophthalimide (THPI) | F*  | 9.913  | 151.1 & 80.0  | 79.0 & 51.0   | 79.0 & 77.0   | 151.1 & 122.1 | 151.1 & 106.1 |
| Cyprodinil                               | F   | 20.897 | 225.2 & 224.3 | 224.2 & 208.2 | 226.2 & 225.3 | 225.2 & 210.3 | 224.2 & 131.1 |
| p,p'-DDE                                 | I*  | 23.414 | 246.1 & 176.2 | 315.8 & 246.0 | 317.8 & 248.0 | 317.8 & 246.0 | 176.0 & 150.1 |
| Ethiofencarb                             | I   | 17.325 | 167.9 & 107.1 | 107.0 & 77.1  | 107.0 & 79.1  | 167.9 & 77.0  | 108.0 & 78.1  |
| Etoazole                                 | I   | 28.619 | 141.0 & 63.1  | 141.0 & 113.0 | 204.0 & 176.1 | 299.9 & 269.9 | 299.9 & 284.9 |
| Fenhexamid                               | F   | 26.187 | 97.1 & 55.1   | 177.1 & 78.0  | 177.1 & 113.0 | 179.0 & 78.0  | 179.0 & 115.0 |
| Fenobucarb                               | I   | 12.472 | 121.0 & 103.1 | 121.0 & 77.0  | 149.9 & 121.1 | 121.0 & 93.1  | 102.9 & 77.0  |
| Flonicamid                               | I   | 12.386 | 174.0 & 146.0 | 174.0 & 126.0 |               |               |               |
| Fludioxonil                              | F   | 23.383 | 248.0 & 127.1 | 248.0 & 182.1 | 248.0 & 154.1 | 154.0 & 127.1 | 182.0 & 154.1 |
| Fluridone                                | H   | 34.560 | 328.9 & 328.1 | 328.0 & 258.9 | 328.0 & 312.8 | 328.9 & 258.7 | 328.9 & 312.7 |
| Flutriafol                               | F   | 22.730 | 123.1 & 95.0  | 123.1 & 75.1  | 219.1 & 123.1 | 219.1 & 95.0  | 164.1 & 95.0  |
| Isoprocab I                              | I   | 11.093 | 121.0 & 77.1  | 136.0 & 121.1 | 121.0 & 103.1 | 136.0 & 77.1  | 121.0 & 91.1  |
| Malathion                                | I   | 19.634 | 126.9 & 99.0  | 172.9 & 99.0  | 157.8 & 125.0 | 172.9 & 117.0 | 157.8 & 47.0  |
| Metalaxyl                                | F   | 18.620 | 234.0 & 146.1 | 206.1 & 132.1 | 234.0 & 174.1 | 220.0 & 192.1 | 248.8 & 190.1 |
| Metaldehyde                              | M   | 4.104  | 89.0 & 45.0   | 117.0 & 45.0  |               |               |               |
| Myclobutanil                             | F   | 23.724 | 179.0 & 125.1 | 179.0 & 90.0  | 150.0 & 123.0 | 206.0 & 179.1 | 244.9 & 125.0 |
| Novaluron                                | I   | 6.479  | 168.0 & 139.9 | 168.0 & 75.9  | 335.0 & 167.9 | 168.0 & 112.0 | 139.9 & 75.9  |
| Piperonyl butoxide                       | PS  | 27.225 | 176.1 & 103.1 | 176.1 & 131.1 | 176.1 & 117.1 | 149.1 & 65.1  | 177.0 & 119.1 |
| Propargite                               | A   | 27.048 | 135.0 & 77.1  | 149.9 & 135.1 | 135.0 & 107.1 | 230.9 & 135.1 | 149.9 & 107.1 |
| Pyrimethanil                             | F   | 16.132 | 198.0 & 118.1 | 198.0 & 183.1 | 198.0 & 158.1 | 198.9 & 184.0 | 117.9 & 91.0  |
| Quinoxifen                               | F   | 26.039 | 237.0 & 208.1 | 271.9 & 237.1 | 306.8 & 237.0 | 306.8 & 271.9 | 308.8 & 237.0 |
| Tetraconazole                            | F   | 20.351 | 336.0 & 217.9 | 170.9 & 136.0 | 336.0 & 203.8 | 170.9 & 99.0  | 158.9 & 89.0  |
| Thiabendazole                            | F   | 21.220 | 201.0 & 174.0 | 201.9 & 175.0 | 173.9 & 65.0  | 128.9 & 102.0 | 201.0 & 130.0 |
| Thiamethoxam                             | I   | 20.583 | 212.0 & 139.0 | 212.0 & 125.0 |               |               |               |
| Trifloxystrobin                          | F   | 26.492 | 116.0 & 89.0  | 172.0 & 145.1 | 116.0 & 63.0  | 131.0 & 89.0  | 186.0 & 145.1 |
| 3,4,5-Trimethacarb                       | I   | 14.950 | 121.0 & 77.1  | 136.0 & 77.1  | 136.0 & 121.1 | 121.0 & 91.0  | 135.0 & 91.0  |
| Tris(1-Chloro-2-propyl) phosphate        | FR  | 16.276 | 277.4 & 124.9 | 279.4 & 125.0 |               |               |               |

I - 殺虫剤

F - 消毒薬

F\* - 消毒薬の代謝物

I\* - 殺虫剤の分解物

H - 除草剤

M - 殺菌剤

PS - 農薬共力剤

A - 殺ダニ剤

FR - 難燃剤

結果と考察

イチゴ中の残留農薬

8890/5977 シリーズ GC/MSD と RTL 農薬ライブラリおよび、8890/7250 GC/Q-TOF と農薬パーソナル化合物データベースライブラリ (PCDL) を使用した予備スクリーニングによって、37 種類の農薬および汚染物質が検出されました。<sup>4</sup> 新しい正確な質量スクリー

ニング手法の使用によって、GC/Q-TOF では GC/MSD よりも、各サンプル中でより多くの農薬を同定できました。12 のイチゴサンプルで検出された 28 の農薬が定量されました。一方で、9 つの農薬は準備した最小キャリブレーションレベル以下のため、定量されませんでした。

イチゴサンプル中のアセタミプリドとミクロブタニルの 2 つの農薬の濃度は、US EPA<sup>1,2</sup> が規定したイチゴ中の残留農薬の最大許容濃度を超過していることが明らかになりました (表 3)。殺虫剤のチアメトキサムと農薬共力剤のピペロニルブトキシドの濃度は 10 ppb を超過していました。この 2 つの化合物は、イチゴ中での最大濃度の許容値が規定されておらず、推定許容値違反<sup>2</sup> (表 3 での赤字) として報告されます。

表 3. 8890/7000D トリプル四重極 GC/MS システムで得られた 12 のイチゴサンプルの定量結果

| 化合物                               | 許容値 (ppb) | 直線キャリブレーション       |                     |        | 拡張キャリブレーション*      |                   |        | 有機栽培イチゴ |      |      | 非有機栽培イチゴ |          |       |       |       |          |       |       |       |
|-----------------------------------|-----------|-------------------|---------------------|--------|-------------------|-------------------|--------|---------|------|------|----------|----------|-------|-------|-------|----------|-------|-------|-------|
|                                   |           | キャリブレーション下限 (ppb) | 直線キャリブレーション上限 (ppb) | CF R2  | キャリブレーション下限 (ppb) | キャリブレーション上限 (ppb) | CF R2  | O-1     | O-2  | O-3  | N/O-1    | N/O-2    | N/O-3 | N/O-4 | N/O-5 | N/O-6    | N/O-7 | N/O-8 | N/O-9 |
| 3,4,5-トリメタカルブ                     | NT**      | 5                 | 500                 | 0.9951 | 5                 | 8,000             | 0.9985 | 7       | 6    | 6    | 5        | 6        | <LOQ  | 5     | <LOQ  | <LOQ     | <LOQ  | <LOQ  | <LOQ  |
| Acetamiprid                       | 600       | 500               | 1000                | 0.9961 | 500               | 10,000            | 0.9991 |         |      |      |          | 2,845    |       |       |       |          |       |       |       |
| Azoxystrobin                      | 10,000    | 500               | 10,000              | 0.9930 | 500               | 10,000            | 0.9930 |         |      |      |          |          |       |       |       |          |       |       | 534   |
| Bifenazate                        | 1,500     | 100               | 4,000               | 0.9886 | 100               | 5,000             | 0.9941 |         |      |      | <LOQ     | 498      |       |       | 177   |          |       |       |       |
| Bifenthrin                        | 3,000     | 1                 | 5,000               | 0.9902 | 1                 | 10,000            | 0.9929 | <LOQ    |      |      | 91       | 745      | 611   | 649   | <LOQ  | 18       | 287   | 252   | <LOQ  |
| Boscalid                          | 4,500     | 1                 | 5,000               | 0.9961 | 1                 | 10,000            | 0.9971 | <LOQ    | <LOQ | <LOQ | <LOQ     | 165      | <LOQ  | <LOQ  | <LOQ  | <LOQ     | 43    | <LOQ  | <LOQ  |
| Captan                            | 20,000    | 10                | 1,000               | 0.9794 | 10                | 10,000            | 0.9849 | 349     |      |      | 296      | >10,000* | 56    |       | 7,719 | >10,000* | 2,039 | 200   | 5,655 |
| Carbaryl                          | 4,000     | 1                 | 1,000               | 0.9900 | 1                 | 10,000            | 0.9978 | 85      |      |      |          |          |       |       |       |          |       |       |       |
| Chlorantraniliprole               | 1,000     | 20                | 1,000               | 0.9958 | 20                | 10,000            | 0.9988 |         |      |      |          |          |       |       |       |          |       |       | <LOQ  |
| cis-1,2,3,6-Tetrahydrophthalimide | 25,000    | 1                 | 1,000               | 0.9887 | 1                 | 10,000            | 0.9987 | 465     | 15   | <LOQ | 1,275    | 1,850    | 87    | 15    | 837   | 856      | 461   | 105   | 1,098 |
| Cyprodinil                        | 5,000     | 1                 | 500                 | 0.9915 | 1                 | 10,000            | 0.9987 |         |      |      | 29       | 232      | <LOQ  | 279   | 289   | 102      | 5     | <LOQ  | <LOQ  |
| DDE- <i>p,p'</i>                  | NT        | 1                 | 1,000               | 0.9911 | 1                 | 1,000***          | 0.9911 | <LOQ    | <LOQ | <LOQ | <LOQ     | <LOQ     | <LOQ  | <LOQ  | <LOQ  | <LOQ     | <LOQ  | <LOQ  | <LOQ  |
| Etoxazole                         | 500       | 5                 | 2,000               | 0.9891 | 5                 | 2,000             | 0.9891 |         |      |      |          |          |       | 79    |       |          |       |       |       |
| Fenhexamid                        | 3,000     | 50                | 5,000               | 0.9940 | 50                | 10,000            | 0.9977 |         |      |      |          | 298      | <LOQ  | <LOQ  | 561   | <LOQ     | <LOQ  |       |       |
| Flonicamid                        | 1,500     | 1                 | 1,000               | 0.9766 | 1                 | 1,000***          | 0.9766 | 8       | 2    | 1    | 1        | 904      | 381   | 77    | 92    | 195      | 146   | 111   | 84    |
| Fludioxonil                       | 2,000     | 1                 | 1,000               | 0.9910 | 1                 | 8,000             | 0.9987 |         |      |      | 30       | 459      | <LOQ  | 548   | 617   | 195      | 14    | <LOQ  |       |
| Flutriafol                        | 1,500     | 5                 | 2,000               | 0.9893 | 5                 | 2,000             | 0.9893 |         |      |      | 31       | <LOQ     | 7     |       |       |          |       | 7     | <LOQ  |
| Malathion                         | 8,000     | 1                 | 1,000               | 0.9905 | 1                 | 8,000             | 0.9994 | 48      | <LOQ | <LOQ | 5        | <LOQ     | 61    | <LOQ  | <LOQ  | <LOQ     | <LOQ  | 48    | <LOQ  |
| Metalaxyl                         | 10,000    | 1                 | 500                 | 0.9974 | 1                 | 10,000            | 0.9959 |         |      |      | 48       | 5        |       | 3     |       |          | <LOQ  |       | 90    |
| Myclobutanil                      | 500       | 1                 | 1,000               | 0.9958 | 1                 | 10,000            | 0.9987 | 1       |      |      | <LOQ     | 4        | 9     | 706   | 20    | <LOQ     | <LOQ  | 14    | 1     |
| Novaluron                         | 500       | 1                 | 250                 | 0.9910 | 1                 | 8,000             | 0.9901 | 462     |      |      | 29       | 284      | 136   | <LOQ  | 110   | <LOQ     | <LOQ  | 376   | 428   |
| Piperonyl butoxide                | NT        | 5                 | 1,000               | 0.9961 | 5                 | 5,000             | 0.9964 | 1,618   | <LOQ |      |          |          |       |       |       |          |       |       |       |
| Pyrimethanil                      | 3000      | 1                 | 500                 | 0.9968 | 1                 | 10,000            | 0.9963 | <LOQ    | <LOQ | <LOQ | 243      | 117      | <LOQ  | <LOQ  | 273   | 5        | <LOQ  | <LOQ  | <LOQ  |
| Quinoxifen                        | 900       | 1                 | 1,000               | 0.9754 | 1                 | 1,000***          | 0.9754 |         |      |      | 2        | <LOQ     | 4     |       |       | 74       | 1     | 4     | 37    |
| Tetraconazole                     | 2,500     | 1                 | 1,000               | 0.9867 | 1                 | 8,000             | 0.9991 |         |      |      |          | 75       | <LOQ  |       | 22    | <LOQ     |       |       | 153   |
| Thiametoxam                       | NT        | 20                | 1,000               | 0.9920 | 20                | 1,000***          | 0.9920 | <LOQ    | <LOQ |      | <LOQ     | 28       |       |       | 50    | <LOQ     | <LOQ  |       | <LOQ  |
| Trifloxystrobin                   | 1,100     | 1                 | 1,000               | 0.9978 | 1                 | 10,000            | 0.9978 |         |      |      | 14       |          |       | 135   | 5     | 152      |       |       |       |
| Tris(1-Chloro-2-propyl) phosphate | ****      | 1                 | 250                 | 0.9773 | 1                 | 1,000***          | 0.9895 | <LOQ    | 20   | 10   | 2        | 3        | 8     | 11    | <LOQ  | <LOQ     | 8     | <LOQ  | 1     |

拡張されたキャリブレーション\* は、USDA 規制が認める 2 次回帰などの代替近似を用いて達成できました

NT\*\* - US EPA が規定するイチゴ中の残留農薬の最大濃度の許容値がない場合

1,000\*\*\* - 1,000 ppb が今回使用した最大のキャリブレーション標準です

\*\*\*\* - 最大濃度の許容値の情報がない場合

### 8890/7000D および 8890/7010B トリプル四重極 GC/MS システムによる、 許容レベルの農薬の定量

US EPA が規定したイチゴ中の残留農薬の最大濃度の許容値は 20 ~ 25,000 ppb という広い濃度範囲にわたっています。<sup>1</sup> さらに、許容レベルが規定されていない農薬の濃度は 10 ppb を超えてはいけません。<sup>2</sup> 規制および禁止されている農薬の正確な定量を、サンプルの再分析や追加の処理をすることなく、1 回の GC/MS 分析で確実にを行うために、残留農薬の定量においてキャリブレーション範囲の拡張が必要となります。

不活性エクストラクタイオン源を搭載した 8890/7000D トリプル四重極 GC/MS システムを用いると、規定された許容レベルでの存在が推測されるすべての化合物を ±20 % の真度で定量できました。キャリブレーション範囲の拡張により、1 回の GC/MS 分析で 10 ppb (許容値が規定されていない場合) ~ 10,000 ppb の範囲の許容レベルで農薬を定量できます (表 3)。28 種類の農薬のうち 26 種類で、最大 500 ppb までの代表的な測定範囲について、直線キャリブレーションフィッティングが実現できました。イチゴの最小報告限界値は 10 ppb のため、1 ppb 未満はキャリブレーションを実行しませんでした。

ボスカリドは、イチゴにおいて 4,500 ppb のかなり高い濃度で規制されている消毒薬です。1 ~ 5,000 ppb の範囲にわたる直線キャリブレーションフィッティングは許容レベルを含んでいます。報告上限値を超えて正確な定量が必要な場合、拡張された 1 ~ 10,000 ppb のキャリブレーション範囲を使用できます (図 3)。

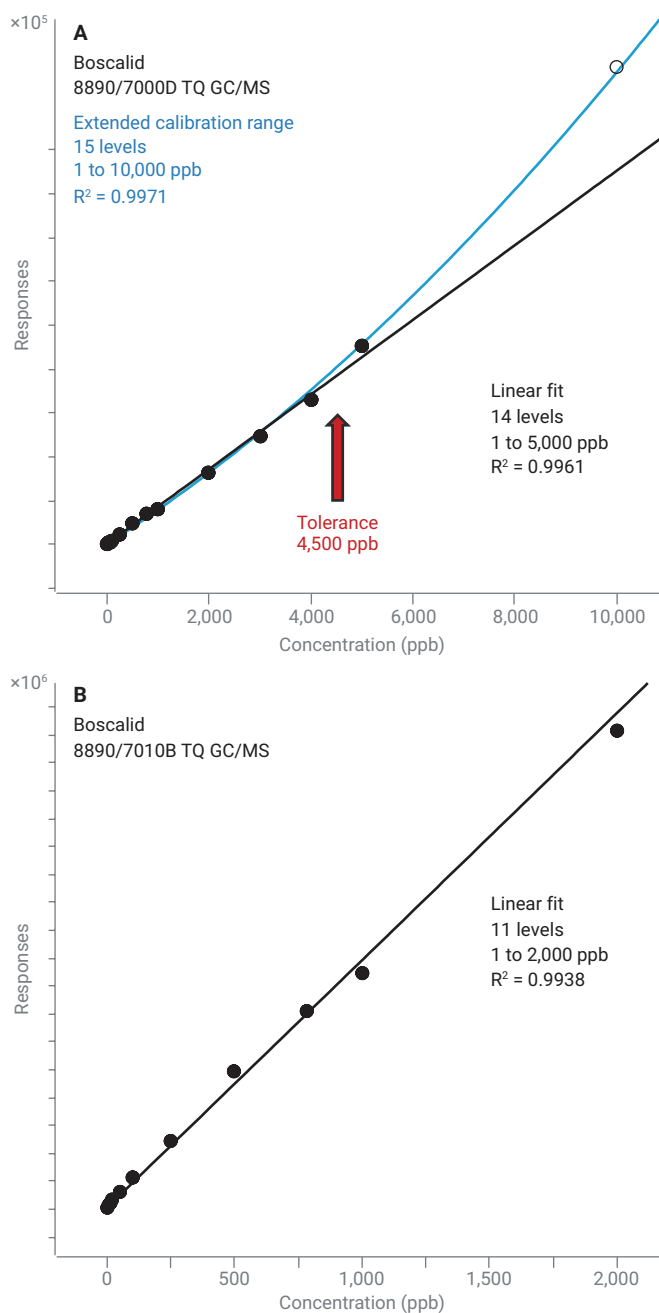


図 3. 8890/7000D および 8890/7010B トリプル四重極 GC/MS システムを用いて作成した、ボスカリドのマトリックスマッチング検量線。US EPA 規制が認める 2 次回帰などの代替近似により、7000D を使用してキャリブレーションを 10,000 ppb まで拡張可能

アセタミプリドは、許容レベルが 600 ppb の殺虫剤です。不活性なエクストラクタイオン源を搭載した 8890/7000D と HES を搭載した 8890/7010B のどちらのトリプル四重極 GC/MS システムを使っても、許容レベルでイチゴ中のアセタミプリドを定量できます。

チアメトキサムはイチゴ中での許容レベルが規定されていない殺虫剤のため、報告限界値は 10 ppb です。この殺虫剤は熱に不安定な性質のために、GC/MS 分析が困難な化合物として知られ、一般的に LC/MS で分析されます。HES イオン源を搭載した 8890/7010B トリプル四重極 GC/MS システムでは、一定の高温でのパルスドスプリットレス注入を使用して 1 ～ 1,000 ppb の間でチアメトキサムを定量できます。

一方、不活性エクストラクタイオン源を搭載した 8890/7000D トリプル四重極 GC/MS システムでのチアメトキサムのキャリブレーション範囲は 20 ～ 1,000 ppb です（使用した原液の最高濃度は 1,000 ppb でした）。10 ppb での S/N 比は、HES イオン源では 19.6、不活性エクストラクタイオン源では 2.2 でした（図 4）。HES イオン源の場合、10 ppb の許容レベルでチアメトキサムの良好な定性/定量比は維持されていました。MMI を使用した低温にプログラミングされたスプリットレス注入では、チアメトキサムの上記のキャリブレーション範囲が非常に低いレベルにまで拡張されるものと予測されます。<sup>5</sup>

HES イオン源付き 8890/7010B トリプル四重極 GC/MS システムは、オンカラムで 1 ng 未満の分析対象物のロードが推奨され、微量および超微量レベルで定量を必要とする場合に最適なシステムです。8890/7010B トリプル四重極 GC/MS システムの方が 7000D よりも低い定量下限（LOQ）を達成しました。多くの場合で、HES イオン源付き 7010B は、今回の調査で使用した最小キャリブレーション標準の 1 ppb よりも低い LOQ を実現することが分かります。イチゴ中の残留農薬の報告限界値は 10 ppb を超えないため、1 ppb 未満の定量は不要です。

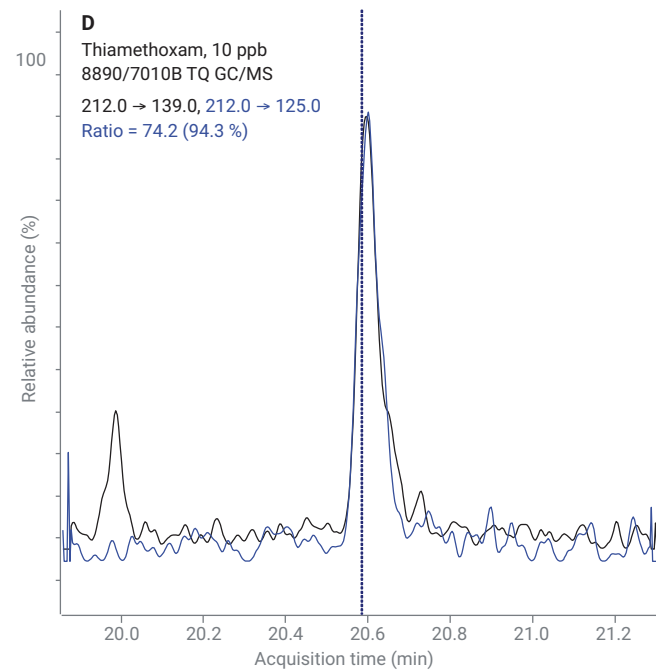
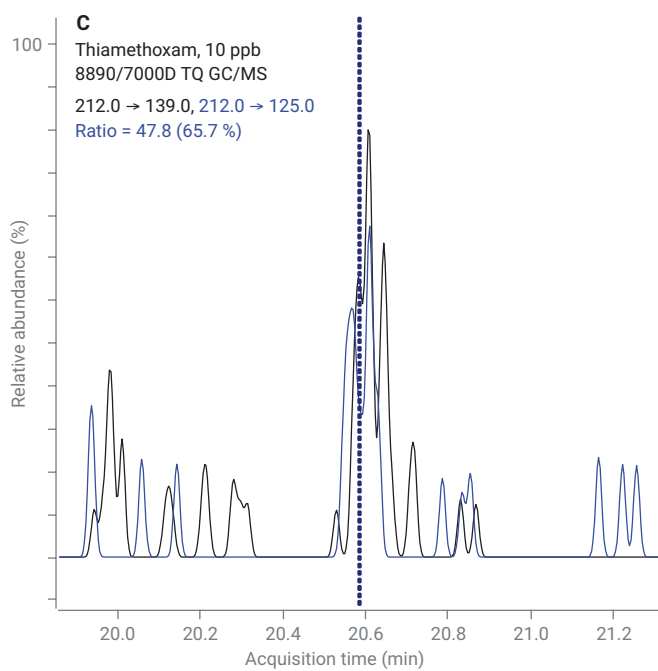
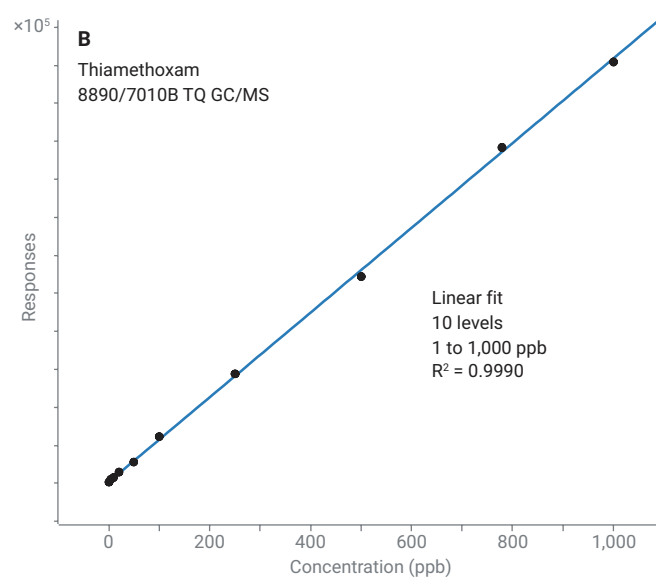
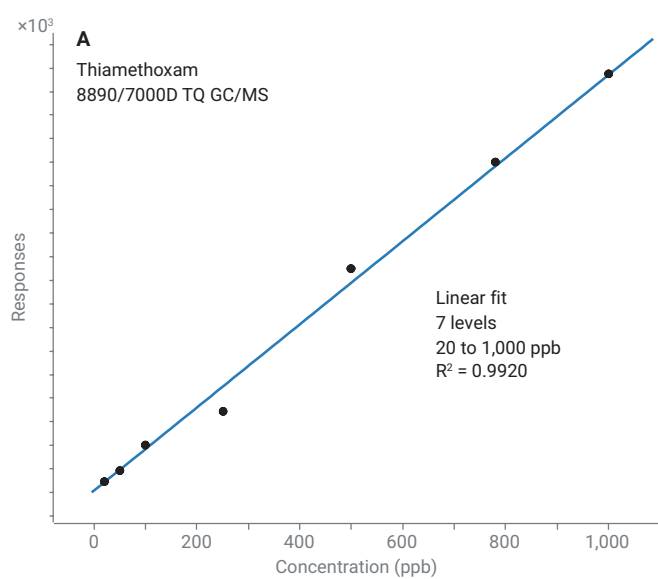


図 4. チアメトキサムのマトリックスマッチング検量線と定量および定性イオンの MRM クロマトグラム

## 結論

8890/7000D および 8890/7010B トリプル四重極 GC/MS システムが、10 ～ 25,000 ppb の規制レベルにおいてイチゴ中の残留農薬の定量に適していることが実証されました。恒温、パルスドスプリットレス注入は良好な不活性サンプル移送を必要なレベルで実現し、サンプルスルーブットの向上を可能にします。ミッドカラムバックフラッシュは、分析時間および機器メンテナンスの回数を低減します。存在が推測される化合物については、MassHunter 農薬および環境汚染 MRM データベース (P&EP 4) によって MRM トランジションが提供されました。このデータベースはダイナミック MRM と組み合わせて使用され、採取メソッドの作成を大幅に簡便化します。予備スクリーニングで同定された化合物はマトリックス適合キャリブレーション標準を用いて、許容レベルで定量しました。

## 参考文献

1. Index to Pesticide Chemical Names, Part 180 Tolerance Information, and Food and Feed Commodities (by Commodity). US Environmental Protection Agency Office of Pesticide Programs. December 12, **2012**.
2. USDA, AMS, S&T, MPD - Pesticide Data Program (PDP). PDP Database Search Application – User Guide. January 2019. <https://www.ams.usda.gov/sites/default/files/media/PDPSearchAppUserGuide.pdf>
3. K. Mastovska. GC/MS/MS Pesticide Residue Analysis. A Reference Guide. Agilent Technologies, **2018**.
4. GC/MSD Pesticide Screening in Strawberries at Tolerance Levels Using Library Searching of Deconvoluted Spectra. Agilent Technologies Application Note, publication number 5994-0915EN, **2019**.
5. Al-Taher, F.; et al. Comprehensive Pesticide Analysis in Juice Using a Combination of GC/MS and LC/MS Methods. Agilent Technologies Application Note, publication number 5990-9924EN, **2012**.

ホームページ

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

カスタマコンタクトセンタ

**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。

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2019

Printed in Japan, November 13, 2019

5994-0799JAJP