

デコンボリ्यूートしたスペクトルの ライブラリ検索によるイチゴ中の農薬の 許容レベルでの GC/MSD スクリーニング

著者

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

概要

Agilent 8890 GC/5977 MSD システムを用いて、イチゴ中の農薬をスクリーニングしました。機器の構成、運転条件、サンプル前処理、ソフトウェアワークフローを適切に選択することにより、複雑なマトリックス中の農薬を確実に同定することができます。食品中の農薬検出用に最適化するため、パルスドスプリットレス注入、ミッドカラムバックフラッシュ、不活性エクストラクタ EI イオン源、農薬と環境汚染物質のデータベース、リテンションタイムロッキングを用いました。すべての分析は、2 つのステップで完了します。このアプリケーションノートでは、Agilent MassHunter Unknowns Analysis ソフトウェアを用いてサンプルをスクリーニングするワークフローの 1 つ目のステップを説明します。このソフトウェアは、自動デコンボリューションおよびライブラリ検索機能を備えており、任意の農薬または他の対象化学物質を同定することができます。イチゴのサンプルは地域の食料品店で購入し、メソッドの機能を実証するために用いました。

はじめに

食品供給における微量の農薬と環境汚染は、依然として世界各国の関心事項となっており、より高速で信頼性の高い分析メソッドの需要が高まっています。課題の 1 つは、複雑な食品マトリックス中の数百種類に及ぶ農薬、多環芳香族炭化水素（PAH）や他のターゲット物質を検索できる技術を見つけることです。多くのメソッドは、食品中で一般的に見つけられる特定の化合物のリストを対象としています。これらのメソッドは非常に効果的ですが、明確にターゲットとなっていない残留物を見落とす可能性があります。

紹介する手法は、複数ステップの手法によってできるだけ多くの対象化合物を見つけることを目的としています。1 つ目のステップでは、1,000 種類以上の化合物が含まれる農薬および環境汚染のライブラリにリテンションタイムロッキングした GC/MSD システムを用いて、サンプルの質量スペクトルスキャンデータを取り込みます。その後、効率的な自動化デコンボリューションおよびライブラリ検索を備えた Agilent MassHunter Quantitative 10 Unknowns Analysis ソフトウェアでスキャンデータを処理します。ライブラリ検索のためにスキャンデータを処理する従来の手法は、ベースライン減算したピークの頂点スペクトルと基準スペクトルとの比較に依存していました。この従来法は、ピークに対してクロマトグラフィー的な干渉がない場合は適切に機能します。しかし、食品サンプルには処理プロセスを妨げる可能性がある高濃度のマトリックス化合物が含まれていることが多く、成分の同定が困難になります。

スペクトルのデコンボリューションは、共溶出する化合物のイオンを分析対象物のスペクトラムから除去するために、長い間使用されてきたソフトウェア手法です。デコンボリューションでは、イオンクロマトグラムがスキャン範囲内のすべての質量で抽出されます。形状およびリテンションタイム（RT）が同じ分離ピークを持つイオンは、各成分にグループ化されま

す。複数の重なり合うピーク中に存在するイオンのレスポンスは、クロマトグラフィーインテグレーションと同様のプロセスを用いて、各ピークに配分されます。その後、スペクトルが各成分から構築されます。デコンボリューションプロセスにより、分析対象成分のスペクトル内の干渉イオンが大幅に低減、または除去されます。

MassHunter Quantitative 10 Unknowns Analysis には、スキャンファイル内のスペクトルをデコンボリュートしてライブラリで成分を検索する、優れたツールセットがあります。ライブラリ一致スコアの高いピークが、ヒットの可能性があるものとして調査されます。ライブラリに RT または保持インデックス（RI）情報が含まれている場合、検索結果をフィルタリングしたり、化合物が存在するという精度の向上に使用できます。一般的に、ライブラリ一致スコア（LMS）が高くなるほど、RT 一致により近づくほど、化合物が存在している可能性が大きくなります。このスクリーニングは、リテンションタイムロック（RTL）条件下で収集した RT または RI を含むスペクトルライブラリ、および同一タイムスケールにロックされたスキャンデータを用いることで、最も効果的に実行できます。RTL により、RT は通常、ライブラリの RT と 0.1 分以内で一致します。この研究では、Agilent 農薬および環境汚染 MRM データベース¹と、Agilent MassHunter Pesticides PCDL および GC/Q-TOF のワークフロー²に、ロックされた RT を持つ 1,000 種類以上の化合物の新しいスペクトルライブラリを組み合わせました。MassHunter Unknowns Analysis は完全なスキャンファイルを数分で自動的に処理して、LMS および RT 一致データのレポートを作成し、その後に化合物の存在を確認して決定します。

デコンボリュートした成分を NIST ライブラリで検索することによって、さらにスクリーニングを実行できます。NIST 17 ライブラリには、今回、多くのエントリのために使用したタイプの標準に準じた非極性カラムで測定された RI も含まれています。アルカン RI キャリブレーション混合物を、RT ロック農薬メソッド

で分析し、RI キャリブレーションファイルを作成します。その後、MassHunter Unknowns Analysis で、デコンボリュートしたスペクトルが NIST 17 全体で検索され、一致した LMS と RI の値、化合物が存在する場合は NIST RI の値がリスト表示されます。これは優れたツールですが、すべてのマトリックス成分を検索するため、調査対象にヒットするもののリストが膨大な数になる可能性があります。

この手法の有用性を実証するために、カリフォルニア州、クパチーノ周辺のさまざまな食料品店でイチゴを 16 パック購入し、このメソッドで分析しました。多くの場合、イチゴが出荷できる商品として順調に生育するには農薬の散布が必要です。イチゴサンプルを QuEChERS メソッドで抽出し、アセトニトリル溶媒中の抽出物を準備しました。

分析対象農薬の多くは性質上、分解などを起こす活性があるため、注入口および注入技術が最適化されていなければなりません。今回の分析では、パルスドホットスプリットレス注入により良好な分析結果が得られました。アセトニトリルは、今回使用したカラムでの GC へのパルスドホットスプリットレス注入に適した溶媒ではありません。ピーク形状不良などの問題を防止するためには、多くの場合、溶媒バントメソッドのような技術が必要です。今回のメソッドでは、低圧力損失注入ロライナを用いてこの問題に対処します。

分析では、注入口に関連する問題に加えて、マトリックスに関連する問題も頻繁に生じます。例えば、分析後に溶出する高沸点のマトリックスによる汚染があり、その後の分析のゴーストピークを回避するために長時間の焼き出しが必要になる場合があります。最も沸点の高い汚染物質がカラムヘッドに堆積し、カラムトリミングと、リテンションタイムのシフトによるデータ分析時間ウィンドウの調整がより頻繁に必要になります。この問題はミッドカラムバックフラッシュ構成を使用することにより抑制できます。

実験方法

このシステムの構成は、高マトリックス食品抽出物中の農薬の分析時の潜在的な問題が最小限になるように行いました。使用した重要な手法は次のとおりです。

- ミッドカラムバックフラッシュ:** バックフラッシュとは、最後のターゲット化合物がカラムから排出された後にキャリアガス流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 カラムからのキャリアガス流を逆流させます。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。この逆流を行うのにアジレントの Purged Ultimate Union (PUU) を使用します。PUU は挿入して用いるティであり、今回の場合は 2 つの同一の 15 m カラムの間に挿入します。分析中、8890 PSD モジュールからの少量のメイクアップキャリアガスで接続部をスイープします。バックフラッシュ中、PSD からメイ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。この構成の場合、バックフラッシュ時間は 1.5 分でした。

- 8890 PSD モジュール:** 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可能性があります。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。

- RTL:** RTL はアジレント独自の機能です。ロック用化合物、今回はクロルピリホスメチルを GC/MSD システムで分析します。その後、ソフトウェアにより、スペクトルライブラリまたはロック条件下で収集された他のスペクトルデータベースの RT と正確に同じ RT が得られるカラム流量が決定されます。このリテンションタイムロッキングにより、複数の機器とプラットフォームにおいて、ほぼ一致する農薬の RT が得られ、データ解析とメソッドメンテナンスが格段に容易になります。正確な RT によって、スクリーニングプロセスにおける有用なフィルタが得られます。

- スペクトルのデコンボリューション:** MassHunter Quantitative 10 Unknowns Analysis ソフトウェアのスペクトルのデコンボリューション機能を用いることで、ライブラリー致スコアと精密な RT マッチ機能によって高マトリックスサンプル中の化合物を短時間で自動的に同定することができます。

図 1 に、使用したシステム構成を示します。

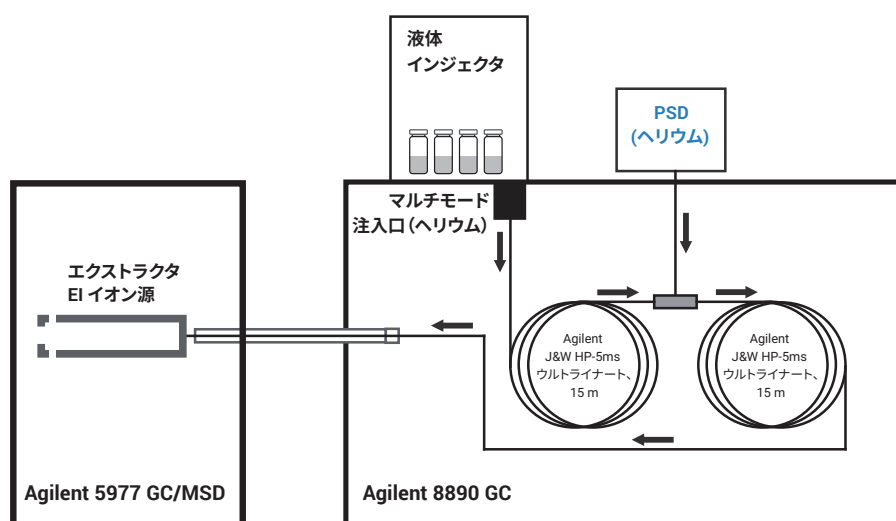


図 1. Agilent 8890 GC/5977B MSD システムの構成

ウルトライナート、スプリットレス注入口ライナ、部品番号 5190-2293



ウルトライナート、汎用、低圧力損失注入口ライナ、部品番号 5190-2295



図 2. パルススプリットレス注入で評価したライナ

表 1 に、機器の操作パラメータを示します。農業（特に活性のあるもの）のカラムへの移送を最大化するために、パルスドスプリットレス注入を使用します。最初に、注入溶媒としてアセトニトリルを用いたところ、分析対象成分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、今回用いた半非極性カラムへ

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。Agilent 5190-2293 シングルテーパ、ウルトライナート、スプリット注入口ライナ（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、アセトニトリルでは、パルスドスプリットレス注入により各分

析対象成分について複数のピークを生成します。代わりに、Agilent 5190-2295 ウルトライナート、汎用低圧力損失注入口ライナ（図 2 下）では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 1. 農業スクリーニングでの GC/MS 条件

GC	
Agilent 8890 GC システムと高速オープン、オートサンブラ、トレイ	
注入口	
	マルチモード注入口
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	3.0 mL/min
セブタムバージ流量モード	スイッチド
注入量	2.0 µL
注入口温度	280 °C
キャリアガス	ヘリウム
注入口ライナ	アジレントの低圧力損失、ガラスウール付き
注入口ライナの部品番号	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	3.0 分
合計分析時間	43.5 分
ポストラン時間	1.5 分
平衡化時間	0.25 分

カラム 1	
タイプ	Agilent J&W HP-5ms ウルトライナート (p/n 19091S-431UI)
長さ	15 m
内径	0.25 mm
膜厚	0.25 µm
コントロールモード	定流量
流量	1.395 mL/min
注入口接続	スプリット/スプリットレス
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	
タイプ	Agilent J&W HP-5ms ウルトライナート (p/n 19091S-431UI)
長さ	15 m
内径	0.25 mm
膜厚	0.25 µm
コントロールモード	定流量
流量	1.595 mL/min
注入口接続	PUU
出口接続	MSD
ポストラン流量 (バックフラッシュ)	13.32 mL/min
MSD	
モデル	Agilent 5977 シリーズ GC/MSD
イオン源	不活性エクストラクタ
真空ポンプ	パフォーマンスタワーボ
チューニングファイル	ETUNE.U
モード	スキャン
スキャン範囲	45 ~ 550 amu
溶媒ディレイ	4 分
EM 電圧ゲインモード	1.0
TID	オン
四重極温度	150 °C
イオン源温度	280 °C
トランスファーライン温度	280 °C

サンプル前処理

有機栽培および非有機栽培イチゴ 16 パックを、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ことを実行しました。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（部品番号 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、部品番号 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。

結果と考察

スクリーニングスキャンデータ:
RTL 農薬ライブラリ

図 3 はサンプル 27 抽出物のスキャン TIC です。QuEChERS 抽出プロセスはイチゴからの農薬の回収に効果的ですが、図 3 に示すように多くのマトリックス化合物が残ったままです。

抽出物 27 のスキャンファイルを MassHunter Unknowns Analysis を用いて分析し、デコンボリューションされた成分を RTL 農薬ライブラリで検索しました。図 4 に、作成されたレポートを示します。このレポートは任意の列で並び替えが可能で、ここでは LMS の降順で並び替えて示しています。例えば、4 番目のエントリであるフルジオキシソニル

は、LMS (90.7) が高く、その RT が RTL ライブラリの RT の 0.08 分以内に入るため、存在する可能性が高いと言えます。

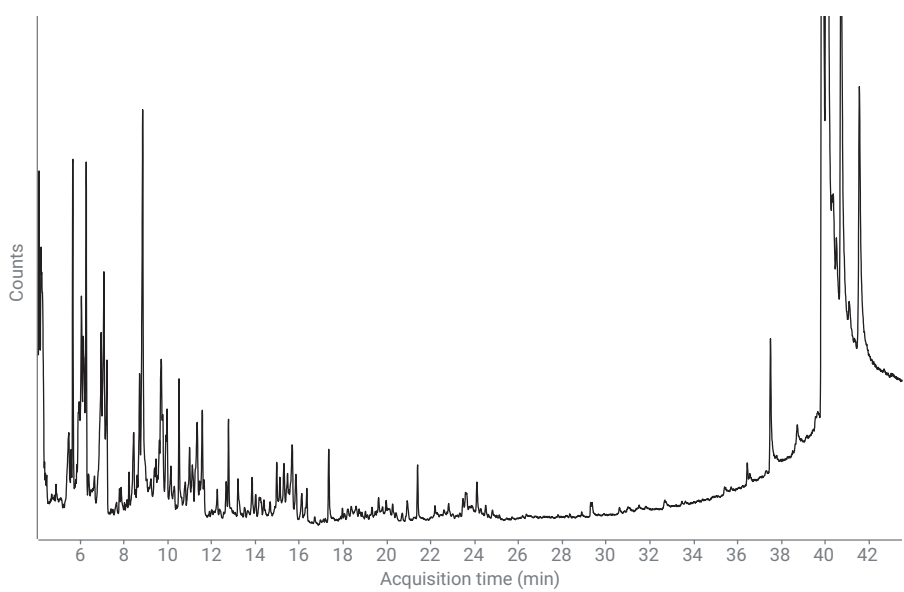


図 3. サンプル番号 27 の抽出物のトータルイオンクロマトグラム (TIC)

Components					
Component RT	Compound Name	Match Factor	Delta RT	Formula	Base Peak Area
21.3891	Captan	94.5	0.0399	C9H8Cl3NO2S	52032.5
9.9134	Tetrahydrophthalimide, cis-1,2,3,6-	94.2	0.0906	C8H9NO2	102600.8
29.3490	Bis(2-ethylhexyl)phthalate	91.9	-0.0260	C24H38O4	181695.6
23.3104	Fludioxonil	90.7	0.0816	C12H6F2N2O2	16413.6
28.3328	Bifenthrin	87.9	-0.0078	C23H22ClF3O2	29593.8
20.9145	Cyprodinil	83.8	-0.0115	C14H15N3	60190.5
17.5911	Diisobutyl phthalate	80.4	-0.0091	C16H22O4	9172.2
19.3861	Di-n-butylphthalate	79.1	-0.0041	C16H22O4	23848.5
12.3195	Flonicamid	76.2	0.0895	C9H6F3N3O	15620.9
10.5067	Cashmeran	75.0	-0.0047	C14H22O	856091.4
23.1969	Bisphenol A	66.3	0.0481	C15H16O2	8318.8
12.1518	Diethyl phthalate	64.1	0.0212	C12H14O4	5271.8
21.6057	Fluopyram	63.5	0.0023	C16H11ClF6N...	3253.0
6.7158	Thymol	62.9	-0.0108	C10H14O	9340.1
4.2246	4-Methylphenol	57.5	0.0254	C7H8O	5343.7
12.6725	Fenobucarb	57.4	-0.1625	C12H17NO2	97667.7
5.3488	2,4-Dimethylaniline	56.0	-0.0678	C8H11N	165309.6
7.8016	Eugenol	52.1	0.0144	C10H12O2	5271.3
38.2830	Cinidon-ethyl	51.6	0.1200	C19H17Cl2NO4	2298.6
4.8384	2,4-Dimethylphenol	51.0	0.1166	C8H10O	2609.5

図 4. RTL 農薬ライブラリでのサンプル 27 の検索結果

図 5 に、抽出物 27 の TIC の一部を示します。緑色は同定された成分で、赤色はフルジオキシソニルの成分です。TIC から、フルジオキシソニルと共溶出するマトリックス干渉の量が非常に大きいことが分かります。

図 6 に、MassHunter Unknowns Analysis でヒットしたもの、この場合はフルジオキシソニルを検査した場合に表示される情報を示します。図 6A は、化合物のプロファイルと、ソフトウェアによってスペクトルの一部として識別されたイオンの EIC とを重ね合わせて表示したものです。すべての EIC の形状と RT が類似しているかを見るために重ね表示を確認します。この場合は類似しています。図 6B のスペクトルは、ピークの成分プロファイルにわたっての生スペクトルの平均です。これは共溶出する化合物からの干渉イオンの程度を示すことを目的としています。このスペクトルは、図 5 の TIC で示唆された多数の干渉を裏付けています。

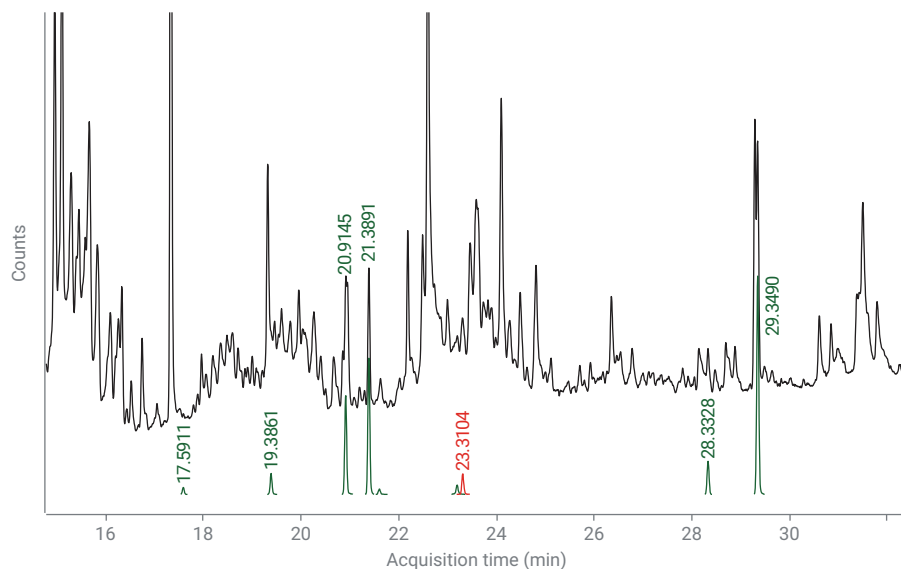


図 5. サンプル 27 の抽出物 (黒色のトレース)、同定された各成分 (緑色のトレース)、フルジオキシソニル成分 (赤色のトレース) の TIC

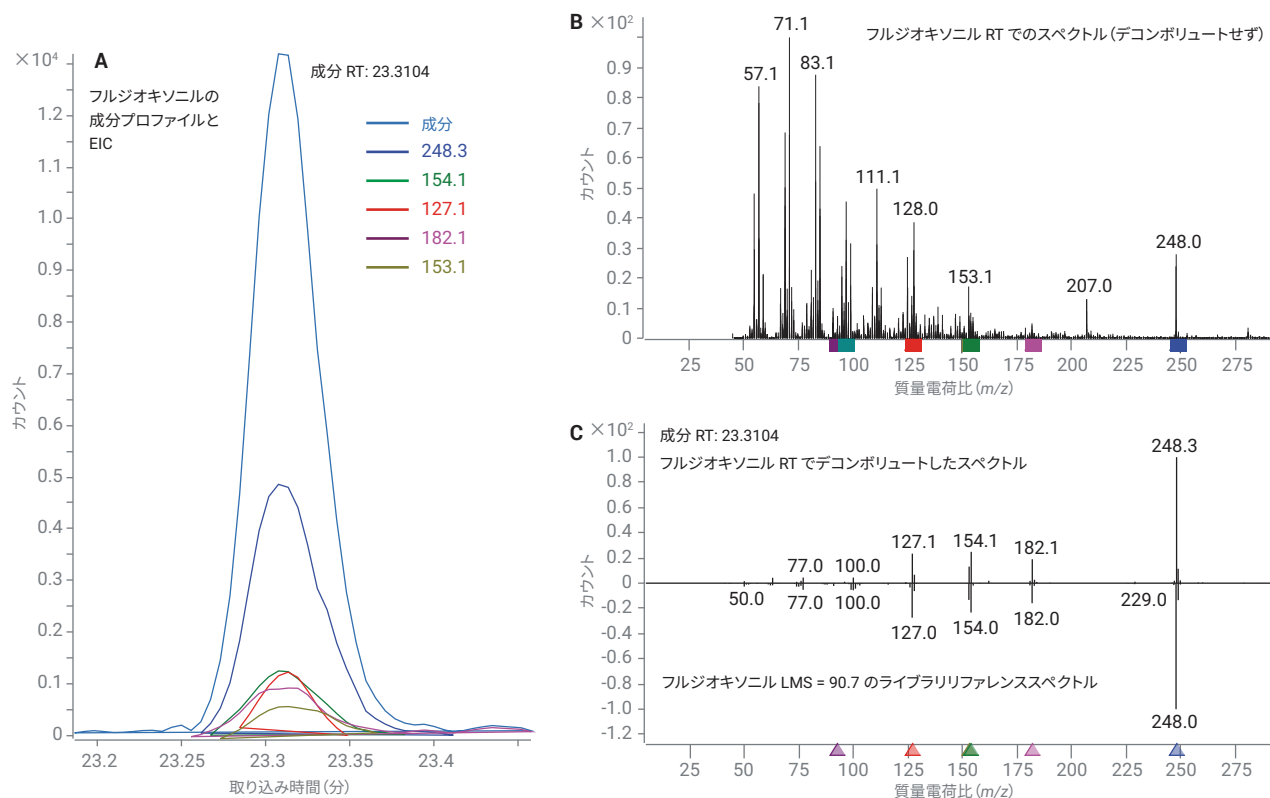


図 6. MassHunter Unknowns Analysis による、抽出物 27 でのフルジオキシソニルの同定

図 6C に、フルジオキシニルの RT で見つかった成分のデコンボリュートしたスペクトルと、ライブラリリファレンススペクトルを反転させたものを比較して示します。デコンボリューションプロセスにより、干渉イオンを除去して、90.7 の高品質 LMS が得られました。

定量の対象化合物のリストを作成するために、MassHunter Unknowns Analysis で見つかったすべてのヒットについて検索プロセスを繰り返し実行しました。LMS、RT 一致、特定化合物の関連の程度など、複数の要素を考慮して、リストに加える化合物を決定しました。ベースピーク面積の項目も、リストに挙がったヒットの相対的なレスポンスの大きさを示すのに有用です。一般的に、LMS スコアが 65 未満の化合物は、関心度が高い化合物でない限り、無視されます。

LMS が最低限のヒットの検査について説明すると、フルジオキシニルは、サンプル抽出物 11 にはサンプル 27 よりも大幅に少ないレベルで存在しています。図 7 に、MassHunter Unknowns Analysis に表示されたヒットのスペクトル情報を示します。成分プロファイル

除いて、EIC の S/N 比の影響をより明確に示しました。このヒットは、スペクトル照合のみだけであれば、おそらく排除されます。しかし、4 個の主要なイオンのうち 3 個はほぼ適切な比で存在し、RT が RTL ライブラリ内の RT の 0.087 分以内に存在するため、このヒットは定量対象の化合物リストに加える価値があります。

スクリーニングスキャンデータ: NIST 17 ライブラリ

1,000 種類以上の化合物の RTL ライブラリは、RT 一致がきわめて良好で検査対象のヒット数が限られるため、スクリーニングに有用です。しかし、新しいサプライヤを評価する場合など、より広い範囲のスクリーニングが望まれる場合があります。

MassHunter Unknowns Analysis は、260,000 以上のスペクトルを含む NIST 17 ライブラリに対してデコンボリュートした化合物を検索するために使用することもできます。NIST 17 には、ここで多くのエントリについて使用したタイプの標準に準ずる非極性カラムにおいて、実験的に測定された RI が含まれ

ています。アルカン RI キャリブレーション混合物を、RTL 農業メソッドで分析し、RI キャリブレーションファイルを作成しました。その後、MassHunter Unknowns Analysis で、デコンボリュートしたスペクトルが NIST 17 全体で検索され、一致した化合物の LMS と RI の値と、存在する場合は NIST RI の値がリスト表示されます。これは非常に優れたツールですが、すべてのマトリックス成分を検索するため、検査対象のヒットリストが膨大な数になる可能性があります。例えば、抽出物 27 のスクリーニングでは LMS 値が >65 のヒットが 400 を超えました。

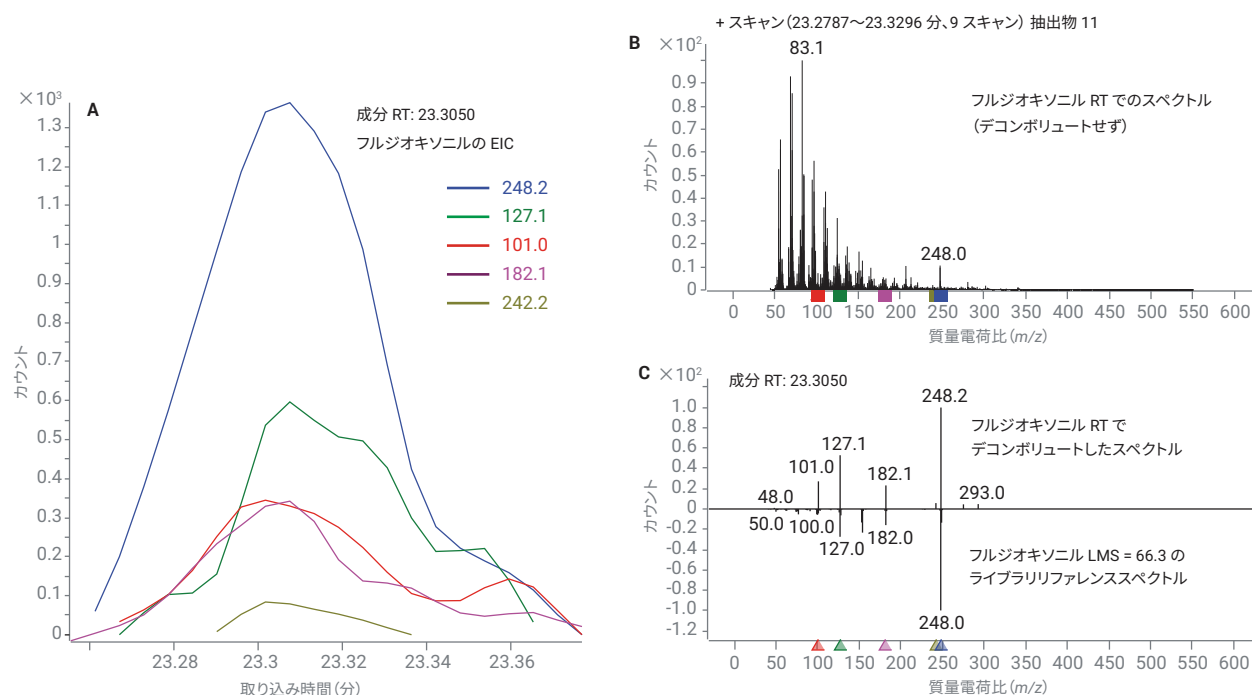


図 7. MassHunter Unknowns Analysis による、抽出物 11 でのフルジオキシニルの同定

図 8 に、抽出物 27 についての NIST 17 からのスクリーニング結果の一部を示します。成分の RI は、炭化水素 RI キャリブレーションを用いて計算しました。ライブラリ RI は、NIST エントリから取得しました。これは、標準非極性相での実験的な RI (利用できる場合)、または分子パラメータから計算した理論値のいずれかです。予測 RI 値の誤差は非常に大きい可能性があるため、後者の有用性は限定的です。

NIST 17 結果のレビューでは、LMS とデルタ RI 値を考慮する必要があります。LMS が高く、RI におけるデルタ RI の割合が小さく、NIST RI が実験によって求められたタイプのものである場合は、その化合物が存在する確かな根拠になります。

NIST 17 スクリーニングは複数の目的を果たすことができます。

- RTL 農業ライブラリスクリーニングによって発見した化合物の同定の確認
- LMS 値に疑問の余地がある RTL スクリーニングヒットの代替の同定の発見
- RTL スクリーニングにないが、関連する可能性がある化学物質の同定

図 8 では、フルジオキシニルが高い LMS 値 (89.9) を示し、2,100 以上という RI と比較してデルタ RI 値 (実験タイプ) がわずか -12 と小さいことから、RTL 農業スクリーニングによって発見された同定を裏付けるものとなっています。

図 4 に、RTL 農業スクリーニングの結果を示していますが、下から 5 番目のエントリのフェノブカルブは LMS 値 (57.4) と RT 一致 (-0.1625 分) の両方が不十分であることが分かります。これらの結果に基づき、フェノブカルブは報告されません。これと同じ成分を NIST 17 で検索すると、図 9 に青色で強調表示されているように、明らかなマトリックス成分に適合する高品質な一致が見つかりました。LMS (93.2) とデルタ RI (15) の両方が、このヒットが正しいことを強く示唆しています。

RTL スクリーニングにはないが関係する可能性がある化学物質の同定の例として、抽出物 13 中の (Z)-13-ドコセンアミドのヒットがあります。これは、LMS 値が 89.1 で、デルタ RI が約 2,700 から 158 外れていました。この化合物は、ポリマーメーカーで一般的に使用され、危険でないと考えられているスリップ剤です。購入したイチゴのプラスチック製の梱包材に由来する可能性があります。

イチゴサンプルの抽出物は、スクリーニングプロセスで見つかった農薬を定量する別の実験³にも使用しました。スクリーニング結果を定量値と比較することによって、スクリーニングプロセスで同定に必要な農薬の量を推定しました。

Components								
Component RT	Compound Name	Match Factor	CAS#	Formula	Component RI	Library RI	Delta RI	Base Peak Area
22.8308	Pentanoic acid	62.3	109-52-4	C5H10O2	2154	904	-1250	4734.9
22.9106	Benzene, (1-methyltridecyl)-	63.1	4534-59-2	C20H34	2158	2007	-151	3630.2
22.9124	Z-Phenylbenzanilide	58.1	7404-97-9	C19H15NO	2158	2554	396	3630.2
23.0005	Octadecanoic acid	74.4	57-11-4	C18H36O2	2163	2172	9	6180.5
23.1969	Phenol, 4,4'-(1-methylethylidene)bis-	66.4	80-05-7	C15H16O2	2175	2108	-67	8318.8
23.2171	Ethanone, 1-(2-thienyl)-	62.6	88-15-3	C6H6OS	2176	1092	-1084	863.5
23.2828	Ethanol, 2-ethoxy-	66.7	110-80-5	C4H10O2	2179	708	-1471	10732.1
23.3104	Fludioxonil	89.9	131341-86-1	C12H6F2...	2181	2169	-12	16413.6
23.4516	Cyanamide, dibutyl-	67.0	2050-54-6	C9H18N2	2189	1210	-979	17456.0
23.4657	6-Amino-1,3,5-triazine-2,4(1H,3H)-dione	76.1	645-93-2	C3H4N4O2	2190	1512	-678	76448.8
23.4672	6-Amino-1,3,5-triazine-2,4(1H,3H)-dione	75.4	645-93-2	C3H4N4O2	2190	1512	-678	76448.8
23.4780	d-Proline, N-methoxycarbonyl-, undecyl ester	80.3	1000320-7	C18H33NO4	2191	2222	31	76448.8
23.5804	1-Hydroxy-2-butanone	74.1	5077-67-8	C4H8O2	2196	798	-1398	42935.4
23.5837	3-(Ethylhydrazono)butan-2-one	79.3	1000194-9	C6H12N2O	2197	1145	-1052	150888.1
23.6310	Pyridin-2-diol, diacetate	71.9	1000153-0	C9H9NO4	2199	1434	-765	18520.8
23.6351	1-[1,2,4]Triazol-1-ylethanone	82.4	15625-88-4	C4H5N3O	2199	988	-1211	40556.0
23.7372	Carbonic acid, eicosyl vinyl ester	66.8	1000382-5	C23H44O3	2205	2497	292	19284.7
23.7509	1-[1,2,4]Triazol-1-ylethanone	77.2	15625-88-4	C4H5N3O	2206	988	-1218	19284.7
23.8284	1-Nonene, 4,6,8-trimethyl-	74.3	54410-98-9	C12H24	2211	1012	-1199	16170.3
23.9030	Cyclopentanone, 2-octyl-	77.6	40566-23-2	C13H24O	2215	1528	-687	12739.3
24.0837	6-Methylcyclohexathiazole	60.3	96963-10-9	C8H11NS	2226	1243	-983	30301.6
24.0862	3,12-Dibora-2,4,11,13-tetraoxatricyclo[12.4.0.0]...	63.0	1000063-4	C16H30B2...	2226			30301.6
24.0999	Phenanthrene, 7-ethenyl-1,2,3,4,4a,5,6,7,8,9,1...	58.3	55255-56-6	C20H32	2227	1902	-325	16173.8
24.1046	Benzyl beta-D-glucoside	70.5	1000126-9	C13H18O6	2227	2461	234	126801.0
24.2760	2-Pyrazoline, 1-isopropyl-5-methyl-	75.6	26964-54-5	C7H14N2	2237	852	-1385	12745.9
24.2983	1,2-Oxaphosphole, 3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-2,5...	57.7	56248-43-2	C11H21O3P	2239			2364.2

図 8. NIST 17 ライブラリに対するサンプル 27 の検索結果リストの一部

Components								
Component RT	Compound Name	Match Factor	CAS#	Formula	Component RI	Library RI	Delta RI	Base Peak Area
12.5084	Phthalic acid, 3,5-dimethylphenyl 4-formylphenyl...	68.2	1000315-7	C23H18O5	1616	3115	1499	1009.2
12.5626	alpha, alpha, alpha, 2-Tetrafluoro-m-tolunitrile	56.5	146070-35-1	C8H3F4N	1618	881	-737	535.1
12.6441	Homovanillic acid	75.8	306-08-1	C9H10O4	1622	1657	35	10789.7
12.6725	Phenol, 4-(3-hydroxy-1-propenyl)-	93.2	3690-05-9	C9H10O2	1624	1639	15	97667.7
12.6736	[1,2,4]Triazole, 4-amino-3-(pyrazol-1-yl)-	58.2	1000316-9	C5H6N6	1624	1481	-143	53907.0
12.7279	Benzoic acid, 4-[(2,4-dimethoxy-6-pentylbenzoyl)...	71.8	5366-08-5	C28H38O7	1627	3603	1976	3341.6
12.7638	n-Propyl cinnamate	91.9	7778-83-8	C12H14O2	1628	1466	-162	588345.3

図 9. NIST 17 ライブラリに対するサンプル 27 の検索結果リストの一部

表 2 に、イチゴ抽出物中で同定され GC で分析可能な農薬、US EPA^{4, 5} が定めたイチゴ中の残留農薬の最大濃度の許容値、およびスクリーニングによる同定に必要な量の推定値を示します。イチゴサンプル中で見つかった農薬はすべて、許容値以下で同定できました。

表 2. 今回のメソッドによる同定で要求される農薬の推定レベル (ppb)

	許容値	同定に要する
化合物	ppb	ppb
アゾキシストロビン	10,000	534
ビフェナゼート	1,500	500
ビフェントリン	3,000	100
ボスカリド	4,500	165
キャプタン	20,000	2,000
カルバリル	4,000	200
cis-1,2,3,6-テトラヒドロフタルイミド	25,000	500
シプロジニル	5,000	100
エトキサゾール	500	100
フェンヘキサミド	3,000	300
フロニカミド	1,500	300
フルジオキシニル	2,000	100
マラチオン	8,000	150
メタラキシル	10,000	100
ミクロブタニル	500	500
ノバルロン	500	500
ピリメタニル	3,000	100
キノキシフェン	900	100
テトラコナゾール	2,500	150
トリフロキシストロビン	1,100	150

結論

Agilent 8890 GC/5977 MSD システムにより、イチゴ中の農薬を同定する実用的な手段を得られます。パルスドスプリットレス注入が、実用的なレベルでの不活性なサンプル移送を実現します。ミッドカラムバックフラッシュによって、分析時間の短縮とカラムトリミング頻度の低減の両方が可能にしています。Agilent MassHunter Unknowns Analysis と自動化されたデコンボリューションおよびライブラリ検索ソフトウェアを用いて、スキャンモードでサンプル抽出物を最初にスクリーニングすることによって、農薬や他の対象の化学物質を短時間で検出することができます。

RTL の使用により、分析結果を他の機器や MS タイプで得られる結果と容易に比較することが可能です。この GC/MSD システムで検出した化合物は、Agilent 農薬および環境汚染 MRM データベースを用いた GC/MS/MS で得た分析結果と比較できます。また、Agilent MassHunter Quantitative Analysis と精密質量農薬パーソナル化合物データベースライブラリ (PCDL) を用いた GC/Q-TOF の分析結果との比較も可能です。複数のプラットフォームを使用することで、食品安全性のニーズに対処するための強力なツールセットを実現できます。

参考文献

1. Westland, J.; Stevens, J. An Optimal Method for the Analysis of Pesticides in a Variety of Matrices. *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5991-7303EN, **2017**.
2. Chen, K.; Nieto, S.; Stevens, J. GC/Q-TOF MS Surveillance of Pesticides in Food. *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5991-7691EN, **2017**.
3. Andrianova, A.; Westland, J.; Quimby, B. Quantitation of Pesticides in Strawberries at Tolerance Levels Established by the US EPA Using Agilent 8890/7000D and 8890/7010B triple quadrupole GC/MS systems. *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5994-0799EN, **2019**.
4. 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**.
5. 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>

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタマコンタクトセンタ

0120-477-111

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, October 7, 2019
5994-0915JAJP