

# Technical Report

## GC/MS/MS、LC/MS/MSを用いた QuEChERS法による食品中残留農薬の一斉分析

Analysis of Pesticides in Food Matrix using QuEChERS by Triple Quadrupole GC/MS/MS and LC/MS/MS

北野 理基<sup>1</sup>、川名 修一<sup>1</sup>、藤戸 由佳<sup>2</sup>、猪鼻 祐介<sup>1</sup>、荒川 清美<sup>1</sup>、平野 一郎<sup>1</sup>、宮川 治彦<sup>1</sup>

### Abstract:

EURL (European Union Reference Laboratory) より、農薬138成分に対してGC/MS/MSおよびLC/MS/MSを用いた検証結果が報告されています。全138成分の内66成分がトリプル四重極型GC/MS/MS、72成分がトリプル四重極型LC/MS/MSの使用が推奨されています。そこで、各推奨農薬をGCMS-TQ8030とLCMS-8040を用いて分析しました。GC/MS/MSとLC/MS/MSを併用することで、食品中の残留農薬を網羅的に高感度に分析することが可能です。

**Keywords:** ポジティブリスト、残留農薬、QuEChERS法、GC/MS/MS、LC/MS/MS

## 1. はじめに

食の安全に対する関心が高まる中、2006年5月29日にポジティブリスト制度が導入され、国内では現在約800種類の農薬・動物医薬品に対して残留基準および分析法が設定されています。しかし、規制対象成分や残留基準値は国毎に異なっており、食品の輸出入が増加する中で、より迅速でグローバルな対応が求められています。EUでは、Qu (Quick; 速い) E (Easy; 簡単) Ch (Cheap; 廉価) E (Effective; 効果的) R (Ruggedness; 堅牢) S (Safe; 安全) なQuEChERS法を前処理法として用いたGC/MS/MSとLC/MS/MSによる簡易な残留農薬分析法が示されています。

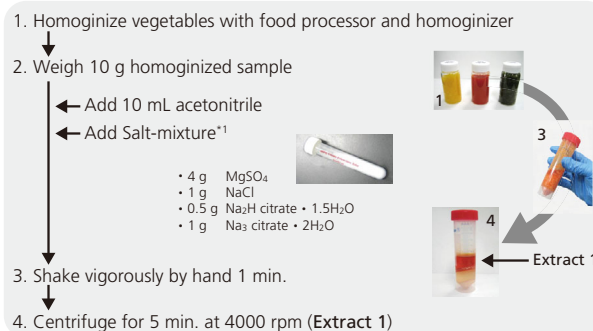
欧州で使用されている主な農薬138成分に対して、GC/MS/MSとLC/MS/MSを用いた評価結果がEURL (European Union Reference Laboratory) より報告されています<sup>\*1</sup>。これらの農薬は欧州各国で測定対象となっている農薬を広くカバーしており、各国での測定メソッド作成における一つの指標となっています。今回の農薬138成分のうち66成分についてはトリプル四重極型GC/MS/MS、72成分についてはトリプル四重極型LC/MS/MSを測定法として推奨されています。そこで本レポートでは、それぞれの推奨成分をGCMS-TQ8030とLCMS-8040で分析した結果をご紹介します。

## 2. 方法

QuEChERS法は、2003年にAnastassiadesらによって発表された残留農薬分析の前処理方法です。ポリプロピレンチューブ内でアセトニトリル抽出・塩析・脱水を行った後、遠心分離した抽出溶液に固相抽出に用いる充填剤を直接混合(分散固相抽出: dispersive SPE)しクリーンアップするという迅速で簡易な手法であることから、現在世界中で広く利用されており、日本国内におい

ても普及しつつあります。今回、マトリックスとしてニラ・パプリカを用意し、これらの野菜サンプルについてQuEChERS法で前処理を行い(Fig. 1)、測定に用いました。

### Step 1 : Sample Extraction



### Step 2 : Sample Cleanup

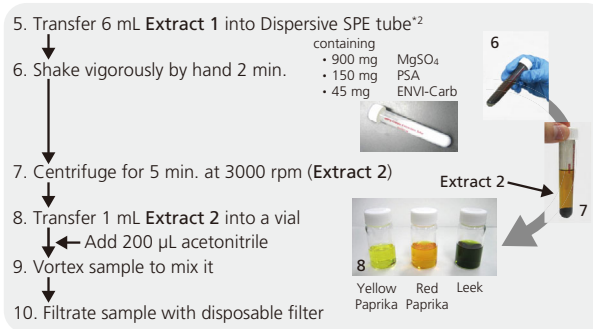


Fig. 1 実サンプルの前処理 (QuEChERS法 EUメソッド)

\*1 EURL「Multiresidue Method using QuEChERS following by GC-Qq/MS/MS and LC-Qq/MS/MS for Fruits and Vegetables」

### 3. GC/MS/MSによるMRM測定

EURLがGC/MS/MSによる測定を推奨している農薬リストをFig. 2に示します。これらの66成分を、GCMS-TQ8030を用いてTable 1に示す測定条件で分析を行いました。これらの条件およびモニタリングm/zは、EURLの報告を基に作成しました。

Fig. 3に66成分の中の6成分のMRMマスキロマトグラムを示します。<10 ppbにおいても高感度で分析できていることが確認できます。また、1 ppbの微量試料においても、高いS/Nで検出できていることがわかります。さらに、パブリカの抽出溶液に農薬を10 ppbとなるように添加した試料を、GCMS-TQ8030のSIMモードおよびMRMモードで分析を行いました。SIMモードではCIDガスのArが無い状態で、その他条件はTable 1と同じ条件を用いました。それぞれの分析結果の比較をFig. 4に示します。SIMモードでは、選択的なイオンを選択しても、マトリックスの影響でターゲットを検出することが困難な場合があります。一方MRMモードでは、質量分離部の高選択性からマトリックスの影響を大幅に取り除くことができ、ターゲットを高感度に分析することが可能でした。

GC/MS/MSを用いることで、微量成分も高感度に分析することが可能となりますが、その分析精度も同時に求められます。そこで同様に、パブリカの抽出液に農薬を10 ppbとなるように添加し、各成分の繰り返し面積再現性(n=6)を算出したところ、全成分において良好な結果が得られました。

GCMS-TQ8030を用いることで、GC/MS/MS推奨化合物の全66成分について、高感度かつ信頼性の高い分析が可能であることがわかりました。

GC/MS/MS推奨化合物 (66成分)

Acrinathrin	Endosulfan	Myclobutanil	Tebufenpyrad
Bifenthrin	Ethion	Oxadixyl	Tefluthrin
Bromopropylate	Etofenprox	Parathion	Tetraconazole
Bupirimate	Etoprofos	Parathion-methyl	Tetradifon
Buprofezin	Fenarimol	Pendimethalin	Tolclofos-methyl
Captan	Fenazaquin	Permethrin	Tolyfluandil
Chlorfenvinphos	Fenitrothion	Phenthoate	Triazophos
Chlorotalonil	Fenpropathrin	Phosalone	Trifluralin
Chlorpropham	Fenthion	Pirimicarb	Vinclozolin
Chlorpyrifos	Fenvalerate	Pirimiphos-methyl	
Clorpyrifos-methyl	Fipronil	Procymidone	
Cyfluthrin	Flusilazole	Profenofos	
Cypermethrin	Folpet	Propiconazole	
Cyprodinil	Iprodione	Propyzamide	
Deltamethrin	λ-Cyhalothrin	Pyridaben	
Diazinon	Malathion	Pyrimethanil	
Dichlofuanid	Mepanipyrim	Pyriproxyfen	
Dichloran	Metalaxyl	Tauflualinate	
Diphenylamine	Methidathion	Tebuconazole	

Fig. 2 GC/MS/MS推奨化合物

Table 1 GC/MS/MS分析条件

GC/MS/MS	: GCMS-TQ8030
Column	: Rxi-5Sil MS (30 m × 0.25 mm I.D., df = 0.25 μm, Restek)
<b>GC condition</b>	
Column Temp.	: 70 °C (2 min) – (25 °C/min) – 150 °C – (3 °C/min) – 200 °C – (8 °C/min) – 280 °C (10 min)
Carrier Gas	: He (Constant Linear Velocity Mode)
Carrier Gas Velocity	: 58 cm/sec
Injection Mode	: Splitless
Sample Injection	
Volume	: 1 μL
<b>MS condition</b>	
Interface Temp.	: 250 °C
Ion Source Temp.	: 230 °C
Data Acq. Mode	: SIM, MRM

(MRMについてはEURL推奨のTransitionを使用)

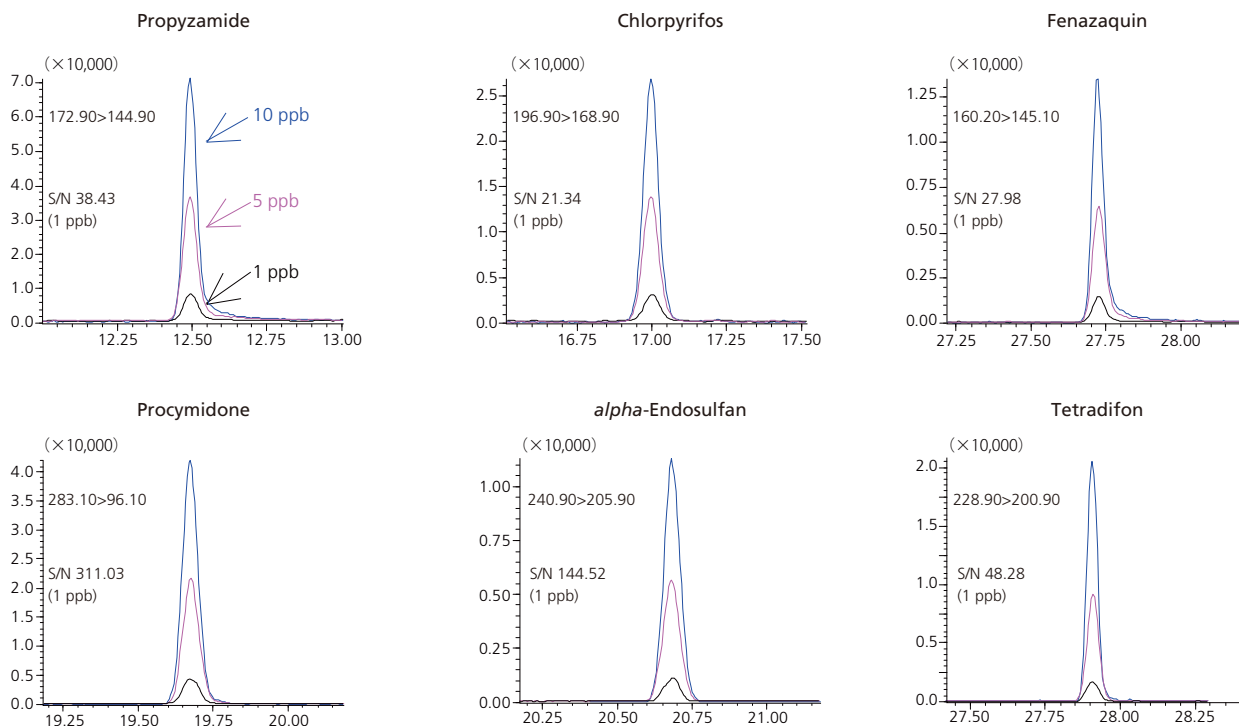


Fig. 3 代表的な農薬6成分のMRMマスキロマトグラム

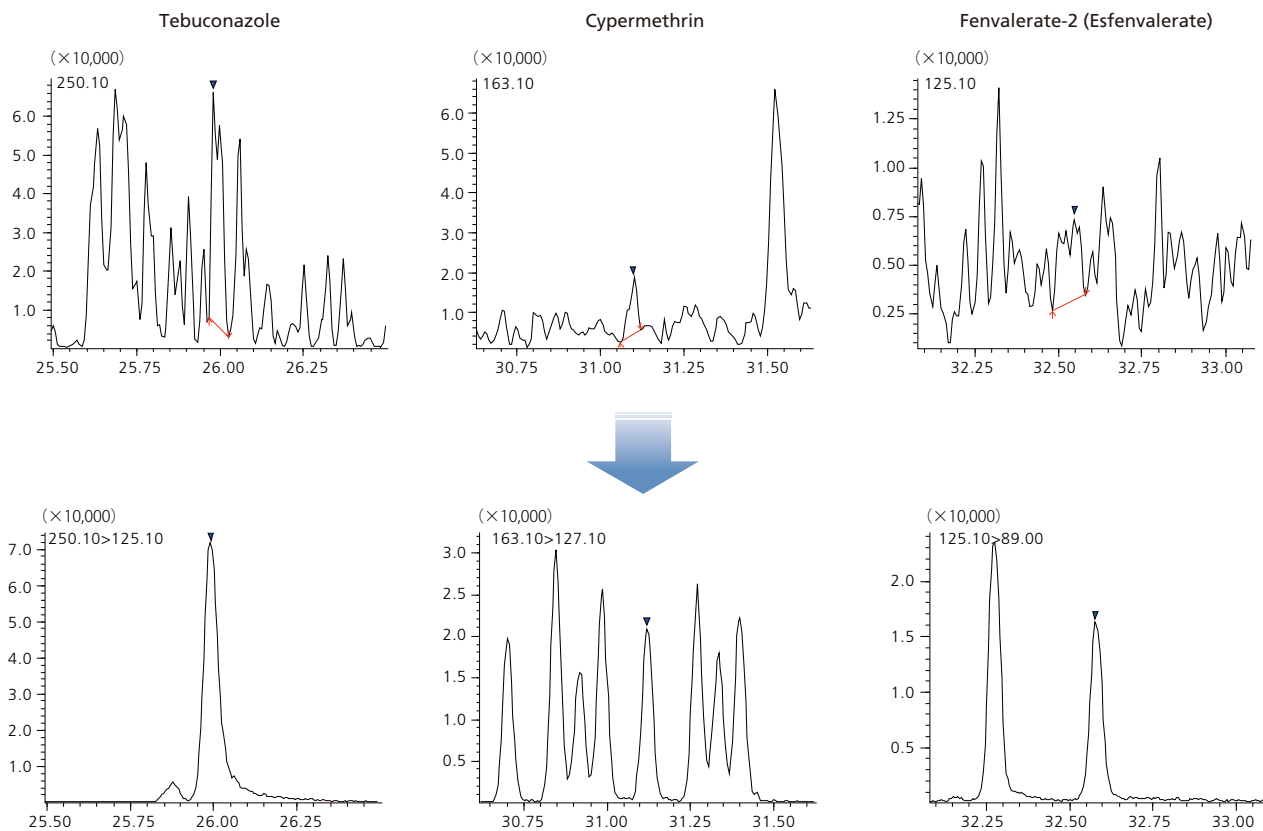


Fig. 4 SIMとMRMのマスククロマトグラムの比較

Table 2 パプリカ抽出液に添加した各農薬 (10 ppb) の繰り返し面積再現性 (n=6)

Compound Name	%RSD	Compound Name	%RSD	Compound Name	%RSD	Compound Name	%RSD
Diphenylamine	4.99	Chlorpyrifos	5.23	Buprofezin	4.92	Fenarimol	5.16
Ethoprophos	4.95	Fenthion	5.75	Bupirimate	5.47	Acrinathrin	2.03
Chlorpropham	6.26	Parathion	6.93	beta-Endosulfan	6.29	Permethrin-1	6.34
Trifluralin	5.33	Tetraconazole	6.96	Oxadixyl	5.74	Pyridaben	7.11
Dicloran	6.49	Pendimethalin	6.29	Ethion	6.18	Permethrin-2	6.24
Propyzamide	5.52	Cyprodinil	5.21	Triazophos	3.45	Cyfluthrin-1	4.44
Chlorothalonil	4.46	(E)-Chlorfenvinphos	5.35	Endosulfansulfate	4.26	Cyfluthrin-2	3.77
Diazinon	5.45	Tolylfluanid	4.81	Propiconazole-1	6.02	Cyfluthrin-3	7.35
Pyrimethanil	3.18	Fipronil	6.76	Propiconazole-2	5.56	Cyfluthrin-4	8.19
Tefluthrin	5.13	Captan	5.74	Tebuconazole	7.59	Cypermethrin-1	8.58
Pirimicarb	5.00	(Z)-Chlorfenvinphos	5.52	Iprodione	1.72	Cypermethrin-2	3.71
Chlorpyrifos-methyl	5.27	Phenthoate	6.40	Bromopropylate	5.71	Cypermethrin-3	8.08
Vinclozolin	6.33	Folpet	6.56	Bifenthrin	5.29	Cypermethrin-4	2.48
Parathion-methyl	5.81	Procymidone	6.40	Fenpropathrin	4.00	Ethofenprox	5.03
Tolclofos-methyl	4.89	Methidathion	6.17	Fenazaquin	4.84	Fenvalerate-1	4.20
Metalaxyl (Mefenoxam)	5.43	alpha-Endosulfan	6.27	Tebufenpyrad	5.62	tau-Fluvalinate-1	2.16
Fenitrothion	5.10	Mepanipirim	6.41	Tetradifon	6.09	Fenvalerate-2	5.65
Pirimiphos-methyl	5.35	Profenofos	5.92	Phosalone	5.90	tau-Fluvalinate-2	2.14
Dichlofluanid	4.04	Myclobutanil	5.46	Pyriproxyfen	5.16	Deltamethrin-1	7.58
Malathion	6.31	Flusilazole	5.63	lamda-Cyhalothrin	5.38	Deltamethrin-2	7.32

## 4. LC/MS/MSによるMRM測定

LC/MS/MSにおいても同様に、推奨72成分のMRM一斉分析を行いました。LC/MS/MS推奨化合物をFig. 5に、分析条件をTable 3に示します。イオン化法はエレクトロイオンスプレーイオン (ESI) 化法を用い、正負イオン化同時測定を行いました。

Fig. 6に代表的な農薬2成分の検量線とMRMマスクロマトグラムを示します。1-1000 ppbの範囲で十分な直線性が得られました。さらに、QuEChERS法で前処理を行ったニラ、パプリカの抽出液にLC/MS/MS推奨の農薬72成分を添加した試料(添加濃度5 ppb)を分析し、回収率を算出しました。Fig. 7に各溶液中の農薬の繰り返し再現性および回収率を示します。QuEChERS法は簡易前処理法であるため、マトリックス中には多くの夾雑成分を含んでいると考えられますが、いずれのマトリックスにおいても約80-90%の農薬が良好な回収率を示しました。なお、マトリックスに添加した農薬のうち、回収率が120%を上回る化合物がいくつか確認されましたが、これらはマトリックスブランクでも検出されていることが確認されました。しかし、これらマトリックスブランクで検出された農薬は、Table 4に示すとおり、定量値はいずれも最大残留基準値(Maximum Residue Levels=MRLs)以下の値となりました。

LCMS-8040を用いることで、LC/MS/MS推奨成分について、正負イオン化同時測定を用いた高感度かつ高い回収率の分析が可能であることが分かりました。

また、GC/MS/MS推奨化合物を含めた全138成分について、LCMS-8040を用いた分析も行いました。詳細は、弊社 Technical Report<sup>※2</sup>をご参照ください。

LC/MS/MS推奨化合物 (72成分)			
Acephate	Epoxiconazole	Linuron	Spinosad
Acetamiprid	Fenbutatin oxide	Lufenuron	Spiroxamine
Aldicarb	Fenbuconazole	Metconazole	Tebufenozide
Amitraz	Fenhexamid	Methamidophos	Teflubenzuron
DMF, DMPF	Fenoxycarb	Methiocarb	Thiabendazole
Azinphos-methyl	Fenpropimorph	Methomyl	Thamethoxam
Azoxystrobin	Fenthion sulfoxide	Methoxyfenozide	Thiacloprid
Bitteranol	Fludioxylin	Monocrotophos	Thiophanate-methyl
Boscalid	Flufenoxuron	Oxamyl	Triadimenol
Cadusafos	Fluquinconazole	Oxydemeton-methyl	Triadimenol
Carbaryl	Flutriafol	Paclobotrazole	Trichlorfon
Carbendazim	Formetanate	Pencycuron	Trifloxystrobin
Carbofuran	Fosthiazate	Penconazole	Triflumuron
Clorfentezin	Hexaconazole	Phosmet	Triticonazole
Clothianidin	Hexythiazox	Pyraclostrobin	Zoxamide
Cyproconazole	Imazalil	Prochloraz	
Dichlorvos	Imidacloprid	Propamocarb	
Difenoconazole	Indoxacarb	Propargite	
Dimethoate	Iprovalicarb	Prothioconazole	
Dimethomorph	Kresoxim-methyl	Quinoxifen	

Fig. 5 LC/MS/MS推奨化合物

Table 3 LC/MS/MS分析条件

HPLC: Nexera UHPLC system	
Column	: Shimpack-XR ODS II (75 mm × 2 mm.I.D., 2.2 μm)
Mobile phase A	: 2 mM ammonium formate containing 0.1% formic acid - water
Mobile phase B	: Methanol
Gradient program	: 5% B (0-2.5 min.) → 55% B (2.51-6 min.) → 80% B (6.01-12 min.) → 100% B (12-15 min.) → 5% B (15.01-20 min.)
Flow rate	: 0.2 mL / min.
Oven temperature	: 40 °C
LC/MS/MS: LCMS-8040	
Ionization	: ESI (Positive / Negative)
Ion spray voltage	: +4.5 kV / -3.5 kV
MRM	: 276 MRM transitions (2 MRMs / compound)
	: Dwell time 5 msec. / Pause time 1 msec.

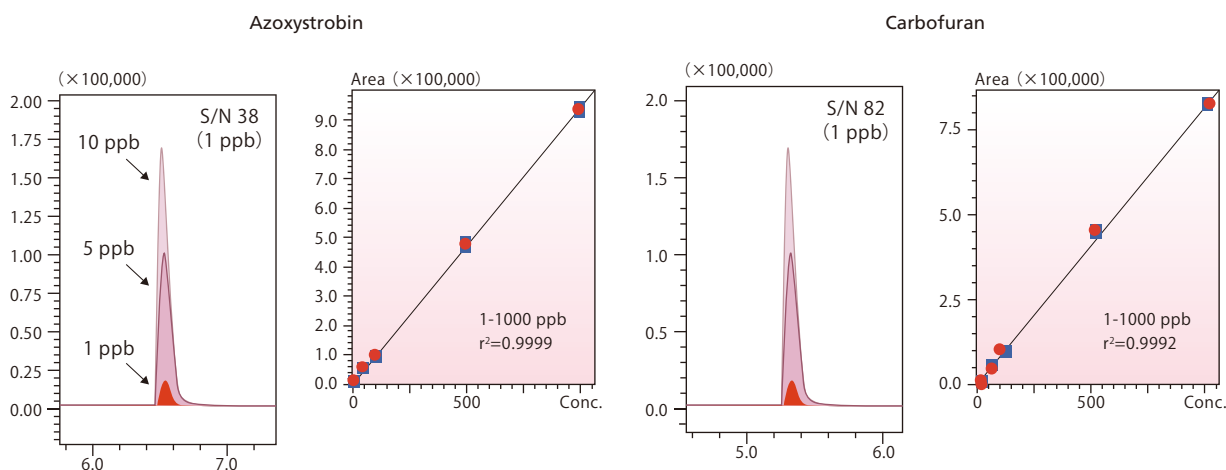


Fig. 6 代表的な農薬2成分のMRMマスクロマトグラムと検量線

※2 Technical Report「LC/MS/MSを用いたQuEChERS法による食品中残留農薬の一斉分析」(C146-2101)  
<http://www.an.shimadzu.co.jp/hplc/prominence/tec.htm>

Compounds	Leek		Paprika		Compounds	Leek		Paprika	
	%RSD	Recovery (%)	%RSD	Recovery (%)		%RSD	Recovery (%)	%RSD	Recovery (%)
Acephate	7.00	87	10.89	81	Indoxacarb	6.45	98	4.93	84
Acetamiprid	2.87	83	2.29	88	Iprovalicarb	2.20	95	3.15	90
Aldicarb	4.63	76	3.59	90	Kresoxim-methyl	5.97	171	8.83	95
Amitraz	1.62	80	2.10	74	Linuron	7.66	59	4.87	91
Azinphos-methyl	1.62	73	2.89	94	Lufenuron	13.51	103	11.99	87
Azoxystrobin	2.90	162	2.21	106	Methamidophos	5.55	102	3.17	104
Bitertanol	16.03	104	6.59	108	Methiocarb	3.92	71	3.30	87
Boscalid	13.79	77	10.08	111	Methomyl	3.30	97	2.05	90
Cadusafos	2.29	92	1.75	87	Methoxyfenozide	2.75	98	3.41	91
Carbaryl (NAC)	2.20	83	3.93	79	Monocrotophos	4.96	91	5.69	93
Carbendazim	1.13	90	1.05	87	Oxamyl	1.20	95	2.30	90
Carbofuran	1.85	92	1.12	91	Oxydemeton methyl	1.93	100	18.96	82
Clorfentezin	4.07	80	2.95	83	Pacrobutrazole	3.92	83	8.29	87
Clothianidin	3.47	622	6.12	116	Penconazole	3.66	89	3.97	88
Cyproconazole	7.98	98	5.41	105	Pencycuron	3.77	92	2.66	89
Dichlorvos	16.13	37	5.16	42	Prochloraz	4.90	78	3.23	87
Difenoconazole	9.23	99	7.45	98	Propamocarb	2.74	86	2.62	83
Dimethoate	3.79	83	2.94	90	Propargite	1.59	85	1.62	91
Dimetomorph	4.81	94	3.22	92	Pyraclostrobin	6.46	101	4.90	118
Epoxiconazole	2.27	88	0.70	88	Quinoxifen	11.08	73	11.21	90
Fenbutatin oxide	10.76	77	6.31	100	Spinosad A	1.89	104	3.56	93
Fenhexamid	7.71	88	6.99	100	Spiroxamine	1.86	82	1.74	86
Fenoxycarb	2.20	87	2.57	84	Tebufenozide	1.41	100	1.39	97
Fenpropimorph	4.27	92	3.16	94	Teflubenzuron	8.02	110	5.85	89
Fenthion sulfoxide	2.90	82	1.87	91	Thiabendazole	7.85	80	5.24	81
Fludioxonil	1.33	11439	10.27	82	Thiacloprid	3.35	50	2.00	90
Flufenoxuron	4.34	64	5.55	76	Thiamethoxam	7.89	88	4.36	121
Fluquinconazole	8.28	71	6.13	85	Thiophanate-methyl	5.80	103	2.37	123
Flutriafol	5.00	38	2.25	80	Triadimenol	4.13	118	9.26	99
Formetanate	2.55	92	0.71	93	Trichlorfon	11.22	72	9.69	110
Fosthiazate	1.85	91	2.50	95	Trifloxystrobin	3.49	98	3.47	91
Hexaconazole	5.83	81	4.02	91	Triflumuron	6.31	72	5.89	77
Hexythiazox	1.33	72	2.44	79	Triticonazole	10.01	85	15.46	92
Imazalil	4.65	94	5.40	92	Zoxamide	4.77	88	1.63	80
Imidacloprid	7.69	76	5.44	105					

Fig. 7 野菜抽出溶液(ニラ・パプリカ)に添加した各農薬(5 ppb)の繰り返し面積再現性(n=6)および回収率

Table 4 農薬4成分の定量結果(サンプル:ニラ)

	Azoxystrobin	Clothianidin	Fludioxonil	Kresoxim-methyl
5ppb standards spiked	8.19 ppb	25.78 ppb	556.58 ppb	9.63 ppb
Matrix blank	3.77 ppb	21.39 ppb	550.92 ppb	2.94 ppb
MRL (Japan)	5 ppm	15 ppm	10 ppm	30 ppm

## 5. 結論

EURLによる報告における農薬138成分について、GCMS-TQ8030とLCMS-8040を用いることで全ての農薬について高感度分析できることが分かりました。QuEChERS法はGC/MS/MSおよびLC/MS/MSにおける共通の前処理方法であり、幅広い農薬を抽出することが出来るため、両機種を併用して分析を行うことが有用であると言えます。

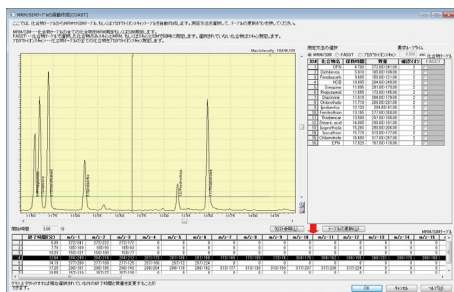
# GCMS-TQ8030

—Speed Beyond Comparison



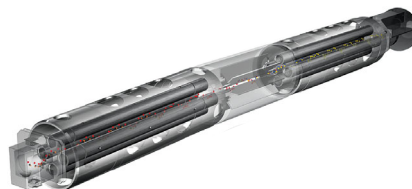
## ■優れた操作性

COAST機能 (MRM、SIM自動作成機能) はデータを確認しながら、タイムプログラムの設定が可能です。多彩な測定モードに対応した最適な分析条件を簡単に設定することができます。



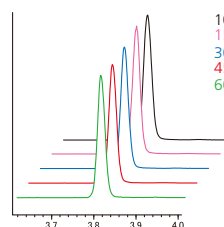
## ■高感度・高選択性

マトリックスを多く含む試料に対しては、GC-MS/MSによるMRM測定が有効です。2段階の質量分離を行うため、従来のスキャンモードやSIMモードでは分離できない成分も分離して検出することが可能です。



## ■高速性

UFsweeper®は、コリジョンセルを必要最小限の長さに抑えつつ、高いCID効率とイオンの高速搬送を実現した島津独自の技術です。高速測定においても信号強度の低下やクロストークの発生を防ぎます。



MRM/sec	%RSD
100	1.06%
150	1.13%
300	0.60%
450	0.62%
600	1.32%

MRMトランジション数と再現性  
Quetiapine-TMS  $m/z$  321 > 211

# LCMS-8040

—Enhanced Sensitivity



## ■高速性

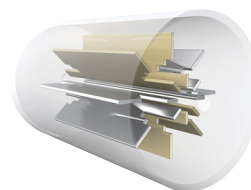
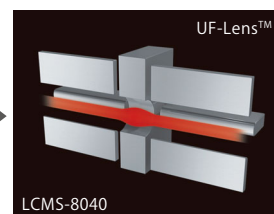
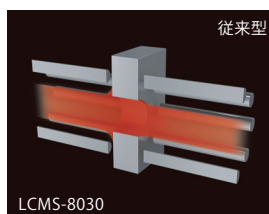
LCMS-8030をベースにリリースした各種メソッドパッケージの条件もそのままLCMS-8040で利用できます。脱溶媒管 (Desolvation Line: DL)、ESIキャピラリーなどの消耗品もすべて共通です。LabSolutionsの使用経験さえあれば、まったく違和感なくLCMS-8040をお使いいただけます。

## ■操作性の継承

LCMS-8030の超高速性をそのまま継承し、最高555 ch/sec (最小Dwell Time 1 msec、最小Pause time 1 msec) の超高速MRM測定、正負イオン化切替時間15 msecの超高速正負イオン化切替測定、最高15000 u/secの超高速スキャン測定が可能です。

## ■高感度

UF-Lens™とUFsweeper® II コリジョンセルの組み合わせにより Multiple Reaction Monitoring : MRM感度 (当社比: レセルピンのS/N) で5倍の向上を実現、またトリプル四重極型質量分析計で可能なすべてのスキャンモード測定時においても感度向上を実現し LC/MSアプリケーションの領域を広げます。



# 株式会社 島津製作所

分析計測事業部 <http://www.an.shimadzu.co.jp/>

本資料の掲載情報に関する著作権は当社または原著者に帰属しており、権利者の事前の書面による許可なく、本資料を複製、転用、改ざん、販売等することはできません。掲載情報については十分検討を行っていますが、当社はその正確性や完全性を保証するものではありません。また、本資料の使用により生じたいかなる損害に対しても当社は一切責任を負いません。本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。

初版発行：2013年5月  
© Shimadzu Corporation, 2013