

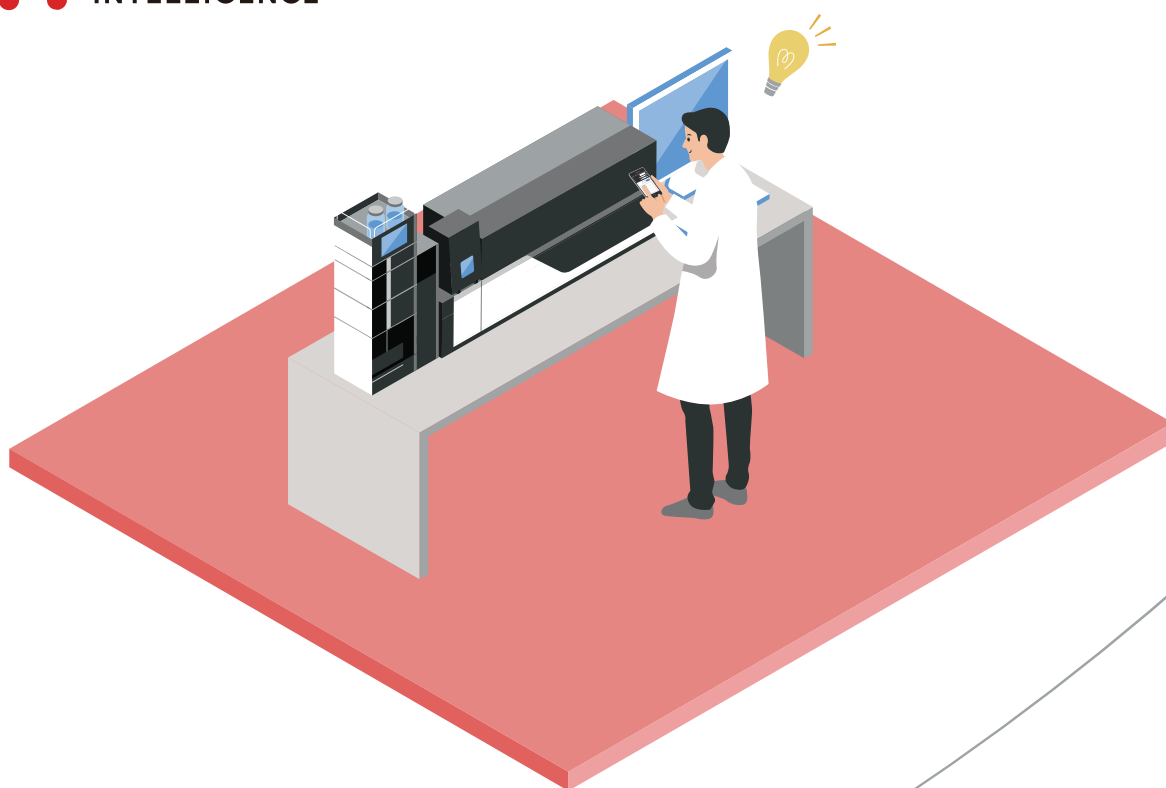
新しいワークスタイルを提案する

Solutions for New Work Style

LCMS 食品の安全 アプリケーション集



ANALYTICAL
INTELLIGENCE



おはようございます。

「Analytical Intelligence」機能を備えた
島津LCMSによって
新しい分析ラボでの1日が始まります。



**ANALYTICAL
INTELLIGENCE**

島津LCMSとNexera™シリーズを組み合わせることで
「Analytical Intelligence」機能を備えたシステムが、
分析準備から解析まで新しいワークスタイルを提供します。

ベストな状態ですぐに分析開始

Nexeraシリーズでは、スマートスタートアップ、カラムに優しいFlowPilot機能、移動相残量モニタリング機能など、種々のAnalytical Intelligence機能が分析のクオリティを支えます。

[#熟練者の手作業を自動化：FlowPilot（動画）](#) ➡

[# 連続分析中に移動相を枯渇させない移動相モニター](#) ➡



サンプル前処理での負荷を軽減

Nexera オートサンプラ SIL-40シリーズの様々な機能を活用して、サンプル前処理の負荷を軽減することができます。グラフィカルな画面で簡単に設定でき、共注入や誘導体化などの前処理の負荷軽減、精度向上が可能です。

[# オートサンプラ SIL-40 シリーズ：機能紹介](#) ➡



分析中のトラブルを自ら判断し、解決

分析中にトラブルが発生した場合、システムがその問題を検知して、正常状態へ復帰させることができます。

[#万が一に備えて、常に自らを監視：自己診断・自己復帰（動画）](#) ➡



分析とデータ解析を 無人化できる ソフトウェア

MS条件の最適化から定量解析までの一連の流れの自動化を実現し、業務効率を最大限高めます。



#MRM最適化～定量計算までをシームレスに実行：
[LabSolutions Connect MRM](#) ➔

多様な働き方への対応

自宅のPCからVPN接続でラボのLabSolutions CSサーバーにアクセスし、サーバーにあるデータの解析やレポート作成を行うこともできます。



#いつでも、どこからでも
ラボの状況を一括モニター ➔



残留農薬分析

- LC/MS/MS による農薬分析を支援: Shimadzu Pesticide MRM Library (C135) >>
- LCMS-8060 を用いた残留農薬646 成分高速一斉分析 (C136) >>
- ハチミツ中に極微量含まれるネオニコチノイド、フィプロニルおよび代謝物の高速定量分析 (C140) >>
- 残留農薬のルーチン分析におけるデータ信頼性向上に向けたMRM スペクトルモードおよびライブラリ検索の応用 (C154A) >>
- SFC/MS による食品中高極性農薬の定量分析 (C162) >>
- STQ 法とLC-MS/MS を組み合わせた農作物中の残留農薬高速一斉分析 (C170) >>
- トリプル四重極LC/MS/MSを用いた残留農薬の分析(その1:大豆中) (C207) >>
- トリプル四重極LC/MS/MSを用いた残留農薬の分析(その2:野菜抽出液) (C208) >>

動物用医薬品分析

- トリプル四重極型LC/MS/MS を用いた動物用医薬品のスクリーニング分析 (C99) >>
- MRM スペクトルモードを用いた残留動物用医薬品の一斉分析 (C161) >>
- 食肉、卵、牛乳中のアミノグリコシド系抗生物質の高速定量分析とMRM スペクトルを用いた化合物同定 (C175) >>
- トリプル四重極型LC/MS/MS を用いたエビおよび鶏卵抽出液中のクロラムフェニコール分析 (C199) >>
- トリプル四重極型LC/MS/MSを用いた牛乳および鶏卵抽出液中のクロルプロマジン分析 (C202) >>

自然毒分析

- トリプル四重極型LC/MS/MS を用いた小麦中のデオキシニバレノール関連物質4 成分の一斉分析 (C103) >>
- トリプル四重極型LC/MS/MS を用いた下痢性貝毒の分析 (C104) >>
- かび毒 規制18 成分のLC/MS/MS による一斉分析 (C138) >>
- かび毒規制18 成分のLC/MS/MS による一斉分析(2) (C165) >>
- トリプル四重極型LC/MS/MS を用いた下痢性貝毒(オカダ酸群)の分析 (C200) >>

食品添加物分析

- トリプル四重極型 LC/MS/MS を用いた甘味料9 成分の同時一斉分析 (C121) >>
- トリプル四重極型 LC/MS/MS を用いた甘味料16 成分の同時一斉分析 (C133) >>

アレルゲン分析

- クミンおよびスパイスミックス中におけるピーナッツアレルゲン物質Ara h1 の高感度分析 (C141) >>
- 高感度LC/MS/MS による食品中アレルゲンの一斉分析 (C160) >>

食品偽装

- LDTD-MS/MS による粉ミルク中メラミンの超高速分析 (C164) >>

劣化解析

- フードメタボロミクスLC/MS/MSを用いた酒類の劣化解析 (C203) >>

LC/MS/MS による農薬分析を支援：
Shimadzu Pesticide MRM Library

Shimadzu Pesticide MRM Library Support for LC/MS/MS [LCMS-8050, LCMS-8060]

近年増加している LC/MS/MS を用いた分析業務を支援するため、Shimadzu Pesticide MRM Library（農薬 766 成分 MRM 情報リスト）を作成しました。

本ライブラリは、農薬 766 成分の標準品を使って作られ、LCMS-8050 と LCMS-8060 を用いて検証されました。

本ライブラリには、以下の情報が含まれます。

- ・ 計 6000 個以上の MRM トランジション
 - － 1 成分あたり平均 8 MRM トランジション
 - － 最適化されたコリジョンエネルギー、電圧値
- ・ 化合物名（日・英・中）、CAS 番号、化学式、用途、モノアイソトピック質量、付加イオン質量、MRM トランジションのランク、別名、InChI、InChIKey、様々なウェブサイトへのリンク情報（alanwood.net, PAN pesticide database, Chemical Book, ChemSpider）など

本ライブラリは、効率的な新規メソッド作成だけでなく、農薬の特性を調べる際にも、お役立ていただけます。

David R. Baker Alan Barnes Neil Loftus
N. Asano Y. Uno T. Tanigawa

■ Shimadzu Pesticide MRM Library の使い方

Using the Shimadzu Pesticide MRM Library

ライブラリから、対象農薬とトランジションを選び、必要なパラメータを LabSolutions LCMS のメソッドにコピー & ペーストしていただくだけで、複数成分を対象とした一斉分析メソッドはもちろん、対象成分を絞った分析用のメソッドも効率的に作成することができます。

ライブラリの MRM トランジションは標準試料を用いて最適化されたものなので、スクリーニング分析や定量分析をすぐに始めていただけます。

Table 1 Shimadzu Pesticide MRM Library
農薬 766 成分の情報が含まれます。メソッド作成と農薬の情報検索にお役立ていただけます。
The Shimadzu Pesticide MRM Library supports a list of 766 compounds. Designed to build extended LC/MS/MS methods quickly and to review pesticide information easily.

ライブラリに含まれる情報	
化合物情報	化合物名(日・英・中) 別名 CAS番号 化学式 モノアイソトピック質量 各イオン種([M + H] ⁺ , [M + Na] ⁺ , [M + K] ⁺ , [M + NH ₄] ⁺ , [M - H] ⁻)の理論値 用途 InChI InChIKey
MSパラメータ	イオン化モード Q1 (m/z) Q3 (m/z) Q1 Pre Bias コリジョンエネルギー Q3 Pre Bias
ウェブサイトへのリンク	Alanwood.net PAN Pesticide Database Chemical Book ChemSpider

	化合物名	CAS番号	分子式	分子量	[M + H] ⁺	[M - H] ⁻	イオン化モード	MRM トランジション 数
1	(E)-Fenpyroximate	134098-61-6	C24H27N3O4	421.2002	422.2075	420.1929	ESI+	6
2	(E)-Ferimzone	89269-64-7	C15H18N4	254.1531	255.1604	253.1458	ESI+	2
3	(Z)-Fenpyroximate	149054-53-5	C24H27N3O4	421.2002	422.2075	420.1929	ESI+	2
4	(Z)-Ferimzone	89269-64-7	C15H18N4	254.1531	255.1604	253.1458	ESI+	6
5	1-(3, 4-Dichlorophenyl)-3-methylurea	3567-62-2	C8H8Cl2N2O	218.0014	219.0087	216.9941	ESI+	19
6	1-(3, 4-Dichlorophenyl)urea	2327-02-8	C7H6Cl2N2O	203.9857	204.9930	202.9784	ESI+	17
7	1-(4-Isopropylphenyl)-3-methylurea	34123-57-4	C11H16N2O	192.1263	193.1336	191.1190	ESI+	6
8	1-(4-Isopropylphenyl)urea	56046-17-4	C10H14N2O	178.1106	179.1179	177.1033	ESI+	6
9	1-naphthaleneacetamide	86-86-2	C12H11NO	185.0841	186.0914	184.0768	ESI+	4
10	1-Naphthaleneacetic Acid	86-87-3	C12H10O2	186.0681	187.0754	185.0608	ESI-	1
11	2, 4, 5-T	93-76-5	C8H5Cl3O3	253.9304	254.9377	252.9231	ESI-	7
12	2, 4, 6-Tribromophenol	118-79-6	C6H3Br3O	327.7734	328.7807	326.7661	ESI+	10
13	2, 4, 6-Trichlorophenol	88-06-2	C6H3Cl3O	195.9249	196.9322	194.9176	ESI-	3
14	2, 4-D (2, 4-PA)	94-75-7	C8H6Cl2O3	219.9694	220.9767	218.9621	ESI-	7
15	2, 4-DB	94-82-6	C10H10Cl2O3	248.0007	249.0080	246.9934	ESI-	5
16	2, 4-dimethylaniline	95-68-1	C8H11N	121.0891	122.0964	120.0818	ESI+	5
17	2, 6-Dichlorobenzamide	2008-58-4	C7H5Cl2NO	188.9748	189.9821	187.9675	ESI+	13
18	2-Naphthoxy acetic acid	120-23-0	C12H10O3	202.0630	203.0703	201.0557	ESI-	2
19	2-Phenylphenol	90-43-7	C12H10O	170.0732	171.0805	169.0659	ESI-	2
20	3-(3-Indolyl)-propionic acid	830-96-6	C11H11NO2	189.0790	190.0863	188.0717	ESI+	6
21	3, 4, 5-Trimethacarb	2686-99-9	C11H15NO2	193.1103	194.1176	192.1030	ESI+	12
22	3-Indolyl-acetic acid	87-51-4	C10H9NO2	175.0633	176.0706	174.0560	ESI+	12
23	3-Methylphosphinopropionic acid	15090-23-0	C4H9O4P	152.0238	153.0311	151.0165	ESI+	12
24	4-(3-Indolyl)-butyric acid	133-32-4	C12H13NO2	203.0946	204.1019	202.0873	ESI+	14
25	4-Chlorophenoxyacetic acid	122-88-3	C8H7ClO3	186.0084	187.0157	185.0011	ESI-	4
26	6-chloro-3-phenylpyridazin-4-ol	40020-01-7	C10H7ClN2O	206.0247	207.0320	205.0174	ESI+	6
27	6-Furfurylaminopurine	525-79-1	C10H9N5O	215.0807	216.0880	214.0734	ESI+	9
28	Acephate	30560-19-1	C4H10NO3PS	183.0119	184.0192	182.0046	ESI+	6
29	Acequinocyl	57960-19-7	C24H32O4	384.2301	385.2374	383.2228	ESI+	6
30	Acetamiprid	135410-20-7	C10H11ClN4	222.0672	223.0745	221.0599	ESI+	10
31	Acibenzolar-S-methyl	135158-54-2	C8H6N2OS2	209.9922	210.9995	208.9849	ESI+	6
32	Acifluorfen	50594-66-6	C14H7ClF3NO5	360.9965	362.0038	359.9892	ESI-	12
33	Aclonifen	74070-46-5	C12H9ClN2O3	264.0302	265.0375	263.0229	ESI+	2
34	Acrinathrin	101007-06-1	C26H21F6NO5	541.1324	542.1397	540.1251	ESI+	12
35	Alachlor	15972-60-8	C14H20ClNO2	269.1183	270.1256	268.1110	ESI+	12
36	Alanycarb	83130-01-2	C17H25N3O4S2	399.1286	400.1359	398.1213	ESI+	6
37	Aldicarb	116-06-3	C7H14N2O2S	190.0776	191.0849	189.0703	ESI+	5
38	Aldicarb-sulfone (Aldoxycarb)	1646-88-4	C7H14N2O4S	222.0674	223.0747	221.0601	ESI+	5
39	Aldicarb-sulfoxide	1646-87-3	C7H14N2O3S	206.0725	207.0798	205.0652	ESI+	8
40	Allethrin	584-79-2	C19H26O3	302.1882	303.1955	301.1809	ESI+	12
41	Allidochlor	93-71-0	C8H12ClNO	173.0607	174.0680	172.0534	ESI+	12
42	Ametoctradin	865318-97-4	C15H25N5	275.2110	276.2183	274.2037	ESI+	6
43	Ametryn	834-12-8	C9H17N5S	227.1205	228.1278	226.1132	ESI+	6
44	Amidosulfuron	120923-37-7	C9H15N5O7S2	369.0413	370.0486	368.0340	ESI+	8
45	Aminocarb	2032-59-9	C11H16N2O2	208.1212	209.1285	207.1139	ESI+	6
46	Aminopyralid	150114-71-9	C6H4Cl2N2O2	205.9650	206.9723	204.9577	ESI+	7
47	Amisulbrom	348635-87-0	C13H13BrFN5O4S2	464.9576	465.9649	463.9503	ESI+	10
48	Amitraz	33089-61-1	C19H23N3	293.1892	294.1965	292.1819	ESI+	2
49	Amitrole	61-82-5	C2H4N4	84.0436	85.0509	83.0363	ESI+	5
50	AMPA	1066-51-9	CH6NO3P	111.0085	112.0158	110.0012	ESI-	3
51	Ancymidol	12771-68-5	C15H16N2O2	256.1212	257.1285	255.1139	ESI+	6
52	Anilazine	101-05-3	C9H5Cl3N4	273.9580	274.9653	272.9507	ESI+	12
53	Anilofos	64249-01-0	C13H19ClNO3PS2	367.0232	368.0305	366.0159	ESI+	12
54	Aramite	140-57-8	C15H23ClO4S	334.1006	335.1079	333.0933	ESI+	12
55	Asulam	3337-71-1	C8H10N2O4S	230.0361	231.0434	229.0288	ESI+	9
56	Atraton	1610-17-9	C9H17N5O	211.1433	212.1506	210.1360	ESI+	6
57	Atrazine	1912-24-9	C8H14ClN5	215.0938	216.1011	214.0865	ESI+	8
58	Atrazine-2-hydroxy	2163-68-0	C8H15N5O	197.1277	198.1350	196.1204	ESI+	6
59	Atrazine-desethyl	6190-65-4	C6H10ClN5	187.0625	188.0698	186.0552	ESI+	9
60	Atrazine-desethyl-2-hydroxy	19988-24-0	C6H11N5O	169.0964	170.1037	168.0891	ESI+	5
61	Atrazine-desisopropyl	1007-28-9	C5H8ClN5	173.0468	174.0541	172.0395	ESI+	10
62	Avermectin B1a	65195-55-3	C48H72O14	872.4922	873.4995	871.4849	ESI+	4
63	Avermectin B1b	65195-56-4	C47H70O14	858.4766	859.4839	857.4693	ESI+	3
64	Azaconazole	60207-31-0	C12H11Cl2N3O2	299.0228	300.0301	298.0155	ESI+	8
65	Azadirachtin	11141-17-6	C35H44O16	720.2629	721.2702	719.2556	ESI+	8
66	Azamethiphos	35575-96-3	C9H10ClN2O5PS	323.9737	324.9810	322.9664	ESI+	11
67	Azimsulfuron	120162-55-2	C13H16N10O5S	424.1026	425.1099	423.0953	ESI+	5
68	Azinphos-ethyl	2642-71-9	C12H16N3O3PS2	345.0371	346.0444	344.0298	ESI+	5
69	Azinphos-methyl	86-50-0	C10H12N3O3PS2	317.0058	318.0131	315.9985	ESI+	6
70	Aziprotryne	4658-28-0	C7H11N7S	225.0797	226.0870	224.0724	ESI+	4
71	Azobenzene	103-33-3	C12H10N2	182.0844	183.0917	181.0771	ESI+	2
72	Azoxystrobin	131860-33-8	C22H17N3O5	403.1168	404.1241	402.1095	ESI+	5
73	Barban	101-27-9	C11H9Cl2NO2	257.0010	258.0083	255.9937	ESI+	11
74	Beflubutamid	113614-08-7	C18H17F4NO2	355.1195	356.1268	354.1122	ESI+	10
75	Benalaxyl	71626-11-4	C20H23NO3	325.1678	326.1751	324.1605	ESI+	6

	化合物名	CAS番号	分子式	分子量	[M + H] ⁺	[M - H] ⁻	イオン化モード	MRM トランジション 数
76	Benazolin	3813-05-6	C9H6ClNO3S	242.9757	243.9830	241.9684	ESI+	6
77	Benazolin-ethyl	25059-80-7	C11H10ClNO3S	271.0070	272.0143	269.9997	ESI+	18
78	Bendiocarb	22781-23-3	C11H13NO4	223.0845	224.0918	222.0772	ESI+	6
79	Benfuracarb	82560-54-1	C20H30N2O5S	410.1875	411.1948	409.1802	ESI+	5
80	Benfuresate	68505-69-1	C12H16O4S	256.0769	257.0842	255.0696	ESI+	2
81	Benodanil	15310-01-7	C13H10INO	322.9807	323.9880	321.9734	ESI+	6
82	Benoxacor	98730-04-2	C11H11Cl2NO2	259.0167	260.0240	258.0094	ESI+	17
83	Bensulfuron-methyl	83055-99-6	C16H18N4O7S	410.0896	411.0969	409.0823	ESI+	6
84	Bensulide	741-58-2	C14H24NO4PS3	397.0605	398.0678	396.0532	ESI+	9
85	Bentazone	25057-89-0	C10H12N2O3S	240.0569	241.0642	239.0496	ESI-	5
86	Benthiavalicarb-isopropyl	177406-68-7	C18H24FN3O3S	381.1522	382.1595	380.1449	ESI+	5
87	Benthiazole	21564-17-0	C9H6N2S3	237.9693	238.9766	236.9620	ESI+	6
88	Benzanilide	93-98-1	C13H11NO	197.0841	198.0914	196.0768	ESI+	4
89	Benzofenap	82692-44-2	C22H20Cl2N2O3	430.0851	431.0924	429.0778	ESI+	2
90	Benzoimate	29104-30-1	C18H18ClNO5	363.0874	364.0947	362.0801	ESI+	12
91	Benzoylprop-ethyl	22212-55-1	C18H17Cl2NO3	365.0585	366.0658	364.0512	ESI+	6
92	Benzthiazuron	1929-88-0	C9H9N3O5	207.0466	208.0539	206.0393	ESI+	9
93	Benzyl dimethyldodecylammonium	139-07-1	C21H37N	303.2926	304.2999	302.2853	ESI+	4
94	Benzyl dimethylhexadecylammonium	122-18-9	C25H45N	359.3552	360.3625	358.3479	ESI+	3
95	Benzyl dimethyltetradecylammonium	139-08-2	C23H41N	331.3239	332.3312	330.3166	ESI+	3
96	Bifenazate	149877-41-8	C17H20N2O3	300.1474	301.1547	299.1401	ESI+	6
97	Bifenox	42576-02-3	C14H9Cl2NO5	340.9858	341.9931	339.9785	ESI+	8
98	Bifenthrin	82657-04-3	C23H22ClF3O2	422.1260	423.1333	421.1187	ESI+	5
99	Bioresmethrin	28434-01-7	C22H26O3	338.1882	339.1955	337.1809	ESI+	6
100	Bispyribac-sodium	125401-92-5	C19H17N4NaO8	452.0944	453.1017	451.0871	ESI+	8
101	Bitertanol	55179-31-2	C20H23N3O2	337.1790	338.1863	336.1717	ESI+	6
102	Bixafen	581809-46-3	C18H12Cl2F3N3O	413.0310	414.0383	412.0237	ESI+	12
103	Boscalid	188425-85-6	C18H12Cl2N2O	342.0327	343.0400	341.0254	ESI+	12
104	Brodifacoum	56073-10-0	C31H23BrO3	522.0831	523.0904	521.0758	ESI+	12
105	Bromacil	314-40-9	C9H13BrN2O2	260.0160	261.0233	259.0087	ESI+	9
106	Bromadiolone	28772-56-7	C30H23BrO4	526.0780	527.0853	525.0707	ESI-	12
107	Bromfenvinfos	33399-00-7	C12H14BrCl2O4P	401.9190	402.9263	400.9117	ESI+	17
108	Bromobutide	74712-19-9	C15H22BrNO	311.0885	312.0958	310.0812	ESI+	10
109	Bromophos-ethyl	4824-78-6	C10H12BrCl2O3PS	391.8805	392.8878	390.8732	ESI+	3
110	Bromophos-methyl	2104-96-3	C8H8BrCl2O3PS	363.8492	364.8565	362.8419	ESI+	6
111	Bromoxynil	1689-84-5	C7H3Br2NO	274.8581	275.8654	273.8508	ESI-	11
112	Bromuconazole	116255-48-2	C13H12BrCl2N3O	374.9541	375.9614	373.9468	ESI+	11
113	Bupirimate	41483-43-6	C13H24N4O3S	316.1569	317.1642	315.1496	ESI+	6
114	Buprofezin	69327-76-0	C16H23N3O5	305.1562	306.1635	304.1489	ESI+	6
115	Butachlor	23184-66-9	C17H26ClNO2	311.1652	312.1725	310.1579	ESI+	12
116	Butafenacil	134605-64-4	C20H18ClF3N2O6	474.0805	475.0878	473.0732	ESI+	10
117	Butamifos	36335-67-8	C13H21N2O4PS	332.0960	333.1033	331.0887	ESI+	12
118	Butocarboxim	34681-10-2	C7H14N2O2S	190.0776	191.0849	189.0703	ESI+	3
119	Butocarboxim-sulfone	34681-23-7	C7H14N2O4S	222.0674	223.0747	221.0601	ESI+	14
120	Butocarboxim-sulfoxide	34681-24-8	C7H14N2O3S	206.0725	207.0798	205.0652	ESI+	6
121	Butralin	33629-47-9	C14H21N3O4	295.1532	296.1605	294.1459	ESI+	6
122	Buturon	3766-60-7	C12H13ClN2O	236.0716	237.0789	235.0643	ESI+	9
123	Butylate	2008-41-5	C11H23NOS	217.1500	218.1573	216.1427	ESI+	3
124	Cadusafos	95465-99-9	C10H23O2PS2	270.0877	271.0950	269.0804	ESI+	5
125	Cafenstrole	125306-83-4	C16H22N4O3S	350.1413	351.1486	349.1340	ESI+	3
126	Captafol	2425-06-1	C10H9Cl4NO2S	346.9108	347.9181	345.9035	ESI+	1
127	Carbaryl (NAC)	63-25-2	C12H11NO2	201.0790	202.0863	200.0717	ESI+	6
128	Carbendazim	10605-21-7	C9H9N3O2	191.0695	192.0768	190.0622	ESI+	5
129	Carbetamide	16118-49-3	C12H16N2O3	236.1161	237.1234	235.1088	ESI+	6
130	Carbofuran	1563-66-2	C12H15NO3	221.1052	222.1125	220.0979	ESI+	6
131	Carbofuran-3-hydroxy (3-Hydroxycarbofuran)	16655-82-6	C12H15NO4	237.1001	238.1074	236.0928	ESI+	12
132	Carbofuran-3-keto	16709-30-1	C12H13NO4	235.0845	236.0918	234.0772	ESI+	12
133	Carbophenothion	786-19-6	C11H16ClO2PS3	341.9739	342.9812	340.9666	ESI+	9
134	Carbosulfan	55285-14-8	C20H32N2O3S	380.2134	381.2207	379.2061	ESI+	6
135	Carboxin	5234-68-4	C12H13NO2S	235.0667	236.0740	234.0594	ESI+	6
136	Carfentrazon-ethyl	128639-02-1	C15H14Cl2F3N3O3	411.0364	412.0437	410.0291	ESI+	5
137	Carpropamid	104030-54-8	C15H18Cl3NO	333.0454	334.0527	332.0381	ESI+	18
138	Cartap	15263-53-3	C7H15N3O2S2	237.0606	238.0679	236.0533	ESI+	3
139	Chinomethionat	2439-01-2	C10H6N2O5S2	233.9922	234.9995	232.9849	ESI+	6
140	Chloramphenicol	56-75-7	C11H12Cl2N2O5	322.0123	323.0196	321.0050	ESI-	17
141	Chlorantraniliprole	500008-45-7	C18H14BrCl2N5O2	480.9708	481.9781	479.9635	ESI+	28
142	Chlorbromuron	13360-45-7	C9H10BrClN2O2	291.9614	292.9687	290.9541	ESI+	12
143	Chlorbufam	1967-16-4	C11H10ClNO2	223.0400	224.0473	222.0327	ESI+	4
144	Chlordimeform	6164-98-3	C10H13ClN2	196.0767	197.0840	195.0694	ESI+	12
145	Chlorfenvinphos	470-90-6	C12H14Cl3O4P	357.9695	358.9768	356.9622	ESI+	12
146	Chlorfluaazuron	71422-67-8	C20H9Cl3F5N3O3	538.9630	539.9703	537.9557	ESI+	17
147	Chloridazon	1698-60-8	C10H8ClN3O	221.0356	222.0429	220.0283	ESI+	11
148	Chlorimuron-ethyl	90982-32-4	C15H15ClN4O6S	414.0401	415.0474	413.0328	ESI+	12
149	Chlormequat-chloride	999-81-5	C5H13Cl2N	157.0425	158.0498	156.0352	ESI+	6
150	Chlorophacinone	3691-35-8	C23H15ClO3	374.0710	375.0783	373.0637	ESI-	15

	化合物名	CAS番号	分子式	分子量	[M + H] ⁺	[M - H] ⁻	イオン化モード	MRM トランジション 数
151	Chlorotoluron	15545-48-9	C10H13ClN2O	212.0716	213.0789	211.0643	ESI+	8
152	Chloroxuron	1982-47-4	C15H15ClN2O2	290.0822	291.0895	289.0749	ESI+	12
153	Chloroxynil	1891-95-8	C7H3Cl2NO	186.9592	187.9665	185.9519	ESI-	6
154	Chlorpropham	101-21-3	C10H12ClNO2	213.0557	214.0630	212.0484	ESI+	2
155	Chlorpyrifos	2921-88-2	C9H11Cl3NO3PS	348.9263	349.9336	347.9190	ESI+	16
156	Chlorpyrifos-methyl	5598-13-0	C7H7Cl3NO3PS	320.8950	321.9023	319.8877	ESI+	12
157	Chlorpyrifos-oxon	5598-15-2	C9H11Cl3NO4P	332.9491	333.9564	331.9418	ESI+	24
158	Chlorsulfuron	64902-72-3	C12H12ClN5O4S	357.0299	358.0372	356.0226	ESI+	18
159	Chlorthiamid	1918-13-4	C7H5Cl2NS	204.9520	205.9593	203.9447	ESI+	16
160	Chromafenozide	143807-66-3	C24H30N2O3	394.2256	395.2329	393.2183	ESI+	6
161	Cinidon-ethyl	142891-20-1	C19H17Cl2NO4	393.0535	394.0608	392.0462	ESI+	24
162	Cinosulfuron	94593-91-6	C15H19N5O7S	413.1005	414.1078	412.0932	ESI+	6
163	Clethodim	99129-21-2	C17H26ClNO3S	359.1322	360.1395	358.1249	ESI+	10
164	Climbazole	38083-17-9	C15H17ClN2O2	292.0979	293.1052	291.0906	ESI+	9
165	Clodinafop (free acid)	114420-56-3	C14H11ClFNO4	311.0361	312.0434	310.0288	ESI+	8
166	Clodinafop-propargyl	105512-06-9	C17H13ClFNO4	349.0517	350.0590	348.0444	ESI+	12
167	Clofentezine	74115-24-5	C14H8Cl2N4	302.0126	303.0199	301.0053	ESI+	10
168	Clomazone	81777-89-1	C12H14ClNO2	239.0713	240.0786	238.0640	ESI+	8
169	Clomeprop	84496-56-0	C16H15Cl2NO2	323.0480	324.0553	322.0407	ESI+	21
170	Cloprop	101-10-0	C9H9ClO3	200.0240	201.0313	199.0167	ESI-	2
171	Clopyralid	1702-17-6	C6H3Cl2NO2	190.9541	191.9614	189.9468	ESI-	2
172	Cloquintocet-mexyl	99607-70-2	C18H22ClNO3	335.1288	336.1361	334.1215	ESI+	9
173	Cloransulam-methyl	147150-35-4	C15H13ClFN5O5S	429.0310	430.0383	428.0237	ESI+	12
174	Clothianidin	210880-92-5	C6H8ClN5O2S	249.0087	250.0160	248.0014	ESI+	7
175	Coumachlor	81-82-3	C19H15ClO4	342.0659	343.0732	341.0586	ESI+	18
176	Coumaphos	56-72-4	C14H16ClO5PS	362.0145	363.0218	361.0072	ESI+	12
177	Coumatetralyl	5836-29-3	C19H16O3	292.1099	293.1172	291.1026	ESI+	6
178	Crimidine	535-89-7	C7H10ClN3	171.0563	172.0636	170.0490	ESI+	12
179	Crotoxyphos	7700-17-6	C14H19O6P	314.0919	315.0992	313.0846	ESI+	6
180	Crufomate	299-86-5	C12H19ClNO3P	291.0791	292.0864	290.0718	ESI+	12
181	Cumyluron	99485-76-4	C17H19ClN2O	302.1186	303.1259	301.1113	ESI+	2
182	Cyanazine	21725-46-2	C9H13ClN6	240.0890	241.0963	239.0817	ESI+	6
183	Cyanofenphos	13067-93-1	C15H14NO2PS	303.0483	304.0556	302.0410	ESI+	6
184	Cyazofamid	120116-88-3	C13H13ClN4O2S	324.0448	325.0521	323.0375	ESI+	5
185	Cyclanilide	113136-77-9	C11H9Cl2NO3	272.9959	274.0032	271.9886	ESI-	20
186	Cycloate	1134-23-2	C11H21NOS	215.1344	216.1417	214.1271	ESI+	5
187	Cycloheximide	66-81-9	C15H23NO4	281.1627	282.1700	280.1554	ESI+	12
188	Cycloprothrin	63935-38-6	C26H21Cl2NO4	481.0848	482.0921	480.0775	ESI+	2
189	Cyclosulfamuron	136849-15-5	C17H19N5O6S	421.1056	422.1129	420.0983	ESI+	6
190	Cycloxydim	101205-02-1	C17H27NO3S	325.1712	326.1785	324.1639	ESI+	10
191	Cycluron	2163-69-1	C11H22N2O	198.1732	199.1805	197.1659	ESI+	5
192	Cyflufenamid	180409-60-3	C20H17F5N2O2	412.1210	413.1283	411.1137	ESI+	6
193	Cyflumetofen	400882-07-7	C24H24F3NO4	447.1657	448.1730	446.1584	ESI+	8
194	Cyhalofop-butyl	122008-85-9	C20H20FNO4	357.1376	358.1449	356.1303	ESI+	3
195	Cymiazole	61676-87-7	C12H14N2S	218.0878	219.0951	217.0805	ESI+	6
196	Cymoxanil	57966-95-7	C7H10N4O3	198.0753	199.0826	197.0680	ESI+	4
197	Cypermethrin	52315-07-8	C22H19Cl2NO3	415.0742	416.0815	414.0669	ESI+	10
198	Cyphenothrin	39515-40-7	C24H25NO3	375.1834	376.1907	374.1761	ESI+	12
199	Cyproconazole	94361-06-5	C15H18ClN3O	291.1138	292.1211	290.1065	ESI+	10
200	Cyprodinil	121552-61-2	C14H15N3	225.1266	226.1339	224.1193	ESI+	6
201	Cyromazine	66215-27-8	C6H10N6	166.0967	167.1040	165.0894	ESI+	6
202	Daimuron (Dymron)	42609-52-9	C17H20N2O	268.1576	269.1649	267.1503	ESI+	6
203	Dalapon	75-99-0	C3H4Cl2O2	141.9588	142.9661	140.9515	ESI-	10
204	Daminozide	1596-84-5	C6H12N2O3	160.0848	161.0921	159.0775	ESI+	6
205	Dazomet	533-74-4	C5H10N2S2	162.0285	163.0358	161.0212	ESI+	6
206	Deet	134-62-3	C12H17NO	191.1310	192.1383	190.1237	ESI+	2
207	Deltamethrin	52918-63-5	C22H19Br2NO3	502.9732	503.9805	501.9659	ESI+	12
208	Demeton-O	298-03-3	C8H19O3PS2	258.0513	259.0586	257.0440	ESI+	2
209	Demeton-S	126-75-0	C8H19O3PS2	258.0513	259.0586	257.0440	ESI+	3
210	Demeton-S-methyl	919-86-8	C6H15O3PS2	230.0200	231.0273	229.0127	ESI+	2
211	Demeton-S-methyl-sulfone	17040-19-6	C6H15O5PS2	262.0099	263.0172	261.0026	ESI+	6
212	Desmedipham	13684-56-5	C16H16N2O4	300.1110	301.1183	299.1037	ESI+	6
213	Desmetryn	1014-69-3	C8H15N5S	213.1048	214.1121	212.0975	ESI+	4
214	Diafenthion	80060-09-9	C23H32N2OS	384.2235	385.2308	383.2162	ESI+	12
215	Dialifos	10311-84-9	C14H17ClNO4PS2	393.0025	394.0098	391.9952	ESI+	12
216	Diallate	2303-16-4	C10H17Cl2NOS	269.0408	270.0481	268.0335	ESI+	12
217	Diazinon	333-41-5	C12H21N2O3PS	304.1010	305.1083	303.0937	ESI+	6
218	Dicamba	1918-00-9	C8H6Cl2O3	219.9694	220.9767	218.9621	ESI-	2
219	Dichlofenthion	97-17-6	C10H13Cl2O3PS	313.9700	314.9773	312.9627	ESI+	8
220	Dichlofluanid	1085-98-9	C9H11Cl2FN2O2S2	331.9623	332.9696	330.9550	ESI+	11
221	Dichlormid	37764-25-3	C8H11Cl2NO	207.0218	208.0291	206.0145	ESI+	19
222	Dichlorprop	120-36-5	C9H8Cl2O3	233.9850	234.9923	232.9777	ESI-	8
223	Dichlorvos	62-73-7	C4H7Cl2O4P	219.9459	220.9532	218.9386	ESI+	17
224	Diclobutrazol	75736-33-3	C15H19Cl2N3O	327.0905	328.0978	326.0832	ESI+	4
225	Diclofop	40843-25-2	C15H12Cl2O4	326.0113	327.0186	325.0040	ESI-	4

	化合物名	CAS番号	分子式	分子量	[M + H] ⁺	[M - H] ⁻	イオン化モード	MRM トランジション 数
226	Diclofop-methyl	51338-27-3	C16H14Cl2O4	340.0269	341.0342	339.0196	ESI+	12
227	Dicloran	99-30-9	C6H4Cl2N2O2	205.9650	206.9723	204.9577	ESI+	4
228	Diclosulam	145701-21-9	C13H10Cl2FN5O3S	404.9865	405.9938	403.9792	ESI+	9
229	Dicrotophos	141-66-2	C8H16NO5P	237.0766	238.0839	236.0693	ESI+	6
230	Dicyclanil	112636-83-6	C8H10N6	190.0967	191.1040	189.0894	ESI+	6
231	Didecyltrimethylammonium	7173-51-5	C22H47N	325.3709	326.3782	324.3636	ESI+	6
232	Diethanolamine	111-42-2	C4H11NO2	105.0790	106.0863	104.0717	ESI+	6
233	Diethofencarb	87130-20-9	C14H21NO4	267.1471	268.1544	266.1398	ESI+	6
234	Difenacoum	56073-07-5	C31H24O3	444.1725	445.1798	443.1652	ESI+	12
235	Difenoconazole	119446-68-3	C19H17Cl2N3O3	405.0647	406.0720	404.0574	ESI+	12
236	Difenoxyuron	14214-32-5	C16H18N2O3	286.1317	287.1390	285.1244	ESI+	6
237	Difenoquat-methyl-sulfate	43222-48-6	C17H16N2	248.1313	249.1386	247.1240	ESI+	6
238	Diflubenzuron	35367-38-5	C14H9ClF2N2O2	310.0321	311.0394	309.0248	ESI+	9
239	Diflufenican	83164-33-4	C19H11F5N2O2	394.0741	395.0814	393.0668	ESI+	12
240	Dimefuron	34205-21-5	C15H19ClN4O3	338.1146	339.1219	337.1073	ESI+	5
241	Dimepiperate	61432-55-1	C15H21NOS	263.1344	264.1417	262.1271	ESI+	6
242	Dimethachlon	24096-53-5	C10H7Cl2NO2	242.9854	243.9927	241.9781	ESI-	2
243	Dimethachlor	50563-36-5	C13H18ClNO2	255.1026	256.1099	254.0953	ESI+	12
244	Dimethametryn	22936-75-0	C11H21N5S	255.1518	256.1591	254.1445	ESI+	6
245	Dimethenamid	87674-68-8	C12H18ClNO2S	275.0747	276.0820	274.0674	ESI+	12
246	Dimethirimol	5221-53-4	C11H19N3O	209.1528	210.1601	208.1455	ESI+	3
247	Dimethoate	60-51-5	C5H12NO3PS2	228.9996	230.0069	227.9923	ESI+	6
248	Dimethomorph	110488-70-5	C21H22ClNO4	387.1237	388.1310	386.1164	ESI+	12
249	Dimetilan	644-64-4	C10H16N4O3	240.1222	241.1295	239.1149	ESI+	6
250	Dimoxystrobin	149961-52-4	C19H22N2O3	326.1630	327.1703	325.1557	ESI+	6
251	Diniconazole	83657-24-3	C15H17Cl2N3O	325.0749	326.0822	324.0676	ESI+	7
252	Dinocap	39300-45-3	C18H24N2O6	364.1634	365.1707	363.1561	ESI+	6
253	Dinoseb	88-85-7	C10H12N2O5	240.0746	241.0819	239.0673	ESI-	4
254	Dinotefuran	165252-70-0	C7H14N4O3	202.1066	203.1139	201.0993	ESI+	6
255	Dinoterb	1420-07-1	C10H12N2O5	240.0746	241.0819	239.0673	ESI-	4
256	Dioxacarb	6988-21-2	C11H13NO4	223.0845	224.0918	222.0772	ESI+	6
257	Dioxathion	78-34-2	C12H26O6P2S4	456.0087	457.0160	455.0014	ESI+	6
258	Diphenamid	957-51-7	C16H17NO	239.1310	240.1383	238.1237	ESI+	6
259	Diphenylamine	122-39-4	C12H11N	169.0891	170.0964	168.0818	ESI+	4
260	Dipropetryn	4147-51-7	C11H21N5S	255.1518	256.1591	254.1445	ESI+	6
261	Diquat	6385-62-2	C12H12N2	184.1000	185.1073	183.0927	ESI+	3
262	Disulfoton	298-04-4	C8H19O2PS3	274.0285	275.0358	273.0212	ESI+	3
263	Disulfoton-sulfone	2497-06-5	C8H19O4PS3	306.0183	307.0256	305.0110	ESI+	6
264	Disulfoton-sulfoxide	2497-07-6	C8H19O3PS3	290.0234	291.0307	289.0161	ESI+	6
265	Ditalimfos	5131-24-8	C12H14NO4PS	299.0381	300.0454	298.0308	ESI+	6
266	Dithianon	3347-22-6	C14H4N2O2S2	295.9714	296.9787	294.9641	ESI-	4
267	Dithiopyr	97886-45-8	C15H16F5NO2S2	401.0543	402.0616	400.0470	ESI+	6
268	Diuron (DCMU)	330-54-1	C9H10Cl2N2O	232.0170	233.0243	231.0097	ESI+	7
269	DMST	66840-71-9	C9H14N2O2S	214.0776	215.0849	213.0703	ESI+	4
270	DNOC	534-52-1	C7H6N2O5	198.0277	199.0350	197.0204	ESI-	6
271	Dodemorph	1593-77-7	C18H35NO	281.2719	282.2792	280.2646	ESI+	6
272	Dodine	2439-10-3	C15H33N3O2	287.2573	288.2646	286.2500	ESI+	6
273	Doramectin	117704-25-3	C50H74O14	898.5079	899.5152	897.5006	ESI+	10
274	Edifenphos	17109-49-8	C14H15O2PS2	310.0251	311.0324	309.0178	ESI+	6
275	Emamectin B1a	119791-41-2	C49H75NO13	885.5238	886.5311	884.5165	ESI+	5
276	Emamectin B1b	137335-79-6	C55H79NO15	871.5082	872.5155	870.5009	ESI+	3
277	Endosulfan-sulfate	1031-07-8	C9H6Cl6O4S	419.8118	420.8191	418.8045	ESI-	3
278	EPN	2104-64-5	C14H14NO4PS	323.0381	324.0454	322.0308	ESI+	6
279	Epoxiconazole	133855-98-8	C17H13ClFN3O	329.0731	330.0804	328.0658	ESI+	9
280	EPTC	759-94-4	C9H19NOS	189.1187	190.1260	188.1114	ESI+	5
281	Esfenvalerate	66230-04-4	C25H22ClNO3	419.1288	420.1361	418.1215	ESI+	2
282	Esprocarb	85785-20-2	C15H23NOS	265.1500	266.1573	264.1427	ESI+	5
283	Etaconazole	60207-93-4	C14H15Cl2N3O2	327.0541	328.0614	326.0468	ESI+	12
284	Ethametsulfuron-methyl	97780-06-8	C15H18N6O6S	410.1009	411.1082	409.0936	ESI+	6
285	Ethephon	16672-87-0	C2H6ClO3P	143.9743	144.9816	142.9670	ESI-	6
286	Ethidimuron	30043-49-3	C7H12N4O3S2	264.0351	265.0424	263.0278	ESI+	11
287	Ethiofencarb	29973-13-5	C11H15NO2S	225.0823	226.0896	224.0750	ESI+	10
288	Ethiofencarb-sulfone	53380-23-7	C11H15NO4S	257.0722	258.0795	256.0649	ESI+	8
289	Ethiofencarb-sulfoxide	53380-22-6	C11H15NO3S	241.0773	242.0846	240.0700	ESI+	4
290	Ethion	563-12-2	C9H22O4P2S4	383.9876	384.9949	382.9803	ESI+	6
291	Ethiprole	181587-01-9	C13H9Cl2F3N4OS	395.9826	396.9899	394.9753	ESI+	30
292	Ethirimol	23947-60-6	C11H19N3O	209.1528	210.1601	208.1455	ESI+	6
293	Ethofumesate	26225-79-6	C13H18O5S	286.0875	287.0948	285.0802	ESI+	11
294	Ethoprophos	13194-48-4	C8H19O2PS2	242.0564	243.0637	241.0491	ESI+	6
295	Ethoxyquin	91-53-2	C14H19NO	217.1467	218.1540	216.1394	ESI+	4
296	Ethoxysulfuron	126801-58-9	C15H18N4O7S	398.0896	399.0969	397.0823	ESI+	6
297	Ethylenethiourea	96-45-7	C3H6N2S	102.0252	103.0325	101.0179	ESI+	6
298	Etofenprox	80844-07-1	C25H28O3	376.2038	377.2111	375.1965	ESI+	6
299	Etoazole	153233-91-1	C21H23F2NO2	359.1697	360.1770	358.1624	ESI+	6
300	Etrinfos	38260-54-7	C10H17N2O4PS	292.0647	293.0720	291.0574	ESI+	6

化合物名	CAS番号	分子式	分子量	[M + H] ⁺	[M - H] ⁻	イオン化モード	MRM トランジション 数
301 Famoxadone	131807-57-3	C22H18N2O4	374.1267	375.1340	373.1194	ESI+	6
302 Famphur	52-85-7	C10H16NO5PS2	325.0208	326.0281	324.0135	ESI+	12
303 Fenamidone	161326-34-7	C17H17N3O5	311.1092	312.1165	310.1019	ESI+	6
304 Fenaminosulf	140-56-7	C8H10N3NaO3S	251.0341	252.0414	250.0268	ESI+	2
305 Fenamiphos	22224-92-6	C13H22NO3PS	303.1058	304.1131	302.0985	ESI+	6
306 Fenamiphos-sulfone	31972-44-8	C13H22NO5PS	335.0956	336.1029	334.0883	ESI+	6
307 Fenamiphos-sulfoxide	31972-43-7	C13H22NO4PS	319.1007	320.1080	318.0934	ESI+	6
308 Fenarimol	60168-88-9	C17H12Cl2N2O	330.0327	331.0400	329.0254	ESI+	12
309 Fenazaquin	120928-09-8	C20H22N2O	306.1732	307.1805	305.1659	ESI+	6
310 Fenazox	495-48-7	C12H10N2O	198.0793	199.0866	197.0720	ESI+	6
311 Fenbuconazole	114369-43-6	C19H17ClN4	336.1142	337.1215	335.1069	ESI+	8
312 Fenbutatin-oxide	13356-08-6	C60H78O5Sn2	1054.4121	1055.4194	1053.4048	ESI+	11
313 Fenchlorazol-ethyl	103112-35-2	C12H8Cl5N3O2	400.9059	401.9132	399.8986	ESI+	118
314 Fenfuram	24691-80-3	C12H11NO2	201.0790	202.0863	200.0717	ESI+	6
315 Fenhexamid	126833-17-8	C14H17Cl2NO2	301.0636	302.0709	300.0563	ESI+	23
316 Fenitrothion	122-14-5	C9H12NO5PS	277.0174	278.0247	276.0101	ESI+	2
317 Fenobucarb	3766-81-2	C12H17NO2	207.1259	208.1332	206.1186	ESI+	6
318 Fenoprop	93-72-1	C9H7Cl3O3	267.9461	268.9534	266.9388	ESI-	8
319 Fenothiocarb	62850-32-2	C13H19NO2S	253.1136	254.1209	252.1063	ESI+	4
320 Fenoxanil	115852-48-7	C15H18Cl2N2O2	328.0745	329.0818	327.0672	ESI+	29
321 Fenoxaprop	95617-09-7	C16H12ClNO5	333.0404	334.0477	332.0331	ESI+	23
322 Fenoxaprop-ethyl	66441-23-4	C18H16ClNO5	361.0717	362.0790	360.0644	ESI+	12
323 Fenoxaprop-P-ethyl	71283-80-2	C18H16ClNO5	361.0717	362.0790	360.0644	ESI+	12
324 Fenoxycarb	79127-80-3	C17H19NO4	301.1314	302.1387	300.1241	ESI+	6
325 Fenpropathrin	64257-84-7	C22H23NO3	349.1678	350.1751	348.1605	ESI+	11
326 Fenpropidin	67306-00-7	C19H31N	273.2457	274.2530	272.2384	ESI+	6
327 Fenpropimorph	67564-91-4	C20H33NO	303.2562	304.2635	302.2489	ESI+	6
328 Fensulfothion	115-90-2	C11H17O4PS2	308.0306	309.0379	307.0233	ESI+	6
329 Fensulfothion-oxon	6552-21-2	C11H17O5PS	292.0534	293.0607	291.0461	ESI+	6
330 Fensulfothion-oxon-sulfone	6132-17-8	C11H17O6PS	308.0483	309.0556	307.0410	ESI+	4
331 Fensulfothion-sulfone	14255-72-2	C11H17O5PS2	324.0255	325.0328	323.0182	ESI+	6
332 Fenthion	55-38-9	C10H15O3PS2	278.0200	279.0273	277.0127	ESI+	6
333 Fenthion-oxon	6552-12-1	C10H15O4PS	262.0429	263.0502	261.0356	ESI+	6
334 Fenthion-oxon-sulfone	14086-35-2	C10H15O6PS	294.0327	295.0400	293.0254	ESI+	12
335 Fenthion-oxon-sulfoxide	6552-13-2	C10H15O5PS	278.0378	279.0451	277.0305	ESI+	3
336 Fenthion-sulfone	3761-42-0	C10H15O5PS2	310.0099	311.0172	309.0026	ESI+	4
337 Fenthion-sulfoxide	3761-41-9	C10H15O4PS2	294.0149	295.0222	293.0076	ESI+	6
338 Fenuron	101-42-8	C9H12N2O	164.0950	165.1023	163.0877	ESI+	6
339 Fenvalerate	51630-58-1	C25H22ClNO3	419.1288	420.1361	418.1215	ESI+	6
340 Fipronil	120068-37-3	C12H4Cl2F6N4O5	435.9387	436.9460	434.9314	ESI-	12
341 Fipronil-desulfinyl	205650-65-3	C12H4Cl2F6N4	387.9717	388.9790	386.9644	ESI-	12
342 Fipronil-sulfide	120067-83-6	C12H4Cl2F6N4S	419.9438	420.9511	418.9365	ESI-	12
343 Fipronil-sulfone	120068-36-2	C12H4Cl2F6N4O2S	451.9336	452.9409	450.9263	ESI-	12
344 Flamprop-isopropyl	52756-22-6	C19H19ClFNO3	363.1037	364.1110	362.0964	ESI+	10
345 Flamprop-methyl	52756-25-9	C17H15ClFNO3	335.0724	336.0797	334.0651	ESI+	4
346 Flamprop-M-isopropyl	63782-90-1	C19H19ClFNO3	363.1037	364.1110	362.0964	ESI+	10
347 Flazasulfuron	104040-78-0	C13H12F3N5O5S	407.0511	408.0584	406.0438	ESI+	6
348 Floucoumafen	90035-08-8	C33H25F3O4	542.1705	543.1778	541.1632	ESI+	12
349 Flonicamid	158062-67-0	C9H6F3N3O	229.0463	230.0536	228.0390	ESI+	8
350 Florasulam	145701-23-1	C12H8F3N5O3S	359.0300	360.0373	358.0227	ESI+	2
351 Fluacrypyrim	229977-93-9	C20H21F3N2O5	426.1403	427.1476	425.1330	ESI+	6
352 Fluazifop	69335-91-7	C15H12F3NO4	327.0718	328.0791	326.0645	ESI+	12
353 Fluazifop-butyl	69806-50-4	C19H20F3NO4	383.1344	384.1417	382.1271	ESI+	6
354 Fluazifop-P (free acid)	83066-88-0	C15H12F3NO4	327.0718	328.0791	326.0645	ESI+	12
355 Fluazifop-P-butyl	79241-46-6	C19H20F3NO4	383.1344	384.1417	382.1271	ESI+	6
356 Fluazinam	79622-59-6	C13H4Cl2F6N4O4	463.9514	464.9587	462.9441	ESI-	12
357 Fluazuron	86811-58-7	C20H10Cl2F5N3O3	505.0019	506.0092	503.9946	ESI+	17
358 Flubendiamide	272451-65-7	C23H22F7IN2O4S	682.0233	683.0306	681.0160	ESI+	5
359 Flucycloxuron	94050-52-9	C25H20ClF2N3O3	483.1161	484.1234	482.1088	ESI+	10
360 Flucythrinate	70124-77-5	C26H23F2NO4	451.1595	452.1668	450.1522	ESI+	4
361 Fludioxonil	131341-86-1	C12H6F2N2O2	248.0397	249.0470	247.0324	ESI-	6
362 Flufenacet	142459-58-3	C14H13F4N3O2S	363.0665	364.0738	362.0592	ESI+	6
363 Flufenoxuron	101463-69-8	C21H11ClF6N2O3	488.0362	489.0435	487.0289	ESI+	8
364 Flumetralin	62924-70-3	C16H12ClF4N3O4	421.0452	422.0525	420.0379	ESI+	3
365 Flumetsulam	98967-40-9	C12H9F2N5O2S	325.0445	326.0518	324.0372	ESI+	2
366 Flumioxazin	103361-09-7	C19H15FN2O4	354.1016	355.1089	353.0943	ESI+	2
367 Fluometuron	2164-17-2	C10H11F3N2O	232.0823	233.0896	231.0750	ESI+	4
368 Fluopicolide	239110-15-7	C14H8Cl3F3N2O	381.9654	382.9727	380.9581	ESI+	11
369 Fluopyram	658066-35-4	C16H11ClF6N2O	396.0464	397.0537	395.0391	ESI+	12
370 Fluoroglycofen-ethyl	77501-90-7	C18H13ClF3N7O	447.0333	448.0406	446.0260	ESI+	12
371 Fluoxastrobin	361377-29-9	C21H16ClF4N4O5	458.0793	459.0866	457.0720	ESI+	12
372 Flupyrsulfuron-methyl	144740-54-5	C15H14F3N5O7S	465.0566	466.0639	464.0493	ESI+	12
373 Fluquinconazole	136426-54-5	C16H8Cl2FN5O	375.0090	376.0163	374.0017	ESI+	10
374 Fluridone	59756-60-4	C19H14F3NO	329.1027	330.1100	328.0954	ESI+	4
375 Flurochloridone	61213-25-0	C12H10Cl2F3NO	311.0092	312.0165	310.0019	ESI+	18

化合物名	CAS番号	分子式	分子量	[M + H] ⁺	[M - H] ⁻	イオン化モード	MRM ランジション 数
376 Fluroxypyr	69377-81-7	C7H5Cl2FN2O3	253.9661	254.9734	252.9588	ESI+	15
377 Fluroxypyr-1-methylheptylester	81406-37-3	C15H21Cl2FN2O3	366.0913	367.0986	365.0840	ESI+	12
378 Flurprimidol	56425-91-3	C15H15F3N2O2	312.1086	313.1159	311.1013	ESI+	6
379 Flurtamone	96525-23-4	C18H14F3NO2	333.0977	334.1050	332.0904	ESI+	6
380 Flusilazole	85509-19-9	C16H15F2N3Si	315.1003	316.1076	314.0930	ESI+	6
381 Fluthiacet-methyl	117337-19-6	C15H15ClFN3O3S2	403.0227	404.0300	402.0154	ESI+	9
382 Flutolanil	66332-96-5	C17H16F3NO2	323.1133	324.1206	322.1060	ESI+	12
383 Flutriafol	76674-21-0	C16H13F2N3O	301.1027	302.1100	300.0954	ESI+	5
384 Fluxapyroxad	907204-31-3	C18H12F5N3O	381.0901	382.0974	380.0828	ESI+	11
385 Fomesafen	72178-02-0	C15H10ClF3N2O6S	437.9900	438.9973	436.9827	ESI+	21
386 Fonofos	944-22-9	C10H15OP5S2	246.0302	247.0375	245.0229	ESI+	5
387 Foramsulfuron	173159-57-4	C17H20N6O7S	452.1114	453.1187	451.1041	ESI+	6
388 Forchlorfenuron	68157-60-8	C12H10ClN3O	247.0512	248.0585	246.0439	ESI+	12
389 Fosetyl-aluminium	39148-24-8	C2H7O3P	110.0133	111.0206	109.0060	ESI-	3
390 Fosthiazate	98886-44-3	C9H18NO3PS2	283.0466	284.0539	282.0393	ESI+	6
391 Fuberidazole	3878-19-1	C11H8N2O	184.0637	185.0710	183.0564	ESI+	6
392 Furalaxyl	57646-30-7	C17H19NO4	301.1314	302.1387	300.1241	ESI+	3
393 Furametpyr	123572-88-3	C17H20ClN3O2	333.1244	334.1317	332.1171	ESI+	12
394 Furathiocarb	65907-30-4	C18H26N2O5S	382.1562	383.1635	381.1489	ESI+	6
395 Furmecyclox	60568-05-0	C14H21NO3	251.1521	252.1594	250.1448	ESI+	6
396 Gibberellic acid (Gibberellin)	77-06-5	C19H22O6	346.1416	347.1489	345.1343	ESI-	11
397 Gluphosinate	77182-82-2	C5H12NO4P	181.0504	182.0577	180.0431	ESI+	10
398 Glyphosate	1071-83-6	C3H8NO5P	169.0140	170.0213	168.0067	ESI+	8
399 Halofenozide	112226-61-6	C18H19ClN2O2	330.1135	331.1208	329.1062	ESI+	12
400 Halosulfuron-methyl	100784-20-1	C13H15ClN6O7S	434.0411	435.0484	433.0338	ESI+	11
401 Haloxyfop	69806-34-4	C15H11ClF3NO4	361.0329	362.0402	360.0256	ESI+	9
402 Haloxyfop-2-ethoxyethyl	87237-48-7	C19H19ClF3NO5	433.0904	434.0977	432.0831	ESI+	12
403 Haloxyfop-methyl	69806-40-2	C16H13ClF3NO4	375.0485	376.0558	374.0412	ESI+	12
404 Haloxyfop-R-methyl	72619-32-0	C16H13ClF3NO4	375.0485	376.0558	374.0412	ESI+	12
405 Heptenophos	23560-59-0	C9H12ClO4P	250.0162	251.0235	249.0089	ESI+	9
406 Hexaconazole	79983-71-4	C14H17Cl2N3O	313.0749	314.0822	312.0676	ESI+	10
407 Hexaflumuron	86479-06-3	C16H8Cl2F6N2O3	459.9816	460.9889	458.9743	ESI-	12
408 Hexazinone	51235-04-2	C12H20N4O2	252.1586	253.1659	251.1513	ESI+	3
409 Hexythiazox	78587-05-0	C17H21ClN2O2S	352.1012	353.1085	351.0939	ESI+	11
410 Hydramethylnon	67485-29-4	C25H24F6N4	494.1905	495.1978	493.1832	ESI+	12
411 Hymexazol	10004-44-1	C4H5NO2	99.0320	100.0393	98.0247	ESI+	3
412 Imazalil	35554-44-0	C14H14Cl2N2O	296.0483	297.0556	295.0410	ESI+	12
413 Imazamethabenz-methyl	81405-85-8	C16H20N2O3	288.1474	289.1547	287.1401	ESI+	12
414 Imazamox	114311-32-9	C15H19N3O4	305.1376	306.1449	304.1303	ESI+	10
415 Imazapic	104098-48-8	C14H17N3O3	275.1270	276.1343	274.1197	ESI+	11
416 Imazapyr	81334-34-1	C13H15N3O3	261.1113	262.1186	260.1040	ESI+	11
417 Imazaquin	81335-37-7	C17H17N3O3	311.1270	312.1343	310.1197	ESI+	6
418 Imazethapyr	81335-77-5	C15H19N3O3	289.1426	290.1499	288.1353	ESI+	12
419 Imazosulfuron	122548-33-8	C14H13ClN6O5S	412.0357	413.0430	411.0284	ESI+	13
420 Imibenconazole	86598-92-7	C17H13Cl3N4S	409.9927	411.0000	408.9854	ESI+	22
421 Imidacloprid	138261-41-3	C9H10ClN5O2	255.0523	256.0596	254.0450	ESI+	8
422 Indanofan	133220-30-1	C20H17ClO3	340.0866	341.0939	339.0793	ESI+	6
423 Indoxacarb	173584-44-6	C22H17ClF3N3O7	527.0707	528.0780	526.0634	ESI+	12
424 Iodosulfuron-methyl	144550-36-7	C14H14IN5O6S	506.9710	507.9783	505.9637	ESI+	8
425 Ioxynil	1689-83-4	C7H3I2NO	370.8304	371.8377	369.8231	ESI-	4
426 Ipconazole	125225-28-7	C18H24ClN3O	333.1608	334.1681	332.1535	ESI+	5
427 Iprobenfos	26087-47-8	C13H21O3PS	288.0949	289.1022	287.0876	ESI+	3
428 Iprodione	36734-19-7	C13H13Cl2N3O3	329.0334	330.0407	328.0261	ESI+	4
429 Iprovalicarb	140923-17-7	C18H28N2O3	320.2100	321.2173	319.2027	ESI+	6
430 Irgarol 1051	28159-98-0	C11H19N5S	253.1361	254.1434	252.1288	ESI+	6
431 Isazofos	42509-80-8	C9H17ClN3O3PS	313.0417	314.0490	312.0344	ESI+	12
432 Isocarbamid	30979-48-7	C8H15N3O2	185.1164	186.1237	184.1091	ESI+	6
433 Isocarbofos	24353-61-5	C11H16NO4PS	289.0538	290.0611	288.0465	ESI+	6
434 Isafenphos	25311-71-1	C15H24NO4PS	345.1164	346.1237	344.1091	ESI+	6
435 Isafenphos-methyl	99675-03-3	C14H22NO4PS	331.1007	332.1080	330.0934	ESI+	6
436 Isafenphos-oxon	31120-85-1	C15H24NO5P	329.1392	330.1465	328.1319	ESI+	3
437 Isomethiozin	57052-04-7	C12H20N4O5	268.1358	269.1431	267.1285	ESI+	6
438 Isonoruron	28805-78-9	C13H22N2O	222.1732	223.1805	221.1659	ESI+	6
439 Isoprocab	2631-40-5	C11H15NO2	193.1103	194.1176	192.1030	ESI+	3
440 Isopropalin	33820-53-0	C15H23N3O4	309.1689	310.1762	308.1616	ESI+	6
441 Isoprothiolane	50512-35-1	C12H18O4S2	290.0647	291.0720	289.0574	ESI+	6
442 Isoproturon	34123-59-6	C12H18N2O	206.1419	207.1492	205.1346	ESI+	6
443 Isopyrazam	881685-58-1	C20H23F2N3O	359.1809	360.1882	358.1736	ESI+	9
444 Isoxaben	82558-50-7	C18H24N2O4	332.1736	333.1809	331.1663	ESI+	6
445 Isoxadifen-ethyl	163520-33-0	C18H17NO3	295.1208	296.1281	294.1135	ESI+	12
446 Isoxaflutole	141112-29-0	C15H12F3NO4S	359.0439	360.0512	358.0366	ESI+	5
447 Isoxathion	18854-01-8	C13H16NO4PS	313.0538	314.0611	312.0465	ESI+	6
448 Ivermectine	70288-86-7	C48H74O14	874.5079	875.5152	873.5006	ESI+	6
449 Karbutilate	4849-32-5	C14H21N3O3	279.1583	280.1656	278.1510	ESI+	16
450 Kasugamycin	6980-18-3	C14H25N3O9	379.1591	380.1664	378.1518	ESI+	3

化合物名	CAS番号	分子式	分子量	[M + H] ⁺	[M - H] ⁻	イオン化モード	MRM トランジション 数
451 Kresoxim-methyl	143390-89-0	C18H19NO4	313.1314	314.1387	312.1241	ESI+	6
452 Lactofen	77501-63-4	C19H15ClF3NO7	461.0489	462.0562	460.0416	ESI+	12
453 Lambda-Cyhalothrin	91465-08-6	C23H19ClF3NO3	449.1006	450.1079	448.0933	ESI+	4
454 Lenacil	2164-08-1	C13H18N2O2	234.1368	235.1441	233.1295	ESI+	6
455 Linuron	330-55-2	C9H10Cl2N2O2	248.0119	249.0192	247.0046	ESI+	12
456 Lufenuron	103055-07-8	C17H8Cl2F8N2O3	509.9784	510.9857	508.9711	ESI-	10
457 Malaoxon	1634-78-2	C10H19O7P5	314.0589	315.0662	313.0516	ESI+	6
458 Malathion	121-75-5	C10H19O6PS2	330.0361	331.0434	329.0288	ESI+	12
459 Maleic-hydrazide	123-33-1	C4H4N2O2	112.0273	113.0346	111.0200	ESI+	3
460 Mandipropamid	374726-62-2	C23H22ClNO4	411.1237	412.1310	410.1164	ESI+	12
461 MCPA (MCP)	94-74-6	C9H9ClO3	200.0240	201.0313	199.0167	ESI-	3
462 MCPA-butoxyethyl ester	19480-43-4	C15H21ClO4	300.1128	301.1201	299.1055	ESI+	12
463 MCPB	94-81-5	C11H13ClO3	228.0553	229.0626	227.0480	ESI-	3
464 Mecarbam	2595-54-2	C10H20NO5PS2	329.0521	330.0594	328.0448	ESI+	6
465 Mecoprop (MCP)	93-65-2	C10H11ClO3	214.0397	215.0470	213.0324	ESI-	2
466 Mecoprop-P	16484-77-8	C10H11ClO3	214.0397	215.0470	213.0324	ESI-	4
467 Mefenacet	73250-68-7	C16H14N2O2S	298.0776	299.0849	297.0703	ESI+	6
468 Mefenpyr-diethyl	135590-91-9	C16H18Cl2N2O4	372.0644	373.0717	371.0571	ESI+	24
469 Mefluidide	53780-34-0	C11H13F3N2O3S	310.0599	311.0672	309.0526	ESI+	10
470 Mepanipyrim	110235-47-7	C14H13N3	223.1109	224.1182	222.1036	ESI+	6
471 Mephosfolan	950-10-7	C8H16NO3PS2	269.0309	270.0382	268.0236	ESI+	6
472 Mepiquat	24307-26-4	C7H16N	114.1283	115.1356	113.1210	ESI+	6
473 Mepronil	55814-41-0	C17H19NO2	269.1416	270.1489	268.1343	ESI+	5
474 Meptyldinocap	6119-92-2	C18H24N2O6	364.1634	365.1707	363.1561	ESI-	6
475 Mesosulfuron-methyl	208465-21-8	C17H21N5O9S2	503.0781	504.0854	502.0708	ESI+	6
476 Mesotrione	104206-82-8	C14H13NO7S	339.0413	340.0486	338.0340	ESI+	6
477 Metaflumizone	139968-49-3	C24H16F6N4O2	506.1177	507.1250	505.1104	ESI+	6
478 Metalaxyl	57837-19-1	C15H21NO4	279.1471	280.1544	278.1398	ESI+	6
479 Metalaxyl-M	70630-17-0	C15H21NO4	279.1471	280.1544	278.1398	ESI+	6
480 Metamitron	41394-05-2	C10H10N4O	202.0855	203.0928	201.0782	ESI+	3
481 Metazachlor	67129-08-2	C14H16ClN3O	277.0982	278.1055	276.0909	ESI+	6
482 Metconazole	125116-23-6	C17H22ClN3O	319.1451	320.1524	318.1378	ESI+	4
483 Methabenzthiazuron	18691-97-9	C10H11N3OS	221.0623	222.0696	220.0550	ESI+	6
484 Methacrifos	62610-77-9	C7H13O5PS	240.0221	241.0294	239.0148	ESI+	12
485 Methamidophos	10265-92-6	C2H8NO2PS	141.0013	142.0086	139.9940	ESI+	6
486 Methfuroxam	28730-17-8	C14H15NO2	229.1103	230.1176	228.1030	ESI+	4
487 Methidathion	950-37-8	C6H11N2O4PS3	301.9619	302.9692	300.9546	ESI+	7
488 Methiocarb	2032-65-7	C11H15NO2S	225.0823	226.0896	224.0750	ESI+	6
489 Methiocarb-sulfone	2179-25-1	C11H15NO4S	257.0722	258.0795	256.0649	ESI+	9
490 Methiocarb-sulfoxide	2635-10-1	C11H15NO3S	241.0773	242.0846	240.0700	ESI+	6
491 Methomyl	16752-77-5	C5H10N2O2S	162.0463	163.0536	161.0390	ESI+	6
492 Methoprene	40596-69-8	C19H34O3	310.2508	311.2581	309.2435	ESI+	12
493 Methoprotryne	841-06-5	C11H21N5OS	271.1467	272.1540	270.1394	ESI+	6
494 Methoxyfenozone	161050-58-4	C22H28N2O3	368.2100	369.2173	367.2027	ESI+	6
495 Metobromuron	3060-89-7	C9H11BrN2O2	258.0004	259.0077	256.9931	ESI+	12
496 Metolachlor	51218-45-2	C15H22ClNO2	283.1339	284.1412	282.1266	ESI+	12
497 Metolcarb	1129-41-5	C9H11NO2	165.0790	166.0863	164.0717	ESI+	6
498 Metominostrobin	133408-50-1	C16H16N2O3	284.1161	285.1234	283.1088	ESI+	6
499 Metosulam	139528-85-1	C14H13Cl2N5O4S	417.0065	418.0138	415.9992	ESI+	24
500 Metoxuron	19937-59-8	C10H13ClN2O2	228.0666	229.0739	227.0593	ESI+	5
501 Metrafenone	220899-03-6	C19H21BrO5	408.0572	409.0645	407.0499	ESI+	12
502 Metribuzin	21087-64-9	C8H14N4OS	214.0888	215.0961	213.0815	ESI+	5
503 Metsulfuron-methyl	74223-64-6	C14H15N5O6S	381.0743	382.0816	380.0670	ESI+	6
504 Mevinphos	7786-34-7	C7H13O6P	224.0450	225.0523	223.0377	ESI+	5
505 Mexacarbate	315-18-4	C12H18N2O2	222.1368	223.1441	221.1295	ESI+	6
506 Molinate	2212-67-1	C9H17NO5	187.1031	188.1104	186.0958	ESI+	6
507 Monalide	7287-36-7	C13H18ClNO	239.1077	240.1150	238.1004	ESI+	20
508 Monocrotophos	6923-22-4	C7H14NO5P	223.0610	224.0683	222.0537	ESI+	12
509 Monolinuron	1746-81-2	C9H11ClN2O2	214.0509	215.0582	213.0436	ESI+	10
510 Monuron	150-68-5	C9H11ClN2O	198.0560	199.0633	197.0487	ESI+	10
511 Morpholine	110-91-8	C4H9NO	87.0684	88.0757	86.0611	ESI+	6
512 Moxidectin	113507-06-5	C37H53NO8	639.3771	640.3844	638.3698	ESI+	12
513 Myclobutanil	88671-89-0	C15H17ClN4	288.1142	289.1215	287.1069	ESI+	8
514 N-(2, 4-Dimethylphenyl) formamide	60397-77-5	C9H11NO	149.0841	150.0914	148.0768	ESI+	6
515 N-(2, 4-Dimethylphenyl)-N'-methylformamidine	33089-74-6	C10H14N2	162.1157	163.1230	161.1084	ESI+	6
516 N, N'-Diphenylurea	102-07-8	C13H12N2O	212.0950	213.1023	211.0877	ESI+	4
517 Naled	300-76-5	C4H7Br2Cl2O4P	377.7826	378.7899	376.7753	ESI+	6
518 Naproanilide	52570-16-8	C19H17NO2	291.1259	292.1332	290.1186	ESI+	2
519 Napropamide	15299-99-7	C17H21NO2	271.1572	272.1645	270.1499	ESI+	6
520 Naptalam	132-66-1	C18H13NO3	291.0895	292.0968	290.0822	ESI+	6
521 Neburon	555-37-3	C12H16Cl2N2O	274.0640	275.0713	273.0567	ESI+	9
522 Nicarbazin	330-95-0	C19H18N6O6	426.1288	427.1361	425.1215	ESI-	3
523 Nicosulfuron	111991-09-4	C15H18N6O6S	410.1009	411.1082	409.0936	ESI+	6
524 Nicotine	54-11-5	C10H14N2	162.1157	163.1230	161.1084	ESI+	6
525 Nitenpyram	150824-47-8	C11H15ClN4O2	270.0884	271.0957	269.0811	ESI+	6

化合物名	CAS番号	分子式	分子量	[M + H] ⁺	[M - H] ⁻	イオン化モード	MRM トランジション 数
526 Nitralin	4726-14-1	C13H19N3O6S	345.0995	346.1068	344.0922	ESI+	12
527 Nitrothal-isopropyl	10552-74-6	C14H17NO6	295.1056	296.1129	294.0983	ESI+	6
528 Norflurazon	27314-13-2	C12H9ClF3N3O	303.0386	304.0459	302.0313	ESI+	16
529 Norflurazon-desmethyl	23576-24-1	C11H7ClF3N3O	289.0230	290.0303	288.0157	ESI+	12
530 Novaluron	116714-46-6	C17H9ClF8N2O4	492.0123	493.0196	491.0050	ESI+	18
531 Noviflumuron	121451-02-3	C17H7Cl2F9N2O3	527.9690	528.9763	526.9617	ESI-	6
532 Nuaimol	63284-71-9	C17H12ClF2N2O	314.0622	315.0695	313.0549	ESI+	11
533 Ofurace	58810-48-3	C14H16ClNO3	281.0819	282.0892	280.0746	ESI+	17
534 Omethoate	1113-02-6	C5H12NO4PS	213.0225	214.0298	212.0152	ESI+	4
535 Orbencarb	34622-58-7	C12H16ClNO5	257.0641	258.0714	256.0568	ESI+	12
536 Orthosulfamuron	213464-77-8	C16H20N6O6S	424.1165	425.1238	423.1092	ESI+	6
537 Oryzalin	19044-88-3	C12H18N4O6S	346.0947	347.1020	345.0874	ESI+	5
538 Oxabetrinil	94593-79-0	C12H12N2O3	232.0848	233.0921	231.0775	ESI+	2
539 Oxadiargyl	39807-15-3	C15H14Cl2N2O3	340.0381	341.0454	339.0308	ESI+	14
540 Oxadiazon	19666-30-9	C15H18Cl2N2O3	344.0694	345.0767	343.0621	ESI+	6
541 Oxadixyl	77732-09-3	C14H18N2O4	278.1267	279.1340	277.1194	ESI+	12
542 Oxamyl	23135-22-0	C7H13N3O3S	219.0678	220.0751	218.0605	ESI+	3
543 Oxasulfuron	144651-06-9	C17H18N4O6S	406.0947	407.1020	405.0874	ESI+	6
544 Oxaziclonefone	153197-14-9	C20H19Cl2NO2	375.0793	376.0866	374.0720	ESI+	2
545 Oxycarboxin	5259-88-1	C12H13NO4S	267.0565	268.0638	266.0492	ESI+	3
546 Oxydemeton-methyl	301-12-2	C6H15O4PS2	246.0149	247.0222	245.0076	ESI+	6
547 Paclobutrazol	76738-62-0	C15H20ClN3O	293.1295	294.1368	292.1222	ESI+	8
548 Paraoxon-ethyl	311-45-5	C10H14NO6P	275.0559	276.0632	274.0486	ESI+	6
549 Paraoxon-methyl	950-35-6	C8H10NO6P	247.0246	248.0319	246.0173	ESI+	3
550 Paraquat	1910-42-5	C12H14Cl2N2	256.0534	257.0607	255.0461	ESI+	5
551 Parathion	56-38-2	C10H14NO5PS	291.0330	292.0403	290.0257	ESI+	3
552 Pebulate	1114-71-2	C10H21NO5	203.1344	204.1417	202.1271	ESI+	6
553 Penconazole	66246-88-6	C13H15Cl2N3	283.0643	284.0716	282.0570	ESI+	12
554 Pencycuron	66063-05-6	C19H21ClN2O	328.1342	329.1415	327.1269	ESI+	10
555 Pendimethalin	40487-42-1	C13H19N3O4	281.1376	282.1449	280.1303	ESI+	6
556 Penoxsulam	219714-96-2	C16H14F5N5O5S	483.0636	484.0709	482.0563	ESI+	6
557 Pentachlorophenol	87-86-5	C6HCl5O	263.8470	264.8543	262.8397	ESI-	3
558 Pentoxazone	110956-75-7	C17H17ClFNO4	353.0830	354.0903	352.0757	ESI+	2
559 Permethrin	52645-53-1	C21H20Cl2O3	390.0790	391.0863	389.0717	ESI+	12
560 Pethoxamid	106700-29-2	C16H22ClNO2	295.1339	296.1412	294.1266	ESI+	7
561 Phenmedipham	13684-63-4	C16H16N2O4	300.1110	301.1183	299.1037	ESI+	6
562 Phenothrin	26002-80-2	C23H26O3	350.1882	351.1955	349.1809	ESI+	9
563 Phenthoate	2597-03-7	C12H17O4PS2	320.0306	321.0379	319.0233	ESI+	12
564 Phorate	298-02-2	C7H17O2PS3	260.0128	261.0201	259.0055	ESI+	6
565 Phorate-oxon	2600-69-3	C7H17O3PS2	244.0357	245.0430	243.0284	ESI+	6
566 Phorate-sulfone	2588-04-7	C7H17O4PS3	292.0027	293.0100	290.9954	ESI+	6
567 Phorate-sulfoxide	2588-03-6	C7H17O3PS3	276.0077	277.0150	275.0004	ESI+	6
568 Phosalone	2310-17-0	C12H15ClNO4PS2	366.9869	367.9942	365.9796	ESI+	12
569 Phosfolan	947-02-4	C7H14NO3PS2	255.0153	256.0226	254.0080	ESI+	6
570 Phosmet	732-11-6	C11H12NO4PS2	316.9945	318.0018	315.9872	ESI+	12
571 Phosphamidon	13171-21-6	C10H19ClNO5P	299.0689	300.0762	298.0616	ESI+	12
572 Phoxim	14816-18-3	C12H15N2O3PS	298.0541	299.0614	297.0468	ESI+	6
573 Picloram	1918-02-1	C6H3Cl3N2O2	239.9260	240.9333	238.9187	ESI+	9
574 Picolinafen	137641-05-5	C19H12F4N2O2	376.0835	377.0908	375.0762	ESI+	6
575 Picoxystrobin	117428-22-5	C18H16F3NO4	367.1031	368.1104	366.0958	ESI+	6
576 Pinoxaden	243973-20-8	C23H32N2O4	400.2362	401.2435	399.2289	ESI+	6
577 Piperonyl-butoxide	51-03-6	C19H30O5	338.2093	339.2166	337.2020	ESI+	12
578 Piperophos	24151-93-7	C14H28NO3PS2	353.1248	354.1321	352.1175	ESI+	6
579 Pirimicarb	23103-98-2	C11H18N4O2	238.1430	239.1503	237.1357	ESI+	3
580 Pirimicarb-desmethyl	30614-22-3	C10H16N4O2	224.1273	225.1346	223.1200	ESI+	6
581 Pirimicarb-desmethyl-formamido	27218-04-8	C11H16N4O3	252.1222	253.1295	251.1149	ESI+	2
582 Pirimiphos-ethyl	23505-41-1	C13H24N3O3PS	333.1276	334.1349	332.1203	ESI+	6
583 Pirimiphos-methyl	29232-93-7	C11H20N3O3PS	305.0963	306.1036	304.0890	ESI+	6
584 Prallethrin	23031-36-9	C19H24O3	300.1725	301.1798	299.1652	ESI+	6
585 Pretilachlor	51218-49-6	C17H26ClNO2	311.1652	312.1725	310.1579	ESI+	6
586 Primisulfuron-methyl	86209-51-0	C15H12F4N4O7S	468.0363	469.0436	467.0290	ESI+	9
587 Probenazole	27605-76-1	C10H9NO3S	223.0303	224.0376	222.0230	ESI+	4
588 Prochloraz	67747-09-5	C15H16Cl3N3O2	375.0308	376.0381	374.0235	ESI+	15
589 Profenofos	41198-08-7	C11H15BrClO3PS	371.9351	372.9424	370.9278	ESI+	12
590 Profoxydim	139001-49-3	C24H32ClNO4S	465.1741	466.1814	464.1668	ESI+	24
591 Promecarb	2631-37-0	C12H17NO2	207.1259	208.1332	206.1186	ESI+	6
592 Prometon	1610-18-0	C10H19NO5O	225.1590	226.1663	224.1517	ESI+	6
593 Prometryn	7287-19-6	C10H19N5S	241.1361	242.1434	240.1288	ESI+	6
594 Propachlor	1918-16-7	C11H14ClNO	211.0764	212.0837	210.0691	ESI+	6
595 Propamocarb	24579-73-5	C9H20N2O2	188.1525	189.1598	187.1452	ESI+	6
596 Propanil	709-98-8	C9H9Cl2NO	217.0061	218.0134	215.9988	ESI+	9
597 Propaphos	7292-16-2	C13H21O4PS	304.0898	305.0971	303.0825	ESI+	10
598 Propaquizafop	111479-05-1	C22H22ClN3O5	443.1248	444.1321	442.1175	ESI+	12
599 Propargite	2312-35-8	C19H26O4S	350.1552	351.1625	349.1479	ESI+	6
600 Propazine	139-40-2	C9H16ClN5	229.1094	230.1167	228.1021	ESI+	6

	化合物名	CAS番号	分子式	分子量	[M + H] ⁺	[M - H] ⁻	イオン化モード	MRM トランジション 数
601	Propetamphos	31218-83-4	C10H20NO4PS	281.0851	282.0924	280.0778	ESI+	18
602	Propham	122-42-9	C10H13NO2	179.0946	180.1019	178.0873	ESI+	6
603	Propiconazole	60207-90-1	C15H17Cl2N3O2	341.0698	342.0771	340.0625	ESI+	12
604	Propisochlor	86763-47-5	C15H22ClNO2	283.1339	284.1412	282.1266	ESI+	12
605	Propoxur	114-26-1	C11H15NO3	209.1052	210.1125	208.0979	ESI+	6
606	Propoxycarbazone	181274-15-7	C15H18N4O7S	398.0896	399.0969	397.0823	ESI+	20
607	Propylene-thiourea	2122-19-2	C4H8N2S	116.0408	117.0481	115.0335	ESI+	6
608	Propyzamide	23950-58-5	C12H11Cl2NO	255.0218	256.0291	254.0145	ESI+	10
609	Proquinazid	189278-12-4	C14H17IN2O2	372.0335	373.0408	371.0262	ESI+	6
610	Prosulfocarb	52888-80-9	C14H21NOS	251.1344	252.1417	250.1271	ESI+	4
611	Prosulfuron	94125-34-5	C15H16F3N5O4S	419.0875	420.0948	418.0802	ESI+	7
612	Prothioconazole	178928-70-6	C14H15Cl2N3O5	343.0313	344.0386	342.0240	ESI+	10
613	Prothioconazole-desthio	120983-64-4	C14H15Cl2N3O	311.0592	312.0665	310.0519	ESI+	10
614	Prothiophos	34643-46-4	C11H15Cl2O2PS2	343.9628	344.9701	342.9555	ESI+	12
615	Prothoate	2275-18-5	C9H20NO3PS2	285.0622	286.0695	284.0549	ESI+	6
616	Pymetrozine	123312-89-0	C10H11N5O	217.0964	218.1037	216.0891	ESI+	4
617	Pyracarbolid	24691-76-7	C13H15NO2	217.1103	218.1176	216.1030	ESI+	3
618	Pyraclofos	89784-60-1	C14H18ClN2O3PS	360.0464	361.0537	359.0391	ESI+	12
619	Pyraclostrobin	175013-18-0	C19H18ClN3O4	387.0986	388.1059	386.0913	ESI+	11
620	Pyraflufen-ethyl	129630-19-9	C15H13Cl2F3N2O4	412.0204	413.0277	411.0131	ESI+	12
621	Pyrasulfotole	365400-11-9	C14H13F3N2O4S	362.0548	363.0621	361.0475	ESI+	9
622	Pyrazolynate	58011-68-0	C19H16Cl2N2O4S	438.0208	439.0281	437.0135	ESI+	2
623	Pyrazophos	13457-18-6	C14H20N3O5PS	373.0861	374.0934	372.0788	ESI+	12
624	Pyrazosulfuron-ethyl	93697-74-6	C14H18N6O7S	414.0958	415.1031	413.0885	ESI+	6
625	Pyrazoxyfen	71561-11-0	C20H16Cl2N2O3	402.0538	403.0611	401.0465	ESI+	12
626	Pyributicarb	88678-67-5	C18H22N2O2S	330.1402	331.1475	329.1329	ESI+	6
627	Pyridaben	96489-71-3	C19H25ClN2O5	364.1376	365.1449	363.1303	ESI+	12
628	Pyridalyl	179101-81-6	C18H14Cl4F3NO3	488.9680	489.9753	487.9607	ESI+	18
629	Pyridaphenthion	119-12-0	C14H17N2O4PS	340.0647	341.0720	339.0574	ESI+	6
630	Pyridate	55512-33-9	C19H23ClN2O2S	378.1169	379.1242	377.1096	ESI+	12
631	Pyrifenox	88283-41-4	C14H12Cl2N2O	294.0327	295.0400	293.0254	ESI+	8
632	Pyriftalid	135186-78-6	C15H14N2O4S	318.0674	319.0747	317.0601	ESI+	2
633	Pyrimethanil	53112-28-0	C12H13N3	199.1109	200.1182	198.1036	ESI+	6
634	Pyrimidifen	105779-78-0	C20H28ClN3O2	377.1870	378.1943	376.1797	ESI+	12
635	Pyriminobac-methyl (E)	136191-64-5	C17H19N3O6	361.1274	362.1347	360.1201	ESI+	6
636	Pyriproxyfen	95737-68-1	C20H19NO3	321.1365	322.1438	320.1292	ESI+	6
637	Pyroquilon	57369-32-1	C11H11NO	173.0841	174.0914	172.0768	ESI+	6
638	Pyroxsulam	422556-08-9	C14H13F3N6O5S	434.0620	435.0693	433.0547	ESI+	6
639	Quinalphos	13593-03-8	C12H15N2O3PS	298.0541	299.0614	297.0468	ESI+	6
640	Quinclorac	84087-01-4	C10H5Cl2NO2	240.9697	241.9770	239.9624	ESI+	11
641	Quinmerac	90717-03-6	C11H8ClNO2	221.0244	222.0317	220.0171	ESI+	12
642	Quinoclamine	2797-51-5	C10H6ClNO2	207.0087	208.0160	206.0014	ESI+	19
643	Quinoxifen	124495-18-7	C15H8Cl2FNO	306.9967	308.0040	305.9894	ESI+	12
644	Quizalofop (free acid)	76578-12-6	C17H13ClN2O4	344.0564	345.0637	343.0491	ESI+	24
645	Quizalofop-ethyl	76578-14-8	C19H17ClN2O4	372.0877	373.0950	371.0804	ESI+	12
646	Quizalofop-methyl	76578-13-7	C18H15ClN2O4	358.0720	359.0793	357.0647	ESI+	12
647	Quizalofop-P	94051-08-8	C17H13ClN2O4	344.0564	345.0637	343.0491	ESI+	9
648	Quizalofop-P-ethyl	100646-51-3	C19H17ClN2O4	372.0877	373.0950	371.0804	ESI+	12
649	Rabenzazole	40341-04-6	C12H12N4	212.1062	213.1135	211.0989	ESI+	12
650	Resmethrin	10453-86-8	C22H26O3	338.1882	339.1955	337.1809	ESI+	6
651	Rimsulfuron	122931-48-0	C14H17N5O7S2	431.0569	432.0642	430.0496	ESI+	9
652	Rotenone	83-79-4	C23H22O6	394.1416	395.1489	393.1343	ESI+	6
653	Saflufenacil	372137-35-4	C17H17ClF4N4O5S	500.0544	501.0617	499.0471	ESI+	8
654	Sebuthylazine	7286-69-3	C9H16ClN5	229.1094	230.1167	228.1021	ESI+	6
655	Sebuthylazine-desethyl	37019-18-4	C7H12ClN5	201.0781	202.0854	200.0708	ESI+	12
656	Secbumeton	26259-45-0	C10H19N5O	225.1590	226.1663	224.1517	ESI+	4
657	Sethoxydim	74051-80-2	C17H29NO3S	327.1868	328.1941	326.1795	ESI+	12
658	Siduron	1982-49-6	C14H20N2O	232.1576	233.1649	231.1503	ESI+	5
659	Silafluofen	105024-66-6	C25H29FO2Si	408.1921	409.1994	407.1848	ESI+	2
660	Silthiofam	175217-20-6	C13H21NOSSi	267.1113	268.1186	266.1040	ESI+	5
661	Simazine	122-34-9	C7H12ClN5	201.0781	202.0854	200.0708	ESI+	12
662	Simazine-2-hydroxy	2599-11-3	C7H13N5O	183.1120	184.1193	182.1047	ESI+	5
663	Simeconazole	149508-90-7	C14H20FN3OSi	293.1360	294.1433	292.1287	ESI+	6
664	Simetryn	1014-70-6	C8H15N5S	213.1048	214.1121	212.0975	ESI+	4
665	Spinetoram A	187166-40-1	C42H69NO10	747.4921	748.4994	746.4848	ESI+	2
666	Spinetoram B	187166-15-0	C43H69NO10	759.4921	760.4994	758.4848	ESI+	3
667	Spinosyn A	131929-60-7	C41H65NO10	731.4608	732.4681	730.4535	ESI+	4
668	Spinosyn D	131929-63-0	C42H67NO10	745.4765	746.4838	744.4692	ESI+	4
669	Spirodiclofen	148477-71-8	C21H24Cl2O4	410.1052	411.1125	409.0979	ESI+	11
670	Spiromesifen	283594-90-1	C23H30O4	370.2144	371.2217	369.2071	ESI+	4
671	Spirotetramat	203313-25-1	C21H27NO5	373.1889	374.1962	372.1816	ESI+	6
672	Spiroxamine	118134-30-8	C18H35NO2	297.2668	298.2741	296.2595	ESI+	6
673	Sulcotrione	99105-77-8	C14H13ClO5S	328.0172	329.0245	327.0099	ESI+	2
674	Sulfallate	95-06-7	C8H14ClNS2	223.0256	224.0329	222.0183	ESI+	9
675	Sulfaquinoxaline	59-40-5	C14H12N4O2S	300.0681	301.0754	299.0608	ESI+	6

	化合物名	CAS番号	分子式	分子量	[M + H] ⁺	[M - H] ⁻	イオン化モード	MRM トランジション 数
676	Sulfometuron-methyl	74222-97-2	C15H16N4O5S	364.0841	365.0914	363.0768	ESI+	6
677	Sulfosulfuron	141776-32-1	C16H18N6O7S2	470.0678	471.0751	469.0605	ESI+	6
678	Sulfotep	3689-24-5	C8H20O5P2S2	322.0227	323.0300	321.0154	ESI+	6
679	Sulprofos	35400-43-2	C12H19O2PS3	322.0285	323.0358	321.0212	ESI+	6
680	Tau-Fluvalinate	102851-06-9	C26H22ClF3N2O3	502.1271	503.1344	501.1198	ESI+	15
681	Tebuconazole	107534-96-3	C16H22ClN3O	307.1451	308.1524	306.1378	ESI+	10
682	Tebufenozide	112410-23-8	C22H28N2O2	352.2151	353.2224	351.2078	ESI+	6
683	Tebufenpyrad	119168-77-3	C18H24ClN3O	333.1608	334.1681	332.1535	ESI+	12
684	Tebupirimfos	96182-53-5	C13H23N2O3PS	318.1167	319.1240	317.1094	ESI+	6
685	Tebutam	35256-85-0	C15H23NO	233.1780	234.1853	232.1707	ESI+	6
686	Tebuthiuron	34014-18-1	C9H16N4OS	228.1045	229.1118	227.0972	ESI+	6
687	Teflubenzuron	83121-18-0	C14H6Cl2F4N2O2	379.9742	380.9815	378.9669	ESI-	12
688	Tembotrione	335104-84-2	C17H16ClF3O6S	440.0308	441.0381	439.0235	ESI+	12
689	Temephos	3383-96-8	C16H20O6P2S3	465.9897	466.9970	464.9824	ESI+	6
690	Tepaloxymidim	149979-41-9	C17H24ClNO4	341.1394	342.1467	340.1321	ESI+	8
691	Terbacil	5902-51-2	C9H13ClN2O2	216.0666	217.0739	215.0593	ESI-	10
692	Terbucarb	1918-11-2	C17H27NO2	277.2042	278.2115	276.1969	ESI+	12
693	Terbufos	13071-79-9	C9H21O2PS3	288.0441	289.0514	287.0368	ESI+	5
694	Terbufos-sulfone	56070-16-7	C9H21O4PS3	320.0340	321.0413	319.0267	ESI+	6
695	Terbufos-sulfoxide	10548-10-4	C9H21O3PS3	304.0390	305.0463	303.0317	ESI+	6
696	Terbumeton	33693-04-8	C10H19N5O	225.1590	226.1663	224.1517	ESI+	6
697	Terbumeton-desethyl	30125-64-5	C8H15N5O	197.1277	198.1350	196.1204	ESI+	3
698	Terbuthylazine	5915-41-3	C9H16ClN5	229.1094	230.1167	228.1021	ESI+	10
699	Terbuthylazine-2-hydroxy	66753-07-9	C9H17N5O	211.1433	212.1506	210.1360	ESI+	6
700	Terbuthylazine-desethyl	30125-63-4	C7H12ClN5	201.0781	202.0854	200.0708	ESI+	12
701	Terbutryn	886-50-0	C10H19N5S	241.1361	242.1434	240.1288	ESI+	6
702	Tetrachlorvinphos (CVMP)	22248-79-9	C10H9Cl4O4P	363.8993	364.9066	362.8920	ESI+	16
703	Tetraconazole	112281-77-3	C13H11Cl2F4N3O	371.0215	372.0288	370.0142	ESI+	7
704	Tetraethylpyrophosphate	107-49-3	C8H20O7P2	290.0684	291.0757	289.0611	ESI+	6
705	Tetramethrin	7696-12-0	C19H25NO4	331.1784	332.1857	330.1711	ESI+	12
706	Thenylchlor	96491-05-3	C16H18ClNO2S	323.0747	324.0820	322.0674	ESI+	12
707	Thiabendazole	148-79-8	C10H7N3S	201.0361	202.0434	200.0288	ESI+	6
708	Thiacloprid	111988-49-9	C10H9ClN4S	252.0236	253.0309	251.0163	ESI+	6
709	Thiamethoxam	153719-23-4	C8H10ClN5O3S	291.0193	292.0266	290.0120	ESI+	12
710	Thiazafurion	25366-23-8	C6H7F3N4O5	240.0293	241.0366	239.0220	ESI+	6
711	Thiazopyr	117718-60-2	C16H17F5N2O2S	396.0931	397.1004	395.0858	ESI+	6
712	Thidiazuron	51707-55-2	C9H8N4OS	220.0419	221.0492	219.0346	ESI+	6
713	Thiencarbazone-methyl	317815-83-1	C12H14N4O7S2	390.0304	391.0377	389.0231	ESI+	3
714	Thifensulfuron-methyl	79277-27-3	C12H13N5O6S2	387.0307	388.0380	386.0234	ESI+	6
715	Thifluzamide	130000-40-7	C13H6Br2F6N2O2S	525.8421	526.8494	524.8348	ESI+	29
716	Thiobencarb	28249-77-6	C12H16ClNOS	257.0641	258.0714	256.0568	ESI+	11
717	Thiodicarb	59669-26-0	C10H18N4O4S3	354.0490	355.0563	353.0417	ESI+	6
718	Thiofanox	39196-18-4	C9H18N2O2S	218.1089	219.1162	217.1016	ESI+	2
719	Thiofanox-sulfone	39184-59-3	C9H18N2O4S	250.0987	251.1060	249.0914	ESI+	9
720	Thiofanox-sulfoxide	39184-27-5	C9H18N2O3S	234.1038	235.1111	233.0965	ESI+	12
721	Thiometon	640-15-3	C6H15O2PS3	245.9972	247.0045	244.9899	ESI+	2
722	Thionazin	297-97-2	C8H13N2O3PS	248.0384	249.0457	247.0311	ESI+	6
723	Thiophanate-ethyl	23564-06-9	C14H18N4O4S2	370.0769	371.0842	369.0696	ESI+	6
724	Thiophanate-methyl	23564-05-8	C12H14N4O4S2	342.0456	343.0529	341.0383	ESI+	6
725	Thiram	137-26-8	C6H12N2S4	239.9883	240.9956	238.9810	ESI+	6
726	Tolclofos-methyl	57018-04-9	C9H11Cl2O3PS	299.9544	300.9617	298.9471	ESI+	12
727	Tolyfluanid	731-27-1	C10H13Cl2FN2O2S2	345.9780	346.9853	344.9707	ESI+	22
728	Topramezone	210631-68-8	C16H17N3O5S	363.0889	364.0962	362.0816	ESI+	12
729	Tralkoxydim	87820-88-0	C20H27NO3	329.1991	330.2064	328.1918	ESI+	6
730	Tralomethrin	66841-25-6	C22H19Br4NO3	660.8098	661.8171	659.8025	ESI+	7
731	Triadimefon	43121-43-3	C14H16ClN3O2	293.0931	294.1004	292.0858	ESI+	12
732	Triadimenol	55219-65-3	C14H18ClN3O2	295.1088	296.1161	294.1015	ESI+	7
733	Tri-allate	2303-17-5	C10H16Cl3NOS	303.0018	304.0091	301.9945	ESI+	16
734	Triapenthenol	76608-88-3	C15H25N3O	263.1998	264.2071	262.1925	ESI+	12
735	Triasulfuron	82097-50-5	C14H16ClN5O5S	401.0561	402.0634	400.0488	ESI+	12
736	Triazamate	112143-82-5	C13H22N4O3S	314.1413	315.1486	313.1340	ESI+	4
737	Triazophos	24017-47-8	C12H16N3O3PS	313.0650	314.0723	312.0577	ESI+	6
738	Triazoxide	72459-58-6	C10H6ClN5O	247.0261	248.0334	246.0188	ESI+	11
739	Tribenuron-methyl	101200-48-0	C15H17N5O6S	395.0900	396.0973	394.0827	ESI+	5
740	Trichlorfon	52-68-6	C4H8Cl3O4P	255.9226	256.9299	254.9153	ESI+	10
741	Triclopyr	55335-06-3	C7H4Cl3NO3	254.9257	255.9330	253.9184	ESI-	2
742	Tricyclazole	41814-78-2	C9H7N3S	189.0361	190.0434	188.0288	ESI+	6
743	Tridemorph	81412-43-3	C19H39NO	297.3032	298.3105	296.2959	ESI+	6
744	Trietazine	1912-26-1	C9H16ClN5	229.1094	230.1167	228.1021	ESI+	6
745	Triethanolamine	102-71-6	C6H15NO3	149.1052	150.1125	148.0979	ESI+	6
746	Trifloxystrobin	141517-21-7	C20H19F3N2O4	408.1297	409.1370	407.1224	ESI+	6
747	Trifloxysulfuron	145099-21-4	C14H14F3N5O6S	437.0617	438.0690	436.0544	ESI+	9
748	Triflumizole	68694-11-1	C15H15ClF3N3O	345.0856	346.0929	344.0783	ESI+	9
749	Triflumizole Metabolite	131549-75-2	C12H14ClF3N2O	294.0747	295.0820	293.0674	ESI+	2
750	Triflumuron	64628-44-0	C15H10ClF3N2O3	358.0332	359.0405	357.0259	ESI+	8

化合物名	CAS番号	分子式	分子量	[M + H] ⁺	[M - H] ⁻	イオン化モード	MRM トランジション 数
751 Triflurosulfuron-methyl	126535-15-7	C17H19F3N6O6S	492.1039	493.1112	491.0966	ESI+	8
752 Triforine	26644-46-2	C10H14Cl6N4O2	431.9248	432.9321	430.9175	ESI+	7
753 Trinexapac-ethyl	95266-40-3	C13H16O5	252.0998	253.1071	251.0925	ESI+	6
754 Triphenyl phosphate	115-86-6	C18H15O4P	326.0708	327.0781	325.0635	ESI+	6
755 Tris (2-chloro-1-(chloromethyl)ethyl) phosphate	13674-87-8	C9H15Cl6O4P	427.8839	428.8912	426.8766	ESI+	26
756 Triticonazole	131983-72-7	C17H20ClN3O	317.1295	318.1368	316.1222	ESI+	9
757 Tritosulfuron	142469-14-5	C13H9F6N5O4S	445.0279	446.0352	444.0206	ESI+	4
758 Valifenalate	283159-90-0	C19H27ClN2O5	398.1608	399.1681	397.1535	ESI+	16
759 Vamidothion	2275-23-2	C8H18NO4PS2	287.0415	288.0488	286.0342	ESI+	6
760 Vamidothion-sulfone	70898-34-9	C8H18NO6PS2	319.0313	320.0386	318.0240	ESI+	6
761 Vamidothion-sulfoxide	20300-00-9	C8H18NO5PS2	303.0364	304.0437	302.0291	ESI+	6
762 Vernolate	1929-77-7	C10H21NO5	203.1344	204.1417	202.1271	ESI+	5
763 Warfarin	81-81-2	C19H16O4	308.1049	309.1122	307.0976	ESI+	6
764 XMC (3, 5-xylyl methylcarbamate)	2655-14-3	C10H13NO2	179.0946	180.1019	178.0873	ESI+	12
765 Ziram	137-30-4	C6H12N2S4Zn	303.9175	304.9248	302.9102	ESI+	2
766 Zoxamide	156052-68-5	C14H16Cl3NO2	335.0247	336.0320	334.0174	ESI+	18

■追加情報

Further Information

アプリケーションニュース C136 では、Shimadzu Pesticide MRM Library をもとに作成した農業 646 成分高速一斉分析メソッドについて紹介しています。

■免責事項

Scope and Legal Disclaimers

弊社は、このメソッドパッケージを弊社が得た情報および内容のままで提供するものであり、その正確性および特定の目的における有用性について保証するものではありません。また、ラボの環境、マトリクス成分、抽出方法、LC の動作及び技術的な経験などが、分析に影響を与える可能性があることをご了承ください。

弊社は、このライブラリの使用により直接的または間接的に生じたいかなる損害に対しても責任を負えないものであり、その使用により生じた結果および現象についてはお客様の責任とします。

LCMS-8060 を用いた残留農薬 646 成分 高速一斉分析

Expanding Capabilities in Multi-Residue Pesticide Analysis Using the LCMS-8060

世界の人口増加にともなう、食の安全に対する関心が高まっています。そのため、農業分野では、より安全に、より安定的により多くの食料を生産することが課題となっています。除草剤、殺虫剤、防カビ剤などの農薬を使用することで、病害虫や雑草の害から作物を守ることができるため、作物の収穫量は増加しています。しかしその反面、残留農薬による健康リスクが問題となっています。そのため、食品中の残留農薬を検査するための法的枠組みが必要です。

現在は、米国、ヨーロッパ、日本などの国や地域ごとに、食品中の農薬の最大残留基準値（MRL）もしくは許容量（米国の場合）が定められています。例えば EU の MRL の一律基準は 0.01 mg/kg と定められており、増加しつつある農薬検査において、農薬分析のための高感度な分析手法が求められています。

ここでは、農薬 766 成分 MRM 情報リスト（Shimadzu Pesticide MRM Library）をもとに作成した残留農薬 646 成分高速一斉分析メソッド（極性反転スピード：5 msec, 1,919 MRM トランジション）を用いて LCMS-8060 で行った農薬分析の結果をご紹介します。

David R. Baker Laëtitia Fages Eric Capodanno
Neil Loftus N. Asano Y. Uno T. Tanigawa

はじめに

Introduction

現在、全世界で土壌や作物に使用されている農薬は 1,000 種類以上と言われています。食品の輸出入が盛んになり、規制される農薬の種類や設定される各食品中の基準値（MRL）の数が増加しています。EU では、欧州議会・理事会規則（EC）No.396/2005 において、370 食品に対して 500 成分以上の農薬の MRL が定められています。¹⁾ 米国では、環境保護庁（EPA）が 450 成分以上の農薬とその他含有物質の許容量を設定しています。²⁾ 日本の食品中に残留する農薬等に関するポジティブリストには、さまざまな食品に対して 400 成分以上の農薬の MRL が掲載されています。³⁾

検査すべき食品数が増えかつ分析対象農薬の数が増大している中、食の安全に携わる検査・研究機関はより迅速に確かな情報を提供することが要求されています。

本報告では、スクリーニング分析と定量測定の両方に利用可能な残留農薬 646 成分高速一斉分析メソッドをご紹介します。本メソッドは、全 766 成分の MRM 情報を網羅した Shimadzu Pesticide MRM Library をもとに作成しました。1 成分あたり最大 3 つの MRM トランジションが含まれており、通常の 1 成分あたり 2 つの MRM から成るメソッドよりも、データの信頼性

が高まります。本メソッドは LCMS-8060 の高速極性反転能力（5 msec）を利用したメソッドで、全 1,919 個の MRM をわずか 10.5 分で検出することができます。

メソッドの評価には QuEChERS 法で前処理したミント・トマト・リンゴのアセトニトリル抽出液に 646 成分の農薬を添加したものを用いました。ミントの抽出液はトマト・リンゴの抽出液よりもマトリックス成分が複雑です。本レポートでは、夾雑成分の多いデータを例として、ミント抽出液のデータを示しています。本メソッドの評価は、実試料の抽出液を用いて行いました。

実験

Experimental

ミント・トマト・リンゴの抽出液は Phytocontrol 社（フランス）から提供していただきました。試料は、QuEChERS 法で前処理して、アセトニトリルで抽出しました。農薬の標準品は ACSD（フランス）から購入しました。溶媒は、LCMS 用のものを Sigma-Aldrich から購入しました。

内部標準法を用いて、0.002 - 0.1 mg/kg の濃度範囲で 6 点の検量線を作成しました。内部標準物質 2 成分（Atrazine-d5, Diuron-d6）はオートサンプラーの前処理プログラムで添加しました。

LCMS-8060 のデータ安定性をミント・トマト・リンゴそれぞれの試料を用いて、濃度 0.05 mg/kg におけるピーク面積値再現性から評価しました。

LC/MS/MS メソッドの作成

本実験の LC/MS/MS メソッドである 646 成分一斉分析メソッドは、農薬 766 成分 MRM 情報リスト（Shimadzu Pesticide MRM Library）をもとに作成しました。Shimadzu Pesticide MRM Library は、農薬 766 成分の情報データベースです。リストには、各成分に対して複数の MRM 情報が含まれています。（アプリケーションニュース No. C135）

646 成分一斉分析メソッドには、1 農薬あたり最大 3 つの MRM、合計 1,919 個の MRM（ポジティブイオン：1,819、ネガティブイオン：100）が含まれています。また、極性反転スピードは、わずか 5 msec です。本メソッドを使用すれば、農薬 646 成分をわずか 10.5 分で検出することができます。

インターフェイス条件（例：DL 温度、インターフェイス温度、ヒートブロック温度、ヒーティングガス流量、ドライガス流量、ネブライザガス流量）を最適化するために、インターフェイス設定支援ソフトウェアを使用しました。設定支援ソフトウェアを使うことで、一斉分析に最適なインターフェイス条件を決定することができます。

Table 1 分析条件
Experimental Conditions

LC条件		MS条件	
UHPLC	Nexera LC system	LC/MS/MS	LCMS-8060
分析カラム	Restek Raptor Biphenyl (2.1 mm I.D. x 100 mm L, 2.7 µm)	イオン化モード	加熱ESI
カラム温度	35 °C	極性切替時間	5 msec
流速	0.4 mL/min	ポーズタイム	1 msec
移動相A	2 mmol/L ammonium formate + 0.002 % formic acid - Water	MRMトランジション数	1,919 (1,819 positive; 100 negative)
移動相B	2 mmol/L ammonium formate + 0.002 % formic acid - Methanol	Dwellタイム	4 msec (定量イオン); 1 msec (確認イオン)
グラジエントプログラム (B. Conc)	3 % (0 min) - 10 % (1.00 min) - 55 % (3.00 min) - 100 % (10.50 - 12.00 min) - 3 % (12.01 - 15.00 min)	インターフェイス温度	350 °C
注入量	2 µL sample (plus 40 µL water)	ブロックヒータ温度	300 °C
		DL温度	150 °C
		ヒーティングガス流量	10 L/min
		ドライガス流量	10 L/min
		ネブライザガス流量	3 L/min

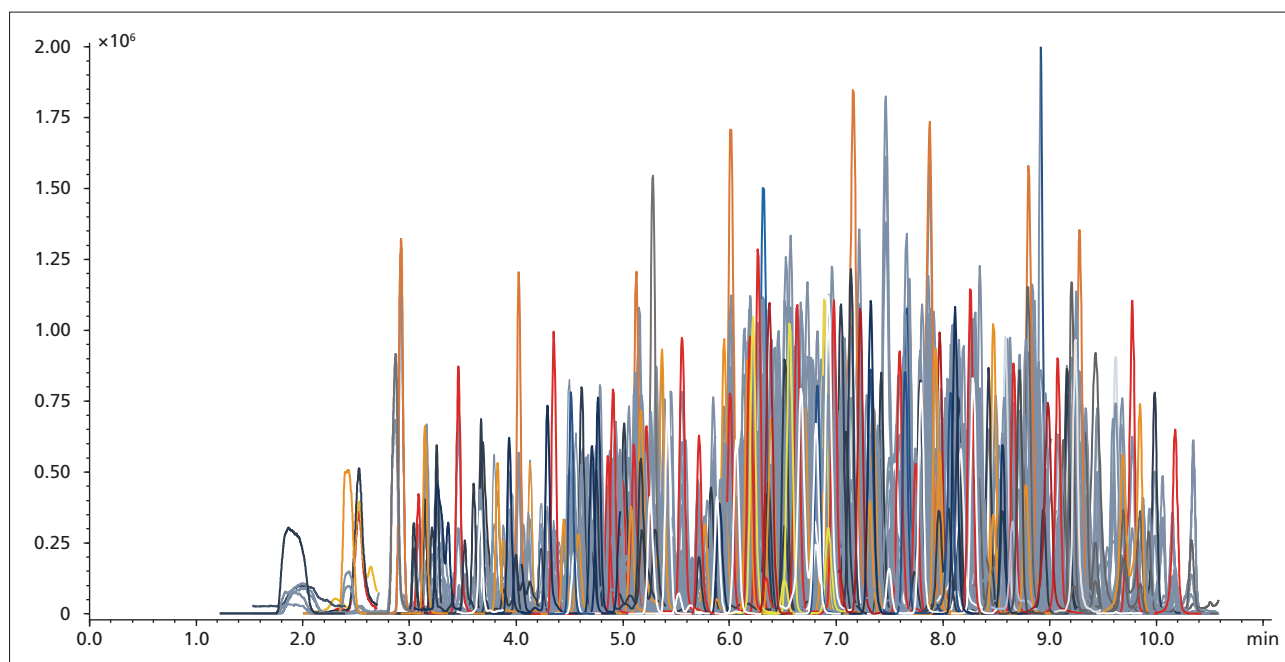


Fig. 1 ミント抽出液に添加した農薬 646 成分の MRM クロマトグラム (添加濃度 : 0.01 mg/kg)
MRM chromatograms of 646 pesticides spiked into a mint extract at 0.01 mg/kg

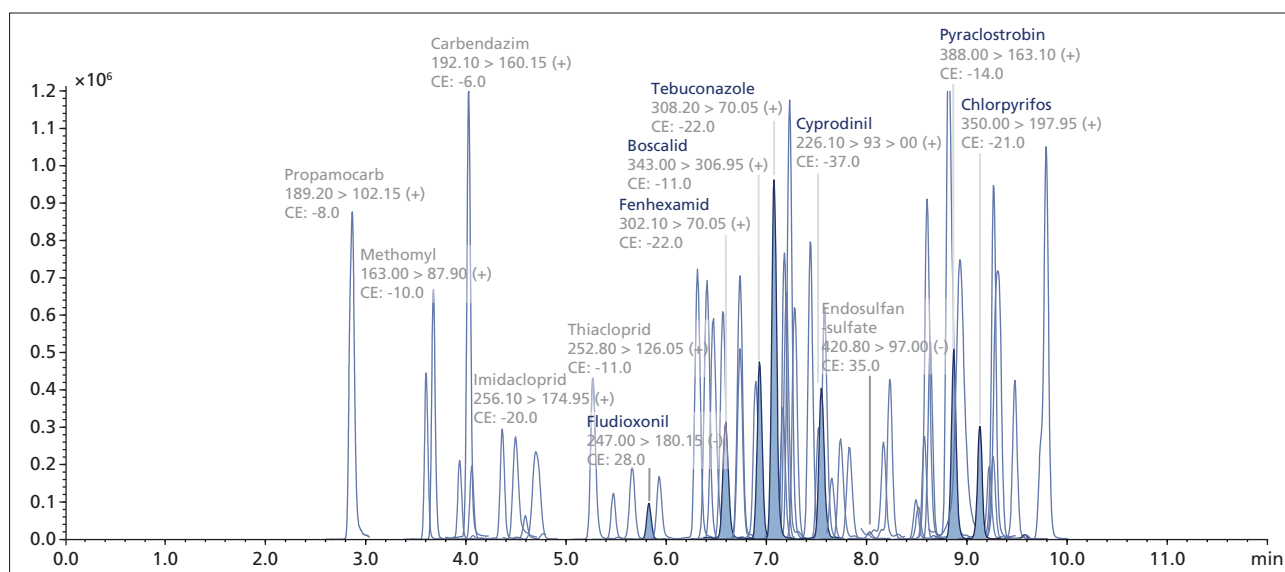


Fig. 2 EU にて検出頻度の高い農産物中の農薬 58 成分の MRM クロマトグラム (添加濃度 : 0.01 mg/kg; 2015 European Food Safety Journal 参照)
Boscalid, Chlorpyrifos, Cyprodinil, Fenhexamid, Fludioxonil, Pyraclostrobin, Tebuconazole は 4 % 以上と高頻度で検出される農薬。(青字)
Fludioxonil と endosulfan はネガティブイオンモードで検出。
MRM chromatograms for pesticides most commonly detected in plant products listed in the 2015 European Food Safety Journal.
Compounds such as boscalid, chlorpyrifos, cyprodinil, fenhexamid, fludioxonil, pyraclostrobin and tebuconazole (highlighted in the MRM chromatogram) are some of the most frequently detected compounds present in more than 4 % of the samples analyzed.
Fludioxonil and endosulfan were both detected in negative ion mode.

結果と考察

Results and Discussion

Shimadzu Pesticide MRM Library (アプリケーションニュース No. C135)

Shimadzu Pesticide MRM Library は、メソッド作成と成分管理を簡単に行うことができます。

リストには、ポジティブイオン、ネガティブイオン合わせて 1 成分あたり平均 8 MRM、計 6,000 個以上の MRM トランジションが含まれています。また、CAS 番号、化学式、効果、モノアイソトピック質量、付加イオン質量、MRM トランジションのランク、一般名、InChI, InChIKey, 化合物名 (日・英・中)、様々なウェブサイトへのリンク情報 (alanwood.net, PAN pesticide database, Chemical Book, ChemSpider) などの情報も含まれています。農薬データの共有にも有効です。

容易なメソッドのカスタマイズ

646 成分一斉分析メソッドは LabSolutions LCMS にワンクリックでインポートできます。現在のメソッドに対象成分を追加したり、対象成分を絞った分析用に成分を削除したりと、メソッドをカスタマイズすることも可能です。

LCMS-8060 は、世界最高速のスキャンスピード (30,000 u/sec)、世界最高レベルの高感度、世界最高速の極性切替スピード 5 msec を誇るフラッグシップモデルです。本メソッドを LCMS-8060 とともにご使用いただければ、今までの農薬分析にさまざまなメリットを付加することが可能です。

LCMS-8060 の優れた性能

LCMS-8060 の超高速スキャン (最高スキャンスピード 30,000 u/sec) は、対象化合物パネルの拡張と高密度でのデータ取得に新たな可能性を提供します。

高密度データ取得でも正確な定量が可能であることを示す例として、保持時間 6.45 - 6.60 分に溶出される 25 成分の農薬を検出した MRM クロマトグラムを Fig. 3 に示しました。ピーク面積値変動は平均 3 %RSD 以下 (変動幅 1.1 - 5.9 %RSD) と安定しています。(Table 2)

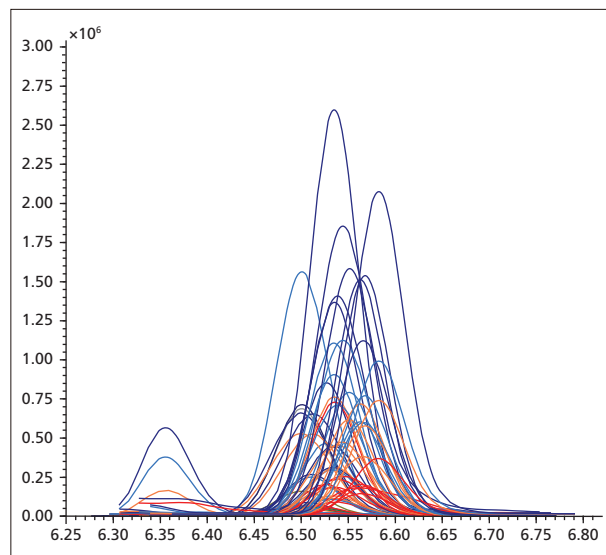


Fig. 3 保持時間 6.45 - 6.60 分間に検出された農薬 25 成分 (Table 2) の MRM クロマトグラム
MRM Chromatograms for 25 components (Table 2) detected with retention times of 6.45 - 6.60 minutes.

Table 2 9 秒間 (保持時間 6.45 - 6.60 分間) に検出された農薬 25 成分 (ミント抽出液に 0.01 mg/kg 添加) とピーク面積値再現性 (%RSD ; n=6)
Peak area variation (%RSD ; n=6) for 25 pesticides eluting over a 9 second time window (6.45 - 6.60 minutes) spiked into a mint matrix extract at the reporting limit of 0.01 mg/kg.

化合物名	CAS番号	分子式	分子量	極性	MRM 定量イオン	保持時間 (分)	平均 ピーク面積値	%RSD (n=6)
Trinexapac-ethyl	95266-40-3	C13H16O5	252.0998	+	252.90 > 69.05	6.45	1,780,015	3.1
Iprovalicarb	140923-17-7	C18H28N2O3	320.2100	+	321.20 > 119.15	6.46	1,442,486	2.8
Dodemorph	1593-77-7	C18H35NO	281.2719	+	282.30 > 116.15	6.47	658,920	4.2
Fluopyram	658066-35-4	C16H11ClF6N2O	396.0464	+	397.00 > 145.00	6.47	2,439,146	1.9
Flutolanil	66332-96-5	C17H16F3NO2	323.1133	+	324.10 > 242.00	6.48	3,372,285	2.7
Trifloxysulfuron	145099-21-4	C14H14F3N5O6S	437.0617	+	438.00 > 182.15	6.48	1,822,340	2.5
Azaconazole	60207-31-0	C12H11Cl2N3O2	299.0228	+	300.00 > 159.00	6.50	1,580,445	2.0
Terbutryn	886-50-0	C10H19N5S	241.1361	+	242.10 > 157.95	6.50	755,446	3.4
Prometryn	7287-19-6	C10H19N5S	241.1361	+	242.10 > 158.00	6.50	1,300,193	2.6
Azimsulfuron	120162-55-2	C13H16N10O5S	424.1026	+	425.10 > 182.10	6.50	2,498,050	1.8
Metominostrobin	133408-50-1	C16H16N2O3	284.1161	+	285.10 > 193.95	6.51	2,929,500	1.7
Thifluzamide	130000-40-7	C13H6Br2F6N2O2S	525.8421	+	528.60 > 148.05	6.51	193,982	5.9
Nicarbazin	330-95-0	C13H10N4O5	302.0651	-	301.10 > 137.15	6.52	973,101	2.6
Bromobutide	74712-19-9	C15H22BrNO	311.0885	+	312.10 > 194.10	6.53	1,829,781	2.1
Saflufenacil	372137-35-4	C17H17ClF4N4O5S	500.0544	+	501.00 > 198.00	6.53	465,224	2.3
Cyproconazole	94361-06-5	C15H18ClN3O	291.1138	+	292.10 > 70.05	6.54	1,174,967	1.7
Clomazone	81777-89-1	C12H14ClNO2	239.0713	+	239.90 > 125.00	6.54	3,409,656	1.7
Fensulfothion	115-90-2	C11H17O4PS2	308.0306	+	309.00 > 281.00	6.54	4,267,514	1.4
Oxasulfuron	144651-06-9	C17H18N4O6S	406.0947	+	407.10 > 150.15	6.54	2,911,533	1.1
Rimsulfuron	122931-48-0	C14H17N5O7S2	431.0569	+	432.00 > 182.00	6.55	4,722,065	1.8
Fenthion-oxon	6552-12-1	C10H15O4PS	262.0429	+	263.10 > 231.00	6.55	3,075,195	1.4
Nitrothal-isopropyl	10552-74-6	C14H16NO6Na	317.0875	+	295.10 > 230.95	6.56	2,199,581	3.0
Chlorantraniliprole	500008-45-7	C18H14BrCl2N5O2	480.9708	+	483.90 > 452.90	6.57	2,407,025	2.7
Fipronil-sulfone	120068-36-2	C12H4Cl2F6N4O2S	451.9336	-	451.00 > 414.90	6.57	2,843,708	2.0
Valifenalate	283159-90-0	C19H27ClN2O5	398.1608	+	399.20 > 155.00	6.59	3,845,335	1.9

646 成分高速一斉分析メソッドの評価

646 成分高速一斉分析メソッドについて、直線性、ピーク面積値再現性、長時間の安定性を評価しました。

直線性

直線性は、0.002 - 0.1 mg/kg (2 - 100 pg/μL) の範囲で 6 点検量線を作成して評価しました。ミント、トマトに添加したいずれの場合においても、直線性は全成分で非常に良好 (R^2 : 0.99 以上) な結果を示しました。検量線の重み付けは 1/C としました。代表例として、ミント抽出液に添加した農薬 6 成分のマトリックス検量線データを Fig. 4 に示します。

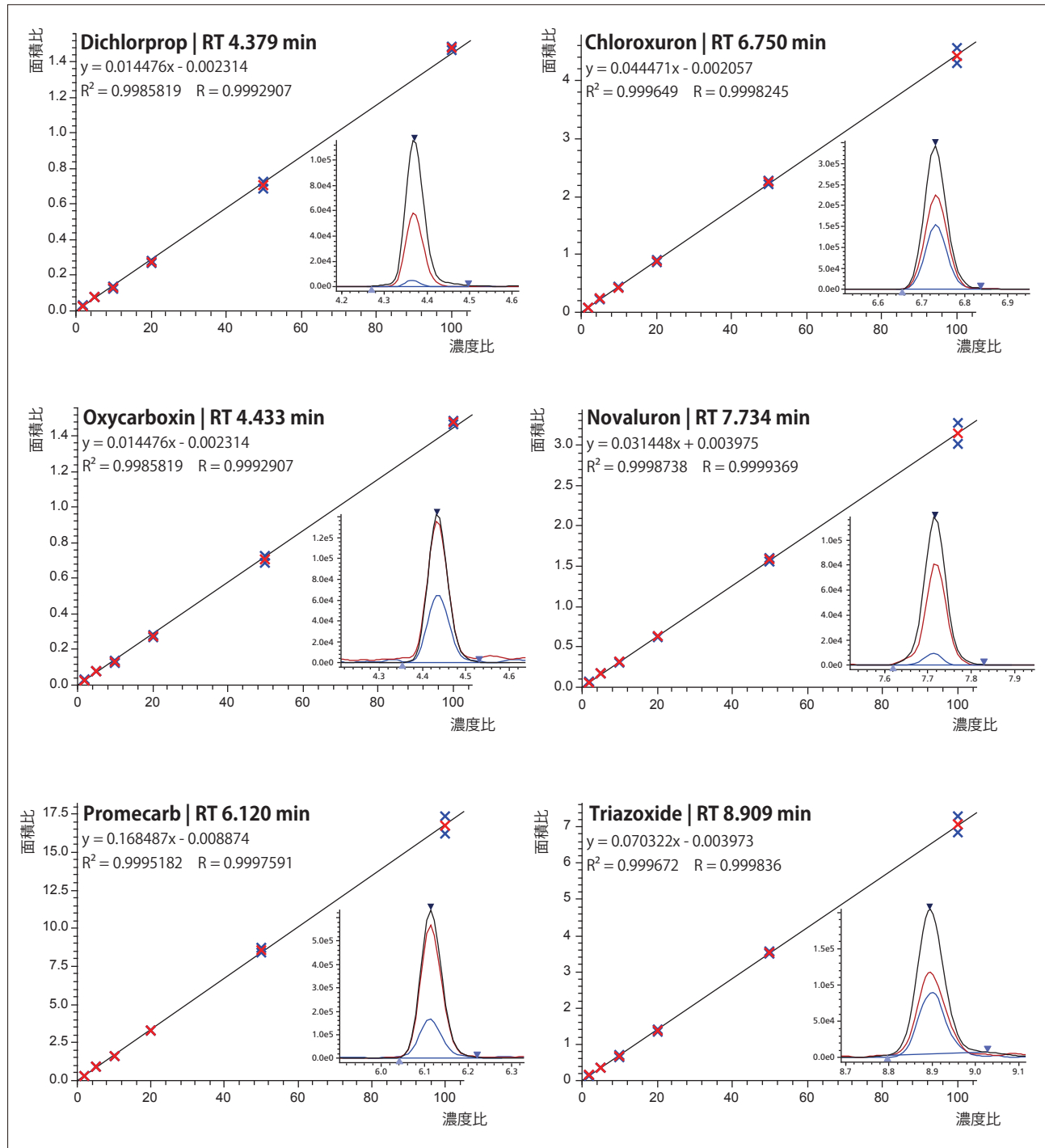


Fig. 4 ミント抽出液に添加した農薬の検量線 (添加濃度: 0.002 - 0.1 mg/kg) と MRM クロマトグラム (黒線: 定量イオン, 赤線・青線: 確認イオン)
Calibration curves for selected pesticides spiked into a mint matrix extract in the range 0.002 - 0.1 mg/kg.
The quantitation MRM chromatogram is shown in black (qualifier ion MRM chromatograms are shown in red and blue).

面積値再現性

ルーチン分析における定量データの安定性を評価するために、農薬 646 成分を添加したミント抽出液（添加濃度 0.05 mg/kg）を繰り返し注入し、24 時間以上の連続分析を行いました。

農薬 8 成分のピーク面積値の変動を Fig. 5 に示します。

この農薬 8 成分は保持時間が等間隔に離れています。（保持時間が 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 分に近い成分を選択）

ポジティブイオンで検出する農薬とネガティブイオンで検出する農薬が含まれているため、極性切替スピード 5 msec でポジティブイオンとネガティブイオンの同時測定を行いました。（Table 3）

100 回の連続分析のピーク面積値再現性（%RSD）は、農薬 8 成分とも 5.7 % 未満となりました。

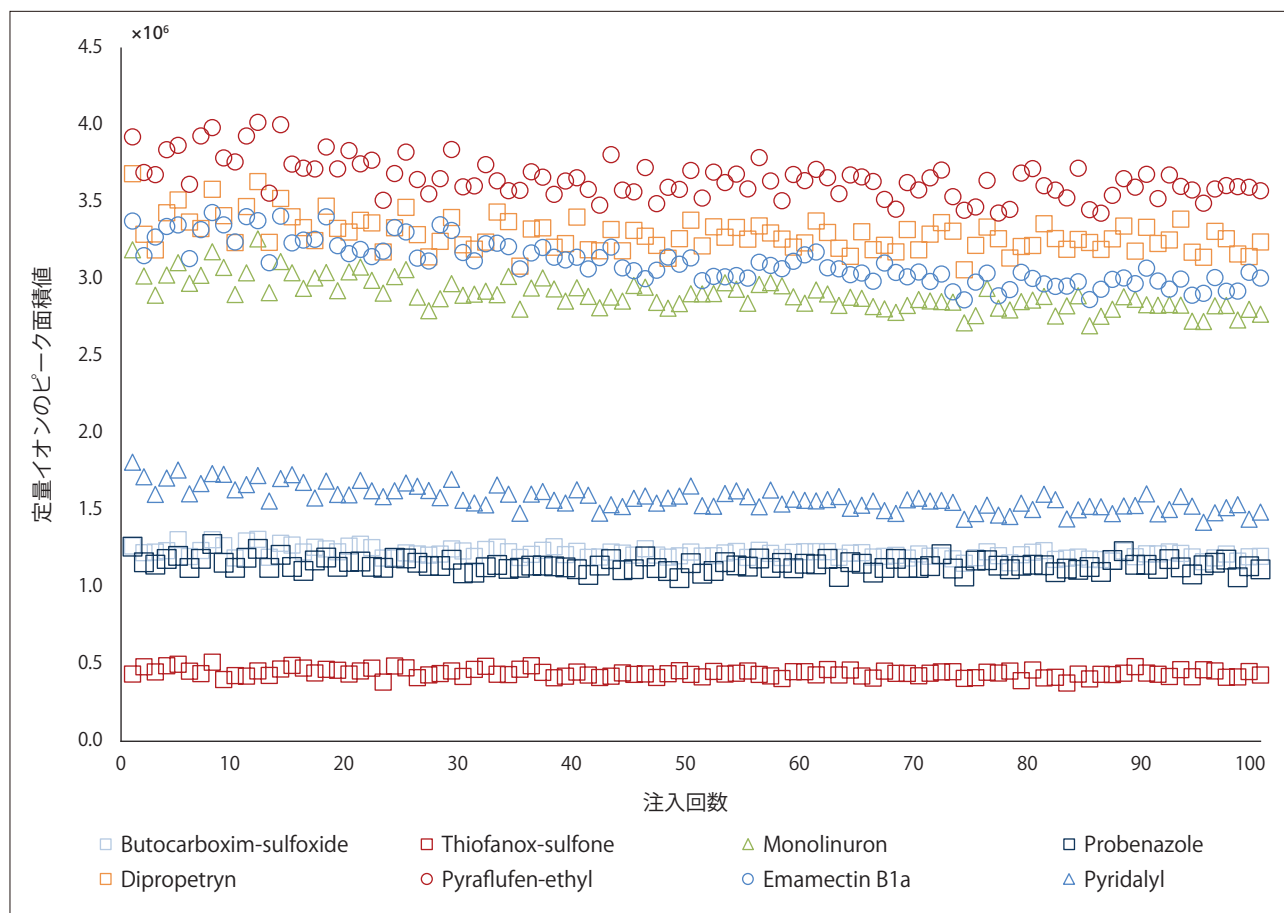


Fig. 5 ミント抽出液中農薬 8 成分のピーク面積値プロット（添加濃度：0.05 mg/kg, 100 回連続分析）
Peak area response for several pesticides following 100 repeat injections of a 0.05 mg/kg spiked into a mint matrix extract.

Table 3 農薬 8 成分のピーク面積値再現性（農薬 0.05 mg/kg を添加したミント抽出液の 100 回注入連続 24 時間分析）
Peak area variance for selected pesticides following the repeated injection of a 0.05 mg/kg spiked into a mint matrix extract. (number of sample replicates was 100; the analysis sequence was 24 hours).

化合物名	CAS番号	分子式	分子量	極性	MRM 定量イオン	保持時間 (分)	平均 ピーク面積値	%RSD (n=100)
Butocarboxim-sulfoxide	34681-24-8	C7H14N2O3S	206.0725	+	207.10 > 75.10	3.042	1,220,391	2.6
Thiofanox-sulfone	39184-59-3	C9H18N2O4S	250.0987	+	268.10 > 57.00	4.001	442,724	5.7
Monolinuron	1746-81-2	C9H11ClN2O2	214.0509	+	215.10 > 99.10	4.985	2,904,116	3.7
Probenazole	27605-76-1	C10H9NO3S	223.0303	+	224.00 > 41.05	5.995	1,145,189	3.5
Dipropetryn	4147-51-7	C11H21N5S	255.1518	+	256.20 > 144.05	6.999	3,289,597	3.4
Pyraflufen-ethyl	129630-19-9	C15H13Cl2F3N2O4	412.0204	+	413.00 > 339.00	8.004	3,653,333	3.5
Emamectin B1a	138511-97-4	C56H81NO15	1007.5606	+	886.40 > 158.20	9.008	3,109,562	4.5
Pyridalyl	179101-81-6	C18H14Cl4F3NO3	488.9680	-	491.90 > 109.05	10.171	1,579,422	5.0

異なるマトリクス中での安定性

食品中の残留農薬定量のための LC/MS/MS 分析の大きな課題の 1 つは、共存する化合物やマトリクス成分によってイオン化が抑制されたり、あるいはイオン化が促進されたりするマトリクス効果が発生することです。マトリクス効果はピーク面積値に影響を与えます。食品が異なればマトリクス成分が異なるため、ピーク面積値再現性 (%RSD) の値も異なりますが、同一のマトリクス内であれば面積値の変動は最小限に抑えられるのが理想です。

実例として、農薬 646 成分を添加した 3 種の試料（リンゴ・ミント・トマト）を 100 回ずつ、合計 300 回連続分析を行いました。（添加濃度：0.05 mg/kg）農薬 3 成分の連続分析結果を Fig. 6 に示します。各成分ともマトリクス効果を受けることなく、異なる試料中でも安定したピーク面積値再現性 %RSD を示しています。

また、Probenazole と Dipropetryn の注入 1 回目と 100 回目の MRM クロマトグラムを比較しました。（Fig. 7）異なる試料間ではマトリクス効果によるピーク面積値の変動が見られますが、同一試料内では 1 回目と 100 回目のピーク面積値変動率は 5.7 %RSD と低く抑えられました。（Fig. 7）

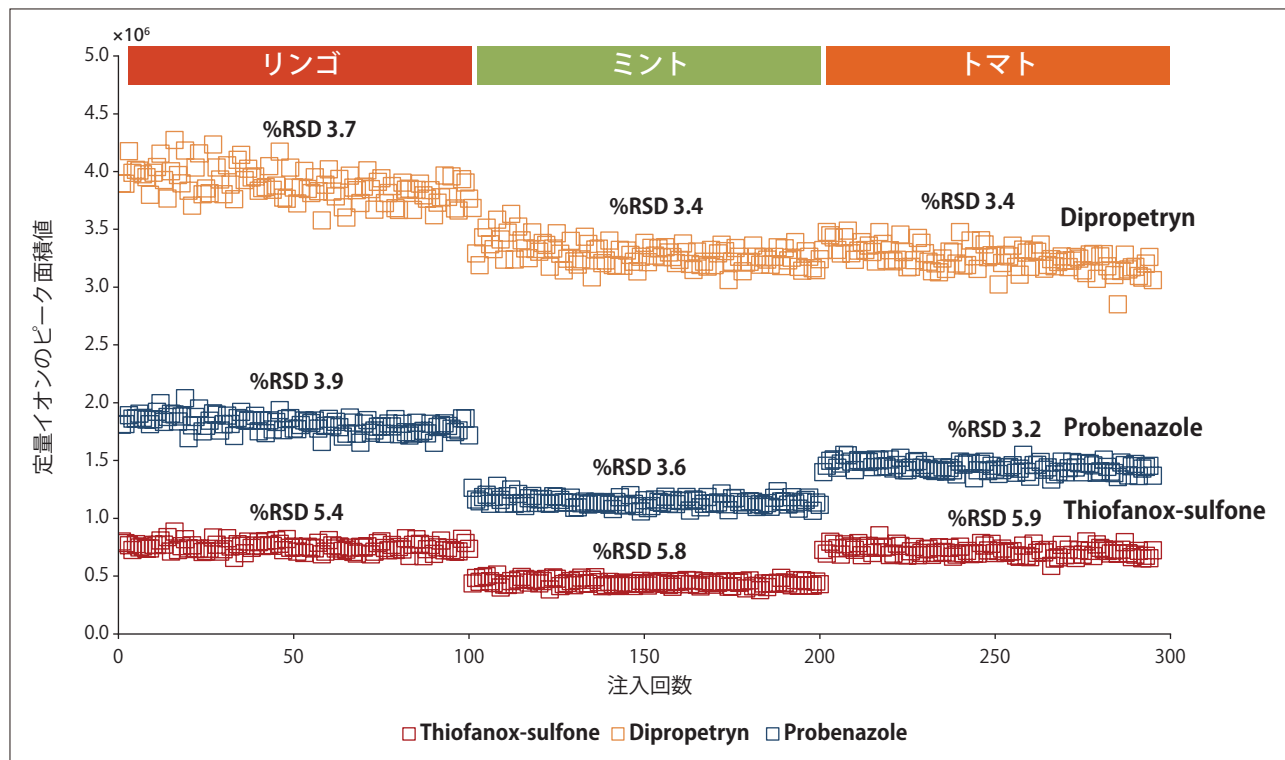


Fig. 6 リンゴ・ミント・トマトの抽出液中の農薬 3 成分のピーク面積値プロット（添加濃度：0.05 mg/kg、分析時間：72 時間以上）
Peak area response for 3 pesticides spiked into apple, mint and tomato matrix extracts at 0.05 mg/kg over 72 hours.

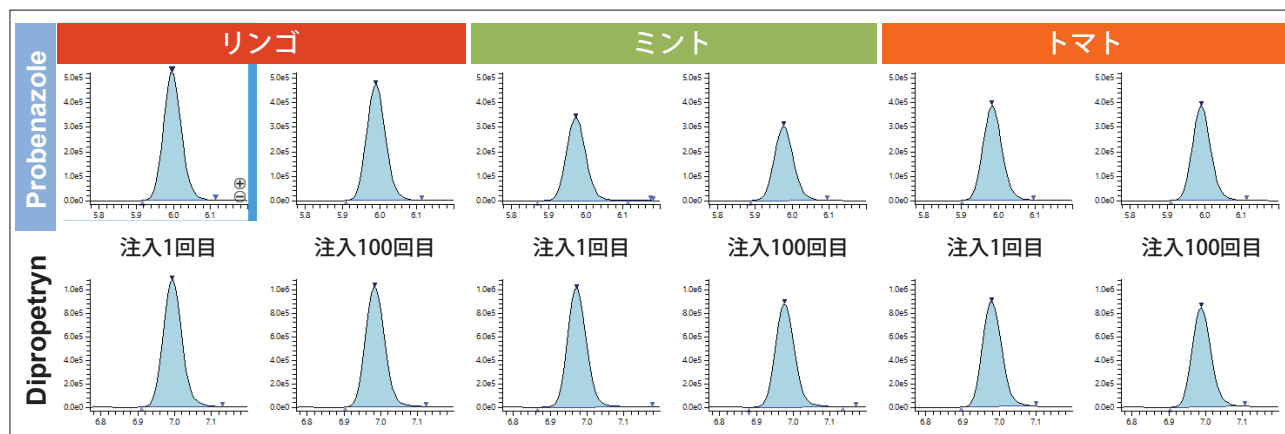


Fig. 7 リンゴ・ミント・トマト抽出液中の Probenazole（保持時間 5.995 分）と Dipropetryn（保持時間 6.999 分）の注入 1 回目と 100 回目の MRM クロマトグラム
MRM chromatograms for probenazole (RT 5.995 minutes) and dipropetryn (RT 6.999 minutes) for injection 1 and injection 100 spiked into apple, mint and tomato matrix extracts.

マトリクス効果の抑制

様々な試料において、より多くの農薬を高感度かつ正確に分析するための測定法開発が行われています。試料中の成分によるマトリクス効果は、イオン化抑制やイオン化促進を引き起こします。特にイオン化抑制は、装置の検出能力、データの正確さや精度に悪影響を及ぼす可能性があります。

複雑なマトリクス試料中の化合物同士の干渉を抑制するために、現在は試料を希釈する方法が広く使われています。前処理のための希釈操作は一般化が容易であり、費用対効果の高い方法です。試料希釈は、結果として試料注入量の減少を意味し、装置の堅牢性向上につながります。別の言い方をすれば、データクオリティ向上とダウンタイム削減の両立が可能となります。

農薬を 0.005 mg/kg 添加したミント抽出液を、水で 1 : 5, 1 : 10, 1 : 20, 1 : 50, 1 : 100 に希釈した試料の MRM クロマトグラムを Fig. 8 に示します。

Table 4 に各希釈系列の回収率を示します。

試料を 10 倍 (1 : 10) 希釈すると、ほとんどの成分でマトリクス効果が抑制され、回収率が 70 - 120 % となりました。%RSD は 20 % 以下、平均値からの変動係数はほぼ 10 % 未満と良好な結果を得ることができました。試料を 20 倍もしくは 50 倍に希釈すると、マトリクス効果は許容可能な程度まで抑制できました。

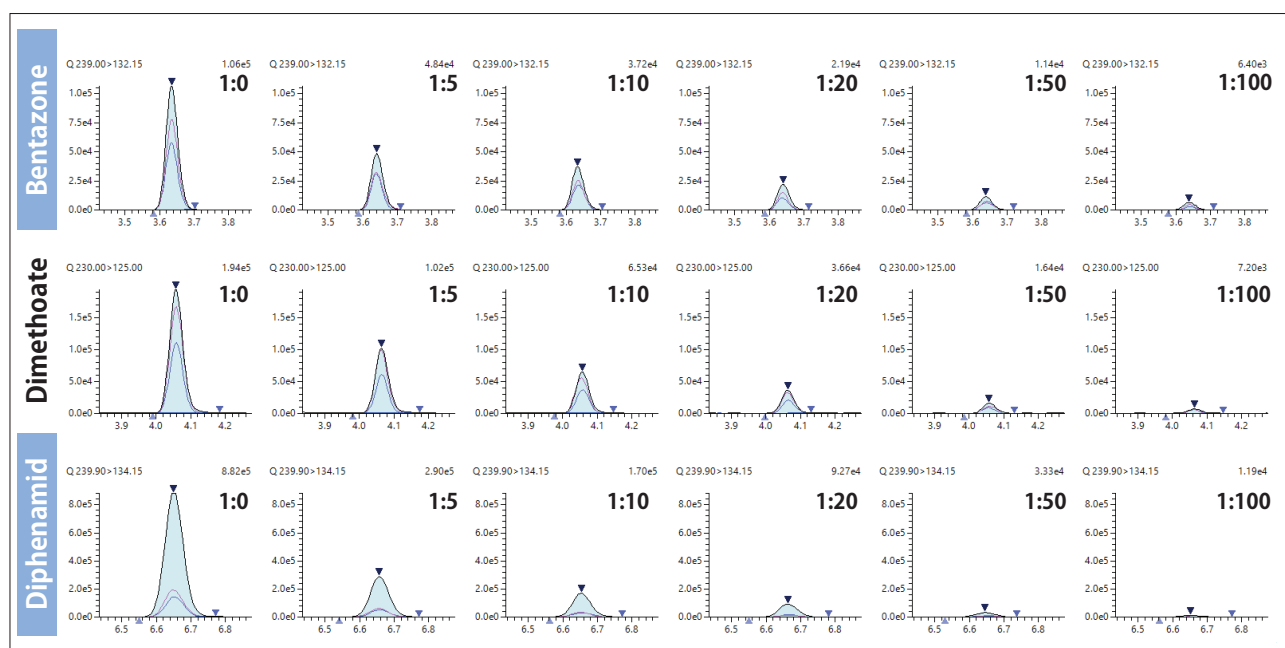


Fig. 8 ミント抽出液に添加した農薬 3 成分の MRM クロマトグラム (添加濃度 : 0.005 mg/kg) 試料は水で 1 : 5, 1 : 10, 1 : 20, 1 : 50, 1 : 100 に希釈。MRM chromatograms for 3 selected compounds spiked into a mint extract at 0.005 mg/kg and diluted 1:5, 1:10, 1:20, 1:50 and 1:100 with water.

Table 4 ミント抽出液を水で希釈した際の希釈系列と回収率 (添加濃度 : 0.005 mg/kg)
Diluting a sample matrix extract spiked with 0.005 mg/kg with water reduced matrix ion suppression.

				希釈系列					
化合物名	CAS番号	分子式	分子量	0	1:5	1:10	1:20	1:50	1:100
				回収率					
Bentazone	25057-89-0	C10H12N2O3S	240.0569	32.1	44.6	65.5	72.7	91.7	98.1
Demeton-S-methyl-sulfone	17040-19-6	C6H15O5PS2	262.0099	51.1	78.5	89.6	91.1	114.2	116.8
Dimethoate	60-51-5	C5H12NO3PS2	228.9996	36.2	65.3	88.5	92.2	92.4	94.2
Isocarbamid	30979-48-7	C8H15N3O2	185.1164	28.8	57.1	81.8	98.7	102.5	96.4
Vamidotion	2275-23-2	C8H18NO4PS2	287.0415	53.6	76.3	98.2	98.5	101.5	114.1
Thiazafluron	25366-23-8	C6H7F3N4OS	240.0293	32.8	62.9	80.5	84.2	87.1	97.4
Demeton-S-methyl	919-86-8	C6H15O3PS2	230.0200	57.8	82.1	93.1	87.6	108.5	102.4
Sebuthylazine	7286-69-3	C9H16ClN5	229.1094	28.7	53.3	69.8	79.8	88.5	95.8
Flutriafol	76674-21-0	C16H13F2N3O	301.1027	27.3	46.1	71.4	76.1	81.8	87.3
Furametpyr	123572-88-3	C17H20ClN3O2	333.1244	48.3	69.8	86.9	86.2	97.6	101.9
Fenobucarb	3766-81-2	C12H17NO2	207.1259	60.9	79.2	100.7	96.1	102.8	103.9
Benodanil	15310-01-7	C13H10INO	322.9807	50.9	69.8	86.3	96.5	102.4	94.8
Terbutylazine	5915-41-3	C9H16ClN5	229.1094	50.4	66.6	83.2	87.2	89.8	91.0
Dimethachlor	50563-36-5	C13H18ClNO2	255.1026	75.1	86.1	106.0	107.1	106.2	108.0
Dimethenamid	87674-68-8	C12H18ClNO2S	275.0747	72.6	84.9	102.9	100.0	103.6	97.3
Furalaxyl	57646-30-7	C17H19NO4	301.1314	82.2	89.1	106.6	108.6	106.2	102.4
Bixafen	581809-46-3	C18H12Cl2F3N3O	413.0310	66.8	79.3	99.0	95.6	103.7	97.1
Triflumuron	64628-44-0	C15H10ClF3N2O3	358.0332	54.2	71.8	95.5	84.9	95.3	101.7
Epoxiconazole	133855-98-8	C17H13ClFN3O	329.0731	61.6	77.2	98.8	95.3	90.0	101.2
Teflubenzuron	83121-18-0	C14H6Cl2F4N2O2	379.9742	41.8	50.9	80.1	86.8	100.0	97.7

■ 結論

Conclusion

本アプリケーションニュースで紹介した残留農薬 646 成分一斉定量分析メソッド（1 成分あたり最大 3 MRM，計 1,919 MRM）は LCMS-8060 と利用することで，わずか 10.5 分で全成分検出することができ，高速かつ高感度な分析を可能とするメソッドです。また，LCMS-8060 の世界最高速の極性反転スピード 5 msec を活かし，一度の測定でネガティブイオン 34 成分とポジティブイオン 612 成分を検出することが可能です。

LCMS-8060 の高感度性能によって，試料を希釈してマトリクス効果を抑制することが可能となりました。ほとんどの化合物は，20 倍もしくは 50 倍することで 70 - 120 % の回収率を得ることができました。



■ 参考文献

References

1. Commission Regulation (EC). 2005. No 396/2005 of the European Parliament and of the Council, maximum residue levels of pesticides in or on food and feed of plant and animal origin. Official Journal of the European Union, L 70: 1 - 16
2. US Environmental Protection Agency, Electronic code of federal regulation: Title 40: Part 180 - tolerances and exemptions for pesticide chemical residues in food.
http://www.ecfr.gov/cgi-bin/text-idx?c=ecfr&tpl=/ecfrbrowse/Title40/40cfr180_main_02.tpl
3. Japanese Ministry of Health, Labour and Welfare, Department of Food Safety. 2006. Director Notice about Analytical Methods for Residual Compositional Substances of Agricultural Chemicals, Feed Additives, and Veterinary Drugs in Food (Syoku-An No. 0124001 January 24, 2005; amendments May 26, 2006).

ハチミツ中に極微量含まれるネオニコチノイド、
フィプロニルおよび代謝物の高速定量分析Ultra-Sensitive and Rapid Assay of Neonicotinoids, Fipronil and Some Metabolites in Honey
by UHPLC-MS/MS [LCMS-8060]

クロロニコチニル系殺虫剤（ネオニコチノイド）およびフィプロニルは農業として幅広く利用されている殺虫剤です。

近年、これら殺虫剤とミツバチの蜂群崩壊症候群との関連が報告されており、農業におけるミツバチの受粉活動が重要であることから、さらなる調査研究および規制見直しの必要性が高まっています。これを受け、European Food Security Authority (EFSA) では、クロチアニジン、イミダクロプリド、チアメトキシムについて新たな規制基準を設け、また、フィプロニルのとうもろこしの種子コーティングへの利用を禁止する措置を取りました。

これらの化合物への暴露がミツバチに及ぼす影響、および、花粉やハチミツの汚染状況についてより深い知見を得るためには、高感度な定量分析法が必要不可欠です。ここでは、Nexera X2 および LCMS-8060 を用いたネオニコチノイド 7 種とフィプロニル（およびその代謝物）の高感度分析法をご紹介します。

T. Tanigawa E. Imoto

■実験方法

Sample Preparation

内部標準物質としてチアメトキシム-d3、イミダクロプリド-d4、クロチアニジン-d3 を用いました。化合物の抽出は QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe) 法と固相精製を組み合わせて行いました。QuEChERS 試薬は (4 g 硫酸マグネシウム, 1 g クエン酸ナトリウム, 0.5 g クエン酸三ナトリウム二水和物, 1 g 塩化ナトリウム), 固相精製の試薬は (1.2 g 硫酸マグネシウム, 0.4 g PSA 充填剤, 0.4 g C18 充填剤) がプレミックスされたものを、それぞれ Biotage 社から購入し用いました。

50 mL チューブに 5 g のハチミツを秤量し、5 μ L の内部標準物質（各 5 μ g/mL の混合液）を添加し、10 分間減圧乾燥しました。これに 10 mL の超純水を加え 1 分間ボルテックスし、さらに 10 mL のアセトニトリルを加え 1 分間混合することで、懸濁液を調製しました。懸濁液を室温で穏やかに 1 時間振とう後、QuEChERS 試薬を添加し、混合液を 3000 g, 10 $^{\circ}$ C, 5 分間の条件で遠心分離しました。上澄み液 6 mL を固相精製試薬入りの 15 mL チューブへと移し、さらに振とう後、3000 g, 10 $^{\circ}$ C, 5 分間の条件で遠心分離しました。この上澄み液を LCMS 測定用のガラスバイアルへと移し、分析に供しました。

■回収率の評価

Recovery

市販のハチミツおよびハチミツを含まないブランク試料に各化合物を 50 ppt 添加し、それぞれ抽出、測定に供しました。結果を Table 1 に示します。算出した回収率は 70 - 120 % であり、EU の SANTE/11945/2015 が規定する許容範囲内に収まりました。

Table 1 各化合物のハチミツにおける回収率の測定値
Measured Recoveries in Honey

化合物	回収率	化合物	回収率
アセタミプリド	78.8 %	フィプロニルスルホン	74.2 %
アセタミプリド-N-デスメチル	93.4 %	イミダクロプリド	83.2 %
クロチアニジン	70.6 %	ニテンピラム	87.0 %
ジノテフラン	76.5 %	チアクロプリド	82.2 %
フィプロニル	78.1 %	チアメトキシム	75.6 %

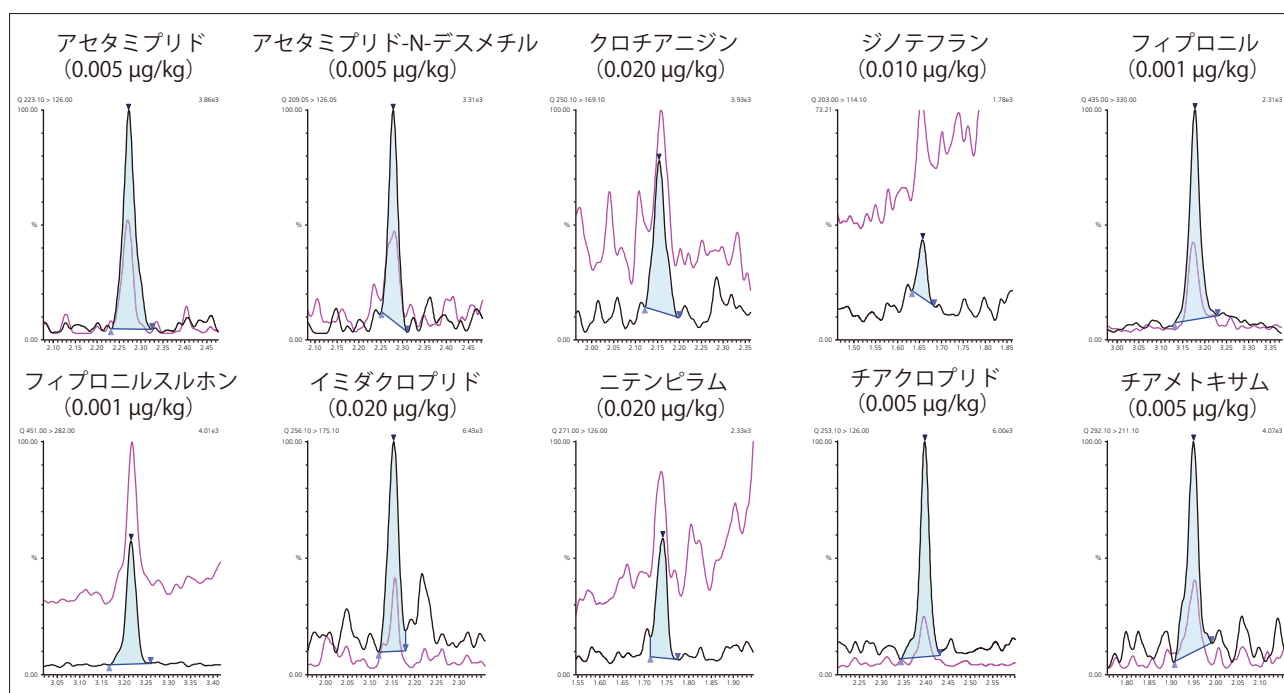
Fig. 1 各化合物の定量下限濃度におけるMRMクロマトグラム
Chromatogram of the Target Compounds at Their Lower Limit of Quantification

Table 2 測定条件
Analytical Conditions

UHPLC	: Nexera X2	LC/MS/MS	: LCMS-8060
分析カラム	: ACE SuperC18 2 µm (100 mm L. × 2.1 mm I.D.)	イオン化モード	: 加熱 ESI
カラム温度	: 30 °C	インターフェース電圧	: +1 kV (ポジティブ) / -1.5 kV (ネガティブ)
移動相	: A : 0.05 % アンモニア水 B : メタノール + 0.05 % アンモニア	インターフェース温度	: 400 °C
流速	: 600 µL/min	DL 温度	: 200 °C
グラジエントプログラム	: 5 %B to 100 %B in 3 min 100 %B to 5 %B in 0.1 min	ブロックヒータ温度	: 400 °C
分析時間	: 4 min	ネプライザガス流量	: 3 L/min
注入量	: 2 µL (10 µL の水と共注入)	ヒーティングガス流量	: 10 L/min
		ドライガス流量	: 5 L/min

Table 3 MS/MS 取得/パラメータ
MS/MS Acquisition Parameters

MRM トランジション	和名	英名	Polarity	MRM Quan	MRM Qual	ISTD
	アセタミプリド	Acetamidiprid	+	223.1 > 126.0	223.1 > 56.1	2
	アセタミプリド-N-デスメチル	Acetamidiprid-N-desmethyl	+	209.1 > 126.0	211.1 > 128.0	2
	クロチアニジン	Clothianidin	+	250.1 > 169.1	250.1 > 132.0	3
	ジノテフラン	Dinotefuran	+	203.0 > 114.0	203.0 > 87.0	1
	フィプロニル	Fipronil	-	435.0 > 330.0	435.0 > 250.0	3
	フィプロニルスルホン	Fipronil sulfone	-	451.0 > 415.0	451.0 > 282.0	3
	イミダクロプリド	Imidacloprid	+	256.1 > 175.1	258.1 > 211.1	2
	ニテンピラム	Nitenpyram	+	271.0 > 126.0	271.0 > 225.0	3
	チアクロプリド	Thiacloprid	+	253.1 > 126	253.1 > 90.1	1
	チアメトキサム	Thiamethoxam	+	292.1 > 211.1	292.1 > 181.1	1
	チアメトキサム-D3	Thiamethoxam-D3	+	295.1 > 214.05	---	1
	イミダクロプリド-D4	Imidacloprid-D4	+	260.1 > 179.1	---	2
	クロチアニジン-D3	Clothianidin-D3	+	253.1 > 132.05	---	3

データ取り込み時間 : 3 msec から 34 msec まで一つのピークに対して最低 30 点取得した場合の遷移時間 (最大ループタイム 140 msec)
 停止時間 : 1 msec
 分解能設定 : Q1: Unit Q3: Unit

■ キャリブレーション

Calibration

各化合物の混合液を、内部標準を含むアセトニトリルを用いて 0.5 – 5000 pg/mL に希釈し、内部標準法による検量線を作成しました。このときの注入量は 1 fg – 10 pg で、ハチミツ中濃度に換算すると 0.001 – 10 µg/kg となります。

各化合物の定量下限値を Table 4 に、定量下限値における MRM クロマトグラムを Fig. 1 に、それぞれ示します。検量点 (n=1) の真度はすべて 80 – 120 % の範囲に収まり、広いダイナミックレンジにおける定量性が示されました。

例として、アセタミプリドの検量線を Fig. 2 に示します。

Table 4 ハチミツ中における各化合物の下限定量値
Limits of Quantification in Honey

化合物	LOQ (µg/kg)	化合物	LOQ (µg/kg)
アセタミプリド	0.005	フィプロニルスルホン	0.001
アセタミプリド-N-デスメチル	0.005	イミダクロプリド	0.020
クロチアニジン	0.020	ニテンピラム	0.020
ジノテフラン	0.010	チアクロプリド	0.005
フィプロニル	0.001	チアメトキサム	0.005

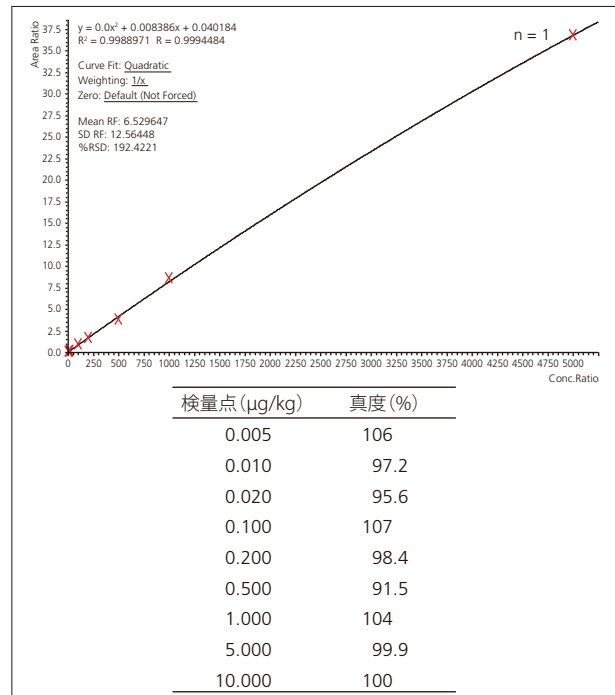


Fig. 2 Acetamidiprid の検量線
Calibration Curve of Acetamidiprid

■ サンプルの分析方法

Real Samples Analysis

食品や化粧品原料として市販されているハチミツ 9 品目を購入し、未知試料として高感度分析に供しました。その結果、不検出となった 1 品目を除くすべての試料において、基準値を大きく下回る濃度の残留農薬を定量することに成功しました。結果のサマリを Table 5 に示します。さらに Fig. 3 の MRM クロマトグラムでは、マトリクス由来の妨害ピークの影響を受けることなく農薬成分の検出ができており、今回の方法により実試料中の高感度な定量が行えることが示されました。

Table 5 ハチミツサンプル (濃度 $\mu\text{g/kg}$)
Honey Samples Results (concentrations in $\mu\text{g/kg}$)

品目	アセタミプリド	クロチアニジン	イミダクロプリド	チアクロプリド	チアメトキサム
1. プロヴァンス産, クリーム状	---	---	0.20	---	0.010
2. イタリア産, クリーム状	0.15	---	0.17	---	---
3. ピレネー産, 液状	0.38	---	0.043	0.020	---
4. フランス産+スペイン産, クリーム状	0.27	---	0.047	0.020	---
5. タイム, 液状	---	---	---	---	---
6. レモン, クリーム状	1.7	---	0.15	0.033	---
7. ミカン, 液状	1.2	---	0.62	---	---
8. 花, クリーム状	0.14	---	0.055	0.39	---
9. 花, 液状	0.34	---	0.11	0.010	---

品目	ジノテフラン	ニテンピラム	アセタミプリド-N- デスメチル	フィプロニル	フィプロニル スルホン
1. プロヴァンス産, クリーム状	---	0.052	0.005	---	---
2. イタリア産, クリーム状	---	0.040	---	---	---
3. ピレネー産, 液状	---	---	0.015	0.004	---
4. フランス産+スペイン産, クリーム状	---	0.032	---	---	---
5. タイム, 液状	---	---	---	---	---
6. レモン, クリーム状	---	---	0.020	---	---
7. ミカン, 液状	---	0.024	0.018	---	---
8. 花, クリーム状	---	---	0.016	---	---
9. 花, 液状	---	---	0.006	---	---

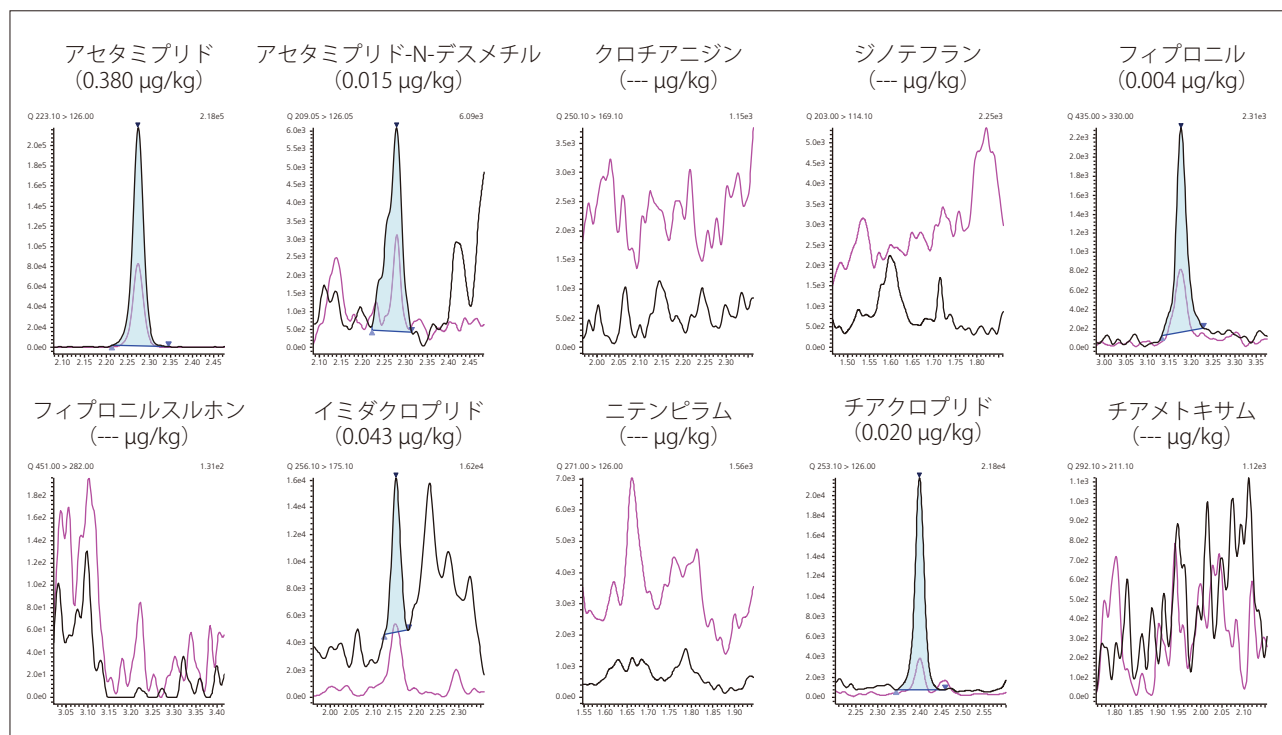


Fig. 3 ハチミツ中における農薬のクロマトグラム (ピレネー産, 液状)
Chromatograms of a Sample Honey (Pyrenees)

■測定の実験安定性

Stability

今回の測定法における堅牢性および繰り返し再現性を評価するため、農薬が検出されなかった品目のハチミツ（タイム、液状）に各化合物を 0.05 µg/kg の濃度で添加し、150 回の連続測定を行いました。Fig. 4 に示されるように、実試料による低濃度の測定においても、高い注入間再現性および面積値の安定性を担保する結果が示されました。高感度な測定を長時間維持するうえで、LCMS-8060 の堅牢なイオンソースの設計が生かされていると考えられます。

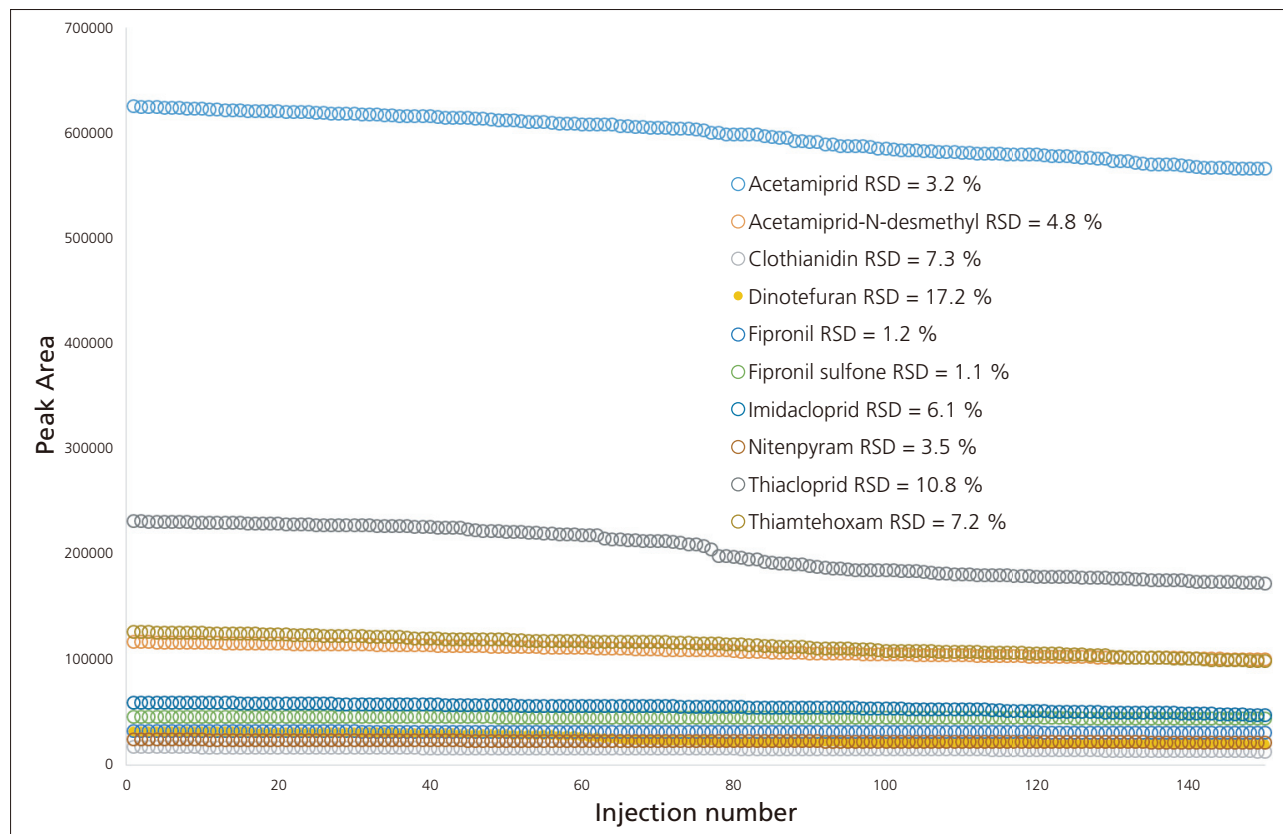


Fig. 4 150 回連続測定における、農薬のピーク面積値の安定性（ハチミツ試料）
Stability of Peak Areas in Real Honey Samples

■結論

Conclusion

ハチミツ中のネオニコチノイドやフィプロニルなどの農薬を超高感度かつ高速で分析する手法を確立しました。実験方法は簡便だけでなく高い回収率を実現することができました。これにより、規制されている残留基準値を大幅に下回る濃度でハチミツ中の農薬を定量することができました。また、測定の回数を重ねても感度への影響はありませんでした。

本実験手法はネオニコチノイドやフィプロニルなどの農薬がミツバチの巣に与える影響、および花粉やミツバチ中の残留農薬レベルを研究するためのツールとして有効で、花粉など他の試料形態にも容易に水平展開可能なものです。

残留農薬のルーチン分析におけるデータ信頼性向上に向けた MRM スペクトルモードおよびライブラリ検索の応用

David R. Baker¹, Chris Titman¹, Jonathan Horner², Neil Loftus¹
¹Shimadzu Corporation, UK; ²Scientific Analysis Laboratories, UK

■ 要旨

多重反応モニタリング（MRM）モードを用いて残留農薬の分析を繰り返し行った場合、測定結果の偽陽性および偽陰性が課題となります。この課題を解決するために表示するフラグメントイオンの数を増やすことでより簡便に農薬を特定し、信頼できるデータを報告することができます。

従来の MRM 法では一つの農薬に対して 2-3 個のフラグメントイオンを観察するのにに対し、MRM スペクトルモードでは 6-10 個のフラグメントイオンのトランジションを観察しています。多くのフラグメントイオンのトランジションを取得することで、各農薬はライブラリ検索に搭載されているフラグメントイオンのスペクトルと一致しており、リファレンスライブラリの妥当性評価の整合性が向上しました。この MRM スペクトルモードを 193 種の農薬の定量・定性に用い、検出感度・直線性・再現性に妥協することなく 1291 個の MRM トランジションを使用しました。

キーワード： MRM スペクトルモード; 偽陽性、偽陰性の抑制; 農薬; 食の安全; LCMS-8060; 高い特定性

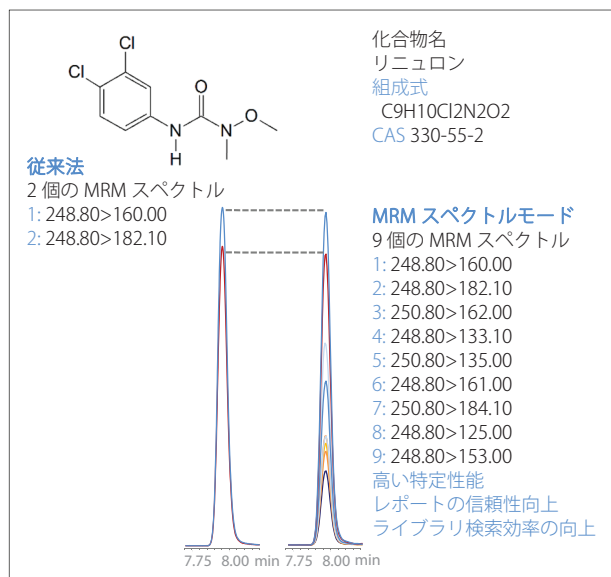


図 1 従来法と MRM スペクトルモードの比較。多くのフラグメントイオンの MRM トランジションを取得することで同定性能を向上し、偽陽性・偽陰性を抑制することができます。リニュロンの測定を行った場合、9 個のプリカーサーイオンのトランジションを用いることで結果の信頼性が向上しました。多くのフラグメントイオンを観察したにも関わらず、従来法と比較してデータの質は低下しておらず、信号強度、直線性、再現性に違いは見られませんでした。

■ 背景

高い検出感度、選択性から定量目的においてトリプル四重極分析計を用いた多重反応モニタリング（MRM）法が広く使用されています。食の安全などの規制において、1 回の測定で分析できる農薬の数を増やすこと、また化合物同定の信頼性を高め誤検出を減らすことが求められています。EU における農薬分析では識別基準 SANTE/11945/2015 が用いられており、保持時間および少なくとも 2 個の MRM トランジションから得たイオン比が規制値内¹⁾である必要があります。しかしながら、この基準を用いた場合、特定の農薬と食品の組み合わせにおいて、多くの測定結果の偽陽性が報告されています。²⁻⁴⁾

MRM スペクトルモードではそういった偽陰性、偽陽性を減らすために、ひとつの農薬に対してより多くの MRM トランジションが用いられており、化合物の特定性を高めています。それぞれの対象となる農薬において検出されるフラグメントイオンのトランジション数は化合物の構造に影響され、およそ 6-10 個のフラグメントイオンが生じます。MRM スペクトルモードは従来の MRM 定量に多くの MRM トランジションを用いており、このプロダクトイオンスペクトルは繰り返し行われるライブラリ検索や化合物の検証、同定に用いることができます。

ここでは 193 種の農薬に対して 1291 個の MRM トランジション、サイクルタイム 15 分の分析手法を開発しました。数多くの MRM トランジション数を取得するためにそれぞれの MRM トランジションにおいて Dwell time を 3 ミリ秒、正負切替を 5 ミリ秒で行いました。1 つの農薬に対して平均 7 個の MRM トランジションを用いました。当社の残留農薬メソッドパッケージを用いてメソッドを確立しました。このメソッドパッケージには 750 種類の農薬および 6000 個以上の MRM トランジションがデータベースに搭載されており、迅速なメソッド開発および化合物の検証が可能です。メソッドに MRM トランジションを追加した場合、データの質への影響を評価するために MRM スペクトルモードと従来の農薬モニタリング手法（1 化合物につき 2 個の MRM トランジション、計 386 個の MRM トランジション）の比較を行いました。様々な種類の食物（ターメリック、プラム、ペパーミント、パースミット、チェリー、ライム、カボチャ、トマト、イモ）の分析を行いました。対象の MRM スペクトルをライブラリから自動検索する LabSolutions Insight を用いてデータ取得を行いました。

■実験方法

QuEChERS 法による抽出物に農薬を添加したサンプルを Scientific Analysis Laboratories、UK に提供して頂きました。MRM スペクトルモードのデータベースおよびライブラリ検索機能の動作確認を行うためにターメリック、プラム、ペパーミント、パースミット、チェリー、ライム、カボチャ、トマト、イモを用いて実験を行いました。最終抽出物はアセトニトリルを溶媒とし、直接 LC-MS/MS に供しました。測定において早い段階で溶出するピーク形状の改善を行うために、オートサンプラーで自動的に水を共注入し、ピーク面積改善のために約 2 μm の粒子径のカラムを用いました。(表 1)

農薬を 0.01 mg/kg から 0.2 mg/kg に調製し、検量線を作成しました。再現性試験にはアボカドに 0.1 mg/kg の農薬を添加し、試料に供しました。最後に ESI の正負極性切替を 5 ミリ秒で分析を行いました。

それぞれの農薬に対して平均 7 個の MRM トランジションを用い、34 種の農薬では 10 個以上の MRM トランジションを用いました。しきい値を設けてトリガーすることなく全ての MRM トランジションを取得しました。1291 種の MRM トランジションを含む農薬 193 種類の分析時間はわずか 15 分でした。各 MRM トランジションの Dwell time は 3 ミリ秒でした。MRM スペクトルモードによって取得したデータの信頼性を評価するために、従来の MRM 法 (1 つの農薬に対し 2 個の MRM、計 386 個の MRM) と同様の分析条件を用いました。(表 2)

全ての農薬のフラグメンテーションを自動的に最適化し、MRM スペクトルモードの分析法を作成する LabSolutions を用いました。島津の農薬データベースを用いることでライブラリ検索および化合物同定を目的とした MRM スペクトルモードの分析手法を簡便かつ迅速に設定することができました。このデータベースは 750 種以上の農薬の MRM トランジション (6000 個以上) が搭載されています。

定量結果の評価のために LabSolutions Insight ver.3.0 および MRM スペクトルモードを用いました。MRM スペクトルモードのライブラリ検索にはフィルタリングツールが搭載されており、偽陰結果を低減または取り除くことができます。

表 1 LC 条件

液体クロマトグラフィ		
UHPLC	Nexera LC system	
分析カラム	HSS T3 (100 × 2.1, 1.7 μm)	
カラム温度	40 $^{\circ}\text{C}$	
流速	0.4 mL/min	
移動相 A	ギ酸アンモニウム (5 mmol/L) 0.004 % ギ酸+水	
移動相 B	ギ酸アンモニウム (5 mmol/L) 0.004 % ギ酸+メタノール	
グラジエント プログラム	時間 (min)	%B
	1.50	35
	11.50	100
	13.00	100
	13.01	3
	15.00	Stop
注入量	0.1 μL (30 μL の水と共注入)	

表 2 MRM スペクトルモード、および従来の MRM 法を用いた分析モードの MS/MS 取得パラメータ。LC の測定は同じ条件を用いました。

LC-MS/MS	MRM スペクトル モード: ライブラリ検索 可能	従来法 (MRM2 個)
農薬	193	193
トランジション数	1,291 個 (1,229 ポジティブ、 62 ネガティブ)	386 個 (374 ポジティブ、 12 ネガティブ)
ボースタイム/ Dwell タイム	1 ミリ秒/3 ミリ秒	1 ミリ秒/3 ミリ秒
イオン化法	ESI +/-	ESI +/-
極性切替	5 ミリ秒	5 ミリ秒
インターフェース 温度	350 $^{\circ}\text{C}$	350 $^{\circ}\text{C}$
ヒートブロック温度	300 $^{\circ}\text{C}$	300 $^{\circ}\text{C}$
DL 温度	150 $^{\circ}\text{C}$	150 $^{\circ}\text{C}$
ネプライザーガス	3 L/min	3 L/min
ヒーティングガス	10 L/min	10 L/min
ドライイングガス	10 L/min	10 L/min

■実験結果および考察

化学汚染の評価規制は、既知の化合物リストから化合物を決定し、偽陽性、偽陰性のあるデータを出さずに高速かつ費用対効果の高い分析を目的としております。化合物同定のガイドラインは EU の SANTE/11945/2015 に記載されており、この同定基準は 少なくとも 2 個の MRM トランジションにおけるイオン比および保持時間が規制値内であることが求められています。

残留農薬の評価プログラムにおいて誤検出を減らすために新しい MRM 法の開発を行いました。この MRM 法は一つの農薬に対してより多くの MRM トランジションを用いることで特定性能が向上しております。プロダクトイオンスペクトルと農薬の MRM トランジションを組み合わせることで MS/MS ライブラリを参照することなく、農薬同定の妥当性を向上することができます。MRM スペクトルモードを用いることで誤検出を著しく減らし、最適な定量・定性結果を得ることができます。

農薬 193 種 (0.010 mg/kg) を添加し、MRM スペクトルモードを用いて測定した MRM クロマトグラムを図 2 に示します。193 種の農薬の 1291 個の MRM トランジションを取得しました。その中の 151 個の MRM トランジションを図 3 に示します。MRM スペクトルモードを用いて測定を行うことで、検出感度に影響を与えることなく、効率的にデータを取得することができます。

■ メソッドのパフォーマンス

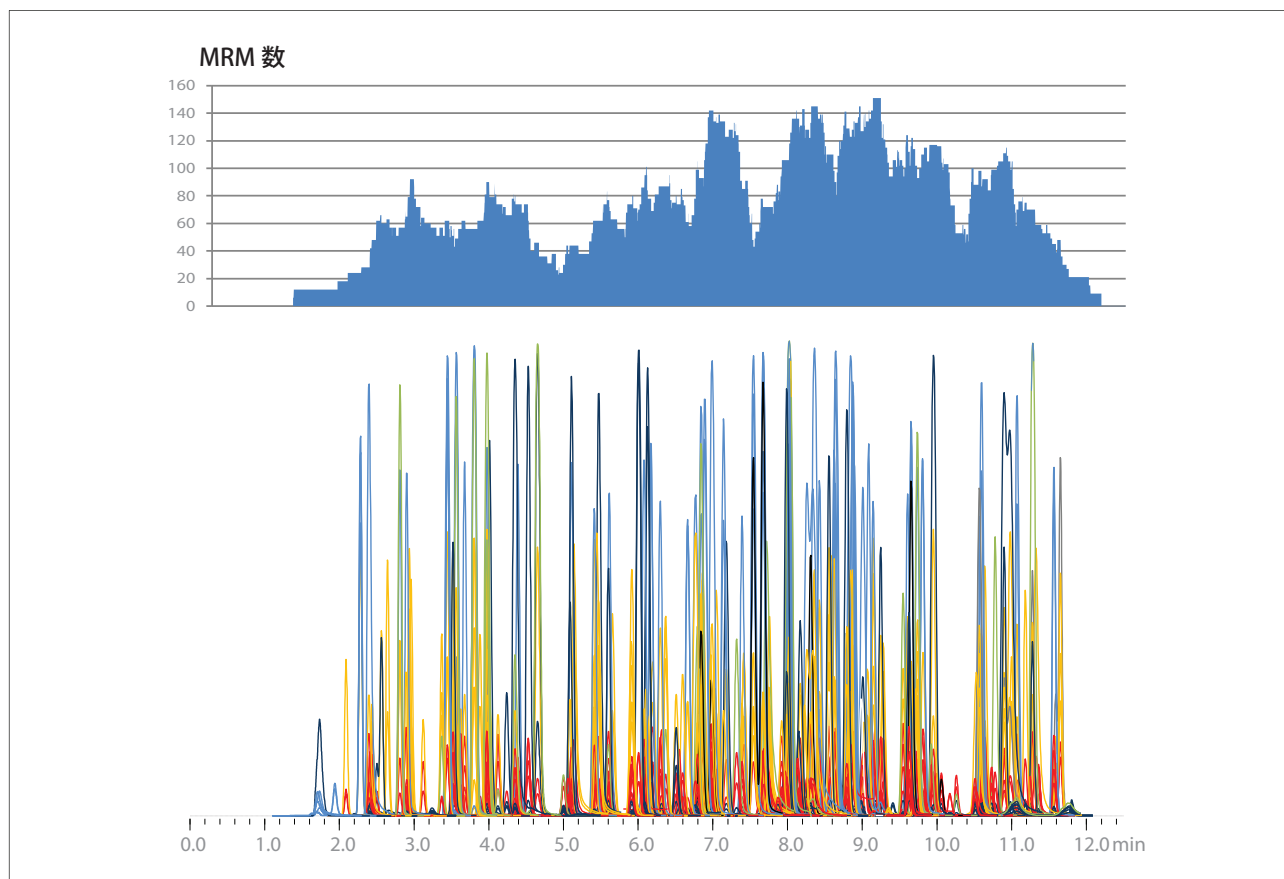


図2 各時間におけるMRM トランジションのヒストグラムおよび農薬 193 種のクロマトグラム。MRM は最大で 151 個、オーバーラップしていました。このような密集したデータ取得を行った場合においても、従来の MRM 法と比較してピーク面積値 5.2%以下でした (n=5)。詳細を図3に示します。

表3 保持時間 8.80 分から 9.30 分までのポジティブおよびネガティブの 151 個の MRM トランジション。

	保持 時間	MRM の数	極性	ピーク面積 %RSD(n=5)
Dichlofluanid	8.80	6	ESI+	2.2
Dichlofluanid 2	8.80	6	ESI+	3.4
Dichlofluanid 1	8.80	5	ESI+	2.6
Fluoxastrobin	8.82	12	ESI+	2.0
Fenhexamid	8.83	11	ESI+	2.2
Iprovalicarb	8.88	6	ESI+	2.3
Spirotetramat	8.89	6	ESI+	2.6
Azinphos-ethyl	8.90	5	ESI+	3.1
Chromafenozide	8.91	5	ESI+	3.2
Triticonazole	8.93	5	ESI+	2.1
Cyazofamid	9.01	5	ESI+	2.1
Prothioconazole	9.07	10	ESI+	1.9
desthio				
Diflubenzuron	9.09	4	ESI+	2.0
Pyrifenoxy	9.11	8	ESI+	2.0
Dodemorph	9.17	6	ESI+	2.1
Fenoxycarb	9.17	6	ESI+	2.0
Rotenone	9.17	6	ESI+	2.4
Fipronil	9.20	10	ESI-	5.2
Bixafen	9.25	8	ESI-	2.8
Tebufozide	9.27	6	ESI+	3.9
Bensulide	9.27	6	ESI+	2.6
Neburon	9.30	9	ESI+	1.7

計 151

平均
2.6 %RSD

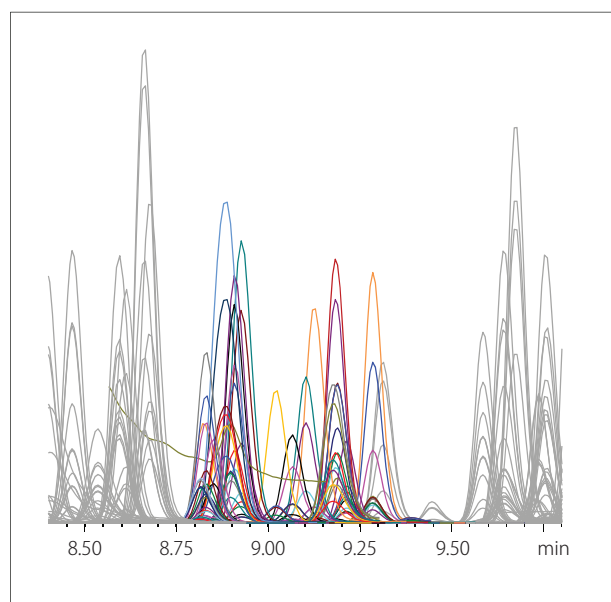


図3 保持時間 8.80 分から 9.30 分までのポジティブおよびネガティブの 151MRM トランジション。この時間に溶出した 22 化合物のピーク面積値再現性 (RSD) は 5.2%以下でした。アボカドに 0.1 mg/kg の農薬を添加し測定を行いました。

■メソッドのパフォーマンス

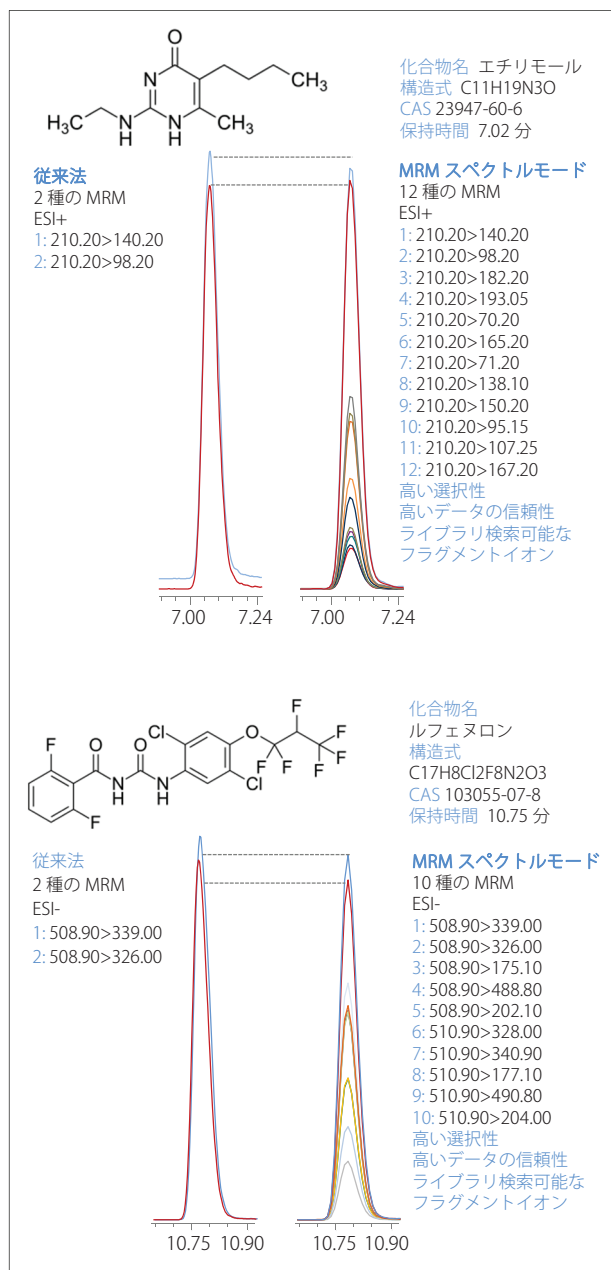


図4 エチリモール（ポジティブ）およびルフェヌロン（ネガティブ）の MRM クロマトグラム。0.1 mg/kg の農薬をアボカドに添加し、5 回繰り返し注入し、再現性の試験を行いました。エチリモールおよびルフェヌロンにおける MRM 法を用い、%RSD3.5%を得ました。

LC-MS/MS による誤検出を減らすために一つの農薬に対して多くの MRM トランジションを用いる手法を開発しました。また、MRM スペクトルモードの性能を評価するために従来の MRM 法（1 つの農薬に対して 2 つの MRM トランジションを用いる手法）との比較を行いました。

図4にエチリモールおよびルフェヌロンの MRM クロマトグラムを示します。0.1 mg/kg の農薬をアボカドに添加し、それぞれの MRM 手法で分析を行いました。MRM クロマトグラムはスムージングを行っておらず、それぞれの農薬は同じスケールで表示しております。エチリモールおよびルフェヌロンは 7.02 から 10.75 分の間に溶出され、100 以上の MRM を取得したデータの密度が高い時間内に取得しました。多くのフラグメントイオンを検出したにも関わらず、ポジティブモードおよびネガティブモードでおよそ同強度のイオンを検出しました。

それぞれの MRM 法を用いて全ての農薬を測定した場合におけるピーク面積値との相関関係を図5に示します。線形回帰曲線によると傾きが1に近く、原点近くを通る良好な結果を得ました。

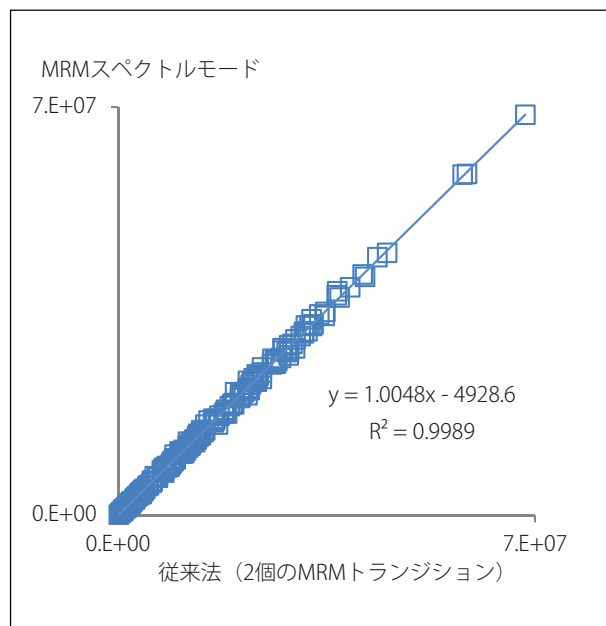


図5 従来の MRM 法（トランジション数 386）および MRM スペクトルモード（トランジション数 1291）と 193 種の農薬のピーク面積値の相関関係。線形な結果を得ることができました。

■ スペクトルの同定

高速極性切替は島津の LCMS-8050/8060 において高速なデータ取得システムのひとつです。ここではメソッドは MRM トランジション数を増やすだけでなく、高速極性切替により一回の測定における網羅数を増やしております。

異なる極性切替時間による分析結果を図 7 に示します。それぞれに切替時間で取得したビクサフェン（ネガティブイオンモード）および ヘキシチアゾクス（ポジティブモード）のピーク面積値は 3.5% RSD (n=4) 以下でした。

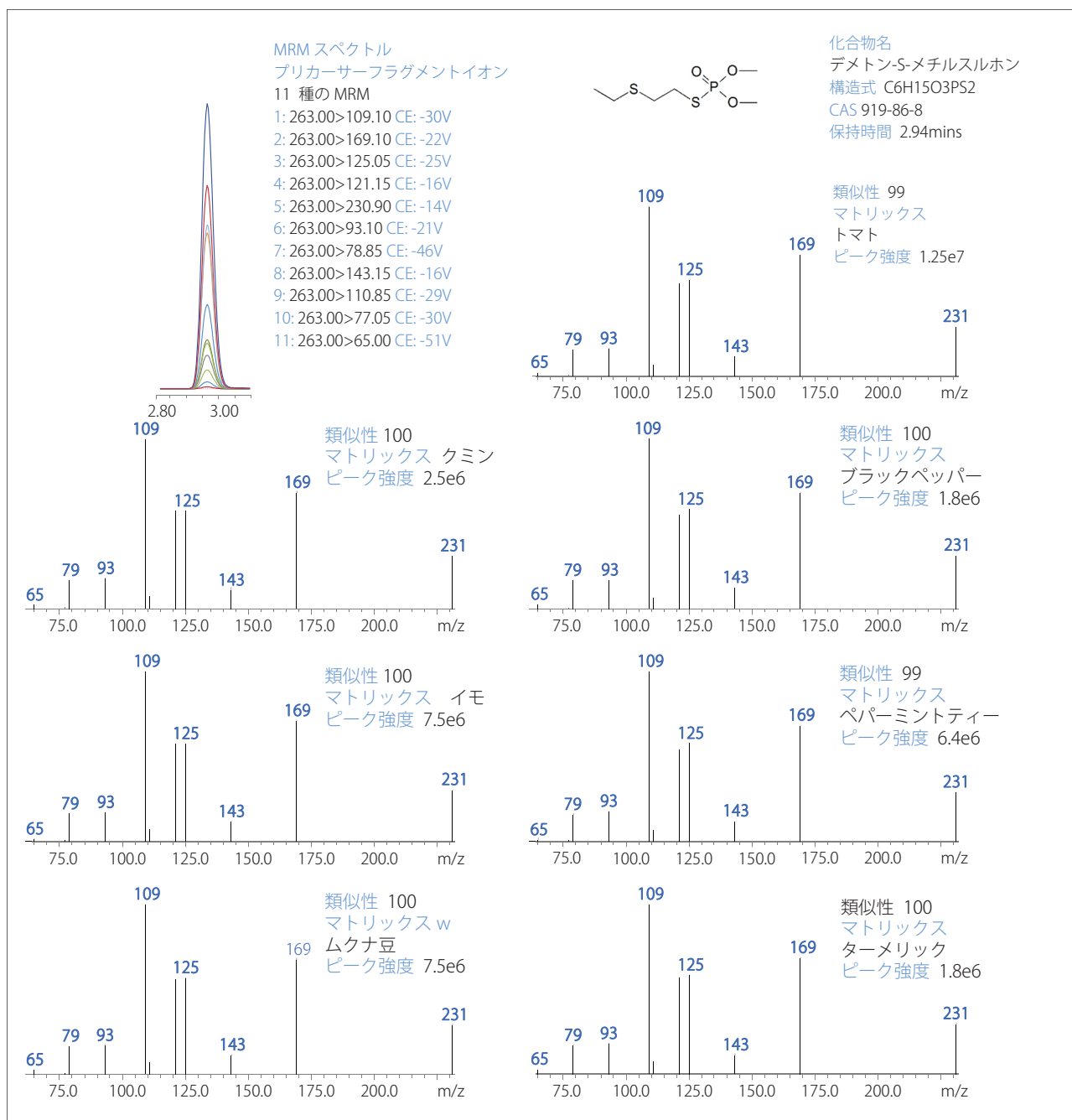


図 6 異なるマトリックス中における MRM スペクトルモードを用いたデメトン-S-メチルスルホンの同定

■ スペクトルの同定

得られたデータの信頼性を向上するために一つの農薬に用いるトランジションの数を増やしました。さらに MRM トランジションと組み合わせることでプロダクトイオンスペクトルを取得しました。この MRM を用いて取得したプロダクトイオンスペクトルは自動的にリファレンススペクトルと比較され、類似性スコアが算出されます。

図 7 にライブラリ検索可能なフラグメントイオンスペクトルを使用する有意性を示します。ここでは定性・定量のためにデスメディファムおよびフェンメディファムを用いました。デスメディファムおよびフェンメディファムは、ほぼ同じフラグメントイオンおよび保持時間を有しております。MRM スペクトルモードを用いてスペクトルの比較を行った場合、デスメディファム及びフェンメディファムを正確に同定することができました。（フェンメディファムのプロダクトイオンスペクトルでは m/z 154、182 にフラグメントイオンは検出されませんでした。）

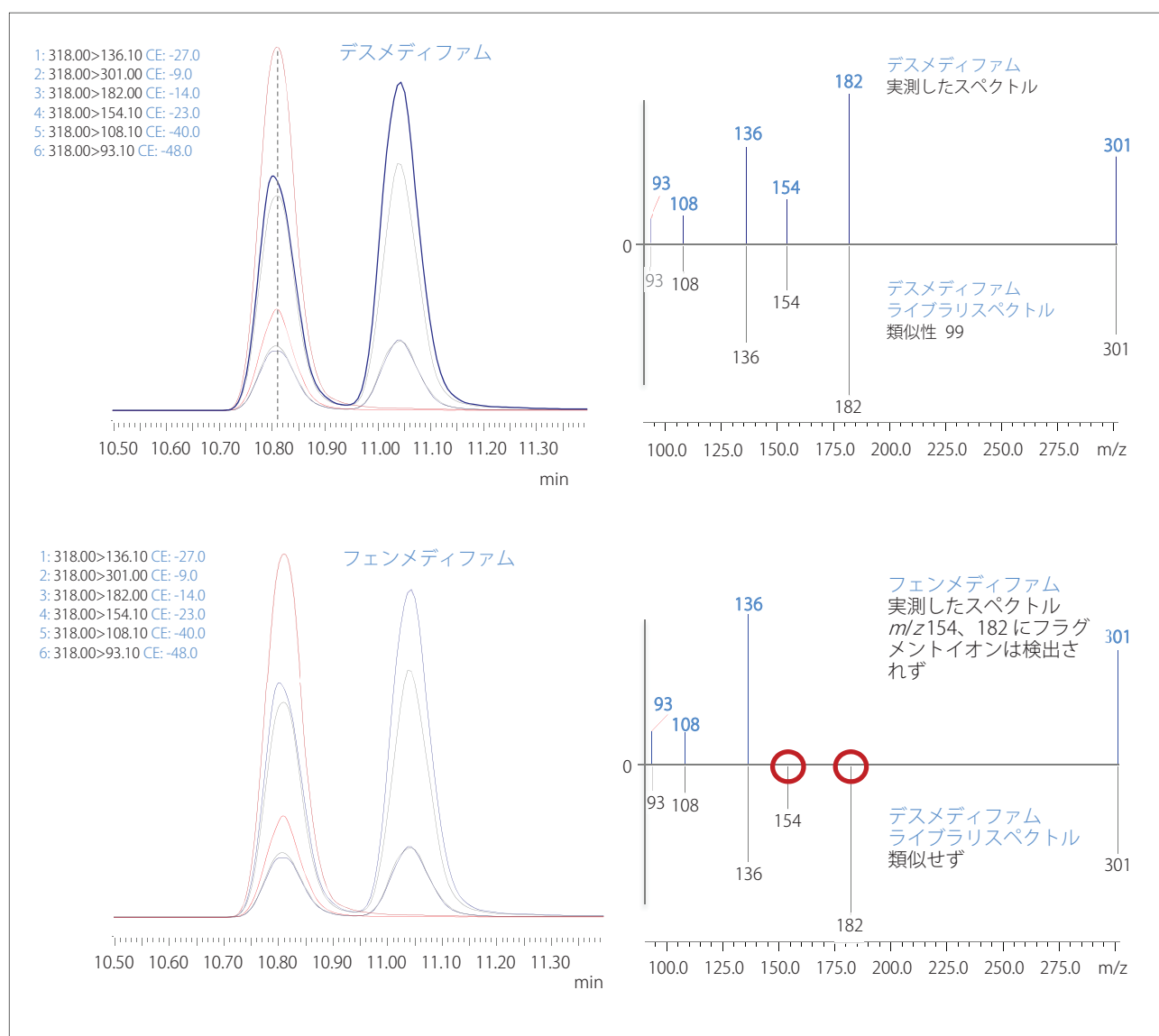


図 7 デスメディファムおよびフェンメディファムを 0.1 mg/kg に調製し、クミンに添加した MRM クロマトグラムを示します。フェンメディファム、デスメディファムは同一のトランジションおよび保持時間であり、MRM スペクトルにより農薬を区別し、誤検出を避けることができました。

■ 定量

カルベンダジムを3段階に希釈し、マトリックスに添加して測定を行いました。図8では報告されている値と同様の0.010 mg/kgの濃度で全てのプロダクトイオンのS/Nが10を超えておりました。得られた検量線の結果を図9に示します。検量範囲(0.010-0.200 mg/kg)におきまして線形性を得ることができました。

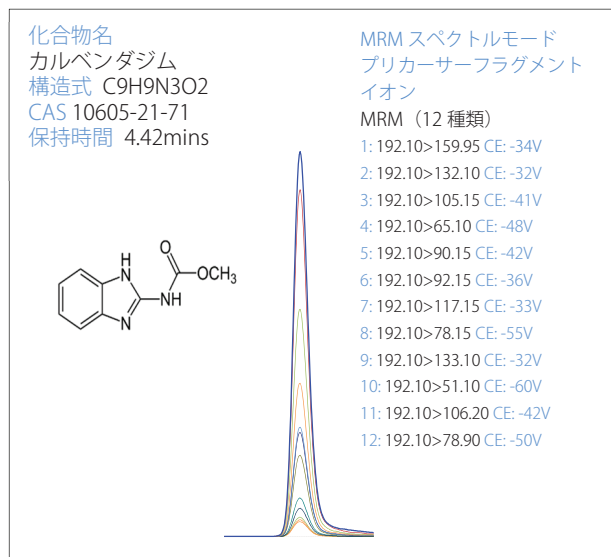


図8 広範囲のCEを印加することで12個のカルベンダジムのプリカーサーフラグメントイオンを検出しました。MRM 192.10>159.95を感度および定量の評価に用い、12個のフラグメントイオンをピーク同定に用いました。

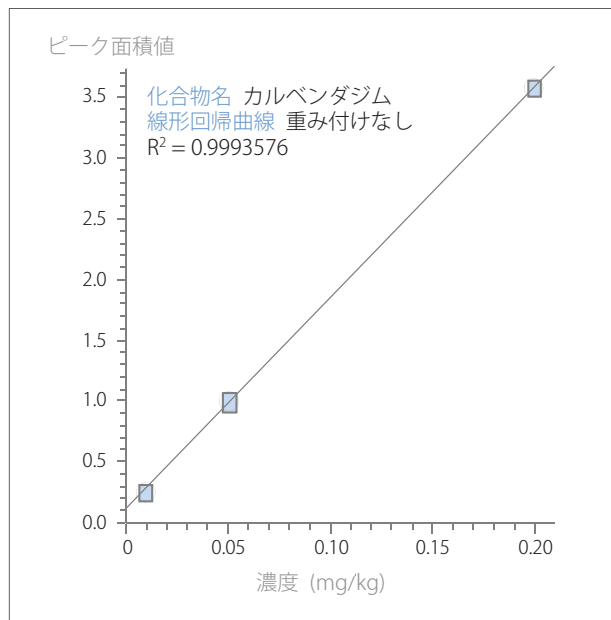


図9 最適化されたトランジション(MRM 192.10>159.95)を用いたカルベンダジムの検量線を示します。0.010 mg/kg 添加し、12個全てのフラグメントイオンにおいて10を超えるS/Nを得ることができました。

プロダクトイオンスペクトルを得るために用いるMRMトランジションの数は農薬の化学構造によります。カルベンダジムの場合、CEを10-60 Vに設定するといくつかの結合が開裂し、12個のプロダクトイオンが生成されます。プロダクトイオンスペクトルはライブラリ検索に使用され、図10の様に分析の確認に用いられます。0.010-0.200 mg/kgの濃度範囲においてそれぞれの類似性スコアが98を超えました。この技術による利点はライブラリ検索できるプロダクトイオンスペクトルを用いることで、定量的なデータ報告において感度、精度、堅牢性を損なうことなく測定対象を同定できることです。

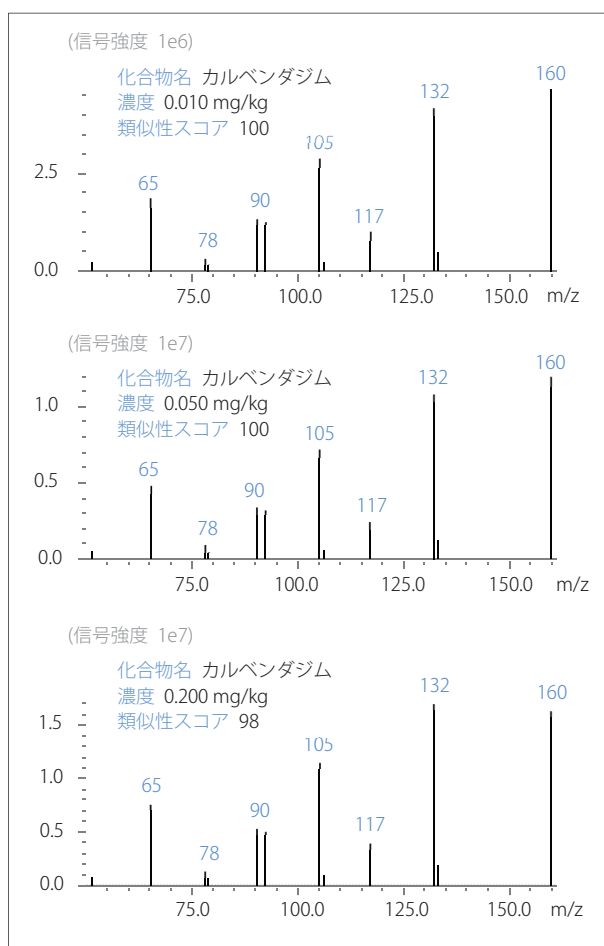


図10 3段階の濃度(0.010、0.050、0.200 mg/kg)のカルベンダジムを食品マトリックスに添加したMRMプロダクトイオンスペクトルを示します。ライブラリスペクトルと比較を行った結果、類似性スコア98を超える高い同定精度を得ることができました。

データ報告

LabSolutions Insight ソフトウェア (図 11) を用いることで自動的に参照されたライブラリと定量結果を簡単に評価することができます。

ライブラリ類似性および標準物質によって最適化を行った保持時間を用いた化合物同定方法により、LabSolutions Insight は誤検出を減らすことができます。

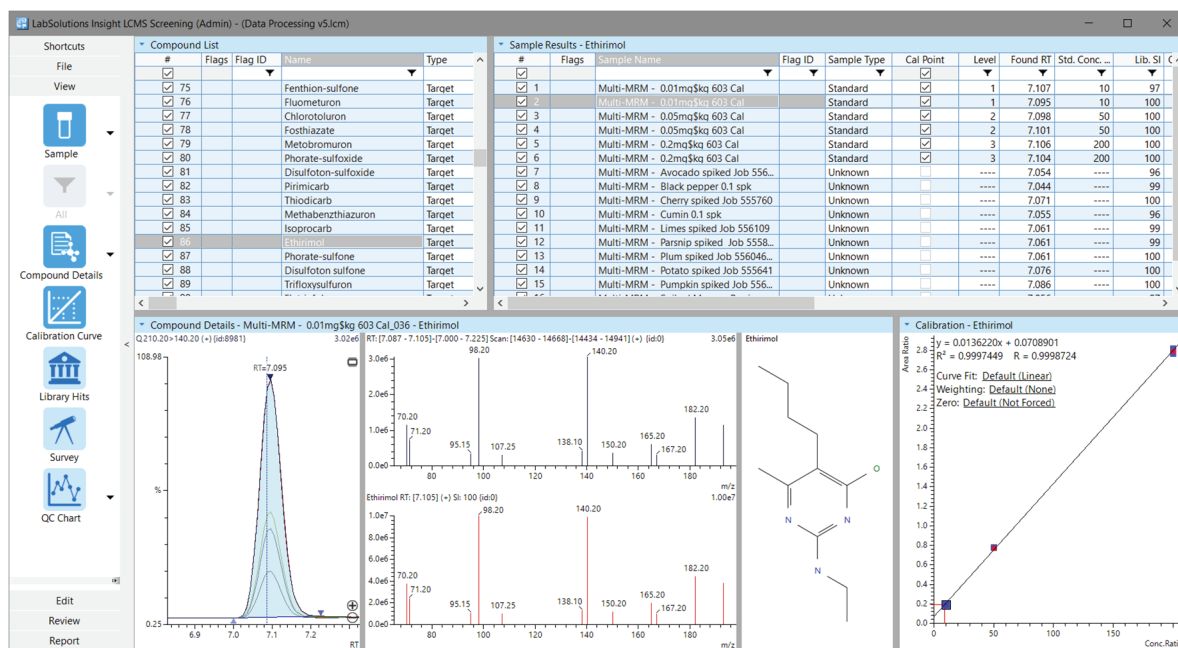


図 11 LabSolutions Insight によって定量およびライブラリ類似性スコアの結果を高速かつ簡単に評価することができます。フィルタリングおよびソート機能によって誤検出を減らし、プロダクトイオンスペクトルの類似性スコアによるフィルタリング機能により高いスループットを実現します。

結論

農薬の誤検出は残留農薬の評価を行う研究において大きな課題とされています。EU の規制では保持時間および 2 個の MRM トランジションの比が規制値に収まることが求められています。しかしながら、特定の農薬と食品を組み合わせた場合、偽陽性のあるデータが生じていると報告されています。

ここでは様々な食物をマトリックスとし農薬 193 種類を MRM スペクトルモードを用いて定性・定量を行いました。得られたデータの信頼性向上のためにライブラリを用いた類似性スコアを識別基準として用いました。

MRM スペクトルモードによるデータ取得 (1291 個の MRM トランジション) と従来の一つの農薬に対して 2 つの MRM を用いる従来法 (386MRM) を比較した場合、同程度の信号強度および再現性を得ました。MRM スペクトルモードによって取得した MRM スペクトルは異なる食物マトリックス中において安定した直線性を得ることができました。この手法を用いてポジティブおよびネガティブモードでデータを取得し、極性切り替えを 5 ミリ秒で行うことにより高いデータの取得率を実現しました。

全ての 1291 MRM トランジションは、しきい値を設けることなく取得しました。Dwell Time の短い LCMS-8060 を使用しかつ、MRM トランジションにトリガーを用いないことが必要不可欠です。MRM スペクトルモードでは必要に応じて有効な MRM トランジションを入れ替えることができ、追加した MRM トランジションのピーク形状を評価することができます。

References

- 1* European Commission SANTE/11945/2015. Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed.
- 2* Schürmann A., Dvorak V., Crüzer C., Butcher P., Kaufmann A., False-positive liquid chromatography/tandem mass spectrometric confirmation of sebuthylazine residues using the identification points system according to EU directive 2002/657/EC due to a biogenic insecticide in tarragon. Rapid Communications Mass Spectrometry, Volume 23, Issue 8, April 2009, Pages 1196-1200.
- 3* Kaufmann A., Butcher P., Maden K., Widmer M., Giles K., Uriá D. Are liquid chromatography/electrospray tandem quadrupole fragmentation ratios unequivocal confirmation criteria? Rapid Communications, Mass Spectrometry, Volume 23, Issue 7, April 2009, Pages 985-998.
- 4* Pozo Ó., Sancho J., Ibáñez M., Hernández F., Niessen W., Confirmation of organic micropollutants detected in environmental samples by liquid chromatography tandem mass spectrometry: Achievements and pitfalls, TrAC Trends in Analytical Chemistry, Volume 25, Issue 10, November 2006, Pages 1030-1042.

SFC/MS による食品中高極性農薬の
定量分析

高極性農薬は、化合物の特性から、通常の一斉分析法では十分な保持あるいは良好な分離を達成することが困難なため、LC/MS/MS による測定では、いくつかの個別分析法が用いられています。これに対して、EU リファレンスラボラトリーのひとつであり、個別分析法開発を担当している EURL-SRM（シュツットガルト、ドイツ）は、QuEChERS 法による前処理と通常の一斉分析法では対応が困難な高極性農薬のための一斉分析法“QuPPe（Quick Polar Pesticides）法”を開発しています。なお、本法では、サンプル・目的化合物に合わせた複数のメソッドを提案しています（M. Anastassiades et al; QuPPe of EURL-SRM (Version 9.1; 2016)）。

また、LC/MS/MS を用いた高極性農薬の分析には、これまで HILIC モード・ミックスモード・順相モード・逆相モードとさまざまな分離手法が使用されてきましたが、いずれの方法においても、一斉に測定できる化合物には限界があり、課題が残されているのが現状です。これに対して、SFC（超臨界流体クロマトグラフィー、Supercritical Fluid Chromatography）は、移動相の性質から、幅広い化合物を一斉に分離することができるという利点があります。また、LC と同じ分離モードのカラムを使用した際にも異なる分離挙動を示すことから、LC では保持や分離が困難な化合物の測定に有効な場合があります。今回、SFC を用いた高極性農薬の一斉分析例をご紹介します。

Y.Fujito, D. Baker, A. Barnes, C. Titman, J. Horner, N. Loftus

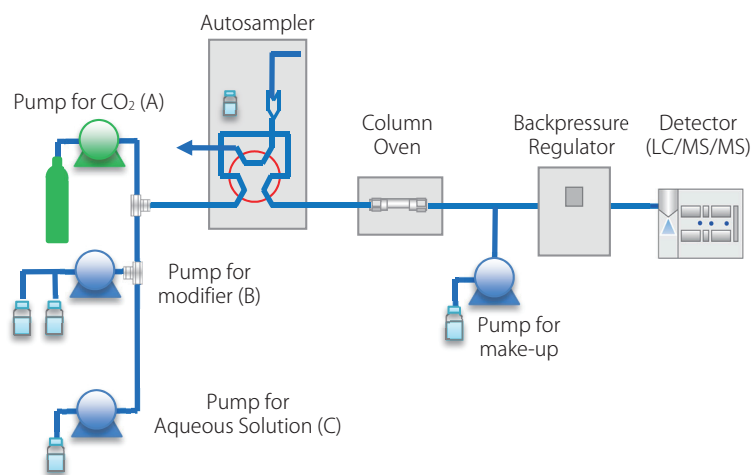


図1 SFC/MS のシステム構成図

本実験では、高極性農薬を溶出・分離する目的で、モディファイャに少量の水を添加する検討を行いました。その検討を容易にするために、Pump B には低圧グラジエントポンプ（LPGE）を装着し、移動相ブレンドングにて、モディファイャを自動調製しました。

表1 SFC/MS 分析条件

Supercritical fluid chromatography		Mass spectrometry	
SFC	Nexera UC system	LC-MS/MS	LCMS-8060
Analytical column	Restek Ultra Silica (150×2.1 mm 3 μm)	Ionisation mode	Heated ESI
Column temperature	50 °C	Scan speed	15,000 u/sec
Flow rate	0.8 mL/min (0.6 mL/min 13-22 min)	MRM Dwell time	3 msec
Pump A	CO ₂	Pause time	1 msec
Pump B (modifier solvent)	Acetonitrile + 0.5 % formic acid + 10 mM ammonium formate	Interface temp.	300 °C
Pump C (modifier solvent)	Water + 0.5 % formic acid + 10 mM ammonium formate	Heating block	350 °C
Pump D (make up solvent)	Methanol	Desolvation line	250 °C
Makeup solvent flow rate	0.2 mL/min		

■ SFC 分離条件の検討

通常、SFC は超臨界 CO₂ とモディファイアと呼ばれる有機溶媒（メタノールやアセトニトリルなど）によるグラジエント分離が行われます。しかし、高極性化合物など一部の化合物では、カラムへの保持が強く、100%有機溶媒でも分離・溶出が不十分なケースがあります。本実験では、いくつかの高極性農薬が有機溶媒 100%では溶出できなかったことから、少量の水をモディファイアに添加し、分離検討を行いました。

超臨界 CO₂ は極性が低く水との混和性が低いため、モディファイアへ添加できる水の量には限界があります（通常 0.1-10 %程度）。そのため、今回の検討においても、モディファイアに添加する水の量は 0.2, 4, 6, 8, 10 %にて分離挙動を確認しました。検討の結果、溶出できた成分のピーク形状および分離パターンから水含量 6%を採用しましたが、この条件においても溶出できない化合物がありました。

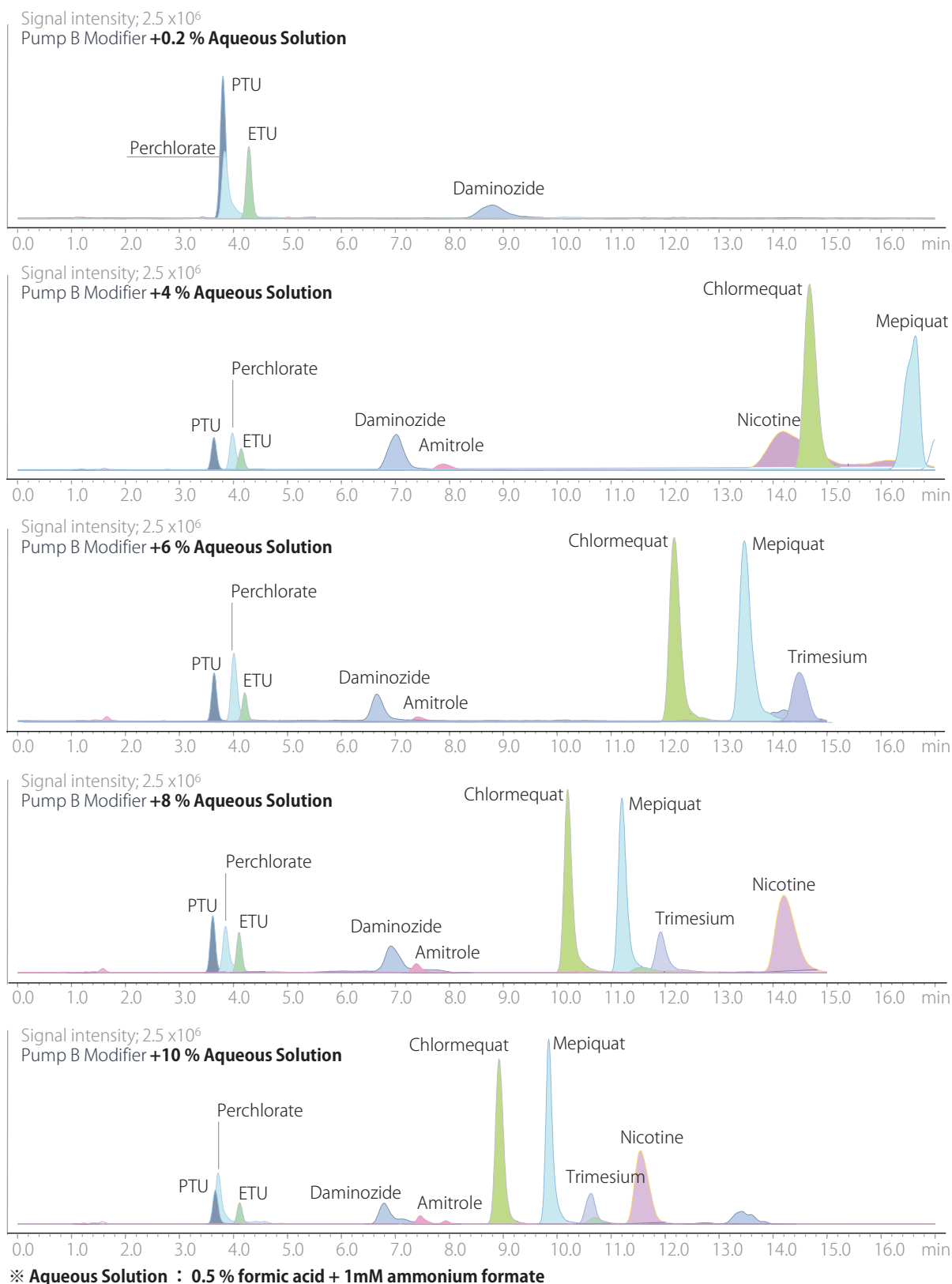


図2 SFC/MSにおける高極性農薬の分離挙動に対する水の影響

■ SFC 分離条件の最適化

モディファイアへの水溶液の添加検討において、6%添加条件で概ねの化合物の溶出が確認できたものの、保持が強い nicotine や kasugamycine を溶出することができませんでした。しかし、CO₂ 存在下でこれ以上水溶液の添加量を増やすと、グラジエント精度が悪くなり分析メソッドの安定性が担保できなくなる可能性があります。このため、モディファイア 100%に達した後に、更に別ポンプ (Pump C) より水溶液を添加しました (図 4)。

これより、残りの高極性農薬についても溶出することができるようになり、logP-3.47 から 1.96 の高極性農薬の一斉分離が可能となりました。

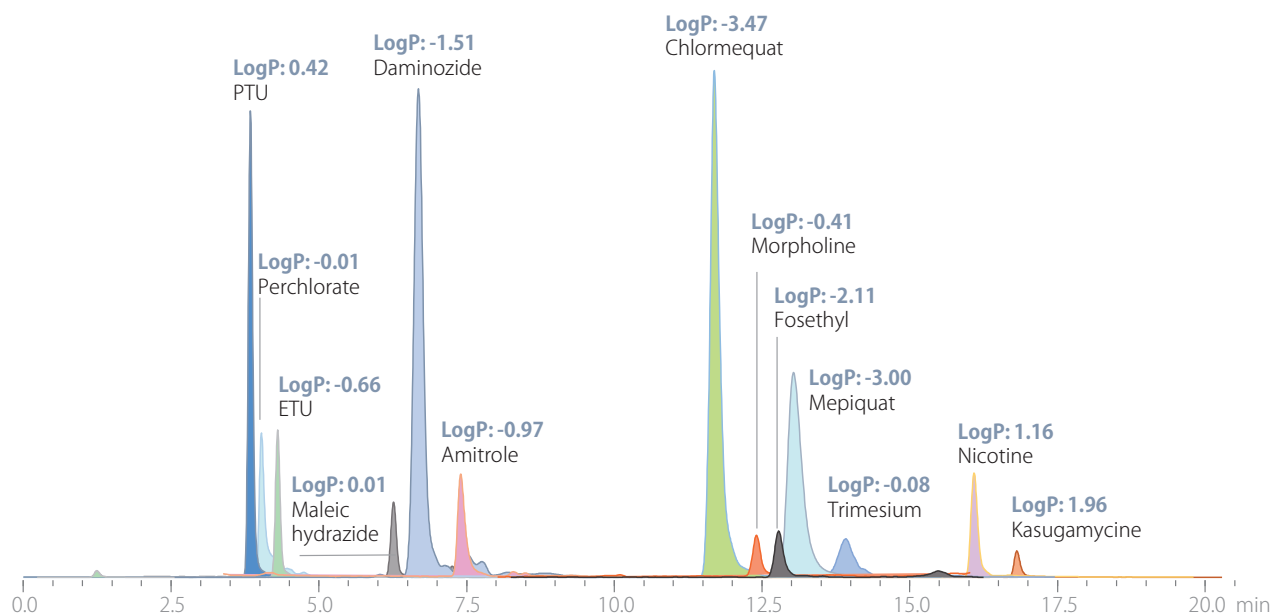
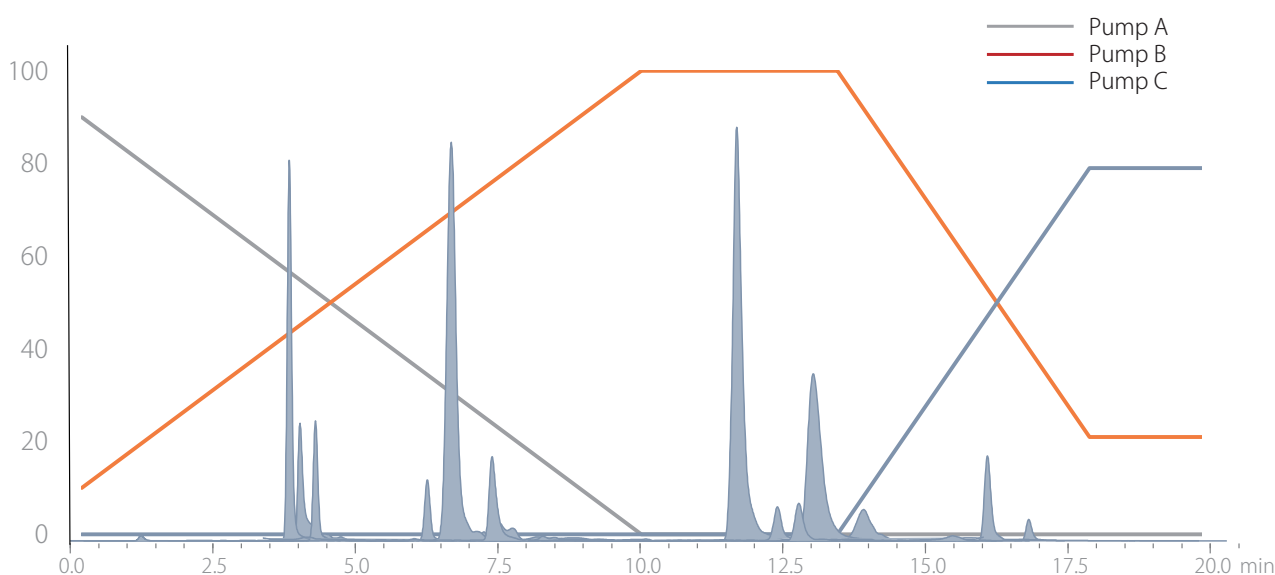


図3 SFC-MSによる高極性農薬のMRMクロマトグラム
(QuPPeによるアamani抽出液に農薬標準溶液200ppbを添加)



The initial SFC/MS conditions;

Pump A 90% : Carbon Dioxide

Pump B 10% : 6% Water in Acetonitrile containing 0.5% formic acid and 10 mM ammonium formate

Pump C 0% : Aqueous solution containing 0.5% formic acid + 10 mM ammonium formate

図4 3液グラジエントプログラム

■ 試料調製および分析

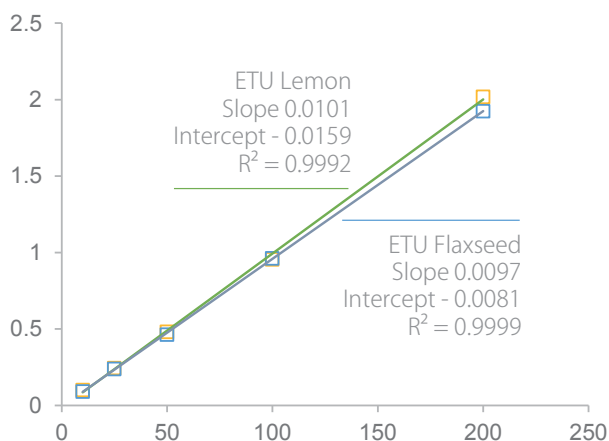
食品サンプルとして、アマニ・レモンを用い、QuPPe に準拠した方法で抽出を行いました（抽出液は、イギリスの受託分析会社 Concept Life Sciences 社より提供）。これらのマトリクス溶液に高極性農薬の標準溶液を添加し、直接 SFC-MS/MS に注入しました。

■ 高極性農薬の定量分析

開発した SFC/MS 測定メソッドについて定量性を確認するため、高極性農薬標準溶液を添加した各食品抽出液を用いてマトリクス検量線を作成しました。検量線範囲は、10 から 200 ppb とし、安定同位体内部標準物質が入手できた成分について、内部標準法により精度を確認しました。

各試料にて検量線を作成した結果、試料マトリクスに関わらず、いずれの化合物においても良好な直線性を示しました。

ETU Calibration curve 10-200 ppb
Matrix comparison Lemon | Flaxseed
Peak area Ratio | ETU/(²H₄)ETU | RT 4.36 mins



Nicotine Calibration curve 10-200 ppb
Matrix comparison Lemon | Flaxseed
Peak area Ratio | Nicotine/(²H₃)Nicotine | RT 16.04 mins

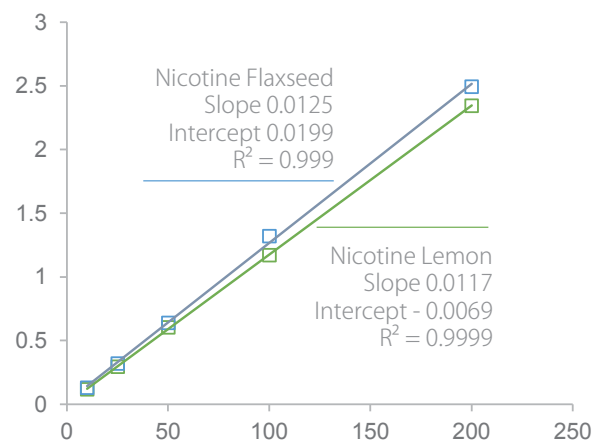


図5 代表的な高極性農薬のマトリクス検量線
(ETU：溶出が早い化合物、nicotine：溶出が遅い化合物、サンプル：レモン、アマニ)

表2 高極性農薬8成分の検量線直線性と100 ppbにおける再現性

Compound	RT (min)	Internal Standard	IS RT (min)	Quan MRM	%RSD 100ppb	R ²
Perchlorate	3.95	¹⁸ O ₄ Perchlorate	3.91	99.00 > 82.90	4.98	0.968
ETU	4.36	² H ₄ ETU	4.26	103.10 > 44.05	4.84	0.999
Maleic hydrazide	6.28	² H ₂ Maleic hydrazide	6.28	113.00 > 67.10	6.81	0.997
Chlormequat	11.58	² H ₄ Chlormequat	11.54	121.90 > 58.10	1.75	1.000
Fosetyl	12.50	² H ₁₅ Fosetyl	12.50	109.00 > 80.95	6.78	0.999
Morpholine	12.19	² H ₈ Morpholine	12.23	87.90 > 70.05	10.74	0.996
Mepiquat	12.72	² H ₃ Mepiquat	12.69	114.30 > 98.10	7.66	0.998
Nicotine	16.06	² H ₃ Nicotine	16.03	163.00 > 130.00	2.31	0.999

STQ 法と LC-MS/MS を組み合わせた 農作物中の残留農薬高速一斉分析

近年、食の安全に対する関心が高まり、各地域や各国では食品中の残留農薬を品目ごとに厳しく規定して検査しています。規制される農薬や食品が増える中、食品中の残留農薬の分析では「迅速・簡便・高精度」が求められています。分析工程の中で前処理工程（抽出・精製）は労力のかかる工程とされてきました。そこで、迅速・簡便な「QuEChERS 法」に精製効果を高める「固相カートリッジ精製」を組み合わせた STQ 法 (Solid phase extraction Technique with QuEChERS method) により前処理を行うことで、前処理工程の「迅速・簡便・高精度」化を図りました。また、LC-MS/MS はその優れた選択性と感度により、食の安全における残留農薬の分析法として広く使用されています。本分析で使用したメソッドは LCMS™-8000 シリーズの高速極性反転能力を利用したメソッドで、わずか 10.5 分で農薬約 200 成分を分析できます。

本報では、STQ 法と高速 LC/MS/MS メソッドを組み合わせて、トータルとして「迅速・簡便・高精度化」した残留農薬分析例をご紹介します。

N. Asano, Y. Uno

■ STQ-LC 法による前処理

本分析系の評価には、夾雑成分を比較的多く含むホウレン草に農薬を添加したものを使用しました。測定サンプルは、株式会社アイスティサイエンスにて STQ-LC 法により前処理したものをご提供いただきました。予冷式ドライアイス凍結粉碎したホウレン草試料に農薬混標準溶液（林純薬工業製 PL2005MIX-4,5,6,7,8,9,10 及び STQ 法用農薬混合標準溶液）を添加し、QuEChERS 法に準じて抽出しました。得られたアセトニトリル層を分取して、アイスティサイエンス社製全自動固相抽出装置 ST-L400 を用いて精製しました。STQ-LC 法による前処理の詳細なフローを図 1 に示します。

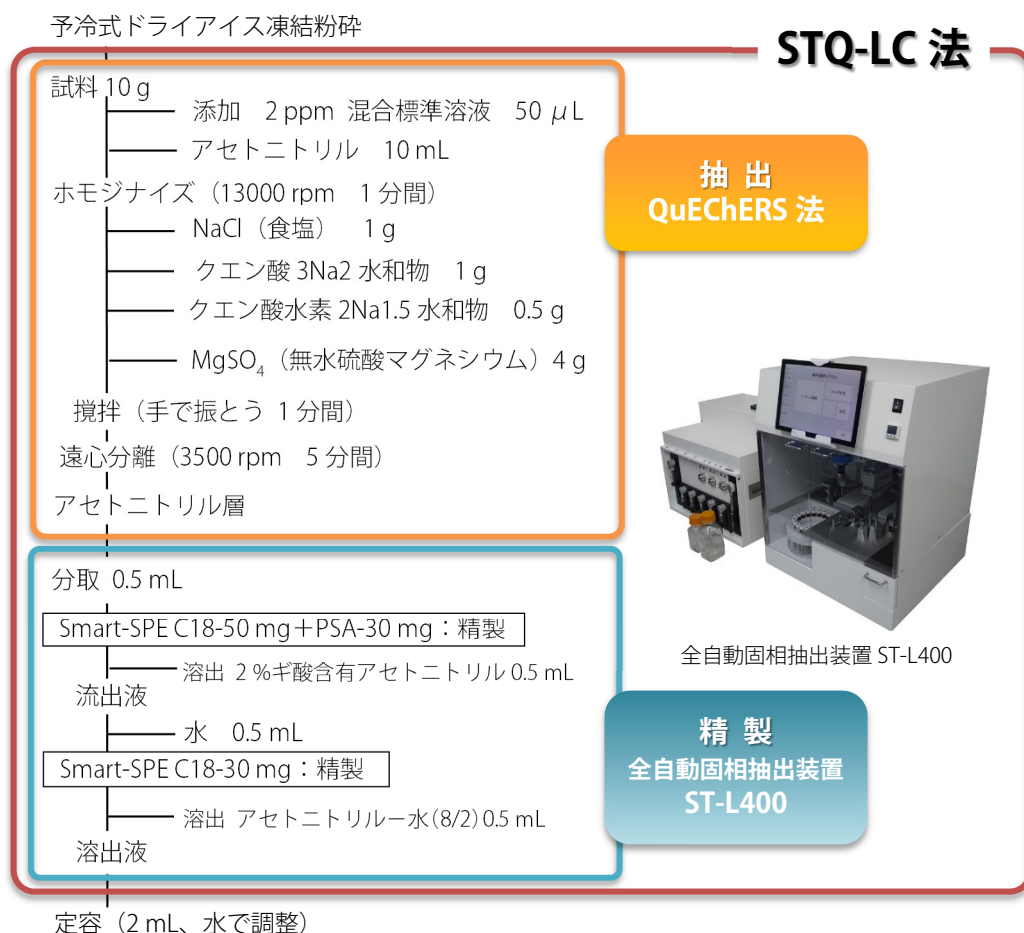


図 1 前処理フロー

表 1 分析条件

UHPLC (Nexera™ X2)	
Analytical Column	: Restek Raptor™ Biphenyl (2.1 mmI.D. × 100 mmL, 2.7 μm)
Mobile Phase A	: 2 mmol/L Ammonium formate + 0.002 % Formic acid – Water
Mobile Phase B	: 2 mmol/L Ammonium formate + 0.002 % Formic acid – Methanol
Gradient Program	: 3 %B (0 min) – 10 %B (1 min) – 55 %B (3 min) – 100 %B (10.5 – 12 min) – 3 %B (12.01 – 15 min)
Flow Rate	: 0.4 mL/min
Column Temperature	: 35 °C
Injection Volume	: 2 μL (+ 40 μL water)
MS (LCMS-8060)	
Ionization	: ESI positive and negative
Nebulizing Gas Flow	: 3 L/min
Drying Gas Flow	: 10 L/min
Heating Gas Flow	: 10 L/min
Interface Temperature	: 300 °C
DL Temperature	: 150 °C
HB Temperature	: 300 °C
Pause Time	: 1 msec
Dwell Time	: 1 msec

LC/MS/MS による分析

農薬 207 成分を含むホウレン草溶液は STQ-LC 法により前処理後 2 mL に定容して、超高速液体クロマトグラフ NexeraX2 とトリプル四重極型質量分析計 LCMS™-8060 (以下、LCMS-8060) を用いて測定しました。測定メソッドは、「LC/MS/MS メソッドパッケージ残留農薬 Ver.3」に収録されている、正負イオン化切替時間 5 msec、データ取込時間 (Dwell time) 1 msec の高速一斉分析メソッドを使用しました。分析条件を表 1 に、各成分のトランジションを表 5 に示します。

図 2 に示すように、207 成分を 10.5 分以内に検出することができました。

添加回収率

残留農薬 207 成分を試料あたり 0.01 ppm (前処理後の試料溶液中濃度は 0.0025 ppm) となるように添加したホウレン草溶液で添加回収試験を行いました。測定した 207 成分のうち 182 成分で 70-120 % の良好な回収率が得られました (図 3)。低回収率となった成分は分解性のものと Silafluofen などの低極性のものでした。本実験で行った前処理の STQ-LC 法は比較的高極性のものを対象にしているため、低極性のものが精製時の最終段階で C18 ミニカラムから溶出されずに残ってしまったものと考えられます。全体で 95 % 以上の成分について 50-150 % の回収率が得られており、本分析系としては良好な結果が得られました。

また、厚生労働省の「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」に基づき、再現性 (RSD) が 25 % 未満の成分数を算出した結果を表 2 に示します。207 成分中 184 成分で良好な再現性が得られており、70-120 % の良好な回収率が得られた成分の 91 % 以上で RSD 25 % 未満を達成しました。

各農薬の添加回収率および再現性を表 5 に示します。

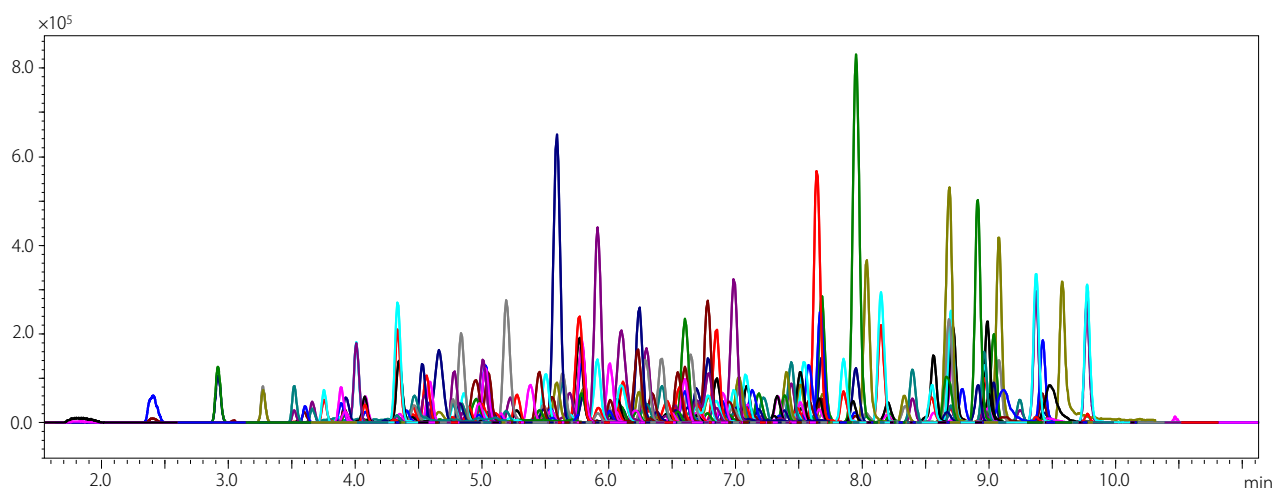


図 2 ホウレン草溶液中の農薬 207 成分 (0.0025 ppm) の MRM クロマトグラム

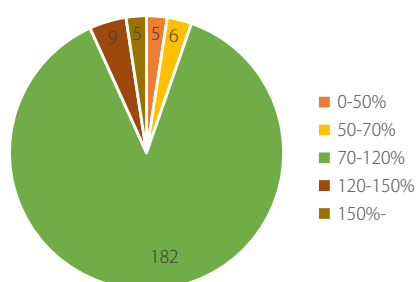


図 3 添加回収率の分布

表 2 RSD25 %未満の成分数

回収率	%RSD25 未満 (n=5) の成分数
0-50 %	5
50-70%	4
70-120 %	166
120-150 %	8
150 %-	1

■ ホウレン草中に含まれる農薬の定量

今回の実験では、農薬無添加のホウレン草溶液から、Cyazofamid、Flufenoxuron、Imidacloprid の3成分が検出されました。これらの3成分は収穫1～3日前まで散布することが認められている農薬です。Cyazofamid、Flufenoxuron、Imidacloprid の3成分はマトリクス効果の影響が少ないため、

標品で作成した検量線を用いて、ホウレン草中に含まれる3成分の濃度を算出しました。図4に検量線とLOQ濃度のクロマトグラム、表3に定量結果を示します。いずれの農薬も検出された濃度は残留基準値以下でした。

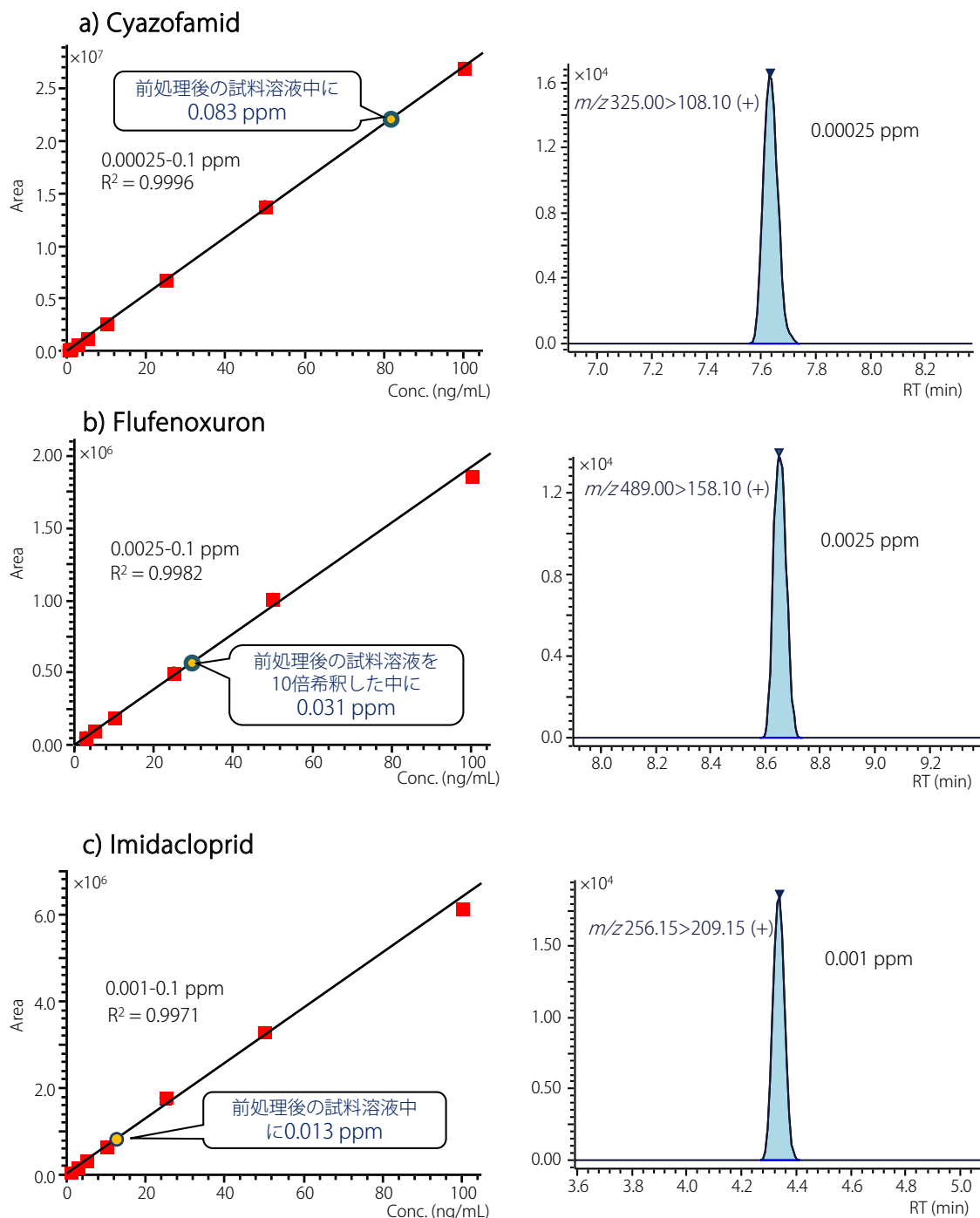


図4 Cyazofamid、Flufenoxuron、Imidacloprid の検量線と LOQ でのクロマトグラム

表3 ホウレン草中の農薬の定量結果

農薬成分	残留基準値	前処理後の試料溶液中濃度	試料中濃度*1	使用可能時期	適用害虫・病気
Cyazofamid	25 ppm	0.083 ppm	0.332 ppm	収穫3日前まで	べと病
Flufenoxuron	10 ppm	0.31 ppm	1.24 ppm	収穫3日前まで	ホウレンソウケナガコナダニ
Imidacloprid	15 ppm	0.013 ppm	0.052 ppm	収穫前日まで	アブラムシ類・ネギアザミウマ

*1 本分析では STQ-LC 法での前処理後の試料溶液中濃度は4倍希釈となるため、実際の試料中の農薬濃度は「前処理後の試料溶液中濃×4」となります。

■ 安定性の検討

LCMS-8060 は島津が長年の LC/MS 開発で培った堅牢なインターフェースを採用しているため、本実験で使用したハウレン草溶液のように夾雑成分を含む試料の連続分析においても、安定してデータを得ることができます。農薬 207 成分を添加したハウレン草溶液（測定試料中の農薬濃度：0.0025 ppm）

を 150 回連続分析し、農薬 7 成分について面積値をプロットした結果を図 5 に示します。面積値の大きさにかかわらず、RSD 5%前後という良好な結果が得られました（表 4）。図 6 には、Benzofenap の注入 1 回目、100 回目、150 回目の MRM クロマトグラムを比較しました。

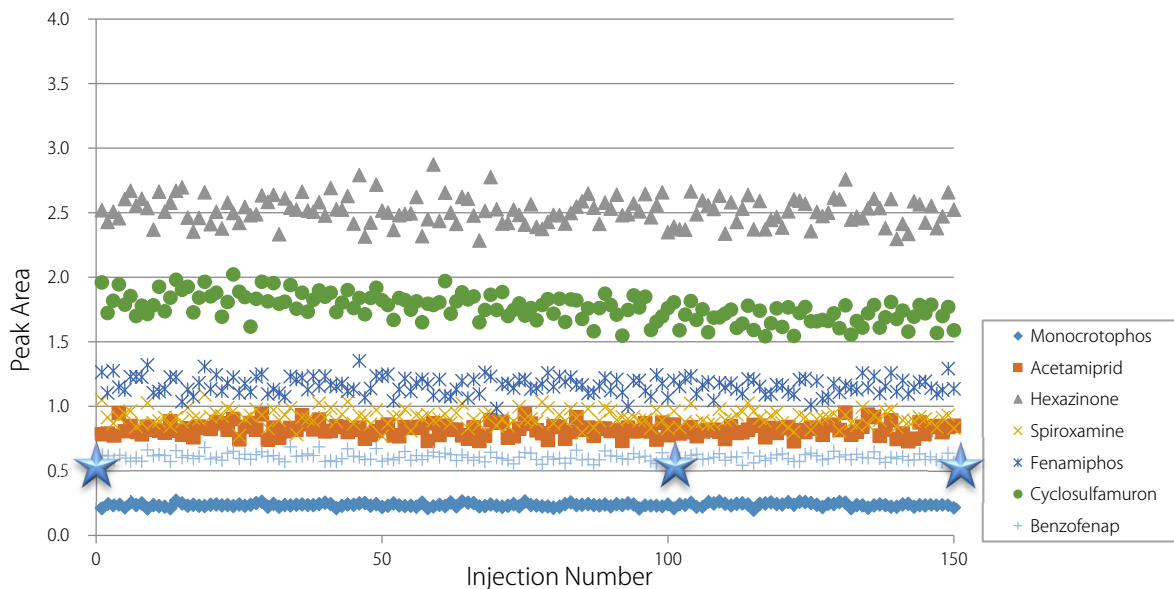


図 5 ハウレン草溶液中の農薬 7 成分の面積値プロット

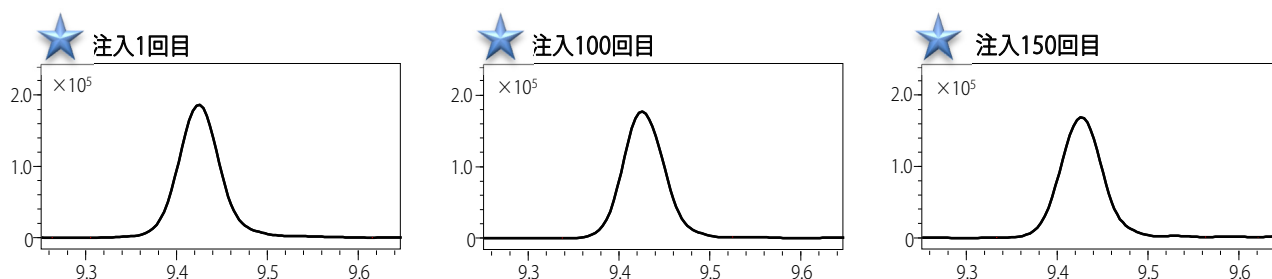


図 6 ハウレン草溶液中の Benzofenap の MRM クロマトグラム

表 4 ハウレン草溶液中の農薬 7 成分の面積値再現性 (%RSD)

化合物	m/z	%RSD (n=150)
Monocrotophos	223.90>127.10 (+)	5.52
Acetamiprid	223.10>126.10 (+)	5.81
Hexazinone	253.20>171.20 (+)	4.29
Spiroxamine	298.20>144.20 (+)	6.38
Fenamiphos	304.00>217.10 (+)	5.65
Cyclosulfamuron	422.10>261.00 (+)	5.9
Benzofenap	431.15>105.25 (+)	4.68

■ 結論

全自動固相抽出装置 ST-L400 を使用することで、前処理の迅速・簡便化を図ることができました。また、STQ-LC 法で前処理した試料を LC-MS/MS で分析した結果、添加回収率、定量、データの安定性のいずれも良好な結果が得られました。

ハウレン草そのものからは Cyazofamid、Flufenoxuron、Imidacloprid の 3 つの農薬が検出されましたが、いずれも残留基準値以下でした。

以上の結果から、STQ 法と高速 LC/MS/MS メソッドを組み合わせたシステムは、「迅速・簡便・高精度」な残留農薬分析が可能であり、食品中の残留農薬分析に有効であるといえます。

表5 農薬 207 成分の添加回収率

No.	Compound	トランジション		回収率	
		定量イオン	確認イオン	平均 (%)	%RSD
1	(E)-Fenpyroximate	422.30>366.20	422.30>135.10	79.9	4.0
2	(E)-Ferimzone	255.30>132.15	255.30>91.10	92.8	11.8
3	(Z)-Fenpyroximate	422.30>366.20	422.30>135.10	94.4	4.5
4	(Z)-Ferimzone	255.30>132.15	255.30>91.10	74.9	1.7
5	1-naphthaleneacetamide	186.10>141.25	186.10>115.20	102.9	6.9
6	2,4-D (2,4-PA)	219.20>161.00	219.20>125.10	166.0	30.7
7	4-Chlorophenoxyacetic acid	185.30>127.10	187.00>129.10	85.0	31.9
8	Acephate	184.00>143.00	184.00>95.00	88.3	3.7
9	Acetamiprid	223.10>126.10	223.10>73.00	103.4	4.0
10	Acibenzolar-S-methyl	210.90>136.10	210.90>91.05	90.7	20.2
11	Acifluorfen	360.00>316.00	360.00>195.10	174.3	39.1
12	Aldicarb	208.20>116.10	208.20>89.10	100.5	22.6
13	Aldicarb-sulfone (Aldoxycarb)	240.20>86.10	240.20>148.10	98.1	6.2
14	Anilofos	368.10>199.05	368.10>125.15	95.5	1.8
15	Aramite	352.25>191.30	352.25>57.25	89.1	7.9
16	Atrazine	216.10>174.10	216.10>96.00	89.4	8.0
17	Azafenidin	338.10>55.20	*	94.7	3.4
18	Azamethiphos	325.05>183.05	325.05>112.05	93.6	4.4
19	Azimsulfuron	425.20>182.15	425.20>139.10	101.9	10.3
20	Azinphos-methyl	318.05>160.25	318.05>132.15	103.3	15.3
21	Azoxystrobin	404.00>372.00	404.00>344.00	96.6	5.5
22	Bendiocarb	224.20>109.10	224.20>167.10	95.2	7.1
23	Bensulfuron-methyl	411.25>149.20	411.10>181.90	97.2	3.3
24	Benthiazole	238.90>180.00	*	64.1	15.2
25	Benzofenap	431.15>105.25	431.15>119.20	97.9	8.3
26	Bitertanol (diastereo isomers)	338.00>99.15	338.00>269.05	96.3	13.9
27	Boscalid	343.10>307.10	343.10>140.05	94.2	13.6
28	Bromacil	261.00>204.90	261.00>188.00	86.1	7.5
29	Bromoxynil	275.90>81.00	275.90>79.00	85.4	16.0
30	Butafenacil	492.10>330.90	492.10>179.90	98.5	1.7
31	Carbaryl (NAC)	202.20>145.10	202.20>127.10	94.2	28.1
32	Carbofuran	222.25>123.10	222.25>165.15	114.9	6.5
33	Carbofuran-3-hydroxy (3-Hydroxycarbofuran)	238.00>181.20	238.00>163.10	35.6	3.6
34	Carboxin	236.10>143.10	236.10>87.00	108.7	15.5
35	Carpropamid	336.10>103.10	336.10>139.10	95.4	16.3
36	Chloridazon	222.15>104.10	222.15>92.10	66.7	10.3
37	Chlorimuron-ethyl	415.10>185.90	415.10>82.90	100.1	14.3
38	Chloroxuron	291.10>72.20	291.10>163.90	93.2	6.2
39	Chlorsulfuron	358.15>141.25	358.15>167.25	76.2	15.6
40	Chromafenozide	395.30>175.15	395.30>339.25	91.1	4.5
41	Cinosulfuron	414.25>183.20	414.25>83.20	99.7	10.3
42	Clodinafop (free acid)	312.00>266.00	312.00>237.90	80.1	39.5
43	Clodinafop (free acid)	310.25>238.15	310.25>218.15	65.8	33.5
44	Clofentezine	303.10>138.05	303.10>102.10	93.3	8.2
45	Clomeprop	324.15>120.25	324.15>203.15	85.0	3.7
46	Cloquintocet-mexyl	336.20>238.10	336.20>192.05	87.4	4.6
47	Cloransulam-methyl	430.00>397.90	430.00>152.90	94.8	11.5
48	Clothianidin	250.10>169.10	250.10>132.05	120.4	7.8
49	Cumyluron	303.20>125.10	303.20>185.10	92.2	5.7
50	Cyanazine	240.80>214.00	240.80>104.00	104.4	13.4
51	Cyazofamid	325.00>108.10	325.00>261.00	3496.4	4.1
52	Cyclanilide	272.20>160.10	272.20>228.10	98.1	13.5
53	Cycloate	216.25>83.10	216.25>154.15	109.9	47.0
54	Cycloprothrin	499.00>181.10	499.20>208.00	95.3	32.4
55	Cyclosulfamuron	422.10>261.00	422.10>217.90	98.9	2.7

No.	Compound	トランジション		回収率	
		定量イオン	確認イオン	平均 (%)	%RSD
56	Cyflufenamid	413.20>295.15	413.20>241.10	85.9	2.2
57	Cyproconazole	292.00>70.00	292.00>125.00	107.8	38.5
58	Cyprodinil	226.30>93.10	226.30>108.10	78.2	12.0
59	Daimuron (Dymron)	269.25>151.15	269.25>91.10	100.6	8.9
60	Demeton-S-methyl	231.10>89.00	231.10>61.10	132.8	4.2
61	Di-allate	270.10>86.00	270.10>108.95	81.8	14.9
62	Dichlorprop	233.20>161.05	233.20>125.10	176.2	30.0
63	Dichlorvos	237.95>220.95	237.95>109.00	89.2	44.1
64	Dicloran	206.90>175.10	206.90>133.10	118.0	57.0
65	Diclosulam	406.10>161.00	406.10>378.00	95.2	11.8
66	Dicrotophos	237.90>112.20	237.90>193.00	100.0	6.6
67	Difenoconazole (isomer)	406.10>250.90	406.10>111.00	131.5	8.4
68	Diflubenzuron	311.10>158.10	311.10>141.05	104.7	12.8
69	Dimethirimol	210.30>71.10	210.30>140.15	99.2	7.5
70	Dimethoate	230.00>125.00	230.00>198.90	88.4	2.0
71	Dimethomorph (<i>E, Z</i>)	388.25>301.15	388.25>165.15	103.5	8.6
72	Diuron (DCMU)	233.10>72.10	233.10>160.00	96.1	12.0
73	Epoxiconazole	330.00>121.10	330.00>101.10	97.2	11.6
74	Ethametsulfuron-methyl	411.25>196.25	411.25>168.25	83.9	6.9
75	Ethoxysulfuron	399.20>261.10	399.20>218.10	98.8	5.6
76	Fenamidone	312.20>236.15	312.20>92.10	99.8	5.2
77	Fenamiphos	304.00>217.10	304.00>202.10	96.9	3.9
78	Fenbuconazole	336.90>125.00	336.90>70.00	96.6	21.3
79	Fenhexamid	302.20>97.15	302.20>55.15	84.0	10.5
80	Fenobucarb	208.25>95.10	208.25>152.10	101.4	8.1
81	Fenoxaprop-ethyl	362.10>287.90	362.10>91.10	101.9	6.8
82	Fenoxycarb	302.10>88.00	302.10>116.20	95.1	3.7
83	Fensulfothion	309.00>281.00	309.00>157.10	91.0	7.7
84	Flazasulfuron	408.15>182.15	408.00>139.00	87.8	2.7
85	Florasulam	360.20>129.10	360.20>109.10	86.4	19.1
86	Fluazifop	328.20>282.15	327.70>254.00	87.8	23.3
87	Fluazifop	326.10>254.10	326.10>206.20	95.5	17.6
88	Flufenacet	364.15>152.20	364.15>194.35	99.7	6.1
89	Flufenoxuron	489.00>158.10	489.00>140.90	12352.6	7.9
90	Flumetsulam	326.15>129.20	326.15>109.20	99.2	4.5
91	Fluridone	330.10>309.00	330.10>259.10	90.0	4.8
92	Fluroxypyr	255.00>208.90	255.00>181.00	84.3	18.6
93	Fluroxypyr	253.20>195.10	253.20>233.00	79.2	44.9
94	Flusilazole	316.00>247.00	316.00>165.00	101.3	13.2
95	Flutriafol (isomer)	302.10>70.10	302.10>123.00	89.5	16.7
96	Fomesafen	437.00>195.10	437.00>222.10	73.6	18.2
97	Foramsulfuron	453.25>182.25	453.10>83.10	105.5	4.5
98	Forchlorfenuron	248.20>93.10	248.20>129.10	114.7	16.6
99	Fosthiazate (isomer)	284.10>227.90	284.10>104.10	99.2	5.8
100	Furametpyr	334.25>157.15	334.25>290.25	95.8	6.7
101	Furathiocarb	383.25>195.10	383.25>252.15	88.2	4.0
102	Gibberellic acid (Gibberellin)	345.40>143.15	345.40>239.25	51.3	34.4
103	Halosulfuron-methyl	435.00>181.95	435.00>83.10	96.1	8.2
104	Halosulfuron-methyl	433.20>252.10	433.20>154.15	71.5	9.8
105	Haloxyfop	362.10>316.00	362.10>91.20	83.9	46.5
106	Hexaconazole	314.10>70.00	314.10>159.00	108.9	16.0
107	Hexaflumuron	458.80>439.00	458.80>175.10	86.0	9.0
108	Hexazinone	253.20>171.20	253.20>71.10	98.9	3.6
109	Hexythiazox	353.25>228.10	353.25>168.25	88.4	3.0
110	Imazalil	297.15>159.05	297.10>200.90	87.3	15.5

No.	Compound	トランジション		回収率	
		定量イオン	確認イオン	平均 (%)	%RSD
111	Imazamethabenz-methyl (isomer)	289.20>144.00	289.20>229.00	100.9	6.2
112	Imazaquin	312.05>267.05	312.05>128.05	85.2	17.6
113	Imazaquin	310.00>223.10	310.00>265.95	92.5	23.6
114	Imazosulfuron	413.00>156.00	413.00>152.95	91.8	11.1
115	Imibenconazole	410.80>125.20	410.80>171.15	114.9	6.6
116	Imidacloprid	256.15>209.15	256.15>175.20	566.2	6.4
117	Indanofan	341.20>175.15	341.20>187.15	129.2	20.2
118	Indoxacarb	528.15>203.10	528.15>150.15	121.7	12.6
119	Iodosulfuron-methyl	508.10>167.15	508.10>56.25	82.4	16.9
120	Ioxynil	370.00>127.00	370.00>215.00	79.6	13.8
121	Iprodione	330.10>245.00	332.10>247.00	133.8	30.0
122	Iprovalicarb	321.35>119.20	321.35>203.20	87.1	6.8
123	Isoproc carb	194.10>95.00	194.10>77.00	96.1	5.0
124	Isoxaflutole	360.15>251.15	360.15>144.10	87.1	28.0
125	Isoxathion-oxon	298.10>242.00	298.10>162.10	91.2	10.6
126	Lactofen	479.20>344.05	479.20>223.05	99.2	2.9
127	Lenacil	234.90>136.00	234.90>153.20	82.2	32.9
128	Linuron	249.10>160.00	249.10>182.10	98.2	12.7
129	Lufenuron	508.90>339.00	508.90>326.00	61.6	19.7
130	Mepanipyrim	224.10>106.10	224.10>77.00	91.6	8.3
131	Mesosulfuron-methyl	504.20>182.15	504.10>83.00	93.5	8.6
132	Methabenzthiazuron	222.20>165.10	222.20>150.05	91.2	5.0
133	Methamidophos	142.20>94.00	142.20>124.90	97.3	2.5
134	Methiocarb	226.25>169.10	226.25>121.10	116.8	22.0
135	Methomyl	163.20>106.05	163.20>88.05	207.6	9.9
136	Methoxyfenozide	369.30>149.10	369.30>91.15	84.2	4.0
137	Metosulam	418.15>175.15	418.15>140.20	88.5	13.5
138	Metsulfuron-methyl	382.00>166.90	382.00>77.10	101.2	4.3
139	Mevinphos	225.10>127.00	225.10>193.00	109.4	9.4
140	Monocrotophos	223.90>127.10	223.90>98.10	84.4	11.4
141	Monolinuron	215.15>126.05	215.15>148.10	108.5	10.8
142	Myclobutanil	289.10>70.10	289.10>125.00	100.7	9.5
143	Naproanilide	292.25>171.25	292.25>120.25	94.5	10.3
144	Naptalam	292.20>144.10	292.20>149.10	71.1	30.2
145	Norflurazon	304.10>284.00	304.10>159.90	109.0	7.8
146	Novaluron	493.10>158.10	493.10>141.05	121.0	11.4
147	Omethoate	214.10>125.00	214.10>183.00	99.2	6.6
148	Oryzalin	347.10>288.00	347.10>305.00	119.4	57.8
149	Oryzalin	345.05>281.00	345.05>77.95	86.6	19.1
150	Oxadixyl	279.20>219.10	279.20>132.10	103.1	6.6
151	Oxamyl	237.20>72.10	237.20>90.10	90.9	7.0
152	Oxaziclomefone	376.20>190.15	376.20>161.10	79.6	2.4
153	Oxycarboxin	268.15>175.05	268.15>147.00	91.0	4.0
154	Pencycuron	329.10>125.00	329.10>89.00	90.2	4.5
155	Penoxsulam	484.20>195.15	484.00>164.10	87.8	23.3
156	Pentoxazone	371.10>286.00	354.00>286.00	85.6	52.2
157	Phenmedipham	318.20>136.10	318.20>168.10	97.3	10.7
158	Phosphamidon	300.00>174.00	300.00>127.00	89.7	7.2
159	Pirimicarb	239.25>182.20	239.25>72.10	87.9	7.1
160	Primisulfuron-methyl	469.00>254.00	469.00>199.00	108.0	15.3
161	Primisulfuron-methyl	467.00>226.10	467.00>126.20	75.9	19.6
162	Prohydrojasmon	255.10>135.20	255.10>152.90	96.3	18.8
163	Propaquizafop	444.10>70.20	443.80>100.20	80.5	2.9
164	Propoxur	209.90>168.20	209.90>93.10	98.9	14.3
165	Propoxycarbazone-sodium	421.10>180.10	421.10>264.10	258.6	28.6

No.	Compound	トランジション		回収率	
		定量イオン	確認イオン	平均 (%)	%RSD
166	Prosulfuron	419.90>141.00	419.90>167.10	91.6	8.7
167	Prosulfuron	418.10>139.20	418.10>107.20	87.5	21.6
168	Pyraclostrobin	388.20>194.10	388.20>163.10	89.7	4.3
169	Pyrazolynate	439.10>173.00	439.10>91.15	94.4	3.5
170	Pyrazosulfuron-ethyl	415.25>182.25	415.25>139.20	79.7	5.1
171	Pyriftalid	319.10>139.10	319.10>179.10	102.2	6.2
172	Pyroquilon	174.20>132.20	174.20>117.20	125.4	15.8
173	Quinoclamine	208.00>105.10	208.00>77.10	103.2	14.9
174	Quizalofop-ethyl	373.10>298.90	373.10>91.10	99.5	3.7
175	Silafluofen	426.30>287.15	426.30>168.10	22.9	22.8
176	Simazine	202.10>104.00	202.10>96.20	99.2	24.0
177	Simeconazole	294.20>70.10	294.20>135.10	107.6	8.4
178	Simetryn	214.10>124.00	214.10>144.00	95.3	7.2
179	Spinosyn A	732.60>142.20	732.60>98.25	78.3	5.8
180	Spinosyn D	746.60>142.20	746.60>98.25	79.3	8.4
181	Spiroxamine	298.20>144.20	298.20>100.20	99.1	5.0
182	Sulfosulfuron	471.15>211.25	471.15>261.20	86.4	14.2
183	Tebufenozide	353.35>133.20	353.35>297.35	81.6	6.2
184	Tebuthiuron	229.25>172.15	229.25>116.10	99.3	11.7
185	Teflubenzuron	381.05>158.00	381.05>141.00	115.0	11.7
186	Teflubenzuron	378.80>339.00	378.80>359.00	81.0	9.2
187	Tetrachlorvinphos (CVMP)	366.95>127.15	366.95>206.00	111.6	2.8
188	Tetraconazole	372.00>159.00	372.00>70.10	92.4	1.5
189	Thiabendazole	202.20>175.10	202.20>131.15	106.4	13.1
190	Thiacloprid	253.00>126.10	253.00>90.10	97.1	4.7
191	Thiamethoxam	292.00>211.10	292.00>181.10	77.7	11.6
192	Thidiazuron	221.00>102.00	221.00>128.00	94.5	11.7
193	Thifensulfuron-methyl	388.00>167.20	388.00>126.00	88.9	6.4
194	Thifluzamide	528.60>148.10	528.60>488.80	91.0	14.2
195	Thiodicarb	355.00>88.00	355.00>108.10	39.2	11.2
196	Tolfenpyrad	384.00>197.10	384.00>154.00	110.1	8.4
197	Tralkoxydim	330.30>284.20	330.30>138.10	78.5	5.6
198	Triadimenol (isomer)	296.10>70.10	296.10>99.20	111.1	23.8
199	Triasulfuron	402.15>167.20	402.15>141.20	96.0	17.6
200	Tribenuron-methyl	396.10>155.00	396.10>181.00	71.2	6.9
201	Tricyclazole	190.20>109.00	190.00>136.00	129.1	23.2
202	Tridemorph (isomer)	298.30>130.20	298.30>98.20	74.3	27.0
203	Trifloxysulfuron	438.15>182.15	438.00>257.00	89.8	3.4
204	Triflumuron	359.10>156.05	359.10>139.05	106.0	8.2
205	Triflusulfuron-methyl	493.00>264.00	493.00>96.10	106.5	4.6
206	Triticonazole	318.20>70.10	318.20>125.10	96.7	4.6
207	XMC (3,5-xylyl methylcarbamate)	180.10>123.10	180.10>108.00	115.9	7.2

■謝辞

データ採取にあたり、株式会社アイスティサイエンス 島三記絵様、京都大学大学院 蓮井啓介様には多大なご協力をいただきました。

参考文献

厚生労働省「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインについて」（平成 19 年 11 月 15 日付け食安発第 1115001 号）

LCMS および Nexera は、株式会社 島津製作所の商標です。
Raptor は、Restek Corporation の登録商標です。

初版発行：2018 年 3 月

トリプル四重極LC/MS/MSを用いた
残留農薬の分析（その1:大豆中）[LCMS™-8060]

食品中の残留農薬分析においては、近年の規制農薬の増加に伴い、より効率的に一斉分析する手法が求められています。

2003年に米国農務省(USDA)から発表されたQuEChERS法は、簡便かつ迅速な前処理方法として知られており、AOACやCENなどの公定法に採用されています。特別な器具を必要とせず効率的に農薬を抽出することが可能ですが、精製で取り除き切れない夾雑成分の影響を受け、正確な定量値が得られない場合があります。このような場合は試料の希釈や精製方法の検討といった工夫が必要となります。

本稿では、LC/MSによる農薬等の一斉試験法Ⅰ(農産物)およびⅡ(農産物)¹⁾で指定される農薬のうちの158成分について、QuEChERS法で前処理した試料溶液を測定し、高い回収率が得られた例をご紹介します。

M. Kawashima N.Kato

■ サンプルの前処理

試料の大豆はQuEChERS法を用いて前処理を行いました。前処理のワークフローを図1に示します。抽出後の試料濃度は0.5 g/mLとなります。

標準試料には林純薬工業製PL2005MIX-4,5,6,7,8,9,10 を混合したものを使用しました。QuEChERS法にて前処理した試料溶液に、大豆に対して0.02 mg/kgとなるよう農薬を添加したマトリクス標準溶液(溶液中農薬濃度10 ng/mL)を用いて、マトリクス効果を確認しました。



図1 前処理ワークフロー

■ 分析条件

HPLCとMSの分析条件を表1に示します。

表1 分析条件

[HPLC conditions] (Nexera™ X2)	
Column	: Shim-pack Scepter™ C18-120 (2.1 x 100, 3 μm)
Mobile phases	: A) 5 mM ammonium formate, 0.02% acetic acid in H ₂ O B) 5 mM ammonium formate, 0.02% acetic acid in MeOH
Gradient Program	: B 5% (0-2 min) – B 50% (5 min) – B 97% (13-16 min) – B 5% (16.1-20 min)
Flow rate	: 0.3 mL/min
Column Temp.	: 40°C
Injection volume	: 1 μL
[MS conditions] (LCMS-8060)	
Ionization	: ESI (Positive and negative mode)
Probe Voltage	: +2.0 kV / -1.5 kV
Mode	: MRM
Nebulizing gas flow	: 3.0 L/min
Drying gas flow	: 10.0 L/min
Heating gas flow	: 10.0 L/min
DL Temp.	: 200°C
Heat Block Temp.	: 300°C
Interface Temp.	: 200°C
Probe position	: +2.0 mm

■ マトリクス標準溶液のMRM測定

大豆抽出溶液に農薬標準溶液を添加したマトリクス標準溶液のMRMクロマトグラムを図2に示します。

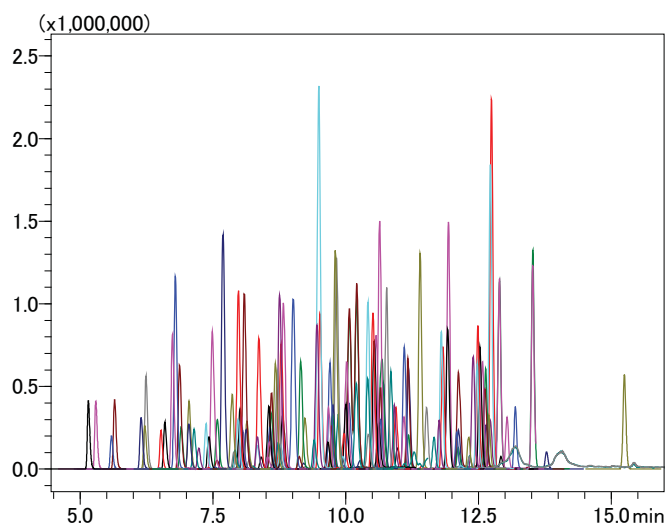


図2 農薬158成分のピーク検出例 (10 ng/mL標準溶液添加大豆抽出液)

■ 添加回収率

標準試料中に含まれる農薬158成分について、回収率およびマトリクス標準溶液における面積値再現性(n=6)を確認しました。その結果を表2に、回収率の内訳を図3に示します。

158成分中156成分について、回収率が70-120%となりました。高濃度の試料を含む試験液においても、98.7%の成分がマトリクスによる阻害を大幅に受けることなく、良好な回収率および再現性を得ることができました。

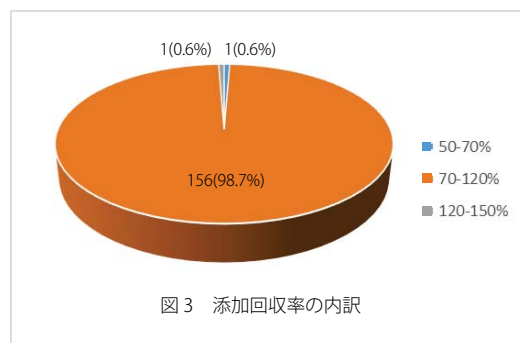


図3 添加回収率の内訳

表2 添加回収率と試料溶液における面積値再現性

Compound name	Recovery(%)	%RSD	Compound name	Recovery(%)	%RSD	Compound name	Recovery(%)	%RSD
1-Naphthaleneacetic Acid	76.3	8.32	Dymuron	91.8	5.36	Methoxyfenozide	92.0	6.35
2,4-D	97.3	4.66	Epoxiconazole	90.0	1.87	Metosulam	102.7	7.44
4-Chlorophenoxyacetic acid	76.5	5.34	Ethamsulfuron-methyl	95.3	6.52	Metsulfuron-methyl	96.5	5.54
Abamectin B1a	93.5	1.37	Ethoxysulfuron	101.2	4.22	Monolinuron	96.0	2.52
Acibenzolar-S-methyl	90.0	8.84	Fenamidone	92.8	3.74	Naproanilide	91.3	5.53
Acifluorfen	88.7	7.50	Fenhexamid	92.0	6.06	Naptalam	95.9	9.97
Aldicarb	92.8	4.24	Fenobucarb	96.5	4.83	Novaluron	90.9	6.44
Aldoxycarb	96.5	1.15	Fenoxaprop-ethyl	88.0	2.68	Oryzalin	90.5	9.95
Anilofos	93.3	3.08	Fenoxycarb	92.9	3.94	Oxamyl	93.6	2.71
Aramite	95.8	3.88	Fenpyroximate E	93.4	3.11	Oxaziclonefone	89.5	4.16
Azamectiphos	93.5	4.68	Fenpyroximate Z	93.9	2.90	Oxycarboxin	96.3	3.21
Azimsulfuron	84.9	8.46	Ferimzone(E)	95.2	2.66	Pencycuron	95.8	3.89
Azinphos-methyl	95.2	3.91	Ferimzone(Z)	96.9	2.08	Penoxsulam	99.9	2.92
Azoxystrobin	93.6	6.70	Flazasulfuron	97.3	4.79	Pentoxazone	79.9	9.20
Bendiocarb	99.2	2.14	Florasulam	97.6	7.50	Phenmedipham	95.5	1.35
Bensulfuron-methyl	97.9	5.57	Fluazifop	94.1	6.73	Pirimicarb	94.6	5.96
Benzofenap	97.4	1.42	Flufenacet	95.3	4.66	Primisulfuron-methyl	95.0	3.81
Boscalid	98.0	2.53	Flufenoxuron	93.1	7.23	Propaquizafop	93.6	3.13
Bromoxynil	92.7	8.96	Flumetsulam	101.8	6.45	Propoxycarbazone	142.5	8.39
Butafenacil	99.0	2.63	Fluridone	93.6	2.22	Prosulfuron	99.6	6.03
Carbaryl(NAC)	98.5	5.77	Fluroxypyr	91.2	8.65	Pyraclostrobin	96.5	4.62
Carbofuran	93.5	5.35	Fomesafen	103.4	4.83	Pyrazolynate	93.7	2.96
Carpropamid	94.4	3.72	Foramsulfuron	115.1	8.65	Pyrazosulfuron-ethyl	96.8	8.99
Chloridazon	92.1	2.82	Forchlorfenuron	92.0	5.85	Pyrifluthrin	95.7	4.52
Chlorimuron-ethyl	101.8	7.76	Furametpyr	97.5	3.02	Quizalofop-ethyl	81.4	1.31
Chloroxuron	95.5	5.95	Furathiocarb	93.5	1.76	Silaflofen	84.9	6.25
Chlorsulfuron	96.9	5.36	Gibberellic acid	63.5	10.61	Simeconazole	95.1	2.63
Chromafenozide	95.1	1.65	Halosulfuron-methyl	80.2	7.45	SpinosynA	100.9	6.04
Cinosulfuron	98.4	9.43	Haloxypop	82.7	7.70	SpinosynD	105.9	4.00
Clodinafop acid	91.9	8.00	Haloxypop	85.0	8.78	Sulfentrazone	86.4	7.29
Clofentezine	84.7	4.06	Hexaflumuron	96.4	7.41	Sulfosulfuron	97.4	7.18
Clomeprop	87.6	3.77	Hexythiazox	93.8	3.31	Tebufenozide	95.3	5.07
Cloprop	97.8	9.36	Imazalil	106.8	3.52	Tebuthiuron	91.6	4.51
Cloquintocet-mexyl	97.8	3.64	Imazaquin	95.5	4.25	Teflubenzuron	87.9	7.57
Cloransulam-methyl	101.9	6.16	Imazosulfuron	94.0	5.67	Tetrachlorvinphos	94.2	3.80
Clothianidin	85.9	5.42	Imidacloprid	89.9	1.12	Thiabendazole	94.0	3.67
Cumyluron	98.5	2.16	Indanofan	94.3	3.07	Thiacloprid	94.3	1.85
Cyazofamid	95.7	1.39	Indoxacarb	99.9	4.16	Thiamethoxam	96.0	1.72
Cyclanilide	96.8	4.10	Iodosulfuron-methyl	93.0	7.59	Thidiazuron	82.8	7.17
Cycloate	94.9	3.31	Ioxynil	98.8	7.08	Thifensulfuron-methyl	96.6	6.43
Cycloprothrin	72.6	5.13	Iprovalicarb	95.6	3.46	Thiodicarb	95.8	2.97
Cyclosulfamuron	96.8	5.74	Isoxaflutole	92.8	6.43	Tralkoxydim 1	104.0	5.25
Cyflufenamid	91.9	1.72	Lactofen	90.5	2.10	Tralkoxydim 2	93.9	4.25
Cyprodinil	94.6	3.10	Linuron	95.4	3.54	Triasulfuron	96.8	3.77
Diallate	94.1	4.05	Lufenuron	93.2	4.48	Tribenuron-methyl	94.1	7.77
Dichlorprop	97.5	9.08	MCPA	96.1	4.16	Triclopyr	94.5	7.21
Diclofop	100.7	8.89	MCPB	86.6	2.15	Tridemorph 1	97.5	4.28
Diclosulam	95.9	2.23	Mecoprop+Mecoprop-P	85.2	2.79	Tridemorph 2	96.3	2.18
Diflufenazuron	87.4	3.15	Mepanipyrim	94.5	3.97	Trifloxysulfuron	96.3	7.75
Dimethirimol	94.7	3.20	Mesosulfuron-methyl	95.1	3.50	Trifluralin	92.9	3.70
Dimethomorph(E)	98.1	2.86	Methabenzthiazuron	96.6	2.11	Triflurosulfuron-methyl	99.5	5.49
Dimethomorph(Z)	98.1	2.86	Methiocarb	95.0	4.16	Triticonazole	94.2	2.68
Diuron	96.6	2.34	Methomyl	97.8	1.44			

1) 厚生労働省；食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法について（食安発第1129002号）LCMS、NexeraおよびShim-pack Scepterは、株式会社島津製作所の日本およびその他の国における商標です。

初版発行：2019年11月

トリプル四重極LC/MS/MSを用いた
残留農薬の分析（その2：野菜抽出液）
【LCMS™-8050】

食品中に残留する農薬などが人の健康に害を及ぼすことのないよう、厚生労働省により、農薬、飼料添加物、動物用医薬品について残留基準が設定されています。残留基準は食品ごとに設定されており、ポジティブリスト制度によって一定量以上の農薬等が残留する食品の販売等が禁止されています。

食品中の残留農薬の分析は、質量分析法が広く用いられます。一方で、質量分析法ではマトリックスによるサプレッションなどの影響を受けることがあります。一般的に、質量分析計におけるマトリックス効果の影響を補正するためには標準添加法やマトリックス検量線法が有効です。一方で、これらの定量方法は各食品について実試料で全検量線を作成する必要があります。本報では、各種条件を最適化することにより、絶対検量線法であっても高い回収率が得られるLC/MS/MSによる分析例についてご紹介します。

N. Maeshima

■ LC/MS/MS による分析

測定試料は、固相抽出法と QuEChERS 法を組み合わせた STQ 法により、にんじんから抽出しました。0.1 から 50 ng/mL の範囲で検量線を作成し、絶対検量線法で定量を行いました。分析条件を表 1、2 に示します。

表 1 LC 条件

[LC] Nexera™X2 System	
Column	: Shim-pack Scepter™ C18-120 (100 mm×2.0 mm, 1.9 μm)
Column temp.	: 40 °C
Solvent A	: 5 mmol/L Ammonium acetate/Water
Solvent B	: 5 mmol/L Ammonium acetate/Methanol
Gradient	: B conc. 3% (0 min) → 10% (2 min) → 55% (6 min) → 100% (21 - 26 min) → 3% (26.01 - 32 min)
Flow rate	: 0.4 mL/min (0 - 21 min) → 0.6 mL/min (21.01 - 27 min) → 0.4 mL/min (27.01 - 32 min)
Injection Vol.	: 5 μL

表 2 MS 条件

[MS] LCMS-8050	
Ionization	: ESI Positive and Negative
DL Temp.	: 150 °C
Interface Temp.	: 200 °C
Block Heater Temp.	: 500 °C
Nebulizer Gas Flow	: 2 L/min
Drying Gas Flow	: 10 L/min
Heating Gas Flow	: 10 L/min
Probe Position	: 3 mm
Dwell Time	: 1 - 200 msec
Pause Time	: 1 msec

■ 添加回収試験

農薬混合標準試料を終濃度 1 ng/mL になるよう測定試料にスパイクした溶液（マトリックス添加溶液）を分析し、回収率を確認しました。各化合物について回収率を確認したところ、89 化合物中 82 化合物で回収率 70-120% を達成しました（図 1）。また、標準試料 1 ng/mL において繰り返し再現性を確認したところ、同様に 89 化合物中 70 化合物で 3% RSD 以下を達成しました（n=10、図 2）。表 3-1 および表 3-2 に各化合物の MRM 情報および回収率と繰り返し再現性の結果を合わせて示しています。また、全対象成分の MS クロマトグラムを図 3 に、代表的な成分の MS クロマトグラム（マトリックス添加）と検量線を図 4 にそれぞれ示しました。

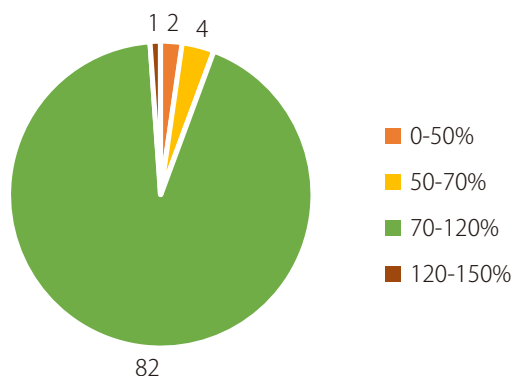


図 1 添加回収率の分布

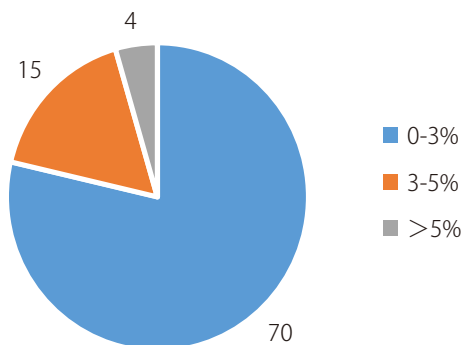


図 2 面積値%RSD の分布

表 3-1 MRM 情報と農薬 1 ng/mL における回収率および繰り返し再現性

No.	化合物名	保持時間 (分)	+/-	トランジション	回収率 (%)	面積値 %RSD (%)	定量範囲 (ng/mL)
1	Abamectin B1a	17.70	+	890.30>305.30	52.3	3.7	0.1-50
2	Acibenzolar-S-methyl	10.30	+	210.90>136.05	97.9	5.2	0.1-50
3	Aldicarb	6.65	+	208.20>115.85	95.8	2.5	0.1-50
4	Aldicarb-sulfone (Aldoxycarb)	4.31	+	240.10>86.20	98.3	0.5	0.1-50
5	Anilofos	12.60	+	368.00>125.00	97.6	3.1	0.1-50
6	Azamethiphos	7.17	+	325.00>182.90	98.1	1.1	0.1-20
7	Azinphos-methyl	9.60	+	318.00>132.05	100.0	3.1	0.1-50
8	Azoxystrobin	10.08	+	404.00>371.95	103.1	2.8	0.1-50
9	Bendiocarb	7.39	+	224.20>109.10	86.0	2.1	0.1-50
10	Benzofenap	14.57	+	431.15>105.25	95.2	1.2	0.1-50
11	Boscalid	10.29	+	343.00>306.95	80.1	1.1	0.1-50
12	Butafenacil	11.26	+	492.10>330.85	103.0	2.2	0.1-50
13	Carbaryl (NAC)	7.84	+	202.10>145.10	79.2	4.1	0.1-50
14	Carbofuran	7.41	+	222.10>123.15	87.2	1.3	0.1-50
15	Carpropamid	12.68	+	334.10>139.10	129.1	4.7	0.1-50
16	Chloridazon	6.10	+	222.10>104.10	94.2	1.1	0.1-50
17	Chloroxuron	11.02	+	291.10>72.15	101.8	1.5	0.1-50
18	Chromafenozide	11.41	+	395.20>175.15	95.0	1.2	0.1-50
19	Clofentezine	13.82	+	303.00>138.15	77.8	1.9	0.1-50
20	Cloquintocet-mexyl	15.24	+	336.10>237.90	102.6	2.7	0.1-50
21	Clothianidin	5.66	+	250.00>132.05	96.5	1.4	0.1-20
22	Cumyluron	10.91	+	303.20>185.10	106.1	2.7	0.1-50
23	Cyazofamid	11.69	+	325.00>108.10	95.4	3.1	0.1-50
24	Cycloate	13.57	+	216.10>154.00	104.9	8.6	0.5-50
25	Cycloprothrin	16.87	+	499.00>181.10	90.4	2.0	0.1-20
26	Cyflufenamid	13.52	+	413.10>295.05	96.8	2.0	0.1-50
27	Cyprodinil	12.83	+	226.10>108.00	98.6	4.7	0.1-50
28	Daimuron (Dymron)	10.69	+	269.25>151.15	104.8	2.1	0.1-50
29	Diflubenzuron	11.96	+	311.00>158.10	46.2	2.4	0.1-50
30	Dimethirimol	8.22	+	210.20>71.00	97.6	1.1	0.1-50
31	Dimethomorph (<i>E,Z</i>)	10.11	+	388.10>301.00	93.4	2.9	0.1-20
32		10.58			97.7	3.3	0.1-50
33	Diuron (DCMU)	8.92	+	233.00>72.10	99.5	1.2	0.1-50
34	Epoxiconazole	11.57	+	330.00>121.10	98.2	2.6	0.1-50
35	Fenamidone	10.13	+	312.10>236.00	99.2	1.4	0.1-50
36	Fenoxaprop-ethyl	14.65	+	362.10>287.90	99.1	1.2	0.1-50
37	Fenoxycarb	12.20	+	302.10>88.00	94.1	1.5	0.1-50
38	Fenpyroximate (<i>E,Z</i>)	15.66	+	422.30>366.20	96.9	1.2	0.1-50
39		16.90			98.2	1.4	0.1-50
40	Ferimzone (<i>E,Z</i>)	10.27	+	255.20>91.05	98.7	3.6	0.1-50
41		10.43			103.7	1.8	0.1-50
42	Flufenacet	11.29	+	364.10>152.05	90.0	2.0	0.1-50
43	Flufenoxuron	16.44	+	489.00>158.10	91.9	1.2	0.1-50
44	Fluridone	9.85	+	330.10>309.00	106.9	1.9	0.1-50
45	Furametpyr	8.55	+	334.10>157.10	94.8	1.5	0.1-50
46	Furathiocarb	14.84	+	383.20>195.00	97.9	1.9	0.1-50
47	Hexaflumuron	14.68	-	458.80>439.00	115.5	1.3	0.1-50
48	Hexythiazox	15.71	+	353.10>228.00	85.1	1.1	0.1-50
49	Imazalil	12.46	+	297.10>159.05	94.6	3.3	0.1-50
50	Imidacloprid	5.62	+	256.10>174.95	98.3	1.2	0.1-20

表 3-2 MRM 情報と農薬 1 ng/mL における回収率および繰り返し再現性

No.	化合物名	保持時間 (分)	+/-	トランジション	回収率 (%)	面積値 %RSD (%)	定量範囲 (ng/mL)
51	Indanofan	11.67	+	341.10>175.15	97.8	2.6	0.1-50
52	Indoxacarb	14.19	+	528.10>203.00	96.1	1.5	0.1-50
53	Iprovalicarb	11.16	+	321.20>119.15	51.9	4.0	0.1-50
54	Isoxaflutole	8.78	+	360.10>251.00	81.9	5.7	0.1-50
55	Linuron	9.96	+	248.80>182.05	88.6	2.0	0.1-50
56	Lufenuron	15.97	-	508.90>339.00	115.1	2.3	0.1-50
57	Mepanipyrim	11.53	+	224.10>77.00	87.7	4.4	0.1-50
58	Methabenzthiazuron	8.67	+	222.10>150.10	95.7	2.0	0.1-50
59	Methiocarb	10.02	+	226.10>121.10	93.1	6.6	0.2-50
60	Methomyl	4.82	+	163.00>87.90	95.4	1.7	0.1-50
61	Methoxyfenozide	10.86	+	369.20>149.15	103.4	1.3	0.1-50
62	Monolinuron	8.08	+	215.10>99.10	88.7	2.1	0.1-50
63	Naproanilide	12.13	+	292.25>171.25	96.1	1.7	0.1-20
64	Novaluron	14.81	+	493.00>158.00	68.0	2.0	0.1-20
65	Oryzalin	11.36	+	347.10>288.00	36.1	3.5	0.1-50
66	Oxamyl	4.53	+	237.10>72.10	98.1	1.4	0.1-50
67	Oxaziclomefone	14.70	+	376.20>190.15	99.2	3.7	0.1-50
68	Oxycarboxin	6.24	+	268.10>175.00	90.8	2.6	0.1-50
69	Pencycuron	13.61	+	329.10>125.00	100.0	2.0	0.1-50
70	Pentoxazone	14.82	+	371.10>286.00	85.2	1.9	0.1-20
71	Pirimicarb	8.37	+	239.20>72.00	99.9	1.7	0.1-50
72	Propaquizafop	15.09	+	444.10>100.15	83.1	2.4	0.1-50
73	Pyrazolynate	13.69	+	439.10>91.15	102.6	3.0	0.1-50
74	Pyrifthalid	9.77	+	319.10>139.10	100.2	1.9	0.1-50
75	Quizalofop-ethyl	14.67	+	373.10>298.90	79.8	2.5	0.1-50
76	Silafluofen	19.93	+	426.30>287.15	101.8	1.1	0.1-50
77	Simeconazole	11.11	+	294.10>69.95	63.0	1.9	0.1-50
78	Spinosyn A	18.07	+	732.60>142.20	102.9	1.5	0.1-50
79	Spinosyn D	18.65	+	746.60>142.10	105.0	1.7	0.1-50
80	Tebufozozide	12.11	+	353.20>133.10	97.1	1.1	0.1-50
81	Tebuthiuron	7.59	+	229.10>172.00	97.7	1.4	0.1-50
82	Teflubenzuron	15.32	-	378.80>339.00	99.0	2.7	0.1-50
83	Tetrachlorvinphos (CVMP)	12.13	+	366.90>127.15	98.1	3.2	0.1-50
84	Thiabendazole	7.21	+	202.00>175.00	104.3	2.8	0.1-50
85	Thiacloprid	6.44	+	253.00>126.05	95.5	1.3	0.1-50
86	Thiamethoxam	4.95	+	292.00>211.10	93.9	1.5	0.1-50
87	Thiodicarb	8.40	+	355.00>88.00	99.6	2.5	0.1-50
88	Triflumuron	13.35	+	359.00>156.05	91.6	0.9	0.1-50
89	Triticonazole	11.18	+	318.10>70.15	87.1	2.1	0.1-50

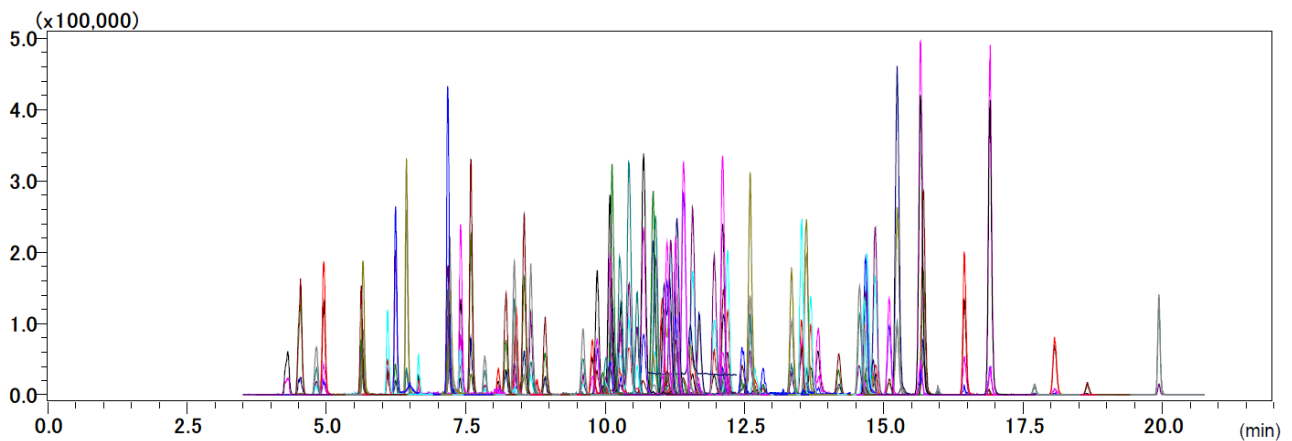
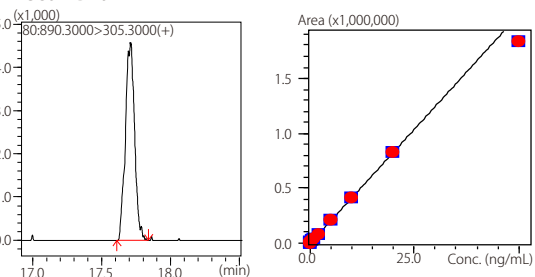
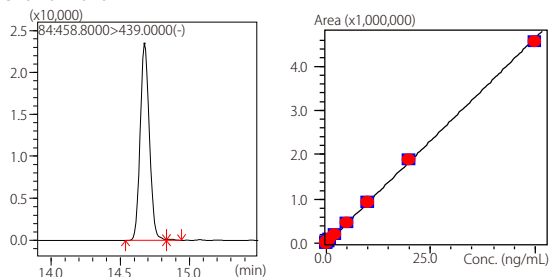


図 3 農薬混合標準品 1 ng/mL の全成分 MS クロマトグラム

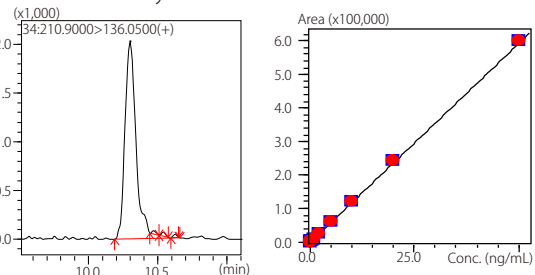
Abamectin B1a



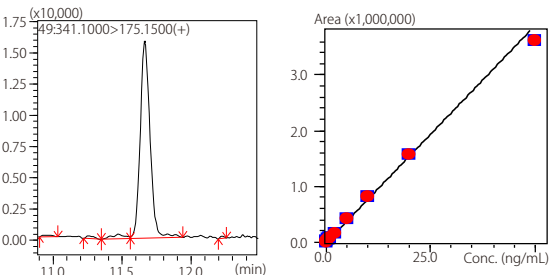
Hexaflumuron



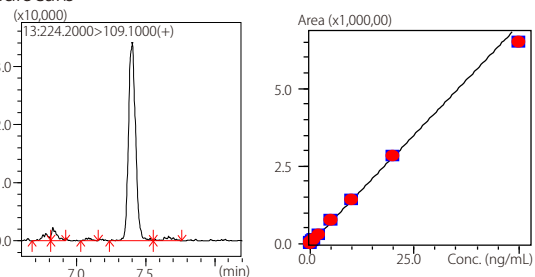
Acibenzolar-S-methyl



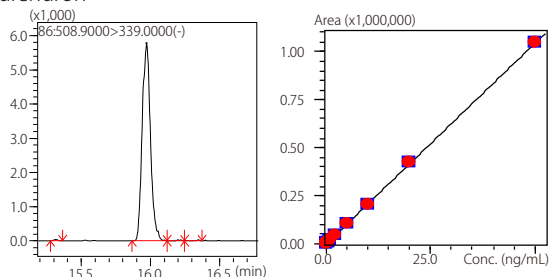
Indanofan



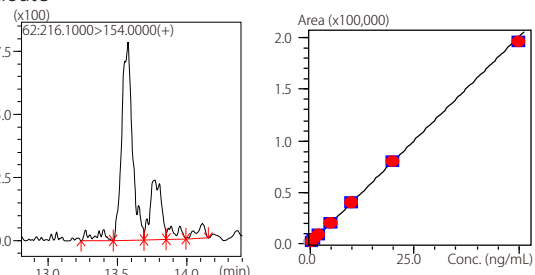
Bendiocarb



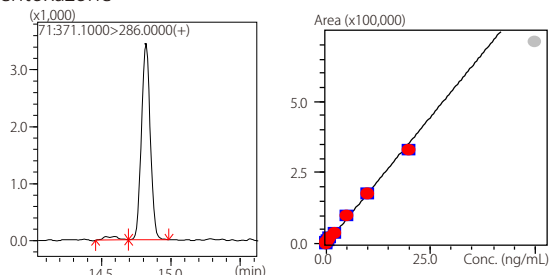
Lufenuron



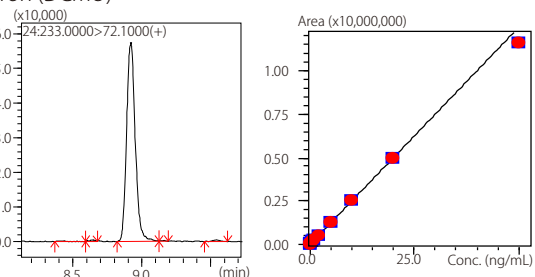
Cycloate



Pentoxazone



Diuron (DCMU)



Teflubenzuron

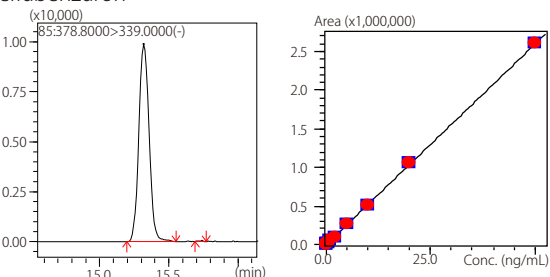


図4 マトリックス添加溶液（終濃度 1 ng/mL）のMS クロマトグラムおよび検量線

まとめ

液体クロマトグラフ質量分析計 LCMS-8050 を用いることにより、本分析の様に多成分の残留農薬の分析において、絶対検量線法でも高い回収率および再現性が得られることが確認されました。

データ採取にあたり、相模原市衛生研究所様にご協力をいただきました。

LCMS、Nexera、および Shim-pack Scepter は、株式会社 島津製作所の日本およびその他の国における商標です。

初版発行：2019 年 11 月

トリプル四重極型 LC/MS/MS を用いた 動物用医薬品のスクリーニング分析

Quantitative Analysis of Veterinary Drugs Using Triple Quadrupole LC/MS/MS [LCMS-8050]

平成 18 年 5 月、一定の量を超えて農薬、飼料添加物および動物用医薬品が残留する食品の販売などを禁止するポジティブリスト制度が施行されました。それに伴い、現在多くの動物用医薬品について厳しい残留基準が定められています。残留基準が設定されている化合物は多岐に渡り、また今

後も数が増えていくと予想されることから、できるだけ多くの化合物を高感度かつ迅速に分析する技術が必要とされています。本アプリケーションでは、畜水産物粗抽出物における 89 成分の動物用医薬品について、高感度一斉分析を行った例をご紹介します。

Y. Fujito

■ サンプルの前処理

Sample Preparation

動物用医薬品の分析では、肉や魚など脂質等を多量に含むサンプルを測定することが多く、感度や再現性の良いデータを得るためには前処理が非常に重要となります。一般的には固相抽出法が用いられますが、時間と手間がかかることから、今回は前処理の簡易化を目的に、野菜中の残留農薬分析等に使用される QuEChERS 法を用いて前処理を行いました。QuEChERS 法にはアセトニトリル抽出とクリーンアップの 2 つの工程がありますが、今回はアセトニトリル抽出のみを行いました。

*QuEChERS 塩キット：Restek Q-sep™ AOAC2007.01

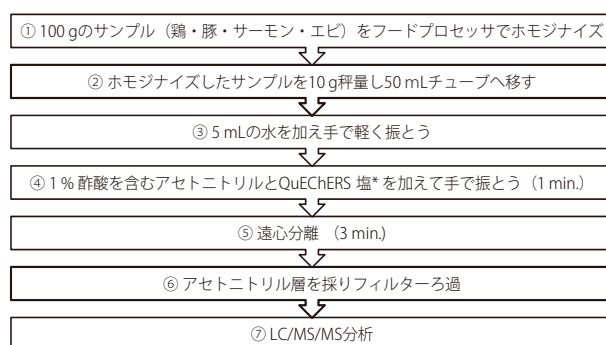


Fig. 1 前処理プロトコル
Procedure of Sample Preparation

■ サンプルと水の共注入によるピーク形状の改善

Improvement of Peak Shape by Water Co-Injection

逆相モードでは、サンプル溶媒と移動相の溶出力の関係性により、極性化合物のピークが崩れたり割れたりする現象が起こることがあります。このため、サンプル溶媒が有機溶媒リッチの場合は、（置換または希釈により）水を加えて溶出力を下げる必要があります。本分析では、前処理終了時のサンプル溶媒はアセトニトリル 100 % であるため、そのまま LC/MS に注入すると、いくつかの成分でピーク割れを起こします（Fig. 2 左）。

今回、前処理の手間をできる限り省くため、オートサンプラ（SIL-30A）の前処理機能を用いてサンプルと水の共注入を行うことで、ピーク形状の改善を行いました。

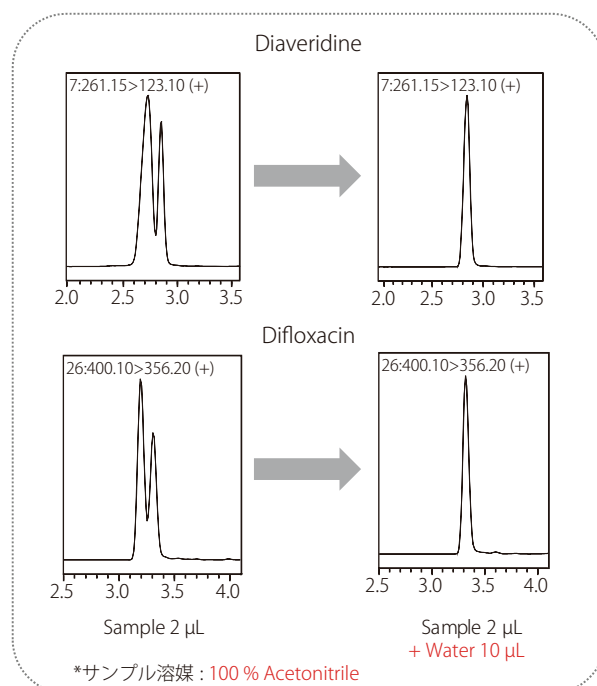
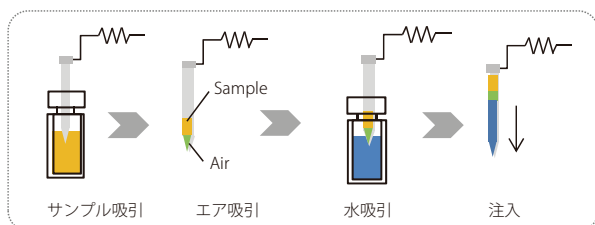


Fig. 2 水の共注入あり/なしのピーク形状の比較
Comparison of Peak Shape

■マトリクス標準溶液の MRM 測定

MRM Analysis of Matrix Standards

サンプル溶液に標準溶液を添加したマトリクス標準溶液の MRM クロマトグラムを Fig. 3 に示します（下記データは豚肉抽出溶液を使用）。Table 1 に、マトリクスを含まない標準溶液とマトリクス添加標準溶液における定量下限値を示しました。アセトニトリル抽出を行っただけの粗抽出物においても、多くの化合物で標準溶液のみの場合と同等の感度を得

られています。標準溶液とマトリクス添加溶液で定量下限値が異なる化合物もいくつか確認されましたが、これらはマトリクスエフェクトによるものではなく、夾雑成分由来のイオンによりバックグラウンドが上昇することが原因であると考えられます（Fig. 5 参照）。

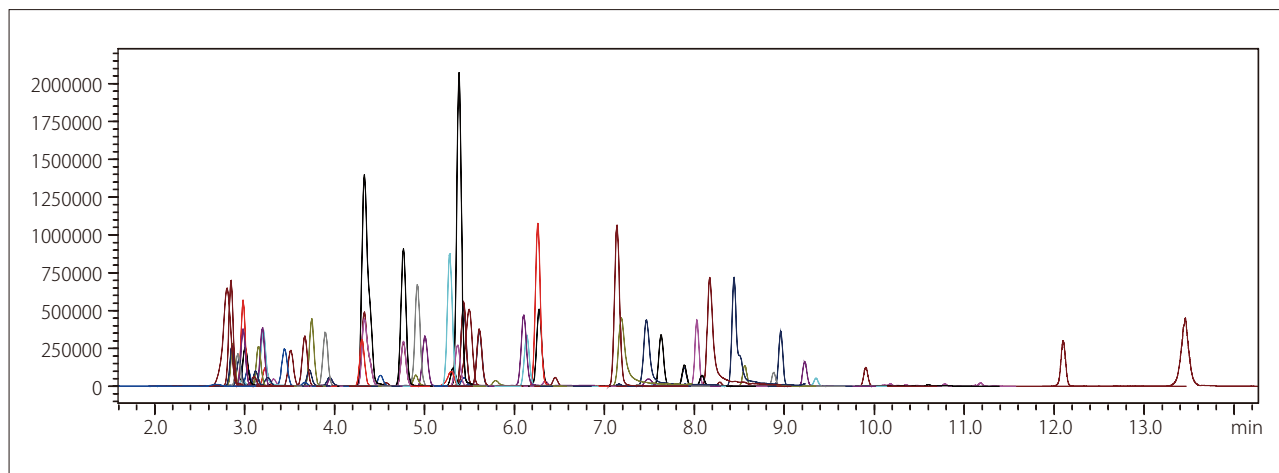


Fig. 3 動物用医薬品 89 成分のピーク検出例 (10 µg/L 標準溶液添加豚肉抽出液)
MRM Chromatograms of 89 Veterinary Drugs

Table 1 標準溶液およびマトリクス標準溶液における定量下限値とマトリクス検量線直線性範囲
LOQs of Veterinary Drugs in Neat Standards and Matrix Standards/Calibration Range of Veterinary Drugs in Matrix Standards

	標準溶液		マトリクス添加標準溶液	
	Min. Conc.		Min. Conc.	Max. Conc.
Gentamicin	0.5		1	50
Sulfanilamide	1		1	50
Levamisole	0.05		0.05	50
Lincomycin	0.01		0.01	10
5-Propylsulfonfyl-1-benzimidazole-2-amine	0.05		0.05	10
Diaveridine	0.01		0.01	10
Trimethoprim	0.02		0.02	20
Marbofloxacin	0.01		0.01	50
Sulfisomidine	0.02		0.02	20
Norfloxacin	0.5		0.5	50
Ormetoprim	0.02		0.02	10
Thiabendazole	0.01		0.01	10
Ciprofloxacin	0.05		0.5	10
Neospiramycin I	0.01		0.05	10
Danofloxacin	0.1		0.1	10
Enrofloxacin	0.05		0.1	50
Oxytetracycline	0.01		0.1	50
Xylazine	0.01		0.01	10
Orbifloxacin	0.05		0.05	50
Sulfacetamide	1		1	50
Clenbuterol	0.01		0.01	10
Tetracycline	0.05		0.01	50
Spiramycin I	0.01		0.01	50
Sarafloxacin	0.5		0.5	50
Difloxacin	0.05		0.1	50
Sulfadiazine	0.02		0.1	20
Sulfathiazole	0.02		0.1	20
Sulfapyridine	0.02		0.1	20
Carbadox	0.05		0.05	10
Pyrimethamine	0.02		0.02	20
Sulfamerazine	0.02		0.02	20
Chlortetracycline	0.1		0.1	50
Tilmicosin	0.1		0.1	50
Thiamphenicol	1		1	50
Sulfadimidine	0.02		0.02	20
Sulfamethoxydiazine	0.01		0.02	10
Sulfamethoxypyridazine	0.02		0.02	20
Sulfisozole	0.01		0.01	50
Trichlorfon (DEP)	0.05		0.05	50
Sulfamonomethoxine	0.02		0.02	20
Furazolidone	1		1	50
Difurazone	0.05		0.05	50
Erythromycin A	0.01		0.01	50
Cefazolin	0.5		0.5	50
Sulfachloropyridazine	0.02		0.02	20
Sulfadimethoxine	0.02		0.02	10
Tylosin	0.05		0.05	50
Sulfamethoxazole	0.02		0.1	10
Sulfaethoxypyridazine	0.02		0.02	10
Tiamulin	0.01		0.01	50
Florfenicol	0.5		10	50
2-Acetylaminio-5-nitrothiazole	0.05		0.05	50
Sulfatroxazole	0.01		0.01	5
Leucomycin	0.01		0.01	50
Sulfisoxazole	0.01		0.05	50
Oxolinic acid	0.01		0.1	50
Chloramphenicol	0.5		1	50
Clorsulon	0.5		1	50
Sulfabenzamide	0.01		0.01	10
Ethopabate	0.01		0.01	10
Sulfadoxine	0.02		0.02	20
Sulfaquinoxaline	0.02		0.02	10
Prednisolone	0.1		0.05	20
Ofloxacin	0.5		0.5	50
Flubendazole	0.01		0.01	50
Methylprednisolone	0.5		0.5	50
Nalidixic acid	0.01		0.01	50
Dexamethasone	0.5		0.5	50
Flumequine	0.01		0.01	50
Benzylpenicillin	0.5		0.5	50
Sulfantran	0.2		0.2	50
Sulfabromomethazine	0.01		0.01	50
betaTrenbolone	0.02		0.1	50
Emamectin B1a	0.01		0.01	50
alphaTrenbolone	0.02		0.1	50
Piromidic acid	0.01		0.05	50
Zeranol	1		0.1	50
Ketoprofen	0.01		0.05	50
Testosterone	0.01		0.05	10
Famphur	0.05		0.05	50
Fenobucarb (BPMC)	0.01		0.01	50
Clostebol	0.05		0.05	50
Dichlofenac	0.01		0.01	50
Melengestrol Acetate	0.05		0.05	50
Temephos (Abate)	0.01		0.5	50
Allethrin	0.1		1	50
Closantel	0.01		0.01	10
Monensin	0.01		0.01	10

(単位: µg/L)

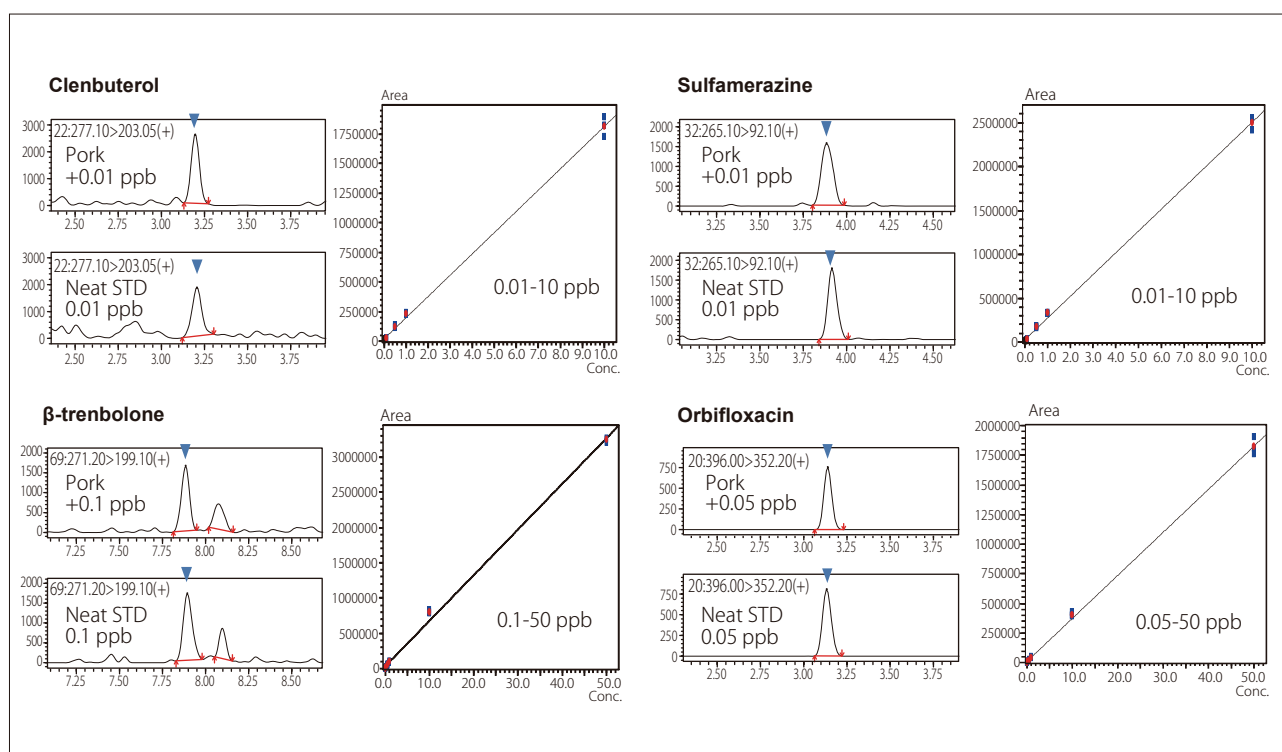


Fig. 4 代表的な化合物の LOQ 付近の MRM クロマトグラムと検量線
MRM Chromatograms Around LOQ and Calibration Curves of Typical Compounds

■ 畜水産物粗抽出物中の回収率 (マトリクスエフェクトの確認)

Recoveries of Veterinary Drugs in the Crude Extracts from Livestock Products and Seafood

マトリクスを多く含む実サンプルを測定した際のマトリクスエフェクトの有無を確認しました。今回、サンプルにはエビ、鶏肉、豚肉、サーモンの 4 種類を用い、各サンプルのアセトニトリル抽出溶液に標準溶液を 10 μ g/L の濃度になるように添加し、回収率を求めました。結果、9 割以上の化合物

で 70-120 % の良好な回収率が得られ、QuEChERS 法のアセトニトリル抽出のみの粗抽出溶液においても、マトリクスエフェクトの影響を受けることなく測定できることが確認されました。

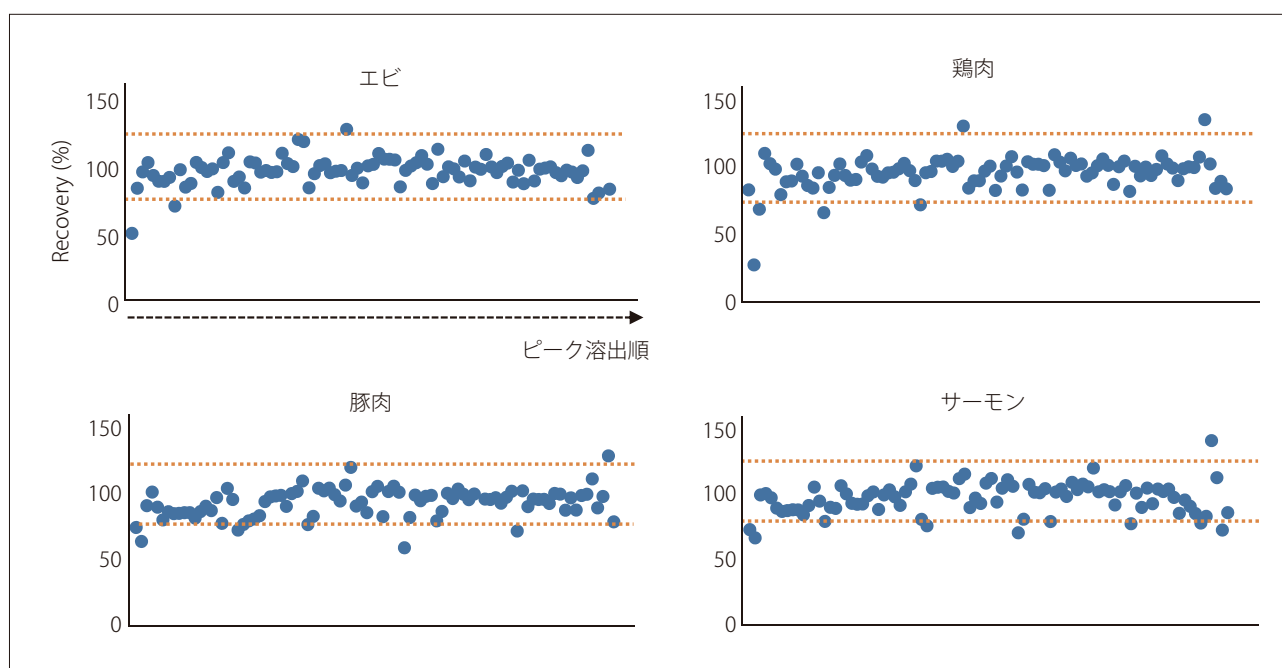


Fig. 5 各サンプル溶液における動物用医薬品の回収率
Recoveries of Veterinary Drugs in Each Matrices

■ QuEChERS 法によるアセトニトリル抽出の抽出効率

Extraction Efficiency of Acetonitrile Extraction Using QuEChERS Method

QuEChERS 法によるアセトニトリル抽出の抽出効率を確認するため、Fig. 1 の②の段階で標準溶液を 10 µg/L の濃度になるように添加し、回収率を求めました。結果、マトリクスあり／なしの場合ともに、約 8 割の化合物について良好な回

収率が得られました。ただし、極性の高いテトラサイクリンやキノロン系の化合物は回収率が悪い傾向が見られました。これらの化合物については、別途抽出溶媒、抽出試薬の検討を行う必要があります。

Table 2 添加回収率 (標準溶液前添加)
Recoveries (pre-spike)

回収率	マトリクスなし	マトリクスあり (豚肉)	回収率が悪かった化合物
< 50 %	17 (19 %)	13 (15 %)	Tetracyclines Quinolones
50 % - 70 %	1 (1 %)	8 (9 %)	
> 70 %	71 (80 %)	68 (76 %)	

■ 堅牢性

Durability

豚肉粗抽出溶液（標準溶液 10 µg/L 添加）を用いて、装置の長期安定性を確認しました。非常に複雑なマトリクスの連

続測定においても、3 日間にわたって安定したデータを取得することが可能でした。

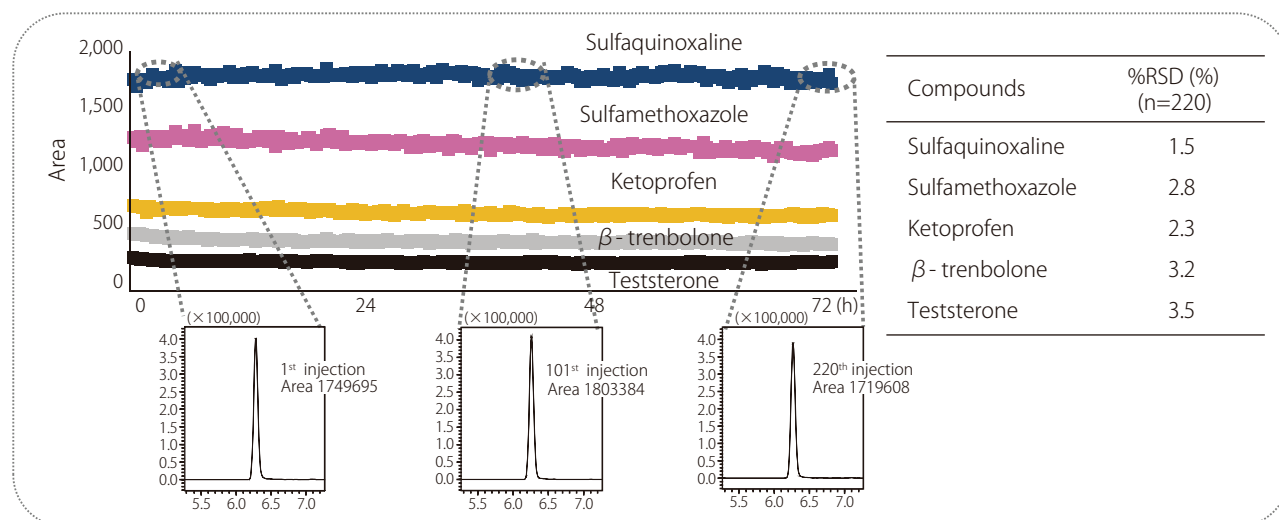


Fig. 6 連続測定における代表的な化合物の面積値プロットおよび再現性
Area Plotting and %RSD of Typical Compounds in Continuous Analysis

Table 3 分析条件
Analytical Conditions

Column	: Shim-pack XR-ODS II (75 mm × 2.0 mm I.D., 2.2 µm)
Mobile Phase A	: 0.1 % Formic Acid - Water
Mobile Phase B	: Acetonitrile
Time Program	: 1 %B (0 min) → 15 %B (1 min) → 40 %B (6 min) → 100 %B (10-13 min) → 1 %B (13.01-16 min)
Flow Rate	: 0.2 mL/min.
Injection Volume	: 2 µL (2 µL sample solution + 10 µL water)
Oven Temperature	: 40 °C
Ionization Mode	: ESI (Positive / Negative)
Probe Voltage	: +2.0 kV / -1.0 kV
Neburizing Gas Flow	: 3.0 L/min.
Drying Gas Flow	: 10.0 L/min.
Heating Gas Flow	: 10.0 L/min.
Interface Temperature	: 400 °C
DL Temperature	: 200 °C
Block Heater Temperature	: 400 °C

MRM スペクトルモードを用いた
残留動物用医薬品の一斉分析

動物用医薬品は、治療・感染予防または感染予防・成長促進などの様々な目的で使用されています。規制当局は動物から作られた食品に対する安全性保証のために、動物用医薬品の食品への残留に対する最大残留限界：Maximum Residue Limits (MRL's) を、対象となる薬物、組織および動物種ごとに規定しています。また、規制当局により特定されたいくつかの薬理活性化合物は使用が禁止されており、あらゆるレベルでの危険性が考慮されています（EU regulation EC 37/2010; Commission Decision 2003/181/EC; 21CFR Part 556 Tolerances for Residues of New Animal Drugs in Food）。本報告では、高感度かつ高選択性であるトリプル四重極質量分析計を MRM スペクトルモードと呼称する測定モードで動作させることにより、擬陽性と擬陰性結果の低減に、如何に寄与するかについて述べます。MRM スペクトルモードでは、それぞれの対象化合物に対して多数のフラグメントイオンを取得し、それらをフラグメントスペクトルとして再構築することにより、定型化されたライブラリーサーチや化合物確認に類似度スコアとともに利用できます。

David Baker ¹⁾, Laetitia Fages ²⁾, Eric Capodanno ²⁾, Neil Loftus ¹⁾

¹⁾ Shimadzu, Manchester, UK

²⁾ Phytocontrol, Nimes, France

■ 試料と分析条件

測定試料は、牛肉・卵・蜂蜜・鮭の切り身の抽出液に、動物用医薬品を 0.001 から 0.1 mg/kg で添加したものを用意しました。再現性評価は低濃度試料と高濃度試料で実施しました。測定機器は、島津製作所 UHPLC Nexera X2 とトリプル四重極質量分析計 LCMS-8060 を用いました（表 1 および表 2）。200 種類以上の動物用医薬品をターゲット化合物として設定し、12 分間のグラジェント溶出時間内に、2000 個以上の MRM をポジティブとネガティブの両極性でモニターしました。

表 1 UHPLC 条件

Liquid chromatography				
UHPLC	Nexera LC system			
Analytical column	Restek Biphenyl (100×2.1, 2.7 μm)			
Column temperature	40 °C			
Flow rate	0.4 mL/minute			
Solvent A	0.1 % formic acid 0.5 mM ammonium formate solution			
Solvent B	0.1 % formic acid in methanol			
Binary Gradient	Time (mins)	%B	Time (mins)	%B
	0.00	2	14.60	2
	12.50	100	17.50	Stop
	14.50	100		

表 2 MS/MS 検出パラメータ

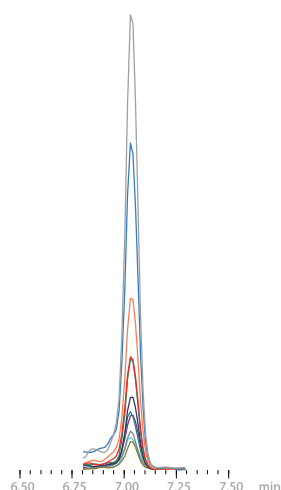
Mass spectrometry	
Mass spectrometer	Shimadzu LCMS-8060
Pause time/dwell time	1 msec/3 msec
Polarity switching time	Pos/neg switching time set to 5 msec
Scope	218 drugs in positive ion mode (including internal standards) 11 drugs in negative ion mode Structure Analytics (in house development tool)
Source temperatures (interface; heat block; DL)	350 °C; 300 °C; 150 °C
Gas flows (nebulising; heating; drying)	3 L/min; 10 L/min; 10 L/min

■ MRM スペクトルモードの利点

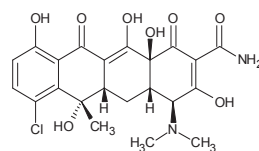
測定メソッドは、LabSolutions LCMS の MRM 最適化機能と測定ウィンドウ（MRM Synchronization）設定により、容易に設定でき、各溶出ピークに対して高いデータ密度と高サンプリングレートを実現します。本手法は、一貫性のあるループタイムとサンプリングレートを生成し、信頼性の高い定量とピーク積分を実行します。また、定量イオン・定性イオン選択の自由度の向上により、ルーチンでの動物用医薬品一斉分析において、オペレーターにより大きな利便性を提供することができます。単一のプリカーサーイオンから生成されるフラグメントイオン数は、動物用医薬品の化学構造にのみ制限されます。

■ 結果

各動物用医薬品に対して多数のフラグメントイオンを取得するために、MRM スペクトルモードを利用しました。クロルテトラサイクリンでは、11 個のプリカーサーフラグメントが、それぞれに最適化されたコリジョンエネルギーで取得されました（図 1）。多数のフラグメントイオンランジションを取得することにより、それぞれの動物用医薬品に対して、化合物確認とライブラリーサーチを可能とするフラグメント合成スペクトルを生成できます。（クロルテトラサイクリンはテトラサイクリン類の抗菌剤です。2016 年に発行された 6th ESVAC レポートによると、2014 年における EU 加盟の 29 カ国での抗菌剤の販売は、mg/PCU の比率で示されており、テトラサイクリン類が 33.4 %と最多です。以下、ペニシリン類（25.5 %）、サルファ剤類（11.0 %）となっています。クロルテトラサイクリンは代表例として選択しました。）



Compound name Chlortetracycline
 Accurate mass 479.1216 [M+H]⁺
 Formula C₂₂H₂₃ClN₂O₈
 CAS 57-62-5



MRM Spectrum Mode
 11 MRM's acquired for chlortetracycline at 10pg/uL in egg.
 1:479.10>444.00 (+) CE: -23V
 2:479.10>461.95 (+) CE: -35V
 3:479.10>154.00 (+) CE: -34V
 4:479.10>98.05 (+) CE: -45V
 5:479.10>260.05 (+) CE: -60V
 6:479.10>303.05 (+) CE: -37V

7:479.10>300.80 (+) CE: -45V
 8:479.10>287.90 (+) CE: -53V
 9:479.10>274.95 (+) CE: -44V
 10:479.10>370.95 (+) CE: -31V
 11:479.10>285.85 (+) CE: -56V

MRM Spectrum mode
 Higher specificity
 Higher reporting confidence
 Library searchable fragment data.

The number of precursor-fragment ion transitions monitored is limited only by the structural chemistry of the molecule. Typically more than 10 precursor-fragment ion transitions were monitored for each veterinary drug.

図1 MRM スペクトルモードの利用 (クロルテトラサイクリン)

図2 にクロルテトラサイクリンについてフラグメント構造を帰属した MRM 参照スペクトルを示しました。MRM スペクトルモードは MRM とプロダクトイオンスペクトル生成を融合した測定モードです。プロダクトイオンスペクトルはライブラリサーチによる化合物同定に利用できます。

コリジョンエネルギーが各フラグメントイオンに最適化されてプロダクトイオンスペクトルが生成されるため、ライブラリ内のスペクトルは、非常に高い特異性と選択性を兼ね備えています。

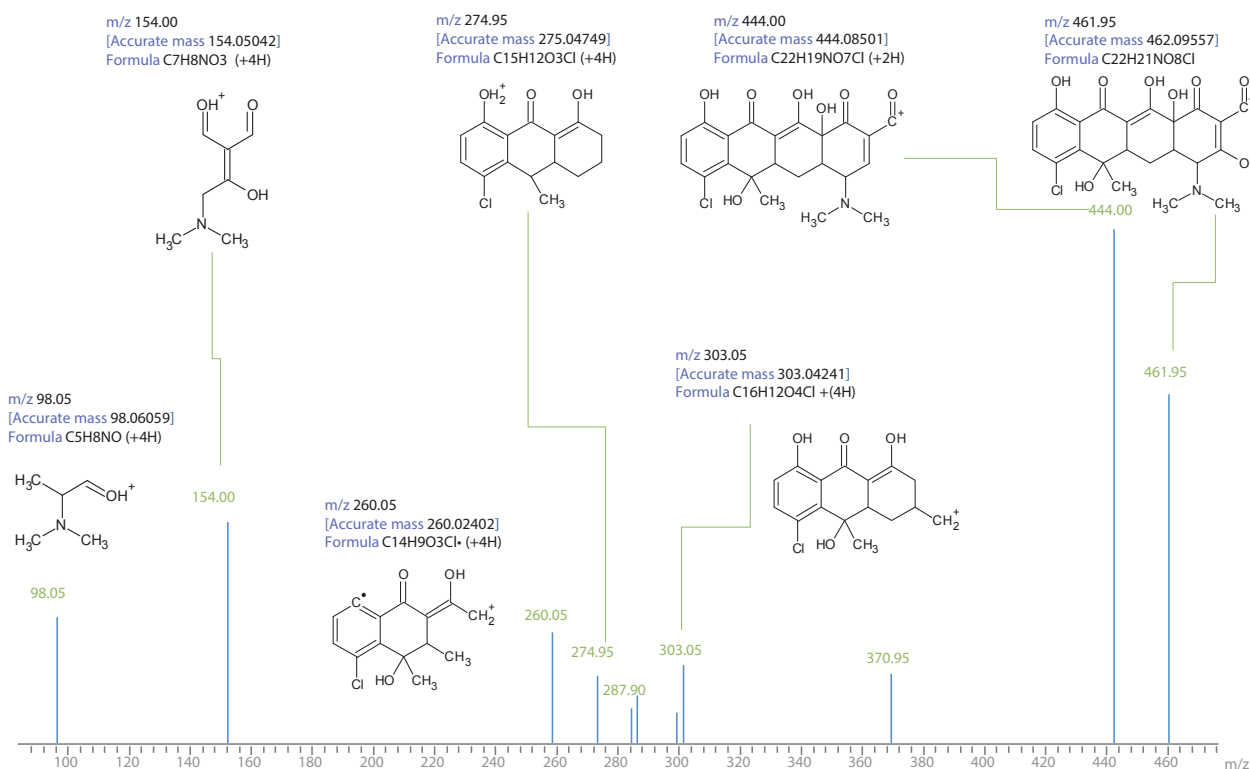


図2 フラグメント構造を帰属した MRM 参照スペクトル (クロルテトラサイクリン)

MRM スペクトルモードを用いたライブラリー同定

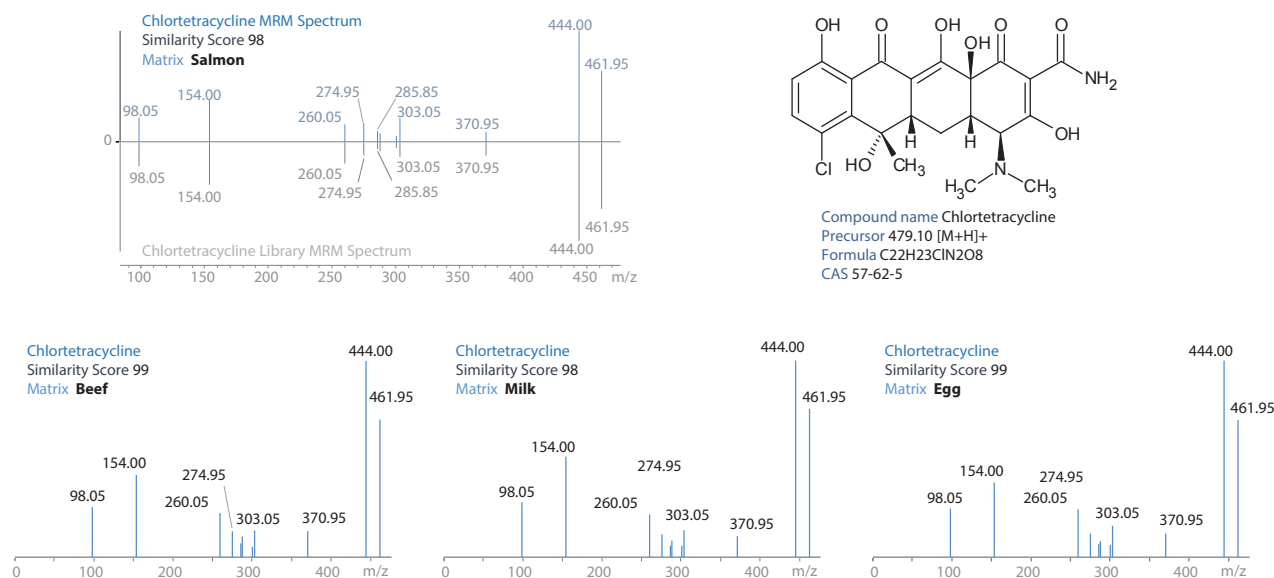
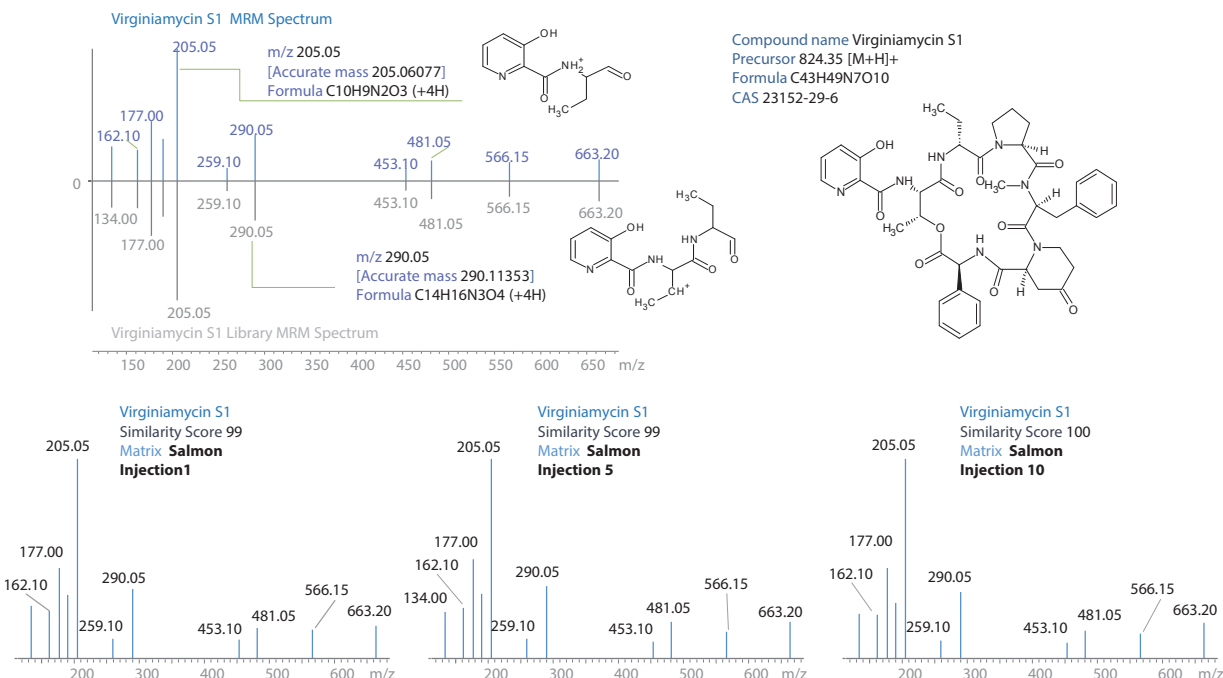


図3 異なる試料マトリックスに 10 pg/μL で添加したライブラリーサーチ可能な MRM スペクトル (クロルテトラサイクリン)

図4に鮭切り身抽出液にバージニアマイシン S1 を 10 pg/μL で添加した際の MRM スペクトルと 4 化合物に関する n=10 の測定結果を示しました。類似度スコアはすべての注入において、99 以上でした（最初の注入と 5 回目、10 回目注入の MRM スペクトルを図示しました）。また一般的な MRM 測定

メソッド（MRM：2 個）を用いて、鮭切り身抽出液にオキシテトラサイクリン、スルファジメトキシシン、オルメトプリム、バージニアマイシンを各 10 pg/μL 添加したサンプルを測定し、MRM スペクトルモードと %RSD を比較しました。



Compound name	Oxytetracycline		Sulfadimethoxine		Ormetoprim		Virginiamycin	
Number of MRM's	2MRM's	8MRMs	2MRM's	11MRMs	2MRM's	11MRMs	2MRM's	11MRMs
Mean peak area								
Quantitation ion	1890170	1729171	7809989	7227748	8291171	8160952	2232967	1956045
%RSD	3.74	3.04	1.49	1.46	1.54	1.18	0.91	1.65

図4 鮭切り身抽出液にバージニアマイシン S1 を 10 pg/μL で添加した際の MRM スペクトルと n=10 の結果

MRM スペクトルモードを用いた定量結果

MRM スペクトルモードの頑健性を評価するために、同一サンプルを繰り返し注入しました。使用した評価法は、EU ガイドライン：SANTE/11945/2015 にて規定された同定基準に対応したものです（保持時間と少なくとも 2 個の MRM のイオンレシオが許容範囲内かどうか）。絶対強度とシグナル

強度の変化を MRM スペクトルモードと比較しました（図 4）。両方のメソッドで 4 %以下の%RSD を示しました（n=10、10 pg/μL 添加/鮭切り身）。図 5 には定量結果の代表例としてスルファメラジンの MRM スペクトルと検量線を示しました。

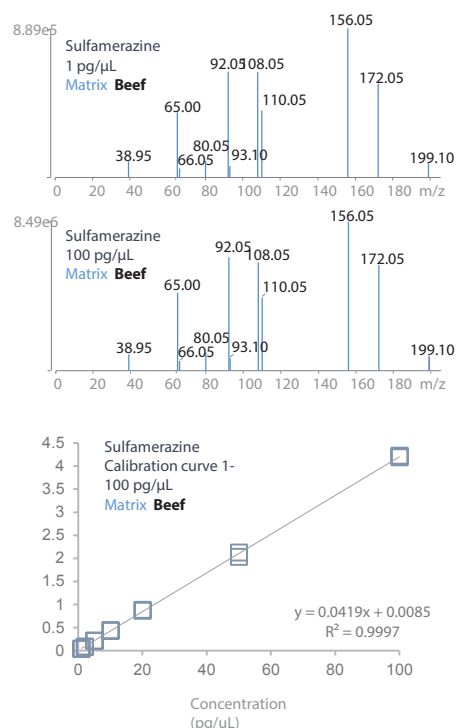
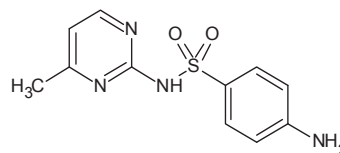


図 5 スルファメラジンの MRM スペクトルと検量線（1 pg/μL から 100 pg/μL）

Compound name Sulfamerazine
Precursor 265.10 [M+H]⁺
Formula C₁₁H₁₂N₄O₂S
CAS 127-79-7



MRM Spectrum Mode
11 MRM's acquired for sulfamerazine in beef.

1:265.10>156.05 (+)	CE: -17V
2:265.10>92.05 (+)	CE: -30V
3:265.10>172.05 (+)	CE: -15V
4:265.10>108.05 (+)	CE: -26V
5:265.10>65.00 (+)	CE: -11V
6:265.10>110.05 (+)	CE: -22V
7:265.10>80.05 (+)	CE: -15V
8:265.10>38.95 (+)	CE: -14V
9:265.10>199.10 (+)	CE: -21V
10:265.10>93.10 (+)	CE: -30V
11:265.10>66.05 (+)	CE: -24V

結論

擬陽性と擬陰性結果を抑制するために、多数の MRM トランジションをそれぞれの動物用医薬品ターゲットに用いたメソッドを開発し、化合物同定と確認における信頼性の向上を実現しました。各ターゲットに対するトランジション数はターゲットの化学構造に依存していますが、一般的に 1 化合物につき 10 トランジション以上モニター可能です。MRM スペクトルモードはルーティン定量とクォリティの高いプロ

ダクトイオンスペクトルの生成を結合し、ライブラリーサーチによる信頼性の高い化合物同定と化合物確認ワークフローを追加することができます。今回の例では、212 個の動物用医薬品（MRM 数：2,009）の定量と同定を MRM スペクトルモードを用いて、検証しました。一般的な定量メソッド（MRM 数：2 個/化合物）と比較して、検出限界、直線性および再現性の劣化は見られませんでした。

食肉、卵、牛乳中のアミノグリコシド系抗生物質の高速定量分析と MRM スペクトルを用いた化合物同定

アミノグリコシド系抗生物質（AGs）は、牛、羊、豚および家禽に対する細菌の感染防止のために広く使われています。AGs は、様々な菌に有効な広域抗生物質であり、グラム陽性菌とグラム陰性菌の両方に有効です。

AGs は、聴器毒性や腎毒性がありますが、その価格の安さから、獣医学分野で広く使用されています。AGs は、体組織への親和力も高く、万が一休薬期間を守られなかったり、不適切に使用されたりした場合には、我々が口にする食肉、牛乳、卵などの中に残存する可能性があります。AGs を含む食品を食べることは、人体にとって有害です。そこで、規制当局は、獣医学分野で使用されている AGs 系化合物に対して、食物中の残留基準（MRL）を設定しています。

AGs 系化合物は極性が非常に高く、通常の逆相カラムには、ほとんど保持されないため、通常の逆相クロマトグラフィーの分離では、イオンペア試薬が使われます。イオンペア試薬は LC の流路やカラム、MS のインターフェイスなどに残留しやすく、他の分析で良好なデータが得られないことがあり、使用が好まれないことも少なくありません。

「LC/MS/MS メソッドパッケージ アミノグリコシド系抗生物質」では、イオンペア試薬を使用しない親水性相互作用液体クロマトグラフィー（HILIC）を用いた LC-MS/MS による分析メソッドを提供しています。高速定量分析メソッドと MRM スペクトルを用いた化合物同定メソッドの 2 つが収録されています。化合物同定メソッドを使った分析は、高速定量スクリーニング分析と同じ移動相、カラムを使用するため、高速定量スクリーニングと化合物同定を同じ分析システムで、メソッドを変えるだけで簡単に行うことが可能です。さらに、上記メソッドパッケージには、食肉、卵、牛乳に対応できる単一前処理プロトコルが前処理例として含まれています。

本報では、いくつかの食肉サンプルと牛乳の安全性評価のための「LC/MS/MS メソッドパッケージ アミノグリコシド系抗生物質」の活用方法をご紹介します。

M. Levi

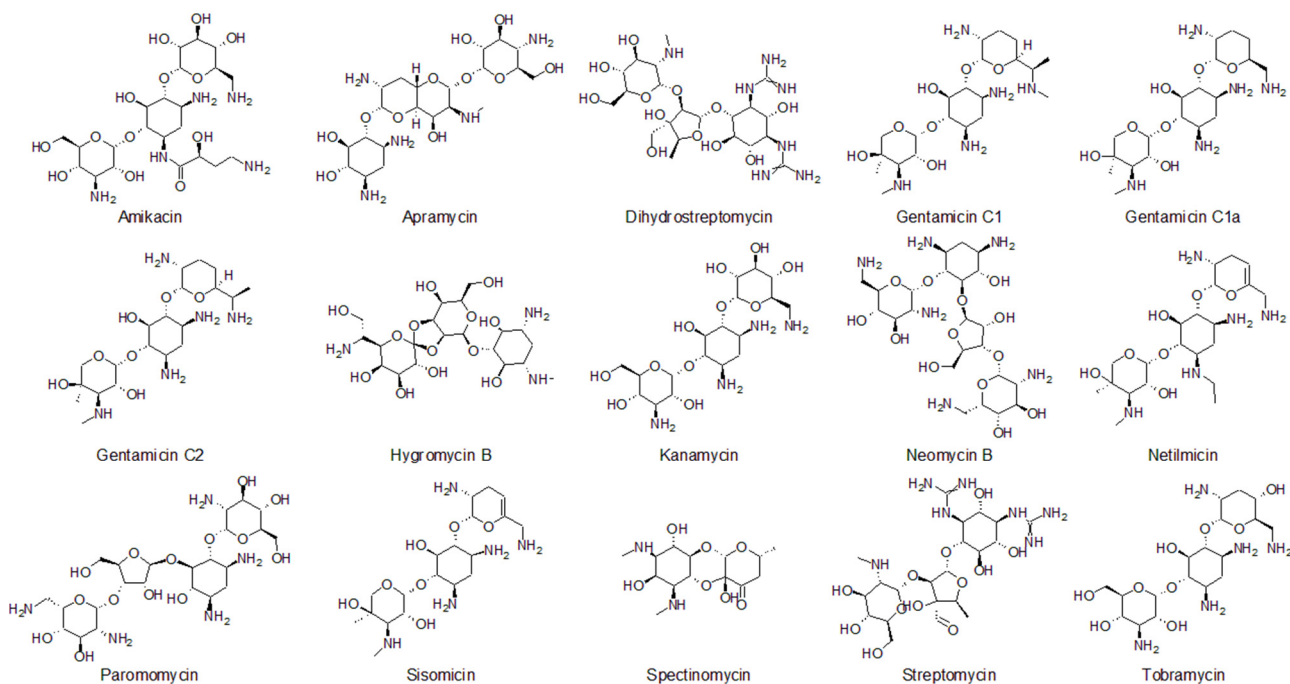


図1 メソッドパッケージに登録されているアミノグリコシド（AGs）系化合物

■ 試料調製

食肉サンプル（神戸牛、鶏むね肉、鶏レバー、豚ロース）と牛乳は市販品を使用しました。各サンプル 5g（食肉は粉碎後）をメソッドパッケージに収録されている方法で前処理しました。前処理では、内部標準である Ribostamycin を添加後、酸性バッファーで 2 回抽出しました。抽出液をミックスモードの弱陽イオン交換充填剤を用いたポリマー系固相抽出カラム（Biotage 社製）で精製後、5 倍希釈したものを 5 μ L ずつ注入して測定を行いました。各 AGs 系化合物は、厚生労働省が設定している MRL の 0.5 倍と 1.5 倍の濃度のように添加しました。

■ LC-MS/MS による分析

上記の精製・溶出した液を LC-MS/MS で、「LC/MS/MS メソッドパッケージアミノグリコシド系抗生物質」に収録されているメソッドを用いて分析しました。定量には、移動相で調製した標準試料で作成した検量線を使用しました。

測定は、最初に 1 つ目の高速定量分析メソッドを使用して行いました。高速定量分析メソッドは HILIC を用いた分離条件を採用しています。分析時間は 4.5 分で、1 化合物あたり 2 つの MRM が設定されています。移動相にはギ酸系水溶液とアセトニトリルを使用しました。

MRL に代表される基準値を超えて検出された化合物があった場合には、2 つ目の化合物同定メソッドを用いてピーク同定を行いました。化合物同定メソッドは、高速定量分析と同じ移動相、カラムを使用しますが、分析時間 13 分で、1 化合物あたり 15 個の MRM が設定されています。

分析システムは Nexera™ X2 と LCMS™-8060 を用いました。解析は LabSolutions Insight™ Library Screening (オプション) を用いて行いました。

■ 結果

MRL は家畜種や化合物によって異なります。日本では、個別に MRL が規定されていない動物用医薬品に対しては一律基準 10 μ g/kg が適用されます。そこで、MRL が規定されている Apramycin、Dihydrostreptomycin、Gentamicin、Kanamycin、Neomycin、Spectinomycin、Streptomycin については、検量線の範囲を最小 MRL の 10 % から最大 MRL の 150 % の範囲で設定しました。一方、MRL が規定されていない他の化合物については、検量線範囲を 10 μ g/kg の 20 % (2 μ g/kg) から 150 % (15 μ g/kg) に設定しました。表 1 に各化合物の検量範囲を示します。7 点検量で、各点の検量精度は 85~115 % となりました。代表的な検量線を図 2 に示します。

AGs 系化合物を添加していないサンプルには、当然 AGs 系化合物は入っていません。そこで、濃度の計算値を用いて、各化合物の添加回率を計算しました。（表 2）全てのマトリクスに対して化合物の回収率が 70~120 % におさまリ、良好な結果が得られました。再現性は、牛肉サンプルを用いて、MRL の 1/2 の濃度 (0.5×MRL) で評価しました。再現性の評価結果を表 3 に示します。%RSD は全化合物 20 % 未満であり、本分析で安定したデータが得られていることがわかります。

図 3 には各 AGs 系化合物の MRM クロマトグラムの例を示します。

表 1 対象アミノグリコシド (AGs) 系化合物の日本で規定されている残留基準 (MRL) と検量範囲

	Calibration Range					
	Low MRL (μ g/kg)	High MRL (μ g/kg)	LLOQ (μ g/kg)	LLOQ (ng/mL)	ULOQ (μ g/kg)	ULOQ (ng/mL)
Amikacin	No value	Default (10)	2	0.1	15	0.75
Apramycin	60	500	6	0.3	750	37.5
Dihydrostreptomycin	200	600	20	1.0	900	45.0
Gentamicin (sum)	100	200	10	0.5	300	15.0
Hygromycin	No MRL	Default (10)	2	0.1	15	0.75
Kanamycin	40	500	4	0.2	750	37.5
Neomycin	500	500	50	2.5	750	37.5
Netilmicin	No MRL	Default (10)	2	0.1	15	0.75
Paromomycin	No MRL	Default (10)	2	0.1	15	0.75
Sisomicin	No MRL	Default (10)	2	0.1	15	0.75
Spectinomycin	200	2000	20	1.0	3000	150.0
Streptomycin	200	600	20	1.0	900	45.0
Tobramycin	No MRL	Default (10)	2	0.1	15	0.75

表 2 各アミノグリコシド（AGs）系化合物の添加回収率

		AMI	APRA	DHSTP	GENT C1a	GENT C1	GENTC2/C2a	HYGRO	KANA
Recovery at 0.5×MRL	Milk	91.90 %	88.7 %	108 %	76.6 %	89.4 %	83.3 %	94.3 %	100 %
	Beef	107 %	89.0 %	117 %	90.4 %	94.2 %	95.2 %	107 %	102 %
	Pork	88.3 %	98.9 %	114 %	80.4 %	86.3 %	87.6 %	96.5 %	88.7 %
	Chicken Breast	82.2 %	90.3 %	97.4 %	98.7 %	92.4 %	90.3 %	105 %	94.8 %
	Chicken Liver	70.9 %	91.5 %	103 %	91.3 %	80.8 %	86.1 %	99.4 %	101 %
Recovery at 1.5×MRL	Milk	83.0 %	99.0 %	106 %	85.8 %	91.0 %	101 %	91.8 %	98.1 %
	Beef	89.9 %	95.9 %	96.9 %	98.8 %	91.2 %	95.5 %	104 %	96.1 %
	Pork	86.3 %	89.5 %	98.5 %	95.1 %	102 %	96.9 %	112 %	97.2 %
	Chicken Breast	82.2 %	90.3 %	97.4 %	98.7 %	92.4 %	90.3 %	105 %	94.8 %
	Chicken Liver	87.8 %	90.7 %	90.7 %	99.5 %	85.5 %	88.8 %	91.6 %	83.8 %
		NEO	NETIL	PARO	SISO	SPC	STP	TOB	
Recovery at 0.5×MRL	Milk	81.2 %	101 %	73.3 %	75.3 %	94.0 %	111 %	91.0 %	
	Beef	91.4 %	101 %	88.1 %	88.4 %	110 %	114 %	91.5 %	
	Pork	85.7 %	91.0 %	90.7 %	76.4 %	101 %	111 %	85.8 %	
	Chicken Breast	94.1 %	90.5 %	78.4 %	84.9 %	92.7 %	102 %	107 %	
	Chicken Liver	78.6 %	90.8 %	76.5 %	78.8 %	101 %	108 %	92.5 %	
Recovery at 1.5×MRL	Milk	96.7 %	93.6 %	86.9 %	99.4 %	94.8 %	105 %	102 %	
	Beef	113 %	91.1 %	103 %	106 %	86.9 %	93.1 %	105 %	
	Pork	106 %	90.4 %	94.8 %	94.3 %	95.2 %	105 %	108 %	
	Chicken Breast	94.1 %	90.5 %	78.4 %	84.9 %	92.7 %	102 %	107 %	
	Chicken Liver	109 %	82.4 %	89.5 %	95.3 %	75.3 %	90.0 %	98.1 %	

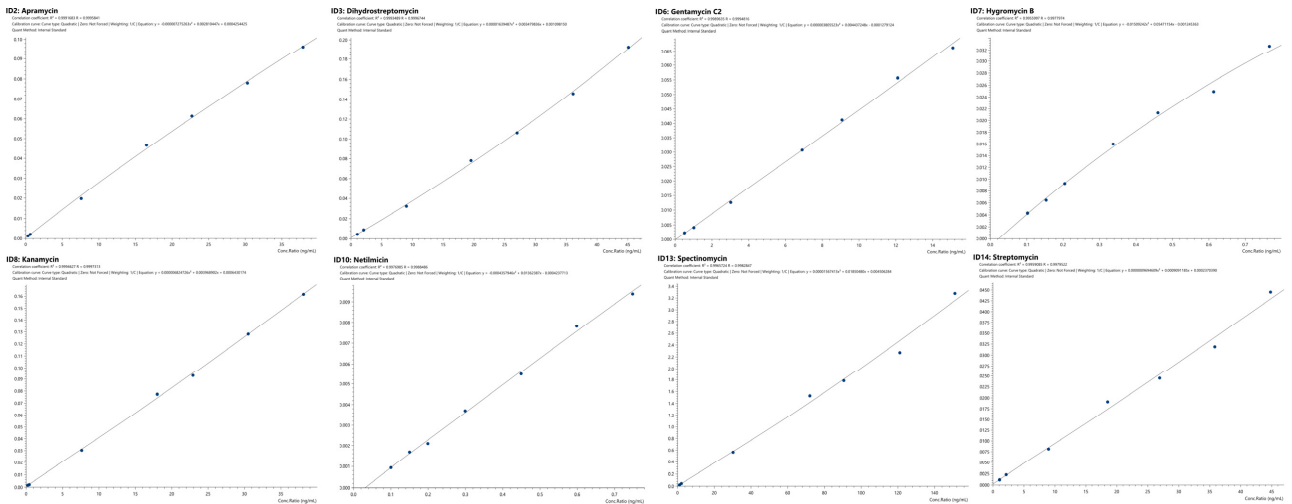


図 2 Apramycin、Dihydrostreptomycin、Gentamicin C2、Hygromycin B、Kanamycin、Netilmicin、Spectinomycin、Streptomycin の検量線

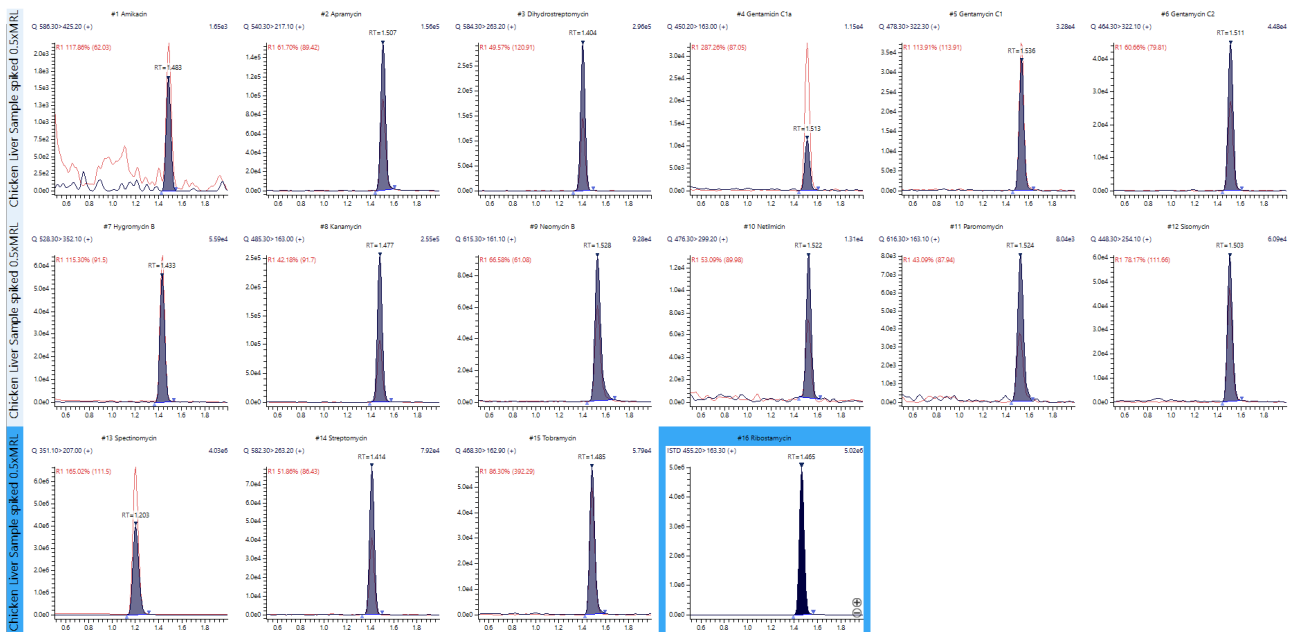


図 3 鶏レバーサンプルのMRMクロマトグラム（濃度：0.5×MRL）

表3 アミノグリコシド (AGs) 系化合物を牛肉サンプルに添加した場合の添加回収率と再現性 (濃度: 0.5×MRL)

	AMI	APRA	DHSTP	GENT C1a	GENT C1	GENT C2/C2a	HYGRO	KANA
Mean Conc. (μg/kg)	5.38	225	350	45.6	47.5	48.0	5.32	21.1
Recovery	107 %	89.0 %	117 %	90.4 %	94.2 %	95.2 %	107 %	102 %
%RSD	19.9 %	7.7 %	10.0 %	10.8 %	10.2 %	6.9 %	7.1 %	12.0 %
	NEO	NETIL	PARO	SISO	SPC	STP	TOB	
Mean Conc. (μg/kg)	228	5.03	4.39	4.47	275	348	4.66	
Recovery	91.4 %	101 %	88.1 %	88.4 %	110 %	114 %	91.5 %	
%RSD	8.8 %	10.0 %	8.1 %	4.4 %	11.0 %	11.9 %	6.2 %	

高速定量メソッドを使った分析で MRL を超えて検出された成分の同定精度を高めるために、分析時間を長くし、1 化合物あたりの MRM 数を 15 個まで増やした化合物同定メソッドを用いて再測定を行います。測定で得られた各 MRM トランジションに対応するスペクトルをマージして、MRM スペクトルを作成します。

図 4 に、LabSolutions Insight Library Screening を用いたライブラリ検索の例を示します。実測した MRM スペクトルを読み込むと、自動でライブラリ検索を実行します。この MRM スペクトルを使った化合物同定では、類似度の高い結果を得ることができます。図 4 の例で示した Dihydrostreptomycin の類似度は 95 点と高く、一方、2 番目にヒットしている非常に構造が似ている Streptomycin の類似度は 51 点でした。

結論

新規開発したメソッドパッケージを使って、食肉と牛乳に添加した AGs 系化合物の分析を行うことができました。高速定量メソッドを使った分析では、極低濃度でも良好な回収率と高精度の検量線が得られました。本報で採用したメソッドパッケージに収録されている前処理方法は、高回収率でかつマトリクス効果を最小限に抑えるものであることから、マトリクス成分によらず、標準試料で作成した検量線を定量分析に適用することができました。

また、MRM スペクトルを用いた化合物同定メソッドは、化合物同定の確度を向上することが示されました。

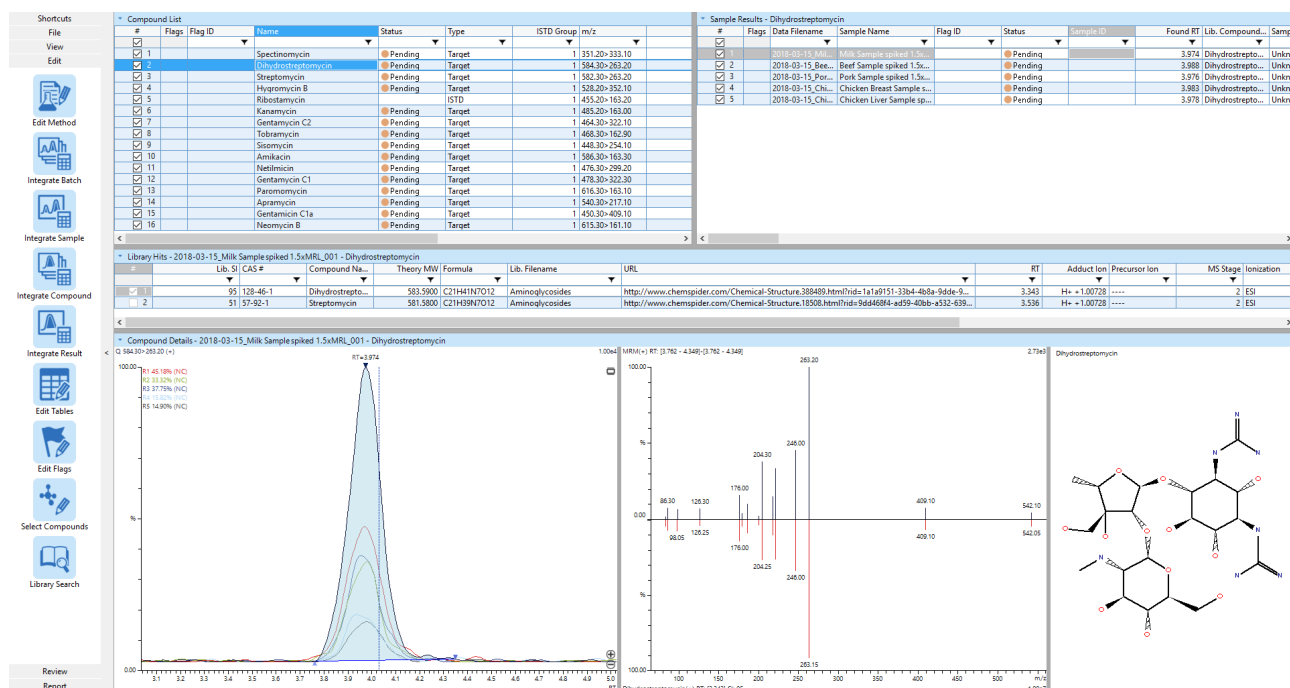


図4 牛乳中の Dihydrostreptomycin (濃度: 1.5×MRL) の MRM スペクトルを用いたライブラリ検索結果

Nexera、LCMS、および LabSolutions Insight は、株式会社 島津製作所の商標です。本文書に記載されている会社名、製品名、サービスマークおよびロゴは、各社の商標および登録商標です。なお、本文中では「TM」、「®」を明記していない場合があります。

トリプル四重極型 LC/MS/MS を用いた
エビおよび鶏卵抽出液中の
クロラムフェニコール分析

クロラムフェニコールは、広範な抗菌スペクトルを有する抗生物質であり、家畜の病気の予防および治療に動物用医薬品として幅広く利用されています。

ポジティブリスト制度が導入された際に、このクロラムフェニコールは、食品中に不検出とする成分として設定されましたが平成 26 年の見直しの際には、遺伝毒性を有し、発がん性の可能性を否定できないことなどから、許容一日摂取量（ADI）を設定すべきでない成分として再評価され、引き続き食品に含有されるものであってはならない成分とされました。

また、生体内でクロラムフェニコールグルクロン酸抱合体が加水分解され、クロラムフェニコールを生成することも確認されたことから、クロラムフェニコールグルクロン酸抱合体も測定対象に追加されることとなり、平成 29 年にクロラムフェニコールの試験方法が改正されました（平成 29 年厚生労働省告示第 49 号）。今回は、改正された試験法に準拠し、エビおよび鶏卵中のクロラムフェニコールを定量した分析例を紹介いたします。

H.Horiike

■ 試料の前処理

エビは細切り均一化し、10 g を量り採りました。また、鶏卵は、よく混合し均一化し 10 g を量り採りました。

それぞれにメタノールを加え、細切均一化した後、遠心分離して上澄みを取り出す操作を 2 回行った後、メタノールにて 100 mL に定容しました。4 mL を採取し、溶媒除去後、リン酸緩衝液 9 mL、 β -グルクロニターゼ溶液 1 mL を加え加水分解した後、更に酢酸エチルを加え遠心分離し酢酸エチル層を取り出しました。酢酸エチルによる抽出を 2 回行った後、ジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体カラムを用いて精製し、測定用試料としました。

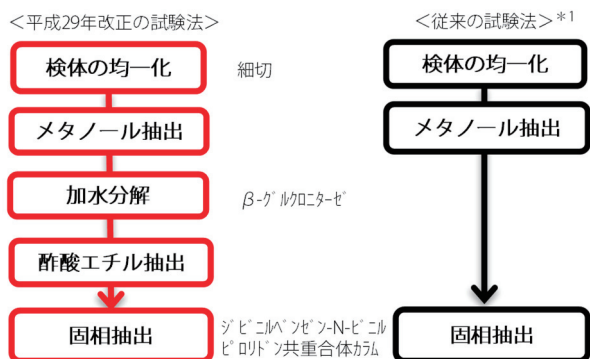
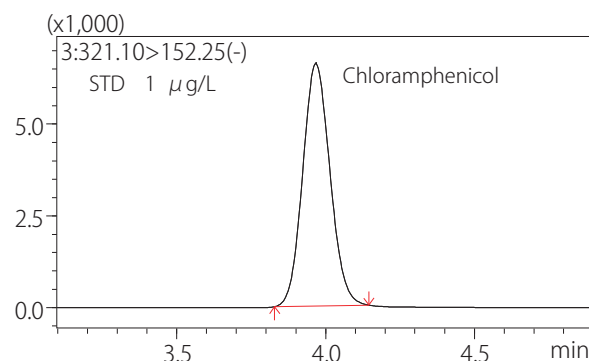
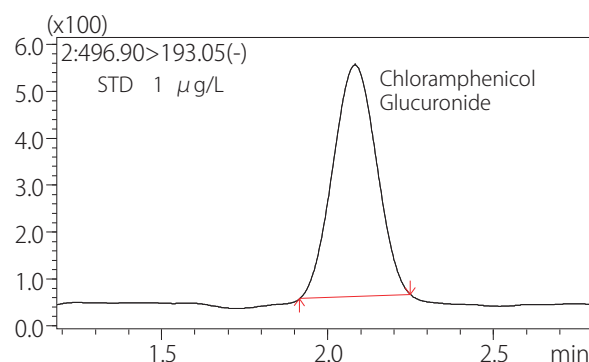


図1 前処理操作

■ クロラムフェニコールおよびクロラムフェニコールグルクロン酸抱合体混合標準液の分析

クロラムフェニコールおよびクロラムフェニコールグルクロン酸抱合体混合標準液 1 μ g/L 濃度を測定し得られた MRM クロマトグラムを図 2 に示しました。クロラムフェニコールの保持時間が 4 min になるように分析条件を設定しました。

試験法の改正と同時に留意事項が通知されており、酵素由来の妨害ピークが定量に影響を及ぼさないこと、またクロラムフェニコールグルクロン酸抱合体が前処理で十分加水分解されていることを予め確認しておく必要があります（生食基発 0223 第 3 号、平成 29 年 2 月 23 日）。

図2 クロラムフェニコールおよび
クロラムフェニコールグルクロン酸抱合体
混合標準液の各 MRM クロマトグラム

*1 平成 17 年厚生労働省告示第 499 号
昭和 34 年厚生省告示 370 号

表 1 分析条件

Column	: Shim-pack™ HR-ODS (150 mmL×2.1 mm.i.d., 3 μ m, Shimadzu Corp.)
Mobile phases	: 10 mmol/L ammonium acetate water / Acetonitrile = 70 / 30 (v/v)
Flow rate	: 0.35 mL/min
Column temperature	: 40 °C
Injection volume	: 5 μ L
Probe voltage	: -1.0 kV (ESI-Negative)
DL temperature	: 300 °C
Block heater temperature	: 500 °C
Interface temperature	: 400 °C
Nebulizing gas flow	: 3 L/min
Drying gas flow	: 10 L/min
Heating gas flow	: 10 L/min
MRM transition	: Chloramphenicol m/z 321.10>152.25 (定量) 321.10>257.05 (確認) : Chloramphenicol glucuronide m/z 496.90>193.05 (定量) 496.90>113.00 (確認)

■ 検量線の直線性

クロラムフェニコール 0.1~2 μ g/L、クロラムフェニコールグルクロン酸抱合体 0.5~10 μ g/L の各濃度範囲における 5 点の検量線を作成しました。

LC/MS 法としてクロラムフェニコールの畜農産物における検出下限は 0.005 mg/kg とされており図 3 に示す通り、定量下限として 0.1 μ g/L から良好な直線性が得られました。

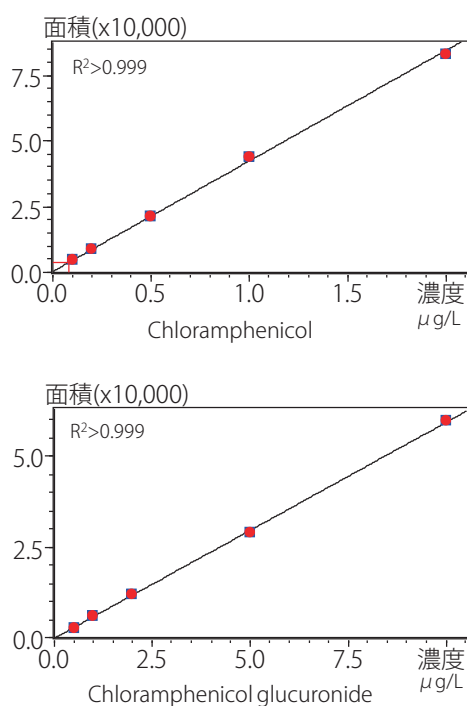


図 3 検量線

■ エビおよび鶏卵の分析

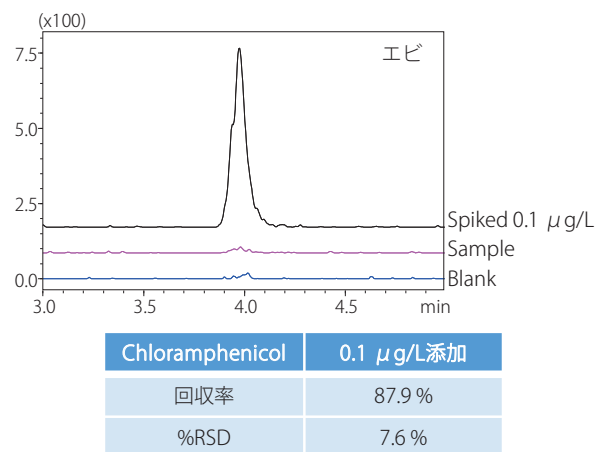


図 4 添加回収試験結果 (n=3、エビ)

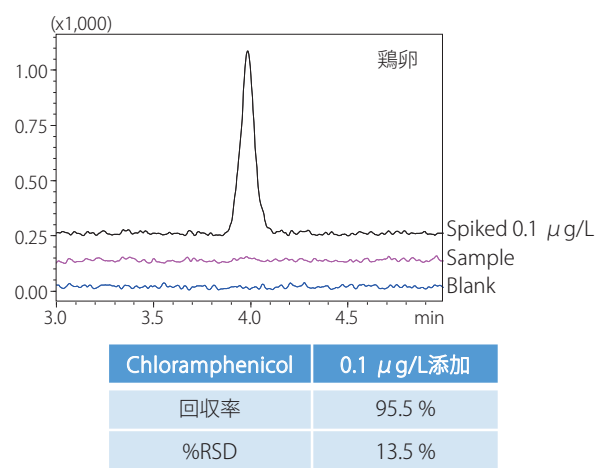


図 5 添加回収試験結果 (n=3、鶏卵)

測定の結果、市販のエビ（インド産ブラックタイガー）および鶏卵（日本国産）の両ブランク試料において、クロラムフェニコールは検出されませんでした。よって、両ブランク試料に、それぞれ 0.1 μ g/L 濃度になるようクロラムフェニコール標準溶液のみを添加し測定を行い、回収率 85%以上得られることが確認できました。

また、ブランク溶媒にクロラムフェニコールグルクロン酸抱合体のみを添加し、同前処理を行い測定した結果、クロラムフェニコールグルクロン酸抱合体は不検出となり、一方でクロラムフェニコールが検出されたことから、今回実施した前処理によって十分に加水分解できていることが確認できました。

このように LCMS™-8050 を用いることで、0.1 μ g/L 濃度より精度良く分析が可能です。

トリプル四重極型LC/MS/MSを用いた牛乳
および鶏卵抽出液中のクロルプロマジン分析

クロルプロマジン塩酸塩は、精神安定剤（医薬品）として利用されています。一方でクロルプロマジンを有効成分とする動物用医薬品としては、「食用に供するために出荷する対象動物及び食用に供するために出荷する乳、鶏卵等を生産する対象動物への使用」が禁止されています。（平成 25 年農林水産省令第 44 号）

また、ポジティブリスト制度においても、クロルプロマジンが食品中に含有されるものであってはならないと位置付けられており、その試験法として食品、添加物等の規格基準（昭和 34 年厚生省告示第 370 号）において LC/MS 法が示されてきました。

しかしながら、畜水産物全般において、この試験法が適用できるものではなく、食品によっては良好な分析結果が得られない場合もあったことから試験法の見直しが進められています。

平成 31 年 3 月の薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会にて、メソッド開発が完了した新たなクロルプロマジン試験法の諮問書（厚生労働省発生食 0220 第 4 号）が答申されたところでした。

今回は、諮問書に示された試験法に準拠し、牛乳および鶏卵中のクロルプロマジンを分析した例を紹介します。

H.Horiike

■ 試料の前処理

試験法答申案に従って、牛乳および鶏卵を 10 g を量り採り、アセトンによる抽出を 2 回繰り返した後、100 mL に定容しました。

10 mL を採取し、超純水およびギ酸を加え、スルホン酸塩修飾メタクリレート共重合体ミニカラムを用いて固相抽出を行いました。

溶出液を 40℃で約 1 mL まで濃縮した後、0.1%ギ酸水溶液および 0.1%ギ酸アセトニトリルの混液（3：2）にて、正確に 5 mL に定容し、これを測定用試料としました。

サンプルの適用範囲が増えたものの、従来の試験法より処理過程が少ないため、容易に前処理を行うことが可能です。

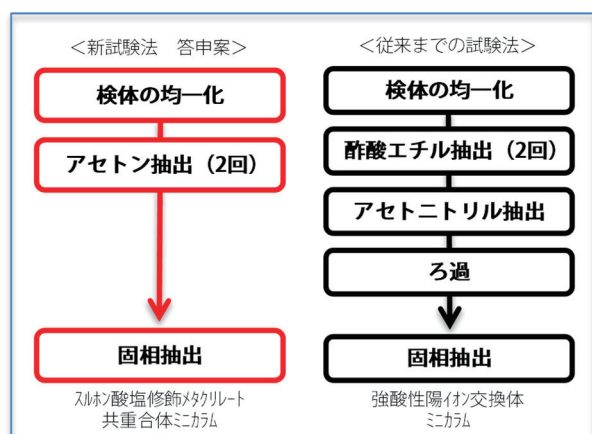


図1 前処理操作

■ クロルプロマジン標準液の
MRM クロマトグラムおよび検量線の直線性

クロルプロマジン標準液（10 ng/L）を測定し、得られたMRM クロマトグラムを図2に示しました。答申されている試験法では検出下限値として注入量 5 μ L において、20 ng/L とされていますが、LCMS™-8050 を用いれば注入量を 2 μ L に低減しても定量下限濃度として 10 ng/L から測定が可能です。

図3に 10～1,000 ng/L における検量線を示し、寄与率 $R^2 > 0.9998$ と良好な直線性が得られました。また、表1にこれら分析条件を示しました。

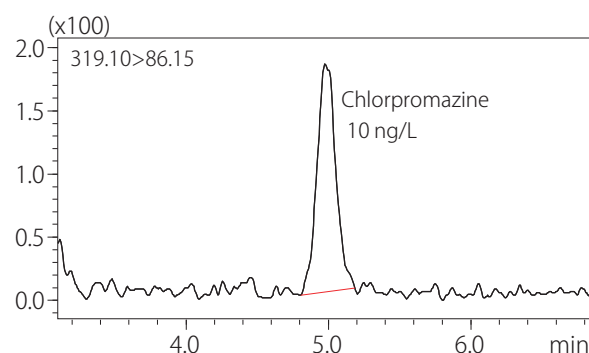


図2 クロルプロマジン標準液のMRMクロマトグラム

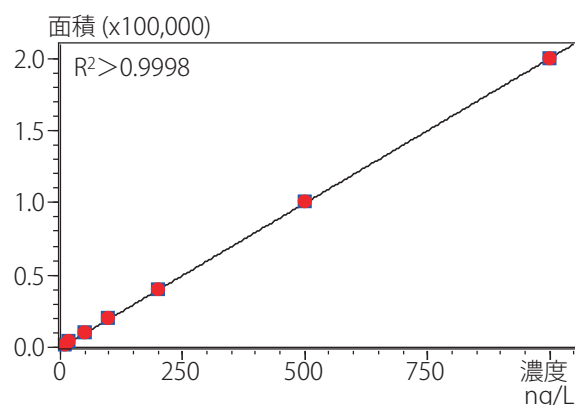


図3 検量線

表 1 測定条件

Column	: Shim-pack™ HR-ODS (150 mmL×2.1 mm.i.d., 3 μm, Shimadzu Corp.)
Mobile phases	: 0.1% formic acid water / 0.1% formic acid acetonitrile = 72 / 28 (v/v)
Flow rate	: 0.20 mL/min
Column temperature	: 40 °C
Injection volume	: 2 μL
Probe voltage	: +1.0 kV (ESI-positive)
DL temperature	: 250 °C
Block heater temperature	: 350 °C
Interface temperature	: 300 °C
Nebulizing gas flow	: 2 L/min
Drying gas flow	: 5 L/min
Heating gas flow	: 15 L/min
MRM transition	: Chlorpromazine <i>m/z</i> 319.10>86.15 (定量) 321.10>58.10 (確認)

■牛乳および鶏卵の分析

前処理を含めた操作ブランクを測定し、分析種が不検出であることを確認しました。（図 4 を参照）

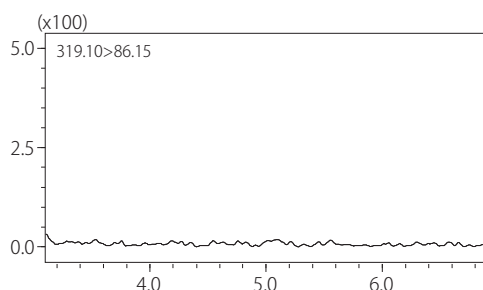


図 4 操作ブランクの MRM クロマトグラム

市販の日本国内産の牛乳および鶏卵を前処理し、抽出液の測定により得られた各 MRM クロマトグラムを図 5 の上図および図 6 の上図に示しました。牛乳においては、微小ピークが検出されましたが、概ね定量下限濃度の 1/5 以下と換算され、また鶏卵においては、不検出となりました。

また、添加回収試験を実施するため牛乳および鶏卵に 0.0001 mg/kg 相当になるようにクロルプロマジン標準液を添加し、その後図 1 の手順に従い前処理した試験溶液を調製しました。

測定より得られた MRM クロマトグラムを図 5 の下図および図 6 の下図にそれぞれ示しました。試料中 0.0001 mg/kg に相当する試験溶液の濃度は、20 ng/L となります。表 2 および表 3 に示す通り、回収率(真度)は、牛乳の抽出液で 103%、鶏卵の抽出液で 102%と非常に良好な結果が得られました。このように LCMS-8050 を用いることで、クロルプロマジンを精度良く測定することが可能です。

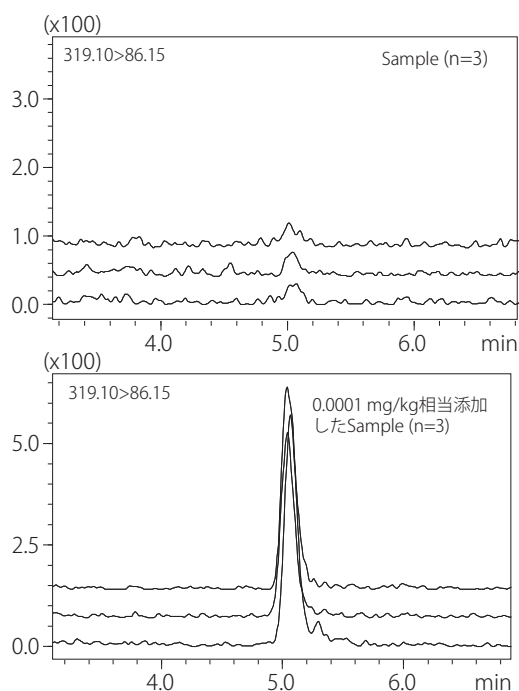


図 5 MRM クロマトグラム (n=3、牛乳)

表 2 添加回収試験結果 (n=3、牛乳)

	Average concentration	Average recovery	Area %RSD
Spiked sample	20.69 ng/L	103%	5.71

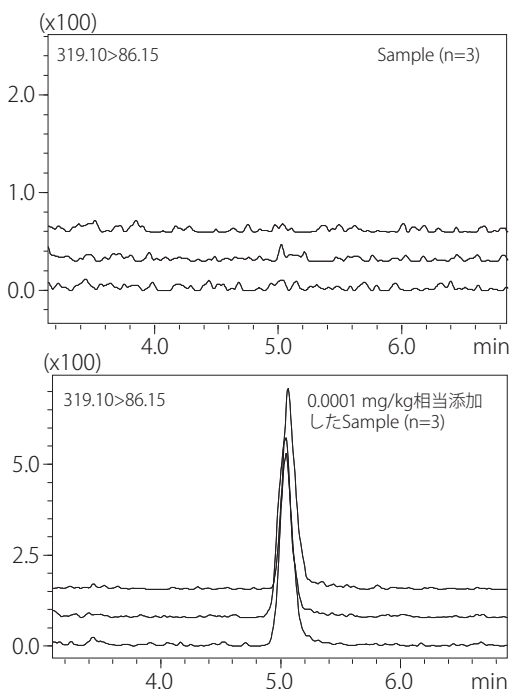


図 6 MRM クロマトグラム (n=3、鶏卵)

表 3 添加回収試験結果 (n=3、鶏卵)

	Average concentration	Average recovery	Area %RSD
Spiked sample	20.50 ng/L	102%	2.45

Shim-pack および LCMS は、株式会社 島津製作所の日本およびその他の国における商標です。

初版発行：2019 年 9 月

トリプル四重極型 LC/MS/MS を用いた小麦中の
デオキシニバレノール関連物質 4 成分の一斉分析Analysis of Nivalenol, Deoxynivalenol, 3-Acetyldeoxynivalenol and
15-Acetyldeoxynivalenol Using Triple Quadrupole LC/MS/MS [LCMS-8050]

ニバレノールおよびデオキシニバレノールは赤かび病菌として知られるフザリウム属真菌が産生するかび毒です。デオキシニバレノールについては、平成 14 年 5 月 21 日に「小麦のデオキシニバレノールに係る暫定的な基準値の設定について」（食発第 0521001 号）で暫定的な基準値 1.1 ppm が設定されました。「デオキシニバレノールの試験法について」（食安発第 0717001 号、平成 15 年 7 月 17 日）には、HPLC による定性および定量

試験法と LC/MS による確認試験法が記載されています。

本報では、LC-MS/MS を用いることでニバレノールとデオキシニバレノール、デオキシニバレノールの代謝物である 3-アセチルデオキシニバレノールと 15-アセチルデオキシニバレノールも加え 4 成分を高感度に一斉分析することが可能となりますのでご紹介します。

M. Kobayashi

■標準溶液の分析

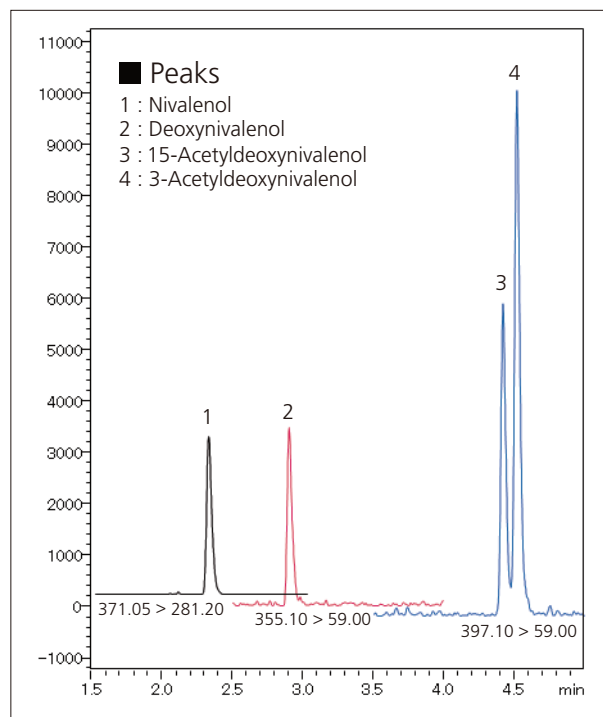
Analysis of a Standard Mixture

Fig. 1 に、4 成分混合標準溶液（各 10 ppb）を 2 μ L 注入した時のクロマトグラムと Table 1 に保持時間および面積値の 6 回繰り返し再現性を示します。ニバレノール類はエレクトロスプレーイオン化（ESI）法ネガティブモードで検出が可能です。LC の溶離液として水とアセトニトリルでも LC/MS 分析可能ですが、溶離液 A に低濃度の酢酸アンモニウム（今回は 0.5 mmol/L）を添加することで感度が向上しました。Fig. 1 には、分析したいいくつかの MRM トランジションの中で一番感度の良いトランジションのクロマトグラムを示しています。分析条件を Table 2 に示します。

分析条件の頑健性確認の為に、暫定基準値の約 1/100 にあたる 10 ppb の標準溶液を 6 回繰り返し分析しました。その際の保持時間および面積値の相対標準偏差（% RSD）を Table 1 に示します。保持時間および面積の再現性は良好でした。

Table 1 再現性 (10 ppb, n=6)
Repeatability (10 ppb, n=6)

	R.T. %RSD	Area %RSD
Nivalenol	0.04	2.57
Deoxynivalenol	0.04	6.52
15-Acetyldeoxynivalenol	0.06	4.09
3-Acetyldeoxynivalenol	0.05	2.58

Fig. 1 標準溶液の MRM クロマトグラム (各 10 ppb)
MRM Chromatograms of a Standard Mixture (10 ppb each)

■検量線の直線性

Linearity of Calibration Curves

Fig. 2 に Table 2 の条件で分析した検量線を示します。各成分 1 ~ 250 ppb の濃度範囲で検量線を作成したところ、寄与率 $R^2 = 0.999$ 以上と良好な直線性が得られました。

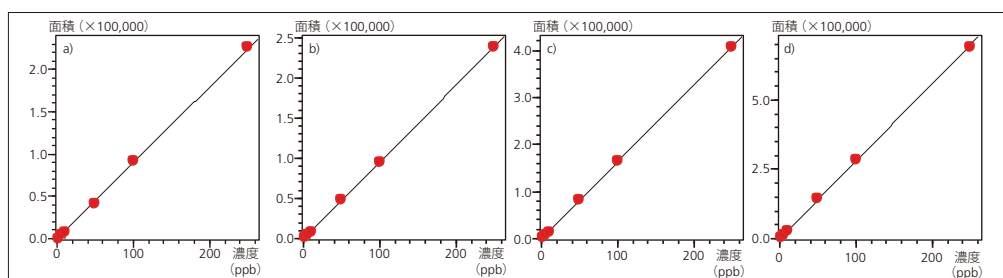


Fig. 2 検量線の直線性

a) ニバレノール b) デオキシニバレノール c) 15-アセチルデオキシニバレノール d) 3-アセチルデオキシニバレノール
Linearity of Calibration Curves a) Nivalenol b) Deoxynivalenol c) 15-Acetyldeoxynivalenol d) 3-Acetyldeoxynivalenol

■小麦の分析

Analysis of Wheat

Fig. 3 に小麦の前処理手順を示しました。小麦抽出液は多機能カラム“MultiSep # 227”（Romer Labs 社製）または“Autoprep MF-T”（昭和電工社製）を用いて精製しました。“MultiSep # 227”前処理後の試料（標準品未添加）と標準品添加試料のクロマトグラムを Fig. 4 に示しました。標準品は 4 成分がそれぞれ 25 ppb（暫定基準値の約 1/40）になるように添加しました。前処理後の試料のクロマトグラムでは

特に大きな夾雑物のピークは検出されませんでした。また、デオキシニバレノールが検出されましたが、暫定基準値以下でした。4 成分の添加回収率は 101 ~ 107 % と良好で、特にマトリクスエフェクトは認められませんでした。“Autoprep MF-T”（昭和電工社製）で前処理した試料においても、添加回収率について同等の結果が得られることを確認しています。

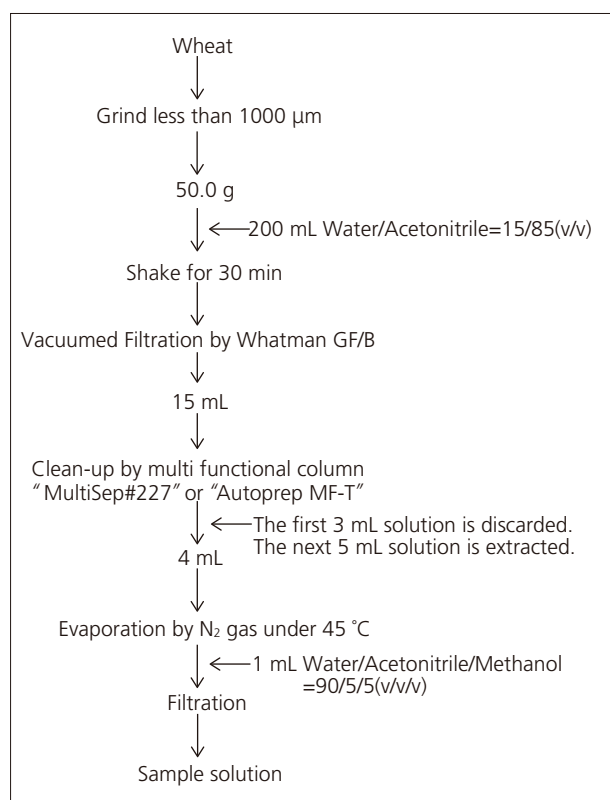


Fig. 3 前処理
Pretreatment

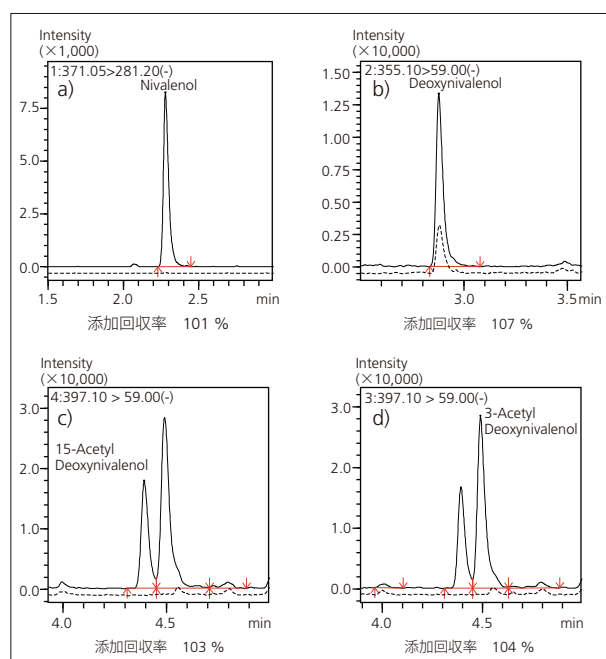


Fig. 4 小麦試料のクロマトグラム
(点線：標準品未添加，実線：標準品添加 25 ppb)
a) ニバレノール b) デオキシニバレノール
c) 15- アセチルデオキシニバレノール
d) 3- アセチルデオキシニバレノール
Chromatograms of Wheat
(Dotted line: Unspiked Sample, Solid line: Spiked Sample, Spiked 25 ppb each)
a) Nivalenol b) Deoxynivalenol
c) 15-Acetyldeoxynivalenol d) 3-Acetyldeoxynivalenol

Table 2 分析条件
Analytical Conditions

Column	: Shim-pack XR-ODS III (150 mmL. × 2.0 mm I.D., 2.2 μm)		
Mobile Phases	: A 0.5 mmol/L Ammonium Acetate - Water : B Acetonitrile		
Time Program	: 5 %B(0 min) → 45 %B (5.0 min) → 95 %B (5.01-7.0 min) → 5 %B (7.01 min) → STOP (12 min)		
Flow Rate	: 0.3 mL/min		
Column Temperature	: 40 °C		
Injection Volume	: 2 μL		
Probe Voltage	: -3.0 kV (ESI-negative mode)		
DL Temperature	: 100 °C		
Block Heater Temperature	: 200 °C		
Interface Temperature	: 200 °C		
Nebulizing Gas Flow	: 2 L/min		
Drying Gas Flow	: 10 L/min		
Heating Gas Flow	: 10 L/min		
MRM Transition	: Nivalenol	371.05 > 281.20	CE:16.0 V
	: Deoxynivalenol	355.10 > 59.00	CE:22.0 V
	: 15-Acetyldeoxynivalenol	397.10 > 59.00	CE:22.0 V
	: 3-Acetyldeoxynivalenol	397.10 > 59.00	CE:26.0 V

トリプル四重極型 LC/MS/MS を用いた 下痢性貝毒の分析

Analysis of Diarrhetic Shellfish Toxin Using Triple Quadrupole
LC/MS/MS [LCMS-8050]

下痢性貝毒 (Diarrhetic Shellfish Toxin) は、1980 年 7 月の厚生労働省通知に基づきマウス毒性試験通知法 (Mouse Bioassay; 以下略 MBA) による下痢性貝毒の検査法および規制値 (貝可食部 1 g 当たり 0.05 MU^{*}) が通知されています。規制値を超える貝類は、食品衛生法第 6 条第 2 号の規定に基づいて販売等が禁止されています。

MBA 法は検出感度や測定精度の低さ、結果のバラツキ等の問題で、国際的には高精度高感度分析が可能な液体クロマトグラフィー質量分析法などの機器分析導入や検討が進められています。EU では 2015 年 1 月より機器分析法への完全移行が予定されています。

このような国際動向を踏まえて厚生労働省では、機器分析法への移行の必要性や機器分析に対応した基準値設定についての審議を行い、日本でのオカダ酸群 (以下略、OA 群) についてコーデックス規格導入を検討しています (参照引用資料 1)。

Table 1 コーデックス規格
CODEX STAN 292-2008

	基準値
OA 群 (OA 及び DTX 群)	0.16 mg OA 当量/kg 貝可食部

Fig. 1 に、LC/MS/MS 法によるオカダ酸 (OA) とジノフィシストキシン 1 (DTX1) とペクテノトキシン群 (PTX1, 2, 6) とイエットキシン 1 (YTX1) の高感度分析の例を示します。このように各成分を高感度を選択性高く分離分析することが可能です。

Fig. 2 には OA の、Fig. 3 には DTX1 の標準品のクロマトグラム (MRM) を示しました。

※貝可食部 20 g 相当をマウスの腹腔内投与後、24 時間以内に 3 匹中 2 匹以上が死ぬ毒量。

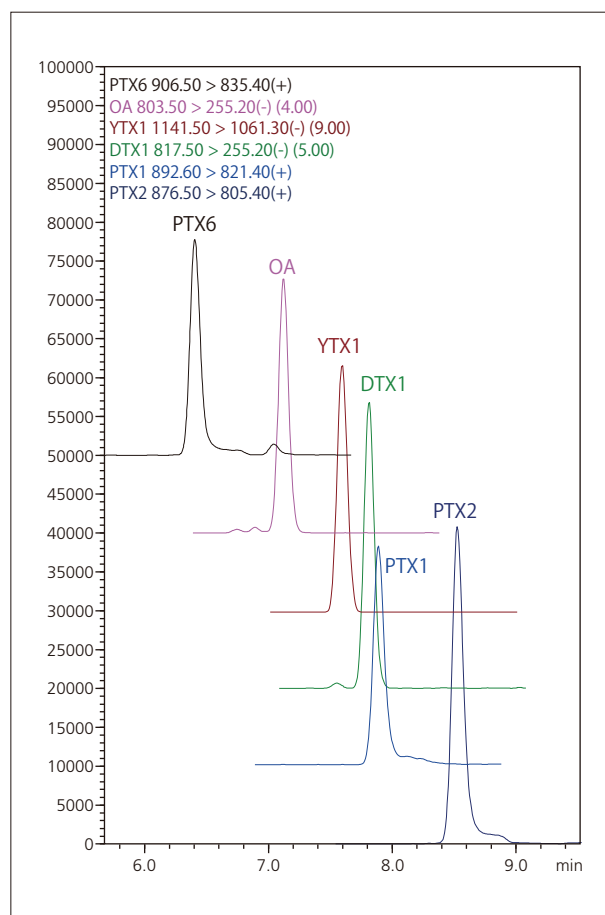


Fig. 1 下痢性貝毒標準溶液 (各 1 ng/mL) の MRM クロマトグラム
MRM Chromatograms of Diarrhetic Shellfish Toxin (1 ng/mL)

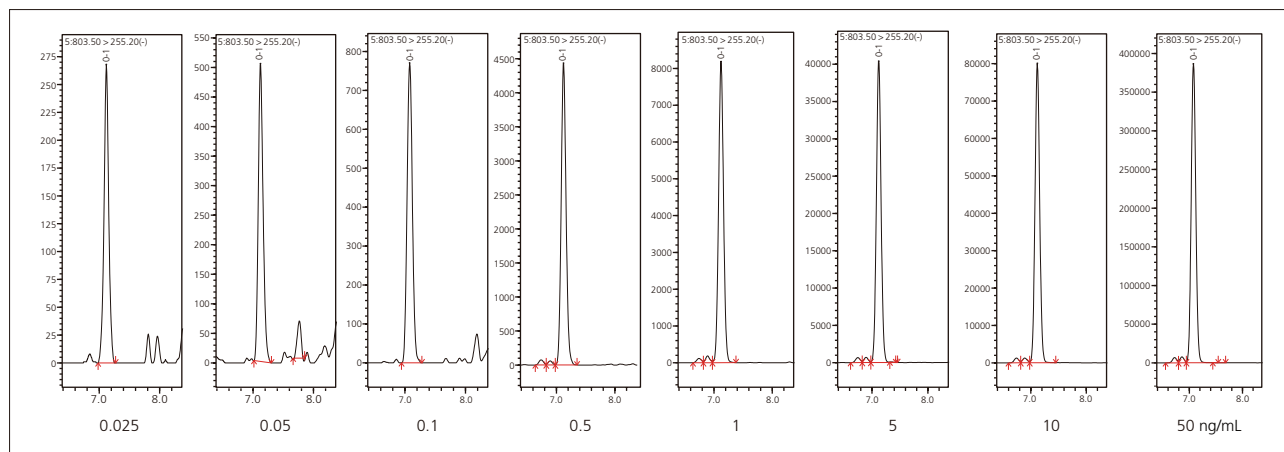


Fig. 2 オカダ酸 (OA) の MRM クロマトグラム
MRM Chromatograms of Okadaic Acid (OA)

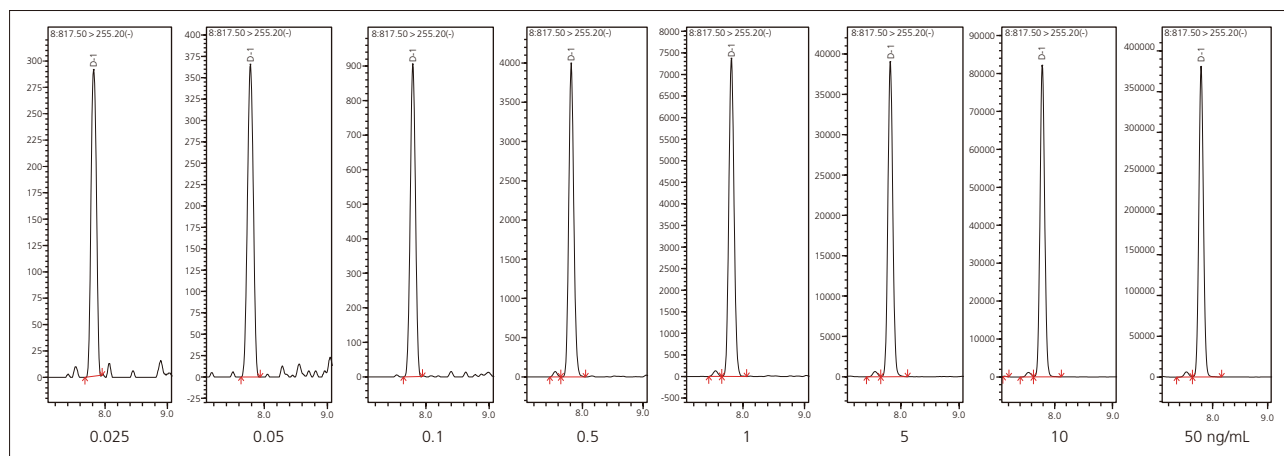


Fig.3 ジノフィストキシン 1 (DTX1) のMRM クロマトグラム
MRM Chromatograms of Dinophysistoxin1 (DTX1)

また, Fig. 4 に OA と DTX1 の検量線を示しました。寄与率 0.9999 以上の良好な直線性が得られました。その他の 4 成分に関しても同等の検量線が得られました。

このように, 貝毒の LC/MS/MS による機器分析は, 高感度高精度であり, とても有効な分析手法です。現行の MBA 法に代わる方法として注目されています。 M. Kobayashi

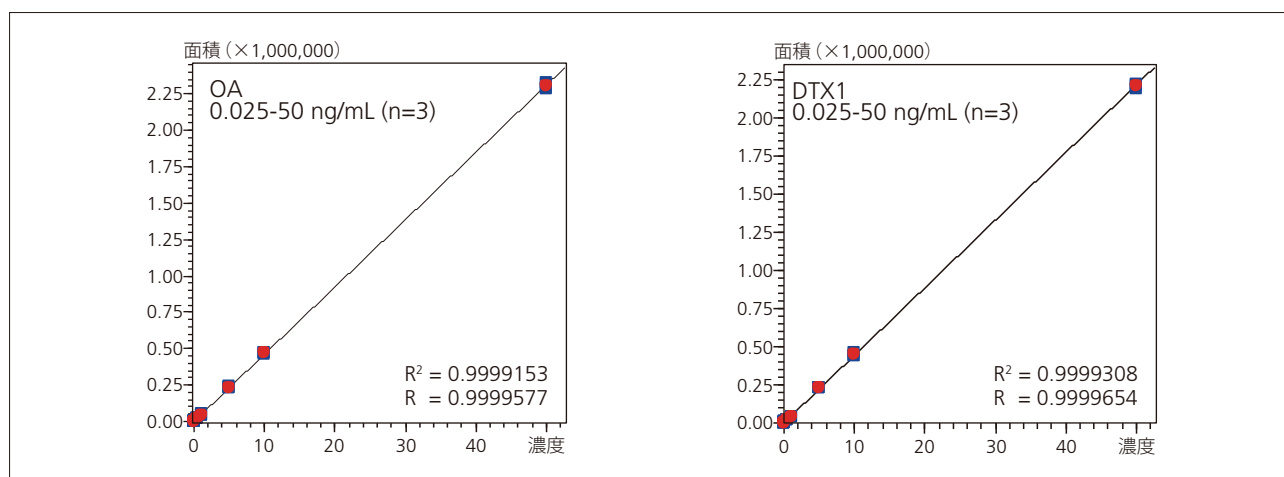


Fig.4 オカダ酸とジノフィストキシン 1 の検量線
Calibration Curves of OA and DTX1

Table 2 分析条件
Analytical Conditions

Column	: InertSustain C8 (50 mmL. × 2.1 mm I.D., 3 μm)
Mobile Phases	: A 2 mmol/L Ammonium Formate – Water (pH adjusted to 8.5 with ammonia water) : B Methanol
Time Program	: 20 %B (0 min) – 100 %B (10 min) – 20 %B (10.01 min) – STOP (15 min)
Flow Rate	: 0.2 mL/min
Column Temperature	: 40 °C
Injection Volume	: 10 μL
Probe Voltage	: +4.0 kV/-3.0 kV (ESI-positive / negative mode)
DL Temperature	: 200 °C
Block Heater Temperature	: 400 °C
Interface Temperature	: 350 °C
Nebulizing Gas Flow	: 3 L/min
Drying Gas Flow	: 10 L/min
Heating Gas Flow	: 10 L/min
MRM Transition	: (+) PTX6 906.50 > 835.40, PTX1 892.60 > 821.40, PTX2 876.50 > 805.40 : (-) OA 803.50 > 255.20, YTX1 1141.50 > 1061.30, DTX1 817.50 > 255.20

下痢性貝毒標準品は独立行政法人水産総合研究センター中央水産研究所の鈴木敏之博士にご提供いただきました。

引用資料 1 : 2014 年 7 月 食品安全委員会 「自然毒評価書 二枚貝中のオカダ酸群」
<http://www.fsc.go.jp/fscis/evaluationDocument/list?itemCategory=009>

初版発行 : 2015 年 1 月

かび毒 規制 18 成分の LC/MS/MS による
一斉分析

Multi-Residue Analysis of 18 Regulated Mycotoxins by LC/MS/MS

かび毒（マイコトキシン）は、その毒性により、食品や飼料における重要な汚染物の一つです¹⁾。マイコトキシンは、それら化学構造から、広い物理化学的性質を持った低分子物質の一群として扱われます²⁾。マイコトキシンは、一般的に農産物に寄生、付着する菌類により産生されますが、目視では見つけることができません³⁾。多くは、小麦、大麦、エン麦、ライ麦、とうもろこし、米、豆などの穀類および、牛乳において汚染が問題となっています⁴⁾。

食品中における、かび毒はその強い毒性のため、日本、欧米、中国を含めた世界各地で規制対象となっています⁵⁾。特に EU では、規制値やサンプリング方法、分析方法などが、EU 規制 (EC 1886/2006 (修正版: EC 1126/2007), EC 401/2006) により定められています。

複雑なマトリックスからなる食品や飼料中の、低濃度対象成分を検出する必要があるため、かび毒の分析には、LC/MS/MS が最も広く用いられる分析手法となっています。マイコトキシンの、広い物理的または化学的性質から、これまで幾つかの対象成分のグループに対して、個別の LC/MS/MS が用いられていました。

■ 分析条件
Experimental

抽出前処理は、英国 Scientific Analysis Laboratories にて、検証済みの抽出手順により行いました。分析は、Nexera UHPLC, LCMS-8060 液体クロマトグラフ質量分析計にて行い、分析条件は Table 1 に示しています。検量線は、¹³C ラベル化内部標準物質を用いて、内部標準法により作成しました。MRM 条件は、対象成分および、内部標準物質を合わせて、Table 2 に示しました。移動相溶媒、その他主要な試薬類は、LC/MS 用の試薬を用いて分析を行いました。

本アプリケーションニュースでは、単独の LC/MS/MS による分析手法を、食の安全という観点で規制される 18 成分に適用した事例を紹介します。

検討により得られた検出下限は、EU 規制として EC/1886/2006 により示された許容値が、それ以下であることが確認されました。

本法の対象成分は、アフラトキシン (B1, B2, G1, G2), フモニシン (B1, B2, B3), オクラトキシン A (OTA), およびトリコセテン類 (3-アセチルデオキシニパレノール (3AcDON), 15-アセチルデオキシニパレノール (15AcDON), デオキシニパレノール (DON), ジアセトキシスシルペノール (DAS), フザレノン-X (FUS X), HT-2, ネオソラニノール (NEO), ニパレノール (NIV), T2, ゼアラレノン (ZON)) の 18 成分であり、これらの分析に要する時間は約 12.5 分間となりました。

D. Baker¹ C. Titman¹ J. Horner² N. Loftus¹:

¹ Shimadzu UK ² Scientific Analysis Laboratories

Table 1 分析条件
Analytical Conditions

UHPLC	: Nexera LC System
Mobile Phase	: A; Water with additives B; Methanol with additives
Column	: Reversed phase column (100 mm L. x 2.1 mm I.D.)
Column Temperature	: 40 °C
Flow Rate	: 0.4 mL/minute
Gradient	: B. Conc 15 % (0 min) → 25 % (1 min) → 40 % (2 min) → 41 % (4.5 min) → 100 % (7.5 - 10.0 min) → 15 % (10.10 min) → Stop (12.5 min)
LC-MS/MS	: LCMS-8060
Dwell Time	: 10 to 40 msec.
Pause Time	: 1 msec.
Ionisation Mode	: ESI +/-
Polarity Switching	: 5 msec.

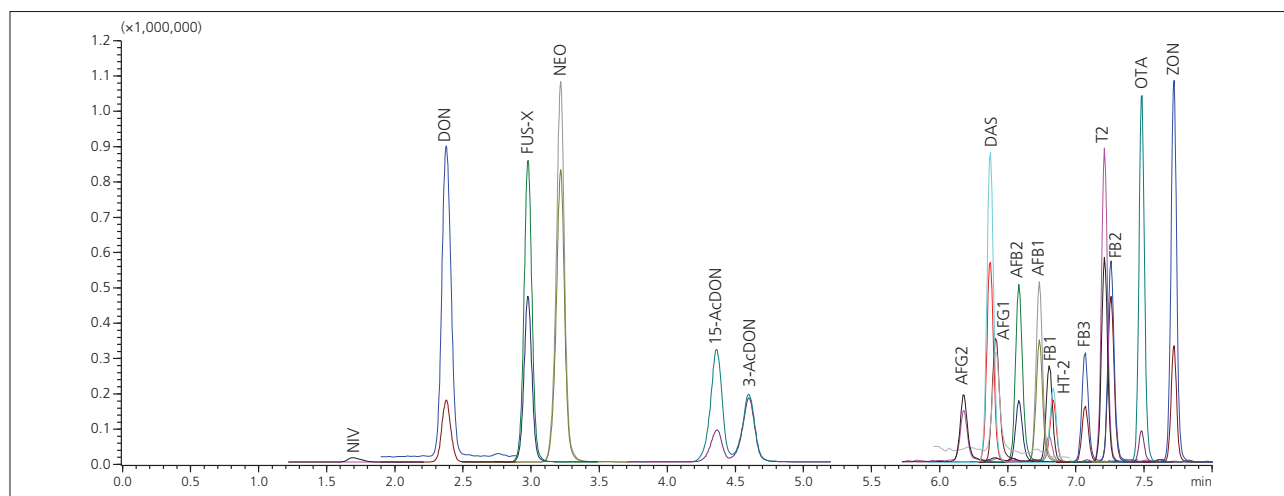


Fig. 1 かび毒 18 成分の MRM クロマトグラム
MRM Chromatograms of 18 Mycotoxins

AFB1 (aflatoxin B1; 1 µg/kg), AFB2 (aflatoxin B2; 1 µg/kg), AFG1 (aflatoxin G1; 1 µg/kg), AFG2 (aflatoxin G2; 1 µg/kg), OTA (ochratoxin A; 4 µg/kg), FB1 (fumonisins B1; 100 µg/kg), FB2 (fumonisins B2; 100 µg/kg), FB3 (fumonisins B3; 100 µg/kg), 15-AcDON (15-acetyldeoxynivalenol; 100 µg/kg), 3-AcDON (3-acetyldeoxynivalenol; 100 µg/kg), DON (deoxynivalenol; 100 µg/kg), DAS (diacetoxyscripanol; 100 µg/kg), FUS-X (fusarenon-X; 100 µg/kg), HT-2 (100 µg/kg), T-2 (100 µg/kg), NEO (neosolaniol; 100 µg/kg), NIV (nivalenol; 100 µg/kg), ZON (zearealenone; 100 µg/kg).

各成分につき、2 種類のトランジションによる MRM クロマトグラムを重ねて表示しています。一部の成分 (NEO (x0.3), T2 (x0.3), AF (x3), FB (x2)) は、表示スケールを補正しています。

For clarity only 2 MRM transitions are displayed per compound and the following MRM chromatograms were changed; NEO (x0.3), T2 (x0.3), AF (x3), FB (x2)

Table 2 MRM 条件および各成分の検量線寄与率一覧
All MRM's Measured in the Mycotoxin Method and Corresponding Calibration Range and R² Result

Compound name	Parent ion	Ret. Time (mins)	MRM 1	MRM 2	MRM 3	ISTD	Calibration range µg/kg	R ²
1 Aflatoxin B1	[M+H] ⁺	6.773	313 > 241	313 > 285	313 > 269	¹³ C Aflatoxin B1	0.1 - 10	0.9988
2 Aflatoxin B2	[M+H] ⁺	6.621	315 > 259	315 > 287	315 > 243	¹³ C Aflatoxin B2	0.1 - 10	0.9995
3 Aflatoxin G1	[M+H] ⁺	6.453	329 > 243	329 > 200		¹³ C Aflatoxin G1	0.1 - 10	0.9998
4 Aflatoxin G2	[M+H] ⁺	6.219	331 > 245	331 > 285		¹³ C Aflatoxin G2	0.1 - 10	0.9965
5 Ochratoxin A	[M+H] ⁺	7.509	404 > 239	404 > 221	404 > 358	¹³ C Ochratoxin A	0.4 - 40	0.9969
6 Fumonisin B1	[M+H] ⁺	6.811	722 > 352	722 > 334	722 > 704	¹³ C Aflatoxin B2	10 - 1000	0.9937
7 Fumonisin B2	[M+H] ⁺	7.260	706 > 318	706 > 354	706 > 688	¹³ C Aflatoxin B2	10 - 1000	0.9998
8 Fumonisin B3	[M+H] ⁺	7.073	706 > 318	706 > 354	706 > 688	¹³ C Aflatoxin B2	10 - 1000	0.9991
9 Deoxynivalenol	[M+H] ⁺	2.372	297 > 279	297 > 249		¹³ C Deoxynivalenol	10 - 1000	0.9992
10 Diacetoxyscirpenol	[M+NH ₄] ⁺	6.349	384 > 229	384 > 307	384 > 247	¹³ C T2 Toxin	10 - 1000	0.9994
11 T2	[M+NH ₄] ⁺	7.206	484 > 185	484 > 215	484 > 245	¹³ C T2 Toxin	10 - 1000	0.9989
12 HT-2	[M+Na] ⁺	6.822	447 > 345	447 > 285		¹³ C T2 Toxin	10 - 1000	1.0000
13 Nivalenol	[M-CH ₃ COO] ⁻	1.684	371 > 281	371 > 311		¹³ C HT-2	10 - 1000	0.9991
14 Neosolaniol	[M+NH ₄] ⁺	3.227	400 > 215	400 > 305	400 > 185	¹³ C Deoxynivalenol	10 - 1000	0.9995
15 Fusarenon X	[M+H] ⁺	2.986	355 > 247	355 > 277		¹³ C Deoxynivalenol	10 - 1000	0.9987
16 Zearalenone	[M-H] ⁻	7.711	317 > 175	317 > 131	317 > 273	¹³ C T2 Toxin	10 - 1000	0.9985
17 15-Acetyldeoxynivalenol	[M+H] ⁺	4.406	339 > 261	339 > 297		¹³ C Deoxynivalenol	10 - 1000	1.0000
18 3-Acetyldeoxynivalenol	[M+H] ⁺	4.618	339 > 261	339 > 297		¹³ C Deoxynivalenol	10 - 1000	0.9986
19 ¹³ C HT-2	[M+NH ₄] ⁺	6.844	464 > 278					
20 ¹³ C T2	[M+NH ₄] ⁺	7.228	508 > 322					
21 ¹³ C Aflatoxin B1	[M+H] ⁺	6.754	330 > 301					
22 ¹³ C Aflatoxin B2	[M+H] ⁺	6.614	332 > 303					
23 ¹³ C Aflatoxin G1	[M+H] ⁺	6.435	346 > 212					
24 ¹³ C Aflatoxin G2	[M+H] ⁺	6.219	348 > 259					
25 ¹³ C Ochratoxin A	[M+H] ⁺	7.516	424 > 250					

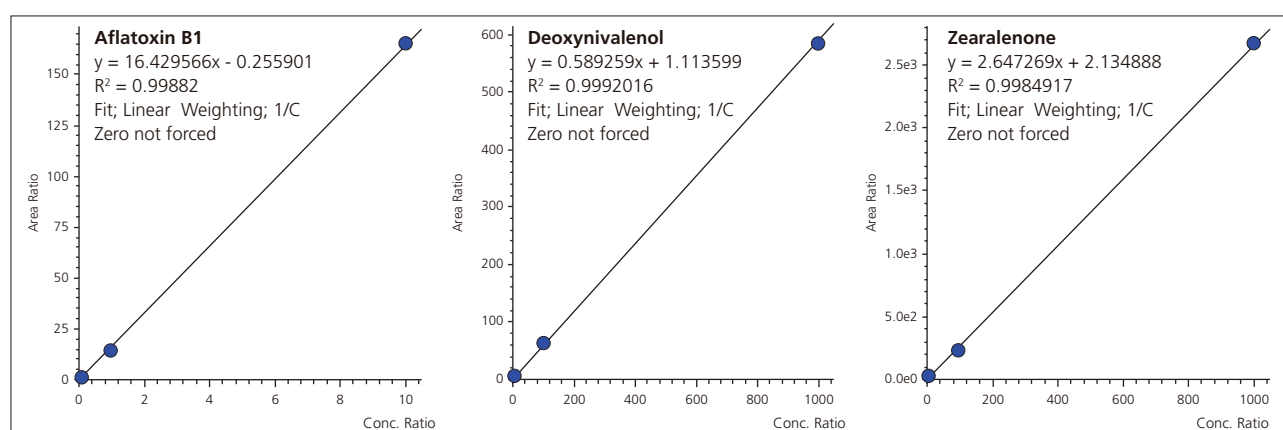


Fig. 2 主要化合物の検量線 – 検量線範囲: aflatoxin (0.1 - 10 µg/kg), deoxynivalenol (10 - 1000 µg/kg), zearalenone (10 - 1000 µg/kg) – Calibration Curves for Selected Compounds.
Calibration Curves for aflatoxin (0.1 - 10 µg/kg), deoxynivalenol (10 - 1000 µg/kg), and zearalenone (10 - 1000 µg/kg).

■ まとめ

Conclusions

12.5 分間の分析サイクルで、かび毒 18 成分の一斉分析を行いました。EU における規制値を十分に満たす範囲 (0.1 - 10 µg/kg) で、寄与率 R² 0.998 以上の良好な検量線直線性を確認しました。15- アセチルデオキシニバレノールと、3- アセチルデオキシニバレノールの分離も含めて、対象成分の良好な分離を確認しました。

■ 参考文献

References

- 1) A. Rahmani, S. Jinap, and F. Soleimany. 2009. Qualitative and Quantitative Analysis of Mycotoxins. Comprehensive reviews in food science and food safety. 8: 202-251.
- 2) M. E. Zain. 2011. Impact of mycotoxins on humans and animals. Journal of Saudi Chemical Society. 15(2): 129-144.
- 3) M. Sameni, A. Dübecke and J. F. Weber. 2014. Simultaneous Multi-Residue Determination of Mycotoxins in Foods Using LC-MS/MS. Journal of Environmental & Analytical Toxicology. 5 (2): 1000259
- 4) J. W. Bennett and M. Klich. 2003. Mycotoxins. Clinical Microbiology Reviews. 16 (3): 497-516
- 5) Mycotoxins regulations for Food.
http://www.mycotoxins.info/myco_info/consum_regu.html
 (2016 年 9 月)

かび毒規制 18 成分の LC/MS/MS による
一斉分析 (2)

フザリウム属のいくつかの種が産生する、かび毒（マイコトキシン）は構造的に多様な二次代謝物群であり、さまざまな食品や飼料を汚染し、結果的に人間や動物の健康に影響をおよぼすと報告されています。EU では、人間や動物の健康に対する問題を最小化するために、食品や飼料におけるマイコトキシン類の最大許容値を設定しています。毒性学的に最も重要なフザリウム属が産生するマイコトキシンとして、デオキシニバレノール（DON）、T-2 毒（T-2）を含むトリコセン類、ゼアラレノン（ZON）あるいはフモニシン B1（FB1）などが挙げられます。

本アプリケーションでは、食の安全上問題となる主要な 18 種類のマイコトキシンを対象とした LC/MS/MS による一斉分析法を、ご紹介します。

開発したメソッドにより、12.5 分のサイクルタイムで、アフラトキシン類（B1、B2、G1、G2）、フモニシン類（B1、B2、B3）、オクラトキシン A（OTA）およびトリコセン類（3-アセチルデオキシニバレノール（3-AcDON）、15-アセチルデオキシニバレノール（15-AcDON）、デオキシニバレノール（DON）、ジアセトキシスシルペノール（DAS）、フザレノン-X（FUS-X）、HT-2、ネオソラニノール（NEO）、ニバレノール（NIV）、T-2、ゼアラレノン（ZON））の分析を可能としました。定量限界は、EC/1886/2006 に規定されている最大値以下もしくは同等を達成しました。

■ 試料と分析条件

測定試料は、イギリスの受託分析会社である Concept Life Sciences 社より、同社が開発した抽出プロトコルに基づき処理、提供されました。

測定機器は、UHPLC Nexera X2 とトリプル四重極型質量分析計 LCMS-8060 を用いました。3 種類の位置異性体ペア（3-AcDON/15-AcDON、FB2/FB3 および FA2/FA3）を分離するために、ペンタフルオロフェニル（PFP）結合型カラムを用い、C18 カラムと比較しました。

信号強度を向上させるために、移動相として酢酸アンモニウム、フッ化アンモニウム、ギ酸アンモニウムおよび酢酸溶液を検討しました。検討の結果として、フッ化アンモニウム水溶液と、酢酸をフッ化アンモニウムメタノール溶液に添加した溶液を移動相として採用しました。この移動相条件は、今回検討したすべてのかび毒のポジティブモードのイオンについて、信号強度の大幅な向上が確認されました。定量結果は、抽出処理段階でかび毒の ^{13}C 内部標準品を添加して、算出しました。測定に使用したすべての溶媒は、LCMS グレード（Sigma-Aldrich 製）を用いました。

D. Baker^{*1}, C. Titman^{*1}, N. Loftus^{*1}, J. Horner^{*2}

^{*1}: Shimadzu, Manchester, UK

^{*2}: Concept Life Sciences, Cambridge, UK

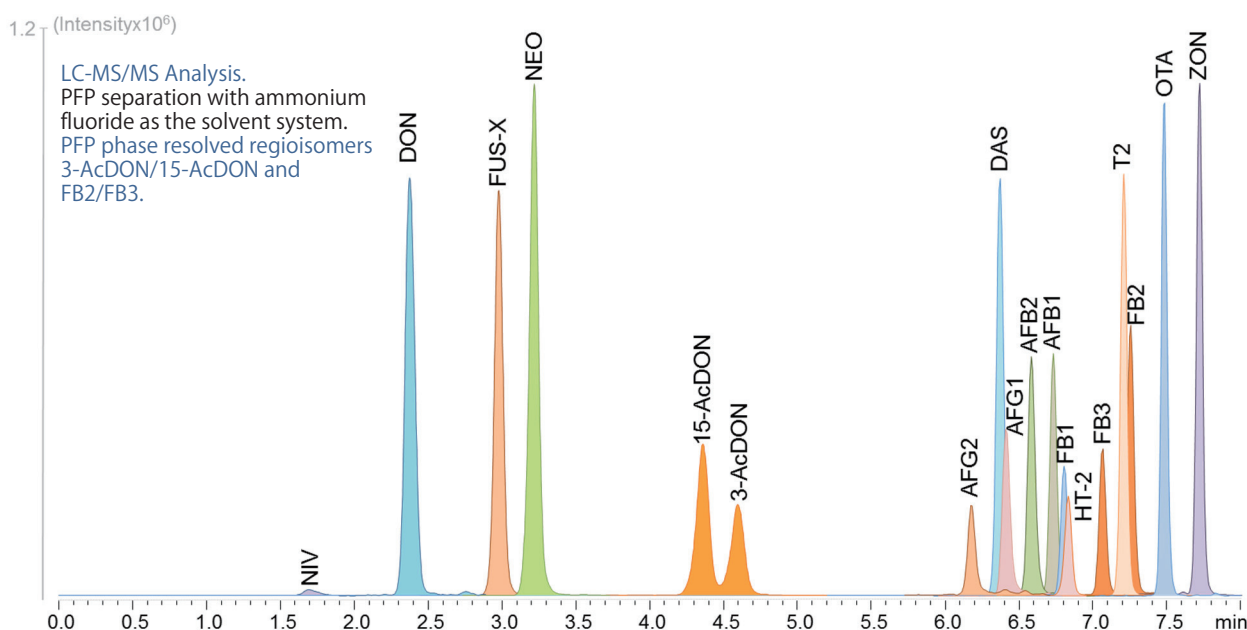


図 1 かび毒 18 成分の MRM クロマトグラム (Mastro PFP カラム)

AFB1 (aflatoxin B1; 1 $\mu\text{g/kg}$; rescaled x3), AFB2 (aflatoxin B2; 1 $\mu\text{g/kg}$; rescaled x3), AFG1 (aflatoxin G1; 1 $\mu\text{g/kg}$; rescaled x3), AFG2 (aflatoxin G2; 1 $\mu\text{g/kg}$; rescaled x3), OTA (ochratoxin A; 4 $\mu\text{g/kg}$), FB1 (fumonisin B1; 100 $\mu\text{g/kg}$; rescaled x2), FB2 (fumonisin B2; 100 $\mu\text{g/kg}$; rescaled x2), FB3 (fumonisin B3; 100 $\mu\text{g/kg}$; rescaled x2), 15-AcDON (15-acetyldeoxynivalenol; 100 $\mu\text{g/kg}$), 3-AcDON (3-acetyldeoxynivalenol; 100 $\mu\text{g/kg}$), DON (deoxynivalenol; 100 $\mu\text{g/kg}$), DAS (diastoeoxyscripanol; 100 $\mu\text{g/kg}$), FUS-X (fusarenon-X; 100 $\mu\text{g/kg}$), HT-2 (100 $\mu\text{g/kg}$), T-2 (100 $\mu\text{g/kg}$; rescaled x0.3), NEO (neosalaniol; 100 $\mu\text{g/kg}$; rescaled x0.3), NIV (nivalenol; 100 $\mu\text{g/kg}$), ZON (zearalenone; 100 $\mu\text{g/kg}$)

■イオン信号強度へのフッ化アンモニウムの影響

一般的に、フッ化アンモニウムは気化状態で高い塩基性を示し、ネガティブモードのイオン化において低分子化合物の感度向上に効果的であることが知られています。

しかし、今回、かび毒分析に用いられる一般的な移動相条件と比較検討した結果、フッ化アンモニウムを移動相に添加することにより、ポジティブモードにおいてもイオンの信号強度を向上させることが明らかとなりました。

図2に、移動相にフッ化アンモニウムを添加し、イオンの信号強度が向上した例を示します。3種のクロマトグラムの縦軸は同じ信号強度で正規化しました。フッ化アンモニウム添加移動相は他の条件と比較して、ポジティブモードにおける各カビ毒のイオン信号強度が大きく向上しています(図2a)。

表1 分析条件

UHPLC	Nexera X2 LC system
Analytical column	Mastro PFP (100 mmL×2.1 mm I.D., 3 μm)
Column temperature	40 °C
Flow rate	0.4 mL/min
Solvent A	0.15 mmol/L ammonium fluoride aqueous solution
Solvent B	0.15 mmol/L ammonium fluoride methanol solution with 2 % acetic acid
Binary Gradient	B conc. 15 % (0 min) - 25 % (1 min) - 40 % (2 min) - 41 % (4.5 min) - 100 % (7.5 - 10 min) - 15 % (10.1 min) - Stop (12.5 min)
Mass spectrometer	Shimadzu LCMS-8060
Pause time/Dwell time	1 msec/10-40 msec
Polarity switching time	Pos/neg switching time set to 5 msec
Source temperatures	300 °C; 400 °C; 250 °C
(interface; heat block; DL)	
Gas flows	3 L/min; 10 L/min; 10 L/min
(nebulising; heating; drying)	

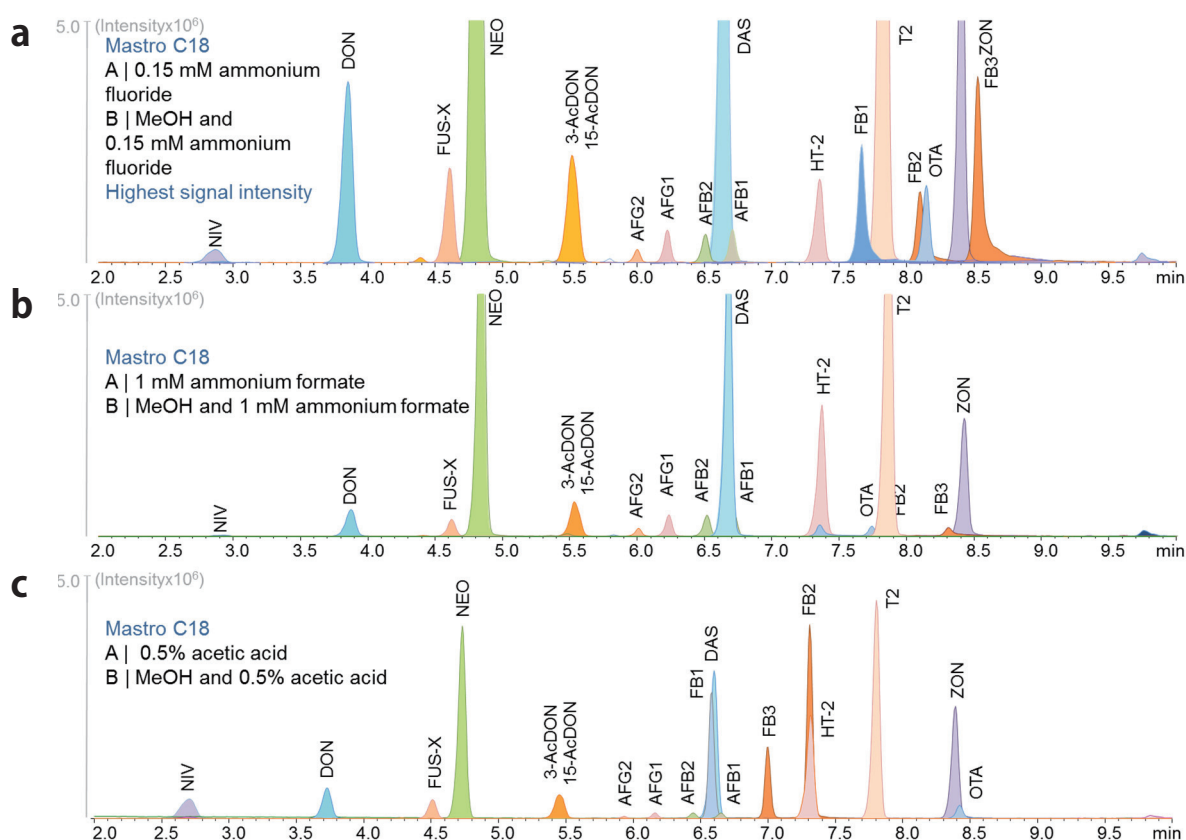


図2 移動相条件の異なるかび毒18成分のMRMクロマトグラム比較 (Mastro C18 カラム)
a: 移動相 A 0.15 mM フッ化アンモニウム水溶液、移動相 B 0.15 mM フッ化アンモニウム添加メタノール溶液
b: 移動相 A 1 mM 酢酸アンモニウム水溶液、移動相 B 1 mM 酢酸アンモニウム添加メタノール溶液
c: 移動相 A 0.5 %酢酸水溶液、移動相 B 0.5 %酢酸添加メタノール溶液

図3にフッ化アンモニウム移動相を使用したかび毒18成分のPFPカラムとC18カラムのクロマトグラム比較を示します。PFPカラムは、C18カラムでは分離が困難な3-アセチルデオキシニパレノールと15-アセチルデオキシニパレノールのベースライン分離をほぼ可能にしました。

一方、C18カラムは、3-AcDONのネガティブイオン検出が良好で、使用されています。

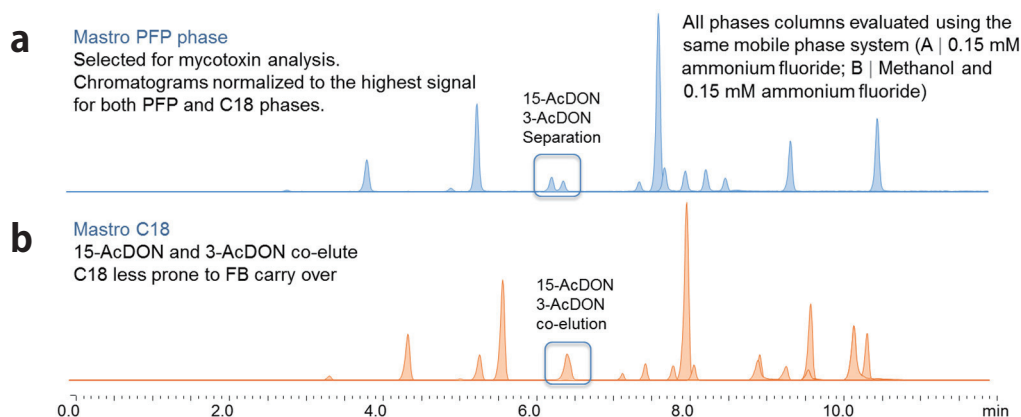


図3 カラムの異なるかび毒18成分のMRMクロマトグラム比較
移動相A 0.15 mM フッ化アンモニウム水溶液、移動相B 0.15 mM フッ化アンモニウム添加メタノール溶液共通
a : Mastro PFP カラム、b : Mastro C18 カラム

■ 実試料マトリックスの測定

3-AcDON/15-AcDON と FB2/FB3（位置異性体）分離評価のため、以下の PFP カラムを評価しました（Mastro PFP、Kinetix PFP、Discovery HS F5 PFP および ACE PFP）。C18 カラムと比較して、上記いずれの PFP カラムも位置異性体の分離をベースライン分離に近い状態で実現できました。しかし、FB のキャリーオーバーを抑制するには、移動相の若干の変

更が必要でした。移動相 B への、2 %酢酸の添加が FB のキャリーオーバー抑制に有効でした。

図4に、かび毒標準試料溶液、ミックススパイス抽出液と胡椒抽出液のクロマトグラムを示します。各抽出液を繰り返し注入（n=12）した結果、カビ毒（AFB1、B2、G1、G2、OTA）のそれぞれの面積値%RSD は、10 %以下となりました。

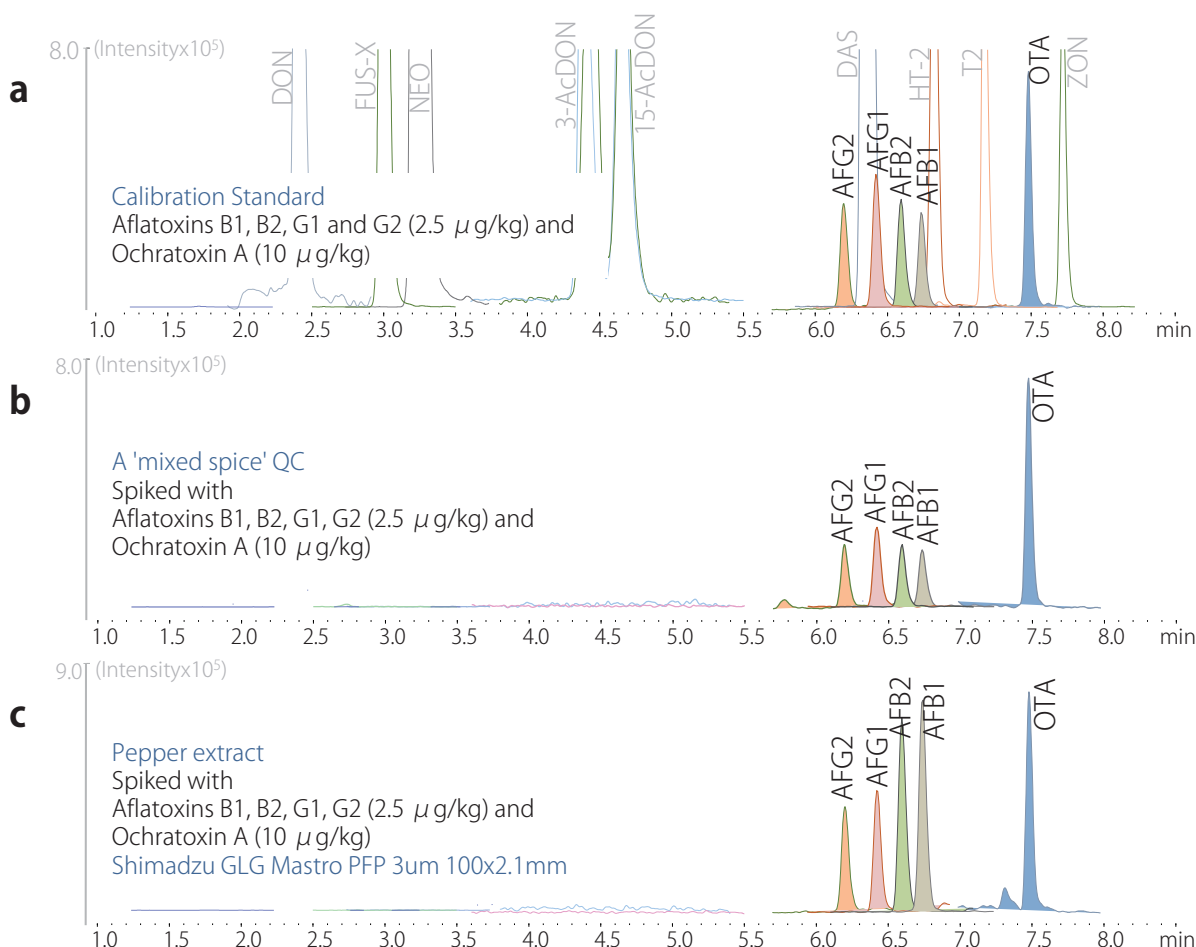


図4 かび毒標準試料とミックススパイス、胡椒抽出液のクロマトグラム
アフラトキシンB1、B2、G1、G2（2.5 μ g/kg）とオクラトキシンA（10 μ g/kg）を添加
a : かび毒標準試料溶液、b : ミックススパイス抽出液、c : 胡椒抽出液

表2 カビ毒の MRM トランジション

Compound name	Parent ion	RT (mins)	MRM 1	MRM 2	Internal Standard	Calibration range ($\mu\text{g/kg}$)	R ²
Aflatoxin B1	[M+H] ⁺	6.773	313 > 241	313 > 285	¹³ C Aflatoxin B1	0.1 - 10	0.9988
Aflatoxin B2	[M+H] ⁺	6.621	315 > 259	315 > 287	¹³ C Aflatoxin B2	0.1 - 10	0.9995
Aflatoxin G1	[M+H] ⁺	6.453	329 > 243	329 > 200	¹³ C Aflatoxin G1	0.1 - 10	0.9998
Aflatoxin G2	[M+H] ⁺	6.219	331 > 245	331 > 285	¹³ C Aflatoxin G2	0.1 - 10	0.9965
Ochratoxin A	[M+H] ⁺	7.509	404 > 239	404 > 221	¹³ C Ochratoxin A	0.4 - 40	0.9969
Fumonisin B1	[M+H] ⁺	6.811	722 > 352	722 > 334	¹³ C Aflatoxin B2	10 - 1000	0.9937
Fumonisin B2	[M+H] ⁺	7.26	706 > 318	706 > 354	¹³ C Aflatoxin B2	10 - 1000	0.9998
Fumonisin B3	[M+H] ⁺	7.073	706 > 318	706 > 354	¹³ C Aflatoxin B2	10 - 1000	0.9991
Deoxynivalenol	[M+H] ⁺	2.372	297 > 279	297 > 249	¹³ C Deoxynivalenol	10 - 1000	0.9992
Diacetoxyscirpenol	[M+NH ₄] ⁺	6.349	384 > 229	384 > 307	¹³ C T-2 Toxin	10 - 1000	0.9994
T-2	[M+NH ₄] ⁺	7.206	484 > 185	484 > 215	¹³ C T-2 Toxin	10 - 1000	0.9989
HT-2	[M+Na] ⁺	6.822	447 > 345	447 > 285	¹³ C T-2 Toxin	10 - 1000	1.0000
Nivalenol	[M+CH ₃ COO]	1.684	371 > 281	371 > 311	¹³ C HT-2	10 - 1000	0.9991
Neosolaniol	[M+NH ₄] ⁺	3.227	400 > 215	400 > 305	¹³ C Deoxynivalenol	10 - 1000	0.9995
Fusarenon X	[M+H] ⁺	2.986	355 > 247	355 > 277	¹³ C Deoxynivalenol	10 - 1000	0.9987
Zearalenone	[M-H] ⁻	7.711	317 > 175	317 > 131	¹³ C T2 Toxin	10 - 1000	0.9985
15-Acetyldeoxynivalenol	[M+H] ⁺	4.406	339 > 261	339 > 297	¹³ C Deoxynivalenol	10 - 1000	1.0000
3-Acetyldeoxynivalenol	[M+H] ⁺	4.618	339 > 261	339 > 297	¹³ C Deoxynivalenol	10 - 1000	0.9986
¹³ C HT-2	[M+NH ₄] ⁺	6.844	464 > 278				
¹³ C T-2	[M+NH ₄] ⁺	7.228	508 > 322				
¹³ C Aflatoxin B1	[M+H] ⁺	6.754	330 > 301				
¹³ C Aflatoxin B2	[M+H] ⁺	6.614	332 > 303				
¹³ C Aflatoxin G1	[M+H] ⁺	6.435	346 > 212				
¹³ C Aflatoxin G2	[M+H] ⁺	6.219	348 > 259				
¹³ C Ochratoxin A	[M+H] ⁺	7.516	424 > 250				

■ まとめ

フッ化アンモニウムの使用は、カビ毒のポジティブモード検出におけるイオンの信号強度向上にも有効でした。

移動相 B に 2 % 酢酸を添加することで、フモニシン類のキャリアオーバーを抑制できました。

PPF 固定相カラムを使用することにより、カビ毒の位置異性体の分離が可能となりました。

今回開発したメソッドにより、かび毒の高感度分析が、PPF および C18 カラムで可能になりました。両カラムともに、12.5 分のサイクルタイムを達成しました。

トリプル四重極型 LC/MS/MS を用いた
下痢性貝毒（オカダ酸群）の分析

下痢性貝毒を含む貝類の取り扱い、「麻痺性貝毒等により毒化した貝類の取り扱いについて」（平成 27 年 3 月 6 日付け食安発 0306 第 2 号厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知）に基づき、機器分析法が導入されることとなりました。オカダ酸（以下略、OA）群に対して 0.16 mg OA 当量/kg の規制値が定められ、規制値を超える貝類は、食品衛生法第 6 条第 2 号の規定に基づいて販売等が禁止されています。

2016 年 4 月からは、国産の認証標準物質が安定して入手できるようになりました。これに伴い、2017 年 3 月 8 日付け生食基発 0308 第 2 号及び生食監発 0308 第 9 号『「下痢性貝毒（オカダ酸群）の検査について」の一部改正について』により、1981 年 5 月 19 日付け環乳第 37 号「下痢性貝毒の検査について」のマウス毒性試験は、2017 年 4 月 1 日をもって廃止されました。今回の改正では、ヒトへの毒性が認められる OA 群について規制値が導入され機器分析法の対象となりました。一方、下痢原性を持たない PTX 群、YTX 群は機器分析法の対象外となりました。OA 群は、植物性プランクトンにより産生される毒素であり OA の他に、類似化合物として、ジノフィシストキシン群（DTX 1、DTX2 及び DTX3）が含まれます。これら各化合物は、毒性の強さが異なるため、各化合物の毒性を OA の毒性に換算して計算します。その為に、毒性等価係数（TEF）が定められており、OA を 1 とすると、DTX1 が 1、DTX2 が 0.5 となります。OA、DTX1、DTX2 の各定量結果に、それぞれの TEF 値を乗じて OA 当量値に換算し、その総和を算出します。DTX3 は、ホタテガイの代謝物である脂肪酸とのエステル化合物であり、前処理操作の加水分解過程により、OA、DTX1 または DTX2 に変換されるため TEF 値の設定はありません。

本報では、OA 群の機器分析法（LC/MS/MS）を紹介します。

M. Kobayashi

■ 標準品の分析

OA と DTX1 の標準品は、国家計量機関である独立行政法人産業技術総合研究所計量標準総合センター（NMIJ/AIST）の認証標準物質を使用しました。また、DTX2 は、National Research Council Canada の CRM-DTX2 を使用しました。

図 1 に、3 成分混合標準溶液（各 1 ppb）を 5 μ L 注入した時のクロマトグラムを、表 1 に保持時間および面積値の 5 回繰り返し再現性をそれぞれ示します。OA 類はエレクトロスプレーイオン化（ESI）法、ネガティブモードで検出が可能です。この時の分析法は通知法に準拠しており、詳細は表 2 に示しました。

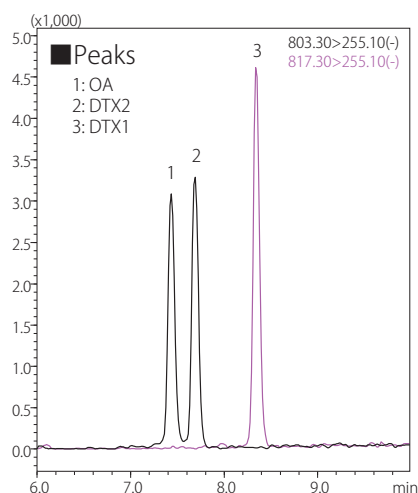


図 1 標準溶液の MRM クロマトグラム（各 1 ppb）

表 1 再現性（1 ppb, n=5）

	R.T. %RSD	Area %RSD
OA	0.0419	2.03
DTX2	0.0401	2.98
DTX1	0.0385	2.08

表 2 分析条件

Column	: Shim-pack Scepter™ C18 (100 mm × 2.0 mm I.D., 1.9 μ m)
Mobile Phases	: A 2 mmol/L ammonium formate water with 50 mmol/L formic acid B Acetonitrile / Water : 95 / 5 (v/v) including 2 mmol/L ammonium formate with 50 mmol/L formic acid
Time Program	: B conc. 40 % (0-2.5 min) → 100 % (7.5-12.5 min) → 40 % (12.51 - 17.5 min) (フロントカットバルブを使用し、 6~10 min のみを MS へ導入)
Flow Rate	: 0.2 mL/min
Column Temperature	: 40 °C
Injection Volume	: 5 μ L (認証標準物質 ホタテガイ中腸腺試 料分析の時は 2 μ L)
Probe Voltage	: -3.0 kV (ESI-negative mode)
IF/DL/BH Temperature	: 350/ 150 / 450 °C
NG/ HG/ DG Flow	: 3 / 5 / 15 L/min
ESI probe position	: +2 mm
MRM Transition	: OA 803.30>255.10, 803.30>113.10 DTX2 803.30>255.10, 803.30>113.10 DTX1 817.30>255.10, 817.30>113.10

■ 検量線の直線性

図 2 に各 3 成分の検量線を示します。各成分 0.1~10 ppb の濃度範囲で検量線を作成したところ、寄与率 $r^2=0.999$ 以上と良好な直線性が得られました。

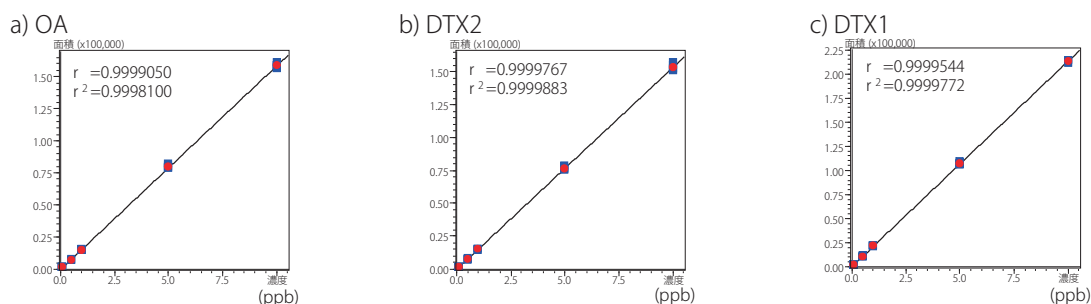


図2 検量線の直線性 (0.1~10 ppb)

■ 認証標準物質 ホタテガイ中腸腺の分析

認証標準物質 NMIJ CRM 7520-a ホタテガイ中腸腺^{*1} を使用し、通知法に準拠し、抽出、加水分解、精製の処理を実施しました (図3)。加水分解後の中和の為に、2.5 mol/L HCl を 300 μ L 添加しました (通知法別添では 250 μ L)。精製は、逆相系ポリマー固相抽出カラム (200 mg、6 cc) を使用しました。

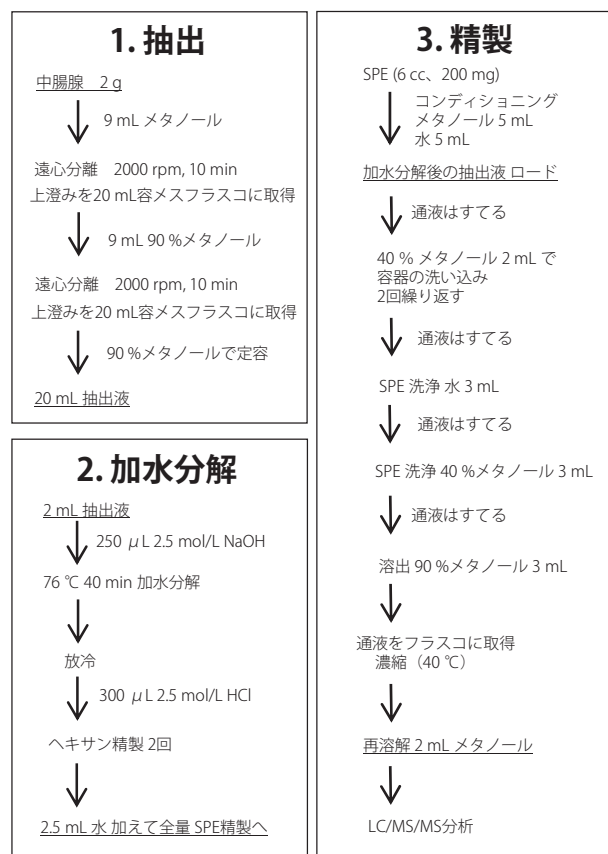


図3 前処理

表3 定量値と回収率

化合物	認証標準物質		抽出試料				
	認証値 (mg/Kg)	拡張不確かさ 質量分率 (mg/Kg)	定量値 (mg/Kg)	回収率 (%)	面積値 平均 (n=6)	標準偏差	面積値 %RSD (n=6)
OA	0.205	0.061	0.192	93	105424	2414.48761	2.29
DTX1	0.450	0.110	0.385	85	253677	1439.89408	0.57

ホタテガイ中腸腺由来夾雑物の LC/MS/MS へのマトリクス効果は大きいと一般的に知られています。測定試料を充分希釈する事により影響をなくす事はできますが、今回は様々な試料に対応可能である、標準添加法の方法を紹介します。購入した OA 類の標準品の量が少ないため、加水分解前の抽出液に LC/MS/MS 分析時の濃度として、10、20、50 ppb となるように標準品を添加し検量点を作成しました。図4にSPE精製後の中腸腺抽出液 (標準品未添加) のクロマトグラム、図5に検量線、表3に認証標準物質の各成分の濃度、定量値、添加回収率、中腸腺抽出液 (標準品未添加) の6回繰り返し面積値再現性を示しています。マトリクスが多いとされているホタテガイ中腸腺抽出液の各成分ピーク的面積再現性%RSDはOA 2.29、DTX1 0.57と良好で、OAとDTX1の回収率は93%と85%であり、通知法とLCMS-8060を使用し、下痢性貝毒の定量が可能であることが示されました。

*1 国立研究開発法人 産業技術総合研究所 計量標準総合センター
認証標準物質 NMIJ CRM 7520-a No.009 ホタテガイ中腸腺 (下痢性貝毒分析用)

認証値の不確かさは、合成標準不確かさと抱合係数 $k=2$ から決定された拡張不確かさであり、約95%の信頼の水準をもつと推定される区分の半分の幅を表す。

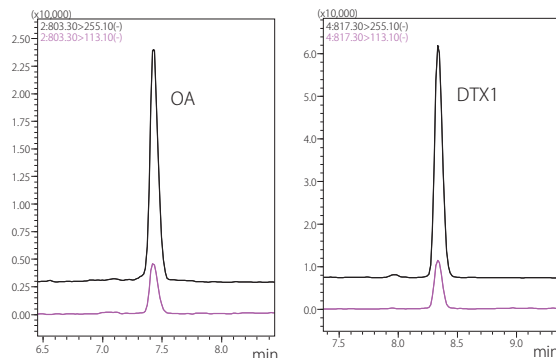


図4 認証標準物質のクロマトグラム

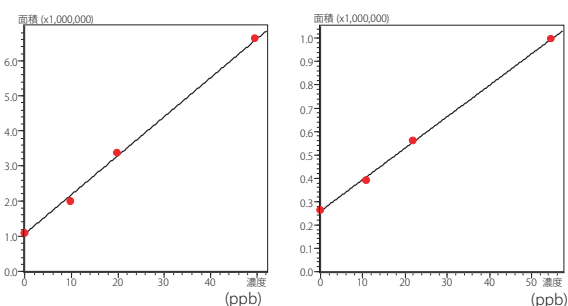


図5 標準添加法検量線

Shim-pack Scepter は、株式会社 島津製作所の日本およびその他の国における商標です。
その他、本書に掲載されている会社名、製品名、サービスマーク、およびロゴは、各社の商標および登録商標です。
なお、本文中には TM、®マークを明記していない場合があります。

トリプル四重極型 LC/MS/MS を用いた
甘味料 9 成分の同時一斉分析

Simultaneous Analysis of 9 Sweeteners Using Triple Quadrupole LC/MS/MS [LCMS-8040]

サッカリンナトリウム、アスパルテーム、スクラロース、アセスルファムカリウムなどの人口甘味料は、食品衛生法における指定添加物に該当し、対象食品及び使用量について使用基準が定められています。

一方、日本以外の一部の地域で使用されているサイクラミン酸などは国内では指定外添加物にあたり、特定の輸入食品については検査が必要です。

このように、使用できる甘味料の定量検査のみならず指定外添加物の検査など、多種類の甘味料分析が求められています。

本報では、指定添加物および指定外添加物に該当する人口甘味料 9 種を、高速液体クロマトグラフ-トリプル四重極型質量分析計 LCMS-8040 で一斉分析した例をご紹介します。

M. Kawashima

■標準溶液の分析

Analysis of a Standard Mixture

Table 1 に示す分析条件にて、10 ng/mL 9 成分混合標準溶液を 5 μ L 注入したときのクロマトグラムを Fig. 1 に、定量下限値付近のクロマトグラムを Fig. 2 に示しました。また、Table 2 に各化合物の保持時間、検量線範囲および相関係数を示しました。

検量点には、正確さが 100 $\pm$ 20 % 以内、面積値再現性 (%RSD) が 20 % 以内のものを採用しています。いずれの化合物も相関係数 0.997 以上の良好な直線性が得られました。

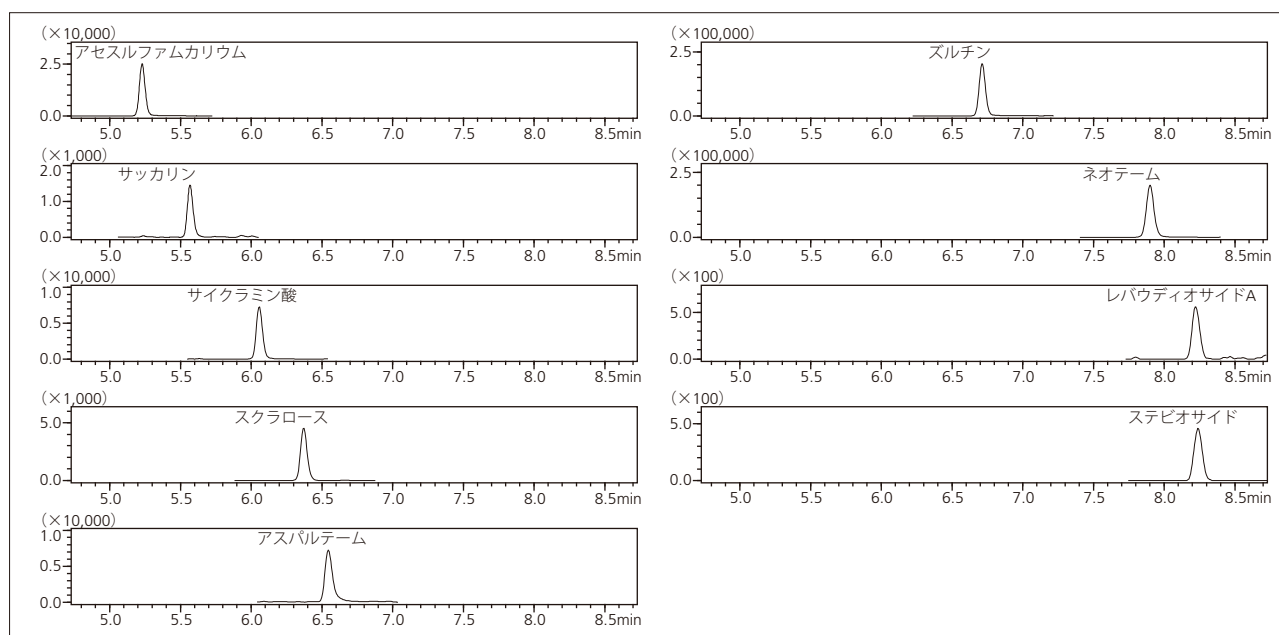


Fig. 1 10 ng/mL 甘味料 9 成分混合標準試料のクロマトグラム
Chromatograms of 10 ng/mL Standard Solution of 9 Sweeteners

Table 1 分析条件
Analytical Conditions

Column	: Unison UK-C18 (150 mmL. $\times$ 3.0 mm I.D., 3.0 μ m)
Mobile Phases	: A 5 mmol/L Ammonium Formate - Water : B Methanol
Gradient	: B Conc. 0 % (0.0-2.0 min) $\rightarrow$ 70 % (4.5 min) $\rightarrow$ 90 % (8.0-12.0 min) $\rightarrow$ 0 % (12.01-15.0 min)
Flow Rate	: 0.2 mL/min
Column Temperature	: 40 $^{\circ}$ C
Injection Volume	: 5 μ L
Probe Voltage	: + 4.5 kV (ESI-positive mode) / -3.5 kV (ESI-negative mode)
DL Temperature	: 300 $^{\circ}$ C
Block Heater Temperature	: 500 $^{\circ}$ C
Nebulizing Gas Flow	: 3 L/min
Drying Gas Flow	: 15 L/min

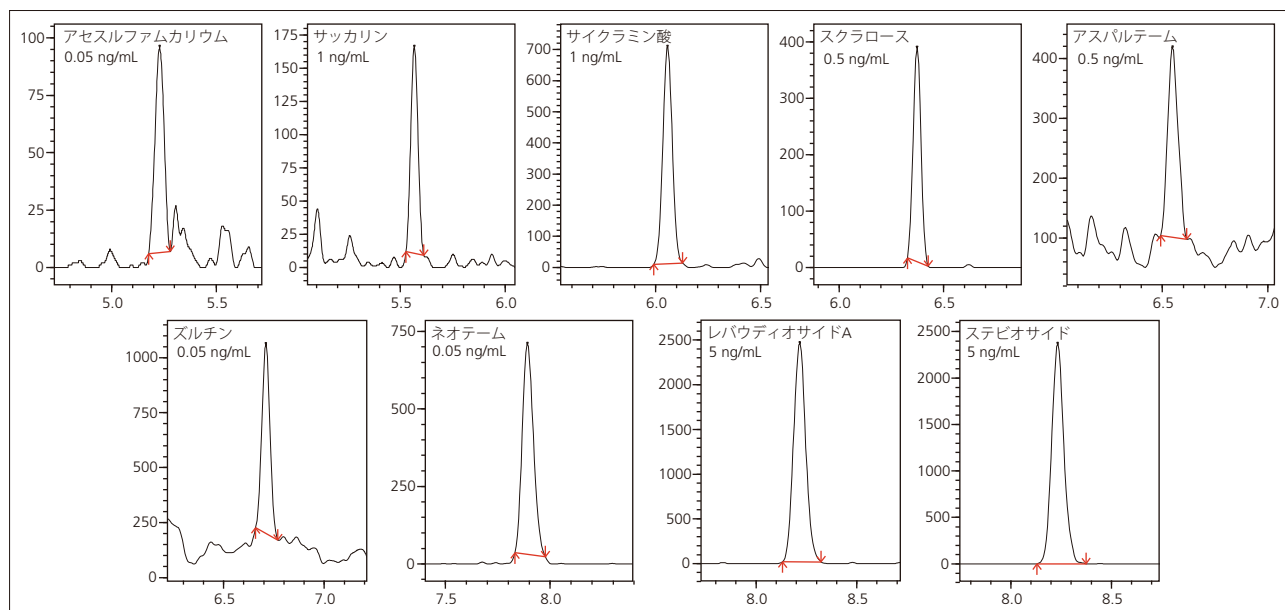


Fig. 2 甘味料9成分の定量下限値付近のクロマトグラム
Chromatograms of 9 Sweeteners at around LLOQ

Table 2 甘味料9成分の直線性
Linearity of 9 Sweeteners

化合物名	極性	トランジション	保持時間 (min)	検量線範囲 (ng/mL)	相関係数
アセスルファムカリウム	—	162.00 > 82.10	5.228	0.05 — 100	0.997
サッカリン	—	182.00 > 42.00	5.561	1 — 100	0.999
サイクラミン酸	—	178.00 > 80.00	6.057	1 — 100	0.998
スクラロース	+	413.90 > 199.00	6.370	0.5 — 500	0.999
アスパルテーム	—	293.10 > 261.10	6.543	0.5 — 1000	0.999
ズルチン	+	181.20 > 108.10	6.712	0.05 — 10	0.999
ネオテーム	+	379.10 > 172.20	7.898	0.05 — 1000	0.999
レバウディオサイド A	—	965.30 > 803.40	8.220	5 — 1000	0.999
ステビオサイド	+	822.30 > 319.20	8.238	5 — 1000	0.999

■実サンプルにおける回収率

Recoveries from Real World Samples

透析法にて前処理 (Fig. 3) を施した食品 (カレーペースト, 草もち, ソフトケーキ) に甘味料7種を添加し, マトリクス効果の確認を行いました。各試料の添加回収率を Table 3 に示します。尚, 処理後の透析外液はズルチンのみ 1000 倍希

釈した試料から, その他の化合物は 100 倍希釈した試料から添加回収率を算出しました。全ての試料について, 85 ~ 125 % の良好な回収率が得られました。

Table 3 甘味料7成分の添加回収率
Recovery of 7 Sweeteners

化合物名	添加濃度	回収率 (%)		
		カレーペースト	草もち	ソフトケーキ ショコラ
アセスルファムカリウム	5 µg/mL	100.8	94.2	93.7
サッカリン		97.0	87.7	88.3
サイクラミン酸		99.6	89.3	92.0
スクラロース		96.2	89.6	82.6
アスパルテーム		94.0	89.4	87.2
ズルチン		110.2	99.5	99.5
ネオテーム		122.5	106.9	110.0

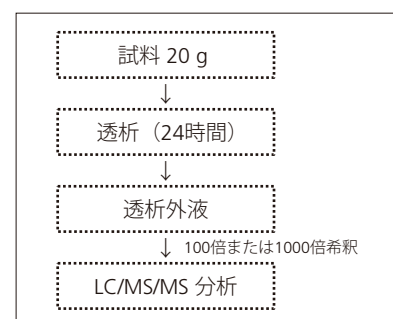


Fig. 3 前処理のワークフロー
Work Flow of the Pretreatment

本アプリケーションニュース作成にあたり, 一般社団法人 東京都食品衛生協会様より 試料提供およびご指導などご協力をいただきました。

初版発行: 2016年1月

トリプル四重極型 LC/MS/MS を用いた
甘味料 16 成分の同時一斉分析

Simultaneous Analysis of 16 Sweeteners Using Triple Quadrupole LC/MS/MS [LCMS-8050]

アスパルテーム、スクラロース、アセスルファムカリウムなどの人工甘味料は、食品衛生法における指定添加物に該当し、一部の対象食品及び使用量については使用基準が定められているものがあります。

一方、日本以外の一部の地域で使用されているサイクラミン酸などは国内では指定外添加物にあたり、特定の輸入食品については検査が必要です。

このように、使用できる甘味料の定量検査のみならず指定外添加物の検査など、多種類の甘味料分析が求められています。

アプリケーションニュース C121 では、指定添加物および指定外添加物に該当する人工甘味料 9 成分のトリプル四重極型 LC/MS/MS LCMS-8040 による同時一斉分析法をご紹介しましたが、本報では、16 成分を LCMS-8050 を用いて同時一斉分析をした例をご紹介します。

M. Kawashima

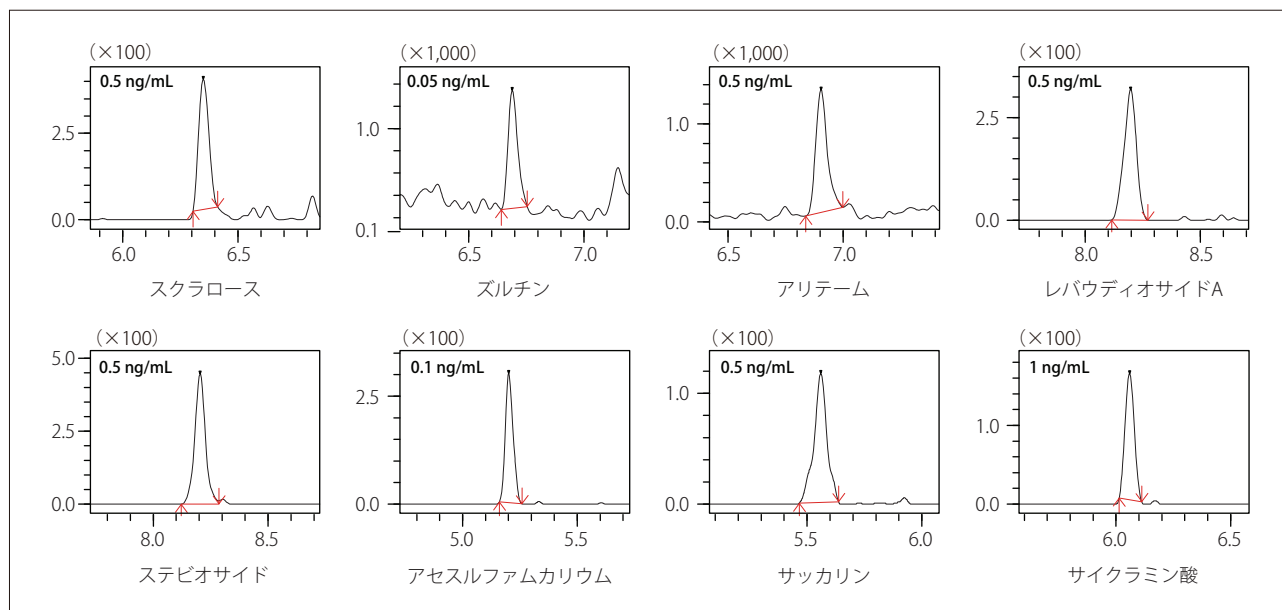
Table 1 分析条件
Analytical Conditions

Column	: Unison UK-C18 (150 mm L. × 3.0 mm I.D., 3.0 μm)	Injection Volume	: 1 μL
Mobile Phases	: A 5 mmol/L Ammonium formate - Water : B 5 mmol/L Ammonium formate - Methanol	Probe Voltage	: + 4.0 kV (ESI-positive mode) / -3.0 kV (ESI-negative mode)
Gradient	: B Conc. 0 % (0.0-2.0 min) → 70 % (4.5 min) → 90 % (8.0-12.0 min) → 0 % (12.01-15.0 min)	Nebulizing Gas Flow	: 3 L/min
Flow Rate	: 0.4 mL/min	Heating Gas Flow	: 10 L/min
Column Temperature	: 40 °C	Interface Temperature	: 300 °C
		DL Temperature	: 150 °C
		Block Heater Temperature	: 250 °C
		Drying Gas Flow	: 10 L/min

■ 標準溶液の分析

Analysis of a Standard Mixture

Table 1 に示す分析条件にて、甘味料 16 成分の MRM 測定を実施しました。定量下限値付近における各化合物のクロマトグラムを Fig. 1 に、検量線範囲と相関係数を Table 2 に示します。尚、検量点には、正確さが 100 ± 20 % 以内、面積値再現性 (%RSD) が 20 % 以内を満たすものを採用しています。いずれの化合物も相関係数 0.997 以上の良好な直線性が得られました。

Fig. 1-1 甘味料 16 成分のクロマトグラム
Chromatograms of 16 Sweeteners

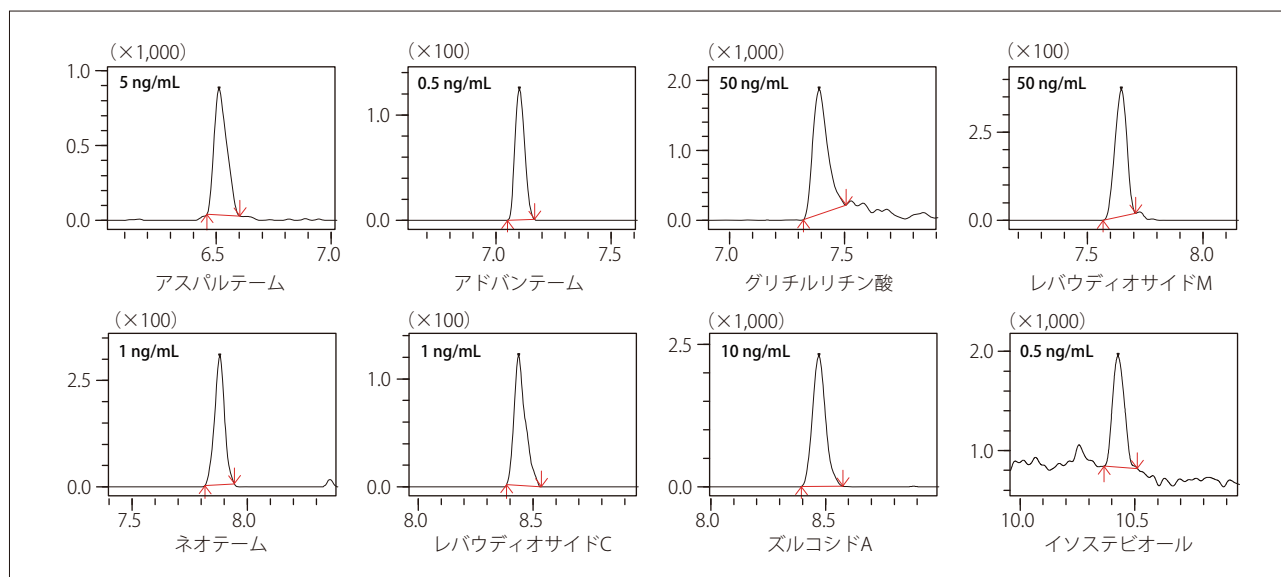


Fig. 1-2 甘味料 16 成分のクロマトグラム (続き)
Chromatograms of 16 Sweeteners

Table 2 甘味料 16 成分の直線性
Linearity of 16 Sweeteners

化合物名	極性	トランジション	保持時間 (min)	検量線範囲 (ng/mL)	相関係数
スクラロース	+	414.00>199.10	6.36	0.5 - 100	0.999
ズルチン	+	181.20>108.10	6.70	0.05 - 10	0.999
アリテーム	+	332.20>129.00	6.92	0.5 - 100	0.999
レバウディオサイドA	+	984.50>325.10	8.21	0.5 - 100	0.999
ステビオサイド	+	822.00>319.30	8.23	0.5 - 100	0.999
アセスルファムカリウム	-	161.90>82.00	5.23	0.1 - 10	0.999
サッカリン	-	181.90>42.00	5.58	0.5 - 50	0.997
サイクラミン酸	-	178.00>80.00	6.08	1 - 100	0.999
アスパルテーム	-	293.40>261.10	6.53	5 - 100	0.999
アドバンテーム	-	457.30>200.30	7.12	0.5 - 100	0.999
グリチルリチン酸	-	821.20>351.10	7.41	50 - 1000	0.999
レバウディオサイドM	-	1289.60>802.90	7.66	50 - 1000	0.999
ネオテーム	-	377.30>200.00	7.90	1 - 100	0.999
レバウディオサイドC	-	949.50>787.20	8.46	1 - 100	0.999
ズルコシドA	-	787.50>625.20	8.50	10 - 1000	0.999
イソステビオール	-	317.30>317.30	10.46	0.5 - 1000	0.999

■実サンプルにおける回収率

Recoveries from Real World Samples

Fig. 2 に示す手順にて処理した試験溶液に甘味料を添加し、100 倍または 1000 倍に希釈した試料を測定することにより、添加回収率を確認しました。その結果を Table 3 に示します。

甘味料分析の前処理法としては透析法や固相抽出法が一般的ですが、操作が煩雑で手間と時間がかかることが難点です。溶媒抽出法による前処理では特別な器具は必要なく、簡便かつ迅速に処理を行うことが可能です。

Table 3 回収率
Recovery

化合物名	添加濃度	実試料	希釈倍率	回収率 (%)
グリチルリチン酸	100 µg/mL	しょうゆ	100	85.20
アセスルファムカリウム	10 µg/mL	粉末清涼飲料 (カフェオレ)	1000	81.21
アスパルテーム	10 µg/mL			104.2
ネオテーム	10 µg/mL	ケチャップ	100	108.5

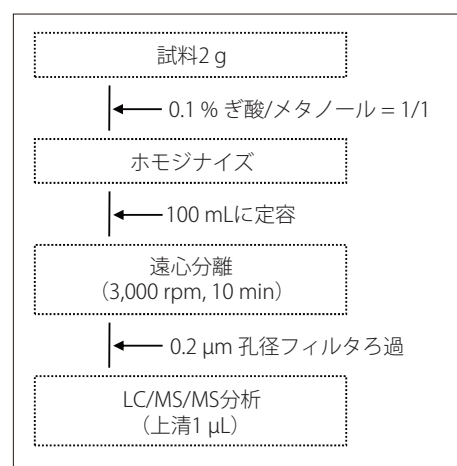


Fig. 2 前処理のワークフロー
Workflow of the Pretreatment

本アプリケーションニュース作成にあたり、一般財団法人日本食品分析センター様より試料提供およびご指導などのご協力をいただきました。

初版発行：2016年5月

クミンおよびスパイスミックス中における
ピーナッツアレルゲン物質 Ara h1 の高感度分析
High Sensitivity Analysis of Peanut Allergen in Cumin and Spice Mix [LCMS-8060]

ピーナッツアレルギーが食物アレルギーの中でも特に重篤な症状を引き起こすことから、ピーナッツは食品への表示が法令で義務付けられている特定原材料のひとつに指定されています。

近年、原材料としては含有されていないはずのピーナッツがクミン製品中より検出され大規模リコールとなる事件が欧米で続発しています。消費者の安全を担保するためには、食品中にアレルゲン物質が含まれていないことを確実に示す必要があります。

アレルゲン物質の検出方法としては、主に ELISA 法が用いられていますが、アレルゲン物質の交差反応性による誤検出が課題とされています。ここでは、トリプル四重極型質量分析計 LCMS-8060 を用いて、アレルゲン物質であるピーナッツタンパク質 Ara h1 の高感度測定系を構築し、市販のスパイス中から特異的に検出できることを示しました。

T. Tanigawa E. Imoto

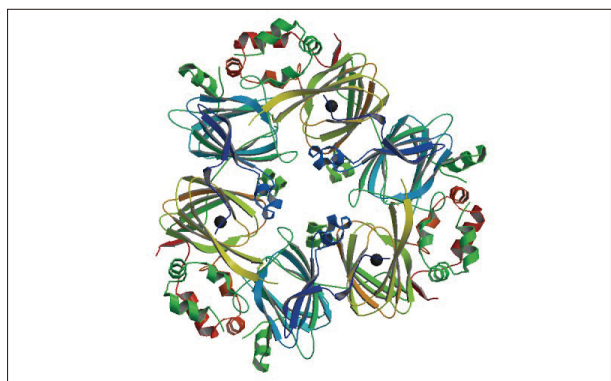


Fig. 1 Ara h1 [357I] (68kDa) Vicilin の構造
Structure of Ara h1 [357I] (68kDa) Vicilin Like Protein

実験方法

Sample Preparation

市販のピーナッツパウダー（脱脂済み）を粉砕し液・液抽出によりタンパク質を抽出しました。タンパク質を変性し、還元アルキル化処理を行った後、トリプシン消化に供しました。この消化により断片化されたペプチドを定量することで、元のタンパク質の含有量を知ることができます。

様々な食品サンプルにおける特異性および検出感度を評価するため、シナモン、クミン、唐辛子、生姜、ニンニク、カラシ、ナツメグ、ハナハッカ、ローズマリー、セージ、ターメリック、タイムの市販品を試料として、ピーナッツパウダー（2 ppm）を添加したものと非添加のブランク試料とを比較しました。

Skyline を用いた MRM トランジションの選択

Selection of MRM Transitions Using Skyline

ピーナッツアレルギーの 95 % は Ara h1 タンパク質に感作しているため、ここでは、Ara h1 の 2 種類の cDNA クローン（P17 および P41B）の情報をもとに、それぞれ特異的に検出可能なペプチドの高感度測定を目指しました。

ターゲットとなるペプチドを測定するための MRM トランジションの選択および最適化を、Skyline ソフトウェア（ワシントン大学・MacCoss Lab）を用いて行いました。合成ペプチドを用いずに行える最適化の流れを Fig. 2 に示します。

最終的に、各クローンに特異的なペプチドを 3 種類ずつ、共通の配列をもつ 3 種類のペプチドを含む 9 種類のペプチドを Ara h1 の検出に最適なものとして選択し、各ペプチドを 3 つの MRM トランジションで測定する分析条件を設定しました（Fig. 3）。

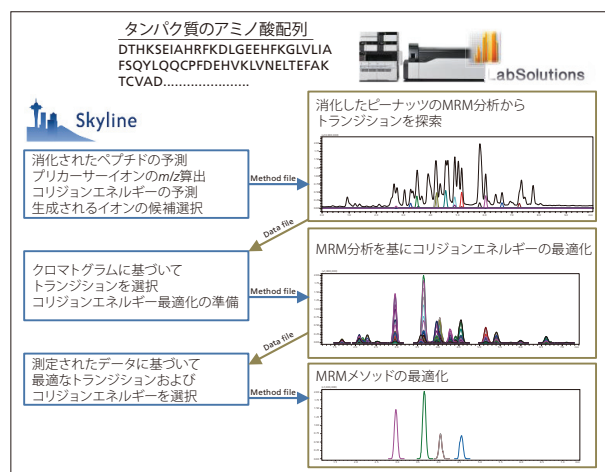


Fig. 2 Skyline を用いた MRM トランジション最適化のワークフロー
Workflow of MRM Transition Optimization Using Skyline

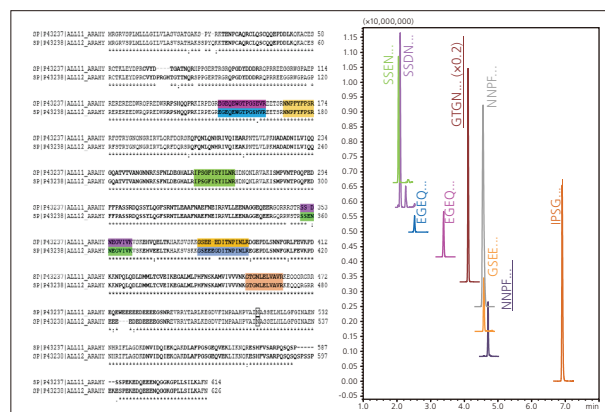


Fig. 3 P17/P41B の配列および 9 種のペプチドの MRM クロマトグラム
AA Sequences of P17/P41B and Nine MRM Chromatograms

Table 1 測定条件
Analytical Conditions

UHPLC	: Nexera X2	LC/MS/MS	: LCMS-8060
分析カラム	: Shim-pack XR-ODS II (50 mm L. × 2 mm I.D., 1.6 μm)	イオン化モード	: 加熱 ESI
カラム温度	: 40 °C	インターフェース電圧	: +1 kV (ポジティブ)
移動相	: A : 0.1 % ギ酸水 B : アセトニトリル	インターフェース温度	: 250 °C
流速	: 500 μL/min	DL 温度	: 150 °C
グラジエントプログラム	: 2 %B (0.00 min) > 25 %B (7.00 min) > 95 %B (7.10-8.00 min) > 2 %B (8.10-10.00 min)	ブロックヒータ温度	: 200 °C
注入量	: 10 μL	ネブライザガス流量	: 3 L/min
		ヒーティングガス流量	: 20 L/min
		ドライガス流量	: 5 L/min

Table 2 MS/MS 取得パラメータ
MS/MS Acquisition Parameters

MRM トランジション	アミノ酸配列	Polarity	Quan	Qual1	Qual2
	EGEQEWGTPGSEVR	+	780.85 > 802.40	780.85 > 644.35	780.85 > 316.10
	NNPFYFPSR	+	571.25 > 669.35	571.25 > 506.25	571.25 > 229.10
	IPSGFISYILNR	+	690.40 > 765.45	690.40 > 211.15	690.40 > 502.25
	SSDNEGIVK	+	524.25 > 515.35	524.25 > 359.25	524.25 > 175.05
	GSEEDITNPINLR	+	793.90 > 726.45	793.90 > 612.40	793.90 > 402.25
	GTGNLELVAVR	+	564.80 > 686.40	564.80 > 557.40	564.80 > 444.30
	EGEQEWGTPGSHVR	+	784.85 > 652.35	784.85 > 555.30	784.85 > 316.10
	SSENEGIVK	+	588.30 > 515.35	588.30 > 359.25	588.30 > 246.20
	GSEEGDITNPINLR	+	822.40 > 726.45	822.40 > 612.40	822.40 > 402.25
Dwell 時間	: ループ時間が400 msec以内になるよう, 41 msecから130 msecの範囲で設定				
停止時間	: 3 msec				
CIDガス圧力	: 300 kPa				
分解能設定	: Q1:Unit Q3:Unit				

■ インターフェースの最適化 Interface Optimization

ISSS (Interface Setting Support Software, 島津製作所) を用いてイオン化におけるパラメータの最適化を行いました。その結果、デフォルトの設定に比べて検出感度が2倍以上向上しました。(Fig. 4)

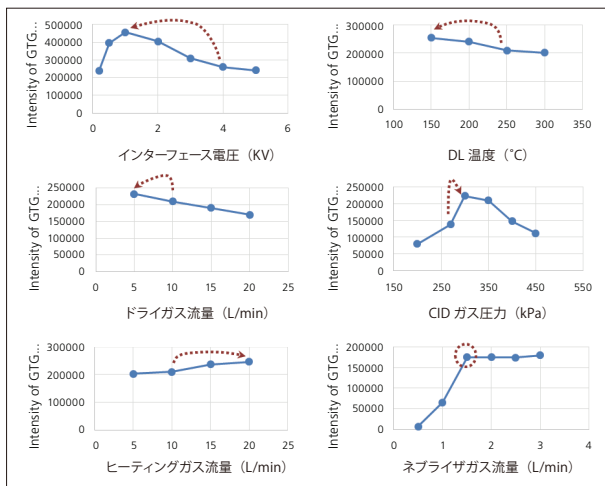


Fig. 4 インターフェースの最適化の結果
Interface Optimization Results

■ 界面活性剤が与える影響 Effect of Surfactant During Digestion

トリプシン消化中に界面活性剤を加えると、消化効率が向上し、ペプチドの検出感度が向上する場合があります。今回は、界面活性剤を加えることでおよそ40%の感度低下が生じました。(Fig. 5)

このため、今回開発した前処理方法では、トリプシン消化中に界面活性剤は用いておりません。

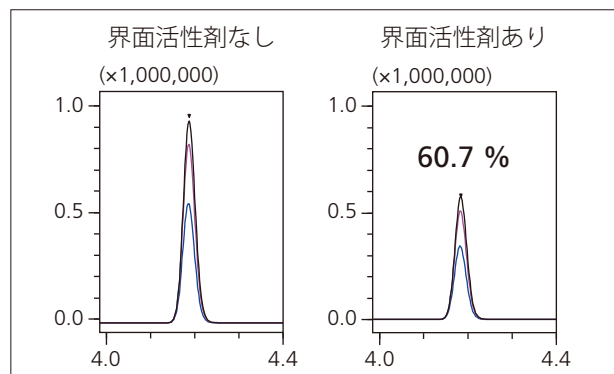


Fig. 5 Ara h1 ペプチド (GTG...) の検出における界面活性剤の影響
Difference of the Chromatograms of Peptide GTG... by Addition of Surfactant

■高い特異性：他のナッツ類に Ara h1 は含まれない

Peanut Allergen in Other Nuts

Ara h1 検出の特異性をテストするため、胡桃、カシューナッツ、アーモンドを試料として、2 ppm (2 mg/kg) のピーナッツパウダーを添加したものと未添加の試料を、それぞれ分析に供しました。結果を Fig. 6 に示します。ピーナッツを添加した試料から Ara h1 ペプチドを検出できたのに対して、添加なしのブランク試料からはピークが検出されず、高い特異性をもつことが示されました。

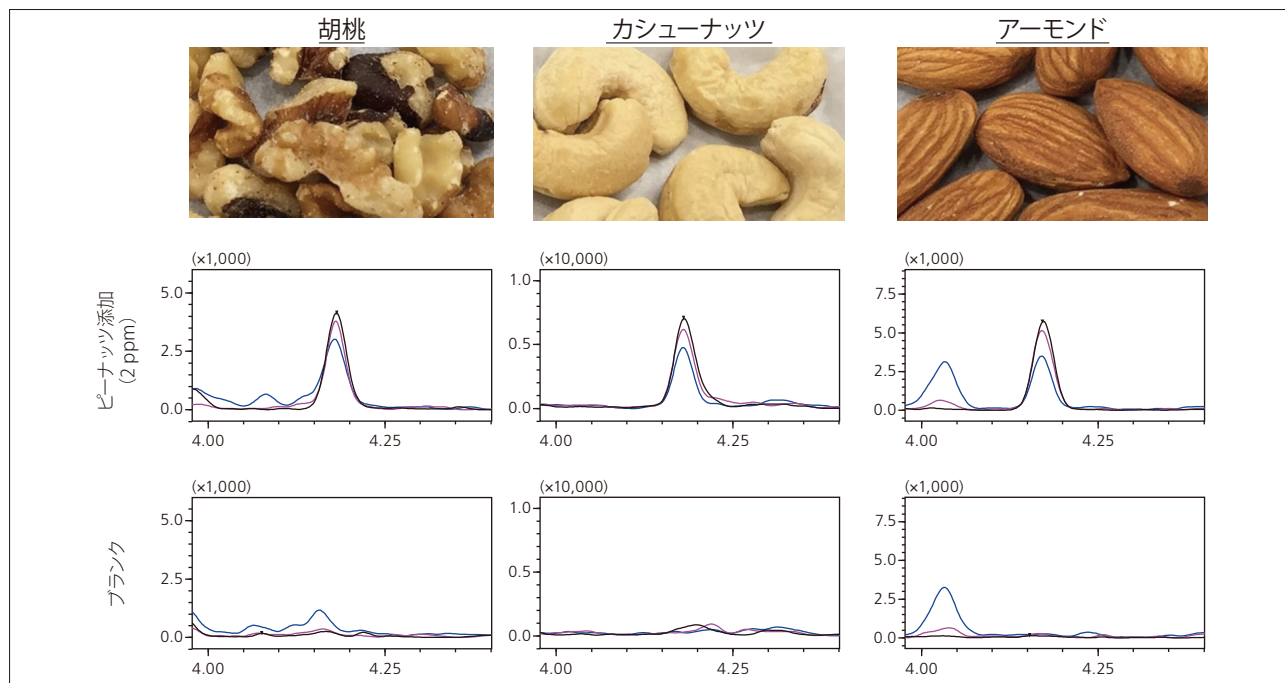


Fig. 6 ピーナッツ (2 mg/kg) を添加した胡桃、カシューナッツ、アーモンドから検出された Ara h1 ペプチド (GTG...) の MRM クロマトグラム
Chromatograms of Peptide GTG... in Other Kind of Nuts With or Without Spiking with Peanuts

■スパイスミックスおよび調味料中の Ara h1 の検出

Detection of ARA h1 in Spice Mixes and Seasonings

数種類のスパイスミックスおよび調味料を本実験手法および分析条件を用いて測定を行いました結果、特定の市販品より Ara h1 ペプチドを検出しました。ここでは、ピーナッツパウダーを添加していません。

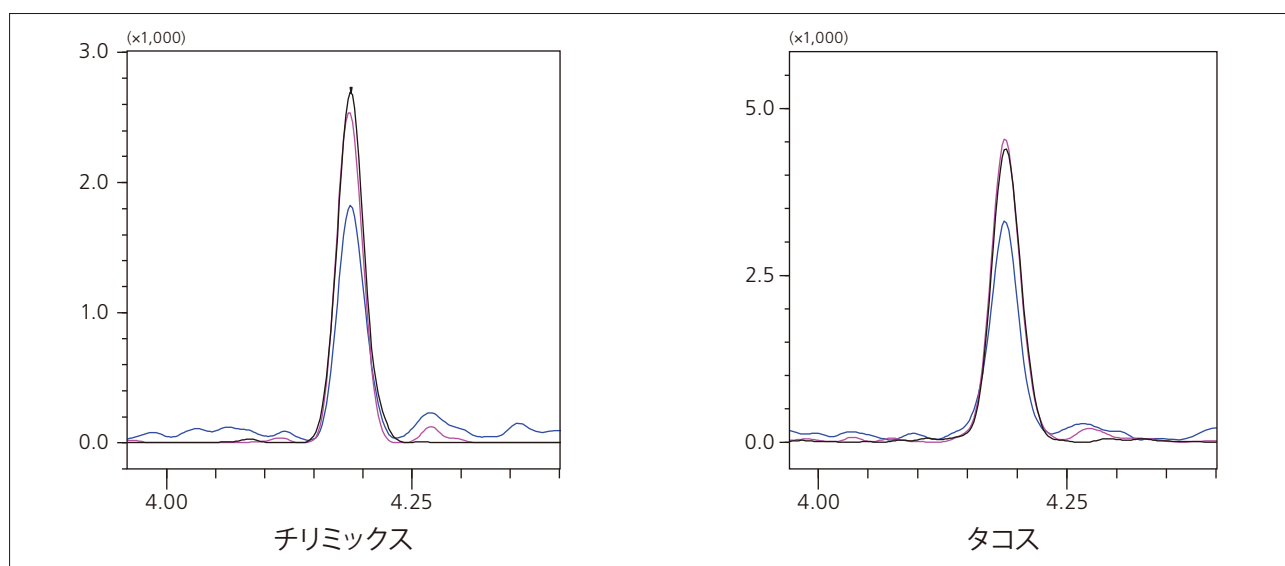


Fig. 7 未添加のチリミックスとタコス調味料より検出した Ara h1 ペプチド (GTG...) の MRM クロマトグラム
Detected Peaks of Peptide GTG... in Chili Mix and Seasoning

■様々なスパイスマトリクスにおける Ara h1 の検出

Peanut Allergen in Spices

極微量のピーナッツパウダー（2 mg/kg）をシナモン、クミン、唐辛子、生姜、ニンニク、カラシ、ナツメグ、ハナハッカ、ローズマリー、セージ、ターメリック、タイムに加え Ara h1 の測定を行いました。ピーナッツパウダーを添加した試料からは Ara h1 を検出しました。一方、ブランク試料からは Ara h1 は検出されませんでした。

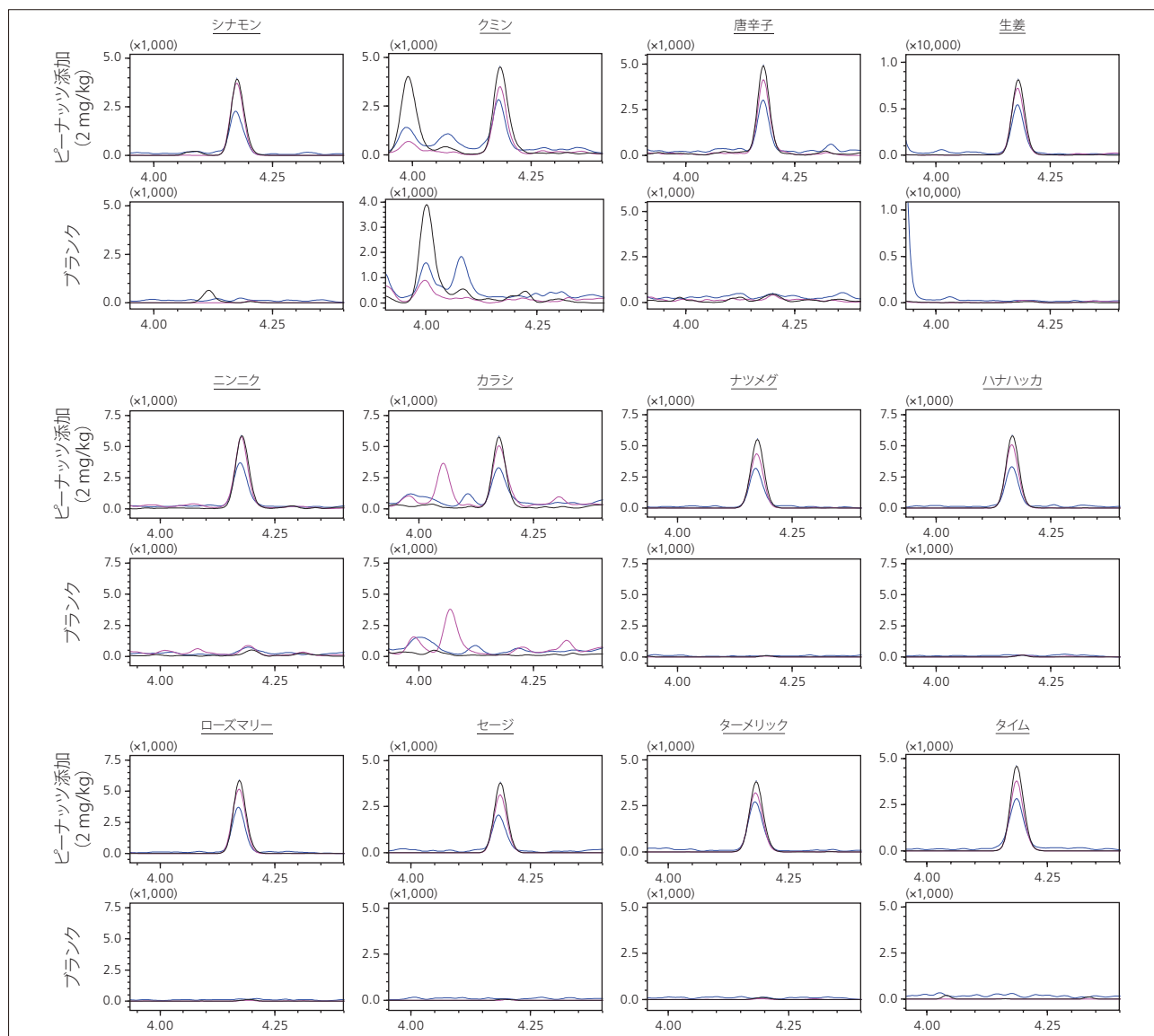


Fig. 8 ピーナッツ (2 mg/kg) 添加スパイス試料および非添加の試料における Ara h1 ペプチド (GTG...) の MRM クロマトグラム
Chromatograms of Peptide GTG... in Spices With or Without Spiking with Peanuts

■結論

Conclusion

ピーナッツアレルゲン物質の高感度および特異的な検出を可能にするため、Ara h1 タンパク質の分析手法を開発しました。

開発された手法を用いて、さまざまなスパイスおよび調味料に添加した微量のピーナッツ（2 ppm）を検出しました。

高感度トリプル四重極質量分析装置を用いることで、ピーナッツ以外の多様なアレルゲン物質の分析系も構築することができます。

高感度 LC/MS/MS による
食品中アレルゲンの一斉分析

食物アレルギーは食品中の特定のタンパク質に対する過剰な免疫応答によって引き起こされることが知られており、公衆衛生および食品産業における喫緊の課題になっています。アレルゲン（アレルギー物質）との予期せぬ接触を防ぐために、食品に含まれるアレルゲンについてはラベルに表示することが厳密に定められています。米国では食品医薬品局（FDA）が食品アレルゲン表示および消費者保護法（Food Allergen Labeling and Consumer Protection Act, FALCPA）に基づき、主要なアレルゲンとして牛乳、卵、魚類（例：スズキ、ヒラメ、タラ）、甲殻類（例：カニ、ロブスター、エビ）、ナッツ類（例：アーモンド、ピーカンナッツ、クルミ）、ピーナッツ、小麦、および大豆の8品目を特定し、これら主要なアレルゲンの存在を食品のラベルに表示する事を義務付けました。

現在、ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) や PCR (Polymerase chain reaction) が検出方法として広く用いられており、これらは比較的簡便な操作によってアレルギー性食品原材料を検出することができます。その一方で、ELISA は交差反応により類似物質を擬陽性として誤検出するリスクが知られています。さらに、ELISA を用いた一斉分析は限定的であり、幅広い食品原材料を検査対象とする場合は異なる測定キットで複数回に分けて測定する必要があります。また、PCR はタンパク質ではなく DNA を検出する手法であるため、牛乳と牛肉を区別することは難しく、また DNA を含まない卵の白身を検出することも困難です。これらの理由により、より確度の高い方法を用いてアレルゲン分析を行うことの重要性が高まっています。

近年、液体クロマトグラフ質量分析計 (LC/MS) を用いた方法が、その高い選択性と感度、複数のアレルゲンに対する一斉分析の可能性から食品アレルゲンの新たな測定法とし

て注目を集めています。本報では LC/MS/MS を用いた8つの主要アレルゲン由来のペプチドを検出する一斉分析方法の開発と市販の加工済み食品を用いた評価についてご紹介します。

T. Ogura

■ 前処理

アレルゲンを含む各食品を食料品店で購入し、分析手法の検討に用いる試料としました。それぞれの試料をグラインダー（GM-200, Retsch）にて粉碎したのち、0.5 - 1 g を 50 mL チューブに秤量しました。食品由来の油脂を取り除くためにヘキサンで洗浄した後、50 mM Tris-HCl (pH8.0)、2 M 尿素、プロテアーゼインヒビターを含む抽出溶液でタンパク質を抽出しました。タンパク質 100 - 250 μ g を含む抽出溶液を還元アルキル化処理後に、トリプシンを用いて酵素消化を行いました。消化済みペプチド試料は SPE により脱塩し、凍結乾燥した後に保存しました。

■ LC/MS/MS によるアレルゲン性タンパク質の検出

分析条件の検討では、ピークの強度や形状および他のペプチドとの相溶性などを考慮し、Skyline を用いて MRM トランジションの選択を行いました（図1）。その結果、表1に示した8つのアレルギー性食品に含まれる13のタンパク質を対象とし、最終的にこれらに由来する29ペプチドを測定するための140トランジションを選択しました。図2に示すように、全てのペプチドは6.5分以内に溶出し、良好なピーク形状および分離パターンを示しました。図2には併せて代表的なペプチドの直線性についても示しました。

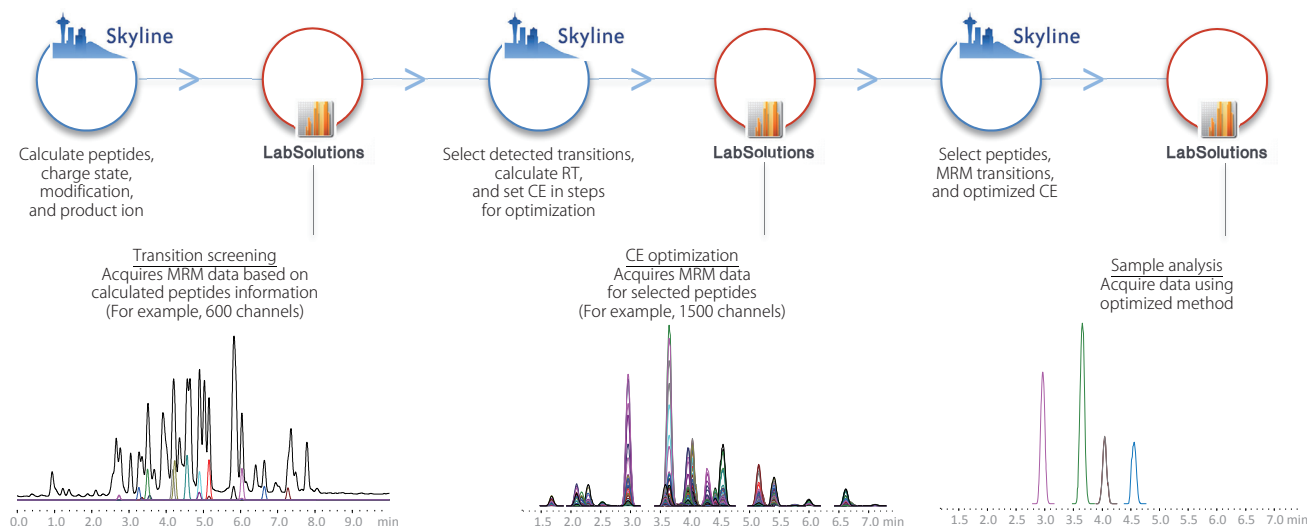


図1 Skyline を用いた MRM トランジション最適化ワークフロー

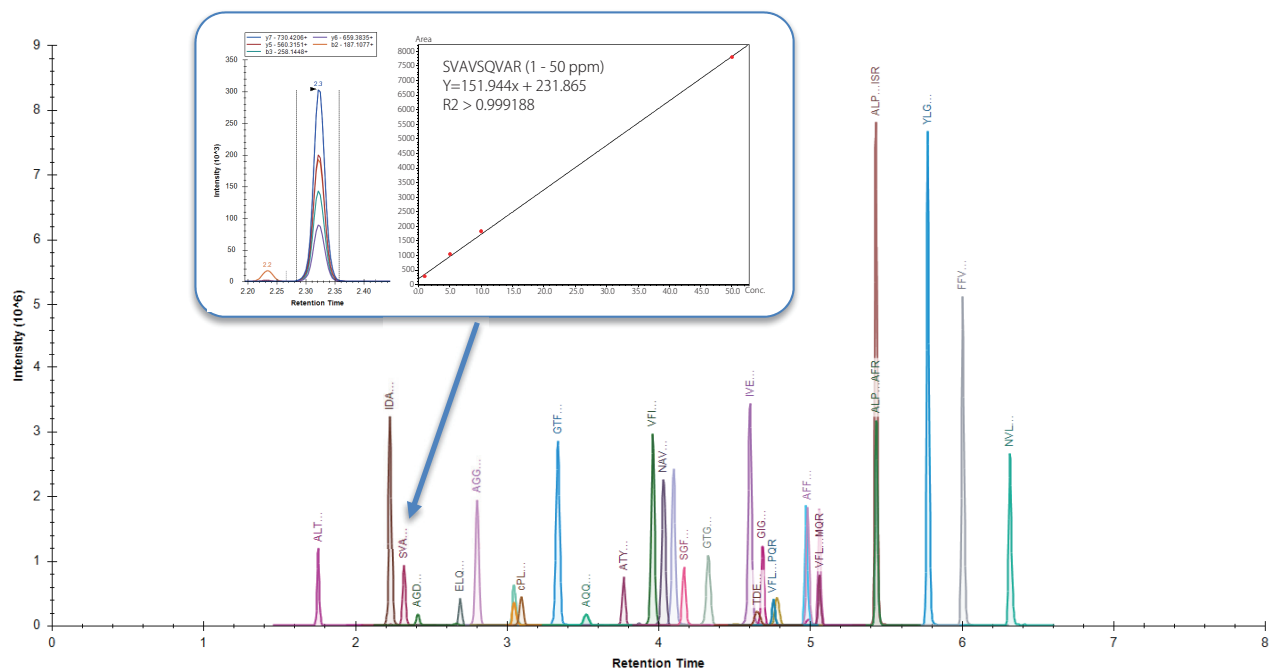


図2 8種類のアレルギー性食品に由来するペプチド混合物のクロマトグラム、小麦由来ペプチドの拡大クロマトグラムおよびその検量線

表1 測定対象とした食品原材料、タンパク質の名称、ペプチド配列、および UniProt ID

Food (<i>Binomial name</i>)		Protein name (<i>UIIS name</i>)	Peptides	Uniprot ID
Milk <i>(Bos taurus)</i>		Caseins (Bos d 8)	FFVAPFPEVFGK	P02662, B5B3R8
			YLGYLEQLLR	P02662, B5B3R8
			NAVPIPTLNR	P02662, B5B3R8
			FALPQYLK	P02663
		Beta-lactoglobulin (Bos d 5)	IDALNENK	P02754, G5E5H7, B5B0D4
Egg <i>(Gallus gallus)</i>		Ovalbumin (Gal d 2)	NVLQPSSVDSQTAMVLVNAIVFK	P01012
		Ovotransferrin (Gal d 3)	ATYLDCKI	P02789, Q4ADJ7, Q4ADJ6, E1BQC2, Q4ADG4, A0A1D5P4L7
			TDERPASVFAVAVAR	P02789, Q4ADJ7, Q4ADJ6, E1BQC2, Q4ADG4, A0A1D5P4L7, A0A1L1RSU6
Fish	Atrantic cod <i>(Gadus morhua)</i>	Beta-parvalbumin (Gad m 1)	ALTDAETK	P02622, A5I873, Q90YL0
			AFFVIDQDK	Q90YL0, A5I873
			SGFIEDELK	Q90YL0, A5I873
Crustacean shellfish	Whiteleg shrimp <i>(Litopenaeus vannamei)</i>	Tropomyosin (Lit v 1)	IQLLEEDLER	B4YAH6
			IVELEELR	B4YAH6
		Myosin, light chain 2 (Lit v 3)	EGFQLMDR	B7SNI3
			GTDFEIGR	B7SNI3
		Sarcoplasmic calcium-binding protein (Lit v 4)	VFIANQFK	C7A639
			AGGLTLER	C7A639
Tree nuts	Almonds <i>(Prunus dulcis)</i>	Amandin, 11S globulin legumin-like protein (Pru du 6)	ALPDEVLANAYQISR	E3SH28, Q43607
			ALPDEVLQNAFR	E3SH29
Peanuts <i>(Arachis hypogaea)</i>		Cupin Vicillin-type, 7S globulin (Ara h 1)	NNPFYFPSR	P43237, P43238, E5G076, B3IXL2, N1NG13, Q6PSU3
			GTGNLELVAVR	P43237, P43238, B3IXL2, Q6PSU6, Q6PSU3, N1NG13, Q6PSU5, E5G076, Q6PSU4
Wheat <i>(Triticum aestivum)</i>		High molecular weight glutenin (Tri a 26)	ELQELQER	P10388, P08489 and 22 others in wheat
			SVAVSQVAR	P10387, P08488, and 21 others in wheat
			AQQPATQLPTVCR	P10387, P08488, and 21 others in wheat
		Low molecular weight glutenin GluB3-23 (Tri a 36)	VFLQQQCIPVAMQR	P10385 and 71 others in wheat P10386, P04729, P04730 and 114 others in wheat
			VFLQQQCSPVAMPQR	
Soybeans <i>(Glycine max)</i>		Trypsin inhibitor (Gly m TI)	CPLTVVQSR	P01070, P01071, P25272 and 13 others
			NKPLVWFQK	P01070, P01071, P25272 and 8 others
			NKPLVVEFOK	P25273

■ 加工済み食品に含まれるアレルゲン

市販の食品試料から得られたクロマトグラムを図 3 に示しました。食品試料にはアレルギー性食品原材料 8 種の混合試料（図 3 (a)）と、7 種の加工済み食品（図 3 (b) - (h)）を用いました。表 2 に 7 種の加工済み食品についてラベル表示と測定結果の比較を示しました。大豆のラベル表示があったいくつかの加工済み食品についてアレルゲンが不検出となった点を除き、市販の加工済み食品においてもアレルゲンを正しく検出できることが示されました。

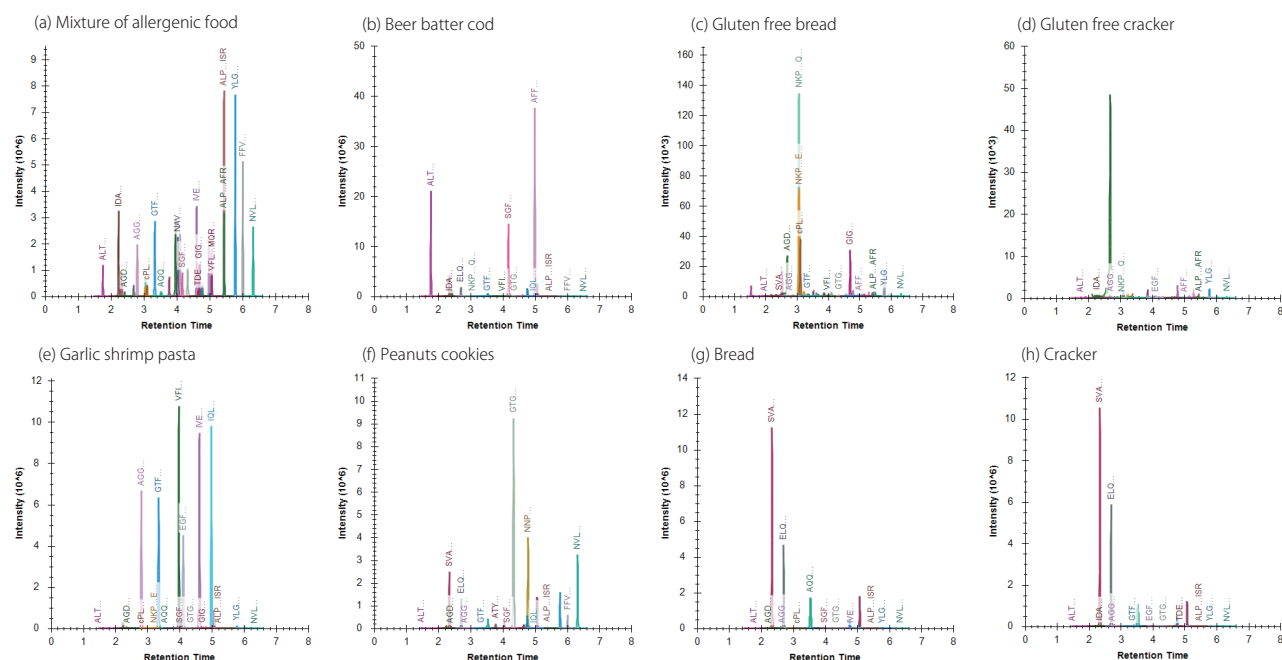


図 3 アレルギー性食品原材料の混合試料 (a) および 7 種類の加工済み食品 (b) - (h) の測定結果

表 2 7 種の加工済み食品のアレルゲン表示および測定結果

Food	Allergens	Gluten free bread		Gluten free cracker		Bread		Cracker		Peanuts cookies		Frozen fish "fried cod"		Frozen pasta "garlic shrimp"	
		Label	Detect	Label	Detect	Label	Detect	Label	Detect	Label	Detect	Label	Detect	Label	Detect
Milk	Caseins (Bos d 8)			x	x					-	x	x	x	x	x
	Beta-lactoglobulin (Bos d 5)				x								x		x
Egg	Ovalbumin (Gal d 2)			x	x	x	x			-	x				
	Ovotransferrin (Gal d 3)				x						x				
Atrantid cod	Beta-parvalbumin (Gad m 1)									-		x	x		
Whiteleg shrimp	Tropomyosin (Lit v 1)									-				x	x
	Myosin, light chain 2 (Lit v 3)														x
	Sarcoplasmic CBP (Lit v 4)														x
Almonds	Amandin (Pru du 6)									-					
Peanuts	Cupin, vicillin-type, 7S globulin (Ara h 1)			x						-	x				
Wheat	High molecular weight glutenin (Tri a 26)					x	x	x	x	-	x	x	x	x	x
	Low molecular weight glutenin (Tri a 36)						x		x		x		x		x
Soybeans	Trypsin inhibitor (Gly m TI)	x	x	x				x		-				x	

*Labeled as "Crustacean shellfish (Shrimp)"

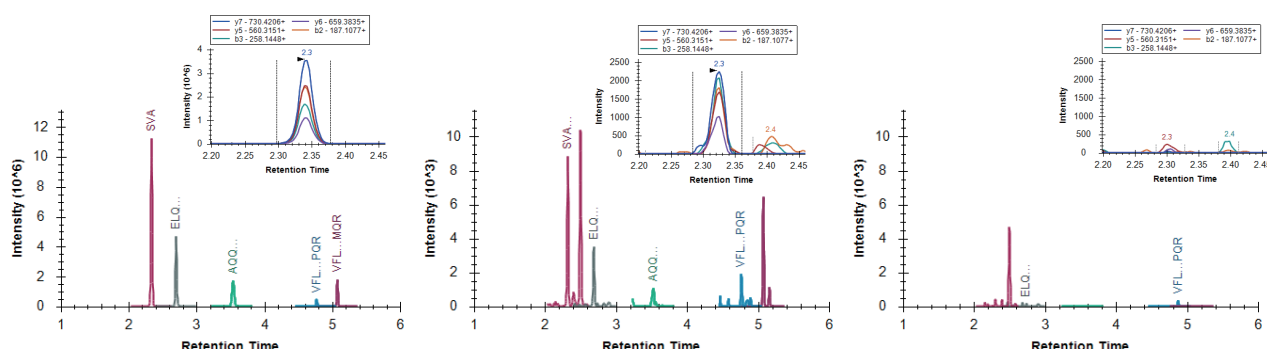


図 4 通常のパン（左）、小麦抽出液 10 ppm を添加したグルテンフリー表示のパン（中央）およびグルテンフリー表示のパン（右）のクロマトグラム

■ そのほかの原材料との相同性

本測定手法の開発では、他の原材料との相同性について留意して検出するペプチドを選択しました。測定対象となる各タンパク質のトリプシン断片後のアミノ酸配列をUniProtデータベースを用いて検索した結果、グルテン関連タンパク質は穀物において一般的であることから、一部のペプチド配列は小麦以外の穀物にも広く保存されていることが判明しました（表3）。小麦と他の穀物の誤同定を防ぐため、小麦由来アレルゲンの検出には大麦やライ麦などに含まれないペプチドを用いることとしました。一方で、これらのペプチドはゴートグラス（goat grass）などにも含まれることが判明しています。

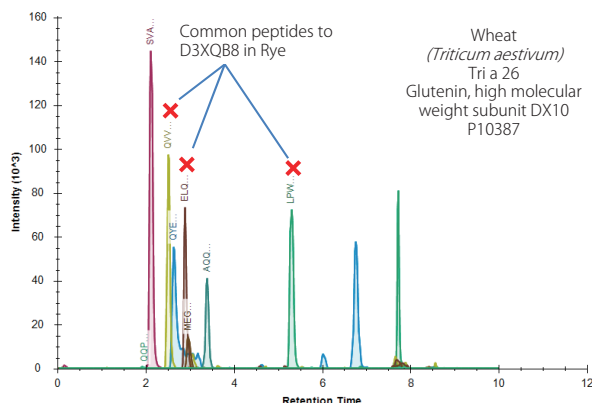


図5 小麦粉に由来するペプチドのクロマトグラム

■ 結論

- ◆ LC/MS/MS を用いて主要な食品アレルゲンを検出する分析手法を開発しました。
- ◆ 8種類の食品に含まれる13種のアレルギー性タンパク質について、計29ペプチド（140MRM トランジション）を対象とした一斉分析を行いました。
- ◆ 本分析手法では市販の加工済み食品に含まれるアレルゲンについても正しく検出することができました。

表3 予想されたペプチド配列の検索結果

Analyzed wheat peptides (P10387)	Positions	Barley	Rye
AQQPATQLPTVCR	624-636		
ELQESSLEACR	33-43	×	×
LPWSTGLQMR	54-63	×	×
MEGGDALSASQ	637-647		×
QGSYYPGQASPPQPGQGQQPGK	135-156		×
QQPGQGQHPEQGK	469-481		×
QWDQQLAGR	44-53		×
QYEQTWPPK	86-95		
SVAVSQVAR	75-85		

×: found, blank: not found

表4 LC/MS 分析条件

System	: Nexera X2 + LCMS-8050		
Column	: Shimadzu Shim-pack XR-ODS III (75 mmL. × 2.0 mmI.D., 1.6 μm)		
Mobile Phase	: A 0.1 % Formic acid - Water, B Acetonitrile		
Flow Rate	: 0.5 mL/min		
Time program	: B Conc. 2 % (0 min) – 15 % (4 min) – 40 % (7 min) – 95 % (7.1 – 8 min) – 2 % (9.1 – 10 min)		
Ionization	: ESI-positive mode		
DL Temp.	: 150 °C	Block Heater Temp.	: 200 °C
Interface Temp.	: 250 °C	Heating Gas Flow	: 20 L/min
Neb. Gas Flow	: 3 L/min	Drying Gas Flow	: 5 L/min

LDTD-MS/MS による粉ミルク中メラミンの超高速分析

メラミンは、粉ミルクやペットフードへの人為的な混入で、大きな社会問題となりました。食品中に高濃度に含まれた場合、メラミン製造時に生じるシアヌル酸と合わせて腎臓結石や腎不全を引き起こす原因となります。一般にメラミンを添加する際には、製品の偽装を目的とすることが多く、添加される量は、非常に高濃度となります。このような偽装を水際で食い止めるには、簡単な試料調製との組み合わせによる高速スクリーニング分析が求められています。粉ミルク中のメラミン分析法としては、夾雑成分を除去する前処理の後、LCMS および GCMS を用いた手法が広く報告されています。本稿では粉ミルク中のメラミンを分析するにあたり、LDTD (Laser Diode Thermal Desorption) イオンソースを LCMS-8060 と組み合わせることで、カラム分離を行わない超高速分析を実施しました。

LDTD イオンソースはカナダのPhytronix社 (<https://phytronix.com/>) が開発した超高速スクリーニング分析用のイオンソースです。レーザー照射による試料の気化、その後の APCI によるイオン化によって、わずか数秒での質量分析を可能にします。試料は 96 ウェルプレートにアプライすることで、10 枚のプレートを連続して分析することが可能です。LDTD イオンソースと当社 LCMS-8060 の組み合わせでは、LCMS-8060 に LDTD イオンソースを接続したまま、カラム分離を用いた LC/MS 分析と LDTD による直接分析をメソッドファイルをロードするのみで、それぞれ使い分けることができます (図 1)。これにより、LCMS-8060 で分析対象となる化合物の MRM 最適化を行い、決定した MRM トランジションを使って、LDTD による超高速分析を行うことが可能となります。またその逆に、LDTD による超高速分析により多検体の分析スクリーニングを行い、その結果を受けて特定の試料に対して LC/MS 分析を行うこともできます。このように LDTD イオンソースと LCMS-8060 の組み合わせはその目的に合わせて、二つの全く異なる分析法をスイッチして使用することができます。

本稿では、LDTD イオンソースを接続して、DUI (Dual ion source、ESI と APCI) によるメラミンの MRM 最適化を行い、得られた MRM トランジションを LDTD-MS による超高速分析に用いました。また LDTD-MS による超高速分析には、粉ミルク中にメラミンを添加したものを試料として、液々抽出によるメラミンの回収後、LDTD イオンソースと LCMS-8060 を組み合わせた質量分析システムを使用しました。ここでは、LCMS と LDTD-MS という二つの分析システムを切り替えて粉ミルク中のメラミンを分析した例をご紹介します。

■ LDTD システムを接続した LC-MS による MRM 最適化

最初にメラミンの標準品を用いて DUI モードによる MRM の最適化を行いました。最適化における LC 条件は一般的な FIA (Flow Injection Analysis) による MRM 最適化条件にて行いました。図 2 は DUI モードでメラミンを最適化した際に得られた MS/MS スペクトル (CE:-25 V) を示します。この条件で確認された MRM トランジション ($m/z126 > 85$ 、 $127 > 68$ 、 $127 > 43$) のうち、LDTD-MS 分析でバックグラウンドが低かった MRM トランジション ($m/z127 > 68$) を使って、LDTD-MS による粉ミルク中のメラミン分析を行いました。

T. Nakanishi

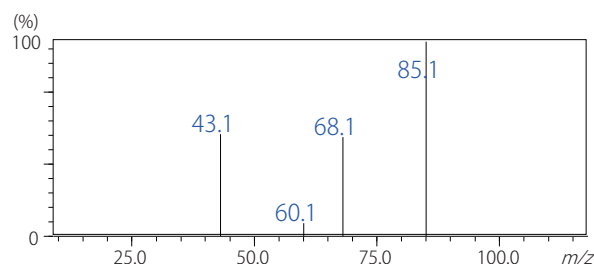
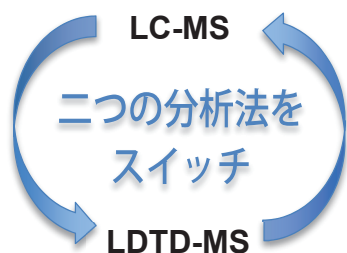


図 2 DUI モードにおけるメラミンの MS/MS スペクトル



ESI、APCI、DUI の 3 つのイオン化法を使い分けながら、LDTD による超高速分析をスムーズに始めるために対象成分の MRM 最適化を行ったり、複雑な分析試料の場合には LDTD 分析後に、再び LC/MS による詳細解析を行うことも可能です。

LDTD-MS 用の 96 ウェルプレートへの試料の簡単なアプライから、LDTD-MS による複数成分への超高速分析 (4 秒でのイオン化) が可能です。

図 1 LC-MS と LDTD-MS による二つの分析法

■粉ミルク添加メラミンの抽出

市販の粉ミルク 125 mg を秤量して、1.5 mL のエッペンドルフチューブに移します。次に 0.5 mL の超純水および 0.5 mL のアセトニトリルを加えて、1 分間しっかりと攪拌しました。次にあらかじめ調製しておいた 0、5、10、25、50、100、500、1000 $\mu\text{g/mL}$ のメラミン溶液を 12.5 μL ずつ、粉ミルク懸濁液に加えていきます。これは粉ミルク中濃度として、0、0.5、1、2.5、5、10、50、100 ppm に相当します。添加したメラミンが十分に混ざるように、さらに 1 分間しっかりと攪拌しました。遠心分離 (14,000 g、室温、5 min) により粉ミルク成分を沈殿させ、メラミンを含む 200 μL 上清を回収して新しいエッペンドルフチューブに移します。次に 200 μL 炭酸ナトリウム緩衝液 (飽和 NaCl、pH 10) を加えてしっかりと攪拌し、さらに 1 mL の酢酸エチルを加えて十分に攪拌しました。水層と有機層に分かれますので、遠心分離を行い、メラミンが含まれる有機層から 4 μL を LazWell プレート (96 ウェル) に分注して乾燥させました。LazWell プレートを LDTD イオンソースにセットして、各試料に対するバッチ分析を行いました。

表 1 LDTD-MS の分析条件

LDTD 分析条件	
レーザーパターン	: 65 % レーザーパワー、2 秒
ガス流量	: 3.0 L/min
MS 分析条件	
モード	: MRM (pos)
インターフェイス	: APCI
DL 温度	: 250 $^{\circ}\text{C}$
ヒートブロック温度	: 400 $^{\circ}\text{C}$

■粉ミルク添加メラミンの LDTD-MS 分析

LDTD-MS 分析条件を表 1 にまとめました。図 3 に示したのは、粉ミルクに添加したメラミンの MRM クロマトグラム (粉ミルク中濃度として 0.5、5、50 ppm 相当) です。LDTD イオンソースによって、わずか 6 秒以内 (0.1 分以内) でメラミンがイオン化されていることが分かります。また各濃度のメラミンを添加した試料を $n=3$ で分析したところ、図 3 に示すように良好な再現性を示すことが確認できました。このことは、LDTD-MS 分析による超高速分析が、圧倒的なスループットを持ち、かつ、LCMS 分析に匹敵する高い再現性を確保した定量分析が行えることを示しています。次にメラミンを添加した各濃度試料の分析結果をもとに、各添加濃度に対するピーク面積値をプロットしました (図 4)。この分析結果からは、 $R^2=0.998$ の直線性が確認できました。これらの結果から、粉ミルク中のメラミンといった夾雑物を多く含む試料においても、高い再現性・直線性をともなった超高速定量分析が LDTD-MS によって行えることが分かります。

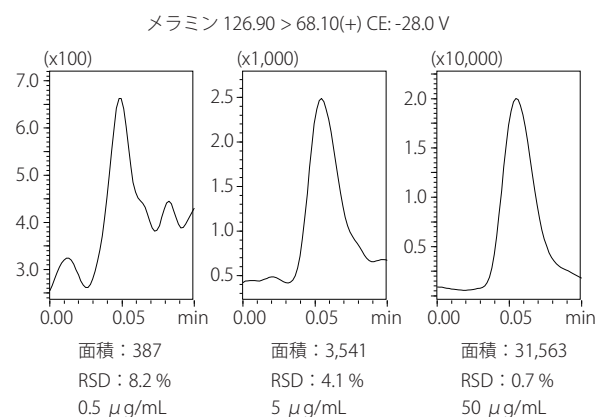


図 3 粉ミルクに添加したメラミンの MRM クロマトグラム

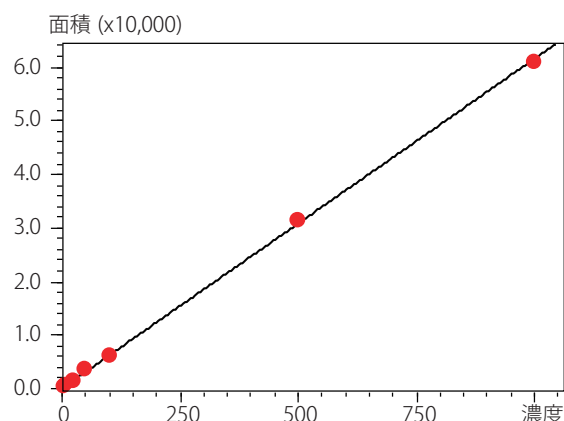


図 4 粉ミルクに添加したメラミンの直線性

本稿では、LCMS-8060 の DUIS モードによる MRM 最適化を行った後、粉ミルクに添加したメラミンに対して LDTD-MS による超高速分析を行い、その再現性と直線性の高さを確認しました。このように LCMS-8060 と LDTD イオンソースの組み合わせは、分析目的に応じて簡単に分析システムを切り替えることができるため、多成分の最適化を LCMS で行ったり、あるいは LDTD による超高速な簡易スクリーニング分析の結果を受けて、複雑な分析試料への LCMS 分析を実施するといった、二つの特徴的な分析法を使い分けることができます。

フードメタボロミクス
LC/MS/MSを用いた酒類の劣化解析

近年、生体中の代謝物を網羅的に解析するメタボロミクスという技術に注目が集まっています。この手法を食品に応用したものが「フードメタボロミクス」です。これまで食品を評価する際は、人による官能試験により味、香り、おいしさ、等級などが評価されてきました。フードメタボロミクスは、食品中の代謝物を網羅的に分析し、その結果と人による官能試験等の結果の関係を解析することで、より科学的に食品の「品質の評価・予測」や「機能性成分の探索」を行うというものです。

本報告ではフードメタボロミクスを用いた食品の劣化解析の一例として、市販の日本酒および白ワインを苛酷な条件下にて保管し、アミノ酸、有機酸、ヌクレオシド、ヌクレオチドといった親水性代謝物にどのような変化がみられるのかについて、高速液体クロマトグラフ質量分析計（LC/MS/MS）を用いて網羅的に分析し、多変量解析により検証した事例を紹介いたします。

N. Kato Y. Inohana

■ サンプルおよび劣化実験

サンプルとして市販の日本酒2種類（冷蔵で販売されているもの）と白ワイン1種類を使用しました。各試料の内訳を表1に示しました。また、各サンプルについては強制的に劣化させる目的で、表2に示した処理を加えました。酒類の流通は国内に留まらず、輸出入も活発に行われるようになっており、品質を損なわない輸送は商品価値を維持する上でも非常に重要な要素です。今回の実験では、日光への暴露、高温、揺れといった輸送時の品質に影響を及ぼしかねない状況を再現し、評価しました。

各条件下で保管したサンプルは、12,000 rpmで5分間遠心分離し、その上清を超純水で100倍希釈したものをLC/MS/MS分析用サンプルとしました。

表1 サンプルの詳細

サンプル	
日本酒-1	純米大吟醸, 精米歩合=50%, アルコール分=15度
日本酒-2	吟醸酒, 醸造アルコール添加, 精米歩合=50%, アルコール分=15度
白ワイン	オーストラリア産、酸化防止剤（亜硫酸塩）含有、アルコール分=13度

表2 サンプル劣化処理の内容

保管条件	
A	冷蔵・遮光下に2週間保管
B	室温・日常光暴露下に2週間保管
C	冷蔵・遮光下に2週間保管 → 遮光下で24h 50℃に加熱
D	冷蔵・遮光下に2週間保管 → 室温・遮光下で24h振とう

■ 分析条件

一次代謝物LC/MS/MSメソッドパッケージ Ver. 2に含まれるイオンペアフリーLC/MS/MS法を用い、LCMSTM-8060（図1）を使用して行いました。本パッケージに含まれる分析メソッドを使用することで、ライフサイエンス分野のメタボローム解析において重要となる親水性代謝物97成分の一斉分析が可能になります。表3にHPLCおよびMSの分析条件を示しました。

表3 分析条件

[HPLC conditions] (Nexera TM X2)	
Column	: Reversed-phase column
Mobile phases	: A) 0.1% Formic acid in water B) 0.1% Formic acid in acetonitrile
Mode	: Gradient elution
Flow rate	: 0.25 mL/min
Injection volume	: 3 μ L
[MS conditions] (LCMS-8060)	
Ionization	: ESI (Positive and negative mode)
Mode	: MRM
Nebulizing gas flow	: 3.0 L/min
Drying gas flow	: 10.0 L/min
Heating gas flow	: 10.0 L/min
DL temp.	: 250℃
Block heater temp.	: 400℃
Interface temp.	: 300℃



図1 NexeraTM X2およびLCMSTM-8060

■ メタボローム解析

各サンプルをLC/MS/MSで測定し、各成分の面積値を用いて、主成分分析（Principal Component Analysis: PCA）および一元配置分散分析（one-way analysis of variance: one-way ANOVA）をTraverse-MSTM ソフトウェアにより行いました。

その結果、主成分分析ではいずれの酒類においても、サンプルの処理による明確な差異は確認されませんでした。一方でANOVAの結果を詳しく確認すると、酒類あるいは保管条件によって特異的に増減する成分がいくつか確認されました。一例として日本酒-1の各保管条件におけるANOVA検定結果を図2に示しました。有意差ありと判定される成分（ p 値<0.05）については、緑枠で囲い明示しました。

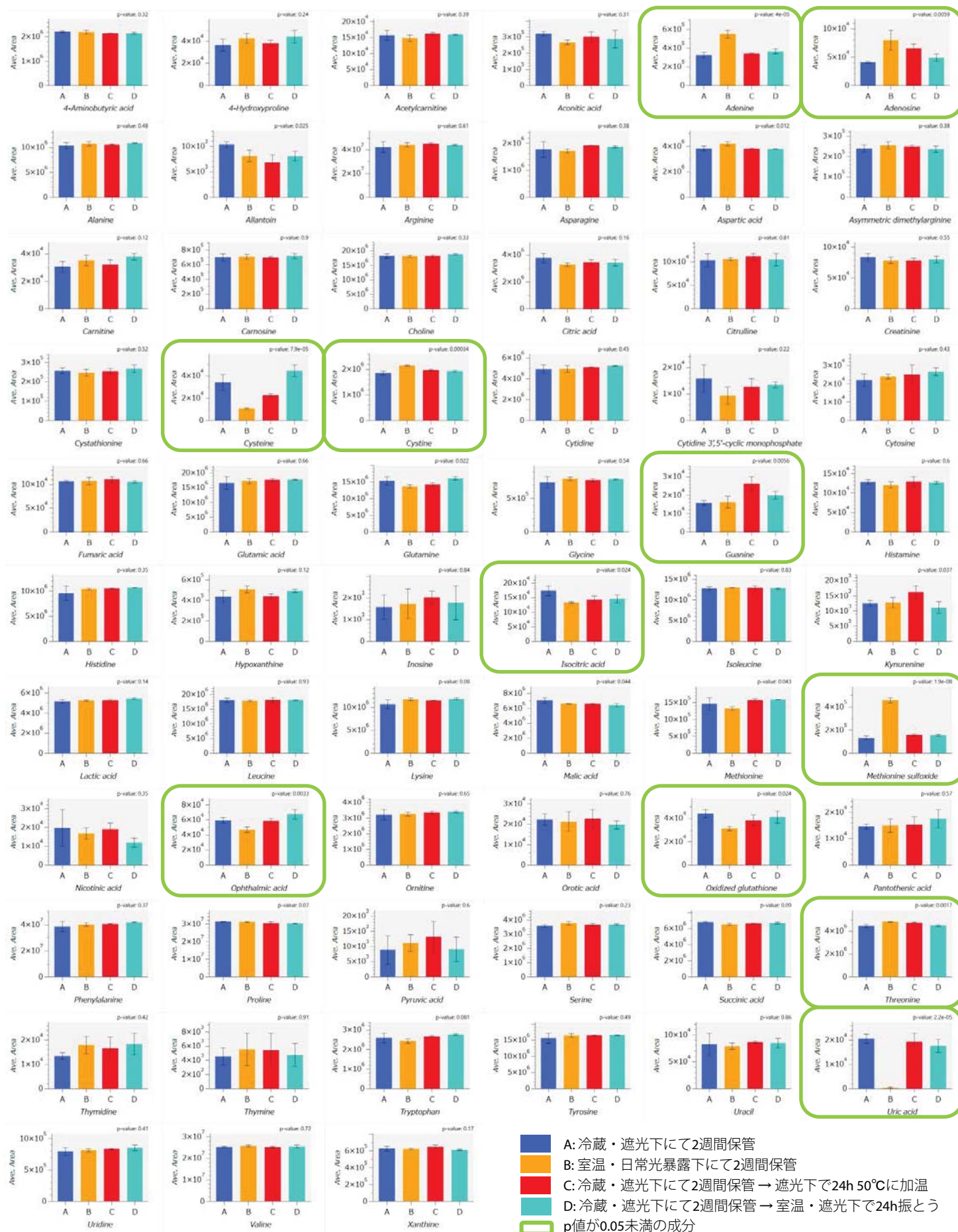


図2 日本酒-1における各保管条件間のANOVA検定結果

日本酒-1を各保管条件下にて処理した結果、特に条件Bの室温・日常光暴露下にて2週間保管したサンプルに関して、他の条件とは測定値が大きく異なる成分がいくつか確認されました。この傾向は日本酒-2や白ワインでも同様であり、50℃加温や振とうを24時間程度行っただけでは、アミノ酸や有機酸を中心とした親水性化合物群には大きな影響が確認されませんでした。今回の検証ですべてが判断できる訳ではありませんが、商品の輸送時や商品購入後の保管に関して、揺れや高温に曝された場合であっても、短時間であれば品質にあまり大きく影響しないと見てとることもできます。

なお、日本酒-1に関してp値が0.05未満でかつ条件Bが他と大きく違った成分としては、システイン、メチオニンスルホキシド、尿酸が挙げられます。他にも白ワインのみで特徴的に変化した成分などが観測されており、図3~6においてそうした特徴的な成分を抽出し酒類間で比較した結果を示しました。

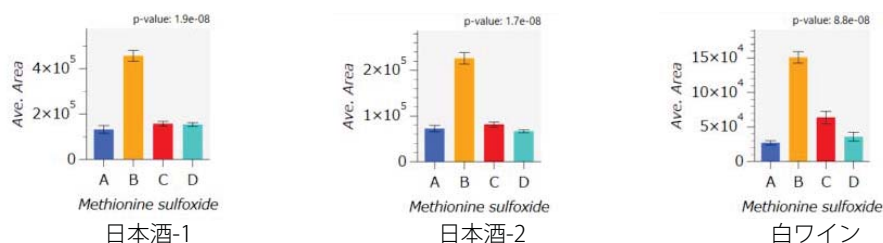


図3 メチオニンスルホキシドのANOVA検定結果

図3にメチオニンスルホキシドの各酒類における検定結果を示しました。この成分については、いずれの酒類においても同様の結果が得られており、室温・日常光暴露下にて2週間保管したサンプル（B）で顕著に増加する傾向がみられました。メチオニンは老化に伴う生体内でのタンパク質の酸化部位として最も影響を受けやすいアミノ酸残基と言われており、細胞内での酸化ストレスに迅速に反応してスルホキシド型になることが知られています。今回得られた結果からはメチオニンスルホキシドを酒類における酸化のマーカーとして使用できる可能性が示唆されました。

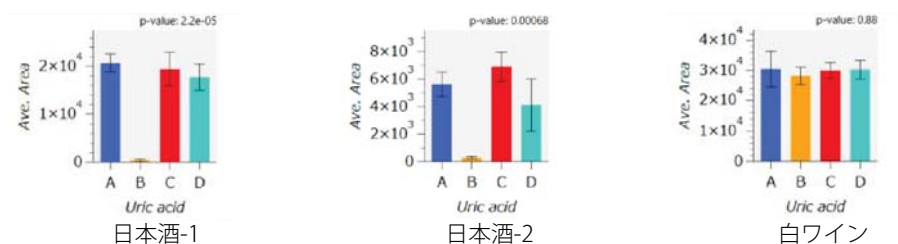


図4 尿酸のANOVA検定結果

図4に尿酸の各酒類における検定結果を示しました。この成分については、日本酒においてのみ室温・日常光暴露下にて2週間保管したサンプル（B）で顕著に減少する傾向がみられました。尿酸は生理学的役割としてアスコルビン酸に並ぶ強い抗酸化作用を持ち、自身は容易に酸化されやすい性質があります。白ワインについては酸化防止剤として亜硫酸塩が添加されているため、尿酸自身が酸化されることがほとんどなかったものとみられます。

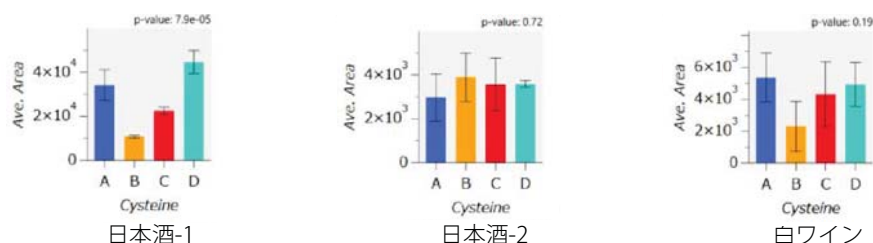


図5 システインのANOVA検定結果

図5にシステインの各酒類における検定結果を示しました。この成分については、日本酒-1においてのみ室温・日常光暴露下にて2週間保管したサンプル（B）で有意差をもって顕著に減少する傾向がみられました。システインはメチオニンとならんで日本酒の劣化臭の主要成分とされるジメチルトリスルフィド（DMTS）の前駆物質の一つとして知られています。システインの減少がDMTSの生成につながっているとすると、日本酒-1と日本酒-2の主な違いである醸造アルコール添加の有無が劣化の受けやすさに影響している可能性が考えられます。

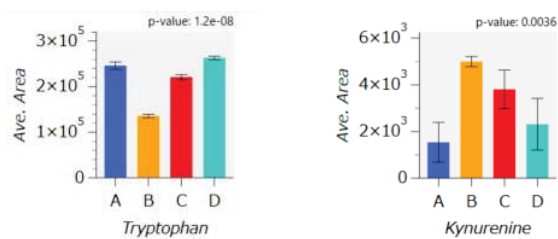


図6 白ワインにおけるトリプトファンおよびキヌレニンのANOVA検定結果

図6に白ワインにおけるトリプトファンおよびキヌレニンの検定結果を示しました。室温・日常光暴露下にて2週間保管したサンプル (B) においてトリプトファンの低下とキヌレニンの上昇を確認することができ、高温下に24時間さらした検体 (C) もわずかに同じ傾向が見られました。トリプトファンはその代謝経路の一つであるキヌレニン経路 (図7) により、キヌレニンに代謝されることが知られており、その経路に沿った変動を示しています。

■ まとめ

このようにLC/MS/MSを用いたフードメタボロミクスを行うことで、酒類の劣化を特徴づける成分の網羅的探索が可能となります。

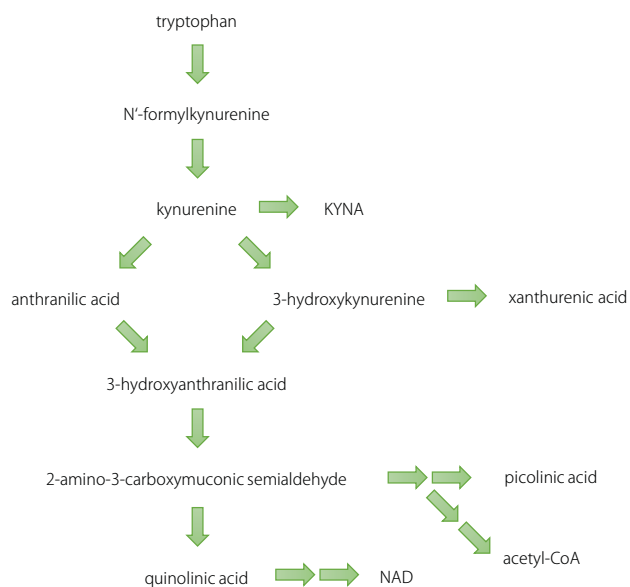


図7 キヌレニン経路

LCMSおよびNexeraは、株式会社島津製作所の日本およびその他の国における商標です。Traverse MSは、ライフイクス株式会社の商標です。

初版発行：2019年10月

製品紹介を見る →

Enhanced performance

Sensitivity and Robustness



高速液体クロマトグラフ質量分析計 Liquid Chromatograph Mass Spectrometer **LCMS-8060NX**



ANALYTICAL
INTELLIGENCE

Analytical Intelligenceは、島津製作所が提案する分析機器の新しい概念です。システムやソフトウェアが、熟練技術者と同じように操作を行い、状態・結果の良し悪しを自動で判断し、ユーザーへのフィードバックやトラブルの解決を行います。また、分析機器に対する知識や経験の差を補完し、データの信頼性を確保します。

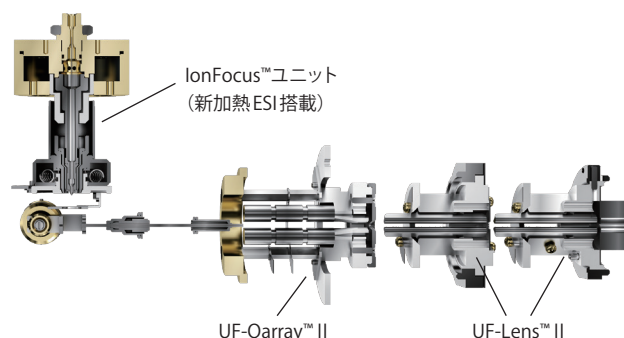
LCMS-8060NXは世界最高クラスの感度、測定速度を実現しながら、操作性、頑健性をさらに向上させた島津トリプル四重極質量分析計の集大成モデルです。Analytical Intelligenceを備えたLCMS-8060NXはあなたのラボのアウトプットを最大化します。

世界最高クラスの感度と測定速度

LCMS-8060が誇る、世界最高クラスの感度と測定速度はそのままに、加熱ESIの改良と、ヒーティングガス流量の上限値拡張により、脱溶媒効率をさらに向上。イオン化しにくかった化合物に対しても最適なイオン化条件を設定でき、さらなる高感度分析が可能です。

ダウンタイムを最小化する高い頑健性

新開発のイオン源IonFocus ユニットの、イオンのみを効率よく装置内部に導入し、夾雑成分は除去。装置内部の汚染やマトリクス効果を緩和できます。さらに、高いイオン透過率を維持しながら頑健性を向上させた新イオンガイドUF-Qarray II、UF-Lens IIを採用し、装置のダウンタイムを最小化します。



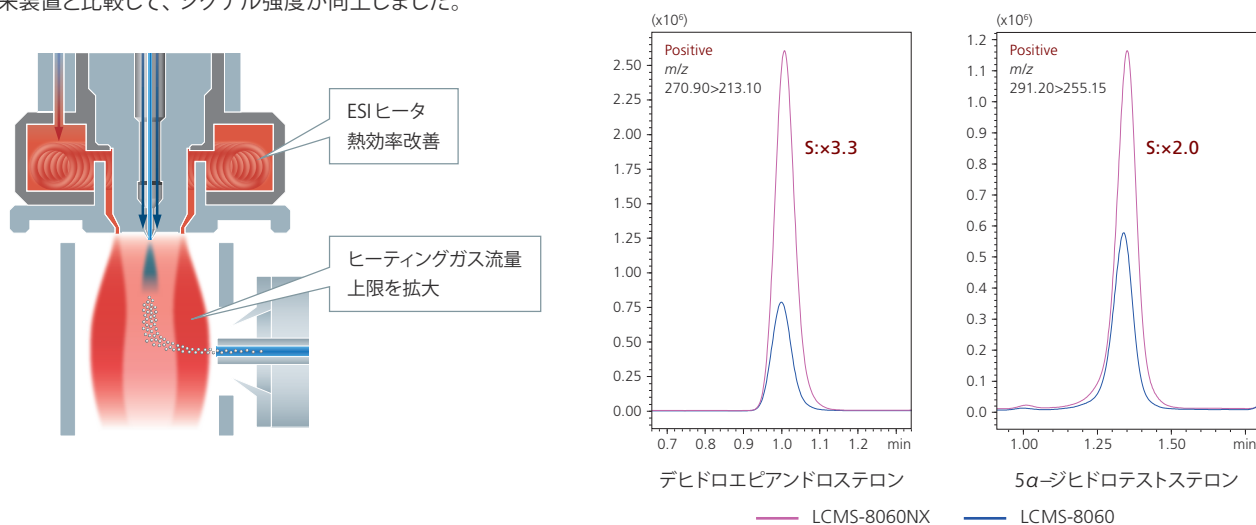
ワークフロー全体を効率化する操作性

最適化せずに高感度が得られる新パラメータや、装置の自動スタートアップ、シャットダウン機能 (LabSolutions Connect™ MRM) など、Nexera™シリーズと組み合わせることで、種々の Analytical Intelligence 機能がワークフロー全体の効率化を支えます。

■ 脱溶媒効率の改善による、より高感度な分析

LCMS-8060NXでは、ESIヒータの熱効率の改善とヒーティングガス流量の上限値の拡張により、脱溶媒の効率が向上しました。そのため、ステロイドホルモンのようなイオン化しにくい化合物の、さらなる高感度分析が可能となります。

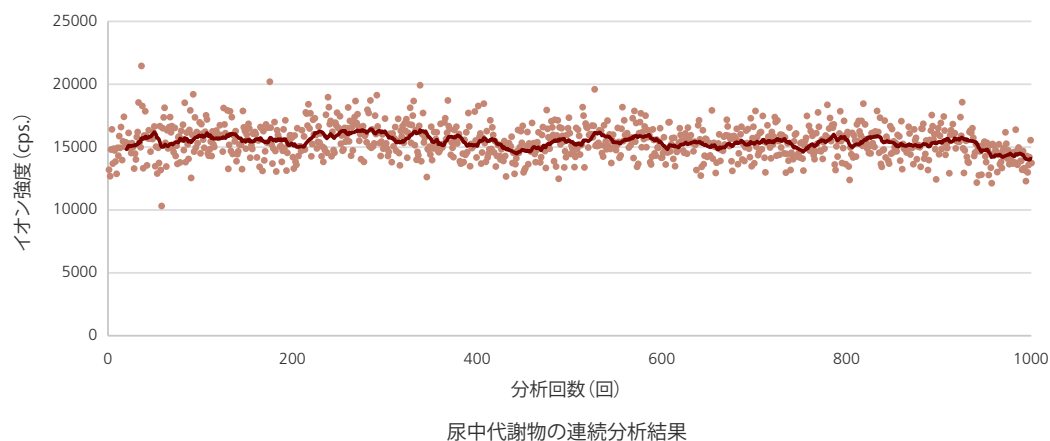
以下に脱溶媒効率改善によるステロイドホルモンの感度向上を示します。最適なイオン化条件を設定することで、LCMS-8060NXでは従来装置と比較して、シグナル強度が向上しました。



■ 新技術による頑健性の向上

LCMS-8060NXは、IonFocus ユニットに加え、高いイオン透過率を維持しながら頑健性をさらに向上させた新イオンガイドUF-Qarray II、UF-Lens IIを採用し、装置全体の頑健性を向上させた設計となっています。そのため、マトリクスを多く含む試料でも簡便な前処理で直接注入することが可能です。

下記のデータは、水で希釈しただけの尿を試料とし、尿中代謝物を連続分析した結果です。LCMS-8060NXでは、複雑なマトリクスの試料の過酷な連続測定においても感度低下することなく、優れた再現性を得ることができました。



Find us on



Linked in®



R⁶ ResearchGate



LCMS、Nexera、Shim-pack、Shim-pack Scepter、LabSolutions Insight、Analytical Intelligenceロゴ、IonFocus、UF-Qarray、UF-LensおよびLabSolutions Connectは、株式会社島津製作所の商標です。RaptorおよびQ-sepは、Restek Corporationの登録商標です。

本文書に記載されている会社名、製品名、サービスマークおよびロゴは、各社の商標および登録商標です。なお、本文中では「TM」、「®」を明記していない場合があります。本製品は、医薬品医療機器法に基づく医療機器として承認・認証を受けておりません。治療診断目的およびその手続き上での使用はできません。トラブル解消のため補修用部品・消耗品は純正部品をご採用ください。外観および仕様は、改良のため予告なく変更することがありますのでご了承ください。

株式会社 島津製作所

分析計測事業部 604-8511 京都市中京区西ノ京桑原町1

東京支社 101-8448 東京都千代田区神田錦町1丁目3
(03) 3219-(官公庁担当) 5631・(大学担当) 5616・(会社担当) 5622
関西支社 530-0012 大阪市北区芝田1丁目1-4 阪急ターミナルビル14階
(06) 6373-(官公庁・大学担当) 6541・(会社担当) 6556
札幌支店 060-0807 札幌市北区北七条西2丁目8-1 札幌北ビル9階 (011) 700-6605
東北支店 980-0021 仙台市青葉区中央2丁目9-27 プライムスクエア広瀬通12階 (022) 221-6231
郡山営業所 963-8877 郡山市堂前町6-7 郡山フコク生命ビル2階 (024) 939-3790
つくば支店 305-0031 つくば市吾妻3丁目17-1
(029) 851-(官公庁・大学担当) 8511・(会社担当) 8515
北関東支店 330-0843 さいたま市大宮区吉敷町1-41 明治安田生命大宮吉敷町ビル8階
(048) 646-(官公庁・大学担当) 0095・(会社担当) 0081
横浜支店 220-0004 横浜市西区北幸2丁目8-29 東武横浜第3ビル7階
(045) 311-(官公庁・大学担当) 4106・(会社担当) 4615
静岡支店 422-8062 静岡市駿河区稲川1丁目1-1 伊伝静岡駅南ビル2階 (054) 285-0124

名古屋支店 450-0001 名古屋市中村区那古野1丁目47-1 名古屋国際センタービル19階
(052) 565-(官公庁・大学担当) 7521・(会社担当) 7531
京都支店 604-8445 京都市中京区西ノ京徳大寺町1
(075) 823-(官公庁・大学担当) 1604・(会社担当) 1603
神戸支店 650-0033 神戸市中央区江戸町9-3 栄光ビル9階 (078) 331-9665
岡山営業所 700-0826 岡山市北区磨屋町3-10 岡山ニューシティビル6階 (086) 221-2511
四国支店 760-0017 高松市番町1丁目6-1 高松NKビル9階 (087) 823-6623
広島支店 732-0057 広島市東区二葉の里3丁目5-7 GRANODE広島5階 (082) 236-9652
九州支店 812-0039 福岡市博多区冷泉町4-20 島津博多ビル4階
(092) 283-(官公庁・大学担当) 3332・(会社担当) 3334

島津コールセンター（操作・分析に関する電話相談窓口） ☎ 0120-131691
IP電話等：(075) 813-1691

<https://www.an.shimadzu.co.jp/>