

Instrument: Pegasus® BT

ベンチトップ GC-TOFMS による 食品中残留農薬の高速分析

LECO Corporation; Saint Joseph, Michigan USA

Key Words: 残留農薬分析, Pegasus BT, 定量分析, 定性分析, ハイスループット

Introduction

ルーチン分析を実施するには、データ処理を含む試料処理能力が重要な検討項目となります。本アプリケーションノートでは、TOFMS の高速性と性能を活用し、標準的な 30 m カラムの代わりに 15 m カラムを用いることで、分析性能を損なうことなく標準的な残留農薬分析の測定時間を短縮しました。Restek EZGC Method Translator により提案された 15 m カラム用条件に、LECO の ChromaTOF® brand software バージョン 5.0 を組み合わせることで、定性分析と定量分析を同時に実施し、分析時間を大幅に短縮しました。目的の一つは、デコンボリューションで分離できないクロマトグラフィー上の共溶出を大幅に増やすことなく、スループットを最大化することでした。目標は、いずれの分析法においても同数の添加農薬を検出することでした。NonTarget Deconvolution™ として実装されている LECO 独自のデコンボリューションアルゴリズムを用いることで、定性分析における優れたピーク忠実度を維持し、Target Analyte Find 機能を用いて堅牢な定量を行うとともに、QuEChERS いちご抽出液に添加した含窒素農薬のメソッド検出限界を設定しました。

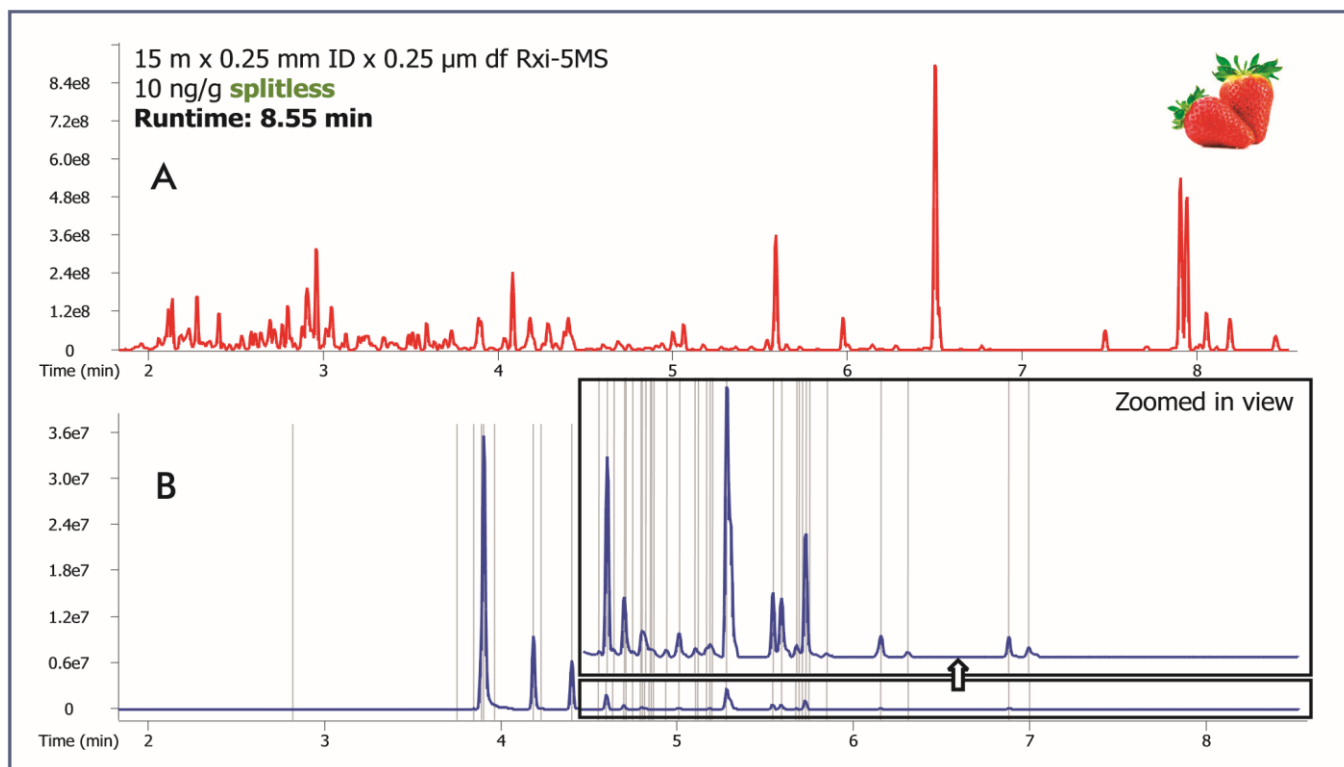


Figure 1. 添加したいちご QuEChERS 抽出液の分析イオンクロマトグラム (AIC)。(A) Peak Find (ノンターゲット) を用いて報告された分析対象成分、(B) Target Analyte Find を用いて報告された分析対象成分。ターゲットトレース中の強いピークは、10 ppb 添加分に加えてマトリックス中に元来含まれていた分析対象成分を示します。農薬およびその LOD を Table 2 に示します。

GC Method for Fast Run Time

地域の食料品店で購入したいちごから、別途記載された方法 (<http://www.restek.com/pdfs/GNAN1097A.pdf>) に従ってバルク抽出液を調製しました。GC-MS 分析用として、バルク抽出液中に GC Multiresidue Pesticide Mix #5 (Restek) を 5000 ng/g から 0.10 ng/g まで段階希釈した系列を二重調製しました。また、自然残留農薬の有無を調べるため、未添加かつクリーンアップなしの未処理抽出液も調製しました。

Table 1. GC-TOFMS (Pegasus BT) 条件

Gas Chromatograph	LECO L-PAL3 Autosampler, Agilent 7890B GC
Injection	1 µL pulsed splitless, 20 psi for 0.7min, GC injector @ 250°C
Carrier Gas	He @ 2.0 mL/min, Constant Flow
Column	Rxi-5ms, 15 m x 0.25 mm ID x 0.25 µm df (Restek, Bellefonte, PA, USA)
Oven Program	70°C (0.7 min), to 150°C @ 60°C/min, to 330°C @ 30°C/min (0.5 min)
Transfer Line	300°C
Mass Spectrometer	LECO Pegasus BT
Ion Source Temperature	225°C
Mass Range	45-650 m/z
Acquisition Rate	10 spectra/s

Excellent Linearity and Lower Limit of Detection in Matrix

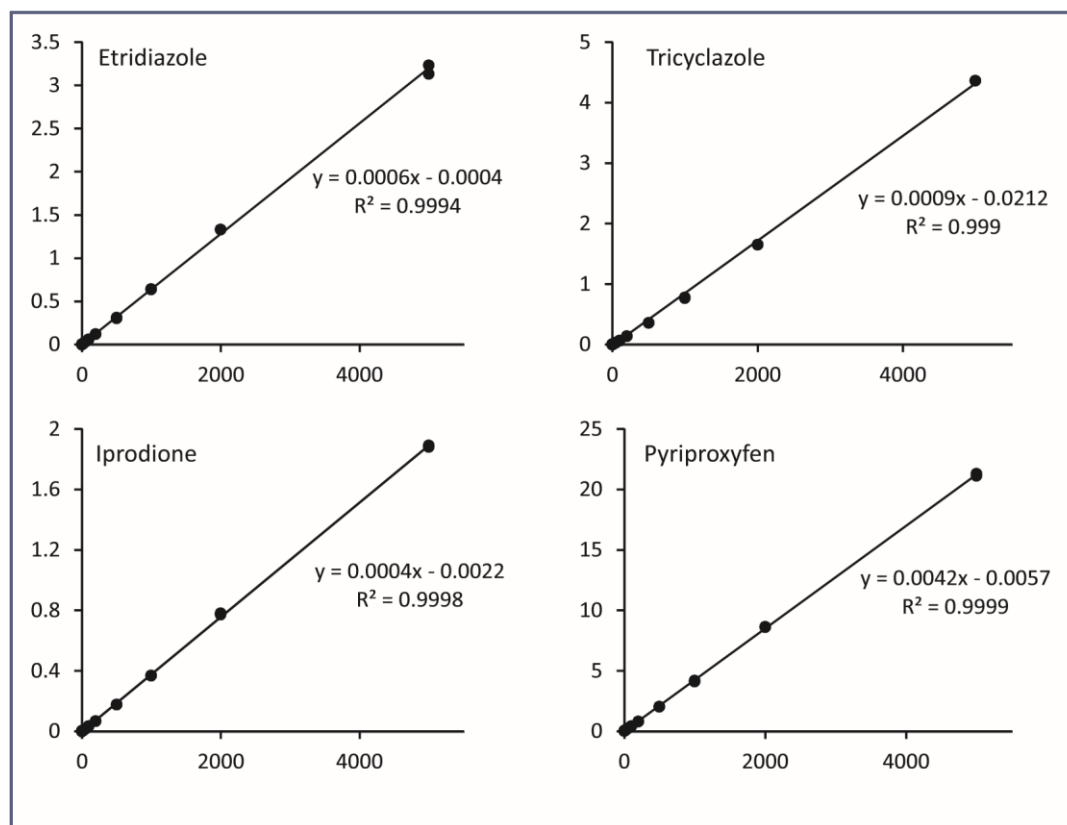


Figure 2. いちご中の代表的な 4 種類の農薬について、LOD から 5000 ng/g までの検量線。

Table 2. Rxi-5ms, 15 m x 0.25 mm ID x 0.25 µm df カラム上で Target Analyte Find を用いた、いちご中 0.10~5000 ng/g の含窒素農薬における検量線直線性および検出限界。

Name	CAS	R.T. (min)	R ₂	LOD	Units
Etridiazole	2593-15-9	2.818	0.9994	0.50	ng/g
Atrazine	1912-24-9	3.750	0.9992	0.20	ng/g
Terbutylazine	5915-41-3	3.843	0.9996	0.10	ng/g
Terbacil	5902-51-2	3.963	0.9995	0.10	ng/g
Vinclozoline	50471-44-8	4.225	0.9992	0.10	ng/g
MGK 264	113-48-4	4.635	0.9992	0.10	ng/g
MGK 264 isomer	113-48-4	4.708	0.9993	5.00	ng/g
Penconazole	66246-88-6	4.748	0.9999	0.10	ng/g
Fipronil	120068-37-3	4.793	0.9997	0.10	ng/g

Procymidone	32809-16-8	4.853	0.9998	0.20	ng/g
Paclobutrazol	76738-62-0	4.935	0.9994	0.10	ng/g
Flutriafol	76674-21-0	5.012	0.9996	0.10	ng/g
Fludioxonil	131341-86-1	5.100	0.9997	0.10	ng/g
Tricyclazole	41814-78-2	5.118	0.9990	1.00	ng/g
Myclobutanil	88671-89-0	5.165	0.9998	0.10	ng/g
Flusilazole	85509-19-9	5.183	0.9996	0.10	ng/g
Bupirimate	41483-43-6	5.198	0.9994	0.10	ng/g
Chlorfenapyr	122453-73-0	5.282	0.9991	0.10	ng/g
Lenacil	2164-08-1	5.602	0.9997	0.10	ng/g
Hexazinone	51235-04-2	5.675	0.9998	0.10	ng/g
Tebuconazole	107534-96-3	5.693	0.9998	0.10	ng/g
Propargite	2312-35-8	5.713	0.9991	2.00	ng/g
Iprodione	36734-19-7	5.848	0.9998	0.10	ng/g
Pyriproxyfen	95737-68-1	6.146	0.9999	0.10	ng/g
Fenarimol	60168-88-9	6.312	0.9998	0.20	ng/g
Etofenprox	80844-07-1	6.885	0.9996	0.10	ng/g
Fluridone	59756-60-4	6.998	0.9994	0.10	ng/g

Note: Captan, captafol, folpet, cyprodinil, pyrimethanil, triadimefon, triadimenol, triflumizole はいちご中に元来含まれていたため、マトリックスへ添加され検出されたものの、直線性および LOD は報告していません。

Table 2 に示した農薬の 74% で LOD は ≤ 0.1 ppb であり、いちご中では 2 種類を除くすべての農薬で LOD が 1.0 ppb 未満でした。本検討におけるすべての農薬で、決定係数 (R^2) は 0.999 を上回りました。4 桁を超えるダイナミックレンジにわたる優れた直線性と、マトリックス中サブ ppb レベルの検出限界の組み合わせにより、Pegasus BT が残留農薬の定量分析において強力なツールであることが示されました。

Identify More Peaks with Confidence Using Non Target Deconvolution

Figure 3 (下図) に示す自動デコンボリューション (Peak Find) の例は、マトリックス中の低濃度分析対象成分をソフトウェアが正確に同定できることを示しています。

bupirimate のライブラリスコアは、20 ng/g の濃度で 874 (1000 点満点) でした。

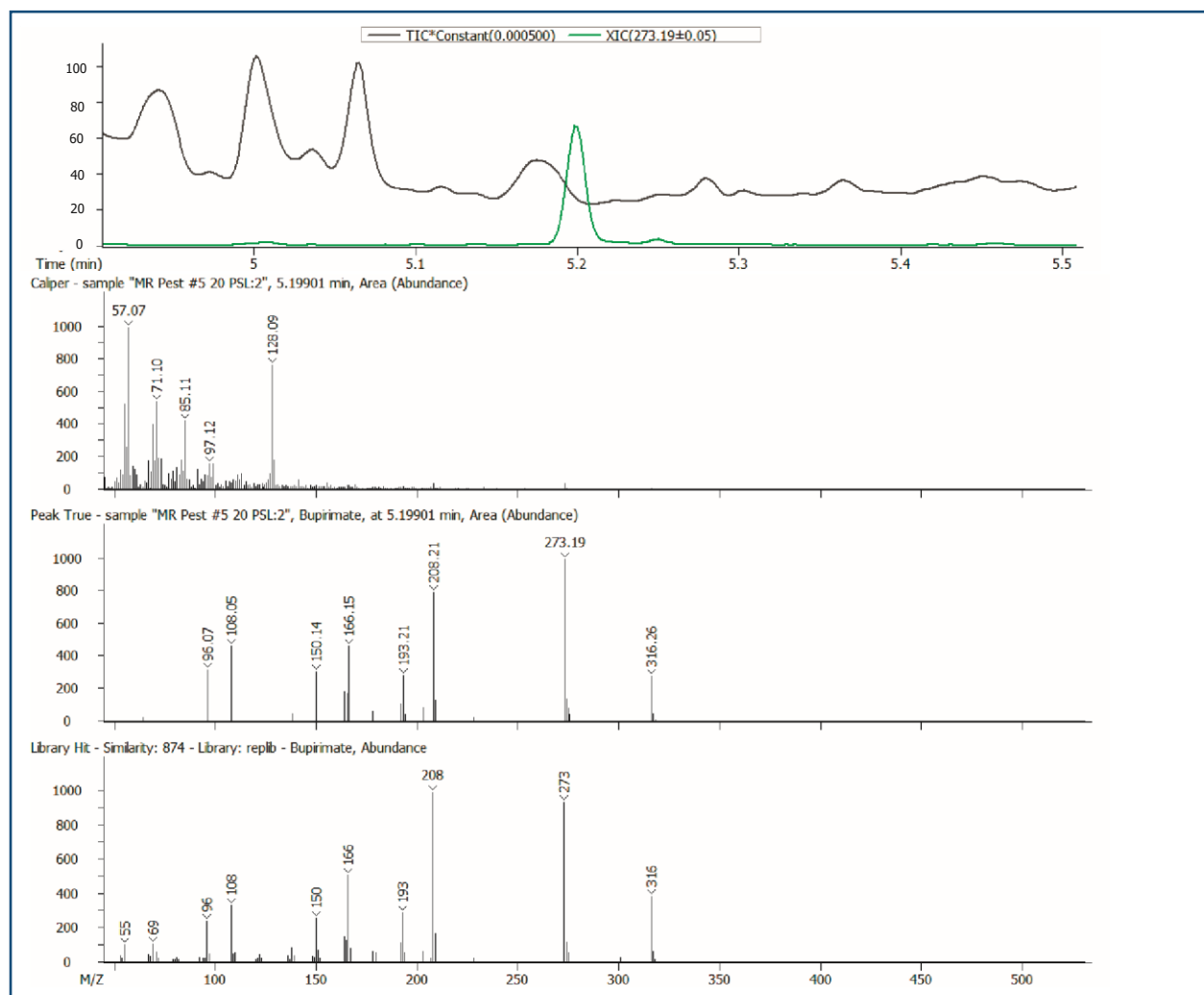


Figure 3. 15 m x 0.25 mm ID x 0.25 μ m df Rxi-5MS 上で、いちご中 bupirimate 20 pg on column を分析した結果。(A) m/z 273.19 $\pm$ 0.05 のスケールしたトータルイオンクロマトグラム (TIC、灰色) と抽出イオンクロマトグラム (XIC、緑色) の重ね合わせ、(B) 緑色トレース頂点における生データのマススペクトル、(C) ChromaTOF の NonTarget Deconvolution 機能を用いたデコンボリューション後のマススペクトル、(D) NIST 14 由来のライブラリススペクトルで、優れた類似度スコアを示す。

次ページの Figure 4 および Table 3 は、いちご中に天然に存在する香味・芳香成分、ならびに自然残留農薬および添加した内部標準物質の定性分析に対して *NonTarget Deconvolution* を適用した結果を示しており、ライブラリ類似度スコアは 900 (1000 点満点) を超えています。定性分析は、検量線標準リストに含まれていない追加農薬のスクリーニングに利用でき、その後、半定量を行うことができます。また、試料の他の特徴を暫定同定して評価する用途にも利用でき、本例ではいちごの香味および芳香特性を評価しています。

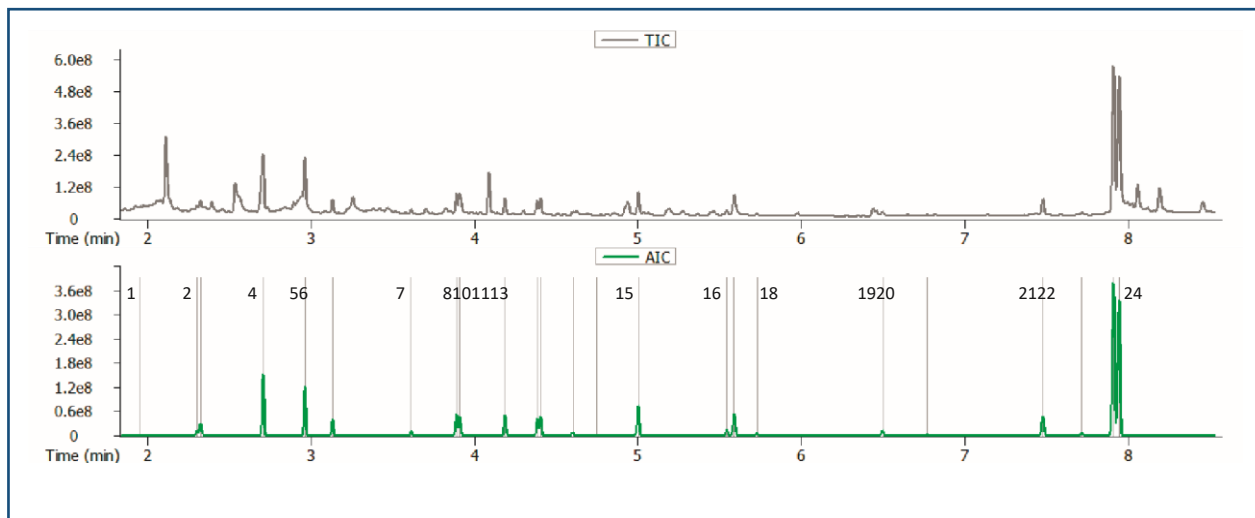


Figure 4. クリーンアップなしのいちご QuEChERS 抽出液に、装置性能標準物質を 500 pg 添加した試料のノンターゲット分析。NIST ライブラリ類似度スコア > 900 のピークを強調表示した TIC および AIC。

Table 3. Figure 4 で番号付けしたピークの暫定同定結果。

#	Name	CAS	Formula	R.T. (min)	Similarity	Type	S/N
1	N-Nitrosodimethylamine	62-75-9	C ₂ H ₆ N ₂ O	1.949	958	Non-Target	86
2	p-Methylcatechol	452-86-8	C ₇ H ₈ O ₂	2.301	949	Non-Target	1006
3	Salicylic acid	69-72-7	C ₇ H ₆ O ₃	2.322	932	Non-Target	1138
4	trans-Cinnamic acid	140-10-3	C ₉ H ₈ O ₂	2.705	937	Non-Target	1143
5	2,5-Di-tert-butylphenol	5875-45-6	C ₁₄ H ₂₂ O	2.962	918	Non-Target	4461
6	Nerolidol	7212-44-4	C ₁₅ H ₂₆ O	3.130	930	Non-Target	633
7	Indole-3-acetaldehyde	2591-98-2	C ₁₀ H ₉ NO	3.611	901	Non-Target	1265
8	PCB 18	38444-73-4	C ₁₂ H ₇ Cl ₃	3.890	933	Spiked	1518
9	Pyrimethanil	53112-28-0	C ₁₂ H ₁₃ N ₃	3.909	947	Incurred	2668
10	PCB 28	55712-37-3	C ₁₂ H ₇ Cl ₃	4.187	937	Spiked	1827
11	n-Hexadecanoic acid	57-10-3	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	4.384	946	Non-Target	808
12	PCB 52	41464-47-5	C ₁₂ H ₆ Cl ₄	4.404	919	Spiked	1686
13	Triphenylmethane	519-73-3	C ₁₉ H ₁₆	4.601	915	Spiked	862
14	Cyclic octaatomic sulfur	10544-50-0	S ₈	4.745	910	Non-Target	98
15	Octadecanoic acid	57-11-4	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	5.001	953	Non-Target	1069
16	TDCPP	13674-87-8	C ₉ H ₁₅ Cl ₆ O ₄ P	5.544	944	Spiked	940
17	9-Octadecenamide, (Z)-	301-02-0	C ₁₈ H ₃₅ NO	5.589	905	Non-Target	1382
18	Triphenyl phosphate	115-86-6	C ₁₈ H ₁₅ O ₄ P	5.729	915	Spiked	837
19	Stearic acid 1-monoglyceride	123-94-4	C ₂₁ H ₄₂ O ₄	6.498	909	Non-Target	283
20	Supraene	7683-64-9	C ₃₀ H ₅₀	6.772	903	Non-Target	290
21	Vitamin E	59-02-9	C ₂₉ H ₅₀ O ₂	7.479	929	Non-Target	2721
22	Campesterol	474-62-4	C ₂₈ H ₄₈ O	7.718	914	Non-Target	549
23	Sitosterol	83-46-5	C ₂₉ H ₅₀ O	7.911	911	Non-Target	1611
24	Isofucosterol	481-14-1	C ₂₉ H ₄₈ O	7.944	924	Non-Target	2329

Conclusions

Pegasus BT は、同一試料注入で定量情報と定性情報を高度に両立して提供します。TOFMS では、感度を損なうことなく、またマススペクトルのスキューを生じることなく、すべての質量が常時取得されるため、卓越したスペクトル忠実度が得られます。LECO の業界をリードするスペクトルデコンボリューションソフトウェア *ChromaTOF* は、この高品質なマススペクトル情報を活用し、市販ライブラリデータベースによる化合物同定やスペクトル解釈に用いるための、妨害を受けていないマススペクトルを提供します。さらに Target Analyte Find により、食品マトリックス中で 4 桁を超える濃度範囲にわたる定量が可能であり、本検討の大多数の農薬について、10 ng/g という規制ガイドライン値より最大 100 倍低い濃度まで、9 分未満の測定時間で定量できることが示されました。



LECO, Pegasus, and ChromaTOF are trademarks of LECO Corporation.

LECO Corporation | 3000 Lakeview Avenue | St. Joseph, MI 49085 | Phone: 800-292-6141 | 269-985-5496

info@leco.com • www.leco.com | ISO-9001:2015 Q-994 | LECO is a registered trademark of LECO Corporation.

Pegasus, StayClean are registered trademarks of LECO Corporation.