

図5 CO₂ 密度の影響

SFE 条件: extraction temp. = 40 °C, CO₂ flow rate = 2 mL/min, static extraction = 1 min, dynamic extraction = 20 min.

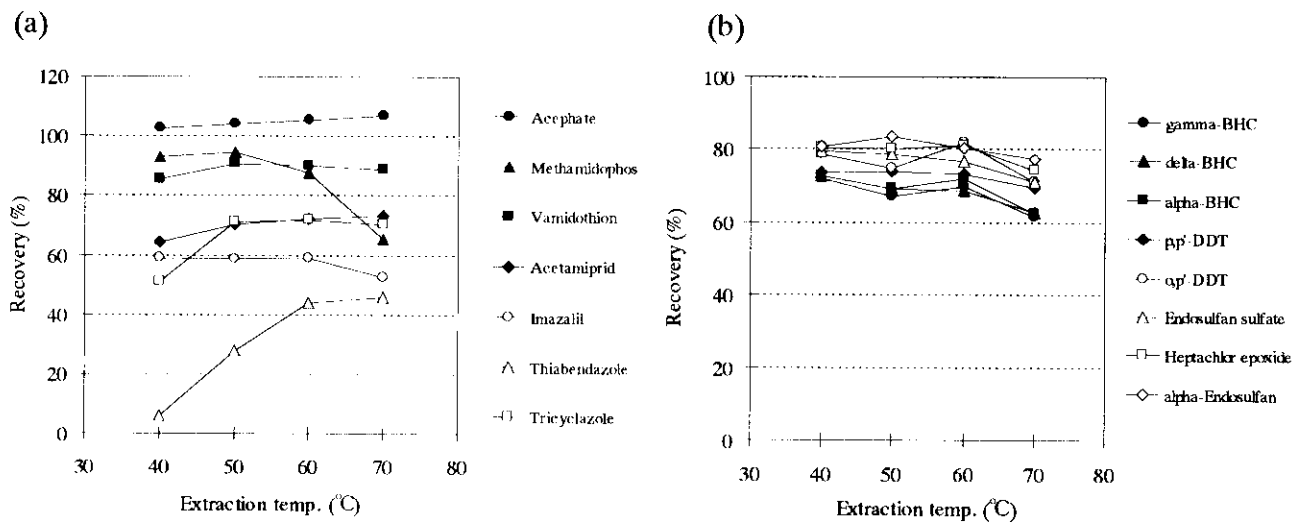


図6 抽出温度の影響

SFE 条件: CO₂ density = 0.7 g/mL, CO₂ flow rate = 2 mL/min, static extraction = 1 min, dynamic extraction = 20 min.

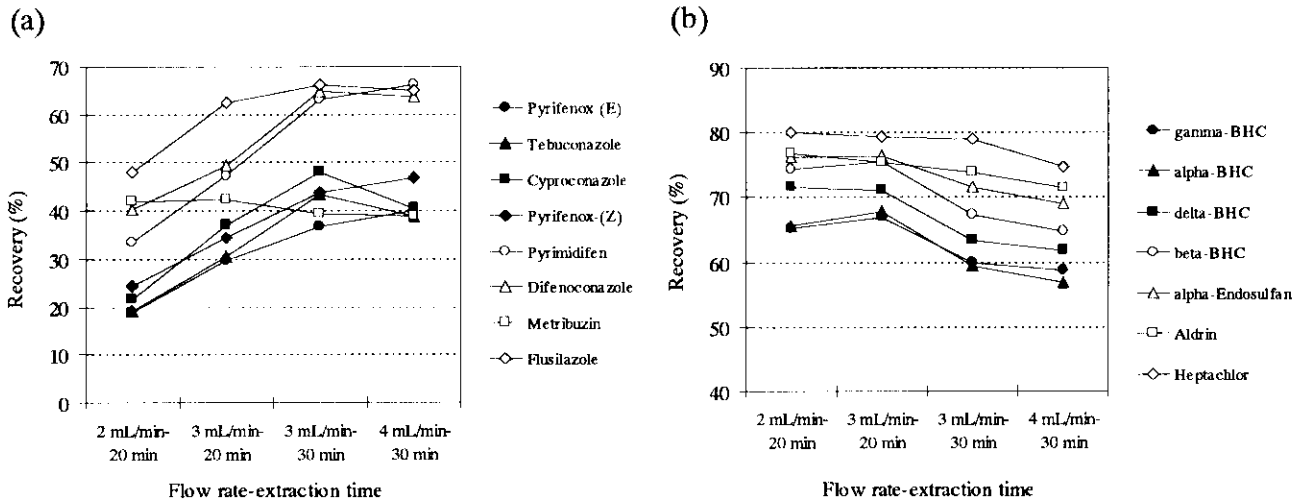


図7 CO₂ 流速及び抽出時間の影響

SFE 条件: CO₂ density = 0.7 g/mL, extraction temp. = 40°C, static extraction = 1 min, dynamic extraction = 20 min.

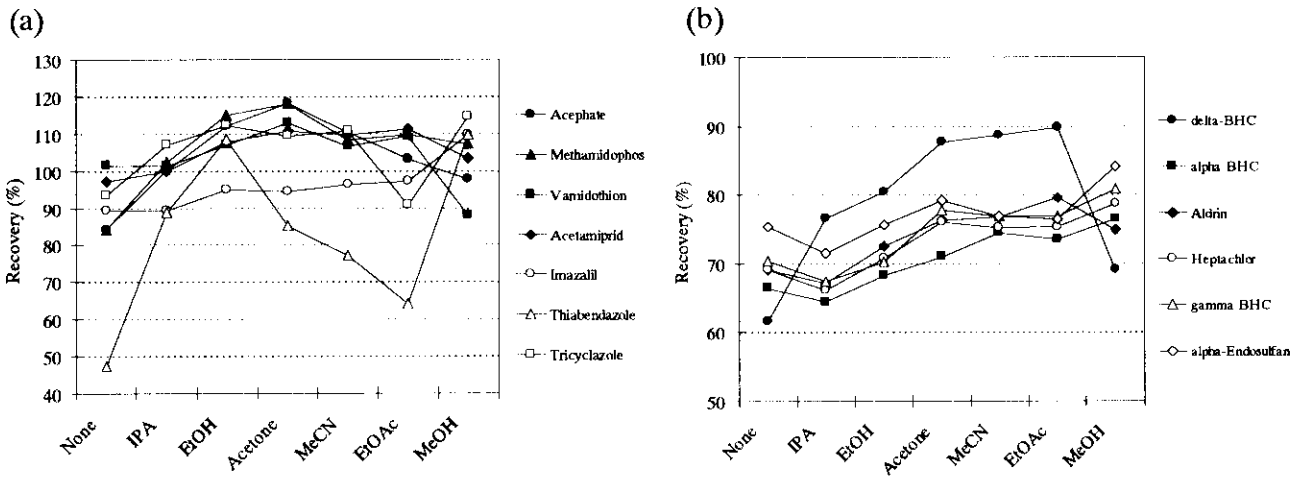


図8 モディファイヤーの影響

SFE 条件: CO₂ density = 0.7 g/mL, extraction temp. = 40°C, CO₂ flow rate = 3 mL/min, static extraction = 1 min, dynamic extraction = 20 min, dynamic modifier = 1 % (v/v) [0.03 mL/min]

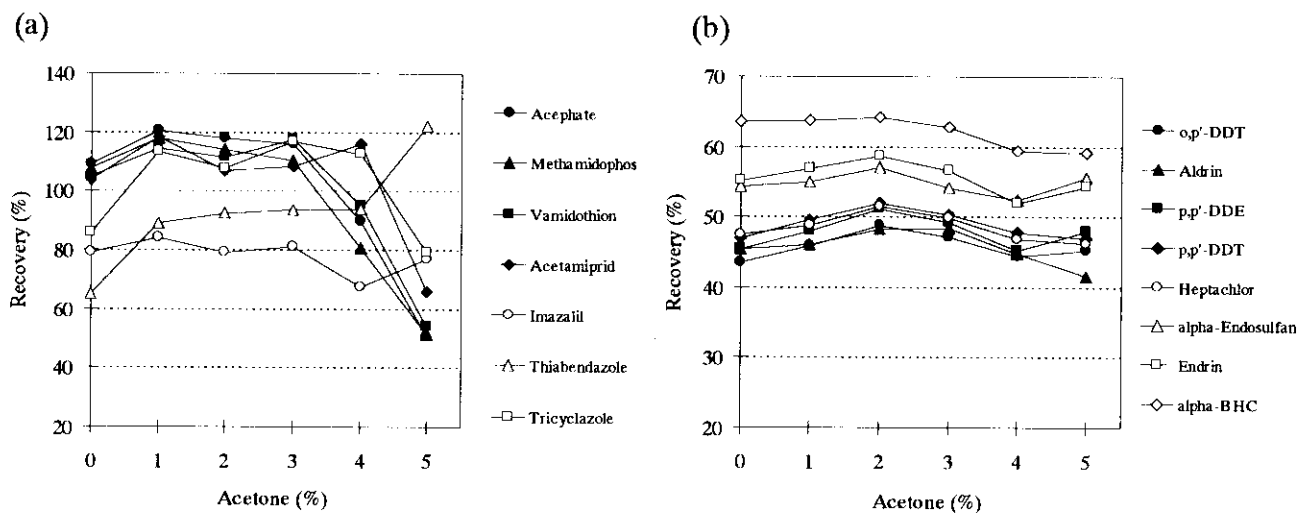


図9 アセトン濃度の影響

SFE 条件: CO_2 density = 0.7 g/mL, extraction temp. = 40°C , CO_2 flow rate = 3 mL/min, static extraction = 1 min, dynamic extraction = 25 min.

分担研究報告書

超臨界流体抽出、LC/MS による一斉分析法に関する研究

分担研究者 外海 泰秀

厚生科学研究費補助金(生活安全総合研究事業)
分担研究報告書

超臨界流体抽出、LC/MS による一斉分析法に関する研究

分担研究者 外海泰秀 国立医薬品食品衛生研究所・大阪支所 食品試験部長

研究要旨

試料を超臨界流体抽出(SFE)法を用いて抽出し、Bond Elut[®] C₁₈, Sep-Pak[®] Florisil, Bond Eluf[®] PSAで抽出物を精製した後、高速液体クロマトグラフ/質量分析計(LC/MS)で定性・定量する多種農薬の簡便で迅速な多成分一斉分析法について検討した。また同一試験溶液についてGC/MSとの比較も行った。

本報では穀類の他、SFE で回収率が低いと言われている水分含量の高い野菜・果実などの青果物も対象作物とし、吸水剤を加えて添加回収実験を行った。本法を 18 農薬に適用したところ、農作物中の残留農薬を迅速にスクリーニングする方法として本法の妥当性が示唆された。しかし一部の農薬について、作物によっては変動の大きいものもみられた。また、LC/MS による農薬分析に関する文献調査も行った。

A. 研究目的

食品衛生法に基づく最大残留基準値(MRL)は、各農薬について農作物ごとに設定されておりこれと同時に分析法が告示されている。基準設定された農薬数及び農作物数の増加に対応し、輸入時の検査及び地方公共団体等における食品衛生監視業務を効率的に行うため、告示分析法とは別に多数の農薬を一括して迅速に分析できる試験法の開発が進められてきた。

平成 6 年から 9 年度において残留農薬迅速分析法検討委員会が検討した結果を、平成 7 年及び 9 年度に残留農薬迅速分析法として公表し、平成 9 年度分は課長通知された。

一昨年度はより迅速且つ簡便にガスクロマトグラフ/質量分析計(GC/MS)による残留農薬の一斉分析を行うことを目的として、従来法に改良を加え超迅速分析化に関する調査研究を行った。

昨年度は含水率の高い野菜・果物類を対象として、SFE 抽出、ミニカラム精製、UV 検出器付 HPLC によるスクリーニング法を検討した。しかし、試料成分由来の妨害物質がピークとして多数出現したためカラムからの溶出液を 3 フラクションに分けるという煩雑さと、検体数が増加して処理時間が多

くなることが問題であった。また、さらに妨害の多い作物にはこの方法でも適用できず、対象作物が制限されてしまう欠点があった。

そこで本年度は、妨害成分の影響を受けにくいといわれる LC/MS を導入し、対象作物に玄米を追加して新たな迅速スクリーニング法を検討した(第 1 章)。また、農薬分析における LC/MS の応用例を文献調査し、LC/MS の定量性について考察を加えた(第 2 章)。

第 1 章 LC/MS による残留農薬一斉分析法の検討

昨年度に引き続き、前処理には最も吸水性が高いといわれる吸水性ポリマー^{9~14}を利用し、SFE による抽出、ミニカラムによる精製及び LC/MS で検討を行った。本年度は穀類の代表として玄米を追加し、同様な検討を行った。また比較のために同試験溶液を GC/MS でも測定した。なお LC/MS を使用するにあたり、LC/MS に対する農薬の適用性、定量性や簡便性などを検討し、様々な問題点を明らかにした。また、昨年までの 3 フラクションに分けて個別に測定する方法から、特定のイオンをモニタ

リングすることで妨害がオーバーラップしていても測定可能であるという LC/MS の利点を生かし、1 フラクション溶出として検体数を減らした。また、同時に同一検体について GC/MS での測定も試み、LC/MS との優劣を比較した。

B. 研究方法

1. 試料

市販のきゅうり、りんご、だいこん、バナナ、じゃがいも、玄米を用いた。

2. 試験機関

国立医薬品食品衛生研究所・大阪支所

3. 試薬及び材料

1) 農薬標準品

和光純薬工業(株)または林純薬工業(株)の残留農薬試験用標準品を用いた。

2) 農薬標準原液

各農薬標準品をアセトニトリル(溶解しにくい場合のみ、アセトンまたはメタノール)で 1 mg/mL に調製し、-20 °C で保存した。

3) 農薬標準混液

各農薬標準原液をとり、アセトニトリルで各群 10 μ g/mL に調製し-20 °C で保存した。

農薬標準混液 A : イマザリル、ブプロフェジン、メタベンズチアズロン、ダイムロン、イブロジオン、ピラゾキシフェン、ペンシクロン、フェンピロキシメート、ヘキサフルムロン、フルフェノクスロン

農薬標準混液 B : イナベンフィド、ミクロブタニル、トリフルミゾール、フラメトピル、ベンフレセート、テブフェノジド、ジフルベンズロン、フルフェノクスロン

4) 各種有機溶媒

和光純薬工業(株)の残留農薬分析用及び HPLC 用を使用した。

5) 吸水性ポリマー

荒川化学工業(株)の Arasorb S310 を使用した。

6) 固相抽出ミニカラム

Bond Elut[®] C₁₈ (1 g, Varian 社製)、Extrelut[®] NT

(2.5 g, Merck 社製) Sep-Pak[®] Florisil (690 mg, Waters 社製)、Bond Elut[®] PSA (500 mg, Varian 社製) Bond Elut[®] SAX (500 mg, Varian 社製)、SPELCCLEAN[®] ENVI-CARB (500 mg, Supelco 社製)を使用した。

4. 装置

1. SFE 装置: 日本分光(株)製, Super-201 型

2. 高速液体クロマトグラフ/質量分析計: (株)島津製作所製, LC-10AD_v (送液ユニット), SPD-10AV (紫外検出器), QP-8000 (質量検出部)を直列に配置

3. ガスクロマトグラフ/質量分析計: 島津製作所製 GC-17A(GC 部)+ QP-5050(質量分析部)+AOC-20i (オートインジェクター)

カラム: J&W DB-5 (膜厚 0.25 μ m, 内径 0.25 mm, 長さ 30 m)

5. 測定条件

1. SFE

抽出超臨界流体(CO₂)流量: 4.9 mL/min.

モディファイア(アセトン)

流量: 0.1 mL/min

圧力: 300 kg/cm²

抽出管温度: 40 °C

捕集部温度: 75 °C

抽出時間: 40 分

2. LC/MS

<LC>

カラム: Wakosil II -3C18RS (2 mm \times 150 mm)

温度: 50 °C, 流速: 0.2 mL/min

検出器: UV (254nm)

注入量: 5 μ L

移動相: A: H₂O B: CH₃CN

タイムプログラム

0min. A: 70% B: 30%

10min. A: 0% B: 100%

18min. A: 0% B: 100%

20 ~ 25min. A: 70% B: 30%

<MS>

イオン化モード: ESI

印加電圧: +4.5kV

脱溶媒部温度: 230 °C

モニターイオン: Table 1 参照

タイムプログラム

• Method A

0 ~ 25 min. CDL(V): -30, DEF(V):50

• Method B

0 min. CDL(V): -25, DEF(V):45

10.5 min. CDL(V): -35, DEF(V):45

11.75 min. CDL(V): -35, DEF(V):55

• Method C

0 ~ 25 min. CDL(V):30, DEF(V): -50

3. GC/MS

カラム: J&W DB-5 (膜厚 0.25 μ m, 0.25 mm \times 30 m)

気化室温度: 250 °C,

カラム温度 50 °C(1 min.)- 25 °C/min.- 125 °C(4 min.)- 10 °C/min.- 300 °C(21.5 min)

キャリアガス: 高純度ヘリウム

圧力: 100.0 kPa

全流量: 20 mL/min.

注入方法: スプリットレス (サンプリング時間: 3 min.)

インターフェイス温度: 260 °C 注入量: 1 μ L

検出器電圧: 1.3 kV

イオン化方法: EI

モニターイオン: Table 2 参照

6. 分析操作法

6-1. 試料溶液調製法

試料 5 g を細切して均一化した後、Celite 1 g 及び吸水性ポリマー 1 g (野菜・果実類にのみ使用) を順に加えて混ぜ合わせ、少量の Celite を再度加え、完全に顆粒状になるまでよく混和した。これを抽出管に充てんし、SFE 装置に装着して 40 分間抽出を行った。抽出物は捕集部に直結した Extrelut[®]NT と Bond Elut[®]C₈ を積層したガラス管で捕集した。ガラス管を取り外し、排出口及びガラス管の内壁をまず少量のアセトニトリルで洗いこみ、

その後アセトニトリル 40 mL で溶出した。溶出液を減圧乾固した後、残渣を *n*-hexane 2 mL に溶解し直列につないだ Sep-Pak[®] Florisil と Bond Elut[®] PSA に負荷した。*n*-hexane 20 mL で洗浄後、acetone/*n*-hexane (1:1) 50 mL で溶出した。溶出液を減圧乾固した後、残留物をアセトニトリル 1 mL に溶解し、LC/MS の試験溶液とした。これらの分析操作法を Scheme 1 に示した。

6-2. 添加回収試験

試料に 0.5 ppm 又は 2.5 ppm になるように農薬標準混液 A を 50 μ L, B を 250 μ L それぞれ添加し、以降試料溶液調製法に従って操作して得られた試験溶液を LC/MS 及び GC/MS で測定して回収率を求めた。

6-3. 定性・定量

各試験溶液 5 μ L を LC/MS 又は GC/MS に注入し、定性は LC/MS(SIM) 又は GC/MS(SIM) で測定したクロマトグラムの保持時間及びマススペクトルを標品と比較して行った。また定量は同クロマトグラムのピーク面積において絶対検量線法で行った。

C. 結果及び考察

1. LC/MS 条件について

定性・定量試験法として LC/MS(SIM) を検討した。昨年度は 27 種農薬を対象に簡便で迅速な分析法について検討し、今回も同農薬を対象にして新たに LC/MS を導入しての検討を試みた。しかし、これら農薬のうち LC/MS で得られるイオン強度が低く、分析不可能だったシラフルオフエン、エトフェンプロックス、イミベンコナゾール代謝物、クロフェンテジン、エトベンザニド、イプロジオン代謝物、ヘキシチアゾックス、カルバルリル、チアベンダゾールについては除外した。今回検討した 18 種農薬のモニターイオンを Table 1 に示した。これら農薬のうちジフルベンズロン、ヘキサフルムロン、フルフェノクスロン、クロルフルアズロン (C グループ) はネガティブモードでの測定の方が高感度であった。それ以外の農薬についてはポジティブモードで測定すること

とした。装置の性質上、測定中にモードの切り替えを行うことができないので、モードごとに測定を行った。なおポジティブモードについては分析に正確性を期すために A,B の 2 グループに分けた。以上 3 グループをそれぞれ異なるメソッドで測定を行うこととした。Table 1 に示したフラグメントイオン(m/z)で測定した結果得られたクロマトグラムを Fig. 1,2 に示した。なお、農薬 1,2,4,7,8,11,15,18 は LC/MS において感度が低いので添加量を増やした。また、GC/MS での測定も行ったので GC/MS により得られるフラグメントイオンについても Table 2 に示した。

次に LC/MS,GC/MS 及び HPLC(UV)による検出限界を Table 3 に示し、農薬による検出特性を比較した。昨年度報告した HPLC(UV)で得られた検出限界と比べて、LC/MS、GC/MS の方が概ね高感度に測定できた。LC/MS では特にイマザリルが UV と比較して約 20 倍高感度に測定できた。GC/MS についてもミクロブタニル、トリフルミゾール、メタベンズチアズロン、フラメピル、ペンフレセート、ジフルベンズロンは特に高感度に測定できたが、イナベンフィド、ダイムロン、ピラゾキシフェン、フェンピロキシメート、ヘキサフルムロン、クロルフルアズロンは測定困難で、スクリーニング法としては対象農薬が制限されてしまうという難点があった。

なお、昨年度に LC/MS の導入を考慮して、カラムは内径 2.0mm のものと移動相には不揮発性の塩を含まないアセトニトリル-水系を使用したことを報告したが、今年度の実験においてもこれら条件をそのまま利用し、LC/MS(SIM)での測定を行った。

2. 試料の調製法について

水分含量の多い野菜・果物類については、昨年度の報告と同様に吸水性ポリマーとセライトを使って水分除去を試みた。また、玄米については水分含量が少ないので粉碎した試料をそのまま SFE に用いた。

3. 抽出液の精製法について

昨年度の報告で使用したじゃがいも、だいこん、

りんご、きゅうり、バナナ及び新たに玄米についてはその際用いた Extrelut[®]NT と Bond Elut[®]C18 で SFE からの抽出物を捕集し、Sep-Pak[®]Florisil と Bond Elut[®] PSA で精製を行った。

昨年度、HPLC による測定で妨害成分を分散させるため、ミニカラムからの溶出液を 3 フラクションに分けて測定したが、にんじん、たまねぎ、オレンジ等夾雑物の多い作物についてはそれでも測定不可能であった。そこで本年度は LC/MS の導入によりこれら作物の分析が可能になるかどうかを検討した。その結果、にんじん、たまねぎ、オレンジのうち、にんじんは LC/MS により定量可能となった。にんじんに農薬を添加したときの UV クロマトグラムと同試験溶液の SIM クロマトグラムを Fig.3,4 に、各フラグメントにおける MS クロマトグラムを Fig.5-7 に示した。また、たまねぎ、オレンジについても UV 法では全く測定不可能であったイナベンフィド、ペンフレセート、ペンシクロン、ヘキサフルムロン、フルフェノクスロンの回収率が向上した。さらにたまねぎ、オレンジについて精製効果を向上させるために、Bond Elut[®] SAX、SUPELLEAN[®] ENVI-CARB 及び Bond Elut[®] PSA の 3 カラムを連結して精製する方法を試みた¹⁵。前記の 3 作物を例に両カラムでの回収率と精製効果の比較を Table 4 に示した。

その結果、にんじんについては従来の Sep-Pak[®]Florisil と Bond Elut[®] PSA で定量可能であったが、たまねぎでは 3 カラムの使用によりメタベンズチアズロン、フラメピル、ダイムロン等は著しい精製効果がみられ、オレンジでも妨害の影響はあったものの一部の農薬では回収率の向上が見られた。

4. 添加回収試験について

まず農薬を LC/MS で定量するにあたって、標準品での繰り返し測定値の変動が大きく、それは HPLC(UV)や GC/MS と比較してかなり大きいことが分かった。農薬の繰り返し測定値の変化を Graph 1 に示した。

Graph 1 より、LC/MS が連続して2時間以上作

動していないと安定した測定値が得られないことが分かった。この原因としてはキャピラリーカラム先端部のずれやネブライズガスの供給方法等が考えられた。しかし、一日に多くの試料検体を測定する必要があるのでまず試験溶液と標準溶液は必ず1本ずつ交互に測定することとし、ネブライズガスは常に供給し、キャピラリーカラム先端部の保全、位置に注意して変動の縮小化に努めた。

以上を踏まえ、じゃがいも、だいこん、りんご、きゅうり、バナナ及び玄米について、18農薬を各 $2.5 \mu\text{g}$ ($0.5 \mu\text{g/g}$ 相当)、または $12.5 \mu\text{g}$ ($2.5 \mu\text{g/g}$ 相当) 添加し本法による添加回収試験を行った。その結果、LC/MS での添加回収率はブプロフェジンなど一部農薬を除いて概ね 60% 以上に向上した。標準偏差については作物、農薬によっては一部 20 を越えるものもあったが、全体としては 10%~15% 程度と考えられた (Table 5)。添加回収試験の一例としてりんご及び玄米に農薬を添加したときの本法によるクロマトグラムを Fig.8,9 に示した。

また、同試験溶液を GC/MS でも測定を行い回収率を求めた (Table 6)。その結果、イナベンフィド、ダイムロン、ピラゾキシフェン、フェンピロキシメート、ヘキサフルムロン、クロルフルアズロンは測定不可能となり対象農薬数は減少した。しかし、特にブプロフェジンについては LC/MS では他の農薬と比べていずれの作物においても著しく回収率が低かったが、GC/MS では玄米以外の作物では LC/MS よりも値が良好であった。また、標準偏差を比較しても LC/MS と同等かそれ以上の良好な結果が得られた。一方、イマザリルでは LC/MS に比べて GC/MS の方が回収率が低かった。このように農薬により LC/MS 又は GC/MS に測定特性のあるものもあることが分かった。

また作物ごとの回収率に注目すると、玄米については LC/MS のほうが概ね回収率が高かったが、その他の作物については大きな差異はなかった。これは最終試験溶液をアセトニトリルとしたため GC/MS への影響が大きかったと考えられる。

Table 7 に回収率に関する LC/MS と GC/MS と

の比率を示した。ここで示した値から、イマザリル、トリフルミゾールに関しては LC/MS で測定を行った方が良好な回収率が得られることが分かった。なお、ペンシクロンについては GC/MS では妨害が多いため回収率が高かったので比が小となった。

以上今回検討した農薬について、LC/MS による定性はいずれも可能であったが、定量に関してはブプロフェジンのように物性によって検出器の適・不適があるという新たな知見が得られた。

現在 LC/MS による農薬の定性・定量は、青果物中カルバメート系農薬の分析に関する報告があり^{16,17}、実試料からの定性・定量も可能であることが示唆されている。しかし、抽出段階で有害な有機溶媒を使用していることや LC/MS の連続使用によるイオン強度の顕著な低下の為、分析は同日中に終える必要があること等、難点も見られる。このうち本報では昨年度の報告で検討したように、人体や環境に対する悪影響が最小限になるよう有機溶媒の種類、使用量には十分配慮した分析法を作成しており、上記の文献より優れていると言える。また、対象作物は青果物のみで穀類については検討されていない。以上、本報にはカルバメート系以外の農薬についても安全で少量の溶媒で LC/MS による定性・定量が可能であること、穀類についても分析可能であることが明らかになった。

D. 結論

農作物中の 18 種農薬について LC/MS による分析法を作成した。Extrelut[®]NT と Bond Elut[®]C18 で SFE からの抽出物を捕集し、Sep-Pak[®]Florisisil と Bond Elut[®]PSA で精製した後、LC/MS(SIM) で同時に定性・定量した。

18 種農薬を各種農作物に $0.5 \mu\text{g/g}$ あるいは $2.5 \mu\text{g/g}$ 添加したときの回収率は一部農薬を除いて概ね 60% 以上で、本法はスクリーニング法として有効であると考えられる。また、一部再現性の悪い農薬については、GC/MS も利用することにより良好な結果が得られた。

以上のように LC/MS 装置の導入により農薬及び妨害物がオーバーラップしていてもそれぞれの特

異的なモニターイオンを利用することで対象農薬の検出が可能となり、定性のみならず定量も行えることがわかった。なお再現性ある測定値を求めるには LC/MS の使用法に対して十分な注意を払う必要があった。但し、にんじん、たまねぎ、オレンジ等妨害物が極端に多い作物についてはいくつかの農薬については適用困難であった。

また昨年度の夾雑物の影響を軽減するために 3 フラクションにして個別に測定する方法と 1 フラクションを 3 種類のメソッドで測定する本法とを比較すると、サンプリング数は昨年度に比べ 3 分の 1 で済み、検体処理時間の短縮化が図れた。

本法の検出限界はイマザリルの 0.025ng からイナベンフィド等の 0.25ng であった。今回検討した 18 農薬の残留基準値と照合すると基準値レベル以下の検出が十分可能であった。

【参考文献】

1. 工藤憲一:月刊フードケミカル2月号別冊(1996)
2. Valverde,G. *et al.*:*JAOAC.Int.***78**(3),867-873 (1995)
3. Julie,F.*et al.*: *JAOAC.Int.* **78**(5),1252-1265 (1995)
4. 外海泰秀、津村ゆかり、中村優美子、柴田正:食衛誌**39**(1),13-25(1998)
5. 土屋 鍛、前田憲二、関口幸弘、平原嘉親、渡辺芳則、外海泰秀:国立医薬品食品衛生研究所報告第 116 号別冊(1998)
6. Chao,H. *et al.*:*J.Agric.Food.Chem.***39**,718-723 (1991)
7. Di Muccio,A.*et al.*: *J.chromatogr.A*,**833**(1)61-65(1999)
8. Steven,J. *et al.*: *JAOAC.Int.* **78**(3),821-830 (1995)
9. Machiko,S. *et al.*: *J.Pesticide.Sci.***23**,414-418 (1998)
10. Tekel,J.*et al.*:*J.chromatogr.A*,**754**(1-2),397-410 (1996)
11. Eller,K.*et al.*:*Analyst* **122**(5),429-435(1997)
12. 吉井公彦、外海泰秀、津村ゆかり、中村優美

子、柴田 正:食衛誌. **39**(3),184-191(1998)

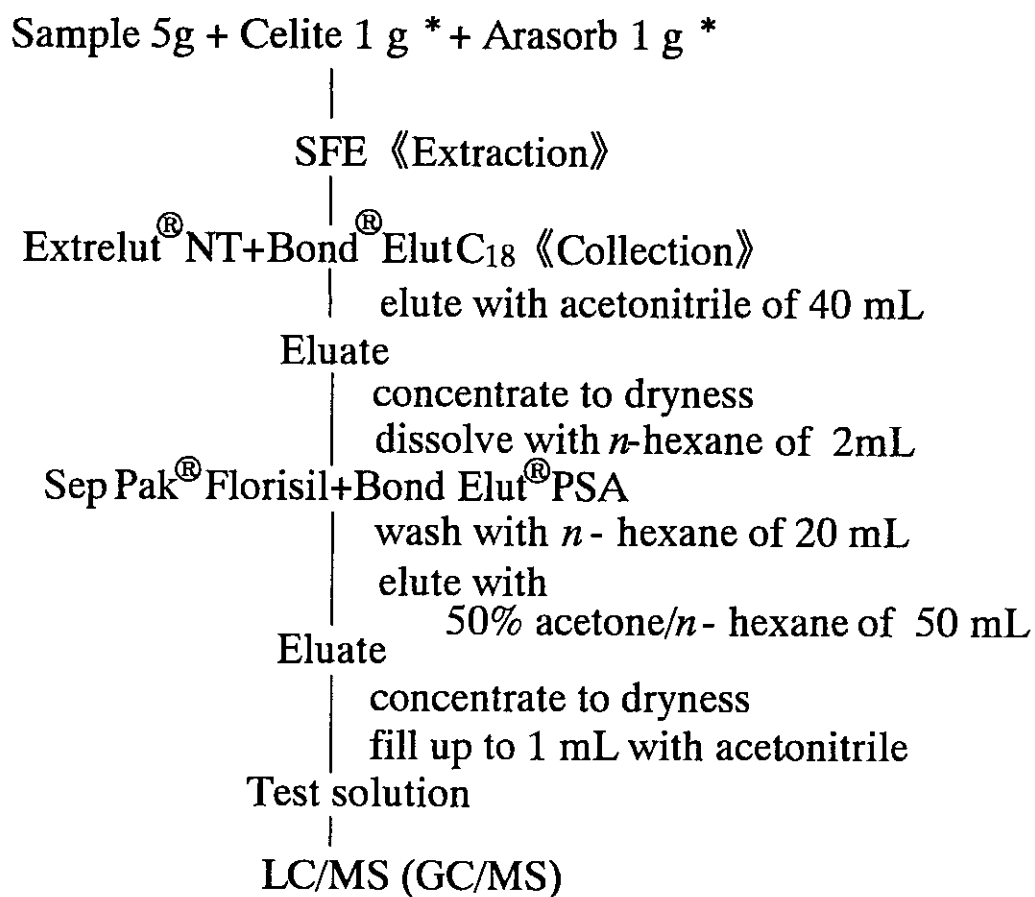
13. 吉井公彦、津村ゆかり、中村優美子、石光進、外海泰秀、土屋 鍛、木村実加、関口幸弘:食衛誌**40**(1),68-74(1999)

14. Kimihiko,Y. *et al.*: *GE.et al.*:*JAOAC.Int* **82**(5)1239-1245(1999)

15. 東京都立衛生研究所:私信

16. M.Fernandez,Y.Pico,J.Manes:*J.chromatogr.A*, **871**,43-56(2000)

17. A.I. Valenzuela,M.J. Redondo,Y.Pico,G.Font:*J.chromatogr.A*,**871**,57-65(2000)



Scheme 1. Procedure for the preparation of test solution

* This is unnecessary in assay of rice.

Table 1 Monitor ions for the determination of pesticides by LC/MS(SIM)

Method	No.	Target pesticide	Monitor ion (<i>m/z</i>)	
A	1	Inabenfide	339	
	2	Myclobutanil	289	
	3	Imazalil	297	
	4	Triflumizole	346	
	5	Buprofezin	306	
B	6	Methabenzthiazuron	222	
	7	Furametpyr	334	
	8	Benfuresate	342	
	9	Dymron	269	
	10	Iprodione	297	299
	11	Tebufenozide	353	
	12	Pyrazoxyfen	403	
	13	Pencycuron	329	
	14	Fenpyroximate	422	
C	15	Diflubenzuron	309	
	16	Hexaflumuron	459	
	17	Flufenoxuron	487	
	18	Chlorfluazuon	538	

Table 2. Monitor ions for the determination of pesticides by GC/MS

Method	No.	Target pesticides	Monitor ions	(<i>m/z</i>)
A	1	Inabenfide	—*	
	2	Myclobutanil	179	
	3	Imazalil	173	215
	4	Triflumizole	179	
	5	Buprofezin	305	
B	6	Methabenzthiazuron	136	164
	7	Furametpyr	157	
	8	Benfuresate	163	256
	9	Dymron	—	
	10	Iprodione	187	244
	11	Tebufenozide	133	
	12	Pyrazoxyfen	—	
	13	Pencycuron	125	180
	14	Fenpyroximate	—	
C	15	Diflubenzuron	309	
	16	Hexaflumuron	—	
	17	Flufenoxuron	487	
	18	Chlorfluazuon	—	

* It was impossible to detect because specified monitoring ion was not obtained.

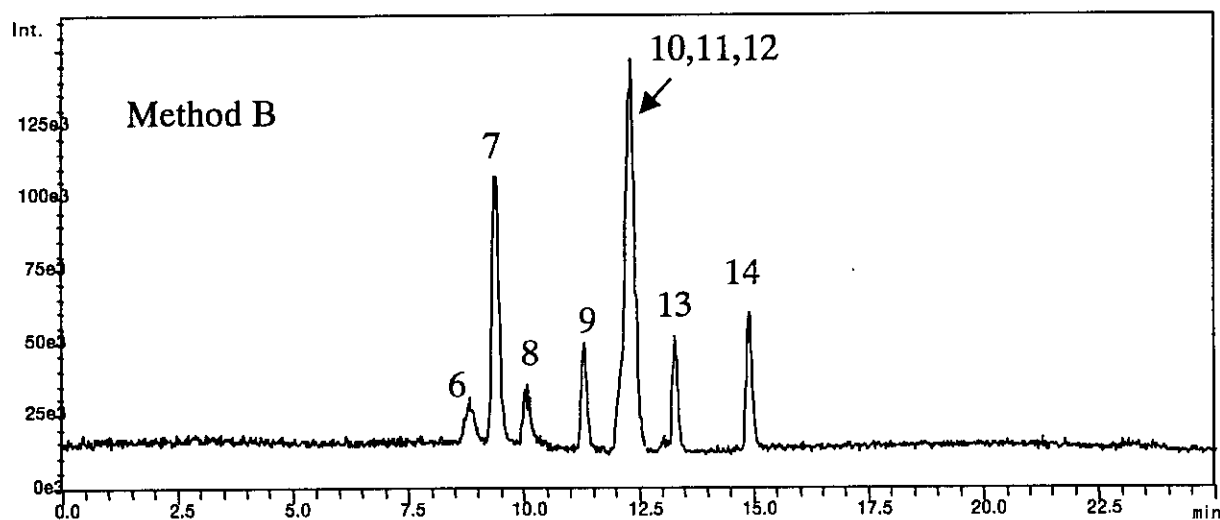
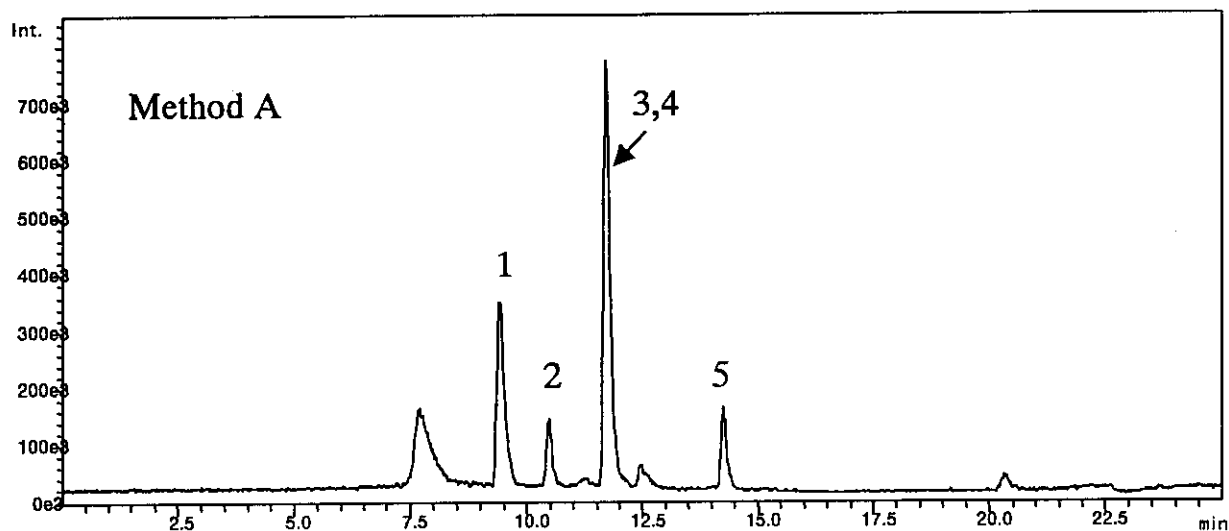


Fig. 1 SIM chromatograms of pesticides A,B (Positive mode)

1.Inabenfide 2.Myclobutanil 3.Imazalil 4.Triflumizole 5.Buprofezin 6. Methabenzthiazuron
7. Furametpyr 8. Benfuresate 9. Dymron 10. Iprodione 11. Tebufenozide 12. Pyrazoxyfen
13. Pencycuron 14. Fenpyroximate

*It was spiked at 12.5 ng of pesticides(1,2,4,7,8,11)and 2.5 ng of the others.

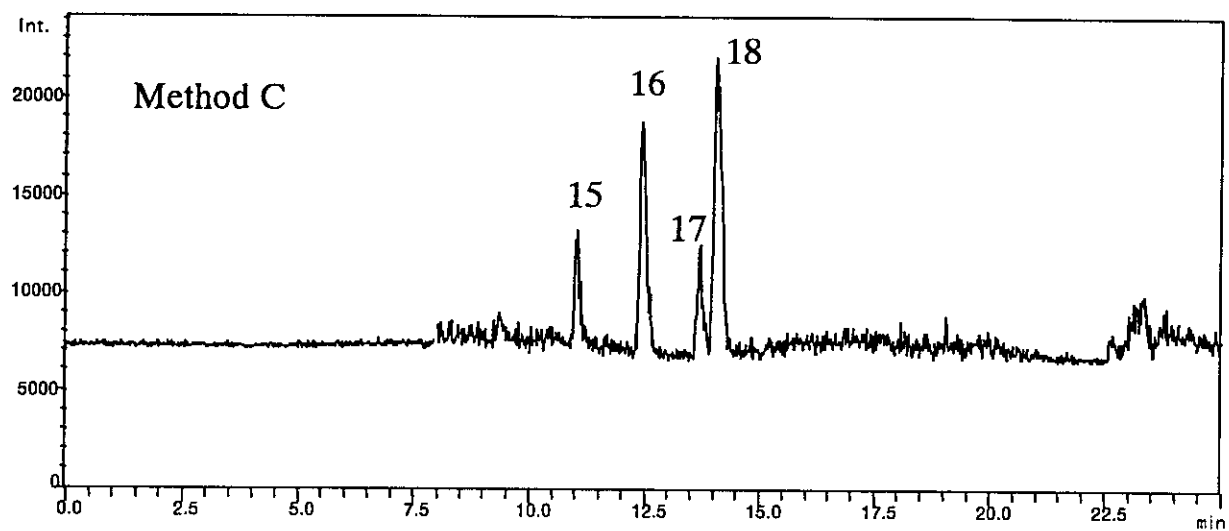


Fig. 2 SIM chromatograms of pesticides C (Negative mode)

15. Diflubenzuron 16. Hexaflumuron 17. Flufenoxuron 18. Chlorfluazuron

*It was spiked at 12.5 ng of pesticides(15,18)and 2.5 ng of the others.

Table 3. Detection Limits of Pesticides for LC/MS(SIM), GC/MS(SIM) and HPLC(UV)

No.	Pesticides	Detection limit (ng)		
		LC/MS(SIM)	HPLC(UV)	GC/MS(SIM)
1	Inabنففء	0.2	0.2	—
2	Myclobutanil	0.25	0.4	0.01
3	Imazalil	0.025	0.5	0.1
4	Triflumizole	0.25	0.2	0.04
5	Buprofezin	0.05	0.4	0.2
6	Methabenzthiazuron	0.25	0.2	0.02
7	Furametypr	0.25	0.4	0.004
8	Benfuresate	0.25	0.4	0.005
9	Dymron	0.2	0.2	—
10	Iprodione	0.05	0.4	0.1
11	Tebufenozide	0.1	0.2	0.2
12	Pyrazoxyfen	0.05	0.4	—
13	Pencycuron	0.2	0.2	0.1
14	Fenpyroximate	0.2	0.2	—
15	Diflubenzuron	0.25	0.2	0.04
16	Hexaflumuron	0.1	0.4	—
17	Flufenoxuron	0.2	0.2	0.1
18	Chlorfluazuon	0.25	0.4	—

*impossible to detect

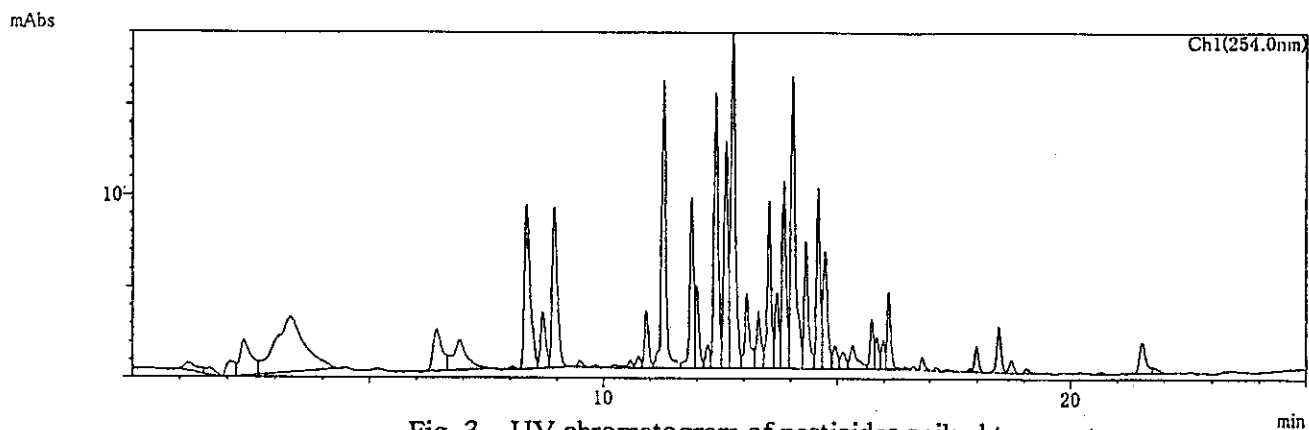


Fig. 3 UV chromatogram of pesticides spiked to carrot

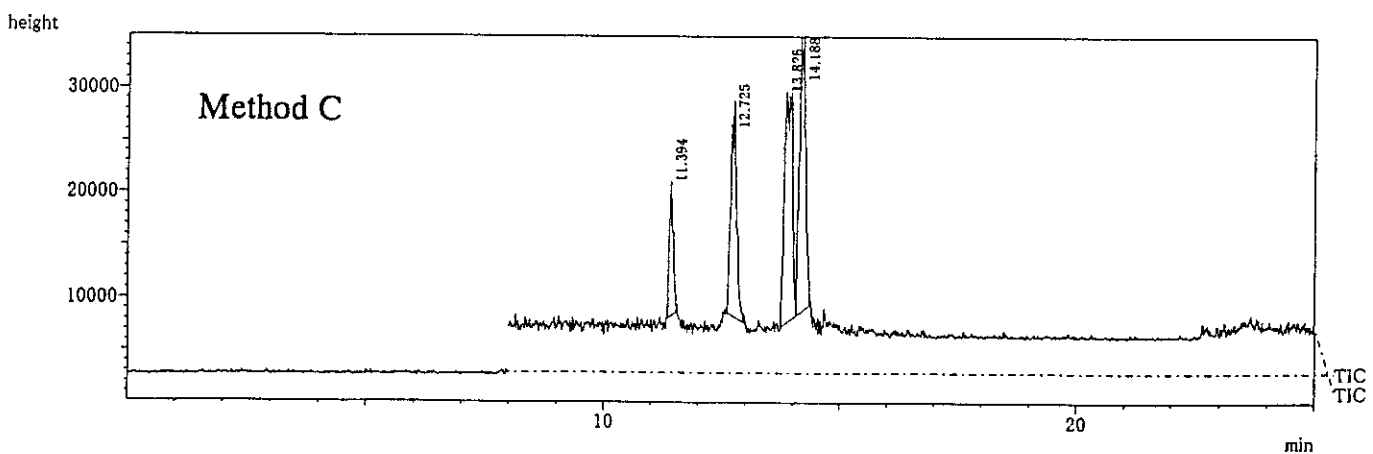
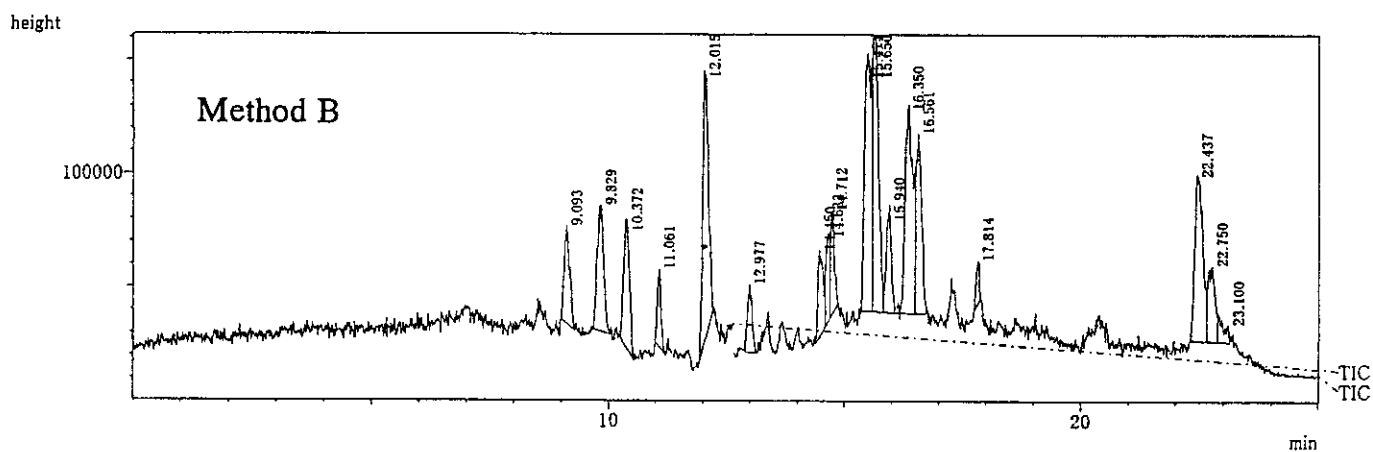
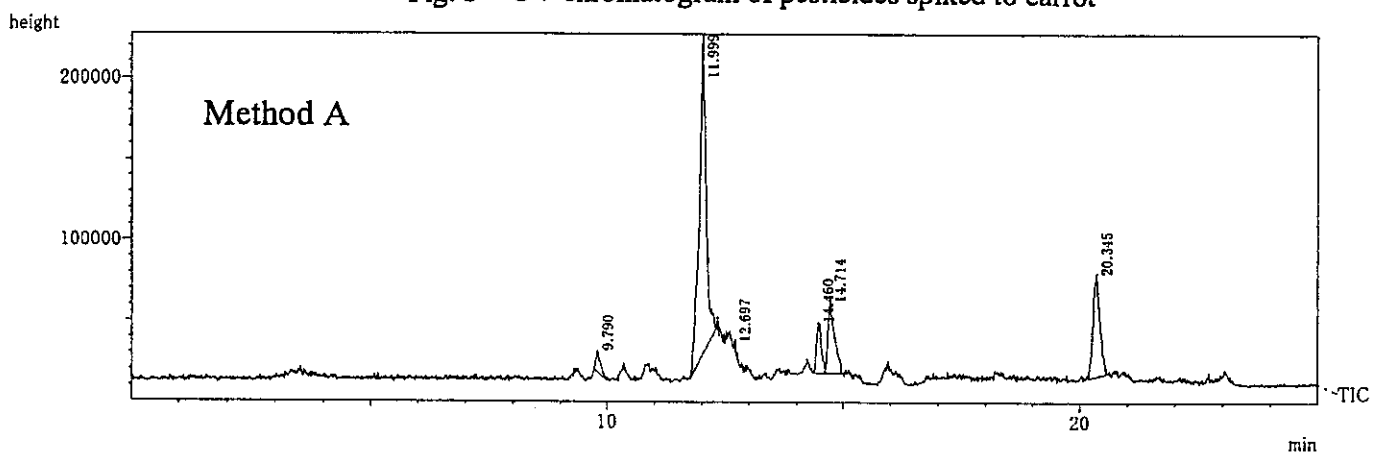


Fig. 4 SIM chromatograms of pesticides spiked to carrot

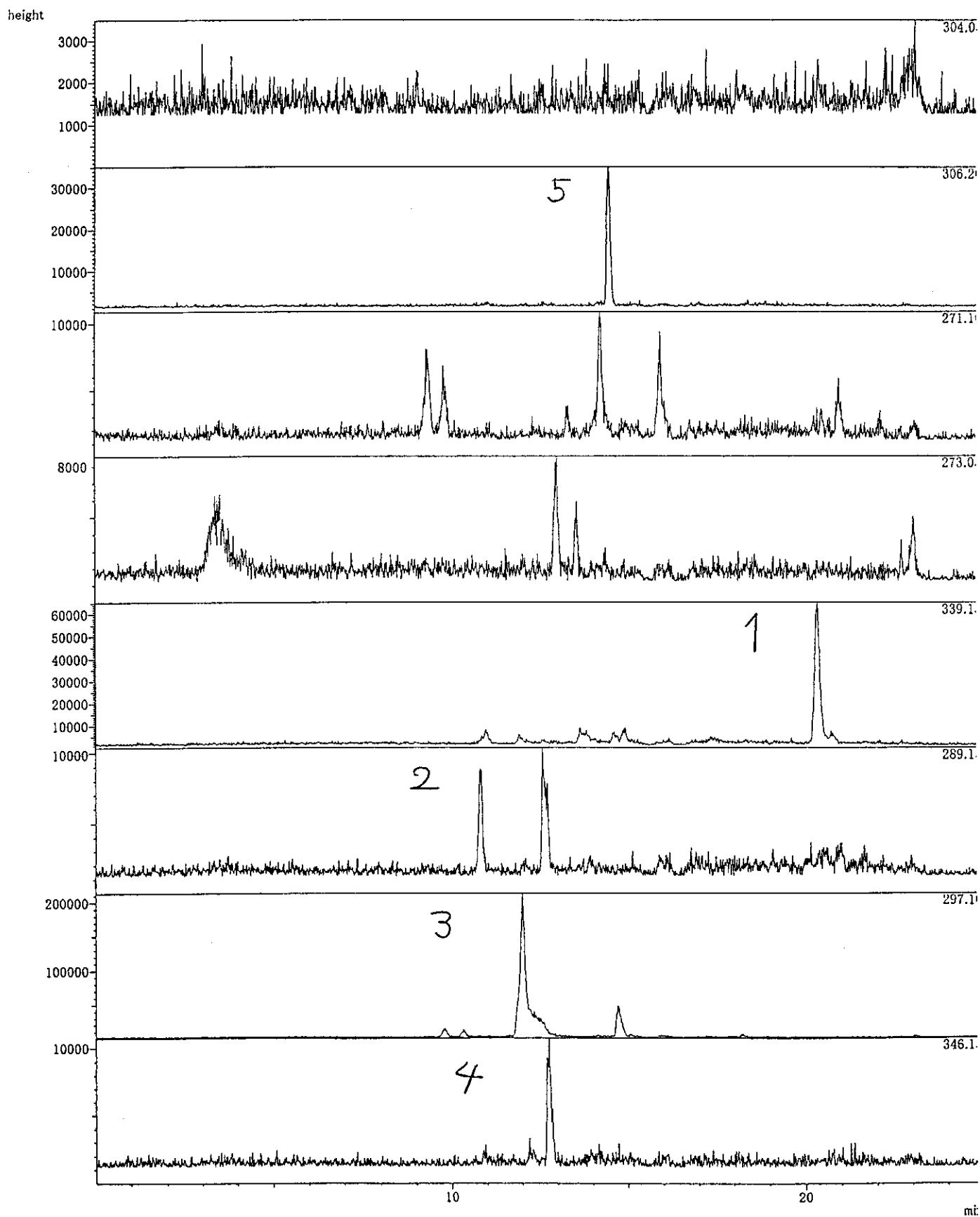


Fig. 5 MS chromatogram of each fragment (Method A)

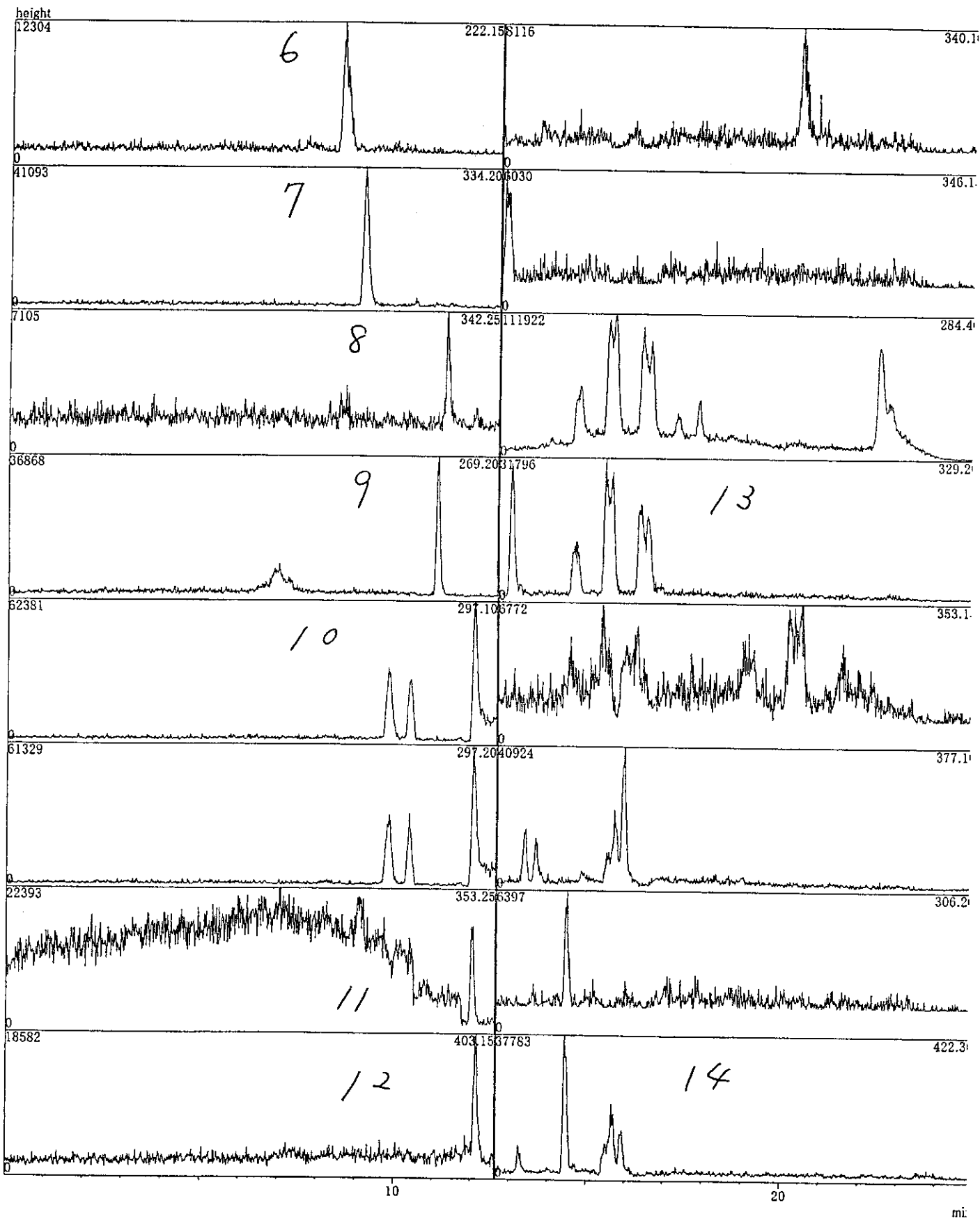


Fig. 6 MS chromatogram of each fragment (Method B)

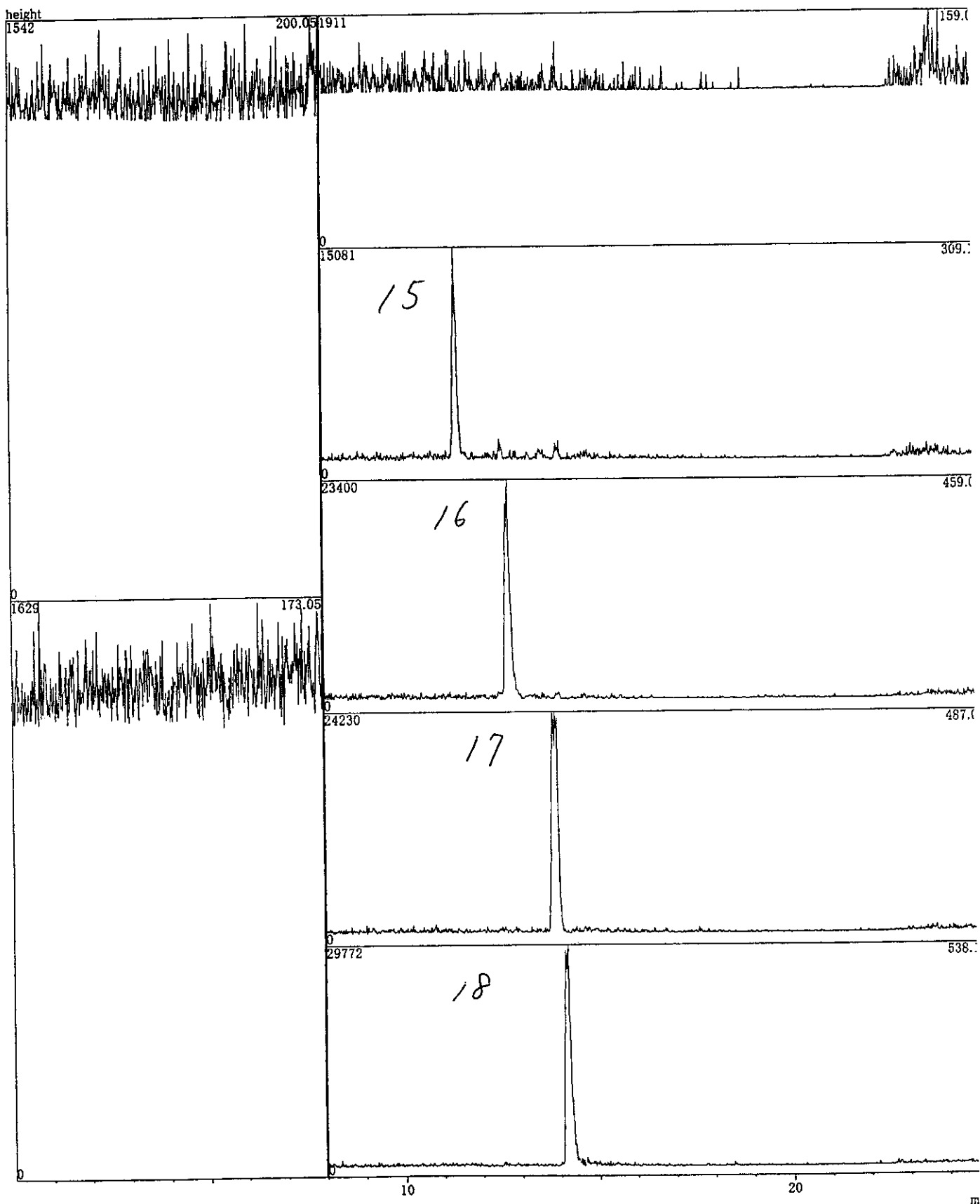


Fig. 7 MS chromatogram of each fragment (Method C)