

Agilent Bond Elut QuEChERS AOAC キットを使用した LC/MS/MS 検出によるホウレン草中の残留農薬分析

アプリケーションノート

食品安全

著者

Limian Zhao, Joan Stevens
Agilent Technologies, Inc.
2850 Centerville Road
Wilmington, DE 19809-1610
USA

概要

本アプリケーションノートでは、AOAC に記載のあるサンプル前処理法、QuEChERS (quick (迅速)、easy (簡単)、cheap (低価格)、effective (効果的)、rugged (高耐久性)、safe (安全)) を使用した、ホウレン草に残留する代表的な 13 種類の農薬の抽出とクリーンアップについて説明します。AOAC で採用されたオリジナルのメソッドには、水/アセトニトリル系での初期抽出、塩類付加後の抽出/分離ステップ、分散固相抽出 (分散 SPE) を使用したクリーンアップステップが伴います。分散 SPE に含まれるグラファイトカーボンブラック (GCB) により、平面構造を持つ農薬が著しく失われる問題に対処するために、トルエンを添加した修正メソッドを使用しました。ホウレン草抽出物に含まれる対象農薬を、ポジティブイオンマルチプルリアクションモニタリング (MRM) モードのエレクトロスプレーイオン化タンデム質量分析計と組み合わせた液体クロマトグラフィ (LC-ESI-MS/MS) により定量しました。オリジナルの分散 SPE メソッドと修正した分散 SPE メソッドを組み合わせて、分析対象物すべての回収率と再現性からメソッドを検証しました。本アプリケーションで得られたホウレン草中の農薬に対する 5 ng/g の定量限界 (LOQ: Limit of quantitation) は、最大残留基準値 (MRL: Maximum residue limits) よりも十分小さい値でした。回収率の実験は添加レベル、10、50、および 200 ng/g で行い、回収率は、64 ~ 108 % (平均 91.9 %) で、RSD は 10 % 未満 (平均 3.3 %) でした。



Agilent Technologies

はじめに

QuEChERS AOAC メソッドは、USDA の科学者が導入して以来、食品に含まれる農薬の分析に広く応用されています。[1 ~ 3] このメソッドには一般に、抽出および分散 SPE クリーンアップという 2 つの手順が含まれます。このメソッドの手順は、アセトニトリル (ACN) 抽出を行った後、無水硫酸マグネシウム ($MgSO_4$) を使用してサンプルから水分を塩析し、液液分配を促進します。その後、脂肪酸と他の成分を除去する一級二級アミン (PSA) と抽出液中の水分を減らす無水硫酸マグネシウムを使用して、分散固相抽出 (分散 SPE) によりクリーンアップを行います。食品マトリックスの違いに基づいて、色素およびステロールを除去するグラファイトカーボンブラック (GCB)、または脂質およびワックスをさらに除去する C18 などの成分をこの手順に追加することがあります。

ホウレン草は、高濃度のクロロフィルを含むため、色素を多く含む野菜です。そこで、クリーンアップを十分に行うために GCB を含む分散 SPE キットを選択しました。このキットには、ACN 抽出液 1 mL あたり、50 mg の GCB、50 mg の PSA および 150 mg の硫酸マグネシウムが加えてあります。GCB には、色素やステロールなどの平面構造を持つ分子を吸着する性質があります。そのため、ホウレン草など色素を含むマトリックスのクリーンアップに有効です。しかし、GCB は、カルベンダジムおよびチアベンダゾールなどの平面構造を持つ農薬も吸着します。したがって、この種類の分散 SPE キットは、平面構造を持つ農薬向けではありません。

以前のアプリケーションノートで [4]、色素を含むマトリックスに含まれる農薬の分析において、分散 SPE 試験管にトルエンを追加した場合の影響について議論しました。本アプリケーションノートでは、このようなメソッドの修正により、吸着しやすい農薬の抽出効率が大きく向上することを示します。ホウレン草などの色素を含むマトリックスに含まれる平面構造を持つ農薬の分析に GCB を用い、トルエンを追加しました。本実験では、13 種類の農薬を使用して、Agilent AOAC バッファあり抽出キット (部品番号 5982-5755) および色素のある果実と野菜用の Bond Elut QuEChERS AOAC 分散 SPE キット (部品番号 5982-5222 および 5982-5258) の性能を評価しました。オリジナルと修正した分散 SPE メソッドを組み合わせて、回収率および再現性を検証しました。表 1 に、ホウレン草に含まれるこれらの農薬の化学的情報と規制情報を示します。

実験

試薬および化学薬品類

使用した試薬および溶媒は、すべて HPLC グレードまたは分析グレードのもので、メタノールとトルエンは、Honeywell 社 (米国ミシガン州ムスカゴン)、アセトニトリル (ACN)、ジメチルスルホキシド (DMSO)、および氷酢酸 (HAc) は、Sigma-Aldrich 社 (米国ミズーリ州セントルイス)、酢酸アンモニウム (NH_4OAc) は Fisher Chemicals 社 (米国ニュージャージー州フェアローン)、ギ酸 (FA) は、Fluka 社 (ドイツ Sleinheim) のものを使用しました。農薬標準試料と内部標準のリン酸トリフェニル (TPP) は、Sigma-Aldrich 社 (米国ミズーリ州セントルイス)、ChemService 社 (米国ペンシルバニア州ウェストチェスター)、Ultra 社 (米国ロードアイランド州キングスタウン)、または AlfaAesar 社 (米国マサチューセッツ州ワードヒル) から購入しました。

溶液と標準試料

19.27 g の NH_4OAc 粉末を 250 mL のミリ Q 水に溶かし、1M NH_4OAc pH 5 溶液を作成しました。pH メーターでモニタリングしながら、HAc を使用して pH を 5 に調整しました。この溶液を 4 °C で保存しました。200 mL のメタノールと 800 mL のミリ Q 水を混合し、5 mL の 1M NH_4OAc pH 5 溶液を加え、十分に混合し、5 mM NH_4OAc を溶かした pH 5 の 20:80 メタノール/ H_2O 溶液を作成しました。5 mL の 1 M NH_4OAc pH 5 保存液を 1 L の ACN に加えて十分混合し、超音波振とう器に 5 分間かけて、5 mM NH_4OAc を含む ACN 溶液を用意しました。10 mL の HAc を 1 L の ACN に加えて十分混合し、1 % HAc を含む ACN 溶液を用意しました。

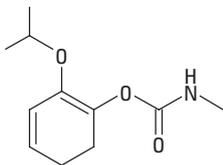
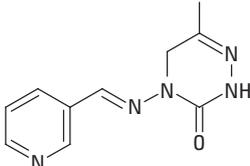
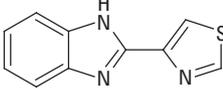
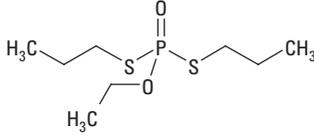
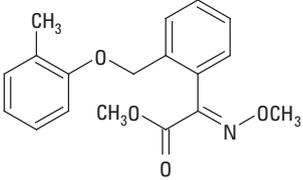
標準試料および内部標準 (IS) 溶液 (0.5 mg/mL のカルベンダジム以外、すべて 2.0 mg/mL) は、それぞれ、メタノール、0.1 % ギ酸を含む ACN 溶液、または DMSO 中で作成し、-20 °C で保存しました。1.5、7.5、および 30 $\mu g/mL$ の 3 種類の QC スパイク溶液を、1:1 の ACN/ H_2O (ギ酸 0.1 %) で毎日新たに用意しました。マトリックスブランク抽出液の検量線を用意するため、ギ酸 0.1 % を含む 1:1 ACN/ H_2O 中の標準スパイク溶液 10 $\mu g/mL$ 、また、1:1 ACN/ H_2O (ギ酸 0.1 %) 中に 15 $\mu g/mL$ の TPP IS スパイク溶液を作成しました。

表 1. 農薬の化学的情報と規制情報 [5-7]

名称	分類	Log P	pKa	構造式	ホウレン草中の MRL (ng/g)*
アセフェート	有機リン系農薬	-0.89	8.35		20
カルバリル	カーバメート	2.36	10.4		50
カルベンダジム	ベンゾイミダゾール	1.48	4.2		100
シプロジニル	アニリノピリミジン	4	4.44		500
イマザリル	イミダゾール	3.82	6.53		20
イミダクロプリド	ネオニコチノイド	0.57	NA		1000
メタミドホス	有機リン系農薬	-0.79	NA		10
ペンコナゾール	トリアゾール	3.72	1.51		50

(続く)

表 1. 農薬の化学的情報と規制情報 [5-7]

名称	分類	Log P	pKa	構造式	ホウレン草中の MRL (ng/g)*
プロボクスル	カーバメート	0.14	NA		2000
ピメトロジン	ピリジン	-0.19	4.06		600
チアベンダゾール	ベンゾイミダゾール	2.39	4.73 12.00 0		50
エトプロホス	有機リン系農薬	2.99	NA		5
クレンキシムメチル	ストロビルリン	3.4	NA		50

* 表中の MRL の数値は、ホウレン草または他の野菜の値です。他の食品では、異なる場合があります。

機器設定

Agilent 1200 シリーズ HPLC、ダイオードアレイ検出器搭載 (Agilent Technologies Inc., 米国)

Agilent 6410 トリプル四重極 LC/MS システム、エレクトロスプレーイオン化機能搭載 (Agilent Technologies Inc., 米国)

Agilent Bond Elut QuEChERS AOAC 抽出キット、部品番号 5982-5755、および色素のある果実と野菜用の Agilent Bond Elut QuEChERS AOAC SPE キット、部品番号 5982-5222 および 5982-5258 (Agilent Technologies Inc., 米国)

CentraCL3R 遠心分離機 (Thermo IEC 社、米国)

溶媒ボトルトップディスペンサ (VWR 社、米国)

Eppendorf 微量遠心分離機 (Brinkmann Instruments 社、米国)

機器設定

以前使用した LC/MS/MS メソッドをそのまま使用しました。 [8]

HPLC 条件

カラム: Agilent ZORBAX ソルベントセーバプラス Eclipse Plus フェニル-ヘキシルカラム、
3.0 × 150 mm、3.5 μm (部品番号 959963-312)

流量: 0.3 mL/min

カラム温度: 30 °C

注入量: 10 μL

移動相: A:20:80 メタノール/H₂O 中 5 mM NH₄OAc、pH 5.0
B:ACN 中 5 mM NH₄OAc、pH 5.0

ニードル洗浄: 1:1:1 ACN/メタノール/イソプロピルアルコール (IPA) /H₂O、0.2 % ギ酸

グラジエント:	時間	% B	流量 (mL/min)
	0	20	0.3
	0.5	20	0.3
	8.0	100	0.3
	10.0	100	0.3
	10.01	20	0.5
	13.0	STOP	

ポストラン: 4 分

合計サイクルタイム: 17 分

MS 条件

ポジティブモード

ガス温度: 350 °C

ガス流量: 10 L/min

ネブライザ: 40 psi

キャピラリー: 4000 V

分析対象物に関連するその他の条件を表 2 に示します。

サンプル調製

サンプル調整手順には、サンプル粉碎、抽出/分離、および分散 SPE クリーンアップなどがあります。これについては、以前のアプリケーションノートで詳しく解説しています。 [8] ホウレン草に使用する手順は、分散 SPE クリーンアップの手順でトルエンを添加する点を除き、同様のものです。

冷凍して刻んだ有機ホウレン草を十分に均質化します。均質化したサンプル 15 g (± 0.1 g) を 50 mL の遠心分離管に入れます。必要に応じて、適切な QC スパイク溶液 (100 μL) をサンプルに添加し、続いて 100 μL の IS 溶液 (15 μg/mL の TPP) を加えます。サンプルを 30 秒攪拌した後、ディスペンサを使用して、15 mL の 1 % HOAc を含む ACN 溶液を各遠心管に加えます。各遠心管に、Agilent Bond Elut QuEChERS AOAC 抽出塩類パッケージ (部品番号 5982-5755) を直接追加します。サンプルの試験管に固くキャップをして、1 分間手で強く振とうします。試験管を 4000 rpm で 5 分間遠心分離します。

ACN 抽出液をオリジナルの分散 SPE メソッド用と修正した分散 SPE メソッド用の 2 つに分けます。修正した分散 SPE メソッドは別の手順に従うので、以下で詳しく説明します。容量 2 mL の分散 SPE 試験管を使用する場合、ACN 抽出液の量 (~ 14 mL) は、オリジナルの分散 SPE メソッドと修正した分散 SPE メソッドで同時にサンプルを処理するのに十分な量です。容量 15 mL の試験管を使用する場合は、1 つのサンプルから得られる 14 mL の ACN 抽出液は、両方のメソッドで同時に分散 SPE 処理するには量が足りません。そのため、最初からもう 1 つ多めにサンプルを抽出しました。

遠心分離後の上部層 (アセトニトリル層) を 1 mL ずつ Agilent Bond Elut QuEChERS 分散 SPE の 2 mL 試験管 (部品番号 5982-5222) に移します。または、8 mL ずつ Agilent Bond Elut QuEChERS 分散 SPE の 15 mL 試験管 (部品番号 5982-5258) に移します。2 mL の試験管には、50 mg の PSA、50 mg の GCB、および 150 mg の無水硫酸マグネシウムが含まれています。また、15 mL の試験管には、400 mg の PSA、400 mg の GCB、および 1200 mg の無水硫酸マグネシウムが含まれています。続いて、375 μL のトルエンを 2 mL の試験管に加え、3 mL のトルエンを 15 mL の試験管に加えます。試験管に固くキャップをして、1 分間攪拌します。サンプルを追加する前に、試験管を数秒間攪拌し、かたまりができないようにします。2 mL の試験管を微量遠心分離機にかけ、13,000 rpm で 2 分間遠心分離しま

表 2. LC/MS/MS による 13 種類の農薬の分析に使用した取込条件

分析対象物	MRM チャンネル (m/z)	フラグメンタ電圧 (V)	キャピラリ電圧 (CE)(V)	リテンションタイム (RT) (分)
アセフェート	1) 184.0 > 94.9 2) 184.0 > 111.0	60	3 15	2.55
メタミドホス	1) 142.0 > 94.0 2) 142.0 > 124.9	60	8 8	2.54
ビメトロジン	1) 218.1 > 105.0 2) 218.1 > 78.0	115	20 50	2.97
カルベンダジム	1) 192.1 > 160.0 2) 192.1 > 105.0	95	18 40	5.07
イミダクロプリド	1) 256.1 > 209.1 2) 256.1 > 175.0	60	12 18	5.53
チアベンダゾール	1) 202.1 > 175.0 2) 202.1 > 131.0	110	27 38	5.65
プロボクスル	1) 210.1 > 111.0 2) 210.1 > 92.9	50	12 15	6.89
カルバリル	1) 202.0 > 145.0 2) 202.0 > 115.0	50	3 40	7.30
エトプロホス	1) 243.1 > 130.9 2) 243.1 > 172.9	80	15 15	8.50
イマザリル	1) 297.1 > 158.9 2) 297.1 > 200.9	80	22 15	8.52
ベンコナゾール	1) 284.1 > 158.9 2) 284.1 > 172.9	80	32 32	8.95
シプロジニル	1) 226.1 > 93.0 2) 226.1 > 108.0	120	35 35	9.23
クレソキシムメチル	1) 314.0 > 222.1 2) 314.0 > 235.0	70	10 10	9.44
TPP (IS: 内部標準)	1) 327.1 > 77.0 2) 327.1 > 151.9	70	45 45	9.49

1) クオンティファイアチャンネル

2) クオリファイアチャンネル

す。15 mL の試験管を通常の遠心分離機にかけ、4,000 rpm で 5 分間遠心分離します。その後、825 μ L の抽出液を別の試験管に移し、N₂ フローにより乾燥させます。0.1 % のギ酸を含む 600 μ L の ACN 溶液でサンプルを調整します。攪拌し、超音波洗浄器にかけた後、200 μ L の抽出液をオートサンブラ用バイアルに移し、800 μ L の水または他の適切な標準溶液 (水で希釈したものの) を追加します。サンプルにキャップをして十分に攪拌してから、LC/MS/MS 分析にかけます。

図 1 に、ホウレン草サンプルについての (オリジナルの分散 SPE メソッドおよび修正した分散 SPE メソッドの) 抽出作業全体のフローチャートを示します。

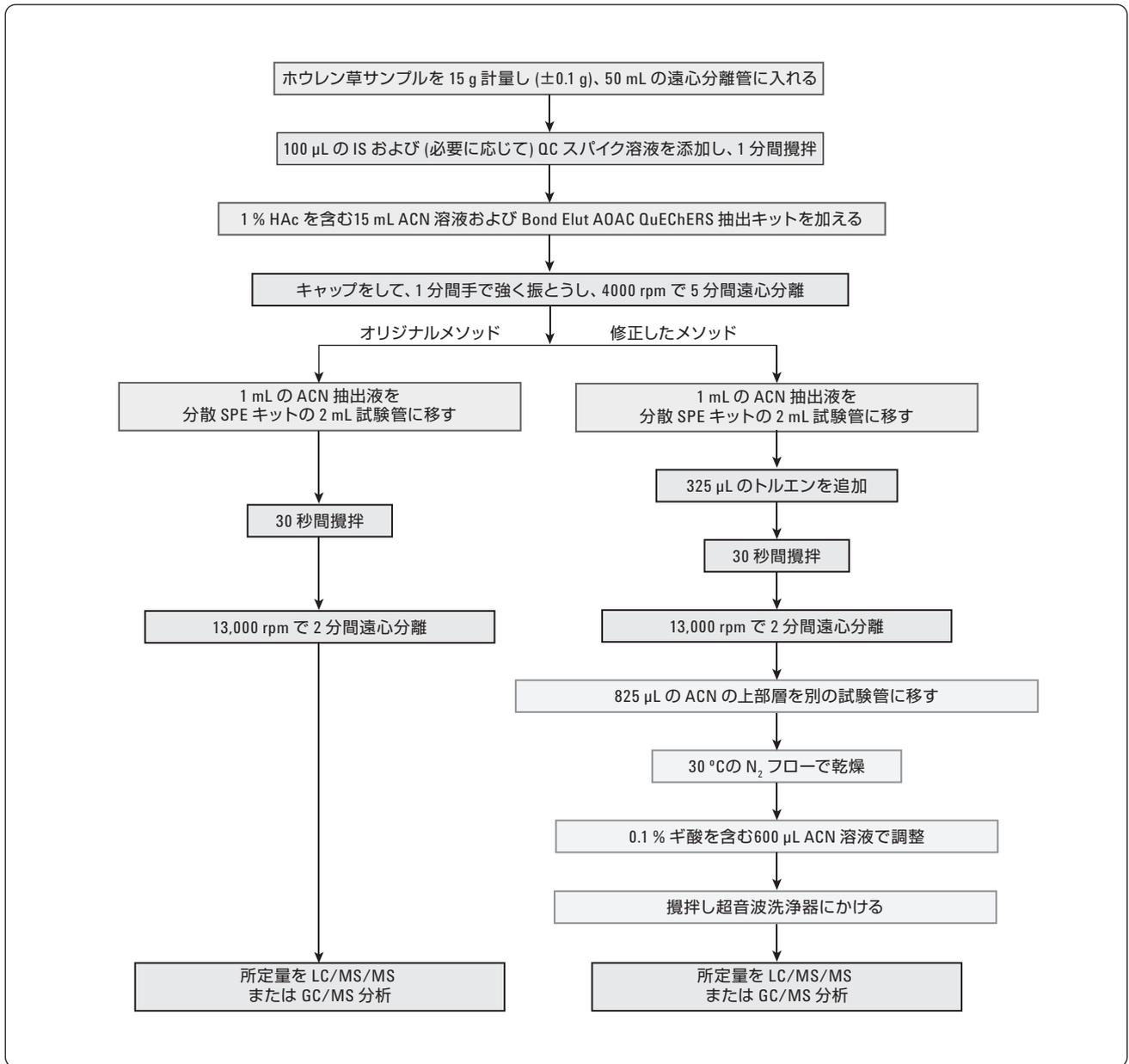


図 1. ホウレン草サンプルについての (2 mL サイズのオリジナルの分散 SPE メソッドおよび修正した分散SPE メソッド) QuEChERS AOAC 抽出作業のフローチャート

結果と考察

残留農薬分析用の QuEChERS のメソッドにより、高速で簡単かつ安価な方法で非常に優れた結果が得られました。色素のある果実および野菜の場合、分散 SPE 試験管に GCB を加えると色素とステロールの除去性能が向上します。平面構造を持つ農薬の抽出効率を向上させるためにトルエンを追加しました。以前の実験で、トルエンの添加により、マトリックス不純物を含んだ黄色い最終サンプルが得られることを確認しました。[4] しかし、LC/MS/MS の強力な選択性により、オリジナルのメソッドで処理したサンプルと修正したメソッドで処理したサンプルの間でクロマトグラムに差異は見られませんでした。図 2 および 3 に、(IS をスパイク添加した) マトリックスブランクとオリジナルの分散 SPE メソッドおよび修正した分散 SPE メソッドによ

り処理した 50 ng/g 添加ハウレン草抽出液の LC/MS/MS クロマトグラムを示します。

平面構造を持つ 4 種類の農薬は、オリジナルの分散 SPE メソッドでは大きく失われることが分かりました。トルエン添加を伴う修正したメソッドでは、これら 4 種類の農薬の回収率が、20% から 40% および 60% から 100% へと 2、3 倍向上しました。さらに、再現性も RSD 15% 超から 5% 未満へと改善しました。トルエンの添加は、その他の農薬の定量結果には影響を与えませんでした。そのため、回収率の高い農薬向けのオリジナルメソッドの結果と平面構造を持つ農薬向けの修正メソッドの結果を組み合わせました。回収率および再現性に関して、このメソッドを検証できたので、次に定量の結果について議論します。

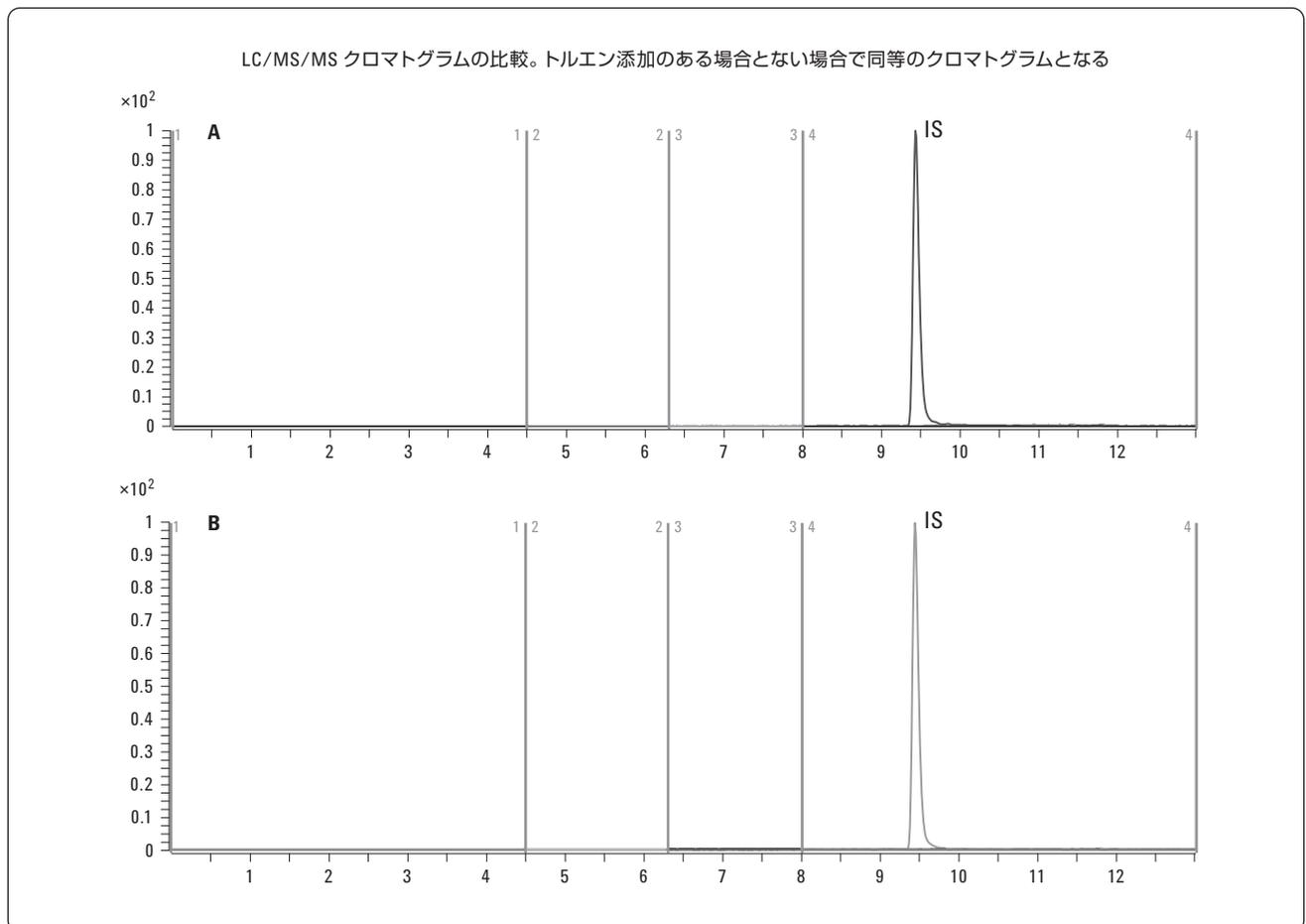


図 2. オリジナルの分散 SPEメソッド (A) および修正した分散 SPE メソッド(B) により処理したハウレン草マトリックスブランクの LC/MS/MS クロマトグラム。IS: 内部標準 TPP。

LC/MS/MS クロマトグラムの比較。トルエン添加により平面構造を持つ農薬の回収率が向上する

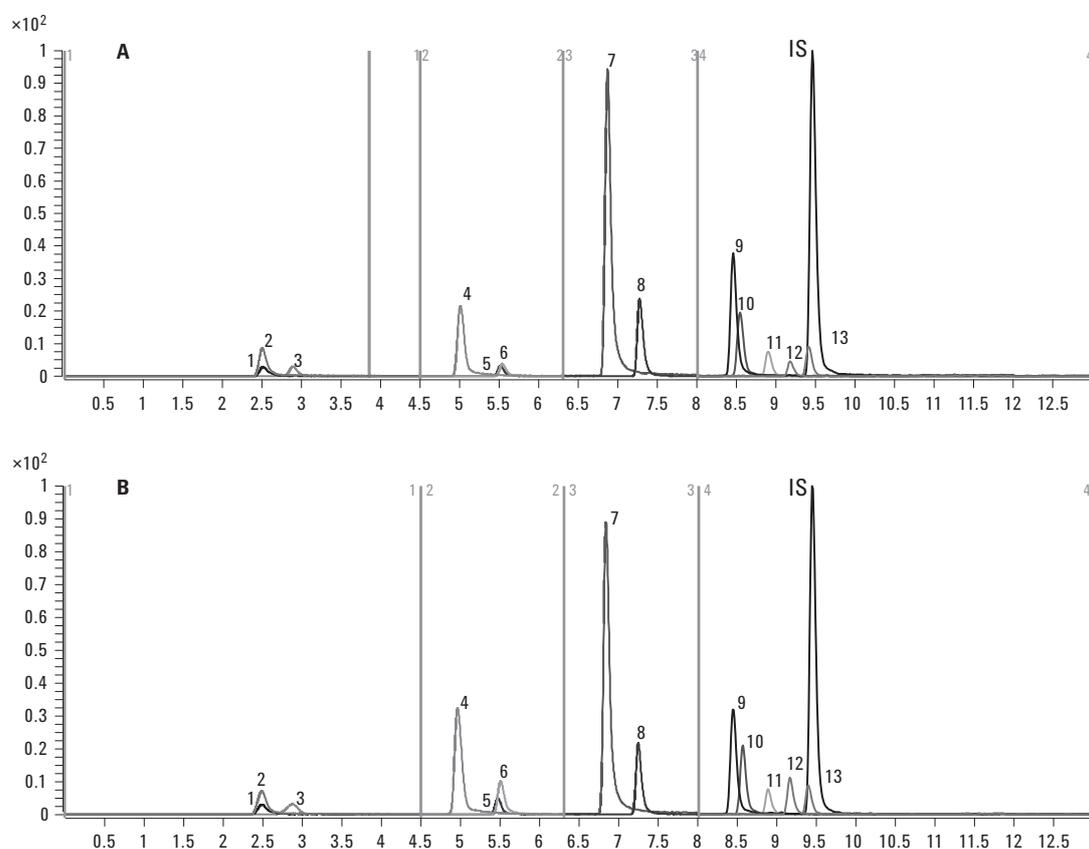


図 3. オリジナルの分散 SPE (A) および修正した分散 SPE (B) により処理した 50 ng/g 添加したホウレン草サンプル抽出液の LC/MS/MS クロマトグラム。ピーク同定:1. メタミドホス、2. アセフェート、3. ピメトロジン、4. カルベンダジム、5. イミダクロプリド、6. チアベンダゾール、7. プロボクスル、8. カルバリル、9. エトプロップ、10. イマザリル、11. ペンコナゾール、12. シプロジニル、13. クレソキシムメチル。IS: 内部標準、TPP。

直線性と定量限界値 (LOQ)

すべての農薬に対して、検量線の直線性の範囲は 5 ~ 250 ng/g でした。オリジナルメソッドおよび修正したメソッドで処理したサンプルに対応するマトリックスブランクを使用して、検量線を作成しました。検量線は、5、10、50、100、200、および 250 ng/g のレベルで作成しました。いずれの場合も、TPP は 100 ng/g で内部標準 (IS) として使用しています。分析対象物の相対濃度 (分析対象物の濃度/IS の濃度) に対して分析対象物の

相対レスポンス (分析対象物のピーク面積/IS のピーク面積) をプロットすることにより検量線を作成しました。すべての農薬に対して得られた 5 ng/g の定量限界 LOQ (5 ppb) は、果実および野菜に含まれるこれらの農薬の MRL と同等かそれよりも小さい値でした。検量線は、平均レスポンスファクタに回帰しました。表 3 に、1 mL と 8 mL の分散 SPE に対する直線性および相関係数 (R^2) を示します。

表 3. ホウレン草抽出液に含まれる農薬の直線性

分析対象物	1 mL の分散 SPE の 回帰方程式	R ²	8 mL の分散 SPE の 回帰方程式	R ²
メタミドホス	$Y = 0.2358X - 0.0008$	0.9976	$Y = 0.2164X - 0.0014$	0.9983
アセフェート	$Y = 0.0862X - 0.0003$	0.9975	$Y = 0.0804X - 0.0006$	0.9942
ピメトロジン*	$Y = 0.2073X - 0.0002$	0.9995	$Y = 0.2034X - 0.0013$	0.9978
カルベンダジム*	$Y = 0.8375X + 0.0032$	0.9915	$Y = 0.8383X + 0.0002$	0.9982
イミダクロプリド	$Y = 0.0652X - 0.0007$	0.9905	$Y = 0.0620X - 0.0011$	0.9742
チアベンダゾール*	$Y = 0.4081X - 0.0008$	0.9995	$Y = 0.4102X - 0.0011$	0.9975
プロボクスル	$Y = 1.9253X - 0.0042$	0.9995	$Y = 1.8253X - 0.0037$	0.9996
カルバリル	$Y = 0.4243X - 0.0013$	0.9979	$Y = 0.3993X - 0.0019$	0.9946
エトプロホス	$Y = 0.7859X - 0.0012$	0.9983	$Y = 0.7420X - 0.0012$	0.9985
イマザリル	$Y = 0.4586X + 0.0002$	0.9954	$Y = 0.4229X + 0.0005$	0.9903
ベンコナゾール	$Y = 0.1643X - 0.0014$	0.9923	$Y = 0.1468X - 0.0003$	0.9944
シプロジニル*	$Y = 0.3274X - 0.0024$	0.9904	$Y = 0.3067X - 0.0013$	0.9978
クレソキシムメチル	$Y = 0.1809X - 0.0015$	0.9975	$Y = 0.1659X - 0.0008$	0.9928

* 修正した分散 SPE メソッドの結果

回収率と再現性

回収率と再現性は、10、50 および 200 ng/g の 3 つのレベルの農薬標準試料をホウレン草サンプルにスパイク添加する方法で評価しました。これらの QC サンプルは、マトリックススパイクの検量線に対して定量しました。分析は、各レベルについて 6 回ずつ実行しました。1 mL と 8 mL の分散 SPE に対する回収率と再現性 (% RSD) のデータを、それぞれ、表 4 と表 5 に示します。この結果から分かるように、オリジナルメソッドで処理した 9 種類の農薬で優れた回収率 (1 mL の場合、平均 97.8 %、8

mL の場合、平均 103.4 %) と精度 (1 mL の場合 RSD 平均 3.6 %、8 mL の場合 RSD 平均 4.3 %) が得られました。修正したメソッドで処理した 4 種類の農薬については、回収率 (1 mL の場合平均 78.5 %、8 mL の場合平均 69.7 %) は下がりましたが、高い精度 (1 mL の場合 RSD 平均 2.7 %、8 mL の場合 RSD 平均 3.3 %) が得られました。修正したメソッドを使用した場合、オリジナルメソッドの場合よりもずっと良い結果が得られました。詳しい議論は、以前のアプリケーションノート [4] を参照してください。

表 4. 2 mL 分散 SPE 試験管 (部品番号 5982-5222) を使用した添加ホウレン草サンプル 1 mL に含まれる農薬の優れた回収率および再現性

分析対象物	10 ng/g QC 添加 回収率	RSD (n=6)	50 ng/g QC 添加 回収率	RSD (n=6)	200 ng/g QC 添加 回収率	RSD (n=6)
メタミドホス	91.8	4.2	93.3	3.7	93.8	5.7
アセフェート	93.4	3.3	91.3	5.6	101.9	7.8
ピメトロジン*	74.0	2.9	71.1	3.2	70.3	2.9
カルベンダジム*	105.3	4.0	109.1	2.5	88.9	1.7
イミダクロプリド	98.2	4.5	100.4	3.7	100.0	2.7
チアベンダゾール*	79.0	2.7	76.6	2.3	75.5	1.8
プロボクスル	100.0	1.7	98.1	3.5	93.0	4.0
カルバリル	110.8	3.2	108.1	1.0	105.1	3.2
エトプロホス	98.8	1.6	98.2	3.3	95.1	3.1
イマザリル	84.0	3.8	89.6	2.5	89.8	1.7
ベンコナゾール	103.1	5.4	98.4	3.5	97.2	1.9
シプロジニル*	69.1	4.7	62.0	2.9	61.3	1.1
クレソキシムメチル	104.4	4.8	101.2	5.0	102.6	3.0

* 修正した分散 SPE メソッドの結果

表 5. 15 mL の分散 SPE 試験管 (部品番号 5982-5258) による添加ホウレン草サンプル 8 mL に含まれる農薬の優れた回収率および再現性

分析対象物	10 ng/g QC 添加 回収率	RSD (n=6)	50 ng/g QC 添加 回収率	RSD (n=6)	200 ng/g QC 添加 回収率	RSD (n=6)
メタミドホス	98.6	3.8	94.2	7.1	97.8	2.9
アセフェート	95.5	8.9	91.5	6.3	105.6	5.7
ピメトロジン*	62.4	4.3	53.9	3.4	59.3	5.4
カルベンダジム*	95.7	1.6	98.6	1.9	93.3	2.9
イミダクロプリド	112.7	4.2	107.6	7.7	110.4	3.7
チアベンダゾール*	58.0	3.5	62.1	3.3	66.8	2.8
プロボクスル	104.9	1.4	103.3	3.7	99.0	3.3
カルバリル	116.9	2.2	114.6	2.4	110.8	2.1
エトプロホス	105.3	2.5	105.7	2.8	103.0	2.3
イマザリル	86.3	3.9	94.9	4.3	93.9	3.4
ベンコナゾール	103.5	10.4	106.9	3.6	99.2	6.4
シプロジニル*	63.1	2.8	60.6	4.8	62.7	2.9
クレソキシムメチル	111.2	4.5	106.6	3.2	112.0	3.0

* 修正した分散 SPE メソッドの結果

図4に、1 mLと8 mLの分散SPEにより得られた回収率と精度を示します。比較を簡単にするため、すべての農薬に対して、3つの添加濃度の平均回収率と平均精度を使用しました。2つの分散SPEクリーンアップの結果は、使用した量に依存せず、どちらの方法も、効率的で類似したサンプルクリーンアップが可能であり、ほぼ同等の結果が得られました。ただし、8 mLの分散SPEを使用する場合は、オリジナルメソッドと修正した

メソッドの2つを実施するために、最初に2つの同じ抽出液を準備する必要があります。1 mLの分散SPEを使用する場合は、1つの抽出液のみで、オリジナルメソッドと修正したメソッドの両方を同時に実行するのに十分な量が得られます。この場合の方がコストパフォーマンスが高いため、時間、サンプル量、作業量を節約できます。抽出は、ユーザーの必要性と規制に基づいて実行できます。

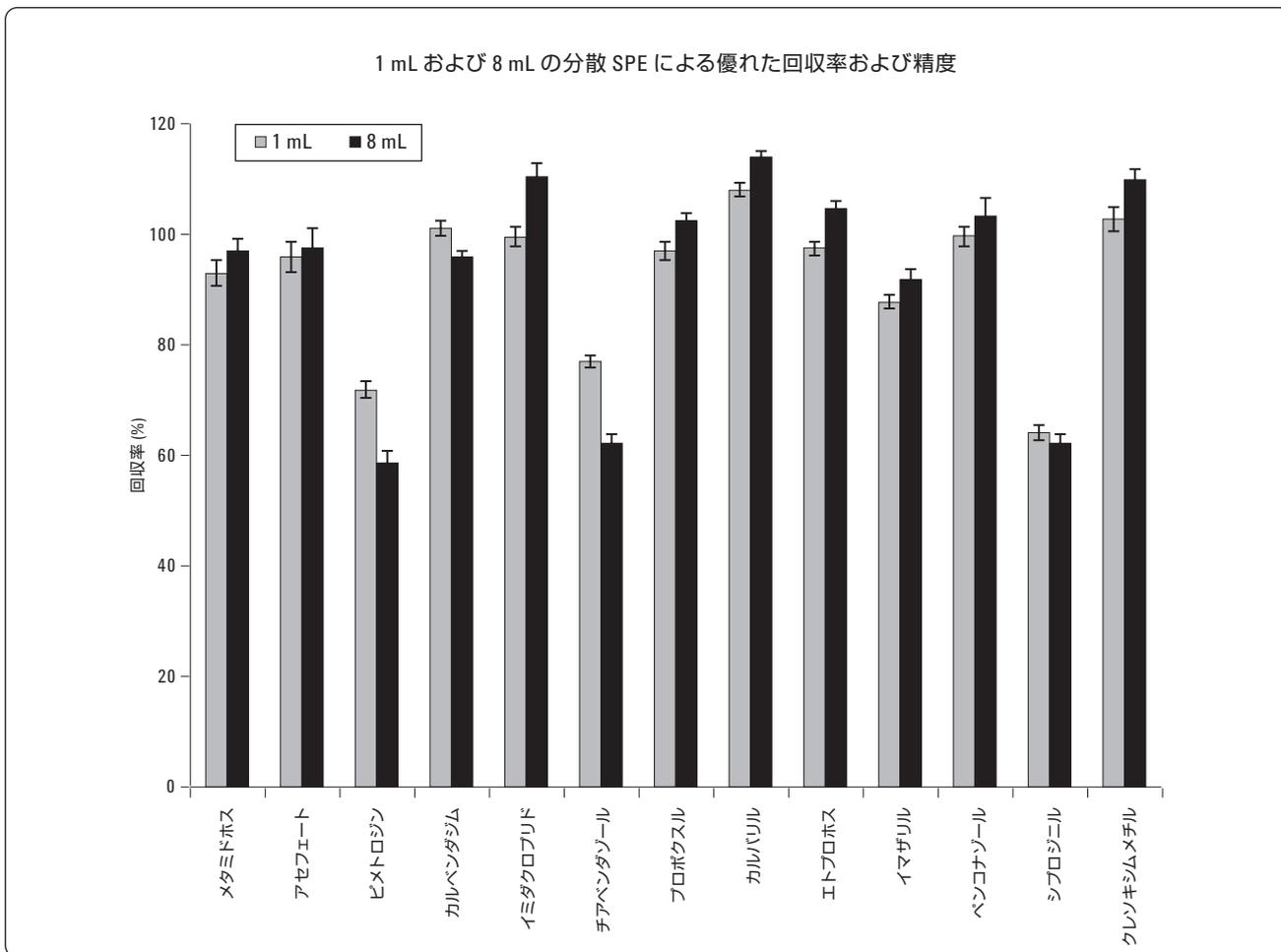


図4. 1 mL分散SPEと8 mL分散SPEの回収率および精度

結論

Agilent Bond Elut QuEChERS AOAC バッファあり抽出キットおよび色素のある果実および野菜用の分散 SPE キットにより、ハウレン草中の代表的な農薬を精製する簡単で高速かつ効率的なメソッドを実現できます。トルエンを添加して修正した分散 SPE メソッドを用いると、分散 SPE に含まれる GCB による平面構造を持つ農薬の損失を抑えることができます。マトリックススパイク標準溶液に基づくこのメソッドの回収率と再現性は、ハウレン草のさまざまな残留農薬の分析に必要な条件を満たしています。ハウレン草による不純物とマトリックス効果は軽微であり、対象化合物の定量に影響がありませんでした。本実験では、さまざまな種類と特性を持つ代表的な農薬を選択しており、色素のある果実と野菜用の Agilent Bond Elut QuEChERS AOAC 抽出および分散 SPE キットは、同様の色素を含む他のマトリックスに含まれる他の農薬に対しても優れた選択肢となります。

参考文献

1. M. Anastassiades, S. J. Lehotay, "Fast and Easy Multiresidue Method Employment Acetonitrile Extraction/Partitioning and "Dispersive Solid-Phase Extraction" for the Determination of Pesticide Residues in Produce," J. AOAC Int., 2003, 86, 412- 431.
2. S. J. Lehotay, et al., "Use of Buffering and Other Means to Improve Results of Problematic Pesticides in a Fast and Easy Method for Residue Analysis of Fruits and Vegetables," J. AOAC Int., 2005, 88, 615-629.

3. S. J. Lehotay, et. al., "Determination of Pesticide Residues in Foods by Acetonitrile Extraction and Partitioning with Magnesium Sulfate: Collaborative Study, J. AOAC Int., 2007, 90, 485-520.
4. L. Zhao, J. Stevens, 「グラファイトカーボンを含む Agilent Bond Elut QuEChERS AOAC キットおよびトルエンを用いたハウレン草中の平面構造を持つ農薬回収率の最適化」、資料番号 5990-4247 JAJP.
5. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/footprint/en/index.htm>
6. <http://www.m5.ws001.squarestart.ne.jp/foundation/search.html>
7. <http://www.mrldatabase.com/?selectvetdrug=0>
8. L. Zhao, D. Schultz, J. Stevens, "Evaluation of the QuEChERS AOAC Sample Preparation Kit for the Analysis of Pesticide Residues in Apples with LC/MS/MS Detection. Agilent Technologies publication 5990-3937EN.

詳細情報

アジレントの製品およびサービスの詳細は、弊社ウェブサイト www.agilent.com/chem/jp をご覧ください。

www.agilent.com/chem/jp

アジレントは、本文書に誤りが発見された場合、また、本文書の使用により付随的または間接的に生じる損害について一切免責とさせていただきます。

本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。著作権法で許されている場合を除き、書面による事前の許可なく、本文書を複製、翻案、翻訳することは禁じられています。

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc., 2009
Published in Japan
August 6, 2009
5990-4248JAJP



Agilent Technologies