

スプリングリーフミックス中のマルチクラス、 多成分残留農薬の測定

Captiva EMR-HCF パススルークリーンアップと LC/MS/MS の使用

著者

Limian Zhao and Ta-Chen Wei
Agilent Technologies, Inc.

概要

このアプリケーションノートでは、スプリングリーフミックスに含まれるマルチクラスの多成分残留農薬を分析するためのメソッドの開発とバリデーションについて説明します。開発したメソッドでは、Agilent Bond Elut QuEChERS AOAC 抽出キットによる抽出、続いて Agilent Captiva Enhanced Matrix Removal – High Chlorophyll Fresh (EMR-HCF) によるパススルークリーンアップ、そして LC/MS/MS 分析を行います。メソッドの性能評価には、2 種類の Captiva EMR-HCF (NH₂ を用いた EMR-HCF1、および PSA を用いた EMR-HCF2) を使用しました。どちらも非常に効率的なクロロフィル色素除去を実現し、特に平面構造を有する農薬などの反応しやすい化合物について、ターゲットとの不要な相互作用を大幅に削減しました。これら 2 種類の EMR-HCF カートリッジは、高クロロフィル葉野菜マトリックス用に設計されたもので、処方と質量が最適化されています。Captiva EMR-HCF カートリッジの結果は両方とも、農薬の 96 % 以上で、70 ~ 120 % の回収率、RSD <20 %、およびキャリブレーション範囲内で R² >0.99 の検量線が得られました。LC-UV による色素除去評価では、EMR-HCF クリーンアップによって 96 % 以上の緑色/黄色色素干渉が除去されることも確認されました。

はじめに

新鮮な果物・野菜には、天然色素が非常に豊富に含まれています。これには、緑の野菜のクロロフィルやルテイン、赤・青・紫・黒の果実のアントシアニンやアントシアニン、オレンジや黄色の果物と野菜のカロテノイドやキサントフィルなどがあります。これらの色素は、有機溶媒を使用して簡単に抽出できます。色素共抽出物をさらに除去しないと、色素の多いサンプル抽出物を LC/MS/MS や GC/MS/MS などの検出機器に直接注入することで、複数のマトリックス効果が生じる可能性があります。その影響には、LC/MS/MS でのマトリックスイオン抑制、GC/MS/MS でのマトリックス干渉、検出流路と MS イオン源へのマトリックス沈着の蓄積などがあります。したがって、機器分析の前に、クリーンアップを強化して色素共抽出物を除去することが重要です。

グラファイトカーボンブラック (GCB) は、効率的な色素除去のためにサンプル前処理に使用されてきました^{1,2}。GCB は、生鮮食品の分析に一般的に使用される QuEChERS 抽出の後、多くの分散固相抽出 (dSPE) キットで使用されてきました。濃い緑色の葉物野菜などの高クロロフィルの新鮮なマトリックスの場合、色素除去効率を高めるために、dSPE キットで比較的多量の GCB が使われます。Agilent Bond Elut QuEChERS 色のある果実と野菜用分散 SPE キット、AOAC メソッド (AP-dSPE) は、高クロロフィルの新鮮なマトリックスのクリーンアップに最適で、深緑色の抽出物 1 mL あたり 50 mg の GCB を含みます。ただし AP-dSPE クリーンアップでは、ヘキサクロロベンゼン、チアベンダゾールなどの平面構造を持つ農薬が大幅に失われる可能性があります。Agilent Bond Elut QuEChERS 色のある果物と野菜用 dSPE キット、EN メソッドでは、深緑色の粗抽出液 1 mL あたりの GCB (7.5 mg) がはるかに少ないため、平面

構造を持つ農薬の回収率は向上しますが、クロロフィル色素の除去性能が大幅に低下します。平面構造を持つ農薬の回収率とクロロフィル色素の除去のバランスを取るのには、dSPE キットの GCB の量を調整するだけでは困難です。

高クロロフィルの新鮮なマトリックスの場合、2 種類の Captiva EMR-HCF カートリッジを利用できます。Carbon S 吸着剤が、EMR-HCF1 カートリッジの場合は NH₂ と、最適化された質量を使用した EMR-HCF2 カートリッジの場合は 1 級-2 級アミン (PSA) と、1:1 の比率でブレンドされます。Captiva EMR-HCF の 2 つのバージョンはカートリッジが異なることを除いて、同じ手順を使用して同様のアプリケーションで使用するように提供されています。ただし、どちらのカートリッジも、クロロフィル色素の除去と成分の回収に関して優れた性能を発揮するため、対応する現在使用中の製品に現在のプロトコルを高い信頼性で簡単に移行できます。本検討では、パススルークリーンアップに Captiva EMR-HCF1 と EMR-HCF2 カートリッジをそれぞれ用いるサンプル前処理を行い、スプリングリーフミックスに含まれる 138 種類の一般的な農薬を LC/MS/MS により分析する実証試験を行いました。スプリングミックスは一般的な葉野菜ミックスで、柔らかいベビーレタス、ほうれん草、赤と緑のロメイン、オークの葉、フダンソウ、ルッコラ、エンダイブなどが含まれます。このマトリックスを選んだのは、最も難しい色素の多いフレッシュマトリックスである高クロロフィル葉マトリックスを対象とするためです。

実験方法

材料および試薬

農薬標準と内部標準 (IS) は、アジレント・テクノロジーから標準混合原液 (部品番号 5190-0551) として入手するか、Sigma-Aldrich (セントルイス、ミズーリ州、米国) から個別の標準原液または粉末として入手しました。

HPLC グレードのアセトニトリル (ACN) は Honeywell (マスキーゴン、ミシガン州、米国) から購入しました。試薬グレードの酢酸、酢酸アンモニウムおよびフッ化アンモニウムも Sigma-Aldrich から入手しました。

溶液および標準試料

混合標準スパイク溶液 (138 種類の農薬) と混合内部標準 (2 種類の IS 化合物) スパイク溶液を ACN で 10 µg/mL に調製し、冷凍庫に -20 °C で保存しました。標準スパイク溶液は、使用前に室温に戻してから超音波処理し、使用後は -20 °C に戻しました。

1 % 酢酸抽出溶媒を含む ACN は、10 mL の氷酢酸を 990 mL の ACN に加えて調製し、室温で保存しました。

実験器具と材料

本検討には、Agilent 1290 Infinity LC システムと Agilent 6490 トリプル四重極 LC/MS システムを連結して使用しました。Agilent 1290 Infinity LC システムは、Agilent 1290 Infinity バイナリポンプ (G4220A)、Agilent 1290 Infinity 高性能オートサンブラ (G4226A)、Agilent 1290 Infinity サーモスタットカラムコンパートメント (G1316C) で構成されます。連結された Agilent トリプル四重極 LC/MS (G6490) には、Agilent Jet Stream iFunnel エレクトロスプレーイオンソースが装着されています。データの取り込みと解析には、Agilent MassHunter ワークステーションソフトウェアを使用しました。

サンプル前処理に用いたその他の装置には次のものがあります。Centra CL3R 遠心分離機 (Thermo IEC、マサチューセッツ州、米国)、Geno/Grinder (SPEX、ニュージャージー州、米国)、Multi Reax テストチューブシェーカー (Heidolph、シュヴァーバツハ、ドイツ)、ピペットとリピーター (Eppendorf、ニューヨーク州、米国)、Agilent 加圧マニホールド 48 プロセッサ (PPM-48) (部品番号 5191-4101)、

Agilent Bond Elut QuEChERS AOAC 抽出キット (部品番号 5982-5755)、Agilent Captiva EMR-HCF1、NH₂ を含む、3 mL (部品番号 5610-2088)、Agilent Captiva EMR-HCF2、PSA を含む、3 mL (部品番号 5610-2089)

分析条件

表 1 に LC/MS/MS 条件を、表 2 にターゲットのダイナミックマルチプルリアクションモニタリング (dMRM) パラメータを示します。図 1 は、表 1 の LC/MS/MS 条件を使用して、QuEChERS AOAC 抽出とその後の Captiva EMR-HCF1 クリーンアップによって調製された、100 ng/g レベルの添加スプリングミックスサンプル中のターゲット農薬の典型的な MRM クロマトグラムを示したものです。

表 1. Agilent 1290 Infinity LC、Agilent トリプル四重極 LC/MS メソッド条件

LC の分析条件	
カラム	Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 カラム、2.1 × 100 mm、1.8 μm (部品番号 959758-902) Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 カラム、UHPLC ガード、2.1 × 5 mm、1.8 μm (部品番号 821725-901)
流量	0.3 mL/min
カラム温度	40 °C
注入量	2 μL
移動相	A) 10 mM 酢酸アンモニウム、0.5 mM フッ化アンモニウム水溶液、0.125 % FA B) 95:5 ACN/水、0.125 % FA 溶液中の 10 mM 酢酸アンモニウム、0.5 mM フッ化アンモニウム
ニードル洗浄	1:1:1 ACN/MeOH/IPA/水、0.2 % 酢酸
グラジエント	時間 (分) %B 流量 (mL/分) 0.0 15 0.3 6.0 95 0.3 8.01 100 0.3
ストップタイム	10 分
ポストタイム	2.3 分
MS 条件	
イオン化モード	エレクトロスプレーイオン化 (ESI)
ガス温度	120 °C
ガス流量	20 L/min
ネプライザ	40 psi
シースガスヒーター	225 °C
シースガス流量	11 L/min
キャピラリー電圧	4,500 V (ポジティブおよびネガティブ)
ノズル電圧	0 V (ポジティブおよびネガティブの両方)
iFunnel パラメータ	高圧 RF : 150 V (ポジティブ)、90 V (ネガティブ) 低圧 RF : 60 V (ポジティブ)、60 V (ネガティブ)
極性	ポジティブおよびネガティブ、表 2 を参照

表 2. ターゲット農薬の dMRM 条件

ターゲット名	RT (分)	第 1 MRM トランジション (m/z)	CE (V)	第 2 MRM トランジション (m/z)	CE (V)	デルタ RT (分)	極性
メタミドホス	1.156	142 → 124.9	13	142 → 94.1	9	1	POS
ピメトロジン	1.238	218.1 → 105	25	218.1 → 51.2	73	1	POS
アセフェート	1.253	184 → 143	9	184 → 95	25	1	POS
オメトエート	1.391	214 → 183	9	214 → 124.9	17	1	POS
アミノカルブ	1.609	209.1 → 152.2	9	209.1 → 137	21	1	POS
プロバモカルブ	1.775	189.2 → 102	17	189.2 → 74	25	1	POS
ジノテフラン	1.994	203.1 → 129	5	203.1 → 43	61	1	POS
カルベンダジム	2.750	192.1 → 160	17	192.1 → 65.1	61	1	POS
モノクロトホス	2.930	224.1 → 127	13	224.1 → 58	29	1	POS
ニテンピラム	2.950	271.1 → 125.9	25	271.1 → 56.1	49	1	POS
チアベンダゾール	3.001	202.1 → 175.1	25	201.1 → 131	37	1	POS
フベリダゾール	2.259	185.1 → 157.1	25	185.1 → 156.1	33	1	POS
チアメトキサム	3.512	292 → 211	9	292 → 131.9	17	1	POS
シモキサニル	3.680	199.1 → 157.2	21	199.1 → 156.1	29	1	POS
メキサカルベート	3.750	223.2 → 151.1	25	223.2 → 136.1	45	1	POS
エチリモール	3.786	210.2 → 140.1	17	210.2 → 43	61	1	POS
メタミトロン	3.852	203.1 → 104	21	203.1 → 41.9	49	1	POS
フェヌロン	3.951	165.1 → 72.1	21	165.1 → 46	13	1	POS

ターゲット名	RT (分)	第 1 MRM トランジション (m/z)	CE (V)	第 2 MRM トランジション (m/z)	CE (V)	デルタ RT (分)	極性
クオリダゾン	4.036	222 -> 76.9	33	222 -> 51	77	1	POS
イミダクロプリド	4.088	256.1 -> 208.8	17	256.1 -> 175	17	1	POS
シミアゾール	4.125	219.1 -> 171.2	28	219.1 -> 100	17	1	POS
ジメトエート	4.199	230 -> 125	17	230 -> 47.1	41	1	POS
フェノブカルブ	4.259	206.1 -> 66.1	21	-	-	1	NEG
アセタミプリド	4.265	223.1 -> 126	17	223.1 -> 73.1	69	1	POS
メトスルフロン	4.501	368.1 -> 325.2	17	368.1 -> 231.2	5	1	POS
フルメツラム	4.523	326.1 -> 129	21	326.1 -> 109	73	1	POS
4-ニトロフェノール D4 (IS)	4.608	142 -> 112	17	142 -> 46	45	1	NEG
テブチウロン	4.656	229.1 -> 172.1	13	229.1 -> 116	33	1	POS
4-ニトロフェノール	4.737	138 -> 107.9	17	138 -> 46	57	1	NEG
チアクロプリド	4.743	253 -> 125.9	17	253 -> 73	73	1	POS
ニコスルフロン	4.761	411.1 -> 182	22	411.1 -> 106	32	1	POS
シマジン-D10 (IS)	4.925	212.2 -> 137.1	25	212.2 -> 44	49	1	POS
チジアズロン	4.946	221.1 -> 101.9	13	221.1 -> 51.1	80	1	POS
セクブメトン	5.051	226.2 -> 170.1	17	226.2 -> 113.9	24	1	POS
イマザリル	5.103	297.1 -> 158.9	25	297.1 -> 69	21	1	POS
ベンタゾン	5.127	239.1 -> 197	21	239.1 -> 132.1	29	1	NEG
オキサスルフロン	5.129	407.1 -> 150.1	17	407.1 -> 107	57	1	POS
カルフェントラゾン-エチル	5.165	388.1 -> 204.9	29	388.1 -> 167.1	17	2	POS
レナシル	5.216	235.2 -> 153	13	235.2 -> 136	37	1	POS
メトリブジン	5.315	215.1 -> 49.1	214	215.1 -> 47	80	1	POS
シアゾファミド	5.334	325.1 -> 233	21	325.1 -> 231.2	29	1	POS
プロボスキル	5.348	210.1 -> 111.1	9	210.1 -> 64.9	41	1	POS
フェンメディファム	5.371	301.1 -> 281.2	17	301.1 -> 238.1	33	1	POS
2,4-D	5.417	221 -> 163.1	13	219 -> 161.1	17	1	NEG
クロルスルフロン	5.481	358 -> 167.1	17	358 -> 141.2	21	2	POS
メタベンズチアズロン	5.498	222.1 -> 165.1	17	222.1 -> 150	45	1	POS
ジオキサカルブ	5.498	224.1 -> 167.1	12	224.1 -> 123.1	20	1	POS
カルボフラン	5.498	222.1 -> 165.1	9	222.1 -> 123.1	25	1	POS
2,4,5-TP	5.551	266.9 -> 198.8	9	266.9 -> 141	17	1	NEG
MCPA	5.552	201 -> 143.1	13	199 -> 141.1	13	1	NEG
シクルロン	5.561	199.2 -> 72	29	199.2 -> 69.1	21	1	POS
アミドスルフロン	5.591	370.1 -> 261.1	9	370.1 -> 218	25	1	POS
フルトリアホル	5.592	302.1 -> 123	25	302.1 -> 70.1	13	1	POS
カルバリル	5.596	202.1 -> 145.1	9	202.1 -> 127.2	33	1	POS
クロロトルロン	5.597	213.1 -> 72.1	29	213.1 -> 46.1	17	1	POS
ピラカルボリド	5.634	218.1 -> 124.9	13	218.1 -> 43.1	65	1	POS
フルオメツロン	5.645	233.1 -> 72	17	233.1 -> 46	17	1	POS
アトラジン-D5 (IS)	5.660	221.1 -> 137.1	17	221.1 -> 44.1	57	1	POS
ホルクロルフェヌロン	5.669	248.1 -> 129	13	248.1 -> 93.1	41	1	POS
ホスチアゼート	5.692	284.1 -> 227.9	9	284.1 -> 103.9	25	1	POS
アザコナゾール	5.778	300 -> 231.1	13	300 -> 159.1	29	1	POS
メトプロトリン	5.779	272.2 -> 198.1	21	272.2 -> 170.1	29	1	POS
DEET	5.783	192.1 -> 118.9	21	192.1 -> 91	33	1	POS
フェンプロピジン	5.803	274.3 -> 147.1	29	274.3 -> 117	61	1	POS

ターゲット名	RT (分)	第 1 MRM トランジション (m/z)	CE (V)	第 2 MRM トランジション (m/z)	CE (V)	デルタ RT (分)	極性
カルボキシシ	5.842	236.1 -> 143	13	236.1 -> 42.9	49	1	POS
ジウロン	5.855	233 -> 72.1	17	233 -> 46.1	21	1	POS
2,4,5-T	5.896	254.9 -> 197	9	252.9 -> 195	9	1	NEG
スピロキサミン	5.901	298.3 -> 144.1	21	298.3 -> 100	33	1	POS
ジクロルブロッブ	5.957	233 -> 175.1	9	233 -> 160.9	17	1	NEG
メコブロッブ	6.056	213 -> 141	13	213 -> 71	9	1	NEG
メトプロムロン	6.063	259 -> 170	13	259 -> 90.9	45	1	POS
ジメトモルフ I	6.183	388.1 -> 300.9	24	388.1 -> 165	36	1	POS
ジメタクロール	6.223	256.1 -> 224	9	256.1 -> 148.1	29	1	POS
クロラントラニプリロール	6.266	482 -> 284	33	482 -> 112	80	1	POS
クロマゾン	6.284	240.1 -> 125	32	240.1 -> 89.1	68	1	POS
ジメトモルフ II	6.303	388.1 -> 300.9	24	388.1 -> 165	36	1	POS
シプロコナゾール	6.325	292.1 -> 125	45	292.1 -> 70	17	1	POS
フララキシ	6.539	302.1 -> 242.1	13	302.1 -> 95.1	33	1	POS
クロロクスロン	6.591	291.1 -> 72.1	21	291.1 -> 45.9	27	1	POS
イプロバリカルブ	6.601	321.2 -> 119	21	321.2 -> 91.1	65	1	POS
ハロフェノジド	6.620	329.1 -> 120.9	21	329.1 -> 77.1	37	1	NEG
スピノサド A	6.622	732.5 -> 142.1	33	732.5 -> 98.1	77	1	POS
リニユロン	6.630	249 -> 159.9	13	249 -> 133.1	37	1	POS
フェナミホス	6.653	304.1 -> 216.9	21	304.1 -> 201.9	37	1	POS
プロメカルブ	6.668	208.1 -> 109	13	208.1 -> 41	49	1	POS
マイクロブタニル	6.718	289.1 -> 125	41	289.1 -> 70.2	21	1	POS
マンジプロバミド	6.737	412.1 -> 328.2	9	412.1 -> 125.1	53	1	POS
アゾキシストロビン	6.737	404.1 -> 372	13	404.1 -> 344.1	25	1	POS
フェンアミドン	6.766	312.1 -> 92.1	29	312.1 -> 65	65	1	POS
ボスカリド	6.855	343 -> 307	17	343 -> 139.9	17	1	POS
フルオピコリド	6.944	383 -> 173	33	383 -> 108.9	80	1	POS
スピノサド D	6.966	746.5 -> 142.2	33	746.5 -> 98.1	65	1	POS
イソキサベン	6.971	333.2 -> 165.1	17	333.2 -> 106.9	77	1	POS
ピフェナゼート	6.985	301.2 -> 198.1	9	301.1 -> 170.2	17	1	POS
ベンコナゾール	7.008	284.1 -> 159.9	33	284.1 -> 70	1	1	POS
ピリデート	7.025	389.1 -> 59.1	17	379.1 -> 42	77	1.5	POS
ジフロベンズロン	7.058	311 -> 158.1	13	311 -> 141.1	37	1	POS
エトキシキン	7.169	218.2 -> 174.1	33	218.2 -> 160.1	37	2	POS
フルオキサストロビン	7.186	459.1 -> 427	17	459.1 -> 188	41	1	POS
ブロククラズ	7.201	376 -> 308	9	376 -> 70.1	21	1	POS
イソプロチオラン	7.204	291.1 -> 231.1	5	291.1 -> 188.9	21	1	POS
フルフェナセット	7.225	364.1 -> 194.1	9	364.1 -> 152.1	17	1	POS
ロテノン	7.233	395.2 -> 213.1	25	395.2 -> 192.2	21	1	POS
ジモキシストロビン	7.239	327.2 -> 205.1	9	327.2 -> 116	29	1	POS
シプロジニル	7.277	226.1 -> 93	45	226.1 -> 51.1	80	1	POS
モキシデクテン	7.295	640.4 -> 478.1	8	640.4 -> 413.1	25	1	POS
アジンホスエチル	7.311	346.1 -> 289.1	4	346.1 -> 132	16	1	POS
テブフェノジド	7.352	351.2 -> 149	21	351.2 -> 105.1	37	1	NEG
フルベンジアミド	7.354	683 -> 408	8	683 -> 273.9	40	1	POS

ターゲット名	RT (分)	第 1 MRM トランジション (m/z)	CE (V)	第 2 MRM トランジション (m/z)	CE (V)	デルタ RT (分)	極性
ペフルブタミド	7.406	356.1 -> 91	33	356.1 -> 65.2	80	1	POS
ヒドラメチルノン	7.465	495.2 -> 323.2	33	495.2 -> 151.1	80	1	POS
ジノセブ	7.470	239.1 -> 192.9	25	239.1 -> 134	50	1	NEG
クレソキシムメチル	7.502	314.1 -> 267.1	5	314.1 -> 221.9	9	1	POS
ピコキシストロピン	7.524	368.1 -> 205.1	9	368.1 -> 145.1	29	1	POS
ピラクロストロピン	7.804	388.1 -> 193.9	12	388.1 -> 163	25	1	POS
イソフェンホス-メチル	7.805	332.1 -> 231	17	332.1 -> 120.9	44	1	POS
ジフルフェニカン	8.033	395.1 -> 266.1	25	395.1 -> 217.8	57	1	POS
トリフロキシストロピン	8.075	409.1 -> 186.1	13	409.1 -> 144.9	65	1	POS
メトラフェノン	8.185	409.1 -> 226.9	21	109.1 -> 209.1	9	1	POS
メタフルミゾン	8.215	507.1 -> 178.1	25	507.1 -> 178.1	65	2	POS
シクロエート	8.222	216.1 -> 83.2	13	216.1 -> 55.2	29	1	POS
フルアジナム	8.299	462.9 -> 415.9	21	462.9 -> 397.9	17	1	NEG
テメホス	8.488	467 -> 419	21	467 -> 125	37	1	POS
フェナザキン	8.619	307.2 -> 160.9	13	307.2 -> 56.9	25	1	POS
ピリプロキシフェン	8.627	322.2 -> 227.1	14	322.2 -> 95.9	17	1	POS
ヘキシチアソックス	8.843	353.1 -> 228.1	9	353.1 -> 168.1	21	1	POS
トラルコキシジム	8.862	330.2 -> 138	17	330.2 -> 96.1	33	1	POS
ブプロフェジン	8.893	306.2 -> 201	9	306.2 -> 57.2	25	1	POS
フェンピロキシメート	8.966	422.2 -> 366.1	16	422.2 -> 135.1	36	1	POS
プロキナジド	9.255	373 -> 331	13	373 -> 289.1	25	1	POS
ピリダベン	9.531	365.2 -> 309.1	13	365.2 -> 147	25	1	POS
スピロジクロフェン	9.638	411.1 -> 71.2	13	411.1 -> 42.9	65	1	POS

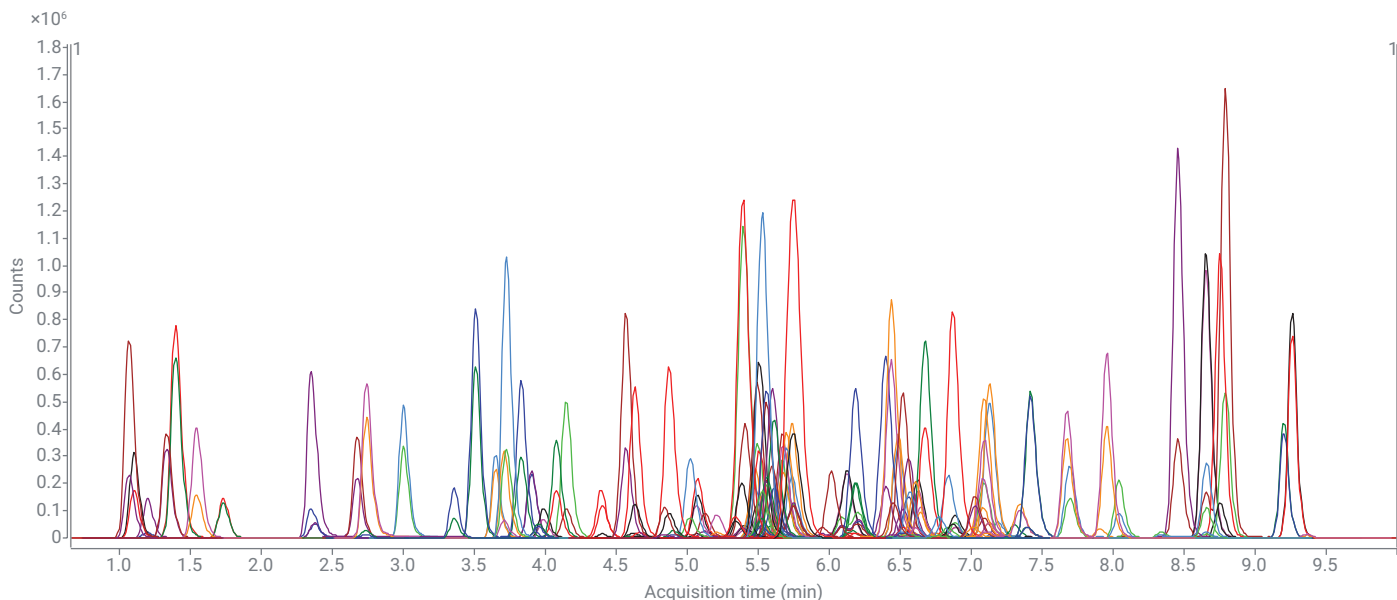


図 1. 130 種類のターゲット農薬を 100 ng/g の濃度で添加した抽出スプリングミックスサンプルの LC/MS/MS MRM クロマトグラム。サンプルは、Agilent Bond Elut QuEChERS AOAC 抽出キットを使用して前処理した後、Agilent Captiva EMR-HCF1 クリーンアップを行いました。

サンプル前処理

新鮮な有機スプリングミックスは、地元の食品店から購入しました。サンプルは -20 °C で一晩凍結し、グラインダーでホモジナイズしました。次に、粉碎したマトリックスサンプルを 15 g 秤量し 50 mL の遠心管に入れ、抽出まで -20 °C の冷凍庫で保存しました。秤量したスプリングミックスサンプル (15 g) を解凍した後、QuEChERS AOAC メソッドに従って抽出しました。次に、粗抽出液を 3 mL Captiva EMR-HCF1 カートリッジまたは Captiva EMR-HCF2 カートリッジにロードして、パススルークリーンアップを行いました。さらにサンプル溶出液を水で 5 倍に希釈して、20:80 ACN/水で最終サンプルを作成しました。これで、希釈したサンプルを LC/MS/MS 分析する準備は完了です。図 2 にサンプル前処理の詳細手順を示します。30 サンプルまでのバッチの場合、この手順全体で通常約 25 ~ 30 分かかります。

メソッドの性能評価

新しいサンプル前処理方法の性能をスプリングミックスを対象に、マトリックス色素の除去、ターゲットの回収率と再現性、マトリックス適合検量線の直線性と定量下限 (LOQ) に関して、それぞれ Captiva EMR-HCF1 および EMR-HCF2 クリーンアップについて評価しました。回収率および再現性・マトリックス効果に関する検討結果を評価するために、ホモジナイズしたスプリングミックスサンプルで、10 ng/g のプレスパイク品質管理 (PR-QC) サンプルを調製し、6 回分の繰り返し分析を実行しました。次に、スパイクしたサンプルとマトリックスブランクサンプルを手順に従って調製しました。ポストスパイク QC (PO-QC) は、マトリックスブランクで 10 ng/mL で調製しました。純粋な QC は 10 ng/mL の濃度で、

試薬ブランク (抽出溶媒) に直接スパイクしました。各タイプの QC のレプリケートを 6 個ずつ調製しました。PR-QC と PO-QC の対応するターゲットのピーク面積比を使用して、ターゲットの回収率を計算しました。PR-QC のピーク面積を、サンプル前処理法の再現性の RSD の計算に使用しました。PO-QC とノート QC の対応するターゲットのピーク面積比を、ターゲットマトリックス効果の計算に使用しました。マトリックス適合検量線の直線性

と LOQ を、スプリングミックスのマトリックスブランク抽出物に 0.5、1、5、10、50、100、250、400、500 ng/mL のレベルでポストスパイクすることによって評価しました。メソッドの真度と精度の検証には、定量用の 2 つのスパイクレベル PR-QC を用いました。10 ng/g (低 QC) および 100 ng/g (高 QC) です。成分の同定、確認、定量は、リテンションタイムと MRM トランジションから測定しました。

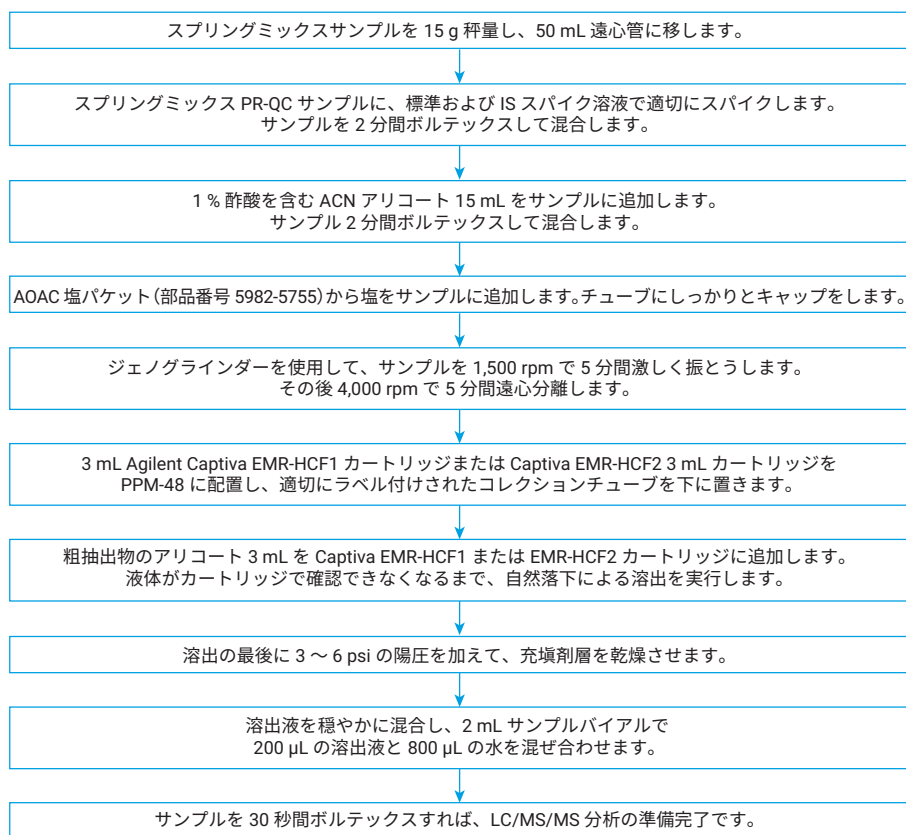


図 2. Agilent Bond Elut QuEChERS AOAC 抽出とその後の Agilent Captiva EMR-HCF1 または EMR-HCF2 パススルークリーンアップによるスプリングミックスサンプルのサンプル前処理手順

結果と考察

Carbon S 充填剤と Captiva EMR パススルークリーンアップ

Agilent Carbon S 充填剤は、炭素含有量と細孔構造が最適化された先進的なハイブリッド炭素材料です。この改良された充填剤は、GCB 充填剤と比較して、植物由来のサンプルマトリックスから同等以上の色素を除去し、感度の高い対象化合物の回収率を大幅に向上させます。すなわち Carbon S 充填剤は、分析成分の回収率とマトリックスの色素除去効率の優れたバランスを実現しています。

Captiva EMR パススルークリーンアップ手法は、Captiva EMR-Lipid 製品により導入されました。EMR-Lipid パススルークリーンアップ手法は、脂質を除去する際に高い選択性と効率性を実現し、使いやすく迅速で信頼性の高いサンプルマトリックスクリーンアップ手法です。このサンプルクリーンアップ手法は、マトリックス洗浄が、不要なマトリックス干渉の選択的保持に基づいているため、ターゲット回収率への影響を最小限に抑えられ、マルチクラス、

多成分残留物分析に特に適しています。従来の dSPE クリーンアップと比較して、パススルークリーンアップでは、dSPE チューブのキャップの取り外しと取り付け、ボルテックス、遠心分離などが不要となり、ワークフロー手順が簡素化されます。Captiva EMR-Lipid 製品を使用したパススルークリーンアップは、LC/MS/MS による脂肪の多いマトリックス中の食品分析に広く使用されています。^{3,5}

新しい Carbon S 充填剤により、アジレントは Captiva EMR ファミリーをさらに拡張し、新鮮なマトリックスや乾燥マトリックスなどの植物由来のサンプルマトリックスの選択的かつ効率的なマトリックスパススルークリーンアップを提供できるようになりました。5 つの新しい Captiva EMR カートリッジが、多岐にわたる複雑な植物由来のサンプルマトリックス用に最適化された処方で開発されました。すべての Captiva EMR カートリッジの詳細な説明と、植物由来のマトリックスに対する推奨事項を表 3 に示します。

充填剤の処方、多成分残留物のターゲット回収率とマトリックスのクリーンアップ効率に基づいて、慎重かつ徹底的に最適化されました。これらの EMR カートリッジを用いて、有機酸、色素、脂質/脂肪、その他の疎水性干渉など、さまざまなマトリックスに応じて、選択的で効率的なマトリックスクリーンアップが行えます。dSPE キットで一般的に使用される無水 MgSO₄ 粉末は、どの EMR カートリッジにも含まれていません。その理由は、研究の結果、クリーンアップ手順中に MgSO₄ によって同時に水を除去すると緩衝効果が大幅に損なわれ、一部の不安定な農薬が失われる可能性があることが分かったからです。LC および LC/MS 分析では、EMR クリーンアップ後のサンプル溶出液を水で希釈するか、直接注入することができます。

本検討における新鮮なサンプルマトリックスでは、スプリングミックスは高クロロフィルの新鮮なマトリックスと考えることができます。したがって、3 mL の Captiva EMR-HCF1 カートリッジと EMR-HCF2 カートリッジの両方とも、QuEChERS 抽出後のこのサンプルマトリックスのクリーンアップに適用できました。

表 3. Agilent Captiva EMR カートリッジと、さまざまな植物由来マトリックス中の農業分析に関する推奨事項

アジレント製品名	充填剤	サンプルロード量	サンプルマトリックスに基づく推奨事項	該当するサンプルマトリックスの例
Captiva EMR-Lipid	Captiva EMR-Lipid	3 mL カートリッジでは 2.5 ~ 3 mL 6 mL カートリッジでは 5 ~ 6 mL	脂肪の多いマトリックス	食用油
Captiva EMR-HCF1	Carbon S/NH ₂	3 mL	高クロロフィルの新鮮な葉野菜	ほうれん草、パセリ、アルファルファ
Captiva EMR-HCF2	Carbon S/PSA	3 mL	高クロロフィルの新鮮な葉野菜	ほうれん草、パセリ、アルファルファ
Captiva EMR-GPF	Carbon S/PSA/EC-C18	3 mL	一般的な色素を有する新鮮な植物由来のマトリックス	ベリー、ピーマン、ブロッコリー、ブドウ
Captiva EMR-GPD	Captiva EMR-Lipid/PSA/EC-C18/Carbon S	2.5 ~ 3 mL	一般的な色素を有する乾燥した植物由来のマトリックス	香辛料、紅茶、コーヒー
Captiva EMR-LPD	Captiva EMR-Lipid/PSA/EC-C18/Carbon S	2.5 ~ 3 mL	色素が低い、または含まれない乾燥植物由来マトリックス	ナッツ類、淡色香辛料、たばこ

サンプル前処理手順

新鮮な果物や野菜のマトリックスでは、標準的なサンプル抽出手順として QuEChERS 抽出が広く採用されています。本検討では図 2 に示すように、Bond Elut QuEChERS AOAC 抽出キットを使用して標準の QuEChERS 抽出方法を適用した後、NH₂ を用いた Captiva EMR-HCF1 または Captiva EMR-HCF2 パススルークリーンアップを行いました。溶出は自然落下で行い、3 mL の粗スプリング抽出物をすべて溶出させるのに約 10 分かかりました。クリーンアップ用に同量のサンプルを調製する場合、EMR パススルークリーンアップ手順は、dSPE クリーンアップと比較して所要時間を 30 ~ 40 % 節約できます。さらに、パススルークリーンアップは操作が簡単でユーザーフレンドリーであるため、サンプル前処理がより効率的になります。

サンプル前処理法の性能評価

Captiva EMR-HCF1 と EMR-HCF2 はどちらも、高クロロフィルの新鮮なサンプルマトリックス パススルークリーンアップ用に設計されています。QuEChERS 抽出後のスプリングミックスサンプルのクリーンアップについて、両方のカートリッジを評価しました。新しいパススルークリーンアップ方法を、GCB を使用した従来の AOAC ピグメント dSPE (GCB を使用した AP-dSPE) クリーンアップ、および色素除去にポリマー充填剤を使用した対応する他社の dSPE クリーンアップと詳細に比較しました。次に、両方の Captiva EMR-HCF クリーンアップ方法を、定量の真度と精度、および検量線の直線性と LOQ についてスプリングミックスを用いてバリデーションしました。

A. クリーンアップメソッドの性能比較

さまざまなクリーンアップメソッドの評価には、色素除去効率、分析成分の回収率、再現性、およびマトリックス効果の比較が含まれます。色素除去の評価は、視覚的な色の比較と 450 nm での LC-UV 吸収に基づいたもので、結果を図 3 に示します。Captiva EMR-HCF1 および EMR-HCF2 パススルークリーンアップ後、および GCB を用いた AP-dSPE クリーンアップ後、3 つのサンプル抽出物はすべて、UV 450 nm 吸収に基づく色素除去率が 95 % を超え、明るい黄色から中程度の黄色の色の範囲を呈しました。他社の dSPE クリーンアップでは最終抽出物は依然として緑色で、UV 450 nm 吸収に基づく色素除去は 60 % 未満でした。Captiva EMR-HCF1 クリーンアップ (98 %) は、Captiva EMR-HCF2 クリーンアップ (97 %) よりもわずかに高い色素除去を実現し、Captiva EMR-HCF クリーンアップ法は両方とも、GCB を用いた AP-dSPE クリーンアップ (95 %) よりもわずかに高い色素除去を達成しました。

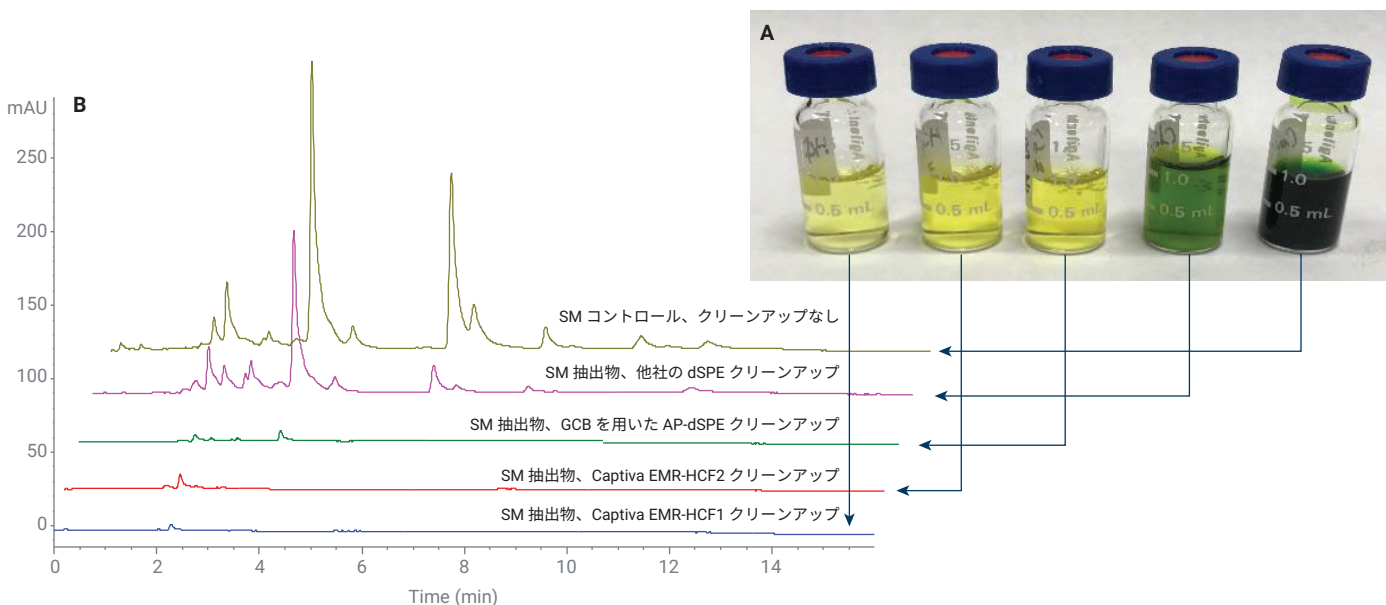


図 3. スプリングミックス (SM) マトリックスサンプルの色素除去効率のデモンストレーション。(A) 抽出されたサンプルの色の比較。(B) 抽出されたスプリングミックスサンプルの LC-UV ($\lambda = 450 \text{ nm}$) スタッククロマトグラム

分析成分の回収率、RSD、およびマトリックス効果の統計結果のまとめを図4に示します。これには、合格/不合格のターゲットの数と不合格率(%)も掲載されています。成分回収率の合格/不合格基準は、70~120%対<70%または>120%です。RSDに関しては $\leq 20\%$ 対 $>20\%$ です。マトリックス効果は80~120%対<80%または>120%です。全体として、Captive EMR-HCF1とEMR-HCF2の両方とも、GCBを使用した従来の

AP-dSPEと他社のdSPEの両方よりも低い不合格率で、同等かつ最高の全体的なターゲット回収率と再現性を示す結果となりました。Captive EMR-HCF1カートリッジは、Captive EMR-HCF2カートリッジよりもわずかに優れたマトリックス効果を実現しました。対照的に、GCBを使用したAP-dSPEは、マトリックス効果の結果で最も優れていましたが、分析成分の回収率と再現性では不合格率がかなり高くなりました。この結果は、このク

リーンアップ方法を使用すると分析成分の回収率が大幅に低下することを明確に示しており、さまざまなアプリケーションで確実に多くの問題が生じます。他社のdSPEクリーンアップは、GCBを使用したAP-dSPEクリーンアップよりも高いターゲット回収率を示しましたが、その大きな代償は色素/マトリックス除去効率の低下であり、結果としてマトリックス効果が全体的に高くなりました。

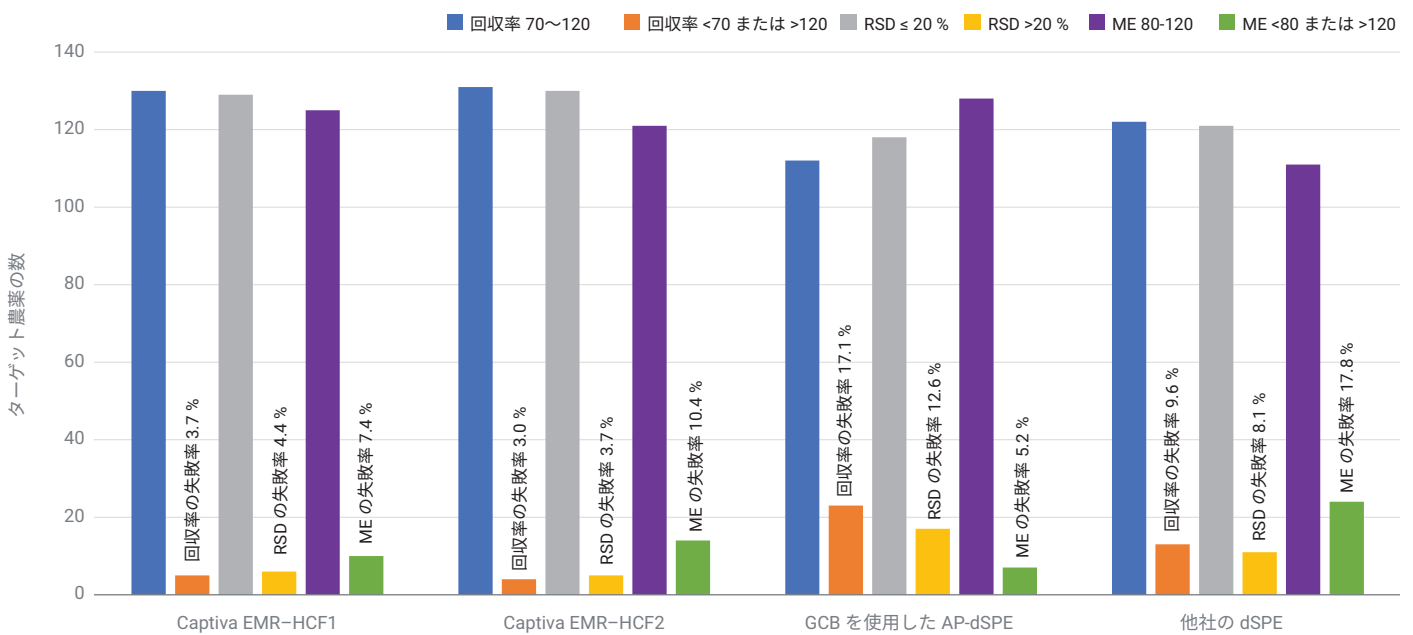


図4. Agilent Bond Elut QuEChERS AOAC抽出とそれに続くさまざまなクリーンアップメソッドによって調製されたスプリングミックスサンプルの回収率、RSD、およびマトリックス効果 (ME) に関するターゲット農薬の統計的比較。スプリングミックスへの10 ng/gのスパイクレベル

図5に、4つの異なるクリーンアップ方法による個々の高感度ターゲットの回収率の比較を示します。これらの結果から導き出される結論は次のとおりです。(a) NH₂を使用した Captiva EMR-HCF1 と、PSA を使用した Captiva EMR-HCF2 のパススルークリーンアップは、概して同等の回収率を示しましたが、個々の高感度ターゲットの一部でわずかな違いがありました。(b) Captiva EMR-HCF パススルークリーンアップメソッドはどちらも、GCB を使用した従来の AP-dSPE および他社の dSPE クリーンアップよりも回収率が大幅に向上しました。この回収率の向上は、チアベンダゾール、シプロジニル、ホルクロルフェヌロンなど

の代表的な平面化合物だけでなく、2,4-D、MCPA、ニコスルフロン、オキサスルフロンなどの酸性または塩基性農薬でも認められました。これらの高感度化合物で回収率が向上した原因として、次の2つが考えられます。1つ目は、Carbon S 充填剤が、炭素含有量と細孔構造が最適化された高度なカーボンハイブリッド材料であることです。すなわち、充填剤と他の化合物との相互作用がより適切に制御されるため、相互作用の選択性が大幅に向上し、充填剤とターゲット分子間の望ましくない相互作用が減少しています。2つ目は、MgSO₄ による同時水分除去を伴わないパススルークリーンアップは、高感度化合物に対してより優れ

た緩衝保護作用をもたらし、その結果クリーンアップ中の損失を防ぐことです。Captiva EMR-HCF パススルークリーンアップは、他の高感度農薬の回収率が大幅に向上していることから、食品中のマルチクラス、数多くの多成分残留農薬のサンプルクリーンアップ方法としてより適していると言えます。(c) 他社の dSPE クリーンアップでは、一部の高感度ターゲットの回収率が向上しましたが、その他の高感度ターゲットの回収率は低いままでした。さらに、色素除去効率とマトリックスイオン抑制効果がかなり損なわれました。

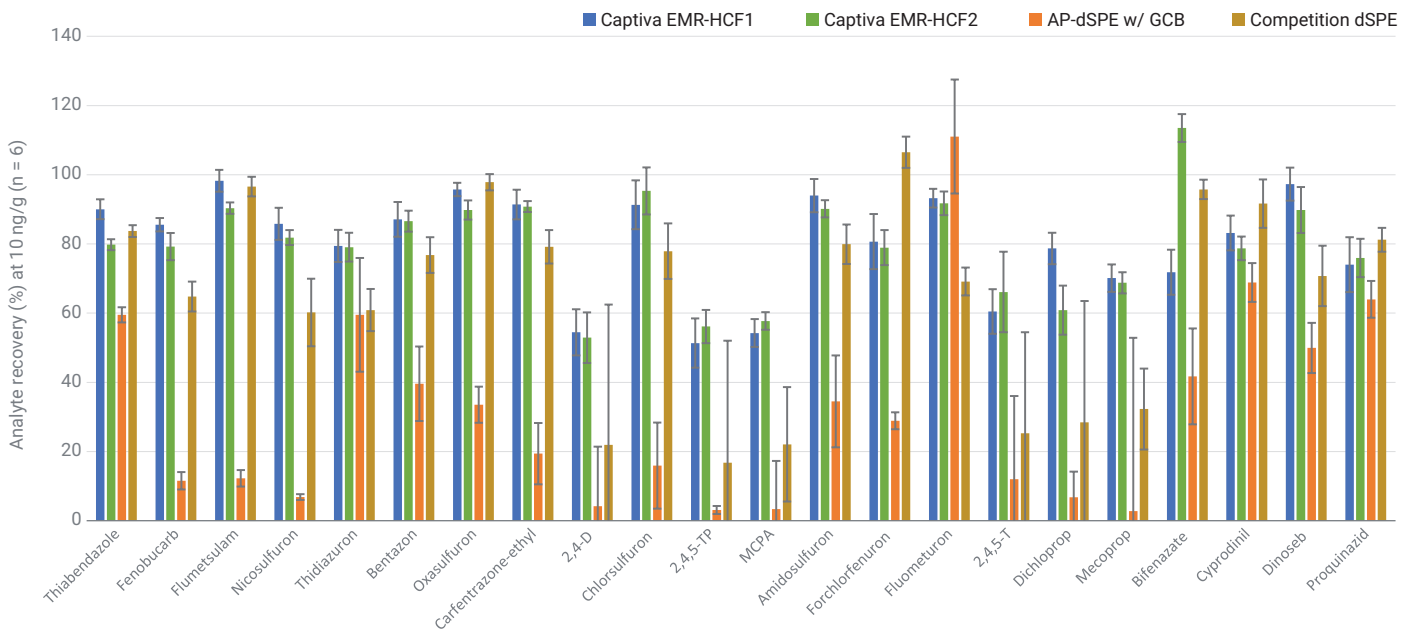


図5. さまざまなクリーンアップメソッドを使用して調製されたサンプルの高感度ターゲットの回収率の比較

B. メソッドの定量性の検証：メソッドの定量性能は、10 ng/g および 100 ng/g の 2 つのレベルのプレススパイク QC を使用したスプリングミックスで検証しました。スプリングミックスで 0.5 ~ 500 ng/g のダイナミックレンジをカバーするために、9 つのマトリックス適合検量線を作成しました。検量線は、線形回帰と $1/x^2$ 重みを使用して作成しました。定量には 3 つの IS (4- ニトロフェノール -D₄、シマジン -D₁₀、アトラジン -D₅) を 50 ng/g で使用しま

した。NH₂ を用いた Captiva EMR-HCF1 と PSA を用いた Captiva EMR-HCF2 クリーンアップについて、2 つのスパイクレベルで目標真度と精度 (RSD%) を評価した結果を図 6 にまとめました。両方の Captiva EMR-HCF クリーンアップメソッドが、高スパイクレベルと低スパイクレベルの両方で、95 % を超えるターゲットに対してほぼ同等の真度と精度を示す結果となりました。外れ値は主に、2,4-D、2,4,5-TP、MCPA、2,4,5-T、ジクロロプロップ、

メコプロップなどの一部の酸性農薬に集中していますが、他のクリーンアップ方法と比較して許容精度 (50 ~ 70 %) と RSD は改善されています。マトリックス適合検量線の直線性および定量下限 (LLOQ) を表 4 にまとめます。

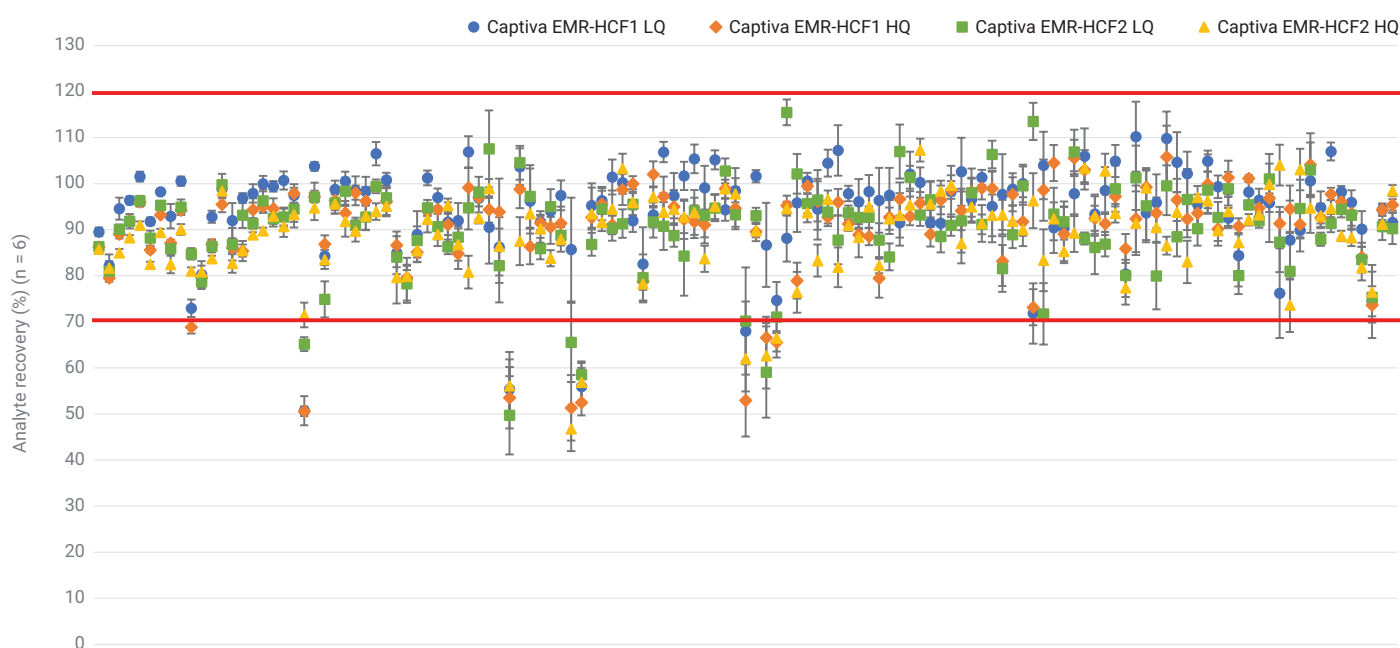


図 6. スプリングミックスにおけるターゲットの真度と精度の結果。2 レベルのプレススパイクは、LQ 用の 10 ng/g と HQ 用の 100 ng/g です。サンプルは、Agilent Bond Elut QuEChERS AOAC 抽出キットを使用して前処理した後、それぞれ Agilent Captiva EMR-HCF1 および Captiva EMR-HCF2 クリーンアップを行いました。

表 4. スプリングミックスにおけるメソッドマトリックス適合検量線および検出限界結果のまとめ

ターゲット名	NH ₂ を用いた Agilent Captiva EMR-HCF1 クリーンアップ			PSA を用いた Agilent Captiva EMR-HCF2 クリーンアップ		
	LLOQ (ng/g)	HLOQ (ng/g)	R ²	LLOQ (ng/g)	HLOQ (ng/g)	R ²
メタミドホス	0.5	500	0.9985	0.5	500	0.9962
ピメトロジン	0.5	500	0.9991	0.5	500	0.9974
アセフェート	0.5	500	0.9971	0.5	500	0.9962
オメトエート	0.5	500	0.9978	0.5	500	0.9963
アミノカルブ	0.5	500	0.9978	0.5	500	0.9963
プロバモカルブ	0.5	500	0.9949	0.5	500	0.9962
ジノテフラン	0.5	500	0.9947	0.5	500	0.9976
カルベンダジム	0.5	500	0.9971	0.5	500	0.9962
モノクロトホス	0.5	500	0.9986	0.5	500	0.9971
ニテンピラム	0.5	500	0.9981	0.5	500	0.9979
チアベンダゾール	0.5	500	0.9975	0.5	500	0.9936
フベリダゾール	0.5	500	0.9983	0.5	500	0.9958
チアトキサム	0.5	500	0.9979	0.5	500	0.9956
シモキサニル	0.5	500	0.9981	0.5	500	0.9983
メキサカルベート	0.5	500	0.9988	0.5	500	0.9966
エチリモール	0.5	500	0.9955	0.5	500	0.9963
メタミトロン	0.5	500	0.9954	0.5	500	0.9960
フェヌロン	0.5	500	0.9958	0.5	500	0.9958
クロリダゾン	0.5	500	0.9959	0.5	500	0.9959
イミダクロプリド	0.5	500	0.9973	0.5	500	0.9977
シミアゾール	0.5	500	0.9980	0.5	500	0.9939
ジメトエート	0.5	500	0.9969	0.5	500	0.9923
フェノブカルブ	0.5	500	0.9923	0.5	500	0.9943
アセタミプリド	0.5	500	0.9966	0.5	500	0.9956
メトスルフロン	0.5	500	0.9921	0.5	500	0.9938
フルメツラム	0.5	500	0.9993	0.5	500	0.9972
テブチウロン ¹	0.5	250	0.9980	0.5	500	0.9912
4-ニトロフェノール	0.5	500	0.9961	0.5	500	0.9948
チアクロプリド	0.5	500	0.9967	0.5	500	0.9966
ニコスルフロン	0.5	500	0.9961	0.5	500	0.9947
チジアズロン	0.5	500	0.9938	0.5	500	0.9912
セクブメトン	0.5	500	0.9903	0.5	500	0.9927
イマザリル	0.5	500	0.9924	0.5	500	0.9975
ベンタゾン	0.5	500	0.9954	0.5	500	0.9940
オキサスルフロン	0.5	500	0.9965	0.5	500	0.9905
カルフェントラゾン-エチル	0.5	500	0.9959	0.5	500	0.9966
レナシル	0.5	500	0.9932	0.5	500	0.9911
メトリブジン	0.5	500	0.9902	0.5	500	0.9917
シアゾファミド	0.5	500	0.9913	0.5	500	0.9907
プロボスキル	0.5	500	0.9909	0.5	500	0.9912
フェンメディファム	0.5	500	0.9938	0.5	500	0.9922
2,4-D ¹	1	500	0.9968	1	500	0.9949
クロルスルフロン ¹	0.5	500	0.9931	0.5	400	0.9932
メタベンズチアズロン ¹	0.5	250	0.9962	0.5	250	0.9937

ターゲット名	NH ₂ を用いた Agilent Captiva EMR-HCF1 クリーンアップ			PSAを用いた Agilent Captiva EMR-HCF2 クリーンアップ		
	LLOQ (ng/g)	HLOQ (ng/g)	R ²	LLOQ (ng/g)	HLOQ (ng/g)	R ²
ジオキサカルブ	0.5	250	0.9906	0.5	500	0.9967
カルボフラン ¹	0.5	250	0.9977	0.5	500	0.9936
2,4,5-TP	1	100	0.9956	1	250	0.9940
MCPA ¹	0.5	250	0.9936	0.5	500	0.9962
シクルロン	0.5	500	0.9933	0.5	500	0.9900
アミドスルフロン	0.5	500	0.9967	0.5	500	0.9907
フルトリアホル	0.5	500	0.9963	0.5	500	0.9937
カルバリル	0.5	500	0.9919	0.5	500	0.9924
クロトルロン ¹	0.5	250	0.9901	0.5	250	0.9921
ピラカルポリド ¹	0.5	100	0.9914	0.5	100	0.9965
フルオメツロン	0.5	500	0.9937	0.5	500	0.9925
ホルクロルフェヌロン	0.5	500	0.9948	0.5	500	0.9940
ホスチアゼート	0.5	500	0.9958	0.5	500	0.9936
アザコナゾール	0.5	500	0.9943	0.5	500	0.9946
メトプロトリン	0.5	500	0.9936	0.5	500	0.9941
DEET	0.5	500	0.9919	0.5	250	0.9936
フェンプロピジン	0.5	500	0.9922	0.5	500	0.9949
カルボキシシ	0.5	500	0.9933	0.5	500	0.9940
ジウロン	0.5	500	0.9918	0.5	500	0.9935
2,4,5-T ¹	1	500	0.9960	1	500	0.9913
スピロキサミン	0.5	500	0.9928	0.5	500	0.9933
ジクロルプロップ ¹	5	500	0.9955	5	500	0.9954
メコプロップ	0.5	500	0.9930	0.5	500	0.9924
メトプロムロン	0.5	500	0.9916	0.5	250	0.9964
ジメトモルフI	0.5	500	0.9924	0.5	250	0.9951
ジメタクロー	0.5	500	0.9952	0.5	500	0.9956
クロラントラニプロール	0.5	500	0.9936	0.5	500	0.9944
クロマゾン	0.5	500	0.9924	0.5	500	0.9935
ジメトモルフII	0.5	500	0.9928	0.5	500	0.9964
シプロコナゾール	0.5	500	0.9919	0.5	500	0.9937
フララキシル	0.5	250	0.9984	0.5	250	0.9927
クロロクスロン	0.5	500	0.9952	0.5	500	0.9932
イプロバリカルブ	0.5	500	0.9904	0.5	500	0.9919
ハロフェノジド	0.5	500	0.9923	0.5	250	0.9927
スピノサド A ²	10	500	0.9935	10	500	0.9913
リニウロン ¹	0.5	250	0.9944	0.5	500	0.9945
フェナミホス	0.5	500	0.9948	0.5	500	0.9939
プロメカルブ	0.5	500	0.9968	0.5	500	0.9936
マイクロブタニル	0.5	500	0.9970	0.5	500	0.9916
マンジプロバミド ¹	0.5	500	0.9963	0.5	250	0.9909
アゾキシストロピン	0.5	500	0.9969	0.5	500	0.9929
フェンアミドン ¹	0.5	100	0.9941	0.5	250	0.9931
ボスカリド ¹	0.5	250	0.9926	0.5	400	0.9960
フルオピコリド ¹	0.5	500	0.9957	0.5	250	0.9982
スピノサド D ¹	1	500	0.9968	1	500	0.9941
イソキサベン	0.5	500	0.9948	0.5	500	0.9883

ターゲット名	NH ₂ を用いた Agilent Captiva EMR-HCF1 クリーンアップ			PSA を用いた Agilent Captiva EMR-HCF2 クリーンアップ		
	LLOQ (ng/g)	HLOQ (ng/g)	R ²	LLOQ (ng/g)	HLOQ (ng/g)	R ²
ピフェナゼート	0.5	500	0.9913	0.5	500	0.9937
ベンコナゾール	0.5	500	0.9936	0.5	500	0.9935
ビリデート	0.5	500	0.9953	0.5	500	0.9923
ジフルベンズロン ¹	0.5	250	0.9905	0.5	500	0.9937
エトキシキン ²	100	500	0.9887	100	500	0.9887
フルオキサストロピン	0.5	500	0.9918	0.5	500	0.9973
ブクロラズ	0.5	500	0.9939	0.5	500	0.9926
イソプロチオラン	0.5	500	0.9977	0.5	500	0.9938
フルフェナセット ¹	0.5	250	0.9909	0.5	250	0.9879
ロテノン	0.5	500	0.9836	0.5	500	0.9901
ジモキシストロピン ¹	0.5	250	0.9959	0.5	500	0.9935
シプロジニル	0.5	500	0.9940	0.5	500	0.9919
モキシデクチン ¹	10	500	0.9947	10	500	0.9976
アジンホスエチル	0.5	500	0.9931	0.5	500	0.9924
テブフェノジド	0.5	500	0.9973	0.5	500	0.9950
フルベンジアミド	0.5	400	0.9912	0.5	500	0.9931
ベフルブタミド	0.5	500	0.9970	0.5	500	0.9921
ヘキサフルムロン ¹	5	500	0.9966	5	500	0.9955
ジノセブ	0.5	500	0.9930	0.5	500	0.9971
クレソキシムメチル	0.5	500	0.9946	0.5	500	0.9963
ピコキシストロピン ¹	0.5	500	0.9961	0.5	250	0.9970
ピラクロストロピン	0.5	500	0.9928	0.5	500	0.9930
イソフェンホス-メチル	0.5	500	0.9901	0.5	500	0.9956
ジフルフェニカン	0.5	500	0.9970	0.5	500	0.9965
トリフロキシストロピン ¹	0.5	500	0.9927	0.5	250	0.9925
メトラフェノン	0.5	500	0.9948	0.5	500	0.9972
メタフルミゾン ¹	5	500	0.9993	5	500	0.9945
シクロエート	0.5	500	0.9959	0.5	500	0.9946
フルアジナム	0.5	500	0.9954	0.5	500	0.9948
テメホス	0.5	500	0.9935	0.5	500	0.9934
フェナザキン	0.5	250	0.9943	0.5	500	0.9952
ビリプロキシフェン	0.5	250	0.9937	0.5	250	0.9902
ヘキシチアゾックス	0.5	100	0.9926	0.5	250	0.9927
トラルコキシジム	0.5	500	0.9957	0.5	500	0.9947
ブプロフェジン	0.5	250	0.9973	0.5	500	0.9944
フェンピロキシメート	0.5	250	0.9907	0.5	250	0.9956
プロキナジド	0.5	500	0.9963	0.5	500	0.9961
ビリダベン	0.5	500	0.9977	0.5	500	0.9953
スピロジクロフェン	0.5	500	0.9954	0.5	500	0.9954

¹ マトリックス内の分析対象物の感度または上限での許容基準の不適合により、ダイナミックキャリブレーションレンジが変更されました。

² マトリックスからのプラスの寄与により、LLOQ が増大。

結論

Agilent Bond Elut QuEChERS AOAC 抽出および、それに続く Agilent Captiva EMR-HCF1 または Captiva EMR-HCF2 カートリッジパススルークリーンアップを使用する信頼性が高く簡単に迅速な 2 つのメソッドを開発し、スプリングミックス中の 138 種類の LC で検出可能な農薬を LC/MS/MS によって分析することにより検証を行いました。新規の Captiva EMR-HCF クリーンアップメソッドは 2 つとも、使いやすく簡素化されたサンプルパススルークリーンアップ、高クロロフィルの葉状マトリックスからの選択的かつ効率的な色素除去、および高感度農薬の回収率と再現性の大幅な改善を実現します。許容基準に関してターゲット回収率と RSD の結果を合わせて考慮すると、いずれの Captiva EMR-HCF クリーンアップメソッドによっても 95 % を超える合格率が達成される定量結果となりました。色素除去に関して、Captiva EMR-HCF クリーンアップメソッドを、従来の GCB を用いた Agilent Bond Elut QuEChERS 色のある果物と野菜用 dSPE キットや、AOAC メソッド、および他社の dSPE クリーンアップと比較しました。Captiva EMR-HCF パススルークリーンアップは、高クロロフィル葉マトリックスにおける数多くのターゲット分析において、高感度農薬の回収率と再現性の向上、色素除去効率の改善または維持、マトリックス効果の低減、全体的な合格率の向上につながることを示されました。どちらの Captiva EMR-HCF クリーンアップメソッドも同等の使い方が可能で、現在の前処理プロトコルに基づいて簡単に採用できます。

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンター

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。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。

DE70520309

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2022

Printed in Japan, November 28, 2022

5994-4765JAJP

参考文献

1. González-Curbelo, M. Á. et al. Trends In Anal. Chem. **2015**, 71, 169–185.
2. Varela-Martínez, D. A. et al. Liquid-Phase Extraction Handbooks in Separation Science, **2020**, Chp 14, 399–437.
3. Zou, A. et al. Comprehensive LC/MS/MS Workflow of Pesticides Residues in Food Using the Agilent 6470 Triple Quadrupole LC/MS system, Agilent Technologies application note, publication number 5994-2370EN, **2020**.
4. Lucas D., Zhao L. Multiclass Mycotoxin Analysis in Cheese Using Agilent Captiva EMR–Lipid Cleanup and LC/MS/MS, Agilent Technologies application note, publication number 5991-8694EN, **2017**.
5. Zhao, L. et al. Multi-class Multi-residue Analysis of Veterinary Drugs in Meat using Enhanced Matrix Removal Lipid Cleanup and Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry, J. Chromatogra. A **2018**, 1549, 14-24.