

Captiva EMR—LPD パススルークリーンアップと LC/MS/MS によるツリーナッツ中のマルチクラス、多成分残留農薬の測定

著者

Limian Zhao
Agilent Technologies, Inc.

概要

このアプリケーションノートでは、4 種類の一般的なツリーナッツであるアーモンド、ペカン、カシュー、およびヘーゼルナッツ中の残留農薬の分析で使用する多成分残留分析メソッドの開発と最適化について説明します。このメソッドには、Agilent Bond Elut QuEChERS AOAC 抽出キットによる抽出、その後の Agilent Captiva Enhanced Matrix Removal—Low Pigment Dry (EMR—LPD) によるパススルークリーンアップ、および LC/MS/MS が含まれています。新しく開発したメソッドでは、分析困難なツリーナッツマトリックス中の多数の農薬の分析において効率的なマトリックス除去、許容できるターゲット定量結果、および低い失敗率を実証されました。4 種類のツリーナッツで分析した合計 125 種類の LC で検査可能な農薬について、平均回収率 > 90 % および平均 RSD < 10 % という優れたメソッド定量結果が得られました。乾燥残留物の重量によるマトリックス除去評価では、ツリーナッツの共溶出物の > 64 % が除去されたことが示されました。

はじめに

ツリーナッツには心臓に多い複数の栄養素が含まれているため、人の食事の重要な部分を占めています。この理由により、広く消費されています。代表的なツリーナッツは脂肪含有量が高いですが (> 50 %)、飽和脂質が少なく不飽和脂肪酸が多くなっています。またナッツには、植物ステロール、食物繊維、抗酸化物質などの多数の栄養素および生理活性成分も含まれています。ツリーナッツマトリックスは複雑性がかなり高くクリーンアップが困難であるため、微量農薬の分析が困難になる場合があります。通常、ナッツサンプルの抽出では、水でサンプルを事前混合した後で QuEChERS 抽出を実施します。複雑なサンプルマトリックス共溶出物を洗浄するために、分散固相抽出 (dSPE) やフリーズアウトのような、複雑なマトリックスクリーンアップ手法が使用されています。これらのメソッドには複数のステップが存在するため多大な時間を要する場合があります、マトリックスクリーンアップには依然として非効率です。また、複雑なサンプルクリーンアップ手順により、ターゲットの損失と再現性の低下、および多大なマトリックス効果を引き起こす場合もあります。

Captiva EMR-LPD カートリッジには、Agilent 独自の充填剤 Carbon S と Captiva EMR-Lipid が含まれており、最適化された調製方法により 1 級-2 級アミン (PSA) および C18 と混合されています。Captiva EMR-Lipid 充填剤では選択性と効率の高い脂質除去が実現すると同時に、PSA 充填剤では効率的な脂肪酸除去が実現します。また、Carbon S や EC-C18 のようなその他の充填剤では、さらに進んだマトリックスクリーンアップが実現します。Captiva EMR-LPD の調製方法を綿密に開発して最適化し、シンプルなパススルークリーンアップを使用することにより、色素が少ないまたは存在しない複雑な乾燥マトリックスのマトリックス除去とターゲット回収率の間のバランスを向上させています。

この実験では、パススルークリーンアップで Captiva EMR-LPD カートリッジを使用するサンプル前処理を、4 種類の代表的なツリーナッツであるアーモンド、ペカン、カシュー、およびヘーゼルナッツ中の 125 種類の一般的な農薬の LC/MS/MS による分析に対して最適化しました。

実験方法

材料および試薬

農薬標準および内部標準 (IS) を標準混合原液としてアジレント・テクノロジー (部品番号 5190-0551) から入手するか、または個別の標準原液または粉末として Sigma-Aldrich (セントルイス、ミズーリ州、米国) から入手しました。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) から入手しました。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 (125 種類の農薬) と混合 IS (2 種類の IS 化合物) スパイク溶液を、ACN 中で 10 µg/mL で前処理し、冷凍庫で -20 °C で保管しました。標準スパイク溶液を室温に温めて、使用前に超音波処理し、使用後に戻しました。

1 % 酢酸を含む ACN 抽出溶媒を、10 mL の氷酢酸を 990 mL の ACN に添加して調製し、室温で保管しました。

実験装置と材料

実験には、Agilent 1290 Infinity LC システムと Agilent 6490 トリプル四重極 LC/MS を組み合わせて使用しました。Agilent 1290 Infinity LC システムを、Agilent 1290 Infinity バイナリポンプ (G4220A)、Agilent 1290 Infinity オートサンブラ (G4226A)、および Agilent 1290 Infinity サーマスタットカラムコンパートメント (G1316C) で構成しました。組み合わせた Agilent 6490 トリプル四重極 LC/MS (G6490) に、Agilent Jet Stream エレクトロスプレーイオンソースを搭載しました。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。

サンプル前処理に使用するその他の装置として、Centra CL3R 遠心管 (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 試験管シェーカー (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 陽圧マニホールド 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)、および Agilent Captiva EMR-LPD カートリッジ、6 mL (部品番号 5610-2092) が含まれます。

分析条件

表 1 に、LC/MS/MS 条件を示します。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) パラメータについては、Zhao および Wei によるアプリケーションノートをご覧ください。¹ 図 1 に、QuEChERS AOAC 法抽出とその後の Captiva EMR-LPD クリーンアップにより前処理された、濃度 100 ng/g で添加したアーモンドサンプル中のターゲット農薬の代表的な MRM クロマトグラムを示します。

表 1. Agilent 1290 Infinity LC および Agilent 6490 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) 10 mM 酢酸アンモニウム、0.5 mM フッ化アンモニウム、95:5 の ACN:水、0.125 % FA												
ニードル洗浄	1 : 1 : 1 : 1 の ACN:MeOH:IPA:水、0.2 % 酢酸												
グラジエント	<table border="1"> <thead> <tr> <th>時間 (分)</th> <th>%B</th> <th>流量 (mL/min)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0.0</td> <td>15</td> <td>0.3</td> </tr> <tr> <td>6.0</td> <td>95</td> <td>0.3</td> </tr> <tr> <td>8.01</td> <td>100</td> <td>0.3</td> </tr> </tbody> </table>	時間 (分)	%B	流量 (mL/min)	0.0	15	0.3	6.0	95	0.3	8.01	100	0.3
時間 (分)	%B	流量 (mL/min)											
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												
ネブライザ	40 psi												
シーガスヒーター	225 °C												
シーガス流量	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 (ポジティブとネガティブの両方)												
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、参考文献の表 4 を参照 ¹ 。												

サンプル前処理

有機アーモンド、ペカン、カシュー、およびヘーゼルナッツは、地元の食料品店から購入しました。サンプルはグラインダーでホモジナイズしました。細かく砕いたアーモンド、ペカン、およびカシューを 7.5 g 計量して、50 mL 遠心分離チューブに移しました。ヘーゼルナッツについては、細かく砕いたサンプルを 3 g 計量しました。10 mL の水を添加しました。次に、サンプルを 15 分間ボルテックスし、乾燥マトリックスを完全に湿らせて平衡化しました。サンプル混合物を、QuEChERS AOAC メソッドに従って抽出しました。抽出後、2.7 mL の未処理の抽出物を 0.3 mL の水と混合しました。次に混合したサンプルを、パススルークリーンアップのために Captiva EMR-LPD 6 mL カートリッジに移しました。低レベルの陽圧 (1 ~ 3 psi) を印加して、溶出量が 1 滴あたり 2 ~ 4 秒の一定値になるようにしました。サンプル溶出液を 10 秒間ボルテックスして混合し、250 μL の溶出液を 2 mL バイアルで 750 μL の水と混合しました。これで、LC/MS/MS 分析用の希釈したサンプルの準備が完了しました。図 2 に、詳細なサンプル前処理手順を示します。~ 30 種類のサンプルのバッチでは通常、全手順に約 30 ~ 40 分を要します。

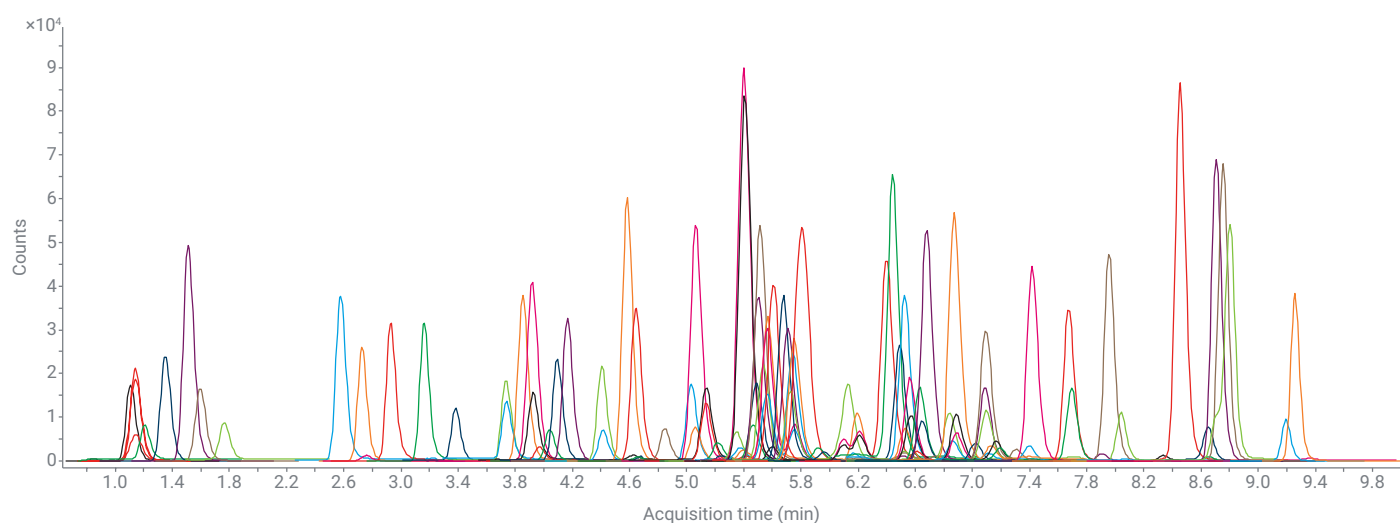


図 1. 100 ng/g の 125 種類のターゲット農薬を添加した抽出済みアーモンドサンプルの LC/MS/MS MRM クロマトグラム。サンプルは、Agilent Bond Elut QuEChERS AOAC 抽出キットを使用した後に、Agilent Captiva EMR-LPD クリーンアップを使用して前処理しました。

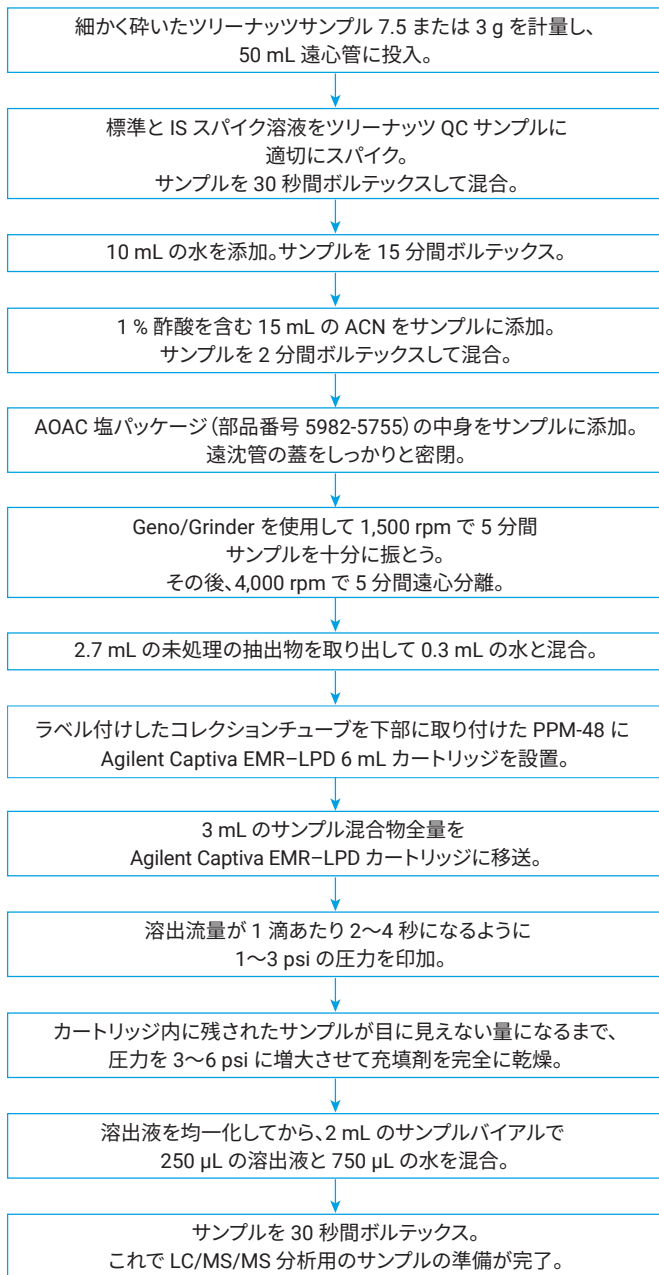


図 2. Agilent Bond Elut QuEChERS AOAC 抽出およびその後の Agilent Captiva EMR-LPD パススルークリーニングによる、ツリーナッツサンプルのサンプル前処理手順。アーモンド、ペカン、およびカシューについては、7.5 g の細かく砕いたサンプルを使用しました。ヘーゼルナッツについては、3 g の細かく砕いたサンプルを使用しました。

メソッド開発

ツリーナッツサンプルの QuEChERS 抽出では、標準 AOAC および EN 抽出メソッドの両方について、各メソッドの使用後にターゲット回収率を比較して評価しました。この実験では、未処理の抽出物のスパイクレベル 10 ppb において、アーモンドとペカンサンプルを使用しました。

Captiva EMR-LPD クリーンアップでは、水を 0、10、および 20% 添加した際の回収率の結果を比較することにより、水との事前混合を最適化しました。アーモンドの未処理のブランク抽出物を 10 ppb でスパイクして、並列比較に使用しました。

サンプルの乾燥残留物の重量、および Captiva EMR-LPD クリーンアップあり/なしの場合のサンプルの GC/MS フルスキャンの比較に基づいて、マトリックス除去を評価しました。

メソッド性能の評価

開発したサンプル前処理メソッドを、4 種類のツリーナッツのマトリックス除去、ターゲット回収率、再現性、およびマトリックス効果、マトリックス適合検量線の直線性と定量下限 (LOQ) の点で評価しました。回収率、再現性、およびマトリックス効果を評価するために、6 回の繰り返し分析において、アーモンド、ペカン、カシュー粉末の 20 ng/g およびヘーゼルナッツの 50 ng/g でプレススパイク品質管理 (PR-QC) サンプルを前処理しましたが、これらは抽出後の未処理のサンプル抽出物の 10 ng/mL に相当します。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前処理しました。水による希釈前に、ポストスパイクした QC (PO-QC) をマトリックスブランク中で前処理しました。未処理の ACN 抽出物の濃度 10 ng/mL において対応する濃度をポストスパイクする際には、サンプルの量を適切に調整することが重要です。試薬ブランク (抽出溶媒) の 10 ng/mL で純粋な QC を直接スパイクしてから、水で適切に希釈しました。各種類の QC を 6 回の繰り返し分析用に前処理しました。PR-QC と PO-QC 中の対応するターゲットのピーク面積比を使用して、ターゲット回収率を算出しました。サンプル前処理メソッドの再現性の RSD 算出には、PR-QC のピーク面積を使用しました。PO-QC と純粋な QC 中の対応するターゲットのピーク面積比を使用して、ターゲットのマトリックス効果を算出しました。ツリーナッツのマトリックスブランク抽出物の濃度 0.5、1、5、10、50、100、250、400、および 500 ng/mL でポストスパイクすることにより、マトリックス適合検量線の直線性と LOQ を評価しましたが、これらはアーモンド、ペカン、カシューでは 1 ~ 1,000 ng/g、およびヘーゼルナッツでは 2.5 ~ 2,500 ng/g に対応しています。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行いました。

結果と考察

メソッドの開発と最適化

最初に QuEChERS 抽出メソッドを、サンプルサイズ、抽出溶媒、およびサンプル分離用の塩について評価しました。ツリーナッツには非常に少量の水と多量の脂肪が含まれているため、最初にマトリックスの複雑性と Captiva EMR-LPD クリーンアップによる基本的なマトリックス除去について、異なる種類のツリーナッツをスクリーニングしました。予備のマトリックススクリーンアップでは、Captiva EMR-LPD パススルークリーンアップが高効率のナッツマトリックス除去を実現していることがわかりましたが、これはサンプル抽出時に比較的大きなサンプルサイズを使用して、希釈を少なくできることを示しています。種類が異なるナッツのマトリックスの複雑性のスクリーニングでは、脂肪酸および脂質のアバンダンスが大幅に高いことを含め、ヘーゼルナッツが最も複雑なマトリックスであることを示している一方、他の3種類のツリーナッツは複雑性が低くなっていました。マトリックスの複雑性をこのように予備調査することにより、アーモンド、ペカン、カシューには希釈係数 2x で大きいサンプルサイズを使用し、ヘーゼルナッツには希釈係数 5x で小さいサンプルサイズを使用しました。

影響を受けやすい多数のターゲットが含まれている多くの農薬では、サンプルの分離にバッファ抽出塩を使用することが重要です。このため、標準 AOAC バッファ塩と EN 塩のみを評価しました。最初に、中性 ACN を使用して EN 抽出を実施しました。ただし、中性 ACN 抽出により、ピメトロジン、プロパモカルブ、MCPA など、影響を受けやすいいくつかの農薬が大幅に失われました。結果的に、酸性 ACN 抽出溶媒 (1% 酢酸を含む) を使用して、EN 抽出メソッドを変更しました。次にこの変更後の EN 抽出メソッドを、標準 AOAC 抽出メソッドと比較しました。

図 3 に、AOAC 抽出と変更後の EN 抽出を使用した、影響を受けやすい農薬の回収率を比較した結果を示します。この結果は、AOAC 抽出を使用すると一般的に、影響を受けやすいターゲットの回収率が増大したことを示しています。ピメトロジン、フェンプロピジン、スピロキサミン、およびトラルコキシジムでは、AOAC 抽出塩を使用した際に両方のマトリックスにおいて、回収率が >30% 増大しました。結果的に、このアプリケーションでは、農薬の抽出に AOAC メソッドを使用しました。

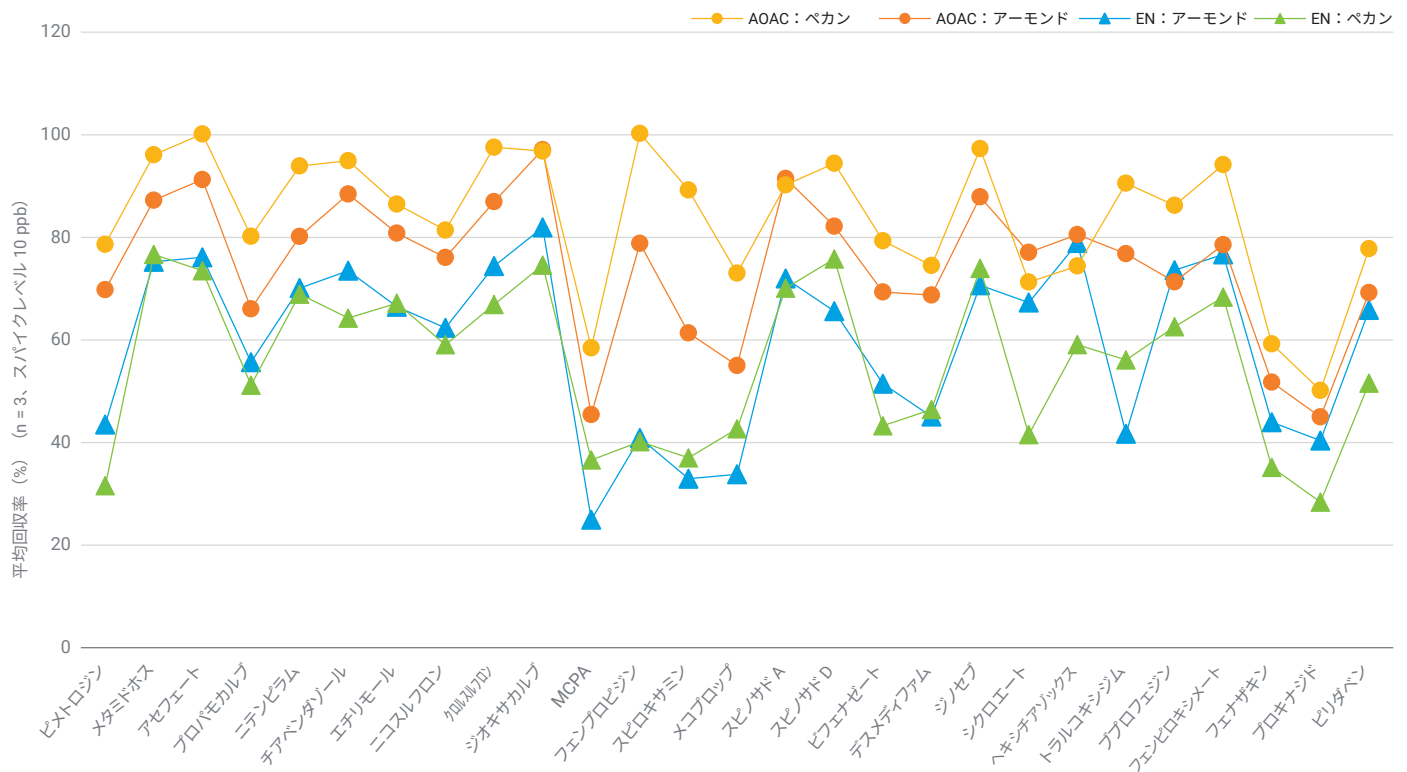


図 3. Agilent QuEChERS 抽出メソッドの比較：AOAC 抽出と変更後の EN 抽出。比較には、濃度 20 ng/g でスパイクしたアーモンドおよびペカンサンプルを使用しました。

Captiva EMR-LPD クリーンアップでは、次に示すような異なる比率の水と未処理のアーモンド抽出物を使用して、水の事前混合を調査しました。0:100 (水の添加なし)、10:90 (水を 10 % 添加)、および 20:80 (水を 20 % 添加)。比較は、ターゲット回収率とマトリックス除去の効率に基づいて実施しました。異なる条件でのマトリックス除去の調査から、水を 0 ~ 10 % 添加すると除去が多少改善されますが、水を 10 ~ 20 % 添加すると除去が低下することがわかりました。ターゲット回収率を比較した結果を図 4 に示します。この結果は次のことを示しています。A) 水を添加して未処理の抽出物と事前混合すると、影響を受けやすい多数のターゲットの回収率が大幅に増大しました。これは、サンプル中での水との良好なバッファ効果、および水と PSA 充填剤との予防的な相互作用の結果であると考えられます。マトリックス除去が改善されたのは、サンプル混合物中で Captiva EMR-Lipid 充填剤と水により実現された脂質除去が良好であったためでした。B) 水の添加量を増大させた場合、回収

率は改善されませんでした。影響を受けやすい多数のターゲットでは、水を 20 % 使用した際の回収率は水を 10 % 使用した際ほど良好ではありませんでした。また、水を 20 % 添加した際には、マトリックス除去の効率も低下しました。これにより、サンプル混合物中に多量の水が存在すると、酸との PSA 充填剤の相互作用および極性干渉に悪影響を与え、マトリックス除去が低下してしまうという仮説が立てられます。マトリックス除去の効率とターゲット回収率の両方を考慮した場合、水を 10 % 添加して事前混合することが、Captiva EMR-LPD クリーンアップに最適であることが示されました。

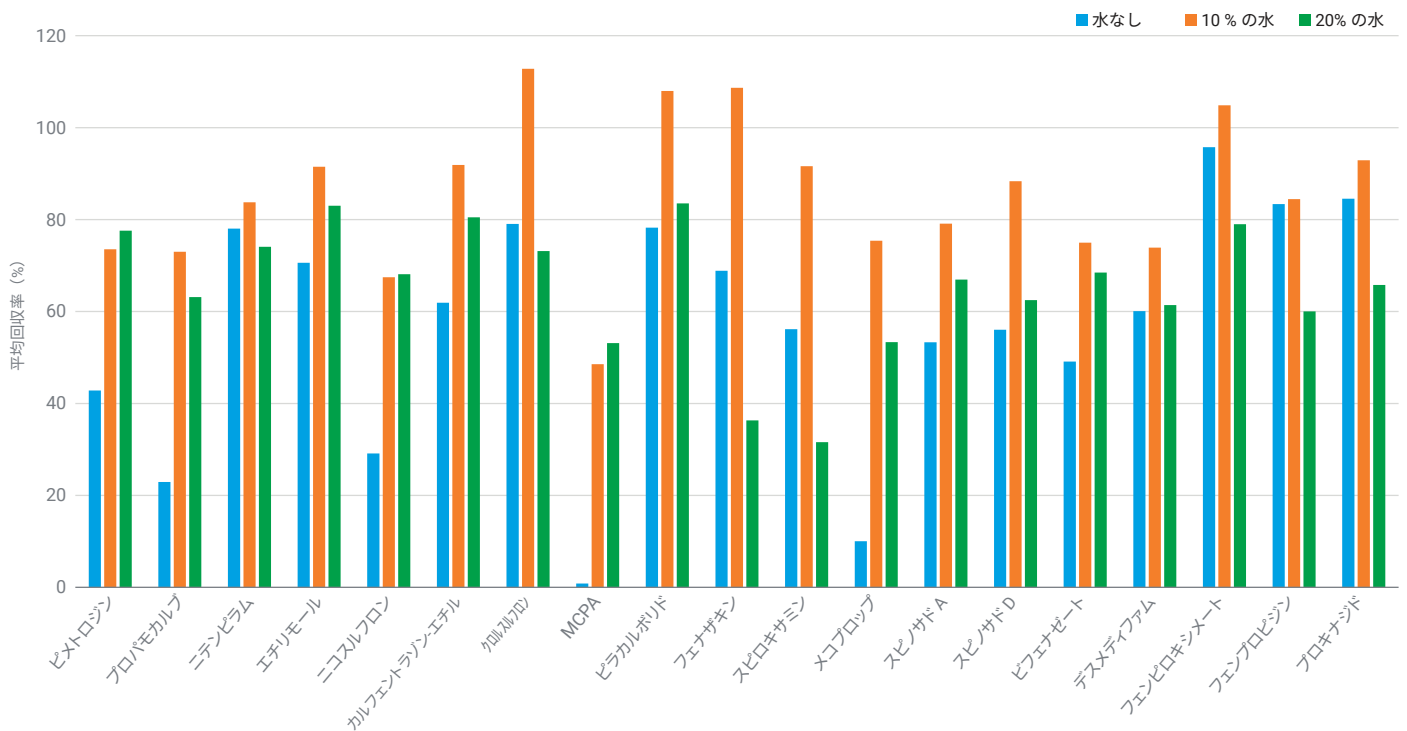


図 4. Agilent Captiva EMR-LPD クリーンアップ前の水の添加の最適化。比較には、濃度 10 ng/mL でスパイクした未処理のアーモンド抽出物を使用しました。

サンプルマトリックス除去

Captiva EMR-LPD カートリッジに詰められた混合充填剤は、4種類のツリーナッツすべてにおいて高効率のマトリックス除去を達成しました。ツリーナッツには、高アバンドランスの脂肪およびその他の疎水性成分が含まれているため、GC/MS フルスキャンテストを使用して、Captiva EMR-LPD クリーンアップ後のサンプルの清浄度を評価しました。さらに、サンプル抽出物の乾燥残留物の重量を使用して、機器で検出できない場合でも、マトリックス共溶出が完全であることも示しました。図 5 と表 2 に示す評価結果は、Captiva EMR-LPD が高効率のマトリックス除去を達成していることを実証しています。

図 5 は、4種類のツリーナッツマトリックスのクリーンアップあり/なしの GC/MS フルスキャンを比較した際のマトリックスバックグラウンドを示しています。表 2 は、GC/MS フルスキャン完全積分ピーク面積および乾燥残留物の重量を基にして算出したマトリックス除去を示しています。

表 2. サンプルマトリックス除去の評価結果

	マトリックス除去	
	GC/MS FS バックグラウンド	乾燥残留物の重量
アーモンド	85 %	81%
ペカン	81%	64%
カシュー	82%	82%
ヘーゼルナッツ	56%	73%

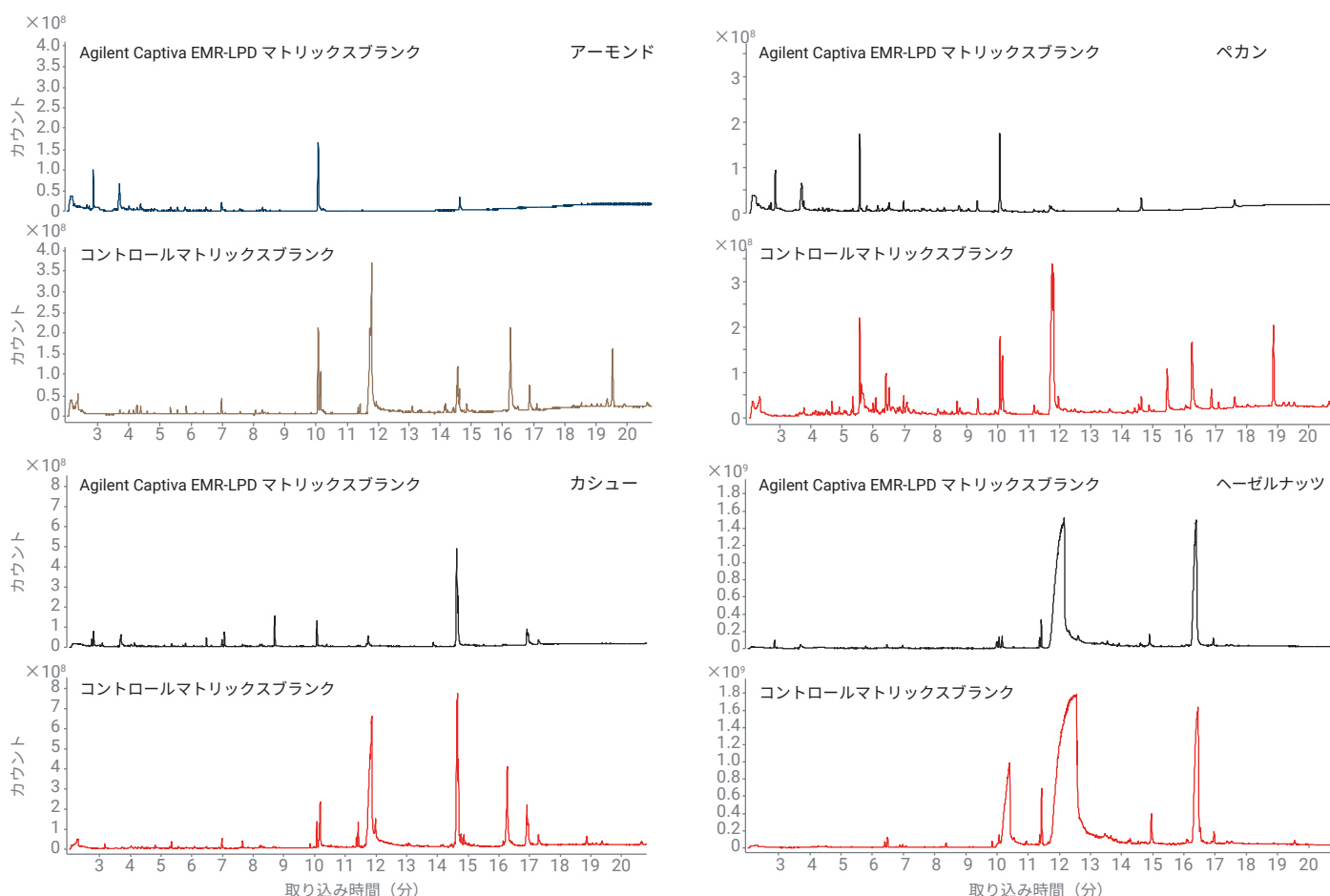


図 5. Agilent Captiva EMR-LPD クリーンアップを使用した際のツリーナッツのマトリックス除去の効率。ナッツの種類ごとの GC/MS フルスキャン (FS) のバックグラウンド。Captiva EMR-LPD クリーンアップあり (上側のクロマトグラム) とクリーンアップなし (下側のクロマトグラム)。

メソッド定量性能の評価

メソッド定量性能を、ターゲットの回収率、再現性、およびマトリックス効果、マトリックス適合検量線の直線性と定量下限（LOQ）により評価しました。

ターゲットの回収率、再現性、およびマトリックス効果

これらのパラメータは、メソッド定量精度およびデータ品質に直接関係しています。そのため、これらのパラメータを使用してメソッド定量性能を実証することが重要です。メソッド性能評価では、SANTE/11312/2021ガイドラインを参照しました。²図6に、メソッド性能の統計結果を示します。

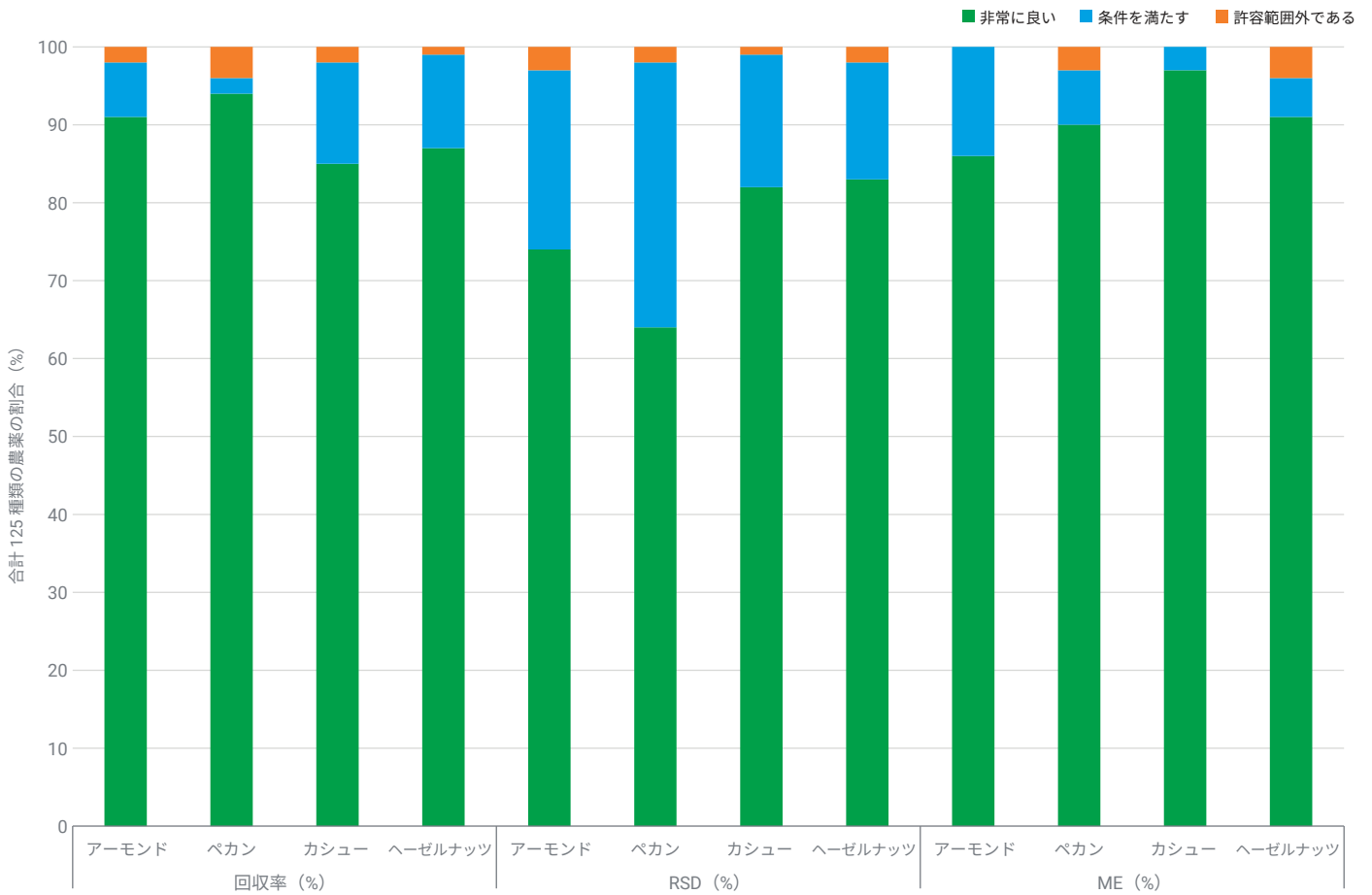


図6. メソッド定量統計結果の概要。各カテゴリ（非常に良い、条件を満たす、および許容範囲外である）に対応する値の範囲（基準）を表3に示します。

合格/不合格のターゲットのパーセンテージ分布を含む、ターゲット回収率、RSD、およびマトリックス効果の統計結果の概要を図6に示します。ターゲット回収率、RSD、およびマトリックス効果に関する分析の合格/不合格の基準を表3に示します。全体的に見て、新しく開発したメソッドを使用した際の4種類のツリーナッツのターゲット回収率、再現性、およびマトリックス効果については、125種類の農薬の>95%において優れた許容できる結果を達成しました。ターゲット回収率については、このメソッドはツリーナッツ中のターゲットの>85%において、優れた回収率結果(70~120%)を達成しました。ターゲットの再現性については、このメソッドはツリーナッツ中のターゲットの>64%において優れた1桁のRSD(<10%)、およびターゲットの>97%において許容できるRSD(<20%)を達成しました。マトリックス効果については、このメソッドはツリーナッツ中のターゲットの>86%において、問題にはならないマトリックス効果(80~120%)を達成しました。ツリーナッツ中の125種類のターゲット農薬については、平均ターゲット回収率は90%以上、平均RSDは10.2%以下、平均マトリックス効果は94~105%以内でした。平均の結果を図7に示します。

表3. 異なる性能分析のカテゴリ基準

評価パラメータ	カテゴリ基準の値の範囲		
	合格		不合格
	非常に良い	条件を満たす	許容範囲外である
ターゲット回収率	70~120%	40~70%	<40%または>120%
RSD	<10%	10~20%	>20%
マトリックス効果	80~120%	40~80%および120~130%	<40%または>130%

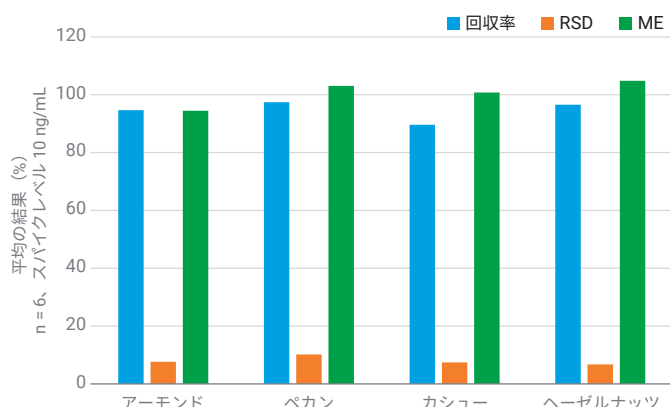


図7. 4種類のツリーナッツ中の125種類の農薬の平均回収率、RSD、およびマトリックス効果。サンプルは、スパイクレベル10 ng/mLで6回の繰り返し分析によりテストしました。

マトリックス適合キャリブレーションとLOQ

0.5~500 ng/mLの範囲で標準を最終サンプル抽出物にポストスパイクすることにより、マトリックス適合検量線を生成しました。サンプル抽出時に導入された希釈係数が異なることを考慮した場合、これはアーモンド、ペカン、カシューでは1~1,000 ng/g、およびヘーゼルナッツでは2.5~2,500 ng/gに対応していました。検量線の生成には直線回帰と $1/x^2$ の重み付けを使用しましたが、いくつかの例外では二次回帰または $1/x$ の重み付けを使用しました。キャリブレーションのダイナミックレンジは、LOQの感度要件と検量線に合致する高濃度の度合いに基づいて測定しました。結果を表4に示します。

表 4. 4 種類のツリーナッツ中の 125 種類の農薬に対するメソッドのマトリックス適合検量線と検出限界結果の概要

ターゲット名	アーモンド			ペカン			カシュー			ヘーゼルナッツ		
	LLOQ (ng/g)	HLOQ (ng/g)	R ²	LLOQ (ng/g)	HLOQ (ng/g)	R ²	LLOQ (ng/g)	HLOQ (ng/g)	R ²	LLOQ (ng/g)	HLOQ (ng/g)	R ²
ピメトロジン	1	1,000	0.9945	1	1,000	0.9965	1	1,000	0.9970	2.5	2,500	0.9956
メタミドホス	1	1,000	0.9930	1	1,000	0.9968	1	1,000	0.9970	2.5	2,500	0.9956
アセフェート	1	1,000	0.9944	1	1,000	0.9963	1	1,000	0.9947	2.5	2,500	0.9929
オメトエート ²	1	400	0.9939	1	1,000	0.9952	1	1,000	0.9900	2.5	2,500	0.9947
アミノカルブ	1	1,000	0.9918	1	1,000	0.9949	1	1,000	0.9936	2.5	2,500	0.9908
プロバモカルブ ²	1	400	0.9979	1	1,000	0.9949	1	1,000	0.9902	2.5	2,500	0.9916
ジノテフラン	1	1,000	0.9923	1	1,000	0.9951	1	1,000	0.9943	2.5	2,500	0.9956
カルベンダジム	1	1,000	0.9970	1	1,000	0.9960	1	1,000	0.9930	2.5	2,500	0.9902
モノクロトホス	1	1,000	0.9914	1	1,000	0.9958	1	1,000	0.9924	2.5	2,500	0.9935
ニテンピラム	1	1,000	0.9940	1	1,000	0.9970	1	1,000	0.9937	2.5	2,500	0.9917
チアベンダゾール	1	1,000	0.9937	1	1,000	0.9935	1	1,000	0.9917	2.5	2,500	0.9925
フベリダゾール	1	1,000	0.9937	1	1,000	0.9955	1	1,000	0.9930	2.5	2,500	0.9936
チアメトキサム	1	1,000	0.9929	1	1,000	0.9975	1	1,000	0.9933	2.5	2,500	0.9961
シモキサニル ²	2	1,000	0.9929	2	1,000	0.9945	2	1,000	0.9965	5	2,500	0.9933
メキサカルベート	1	1,000	0.9958	1	1,000	0.9970	1	1,000	0.9926	2.5	2,500	0.9949
エチリモール	1	1,000	0.9949	1	1,000	0.9959	1	1,000	0.9934	2.5	1,000	0.9914
メタミトロン	1	1,000	0.9959	1	1,000	0.9931	1	1,000	0.9956	2.5	2,500	0.9959
フェヌロン	1	1,000	0.9939	1	1,000	0.9944	1	1,000	0.9939	2.5	2,500	0.9922
クロリダゾン	1	1,000	0.9933	1	1,000	0.9972	1	1,000	0.9969	2.5	2,500	0.9955
イミダクロプリド	1	1,000	0.9973	1	1,000	0.9984	1	1,000	0.9947	2.5	2,500	0.9906
シミアゾール	1	1,000	0.9929	1	1,000	0.9945	1	1,000	0.9965	2.5	2,500	0.9933
ジメトエート	1	1,000	0.9947	1	1,000	0.9969	1	1,000	0.9920	2.5	2,500	0.9922
フェノプカルブ	1	1,000	0.9931	1	1,000	0.9931	1	1,000	0.9990	2.5	2,500	0.9906
アセタミプリド	1	1,000	0.9932	1	1,000	0.9985	1	1,000	0.9942	2.5	2,500	0.9901
メトスルフロン	1	1,000	0.99361	1	1,000	0.9940	1	1,000	0.9935	2.5	2,500	0.9940
フルメツラム	1	1,000	0.9903	1	1,000	0.9924	1	1,000	0.9974	2.5	2,500	0.9936
テブチウロン	1	1,000	0.9986	1	1,000	0.9907	1	1,000	0.9978	2.5	2,500	0.9929
4-ニトロフェノール ²	2	1,000	0.9976	2	1,000	0.9915	2	1,000	0.9981	5	2,500	0.9978
チアクロプリド	1	1,000	0.9906	1	1,000	0.9935	1	1,000	0.9924	2.5	2,500	0.9905
ニコスルフロン	1	1,000	0.9946	1	1,000	0.9924	1	1,000	0.9945	2.5	2,500	0.9928
チジアズロン	1	1,000	0.9961	1	1,000	0.9972	1	1,000	0.9955	2.5	2,500	0.9936
セクブメトン	1	1,000	0.9978	1	1,000	0.9907	1	1,000	0.9965	2.5	2,500	0.9892
オキサスルフロン	1	1,000	0.9989	1	1,000	0.9994	1	1,000	0.9938	2.5	2,500	0.9930
ベンタゾン ²	2	1,000	0.9953	2	1,000	0.9975	2	1,000	0.9956	5	2,500	0.9927
カルフェントラゾン-エチル	1	1,000	0.9950	1	1,000	0.9942	1	1,000	0.9980	2.5	2,500	0.9981
イマザリル	1	1,000	0.9938	1	1,000	0.9951	1	1,000	0.9945	2.5	2,500	0.9942
レナシル ²	2	1,000	0.9836	2	1,000	0.9919	2	1,000	0.9916	5	2,500	0.9918
メトリブジン	1	1,000	0.9946	1	1,000	0.9966	1	1,000	0.9933	2.5	2,500	0.9936
シアゾファミド ²	2	1,000	0.9859	2	1,000	0.9936	2	1,000	0.9966	5	2,500	0.9909
フェンメディファム	1	1,000	0.99811	1	1,000	0.9924	1	1,000	0.9946	2.5	2,500	0.9867
プロボスキル	1	1,000	0.9989	1	1,000	0.9950	1	1,000	0.9974	2.5	2,500	0.9916
加ルメフロ	1	1,000	0.9961	1	1,000	0.9969	1	1,000	0.9887	2.5	2,500	0.9965
ジオキサカルブ	1	1,000	0.9942	1	1,000	0.9922	1	1,000	0.9940	2.5	2,500	0.9915

ターゲット名	アーモンド			ペカン			カシュー			ヘーゼルナッツ		
	LLOQ (ng/g)	HLOQ (ng/g)	R ²	LLOQ (ng/g)	HLOQ (ng/g)	R ²	LLOQ (ng/g)	HLOQ (ng/g)	R ²	LLOQ (ng/g)	HLOQ (ng/g)	R ²
カルボフラン ²	1	1,000	0.9937	1	400	0.9948	1	1,000	0.9967	2.5	2,500	0.9903
メタバズチアズロン ²	1	1,000	0.9932	1	400	0.9977	1	1,000	0.9950	2.5	1,000	0.9947
MCPA	1	1,000	0.99641	1	1,000	0.99721	1	1,000	0.99571	2.5	2,500	0.9990 ¹
アミドスルフロ ²	2	1,000	0.9817	2	1,000	0.9967	1	1,000	0.9919	2.5	2,500	0.9949
シクルロン	1	1,000	0.9874	1	1,000	0.9975	1	1,000	0.9942	2.5	2,500	0.9935
クロトルロン	1	1,000	0.9908	1	1,000	0.9945	1	1,000	0.9993	2.5	2,500	0.9980
フルトリアホル ²	1	1,000	0.9931	1	400	0.9990	1	1,000	0.9915	2.5	1,000	0.9937
ピラカルボリド ²	1	1,000	0.99871	1	400	0.9960	1	400	0.9964	2.5	1,000	0.9927
フルオメツロン	1	1,000	0.9919	1	1,000	0.9987	1	1,000	0.9987	2.5	2,500	0.9975
ホルクロルフェヌロン	1	1,000	0.9954	1	1,000	0.9955	1	1,000	0.9915	2.5	2,500	0.9932
カルバリル	1	1,000	0.9955	1	1,000	0.9990	1	1,000	0.9943	2.5	2,500	0.9987
ホスチアゼート	1	1,000	0.9939	1	1,000	0.9920	1	1,000	0.9942	2.5	2,500	0.9975
アザコナゾール ²	1	1,000	0.9872	1	400	0.9937	1	1,000	0.9932	2.5	1,000	0.9937
メトプロトリ ²	1	1,000	0.9944	1	1,000	0.9941	1	400	0.9987	2.5	2,500	0.9943
DEET	1	1,000	0.9967	1	1,000	0.9927	1	1,000	0.9866	2.5	2,500	0.9925
フェンプロピジン ²	1	400	0.9903	1	1,000	0.9957	1	1,000	0.9970	2.5	2,500	0.9940
カルボキシ ²	2	1,000	0.99881	1	1,000	0.9864	1	400	0.9937	2.5	2,500	0.9891
ジウロン	1	1,000	0.9960	1	400	0.9934	1	1,000	0.9908	2.5	2,500	0.9918
スピロキサミン	1	1,000	0.9944	1	1,000	0.9927	1	1,000	0.9932	2.5	2,500	0.9901
メトプロムロン	1	1,000	0.9932	1	1,000	0.9984	1	1,000	0.9959	2.5	2,500	0.9923
メコプロップ	1	1,000	0.99891	1	1,000	0.99471	1	1,000	0.99891	2.5	2,500	0.9963
ジメトモルフ ²	1	1,000	0.9903	1	400	0.9932	1	1,000	0.9877	2.5	1,000	0.9900
ジメタクロール	1	1,000	0.9939	1	1,000	0.9958	1	1,000	0.9921	2.5	2,500	0.9913
クロラントラニプロール	1	1,000	0.9926	1	1,000	0.9942	1	1,000	0.9916	2.5	2,500	0.9895
クロマゾン	1	1,000	0.9908	1	1,000	0.9960	1	1,000	0.9948	2.5	2,500	0.9926
ジメトモルフ II ²	2	1,000	0.9915	1	1,000	0.9981	1	1,000	0.9921	2.5	2,500	0.9928
シプロコナゾール	1	1,000	0.9911	1	1,000	0.9938	1	1,000	0.9943	2.5	2,500	0.9933
フララキシル	1	1,000	0.9908	1	1,000	0.9930	1	1,000	0.9955	2.5	2,500	0.9961
クロロクスロン	1	1,000	0.9981	1	1,000	0.9970	1	1,000	0.9961	2.5	2,500	0.9901
スピノサド A	1	1,000	0.9938	1	1,000	0.9928	1	1,000	0.9986	2.5	2,500	0.9917
リニユロン2	1	1,000	0.9931	1	400	0.9926	1	1,000	0.9975	2.5	1,000	0.9946
イプロバリカルブ	1	1,000	0.9917	1	1,000	0.9966	1	1,000	0.9929	2.5	2,500	0.9954
ハロフェノジド ²	1	1,000	0.9975	1	1,000	0.9900	2	1,000	0.9968	2.5	2,500	0.9884
ピリデート ²	1	1,000	0.9856	2	1,000	0.9955	1	1,000	0.9856	5	2,500	0.9955
フェナミホス	1	1,000	0.9815	1	1,000	0.9908	1	1,000	0.9947	2.5	2,500	0.9920
プロメカルブ	1	1,000	0.9936	1	1,000	0.9985	1	1,000	0.9977	2.5	2,500	0.9873
ミクロプタニル	1	1,000	0.9918	1	1,000	0.9918	1	1,000	0.9971	2.5	2,500	0.9914
アゾキシストロピン	1	1,000	0.9986	1	1,000	0.9978	1	1,000	0.9914	2.5	2,500	0.9905
マンジプロバミド	1	1,000	0.9924	1	1,000	0.9954	1	1,000	0.9958	2.5	2,500	0.9918
フェンアミドン	1	1,000	0.9953	1	400	0.9963	1	1,000	0.9976	2.5	1,000	0.9921
ボスカリド	1	1,000	0.9905	1	1,000	0.9907	1	1,000	0.9948	2.5	2,500	0.9952
スピノサド D	1	1,000	0.9970	1	1,000	0.9923	1	1,000	0.9917	2.5	2,500	0.9938
フルオピコリド	1	1,000	0.9905	1	1,000	0.9908	1	400	0.9924	2.5	2,500	0.9881
イソキサベン	1	1,000	0.9981	1	1,000	0.9858	1	1,000	0.9920	2.5	2,500	0.9910

ターゲット名	アーモンド			ペカン			カシュー			ヘーゼルナッツ		
	LLOQ (ng/g)	HLOQ (ng/g)	R ²	LLOQ (ng/g)	HLOQ (ng/g)	R ²	LLOQ (ng/g)	HLOQ (ng/g)	R ²	LLOQ (ng/g)	HLOQ (ng/g)	R ²
ピフェナゼート	1	1,000	0.9984	1	1,000	0.9841	1	1,000	0.9948	2.5	2,500	0.9951
デスメディファム	1	1,000	0.9978	1	1,000	0.9913	1	1,000	0.9930	2.5	2,500	0.9962
ジフロベンズロン ²	2	1,000	0.9929	1	1,000	0.9933	2	1,000	0.9916	2.5	2,500	0.9915
ベンコナゾール	1	1,000	0.9914	1	1,000	0.9927	1	1,000	0.9928	2.5	1,000	0.9910
ブロクロラズ ²	2	1,000	0.9933	1	1,000	0.9942	2	1,000	0.9907	2.5	2,500	0.9908
フルオキサストロピン	1	1,000	0.9897	1	1,000	0.9911	1	1,000	0.9917	2.5	2,500	0.9929
イソプロチオラン	1	1,000	0.9956	1	1,000	0.9931	1	1,000	0.9949	2.5	2,500	0.9922
ロテノン	1	1,000	0.9967	1	1,000	0.9924	1	1,000	0.9944	2.5	2,500	0.9922
フルフェナセット	1	1,000	0.9938	1	1,000	0.9921	1	1,000	0.9960	2.5	2,500	0.9949
ジモキシストロピン	1	1,000	0.9917	1	400	0.9961	1	1,000	0.9940	2.5	2,500	0.9923
シプロジニル ²	1	400	0.9953	1	1,000	0.9940	1	400	0.9920	2.5	2,500	0.9954 ¹
モキシデクテン ^{2,3}	2	1,000	0.9980	2	1,000	0.9875	2	1,000	0.9915	50	2,500	0.9900
アジンホスエチル ^{2,3}	10	1,000	0.9907	2	1,000	0.9986	10	1,000	0.9861	5	2,500	0.9986
テブフェノジド	1	1,000	0.9995	1	1,000	0.9939	1	1,000	0.9910	2.5	2,500	0.9962
フルベンジアミド	1	1,000	0.9935	1	1,000	0.9910	1	1,000	0.9924	2.5	2,500	0.9912
ペフルブタミド	1	1,000	0.9982	1	1,000	0.9940	1	1,000	0.9942	2.5	2,500	0.9940
ジノセブ ²	2	1,000	0.9969	2	1,000	0.9931	2	1,000	0.9940	5	2,500	0.9989
クレソキシムメチル	1	1,000	0.9954	1	1,000	0.9916	1	1,000	0.9920	2.5	2,500	0.9912
ピコキシストロピン ²	1	1,000	0.9918	1	400	0.9964	1	1,000	0.9953	2.5	2,500	0.9944
ピラクロストロピン	1	1,000	0.9929	1	1,000	0.9934	1	1,000	0.9951	2.5	2,500	0.9916
イソフェンホス-メチル	1	1,000	0.9905	1	1,000	0.9940	1	1,000	0.9947	2.5	2,500	0.9916
ジフルフェニカン	1	1,000	0.9983	1	1,000	0.9932	1	1,000	0.9990	2.5	2,500	0.9980
トリフロキシストロピン	1	1,000	0.9946	1	1,000	0.9930	1	1,000	0.9967	2.5	2,500	0.9932
メトラフェノン	1	1,000	0.9924	1	1,000	0.9940	1	1,000	0.9947	2.5	2,500	0.9918
シクロエート ³	20	1,000	0.9977	2	1,000	0.9903	10	1,000	0.9912	5	2,500	0.9924
メタフルミゾン ²	10	1,000	0.9974	2	1,000	0.9940	2	1,000	0.9940	5	2,500	0.9939
フルアジナム ²	2	1,000	0.9944	2	1,000	0.9825	2	1,000	0.9972	5	2,500	0.9915
テメホス	1	1,000	0.9944	1	1,000	0.9936	1	1,000	0.9968	2.5	400	0.9934
ピリプロキシフェン ²	1	1,000	0.9934	1	400	0.9967	1	400	0.9993	2.5	1,000	0.9914
ヘキシチアソックス	1	1,000	0.9970	1	1,000	0.9917	1	1,000	0.9959	2.5	2,500	0.9932
トラルコキシジム	1	1,000	0.9941	1	1,000	0.9948	1	1,000	0.9930	2.5	2,500	0.9956
ブプロフェジン ²	1	1,000	0.9968	1	400	0.9952	1	1,000	0.9983	2.5	2,500	0.9933
フェンピロキシメート ²	2	1,000	0.9903	1	400	0.9966	1	1,000	0.9903	2.5	1,000	0.9930
フェナザキン ²	1	1,000	0.9918	1	400	0.9963	1	1,000	0.9952	2.5	1,000	0.9911
プロキナジド	1	1,000	0.9947	1	1,000	0.9929	1	1,000	0.9995	2.5	2,500	0.9962 ¹
ピリダベン	1	1,000	0.9958	1	1,000	0.9957	1	1,000	0.9994	2.5	2,500	0.9829
スピロジクロフェン ³	10	1,000	0.99881	10	1,000	0.9938	10	1,000	0.9961	50	2,500	0.9907

¹ 二次回帰適合。

² マトリックスの下限での分析対象物感度または選択性、または上限での許容基準への不適合に起因する、変更後のダイナミックキャリブレーション範囲。

³ マトリックスからの陽性の影響に起因する LLOQ の上昇。

結論

ツリーナッツ中の 125 種類の LC で検査可能な農薬について、Agilent Bond Elut QuEChERS AOAC 抽出とその後の Agilent Captiva EMR-LPD カートリッジによるパススルークリーンアップ、および LC/MS/MS による、シンプルで高速かつ信頼性の高いメソッドを開発して検証しました。新しい Captiva EMR-LPD クリーンアップメソッドは、便利でシンプルなサンプルのパススルークリーンアップ、高脂肪のツリーナッツからの選択的で効率的なマトリックス除去、許容できる農薬の回収率、再現性、およびマトリックス効果を達成しています。定量結果は、ターゲット回収率、RSD、およびマトリックス効果について SANTE のガイドラインに従い、> 95 % の合格率を達成したことを示しています。Agilent Captiva EMR-Lipid クリーンアップと比較して、Captiva EMR-LPD クリーンアップでは、特に脂肪酸が多いサンプルマトリックスにおいて、完全な脂質除去を達成しました。Captiva EMR-LPD クリーンアップの前に酸性 ACN 抽出を実施し、水を 10 % 添加して事前混合することにより、PSA のような充填剤との不要な相互作用が原因となる、影響を受けやすい農薬の損失を効果的に防止しました。さらに、包括的なサンプル前処理ワークフローはシンプルで、時間と手間を節約し、最終的にラボの生産性を向上させます。

参考文献

1. Zhao, L.; Wei, T., Captiva EMR-HCF パススルークリーンアップと LC/MS/MS による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, Agilent Technologies application note, publication number 5994-4765JAJP, **2022**.
2. SANTE/11312/2021: Analytical Quality Control and Method Validation Procedures for Pesticide Residues Analysis in Food and Feed.

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。

DE81936497

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2022

Printed in Japan, August 2, 2022

5994-5129JAJP