

Agilent Bond Elut QuEChERS 高色素 dSPE と Carbon S を用いた GC/MS/MS によるトマトとケール中の 農薬の分析

著者

Jessica Westland
Agilent Technologies, Inc.

概要

このアプリケーションノートでは、トマトとケールの平面構造を持つ残留農薬を対象とした多成分残留分析メソッドの検証について紹介します。このメソッドでは、Agilent Bond Elut QuEChERS EN 法抽出キットを使用して抽出した後、Carbon S を使用した Agilent Bond Elut QuEChERS 高色素分散 SPE キット (EN 法相当) でクリーンアップし、Agilent 7010C トリプル四重極 GC/MS システム (GC/TQ) を使用して GC/MS/MS 分析を行います。Agilent Carbon S は、効率的かつ選択性の高いマトリックス色素除去ができる高度なハイブリッドカーボン充填剤であり、特に平面構造を持つ農薬など、影響を受けやすい化合物の場合、ターゲットとの望ましくない相互作用を大幅に低減します。農薬の 85 % 以上が、70 ~ 130 % の回収率、RSD <30 % で同定されたという結果が得られました。EN 法色素含有サンプル用 dSPE キットに含まれる従来のグラファイトカーボンブラック (GCB) と比較して、Carbon S はこれらの影響を受けやすい農薬に対して同等以上の回収率を実現しました。

はじめに

新鮮な果物・野菜には、緑の野菜のクロロフィルやルテイン、赤や青・紫・黒の果実からのアントシアニンおよびアントシアニン、オレンジと黄色の果物と野菜からのカロテノイドとキサントフィルなど、天然色素が非常に豊富に含まれています。これらの色素は、有機溶媒を使用した抽出手順で簡単に抽出できます。色素共溶出物をさらに除去せずに、高度に色素沈着したサンプル抽出物を GC/TQ などの検出機器に直接注入すると、マトリックス干渉や検出流路および MS ソースへのマトリックス堆積物の蓄積など、複数のマトリックス効果が生じる可能性があります。その結果、メンテナンスフリーで操作できる稼働時間が短くなってしまいます。したがって機器分析の前に、クリーンアップ方法を改善して色素共溶出物を除去することが重要です。

GCB 充填剤は、効率的な色素除去を目的としてサンプル調製に広く使用されています^{1,2}。特に食品分析で一般的に使用される QuEChERS 調製メソッドでは、GCB が分散固相抽出 (dSPE) キットに使用されており、色素除去に推奨されています。GCB は色素除去に効果的であることがわかっていますが、特にヘキサクロロベンゼン、クロロタロニル、ペンタクロロニトロベンゼンなどの平面構造を持つ化合物では、分析対象物の喪失という望ましくない現象も引き起こします。したがって、多くの QuEChERS dSPE キットの処方では、ターゲットの回収率を許容可能な範囲で達成するために、GCB 吸着剤の量を制限するように注意深く調整されています。

Agilent Carbon S 充填剤は、炭素含有量とポア構造が最適化された高度なハイブリッド炭素材料であり、GCB の代替としてさまざまな dSPE キットで使用されています。GCB と比較して、改良されたこの充填剤は、植物由来のサンプルマトリックスから同等以上の色

素除去を実現し、影響を受けやすい分析対象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、従来の GCB 充填剤よりも、分析対象物の回収率とマトリックス色素除去効率のバランスが優れています。

本研究では、トマトとケール中の平面構造を持つ代表的な農薬の GC/MS/MS による分析のために、Carbon S クリーンアップを備えた高色素 dSPE キット (EN 相当) を使用したサンプル前処理について調べました。

実験方法

溶液および標準試料

アジレントの標準混合物 (部品番号 NPM-619-1、PSM-100-A、PSM-100-AA、PSM-100-AC、PSM-100-G、PSM-100-H、PSM-100-K、PSM-100-Z) を用いて、組み合わせた標準スパイク溶液および、3 つの重水素化合物を組み合わせた内部標準 (ISTD) を調製しました。スパイク溶液はアセトニトリル (ACN) 8 µg/mL で調製し、ISTD 溶液は ACN 48 µg/mL で調製しました。

サンプル前処理

ホモジナイズした有機トマトまたはケールのサンプルを 10 g 計量し、セラミックホモジナイザ (部品番号 5982-9313) が 2 個入った 50 mL の遠心チューブ (部品番号 5610-2049) に入れました。指定されたサンプルを、標準のスパイク溶液でスパイクしました。各サンプルに 10 mL の ACN を追加し、ボルテックスをかけました。EN メソッド用の QuEChERS 塩抽出パッケージ (部品番号 5982-5650) を各サンプルに追加しました。次にサンプルを Geno/Grinder (垂直振とう) に 3 分間かけた後、5,000 rpm で 5 分間遠心分離しました。未処理の抽出物 1 mL または 6 mL を、それぞれ 2 mL (部品番号 5610-2074) または 15 mL (部品番号 5610-2076) 遠沈管に Carbon S を入れた高色素 dSPE に移しました。次にサンプルを 2 分間ボルテックスにかけた後、5 分間遠心分離しました。7010C トリプル四重極 GC/MS で分析するために、抽出物を 2 mL の分析バイアル (部品番号 5183-2072 および 5182-0717) に移しました。図 1 に今回のサンプル前処理の手順の概要を示します。

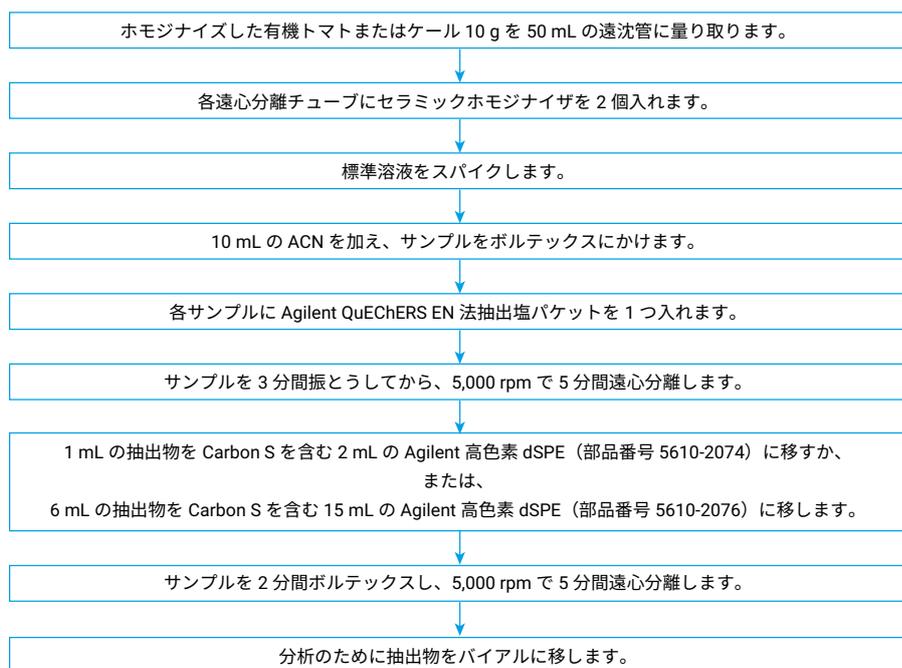


図 1. トマトとケールサンプルのサンプル前処理手順

装置構成

本研究は、Agilent 8890GC と Agilent 7010C トリプル四重極 GC/MS を組み合わせて使用して実施しました (図 2)。GC システムの構成は、Agilent 7693A 自動液体サンブラ (ALS) タワーおよびトレイ、マルチモード注入口 (MMI)、エレクトロニックニューマティクスコントロール (EPC)、バックフラッシュシステム用 Agilent パージ付き Ultimate Union (PUU) です。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。

機器の条件

GC/TQ 機器の条件は、同等の機器を使用し以前に公開されているメソッドに基づいて確立したものです。³ 付録 1 に、ターゲットおよび ISTD 化合物のマルチプルリアクションモニタリング (MRM) パラメータを示します。図 3 は、QuEChERS 抽出とそれに続く Carbon S 2 mL キットクリーンアップを使用した EN 高色素 dSPE を使用して、24 ng/g でスパイクした抽出ケールサンプル中の対象農薬の MRM クロマトグラムです。

結果と考察

Carbon S 充填剤

Carbon S 充填剤は、炭素含有量とポア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、影響を受けやす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 吸着剤は、分析対象物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ます (図 4)。

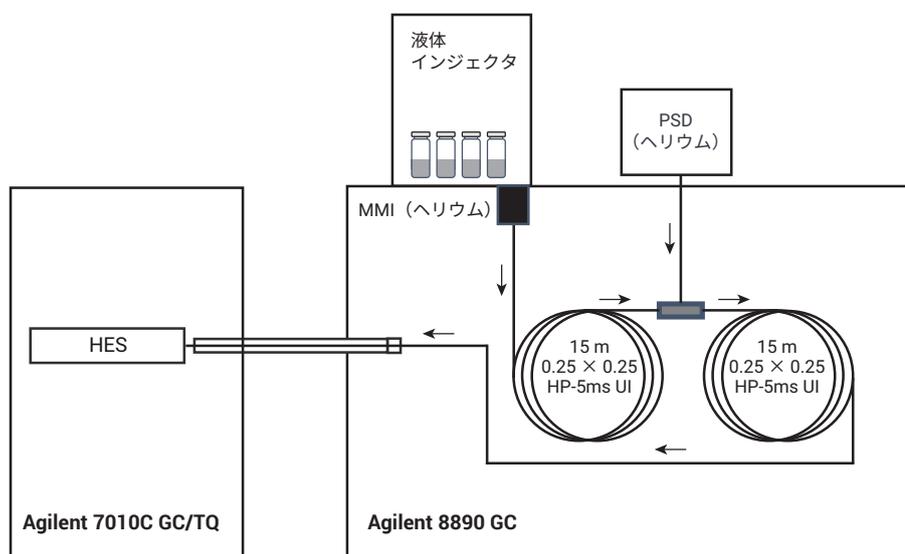


図 2. Agilent 7010C トリプル四重極 GC/MS (GC/TQ) と Agilent 8890 GC の組み合わせ

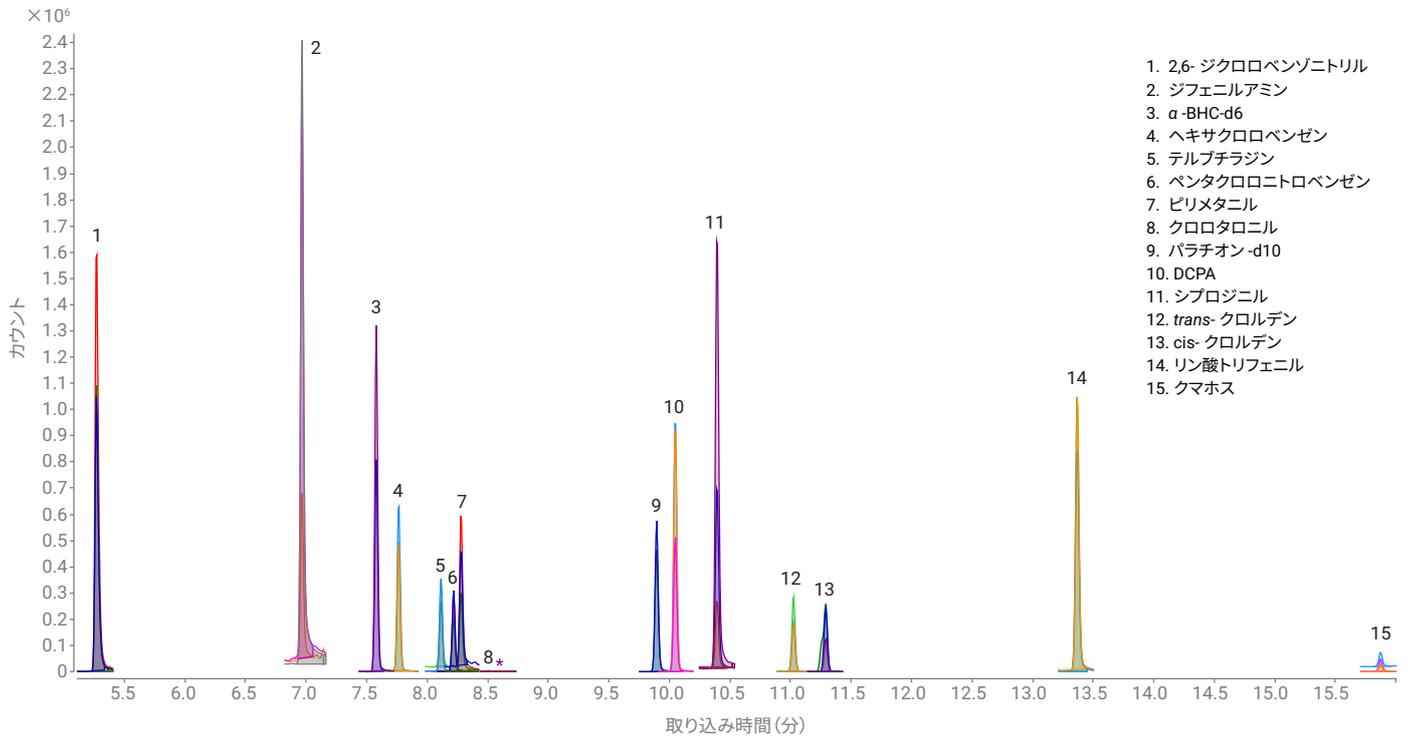


図3. 開発したサンプル前処理メソッドを使用し 24 ng/g でスパイクしたケールサンプル中の平面構造を持つ農薬の MRM クロマトグラム

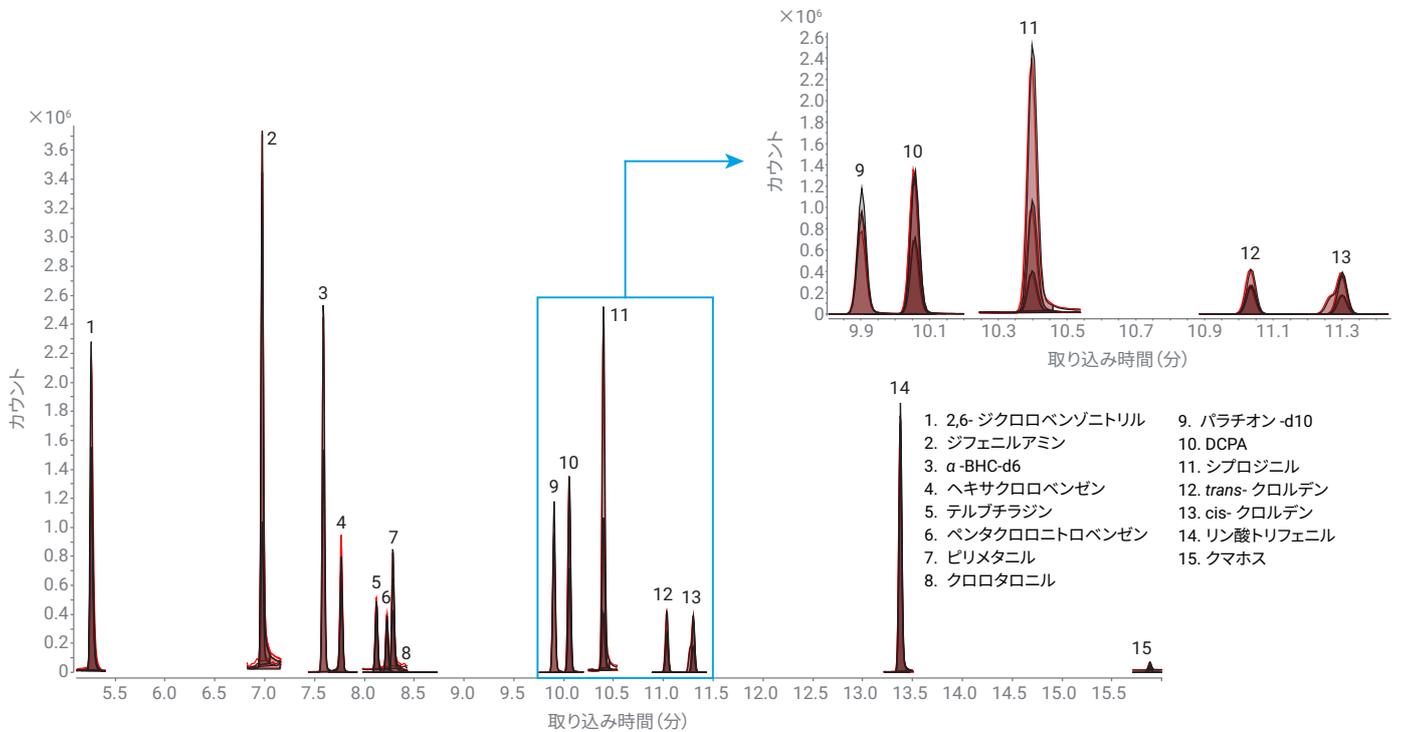


図4. Carbon S を用いた Agilent Bond Elut QuEChERS 高色素分散 SPE キット (EN 相当) 15 mL (黒のトレース)、および Agilent Bond Elut QuEChERS 一般的な果物・野菜の分散 SPE キット、EN メソッド 15 mL (赤いトレース) を使用したクリーンアップ後のスパイクされたトマト抽出物の MRM クロマトグラム

サンプル調製メソッドの性能評価

QuEChERS のサンプル前処理メソッドを、トマトとケールの両方について、既存の推奨 dSPE クリーンアップと、Carbon S クリーンアップを使用した高色素 dSPE を使用して評価しました。メソッドの性能評価に使用した QuEChERS 製品を表 1 に示します。

対象となるすべての農薬について、0.5 ~ 50 ppb (w/v) のキャリブレーション範囲で $R^2 > 0.990$ のマトリックス適合検量線の直線性に従って、農薬の回収率を 24 ppb で、Carbon S クリーンアップを使用した dSPE 高色素と、既存の推奨 dSPE クリーンアップとの間で比較しました。マトリックスマッチング法による農薬の定量により、Carbon S を用いた高色素 dSPE でクリーンアップした場合、トマト (24 ppb) では 83 % の化合物で回収率が 70 ~ 130 % となり、ケール (24 ppb) では 89 % の化合物で回収率が 70 ~ 130 % となりまし

た。色素の多い果実と野菜向けの dSPE でクリーンアップした場合、マトリックスに合わせた調整による農薬の定量により、トマト (24 ppb) では 89 % の化合物で回収率が 70 ~ 130 % であり、ケール (24 ppb) では化合物の 89 % で 70 ~ 130 % の回収率を示しました。結果を検証するために、定量精度と正確度 (n = 6) も決定しました。どちらの dSPE 製品を用いてクリーンアップしたトマトとケールでも、すべての化合物のうち 89 % の RSD が 30 % 未満でした。図 5 と図 6 は、トマトとケールの定量データをグラフで示したものです。

表 1. メソッドの性能評価に使用した Agilent QuEChERS 製品

| 部品番号 | 製品 | マトリックス |
|-----------|---|---------|
| 5610-2074 | Agilent Bond Elut QuEChERS 高色素分散 SPE キット (EN 相当)、Carbon S、2 mL | トマトとケール |
| 5610-2076 | Agilent Bond Elut QuEChERS 高色素分散 SPE キット (EN 相当)、Carbon S、15 mL | トマトとケール |
| 5982-5021 | Agilent Bond Elut QuEChERS 一般的な果物・野菜の分散 SPE キット、EN メソッド、2 mL | トマト |
| 5982-5056 | Agilent Bond Elut QuEChERS 一般的な果物・野菜の分散 SPE キット、EN メソッド、15 mL | トマト |
| 5982-5321 | Agilent Bond Elut QuEChERS 色素の多い果物・野菜の分散 SPE キット、EN メソッド、2 mL | ケール |
| 5982-5356 | Agilent Bond Elut QuEChERS 色素の多い果物・野菜の分散 SPE キット、EN メソッド、15 mL | ケール |

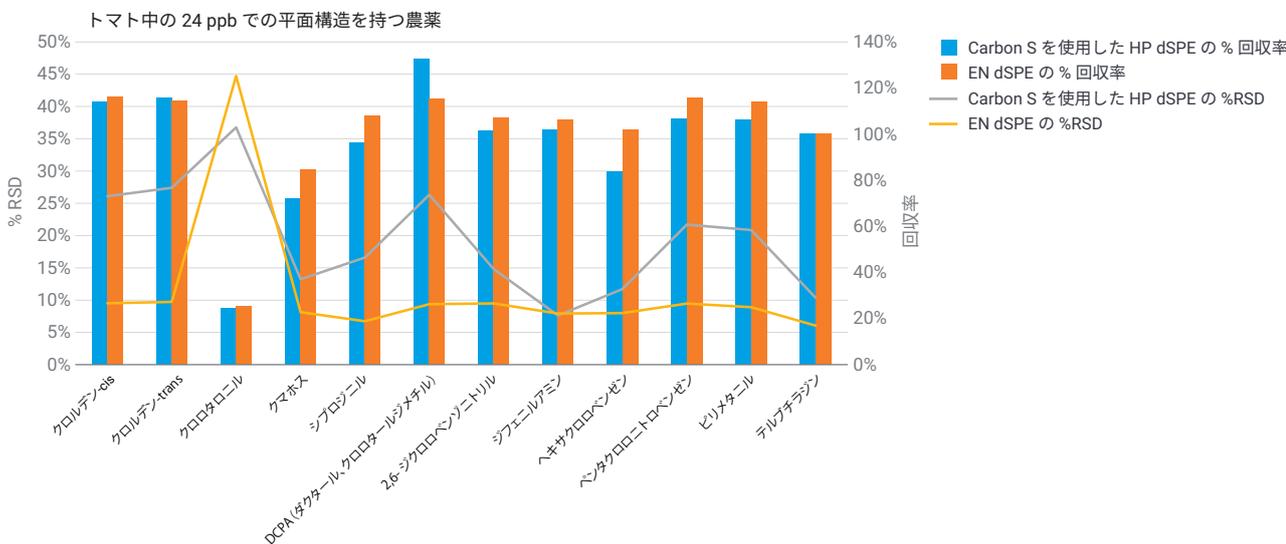


図 5. Carbon S を用いた Agilent Bond Elut QuEChERS 高色素分散 SPE キット (EN 相当) (HP dSPE) と、Agilent Bond Elut QuEChERS 一般的な果物・野菜の分散 SPE キット、EN メソッド (GFV dSPE) とのトマト中の平面構造を持つ農薬の回収率および RSD (%) の比較

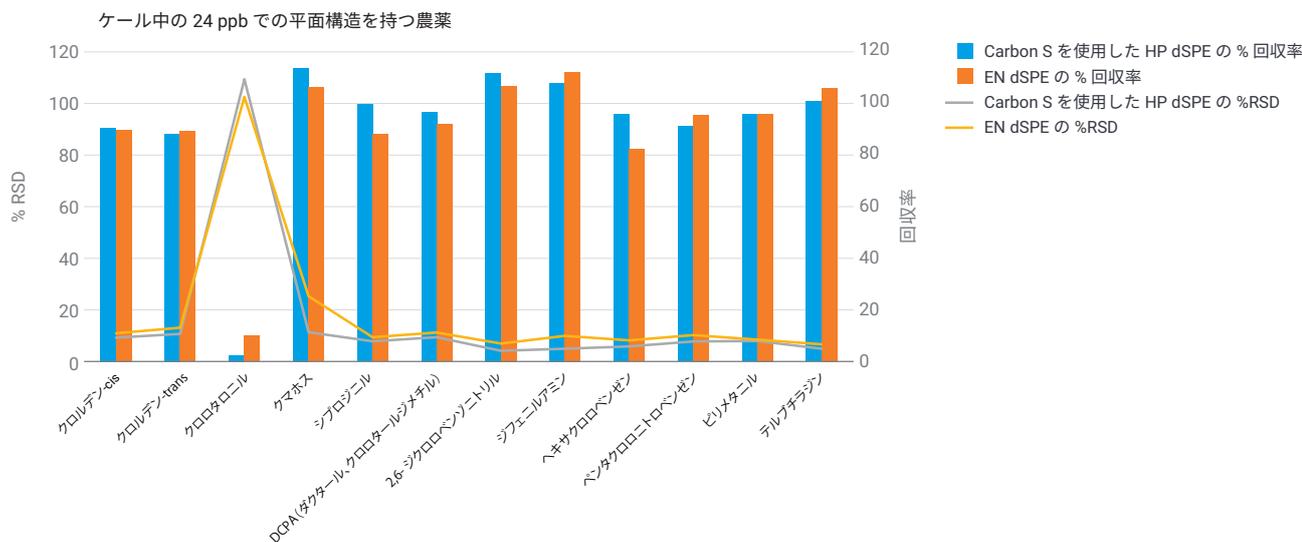


図 6. Carbon S を用いた Agilent Bond Elut QuEChERS 高色素分散 SPE キット (EN 相当) (HP dSPE) と、Agilent Bond Elut QuEChERS 一般的な果物・野菜の分散 SPE キット、EN メソッド (GFV dSPE) とのケール中の平面構造を持つ農薬の回収率および RSD (%) の比較

結論

Agilent Bond Elut QuEChERS EN 抽出キットを使用して抽出し、それに続いて Carbon S を用いた Agilent Bond Elut QuEChERS 高色素分散 SPE キット (EN 相当) によるクリーンアップを行った、シンプルで迅速かつ信頼性の高いメソッドの検証を、平面構造を持つ農薬のターゲット GC/MS/MS 分析を対象に実施しました。メソッドの性能は、トマトとケールでの既存の推奨 dSPE クリーンアップと、Carbon S を使用した 高色素 dSPE との分析対象物回収率の比較に基づいて評価しました。従来の dSPE クリーンアップと比較すると、色素を含む新鮮なマトリックス中の平面構造を持つ農薬分析において、Carbon S を用いた EN 高色素 dSPE は、現在の推奨クリーンアップと同等またはそれ以上の性能があります。

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. Andrianova, A *et al.* イチゴ中の US EPA 許容レベルの農薬の定量分析, *Agilent Technologies application note*, publication number 5994-0799JAJ, **2019**.

付録 1

ターゲットの MRM パラメータと ISTD 化合物の MRM パラメータ

| 化合物 | ターゲット/ISTD | RT (分) | プリカーサイオン | MS1 分解能 | プロダクトイオン | MS2 分解能 | CE |
|---------------------|------------|--------|----------|---------|----------|---------|----|
| 2,6-ジクロロベンゾニトリル | ターゲット | 5.26 | 173 | ワイド | 100 | ワイド | 25 |
| 2,6-ジクロロベンゾニトリル | ターゲット | 5.26 | 171 | ワイド | 136.1 | ワイド | 15 |
| 2,6-ジクロロベンゾニトリル | ターゲット | 5.26 | 171 | ワイド | 100 | ワイド | 25 |
| ジフェニルアミン | ターゲット | 6.97 | 169 | ワイド | 168.2 | ワイド | 15 |
| ジフェニルアミン | ターゲット | 6.97 | 168 | ワイド | 167.2 | ワイド | 15 |
| ジフェニルアミン | ターゲット | 6.97 | 167 | ワイド | 166.2 | ワイド | 20 |
| α -BHC-d6 | ISTD | 7.58 | 224 | ワイド | 187 | ワイド | 15 |
| α -BHC-d6 | ISTD | 7.58 | 224 | ワイド | 150 | ワイド | 15 |
| ヘキサクロロベンゼン | ターゲット | 7.78 | 283.8 | ワイド | 248.8 | ワイド | 15 |
| ヘキサクロロベンゼン | ターゲット | 7.78 | 283.8 | ワイド | 213.9 | ワイド | 30 |
| ヘキサクロロベンゼン | ターゲット | 7.78 | 281.8 | ワイド | 211.9 | ワイド | 30 |
| テルブチラジン | ターゲット | 8.12 | 228.9 | ワイド | 173.1 | ワイド | 5 |
| テルブチラジン | ターゲット | 8.12 | 172.9 | ワイド | 172 | ワイド | 5 |
| テルブチラジン | ターゲット | 8.12 | 172.9 | ワイド | 138.1 | ワイド | 5 |
| ペンタクロロニトロベンゼン | ターゲット | 8.23 | 248.8 | ワイド | 213.8 | ワイド | 15 |
| ペンタクロロニトロベンゼン | ターゲット | 8.23 | 176.9 | ワイド | 141.9 | ワイド | 15 |
| ペンタクロロニトロベンゼン | ターゲット | 8.23 | 141.9 | ワイド | 106.9 | ワイド | 30 |
| ピリメタニル | ターゲット | 8.28 | 198 | ワイド | 183.1 | ワイド | 15 |
| ピリメタニル | ターゲット | 8.28 | 198 | ワイド | 158.1 | ワイド | 20 |
| ピリメタニル | ターゲット | 8.28 | 198 | ワイド | 118.1 | ワイド | 35 |
| クロロタロニル | ターゲット | 8.59 | 265.9 | ワイド | 230.9 | ワイド | 20 |
| クロロタロニル | ターゲット | 8.59 | 265.9 | ワイド | 168 | ワイド | 30 |
| クロロタロニル | ターゲット | 8.59 | 265.9 | ワイド | 133 | ワイド | 45 |
| パラチオン-d10 | ISTD | 9.90 | 301 | ワイド | 115 | ワイド | 15 |
| パラチオン-d10 | ISTD | 9.90 | 301 | ワイド | 83 | ワイド | 35 |
| DCPA | ターゲット | 10.06 | 331.8 | ワイド | 300.9 | ワイド | 10 |
| DCPA | ターゲット | 10.06 | 300.9 | ワイド | 223 | ワイド | 25 |
| DCPA | ターゲット | 10.06 | 298.9 | ワイド | 221 | ワイド | 25 |
| シプロジニル | ターゲット | 10.39 | 226.2 | ワイド | 225.3 | ワイド | 10 |
| シプロジニル | ターゲット | 10.39 | 225.2 | ワイド | 224.3 | ワイド | 10 |
| シプロジニル | ターゲット | 10.39 | 224.2 | ワイド | 208.2 | ワイド | 20 |
| クロルデン- <i>trans</i> | ターゲット | 11.03 | 374.8 | ワイド | 265.8 | ワイド | 15 |
| クロルデン- <i>trans</i> | ターゲット | 11.03 | 372.8 | ワイド | 265.8 | ワイド | 15 |
| クロルデン- <i>trans</i> | ターゲット | 11.03 | 271.7 | ワイド | 236.9 | ワイド | 15 |
| クロルデン- <i>cis</i> | ターゲット | 11.29 | 372.8 | ワイド | 300.9 | ワイド | 10 |
| クロルデン- <i>cis</i> | ターゲット | 11.29 | 372.8 | ワイド | 265.9 | ワイド | 25 |
| クロルデン- <i>cis</i> | ターゲット | 11.29 | 271.8 | ワイド | 236.9 | ワイド | 15 |
| リン酸トリフェニル | ISTD | 13.35 | 326 | ワイド | 325 | ワイド | 5 |
| リン酸トリフェニル | ISTD | 13.35 | 232.9 | ワイド | 215.1 | ワイド | 10 |
| リン酸トリフェニル | ISTD | 13.35 | 214.9 | ワイド | 168.1 | ワイド | 15 |
| クマホス | ターゲット | 15.85 | 361.9 | ワイド | 109 | ワイド | 15 |
| クマホス | ターゲット | 15.85 | 225.9 | ワイド | 163.1 | ワイド | 15 |
| クマホス | ターゲット | 15.85 | 210 | ワイド | 182 | ワイド | 10 |

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いません。
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。

DE36126256

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2022

Printed in Japan, June 24, 2022

5994-5050JAJP