

Carbon S 付き汎用 dSPE と GC/TQ による ブロッコリ中の農薬の分析

著者

Amanda McQuay
Agilent Technologies, Inc.

概要

このアプリケーションノートでは、ブロッコリから農薬を抽出するための、Agilent Bond Elut QuEChERS EN 15662 抽出キットの後に Carbon S を含む Agilent Bond Elut QuEChERS dSPE 汎用キットを使用した、簡単で、迅速かつ信頼性の高い GC/TQ メソッドについて説明します。Agilent Carbon S 充填剤は効率的で選択的なマトリックス色素除去を実現し、食品サンプル抽出で広く使用されている従来のグラファイトカーボンブラック (GCB) 充填剤よりも、一部の平面構造を持つ農薬で高い回収率を示します。

はじめに

ブロッコリには、クロロフィルやルテインなどの天然色素が豊富に含まれています。これらの色素は、多様なマトリックス効果の原因となり、Agilent 7000D トリプル四重極 GC/MS システム (GC/TQ) での農薬の分析を妨害します。高い農薬の回収率を維持しつつ、問題となるバックグラウンドの干渉を解消するためには、効率的なサンプル抽出とマトリックススクリーンアップが必要です。QuEChERS は、有機溶媒を使用した食品マトリックスからの農薬の抽出によく使用されるメソッドです。多くの場合に GCB が含まれる分散固相抽出 (dSPE) キットを使用してサンプルをクリーンアップします。

GCB は、色素と共溶出化合物を効率的に除去することで、食品マトリックス中の農薬の分析における干渉を最小限に抑制し、GC/TQ 流路の汚染を軽減するため、dSPE キットで広く使用されています。ただし、GCB とヘキサクロロベンゼンなどの平面構造を持つ農薬との相互反応により、好ましくない成分損失が生じることがよくあります。有効な色素除去特性を維持しつつ、GCB の良くない相互作用に対処するために、アジレントは新しい充填剤、Carbon S を開発しました。Carbon S は炭素の含有量が最適化されたポア構造をもつハイブリッド炭素材で、GCB を代替するために作られた充填剤です。

Carbon S は、GCB 選択的化合物 (平面構造を持つ農薬など) の回収率を向上させながら、多様なサンプルマトリックスから GCB と同等、またはより良好に色素除去を実行できます。その結果、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との間で優れたバランスを保ちます。このアプリケーションノートでは、GC/TQ によるブロッコリ中の農薬の分析のための、Carbon S を含む QuEChERS dSPE 汎用キットを使用したサンプル前処理について紹介します。

実験方法

消耗品

メソッド実行の準備を促進するために、付録に、このアプリケーションノートで使用したアジレント消耗品のリストを掲載しています。

標準溶液の前処理

農薬標準溶液および内部標準 (ISTD) 混合スパイク溶液は、アジレントの混合溶液 (部品番号 51900551) と Sigma-Aldrich (セントルイス、ミズーリ州、米国) の個別の標準溶液を使用してアセトニトリルで調製しました。マトリックス適合検量線を、1、10、50、100、200 ppb で調製しました。5 回繰り返し分析のマトリックス適合品質管理 (QC) サンプルは 5 ppb で調製しました。ISTD 化合物には α -BHC-d6、パラチオン-d10、リン酸トリフェニルが含まれます。

サンプル前処理

ホモジナイズした有機ブロッコリの 10 g のサンプルを 50 mL の遠心分離チューブに入れ、相当する濃度のスパイク溶液でスパイクしました。サンプルを 30 秒間ボルテックスして 2 つのセラミックホモジナイザと 10 mL のアセトニトリルを加え、再び 1 分間ボルテックスしました。EN メソッドの Agilent QuEChERS 抽出塩パッケージ (部品番号 5982-5650CH) をチューブに添加し、手で激しく振とうしました。SPEX SamplePrep の Geno/Grinder を使用して、サンプルを 1500 rpm で 5 分間振とうしました。サンプルを 5,000 rpm で 5 分間遠心分離して、抽出物から 6 mL を Agilent QuEChERS dSPE 汎用キット 15 mL チューブに移しました (Carbon S 入り Agilent QuEChERS dSPE 汎用キット (部品番号 5610-2060) と GCB 入り dSPE 汎用キット (部品番号 5982-0029) を比較しました)。Geno/Grinder を使用して 1500 rpm で 3 分間 dSPE チューブを振とうした後に、5,000 rpm で 5 分間遠心分離しました。保管と分析のために最終サンプル抽出物をラベル表示されたバイアルに移しました。図 1 に、このサンプル前処理手順の概要を示します。Carbon S 付き QuEChERS dSPE 汎用キットを使用してクリーンアップされた、10 ppb でスパイクしたブロッコリサンプルから抽出した平面構造を持つ農薬の dMRM クロマトグラムを図 3 に示します。

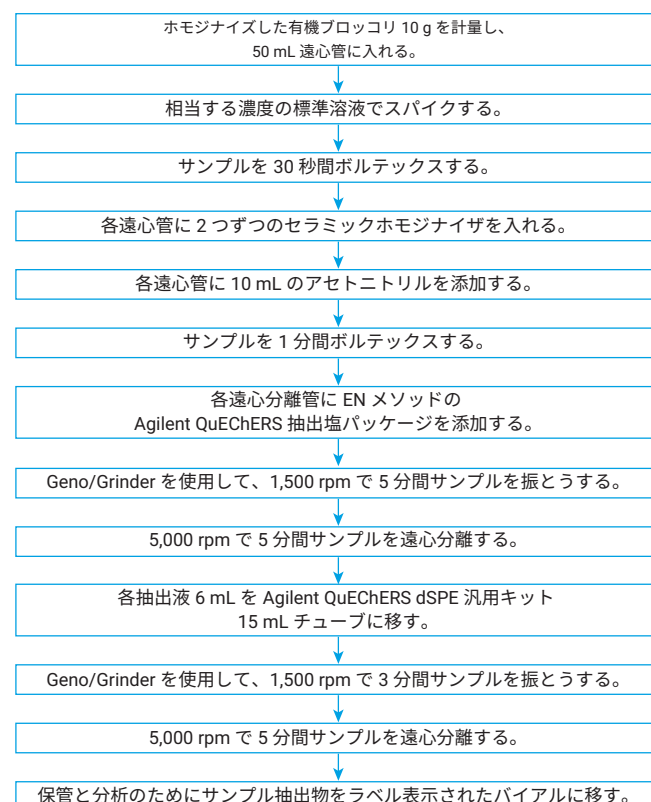


図 1. Agilent QuEChERS EN メソッド抽出の後に Agilent QuEChERS dSPE 汎用キットによるクリーンアップを用いた、ブロッコリサンプルのサンプル前処理手順

装置構成

この研究に使用した分析システムは Agilent 8890 GC と 7000D トリプル四重極 GC/MS で、広いキャリブレーション範囲で最高の性能が得られるように構成しました (図 2)。GC システムには、Agilent 7693A オートサンプラ (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のための Agilent purged Ultimate union (PUU) を使用しました。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。狭いピークを正確に定量するために、ダイナミック MRM (dMRM) モードで、高効率のデュエルタイム設定を使用しました。GC/TQ 機器条件は、同等の機器を使用した、すでに公開されているメソッドに基づいて設定しました。機器条件を表 1 に示しています。ターゲットおよび ISTD dMRM パラメータを付録に示しています。

表 1. Agilent 8890 GC および Agilent 7000D GC/MS メソッドパラメータ

カラム	Agilent J&W HP-5ms UI, 15 m × 250 μm, 0.25 μm (数量 : 2) (p/n 19091S-431UI)
キャリアガス	ヘリウム
カラム 1 流量	0.8267 mL/min
カラム 2 流量	1.4 mL/min
注入量	0.5 μL
注入口ライナ	スプリットレス、シングルテーパ、ガラスフリット (p/n 5190-5105)
MMI 温度プログラム	75 °C で 0.02 分間、750 °C /min ~ 350 °C
注入口モード	パルスドスプリットレス パルス圧力 1 分まで 25 psi スプリットベントへのページ流量 30 mL/min (0.75 分で)
オープン温度プログラム	60 °C で 1 分間、 40 °C /min で 170 °C まで、 10 °C /min で 310 °C まで、 3 分間保持
分析時間	20.75 min
バックフラッシュ条件	1.5 min のポストラン 310 °C オープン温度 ポストラントータル流量 25 mL/min
トランスファライン温度	280 °C
イオン源	エクストラクタイオン源、3 mm レンズ付き (G7000-20444)
四重極温度	150 °C
イオン源温度	300 °C
データモニタリング	dMRM
EM 電圧ゲイン係数	10
溶媒ディレイ	2 min

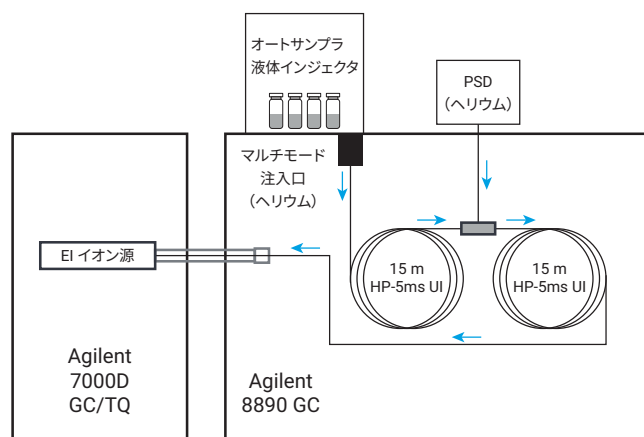


図 2. Agilent 8890 GC と組み合わせた Agilent 7000D トリプル四重極 GC/MS (GC/TQ)

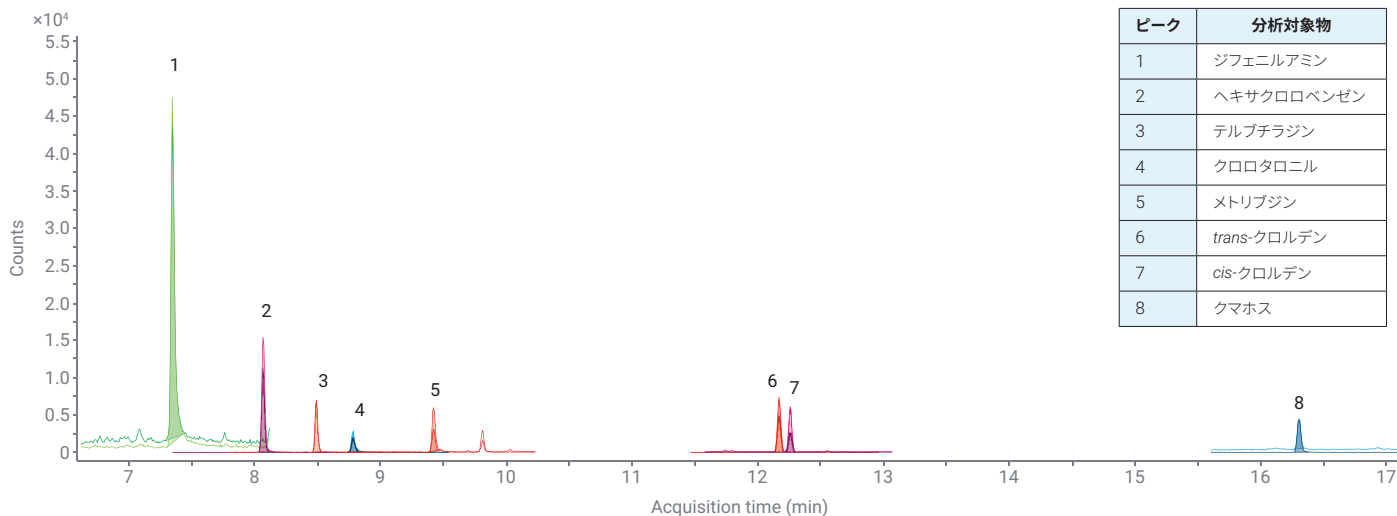


図 3. Agilent Carbon S を含む Agilent QuEChERS dSPE 汎用キットを使用してクリーンアップされた、10 ppb でスパイクしたブロッコリサンプルから抽出した平面構造を持つ農薬の dMRM クロマトグラム

結果と考察

GCB を用いた既存の推奨 dSPE クリーンアップとともに、Carbon S が含まれた QuEChERS dSPE 汎用キットを使用して、ブロッコリのための QuEChERS サンプル前処理メソッドを評価しました。1 ppb ~ 200 ppb の範囲にわたりマトリックス適合検量線を作成しました。QC サンプルは 5 ppb で調製しました。検量線は、両方のクリーンアップメソッドを使用して、すべてのターゲット農薬に対し $R^2 > 0.990$ の直線性を示しました。図 4 は、5 ppb QC サンプルに対する平面構造を持つ農薬の回収率について Carbon S と GCB メソッドを比較したもので、表 2 はすべてのターゲット農薬に対する回収率の比較を示しています。マトリックスに合わせた調整による定量では、ブロッコリ中の 5 ppb 添加で、Carbon S 入り

汎用キットでクリーンアップを行った場合に 90 % ~ 110 % の回収率を示したターゲット化合物は 95 % だったのに対し、GCB によるクリーンアップでは 75 % に留まりました。GCB と比較して Carbon S は平面構造を持つ農薬でより高い回収率を示し、ヘキサクロロベンゼン (69 % vs 34 %) とクロロタロニル (93 % vs 52 %) ではほぼ 2 倍の回収率が得られました。真度と精度のデータを決定するために、繰り返しサンプル分析 (n = 5) を実行しました。Carbon S および GCB クリーンアップメソッドの相対標準偏差 (RSD) は 20 % 未満でした。

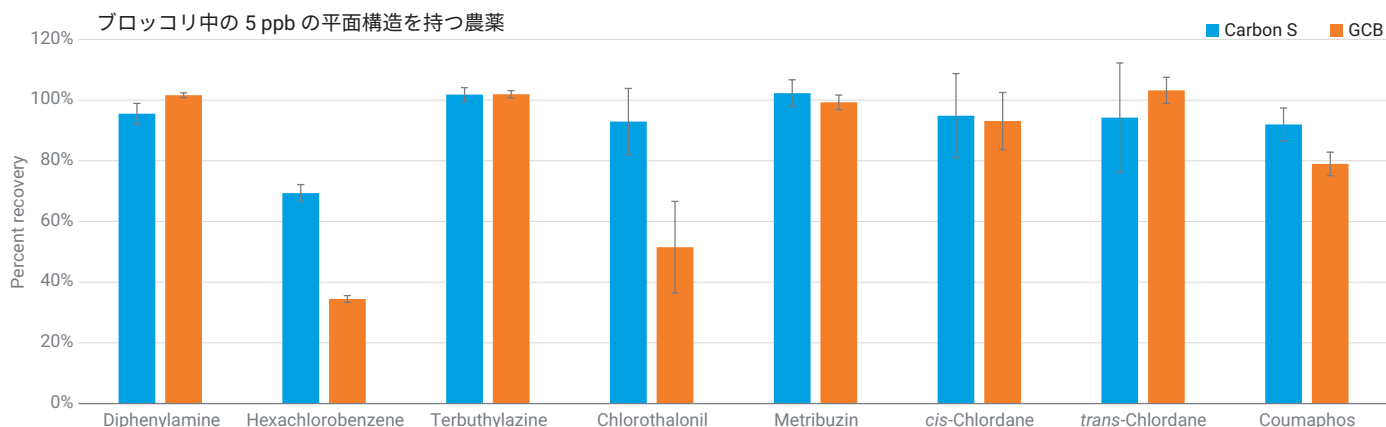


図 4. Agilent QuEChERS EN メソッド抽出の後に Agilent QuEChERS dSPE 汎用キットによるクリーンアップを用いた、ブロッコリ中の 5 ppb の平面構造を持つ農薬の回収率

表 2. Carbon S を使用した場合と使用しない場合の、Agilent QuEChERS dSPE 汎用キットによるブロッコリ中の 5 ppb の農薬の回収率の比較。GCB と比較し、Carbon S を使用した場合に、大幅に成分の回収率が向上しています。

分析対象物	説明	Carbon S 回収率	GCB 回収率
ジクロロベニル	非平面構造	100 %	102 %
メタクリロス	非平面構造	104 %	105 %
ジフェニルアミン	平面構造	96 %	102 %
エタルフルラリン	非平面構造	107 %	103 %
スルホテップ	非平面構造	102 %	104 %
ヘキサクロロベンゼン	平面構造	69 %	34 %
デメトン-S	非平面構造	101 %	104 %
シマジン	非平面構造	100 %	98 %
テルブチラジン	平面構造	102 %	102 %
リンデン	非平面構造	104 %	103 %
クロロタロニル	平面構造	93 %	52 %
クロルピリホスメチル	非平面構造	102 %	102 %
メトリブジン	平面構造	102 %	99 %
フェニトロチオン	非平面構造	104 %	108 %
アルドリノ	非平面構造	104 %	103 %
ベンジメタリン	非平面構造	105 %	101 %
cis-クロルデン	平面構造	95 %	93 %
trans-クロルデン	平面構造	94 %	103 %
ブピリメート	非平面構造	102 %	101 %
ディルドリン	非平面構造	102 %	102 %
トリアゾホス	非平面構造	102 %	105 %
EPN	非平面構造	101 %	104 %
ホサロン	非平面構造	99 %	102 %
マイレックス	非平面構造	102 %	103 %
クマホス	平面構造	92 %	79 %
ピラクロストロピン	非平面構造	103 %	88 %
デルタメトリン	非平面構造	99 %	118 %

結論

ブロッコリからの農薬の抽出を対象に、Agilent Bond Elut QuEChERS EN 抽出キットの後に Carbon S を含む Agilent Bond Elut QuEChERS dSPE 汎用キットを使用した、簡単で、迅速かつ信頼性の高い GC/TQ メソッドを検証しました。Carbon S を含む dSPE 汎用キットと従来の GCB を使用して、ブロッコリ中の分析対象物（特に平面構造を持つ農薬）の回収率の比較に基づき、メソッドの性能を評価しました。Carbon S を含む dSPE 汎用キットは、ブロッコリ中の平面構造を持つ農薬の測定において、現在推奨の GCB と同等、またはより良好な性能を示すことが実証されました。

参考文献

- González-Curbelo, M. Á. *et al.* Evolution and Applications of the QuEChERS Method. *TrAC* **2015**, 71, 169–185.
- Andrianova, A.; Zhao, L. 最大限の性能を引き出すための 5 つの秘策 - GC/MS/MS を用いた食品中残留農薬多成分一斉分析 *Agilent Technologies application note*, publication number 5994-4965JAJ, **2022**.
- Andrianova, A. *et al.* トリプル四重極 GC/MS システムによるイチゴ中の US EPA 許容レベルの農薬の定量分析 *Agilent Technologies application note*, publication number 5994-0799JAJ, **2019**.
- Westland, J. 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. *Agilent Technologies application note*, publication number 5994-5050JAJ, **2022**.
- Zhao, L.; Andrianova, A. Determination of Over 3000 Pesticides in Cayenne Pepper. *Agilent Technologies application note*, publication number 5994-5630EN, **2023**.

付録

表 A1. このアプリケーションノートで使用されたアジレント消耗品

説明	製品	部品番号
分析カラム	J&W HP-5ms UI、15 m × 250 µm、0.25 µm	19091S-431UI
GC 注入口ライナ	ウルトラライナート、汎用、ミッドフリット、870 µL、4 mm	5190-5105
パーツ付き Ultimate ユニオン	Ultimate ユニオンキット、不活性化処理済	G3182-61580
QuEChERS キット	QuEChERS dSPE 汎用キット、Carbon S 付き、15 mL	5610-2060
QuEChERS キット	QuEChERS dSPE 汎用キット、GCB 付き、15 mL	5982-0029
オートサンプリングバイアル	A-Line、証明書付き、2 mL、茶色スクリーントップ、ラベル付き、100 個	5190-9590
オートサンプリングキャップ	9 mm 緑スクリーンキャップ、PTFE/RS、500 個	5185-5829
バイアルインサート	250 µL バイアルインサート、樹脂足付き、100 個	5181-1270
遠心分離管	遠心分離チューブおよびキャップ、15 mL、50個	5610-2039
遠心分離管	遠心分離チューブおよびキャップ、50 mL、50個	5610-2049

表 A2. Agilent 8890 GC および Agilent 7000D トリプル四重極 GC/MS での農薬の dMRM トランジション

化合物名	ターゲット/ISTD	プリカーサ イオン	プロダクト イオン	RT (分)	CE
ジクロベニル	ターゲット	171	136.1	5.44	15
ジクロベニル	ターゲット	171	100	5.44	25
メタクリホス	ターゲット	207.9	180.1	6.31	5
メタクリホス	ターゲット	124.9	47.1	6.31	10
ジフェニルアミン	ターゲット	169	168.2	7.36	15
ジフェニルアミン	ターゲット	168	167.2	7.36	15
エタルフルラリン	ターゲット	315.9	275.9	7.41	10
エタルフルラリン	ターゲット	275.9	202.1	7.41	15
スルホテップ	ターゲット	237.8	145.9	7.64	10
スルホテップ	ターゲット	201.8	145.9	7.64	10
α-BHC-d6	ISTD	224	187	7.78	15
α-BHC-d6	ISTD	224	150	7.78	15
ヘキサクロロベンゼン	ターゲット	283.8	248.8	8.1	15
ヘキサクロロベンゼン	ターゲット	283.8	213.9	8.1	30
デメトン-S	ターゲット	126	65	8.12	10
デメトン-S	ターゲット	88	60	8.12	5
シマジン	ターゲット	201.1	173.1	8.24	5
シマジン	ターゲット	173	172.1	8.24	5
テルブチラジン	ターゲット	228.9	173.1	8.54	5
テルブチラジン	ターゲット	172.9	172	8.54	5

化合物名	ターゲット/ISTD	プリカーサ イオン	プロダクト イオン	RT (分)	CE
リンデン	ターゲット	216.9	181	8.56	5
リンデン	ターゲット	181	145	8.56	15
クロロタロニル	ターゲット	263.8	229	8.8	20
クロロタロニル	ターゲット	263.8	168	8.8	25
パラチオン-d10	ISTD	301	115	9.75	15
パラチオン-d10	ISTD	301	83	9.75	35
メトリブジン	ターゲット	198	82	9.48	15
メトリブジン	ターゲット	198	55	9.48	30
クロルピリホスメチル	ターゲット	124.9	78.9	9.5	5
クロルピリホスメチル	ターゲット	124.9	47	9.5	15
プロバルギット	ターゲット	149.9	135.1	9.94	5
プロバルギット	ターゲット	135	107.1	9.94	10
フェニトロチオン	ターゲット	125.1	79	10.03	5
フェニトロチオン	ターゲット	125.1	47	10.03	15
アルドリノ	ターゲット	262.9	192.9	10.49	335
アルドリノ	ターゲット	254.9	220	10.49	20
ベンジメタリン	ターゲット	251.8	162.2	10.91	10
ベンジメタリン	ターゲット	251.8	161.1	10.91	15
trans-クロルデン	ターゲット	374.9	265.9	11.58	20
trans-クロルデン	ターゲット	372.8	265.8	11.58	15
cis-クロルデン	ターゲット	374.9	265.9	11.81	15
cis-クロルデン	ターゲット	372.9	265.8	11.81	20
ブピリメート	ターゲット	272.9	193.1	12.22	5
ブピリメート	ターゲット	272.9	108	12.22	15
ディルドリン	ターゲット	277	241	12.32	5
ディルドリン	ターゲット	262.9	193	12.32	35
トリアゾホス	ターゲット	161.2	134.2	13.15	5
トリアゾホス	ターゲット	161.2	106.1	13.15	10
リン酸トリフェニル	ISTD	326	325	14.01	5
リン酸トリフェニル	ISTD	232.9	215.1	14.01	10
EPN	ターゲット	169	141.1	14.49	5
EPN	ターゲット	169	77	14.49	25
ホサロン	ターゲット	182	111	15.1	15
ホサロン	ターゲット	182	102.1	15.1	15
マイレックス	ターゲット	273.8	238.8	15.64	15
マイレックス	ターゲット	271.8	236.8	15.64	15
クマホス	ターゲット	361.9	109	16.35	15
クマホス	ターゲット	210	182	16.35	10
ピラクロストロピン	ターゲット	164	132.1	18.07	10
ピラクロストロピン	ターゲット	164	77.1	18.07	35
デルタメトリン	ターゲット	252.9	93	18.79	15
デルタメトリン	ターゲット	181	152.1	18.79	25

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンタ

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。

DE85682821

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2023

Printed in Japan, May 12, 2023

5994-6142JAJP